



universität
wien

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Synthese von zwei Ring-A-positionsisomeren
Methoxyderivaten von Luotonin A
mit einer Aminofunktion in Ring E“

verfasst von / submitted by

Dominik Johannes Windisch

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. pharm. Dr. rer. nat. Norbert Haider

*„And however difficult life may seem,
there is always something you can do,
and succeed at. It matters that you
don't just give up.“*

STEPHEN HAWKING

DANKSAGUNG

An erster Stelle möchte ich mich herzlichst bei Herrn ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Norbert Haider bedanken, unter dessen Anweisung die vorliegende Diplomarbeit entstanden ist. Vielen Dank für Ihre engagierte, fachlich exzellente und väterlich fürsorgliche Betreuung, Ihre Geduld und Hilfsbereitschaft sowie für die Aufnahme der NMR-Spektren!

Des Weiteren möchte ich Herrn OR Mag. Dr. Leopold Jirovetz für die Aufnahme der EI-Massenspektren, Herrn MSc. Daniel Dobusch und Herrn Ing. Peter Unteregger für die Aufzeichnung von hochaufgelösten Massenspektren sowie Frau Mag. Amra Ibric für die biologische Testung der Zielverbindungen meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

Sämtlichen Professoren und Mitarbeitern des Departments für Arzneistoffsynthese möchte ich für ihre Freundlichkeit, Hilfsbereitschaft und Kollegialität danken. Es war mir eine große Ehre, Teil dieses Teams und Tutor im Arzneistoffsynthese-Praktikum gewesen zu sein.

Größter Dank gebührt auch meinem Studienkollegen und langjährigem Freund Calvin Lee, mit dem ich das Vergnügen hatte, die experimentellen Arbeiten der Diplomarbeit gemeinsam durchzuführen. Vielen Dank für das angenehme Arbeitsklima, deine positive Einstellung und erheiternde Art, deine Anregungen und für die gute Zusammenarbeit während der Diplomarbeit!

Zum wahrscheinlich größten Dank bin ich meiner Familie, die mir viel Rückhalt gibt, und insbesondere meinen Eltern verpflichtet, ohne die ich nicht in meiner jetzigen Situation wäre. Besten Dank für euer vorbildhaftes Dasein, euren selbstlosen Einsatz für eure Kinder sowie für jegliche Unterstützung materieller und immaterieller Natur während meines Studiums!

Zu guter Letzt möchte ich mich auch bei meiner Freundin Sirine bedanken. Vielen Dank, dass du immer für mich da bist und stets ein gutes Wort für mich übrig hast! Danke auch für deine Unterstützung und dein Verständnis in stressigen Prüfungszeiten!

VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

Abb.	Abbildung
APT	Attached Proton Test
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
COSY	Correlated Spectroscopy
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektrosprayionisation
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
Fa.	Firma
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
IC ₅₀	halbmaximale (50%) inhibitorische Konzentration
konz.	konzentriert
Lsg.	Lösung
<i>m/z</i>	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
MeOH	Methanol
MS	Massenspektrometrie
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
PDB	Protein Data Bank
ppm	parts per million
R _f	Retentionsfaktor
RNA	Ribonucleinsäure
S-Phase	Synthese-Phase
SC	Säulenchromatographie
TMS	Tetramethylsilan
Vgl.	Vergleich

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	1
1.1	Struktur und Funktion von DNA-Topoisomerasen	1
1.2	Hemmstoffe der DNA-Topoisomerase I	6
1.2.1	Camptothecin und Derivate	8
1.2.2	Luotonin A als Leitsubstanz	12
1.3	Ausgewählte Synthesestrategien zu Luotonin A	16
1.3.1	Die „südliche“ Syntheseroute	19
1.3.2	Die „nördliche“ Syntheseroute	21
1.4	Literaturbekannte Aminoderivate von Luotonin A	23
1.5	Zielsetzung	24
2	Eigene Untersuchungen	25
2.1	Herstellung der literaturbekannten Ausgangsverbindungen	25
2.1.1	Kondensation von Anthranilamid und Diethyloxalat zum Chinazolinoncarbonsäureester	25
2.1.2	Nitrierung des Chinazolinoncarbonsäureesters	26
2.1.3	Amidierung des Nitrochinazolinoncarbonsäureesters	27
2.1.4	Propargylierung des Nitrochinazolinoncarboxamids	29
2.2	Einführung der Methoxyphenylgruppe durch Sonogashira-Kupplung	31
2.3	Dehydratisierung des primären Amids zum Nitril	36
2.4	Ringschluss via [4+2]-Cycloadditionsreaktion	40
2.5	Reduktion der Nitrogruppe zur Aminogruppe: Synthese der Zielverbindungen	44
2.6	Fazit und Ausblick	51
3	Experimenteller Teil	52
3.1	Verwendete Geräte und Materialien	52
3.2	Arbeitsvorschriften	54
3.2.1	Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (1)	54
3.2.2	Ethyl-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (2)	55
3.2.3	6-Nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)	56
3.2.4	6-Nitro-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)	57
3.2.5	3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (5A)	59
3.2.6	3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (6A)	61
3.2.7	3-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1- <i>b</i>]chinazolin-11(13 <i>H</i>)-on (7A)	63
3.2.8	9-Amino-3-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1- <i>b</i>]chinazolin-11(13 <i>H</i>)-on (8A)	65
3.2.9	3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (5B)	67
3.2.10	3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (6B)	69
3.2.11	1-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1- <i>b</i>]chinazolin-11(13 <i>H</i>)-on (7B)	71
3.2.12	9-Amino-1-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1- <i>b</i>]chinazolin-11(13 <i>H</i>)-on (8B)	73
4	Literaturverzeichnis	75
5	Abbildungsverzeichnis	78
6	Schemenverzeichnis	79
7	Appendix	80
7.1	Spektren	
7.2	Zusammenfassung	

1 EINLEITUNG

1.1 STRUKTUR UND FUNKTION VON DNA-TOPOISOMERASEN

DNA-Topoisomerasen sind ubiquitär vorkommende und essenzielle Enzyme, die in der Lage sind, die Topologie der DNA zu verändern. Dies ist notwendig, da die DNA, die bei Säugetieren in extendierter Form ca. 2 Meter lang ist, einerseits stark kompaktiert sein muss, um im ca. 10^{-17} m^3 fassenden Zellkern Platz zu haben, und andererseits im Zuge der Nutzung der Erbinformation frei zugänglich sein muss. In der Realisierung ihrer Matrizenfunktion muss die als Helix vorliegende doppelsträngige DNA zunächst lokal in die beiden Einzelstränge aufgetrennt und entwunden werden, damit DNA-Polymerasen im Zuge der Replikation basierend auf der maternalen DNA-Matrize die komplementären Einzelstränge synthetisieren bzw. RNA-Polymerasen im Zuge der Genexpression RNA-Transkripte herstellen können. Die notwendige Entwindung der DNA im Kontext von Replikation und Transkription impliziert jedoch, dass stromaufwärts der Replikationsgabel bzw. Transkriptionsblase die Zahl der DNA-Windungen zunimmt und folglich Supercoils entstehen. DNA-Topoisomerasen wirken durch Relaxierung superspiralisierter DNA diesem Torsionsstress entgegen und ermöglichen dadurch erst die lineare Weiterbewegung von Replikationsgabel bzw. Transkriptionsblase und somit die ungehinderte Nutzung der Erbinformation. Die Reichweite der Bedeutung der Topoisomerasen ist jedoch bei weitem nicht auf die hier exemplarischen angeführten zellulären Prozesse der Replikation und Transkription beschränkt; auch im Hinblick auf Chromatinremodelling, DNA-Reparatur und genomische Stabilität kommt den Topoisomerasen eine wichtige physiologische Rolle zu^{1,2}.

Abb. 1 und 2 zeigen die Röntgenstrukturen der humanen Topoisomerase I respektive der Topoisomerase II α , jeweils kokristallisiert mit einem DNA-Abschnitt^{3,4}. Dabei ist eindrucksvoll ersichtlich, wie die Topoisomerasen funktionsgerecht ihr Substrat, die DNA, umschließen. Wie später noch ausführlich dargelegt werden soll, gehen die Topoisomerasen über einen Tyrosin-Rest im aktiven Zentrum des Enzyms transient sogar eine kovalente Bindung mit der DNA unter Erzeugung eines Strangbruches ein; dies ist

notwendig, weil erst durch Aufbruch der Helixstruktur die mechanische Voraussetzung für eine Relaxation der DNA gegeben ist¹.

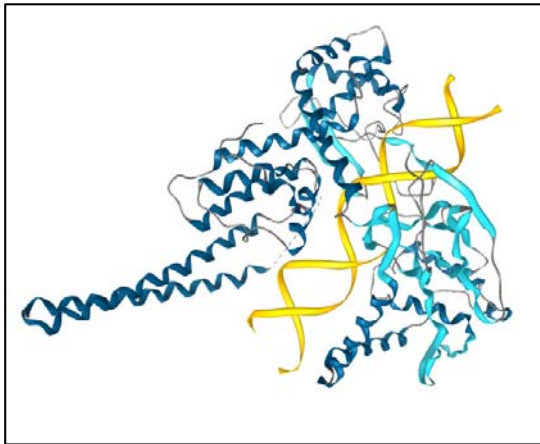


Abbildung 1: Humane Topoisomerase I (blau) im Komplex mit DNA (gelb) (PDB-Code: 1A36³)

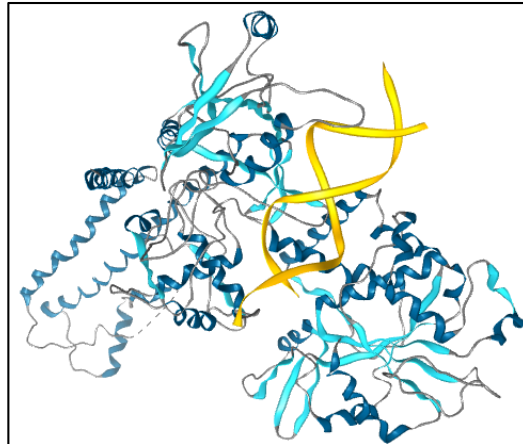


Abbildung 2: Humane Topoisomerase IIα (blau) im Komplex mit DNA (gelb) (PDB-Code: 4FM9⁴)

Das humane Genom codiert für sechs unterschiedliche Topoisomerasen (TOP1, TOP1mt, TOP2α, TOP2β, TOP3α und TOP3β), die sich in ihrer Struktur und ihrem Wirkungsgrad in der Zelle unterscheiden. Beispielsweise ist die TOP2α absolut notwendig für die Chromosomen-Segregation im Zuge der Mitose, während die TOP2β unerlässlich im Kontext der Transkription in differenzierten, sich nicht teilenden Zellen ist¹.

Eine gängige binäre Kategorisierung der Topoisomerasen basiert auf ihrem Katalysemechanismus. Topoisomerasen der Klasse I induzieren *Einzelstrangbrüche* und ermöglichen dadurch eine kontrollierte und entropiegetriebene Rotation des getrennten Stranges um den intakten Gegenstrang, während Topoisomerasen der Klasse II *Doppelstrangbrüche* herbeiführen und aktiv unter ATP-Verbrauch die Passage einer intakten DNA-Duplex-Region durch die eingeführte Bruchstelle dirigieren. Die energetischen Kosten für diesen spontan nicht ablaufenden Prozess, die von der Zelle in Form von ATP aufgebracht werden müssen, zahlen sich jedenfalls aus, denn der beschriebene Mechanismus verleiht den Klasse-II-Topoisomerasen die einzigartige Fähigkeit, selbst stark verkettete bzw. verknotete DNA-Regionen zu relaxieren, was von immenser Bedeutung bei der Zellkernteilung ist¹. Andererseits erlaubt dieser Klasse-II-Topoisomerase-spezifische Mechanismus naturgemäß auch das aktive Einführen von Supercoils, ein Prinzip, dass bei der Organisation des bakteriellen Genoms in Form von Gyrasen tatsächlich verwirklicht wird. Erst durch die Aktivität der Gyrase kann die

zirkuläre bakterielle DNA auf eine dem begrenzten Raumangebot der bakteriellen Zelle passende Größe kompaktiert werden⁵.

Die wesentlichen Unterschiede zwischen Klasse-I- und Klasse-II-Topoisomerasen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

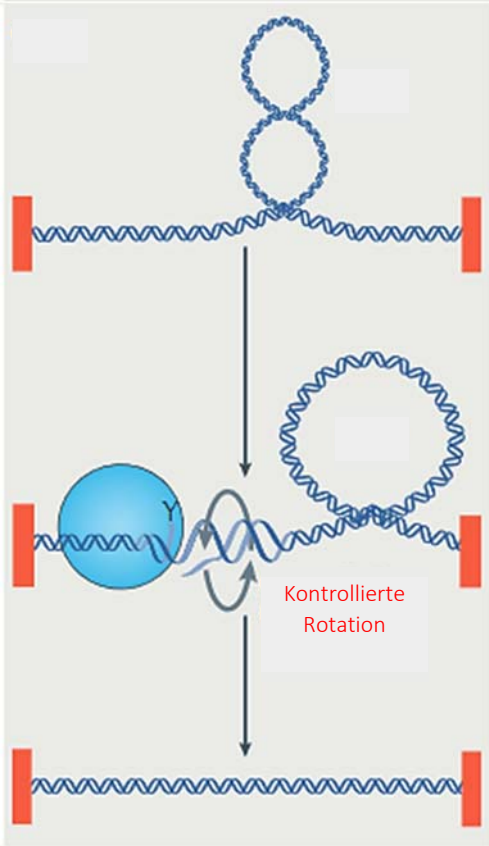
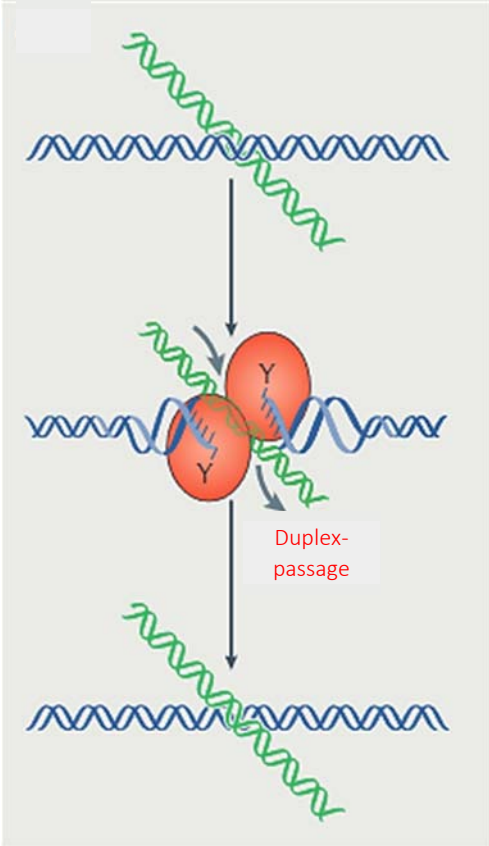
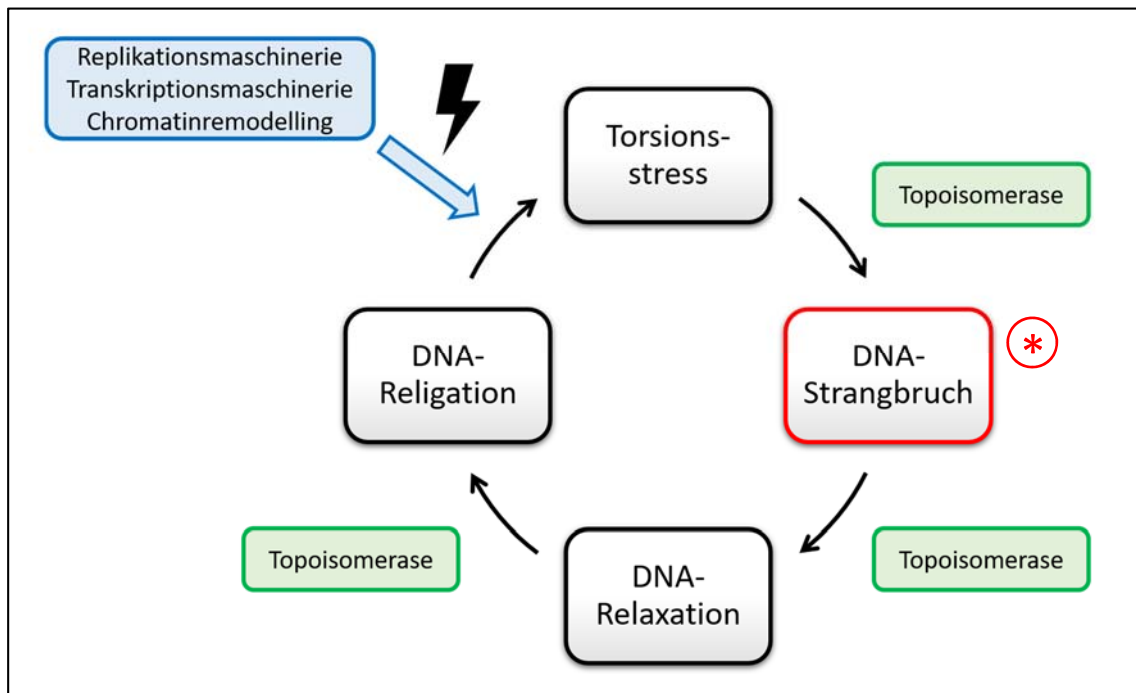
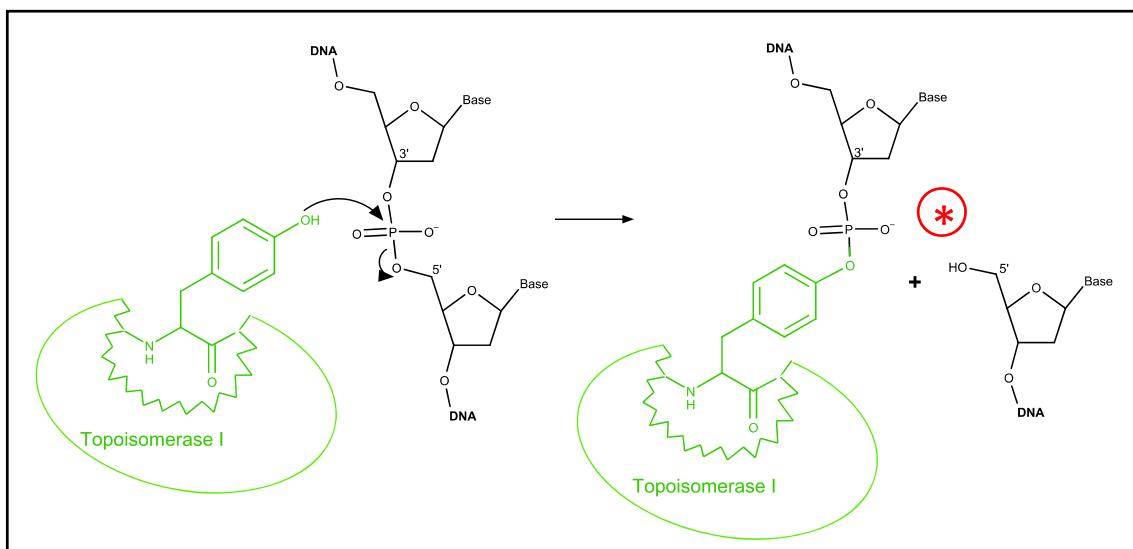
Klasse-I-Topoisomerasen	Klasse-II-Topoisomerasen
 Schema 1: Mechanismus von Klasse-I-Topoisomerasen, modifiziert nach Lit.¹	 Schema 2: Mechanismus von Klasse-II-Topoisomerasen, modifiziert nach Lit.¹
Substrate: • überspiralisierte DNA	Substrate: • überspiralisierte DNA • verkettete DNA • verknotete DNA
Cofaktoren: keine	Cofaktoren: ATP und Mg^{2+}

Tabelle 1: Wesentliche Unterschiede zwischen Klasse-I- und Klasse-II-Topoisomerasen nach Lit.¹

Für die beiden Topoisomerase-Typen lässt sich folgender allgemeine Katalysezyklus formulieren:



Schema 3: Katalysezyklus von DNA-Topoisomerasen



Schema 4: Mechanismus der Bildung des Spaltungskomplexes am Beispiel der Topoisomerase I

Besonderes Augenmerk ist darauf zu legen, dass der Katalysezyklus der Topoisomerasen – wie bereits erwähnt *notwendigerweise* – einen kritischen Zustand impliziert, in dem die DNA einen Strangbruch aufweist, resultierend aus dem nukleophilen Angriff eines Tyrosinrests im aktiven Zentrum des Enzyms an die Phosphodiestergruppe des DNA-Rückgrats (siehe Schema 4). Dieser Fakt ist von eminenter pharmazeutischer/toxikologischer Relevanz, denke man an Substanzen, die stabilisierend auf den binären

Komplex aus Topoisomerase und kovalent gebundener DNA („cleavable complex“) wirken. Dadurch wird nämlich die Versiegelung des normalerweise bloß *transienten* Strangbruchs inhibiert, sodass der Katalysezyklus an jener hochsensiblen Stelle arretiert wird und *permanente* Strangbrüche resultieren⁶. Daraus wiederum lässt sich eine zytotoxische Wirkung von Topoisomerase-Hemmern ableiten. Selektive Hemmstoffe bakterieller Topoisomerasen eignen sich für eine *antibakterielle* Chemotherapie, Prototyp hierfür ist die vorwiegend als Gyrase-Hemmer wirkende Substanzklasse der Fluorchinolone mit prominenten Vertretern wie Ciprofloxacin, Levofloxacin und Moxifloxacin. Die relative Selektivität von Hemmstoffen humaner Topoisomerasen für Tumorzellen, die auf der hohen Zellteilungsrate von Tumorzellen und der Notwendigkeit von Topoisomerasen im Kontext der DNA-Replikation fundiert, begründet einen rationalen Einsatz von Topoisomerase-Hemmern auch in der *zytostatischen* Chemotherapie. Beispielhaft sind hier die in der Tumorthherapie klinisch eingesetzten Topoisomerase-I-Hemmer Topotecan und Irinotecan sowie die Topoisomerase-II-Hemmer Etoposid und Teniposid zu nennen. Auch die der Wirkstoffgruppe der Interkalatoren zugeordneten Anthrazykline wie Doxorubicin und Daunorubicin sowie der davon inspirierte synthetische Wirkstoffvertreter Mitoxantron weisen neben anderen Wirkungen auch eine Hemmung der Topoisomerase II auf⁷.

Die Zielverbindungen (siehe Abschnitt 1.5) der vorliegenden synthetischen Diplomarbeit weisen als Target die humane Topoisomerase I aus und sind daher potenzielle Zytostatika. Dementsprechend wird im folgenden Kapitel näher auf die bereits oben genannten Topoisomerase-I-Hemmer eingegangen.

1.2 HEMMSTOFFE DER DNA-TOPOISOMERASE I

Wie bereits in Abschnitt 1.1 erläutert, wirken Hemmstoffe von Topoisomerasen durch Induktion von Strangbrüchen über Stabilisierung des binären Topoisomerase/DNA-Komplexes („cleavable complex“). Dies wiederum bedeutet, dass Topoisomerase-Hemmer prinzipiell zwei strukturelle Anforderungen erfüllen müssen: Zum einen müssen sie planar gebaut sein, um mit der DNA interkalieren zu können, zum anderen müssen sie auch Interaktionen mit der Topoisomerase eingehen. Auf diese Weise kommt es zur Ausbildung eines stabilen ternären Komplexes aus DNA, Topoisomerase und Topoisomerase-Hemmstoff⁶. Abb. 3 und 4 zeigen einen derartigen Komplex anhand des Beispiels des Topoisomerase-I-Hemmers Topotecan.

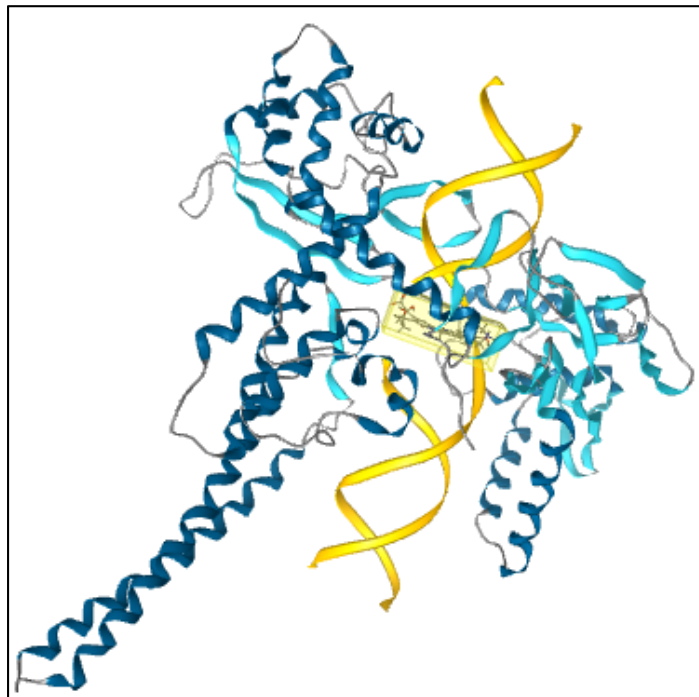


Abbildung 3: Humane Topoisomerase I (blau) im Komplex mit DNA (gelb) und Topotecan (im Zentrum markiertes Molekül) (PDB-Code: 1K4T⁸)

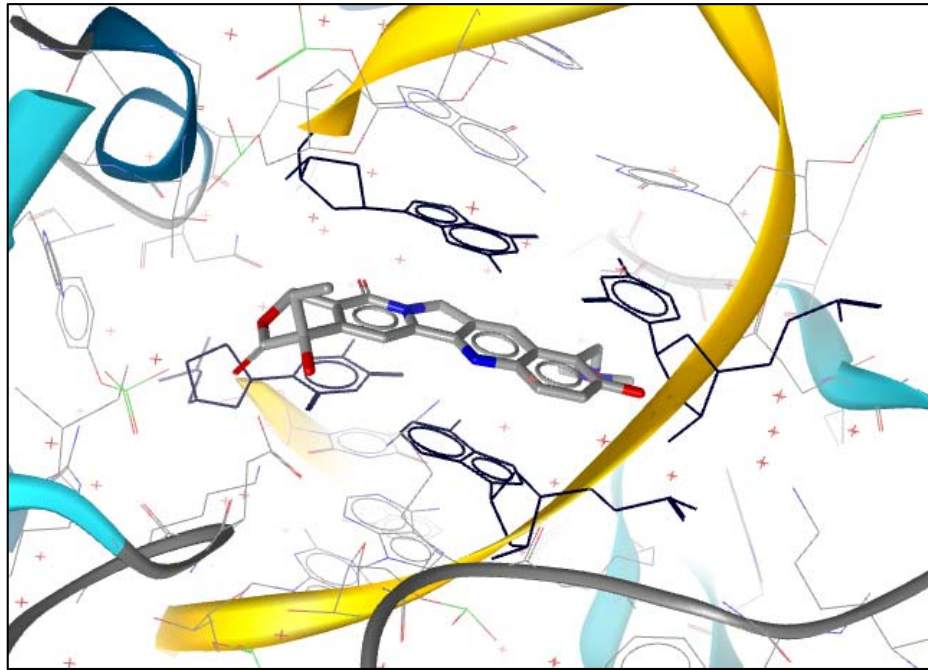


Abbildung 4: Ternärer Komplex aus Topoisomerase I (blau), DNA (gelb) und Topotecan, fokussiert auf Topotecan (PDB-Code: 1K4T⁸)

In Abschnitt 1.1 wurde bereits expliziert, dass die Induktion von Strangbrüchen durch Topoisomerase-Hemmstoffe deren zytotoxische Eigenschaften bedingen. Dieser Zusammenhang erscheint zwar plausibel, muss aber angesichts der Reversibilität der Bindung des Topoisomerase-Hemmers und der DNA-Reparaturkapazität der Zelle nicht zwangsläufig bestehen. In der Tat sind Einzelstrangbrüche durch Topoisomerase-I-Hemmer für die Zelle *per se* wenig toxisch und können nach Abdissoziation des Hemmstoffs grundsätzlich leicht repariert werden. Anders verhält es sich aber, wenn die Topoisomerase-Aktivität im Kontext der DNA-Replikation inhibiert wird: In diesem Fall kommt es zu einer unvermeidlichen Kollision der Replikationsgabel mit der DNA-fixierten Topoisomerase I, sodass irreversible Doppelstrangbrüche resultieren^{6,9}.

In der Folge wird vermittelt durch die Aktivierung von Caspasen der apoptotische Zelltod eingeleitet. In Anbetracht der Tatsache, dass Einzelstrangbrüche im Wesentlichen nur während der DNA-Replikation problematisch für Zellen sind, lässt sich ableiten, dass die zytotoxische Wirkung von Topoisomerase-I-Hemmern S-Phasen-spezifisch ist¹⁰.

1.2.1 CAMPTOTHECIN UND DERIVATE

Camptothecin (siehe Abb. 5) ist ein pflanzliches Alkaloid, das im Holzkörper, in der Rinde sowie in den Früchten des asiatischen Baumes *Camptotheca acuminata* (Chinesischer Krebsbaum, Chinesischer Glücksbaum) aus der Familie der Nyssaceae vorkommt¹⁰.

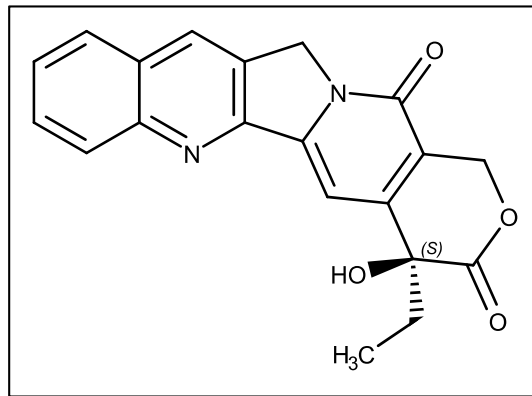
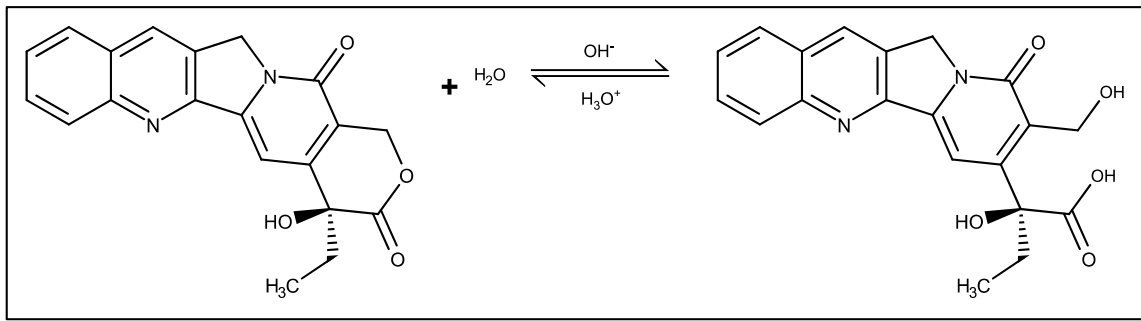


Abbildung 5: Camptothecin

Camptothecin wurde im Rahmen eines Screening-Programmes des US National Cancer Institute als ein Stoff mit potentiell antitumoraler Aktivität im Jahr 1966 identifiziert¹¹, noch lange bevor die Topoisomerase I in den 1970er Jahren entdeckt bzw. deren wichtige physiologische Funktionen in den 1980er Jahren erkannt wurden¹⁰.

Erste präklinische Untersuchungen zeigten eine Wirkung von Camptothecin gegen Colon- und Magenkarzinom. Dies führte zu klinischen Phase-I-Studien, welche auf gastrointestinalen Malignomen fokussierten. In diesen initialen Studien wurde Myelosuppression – eine aufgrund der hohen Zellteilungsrate des Knochenmarks prinzipiell typische unerwünschte Arzneimittelwirkung von Zytostatika – als die primäre dosislimitierende Nebenwirkung von Camptothecin festgestellt. Des Weiteren zeigte sich, dass einige Probanden eine hämorrhagische Zystitis entwickelten, die gelegentlich schweren Verlauf hatte¹⁰.

Der Zusammenhang zwischen Camptothecin und dem Auftreten von Blasenentzündungen ist auf dessen pH-abhängiges Gleichgewicht zwischen Lactonform und offenkettiger Carbonsäureform zurückzuführen (siehe Schema 5). Bereits an dieser Stelle ist anzumerken, dass der intakte Lactonring wesentlich zur biologischen Wirksamkeit beiträgt, wobei es auch entscheidend ist, dass das chirale C-Atom in der S-Konfiguration vorliegt¹⁰.



Schema 5: pH-abhängiges Gleichgewicht zwischen Lactonform und Carbonsäureform von Camptothecin

Im neutralen bis alkalischen Milieu liegt vorwiegend die zytostatisch weitaus weniger aktive offenkettige Carbonsäureform vor, während im sauren Milieu die Lactonform dominiert. Das hat zur Folge, dass Camptothecin im zentralen Kompartiment Blutplasma mit einem gepufferten pH-Wert von 7.4 zum Teil inaktiviert wird und dieser inaktive Anteil nach Ausscheidung in die Harnblase unter Einwirkung des in der Regel schwach aziden Harnmilieus wiederum in die aktive Lactonform überführt wird. Die darin begründete Anreicherung des wirksamen Zytostatikums in der Harnblase ist die zugrundeliegende Ursache für die Blasentoxizität von Camptothecin und die beobachtete Nebenwirkung hämorrhagische Zystitis¹⁰.

Neben der geringen Stabilität und dem ungünstigen Nebenwirkungsprofil weist Camptothecin eine weitere durchaus problematische Eigenschaft auf, nämlich eine überaus schlechte Wasserlöslichkeit. Die Umgehung dieses Problems über Erzeugung eines Natriumsalzes impliziert jedoch das Vorliegen der deutlich weniger aktiven offenkettigen Carboxylatform, sodass sehr hohe mit starken Nebenwirkungen behaftete Dosen für eine klinische Aktivität nötig waren¹⁰.

Aufgrund dieser ungünstigen Eigenschaften von Camptothecin verblasste vorerst das Interesse an dieser Substanz, bis Jahre später mit der Aufklärung des Wirkmechanismus von Camptothecin^a und im Bewusstsein des Potenzials dieser neu entdeckten Wirkstoffklasse der Topoisomerase-I-Hemmstoffe ein neues Feuer in der Entwicklung von Camptothecin-artigen Arzneistoffkandidaten mit verbesserten Eigenschaften entfacht wurde¹⁰.

^a Hsiang *et al.*¹² konnten 1985 zeigen, dass Camptothecin *nur* in Gegenwart von Topoisomerase I DNA-Strangbrüche hervorrufen kann. Camptothecin alleine bzw. Camptothecin in Kombination mit Topoisomerase II führt hingegen zu keinerlei DNA-Veränderungen. Ergänzend zu diesem Befund konnten Hsiang *et al.*¹³ darlegen, dass der Bruch der DNA mit der kovalenten Bindung eines Proteins einhergeht, bei welchem es sich wie erwartet um die Topoisomerase I handelt, wie Immunoblot-Analysen zeigten.

Tatsächlich konnten in den Folgejahren marktreife Topoisomerase-I-Hemmstoffe entwickelt werden. Zugelassen ist heute Topotecan zur Behandlung von metastasierendem Ovarialkarzinom und rezidiviertem kleinzelligen Bronchialkarzinom sowie Irinotecan zur Therapie von fortgeschrittenem Colon- und Rektumkarzinom¹⁴. Wie Abb. 6 zu entnehmen ist, weisen Topotecan und Irinotecan eine hohe Ähnlichkeit mit ihrer Leitsubstanz Camptothecin auf (Unterschiede sind rot hervorgehoben).

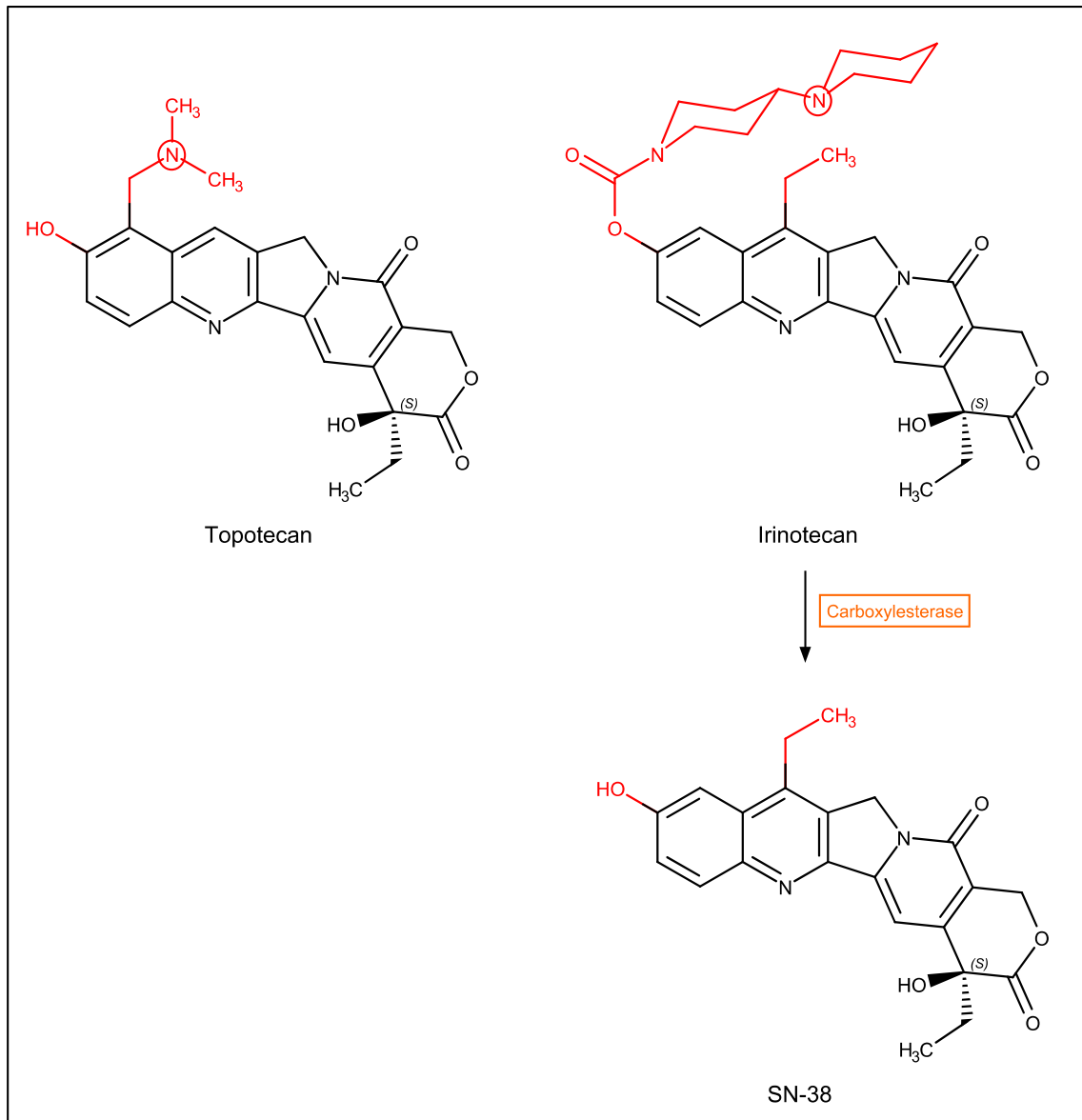


Abbildung 6: Klinisch eingesetzte Topoisomerase-I-Hemmer: Topotecan und Irinotecan (aktiver Metabolit: SN-38)

Ein entscheidend positiv veränderter physikochemischer Parameter von Topotecan und Irinotecan im Vergleich mit Camptothecin ist deren signifikant verbesserte Wasserlöslichkeit⁶. Diese wird in beiden Fällen insbesondere durch eine im physiologischen Milieu protoniert vorliegende tertiäre Amino-Funktionalität (rot

eingekreist in Abb. 6) vermittelt, im Falle von Topotecan in Form einer Dimethylaminomethyl-Seitenkette, im Falle von Irinotecan in Form einer Dipiperidylcarbonsäureester-Gruppe.

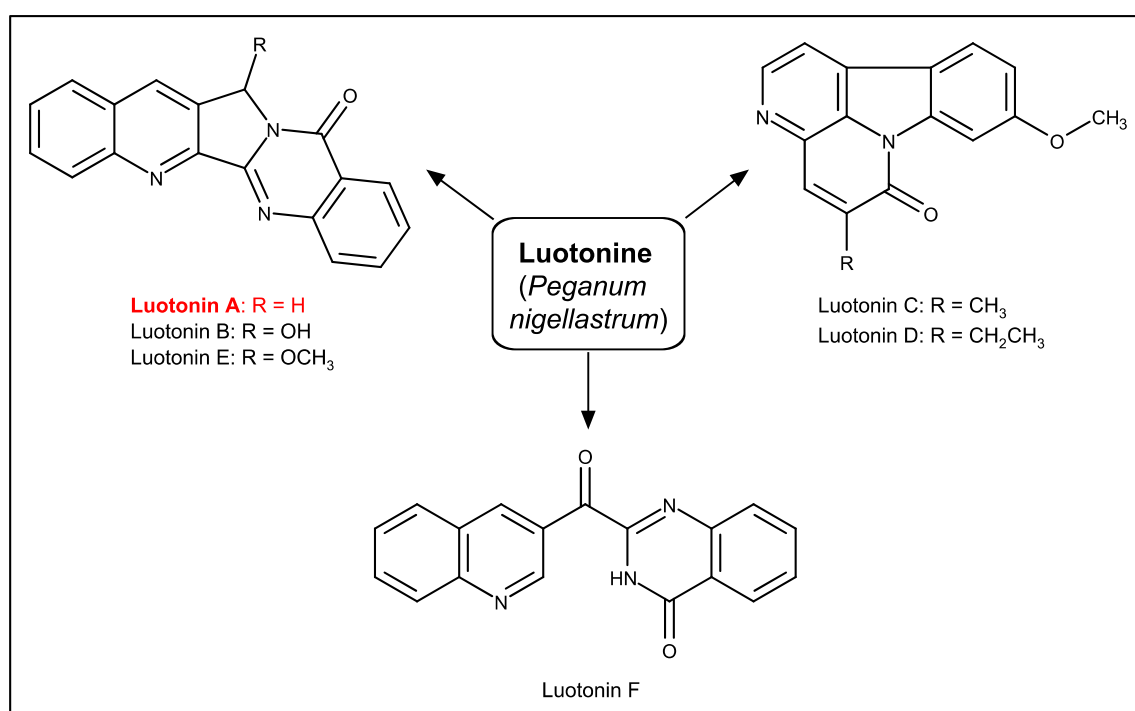
Ein bemerkenswerter Unterschied zwischen Topotecan und Irinotecan besteht darin, dass die Optimierung der Wasserlöslichkeit und damit auch der Bioverfügbarkeit bei Topotecan ohne Verlust an intrinsischer Aktivität einhergeht, wohingegen Irinotecan durch die sperrige Dipiperidylcarbonsäureester-Seitenkette einen erheblichen Verlust an zytostatischer Aktivität erfährt. Ebenjene Gruppe ist jedoch nur Mittel zum Zweck einer verbesserten Wasserlöslichkeit und wird durch Biotransformation wieder abgespalten. Der aktive Metabolit SN-38 weist ähnliche antitumorale Eigenschaften wie Camptothecin und Topotecan auf^{6,10}.

Wie bei Camptothecin ist auch bei den Abkömmlingen Topotecan und Irinotecan die Myelosuppression die dosislimitierende Nebenwirkung. Irinotecan kann ebenso zu einem akuten cholinergen Frühsyndrom sowie zu schwersten sogenannten späten Diarrhöen führen⁹. Bemerkenswert ist auch, dass in klinischen Studien von Topotecan und Irinotecan – im Unterschied zu Camptothecin – trotz des unveränderten Lactonrings *keine* hämorrhagische Zystitis als Nebenwirkung beobachtet wurde^{15,16}.

1.2.2 LUOTONIN A ALS LEITSUBSTANZ

Die Zielverbindungen der vorliegenden Diplomarbeit (siehe Abschnitt 1.5) sind inspiriert von Luotonin A, einem Alkaloid aus der in China beheimateten Pflanze *Peganum nigellastrum* Bunge (Zygophyllaceae). Diese hat einen langjährigen Einsatz in der Traditionellen Chinesischen Medizin zur Behandlung von Rheumatismus, Abszessen und anderen entzündungsassoziierten Erkrankungen aufzuweisen¹⁷.

Ende der 1980er Jahre konnten Xiao *et al.*¹⁸ eine potente antitumorale Wirkung basischer Fraktionen von *Peganum nigellastrum*-Extrakten ausfindig machen. Wie sich etwa ein Jahrzehnt später mit der Identifizierung einiger Alkaloide zeigen sollte^{19–21}, sind hierfür die sogenannten Luotonine verantwortlich. Diese können nach ihrem Grundkörper in drei Kategorien eingeteilt werden (siehe Schema 6).



Schema 6: Zytostatisch wirksame Inhaltsstoffe aus *Peganum nigellastrum*: Die Luotonine

Erste biologische Untersuchungen der isolierten Luotonine brachten die Erkenntnis, dass Luotonin A den anderen Luotoninen hinsichtlich einer zytotoxischen Aktivität überlegen ist und demzufolge die aussichtsreichste antitumorale Verbindung aus *Peganum nigellastrum* darstellt (siehe Tabelle 2).

Verbindung	Luotonin A	Luotonin B	Luotonin E	Luotonin F
IC ₅₀ (µg/mL)	1.8	5.0	9.0	20.0

Tabelle 2: Zytotoxizitätstests an P388 murinen Leukämiezellen nach Ma *et al.*²²

Als die Ergebnisse dieses Assays von Ma *et al.*²² im Jahr 2004 publik gemacht wurden, war bereits bekannt, dass Camptothecin und davon abgeleitete Verbindungen über die Induktion von Topoisomerase-I-medierten DNA-Strangbrüchen zytotoxisch wirken^{12,13}. Angesichts des imposant hohen Grades an struktureller Übereinstimmung zwischen Luotonin A und Camptothecin (siehe Abb. 7) war die Vermutung naheliegend, dass Luotonin A einen analogen Wirkmechanismus wie Camptothecin innehaben könnte.

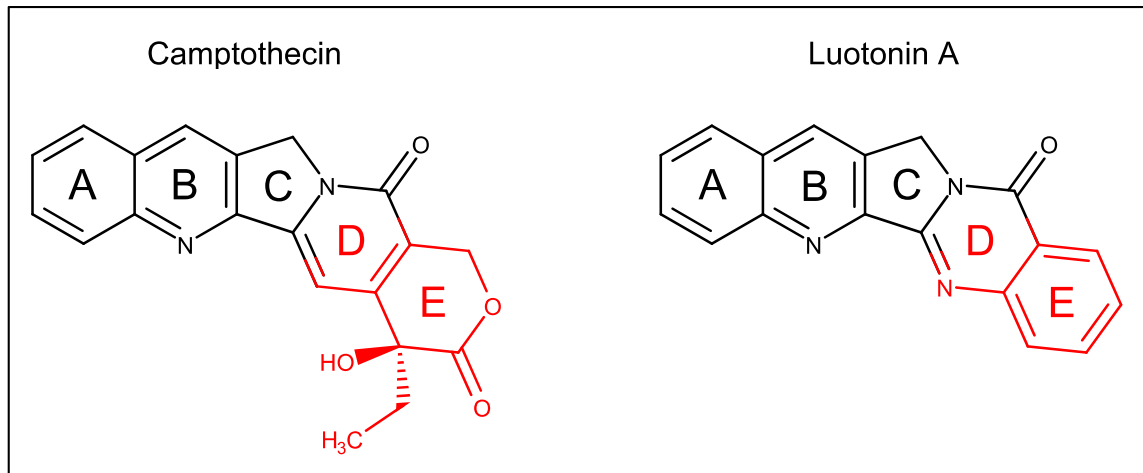


Abbildung 7: Struktureller Vergleich zwischen Luotonin A und Camptothecin (Unterschiede sind rot hervorgehoben)

Tatsächlich konnte die Arbeitsgruppe von Hecht *et al.*²³ herausfinden, dass Luotonin A – ebenso wie Camptothecin – *nur* in Anwesenheit von Topoisomerase I DNA-Strangbrüche erzeugen kann – ein eindeutiges Indiz für die stabilisierende Wirkung auf den kovalenten Topoisomerase I/DNA-Komplex. Diese bedeutende Erkenntnis konnte auf Basis eines sogenannten DNA-Cleavage-Assays^b gewonnen werden. Bemerkenswert hierbei ist, dass Luotonin A exakt dasselbe Muster elektrophoretischer Banden wie Camptothecin generiert. Dies zeugt von einem identen Wirkmechanismus und analogen Bindemodus der beiden Substanzen. Somit konnten Hecht *et al.* eine frühere Annahme, wonach Camptothecin über dessen für seine Wirkung als *essentiell* angesehenen Lactonring kovalent an den Topoisomerase I/DNA-Komplex binden könnte, widerlegen²³.

^b Beim DNA-Cleavage-Assay wird im Wesentlichen radioaktiv markierte DNA mit definierter Länge mit Topoisomerase und der Testsubstanz inkubiert und (nach proteolytischem Verdau der Topoisomerase) gelelektrophoretisch aufgetrennt. Wenn die Testsubstanz Topoisomerase-I-abhängig Strangbrüche induziert, so weist das Autoradiogramm im Vergleich zur Negativ-Inhibitor-Kontrolle mehrere Banden verschieden langer DNA-Bruchstücke auf. Sind derartige Banden von DNA-Fragmenten allerdings auch in der Negativ-Enzym-Kontrolle vorhanden, so induziert die Testsubstanz Topoisomerase-unabhängig DNA-Strangbrüche²⁴.

Das Ergebnis dieser *In-vitro*-Experimente von Hecht *et al.* wurde durch *In-silico*-Untersuchungen bekräftigt. So konnten González-Ruiz *et al.*²⁵ in Docking-Studien darlegen, dass Luotonin A dieselbe Pose wie Topotecan in der Binding Site einnimmt. Beiden Inhibitoren ist mutmaßlich eine Wasserstoffbrücke zwischen 5-N und Arg364 von Topoisomerase I gemein (siehe Abb. 8).

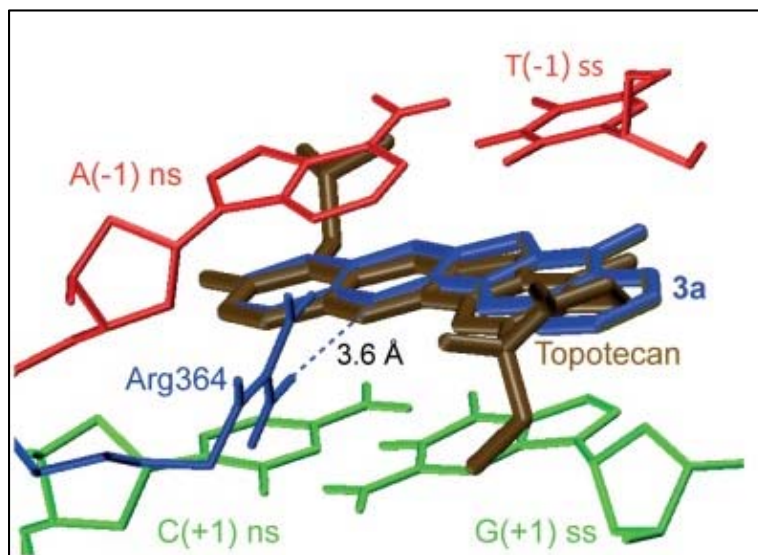


Abbildung 8: Docking von Luotonin A (blau) und Topotecan (braun) nach Lit.²⁵

Als Conclusio sämtlicher Untersuchungen von Luotonin A lässt sich daher konstatieren, dass der Lactonring von Camptothecin und davon abgeleiteten Verbindungen *nicht essentiell* für deren zytotoxische Wirkung ist. Allerdings ist anzumerken, dass dieser vieldiskutierte Lactonring einen *nicht unwesentlichen Beitrag* zur Aktivität von Camptothecin-artigen Substanzen leistet, was sich an deutlichen Aktivitätsunterschieden zwischen Camptothecin und Luotonin A manifestiert^c. Die Ursache hierfür ist höchstwahrscheinlich darin begründet, dass der Lactonring zusätzliche Interaktionen mit der Topoisomerase I ermöglicht und daher die Bindungsaffinität erhöht. Diese Schlussfolgerung ist kohärent mit der bereits geschilderten Beobachtung, dass bei Inversion der Konfiguration die Aktivität von Camptothecin drastisch reduziert wird (siehe Abschnitt 1.2.1).

^c Hecht *et al.* zeigten anhand von Wachstumsinhibitionsassays, dass Luotonin A eine um ca. eine Zehnerpotenz geringere zytotoxische Aktivität im Vergleich mit Camptothecin aufweist. Dabei wurden Hefe-Topoisomerase-I-defiziente Stämme von *Saccharomyces cerevisiae*, die das Gen für die humane Topoisomerase I unter Kontrolle eines Galactose-Promotors in Form eines Plasmids tragen, auf einem Galactose-hältigen Nährmedium kultiviert und der wachstumshemmende Effekt durch Zugabe von verschiedenen Konzentrationen von Camptothecin bzw. von Luotonin A ermittelt. Luotonin A zeigte IC₅₀-Werte im Bereich von 5.7–12.6 µM, Camptothecin im Bereich von 0.74–0.86 µM²³.

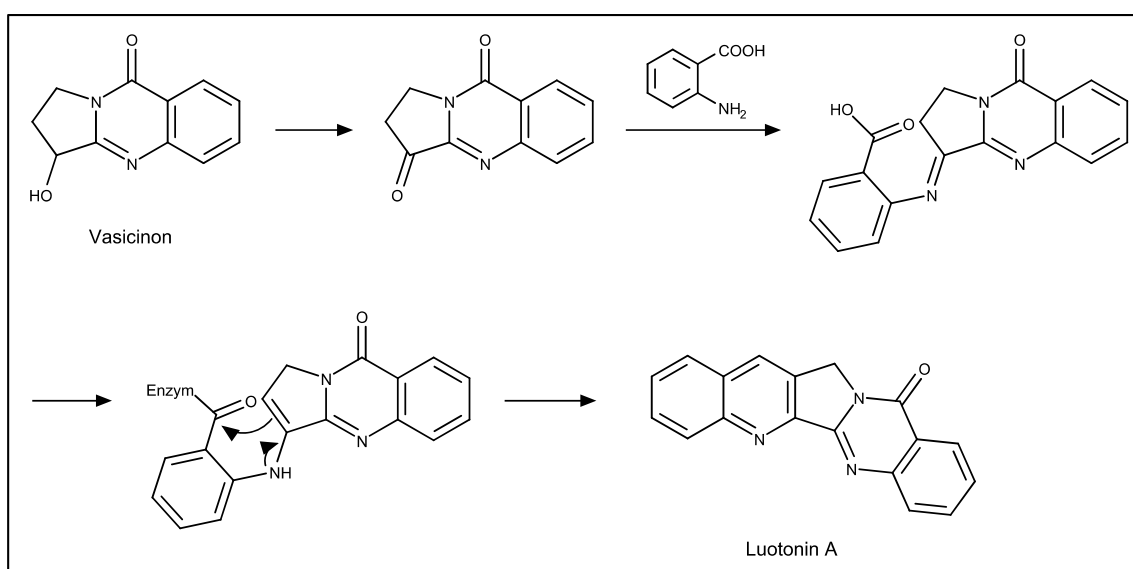
Trotz der geringeren Aktivität stellt Luotonin A aus zweierlei Hinsicht eine attraktive Leitsubstanz für die Entwicklung neuer Krebs-Therapeutika dar:

- 1)** Luotonin A verfügt über denselben Wirkmechanismus wie Camptothecin-Derivate. Diese zählen zu den wirksamsten antitumoralen Substanzen. Die Topoisomerase I ist daher ein valides Target in der Krebstherapie²⁴.
- 2)** Camptothecin und dessen Abkömmlinge weisen einige therapeutische Limitationen auf²⁴:
 - a) Inaktivierung durch Öffnung des Lactonrings
 - b) Enge therapeutische Breite aufgrund der hohen Toxizität gegenüber Knochenmark und Darm
 - c) Rasche Dissoziation vom Topoisomerase I/DNA-Spaltungskomplex
 - d) Können aus Tumorzellen aktiv ausgeschleust werden, da sie Substrate von Multidrug-Resistance-Transportern sind

Luotonin A unterliegt aufgrund des fehlenden Lactonrings keiner zu Camptothecin analogen Inaktivierung und ist darüber hinaus wegen seiner Achiralität aus synthetischer Sicht sehr attraktiv. Diese offensichtlichen Vorteile von Luotonin A gegenüber Camptothecin befeuerten reges internationales Interesse an der Entwicklung von neuen Luotonin-A-Derivaten mit verbesserter biologischer Aktivität. Mehrere Arbeitsgruppen – darunter auch unsere – beschäftigen sich daher mit der Konzeptionierung von Synthesestrategien für Luotonin A. Diverse, im Jahr 2011 bereits bekannte, synthetische Zugänge zu Luotonin A und -derivaten sind in einem umfassenden Review von Liang *et al.*²⁶ übersichtlich und chronologisch dargestellt. Im folgenden Abschnitt werden ausgewählte Synthesestrategien näher beleuchtet.

