



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Synthese neuer Ring-A-substituierter,
b-anellierter Carbazole
als potenzielle Zytostatika

verfasst von

Markus Tarnai

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag. pharm.)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Pharmazie

Betreut von:

Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Norbert Haider

VORWORT

Die experimentellen Untersuchungen zur vorliegenden Arbeit wurden in der Zeit von März 2011 bis Juli 2011 am Department für Arznei- und Naturstoffsynthese der Universität Wien unter der Anleitung von Prof. Dr. Norbert Haider durchgeführt.

Ihm gilt mein spezieller Dank für die intensive und persönliche Betreuung während der praktischen Arbeit und des Verfassens der Diplomarbeit, sowie für die Aufnahme sämtlicher NMR-Spektren.

Des Weiteren gilt mein Dank:

Herrn Dr. Leo Jirovetz für die Aufnahme der Massenspektren,

Herrn Mag. Johannes Theiner vom Mikroanalytischen Labor der Fakultät für Chemie, Universität Wien für die Durchführung der Elementaranalysen,

Herrn Ing. Peter Unteregger vom Massenspektrometrie-Zentrum an der Fakultät für Chemie, Universität Wien für die Aufnahme der hochauflösenden Massenspektren,

Meinem Kollegen Mag. Thomas Nagel für die Durchführung der zellbiologischen Untersuchungen am Institut für Krebsforschung der Medizinischen Universität Wien.

Besonders möchte ich mich bedanken bei meinen Kolleginnen und Kollegen am Department für die fachliche und persönliche Unterstützung.

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	6
1.1. <i>ELLIPTICIN</i> ALS LEITSTRUKTUR IN DER ZYTOSTATIKAFORSCHUNG	4
1.2. ZUM WIRKMECHANISMUS VON <i>ELLIPTICIN</i> -DERIVATEN	11
1.3. ZIELSETZUNG	11
2. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	14
2.1. SYNTHESE VON 9-BROMPYRIDAZINO[4,5- <i>b</i>]CARBAZOLEN MIT BASISCHER SEITENKETTE	14
2.1.1. Aufbau des bromierten Pyridazino[4,5- <i>b</i>]carbazol-Grundgerüsts	14
2.1.2. Einführung von basischen Seitenketten in das bromierte Pyridazino[4,5- <i>b</i>]carbazol-Grundgerüst	21
2.2. SYNTHESE VON RING-A-SUBSTITUIERTEN PYRROLO[3,4- <i>b</i>]-CARBAZOLEN MIT BASISCHER SEITENKETTE	27
2.2.1. Darstellung des 8-Brompyrrolo[3,4- <i>b</i>]carbazols mit basischer Imid-Seitenkettenstruktur	27
2.2.2. Darstellung des 8-Nitropyrrolo[3,4- <i>b</i>]carbazols mit basischer Imid-Seitenkettenstruktur	29

3. EXPERIMENTELLER TEIL **34**

- | | | |
|--------|--|----|
| 3.1.1. | Aufbau des bromierten Pyridazino[4,5- <i>b</i>]carbazol-Grundgerüsts | 36 |
| 3.1.2. | Einführung von basischen Seitenketten in das bromierte Pyridazino[4,5- <i>b</i>]carbazol-Grundgerüst | 42 |
| 3.1.3. | Darstellung von 8-Brom-2-[3-(diethylamino)propyl]-4-methylpyrrolo[3,4- <i>b</i>]carbazol-1,3(2 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-dion ausgehend von Dimethyl-6-brom-1-methyl-9 <i>H</i> -carbazol-2,3-dicarboxylat | 48 |
| 3.1.4. | Darstellung von 2-[3-(Diethylamino)propyl]-4-methyl-8-nitropyrrolo[3,4- <i>b</i>]carbazol-1,3(2 <i>H</i> ,5 <i>H</i>)-dion ausgehend von Dimethyl-1-methyl-6-nitro-9 <i>H</i> -carbazol-2,3-dicarboxylat | 50 |

4. LITERATURVERZEICHNIS **53**

5. ANHANG **56**

SPEKTREN

ZUSAMMENFASSUNG

LEBENS LAUF

1. EINLEITUNG

Krebs, als Sammelbegriff für maligne Tumoren und maligne Zellproliferationen des blutbildenden und lymphatischen Systems, ist eine der häufigsten Todesursachen in Industriestaaten und verantwortlich für 13% aller Todesfälle weltweit. Die global steigende Prävalenz lässt sich in Industriestaaten mit einer immer höher werdenden Lebenserwartung erklären, in Entwicklungsländern mit einer zunehmenden Aneignung von Krebs auslösenden Angewohnheiten, allen voran das Tabakrauchen.¹

Die Ursachen für das dieser Krankheit zugrunde liegende unregulierte Zellwachstum sind zu 90-95% diversen schädlichen Umweltfaktoren zuzurechnen, und zu 5-10% der individuellen genetischen Ausstattung.²

Die aktuellen etablierten Therapiemethoden von soliden Tumoren umfassen Resektion des entarteten Gewebes und der benachbarten Lymphknoten, Therapie mit ionisierender Strahlung zur Zerstörung des betroffenen Gewebes, und medikamentöse Therapie, sogenannte Chemotherapie.

Systemische medikamentöse Therapie kommt vor allem dann zum Einsatz, wenn bei soliden Tumoren bereits Metastasen im Körper nachzuweisen sind, und bei Entartungen des blutbildenden und lymphatischen Systems, da sich in diesen Fällen entartete Zellen naturgemäß im gesamten Körper verteilen.

Die in der Chemotherapie verwendeten Substanzen, Zytostatika genannt, entfalten ihre toxische Wirkung über eine Hemmung des Zellwachstums bzw. der Zellteilung. Da Tumorzellen eine abnorm schnelle Teilungsrate aufweisen, reagieren diese empfindlicher als gesunde Zellen auf eine Störung des Teilungsmechanismus. Allerdings verfügen die Zellsysteme im Knochenmark, Verdauungstrakt und in Haarfollikeln unter normalen Bedingungen ebenfalls über eine hohe Teilungsrate. Daher kann es im Rahmen einer Zytostatikatherapie zu Schäden in eben diesen Systemen kommen, die sich in Form von Knochenmarksdepression, Schleimhautentzündung und Haarverlust äußern.

Diese umfangreiche Substanzgruppe der Zytostatika lässt sich anhand ihrer biochemischen Angriffspunkte in weitere Gruppen unterteilen: Alkylanzien können nukleophile Gruppen von Schlüsselmolekülen des Zellteilungsmechanismus alkylieren und so deren Funktion hemmen; Antimetabolite werden durch ihre strukturelle Verwandtschaft zu natürlichen Metaboliten von der Zelle erkannt, aber blockieren durch fehlende chemische Voraussetzung den weiteren Mechanismus; Pflanzenalkaloide wie Vinca-Alkaloide, Podophyllotoxine und Taxane verhindern die korrekte Funktion der Mikrotubuli während der Mitose; Interkalantien schieben sich aufgrund ihrer planaren Struktur in den DNA-Strang ein und blockieren auf diese Weise dessen Replikationsenzyme; Topoisomerasehemmer führen zu irreversiblen DNA-Strangbrüchen durch Blockade des Enzyms Topoisomerase. Eine eindeutige Zuordnung von einzelnen Substanzen in eine bestimmte Gruppe gelingt nicht immer, da oft ein gemischter Wirkungsmechanismus vorliegt, vor allem die Kombination aus Interkalator und Topoisomerasehemmer trifft auf einige interessante Wirkstoffe zu.

In den drei letztgenannten Gruppen finden sich mehrere Wirkstoffe, die direkt als Naturstoffe isoliert oder aus Naturstoff-Leitstrukturen heraus entwickelt wurden. Diese Leitstrukturen wurden durch intensive Forschungsarbeit chemisch dahingehend verändert, dass eine zytostatische Wirkung in den Vordergrund tritt.

Die direkt aus der Pflanze *Catharanthus roseus* (Madagaskar-Immergrün) isolierten Vinca-Alkaloide *Vinblastin*, *Vincristin* und *Vindesin* hielten Einzug in die klinische Therapie, nachdem in den 1960er Jahren Studien über diese seit langer Zeit in der Volksmedizin verwendete Pflanze positive Ergebnisse bei der Behandlung von Leukämie gezeigt hatten.³

Aus *Podophyllum peltatum* (Amerikanischer Maiapfel) und *Podophyllum hexandrum* (Himalaya-Maiapfel) wurde *Podophyllotoxin* gewonnen (welches als solches zur topischen Behandlung von genitalen Feigwarzen zugelassen ist), bis 1966 nach weiteren Forschungsarbeiten das Derivat *Etoposid* kreiert wurde, für das erst 1983 eine Zulassung für Leukämie erteilt werden konnte.⁴

Eine noch längere Geschichte erfuhr der 1962 aus *Taxus brevifolia* (Pazifische Eibe) entnommene Extrakt, nachdem damit in den darauffolgenden Jahren Aktivität gegen Leukämiezellen festgestellt worden war. 1969 wurde aus diesem Extrakt der Wirkstoff *Paclitaxel* isoliert, 1983 zur ersten Studie im Menschen verabreicht und schließlich 10 Jahre später auf den Markt gebracht. 1995 erfolgte weiters die Zulassung des Derivats *Docetaxel* zur Anwendung bei soliden Tumoren.⁵

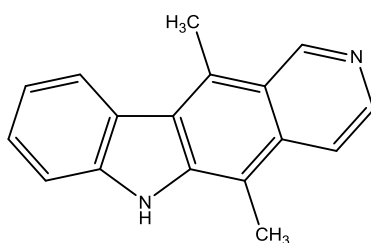
In den 1950er Jahren wurde aus einer neu entdeckten Subspecies des Bakteriums *Streptomyces peucetius* das Anthracyclin *Daunorubicin* isoliert.⁶ Klinische Studien begannen in den 1960er Jahren, die Substanz zeigte sich vielversprechend in der Behandlung von Leukämie.⁷ Zur selben Zeit wurde das Derivat *Doxorubicin* entwickelt, das sich effektiver gegen solide Tumoren und mit einem besseren Nutzen-Risiko-Profil ausgestattet, erwiesen hatte.⁸ Zusammen mit den weiteren Derivaten *Epirubicin*, *Idarubicin* und dem Anthrachinon *Mitoxantron* bildet diese Gruppe ein unersetzliches Instrument in der Behandlung von fast allen soliden Tumoren, zusätzlich begünstigt durch eine niedrige Resistenzrate.

Die intensive Suche nach aktiven Substanzen aus natürlichen Quellen mit potentieller Anwendbarkeit gegen Krebserkrankungen führte im Jahr 1966 zu der Entdeckung des Chinolinalkaloids *Camptothecin*, das aus *Camptotheca acuminata* (aus dem Chinesischen übersetzt Happy tree, Tree of life) isoliert werden konnte.⁹ Da die Substanz zwar zytostatisch wirkt, aber ungünstige pharmakokinetische Eigenschaften aufweist, wurden Anstrengungen angestellt, diese zu verbessern. Durch Modifikation der Leitverbindung wurden schließlich die beiden Wirkstoffe *Topotecan* und *Irinotecan* entwickelt, die beide 1996 die erste Zulassung zur Behandlung von soliden Tumoren erhielten.

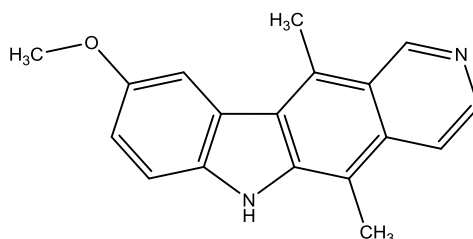
1.1. ELLIPTICIN ALS LEITSTRUKTUR IN DER ZYTOSTATIKA-FORSCHUNG

Das Carbazolalkaloid *Ellipticin* wurde aus der kleinen tropischen, immergrünen Pflanze *Ochrosia elliptica* Labill. (*Apocynaceae*, in Neukaledonien 1824 erstmals beschrieben), im Jahre 1959 für die National Institutes of Health isoliert und charakterisiert.¹⁰

In den damals gängigen Screenings der natürlichen Substanzen auf Antitumorwirkung wurden außerdem Extrakte aus den australischen Pflanzen *Ochrosia moorei* F.Muell. und *Excavatia coccinea* Tejs. & Bin. (*Apocynaceae*) getestet, und Aktivität gegen Sarcoma 180, Adenocarcinoma 755 und Lymphoide Leukämie L1210 in Mäusen, sowie Zytotoxizität gegen menschliches Nasopharynxkarzinom in Zellkultur gefunden. Später wurde die Wirkung dieser beiden Pflanzenextrakte auf zwei Substanzen zurückgeführt, *Ellipticin* und *9-Methoxyellipticin* (Schema 1).¹¹



Ellipticin



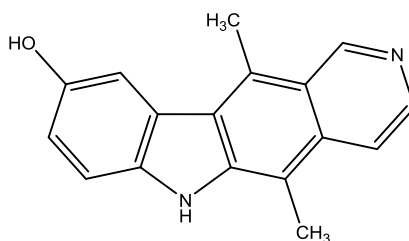
9-Methoxyellipticin

Schema 1

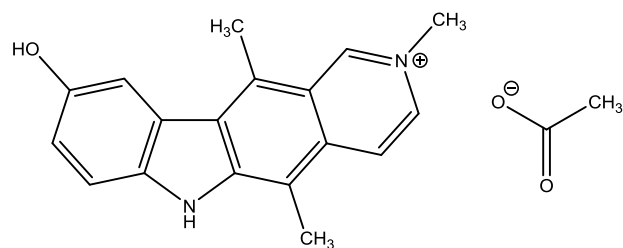
Man hatte somit eine neue Leitstruktur entdeckt, Pyrido[4,3-*b*]carbazol, die durch ein flaches 18- π -Elektronen-Heteroaromaten-Gerüst auffällt. Die Schlussfolgerung liegt daher nahe, in Bezug auf den Wirkmechanismus Parallelen zu den heute verwendeten Anthrachinonderivaten *Mitoxantron*, *Daunorubicin* und *Doxorubicin* zu ziehen, da diese ebenfalls über eine planare Aromatenstruktur verfügen. Bei diesen Zytostatika wird als Wirkprinzip eine Interkalation des DNA-Strangs als gesichert angesehen.

Da die Isolierung dieser Alkaloide aus natürlichen Quellen aufwändig und wenig schonend für endemische Arten ist, wurden mehrere Synthesewege beschrieben, um einen rentablen Zugang zu dieser Leitstruktur zu etablieren.¹² Die Ausbeuten waren durchgehend bescheiden, die ertragreichste Route führte von Indol und Hexan-2,5-dion zu 1,4-Dimethylcarbazol, über 3-Formyl-1,4-Dimethylcarbazol mit Aminoacetaldehydacetal zur anschließenden Zyklisierung durch eine Pomeranz-Fritsch-Reaktion des so erhaltenen Imins mittels Phosphorsäure. Im Rahmen dieser Arbeit von L. K. DALTON *et al.* im Jahre 1967 entstanden insgesamt drei Dutzend Derivate, von denen außer *Ellipticin* und *9-Methoxyellipticin* noch das *6-Methylellipticin* deutliche Aktivität gegen L1210-Zellen zeigte.¹¹

In den 70er- bis 80er-Jahren wurden der Reihe nach *9-Methoxyellipticin*, *9-Hydroxyellipticin* und *Elliptiniumacetat* für vorklinische und klinische Untersuchungen herangezogen (Schema 2).



9-Hydroxyellipticin

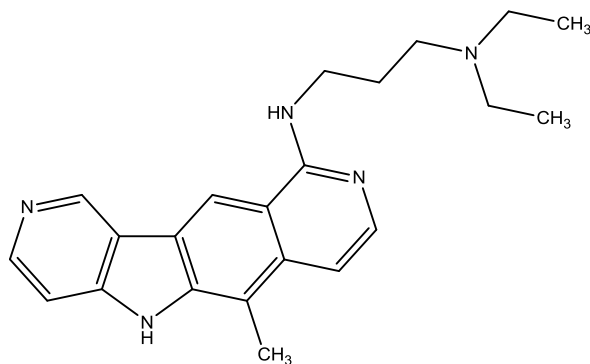


Elliptiniumacetat

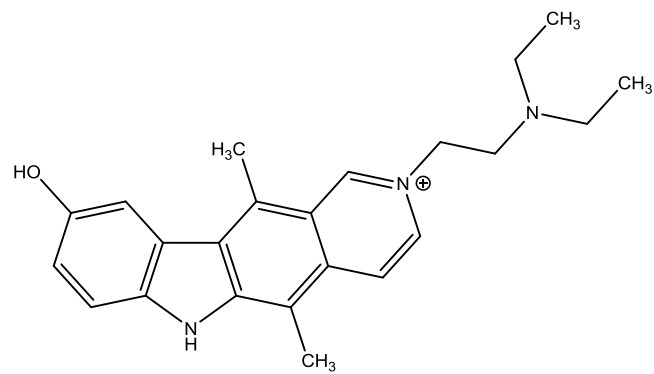
Schema 2

Elliptiniumacetat erlangte eine Zulassung in Frankreich bei myeloblastischer Leukämie und fortgeschrittenem Brustkrebs, allerdings musste die Anwendung aufgrund beträchtlicher Nebenwirkungen eingeschränkt werden.

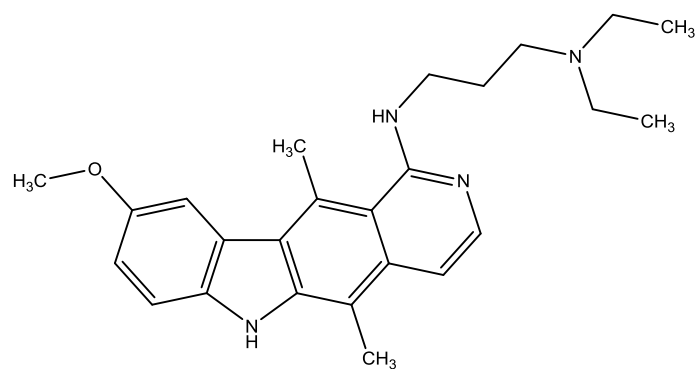
Zahlreiche Arbeitsgruppen beschäftigten sich mit der Weiterentwicklung der Leitstruktur, um vor allem ungünstige Eigenschaften wie unzureichende Wasserlöslichkeit in den Griff zu bekommen. Weitere Derivate, welche die klinische Erprobung erreicht haben, sind das *Aza-Ellipticin*-Derivat *Pazelliptin* mit zusätzlichem Stickstoff in Ring A, das quartäre Derivat *Datelliptium*,¹³ und das 9-Methoxy-Derivat *Retelliptin* (Schema 3).¹⁴



Pazelliptin



Datelliptium

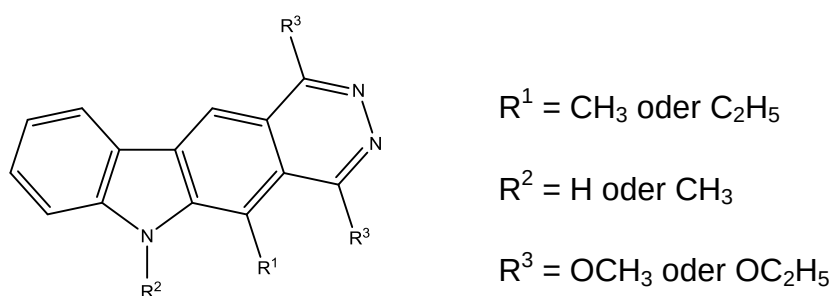


Retelliptin

Schema 3

Diese Verbindungen zeichnen sich gegenüber der Leitstruktur *Ellipticin* durch verbesserte physikochemische Eigenschaften aus, sodass sie zur Verabreichung geeignet sind. Durch Vergleich der chemischen Modifikationen lässt sich erkennen, dass offenbar sowohl die Quaternisierung des Pyridin-Stickstoffs als auch die Einführung einer basischen Seitenkette einen positiven Einfluss darauf ausüben. Neben der Löslichkeitsverbesserung erhöhen diese Veränderungen außerdem die Affinität des Moleküls zum Phosphat-Rückgrat der DNA und somit dessen zytostatische Potenz.¹⁵

Die im Jahr 1989 veröffentlichte Arbeit von LANDELLE *et al.*¹⁶ präsentierte eine neue Reihe von *Aza-Ellipticin*-Derivaten, an Position 1 und 4 mit Alkoxygruppen substituierte Pyridazino[4,5-*b*]carbazole, wobei hier der zusätzliche Stickstoff im Ring D eingebaut wurde (Schema 4). Diese Verbindungen erwiesen sich im *in-vitro*-Screening als unwirksam, was von den Autoren auf die geringe Löslichkeit zurückgeführt wurde.

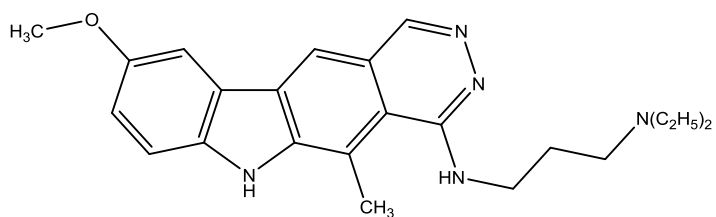
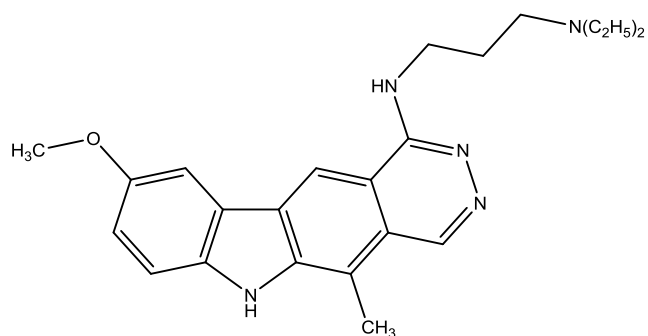


Schema 4

In einer 1998 von HAIDER *et al.* veröffentlichten Arbeit¹⁷ zeigte sich unter anderem eine bemerkenswerte Aktivität der 5-Methyl-9-methoxypyridazino[4,5-*b*]carbazole mit basischer N,N-Diethylpropan-1,3-diamin-Seitenkette an Position 1 bzw. 4.

Mit der Entwicklung dieser Derivate wurde der zusätzliche Stickstoff in Ring D aufgegriffen, eine basische Seitenkette an Position 1 bzw. 4 eingeführt, und die Substitution an Position 9 vorgenommen (Schema 5).

Im Vergleich zu *Retelliptin* wird ersichtlich, dass es sich hierbei um vielversprechende Strukturmerkmale handelt, die zu der erwiesenen Wirkungssteigerung der Verbindungen führen.

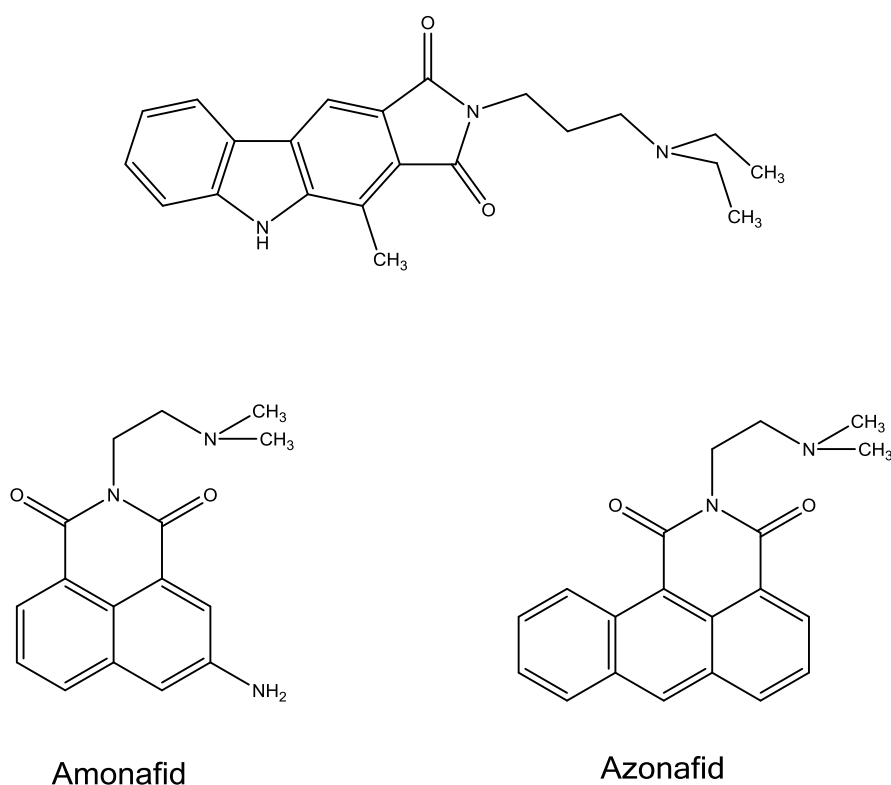


Schema 5

In der Diplomarbeit TROPPER wurde 2013 erstmals eine Syntheseroute für 3-*Aza-Ellipticin*-Derivate beschrieben,¹⁸ die es erlaubte, eine Substitution mit Brom, Chlor oder einer Nitrogruppe an Position 9 auf der Stufe des fertigen Carbazolgrundgerüsts durchzuführen. Bisherige Routen hatten dagegen auf dem bereits substituierten Grundbaustein aufgebaut, welcher allerdings nicht käuflich zu erwerben und nur recht unökonomisch selbst herzustellen war. Dies wurde deutlich am Beispiel der 9-Methoxyverbindungen, welche in einer vielstufigen Synthese aus 5-Methoxyindol erhalten worden waren.¹⁷

Eine weitere Abwandlung der *Ellipticin*-Leitstruktur stellen tetrazyklische 1-Methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboximide dar, von denen sich unter anderem solche mit *N*-verknüpfter Diethylaminopropyl-Seitenkette in einer Arbeit von HAIDER *et al.* 2008 als deutlich aktiv erwiesen haben.¹⁹

Das Strukturmerkmal des anellierten zyklischen *N*-substituierten Imids lässt sich in einer Reihe von potenten Zytostatika wiederfinden, wie *Amonafid* und *Azonafid* (Schema 6). Untersuchungen hatten gezeigt, dass derartige Wirkstoffe spezifisch die Topoisomerase II hemmen (über eine Stabilisierung des „spaltbaren Komplexes“ aus DNA und diesem Enzym).²⁰



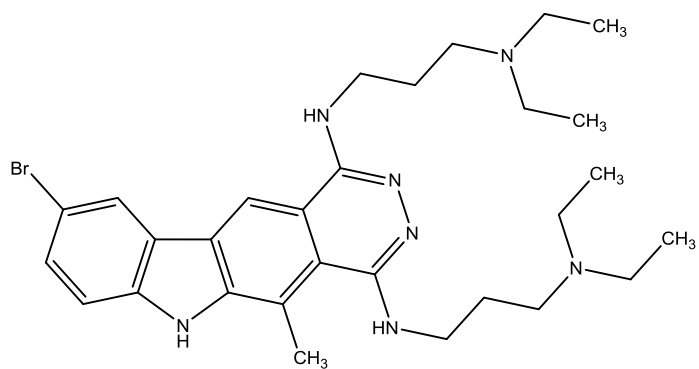
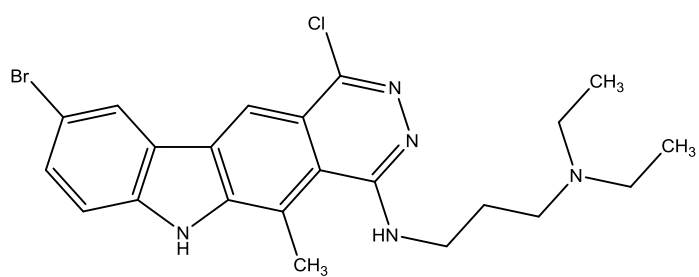
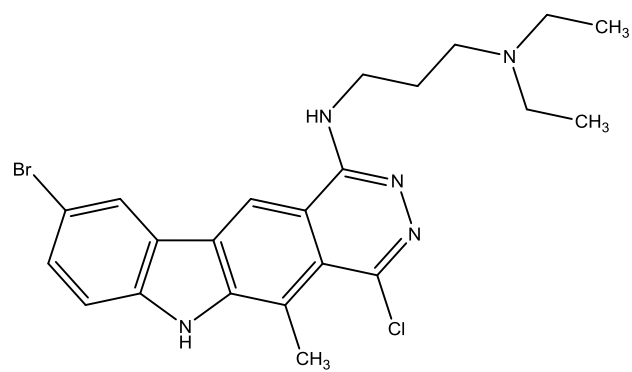
Schema 6

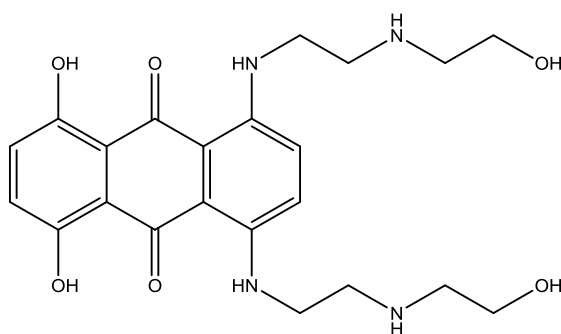
1.2. ZUM WIRKMECHANISMUS VON *ELLIPTICIN*-DERIVATEN

Die bisherigen Forschungsergebnisse über die Wirkweise des zytotoxischen *Ellipticins* und dessen Derivate zeigen, dass sowohl eine Interkalation in den DNA-Strang als auch eine Interaktion mit dem Enzym Topoisomerase II stattfindet. Zusätzliche Affinität zu dem Phosphat-Rückgrat der DNA scheint durch die basische Seitenkette gegeben zu sein. Die Interaktion mit DNA und Topoisomerase II führt zu einem ternären Komplex mit diesen beiden Partnern, sodass die Ligation der DNA verhindert wird.²¹ Die Interkalation in die DNA durch das planare 18- π -Elektronen-Heteroaromatengerüst verhindert deren Replikation und Transkription, sodass es zum Stillstand der Proteinsynthese kommt.²²

1.3. ZIELSETZUNG

Aufbauend auf den Ergebnissen der Diplomarbeit von TROPPER¹⁸ sollten in der vorliegenden Arbeit verschiedene in Position 9 substituierte Vertreter des 3-Aza-11-desmethyl-*Ellipticin*-Systems mit basischen Seitenketten an Position 1 bzw. 4 zugänglich gemacht werden. Die basischen Reste sollen dabei eine gegenüber dem Grundkörper verbesserte zytostatische Aktivität gewährleisten. Auch ein entsprechendes Derivat mit zwei identischen Seitenketten dieses Typs an Position 1 und 4 sollte hergestellt werden, welches Ähnlichkeiten zu dem zytostatischen Wirkstoff *Mitoxantron* aufweist (Schema 7). Der Substituent in Position 9 des tetrazyklischen Systems sollte, wie bereits von analogen Verbindungen bekannt,¹⁷ einen positiven Einfluss auf die zytotoxische Aktivität ausüben, daher wurden nun entsprechende Analoga mit einem Halogenatom in dieser Position untersucht.

