

# DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

## **Untersuchungen zur Synthese eines bisher unzugänglichen Ethoxycarbonyl-Derivates des Alkaloids Luotonin A**

verfasst von / submitted by

**Raima Choudhary**

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of

**Magistra der Pharmazie (Mag. pharm.)**

Wien, 2017 / Vienna, 2017

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

A 449

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

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

Ao. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Mag. pharm. Norbert Haider



## **Danksagung**

Die Labor-Versuche zur vorliegenden Diplomarbeit wurden von März bis Mai 2017 am Department für Pharmazeutische Chemie, Abteilung für Arzneistoffsynthese, an der Universität Wien durchgeführt.

Mein persönlicher Dank und Respekt gilt an erster Stelle Herrn Professor Dr. Norbert Haider, der meine Diplomarbeit betreut und begutachtet hat. Mit seiner Hilfsbereitschaft, Ermutigung und Geduld stand er mir stets zur Seite. Bedanken möchte ich mich für seine Ideen, die dazu beigetragen haben, dass diese Diplomarbeit in dieser Form vorliegt.

Diese Diplomarbeit widme ich meinen lieben Eltern, die mich in all meinen Entscheidungen immer unterstützt haben, ohne die das Studium gar nicht möglich gewesen wäre. Tausend Dank für den starken emotionalen Rückhalt, für ihre Liebe und Motivation über die Dauer meines gesamten Studiums.

Abschließend ein großes Dankschön an all meine Kollegen und Freunde für die liebevolle Unterstützung und erforderliche Abwechslung.



# Inhaltsverzeichnis

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Einleitung .....                                                | 1  |
| 1.1 Krebsentstehung und Therapie .....                             | 1  |
| 1.2 DNA-Topoisomerasen .....                                       | 4  |
| 1.3 Camptothecin als Topoisomerasehemmer .....                     | 4  |
| 1.4 Luotonin A .....                                               | 8  |
| 1.5 Synthese von Luotonin A und Derivaten .....                    | 9  |
| 1.6 Zielsetzung .....                                              | 13 |
| 2. Eigene Untersuchungen .....                                     | 15 |
| 2.1 Herstellung von literaturbekannten Ausgangsverbindungen .....  | 15 |
| 2.2 Einführung eines Arylrestes mittels Sonogashira-Kupplung ..... | 17 |
| 2.3 Amid-Dehydratisierung zum Nitril .....                         | 19 |
| 2.4 Cycloadditionsreaktion zur Zielverbindung .....                | 20 |
| 2.5 Versuche zur Isomerentrennung .....                            | 22 |
| 2.6 Fazit und Ausblick .....                                       | 23 |
| 3. Experimenteller Teil .....                                      | 24 |
| 3.1 Geräte und Materialien .....                                   | 24 |
| 3.2 Arbeitsvorschriften .....                                      | 26 |
| 4. Literaturverzeichnis .....                                      | 36 |
| 5. Anhang .....                                                    | 38 |
| Spektren                                                           |    |
| Zusammenfassung                                                    |    |





# **1. Einleitung**

## **1.1 Krebsentstehung**

Krebs ist nach wie vor eine der häufigsten Todesursachen weltweit. Dabei steht Darmkrebs an der Spitze der Krebserkrankungen. Nach den Daten der Internationalen Agentur für Krebsforschung (IARC) gab es im Jahr 2012 14.1 Millionen neue Krebserkrankungen, davon kam es zu 8.2 Millionen Todesfällen mit Krebs als Todesursache. Es gab insgesamt 32.6 Millionen Menschen, die an Krebs erkrankt waren. Der Zeitraum, in dem bei den untersuchten Patienten Krebs diagnostiziert wurde, umfasste insgesamt fünf Jahre [1].

Im Alter lässt die Regenerationsfähigkeit des menschlichen Körpers nach, was unter anderem dazu führt, dass Krebserkrankungen gehäuft auftreten. Die regelmäßige Erneuerung des Gewebes ist aber für das Überleben der Organismen essentiell, sie basiert auf Zellproliferation, Zelldifferenzierung und Apoptose. Zwischen Zellproliferation und Apoptose muss ein Gleichgewicht herrschen, das durch das genaue Zusammenspiel von streng kontrollierten biologischen Prozessen entsteht. Diese Prozesse werden u.a. durch Wachstumsfaktoren und pro-apoptotische Signalstoffe reguliert [2].

Im Zellzyklus spielen während der Replikation, der Verdopplung der DNA, Tumorsuppressoren und Protoonkogene eine bedeutende Rolle. Diese sorgen dafür, dass die Verdopplung der DNA korrekt verläuft. Dabei hemmen Produkte der Tumorsuppressoren das Zellwachstum und lösen bei Bedarf Apoptose aus, während Produkte der Protoonkogene Proteine sind, die die Entstehung der Wachstumsfaktoren fördern [3].

Kommt es zur Veränderung der oben erwähnten Gene durch Mutation, können Zellen entstehen, die unkontrolliert wachsen und sich vermehren.

Der Funktionsverlust der Tumorsuppressor-Gene und die Umwandlung von Protoonkogenen zu Onkogenen führen zur malignen Transformation von Zellen und damit zur Bildung maligner Tumore [3].

Falls die DNA-Verdopplung fehlerfrei abläuft, entstehen am Ende des Zellzyklus zwei Tochterzellen mit identischer DNA. Sind jedoch Genmutationen vorhanden, kann es zu unkontrolliertem Wachstum und Vermehrung der Zellen kommen. Die Tumorsuppressor-Gene verlieren somit ihre Funktion und Protoonkogene werden in Onkogene umgewandelt, was wie erwähnt zur Bildung maligner Tumore führt [3].

### **Krebstherapie:**

Krebstherapie ist eine der größten Herausforderungen der heutigen Zeit. Bei lokalisierten Tumoren sind operative Entfernung und Strahlentherapie die standardmäßig angewandten Therapien. Bei Metastasen und malignen nicht-lokalisierten Tumorarten sowie im Vorfeld einer chirurgischen Tumor-Entfernung ist jedoch die relativ junge Tumor-Chemotherapie als Behandlungsmethode von besonderer Bedeutung. Unter Chemotherapie versteht man in diesem Kontext die medikamentöse Behandlung von Krebs. Die dabei eingesetzten Zytostatika sind Teil einer großen Wirkstoffgruppe mit mehreren Untergruppen, sie wirken auf proliferierende Zellen mit unterschiedlichen Angriffspunkten.

#### *Einige wichtige Krebs-Therapeutika*

- **Alkylantien** entfalten ihre zytotoxische Wirkung durch Alkylierung verschiedener Zellbestandteile. Entscheidend für ihre Wirkung sind die Alkylierung der DNA am nukleophilen Guaninstickstoff und die Quervernetzung innerhalb des DNA-Stranges [3,4].
- **Platinverbindungen** wirken ähnlich wie Alkylantien durch Vernetzung der DNA-Stränge. Bekannte Vertreter dieser Wirkstoffgruppe sind Cisplatin und Carboplatin [3].

- **Antimetaboliten** hemmen als „falsche“ Stoffwechselbausteine die Synthese der DNA und RNA und wirken inhibierend auf physiologische Vorgänge. Zu den wichtigsten Antimetaboliten gehören Folsäureantagonisten wie Methotrexat [3,4].
- **Anthracycline** wurden ursprünglich aus *Streptomyces peucetius* isoliert und bestehen aus einem Tetracyclinringsystem, das glykosidisch mit einem Aminosucker verknüpft ist. Durch die Interkalation des planaren Moleküls in die DNA bzw. RNA wird deren Synthese gestört und es kommt zu Strangbrüchen, die über eine Hemmung der Topoisomerase II oder durch Bildung von Radikalen zustande kommen [3,4].
- **Mikrotubuli-Inhibitoren** wie Colchicin und Vinca-Alkaloide sind Verbindungen, die als Mitosehemmstoffe an das Cytoskelett-Protein Tubulin binden und den Aufbau der Mikrotubuli, die Polymerisation sowie die Spindelbildungen während der Mitose blockieren [3,4].
- Die Gruppe der **Taxane** zählt zu den relativ neuen Zytostatika, die anders als Vinca-Alkaloide und Colchicin die Mikrotubuli stabilisieren und die Depolymerisation verhindern [3,4].
- Neben Operationen, Strahlen- und Chemotherapie als herkömmliche Behandlung von Tumoren etablierte sich eine weitere biologische Therapie, bei der **monoklonale Antikörper** und rekombinante Cytokine zum Einsatz kommen.

## 1.2 DNA-Topoisomerasen

Topoisomerasen spielen bei der Entwindung bestimmter Chromosomenabschnitte eine wichtige Rolle und kommen in pro- und eukaryotischen Zellen vor. In verschiedenen Tumorarten werden sie überexprimiert und stellen somit ebenfalls einen wichtigen Angriffspunkt bei der medikamentösen Krebstherapie dar. Strukturelle Voraussetzungen für die DNA-Replikation werden durch die Topoisomerasen mittels Öffnen und Wiederverknüpfen der DNA-Stränge geschaffen [4].

In ihrem aktiven Zentrum enthalten alle DNA-Topoisomerasen einen nukleophilen Tyrosinrest. Nach Spaltung der Phosphodiesterbindung der DNA geht Tyrosin eine kovalente Bindung mit dem 3'- oder 5'-Ende des gespaltenen Stranges ein. Die Rückreaktion geschieht durch nukleophilen Angriff der OH-Gruppe des verbleibenden Endes, dadurch wird der Strang verknüpft und die Topoisomerase von der DNA freigesetzt [5,6].

Die DNA-Topoisomerasen werden in zwei große Gruppen eingeteilt:

Typ-II-Topoisomerasen führen zu einem Doppelstrangbruch, der anschließend wieder verschlossen wird. Dieser Vorgang ist von Energiezufuhr durch Hydrolyse von ATP abhängig. Typ-I-Topoisomerasen erzeugen dagegen Einzelstrangbrüche, ohne dabei ATP zu verbrauchen [6].

Topoisomerase-I-Hemmung ist eine wichtige Strategie in der gezielten Krebs-Chemotherapie. Der zytotoxische Effekt ist auf eine dauerhafte Verursachung von DNA-Strangbrüchen zurückzuführen.

### 1.3 Camptothecin als Topoisomerasehemmer

Derzeit sind Wirkstoffe aus der Familie der Camptothecine im Einsatz, die auf dieses Enzym wirken [7]. Die Struktur von Camptothecin (CPT) wurde 1966 von M. E. Wall und M. C. Wani aufgeklärt [8]. Camptothecin wird aus *Camptotheca acuminata* isoliert, einem Baum, der im Süden Chinas weit verbreitet ist [8].

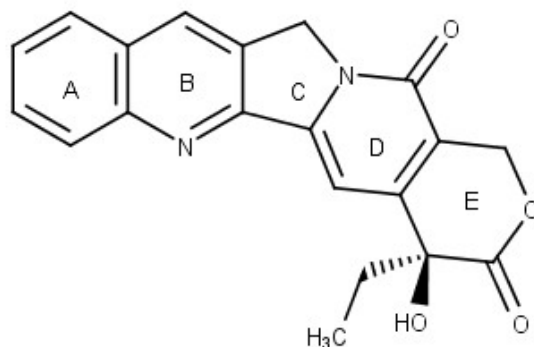


Abb. 1: Camptothecin in 20S-Konfiguration

Die Wirkstoffe der Camptothecingruppe sind sehr wirkungsvolle Zytostatika [7,8]. Wie bereits erwähnt, blockieren sie die Topoisomerase I. Jede Zelle enthält ungefähr 2 Meter lange DNA, die im Zellkern verpackt ist. Sie ist um basische Proteine, die Histone, gewickelt und eng spiralisiert. DNA muss relaxiert werden, bevor die Transkription und Replikation erfolgen kann. Topoisomerase I verursacht einzelne, Topoisomerase II doppelte Strangbrüche der DNA während der DNA-Relaxation. Diese Strangbrüche werden in der Regel wieder zusammengefügt [9]. In Gegenwart von Topoisomerase-Inhibitoren bleiben Strangbrüche erhalten und es kommt zur Schädigung der DNA [9]. Die Replikation wird somit gehemmt, Transkription bleibt aus und infolgedessen wird die Apoptose eingeleitet [10].

Dieser Mechanismus der Apoptose, einer Form des programmierten Zelltods, ist zum Ausschalten der Krebszellen sehr effizient, allerdings verursacht Camptothecin (wie alle Zytostatika) viele Nebenwirkungen [3]. Es handelt sich bei dieser Verbindung um ein pentacyclisches Chinolin-alkaloid mit einer  $\alpha$ -Hydroxy- $\delta$ -Lacton-Struktur und einem Chiralitätszentrum in Position 20 im Ring E (s. Abb. 1). Die S-Konfiguration hat für die pharmakologische Wirkung große Bedeutung, die enantiomere Verbindung mit R-Konfiguration ist im Gegensatz dazu nahezu inaktiv. Das geschlossene  $\delta$ -Lacton stellt für die Interaktion mit der Topoisomerase I ebenfalls eine strukturelle Voraussetzung dar [11].

Im physiologischen pH-Bereich öffnet sich allerdings dieser Lacton-Ring (s. Abb. 2) und die resultierende Verbindung ist wesentlich weniger wirksam als jene in ringgeschlossener Form [9]. In der Harnblase herrscht hingegen ein saures Milieu, dadurch kommt es im Zuge der Ausscheidung über den Harn letztlich wieder zur Schließung des Lactonringes, wodurch sich das Gleichgewicht in Richtung aktive Form verschiebt. Damit kann die erhöhte Blasentoxizität von Camptothecin-Derivaten erklärt werden [12].

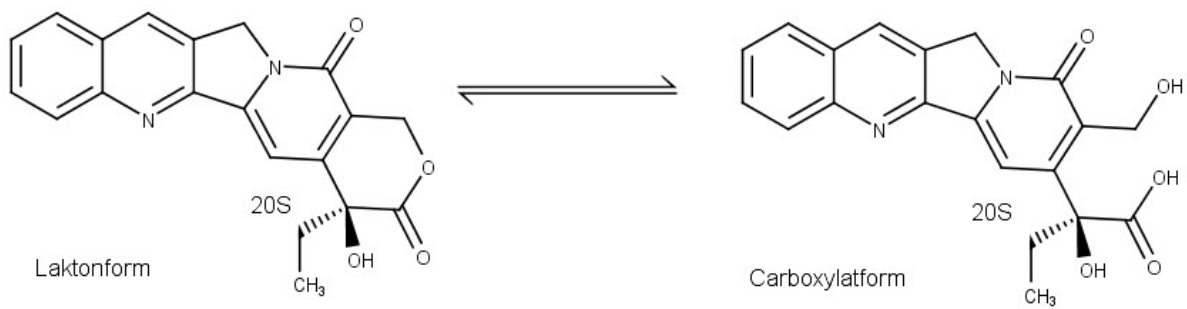


Abb. 2: Camptothecin in Laktonform und Carboxylatform

Außerdem besitzt Camptothecin eine schlechte Löslichkeit sowie eine kurze Halbwertszeit. Aufgrund seiner geringen Stabilität, welche auf der genannten Hydrolyse der  $\delta$ -Lacton-Einheit im E-Ring beruht, ist Camptothecin hinsichtlich seiner therapeutischen Verwendbarkeit stark eingeschränkt. Topotecan und Irinotecan sind halbsynthetische Derivate von Camptothecin mit deutlich günstigeren pharmakokinetischen Eigenschaften und sie finden ihren klinischen Einsatz vor allem bei Ovarial- und Dickdarmkarzinomen [3].

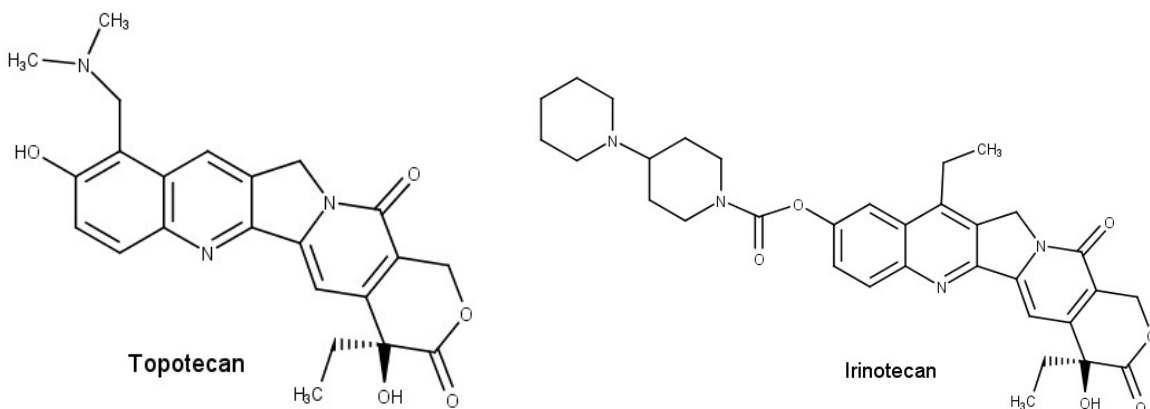


Abb. 3: Topotecan und Irinotecan, therapeutisch verwendete Derivate von Camptothecin

Beide Verbindungen weisen eine bessere Wasserlöslichkeit auf und werden als HCl-Salze intravenös appliziert. Aufgrund einer verminderten Hydrolyse neigung des Lacton-Ringes verbessert sich die Stabilität, und das Gleichgewicht verschiebt sich gegenüber Camptothecin in Richtung der

Lactonform [11]. An Ring A und B der Leitverbindung Camptothecin wurden strukturelle Modifikationen vorgenommen (siehe Abb. 3), um die zytostatische Aktivität und die physikochemischen Eigenschaften zu verbessern. Die Pharmakokinetik beider halbsynthetischen Verbindungen wurde gegenüber Camptothecin positiv beeinflusst, außerdem führten die strukturellen Veränderungen zur Reduktion der Toxizität [11].

Bei Topotecan wurde in Position 10 (Alkaloid-Nummerierung) eine phenolische Hydroxygruppe eingeführt und an C-9 eine basisch substituierte Seitenkette angehängt, um die Wasserlöslichkeit zu erhöhen. Irinotecan ist ein Prodrug, bei dem die OH-Gruppe an C-10 mit einer Dipiperidylcarbonsäure verestert wurde. Der aktive Metabolit ist das 7-Ethyl-10-hydroxyderivat, das nach Hydrolyse von Irinotecan entsteht [3].

Der Naturstoff Luotonin A (s. Abb. 4) weist strukturelle Ähnlichkeiten mit Camptothecin auf. Die Verbindung ist nicht im klinischen Einsatz, hemmt aber ebenfalls die Topoisomerase I. Sie stellt die Leitstruktur im Rahmen der vorliegenden Arbeit dar und soll daher im folgenden Abschnitt eingehender beschrieben werden.

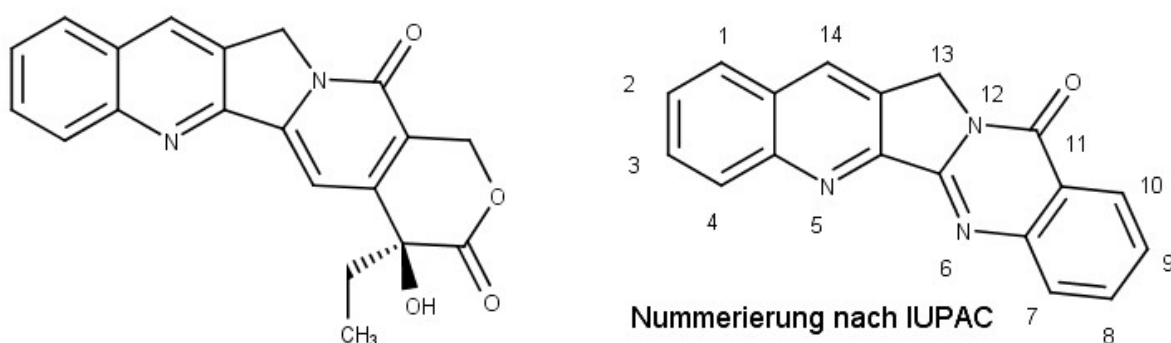


Abb. 4: links Camptothecin, rechts Luotonin A

## 1.4 Luotonin A

Luotonin A ist ein zytotoxisch wirkendes Alkaloid, das im Jahr 1997 aus den oberirdischen Teilen von *Peganum nigellasterum*, einer chinesischen Pflanzengattung (auch bekannt als „Luo-tuo-hao“) aus der Familie der Zygophyllaceae, extrahiert wurde. Diese chinesische Bezeichnung ist für die Namensgebung von Luotonin verantwortlich [13].

Die genannte Pflanze wurde in der traditionellen chinesischen Medizin zur Behandlung von rheumatischen Beschwerden, Abszessen und entzündlichen Erkrankungen verwendet. Luotonin A ist ein Inhibitor der DNA-Topoisomerase I und vermittelt Topoisomerase-I-abhängige Zytotoxizität in intakten Zellen ähnlich wie Camptothecin [12] (s. oben).

Die sechs bekannten Luotonine können in drei Kategorien eingeteilt werden: Luotonine A, B und E sind Pyrrolochinazolinochinolin-Alkaloide, Luotonin F ist ein Chinazolin-4(3*H*)-on-Alkaloid, und die Luotonine C und D sind Canthin-6-on-Alkaloide. Obwohl die biologischen Aktivitäten von Luotoninen gegenüber ausgewählten menschlichen Krebszell-Linien weniger potent und weniger selektiv für Topoisomerase I im Vergleich zu Camptothecin sind, bilden die strukturellen Ähnlichkeiten von Luotonin A, B, E und Camptothecin eine rationale Basis, um sie als Grundlage für die Entwicklung neuer Krebsmittel in Erwägung ziehen zu können.

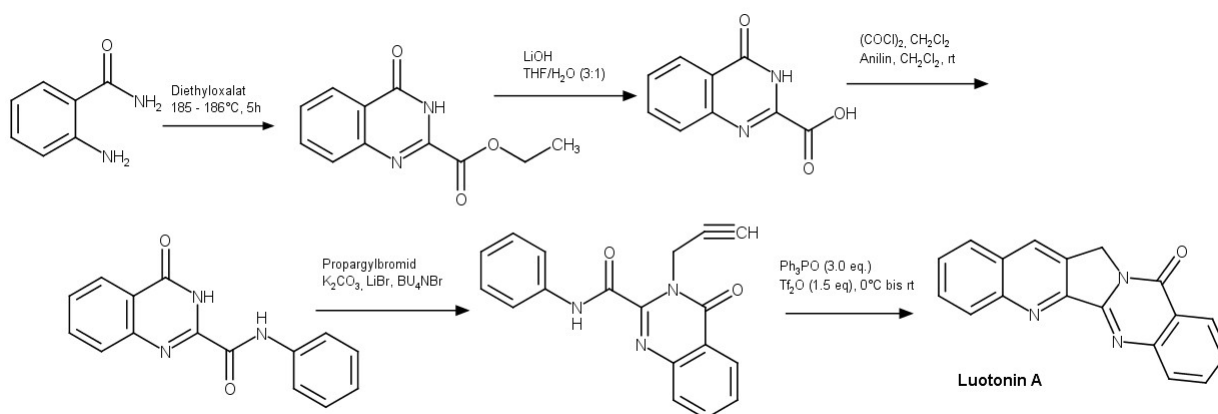
Untersuchungen haben gezeigt, dass Luotonin A in der Lage ist, den Topoisomerase-I-DNA-Komplex auf dieselbe Art wie Camptothecin zu stabilisieren und dass der Naturstoff demnach zytotoxische Wirkung auf Topoisomerase-I-exprimierende Hefezellen zeigt, allerdings nur mit einem Zehntel der Stärke von Camptothecin [14].

Bei Luotonin A fehlt der CPT-typische  $\alpha$ -Hydroxylactonring, stattdessen ist ein Benzolring vorhanden, während die Ringe A, B und C denen von

Camptothecin entsprechen. Außerdem ist in Position 6 (entspricht Pos. 14 nach Alkaloid-Nummerierung) ein zusätzlicher Stickstoff vorhanden. In der vorliegenden Diplomarbeit wird in weiterer Folge (im Gegensatz zum früher angewandten Alkaloid-Nummerierungsschema) durchwegs die Nummerierung der Ringpositionen nach IUPAC verwendet (s. Abb. 4).

### 1.5 Synthese von Luotonin A und Derivaten

Nach der Isolierung von Luotonin A aus *Peganum nigellastrum* wurden etliche verschiedene Synthesewege entwickelt, um neue Derivate des Naturstoffes zu gewinnen. Die erste Totalsynthese des Alkaloids wurde von Ma *et al.* [15] beschrieben, danach wurden auch verschiedene andere Syntheserouten für Luotonin A entwickelt. In einer Übersichtsarbeit aus dem Jahr 2011 werden all diese Synthesen gut beschrieben [16]. Auch Zhou *et al.* publizierten unter anderem einen interessanten Syntheseweg zu Luotonin A [17]. Dabei wird zunächst nach einer bekannten Vorschrift [18] Anthranilsäureamid durch eine Kondensation mit Diethyloxalat in einen Chinazolinon-Carbonsäureethylester umgewandelt. Nach Esterhydrolyse wird die Carbonsäure in das Säurechlorid übergeführt, welches mit Anilin in das entsprechende Anilid umgewandelt wird. Nachdem ein Propargylrest in Position 3 des Chinazolinons eingeführt wird, erfolgt zum Schluss eine intramolekulare [4+2]-Cycloadditionsreaktion unter Einwirkung des „Hendrickson-Reagens“ [19] (Bis(triphenyl)oxodiphosphonium-Trifluormethansulfonat). Dadurch kommt es zur simultanen Bildung der Ringe B und C unter Ausbildung des angestrebten pentacyclischen Systems (s. Schema 1). Die Gesamtausbeute dieses Syntheseweges liegt bei etwa 47% [17].