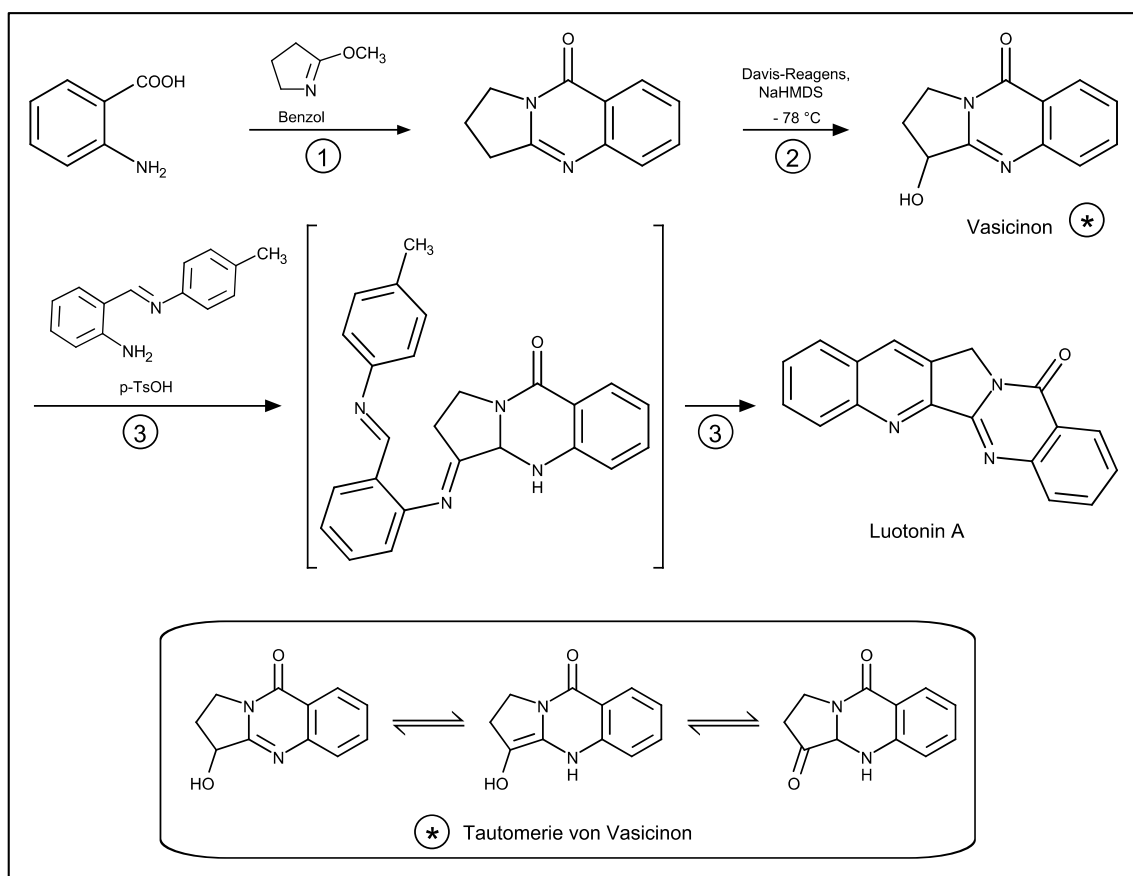
1.3 AUSGEWÄHLTE SYNTHESESTRATEGIEN ZU LUOTONIN A

Die erste Totalsynthese von Luotonin A gelang Ma *et al.*²⁷ im Jahr 1999 und war inspiriert von einem in derselben Arbeitsgruppe zuvor bereits vorgeschlagenen Biosyntheseweg¹⁹. Die Basis hierfür wurde mit der Isolierung von Vasicinon aus *Peganum nigellastrum* gelegt, die den Schluss legitimierte, dass Vasicinon höchstwahrscheinlich einen biosynthetischen Präkursor für Luotonin A darstellt. Nach Vorschlag von Ma *et al.*¹⁹ kondensiert oxidiertes Vasicinon mit Anthranilsäure in einer enzymkatalysierten Reaktion zu Luotonin A (siehe Schema 7).



Schema 7: Hypothetischer Biosyntheseweg von Luotonin A nach Ma *et al.*¹⁹

Bei der daran orientierten Totalsynthese nach Ma *et al.*²⁷ (siehe Schema 8) erfolgt die Formierung von Luotonin A durch Cyclokondensation von Vasicinon mit dem Toluidinderivat (Imin) von Anthranilaldehyd in Anwesenheit katalytischer Mengen von 4-Toluolsulfonsäure in einer Ausbeute von 30%. Die tautomere Keto-Form von Vasicinon reagiert hierbei mit der Aminogruppe des Anthranilaldehydderivates zu einem intermediären Imin, welches folglich in einer Aldolkondensation-artigen Reaktion unter Abspaltung von Toluidin cyclisiert und spontan zu Luotonin A aromatisiert. Das benötigte Vasicinon wurde in zwei Schritten durch Kondensation von Anthranilsäure mit O-Methylbutyrolactim zum Desoxyvasicinon und anschließende Oxidation durch das Davis-Reagens [2-(Phenylsulfonyl)-3-phenyloxaziridin] dargestellt. Diese erste Totalsynthese lieferte somit Luotonin A in drei Reaktionsschritten in einer ausbaufähigen Gesamtausbeute von 15%.

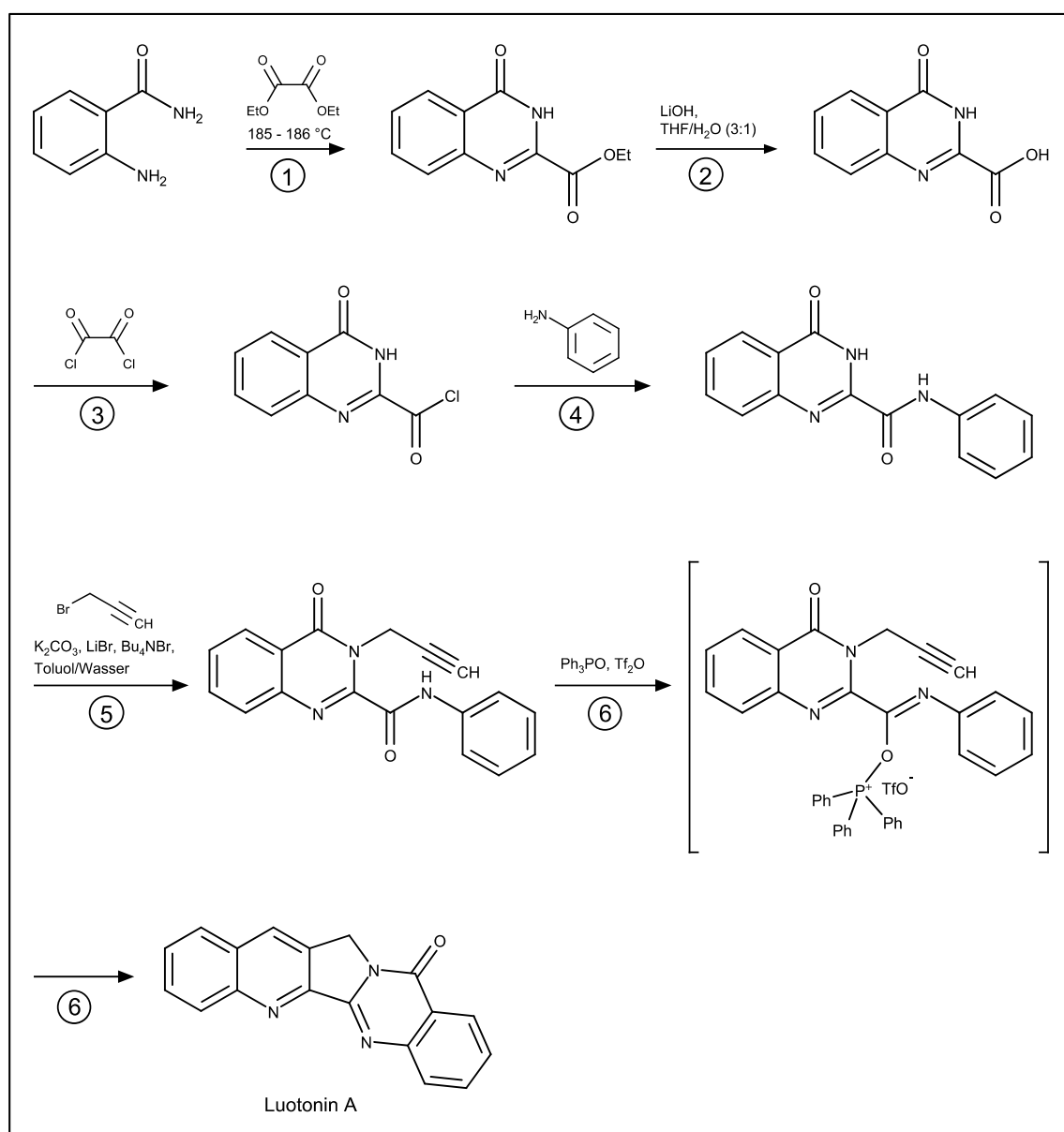


Schema 8: Luotonin-A-Totalsynthese nach Ma et al.²⁷

Unter den in den nachfolgenden Jahren von etlichen Arbeitsgruppen entwickelten unterschiedlichsten Synthesestrategien für Luotonin A erweckte insbesondere die Synthese nach Zhou *et al.*²⁸ das Interesse unserer Arbeitsgruppe. Diese zeichnet sich nämlich durch eine beachtliche Gesamtausbeute von 47% aus und bietet darüber hinaus die einfache Möglichkeit der Realisierung von Ring-A-Substitutionen, welche erwiesenermaßen mit einer signifikanten Beeinflussung der Zytotoxizität einhergehen²⁶, über den Einsatz von substituierten Anilinen als Synthesebausteine.

Die Synthese nach Zhou *et al.*²⁸ (siehe Schema 9) startet mit der Bildung der späteren Ringe D und E von Luotonin A über die bereits vor geraumer Zeit von Baker *et al.*²⁹ beschriebene Kondensation von Anthranilamid mit Diethyloxalat zum Chinazolinon-carbonsäureester. Dieser wird nach Hydrolyse mit Lithiumhydroxid in wässrigem Tetrahydrofuran mit Oxalylchlorid zum reaktiven Säurechlorid umgesetzt, welches mit dem reaktionsträgen Anilin, das den Ring-A-Baustein von Luotonin A repräsentiert, zum entsprechenden Anilid kondensiert wird. Die Alkylierung des Chinazolinon-Stickstoffs mit Propargylbromid in Gegenwart von Kaliumcarbonat, Lithiumbromid und Tetrabutylammoniumbromid in einem Toluol/Wasser-Zweiphasensystem liefert das Edukt für den

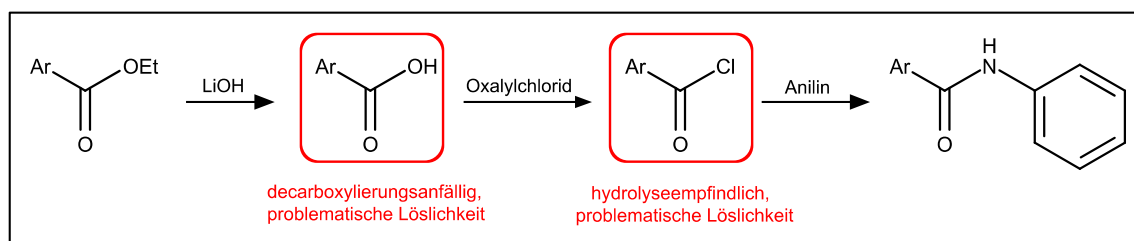
abschließenden Schlüsselschritt der Synthesesequenz. Dabei handelt es sich um eine intramolekulare Aza-Diels-Alder-Reaktion, bei welcher der Acetylengruppe des Propargylrests die Rolle des Dienophils zukommt, während das erforderliche Azadien aus der Anilidstruktur unter Einwirkung des Hendrickson-Reagens [Bis(triphenyl)oxodiphosphonium-Trifluormethansulfonat, *in situ* hergestellt aus Triphenylphosphinoxid und Trifluormethansulfonsäureanhydrid] generiert wird. Diese [4+2]-Cycloadditionsreaktion bringt den Luotonin-A-Grundkörper unter simultaner Ausbildung der Ringe B und C hervor, ist ausgezeichnet reproduzierbar und liefert nahezu quantitative Ausbeuten an Produkt.



Schema 9: Luotonin-A-Synthese nach Zhou et al.²⁸

1.3.1 DIE „SÜDLICHE“ SYNTHESEROUTE

Bei der Anwendung des soeben beschriebenen, aus unserer Sicht sehr effizienten Syntheseprotokolls nach Zhou *et al.*²⁸ zur Darstellung neuer Ring-A-substituierter Luotonin-A-Derivate stieß unsere Arbeitsgruppe bei der Realisierung der Teilsequenz vom Ester zum Amid durchaus auf Reproduzierbarkeitsprobleme (siehe Schema 10): Sowohl die freie Carbonsäure aufgrund beobachteter Decarboxylierungstendenz als auch das Säurechlorid wegen seiner naturgemäßen Hydrolyseempfindlichkeit sind in ihrer Handhabung schwierig. Darüber hinaus weisen beide Intermediate miserable Löslichkeitseigenschaften auf. Letztlich ist auch die Umsetzung des Säurechlorids mit aromatischen Aminen nicht unproblematisch, insbesondere wenn diese ungünstigere Eigenschaften als Anilin in Bezug auf Nukleophilie, Löslichkeit oder Stabilität haben³⁰.



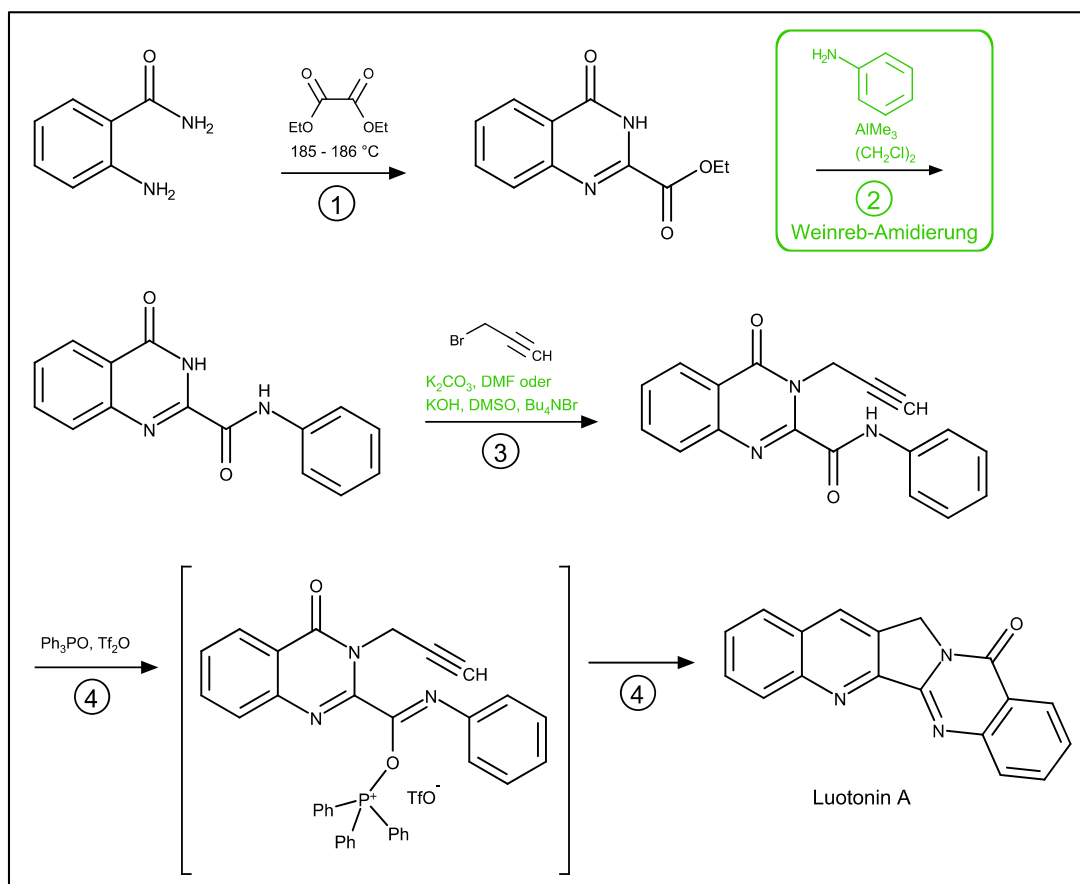
Schema 10: Problembehaftete Teilsequenz der Synthese nach Zhou *et al.*²⁸

Auf der Suche nach Möglichkeiten zur Umgehung dieser Probleme strebte unsere Arbeitsgruppe eine direkte Transformation des Esters zum Amid an und wandte dabei das für derartige Reaktionen von Weinreb *et al.*^{31,32} beschriebene Protokoll an. Die *in-situ*-Generierung eines deutlich nukleophilen Dimethylaluminiumamids durch Umsetzung des Anilin-Bausteins mit Trimethylaluminium ermöglicht dabei die Aminolyse des Esters unter milden Bedingungen in kurzen Reaktionszeiten^{31,32}. Die Anwendung dieser eleganten Methode bringt die gewünschten Anilide innerhalb von 1–2 Stunden in einer beachtlichen Ausbeute von über 90% hervor³⁰. Die obig beschriebene dreistufige Konversion des Esters zum Amid nach Zhou *et al.*²⁸ weist hingegen eine Ausbeute von lediglich 67% auf. Somit gelang unserer Arbeitsgruppe durch Implementierung der Weinreb-Amidierung eine markante Optimierung der Syntheseroute nach Zhou *et al.*²⁸ in puncto Reproduzierbarkeit, Ausbeute und Länge der Synthesesequenz.

Eine weitere – wenn auch weniger gewichtige – Adaptierung des Protokolls nach Zhou *et al.*²⁸ besteht in der Durchführung der Propargylierung: Um Löslichkeitsprobleme einiger

substituierter Anilide zu umgehen, wurde anstelle des Toluol/Wasser-Zweiphasensystems mit Tetrabutylammoniumbromid als Phasentransferkatalysator Dimethylformamid als aprotisch polares Lösungsmittel in Kombination mit Kaliumcarbonat eingesetzt³⁰. Im Falle besonders schwer löslicher Anilide erwies sich ein modifiziertes Protokoll mit Dimethylsulfoxid, Kaliumhydroxid und Tetrabutylammoniumbromid im Zusammenhang mit einer Ultraschallbehandlung vor tropfenweiser Zugabe des Alkylierungsmittels als Methode der Wahl³³.

Die von unserer Arbeitsgruppe optimierte Syntheseroute nach Zhou *et al.*²⁸, welche später mit der Entwicklung einer dazu orthogonalen Syntheseroute³⁴ als die „südliche“ Syntheseroute unserer Arbeitsgruppe bezeichnet wurde, erlaubt über den Einsatz von *para*- bzw. *ortho*-substituierten Anilin-Bausteinen die regioselektive Einführung von Substituenten an Position 2 bzw. 4 von Luotonin A. Diese „südliche“ Route ist zusammenfassend in Schema 11 dargestellt, wobei die Optimierungen gegenüber der zugrundeliegenden Synthese nach Zhou *et al.*²⁸ grün hervorgehoben sind.



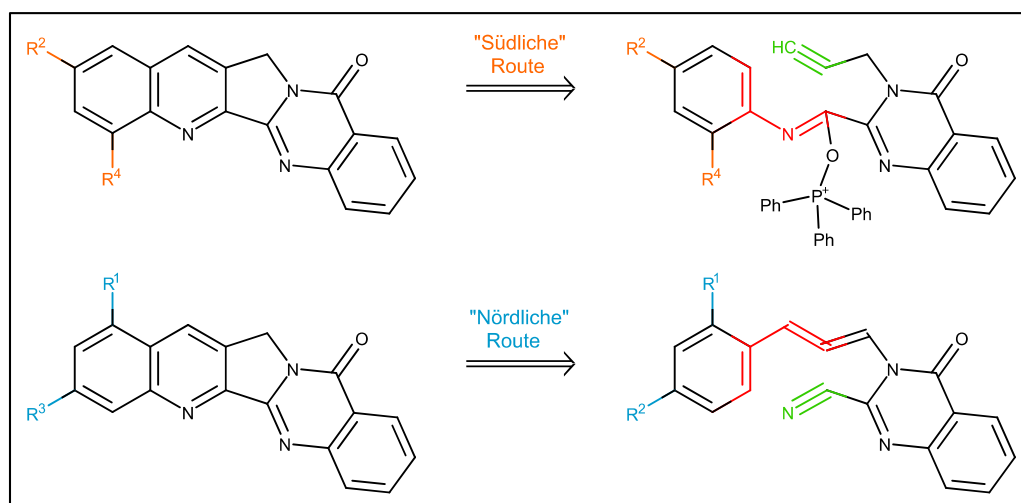
Schema 11: Die „südliche“ Syntheseroute nach Haider *et al.*³⁰ mit Weinreb-Amidierung als Eckpfeiler einer optimierten Luotonin-A-Synthese nach Zhou *et al.*²⁸ (Optimierungen grün hervorgehoben)

1.3.2 DIE „NÖRDLICHE“ SYNTHESEROUTE

Nach der Etablierung der zuvor beschriebenen „südlichen“ Syntheseroute in unserer Arbeitsgruppe, welche uns den Zugang zu 2- bzw. 4-substituierten Luotonin-A-Derivaten eröffnete, war das Verlangen groß, supplementär auch 1- bzw. 3-monosubstituierte Derivate zu erzeugen, was bei der „südlichen“ Route schwer möglich ist, da bei Verwendung der entsprechenden *meta*-substituierten Aniline aufgrund der freien Drehbarkeit der Anilin-C–N- Bindung ein schwer auftrennbares Isomerengemisch aus 1- und 3-substituierten Cycloadditionsprodukten entsteht³⁴.

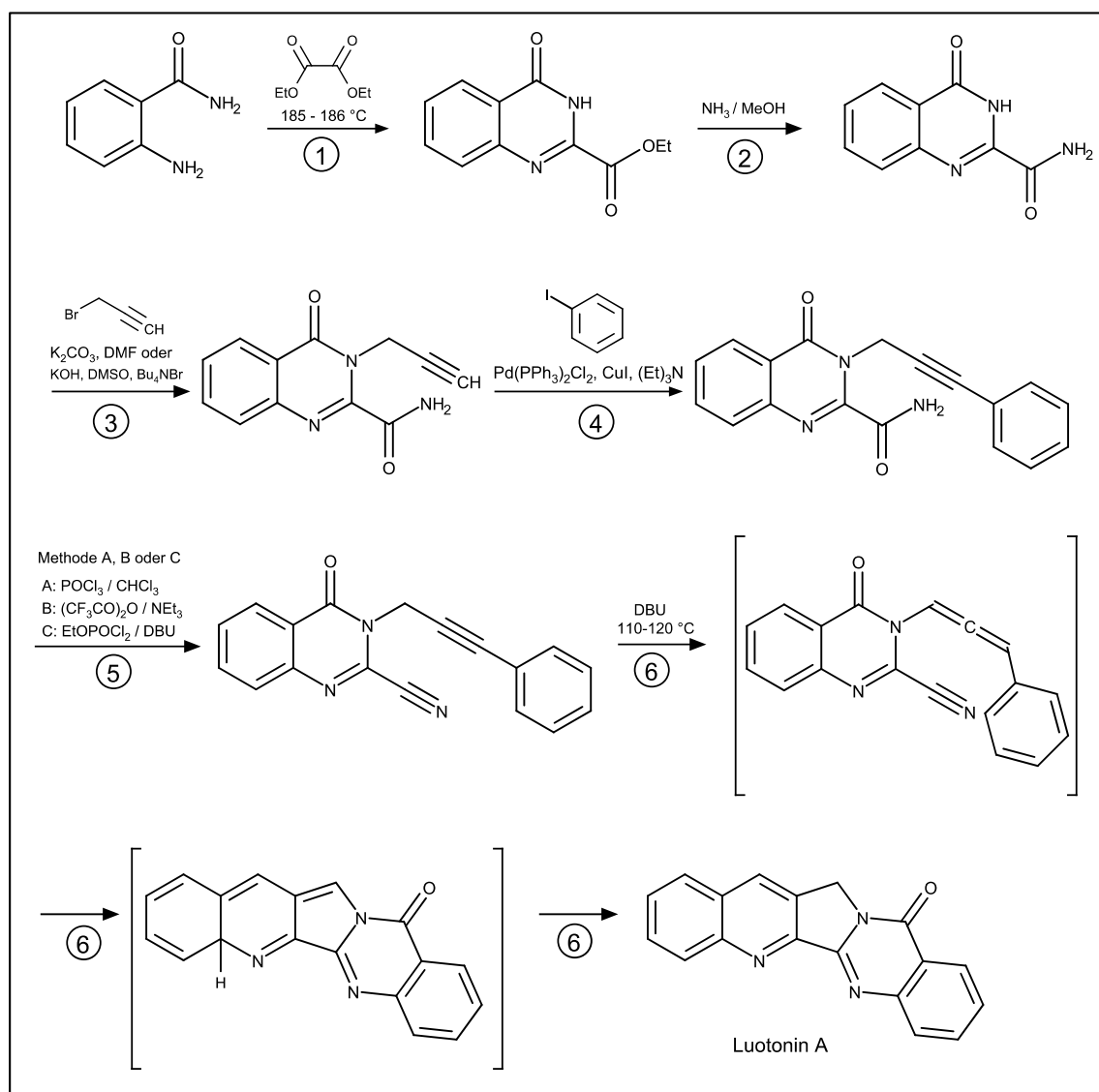
Aus diesem Grund fasste unsere Arbeitsgruppe die Option ins Auge, den Phenyl-Rest, der in der „südlichen“ Route in Form eines Anilids an Position 2 des Chinazolinons vorliegt, an die Propargyl-Seitenkette an Position 3 anzubringen, wofür sich die Sonogashira-Kupplung³⁵ anbietet. Somit wurde die Dien-Struktur in Form eines Phenylacetyls in der *nördlichen* Hemisphäre des Moleküls erzeugt. Das Dienophil musste dementsprechend den notwendigen Stickstoff inhärieren, was in Form eines Nitrils realisiert werden kann. Zur Erzeugung des Nitrils bewährte sich die Aminolyse des Esters mit Ammoniak und nachfolgende Dehydratisierung des hierbei generierten primären Amids. Die abschließende Aza-Diels-Alder-Reaktion liefert analog zur „südlichen“ Route den Luotonin-A-Grundkörper unter simultaner Ausbildung der Ringe B und C in akzeptablen Ausbeuten (44–81%)³⁴, unterscheidet sich mechanistisch jedoch deutlich von der zuvor beschriebenen Cycloadditionsreaktion: Während in der „südlichen“ Route das Hendrickson-Reagens zur *in-situ*-Generierung einer als Azadien fungierenden Imidoyleinheit benötigt wird (siehe Abschnitt 1.3.1), bedarf die Cycloadditionsreaktion der hier beschriebenen „nördlichen“ Route einer Base, die wahrscheinlich – wie bereits von Dai *et al.*³⁶, die über eine analoge Aza-Diels-Alder-Reaktion das ABCD-Ringfragment von Camptothecin (Indolizino[1,2-*b*]chinolin-9(11*H*)-on) erzeugt hatten, postuliert – eine Isomerisierung des Phenylacetyls zum Phenylallen vermittelt, wodurch das Dien in räumliche Nähe zum dienophilen Nitril gebracht wird.

Diese „nördliche“ Route ermöglichte uns über den Einsatz von *ortho*- bzw. *para*-substituierten Arylhalogeniden als Synthesebausteine für die Sonogashira-Kupplung in Komplementarität zur „südlichen“ Route den ersehnten Zugang zu Position 1- bzw. 3-substituierten Luotonin-A-Derivaten³⁴ (siehe Schema 12).



Schema 12: Die beiden Syntheserouten³³ mit invertierter Topologie von Dien (rot) und Dienophil (grün)

Die optimale Abfolge der obig beschriebenen Syntheseschritte der „nördlichen“ Route ist aus Schema 13 ersichtlich.



Schema 13: Die „nördliche“ Syntheseroute nach Haider et al.³⁴

1.4 LITERATURBEKANNTE AMINODERIVATE VON LUOTONIN A

Angeichts der problematischen Löslichkeitseigenschaften und der im Vergleich zu Camptothecin und dessen Derivaten deutlich geringeren Potenz stellen die Erhöhung von Wasserlöslichkeit und Affinität zum Target zwei wesentliche Aspekte in der Optimierung der Leitsubstanz Luotonin A dar. In diesem Zusammenhang erscheint die Aminogruppe als ein besonders attraktiver Substituent, da diese einerseits vermöge ihrer aktiven Hydrophilie wasserlöslichkeitsvermittelnd wirkt und darüber hinaus die Möglichkeit zur Salzbildung eröffnet, andererseits als potentieller H-Brücken-Donor eine zusätzliche Interaktion mit der Topoisomerase I eingehen und so die Bindungsaffinität erhöhen könnte. Zu guter Letzt eignet sich die Aminogruppe auch als Ausgangspunkt für weitere Derivatisierungen.

In unserer Arbeitsgruppe konnten bereits alle vier positionsisomeren Ring A-Aminoderivate von Luotonin A zugänglich gemacht werden³⁷. Des Weiteren literaturbekannt sind ein 13-Amino-Luotonin-A-Derivat (beschrieben von Wagh *et al.*³⁸), 7-Amino-Luotonin A (beschrieben von Nacro *et al.*³⁹), 8-Amino-Luotonin A (beschrieben von Cagir *et al.*⁴⁰) sowie das ebenfalls in unserer Arbeitsgruppe hergestellte 9-Amino-Luotonin A⁴¹. Derzeit noch unpubliziert sind einige Ring-A-substituierte 9-Amino-Luotonin-A-Derivate aus unserer Gruppe^{42–46}. Im Kontext der vorliegenden Diplomarbeit besonders hervorzuheben sind dabei die 9-Amino-Luotonin-A-Derivate mit einer Methoxygruppe an Ring A (siehe Abb. 9).

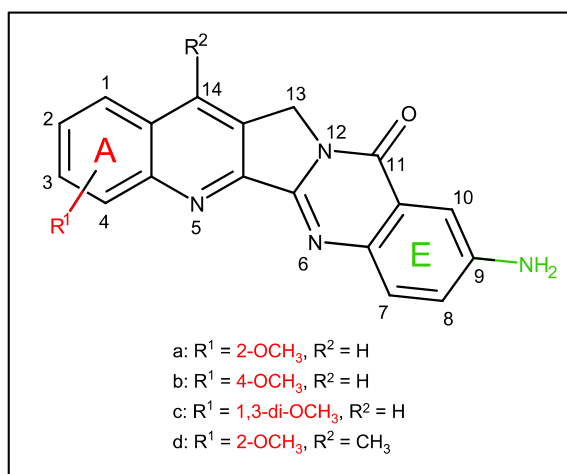


Abbildung 9: Bereits bekannte 9-Amino-Luotonin-A-Derivate mit einer Methoxygruppe an Ring A (a,c beschrieben in Lit.⁴²; b in Lit.⁴⁴; d in Lit.⁴⁶)

1.5 ZIELSETZUNG

Komplementär zu den von unserer Arbeitsgruppe bereits über die „südliche“ Route³⁰ hergestellten 2- und 4-monosubstituierten bzw. 1,3-disubstituierten Methoxyderivaten von Luotonin A mit einer Aminogruppe an Position 9 sollten im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit die fehlenden 1- und 3-monosubstituierten Methoxyderivate (siehe Abb. 10) zugänglich gemacht werden, um unsere Substanzbibliothek zu vervollständigen. Dafür sollte die eingangs beschriebene, von unserer Arbeitsgruppe entwickelte „nördliche“ Syntheseroute³⁴ zur Anwendung gelangen.

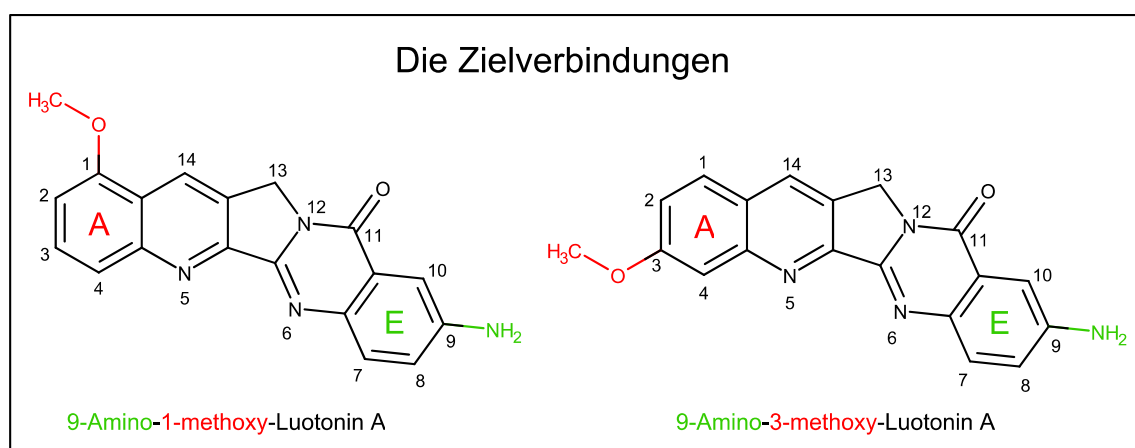


Abbildung 10: Die Zielverbindungen der vorliegenden Diplomarbeit (mit IUPAC-konformer Nummerierung)

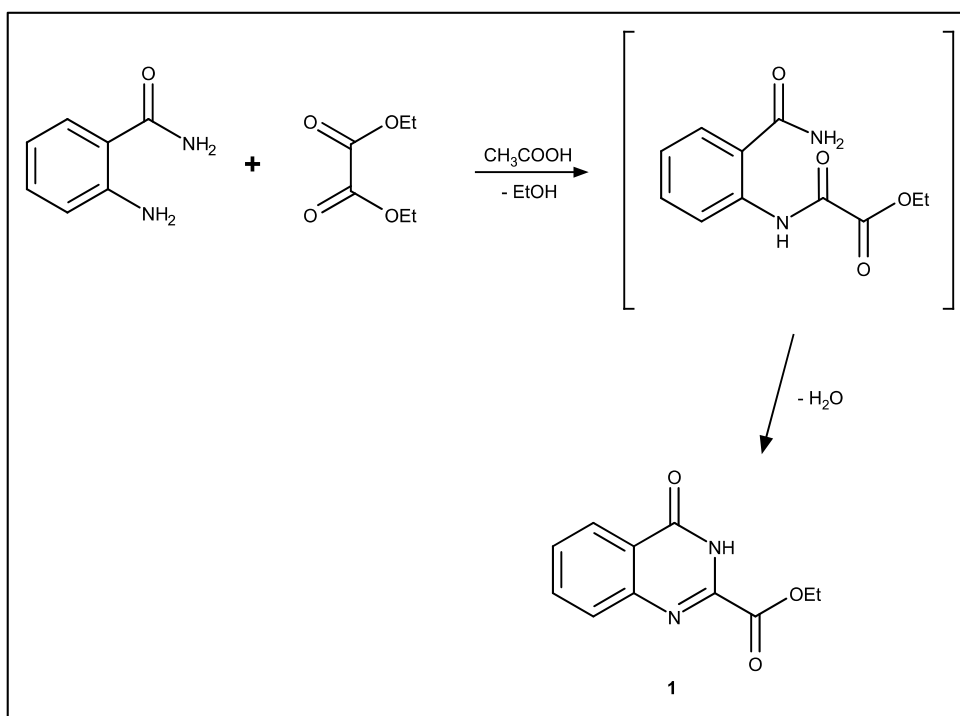
Wie bereits erwähnt, soll die Aminogruppe unter anderem eine ausreichende Wasserlöslichkeit der Zielverbindungen gewährleisten. Die selektive Einführung einer Methoxygruppe an Position 1 und 3 soll im Rahmen biologischer Untersuchungen durch den Vergleich mit den kongeneren 2- und 4-monosubstituierten bzw. 1,3-disubstituierten Methoxyderivaten neue Einblicke in Struktur-Wirkungsbeziehungen erlauben, welche schlussendlich die Inspiration zum Design und zur Synthese von weiter optimierten Luotonin-A-Derivaten geben sollen.

2 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

2.1 HERSTELLUNG DER LITERATURBEKANNTEN AUSGANGSVERBINDUNGEN

2.1.1 KONDENSATION VON ANTHRANILAMID UND DIETHYLOXALAT ZUM CHINAZOLINONCARBONSÄUREESTER

Der initiale Schritt in der Realisierung der geplanten Synthesesequenz besteht in der Herstellung eines Chinazolinon-Grundkörpers, welcher schließlich die Ringe D und E der Zielmoleküle darstellen soll. Basierend auf den Literaturangaben nach *Baker et al.*²⁹ und *Zhou et al.*²⁸ – jedoch unter Verwendung von Eisessig zur Säurekatalyse – wird Anthranilamid mit einem Überschuss an Diethyloxalat, welches zugleich als Reaktionspartner und Lösungsmittel fungiert, versetzt und unter Rückfluss zum Sieden erhitzt, wobei eine zweistufige Kondensation zum Chinazolinoncarbonsäureester (**1**) stattfindet (siehe Schema 14).



Schema 14: Herstellung des Chinazolinoncarbonsäureesters (**1**)

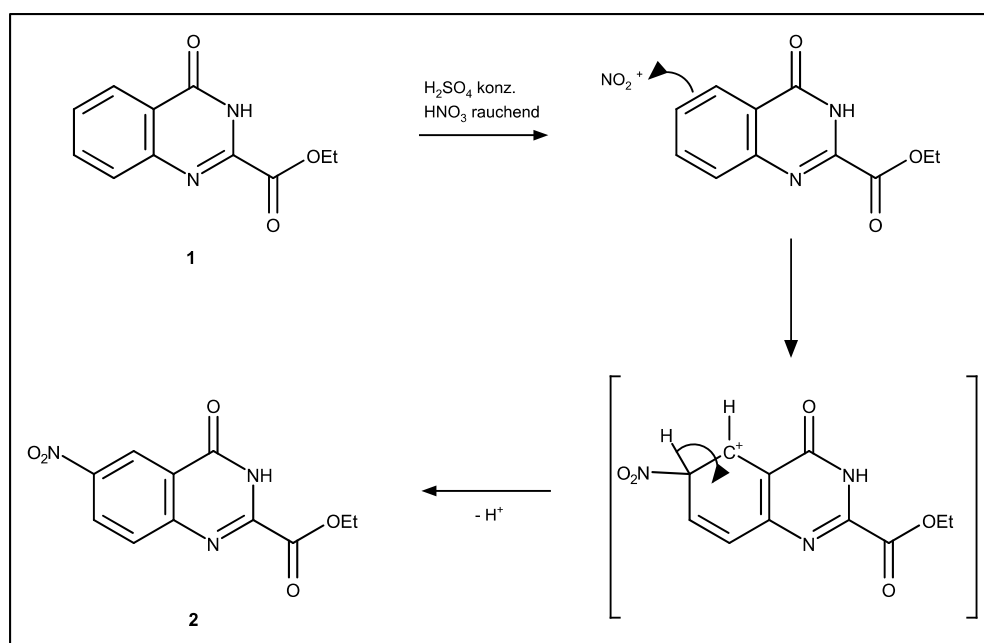
Die Verfolgung des Reaktionsverlaufs über Dünnschichtchromatographie ist hierbei von besonderer Bedeutung, weil die Reaktionszeit einen hohen Grad an Variabilität zeigt (24–

48 Stunden) und mit Fortdauer der Reaktion das Risiko für Dunkelfärbung des Reaktionsgemisches durch Resinifikation erhöht ist. Bei noch unvollständiger Reaktion offenbart das Dünnschichtchromatogramm neben der Eduktbande auch eine zwischen Edukt und Produkt lokalisierte Bande eines Intermediärprodukts (siehe Schema 14). Erwähnenswert ist die Diskrepanz zwischen der in unserem Labor benötigten und der nach *Baker et al.*²⁹ bzw. *Zhou et al.*²⁸ angegebenen Reaktionszeit von 6 bzw. 5 Stunden, obwohl in den beiden genannten Literaturstellen kein Katalysator eingesetzt wurde.

Das Waschen des aus dem Reaktionsgemisch in hoher Ausbeute ausfallenden Kondensationsproduktes mit Ethanol und Diethylether erwies sich als zweckmäßig, um eine für die weiteren Reaktionsschritte ausreichende Reinheit zu erzielen.

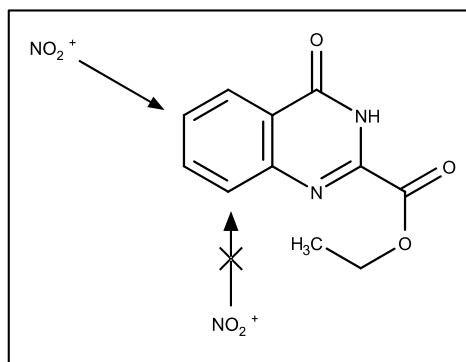
2.1.2 NITRIERUNG DES CHINAZOLINONCARBONSÄUREESTERS

In den Chinazolinoncarbonsäureester (**1**) sollte im folgenden Syntheseschritt eine Nitrogruppe im Sinne einer typischen elektrophilen aromatischen Substitutionsreaktion in der Bestimmung, im finalen Syntheseschritt zur gewünschten Aminofunktion in Ring E reduziert zu werden, eingeführt werden. Entsprechend einem patentierten Reaktionsschritt⁴⁷ wird der Ester (**1**) in einem Gemisch aus konzentrierter Schwefelsäure und rauchender Salpetersäure 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die kombinierten elektronischen Effekte der Pyrimidinon-Teilstruktur dirigieren dabei das als nitrierendes Agens fungierende Nitroniumion in die bevorzugte Position (siehe Schema 15).



Schema 15: Einführung einer Nitrogruppe in Position 6 des Chinazolinoncarbonsäureesters

Diese regioselektive Einführung der Nitrogruppe in Position 6 des Chinazolinon-carbonsäureesters (**1**) ist möglicherweise auf die sterische Behinderung der ebenfalls zur „Carboxamid“-Gruppe *meta*-ständigen Position 8 durch den benachbarten Heterocyclus (mitsamt Ethoxycarbonylgruppe) sowie den induktiven Effekt des Amidin-Stickstoffes zurückzuführen (siehe Schema 16).

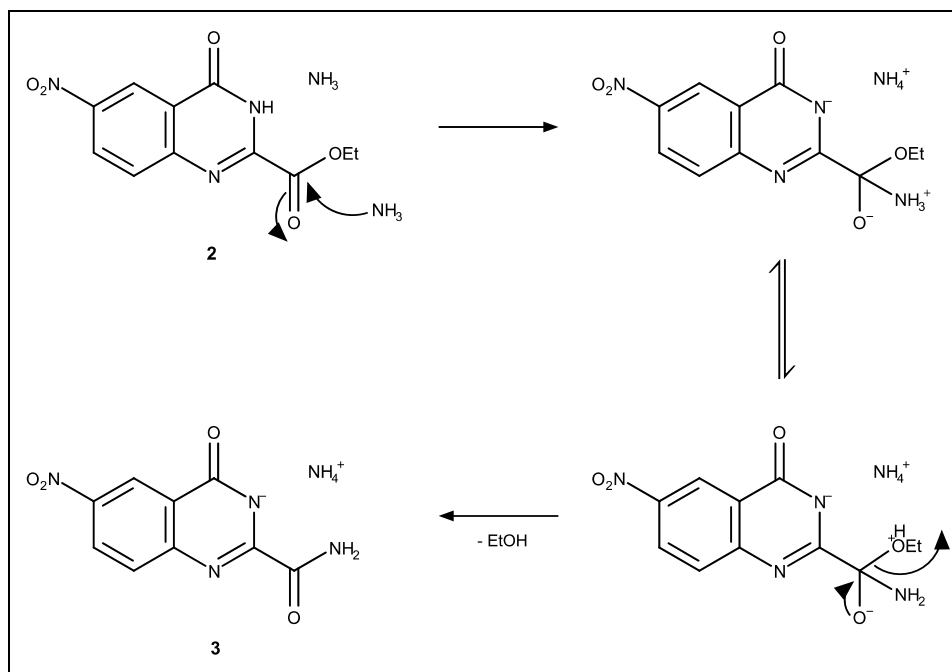


Schema 16: Regioselektive Einführung der Nitrogruppe

Das in praktisch quantitativer Ausbeute entstandene Produkt (**2**) wird durch Zutropfen des Reaktionsgemisches auf Eiswasser in Form eines weißen Niederschlages ausgefällt und kann nach mehrmaligen Waschvorgängen zur Entfernung der anhaftenden Säure ohne weiteren Reinigungsprozess für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt werden.

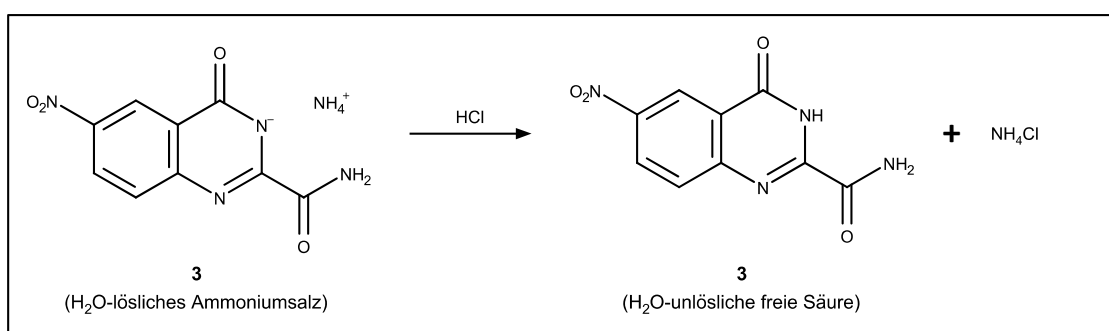
2.1.3 AMIDIERUNG DES NITROCHINAZOLINONCARBONSÄUREESTERS

Die Überführung der Esterfunktion in ein primäres Amid stellt einen notwendigen Zwischenschritt in der Generierung des für die [4+2]-Cycloadditionsreaktion essentiellen Nitrils dar. Gemäß eines in unserer Arbeitsgruppe bereits praktizierten Versuchsprotokolls⁴³ wird der Nitroester (**2**) mit konz. NH_3 -Lösung versetzt und 2 Stunden erhitzt. Der im Überschuss vorhandene Ammoniak bewirkt dabei einerseits im Sinne einer Lewis-Base die erwünschte Amidbildung unter Eliminierung von Ethanol im Zuge einer $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion, andererseits im Sinne einer Brönsted-Base die Deprotonierung des aziden Chinazolinon-Stickstoffs, sodass ein im wässrigen Reaktionsmilieu lösliches Ammoniumsalz des Produkts (**3**) resultiert (siehe Schema 17).



Schema 17: Überführung des Nitroesters (2) in ein primäres Amid (3)

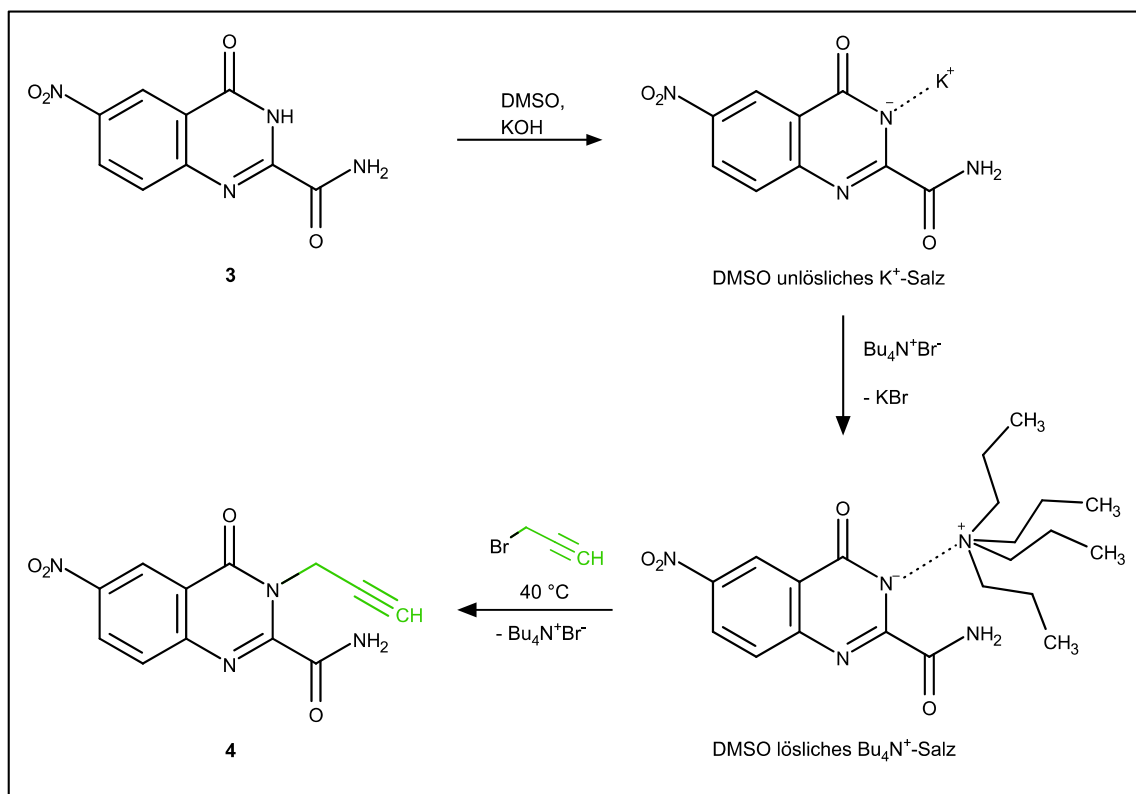
Durch Ansäuern des Reaktionsgemisches mit einer starken Säure wird das schwach saure Nitrochinazolinoncarboxamid aus dem Ammoniumsalz verdrängt und somit in die undissoziierte nichtionische Form überführt (siehe Schema 18), die im wässrigen Milieu in Form eines weißen Niederschlages präzipitiert, welcher abgenutscht und mit ausreichend Wasser säurefrei gewaschen wird. Das so in nahezu quantitativer Ausbeute gewonnene Amid (3) kann ohne weiteren Reinigungsschritt für die anstehende Alkylierung eingesetzt werden.



Schema 18: Darstellung des Amids (3) durch Ansäuern des Reaktionsgemisches

2.1.4 PROPARGYLIERUNG DES NITROCHINAZOLINONCARBOXAMIDS

Im folgenden Syntheseschritt sollte gemäß einer ebenfalls in unserer Arbeitsgruppe ausgearbeiteten Versuchsvorschrift⁴³ an den aziden Chinazolinon-Stickstoff ein Propargylrest zur Erzeugung des für die anschließende Sonogashira-Kupplung essentiellen terminalen Alkin-Bausteins angebracht werden. Gemäß des Versuchsprotokolls⁴³, welches sich an einer Synthese nach Usifoh *et al.*⁴⁸ orientiert und eine Optimierung des von Zhou *et al.*²⁸ beschriebenen Verfahrens darstellt, wird das Amid (**3**) in DMSO gelöst und nach Zugabe von KOH und Tetrabutylammoniumbromid sowie anschließender Sonifizierung durch langsames Zutropfen von Propargylbromid alkyliert (siehe Schema 19). Die Verwendung von DMSO als ein für eine S_N2-Reaktion gut geeignetes aprotisch polares Lösungsmittel, KOH als Brönsted-Base zur Deprotonierung des aziden Chinazolinon-Stickstoffes sowie Tetrabutylammoniumbromid als Phasentransferkatalysator hatten sich in unserer Arbeitsgruppe bereits als Methode der Wahl zur Propargylierung besonders schwer löslicher Edukte etabliert³³.



Schema 19: Alkylierung des Chinazolinon-Stickstoffs mit Propargylbromid unter Phasentransferkatalyse

Die Durchführung der Reaktion bei Raumtemperatur gemäß Lit.⁴³ offenbarte jedoch Reproduzierbarkeitsprobleme: Eine dünnschichtchromatographische Kontrolle des Reaktionsgemisches nach 24 Stunden zeigte, dass das Edukt (**3**) zu einem großen Teil unumgesetzt geblieben war. Da die Vermutung bestand, dass die unvollständige Umsetzung einer unzureichenden Lösungsgeschwindigkeit des Edukts bei Raumtemperatur geschuldet sei, wurde die Reaktionstemperatur auf 40 °C erhöht. Tatsächlich zeigte diese Adaption eine signifikante Optimierung, da unter diesen Bedingungen nach 24 Stunden nur mehr ein Hauch einer Eduktbande im Dünnschichtchromatogramm vorhanden ist. Die besten Ergebnisse werden bei Verwendung von 1.4 Äquivalenten Propargylbromid, aufgeteilt auf 2 äquimolare Portionen erzielt, höhere Mengen des Alkylierungsmittels erwiesen sich hingegen als unzweckmäßig, da sich hierbei ein schwer abtrennbares Nebenprodukt – vermeintlich ein Dialkylierungsprodukt analog zu Lit.⁴⁹ (siehe Abb. 11) – bildet. Das bei der Reaktion nicht quantitativ umgesetzte Edukt fällt beim Verdünnen des Reaktionsgemisches mit Wasser nach einiger Zeit aus und kann durch Abnutschen entfernt werden. Das im Filtrat gelöste Produkt (**4**) wird mit Ethylacetat extrahiert und am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Die Umkristallisation aus Ethanol liefert das Produkt in Form gelber Nadeln in einer Ausbeute von 48%, was angesichts der geringeren Ausbeute von 39% nach Lit.⁴³ eine deutliche Verbesserung der Versuchsvorschrift darstellt.

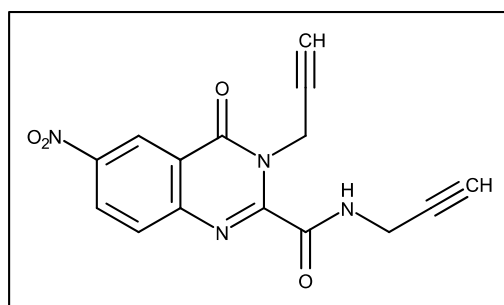


Abbildung 11: Vermutetes dialkyliertes
Nebenprodukt analog zu Lit.⁴⁹

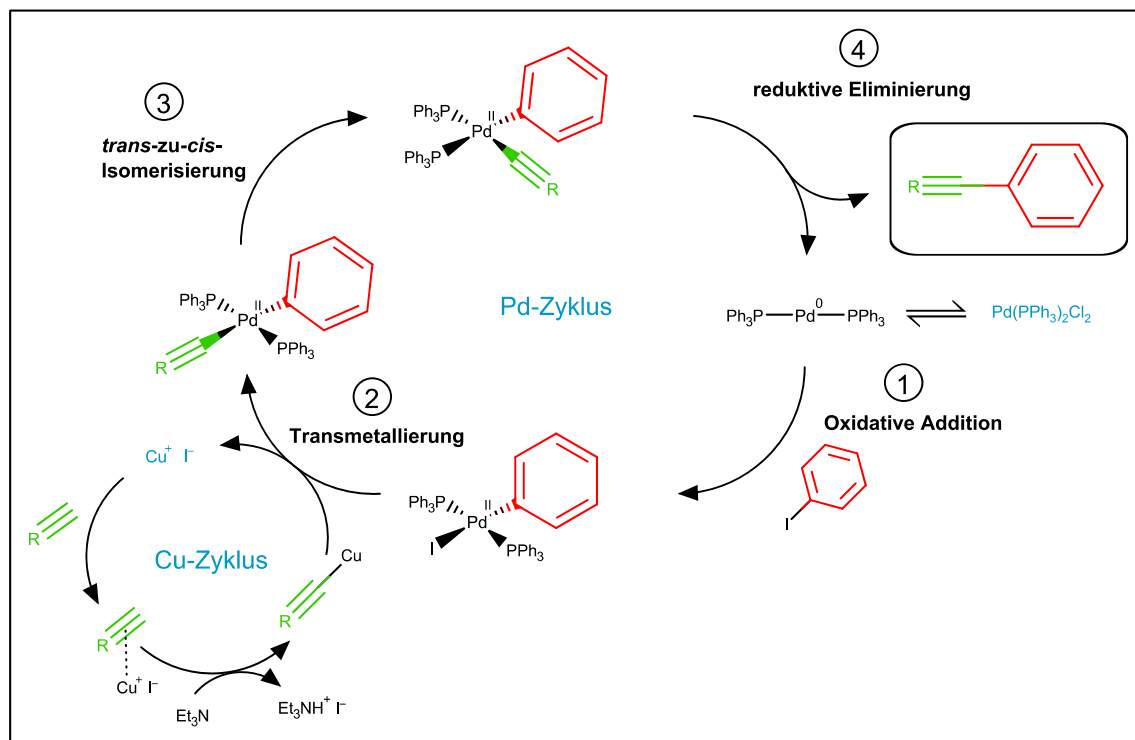
2.2 EINFÜHRUNG DER METHOXYPHENYLGRUPPE DURCH SONOGASHIRA-KUPPLUNG

An die im vorangegangenen Syntheseschritt an den Chinazolinon-Stickstoff eingeführte Propargylgruppe sollte nun ein Arylrest angebracht werden, um die für die spätere [4+2]-Cycloadditionsreaktion essentielle Dienstruktur aufzubauen. Dafür hat sich in unserer Arbeitsgruppe die von Sonogashira *et al.*³⁵ erstmals beschriebene und nach ihrem Entdecker benannte palladiumkatalysierte Kreuzkupplung zwischen terminalen Alkinen und Arylhalogeniden bereits mehrfach bewährt³⁴. Wie in Lit.³⁴ erläutert, erweist sich diese Kupplungsreaktion auf Ebene des Carboxamids als weitaus effizienter als auf Ebene des für die spätere Cycloaddition benötigten dienophilen Nitrils, sodass die Amid-zu-Nitril-Dehydratisierung erst nach erfolgter Sonogashira-Kupplung realisiert werden sollte.