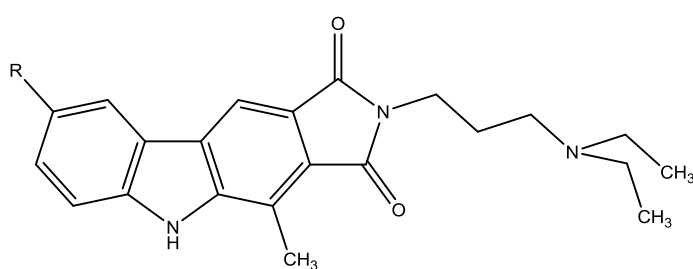




Mitoxantron

Schema 7

Des Weiteren sollte diese Substitution sowohl mit Brom als auch mit einer Nitrogruppe am tetrazyklischen 4-Methylpyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3-dion mit basischer Seitenkette an der Imidstruktur vorgenommen werden, um auch diese Derivate einer zellbiologischen Untersuchung auf zytotoxische Aktivität zu unterziehen (Schema 8).



R = -Br, -NO₂

Schema 8

2. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

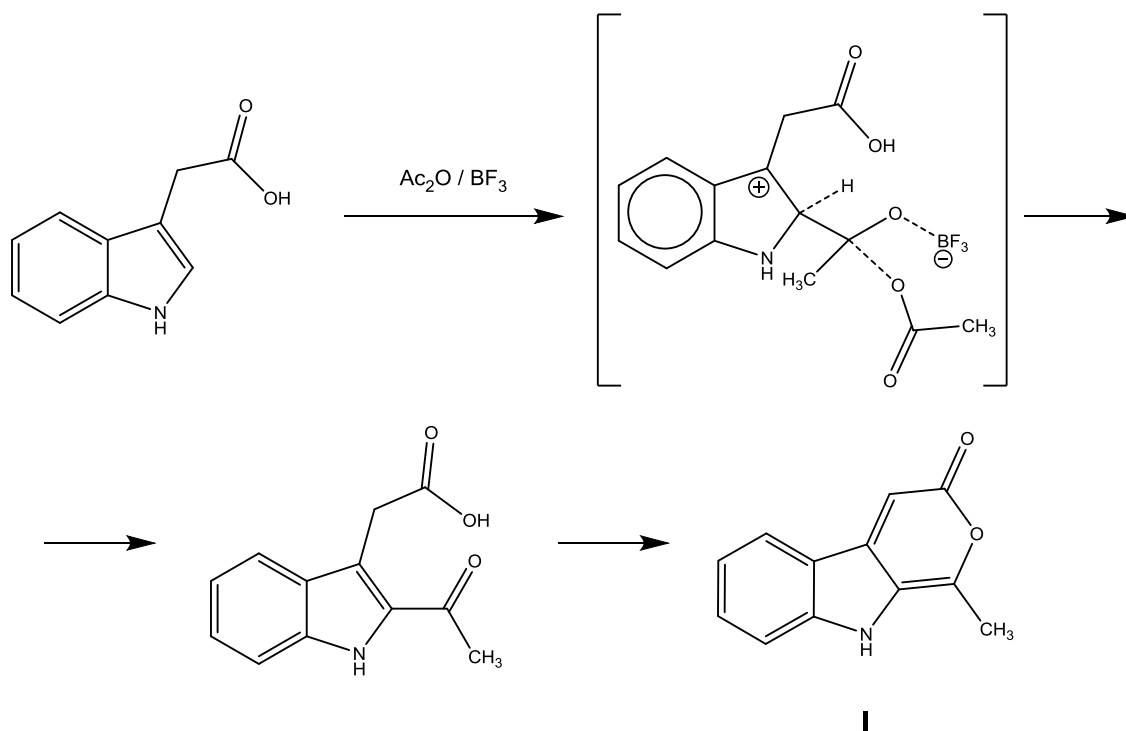
2.1. SYNTHESE VON 9-BROMPYRIDAZINO[4,5-*b*]CARBAZOLEN MIT BASISCHER SEITENKETTE

2.1.1. AUFBAU DES BROMIERTEN PYRIDAZINO[4,5-*b*]CARBAZOL-GRUNDGERÜSTS

Darstellung der Ausgangsverbindung

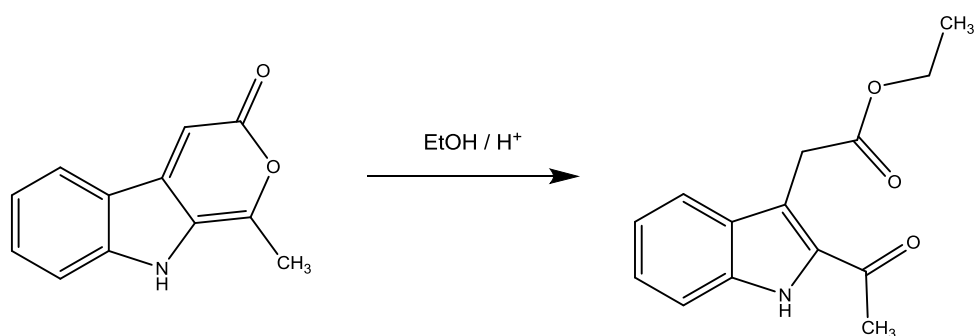
Das trizyklische Dimethyl-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **II** (Schema 11) stellt die Ausgangsverbindung für die geplante Arbeit dar, diese Verbindung sollte zunächst der Substitution an Position 9 und dann dem Ringschluss zu tetrazyklischen Derivaten unterworfen werden.

Der Grundbaustein für diesen Aufbau ist die kommerziell erhältliche Indolyl-3-essigsäure, die nach PLIENINGER *et al.* durch Friedl-Crafts-Acylierung in Anwesenheit einer Lewis-Säure (Bortrifluorid-Diethylether-Komplex) mit Acetanhydrid unter spontaner Zyklisierung zu 1-Methylpyrano[3,4-*b*]indol-3(9*H*)-on **I** reagiert (Schema 9).²³



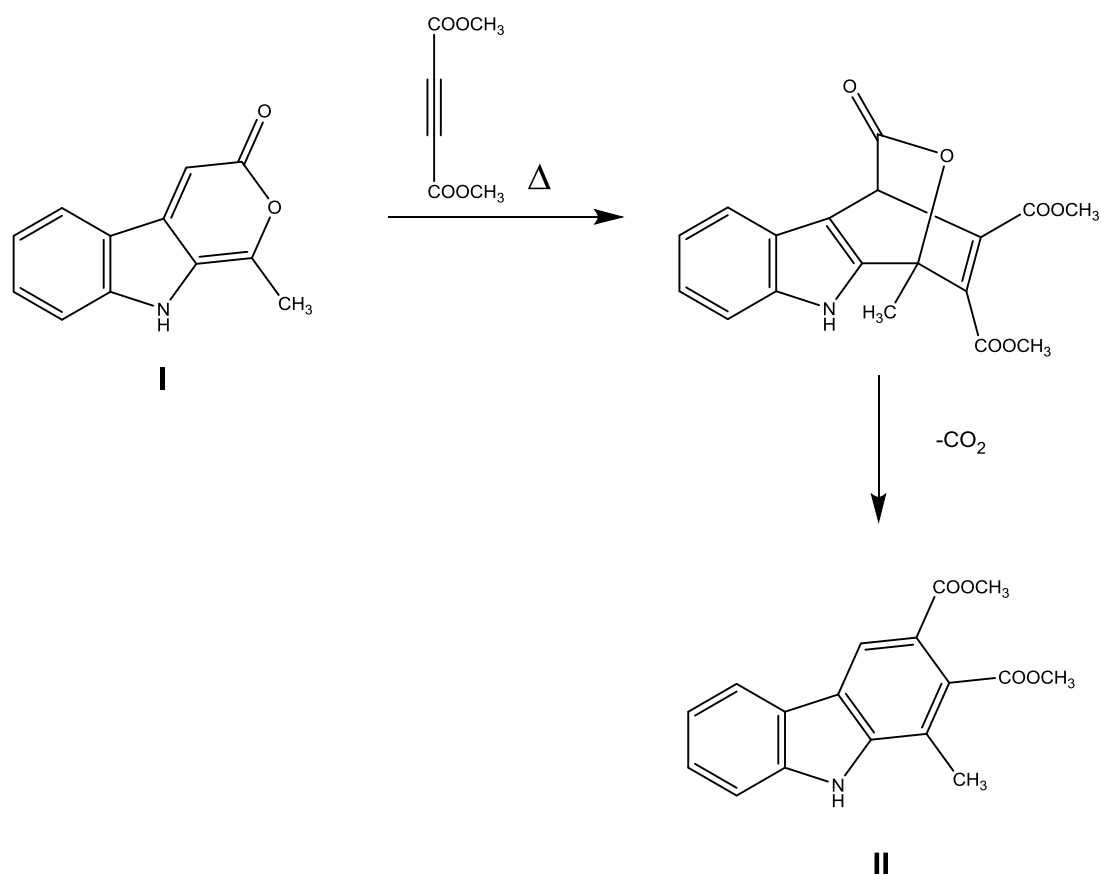
Schema 9

Die Reinigung dieses Lactons erfolgte durch Umkristallisation der orangen Kristalle aus Ethanol in Gegenwart von drei Prozent Triethylamin. Die Zugabe der Base und die Einhaltung einer kurzen Einwirkdauer ist unerlässlich, um die durch Säurespuren katalysierte Ethanololyse zum Ketoester zu vermeiden (Schema 10).¹⁷



Schema 10

Das so erhältliche anellierte Pyron ist als Dien-Komponente für eine Diels-Alder-Reaktion denkbar geeignet, so kann mit Dimethyl-acetylendicarboxylat unter CO_2 -Abspaltung der gewünschte Carbazoldiester **II** erreicht werden (Schema 11).²⁴

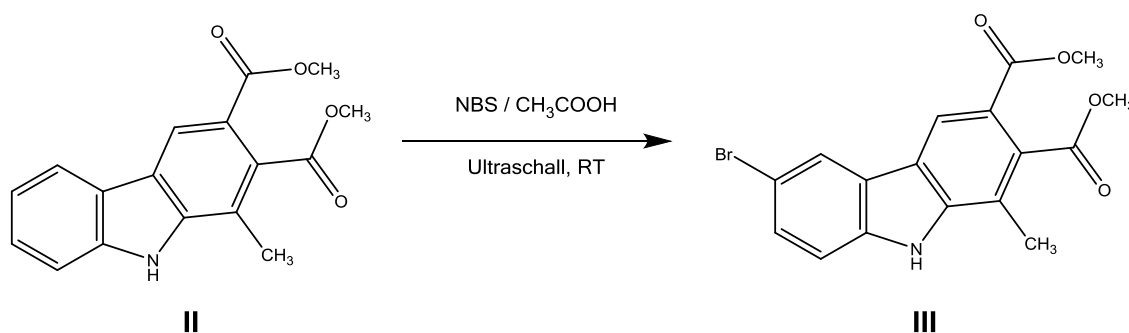


Schema 11

Bromierung an Position 6 des Dimethyl-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylats

Wie in der Diplomarbeit TROPPER bereits gezeigt wurde,¹⁸ ist die Bromierung am Ring A des Carbazolgrundgerüsts mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) einfach und effektiv durchzuführen. Diese Methode hat im Vergleich zur Bromierung mit elementarem Brom den Vorteil, dass *N*-Bromsuccinimid ungleich ungefährlicher in der Handhabung ist, sowie kein Bromwasserstoff entsteht.²⁵

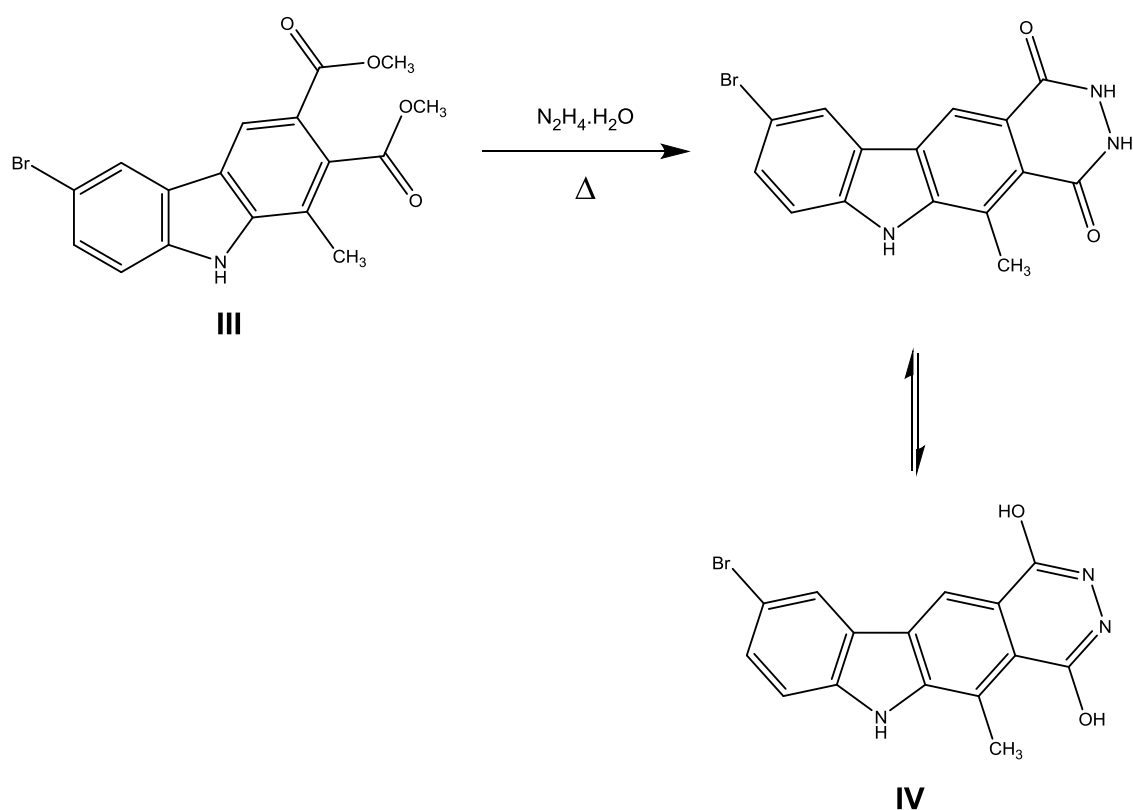
Der Diester **II** wurde hierzu in Eisessig aufgenommen, mit *N*-Bromsuccinimid in geringem Überschuss versetzt und unter Einwirkung von Ultraschall zur Reaktion gebracht. Nach 60 Minuten lässt sich mittels DC-Monitoring kein Ausgangsmaterial mehr nachweisen. Durch Umkristallisation des Rohproduktes aus Methanol wurden mit 68% Ausbeute (Lit.¹⁸: 62%) sehr reine Kristalle von Dimethyl-6-brom-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **III** gewonnen (Schema 12).



Schema 12

Ringschluss zum Pyridazino[4,5-*b*]carbazol

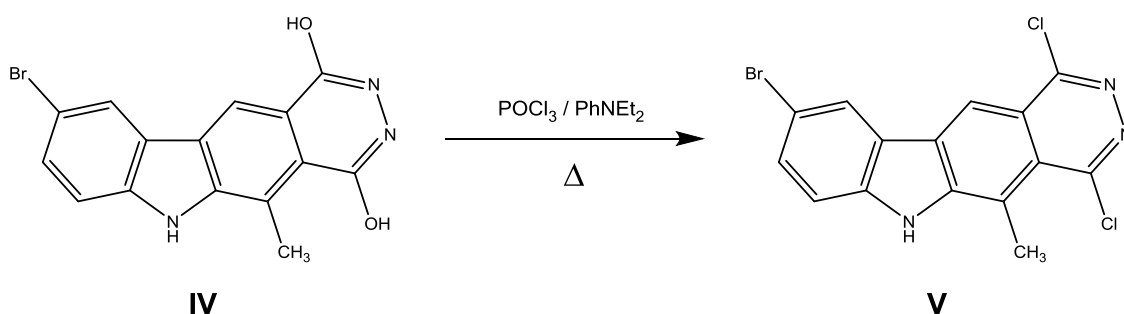
Im nächsten Schritt wird gemäß Lit.¹⁸ der bromsubstituierte Diester **III** mit Hydrazinhydrat zum Ringschluss gebracht, und so das tetrazyklische Pyridazino[4,5-*b*]carbazol aufgebaut. Die Reaktion verläuft problemlos, durch Einsatz von gereinigtem Edukt lässt sich ohne Umkristallisieren reines 9-Brom-5-methyl-2,3-dihydro-1*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4(6*H*)-dion **IV** mit einer Ausbeute von 89% (Lit.¹⁸: 97%) gewinnen (Schema 13). Die Verwendung von frischem Hydrazinhydrat (100%) ist unerlässlich, da die Hygroskopie dieses Reagens dazu führen kann, dass durch den erhöhten Wasseranteil die Reaktion unvollständig verläuft und vermutlich auf der Stufe des Hydrazids zum Erliegen kommt, jedenfalls kein Ringschluss stattfindet.



Schema 13

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

Die Überführung des Dions **IV** in die entsprechende 1,4-Dichlorverbindung mittels Phosphoroxychlorid sollte nun analog dem von HAIDER und WANKO¹⁷ modifizierten Verfahren von LANDELLE¹⁶ versucht werden. Die Modifikation besteht darin, dass *N,N*-Diethylanilin statt Pyridin als Base zum Abfangen von entstandenem Chlorwasserstoff verwendet wird. Dieses Verfahren war für die 9-unsubstituierte Verbindung 1,4-Dichlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol beschrieben worden, doch es zeigte sich, dass auch das 9-Brom-substituierte Derivat **V** auf diese Weise problemlos mit einer Ausbeute von 97% hergestellt werden kann (Schema 14). Wegen der Gefahr der partiellen Hydrolyse zur Chlor-Pyridazinon-Teilstruktur wurde auf Umkristallisieren verzichtet, da das Rohprodukt nach sorgfältiger Aufarbeitung bereits in ausreichender Reinheit für Analysen und weitere Reaktionsschritte verwendet werden kann.



Schema 14

Spektroskopische Befunde:

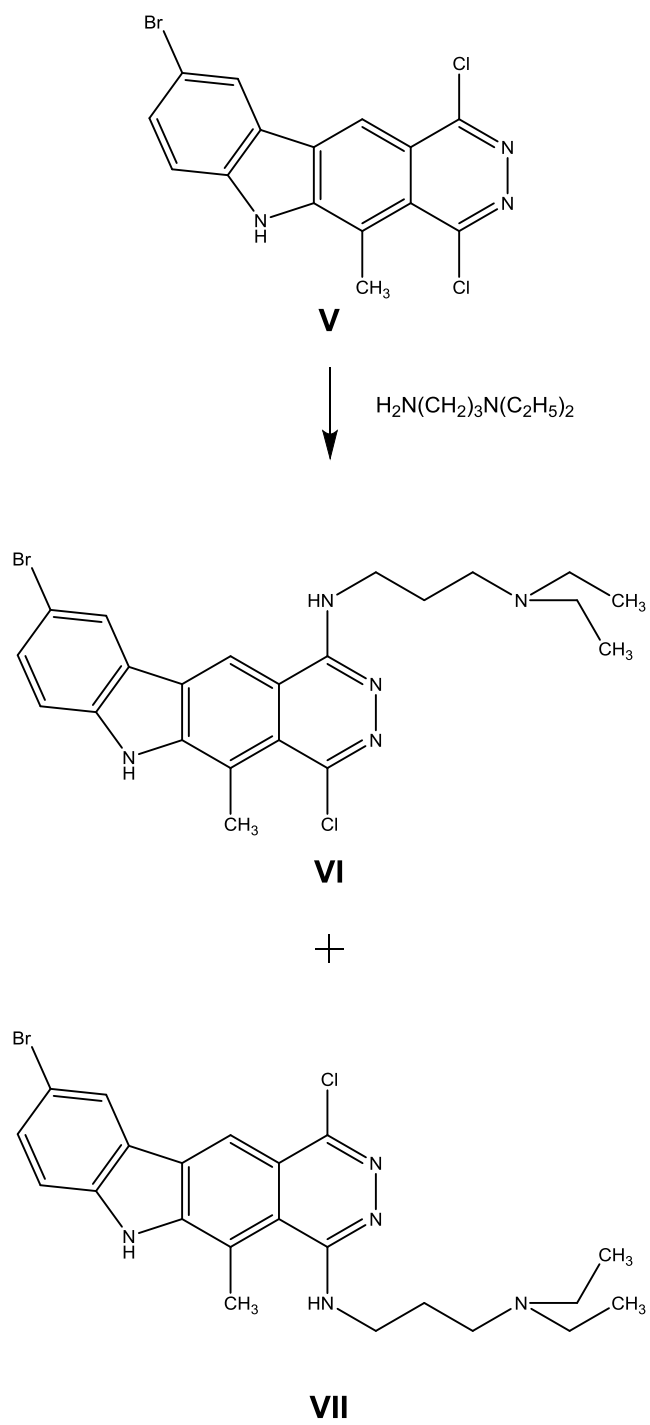
Im ^1H -NMR-Spektrum zeigt sich bei tiefem Feld das Signal der Carbazol-NH-Funktion bei 12.2 ppm. Bei 9.1 ppm folgt das Singulett von H-11, welches aufgrund der isolierten Lage keine Kopplung mit anderen Protonen aufweist. Das H-Atom in Position 10 zeigt sich bei 8.8 ppm als Dublett, da eine Kopplung mit H-8 auftritt. Dieses H-8 tritt als dublettisches Dublett bei 7.7 ppm auf, hier findet eine vicinale Kopplung mit H-7 und eine long-range Kopplung mit H-10 statt. Das Dublett bei 7.55 ppm stellt das H-7 dar, welches lediglich mit H-8 koppelt. Bei 3.1 ppm findet sich noch das Singulett der 5-Methylgruppe.

Im Massenspektrum weist die Isotopenverteilung der Peaks bei $m/z = 379$, $m/z = 381$ und $m/z = 383$ auf das Vorhandensein von zwei Atomen Chlor und einem Atom Brom hin, der vierte M^+ -Peak verschwindet im Rauschen.

2.1.2. EINFÜHRUNG VON BASISCHEN SEITENKETTEN IN DAS BROMIERTE PYRIDAZINO[4,5-*b*]CARBAZOL-GRUNDGERÜST

Wie in Abschnitt 1.3. erläutert, sollte die Einführung basischer Seitenketten zur Erhöhung der pharmakologischen Aktivität der angestrebten Zytostatika verwirklicht werden. Analog zu den Wirkstoffen *Retelliptin* und *Pazelliptin* wurde hierfür die *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin-Struktur gewählt. Als Synthesemethode wurde das von HAIDER und WANKO beschriebene Verfahren¹⁷ herangezogen, indem die Dichlorverbindung **V** mit überschüssigem *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin in trockenem 1,4-Dioxan umgesetzt wurde, um so die Chloratome nukleophil gegen das Amin zu tauschen. Allerdings stellte sich heraus, dass die Löslichkeit von 9-Brom-1,4-dichlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol **V** in 1,4-Dioxan nicht ausreicht, um dieses Edukt in zufriedenstellendem Maß zu den monosubstituierten Seitenketten-Derivaten umzusetzen. Daher wurde in Folge Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel verwendet, in welchem das Edukt nach Erhitzen rasch in Lösung geht. Tatsächlich zeigte sich, dass nach drei Stunden Reaktionszeit mittels DC kein Ausgangsmaterial mehr nachweisbar ist. Dafür beobachtet man erwartungsgemäß die Bildung eines Produktgemisches, offenbar infolge fehlender Selektivität bezüglich der beiden reaktiven Chlor-Funktionalitäten.

Nach Entfernen von Lösungsmittel und überschüssigem Reagens wurde das in einer Ausbeute von 57% erhaltene rohe Isomerengemisch mittels Säulenchromatographie getrennt. Als Fließmittel hat sich ein Gemisch aus Dichlormethan und Methanol unter Zusatz von Triethylamin als günstig erwiesen. Dabei wird zunächst die Polarität niedrig gehalten um apolare Nebenprodukte zu eluieren, danach der Methanolanteil erhöht um das erste Isomer zu gewinnen, um schließlich mit hohem Anteil an polarem Fließmittel das zweite Isomer zu isolieren. Man erhält die beiden Isomere **VI** und **VII** im Verhältnis 2:1, wobei **VI** mit einer isolierten Ausbeute von 36% die Hauptverbindung darstellt (Schema 15).



Schema 15

Spektroskopische Befunde:

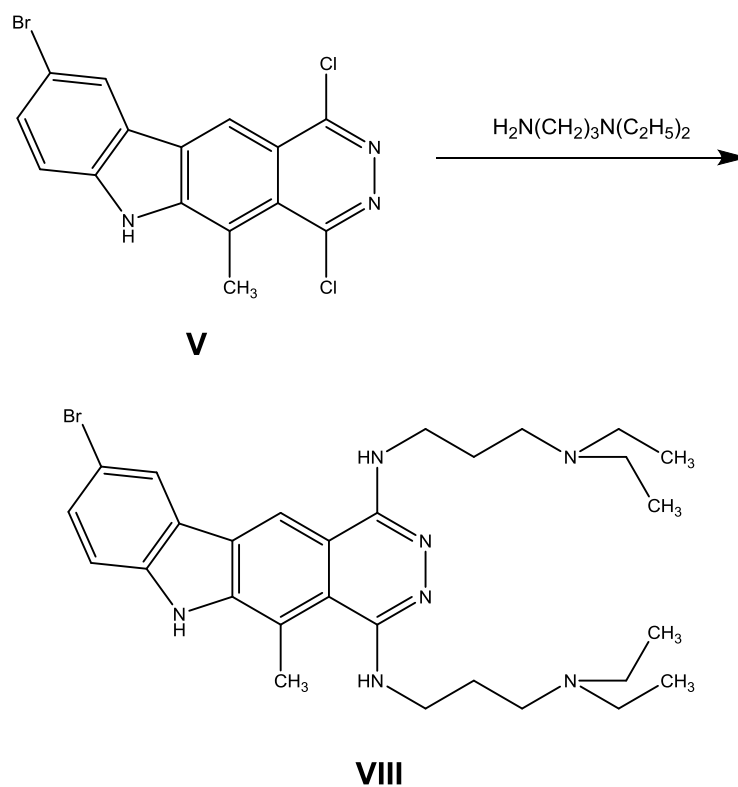
Basierend auf NOE-Differenz-Experimenten konnte die Strukturzuordnung eindeutig belegt werden. Die zuerst eluierte Fraktion enthält folgender Beobachtung nach die 1-Alkylamino-4-Chlor-Verbindung **VI**: bei Resonanzsättigung des Protons in Position 11 bei 9.27 ppm zeigt sich eine Intensitätssteigerung sowohl des Dubletts des Aromatenprotons in Position 10 bei 8.37 ppm, als auch des Multipletts des Seitenketten-NH-Protons bei 7.80 ppm und beweist damit deren räumliche Nähe.

Aus der zweiten Fraktion lässt sich Verbindung **VII** mit 17% Ausbeute isolieren. Hier zeigt das NOE-Experiment bei Resonanzsättigung des Seitenketten-NH-Protons bei 6.68 ppm eine Intensitätssteigerung des CH₃-Signals in Position 5 bei 3.10 ppm. Somit wird die räumliche Nähe der Seitenkette mit der 5-Methylgruppe sichergestellt.

Im Massenspektrum zeigen sich sehr schwache Moleküllionen-Peaks bei $m/z = 473$ und $m/z = 475$, die mit der Anwesenheit von Brom und Chlor vereinbar sind.