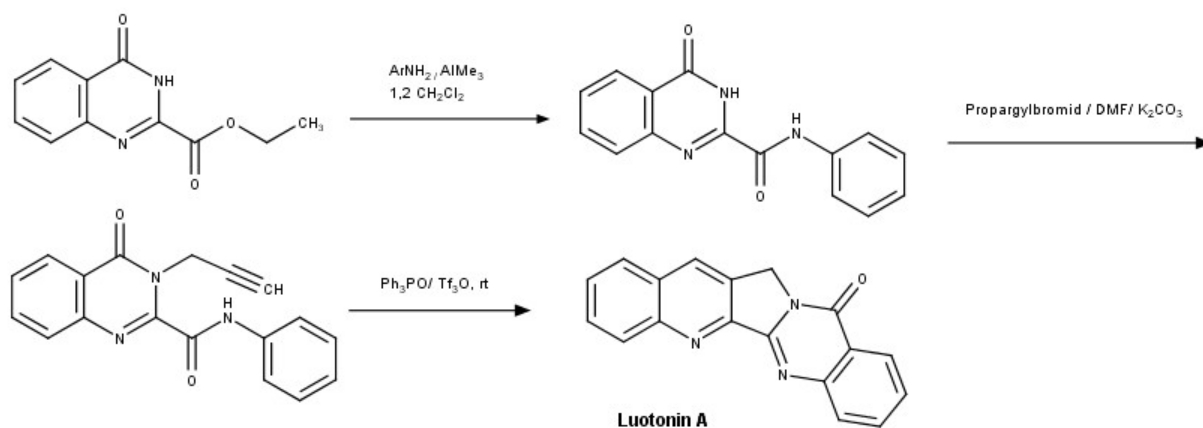
Schema 1: Totalsynthese von Luotonin A nach Zhou *et al.* [17]

### Verbesserung durch Weinreb-Amidierung:

Die von Zhou *et al.* [17] beschriebene Hydrolyse des Chinazolinon-carbonsäureesters zur Chinazolinoncarbonsäure und die Umwandlung des Säurechlorids zum Anilid stellen eine beträchtliche Einschränkung des Syntheseweges dar, da die Carbonsäure sehr decarboxylierungs-empfindlich ist und das Säurechlorid schlecht löslich sowie hydrolyse-empfindlich ist [20]. Deshalb wurde die oben skizzierte Synthese nach Zhou *et al.* von unserer Arbeitsgruppe optimiert. Ein neuer Syntheseweg wurde entwickelt [20], der bereits mehrfach zur Synthese von 2-substituierten und 4-substituierten Derivaten von Luotonins A angewandt wurde.

Bei dieser optimierten Methode wird der Ester direkt in ein Anilid übergeführt, wobei die schwach nukleophile Aminogruppe von Anilin bzw. Anilin-Derivaten durch Zusatz von Trimethylaluminium in 1,2-Dichlor-ethan-Lösung aktiviert wird [20] (Weinreb-Methode). Die nachfolgende Alkylierung mit Propargylbromid wurde ebenfalls modifiziert. Um die Löslichkeit der Anilide zu verbessern, wurde anstatt eines Toluol/Wasser-Gemisches Dimethylformid als Lösungsmittel für das Anilid verwendet, unter Einsatz von Kaliumcarbonat als Base für die Umsetzung der schwach

sauren Edukte mit Propargylbromid [20]. Auf diese Weise konnte eine breite Palette an Aniliden hergestellt werden, welche in der Folge als Substrate für die Cycloadditionsreaktion dienten.

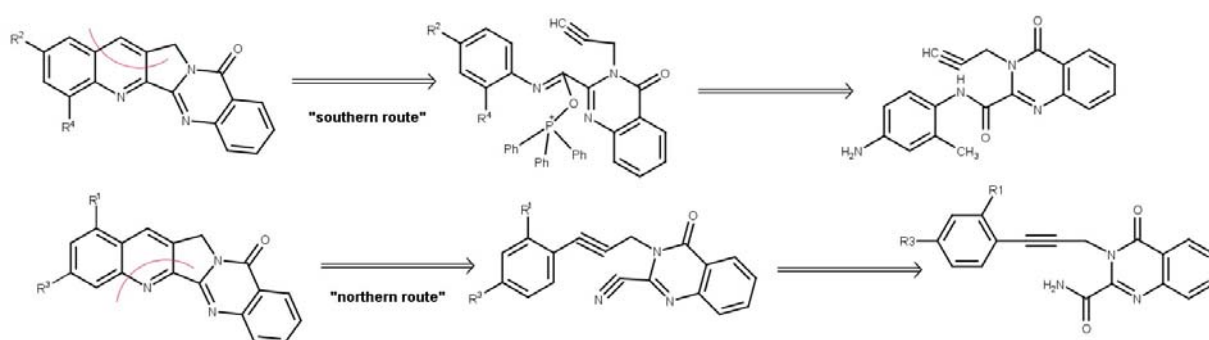


Schema 2: Verbesserte Synthese von Luotonin A unter Einsatz der Weinreb-Amidierung [20]

Mit diesem optimierten Syntheseweg wurden erstmals einige 2- und 4-substituierte und 1,3-symmetrisch-disubstituierte Luotonin-A-Derivate zugänglich gemacht [20]. Nur bei *meta*-substituierten Aniliden entsteht auf diesem Weg erwartungsgemäß ein Isomerengemisch aus 1- und 3-substituierten Derivaten [20]. Die abschließende Zyklisierung erfolgt dabei nach der unmodifizierten Methode von Zhou *et al* [17].

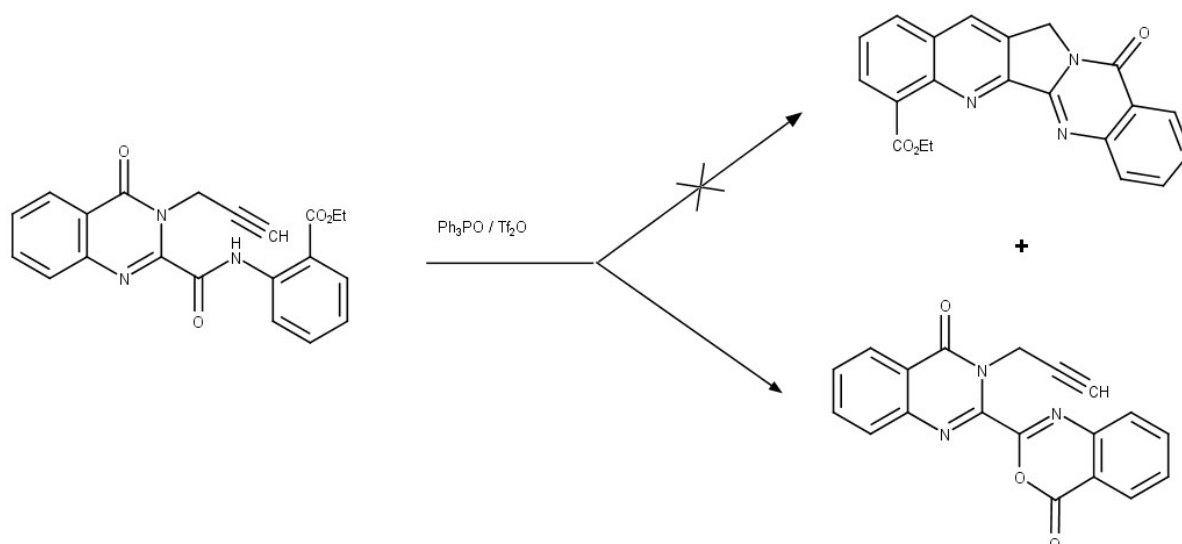
In unserer Gruppe wurden schließlich zwei zu einander komplementäre Synthesestrategien eingesetzt, um verschiedene Funktionalitäten selektiv in Positionen 1, 2, 3 und 4 des pentacyclischen Skeletts von Luotonin A zu positionieren. Die „südliche Route“ [20], die durch die Weinreb-Amidierung zu 2- oder 4-substituierten Derivaten führt, nutzt – wie oben beschrieben – eine modifizierte Cycloadditionsstrategie, die zuerst von Zhou *et al.* [17] für die Totalsynthese von Camptothecin und Luotonin A entwickelt worden war. Die „nördliche Route“ [21] macht 1- oder 3-

substituierte Derivate zugänglich, wobei zum Aufbau der Zwischenprodukte eine Sonogashira-Kupplung genutzt wird. Auch bei dieser Route wird eine intramolekulare [4+2]-Cycloaddition-Reaktion als Schlüsselschritt angewandt, jedoch mit einer anderen Anordnung der Dien- und Dienophil-Komponenten [21].



Schema 3: Zwei orthogonale Cycloadditionswege (Retrosynthese-Schema) zu A-Ring-substituierten Luotonin-A-Derivaten

Die 1- und 3-substituierten Carbonsäureethylester-Derivate konnten wie erwartet erfolgreich über die „nördliche Route“ synthetisiert werden [21]. Das 2-substituierte Carbonsäureethylester-Derivat wurde über die „südliche Route“ zugänglich gemacht [22], wobei bemerkenswerterweise die Weinreb-Amidierung trotz der Anwesenheit einer konkurrierenden Estergruppe im Anilin-Baustein problemlos das benötigte Anilid-Zwischenprodukt lieferte. Hingegen erwies es sich als Herausforderung, über dieselbe „südliche Route“ den Ethoxycarbonyl-Rest in Position 4 (im Ring A von Luotonin A) einzuführen. In den kürzlich publizierten Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe zeigte sich nämlich, dass dieser Syntheseweg nicht zum Erfolg führt, da das bei der Cycloaddition verwendete Hendrickson-Reagens lediglich zu einer intramolekularen Zyklisierung des sekundären Amids mit dem räumlich benachbarten Ester führt, wobei ein Benzoxazinon-Derivat anstelle des angestrebten Penta-cyclus entsteht [22].



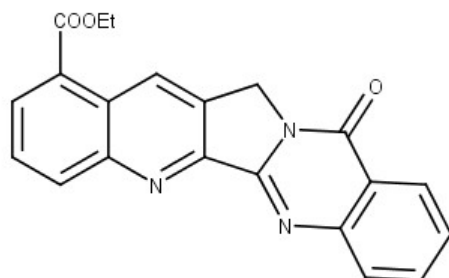
Schema 4: fehlgeschlagener Versuch zur Synthese von 4-Ethoxycarbonyl-Luotonin A über die „südliche Route“ [22]

## 1.6 Zielsetzung

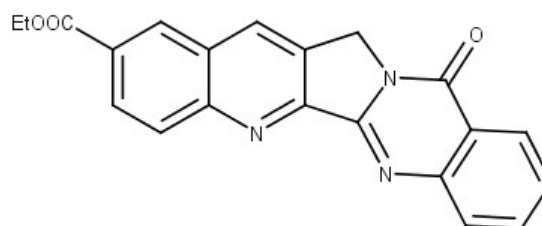
Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit sollte nun versucht werden, über die „nördliche Route“ das bislang noch fehlenden 4-Carbonsäureethylester-Derivat von Luotonin A herzustellen und so die Substanzbibliothek der Arbeitsgruppe in diesem Bereich zu komplettieren.

Der ins Auge gefasste Weg unter Nutzung eines Arylpropargyl-Zwischenproduktes mit *meta*-ständiger Estergruppe als Dien-Komponenten erlaubt es naturgemäß nicht, selektiv 2-substituierte oder 4-substituierte Derivate des Grundkörpers herzustellen. Aufgrund der freien Drehbarkeit des Arylrestes muss hier mit der Bildung eines Isomerengemisches gerechnet werden. Es sollte nun untersucht werden, in welchem Verhältnis die zu erwartenden Isomeren (2-Ester und 4-Ester)

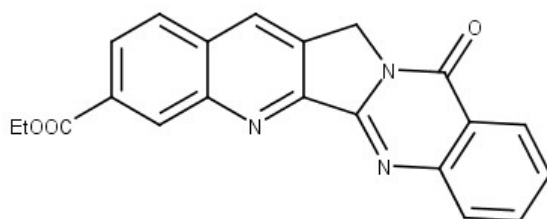
resultieren und ob es möglich ist, das Gemisch in präparativ brauchbarem Maßstab zu trennen und somit die Zielverbindung erstmals zugänglich zu machen.



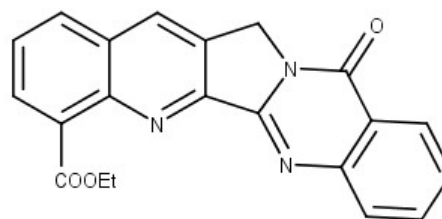
**1-Ethoxycarbonyl-Luotonin A**



**2-Ethoxycarbonyl-Luotonin A**



**3-Ethoxycarbonyl-Luotonin A**



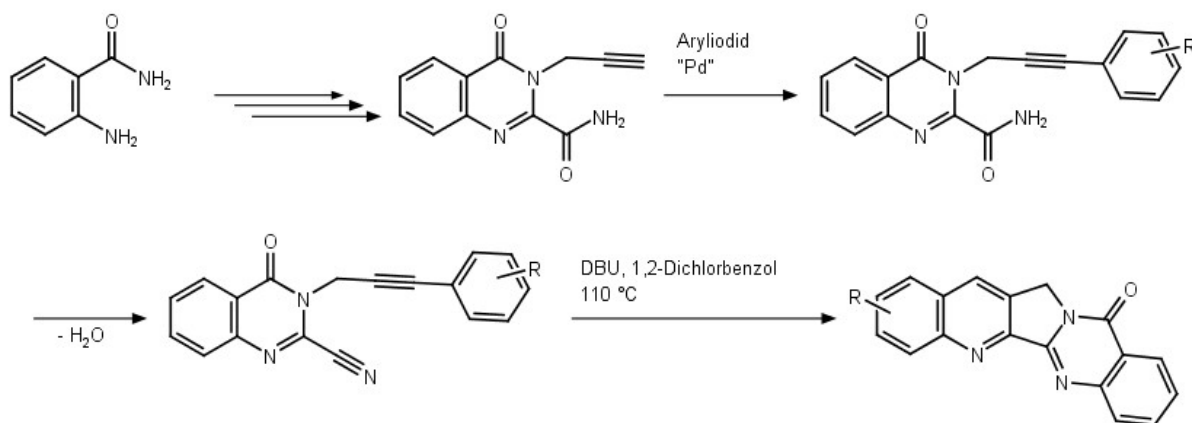
**4-Ethoxycarbonyl-Luotonin A**

Abb. 5: Struktur der Zielverbindung (eingerahmt)

## 2. Eigene Untersuchungen

### 2.1 Herstellung von literaturbekannten Ausgangsverbindungen

Die „nördliche Route“ zur Synthese von Luotonin-A-Derivaten wurde von unserer Arbeitsgruppe im Jahr 2013 publiziert [21], sie nutzt als Schlüsselschritt eine thermisch induzierte und basenkatalysierte intramolekulare [4+2]-Cycloadditionsreaktion eines Chinazolinoncarbonitrils mit einer entsprechenden Arylpropargyl-Seitenkette an N-3. Als kommerziell erhältliches Ausgangsmaterial dient Anthranilamid, welches in mehreren Schritten (s. unten) in 4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid [23] umgewandelt wird, aus dem dann mittels Sonogashira-Kupplung mit einem geeigneten Aryliodid und nachfolgender Amid-Dehydratisierung das für die Cycloaddition benötigte Nitril erhalten wird (Schema 5).

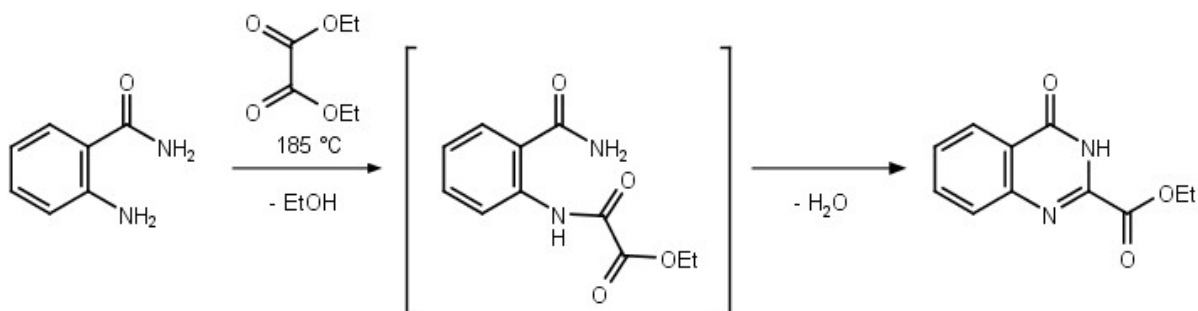


Schema 5: Synthese von Luotonin-A-Derivaten über die „nördliche Route“ [21]

Die einzelnen Syntheseschritte bis zum literaturbekannten Propargyl-substituierten Carboxamid sollen in der Folge näher erläutert werden.

### **Synthese von Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat aus Anthranilamid**

Anthranilamid wird mit überschüssigem Diethyloxalat in Abwesenheit eines Lösungsmittels bei Rückflusstemperatur (185 °C) umgesetzt, wobei die Zugabe katalytischer Mengen Essigsäure die Kondensationsreaktion zum Chinazolinoncarbonsäureester deutlich beschleunigt. Die Reaktion war bereits 1962 von Baker beschrieben worden [18] und wurde später u.a. von Zhou *et al.* [17] sowie mehrfach in unserer Arbeitsgruppe angewandt. Die Vollständigkeit der Reaktion sollte dabei stets mithilfe von Dünnschichtchromatographie überprüft werden, da sich die Umwandlung eines offenkettigen Zwischenproduktes (s. Schema 6) in das Endprodukt gelegentlich verzögern kann. Letzteres fällt als schwerlöslicher Niederschlag aus dem Reaktionsgemisch aus und wird durch einfaches Abfiltrieren und Waschen (zuerst mit Ethanol und anschließend mit Diethylether) isoliert und gereinigt.

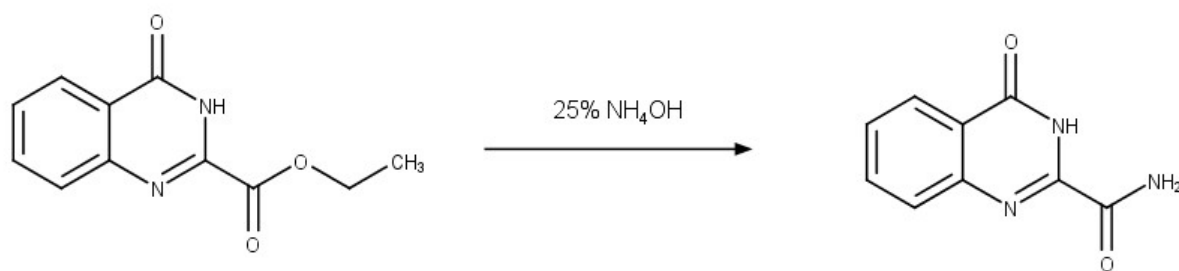


Schema 6: Herstellung des Chinazolinoncarbonsäureesters

### **Synthese von 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid und von dessen 3-Propargyl-Derivat**

Gemäß einer Literaturvorschrift aus dem Jahr 1987 [24] erhält man das Chinazolinoncarboxamid durch Behandlung des Esters (s. oben) mit methanolischem Ammoniak bei Raumtemperatur. In unserer Arbeitsgruppe hat sich jedoch zuletzt die Variante nach Váradi *et al.* [25] besser bewährt, hier wird unter Verwendung von wässrigem Ammoniak (25%) und erhöhter Reaktionstemperatur eine deutlich kürzere Reaktionszeit bei gleich guter

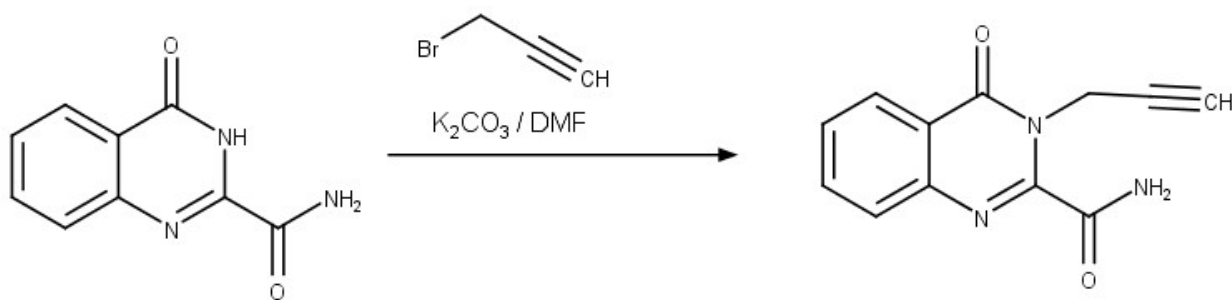
Ausbeute erzielt. Dementsprechend wurde nun das benötigte Amid auf letzterem Weg hergestellt. Durch den Überschuss an Ammoniak liegt das Produkt dabei zunächst als Ammoniumsalz der schwach sauren Chinazolinon-Struktur vor, aus dem die ungeladene Verbindung durch Ansäuern mit 2N HCl ausgefällt wird und einfach durch Abnutschen und Waschen mit kaltem Ethanol gewonnen wird.



Schema 7: Herstellung des Chinazolinoncarboxamids

Für den geplanten Aufbau einer Arylpropargyl-Seitenkette mittels Sonogashira-Kupplung ist zunächst die Einführung eines Substituenten mit drei C-Atomen und endständiger Dreifachbindung erforderlich. Dieser Propargylrest wird nach einer bekannten Vorschrift [23] selektiv an Position 3 des Säureamids geknüpft. Hierfür wird bei Raumtemperatur das Carbonsäureamid in Dimethylformamid-Lösung mit Kaliumcarbonat und einem geringen Überschuss an Propargylbromid behandelt. Als Lösungsmittel wird DMF deshalb gewählt, weil es gute Lösungseigenschaften für das Carbonsäureamid besitzt und für die vorliegende S<sub>N</sub>2-Reaktion als aprotisch-polares Lösungsmittel vorteilhaft ist.

Bei dieser Reaktion erfolgt eine Alkylierung in Position 3 durch einen nukleophilen Angriff des deprotonierten Stickstoffatoms am reaktiven Kohlenstoff des Propargylbromids. Nach circa 24 Stunden wird die Vollständigkeit der Reaktion dünnschichtchromatographisch überprüft. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit Wasser verdünnt und das Produkt durch Ausfällen und Abnutschen gewonnen.



Schema 8: Herstellung des N-Propargyl-substituierten Chinazolinoncarboxamids

## 2.2 Einführung eines Arylrestes mittels Sonogashira-Kupplung

Bei der Sonogashira-Kupplung handelt es sich um eine Kupplung von endständigem Alkin mit Arylhalogenid unter Palladium-Kupfer-Katalyse [26]. Weiters wird ein Amin als Base verwendet. Alle in unserer Arbeitsgruppe im Zuge der „nördlichen Route“ angewandten Sonogashira-Reaktionen folgen einem ähnlichen Protokoll. Nach einer halben Stunde Rühren bei Raumtemperatur kommt es in der Regel zu einer Dunkelbraun-Schwarz-Färbung des Reaktionsgemisches, die vollständige Umsetzung der Reaktion wird meist nach zwei Stunden erreicht [21,27,28].

Analog zu diesem bekannten Verfahren [21] wurde nun das Propargyl-substituierte Chinazolinoncarboxamid in einem Lösungsmittelgemisch aus DMF und Dichlormethan mit 3-Iodobenzoesäureethylester in Gegenwart von CuI und Bis(triphenylphosphin)palladium(II)dichlorid als Katalysatoren sowie dem Antioxidans 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol zur Umsetzung gebracht, wobei zuletzt die Zugabe einer Base (Triethylamin) erfolgt. Die Reaktion wird unter Inertgas durchgeführt, da die katalytische Spezies sehr oxidationsempfindlich ist.

Der Mechanismus der Reaktion lässt sich wie folgt kurz zusammenfassen: neben der oxidativen Addition des Palladium-Atoms an das Arylhalogenid bindet sich Kupfer an das Alkin. Daraufhin kommt es zu einer Kupplung

zwischen dem Palladium, das nun an den Arylrest gebunden ist, und dem Alkin, wobei Kupferhalogenid abgespalten wird und letztlich auch der Palladium-Katalysator wieder in den Kreislauf zurückkehrt.

Bei der Kontrolle des Reaktionsverlaufs mithilfe der DC zeigte sich nun in der Tat, dass nach einer Reaktionszeit von zwei Stunden kein Alkin-Edukt mehr nachweisbar ist und dafür eine neue, apolarere Verbindung entstanden ist. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch säulenchromatographisch getrennt, wobei einerseits der überschüssige 3-Iodbenzoesäureethylester (als sehr apolare Komponente) und andererseits polare Zersetzungsprodukte entfernt werden. Das in 53% Ausbeute isolierte Kupplungsprodukt (**1**) wird nach Umkristallisation aus Ethanol in Form farbloser Nadeln erhalten. Der erfolgreiche Verlauf der Sonogashira-Kupplung mit 3-Iodbenzoesäureethylester und damit die Struktur der neu synthetisierten Verbindung konnten durch spektroskopische Untersuchungen bestätigt werden:

Im EI-Massenspektrum von Verbindung **1** ist der erwartete Molekülionenpeak bei  $m/z = 375$  zu sehen. Die Summenformel wird weiters durch ein hochaufgelöstes ESI-Massenspektrum bestätigt.

