

SYNTHESE VON
9-METHOXYPYRIDAZINO[4,5-*b*]-
CARBAZOL-DERIVATEN MIT
ZYTOSTATISCHER WIRKUNG

Diplomarbeit

zur

Erlangung des akademischen Grades

Magister der Pharmazie

an der Fakultät für Naturwissenschaften und Mathematik
der Universität Wien

eingereicht von

RAMI JBARA

Wien, im Februar 2001

VORWORT

Die experimentellen Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurden in der Zeit von April 1997 bis August 1997 am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien (Abteilung für Arzneistoffsynthese) durchgeführt.

Herrn Ao. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. et Mag. pharm. N. HAIDER danke ich für die interessante Themenstellung, die hervorragende Betreuung und die Aufnahme der ^1H -NMR-Spektren. Besonders beeindruckt bin ich von seiner großen fachlichen Kompetenz und von seinem unermüdlichen Engagement bei dieser Arbeit.

Bei meinen Kollegen der Abteilung für Arzneistoffsynthese möchte ich mich für ihre Unterstützung und das gute Arbeitsklima bedanken.

Weiters spreche ich meinen Dank aus:

Herrn Dr. L. JIROVETZ für die Aufnahme der Massenspektren.

Herrn Mag. J. THEINER (Institut für Physikalische Chemie der Universität Wien) für die Durchführung der Elementaranalysen.

Herrn Ing. P. UNTEREGGER (Institut für Organische Chemie der Universität Wien) für die Aufnahme der Hochauflösungs-Massenspektren.

Dem NCI (*National Cancer Institute, Department of Health and Human Services, USA*) für die Durchführung der *in-vitro*- und *in-vivo*-Tests auf Antitumor-Aktivität.

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
1.1. ELLIPTICIN ALS LEITSUBSTANZ FÜR ZUKÜNFTIGE THERAPEUTIKA MIT ANTITUMORWIRKUNG.....	3
<i>Zum Wirkungsmechanismus von zytostatischen Verbindungen des Ellipticin-Typs:.....</i>	<i>11</i>
1.2. STRUKTUR-WIRKUNGS-BEZIEHUNGEN	16
<i>Die bioisostere Modifikation von aromatischen Teilstrukturen als Weg zu neuen pharmakologisch wirksamen Substanzen.....</i>	<i>17</i>
<i>Erhöhung der zytostatischen Aktivität von ellipticinartigen Verbindungen durch Einführung basischer Seitenketten.....</i>	<i>20</i>
1.3. ZIELSETZUNG	21
2. EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	23
2.1. DARSTELLUNG VON 1,4-DICHLOR-9-METHOXY-5- METHYL-6H-PYRIDAZINO[4,5- <i>b</i>]CARBAZOL AUSGEHEND VON 5-METHOXYINDOLYL-3-ESSIGSÄURE.....	25
2.2. SYNTHESE VON 9-METHOXY-3-AZA-11-DESMETHYL- ELLIPTICIN-ANALOGA MIT BASISCHER SEITENKETTE .	35
<i>Ergebnisse der Untersuchungen auf Antitumor-Aktivität</i>	<i>44</i>

3. EXPERIMENTELLER TEIL..... 47

Ad 2.1. DARSTELLUNG VON 1,4-DICHLOR-9-METHOXY-5-METHYL-6*H*-PYRIDAZINO[4,5-*b*]CARBAZOL AUSGEHEND VON 5-METHOXYINDOLYL-3-ESSIGSÄURE..... 49

Ad 2.2. SYNTHESE VON 9-METHOXY-3-AZA-11-DESMETHYL-ELLIPTICIN-ANALOGA MIT BASISCHER SEITENKETTE 55

4. LITERATURVERZEICHNIS 64

5. ANHANG

SPEKTREN

ZUSAMMENFASSUNG

LEBENS LAUF

1. EINLEITUNG

In der Pharmazeutischen Chemie hat die Natur seit jeher einen wesentlichen Beitrag geleistet, indem sie Grundstrukturen geschaffen hat, die zahlreiche Forscher - auf der Suche nach Wirkstoffen mit verbesserter Wirksamkeit und/oder verringerter Toxizität - zu immer neuen Strukturmodifikationen herausforderten.

Dabei stehen dem synthetisch arbeitenden Chemiker zahlreiche Derivatisierungsmöglichkeiten zur Verfügung. So lassen sich etwa durch die Einführung zusätzlicher Substituenten oder durch die Verkleinerung eines Teilstückes des Grundkörpers die räumlichen Ausmaße eines Moleküls und damit seine Fähigkeit zur Bindung an den jeweiligen Rezeptor beeinflussen. Darüberhinaus können bioisostere Abwandlungsmöglichkeiten, wie zum Beispiel der Ersatz eines Benzolringes durch einen Heteroaromaten, Einfluß auf die Elektronenverteilung im Molekül nehmen und damit unter anderem auf dessen Löslichkeit, welche wiederum für die Bioverfügbarkeit von großer Bedeutung ist.

Heute zählt Krebs zu den häufigsten Todesursachen in den Industrieländern: etwa jeder Vierte bis Fünfte stirbt hier an einem malignen Tumor [1]. Trotz aller Fortschritte auf diagnostischem und therapeutischem Gebiet liegen die Heilungsaussichten für die am häufigsten auftretenden soliden Tumoren selten über 20 Prozent.

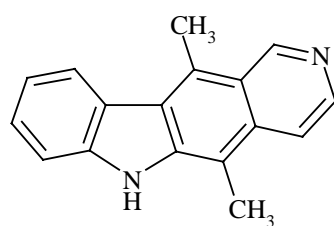
In der Krebsbekämpfung steht heute immer noch die Chemotherapie in Kombination mit chirurgischen Eingriffen, mit der Bestrahlungstherapie und in geringem Umfang mit der Immuntherapie an erster Stelle. Unter den chemotherapeutischen Stoffen haben Naturstoffe bzw. aus ihnen abgeleitete Derivate immer schon einen hohen Stellenwert eingenommen. So haben die Pflanzenalkaloide *Vinblastin* und *Vincristin* (aus *Catharanthus roseus*) sowie das partialsynthetisch aus *Vinblastin* gewonnene *Vindesin*, welche die Zellteilung in der Metaphase hemmen, klinische Bedeutung erlangt.

Einige aus *Streptomyces*-Arten isolierte Antibiotika, wie *Daunorubicin*, *Idarubicin*, *Doxorubicin* und *Epirubicin*, gehören zu den besonders wichtigen Zytostatika und stehen in therapeutischer Verwendung. Die zytotoxische Wirkung dieser Verbindungen beruht unter anderem auf der Interkalation in die DNA, auf der Hemmung des Enzyms Topoisomerase II oder auf einer Biotransformation zu freien Radikalen, welche DNA-Doppelstrangbrüche bewirken.

Auch das Taxan *Paclitaxel*, ein Mitosehemmer, aus *Taxus brevifolia* wird bei soliden Tumoren therapeutisch genutzt [1]. Da der Bedarf aus natürlichen Vorkommen nicht gedeckt werden kann, wird *Paclitaxel* heute partialsynthetisch aus dem in europäischen Eibenarten (z. B. *T. baccata*) in hinreichenden Mengen vorhandenen *Baccatin III* hergestellt.

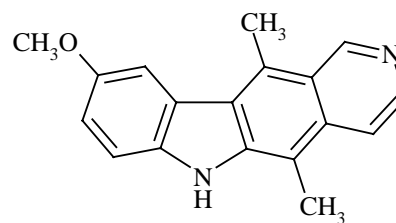
1.1. ELLIPTICIN ALS LEITSUBSTANZ FÜR ZUKÜNFTIGE THERAPEUTIKA MIT ANTITUMORWIRKUNG

Seit der Isolierung von *Ellipticin* (5,11-Dimethyl-6*H*-pyrido[4,3-*b*]-carbazol) (**I**) aus den Blättern und Stengeln der kleinen tropischen immergrünen Pflanze *Ochrosia elliptica* Labill. (Fam. *Apocynaceae*)¹⁾ (siehe Abb. 1) im Jahr 1959 [2], und der Entdeckung der Antitumorwirkung dieser Verbindung sowie (unter anderem) ihres 9-Methoxyanalogons **II** [4] (Schema 1), stehen die Ellipticinderivate im Mittelpunkt zahlreicher wissenschaftlicher Forschungsarbeiten [5].



Ellipticin

I



9-Methoxyellipticin

II

Schema 1

¹⁾ Die Spezies *Elliptica* wurde erstmals 1824 von J. J. DE LA BILLARDIERE auf Neukaledonien beschrieben und gezeichnet [3]. Auch eine Reihe anderer *Ochrosia*-Arten ist im pazifischen Raum heimisch.

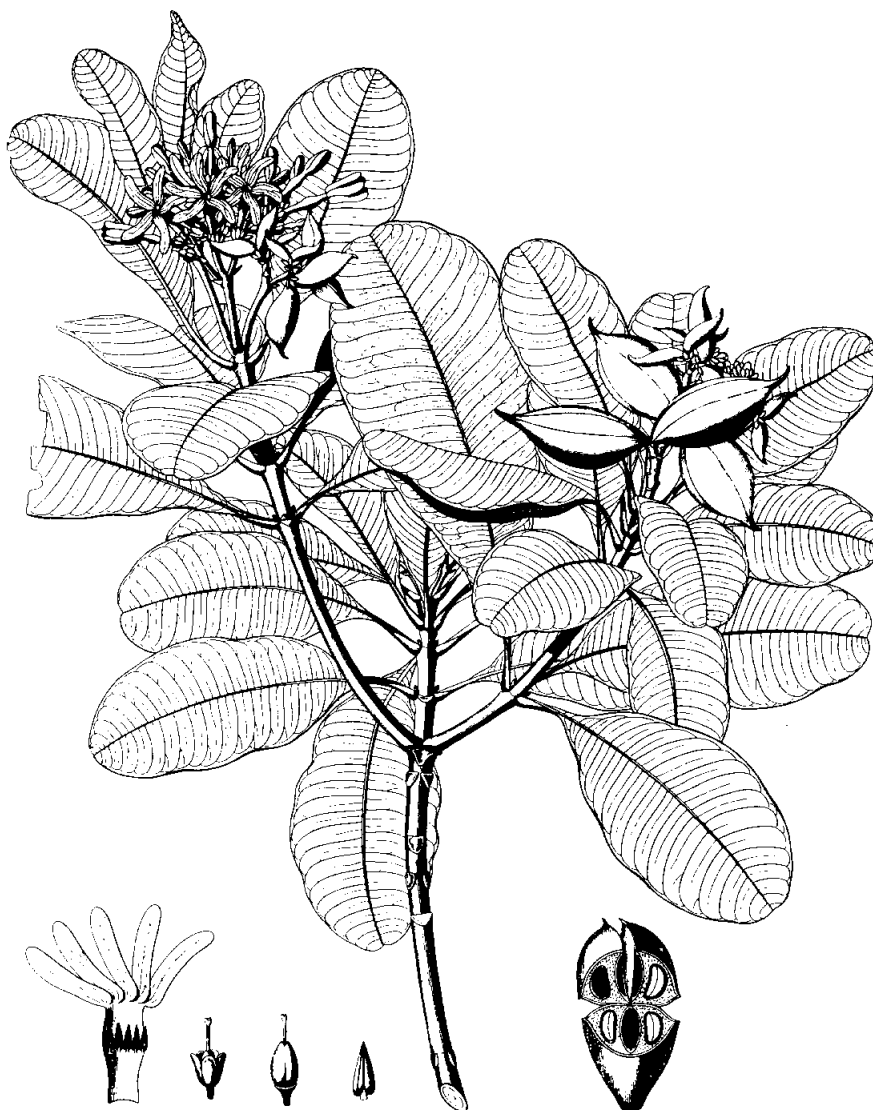


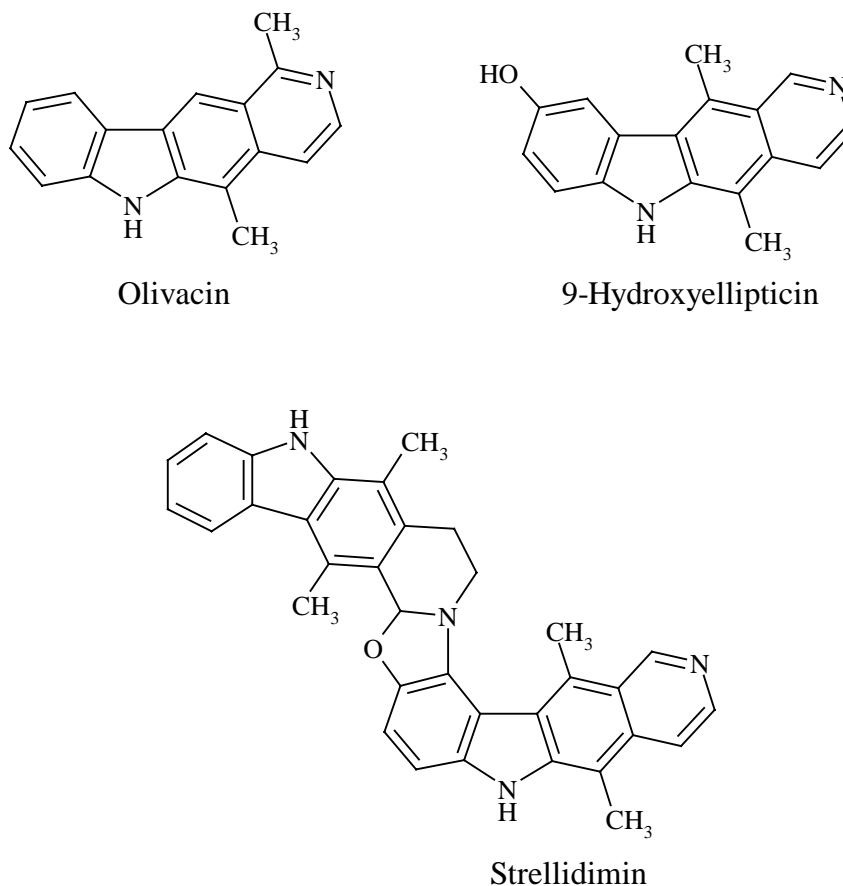
Abbildung 1: *Ochrosia elliptica* Labill. [3]

Das 18- π -heteroaromatische System der Pyrido[4,3-*b*]carbazole, die in den letzten Jahren vermehrt Aufmerksamkeit als neue Zytostatika gefunden haben, stellt das Grundgerüst von über einem Dutzend pharmakologisch interessanter Carbazolalkaloide dar. Von diesen, überwiegend in Apocynaceen verbreiteten Alkaloiden, sind Ellipticin und 9-Methoxyellipticin sowie das regioisomere Olivacin für die

Krebsforschung attraktiv, da sie eine ausgeprägte zytotoxische Aktivität gegenüber bestimmten Leukämie-Formen und auch gegenüber verschiedenen anderen tumorösen Zellen im höheren Organismus aufweisen [6].

Aus den natürlichen Quellen war und ist die Isolierung dieser Alkaloide nicht rentabel. Daher erfolgte schon 1959 die erste Totalsynthese durch R. B. WOODWARD, mittels Kondensationsreaktion von zwei Teilen Indol mit 3-Acetylpyridin, gefolgt von einem Reduktionsschritt in Anwesenheit von Acetanhydrid und anschließender Pyrolyse, die Ellipticin in einer bescheidenen Ausbeute von etwa 2% lieferte [7]. Im Jahr 1967 bemühten sich L. K. DALTON et al. um einen brauchbaren Syntheseweg zu derartigen Verbindungen. Sie hatten Extrakte zweier botanisch verwandter australischer Pflanzenspezies, *Ochrosia moorei* und *Excavatia coccinea* (Fam. *Apocynaceae*) untersucht und eine deutliche Antitumorwirkung gegen *Sarcoma 180*, *Adenocarcinoma 755* und die *Lymphoide Leukämie L1210* festgestellt. Die beobachtete Aktivität dieser Pflanzenextrakte wurde vor allem den zwei Alkaloiden Ellipticin und 9-Methoxyellipticin zugeschrieben [4]. Eine Reihe von Abwandlungsprodukten der genannten Verbindungen wie etwa 9-Methyl-, 6-Methyl-, 9-Methoxy-6-methyl-, 9-Brom- und 9-Nitroellipticin wurde im Rahmen der genannten Arbeit synthetisiert und auf Antitumorwirkung getestet. Dabei zeigte sich, daß nur Methoxyellipticin, Ellipticin und die 6-Methylderivate eine deutliche Aktivität gegen *L1210* aufweisen.

Mittlerweile ist bekannt, daß Pyrido[4,3-*b*]carbazole des Ellipticin-Typs (wie z.B. Methoxy-, Hydroxy-, Oxo- und Hydroellipticine, aber auch Bisellepticine wie *Strellidimin* sowie das isomere Olivacin) in einer ganzen Reihe von Pflanzen der Gattungen *Ochrosia*, *Aspidosperma*, *Tabernaemontana* und *Strychnos* vorkommen [8] (siehe Schema 2).

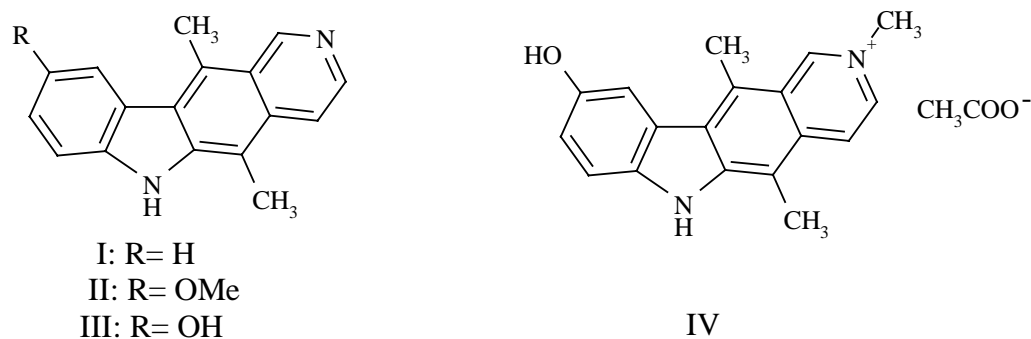


Schema 2

Eine beachtliche Anzahl von Arbeitsgruppen widmete sich bis heute der Ausarbeitung von Möglichkeiten zum vollsynthetischen Aufbau von Pyrido[4,3-*b*]carbazolen, wobei verschiedenste Synthesestrategien verfolgt wurden [9, 10].

Trotz der eindeutig feststellbaren Antitumor-Aktivität von Ellipticin besteht nach wie vor großes Interesse an strukturellen Modifikationen dieses Moleküls, nicht zuletzt in Anbetracht der im Tierexperiment beobachteten Nebenwirkungen wie Blutdruckabfall, Bradykardie, Hämolyse, Hypothermie, Ausbildung einer Fettleber, Ataxie und Erbrechen.

Der erste Vertreter dieser Gruppe, der in die vorklinische Erprobung eintrat, war 9-Methoxyellipticin (**II**) [11], dann folgte 9-Hydroxyellipticin (**III**) [12] (siehe Schema 3). Weiters wurde das quartäre Derivat *Elliptiniumacetat* (**IV**), das auf die *L1210 murine Leukämie* hemmend wirkt, für vorklinische und klinische Untersuchungen selektiert [13-15]. Derartige N-quartäre Verbindungen weisen im Unterschied zu Ellipticin und einigen Derivaten keine mutagene Komponente auf.

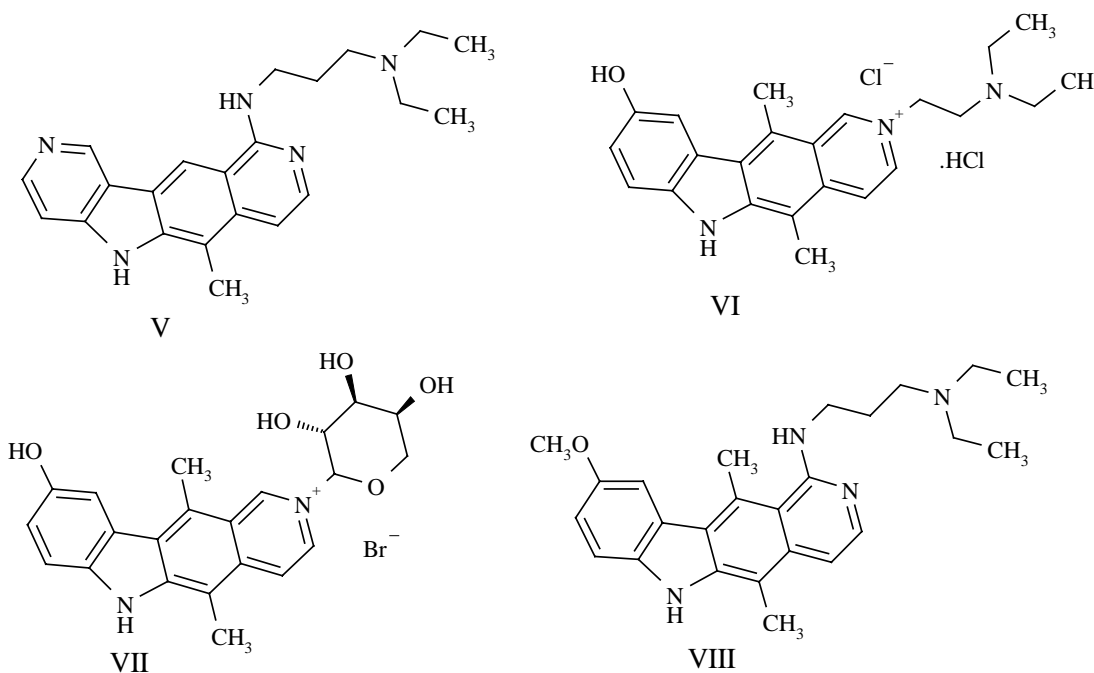


Schema 3

Elliptiniumacetat (**IV**) wurde in Frankreich auf den Markt gebracht und bei einigen Fällen von fortgeschrittenem Brustkrebs angewandt [16, 17]. Da Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen, Diarrhoe,

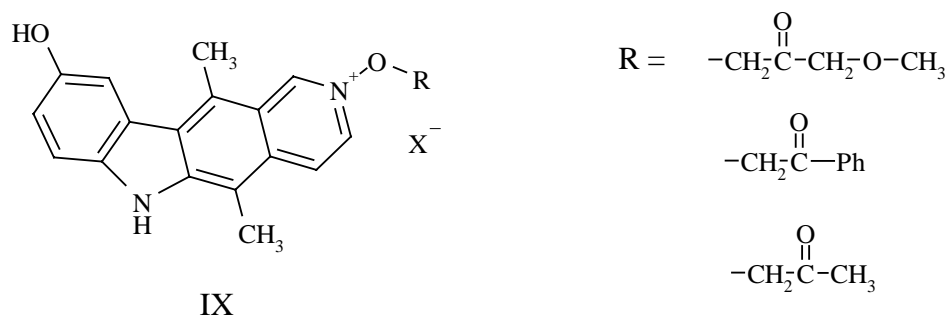
Blutdruckabfall, ZNS-Symptome und antikörperbedingte hämolytische Effekte auftraten [17], wurde die Anwendung von *Elliptiniumacetat* (IV) eingeschränkt.

Vier andere Derivate des Ellipticin-Typs sind inzwischen der klinischen Erprobung unterworfen: *Pazelliptin* (BD-40) (V), ein Azaellipticinderivat [18-20], die zwei quartären Derivate *Datelliptium* (VI) [21] und *Elliprabin* (VII) und neuerdings das 9-Methoxy-Derivat *Retelliptin* (BD-84) (VIII) [22, 23] (siehe Schema 4). Trotz vielversprechender Anfangserfolge mit den genannten Wirkstoffen besteht nach wie vor ein Bedarf nach Verbindungen mit einer verbesserten Wirksamkeit und/oder verringerter Toxizität.



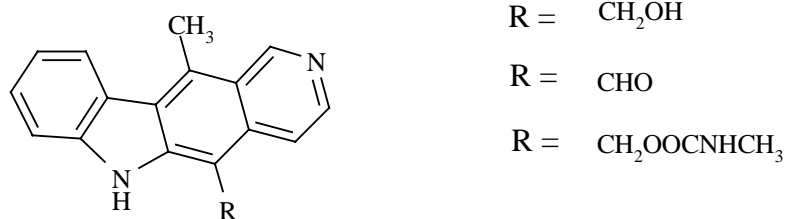
Schema 4

Mittlerweile sind auch andere Derivate mit dem Ziel, die Löslichkeit zu verbessern, synthetisiert worden, wie etwa die 2-(2'-Oxoalkoxy)-9-hydroxyellipticine des Typs **IX** [24] (siehe Schema 5).

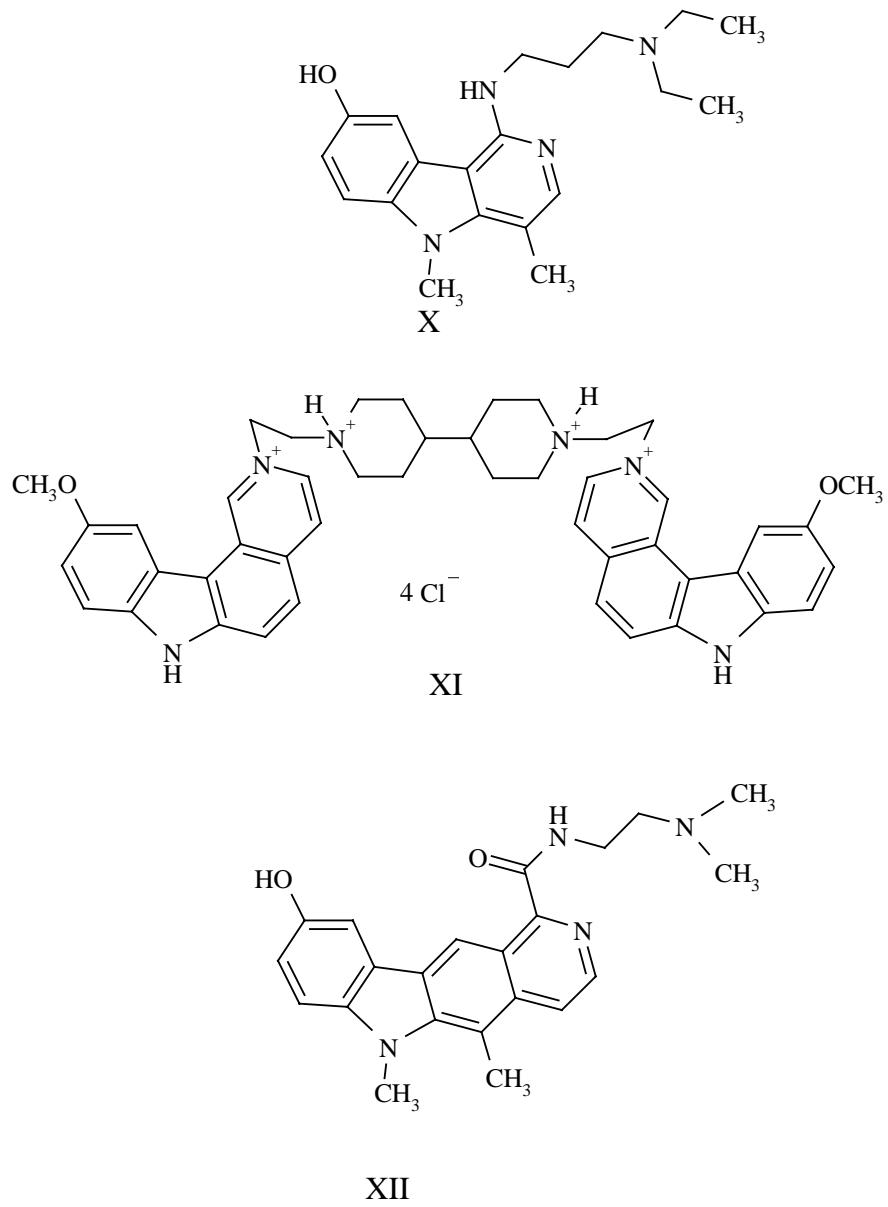


Schema 5

Abwandlungen betrafen vor allem die Positionen 1 und 2 (z. B. Alkylamino-Reste bzw. N-Alkyl-Reste, zwecks Verbesserung der Löslichkeit), die Positionen 5 [26] (siehe Schema 6), 6, sowie 9 (OH-, OCH₃- und andere sauerstoffhaltige Reste) des Moleküls. Weiters sind tricyclische Analoga (**X**), Bispyridocarbazole wie z. B. *Ditercalinium* (**XI**) (Bis-Interkalatoren der DNA) und Vertreter der strukturell nah verwandten Olivacin-Reihe, wie **XII** [25] (siehe Schema 7), mit antineoplastischer Wirksamkeit bekannt.



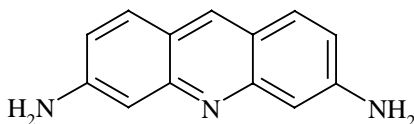
Schema 6



Schema 7

Zum Wirkungsmechanismus von zytostatischen Verbindungen des Ellipticin-Typs:

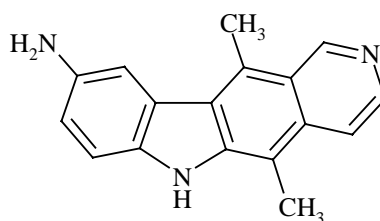
PAOLETTI und Mitarbeiter [27, 28] versuchten in ihren Untersuchungen, die Zytotoxizität von Ellipticin mit einem DNA-Interkalationsprozeß zu erklären. Ellipticin und Derivate binden sich in einer relativ hohen Affinität interkalierend an die DNA [29]. Der Begriff „Interkalation“ leitet sich vom lat. *intercalare* ab und bedeutet „Einschalten“. Die Interkalation ist eine spezielle Wechselwirkung zwischen der DNA und planar gebauten Molekülen, die sich zwischen die benachbarten Basenpaare der DNA-Helix schieben. Dadurch wird die Helix so verändert, daß es zu einer fehlerhaften Transkription oder Replikation kommt. Zu DNA-interkalierenden Substanzen gehören polycyclische aromatische Systeme wie die Anthracycline und verschiedene heterocyclische Derivate (z.B. *3,6-Acridindiamin*, s. Schema 8), u. a. auch Ellipticin und Analoga. Diese planaren Verbindungen weisen eine hohe Affinität zu DNA-Strukturen auf [30]. Die Komplexbildung mit der DNA führt letztlich zum Aufbrechen der helikalen Struktur.



3,6-Acridindiamin

Schema 8

In der Literatur finden sich verschiedene Studien zum Interkalationsverhalten von Verbindungen des Ellipticin-Typs [6]. So untersuchten SINGH et al. [31] mittels zweidimensionaler NMR-Methoden und Molecular-Modeling-Studien die Struktur des Interkalations-Komplexes von 9-Aminoellipticin.



9-Aminoellipticin

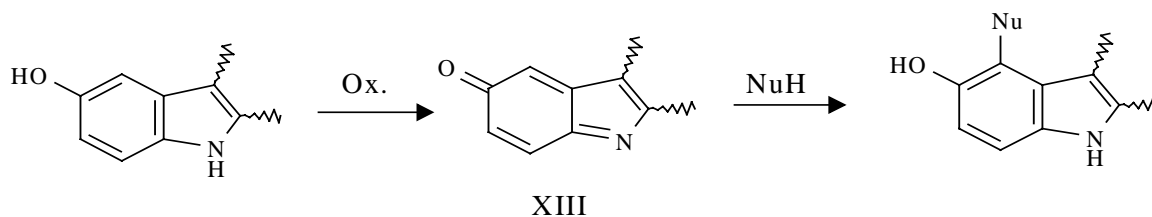
Schema 9

LI und COWIE [32] hatten sowohl eine DNA- als auch RNA-Synthesehemmung durch Ellipticin festgestellt, wobei die Verbindung im untersuchten Konzentrationsbereich lediglich die DNA-Polymerase, nicht aber die RNA-Polymerase hemmte. Sieben Jahre später fand SETHI allerdings, daß durch eine höhere Ellipticin-Konzentration auch die RNA-Polymerase hemmbar ist [33].

In der Folge wurde bald deutlich, daß der ursprünglich vermutete, auf Interkalationsprozessen beruhende Wirkungsmechanismus nicht (oder nicht allein) für das beobachtete zytotoxische Potential dieser Verbindungsklasse verantwortlich ist.

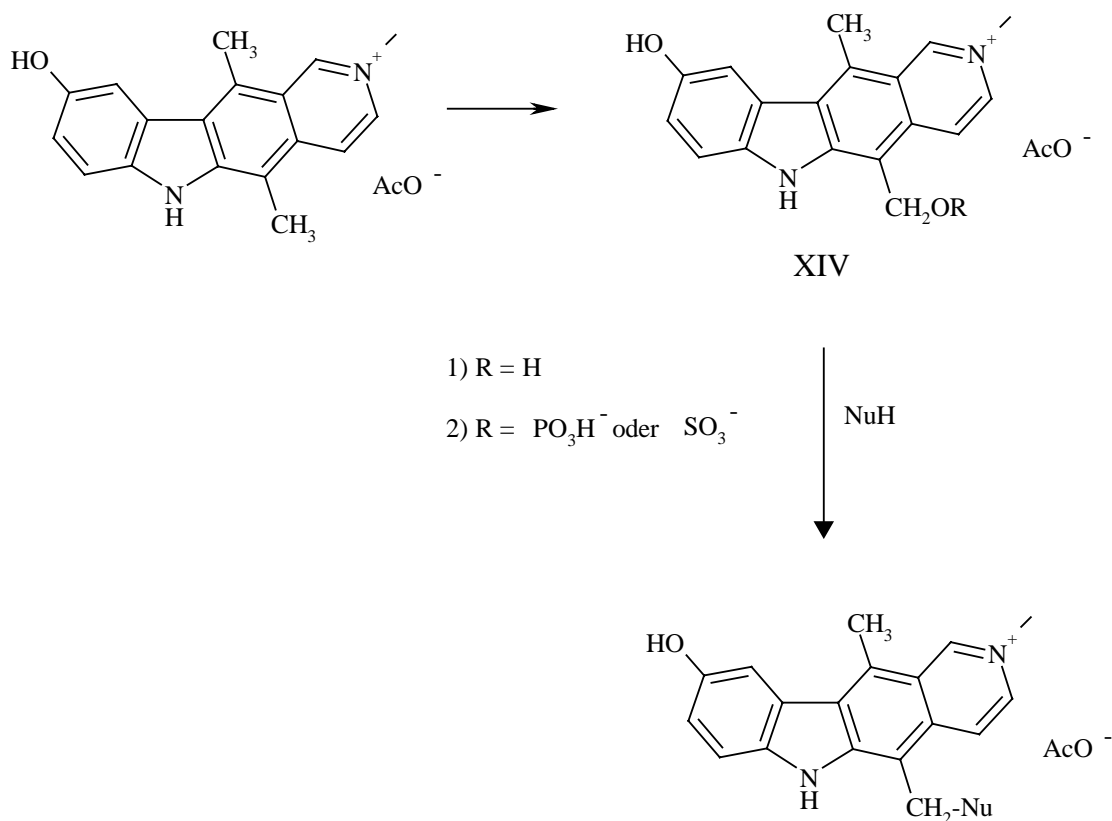
Neuere Untersuchungen zeigen, daß die Einwirkung auf die Topoisomerase II, ein für die Spaltung und Wiedervereinigung des DNA-Stranges verantwortliches Enzym, als der wesentliche Wirkungsmechanismus dieser Gruppe zu betrachten ist [34]. Die Interaktion mit der Topoisomerase II scheint eng mit dem Vorhandensein einer Sauerstoff-Funktion in Position 9 des Tetracyclus verbunden zu sein. Die präzise Sequenz dieser Wechselwirkungen, die letztlich zum Zelltod führen, ist noch immer unbekannt.

Davor war von C. AUCLAIR und C. PAOLETTI die Vermutung geäußert worden, daß die eigentliche Wirkform dieses tetracyclischen Moleküls ein Chinonimin des Typs **XIII** darstellt, welches *in vivo* besonders leicht aus 9-Hydroxyellipticin entstehen kann [35]. Ein derartiges Oxidationsprodukt verfügt in Position 10 über ein elektrophiles Zentrum, das mit nucleophilen Biomolekülen wie Aminosäuren, Glutathion oder DNA unter Ausbildung einer kovalenten Bindung reagieren kann [36, 37].



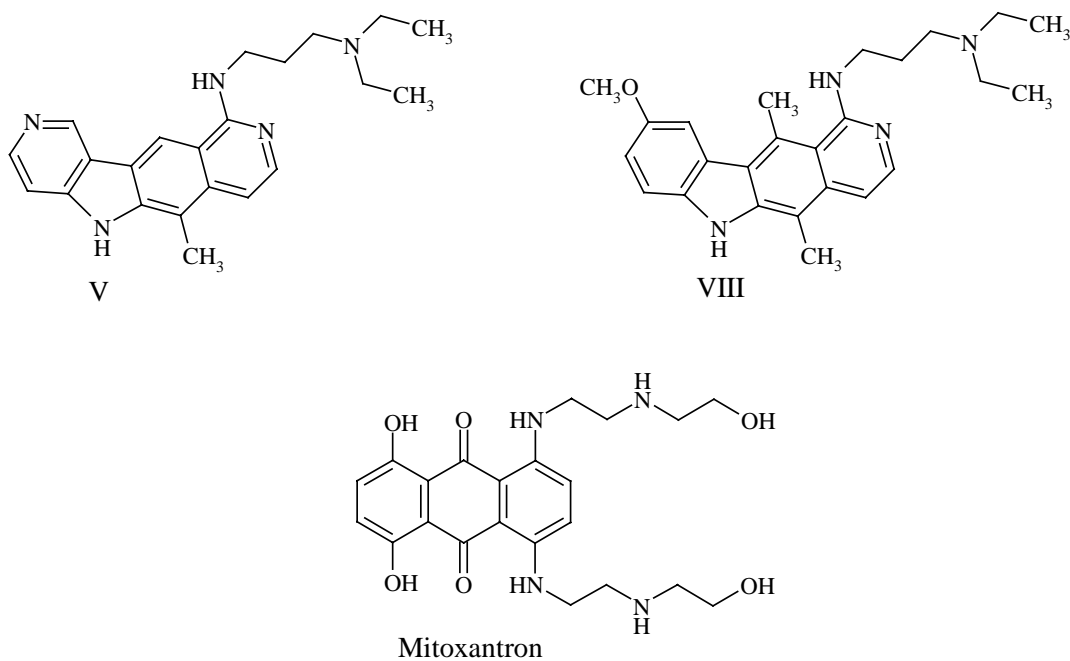
Schema 10

S. ARCHER et al. [26] stellten fest, daß das Fehlen der Methylgruppe in Position 5 des Tetracyclus zum Wirkungsverlust führt, obwohl dabei die Ausbildung eines Chinonimins weiterhin möglich ist. Die Autoren folgerten daraus, daß diese Methylgruppe nach oxidativer Überführung in eine Carbinolfunktion und enzymatisch gesteuerter Veresterung der letzteren mit Phosphat oder Sulfat (**XIV**) wiederum für eine alkylierende Wirkung auf nucleophile Makromoleküle verantwortlich sein könnte.



Schema 11

Von besonderem Interesse im Zusammenhang mit der vorliegenden Arbeit sind die Wirkstoffe **V** und **VIII** (s. Schemata 4 und 12), bei denen die Anwesenheit eines (Dialkylamino)alkylamino-Substituenten eine erhöhte Affinität zur DNA induziert [6]. Die DNA-Komplexierung ist hier offenbar infolge der Wechselwirkung der basischen Kette mit dem Phosphat-Rückgrat der Nucleinsäure besonders stark ausgeprägt. Diese Verbindungen weisen eine strukturelle Verwandtschaft zum gleichfalls antitumoraktiven *Mitoxantron* auf.



Schema 12

1.2. STRUKTUR-WIRKUNGS-BEZIEHUNGEN

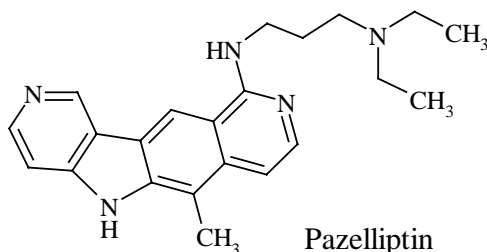
In den letzten Jahren sind Dutzende Ellipticin-Analoga synthetisiert und untersucht worden. Dabei konnte eine Reihe von Zusammenhängen zwischen strukturellen Merkmalen und der beobachteten biologischen Aktivität festgestellt werden:

Die Substitution des Indol-Stickstoffatoms führt im allgemeinen zu Wirkungsminderung bzw. Aktivitätsverlust [38, 39], wenn der Substituent ein größeres Radikalvolumen als die Methylgruppe in Position 5 aufweist. Hingegen bewirkt die Quaternisierung des Pyridinstickstoffs eine verbesserte Löslichkeit und den Verlust der mutagenen Eigenschaft (vgl. z. B. *Elliptiniumacetat*). Im Unterschied zur Methylgruppe in Position 5 des Ellipticins dürfte der CH₃-Substituent in Position 11 keinen bedeutenden Einfluß auf die zytostatische Aktivität des Moleküls nehmen [26] (siehe z. B. *Pazelliptin*).

Das Vorhandensein einer Hydroxygruppe in Position 9 steigert offensichtlich die Affinität zur DNA [27], die Stabilität des DNA-Topoisomerase-II-Komplexes [34], die Oxidierbarkeit zum Chinoniminsystem [35, 40] und die Zytotoxizität, die einer gesteigerten Antitumoraktivität folgt [5, 41]. Es sind jedoch auch einige 9-Methoxy-Derivate bekannt [42], die *in vivo* eine höhere Aktivität als die entsprechenden 9-Hydroxy-Derivate aufweisen. Während *in-vitro*-Untersuchungen den Schluß nahelegen, daß *in vivo* eine Demethylierung zu den entsprechenden 9-Hydroxy-Derivaten stattfindet, zeigten jüngste Untersuchungen an *Retelliptin* [43], daß hier das 9-Methoxy-Derivat selbst die Wirkform darstellt.

