



DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Synthese eines neuartigen dreifach substituier-
ten Derivates des Alkaloids Luotonin A“

verfasst von / submitted by

Yousef Maleklou

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magister der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2019 / Vienna, 2019

Studienkennzahl lt. Studienblatt /
degree programme code as it appears on
the student record sheet:

UA 449

Studienrichtung lt. Studienblatt /
degree programme as it appears on
the student record sheet:

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

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

*„O ihr Gebornen eines Weibes
Seid ihr nicht Glieder eines Leibes?
Kann auch ein Glied dem Weh verfallen
Dass es nicht wird gefühlt von allen?
Du den nicht Menschenleiden rühren
Kannst auch den Namen Mensch nicht führen“*
- *Salti*

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei all jenen Personen bedanken, die mir dieses Studium und diese Diplomarbeit möglich gemacht haben.

An erster Stelle möchte ich mich sehr herzlich bei Herrn Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Norbert Haider bedanken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, als sein letzter Diplomand an seiner interessanten Forschung mitzuwirken. Man kann ihn aufgrund seines fachlichen Wissens wie auch durch seinen beispielhaften Charakter als ein Vorbild für das Leben sehen. Seine freundliche Betreuung, Geduld, Hilfsbereitschaft und seine Unterstützung weiß ich sehr zu schätzen.

Des Weiteren möchte ich bei Herrn Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Helmut Spreitzer und Herrn Ao. Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. Wolfgang Holzer bedanken, durch die ein sehr angenehmes Arbeitsklima herrschte.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Kollegen und langjährigem Freund Herrn Mag. Dominik Windisch, der mich sowohl während des Studiums als auch beim Schreiben der Diplomarbeit mit Rat und Tat unterstützt hat. Hiermit möchte ich mich auch bei meinen FreundInnen und KollegInnen bedanken, durch die ich mit einem freudigen Lächeln auf die Studienzeit zurückblicke.

Zuletzt möchte ich meinen allerliebsten Dank an meine Familie, besonders an meine Eltern Mohammadreza und Elahe aussprechen. Ihre zweifellose Unterstützung und ihre Belehrung in allen Lebenslagen haben mich auf dem Weg zum Erfolg immer motiviert. Ohne sie wäre das alles nicht möglich gewesen.

Verwendete Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
COSY	Correlated Spectroscopy
DC	Dünnschichtchromatographie
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektrosprayionisation
EtOH	Ethanol
EtOAc	Ethylacetat
Fa.	Firma
h	Hour (Stunde)
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
KG	Kieselgel
KOH	Kaliumhydroxid
konz.	konzentriert
Lit.	Literatur
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
MeOH	Methanol
MG	Molekulargewicht
mmol	Millimol
mL	Milliliter
MS	Massenspektrometrie
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
NMR	Nuclear Magnetic Resonance

PDB Protein Data Bank
Pd/C Palladium auf Aktivkohle (Hydrierkatalysator)
ppm parts per million
R_f Retentionsfaktor
s. siehe
sog. sogenannt
S-Phase Synthese-Phase
SC Säulenchromatographie
TMS Tetramethylsilan
TOF Time of flight (Flugzeit-Massenspektrometrie)
UV ultraviolettes Licht

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Physiologische Bedeutung der DNA-Topoisomerasen.....	1
1.2	Topoisomerase-I Inhibitoren in der Krebstherapie.....	4
1.2.1	Camptothecin und Derivate.....	4
1.2.2	Luotonine.....	10
1.3	Synthesestrategien zu Luotonin A.....	12
1.3.1	Die „nördliche“ Syntheseroute.....	13
1.3.2	Die „südliche“ Syntheseroute.....	16
1.4	Literaturbekannte Derivate von Luotonin A.....	20
1.5	Zielsetzung.....	22
2	Eigene Untersuchungen.....	23
2.1	Herstellung der literaturbekannten Ausgangsverbindungen.....	23
2.1.1	Synthese des Chinazolinoncarbonsäureesters.....	23
2.1.2	Nitrierung des Chinazolinoncarbonsäureesters.....	24
2.1.3	Amidierung des Nitrochinazolinoncarbonsäureesters.....	25
2.2	Synthese der neuen Verbindungen.....	27
2.2.1	N-Butinylierung des Chinazolinon-Grundkörpers.....	27
2.2.2	Bildung des Luotonin-A-Grundkörpers via [4+2]-Cycloadditionsreaktion.....	30
2.2.3	Reduktion der Nitrogruppe zur Aminogruppe: Synthese der Zielverbindung.....	32
2.3	Fazit und Ausblick.....	35
3	Experimenteller Teil.....	37
3.1	Verwendete Geräte und Materialien.....	37
3.2	Arbeitsvorschriften.....	38
3.2.1	Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (1).....	38
3.2.2	Ethyl-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (2).....	39
3.2.3	<i>N</i> -(4-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3).....	40
3.2.4	3-(But-2-in-1-yl)- <i>N</i> -(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4).....	41
3.2.5	2-Methoxy-14-methyl-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1- <i>b</i>]chinazolin-11(13 <i>H</i>)-on (5).....	43

3.2.6	9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1- <i>b</i>]chinazolin-11(13 <i>H</i>)-on (6)	45
4	Literaturverzeichnis.....	477
5	Abbildungsverzeichnis.....	50
6	Schemenverzeichnis.....	51
7	Appendix	52
7.1	Spektren	
7.2	Zusammenfassung	

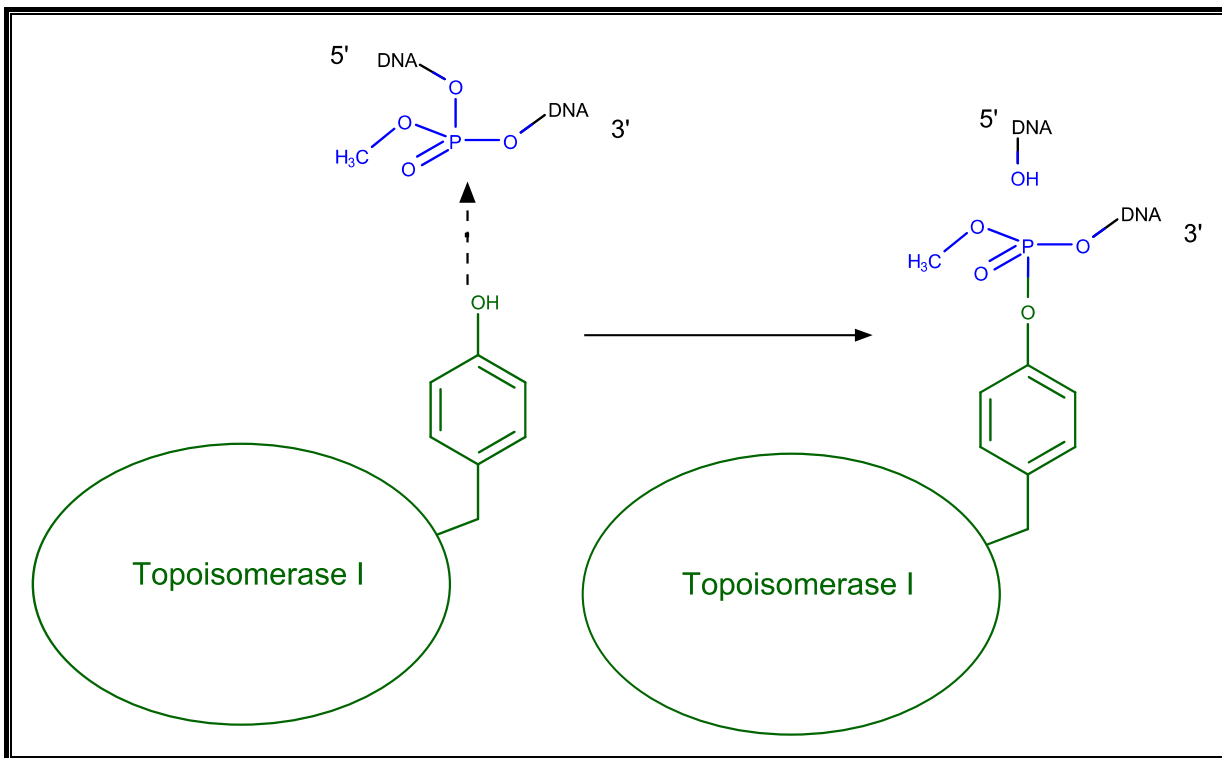
1 EINLEITUNG

1.1 PHYSIOLOGISCHE BEDEUTUNG DER DNA-TOPOISOMERASEN

Desoxyribonukleinsäure (DNA) ist eine Polynukleotid-Kette, welche die Erbinformation aller Lebewesen trägt und für deren Entwicklung und Vermehrung notwendig ist. Die DNA ist in ihrer Sekundärstruktur zu einer Doppelhelix organisiert, welche beim Menschen in linearisierter Form eine Länge von etwa 2 Metern einnimmt, und befindet sich in humanen Zellen in einem Nukleus mit einem Volumen von zirka 10^{-17} m^3 ¹. Die Verpackung von derart langen DNA-Strängen in solch engen Räumen wird erst durch ein Phänomen der DNA ermöglicht – deren Superspiralisierung. In andere Worte gefasst, lässt sich die DNA mit Hilfe von diversen Enzymen so aufwickeln, dass die aufgrund ihrer Größe und angesichts des begrenzten Zellkernvolumens auftretenden topologischen Herausforderungen bewältigt werden können. Zellen benötigen jedoch für Wachstum, Kommunikation, Metabolismus und Zellteilung einen freien Zugang zu dieser aus Platzgründen kompaktierten Erbinformation. Daher sind gewisse Enzyme – nämlich DNA-Topoisomerasen einschließlich DNA-Gyrasen – essentiell, um diese Entspiralisierung zu vollziehen und somit den Enzymen, welche die DNA als Matrize verwenden, einen kurzzeitigen Zugriff auf die Erbinformation zu gewährleisten. Topoisomerasen und ihre Bedeutung für die vorliegende Arbeit werden nun in Folge näher beschrieben.

Das humane Genom trägt sechs Gene, welche die Codes für die Biosynthese verschiedener Topoisomerasen (TOP1, TOP1mt, TOP2 α , TOP2 β , TOP3 α und TOP3 β) enthalten. Diese Enzyme wirken jenem Torsionsstress entgegen, welcher durch diverse metabolische Prozesse an der DNA – wie Replikation, Transkription, DNA-Reparatur oder Chromatin-Remodelling – entsteht, indem sie vorübergehende DNA-Strangbrüche induzieren, welche den Freiheitsgrad der DNA erhöhen und somit deren Relaxation in die entspannte Topologie ermöglichen. Dieser mechanistisch bedeutsame Strangbruch wird realisiert, indem Topoisomerasen durch einen Tyrosyl-Rest im aktiven Zentrum eine kovalente Bindung an eine Phosphatgruppe des DNA-

Rückgrats unter Ausbildung eines intermediären kovalenten Komplexes eingehen (siehe Schema 1).



Schema 1: Mechanismus der Bildung des kovalenten Topoisomerase-DNA-Komplexes

Die Topoisomerasen fungieren als reversible Nucleasen: Nach der Relaxation der DNA wird der Strangbruch durch die Reversibilität der obig formulierten Reaktion religiert, sodass eine intakte und topologisch entspannte DNA aus der Topoisomerase-katalysierten-Reaktion hervorgeht und dadurch die für den Torsionsstress ursächlichen metabolischen Prozesse ungehindert weiter ablaufen können. Obwohl sich die Funktionen der Topoisomerasen in verschiedenen Prozessen an der DNA überdecken, sind sie, basierend auf ihrem Katalysemechanismus, in zwei Haupttypen kategorisierbar: Typ-I-DNA-Topoisomerasen (s. Abb. 1) erfüllen ihren Zweck über einen transienten Einzelstrangbruch und eine spontane Relaxation der DNA durch eine entropiegetriebene Rotation des getrennten Stranges um den intakten Gegenstrang, wohingegen DNA-Topoisomerasen vom Typ II (s. Abb. 2) über die beiden Untereinheiten einen Doppelstrangbruch erzeugen und die DNA-Topologie aktiv unter ATP-Verbrauch verändern, indem sie eine intakte DNA-Duplexregion durch die Doppelstrangbruchstelle dirigieren. Dieser TOP-II-spezifische Mechanismus erfordert zwar zelluläre Energie in Form von ATP, eröffnet jedoch mannigfaltige Veränderungen der DNA-

Topologie, welche von der kanonischen Aktivität der TOP-I nicht realisiert werden können: So können Topoisomerasen der Klasse II in einer exklusiven Art und Weise einerseits verkettete und verknotete DNA, welche insbesondere nach Duplikation der DNA in Form der Schwesterchromatiden ein häufiges Problem darstellt, entwirren und andererseits auch aktiv Supercoils einführen – ein Prinzip, das beispielsweise bei der Initiation der Transkription wesentlich ist. Bakterien wiederum nutzen eine Typ-II-Topoisomerase – nämlich die DNA-Gyrase – dazu, um durch Induktion von Supercoiling ihre zirkuläre DNA in der Bakterienzelle platzsparend zu verpacken^{1,2}.

Abb. 1 bzw. 2 zeigen die Röntgenstrukturen von Cokristallen eines kurzen DNA-Segments mit der humanen Topoisomerase I bzw. II. Dadurch wird illustriert, wie die Topoisomerasen, entsprechend ihrer Funktion, die Topologie von DNA zu modulieren, ihr Substrat, die DNA, dicht umschließen.



Abbildung 1: Humane Topoisomerase I im Komplex mit DNA (orange) (PDB Code: 1EJ9³)

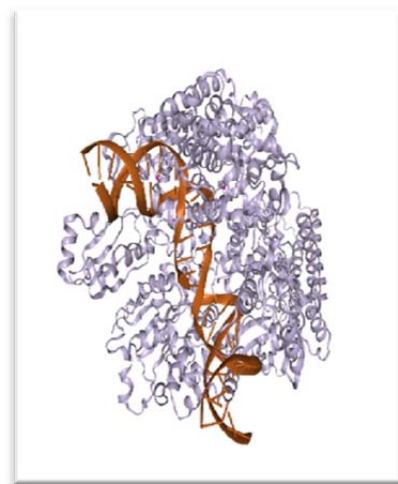


Abbildung 2: Humane Topoisomerase II im Komplex mit DNA (orange) (PDB Code: 4FM9⁴)

Aufgrund der vitalen Funktionen und unterschiedlichen Eigenschaften der beiden Topoisomerasen stellen sie in verschiedener Hinsicht mögliche Angriffspunkte für eine Pharmakotherapie dar. Bereits am Markt etabliert sind Hemmstoffe von humanen DNA-Topoisomerasen in der Krebstherapie sowie Hemmstoffe bakterieller DNA-Topoisomerasen in der antibiotischen Therapie. Aktuell in Erforschung ist die therapeutische Beeinflussung humaner Topoisomerasen bei neurodegenerativen Erkrankungen⁵.

In der Folge wird die Bedeutung von Topoisomerasen in der Krebstherapie näher beschrieben, wobei besonderes Augenmerk auf die Topoisomerase I gelegt wird.

1.2 TOPOISOMERASE-I INHIBITOREN IN DER KREBSTHERAPIE

Die Welt der Medizin präsentiert diverse Möglichkeiten zur Krebstherapie. Bereits bekannte Optionen sind die Verhinderung des Zellwachstums und die Desaktivierung der Proliferationsfähigkeit von aggressiv wachsenden Zellen. Darauf basierend wurde die Einwirkung verschiedener Zytostatika auf unterschiedliche Enzyme als mögliche Drug-Targets untersucht. In den 1970er Jahren wurde mit der Entdeckung der Topoisomerasen und der Aufklärung ihrer Funktionen in Zellen⁶ ein weiterer potenzieller Angriffspunkt in der Tumorthherapie ausfindig gemacht. Später durchgeführte Studien, wie die Forschungsergebnisse von Giovenella *et al.*⁷, zeigten erhöhte Konzentrationen der Topoisomerase I in kolorektalen Karzinomen im Vergleich zur normalen Kolon-Mukosa und untermauerten somit die bedeutende Rolle der Topoisomerase in Krebszellen.

Auf der Suche nach Verbindungen mit Topoisomerase-I-hemmender Wirkung zeigte das pflanzliche Alkaloid Camptothecin, dessen Antitumor-Aktivität zu diesem Zeitpunkt bereits bekannt war, einen hervorragenden inhibitorischen Effekt, womit der molekulare Angriffspunkt von Camptothecin ausfindig gemacht werden konnte.

1.2.1 Camptothecin und Derivate

Die Erueierung einer Antitumor-Aktivität der chinesischen Heilpflanze *Camptotheca acuminata* im Jahr 1966 befeuerte das Bestreben zur Identifizierung und Isolierung des hierfür hauptverantwortlichen Inhaltsstoffes. Das isolierte Camptothecin (s. Abb. 3) zeigte in präklinischen Studien an Mäusen mit Leukämie und an Ratten mit Walker-Karzinom sowie Kolon- und Magenkarzinom eine hervorragende Antitumor-Aktivität. In einer darauffolgenden klinischen Phase-I-Studie wurde Camptothecin gegen gastrointestinale Malignome getestet. Hierbei wurde die Myelosuppression als die dosislimitierende Nebenwirkung festgestellt, des Weiteren wurden auch Fälle von hämorrhagischer Zystitis dokumentiert⁸.

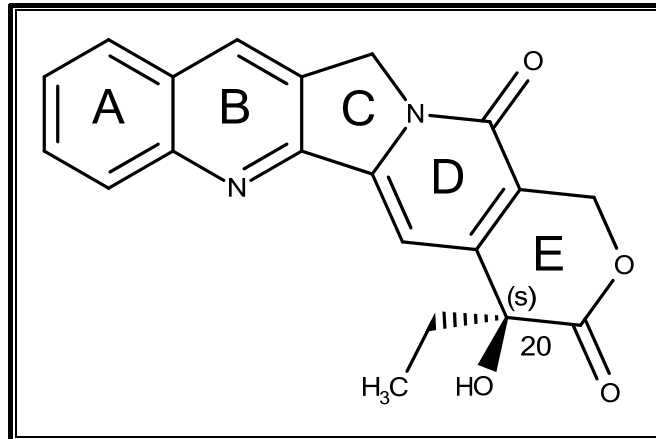
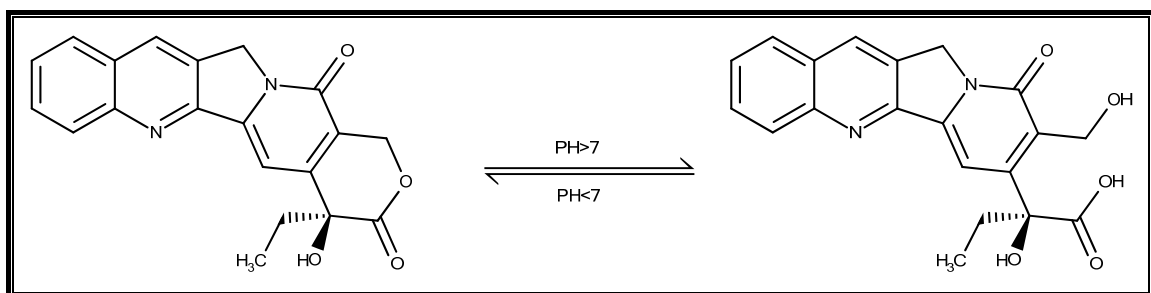


Abbildung 3: Camptothecin

In anfänglichen klinischen Studien wurde Camptothecin zwecks Verbesserung der problematischen Wasserlöslichkeit als Natriumsalz eingesetzt. Die gesammelten Daten berichten von der Notwendigkeit einer beträchtlich hohen Dosis des Natriumsalzes, um die gewünschte Antitumoraktivität zu realisieren. Die Erkenntnis, dass Camptothecin einem Gleichgewicht zwischen Lactonform und offenkettiger Carbonsäureform unterliegt (siehe Schema 2), sowie die beobachteten drastischen Aktivitätsunterschiede dieser beiden Formen liefern eine schlüssige Erklärung für den Misserfolg von Na-Camptothecin: Camptothecin wird nämlich im alkalischen und neutralen Milieu (also auch beim physiologischem pH-Wert) zu einem bedeutsamen Teil in die zytostatisch deutlich schwächer wirksame Carboxylat-Form umgewandelt. Bei Einsatz des Natriumsalzes wird somit die signifikant weniger wirksame Form appliziert und durch die unvollständige Gleichgewichtseinstellung im Organismus eine geringere Menge der aktiven Lactonform gebildet, sodass sehr hohe Dosen für eine klinische Wirkung notwendig gewesen sind. Da der Ringschluss zur Lactonform bevorzugt im sauren Milieu erfolgt, kommt es zur Anreicherung des aktiven Zytostatikums in der Harnblase, wodurch sich die beobachteten Blasenentzündungen schlüssig erklären lassen⁹.



Schema 2: pH-abhängiges Gleichgewicht zwischen Lactonform und offenkettiger Form von Camptothecin

Aufgrund der problematischen Wasserlöslichkeit, der Instabilität und den berichteten schwerwiegenden Nebenwirkungen von Camptothecin, wurden die Forschungen über Camptothecin vorübergehend eingestellt.

Camptothecin erlangte die Aufmerksamkeit erst nach der Entdeckung seines Wirkmechanismus' im Jahr 1985 wieder⁹, als gezeigt werden konnte, dass Camptothecin im Nucleus als ein Stabilisator des normalerweise bloß transient gebildeten Topoisomerase-I-DNA-Komplexes wirkt und seine Effektivität von der Wachstumsphase der Zellen abhängig ist. Untersuchungen brachten das Ergebnis, dass Camptothecin in der G₁- und G₂-Phase aufgrund seiner vollständig reversiblen Wirkung nicht den gewünschten zytotoxischen Effekt herbeiführt. In der S-Phase konnte allerdings eine 10–100-fache zytotoxische Aktivität im Vergleich zur G₁- und G₂-Phase beobachtet werden. Nur in der S-Phase kommt es nämlich zu einer Kollision der Replikationsgabel mit dem Topoisomerase-I-DNA-Komplex, sodass der von Camptothecin bewirkte, per se reparable Einzelstrangbruch in einem irreversiblen Doppelstrangbruch resultiert. Durch die irreparable Fragmentierung der DNA kommt es zur Aktivierung von Caspasen, welche schlussendlich die Apoptose einleiten⁹.

Das Bewusstsein über das therapeutische Potenzial von Camptothecin durch Aufklärung des Wirkmechanismus triggerte weitere Versuche zur Optimierung dieser Leitstruktur. Die Forschungen auf diesem Gebiet führten letztendlich zur Entwicklung von zwei Camptothecin-Derivaten, nämlich Topotecan (s. Abb. 4) und Irinotecan (s. Abb. 5), die heute noch klinisch eingesetzt werden⁹.

Topotecan war das erste Camptothecin-Derivat, das von der Arzneimittelbehörde der Vereinigten Staaten zugelassen wurde. Es wurde ausgehend von Camptothecin mit dem Bestreben entwickelt, die problematische Wasserlöslichkeit der Leitsubstanz zu verbessern. Hierfür zeichnen sowohl eine im physiologischen Milieu ionisch vorliegende Dimethylaminomethyl-Gruppe als auch eine phenolische Hydroxygruppe verantwortlich (siehe Abb. 5). Topotecan ist zur Behandlung von metastasierendem Ovarialkarzinom und kleinzelligem Bronchialkarzinom zugelassen⁹.

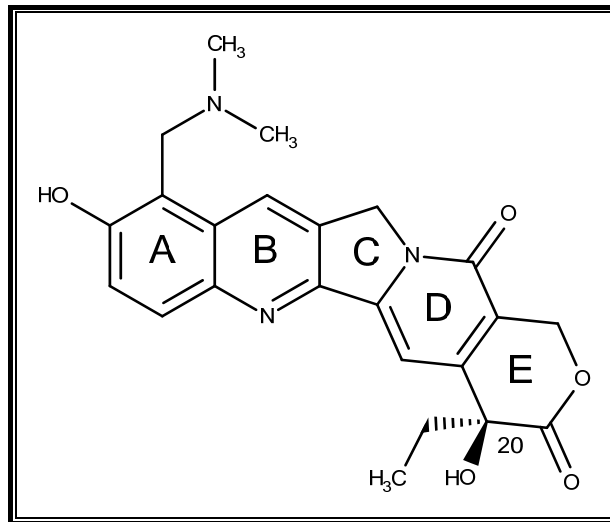


Abbildung 4: Topotecan

Irinotecan hingegen war das erste wasserlösliche Camptothecin-Derivat, das in klinischen Studien eingesetzt wurde. Irinotecan trägt wie Topotecan eine protonierbare tertiäre Aminofunktion, welche im Wesentlichen die Wasserlöslichkeit vermittelt, im Fall von Irinotecan in Form eines Dipiperidylcarbonsäureesters. Dieser sperrige Substituent führt zwar zu Einbußen in der zytostatischen Aktivität, wird jedoch *in vivo* durch Esterasen abgespalten. Somit kann Irinotecan als Prodrug aufgefasst werden, der aktive Metabolit („SN38“) trägt eine freie Hydroxygruppe und weist eine dem Camptothecin vergleichbare zytotoxische Aktivität auf. Irinotecan deckt einen großen Einsatzbereich in der Behandlung von Kolon- und Rektumkarzinomen in den USA und Europa bis zum Lungenkarzinom in Japan ab⁹.

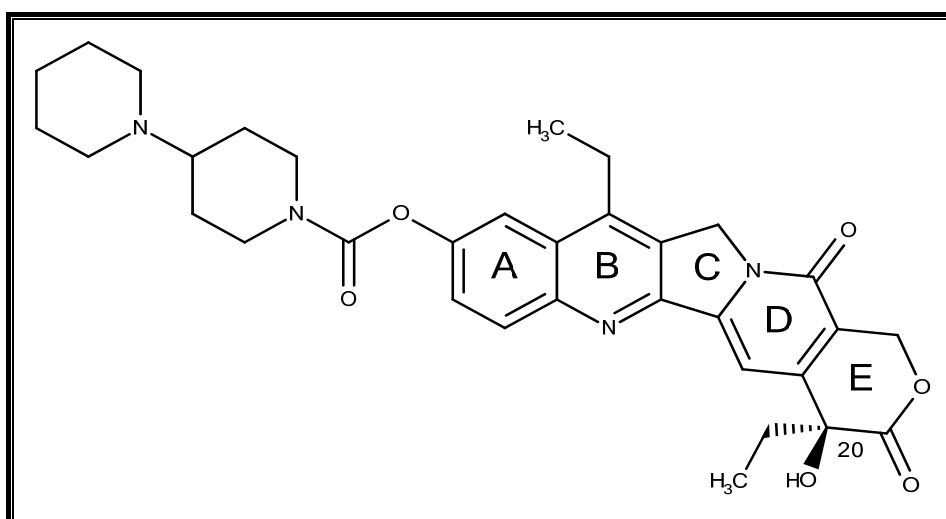


Abbildung 5: Irinotecan

Die Vorteile der beiden Camptothecin-Derivate gegenüber der Leitsubstanz bestehen neben der signifikant optimierten Wasserlöslichkeit in einer günstigeren Plasmaproteinbindung und im Fehlen der hämorrhagischen Zystitis als unerwünschter Nebenwirkung^{10,11}. Trotz der verbesserten Eigenschaften der beiden abgeleiteten Verbindungen zeigen sie weiterhin eine dosislimitierende Myelosuppression sowie weitere typische Nebenwirkungen von Zytostatika, wie Sehstörungen, Bauchschmerzen, Schüttelfrost und Durchfall. Irinotecan wirkt zudem aufgrund der Dipiperidylcarbonsäureestergruppe agonistisch an muskarinergen Rezeptoren, wodurch es zusätzlich zu einem akuten cholinergen Fröhlsyndrom kommen kann¹².

Nach der Etablierung dieser Substanzen in der Medizinwelt wurde die Suche nach weiter optimierten Vertretern von Topoisomerase-I-Inhibitoren angestrebt. Wesentliche Voraussetzungen für eine Hemmwirkung auf Topoisomerasen sind einerseits eine Planarität, welche zur Interkalation in die DNA befähigt, andererseits das Vorhandensein geeigneter funktioneller Gruppen zur Interaktion mit der Topoisomerase¹³.

Topoisomerase-Hemmstoffe wirken zytotoxisch, indem sie sowohl Interaktionen mit der DNA als auch mit der Topoisomerase eingehen können, und dadurch den obig beschriebenen Topoisomerase-DNA-Komplex stabilisieren. Dadurch kann der normalerweise nur transient auftretende Strangbruch nicht wiederversiegelt werden, sodass permanente Strangbrüche resultieren (siehe Abb. 6). Aufgrund der Kollision der Replikationsgabel mit dem Topoisomerase-DNA-Komplexes kommt es schließlich zu irreparablen Doppelstrangbrüchen⁹.