Wie Schema 20 zu entnehmen ist, laufen bei der klassischen Sonogashira-Kupplung 2 katalytische Zyklen ab. Im Palladium-Zyklus wird das Arylhalogenid oxidativ an eine reaktive Pd(0)-Spezies addiert, wodurch ein quadratisch planarer Pd(II)-Komplex in der *trans*-Konfiguration entsteht. Die anschließende geschwindigkeitsbestimmende Transmetallierung stellt den Berührungspunkt der beiden katalytischen Zyklen dar: Hierbei reagiert das im Kupferzyklus aus dem terminalen Alkin und einem Kupferhalogenid *in situ* generierte Kupferacetylid mit dem Palladiumkomplex, sodass unter Freisetzung eines Kupferhalogenids ein Palladium(II)-Komplex gebildet wird, der die zu kuppelnden Komponenten in Form von *trans*-positionierten Liganden trägt. Nach der folgenden *trans*-zu-*cis*-Isomerisierung wird im finalen produktbildenden Schritt das gewünschte Aryl-substituierte Alkin durch reduktive Eliminierung unter Regeneration des Palladiumkatalysators freigesetzt⁵⁰.

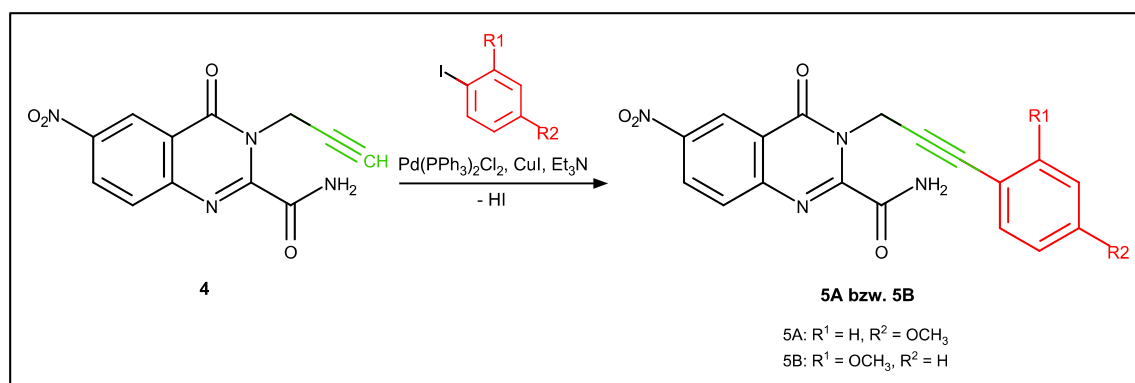
Das Kupferhalogenid wirkt insofern cokatalytisch, indem es via Bildung eines π -Komplexes mit dem terminalen Alkin die Abstraktion des Acetylen-H durch ein

aliphatisches Amin erleichtert. Das dabei hervorgehende Kupferacetylid nimmt an der bereits oben erläuterten Transmetallierung mit dem Palladium(II)-Komplex teil⁵⁰.



Schema 20: Mechanismus der Sonogashira-Kupplung, modifiziert nach Lit.⁵⁰

Um die gewünschte Methoxysubstitution in Position 1 bzw. 3 des Zielmoleküls zu erreichen, wird die Sonogashira-Kupplung mit *ortho*- bzw. *para*-Iodanisol als Arylhalogenid-Komponente durchgeführt (siehe Schema 21).



Schema 21: Sonogashira-Kupplung von Verbindung 4 mit Iodanisol

Orientiert an Lit.³⁴ wird das in einem Gemisch aus 1 Teil Dimethylformamid und 15 Teilen Dichlormethan gelöste Edukt (4) mit einem 50% Überschuss an *para*- bzw. *ortho*-Iodanisol, katalytischen Mengen Bis(triphenylphosphin)palladium(II)dichlorid und Kupfer(I)iodid sowie der Base Triethylamin versetzt. Wegen der Oxidationsempfindlichkeit des Palladiumkatalysators wird vor und nach Zugabe der

Reagentien mit Argon gespült und die Reaktion unter leichtem Argonüberdruck durchgeführt. Als weitere präventive Maßnahme vor oxidativem Abbau des Palladiumkatalysators wird 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol als Antioxidans eingesetzt.

Das initial gelb gefärbte Reaktionsgemisch weist bereits nach wenigen Minuten eine für derartige Kupplungsreaktionen typische Dunkelfärbung auf. Eine dünnschicht-chromatographische Kontrolle des Reaktionsgemisches zeigt einen vollständigen Reaktionsablauf nach 2 Stunden an.

Für die Reinigung des braunschwarz gefärbten Reaktionsgemisches bietet sich folgende säulenchromatographische Aufarbeitung an: Zuerst werden mit reinem Dichlormethan und geringer Tropfgeschwindigkeit unumgesetztes *para*- bzw. *ortho*-Iodanisol sowie ein bei der Reaktion gebildetes dunkel gefärbtes Artefakt quantitativ abgetrennt, ehe via Steigerung der Elutionskraft des Fließmittel durch Zusatz von Ethylacetat und Erhöhung der Tropfgeschwindigkeit das Produkt beschleunigt eluiert werden kann, wohingegen die eingesetzten Katalysatoren und hydrophile Verunreinigungen unter diesen Bedingungen in der Säule retiniert bleiben. Die anschließende Umkristallisation des Produkts aus Ethanol liefert analysenreines Material in Form farbloser Nadeln in einer beachtlichen Ausbeute von 54% für das *para*-Methoxyaryl-Kupplungsprodukt (**5A**) bzw. 51% für das entsprechende *ortho*-Isomer (**5B**). Die etwas geringere Ausbeute des *ortho*-Isomers ist wohl auf den sterisch hindernden Einfluss des Methoxysubstituenten zurückzuführen.

Der Erfolg der Kupplungsreaktion lässt sich durch spektroskopische Untersuchungen umfassend belegen. In den EI-Massenspektren ist für die beiden isomeren Kupplungsprodukte jeweils der zu erwartende Molekülionenpeak bei $m/z = 378$ anzutreffen (siehe Tafel 1 bzw. 9). Der Peak bei $m/z = 145$, der beim *para*-Methoxyaryl-Kupplungsprodukt (**5A**) auch den Basispeak repräsentiert, entspricht dem Molekulargewicht der Methoxyphenylpropinyl-Seitenkette und indiziert daher mit hoher Wahrscheinlichkeit die erwartete Fragmentierung zwischen Chinazolinon-Grundgerüst und Seitenkette an Position 3. Durch hochauflösende Massenspektrometrie konnte die zu erwartende Summenformel der Produkte bestätigt werden.

In den entsprechenden ^1H -NMR-Spektren (siehe Tafel 2 bzw. 10) ist das für die eingeführte Methoxygruppe charakteristische Singulett mit einer relativen Intensität von 3 bei einer chemischen Verschiebung von 3.75 ppm für das *para*-Isomer (**5A**) und 3.78

ppm für das *ortho*-Isomer (**5B**) aufzufinden. Ebenso auffällig sind die Signale der Protonen des eingeführten Arylrests, die sich in ihrer chemischen Verschiebung aufgrund des elektronenschiebenden Effekts der Methoxygruppe deutlich von den im Edukt (**4**) bereits vorhandenen Protonen des durch die elektronenziehende Nitrogruppe π -Elektronen-defizitären Chinazolinonrings unterscheiden: Die Protonen des Chinazolinons weisen relative Resonanzfrequenzen von 7.97–8.88 ppm auf, während die Protonen des Methoxy-substituierten Phenylrings eine chemische Verschiebung im Bereich von 6.87–7.41 ppm besitzen. Im Fall von Verbindung **5A** ist ein für *para*-disubstituierte Aromaten typisches Aufspaltungsmuster von 2 symmetrischen dublettartigen Peakgruppen zu erkennen (AA'BB'-Spinsystem), wobei die in *ortho*-Stellung zur Methoxygruppe lokalisierten Protonen aufgrund deren mesomeren Effekts eine Hochfeldverschiebung erfahren. Die *ortho*-disubstituierte Verbindung (**5B**) zeigt erwartungsgemäß jeweils ein hochfeldverschobenes Dublett und Triplet als diskrete Signale sowie ein von den zur Methoxygruppe *meta*-ständigen beinahe isochronen Protonen stammendes Multiplett höherer Ordnung. Neben dem Erscheinen der für den Methoxyphenylrest zu erwartenden oben beschriebenen ^1H -NMR-Signalen untermauert auch das Fehlen eines für das Acetylen-H des Edukts (**4**) typischen Triplets im Bereich von 1.5–2 ppm den Erfolg der Kupplungsreaktion. Erwartungsgemäß ist auch ein Singulett mit der relativen Intensität von 2 für die Protonen der Methylenfunktion bei einer Verschiebung von 5.27 ppm für das *para*-Isomer (**5A**) bzw. 5.32 ppm für das *ortho*-Isomer (**5B**) vorzufinden.

In den entsprechenden ^{13}C -APT-Spektren (siehe Tafel 3 bzw. 11) ist neben dem im Edukt bereits vorhandenen Signal der CH_2 -Gruppe des Propargylrests ein zusätzliches Signal für ein sp^3 -hybridisiertes C-Atom, für das die eingeführte Methoxygruppe verantwortlich zeichnet, vorzufinden. Dieses bei 55.2 ppm beim *para*-Isomer (**5A**) bzw. 55.6 ppm beim *ortho*-Isomer (**5B**) neu auftretende CH_3 -Signal lässt sich anhand seiner invertierten Phase vom CH_2 -Signal des Propargylrests einfach unterscheiden. Durch den eingeführten Arylrest sind im Vergleich zum Edukt (**4**) im Aromatenbereich jeweils zwei zusätzliche Signale quartärer C-Atome sowie im Fall des *ortho*-Isomers (**5B**) vier weitere Signale tertiärer C-Atome bzw. im Fall des *para*-Isomers (**5A**) aufgrund der Symmetrie zwei weitere Signale tertiärer C-Atome zu erkennen. Besonders auffällig im ^{13}C -Spektrum sind die beiden Signale der Acetylen-Kohlenstoffe bei einer für sp -hybridisierte Kohlenstoffe typischen Verschiebung im Bereich von 80–90 ppm.

Durch COSY- und NOESY-Experimente (siehe Tafeln 7 und 8 bzw. 16 bis 18) konnte die Zuordnung der ^1H -NMR-Signale der beiden Kupplungsprodukte bestätigt werden, während HSQC- und HMBC-Experimente (siehe Tafeln 4 bis 6 bzw. 12 bis 15) die eindeutige Zuordnung der ^{13}C -NMR-Signale ermöglichten. Abb. 12 bzw. 13 zeigen die ^1H - und ^{13}C -NMR-Signallagen der beiden isomeren Sonogashira-Kupplungsprodukte auf.

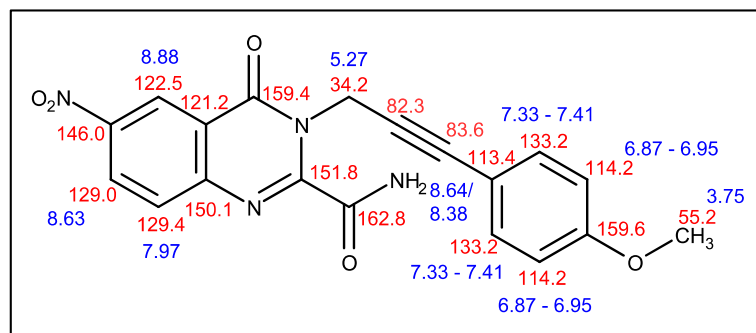


Abbildung 12: Para-substituiertes Sonogashira-Kupplungsprodukt (5A):
 ^1H -NMR-Signale (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) in ppm

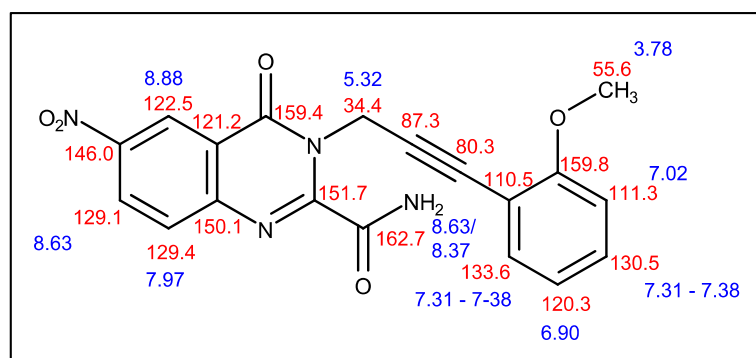
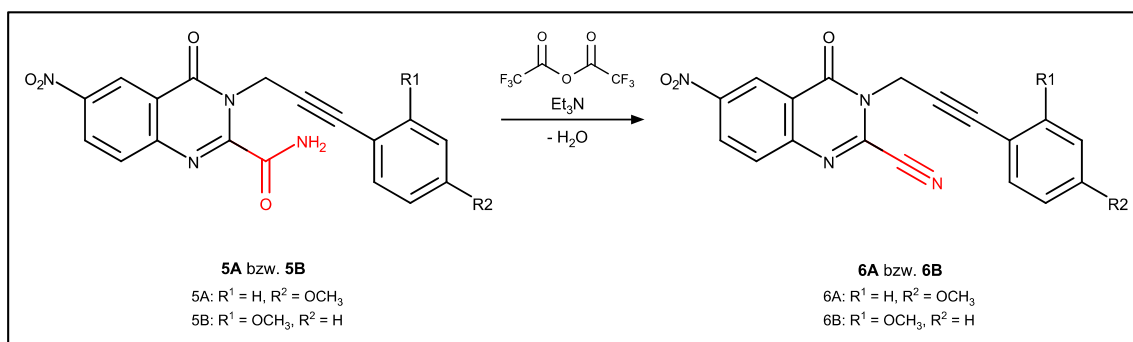


Abbildung 13: Ortho-substituiertes Sonogashira-Kupplungsprodukt (5B):
 ^1H -NMR-Signale (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) in ppm

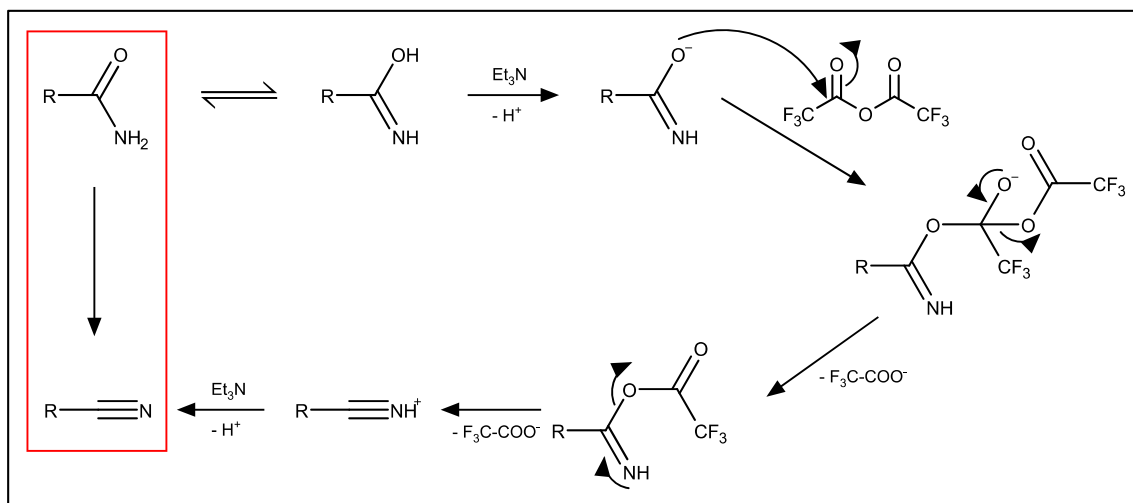
2.3 DEHYDRATISIERUNG DES PRIMÄREN AMIDS ZUM NITRIL

Im folgenden Syntheseschritt sollten nun die primären Amide (**5A** bzw. **5B**) in die in der „nördlichen“ Syntheseroute für die [4+2]-Cycloaddition benötigten dienophilen Nitrile überführt werden. Nitrile sind Carbonsäurederivate, die sich formal durch Wasserabspaltung von den entsprechenden primären Carboxamiden darstellen lassen. Analog zu Lit.³⁴ sollte diese Wasserabspaltung durch das hygroskopische Trifluoracetanhydrid in Gegenwart von Triethylamin erfolgen (siehe Schema 22).



Schema 22: Dehydratisierung des primären Amids (**5A** bzw. **5B**) zum Nitril (**6A** bzw. **6B**)

Wie aus Schema 23 ersichtlich ist, reagiert dabei die aus dem Amid tautomerisierte Imidsäure nach Deprotonierung durch Triethylamin mit dem reaktiven Trifluoracetanhydrid, wobei unter konsekutiver Abspaltung von zwei Molekülen Trifluoracetat das gewünschte Nitril gebildet wird.



Schema 23: Reaktionsmechanismus der Amid-zu-Nitril-Dehydratisierung mit Trifluoracetanhydrid und Triethylamin

Aufgrund der Hygroskopizität von Trifluoracetanhydrid wird die Reaktion in trockenem Dichlormethan als Lösungsmittel in einem zuvor ausgeheizten Reaktionsgefäß durchgeführt. Da die beschriebene Reaktion äußerst heftig unter Freisetzung von

Reaktionswärme und starker Nebelbildung abläuft, muss zu Beginn unter Eiskühlung operiert werden. Wie eine dünnschichtchromatographische Kontrolle des Reaktionsgemisches zeigte, ist das Edukt nach 2 Stunden vollständig umgesetzt.

Das Reaktionsgemisch wird auf Eiswasser gegossen und gerührt, wodurch überschüssiges Trifluoressigsäureanhydrid hydrolysiert wird. Nach Extraktion des Nitrils mit Dichlormethan wird mit verdünnter Säure ausgeschüttelt, um Triethylamin in die wasserlösliche Salzform überzuführen und somit von der organischen Phase abzutrennen. Überschüssige Säure wiederum wird durch Waschen mit Wasser, Natriumhydrogencarbonat-Lösung und abermals Wasser entfernt. Die so erhaltene organische Phase zeigt neben dem gewünschten Nitril im Dünnschichtchromatogramm auch eine Bande eines apolaren Nebenprodukts mit höherem R_f -Wert, bei dem es sich vermutlich um ein literaturbekanntes Artefakt aus Trifluoressigsäureanhydrid und Triethylamin handelt⁵¹ (siehe Abb. 14).

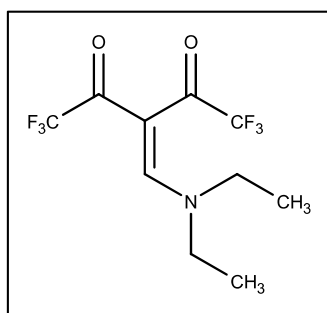
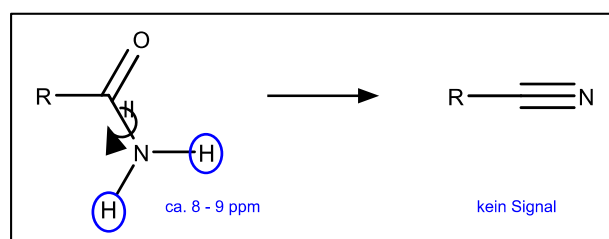


Abbildung 14: 3-[(Diethylamino)methyliden]-1,1,1,5,5,5-hexafluoropentan-2,4-dion⁵¹

Zur Abtrennung dieser lipophilen Verunreinigung wurde zunächst eine Umkristallisation aus Ethanol versucht, jedoch resultierte diese Methode in relativ geringen Ausbeuten, da das oben beschriebene Artefakt offenbar lösungsvermittelnd auf das Nitril in Ethanol wirkt und so dessen Auskristallisation inhibiert, wobei insbesondere das Isomer mit der Methoxygruppe in *ortho*-Stellung (**6B**) erhebliche Kristallisationsprobleme zeigt. Es erwies sich für beide isomeren Nitrile (**6A** und **6B**) als zweckmäßig, an die extractive Aufarbeitung des Reaktionsgemisches eine säulenchromatographische Reinigung zur Abtrennung des lipophilen Nebenprodukts anzuschließen. Die darauffolgende Umkristallisation aus Ethanol verläuft dadurch komplikationslos und liefert akzeptable Ausbeuten an analysenreinem Produkt.

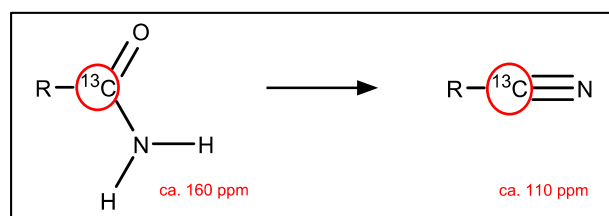
Die erfolgreiche Dehydratisierung lässt sich relativ einfach und rasch anhand folgender beobachteter Unterschiede zwischen den Nitrilen (**6A** und **6B**) und den Präkursor-Carboxamiden (**5A** und **5B**) in den aufgenommenen Spektren belegen:

- Die EI-Massenspektren der Nitrile (siehe Tafel 19 bzw. 27) weisen einen im Vergleich zu den Carboxamiden um 18 Einheiten niedrigeren Molekülionenpeak bei $m/z = 360$ auf. Dies entspricht der Masse des abgespaltenen Wassers.
- In den ^1H -NMR-Spektren der Nitrile (siehe Tafel 20 bzw. 28) fehlen naturgemäß die Signale der Carboxamidgruppe. Die Ausgangsverbindungen zeigen in ihren ^1H -NMR-Spektren aufgrund der Konjugation der Carboxamid-Funktionalität und des daraus resultierenden partiellen Doppelbindungscharakters der C–N-Bindung zwei diskrete N–H-Signale in Form breiter Singulets im Bereich von 8–9 ppm chemischer Verschiebung (siehe Schema 24).



Schema 24: Wesentliche Unterschiede im ^1H -NMR-Spektrum zwischen Amid (**5A** bzw. **5B**) und Nitril (**6A** bzw. **6B**)

- Die ^{13}C -NMR-Spektren der Nitrile (siehe Tafel 21 bzw. 29) weisen anstelle eines für einen sp^2 -hybridisierten Carboxamid-Kohlenstoff typischen Signals bei ca. 160 ppm ein Signal bei ca. 110 ppm auf, welches für einen sp -hybridisierten Nitril-Kohlenstoff charakteristisch ist (siehe Schema 25).



Schema 25: Wesentliche Unterschiede im ^{13}C -NMR-Spektrum zwischen Amid (**5A** bzw. **5B**) und Nitril (**6A** bzw. **6B**)

Die Bestätigung der Summenformel erfolgte via hochauflösender Massenspektrometrie. Die eindeutige Zuordnung sämtlicher ^1H - und ^{13}C -NMR-Signale gelang durch zweidimensionale NMR-Experimente (COSY, NOESY, HSQC, HMBC). Die genauen Lagen

aller ^1H - und ^{13}C -Resonanzfrequenzen sind dem experimentellen Teil sowie den Abb. 15 und 16 zu entnehmen.

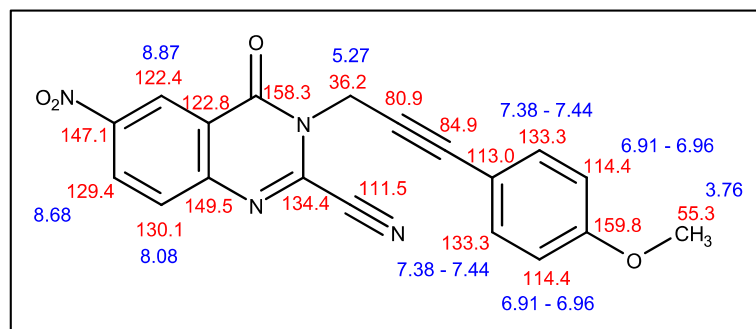


Abbildung 15: Nitril **6A**: ^1H -NMR-Signale (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) in ppm

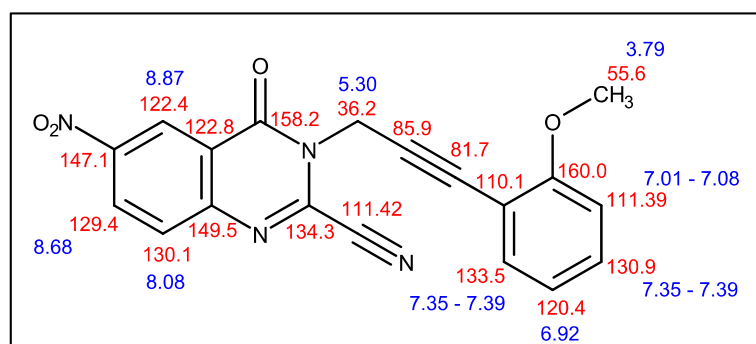
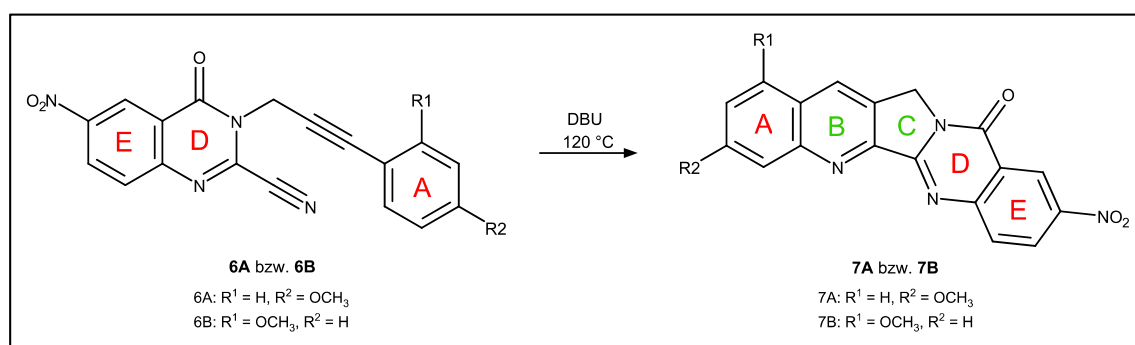


Abbildung 16: Nitril **6B**: ^1H -NMR-Signale (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) in ppm

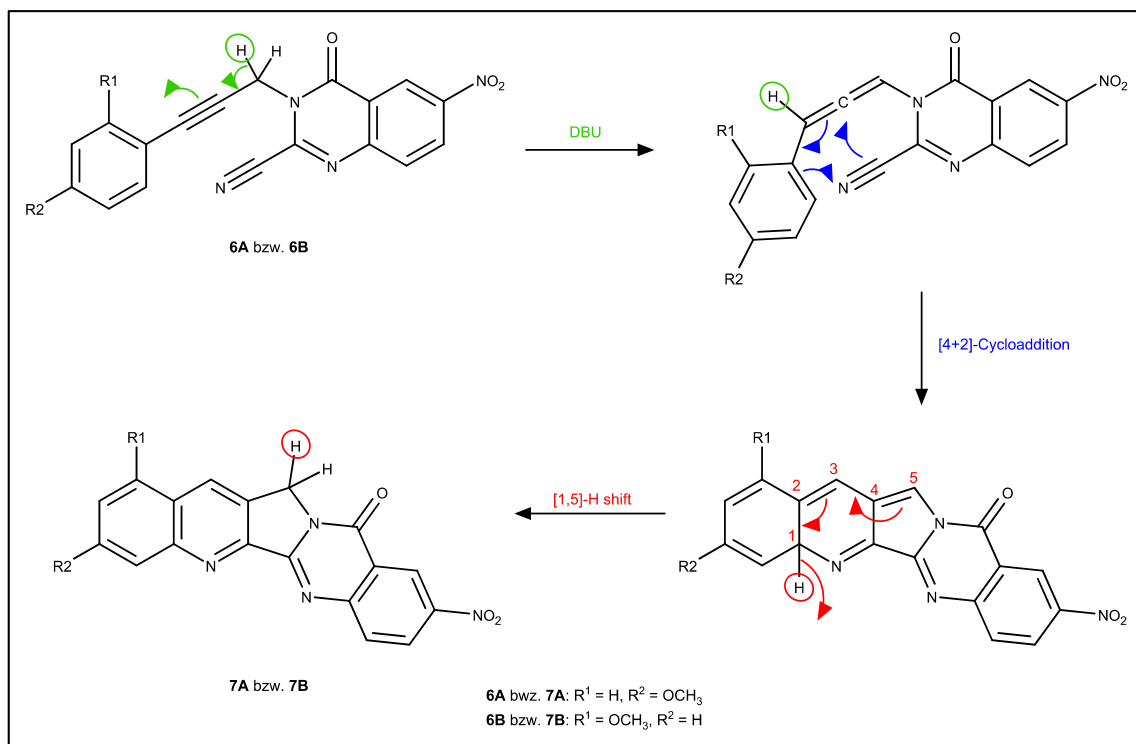
2.4 RINGSCHLUSS VIA [4+2]-CYCLOADDITIONSREAKTION

Die vorangegangenen Syntheseschritte erzeugten eine Anordnung von Dien-Teilstruktur an Position 3 des Chinazolinon-Grundkörpers und Dienophil-Teilstruktur an Position 2 und schufen daher die Grundlage für die nun anstehende intramolekulare Aza-Diels-Alder-Reaktion, eine Variante der [4+2]-Cycloaddition mit Beteiligung eines Stickstoffatoms. Diese Reaktion führt über simultane Ausbildung der Ringe B und C zur angestrebten Formierung des Luotonin-A-Grundgerüsts (siehe Schema 26) und stellt somit das Herzstück der hier angewandten „nördlichen“ Syntheseroute nach Haider *et al.*³⁴ dar.



Schema 26: Simultane Bildung der Ringe B und C via [4+2]-Cycloadditionsreaktion

Wie bereits von Dai *et al.*³⁶, die über eine analoge Aza-Diels-Alder-Reaktion das ABCD-Ringfragment von Camptothecin (Indolizino[1,2-*b*]chinolin-9(11*H*)-on) dargestellt hatten, beschrieben, läuft diese Cycloadditionsreaktion nur in Anwesenheit einer Base ab, wobei sich die nicht nukleophile Base 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als optimal geeignet erwiesen hat. Die [4+2]-Cycloaddition findet nach Vorschlag von Dai *et al.*³⁶ nämlich erst nach einer DBU-katalysierten Alkin-Allen-Isomerisierung statt. Wie aus Schema 27 ersichtlich ist, führt die Bildung des Allens zu einer entscheidend veränderten Molekülgeometrie. Die daraus resultierende Nähe zwischen Dienophil und Dien dürfte die Voraussetzung für die [4+2]-Cycloaddition sein. Die Rekonstitution der Aromatizität ist die Triebkraft für die anschließende [1,5]-H sigmatrope Umlagerung, die zur Generierung des Luotonin-A-Grundkörpers führt.



Schema 27: Mechanismus der [4+2]-Cycloaddition, modifiziert nach Haider et al.³⁴

Als Lösungsmittel für diese thermisch induzierte Reaktion eignet sich, wie schon in Lit.^{34,36} beschrieben, das schwerflüchtige 1,2-Dichlorbenzol, das eine Durchführung der Reaktion in einem verschlossenen Gefäß bei Temperaturen von 110–120 °C erlaubt.

Es erwies sich als optimal, das in 1,2-Dichlorbenzol gelöste Nitril (**6A** bzw. **6B**) mit einer katalytischen Menge einer *frisch* bereiteten DBU-Lösung zu versetzen und das Reaktionsgemisch auf 120 °C zu erhitzen. Bald nach Erreichen dieser Temperatur ist eine einsetzende Trübung des vormals gelösten Reaktionsgemisches als Indikator für das naszierende in 1,2-Dichlorbenzol schwerlösliche Cycloadditionsprodukt zu erkennen. Aufgrund der zunehmenden Opazität lässt sich der Reaktionsverlauf visuell gut mitverfolgen. Nach 24 Stunden ist die Reaktion gemäß dünnschichtchromatographischer Kontrolle vollständig abgelaufen.

Aufgrund der schlechten Löslichkeit des gebildeten Produkts (**7A** bzw. **7B**) in 1,2-Dichlorbenzol bietet sich als Aufarbeitung einfaches Abnutschen an, nachdem zwecks Maximierung der Ausfällung des Produkts das auf Raumtemperatur abgekühlte Reaktionsgemisch mit *tert*-Butylmethylether verdünnt und im Kühlschrank weiter abgekühlt worden ist. Durch Waschen mit *tert*-Butylmethylether wird das angestrebte 3-

Methoxy-Cycloadditionsprodukt (**7A**) in einer Ausbeute von 68% bzw. das 1-Methoxy-Isomer (**7B**) in einer Ausbeute von 62% in akzeptabler Reinheit erhalten.

Neben der zu erwartenden marginalen Löslichkeit des Nitro-substituierten Cycloadditionsprodukts weisen auch EI-massenspektrometrische Untersuchungen auf die erfolgreiche Bildung des pentazyklischen Luotonin-A-Grundkörpers hin: Der Molekülionenpeak der beiden Cycloadditionsprodukte (**7A** bzw. **7B**) erscheint zwar beim selben m/z -Verhältnis von 360 wie bei den Edukten (**6A** bzw. **6B**), realisiert jedoch in beiden Fällen den Basispeak im Massenspektrum, was bei den Edukten nicht der Fall gewesen ist (siehe Tafel 36 bzw. 42 im Vgl. zu Tafel 19 bzw. 27). Prinzipiell ist bei den Cycloadditionsprodukten eine signifikant geringere Fragmentierungstendenz als bei den mit einer Methoxyphenylpropargyl-Seitenkette substituierten Chinazolinon-Präkursoren (**5A**, **5B**, **6A**, **6B**) festzustellen. Die Abspaltung ebenjener Seitenkette liefert bei den genannten Vorläufer-Verbindungen einen mehr oder weniger intensiven Peak bei $m/z = 145$ (siehe oben); ein derartiger intensiver Peak bei $m/z = 145$ ist bei den Cycloadditionsprodukten naturgemäß nicht aufzufinden. Durch hochauflösende Massenspektrometrie konnte die zu erwartende Summenformel der Produkte bestätigt werden.

Das ^1H -NMR-Spektrum des 3-Methoxy-Cycloadditionsprodukts (**7A**) (siehe Tafel 37), das aufgrund der sehr geringen Löslichkeit der Verbindung in DMSO ein schlechtes Signal/Rausch-Verhältnis aufweist, zeigt wie erwartet die im Vergleich zum Edukt (**6A**) beinahe unveränderten Signale der Aromaten-Protonen des Chinazolinonrings sowie der Aliphaten-Protonen der Methylengruppe und jene der Methoxygruppe. Der durch die Cycloaddition neu formierte Chinolinring trägt vier Aromaten-Protonen, die sich naturgemäß in ihrer chemischen Verschiebung und ihrem Aufspaltungsmuster von den vier Aromaten-Protonen des *para*-substituierten Methoxyphenylrests des Edukts (**6A**) unterscheiden: Aufgrund des π -Elektronen-Defizits des Chinolins erfahren die daran gebundenen Protonen prinzipiell eine Tieffeldverschiebung: Das im Vergleich zum Edukt neu erscheinende Singulett bei 8.73 ppm lässt sich zweifelsfrei dem 14-H des Produkts zuordnen, da dieses das einzige Proton des Chinolins ohne Kopplungspartner darstellt. Die durch den mesomeren Effekt der *ortho*-ständigen Methoxygruppe etwas abgeschirmten Protonen, lassen sich ebenfalls auf Basis ihres Kopplungsmusters voneinander unterscheiden: Das dublettisch aufgespaltene Dublett bei 7.46 ppm stammt

von 2-H; die Signalaufspaltung ergibt sich durch eine *ortho*-Kopplung zu 1-H ($J = 9.0$ Hz) und eine *meta*-Kopplung zu 4-H ($J = 2.5$ Hz). Das Dublett bei 7.68 ppm stammt von 4-H, das lediglich eine *meta*-Kopplung zu 2-H zeigt ($J = 2.7$ Hz). Das verbleibende Signal für 1-H befindet sich im Bereich von 8.10–8.13 ppm und überlappt an dieser Stelle im ^1H -NMR-Spektrum mit dem beinahe isochronen 7-H unter Bildung eines Multipletts höherer Ordnung mit der relativen Intensität von 2. Diese aus dem eindimensionalen ^1H -NMR-Spektrum getroffene Zuordnung der ^1H -NMR-Signale lässt sich durch die beobachteten Korrelationspeaks im COSY-Spektrum bestätigen (siehe Tafeln 38 und 39).

Aufgrund der zu geringen Löslichkeit von **7A** in DMSO konnte kein ^{13}C -APT-Spektrum aufgenommen werden, jedoch konnte indirekt über die im HSQC-Spektrum (siehe Tafeln 40 und 41) beobachteten Crosspeaks zumindest auf die Signallagen der H-Atome tragenden C-Atome geschlossen werden (mit Ausnahme von 1-C und 7-C aufgrund des nicht ausreichend aufgelösten Multipletts, das von den entsprechenden H-Atomen gebildet wird; siehe oben). Abb. 17 zeigt zusammenfassend die eruierten ^1H - und ^{13}C -NMR-Signallagen von Verbindung **7A** auf.

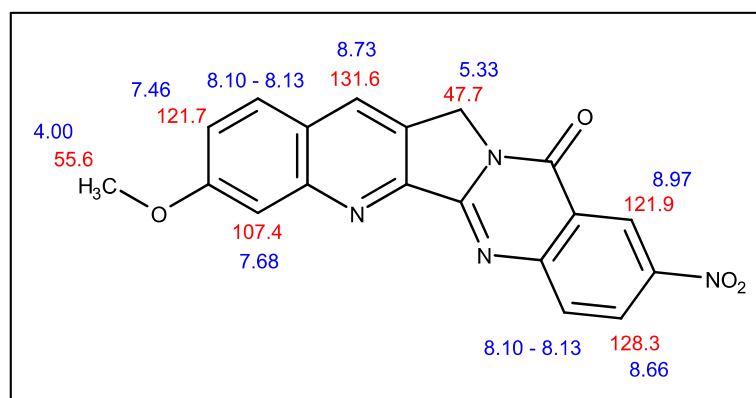


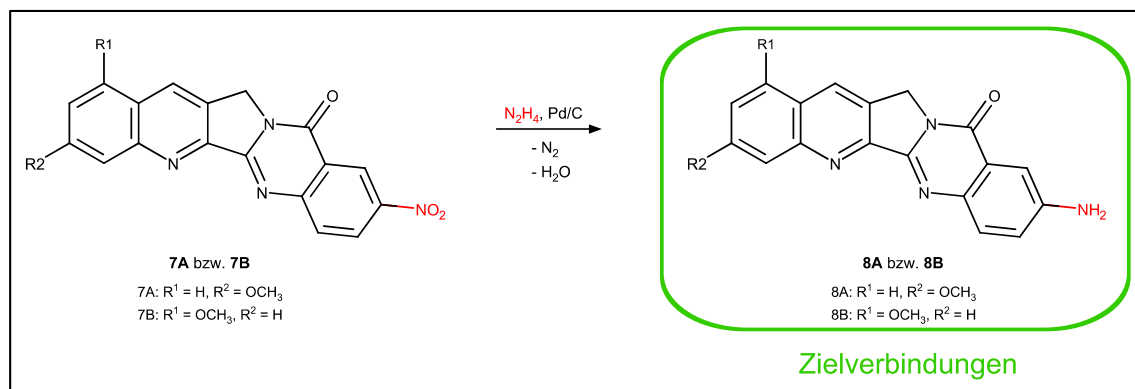
Abbildung 17: 3-Methoxy-Cycloadditionsprodukt (**7A**): ^1H -NMR-Signale (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) in ppm; Signalzuordnung wegen geringer Löslichkeit unvollständig

Während im Fall des 3-Methoxy-Cycloadditionsproduktes (**7A**) zumindest ^1H -, COSY- und HSQC-Spektren aufgenommen werden konnten, war es im Fall der isomeren 1-Methoxy-Verbindung (**7B**) aufgrund der noch schlechteren Löslichkeit nicht möglich, eine NMR-basierte Struktursicherung zu vollziehen. Ein eindeutiger Nachweis für den Erfolg der Cycloadditionsreaktion kann daher nur indirekt über die Strukturaufklärung des Folgeprodukts erbracht werden (siehe Abschnitt 2.5).

2.5 REDUKTION DER NITROGRUPPE ZUR AMINOGRUPPE: SYNTHESE DER ZIELVERBINDUNGEN

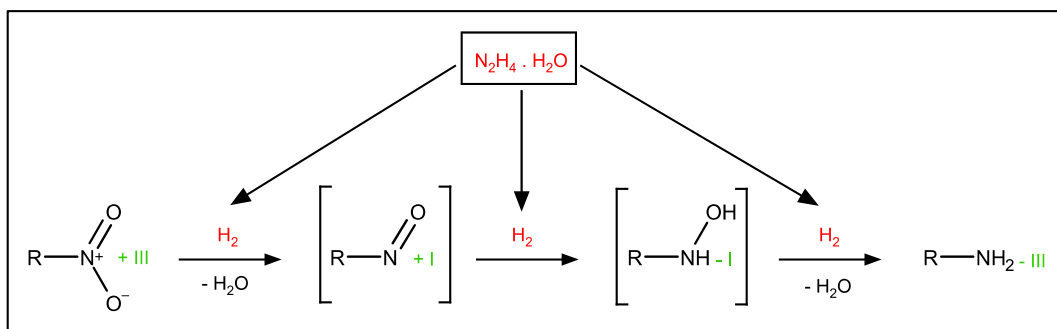
Im anstehenden finalen Schritt der geplanten Synthesesequenz sollten nun die beiden Zielverbindungen (**8A** bzw. **8B**) durch Reduktion der Nitrogruppe an Ring E des zuvor formierten Luotonin-A-Grundkörpers in die Aminogruppe hervorgebracht werden (siehe Schema 28). Zu diesem Zweck sollte eine Methode angewandt werden, die bereits erfolgreich für die Reduktion von Nitrocarbazolen zu Aminocarbazolen^{52,53} eingesetzt worden war und sich in unserer Arbeitsgruppe für die Reduktion diverser Nitro-substituierter Luotonin-A-Derivate zu den entsprechenden Aminoderivaten bewährt hatte^{37,41–46}. Dabei handelt es sich um eine Pd/C-katalysierte Transferhydrierung unter Verwendung von Hydrazin-Hydrat als *in-situ*-Lieferant für molekularen Wasserstoff.

Der Einsatz von flüssigen oder festen Wasserstoff-Quellen anstelle von leicht entflammbarem gasförmigen Wasserstoff im Sinne einer klassischen katalytischen Hydrierung bietet neben dem erheblichen Sicherheitsvorteil auch die einfache Möglichkeit des Probeziehens für Reaktionskontrollen mittels Dünnschichtchromatographie⁴¹.



Schema 28: Katalytische Transferhydrierung zur Synthese der Zielverbindungen (**8A** bzw. **8B**)

Wie Schema 29 zu entnehmen ist, verläuft die Reduktion der Nitrogruppe dabei schrittweise über eine intermediär gebildete Nitroso- bzw. Hydroxylaminverbindung zum gewünschten Amin.



Schema 29: Schrittweise Reduktion der Nitrogruppe zum Amin

Die Reaktion wird unter Inertgasatmosphäre und angesichts der geringen Löslichkeit der Nitro-Verbindungen (**7A** bzw. **7B**) zweckmäßigerweise in siedendem Ethanol als Lösungsmittel durchgeführt. Im Laufe der Reaktion ist eine Farbveränderung der ethanolischen Suspension von gelblich braun zu grünlich zu beobachten. Im Einklang mit den bisherigen Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe mit schwer löslichen Nitro-Verbindungen⁴¹ konnte die Vollständigkeit der Reaktion erst nach 24 Stunden festgestellt werden. Die dünnschichtchromatographische Kontrolle des Reaktionsgemisches zeigt bei UV_{366} eine intensiv gelblich grün fluoreszierende Bande mit auffälligem Tailing.

Obleich die somit synthetisierten Zielverbindungen (**8A** bzw. **8B**) aufgrund der aktiven Hydrophilie der Amino-Funktionalität signifikant bessere Löslichkeitseigenschaften als die entsprechenden Nitro-Verbindungen (**7A** bzw. **7B**) aufweisen, liegen sie im Reaktionsgemisch dennoch zu einem markanten Anteil ungelöst vor. Aus diesem Grund kann der Hydrierkatalysator nicht wie üblich durch einfache Filtration abgetrennt werden, sondern es muss zuvor ein Lösungsmittelwechsel realisiert werden. Es erwies sich als optimal, das zur Trockene gebrachte Reaktionsgemisch in DMSO, das merkbar bessere Lösungseigenschaften für die Zielverbindungen als DMF aufweist, aufzunehmen und zu erhitzen, wodurch die Zielverbindungen weitestgehend in Lösung gebracht und der Hydrierkatalysator sowie allenfalls noch vorhandenes Edukt durch Heißfiltration abgetrennt werden können. Eine Erhöhung der Ausbeute kann durch abermalige Extraktion des Produkts aus dem katalysatorhaltigen Filtrerrückstand mit DMSO erzielt werden. Mittels Kugelrohrdestillation kann das schwerflüchtige DMSO entfernt werden. Anschließendes Waschen mit heißem Ethanol liefert die Zielverbindungen (**8A** bzw. **8B**) in akzeptabler Reinheit in Form gelb-oranger bis goldgelber Kristalle in einer Ausbeute von jeweils knapp über 60%.

Als erstes Indiz für die erfolgreiche Synthese der Zielverbindungen (**8A** bzw. **8B**) konnte eine intensive gelblich grüne Fluoreszenz unter UV-Licht der Wellenlänge 366 nm beobachtet werden (siehe Abb. 18). Mittels umfassender massenspektrometrischer und NMR-spektroskopischer Untersuchungen konnten die Strukturen der Endprodukte eindeutig abgesichert werden, wie im Folgenden dargelegt wird:

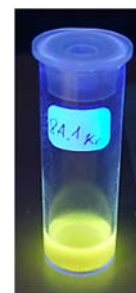
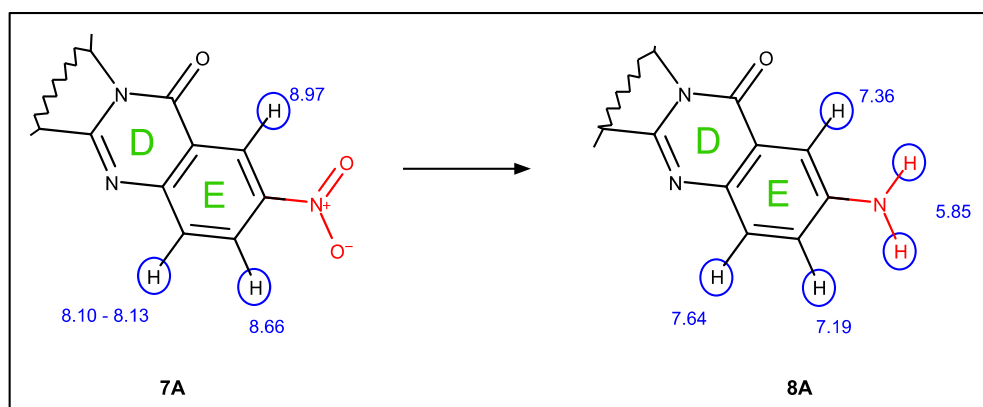


Abbildung 18:
8A unter UV₃₆₆

So weisen die EI-Massenspektren beider Zielverbindungen (siehe Tafel 43 bzw. 53) erwartungsgemäß bei $m/z = 330$ den Molekülionenpeak auf, der jeweils analog zu den Präkursor-Nitroverbindungen (**7A** bzw. **7B**) aufgrund der geringen Fragmentierungstendenz des pentazyklischen Luotonin-A-Grundkörpers den Basispeak des Massenspektrums repräsentiert. Mittels hochauflösender ESI-Massenspektrometrie konnte für die beiden isomeren Zielverbindungen jeweils die Summenformel $C_{19}H_{14}N_4O_2$ anhand des $[M+H]^+$ -Ions bestätigt werden.

Das 1H -NMR-Spektrum von Zielverbindung **8A** (siehe Tafel 44) zeigt im Vergleich zum 1H -NMR-Spektrum des Edukts (**7A**) wie erwartet keine wesentlichen Unterschiede in der chemischen Verschiebung und Multiplizität jener Signale, die von den Protonen der Methoxygruppe an Ring A, jenen des Chinolinrings (Ring A und B) und jenen der Methylengruppe an Ring C stammen. Die Zuordnung der Signale dieser Protonen wurde bereits eingehend im Abschnitt 2.4 erläutert. Auffallende Unterschiede sind jedoch naturgemäß in den Signalen der an Ring E gebundenen Aromaten-Protonen aufgrund der diametralen Eigenschaften der Nitrogruppe in **7A** im Vergleich zur Aminogruppe in **8A** hinsichtlich Beeinflussung der π -Elektronendichte des Chinazolinonrings zu beobachten. Während der elektronenziehende Einfluss der Nitrogruppe zu einer starken Entschirmung und somit zu relativ hohen chemischen Verschiebungen der Protonen an Ring E führt, bewirkt die elektronenschiebende Aminogruppe eine Abschirmung derselben, sodass eine deutliche Hochfeldverschiebung dieser Protonen im Vergleich zur Nitroverbindung zu registrieren ist. Die eindeutige Unterscheidung dieser drei Signale im 1H -NMR-Spektrum gelingt auf Basis ihres unterschiedlichen Aufspaltungsmusters: Das Dublett bei 7.64 ppm mit einer Kopplungskonstante von 8.7 Hz stammt von 7-H, das eine *ortho*-Kopplung zu 8-H aufweist. Das Dublett bei 7.36 ppm mit einer Kopplungskonstante von 2.7 Hz weist hingegen auf ein Proton mit einer *meta*-Kopplung hin, nämlich auf 10-H. Das verbleibende 8-H mit jeweils einer *ortho*- und einer *meta*-Kopplung erscheint

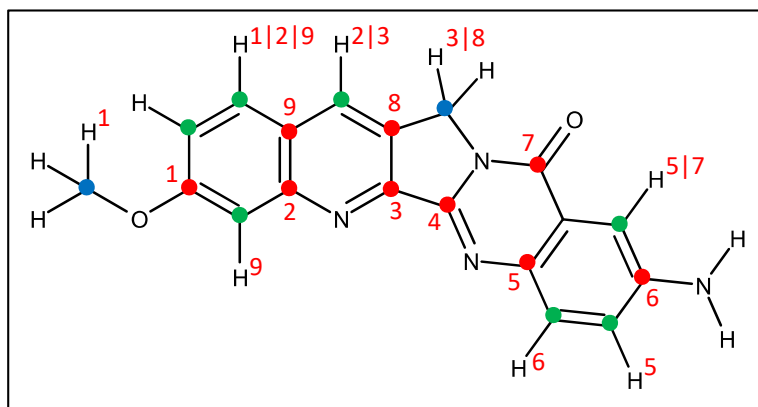
erwartungsgemäß als dublettisches Dublett, welches bei 7.19 ppm aufzufinden ist. Neben den beschriebenen veränderten Signallagen der Ring-E-Protonen weist das ^1H -NMR-Spektrum der Zielverbindung (**8A**) im Unterschied zur Ausgangsverbindung (**7A**) ein neues singulettisches Signal bei 5.85 ppm mit der relativen Intensität 2 auf. Dabei handelt es sich offensichtlich um die Protonen der Aminogruppe. Schema 30 fasst diese wesentlichen Unterschiede zwischen **7A** und **8A** im ^1H -NMR-Spektrum zusammen.



Schema 30: Wesentliche Unterschiede im ^1H -NMR-Spektrum zwischen Nitroverbindung (**7A**) und Aminoverbindung (**8A**); chemische Verschiebung der ^1H -NMR Signale (blau) in ppm

Die somit bereits aus dem eindimensionalen ^1H -NMR-Spektrum getroffene Zuordnung der Signale der Zielverbindung **8A** konnte durch die auftretenden Korrelationssignale in den zweidimensionalen NMR-Experimenten COSY (siehe Tafel 50 und 51) und NOESY (siehe Tafel 52) bekräftigt werden.

Das ^{13}C -APT-Spektrum von Zielverbindung **8A** (siehe Tafel 45) zeigt zwei Signale von sp^3 -hybridisierten C-Atomen. Dabei lässt sich aufgrund der unterschiedlichen Phasenlage das bei 55.6 ppm erscheinende Signal eindeutig der Methoxygruppe an Ring A und das bei 47.1 ppm auftauchende Signal zweifelsfrei der Methylengruppe in Ring C zuordnen. Eine eindeutige Unterscheidung der insgesamt 17 sp^2 -hybridisierten C-Atome des Chinolin- und Chinazolinonrings ist aufgrund deren ähnlicher chemischer Verschiebung mit dem eindimensionalen ^{13}C -NMR-Spektrum praktisch unmöglich. Die Zuordnung der H-Atome tragenden C-Atome gelingt hingegen durch die zu beobachtenden Crosspeaks im HSQC-Spektrum [siehe Abb. 19 (grün markiert) sowie Tafeln 47 und 48], die Zuordnung der quartären C-Atome durch die auftretenden Korrelationssignale im HMBC-Spektrum [siehe Abb. 19 (rot markiert) sowie Tafel 49].



Die auf diese Weise eruierten ^1H - und ^{13}C -NMR-Signallagen von Zielverbindung **8A** sind in Abb. 20 zusammengefasst dargestellt.

Das ^1H -NMR-Spektrum (siehe Tafel 54) der Ring-A-positionsisomeren Zielverbindung **8B** weist erwartungsgemäß in den von der unterschiedlichen Stellung der Methoxygruppe an Ring A praktisch unbeeinflussten Ringen C, D und E nahezu idente ^1H -NMR-Signallagen wie Verbindung **8A** auf. Die Hochfeldverschiebung der an Ring E lokalisierten Protonen durch den elektronenschiebenden Effekt der Aminogruppe untermauert – wie dies bereits in analoger Weise für die isomere Zielverbindung **8A** diskutiert worden ist – die erfolgreiche Reduktion der Nitrogruppe. Das von den Protonen der Methoxygruppe hervorgebrachte Singulett bei 4.05 ppm mit der relativen Intensität von 3 erlaubt über einen im NOESY-Spektrum (siehe Tafel 61) beobachteten Crosspeak die eindeutige Signalzuordnung von 2-H, welches eine ähnliche Resonanzfrequenz wie 8-H aufweist und gemeinsam mit diesem ein nicht aufgelöstes Multiplett höherer Ordnung bei 7.15–7.22 ppm erzeugt. Das stark tieffeldverschobene Singulett bei 8.85 ppm lässt sich eindeutig

14-H zuordnen, da dieses keinen Kopplungspartner besitzt. Das verbleibende Signal bei 7.78 ppm in der relativen Intensität 2 stammt folglich von den offenbar isochronen Protonen an den Positionen 3 und 4. Sämtliche Korrelationssignale im COSY-Spektrum (siehe Tafeln 59 und 60) sowie im NOESY-Spektrum (siehe Tafel 61) bestärken die postulierten Zuordnungen der ^1H -NMR-Signale von Zielverbindung **8B**.

Die Zuordnung der ^{13}C -NMR-Signale von **8B** erfolgte in analoger Weise zu jener von **8A**: Aus dem eindimensionalen ^{13}C -APT-Spektrum (siehe Tafel 55) lässt sich das Vorliegen der Methoxygruppe an Ring A sowie der Methylenbrücke in Ring C bestätigen. Das HSQC-Spektrum (siehe Tafeln 56 und 57) gestattet die Zuordnung jener C-Atome, die H-Atome mit distinkten Resonanzfrequenzen tragen [siehe Abb. 21 (grün markiert)]. Alle anderen C-Atome können anhand des für sie charakteristischen Musters an Korrelationssignalen im HMBC-Spektrum (siehe Tafel 58) eindeutig identifiziert werden [siehe Abb. 21 (rot markiert)].

