



universität
wien

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Untersuchungen zur Synthese eines 9-Amino-4-methoxy-
Derivates des Naturstoffs Luotonin A“

verfasst von / submitted by

Christoph Schuckert

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. Dr. rer. nat. Mag. pharm. Norbert Haider

Danksagung und Widmung

Zuallererst gilt mein Dank und Respekt Herrn Ao. Univ.-Prof. Dr. Norbert Haider, welcher mich im Rahmen meiner Diplomarbeit betreut hat und stets geduldig und hilfsbereit war. Bedanken möchte ich mich für die großartige Unterstützung während des praktischen Arbeitens und die Hilfe beim Verfassen der vorliegenden Arbeit.

Ich widme diese Diplomarbeit meinen Eltern, meiner Freundin und meinem Bruder, welche mir alle während meines Studiums zur Seite gestanden haben und mich immer finanziell und emotional unterstützt haben.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1.	Bedeutung der Tumorchemotherapie	1
1.2.	Topoisomerasen	3
1.3.	Topoisomerase-I-Inhibitoren.....	4
1.4.	Camptothecin und seine Derivate.....	5
1.5.	Luotonine.....	7
1.6.	Strategien zur Synthese von Luotonin A	9
1.6.1.	Bildung des Pyridinrings mittels Friedländer Kondensation	9
1.6.2.	Bildung des Pyrrolrings mittels Heck-Kupplung.....	11
1.6.3.	Bildung des Pyrimidinrings mittels modifiziertem Kametani-Verfahren	12
1.6.4.	Bildung des 5 <i>H</i> -Pyrrolo[4,3- <i>b</i>]pyridins mittels Hetero-Diels-Alder-Reaktion	12
1.6.5.	Bildung des Pyrrolo[1,2- <i>a</i>]pyrimidin-4(6 <i>H</i>)-on-Systems	14
1.6.6.	Bildung des Pyrido[2'3':3,4]pyrrolo[1,2- <i>a</i>]pyrimidin-4(6 <i>H</i>)-on-Systems	14
1.7.	Zielsetzung.....	15
2.	Eigene Untersuchungen	17
2.1.	Herstellung der bekannten Verbindungen.....	17
2.1.1.	Herstellung des Chinazolincarbonsäureesters	17
2.1.2.	Nitrierung des Chinazolincarbonsäureesters	18
2.1.3.	Amidierung des nitrierten Esters mittels Weinreb-Methode	19
2.1.4.	Alkylierung des Anilids mit Propargylbromid	21
2.2.	Synthese der neuen Verbindungen.....	23
2.2.1.	Simultane Bildung der Ringe B und C durch intramolekulare Cycloadditionsreaktion .	23
2.2.2.	Reduktion der Nitrogruppe zum Amin	24
2.2.3.	Herstellung eines Salzes von 9-Amino-4-methoxy-Luotonin-A.....	26
3.	Experimenteller Teil	28
3.1.	Methoden und Geräte.....	28
3.2.	Arbeitsvorschriften.....	29
4.	Literaturverzeichnis.....	40
5.	Anhang.....	43
5.1.	Spektren	
5.2.	Zusammenfassung	

1. Einleitung

1.1. Bedeutung der Tumorchemotherapie

Die Zahl der Neuerkrankungen an Krebs in Österreich liegt bei rund 40.000 Personen pro Jahr, wobei Männer häufiger betroffen sind als Frauen [1]. Nach Herz-Kreislauferkrankungen sind bösartige Tumoren die häufigste Todesursache. Ein ausschlaggebendes Kriterium bei der Prognose einer Krebserkrankung ist neben der Art und Lokalisation des Tumors auch das Tumorstadium bei der Diagnose. Die Prognose ist wesentlich besser solange der Tumor sich auf ein Organ beschränkt. Sobald es aber zum Durchbruch der Organgrenzen oder zur Metastasierung kommt verschlechtert sie sich drastisch. Durch die stetig steigende Alterung der Bevölkerung und die damit einhergehende, nachlassende Regenerationsfähigkeit des Körpers, nimmt die Wahrscheinlichkeit, an Krebs zu erkranken, zu. Für zukünftige Generationen ist es unentbehrlich eine Verbesserung der Vorsorge, Diagnose sowie Therapie voranzutreiben. Dadurch gewinnt die Tumorchemotherapie immer mehr an Bedeutung [2,3].

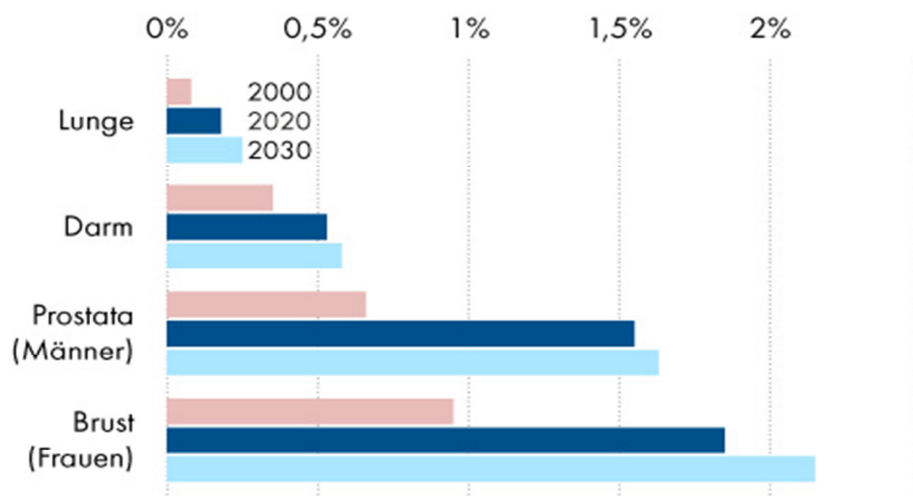


Abb.1: An verschiedenen Krebsarten erkrankte Personen gemessen an der Bevölkerung [2]

Die Behandlung und Therapie von Tumoren ist eine der größten medizinischen Herausforderungen unserer Zeit. Obwohl es durch die moderne Medizin möglich ist lokalisierte Tumoren durch chirurgische Eingriffe zu entfernen oder mittels Strahlentherapie zu bekämpfen, steht bei streuenden Tumoren und Metastasen die Tumorchemotherapie im Vordergrund. Ziel ist es, das Wachstum der Tumoren zu unterdrücken, die malignen Tumorzellen möglichst selektiv abzutöten und diese am besten vollständig zu beseitigen. Die meisten eingesetzten Zytostatika wirken vorwiegend auf die DNA bzw. die Synthese der DNA und Nukleotide, aber auch auf die Mikrotubuli-Funktion oder Hormonregulation, sowie die Zelldifferenzierung und Signaltransduktion. Wenngleich diese Arzneimittel als Zytostatika bezeichnet werden, wirken sie im eigentlichen Sinne nicht zytostatisch, sondern zytotoxisch [4,5].

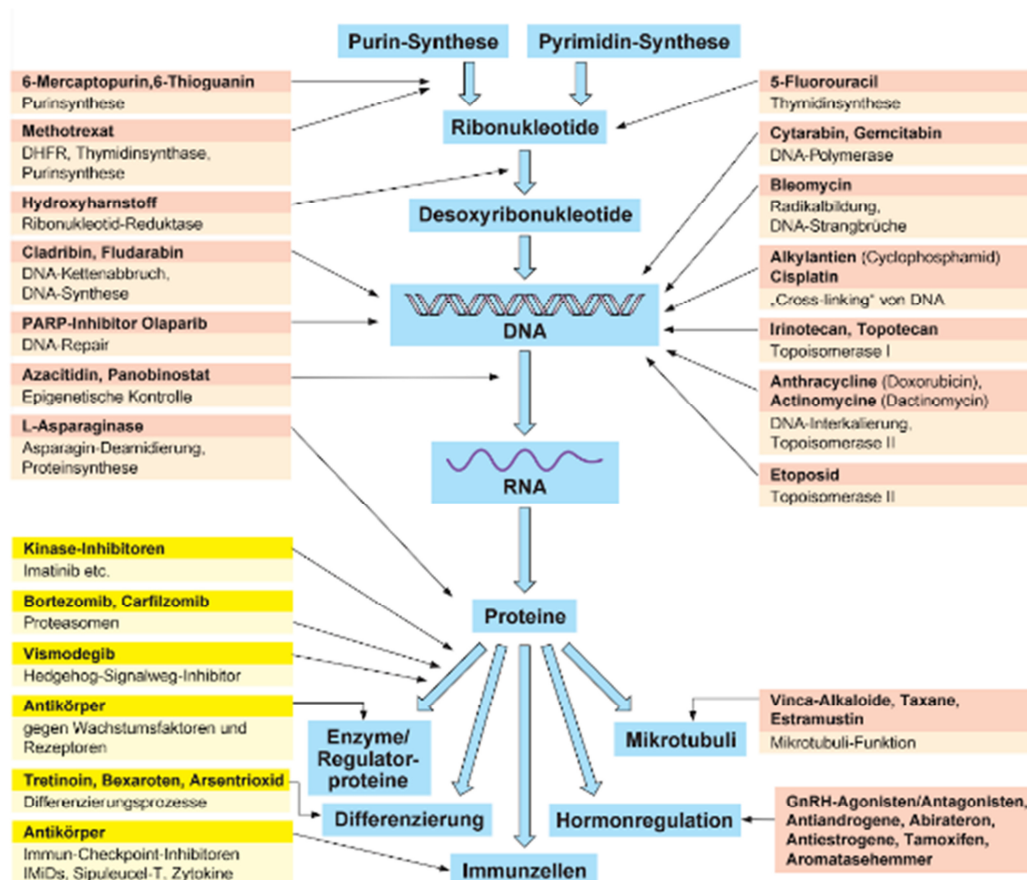


Abb. 2: Wirkorte von Tumorchemotherapeutika [4]

1.2. Topoisomerasen

Um in der Zelle Platz zu sparen sowie aufgrund der thermodynamischen Instabilität der helikalen DNA liegt letztere bei Eukaryoten im Zellkern und bei Prokaryoten im Nukleoid verdrillt als Superhelix vor, wodurch die DNA-Stränge jedoch in ihrer freien Drehbarkeit drastisch eingeschränkt sind. Die DNA kann zu verschiedenen Topoisomeren spiralisiert werden, welche sich nur in ihrer Windungszahl unterscheiden [5].

Die DNA-Doppelhelix wird während des Replikationsvorganges gegen den Uhrzeigersinn entwunden, wodurch sich die Zahl der Windungen hinter der Replikationsgabel reduziert, sich aber vor der DNA-Polymerase Überdrehungen anstauen. Dadurch weicht sie vom normalen Windungszustand ab und besitzt vor der Replikationsgabel ein positives und danach ein negatives Supercoiling. Topoisomerasen sind Enzyme, welche helfen, die topologischen Probleme der DNA an der Replikationsgabel zu beseitigen [6].

Damit die Windungszahl der DNA-Doppelhelix geändert werden kann, muss wenigstens ein Strang vorübergehend geöffnet werden. Einzelstrangöffnungen werden durch die Topoisomerase I, Doppelstrangbrüche durch die Topoisomerase II katalysiert [7].

Die Topoisomerase I bindet kovalent über eine nukleophile Hydroxygruppe eines Tyrosinrestes im aktiven Zentrum an eine Phosphatgruppe der DNA und bildet somit einen Ester. Durch diesen Vorgang kommt es zur Spaltung der Phosphodiester-Bindung der DNA, wodurch ein Einzelstrangbruch herbeigeführt wird. Nach erfolgtem Strangbruch durch die Topoisomerase I können DNA-Stränge rotieren und sich „entspannen“, um danach wiederverknüpft zu werden [4,5]. In eukaryontischen Zellen kommt der

Subtyp IB der Topoisomerase I vor und bindet über die Hydroxygruppe des Tyrosinsrestes an das 3'-Ende der DNA und lässt 5'-Segmente rotieren.

Beim bakteriellen Subtyp IA der Topoisomerase I bindet das 5'-Ende der DNA wodurch die 3'-Segmente rotieren können [7,8].

Die Topoisomerase II ist ein Dimer, welches an die DNA bindet und unter ATP-Verbrauch den DNA-Doppelstrang der sogenannten „Pforten-DNA“ schneidet. Das geschieht, damit ein benachbarter DNA-Strang, die „Transport-DNA“ diese Lücke passieren kann. Nach dem Durchtritt des intakten DNA-Strangs wird die Spalte wieder verschlossen. Durch diesen Vorgang wird die Windungszahl der DNA reduziert [4].

Krebserkrankungen gehen Hand in Hand mit einer unkontrollierten Zellteilung und bei vielen Tumoren ist auch eine erhöhte Topoisomerase-aktivität nachweisbar. Da dieser Ablauf unentbehrlich für die Replikations- und Transkriptionsmaschinerie ist, stellt dieses Enzym ein exzellentes Target für die Tumorchemotherapie dar [5].

1.3. Topoisomerase-I-Inhibitoren

Diese Gruppe von Zytostatika wirkt durch die Fähigkeit, in einer kritischen Phase des Topoisomerisierungsprozesses an den DNA-Enzym-Komplex zu binden, den sogenannten spaltbaren Komplex („cleavable complex“), und diesen zu stabilisieren. Durch diesen Vorgang wird die Wiederverknüpfung der DNA-Stränge verhindert und es entstehen durch Hemmung der Topoisomerase I Einzelstrangbrüche, welche grundsätzlich reparabel sind. Trifft dann während der Replikation die DNA-Polymerase auf diesen Strangbruch, bricht auch der zweite DNA-Strang, was zu einem Abbruch des Replikationsvorganges führt, damit im Weiteren auch zur Hemmung der

Transkription und letztendlich zur Apoptose. Da diese zytotoxischen Stoffe während der Reduplikation der DNA eingreifen, ist ihre Wirkung auf die S-Phase des Zellzyklus fokussiert [4,5].

1.4. Camptothecin und seine Derivate

Camptothecin ist ein natürlich vorkommendes pflanzliches Alkaloid aus dem aus China stammenden Baum *Camptotheca accuminata* (Nyssaceae), auch bekannt als „chinesischer Krebsbaum“, und ist in dessen Holz, Borke sowie Früchten enthalten. Entdeckt wurde die Verbindung 1958, isoliert und charakterisiert wurde sie erstmals im Jahre 1966, da Camptothecin durch ein Screening des US National Cancer Institute als Verbindung mit potenzieller Antitumoraktivität identifiziert wurde [4,9].

Bei der Verbindung handelt es sich um ein pentazyklisches Chinolinalkaloid mit einem Chiralitätszentrum an C-20 im Ring E und einer alpha-Hydroxy-delta-Lacton-Teilstruktur. Die pharmakologische Wirkung ist auf das S-Enantiomer beschränkt, das R-Enantiomer weist nahezu keine Wirkung auf. Camptothecin ist wegen seiner weitgehend planaren Struktur ein DNA-Interkalator, was die Ausbildung eines DNA/Topoisomerase-I/Camptothecin-Komplexes ermöglicht, welcher mittels H-Brücken stabilisiert ist [5,10].

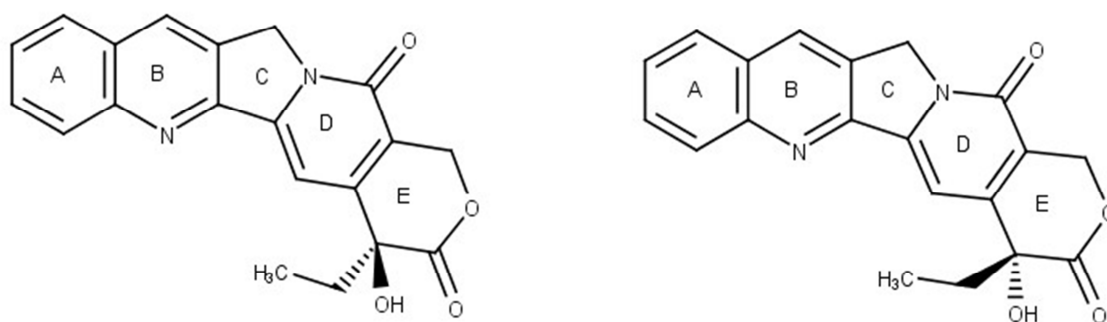


Abb. 3: 20-(S)-Camptothecin (li.) und 20-(R)-Camptothecin (re.)

Ein weiterer wichtiger Faktor für die zytotoxische Aktivität von Camptothecin, neben der S-Konfiguration in Position 20, ist das Vorliegen des geschlossenen delta-Lactons im Ring E. Bei $\text{pH} < 4$ ist der Lactonring stabil, bei physiologischem pH-Wert liegt die Verbindung zum Großteil in der sehr schwach aktiven Carboxylatform vor [5,9].

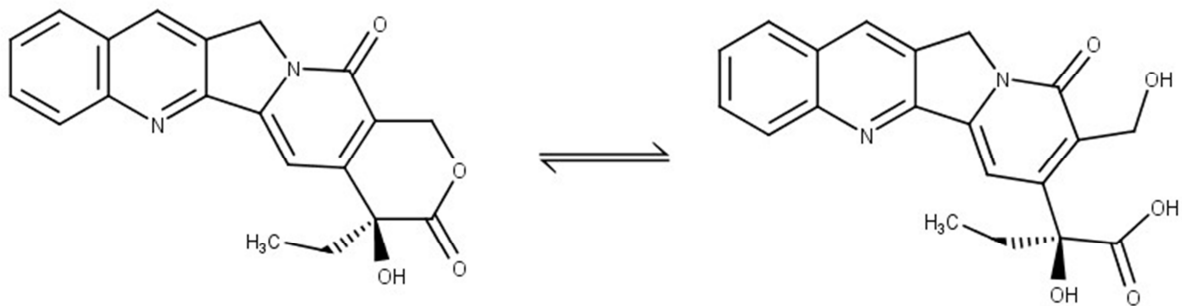


Abb. 4: aktive Lactonform (li.) und inaktive Carboxylatform (re.) von Camptothecin

Aufgrund der schlechten Wasserlöslichkeit von Camptothecin wurde anfänglich die Wirkung des Natriumsalzes untersucht, was aber die Öffnung des Lactonrings voraussetzte und dadurch sehr hohe Konzentrationen notwendig waren um zytotoxische Effekte hervorzurufen. Die ungenügende Löslichkeit und das ungünstige Nebenwirkungsspektrum haben den Grundstein zur Erforschung und Entwicklung von wasserlöslicheren und besser verträglicheren Analoga gelegt [5,9].

Die heute in der Antitumorthherapie verwendeten Camptothecin-Analoga sind Topotecan und Irinotecan.

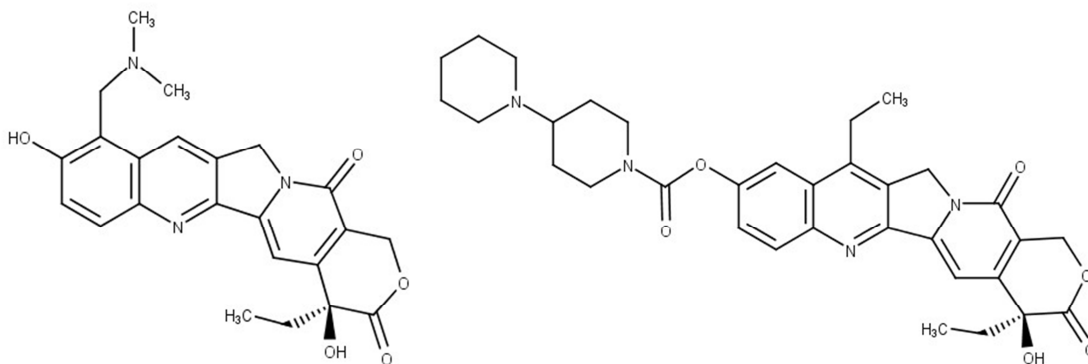


Abb. 5: Topotecan (li.) und Irinotecan (re.)

Bei Topotecan wurde im A-Ring in Position 10 eine phenolische Hydroxygruppe eingeführt sowie eine basische Dimethylaminomethylgruppe in Position 9, wodurch die Wasserlöslichkeit, die Bioverfügbarkeit und damit das pharmakokinetische Profil um vieles verbessert wurden. Irinotecan ist ein Prodrug, bei dem im Ring B an C-7 eine Ethylgruppe, sowie im Ring A an C-10 eine phenolische Hydroxygruppe eingeführt wurde, welche mit einer voluminösen Dipiperidino-Seitenkette über einen Carbaminsäureester an das Grundgerüst gebunden ist. Dadurch werden zwar Wasserlöslichkeit und Hydrophilie verbessert, aber die Antitumoraktivität wird zunächst erheblich verringert. Jedoch entsteht aus diesem Prodrug der Metabolit SN-38 (7-Ethyl-10-hydroxycamptothecin) durch Abspaltung der Urethan-Seitenkette mit Hilfe von Esterasen und dieser Metabolit ist 1000-fach wirksamer als Irinotecan bezüglich der Topoisomerase-I-Hemmung [5,9].

1.5. Luotonine

Luotonine sind zytotoxisch wirksame Alkaloide, welche ursprünglich aus den oberirdischen Teilen der chinesischen Pflanze *Peganum nigellastrum* Bunge (Zygophyllaceae) isoliert wurden [11]. Diese Pflanze wird in der traditionellen chinesischen Medizin schon lange zur Behandlung von verschiedensten Leiden wie Rheuma und entzündungsbedingten Krankheiten verwendet. Die sechs verschiedenen Luotonine (A-F) unterscheiden sich strukturell und werden in 3 Klassen eingeteilt:

- 1) Luotonin A, B und E sind Pyrrolochinazolinochinolin-Alkaloide
- 2) Luotonin C, D sind Canthin-6-on-Alkaloide
- 3) Luotonin F ist ein 4(3*H*)-Chinazolinon-Alkaloid

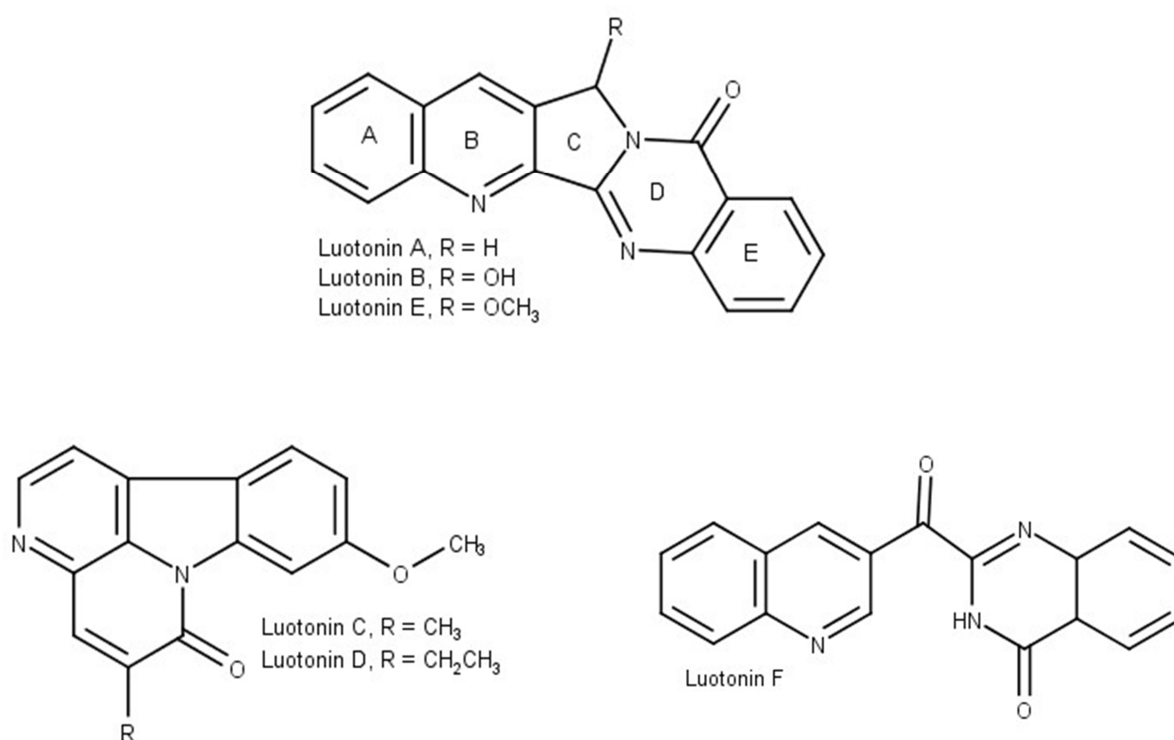


Abb. 6: Strukturen der 6 verschiedenen Luotonine

Bis auf die Luotonine C und D weisen alle eine zytotoxische Aktivität auf, wobei sie bei Luotonin A am stärksten ausfällt [11]. Sie hemmen wie Camptothecin und dessen Analoga die Topoisomerase I, was aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zu Camptothecin nicht überrascht [12]. Auch wenn die Antitumoraktivität von Luotonin A um einiges geringer ist als die von Camptothecin, wird seit der Entdeckung 1997 versucht, diese Leitstruktur zu optimieren [13]. Ein großer Vorteil von Luotonin A im Gegensatz zu Camptothecin liegt in den strukturellen Unterschieden im Ring E, da weder die empfindliche Hydroxylactonstruktur, noch ein Chiralitätszentrum vorhanden sind. Dadurch fallen spezifische Nebenwirkungen wie die Blasentoxizität, sowie die Wirkungsabschwächung infolge der pH-abhängigen Ringöffnung weg. Weiters ist die Struktur aufgrund des fehlenden Chiralitätszentrums leichter zugänglich für Synthesen [11], da bei achiralen Verbindungen nicht stereoselektiv gearbeitet werden muss.