Synthese von 9-Brom-*N,N'*-bis[3-(diethylamino)propyl]-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4-diamin

Um auch zu einem disubstituierten Analogon **VIII** zu gelangen, welches wie einleitend erwähnt, strukturelle Ähnlichkeiten zu dem Wirkstoff *Mitoxantron* aufweist, sollte die Synthese dieser Verbindung, analog zur Methode von HAIDER und WANKO,¹⁷ durch längeres Erhitzen der Ausgangsverbindung **V** mit überschüssigem *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin in Abwesenheit eines Lösungsmittels unter Sauerstoffausschluss versucht werden (Schema 16).



Schema 16

Diese drastischen Reaktionsbedingungen erklären sich aus dem Reaktionsverhalten der Dichlorpyridazin-Struktur. Nach nukleophiler Substitution eines der beiden Chloratome wird dieses System durch die neu eingetretene elektronenliefernde Aminogruppe deaktiviert. Dementsprechend träge reagiert nun das übrige Chloratom gegenüber einem weiteren nukleophilen Angriff. Insofern erwies sich eine Reaktionszeit von sieben Tagen als notwendig.

Spektroskopische Befunde:

Im ^1H -NMR-Spektrum der so erhaltenen Verbindung **VIII** findet sich das Singulett der Carbazol-NH-Funktion wie bei den monosubstituierten Verbindungen bei relativ tiefem Feld (12.03 ppm). Auffällig ist das Signal der beiden Protonen der sekundären Seitenketten-Amine. Diese Multipletts sind im Vergleich zu den Pendants in den Spektren der monosubstituierten Derivaten weit zu höherem Feld verschoben und zeigen sich bei 4.0-4.1 ppm. Die relativen Intensitäten sämtlicher Aliphaten- und Aromatensignale belegen ebenfalls das Vorhandensein zweier basischer Seitenketten des genannten Typs in Verbindung **VIII**.

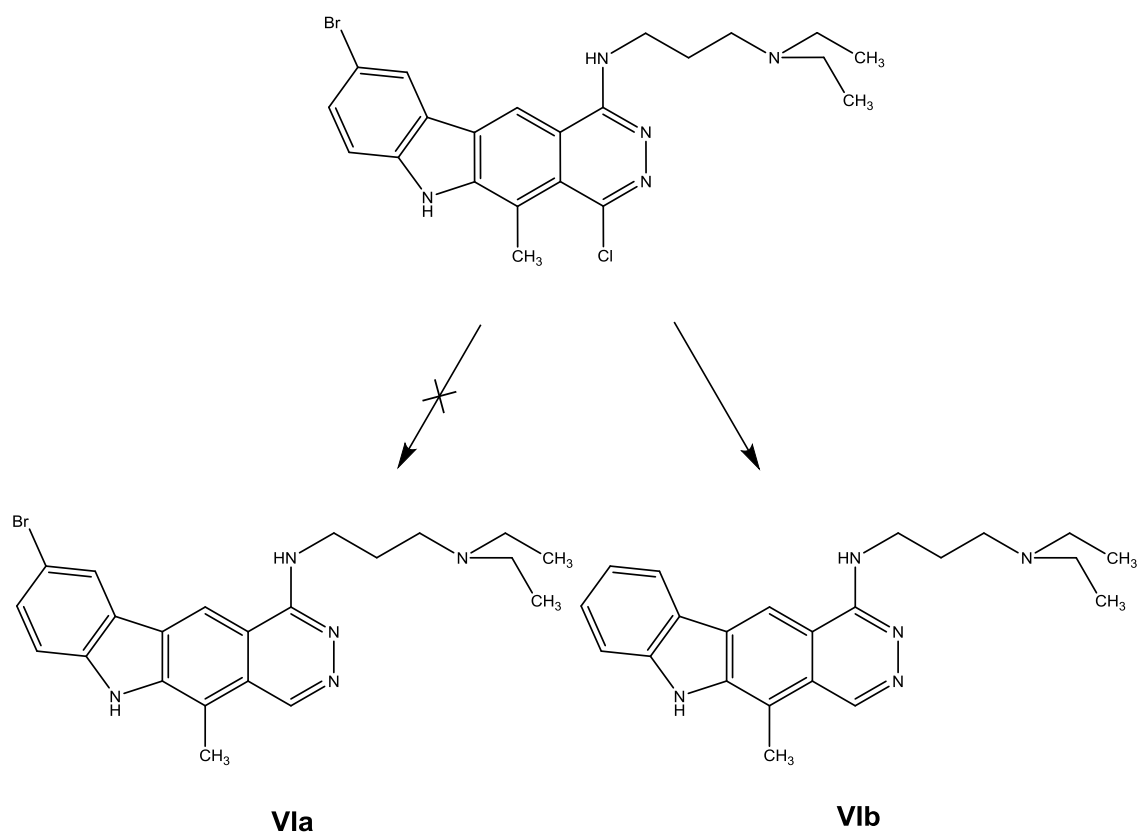
Im Massenspektrum lassen sich zwei äußerst schwache Molekülionen-Peaks bei $m/z = 567$ und $m/z = 569$ erkennen, die den Bromsubstituenten in seiner Isotopenverteilung nachweisen. Die charakteristischen Bruchstücke der basischen Seitenkette bei $m/z = 112$, $m/z = 86$ und $m/z = 58$ finden sich in allen drei Spektren der Verbindungen **VI**, **VII** und **VIII** wieder.

Versuch zur reduktiven Enthalogenie

Als weitere Möglichkeit, um zu neuen Derivaten zu gelangen, bot sich die Hydrierung der Pyridazin-Teilstruktur in den Monosubstitutionsprodukten des Typs **VI/VII** analog zu Lit.¹⁷ an, um die verbliebene Chlorkfunktion reduktiv zu entfernen.

Anstrengungen wurden unternommen, die beschriebene Methode der katalytischen Transferhydrierung mittels Ammoniumformiat und Palladium/Kohle auf vorliegende Edukte anzuwenden. Bei mehreren Versuchen unter Einsatz von **VI** zeigte sich aber, dass auch unter mildesten Bedingungen nicht die gewünschte Zielstruktur **Vla** entsteht, sondern dass der Bromsubstituent an Ring A ebenfalls der Enthalogenie unterliegt und deshalb stets Verbindung **Vlb** entsteht (Schema 17). Die Identität dieses somit unhalogenierten

literaturbekannten Derivats konnte durch Vergleich der ^1H -NMR-Spektren mit den publizierten Daten¹⁷ bestätigt werden.



Schema 17

2.2. SYNTHESE VON RING-A-SUBSTITUIERTEN PYRROLO[3,4-*b*]-CARBAZOLEN MIT BASISCHER SEITENKETTE

Aufbauend auf den Ergebnissen einer weiteren Veröffentlichung der Arbeitsgruppe von HAIDER¹⁹ sollten, wie in Abschnitt 1.3. erläutert, 4-Methyl-pyrrolo[3,4-*b*]carbazol-dione mit Substitution an Position 8 hergestellt werden, da diese Vertreter mit der pharmakologisch interessanten *N*-substituierten Imid-Struktur ausgestattet sind. Als Imid-N-Substituent sollte auch hier der basische Diethylaminopropyl-Rest fungieren und für Position 8 wurden Brom- und Nitrosubstituenten ins Auge gefasst.

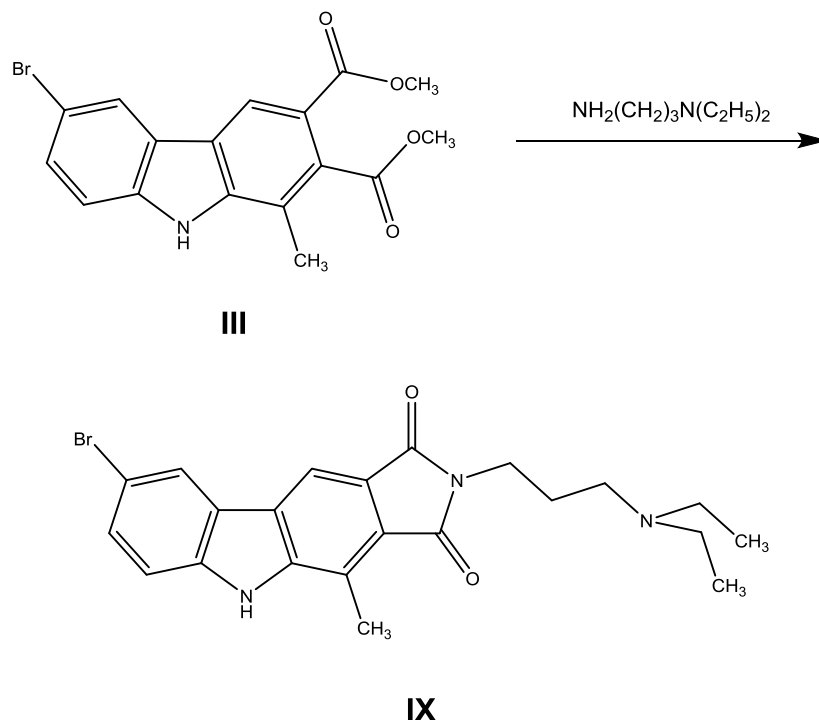
Als praktische Ausgangsverbindungen wurden auch hier die jeweiligen Carbazol-Diester, also Dimethyl-6-brom-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat und Dimethyl-1-methyl-6-nitro-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat¹⁸ herangezogen.

2.2.1. DARSTELLUNG DES 8-BROMPYRROLO[3,4-*b*]CARBAZOLS MIT BASISCHER IMID-SEITENKETTENSTRUKTUR

Ringschluss zum 8-Brom-2-[3-(diethylamino)propyl]-4-methylpyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion

Um zu dem tetrazyklische Pyrrolo-Carbazol **IX** (s. Schema 18) zu gelangen, sollte der bromierte Carbazol-Diester **III**, der auch für den Aufbau des Pyridazincarbazols benutzt wird, direkt mit dem der Seitenkettenstruktur entsprechenden Reagens *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin umgesetzt werden. Analog zu der Methode von HAIDER *et al.*¹⁹ wurde das Amin in zehnfachem Überschuss zu einer Lösung des Edukts in Dimethylsulfoxid zugegeben und unter Inertgas 24 Stunden auf 130°C erhitzt. Der Ringschluss erfolgt unter diesen Bedingungen problemlos. Nach säulenchromatographischer Reinigung

und anschließender Umkristallisation aus Ethanol erhält man die Zielverbindung **IX** in einer Ausbeute von 58% (Schema 18).



Schema 18

Spektroskopische Befunde:

Im ^1H -NMR-Spektrum findet sich bei tiefem Feld (12.2 ppm) ein Singulett, das dem Carbazol-NH zugeordnet werden kann. Das Dublett bei 8.6 ppm zeigt die Kopplung des Aromaten-Protons an Position 9 mit dem Aromaten-Proton in Position 7. Bei ähnlicher chemischer Verschiebung zeigt sich das Singulett des Aromaten-Protons in Position 10 (ca. 8.6 ppm). Das dublettische Dublett bei 7.6 ppm weist auf eine vicinale Kopplung von Proton H-7 mit Proton H-6, und eine long-range Kopplung von demselben mit Proton H-9 hin. Das benachbarte Dublett bei 7.5 ppm hingegen stellt die vicinale Kopplung von H-6 mit H-7 dar. Die Signale der aliphatischen Seitenkette erscheinen naturgemäß bei erheblich höherem Feld (0.9-3.6 ppm).

Auch das ^{13}C -NMR-Spektrum bestätigt (ebenso wie im Falle der anderen Zielverbindungen) die erwartete Struktur. Man findet erwartungsgemäß 20 verschiedene Signale, davon 6 im Bereich sp^3 -hybridisierter C-Atome und 14 mit für sp^2 -Kohlenstoffe typischen Signallagen (einschließlich der beiden C=O-Signale bei 168-169 ppm). Das Muster an positiven und negativen Signalen im APT-Spektrum (Attached Proton Test) entspricht ebenfalls der Struktur **IX**.

Im Massenspektrum sprechen die schwachen Peaks bei $m/z = 441$ und 443 für die postulierte Masse des Moleküls, auch die charakteristischen Bruchstücke der basischen Seitenkette bei $m/z = 86$, $m/z = 72$ und $m/z = 58$ finden sich hier wieder.

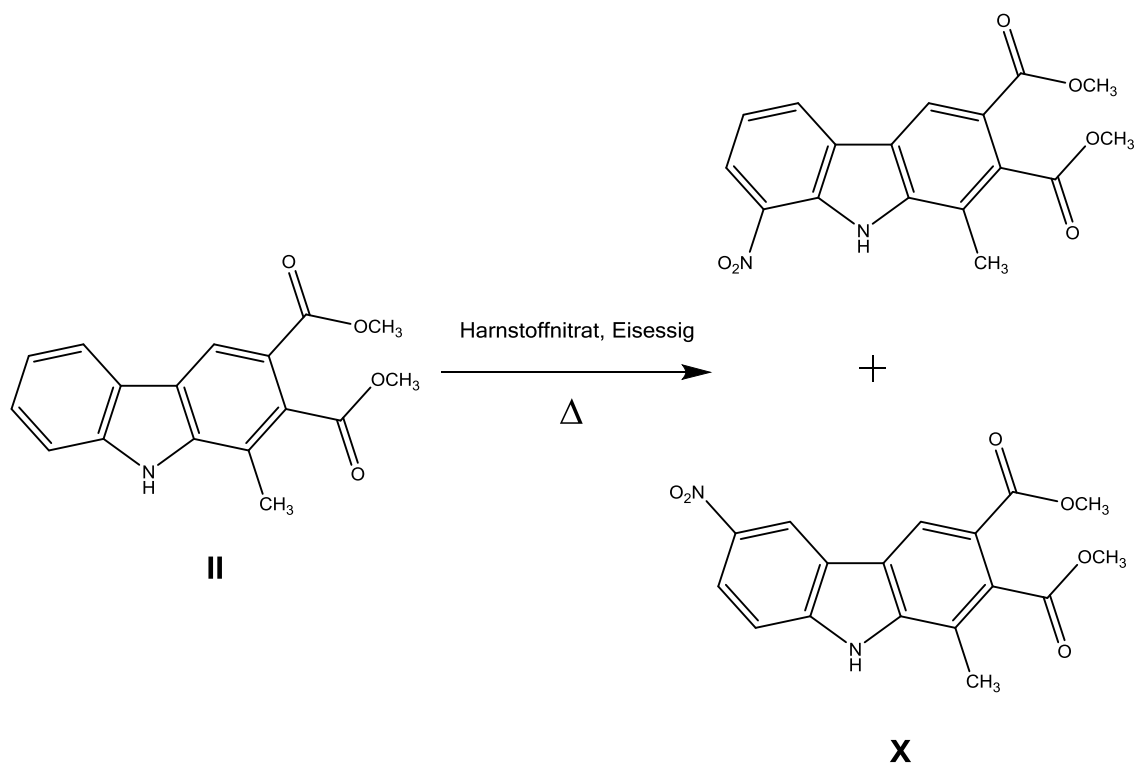
2.2.2. DARSTELLUNG DES 8-NITROPYRROLO[3,4-*b*]CARBAZOLS MIT BASISCHER IMID-SEITENKETTENSTRUKTUR

Nitrierung an Position 6 des Carbazol-Diesters

Als weitere Substitution am Grundgerüst wurde der Einführung einer Nitrogruppe besonderes Augenmerk geschenkt, nicht zuletzt aufgrund der Möglichkeit der Reduktion zur pharmakologisch interessanten Aminogruppe. Dabei konnte auf den kürzlich in der Diplomarbeit TROPPER¹⁸ beschriebenen Ergebnissen aufgebaut werden, denn in dieser Arbeit wurde die Nitrierung von Dimethyl-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat zum ersten Mal beschrieben. Als geeignetste Methode hatte sich dabei die Verwendung von Harnstoffnitrat erwiesen, nicht zuletzt wegen der leichteren Handhabung dieses festen, relativ ungefährlichen Reagens.²⁶

Das Ausgangsmaterial **II** wird gemäß Lit.¹⁸ in Eisessig mit drei Äquivalenten Harnstoffnitrat bei Rückflusstemperatur zur Reaktion gebracht. Dabei bilden sich wie beschrieben (und wie die dünnschichtchromatographische Kontrolle

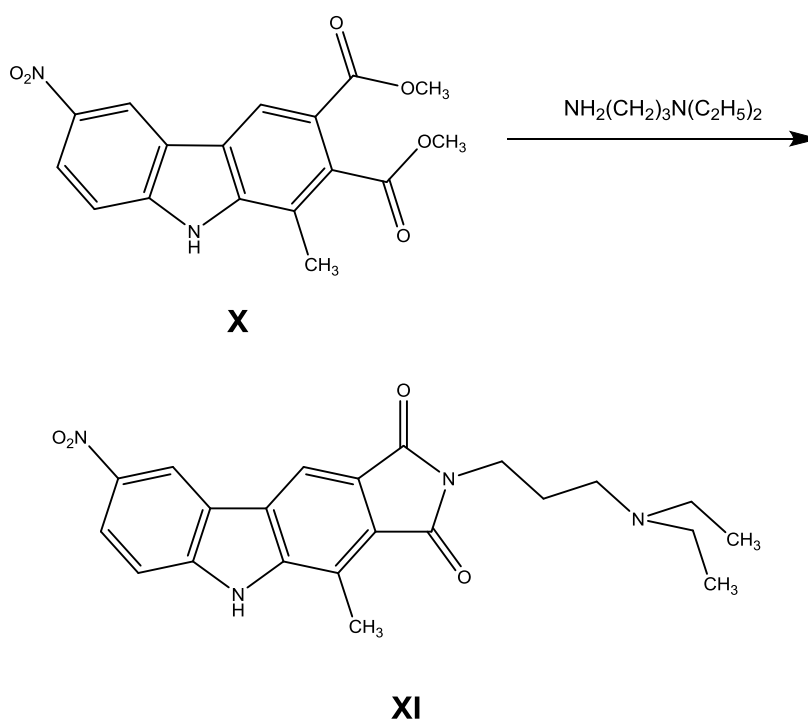
bestätigt) zwei Isomere. Das primär gewünschte 6-Nitro-Derivat **X** lässt sich mittels SC-Trennung in 33% Ausbeute isolieren (Schema 19).



Schema 19

Ringschluss zum Pyrrolo-Carbazol

Das Dimethyl-6-nitro-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **X** sollte analog zu dem 6-Brom-Derivat direkt mit dem *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin-Baustein zum Ringschluss gebracht werden um zu dem nitrierten Pyrrolo-Carbazol **XI** zu gelangen (Schema 20).



Schema 20

Zur Synthese dieses Derivats wurde auch hier ein zehnfacher Überschuss an Aminkomponente in Dimethylsulfoxid -Lösung verwendet und die Reaktion 24 h unter Argonatmosphäre geführt. Die Reinigung über Säulenchromatographie erfolgte zu Beginn mit relativ niedriger Polarität des Fließmittels, um diverse Nebenprodukte abzutrennen. Durch graduelle Erhöhung der Polarität des basischen Eluenten konnte in der Folge die angestrebte Verbindung **XI** isoliert werden. Der nach Eindampfen der entsprechenden Fraktion verbleibende Rückstand wurde aus Ethylacetat (falls erforderlich, unter Zusatz von etwas Diethylether zwecks Initialisierung der Fällung) umkristallisiert.

Spektroskopische Befunde:

Im Unterschied zum ^1H -NMR-Spektrum des Brom-Derivats **IX** sind beim Nitro-Derivat **XI** die Signale der Aromaten-Protonen H-7 und H-9 deutlich tieffeldverschoben, und tauchen bei 9.2 ppm als Dublett und bei 8.3 ppm als dublettisches Dublett auf. Sie sind damit durch den Einfluss der Nitrogruppe um exakt denselben Abstand von 0.6 ppm verschoben. Die Signale von H-6 und H-10 hingegen finden sich bei derselben chemischen Verschiebung wieder.

ZELLBIOLOGISCHE TESTUNG

Erste *in-vitro* Untersuchungen haben die vermutete zytotoxische Aktivität für die fünf Zielverbindungen **VI**, **VII**, **VIII**, **IX** und **XI** gegen humane Kolonkarzinomzellen bestätigt, wobei sich Verbindungen **VII** und **IX** darüber hinaus gegen humane Lungen- und Leberkarzinomzellen, weiters gegen humane Glioblastom- und Melanomzellen mäßig aktiv gezeigt haben.

Im Rahmen dieser Zellproliferations- und Zytotoxizitätstests wurde die IC_{50} aller fünf Substanzen mit Neutralrot-Assay²⁷ und MTT-Assay²⁸ gemessen. Diese beiden kolorimetrischen Tests markieren lebende Zellen, sodass von der Absorptionsintensität auf die Zellanzahl rückgeschlossen werden kann.

Beim MTT-Assay wird der Farbstoff über eine mitochondriale Dehydrogenase im Zellinneren aktiviert und bei 492 nm dessen Intensität vermessen. Der Neutralrot-Assay basiert auf dem niedrigen pH-Wert in den Lysosomen, wodurch der Farbstoff protoniert wird und so seine rote Farbe erhält, um anschließend bei 562 nm dessen Absorption messen zu können. Abgestorbene Zellen weisen naturgemäß weder einen Metabolismus auf, noch sind sie in der Lage Farbstoff aufzunehmen.

Bei Verbindung **VII** und **IX** wurde zusätzlich eine Hoechst-Färbung²⁹ durchgeführt. Dieser Farbstoff interkaliert in die DNA und lässt sich unter UV-Licht bei 365 nm anregen. Mit dieser Methode lassen sich apoptotische Zellen markieren und können so quantitativ ausgewertet werden.

Im Rahmen der Durchführung beider Assays wurden teilweise stark differierende IC_{50} -Werte für die fünf Zielverbindungen gefunden, sodass eine klare Aussage über das Ausmaß deren zytotoxischer Potenz vorerst nicht getroffen werden kann.

3. EXPERIMENTELLER TEIL

Chromatographie

DC: Für die Dünnschichtchromatographie wurden DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄, Fa. Merck (Art.- Nr. 1.05554) verwendet. Die Detektion erfolgte anhand von Fluoreszenzminderung unter UV₂₅₄ (Camag UV-Lampe), oder Eigenfarbe von gefärbten Verbindungen.

SC: Als Sorbensmaterial für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel 60 (0.063-0.200 mm) der Fa. Merck (Art.- Nr. 1.07734) verwendet. Die Detektion erfolgte diskontinuierlich mittels Tüpfeln auf KGF₂₅₄-Folien.

Elementaranalysen

Sämtliche Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Labor an der Fakultät für Chemie der Universität Wien unter der Leitung von Mag. J. Theiner durchgeführt.

Lösungsmittel

Es wurden Lösungsmittel der Fa. Merck und der Fa. Sigma Aldrich in „reinst“-Qualität verwendet.

Schmelzpunkte

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

Spektroskopie

HRMS: Hochauflösungs-Massenspektren wurden auf einem Finnigan MAT 8230 Spektrometer an der Fakultät für Chemie der Universität Wien gemessen.

MS: EI-Massenspektren wurden auf einem Shimadzu QP5050A DI 50 Massenspektrometer gemessen.

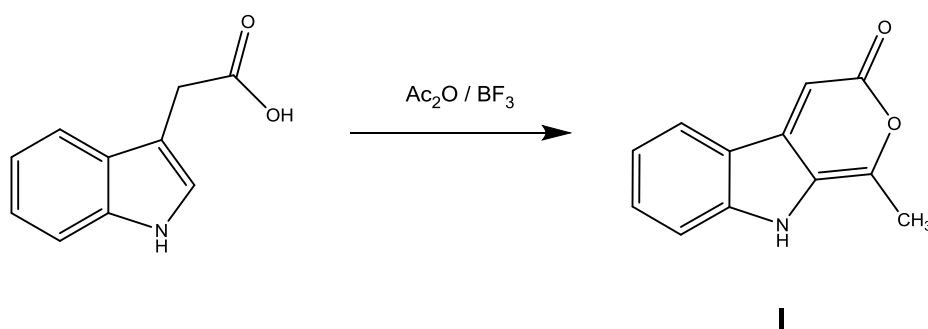
NMR: Die Aufnahme der ^1H -NMR- (300 MHz) und ^{13}C -NMR-Spektren (75 MHz) erfolgte auf einem Varian Unity*plus* 300 Spektrometer.

Zytotoxizitäts-Tests

Die Zellbiologischen Untersuchungen an Tumorzelllinien SW480 (humanes Kolonkarzinom), A549 (humanes Lungenkarzinom), Hep3b (humanes Leberkarzinom), U373 (humanes Glioblastom) und HTB65 (humanes Melanom) wurden am Institut für Krebsforschung der Medizinischen Universität Wien von Mag. T. Nagel unter der Leitung von Prof. Mag. pharm Dr. B. Marian durchgeführt.

3.1.1. AUFBAU DES BROMIERTEN PYRIDAZINO[4,5-*b*]-CARBAZOL-GRUNDGERÜSTS

1-Methylpyrano[3,4-*b*]indol-3(9*H*)-on (I) ¹⁸

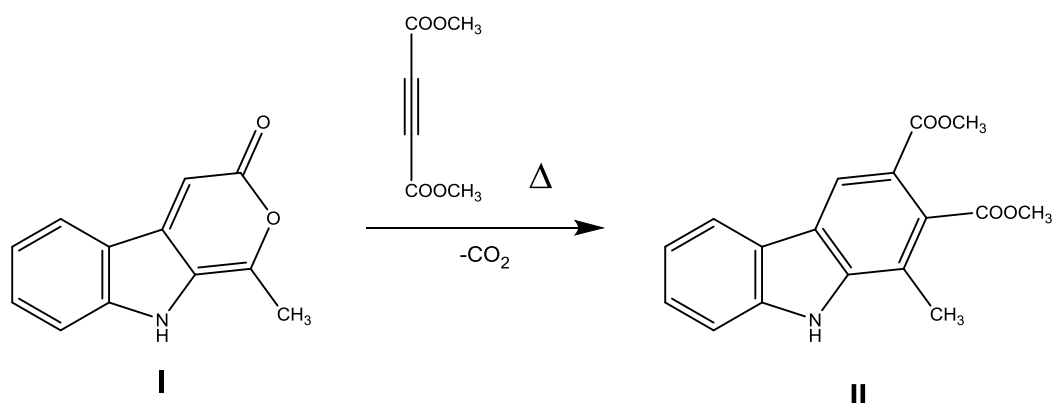


Zu einer gut gerührten Suspension von 17.52 g (100 mmol) 3-Indolylelessigsäure in 45 ml Acetanhydrid wird unter Eiskühlung 17.5 ml Bortrifluorid-Diethylether-Komplex langsam innerhalb von 30 min zugetropft, wobei sich das Gemisch dunkelorange färbt. Nach 30 min Rühren ohne Kühlung wird erneut mit Eis gekühlt und 10 min gerührt. Danach wird mit 50 ml Ether versetzt und der entstandene Niederschlag abgenutscht. Dieser wird dreimal mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen, bis keine Gasentwicklung mehr stattfindet, und nach gründlichem Absaugen zuletzt mit Wasser nachgewaschen. Das getrocknete Rohprodukt wird im Rundkolben mit 100 ml einer heißen Lösung von EtOH/Triethylamin (97+3) versetzt. Nach 5 min Rühren wird heiß abgenutscht und mit EtOH nachgespült bis ein rein oranges Produkt verbleibt. Man erhält somit Verbindung I.

Ausbeute: 10.6 g (53%, Lit.²³: 57%), orange Kristalle

Schmelzpunkt: 259°C (Lit.²³: 260°C)

Dimethyl-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat (II) ²⁴

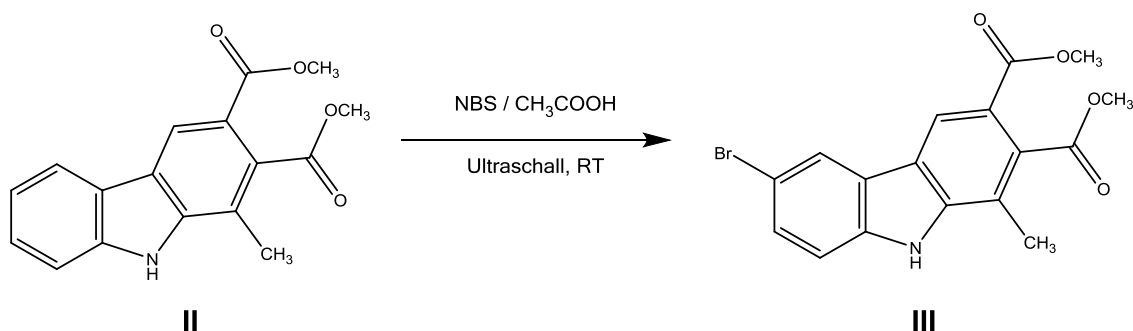


10.6 g (53 mmol) 1-Methylpyrano[3,4-*b*]indol-3(9*H*)-on **I** werden mit 14.3 g (100 mmol) Dimethyl-acetylendicarboxylat in 81 ml Brombenzol unter Schutzgasatmosphäre 2 h zum Rückfluss erhitzt. Danach wird 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird 1.5 h im Kühlschrank aufbewahrt, der entstandene Niederschlag abgenutscht und zuerst mit Brombenzol, dann mit Ethylacetat/Diisopropylether (1+1) gewaschen. Nach dem Trocknen erhält man Verbindung **II** als feinkörniges Rohprodukt.