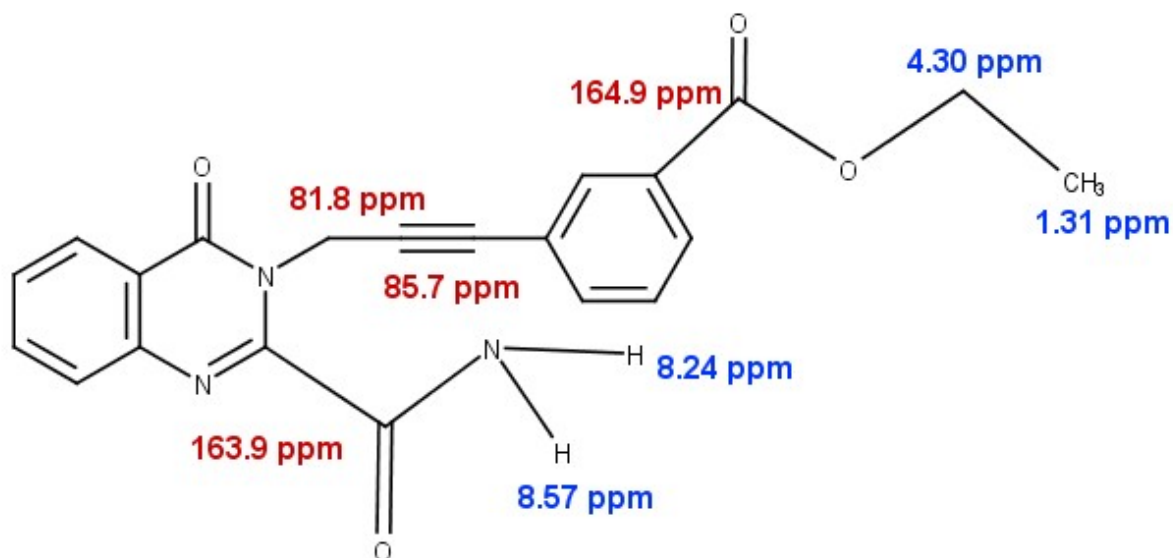


Abb. 6: charakteristische <sup>1</sup>H-NMR- (blau) und <sup>13</sup>C-NMR-Signale (rot) von **1**

Die erfolgreiche Verknüpfung der beiden Bausteine konnte auch durch  $^{13}\text{C}$ -NMR bestätigt werden. Das Carboxyl-C des Esters zeigt ein Signal bei 164.9 ppm, bei 163.3 ppm erscheint das Amid-C. Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum sind die Alkin-Signale des Propargylrestes bei 85.7 ppm sowie 81.8 ppm zu sehen, die  $\text{NCH}_2$ -Gruppe erscheint bei 33.7 ppm. Die Protonen der Ethoxygruppe liefern im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum erwartungsgemäß ein Triplett bei 1.31 ppm sowie ein Quartett bei 4.30 ppm. Außerdem erscheinen im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum unter anderem auch zwei separate Singuletts für die beiden nicht-äquivalenten Amid-NH-Protonen bei 8.57 ppm und 8.24 ppm.

### 2.3 Amid-Dehydratisierung zum Nitril

Im nächsten Schritt sollte nun versucht werden, durch Wasserabspaltung die Carbonsäureamid-Gruppe in das benötigte Dienophil in Form einer Nitril-Funktion umzuwandeln, welche für den Ringschluss mittels intramolekularer Diels-Alder-Reaktion essentiell ist [21]. Eine Kombination aus Trifluoressigsäureanhydrid und Triethylamin in trockenem Dichlormethan hat sich für derartige Schritte bewährt [21,28] und wurde deshalb auch hier angewendet. Da es sich um eine stark exotherme Reaktion handelt, muss unter Eiskühlung gearbeitet werden. Die vollständige Umsetzung des Amids wird tatsächlich bereits nach einer Stunde Rühren unter Eiskühlung durch eine DC-Kontrolle bestätigt. Das überschüssige Anhydrid wird vorsichtig mit Eis zerstört, das gewünschte Nitril (**2**) lässt sich problemlos mit Dichlormethan extrahieren. Wie schon früher bei analogen Dehydratisierungsreaktionen beobachtet [29], kommt es auch hier zur Bildung einer Verunreinigung mit höherem  $R_f$ -Wert, die mithilfe der Säulenchromatografie abgetrennt werden kann. Nach Umkristallisation aus Ethanol wird das Produkt (**2**) mit einer Ausbeute von 73% gewonnen. Durch spektroskopische Untersuchungen konnte die erfolgreiche Umwandlung von Carboxamid **1** zum Nitril **2** bestätigt werden. Im EI-Massenspektrum erscheint der zu erwartende Molekülionenpeak bei  $m/z = 357$ , eine weitere Bestätigung liefert auch hier das hochaufgelöste ESI-Massenspektrum.

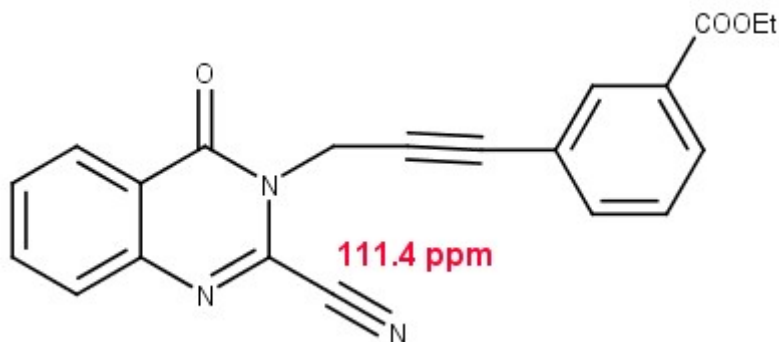


Abb. 7:  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signal des Nitril-Kohlenstoffatoms in Verbindung **2**

Die im Fall von **1** beobachteten Amid-NH-Signale sind im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von **2** verschwunden. Das Signal der Amid  $\text{C}=\text{O}$ -Funktionalität im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum, das man beim Carboxamid **1** sehen konnte, ist hier nicht vorhanden. Dafür erscheint im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von **2** nun das Signal des Nitril-Kohlenstoffs bei 111.4 ppm.

Die eindeutige Bestätigung der Struktur sowie die vollständige Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale wurde mithilfe der Kombination von HSQC-, HMBC-, COSY- und NOESY-Experimenten ermöglicht.

## 2.4 Cycloadditionsreaktion zur Zielverbindung

Im nächsten Reaktionsschritt sollten nun mithilfe einer basenkatalysierten, thermisch unterstützten Cycloadditionsreaktion, welche in früheren Synthesen unserer Arbeitsgruppe erfolgreich eingesetzt worden war [21], die Ringe B und C des Pentacyclus gebildet werden. Dazu wurde das Nitril **2** in 1,2-Dichlorbenzol-Lösung unter Einwirkung katalytischer Mengen der Base DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en) in einem geschlossenen Gefäß unter Inertgas auf 110 °C erhitzt. Bei diesem Schritt handelt es sich um eine intramolekulare Aza-Diels-Alder-Reaktion, bei der die Nitrilgruppe als Dienophil dient und ein Aryl-Allen, eine durch basenkatalysierte Umlagerung aus dem Arylalkin resultierende Zwischenverbindung (s.

Schema 8), als Dien fungiert. Die Umwandlung des Eduktes **2** zum Ethoxycarbonyl-substituierten Luotonin A geschieht, wie sich nun zeigte, relativ schnell. Bereits 20 Minuten nach Beginn der Reaktion ist eine deutliche Trübung der Reaktionslösung zu beobachten. Nach zwei Stunden bei 110 °C im geschlossenen Gefäß ist die Umsetzung vollständig (DC-Kontrolle) und ein Niederschlag bildet sich. Das Dünnschichtchromatogramm zeigt das völlige Fehlen des Eduktes (**2**) sowie das Auftreten zweier neuer Flecken mit niedrigerem  $R_F$ -Wert, die durch ihre intensive blaue Fluoreszenz auffallen. Durch Abkühlen und Verdünnen des Reaktionsgemisches mit Ether wird die Fällung unterstützt. Die Gewinnung des Produktes (**3**) erfolgt durch Abnutschen und Umkristallisation aus Ethanol mit einer Ausbeute von 72%.

Dieses Endprodukt der Reaktion ist erwartungsgemäß ein Isomerengemisch aus 2-Ethoxycarbonyl-Luotonin A und 4-Ethoxycarbonyl-Luotonin A (s. Schema 9), das Mischungsverhältnis beträgt gemäß  $^1\text{H}$ -NMR-Analyse des Rohproduktes (vor der Umkristallisation) ungefähr 1:1 (s. Abb. 8).



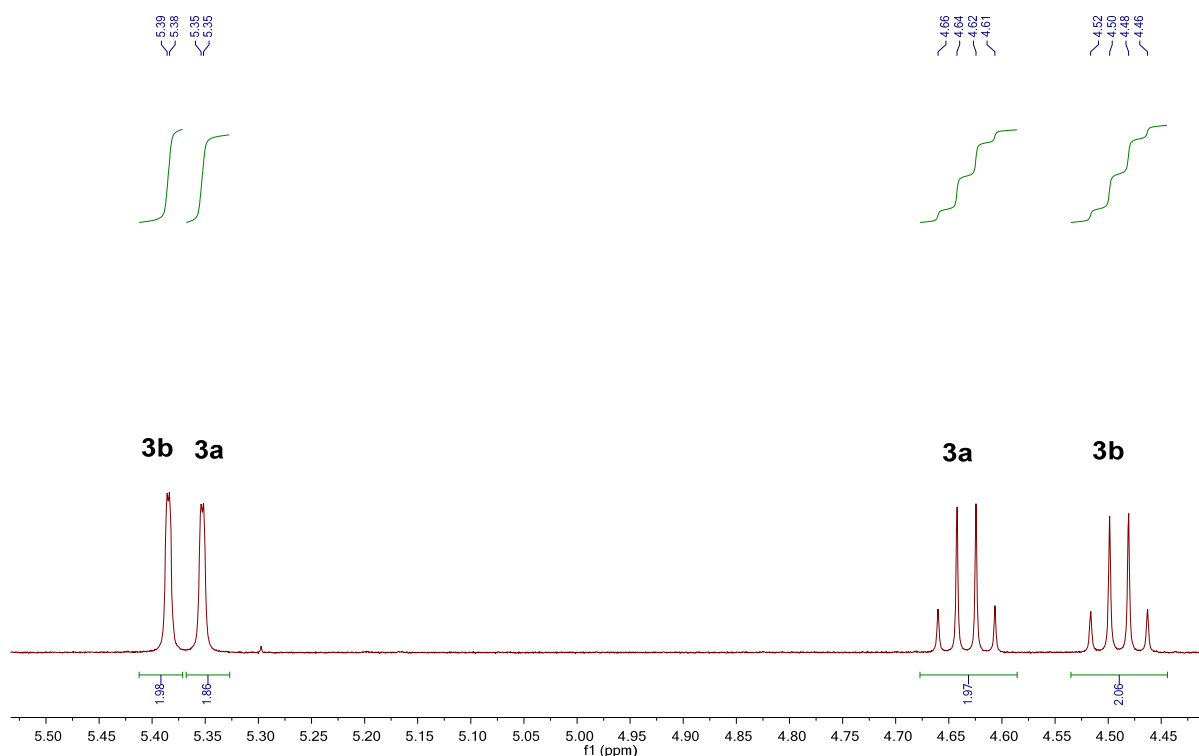


Abb. 8: Ausschnitt aus dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des rohen Isomerengemisches von **3a** und **3b** (Signale der 13-CH<sub>2</sub>-Gruppe bei ca. 5.35–5.40 ppm und jene der OCH<sub>2</sub>-Gruppe bei 4.50–4.65 ppm)

## 2.5 Versuche zur Isomerentrennung

Für die beabsichtigte Trennung der beiden isomeren Ester **3a** und **3b** wurden verschiedene Möglichkeiten in Betracht gezogen. Zuerst wurde versucht, durch fraktionierte Umkristallisation die Verbindungen zu trennen. Dabei zeigte sich, dass sich das Produktgemisch zwar sehr gut aus Ethanol umkristallisieren lässt, das Mischungsverhältnis im Kristallisat aber weitgehend unverändert bleibt ( $^1\text{H}$ -NMR-Analyse). Auch orientierende Versuche mit anderen Lösungsmitteln brachten ähnliche Ergebnisse.

In der Folge wurde deshalb untersucht, ob die unterschiedliche sterische Umgebung der Estergruppen in **3a** und **3b** für eine selektive Esterhydrolyse

des 2-Esters (**3b**) genutzt werden kann. Im Erfolgsfall ließe sich der verbleibende Ester **3a** von der aus **3b** resultierenden Carbonsäure leicht mittels Extraktion aus alkalischem Medium isolieren. Ein entsprechender Versuch bei Raumtemperatur unter Verwendung von wässrigem Lithiumhydroxid im Gemisch mit Tetrahydrofuran als Lösungsmittel zeigte allerdings, dass die beiden DC-Flecken von **3a** und **3b** mit annähernd gleicher Geschwindigkeit in ihrer Intensität abnehmen, sodass auch dieser Trennungsversuch nicht zum Erfolg führte.

Letztlich gelang es hingegen, das unterschiedliche chromatographische Laufverhalten von **3a** und **3b** für eine präparative Trennung zu nutzen. Mittels Säulenchromatographie an Kieselgel 60 unter Anwendung eines Fließmittelgradienten von reinem Dichlormethan zu einem Gemisch  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Ethylacetat (4+1) wird zunächst die apolarere Verbindung **3b** erhalten, danach erfolgt die Elution von **3a**. Eine allfällige Mischfraktion kann durch nochmalige Trennung auf einer weiteren Säule vollständig in die beiden Komponenten aufgetrennt werden. Anschließendes Umkristallisieren aus Ethanol liefert die Zielverbindung **3a** sowie den isomeren Ester **3b** jeweils in analysenreiner Form.

Im Massenspektrum der Zielstruktur ist wie erwartet der Molekülionenpeak bei  $m/z = 357$  zu sehen. Außerdem wird die Summenformel mittels HRMS bestätigt.

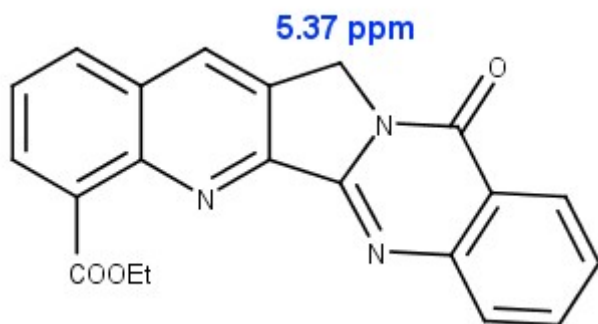


Abb. 9: charakteristische  $^1\text{H}$ -NMR-Signallage der 13-Methylengruppe in **3a**

Neben den massenspektrometrischen Daten wird die Struktur des neuen 4-substituierten Luotonin-A-Derivates durch  $^1\text{H}$ -NMR- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren bestätigt. Es treten charakteristische Veränderungen im Vergleich zu den Signalen des Eduktes (**2**) auf. In den  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren fehlt das Signal des Nitrils bei 111.4 ppm, welches als ein wichtiger Hinweis auf die erfolgreiche Cyclisierung betrachtet werden kann. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum ist ein Singulett bei 5.37 ppm der Methylengruppe in Position 13 zu sehen, diese chemische Verschiebung ist für Verbindungen dieses Typs charakteristisch. Mithilfe der Kombination von NOESY- und COSY-Spektren konnten sämtliche Protonensignale zugeordnet werden, eine ebenso vollständige Zuordnung aller  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale gelang mittels APT, HSQC und HMBC-Experimenten.

## 2.6 Fazit und Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit wurde somit erfolgreich erstmals ein Derivat des Alkaloids Luotonin A mit einer Ethoxycarbonyl-Funktion in Position 4 des A-Ringes in guter Gesamtausbeute synthetisiert, isoliert und charakterisiert. Die Zielverbindung **3a** stellt das letzte in der Arbeitsgruppen-Substanzbibliothek noch fehlende Positionsisomere mit einer Estergruppe an Ring A dar und war trotz mehrfacher Versuche bis jetzt unzugänglich geblieben. Die Verbindung soll in weiterer Folge *in vitro* hinsichtlich ihrer wachstumshemmenden Aktivität gegenüber Krebszellen getestet werden, wobei der Vergleich mit den bisher bereits vorhandenen Analoga interessante Einblicke in die Struktur-Aktivitäts-Beziehungen gewähren sollte.

### **3. Experimenteller Teil**

#### **3.1 Geräte und Materialien**

##### **Chromatographie**

###### **DC**

Für Identitätsprüfungen und Kontrollen der Reaktionsvollständigkeit wurden DC-Fertigfolien ALUGRAM Xtra SIL G/UV<sub>254</sub> Kieselgel 60 der Fa. Macherey-Nagel verwendet. Die Detektion erfolgte mittels einer Camag-UV-Lampe unter UV<sub>254</sub> *via* Fluoreszenzminderung sowie unter UV<sub>366</sub> *via* Eigenfluoreszenz.

###### **SC**

Für die Säulenchromatographie wurde als Sorbens Kieselgel 60 (0.063-0.200 mm) der Fa. Merck verwendet. Die Detektion erfolgte diskontinuierlich mittels Tüpfeln auf KGF<sub>254</sub>-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 <sup>1</sup>H-NMR-Spektren (400 MHz) und <sup>13</sup>C-NMR-Spektren (100 MHz) wurden auf einem Bruker Avance III 400 Spektrometer gemessen, die Referenzierung ( $\delta$ -Werte in ppm bezogen auf TMS) erfolgte mittels undeutlierter Anteile des jeweils verwendeten Lösungsmittels.

**Schmelzpunkte**

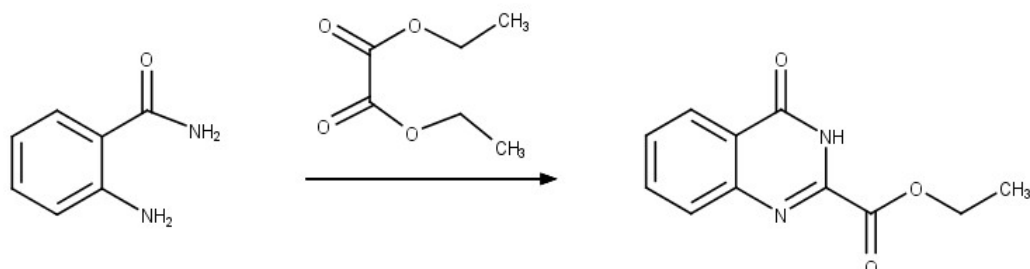
Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztischmikroskop der Fa. Leica ermittelt.

**Reagenzien und Lösungsmittel**

Die Reagenzien und Lösungen wurden in „reinst“ Qualität verwendet und von den Firmen Sigma-Aldrich und VWR bezogen.

### 3.2 Arbeitsvorschriften

#### Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat [17,18]



In Anlehnung an die in Lit. [17] beschriebene Methode werden in einem 100 ml Rundkolben 6.80 g (50 mmol) Anthranilsäureamid und 50 ml Oxalsäurediethylester vermischt, danach wird 1 ml konzentrierte Essigsäure zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wird 24 h unter Rückfluss erhitzt. Mittels Dünnschichtchromatographie (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9+1) wird die Vollständigkeit der Reaktion überprüft.

Nachdem das Reaktionsgemisch abgekühlt ist, wird der gebildete Niederschlag abgenutscht, mit EtOH gewaschen und danach in 50 ml Diethylether resuspendiert. Nach 30 min Rühren wird abermals abgenutscht, mit EtOH und Ether gewaschen und im Vakuumexsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

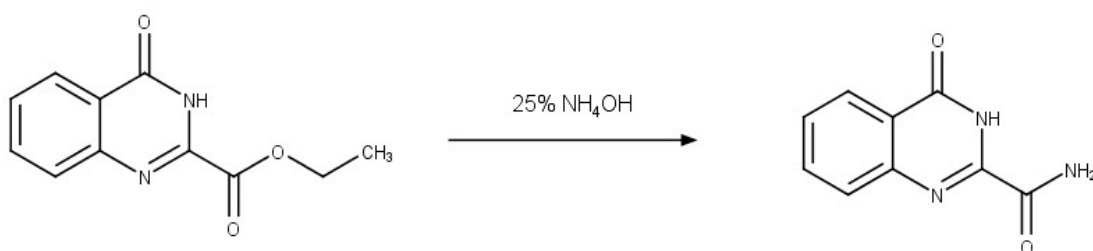
**Ausbeute:** 8.68 g (80%) (Lit. [17]: 81%)

**Summenformel:** C<sub>11</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

**Molekulargewicht:** 218.21

**Schmelzpunkt:** 184–185 °C (Lit. [18]: 179–180 °C)

#### 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid [24,25]



In einem 100 ml Rundkolben werden 4.0 g (18.35 mmol) des Chinazolinoncarbonsäureesters entsprechend dem in Lit. [25] beschriebenen Verfahren mit 20 ml 25% wässriger Ammoniak-Lösung 2 h auf eine Badtemperatur von 70 °C erhitzt (DC-Kontrolle: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9+1). Danach wird das Gemisch abgekühlt und über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt. Anschließend werden 30 ml Wasser zugesetzt und der Ansatz wird 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Nachdem sich der Feststoff vollständig gelöst hat, wird das Reaktionsgemisch in ein Becherglas übergeführt und unter Eiskühlung mit 2N HCl unter pH-Wert-Kontrolle angesäuert. Es bildet sich ein weißer Niederschlag, der abgenutscht und mit viel Wasser gewaschen wird, bis die Waschflüssigkeit neutralreagiert. Die Trocknung erfolgt im Vakuumexsikkator.

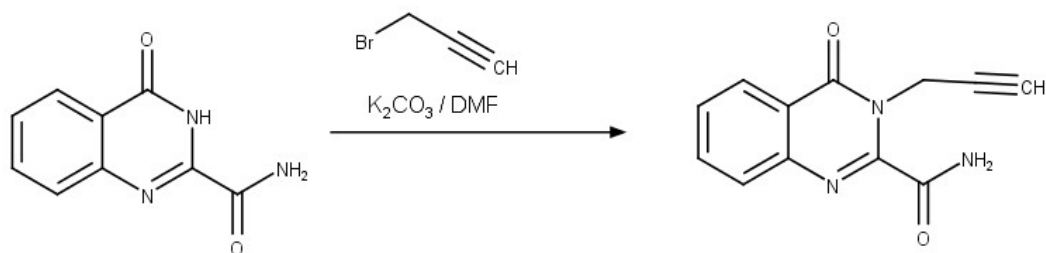
**Ausbeute:** 3.219 g (93%) (Lit. [25]: 98%)

**Summenformel:** C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 189.17

**Schmelzpunkt:** 225–226 °C (Lit. [25]: 231–233 °C)

#### 4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid [23]



Gemäß Lit. [23] werden 0.946 g (5 mmol) 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid in 15 ml Dimethylformid unter Rühren gelöst. Danach werden nacheinander 0.830 g (6 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 0.892 g (6 mmol) Propargylbromidlösung (80% in Toluol) zugesetzt. Bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch in einem geschlossenen Gefäß 24 h gerührt. Das Reaktionsende wird mittels DC-Kontrolle (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9+1) festgestellt.

Unter Eiskühlung wird das Reaktionsgemisch in 50 ml Wasser gegossen, wobei das Produkt als hellbrauner Niederschlag ausfällt. Dieser wird nach 20 min Rühren im Eisbad abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

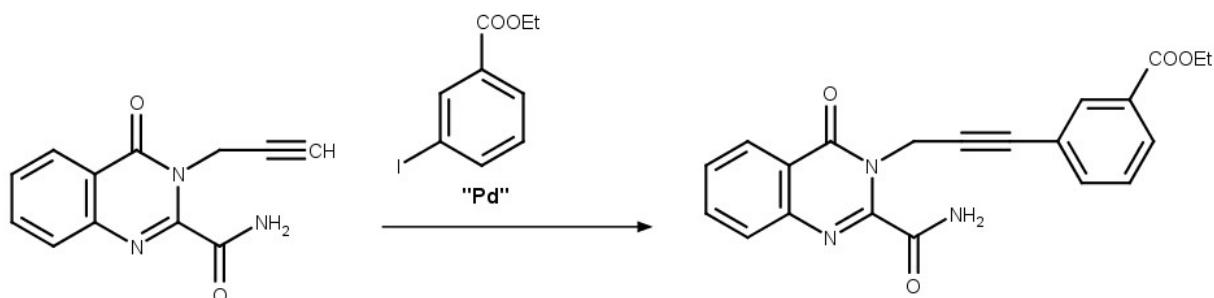
**Ausbeute:** 1.98 g (87%; Lit. [23]: 75%)

**Summenformel:** C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 227.22

**Schmelzpunkt:** 203–205 °C (Lit. [23]: 203–205 °C)

**Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (1)**



In einem 50 ml Zweihalsrundkolben werden 227 mg (1 mmol) 4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid in 1 ml Dimethylformamid suspendiert. Es werden 15 ml trockenes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  hinzugefügt und das Gemisch wird 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach werden nacheinander 414 mg (1.5 mmol) 3-Iodbenzoesäureethylester, 55 mg 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol, 38 mg CuI, 70 mg  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  und 243 mg frisch destilliertes Triethylamin zugesetzt und nach gründlichem Spülen der Suspension mit trockenem Argon in einem geschlossenen Gefäß 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Es kommt rasch zu einer charakteristischen Dunkelfärbung des Gemischs, die Reaktionskontrolle erfolgt mittels DC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ , 4+1).

Anschließend wird das Reaktionsgemisch durch ein Faltenfilter filtriert und der Filtrerrückstand mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  nachgewaschen. Das Filtrat wird zweimal mit 0.5N HCl ausgeschüttelt und mit gesättigter NaCl-Lösung neutral gewaschen. Nach der Trocknung über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird in wenig  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  aufgenommen und auf eine Kieselgel-Säule (3 x 10 cm) aufgebracht. Zunächst wird mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  eluiert, bis der Überschuss an 3-Iodbenzoesäureethylester entfernt ist (DC-Kontrolle), danach wird das Fließmittel auf  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$  (3+2) gewechselt. Die gesammelten Fraktionen mit dem Produkt (1) werden eingedampft und im Vakuum getrocknet. Durch Umkristallisation aus wenig EtOH erhält man farblose Nadeln.