Die bioisostere Modifikation von aromatischen Teilstrukturen als Weg zu neuen pharmakologisch wirksamen Substanzen

Bioisostere sind chemisch oder physikalisch ähnliche Verbindungen, die ein weitgehend gleiches biologisches Wirkspektrum aufweisen. Durch bioisostere Modifikation kann eine Leitstruktur im Idealfall so verändert werden, daß ihre Toxizität verringert und/oder ihre Aktivität erhöht wird. Man unterscheidet zwischen klassischen und nichtklassischen Isosteren: klassische Isostere sind als Atome, Ionen oder Moleküle definiert, deren äußere Elektronenschalen als identisch angesehen werden können. *Pazelliptin* zeigt eine klassische, bioisostere Modifikation, wobei der Ring A durch einen Pyridinring ersetzt ist (s. Schema 9). Nichtklassische Bioisostere müssen dagegen weder die gleiche Anzahl an Atomen besitzen noch den sterischen und elektronischen Regeln der klassischen Isosteren gehorchen.

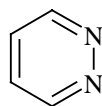


Schema 13

Die bioisostere Modifikation des Pyridinringes (Ring D) zu einem Pyridazinring könnte positive Auswirkungen auf die pharmakologische Aktivität und auf die chemischen und physikalischen Eigenschaften derartiger Vertreter des Ellipticin-Typs haben. Pharmakologische Untersuchungen von Desaza-Derivaten, welche sich als kaum

zytostatisch aktiv erwiesen haben, hatten gezeigt, daß der Stickstoff in Position 2 eine wesentliche Rolle bei der antineoplastischen Wirkung von Ellipticin spielt [44]. Ein zweites Stickstoffatom in Nachbarschaft zum Pyridin-Stickstoff könnte über eine Änderung der Elektronenverteilung im Gesamtmolekül günstige Auswirkungen auf die Löslichkeit wie auch auf die pharmakologische Aktivität haben [8].

Pyridazin ist ein 1,2-Diazin bzw. *o*-Diazabenzol (Schema 14). Der Name Pyridazin wurde von KNORR [45] im Jahre 1885 vorgeschlagen; das erste substituierte Pyridazin wurde erstmals im Jahr 1886 von FISCHER [46] beschrieben und der unsubstituierte Stammkörper im Jahr 1895 von E. TÄUBER [47] erstmals synthetisiert. Pyridazin, ein π -Elektronenmangel-N-Heteroaromat wie Pyridin, Pyrimidin und Pyrazin, hat als Strukturbaustein erst in den letzten dreißig Jahren vermehrt Verwendung in der Pharmazeutischen Chemie gefunden [48].



Pyridazin (1,2-Diazin)

Schema 14

Seit der Entdeckung der ersten natürlich vorkommenden Pyridazinderivate im Jahre 1971 stieg das Interesse an der Chemie und der biologischen Aktivität dieses heteroaromatischen Systems. Erst kürzlich wurde mit dem antifungalen Antibiotikum *Pyridazomycin* der erste Naturstoff mit einem ungesättigten Pyridazin-Ringsystem aufgefunden [49].

Eine Reihe von pharmakologisch aktiven Molekülen weist einen Pyridazinring als wesentliches Strukturelement auf, wobei nicht selten der Ersatz von Benzol- oder Pyridinkernen durch die (deutlich polarere) Pyridazin-Teilstruktur zu einer Verbesserung des pharmakodynamischen und/oder pharmakologischen Profils des Arzneistoffmoleküls führt.

Das infolge der stark unsymmetrischen Elektronenverteilung beträchtliche Dipolmoment kann dabei die Verteilung und Aktivität derartiger Wirkstoffe im Organismus beeinflussen; auch fällt die - etwa im Vergleich zu Pyridin - relativ geringe Basizität ($pK_{\text{Pyridazin}} = 2.33$; $pK_{\text{Pyridin}} = 5.23$ [50, 51]) dieses Heteroaromaten auf.

Erhöhung der zytostatischen Aktivität von ellipticinartigen Verbindungen durch Einführung basischer Seitenketten

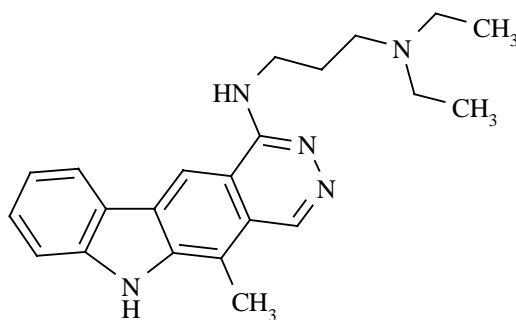
Studien der SAR (Struktur-Aktivitäts-Beziehungen) von Wirkstoffen des Ellipticin-Typs zeigten, daß die Anwesenheit einer (Dialkylamino)-alkylamino-Seitenkette in Position 1 des Tetracyclus eine deutliche Wirkungssteigerung bewirkt [42], wobei sich hier ein [(Diethylamino)-propyl]amino-Substituent als optimal erwiesen hat.

Derartige alkylaminosubstituierte Verbindungen zeigen, wie bereits erwähnt, neben einem verbesserten Löslichkeitsverhalten eine besonders hohe Affinität zur DNA, wobei offenbar Wechselwirkungen der basischen Seitenkette mit dem Phosphat-Rückgrat der DNA eine wichtige Rolle spielen.

Ein derartiges Strukturelement charakterisiert zwei wichtige Vertreter dieser Wirkstoffklasse, nämlich *Retelliptin* und *Pazelliptin*. Auch Vertreter des Pyridazino[4,5-*b*]carbazol-Systems mit einer analogen Teilstruktur wurden kürzlich hergestellt und weisen z. T. interessante biologische Aktivität auf [8, 52].

1.3. ZIELSETZUNG

Den Ausgangspunkt für die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Untersuchungen bilden die erst kürzlich von WANKO zugänglich gemachten, basisch substituierten Azaellipticin-Derivate wie Verbindung **XV** (s. Schema 15) [8, 52]. Schon davor waren von LANDELLE et al. etliche 1,4-Dialkoxypyridazino[4,5-*b*]carbazole synthetisiert worden, diese hatten sich aber - möglicherweise aufgrund ihrer sehr geringen Löslichkeit - als biologisch unwirksam (z. B. gegenüber lymphoblastischer Leukämie des Typs *L1210*) erwiesen [53].



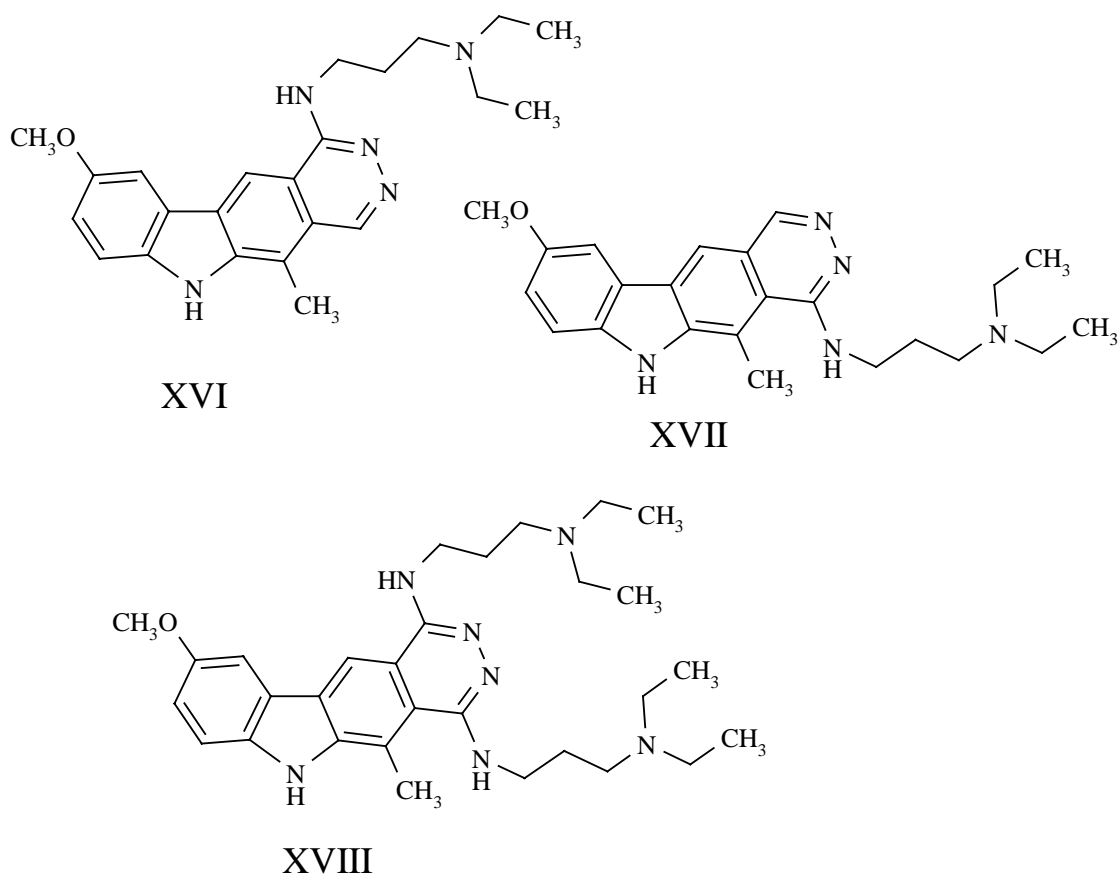
XV

Schema 15

In Anbetracht der signifikanten *in-vitro*-Aktivität von Verbindung **XV**²⁾ gegenüber einer Reihe von Tumorzellen [52] sollte nun, aufbauend auf den Arbeiten von LANDELLE et al. und WANKO, versucht werden, durch Einführung einer Methoxygruppe in Position 9 des Tetracyclus

²⁾ Die isomere 4-substituierte Verbindung hatte sich im gleichen Testsystem (NCI-Standardscreening) als deutlich weniger aktiv erwiesen.

(vgl. dazu Abschnitt 1.2.) die Wirksamkeit des Moleküls weiter zu verbessern. Dabei sollte, dem von WANKO beschriebenen Syntheseweg [8, 52] in analoger Weise folgend, neben der primären Zielverbindung **XVI** auch das isomere 4-Alkylamino-9-methoxy-3-azaellipticin (**XVII**) zugänglich werden. Darüberhinaus erschien auch die 1,4-disubstituierte Verbindung **XVIII** von Interesse (s. Schema 16).

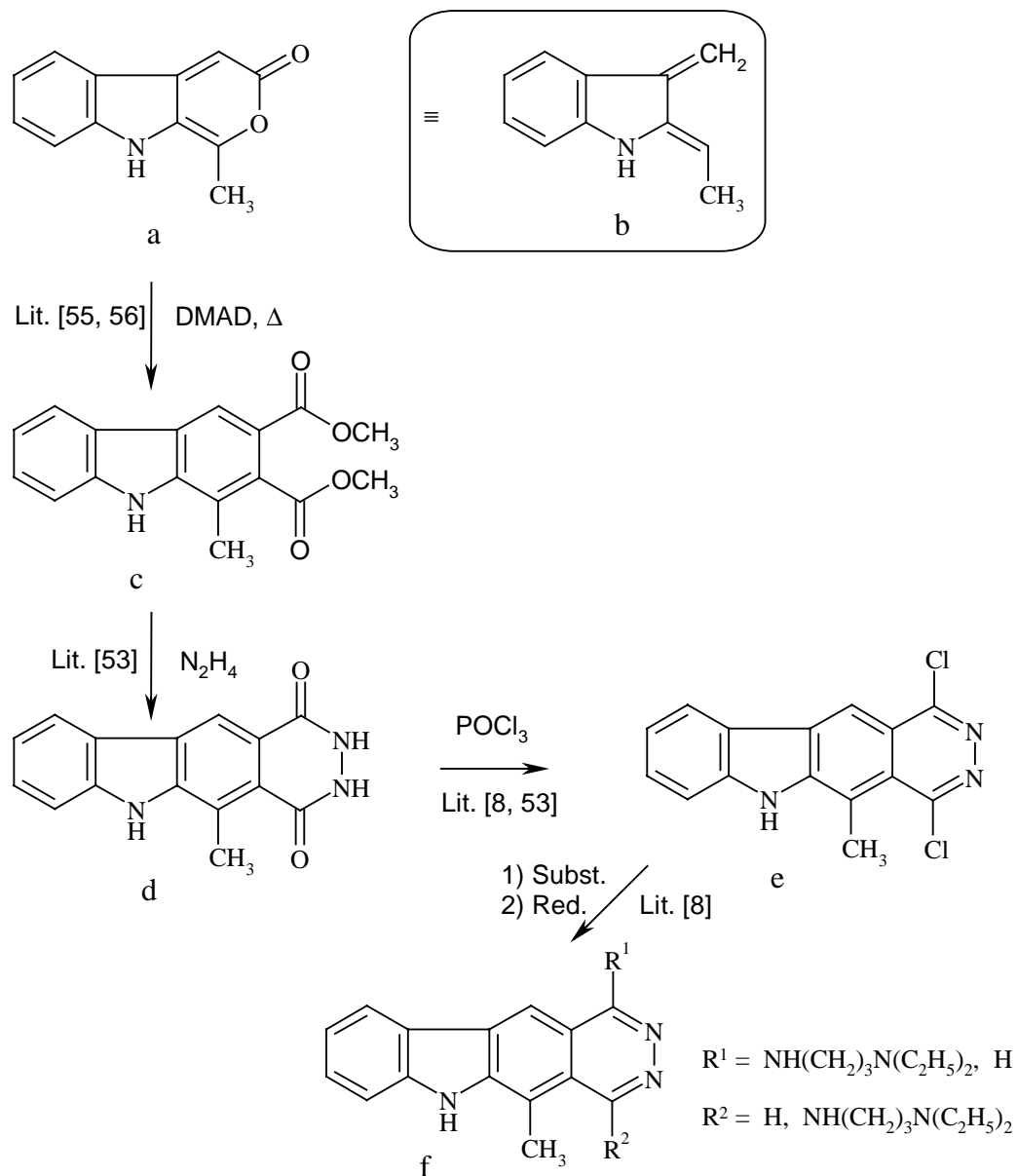


Schema 16

2. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit angestrebten 9-Methoxy-3-azaellipticinderivate (bisher bekannte Aza-Analoga sind großteils durch ein Stickstoffatom in Position 9 charakterisiert [5, 6, 42]) sollten auf einem Syntheseweg dargestellt werden, der sich an der nachfolgend kurz vorgestellten Sequenz orientiert, welche bereits früher zum Aufbau von tetracyclischen Pyridazinderivaten mit struktureller Verwandtschaft zu Ellipticin beschrieben worden war [8, 53].

Den Ausgangspunkt hatte dabei das gut zugängliche Pyrano[3,4-*b*]-indol-3-on **a** als stabiles, synthetisches Analogon eines Indol-2,3-chinodimethans **b** gebildet, das mittels einer Diels-Alder-Reaktion (zum Prinzip dieses Reaktionstyps vgl. Lit. [54]) mit einem Acetylendicarbonsäureester als Dienophil in den Carbazoldiester **c** übergeführt werden kann [55, 56]. Dieser Diester reagiert seinerseits mit Hydrazin zum Pyridazino[4,5-*b*]carbazoldion **d**, welches sich zu einem entsprechenden Dichlorderivat **e** umsetzen läßt [53]. Derartige Dichlorverbindungen (**e**) besitzen (wahrscheinlich auf Grund ihres schlechten Löslichkeitsverhaltens) keine Antitumor-Wirkung [53], sie lassen sich jedoch in die einleitend erwähnten, biologisch aktiven 1- und 4-(Dialkylaminoalkyl)-amino-3-azaellipticinderivate **f** überführen [8, 52] (s. Schema 17).



Schema 17

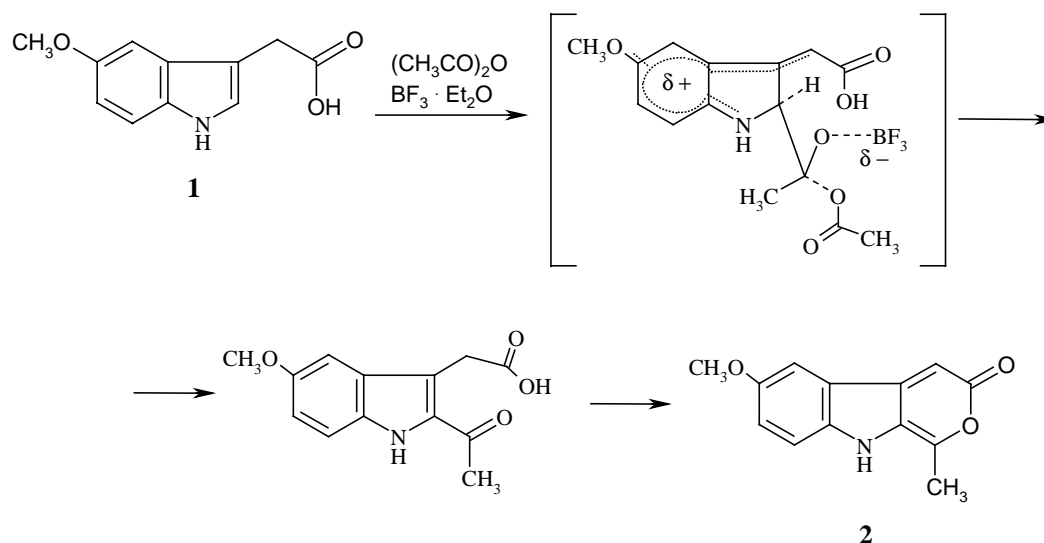
Dementsprechend sollte am Anfang der geplanten Synthese das bisher unbekannte 6-Methoxy-1-methylpyrano[3,4-*b*]indol-3-on stehen, welches dann als Dien-Komponente mit einem Acetylendicarbonsäureester im Sinne einer Diels-Alder-Reaktion umzusetzen sein müßte.

2.1. DARSTELLUNG VON 1,4-DICHLOR-9-METHOXY-5-METHYL-6H-PYRIDAZINO[4,5-*b*]-CARBAZOL AUSGEHEND VON 5-METHOXY-INDOLYL-3-ESSIGSÄURE

Der Reaktionstyp, der von O. DIELS und K. ALDER im Jahre 1928 entdeckt und später nach ihnen benannt wurde, stellt eine überaus vielseitige Methode in der Synthese-Chemie dar. In der gängigen Lehrbuch-Literatur finden sich zahlreiche Abhandlungen über die theoretischen Aspekte dieser Methode. Die von K. ALDER [54] aufgestellte Regel formuliert diesen Cycloadditions-Typ als eine Kombination eines elektronenreichen 4π -Systems (1,3-Dien) mit einem elektronenarmen 2π -System (Dienophil) unter Ausbildung zweier neuer σ -Bindungen auf Kosten zweier π -Bindungen. Neben sehr vielen anderen Anwendungsmöglichkeiten bietet die Diels-Alder-Reaktion ein wertvolles Instrument zum Aufbau von polycyclischen Systemen.

Auch Carbazolderivate lassen sich, wie gezeigt, auf diese Art herstellen (vgl. Schema 17). Der als Dienophil fungierende Acetylendicarbonsäureester ist aufgrund des elektronenabziehenden Effekts der beiden Esterfunktionen stark aktiviert, im Falle des nunmehr als Dien-Komponente ins Auge gefaßten Methoxy-substituierten Pyranoindolons sollte die Anwesenheit der elektronenspendenden CH_3O -Gruppe die Reaktivität dieses Synthesebausteins deutlich erhöhen.

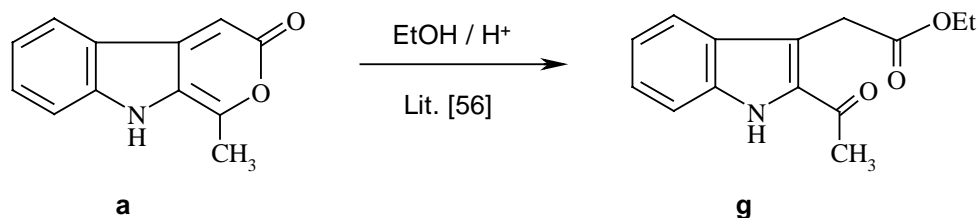
Es sollte nun zunächst versucht werden, das benötigte Dien durch Friedl-Crafts-Acylierung von 5-Methoxy-3-indolylessigsäure in Analogie zu dem erstmals von PLIENINGER beschriebenen Verfahren [55] darzustellen. Dabei wird die entsprechende Indolylalkansäure unter Eiskühlung mit überschüssigem Acetanhydrid in Gegenwart von Bortrifluorid-Etherat behandelt, wobei es nach erfolgter Acetylierung zum spontanen Ringschluß unter Ausbildung der Pyron-Teilstruktur kommt. Tatsächlich zeigte sich, daß auf diese Weise nun auch das bisher unbekannte Methoxy-Analogon **2** in einer Ausbeute von 75% hergestellt werden kann.



Schema 18

Erste Versuche, die in Form orangefelber Kristalle erhaltene Verbindung **2** durch Umkristallisation aus Ethanol (wie in Lit. [55] für das 9-unsubstituierte Analogon angegeben) zu reinigen, schlugen fehl. Dies steht im Einklang mit ähnlichen Beobachtungen von MOODY, der bei einem entsprechenden Versuch den Ketoester **g** (vgl. Schema 19)

erhalten hatte und dies auf eine säurekatalysierte Ethanolyse der Pyronteilstruktur zurückgeführt hatte [56] (offenbar enthält das Rohprodukt trotz sorgfältigen Waschens noch Säurespuren).



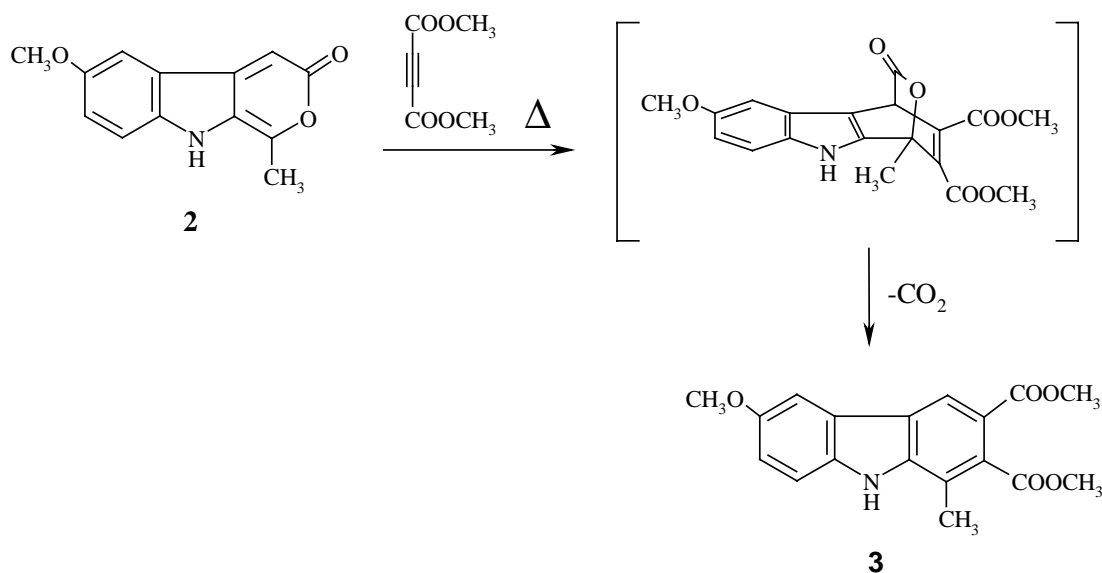
Schema 19

Dagegen gelang es nun, durch Verwendung von Ethanol mit einem Zusatz von 3% Triethylamin zur Umkristallisation, diese Ringöffnung vollständig zu unterdrücken und auf diese Weise das Pyron **2** in analysenreiner Form zu erhalten³⁾.

Die Diels-Alder-Reaktion von **2** mit Acetylendicarbonsäuredimethylester verläuft bemerkenswert glatt. Die Reaktion erfolgt in Analogie zur entsprechenden Cycloaddition von **a** [56] durch Rückflußerhitzen der beiden Reaktionspartner in Brombenzol unter Inertgasatmosphäre. Das zunächst gebildete, stark gespannte Cycloaddukt liefert nach spontaner Abspaltung von Kohlendioxid den Carbazoldicarbonsäureester **3**, welcher in einer Ausbeute von 57% isoliert wird. Die im Vergleich zum Pyron **a** deutlich höhere Reaktivität von **2** gegenüber dem Dienophil manifestiert sich in einer nur halb so langen Reaktionszeit (1.5 Stunden gegenüber 3 Stunden) und ist, wie bereits erwähnt, die Folge des elektronenliefernden Effekts der Methoxygruppe. Dies zeigt auch ein

³⁾ Wie ein entsprechender Versuch zeigte, kann mittels dieser Methode auch das literaturbekannte 1-Methylpyrano[3,4-*b*]indol-3-on (**a**) problemlos gereinigt werden.

Vergleich der mittels der AM1-Methode [57] (Programm-Paket AMPAC [58]) berechneten Energien für das jeweils an der Cycloaddition beteiligte HOMO (*highest occupied molecular orbital*, höchstes besetztes Molekülorbital): mit -8.495 eV liegt die HOMO-Energie von **2** deutlich über der von **a** (-8.630 eV).



Schema 20

Spektroskopische Befunde:

Die IR-, MS- und ¹H-NMR-Daten sowie die Ergebnisse der Elementaranalysen bestätigen die erwarteten Strukturen für die neuen Verbindungen **2** und **3**.

Im ¹H-NMR-Spektrum der beiden Verbindungen fällt ein Singulett bei sehr tiefem Feld auf, das der NH-Funktion zuzuordnen ist. Zu niedrigerer Frequenz verschoben folgen die Signale der Aromaten-H-Atome.

Im Spektrum von Verbindung **2** beobachtet man ein Signal von H-5 bei $\delta = 7.55$ ppm, das einen positiven NOE (*Nuclear Overhauser Effect* bzw. *Nuclear Overhauser Enhancement*) bei Einstrahlung auf das Singulett der Methoxygruppe bei $\delta = 3.78$ ppm zeigt⁴⁾. Das bei etwas höherem Feld gelegene Multipllett entspricht den beiden Protonen in Position 7 und 8. Das höchstliegende Signal des Aromatenbereichs bei $\delta = 6.50$ ppm stammt von H-4.

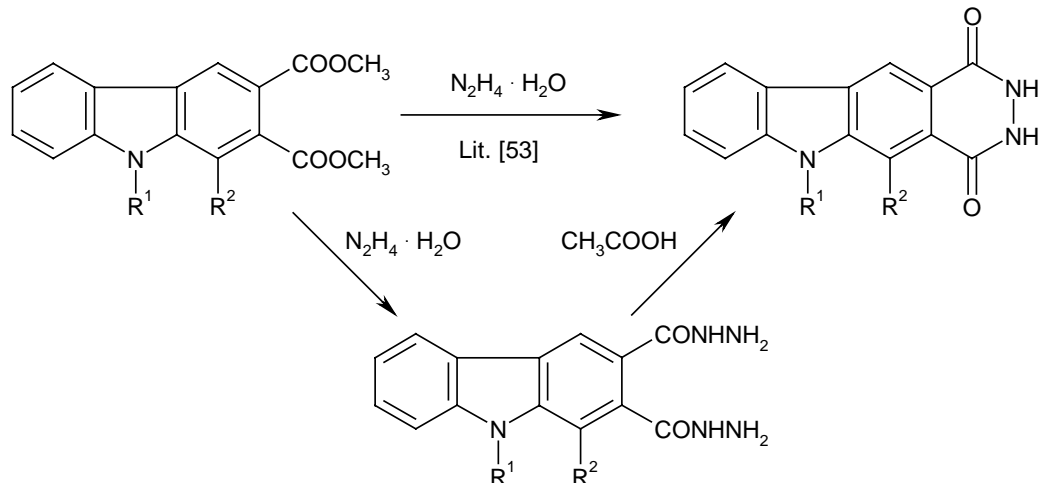
Das Spektrum von Verbindung **3** zeigt ein Singulett bei $\delta = 8.67$ ppm, welches H-4 zuzuordnen ist. Aufgrund der isolierten Lage dieses H-Atoms ist keine Kopplung mit anderen Protonen zu beobachten. Dieses Signal von H-4 zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Dublett bei $\delta = 7.87$ ppm. Dieses Dublett entspricht dem H-Atom in Position 5; es zeigt eine Kopplungskonstante von $J_{5-7} = 2.4$ Hz. Das Dublett bei $\delta = 7.48$ ppm des H-8-Atoms weist eine Kopplungskonstante von $J_{7-8} = 9.0$ Hz auf (*vicinale* Kopplung). Das bei $\delta = 7.10$ ppm auftretende dublettische Dublett des H-Atoms in Position 7 zeigt einerseits eine Kopplungskonstante von $J_{5-7} = 2.4$ Hz, die auf die *long range* Kopplung mit dem H-5-Atom deutet, und andererseits eine Kopplungskonstante von $J_{7-8} = 9.0$ Hz, die auf die *vicinale* Kopplung mit dem H-8-Atom zurückzuführen ist.

⁴⁾ NOE: Durch Einstrahlung in den Resonanzfrequenzbereich eines Kerns (in diesem Fall die Protonen der Methoxygruppe) erfolgt ein Eingriff in die Relaxation räumlich benachbarter Kerne (hier H-5 und H-7), was sich in einer Intensitätsänderung des betreffenden Signals bemerkbar macht. Am deutlichsten wird dies in der Darstellungsform als Differenzspektrum.

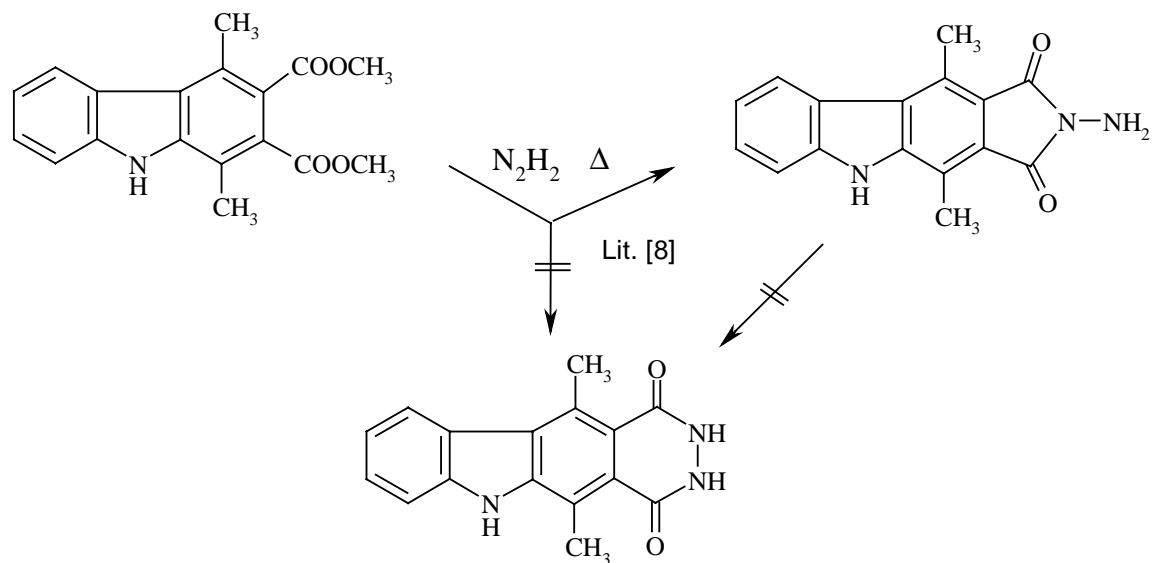
Im Aliphaten-Bereich der Spektren beider Verbindungen sind jeweils die erwarteten Singulets der Methoxygruppe bei etwa $\delta = 3.8$ ppm und der Methylgruppe bei etwa $\delta = 2.5$ ppm zu beobachten. Im Falle des Diesters **3** zeigt das Methoxy-Signal eine relative Intensität von 9, da hier alle drei OCH_3 -Resonanzen identische Verschiebungswerte aufweisen. Auch hier ist wieder ein positiver NOE für die Methoxygruppe in Position 6 bei Einstrahlung auf den Nachbarkern bei $\delta = 7.87$ ppm zu beobachten.

Aufbau des Pyridazino[4,5-*b*]carbazol-Grundgerüsts:

Nach der erfolgreichen Synthese des Diesters **3** sollte in der Folge versucht werden, durch Ringschluß mit Hydrazin zum angestrebten tetracyclischen System zu gelangen. Selbst für diese zunächst unproblematisch erscheinende Reaktion waren aufgrund früherer Beobachtungen zwei verschiedene Komplikationsmöglichkeiten zu berücksichtigen: so hatten H. LANDELLE et al. gefunden, daß in bestimmten Fällen (offenbar in Abhängigkeit vom Substitutionsmuster des jeweiligen Carbazols) die Reaktion auf der Stufe eines Bis-Hydrazids stehenbleiben kann, was einen separaten, säurekatalysierten Cyclisierungsschritt zum angestrebten Pyridazindion erforderlich macht [53] (Schema 21). Darüberhinaus hatten Befunde von WANKO gezeigt, daß im Falle eines 1,4-Dimethyl-2,3-carbazoldicarbonsäureesters die Behandlung mit Hydrazin ein fünfgliedriges N-Aminoimid anstelle des Pyridazinderivates liefert [8] (Schema 22).



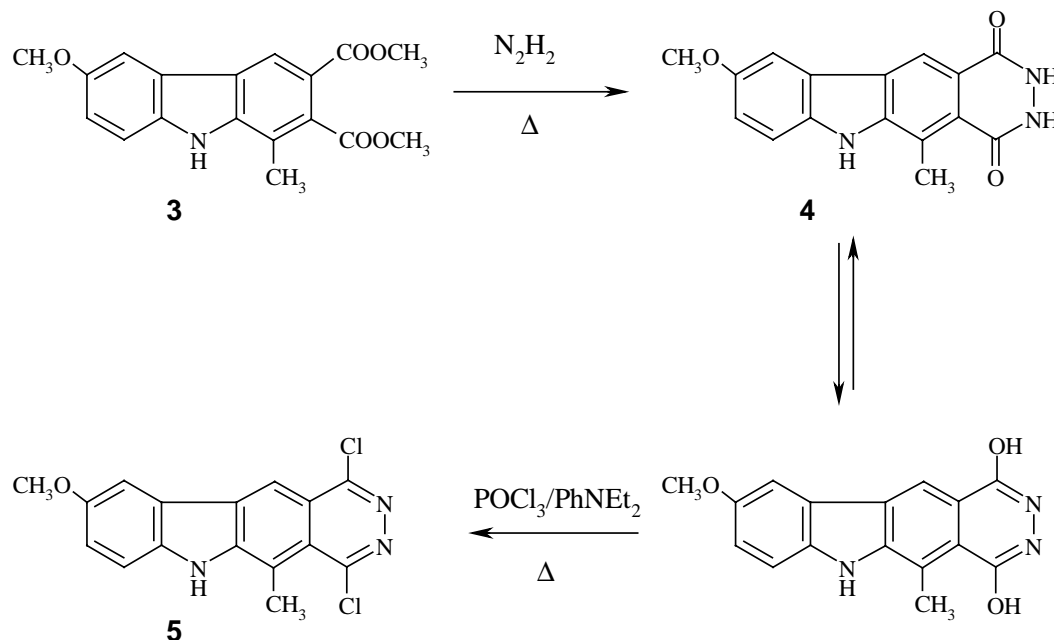
Schema 21



Schema 22

Dagegen verläuft an Verbindung **3** der Cyclisierungsschritt mit überschüssigem Hydrazinhydrat (ohne Lösungsmittelzusatz) völlig glatt zum erwarteten *d*-anellierten Pyridazindion **4** (Schema 23). Letztere Verbindung fällt in Form sehr schwerlöslicher Kristalle in 90% Ausbeute

an. Zur nachfolgenden Überführung des Dions in die entsprechende 1,4-Dichlorverbindung durch Behandlung mit Phosphoroxychlorid sollte das Verfahren zum Einsatz kommen, das von WANKO zur Darstellung von 1,4-Dichlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol beschrieben worden war [8]: dabei handelt es sich um eine Modifikation der Vorschrift von LANDELLE [53], wobei *N,N*-Diethylanilin anstelle von Pyridin als Hilfsbase verwendet wird. Auch im Falle des Methoxy-substituierten Edukts **4** zeigte sich nun, daß diese Reagentienkombination ($\text{POCl}_3/\text{N,N}$ -Diethylanilin) eine problemlose Überführung in die angestrebte Dichlorverbindung (**5**) ermöglicht, welche so in einer Ausbeute von 88% erhalten wird.



Schema 23

Auch **5** erweist sich als sehr schwerlöslich in den meisten Lösungsmitteln, andererseits tritt relativ rasch partielle Hydrolyse ein, sodaß auf Versuche, die Verbindung durch Umkristallisation in analysenreiner Form darzustellen, verzichtet wurde, zumal das Rohprodukt auch ohne weitere Reinigung für die nachfolgenden Reaktionsschritte (vgl. Abschnitt 2.2.) verwendet werden kann.

Spektroskopische Befunde:

Die Verbindungen **4** und **5** zeigen ein weitgehend übereinstimmendes Signalmuster. Das Pyridazindion **4** weist, im Unterschied zur Dichlorverbindung **5**, bei tiefem Feld (ca. 11.1 ppm) ein breites Signal der relativen Intensität 2 auf; es handelt sich dabei um die Pyridazinon-NH-Struktur(en).

In den Spektren beider Verbindungen fällt bei sehr tiefem Feld ein Singulett auf, das jeweils der NH-Funktion des Carbazolgerüsts zuzuordnen ist. Bei niedrigeren ppm-Werten (ca. 9 ppm) folgt dann das Singulett von H-11; auf Grund der isolierten Lage dieses H-Atoms ist keine Kopplung mit anderen Protonen zu beobachten. Das bei etwas höherem Feld (ca. 8 ppm) gelegene Dublett entspricht dem H-Atom in Position 10, das eine *long-range* Kopplung mit dem H-Atom in Position 8 zeigt. Weiter in Richtung niederer Frequenz (ca. 7.5 ppm) kommt das Proton in Position 7 als Dublett zur Resonanz. Das Signal weist eine *vicinale* Kopplung mit dem H-8-Atom auf. Das letzte im Aromatenbereich aufscheinende Signal, ein dublettisches Dublett bei ca.

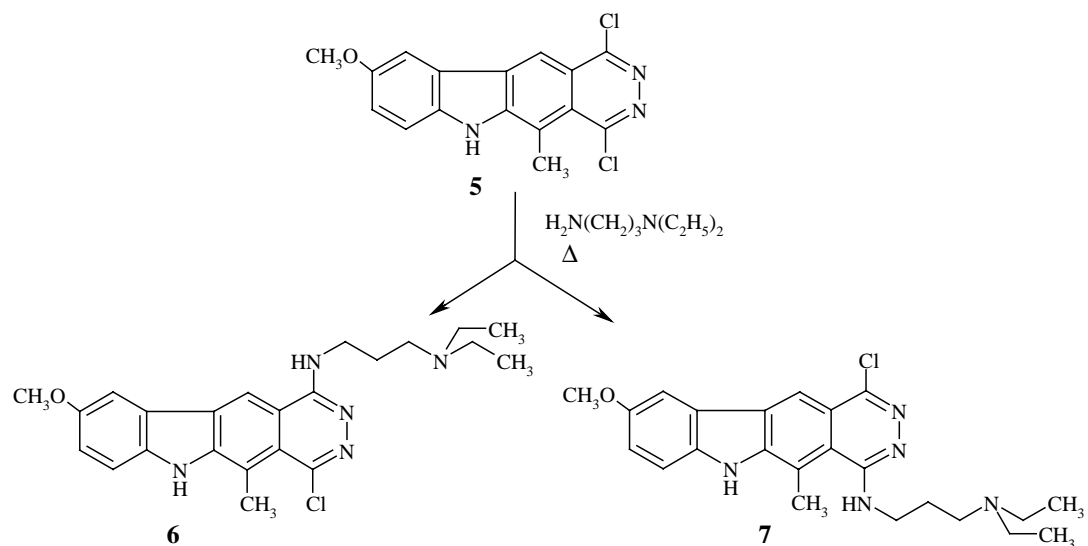
7.2 ppm, entspricht dem Carbazol-Proton in Position 8, das eine *vicinale* Kopplung mit dem benachbarten H-7-Atom und eine *long-range* Kopplung mit dem H-Atom in Position 10 zeigt.

Das Spektrum von Verbindung **5** wurde in DMSO/D₂O aufgenommen, da im Frequenzbereich von H-8 ein Verunreinigungssignal auftritt, welches nach D₂O-Zugabe verschwindet; auf diese Weise konnte eine genaue Integration der verbleibenden Aromaten-Signale durchgeführt werden.

Im Bereich der chemischen Verschiebung von Aliphaten-Protonen der beiden Verbindungen findet sich bei etwa $\delta = 3.9$ ppm ein Singulett der relativen Intensität 3, das der Methoxygruppe zuzuordnen ist. Schließlich folgt ein Singulett der relativen Intensität 3 bei ca. 3.1 ppm; es handelt sich dabei um das Protonensignal der Methylgruppe in Position 5.