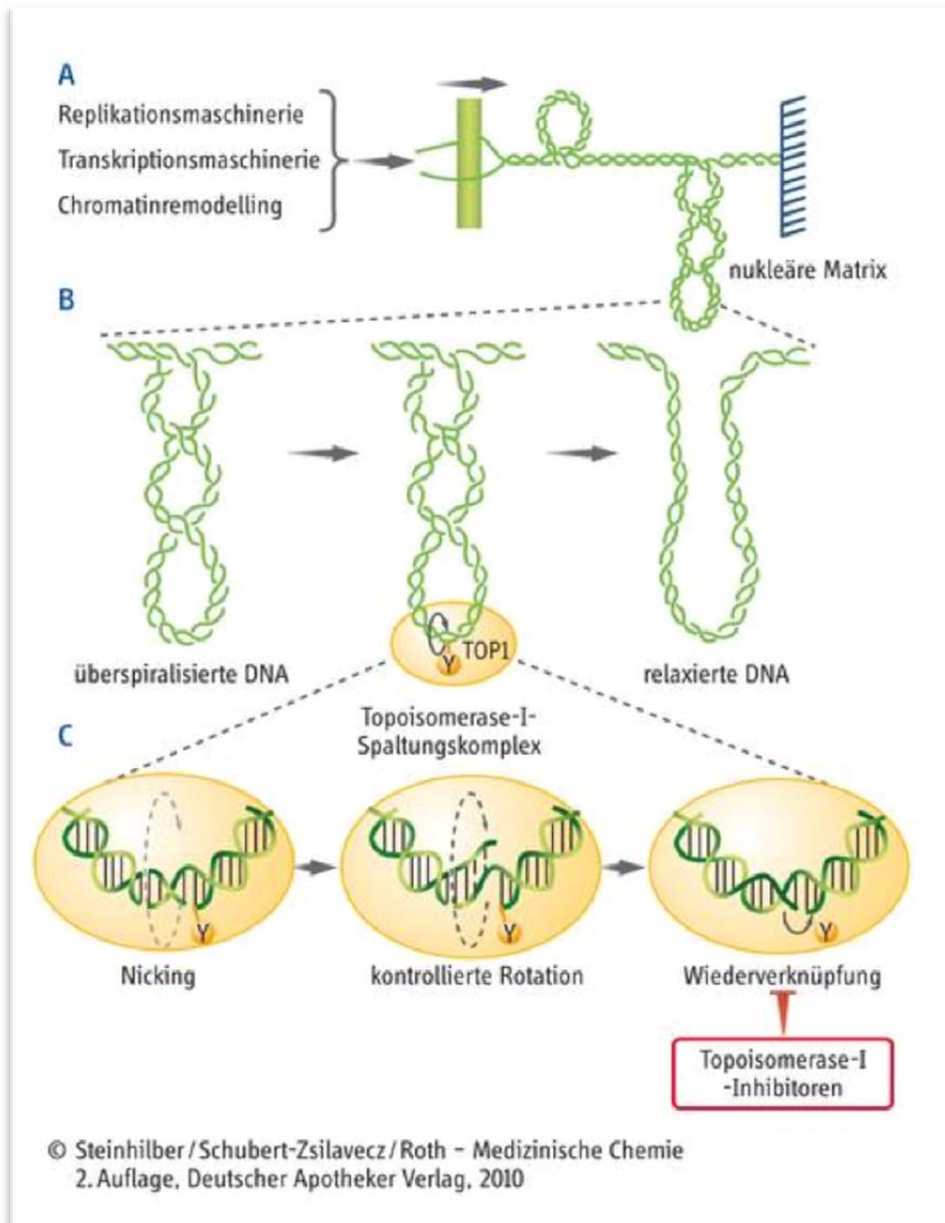


Abbildung 6: Wirkmechanismus von Topoisomerase-I-Hemmern nach Lit.¹⁴

Topoisomerase-Hemmer wirken daher über die Induktion von Topoisomerase-vermittelten Strangbrüchen zytotoxisch. Dies lässt sich experimentell dadurch belegen, dass derartige Zytostatika alleine keine schadhafte DNA-Veränderungen herbeiführen, in Kombination mit DNA-Topoisomerase jedoch zu DNA-Strangbrüchen führen. Sichtbar gemacht werden kann dies durch eine Gelelektrophorese: Ein definiertes DNA-Segment zeigt bei alleiniger Inkubation mit dem Topoisomerase-Hemmstoff keine Veränderung im Elektropherogramm, während bei kombinierter Inkubation mit dem Topoisomerase-Hemmstoff und der Topoisomerase eine DNA-Fragmentierung zu erkennen ist¹⁵.

1.2.2 Luotonine

Luotonine sind pflanzliche Alkaloide, die zum ersten Mal aus den oberirdischen Teilen der Pflanze *Peganum nigellastrum* isoliert wurden. Noch lange vor der Eruiierung einer Antitumor-Aktivität basischer Fraktionen von Extrakten wurde diese Pflanze in der Traditionellen Chinesischen Medizin (TCM) zur Behandlung verschiedener Krankheiten wie Rheumatismus, bei Abszessen und Entzündung verursachenden Krankheiten eingesetzt¹⁶.

Für die biologischen Wirkungen von *Peganum-nigellastrum*-Extrakten zeichnet eine Reihe von Alkaloiden verantwortlich – die Luotonine. Diese können anhand ihrer Grundkörper in 3 Gruppen klassifiziert werden (s. Abb. 7):

- Luotonin A, B und E mit Pyrrolochinazolinchinolon-Grundstruktur
- Luotonin C und D mit Canthin-6-on-Grundstruktur
- Luotonin F als 4(3H)-Chinazolinon

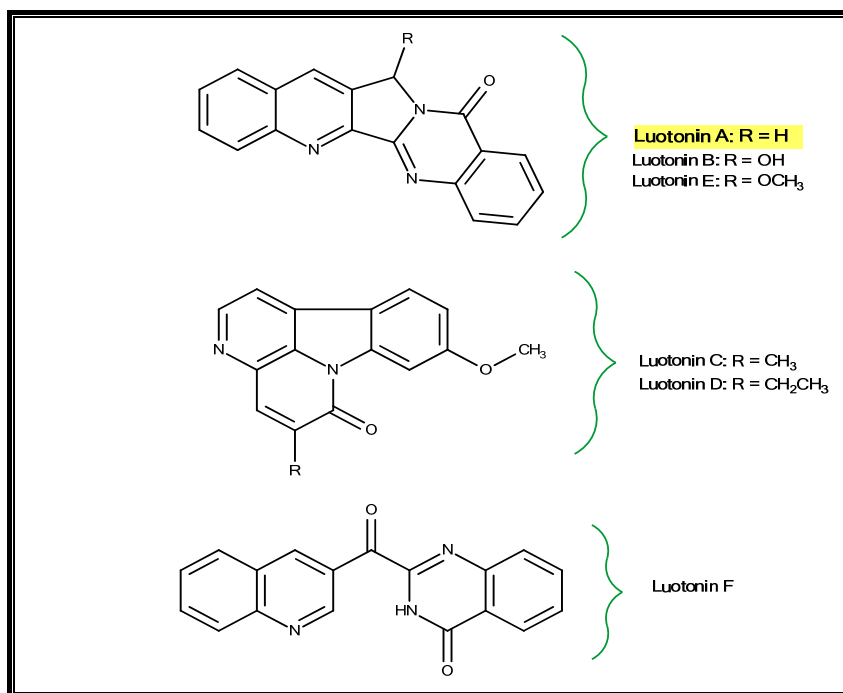


Abbildung 7: Zytostatisch wirksame Inhaltsstoffe aus *Peganum nigellastrum*: Die Luotonine

Die zytotoxische Aktivität der Luotonine wurde von Ma *et al.* eruiert^{17,18,19} (zuvor hatte es bereits Hinweise gegeben²⁰), wobei Luotonin A die potenteste Verbindung darstellt. Die Aufklärung des Wirkmechanismus gelang wenige Jahre später durch die Arbeitsgruppe von Hecht *et al.*¹⁵, welche zeigen konnte, dass Luotonin A – analog zum strukturverwandten

Camptothecin – nur in Anwesenheit der Topoisomerase I DNA-Strangbrüche induziert und dadurch einen zytotoxischen Effekt hervorruft.

Wie aus Abb. 8 ersichtlich, besitzt Luotonin A einen hohen Grad an struktureller Übereinstimmung mit Camptothecin, lediglich die Ringe D und E differieren. Abgesehen von dem Austausch von Pyridinon durch Pyrimidinon in Ring D fehlt bei Luotonin A der für die pharmakologische Wirkung von Camptothecin maßgebliche Lactonring. Stattdessen besitzt Luotonin A einen Benzol-Ring als Ring E. Dies könnte eine Erklärung für die geringere Aktivität von Luotonin A im Vergleich mit Camptothecin sein. Dass jedoch Luotonin A einen analogen Wirkmechanismus wie Camptothecin inhäriert und deshalb zytotoxisch wirkt, erschütterte die alte Hypothese, wonach der Lactonring von Camptothecin unabdingbar für dessen Topoisomerase-Hemmwirkung sei. Es wurde ursprünglich angenommen, dass Camptothecin und -derivate durch den elektrophilen Lactonring kovalent an die Topoisomerase binden würden¹⁵.

Da der Lactonring gewisse Nachteile wie die geringe Stabilität durch Ringöffnung sowie die Blasentoxizität mit sich bringt und offenbar nicht essenziell für die Topoisomerase-I-Hemmwirkung ist, scheint das strukturverwandte Luotonin A eine attraktive Leitsubstanz in der Entwicklung neuer Topoisomerase-I-Hemmstoffe in der antineoplastischen Therapie zu sein. Durch geeignete Substituenten könnte letztlich die verringerte zytostatische Aktivität, verglichen mit Camptothecin, durch den fehlenden Lactonring kompensiert werden.

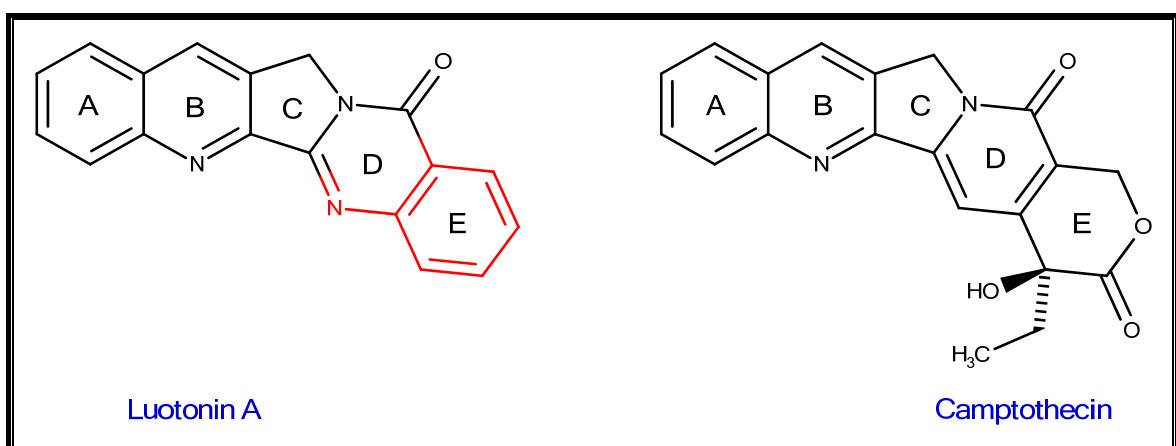
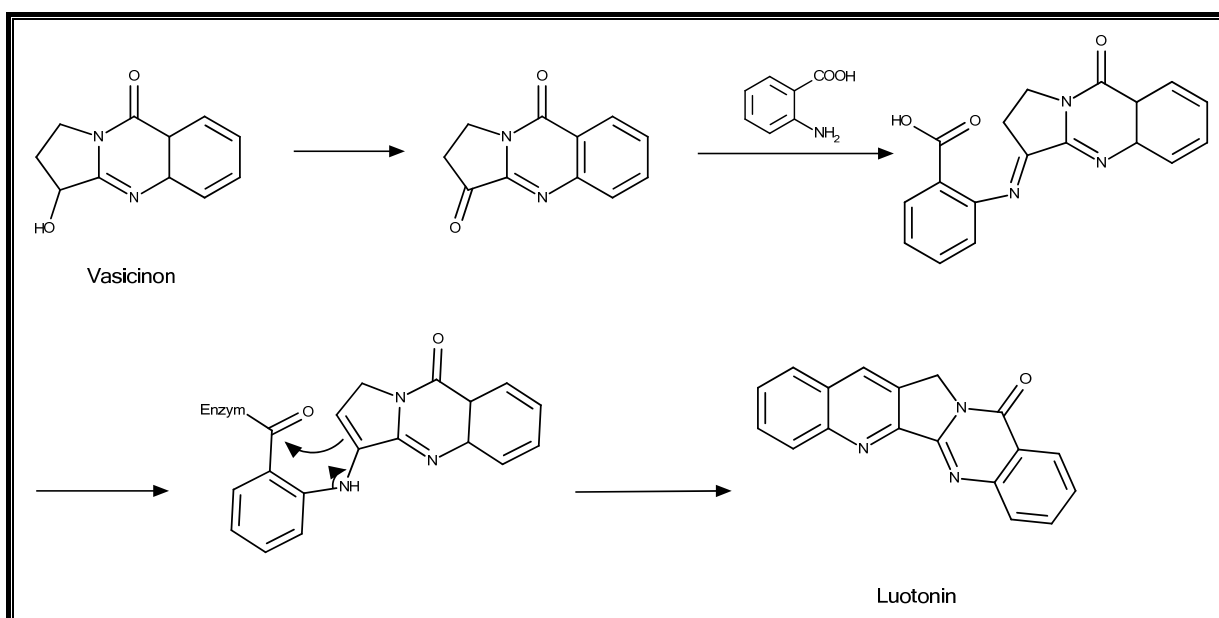


Abbildung 8: Struktureller Vergleich von Luotonin A mit Camptothecin

1.3 SYNTHESESTRATEGIEN ZU LUOTONIN A

Nach der Erkenntnis des Potenzials von Luotonin A wurden verschiedene Strategien zu dessen Totalsynthese entwickelt. Die erste Totalsynthese wurde von *Ma et. al.*¹⁸ durchgeführt und basierte auf der Isolierung des Alkaloids Vasicinon aus *Peganum nigellastrum*. Die Ähnlichkeit dieses Alkaloids mit Luotonin A legte die Vermutung nahe, dass Vasicinon eine Ausgangsverbindung in der Biosynthese von Luotonin sein könnte. Diese Annahme von *Ma et al.*¹⁷ führte zur Formulierung eines hypothetischen Biosyntheseweges (siehe Schema 3), welcher in abgewandelter Form die erste Vollsynthese-Strategie von Luotonin A realisierte.



Schema 3: Hypothetischer Biosyntheseweg nach *Ma et al.*¹⁷

Seitdem sind verschiedene Methoden zur Herstellung von Luotonin A und -derivaten publiziert worden, von denen etliche in einem Review von *Liang et al.*²¹ aus dem Jahr 2011 zu finden sind. Aus der Sicht unserer Arbeitsgruppe erschien insbesondere die Syntheseroute nach *Zhou et al.*²² sehr attraktiv, da diese relativ kurz ist, eine gute Gesamtausbeute erzielt, der finale Schritt der Cycloaddition gut reproduzierbar ist und nicht zuletzt, weil durch den Einsatz von substituierten Anilin-Bausteinen auf einfache Weise Ring-A-Substitutionen realisiert werden können, welche vorteilhaft in Bezug auf die zytotoxische Potenz sein könnten. Unsere Arbeitsgruppe bediente sich im Bestreben der Synthese einer Reihe von Ring-A-substituierten Luotonin-A-Derivaten zunächst des Syntheseprotokolls nach *Zhou et*

*al.*²². Nach erheblichen Reproduzierbarkeitsproblemen gelang unserer Arbeitsgruppe schließlich durch Modifikation einzelner Teilschritte eine signifikante Optimierung der Syntheseroute nach Zhou *et al.* Diese später als „südliche Route“ bezeichnete Syntheseroute ermöglicht durch den Einsatz von *para*- bzw. *ortho*-substituierten Anilin-Bausteinen im Schritt der Weinreb-Amidierung die Synthese zu 2- und 4-substituierten Luotonin-A-Derivaten. Die von unserer Arbeitsgruppe später entwickelte, dazu orthogonale Syntheseroute („nördliche Route“) macht die 1- und 3-substituierten Luotonin-A-Derivate zugänglich. Diese beiden komplementären Syntheserouten wurden in der Folge erfolgreich zur Etablierung einer Substanzbibliothek aus Luotonin-A-Abkömmlingen angewandt.

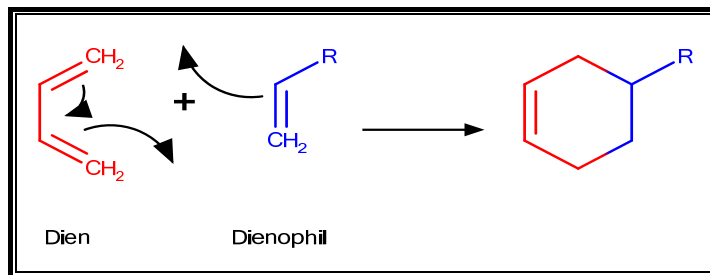
1.3.1 Die „nördliche“ Syntheseroute

Die „nördliche“ Syntheseroute enthält als Schlüsselschritte eine Sonogashira-Kupplung sowie eine intramolekulare Aza-Diels-Alder-Reaktion. Durch den Einsatz von *ortho*- bzw. *para*-substituierten Iodbenzol-Bausteinen für die Sonogashira-Kupplung können nach der Cycloaddition 1- bzw. 3-monosubstituierte Luotonin-A-Derivate zugänglich gemacht werden. Dies erfüllte ein wesentliches Bestreben unserer Arbeitsgruppe, da bis zum damaligen Zeitpunkt nur wenige Luotonin-A-Derivate mit Substituenten an den Positionen 1 und 3 bekannt waren.

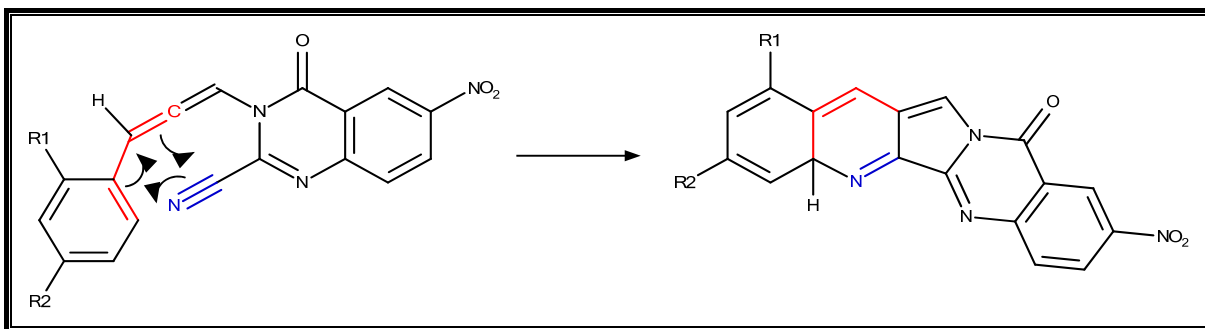
Das Herzstück der Syntheseroute ist eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion, welche durch simultane Ausbildung der Ringe B und C den Luotonin-A-Grundkörper hervorbringt. Eine derartige Cycloaddition mit einem Nitril als Dienophil und einem Phenylacetylen als Dien war bereits erfolgreich zur Synthese der Ringe ABCD von Camptothecin angewandt worden²³.

Die Diels-Alder-Reaktion, die 1928 entdeckt worden ist²⁴, ermöglicht die Bildung einer Cyclohexen-Teilstruktur durch eine Reaktion zwischen einem Dienophil und einem konjugierten Dien (siehe Schema 4). In unserer Synthese haben wir uns diese Reaktion für die Ausbildung der Ringe B und C der Luotonin-A-Derivate zu Nutze gemacht (siehe Schema 5). Das dafür als Dien benötigte Arylpropargyl-substituierte Chinazolinoncarboxamid wird mit Hilfe eines Arylhalogenids im Zuge einer Sonogashira-Kupplung erzeugt. Diese Reaktion, deren Prototyp erstmals 1975 durchgeführt und nach ihrem Entdecker benannt wurde²⁵,

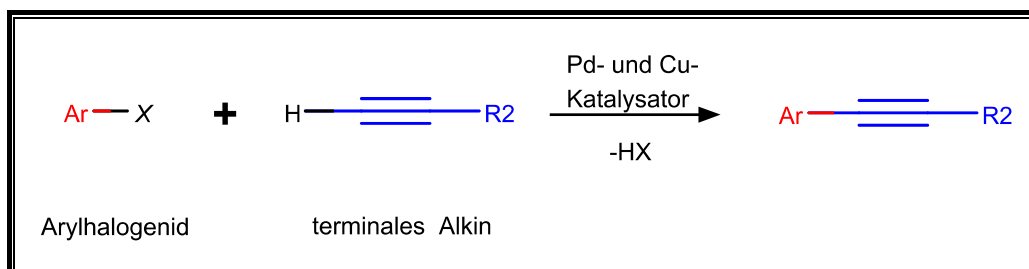
dient zur Kupplung eines Arylrests an ein terminales Alkin unter Anwesenheit eines Palladium- und eines Kupferkatalysators (siehe Schema 6). In unserem Fall werden die gewünschten Arylpropargyl-substituierten Chinazolinoncarboxamide durch Sonogashira-Kupplung der Chinazolinoncarboxamide mit *ortho*- bzw. *para*-substituierten Arylhalogeniden erhalten (siehe Schema 7). Das für die Cycloaddition ebenfalls benötigte Dienophil wird durch Dehydratisierung des primären Carboxamids zum Nitril erhalten²⁶.



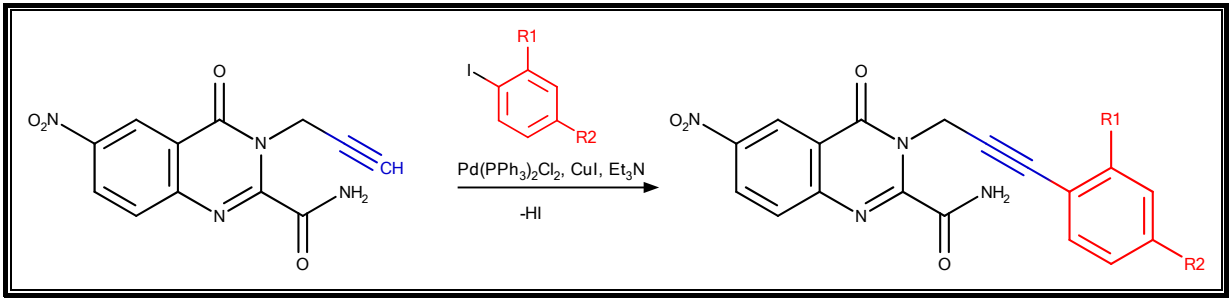
Schema 4: allgemeines Schema einer Diels-Alder-Reaktion



Schema 5: Anwendung der Diels-Alder-Reaktion in der „nördlichen“ Syntheseroute zur Generierung der Ringe B und C

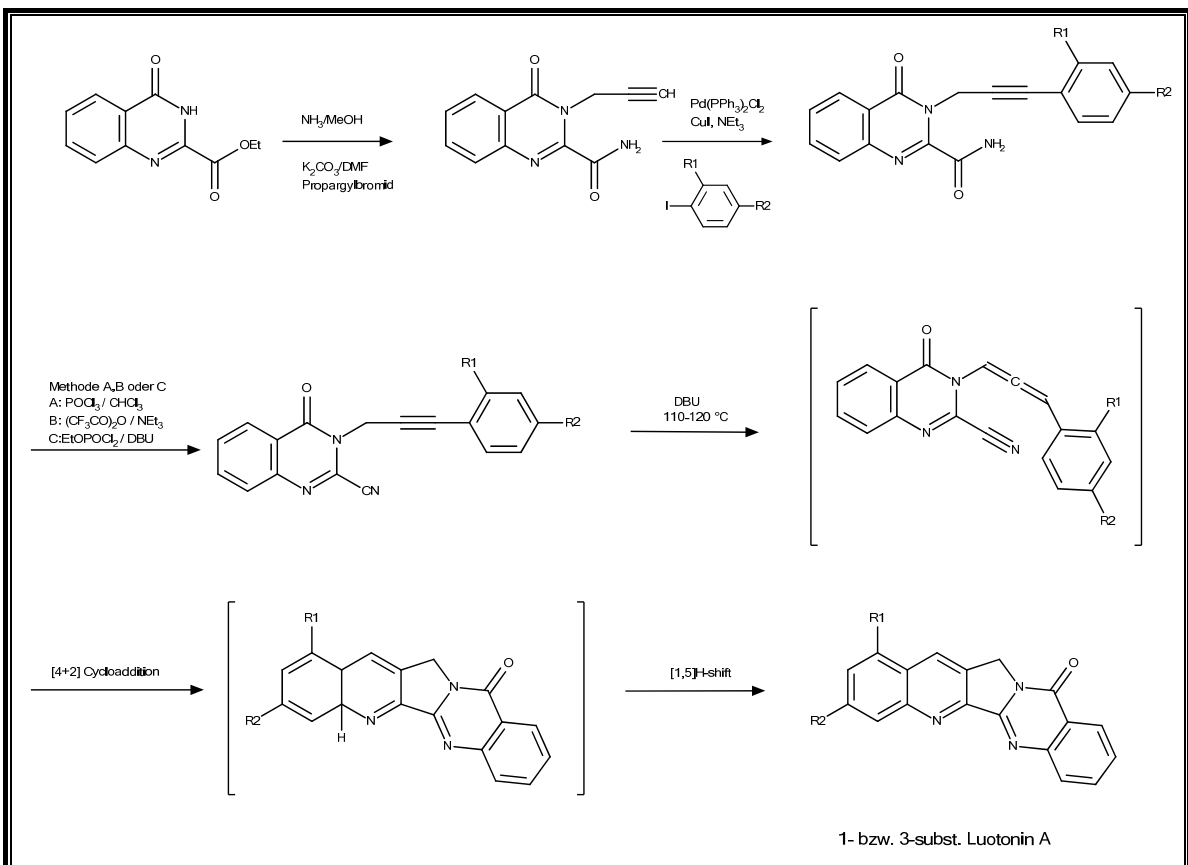


Schema 6: allgemeines Schema einer Sonogashira-Kupplung



Schema 7: Anwendung der Sonogashira-Kupplung in der „nördlichen“ Syntheseroute zur Bildung des Phenylacetylens

Die detaillierte Abfolge der Reaktionen der „nördlichen“ Syntheseroute ist in Schema 8 zusammengestellt.



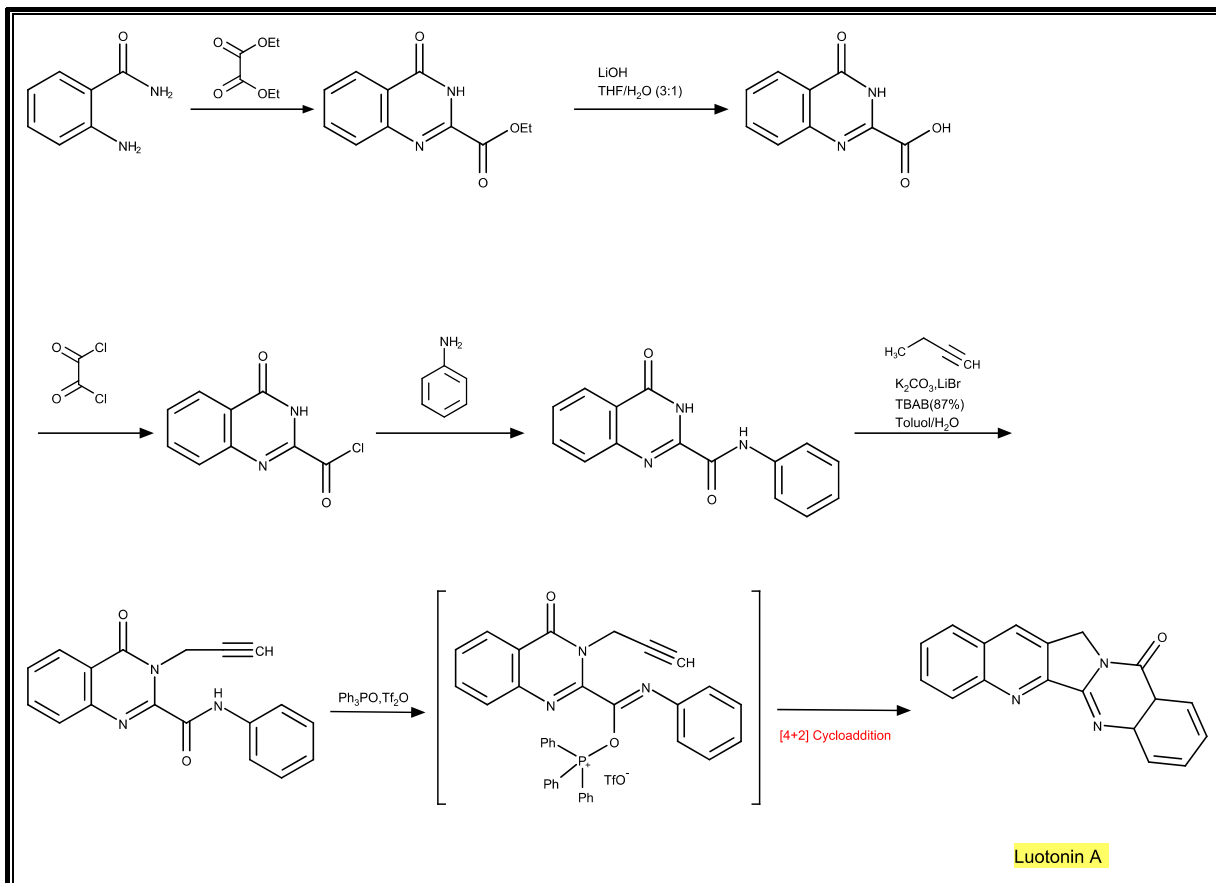
Schema 8: Die „nördliche“ Syntheseroute nach Haider et al.²⁶

1.3.2 Die „südliche“ Syntheseroute

Die „südliche Syntheseroute“ stellt eine geeignete Methode zur Darstellung von 2- und 4-monosubstituierten Luotonin-A-Derivaten dar. Dabei handelt es sich um eine modifizierte Syntheseroute nach Zhou *et al.*²². Diese wurde von unserer Arbeitsgruppe durch Adaptierung einzelner Teilschritte hinsichtlich Reproduzierbarkeit, Länge der Synthesesequenz und Gesamtausbeute optimiert. Im Folgenden wird zunächst auf die ursprüngliche Syntheseroute nach Zhou *et al.* eingegangen.

Der initiale Schritt der Syntheseroute nach Zhou *et al.* besteht in der Cyclokondensation von Anthranilamid und Diethyloxalat bei ca. 185°C zu einem Chinazolinon-Grundkörper, welcher die späteren Ringe D und E von Luotonin A repräsentiert. Die bei dieser Reaktion erhaltene Ester-Funktion wird durch Einsatz von Lithiumhydroxid in wässrigem Tetrahydrofuran zur freien Carbonsäure hydrolysiert und anschließend mittels Oxalylchlorid zum reaktiven Säurechlorid umgesetzt. Dieses kondensiert mit Anilin zum Anilid. Durch Alkylierung des aziden Chinazolinon-Stickstoffs mit Propagylbromid wird das Substrat für den anschließenden Schlüsselschritt der Synthesesequenz – eine intramolekulare [4+2] Cycloaddition – erhalten. Das hierfür benötigte Azadien wird aus der Anilidstruktur durch das Hendrickson-Reagens²⁷ [Bis(triphenyl)oxodiphosphonium-Trifluormethansulfonat, *in situ* hergestellt aus Triphenylphosphinoxid und Trifluormethansulfonsäureanhydrid] erzeugt. Durch simultane Ausbildung der Ringe B und C wird dadurch der Luotonin-A-Grundkörper erhalten.