**Ausbeute:** 0.198 g (53%)

**Summenformel:** C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

**Molekulargewicht:** 375.38

**Schmelzpunkt:** 168–169 °C

**MS** (Tafel 1): *m/z* (rel. Int.) = 376 (27%), 375 (M<sup>+</sup>, 100), 332 (19), 258 (25), 159 (22), 129 (22), 114 (20), 113 (20), 102 (25)

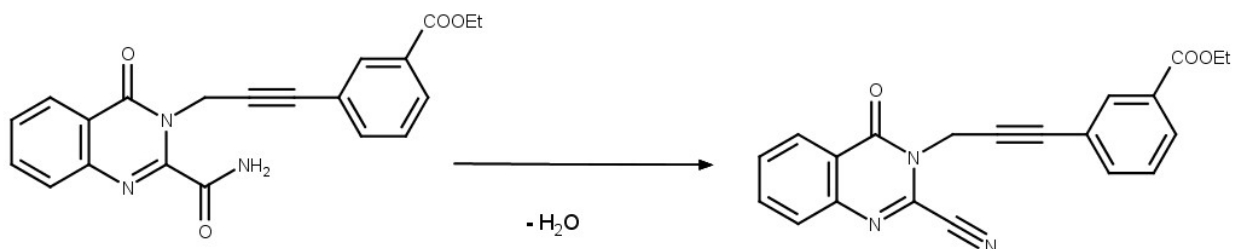
**HRMS:**

| [M+Na] <sup>+</sup> |          |
|---------------------|----------|
| Berechnet:          | 398.1111 |
| Gefunden:           | 398.1116 |

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>; Tafel 2) δ 8.57 (s, 1H, NH), 8.24 (s, 1H, NH), 8.22 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H, 5-H), 7.98–7.88 (m, 3H, 7-H, Phenyl 2'-H, 6'-H), 7.77 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, 8-H), 7.69 (dt, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 1H, Phenyl 4'-H), 7.65 (ddd, *J* = 8.2, 7.3, 1.1 Hz, 1H, 6-H), 7.52 (td, *J* = 7.7, 1.1 Hz, 1H, Phenyl 5'-H), 5.31 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 4.30 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 1.31 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>; Tafel 3) δ 164.9 (Ester C=O), 163.3 (Amid C=O), 160.0 (4-C), 148.9 (2-C), 145.9 (8a-C), 135.9 (Phenyl 4'-C), 135.2 (7-C), 131.8 (Phenyl 2'-C), 130.3 (Phenyl 1'-C), 129.3 (Phenyl 6'-C, 5'-C), 128.3 (6-C), 127.6 (8-C), 126.5 (5-C), 122.2 (Phenyl 3'-C), 120.9 (4a-C), 85.7 (Propargyl 2-C), 81.8 (Propargyl 1-C), 61.1 (OCH<sub>2</sub>), 33.7 (NCH<sub>2</sub>), 14.1 (CH<sub>3</sub>)

**Ethyl-3-[3-(2-cyano-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (2)**



In einem ausgeheizten 25 ml Rundkolben werden 112 mg (0.3 mmol) Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (1) in 2 ml trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> suspendiert. Danach werden unter Eiskühlung 2 ml Triethylamin zugegeben, anschließend wird tropfenweise 1 ml Trifluoressigsäure zugegeben und das Gemisch wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach DC-Kontrolle (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) wird die Reaktionslösung langsam auf Eis getropft (ca 20 ml) und weitere 30 min gerührt. Die zwei Phasen werden im Scheidetrichter getrennt. Anschließend wird die wässrige Phase mit 3 x 20 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden nacheinander mit 0.5 N HCl, Wasser, 10% NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und abermals Wasser gewaschen. Die Lösung wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Nach Umkristallisation aus EtOH erhält man farblose, sehr feine Kristalle.

**Ausbeute:** 77 mg (73%)

**Summenformel:** C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

**Molekulargewicht:** 357.38

**Schmelzpunkt:** 141–143 °C

**MS** (Tafel 10): *m/z* (rel. Int.) = 357 (M<sup>+</sup>, 57%), 284 (45), 187 (45), 159 (92), 114 (98), 113 (100), 102 (70), 88 (53), 77 (56), 63 (84)

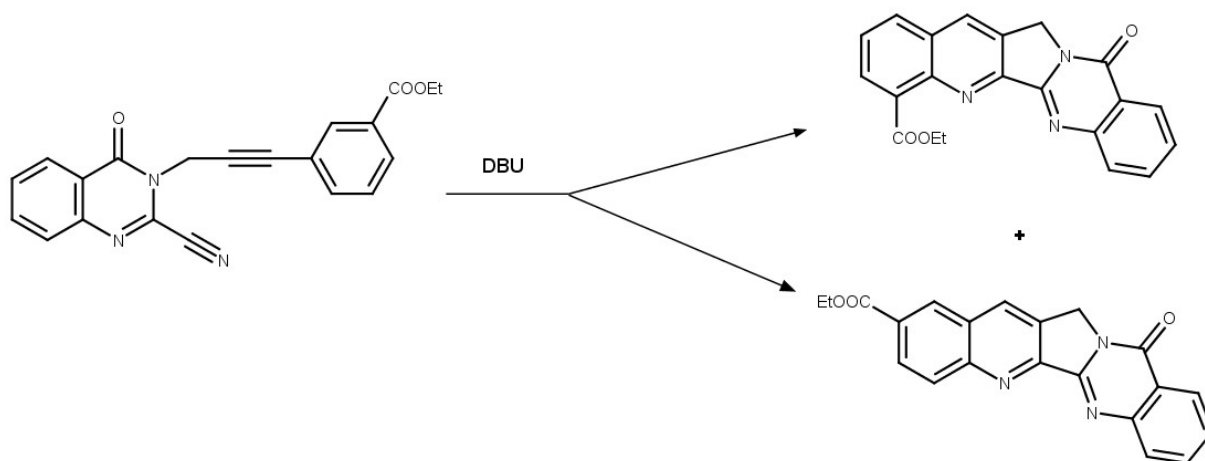
**HRMS:**

| [M+Na] <sup>+</sup> |          |
|---------------------|----------|
| Berechnet:          | 380.1006 |
| Gefunden:           | 380.1010 |

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Tafel 11) δ 8.37 (dd, *J* = 8.0, 1.0 Hz, 1H, 5-H), 8.11 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H, Phenyl 2'-H), 8.00 (dt, *J* = 7.9, 1.4 Hz, 1H, Phenyl 6'-H), 7.87 (ddd, *J* = 8.4, 7.0, 1.5 Hz, 1H, 7-H), 7.84–7.80 (m, 1H, 8-H), 7.67 (ddd, *J* = 8.2, 7.0, 1.4 Hz, 1H, 6-H), 7.63 (dt, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 1H, Phenyl 4'-H), 7.38 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, Phenyl 5'-H), 5.31 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>), 4.36 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 1.38 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Tafel 12) δ 165.8 (Ester C=O), 159.3 (4-C), 146.4 (8a-C), 136.2 (Phenyl 4'-C), 135.5 (7-C), 133.2 (Phenyl 2'-C), 131.0 (2-C, Phenyl 1'-C), 130.4 (6-C), 130.2 (Phenyl 6'-C), 128.8 (8-C), 128.6 (Phenyl 5'-C), 127.5 (5-C), 122.8 (4a-C), 122.1 (Phenyl 3'-C), 111.4 (Nitril-C), 84.9 (Propargyl 1-C), 82.1 (Propargyl 2-C), 61.4 (OCH<sub>2</sub>), 35.9 (NCH<sub>2</sub>), 14.4 (CH<sub>3</sub>)

**Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]-chinazolin-4-carboxylat (**3a**) und Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (**3b**)**



In einer Pyrex-Schraubeprouvette werden 50 mg (0.14 mmol) Ethyl-3[3-(2-cyano-4-oxochinazolin-3(4*H*)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (**2**) in 4 ml 1,2-Dichlorbenzol gelöst. Danach wird die Lösung mit Argon gründlich gespült und mit 0.1 ml einer 0.1 M Lösung von DBU in 1,2-Dichlorbenzol versetzt. Die Epruvette wird verschlossen und im Ölbad 2 h auf 110 °C erhitzt. Bereits nach ca. 20 min färbt sich die Reaktionslösung leicht gelb und zeigt eine deutliche Trübung. Nach dem Reaktionsende (2 h; DC-Kontrolle: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc, 4+1) wird abgekühlt, dabei vermehrt sich der Niederschlag und die Ausfällung wird durch Zusatz von 10 ml Ether vervollständigt. Das Reaktionsgemisch wird mehrere Stunden im Kühlschrank aufbewahrt. Nach dem Abnutschen der Kristalle und Umkristallisation aus Ethanol erhält man 36 mg (72%) eines nahezu farblosen Produktes, welches aus den beiden Isomeren **3a** und **3b** besteht (**3a** : **3b** = 1 : 1.05 gemäß <sup>1</sup>H-NMR-Analyse des rohen Gemisches; vgl. Tafel 29).

Säulenchromatographische Isomerentrennung: dafür wurden 100 mg eines Gemisches<sup>1</sup> der beiden Ester auf eine Kieselgel-Säule (3 x 10 cm) aufgebracht und zunächst mit reinem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> eluiert. Die erste Fraktion enthielt 66 mg 2-Ethoxycarbonyl-Luotonin A (**3b**). Danach erfolgte ein Wechsel des Fließmittels zu CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOAc (4+1) und es wurden 34 mg 4-Ethoxycarbonyl-Luotonin A (**3a**) eluiert. Umkristallisation aus EtOH liefert die Zielverbindung **3a** als farblose Kristalle, Schmelzintervall 266–269 °C.

**MS** (Tafel 18): *m/z* (rel. Int.) = 357 (M<sup>+</sup>, 13%), 312 (10), 286 (22), 285 (100), 284 (22), 229 (12), 156 (12), 142 (15), 128 (15), 114 (12), 102 (13), 77 (23), 76 (21), 63 (14)

**HRMS:**

| [M+Na] <sup>+</sup> |          |
|---------------------|----------|
| Berechnet:          | 380.1006 |
| Gefunden:           | 380.1005 |

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Tafel 19) δ 8.49 (s, 1H, 14-H), 8.43 (dd, *J* = 7.9, 1.2 Hz, 1H, 10-H), 8.23 (dd, *J* = 7.1, 1.4 Hz, 1H, 3-H), 8.12–8.03 (m, 2H, 1-H, 7-H), 7.86 (ddd, *J* = 8.3, 7.1, 1.6 Hz, 1H, 8-H), 7.73 (dd, *J* = 8.2, 7.2 Hz, 1H, 2-H), 7.63–7.55 (m, 1H, 9-H), 5.37 (d, *J* = 0.9 Hz, 2H, 13-CH<sub>2</sub>), 4.63 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 1.55 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>; Tafel 20) δ 167.0 (Ester C=O), 160.8 (11-C), 152.2 (5a-C, 5b-C), 149.4 (6a-C), 146.8 (4a-C), 134.7 (8-C), 132.8 (4-C), 132.2 (3-C), 132.0 (14-C), 131.6 (1-C), 130.2 (13a-C), 129.1 (7-C), 128.8 (14a-C), 127.7 (9-C), 127.6 (2-C), 126.5 (10-C), 121.4 (10a-C), 62.0 (OCH<sub>2</sub>), 47.3 (13-C), 14.5 (CH<sub>3</sub>)

<sup>1</sup> Bei diesem Material handelte es sich nicht um das originale Reaktionsgemisch, sondern um ein vereinigttes Isomerengemisch aus verschiedenen Ansätzen, an dem bereits einige Versuche zur Trennung unternommen worden waren. Dementsprechend stimmen die isolierten Ausbeuten an **3a** und **3b** nicht mit dem ursprünglichen Mischungsverhältnis gemäß <sup>1</sup>H-NMR-Analyse überein.



## 4. Literaturverzeichnis

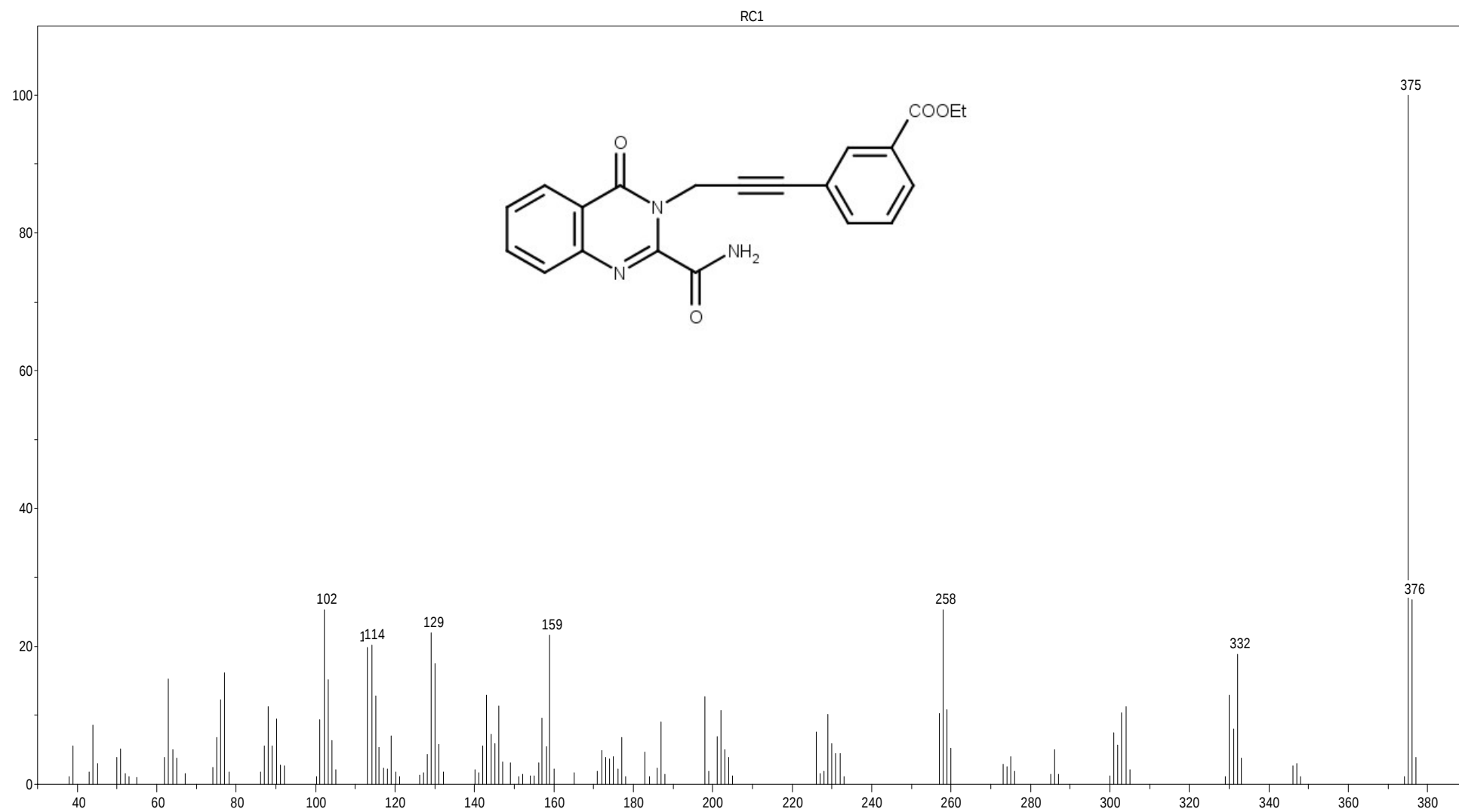
1. González-Ruiz, V.; Pascua, I.; Fernández-Marcelo, T.; Ribelles, P.; Bianchini, G.; Sridharan, V.; Iniesta, P.; Ramos, M. T.; Olives, A. I.; Martín, M. A.; Menéndez, J. C. *PLoS ONE*, **9**, e95998 (2014). .
2. Mutschler, E.; Geislinger, G.; Krömer, H.-K.; Schäfer-Korting, M.: *Arzneimittelwirkungen*, 8. Auflage, Wissenschaftliche Verlags-GmbH, Stuttgart, S. 873, (2001).
3. Steinhilber, D.; Schubert-Zsilavecz, M.; Roth, H. J. *Medizinische Chemie*, 1. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Kapitel 12: Zellproliferation und Neoplasien, S. 461–502 (2005).
4. Aktories, K.; Förstermann, U.; Hoffmann, F.; Starke, K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 11. Auflage, Elsevier, München, Kapitel 35 (2013).
5. Pommier, Y. *Chem. Rev.*, **109**, 2894–2902 (2009).
6. Watson, J. D.; Baker, T.; Bell, S.; Gann, A.; Levine, M.; Losick, R.; *DNA-Topologie* in: *Molekularbiologie*, 6. Auflage, Pearson Studium, München, (2011).
7. Hsiang, Y. H.; Hertzberg, R.; Hecht, S.; Liu, L. F. *J. Biol. Chem.*, **260**, 14873–14878 (1985).
8. Wall, M. E.; Wani, M. C.; Cook, C. E.; Palmer, K. H.; McPhail, A. I.; Sim, G. A. *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 3888–3890 (1966).
9. Dingermann, T.; Hiller, K.; Schneider, G.; Zündorf, I. *Schneider Arzneidrogen*, 5. Auflage, Elsevier GmbH, Spektrum Akademischer Verlag, München, S. 495 (2004).
10. Mutschler, E.; Geislinger, G.; Krömer, H.-K., Ruth, P.; Schäfer-Korting, M. *Mutschler Arzneimittelwirkungen kompakt*, Wissenschaftliche Verlags-GmbH, Stuttgart, S. 417 (2005).
11. Burke, T. G. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **803**, 29–31 (1996).
12. Pizzolato, J. F.; Saltz, L. B. *Lancet*, **361**, 2235–2242 (2003).
13. Mason, J. J.; Bergman, J. *Org. Biomol. Chem.*, **5**, 2486–2490 (2007).

14. Cagir, A.; Eisenhauer, B. M.; Gao, R.; Thomas, S. J.; Hecht, S. M. *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 6287–6299 (2004).
15. Ma, Z. Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J. *Heterocycles*, **51**, 1593–1596 (1999).
16. Liang, J. L.; Cha, H. C.; Jahng, Y. *Molecules*, **16**, 4861–4883 (2011) und dort zitierte Literatur.
17. Zhou, H.-B.; Liu, G.-S.; Yao, Z.-J. *J. Org. Chem.*, **72**, 6270–6272 (2007).
18. Baker, B. R.; Almaula, P. I. *J. Org. Chem.*, **27**, 4672–4674 (1962).
19. Hendrickson, J. B.; Schwartzman, S. M. *Tetrahedron Lett.*, **16**, 277–280 (1975).
20. Haider, N.; Nuß, S. *Molecules*, **17**, 11363–11378 (2012).
21. Haider, N.; Meng, G.; Roger, S.; Wank, S. *Tetrahedron*, **69**, 7066–7072 (2013).
22. Atia, M.; Bogdán, D.; Brügger, M.; Haider, N.; Mátyus, P. *Tetrahedron*, **73**, 3231–3239 (2017).
23. Usifoh, C. O.; Scriba, G. K. E. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **333**, 261–266 (2000).
24. Joshi, V.; Chaudhari, R. P. *Indian J. Chem. B*, **26B**, 602–604 (1987).
25. Váradi, A.; Horváth, P.; Kurtán, T.; Mándi, A.; Tóth, G.; Gergely, A.; Kökösi, J. *Tetrahedron*, **68**, 10365–10371 (2012).
26. Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.*, **50**, 4467–4470 (1975).
27. Gasser, P., Diplomarbeit, Universität Wien (2016).
28. Wank, S., Diplomarbeit, Universität Wien (2012).
29. Dutter, K., Diplomarbeit, Universität Wien (2014).

## **5. Anhang**

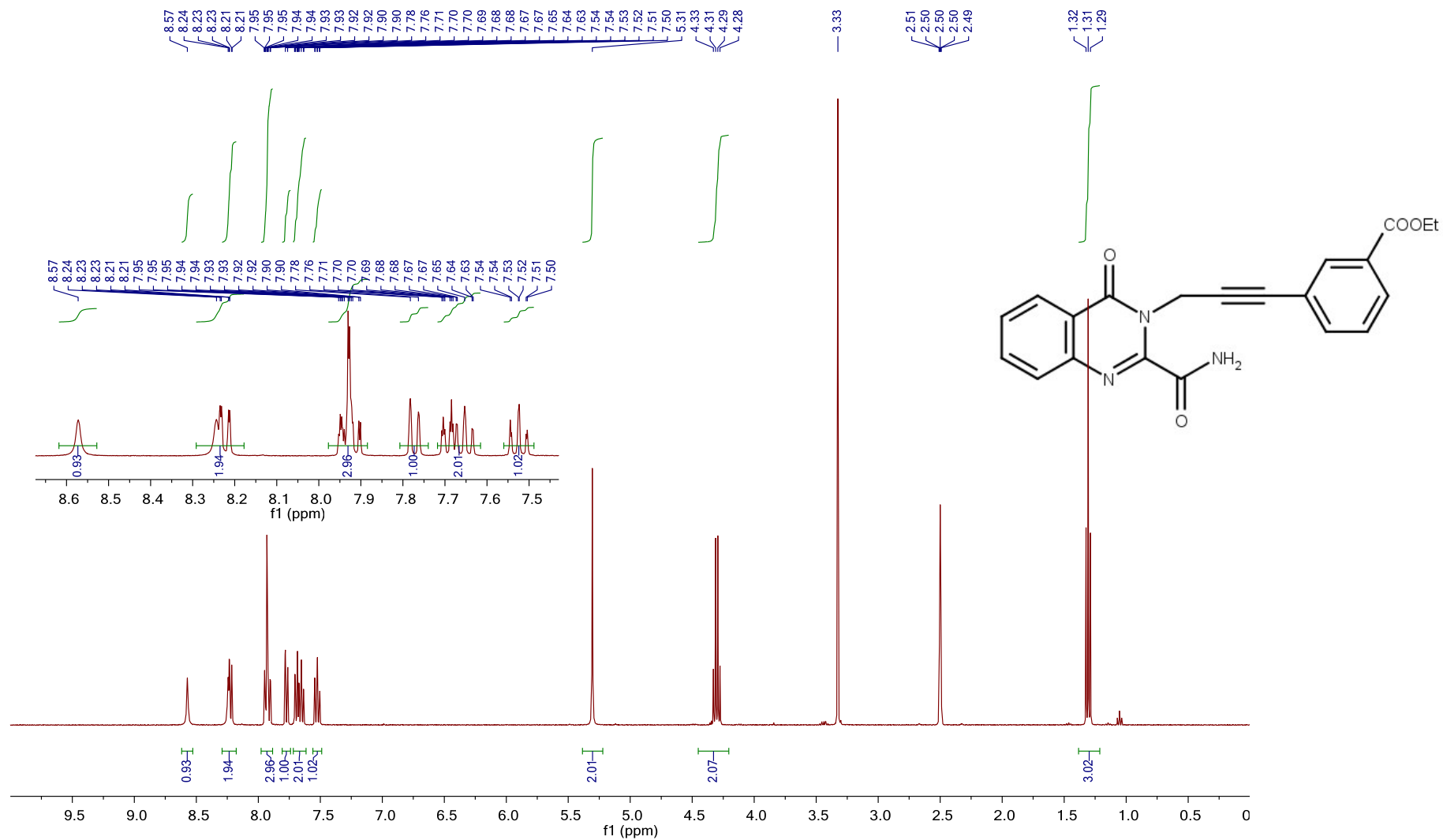
**Spektren**

**Zusammenfassung**



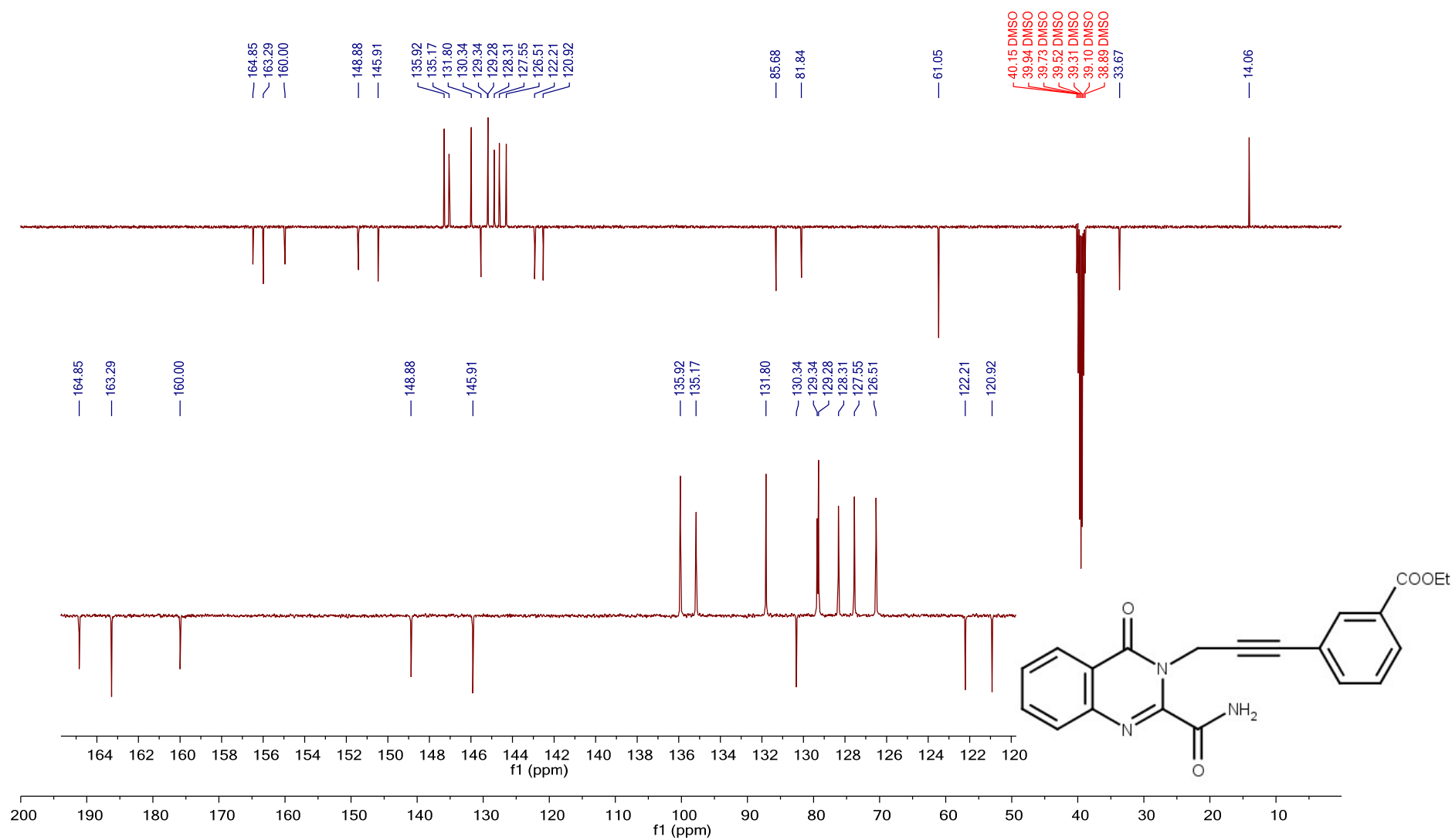
**Tafel 1:** Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (**1**)