2.2. SYNTHESE VON 9-METHOXY-3-AZA-11-DESMETHYL-ELLIPTICIN-ANALOGA MIT BASISCHER SEITENKETTE

Zur Einführung der aus pharmakologischer Sicht als vorteilhaft erachteten basischen Seitenkette (vgl. Abschnitt 1.2) in das tetracyclische System sollte die Dichlorverbindung **5** in Analogie zu dem von WANKO beschriebenen Verfahren [8] mit überschüssigem N,N-Diethylamino-propylamin in trockenem 1,4-Dioxan umgesetzt werden. Dabei war auch hier naturgemäß mit der Bildung zweier isomerer Substitutionsprodukte zu rechnen. Tatsächlich zeigten DC-Untersuchungen, daß nach etwa dreistündigem Rückflußerhitzen der Reaktionspartner das Ausgangsmaterial nicht mehr nachweisbar ist und dafür zwei neue Verbindungen entstanden sind (Schema 24). Wie ein weiterer Versuch ergab, führt längerdauerndes Erhitzen zum Auftauchen eines weiteren, sehr polaren Reaktionsproduktes, bei dem es sich offenbar um die 1,4-disubstituierte Verbindung handelt (siehe S. 40).



Schema 24

Die in einer Gesamtausbeute von 72% erhaltenen Monosubstitutionsprodukte **6** und **7** können mittels Säulenchromatographie an Kieselgel 60 unter Verwendung eines basischen Fließmittels (Dichlormethan/Methanol/Triethylamin) getrennt werden. Dabei erhält man die beiden Isomeren in einem Verhältnis von ca. 2:3, wobei die 4-substituierte Verbindung **7** das Hauptprodukt darstellt.

Diese Strukturzuordnung basiert auf NOE-Differenz-Experimenten, die an beiden Verbindungen durchgeführt wurden (vgl. Abb. 2). Die Untersuchung des in der ersten Fraktion eluierten Substitutionsproduktes **6** liefert folgendes Ergebnis: bei Sättigung der Resonanzlinie des isoliert stehenden Aromaten-Protons in Position 11 (9.0 ppm) zeigt neben dem Dublett von H-10 (c) auch das Signal des NH-Protons bei $\delta = 7.67$ ppm (d) eine deutliche Intensitätszunahme. Damit ist die Struktur von **6**, wie in Schema 24 wiedergegeben, festgelegt. Ein weiteres Experiment mit

der zweiten Fraktion (Verbindung **7**) bringt die erwartete Bestätigung. Diesmal kann unter anderem ein Kern-Overhauser-Effekt zwischen dem NH-Signal (f) der Seitenkette bei $\delta = 6.68$ ppm und dem C-Methylsignal bei 3.12 ppm (i) beobachtet werden, was die räumliche Nähe dieser beiden Gruppen beweist.

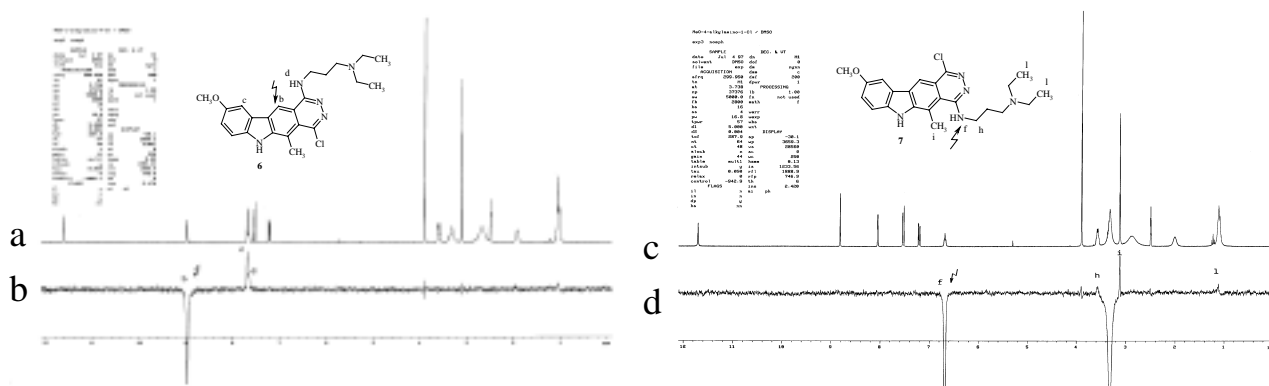
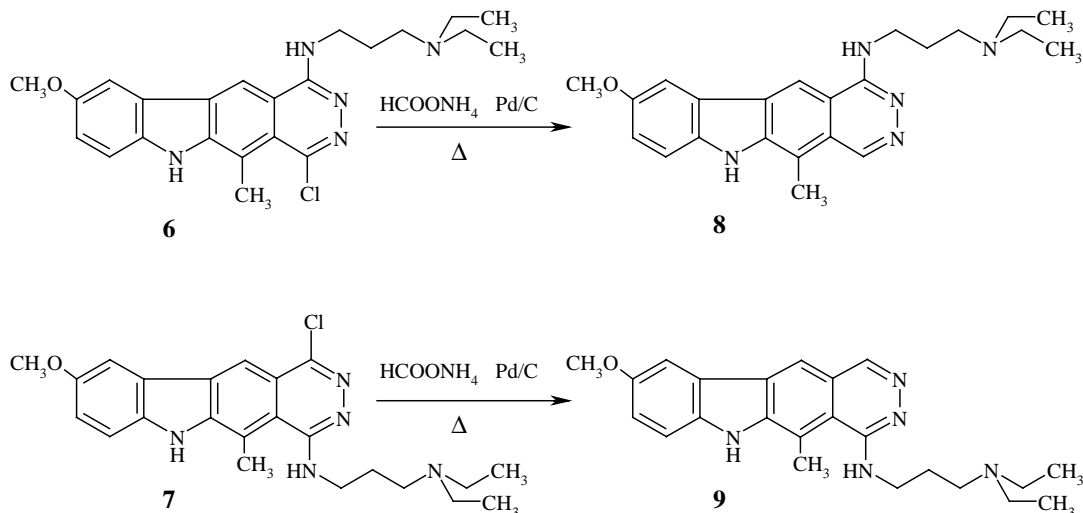


Abbildung 2:

- a) Ausschnitt aus dem 300 MHz ^1H -NMR-Spektrum von **6** (d_6 -DMSO)
- b) NOE-Differenzspektrum von **6** bei Einstrahlung auf H-11
- c) Ausschnitt aus dem 300 MHz ^1H -NMR-Spektrum von **7** (d_6 -DMSO)
- d) NOE-Differenzspektrum von **7** bei Einstrahlung auf Ar-NH-R

Für den letzten Syntheseschritt sollte nun ein geeigneter, möglichst schonender Weg zur reduktiven Enthaloxygenierung der Verbindungen **6** und **7** gefunden werden. Wie bereits aus den Untersuchungen von WANKO [8] hervorgegangen war, eignet sich dafür sehr gut die Methode der katalytischen Transferhydrierung mittels Ammoniumformiat und Palladium/Kohle. Dieses Verfahren zeichnet sich, im Unterschied zur katalytischen Hydrierung mit gasförmigem Wasserstoff, durch die besonders einfache Handhabung aus und ermöglicht auch

höhere Reaktionstemperaturen (Rückflußerhitzen) ohne besonderen apparativen Aufwand. Weiters ist Ammoniumformiat billig, stabil und relativ untoxisch. Als Lösungsmittel der Wahl für derartige Reaktionen gilt Methanol.



Schema 25

Es zeigte sich nun, daß sowohl **6** als auch **7** mittels dieser Methode problemlos und in guten Ausbeuten in die Zielverbindungen **8** bzw. **9** übergeführt werden können (Schema 25). In beiden Fällen erfordert der Reduktionsschritt eine Reaktionszeit von etwa sieben Stunden bei Rückflußtemperatur (DC-Kontrolle) sowie die Anwendung eines Überschusses an Reduktionsmittel. Die so erhaltenen potentiellen Wirkstoffe **8** und **9** lassen sich durch Umkristallisation aus Acetonitril bzw. Acetonitril/Ethanol in analysenreiner Form isolieren.

Zur eindeutigen Strukturbestimmung der beiden Isomeren wurde auch hier wieder die NOE-Differenzspektroskopie erfolgreich eingesetzt (siehe Abb. 3). Bei Einstrahlung auf das Methylsignal bei $\delta = 2.84$ ppm

der Verbindung **8** kann ein Kern-Overhauser-Effekt einerseits für das Signal von H-4 (b) beobachtet werden, was die räumliche Nähe dieser beiden Teilstrukturen beweist, darüberhinaus findet sich auch eine deutliche Intensitätserhöhung des Carbazol-NH-Signals (a).

Ein weiteres Experiment mit dem zweiten Isomer **9** bringt ebenfalls die erwartete Bestätigung. Bei Sättigung der Resonanzlinie des Aromaten-Protons in Position 1 (b) tritt für das Singulett von H-11 (c) eine deutliche Intensitätsverstärkung auf. Damit ist auch die Struktur von **9** festgelegt.

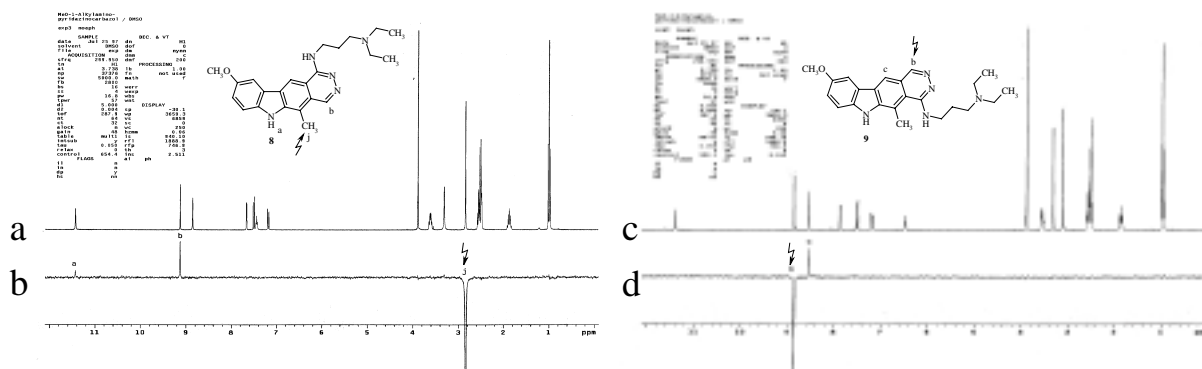


Abbildung 3

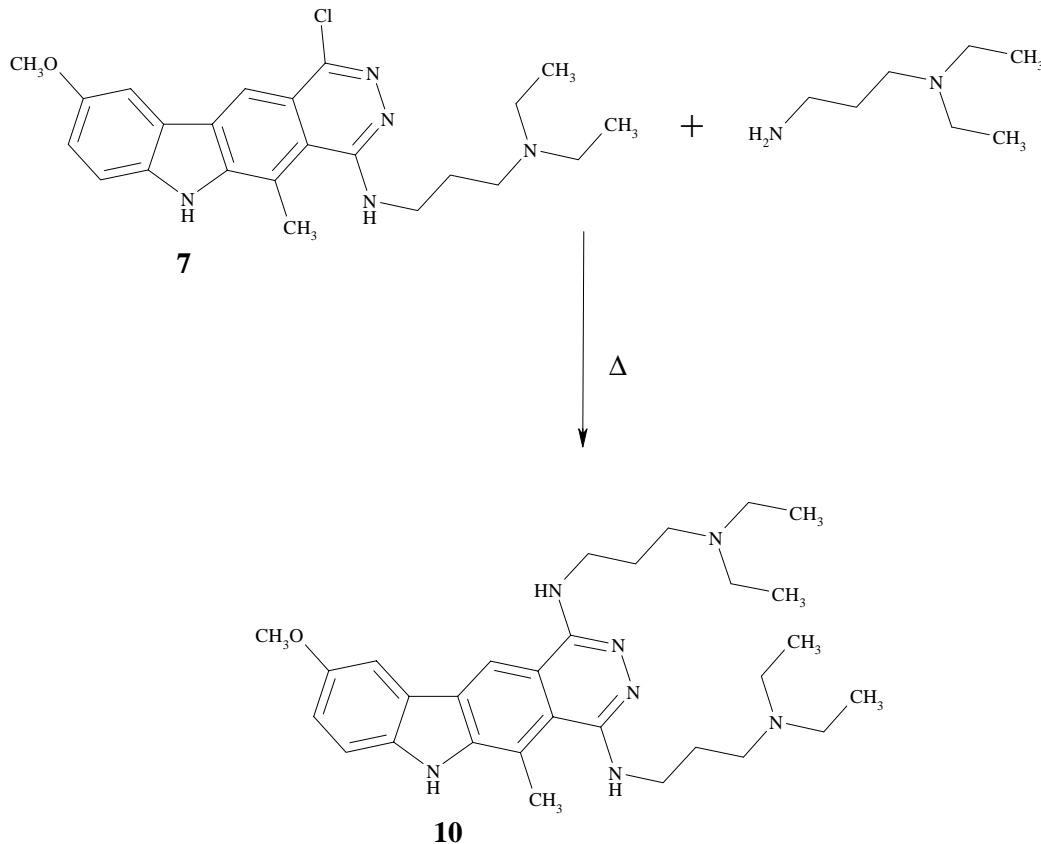
- a) Ausschnitt aus dem 300 MHz ^1H -NMR-Spektrum von **8** (d_6 -DMSO)
- b) NOE-Differenzspektrum von **8** bei Einstrahlung auf Ar- CH_3
- c) Ausschnitt aus dem 300 MHz ^1H -NMR-Spektrum von **9** (d_6 -DMSO)
- d) NOE-Differenzspektrum von **9** bei Einstrahlung auf H-1

Synthese von 1,4-Bis[3-(diethylamino)propylamino]-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol

Bei der Herstellung der Verbindungen **6** und **7** wurde mittels dünn-schichtchromatographischer Reaktionskontrolle beobachtet, daß längerdauerndes Erhitzen der Dichlorverbindung **5** mit dem primären Amin zum Auftauchen eines weiteren und gegenüber **6** und **7** deutlich polareren Reaktionsproduktes führt. Wie ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchungen eines entsprechenden Rohproduktes nahelegten, handelt es sich dabei um die 1,4-disubstituierte Verbindung. Erste Versuche, diese Verbindung direkt aus **5** durch Umsetzung mit der Aminkomponente unter drastischeren Bedingungen zu erhalten, brachten wenig befriedigende Resultate, da es dabei stets zu Zersetzung in beträchtlichem Ausmaß kommt.

Hingegen zeigte sich, daß das Disubstitutionsprodukt **10** ausgehend von dem Monochlorpyridazin **7**⁵ in bequemer Weise hergestellt werden kann (s. Schema 26). Dabei wird **7** mit überschüssigem Amin in trockenem 1,4-Dioxan unter sorgfältigem Ausschluß von Luftsauerstoff 10 Tage lang zum Rückfluß erhitzt, wobei im Verlauf der Umsetzung weitere Portionen des Reagens zugefügt werden (s. Exp. Teil). Verbindung **10** wird in Form des Monohydrochlorid-Hemihydrates in einer Ausbeute von 64% erhalten.

⁵ Verbindung **7** war in höherer Ausbeute als die isomere Verbindung **6** erhalten worden.



Schema 26

Spektroskopische Befunde:

Auch in den ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen **6** bis **10** fällt jeweils ein Singulett bei sehr tiefem Feld auf, das der NH-Funktion des Carbazolgerüsts zuzuordnen ist. Die Verbindungen **8** und **9** weisen, im Unterschied zu **6**, **7** und **10**, ein zusätzliches Aromaten-Singulett bei $\delta = 9.1$ ppm (H-4 der Verbindung **8**) bzw. 8.9 ppm (H-1 der Verbindung **9**) auf. Aufgrund der Lokalisation dieses Protons (in Position 4 bzw. 1) an einem π -Elektronenmangel-N-Heteroaromatensystem ist die Signallage

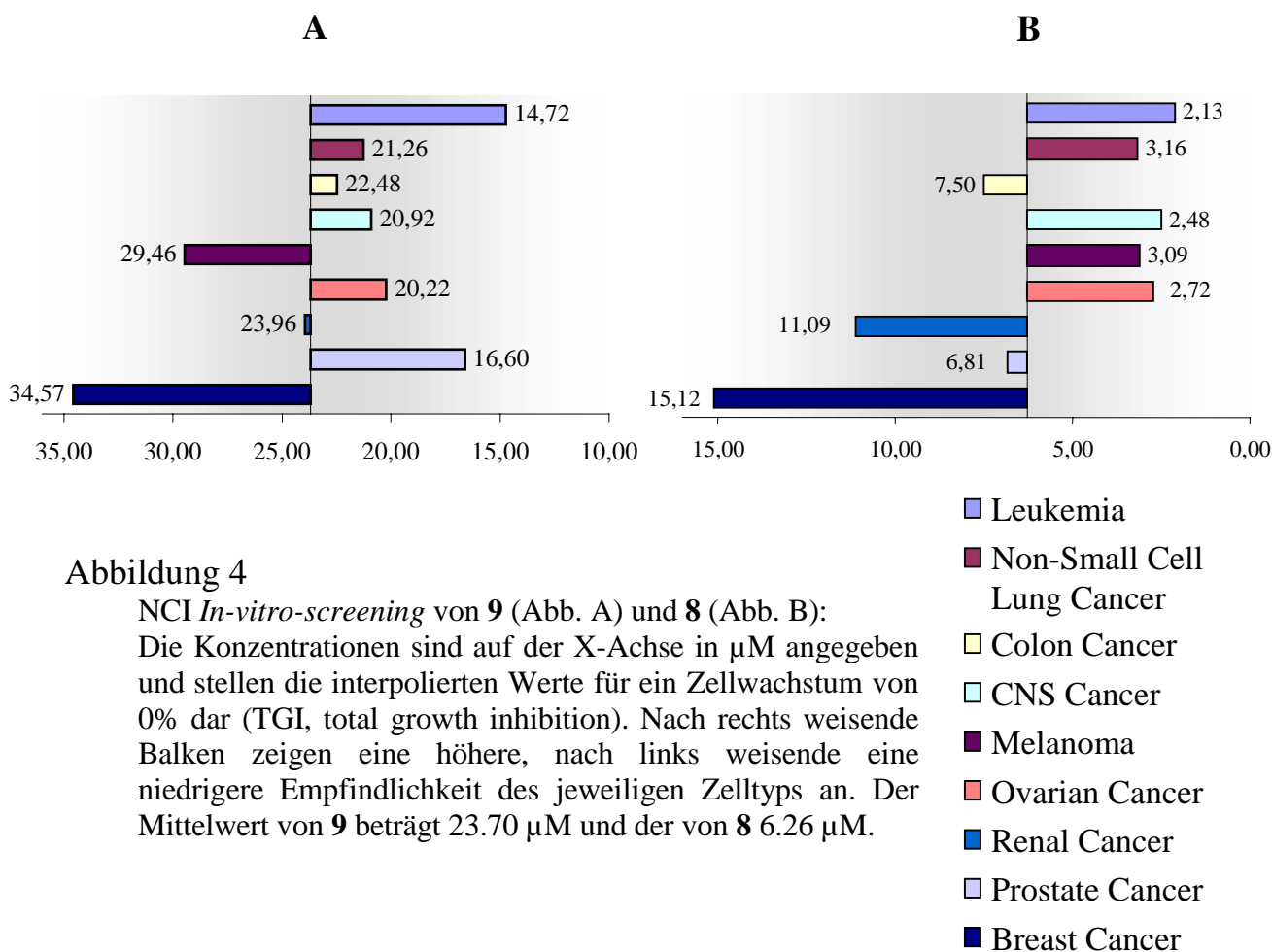
bei so tiefem Feld verständlich. Zu niedrigerer Frequenz verschoben folgt das Singulett von H-11. Das bei noch etwas höherem Feld gelegene Dublett entspricht dem H-Atom in Position 10, das eine *long-range* Kopplung zeigt. Weiter in Richtung niedrigerer Frequenz kommen das NH-Proton der Alkylamino-Seitenkette sowie die Protonen H-7 und H-8 zur Resonanz. Die Lage des NH-Signals variiert bei den einzelnen Vertretern stark. Es bildet ein breites Triplett infolge Kopplung mit der benachbarten Methylengruppe des Propylen-Teils. Das Dublett von H-7 zeigt eine *vicinale* Kopplung mit dem benachbarten H-8-Atom auf. Das bei etwas niedrigerer Frequenz aufscheinende Signal, ein dublettisches Dublett, entspricht dem Carbazol-Proton in Position 8; es zeigt eine *vicinale* Kopplung mit dem benachbarten H-7-Atom und eine *long-range* Kopplung mit dem H-Atom in Position 10.

Im Bereich der chemischen Verschiebungen von Aliphaten-Protonen ist in allen Spektren jeweils bei tiefstem Feld ($\delta = 3.89$ ppm) ein Singulett der Methoxygruppe mit der relativen Intensität 3 zu erkennen. Zu niedrigerer Frequenz verschoben folgt das Quartett der Ar-NHCH₂-Teilstruktur der basischen Seitenkette bei etwa $\delta = 3.6$ ppm, das eine Kopplung mit den benachbarten Methylenprotonen sowie eine zusätzliche Kopplung mit dem *vicinalen* Proton der NH-Gruppe aufweist. Zu niedrigeren ppm-Werten verschoben folgt die Resonanzlinie der Methylgruppe in Position 5 (bei $\delta = 3.1$ ppm; das entsprechende Signal in Verbindung **8** tritt bei $\delta = 2.8$ ppm auf) als Singulett der relativen Intensität 3. Zu niedrigerer Frequenz verschoben folgt ein Multiplett der relativen Intensität 6 (12 bei Verbindung **10**). Es beinhaltet jeweils die Signale der insgesamt drei Methylengruppen, die mit dem endständigen

Stickstoffatom der Seitenkette verknüpft sind. Das folgende (teils unvollständig aufgelöste) Quintett bei $\delta = \text{ca. } 1.9 \text{ ppm}$ entspricht dem „mittleren“ Propylen-CH₂-Fragment. Zuletzt folgt ein Triplett (bei Verbindung **7** ein Multiplett) der relativen Intensität 6 bei etwa $\delta = 1.0 \text{ ppm}$ (bei Verbindung **10** zwei Triplets der relativen Intensität 12); es handelt sich dabei um das Protonen-Signal der beiden endständigen Methylgruppen der Seitenkette.

Ergebnisse der Untersuchungen auf Antitumor-Aktivität

Die vermutete zytostatische Aktivität der Verbindungen **8** bis **10** wurde durch erste *in-vitro*-Untersuchungen an verschiedenen humanen Tumorzellkulturen bestätigt. Während die 1,4-Bis[(diethylamino)propyl]-Verbindung **10** nur eine schwache zytotoxische Wirkung aufweist, zeigen die 1- bzw. 4-monosubstituierten Vertreter **8** und **9** eine deutliche antineoplastische Aktivität, vor allem gegenüber Leukämie-Zellkulturen. Abbildung 4 stellt die Ergebnisse der am National Cancer Institute (NCI), USA, durchgeführten Tests (zur Durchführung und Auswertung s. Lit. [59]) in graphischer Form dar.



Wie aus Abb. 4 ersichtlich, ist das 1-substituierte Azaellipticin **8** seinem 4-substituierten Isomer **9** eindeutig überlegen und erreicht bei einzelnen Zell-Linien (etwa im Leukämie-Screening) einen TGI-Wert von unter 10^{-7} M (s. Abbildung 5). Erste *in-vivo*-Untersuchungen (Hohlfaser-Test) an **8** zeigen ebenfalls ermutigende Resultate.

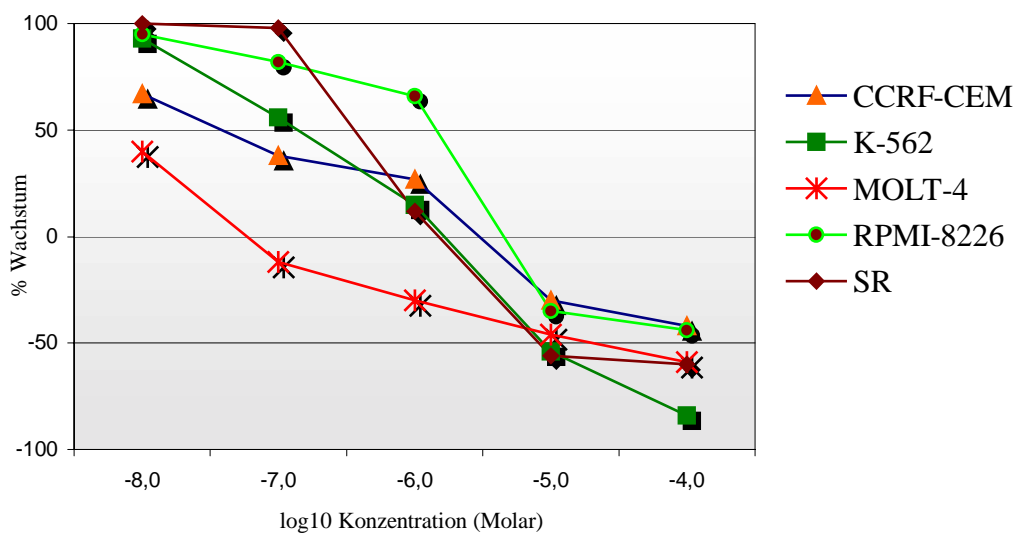


Abbildung 5 NCI *In-vitro-screening* von **8** (5 verschiedene Leukämie-Zelllinien)

Die tetracyclischen Zielverbindungen **8** bis **10**, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit erstmals zugänglich gemacht werden konnten, stellen interessante neue Vertreter der 3-Aza-Ellipticingruppe dar. Weitere Untersuchungen zur Bestimmung der Antitumor-Aktivität der neuen Verbindungen sind zur Zeit im Gange, über die Ergebnisse wird an anderer Stelle zu berichten sein. Mit der Synthese dieser Verbindungen konnte vielleicht ein nützlicher Beitrag in Richtung Wirkungsverbesserungen mittels gezielter Derivatisierung von pharmazeutisch interessanten Naturstoffen geleistet werden. Die wesentlichen Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht [60].

3. EXPERIMENTELLER TEIL

Chromatographie:

DC: Für die Dünnschichtchromatographie wurden DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, Fa. Merck (Art.-Nr. 105554) verwendet.

Detektion: Anhand Fluoreszenzminderung unter UV₂₅₄, Eigenfluoreszenz unter UV₃₆₆ (Camag UV-Lampe) oder Eigenfarbe von gefärbten Verbindungen.

SC: Als Sorbensmaterial für die Säulenchromatographie fand Kieselgel 60 (0.063-0.200 mm) der Fa. Merck (Art.-Nr. 107734) Verwendung.

Detektion: Diskontinuierlich mittels Tüpfeln auf KGF₂₅₄-Folien.

Elementaranalysen:

Sämtliche Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium (Leitung: Mag. J. THEINER) am Institut für Physikalische Chemie der Universität Wien durchgeführt.

Schmelzpunkte:

Sämtliche Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztischmikroskop (Fa. Reichert) bestimmt und sind unkorrigiert.

Lösungsmittel:

Es wurden Lösungsmittel der Fa. Merck in „reinst“-Qualität verwendet. Petroleumbenzin hatte einen Siedebereich von 50-70°C.

Acetanhydrid, Dimethylacetylendicarboxylat, N,N-Diethylanilin und Triethylamin wurden durch Destillation gereinigt; Bortrifluorid-Etherat wurde jeweils vor Gebrauch frisch destilliert.

Trocknung von Lösungsmitteln:

Tetrahydrofuran (THF), Brombenzol und 1,4-Dioxan wurden über Molekularsieb 4 Å aufbewahrt

Spektroskopie:

IR: sämtliche Infrarotspektren wurden von KBr-Preßlingen auf einem Perkin Elmer 1605 FT-IR Spektrophotometer gemessen.

HRMS: Hochauflösungs-Massenspektren wurden auf einem Finnigan MAT 8230 gemessen.

MS: Massenspektren wurden auf einem Hewlett-Packard 5890A/5970B GC/MSD Spektrometer bzw. auf einem Shimadzu QP5000 DI 50 gemessen.

¹H-NMR: Die Aufnahme der ¹H-NMR-Spektren erfolgte auf einem Varian Unityplus 300 (300 MHz) Spektrometer (TMS als interne Referenz; δ-Werte in ppm).

Zytostatische Aktivität: Die *in-vivo*- und *in-vitro*-Untersuchungen erfolgten am NCI (*National Cancer Institute*), Bethesda, Maryland 20892, USA.

Ad 2.1. DARSTELLUNG VON 1,4-DICHLOR-9-METHOXY-5-METHYL-6H-PYRIDAZINO[4,5-*b*]-CARBAZOL AUSGEHEND VON 5-METHOXY-INDOLYL-3-ESSIGSÄURE

6-Methoxy-1-methylpyrano[3,4-*b*]indol-3(9*H*)-on (2):

In einem trockenen und gegen Luftfeuchtigkeit geschützten Kolben legt man eine Suspension von 8.208 g (40 mmol) 5-Methoxyindolyl-3-essigsäure (**1**) in 18 ml Acetanhydrid vor. Zu diesem Gemisch tropft man unter Eiskühlung und unter Rühren langsam 7.0 ml (55 mmol) Bortrifluorid-Diethylether-Komplex, wobei sich die Suspension dunkelrot färbt. Man entfernt die Kühlung, worauf sich nach wenigen Minuten ein roter Niederschlag abzuscheiden beginnt. Nach einer weiteren halben Stunde wird erneut mit Eis gekühlt, mit 50 ml Ether verdünnt und abfiltriert. Der Rückstand wird mit Ether und Toluol gewaschen und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung behandelt, bis die Gasentwicklung aufgehört hat und die Mischung schwach alkalisch reagiert. Nach dem Absaugen wäscht man mit 50 ml Wasser bis zur neutralen Reaktion des Filtrats. Der orangefarbene Rückstand wird dann im Vakuum getrocknet. Man erhält 6.923 g (73%) **2** als orangefarbene, feine Kristalle vom Schmp. 193-195°C (Zers.) (Ethanol/Triethylamin, 97+3).

C₁₃H₁₁NO₃ · 0.5 H₂O (238.24)

	C%	H%	N%
ber.	65.54	5.08	5.88
gef.	65.65	4.95	5.74

IR (Tafel 1): 3197 cm^{-1} ($\nu_{\text{N-H}}$), 1699 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=O}}$).

HRMS:

	Molekulargewicht
ber.	229.0739
gef.	229.0740

MS (Tafel 2):

$m/z = 229$ (M^+ , 97%), 201 (52), 186 (100), 158 (83), 130 (21), 115 (30), 101 (24), 86 (98), 77 (26), 63 (23), 62 (24), 58 (50), 45 (34).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6 , Tafeln 3-5):

$\delta = 10.16$ (s, 1H, NH), 7.56-7.54 (m, nicht aufgelöst, 1H, H-5, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei 3.78 ppm), 7.19-7.12 (m, nicht aufgelöst, 2H, H-7, H-8, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei 3.78 ppm), 6.52-6.49 (m, nicht aufgelöst, 1H, H-4), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 2.47 (s, 3H, CH_3).

Dimethyl 6-Methoxy-1-methyl-9H-carbazol-2,3-dicarboxylat (3):

Ein Gemisch aus 6.876 g (30 mmol) 6-Methoxy-1-methylpyrano[3,4-*b*]-indol-3(9*H*)-on (**2**) und 19.9 g (140 mmol) Dimethyl Acetylen-dicarboxylat in 250 ml Brombenzol wird unter Argon 1.5 h zum Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wird im Vakuum abdestilliert, der Rückstand wird in 50 ml Petroleumbenzin aufgenommen und der

Überstand wird verworfen. Der dunkelbraune Rückstand wird mittels SC (Ethylacetat/Petroleumbenzin, 2+3) gereinigt. Man erhält 5.598 g (57%) nahezu farblose Kristalle von Schmp. 229°C (Ethylacetat/Petroleumbenzin).

$C_{18}H_{17}NO_5$ (327.34).

	C%	H%	N%
ber.	66.05	5.23	4.28
gef.	65.78	5.37	4.26

IR (Tafel 6): 3341 cm^{-1} (ν_{N-H}), 1717 cm^{-1} ($\nu_{C=O}$).

MS (Tafel 7):

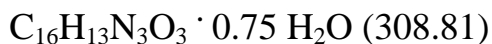
$m/z = 327$ (M^+ , 100%), 312 (21), 296 (41), 295 (46), 281 (46), 280 (66), 238 (29), 237 (63), 217 (34), 210 (24), 209 (89), 195 (31), 194 (35), 174 (52), 167 (37), 166 (41), 148 (70), 146 (25), 140 (30), 139 (22), 119 (33), 83 (40), 76 (20), 69 (45), 57 (28), 55 (34).

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , Tafeln 8-10):

$\delta = 11.64$ (s, 1H, NH), 8.67 (s, 1H, H-4, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Dublett bei 7.87 ppm), 7.87 (d, $J_{5-7} = 2.4$ Hz, 1H, H-5), 7.48 (d, $J_{7-8} = 9.0$ Hz, 1H, H-8), 7.10 (dd, $J_{5-7} = 2.4$ Hz, $J_{7-8} = 9.0$ Hz, 1H, H-7), 3.85 (s, 9H, OCH₃, COOCH₃, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Dublett bei 7.87 ppm), 2.45 (s, 3H, CH₃).

9-Methoxy-5-methyl-2,3,4,6-tetrahydro-1H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4-dion (4):

Ein Gemisch aus 1.637 g (5 mmol) Dimethyl 6-Methoxy-1-methyl-9H-carbazol-2,3-dicarboxylat (**3**) und 30 ml Hydraziniumhydroxid (100%) wird 2 h zum Rückfluß erhitzt. Der Überschuß an Hydrazin wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck abdestilliert. Der Rückstand wird mehrmals in Ethanol aufgenommen und wieder eingedampft. Der Rückstand wird in 50 ml eiskaltem Wasser suspendiert und mit einigen Tropfen $\text{HCl}_{\text{conc.}}$ versetzt. Die Suspension wird für eine halbe Stunde in den Kühlschrank gestellt und dann abgenutscht. Schließlich wird mit eiskaltem Wasser gewaschen und im Exsiccator getrocknet. Man erhält 1.330 g (86%) gelbe Kristalle vom Schmp. $> 350^{\circ}\text{C}$.

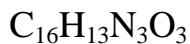


	C%	H%	N%
ber.	62.23	4.73	13.61
gef.	62.18	4.76	13.88

IR (Tafel 11): Siehe Tafel 11.

MS (Tafel 12):

$m/z = 296 (\text{M}^+, 20\%), 295 (100), 281 (10), 280 (52), 209 (8), 194 (8), 166 (5), 147 (7), 118 (6), 57 (5), 55 (5).$

HRMS:

Molekulargewicht	
ber.	295.0957
gef.	295.0942

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6 , Tafeln 13, 14):

δ = 11.54 (s, 1H, Carbazol-NH), 11.2-11.0 (br, 2H, Pyridazin-NH), 8.73 (s, 1H, H-11), 7.95 (d, $J_{8-10} = 2.4$ Hz, 1H, H-10), 7.51 (d, $J_{7-8} = 9.0$ Hz, 1H, H-7), 7.17 (dd, $J_{7-8} = 9.0$ Hz, $J_{8-10} = 2.4$ Hz, 1H, H-8), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.09 (s, 3H, CH₃).

1,4-Dichlor-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (5):

1.181 g (4 mmol) 9-Methoxy-5-methyl-2,3,4,6-tetrahydro-1*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4-dion (**4**) werden mit 5 ml *N,N*-Diethylanilin gleichmäßig durchfeuchtet, danach mit 60 ml POCl₃ versetzt und 2 h unter Feuchtigkeitsausschluß zum Rückfluß erhitzt. Überschüssiges POCl₃ wird unter vermindertem Druck abdestilliert. Nach dem Erkalten wird der Rückstand mit verdünntem Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion behandelt, abgenutscht, mit eiskaltem Wasser gewaschen und im Exsiccator getrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wird zweimal mit Ether gewaschen. Man erhält 1.170 g (88%) gelbgrüne Kristalle vom Schmp. ~ 310°C (Zers. u. Subl.) (Dioxan).



IR (Tafel 15): Siehe Tafel 15.

MS (Tafel 16):

$m/z = 335$ (12%), 334 (12), 333 (M^+ , 68), 332 (21), 331 (100), 318 (38), 316 (63), 315 (18), 313 (50), 298 (31), 261 (20), 246 (39), 218 (25), 130 (23), 63 (15), 52 (15)

HRMS:

$C_{16}H_{11}Cl_2N_3O$

Molekulargewicht	
ber.	331.0279
gef.	331.0294

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 /D $_2$ O, Tafeln 17, 18):

$\delta = 9.08$ (s, 1H, H-11), 8.09 (d, $J_{8-10} = 2.3$ Hz, 1H, H-10), 7.58 (d, $J_{7-8} = 8.8$ Hz, 1H, H-7), 7.27 (dd, $J_{7-8} = 8.8$ Hz, $J_{8-10} = 2.3$ Hz, 1H, H-8), 3.89 (s, 3H, OCH $_3$), 3.15 (s, 3H, CH $_3$).

Ad 2.2. SYNTHESE VON 9-METHOXY-3-AZA-11-DES-METHYL-ELLIPTICIN-ANALOGA MIT BASISCHER SEITENKETTE

**4-Chlor-1-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (6) und
1-Chlor-4-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (7):**

Ein Gemisch aus 997 mg (3 mmol) 1,4-Dichlor-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (5) und 12 ml (76 mmol) 3-Diethylamino-1-propylamin in 60 ml trockenem 1,4-Dioxan wird unter Argon solange zum Rückfluß erhitzt, bis das Ausgangsmaterial vollständig gelöst ist (etwa 3 h). Anschließend wird eine halbe Stunde weitergerührt und die flüchtigen Bestandteile werden mittels Rotationsverdampfer und Kugelrohrdestillationsapparatur entfernt. Der Rückstand wird in CH₂Cl₂ aufgenommen und dreimal mit wäßriger Ammoniaklösung ausgeschüttelt. Man trocknet die organische Phase über Na₂SO₄ und entfernt anschließend das Lösungsmittel im Vakuum. Die Trennung der beiden Hauptprodukte erfolgt über eine Kieselgelsäule (CH₂Cl₂/MeOH/Triethylamin; stufenweise 97+3+2, 95+5+2 und nach Elution der ersten Fraktion 40+10+1).

Die 1. Fraktion enthält Verbindung **6**:

Nach Entfernen des Lösungsmittels erhält man 358 mg (27%) hellgelbe Kristalle vom Schmp. ~ 180°C (Zers.) (CH₂Cl₂/Et₂O).

C₂₃H₂₈ClN₅O · 0.65 H₂O (437.67)

	C%	H%	N%
Ber.	63.12	6.75	16.00
gef.	63.47	6.67	15.57

IR (Tafel 19): Siehe Tafel 19.

MS (Tafel 20):

$m/z = 425$ (M^+ , 4%), 354 (25), 353 (44), 352 (49), 351 (32), 339 (40), 327 (37), 326 (54), 325 (93), 319 (34), 318 (29), 313 (40), 262 (52), 113 (25), 112 (53), 100 (21), 98 (21), 86 (100), 58 (72).

HRMS:

$C_{23}H_{28}ClN_5O$

	Molekulargewicht
Ber.	425.1982
Gef.	425.1962

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , Tafeln 21-24):

$\delta = 11.61$ (s, 1H, Carbazol-NH), 8.98 (s, 1H, H-11), 7.70 (d, $J_{8-10} = 2.6$ Hz, 1H, H-10, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei 8.98 ppm), 7.67 (br t, 1H, C_{arom} -NH-R, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei 8.98 ppm), 7.54 (d, $J_{7-8} = 8.8$ Hz, 1H, H-7), 7.23 (dd, $J_{7-8} = 8.8$ Hz, $J_{8-10} = 2.6$ Hz, 1H, H-8), 3.89 (s, 3H, OCH_3), 3.60 (q, $J = 2.4$ Hz, 2H, $NH-CH_2-CH_2-CH_2-NR_2$), 3.11 (s, 3H, $C_{arom}CH_3$), 2.8-2.6 (m, nicht aufgelöst, 6H, $NH-CH_2-CH_2-CH_2-NR_2$,

N-CH₂CH₃), 1.92 (quint, nicht aufgelöst, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 1.04 (t, J = 6.9 Hz, 6H, N-CH₂CH₃).

Die 2. Fraktion enthält Verbindung 7:

Nach Entfernen des Lösungsmittels erhält man 562 mg (44%) gelbe Kristalle vom Schmp. 129-130.5°C (EtOH).

C₂₃H₂₈ClN₅O (425.96)

IR (Tafel 25): Siehe Tafel 25.

MS (Tafel 26):

m/z = 425 (M⁺, 5%), 354 (44), 353 (44), 352 (100), 351 (27), 339 (21), 337 (37), 262 (20), 112 (36), 86 (23), 58 (49).

HRMS:

C₂₃H₂₈ClN₅O

Molekulargewicht	
Ber.	425.1982
Gef.	425.2002

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆, Tafeln 27-30):

δ = 11.71 (s, 1H, Carbazol-NH), 8.82 (s, 1H, H-11), 8.05 (d, J₈₋₁₀ = 2.4 Hz, 1H, H-10), 7.53 (d, J₇₋₈ = 8.7 Hz, 1H, H-7), 7.21 (dd, J₇₋₈ = 8.7 Hz, J₈₋₁₀ = 2.4 Hz, 1H, H-8), 6.68 (br t, 1H, C_{arom}-NH-R), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.57 (q, J = 2.1 Hz, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 3.12 (s, 3H, C_{arom}CH₃,

zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Triplett bei 6.68 ppm), 3.05-2.60 (m, nicht aufgelöst, 6H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂, N-CH₂CH₃), 2.08-1.92 (m, nicht aufgelöst, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 1.18-1.03 (m, nicht aufgelöst, 6H, N-CH₂CH₃).