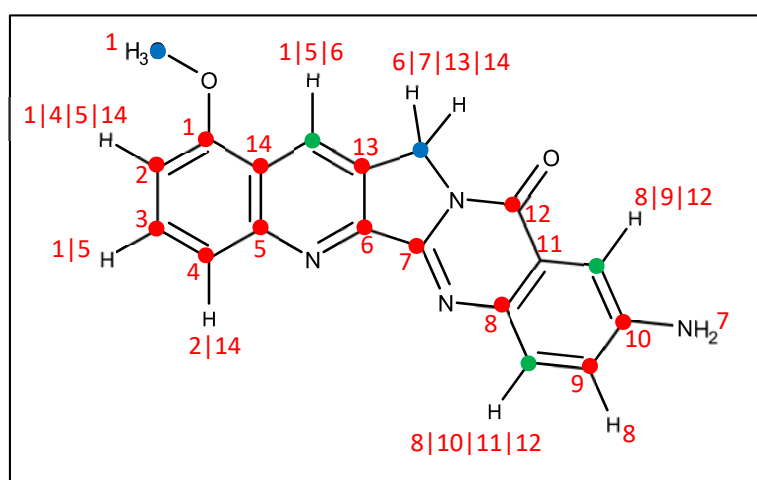


Abbildung 21: Zuordnung der ^{13}C -NMR-Signale von **8B**: blau: Zuordnung über ^{13}C -APT; grün: Zuordnung über HSQC; rot: Zuordnung über HMBC

Die somit ermittelten ^1H - und ^{13}C -NMR-Signallagen von Zielverbindung **8B** sind in Abb. 22 zusammengefasst illustriert.

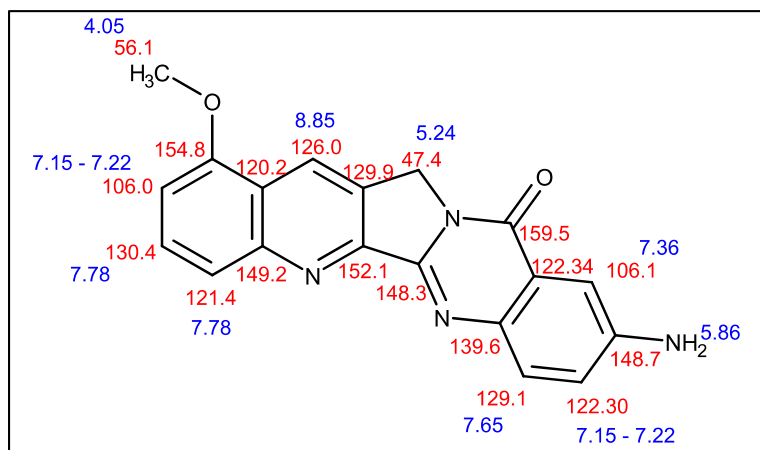
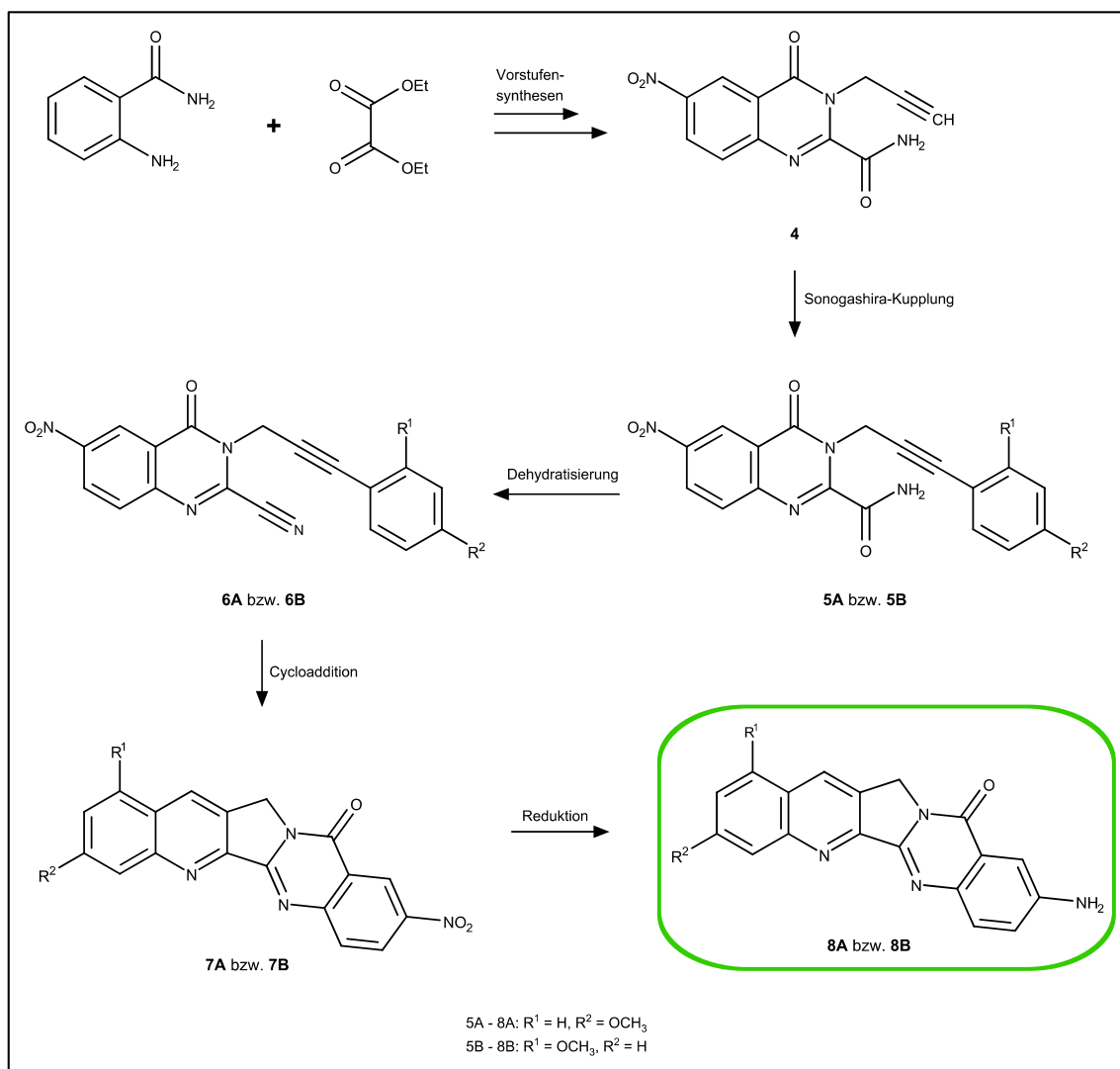


Abbildung 22: 9-Amino-1-methoxy-Luotonin A (**8B**); ¹H-NMR-Signale (blau) und ¹³C-NMR-Signale (rot) in ppm

Durch die hiermit erbrachte Strukturabsicherung von **8B** kann somit indirekt der zuvor schuldig gebliebene NMR-basierte Nachweis der Präkursor-Verbindung **7B** erbracht werden (siehe Abschnitt 2.4).

2.6 FAZIT UND AUSBLICK

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit konnten somit vier neue Derivate des Alkaloids Luotonin A über die in Schema 31 skizzierte Syntheseroute zugänglich gemacht werden. Im Mittelpunkt des Interesses stehen dabei die beiden Derivate mit einer Aminofunktion in Ring E (**8A** und **8B**), da aufgrund dieser Funktionalität (vgl. Lit.³⁷) eine bessere Wasserlöslichkeit und auch eine höhere zytotoxische Aktivität, verglichen mit der Leitsubstanz Luotonin A, zu erwarten ist.



Schema 31: Übersicht über die Syntheseroute der Zielverbindungen (**8A** bzw. **8B**)

Die genannten Zielverbindungen sind derzeitiger Gegenstand biologischer Untersuchungen am Institut für Krebsforschung der Medizinischen Universität Wien. Hierbei soll die Auswirkung dieser potentiellen Krebstherapeutika auf die Viabilität von Krebszelllinien über den MTT-Test eruiert werden.

3 EXPERIMENTELLER TEIL

3.1 VERWENDETE GERÄTE UND MATERIALIEN

Chromatographie

Dünnschichtchromatographie wurde zur Kontrolle der Vollständigkeit von Reaktionsabläufen sowie zur Identitätsprüfung eingesetzt. Dafür wurden DC-Fertigfolien mit einer 0.20 mm Schicht Kieselgel 60 mit Fluoreszenz-Indikator UV₂₅₄ der Fa. Macherey-Nagel (ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄ KG 60) verwendet. Die Detektion der Substanzen erfolgte mittels einer Camag-UV-Lampe unter UV₂₅₄ über Fluoreszenzlöschung sowie unter UV₃₆₆ über Eigenfluoreszenz.

Säulenchromatographie wurde zur präparativen Auftrennung von Reaktionsgemischen angewendet. Als Sorbens wurde Kieselgel 60 (0.063–0.200 mm) der Fa. Merck eingesetzt. Die Zusammensetzung der erhaltenen Eluatfraktionen wurde durch Tüpfeln auf KG 60-Folien mit Fluoreszenz-Indikator UV₂₅₄ und anschließende DC ermittelt.

Massenspektrometrie

El-Massenspektren (70 eV) wurden am Department für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien auf einem Shimadzu QP5050A DI50 Massenspektrometer von Herrn OR Mag. Dr. L. Jirovetz vermessen.

Hochauflösende ESI-Massenspektrometrie wurde am Department für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien auf einem Bruker maXis HD von Herrn MSc. D. Dobusch betrieben. Bei einer Verbindung wurde ein Massenspektrum auf einem Bruker maXis UHR-TOF am Massenspektrometriezentrum der Universität Wien von Herrn Ing. P. Unteregger aufgenommen.

NMR-Spektroskopie

¹H-NMR-Spektren (400 MHz) und ¹³C-NMR-Spektren (100 MHz) sowie sämtliche 2D-NMR-Spektren (COSY, NOESY, HSQC, HMBC) wurden auf einem Bruker Avance III 400

Spektrometer aufgezeichnet. Die Referenzierung der Signale (δ -Werte in ppm bezogen auf TMS) erfolgte mittels der Signale undeuterierter Anteile von DMSO.

Schmelzpunkte

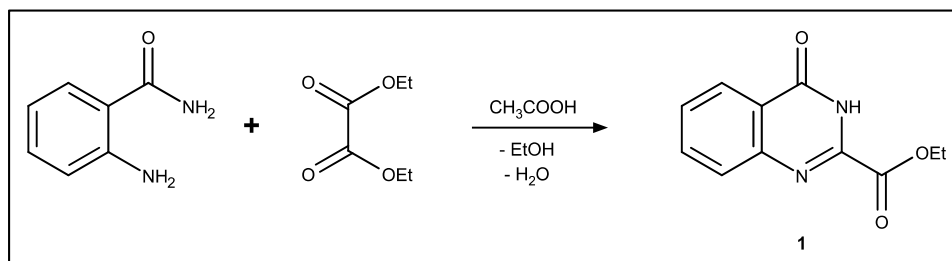
Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztischmikroskop der Fa. Leica bestimmt.

Reagenzien und Lösungsmittel

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

3.2 ARBEITSVORSCHRIFTEN

3.2.1 ETHYL-4-OXO-3,4-DIHYDROCHINAZOLIN-2-CARBOXYLAT (1)

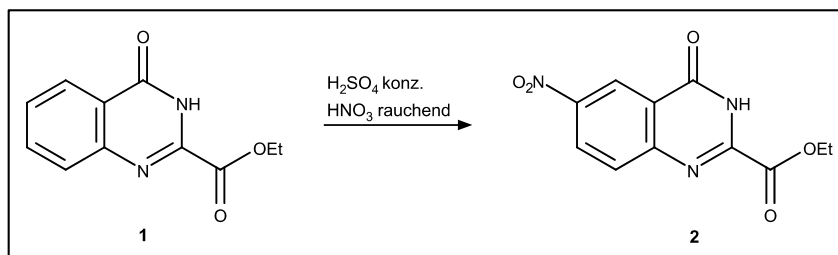


In einem 250 mL Birnenkolben werden 13.62 g (100 mmol) Anthranilamid mit 100 mL (736 mmol) Diethyloxalat und 1 mL Essigsäure versetzt und 24–48 h unter Rückfluss unter Verwendung einer nicht allzu dicht umschließenden Heizhaube erhitzt. Nach 24 h wird eine erste DC-Kontrolle (Fließmittel: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9+1) des Reaktionsgemisches durchgeführt. Sofern noch eine Edukt- oder Zwischenproduktbande vorhanden ist, wird die Reaktion weitergeführt und im Abstand von 6 h weitere DC-Kontrollen realisiert.

Sobald die Reaktion vollständig abgelaufen ist, wird das Reaktionsgemisch zunächst auf Raumtemperatur und dann 30 min im Kühlschrank abgekühlt. Anschließend wird das Produkt abgenutscht, mit EtOH gewaschen und mit ca. 100 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:	16.86 g (77%; Lit. ²⁹ : 57%)
Summenformel:	$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$
Molare Masse:	218.21 g/mol
Schmelzpunkt	192–193 °C (Lit. ²⁹ : 179–180 °C)

3.2.2 ETHYL-6-NITRO-4-OXO-3,4-DIHYDROCHINAZOLIN-2-CARBOXYLAT (2)



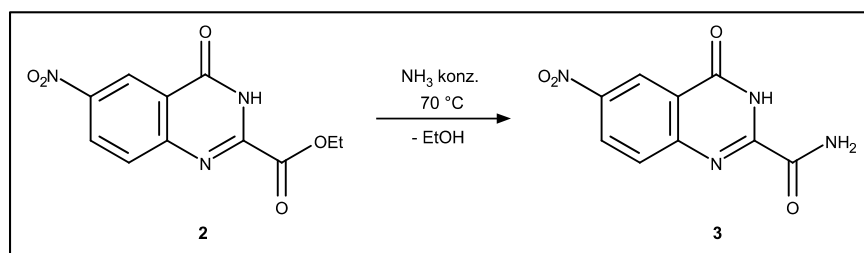
In einem 250 mL Dreihalskolben werden 14.20 g (65.1 mmol) des Chinazolinon-carbonsäureesters (**1**) in 100 mL konz. H_2SO_4 bei Raumtemperatur gelöst. Die Lösung wird in einem Eiswasserbad auf 0–5 °C abgekühlt. Nach Aufsetzen eines T-Rohrs auf den Rückflusskühler zur Absaugung nitroser Gase erfolgt über einen Zeitraum von ca. 10 min unter Rühren die Zugabe von 50 mL rauchender HNO_3 über einen Tropftrichter. Das Kühlbad wird sodann entfernt und der Reaktionsansatz 2 h bei Raumtemperatur gerührt.

Anschließend wird das Reaktionsgemisch in einen Tropftrichter gefüllt und langsam unter Rühren in ein Becherglas mit Eiswasser getropft. Die entstandene Suspension wird weitere 10 min gerührt, worauf das Produkt abgenutscht und so lange mit H_2O gewaschen wird, bis das ablaufende Waschwasser neutral reagiert. Das so gewonnene säurefreie Produkt wird im Vakuumexsikkator getrocknet.

Da Edukt und Produkt dünnschichtchromatographisch nicht voneinander unterschieden werden können, erfolgt die Kontrolle der Umsetzung über eine Bestimmung des Schmelzpunktes.

Ausbeute:	16.76 g (98%; Lit. ⁴⁷ : 94%)
Summenformel:	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_5$
Molare Masse:	263.21 g/mol
Schmelzpunkt:	228–230 °C

3.2.3 6-NITRO-4-OXO-3,4-DIHYDROCHINAZOLIN-2-CARBOXAMID (3)

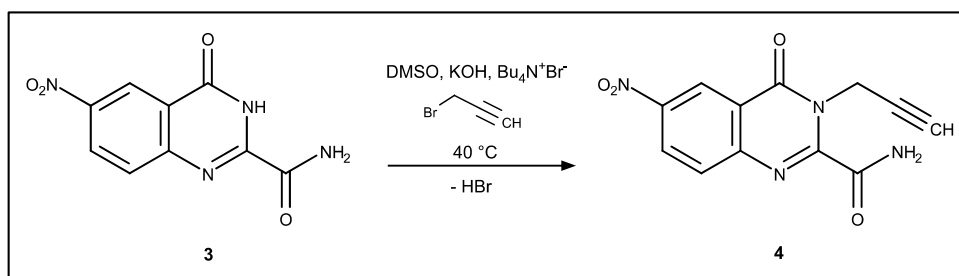


In einem 250 mL Birnenkolben mit Rückflusskühler werden 9.66 g (36.7 mmol) des Nitrochinazolinoncarbonsäureesters (2) mit 100 mL 25% NH₃-Lösung ($\triangleq$ 188 mmol NH₃) versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 2 h bei einer Ölbadtemperatur von 70 °C erhitzt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt, bevor es in ein Becherglas mit 300 mL H₂O transferiert wird. Unter Eiskühlung und unter Rühren wird mit 6N HCl angesäuert, wobei ca. 75 mL benötigt werden, um einen pH-Wert von 1–2 zu erreichen. Im sauren Milieu präzipitiert das Produkt in Form eines weißen Niederschlages, welcher abgenutscht und mit so viel H₂O gewaschen wird, bis das ablaufende Waschwasser neutral reagiert. Das nach Trocknung im Vakuumexsikkator erhaltene Material kann ohne weitere Reinigung für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt werden.

Eine Kontrolle der Umsetzung erfolgt mittels DC (Fließmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 9+1).

Ausbeute:	8.45 g (98%; Lit. ⁴³ : 98%)
Summenformel:	C ₉ H ₆ N ₄ O ₄
Molare Masse:	234.17 g/mol
Schmelzpunkt:	305–308 °C (EtOH, farblose Nadelchen; Lit ⁴³ : 314–317 °C)

3.2.4 6-NITRO-4-OXO-3-(PROP-2-IN-1-YL)-3,4-DIHYDROCHINAZOLIN-2-CARBOXAMID (4)



In einem 250 mL Dreihalskolben werden 937 mg (4.00 mmol) des Nitrochinazolinon-carboxamids (**3**) mit 80 mL DMSO versetzt und 10 min bei Raumtemperatur gerührt, sodass eine klare gelb-orange gefärbte Lösung entsteht. Hierauf werden 320 mg KOH, das zuvor in einer Reibschale fein pulverisiert worden ist, sowie 80 mg Tetrabutylammoniumbromid hinzugefügt. Das Gemisch wird weitere 5 min bei Raumtemperatur gerührt, ehe es 15 min im Ultraschallbad dispergiert wird, wodurch eine gelbe Suspension entsteht.

Am mittleren Hals des Dreihalskolbens wird ein Rückflusskühler, an dessen oberer Öffnung ein Trockenrohr angebracht ist, montiert. Nach Erwärmen des Reaktionsgemisches in einem auf 40 °C temperierten Ölbad erfolgt über einen Zeitraum von 2 h unter kräftigem Rühren die tropfenweise Zugabe einer Lösung von 416 mg einer 80% Propargylbromid-in-Toluol-Lösung in 40 mL DMSO [$\triangleq$ 333 mg (2.80 mmol = 0.7 equ.) Propargylbromid]. Nach 24 h wird eine DC-Kontrolle des Reaktionsgemisches durchgeführt (1 Tropfen in einer Phiole mit 1 mL H₂O verdünnen, mit 1 mL EtOAc ausschütteln, org. Phase auftragen; Fließmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 9+1).

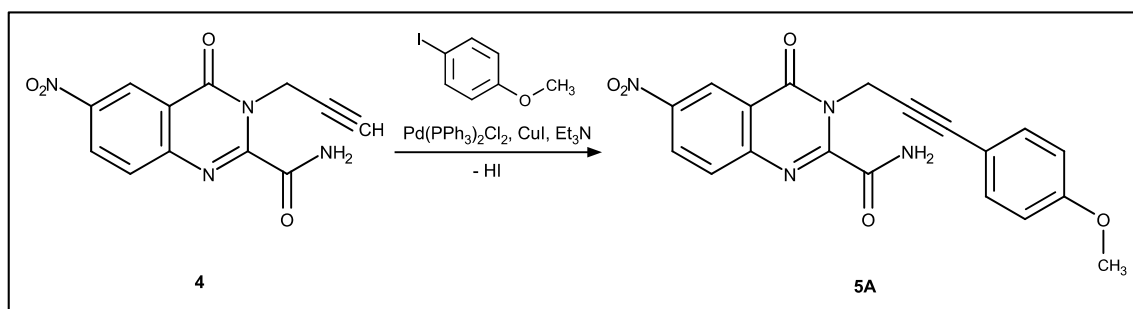
Anschließend werden erneut 320 mg KOH sowie eine 2. Portion des Reagens zugeführt, indem abermals eine Lösung von 416 mg einer 80% Propargylbromid-in-Toluol-Lösung in 40 mL DMSO über 2 h zugetropft wird (in Summe 5.60 mmol = 1.4 equ. Propargylbromid). Nach weiteren 24 h ist das Edukt nahezu vollständig umgesetzt (DC-Kontrolle mit CH₂Cl₂/MeOH, 9+1), wodurch die Suspension geklärt und eine orange gefärbte Lösung entstanden ist.

Anschließend wird das Reaktionsgemisch in ein Becherglas mit 800 mL H₂O transferiert und 1 d stehen gelassen, sodass das hierbei ausfallende nicht quantitativ umgesetzte schwer lösliche Edukt abgenutscht werden kann. Das erhaltene klare Filtrat wird in einen Scheidetrichter gefüllt und 4x mit je 100 mL EtOAc ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 30 mL H₂O gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet.

Das Trocknungsmittel wird mit einem Faltenfilter abfiltriert und mit EtOAc nachgewaschen. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht und der Rückstand aus EtOH umkristallisiert.

Ausbeute:	522 mg (48%; Lit. ⁴³ : 39%)
Summenformel:	C ₁₂ H ₈ N ₄ O ₄
Molare Masse:	272.22 g/mol
Schmelzpunkt:	190–193 °C (EtOH, gelbe Nadeln; Lit. ⁴³ : 192–195 °C)

3.2.5 3-[3-(4-METHOXYPHENYL)PROP-2-IN-1-YL]-6-NITRO-4-OXO-3,4-DIHYDROCHINAZOLIN-2-CARBOXAMID (5A)



In einem 50 mL Zweihalskolben werden 544 mg (2.00 mmol) Edukt (**4**) in 2 mL DMF gelöst. Nach Zugabe von 30 mL trockenem CH₂Cl₂ (Molekularsieb 4Å) wird der Kolben mit Argon gespült. Unter fortlaufendem Spülen werden 702 mg (3.00 mmol) 4-Iodanisol, 110 mg 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol, 76 mg (0.4 mmol) CuI, 140 mg (0.2 mmol) PdCl₂(PPh₃)₂ und 486 mg (4.80 mmol) Triethylamin zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wird unter leichtem Argon-Überdruck 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion wird eine DC-Kontrolle durchgeführt (Fließmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 9+1).

Anschließend wird das im Laufe der Reaktion dunkel verfärbte Reaktionsgemisch auf eine Kieselgel-60-Säule (20 x 3 cm) aufgetragen. Initial werden mit reinem CH₂Cl₂ und bei geringer Tropfgeschwindigkeit überschüssiges 4-Iodanisol und ein bei der Reaktion gebildetes lipophiles Nebenprodukt quantitativ abgetrennt, konsekutiv kann durch Wechsel des Fließmittels auf CH₂Cl₂/EtOAc (4+1) das Produkt beschleunigt eluiert werden. Die vereinigten Eluatfraktionen, die ausschließlich das Produkt enthalten, werden am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Durch Umkristallisation des festen Rückstands aus EtOH werden farblose Kristalle erhalten.

Ausbeute:	412 mg (54%)
Summenformel:	C ₁₉ H ₁₄ N ₄ O ₅
Molare Masse:	378.34 g/mol
Schmelzpunkt:	202–204 °C (EtOH, farblose Nadeln)

MS (Tafel 1):

m/z (rel. Int.) = 378 (M^+ , 67%), 360 (59), 335 (25), 314 (34), 145 (100), 144 (62), 135 (30), 115 (35), 102 (50), 101 (26), 75 (24)

HRMS:

für $C_{19}H_{14}N_4NaO_5$ ($[M+Na]^+$)

Berechnet: 401.0856

Gefunden: 401.0854

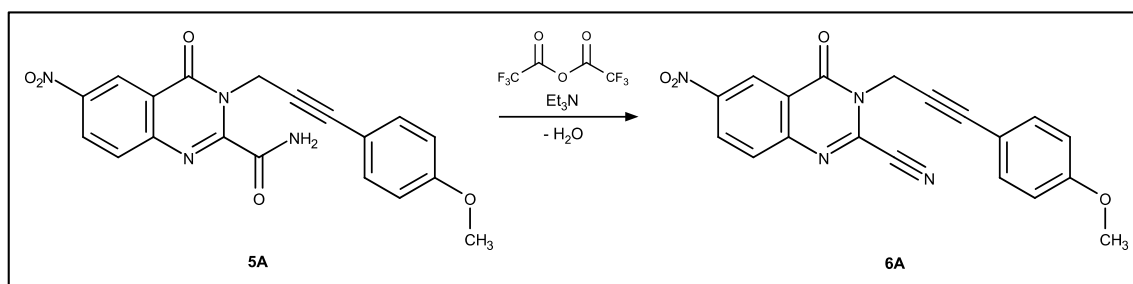
1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 ; Tafel 2):

δ 8.88 (d, J = 2.6 Hz, 1H, 5-H), 8.64 (br s, 1H, NH), 8.63 (dd, J = 9.0, 2.7 Hz, 1H, 7-H), 8.38 (br s, 1H, NH), 7.97 (d, J = 9.0 Hz, 1H, 8-H), 7.41–7.33 (BB'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, Phenyl 2'-H, 6'-H), 6.95–6.87 (AA'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, Phenyl 3'-H, 5'-H), 5.27 (s, 2H, NCH₂), 3.75 (s, 3H, OCH₃)

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 ; Tafel 3):

δ 162.8 (Amid C=O), 159.6 (Phenyl 4'-C), 159.4 (4-C), 151.8 (2-C), 150.1 (8a-C), 146.0 (6-C), 133.2 (Phenyl 2'-C, 6'-C), 129.4 (8-C), 129.0 (7-C), 122.5 (5-C), 121.2 (4a-C), 114.2 (Phenyl 3'-C, 5'-C), 113.4 (Phenyl 1'-C), 83.6 (Propargyl 3-C), 82.3 (Propargyl 2-C), 55.2 (OCH₃), 34.2 (Propargyl 1-C)

3.2.6 3-[3-(4-METHOXYPHENYL)PROP-2-YN-1-YL]-6-NITRO-4-OXO-3,4-DIHYDROCHINAZOLIN-2-CARBONITRIL (6A)



In einem zuvor im Trockenschrank ausgeheizten 100 mL Birnenkolben werden 378 mg (1.00 mmol) Edukt (**5A**) mit 10 mL trockenem CH₂Cl₂ (Molekularsieb 4Å) und 10 mL (71.7 mmol) Triethylamin versetzt. Die so entstandene Suspension wird im Eiswasserbad auf 0–5 °C abgekühlt. Unter Rühren werden 5 mL (35.5 mmol) Trifluoressigsäureanhydrid langsam zugetropft. Danach wird das Eiswasserbad entfernt und das Reaktionsgemisch wird unter Feuchtigkeitsausschluss 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die vollständige Umsetzung wird mittels DC überprüft (Fließmittel CH₂Cl₂/EtOAc, 95+5).

Anschließend wird das dunkel gefärbte Reaktionsgemisch in ein Becherglas mit ca. 200 mL Eiswasser gegossen und ca. 30 min gerührt. Das so erhaltene Zwei-Phasen-System wird in einen Scheidetrichter gefüllt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase 3x mit je 50 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 mL 0.5 N HCl vorsichtig ausgeschüttelt, anschließend mit H₂O, 10% NaHCO₃-Lsg. und abermals mit H₂O gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet.

Das Trocknungsmittel wird mit einem Faltenfilter abfiltriert und mit CH₂Cl₂ nachgewaschen. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer auf ca. 20 mL eingengt und durch eine Kieselgel-60-Säule (10 x 3 cm) unter Verwendung von CH₂Cl₂/EtOAc (98+2) als Fließmittel gereinigt. Die vereinigten Eluatfraktionen werden am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Die Umkristallisation des festen Rückstands aus EtOH liefert nahezu farblose Kristalle.

Ausbeute:	265 mg (74%)
Summenformel:	C ₁₉ H ₁₂ N ₄ O ₄
Molare Masse:	360.33 g/mol
Schmelzpunkt:	175–177 °C (EtOH, nahezu farblose Nadeln)

MS (Tafel 19):

m/z (rel. Int.) = 360 (M⁺, 100%), 345 (21), 330 (22), 314 (51), 286 (26), 271 (25), 145 (97), 144 (39), 115 (28), 102 (46)

HRMS:

für C₁₉H₁₂N₄NaO₄ ([M+Na]⁺)

Berechnet: 383.0751

Gefunden: 383.0751

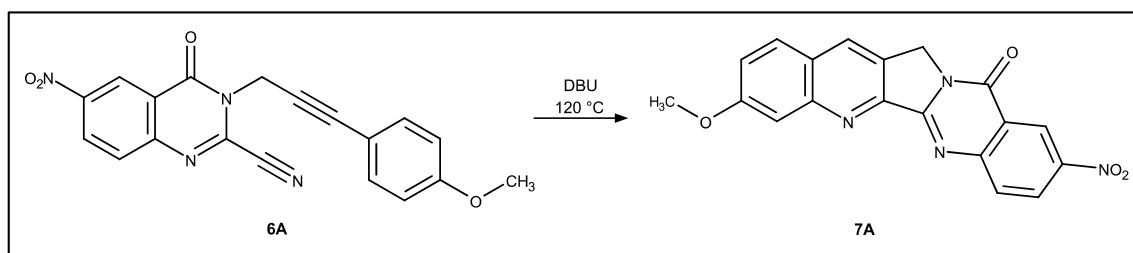
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 20):

δ 8.87 (d, J = 2.4 Hz, 1H, 5-H), 8.68 (dd, J = 8.9, 2.7 Hz, 1H, 7-H), 8.08 (d, J = 8.9 Hz, 1H, 8-H), 7.44–7.38 (BB'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, Phenyl 2'-H, 6'-H), 6.96–6.91 (AA'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, Phenyl 3'-H, 5'-H), 5.27 (s, 2H, NCH₂), 3.76 (s, 3H, OCH₃)

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 21):

δ 159.8 (Phenyl 4'-C), 158.3 (4-C), 149.5 (8a-C), 147.1 (6-C), 134.4 (2-C), 133.3 (Phenyl 2'-C, 6'-C), 130.1 (8-C), 129.4 (7-C), 122.8 (4a-C), 122.4 (5-C), 114.4 (Phenyl 3'-C, 5'-C), 113.0 (Phenyl 1'-C), 111.5 (Nitril-C), 84.9 (Propargyl 3-C), 80.9 (Propargyl 2-C), 55.3 (OCH₃), 36.2 (Propargyl 1-C)

3.2.7 3-METHOXY-9-NITROCHINO[2',3':3,4]PYRROLO[2,1-*b*]CHINAZOLIN-11(13*H*)-ON (7A)



In einem 25 mL Rundkolben werden 150 mg (0.42 mmol) Edukt (**6A**) in 12 mL 1,2-Dichlorbenzol gelöst. Die Lösung wird mit Argon gespült, sodann werden 0.6 mL einer frisch bereiteten 0.1 M Lösung von DBU in 1,2-Dichlorbenzol ($\cong$ 0.06 mmol DBU) zugegeben. Es wird abermals mit Argon gespült, bevor das Reaktionsgefäß mit einem fixierten Stopfen verschlossen wird. Das Reaktionsgemisch wird auf 120 °C erhitzt und 24 h bei dieser Temperatur gerührt.

Nach Reaktionsablauf (DC-Kontrolle mit Fließmittel $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 95+5) wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt, mit *tert*-Butylmethylether 1:1 verdünnt und im Kühlschrank weiter abgekühlt. Das präzipitierte Produkt wird abgenutscht, mit *tert*-Butylmethylether gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Ausbeute:	102 mg (68%)
Summenformel:	$\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4$
Molare Masse:	360.33 g/mol
Schmelzpunkt:	> 350 °C (tBME, braune Nadelchen)

MS (Tafel 36):

m/z (rel. Int.) = 361 (24%), 360 (M^+ , 100), 314 (23), 271 (21), 243 (19), 57 (23), 55 (17)

HRMS:

für $C_{19}H_{13}N_4O_4$ ($[M+H]^+$)

Berechnet: 361.0931

Gefunden: 361.0932

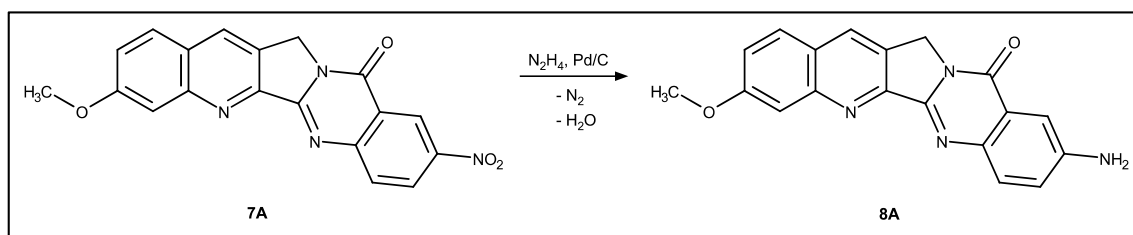
1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 ; Tafel 37):

δ 8.97 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H, 10-H), 8.73 (s, 1H, 14-H), 8.66 (dd, $J = 9.0, 2.7$ Hz, 1H, 8-H), 8.13-8.10 (m, 2H, 1-H, 7-H), 7.68 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H, 4-H), 7.46 (dd, $J = 9.0, 2.5$ Hz, 1H, 2-H), 5.33 (s, 2H, 13-CH₂), 4.00 (s, 3H, OCH₃)

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 ; Tafeln 40, 41): Liste aufgrund geringer Löslichkeit unvollständig (indirekte Bestimmung aus HSQC-Spektren):

δ 131.6 (14-C), 129.5 (1-C oder 7-C), 128.3 (8-C), 121.9 (10-C), 121.7 (2-C), 107.4 (4-C), 55.6 (OCH₃), 47.7 (13-C)

3.2.8 9-AMINO-3-METHOXYCHINO[2',3':3,4]PYRROLO[2,1-*b*]CHINAZOLIN-11(13*H*)-ON (**8A**)



In einem 100 mL Dreihalskolben werden 108 mg (0.30 mmol) Edukt (**7A**) mit 40 mL EtOH versetzt und die so erhaltene Suspension gründlich mit Argon gespült. Es folgt die Zugabe von 260 mg einer 80% Hydrazinhydrat-Lösung ($\triangleq$ 4.16 mmol N_2H_4) und 20 mg Pd/C-Katalysator (10%). Unter Argonatmosphäre wird das Gemisch 24 h bei Rückflusstemperatur kräftig gerührt.

Nach Ablauf der Reaktion (DC-Kontrolle mit Fließmittel $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9+1) wird das nun grün gefärbte Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt und am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Der feste Rückstand wird in 50 mL DMSO aufgenommen und durch Erhitzen weitgehend gelöst. Mittels Heißfiltration durch eine doppelte Lage aus Faltenfiltern wird der ungelöst gebliebene Pd/C-Katalysator abgetrennt. Anschließend wird das Faltenfilter zerkleinert, mit 15 mL DMSO versetzt, erhitzt und erneut heiß filtriert. Die vereinigten Filtrate werden unter vermindertem Druck im Kugelrohr eingedampft. Der feste Rückstand wird in einen 50 mL Spitzkolben überführt und mit 30 mL EtOH 30 min unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das somit heiß gewaschene Produkt wird nach dem Abkühlen abgenutscht, mit EtOH nachgewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Ausbeute:	62 mg (63%)
Summenformel:	$\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$
Molare Masse:	330.35 g/mol
Schmelzpunkt:	> 350 °C (EtOH, gelborange Kristalle)

MS (Tafel 43):

m/z (rel. Int.) = 331 (20%), 330 (M^+ , 100), 315 (16), 287 (61), 286 (23), 271 (15), 259 (21), 165 (23), 129 (21), 98 (21), 57 (30), 55 (28)

HRMS:

für $C_{19}H_{15}N_4O_2$ ($[M+H]^+$)

Berechnet: 331.1190

Gefunden: 331.1184

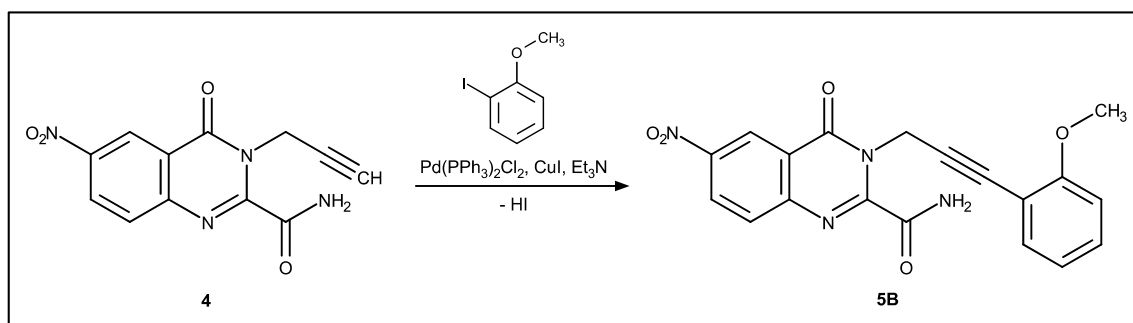
1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 ; Tafel 44)

δ 8.60 (s, 1H, 14-H), 8.04 (d, J = 9.1 Hz, 1H, 1-H), 7.64 (d, J = 8.7 Hz, 1H, 7-H), 7.61 (d, J = 2.6 Hz, 1H, 4-H), 7.38 (dd, J = 9.1, 2.7 Hz, 1H, 2-H), 7.36 (d, J = 2.7 Hz, 1H, 10-H), 7.19 (dd, J = 8.7, 2.7 Hz, 1H, 8-H), 5.85 (s, 2H, NH_2), 5.22 (s, 2H, 13- CH_2), 3.98 (s, 3H, 3- OCH_3)

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 ; Tafeln 45, 46): Liste aufgrund geringer Löslichkeit unvollständig (Signal für 10a-C fehlt)

δ 160.7 (3-C), 159.5 (11-C), 151.9 (5a-C), 150.3 (4a-C), 148.6 (9-C oder 5b-C), 148.5 (5b-C oder 9-C), 139.7 (6a-C), 131.2 (14-C), 129.4 (1-C), 129.1 (7-C), 128.6 (13a-C), 123.5 (14a-C), 122.3 (8-C), 120.7 (2-C), 107.6 (4-C), 106.1 (10-C), 55.6 (OCH_3), 47.1 (13- CH_2)

3.2.9 3-[3-(2-METHOXYPHENYL)PROP-2-YN-1-YL]-6-NITRO-4-OXO-3,4-DIHYDROCHINAZOLIN-2-CARBOXAMID (**5B**)



In einem 50 mL Zweihalskolben werden 544 mg (2.00 mmol) Edukt (**4**) in 2 mL DMF gelöst. Nach Zugabe von 30 mL trockenem CH₂Cl₂ (Molekularsieb 4Å) wird der Kolben mit Argon gespült. Unter fortlaufendem Spülen werden 702 mg (3.00 mmol) 2-Iodanisol, 110 mg 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol, 76 mg (0.4 mmol) CuI, 140 mg (0.2 mmol) PdCl₂(PPh₃)₂ und 486 mg (4.80 mmol) Triethylamin zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wird unter leichtem Argon-Überdruck 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Zur Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion wird eine DC-Kontrolle durchgeführt (Fließmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 9+1).

Anschließend wird das im Laufe der Reaktion dunkel verfärbte Reaktionsgemisch auf eine Kieselgel-60-Säule (20 x 3 cm) aufgetragen. Anfänglich werden mit reinem CH₂Cl₂ und bei geringer Tropfgeschwindigkeit überschüssiges 2-Iodanisol und ein bei der Reaktion gebildetes lipophiles Nebenprodukt quantitativ abgetrennt, nachfolgend kann durch Wechsel des Fließmittels auf CH₂Cl₂/EtOAc (4+1) das Produkt beschleunigt eluiert werden. Die vereinigten Eluatfraktionen, die ausschließlich das Produkt enthalten, werden am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Durch Umkristallisation des festen Rückstands aus EtOH werden farblose Kristalle erhalten.

Ausbeute:	382 mg (51%)
Summenformel:	C ₁₉ H ₁₄ N ₄ O ₅
Molare Masse:	378.34 g/mol
Schmelzpunkt:	225–228 °C (EtOH, farblose Nadeln)

MS (Tafel 9):

m/z (rel. Int.) = 378 (M^+ , 74%), 335 (11), 320 (13), 259 (13), 160 (16), 145 (22), 144 (100), 116 (25), 115 (95), 91 (24), 75 (17)

HRMS:

für $C_{19}H_{14}N_4NaO_5$ ($[M+Na]^+$)

Berechnet: 401.0856

Gefunden: 401.0857

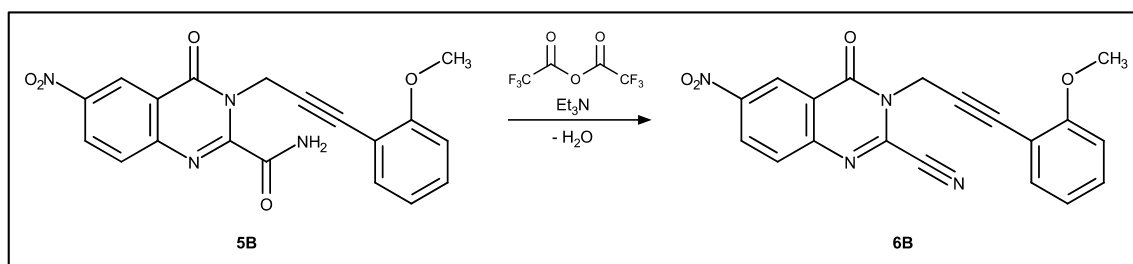
1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6 ; Tafel 10):

δ 8.88 (d, J = 2.6 Hz, 1H, 5-H), 8.63 (dd, J = 8.9, 2.7 Hz, überlappt von br s, 2H, 7-H, NH), 8.37 (br s, 1H, NH), 7.97 (d, J = 9.0 Hz, 1H, 8-H), 7.38–7.31 (m, 2H, Phenyl 4'-H, 6'-H), 7.02 (dd, J = 8.9, 0.8 Hz, 1H, Phenyl 3'-H), 6.90 (td, J = 7.5, 0.9 Hz, 1H, Phenyl 5'-H), 5.32 (s, 2H, NCH₂), 3.78 (s, 3H, OCH₃)

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 ; Tafel 11):

δ 162.7 (Amid C=O), 159.8 (Phenyl 2'-C), 159.4 (4-C), 151.7 (2-C), 150.1 (8a-C), 146.0 (6-C), 133.6 (Phenyl 6'-C), 130.5 (Phenyl 4'-C), 129.4 (8-C), 129.1 (7-C), 122.5 (5-C), 121.2 (4a-C), 120.3 (Phenyl 5'-C), 111.3 (Phenyl 3'-C), 110.5 (Phenyl 1'-C), 87.3 (Propargyl 2-C), 80.3 (Propargyl 3-C), 55.6 (OCH₃), 34.4 (Propargyl 1-C)

3.2.10 3-[3-(2-METHOXYPHENYL)PROP-2-IN-1-YL]-6-NITRO-4-OXO-3,4-DIHYDROCHINAZOLIN-2-CARBONITRIL (**6B**)



In einem zuvor im Trockenschrank ausgeheizten 100 mL Birnenkolben werden 378 mg (1.00 mmol) Edukt (**5B**) mit 10 mL trockenem CH_2Cl_2 (Molekularsieb 4Å) und 10 mL (71.7 mmol) Triethylamin versetzt. Die so entstandene Suspension wird im Eiswasserbad auf 0–5 °C abgekühlt. Unter Rühren werden 5 mL (35.5 mmol) Trifluoressigsäureanhydrid langsam zutropft. Danach wird das Eiswasserbad entfernt und das Reaktionsgemisch wird unter Feuchtigkeitsausschluss 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die vollständige Umsetzung wird mittels DC überprüft (Fließmittel $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 95+5).

Anschließend wird das dunkel gefärbte Reaktionsgemisch in ein Becherglas mit ca. 200 mL Eiswasser gegossen und ca. 30 min gerührt. Das so erhaltene Zwei-Phasen-System wird in einen Scheidetrichter gefüllt, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase 3x mit je 50 mL CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 50 mL 0.5 N HCl vorsichtig ausgeschüttelt, anschließend mit H_2O , 10% NaHCO_3 -Lsg. und abermals mit H_2O gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet.

Das Trocknungsmittel wird mit einem Faltenfilter abfiltriert und mit CH_2Cl_2 nachgewaschen. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer auf ca. 20 mL eingengt und durch eine Kieselgel-60-Säule (10 x 3 cm) unter Verwendung von $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$ (98+2) als Fließmittel gereinigt. Die vereinigten Eluatfraktionen werden am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Die Umkristallisation des festen Rückstands aus EtOH liefert nahezu farblose Kristalle.

Ausbeute:	243 mg (67%)
Summenformel:	C ₁₉ H ₁₂ N ₄ O ₄
Molare Masse:	360.33 g/mol
Schmelzpunkt:	168 °C (EtOH, nahezu farblose Nadeln)

MS (Tafel 27):

m/z (rel. Int) = 360 (M⁺, 21%), 145 (17), 144 (53), 116 (23), 115 (100), 91 (31), 89 (23), 75 (20)

HRMS:

für C₁₉H₁₂N₄NaO₄ ([M+Na]⁺)

Berechnet: 383.0751

Gefunden: 383.0747

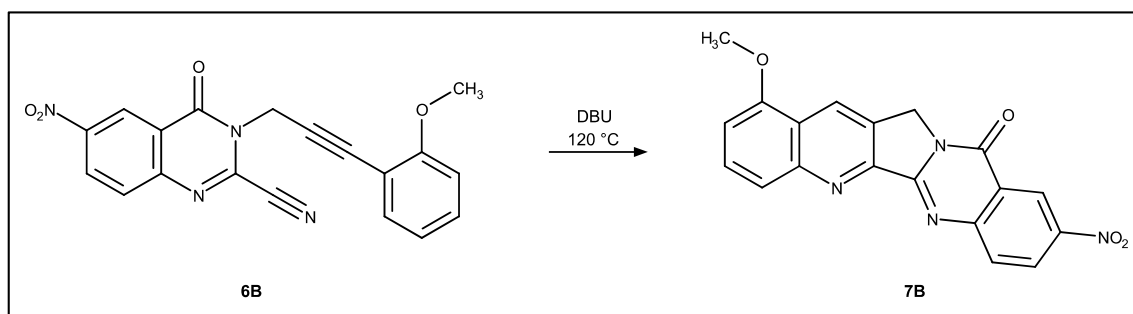
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 28):

δ 8.87 (d, J = 2.6 Hz, 1H, 5-H), 8.68 (dd, J = 8.9, 2.7 Hz, 1H, 7-H), 8.08 (d, J = 8.9 Hz, 1H, 8-H), 7.39–7.35 (m, 2H, Phenyl 4'-H, 6'-H), 7.08–7.01 (m, 1H, Phenyl 3'-H), 6.92 (td, J = 7.5, 0.9 Hz, 1H, Phenyl 5'-H), 5.30 (s, 2H, NCH₂), 3.79 (s, 3H, OCH₃)

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 29):

δ 160.0 (Phenyl 2'-C), 158.2 (4-C), 149.5 (8a-C), 147.1 (6-C), 134.3 (2-C), 133.5 (Phenyl 6'-C), 130.9 (Phenyl 4'-C), 130.1 (8-C), 129.4 (7-C), 122.8 (4a-C), 122.4 (5-C), 120.4 (Phenyl 5'-C), 111.42 (Nitril-C), 111.39 (Phenyl 3'-C), 110.1 (Phenyl 1'-C), 85.9 (Propargyl 2-C), 81.7 (Propargyl 3-C), 55.6 (OCH₃), 36.2 (Propargyl 1-C)

3.2.11 1-METHOXY-9-NITROCHINO[2',3':3,4]PYRROLO[2,1-*b*]CHINAZOLIN-11(13*H*)- ON (7B)



In einem 25 mL Rundkolben werden 150 mg (0.42 mmol) Edukt (**6B**) in 12 mL 1,2-Dichlorbenzol gelöst. Die Lösung wird mit Argon gespült, sodann werden 0.6 mL einer frisch bereiteten 0.1 M Lösung von DBU in 1,2-Dichlorbenzol ($\cong$ 0.06 mmol DBU) zugegeben. Es wird abermals mit Argon gespült, bevor das Reaktionsgefäß mit einem fixierten Stopfen verschlossen wird. Das Reaktionsgemisch wird auf 120 °C erhitzt und 24 h bei dieser Temperatur gerührt.

Nach Reaktionsablauf (DC-Kontrolle mit Fließmittel CH₂Cl₂/EtOAc, 95+5) wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt, mit *tert*-Butylmethylether 1:1 verdünnt und im Kühlschrank weiter abgekühlt. Das präzipitierte Produkt wird abgenutscht, mit *tert*-Butylmethylether gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Ausbeute:	84 mg (56%)
Summenformel:	C ₁₉ H ₁₂ N ₄ O ₄
Molare Masse:	360.33 g/mol
Schmelzpunkt:	> 350 °C (tBME, braune Nadelchen)

MS (Tafel 42):

m/z (rel. Int) = 361 (24%), 360 (M^+ , 100), 345 (24), 299 (17), 271 (30), 243 (24), 111 (27), 98 (100), 57 (34)

HRMS:

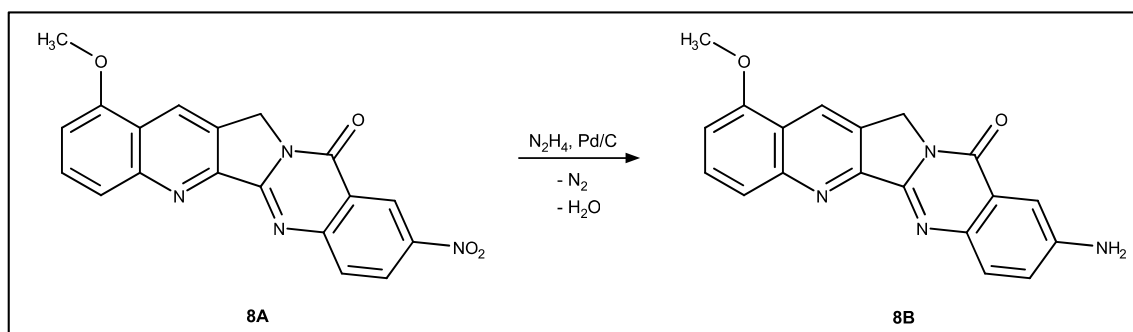
für $C_{19}H_{13}N_4O_4$ ($[M+H]^+$)

Berechnet: 361.0931

Gefunden: 361.0928

1H NMR und ^{13}C -NMR: wegen unzureichender Löslichkeit nicht realisierbar

3.2.12 9-AMINO-1-METHOXYCHINO[2',3':3,4]PYRROLO[2,1-*b*]CHINAZOLIN-11(13*H*)-ON (8B)



In einem 100 mL Dreihalskolben werden 108 mg (0.30 mmol) Edukt (**7B**) mit 40 mL EtOH versetzt und die so erhaltene Suspension gründlich mit Argon gespült. Es folgt die Zugabe von 260 mg einer 80% Hydrazinhydrat-Lösung ($\triangleq$ 4.16 mmol N_2H_4) und 20 mg Pd/C-Katalysator (10%). Unter Argonatmosphäre wird das Gemisch 24 h bei Rückflusstemperatur kräftig gerührt.

Nach Ablauf der Reaktion (DC-Kontrolle mit Fließmittel $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9+1) wird das nun grün gefärbte Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur abgekühlt und am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Der feste Rückstand wird in 50 mL DMSO aufgenommen und durch Erhitzen weitgehend gelöst. Mittels Heißfiltration durch eine doppelte Lage aus Faltenfiltern wird der ungelöst gebliebene Pd/C-Katalysator abgetrennt. Anschließend wird das Faltenfilter zerkleinert, mit 15 mL DMSO versetzt, erhitzt und erneut heiß filtriert. Die vereinigten Filtrate werden unter vermindertem Druck im Kugelrohr eingedampft. Der feste Rückstand wird in einen 50 mL Spitzkolben überführt und mit 30 mL EtOH 30 min unter Rückfluss zum Sieden erhitzt. Das somit heiß gewaschene Produkt wird nach dem Abkühlen abgenutscht, mit EtOH nachgewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Ausbeute:	61 mg (62%)
Summenformel:	C ₁₉ H ₁₄ N ₄ O ₂
Molare Masse:	330.35 g/mol
Schmelzpunkt:	> 350 °C (EtOH, goldgelbe Kristalle)

MS (Tafel 53):

m/z (rel. Int) = 331 (25%), 330 (M⁺, 100), 315 (30), 287 (52), 165 (10), 144 (11), 129 (8), 98 (11), 71 (14), 57 (21), 55 (13)

HRMS:

für C₁₉H₁₅N₄O₂ ([M+H]⁺)

Berechnet: 331.1190

Gefunden: 331.1186

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 54):

δ 8.85 (s, 1H, 14-H), 7.78 (d, J = 4.6 Hz, 2H, 3-H, 4-H), 7.65 (d, J = 8.7 Hz, 1H, 7-H), 7.36 (d, J = 2.6 Hz, 1H, 10-H), 7.22–7.15 (m, 2H, 2-H, 8-H), 5.86 (s, 2H, NH₂), 5.24 (s, 2H, 13-CH₂), 4.05 (s, 3H, 1-OCH₃)

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 55):

δ 159.5 (11-C), 154.8 (1-C), 152.1 (5a-C), 149.2 (4a-C), 148.7 (9-C), 148.3 (5b-C), 139.6 (6a-C), 130.4 (3-C), 129.9 (13a-C), 129.1 (7-C), 126.0 (14-C), 122.34 (10a-C), 122.30 (8-C), 121.4 (4-C), 120.2 (14a-C), 106.1 (10-C), 106.0 (2-C), 56.1 (OCH₃), 47.4 (13-CH₂)

4 LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Pommier, Y.; Sun, Y.; Huang, S.N.; Nitiss, J.L. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2016**, *17*, 703–721.
- (2) Pommier, Y. *Nat. Rev. Cancer*, **2006**, *6*, 789–802.
- (3) Stewart, L.; Rebindo, M.R.; Qiu, X.; Hol, W.G.J.; Champoux, J.J. *Science* **1998**, *279*, 1534–1541. The Protein Data Bank, URL: rcsb.org, PDB-Code: 1A36.
- (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) Müller-Esterl, W. *Biochemie – eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, 2011, S. 277–278.
- (6) Steinhilber, D.; Schubert-Zsilavecz, M.; Roth, H.J. *Medizinische Chemie*, 2. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 2010, S. 490–493.
- (7) Pommier, Y.; Leo, E.; Zhang, H.L.; Marchand, C. *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 421–433.
- (8) Staker, B.L.; Hjerrild, K.; Feese, M.D.; Behnke, C.A.; Burgin Jr., A.B.; Stewart, L.J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2002**, *99*, 15387–15392.
- (9) 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.
- (10) Pizzolato, J.F.; Saltz, L.B. *Lancet* **2003**, *361*, 2235–2242.
- (11) Wall, M.E.; Wani, M.C.; Cook, C.E.; Palmer, K.H. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 3888–3890.
- (12) Hsiang, Y.H.; Hertzberg, R.; Hecht, S.; Liu, L.F. *J. Biol. Chem.* **1985**, *260*, 14873–14878.
- (13) Hsiang, Y.H.; Liu, L.F. *Cancer Res.* **1988**, *48*, 1722–1726.
- (14) Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H.K.; Menzel, S.; Ruth, P. *Mutschler Arzneimittelwirkungen*, 10. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2012, S. 891–892.

- (15) 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.
- (16) 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.
- (17) Xiao, P.-G., Ed. *A Pictorial Encyclopaedia of Chinese Medical Herbs*, Chuokoronsha-Verlag, Tokio, 1992, Band 3, S. 125.
- (18) 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.
- (19) Ma, Z.-Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J. *Heterocycles* **1997**, *46*, 541–546.
- (20) Ma, Z.-Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J. *Heterocycles* **1999**, *51*, 1883–1889.
- (21) Ma, Z.-Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J. *Phytochemistry* **2000**, *53*, 1075–1078.
- (22) Ma, Z.-Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1193–1196.
- (23) Cagir, A.; Jones, S.H.; Gao, R.; Eisenhauer, B.M.; Hecht, S.M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13628–13629.
- (24) Dexheimer, T.S.; Pommier, Y. *Nat. Protoc.* **2008**, *3*, 1736–1750.
- (25) 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.
- (26) Liang, J.L.; Cha, H.C.; Jahng, Y. *Molecules* **2011**, *16*, 4861–4883.
- (27) Ma, Z.-Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J. *Heterocycles* **1999**, *51*, 1593–1596.
- (28) Zhou, H.B.; Liu, G.S.; Yao, Z.J. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 6270–6272.
- (29) Baker, B.R.; Almaula, P.I. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 4672–4674.
- (30) Haider, N.; Nuß, S. *Molecules* **2012**, *17*, 11363–11378.
- (31) Basha, A.; Lipton, M.; Weinreb, S.M. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *48*, 4171–4174.
- (32) Lipton, M.F.; Basha, A.; Weinreb, S.M. *Org. Synth.* **1979**, *59*, 49–53.
- (33) Atia, M.; Bogdán, D.; Brügger, M.; Haider, N.; Mátyus, P. *Tetrahedron*, **2017**, *73*, 3231–3239.