Die Syntheseroute nach Zhou ist in Schema 9 zusammengefasst illustriert.

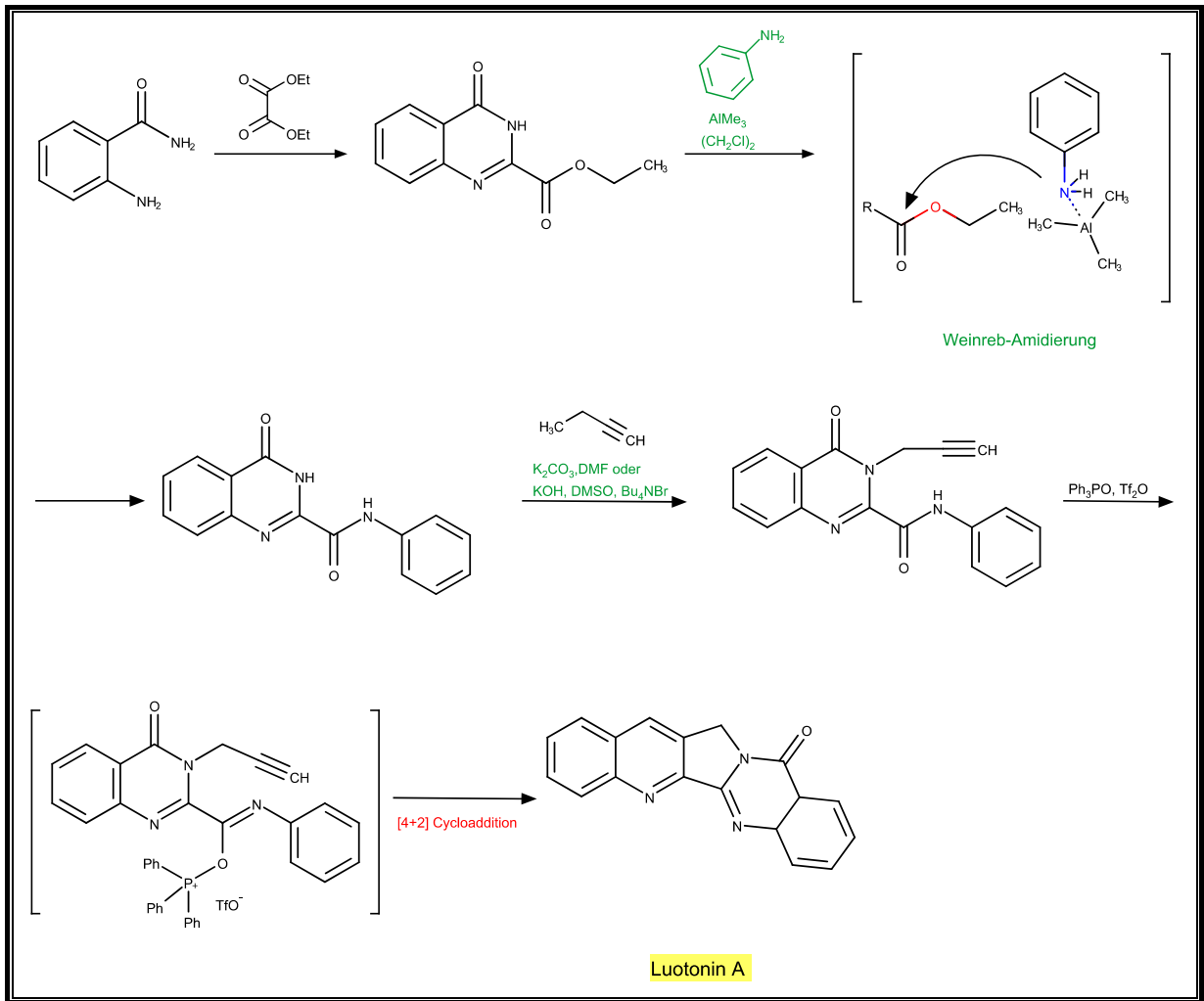


Schema 9: Synthese von Luotonin A nach Zhou et al.²²

Trotz vielversprechender Möglichkeiten dieser Syntheseroute ist unsere Arbeitsgruppe bei der Umsetzung der Synthesesequenz vom Ester zum Amid auf Reproduzierbarkeitsprobleme gestoßen. Insbesondere bereitete die freie Carbonsäure Probleme, da diese eine große Tendenz zur Decarboxylierung zeigt. Außerdem weisen sowohl die freie Carbonsäure als auch das Säurechlorid problematische Löslichkeitseigenschaften auf. Zur Umgehung dieser Probleme wurde von unserer Arbeitsgruppe eine direkte Transformation des Esters zum Amid durch eine sog. „Weinreb-Amidierung“^{28,29} angestrebt. Die direkte Umwandlung des Esters zum Amid gelingt dabei durch die Aktivierung des Amins mit Trimethylaluminium als Hilfsreagens. Trimethylaluminium wandelt den Anilin-Stickstoff zu einem transienten stark nukleophilen Substituenten, der die Ester-Carbonylgruppe angreifen kann (s. Schema 10). Außer der Umgehung instabilerer Zwischenprodukten und durchwegs kurzen Reaktionszeiten ermöglichte die hier angewandte Weinreb-Amidierung auch eine signifikante Erhöhung der Ausbeute von 67% auf über 90%.

Eine weitere Optimierung durch unsere Arbeitsgruppe besteht in der Veränderung des Protokolls für die Propargylierung, wodurch eine bessere Löslichkeit für die eingesetzten Anilide erreicht werden konnte: Hierbei wird DMF als dipolar-aprotisches Lösungsmittel in Kombination mit Kaliumcarbonat zur Deprotonierung des aziden Chinazolinon-Stickstoffs anstelle eines Toluol/Wasser-Zweiphasensystems mit Tetrabutylammoniumbromid als Phasentransferkatalysator eingesetzt³⁰. Für außerordentlich schwerlösliche Anilide erwies sich ein modifiziertes Protokoll mit Dimethylsulfoxid als dipolar-aprotisches Lösungsmittel, Kaliumhydroxid als Base und Tetrabutylammoniumbromid als Phasentransferkatalysator in Kombination mit einer Ultraschallbehandlung, gefolgt von einer sehr langsamen Zugabe des Alkylierungsmittels Propargylbromid als die Methode der Wahl³¹.

Ein Überblick über die „südliche“ Syntheseroute ist Schema 10 zu entnehmen, wobei die Verbesserungen gegenüber der Syntheseroute nach Zhou grün hervorgehoben sind.



Schema 10: Die „südliche“ Syntheseroute nach Haider et. al. ³⁰

1.4 LITERATURBEKANNTE DERIVATE VON LUOTONIN A

Seit Entdeckung von Luotonin A und der Entwicklung von Synthesestrategien wurde das primäre Ziel verfolgt, möglichst potente Derivate von Luotonin A zugänglich zu machen. Ein weiteres Ziel in der Optimierung der Leitstruktur stellt die Verbesserung der problematischen Wasserlöslichkeitseigenschaften von Luotonin A dar. Zu diesem Zwecke wurden bereits viele Luotonin-A-Derivate synthetisiert, wobei sich insbesondere Substitutionen an den Ringen A, B und E als vielversprechend erwiesen.

Substitutionen an Ring B wurden hauptsächlich mit der Absicht der Erhöhung der Bindungsaffinität des Wirkstoff-Kandidaten zur Topoisomerase-I-Bindungstasche realisiert. In einer Docking-Studie, in der verschiedene an Position 14 mit hydrophoben Resten substituierte Luotonin-A-Derivate mit der Leitstruktur verglichen wurden, zeigte sich, dass derartige Substitutionen gemäß Scoring-Funktionen zu einer deutlich erhöhten Affinität zum Target führen, und tatsächlich konnte kongruent zu dieser *in-silico*-Vorhersage eine erhöhte biologische Aktivität in Zytotoxizitätsassays festgestellt werden³². Die Ursache für die erhöhte Aktivität von Verbindungen mit einem Methyl- oder Phenylrest an Position 14 von Luotonin A lässt sich durch Docking-Untersuchungen folgendermaßen erklären: Durch die hydrophobe Gruppe kommt es zu einer abstoßenden Interaktion mit einem Asparagin-Rest (Asn352) in der Topoisomerase-I-Bindungstasche, sodass das gesamte Molekül eine gewisse Drehung erfährt und somit eine veränderte Pose im Vergleich zu Luotonin A einnimmt. Dadurch kommt es zur räumlichen Nähe zwischen N-6 und Asn352, folglich kann im Vergleich mit Luotonin A eine zusätzlich Wasserstoffbrücke zum Target ausgebildet werden. Dies führt zu einer stärkeren Absenkung der freien Enthalpie, was die Spontaneität der Bildung des Ligand-Rezeptor-Komplexes erhöht. Bisher bekannt sind lediglich Ring-B-substituierte Luotonin-A-Derivate mit einer Methyl-/ einer Phenyl-/ einer 3,5-Dimethylphenylgruppe an Position 14 von Luotonin A, wobei das 14-(3,5-Dimethylphenyl)-Luotonin-A die beste Affinität zum Target zeigte. Die Ergebnisse der hier beschriebenen Docking-Untersuchungen stammen von der Arbeitsgruppe von Menéndez³² und sind in Abb. 9 und 10 illustriert.

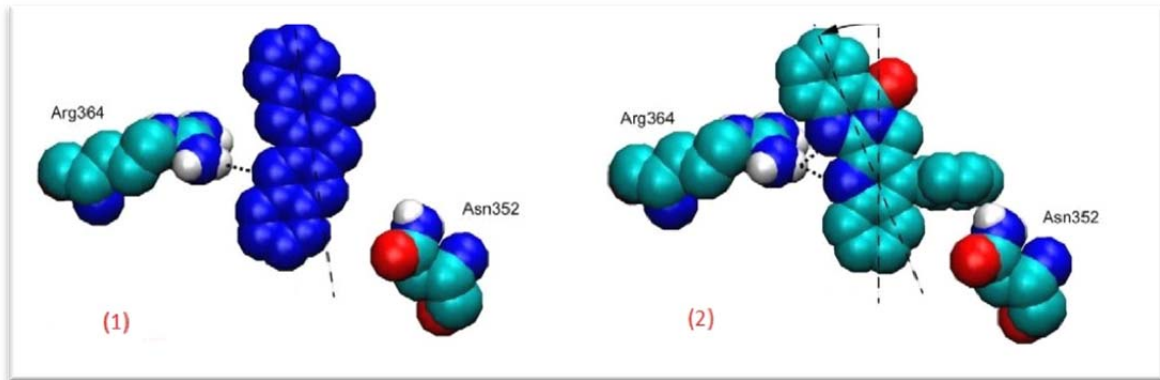


Abbildung 9: (1) Docking-Pose von Luotonin A mit hervorgehobener Position von Arg364 des Enzyms. (2) Interaktion der Ring-B-substituierten Luotonin-A-Derivate mit Asn352 und dadurch veränderte Docking-Pose³²

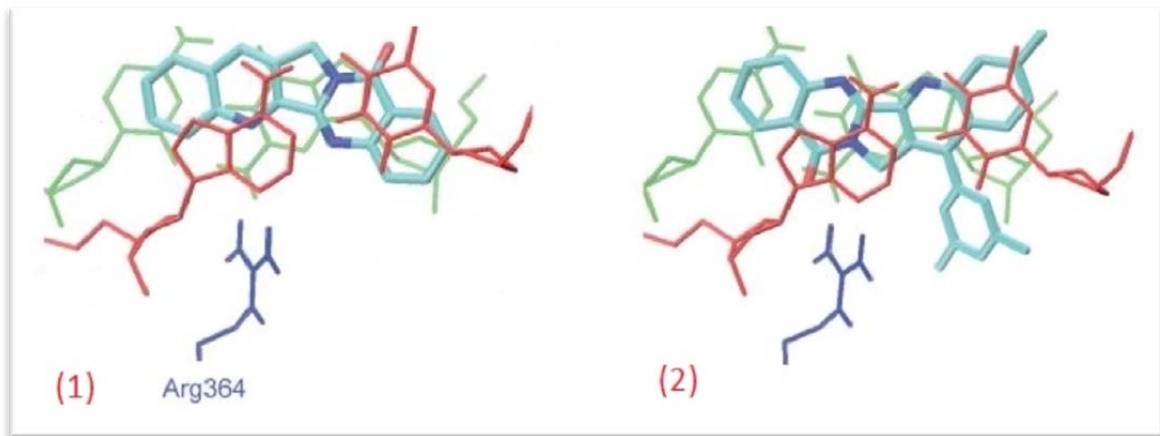


Abbildung 10: (1) ähnliche Docking Pose einiger Luotonin-A-Derivate mit jener von Topotecan. (2) unterschiedliche Docking-Pose der an Ring B Dimethylphenyl-substituierten Luotonin-A-Derivate³²

Wie bereits erwähnt, stellt neben der Erhöhung der Affinität die Löslichkeitsverbesserung einen zweiten wesentlichen Aspekt in der Optimierung der Leitsubstanz Luotonin A dar. In diesem Zusammenhang ist die Aminogruppe eine attraktive funktionelle Gruppe, da sie auf Basis ihrer aktiven Hydrophilie gut mit Wassermolekülen interagieren kann und ferner über die Bildung von z.B. Hydrochloriden noch besser wasserlösliche Salze liefern kann. Darüber hinaus können Aminogruppen mit ihren zwei Wasserstoff Atomen als H-Brücken-Donoren fungieren und somit möglicherweise ebenfalls die Affinität zur Topoisomerase erhöhen. In unserer Arbeitsgruppe wurden daher bereits diverse Amino-Derivate von Luotonin A erfolgreich hergestellt. Unter anderem wurden alle vier Ring-A-positionsisomeren Aminoderivate von Luotonin A zugänglich gemacht³³, ebenso die Verbindungen 9-Amino-

Luotonin A³⁴, 4,9-Diamino-Luotonin A³⁵ und einige Ring-A-substituierte Derivate mit einer Aminofunktion an Position 9^{36, 37, 38, 39}.

Des Weiteren literaturbekannt sind 7-Amino-Luotonin-A (beschrieben von Nacro *et al.*⁴⁰) und 8-Amino-Luotonin-A (beschrieben von Cagir *et al.*⁴¹).

1.5 ZIELSETZUNG

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit sollte die Substanzbibliothek unserer Arbeitsgruppe um ein neuartiges, an drei verschiedenen Ringen substituiertes Luotonin-A-Derivat erweitert werden (siehe Abb. 11). Zur Realisierung dieses Vorhabens sollte die von unserer Arbeitsgruppe etablierte „südliche“ Syntheseroute zur Anwendung gelangen. Das Zielmolekül ist einzigartig, da es nicht nur einen Substituenten zur Verbesserung der problematischen Wasserlöslichkeitseigenschaften von Luotonin A inhäriert, sondern auch an Position 14 substituiert ist, was entsprechend der Docking-Studien von González-Ruiz *et al.*³² mit einer Erhöhung der Affinität zum biologischen Target einhergehen könnte. Darüber hinaus ist noch eine Substitution an Ring A angestrebt, welche ebenso erfahrungsgemäß einen positiven Einfluss auf die Aktivität mit sich bringen sollte. Die Anwendung der „südlichen“ Route für das hier geschilderte, in kalkulierter Weise dreifach substituierte Zielmolekül, von dem eine markante Optimierung im Vergleich mit der Leitsubstanz Luotonin A zu erwarten ist, sollte zeigen, dass diese Syntheseroute noch mehr Potenzial hat als bisher bekannt und somit für die Herstellung eines noch größeren Spektrums an Substanzen geeignet sein könnte.

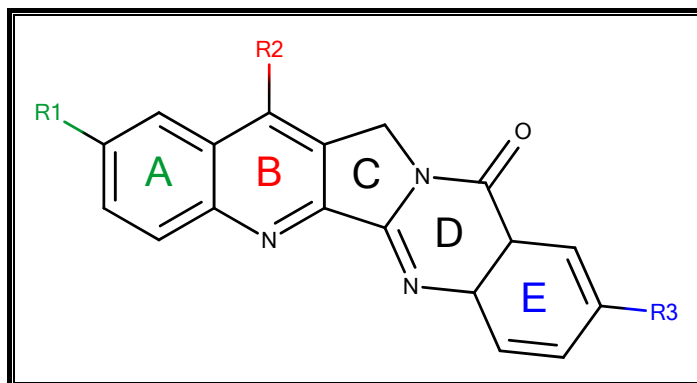


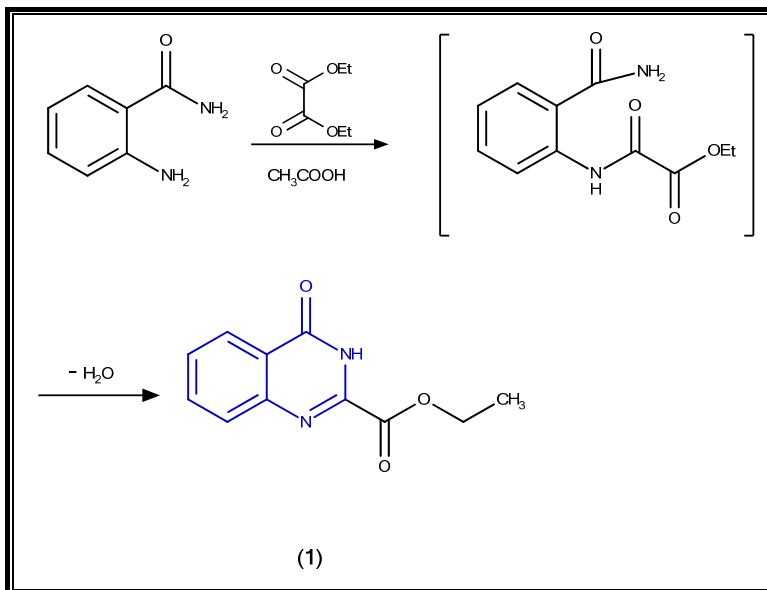
Abbildung 11: Die Zielverbindung

2 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

2.1 HERSTELLUNG DER LITERATURBEKANNTEN AUSGANGSVERBINDUNGEN

2.1.1 Synthese des Chinazolinoncarbonsäureesters

Der erste Schritt in der Synthese der Zielstruktur ist die Herstellung eines Chinazolinoncarbonsäureester-Bausteines (**1**), welcher letztlich die Ringe D und E der Zielverbindung repräsentiert. Um diese Stufe zu realisieren, wird basierend auf einer bereits vor geraumer Zeit publizierten Versuchsvorschrift⁴² Anthranilamid mit einem Überschuss an Diethyloxalat versetzt und unter Anwesenheit von Essigsäure als Katalysator 24–72 h unter Rückfluss erhitzt. Bemerkenswert ist, dass die Reaktionszeit stark variieren kann und deutlich von den Literaturangaben nach Baker *et al.*⁴² abweicht, obgleich in jener beschriebenen Prozedur kein Katalysator eingesetzt worden war. Aufgrund der Variabilität der Reaktionszeit ist die dünnschichtchromatographische Kontrolle des Reaktionsverlaufs besonders wichtig. Das aus dem Reaktionsgemisch kristallin ausfallende Kondensationsprodukt wird abgenutscht, sobald die anfänglich noch vorhandenen Banden des Zwischenproduktes bzw. des Eduktes auf der DC-Platte nicht mehr erkennbar sind und eine deutliche Produktbande (**1**) zu sehen ist (siehe Schema 11).

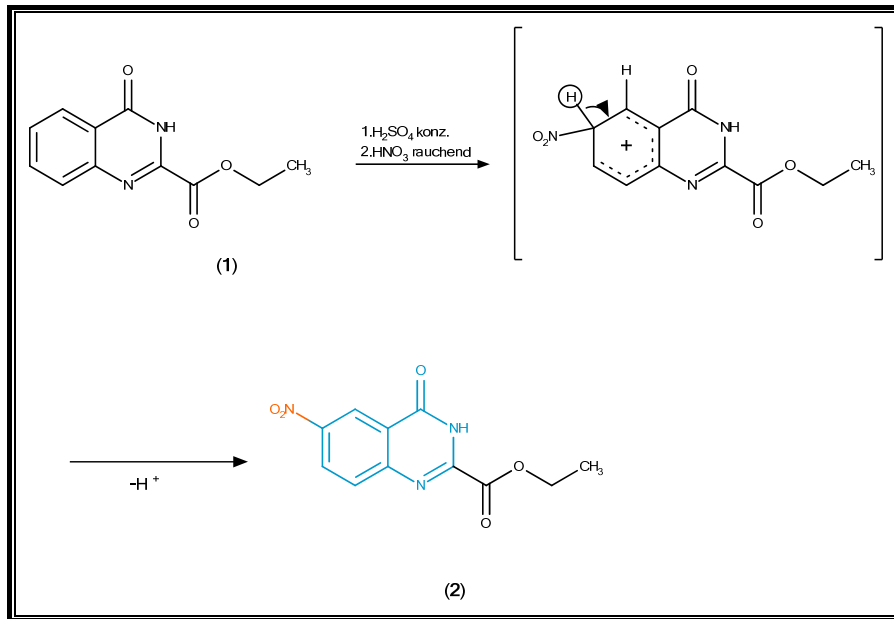


Schema 11: Herstellung des Chinazolinoncarbonsäureesters (1)

Zur Reinigung des abgenutzten Rohprodukts ist es ausreichend, dieses mit Ethanol und Diethylether zu waschen.

2.1.2 Nitrierung des Chinazolinoncarbonsäureester

In diesem Schritt wird eine Nitrierung des Chinazolinoncarbonsäureesters durchgeführt, um im finalen Syntheseschritt durch Reduktion dieser Nitrogruppe die angestrebte Aminofunktion an Position 9 im Ring E zu erreichen. Zu diesem Zwecke wird gemäß einer bereits patentierten Reaktion⁴³ der gewonnene Ester (1) in konzentrierter Schwefelsäure und rauchender Salpetersäure 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Dabei wird die Nitrogruppe aufgrund des elektronziehenden Charakters der „Carboxamid“-Teilstruktur im Sinne einer klassischen elektrophilen aromatischen Substitution in die (nur geringfügig deaktivierte) *meta*-Position zur „Carboxamid“-Gruppe eingeführt (siehe Schema 12).

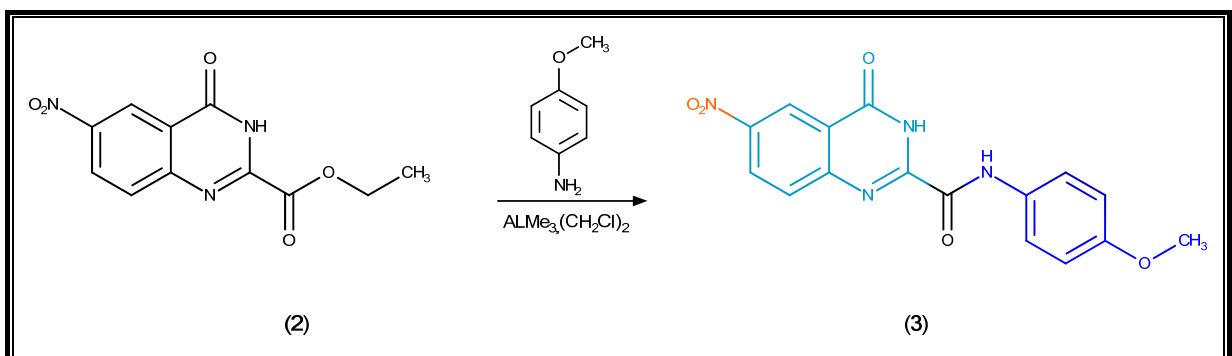


Schema 12: Nitrierung der Chinazolinoncarbonsäureesters in meta-Position

Nach vollständigem Reaktionsablauf wird das Reaktionsgemisch auf Eiswasser getropft, wodurch das Produkt in Form eines weißen Niederschlages ausgefällt wird. Dieser wird mit ausreichend Wasser säurefrei gewaschen und schließlich durch Waschen mit heißem Ethanol gereinigt (s. Experimenteller Teil).

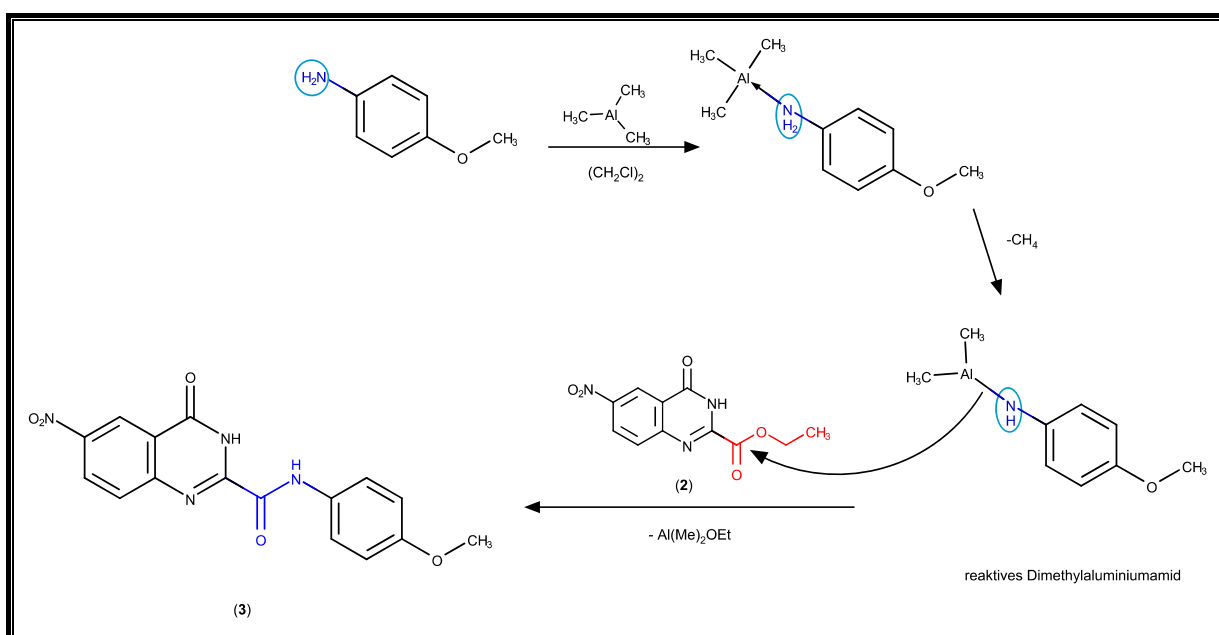
2.1.3 Amidierung des Nitrochinazolinoncarbonsäureesters

In diesem Schritt sollte die benötigte Methoxyphenyl-Gruppe, welche schließlich den Methoxy-substituierten Ring A der Zielverbindung repräsentieren wird, in Form eines Anilids an die Carboxylfunktion (ausgehend von der Estergruppe) angebracht werden. Zur Realisierung dieses Vorhabens sollte die sogenannte Weinreb-Amidierung zur Anwendung gelangen (siehe Schema 13).



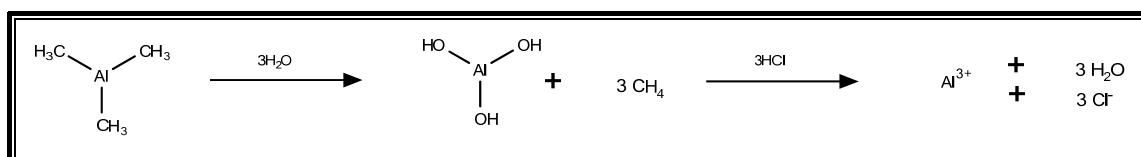
Schema 13: Anwendung der Weinreb-Amidierung zur Herstellung des Anilids (3)

Hier wird entsprechend der von unserer Arbeitsgruppe bereits erfolgreich erprobten Reaktion³⁷ 4-Anisidin in 1,2-Dichlorethan aufgenommen. Durch Zugabe von Trimethylaluminium wird die Nucleophilie der Aminofunktion von 4-Anisidin durch Komplexbildung mit Trimethylaluminium und anschließende Bildung eines reaktiven Dimethylaluminiumamids deutlich erhöht (siehe Schema 14). Die dadurch drastisch gesteigerte Reaktivität ist die Grundlage für die direkte Transformation des Esters in das Anilid unter relativ milden Reaktionsbedingungen²⁸.



Schema 14: Erhöhung der Nucleophilie von Anisidin durch AlMe_3 im Sinne einer Weinreb-Amidierung²⁸

Es erwies sich als geeignet, das Reaktionsgemisch 2 h bei 80 °C unter Rückfluss zu rühren. Danach wird die Reaktion durch Zugabe von 1N HCl gestoppt. Im wässrigen Milieu findet eine Hydrolyse von überschüssigem Trimethylaluminium zu Aluminiumhydroxid statt, welches durch die Salzsäure neutralisiert und in ein wasserlösliches Aluminiumsalz übergeführt wird (siehe Schema 15). Dieses kann somit leicht vom schwerlöslichen Produkt abgetrennt werden. Aufgrund der Exothermie der Hydrolyse-Reaktion muss dieser Schritt unter Eiskühlung durchgeführt werden.



Schema 15: Reaktionsstopp durch Hydrolyse von AlMe_3 und Erzeugung eines wasserlöslichen AlCl_3

Nach dünnschichtchromatographischer Kontrolle wird das Produkt (**3**) abgenutscht und gründlich mit Wasser und Ethanol vor der weiteren Verarbeitung gewaschen.

2.2 SYNTHESE DER NEUEN VERBINDUNGEN

2.2.1 N-Butinylierung des Chinazolinon-Grundkörpers

Im folgenden Reaktionsschritt sollte der leicht azide Chinazolinon-Stickstoff alkyliert werden. Bis dato wurde in unserer Arbeitsgruppe stets Propargylbromid zur Alkylierung verwendet, sodass nach der Cycloaddition Ring-B-unsubstituierte Luotonin-A-Derivate erzeugt wurden. In der hier angestrebten Alkylierung sollte erstmals Butinylbromid als Alkylans eingesetzt werden, um letztlich in der Zielverbindung eine Methylsubstitution an Ring B zu erreichen.