1.6. Strategien zur Synthese von Luotonin A

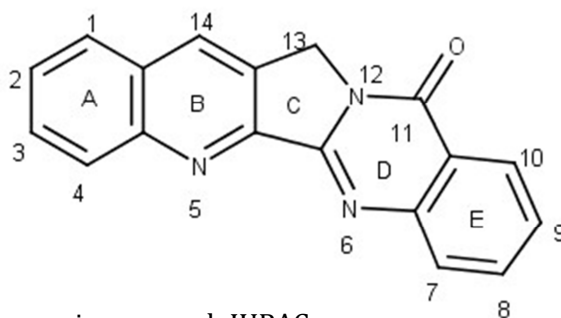


Abb. 7: Luotonin A: Nummerierung nach IUPAC

Bisher wurden 6 Synthesestrategien für die Herstellung von Luotonin A entwickelt, welche danach eingeteilt werden können, welche/r Ring/e des pentacyclischen Alkaloids im letzten Schritt synthetisiert werden [11].

- 1) Bildung des Pyridins → Ring B
- 2) Bildung des Pyrrols → Ring C
- 3) Bildung des Pyrimidinons → Ring D
- 4) Bildung des 5*H*-Pyrrolo[4,3-*b*]pyridins → Ringe B/C
- 5) Bildung des Pyrrolo[1,2-*a*]pyrimidin-4(6*H*)-on → Ringe C/D
- 6) Bildung des Pyrido[2',3':3,4]pyrrolo[1,2-*a*]pyrimidin-4(6*H*)-on → Ringe B/C/D

1.6.1. Bildung des Pyridinrings mittels Friedländer Kondensation

Ma *et al.* [14] beschrieben die erste Hypothese zur Biosynthese des Alkaloids Luotonin A aus Vascicinon, einem Pyrrolochinazolinalkaloid, welches ebenfalls aus der Pflanze *Peganum nigellastrum* Bunge isoliert wurde. Einige Zeit später entwickelten die genannten Autoren aus diesem hypothetischen Ansatz die erste Totalsynthese des Alkaloids, wobei sie aus Vascicinon und *N*-(2-Aminobenzyliden)-4-toluidin in Anwesenheit von 4-Toluolsulfonsäure Luotonin A herstellten [15]. Der sekundäre Alkohol Vascicinon kann aufgrund der Tautomerie-Möglichkeit aus einer Keto-Form

mit dem Toluidinimin des 2-Aminobenzaldehyds durch Kondensation zu einer Schiff'schen Base reagieren. Dann kommt es zur Cyclisierung über ein Enamin, zur Aromatisierung und finalen Bildung von Luotonin A [14,15].

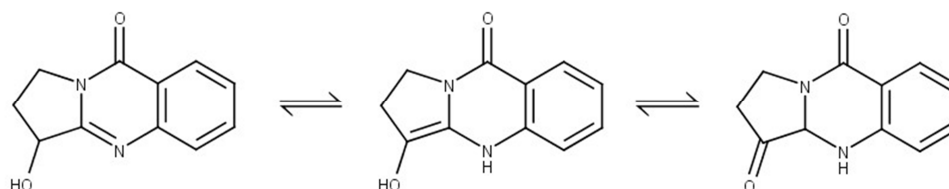
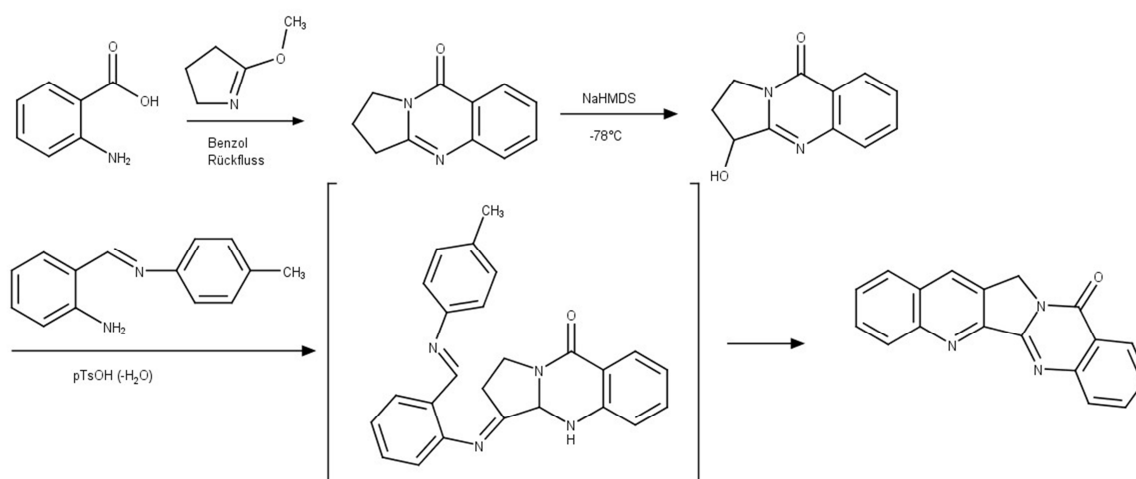
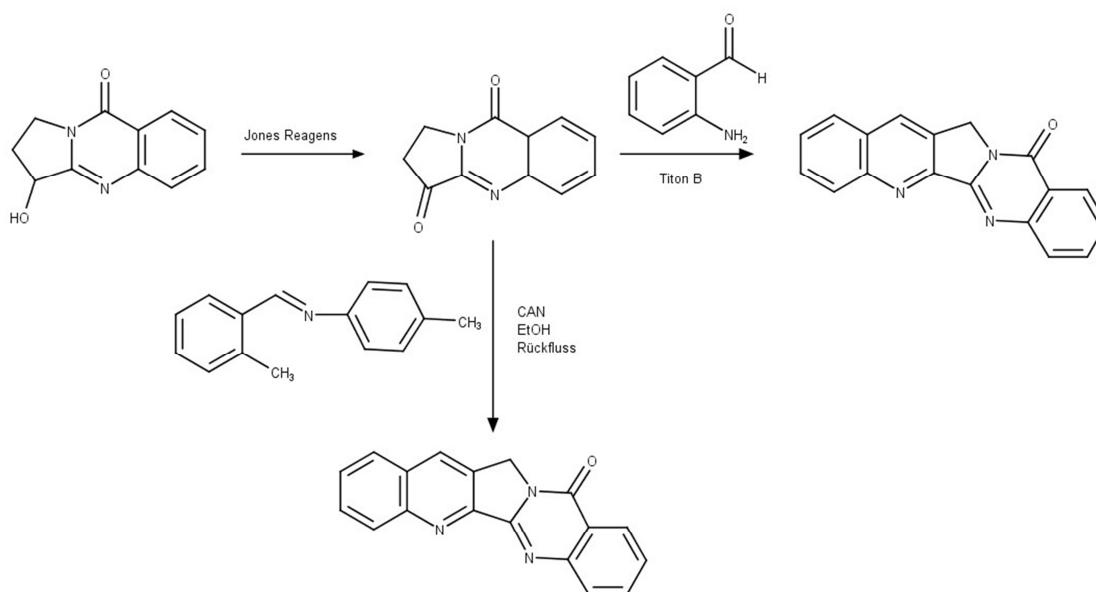


Abb. 8: Tautomerie von Vascicinon



Schema 1: Synthese von Luotonin A von Ma *et al.* über Vascicinon [15]

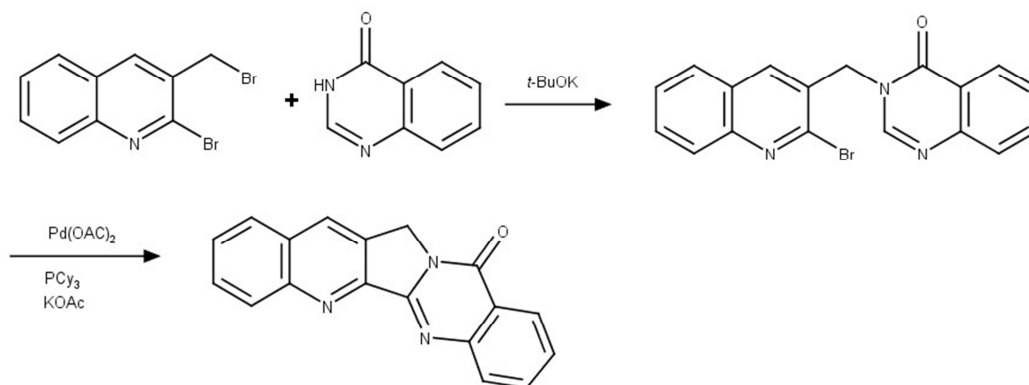
Kelly *et al.* [16] haben dann durch Jones-Oxidation Pyrrolo[2,1-*b*]-chinazolin-3,9-dion aus Vascicinon zugänglich gemacht und hierauf die Friedländer-Kondensation angewandt, wobei sie Luotonin A mit einer Ausbeute von zunächst 36% erhielten, welche durch den Einsatz von Cer(IV)ammoniumnitrat als Katalysator fast verdoppelt werden konnte. Weiters konnte die Ausbeute durch den Austausch von 2-Aminobenzaldehyd durch *N*-(2-Aminobenzyliden)-4-toluidin auf 82% erhöht werden [16,17].



Schema 2: Synthese von Luotonin A nach Kelly *et al.* aus Vasicinon [16]

1.6.2. Bildung des Pyrrolrings mittels Heck-Kupplung

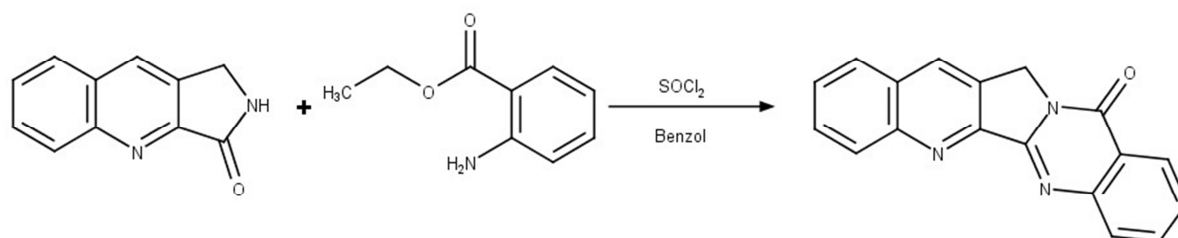
Eine weitere Möglichkeit zur Totalsynthese, hier über die Bildung des C-Rings, wurde von Harayama *et al.* entwickelt [18]. Hierbei wurde die Heck-Reaktion verwendet, die eine Palladium-katalysierte Kupplung darstellt, welche eine direkte Olefinierung von Arylhalogeniden ermöglicht. Hierfür hat man 3-[(2-Bromchinolin-3-yl)methyl]-4(3*H*)-chinazolinon über N-Alkylierung von 4(3*H*)-Chinazolinon mit 2-Bromchinolin-3-ylmethylbromid hergestellt. Diese Verbindung reagiert dann unter Heck-Kupplungs-Bedingungen zu Luotonin A, wobei das Halogenid direkt durch die Alkenylgruppe ersetzt wird [18].



Schema 3: Synthese von Luotonin A nach Harayama *et al.* über Heck-Kupplung [18]

1.6.3. Bildung des Pyrimidinonrings mittels modifiziertem Kametani-Verfahren

Obgleich es eine Vielzahl von Möglichkeiten gibt den Pyrimidinonring aufzubauen, wird das Kametani-Verfahren schon länger verwendet, um Chinazolinonderivate aus Lactamen und Anthranilsäure herzustellen. In einem modifizierten Verfahren wurde dann das Lactam 2,3-Dihydro-[1*H*]-pyrrolo[3,4-*b*]chinolin-3-on mit Ethylanthranilat und Thionylchlorid unter Rückfluss zu Luotonin A umgesetzt, wobei Benzol als Lösungsmittel verwendet wurde [19,20].



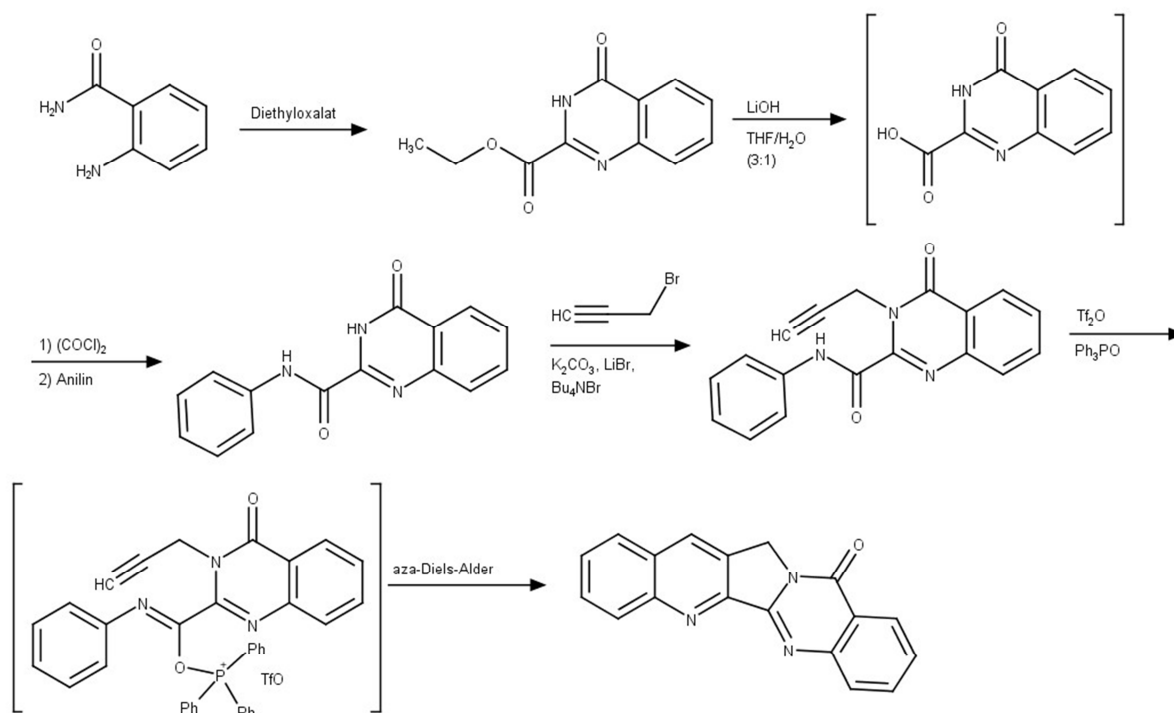
Schema 4: Synthese von Luotonin A über das modifizierte Kametani-Verfahren [20]

1.6.4. Bildung des 5*H*-Pyrrolo[4,3-*b*]pyridins mittels Hetero-Diels-Alder-Reaktion

Um im finalen Schritt die Ringe B und C zu bilden, wurde von Twin und Batey [21] eine intramolekulare aza-Diels-Alder-Reaktion verwendet, welche eine [4+2]-Cylcoaddition darstellt. Hierbei werden in einem Schritt („Povarov-Reaktion“) der 7-Stufen-Synthese sowohl der Chinolin- als auch der Pyrrolring aus Anilin und 2-Formyl-3-propargyl-4(3*H*)-chinazolinon synthetisiert, wobei hier Dysprosium(III)trifluormethansulfonat, eine milde Lewis-Säure als Katalysator dient [21].

Eine deutlich effizientere Methode zur Herstellung von Luotonin A, bei der ebenfalls die Ringe B und C im finalen Schritt gebildet werden, entwickelten

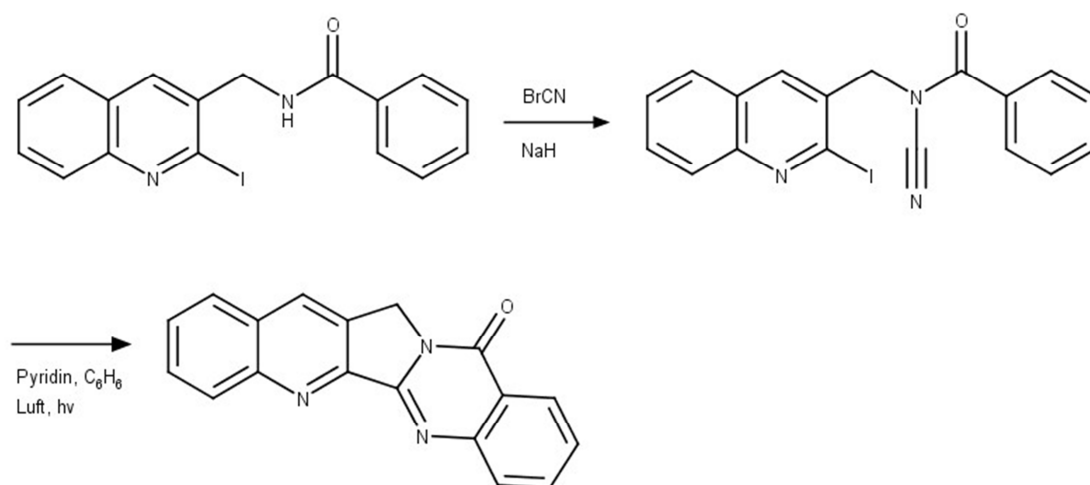
Zhou *et al.* [22]. Im Gegensatz zur oben genannten Syntheseroute kann das pentacyclische Alkaloid hier in nur 5 Reaktionsschritten synthetisiert werden. Ausgehend von Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat wird nach Esterhydrolyse mit LiOH über die freie Carbonsäure, gefolgt von einer 2-stufigen Reaktion über das Säurechlorid durch Umsetzung mit Anilin das entsprechende Anilid erhalten. Dieses reagiert dann mit Propargylbromid zu 4-Oxo-*N*-phenyl-3-propargyl-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid. Zuletzt entsteht Luotonin A durch eine intramolekulare aza-Diels-Alder-Reaktion unter Einwirkung von Bis(triphenyl)oxodiphosphonium-Triflat („Hendrickson-Reagents“), welches *in situ* aus Triphenylphosphinoxid und Trifluormethansulfonsäureanhydrid hergestellt wird [22].



Schema 5: Synthese von Luotonin A nach Zhou *et al.* [22]

1.6.5. Bildung des Pyrrolo[1,2-*a*]pyrimidin-4(6*H*)-on-Systems

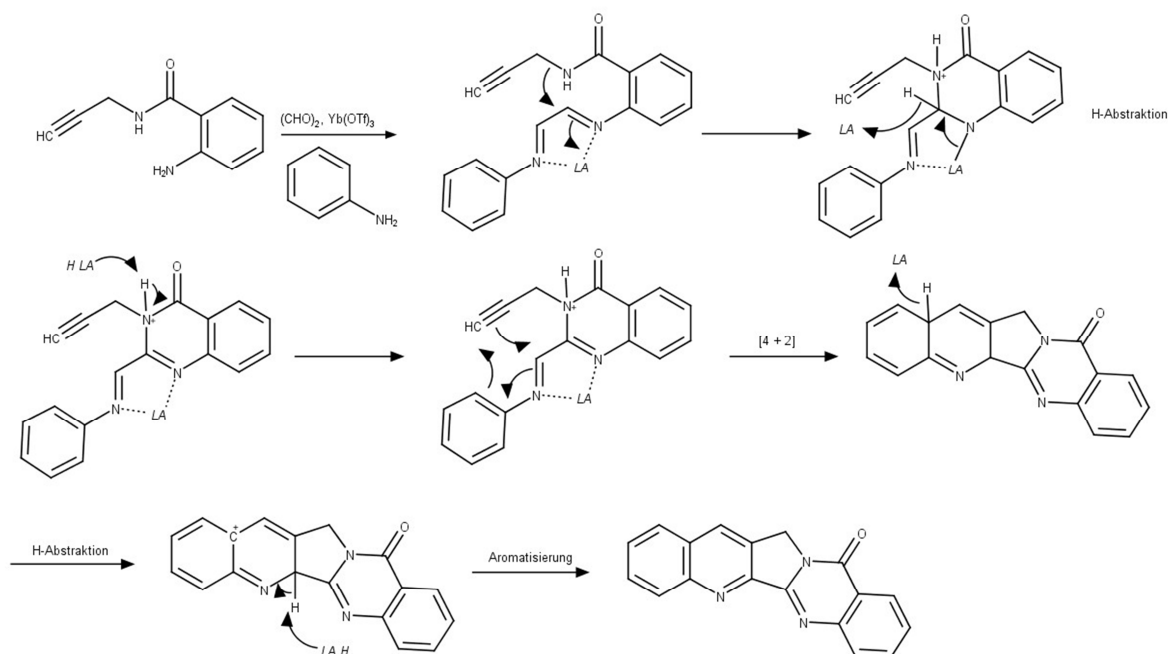
Eine weitere Synthese von Luotonin A wurde von Courillon *et al.* [23] beschrieben. Hier werden im finalen Schritt die Ringe C und D über eine Kaskaden-Radikal-Zyklisierung synthetisiert. So wird Luotonin A, über *N*-[(2-Iodchinolin-3-yl)methyl]benzamid, welches mit Bromcyan zur entsprechenden *N*-CN-Verbindung umgesetzt wird, durch eine radikalische Cyclisierung erhalten [23].



Schema 6: Synthese von Luotonin A nach Courillon *et al.* [23]

1.6.6. Bildung des Pyrido[2',3':3,4]pyrrolo[1,2-*a*]pyrimidin-4(6*H*)-on-Systems

Eine neuere Methode stellt eine modifizierte Kaskadencyclisierung von Tseng *et al.* dar [24]. Bei dieser Mehrkomponenten-Reaktion wird Anthranilsäurepropargylamid mit Oxalaldehyd, Ytterbium(III)triflat und Anilin zu einem 1,4-Diazadien umgesetzt. In weiterer Folge kommt es dann zur Cyclisierung und Wasserstoffabstraktion, gefolgt von einer inversen Aza-Diels-Alder [4+2] Cycloaddition, einer weiteren Wasserstoffabstraktion und anschließender Aromatisierung [24].



Schema 7: Herstellung von Luotonin A über eine modifizierte Kaskadenzyklisierung nach Tseng *et al.* [24]

1.7. Zielsetzung

Im Rahmen einer Dissertation [25] in unserer Arbeitsgruppe werden zurzeit zahlreiche neue Luotonin-A-Derivate synthetisiert und hinsichtlich ihrer Zytotoxizität untersucht. In struktureller Hinsicht liegt dabei der Schwerpunkt auf Verbindungen mit unterschiedlichen Substituenten an den Ringen A und E. Ziel der vorliegenden Diplomarbeit sollte es nun sein, einen noch fehlenden Vertreter dieses Verbindungstyps erstmals zugänglich zu machen und somit die Substanzbibliothek der Arbeitsgruppe zu erweitern. Bei der Zielverbindung handelt es sich um das 9-Amino-4-methoxy-Derivat der Leitverbindung (s. Abb. 9), bei dem die Anwesenheit je einer aktiv hydrophilen und einer passiv hydrophilen Gruppe eine verbesserte Wasserlöslichkeit erhoffen lässt. Nicht zuletzt erscheint auch der Einfluss der genannten Substituenten auf die zytotoxische Aktivität der Verbindung von Interesse.

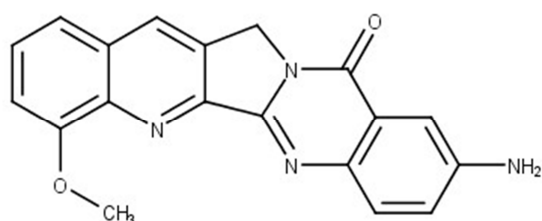
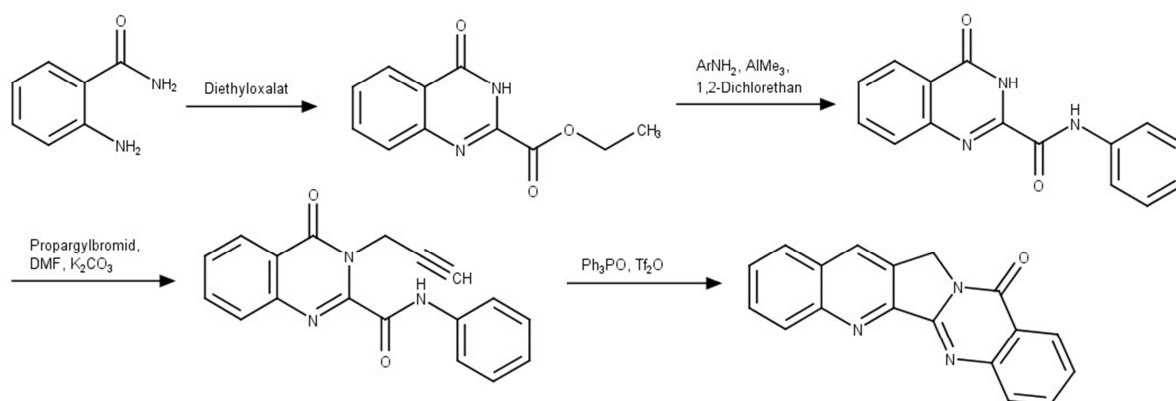


Abb. 9: Die Zielverbindung 9-Amino-4-methoxy-Luotonin A

Zur Herstellung der angestrebten Verbindung sollte die durch Haider *et al.* [26] verbesserte Syntheseroute nach Zhou *et al.* [22] verwendet werden. Diese ist wie folgt charakterisiert: Durch Weinreb-Amidierung kann man den Ester direkt in ein Anilid überführen. Dafür aktiviert man die schwach nukleophile Aminogruppe des Anilins mit Hilfe von Trimethylaluminium („Weinreb-Amidierung“ [26]). Somit können die kritischen Zwischenschritte (Esterhydrolyse, Säurechloridbildung) bei der Herstellung des Anilids umgangen werden sowie die Gesamtausbeute erhöht werden. Weiters ist diese Variante wesentlich vielseitiger einsetzbar im Hinblick auf die aromatische Aminkomponente, wodurch es nun leichter ist, A-Ring-modifizierte Luotonin-A-Derivate zugänglich zu machen [26]. Im konkreten Fall sollten nun ein 2-Methoxyanilin sowie ein Nitrochinazolinon-Baustein zum Einsatz kommen, um letztlich das angestrebte Substitutionsmuster der Zielverbindung zu realisieren.



