

Institut für Pharmazeutische Chemie¹ der Technischen Universität Braunschweig und Institut für Pharmazeutische Chemie² der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Germany

Pyrrolo[2,3-*c*]chinoline und Pyrrolo[3,4-*c*]chinoline — Synthese und Prüfung auf Lipoxygenase-Hemmung

K. GÖRLITZER¹, J. FABIAN¹, P. FROHBERG² und G. DRUTKOWSKI²

Herrn Prof. Dr. P. Nuhn mit den besten Wünschen zum 65. Geburtstag gewidmet

Durch Paal-Knorr-Synthese werden aus dem cyclischen Halbketal **4** über die cyclischen Halbaminale **5** und **6** die Pyrrol-2,4-dicarbonsäurediester **1c** und **7** erhalten; das 1,4-Diketon **10** liefert den Pyrrol-2-carbonsäureester **9**. Unter reduzierenden Bedingungen reagieren **1c** und dessen 4-Carbonsäure **8** zum Pyrrolo[3,4-*c*]chinolincarbonsäureester **2a**; aus Verbindung **9** sind die cyclische Hydroxamsäure **11** und das Lactam **12** vom Pyrrolo[2,3-*c*]chinolin-Typ zugänglich. Die isomeren Verbindungen der Pyrrolo[3,4-*c*]chinolin-Reihe **16**, **17** bzw. **18** werden aus den Pyrrolen **14** und **15** synthetisiert; als Edukt dient das cyclische Halbacetal **13**. Die tricyclischen Hydroxamsäuren **16** und **17** sind schwache Hemmer der 5-Lipoxygenase ($IC_{50} > 10 \mu M$, bezogen auf die LTB₄-Bildung im menschlichen Vollblut).

Pyrrolo[2,3-*c*]quinolines and pyrrolo[3,4-*c*]quinolines – synthesis and investigation of lipoxygenase inhibition

The Paal-Knorr synthesis of the cyclic hemiketonacetal **4** yields the pyrrole-2,4-dicarboxylic acid diesters **1c** and **7** via the cyclic hemiaminals **5** and **6**; while the pyrrole-2-carboxylic acid ester **9** is formed from the 1,4-diketon **10**. Under reducing conditions **1c** and their 4-carboxylic acid **8** give the pyrrolo[3,4-*c*]quinoline carboxylic acid ester **2a**; the cyclic hydroxamic acid **11** and the lactam **12** of the pyrrolo[2,3-*c*]quinoline type are obtained from compound **9**. The isomeric compounds of the pyrrolo[3,4-*c*]quinoline series **16**, **17** and **18**, respectively, are synthesized from the pyrroles **14** and **15**; the cyclic hemiacetal **13** was used as educt. The tricyclic hydroxamic acids **16** and **17** weakly inhibit the 5-lipoxygenase ($IC_{50} > 10 \mu M$, relating to the formation of LTB₄ of human whole blood).

1. Einleitung

Bei der Umsetzung der 3-(2-Nitrophenyl)-2,4-pyrrol-dicarbonsäurediester (**1**) [1] mit Zink/Ammoniumchlorid wurde die Nitrogruppe zum Hydroxylamin reduziert, welches spontan regioselektiv mit dem 4-Carbonsäureester zur Hydroxamsäure des Pyrrolo[3,4-*c*]chinolins **2** [2] cyclisierte. Zur Darstellung der isomeren tricyclischen Hydroxamsäuren **3** eignen sich (2-Nitrophenyl)pyrrol-Derivate, denen entweder der 2- oder der 4-Carbonsäureester fehlt. Im Rahmen von Struktur-Wirkungs-Beziehungen [2, 3] sind die tricyclischen Hydroxamsäuren **2** und deren Isomere **3** vom Pyrrolo[2,3-*c*]chinolin-Typ als Lipoxygenasehemmer von pharmazeutischem Interesse. Über den 5-Lipoxygenase- bzw. Cyclooxygenaseweg erfolgt hauptsächlich die Metabolisierung freier langkettiger Fettsäuren, insbesondere der Arachidonsäure, die zu hochaktiven Verbindungen mit verschiedenen physiologischen und pathophysiologi-

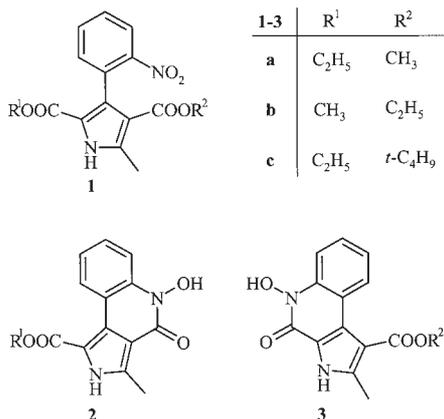
schen Eigenschaften führt. Sekundärprodukte des 5-LOX-Weges sind Leukotriene, die als Entzündungsmediatoren und Vermittler von immunologischen Reaktionen bekannt sind. Die 5-LOX besitzt ein Nicht-Häm- und Nicht-Schwefel-gebundenes Eisenatom im katalytischen Zentrum, das in aller Regel recht labil ist. Hydroxamsäuren [4], Hydroxyharnstoffe [5] und Hydroxypyridone [6] sind in der Lage, die Lipoxygenase durch Komplexbildung des Eisens im aktiven Zentrum zu hemmen [4]. Mit der Einführung des Hydroxyharnstoffderivates Zileuton steht der erste 5-LOX-Hemmer zur Therapie des Asthma bronchiale zur Verfügung.