Entsprechend des von unserer Arbeitsgruppe ausgearbeiteten Versuchsprotokolls zur Alkylierung schwer löslicher Anilide³¹ wird das Edukt (**3**) in DMSO gelöst und mit KOH (zur Deprotonierung des aziden Chinazolinon-Stickstoffs) und einer geringen Menge an Tetrabutylammoniumbromid (als Phasentransferkatalysator) versetzt. Anschließend wird unter Argonatmosphäre bei 50 °C tropfenweise eine Lösung von Butinylbromid in DMSO zugegeben. Nach 24 h zeigt eine DC-Kontrolle, dass bei höheren R_f -Werten, oberhalb der Bande des Eduktes, zwei weitere Banden erscheinen. Es kann vermutet werden, dass die Bande mit dem höchsten R_f -Wert von der angestrebten einfach alkylierten Substanz stammt und die mittlere Bande auf eine unerwünschte doppelte Alkylierung des Eduktes zurückzuführen ist. Da eine weitere DC-Kontrolle nach 48 h keinen Unterschied zu der vorherigen Kontrolle zeigte, wurde die Reaktion gestoppt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser verdünnt und nach dem Abkühlen wurde der entstandene gelbbraune Niederschlag abgenutscht. Aufgrund der ähnlichen Löslichkeit der beiden Alkylierungsprodukte scheiterten sämtliche Versuche zur Isolierung des gewünschten Produkts durch Umkristallisation mit Ethanol oder *tert*-Butylmethylether, sodass zur Trennung dieser beiden Verbindungen eine Säulenchromatographie durchgeführt wurde. Nach der Isolierung und Reinigung beider Substanzen wurde die Struktur beider Alkylierungsprodukte mittels NMR-Spektroskopie aufgeklärt.

Die ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR Spektren beider Alkylierungsprodukte zeigen weitgehend idente Signale (s. Tafel 3-10). Der wesentliche Unterschied besteht darin, dass das doppelt alkylierte Produkt im ^1H -NMR-Spektrum zwei weitere singulettische Signale bei ppm- Werten von 1.84 und 4.63 sowie vier weitere Signale im ^{13}C -NMR-Spektrum besitzt. Mittels NMR-Spektroskopie konnte somit eruiert werden, dass die hierfür verantwortliche 2. Butinylgruppe am Anilid-Stickstoff lokalisiert ist.

Für eine zusätzliche spektroskopische Charakterisierung der Alkylierungsprodukte wurde des Weiteren jeweils ein EI-Massenspektrum aufgenommen. Diese Massenspektren zeigen erwartungsgemäß Moleküllionenpeaks bei $m/z = 444.45$ für das doppelt alkylierte Produkt und bei $m/z = 392.37$ für das einfach alkylierte Produkt (s. Tafel 1 bzw. 2).

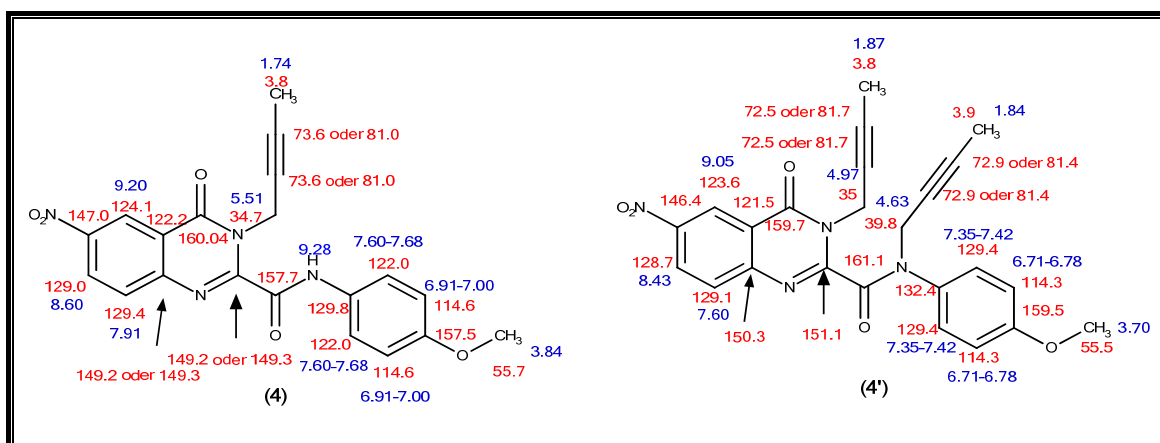
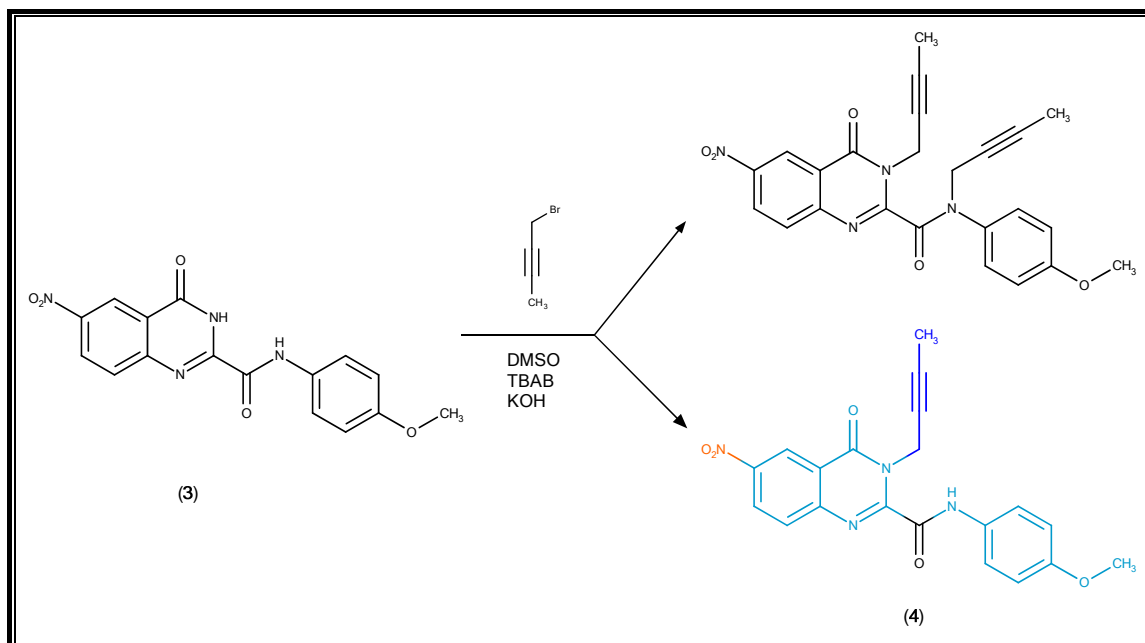


Abbildung 12: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazoline-2-carboxamide (**4**) und N,3-Di(but-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazoline-2-carboxamide (**4'**): ^1H -NMR-Signale (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) in ppm



Schema 16: Alkylierung des Nitrochinazolinocarboxamides (3)

Nach positivem Strukturnachweis der beiden Alkylierungsprodukte wurde das Ziel verfolgt, die geringe Ausbeute des angestrebten monoalkylierten Produkts von nur 23% zu erhöhen. Zu diesem Zwecke wurden mehrere Versuche angestellt, bei denen die Reaktionsbedingungen systematisch variiert wurden, und zwar hinsichtlich Temperatur, Zutropfgeschwindigkeit des Alkylierungsmittels und Verhältnis von Edukt zu eingesetzter Base und Menge an DMSO (als Lösungsmittel auch für Butinylbromid). Durch Analyse der erhaltenen Ergebnisse konnte festgestellt werden, dass die Reaktion aufgrund der relativ guten Löslichkeit des deprotonierten Eduktes in DMSO keiner zusätzlichen Erwärmung bedarf, und dass Reaktionsführung bei Raumtemperatur zu besseren Resultaten führt. Ebenso wurde beobachtet, dass die Zusammensetzung des Produktgemisches maßgeblich durch das Mengenverhältnis von Edukt zu Base wie auch durch das Mengenverhältnis von Edukt zu DMSO beeinflusst wird.

Die besten Ergebnisse wurden durch Zugabe von 1.5 Äquivalenten an Butinylbromid in ausreichend DMSO über einen Zeitraum von 2 Stunden erzielt. Eine optimale Menge an DMSO zu verwenden, ist ebenso von Relevanz, damit bei jedem Tropfen der Butinylbromid-in-DMSO-Lösung eine gerade noch ausreichende Konzentration von Butinylbromid im Reaktionskolben vorliegt. Es sollte somit gewährleistet sein, dass jeweils nur eine geringe Menge an Butinylbromid dem Reaktionsgemisch laufend zugegeben wird und so ein lokaler Überschuss vermieden wird, sodass die Butinylgruppe nur vom nukleophileren

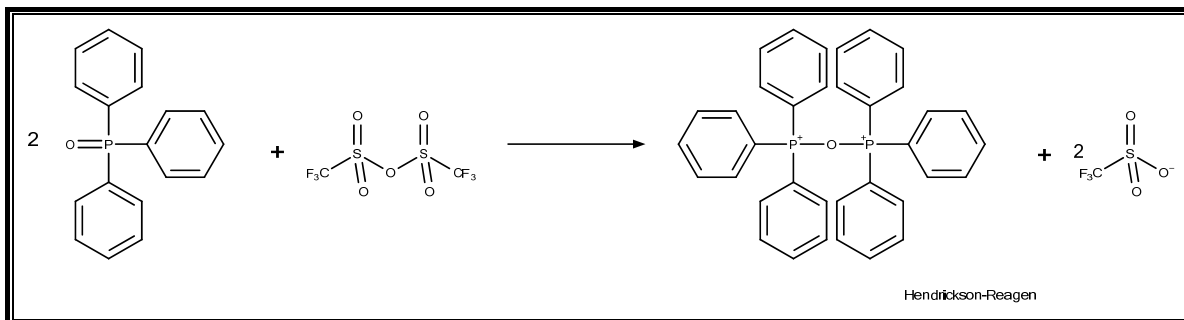
deprotonierten Chinazolinon-Stickstoff angegriffen wird und keine Alkylierung am weniger reaktiven Anilid-Stickstoff erfolgt. Durch die beschriebenen Prozessoptimierungen konnte die Ausbeute erfreulicherweise um das Doppelte erhöht werden.

Zwecks Erhärtung der oben diskutierten Überlegungen bezüglich der unerwünschten Doppelalkylierung wurden in einem weiteren Experiment als Gegenprobe die Reaktionsbedingungen bei unveränderter Gesamtmenge an Alkylans zu Ungunsten der Monoalkylierung verändert. Hierfür wurde die 1.5-fache Menge an KOH verwendet, um auch den Anilid-Stickstoff durch Deprotonierung zu aktivieren. Danach wurde Butinylbromid in nur 5 mL anstatt in 15 mL DMSO gelöst und diese Lösung innerhalb eines kürzeren Zeitraumes zugetropft. Tatsächlich zeigte die DC-Kontrolle wie erwartet, dass unter diesen Bedingungen (aufgrund des lokalen Überschusses an Butinylbromid und der stärkeren Aktivierung des Anilid-Stickstoffs) der Anteil des doppelt alkylierten Produkts im Vergleich zum einfach alkylierten Produkt deutlich höher wird.

2.2.2 Bildung des Luotonin-A-Grundkörpers via [4+2]-Cycloadditionsreaktion

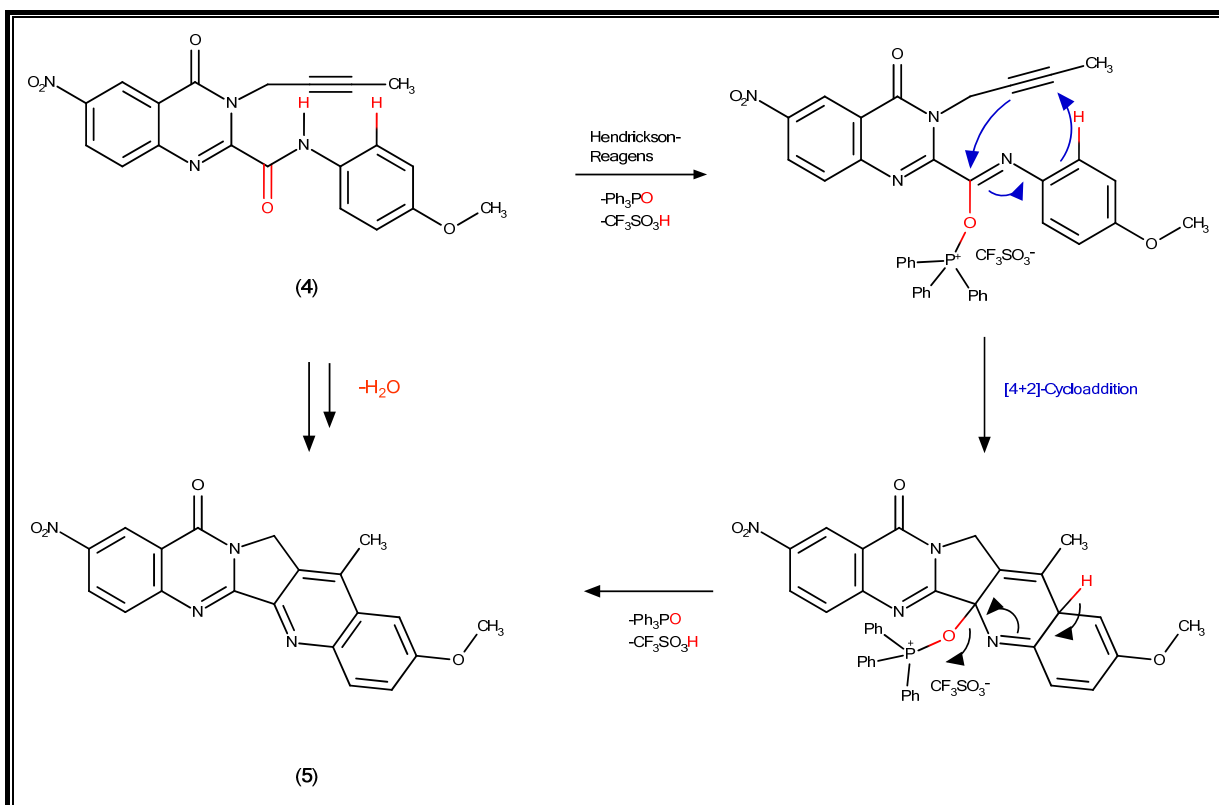
Im anschließenden Schlüsselschritt der hier angewandten „südlichen“ Syntheseroute sollte über eine [4+2]-Cycloaddition die angestrebte Formierung des Luotonin-A-Grundkörpers erfolgen. Hierbei sollte die interessante Frage beantwortet werden, ob diese Methode, die in unserer Arbeitsgruppe stets mit Propinyl-substituierten Chinazolinonen durchgeführt worden war, auch auf das zuvor synthetisierte Butinyl-substituierte Chinazolinon (**4**) anwendbar ist. Der angestrebte Ringschluss, welcher zur simultanen Bildung der Ringe B und C führt, könnte nämlich möglicherweise durch die zusätzliche Methylgruppe von Butinylbromid im Vergleich mit Propinylbromid sterisch behindert werden.

Basierend auf den Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe wird dazu das für die Cycloaddition benötigte Hendrickson-Reagens [Bis(triphenyl)oxodiphosphonium-Triflat] *in situ* aus Trifluormethansulfonsäureanhydrid und Triphenylphosphinoxid in wasserfreiem CH₂Cl₂ unter Kühlung und Inertgasatmosphäre hergestellt (siehe Schema 17)²⁷.



Schema 17: in-situ-Herstellung des Hendrickson-Reagens aus Triphenylphosphinoxid und Triflatsanhydrid²⁷

Anschließend wird das Edukt **(3)** unter Argonatmosphäre bei Raumtemperatur hinzugegeben und die Reaktion 24 h laufen gelassen. Durch Einwirkung des oxophilen Hendrickson-Reagens auf das eingesetzte Anilid **(4)** wird eine (formale) Tautomerisierung des sekundären Amids zu einer Imidoester-artigen Struktur vermittelt und somit das für die anschließende Cycloaddition benötigte Azadien erzeugt. Ob die angestrebte [4+2]-Cycloaddition, wie in Schema 18 dargestellt, tatsächlich abläuft, sollte im Folgenden herausgefunden werden können.



Schema 18: Mechanismus der [4+2]-Cycloaddition zur Bildung des Luotonin-A-Grundkörpers

Es zeigte sich nun, dass sich nach einigen Stunden ein Niederschlag am Rand des Kolbens absetzt, was eine erfolgreiche Cycloadditionsreaktion vermuten lässt, da entsprechend den Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe derartige hochkondensierte Reaktionsprodukte äußerst schwer löslich sind. Die nach 24 h durchgeführte DC-Kontrolle offenbart zwei unter UV₃₆₆-Licht blau fluoreszierende Banden, wobei die eine davon dem Triphenylphosphinoxid und die andere dem vermuteten Cycloadditionsprodukt zuzuordnen ist.

Aufgrund des schwerlöslichen Charakters des Cycloadditionsprodukts gelingt die Reinigung desselben auf einfache Weise durch mehrmaliges Waschen des abgenutzten Niederschlags mit NaHCO₃-Lösung und Dichlormethan, wodurch Verunreinigungen wie Triphenylphosphinoxid effizient entfernt werden können.

Wegen der oben erwähnten miserablen Löslichkeitseigenschaften des Cycloadditionsprodukts konnte kein ¹³C-NMR-Spektrum aufgenommen werden. Immerhin gelang die Aufzeichnung eines ¹H-NMR-Spektrums. Im Wesentlichen lässt sich die erfolgreiche Cycloaddition durch das Fehlen der Signale des ursprünglichen Anilid-Wasserstoffs sowie des ursprünglichen Aromaten-Protons an der Position des erfolgten Ringschlusses belegen. Ebenso beweist auch im EI-MS das Auftreten eines Molekülionenpeaks bei $m/z = 374$ (s. Tafel 11), im Vergleich zu jenem des Edukts bei $m/z = 392$, die bei der Cycloaddition formal erfolgte Abspaltung eines Wassermoleküls (siehe Reaktionsmechanismus in Schema 18). Durch hochauflösende Massenspektrometrie konnte die erwartete Summenformel bewiesen werden. Auf diese Weise konnte mithilfe der durchgeführten spektroskopischen Untersuchungen zweifelsfrei auf den Erfolg der Cycloaddition geschlossen werden. Somit lässt sich konstatieren, dass sich die in unserer Arbeitsgruppe bisher stets an Propinyl-substituierten Chinazolinonen durchgeführte Cycloaddition auch mit Butinyl-substituierten Derivaten realisieren lässt.

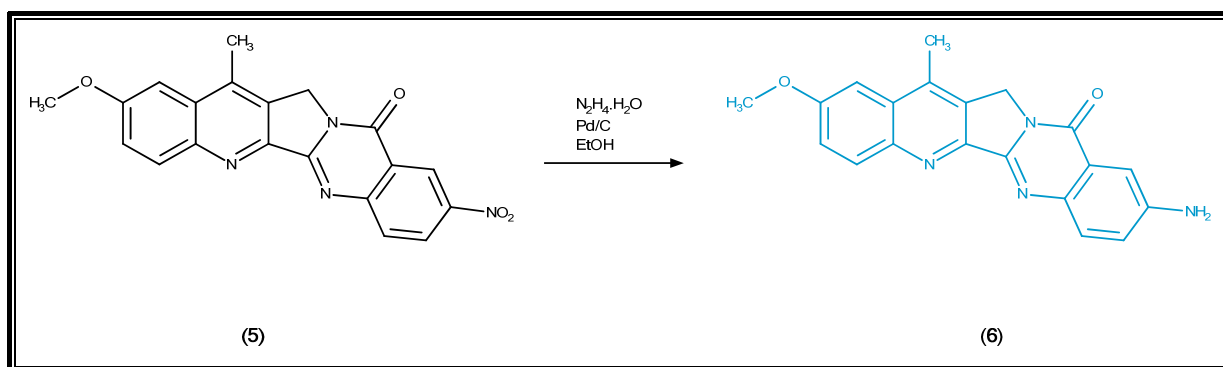
2.2.3 Reduktion der Nitrogruppe zur Aminogruppe: Synthese der Zielverbindung

Nun sollte der fehlende finale Reaktionsschritt zum Erreichen des angestrebten Endproduktes 9-Amino-2-methoxy-14-methyl-Luotonin A vollzogen werden. Dieser Schritt besteht in der Reduktion der in Synthesestufe 2 eingeführten Nitrogruppe zur Aminogruppe durch Anwendung der Methode der katalytischen Transferhydrierung, welche bereits erfolgreich

u.a. für die Reduktion von Nitrocarbazolen zu Aminocarbazolen^{44,45} eingesetzt worden war und sich in unserer Arbeitsgruppe für die Reduktion diverser Nitro-substituierter Luotonin-A-Derivate zu den entsprechenden Aminoderivaten bewährt hatte^{33,34}. Die in Ethanol suspendierte Nitroverbindung (**5**) wird dazu mit Pd/C als Katalysator und Hydrazinhydrat als flüssige Wasserstoffquelle versetzt und die Reaktion unter Inertgasatmosphäre durchgeführt.

Man kann eine derartige katalytische Transferhydrierung in vielen Fällen anstatt einer klassischen katalytischen Hydrierung, bei welcher gasförmiger Wasserstoff eingesetzt wird, anwenden. Die Vorteile dieser Methode bestehen in einem geringeren Sicherheitsrisiko durch das Vermeiden von explosivem Wasserstoffgas, einem geringeren apparativen Aufwand und in der Möglichkeit einer unproblematischen Probeziehung.

Um trotz der schlechten Löslichkeit des Eduktes eine vollständige Reduktion des Nitro-Substituenten zu gewährleisten, wird die Reaktion über einen längeren Zeitraum (24 h) und bei Rückflusstemperatur durchgeführt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch (in Form einer dunkelgrün gefärbten Suspension) mittels Dünnschichtchromatographie (UV₃₆₆-Licht) analysiert, wobei kongruent mit den Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe die Aminosubstituierte Endverbindung durch eine intensiv fluoreszierende Bande mit auffälligem Tailing angezeigt wird.



Schema 19: Reduktion der Nitrogruppe zur Aminogruppe mittels katalytischer Transferhydrierung

Die Isolierung des Produkts stellte trotz der nun besseren Löslichkeit (aufgrund der hydrophilen Aminogruppe im Vergleich zur Nitrogruppe des Edukts) eine Herausforderung dar. Um das in heißem Ethanol weitgehend ungelöste Produkt vom Katalysator zu trennen, muss zunächst ein Lösungsmittelwechsel von Ethanol auf Dimethylformamid, das deutlich bessere Lösungseigenschaften für das Produkt aufweist, realisiert werden. Nach Filtration des

in DMF aufgenommenen eingedampften Reaktionsgemisches und mehrmaliger Extraktion des katalysatorhältigen Rückstandes werden die vereinigten Filtrate unter vermindertem Druck zur Trockene gebracht. Schließlich wird so die Zielverbindung (**6**) in Form von ockergelben Kristallen nach Waschung mit heißem Ethanol in einer sehr guten Ausbeute von 92% gewonnen.

Die erfolgreiche Synthese des primärenamins **6** wurde umfassend durch spektroskopische Untersuchungen belegt. Im ^1H -NMR-Spektrum der Zielverbindung findet sich im Unterschied zum Edukt (**5**) ein singulettisches Signal (s. Tafel 14) bei einer chemischen Verschiebung von 5.81 ppm mit der relativen Intensität von 2, wofür die Protonen der neuen primären Aminogruppe verantwortlich zeichnen. Eine weitere auffällige Veränderung im ^1H -NMR-Spektrum besteht in der Hochfeldverschiebung der Aromaten-Protonen an Ring E. Diese kommt dadurch zustande, dass die Aminogruppe elektronenschiebende Eigenschaften und die ursprüngliche Nitrogruppe stark elektronenziehende Eigenschaften besitzt, wodurch die Protonen der Zielverbindung eine deutliche Abschirmung im Vergleich zur Ausgangsverbindung erfahren (s. Tafel 12). Die eindeutige Unterscheidung dieser hochfeldverschobenen Ring-E-Aromaten-Protonen ist anhand des unterschiedlichen Aufspaltungsmusters möglich: Das Dublett mit einer *ortho*-Kopplung bei 7.61 ppm ist dem 7-H, das dublettische Dublett (hinweisend auf eine *ortho*- und eine *meta*-Kopplung) bei 7.17 ppm dem 8-H und das Dublett mit einer *meta*-Kopplung bei 7.34 ppm dem 10-H zuzuordnen. Als Beleg dafür, dass keine Fragmentierung während der Reaktion stattgefunden hat, kann unter anderem das im ^1H -NMR Spektrum vorhandene singulettische Signal der Methylgruppe an Position 14 bei 2.73 ppm gedeutet werden. Die eindeutige Zuordnung sämtlicher ^1H -NMR-Signale kann mittels der entsprechenden Korrelationspeaks in den COSY- und NOESY-Spektren getroffen werden (s. Tafeln 20-22).

Aufgrund der insuffizienten Löslichkeit des Eduktes (**5**) konnte kein Vergleich von ^{13}C -NMR-Daten zwischen Edukt und Produkt gezogen werden. Die ^{13}C -NMR-Signale der Zielverbindung konnten jedoch mithilfe heteronuklearer zweidimensionaler NMR-Techniken (HSQC und HMBC) zugeordnet werden (s. Tafel 15-19).

Das EI-Massenspektrum der Zielverbindung zeigt erwartungsgemäß einen Molekülionenpeak (M^+) bei $m/z = 344.4$, im Vergleich zu jenem der Nitroverbindung bei $m/z = 374$ (s. Tafel 13).

Hochauflösende ESI-Massenspektrometrie der Zielverbindung belegt die erwartete Summenformel von $C_{20}H_{16}N_4O_2$, hier in Form des $[M+H]^+$ -Ions.

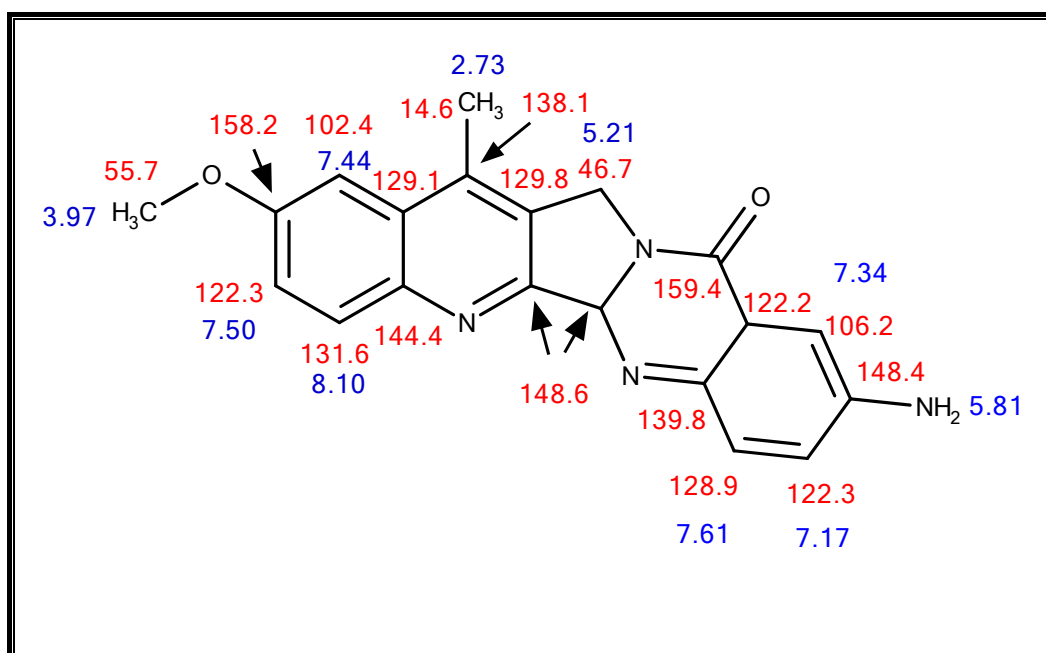


Abbildung 13: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6): 1H -NMR-Signale (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) in ppm

2.3 FAZIT UND AUSBLICK

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit konnte über einen vollsynthetischen Ansatz ein neuartiges Derivat (9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on) des zytotoxischen Alkaloids Luotonin A zugänglich gemacht werden. Hierfür wurde die von unserer Arbeitsgruppe entwickelte „südliche“ Syntheseroute mit Weinreb-Amidierung und [4+2]-Cycloaddition als Schlüsselschritt angewandt. Die besondere Bedeutung dieser Arbeit liegt darin, dass erstmals in unserer Arbeitsgruppe die Alkylierung mit Butinylbromid anstelle des sonst stets eingesetzten Propargylbromids durchgeführt wurde. Es stellte sich heraus, dass die zusätzliche Methylgruppe kein sterisches Hindernis für den Schritt der Cycloaddition darstellt. Somit konnte das ambitionierte Ziel der Diplomarbeit erreicht und zum ersten Mal in unserer Arbeitsgruppe ein an den Ringen A, B und E

substituiertes Luotonin-A-Derivat zugänglich gemacht werden. Die Relevanz einer derartigen Struktur ist darin begründet, dass sowohl frühere *in-silico*- als auch *in-vitro*-Studien Hinweise darauf liefern, dass Methyl-/Arylsubstituenten an C-14 von Luotonin A eine höhere Affinität zur humanen Topoisomerase I und folglich eine höhere biologische Aktivität bewirken könnten.

Die Zielverbindung ist derzeitiger Gegenstand biologischer Untersuchungen, die im Rahmen eines Kooperationsprojekts an der Medizinischen Universität Wien durchgeführt werden. Darin soll der Einfluss der Verbindung auf die Viabilität von Krebszelllinien ausgetestet werden. Durch Vergleich der Daten mit bereits synthetisierten Kongeneren sollen in der Folge wertvolle Erkenntnisse über Struktur-Wirkungsbeziehungen gewonnen werden.