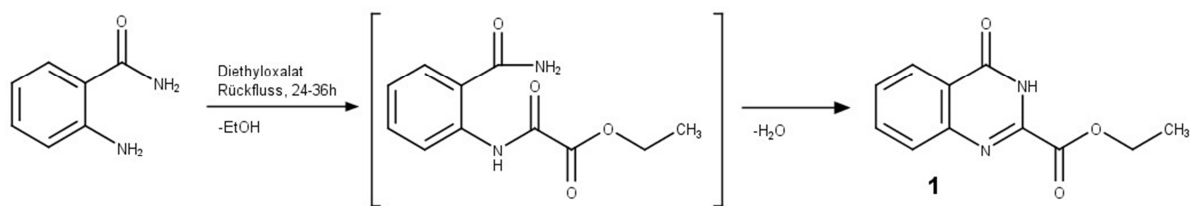
Schema 8: Verbesserte Synthese zu Luotonin A von Haider *et al.* [26] durch Anwendung der Weinreb-Amidierungs

2. Eigene Untersuchungen

2.1. Herstellung der bekannten Verbindungen

2.1.1. Herstellung des Chinazolinoncarbonsäureesters

Entsprechend der von B.R. Baker publizierten Synthese aus dem Jahre 1962 erfolgt die Kondensation zu Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**1**) aus den beiden kommerziell erhältlichen Verbindungen Anthranilamid und Diethyloxalat [23]. Diese Synthese wurde von unserer Arbeitsgruppe oftmals erfolgreich angewendet, wobei im Gegensatz zur Literaturangabe eine katalytische Menge Essigsäure zugesetzt wird, wodurch die erforderliche Reaktionszeit von 48-72 h auf 24-36 h gesenkt werden kann. Die Vollständigkeit der Umsetzung zum Ester (**1**) wird mittels Dünnschichtchromatographie überprüft, da die Reaktionszeit durchaus variieren kann. Das Produkt (**1**) fällt beim Abkühlen zur Gänze in kristalliner Form aus, wird anschließend nur mit Ethanol und Ether gewaschen und bedarf sonst keiner weiteren Aufarbeitung.

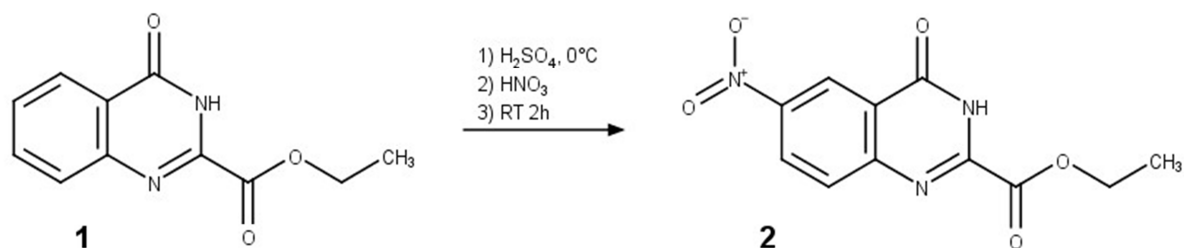


Schema 9: Synthese des Chinazolinoncarbonsäureesters (**1**)

2.1.2. Nitrierung des Chinazolin-carbonsäureesters

Als Vorläufer-Funktion der letztlich angestrebten primären Aminogruppe wurde die Nitrogruppe gewählt und diese sollte bereits auf der Stufe des Chinazolinon-carbonsäureesters eingeführt werden. Die Nitrierung des Esters (**1**) zu Ethyl-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**2**) stellt eine elektrophile Substitution an einem Aromaten dar. Die regio-selektive Einführung der Nitrogruppe in Position 6 des Edukts gelingt aufgrund des dirigierenden Effekts der anderen Substituenten problemlos, da das Amid (-I/-M-Effekt) sie in *meta*-Stellung und das Imin (-I/+M-Effekt) sie in *ortho/para*-Stellung dirigiert. Die Synthese wurde nach der in einem Patent von Gege *et al.* beschriebenen Methode [24] durchgeführt. Hierfür wird der Chinazolinon-carbonsäureester (**1**) in konzentrierter Schwefelsäure gelöst und langsam mit rauchender Salpetersäure versetzt. Die Kühlung des Reaktionsgemisches ist wichtig, da der Vorgang stark exotherm ist. Die Verwendung eines Gemisches aus konz. Schwefelsäure und rauchender Salpetersäure ist durchaus gebräuchlich für derartige Reaktionen, sie hat hier den Vorteil einer guten Löslichkeit des Substrates im Reaktionsmedium und gewährleistet eine hohe Konzentration an Nitronium-Ionen, welche durch Protonierung/Dehydratisierung aus dem HNO₃-Molekül gebildet werden und das eigentliche elektrophile Agens darstellen. Die Reaktion läuft bereits bei Raumtemperatur hinreichend schnell ab. Um zu gewährleisten, dass das Edukt (**1**) möglichst vollständig zum nitrierten Ester (**2**) reagiert, wird das Reaktionsgemisch nach Zugabe der rauchenden Salpetersäure noch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die weitere Aufarbeitung des Produkts (**2**) ist sehr einfach. Nach Fällung der nitrierten Verbindung (**2**) mit Eiswasser wird das Material abgenutscht und gründlich mit Wasser gewaschen. Eine DC- und NMR-

Kontrolle bestätigt die Umsetzung zum Produkt (2) und die Abwesenheit von Edukt (1).

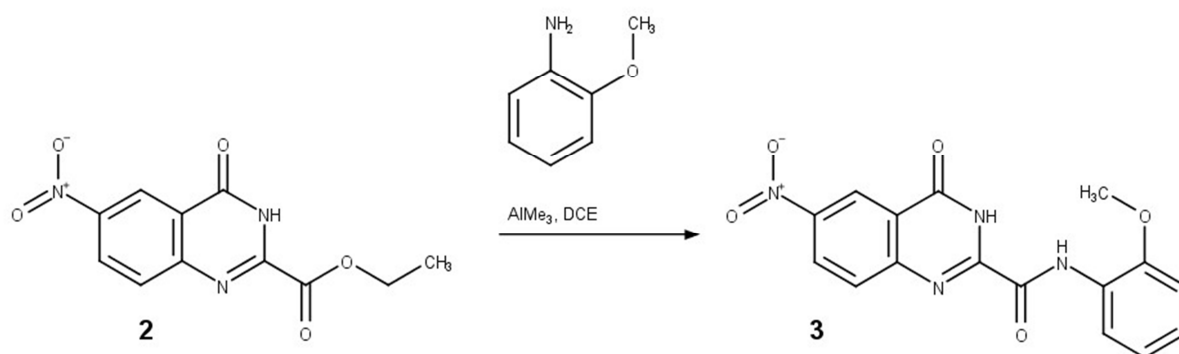


Schema 10: Nitrierung des Chinazolinoncarbonsäureesters

2.1.3. Amidierung des nitrierten Esters mittels Weinreb-Methode

Beim nun folgenden Reaktionsschritt wird das Edukt (2) mit 2-Methoxyanilin, unter Anwendung der als Weinreb-Amidierung bekannten Methode [26] zum entsprechenden Anilid, *N*-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (3) umgesetzt [25]. Unter Argon-Atmosphäre wird zunächst die nur schwach nukleophile Aminogruppe des in 1,2-Dichlorethan (DCE) gelösten Anilin-Derivats durch Zugabe von Trimethylaluminium „aktiviert“. Dann wird der nitrierte Ester (2) zugegeben und das Gemisch unter Rückfluss erhitzt. Mittels DC-Kontrolle konnte nachgewiesen werden das nach zweistündiger Reaktionszeit das Edukt (2) größtenteils zum Anilid (3) umgesetzt ist, jedoch auch noch etwas von der Ausgangsverbindung (2) vorhanden ist. Auch nach 3 Stunden ist das gleiche Bild zu beobachten. Diese im Vergleich zu anderen Anilinen etwas geringere Reaktionsfreude könnte auf die sterische Abschirmung der Aminogruppe durch die *ortho*-ständige Methoxygruppe zurückzuführen sein. Obwohl so ein Teil des Esters (2) unumgesetzt bleibt, liefert die Weinreb-Amidierung zufriedenstellende Ausbeuten und nach der üblichen

Aufarbeitung (Abnutschen und Waschen) wird das Produkt (**3**) in Form orange-gelber Kristalle gewonnen.



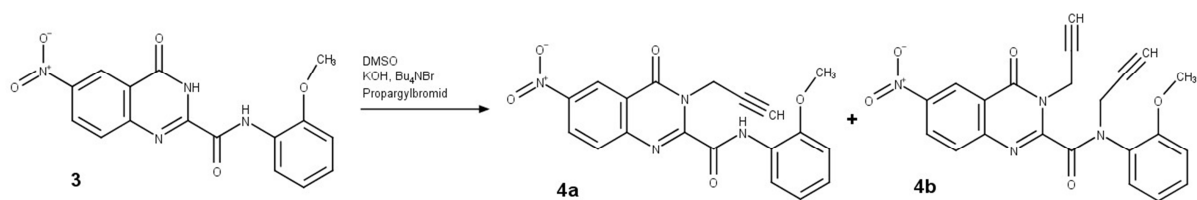
Schema 11: Herstellung des Anilids (**3**) durch Weinreb-Amidierung

Unter Verwendung spektroskopischer Methoden konnte nachgewiesen werden, dass die neue Verbindung das erwartete Produkt *N*-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**3**) ist.

Das ^1H -NMR-Spektrum (s. Tafel 1) zeigt, dass die zwei Singulets des Chinazolin- und Amid-NH, wie zu erwarten bei relativ tiefem Feld erscheinen, nämlich bei 13.19 ppm und 10.30 ppm. Die erfolgreiche Kupplung des Methoxyanilins mit dem Edukt zeigen die Signale des Phenylrests bei 6.99-7.05 ppm, 7.14-7.24 ppm und 8.27 ppm. Das Signal der Protonen der Methoxygruppe tritt bei 3.97 ppm auf. Im ^{13}C -NMR-Spektrum (s. Tafel 2) erscheint das Signal des Amid-C bei 156.3 ppm. Die Signale des Phenylrests treten in einem Bereich von 111.3-148.8 ppm auf. Die Zuordnung aller Signale erfolgte mittels Kombination der zweidimensionalen NMR-Techniken NOESY, COSY, HMBC und HSQC (s. Tafel 3-6).

2.1.4. Alkylierung des Anilids mit Propargylbromid

In diesem Schritt sollte nun durch eine nukleophile Substitutionsreaktion unter Verwendung von Propargylbromid eine Propargylgruppe am N-3 des Chinazolins eingeführt werden, um die Verbindung *N*-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-6-nitro-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**4a**) [25] zu erhalten. Dieses Zwischenprodukt ist für die im nächsten Reaktionsschritt folgende intramolekulare [4+2]-Cycloadditionsreaktion zur Bildung der Ringe B und C erforderlich. Im Gegensatz zu der von unserer Gruppe ursprünglich verwendeten Methode [26] zur Alkylierung des Chinazolinon-Sticksoffs in Position 3 wurde hier das feinpulverisierte und sehr schwer lösliche Anilid (**3**) nicht in DMF, sondern in DMSO suspendiert, was sich schon zuvor bei ähnlichen Löslichkeitsproblemen bewährt hatte [25,27]. Nach Zugabe von KOH, Tetrabutylammoniumbromid sowie Propargylbromid (80% Lösung in Toluol) ergab allerdings die DC-Kontrolle nach 24-stündiger Reaktionszeit, dass das Edukt (**3**) kaum umgesetzt war. Im nächsten Versuch wurde das Reaktionsgemisch vor der tropfenweisen Zugabe der Propargylbromid-Lösung auf 50°C erhitzt, um die Reaktion zu beschleunigen. Tatsächlich konnte nach 24 Stunden kräftigem Rühren bei 50°C durch DC-Kontrolle bestätigt werden, dass unter diesen Bedingungen das Anilid (**3**) nahezu vollständig umgesetzt ist, wobei neben dem gewünschten Produkt (**4a**) auch ein Nebenprodukt, vermutlich die bis-alkylierte Verbindung (**4b**) entsteht.



Schema 12: Propargylierung am Chinazolin-N-3 zum Hauptprodukt (**4a**) und zum vermutlichen bis-Alkylierungsprodukt (**4b**)

Auch durch die sehr langsame, tropfenweise Zugabe von Propargylbromid, womit verhindert werden sollte, dass ein starker lokaler Überschuss an alkylierendem Agens im Reaktionsgemisch entsteht, konnte keine selektivere Propargylierung an N-3 erzielt werden. Für den nächsten Syntheseschritt war es somit nötig, das Nebenprodukt (**4b**) abzutrennen. Reinigungsversuche durch Umkristallisation aus Methanol, Ethanol und DMF waren allerdings erfolglos. Eine gute Reinigung des Produktes gelang hingegen mithilfe der Soxhlet-Extraktion, wobei hier das braun gefärbte Rohprodukt (**4a+4b**) zunächst an Aluminiumoxid adsorbiert wird und dieses Gemisch in eine entsprechend dimensionierte Extraktionshülse gegeben wird. Als geeignetes Extraktionsmittel erwies sich Ethylacetat. Das gewünschte, an N-3 alkylierte Produkt (**4a**) konnte auf diese Weise sehr gut vom Nebenprodukt (**4b**), welches Großteils in der Extraktionshülse verbleibt, abgetrennt werden. Nach Eindampfen und anschließender Umkristallisation aus 1-Propanol konnte mittels DC gezeigt werden, dass praktisch nur mehr reines Produkt (**4a**) vorhanden ist, welches nun in Form gelber Kristalle vorliegt.

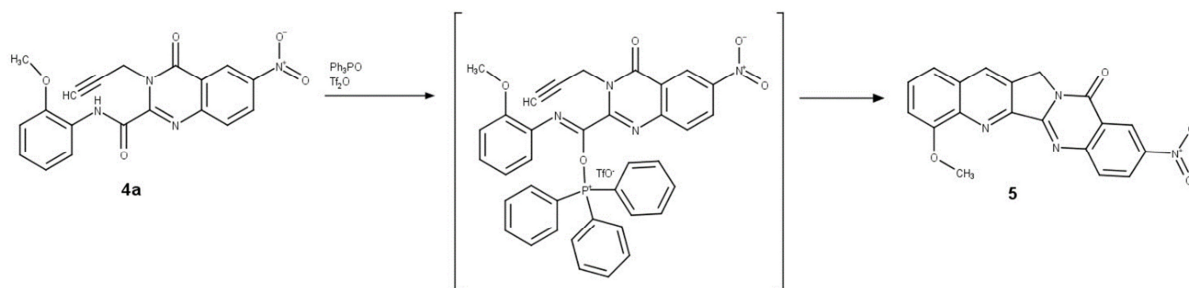
Mittels NMR-Experimenten konnte zweifelsfrei gezeigt werden, dass es sich bei der so hergestellten Verbindung um das gewünschte monoalkylierte Produkt, *N*-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-6-nitro-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**4a**), handelt.

Im ^1H -NMR-Spektrum (s. Tafel 7) ist das Signal des Chinazolin-NH verschwunden, jenes des Amid-NH erscheint bei tiefem Feld (10.43 ppm). Die Signale des Propargylrests sind bei 3.89 ppm (N-CH₂) und 3.35 ppm (Acetylen-H) lokalisiert. Das ^{13}C -NMR-Spektrum (s. Tafel 8) zeigt bei tiefem Feld die Signale des Amid-C bei 158.6 ppm und des Chinazolinon-4-C bei 159.5 ppm. Die drei Signale des Propargylrests erscheinen in den zu erwarteten Bereichen bei 34.4 ppm, 75.2 ppm sowie 77.9 ppm.

2.2. Synthese der neuen Verbindungen

2.2.1. Simultane Bildung der Ringe B und C durch intramolekulare Cycloadditionsreaktion

Die Umsetzung des an N-3 propargylierten Anilides (**4a**) sollte in Analogie zu dem ursprünglich von Zhou *et al.* [22] beschriebenen Syntheseweg über eine intramolekulare aza-Diels-Alder-Reaktion erfolgen. Für diese Reaktion wird *in situ* hergestelltes Hendrickson-Reagens [Bis(triphenyl)oxo-diphosphonium-Trifluormethansulfonat] benötigt. Dieses wird erhalten, indem eine Lösung von Triphenylphosphinoxid in trockenem Dichlormethan bei 0°C und unter Inertgas (Argon) mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid versetzt wird [22]. Nach Zugabe des Edukts (**4a**) bei Raumtemperatur reagiert das Hendrickson-Reagens mit dem sekundären Amid unter Bildung eines reaktiven Aza-Diens. Auf die erfolgreiche Umsetzung zur angestrebten Verbindung 4-Mehtoxy-9-nitrochino-[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**5**) lässt bereits eine immer stärkere Verfärbung des Reaktionsgemisches schließen. Die Reaktion läuft aufgrund der sehr geringen Löslichkeit von **4a** eher langsam ab. Nach 24-stündiger Reaktionszeit ist mittels DC eine sehr starke Produktbande, praktisch kein Edukt (**4a**) sowie erwartungsgemäß einiges Triphenylphosphinoxid nachweisbar. Das Produkt (**5**) wird nach Filtration und Reinigung in Form brauner Kristalle in einer Ausbeute von 60-67% gewonnen.



Schema 13: Intramolekulare Cycloadditionsreaktion zum pentacyclischen System

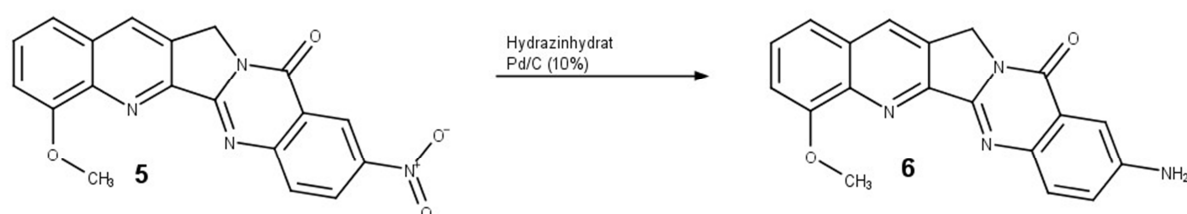
Im Massenspektrum (s. Tafel 15) der pentacyclischen Verbindung erscheint der Molekülionenpeak erwartungsgemäß bei $m/z = 360$. Der Basispeak des Spektrums tritt bei $m/z = 308$ auf. Im ^1H -NMR-Spektrum (s. Tafel 16) fehlen nun die Signale des Amid-H sowie die des Propargylrests, was auf die Umsetzung zur gewünschten Struktur hinweist. Sämtliche Protonensignale des Ringsystems sowie die der Methoxygruppe konnten zweifelsfrei zugeordnet werden. Die Aufnahme eines ^{13}C -NMR-Spektrums war aufgrund der unzureichenden Löslichkeit der Verbindung nicht möglich.

2.2.2. Reduktion der Nitrogruppe zum Amin

Die Zielverbindung 9-Amino-4-methoxy-Luotonin A (**6**) sollte nun aus **5** durch Reduktion der Nitrogruppe zum Amin erhalten werden. Für eine derartige Reduktion einer NO_2 -Funktion zum primären Amin gibt es zahlreiche Möglichkeiten. Die Entscheidung fiel auf eine Reduktionsmethode, welche in unserer Arbeitsgruppe mehrmals mit Erfolg angewendet wurde, um Amino-substituierte Luotonin-A-Derivate zu gewinnen. [25,28] Diese zuvor von Deady *et al.* [29] beschriebene Methode ist eine Palladium-katalysierte Transferhydrierung, bei welcher der benötigte Wasserstoff *in situ* aus Hydrazinhydrat generiert wird. Dieser Weg bietet einige Vorteile:

1. Falls erforderlich, kann die Reaktion bei erhöhter Temperatur, aber trotzdem unter Normaldruck durchgeführt werden.
2. Die In-Prozess-Kontrollen mittels DC sind leicht durchführbar da kein gasförmiger Wasserstoff verwendet wird.
3. Überschüssiges Reduktionsmittel (Hydrazinhydrat) kann problemlos unter vermindertem Druck entfernt werden, es verbleiben keinerlei nicht-flüchtigen Anteile.

Hierzu wird das schwerlösliche Edukt (**5**) in Ethanol suspendiert und nach Zugabe von Hydrazinhydrat und dem Palladiumkatalysator (10% Palladium auf Aktivkohle) unter Argon-Atmosphäre zum Rückfluss erhitzt. Bedingt durch die überaus geringe Löslichkeit von **5** läuft die Reaktion sehr langsam ab. Der Reaktionsfortschritt lässt sich dennoch durch eine immer stärkere Verfärbung des Reaktionsgemisches von braun nach grün beobachten. Durch In-Prozess-Kontrollen mittels DC konnte eine immer weiter voranschreitende Umsetzung des Edukts (**5**) zu einer neuen Verbindung nachgewiesen werden. Eine DC-Kontrolle ergab, dass nach 24 Stunden immer noch Edukt vorhanden ist. Deshalb erwies es sich als zweckmäßig, die Lösungsmittelmenge zu verdoppeln und die Menge an Hydrazinhydrat um 20% zu erhöhen, um die Reduktion zu beschleunigen. Durch diese Anpassungen gelang es, das Edukt (**5**) innerhalb von 24 Stunden nahezu vollständig zum Produkt umzusetzen. Letzteres macht sich in Form einer intensiv grün-blau fluoreszierenden Bande im Dünnschichtchromatogramm bemerkbar. Nach Beendigung der Reaktion wird ein Lösungsmittelwechsel von Ethanol (in welchem das Produkt nur teilweise löslich ist) zu DMF vorgenommen, um den Katalysator mittels Filtration zu entfernen. Das so gewonnene Filtrat wird eingeeengt und mit Wasser versetzt wodurch das Produkt (**6**) in Form orange-brauner Kristalle ausfällt. Nach Filtration, Waschen und Trocknen wird die Zielverbindung letztlich in einer Ausbeute von 95% erhalten.

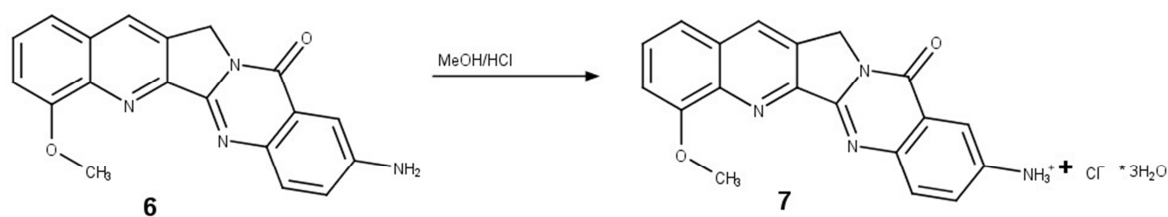


Schema 14: Reduktion zum Amin

Im EI-Massenspektrum (s. Tafel 18) der Zielverbindung **6** erscheint der Molekülionenpeak erwartungsgemäß bei $m/z = 330$, die Summenformel wird weiters durch ein hochaufgelöstes Massenspektrum (ESI-TOF) in Form des $[M+H]^+$ -Ions bei $m/z = 331.1185$ bestätigt (berechneter Wert: 331.1190). Im Gegensatz zur Nitroverbindung **5** ist das Amin **6** ausreichend in DMSO- d_6 löslich, was die Durchführung einer kompletten Serie von NMR-Experimenten ermöglichte. Im ^1H -NMR-Spektrum fällt die gegenüber **5** deutliche Hochfeldverschiebung der Signale von Ring-H-Atomen auf, was auf den elektronenliefernden Effekt der Aminogruppe zurückzuführen ist. Letztere Funktionalität tritt in Form eines verbreiterten Singuletts der relativen Intensität 2 bei 5.84 ppm in Erscheinung. Die komplette ^1H -Signalzuordnung basiert auf den Crosspeaks im COSY- (Tafel 25) und NOESY-Spektrum (Tafel 26). Darauf aufbauend gelang auch die Zuordnung sämtlicher ^{13}C -NMR-Signale (s. Experimenteller Teil), von denen hier exemplarisch die Resonanzen der Atome 11-C (159.4 ppm), 4-C (155.7 ppm) und 9-C (148.4 ppm) zu nennen sind.

2.2.3. Herstellung eines Salzes von 9-Amino-4-methoxy-Luotonin-A

Abschließend sollte nun auch versucht werden ein Hydrochlorid als gut wasserlösliches Salz der neuen Amino-Verbindung (**6**) zu gewinnen. Hierfür wurde methanolische HCl aus Acetylchlorid und Methanol hergestellt. Das basische Edukt (**6**) wurde mit einem Überschuss dieser methanolischen HCl versetzt und 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Abdampfen aller flüchtigen Anteile wurde die Prozedur wiederholt. Die Elementaranalyse des getrockneten Materials zeigte, dass es sich bei dem Salz offenbar um das Monohydrochlorid-Trihydrat (**7**) handelt.