RC1; Ethyl 3-[3-(2-carbamoyl-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate 1H / DMSO



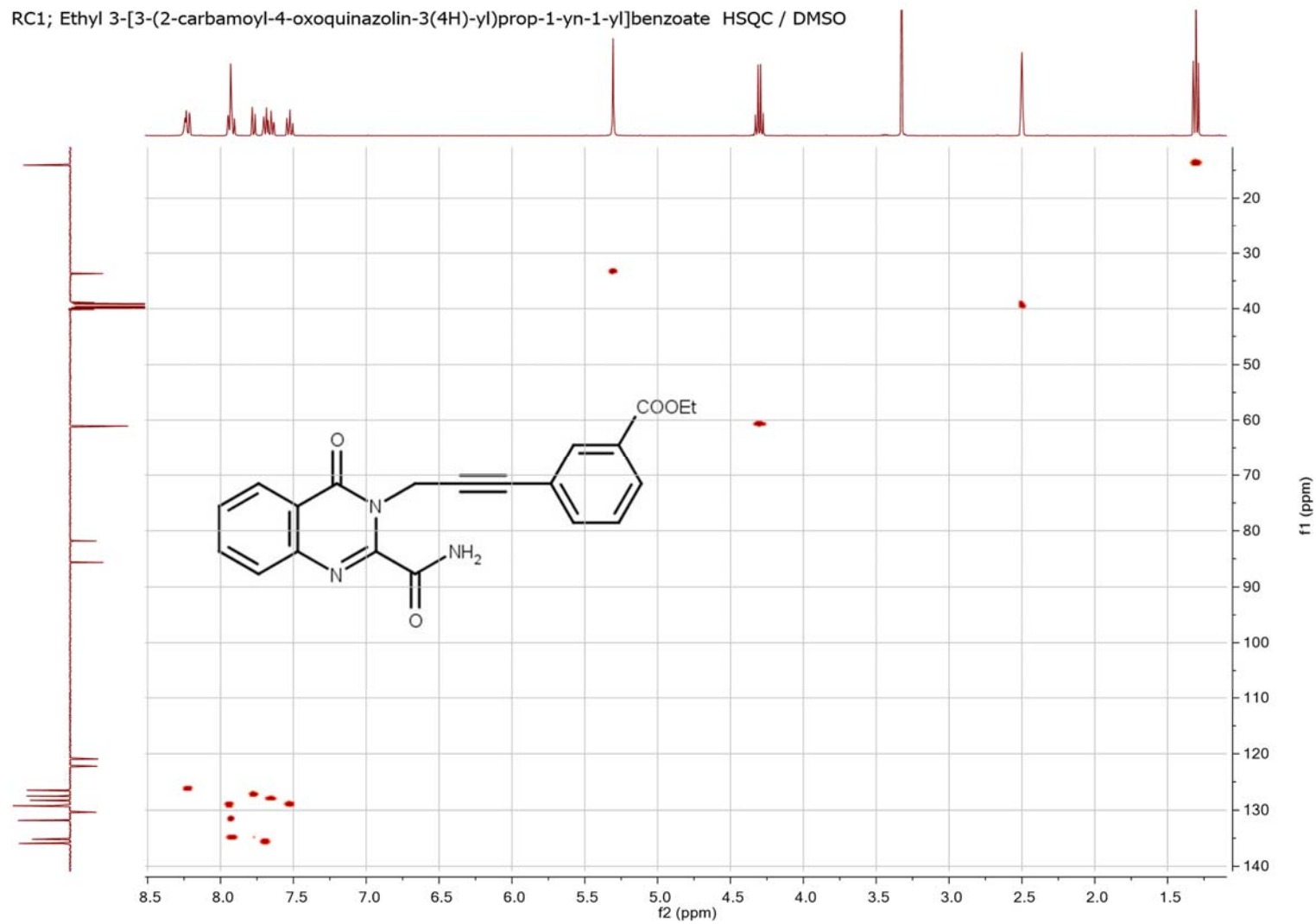
**Tafel 2:** Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (1)

RC1; Ethyl 3-[3-(2-carbamoyl-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate C13APT / DMSO



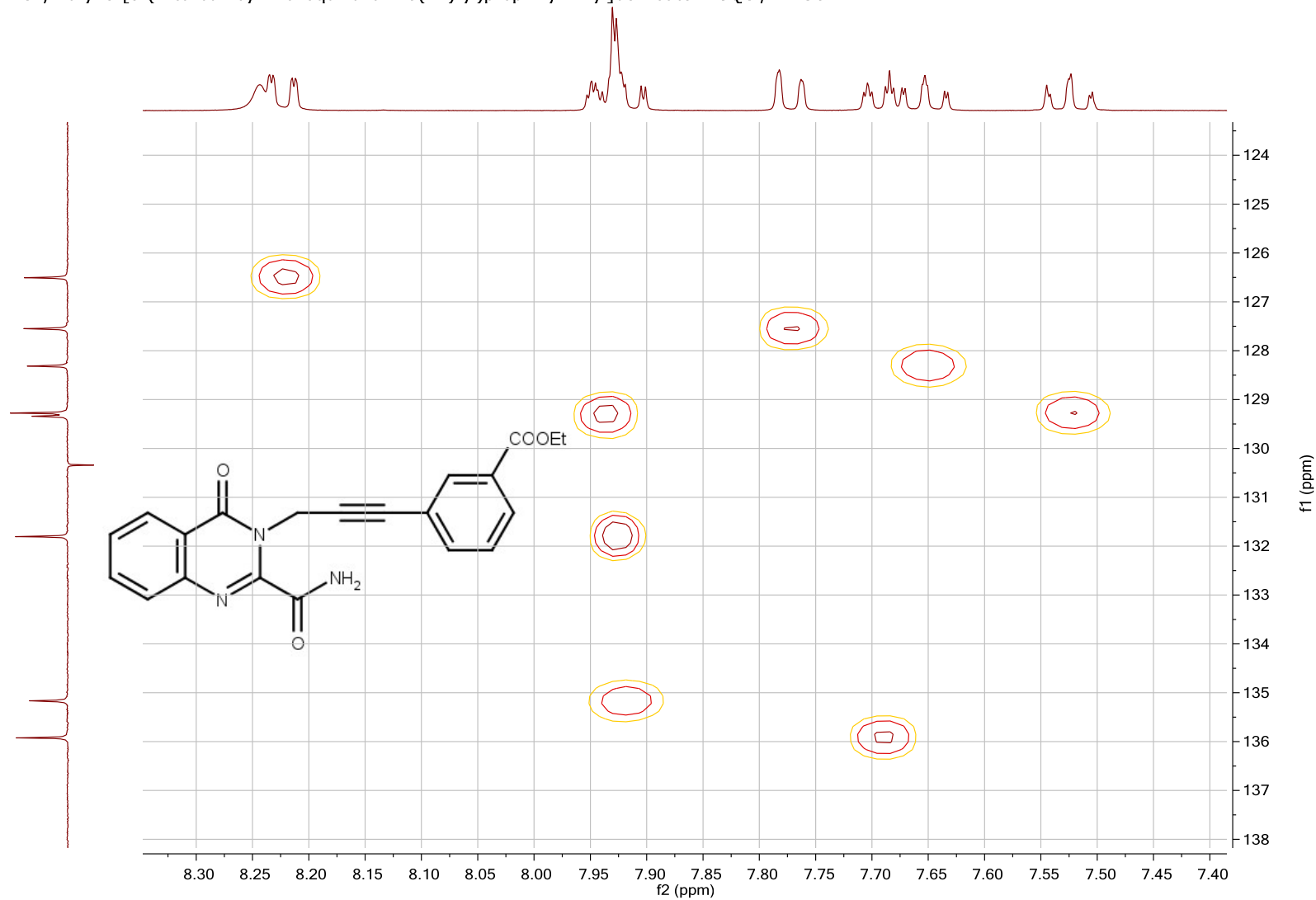
**Tafel 3:** Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (1)

RC1; Ethyl 3-[3-(2-carbamoyl-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate HSQC / DMSO



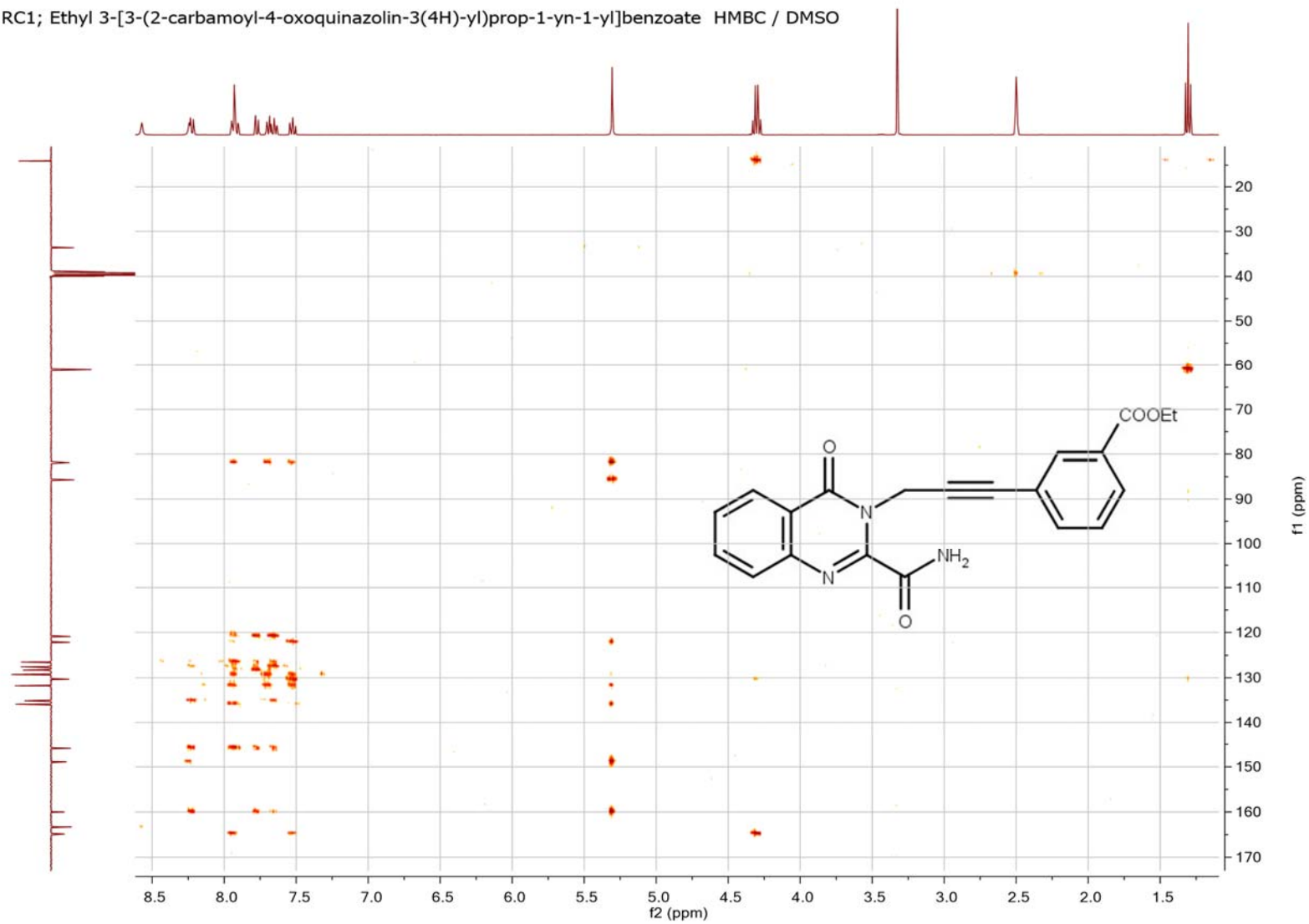
**Tafel 4:** Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4*H*)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (**1**)

RC1; Ethyl 3-[3-(2-carbamoyl-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate HSQC / DMSO



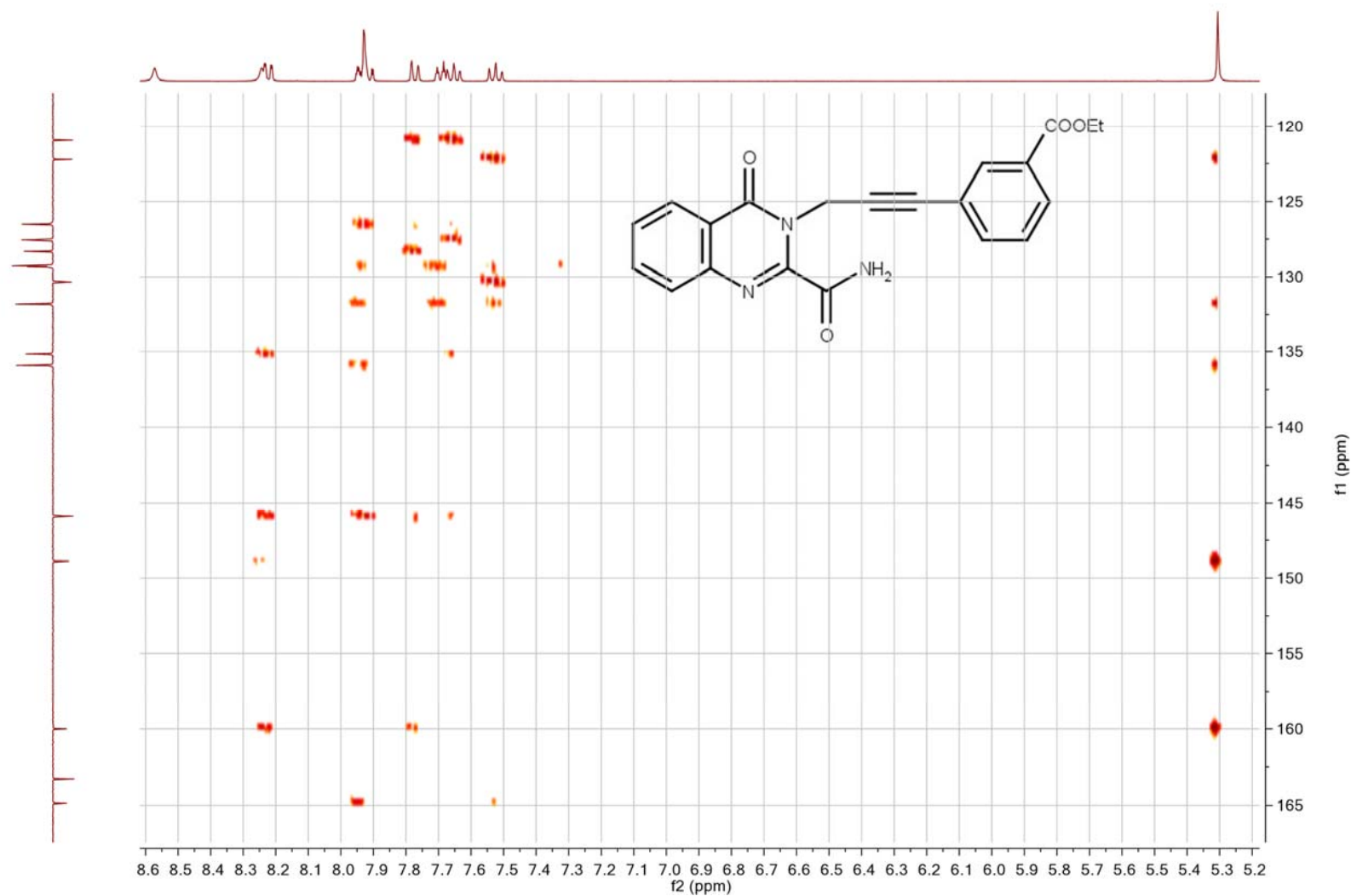
**Tafel 5:** Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (**1**)

RC1; Ethyl 3-[3-(2-carbamoyl-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate HMBC / DMSO



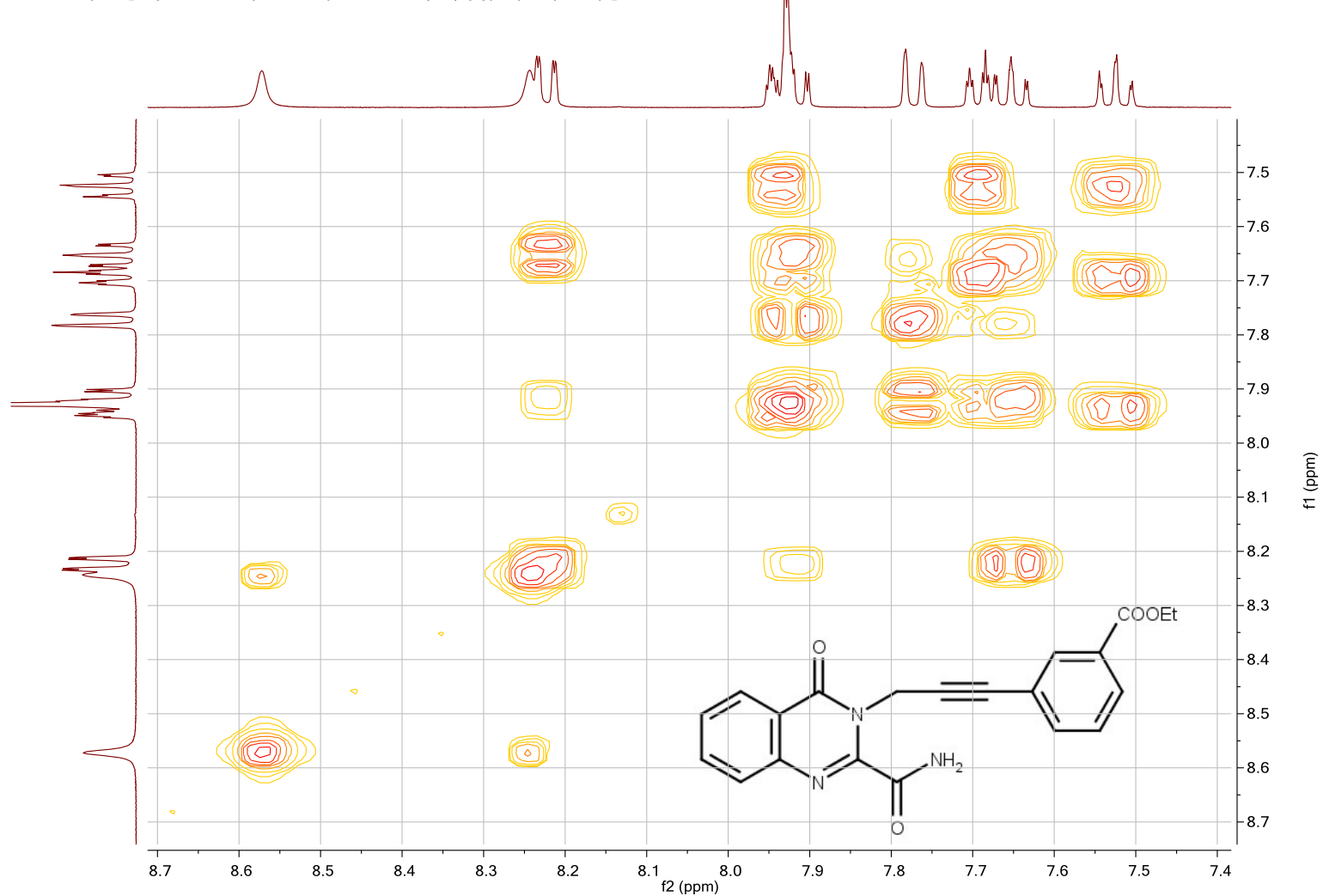
**Tafel 6:** Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (**1**)

RC1; Ethyl 3-[3-(2-carbamoyl-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate HMBC / DMSO



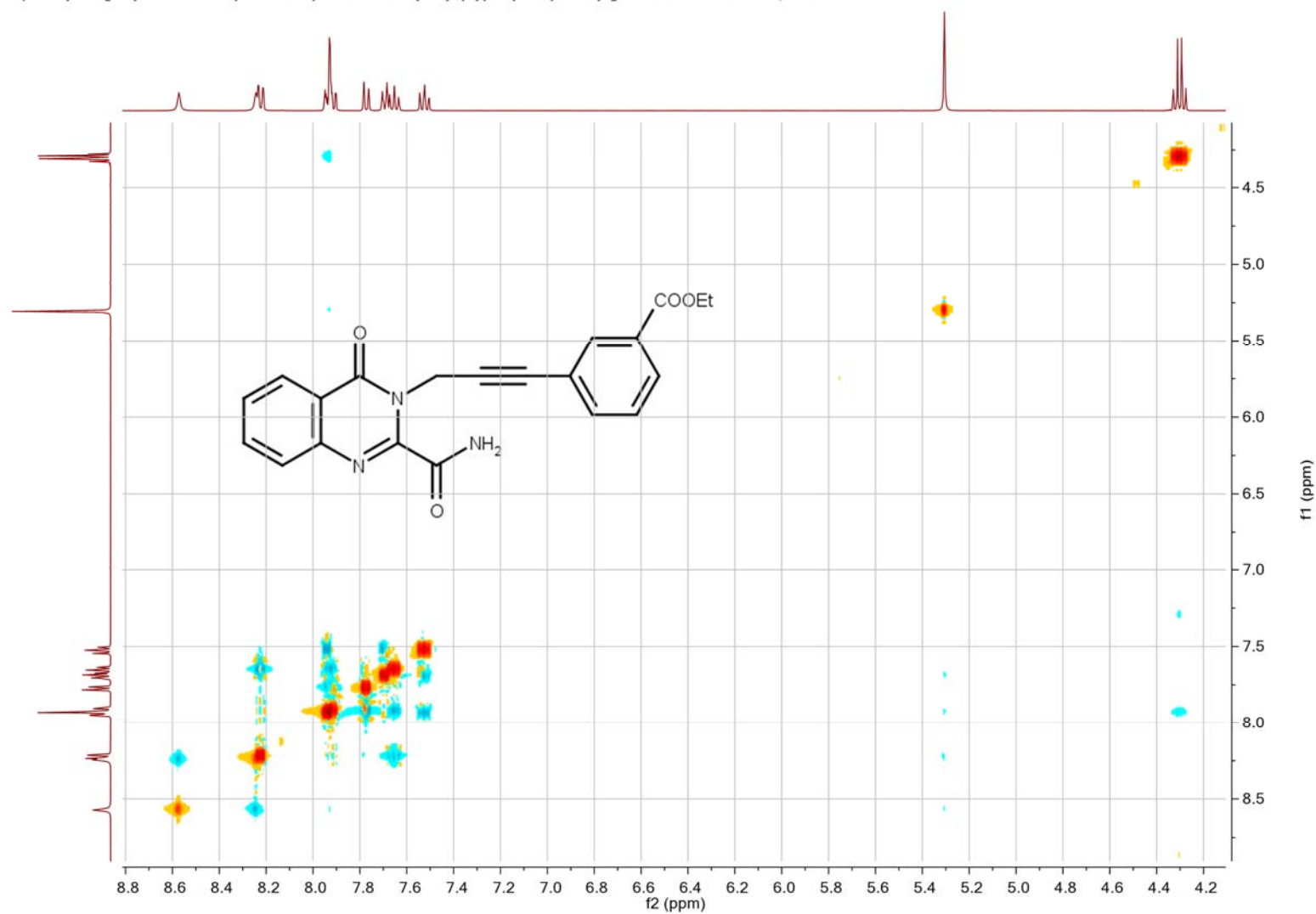
**Tafel 7:** Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (**1**)

RC1; Ethyl 3-[3-(2-carbamoyl-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate COSY / DMSO

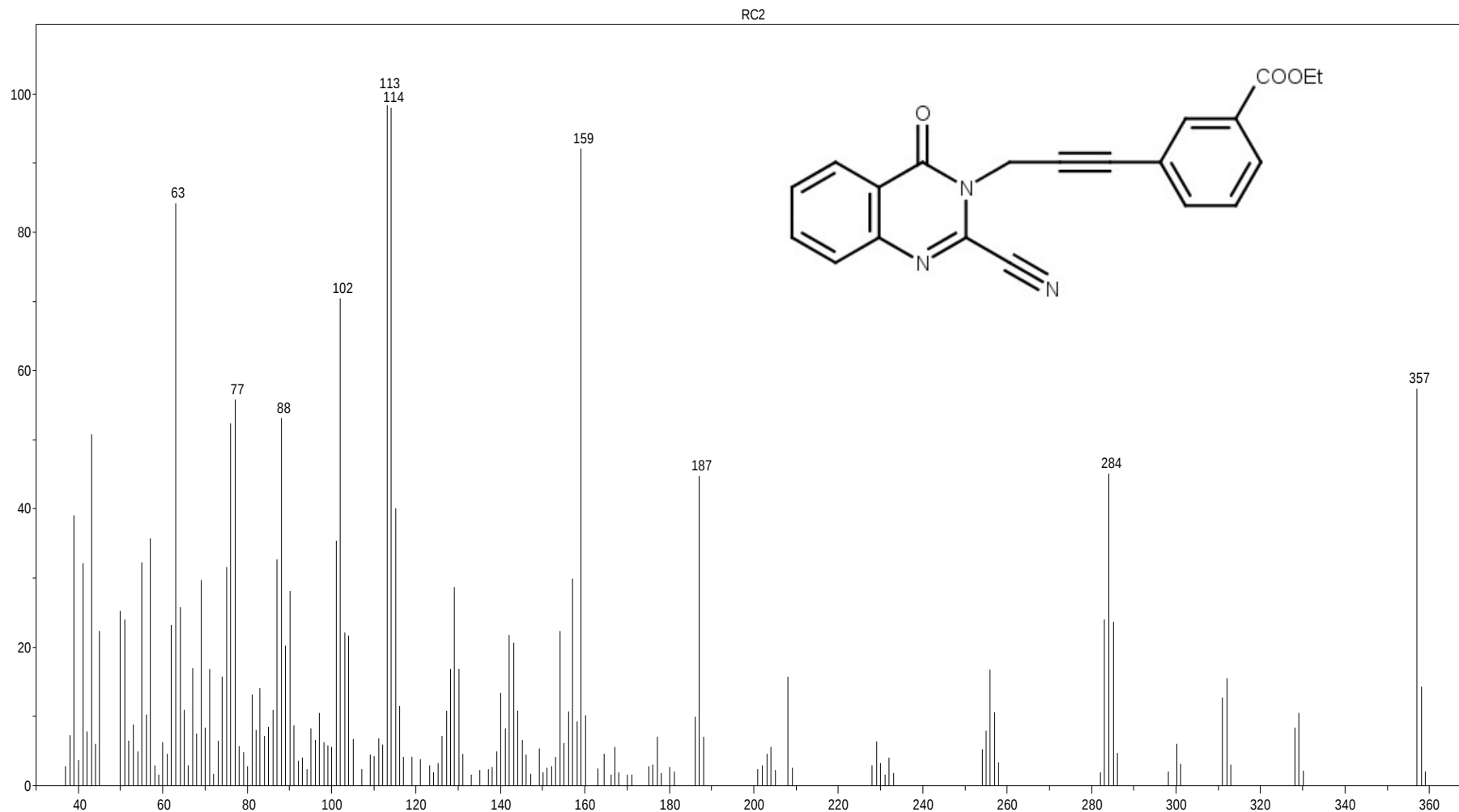


**Tafel 8:** Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (**1**)

RC1; Ethyl 3-[3-(2-carbamoyl-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate NOESY / DMSO