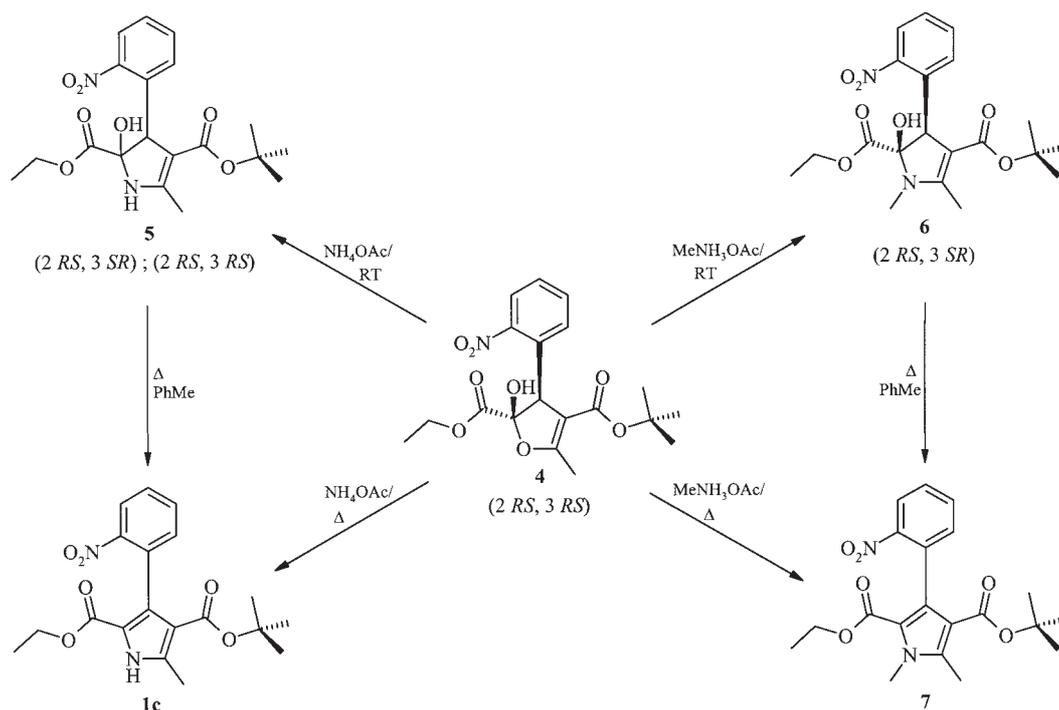
2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

2.1. Pyrrolo[2,3-*c*]chinoline

Aufbauend auf den Erfahrungen zur Gewinnung der bioisomeren Furochinoline wurde als Edukt für die Pyrrol-Synthese nach Paal-Knorr [7, 8] eine 1,4-Dicarbonylverbindung ausgewählt, die als cyclisches Halbketal **4** vorliegt [9]. Wurde das 2,3-Dihydro-2-hydroxyfuran **4** mit Ammoniumacetat in Ethanol unter milden Bedingungen umgesetzt, so ließ sich nach Ringöffnung des Halbketals zum 1,4-Diketon, Enamin-Bildung und Recyclisierung das 2,3-Dihydro-2-hydroxypyrrrol **5** darstellen. Im Gegensatz zum Edukt **4** fiel das Pyrrol-Derivat **5** als Diastereomeren-Gemisch (71 : 29) an, wie die NMR-Spektren mit zwei Signalsätzen zeigten.

Die Struktur der Diastereomere **5** wird durch ein ¹³C,¹H-COLOC-Spektrum belegt. Die 5-Methyl-Protonen geben Kreuzpeaks mit den sp²-hybridisierten Kohlenstoff-Atomen C-4 und C-5, die ihrerseits durch ihre chemischen Verschiebungen bei $\delta = 98$ und 99 bzw. $\delta = 159$ charak-



Scheme 1³

terisiert sind. Aufgrund des NOE-Effekts zwischen 3-H und 2-OH lassen sich die Signale des im Unterschuss vorhandenen Racemats dem Diastereomer zuordnen, bei dem diese räumlich benachbart, also *cis*-ständig angeordnet sind.

Mit Methylaminhydrochlorid und Natriumacetat entstand aus dem Halbketal **4** einheitlich das diastereomere Pyrrol-Derivat **6**, welches die gleiche sterische Anordnung wie das Edukt **4** aufwies.

Wurden die genannten Reaktionen dagegen unter Erhitzen in Ethanol durchgeführt, so wurden die jeweiligen Pyrrole **1c** und **7** erhalten. Diese waren auch durch Erhitzen der isolierten 2,3-Dihydro-2-hydroxypyrrole **5** und **6** in Toluol zugänglich.

Das Pyrrol **1c** cyclisierte jedoch unter reduktiven Bedingungen (Zink/Acetatpuffer pH 4.6) mit dem *tert*-Butylester zur bekannten tricyclischen Hydroxamsäure **2a** [2]. Auch die nach Behandlung von **1c** mit Trifluoressigsäure (TFA) bei Raumtemperatur durch Isobuten-Eliminierung gebildete Pyrrolmonocarbonsäure **8** lieferte bei der Reduktion mit Zink/Ammoniumchlorid oder Zink/Pufferlösung pH 7 das Pyrrolo[3,4-*c*]chinolin **2a**. Die Carbonsäure **8** konnte zwar durch Erhitzen in Diphenylether unter Zusatz äquimolarer Mengen *p*-Toluolsulfonsäure (*p*-TosOH) auf 190 °C zum Pyrrolmonoester **9** decarboxyliert werden, doch die Aufarbeitung war langwierig und die Ausbeute mit 27% unbefriedigend. Eine wesentliche Verbesserung wurde erreicht, wenn als Edukt für die Paal-Knorr-Synthese das offenkettige 1,4-Diketon **10** eingesetzt wurde, das leicht aus dem Furan-Derivat **4** durch Desalkoxycarbonylierung mit TFA dargestellt werden konnte [9]. Die Reaktion des 1,4-Diketons **10** mit Ammoniumacetat in Ethanol führte mit 75% Ausbeute zum Pyrrol **9**. Mit dem Pyrrol-2-carbonsäureester **9** ließ sich der reduktive Ringschluss zu Pyrrolo[2,3-*c*]chinolinen erzwingen. Mit Zink/Acetatpuffer pH 4.6 wurde die Hydroxamsäure **11**, mit Eisen/Essigsäure das Lactam **12** gewonnen.

2.2. Pyrrolo[3,4-*c*]chinoline

Zur Synthese der zu **11** strukturisomeren Hydroxamsäure **16** vom Pyrrolo[3,4-*c*]chinolin-Typ wurde in Analogie zur Darstellung des bioisosteren Furo[3,4-*c*]chinolins auf das cyclische Halbacetal **13** [9] zurückgegriffen.

Der maskierte 4-Ketoaldehyd **13** reagierte bei der Paal-Knorr-Synthese mit Ammoniumacetat bzw. mit Methylaminhydrochlorid und Natriumacetat zum Pyrrol **14** bzw. *N*-Methylpyrrol **15**. Daraus wurden durch reduktive Cyclisierungen die Pyrrolo[3,4-*c*]chinoline **16**–**18** synthetisiert.