Ausbeute: 11.9 g (75%, Lit.²⁴: 81%), grauer amorpher Feststoff

Schmelzpunkt: 185°C (Lit.²⁴: 187°C)

Dimethyl-6-brom-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat (III) ¹⁸

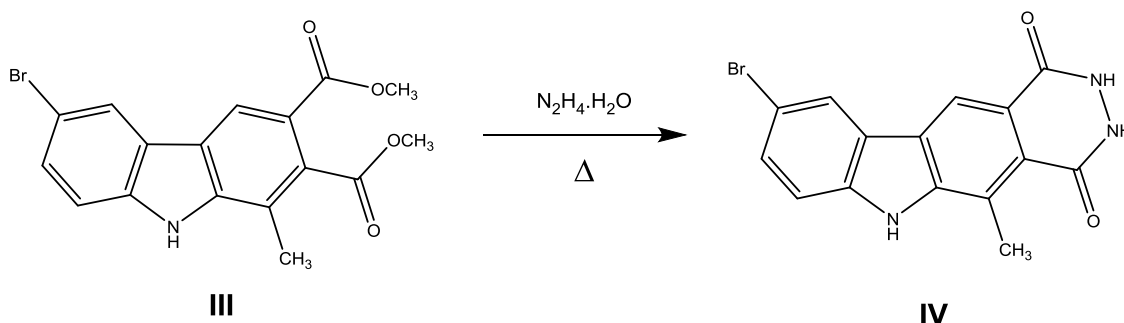


In einem Rundkolben werden 2.970 g (10 mmol) Dimethyl-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **II** in 100 ml Eisessig suspendiert und mit 1.869 g (10.5 mmol) N-Bromsuccinimid versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 60 min im Ultraschallbad behandelt, wobei sich langsam eine klare Lösung bildet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wird das Rohprodukt in 200 ml CH₂Cl₂ gelöst und mit 50 ml 5% Na₂SO₃-Lösung ausgeschüttelt, mit 2 x 50 ml H₂O gewaschen und die organische Phase über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels und Umkristallisation aus Methanol erhält man Verbindung **III** als Rohprodukt.

Ausbeute: 2.545 g (68%, Lit.¹⁸: 62%), beige Nadeln

Schmelzpunkt: 220°C (Lit.¹⁸: 220°C)

9-Brom-5-methyl-2,3-dihydro-1*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4(6*H*)-dion
(IV)¹⁸

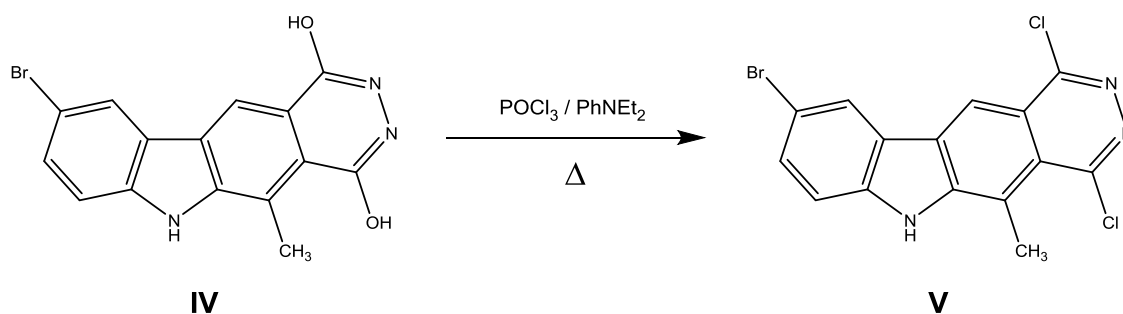


2.444 g (6.5 mmol) Dimethyl-6-brom-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **III** werden mit 39 ml Hydrazinhydrat (100%) versetzt und 2 h zum Rückfluss erhitzt. Die Suspension nimmt dabei eine gelbe Farbe an und geht nach ca. 1 h in Lösung. Nach dem Abkühlen wird das überschüssige Hydrazinhydrat unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 96% EtOH aufgenommen und nochmals eingedampft. Nun wird das Produkt in 60 ml 70% EtOH suspendiert und mit mehreren Tropfen HCl_{conc} versetzt. Nach 30 min im Kühlschrank wird der Niederschlag abgenutscht und mit kaltem 70% EtOH gewaschen. Nach dem Trocknen erhält man Verbindung **IV** als beiges Produkt, das keiner weiteren Reinigung bedarf.

Ausbeute: 1.995 g (89%, Lit.¹⁸: 91%), beige Kristalle

Schmelzpunkt: > 350°C (Lit.¹⁸: > 350°C)

9-Brom-1,4-dichlor-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (V)



In einem trockenem Rundkolben werden 1.720 g (5 mmol) 9-Brom-5-methyl-2,3-dihydro-1H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4(6H)-dion **IV** mit 6.25 ml *N,N*-Diethylanilin und 75 ml POCl₃ versetzt. Unter Argonatmosphäre wird 2 h zum Rückfluss erhitzt, wobei bald eine Lösung entsteht und sich nach 30 min ein gelbgrüner Niederschlag bildet. Nach Beenden der Reaktion wird unter vermindertem Druck überschüssiges POCl₃ abdestilliert. Der Rückstand wird unter Eiskühlung mit NH₃ verd. neutralisiert, abgenutscht und dreimal mit kaltem H₂O gewaschen. Nach gründlichem Absaugen wird mit Diethylether viermal auf der Nutsche gewaschen. Man erhält Verbindung **V** als gelbe Kristalle, Fp >350°C (Zers.).

Ausbeute: 1.845 g (97%), gelbe Kristalle

C₁₅H₈BrCl₂N₃ • 0.3 H₂O (386.45)

	%C	%H	%N
ber.:	46.62	2.24	10.87
gef.:	46.71	2.61	10.80

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, Tafeln 1-2)

δ = 12.19 (s, 1H, Carbazol-NH), 9.09 (s, 1H, H-11), 8.78 (d, *J*₈₋₁₀ = 1.8 Hz, 1H, H-10), 7.73 (dd, *J*₇₋₈ = 8.7 Hz, *J*₈₋₁₀ = 1.8 Hz, 1H, H-8), 7.55 (d, *J*₇₋₈ = 8.7 Hz, 1H, H-7), 3.12 (s, 3H, CH₃).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 3)

δ = 155.2, 152.9, 143.8, 141.4, 131.9, 127.4, 125.3, 123.3, 122.7, 120.6, 117.0, 116.0, 113.5, 112.4, 16.9.

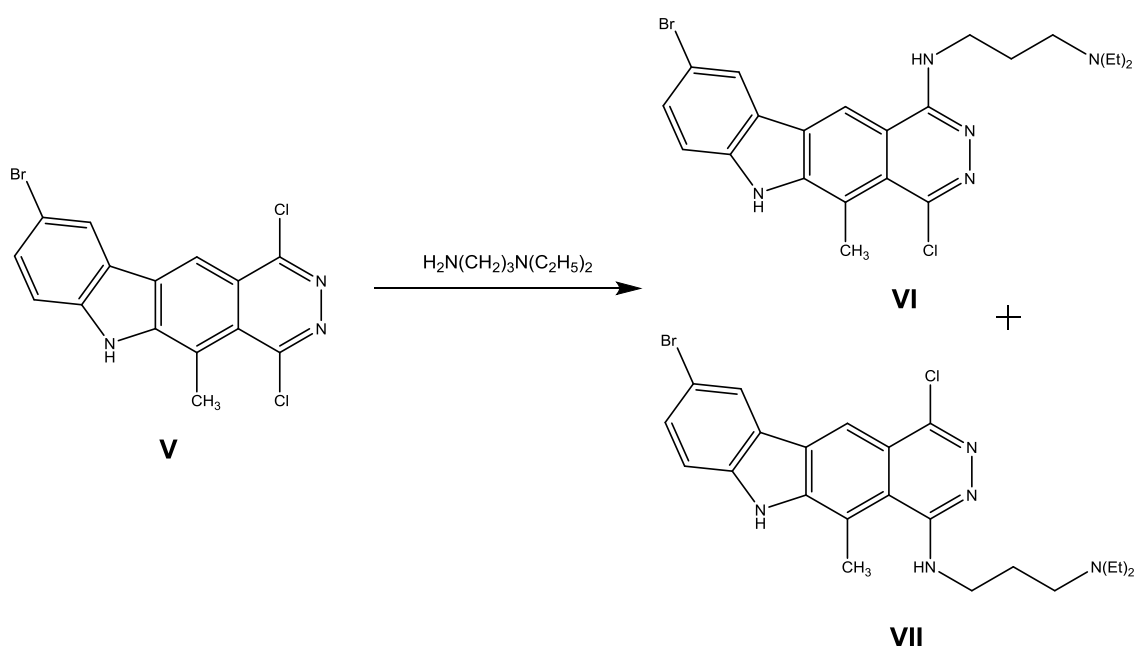
MS (Tafel 4)

m/z = 383 (M⁺, 36%), 382 (17), 381 (M⁺, 100), 379 (M⁺, 51), 363 (23), 361 (21), 311 (20), 310 (17), 309 (23), 308 (12), 230 (20), 203 (16), 202 (18), 190 (12), 176 (18), 175 (17), 155 (12), 134 (14), 123 (12), 118 (14), 101 (23), 98 (16), 95 (17), 88 (17), 87 (24), 83 (17), 81 (17), 75 (26), 74 (22), 71 (22), 69 (28), 57 (41), 55 (28).

3.1.2. EINFÜHRUNG VON BASISCHEN SEITENKETTEN IN DAS BROMIERTE PYRIDAZINO[4,5-*b*]CARBAZOL-GRUNDGERÜST

N'-(9-Brom-4-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (VI) und

N'-(9-Brom-1-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-4-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (VII)



381 mg (1 mmol) 9-Brom-1,4-dichlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol **V** werden in 20 ml DMSO eingetragen und mit 4 ml (25.3 mmol) *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wird unter Argonatmosphäre 3 h auf 130°C erhitzt. Dabei nimmt die Suspension eine rote Farbe an, die sich allmählich aufhellt und eine Lösung bildet. Nach Beenden der Reaktion werden die flüchtigen Bestandteile mittels Kugelrohrdestillation entfernt, der Rückstand in CH_2Cl_2 aufgenommen und dreimal mit wässriger NH_3 -Lösung gewaschen. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet, und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nun werden die 2 Isomere mittels Säulenchromatographie getrennt ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{Et}_3\text{N}$;

beginnend mit 97+3+2, nach Elution apolarer Nebenprodukte 95+5+2, und nach Elution der 1. Fraktion 90+10+2).

Zunächst erhält man in Fraktion 1 nach Umkristallisation aus CH₂Cl₂ (+Et₂O) die Verbindung *N'*-(9-Brom-4-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin **VI** als gelbe Kristalle, Fp 261-265°C.

Ausbeute: 170 mg (36%), gelbe Kristalle

C₂₂H₂₅BrClN₅ (474.82)

HRMS

C₂₂H₂₆BrClN₅ ([M+H]⁺)

Molekulargewicht

ber.: 474.1060

gef.: 474.1063

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, Tafeln 5-7)

δ = 12.01 (s, 1H, Carbazol-NH), 9.27 (s, 1H, H-11), 8.37 (d, *J*₈₋₁₀ = 1.5 Hz, 1H, H-10, zeigt einen positive NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei 9.27 ppm), 7.80 (m, 1H, C_{arom}-NH-R, zeigt einen positive NOE bei Einstrahlung auf das Singulett bei 9.27 ppm), 7.72 (dd, *J*₇₋₈ = 8.7 Hz, *J*₈₋₁₀ = 1.8 Hz, 1H, H-8), 7.59 (d, *J*₇₋₈ = 8.4 Hz, 1H, H-7), 3.66 (q, *J* = 9.6 Hz, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 3.12-3.33 (m, 6H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂, N-CH₂-CH₃), 3.13 (s, 3H, C_{arom}-CH₃), 2.10 (quint, *J* = 7.5 Hz, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 1.17 (t, *J* = 6.9 Hz, 6H, RN-CH₂-CH₃).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , Tafel 8)

δ = 154.6, 143.2, 142.7, 141.0, 130.8, 125.1, 123.8, 123.7, 121.8, 115.0, 114.5, 114.0, 113.6, 111.6, 48.9, 46.0, 23.0, 17.1, 8.4.

MS (Tafel 9)

m/z = 446 (2%), 444 (2), 440 (2), 439 (2), 438 (2), 403 (13), 402 (18), 401 (20), 400 (14), 375 (25), 373 (19), 367 (12), 312 (21), 311 (13), 310 (23), 231 (10), 230 (12), 203 (11), 202 (10), 201 (11), 161 (9), 155 (9), 113 (21), 112 (53), 100 (22), 98 (23), 86 (100), 84 (33), 72 (30), 71 (16), 58 (79), 57 (27), 56 (64).

Aus Fraktion 2 erhält man nach Umkristallisation aus EtOH (+Et₂O) Verbindung *N'*-(9-Brom-1-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-4-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin **VII** als hellgelbe Kristalle, Fp 231-237°C.

Ausbeute: 81 mg (17%), hellgelbe Kristalle

C₂₂H₂₅BrClN₅ • 0.2 H₂O (478.43)

	%C	%H	%N
ber.:	55.23	5.35	14.64
gef.:	55.37	5.13	14.25

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, Tafeln 10-13)

δ = 11.93 (s, 1H, Carbazol-NH), 8.87 (s, 1H, H-11), 8.74 (d, nicht aufgelöst, 1H, H-10), 7.69 (dd, $J_{7-8} = 8.7$ Hz, $J_{8-10} = 1.8$ Hz, 1H, H-8), 7.56 (d, $J_{7-8} = 8.7$ Hz, 1H, H-7), 6.68 (m, 1H, C_{arom}-NH-R), 3.54 (q, $J = 5.7$ Hz, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 3.10 (s, 3H, C_{arom}-CH₃, zeigt einen positiven NOE bei Einstrahlung auf das Multiplett bei 6.68 ppm), 2.47-2.58 (m, 6H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂, N-CH₂-CH₃), 1.85 (quint, $J = 6.6$ Hz, 2H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 0.96 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H, RN-CH₂-CH₃).

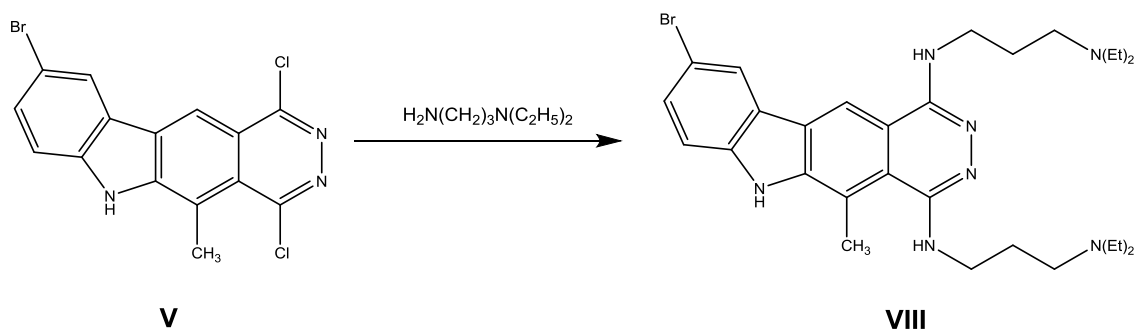
¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 14)

δ = 155.1, 145.8, 142.6, 141.0, 130.8, 125.3, 124.7, 123.8, 119.9, 118.3, 115.4, 115.2, 113.3, 111.7, 50.8, 46.5, 41.6, 16.4, 11.5.

MS (Tafel 15)

m/z = 475 (M⁺, 1%), 473 (M⁺, 1), 440 (4), 438 (4), 403 (5), 401 (4), 389 (5), 387 (4), 376 (4), 374 (4), 369 (9), 367 (10), 363 (4), 361 (7), 359 (4), 312 (8), 310 (8), 231 (4), 230 (6), 203 (5), 202 (6), 113 (15), 112 (100), 100 (8), 98 (10), 86 (64), 84 (17), 72 (13), 70 (7), 58 (31), 56 (27).

9-Brom-*N,N'*-bis[3-(diethylamino)propyl]-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4-diamin (VIII)



533 mg (1.4 mmol) 9-Brom-1,4-dichlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol **V** werden in 12 ml (76 mmol) *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin suspendiert und 7 Tage unter Argonatmosphäre zum Rückfluss erhitzt, wobei sich nach 1 h eine orange Lösung bildet und nach 1 Tag eine orangebraune Suspension entsteht. Nach Entfernen der flüchtigen Bestandteile mittels Kugelrohrdestillation wird das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie gereinigt (EtOAc/EtOH/Et₃N; 25+25+2). Nach Umkristallisation aus EtOAc/EtOH (19+1) erhält man Verbindung **VIII** als gelbe Kristalle, Fp >350°C.

Ausbeute: 246 mg (62%), gelbe Kristalle

C₂₉H₄₂BrN₇ (568.59)

HRMS

$C_{29}H_{43}BrN_7$ ($[M+H]^+$)

Molekulargewicht

ber.: 568.2758

gef.: 568.2765

1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , Tafeln 16-18)

δ = 12.03 (s, 1H, Carbazol-NH), 9.10 (s, 1H, H-11), 8.30 (d, nicht aufgelöst, 1H, H-10), 7.66 (dd, nicht aufgelöst, 1H, H-8), 7.56 (d, J_{7-8} = 8.7 Hz, 1H, H-7), 4.04-4.12 (m, 2H, C_{arom} -NH-R), 3.40-3.50 (m, 4H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 3.09 (s, 3H, C_{arom} -CH₃), 2.62-2.79 (m, nicht aufgelöst, 12H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂, N-CH₂-CH₃), 1.92 (quint, nicht aufgelöst, 4H, NH-CH₂-CH₂-CH₂-NR₂), 0.92-1.09 (m, 12H, RN-CH₂-CH₃).

^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , Tafel 19)

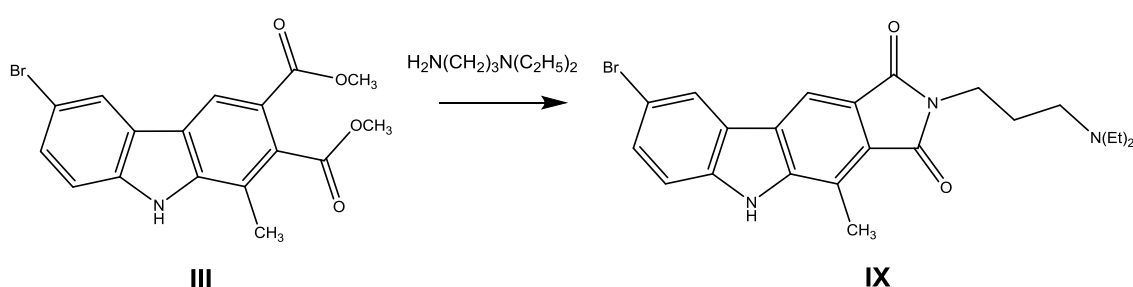
δ = 150.5, 150.2, 142.3, 140.7, 130.2, 123.9, 123.4, 118.7, 116.3, 114.5, 113.5, 111.4, 50.3, 49.9, 46.3, 46.1, 46.0, 45.7, 25.5, 25.2, 16.8, 10.5, 10.3.

MS (Tafel 20)

m/z = 567 (M^+ , 0.2%), 567 (M^+ , 0.2), 538 (1), 496 (29), 494 (30), 467 (4), 465 (3), 422 (3), 410 (7), 408 (10), 396 (8), 394 (9), 382 (9), 380 (6), 368 (9), 367 (9), 354 (4), 340 (3), 327 (2), 310 (5), 247 (4), 230 (6), 203 (6), 177 (3), 157 (3), 143 (2), 112 (19), 98 (10), 86 (100), 84 (12), 73 (14), 72 (27), 58 (70), 56 (16).

**3.1.3. DARSTELLUNG VON 8-BROM-2-[3-(DIETHYLAMINO)-PROPYL]-4-METHYLPYRROLO[3,4-*b*]CARBAZOL-1,3(2*H*,5*H*)-DION
AUSGEHEND VON DIMETHYL-6-BROM-1-METHYL-9*H*-CARBAZOL-2,3-DICARBOXYLAT**

8-Brom-2-[3-(diethylamino)propyl]-4-methylpyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (IX)



Eine Lösung von 376 mg (1 mmol) Dimethyl-6-brom-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **III** in 5 ml DMSO wird mit 1.302 g (10 mmol) *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin versetzt, wobei sich eine hellgelbe Lösung bildet. Das Gemisch wird 24 h unter Argon bei 130°C gerührt. Nach Beenden der Reaktion werden die flüchtigen Bestandteile mittels Kugelrohrdestillation abgetrennt, der Rückstand mittels Säulenchromatographie gereinigt ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}/\text{Et}_3\text{N}$; 95+95+10) und das Rohprodukt aus EtOH umkristallisiert. Man erhält Verbindung **IX** als hellgelbe Nadeln, Fp 223-227°C.

Ausbeute: 258 mg (58%), hellgelbe Nadeln

C₂₂H₂₄BrN₃O₂ • 0.1 H₂O (444.15)

	%C	%H	%N
ber.:	59.49	5.49	9.46
gef.:	59.48	5.45	9.06

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, Tafeln 21-23)

δ = 12.22 (s, 1H, Carbazol-NH), 8.58 (d, *J*₇₋₉ = 2.1 Hz, 1H, H-9), 8.56 (s, 1H, H-10), 7.61 (dd, *J*₆₋₇ = 8.7 Hz, *J*₇₋₉ = 2.1 Hz, 1H, H-7), 7.54 (d, *J*₆₋₇ = 8.7 Hz, 1H, H-6), 3.58 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, NCH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 2.85 (s, 3H, 4-CH₃), 2.41-2.50 (m, 6H, NCH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.71 (quint, *J* = 6.9 Hz, 2H, NCH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 0.90 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H, RN-CH₂-CH₃).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, Tafeln 24-25)

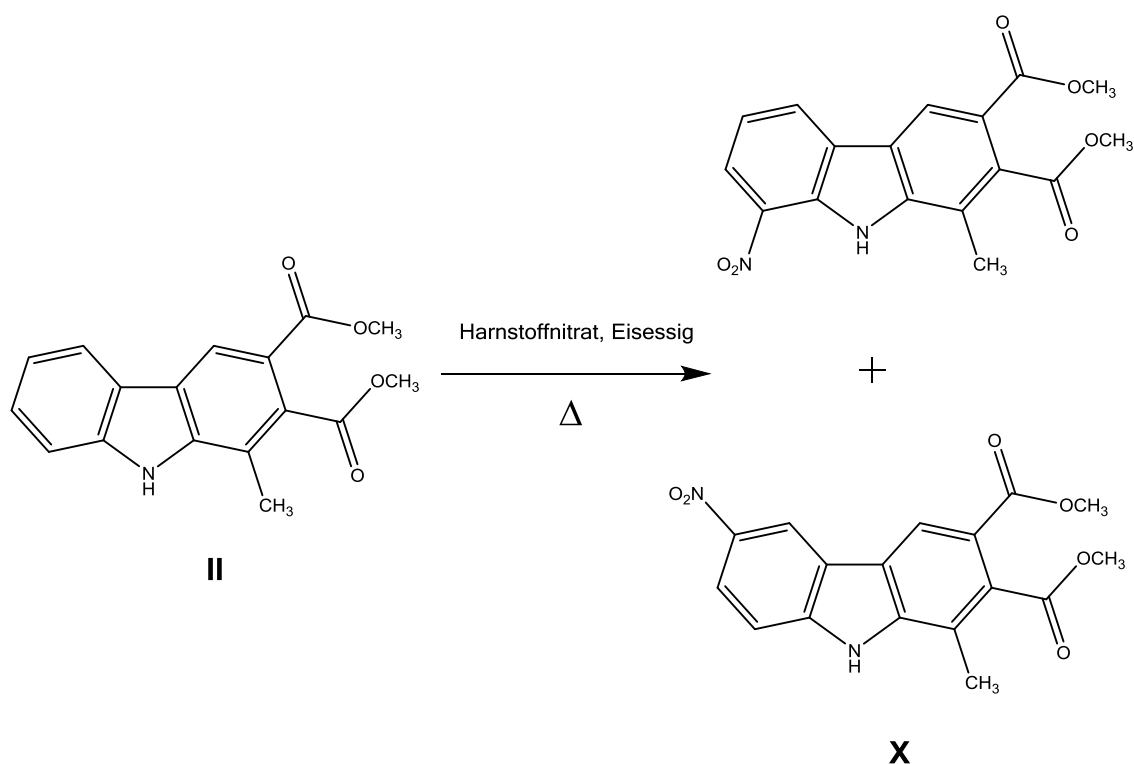
δ = 168.9, 168.0, 142.6, 139.5, 129.6, 125.3, 124.5, 124.0, 123.8, 122.5, 121.4, 114.7, 113.8, 112.3, 49.9, 46.1, 35.7, 25.5, 12.0, 11.4.

MS (Tafel 26)

m/z = 443 (M⁺, 1.2%), 441 (M⁺, 1.3), 428 (2), 426 (2), 414 (4), 412 (4), 371 (2), 369 (2), 343 (3), 341 (3), 262 (2), 259 (2), 257 (2), 214 (2), 203 (3), 178 (4), 177 (4), 151 (3), 150 (3), 112 (5), 87 (8), 86 (100), 84 (6), 72 (20), 58 (14), 56 (6).

**3.1.4. DARSTELLUNG VON 2-[3-(DIETHYLAMINO)PROPYL]-4-METHYL-8-NITROPYRROLO[3,4-*b*]CARBAZOL-1,3(2*H*,5*H*)-DION
 AUSGEHEND VON DIMETHYL-1-METHYL-6-NITRO-9*H*-CARBAZOL-2,3-DICARBOXYLAT**

Dimethyl-1-methyl-6-nitro-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat (X) ¹⁸



1.485 g (5 mmol) Dimethyl-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **II** werden in 25 ml Eisessig gelöst, mit 2.310 g (15 mmol) Harnstoffnitrat versetzt und unter Argonatmosphäre 16 h auf 110°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 150 ml H₂O versetzt und das Gemisch dreimal mit je 50 ml CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 ml H₂O gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wird das braune kristalline Isomerengemisch mittels Säulenchromatographie getrennt (CH₂Cl₂/EtOAc; 95+5, nach Elution der 1. Fraktion 90+10).

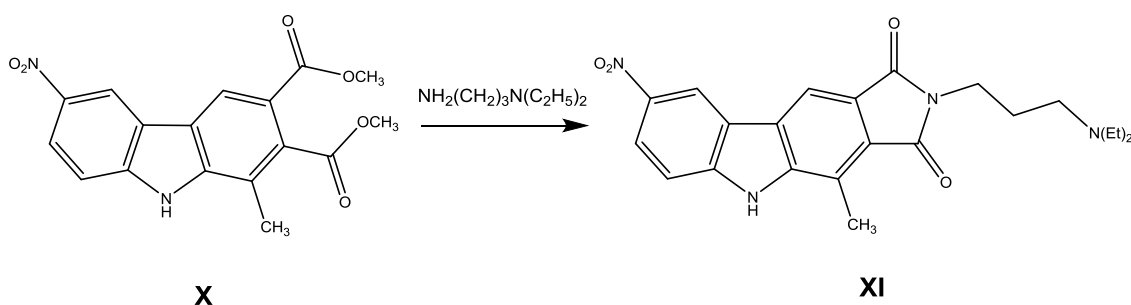
Dimethyl-1-methyl-8-nitro-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat wird zuerst eluiert.

Die zweite Fraktion enthält das isomere Dimethyl-1-methyl-6-nitro-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **X**.

Ausbeute: 565 mg (33%, Lit.¹⁸: 70%), gelbe Kristalle

Schmelzpunkt: 169°C (Lit.¹⁸: 169°C)

2-[3-(Diethylamino)propyl]-4-methyl-8-nitropyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (XI)



Eine Lösung von 547 mg (1.6 mmol) Dimethyl-1-methyl-6-nitro-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **X** in 8 ml DMSO wird mit 2.084 g (16 mmol) *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin versetzt, wobei sich die Lösung rot färbt. Das Reaktionsgemisch wird 24 h unter Argonatmosphäre auf 130°C unter Rühren erhitzt. Nach Beenden der Reaktion werden die flüchtigen Bestandteile mittels Kugelrohrdestillation entfernt. Die Reinigung des Produkts erfolgt mittels Säulenchromatographie (EtOAc/Petroleumbenzin/Et₃N; 145+45+10 bis 190+0+10) gefolgt von Umkristallisation aus EtOAc (+Et₂O). Man erhält Verbindung **XI** als gelbe Kristalle, Fp 248-252°C

Ausbeute: 372 mg (57%), gelbe Kristalle

C₂₂H₂₄N₄O₄ (408.45)

HRMS

C₂₂H₂₅N₄O₄ ([M+H]⁺)

Molekulargewicht

ber.: 409.1876

gef.: 409.1874

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, Tafeln 27-29)

δ = 9.22 (d, *J*₇₋₉ = 2.4 Hz, 1H, H-9), 8.56 (s, 1H, H-10), 8.25 (dd, *J*₆₋₇ = 9.0 Hz, *J*₇₋₉ = 2.1 Hz, 1H, H-7), 7.60 (d, *J*₆₋₇ = 9.0 Hz, 1H, H-6), 3.56 (t, *J* = 6.9 Hz, 2H, NCH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 2.79 (s, 3H, 4-CH₃), 2.39-2.46 (m, 6H, NCH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 1.70 (quint, *J* = 7.2 Hz, 2H, NCH₂CH₂CH₂N(CH₂CH₃)₂), 0.90 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H, RN-CH₂-CH₃).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 30)

δ = 168.5, 167.7, 144.0, 143.7, 140.8, 126.0, 125.0, 123.5, 122.2, 122.1, 121.8, 118.6, 115.0, 112.0, 49.9, 46.1, 35.8, 25.6, 11.9, 11.5.