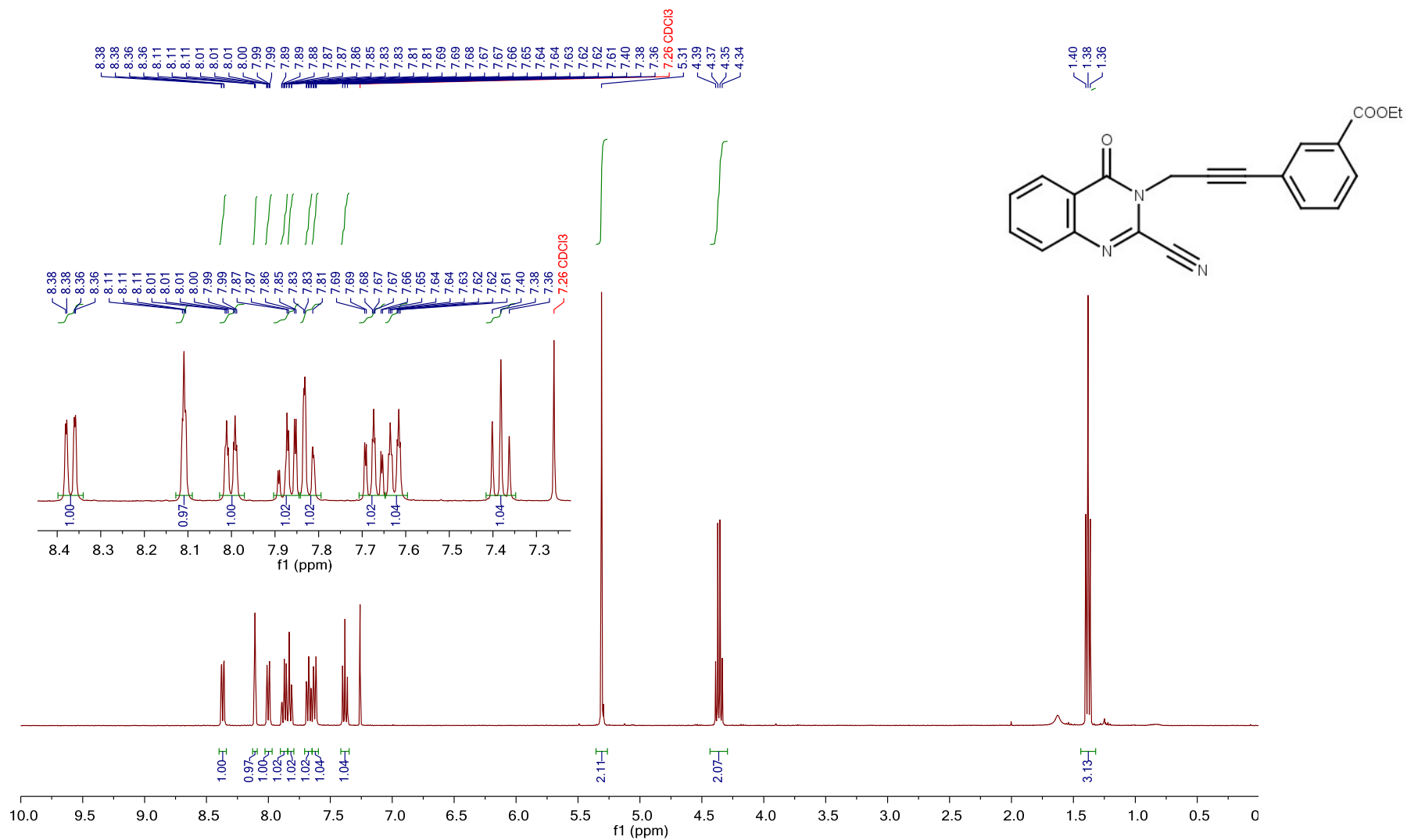


**Tafel 9:** Ethyl-3-[3-(2-carbamoyl-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (**1**)



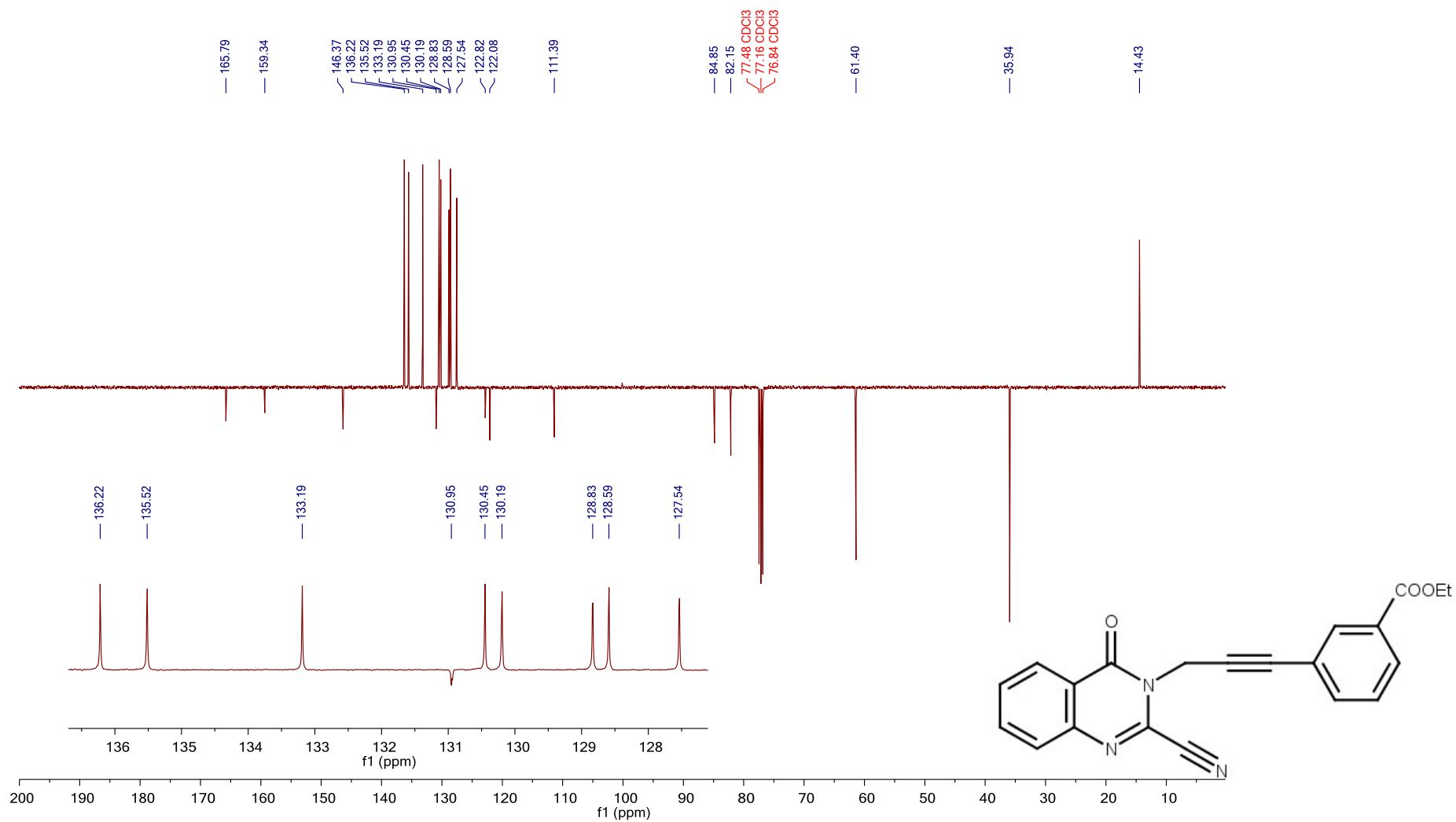
**Tafel 10:** Ethyl-3-[3-(2-cyano-4-oxochinazolin-3(4*H*)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (**2**)

RC2; Ethyl 3-[3-(2-cyano-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate 1H / CDCl3



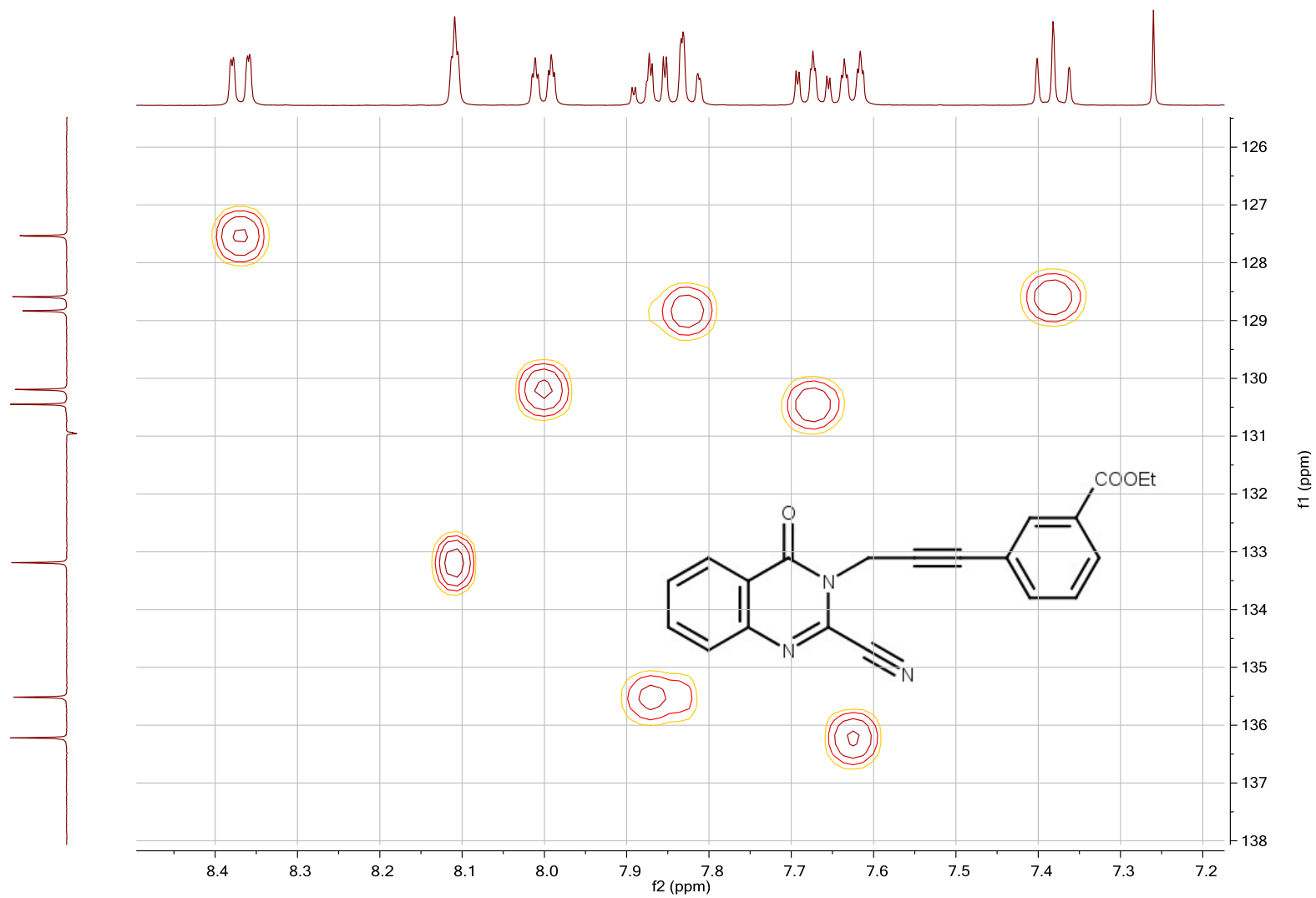
**Tafel 11:** Ethyl-3-[3-(2-cyano-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (2)

RC2; Ethyl 3-[3-(2-cyano-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate C13APT / CDCl<sub>3</sub>



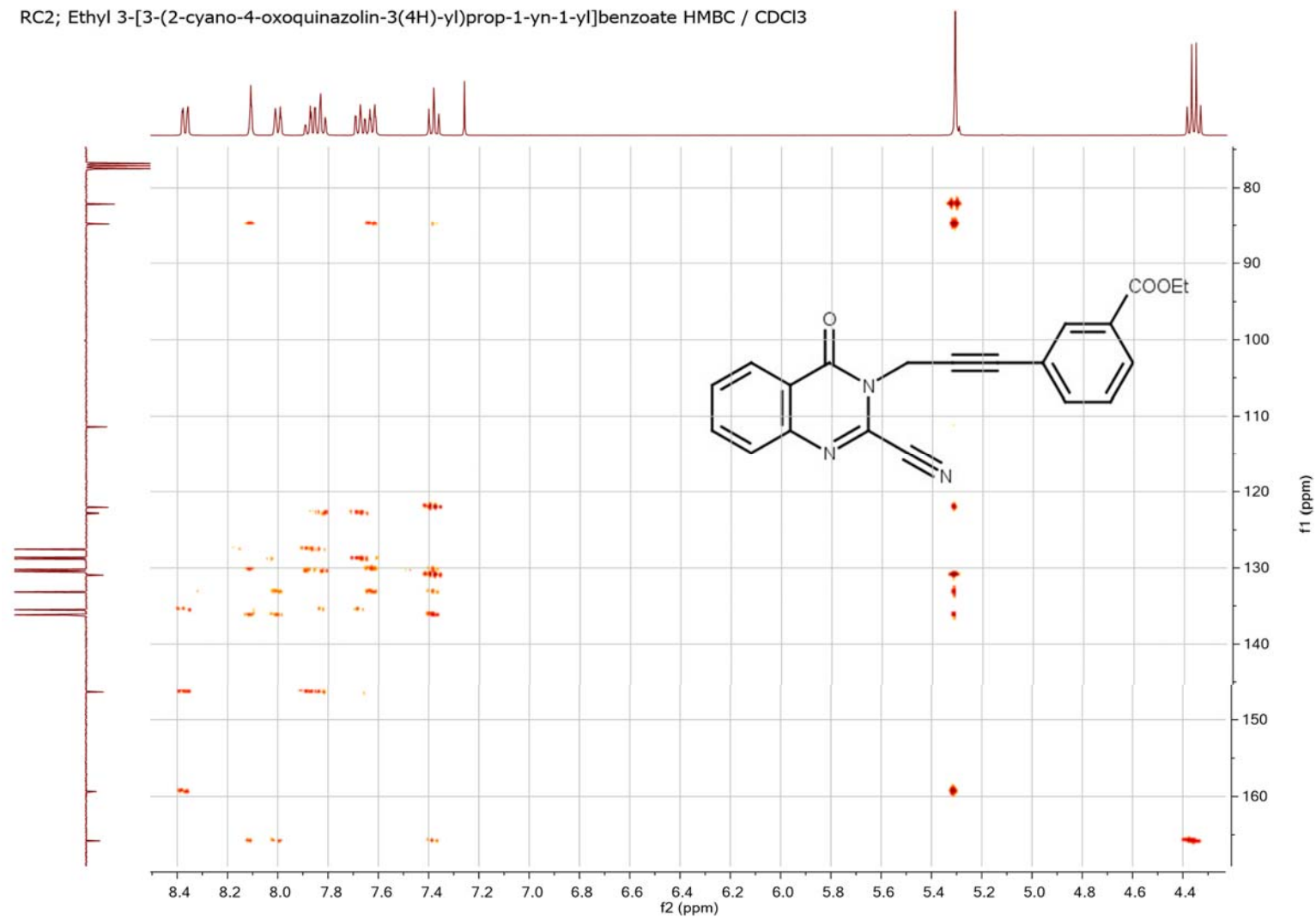
**Tafel 12:** Ethyl-3-[3-(2-cyano-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (2)

RC2; Ethyl 3-[3-(2-cyano-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate HSQC / CDCl<sub>3</sub>



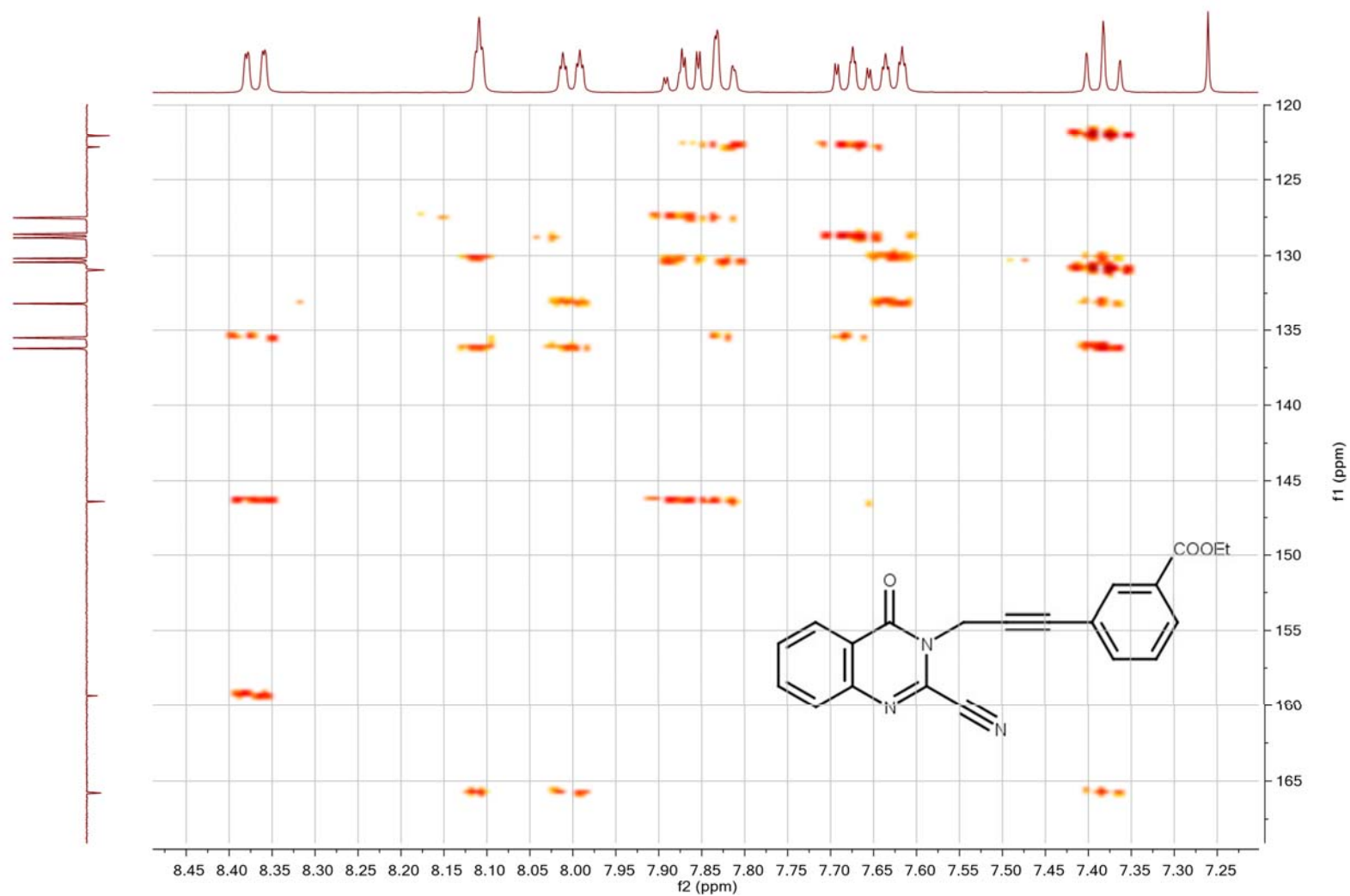
**Tafel 13:** Ethyl-3-[3-(2-cyano-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (2)

RC2; Ethyl 3-[3-(2-cyano-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate HMBC / CDCl<sub>3</sub>



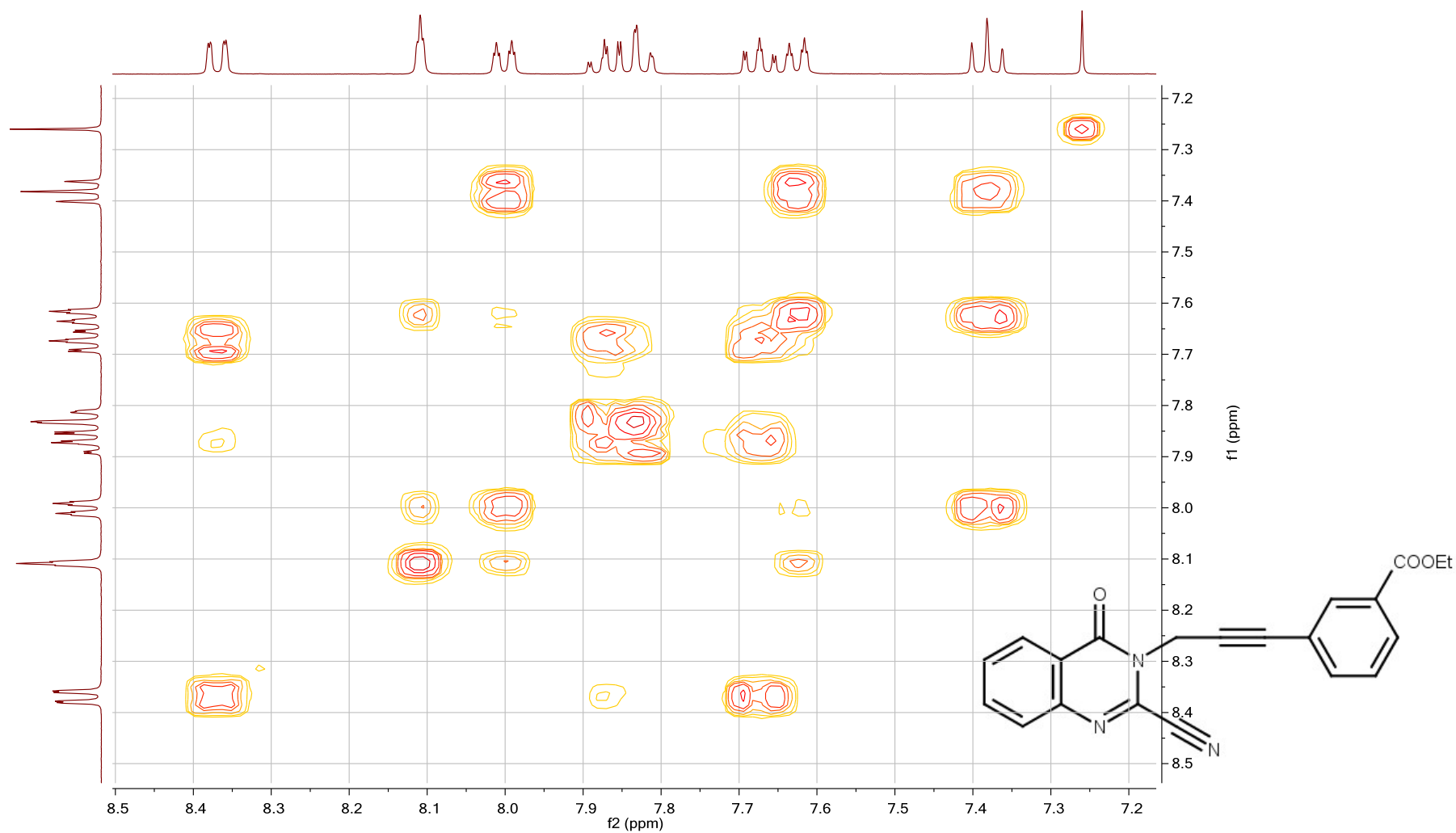
**Tafel 14:** Ethyl-3-[3-(2-cyano-4-oxochinazolin-3(4*H*)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (2)

RC2; Ethyl 3-[3-(2-cyano-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate HMBC / CDCl<sub>3</sub>