3 EXPERIMENTELLER TEIL

3.1 VERWENDETE GERÄTE UND MATERIALIEN

Chromatographie

DC

Für Identitätsprüfungen und Kontrollen des Reaktionsverlaufs wurden DC-Fertigfolien ALUGRAM Xtra SIL G/UV254 Kieselgel 60 der Fa. Macherey-Nagel verwendet. Die Detektion erfolgte mittels einer Camag-UV-Lampe unter UV₂₅₄ *via* Fluoreszenzminderung sowie unter UV₃₆₆ *via* Eigenfluoreszenz.

SC

Für Säulenchromatographie wurde als Sorbens Kieselgel 60 (0.063–0.200 mm) der Fa. Merck verwendet. Die Detektion erfolgte diskontinuierlich mittels Tüpfeln auf KGF₂₅₄-Folien.

Spektroskopie

MS

EI-Massenspektren (70 eV) wurden am Department für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien auf einem Shimadzu QP5050A DI50 Massenspektrometer gemessen.

HRMS

Hochauflösende ESI-Massenspektren wurden am Department für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien auf einem Bruker maXis HD gemessen.

NMR

Alle ¹H-NMR-Spektren (400 MHz) und ¹³C-NMR-Spektren (100 MHz) wurden auf einem Bruker Avance III 400 Spektrometer gemessen, die Referenzierung (δ -Werte in ppm bezogen auf TMS) erfolgte mittels undeuterierter Anteile des jeweils verwendeten Lösungsmittels.

Schmelzpunkte

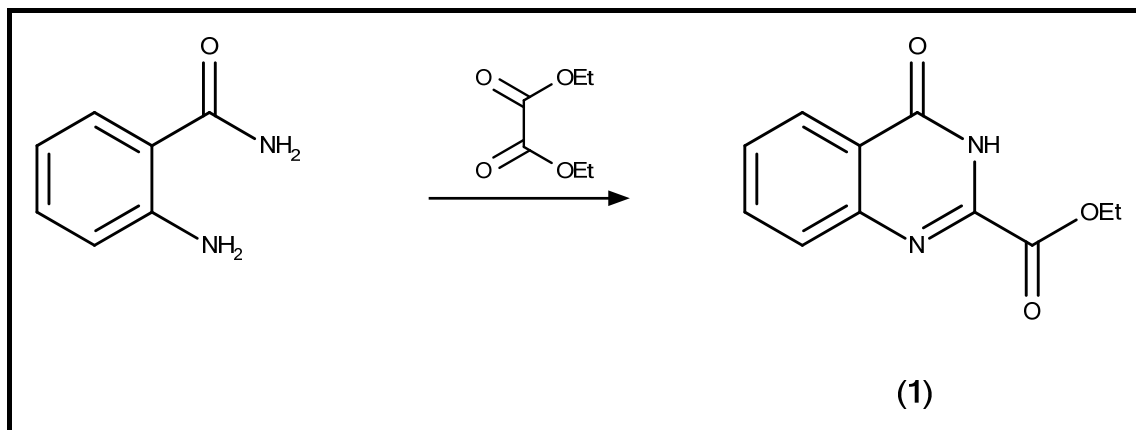
Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztischmikroskop der Fa. Leica ermittelt.

Reagenzien und Lösungsmittel

Die Reagenzien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Alfa Aesar, Sigma-Aldrich und VWR Chemicals in „reinst“-Qualität bezogen.

3.2 ARBEITSVORSCHRIFTEN

3.2.1 Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (1)

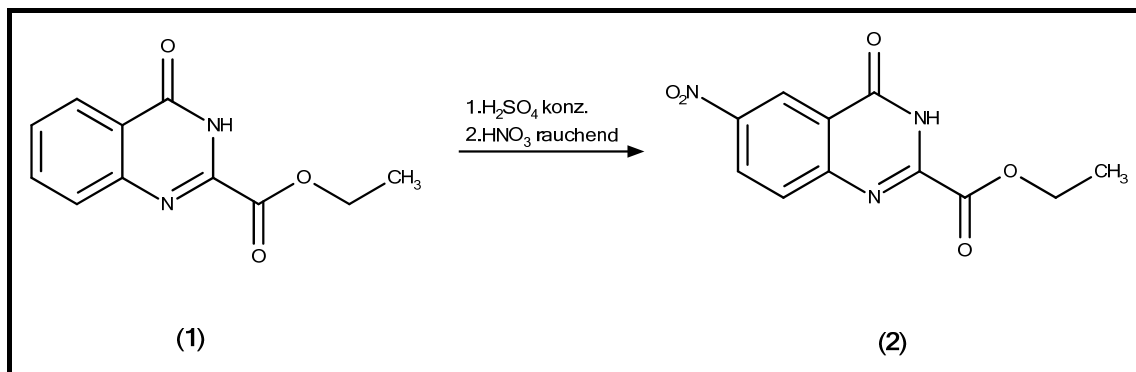


In einem 100 mL Rundkolben werden 6.80 g (50 mmol) Anthranilamid mit 50 mL Diethyloxalat und 0.5 mL Essigsäure 24–48 h unter Rückfluss erhitzt. Nach 24 h wird eine erste DC-Kontrolle (Fließmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 9+1) des Reaktionsgemisches durchgeführt. Im Fall einer noch vorhandenen Edukt- oder Zwischenproduktbande wird die Reaktion prolongiert und nach 24 h eine weitere DC-Kontrolle realisiert.

Nach vollständigem Reaktionsablauf wird das Reaktionsgemisch zuerst auf Raumtemperatur und danach 30 min im Kühlschrank abgekühlt. Anschließend wird das Produkt abgenutscht, mit EtOH gewaschen und mit ca. 50 mL Diethylether versetzt. Die so erhaltene Suspension wird ca. 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Produkt neuerlich abgenutscht, mit EtOH gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Ausbeute:	8.34 g (76%; Lit. ⁴² : 57%)
Summenformel:	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O ₃
Molare Masse:	218.21 g/mol
Schmelzpunkt	192–193 °C (Lit. ⁴² : 179–180 °C)

3.2.2 Ethyl-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (2)



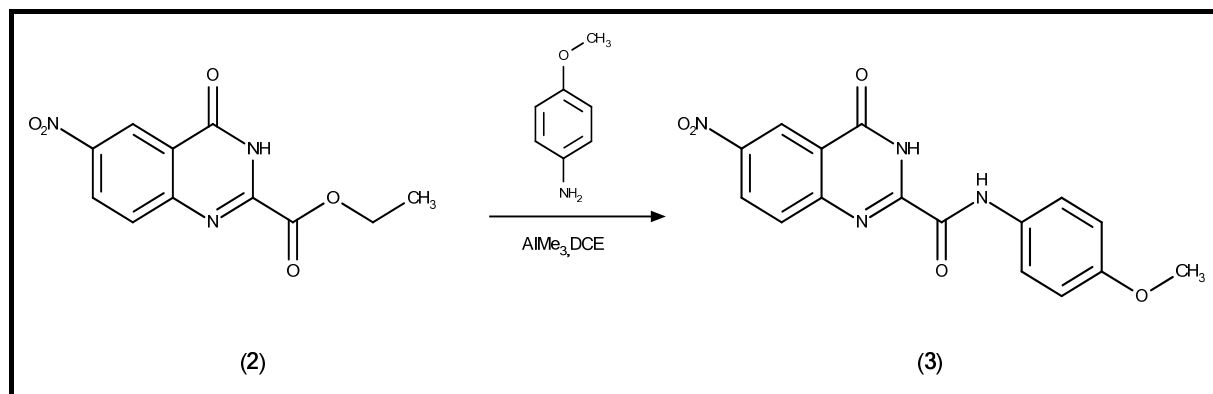
In einem 100 mL Zweihalskolben mit Rückflusskühler werden 3.55 g (16.3 mmol) des Eduktes (1) in 25 mL konz. H₂SO₄ gelöst. Die Lösung wird in einem Eiswasserbad auf 0–5 °C abgekühlt. Danach wird mithilfe eines Tropftrichters über einen Zeitraum von ca. 10 min unter Rühren 12.5 mL rauchende HNO₃ zugetropft. Das Kühlbad wird hierauf entfernt und das Reaktionsgemisch 2 h bei Raumtemperatur gerührt.

Anschließend wird das Reaktionsgemisch langsam unter Rühren in ein Becherglas mit Eiswasser getropft und weitere 10 min gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abgenutscht, mit H₂O säurefrei gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Zur Reinigung des Rohprodukts wird der Rückstand in 250 mL EtOH suspendiert und 30 min unter Rückflusskühlung erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das solcherart heiß gewaschene Produkt abgenutscht und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Ausbeute:	3.87 g (90%; Lit. ⁴³ : 94%)
Summenformel:	C ₁₁ H ₉ N ₃ O ₅
Molare Masse:	263.21 g/mol
Schmelzpunkt:	251–253 °C

3.2.3 *N*-(4-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)

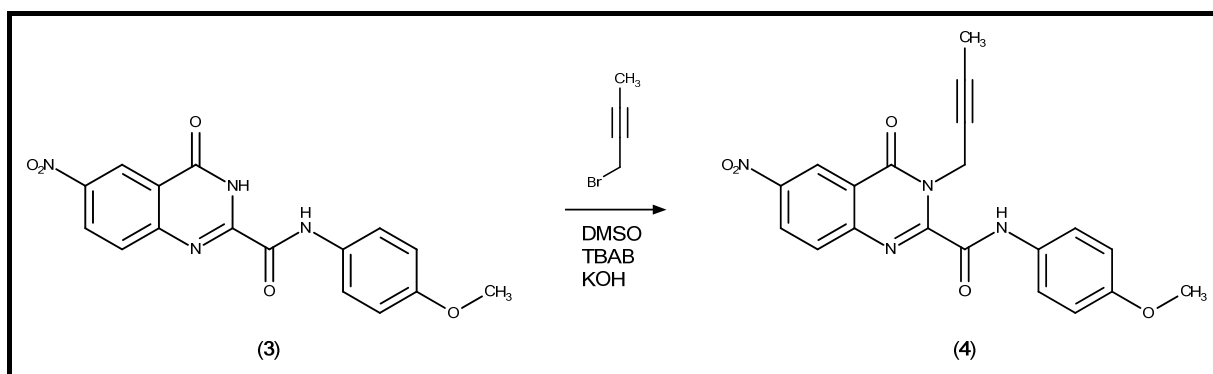


In einem ausgeheizten 250 mL Dreihalskolben mit Gummiseptum und Rückflusskühler werden unter Argonatmosphäre 985 mg (8 mmol) 4-Anisidin in 20 ml trockenem 1,2-Dichlorethan gelöst. Dann erfolgt unter Eisbadkühlung die tropfenweise Zugabe von 4.0 ml (8 mmol) einer Trimethylaluminium-Lösung (2 M in Heptan) mithilfe einer Spritze. Nach Entfernung des Eisbads wird das Reaktionsgemisch 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend gibt man 1.315 g (5 mmol) des Eduktes (2) hinzu und erhitzt das Gemisch 2 h bei 80 °C im Ölbad. Hierauf wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur und dann mithilfe eines Eisbades auf 0 °C abgekühlt. Es werden 20 ml Salzsäure (5%) portionsweise hinzugefügt und das Gemisch nach 30 min Rühren mit 80 ml Wasser verdünnt. Der dabei entstehende Niederschlag wird abgenutscht, mit 50% EtOH gewaschen und mit 20 mL Salzsäure (5%) abermals 1 h bei Raumtemperatur gerührt, bevor er abgenutscht, zuerst mit Wasser und dann mit EtOH säurefrei gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet wird.

Zur Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion wird eine DC-Kontrolle (Fließmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 9+1) durchgeführt. Die Substanz³⁷ muss vor Weiterverwendung 20–30 min mit EtOH heiß gewaschen werden.

Ausbeute:	1.41 g (82%)
Summenformel:	C ₁₆ H ₁₂ N ₄ O ₅
Molare Masse:	340.3 g/mol
Schmelzpunkt:	271–273 °C

3.2.4 3-(But-2-in-1-yl)-*N*-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)



In einem 100 ml Rundkolben werden 255 mg (0.75 mmol) fein pulverisiertes Edukt (**3**) in 20 ml DMSO 30 min bei RT gerührt. Danach werden 68 mg (1.2 mmol) fein pulverisiertes KOH und 20 mg Tetrabutylammoniumbromid zur Lösung zugegeben. Das Gemisch wird 20 min im Ultraschallbad sonifiziert. Anschließend wird zum kräftig gerührten Reaktionsgemisch unter Argonatmosphäre bei RT tropfenweise eine Lösung von 160 mg (1.2 mmol) 1-Brom-2-butin in 15 ml DMSO über einen Zeitraum von 2 h hinzugefügt. Nach 24 h wird mittels DC-Kontrolle (Fließmittel: CH₂Cl₂/ EtOAc, 95+5) die Vollständigkeit der Reaktion überprüft (Herstellung der DC-Probe: Ein Tropfen Reaktionsgemisch wird in einer Phirole mit 1 mL Wasser verdünnt und mit 1 mL Ethylacetat extrahiert, die organische Phase wird auf die DC-Folie aufgetragen).

Nach vollständigem Reaktionsablauf wird das Reaktionsgemisch in ein Becherglas mit 100 ml Wasser transferiert und 30 min im Kühlschrank abgekühlt. Dann wird der ockergelbe Niederschlag abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Zur Reinigung des Produkts wird eine Säulenchromatographie durchgeführt (Fließmittel: CH₂Cl₂). Die gesammelten Fraktionen werden nach DC-Kontrolle vereinigt und am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Das erhaltene weiße Pulver wird im Vakuumexsikkator gründlich getrocknet, danach mit *tert*-Butylmethylether versetzt und unter Rückflusskühlung kurz erhitzt. Anschließend wird das derart gereinigte Produkt neuerlich abgenutscht und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Ausbeute:	127 mg (43%)
Summenformel:	C ₂₀ H ₁₆ N ₄ O ₅
Molare Masse:	392.37 g/mol
Schmelzpunkt:	207–210 °C

MS:

m/z (rel. Int) = 392 (M⁺, 24%), 378 (20), 377 (89), 362 (23), 361 (100), 331 (18), 315 (16), 242 (19), 197 (33), 174 (40), 149 (30), 134 (27), 53 (44)

HRMS (ESI-TOF):

für C₂₀H₁₇N₄O₅ ([M+H]⁺):

Berechnet: 393.1193

Gefunden: 393.1187

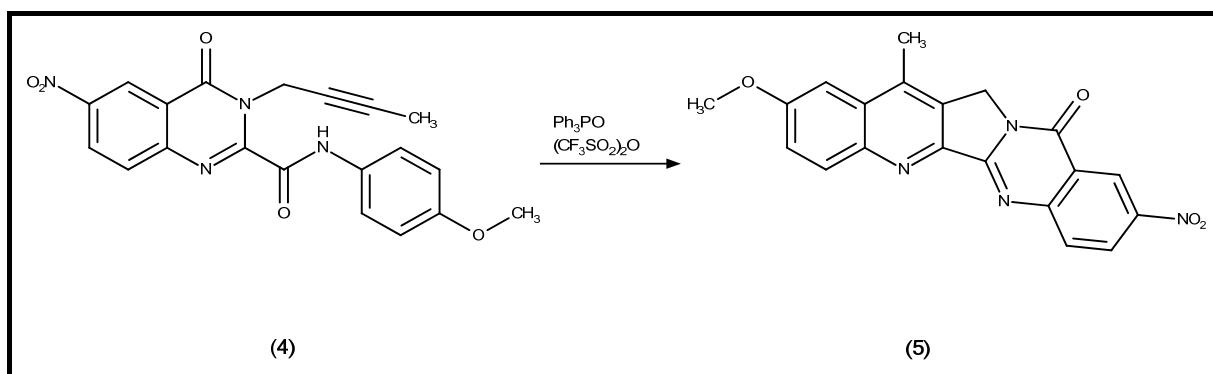
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃):

δ 9.28 (s, 1H, NH), 9.20 (d, J = 2.6 Hz, 1H, 5-H), 8.60 (dd, J = 8.9, 2.6 Hz, 1H, 7-H), 7.91 (d, J = 8.9 Hz, 1H, 8-H), 7.68–7.60 (BB'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, Phenyl 2'-H, 6'-H), 7.00–6.91 (AA'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, 3'-H, 5'-H), 5.51 (q, J = 2.3 Hz, 2H, NCH₂), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 1.74 (t, J = 2.3 Hz, 3H, CCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃):

δ 160.4 (4-C), 157.7 (Amid C=O), 157.5 (Phenyl 4'-C), 149.3 (8a-C oder 2-C), 149.2 (2-C oder 8a-C), 147.0 (6-C), 129.8 (Phenyl 1'-C), 129.4 (8-C), 129.0 (7-C), 124.1 (5-C), 122.2 (4a-C), 122.0 (Phenyl 2'-C, 6'-C), 114.6 (Phenyl 3'-C, 5'-C), 81.0 (Butinyl 2-C oder 3-C), 73.6 (Butinyl 3-C oder 2-C), 55.7 (OCH₃), 34.7 (NCH₂), 3.8 (CCH₃)

3.2.5 2-Methoxy-14-methyl-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (5)



In einem ausgeheizten 50 mL Zweihalskolben mit Gummiseptum werden unter Argonatmosphäre 417.5 mg (1.5 mmol) Triphenylphosphinoxid in 11 ml trockenem CH_2Cl_2 gelöst und mithilfe eines Eisbades auf 0 °C abgekühlt. Zur Lösung werden mittels einer Insulinspritze 0.125 mL (0.75 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid langsam zugetropft und 15 min bei 0 °C gerührt. Anschließend werden 196 mg (0.5 mmol) des Eduktes (4) in einer Portion zu der Lösung zugegeben und diese lässt man 24 h bei RT rühren. Zur Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion wird eine DC-Kontrolle (Fließmittel: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 95+5) durchgeführt. Nach vollständigem Reaktionsablauf wird der entstandene Niederschlag abgenutscht, mit CH_2Cl_2 , NaHCO_3 und H_2O gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet. Da geringere Anteile des Produktes auch im Filtrat nachweisbar sind, wird letzteres in einem Scheidetrichter mit 10 mL NaHCO_3 (10%) versetzt und ausgeschüttelt. Danach wird die organische Phase abgetrennt, über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Das so erhaltene Gemisch aus Phosphinoxid und Produkt wird mittels Säulenchromatographie getrennt (Fließmittel: CH_2Cl_2). Die gesammelten Eluatfraktionen werden vereinigt, am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Zur Reinigung werden die vereinigten Rohprodukte in wenig EtOH aufgenommen und die resultierende Suspension wird kurz zum Rückfluss erhitzt. Das solcherart heiß gewaschene Produkt wird abgenutscht und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Ausbeute:	118 mg (63%)
Summenformel:	C ₂₀ H ₁₄ N ₄ O ₄
Molare Masse:	374.34 g/mol
Schmelzpunkt:	>350 °C

MS:

m/z (rel. Int) = 375 (24%), 374 (M⁺, 100), 359 (15), 344 (16), 328 (19), 285 (18), 257 (17), 115 (17), 57 (23)

HRMS (ESI-TOF):

für C₂₀H₁₄N₄NaO₄ ([M+Na]⁺)

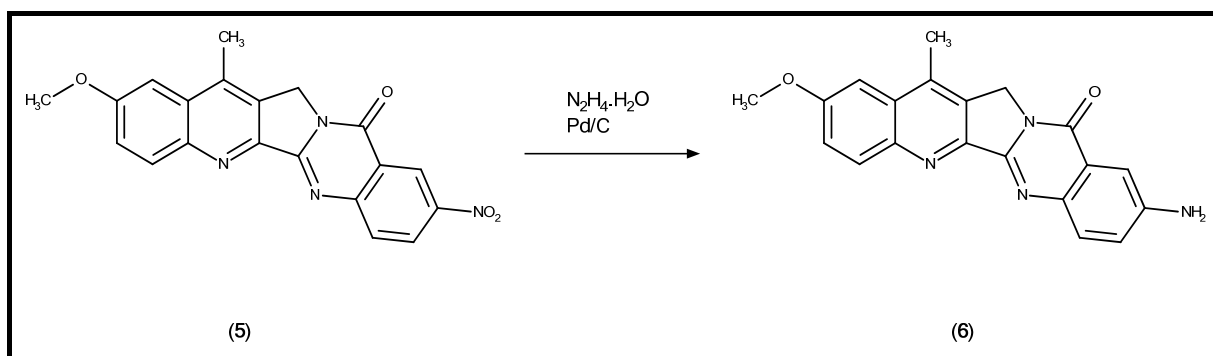
Berechnet: 397.0907

Fefunden: 397.0906

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆):

δ 8.97 (d, J = 2.7 Hz, 1H, 10-H), 8.65 (dd, J = 9.0, 2.7 Hz, 1H, 8-H), 8.20 (d, J = 9.3 Hz, 1H, 4-H), 8.11 (d, J = 9.1 Hz, 1H, 7-H), 7.59 (dd, J = 9.3, 2.7 Hz, 1H, 3-H), 7.53 (d, J = 2.6 Hz, 1H, 1-H), 5.37 (s, 2H, 13-CH₂), 4.02 (s, 3H, OCH₃), 2.81 (s, 3H, 14-CH₃)

3.2.6 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (6)



Eine Suspension von 56 mg (0.15 mmol) des Eduktes (5) in 20 mL EtOH wird mit Argon gründlich gespült. Unter Argonatmosphäre werden 130 mg (2.1 mmol) Hydrazinhydrat (80% in H₂O) und 9 mg Pd/C (10%) Katalysator zum Reaktionsgemisch hinzugefügt und 24 h bei einer Ölbadtemperatur von 100°C unter Rückfluss erhitzt, wobei sich die Suspension grünlich verfärbt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC-Kontrolle (Fließmittel: CH₂Cl₂/EtOAc, 95+5) überprüft.

Das Reaktionsgemisch wird auf Raumtemperatur abgekühlt und am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Der feste Rückstand wird in 10 mL DMF aufgenommen, kurz erhitzt und mehrmals durch zwei Lagen Faltenfilterpapier heiß filtriert, um den Katalysator zu entfernen. Anschließend wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der feste Rückstand mit EtOH (50%) heiß gewaschen. Nach dem Abkühlen wird das ockergelbe Produkt abgenutscht und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Ausbeute:	48 mg (92%)
Summenformel:	C ₂₀ H ₁₆ N ₄ O ₂
Molare Masse:	344.4 g/mol
Schmelzpunkt:	> 350 °C

MS:

m/z (rel. Int) = 344 (M^+ , 22%), 329 (4), 208 (12), 172 (28), 115 (30), 98 (40), 97 (100), 73 (30)

HRMS (ESI-TOF):

für $C_{20}H_{17}N_4O_2$ ($[M+H]^+$):

Berechnet: 345.1346

Gefunden: 345.1342

1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6):

δ 8.10 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H, 4-H), 7.61 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, 7-H), 7.50 (dd, $J = 9.3, 2.6$ Hz, 1H, 3-H),
7.44 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, 1-H), 7.34 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H, 10-H), 7.17 (dd, $J = 8.7, 2.6$ Hz, 1H, 8-H),
5.81 (s, 2H, NH_2), 5.21 (s, 2H, 13- CH_2), 3.97 (s, 3H, OCH_3), 2.73 (s, 3H, 14- CH_3)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6):

δ 159.4 (11-C), 158.2 (2-C), 148.9 (5a-C oder 5b-C), 148.6 (5b-C oder 5a-C), 148.4 (9-C),
144.4 (4a-C), 139.8 (6a-C), 138.1 (14-C), 131.6 (4-C), 129.8 (13a-C), 129.1 (14a-C), 128.9 (7-C),
122.3 (3-C und 8-C), 122.2 (10a-C), 106.2 (10-C), 102.4 (1-C), 55.7 (OCH_3), 46.7 (13- CH_2), 14.6
(14- CH_3)

4 LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Pommier, Y. *Nat. Rev. Cancer* **2006**, *6*, 789-802.
- (2) Wang, J.C. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2002**, *3*, 430-440.
- (3) Redinbo, M.R.; Champoux, J.J.; Hol, W.G. *Biochemistry* **2000**, *39*, 6832-6840. The Protein Data Bank, URL: rcsb.org, PDB-Code: 1EJ9.
- (4) Wendorff, T.J.; Schmidt, B.H.; Heslop, P.; Austin, C.A.; Berger, J.M. *J. Mol. Biol.* **2012**, *424*, 109-124. The Protein Data Bank, URL: rcsb.org, PDB-Code: 4FM9.
- (5) Pommier, Y.; Sun, Y.; Huang, S.N.; Nitiss, L. *Nature Review*, **2016**, *17*, 703–717.
- (6) Wang, J.C. *Annu. Rev. Biochem.* **1985**, *54*, 665-697.
- (7) Giovanella, B. C.; Steblin, J. S.; Wall, M.E.; Wani, M.C.; Nicholas, A.W.; Liu, L.E.; Silber, R.; Pomesil, M. *Science (Washington DC)* **1989**, *246*, 1046-1048.
- (8) Wall, M.E.; Wani, M.C.; Cook, C.E.; Palmer, K.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 3888-3890.
- (9) Pizzolato, J.F.; Saltz, L.B. *Lancet* **2003**, *361*, 2235-2242.
- (10) Rowinsky, E.K.; Grochow, L.B.; Hendricks, C.B.; Ettinger, D.S.; Forastiere, A.A.; Hurowitz, L.A.; McGuire, W.P.; Sartorius, S.E.; Lubejko, B.G.; Kaufmann, S.H. *J. Clin. Oncol.* **1992**, *10*, 647-656.
- (11) Shimada, Y.; Yoshino, M.; Wakui, A.; Nakao, I.; Futatsuki, K.; Sakata, Y.; Kambe, M.; Taguchi, T.; Ogawa, N. *J. Clin. Oncol.* **1993**, *11*, 909-913.
- (12) Aktories, K.; Förstermann, U.; Hofmann, F.B.; Starke, K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 11. Auflage, Urban & Fischer Verlag/ Elsevier GmbH, München, 2013, S. 918-920.
- (13) Ulukan, H.; Swaan, P.W. *Drugs* **2002**, *62*, 2039-2057.
- (14) Steinhilber, D.; Schubert-Zsilavec, M.; Roth, H.J. *Medizinische Chemie*, 2. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 2010, S. 490-493.
- (15) Cagir, A.; Jones, S.H.; Gao, R.; Eisenhauer, B.M.; Hecht, S.M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13628-13629.

- (16) Xiao, P.-G., Ed. *A Pictorial Encyclopaedia of Chinese Medical Herbs*, Chuokoronsha-Verlag, Tokio, 1992, Band 3, S. 125.
- (17) Ma, Z.-Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J. *Heterocycles* **1997**, *46*, 541-546.
- (18) Ma, Z.-Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J. *Heterocycles* **1999**, *51*, 1883-1889.
- (19) Ma, Z.-Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J. *Phytochemistry* **2000**, *53*, 1075-1078.
- (20) Xiao, X.-H.; Qiu, G.-L.; Wang, H.-L.; Liu, L.-S.; Zheng, R.-L.; Jia, Z.-J.; Deng, Z.-B. *Chin. J. Pharmacol. Toxicol.* **1988**, *2*, 232-234.
- (21) Liang, J.L.; Cha, H.C.; Jahng, Y. *Molecules* **2011**, *16*, 4861-4883.
- (22) Zhou, H.B.; Liu, G.S.; Yao, Z.J. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 6270-6272.
- (23) Dai, W.; Petersen, J.L.; Wang, K.K. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4665-4667.
- (24) Diels, O.; Alder, K. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1928**, *460*, 98-122.
- (25) Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *50*, 4467-4470.
- (26) Haider, N.; Meng, G.; Roger, S.; Wank, S. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 7066-7072.
- (27) Hendrickson, J.B.; Singer, M.; Hussoin, M. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6913-6914.
- (28) Basha, A.; Lipton, M.; Weinreb, S.M. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *48*, 4171-4174.
- (29) Lipton, M.F.; Basha, A.; Weinreb, S.M. *Org. Synth.* **1979**, *59*, 49-53.
- (30) Haider, N.; Nuß, S. *Molecules* **2012**, *17*, 11363-11378.
- (31) Atia, M.; Bogdán, D.; Brügger, M.; Haider, N.; Mátyus, P. *Tetrahedron* **2017**, *73*, 3231-3239.
- (32) González-Ruiz, V.; Pascua, I.; Fernández-Marcelo, T.; Ribelles, P.; Bianchini, G.; Sridharan, V.; Iniesta, P.; Ramos, M.T.; Olives, A.I.; Martín, M.A.; Menéndez, J.C. *PLoS One* **2014**, *9*, e95998.
- (33) Ibric, A.; Eckerstorfer, S.; Eder, M.; Louko, I.; Tunjic, L.; Heffeter, P.; Schueffl, H.H.; Marian, B.; Haider, N. *Molecules* **2019**, *24*, 716.
- (34) Schneider, E.; Haider, N. *Molbank* **2019**, M1050.
- (35) Lee, C. Diplomarbeit, Universität Wien, 2019.

- (36) Windisch, D. Diplomarbeit, Universität Wien, 2019.
- (37) Ibric, A. geplante Dissertation, Universität Wien.
- (38) Kernstock, K. Diplomarbeit, Universität Wien, 2019.
- (39) Schuckert, C. Diplomarbeit, Universität Wien, 2019.
- (40) Nacro, K.; Zha, C.; Guzzo, P.R.; Herr, R.J.; Peace, D.; Friedrich, T.D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 4237–4246.
- (41) Cagir, A.; Eisenhauer, B.M.; Gao, R.; Thomas, S.J.; Hecht, S.M. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 6287–6299.
- (42) Baker, B.R.; Almaula, P.I. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 4672-4674.
- (43) Gege, C.; Schneider, M.; Chevrier, C.; Deng, H.; Sucholeiki, I.; Gallagher, B. M. Jr.; Bosies, M.; Steeneck, C.; Wu, X.; Hochguertel, M.; Nolte, B.; Taveras, A. *PCT Int. Appl.* **2008**, WO 2008063668.
- (44) Deady, L.W.; Sette, R.M.D. *Aust. J. Chem.* **2001**, *54*, 177-180.
- (45) Haider, N.; Tropper, K. *Molbank*, **2015**, M849.

5 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Ich habe mich bemüht, sämtliche Inhaber der Bildrechte ausfindig zu machen und ihre Zustimmung zur Verwendung der Bilder in dieser Arbeit eingeholt. Sollte dennoch eine Urheberrechtsverletzung bekannt werden, ersuche ich um Meldung bei mir.