Während die aus dem *N*-Methylpyrrol **15** mit Zink/Acetatpuffer pH 4.6 dargestellte Hydroxamsäure **17** stabil ist, ist die entsprechende Pyrrolverbindung **16** nur schwer rein zu erhalten. Die Hydroxamsäure **16** zersetzt sich in der Luft schnell zu tiefgefärbten Produktgemischen. Das mit Eisen/Essigsäure aus **14** erzeugte Lactam **18** ist dagegen stabil.

2.3. Prüfung auf Lipoxygenase-Hemmung

Die Testsubstanzen **11**, **16** und **17** wurden auf ihre inhibitorische Wirkung gegenüber Lipoxygenasen überprüft. Die Testung wurde an der Sojabohnen-Lipoxygenase (5-LOX) sowie an der 5-LOX unter Verwendung menschlichen Vollblutes und menschlicher polymorphkerniger Leukozyten (PMNL) durchgeführt. Die Ermittlung der Hemmung erfolgte nach zeitlich begrenzter Inkubation des isolierten Enzyms bzw. des entsprechenden Mediums mit den Inhibitoren. Die Aktivität der Sojabohnen-LOX wurde nach Zugabe von Linolsäure als Substrat in einem polarographischen Assay erfasst [12]. Die Hemmung der 5-LOX wurde nach Stimulation der Arachidonsäurekaskade gemessen, indem die Konzentrationen der jeweiligen Arachidonsäure-Metabolite durch HPLC und nachfolgender UV-Detektion bestimmt wurden. Die Ermittlung der 5-LOX-Hemmung erfolgte durch Vergleich der gebildeten Mengen an LTB_4 ohne bzw. unter Zusatz des Inhibitors.

Scheme 2

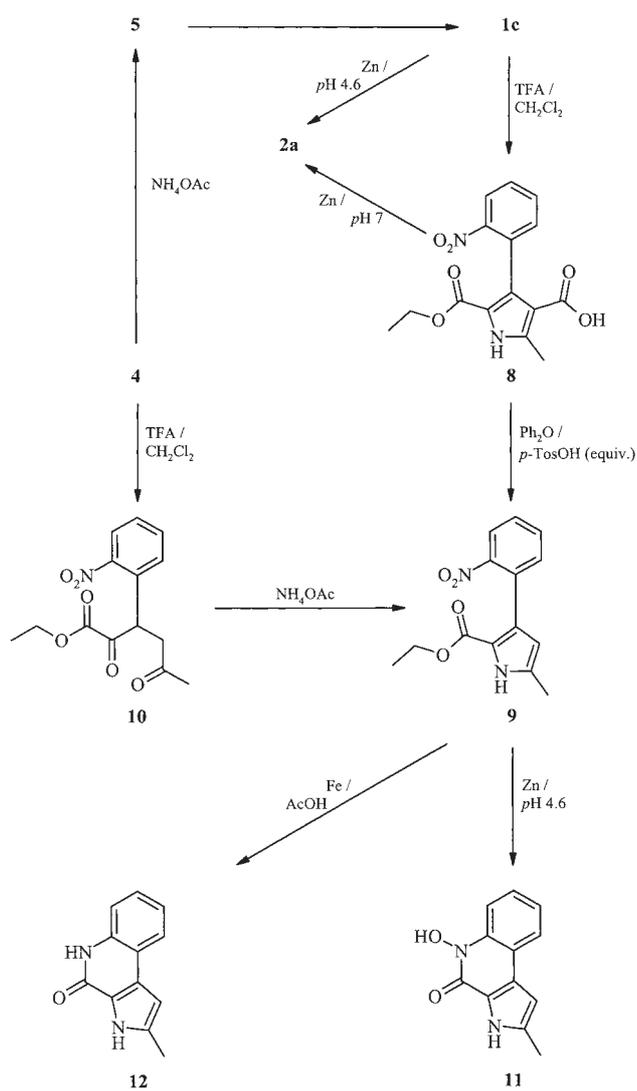
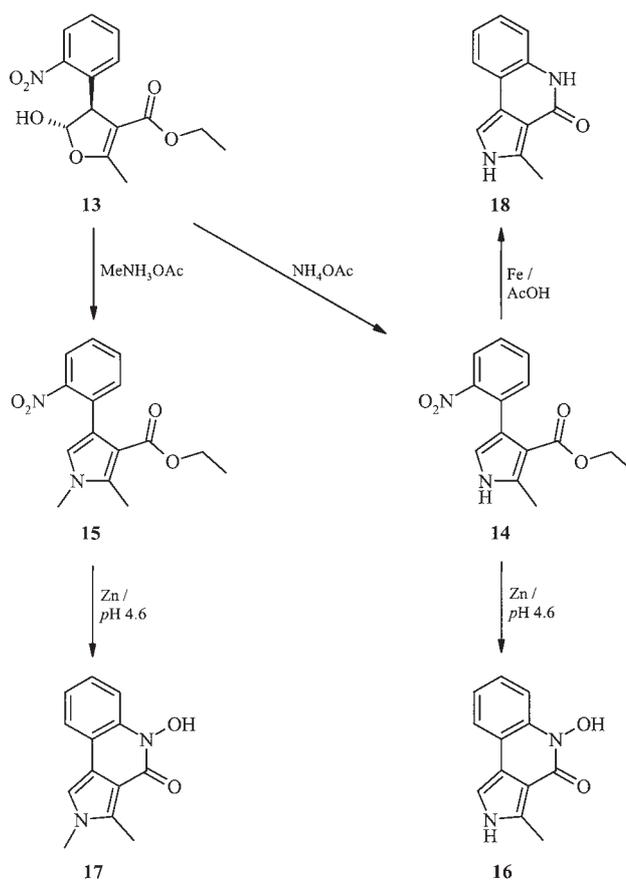
Scheme 3³

Tabelle: Wirkung der Hydroxamsäuren 11, 16 und 17 auf die Sojabohnen-LOX (SB-LOX) sowie die 5-LOX menschlichen Vollblutes

Substanz		LOX-Hemmung IC ₅₀ (µM) (% Hemmung: c = 10 µM)	
Formel	Nr.	SB-LOX	5-LOX (Vollblut)
	11	80	keine Hemmung
	16	250	>10 (27 ± 8) ⁴
	17	>250	>10 (20 ± 11) ⁴
	Zileuton		0,7 [13]

Die Tabelle zeigt die Ergebnisse einer *In-vitro*-Prüfung mit Sojabohnen-Lipoxygenase (15-LOX) und die Wirkung auf die 5-LOX von menschlichem Vollblut, ausgedrückt durch die Hemmung der Bildung des Arachidonsäure-Metaboliten Leukotrien B₄ (LTB₄).