- (34) Haider, N.; Meng, G.; Roger, S.; Wank, S. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 7066–7072.
- (35) Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *50*, 4467–4470.
- (36) Dai, W.; Petersen, J.L.; Wang, K.K. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4665–4667.
- (37) Ibric, A.; Eckerstorfer, S.; Eder, M.; Louko, I.; Tunjic, L.; Heffeter, P.; Schueffl, H.H.; Marian, B.; Haider, N. *Molecules* **2019**, *24*, 716.
- (38) Wagh, M.B.; Shankar, R.; Kumar, U.K.S.; Gill, C.H. *Synlett* **2011**, *1*, 84–88.
- (39) Nacro, K.; Zha, C.; Guzzo, P.R.; Herr, R.J.; Peace, D.; Friedrich, T.D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 4237–4246.
- (40) Cagir, A.; Eisenhauer, B.M.; Gao, R.; Thomas, S.J.; Hecht, S.M. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 6287–6299.
- (41) Schneider, E.; Haider, N. *Molbank* **2019**, *M1050*.
- (42) Ibric, A. geplante Dissertation, Universität Wien.
- (43) Kernstock, K. Diplomarbeit, Universität Wien, 2019.
- (44) Schuckert, C. geplante Diplomarbeit, Universität Wien.
- (45) Lee, C. Diplomarbeit, Universität Wien, 2019.
- (46) Maleklou, Y. geplante Diplomarbeit, Universität Wien.
- (47) 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.
- (48) Usifoh, C.O.; Scriba, G.K.E. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2000**, *333*, 261–266.
- (49) Louko, I. Diplomarbeit, Universität Wien, 2013.
- (50) Karak, M.; Barbosa, L.C.A.; Hargaden, G.C. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 53442–53466.
- (51) Schreiber, S.L. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 1027–1030.
- (52) Deady, L.W.; Sette, R.M.D. *Aust. J. Chem.* **2001**, *54*, 177–180.
- (53) 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.

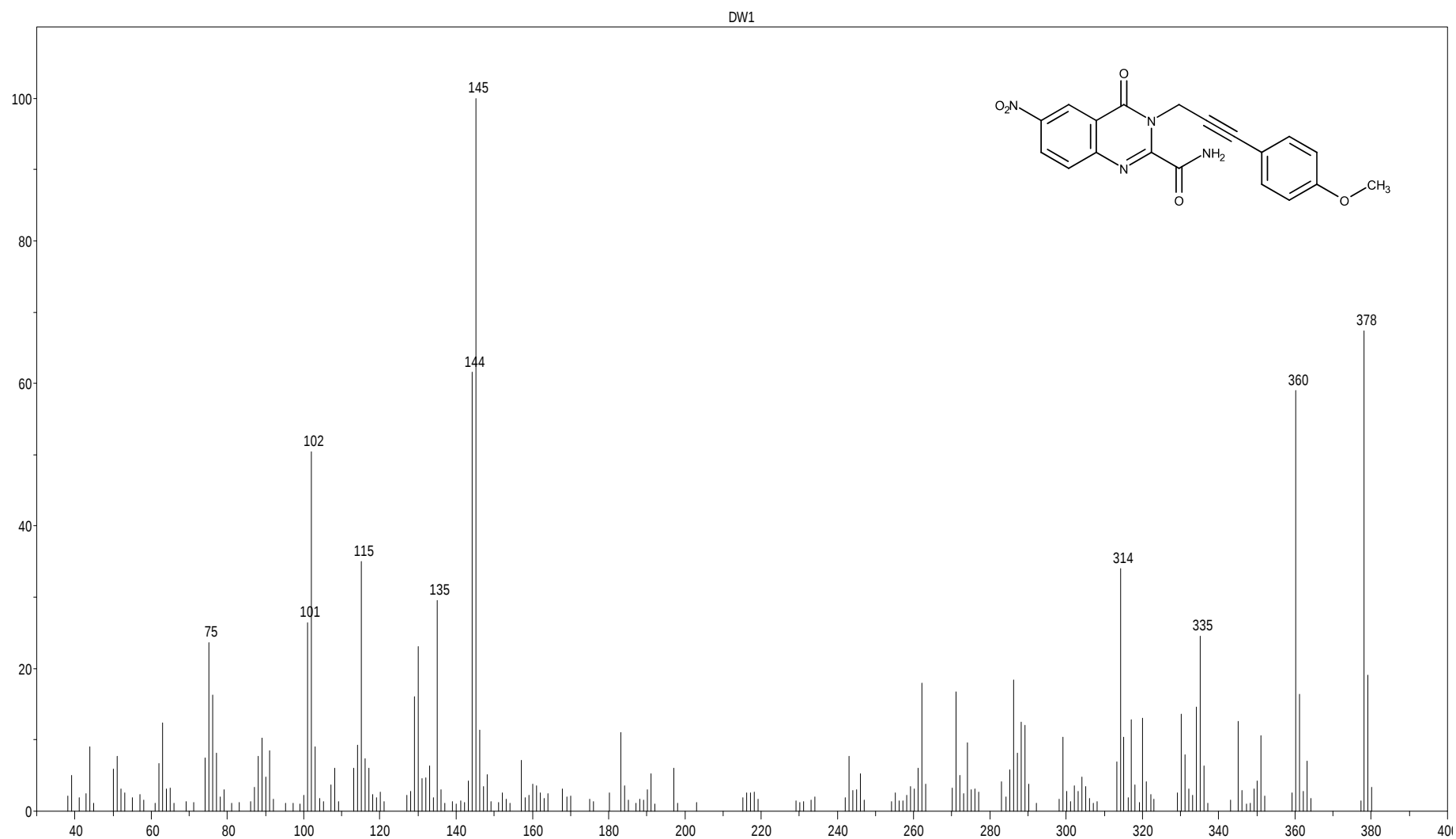
Abbildung 1:	Humane Topoisomerase I im Komplex mit DNA (PDB-Code: 1A36 ³)	2
Abbildung 2:	Humane Topoisomerase II α im Komplex mit DNA (PDB-Code: 4FM9 ⁴).....	2
Abbildung 3:	Humane Topoisomerase I im Komplex mit DNA und Topotecan (PDB-Code: 1K4T ⁸)	6
Abbildung 4:	Ternärer Komplex aus Topoisomerase I, DNA und Topotecan, fokussiert auf Topotecan (PDB-Code: 1K4T ⁸)	7
Abbildung 5:	Camptothecin	8
Abbildung 6:	Topotecan und Irinotecan	10
Abbildung 7:	Struktureller Vergleich zwischen Luotonin A und Camptothecin	13
Abbildung 8:	Docking von Luotonin A und Topotecan nach Lit. ²⁵	14
Abbildung 9:	Bereits bekannte Ring-A-Methoxy-Ring-E-Amino-substituierte Derivate von Luotonin A.....	23
Abbildung 10:	Die Zielverbindungen	24
Abbildung 11:	Vermutetes dialkyliertes Nebenprodukt analog zu Lit. ⁴⁹	30
Abbildung 12:	¹ H- und ¹³ C-NMR-Signallagen von 5A	35
Abbildung 13:	¹ H- und ¹³ C-NMR-Signallagen von 5B	35
Abbildung 14:	3-[(Diethylamino)methyliden]-1,1,1,5,5,5-hexafluorpentan-2,4-dion ⁵¹	37
Abbildung 15:	¹ H- und ¹³ C-NMR-Signallagen von 6A	39
Abbildung 16:	¹ H- und ¹³ C-NMR-Signallagen von 6B	39
Abbildung 17:	¹ H- und ¹³ C-NMR-Signallagen von 7A	43
Abbildung 18:	Fluoreszenz von 8A unter UV ₃₆₆	46
Abbildung 19:	Zuordnung der ¹³ C-NMR-Signale von 8A	48
Abbildung 20:	¹ H- und ¹³ C-NMR-Signallagen von 8A	48
Abbildung 21:	Zuordnung der ¹³ C-NMR-Signale von 8B	49
Abbildung 22:	¹ H- und ¹³ C-NMR-Signallagen von 8B	50

6 SCHEMENVERZEICHNIS

<i>Schema 1:</i>	Mechanismus von Klasse-I-Topoisomerasen, modifiziert nach Lit. ¹	3
<i>Schema 2:</i>	Mechanismus von Klasse-II-Topoisomerasen, modifiziert nach Lit. ¹	3
<i>Schema 3:</i>	Katalysezyklus von DNA-Topoisomerasen	4
<i>Schema 4:</i>	Spaltungskomplex („cleavable complex“) aus Topoisomerase I und DNA.....	4
<i>Schema 5:</i>	Gleichgewicht zwischen Lactonform und Carbonsäureform von Camptothecin	9
<i>Schema 6:</i>	Die Luotonine	12
<i>Schema 7:</i>	Hypothetischer Biosyntheseweg von Luotonin A nach Ma <i>et al.</i> ¹⁹	16
<i>Schema 8:</i>	Luotonin-A-Totalsynthese nach Ma <i>et al.</i> ²⁷	17
<i>Schema 9:</i>	Luotonin-A-Synthese nach Zhou <i>et al.</i> ²⁸	18
<i>Schema 10:</i>	Problembehaftete Teilsequenz der Synthese nach Zhou <i>et al.</i> ²⁸	19
<i>Schema 11:</i>	Die „südliche“ Syntheseroute nach Haider <i>et al.</i> ³⁰	20
<i>Schema 12:</i>	Die beiden Synthesrouten ³³ mit invertierter Topologie von Dien und Dienophil.....	22
<i>Schema 13:</i>	Die „nördliche“ Syntheseroute nach Haider <i>et al.</i> ³⁴	22
<i>Schema 14:</i>	Herstellung des Chinazolinoncarbonsäureesters (1)	25
<i>Schema 15:</i>	Einführung einer Nitrogruppe in Position 6 des Chinazolinoncarbonsäureesters.....	26
<i>Schema 16:</i>	Regioselektive Einführung der Nitrogruppe	27
<i>Schema 17:</i>	Überführung des Nitroesters (2) in ein primäres Amid (3).....	28
<i>Schema 18:</i>	Darstellung des Amids (3) durch Ansäuern des Reaktionsgemisches	28
<i>Schema 19:</i>	Alkylierung des Chinazolinon-Stickstoffs mit Propargylbromid.....	29
<i>Schema 20:</i>	Mechanismus der Sonogashira-Kupplung, modifiziert nach Lit. ⁵⁰	32
<i>Schema 21:</i>	Sonogashira-Kupplung von Verbindung 4 mit Iodanisol.....	32
<i>Schema 22:</i>	Dehydratisierung des primären Amids (5A bzw. 5B) zum Nitril (6A bzw. 6B)	36
<i>Schema 23:</i>	Reaktionsmechanismus der Amid-zu-Nitril-Dehydratisierung	36
<i>Schema 24:</i>	Wesentliche Unterschiede im ¹ H-NMR-Spektrum zwischen Amid (5A bzw. 5B) und Nitril (6A bzw. 6B).....	38
<i>Schema 25:</i>	Wesentliche Unterschiede im ¹³ C-NMR-Spektrum zwischen Amid (5A bzw. 5B) und Nitril (6A bzw. 6B).....	38
<i>Schema 26:</i>	Simultane Bildung der Ringe B und C via [4+2]-Cycloadditionsreaktion	40
<i>Schema 27:</i>	Mechanismus der [4+2]-Cycloaddition, modifiziert nach Haider <i>et al.</i> ³⁴	41
<i>Schema 28:</i>	Katalytische Transferhydrierung zur Synthese der Zielverbindungen (8A bzw. 8B)	44
<i>Schema 29:</i>	Schrittweise Reduktion der Nitrogruppe zum Amin.....	45
<i>Schema 30:</i>	Wesentliche Unterschiede im ¹ H-NMR-Spektrum zwischen Nitroverbindung (7A) und Aminoverbindung (8A)	47
<i>Schema 31:</i>	Übersicht über die Syntheseroute der Zielverbindungen (8A bzw. 8B)	51

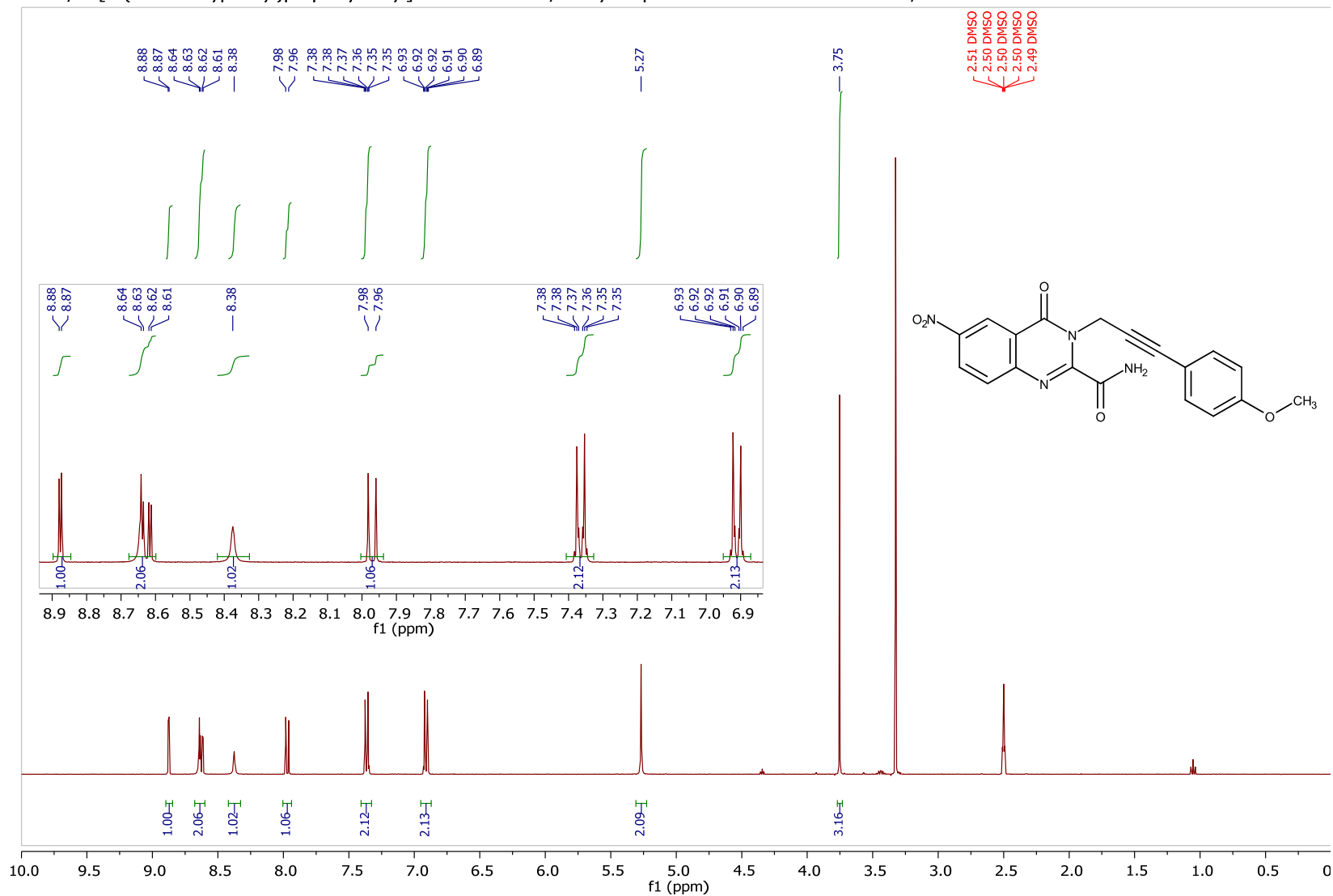
7 APPENDIX

7.1 SPEKTREN



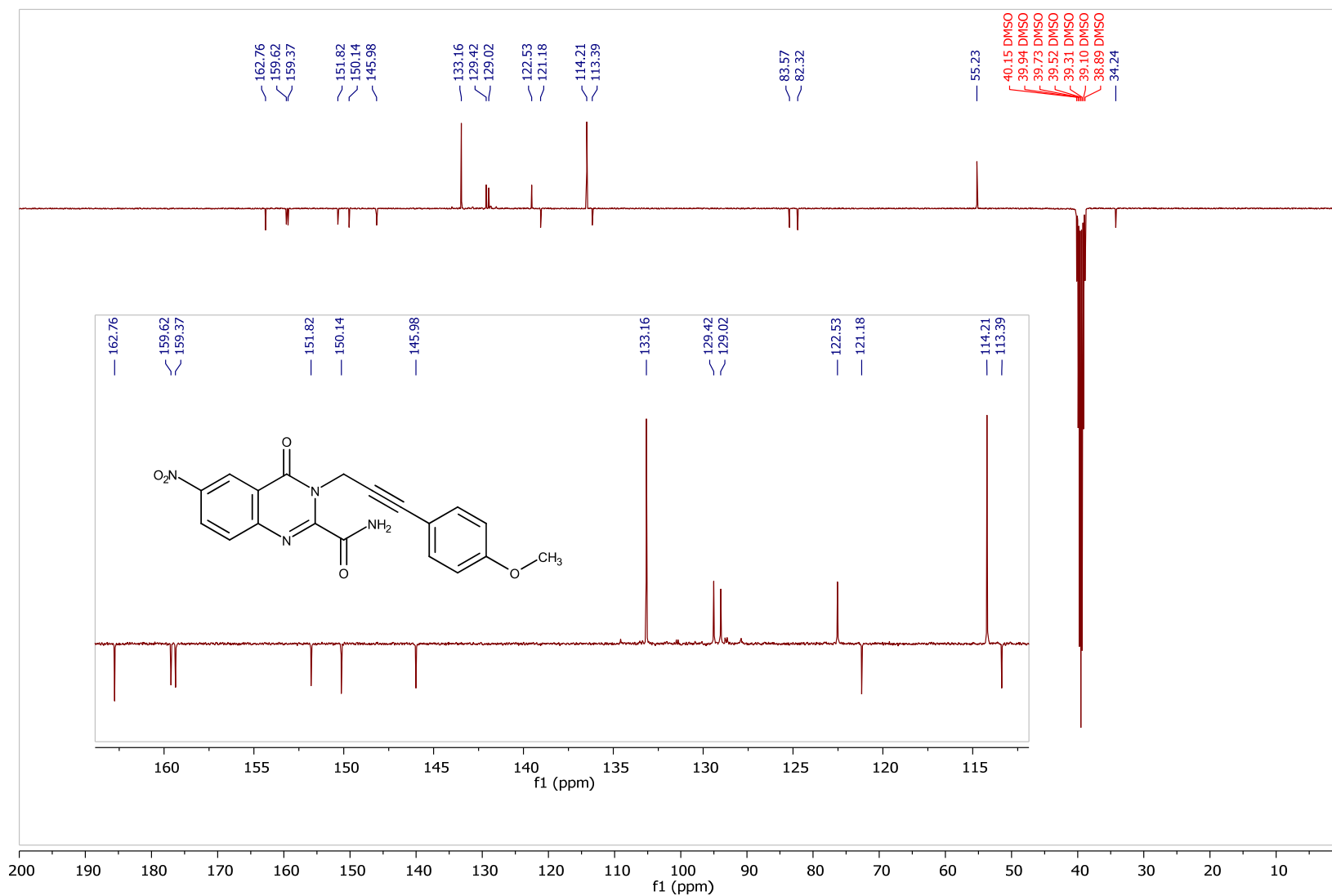
Tafel 1: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5A**)

DW1; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide 1H / DMSO



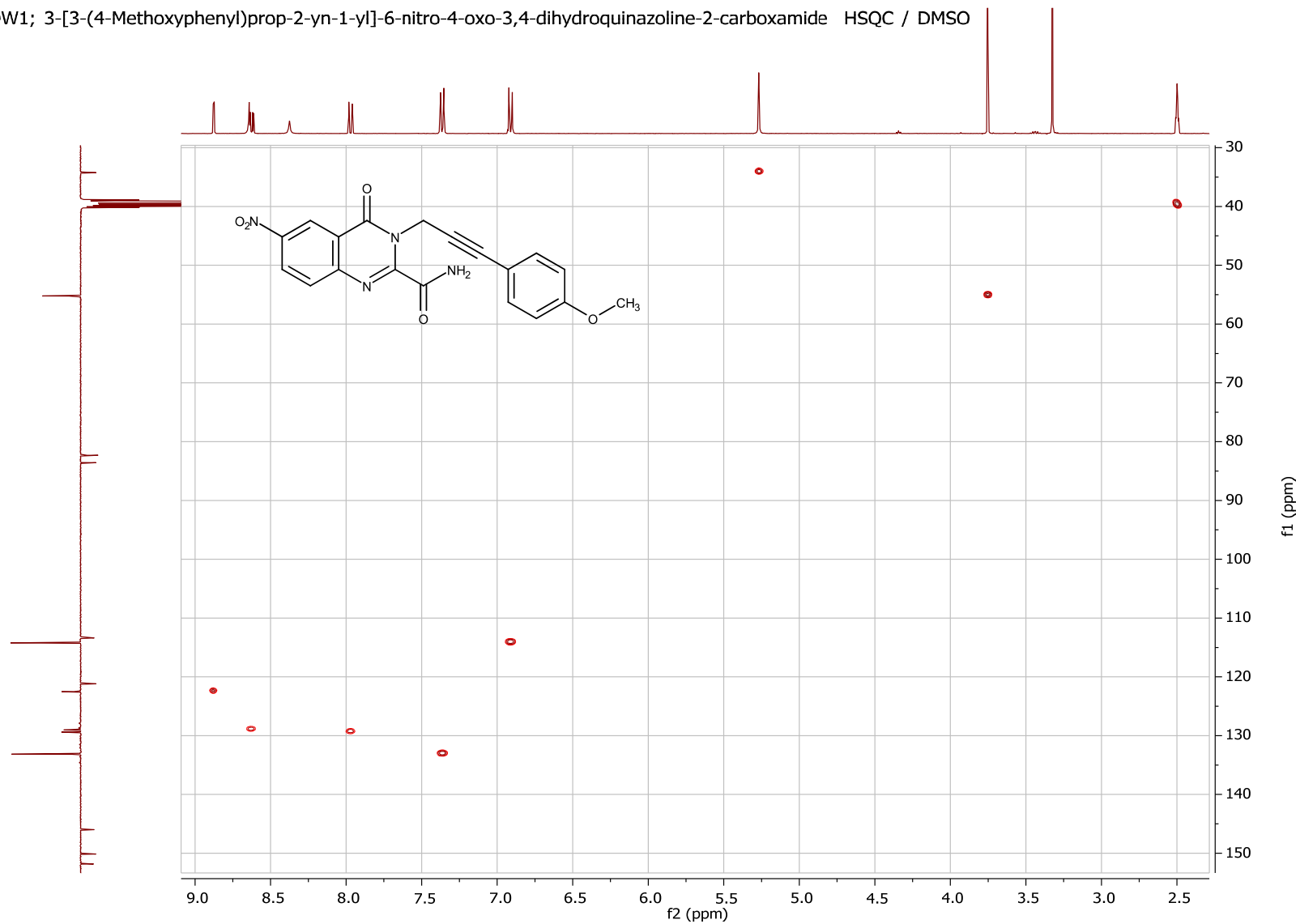
Tafel 2: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5A**)

DW1; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide C13APT / DMSO



Tafel 3: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5A**)

DW1; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO



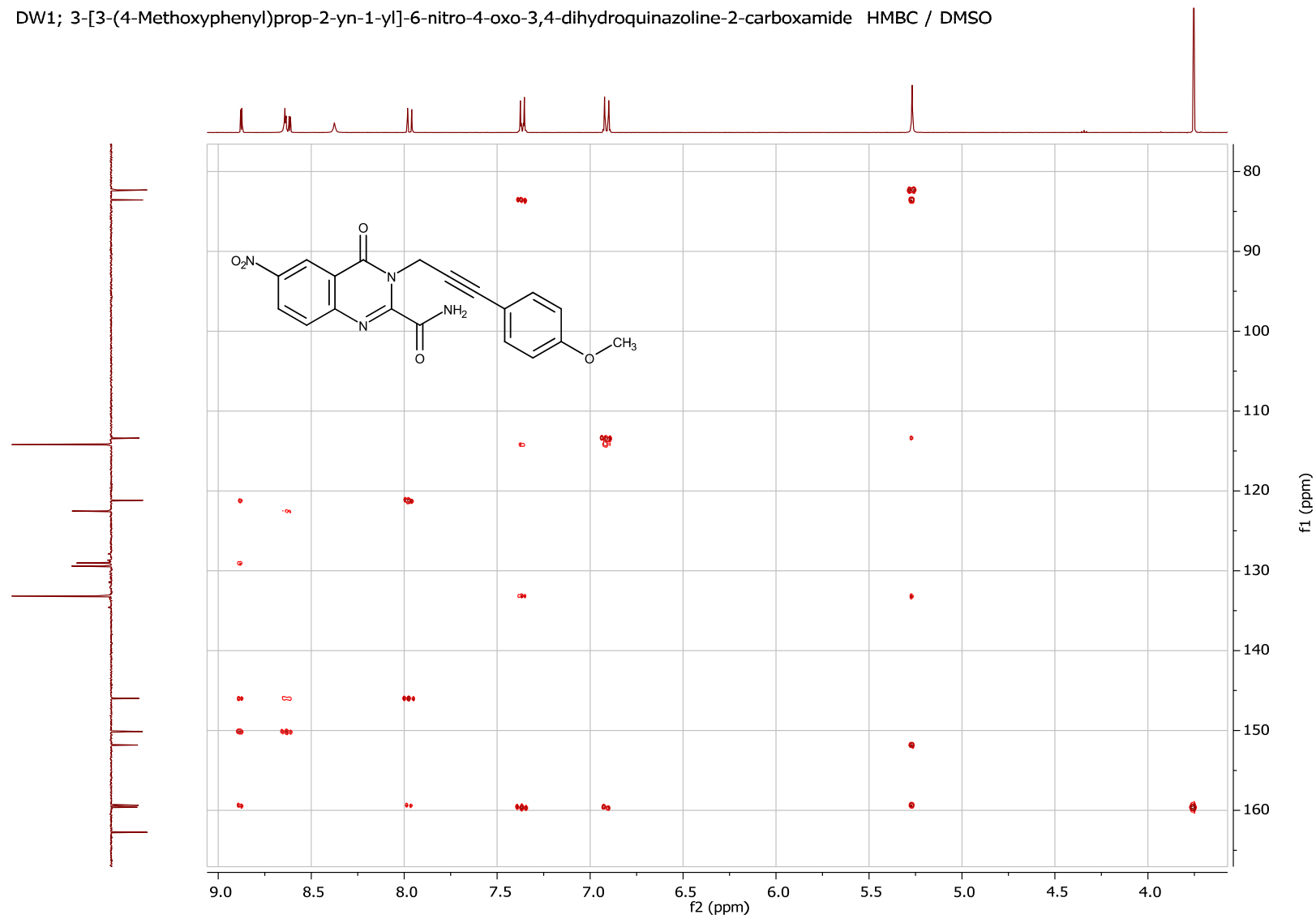
Tafel 4: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5A**)

DW1; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO



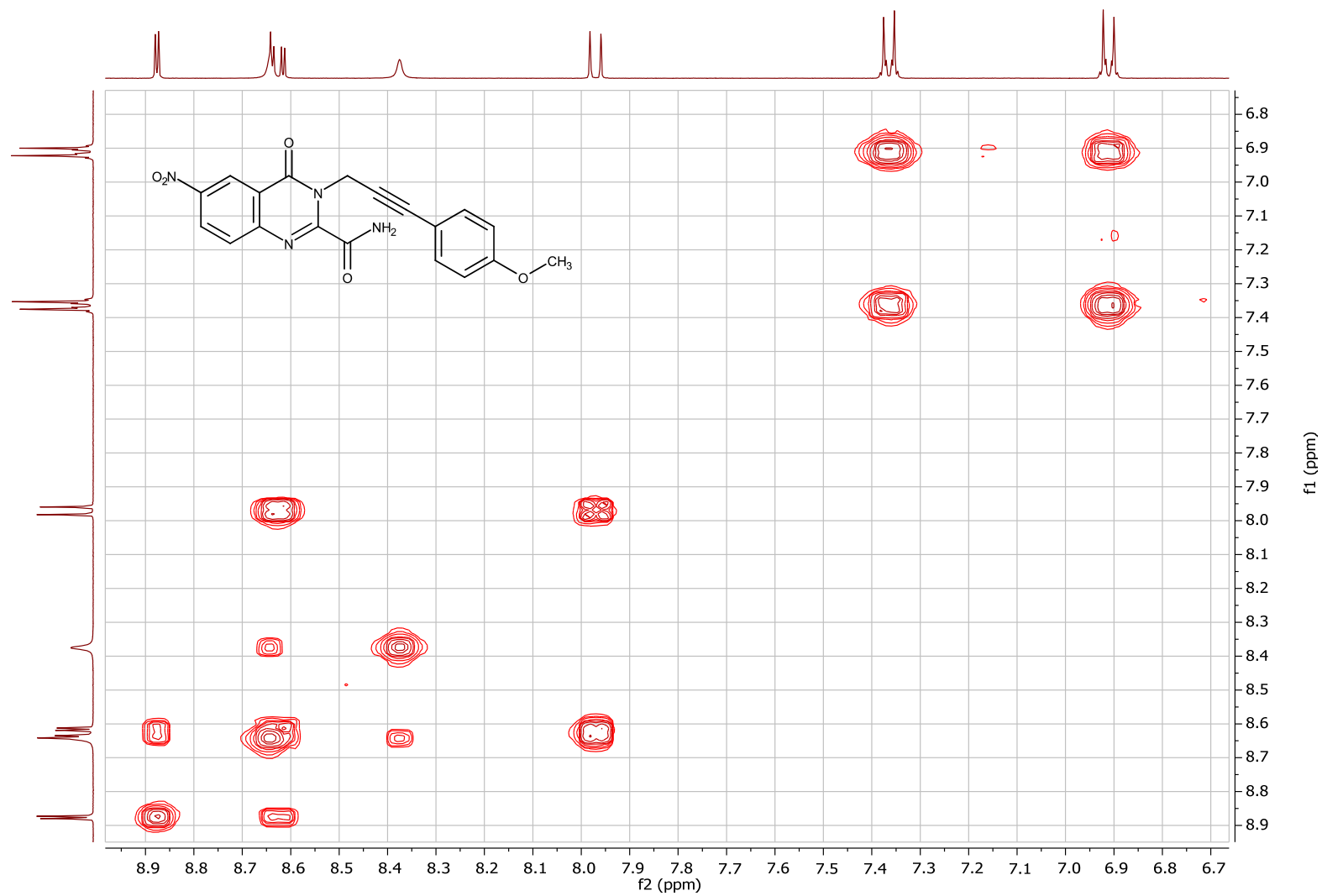
Tafel 5: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5A**)

DW1; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / DMSO



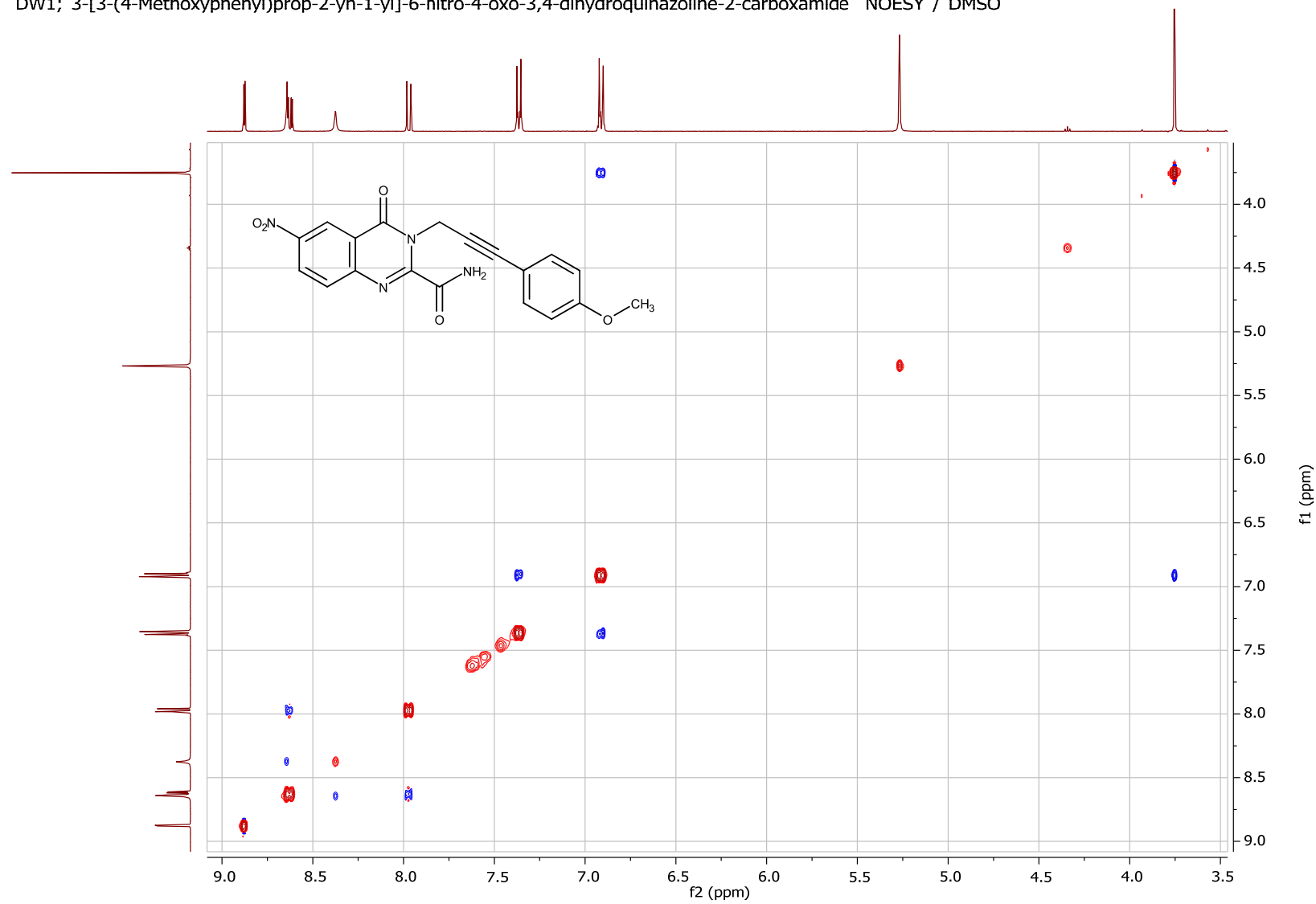
Tafel 6: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5A**)

DW1; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide COSY / DMSO

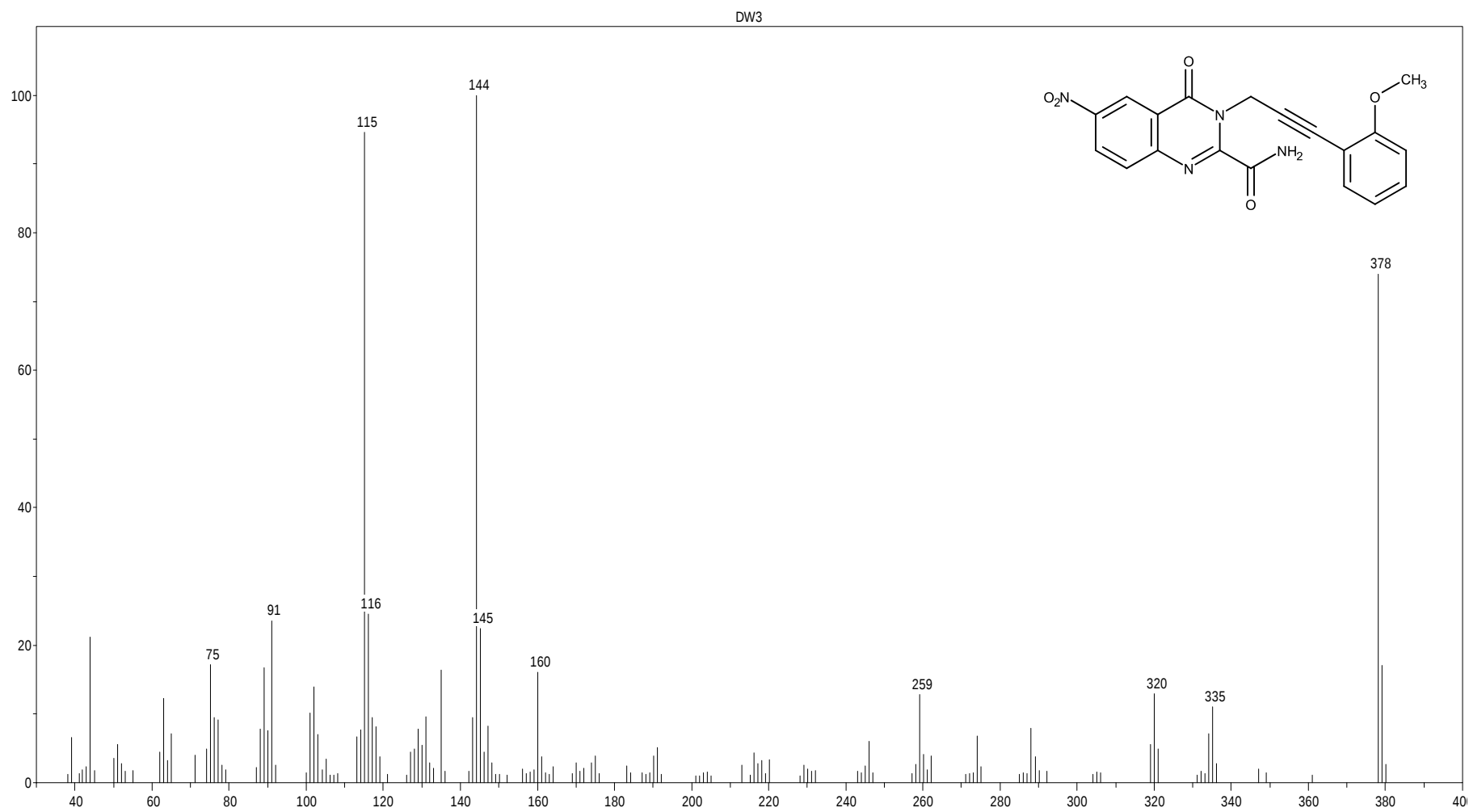


Tafel 7: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5A**)

DW1; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide NOESY / DMSO

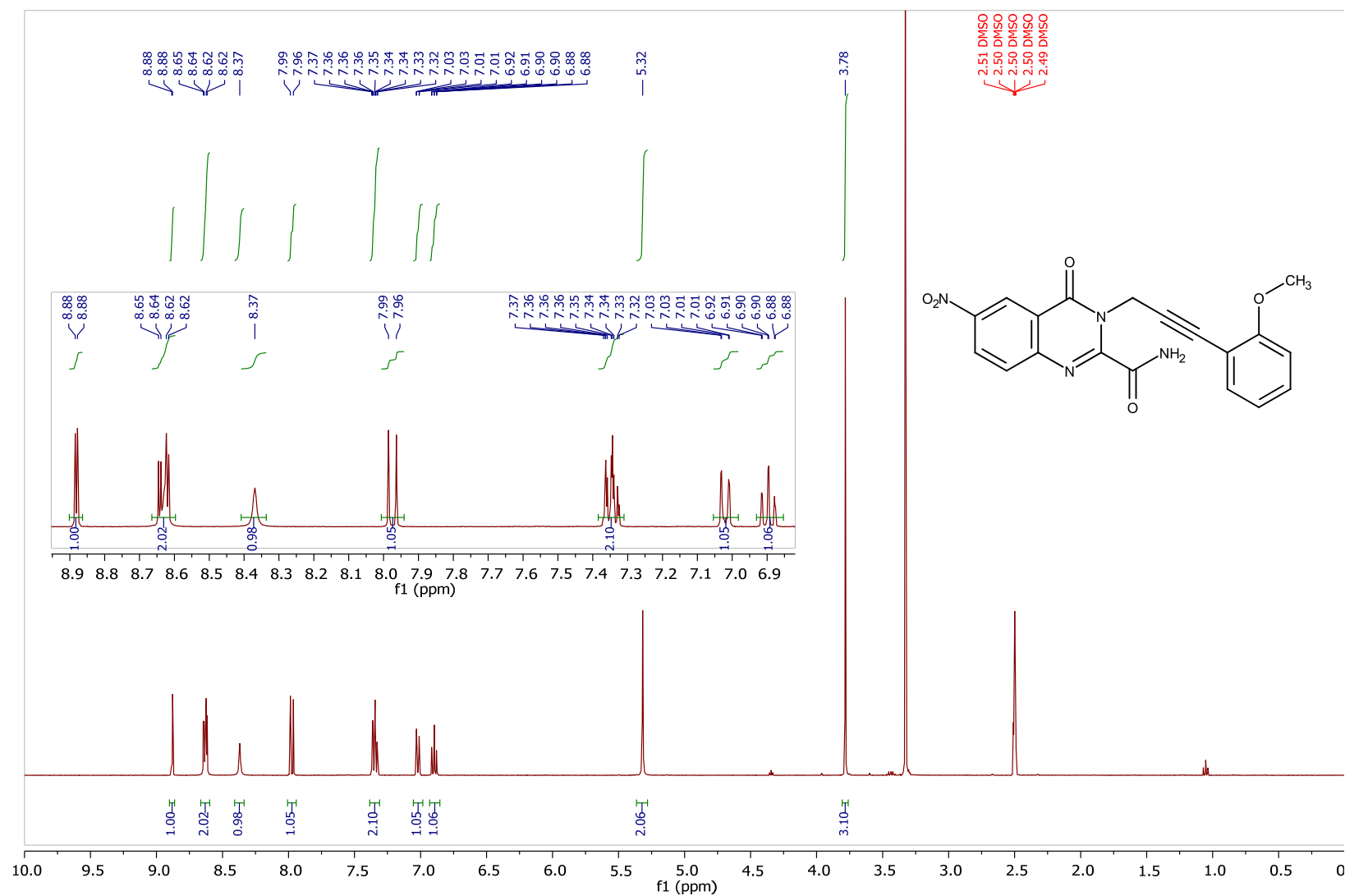


Tafel 8: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5A**)



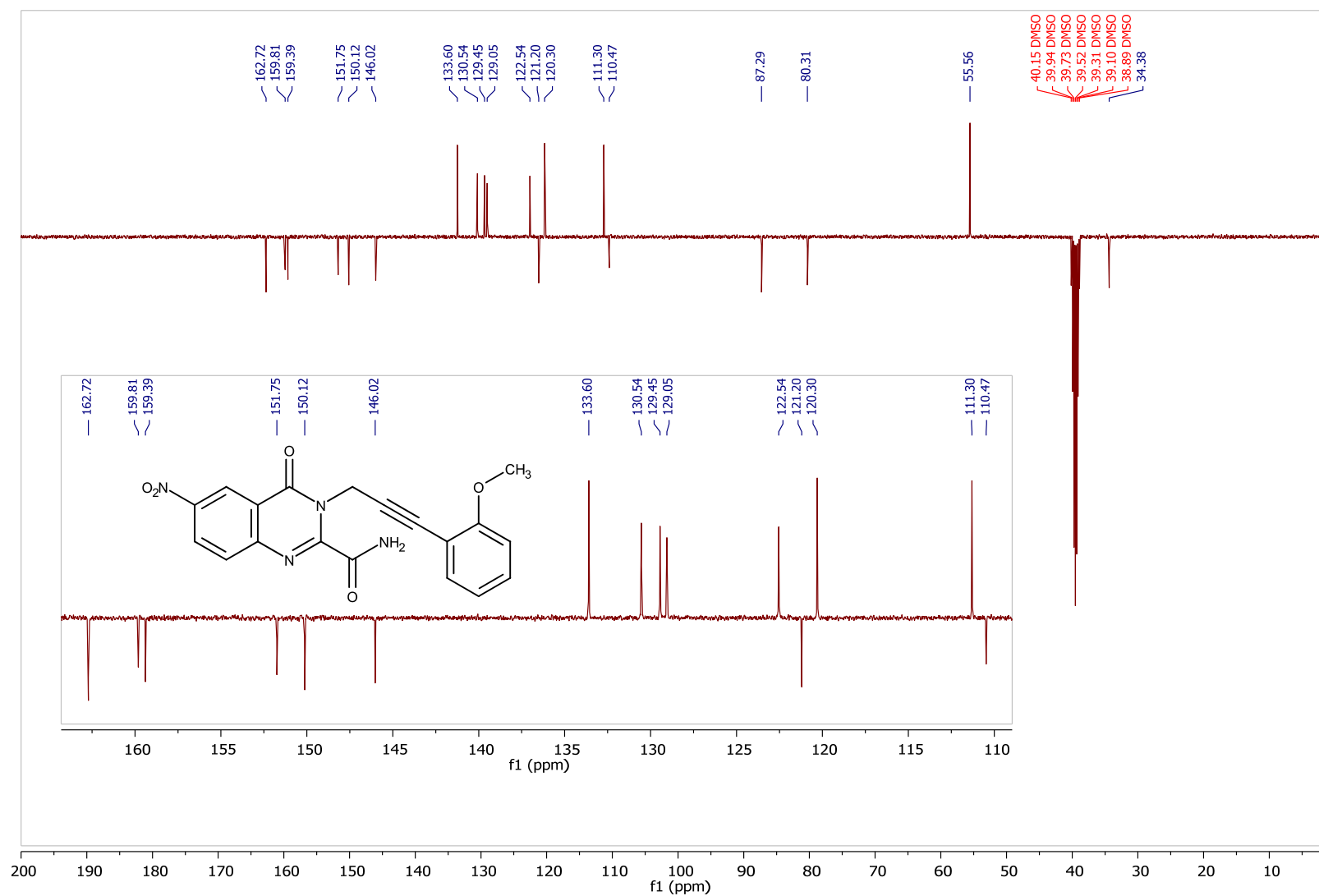
Tafel 9: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5B**)

DW3; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide 1H / DMSO



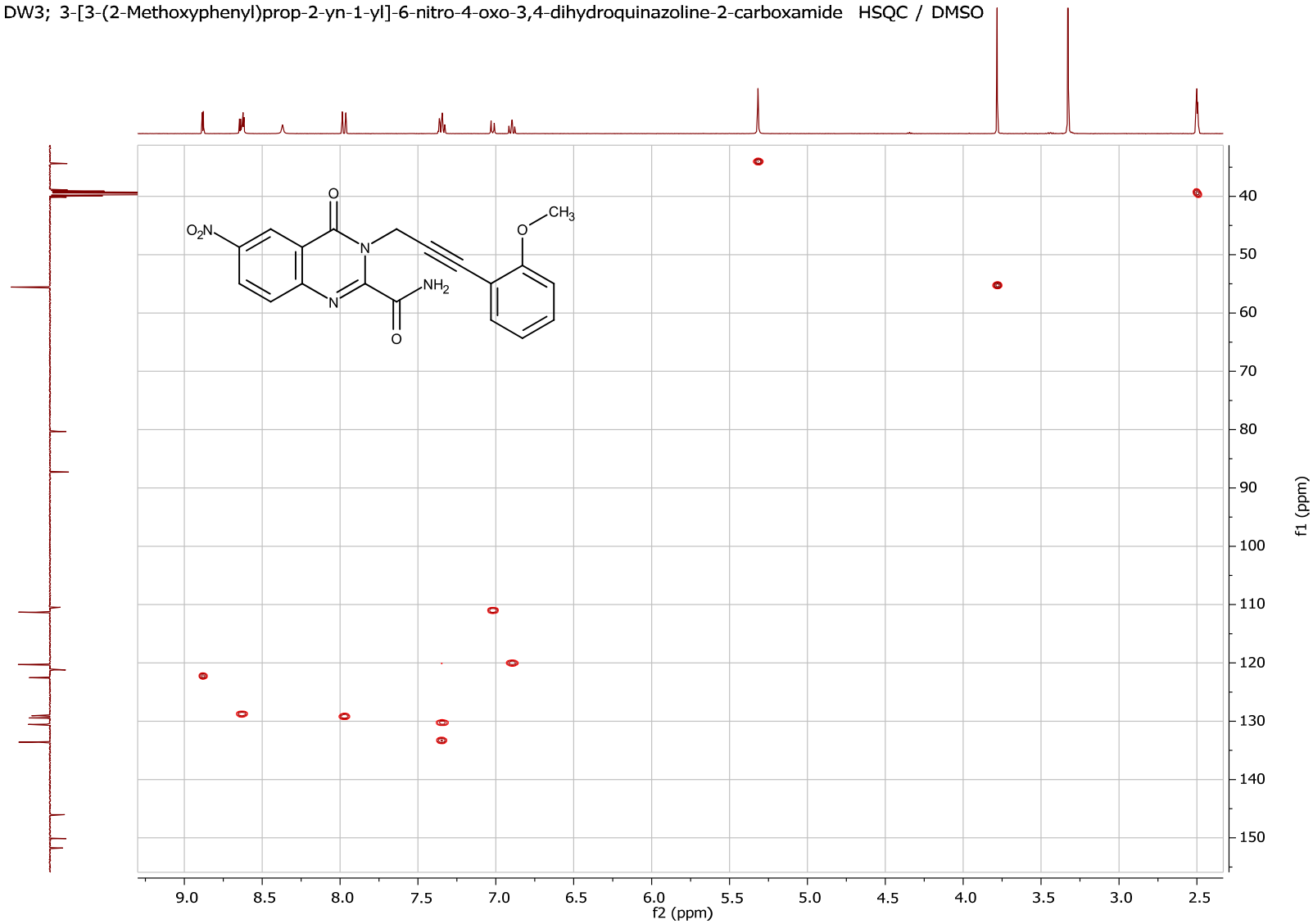
Tafel 10: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5B**)

DW3; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide C13APT / DMSO



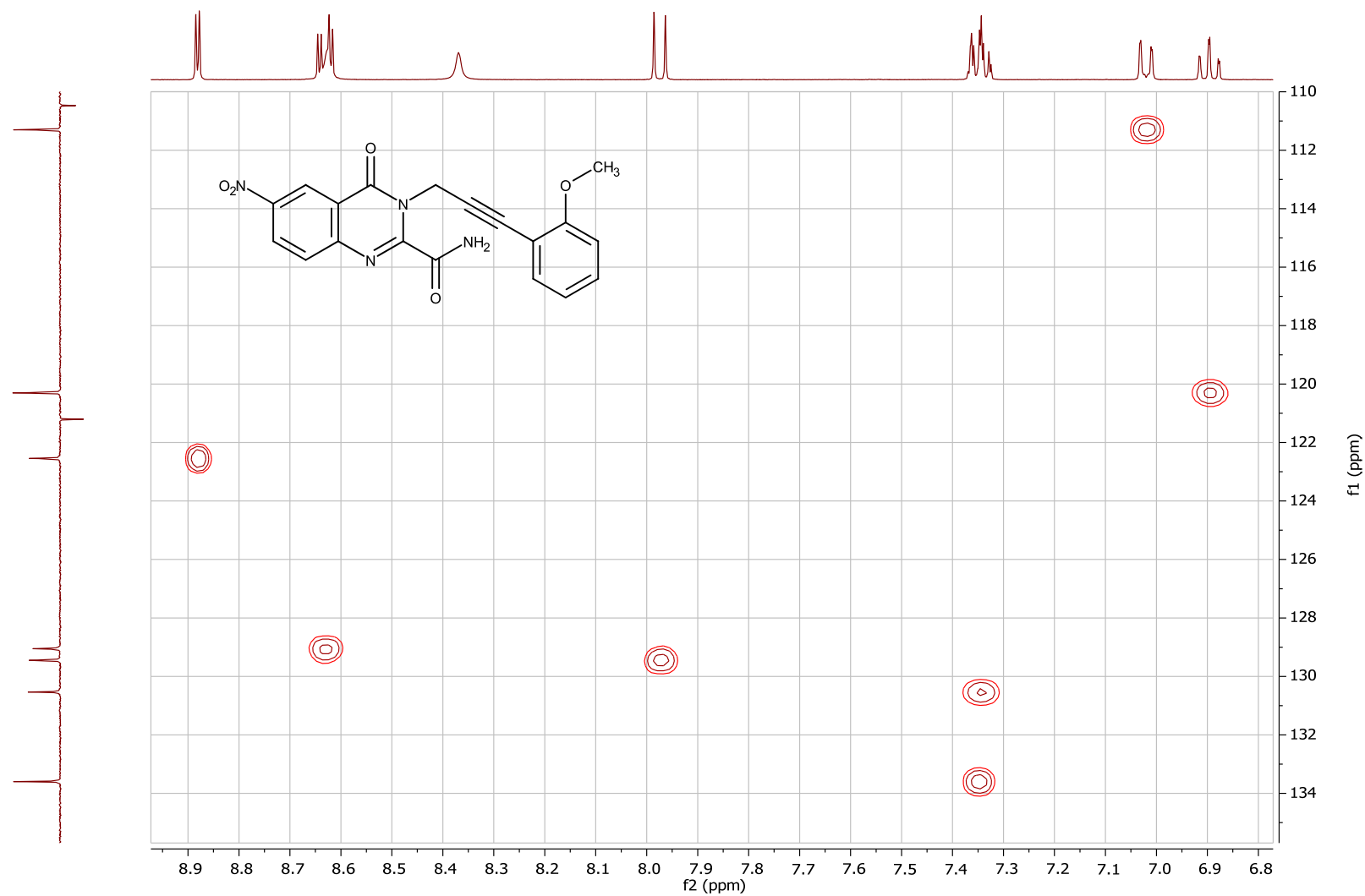
Tafel 11: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5B**)

DW3; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO



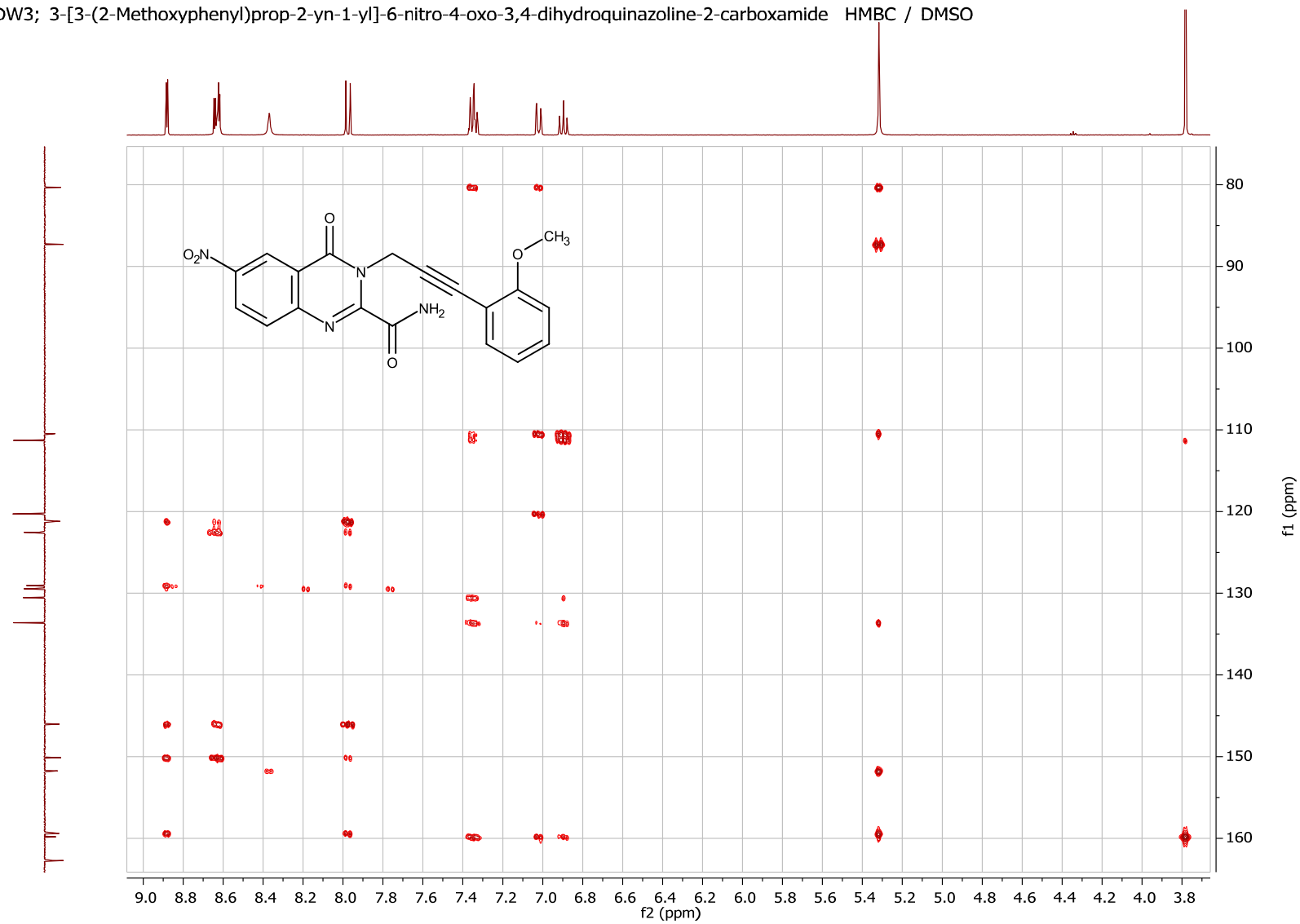
Tafel 12: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5B**)