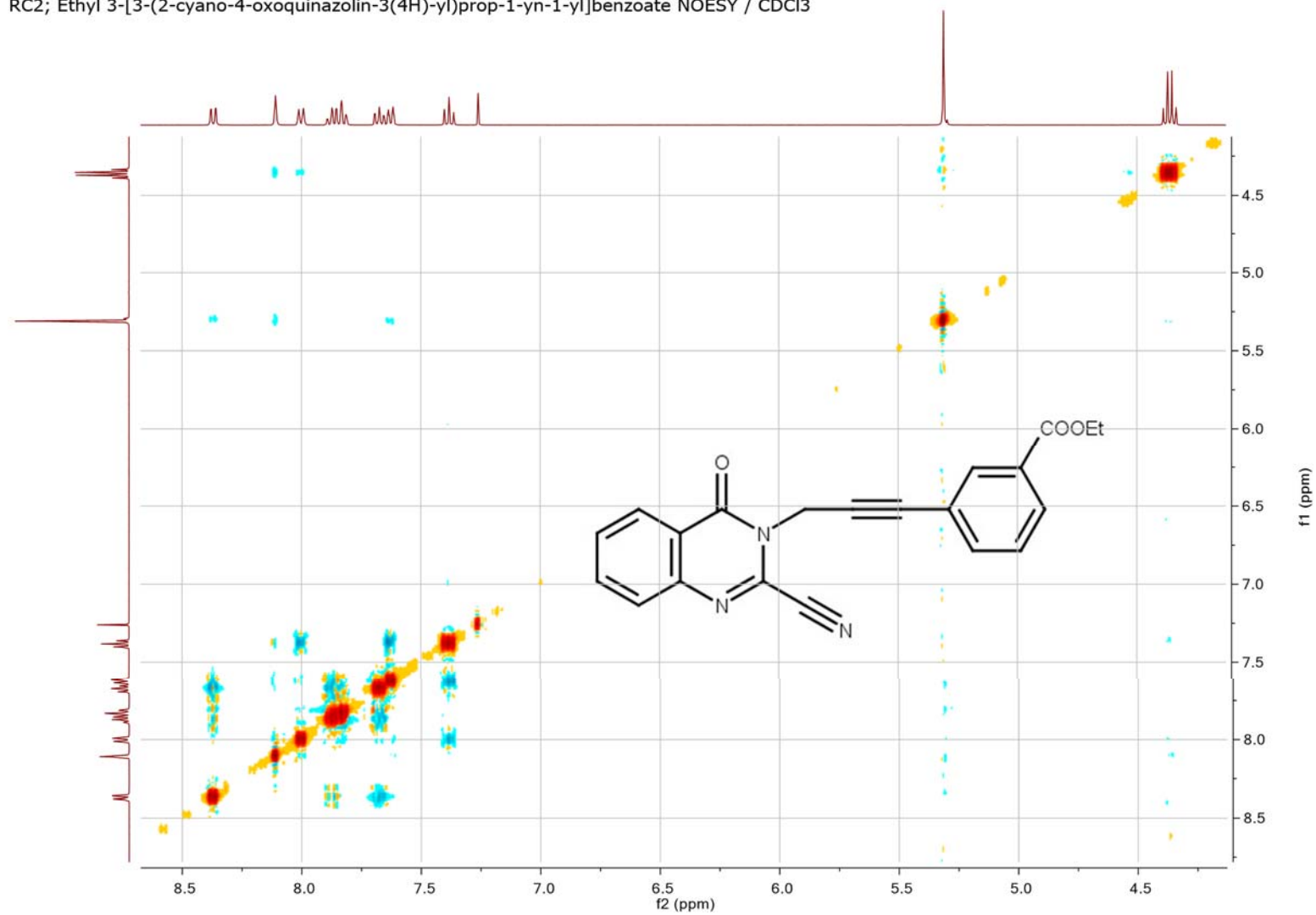
**Tafel 15:** Ethyl-3-[3-(2-cyano-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (2)

RC2; Ethyl 3-[3-(2-cyano-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate COSY / CDCl<sub>3</sub>



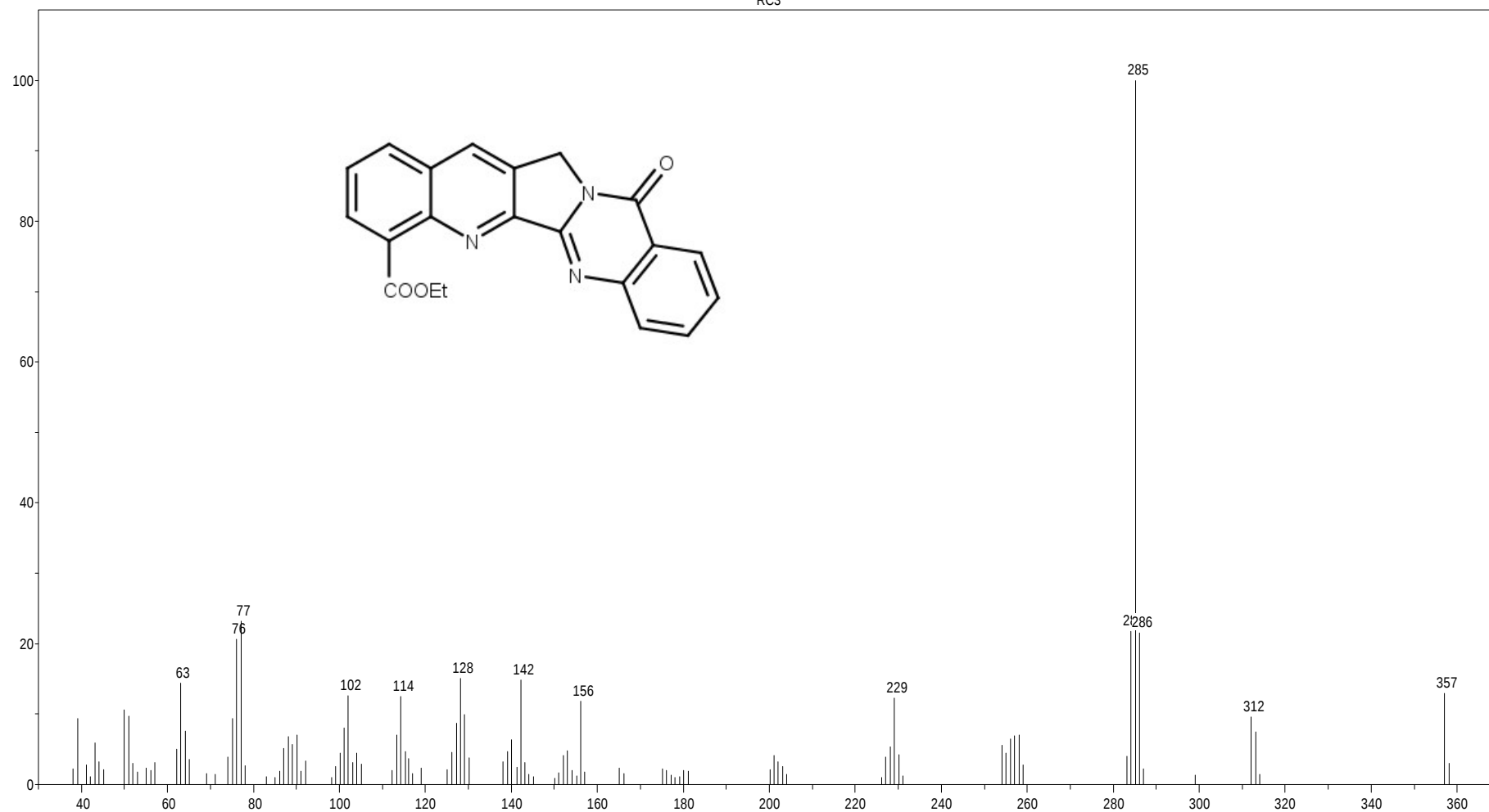
**Tafel 16:** Ethyl-3-[3-(2-cyano-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (2)

RC2; Ethyl 3-[3-(2-cyano-4-oxoquinazolin-3(4H)-yl)prop-1-yn-1-yl]benzoate NOESY / CDCl<sub>3</sub>



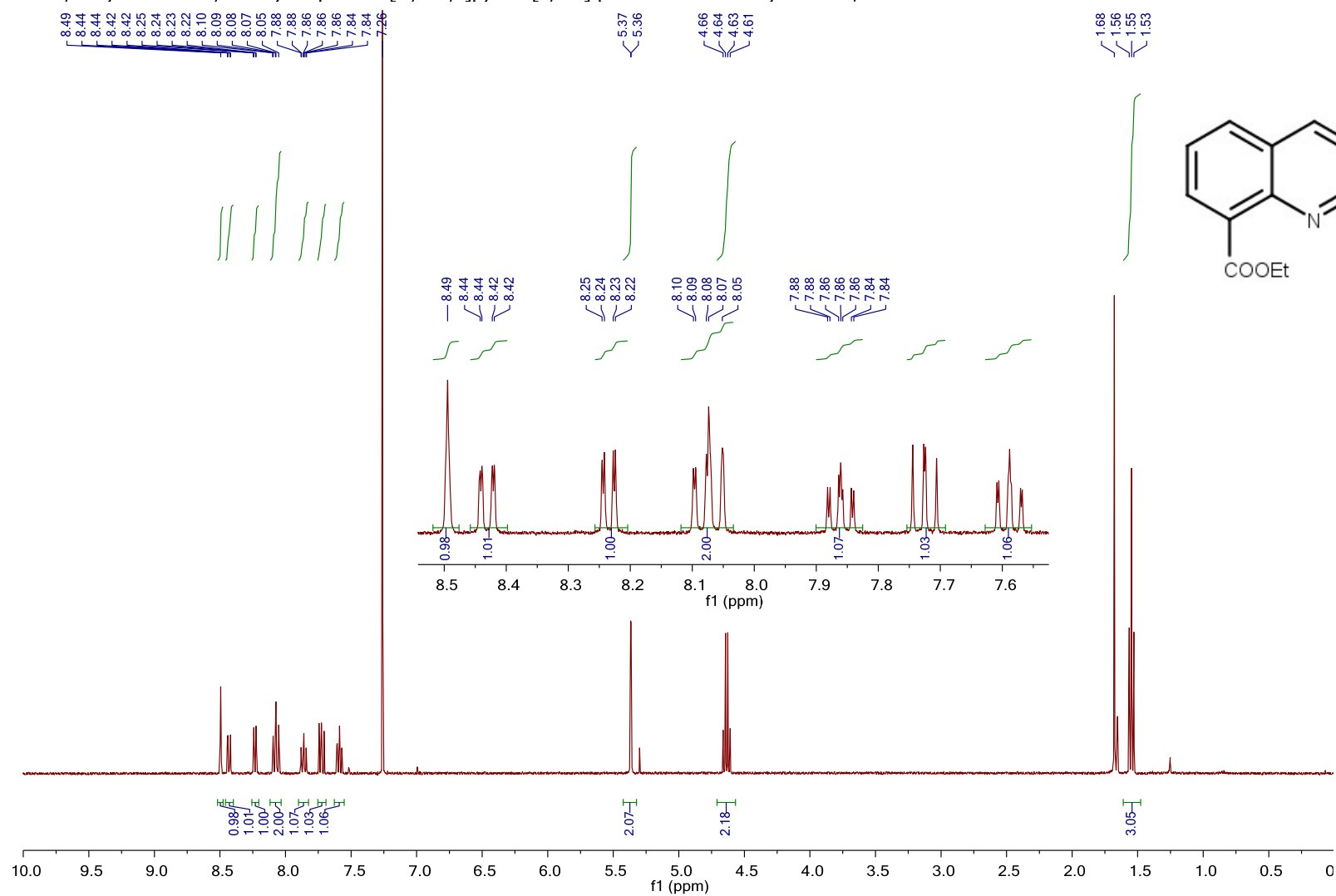
**Tafel 17:** Ethyl-3-[3-(2-cyano-4-oxochinazolin-3(4H)-yl)prop-1-in-1-yl]benzoat (2)

RC3



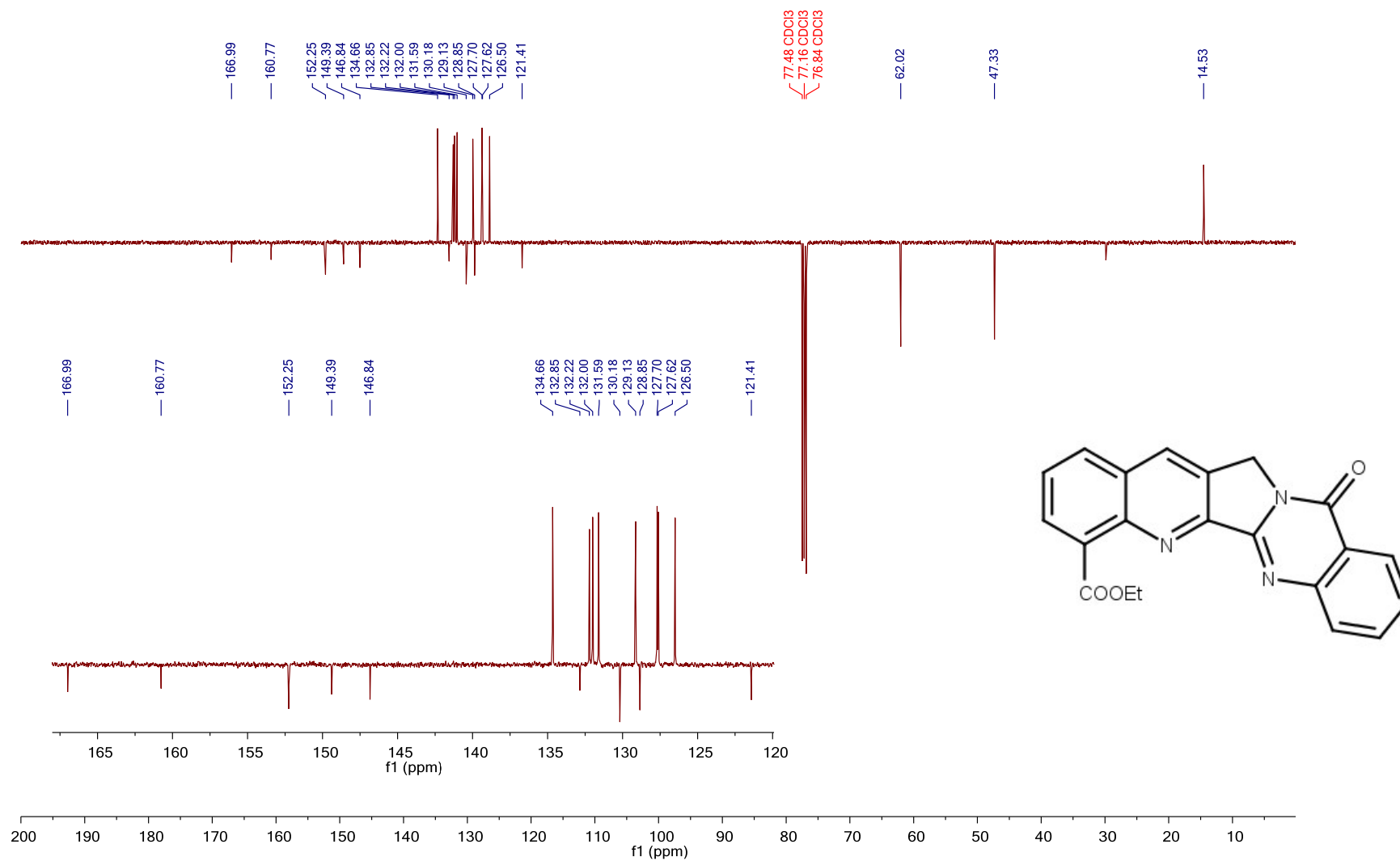
**Tafel 18:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)

RC3; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-4-carboxylate 1H / CDCl<sub>3</sub>

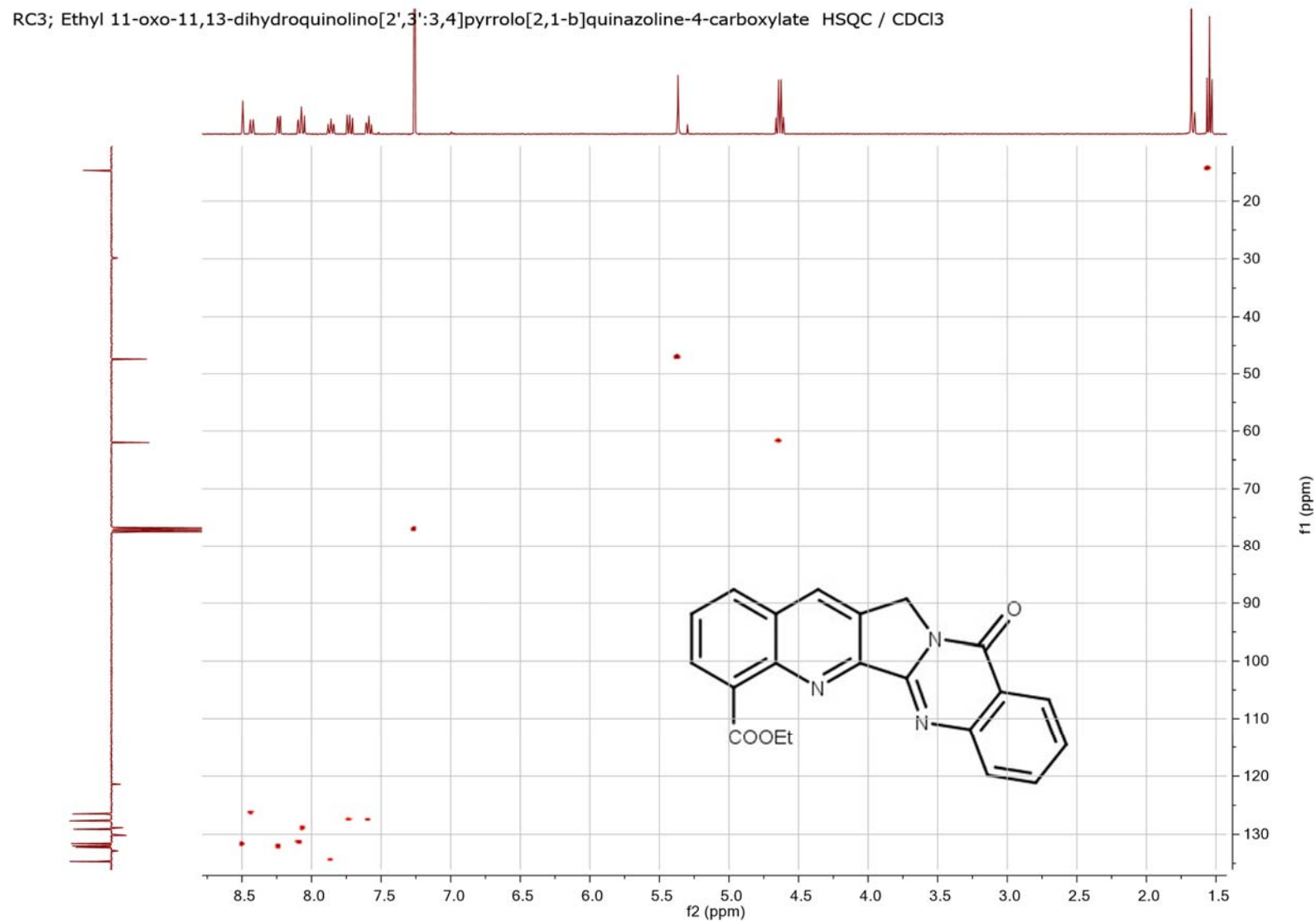


**Tafel 19:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino [2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)

RC3; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-4-carboxylate C13APT / CDCl<sub>3</sub>

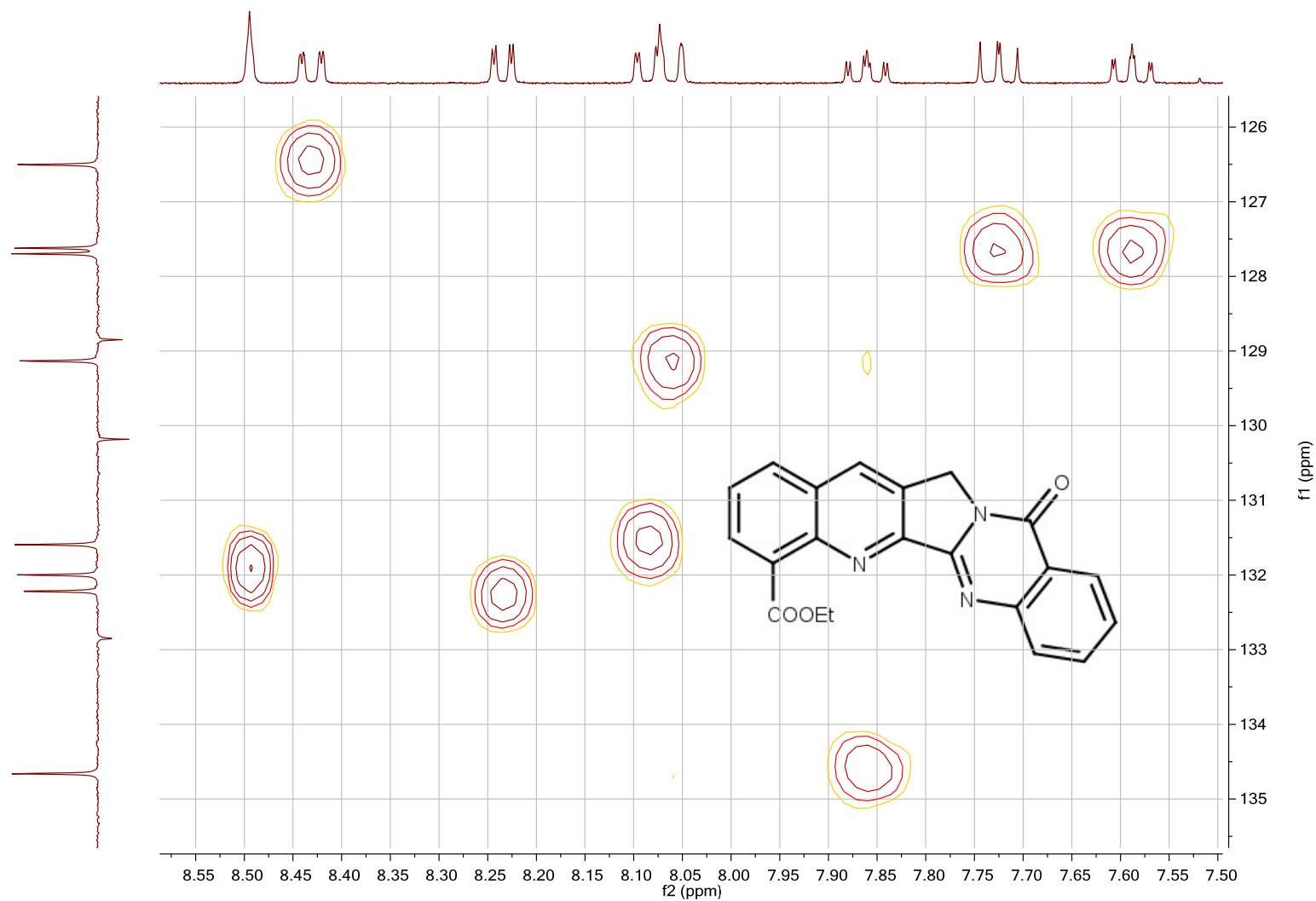


**Tafel 20:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino [2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)



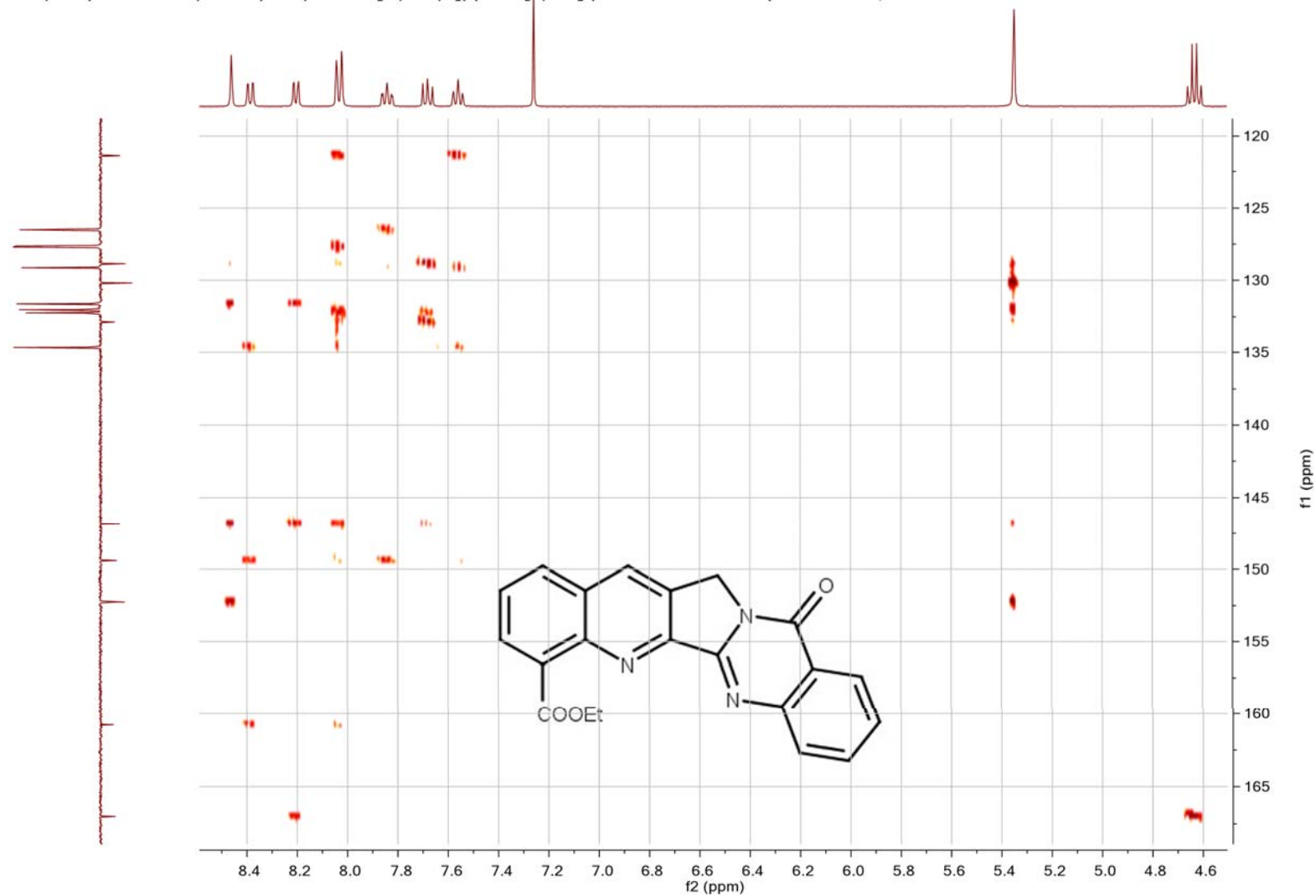
**Tafel 21:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino [2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)