MS (Tafel 31)

m/z = 408 (M⁺, 1%), 393 (1), 379 (2), 336 (1), 308 (3), 265 (1), 262 (2), 249 (3), 203 (14), 178 (3), 177 (3), 112 (4), 105 (11), 91 (4), 87 (6), 86 (100), 84 (3), 77 (4), 72 (15), 58 (21), 57 (7), 56 (10), 55 (5)

4. LITERATURVERZEICHNIS

1. Jemal, A.; Bray, F.; Center, M. M.; Ferlay, J.; Ward, E.; Forman, D., Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* **2011**, 61, 69-90.
2. Anand, P.; Kunnumakkara, A. B.; Sundaram, C.; Harikumar, K. B.; Tharakan, S. T.; Lai, O. S.; Sung, B.; Aggarwal, B. B., Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes. *Pharm. Res.* **2008**, 25, 2097-2116.
3. Johnson, I. S.; Armstrong, J. G.; Gorman, M.; Burnett, J. P., Jr., The Vinca alkaloids. A new class of oncolytic agents. *Cancer Res.* **1963**, 23, 1390-1427.
4. Hande, K. R., Etoposide: four decades of development of a topoisomerase II inhibitor. *Eur. J. Cancer* **1998**, 34, 1514-1521.
5. Goodman, J.; Walsh, V., The story of taxol: nature and politics in the pursuit of an anti-cancer drug. *Nat. Med. (N. Y.)* **2001**, 7, pp148.
6. Weiss, R. B., The anthracyclines: will we ever find a better doxorubicin? *Semin Oncol* **1992**, 19, 670-686.
7. Tan, C.; Tasaka, H.; Yu, K.-P.; Murphy, M. L.; Karnofsky, D. A., Daunomycin, an antitumor antibiotic, in the treatment of neoplastic disease. Clinical evaluation with special reference to childhood leukemia. *Cancer (Philadelphia)* **1967**, 20, 333-353.
8. Di, M. A.; Gaetani, M.; Scarpinato, B., Adriamycin (NSC-123,127): a new antibiotic with antitumor activity. *Cancer Chemother Rep* **1969**, 53, 33-37.
9. Wall, M. E.; Wani, M. C.; Cook, C. E.; Palmer, K. H.; McPhail, A. T.; Sim, G. A., Plant antitumor agents. I. Isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloid leukemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata*. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 3888-3890.
10. Goodwin, S.; Smith, A. F.; Horning, E. C., Alkaloids of *Ochrosia elliptica*. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 1903-1908.
11. Dalton, L. K.; Demerac, S.; Elmes, B. C.; Loder, J. W.; Swan, J. M.; Teitei, T., Synthesis of the tumor-inhibitory alkaloids, ellipticine, 9-methoxyellipticine, and related pyrido[4,3-b]carbazoles. *Aust. J. Chem.* **1967**, 20, 2715-2727.
12. Woodward, R. B.; Iacobucci, G. A.; Hochstein, F. A., Synthesis of ellipticine. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 4434-4435.

13. Khayat, D.; Borel, C.; Azab, M.; Paraisot, D.; Malaurie, E.; Bouloux, C.; Weil, M., Phase I study of Datelliptium chloride, hydrochloride given by 24-h continuous intravenous infusion. *Cancer Chemother Pharmacol* **1992**, *30*, 226-228.
14. Kattan, J.; Durand, M.; Droz, J. P.; Mahjoubi, M.; Marino, J. P.; Azab, M., Phase I study of retelliptine dihydrochloride (SR 95325 B) using a single two-hour intravenous infusion schedule. *Am J Clin Oncol* **1994**, *17*, 242-245.
15. D Ducrocq, C.; Wendling, F.; Tourbez-Perrin, M.; Rivalle, C.; Tambourin, P.; Pochon, F.; Bisagni, E.; Chermann, J. C., Structure-activity relationships in a series of newly synthesized 1-amino-substituted ellipticine derivatives. *J Med Chem* **1980**, *23*, 1212-1216.
16. Landelle, H.; Laduree, D.; Cugnon, d. S. M.; Robba, M., Synthesis and pharmacologic study of pyridazino[4,5-b]carbazoles. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* **1989**, *37*, 2679-2682.
17. Haider, N.; Jbara, R.; Khadami, F.; Wanko, R., Synthesis of pyridazino[4,5-b]carbazoles as potential antitumor agents. *Heterocycles* **1998**, *48*, 1609-1622.
18. Tropper, K. Synthese neuer Schlüsselbausteine für Ring-A-substituierte 3-Aza-Olivacine. Diplomarbeit, Universität Wien, 2013.
19. Haider, N.; Jbara, R.; Kaferbock, J.; Traar, U., Synthesis of tetra- and pentacyclic carbazole-fused imides as potential antitumor agents. *ARKIVOC (Gainesville, FL, U. S.)* **2008**, (6), 38-47.
20. Pommier, Y., DNA topoisomerase I and II in cancer chemotherapy: Update and perspectives. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **1993**, *32*, 103-108.
21. Fosse, P.; Rene, B.; Charar, M.; Paoletti, C.; Saucier, J. M., Stimulation of topoisomerase II-mediated DNA cleavage by ellipticine derivatives: structure-activity relationship. *Mol. Pharmacol.* **1992**, *42*, 590-595.
22. Chu, Y.; Hsu, M. T., Ellipticine increases the superhelical density of intracellular SV40 DNA by intercalation. *Nucleic Acids Res.* **1992**, *20*, 4033-4038.
23. Plieninger, H.; Müller, W.; Weinerth, K., Indolo- α -pyrone und Indolo- α -pyridone. *Chem. Ber.* **1964**, *97*, 667-681.
24. Moody, C. J.; Rahimtoola, K. F., Diels-Alder reactivity of pyrano[4,3-b]indol-3-ones, indole 2,3-quinodimethane analogs. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, (3), 673-679.

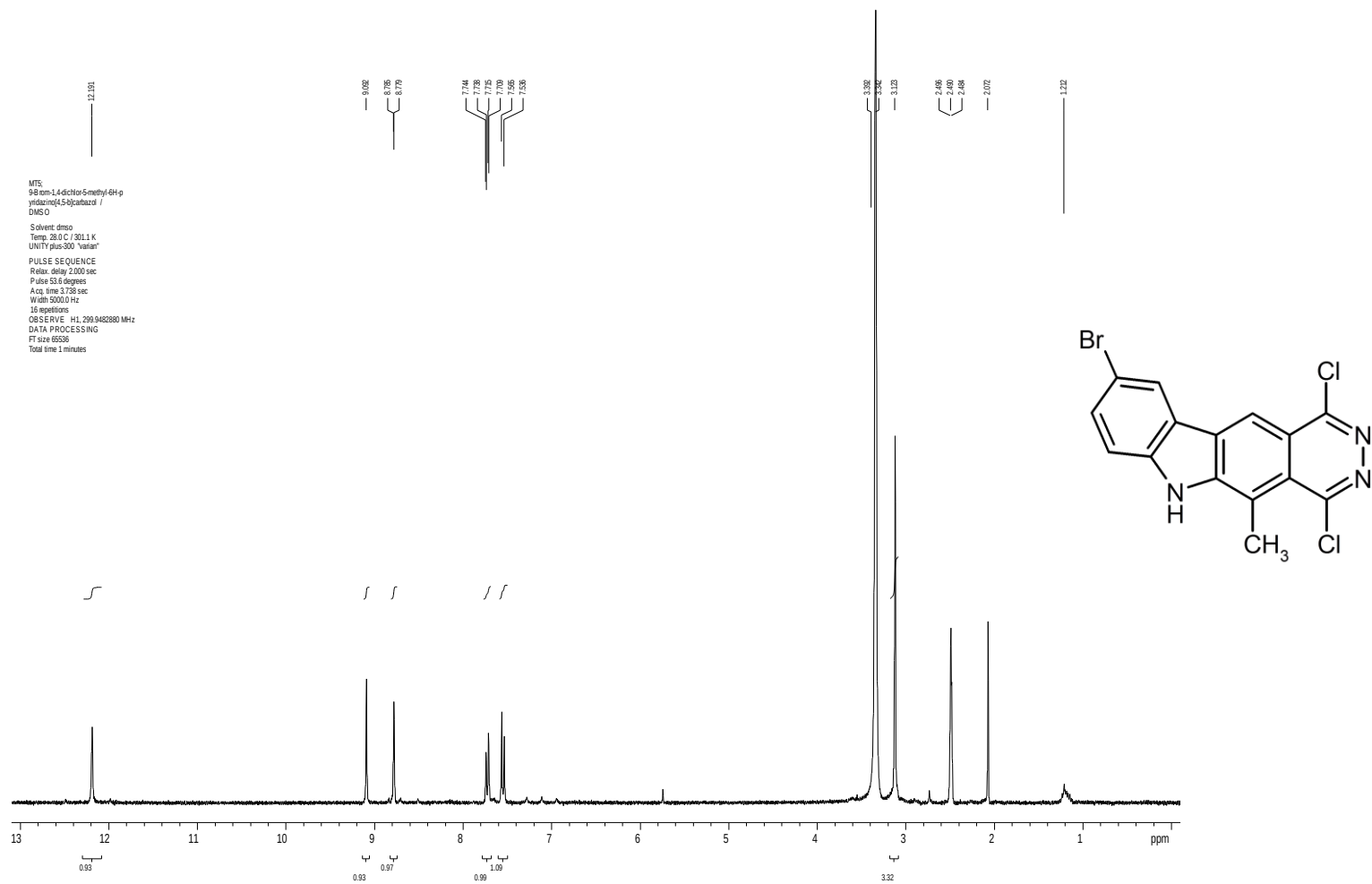
25. Buu-Hoï, N. P., Zur Halogenierung aromatischer und heterozyklischer Verbindungen. *Liebigs Ann. Chem.* **1944**, 556, 1-9.
26. Nagarajan, R.; Muralidharan, D.; Perumal, P. T., A new and facile method for the synthesis of nitrocarbazoles by urea nitrate. *Synth. Commun.* **2004**, 34, 1259-1264.
27. Borenfreund, E.; Puerner, J., A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assays (HTD/NR-90). *J. Tissue Culture Methods* **1985**, 9, 7-9.
28. Mosmann, T., Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **1983**, 65, 55-63.
29. Latt, S. A.; Stetten, G.; Juergens, L. A.; Willard, H. F.; Scher, C. D., Recent developments in the detection of deoxyribonucleic acid synthesis by 33258 Hoechst fluorescence. *J. Histochem. Cytochem* **1975**, 23, 493-505.

5. ANHANG

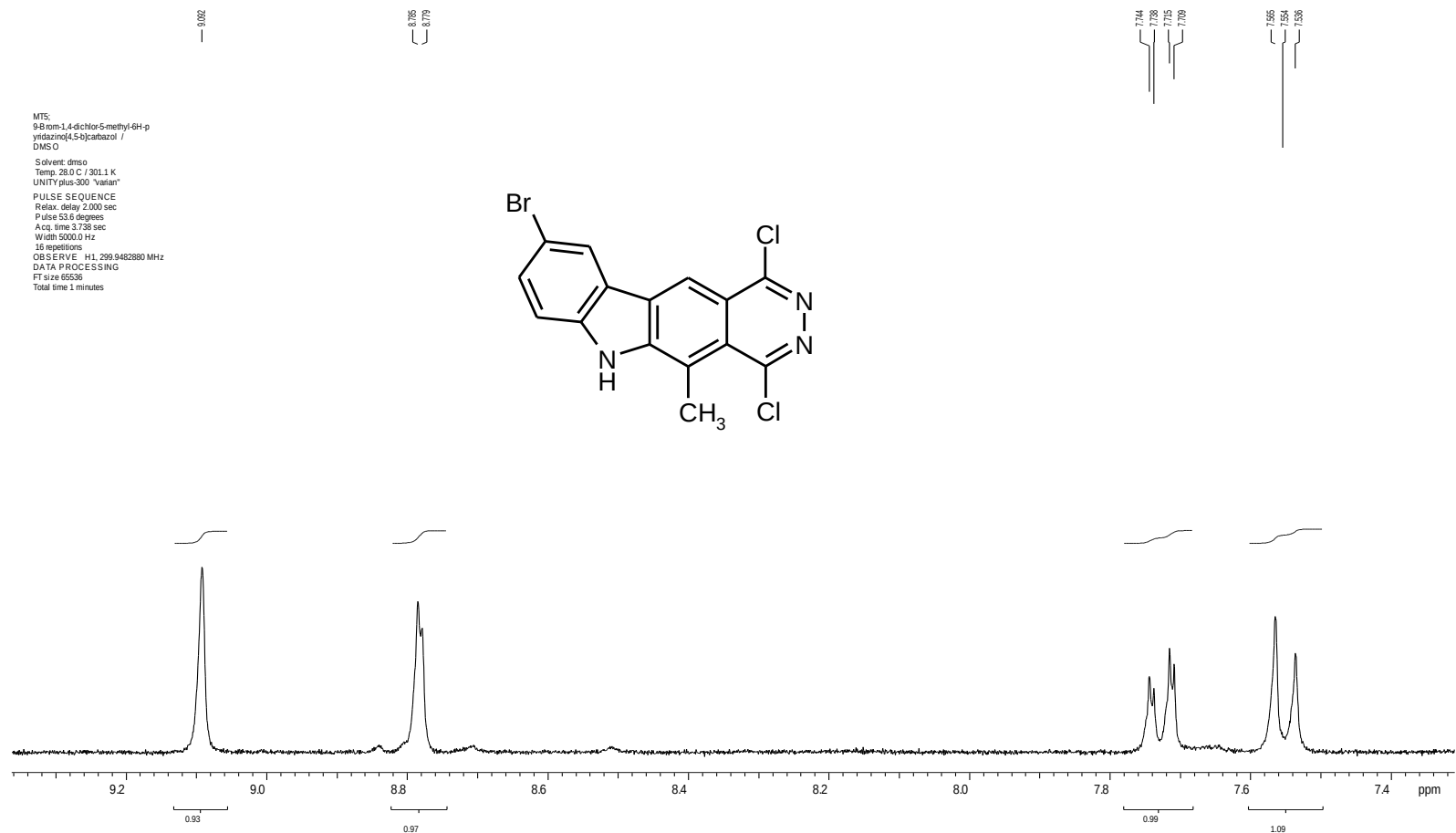
Spektren

Zusammenfassung

Lebenslauf

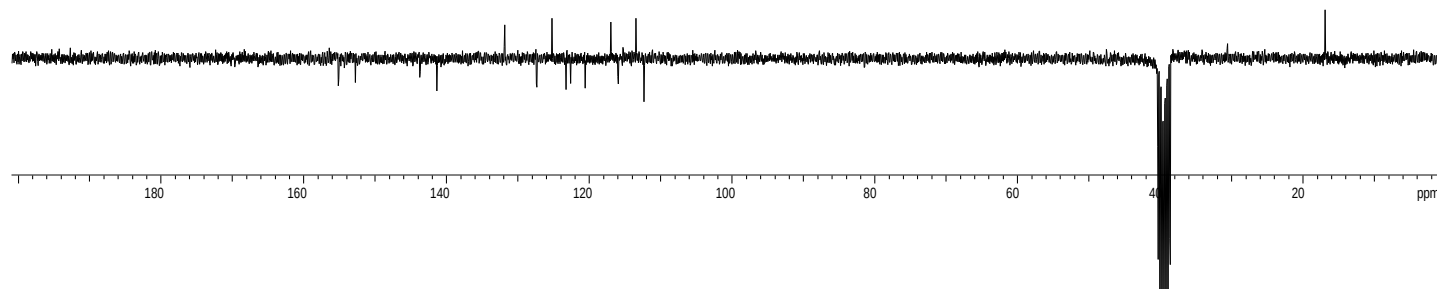
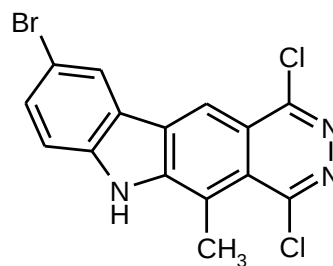
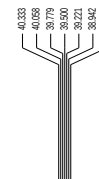
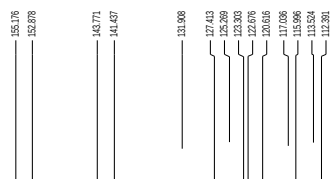


Tafel 1: 9-Brom-1,4-dichlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**V**), DMSO-*d*₆

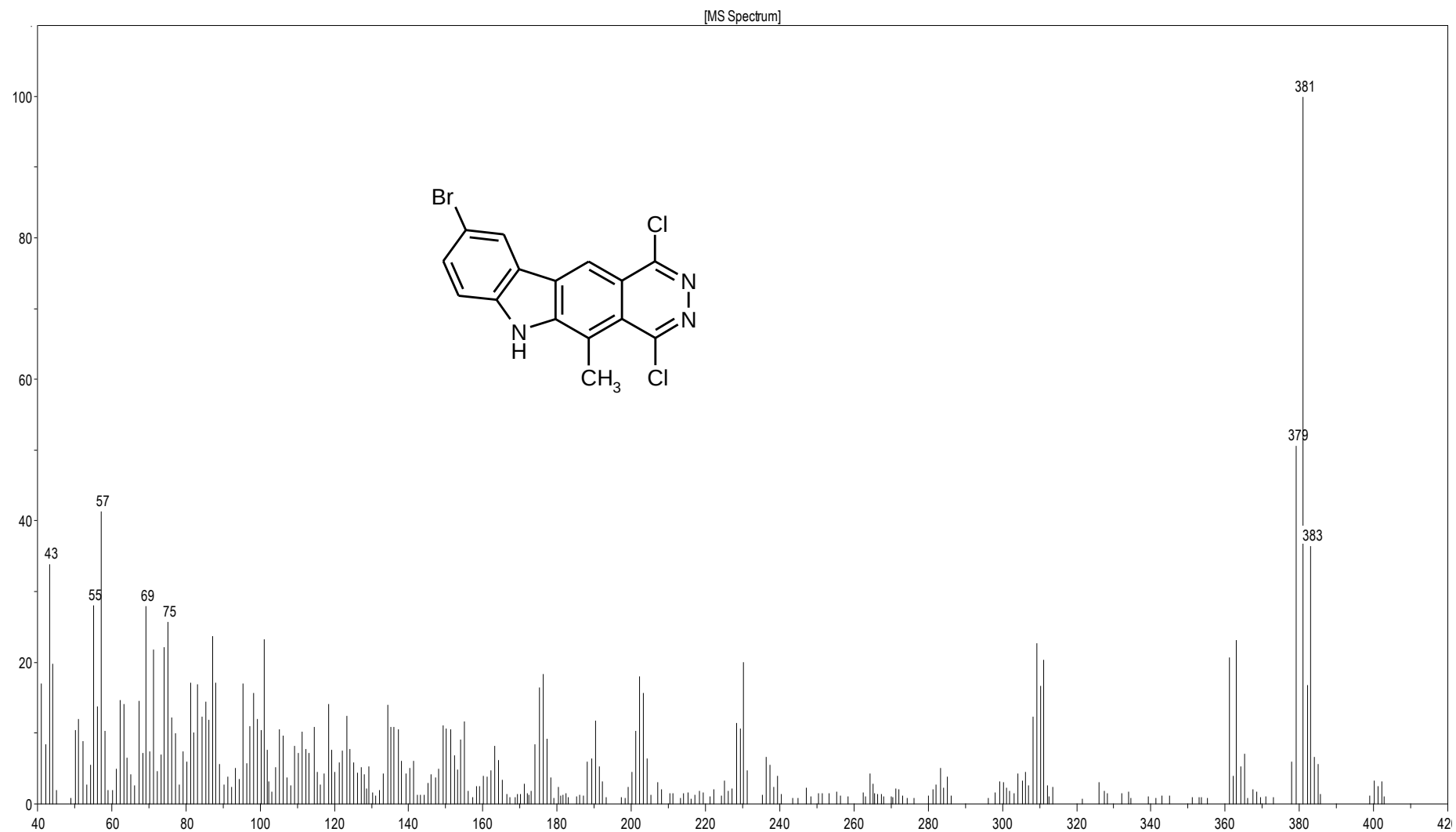


Tafel 2: 9-Brom-1,4-dichlor-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol (**V**), DMSO- d_6

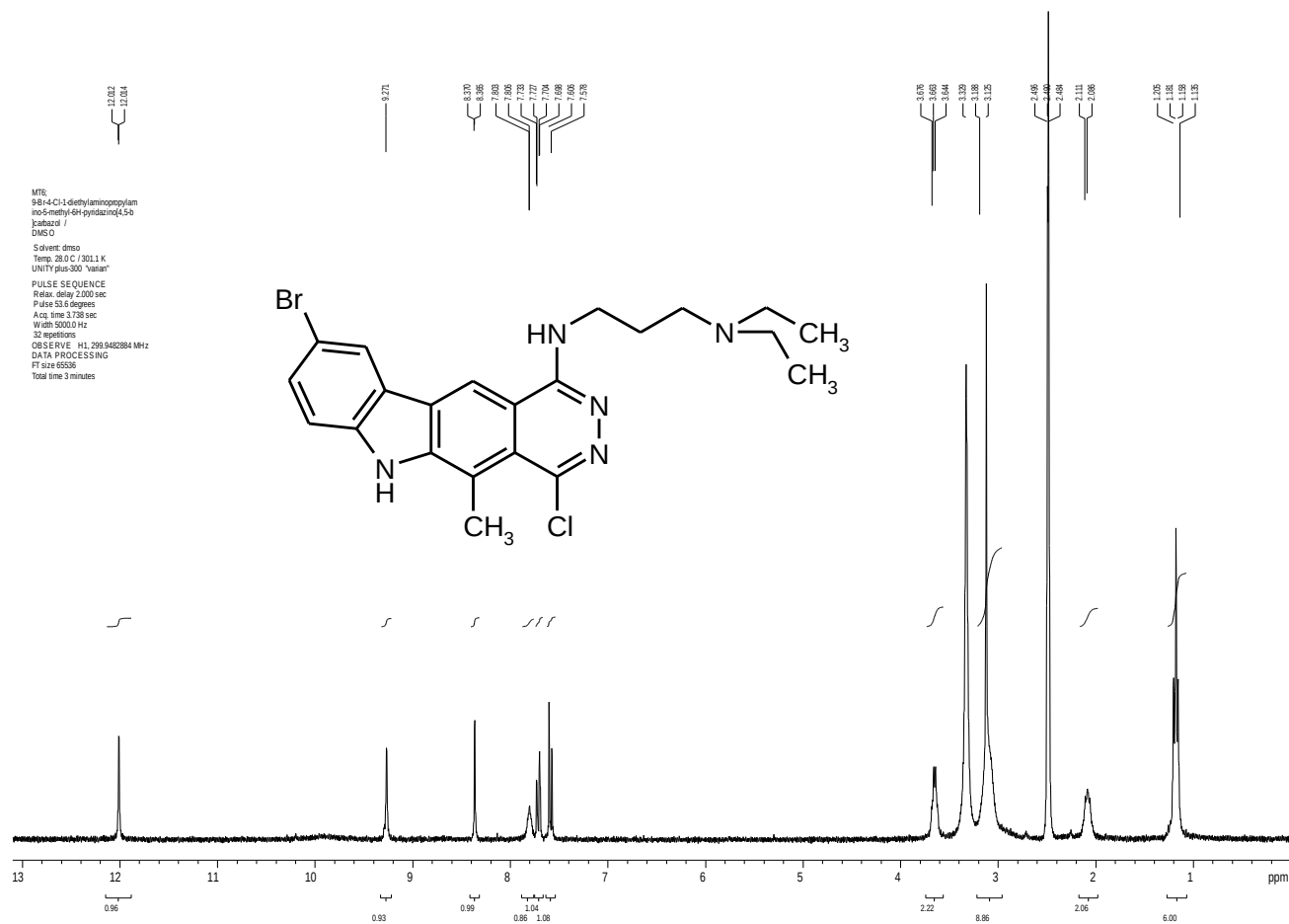
MTS;
 9-Brom-1,4-dichlor-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol /
 DMSO
 Solvent: dms
 Ambient temperature
 UNITYplus-300 "varian"
 PULSE SEQUENCE: apt
 Relax, delay 2.500 sec
 1st pulse 193.5 degrees
 2nd pulse 49.5 degrees
 Acq. time 1.314 sec
 Width 20000.0 Hz
 64 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4220943 MHz
 DECOUPLE H1, 299.9493529 MHz
 Power 41.0 dB
 on during acquisition
 WALTZ16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 131072
 Total time 4 minutes



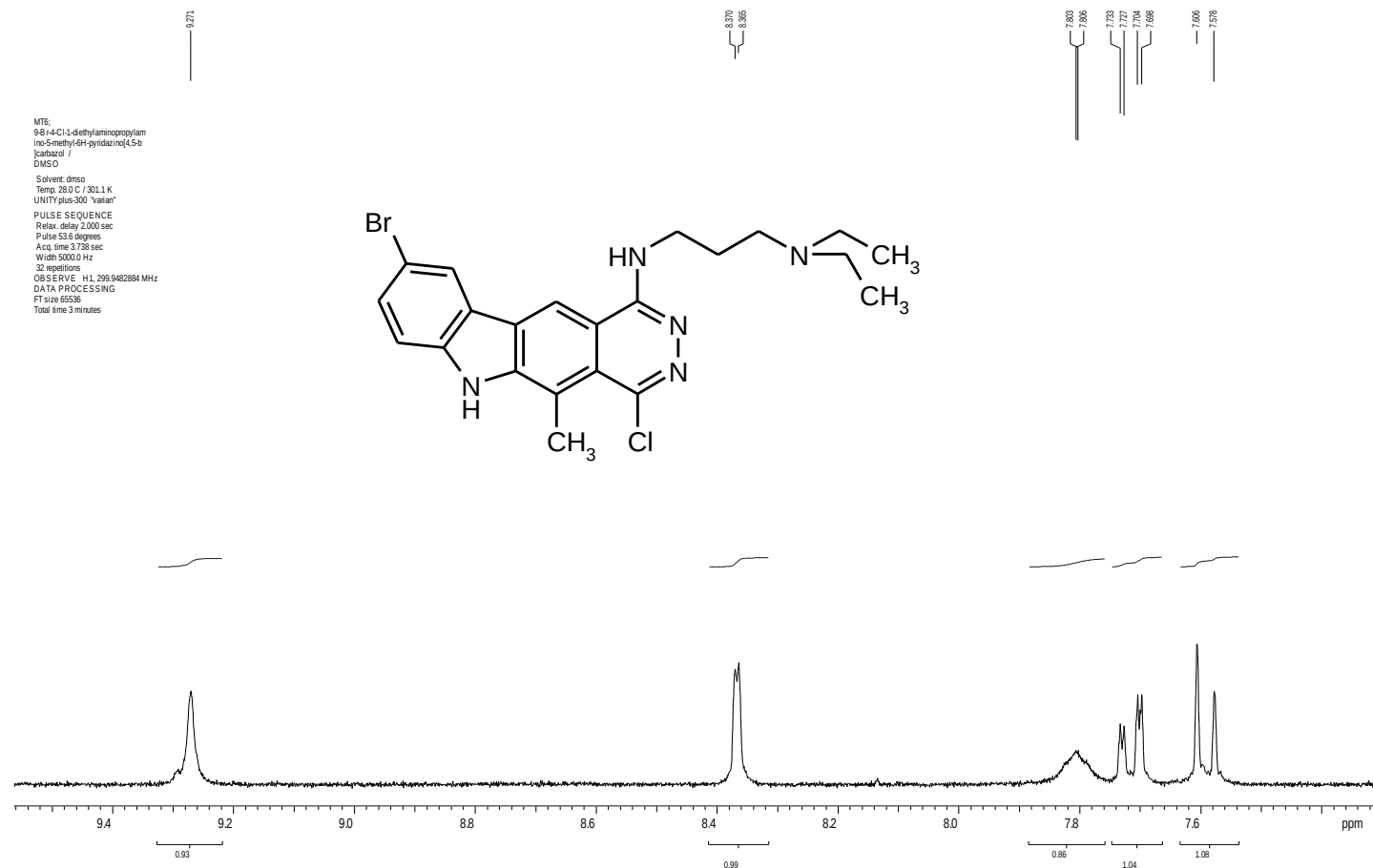
Tafel 3: 9-Brom-1,4-dichlor-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**V**), DMSO-*d*₆