Schema 14: Herstellung des HCl-Salzes

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Zielverbindung 9-Amino-4-methoxy-Luotonin A (**6**) über den beschriebenen Syntheseweg in durchaus ansprechender Gesamtausbeute zugänglich gemacht werden konnte. Die Struktur der Verbindung sowie jene sämtlicher Zwischenprodukte wurden mittels gängiger spektroskopischer Methoden zweifelsfrei gesichert. Die Zielverbindung (**6**) bzw. deren Hydrochlorid (**7**) soll in weiterer Folge hinsichtlich zytotoxischer Aktivität gegenüber humanen Tumorzell-Linien getestet werden, über die entsprechenden Ergebnisse wird an anderer Stelle zu berichten sein.

3. Experimenteller Teil

3.1. Methoden und Geräte

3.1.2. Dünnschichtchromatographie:

Für die Reaktionskontrollen wurden DC-Alufolien (Kieselgel 60 F₂₅₄) von der Firma Macherey-Nagel verwendet.

3.1.3. Schmelzpunktbestimmung:

Die Bestimmung sämtlicher Schmelzpunkte wurde mit einem Kofler-Heiztischmikroskop der Firma Leica durchgeführt.

3.1.4. Spektrometrie/Spektroskopie:

Massenspektrometrie:

- EI-Massenspektren: Shimadzu QP5050A, 70 eV
- ESI-Hochauflösungsmassenspektren: Bruker maXis ESI Qq-TOF

NMR:

- ¹H-NMR (400 MHz) und ¹³C-NMR (100 MHz) wurden auf einem Bruker Avance III 400 Spektrometer aufgenommen

3.1.5. Lösungsmittel und Reagenzien:

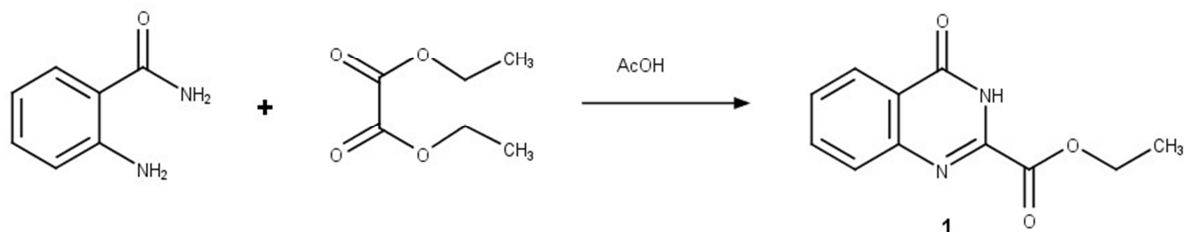
Alle LM und Reagenzien wurden von der Firma VWR bzw. Sigma Aldrich in „reinst“ Qualität bezogen und ohne Reinigung verwendet.

3.1.6. Elementaranalyse:

Die Elementaranalyse wurde im Mikroanalytischen Labor der Fakultät für Chemie an der Universität Wien (Leitung: Mag. Johannes Theiner) durchgeführt.

3.2. Arbeitsvorschriften

3.2.1. Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**1**) [30]



In einem 100 ml Rundkolben werden 6.80 g (50 mmol) Anthranilsäureamid mit 50 ml Oxalsäurediethylester und 0.5 ml Eisessig versetzt und das Gemisch wird 24-36 h unter Rückfluss erhitzt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC (Fließmittel $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9+1) überprüft. Das Reaktionsgemisch wird abgekühlt, der Niederschlag abgenutscht und mit EtOH gewaschen. Anschließend wird das Produkt in Ether (50 ml) re-suspendiert, 30 min gerührt, wieder abgenutscht, mit EtOH und Ether gewaschen und unter Vakuum im Exsikkator getrocknet.

Aussehen: farblose Kristalle

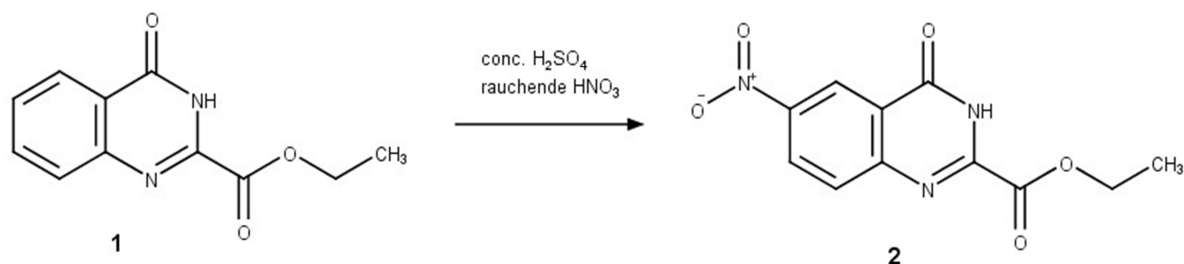
Ausbeute: 8.6 g (79%; Lit.[30]: 57%)

Summenformel: $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$

Molekulargewicht: 218.23 g/mol

Schmelzpunkt: 182-183°C (Lit.[30]: 179-180°C)

3.2.2. Ethyl-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**2**) [31]



In einem 50 ml Zweihals-Rundkolben, ausgestattet mit Rückflusskühler und Tropftrichter, werden 3.55 g (16.3 mmol) Edukt (**1**) in 25 ml H_2SO_4 conc. bei RT gelöst und mittels Eisbad auf 0°C abgekühlt. Zur gerührten Lösung werden über den Tropftrichter langsam 12.5 ml rauchende HNO_3 zugesetzt und das Eisbad wird danach entfernt. Nach 2 h Rühren bei RT wird das Reaktionsgemisch auf Eis getropft und weitere 10 min gerührt. Der Niederschlag wird abgenutscht, mit Wasser bis zur pH-Neutralität gewaschen und unter Vakuum im Exsikkator getrocknet.

Aussehen: farblose Kristalle

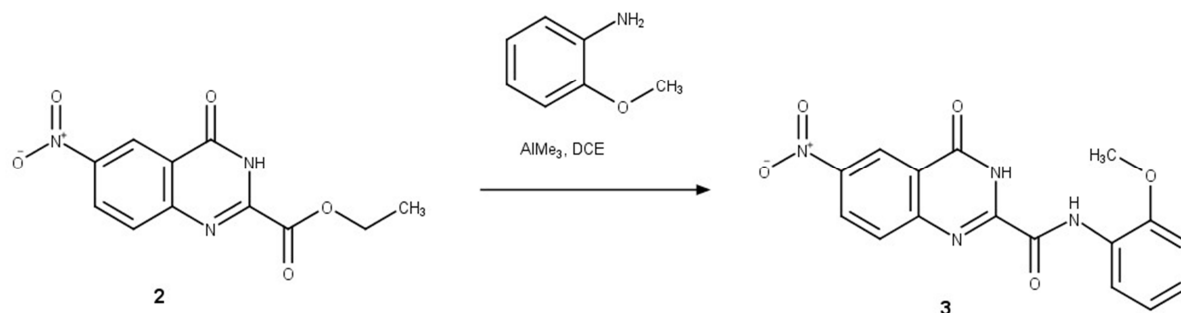
Ausbeute: 4.12 g (96%; Lit.[31]: 94%)

Summenformel: $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_5$

Molekulargewicht: 264.24 g/mol

Schmelzpunkt: $227\text{--}228^\circ\text{C}$

3.2.3. N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3) [25]



Zu einer Lösung von 985 mg (8 mmol) 2-Methoxyanilin in 20 ml trockenem 1,2-Dichlorethan wird unter Argon, tropfenweise eine 2 M Lösung von AlMe_3 in Heptan (4 ml, 8 mmol) zugegeben und 30 min bei RT gerührt. Anschließend werden 1.316 g (5 mmol) Nitroester **2** in einer Portion zugegeben und das Reaktionsgemisch wird 2 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf 0°C wird 2 N HCl (20 ml) zugesetzt, gefolgt von Wasser (80 ml). Nach kurzem Rühren wird das erhaltene System (flüssig/flüssig/fest) abgenutscht und der Filterkuchen mit EtOH (96%) gewaschen und im Exsikkator getrocknet.

Aussehen: gelb-orange Kristalle

Ausbeute: 1.31 g (77%)

Summenformel: $\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_5$

Molekulargewicht: 340.32 g/mol

Schmelzpunkt: $310\text{--}311^\circ\text{C}$

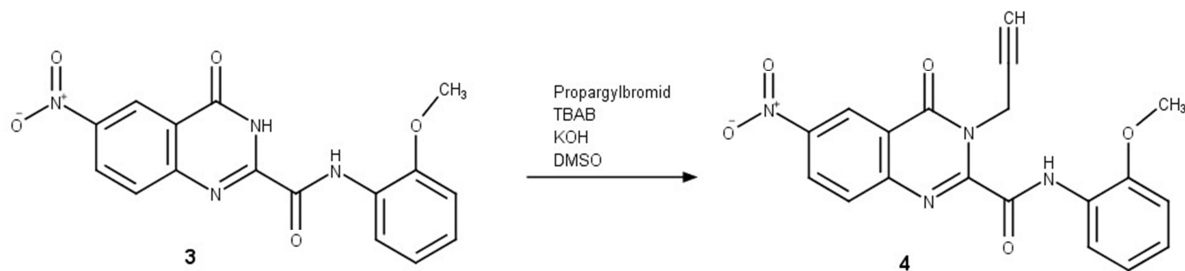
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$; Tafel 1):

δ 13.19 (br s, 1H, Chinazolinon-NH), 10.30 (br s, 1H, Amid-NH), 8.83 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, 5-H), 8.62 (dd, $J = 8.9, 2.7$ Hz, 1H, 7-H), 8.27 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H, Phenyl 6'-H), 8.04 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H, 8-H), 7.24–7.14 (m, 2H, Phenyl 3'-H, 4'-H), 7.07–6.99 (m, 1H, Phenyl 5'-H), 3.97 (s, 3H, OCH_3)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6 ; Tafel 2)

δ (unvollst.) 161.0 (4-C), 156.3 (Amid C=O), 148.9 (2-C oder Phenyl 2'-C), 148.8 (2-C oder Phenyl 2'-C), 145.8 (6-C), 129.5 (8-C), 128.6 (7-C), 125.8 (Phenyl 1'-C), 125.4 (Phenyl 4'-C), 122.1 (5-C), 120.7 (Phenyl 5'-C), 119.5 (Phenyl 6'-C), 111.3 (Phenyl 3'-C), 56.1 (OCH_3)

3.2.4. N-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)



Eine Suspension von 255 mg (0.75 mmol) fein pulverisiertem Amid (**3**) in 20 ml DMSO wird 30 min bei RT gerührt. Danach folgt die Zugabe von 68 mg (1.2 mmol) fein pulverisiertem KOH und 20 mg Tetrabutylammoniumbromid. Das Gemisch wird 20 min im Ultraschallbad beschallt. Nach Erwärmen des Reaktionsgemisches auf 50°C erfolgt unter kräftigem Rühren die tropfenweise Zugabe einer Lösung von 123 mg (0.78 mmol) Propargylbromid (80% Lösung in Toluol) in 15 ml DMSO über einen Zeitraum von 2 h. Nach weiteren 24 h Rühren bei 50°C erfolgt eine DC-Kontrolle (Fließmittel: CH₂Cl₂/Ethylacetat, 95+5; dazu wird etwas Reaktionsmischung entnommen und in einer Phiole mit je 1 ml Wasser und Ethylacetat ausgeschüttelt, eine Probe der Ethylacetatphase wird auf die DC-Folie aufgetragen), danach wird das Gemisch abgekühlt, mit 100 ml Wasser versetzt und 30 min im Kühlschrank aufbewahrt. Der Niederschlag wird abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Das so erhaltene, braun gefärbte Rohprodukt wird mit Al₂O₃ vermischt und mittels Soxhlet-Extraktion (Extraktionsmittel: Ethylacetat; Extraktionszeit: 24-48 h) gereinigt. Der Extrakt wird am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft und der Rückstand aus 1-Propanol umkristallisiert.

Aussehen: gelbe Kristalle

Ausbeute: 237 mg (84%)

Summenformel: C₁₉H₁₄N₄O₅

Molekulargewicht: 378.37 g/mol

Schmelzpunkt: 235-236°C

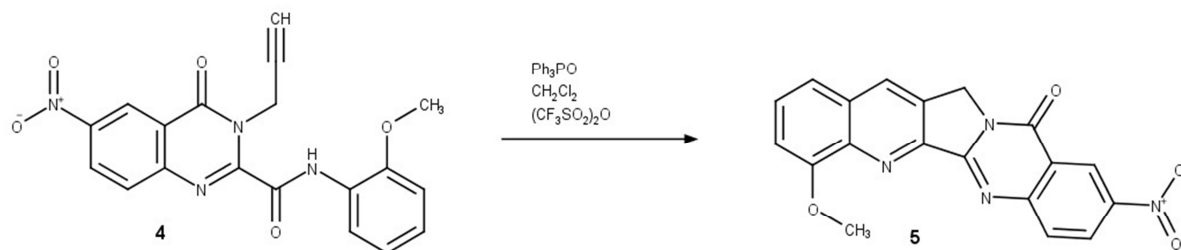
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 7)

δ 10.43 (s, 1H, NH), 8.90 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, 5-H), 8.65 (dd, *J* = 8.9, 2.7 Hz, 1H, 7-H), 8.07–8.00 (m, 2H, 8-H, Phenyl 6'-H), 7.23 (ddd, *J* = 7.9, 7.5, 1.6 Hz, 1H, Phenyl 4'-H), 7.15 (dd, *J* = 8.3, 1.2 Hz, 1H, Phenyl 3'-H), 7.03 (td, *J* = 7.7, 1.3 Hz, 1H, Phenyl 5'-H), 5.05 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, NCH₂), 3.89 (s, 3H, OCH₃), 3.35 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, Acetylen-H)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 8)

δ 159.5 (4-C), 158.6 (Amid C=O), 150.8 (2-C), 150.2 (Phenyl 2'-C), 149.9 (8a-C), 146.1 (6-C), 129.5 (8-C), 129.1 (7-C), 126.2 (Phenyl 4'-C), 125.5 (Phenyl 1'-C), 122.4 (5-C), 121.9 (Phenyl 6'-C), 121.3 (4a-C), 120.5 (Phenyl 5'-C), 111.6 (Phenyl 3'-C), 77.9 (Propargyl 2-C), 75.2 (Propargyl 3-C), 55.9 (OCH₃), 34.4 (Propargyl 1-C)

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



Zu einer Lösung von 835 mg (3 mmol) Triphenylphosphinoxid in 22 ml trockenem CH_2Cl_2 werden tropfenweise 0.25 ml (1.5 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid bei 0°C unter Argon-Atmosphäre zugesetzt und das Reaktionsgemisch wird 15 min gerührt. Dann werden bei 0°C 378 mg (1 mmol) des Eduktes (**4**) in einer Portion zugegeben und das Eisbad wird entfernt. Die Suspension wird 24 h bei RT gerührt, der Niederschlag wird abgenußt, mit CH_2Cl_2 gewaschen und 1 h im Vakuumexsikkator getrocknet. Dieses Rohprodukt wird mit NaHCO_3 -Lösung (10%), gefolgt von Wasser bis zur pH-Neutralität gewaschen und anschließend im Exsikkator getrocknet. Zur weiteren Reinigung wird das Produkt in EtOH suspendiert und 30 min zum Rückfluss erhitzt. Danach wird es abfiltriert, mit EtOH gewaschen und getrocknet.

Aussehen: braune Kristalle

Ausbeute: 245 mg (68%)

Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_4$

Molekulargewicht: 360.35 g/mol

Schmelzpunkt: $>350^\circ\text{C}$

MS (Tafel 15):

m/z (rel. Int.) = 360 (M^+ , 6%), 309 (20), 308 (100), 278 (18), 164 (17), 144 (19), 134 (76), 106 (23), 90 (48), 63 (38), 57 (26)

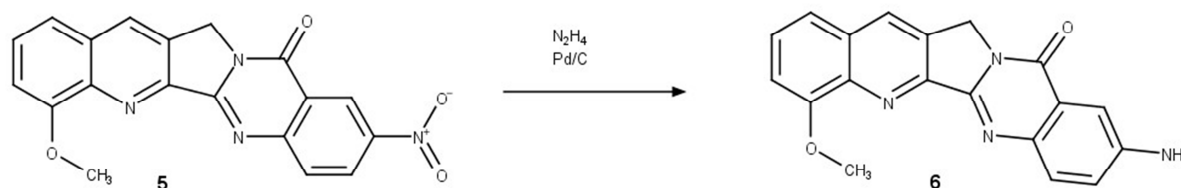
HRMS:

ber. f. [M+H] ⁺	361.0931
gef.	361.0926

¹H NMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 16)

δ 8.98 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H, 10-H), 8.76 (s, 1H, 14-H), 8.68 (dd, *J* = 9.0, 2.7 Hz, 1H, 8-H), 8.17 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H, 7-H), 7.73–7.69 (m, 2H, 1-H, 2-H), 7.35 (dd, *J* = 5.6, 3.3 Hz, 1H, 3-H), 5.37 (s, 2H, 13-CH₂), 4.09 (s, 3H, OCH₃)

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



Zu einer Suspension von 180 mg (0.5 mmol) der Nitroverbindung (**5**) in 100 ml EtOH werden 437.5 mg (7 mmol) Hydrazinhydrat (80%) und 30 mg Pd/C (10%) zugegeben und das Gemisch wird unter Argon-Atmosphäre 24 h bei Rückfluss-Temperatur kräftig gerührt. Nach DC-Kontrolle (Fließmittel: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$, 30+1) wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer eingedampft, der Rückstand in 15 ml DMF aufgenommen und der Katalysator abfiltriert. Das Filtrat wird unter vermindertem Druck auf ca. 5 ml eingedampft, mit 5 ml Wasser verdünnt und 30 min in den Kühlschrank gestellt. Der Niederschlag wird abgenutscht, mit 70% EtOH gründlich gewaschen und im Exsikkator getrocknet.

Aussehen: orange-braune Kristalle

Ausbeute: 158 mg (95%)

Summenformel: $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2$

Molekulargewicht: 330.37 g/mol

Schmelzpunkt: $>350^\circ\text{C}$

MS (Tafel 18):

m/z (rel. Int.) = 331 (17%), 330 (M^+ , 21), 300 (60), 140 (31), 83 (39), 71 (50), 69 (49), 63 (40), 57 (100), 56 (32), 55 (79)

HRMS:

ber. f. $[\text{M}+\text{H}]^+$	331.1190
gef.	331.1185

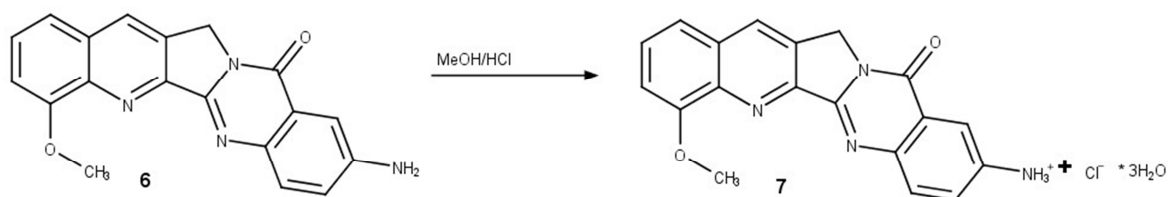
¹H NMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 19)

δ 8.61 (s, 1H, 14-H), 7.67 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, 7-H), 7.62 (d, *J* = 4.2 Hz, 2H, 1-H, 2-H), 7.36 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, 10-H), 7.32–7.25 (m, 1H, 3-H), 7.20 (dd, *J* = 8.7, 2.4 Hz, 1H, 8-H), 5.84 (s, 2H, NH₂), 5.25 (s, 2H, 13-CH₂), 4.05 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR: (100 MHz, DMSO-*d*₆; Tafel 20)

δ 159.4 (11-C), 155.7 (4-C), 150.5 (5a-C), 148.6 (5b-C), 148.4 (9-C), 140.4 (4a-C), 139.7 (6a-C), 131.1 (14-C), 130.9 (13a-C), 129.1 (14a-C), 129.0 (7-C), 128.1 (2-C), 122.33 (8-C), 122.26 (10a-C), 119.6 (1-C), 108.7 (3-C), 106.1 (10-C), 55.7 (OCH₃), 47.1 (13-C)

3.2.7. 9-Amino-4-methoxy-Luotonin A Hydrochlorid-Trihydrat



In einem 100 ml Rundkolben werden 27 mg der Ausgangsverbindung (**6**) mit 10 ml HCl/MeOH (s.u.) versetzt. Dann wird das Gemisch 30 min kräftig gerührt und danach am Rotationsverdampfer eingedampft. Mit dem verbleibenden Rückstand wird diese Prozedur einmal wiederholt. Nach dem letzten Abdampfen wird der Rückstand im Exsikkator getrocknet.

Methanolische HCl: Zu 0.05 mol (3.9 g) Acetylchlorid werden langsam 100 ml Methanol zugegeben. Anschließend wird das Gemisch 1 h stehen gelassen.

Aussehen: braun-schwarze Kristalle

Ausbeute: 61 mg

Summenformel: C₁₉H₁₄N₄O₂ * HCl * 3 H₂O

Molekulargewicht: 420.85 g/mol

Elementaranalyse:

	%C	%H	%N	%Cl
gefunden	54.25	4.60	13.33	7.72
berechnet	54.23	5.03	13.31	8.42

4. Literaturverzeichnis

1. Rendi-Wagner, P., Arrouas, M., *Krebsrahmenprogramm für Österreich*, Bundesministerium für Gesundheit, Wien (2014).
2. Statistik Austria (2019),
https://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/index.html
3. Statistik Austria (2019),
https://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/krebs_im_ueberblick/index.html
4. Aktories, K., Förstermann, U.; Hoffmann, F., Starke, K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 11. Auflage, Elsevier, München, Kapitel 35 (2013).
5. Steinhilber, D., Schubert-Zsilavecz, M., Roth, H., *Medizinische Chemie*, 2. Auflage, Deutscher Apothekerverlag, Stuttgart, Kapitel 12 (2010).
6. Müller-Esterl, W., Brandt U., Anderka O., Kerscher S., *Biochemie – Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 2. Auflage, Spektrum-Verlag, Heidelberg, Kapitel 21 (2011).
7. Knippers, R., *Molekulare Genetik*, 9. komplett überarbeitete Auflage, Thieme, Stuttgart, Kapitel 7 (2006).
8. Berk, A., Baltimore, D., Lodish, H., Darnell, J., Matsudaira, P., Zipursky, S. L., *Molekulare Zellbiologie*, 2. Auflage, Walter de Gruyter, New York, Berlin, Kapitel 10 (1996).
9. Pizzolato, J. F., Saltz, L. B., *Lancet*, **361**, 2235-2242 (2003).
10. Burke, T. G., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **803**, 29–31 (1996).
11. Liang, J. L., Cha, H. C., Jahng, Y. *Molecules*, **16**, 4861–4883 (2011) und dort zitierte Literatur.
12. Haider, N., Meng, G., Roger, S., Wank, S., *Tetrahedron*, **69**, 7066-7072 (2013).