Die cyclischen Hydroxamsäuren **11** und **16** hemmen die Sojabohnen-LOX mit IC₅₀-Werten von 80 bzw. 250 µM, das Pyrrolo[3,4-*c*]chinolin **17** weist hingegen bei einer Konzentration von 250 µM nur eine Hemmung von 18% auf. Eine Erhöhung der Konzentration war aufgrund der begrenzten Löslichkeit der Substanz im Testmedium nicht möglich. Auch im durchgeführten Vollblutassay erwiesen sich die Testverbindungen als schwache Hemmer der 5-Lipoxygenase. Die gefundenen Hemmwerte für die Derivate **16** und **17** (10 µM) von 27 bzw. 20% bezogen auf die LTB₄-Bildung lassen auf IC₅₀-Werte über 10 µM schließen. Die zusätzliche Testung der Substanzen unter Ausnutzung von menschlichen PMNL ergab, dass alle drei Hydroxamsäuren bei einer Konzentration von 10 µM die LTB₄-Bildung um ca. 50% verringern. Die erhaltenen Ergebnisse der Testungen und der Vergleich mit hochpotenten Inhibitoren wie z.B. Zileuton zeigen, dass es sich bei den cyclischen Hydroxamsäuren **11**, **16** und **17** um schwache Hemmer von Lipoxygenasen handelt.

3. Experimenteller Teil

3.1. Allgemeine Angaben

Vgl. [9]

3.2. 4-(tert-Butyl)-2-ethyl-(2RS,3RS) und (2RS,3SR)-2-hydroxy-5-methyl-3-(2-nitrophenyl)-2,3-dihydro-pyrrol-2,4-dicarboxylat (5A und 5B)

0.65 g (1.65 mmol) **4** werden in 30 ml EtOH gelöst. Anschließend werden 0.5 g (6.5 mmol) NH_4OAc hinzugefügt und die Lösung 1 h bei 40 °C gerührt. Nach Zusatz von 50 ml H_2O wird mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die organischen Phasen werden mit NaHCO_3 -Lösung (8%), H_2O , NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und unter sehr milden Bedingungen i. Vak. zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird einer FC (Eluent: Petroläther/EtOAc 2:1) unterworfen. Ausbeute: 0.48 g (74%). Gelb amorphes Pulver, Schmp. 162 °C (Petroläther/EtOAc). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3490 (OH), 3284 (NH), 1754, 1737 (C=O), 1638, 1623 (C=O oder C=C), 1524, 1349 (NO_2). UV (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 214.6 nm (4.30), 276 (4.12). $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): **5A** (2RS,3RS) (29%): δ (ppm) = 0.70 (t, J = 7 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 1.09 (s, 9 H, tBu), 2.26 (d, 3J = 1 Hz, 3 H, CH_3), 3.50–3.64 (m, 2 H, CH_2CH_3), 4.75 (s, 1 H, 3-H), 6.88 (s, 1 H, OH), 7.03 (dd, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 6'-H), 7.40 (ddd, J = 8 Hz, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 4'-H), 7.56 (ddd, J = 8 Hz, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 5'-H), 7.78 (s, 1 H, NH), 7.84 (dd, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 3'-H). NOE-Differenzspektrum: gesättigtes ^1H -Signal (verstärktes ^1H -Signal) = 3-H (OH). **5B** (2RS,3SR) (71%): δ (ppm) = 1.02 (s, 9 H, tBu), 1.26 (t, J = 7 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 2.18 (d, 3J = 1 Hz, 3 H, CH_3), 4.17–4.25 (m, 2 H, CH_2CH_3), 4.88 (d, 3J = 1 Hz, 1 H, 3-H), 6.10 (s, 1 H, OH), 7.39 (dd, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 6'-H), 7.42 (ddd, J = 8 Hz, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 4'-H), 7.59 (ddd, J = 8 Hz, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 5'-H), 7.67 (s, 1 H, NH), 7.82 (dd, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 3'-H). $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$) + DEPT: **5A** (2RS,3RS): δ (ppm) = 13.15 (CH_2CH_3 (CH_3)), 13.48 (CH_3 (CH_2CH_3)), 27.96 (tBu), 53.32 (C-3), 60.45 (OCH_2), 77.00 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 92.91 (C-2), 99.37 (C-4), 123.71 (C-3'), 127.54 (C-4'), 128.99 (C-6'), 132.50 (C-5'), 135.41 (C-1'), 149.54 (C-2'), 159.04 (C-5), 164.58 (C=O, tBu), 167.93 (C=O, Ethyl). Zuordnungen über ^{13}C , ^1H -COLOC-Spektrum gesichert! **5B** (2RS,3SR): δ (ppm) = 13.35 (CH_2CH_3 (CH_3)), 13.99 (CH_3 (CH_2CH_3)), 27.78 (tBu), 50.65 (C-3), 61.40 (CH_2CH_3), 76.88 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 88.84 (C-2), 98.08 (C-4), 123.13 (C-3'), 127.15 (C-4'), 131.75 (C-5'), 132.17 (C-6'), 134.60 (C-1'), 149.92 (C-2'), 159.04 (C-5), 164.33 (C=O, tBu), 171.33 (C=O, Ethyl). MS (EI): m/z (%) = 392 [$\text{M}]^{++}$ (4), 201 (100). HPLC (2): **5A** (2RS,3RS): t_{s} = 2.00 min. **5B** (2RS,3SR): t_{s} = 2.40 min. $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_7$ (392.4)

3.3. 4-(tert-Butyl)-2-ethyl-(2RS,3SR)-2-hydroxy-1,5-dimethyl-3-(2-nitrophenyl)-2,3-dihydro-pyrrol-2,4-dicarboxylat (6)