DW3; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO



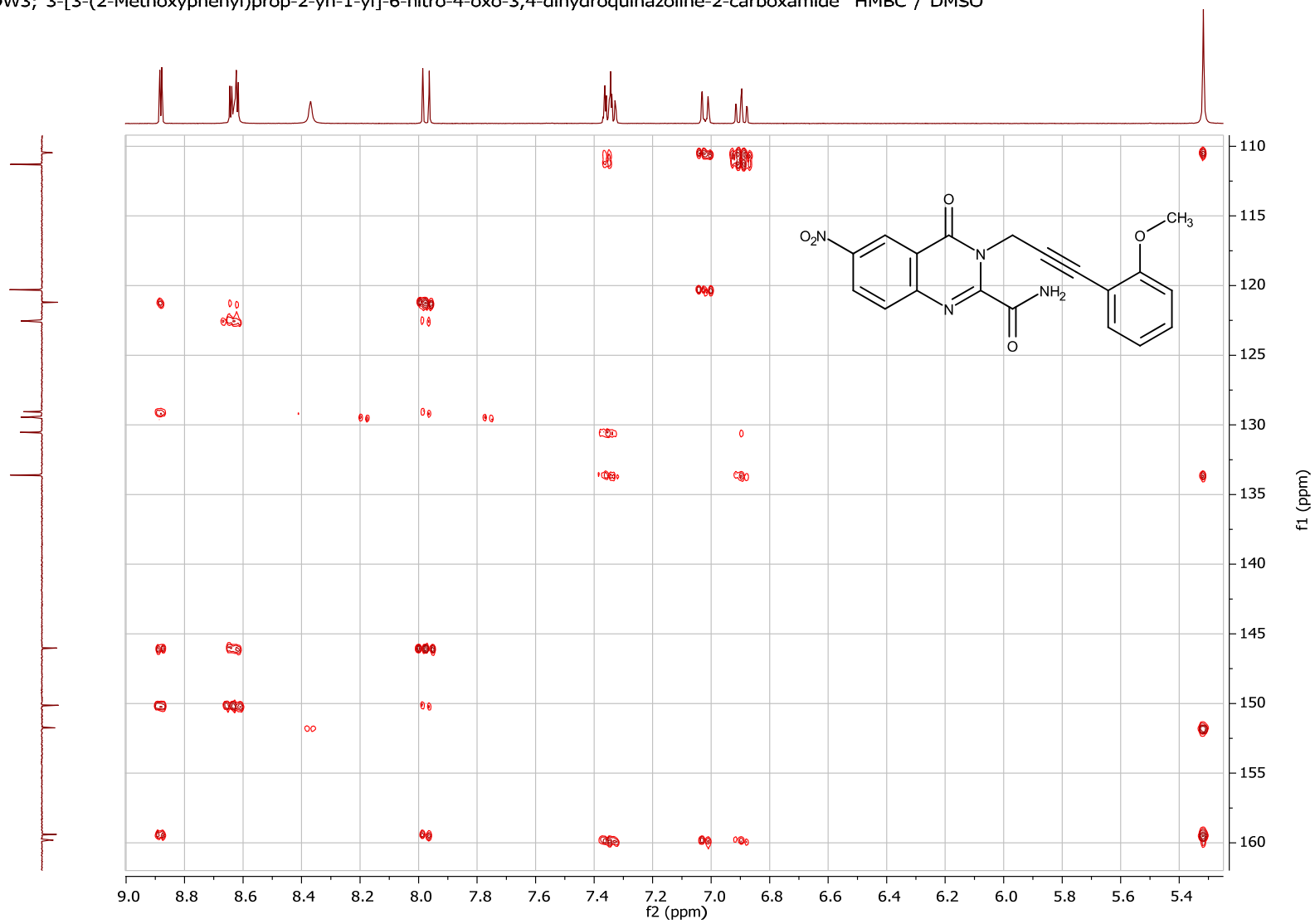
Tafel 13: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5B**)

DW3; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / DMSO



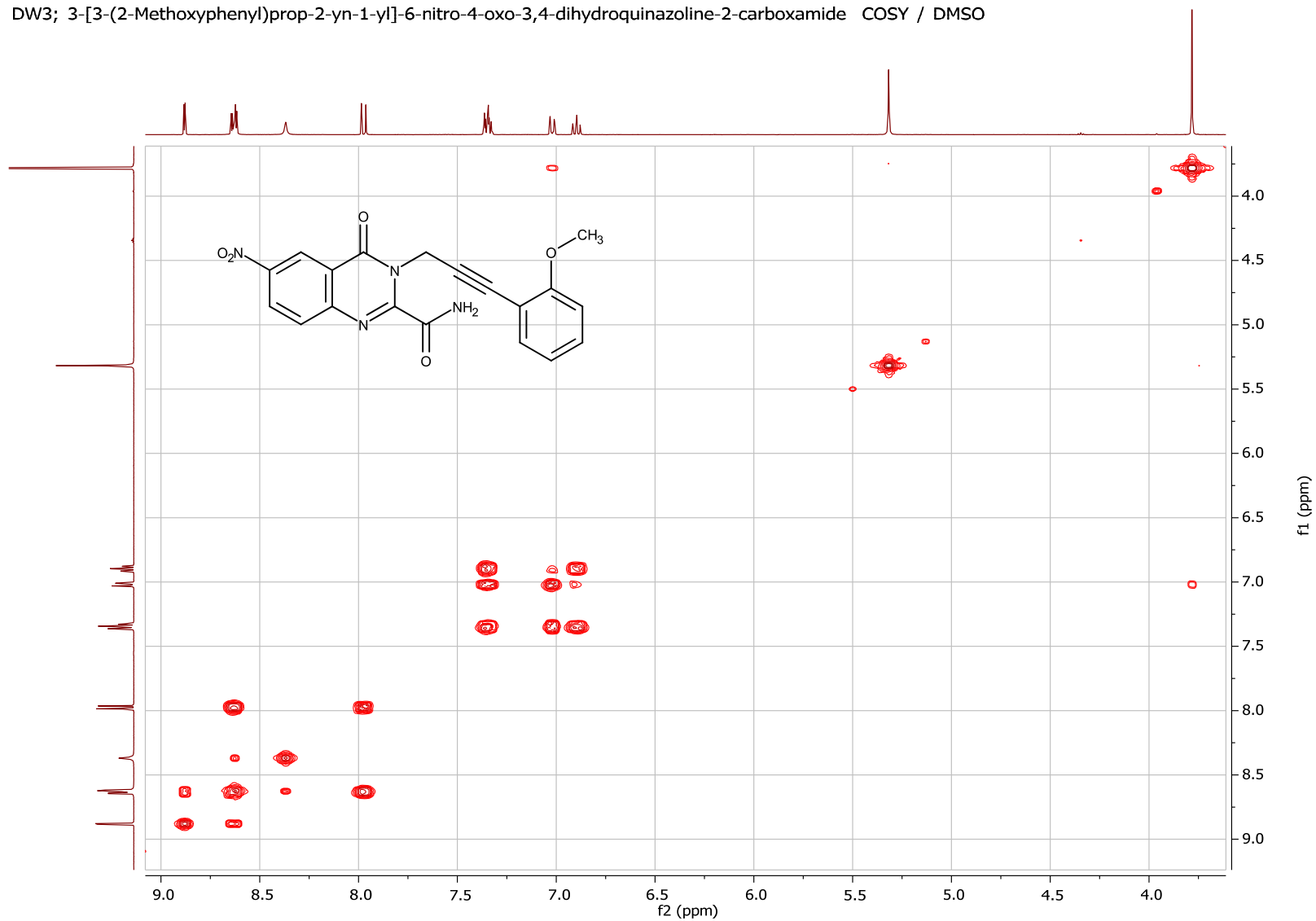
Tafel 14: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5B**)

DW3; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / DMSO



Tafel 15: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5B**)

DW3; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide COSY / DMSO



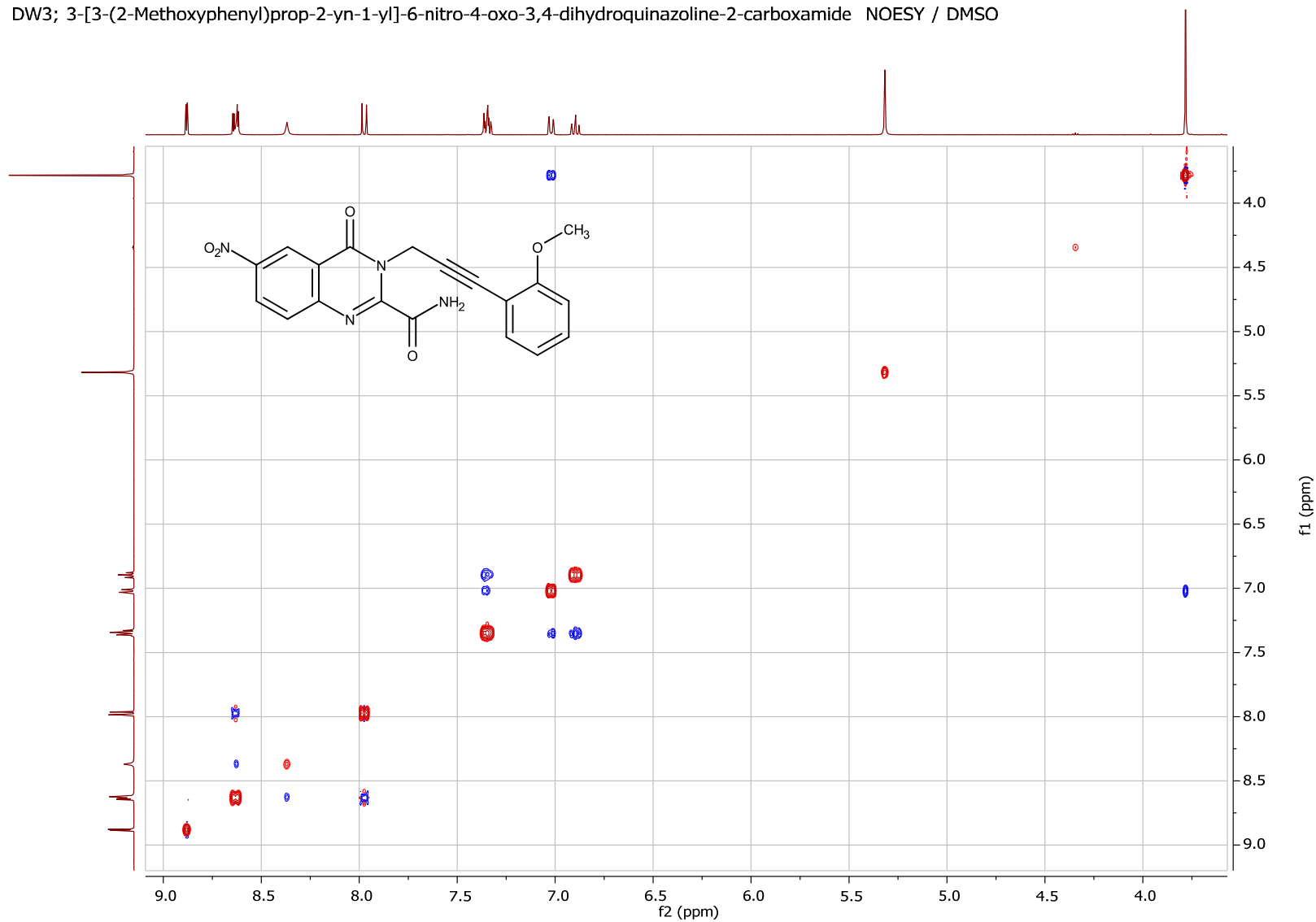
Tafel 16: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5B**)

DW3; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide COSY / DMSO

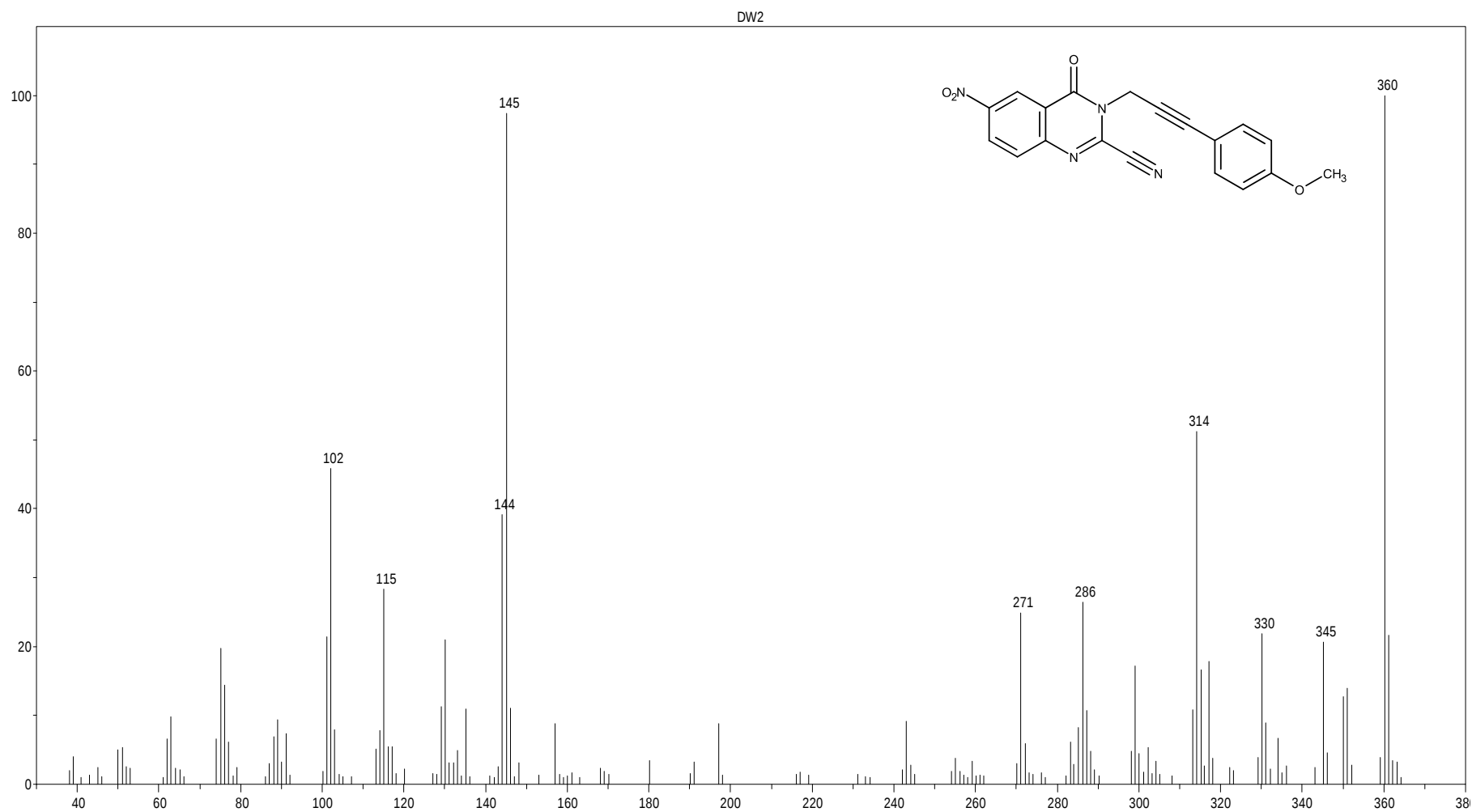


Tafel 17: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5B**)

DW3; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide NOESY / DMSO

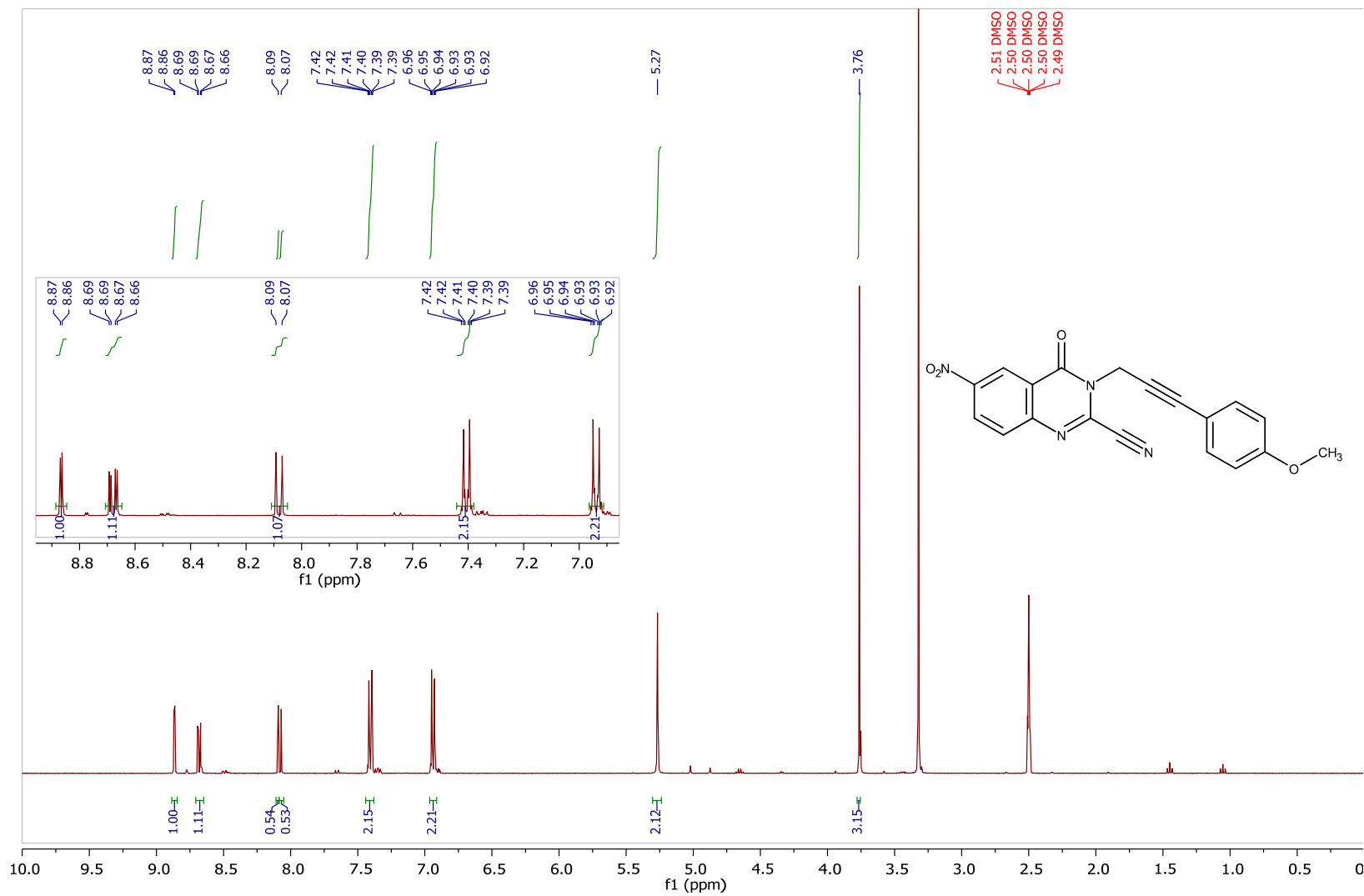


Tafel 18: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**5B**)



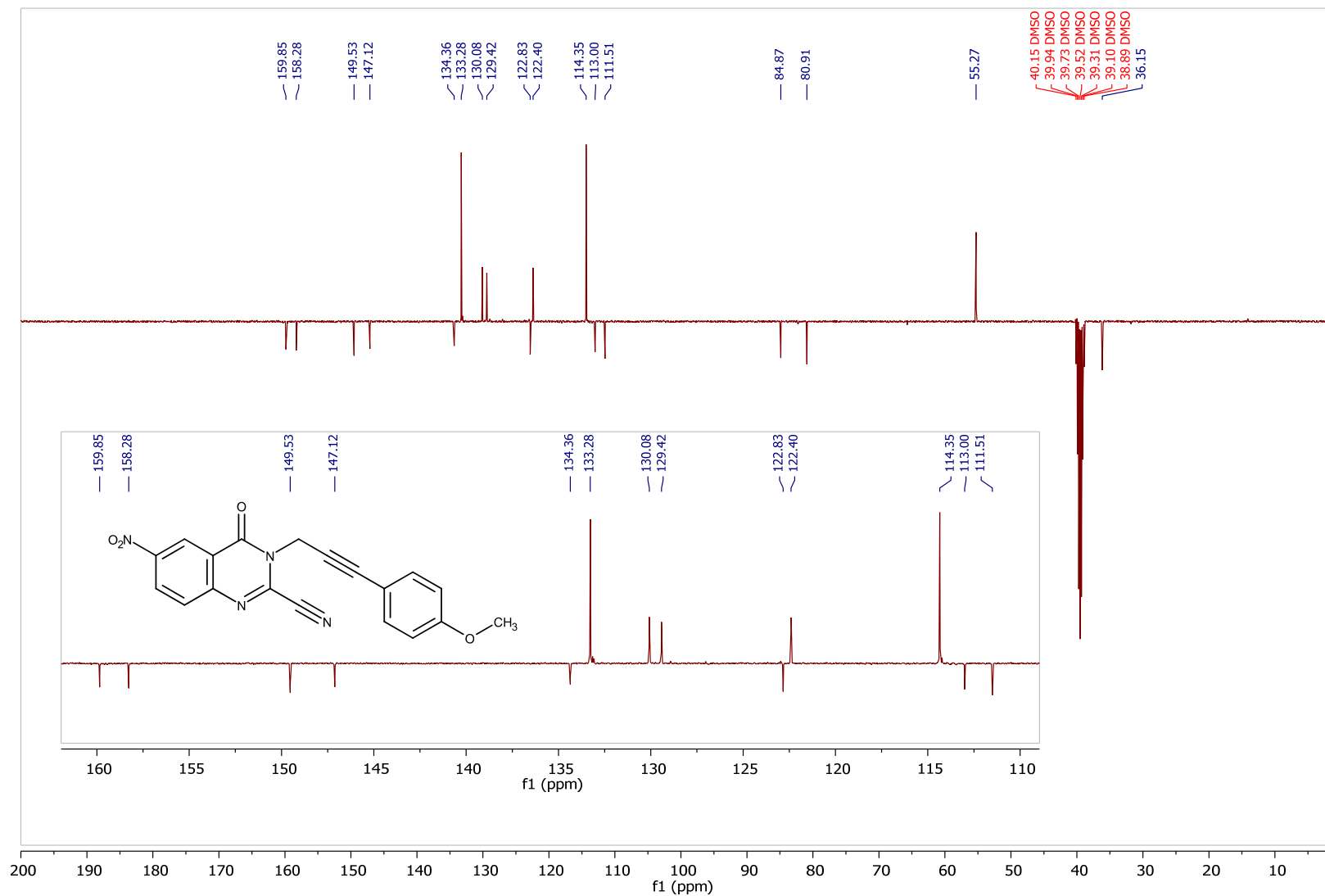
Tafel 19: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6A**)

DW2; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile 1H / DMSO



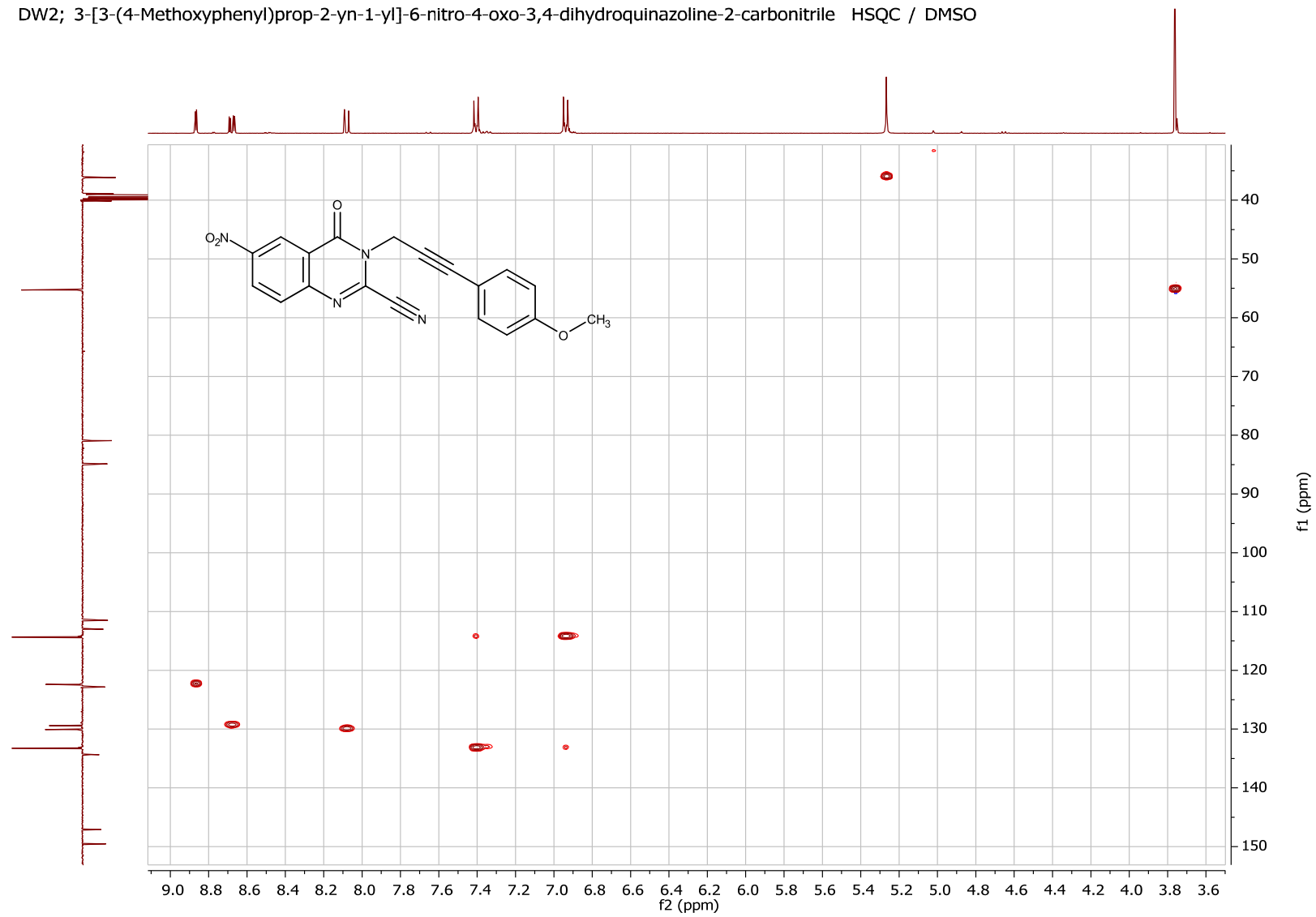
Tafel 20: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6A**)

DW2; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile C13APT / DMSO



Tafel 21: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6A**)

DW2; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile HSQC / DMSO



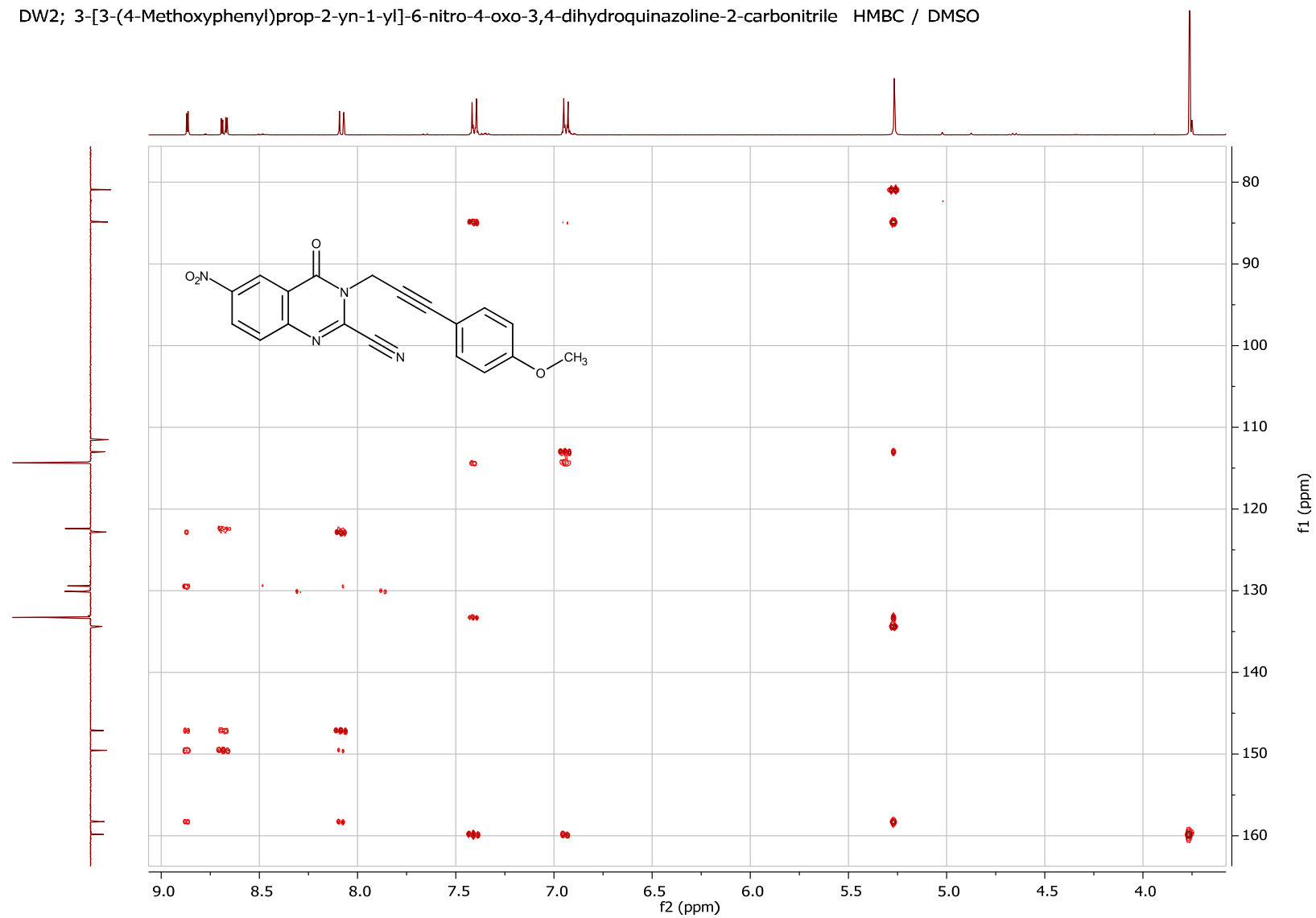
Tafel 22: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6A**)

DW2; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile HSQC / DMSO



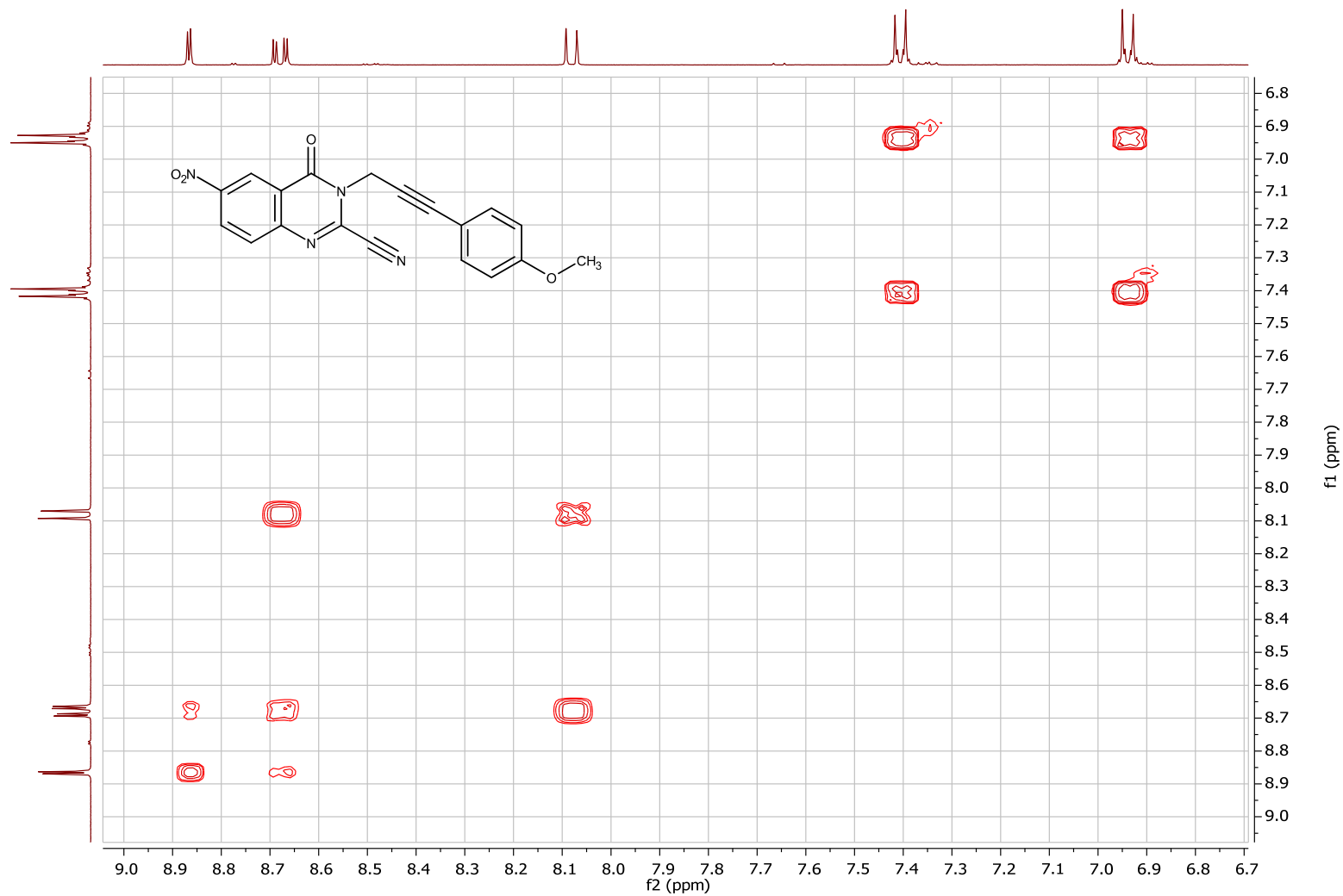
Tafel 23: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6A**)

DW2; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile HMBC / DMSO



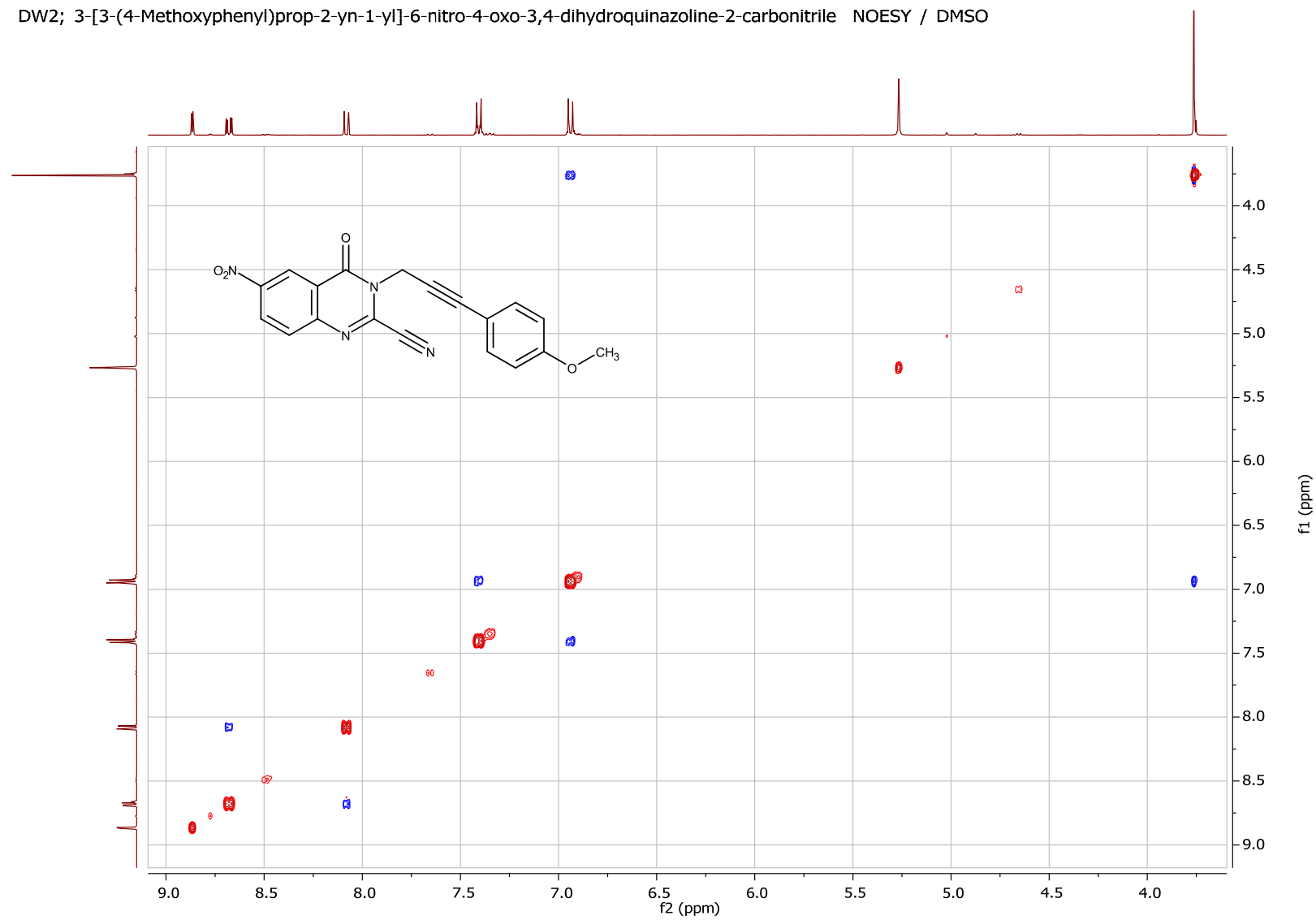
Tafel 24: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6A**)

DW2; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile COSY / DMSO

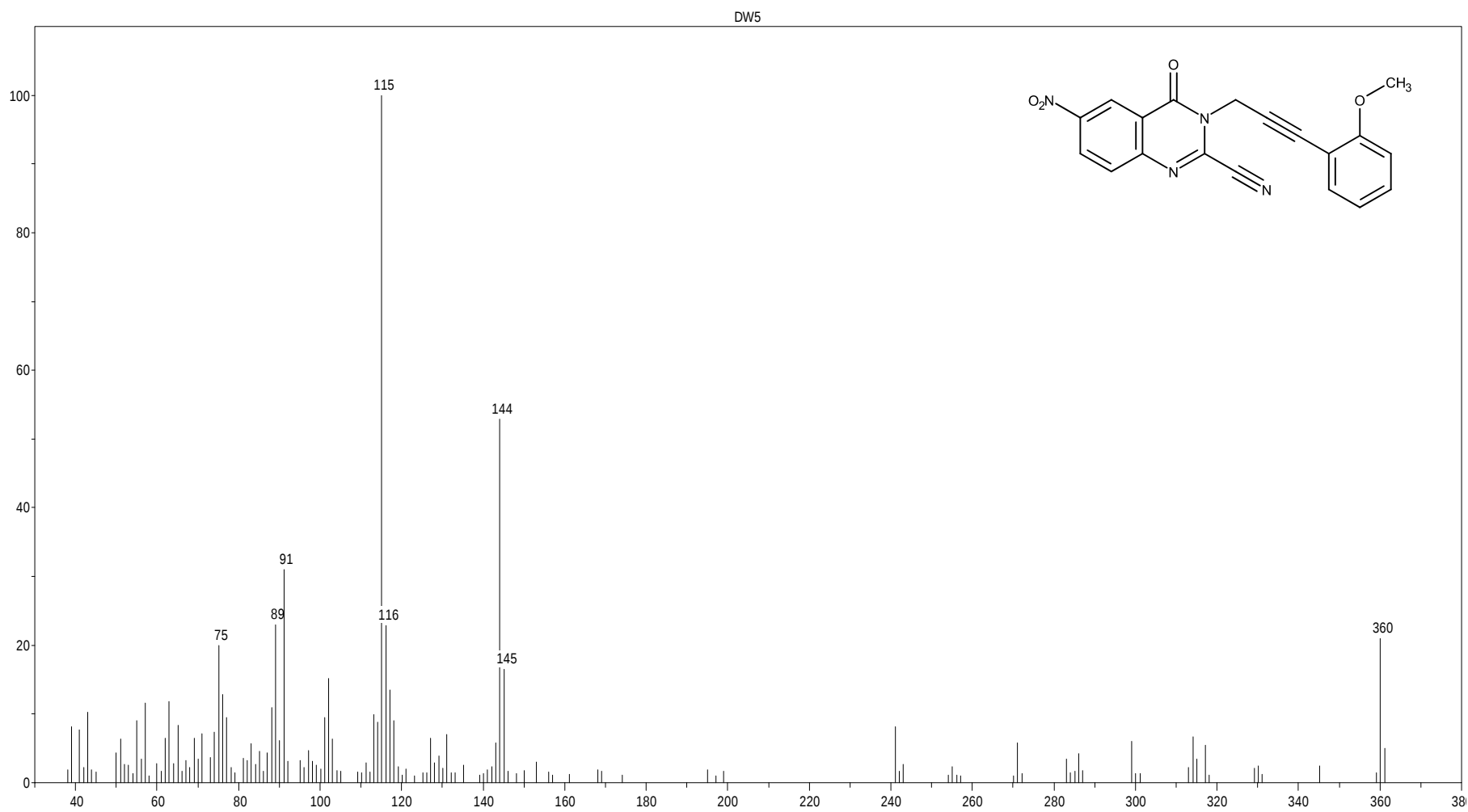


Tafel 25: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6A**)

DW2; 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile NOESY / DMSO

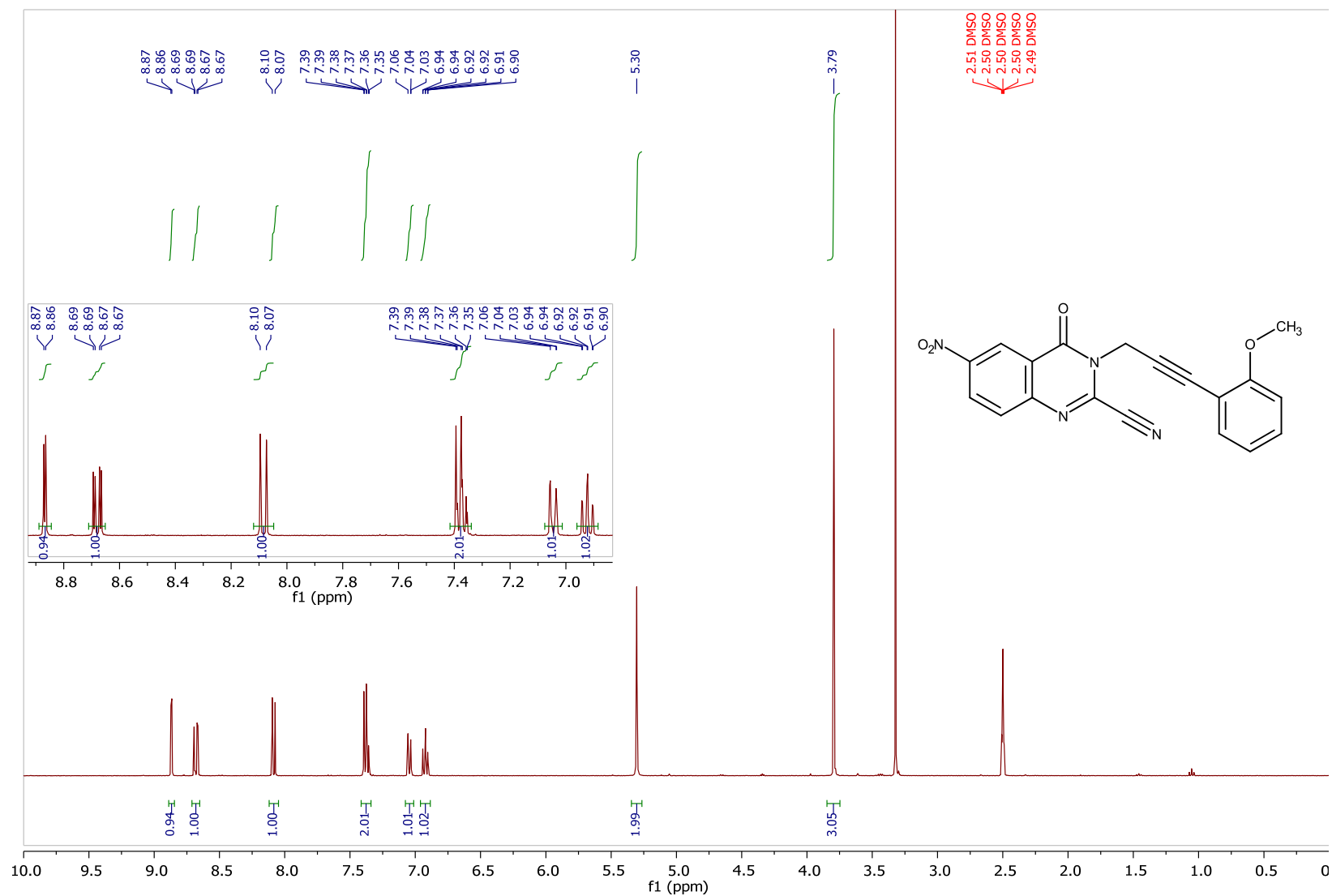


Tafel 26: 3-[3-(4-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6A**)



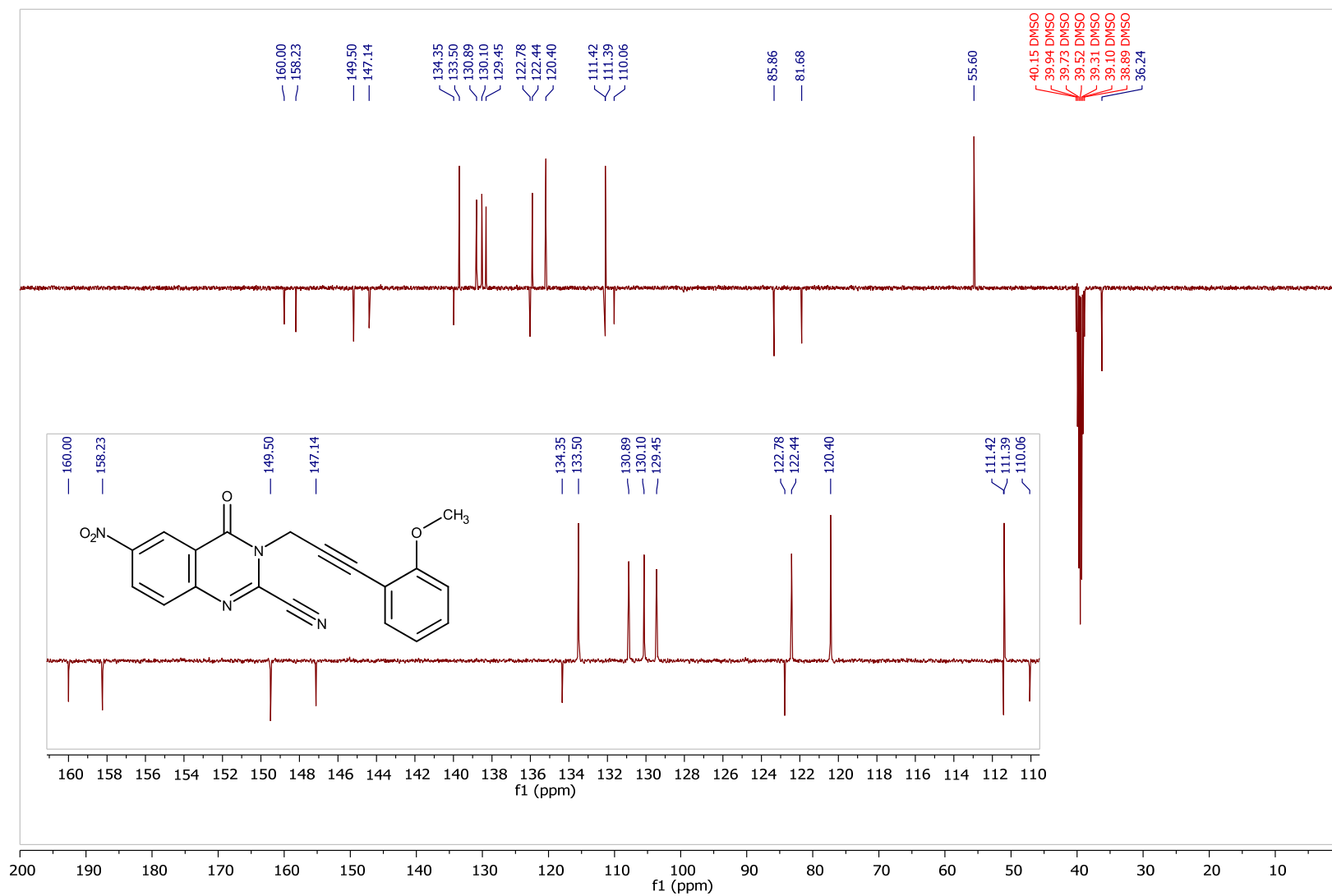
Tafel 27: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6B**)

DW5; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile 1H / DMSO



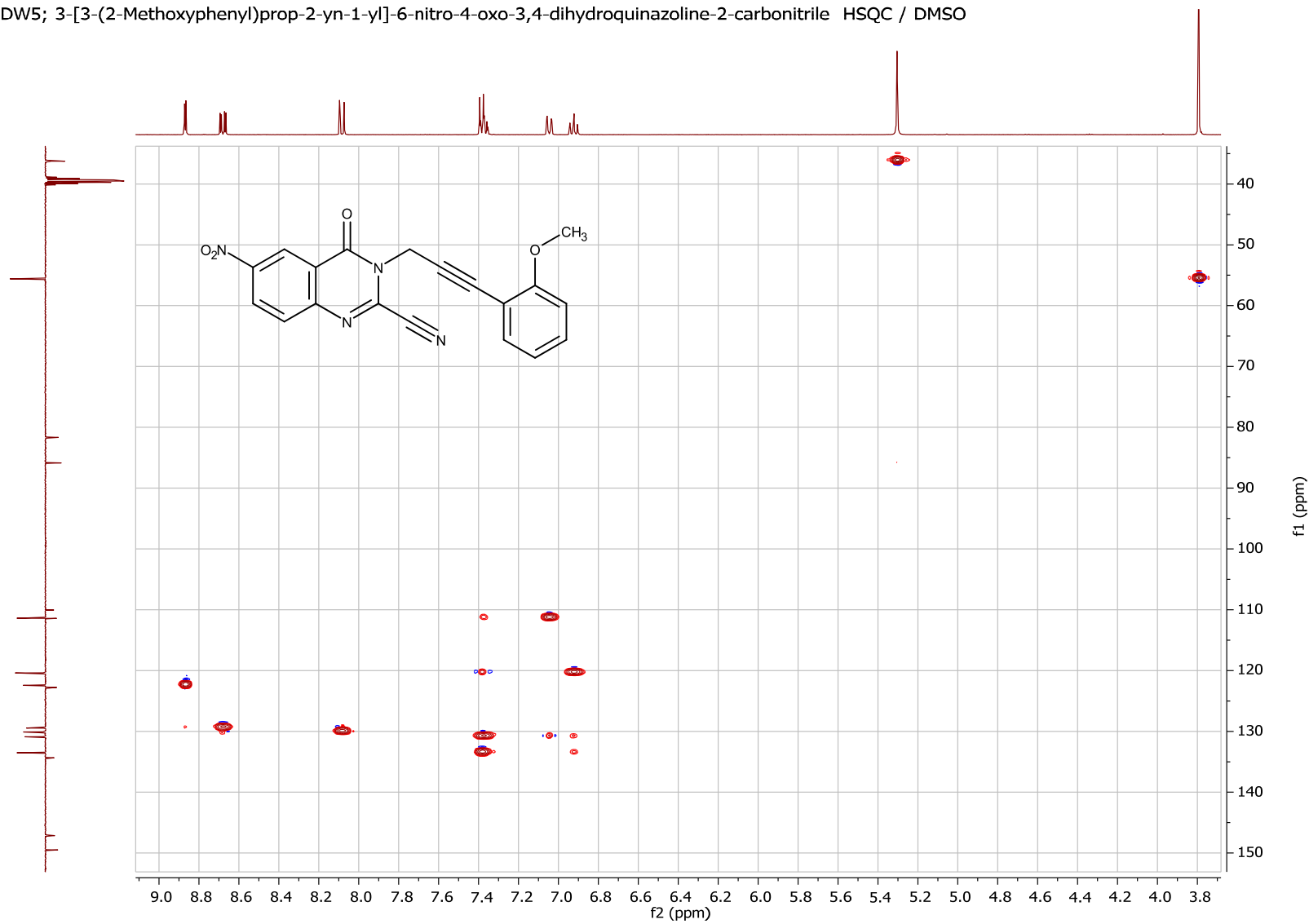
Tafel 28: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6B**)

DW5; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile C13APT / DMSO



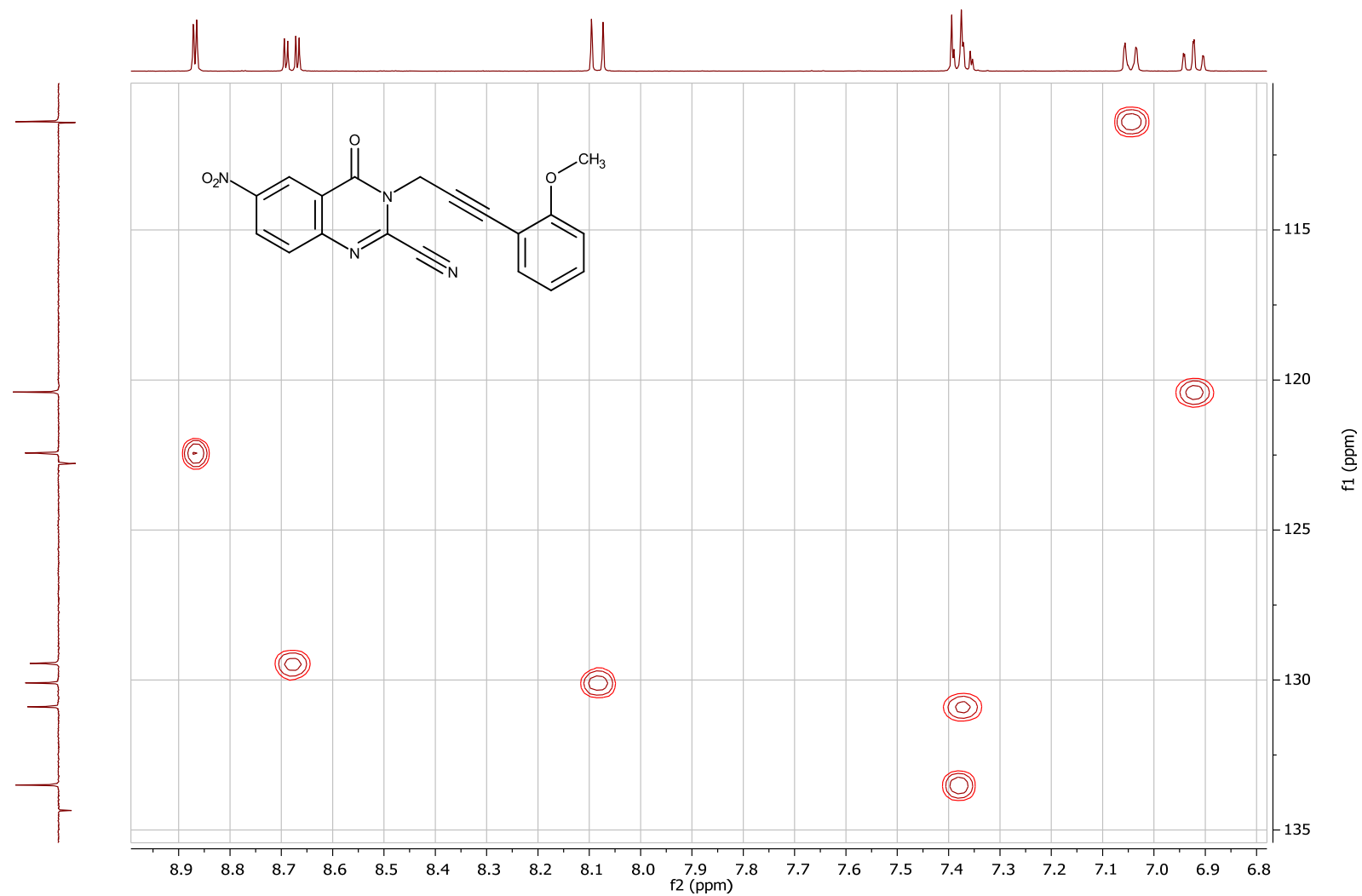
Tafel 29: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6B**)