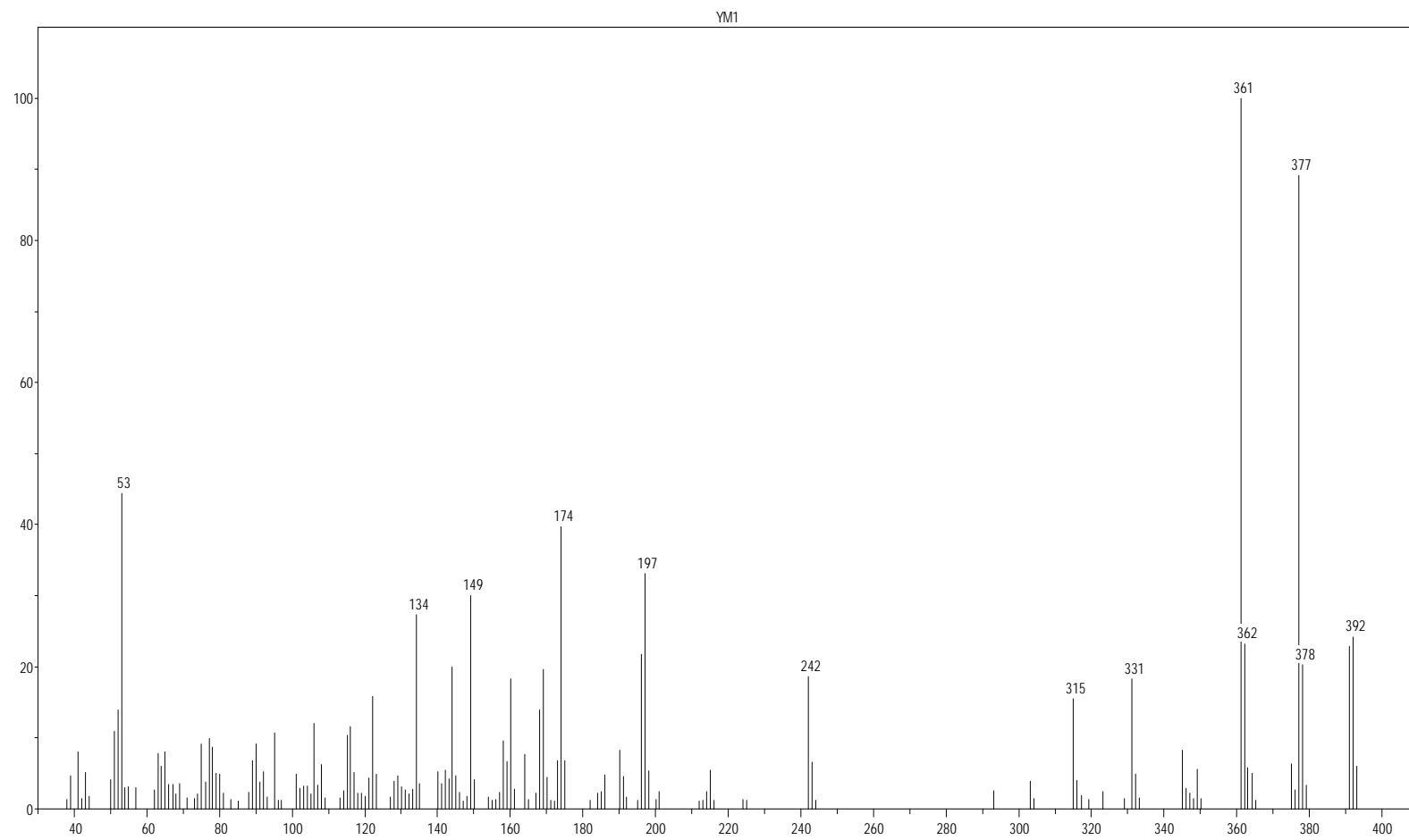
Abbildung 1: Humane Topoisomerase I im Komplex mit DNA (orange) (PDB Code: 1EJ9) ³	3
Abbildung 2: Humane Topoisomerase II im Komplex mit DNA (orange) (PDB Code: 4FM9) ⁴	3
Abbildung 3: Camptothecin.....	5
Abbildung 4: Topotecan	7
Abbildung 5: Irinotecan	7
Abbildung 6: Wirkmechanismus von Topoisomerase-I-Hemmern nach Lit. ¹⁴	9
Abbildung 7: Zytostatisch wirksame Inhaltsstoffe aus Peganum nigellastrum: Die Luotonine	10
Abbildung 8: Struktureller Vergleich von Luotonin A mit Camptothecin.....	11
Abbildung 9: (1) Docking-Pose von Luotonin A mit hervorgehobener Position von Arg364 des Enzyms. (2) Interaktion der Ring-B-substituierten Luotonin-A-Derivate mit Asn352 und dadurch veränderte Docking-Pose ³²	21
Abbildung 10: : (1) ähnliche Docking Pose einiger Luotonin-A-Derivate mit jener von Topotecan. (2) unterschiedliche Docking-Pose der an Ring B Dimethylphenyl-substituierten Luotonin-A-Derivate ³² ..	21
Abbildung 11: Die Zielverbindung	22
Abbildung 12: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazoline-2- carboxamide (4) und N,3- Di(but-2-yn-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4- dihydrochinazoline-2-carboxamide (4'): ¹ H-NMR-Signale (blau) und ¹³ C-NMR-Signale (rot) in ppm ...	28
Abbildung 13: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6): ¹ H-NMR-Signale (blau) und ¹³ C-NMR-Signale (rot) in ppm.....	35

6 SCHEMENVERZEICHNIS

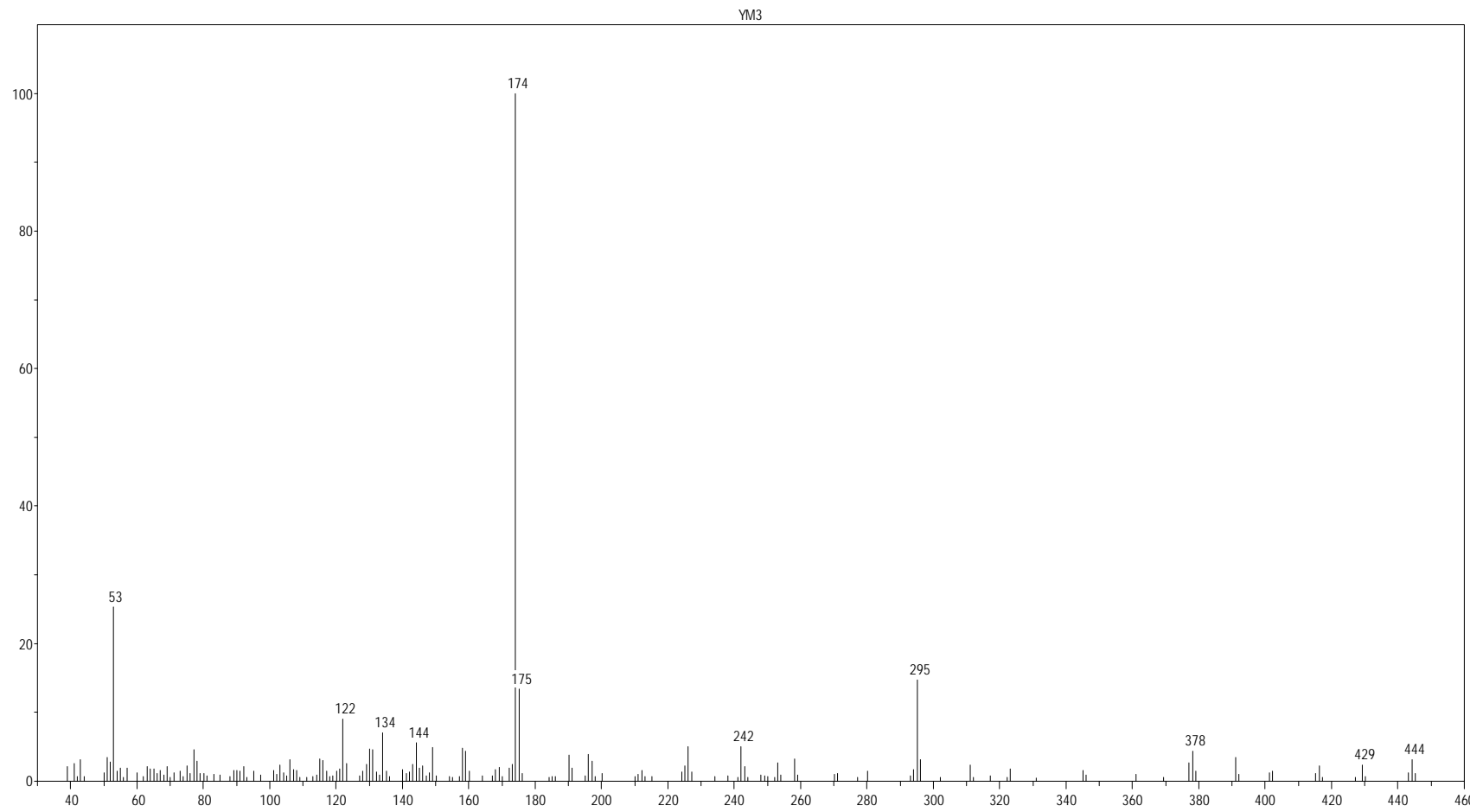
Schema 1: Mechanismus der Bildung des kovalenten Topoisomerase-DNA-Komplexes.....	2
Schema 2: pH-abhängiges Gleichgewicht zwischen Lactonform und offenkettiger Form von Camptothecin.....	5
Schema 3: Hypothetischer Biosyntheseweg nach Ma <i>et al.</i> ¹⁷	12
Schema 4: allgemeines Schema einer Diels-Alder-Reaktion.....	14
Schema 5: Anwendung der Diels-Alder-Reaktion in der „nördlichen“ Syntheseroute zur Generierung der Ringe B und C.....	14
Schema 6: allgemeines Schema einer Sonogashira-Kupplung.....	14
Schema 7: Anwendung der Sonogashira-Kupplung in der „nördlichen“ Syntheseroute zur Bildung des Phenylacetyls.....	15
Schema 8: Die „nördliche“ Syntheseroute nach Haider <i>et al.</i> ²⁶	15
Schema 9: Synthese von Luotonin A nach Zhou <i>et al.</i> ²²	17
Schema 10: Die „südliche“ Syntheseroute nach Haider <i>et al.</i> ³⁰	19
Schema 11: Herstellung des Chinazolinoncarbonsäureesters (1).....	24
Schema 12: Nitrierung der Chinazolinoncarbonsäureesters in <i>meta</i> -Position.....	25
Schema 13: Anwendung der Weinreb-Amidierung zur Herstellung des Anilids (3).....	25
Schema 14: Erhöhung der Nukleophilie von Anisidin durch AlMe ₃ im Sinne einer Weinreb-Amidiertung ²⁸	26
Schema 15: Reaktionsstopp durch Hydrolyse von AlMe ₃	26
Schema 16: Alkylierung des Nitrochinazolinocarboxamides (3).....	29
Schema 17: <i>in-situ</i> -Herstellung des Hendrickson-Reagens aus Triphenylphosphinoxid und Triflathanhydrid ²⁷	31
Schema 18: Mechanismus der [4+2]-Cycloaddition zur Bildung des Luotonin-A-Grundkörpers.....	31
Schema 19: Reduktion der Nitrogruppe zur Aminogruppe mittels katalytischer Transferhydrierung.....	33

7 APPENDIX

7.1 SPEKTREN

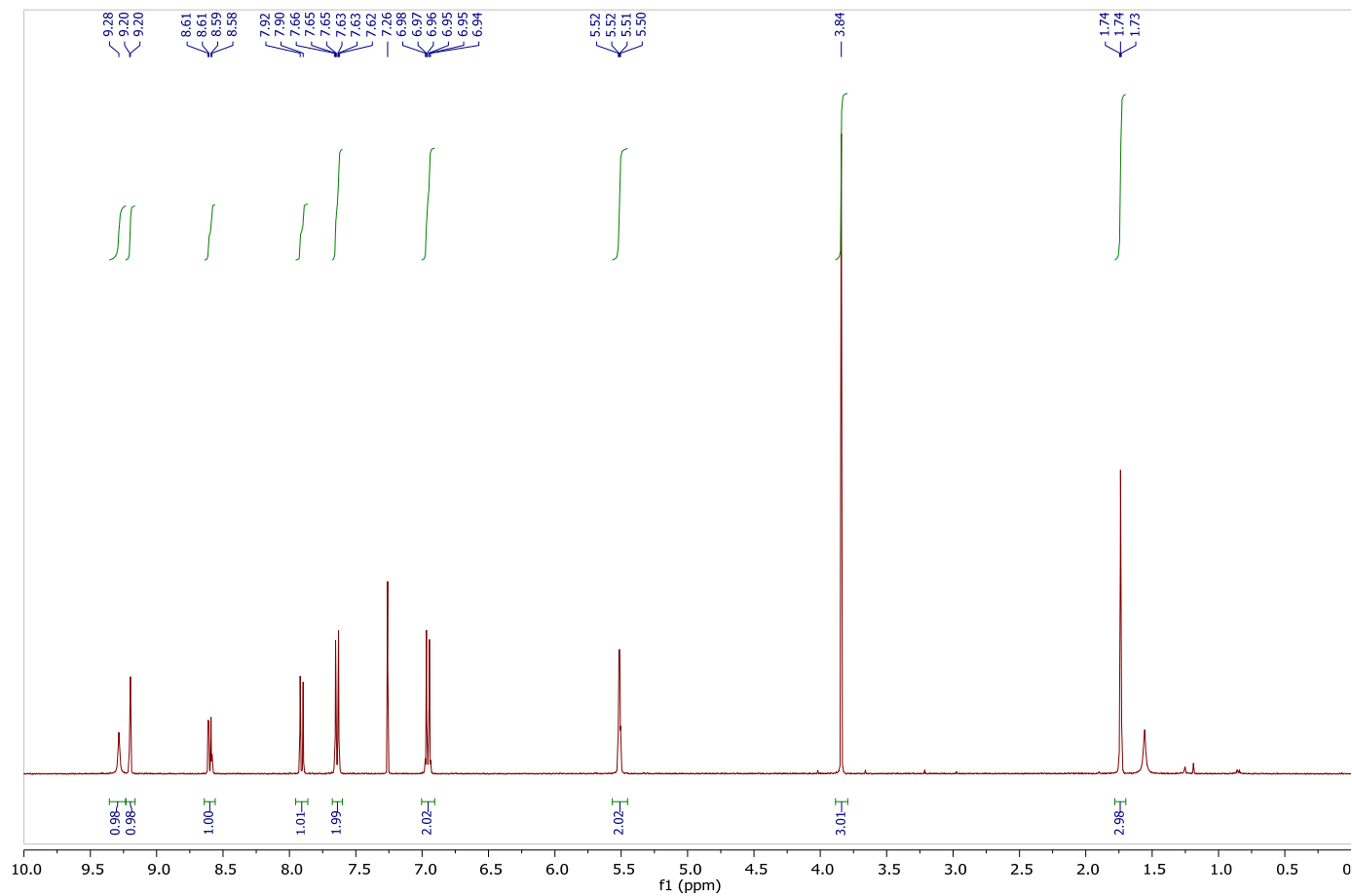


Tafel 1: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)



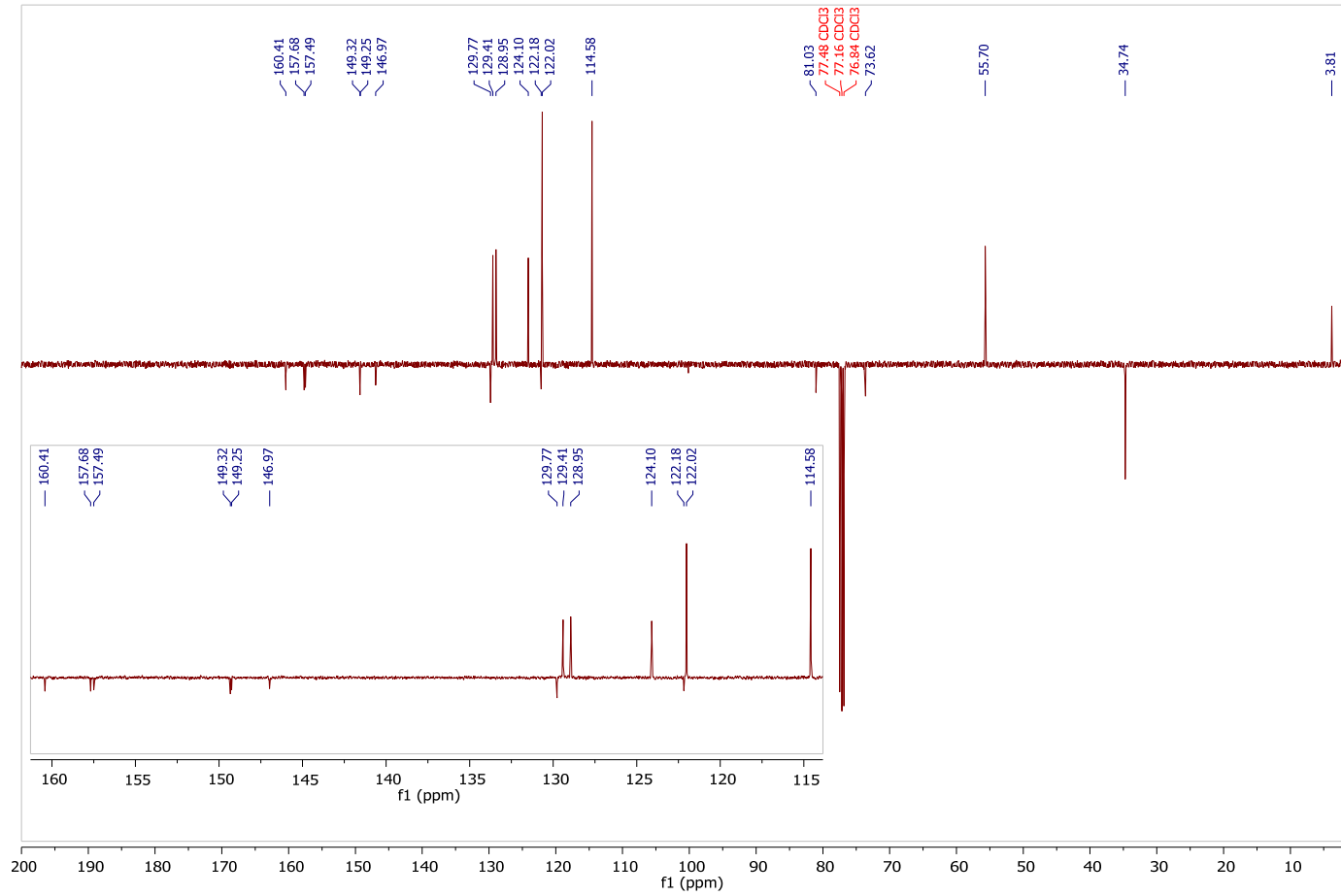
Tafel 2: *N*,3-Di(*but*-2-*in*-1-yl)-*N*-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazoline-2-carboxamid (Nebenprodukt der Alkylierung)

YM1; 3-(But-2-yn-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide 1H / CDCl3



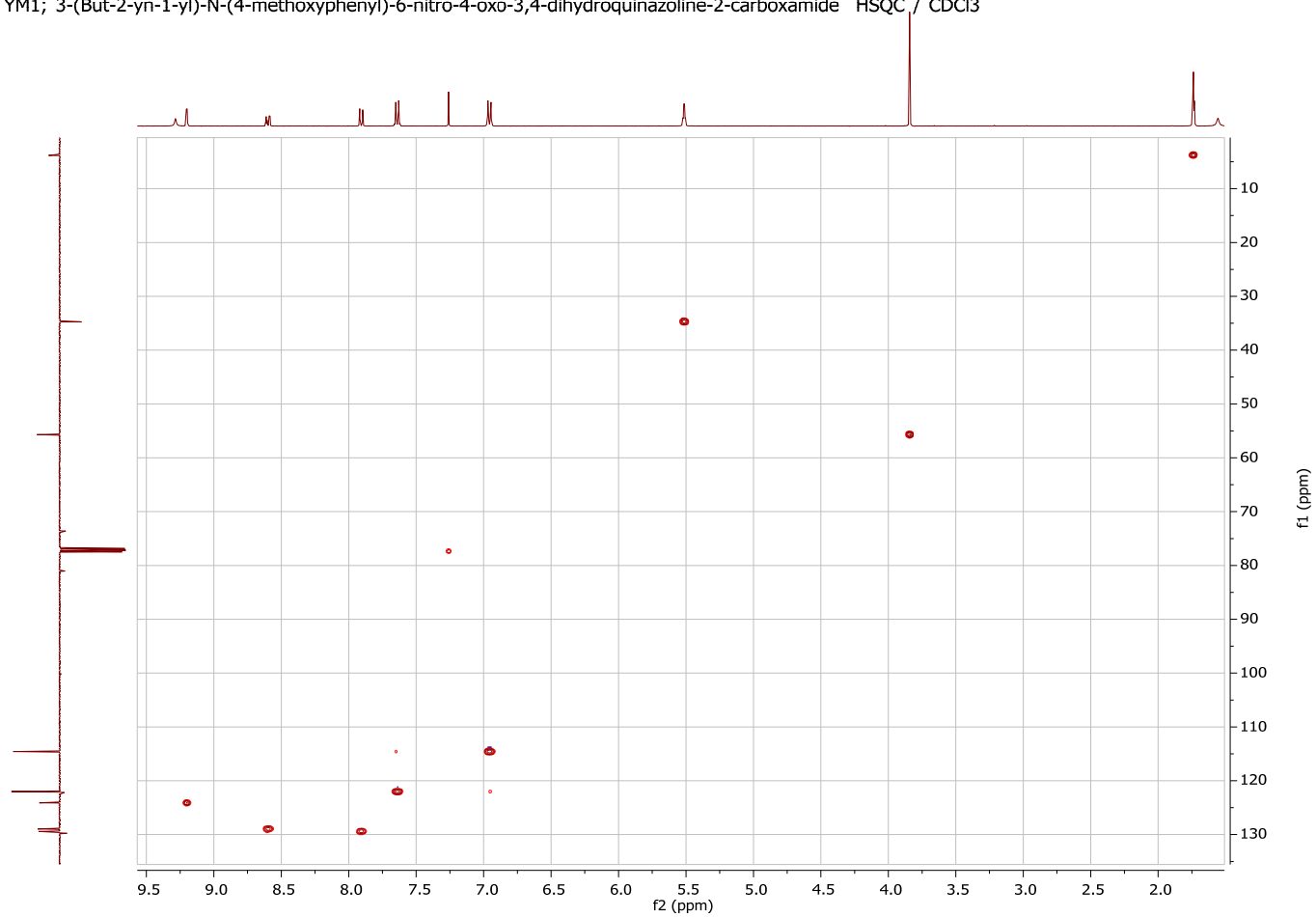
Tafel 3: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

YM1; 3-(But-2-yn-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide C13APT / CDCl3



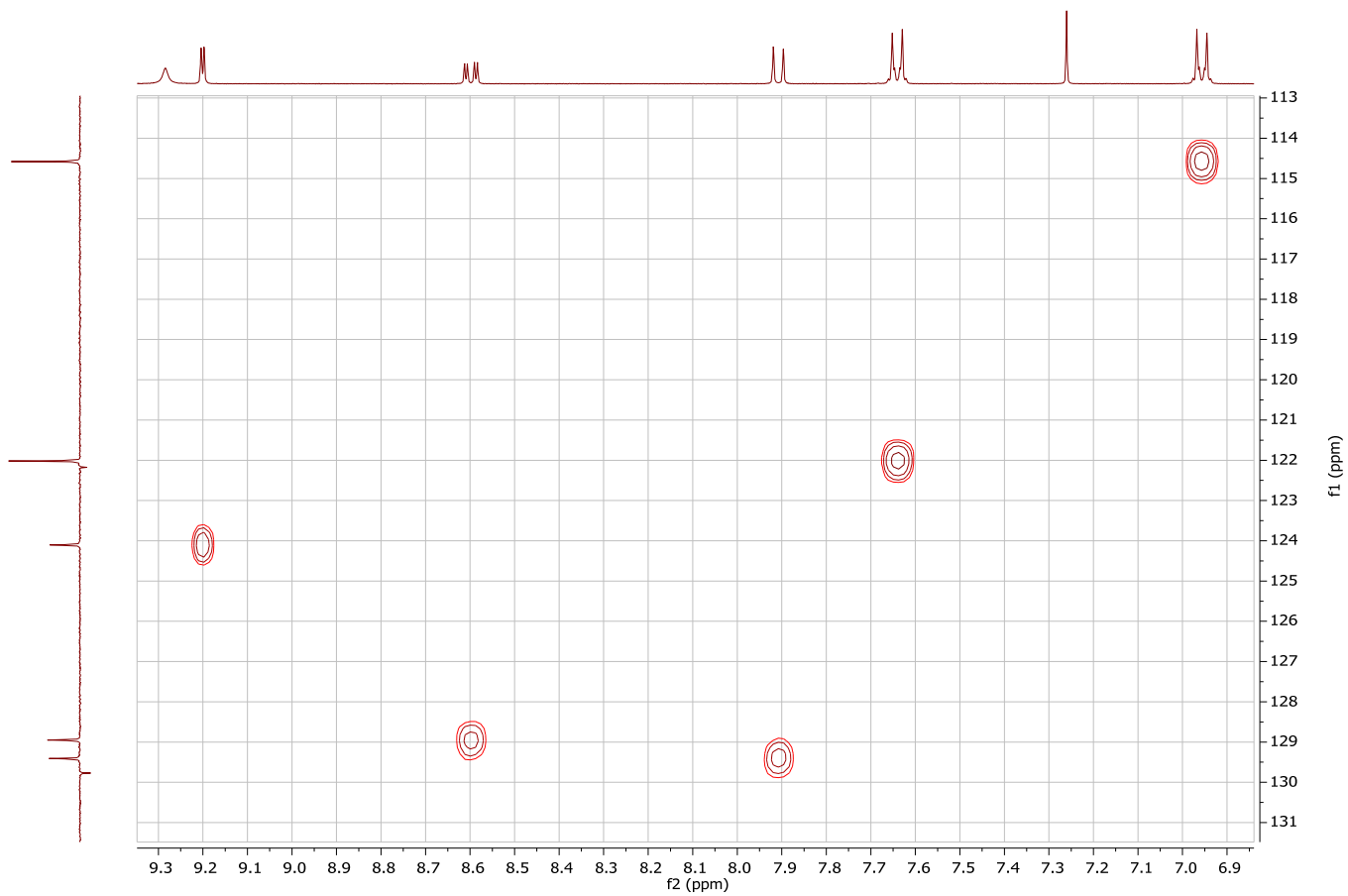
Tafel 4: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

YM1; 3-(But-2-yn-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-carboxamide HSQC / CDCl₃



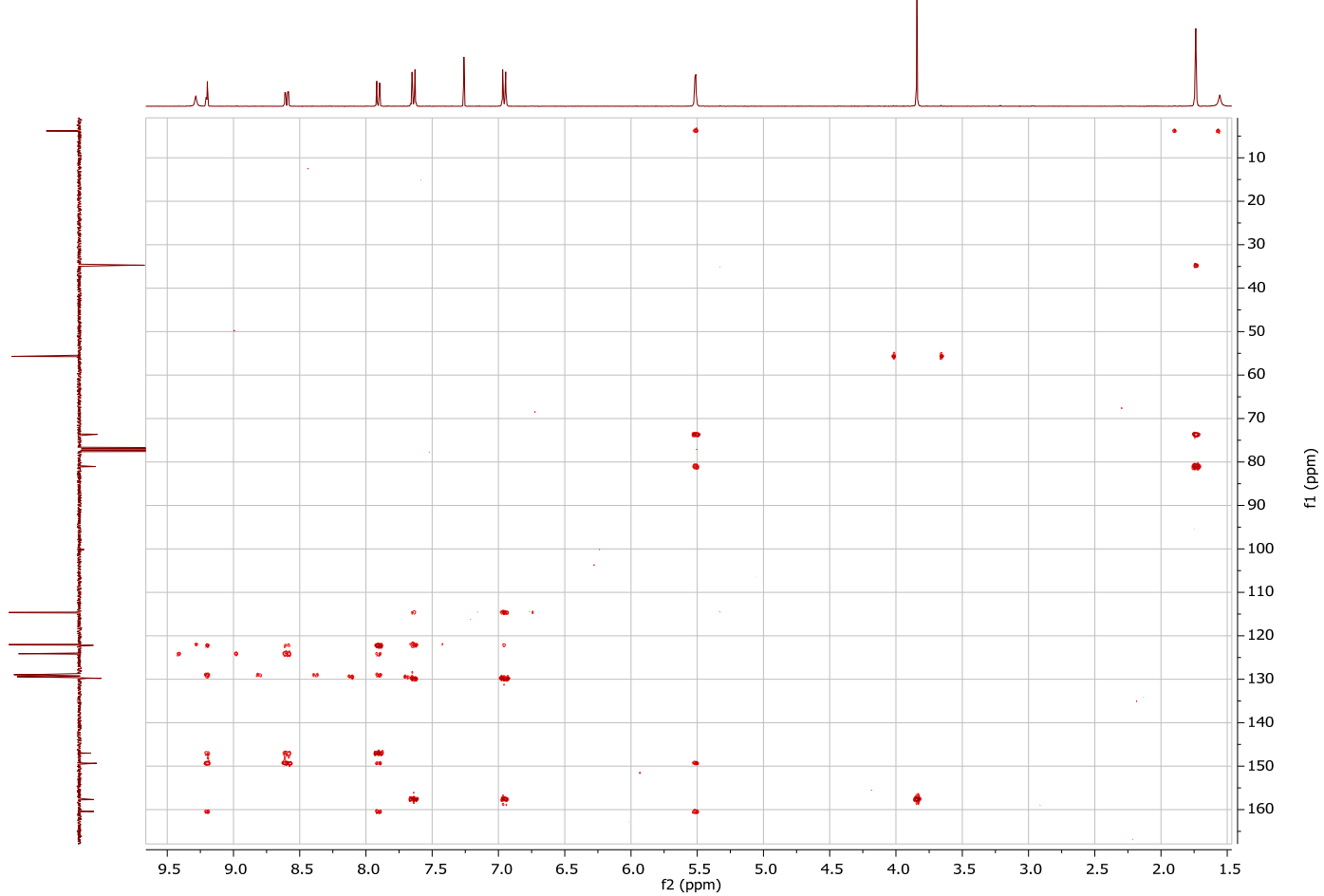
Tafel 5: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