0.79 g (2 mmol) **4** werden in 35 ml EtOH gelöst. Nach Zusatz von 0.54 g (8 mmol) MeNH_2Cl und 0.656 g (8 mmol) wasserfreiem NaOAc wird 4 h bei RT gerührt. Es werden 50 ml H_2O zugesetzt und mit CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit H_2O , NaHCO_3 -Lösung (8%), H_2O , NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und unter milden Bedingungen i. Vak. zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird einer FC (Eluent: Petroläther/EtOAc 2:1) unterworfen. Ausbeute: 0.59 g (73%). Gelbe Kristalle, Schmp. 134 °C (Petroläther/EtOAc). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3459 (OH), 1715 (C=O, Ethyl), 1678 (C=O, tBu), 1611 (C=C), 1524, 1350 (NO_2). UV (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 203 nm (4.63), 300 (4.27). $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ (ppm) = 0.99 (s, 9 H, tBu), 1.27 (t, J = 7 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 2.30 (d, 3J = 1 Hz, 3 H, CH_3), 2.71 (s, 3 H, NCH_3), 4.26 (q, J = 7 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 4.80 (q, 3J = 1 Hz, 1 H, 3-H), 6.46 (s, 1 H, OH), 7.36 (dd, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 6'-H), 7.44 (ddd, J = 8 Hz, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 4'-H), 7.61 (ddd, J = 8 Hz, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 5'-H), 7.86 (dd, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 3'-H). NOE-Differenzspektrum: gesättigtes ^1H -Signal (verstärktes ^1H -Signal) = OCH_2CH_3 (3-H). $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$) + DEPT: δ (ppm) = 11.76 (CH_3), 14.04 (CH_2CH_3), 27.58 (NCH_3), 27.74 (tBu), 49.73 (C-3), 61.67 (CH_2CH_3), 76.90 ($\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), 92.21 (C-2), 97.87 (C-4), 123.19 (C-3'), 127.28 (C-4'), 131.93 (C-6' (C-5')), 132.02 (C-5' (C-6')), 134.69 (C-1'), 149.81 (C-2'), 159.90 (C-5), 164.19 (CO, tBu), 170.49 (CO, Ethyl). Zuordnungen durch ^{13}C , ^1H -COSY- und ^{13}C , ^1H -COLOC-Spektrum gesichert! MS (EI): m/z (%) = 406 [$\text{M}]^{++}$ (18), 259 (100). HPLC (2): t_{s} = 5.04 min. $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_7$ (406.4)

3.4. 4-(tert-Butyl)-2-ethyl-5-methyl-3-(2-nitrophenyl)-2,4-pyrroldicarboxylat (1c)

0.25 g (0.64 mmol) **5A/5B** werden in 30 ml Toluol gelöst und 2 h am Wasserabscheider erhitzt. Das Lösemittel wird i. Vak. abdestilliert. Ausbeute: 0.23 g (96%). Hellgelbe Kristalle, Schmp. 174 °C (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3301 (NH), 1694, 1662 (C=O), 1529, 1351 (NO_2). UV (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 218 nm (4.56), 274 (4.29). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 0.95 (t, J = 7 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 1.17 (s, 9 H, tBu), 2.60 (s, 3 H, CH_3), 4.04 (q, J = 7 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 7.31 (d, J = 7.5 Hz, 1 H, 6'-H), 7.47 (dd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 4'-H), 7.57 (dd, J = 7.5 Hz,

J = 7.5 Hz, 1 H, 5'-H), 8.05 (d, J = 7.5 Hz, 1 H, 3'-H), 9.73 (s, 1 H, NH). MS (EI): m/z (%) = 374 [$\text{M}]^{++}$ (28), 272 (100). HPLC (2): t_{s} = 8.07 min. $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$ (374.4)

3.5. 4-(tert-Butyl)-2-ethyl-1,5-dimethyl-3-(2-nitrophenyl)-2,4-pyrroldicarboxylat (7)

0.3 g (0.74 mmol) **6** werden in 50 ml Toluol 17 h unter Rückfluss erhitzt und gegebenenfalls einer FC (Eluent: Petroläther/EtOAc 5:1) unterzogen. Ausbeute: 0.22 g (77%). Gelbe Nadeln, Schmp. 124 °C (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 1692 (C=O), 1525, 1355 (NO_2). UV (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 222 nm (4.54), 272 (4.22). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 0.75 (t, J = 7.5 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 1.11 (s, 9 H, tBu), 2.61 (s, 3 H, CH_3), 3.88 (s, 3 H, NCH_3), 3.89 (q, J = 7.5 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 7.23 (dd, J = 7.5 Hz, J = 1.5 Hz, 1 H, 6'-H), 7.44 (ddd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, J = 1.5 Hz, 1 H, 4'-H), 7.54 (ddd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, J = 1.5 Hz, 1 H, 5'-H), 8.03 (dd, J = 7.5 Hz, J = 1.5 Hz, 1 H, 3'-H). MS (EI): m/z (%) = 388 [$\text{M}]^{++}$ (30), 215 (100). HPLC (3): t_{s} = 3.07 min. $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$ (388.4)

3.6. 5-(Ethoxycarbonyl)-2-methyl-4-(2-nitrophenyl)-3-pyrroldicarbonsäure (8)

0.09 g (0.24 mmol) **1c** werden in 5 ml CH_2Cl_2 gelöst. Nach Zusatz von 3 ml TFA wird 2 h bei RT gerührt. Anschließend werden 30 ml H_2O zugesetzt, mit 2.4 g Na_2CO_3 auf pH 14 eingestellt und mit EtOAc extrahiert. Die H_2O -Phase wird mit HCl (0.1 mol \cdot l $^{-1}$) auf pH 1 eingestellt, der ausgefallene Feststoff abgetrennt und mit Petroläther/EtOAc (5:1) gewaschen. Ausbeute: 0.065 g (85%). Gelbe Kristalle, Schmp. 238 °C (EtOH). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3500–2500 (COOH), 3333 (NH), 1713 (C=O), 1667 (C=O), 1523, 1354 (NO_2). UV (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 218 nm (4.56), 274 (4.31). $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ (ppm) = 0.90 (t, J = 7 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 2.48 (s, 3 H, CH_3), 3.94 (q, J = 7 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 7.33 (dd, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 6'-H), 7.54 (ddd, J = 8 Hz, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 4'-H), 7.64 (ddd, J = 8 Hz, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 5'-H), 8.02 (dd, J = 8 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 3'-H), 11.78 (s, 1 H, OH(NH)), 12.27 (s, 1 H, NH(OH)). MS (EI): m/z (%) = 318 [$\text{M}]^{++}$ (100), 272 (72). HPLC (4): t_{s} = 1.12 min. $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6$ (318.3)