RC3; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-4-carboxylate HSQC / CDCl<sub>3</sub>



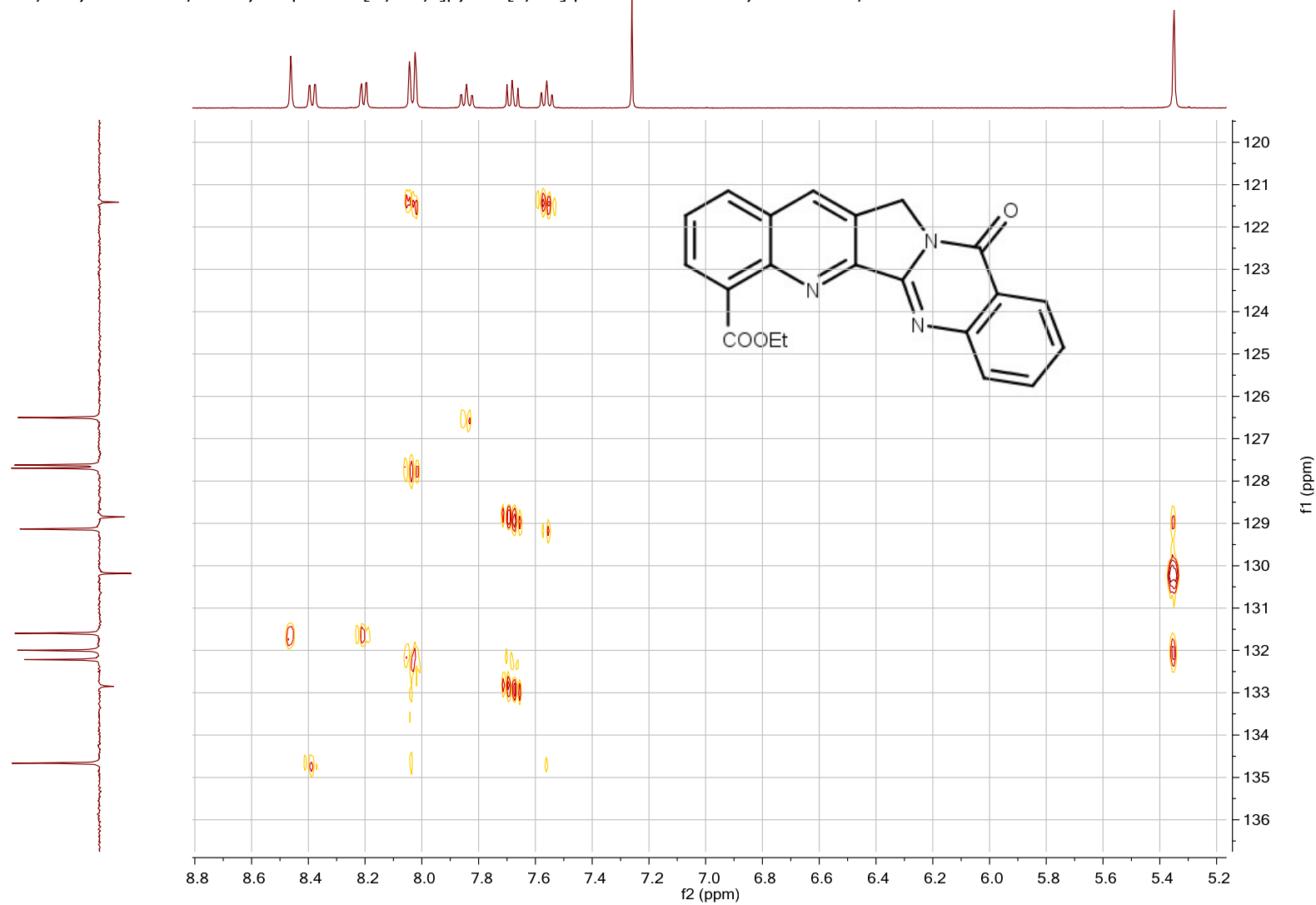
**Tafel 22:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)

RC3; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-4-carboxylate HMBC / CDCl<sub>3</sub>



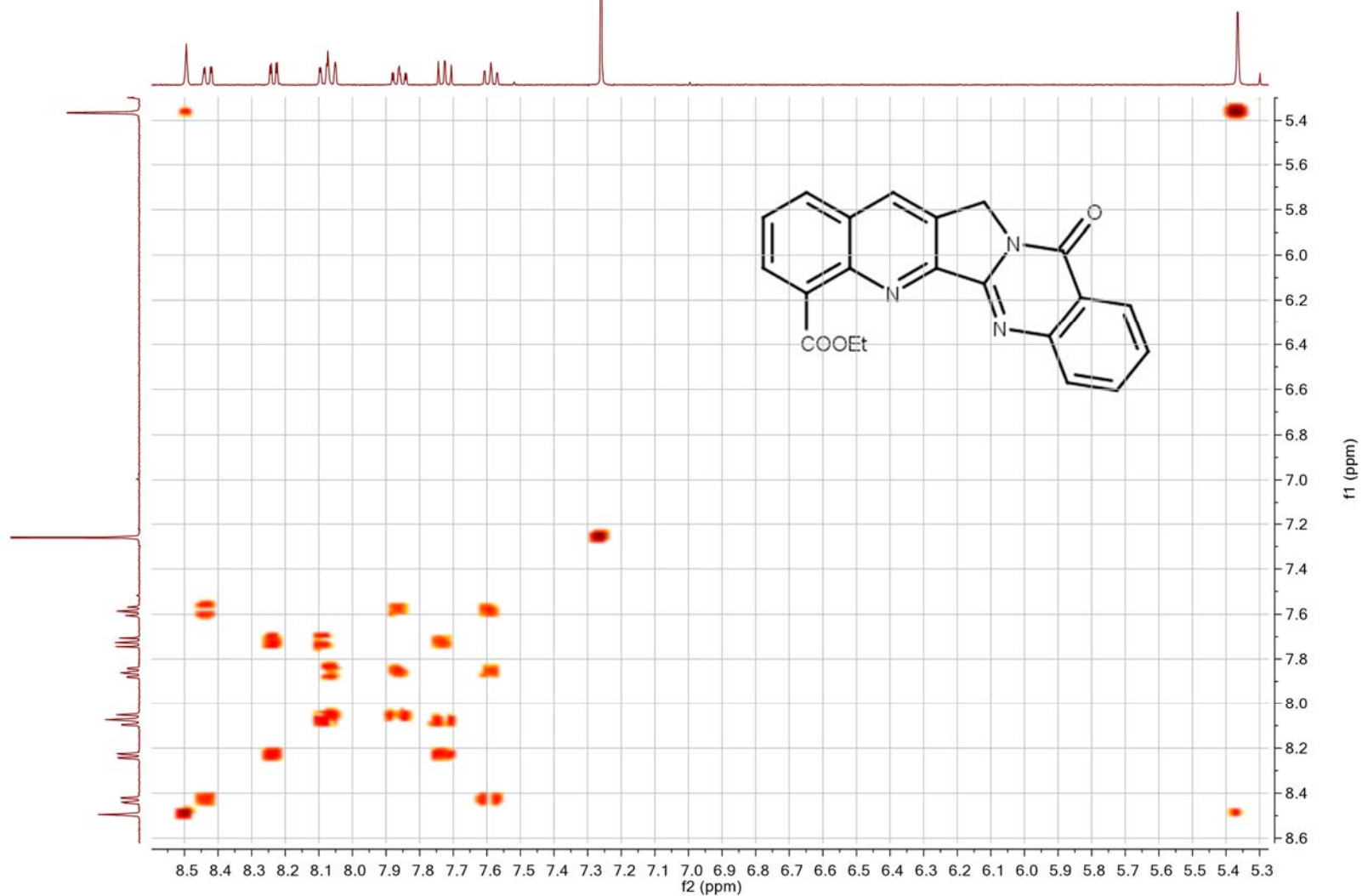
**Tafel 23:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)

RC3; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-4-carboxylate HMBC / CDCl<sub>3</sub>



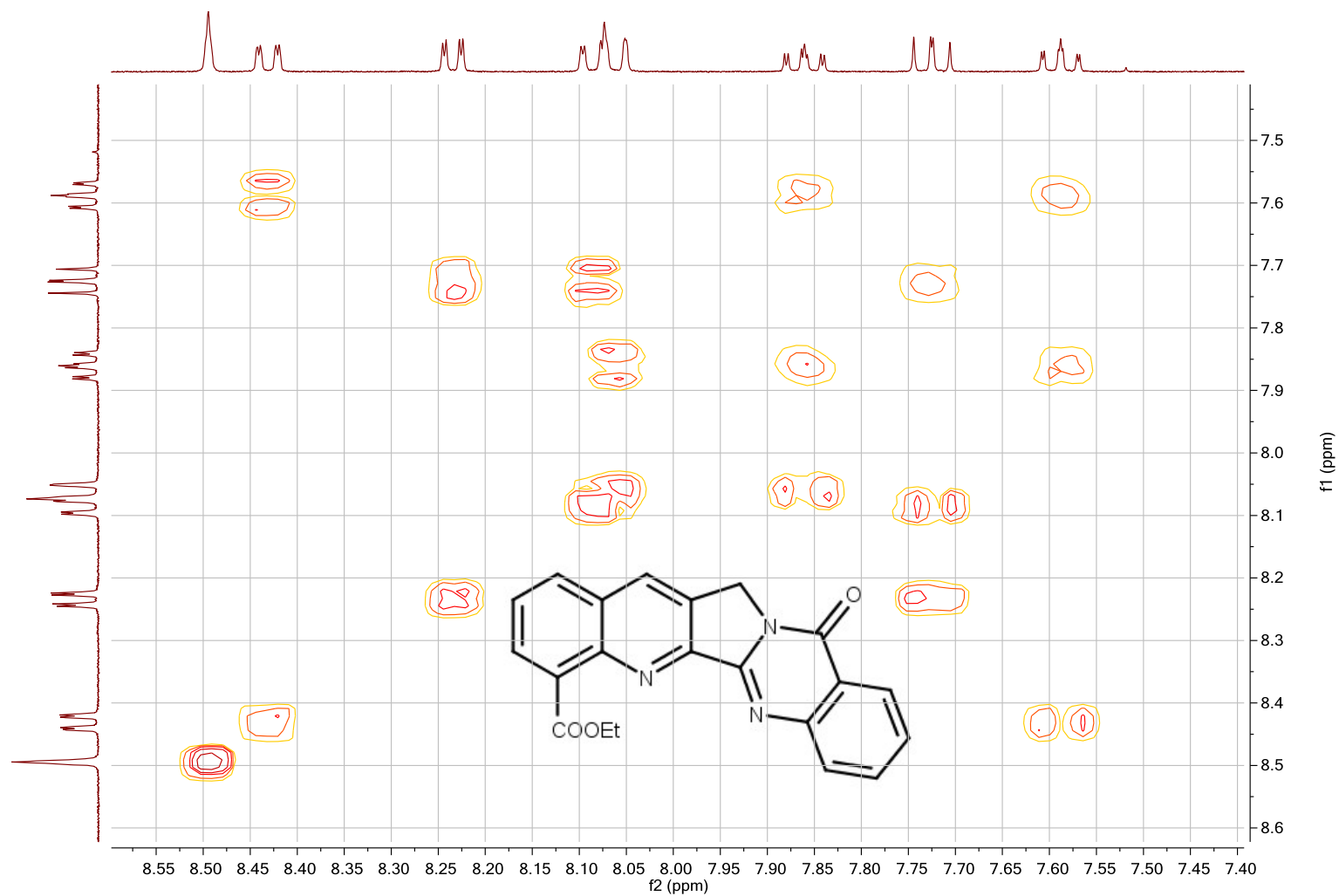
**Tafel 24:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)

RC3; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-4-carboxylate COSY / CDCl<sub>3</sub>



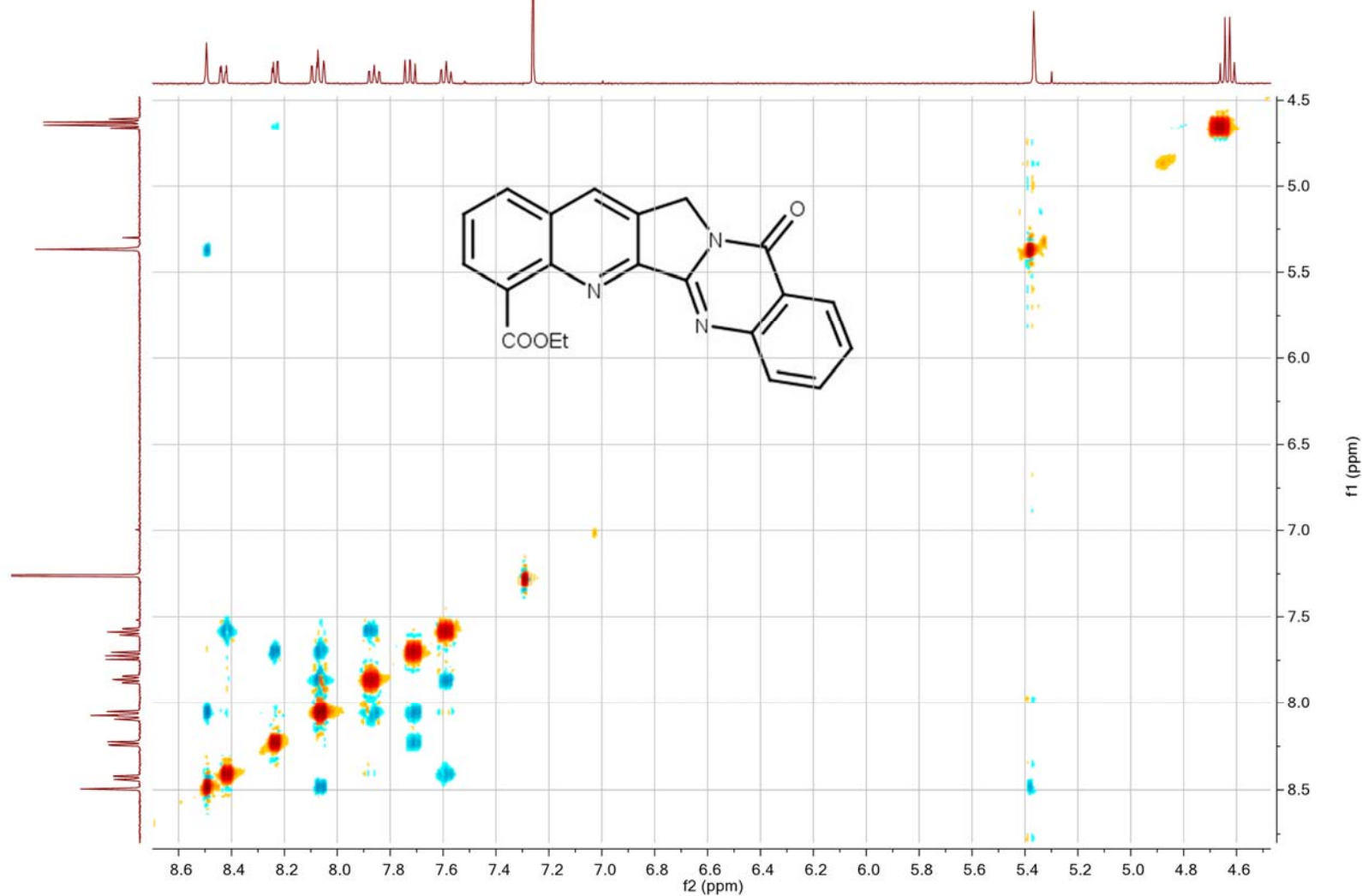
**Tafel 25:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)

RC3; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-4-carboxylate COSY / CDCl<sub>3</sub>



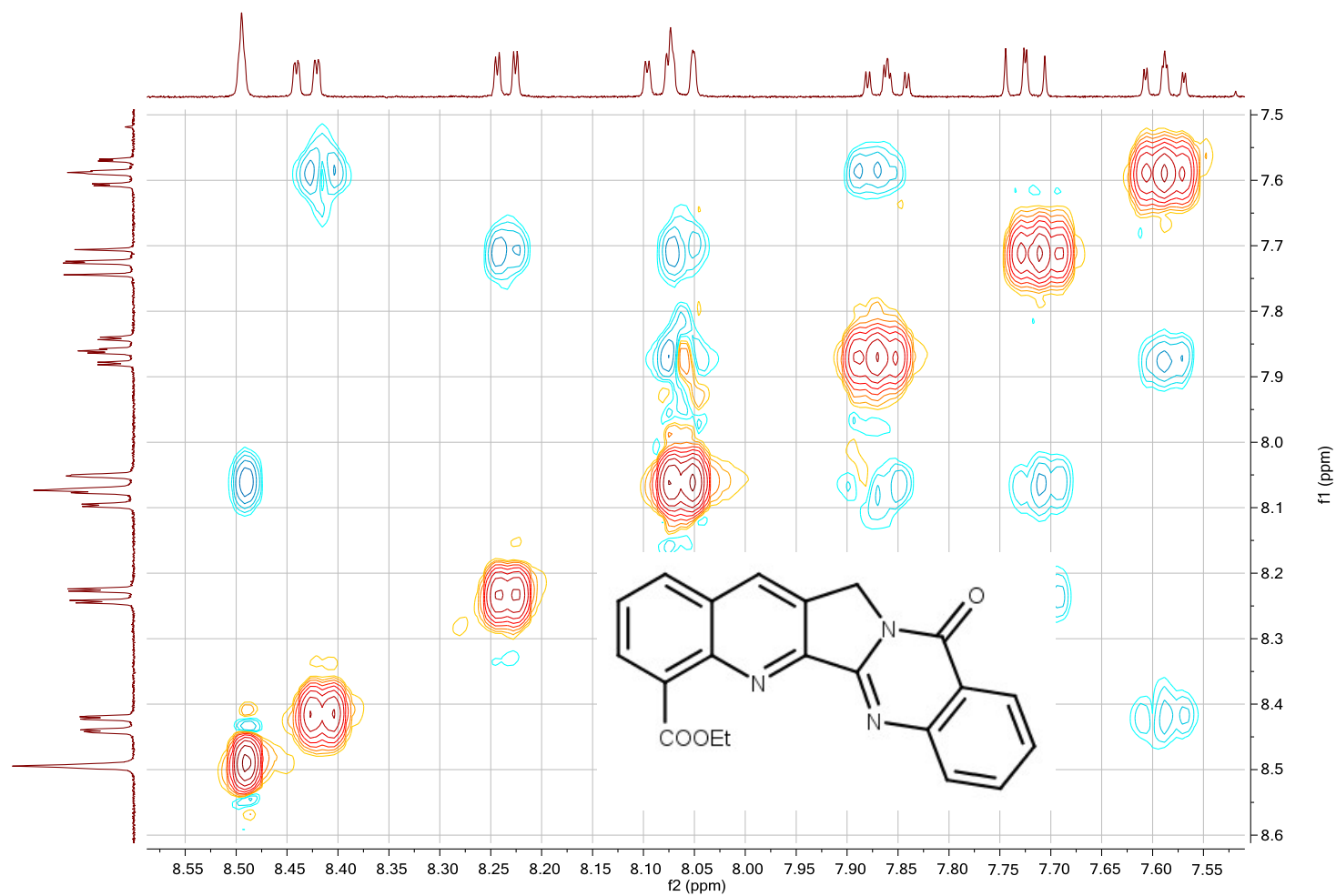
**Tafel 26:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)

RC3; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-4-carboxylate NOESY / CDCl<sub>3</sub>



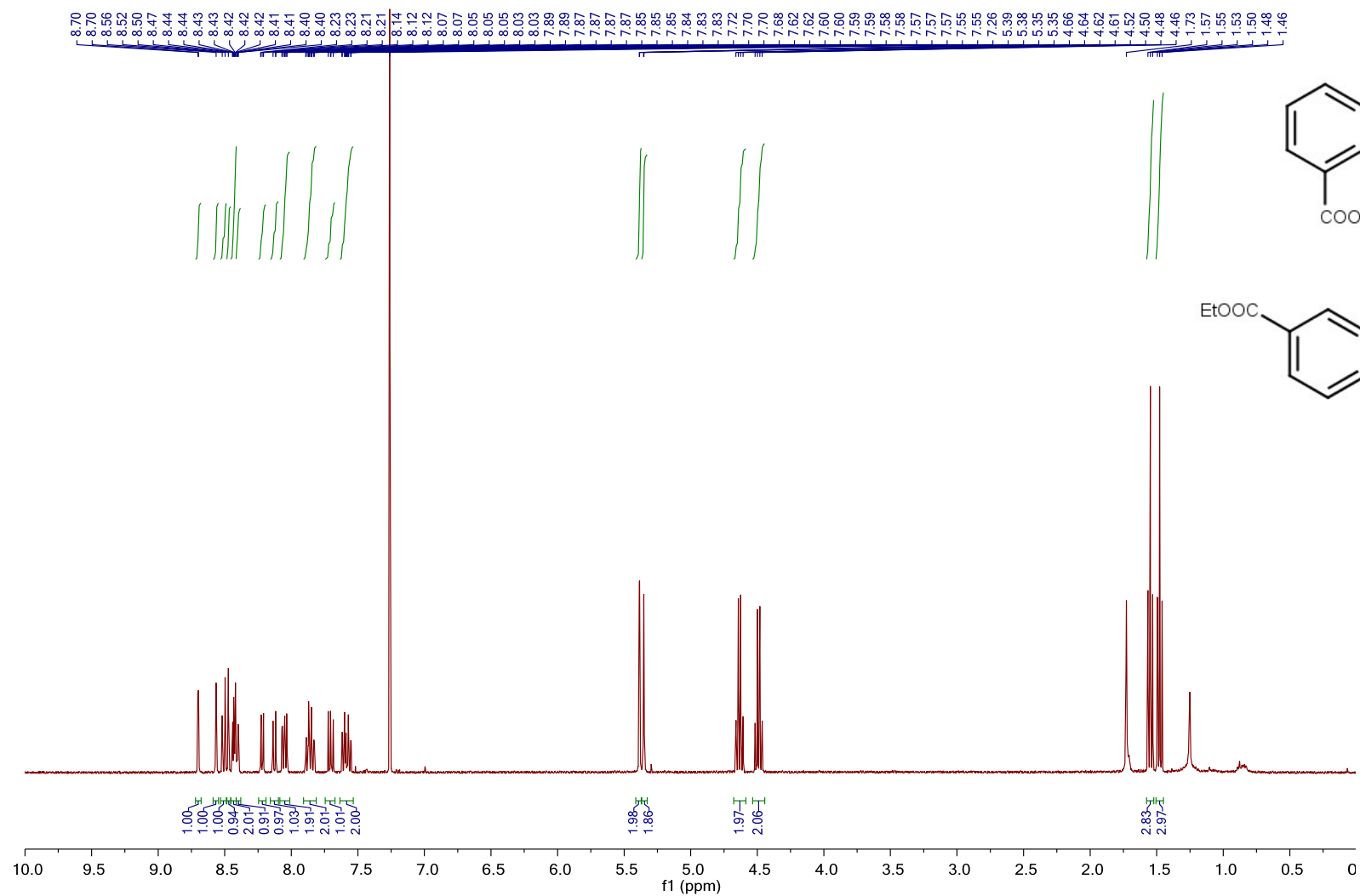
**Tafel 27:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)

RC3; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-4-carboxylate NOESY / CDCl<sub>3</sub>



**Tafel 28:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-4-carboxylat (**3a**)

RC3 (4-Ester) + MA5 (2-Ester), Rohgemisch 1H / CDCl<sub>3</sub>



**Tafel 29:** Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-4-carboxylat (**3a**) und Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (**3b**)



## Zusammenfassung

Im Rahmen eines Projektes zur Auffindung neuer Antitumor-Wirkstoffe konnte mit der vorliegenden Diplomarbeit ein Beitrag in Form der Synthese eines bisher unbekannten Luotonin-A-Derivates geleistet werden. Bei der Zielverbindung handelt es sich um ein Derivat des genannten Alkaloids mit einer Carbonsäureethylester-Funktion in Position 4 im Ring A. Luotonin A ist ein zytotoxisch wirksamer Naturstoff mit Hemmwirkung auf die Topoisomerase I und dient seit einiger Zeit als Leitstruktur für die Entwicklung neuer potentieller Antitumor-Wirkstoffe. Die nunmehr erfolgreich in sechs Schritten aus kommerziell erhältlichen Vorstufen synthetisierte Verbindung „4-Ethoxycarbonyl-Luotonin A“ stellt das letzte in der Arbeitsgruppen-Substanzbibliothek noch fehlende Positionsisomer mit einer Estergruppe an Ring A dar und war trotz mehrfacher Versuche bis jetzt unzugänglich geblieben.

Die Schlüsselschritte der angewandten „nördlichen“ Syntheseroute waren Sonogashira-Kupplung, Amid-Dehydratisierung sowie eine intramolekulare [4+2]-Cycloadditionsreaktion. Die gewählte „nördliche Route“ ermöglicht grundsätzlich zwar nur eine selektive Darstellung von 1- oder 3-substituierten Derivaten von Luotonin A, diese Limitierung wurde hier aber bewusst in Kauf genommen. Bei Verwendung *meta*-substituierter Aryl-Bausteine kommt es erwartungsgemäß aufgrund der Drehbarkeit des Arylrestes zur Bildung eines Isomerengemisches aus 2- und 4-substituierten Produkten. Im gegenständlichen Fall erwies sich diese Route aber trotzdem als zielführend, da die einzelnen Schritte durchwegs gute Ausbeuten liefern und das finale Isomerengemisch erfolgreich mittels Säulenchromatographie getrennt werden konnte.

Der so erhaltene 4-Carbonsäureethylester wurde, ebenso wie alle Zwischenprodukte, mittels spektroskopischer Methoden vollständig charakterisiert und soll in nächster Zeit auf seine zytostatische Aktivität getestet werden.