YM1; 3-(But-2-yn-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / CDCl₃



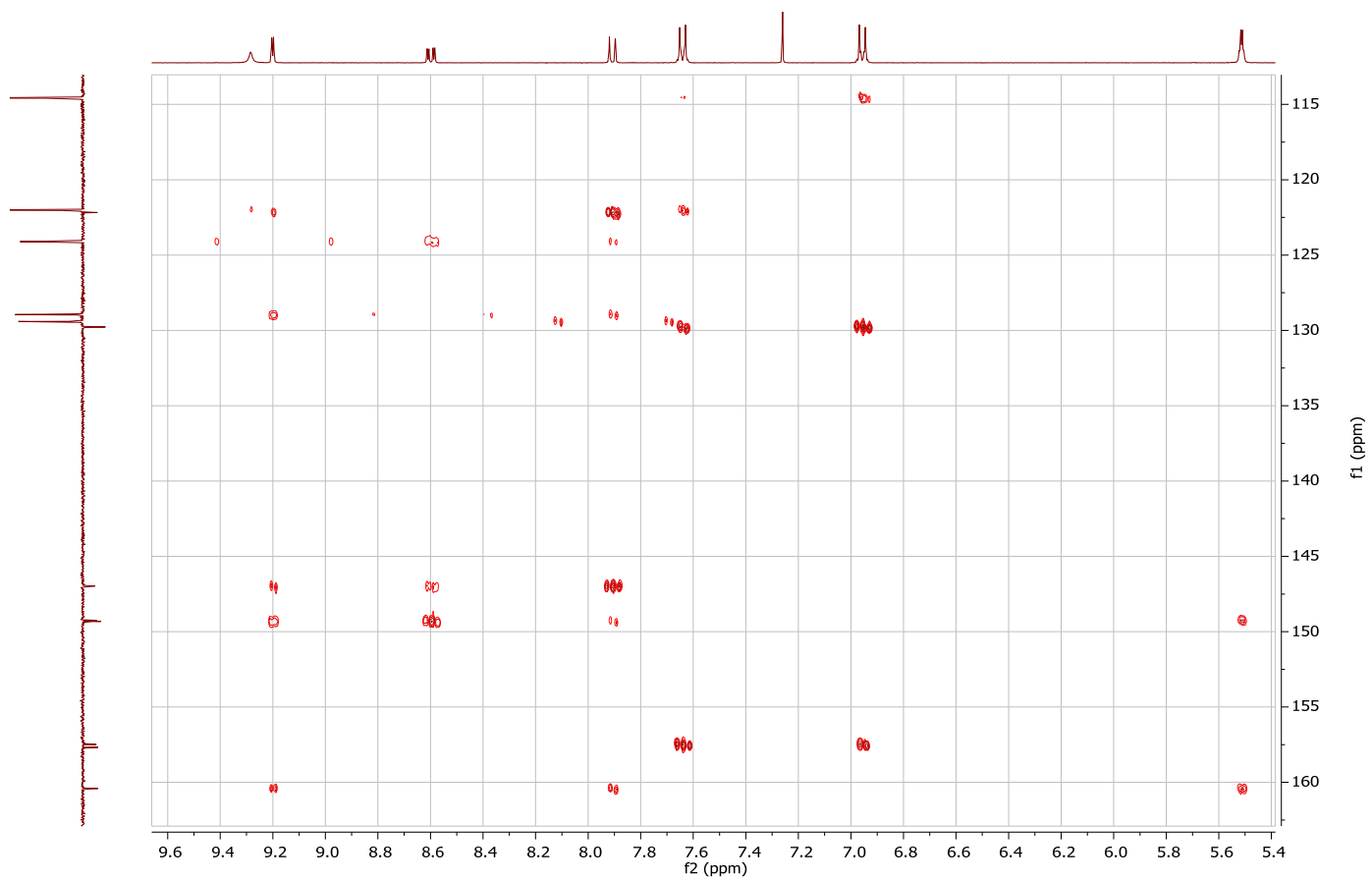
Tafel 6: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

YM1; 3-(But-2-yn-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / CDCl₃



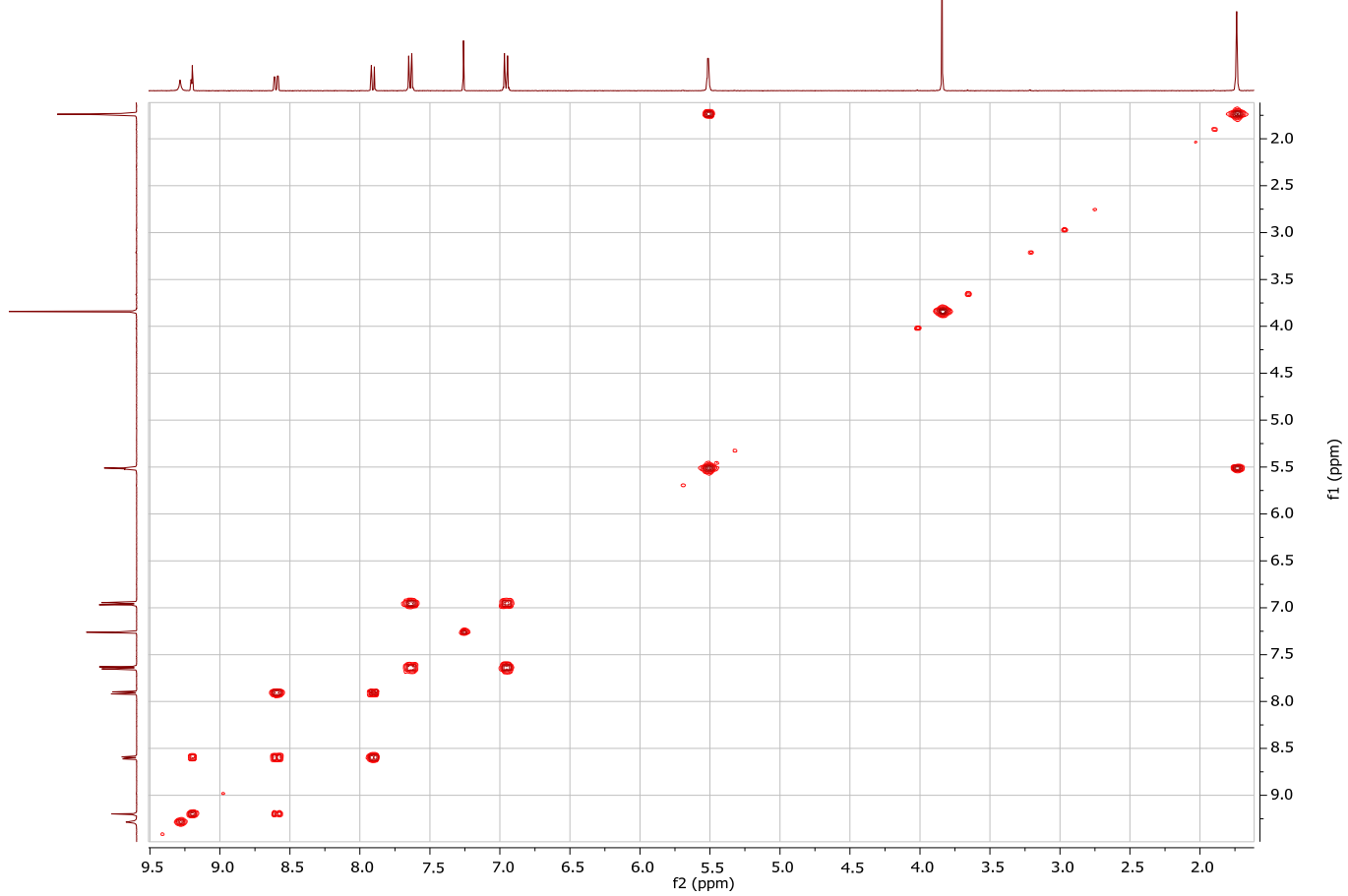
Tafel 7: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

YM1; 3-(But-2-yn-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / CDCl₃



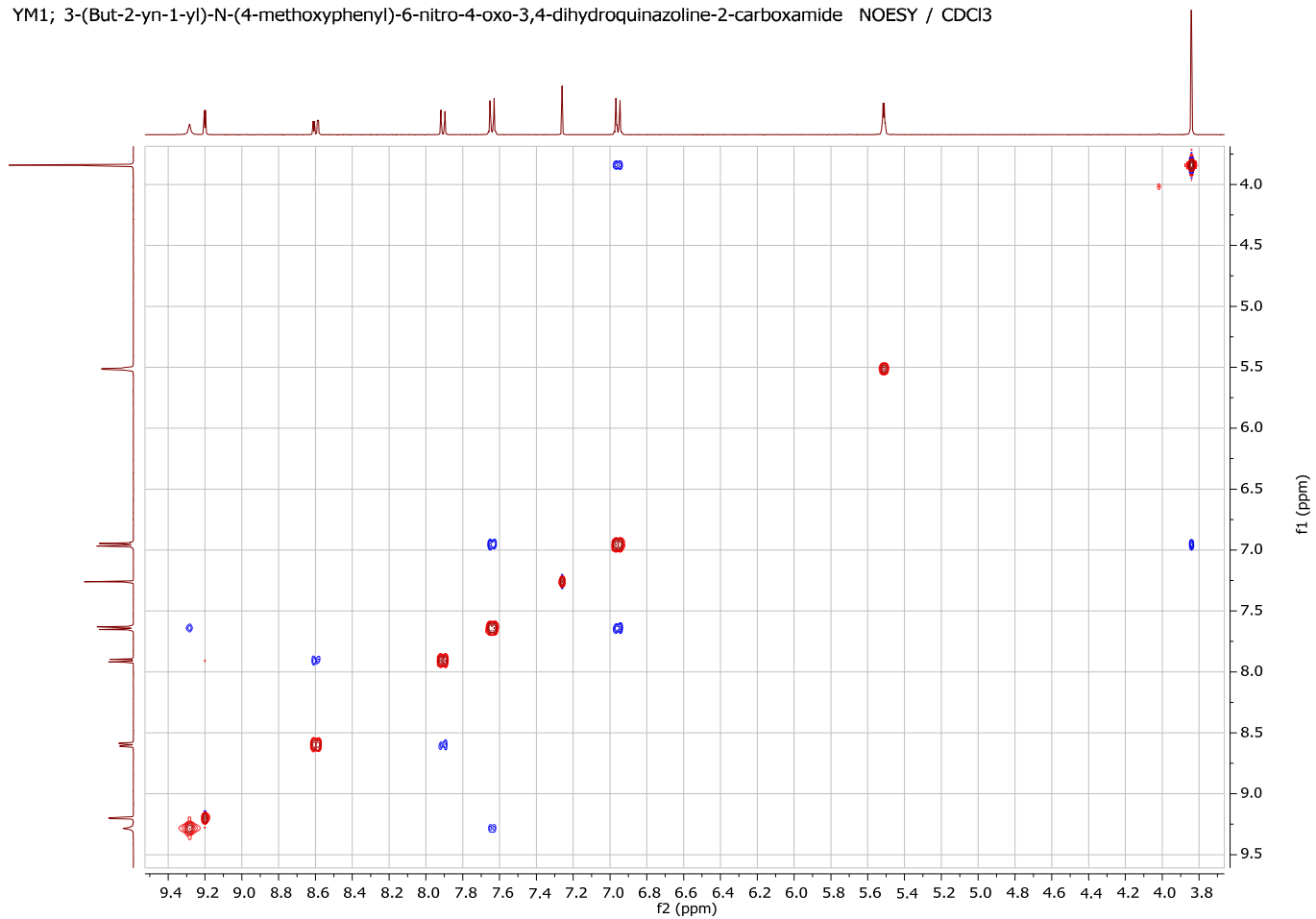
Tafel 8: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

YM1; 3-(But-2-yn-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide COSY / CDCl3

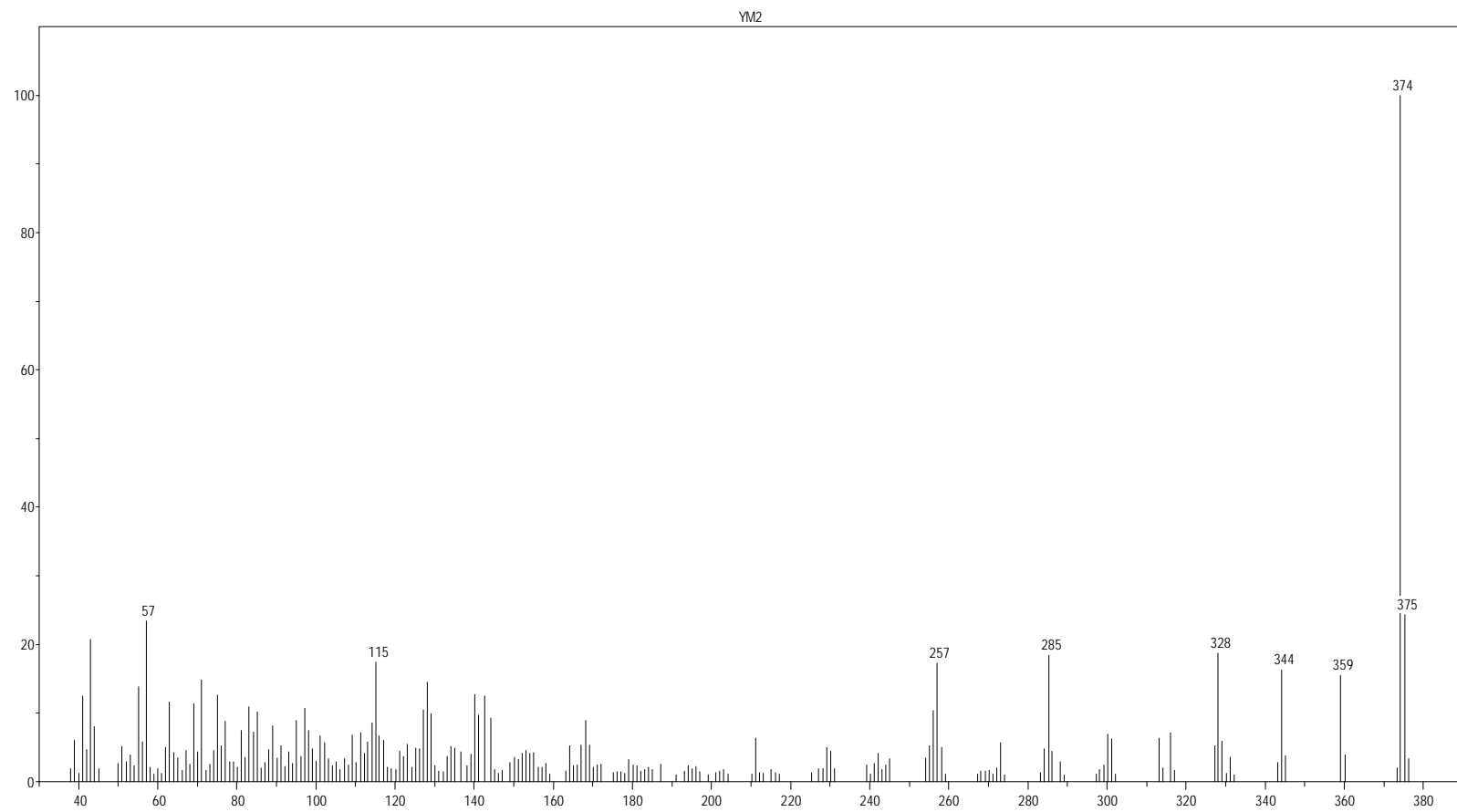


Tafel 9: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

YM1; 3-(But-2-yn-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide NOESY / CDCl3

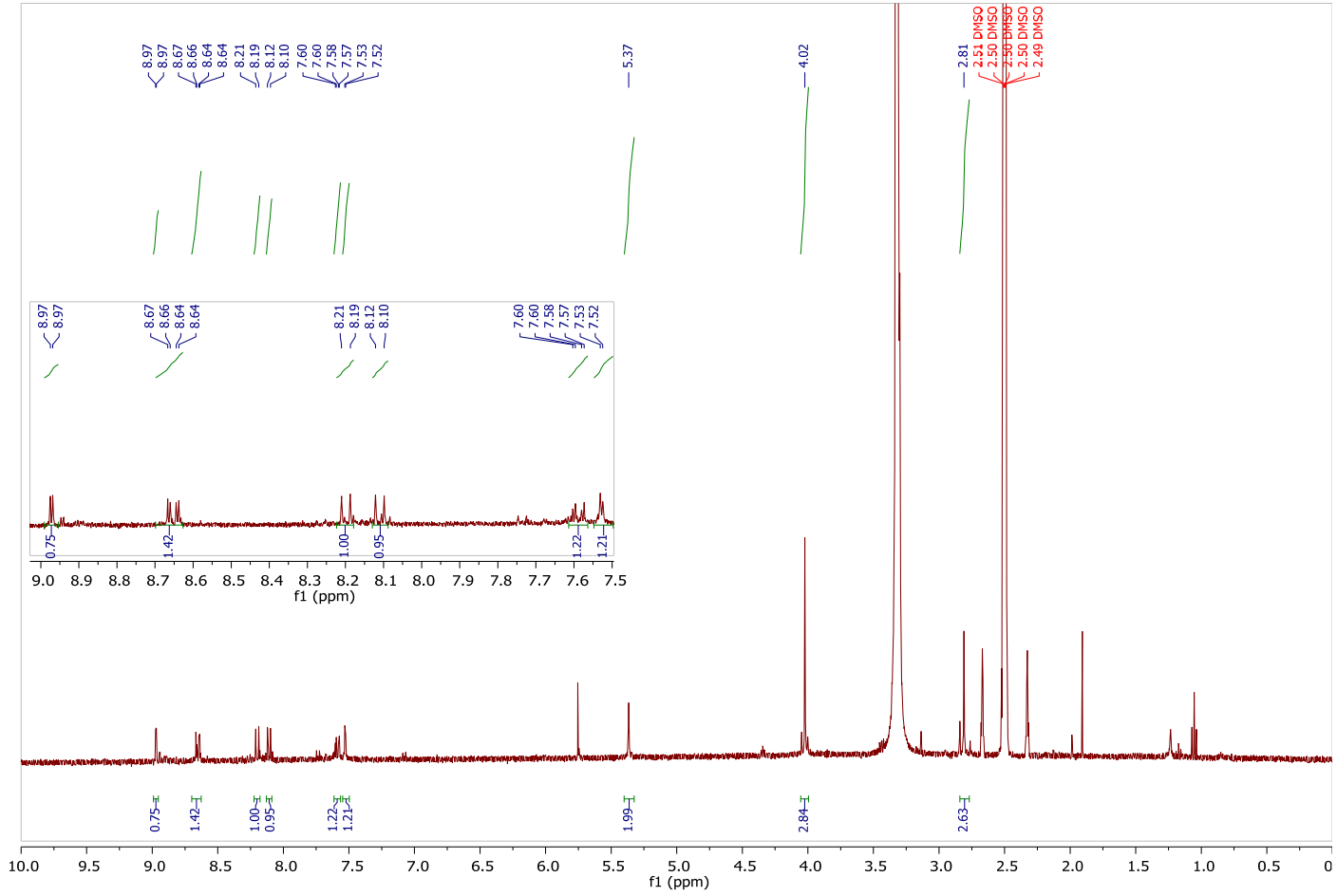


Tafel 10: 3-(But-2-in-1-yl)-N-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

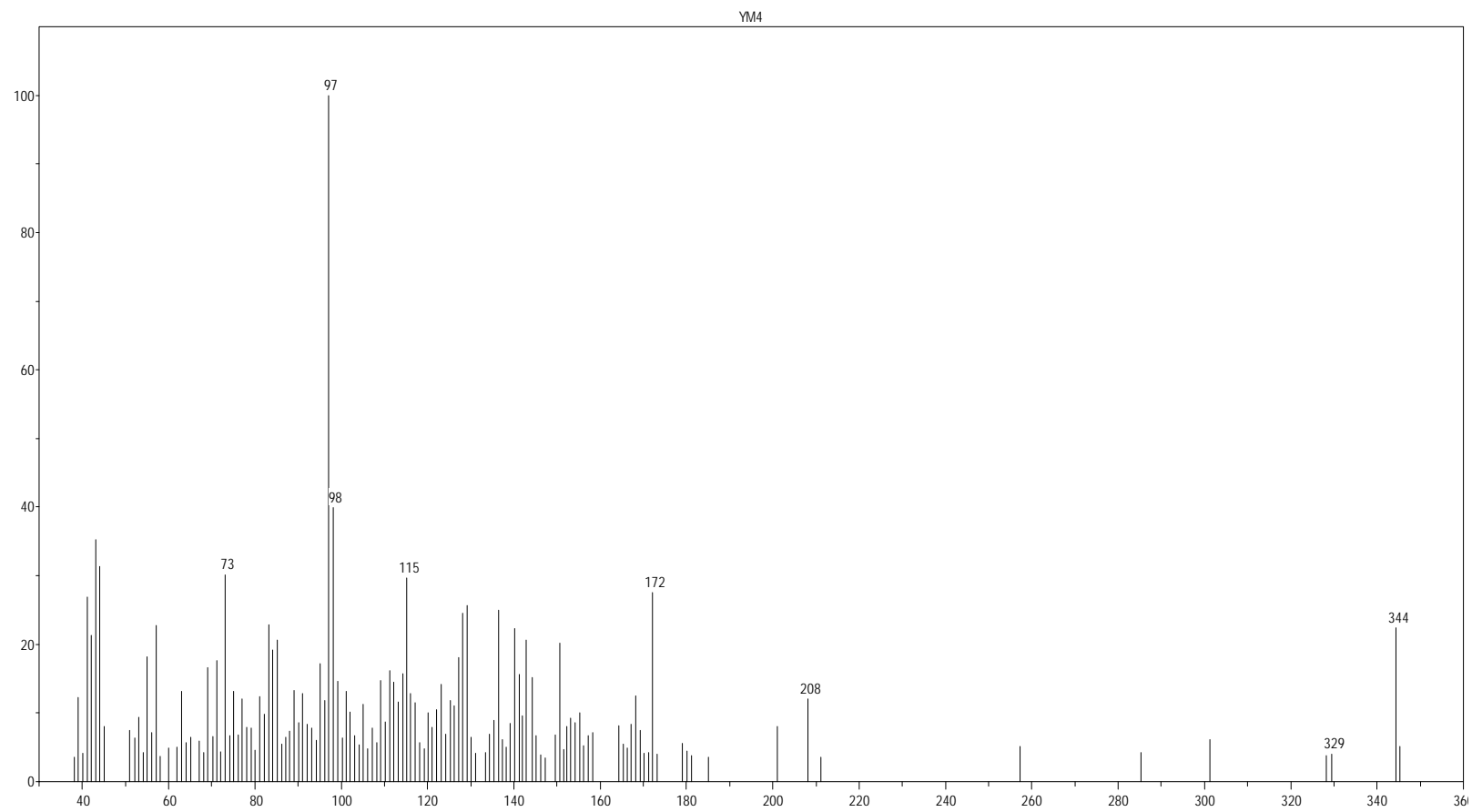


Tafel 11: 2-Methoxy-14-methyl-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (5)

YM2; 2-Methoxy-14-methyl-9-nitroquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one 1H / DMSO

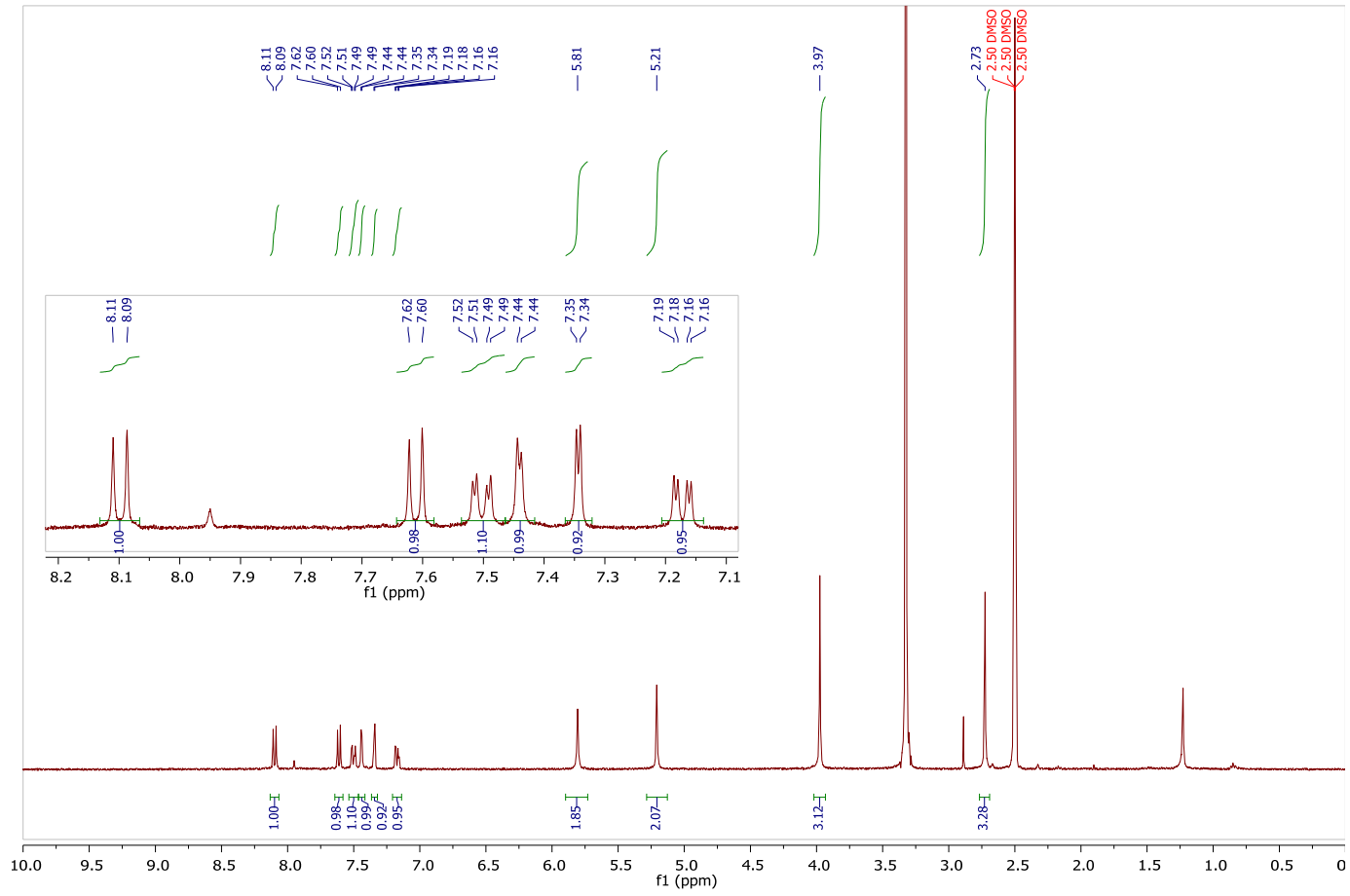


Tafel 12: 2-Methoxy-14-methyl-9-nitroquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (5)



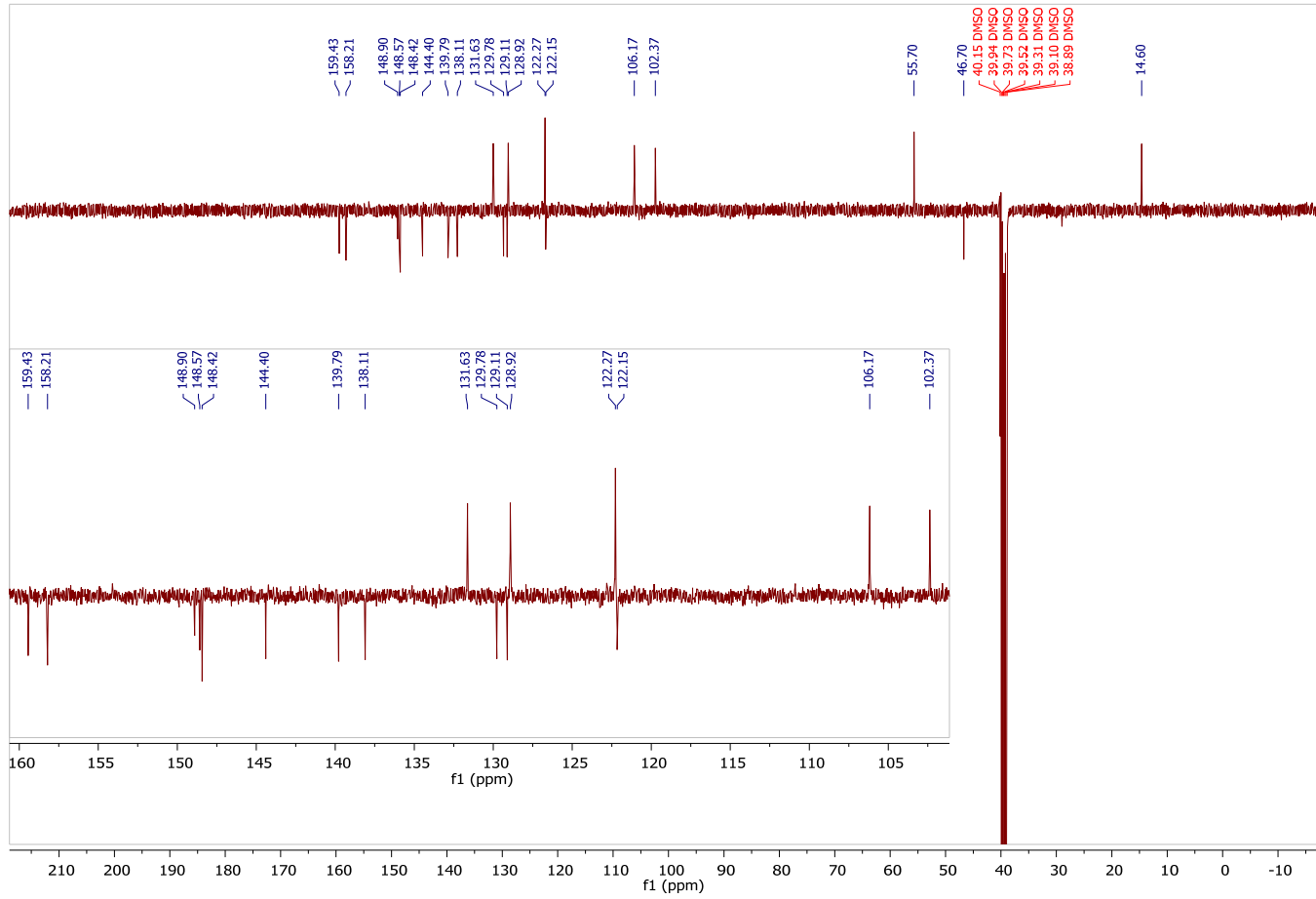
Tafel 13: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