DW5; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile HSQC / DMSO



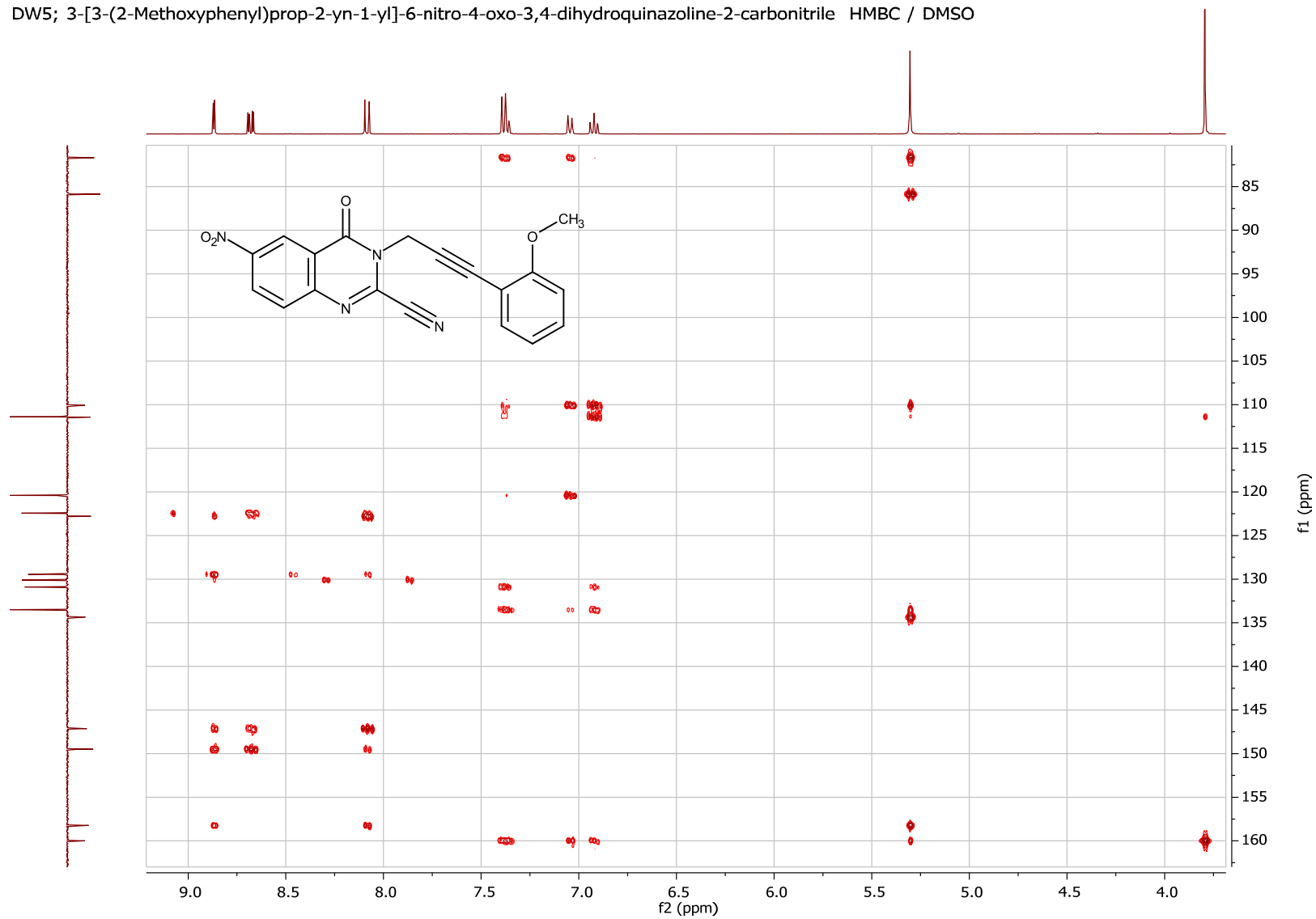
Tafel 30: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6B**)

DW5; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile HSQC / DMSO



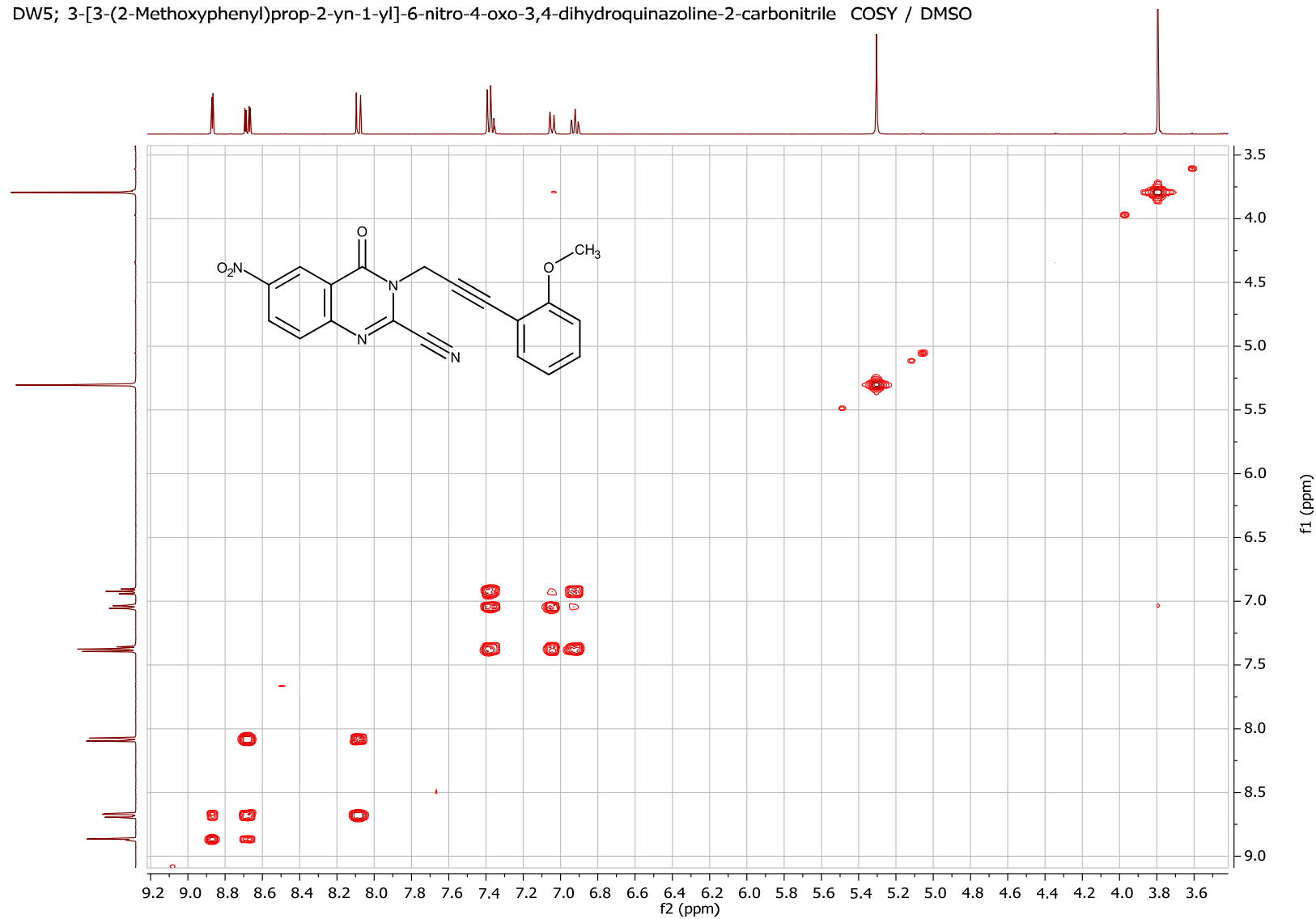
Tafel 31: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6B**)

DW5; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile HMBC / DMSO



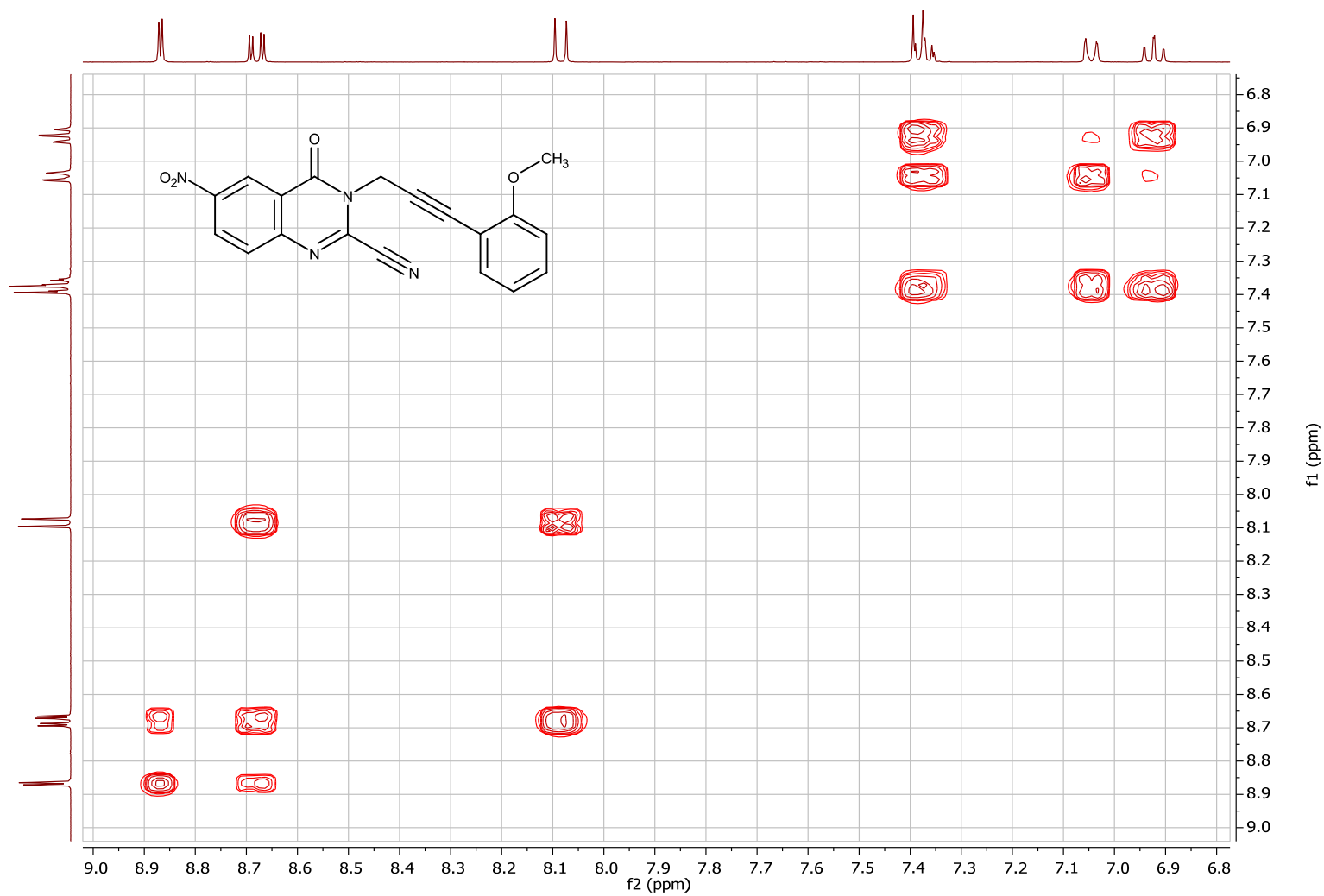
Tafel 32: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6B**)

DW5; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile COSY / DMSO



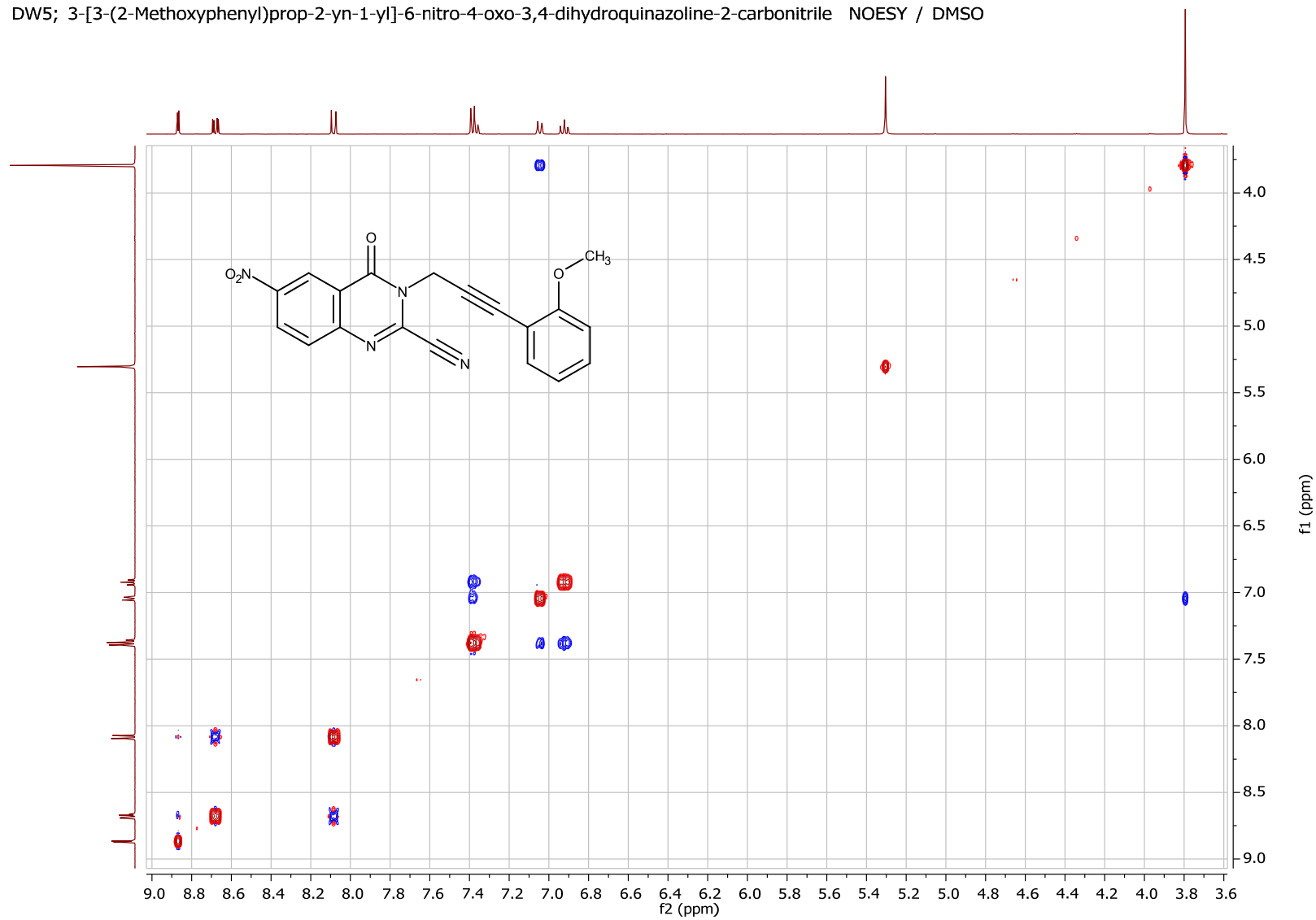
Tafel 33: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6B**)

DW5; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile COSY / DMSO



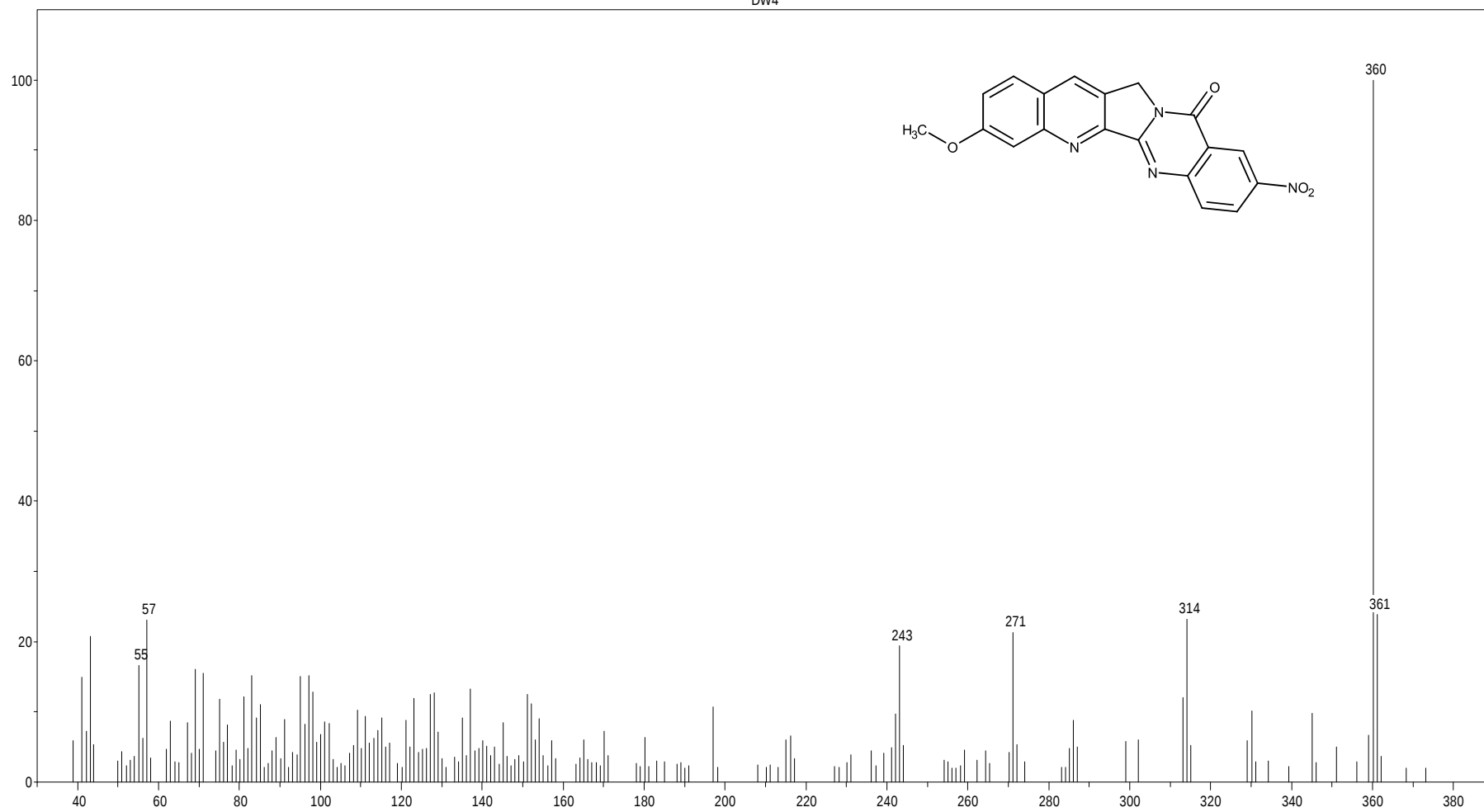
Tafel 34: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6B**)

DW5; 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-yn-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile NOESY / DMSO



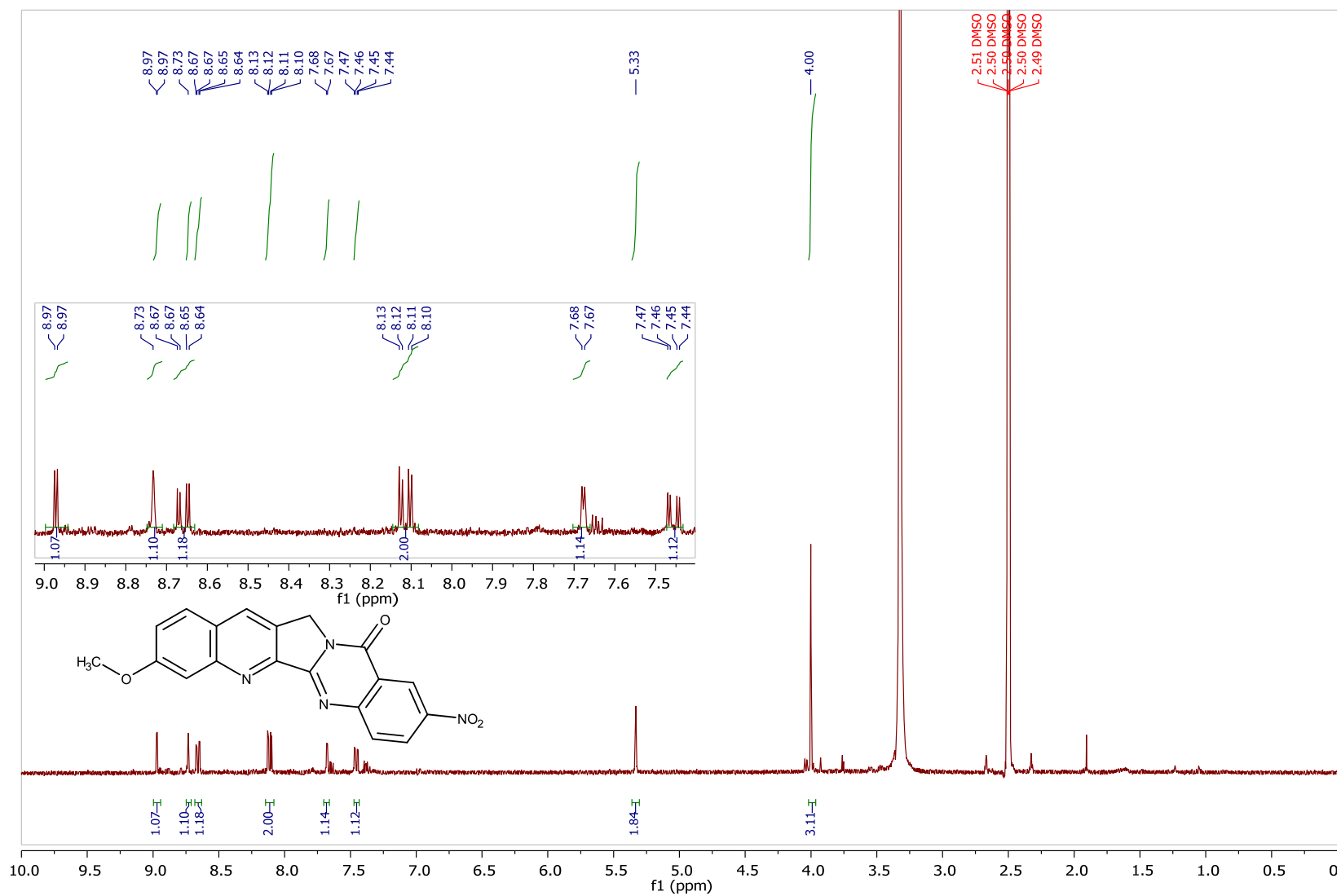
Tafel 35: 3-[3-(2-Methoxyphenyl)prop-2-in-1-yl]-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6B**)

DW4



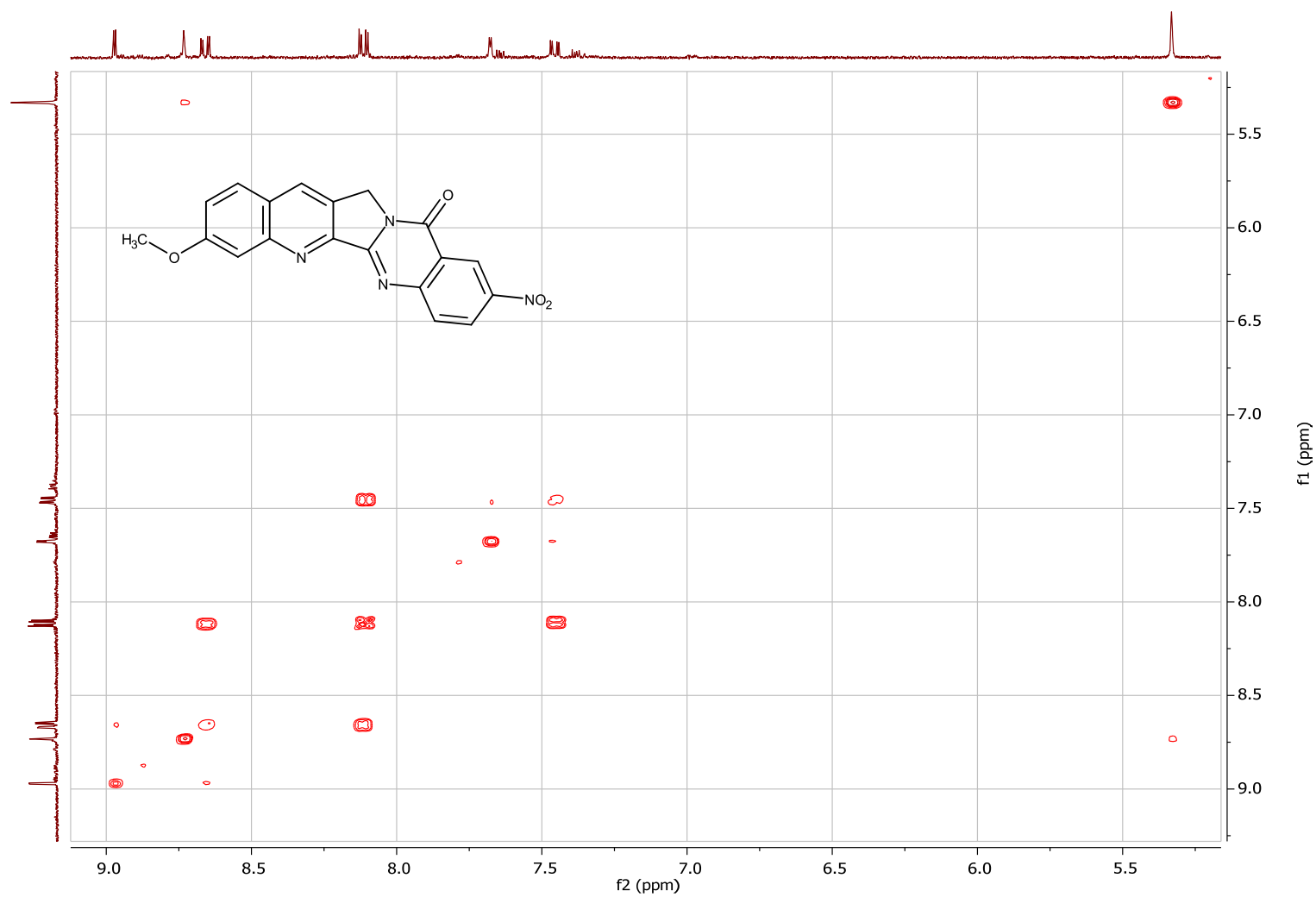
Tafel 36: 3-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**7A**)

DW4; 3-Methoxy-9-nitroquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one 1H / DMSO



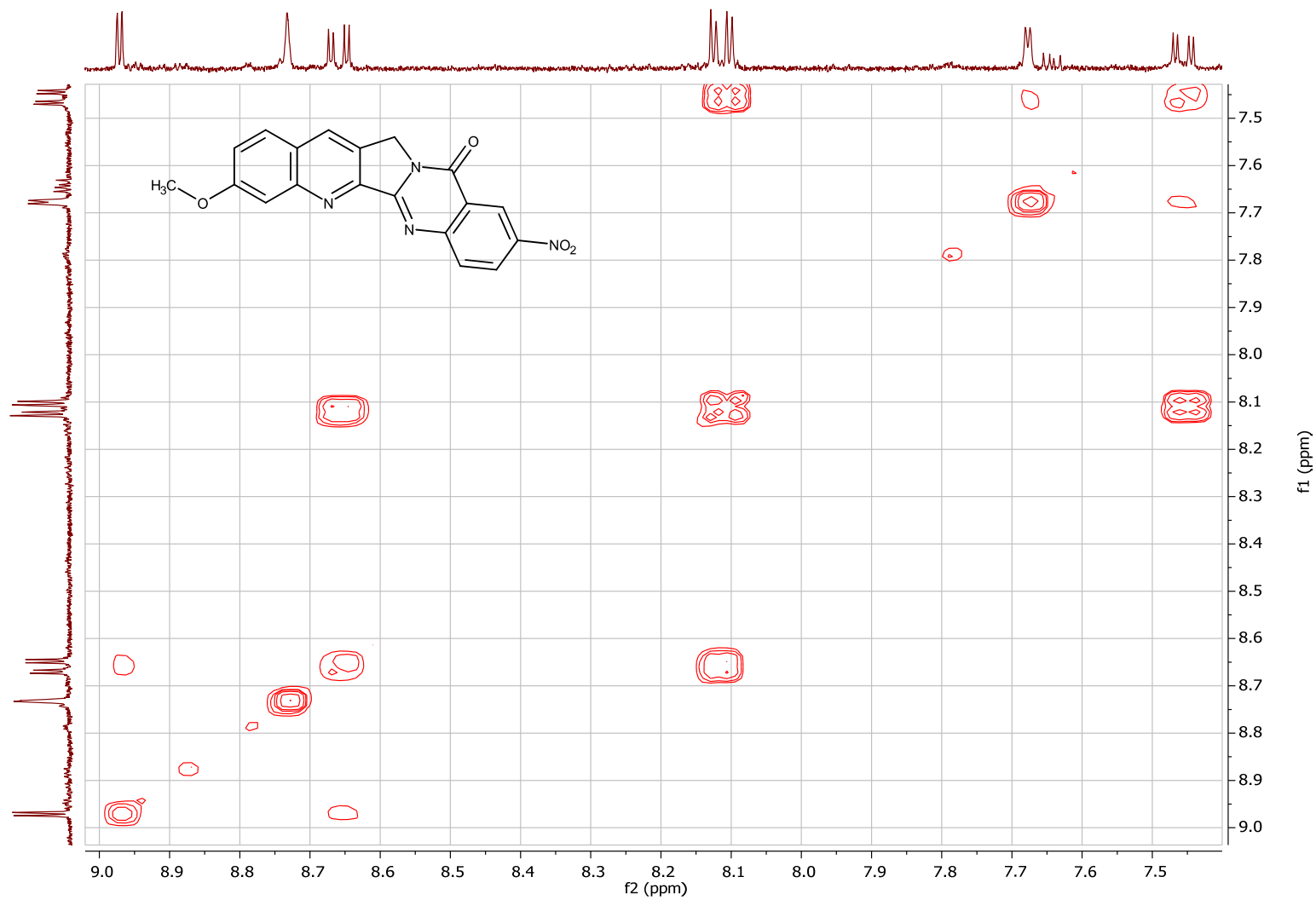
Tafel 37: 3-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (**7A**)

DW4; 3-Methoxy-9-nitroquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / DMSO



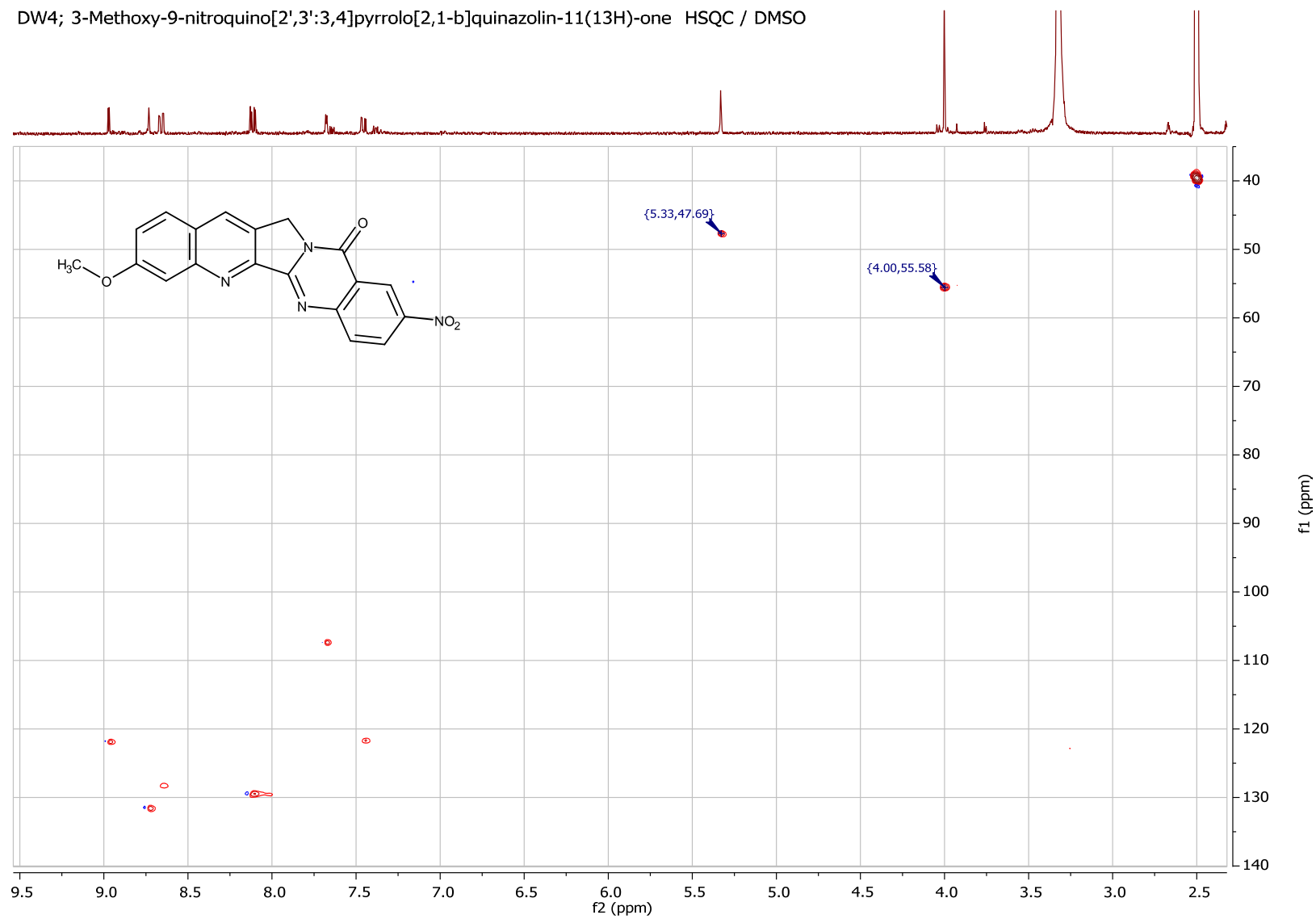
Tafel 38: 3-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**7A**)

DW4; 3-Methoxy-9-nitroquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / DMSO



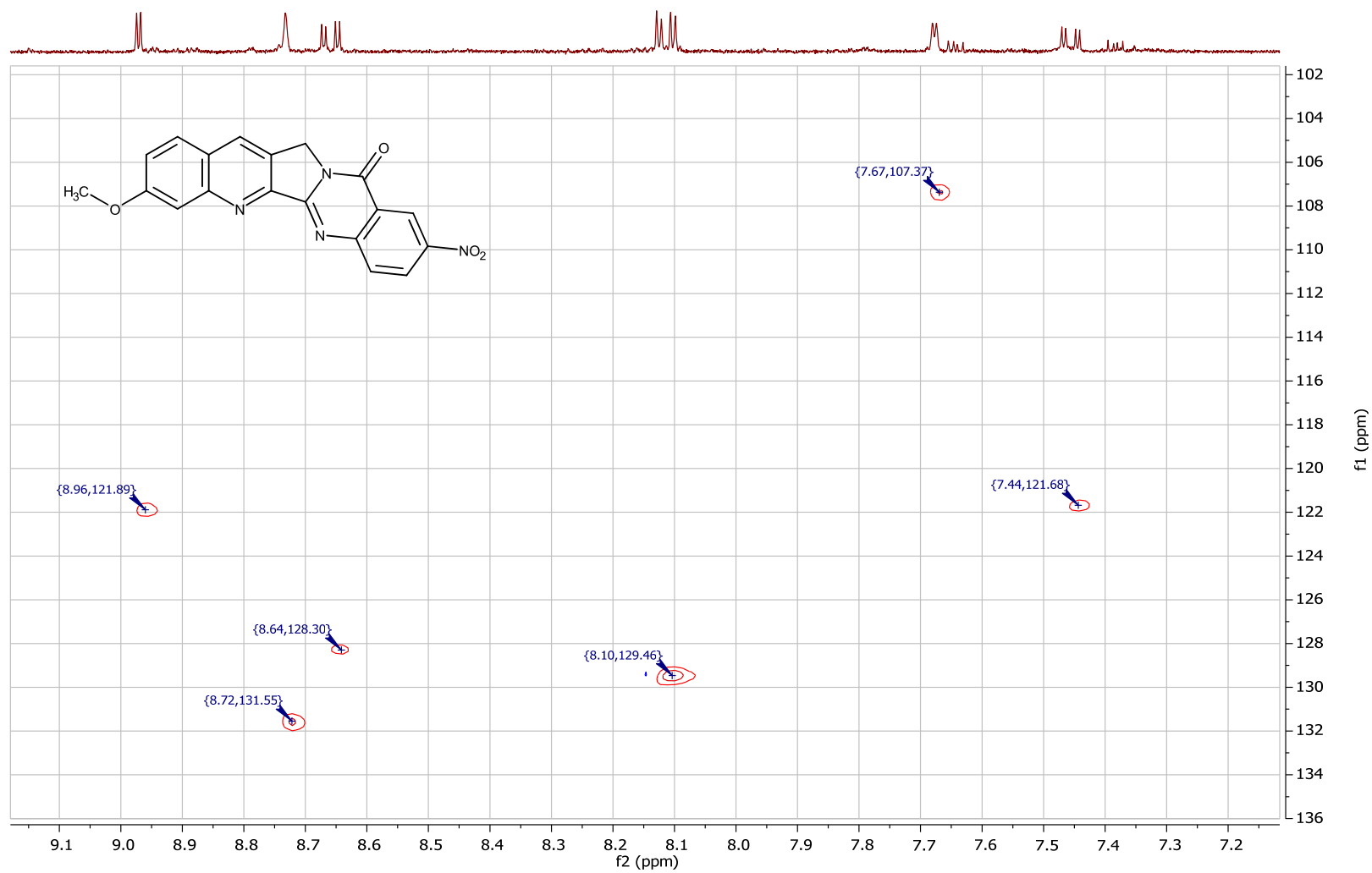
Tafel 39: 3-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**7A**)

DW4; 3-Methoxy-9-nitroquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO

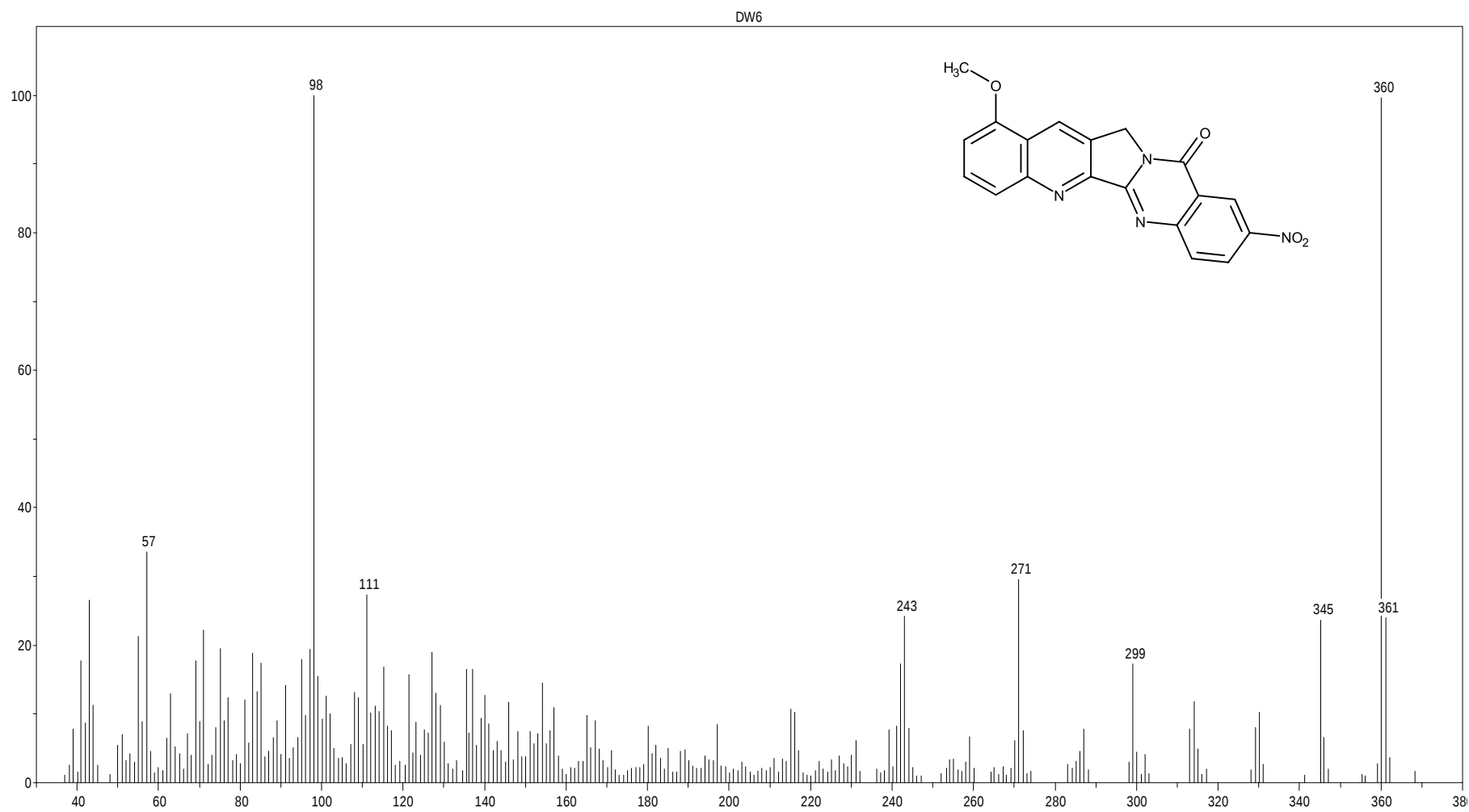


Tafel 40: 3-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**7A**)

DW4; 3-Methoxy-9-nitroquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO

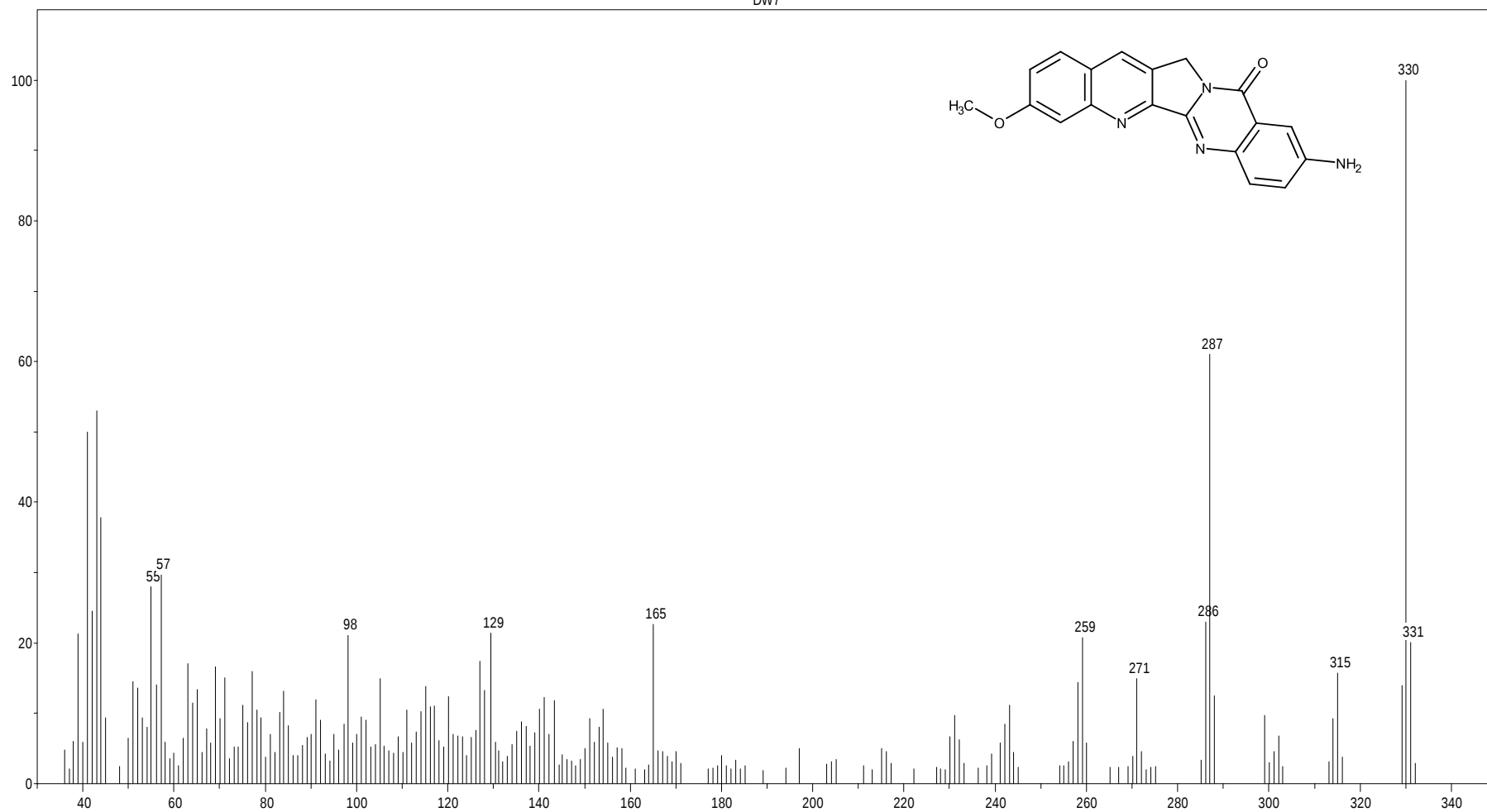


Tafel 41: 3-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (7A)



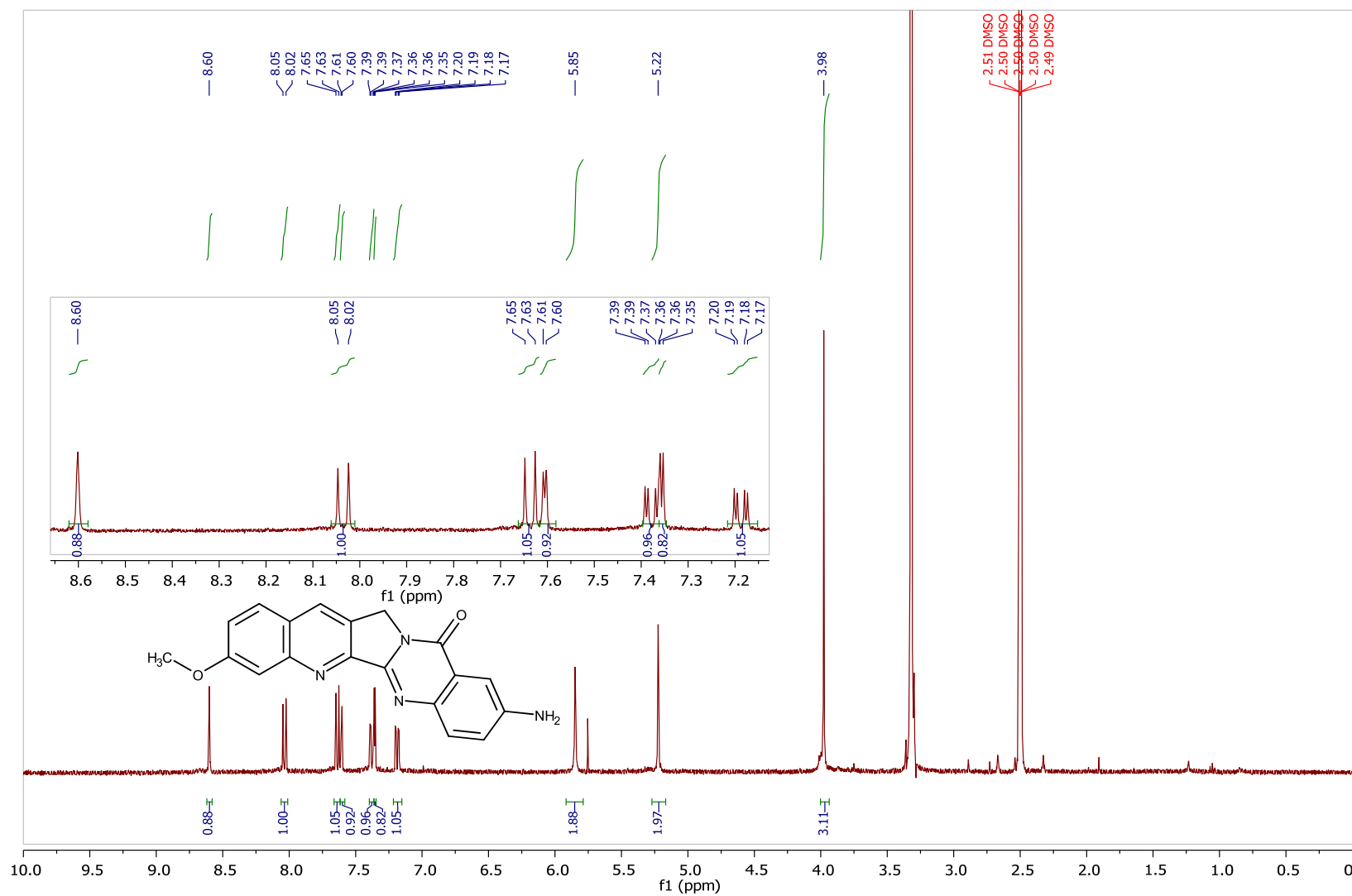
Tafel 42: 1-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**7B**)

DW7



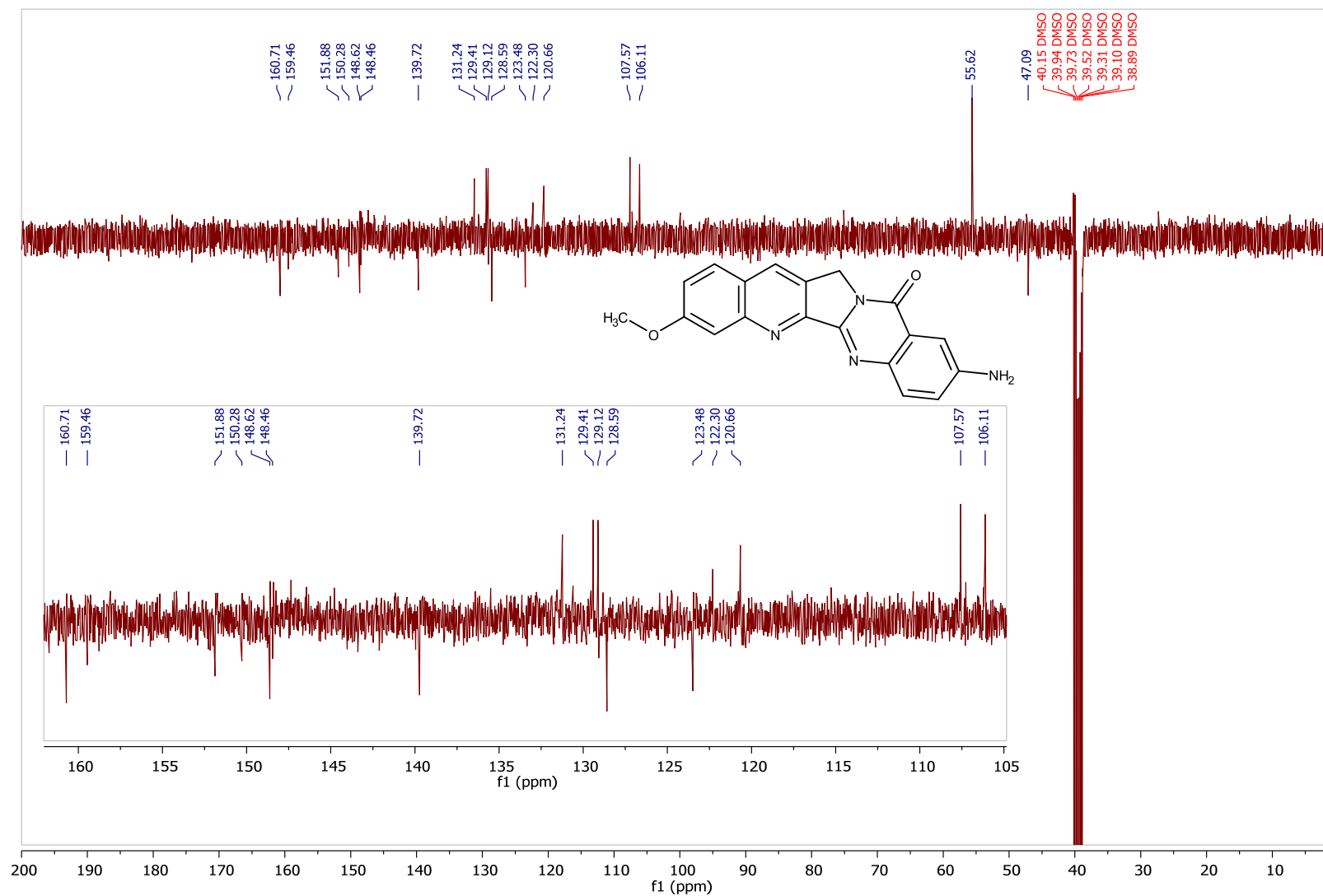
Tafel 43: 9-Amino-3-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8A**)

DW7; 9-Amino-3-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one 1H / DMSO



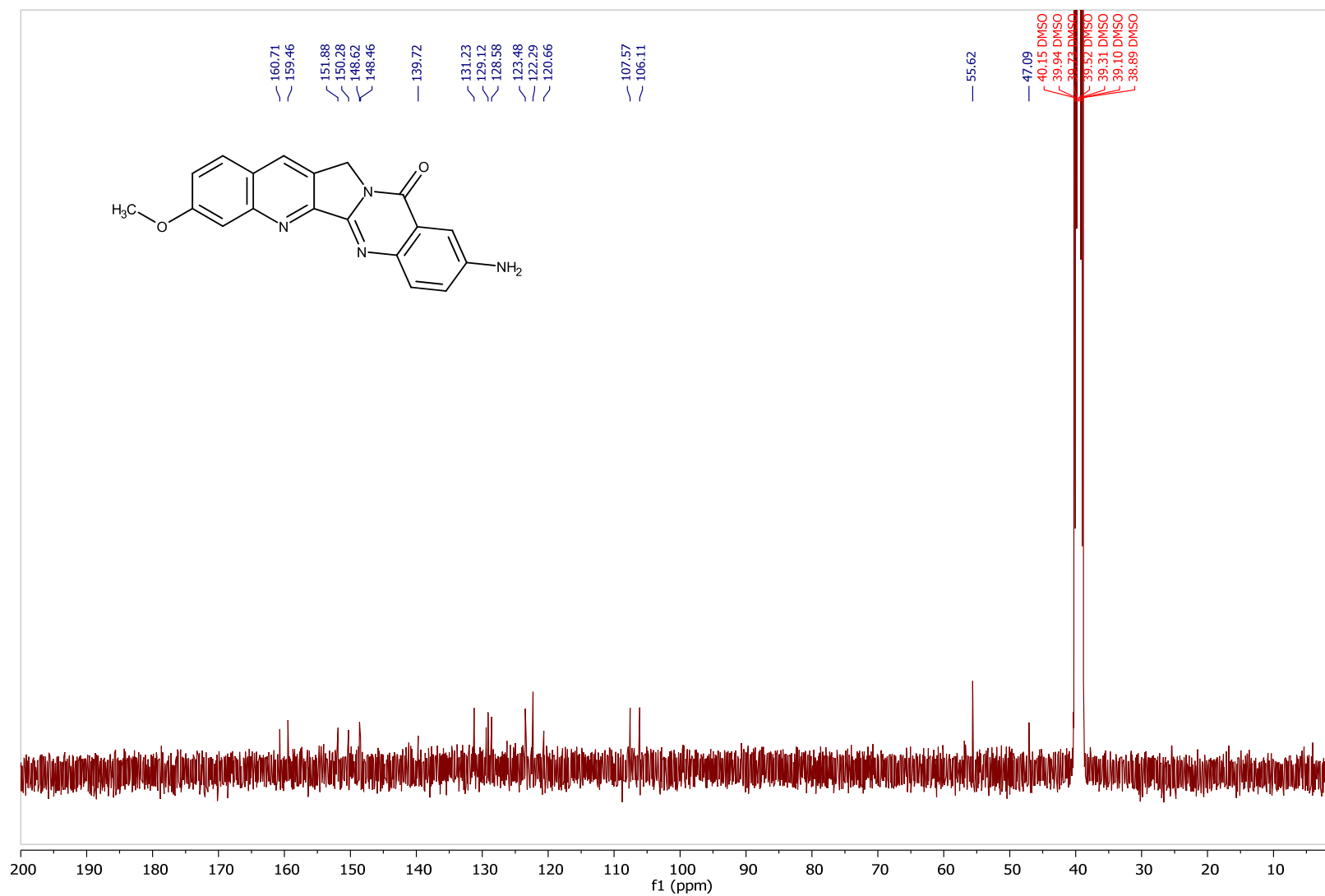
Tafel 44: 9-Amino-3-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8A**)