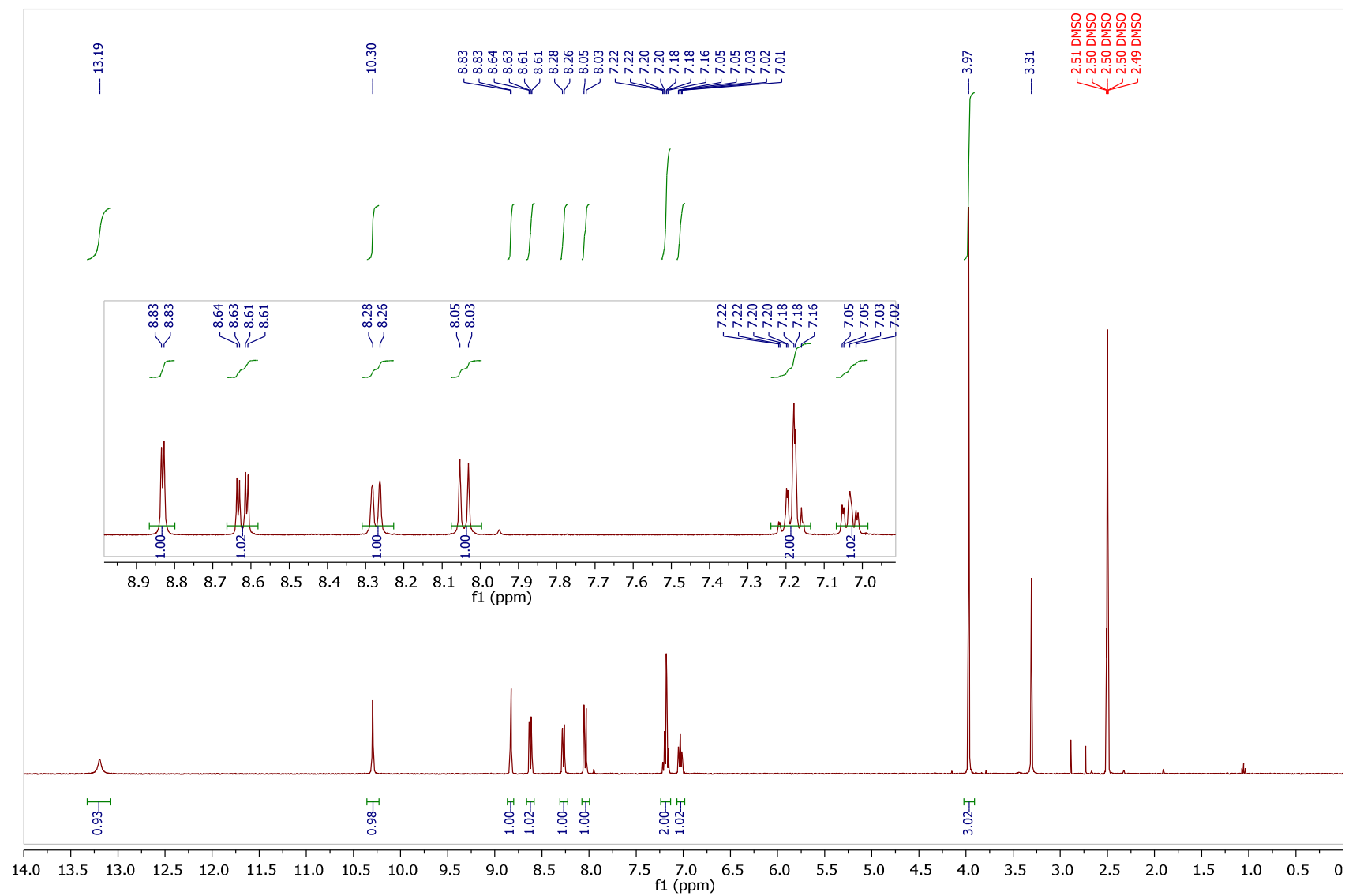
13. Atia, M., Bogdan, D., Brügger, M., Haider, N., Matyus, P., *Tetrahedron*, **73**, 3231-3239 (2017).
14. Ma, Z.-Z., Hano, Y., Nomura, T., Chen, Y.-J., *Heterocycles*, **46**, 541-546 (1997).
15. Ma, Z.-Z., Hano, Y., Nomura, T., Chen, Y.-J., *Heterocycles*, **51**, 1593-1596 (1999).
16. Kelly, T.R., Chamberland, S., Silva, R.A., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 2723-2724 (1999).
17. Sridharan, V., Ribelles, P., Terresa Ramos, M., Carlos Menendez, J., *J. Org. Chem.*, **74**, 5715-5718 (2009).
18. Harayama, T., Hori, A., Serba, G., Morikami, Y., Matsumoto, T., Abe, H., Takeuchi, Y., *Tetrahedron*, **60**, 10645-10649 (2004).
19. Kametani, T., Higa, T., Loc, C.V., Ihara, M., Koizumi, M., Fukumoto, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 6186-6188 (1976).
20. Jahng, K.C., Kim, S.I., Kim, D.H., Seo, C.S., Son, J.-K.; Lee, S.H., Lee, E.S., Jahng, Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **56**, 607-609 (2008).
21. Twin, H., Batey, R.A., *Org. Lett.*, **6**, 4913-4916 (2004).
22. Zhou, H.-B., Liu, G.-S., Yao, Z.-J., *J. Org. Chem.*, **72**, 6270-6272 (2007).
23. Beaume, A., Courillon, C., Derat, E., Malacria, M., *Chem. Eur. J.*, **14**, 1238-1252 (2008).
24. Tseng, M.-C., Chu, Y.-W., Tsai, H.-P., Lin, C.-M., Hwang, J., Chu, Y.-H., *Org. Lett.*, **13**, 920-923 (2011).
25. Ibric, A., geplante Dissertation, Universität Wien (2019).
26. Haider, N., Nuß, S., *Molecules*, **17**, 11363–11378 (2012).
27. Atia, M., Diplomarbeit, Universität Wien (2017).
28. Haider, N., Schneider, E., *Molbank*, M1050 (2019).
29. Deady, L.W., Sette, R.M.D., *Aust. J. Chem.*, **54**, 177-180 (2001).
30. Baker, B. R., Almula, P. I., *J. Org. Chem.*, **27**, 4672 (1962).

31. 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.*, WO 2008063668 (2008).

5. Anhang

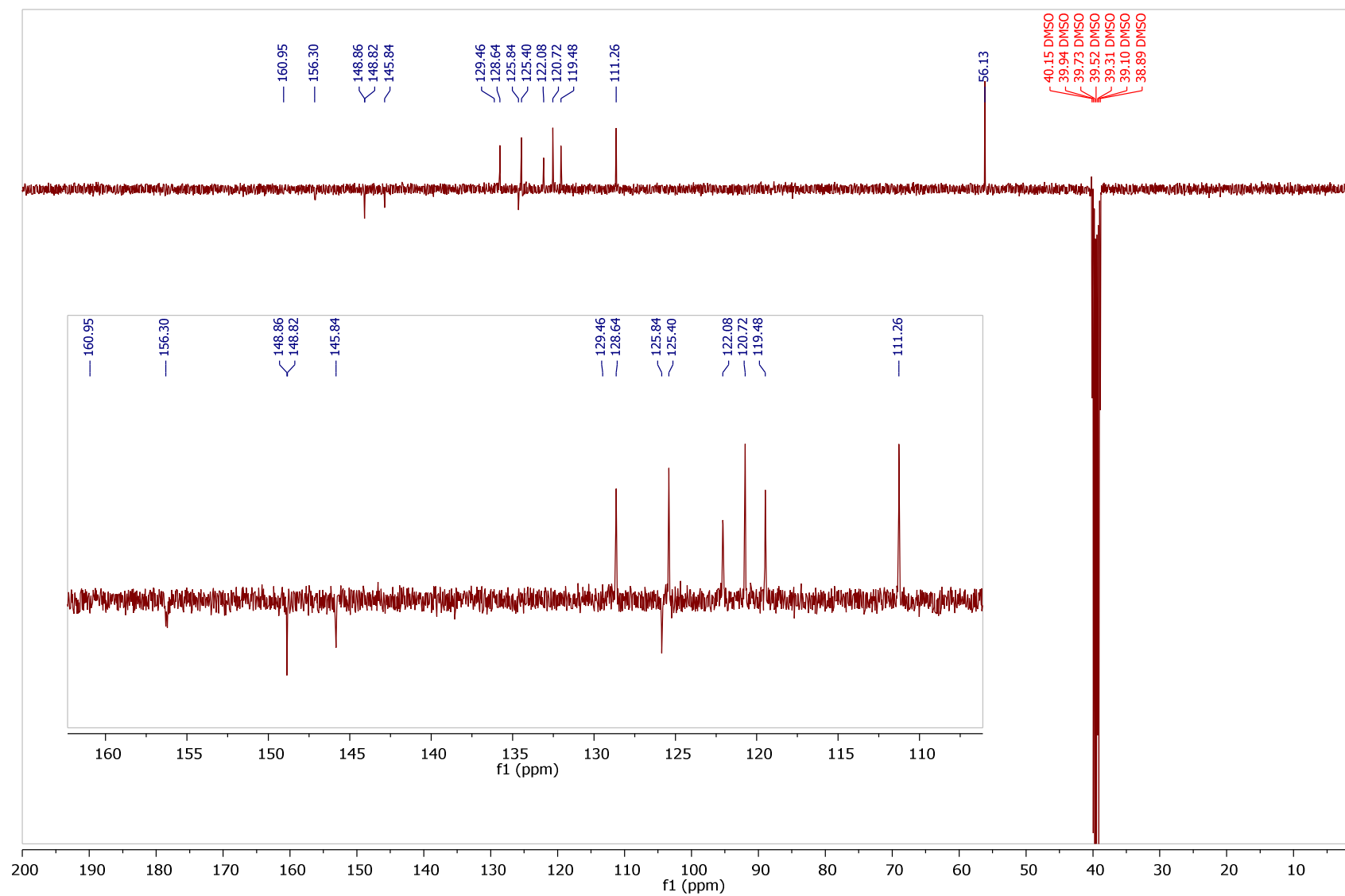
5.2. Spektren

AI34 (CS); N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide 1H / DMSO



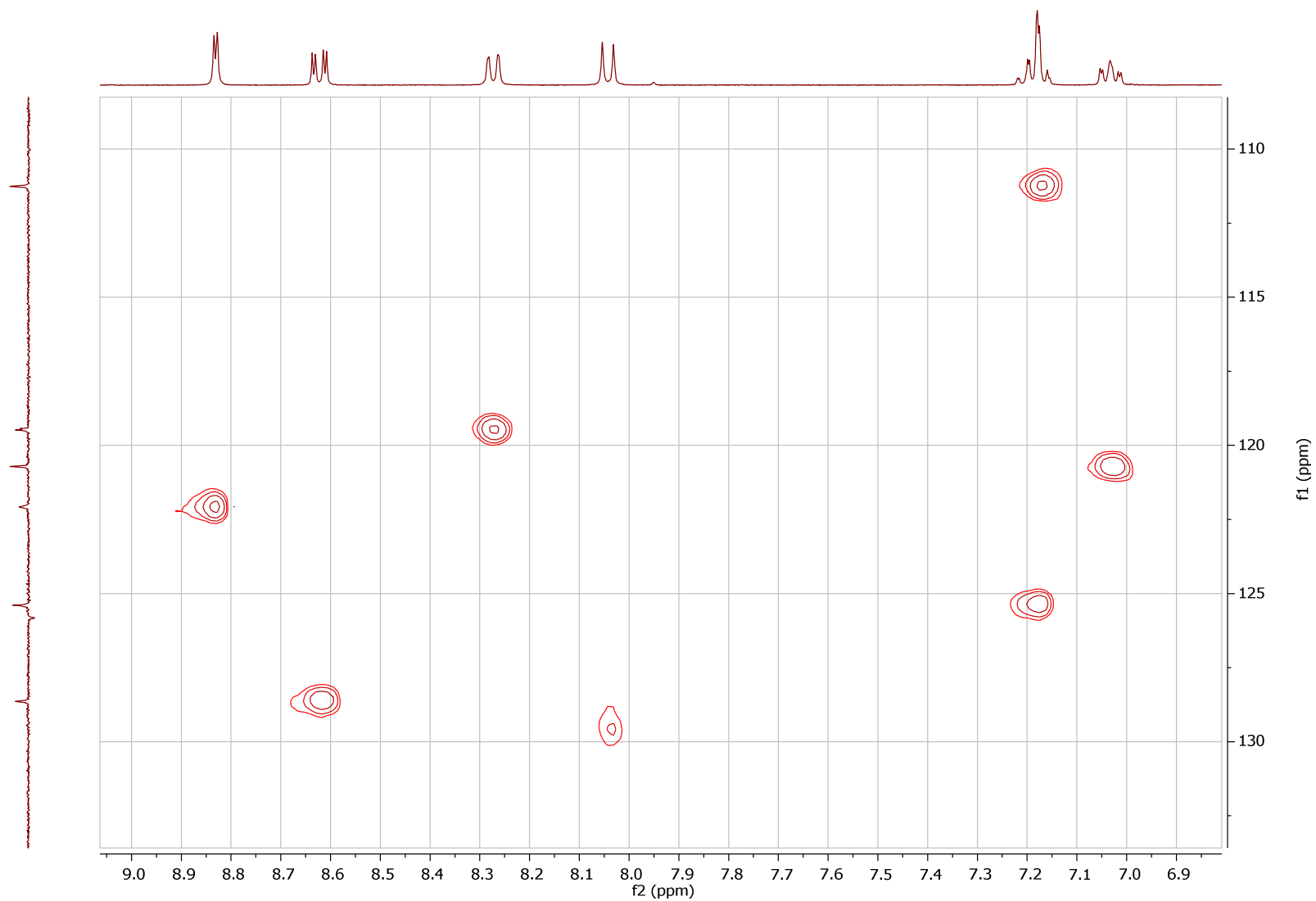
Tafel 1: N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

AI34 (CS); N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide C13APT / DMSO



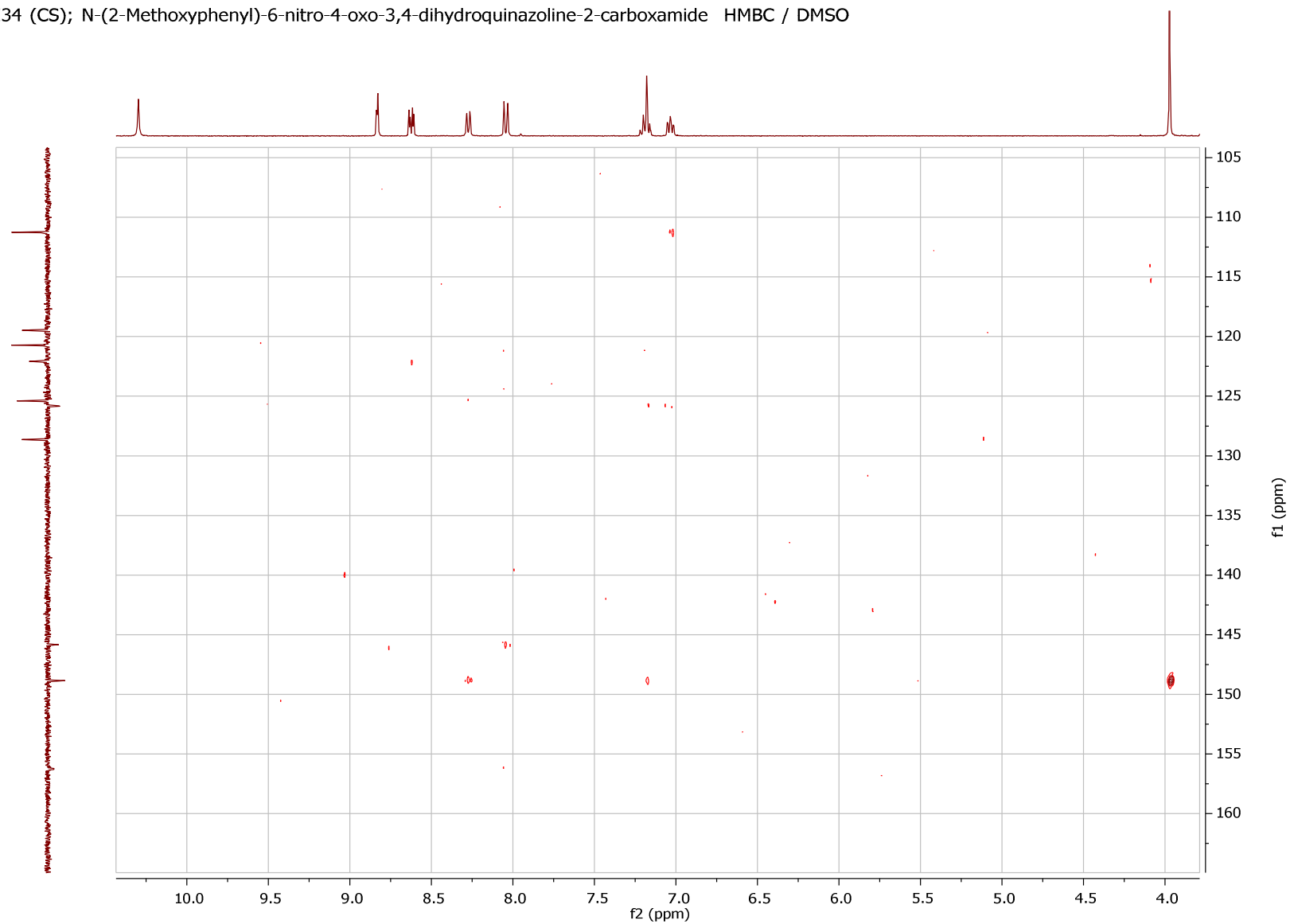
Tafel 2: N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

AI34 (CS); N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO



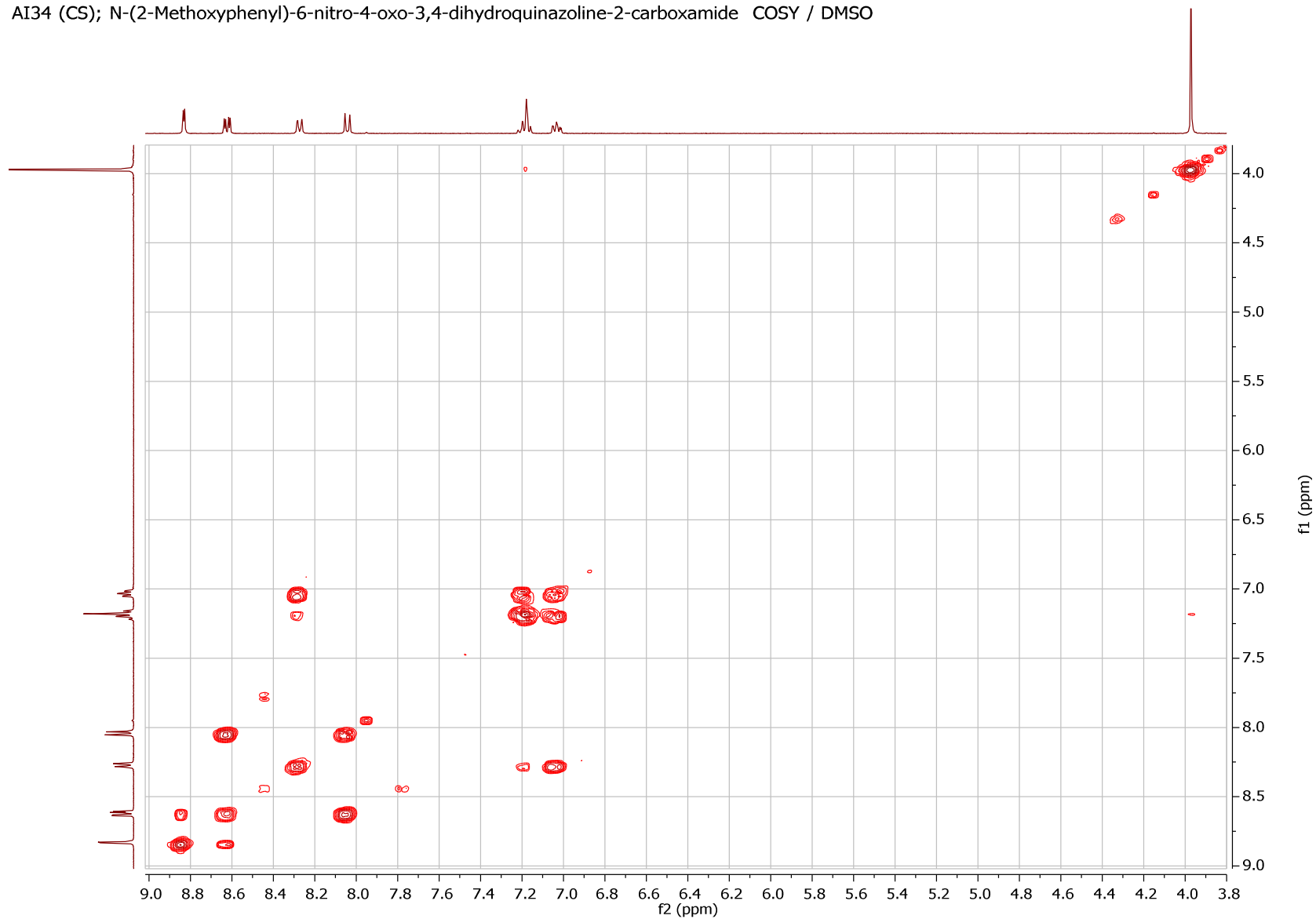
Tafel 3: N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

AI34 (CS); N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / DMSO



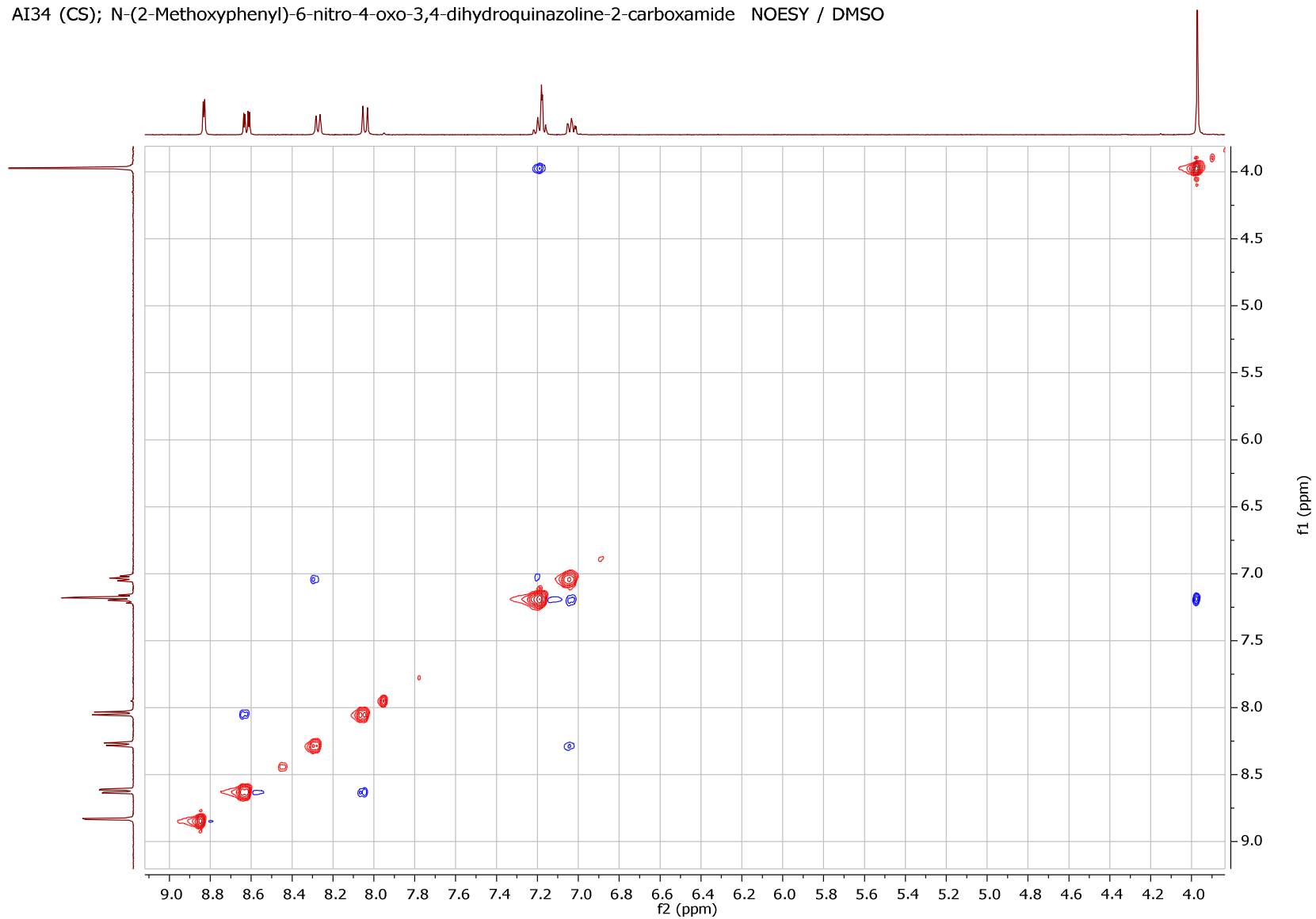
Tafel 4: N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

AI34 (CS); N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide COSY / DMSO



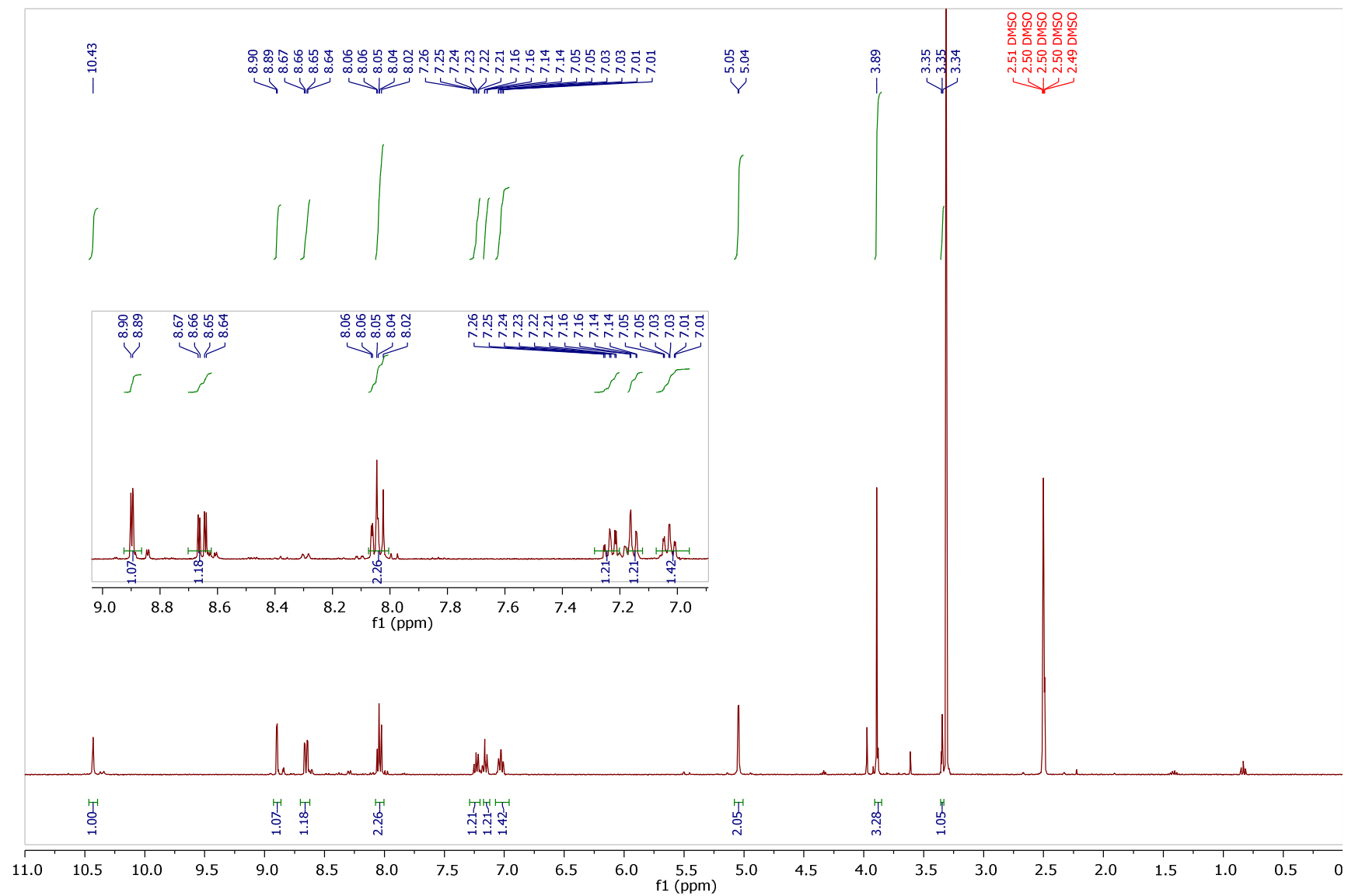
Tafel 5: N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