3.7. Ethyl-5-methyl-3-(2-nitrophenyl)-2-pyrroldicarboxylat (9)

0.34 g (1.16 mmol) **10** werden in 10 ml EtOH gelöst. Nach Zusatz von 0.446 g (5.8 mmol) NH_4OAc wird 30 min unter Rückfluss erhitzt. Das Lösemittel wird i. Vak. abdestilliert und der Rückstand mit EtOAc aufgenommen. Die organische Phase wird mit H_2O , NaCl -Lösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. eingengt. Gegebenenfalls wird eine FC (Eluent: Petroläther/EtOAc 5:1) durchgeführt. Ausbeute: 0.24 g (75%). Gelbliche Kristalle, Schmp. 159 °C (EtOH); 161.5–163 °C (EtOH 95%) [10]. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3312 (NH), 1657 (C=O), 1527, 1356 (NO_2). UV (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 207 nm (4.28), 243 (4.18), 277 (4.18). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 1.07 (t, J = 7 Hz, 3 H, CH_2CH_3), 2.33 (s, 3 H, CH_3), 4.09 (q, J = 7 Hz, 2 H, CH_2CH_3), 6.00 (d, 3J = 2.4 Hz, 1 H, 4-H), 7.41 (dd, J = 8 Hz, J = 1.5 Hz, 1 H, 6'-H), 7.42 (ddd, J = 8 Hz, J = 8 Hz, J = 1.5 Hz, 1 H, 4'-H), 7.55 (ddd, J = 8 Hz, J = 8 Hz, J = 1.5 Hz, 1 H, 5'-H), 7.93 (dd, J = 8 Hz, J = 1.5 Hz, 1 H, 3'-H), 9.69 (s, 1 H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) + DEPT: δ (ppm) = 13.03 (CH_3), 13.78 (CH_2CH_3), 60.31 (CH_2CH_3), 110.61 (C-4), 117.16 (C-2), 123.81 (C-3'), 127.32 (C-3), 127.71 (C-4'), 131.42 (C-1'), 131.90 (C-5'), 132.78 (C-6'), 133.50 (C-5), 149.63 (C-2'), 160.97 (C=O). Zuordnungen sind über ^{13}C , ^1H -COSY- und ^{13}C , ^1H -COLOC-Spektren gesichert. MS (EI): m/z (%) = 274 [$\text{M}]^{++}$ (100), 201 (63). HPLC (2): t_{s} = 4.03 min. $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_4$ (274.3)

3.8. 5-Hydroxy-2-methyl-4,5-dihydro-3H-pyrrolo[2,3-c]chinolin-4-on (11)

0.16 g (0.58 mmol) **9** werden in einer Mischung aus 15 ml THF/5 ml EtOH/3 ml Acetat-Pufferlösung pH 4.6 R (Ph. Eur. 1997) gelöst und mit 2 Zn-Granalien (Zink, aktiviertes R, Ph. Eur. 1997) 6 h unter starkem Rühren rückfließend erhitzt. Ein auftretender Niederschlag wird abgetrennt, mit Et_2O gewaschen und getrocknet. Eine weitere Fraktion wird durch Zusatz von etwas Et_2O erhalten. Der Feststoff wird anschließend in HCl (0.1 mol \cdot l $^{-1}$) bei pH 1–2 suspendiert. Der Rückstand wird abgetrennt und mit H_2O , Et_2O gewaschen. Ausbeute: 40 mg (32%). Fast farblose Nadeln, Schmp. 222 °C (Zers.) (EtOH/ H_2O /2 Tr. HCl (0.1 mol \cdot l $^{-1}$); $+\text{Fe}^{3+}$: rotviolett. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3500–2500 (NOH, assoziiert), 3217 (NH), 1621 (C=O). UV (MeOH): λ_{max} ($\lg \epsilon$) = 240 nm (4.71), 262^{sh} (3.81), 296 (3.97), 308 (3.99), 319 (3.95). $^1\text{H-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$): δ (ppm) = 2.38 (s, 3 H, CH_3), 6.61 (s, 1 H, 1-H), 7.24 (dd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 8-H), 7.43 (dd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, 1 H, 7-H), 7.70 (d, J = 7.5 Hz, 1 H, 6-H) 7.93 (d, J = 7.5 Hz, 1 H, 9-H), 11.04 (s, 1 H, OH), 12.11 (s, 1 H, NH). $^{13}\text{C-NMR}$ ($[\text{D}_6]\text{DMSO}$) + DEPT: δ (ppm) = 12.96 (CH_3), 100.35 (C-1), 112.90 (C-6), 115.86 (C-9a), 120.86 (C-3a), 121.65 (C-8), 122.89 (C-9), 125.54 (C-9b), 126.31 (C-7), 135.50 (C-2) 137.11 (C-5a), 151.38 (C-4). MS (EI): m/z (%) = 214 [$\text{M}]^{++}$ (60), 169 (100). HPLC (4): t_{s} = 2.14 min. $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ (214.2)

3.9. 2-Methyl-4,5-dihydro-3H-pyrrolo[2,3-c]chinolin-4-on (12)

0.08 g (0.29 mmol) **9** werden in einer Mischung aus 5 ml THF/2 ml AcOH/1 ml H₂O gelöst und mit 0.2 g Fe-Spänen versetzt. Der Ansatz wird 2 h rückfließend erhitzt, das THF i. Vak. abdestilliert, 30 ml H₂O zugesetzt und mit 1 ml HCl (1 mol · l⁻¹) angesäuert. Der verbleibende Niederschlag wird abgetrennt und mit H₂O gewaschen. Ausbeute: 0.04 g (69%). Gelblich amorphes Pulver, Schmp. 240 °C (Zers.) (EtOH/H₂O). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3500–2500 (Lactam, assoziiert), 1646 (C=O), 1611 (C=C). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 237 nm (4.63), 264 (3.85), 291 (3.96), 305 (4.03), 317 (4.07). ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 2.37 (s, 3H, CH₃), 6.57 (s, 1H, 1-H), 7.26 (dd, J = 7 Hz, J = 7 Hz, 1H, 8-H), 7.28 (dd, J = 7 Hz, J = 7 Hz, 1H, 7-H), 7.35 (d, J = 7 Hz, 1H, 6-H) 7.83 (d, J = 7 Hz, 1H, 9-H), 11.19 (s, 1H, 3-NH), 11.96 (s, 1H, 5-NH). MS (EI): m/z (%) = 198 [M]⁺ (100), 149 (47). HPLC (4): t_s = 1.63 min. C₁₂H₁₀N₂O (198.2)