DW7; 9-Amino-3-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one C13APT / DMSO



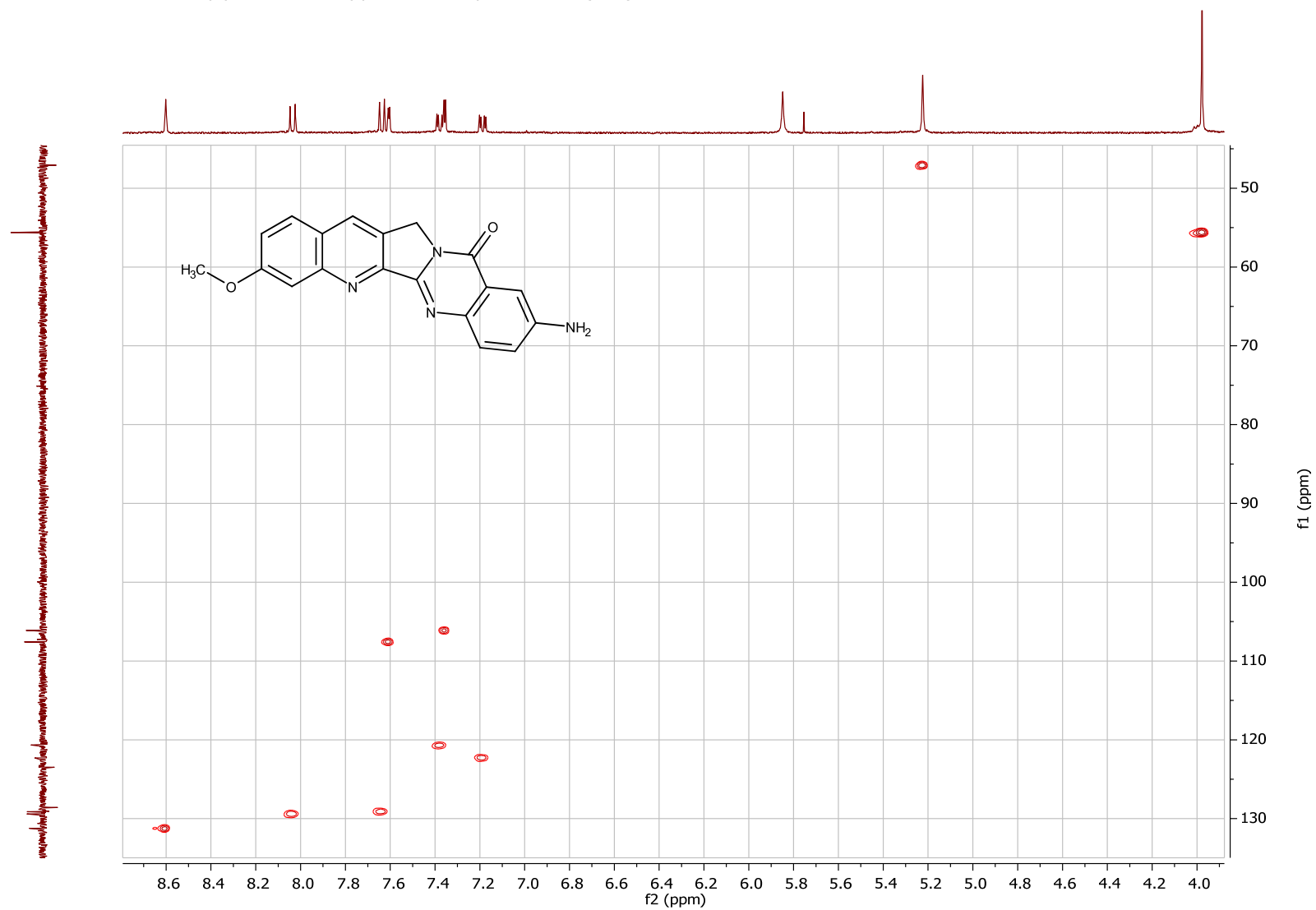
Tafel 45: 9-Amino-3-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (8A)

DW7; 9-Amino-3-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one C13CPD / DMSO



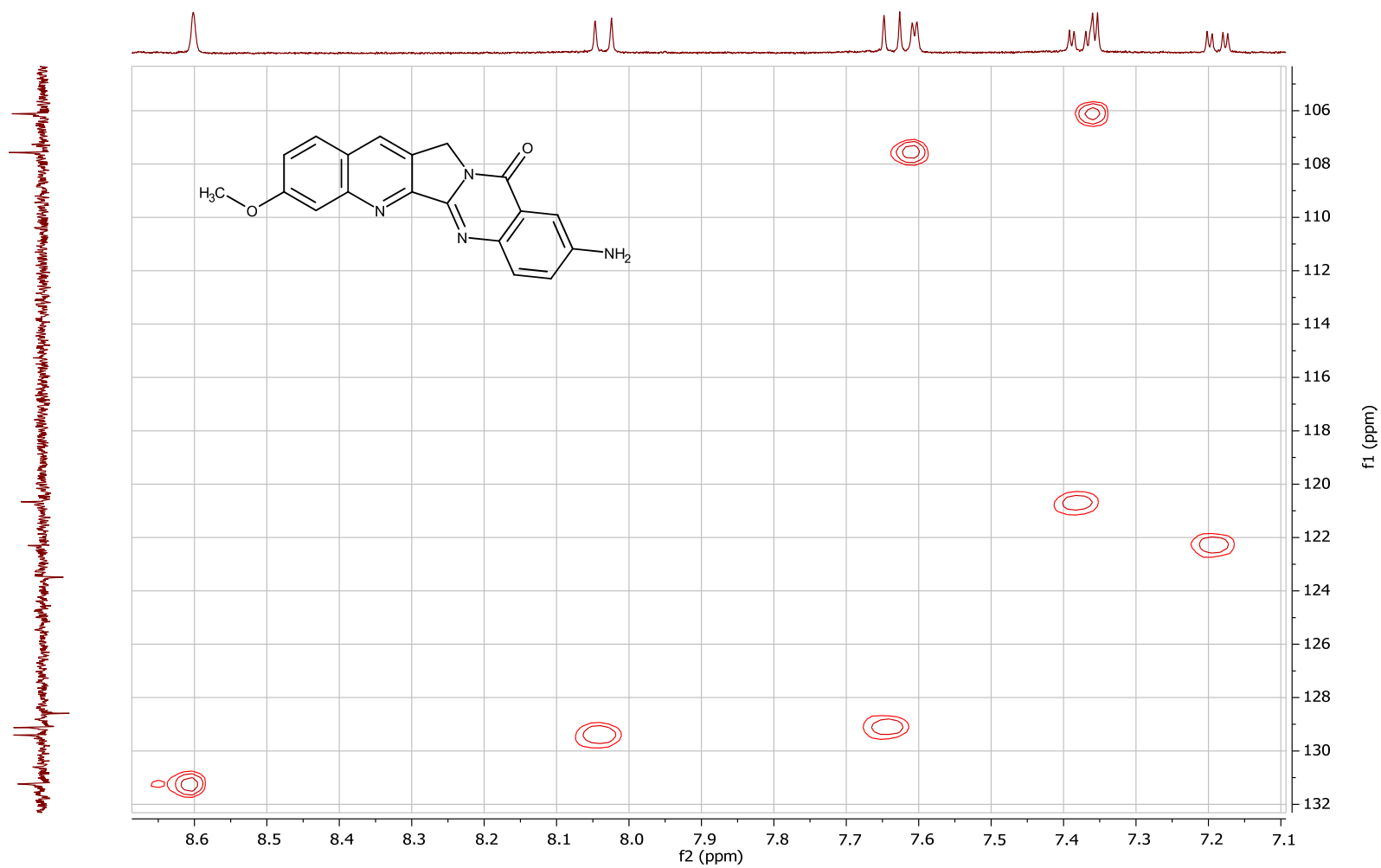
Tafel 46: 9-Amino-3-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (8A)

DW7; 9-Amino-3-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO



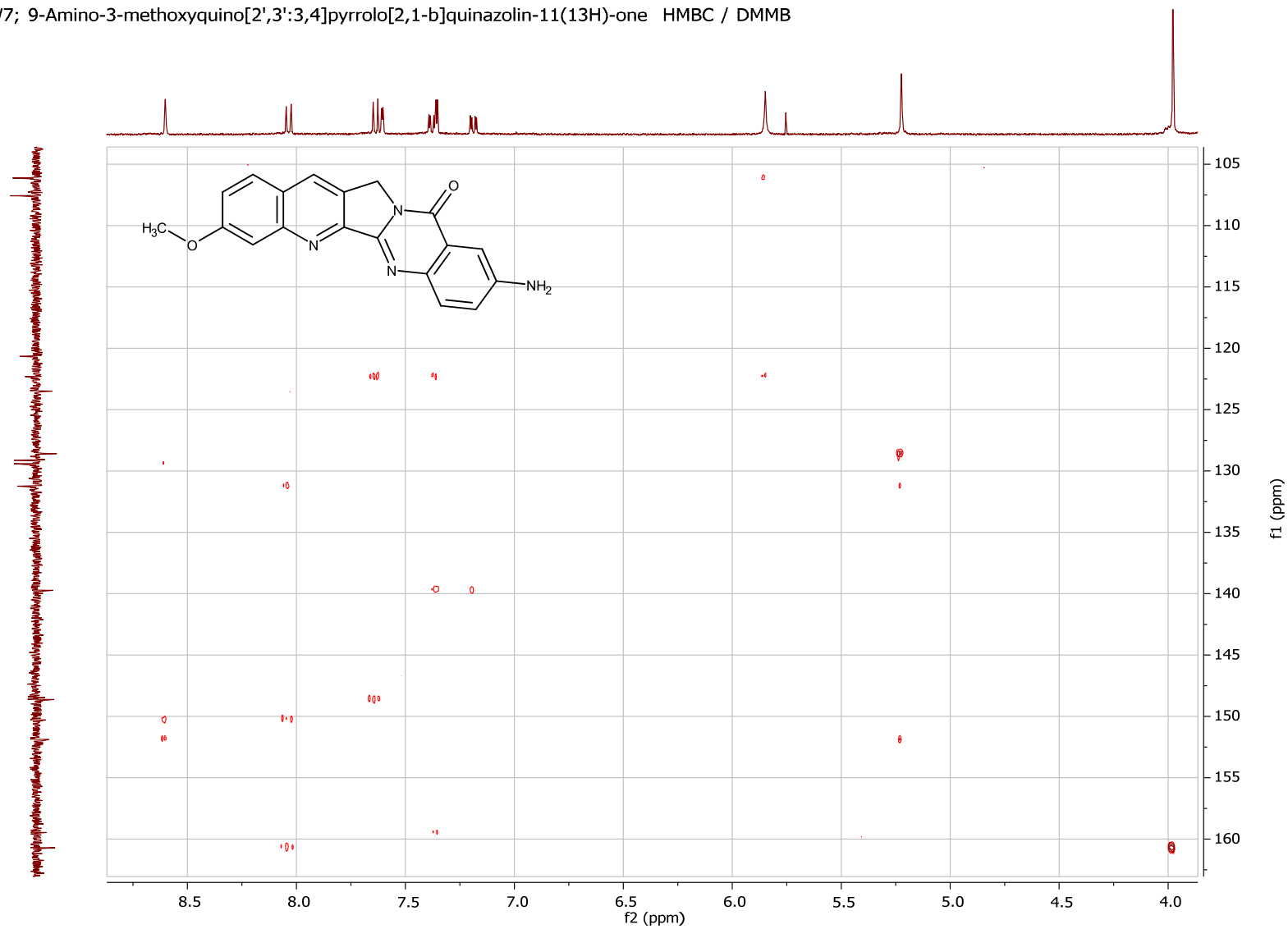
Tafel 47: 9-Amino-3-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8A**)

DW7; 9-Amino-3-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO



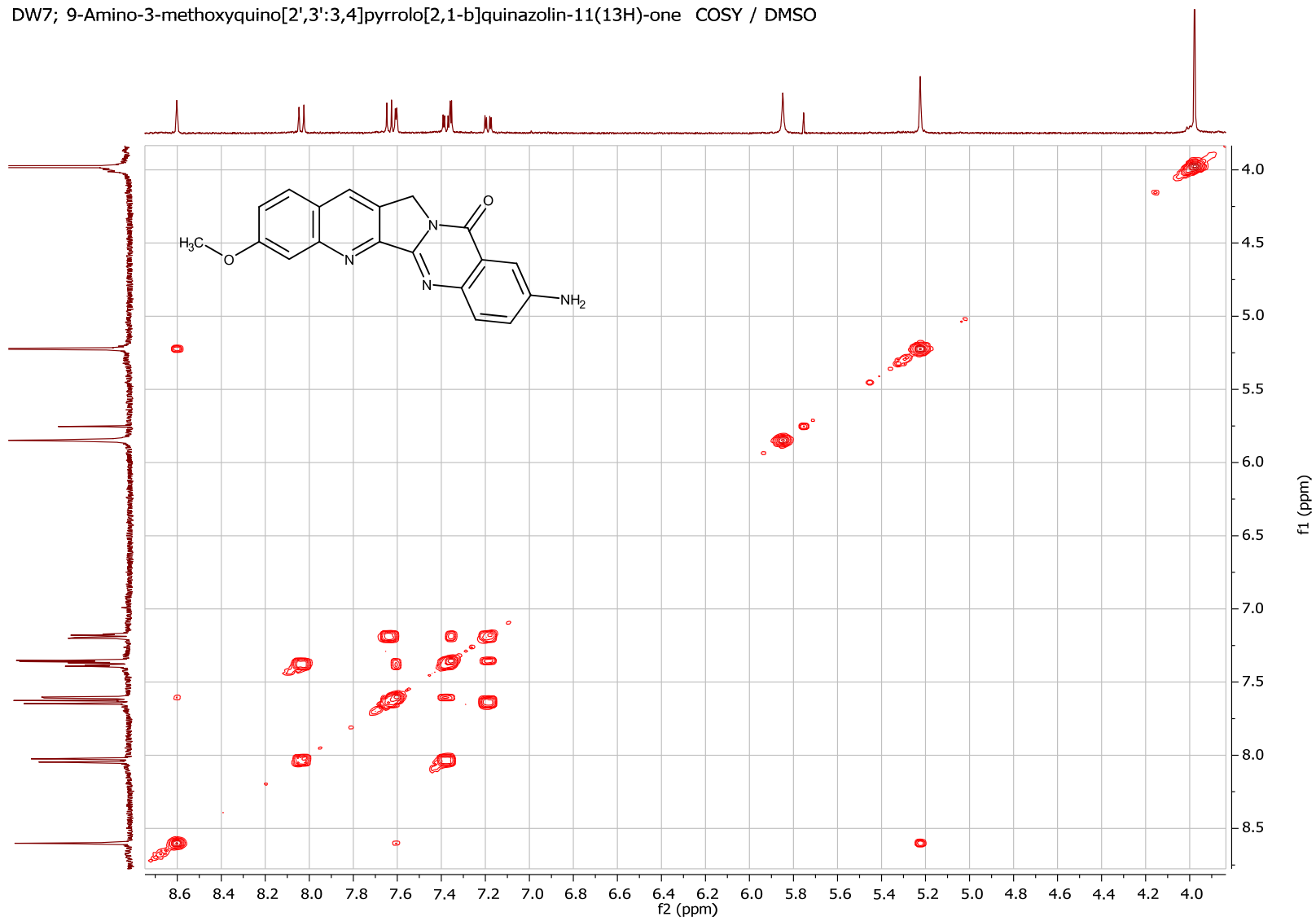
Tafel 48: 9-Amino-3-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (8A)

DW7; 9-Amino-3-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HMBC / DMMB



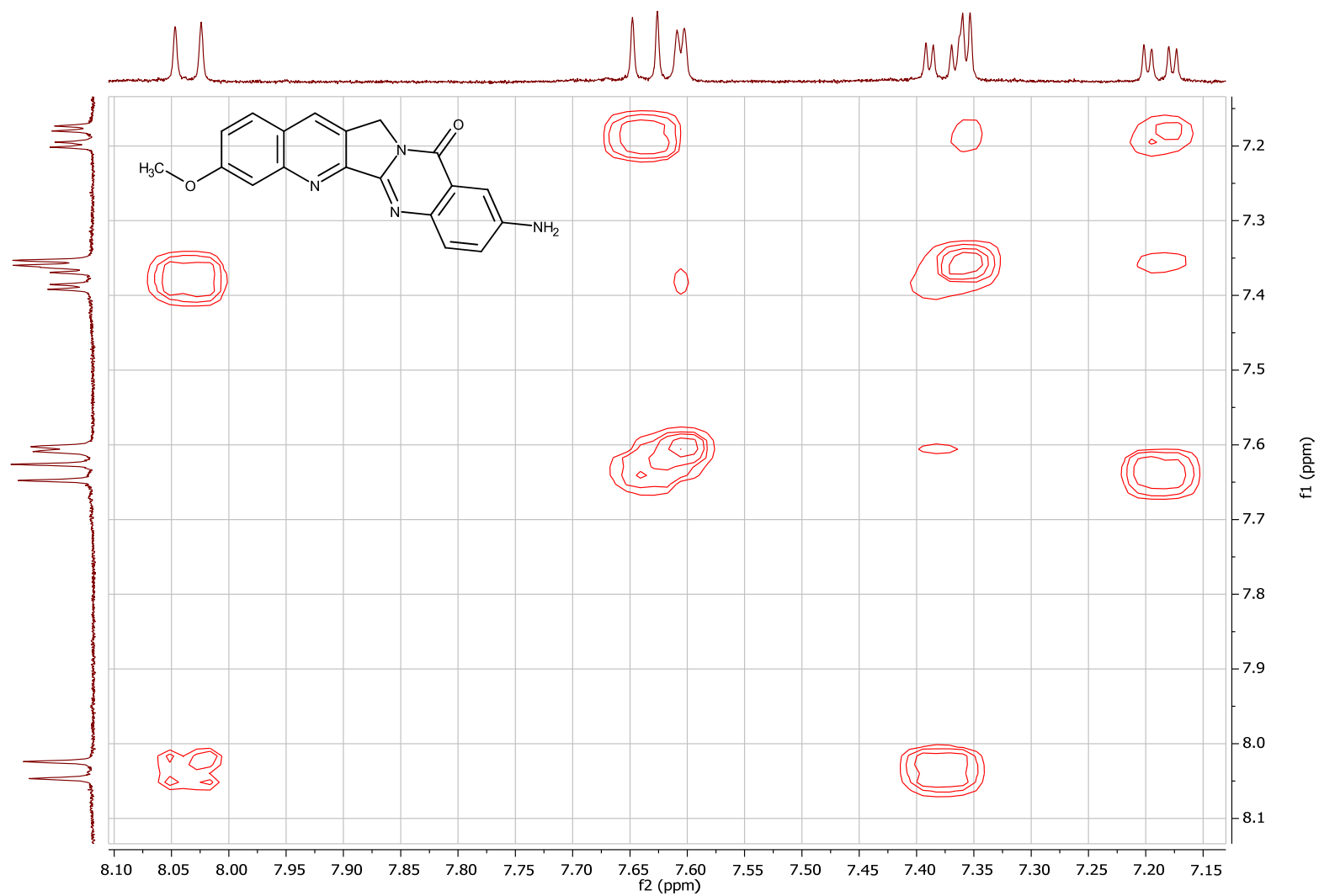
Tafel 49: 9-Amino-3-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (8A)

DW7; 9-Amino-3-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / DMSO



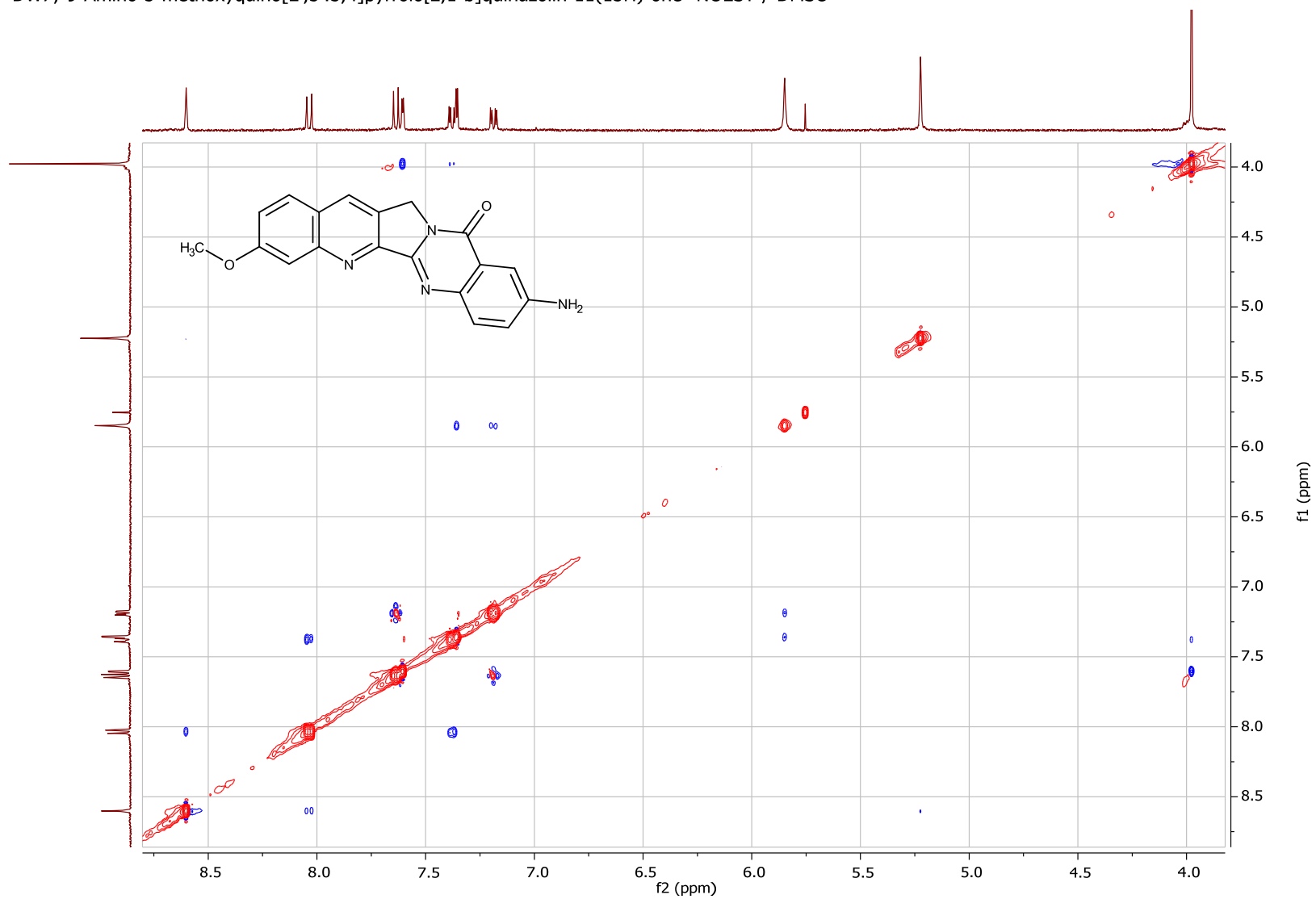
Tafel 50: 9-Amino-3-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8A**)

DW7; 9-Amino-3-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / DMSO



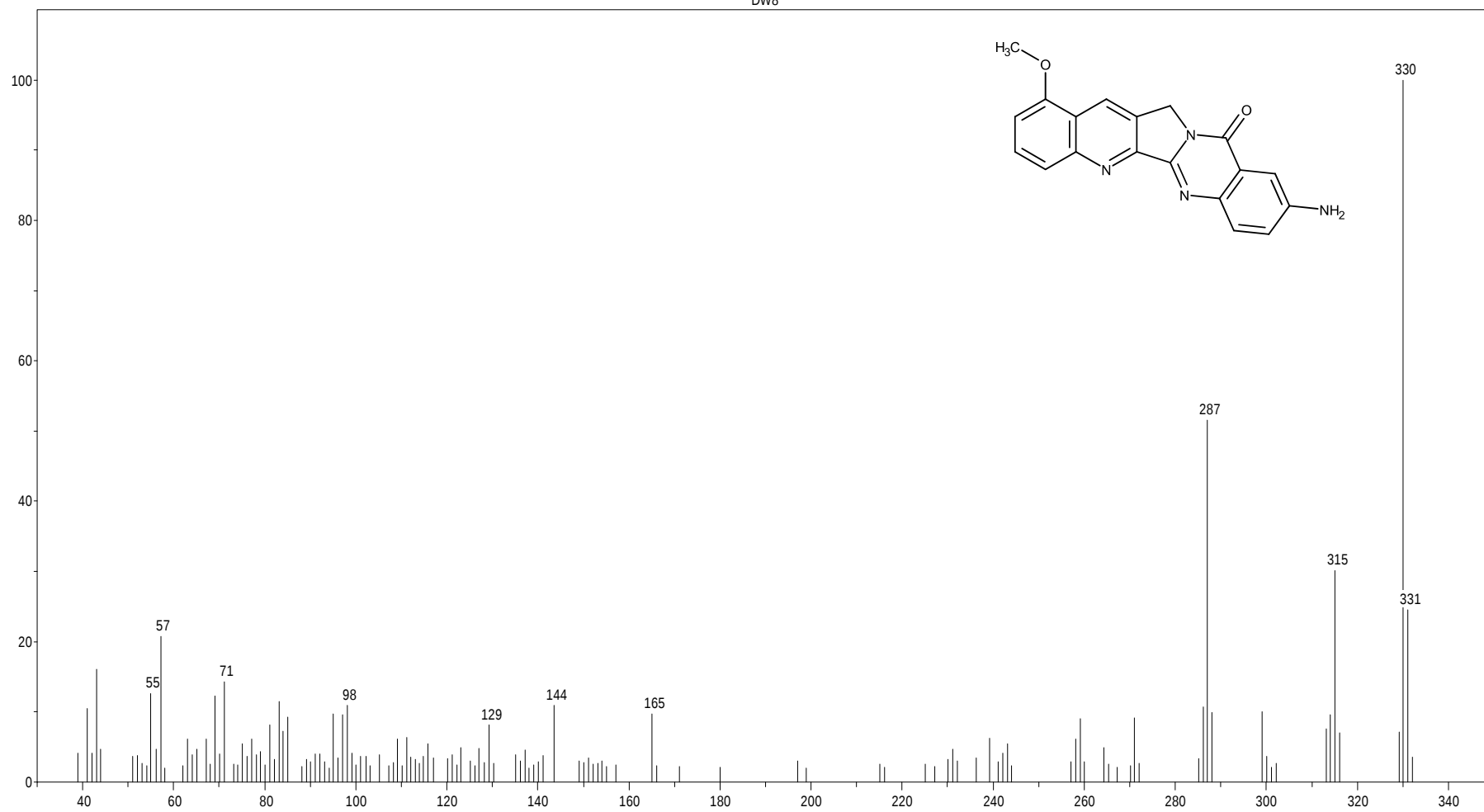
Tafel 51: 9-Amino-3-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8A**)

DW7; 9-Amino-3-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one NOESY / DMSO



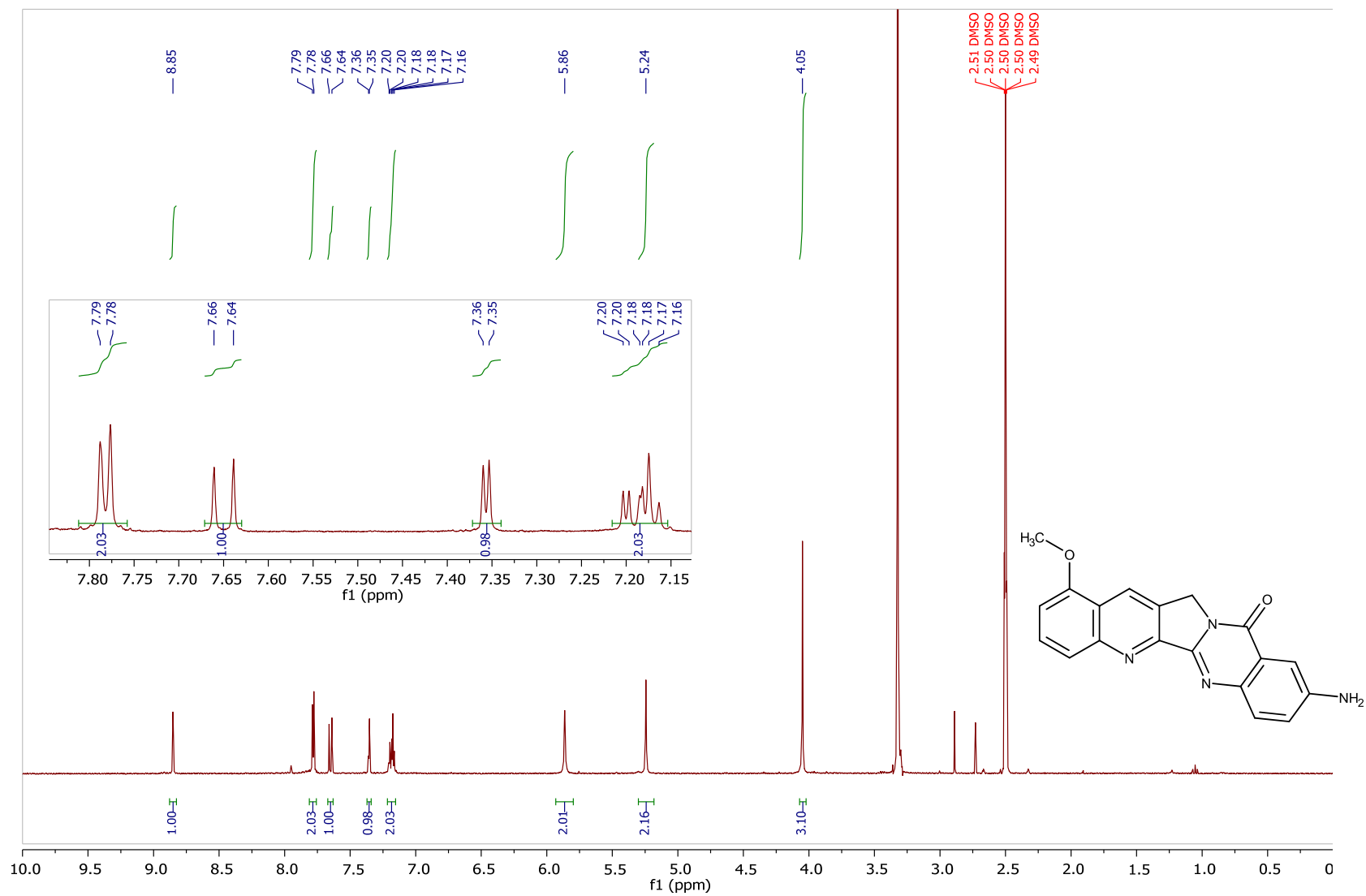
Tafel 52: 9-Amino-3-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8A**)

DW8



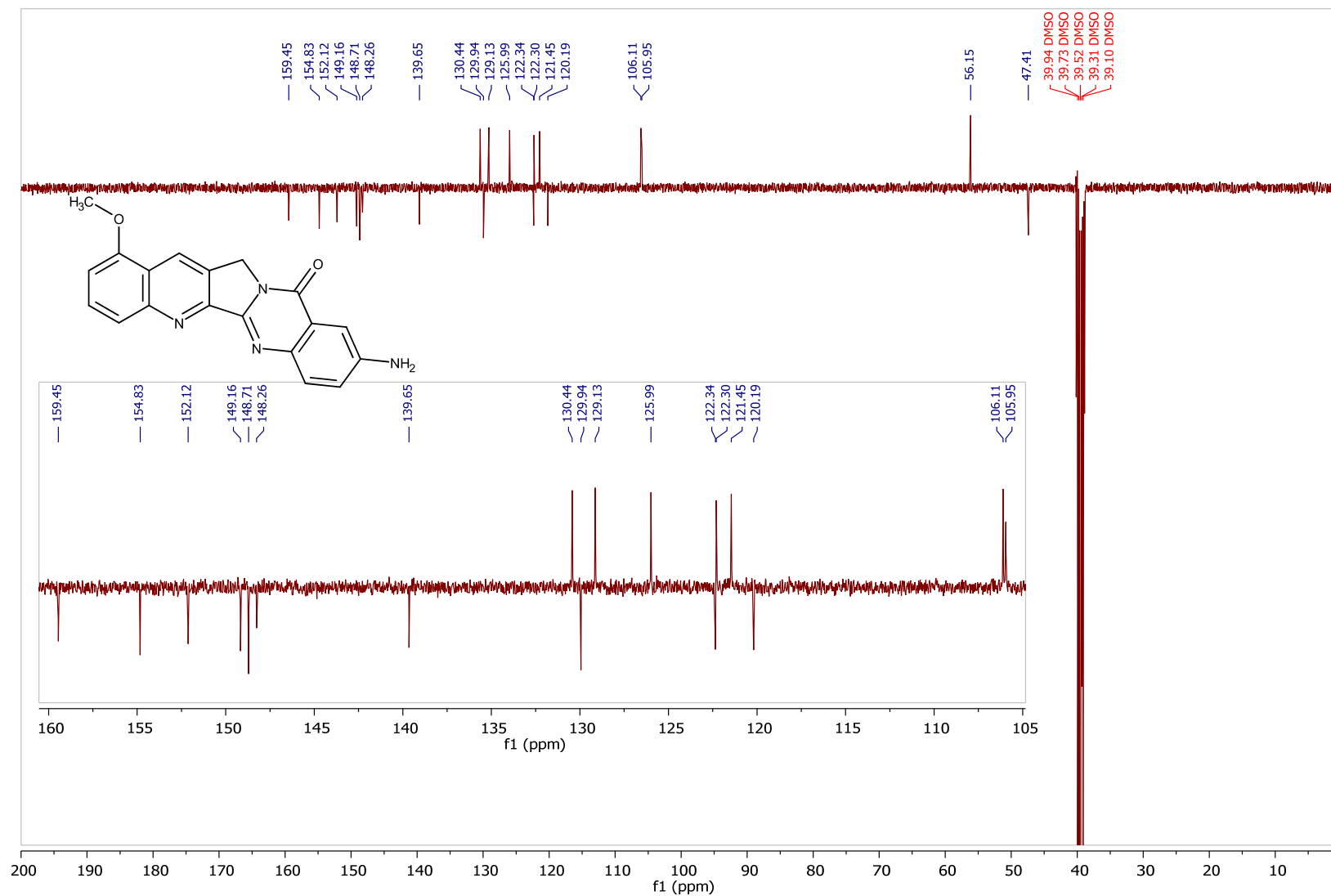
Tafel 53: 9-Amino-1-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8B**)

DW8; 9-Amino-1-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one 1H / DMSO



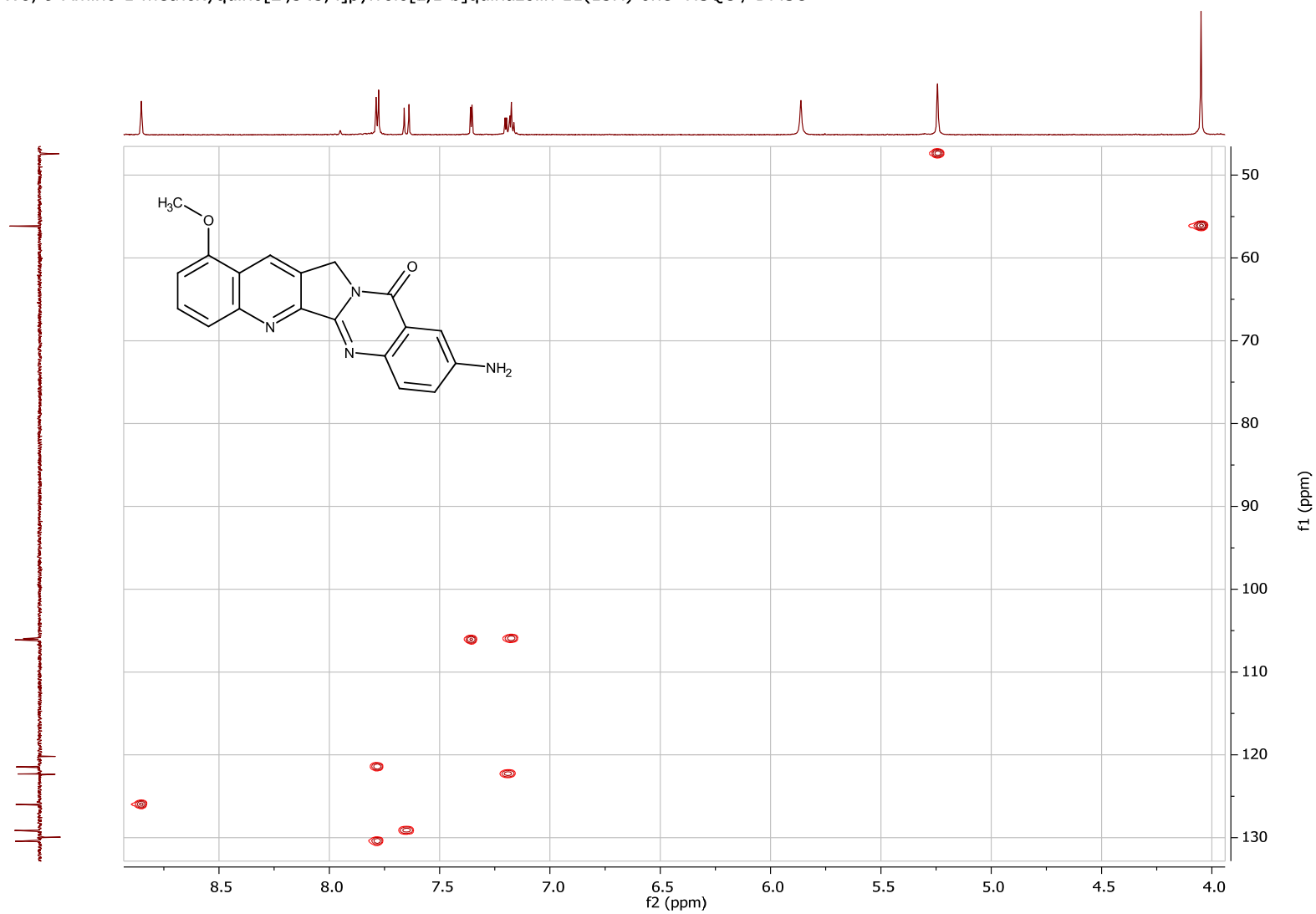
Tafel 54: 9-Amino-1-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8B**)

DW8; 9-Amino-1-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one C13APT / DMSO



Tafel 55: 9-Amino-1-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (8B)

DW8; 9-Amino-1-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO



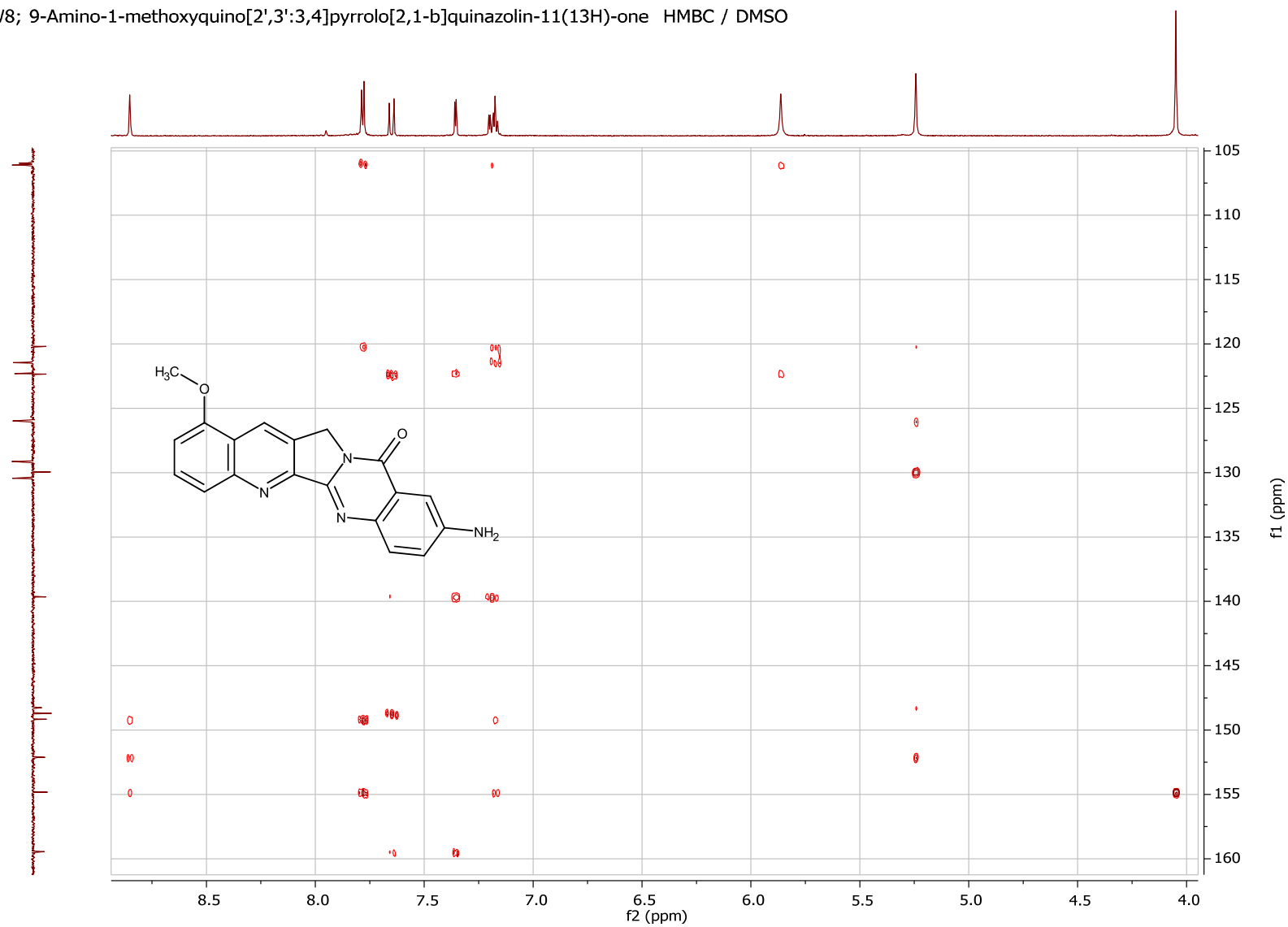
Tafel 56: 9-Amino-1-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8B**)

DW8; 9-Amino-1-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO



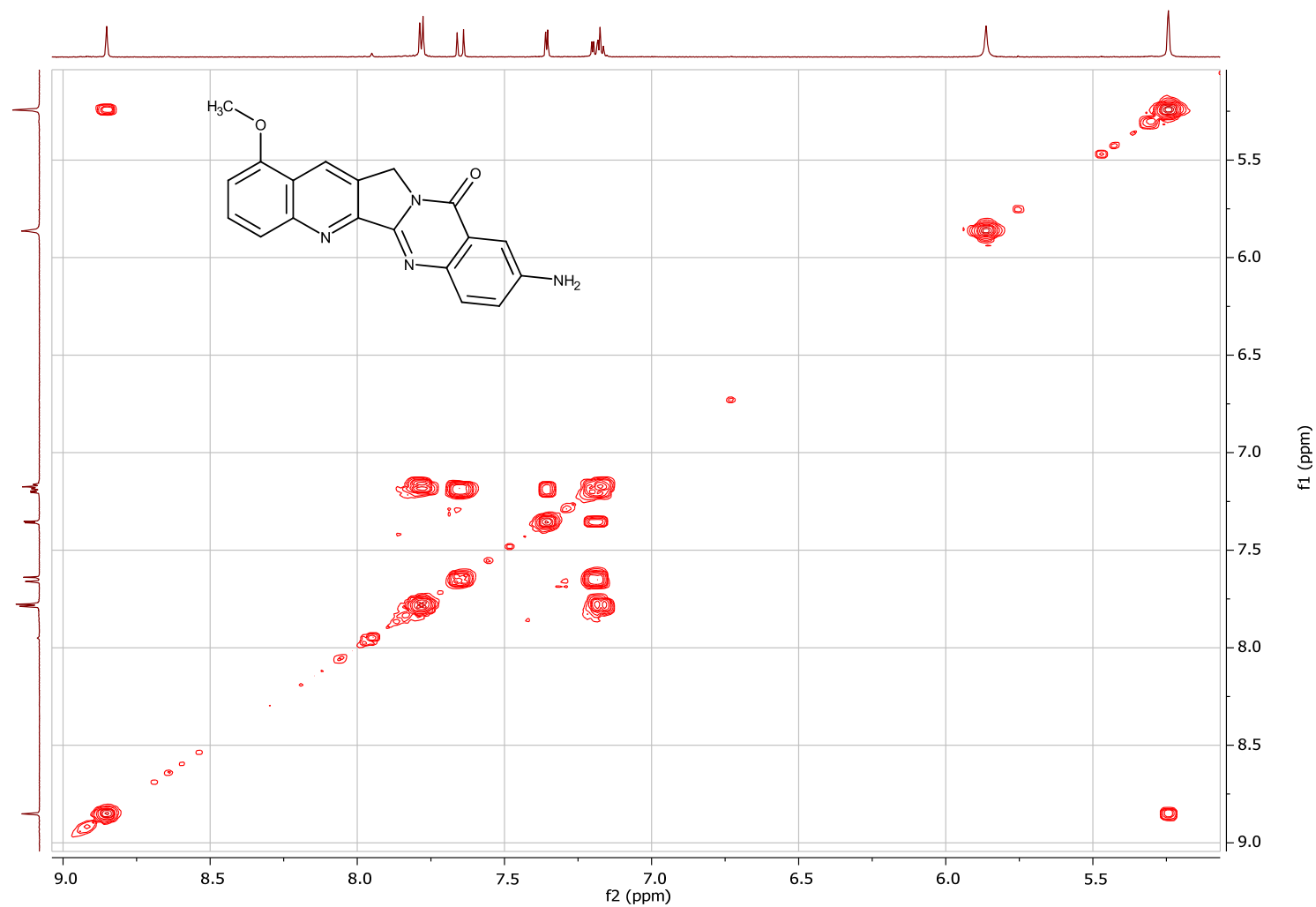
Tafel 57: 9-Amino-1-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8B**)

DW8; 9-Amino-1-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HMBC / DMSO



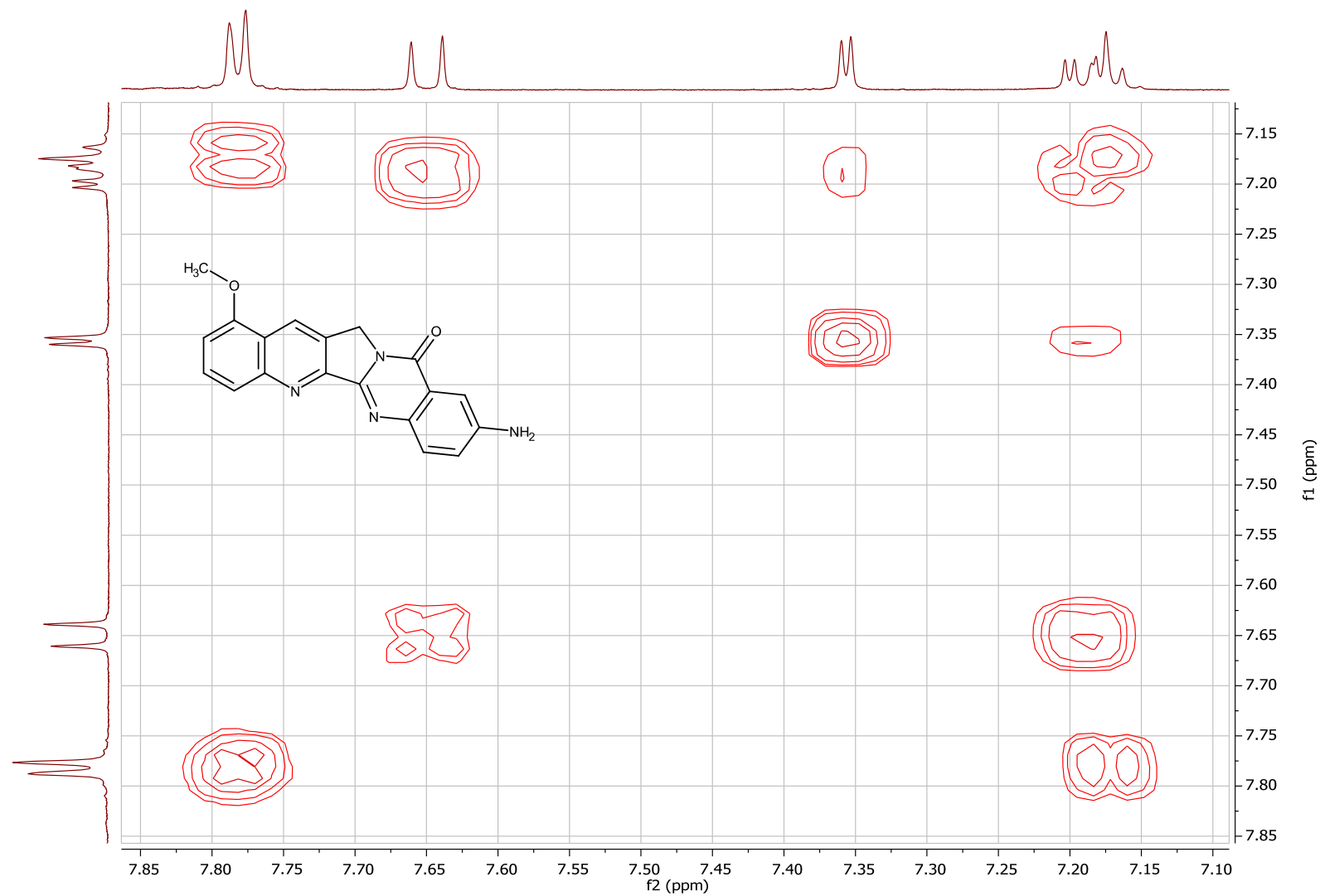
Tafel 58: 9-Amino-1-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8B**)

DW8; 9-Amino-1-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / DMSO



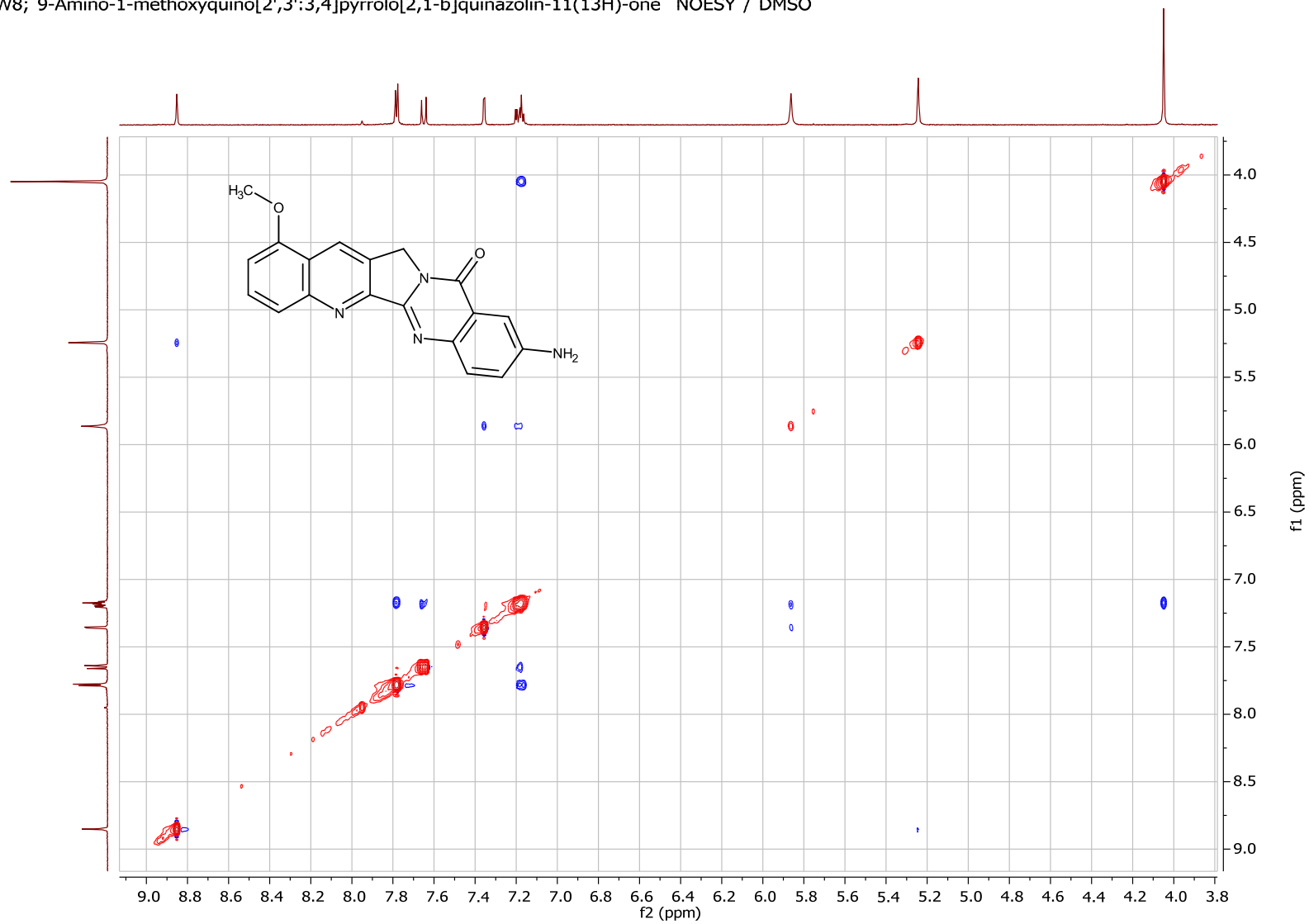
Tafel 59: 9-Amino-1-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8B**)

DW8; 9-Amino-1-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / DMSO



Tafel 60: 9-Amino-1-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8B**)

DW8; 9-Amino-1-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one NOESY / DMSO



Tafel 61: 9-Amino-1-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**8B**)

7.2 ZUSAMMENFASSUNG

DNA-Topoisomerasen sind ubiquitär vorkommende und essentielle Enzyme. In der Realisierung ihrer Funktion, infolge metabolischer Prozesse wie DNA-Replikation überspiralisierte DNA zu relaxieren, gehen sie intermediär eine kovalente Bindung mit der DNA unter Erzeugung eines Strangbruchs ein. Substanzen, die diesen Topoisomerase/DNA-Komplex stabilisieren, führen zur Induktion permanenter Strangbrüche und wirken daher zytotoxisch. Aufgrund ihrer hohen Zellteilungsrate haben Tumorzellen eine hohe Sensitivität gegenüber Topoisomerase-Hemmstoffen.

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit konnten vier neue Derivate des Alkaloids Luotonin A, welches wie das strukturell verwandte Camptothecin erwiesenermaßen die Topoisomerase I hemmt und daher eine geeignete Leitsubstanz in der Entwicklung neuer Krebstherapeutika darstellt, über die von unserer Arbeitsgruppe konzipierte „nördliche“ Syntheseroute zugänglich gemacht werden. Ausgehend vom literaturbekannten 6-Nitro-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid wurde im Zuge der Sonogashira-Kupplung die in den Zielverbindungen angestrebte Methoxygruppe eingeführt. Das dabei erzeugte Dien in Form eines Phenylacetylens ist ebenso wie das bei der Dehydratisierung des primären Amids resultierende dienophile Nitril von zentraler Bedeutung für den Schlüsselschritt der Synthesesequenz, eine Aza-Diels-Alder-Reaktion, bei der es sich um eine thermisch induzierte DBU-katalysierte Cycloaddition handelt, welche unter simultaner Ausbildung der Ringe B und C den Luotonin-A-Grundkörper hervorbringt. Im finalen Schritt der Synthesesequenz wurde die Nitrogruppe der beiden isomeren Cycloadditionsprodukte durch katalytische Transferhydrierung zur Aminogruppe reduziert. Sowohl die Zielverbindungen als auch die Zwischenprodukte wurden umfassend durch Massenspektrometrie (EI-MS, hochauflösende ESI-MS) und NMR-Spektroskopie (^1H -, ^{13}C -NMR, COSY, NOESY, HSQC, HMBC) charakterisiert.

Die Zielverbindungen sollen nun im Rahmen biologischer Untersuchungen auf ihre zytotoxische Aktivität getestet werden. Durch Vergleich mit der Wirkung anderer bereits hergestellter Luotonin-A-Derivate sollen neue Einblicke in Struktur-Wirkungsbeziehungen gewonnen werden, welche schlussendlich die Inspiration zum Design und zur Synthese von weiter optimierten und potentiell klinisch einsetzbaren Luotonin-A-Derivaten geben sollen.