1-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (8):

Zu einer Lösung von 272 mg (0.64 mmol) 4-Chlor-1-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**6**) und 202 mg (3.2 mmol) Ammoniumformiat in 13 ml Methanol fügt man $\frac{1}{4}$ der Einwaage der Ausgangsverbindung 10% Pd/C-Katalysator auf einmal hinzu und rührt unter Argon bei 85°C und unter gelegentlicher Zugabe weiterer kleiner Portionen Ammoniumformiat sowie Pd/C-Katalysator solange, bis das Ausgangsmaterial nicht mehr nachweisbar ist (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/2-Propanol; 19+1); die erforderliche Reaktionszeit beträgt ca. 7 h. Danach wird der Katalysator abfiltriert und die Lösung im Vakuum zum Trockene gebracht. Anschließend nimmt man den Rückstand in halbgesättigter wäßriger K₂CO₃-Lösung auf und schüttelt dreimal mit CH₂Cl₂ aus. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, danach wird das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird aus Acetonitril umkristallisiert. Man erhält 155 mg (62%) hellbraune Kristallnadeln vom Schmp. 227-228°C.

C₂₃H₂₉N₅O (391.52)

	C%	H%	N%
ber.	70.56	7.47	17.89
gef.	70.29	7.44	17.69

IR (Tafel 31): 3236 cm⁻¹ (ν_{N-H}).

MS (Tafel 32):

m/z = 391 (M⁺, 2%), 362 (10), 319 (15), 318 (18), 317 (14), 305 (33), 292 (48), 291 (83), 279 (35), 278 (17), 277 (12), 264 (11), 263 (29), 262 (12), 248 (21), 192 (10), 152 (13), 138 (12), 124 (11), 113 (14), 112 (25), 111 (11), 110 (15), 100 (21), 98 (40), 96 (19), 86 (100), 85 (13), 84 (68), 73 (10), 72 (19), 71 (18), 70 (19), 69 (12), 58 (99), 57 (32), 56 (66).

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆, Tafeln 33-36):

δ = 11.43 (s, 1H, Carbazol-NH, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei 2.84 ppm), 9.13 (s, 1H, H-4, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei 2.84 ppm), 8.86 (s, 1H, H-11), 7.67 (d, J₈₋₁₀ = 2.4 Hz, 1H, H-10), 7.51 (d, J₇₋₈ = 8.7 Hz, 1H, H-7), 7.45 (t, J = 5.1 Hz, 1H, C_{arom}-NH-R), 7.19 (dd, J₇₋₈ = 8.7 Hz, J₈₋₁₀ = 2.4 Hz, 1H, H-8), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.62 (q, J = 6.5 Hz, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 2.84 (s, 3H, C_{arom}CH₃), 2.58-2.48 (m, 6H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂, N-CH₂CH₃), 1.87 (quint, J = 6.5 Hz, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 0.99 (t, J = 7.2 Hz, 6H, N-CH₂CH₃).

**4-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino
[4,5-*b*]carbazol (9):**

Zu einer Lösung von 341 mg (0.80 mmol) 1-Chlor-4-[3-(diethylamino)-propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**7**) und 253 mg (4 mmol) Ammoniumformiat in 16 ml Methanol fügt man $\frac{1}{4}$ der Einwaage der Ausgangsverbindung 10% Pd/C-Katalysator auf einmal hinzu und rührt unter Argon bei 85°C und unter gelegentlicher Zugabe weiterer kleiner Portionen Ammoniumformiat sowie Pd/C-Katalysator solange, bis das Ausgangsmaterial nicht mehr nachweisbar ist (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/2-Propanol; 18+2); die erforderliche Reaktionszeit beträgt ca. 6 h. Danach wird der Katalysator abfiltriert und die Lösung im Vakuum zum Trocknen gebracht. Anschließend nimmt man den Rückstand in halbgesättigter wäßriger K₂CO₃-Lösung auf und schüttelt dreimal mit CH₂Cl₂ aus. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet, danach wird das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird aus Acetonitril/Ethanol umkristallisiert. Man erhält 235 mg (75%) hellbraune Kristalle vom Schmp. 259-261°C (Zers.).

C₂₃H₂₉N₅O (391.52)

	C%	H%	N%
ber.	70.56	7.47	17.89
gef.	70.20	7.29	17.63

IR (Tafel 37): 3227 cm⁻¹ (ν_{N-H}).

MS (Tafel 38):

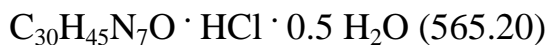
$m/z = 391$ (M^+ , 2%), 319 (14), 318 (36), 305 (22), 304 (10), 303 (23), 292 (31), 291 (10), 279 (15), 278 (14), 277 (24), 264 (10), 263 (21), 262 (15), 248 (16), 192 (10), 124 (12), 113 (20), 112 (81), 110 (18), 100 (14), 98 (31), 96 (24), 86 (88), 85 (11), 84 (36), 82 (23), 73 (15), 72 (21), 71 (14), 70 (18), 58 (100), 57 (25), 56 (55), 55 (15)

 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6 , Tafeln 39-42):

$\delta = 11.40$ (s, 1H, Carbazol-NH), 8.86 (s, 1H, H-1), 8.53 (s, 1H, H-11, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei 8.86 ppm), 7.87 (d, $J_{8-10} = 2.4$ Hz, 1H, H-10), 7.49 (d, $J_{7-8} = 8.7$ Hz, 1H, H-7), 7.18 (dd, $J_{7-8} = 8.7$ Hz, $J_{8-10} = 2.4$ Hz, 1H, H-8), 6.47 (br t, 1H, $C_{\text{arom-NH-R}}$), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.54 (br q, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NR}_2$), 3.10 (s, 3H, C_{aromCH_3}), 2.58-2.46 (m, 6H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NR}_2$, $\text{N-CH}_2\text{CH}_3$), 1.85 (quint, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NR}_2$), 0.96 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H, $\text{N-CH}_2\text{CH}_3$)

1,4-Bis[3-(diethylamino)propylamino]-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (10):

Ein Gemisch aus 600 mg (1.4 mmol) 1-Chlor-4-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**7**) und 12 ml (76 mmol) 3-Diethylamino-1-propylamin in 60 ml trockenem 1,4-Dioxan wird unter Argon 10 Tage zum Rückfluß erhitzt (die Suspension geht beim Erwärmen in Lösung). Im Verlauf der Reaktion fügt man weitere 2 ml 3-Diethylamino-1-propylamin zu. Das Reaktionsgemisch wird abgekühlt und mittels Rotationsverdampfer, gefolgt von Kugelrohrdestillation zur Trockene gebracht. Man erhält 470 mg (65%) hellgelbe, feine Kristalle vom Schmp. > 220°C (Zers.) (Ethylacetat/Ethanol/Petroleumbenzin).



	C%	H%	N%
ber.	63.75	8.38	17.35
gef.	63.87	8.24	17.27

IR (Tafel 43): 3220 cm⁻¹ (ν_{N-H}).

MS (Tafel 44):

m/z = 519 (M⁺, 1%), 448 (6), 447 (30), 446 (92), 418 (6), 417 (15), 360 (23), 347 (11), 346 (19), 334 (13), 333 (9), 332 (15), 331 (5), 321 (5), 320 (11), 319 (17), 318 (20), 317 (8), 306 (5), 304 (7), 303 (7), 292 (8), 291 (5), 279 (6), 262 (8), 261 (7), 246 (8), 223 (6), 166 (9), 151 (9), 113

(6), 112 (26), 98 (10), 87 (5), 86 (100), 84 (11), 73 (15), 72 (29), 71 (8), 70 (7), 69 (6), 58 (71), 57 (8), 56 (19), 44 (9)

HRMS: $C_{30}H_{45}N_7O$

Molekulargewicht	
ber.	519.3685
gef.	519.3671

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , Tafeln 45-48):

δ = 11.67 (s, 1H, Carbazol-NH), 8.96 (s, 1H, H-11), 7.69 (d, J_{8-10} = 2.5 Hz, 1H, H-10, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei 3.89 ppm), 7.55 (d, J_{7-8} = 8.8 Hz, 1H, H-7), 7.22 (dd, J_{7-8} = 8.8 Hz, J_{8-10} = 2.5 Hz, 1H, H-8, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei bei 3.89 ppm), 6.4 – 6.2 (br, 1H, $C_{\text{aromat.}}$ -NH), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.6 – 3.4 (2q, nicht aufgelöst, 4H, NH- \underline{CH}_2 -CH₂-CH₂-NR₂), 3.09 (s, 3H, C_{arom} CH₃), 2.8-2.6 (m, nicht aufgelöst, 12H, NH-CH₂-CH₂- \underline{CH}_2 -NR₂, N- \underline{CH}_2 CH₃), 1.91 (quint, nicht aufgelöst, 4H, NH-CH₂- \underline{CH}_2 -CH₂-NR₂), 1.1-1.0 (2t, 12H, N-CH₂ \underline{CH}_3).

4. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. MUTSCHLER, *Arzneimittelwirkungen*, 7. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1997.
- [2] S. GOODWIN, A. F. SMITH und E. C. HORNING, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 1903 (1959).
- [3] J. J. H. DE LA BILLARDIERE, *Sertum Austro-Caledonicum*, **1824**, 25.
- [4] L. K. DALTON, S. DEMERAC, B. C. ELMES, J. W. LODER, J. M. SWAN und T. TEITEL, *Aust. J. Chem.*, **20**, 2715 (1967).
- [5] G. W. GRIBBLE in *The Alkaloids* (Editor: A. BROSSI), Vol. **39**, S. 239, Academic Press, San Diego, 1990.
- [6] U. PINDUR, *Pharmazie in unserer Zeit*, **16**, 47 (1987).
- [7] R. B. WOODWARD, G. A. IACOBUCCI und F. A. HOCHSTEIN, *J. Am. Chem. Soc.*, **81**, 4434 (1959).
- [8] R. WANKO, Dissertation, Universität Wien, 1995.
- [9] M. SAINSBURY, *Synthesis*, **1977**, 437.
- [10] G. W. GRIBBLE und M. G. SAULNIER, *Heterocycles*, **23**, 1277 (1985).
- [11] G. MATHE, M. HAYAT, F. DE VASSAL, L. SCHWARZENBERG, M. SCHNEIDER, R. SCHLUMBERGER, C. JASMIN, C. ROSENFELD, *Rev. Eur. Etud. Clin. Biol.*, **15**, 541 (1970).

- [12] C. PAOLETTI, J. B. LE PECQ, N. DAT-XUONG, P. JURET, H. GARNIER, J. L. AMIEL, J. ROUESSE, *Recent Res. Cancer Res.*, **74**, 107 (1980).
- [13] J.-B. LE PECQ, C. GOSSE, N. DAT-XUONG und C. PAOLETTI, *C. R. Acad. Sci.*, **281**, 1365 (1975).
- [14] C. PAOLETTI, S. CROS, N. DAT-XUONG, P. LECOINTE und A. MOISAND, *Chem. Biol. Interact*, **25**, 45 (1979).
- [15] P. JURET, J. F. HERON, J. E. COUETTE, T. DELOZIER und Y. LE TALAER, *Cancer Treat Rep.*, **66**, 1909 (1982).
- [16] A. U. BUZDAR, G. N. HORTOBAGYI, L. T. ESPARZA, F. A. HOLMES, J. S. RO, G. FRASCHINI, B. LICHTIGER, *Oncology*, **47**, 101 (1990).
- [17] J. ROUÉSSÉ, M. SPIELMAN, F. TURPIN, T. LE CHEVALIER, M. AZAB und J. M. MONDÉSIR, *Eur. J. Cancer*, **29**, 856 (1993).
- [18] M. MARTY, C. JASMIN, P. POUILLART, C. GISSELBRECHT, G. GOUVEIA und H. MAGDALAINAT, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **22**, 360 (1981).
- [19] V. PIERSON, A. PIERRÉ, Y. POMMIER und P. GROS, *Cancer Res.*, **48**, 1404 (1988).
- [20] J. BALOSSO, N. GIOCANTI und V. FAVAUDON, *Cancer Res.*, **51**, 3204 (1991).
- [21] C. AUCLAIR, A. PIERRÉ, E. VOISIN, O. PEPIN, S. CROS, C. COLAS, J.-M. SAUCIER, B. VERSCHUERE, P. GROS und C. PAOLETTI, *Cancer Res.*, **47**, 6254 (1987).

- [22] P. CAPPELAERE, M. C. DEMAILLE, M. AZAB und M. DEGARDIN, *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, **12**, Abst. 360 (1993).
- [23] Eine Beschreibung der Synthese und biologischen Eigenschaften von *Retelliptin* findet sich in *Drugs of the Future*, **19**, 122 (1994).
- [24] N. HARADA, T. KAWAGUCHI, I. INOUE, M. OHASHI, K. ODA, T. HASHIYAMA und K. TSUJIHARA, *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 134 (1997).
- [25] A. PIERRÉ, G. ATASSI, M. DEVISSAGUET und E. BISAGNI, *Drugs of the Future*, **22**, 53 (1997).
- [26] S. ARCHER, B. S. ROSS, L. P. -MATTOCCIA und D. CIOLI, *J. Med. Chem.*, **30**, 1204 (1987).
- [27] J.-B. LE PECQ, N. DAT-XUONG, C. GOSSE und C. PAOLETTI, *C. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **71**, 5078 (1974).
- [28] M. MAFTOUH, R. BESSELIEVRE, B. MONSERRAT, P. LESCA, B. MEUNIER, H. P. HUSSON und C. PAOLETTI, *J. Med. Chem.*, **28**, 708 (1985).
- [29] K. W. KOHN, M. G. WARING, D. GLAUBIGER und C. FRIEDMAN, *Cancer Res.*, **35**, 71 (1975).
- [30] P. POTIER, *Pure & Appl. Chem.*, **58**, 737 (1986).
- [31] M. P. SINGH, G. C. HILL, D. PEOC'H, B. RAYNER, J. L. IMBACH und J. W. LOWN, *Biochemistry*, **33**, 10271 (1994).
- [32] L. M. LI und C. H. COWIE, *Biochem. Biophys. Acta*, **353**, 3751 (1974).
- [33] V. S. SETHI, *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 2026 (1981).

- [34] P. FOSSÉ, B. RENÉ, M. CHARRA, C. PAOLETTI und J. M. SAUCIER, *Mol. Pharmacol.*, **42**, 590 (1992).
- [35] C. AUCLAIR und C. PAOLETTI, *J. Med. Chem.*, **24**, 289 (1981).
- [36] B. DUGUÉ, C. AUCLAIR und B. MEUNIER, *Cancer Res.*, **46**, 3828 (1986).
- [37] M. MAFTOUH, G. MEUNIER, B. DUGUÉ, B. MONSARRAT, B. MEUNIER und C. PAOLETTI, *Xenobiotica*, **13**, 303 (1983).
- [38] M. SUFFNESS und G. CORDELL in *The Alkaloids* (Editor: A. BROSSI), Vol. **25**, S. 89, Academic Press, London, 1985.
- [39] R. JASZTOLD-HOWORKO, C. LANDRAS, A. PIERRÉ, G. ATASSI, N. GUILBAUD, L. KRAUS-BERTHIER, S. LEONCE, Y. ROLLAND, J. F. PROST und E. BISAGNI, *J. Med. Chem.*, **37**, 2445 (1994).
- [40] G. MEUNIER, D. DE MONTAUZON, J. BERNADOU, G. GRASSY, M. BONNAFOUS, S. CROS und B. MEUNIER, *Mol. Pharmacol.*, **33**, 93 (1988).
- [41] T. HONDA, M. KATO, M. INOUE, T. SHIMAMOTO, K. SHIMA, T. NAKANISHI, T. YOSHIDA und T. NOGUCHI, *J. Med. Chem.*, **31**, 1295 (1988).
- [42] C. DUCROCQ, F. WENDLING, M. TOURBEZ-PERRIN, C. RIVALLE, P. TAMBOURIN, F. POCHON, E. BISAGNI und J.-C. CHERMANN, *J. Med. Chem.*, **23**, 1212 (1980).

- [43] J. P. CANO, G. FABRE, M. BOURRIÉ, E. MARTI, B. SAINT AUBERT, H. JOYEUX und Y. BERGER, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **32**, Abst. 2062 (1991).
- [44] A. T. BOOGAARD, U. K. PANDIT und G.-J. KOOMEN, *Tetrahedron*, **50**, 4811 (1994).
- [45] L. KNORR, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **18**, 299 (1885).
- [46] E. FISCHER, *Liebigs Ann. Chem.*, **236**, 116 (1886).
- [47] E. TÄUBER, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **28**, 451 (1895).
- [48] a) G. HEINISCH und H. FRANK in *Progress in Medicinal Chemistry* (Editor: G. P. ELLIS und G. B. WEST), Vol. **27**, S. 1, Elsevier, Amsterdam-London-New York-Tokyo, 1992.
b) G. HEINISCH und H. KOPELENT-FRANK in *Progress in Medicinal Chemistry* (Editor: G. P. ELLIS und D. K. LUSCOMBE), Vol. **29**, S. 141, Elsevier, Amsterdam-London-New York-Tokyo, 1992.
- [49] R. GROTE, Y. CHEN, A. ZEECK, Z. CHEN, H. ZÄHNER, P. MISCHNIK-LÜBBECKE und W. A. KÖNIG, *J. Antibiot.*, **41**, 595 (1988).
- [50] A. ALBERT, R. GOLDACRE und J. PHILLIPS, *J. Chem. Soc.*, **1948**, 2240.
- [51] A. G. LENHERT in *Pyridazines* (Editor: R. N. CASTLE), John Wiley & Sons, New York-London-Sydney-Toronto, 1973.
- [52] N. HAIDER und R. WANKO, unpubliziert.

- [53] H. LANDELLE, D. LADUREE, M. CUGNON DE SEVRICOURT und M. ROBBA, *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2679 (1989).
- [54] O. DIELS und K. ALDER, *Liebigs Ann. Chem.*, **460**, 98 (1928).
- [55] H. PLIENINGER, W. MÜLLER und K. WEINERTH, *Chem. Ber.*, **97**, 667 (1964).
- [56] C. J. MOODY, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2505 (1985).
- [57] M. J. S. DEWAR, E. G. ZOEBISCH, E. F. HEALY und J. J. P. STEWART, *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, 3902 (1985).
- [58] AMPAC 5.0, © 1994 Semichem, 7128 Summit, Shawnee, KS 66216, USA.
- [59] NCI/NIH, Development Therapeutics Program, <http://dtp.nci.nih.gov/main.html>
- [60] N. HAIDER, R. JBARA, F. KHADAMI und R. WANKO, *Heterocycles*, **48**, 1609 (1998).



5. ANHANG

SPEKTREN

IR: Tafeln 1, 6, 11, 15, 19, 25, 31, 37 und 43

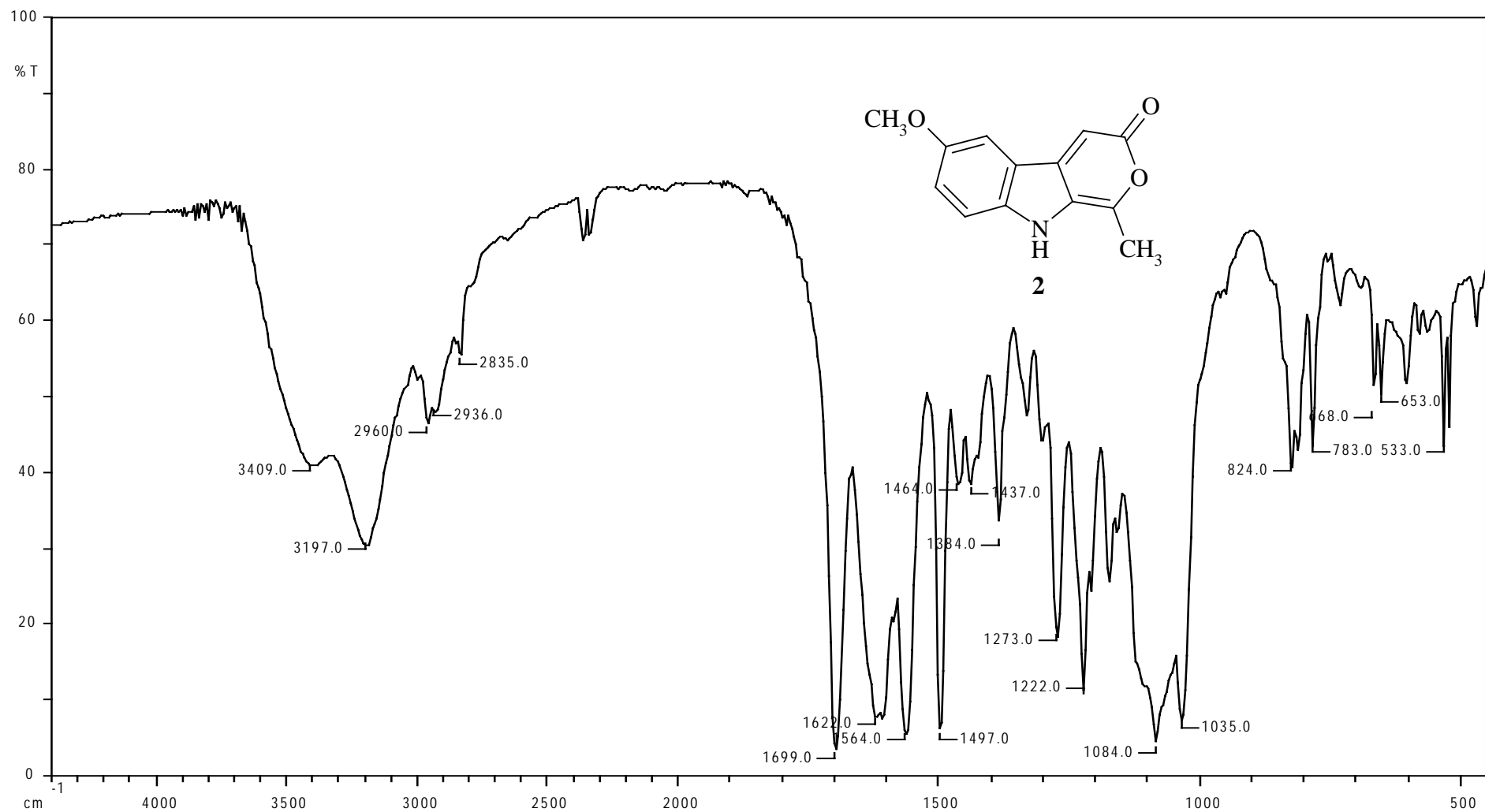
MS: Tafeln 2, 7, 12, 16, 20, 26, 32, 38 und 44

¹H-NMR: Tafeln 3, 4, 8, 9, 13, 14, 17, 18, 21, 22, 23, 27, 28
29, 33, 34, 35, 39, 40, 41, 45, 46 und 47

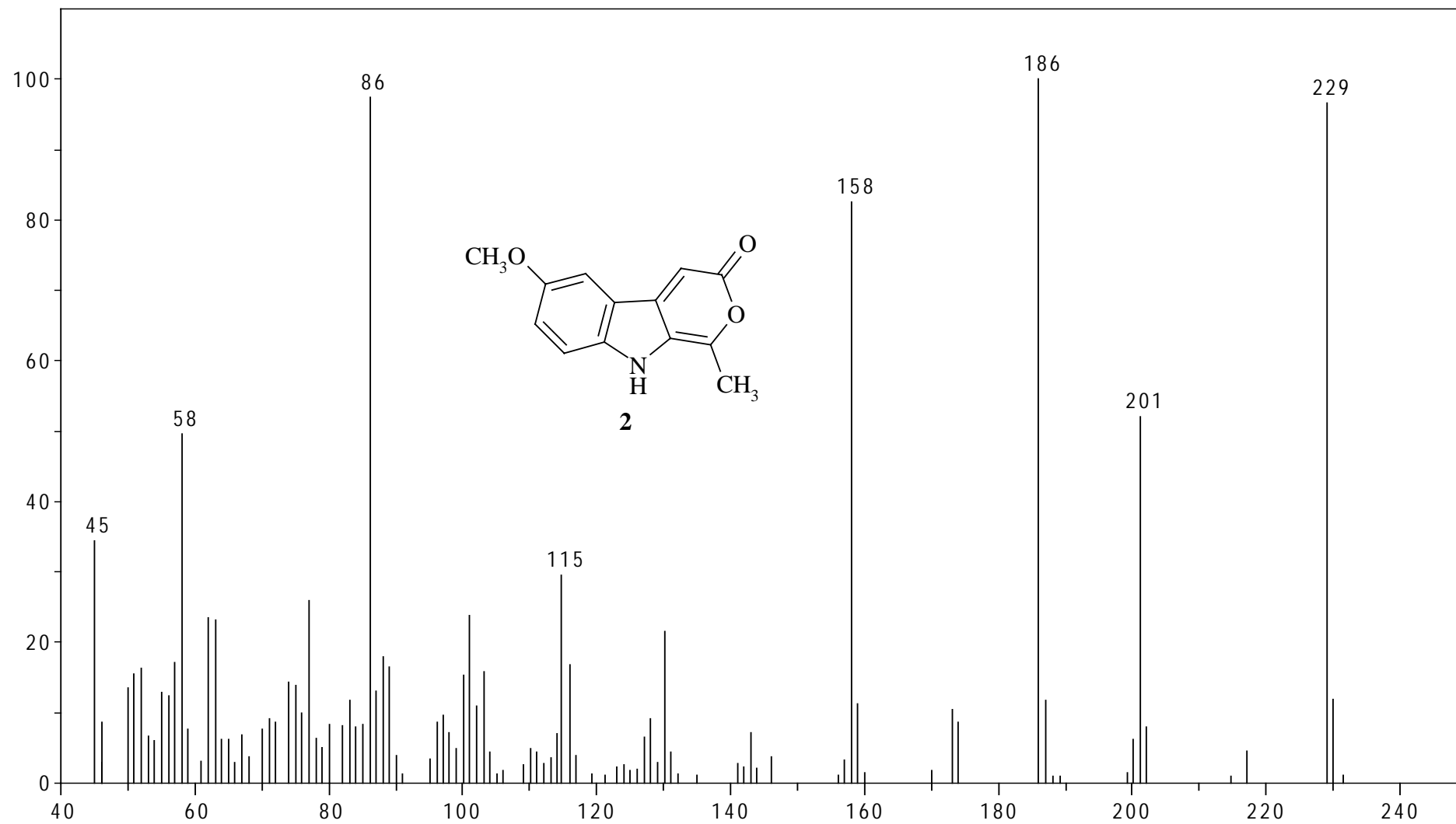
NOE: Tafeln 5, 10, 24, 30, 36, 42 und 48

ZUSAMMENFASSUNG

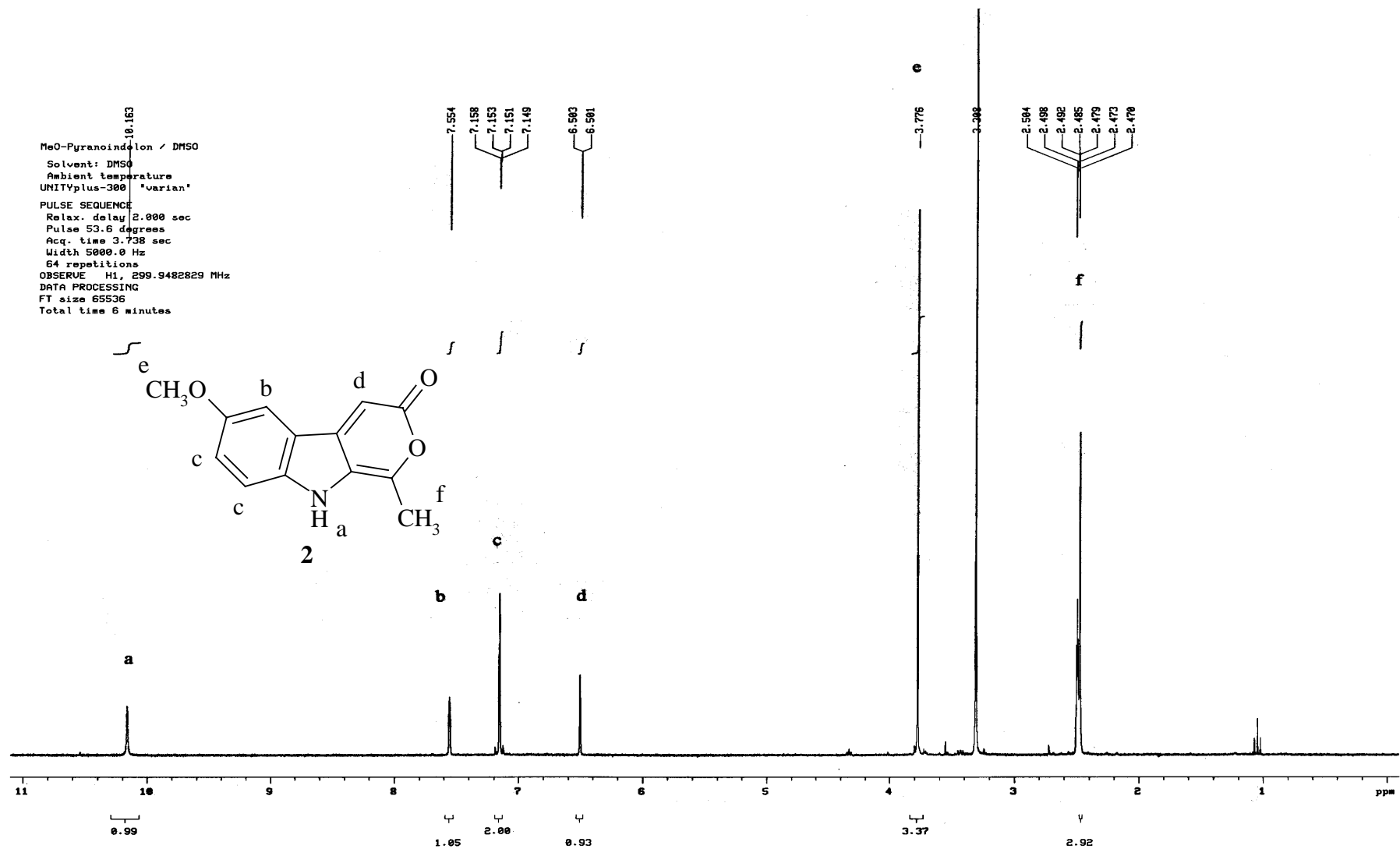
LEBENS LAUF



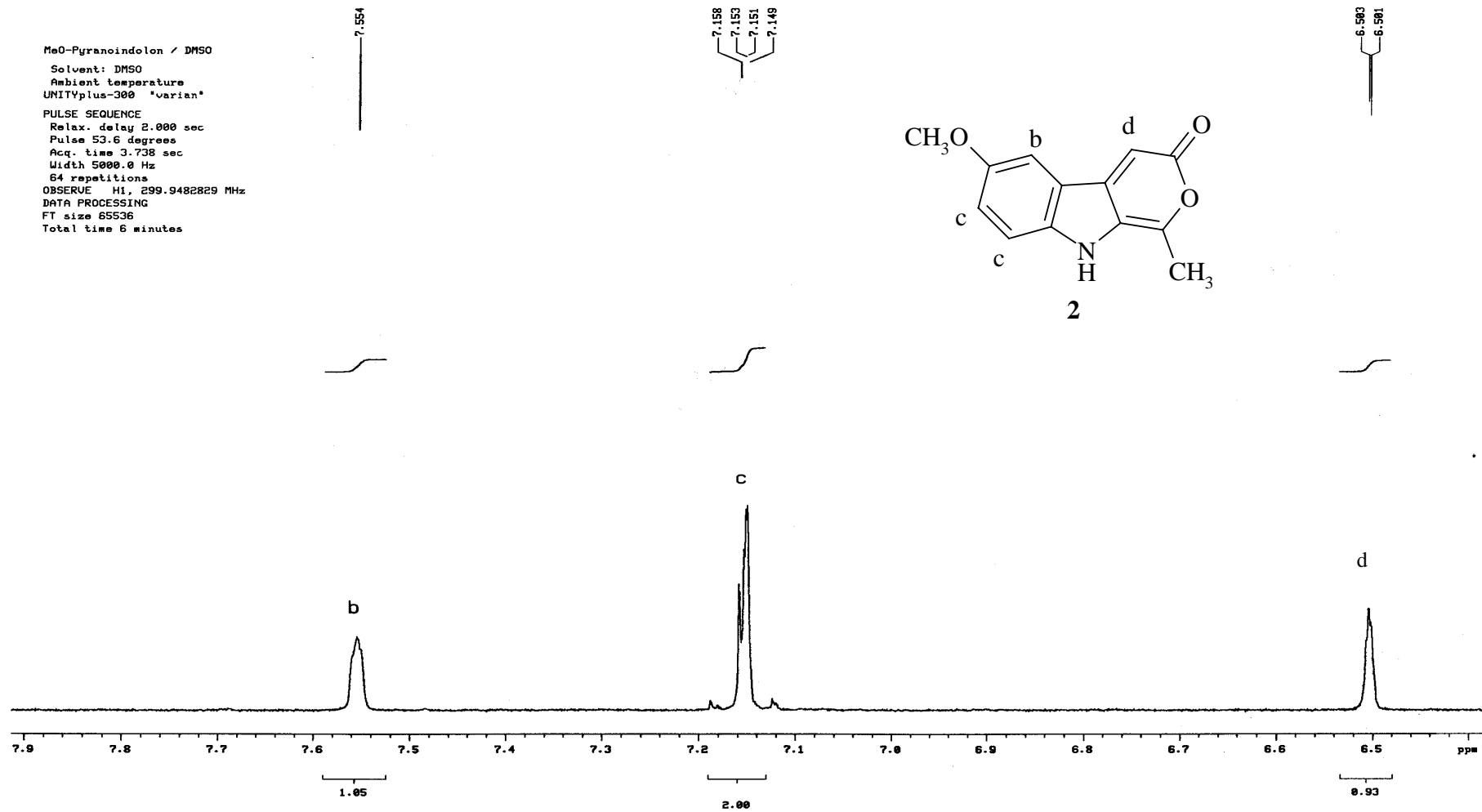
Tafel 1: 6-Methoxy-1-methylpyrano[3,4-*b*]indol-3(9*H*)-on (**2**)



Tafel 2: 6-Methoxy-1-methylpyrano[3,4-*b*]indol-3(9*H*)-on (**2**)



Tafel 3: 6-Methoxy-1-methylpyrano[3,4-*b*]indol-3(9*H*)-on (2)

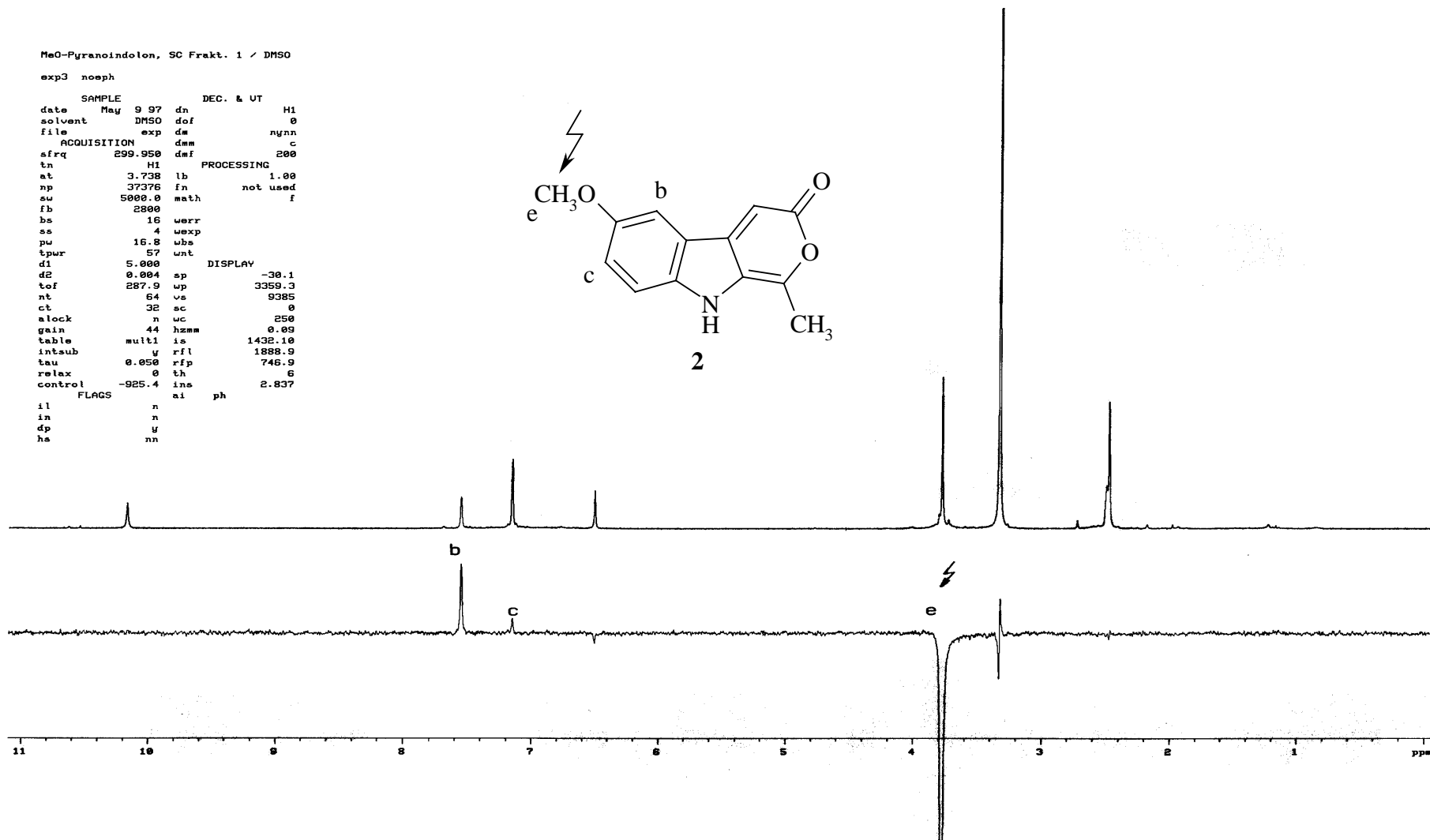
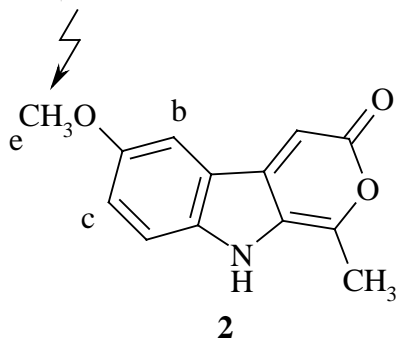


Tafel 4: 6-Methoxy-1-methylpyrano[3,4-*b*]indol-3(9*H*)-on (2)