AI34 (CS); N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide NOESY / DMSO



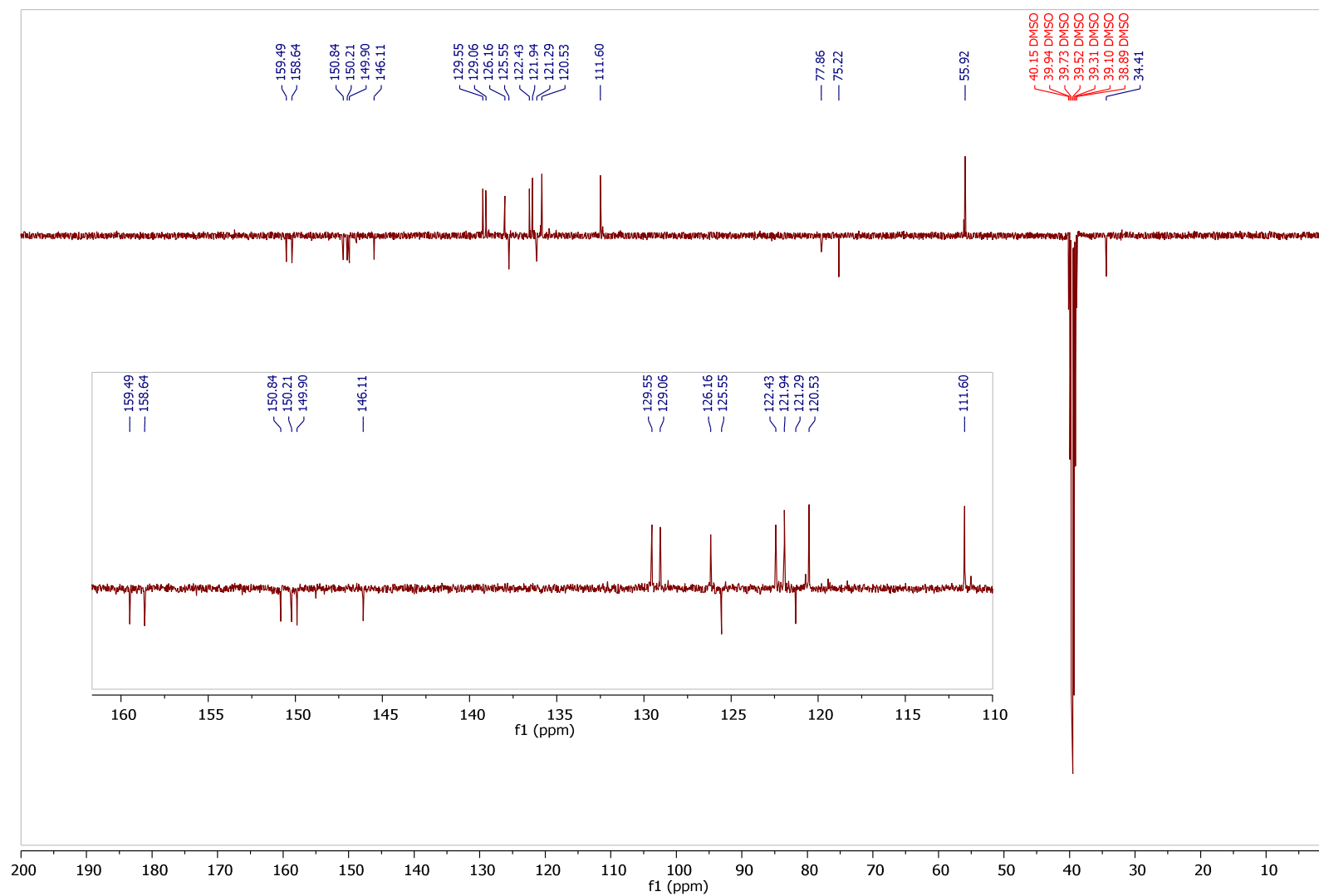
Tafel 6: N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

AI37CS; N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide 1H / DMSO



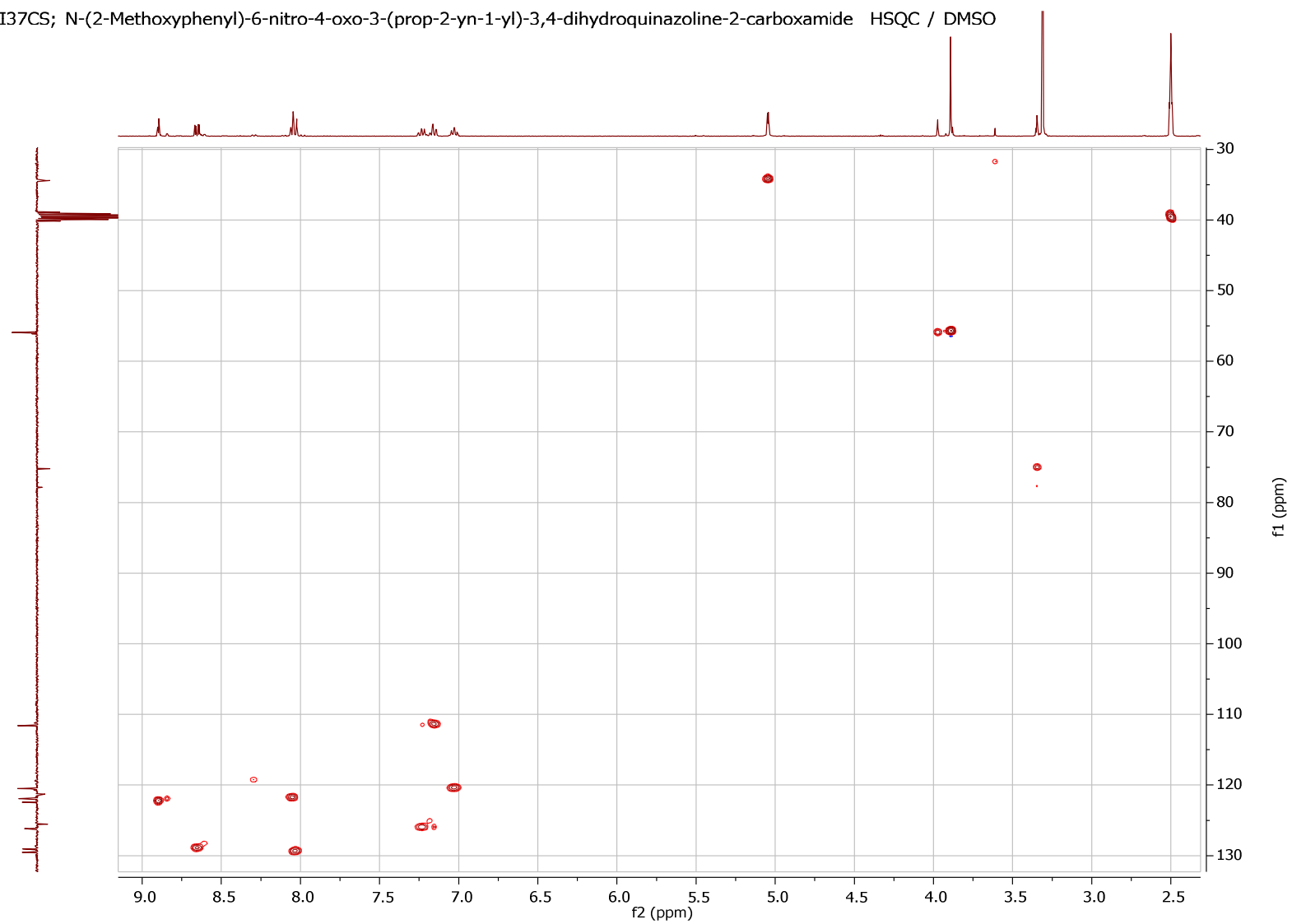
Tafel 7: N-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

AI37CS; N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide C13APT / DMSO



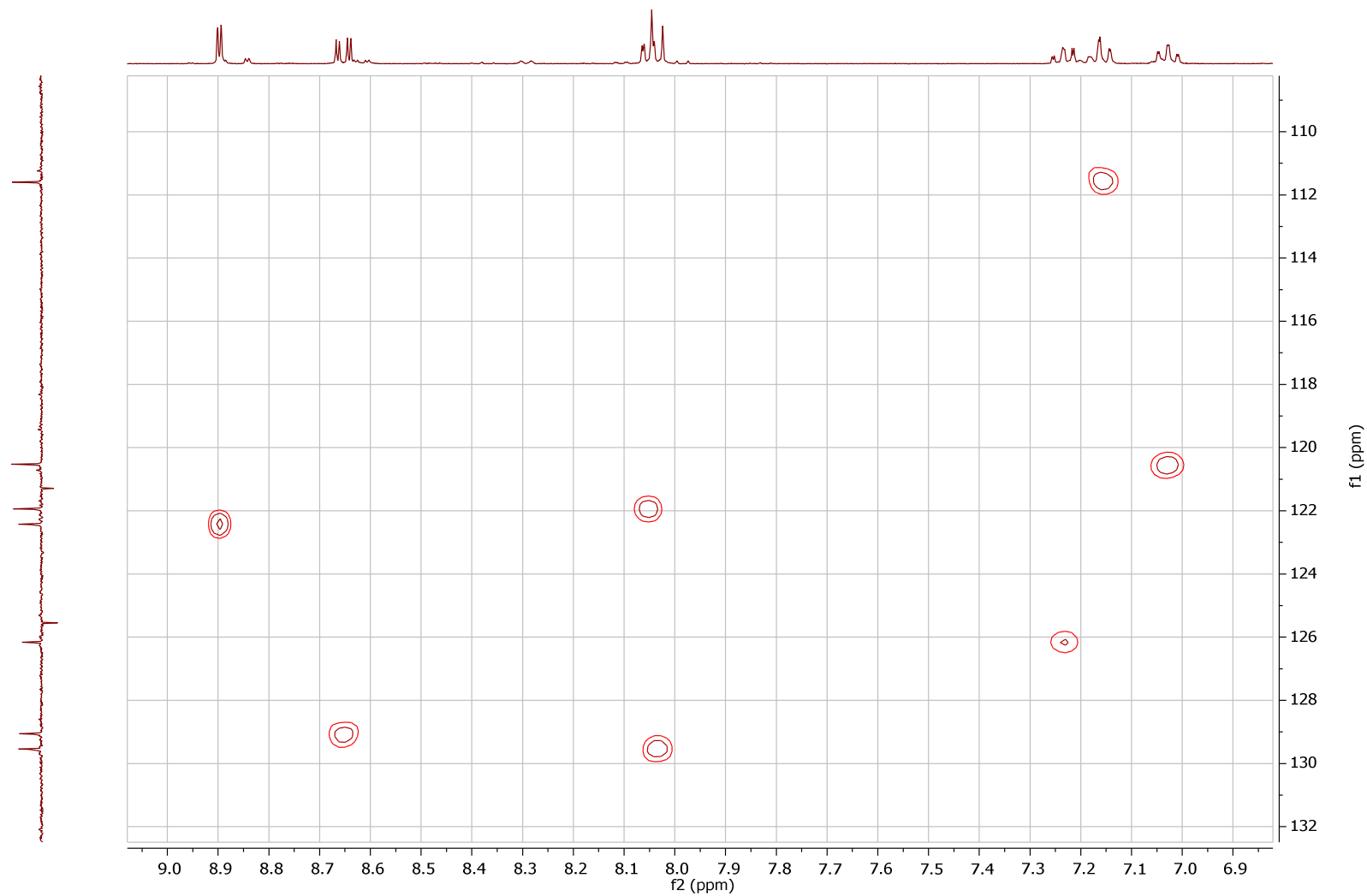
Tafel 8: N-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

AI37CS; N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO

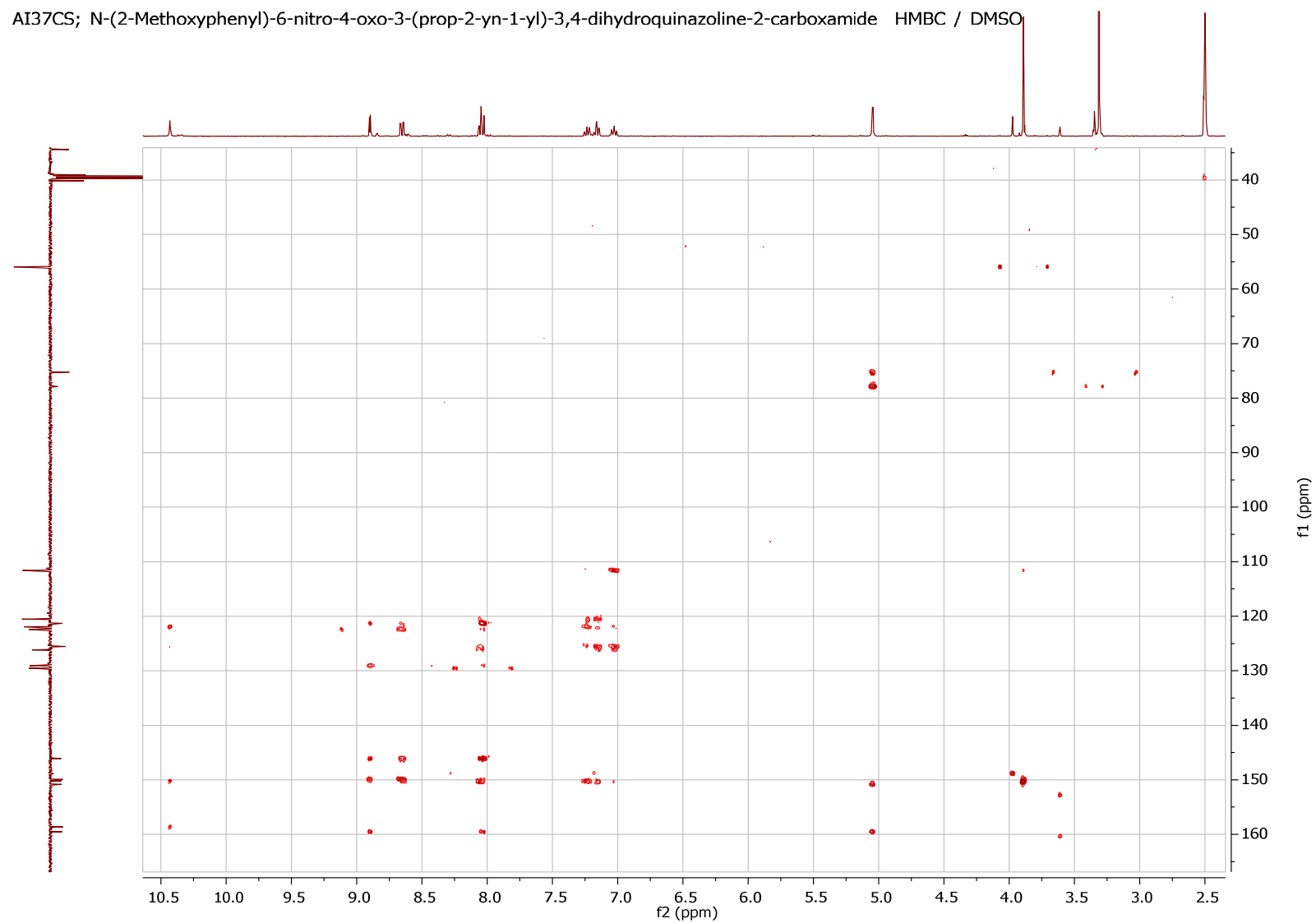


Tafel 9: N-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

AI37CS; N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO

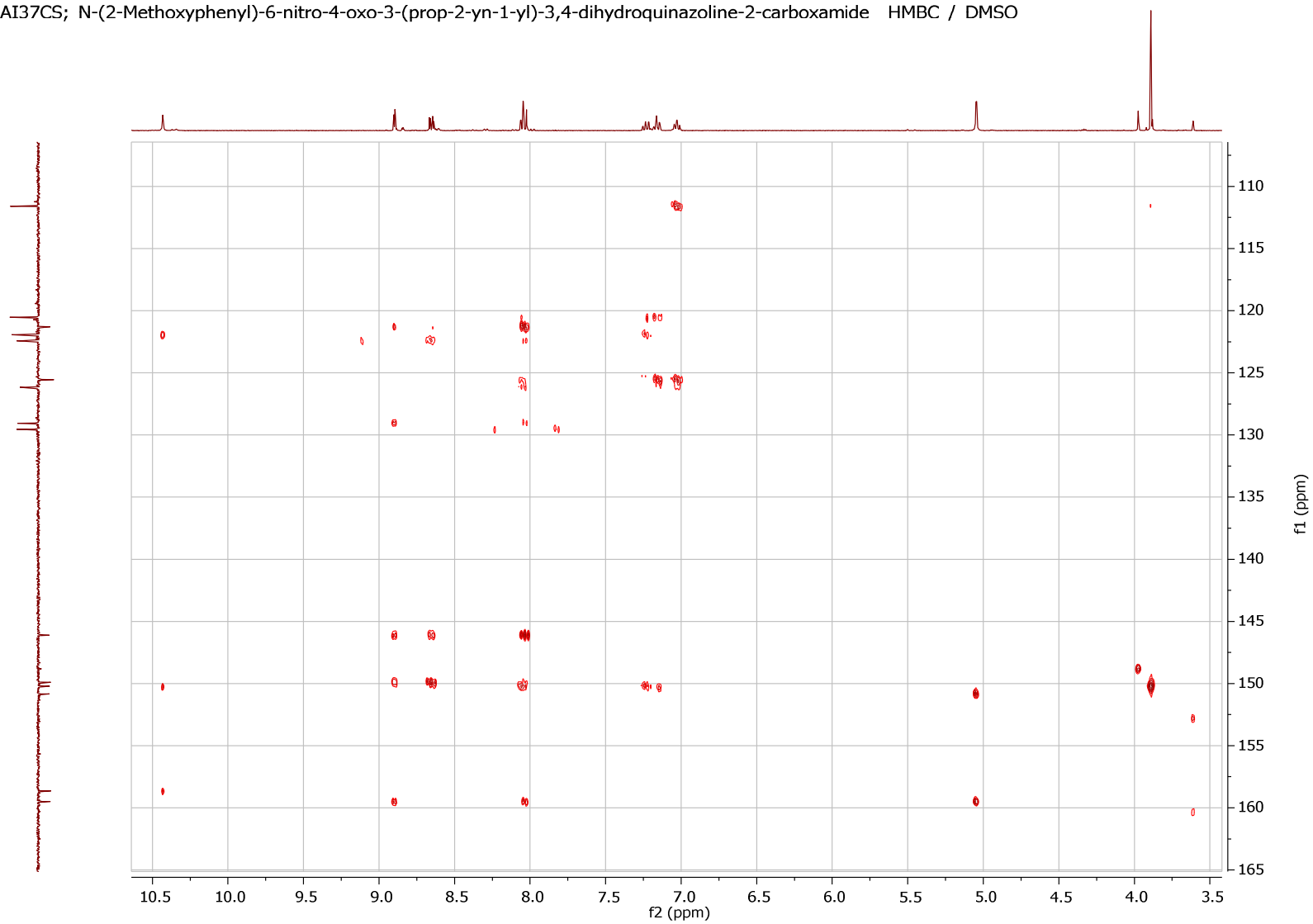


Tafel 10: N-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)



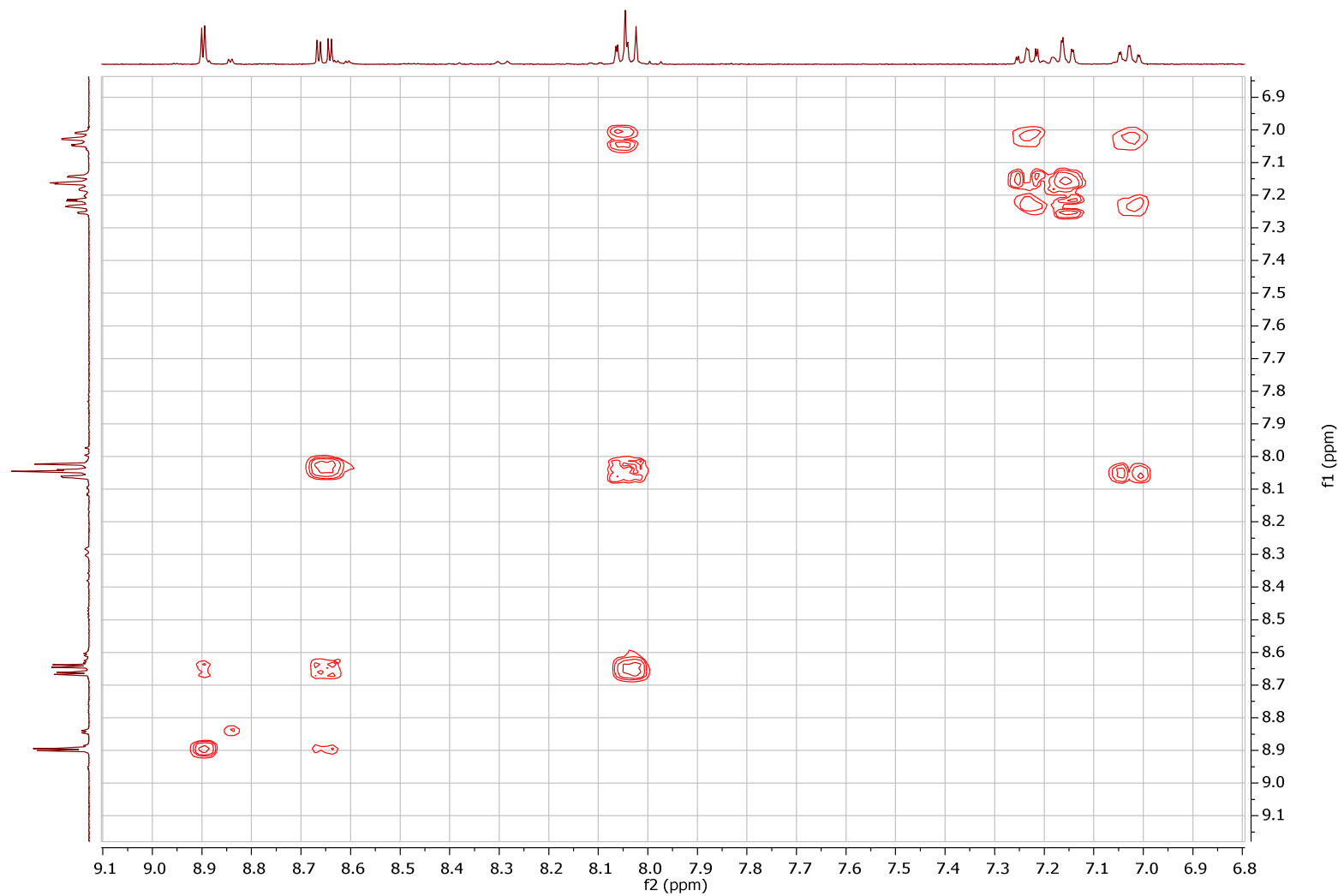
Tafel 11: N-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