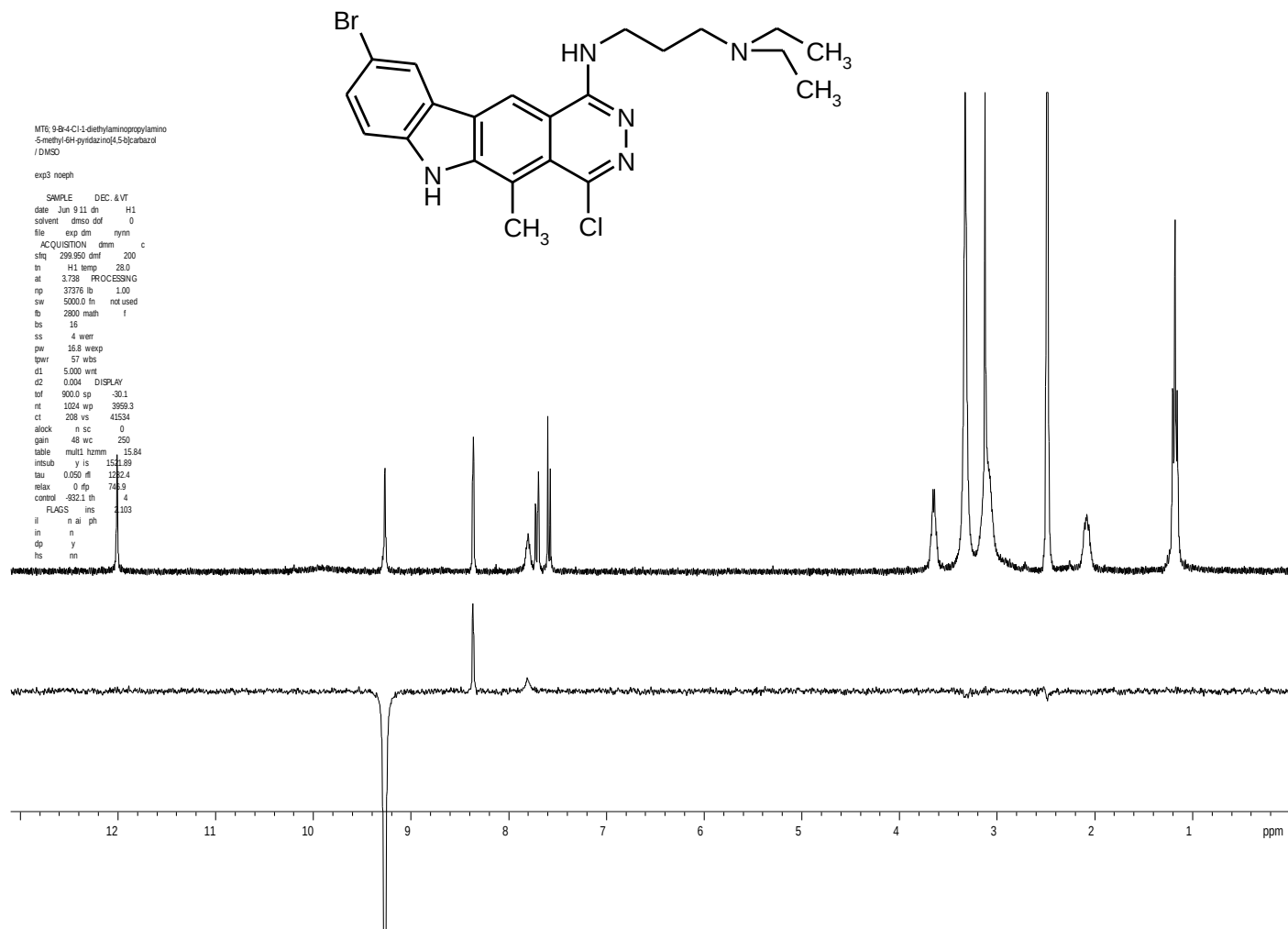
Tafel 4: 9-Brom-1,4-dichlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol (**V**), DMSO-*d*₆



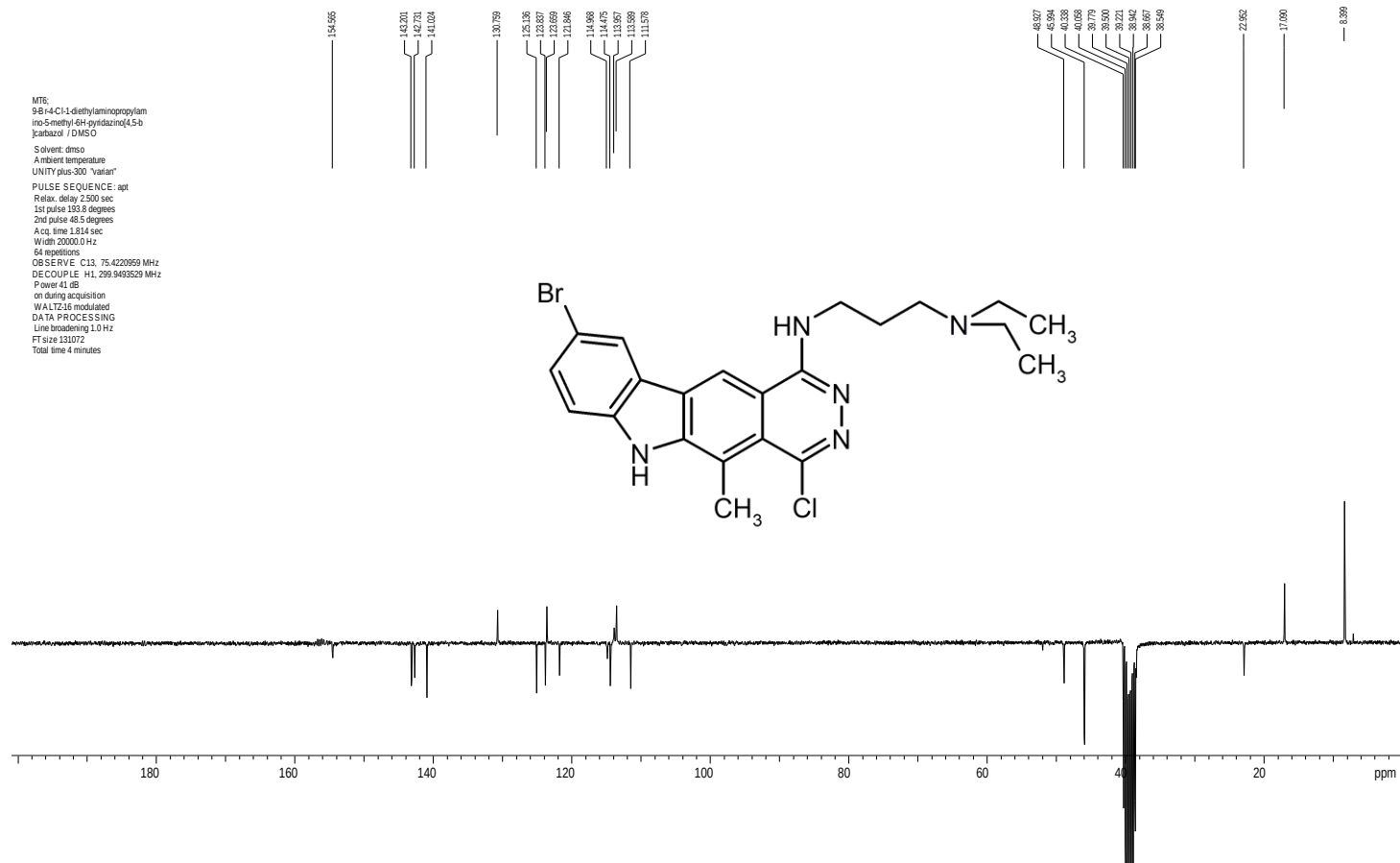
Tafel 5: *N'*-(9-Brom-4-chlor-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (VI), DMSO-*d*₆



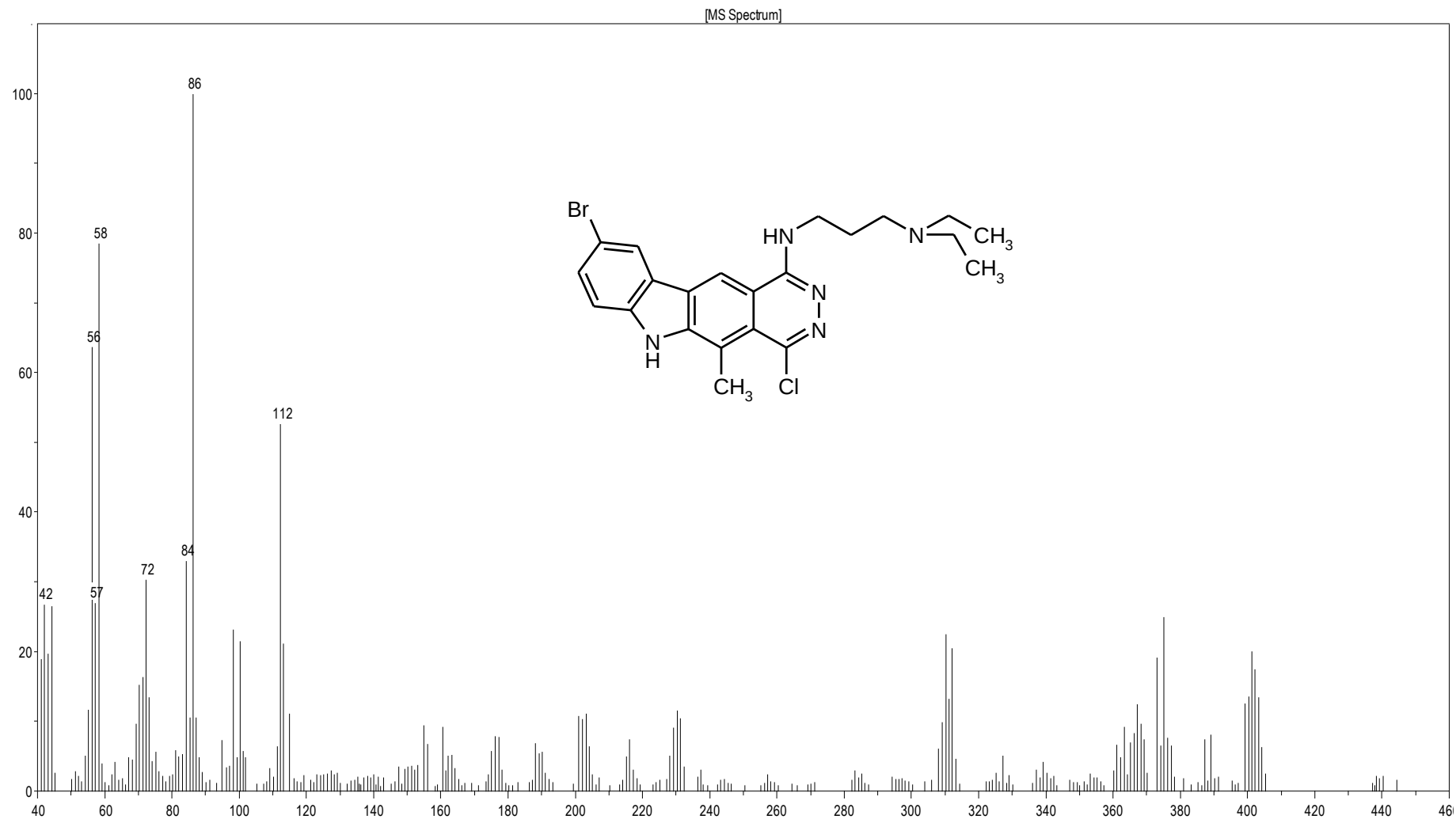
Tafel 6: *N'*-(9-Brom-4-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (**VI**), DMSO-*d*₆



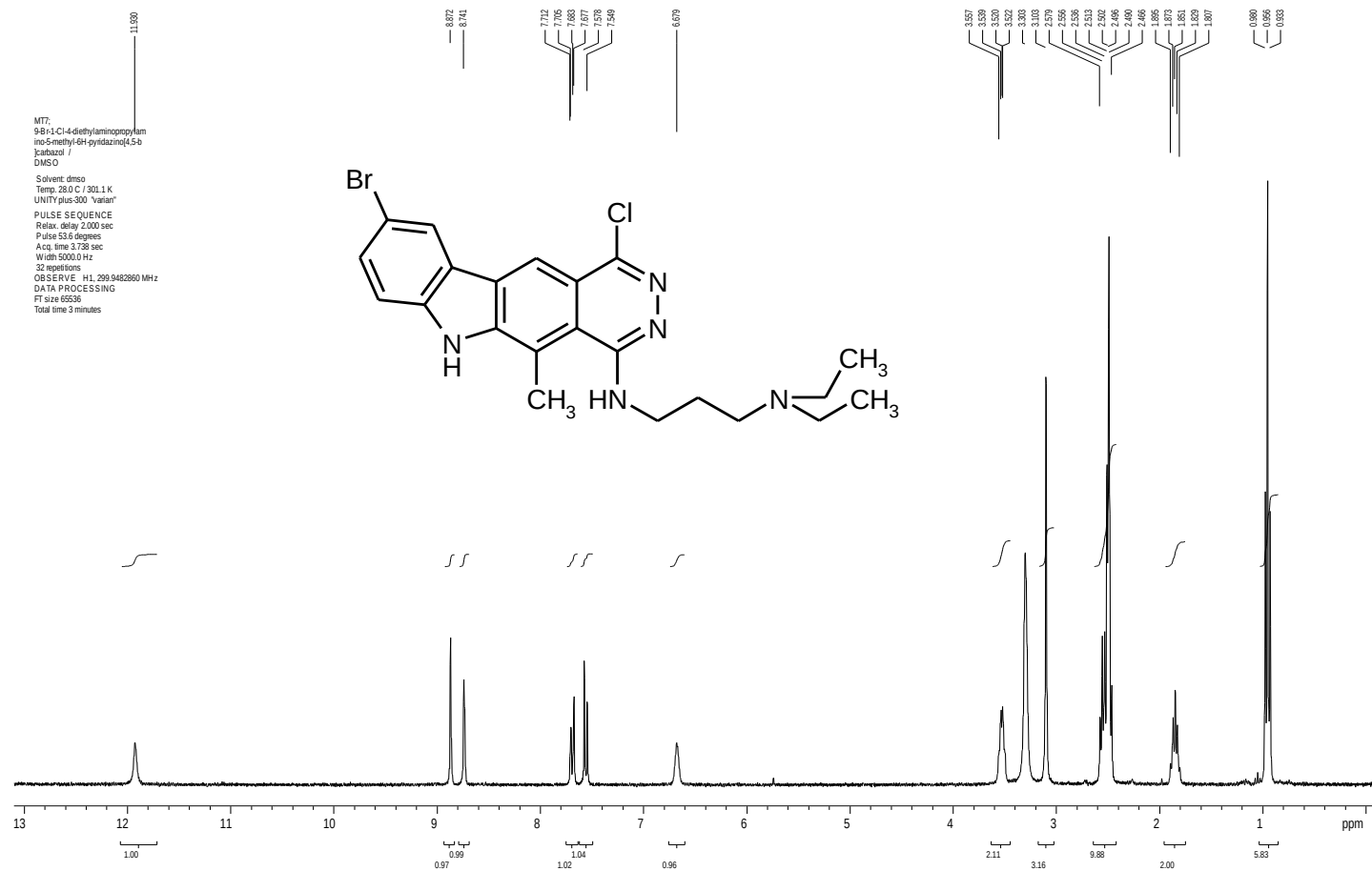
Tafel 7: *N'*-(9-Brom-4-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (**VI**), DMSO-*d*₆ (NOE)



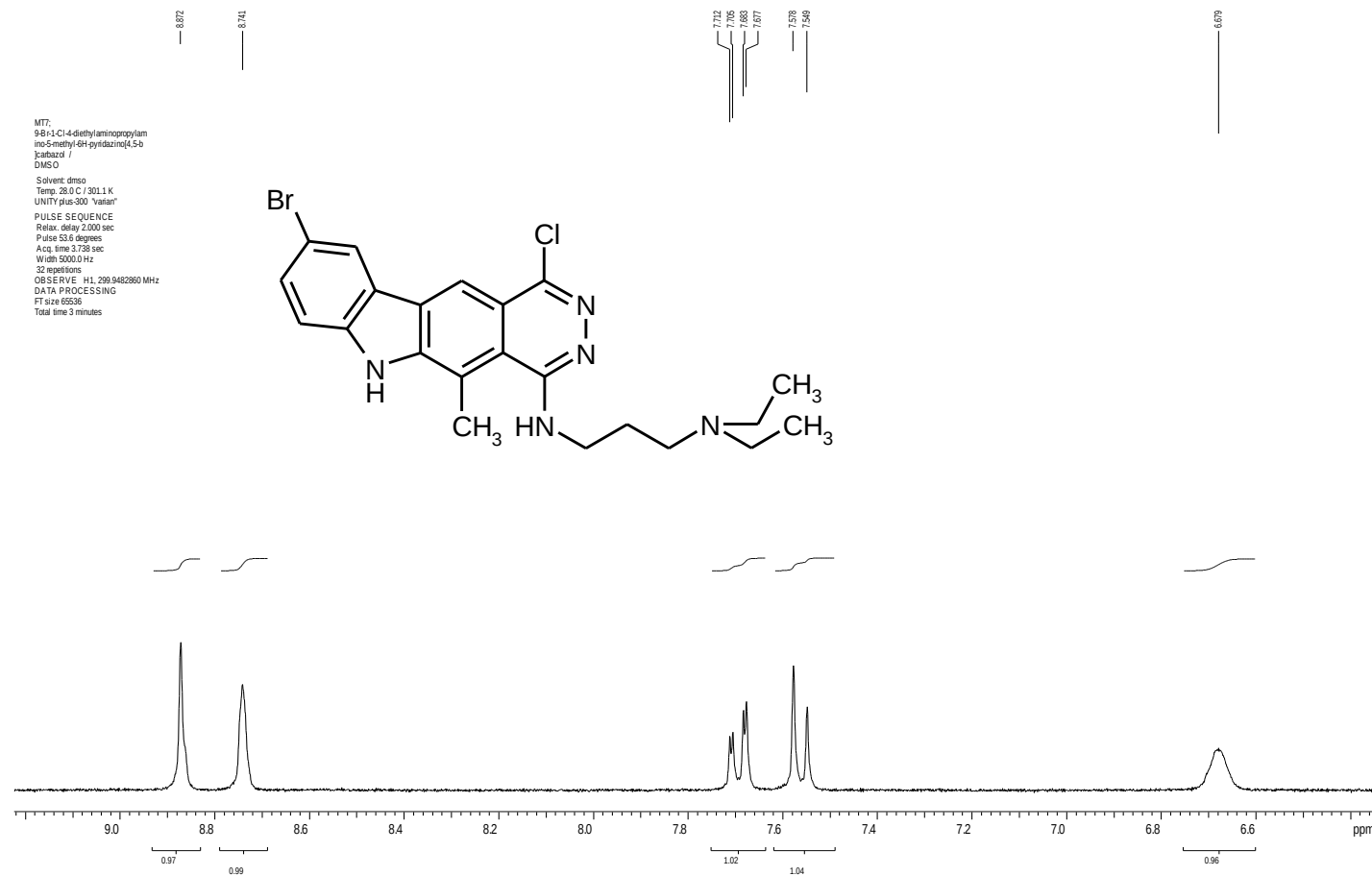
Tafel 8: *N'*-(9-Brom-4-chlor-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-b]carbazol-1-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (VI), DMSO-*d*₆



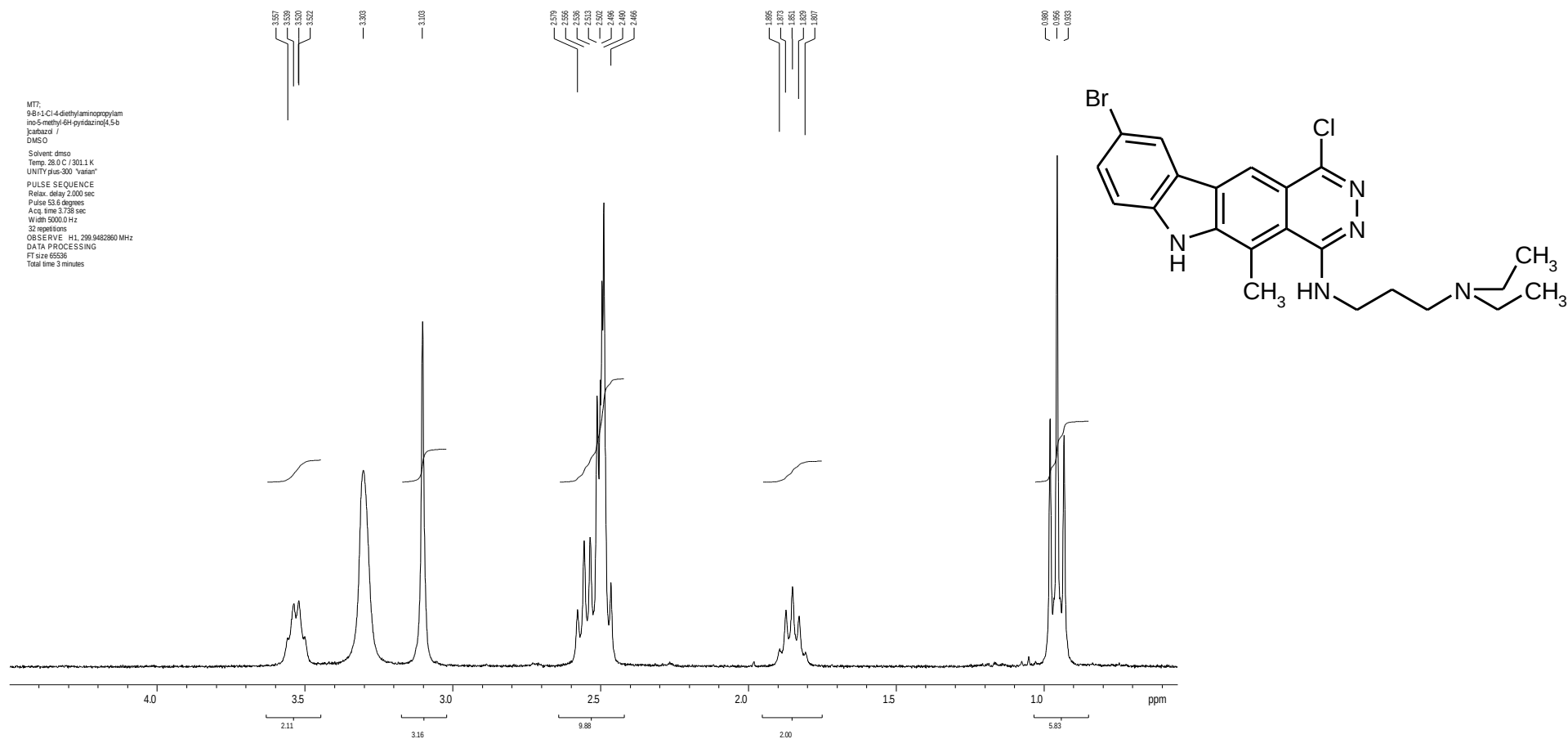
Tafel 9: *N'*-(9-Brom-4-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (**VI**), DMSO-*d*₆



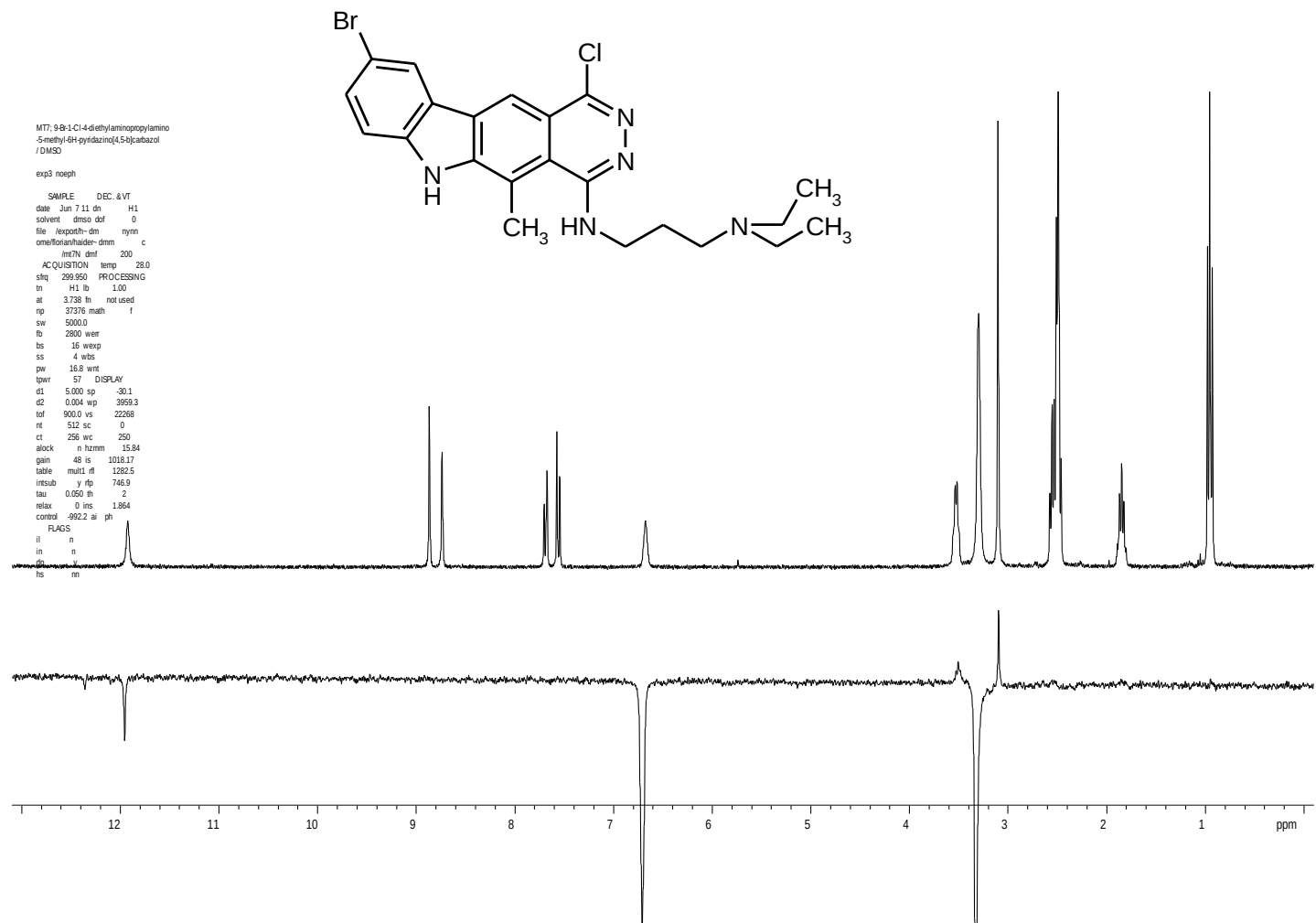
Tafel 10: *N'*-(9-Brom-1-chlor-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-4-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (VII), DMSO-*d*₆



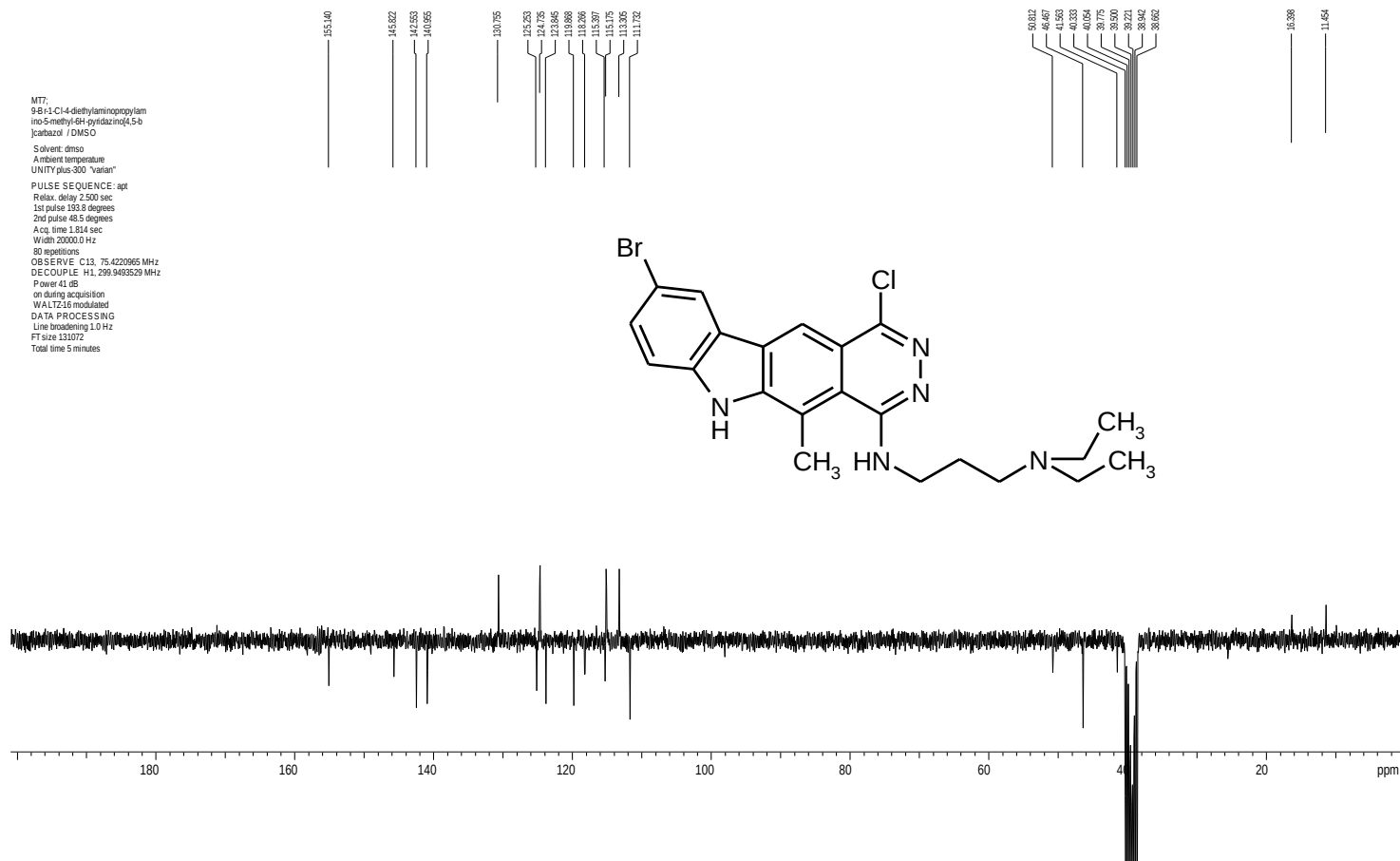
Tafel 11: *N'*-(9-Brom-1-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-4-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (VII), DMSO-*d*₆