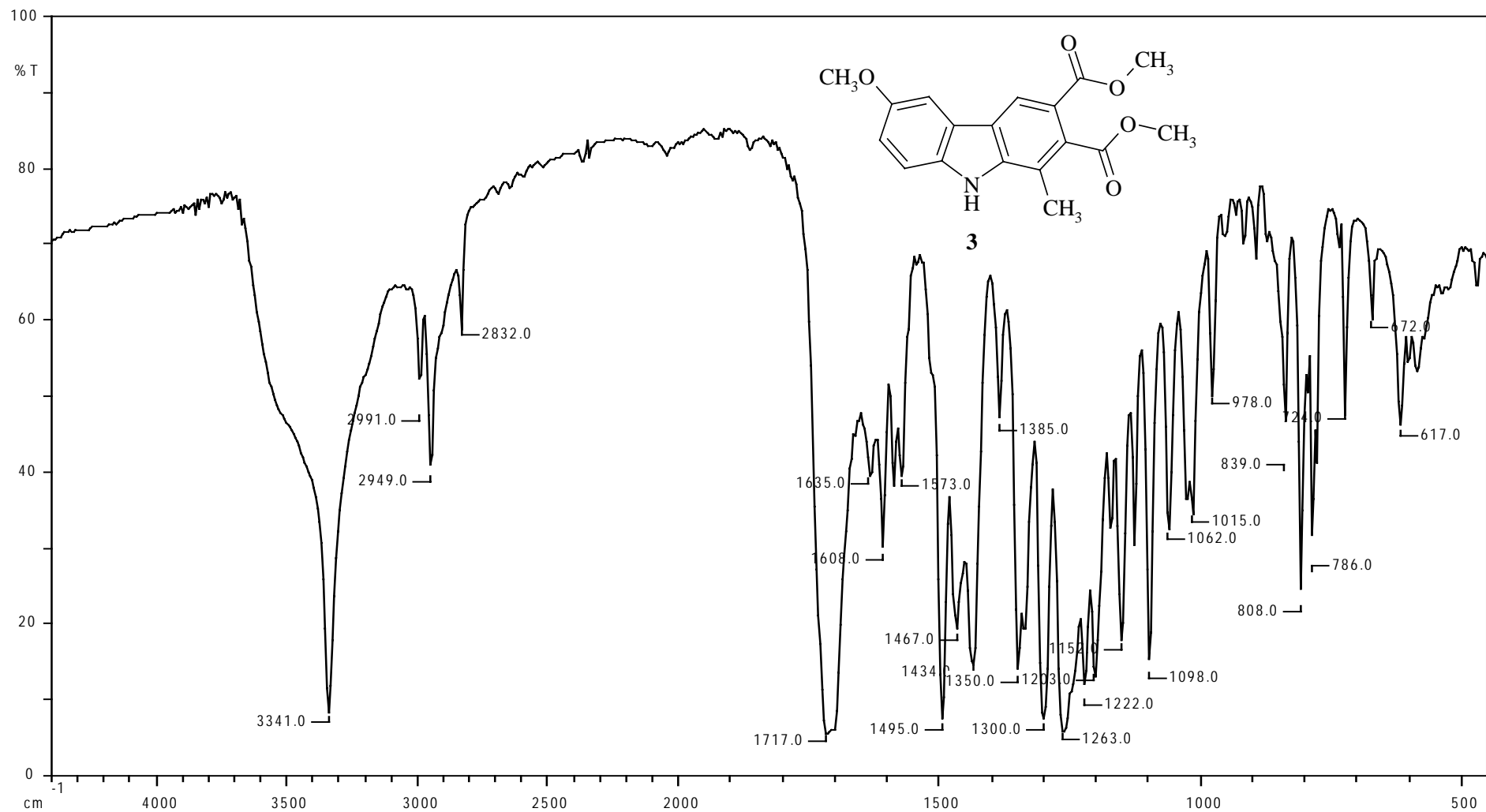
MeO-Pyranoindolon, SC Frakt. 1 / DMSO

exp3 noeph

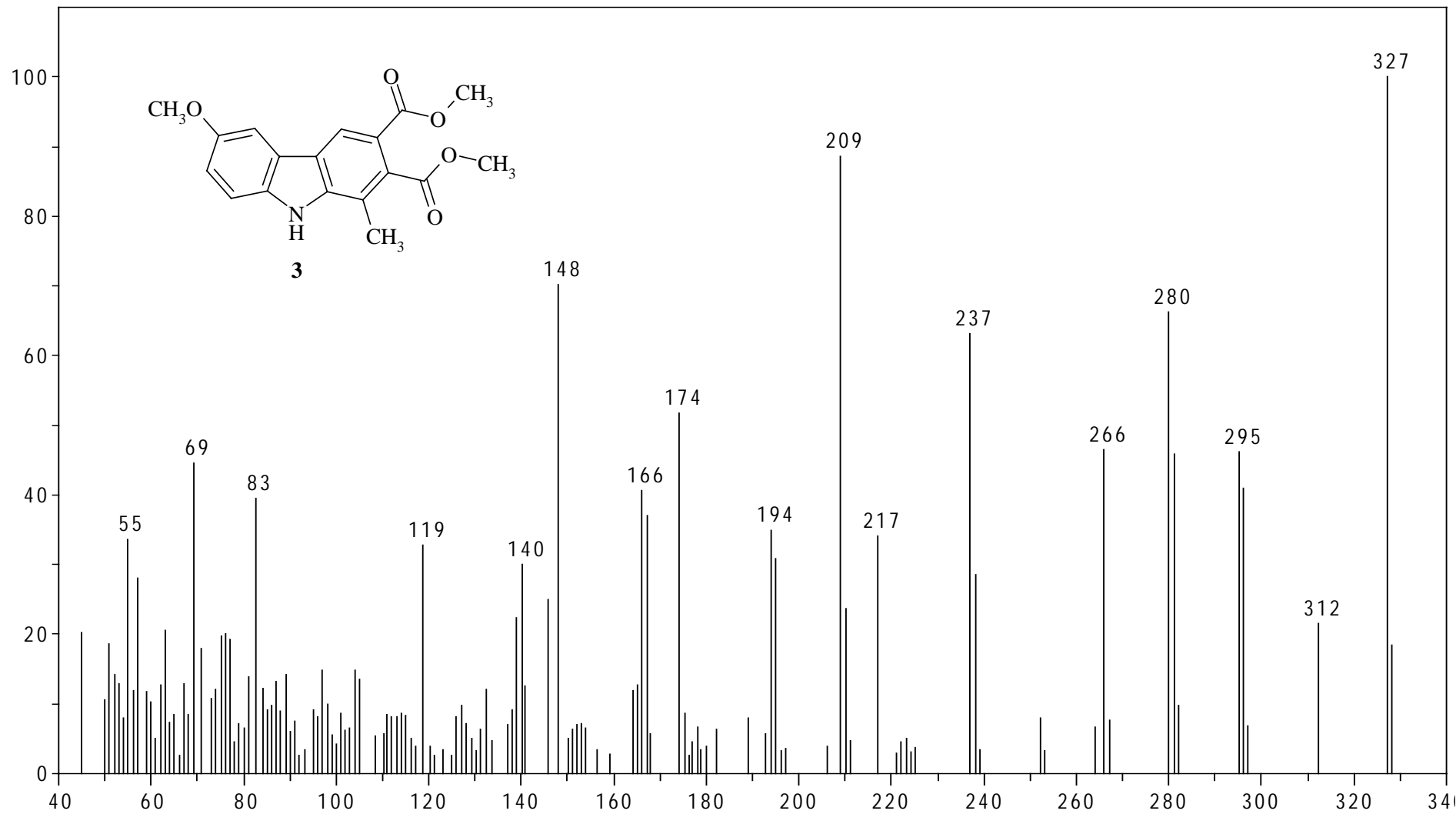
SAMPLE		DEC. & UT	
date	May 9 97	dn	H1
solvent	DMSO	dof	0
file	exp	dm	nynn
ACQUISITION		PROCESSING	
sfrq	299.950	dwm	c
tn	H1	dwf	200
at	3.738	lb	1.00
np	37376	fn	not used
su	5000.0	math	f
fb	2800		
bs	16	werr	
ss	4	wexp	
pw	16.8	ubs	
tpur	57	wnt	
d1	5.000	DISPLAY	
d2	0.004	sp	-30.1
tof	287.9	up	3359.3
nt	64	vs	9385
ct	32	ac	0
alock	n	wc	250
gain	44	hzmm	0.09
table	mult1	is	1432.10
intsub	y	rfl	1888.9
tau	0.050	rffp	746.9
relax	0	th	5
control	-925.4	ins	2.837
FLAGS		ai	ph
il	n		
in	n		
dp	y		
hs	nn		



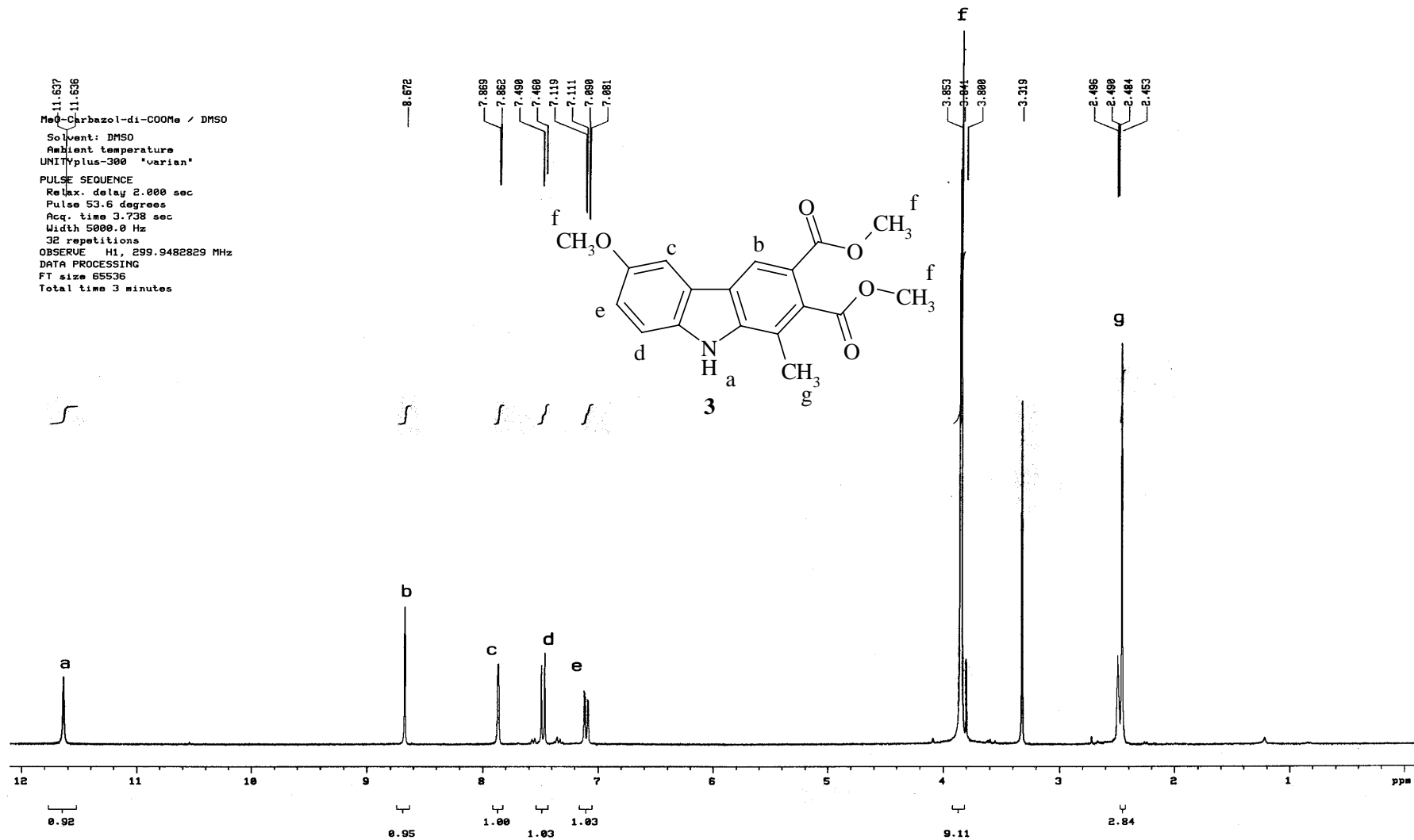
Tafel 5: 6-Methoxy-1-methylpyrano[3,4-*b*]indol-3(9*H*)-on (2, NOE)



Tafel 6: Dimethyl 6-Methoxy-1-methyl-9H-carbazol-2,3-dicarboxylat (**3**)

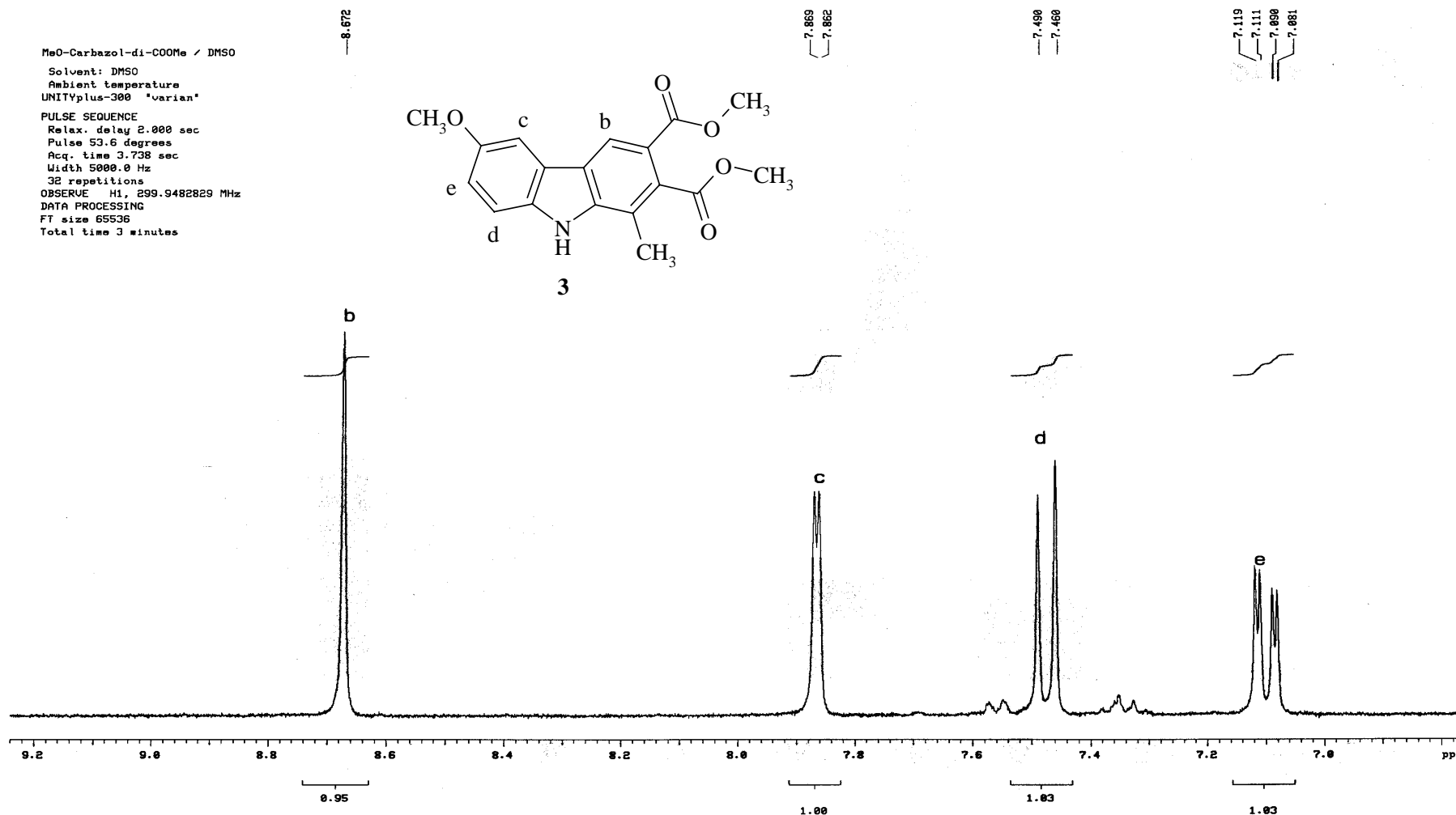
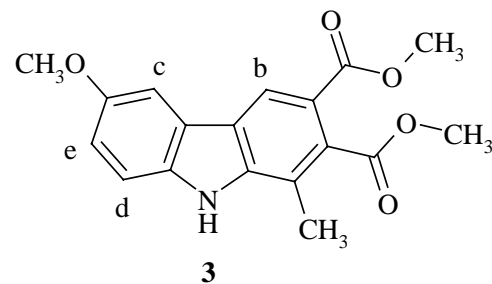


Tafel 7: Dimethyl 6-Methoxy-1-methyl-9H-carbazol-2,3-dicarboxylat (**3**)

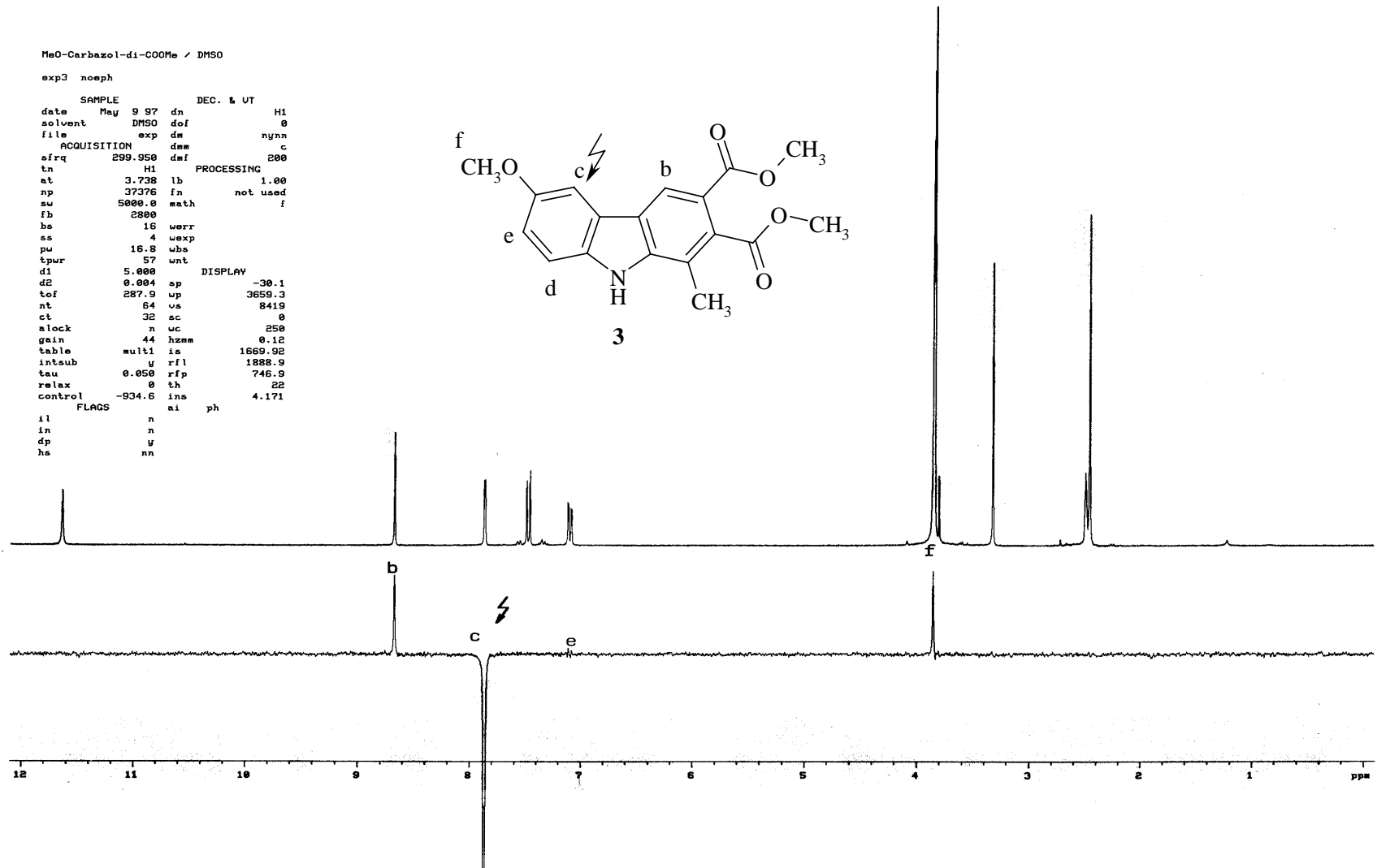


Tafel 8: Dimethyl 6-Methoxy-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat (**3**)

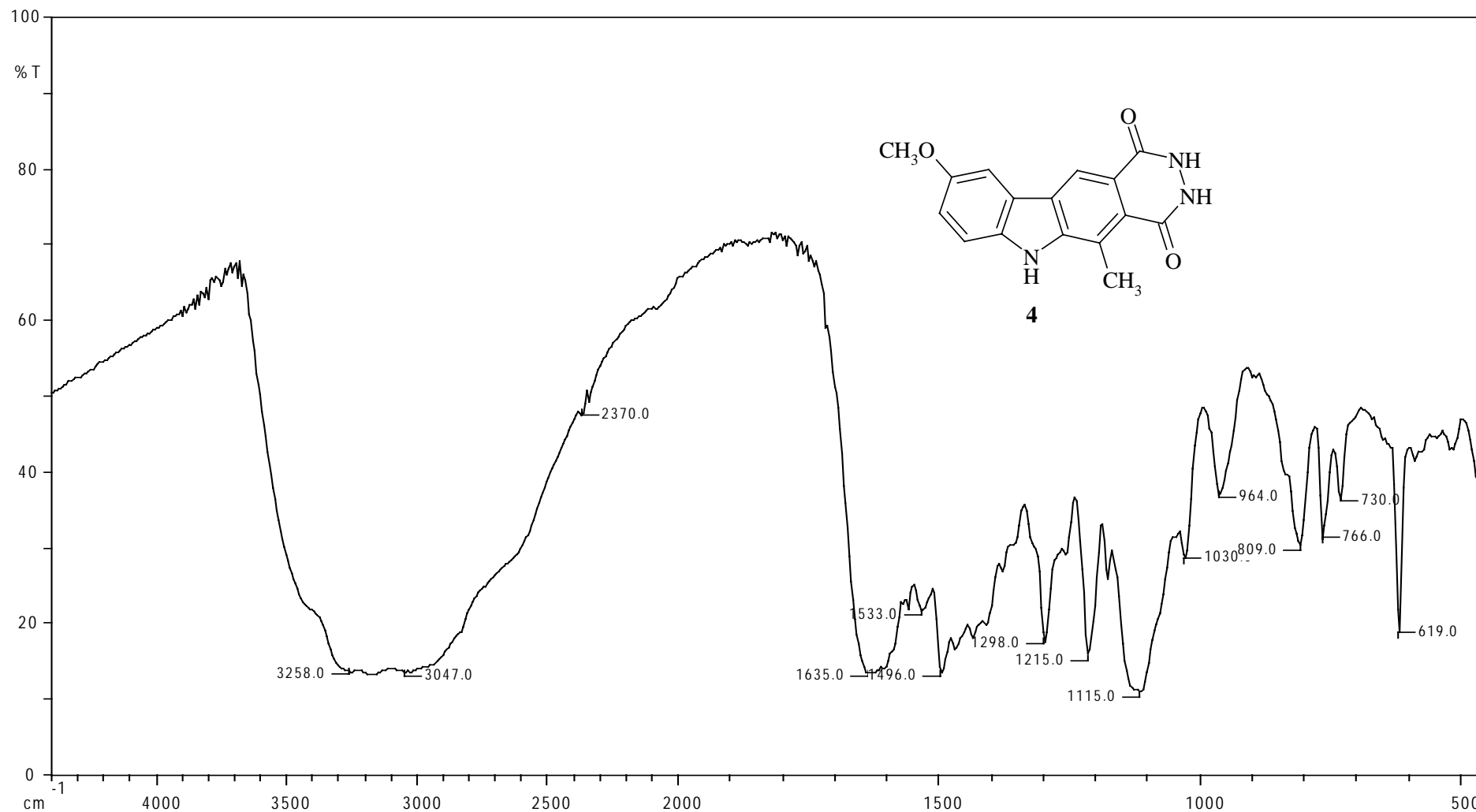
MeO-Carbazol-di-COOMe / DMSO
Solvent: DMSO
Ambient temperature
UNITYplus-300 "varian"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 2.000 sec
Pulse 53.6 degrees
Acq. time 3.738 sec
Width 5000.0 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1, 299.9482829 MHz
DATA PROCESSING
F1 size 65536
Total time 3 minutes



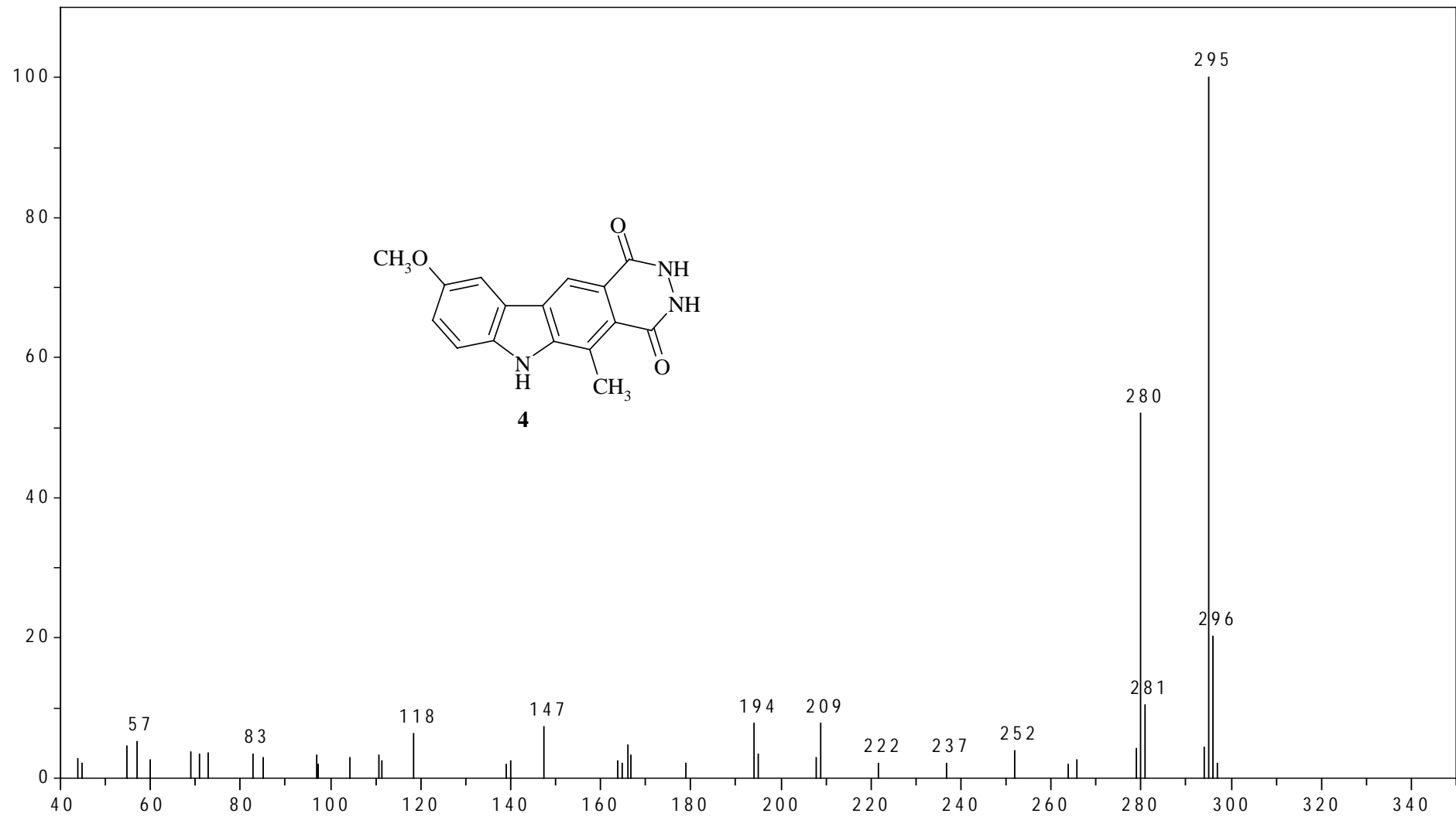
Tafel 9: Dimethyl 6-Methoxy-1-methyl-9H-carbazol-2,3-dicarboxylat (3)



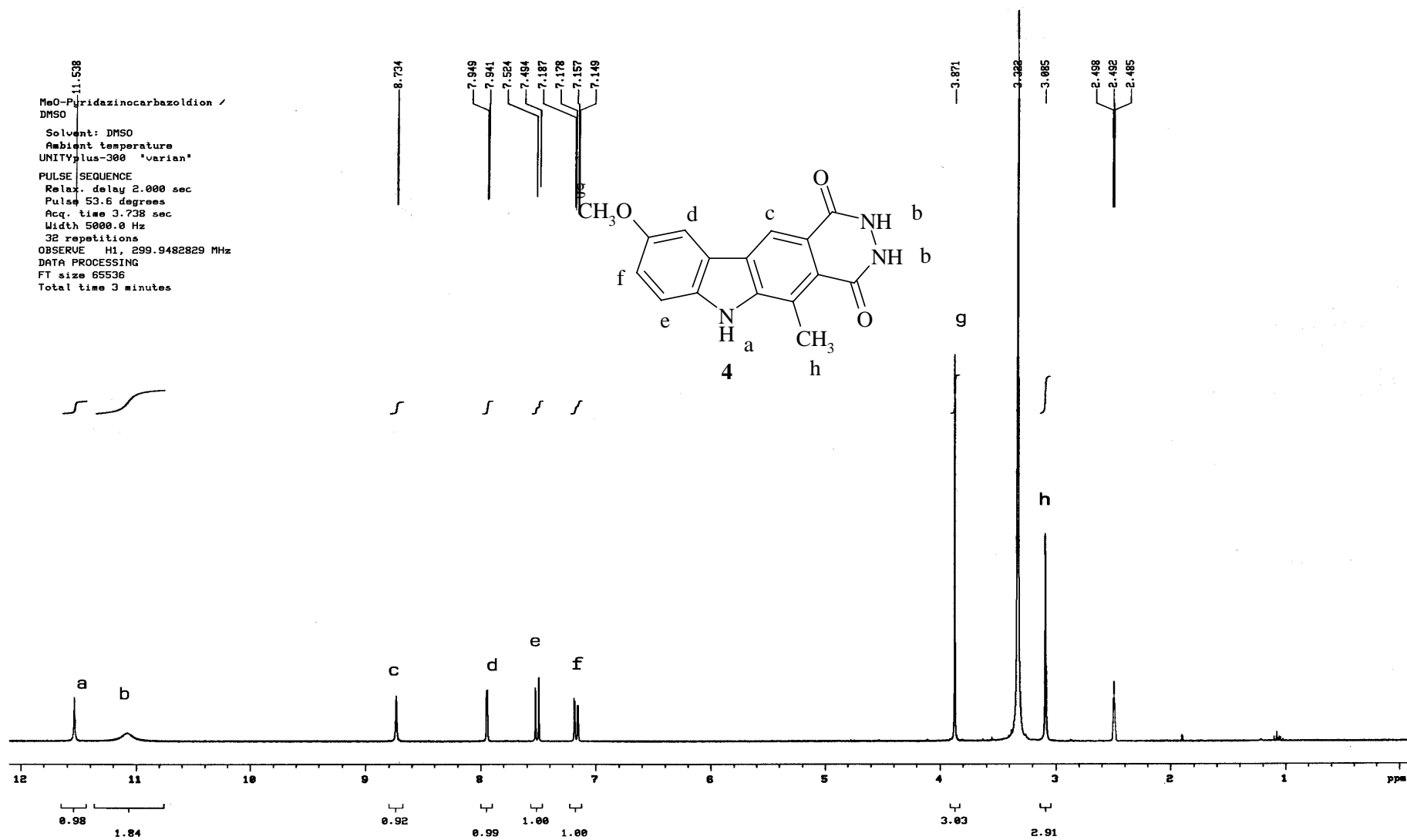
Tafel 10: Dimethyl 6-Methoxy-1-methyl-9H-carbazol-2,3-dicarboxylat (**3**, NOE)



Tafel 11: 9-Methoxy-5-methyl-2,3,4,6-tetrahydro-1*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4-dion (**4**)



Tafel 12: 9-Methoxy-5-methyl-2,3,4,6-tetrahydro-1H-pyridazino[4,5-b]carbazol-1,4-dion (**4**)



Tafel 13: 9-Methoxy-5-methyl-2,3,4,6-tetrahydro-1H-pyridazino[4,5-b]carbazol-1,4-dion (4)

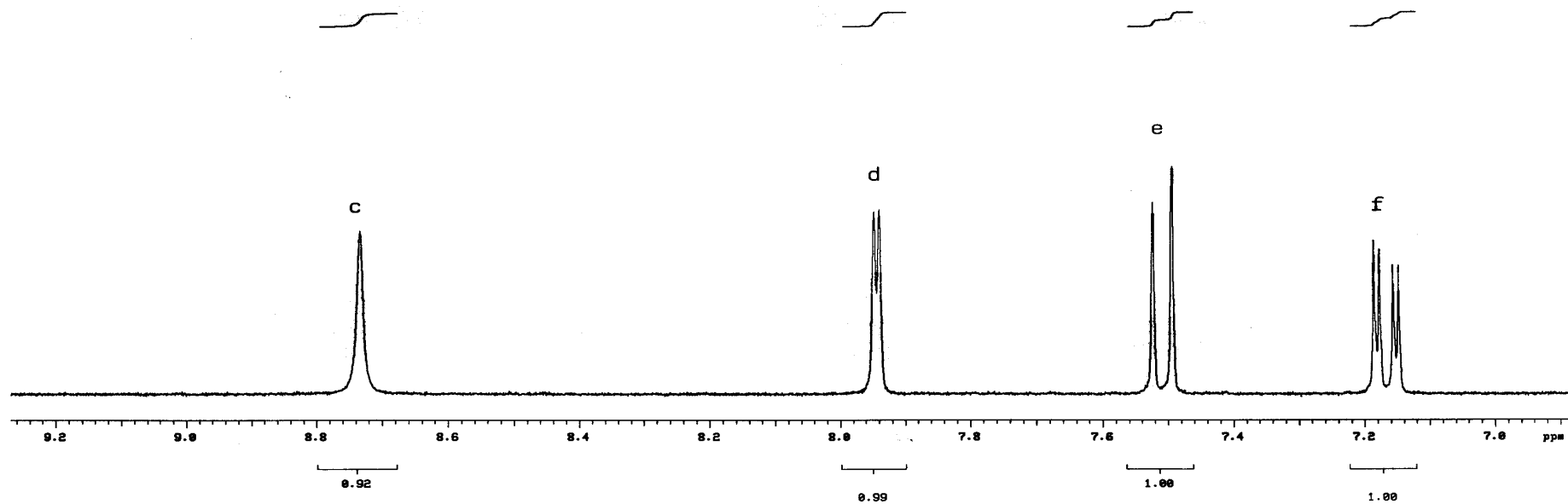
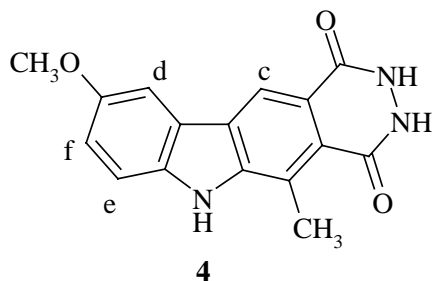
MeO-Pyridazinocarbazoldion /
 DMSO
 Solvent: DMSO
 Ambient temperature
 UNITYplus-300 'varian'
 PULSE SEQUENCE
 Relax. delay 2.000 sec
 Pulse 53.6 degrees
 Acq. time 3.738 sec
 Width 5000.0 Hz
 32 repetitions
 OBSERVE H1, 299.9482829 MHz
 DATA PROCESSING
 FT size 65536
 Total time 3 minutes

8.734

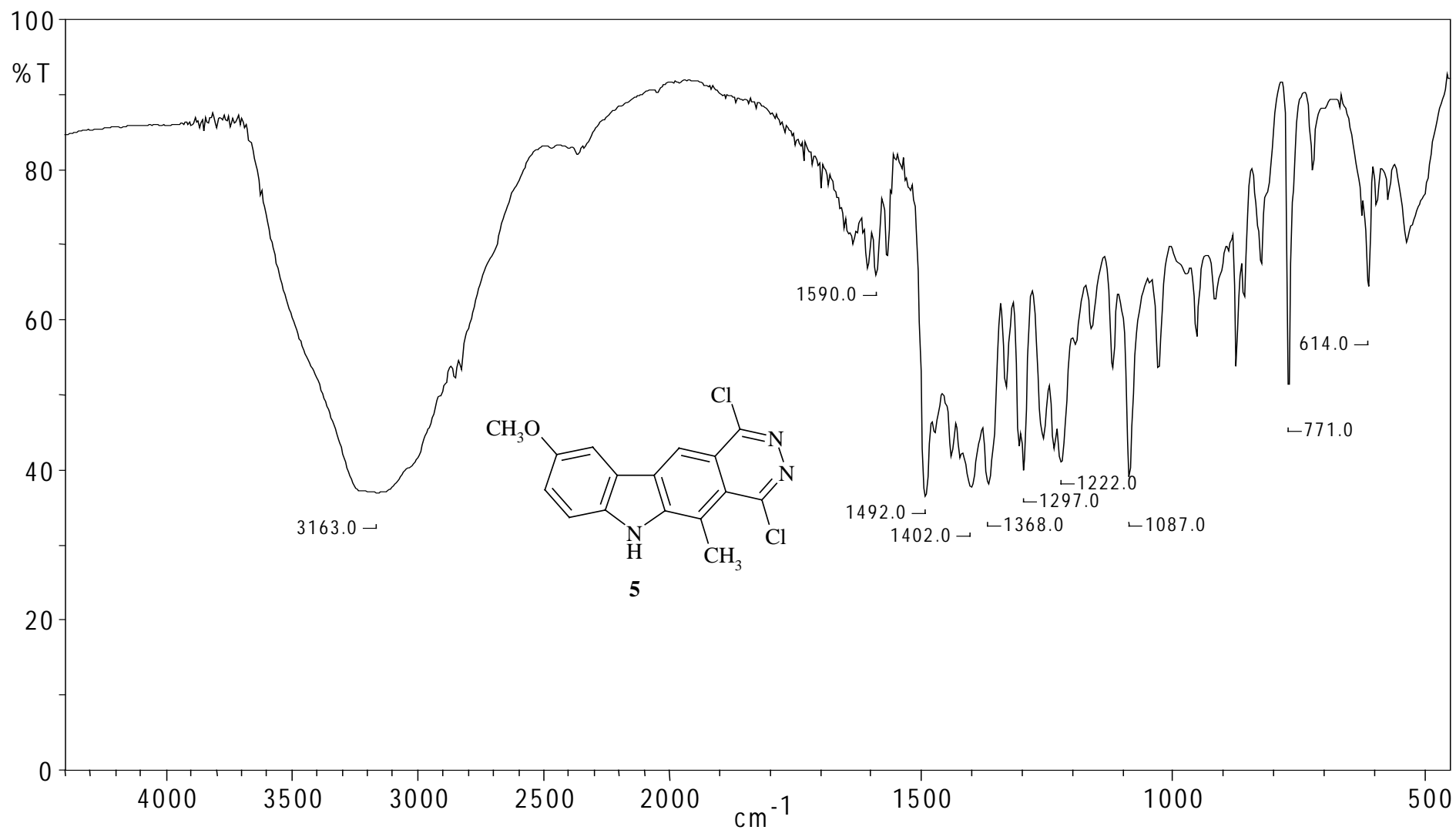
7.949
7.941

7.524
7.494

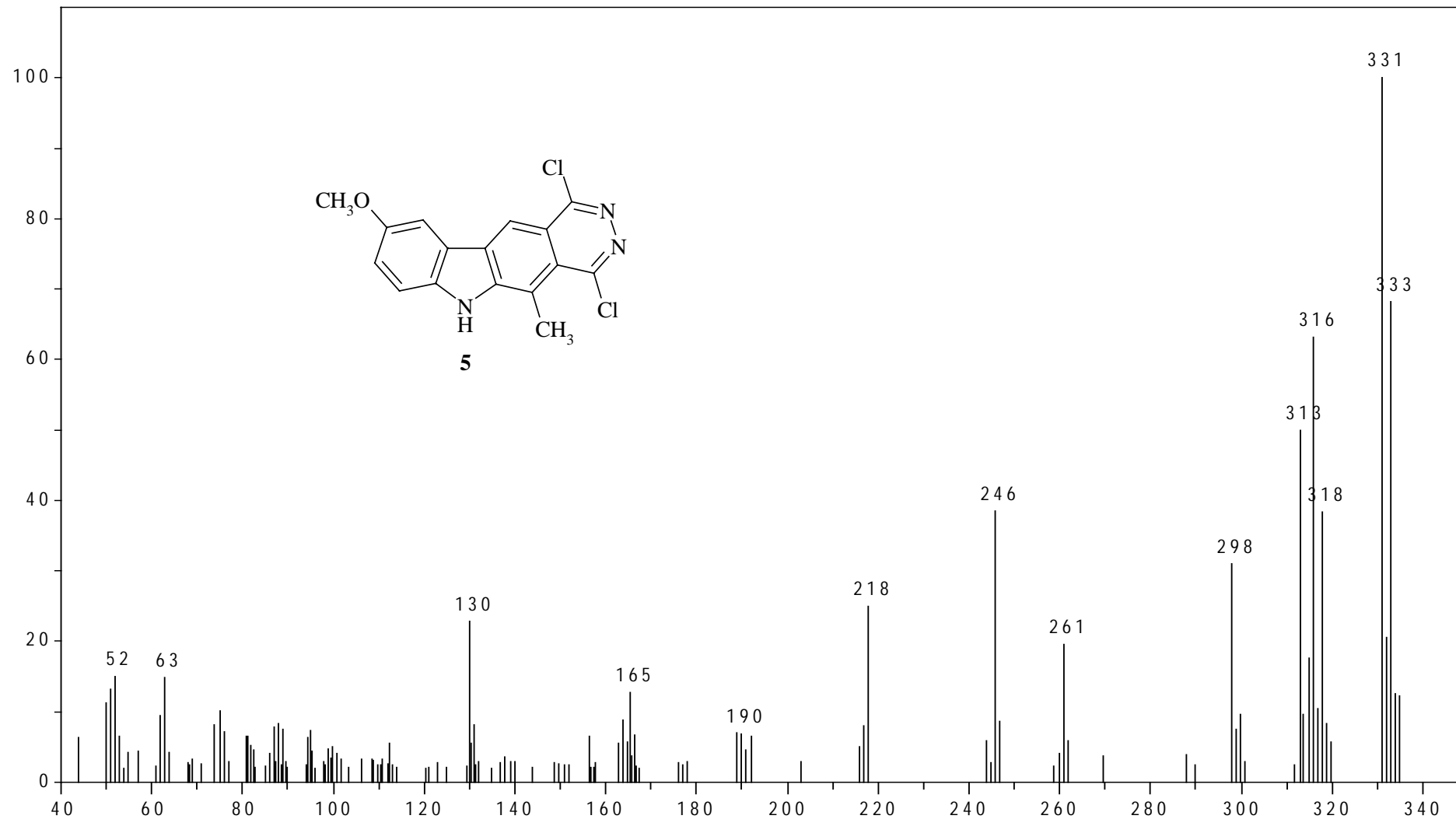
7.187
7.178
7.157
7.149



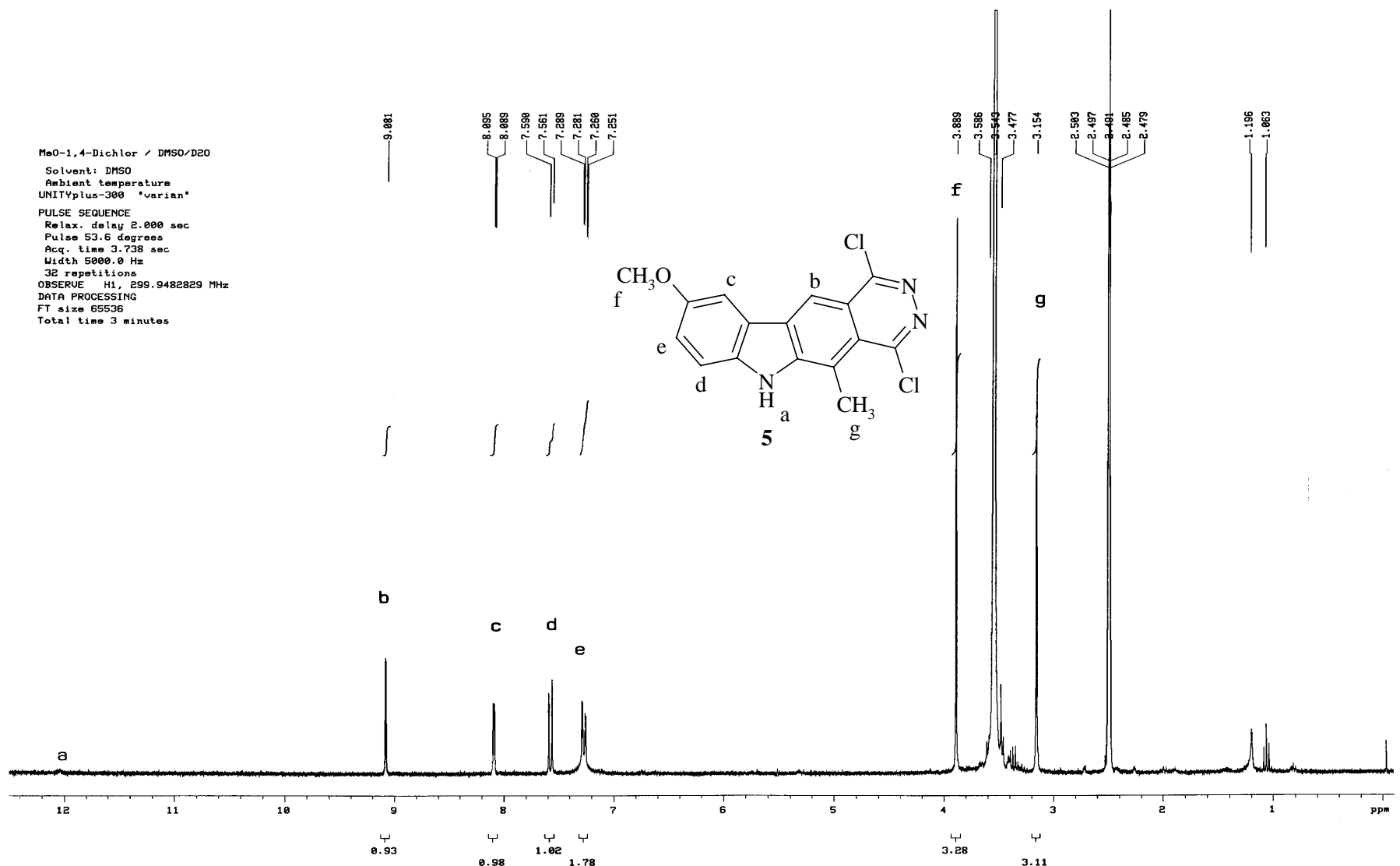
Tafel 14: 9-Methoxy-5-methyl-2,3,4,6-tetrahydro-1H-pyridazino[4,5-b]carbazol-1,4-dion (4)