AI37CS; N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / DMSO



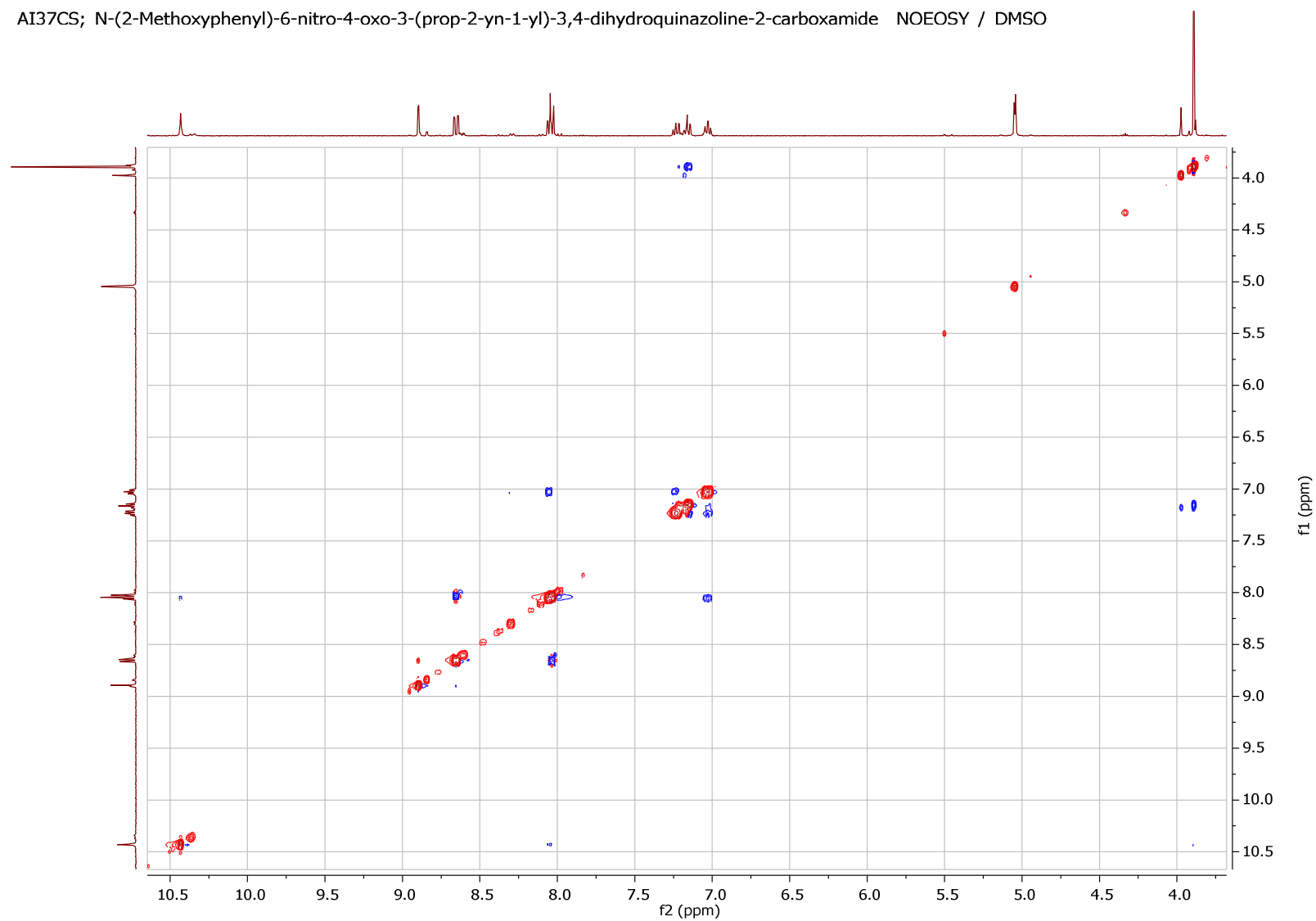
Tafel 12: N-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

AI37CS; N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide COSY / DMSO

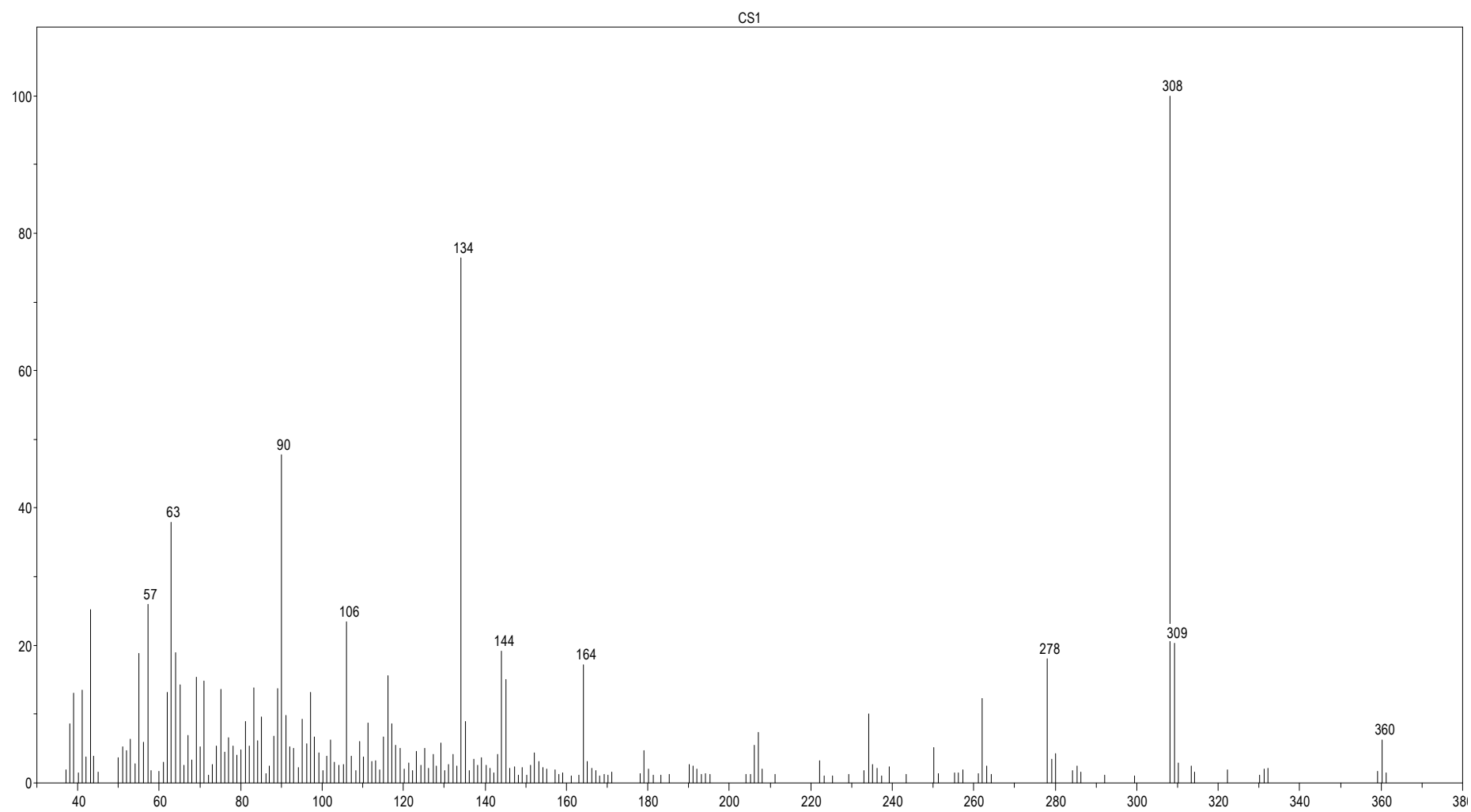


Tafel 13: N-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

AI37CS; N-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide NOESY / DMSO

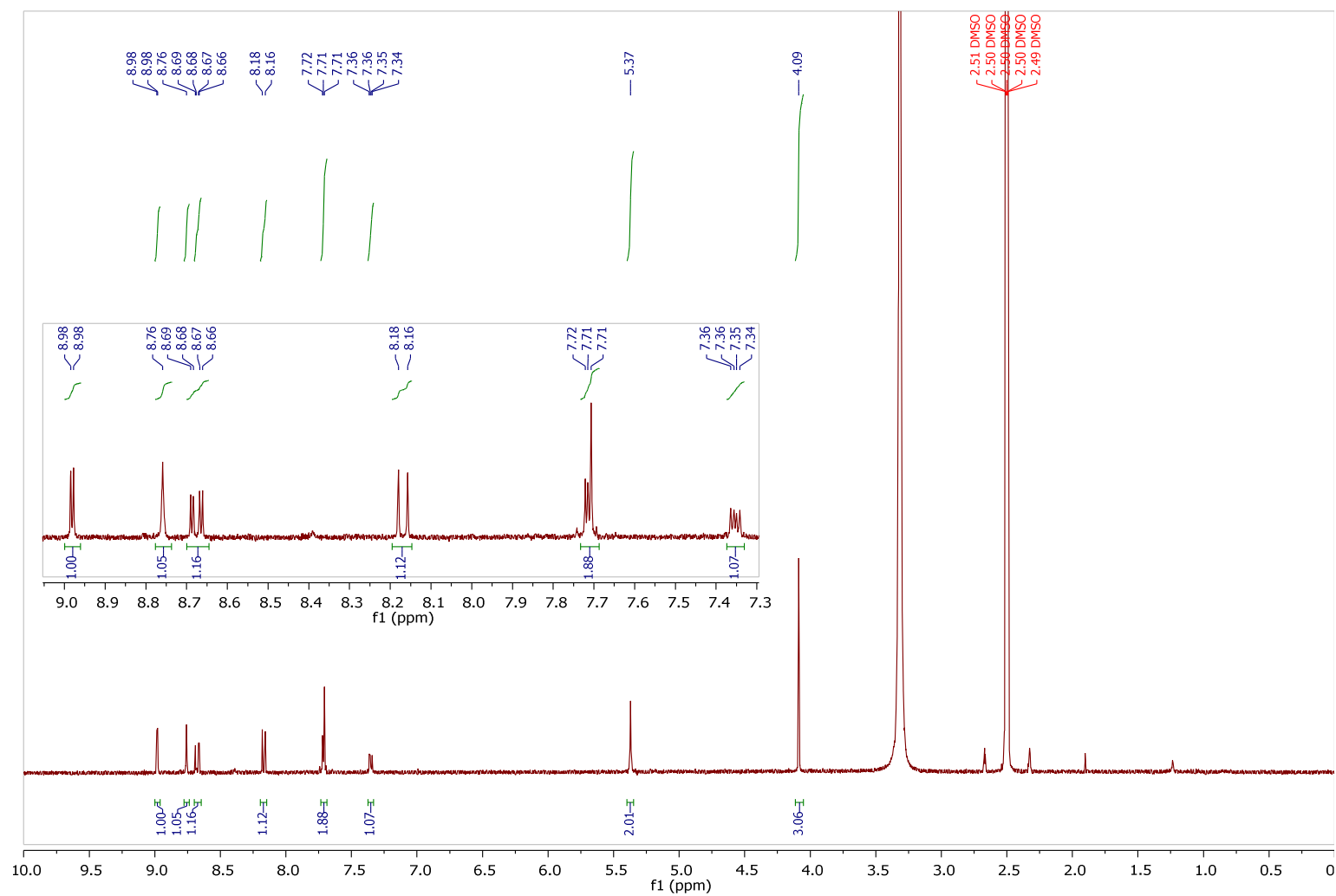


Tafel 14: N-(2-Methoxyphenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)



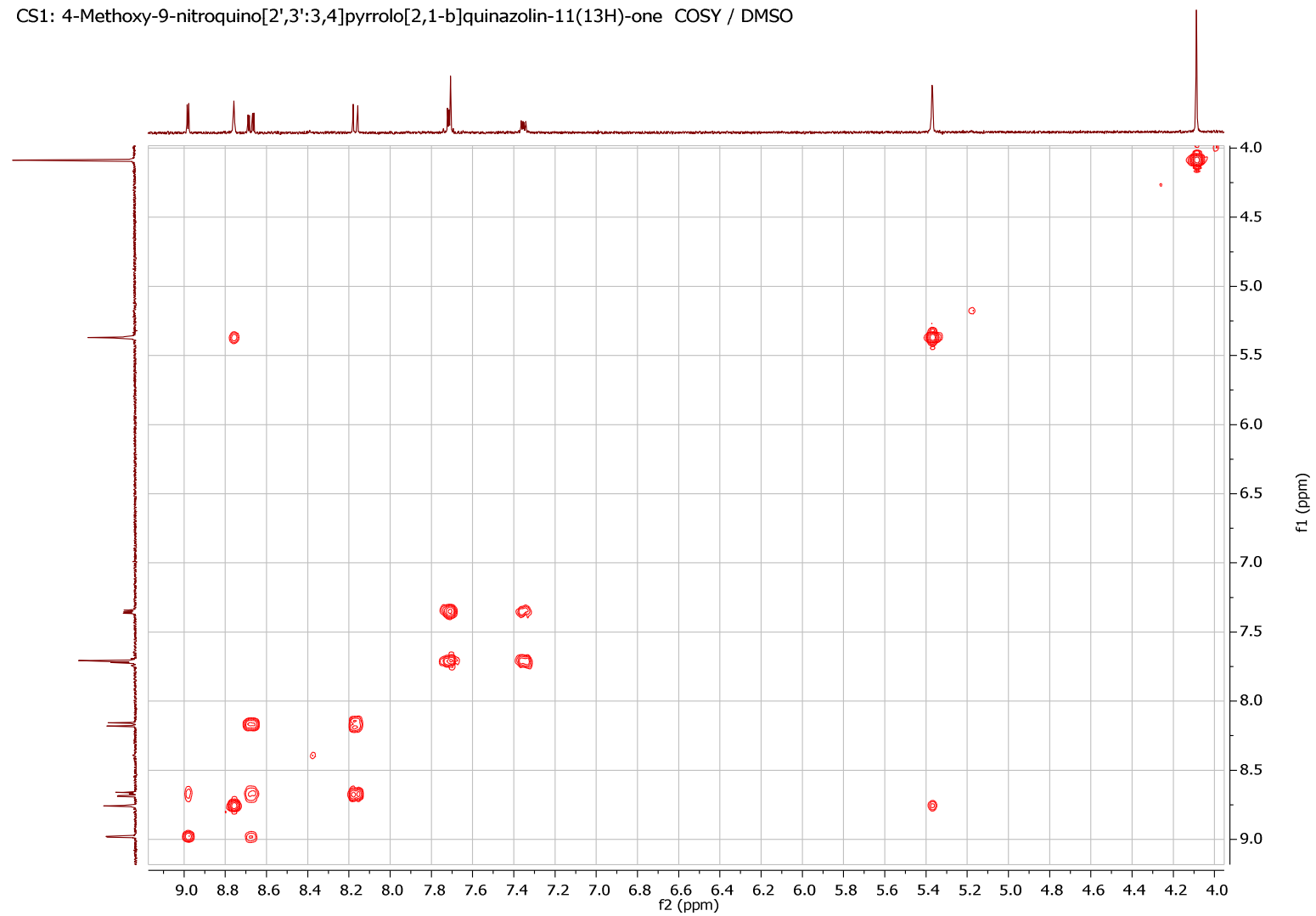
Tafel 15: 4-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]-chinazolin-11(13*H*)-on (5)

CS1: 4-Methoxy-9-nitroquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one 1H / DMSO

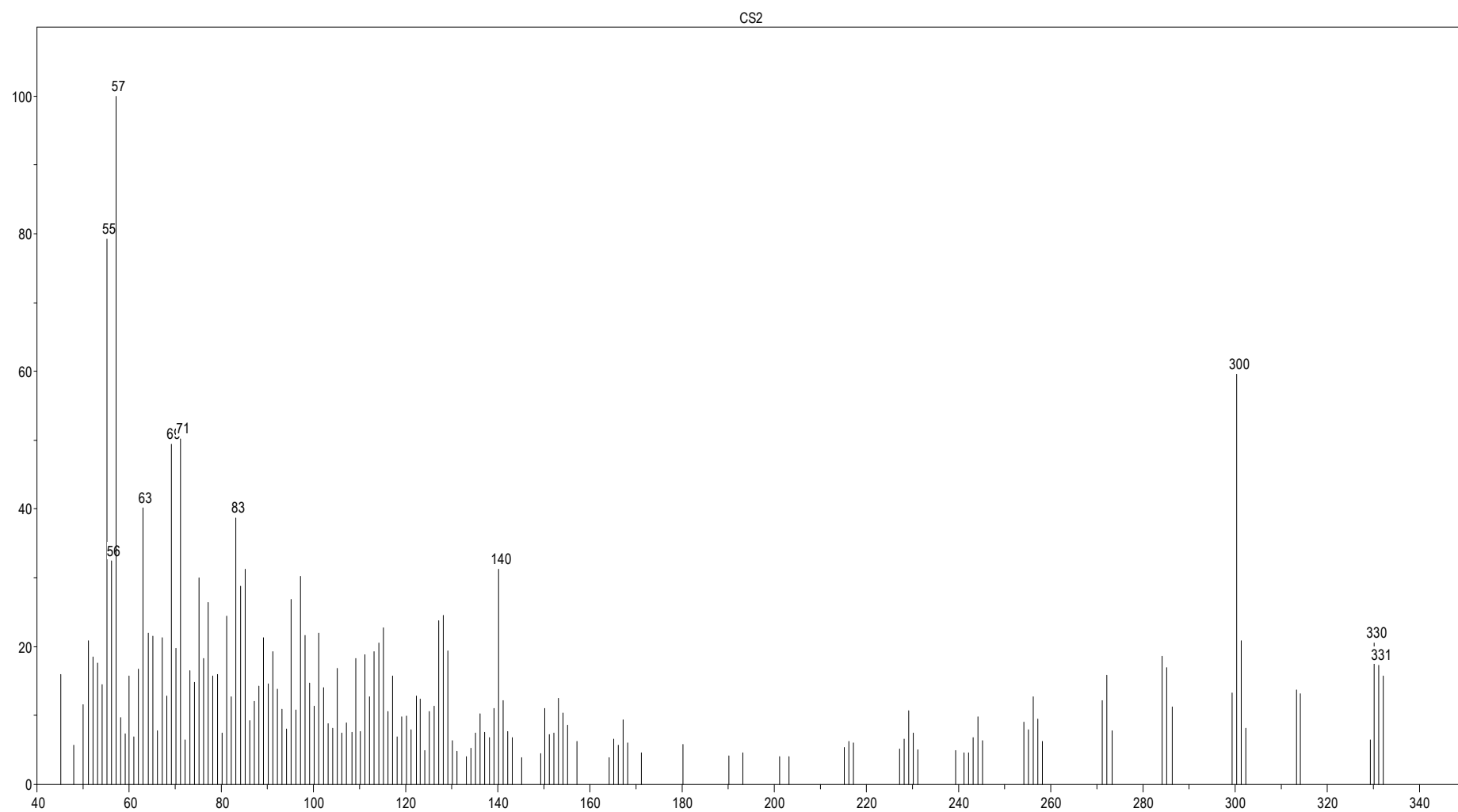


Tafel 16: 4-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]-chinazolin-11(13H)-on (5)

CS1: 4-Methoxy-9-nitroquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / DMSO

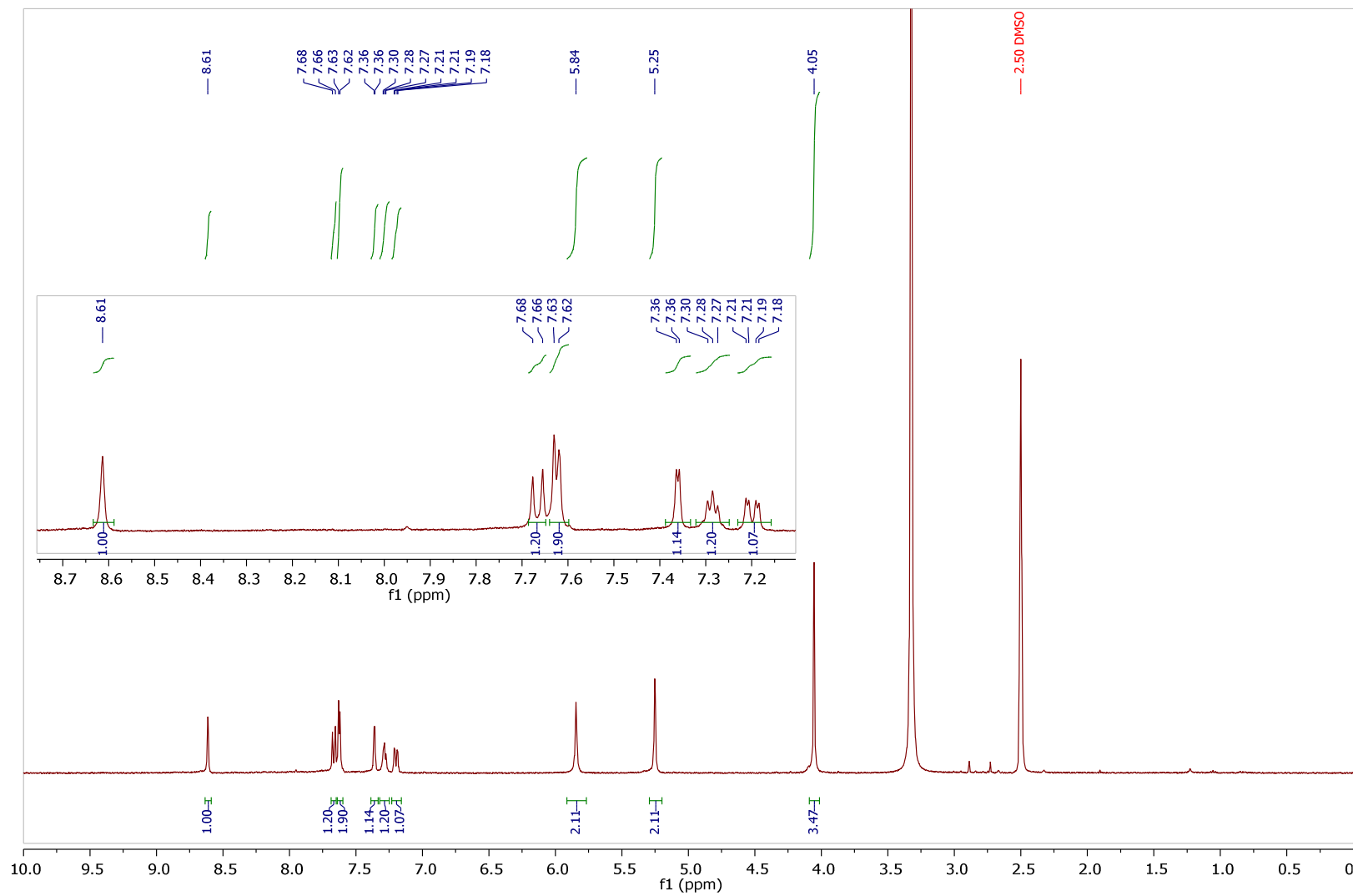


Tafel 17: 4-Methoxy-9-nitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]-chinazolin-11(13*H*)-on (5)



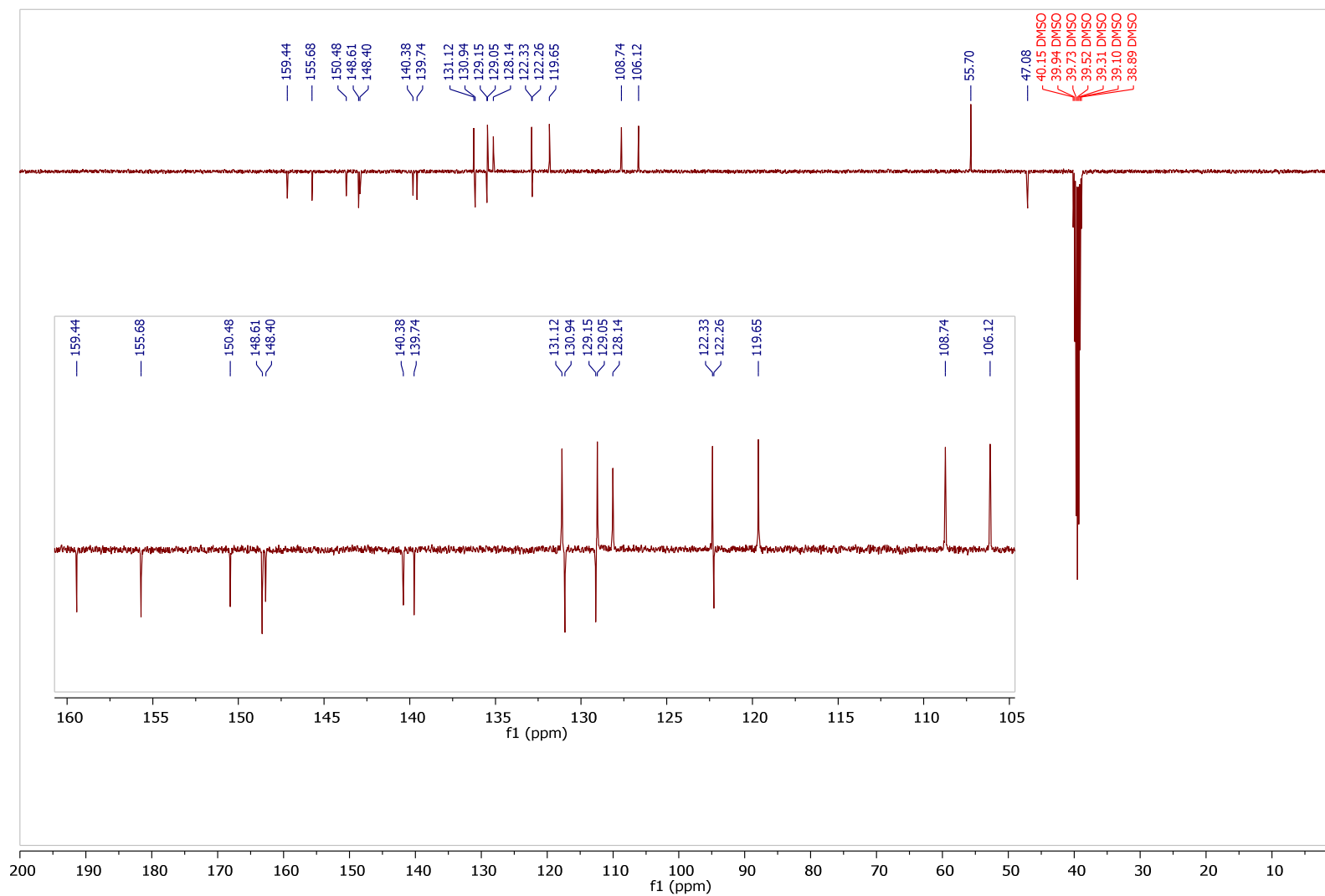
Tafel 18: 9-Amino-4-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**6**)

CS2; 9-Amino-4-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one 1H / DMSO