YM4; 9-Amino-2-methoxy-14-methylquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one 1H / DMSO



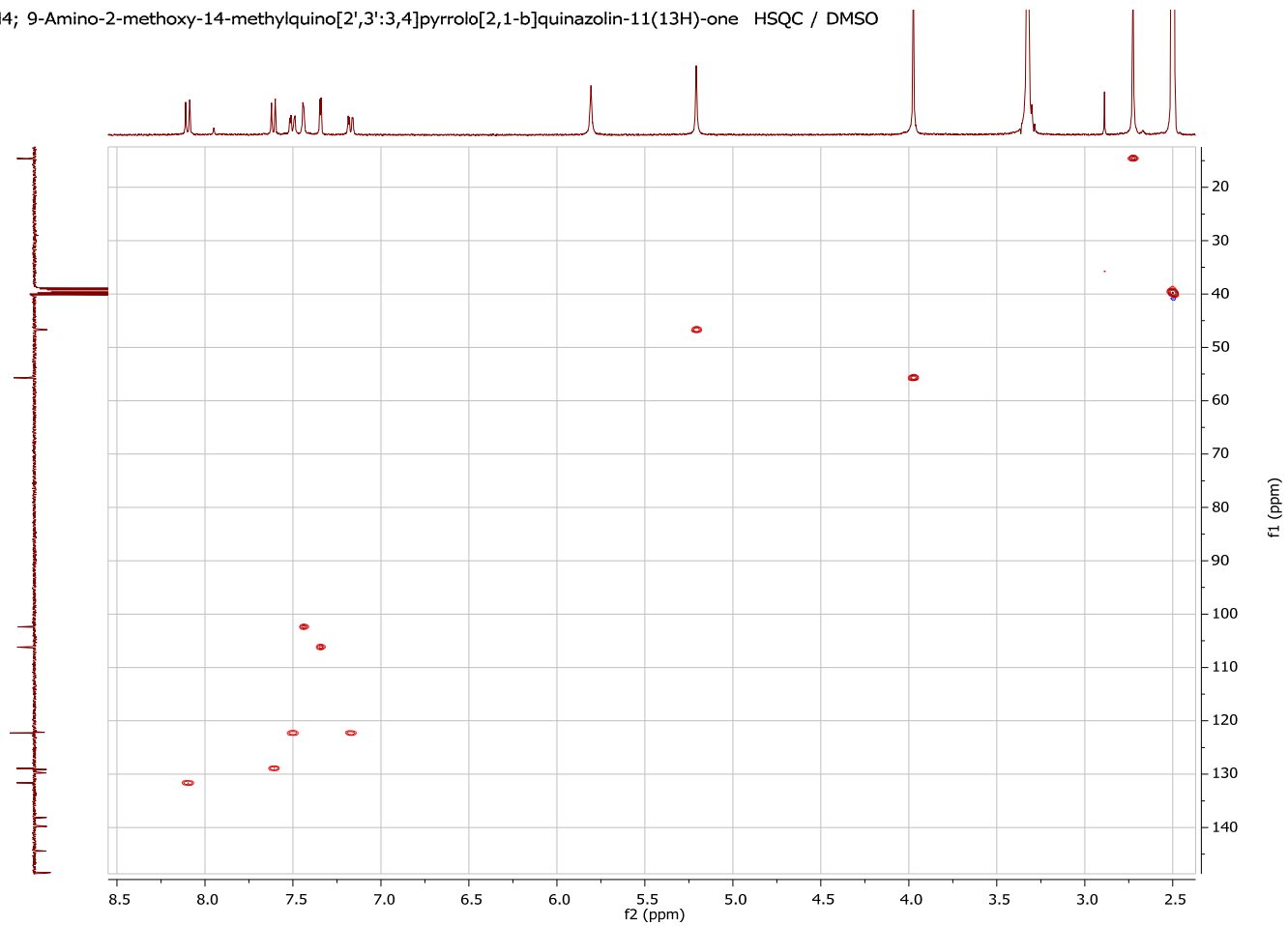
Tafel 14: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

YM4; 9-Amino-2-methoxy-14-methylquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one C13APT / DMSO



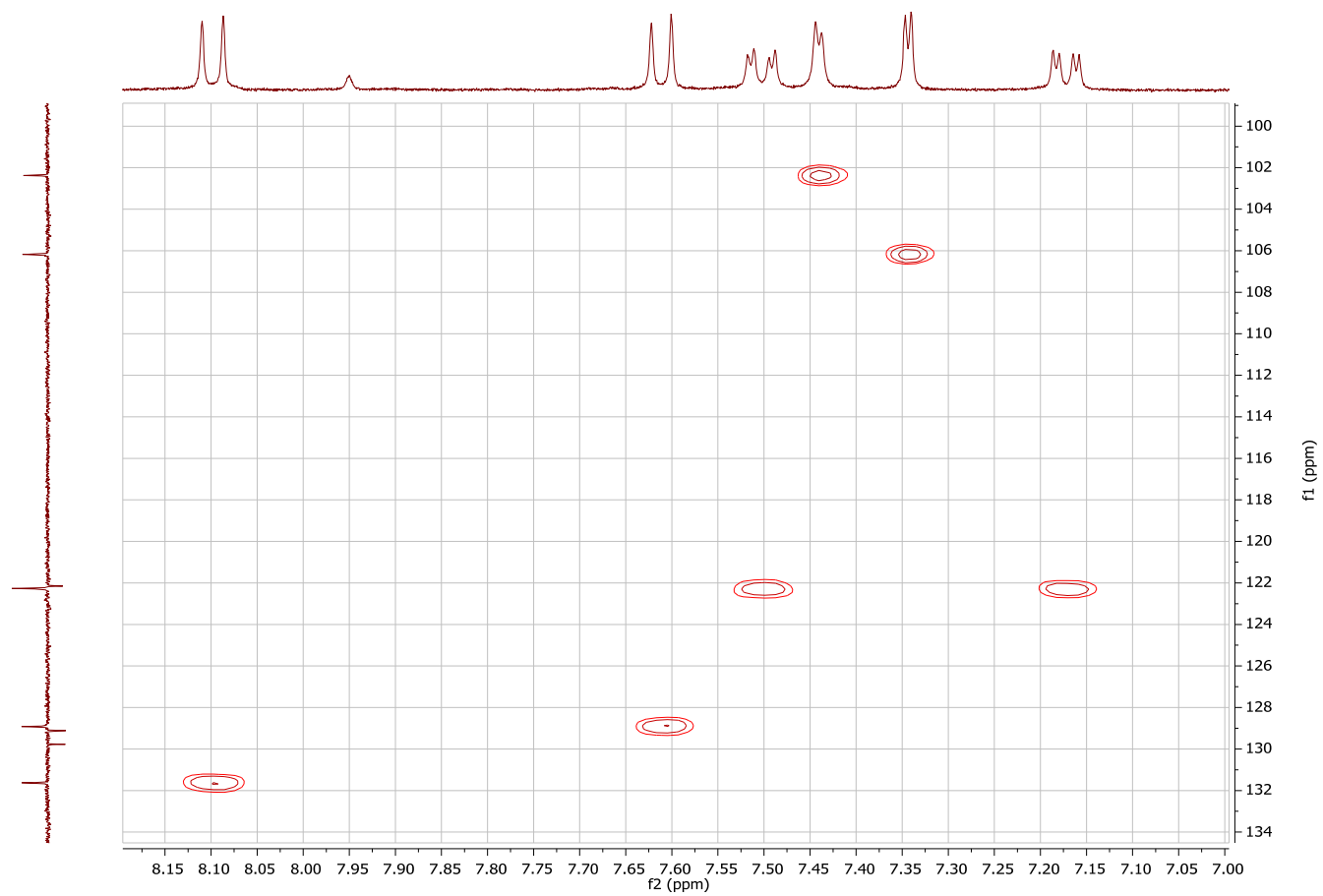
Tafel 15: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

YM4; 9-Amino-2-methoxy-14-methylquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO



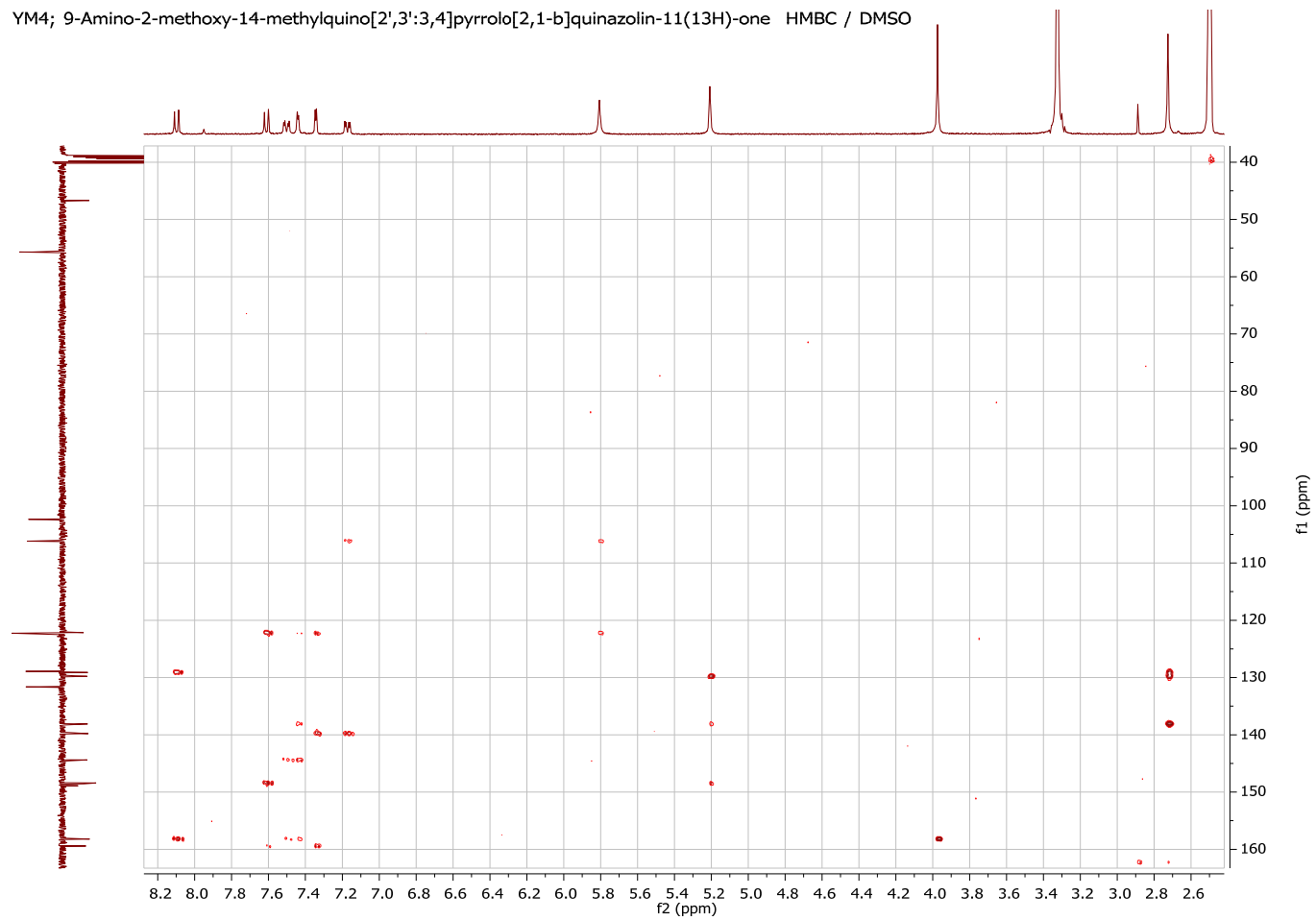
Tafel 16: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

YM4; 9-Amino-2-methoxy-14-methylquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO



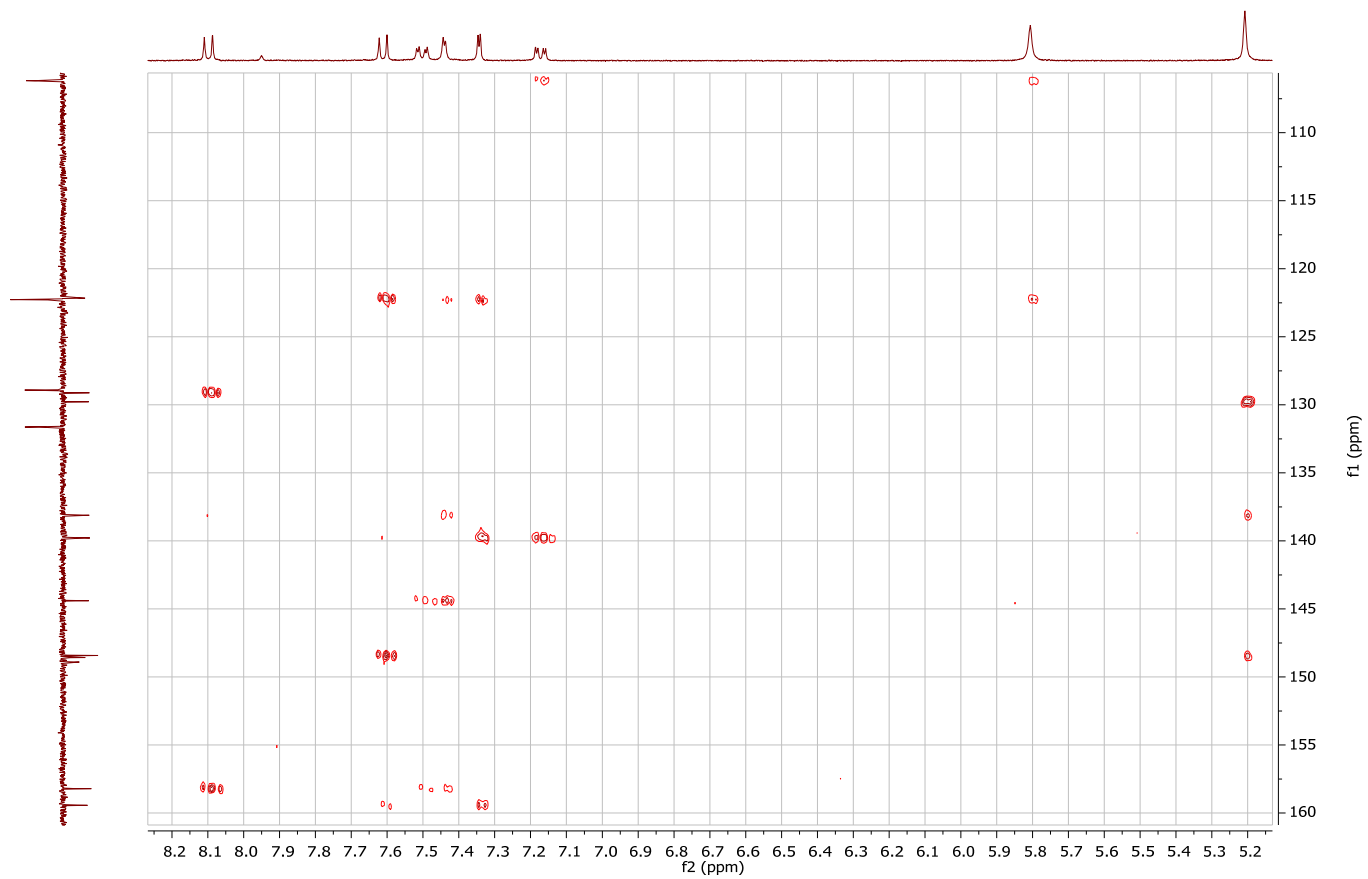
Tafel 17: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

YM4; 9-Amino-2-methoxy-14-methylquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HMBC / DMSO



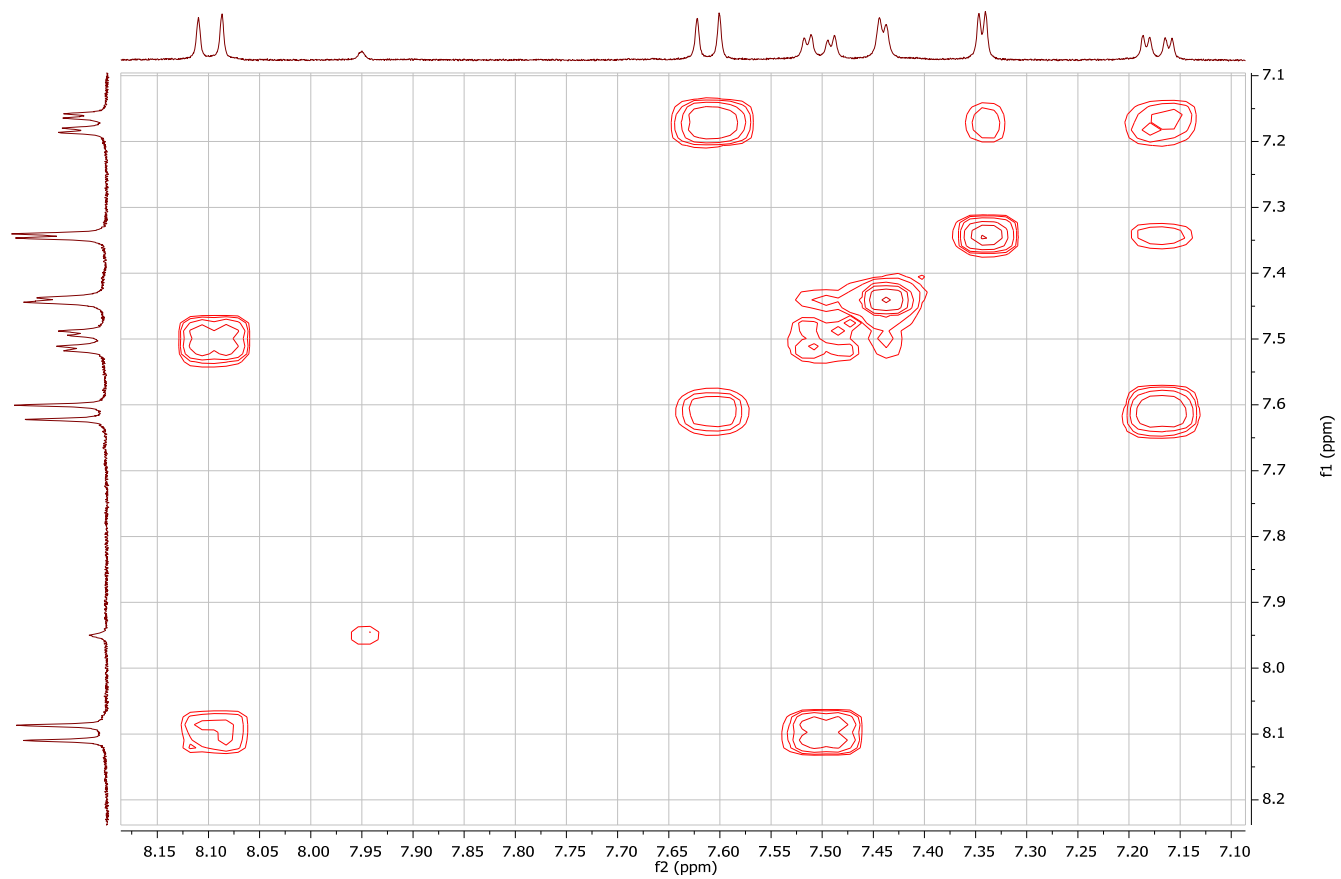
Tafel 18: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

YM4; 9-Amino-2-methoxy-14-methylquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HMBC / DMSO



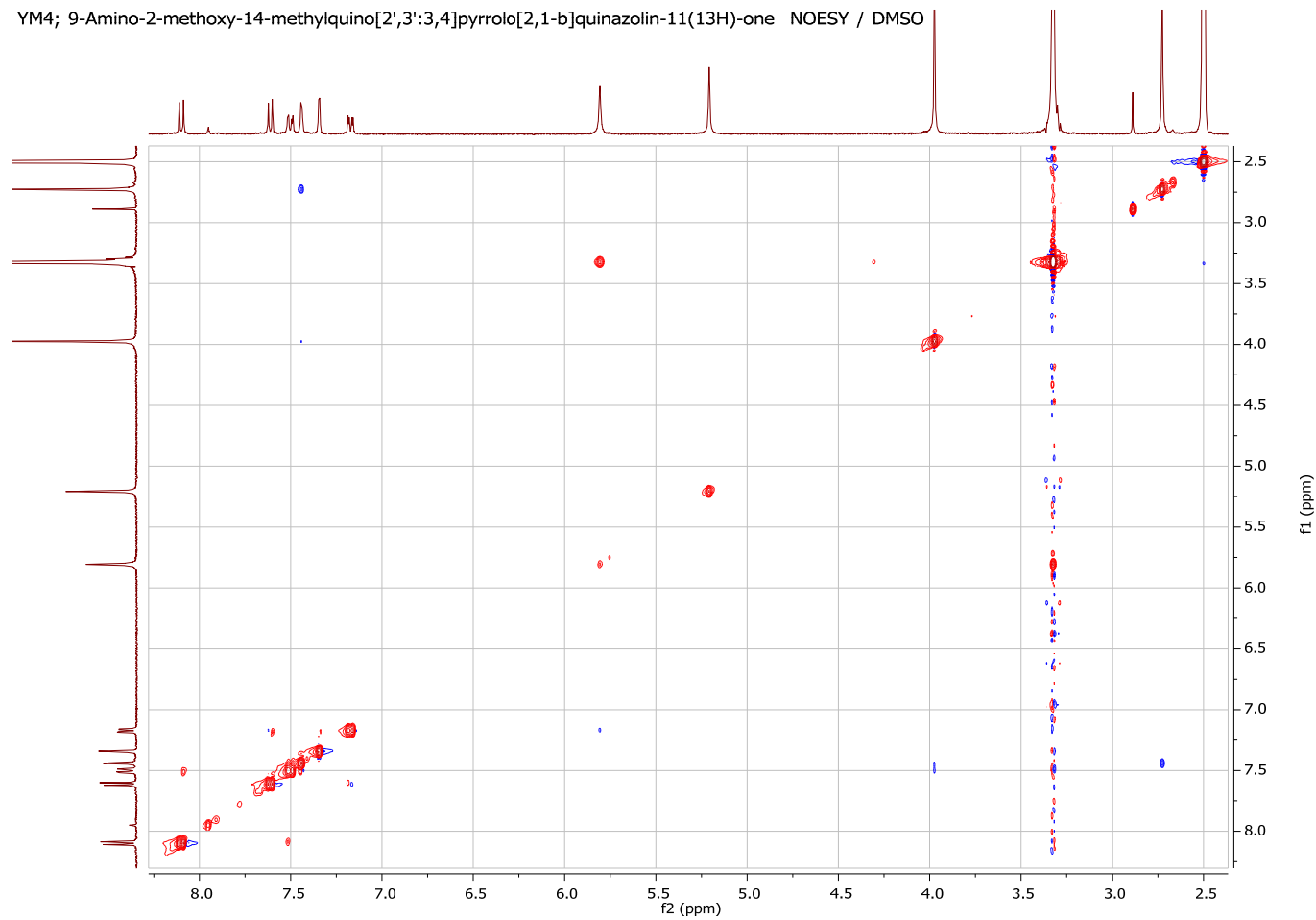
Tafel 19: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

YM4; 9-Amino-2-methoxy-14-methylquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / DMSO



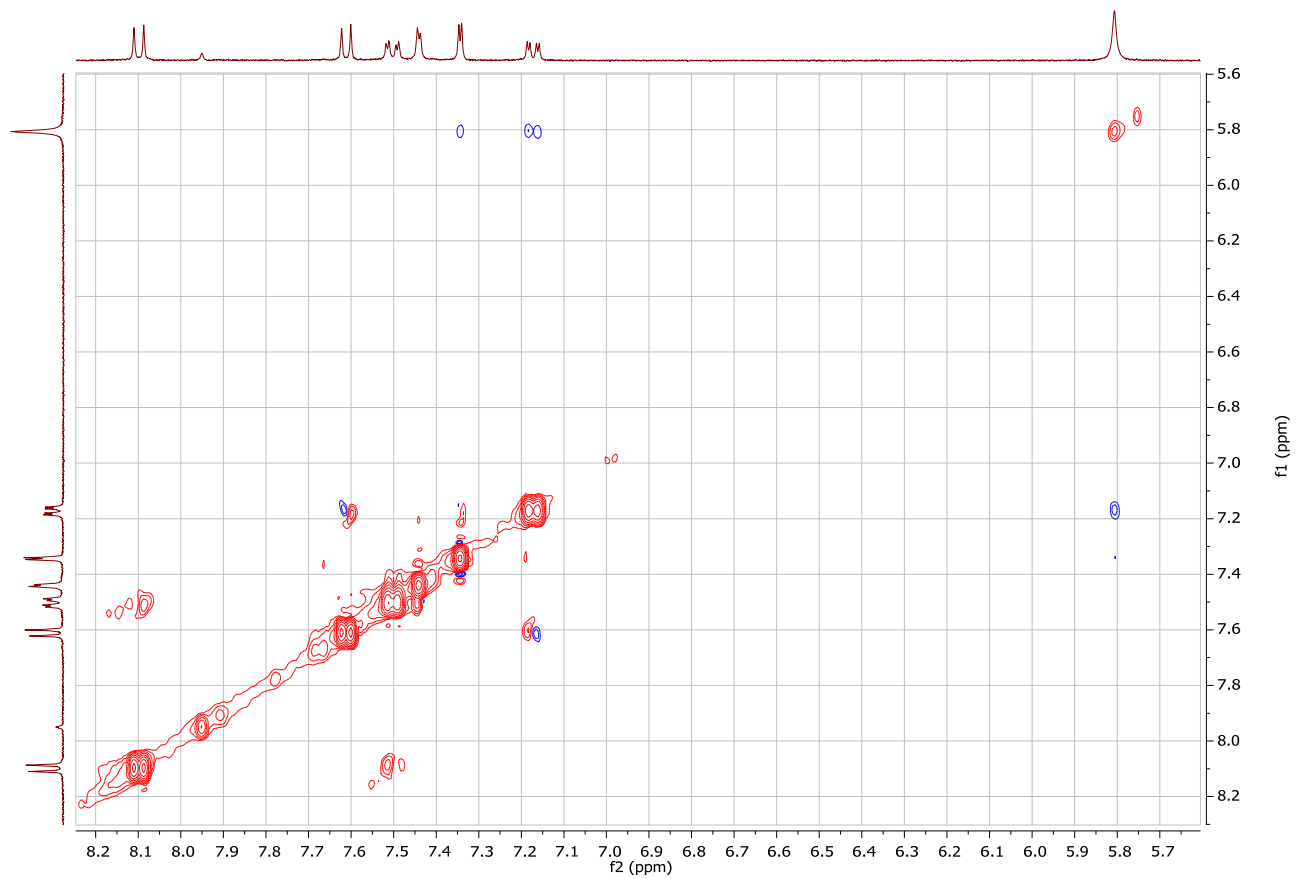
Tafel 20: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

YM4; 9-Amino-2-methoxy-14-methylquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one NOESY / DMSO



Tafel 21: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

YM4; 9-Amino-2-methoxy-14-methylquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one NOESY / DMSO



Tafel 22: 9-Amino-2-methoxy-14-methylchino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

7.2 ZUSAMMENFASSUNG

Seit der Entdeckung von Luotonin A und der Erkenntnis seiner inhibitorischen Eigenschaft auf die Topoisomerase I wurde dieses Alkaloid in der Krebsforschung als interessante Leitstruktur für die Entwicklung möglicher zytostatischer Wirkstoffe betrachtet. Die Herausforderung, vor der alle Forschungsgruppen bezüglich der Herstellung von Luotonin-A-Derivaten standen, war es, neben der Entwicklung einer möglichst effizienten Syntheseroute, Luotonin-A-Derivate mit verbesserter biologischer Aktivität und Wasserlöslichkeit herzustellen.

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit wurde aus den genannten Gründen die Synthese eines neuartigen dreifach substituiereten Luotonin-A-Derivat (9-Amino-2-methoxy-14-methyl Luotonin A) angestrebt. Dafür wurde die von unserer Arbeitsgruppe etablierte „südliche“ Syntheseroute angewendet, wobei gezeigt werden konnte, dass diese Synthesestrategie auch zur Herstellung von Ring-B-substituierten Luotonin-A-Derivaten anwendbar ist und somit künftig ein noch größeres Spektrum an Verbindungen in Reichweite sein sollte.

Ausgehend von dem bereits in unserer Arbeitsgruppe hergestelltem *N*-(4-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid, das bereits die Methoxygruppe für Ring A der Zielstruktur enthält, wurde zum ersten Mal seit Etablierung dieser Methode eine Butinylierung des aziden Chinazolinon-Stickstoffs nach erfolgter Weinreb-Amidierung realisiert. Das so aufgebaute 3-(But-2-in-1-yl)-*N*-(4-methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid geht unter Einwirkung des Hendrickson-Reagens wie erhofft eine intramolekulare [4+2]-Cycloaddition ein, die zur Formierung des pentazyklischen Luotonin-A-Grundkörpers führt, welcher nun eine Methylgruppe an Ring B aufweist. Abschließend wurde die Nitrogruppe mittels katalytischer Transferhydrierung in die gewünschte Aminofunktion an Ring E umgewandelt. Zur Charakterisierung der Zielverbindung und aller Zwischenprodukte wurden die gängigen spektroskopischen Methoden angewandt.