Tafel 15: 1,4-Dichlor-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**5**)



Tafel 16: 1,4-Dichlor-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (**5**)



Tafel 17: 1,4-Dichlor-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (5)

MeO-1,4-Dichlor / DMSO-D2O

Solvent: DMSO
Ambient temperature
UNITYplus-300 "varian"

PULSE SEQUENCE

Relax. delay 2.000 sec

Pulse 53.6 degrees

Acq. time 3.738 sec

Width 5000.0 Hz

32 repetitions

OBSERVE H1, 299.9482829 MHz

DATA PROCESSING

FT size 65536

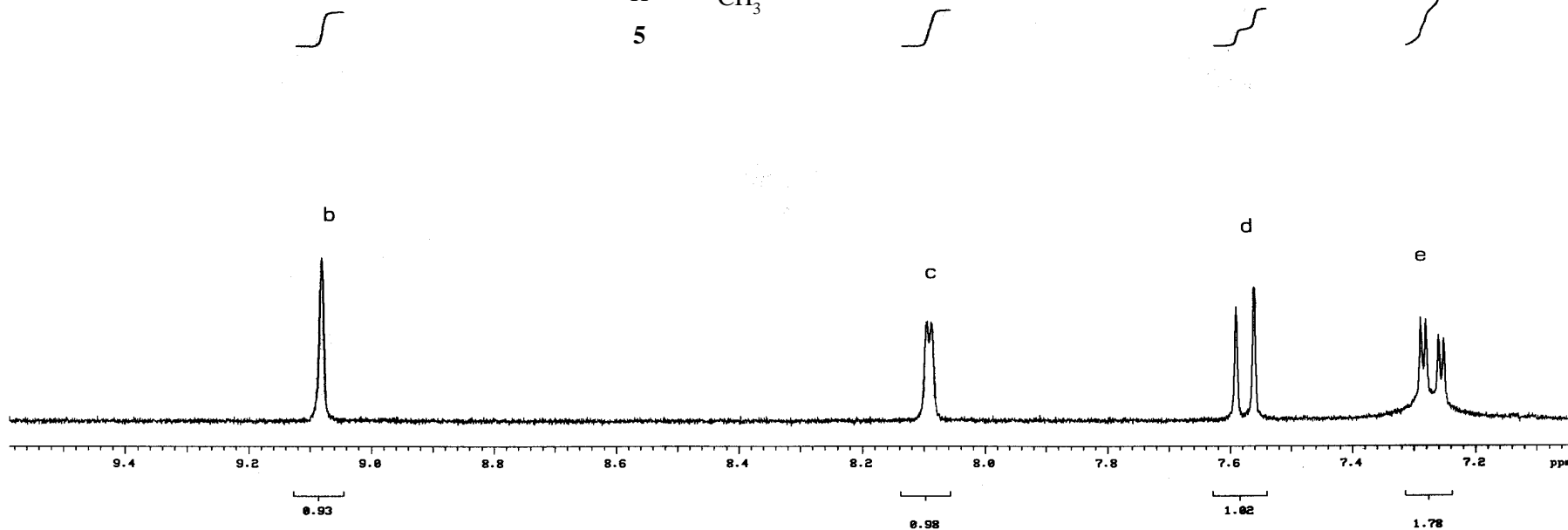
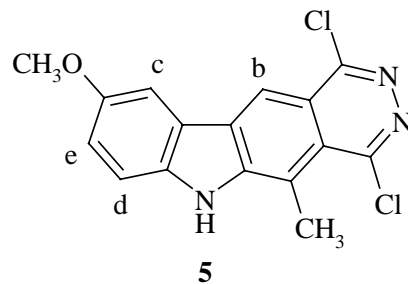
Total time 3 minutes

9.081

8.085
8.089

7.590
7.561

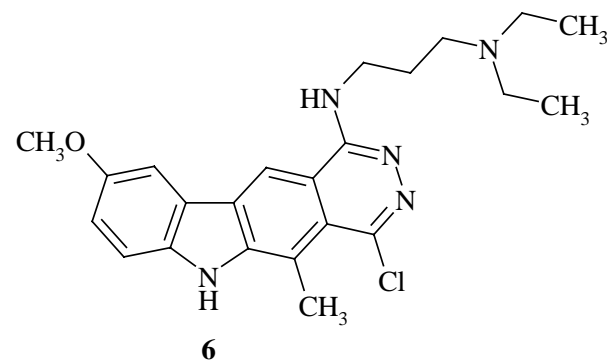
7.289
7.281
7.260
7.251

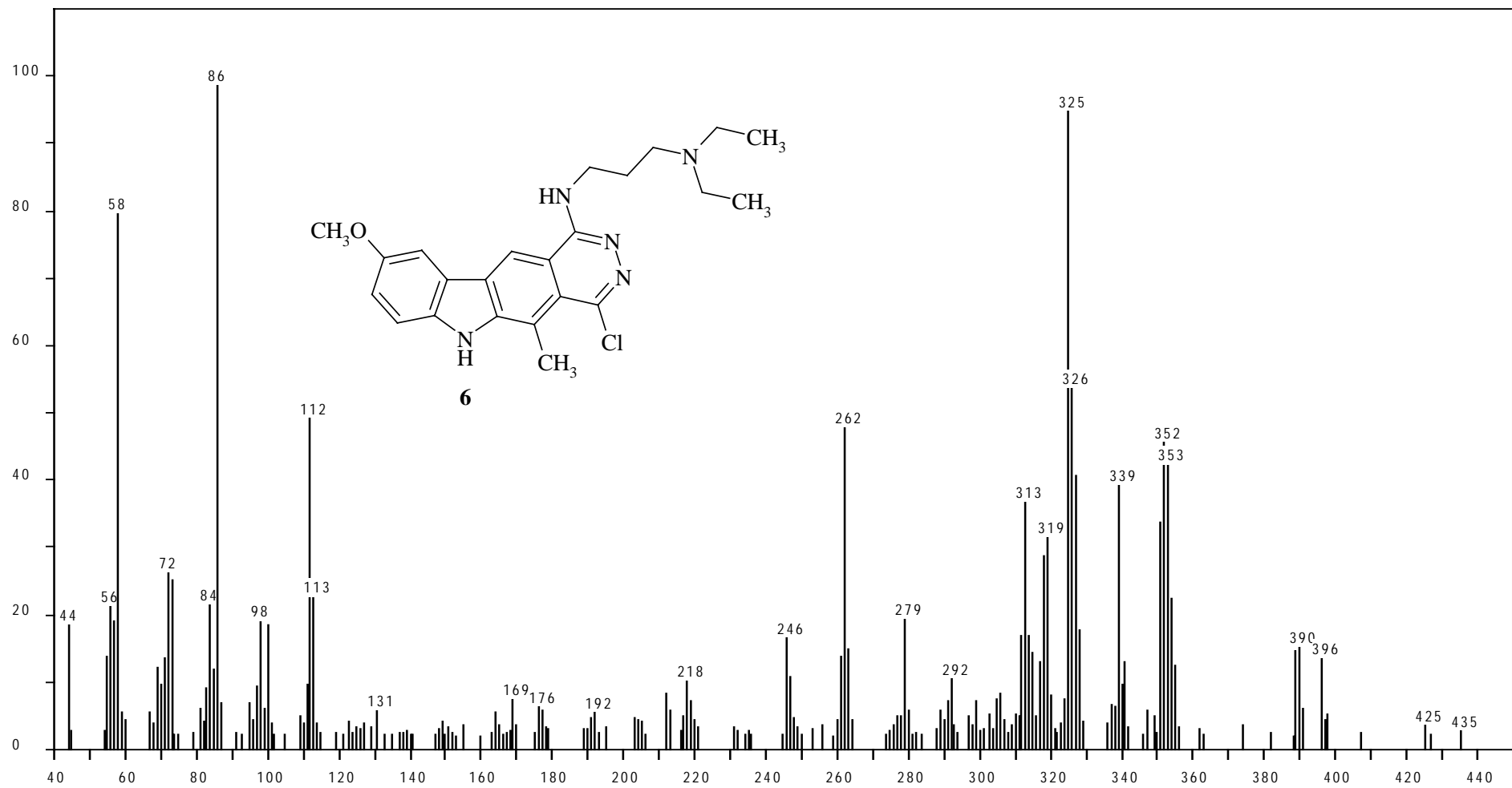


Tafel 18: 1,4-Dichlor-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (5)

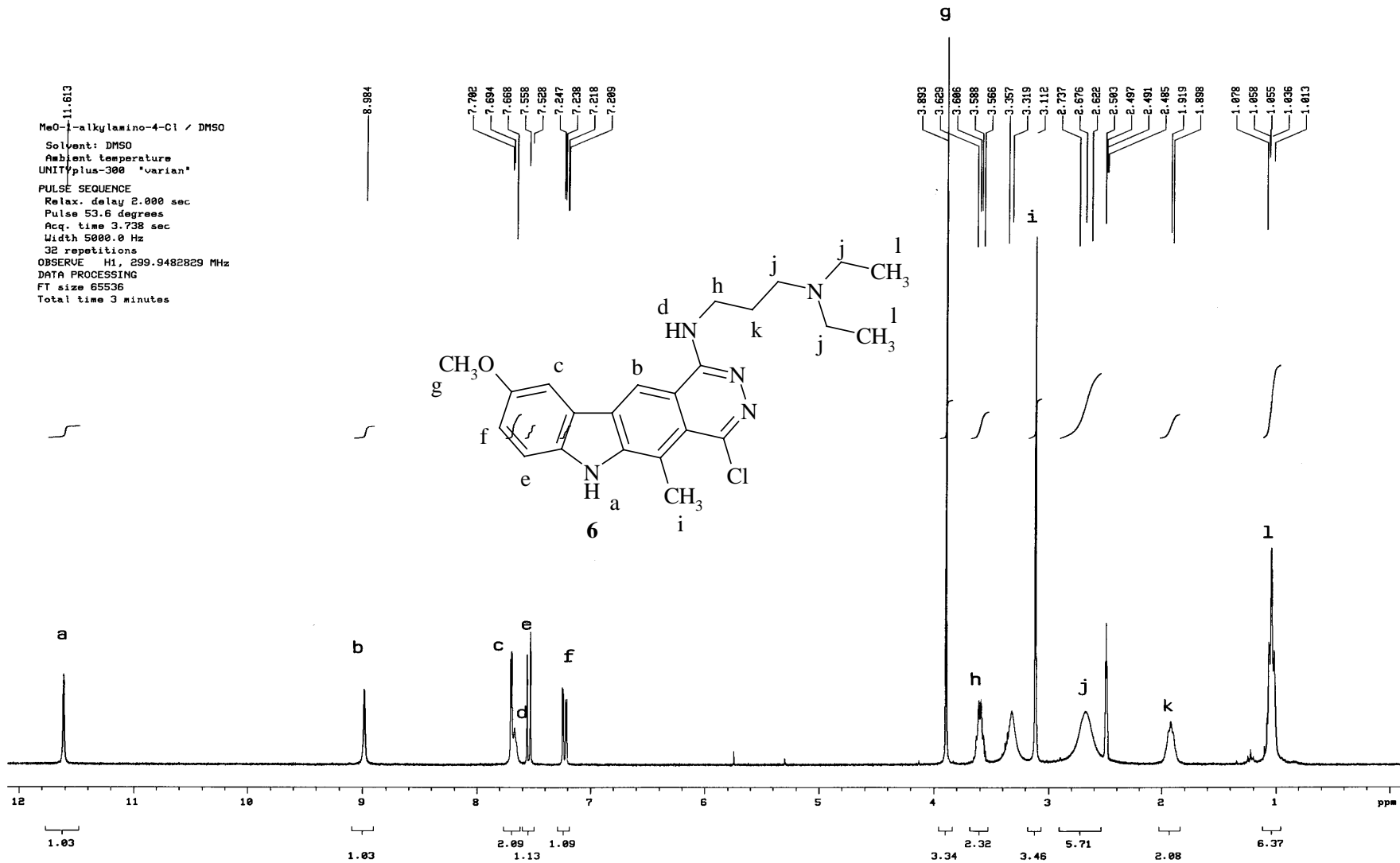
4-Chlor-1-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**6**)

Tafel 19: 4-Chlor-1-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**6**)

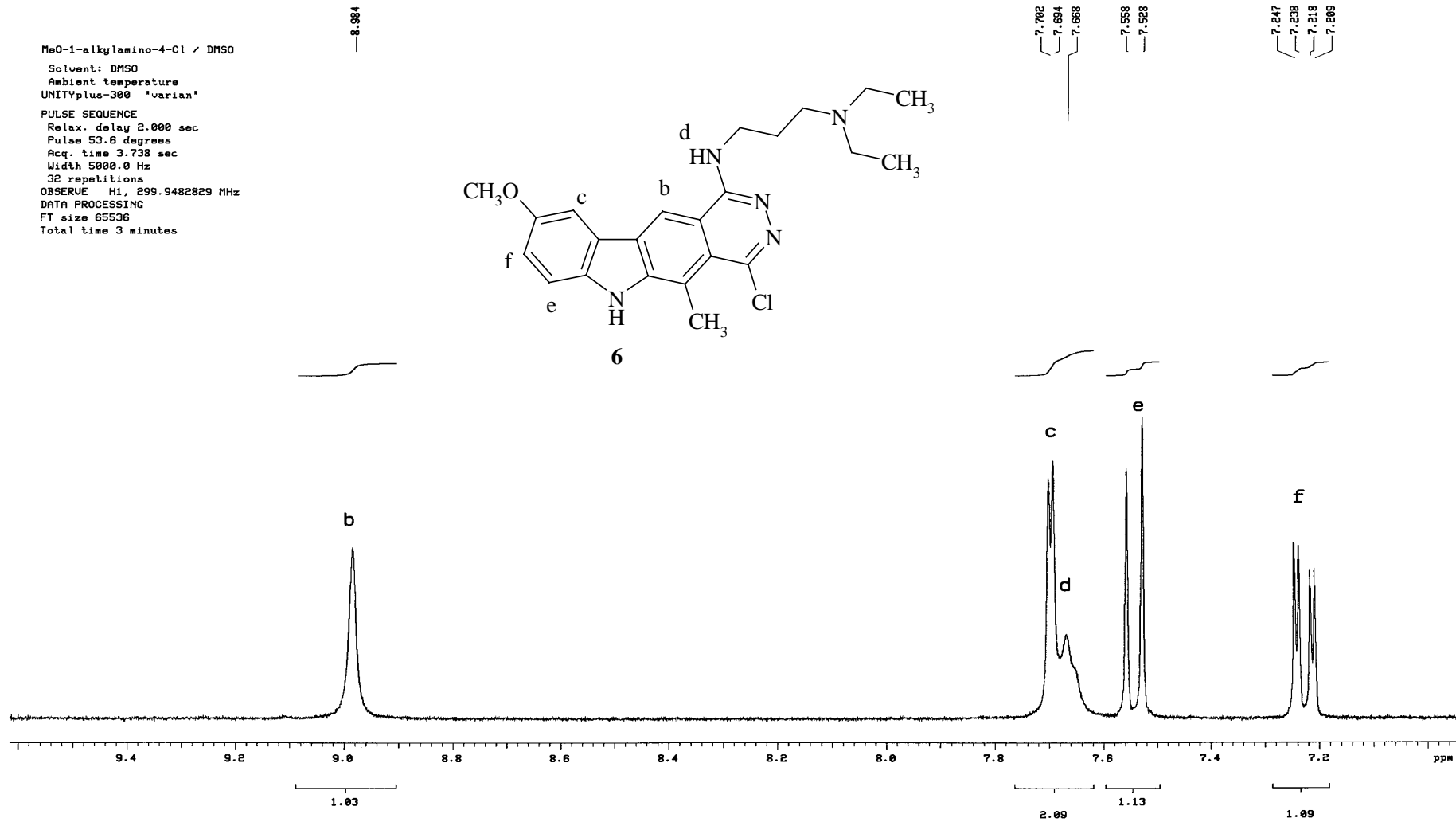




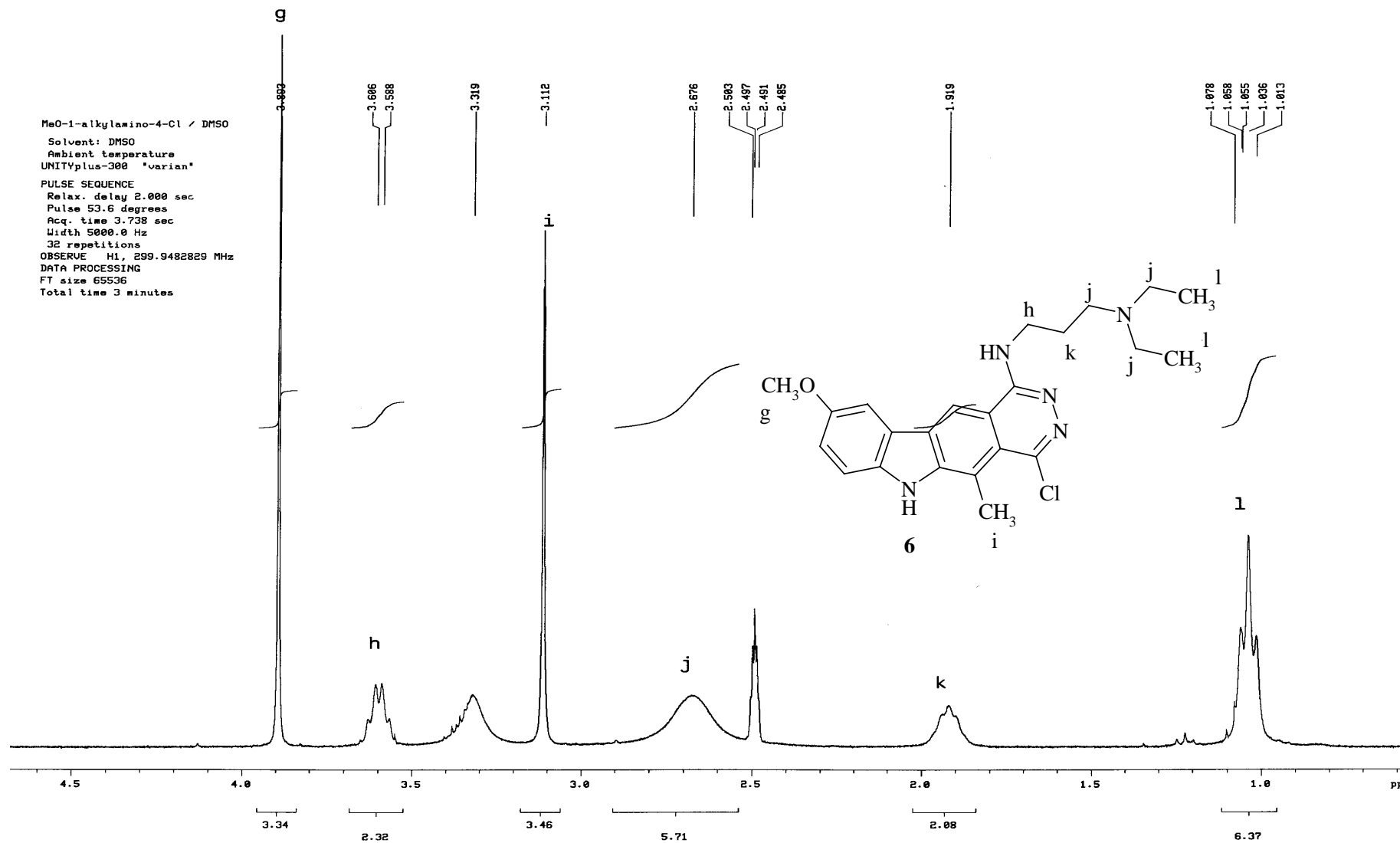
Tafel 20: 4-Chlor-1-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**6**)



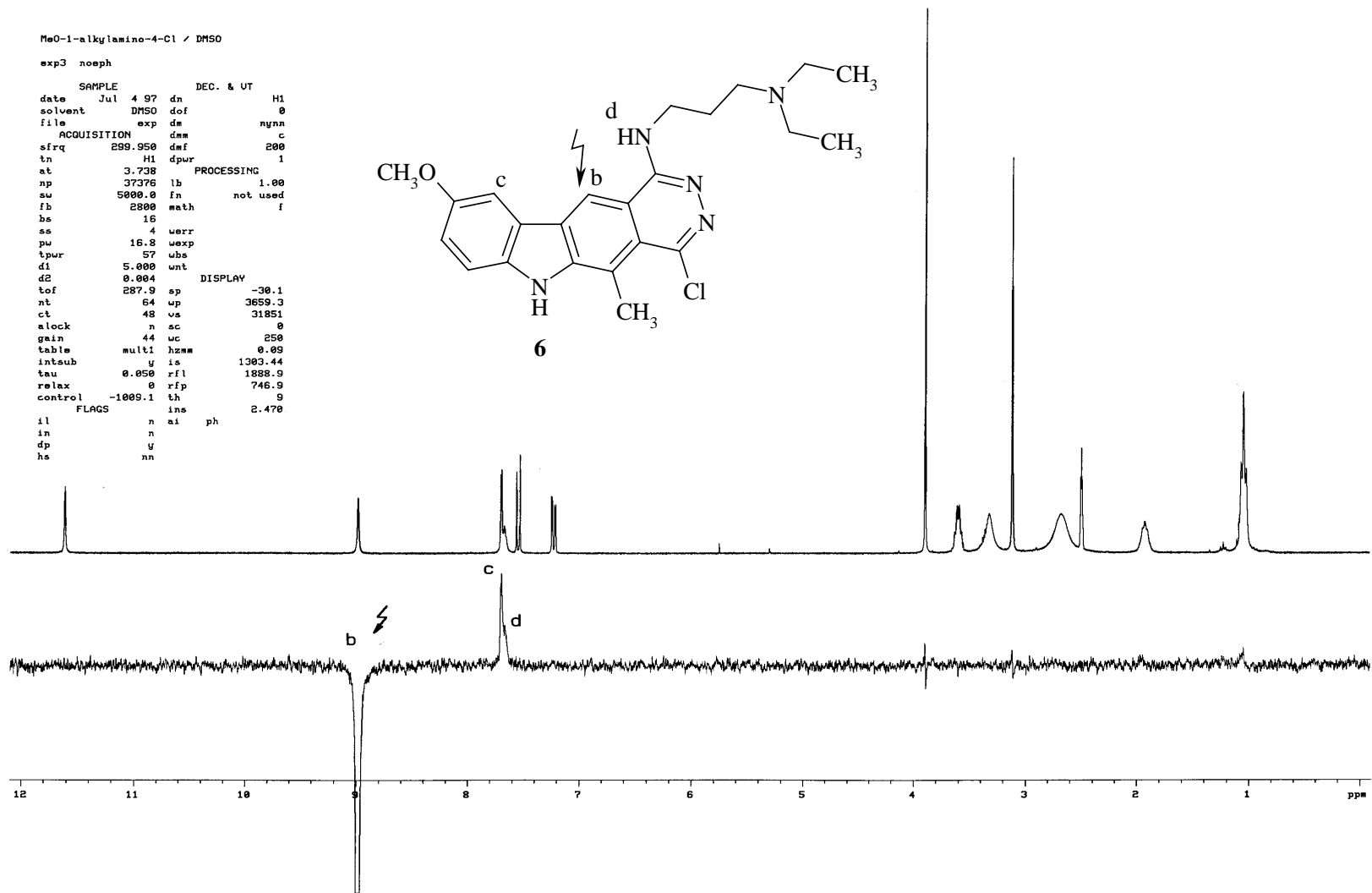
Tafel 21: 4-Chlor-1-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (**6**)



Tafel 22: 4-Chlor-1-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**6**)



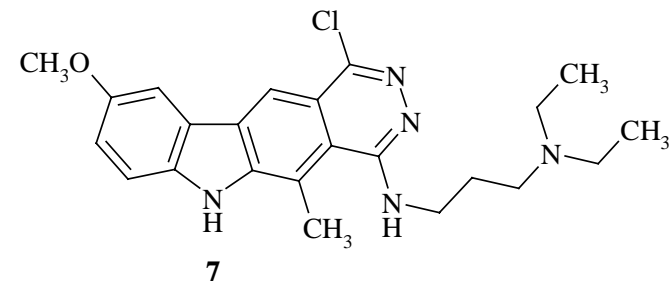
Tafel 23: 4-Chlor-1-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**6**)

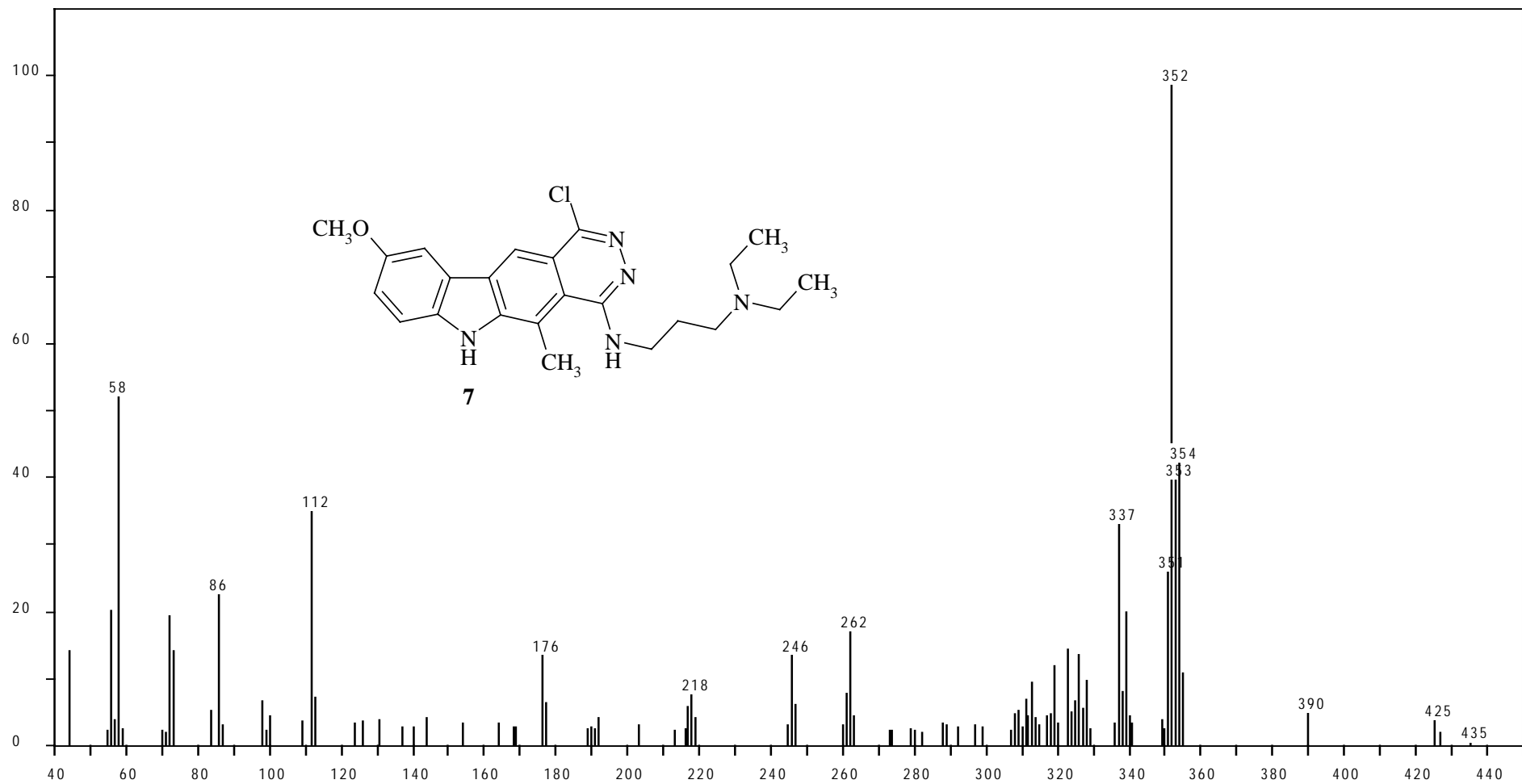


Tafel 24: 4-Chlor-1-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**6**, NOE)

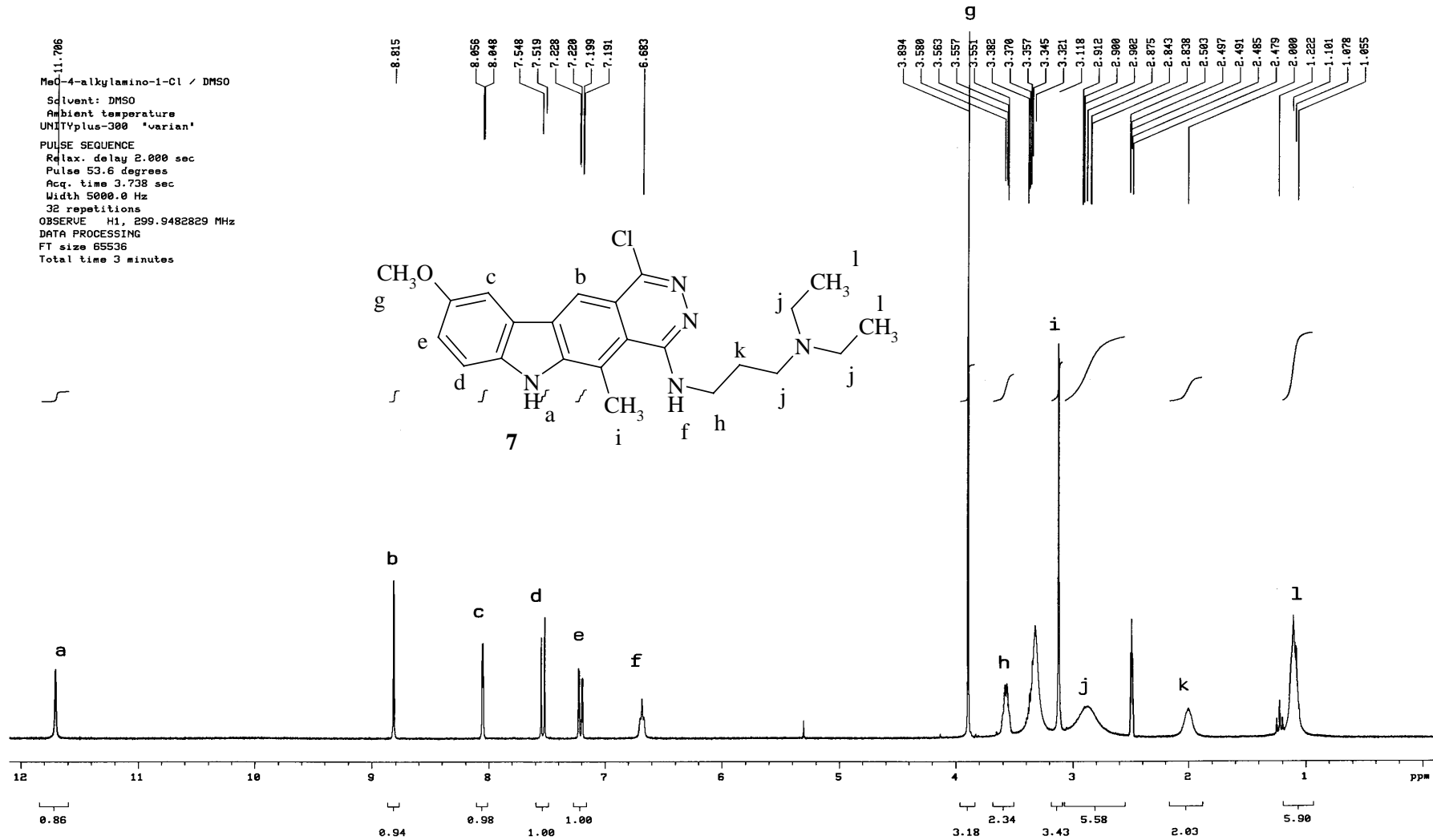
1-Chlor-4-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**7**)

Tafel 25: 1-Chlor-4-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**7**)

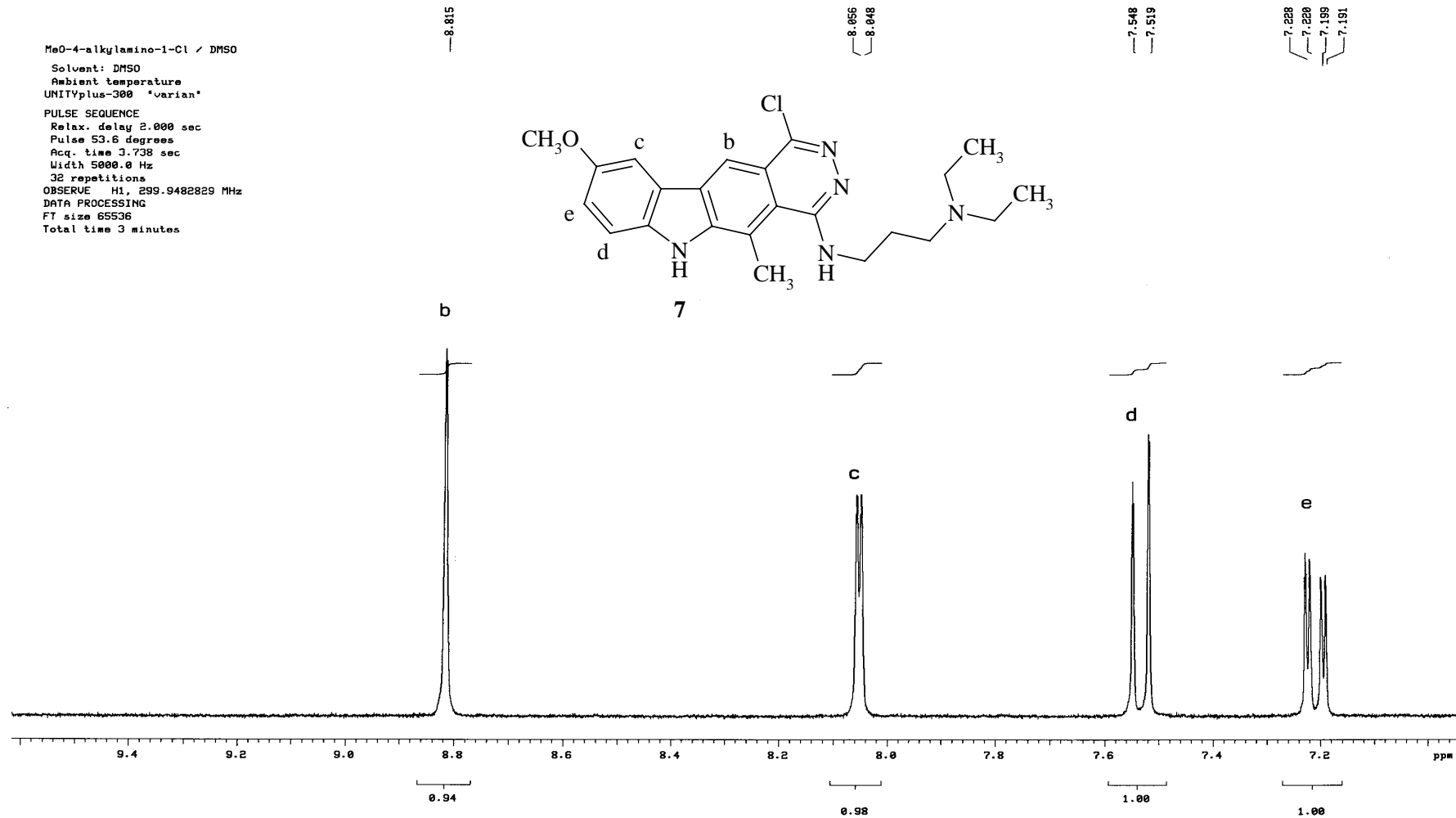




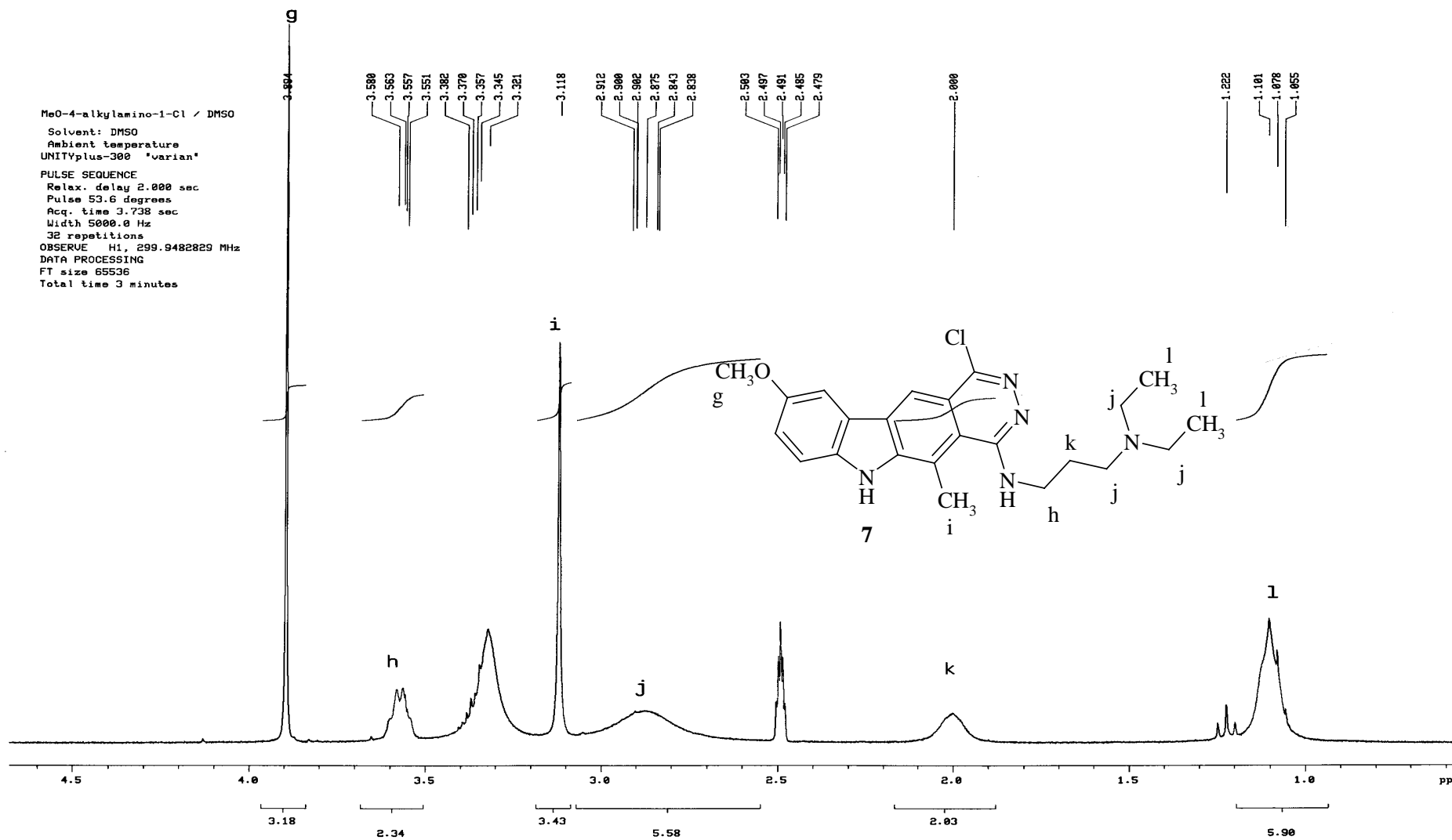
Tafel 26: 1-Chlor-4-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**7**)