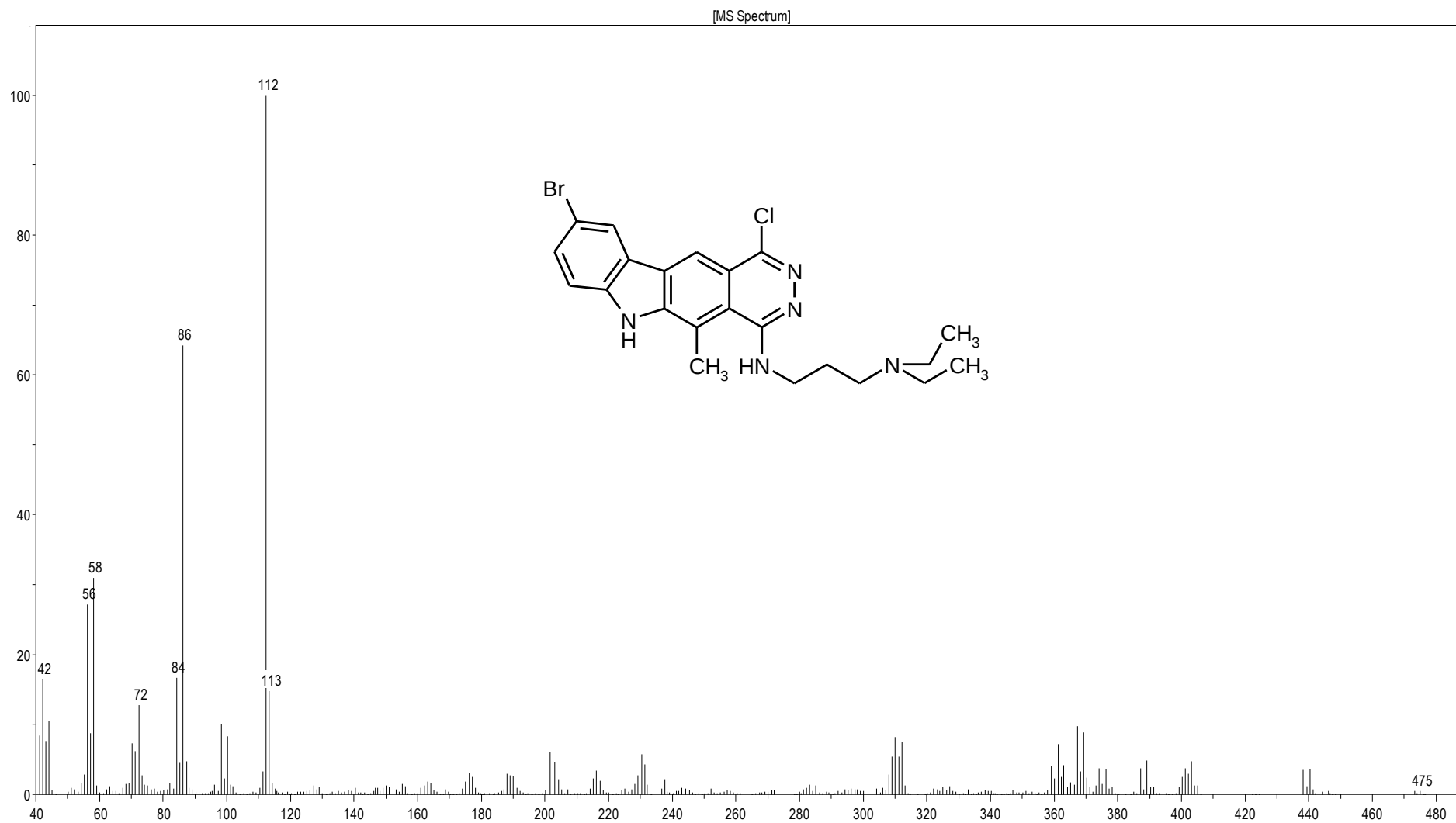
Tafel 12: *N'*-(9-Brom-1-chlor-5-methyl-6H-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-4-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (**VII**), DMSO-*d*₆



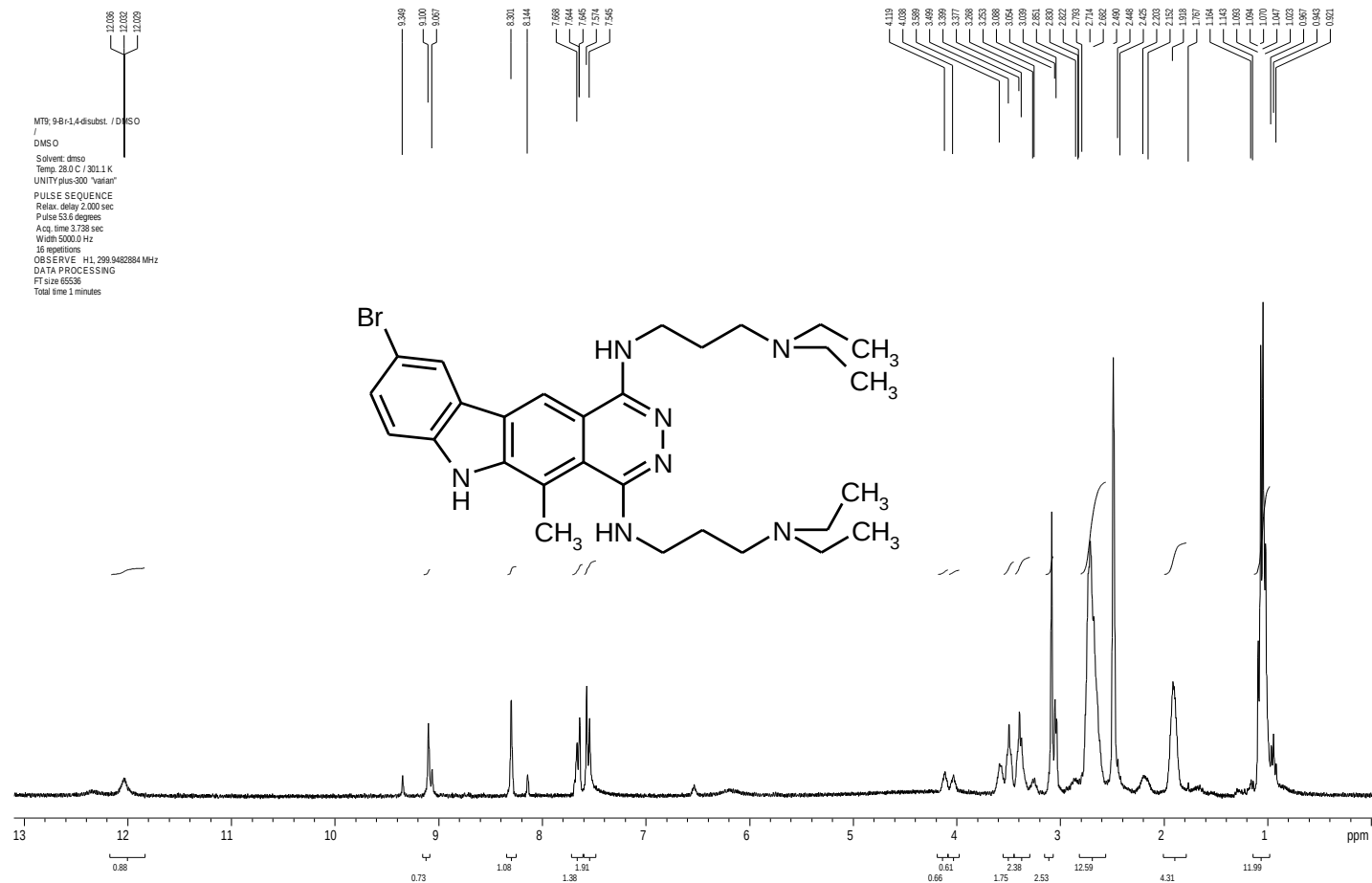
Tafel 13: *N'*-(9-Brom-1-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-4-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (**VII**), DMSO-*d*₆ (NOE)



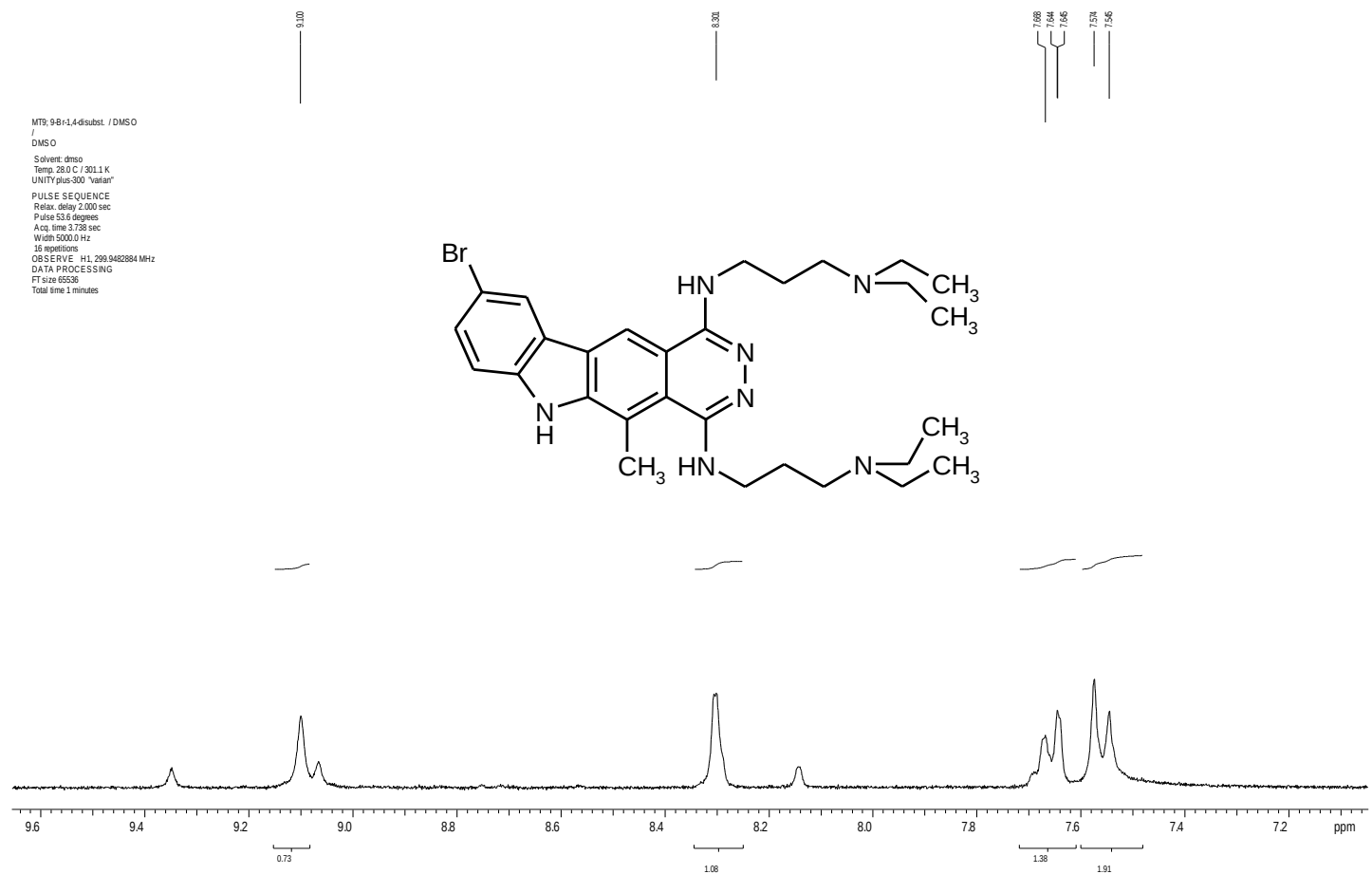
Tafel 14: *N'*-(9-Brom-1-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-4-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (**VII**), DMSO-*d*₆



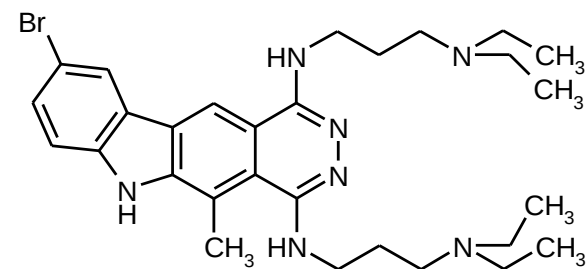
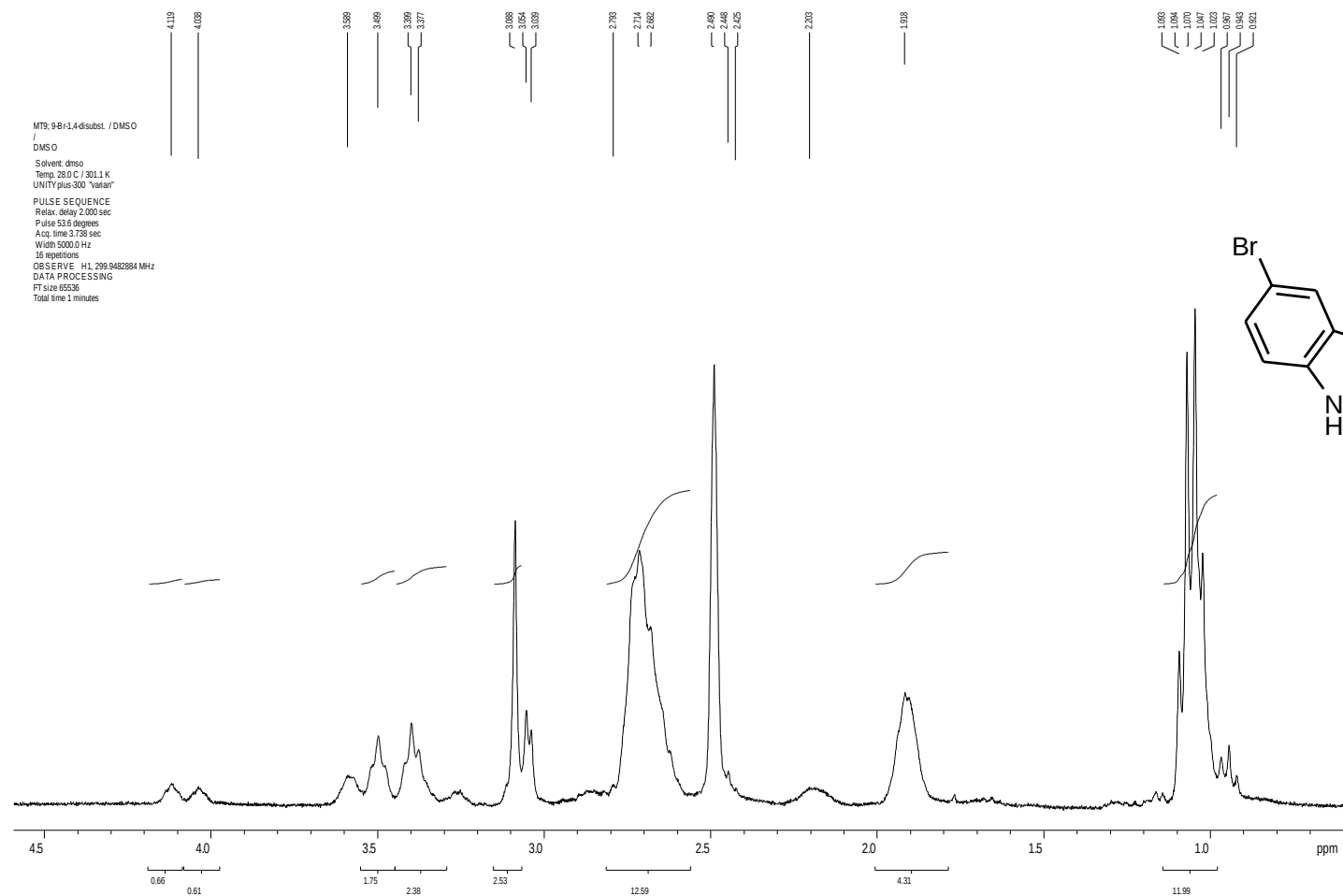
Tafel 15: *N'*-(9-Brom-1-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-4-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin (**VII**), DMSO-*d*₆



Tafel 16: 9-Brom-*N,N'*-bis[3-(diethylamino)propyl]-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4-diamin (VIII), DMSO-*d*₆

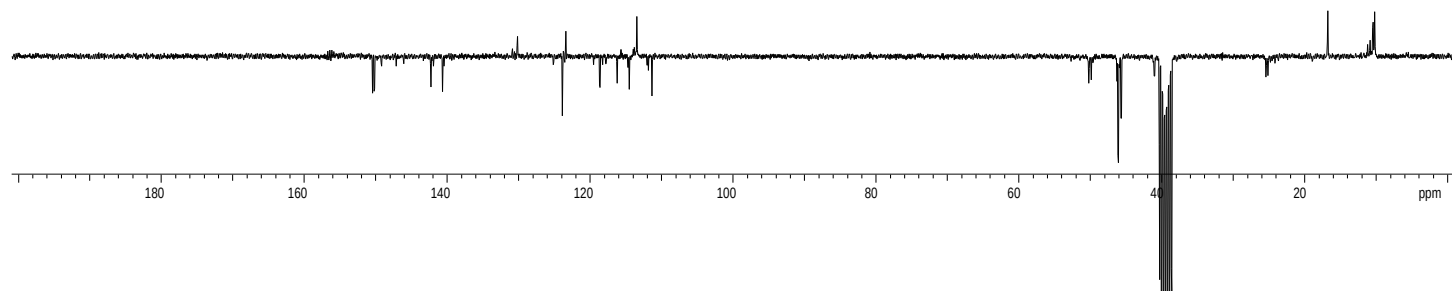
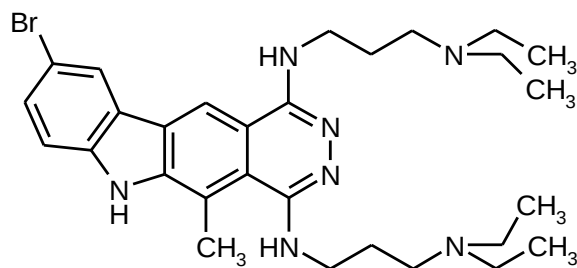


Tafel 17: 9-Brom-*N,N'*-bis[3-(diethylamino)propyl]-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4-diamin (**VIII**), DMSO-*d*₆

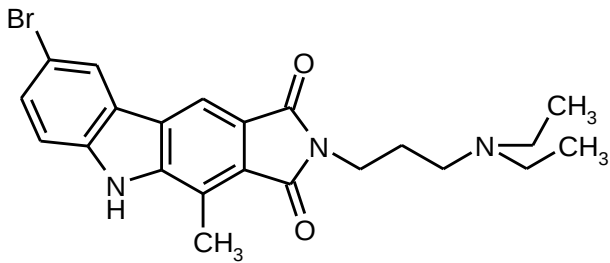


Tafel 18: 9-Brom-*N,N'*-bis[3-(diethylamino)propyl]-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4-diamin (VIII), DMSO-*d*₆

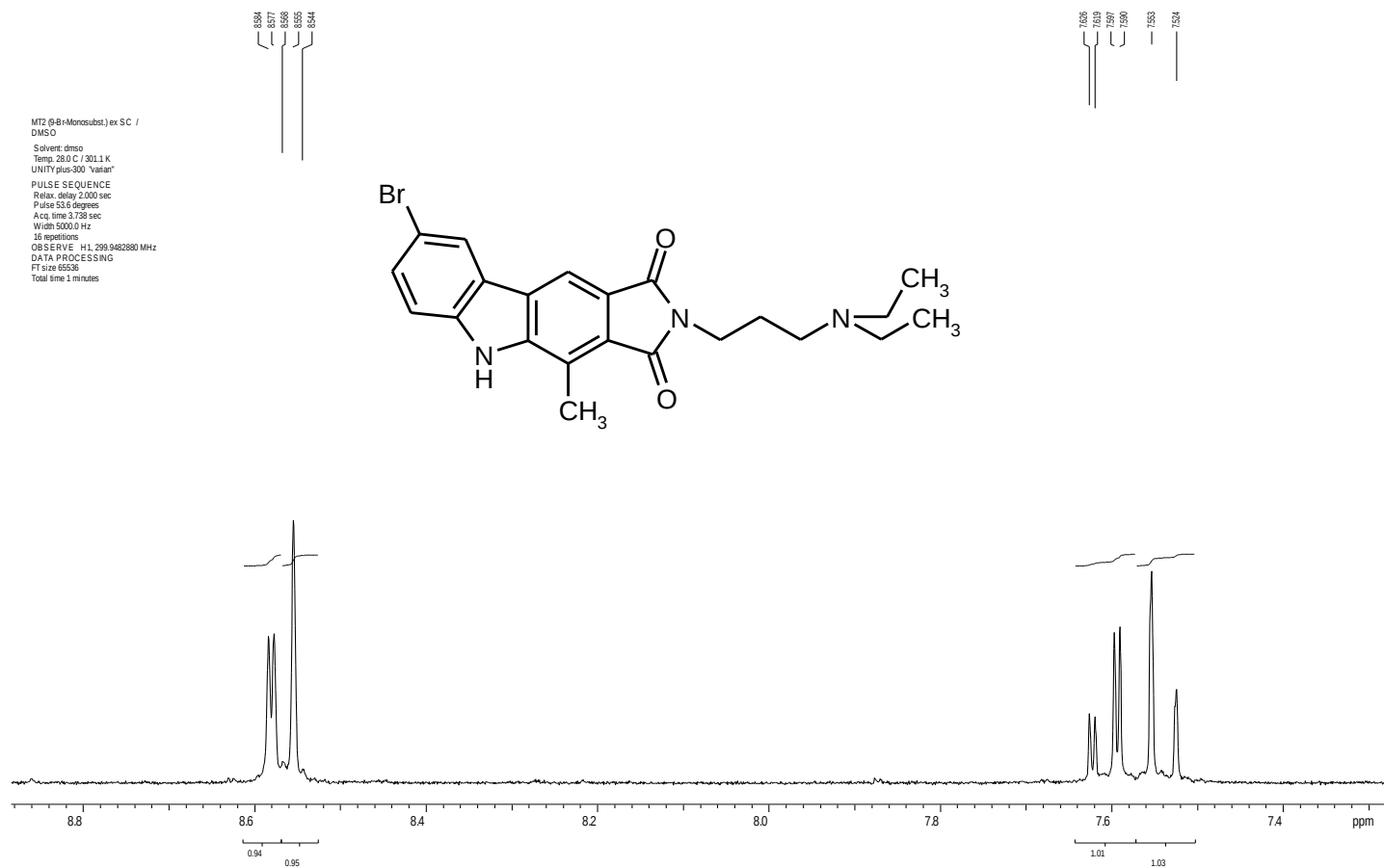
MT9: 9-Br-1,4-disubst. (ex. SC,
 nicht ganz rein) / DMSO
 Solvent: dms
 Ambient temperature
 UNITY plus-300 "Varian"
 PULSE SEQUENCE: apt
 Relax. delay 2.500 sec
 1st pulse 133.8 degrees
 2nd pulse 45.5 degrees
 Acq. time 1.814 sec
 Width 20000.0 Hz
 64 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4220962 MHz
 DECOUPLE H1, 299.9493529 MHz
 Power 41 dB
 on during acquisition
 WALTZ16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 1.0 Hz
 FT size 131072
 Total time 4 minutes



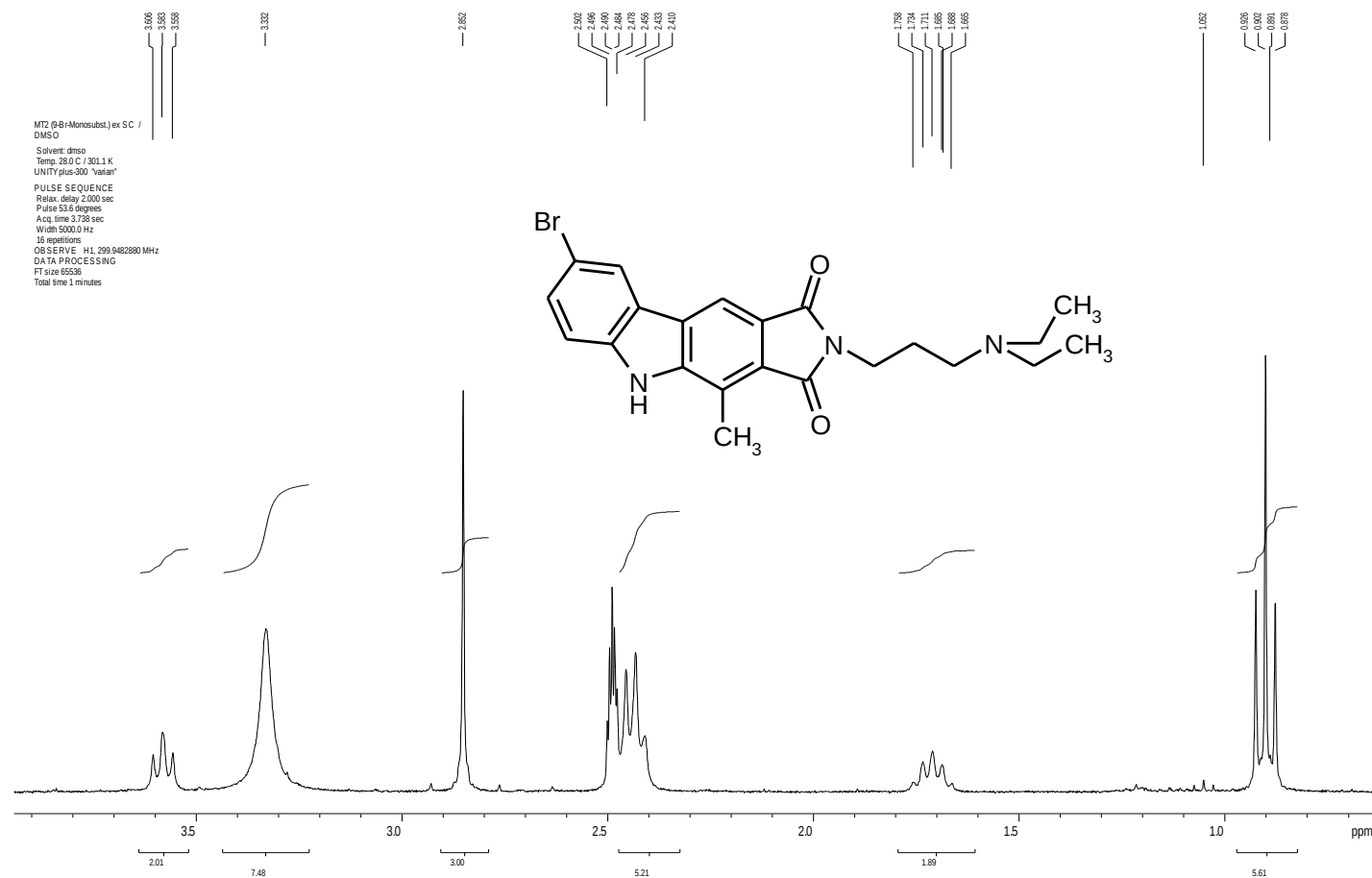
Tafel 19: 9-Brom-*N,N'*-bis[3-(diethylamino)propyl]-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4-diamin (**VIII**), DMSO-*d*₆



Tafel 21: 8-Brom-2-[3-(diethylamino)propyl]-4-methylpyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (**IX**), DMSO-*d*₆



Tafel 22: 8-Brom-2-[3-(diethylamino)propyl]-4-methylpyrrolo[4,3-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (**IX**), DMSO-*d*₆



Tafel 23: 8-Brom-2-[3-(diethylamino)propyl]-4-methylpyrrolo[3,4-b]carbazol-1,3(2H,5H)-dion (IX), DMSO- d_6

MTZ (9-Bromo-subst.) ex SC /
DMSO
Solvent: dmsd
Ambient temperature
UNITY plus-300 "Varian"
PULSE SEQUENCE: apt
Relax. delay 2.500 sec
1st pulse 193.8 degrees
2nd pulse 48.5 degrees
Acq. time 1.814 sec
Width 20000.0 Hz
288 repetitions
OBSERVE C13, 75.4220962 MHz
DECOUPLE H1, 299.9493529 MHz
Power 41 dB
on during acquisition
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 131072
Total time 20 minutes