3.10. Ethyl-2-methyl-4-(2-nitrophenyl)-3-pyrrolcarboxylat (14)

0.51 g (1.74 mmol) **13** werden in 100 ml EtOH gelöst und nach Zusatz von 0.536 g (6.96 mmol) NH₄OAc 4 h zum Rückfluss erhitzt. Der Ansatz wird mit 150 ml H₂O versetzt und mehrmals mit CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit NaHCO₃-Lösung (8%), H₂O, NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingeeengt. Ausbeute: 0.45 g (94%). Gelbe Nadeln, Schmp. 163 °C (CH₂Cl₂/Petroläther); 159 °C [11]. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3283 (NH), 1687 (C=O), 1665 (C=C), 1524, 1342 (NO₂). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 204 nm (4.40), 250 (4.05), 326 (3.15). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1.05 (t, J = 7 Hz, 3H, CH₂CH₃), 2.54 (s, 3H, CH₃), 4.04 (q, J = 7 Hz, 2H, CH₂CH₃), 6.59 (d, J_{5-H,NH} = 2 Hz, 1H, 5-H), 7.36 (dd, J = 7.5 Hz, J = 1 Hz, 1H, 6'-H), 7.42 (ddd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, J = 1 Hz, 1H, 4'-H), 7.53 (ddd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, J = 1 Hz, 1H, 5'-H), 7.96 (dd, J = 7.5 Hz, J = 1 Hz, 1H, 3'-H), 8.36 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR (CDCl₃) + DEPT: δ (ppm) = 13.83 (CH₃), 13.88 (CH₃), 59.44 (CH₂CH₃), 110.18 (C-4), 115.39 (C-5), 122.70 (C-3), 123.85 (C-3'), 127.48 (C-4'), 131.59 (C-1'), 132.01 (C-6'), 132.93 (C-5'), 136.47 (C-2'), 149.79 (C-2'), 165.00 (C=O). MS (EI): m/z (%) = 274 [M]⁺ (53), 228 (100). HPLC (2): t_s = 2.80 min. C₁₄H₁₄N₂O₄ (274.3)

3.11. Ethyl-1,2-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)-3-pyrrolcarboxylat (15)

0.30 g (1.02 mmol) **13** werden in 25 ml EtOH gelöst und nach Zusatz von 0.27 g (4.0 mmol) MeNH₂Cl und 0.33 g (4.02 mmol) NaOAc 2 h rückfließend erhitzt. Der Ansatz wird anschließend mit 75 ml H₂O versetzt und mehrmals mit Et₂O extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit H₂O, NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösemittel i. Vak. abdestilliert. Ausbeute: 0.28 g (95%). Gelbe Nadeln, Schmp. 113 °C (EtOH/H₂O). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 1687 (C=O), 1610 (C=C), 1534, 1357 (NO₂). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 204 nm (4.46), 249 (4.11), 332 (3.18). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 1.01 (t, J = 7 Hz, 3H, CH₂CH₃), 2.54 (s, 3H, CH₃), 3.58 (s, 3H, NCH₃), 4.01 (q, J = 7 Hz, 2H, CH₂CH₃), 6.52 (s, 1H, 5-H), 7.33 (dd, J = 7.5 Hz, J = 1.5 Hz, 1H, 6'-H), 7.40 (ddd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, J = 1.5 Hz, 1H, 4'-H), 7.52 (ddd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, J = 1.5 Hz, 1H, 5'-H), 7.94 (dd, J = 7.5 Hz, J = 1.5 Hz, 1H, 3'-H). MS (EI): m/z (%) = 288 [M]⁺ (83), 56 (100). HPLC (2): t_s = 2.07 min. C₁₅H₁₆N₂O₄ (288.3)

3.12. 5-Hydroxy-3-methyl-4,5-dihydropyrrolo[3,4-c]chinolin-4-on (16)

0.08 g (0.29 mmol) **14** werden in einer Mischung aus 10 ml THF/3 ml EtOH/2 ml Acetat-Pufferlösung pH 4,6 R (Ph. Eur. 1997) gelöst und mit zwei Zn-Granalien (Zink, aktiviertes R; Ph. Eur. 1997) versetzt. Der Ansatz wird unter N₂ 6 h rückfließend erhitzt. Nach Zusatz von Et₂O wird ein Niederschlag abgetrennt und mit wenig Et₂O gewaschen. Der Niederschlag wird mit HCl (0.1 mol · l⁻¹) auf pH 1–2 eingestellt und die freie Hydroxamsäure isoliert. Die organische Phase wird mit H₂O, NaCl-Lösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und i. Vak. zur Trockne eingeeengt. Der Rückstand wird direkt einer FC (Eluent: Petroläther/EtOAc 1:3) unterworfen. Ausbeute: 0.02 g (32%). Fast farblose Nadeln, Schmp. 223 °C (Zers.) (EtOH/H₂O); +Fe³⁺: violett-blau. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3500–2500 (NOH, assoziiert), 1600 (C=C). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 229 nm (4.57), 241^{sh} (4.40), 270 (3.80), 317 (3.88), 328 (3.88). ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 2.63 (s, 3H, CH₃), 7.11 (dd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, 1H, 8-H), 7.30 (dd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, 1H, 7-H), 7.45 (d, J = 2 Hz, 1H, 1-H), 7.51 (d, J = 7.5 Hz, 1H, 6-H), 7.84 (d, J = 7.5 Hz, 1H, 9-H), 8.48 (s, 1H, 1-H), 10.47 (s, 1H, OH), 11.91 (s, 1H, NH). MS (EI): m/z (%) = 214 [M]⁺ (51), 197 (100). HPLC (4): t_s = 0.72 min. C₁₂H₁₀N₂O₂ (214.2)

3.13. 5-Hydroxy-2,3-dimethyl-4,5-dihydropyrrolo[3,4-c]chinolin-4-on (17)

0.16 g (0.55 mmol) **15** werden in einer Lösung aus 7.5 ml EtOH/2 ml Acetat-Pufferlösung pH 4,6 R (Ph. Eur. 1997) gelöst und nach Zusatz von zwei Zn-Granalien (Zink, aktiviertes R; Ph. Eur. 1997) 2.5 h unter starkem