Tafel 27: 1-Chlor-4-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (7)



Tafel 28: 1-Chlor-4-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (7)

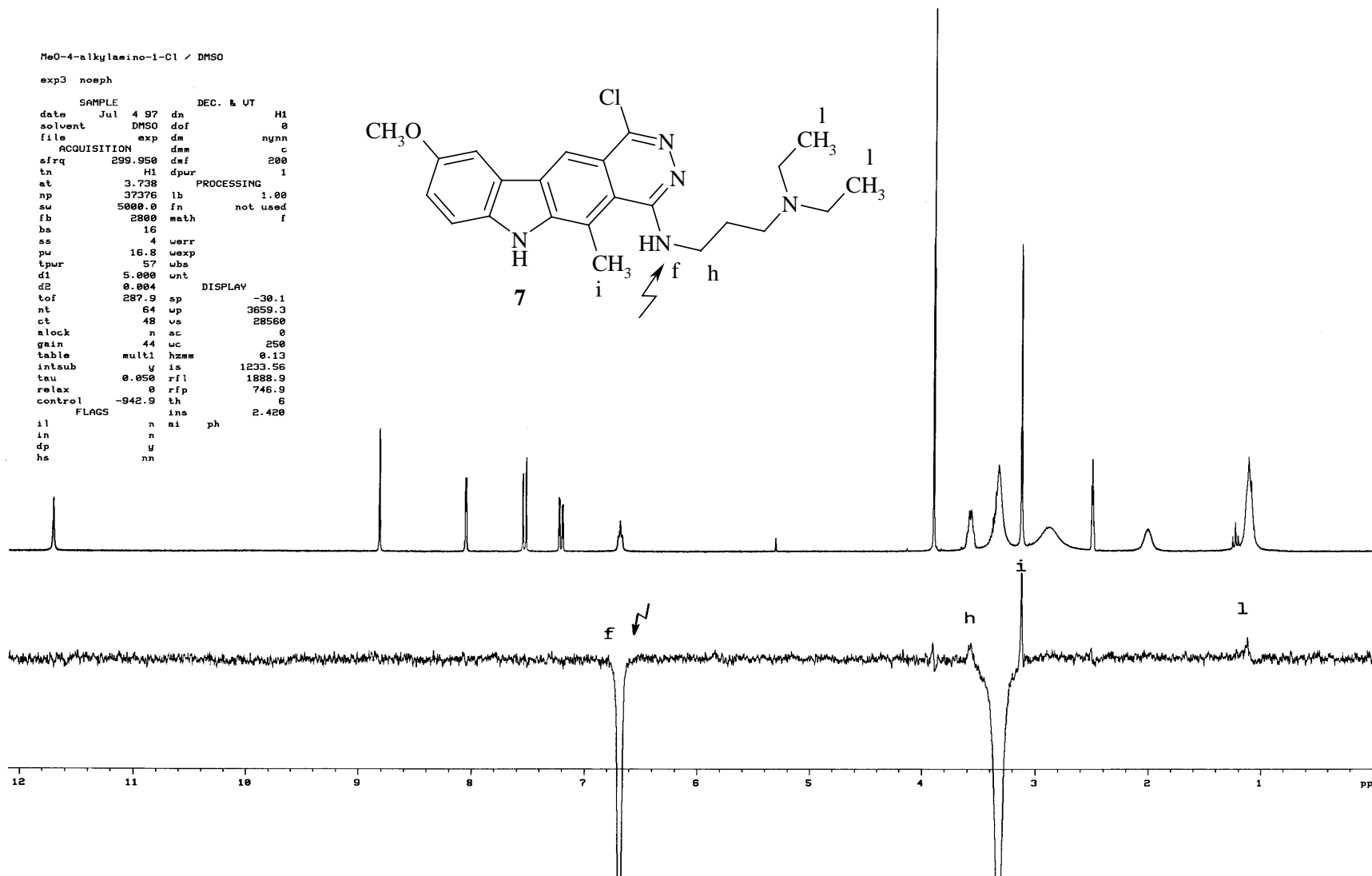
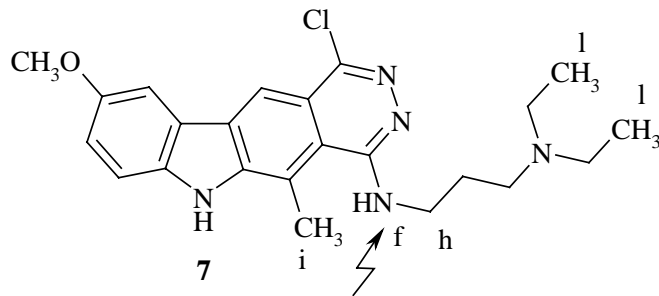


Tafel 29: 1-Chlor-4-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (7)

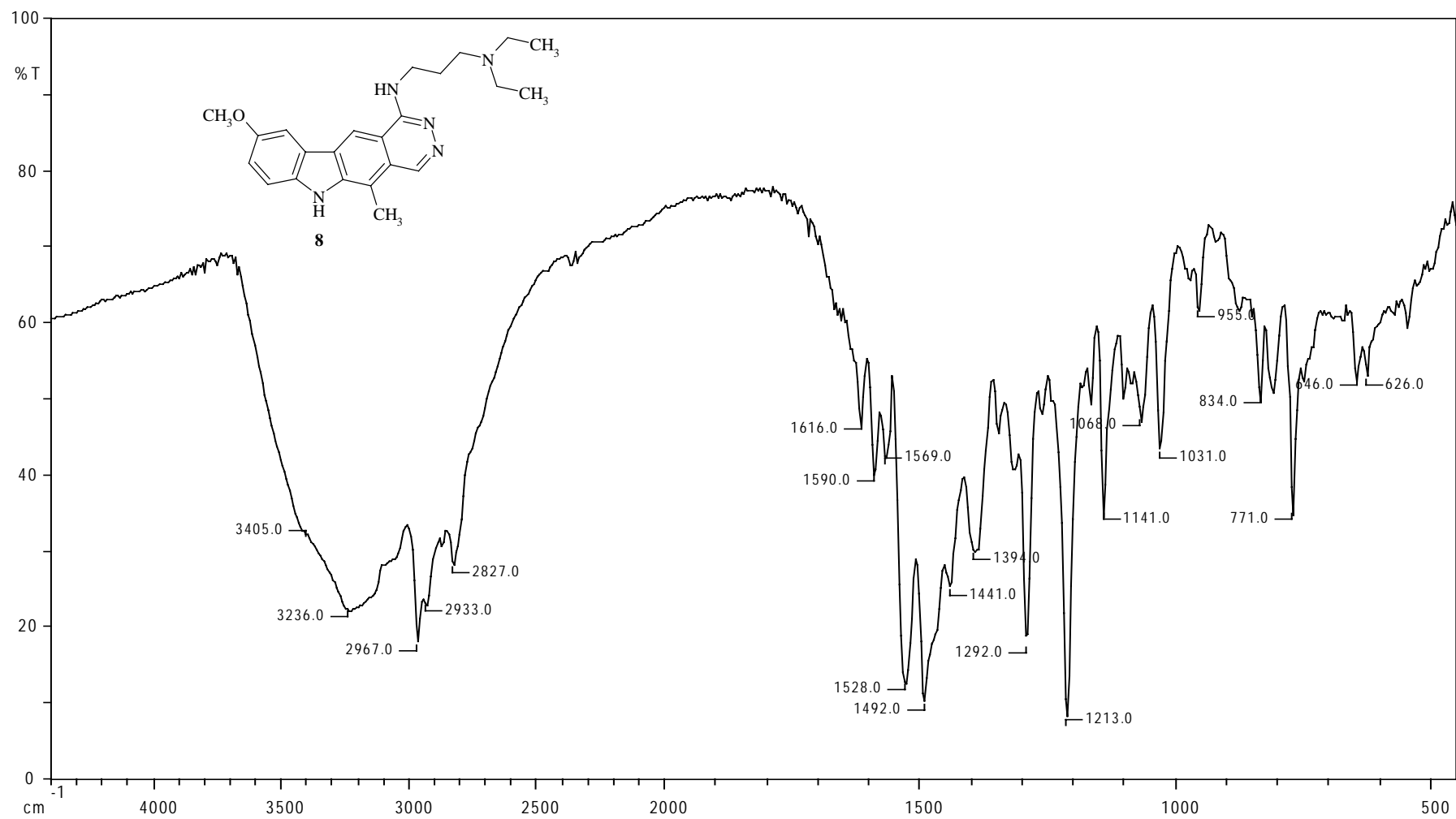
```

MeO-4-alkylamino-1-Cl / DMSO
exp3 noe3h
SAMPLE      DEC. & UT
date       Jul  4 97   dn      H1
solvent    DMSO      dof      0
file       exp      dm       nynn
ACQUISITION
sfrq      299.950    dmf      200
tn         H1      dpur      1
at         3.738    PROCESSING
np         37376    lb       1.00
su         5000.0   fn       not used
fb         2800    math     f
hs         16
ss         4       werr
pw         16.8    wexp
tpur       57     wba
d1         5.000   wnt
d2         0.004   DISPLAY
tof        287.9   sp       -30.1
nt         64     wp       3659.3
ct         48     vs       28560
alock      n      ac       0
gain       44     uc       250
table      mult1  hzmm    0.13
intsub     y      is      1233.56
tau        0.050  rfl     1888.9
relax      0      rip     746.9
control    -942.9 th       6
          FLAGS  ins     2.420
il         n      ai      ph
in         n
dp         y
hs         nn

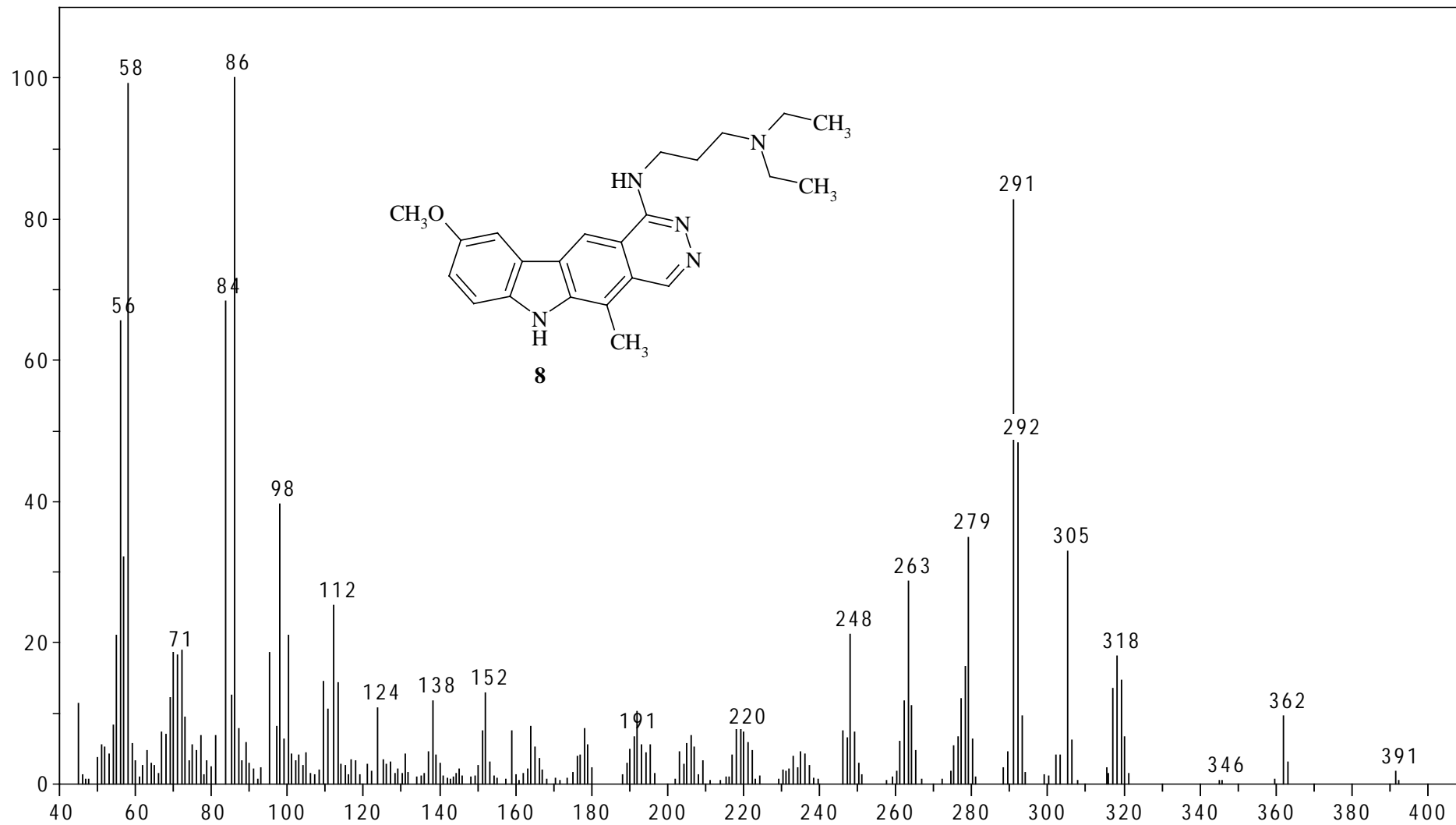
```



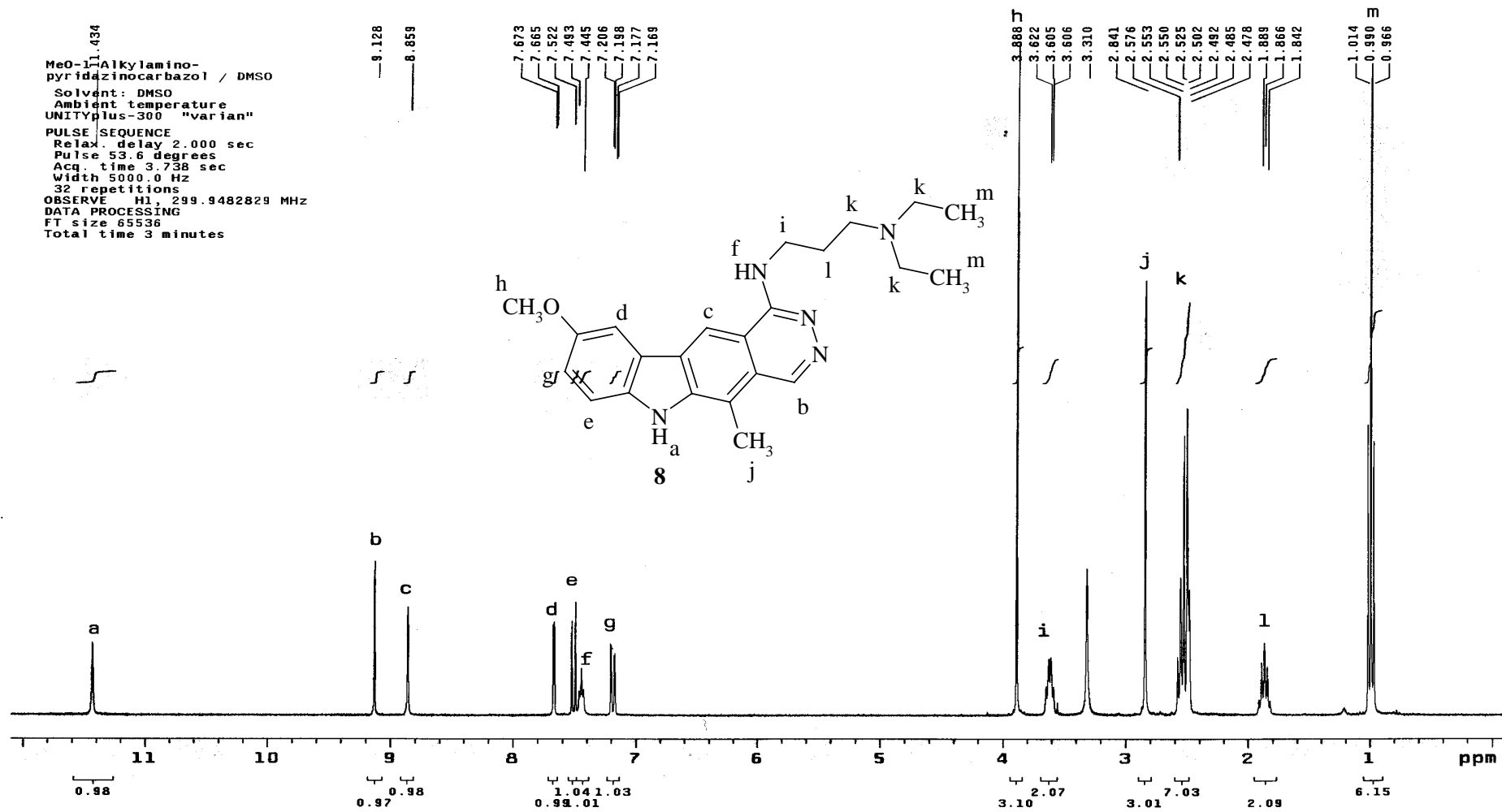
Tafel 30: 1-Chlor-4-[3-(diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**7**, NOE)



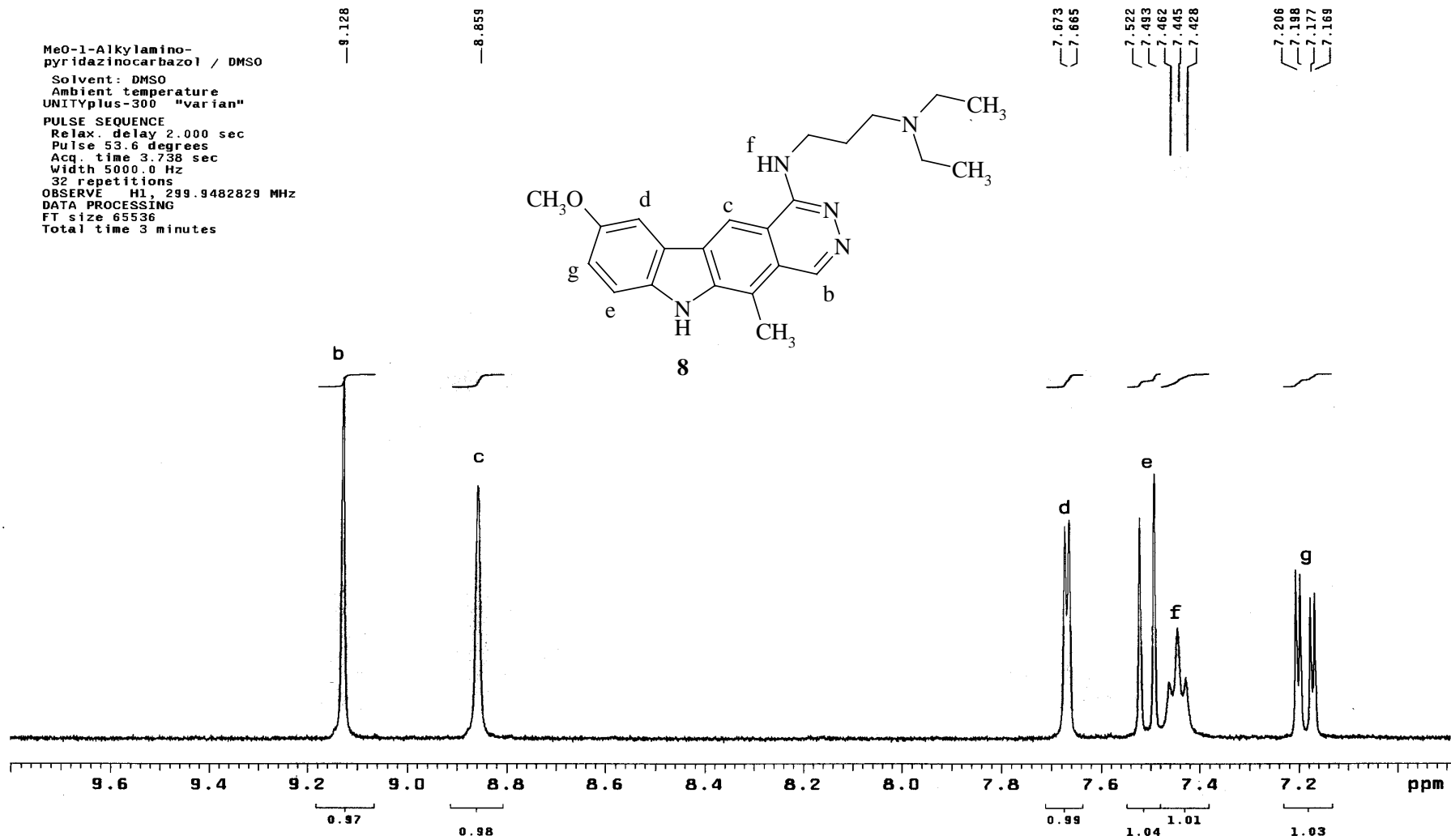
Tafel 31: 1-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**8**)



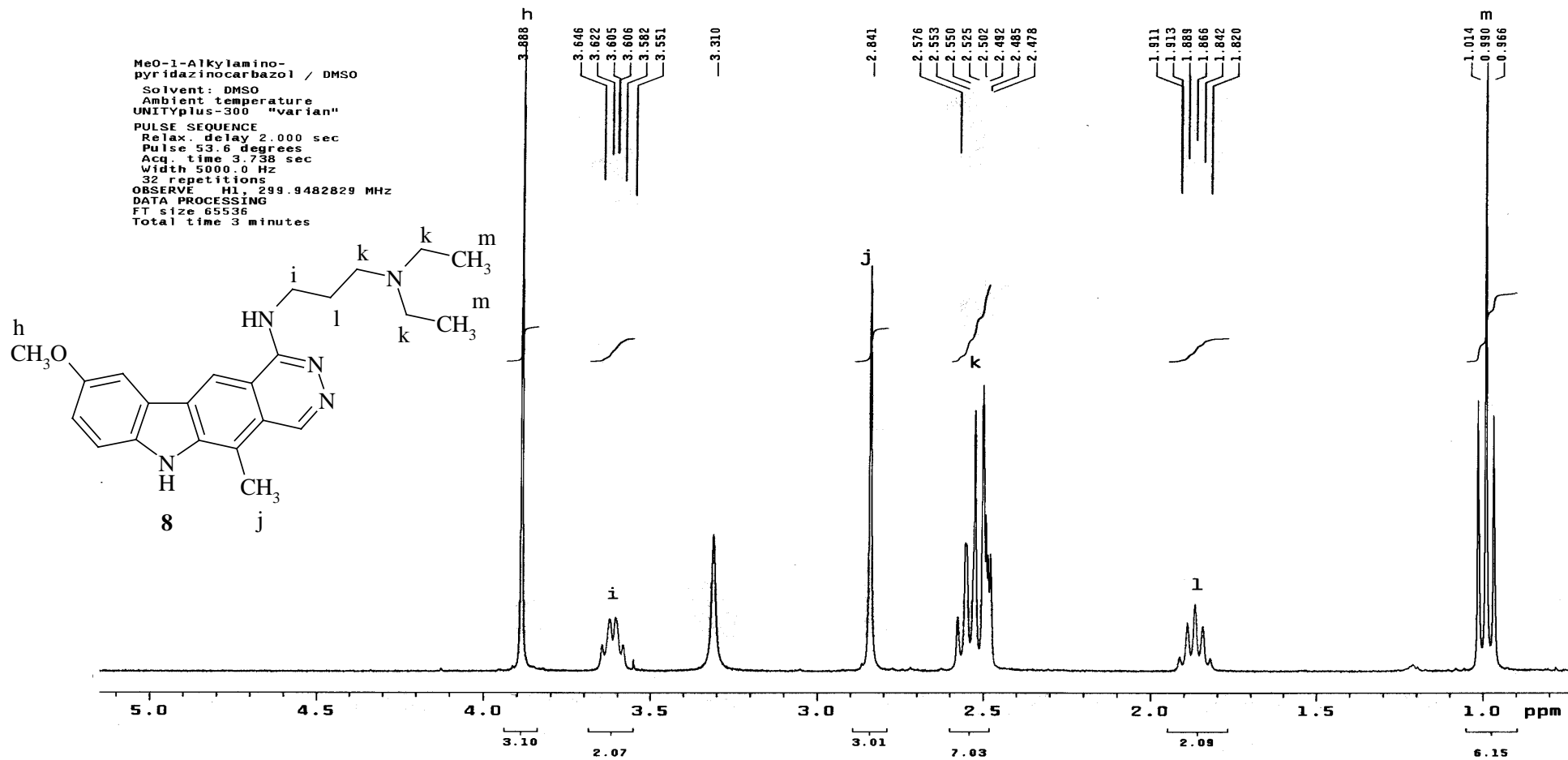
Tafel 32: 1-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**8**)



Tafel 33: 1-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (**8**)



Tafel 34: 1-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**8**)

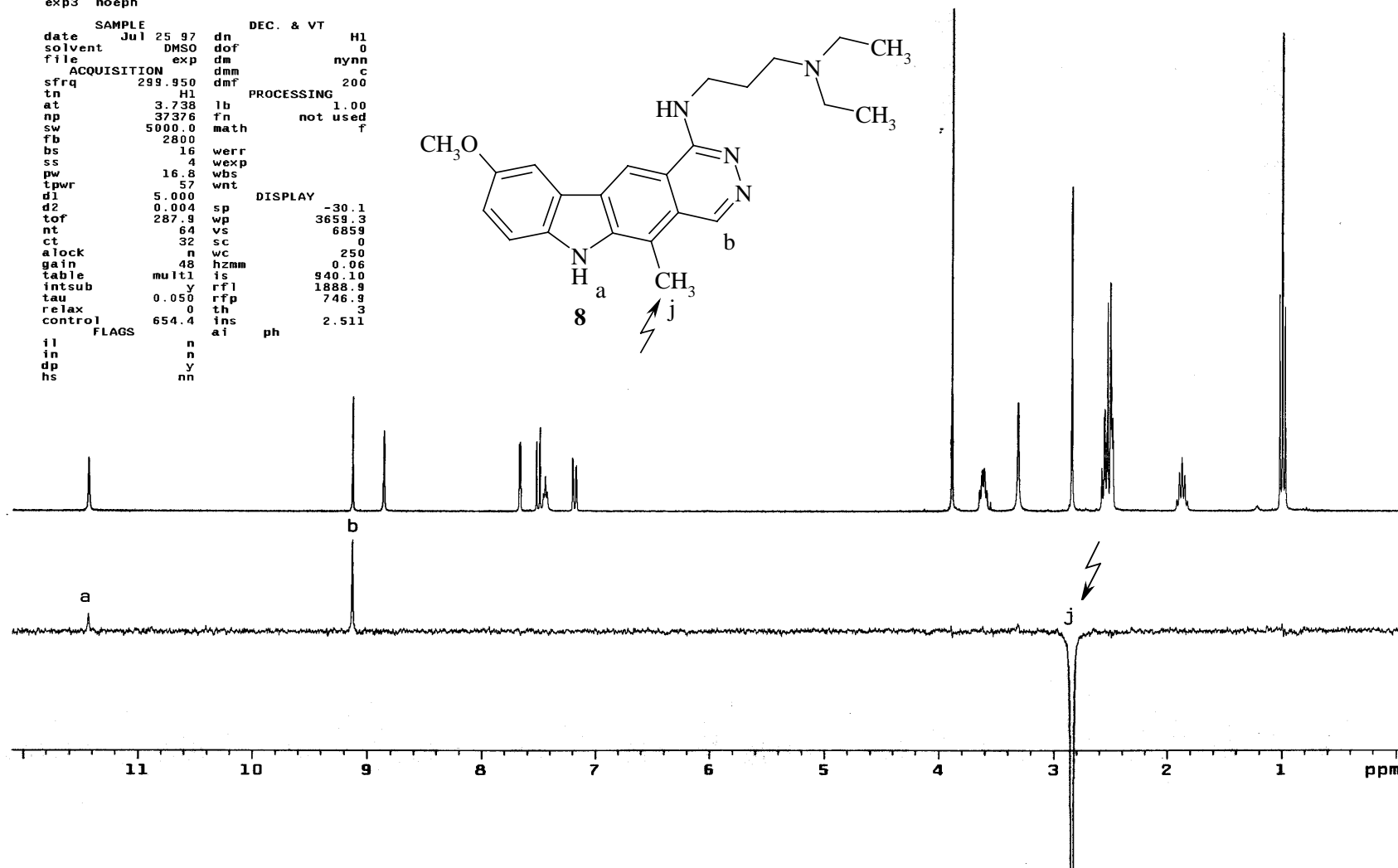
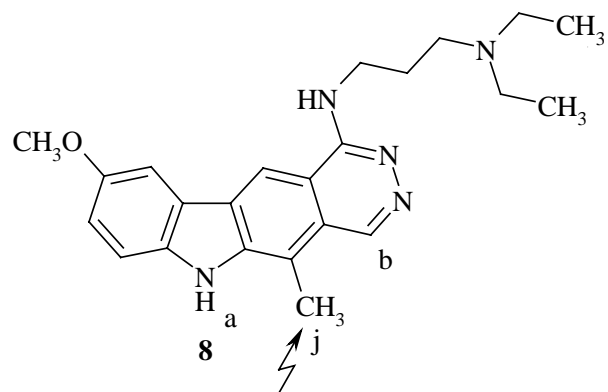


Tafel 35: 1-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**8**)

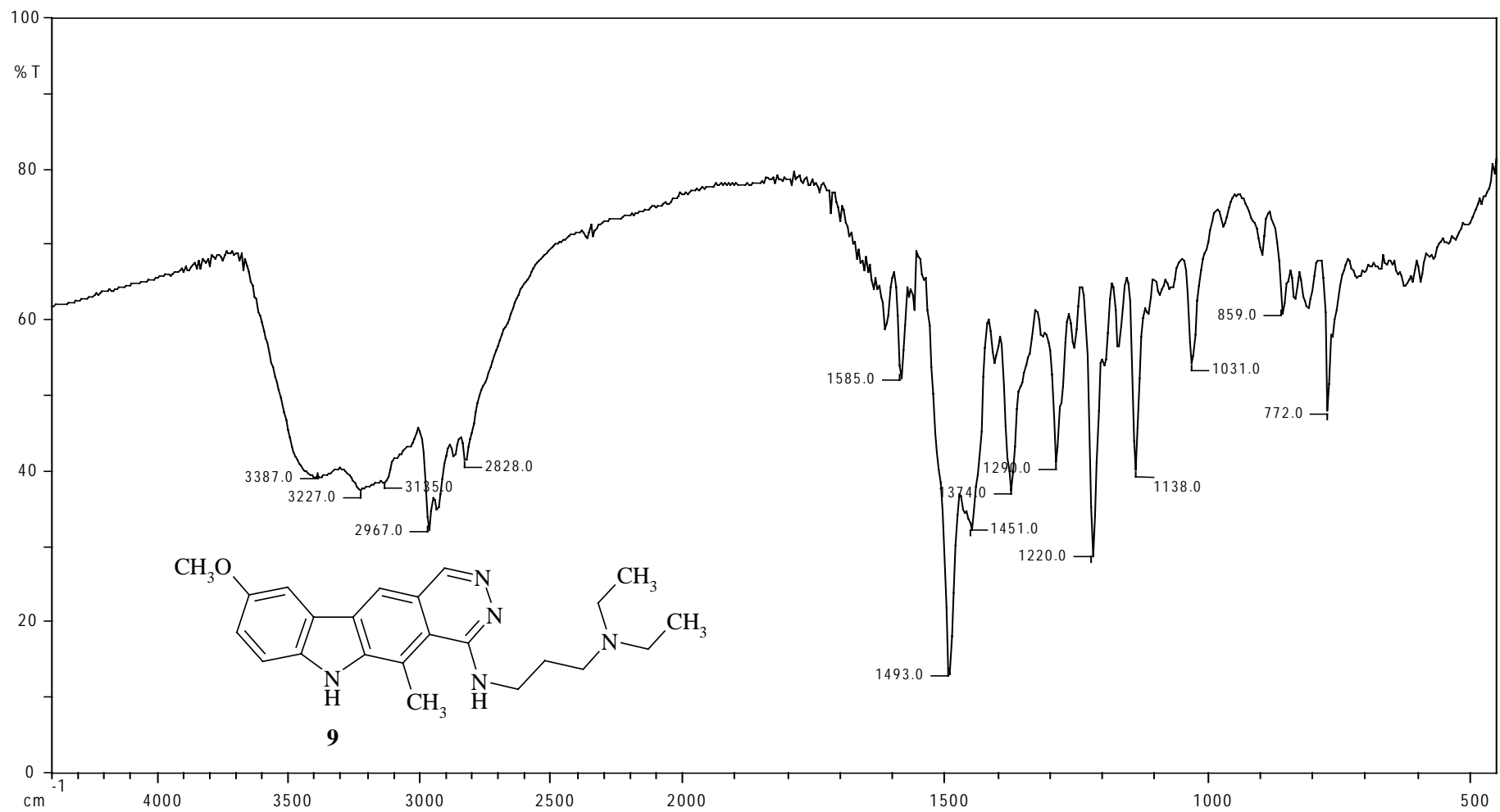
MeO-1-Alkylamino-
pyridazino[4,5-b]carbazol / DMSO

exp3 noeph

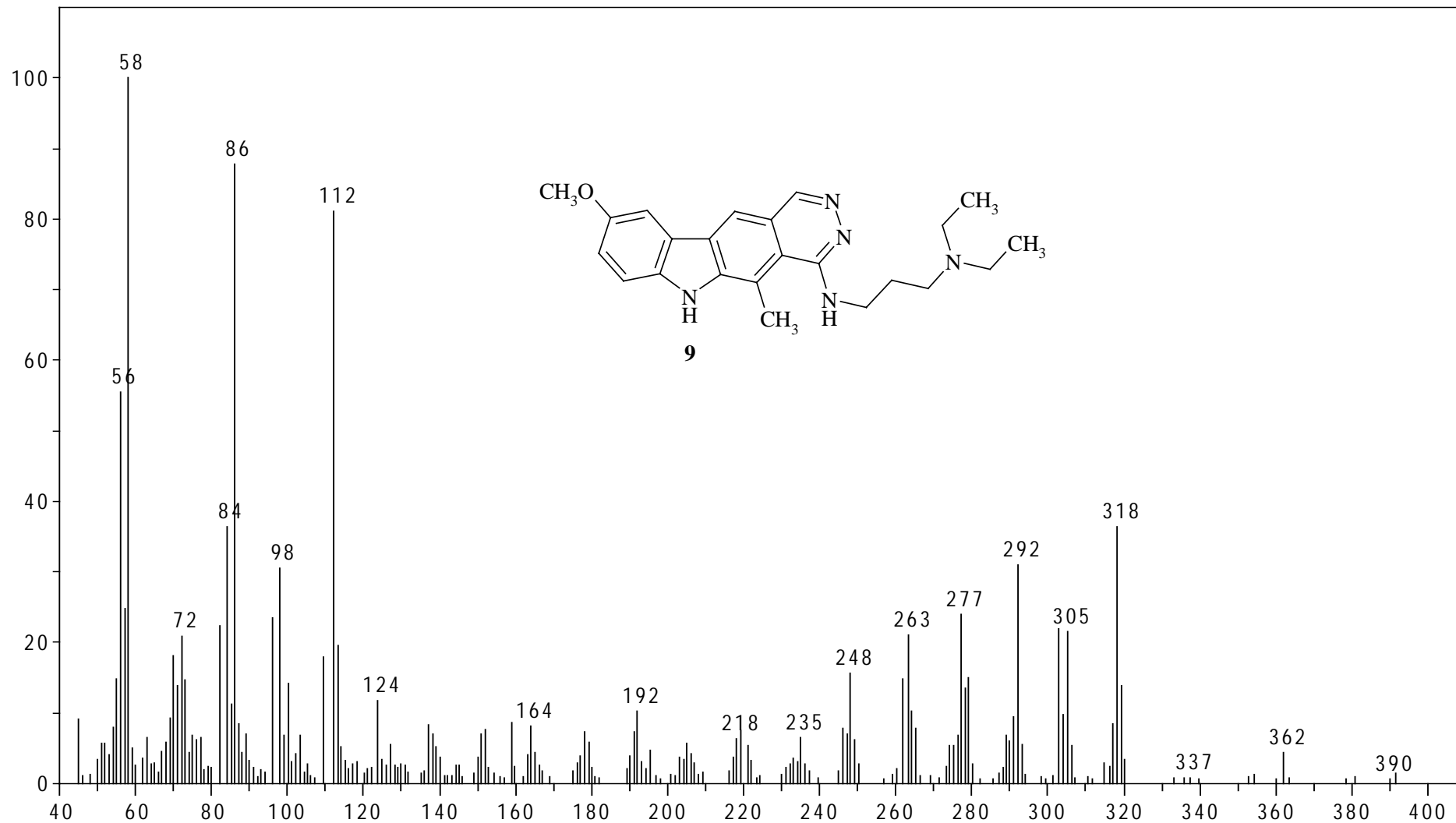
SAMPLE		DEC. & VT	
date	Jul 25 97	dn	H1
solvent	DMSO	dof	0
file	exp	dm	nynn
ACQUISITION		PROCESSING	
sfrq	299.950	dmm	200
tn	H1	dmf	0
at	3.738	lb	1.00
np	37376	fn	not used
sw	5000.0	math	f
fb	2800		
bs	16	werr	
ss	4	wexp	
pw	16.8	wbs	
tpwr	57	wnt	
d1	5.000	DISPLAY	
d2	0.004	sp	-30.1
tof	287.8	wp	3659.3
nt	64	vs	6859
ct	32	sc	0
alock		n	250
gain	48	hzmm	0.06
table	mult1	is	940.10
intsub	y	rfl	1888.9
tau	0.050	rfp	746.9
relax	0	th	3
control	654.4	ins	2.511
	FLAGS	ai	ph
il	n		
in	n		
dp	y		
hs	nn		



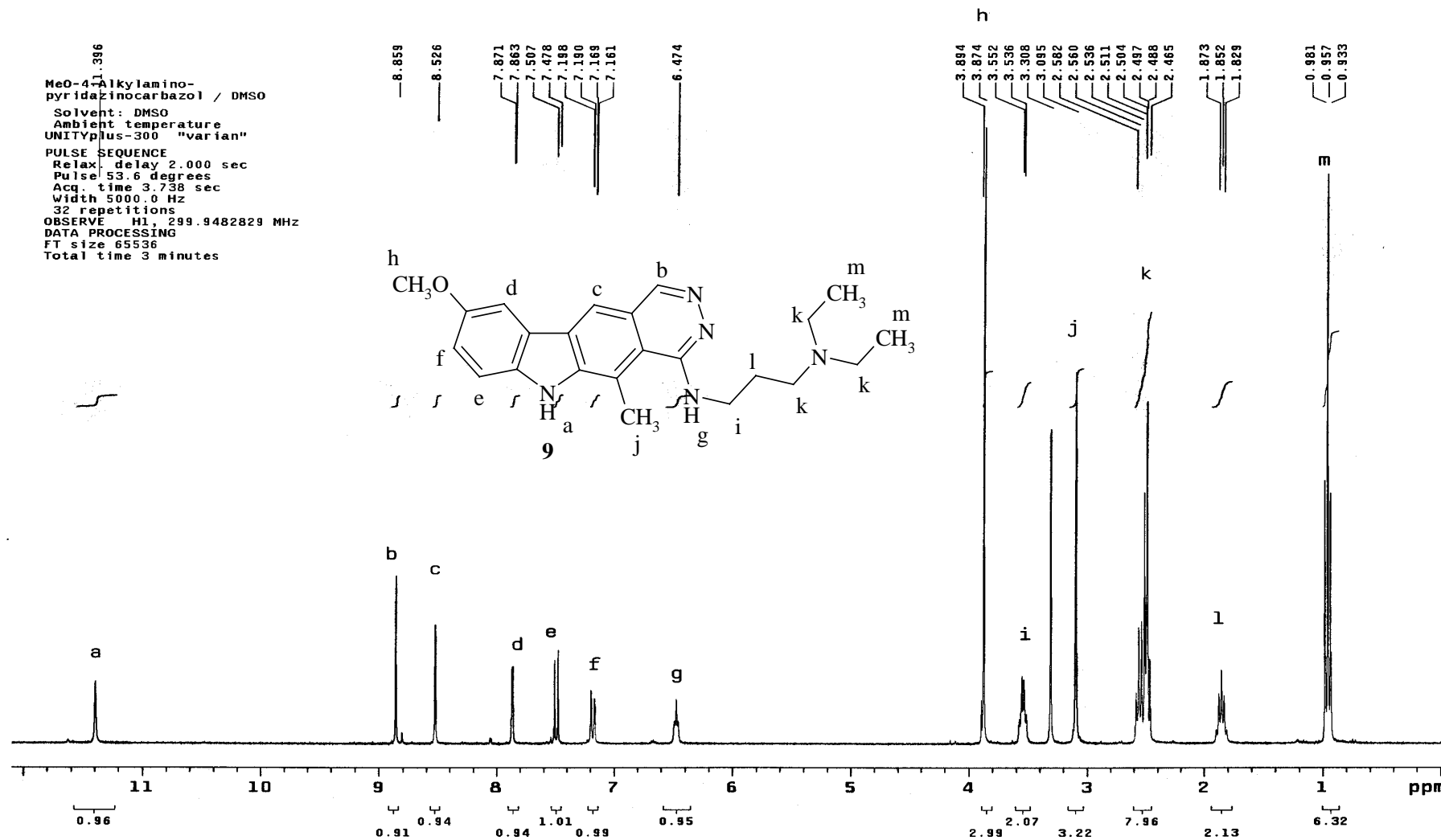
Tafel 36: 1-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (**8**, NOE)