168.856
167.970

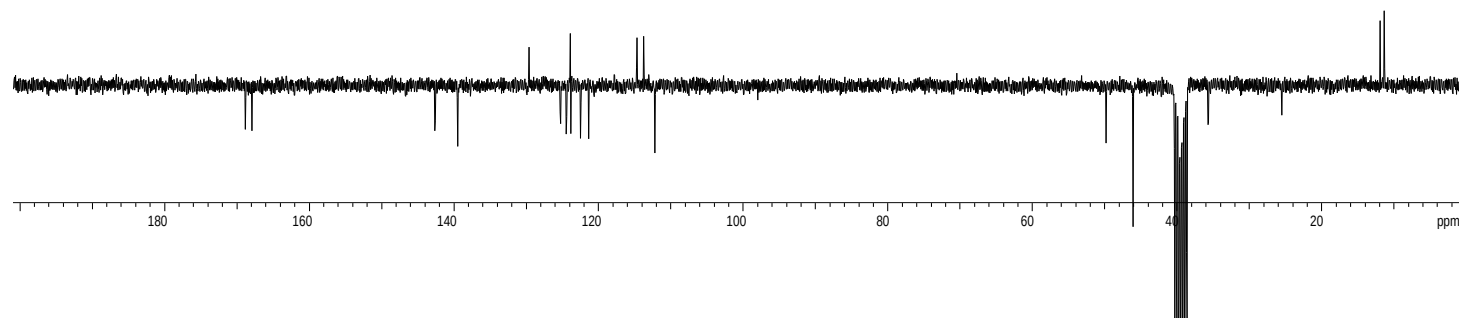
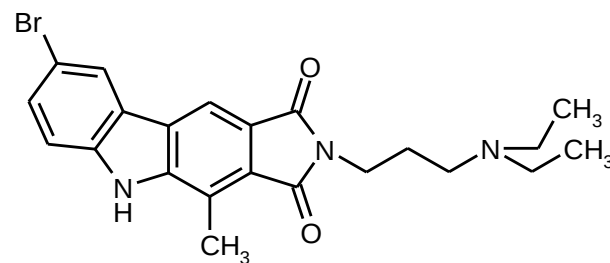
142.546
139.523

129.847
125.310
124.476
123.987
122.837
122.724
121.446
114.720
113.787
112.288

49.870
48.056
40.333
40.054
38.175
38.024
38.221
38.942
38.662
35.729

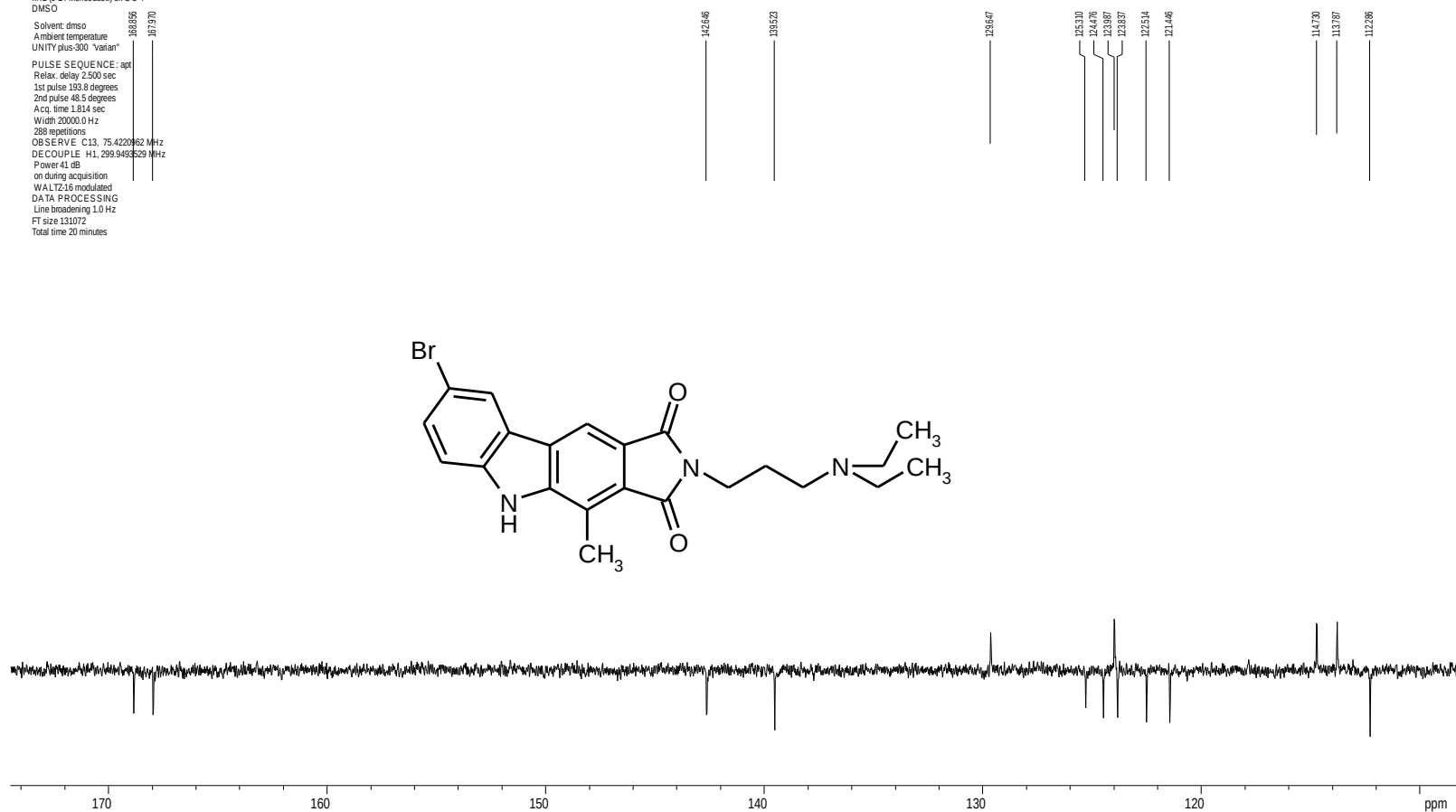
25.517

11.972
11.585

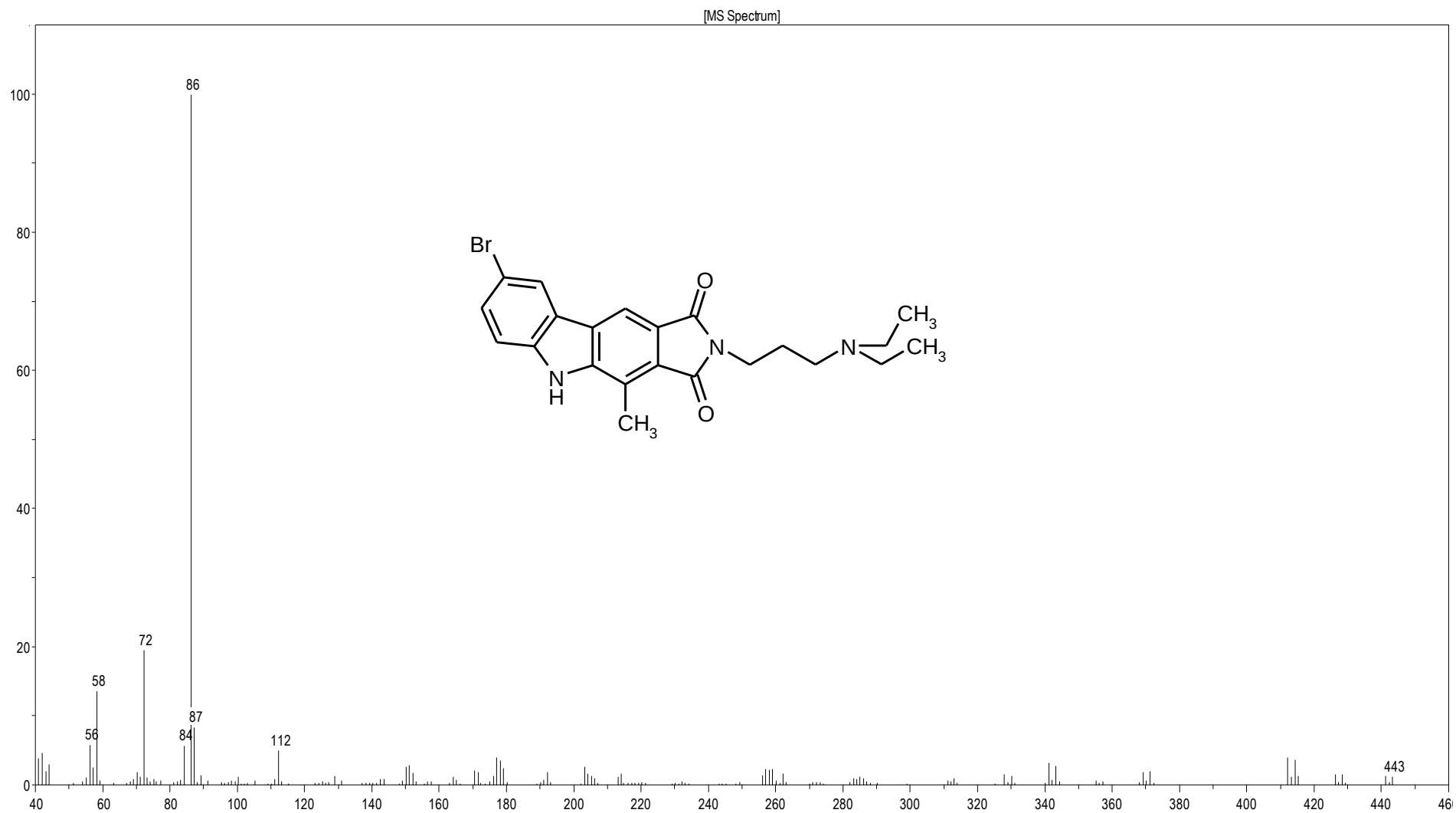


Tafel 24: 8-Brom-2-[3-(diethylamino)propyl]-4-methylpyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (**IX**), DMSO-*d*₆

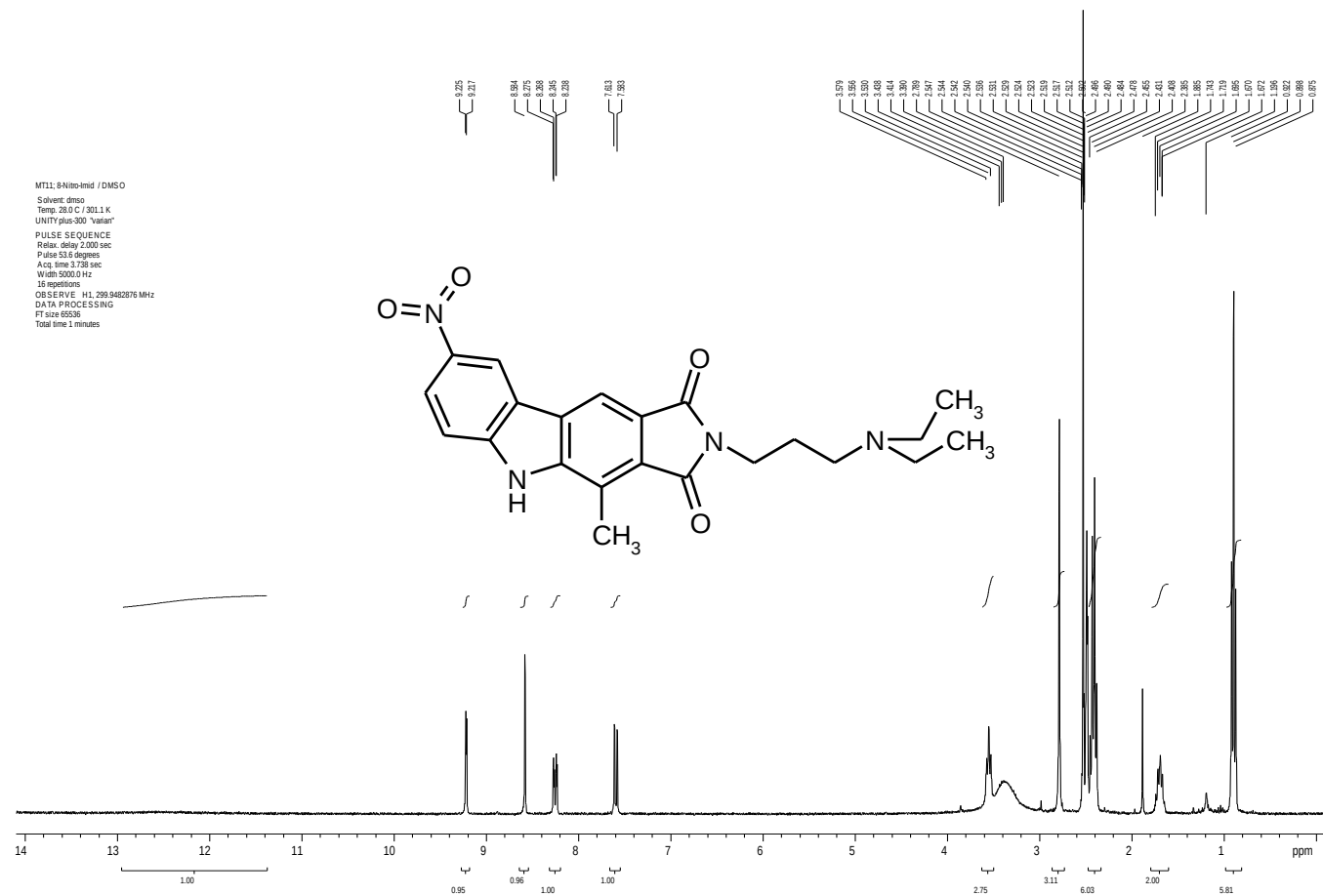
MTZ (9-Br-Monosubst.) ex S.C. /
DMSO
Solvent: dms
Ambient temperature
UNITY plus-300 "varian"
PULSE SEQUENCE: apt
Relax. delay 2.500 sec
1st pulse 193.9 degrees
2nd pulse 48.5 degrees
Acq. time 1.814 sec
Width 20000.0 Hz
288 repetitions
OBSERVE C13, 75.422062 MHz
DECOUPLE H1, 299.9493529 MHz
Power 41 dB
on during acquisition
WALTZ16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 1.0 Hz
FT size 131072
Total time 20 minutes



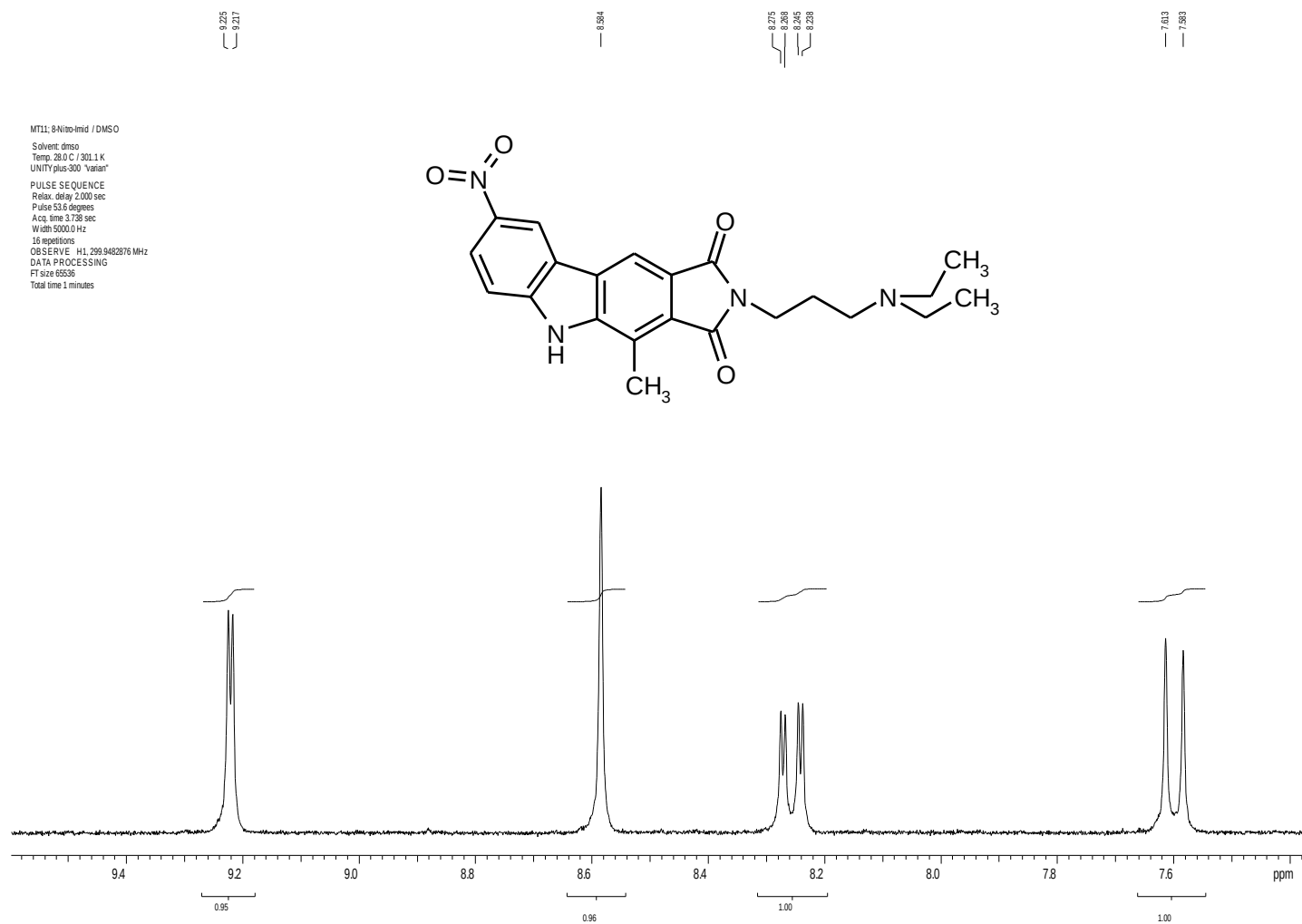
Tafel 25: 8-Brom-2-[3-(diethylamino)propyl]-4-methylpyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (IX), DMSO-*d*₆



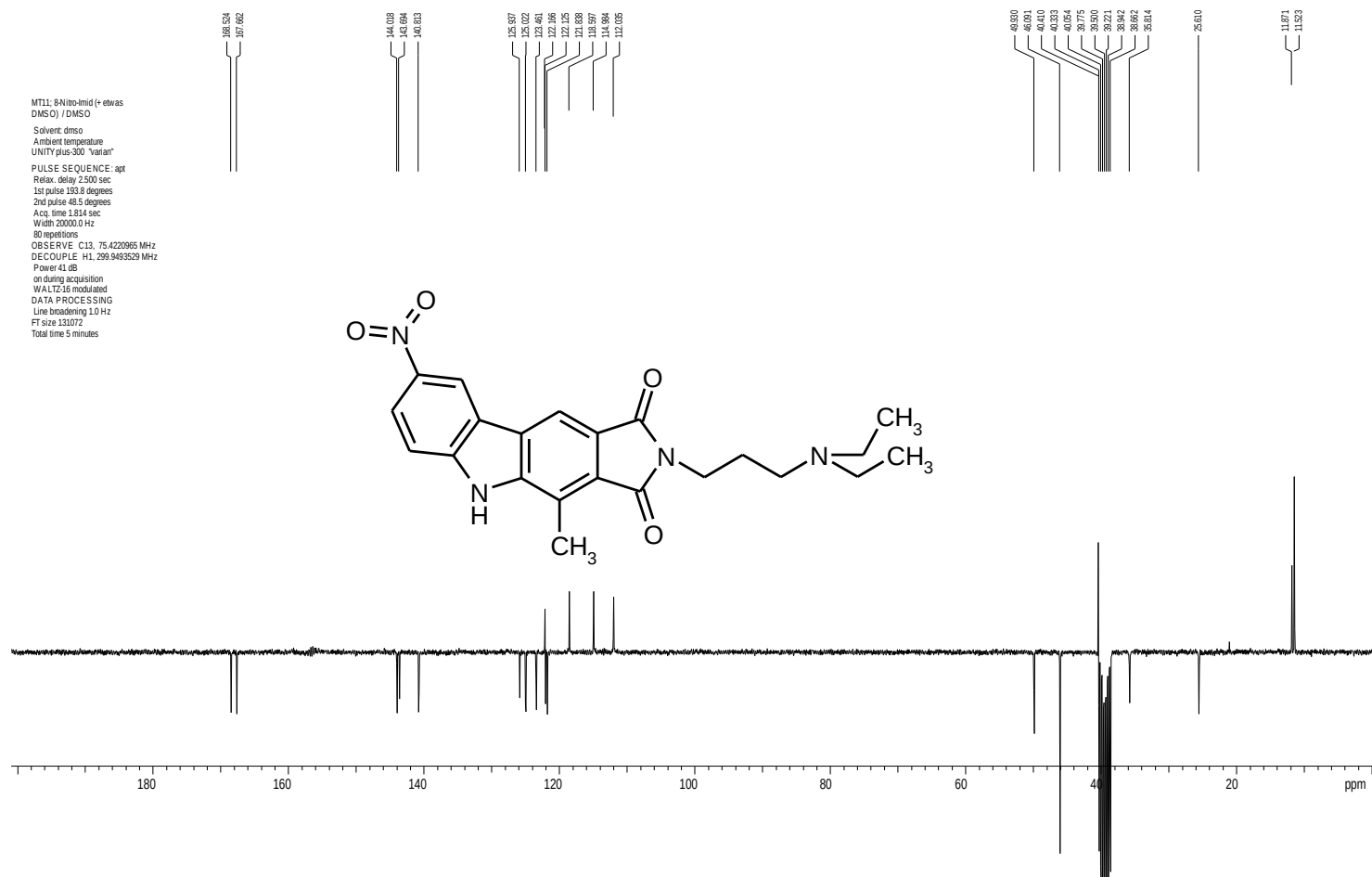
Tafel 26: 8-Brom-2-[3-(diethylamino)propyl]-4-methylpyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (IX), DMSO-*d*₆



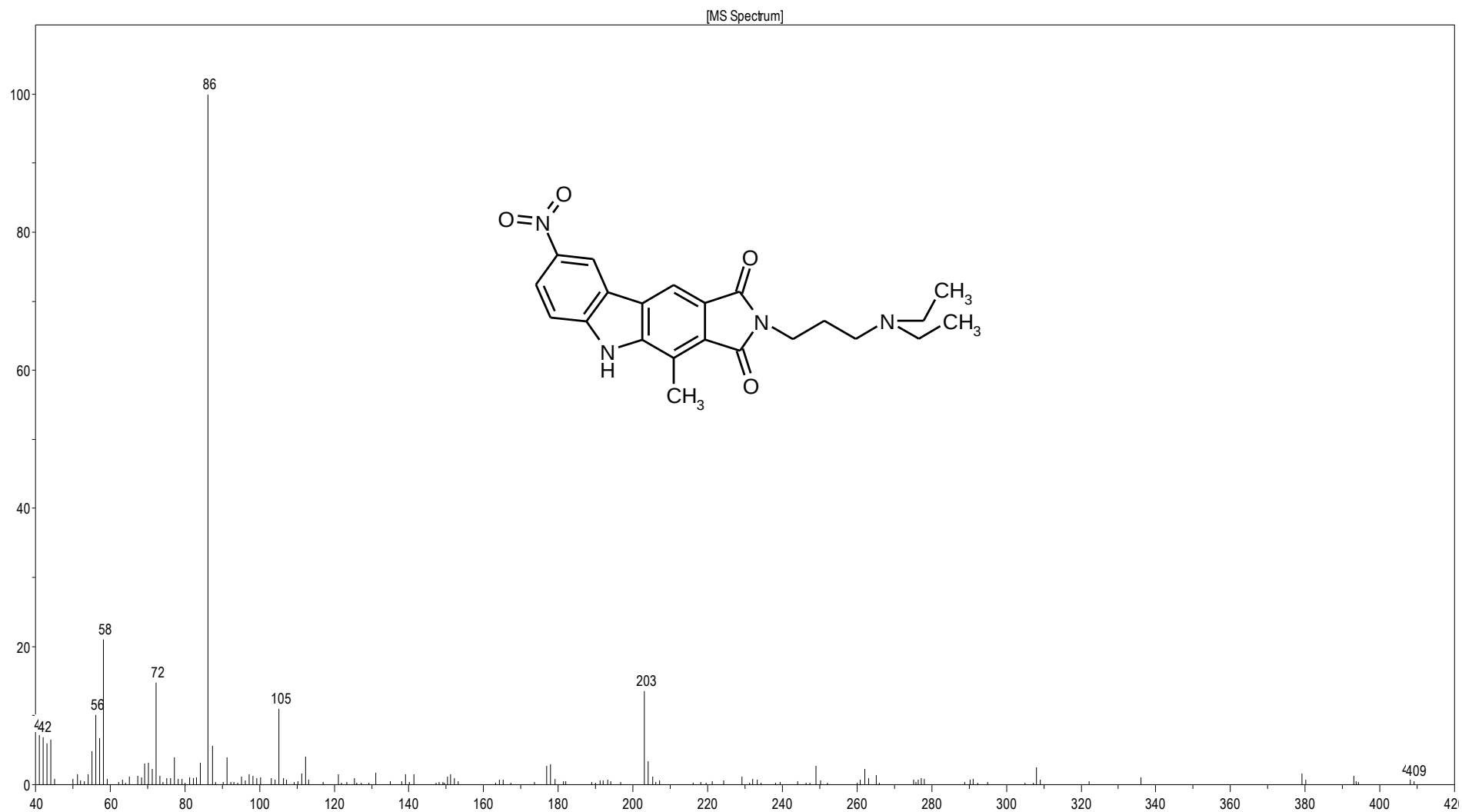
Tafel 27: 2-[3-(Diethylamino)propyl]-4-methyl-8-nitropyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (**XI**), DMSO-*d*₆



Tafel 28: 2-[3-(Diethylamino)propyl]-4-methyl-8-nitropyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (**XI**), DMSO-*d*₆



Tafel 30: 2-[3-(Diethylamino)propyl]-4-methyl-8-nitropyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (**XI**), DMSO-*d*₆



Tafel 31: 2-[3-(Diethylamino)propyl]-4-methyl-8-nitropyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion (XI), DMSO-*d*₆

ZUSAMMENFASSUNG

Mit vorliegender Arbeit konnte eine Reihe neuer Carbazol-anellierter Derivate mit basischer Seitenkette hergestellt werden, die aufgrund ihrer strukturellen Verwandtschaft zu *Ellipticin* und dessen Derivaten bzw. zu kondensierten Imiden des *Amonafid*-Typs, eine zytotoxische Aktivität nahelegen.

Ausgehend vom literaturbekannten¹⁸ Tetrazyklus 9-Brom-5-methyl-2,3-dihydro-1*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4(6*H*)-dion **IV** wurde durch Chlorierung mit POCl₃ 9-Brom-1,4-dichlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol **V** hergestellt. Dieses Dichlor-Derivat diente als Ausgangsverbindung zur Herstellung von Pyridazino-Carbazol-Derivaten mit einer bzw. zwei basischen Seitenketten. Mittels nukleophiler Substitution mit der Seitenkettenstruktur *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin konnten die strukturisomeren Verbindungen *N'*-(9-Brom-4-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin **VI** und *N'*-(9-Brom-1-chlor-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-4-yl)-*N,N*-diethylpropan-1,3-diamin **VII** hergestellt werden, sowie unter drastischeren Bedingungen das disubstituierte Derivat 9-Brom-*N,N'*-bis[3-(diethylamino)propyl]-5-methyl-6*H*-pyridazino[4,5-*b*]carbazol-1,4-diamin **VIII**.

Als weitere Zielverbindungen wurden die Pyrrolo-Carbazol-Derivate 8-Brom-2-[3-(diethylamino)propyl]-4-methylpyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion **IX** und 2-[3-(Diethylamino)propyl]-4-methyl-8-nitropyrrolo[3,4-*b*]carbazol-1,3(2*H*,5*H*)-dion **XI** anvisiert. Das bromsubstituierte Derivat konnte ausgehend von Dimethyl-6-brom-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **III** durch Ringschluss mit der basischen Struktur *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin erreicht werden. Das Derivat mit der Nitrogruppe wurde über den von TROPPER¹⁸ beschriebenen Weg der Nitrierung des Carbazoldiesters Dimethyl-1-methyl-9*H*-carbazol-2,3-dicarboxylat **II** und durch anschließenden Ringschluss mit *N,N*-Diethylpropan-1,3-diamin dargestellt.

Mit der Synthese dieser Moleküle konnte hoffentlich ein weiterer Baustein zur Entwicklung neuer Wirkstoffe durch gezielte Abwandlung pharmazeutisch interessanter Naturstoffe gelegt werden.

LEBENS LAUF

NAME	Markus Tarnai	
GEBURTSDATUM	22. Juli 1985	
GEBURTSORT	Wien	
BILDUNG Perchtoldsdorf	1991-2003	Volksschule, 2380
	1995-2003	Bundesgymnasium, 2380 Perchtoldsdorf
	ab 2004	Studium der Pharmazie an der Universität Wien
BERUFLICHE TÄTIGKEITEN	2011-2013	geringfügig und in sämtlichen Ferien angestellt: Wienerwald- Apotheke, 2384 Breitenfurt
	2009-2011	angestellt in sämtlichen Ferien: Marien-Apotheke, 2384 Breitenfurt
	2007-2009	geringfügig beschäftigt: Firma Herba Chemosan, 1110 Wien
	2006	Apothekenpraxis: Apotheke zum Schutzengel 1180 Wien