Rühren zum Rückfluss erhitzt. Der gebildete Niederschlag wird abgesaugt und mehrmals mit Et₂O gewaschen. Das trockene Präzipitat wird mit HCl (0.1 mol · l⁻¹) auf pH 1–2 eingestellt, wobei wiederholt im Ultraschallbad dispergiert wird und einige Tr. EtOH zur besseren Benetzung zugesetzt werden. Die Rückstand wird mit H₂O gewaschen. Ausbeute: 0.1 g (80%). Farbloses Pulver, Schmp. 218 °C (Zers.) (EtOH/H₂O); +Fe³⁺: violett-blau. IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3500–2500 (NOH, assoziiert), 1627 (C=O), 1608 (C=C). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 218^{sh} nm (4.42), 231 (4.60), 243^{sh} (4.49), 317 (3.95), 328 (3.96). ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 2.65 (s, 3H, CH₃), 3.73 (s, 3H, NCH₃), 7.12 (dd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, 1H, 8-H), 7.30 (dd, J = 7.5 Hz, J = 7.5 Hz, 1H, 7-H), 7.51 (d, J = 7.5 Hz, 1H, 6-H), 7.52 (s, 1H, 1-H), 7.71 (d, J = 7.5 Hz, 1H, 9-H), 10.51 (s, 1H, OH). MS (EI): m/z (%) = 228 [M]⁺ (42), 211 (100). HPLC (4): t_s = 2.96 min. C₁₃H₁₂N₂O₂ (228.3)

3.14. 3-Methyl-4,5-dihydropyrrolo[3,4-c]chinolin-4-on (18)

0.12 g (0.44 mmol) **14** werden in einer Mischung aus 5 ml THF/2 ml AcOH/1 ml H₂O gelöst und mit 0.2 g Fe-Spänen versetzt. Nach 2 h Rühren unter Rückfluss wird der Ansatz filtriert und der Rückstand mit EtOAc ausgekocht. Die vereinigten organischen Phasen werden mit EtOAc auf 150 ml ergänzt und anschließend mit H₂O, NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Der Ansatz wird einer FC (Eluent: EtOAc) unterworfen. Ausbeute: 0.05 g (58%). Gelbliche Nadeln, Schmp. 238 °C (Zers.) (EtOH/H₂O). IR (KBr): $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3350–2500 (NH assoziiert), 3239 (NH-Pyrol), 1639 (C=O), 1604 (C=C). UV (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 213^{sh} nm (4.50), 227 (4.66), 239 (4.48), 271 (3.82), 303^{sh} (3.83), 313 (3.94), 325 (3.95). ¹H-NMR ([D₆]DMSO): δ (ppm) = 2.61 (s, 3H, CH₃), 7.00–7.04 (m, 1H, 8-H), 7.13 (m, 2H, 6-H, 7-H), 7.39 (d, J = 2.5 Hz, 1H, 1-H), 7.84 (m, 1H, 9-H), 10.47 (s, 1H, NH-Lactam), 11.82 (s, 1H, NH). ¹³C-NMR ([D₆]DMSO) + DEPT: δ (ppm) = 11.97 (CH₃), 108.52 (C-1), 109.46 (C-9a), 115.30 (C-6), 117.43 (C-9b), 121.00 (C-3a), 121.07 (C-8), 122.33 (C-9), 125.66 (C-7), 129.71 (C-3), 136.15 (C-5a), 160.99 (C=O). MS (EI): m/z (%) = 198 [M]⁺ (100). HPLC (1): t_s = 2.21 min. C₁₂H₁₀N₂O (198.2)

3.15. Biologische Methoden

Vgl. [9]

Wir danken Frau B. Brandt für die Durchführung der Testung an menschlichen PMNL.

³ Es ist jeweils nur ein Enantiomer gezeichnet.

⁴ Die prozentualen Hemmwerte stellen Mittelwerte von Dreifachbestimmungen dar. Die Hemmung war statistisch signifikant verglichen mit den Kontrollwerten (n = 3).

Literatur

- Görlitzer, K.; Behrje, H.: Pharmazie **51**, 523 (1996)
- Görlitzer, K.; Behrje, H.: Pharmazie **51**, 528 (1996)
- Görlitzer, K.; Dobberkau, P.-M.; Ewert, H.-J.; Heinrici, Ch.; Bartke, U.; Buss, D.; Kupfer, C.; Nuhn, P.: Pharmazie **52**, 575 (1997)
- Summers, J. B.; Kim, Ki H.; Mazdiyasi, H.; Holms, J. H.; Ratajczyk, James D.; Stewart, A. O.; Dyer, R. D.; Carter, G. W.: J. Med. Chem. **33**, 992 (1990)
- Stewart, A. O.; Bhatia, P. A.; Martin, J. G.; Summers, J. B.; Rodrigues, K. E.; Martin, M. B.; Holms, J. H.; Moore, J. L.; Craig, R. A.; Kolasa, T.; Ratajczyk, J. D.; Mazdiyasi, H.; Kerdesky, F. A.; DeNinno, S. L.; Maki, R. G.; Bouska, J. B.; Young, P. R.; Lanni, C.; Bell, R. L.; Carter, G. W.; Brooks, C. D.: J. Med. Chem. **40**, 1955 (1997)
- Abeyasinghe, R. D.; Roberts, P. J.; Cooper, C. E.; Maclean, K. H.; Hider, R. C.; Porter, J. B.: J. Biol. Chem. **271**, 7965 (1996)
- Knorr, L.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. **17**, 1635 (1884)
- Paal, C.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. **18**, 367 (1885)
- Görlitzer, K.; Fabian, J.; Jones, P. G.; Froberg, P.; Drutkowski, G.: Pharmazie (P 1661)
- Fujisawa Pharmaceutical Co., Belg. 670, 428, 22.03.1965, C.A. **65**, 13661 (1966)
- Takahashi, Y.; Sakaguchi, F.; Morimoto, K.; Hiller, H.: Yakuhin Kenkyu **19**, 411 (1988)
- Clemens, F.; Drutkowski, G.; Wiese, M.; Froberg, P.: Biochim. Biophys. Acta **1549**, 88 (2001)
- Carter, G. W.; Young, P. R.; Albert, D. H.; Bouska, J.; Dyer, R.; Bell, R. L.; Summers, J. B.; Brooks, D. W.: J. Pharmacol. Exp. Ther. **256**, 929 (1991)

Eingegangen am 26. September 2001 Prof. Dr. K. Görlitzer
Angenommen am 5. November 2001 Institut für Pharmazeutische Chemie
Beethovenstraße 55
38106 Braunschweig
k.goerlitzer@tu-bs.de