Tafel 37: 4-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**9**)

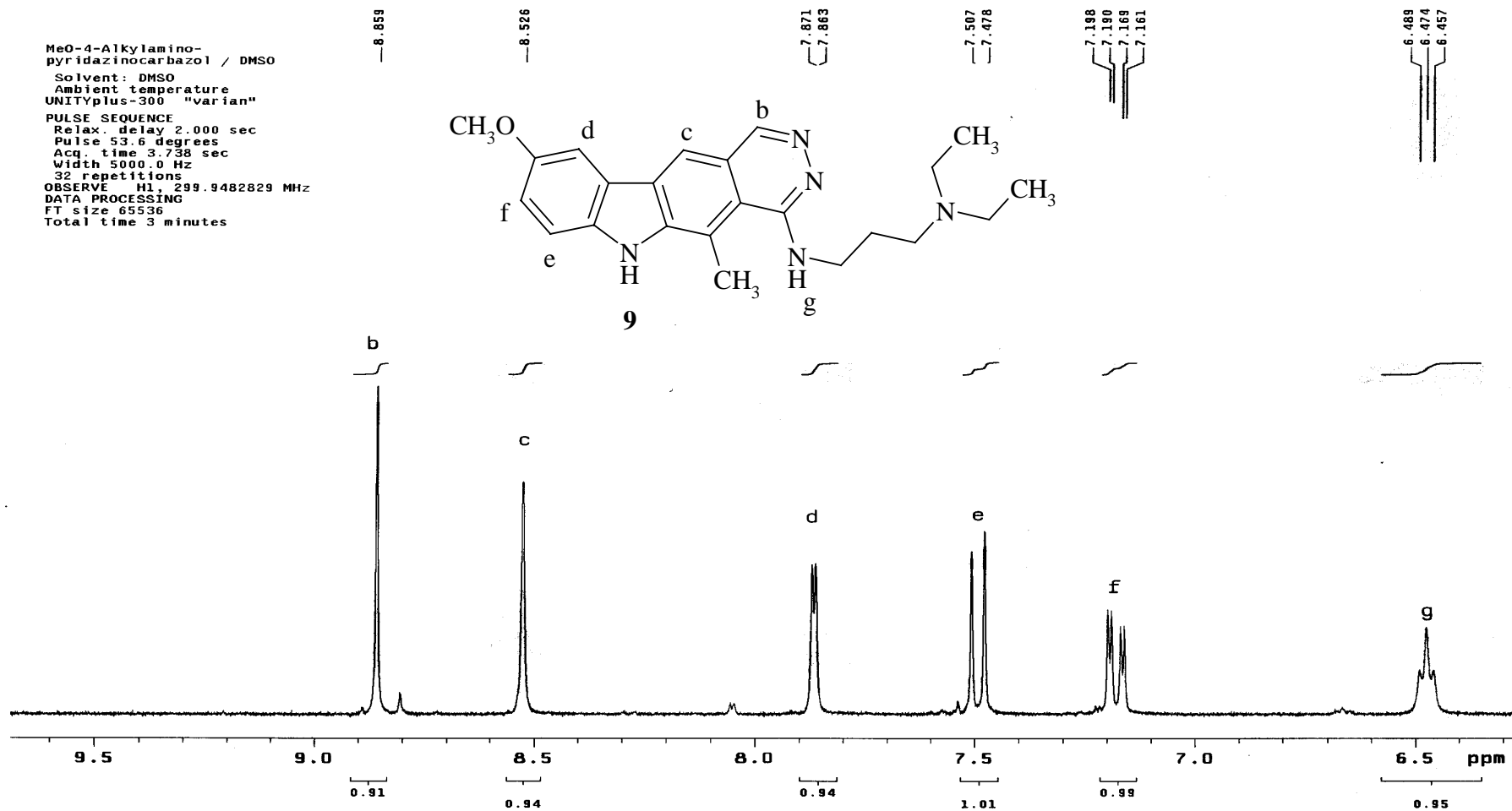


Tafel 38: 4-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (**9**)

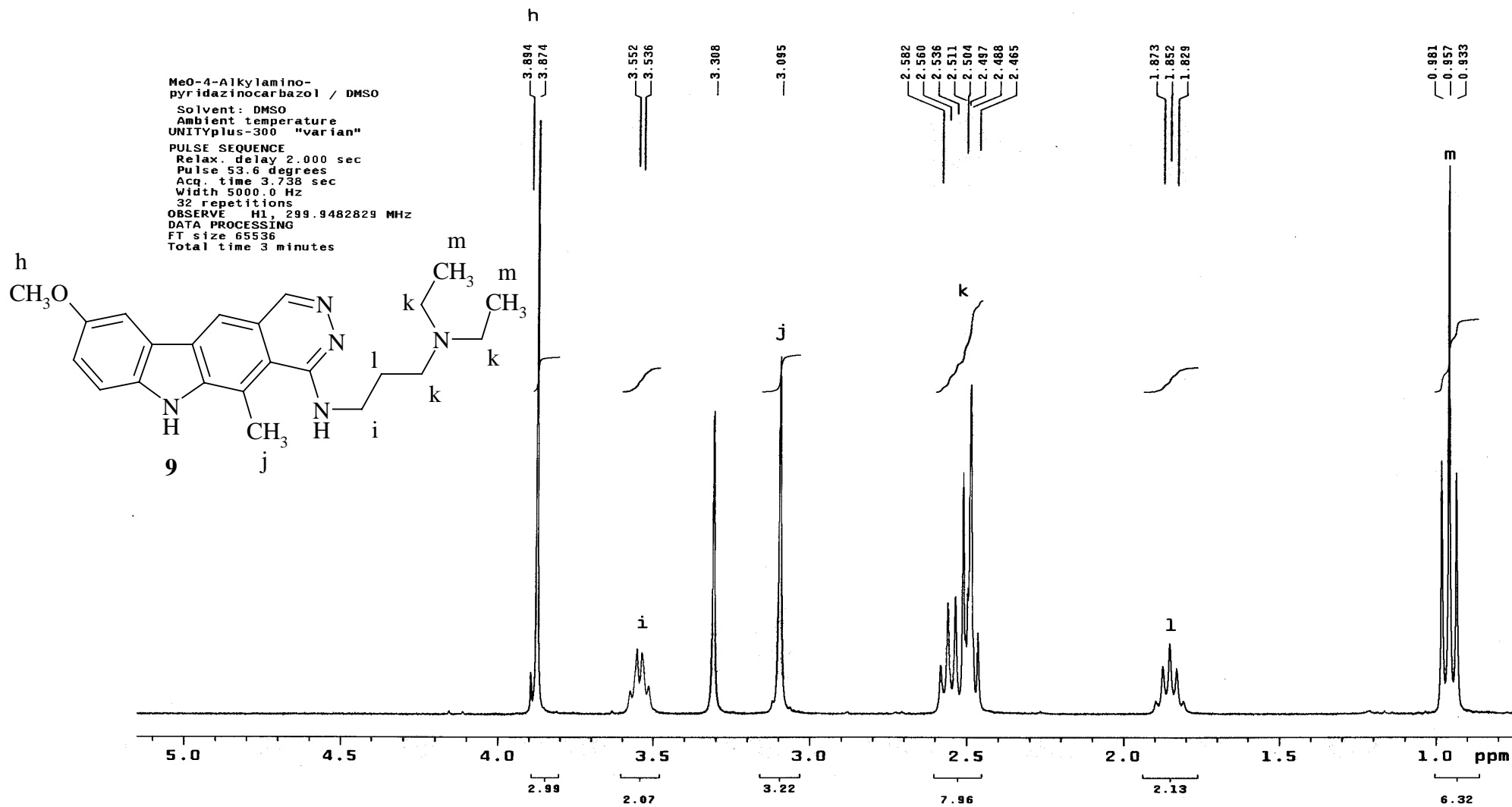


Tafel 39: 4-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**9**)

MeO-4-Alkylamino-
pyridazinocarbazol / DMSO
Solvent: DMSO
Ambient temperature
UNITYplus-300 "varian"
PULSE SEQUENCE
Relax. delay 2.000 sec
Pulse 53.6 degrees
Acq. time 3.738 sec
Width 5000.0 Hz
32 repetitions
OBSERVE H1, 299.9482829 MHz
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 3 minutes



Tafel 40: 4-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**9**)

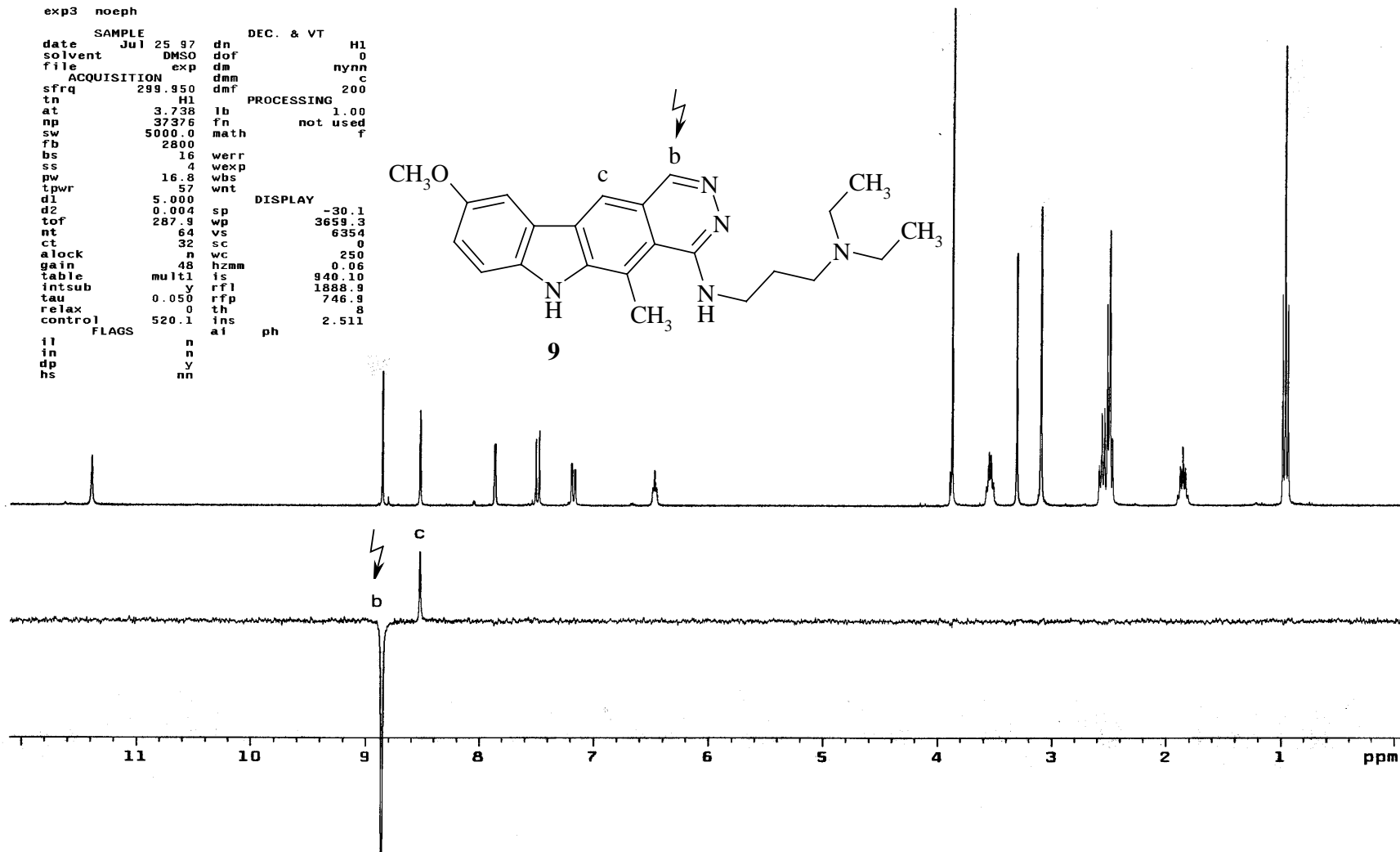
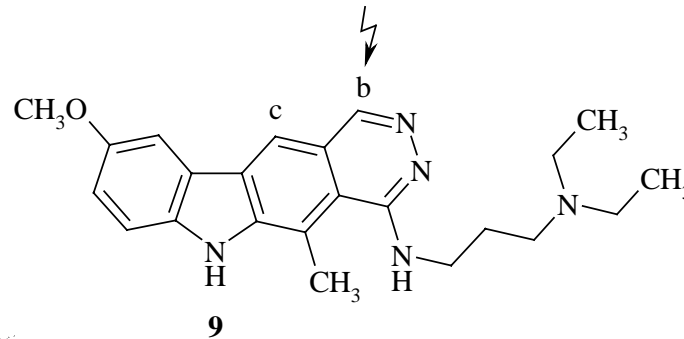


Tafel 41: 4-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**9**)

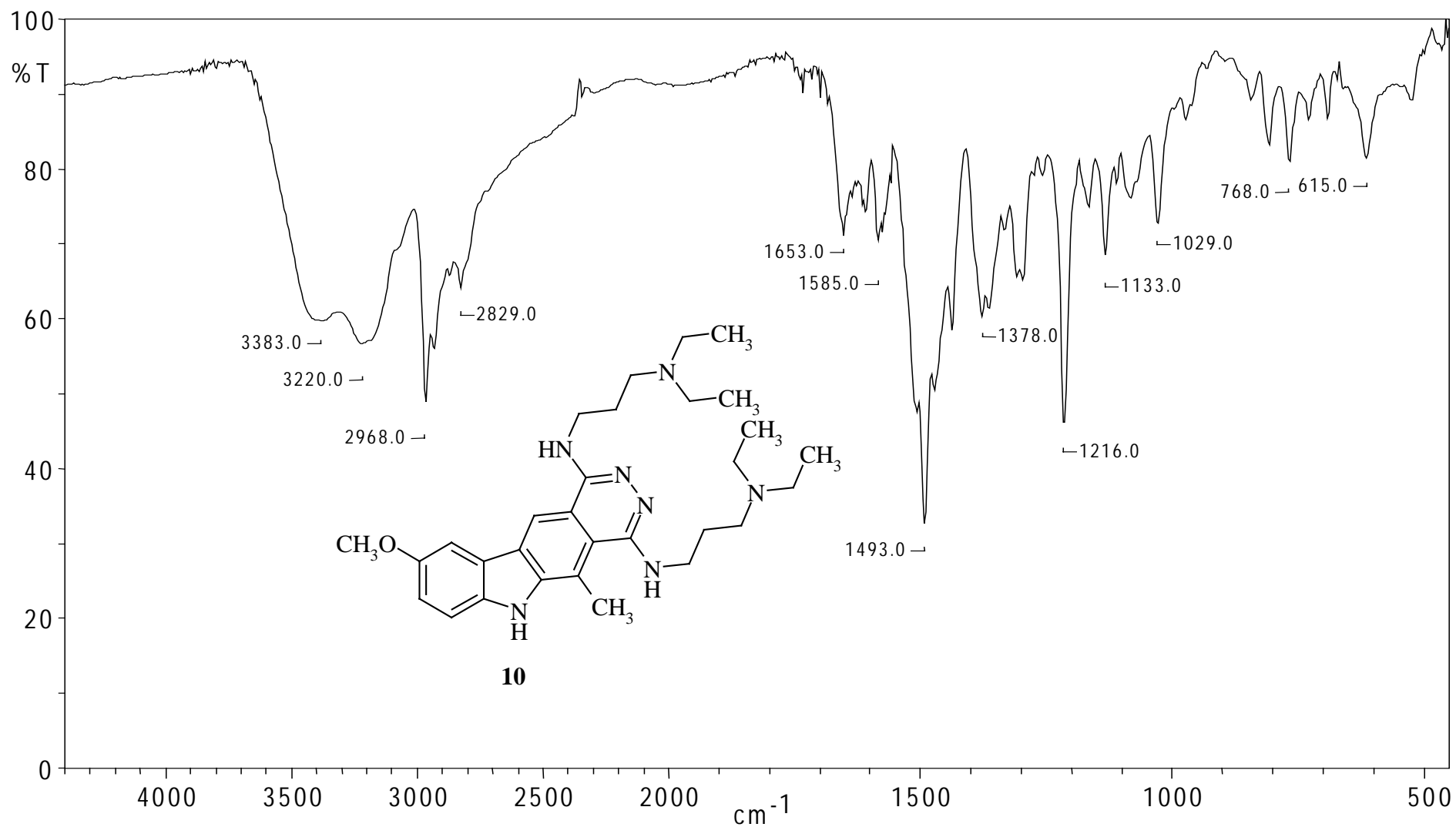
MeO-4-Alkylamino-
pyridazinocarbazol / DMSO

exp3 noeph

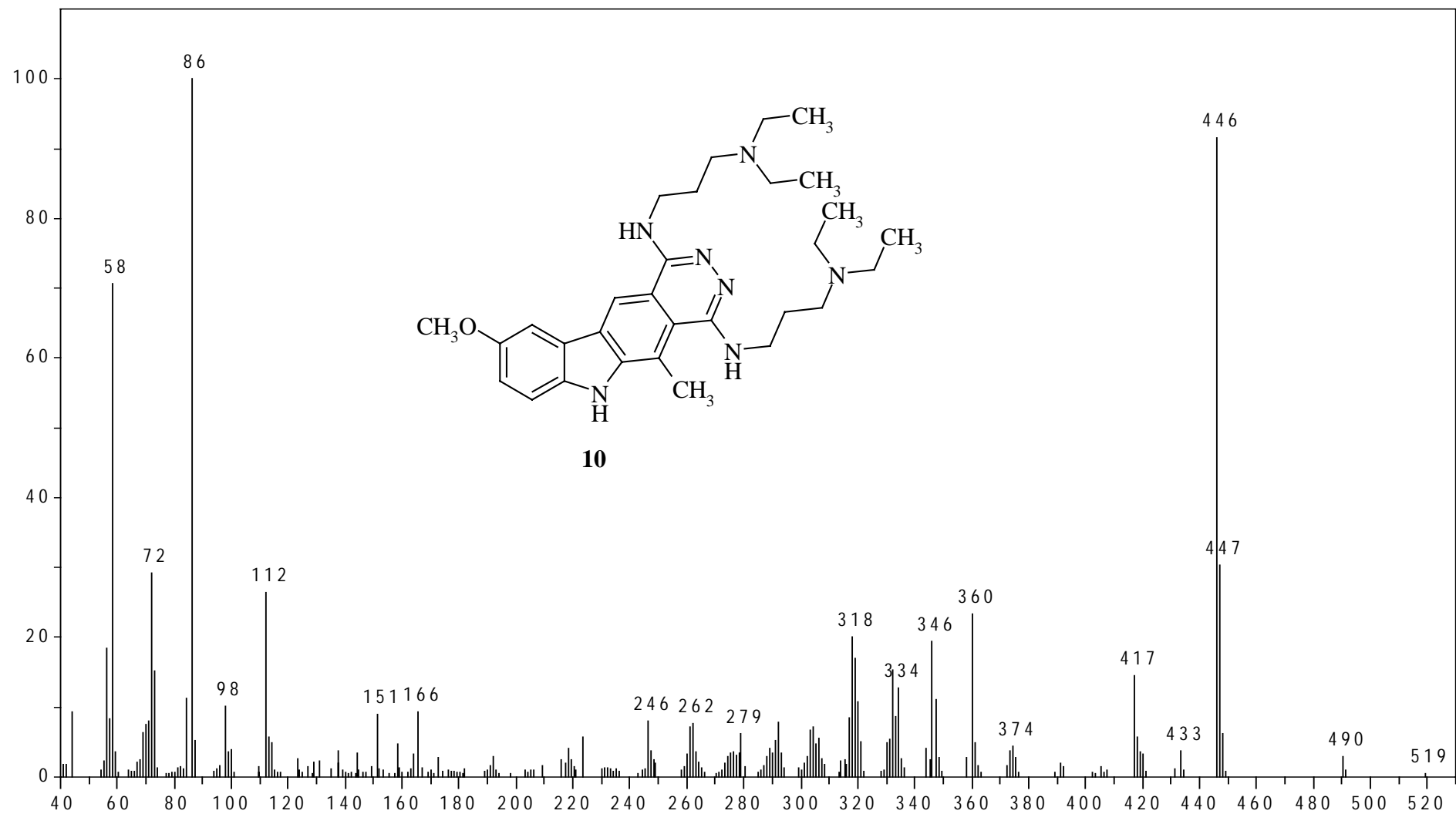
SAMPLE		DEC. & VT	
date	Jul 25 97	dn	H1
solvent	DMSO	dof	0
file	exp	dm	nynn
ACQUISITION		dmm	c
sfrq	299.950	dmf	200
tn	H1	PROCESSING	
at	3.738	lb	1.00
np	37376	fn	not used
sw	5000.0	math	f
fb	2800		
bs	16	werr	
ss	4	wexp	
pw	16.8	wbs	
tpwr	57	wnt	
d1	5.000	DISPLAY	
d2	0.004	sp	-30.1
tof	287.9	wp	3659.3
nt	64	vs	6354
ct	32	sc	0
alock	n	wc	250
gain	48	hzmm	0.06
table	mult1	is	940.10
intsub	y	rfl	1888.9
tau	0.050	rfp	746.9
relax	0	th	8
control	520.1	ins	2.511
FLAGS	ai	ph	
fl	n		
in	n		
dp	y		
hs	nn		



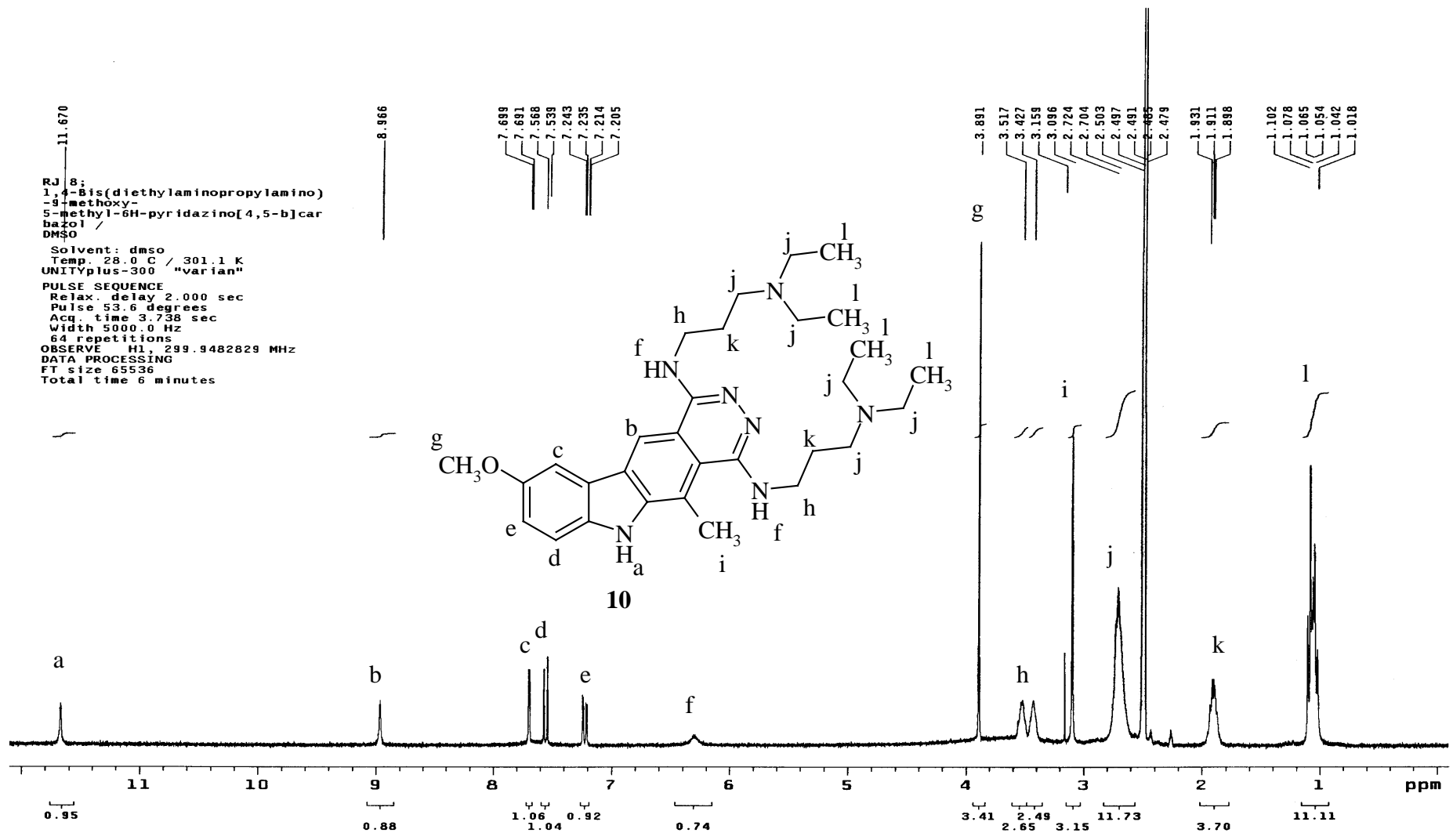
Tafel 42: 4-[3-(Diethylamino)propyl]amino-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (**9**, NOE)



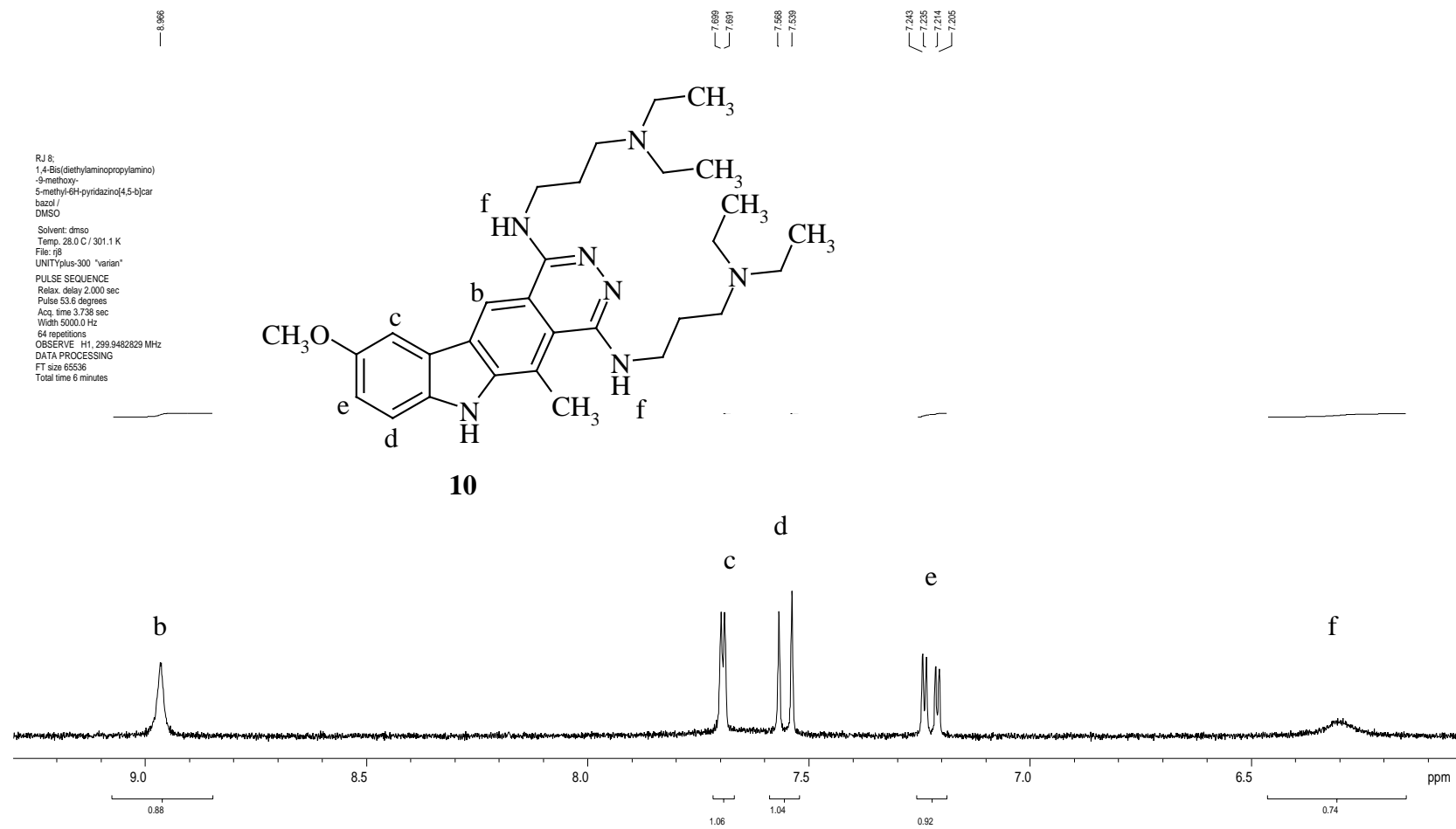
Tafel 43: 1,4-Bis[3-(diethylamino)propylamino]-9-methoxy-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**10**)



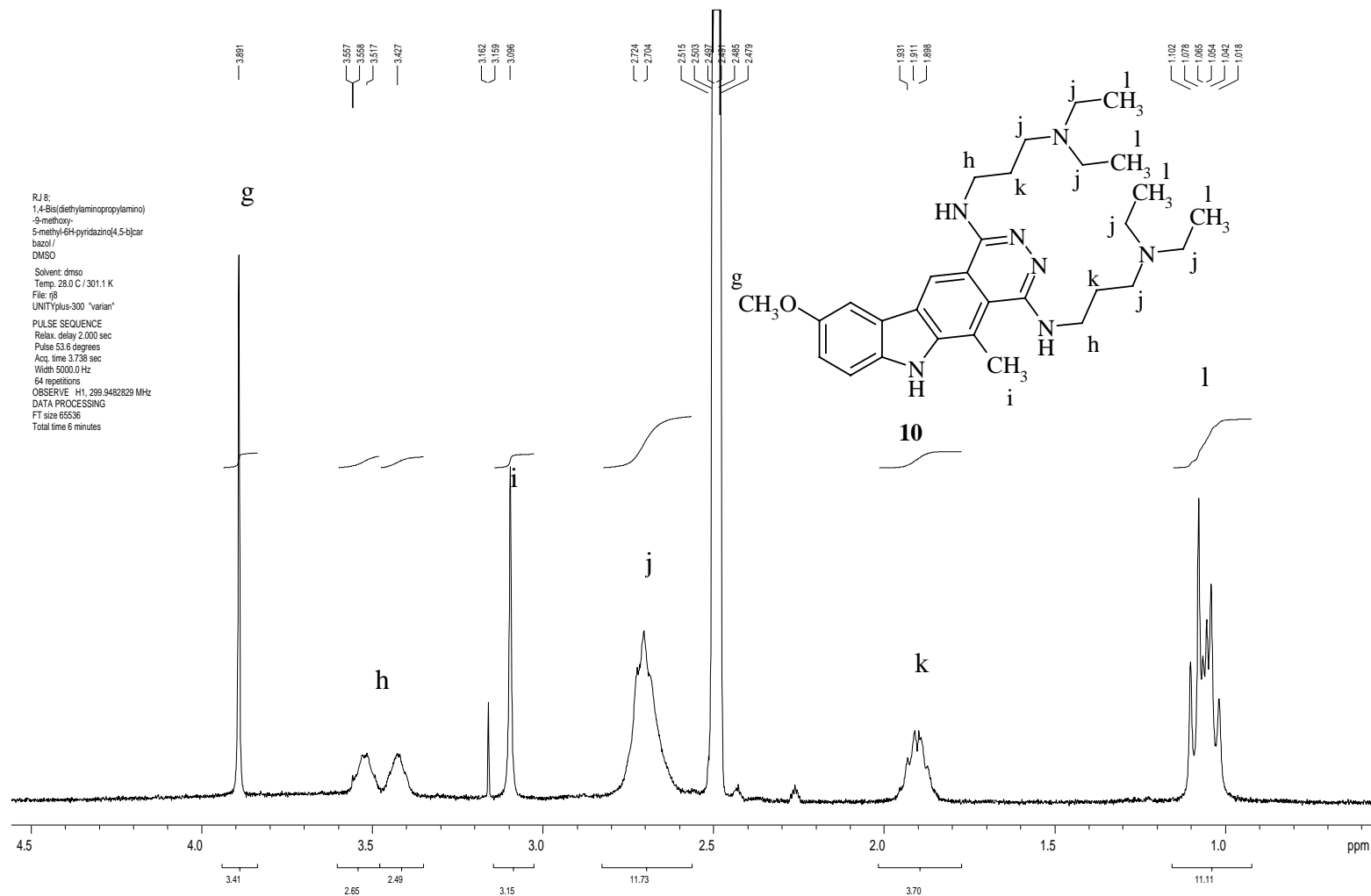
Tafel 44: 1,4-Bis[3-(diethylamino)propylamino]-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (**10**)



Tafel 45: 1,4-Bis[3-(diethylamino)propylamino]-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (10)



Tafel 46: 1,4-Bis[3-(diethylamino)propylamino]-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**10**)

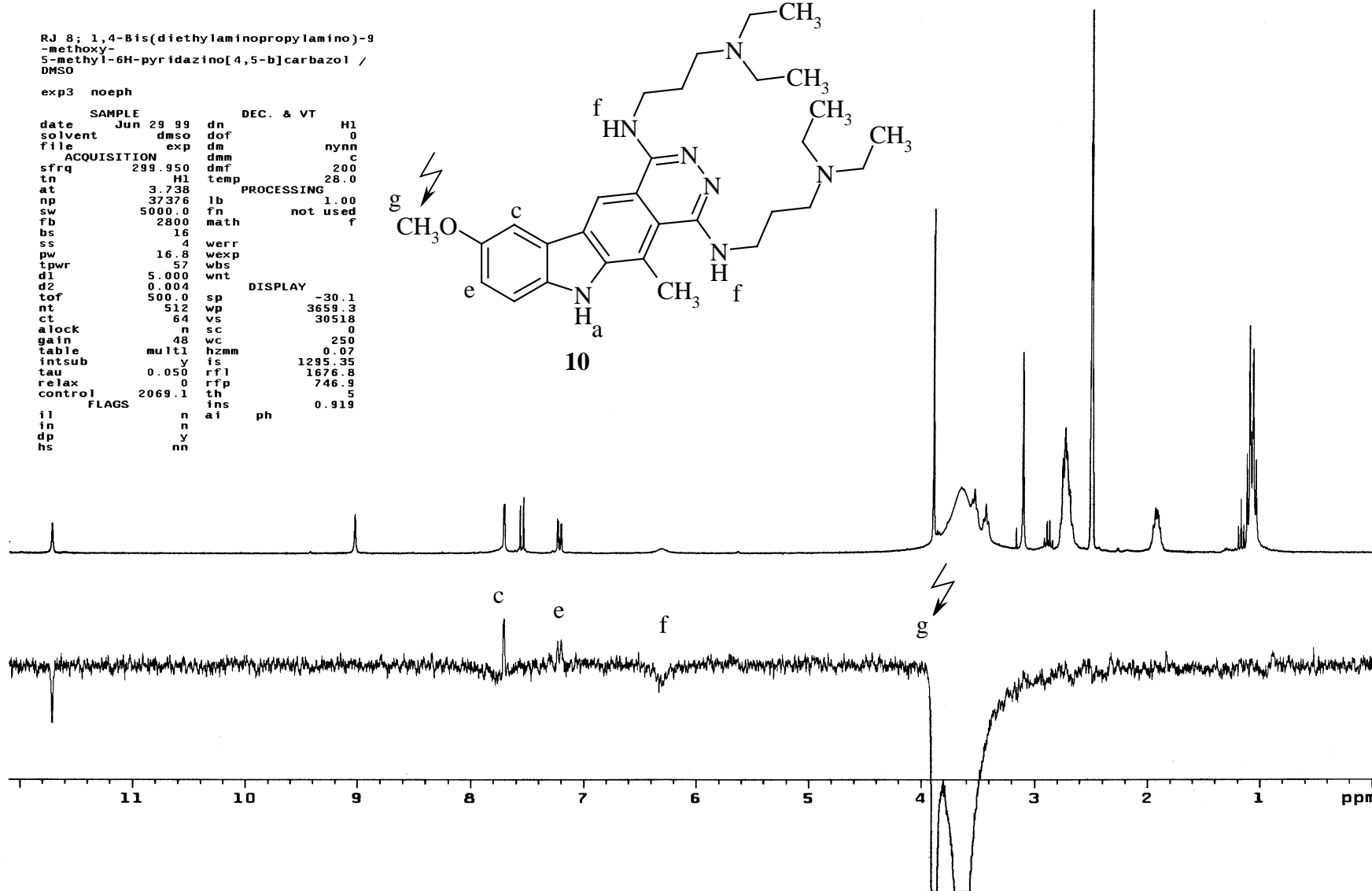
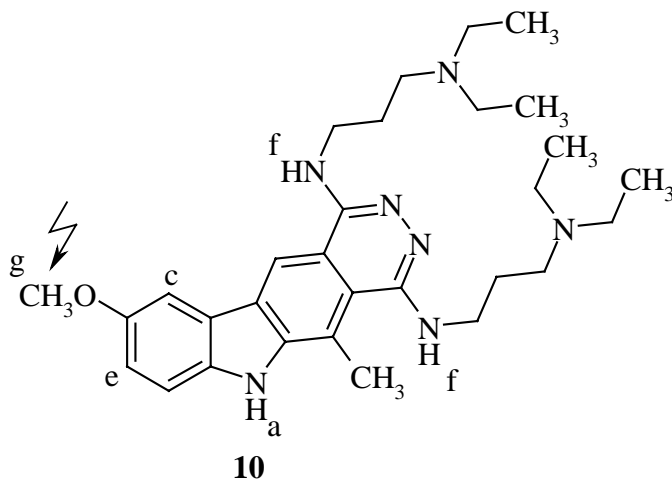


Tafel 47: 1,4-Bis[3-(diethylamino)propylamino]-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (**10**)

RJ 8; 1,4-Bis(diethylaminopropylamino)-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol / DMSO

exp3 noeph

date	SAMPLE	Jun 29 99	dn	DEC. & VT	H1
solvent	dms	dms	dof		0
file	exp		dm	nynn	c
ACQUISITION					
sfrq	299.950	dmf	200		
tn	H1	temp	28.0		
at	3.738	PROCESSING			
np	37376	lb	1.00		
sw	5000.0	fn	not used		
fb	2800	math	f		
bs	16				
ss	4	werr			
pw	16.8	wexp			
tpwr	57	wbs			
d1	5.000	wnt			
d2	0.004	DISPLAY			
tof	500.0	sp	-30.1		
nt	512	wp	3659.3		
ct	64	vs	30518		
alock	n	sc	0		
gain	48	wc	250		
table	mult1	hzmm	0.07		
intsub	y	is	1295.35		
tau	0.050	rfl	1676.8		
relax	0	rfp	746.9		
control	2069.1	th	5		
FLAGS		ins	0.919		
il	n	ai	ph		
in	n				
dp	y				
hs	nn				



Tafel 48: 1,4-Bis[3-(diethylamino)propylamino]-9-methoxy-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (**10**, NOE)

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird die Darstellung einer neuen Serie von 9-Methoxypyridazino[4,5-*b*]carbazolen mit struktureller Verwandtschaft zu dem zytostatisch wirksamen Naturstoff *Ellipticin* sowie davon abgeleiteten Arzneistoffen beschrieben.

Der Syntheseweg zu den tetracyclischen Zielverbindungen beginnt mit kommerziell erhältlicher 5-Methoxy-3-indolylessigsäure, welche mittels Acetanhydrid/Bortrifluorid in das Indol-anellierte Pyron **2** übergeführt wird. Die Herstellung des Carbazoldicarbonsäureesters **3** aus Verbindung **2** erfolgt mittels einer Diels-Alder-Reaktion unter Verwendung von Acetylendicarbonsäuredimethylester als Dienophil, wobei sich die Anwesenheit der elektronenspendenden Methoxy-Gruppe als günstig erweist. Durch Ringschluß von **3** mit Hydrazinhydrat gelangt man zum *d*-anellierten Pyridazindion **4**, welches anschließend durch Behandlung mit Phosphoroxychlorid in das 1,4-Dichlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**5**) übergeführt wird. Durch Umsetzung der Dichlorverbindung **5** mit *N,N*-Diethylaminopropylamin gelingt die Einführung der aus pharmazeutischer Sicht besonders interessanten basischen Seitenkette in das tetracyclische Grundgerüst, womit ein brauchbarer Zugang zu den potentiellen Wirkstoffen (**8–10**) erarbeitet werden konnte.

In-vitro-Tests zeigten eine signifikante Antitumor-Aktivität vor allem für Verbindung **8**, die auch in ersten *in-vivo*-Tests bestätigt wurde.

Die Strukturen aller neuen Verbindungen wurden mit elementaranalytischen und spektroskopischen Daten gesichert.

LEBENS LAUF

Vorname: Rami

Familiennamen: Jbara

Geburtsdaten: Qalqilia/Westbank, am 21. November 1973

Familienstand: ledig

Ausbildung: 1979 - 1985 Volksschule in Qalqilia/Westbank
1985 - 1991 Gymnasium in Qalqilia/Westbank
Seit 1993 Studium der Pharmazie an der
Universität Wien.

Sprachkenntnisse: Arabisch
Deutsch
Englisch

Hobbys: diverse Software (Microsoft, Unix), Hardware
Programmiersprachen (HTML, Java, Perl, C)

Tätigkeiten: als Photograph und im Pressebereich
seit 1995 als EDV-Tutor an der Universität Wien