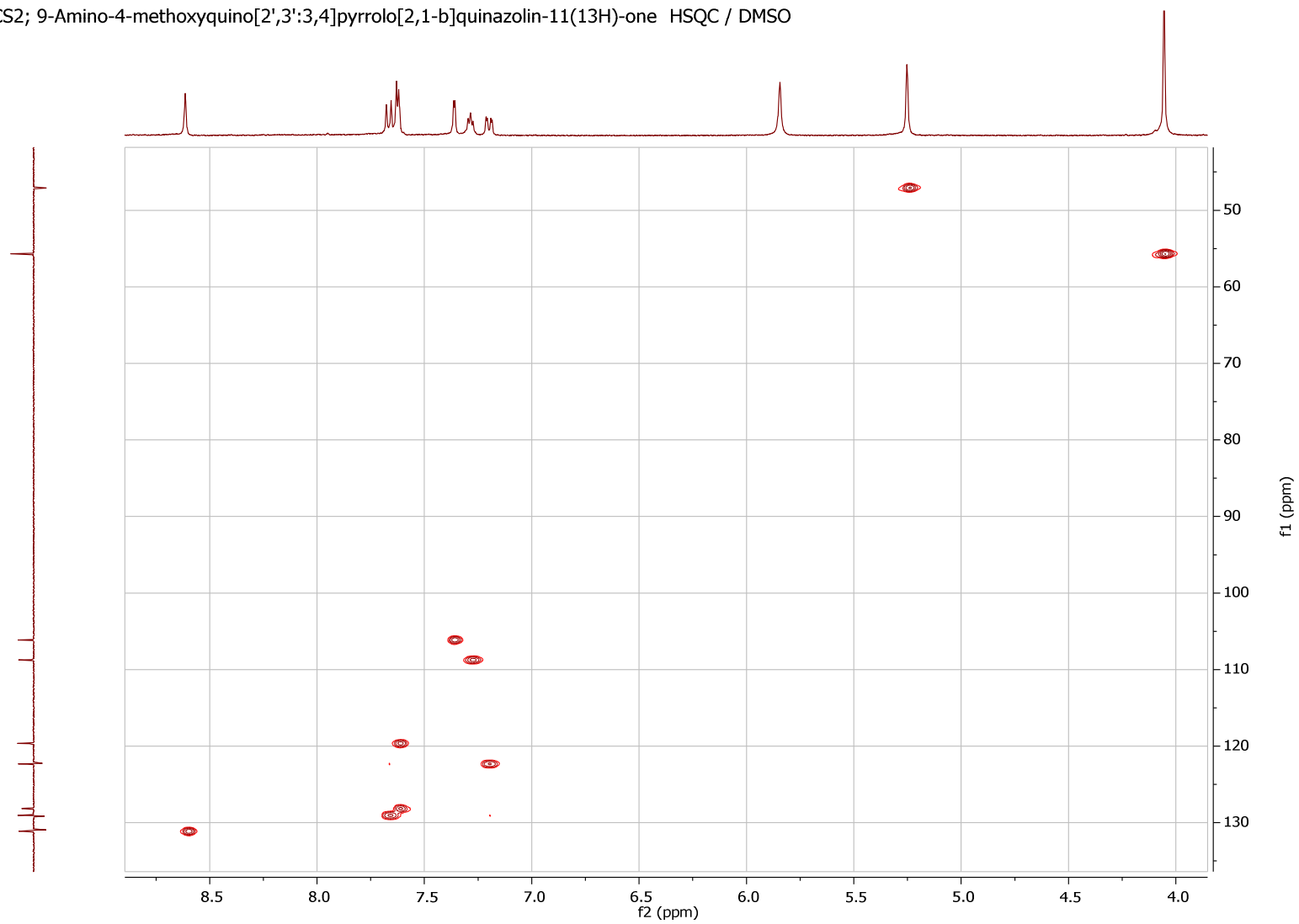
Tafel 19: 9-Amino-4-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (6)

CS2; 9-Amino-4-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one C13APT / DMSO



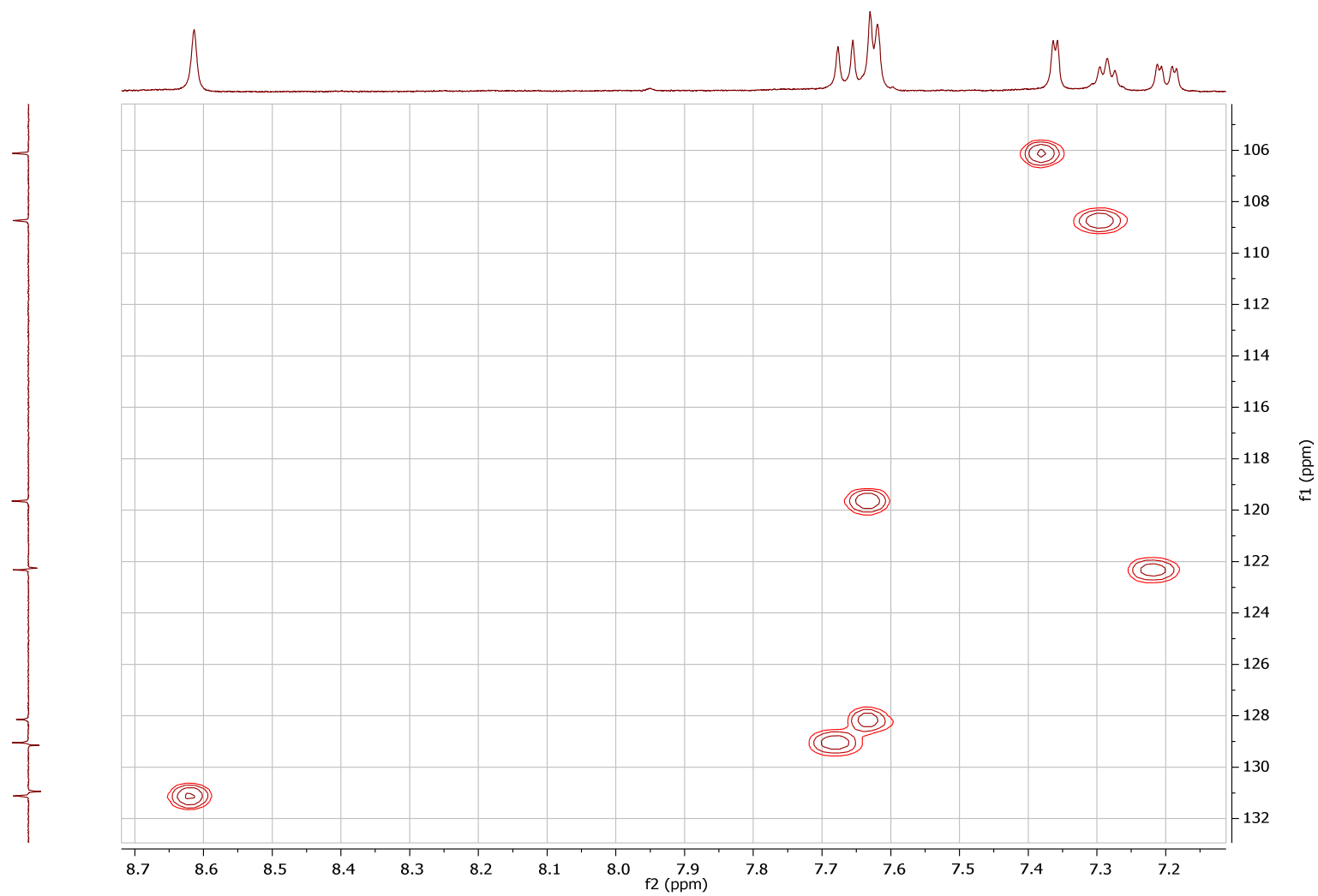
Tafel 20: 9-Amino-4-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

CS2; 9-Amino-4-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO



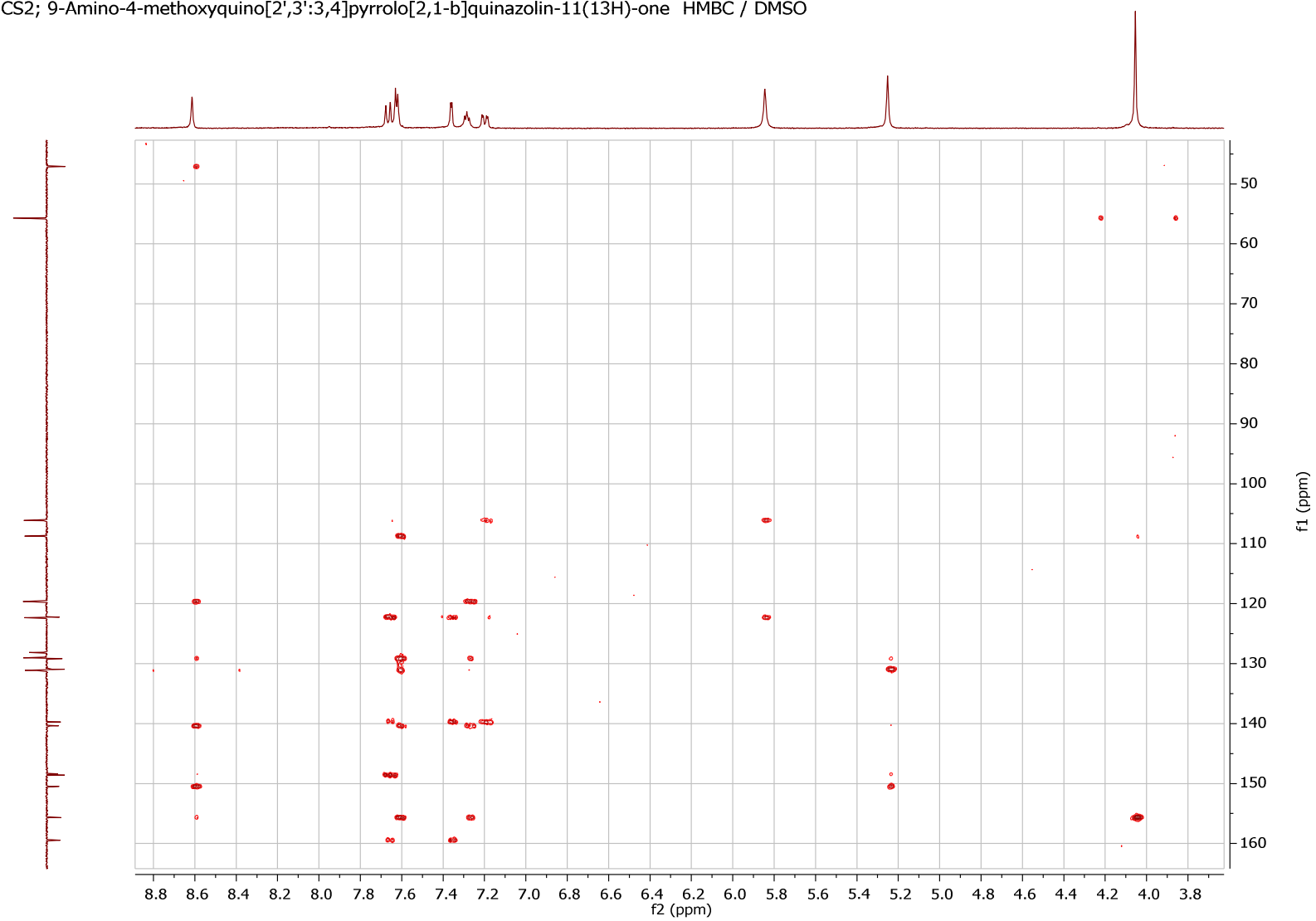
Tafel 21: 9-Amino-4-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (6)

CS2; 9-Amino-4-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO



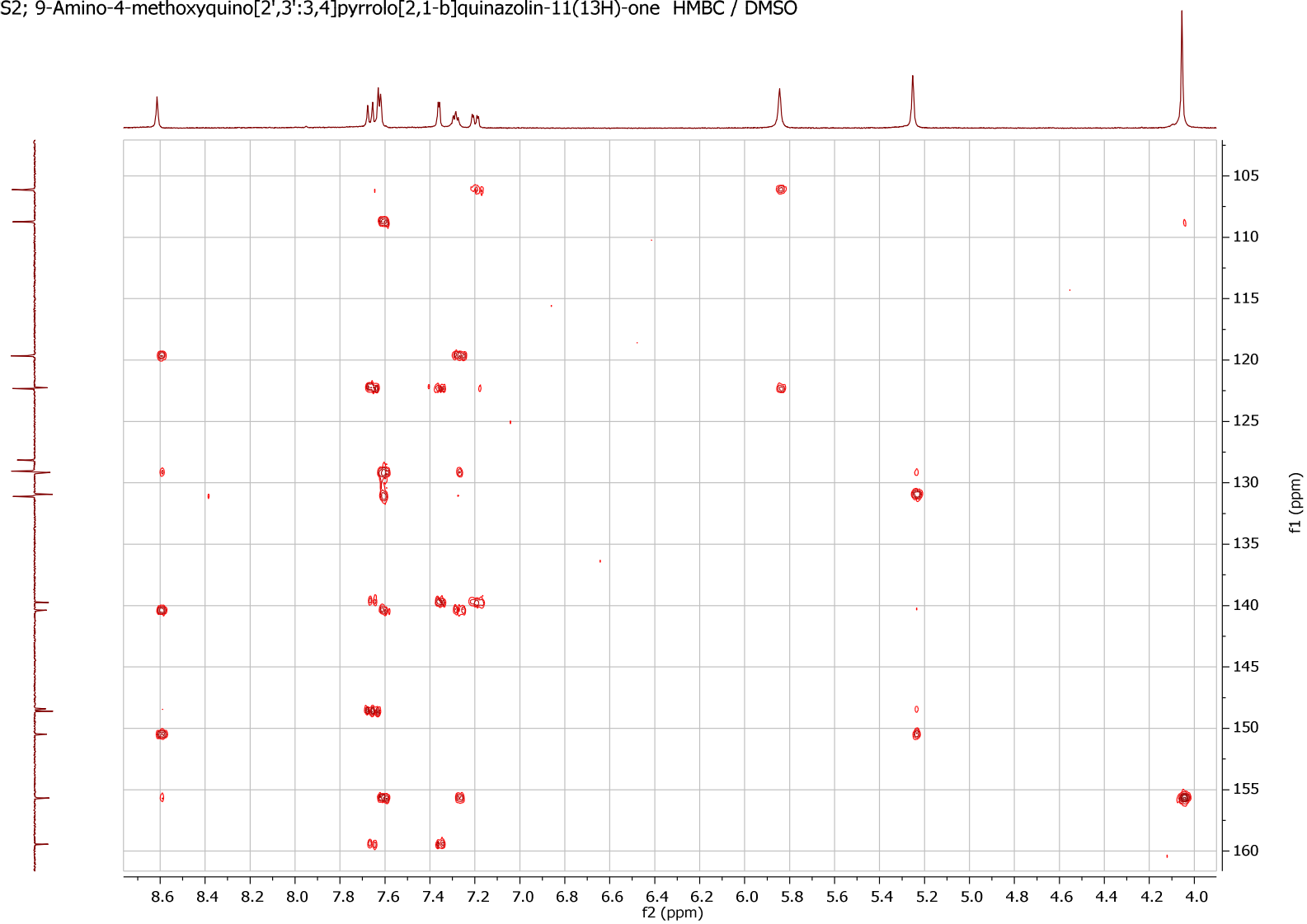
Tafel 22: 9-Amino-4-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (6)

CS₂; 9-Amino-4-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]quinazolin-11(13H)-one HMBC / DMSO



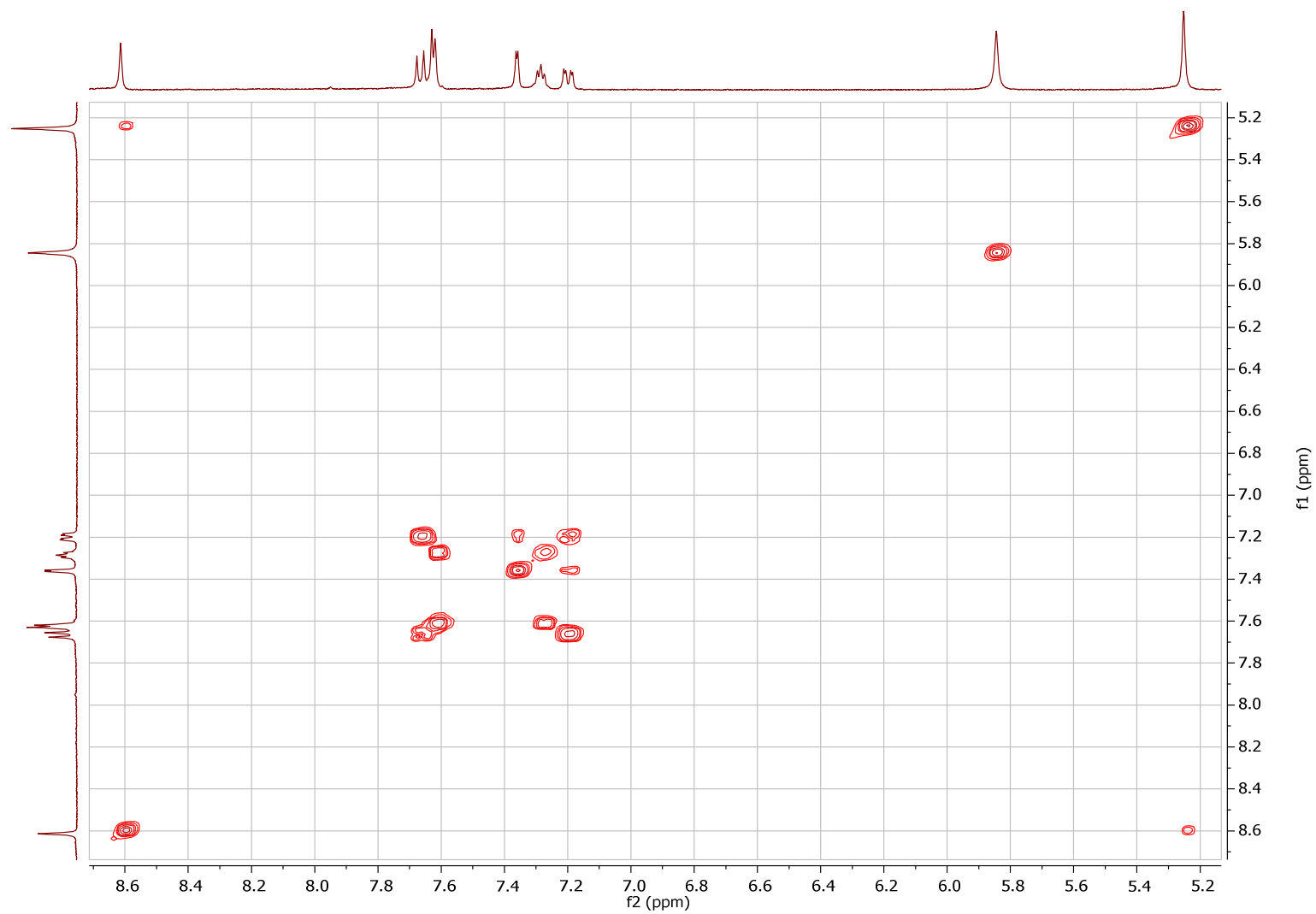
Tafel 23: 9-Amino-4-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13H)-on (6)

CS₂; 9-Amino-4-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]quinazolin-11(13H)-one HMBC / DMSO



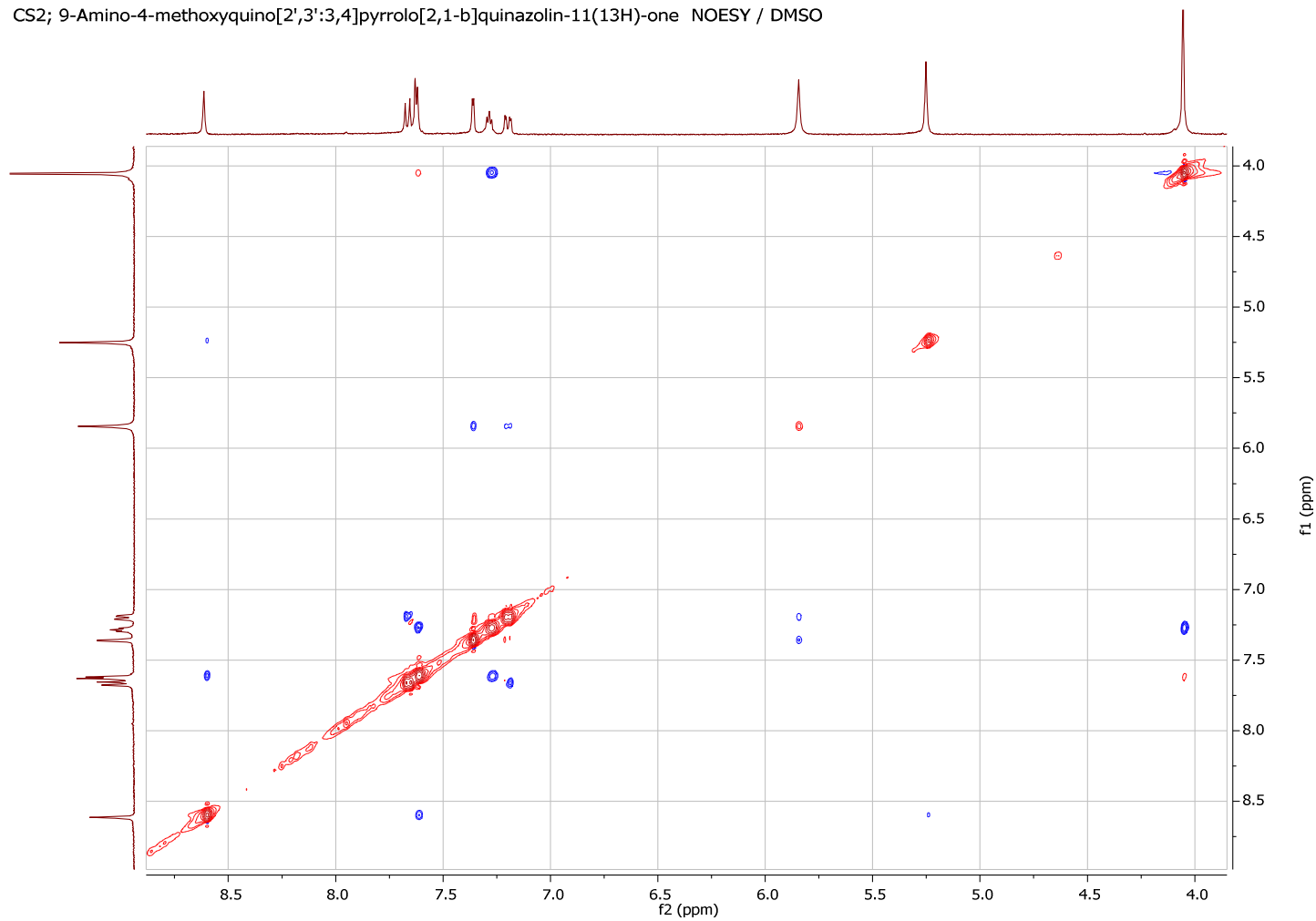
Tafel 24: 9-Amino-4-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13H)-on (6)

CS₂; 9-Amino-4-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]quinazolin-11(13H)-one COSY / DMSO



Tafel 25: 9-Amino-4-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13H)-on (6)

CS2; 9-Amino-4-methoxyquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]quinazolin-11(13H)-one NOESY / DMSO



Tafel 26: 9-Amino-4-methoxychino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13H)-on (6)

5.3. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Diplomarbeit war die Synthese von 9-Amino-4-methoxy-Luotonin-A, welches ein neues Derivat des in der Pflanze *Peganum nigellastrum* (Bunge) vorkommenden pentacyclischen Alkaloids Luotonin A darstellt. Aufgrund der nachgewiesenen inhibierenden Wirkung dieses Naturstoffs auf die menschliche Topoisomerase I ist schon seit längerer Zeit die Synthese von besser wasserlöslicheren und potenteren Abkömmlingen der Leitverbindung von Interesse. In Ergänzung früherer Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe sollte nun das genannte, an Ring A und Ring E unterschiedlich substituierte Luotonin-A-Derivat erstmals zugänglich gemacht werden.

Ausgehend von Anthranilamid wurde im ersten Schritt der bekannte 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonsäureethylester synthetisiert. Anschließend konnte durch Nitrierung in Position 6 und nachfolgende Anwendung der Weinreb-Amidierung das entsprechende Anilid, *N*-(2-Methoxyphenyl)-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid, erhalten werden. Die darauf folgende Einführung eines Propargylrests in Position N-3 des Chinazolinons erwies sich als herausfordernd aufgrund der Bildung eines Nebenproduktes, gelang aber schließlich durch Optimierung der Reaktionsbedingungen sowie einen extraktiven Reinigungsschritt. Das so erhaltene 3-Propargyl-Derivat konnte durch Behandlung mit Hendrickson-Reagens über eine [4+2]-Cycloadditionsreaktion erfolgreich zum pentacyclischen 9-Nitro-4-methoxy-Luotonin A umgesetzt werden. Die Nitro-Gruppe dieser Verbindung wurde im letzten Schritt durch katalytische Transferhydrierung zum primären Amin reduziert. Die als freie Base isolierte und charakterisierte Zielverbindung konnte weiters in ein besser wasserlösliches Hydrochlorid übergeführt werden.

Sämtliche neuen Verbindungen wurden mittels üblicher spektroskopischer/spektrometrischer Methoden charakterisiert, eine biologische Evaluierung der Zielverbindung ist in Vorbereitung.