



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Synthese eines 3-Aza-Bioisosteren
des Alkaloids Luotonin A“

verfasst von

Sarah Diesenreiter

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2014

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Pharmazie UniStG

Betreut von:

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

„Es ist nicht genug zu wissen – man muss auch anwenden.

Es ist nicht genug zu wollen – man muss auch tun.“

Johann Wolfgang von Goethe

Danksagung

Zu aller erst möchte ich mich herzlichst bei Herrn ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Norbert Haider für seine zu jederzeit vorhandene Unterstützung und seine stets währende Freundlichkeit bedanken.

Mein Dank gilt auch Dr. Gyte Vilkauskaitė und sämtlichen anderen KollegInnen des Departments Arznei- und Naturstoffsynthese, die mir während meiner praktischen Arbeit immer mit Rat und Tat zur Seite standen.

Außerdem bedanke ich mich bei meinen Eltern und meinem Freund, die mich immer unterstützt haben und bei allen Hochs und Tiefs - nicht nur während meines Studiums, sondern auch in meinem Leben - fortwährend für mich da sind.

Auch auf meine Schwester, meine Großeltern und viele andere Familienmitglieder und Freunde konnte und kann ich mich stets verlassen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Krebs – eine immer häufiger auftretende Todesursache	1
1.2	Behandlungsmöglichkeiten in der Tumorchemotherapie	2
1.3	Das Bioisosterie-Konzept.....	7
1.4	Zielsetzung	9
2	Eigene Untersuchungen.....	10
2.1	Herstellung der Ausgangsverbindungen	16
2.2	Untersuchungen zur Mitsunobu Reaktion	22
2.3	Ringschluss zum 3-Aza-Luotonin A	25
2.4	Fazit.....	26
3	Experimenteller Teil.....	28
3.1	Materialien und Geräte.....	28
3.2	Arbeitsvorschriften.....	30
4	Literaturverzeichnis	40
5	Anhang	42
	Spektren.....	42
	Zusammenfassung.....	63
	Lebenslauf.....	65

1 Einleitung

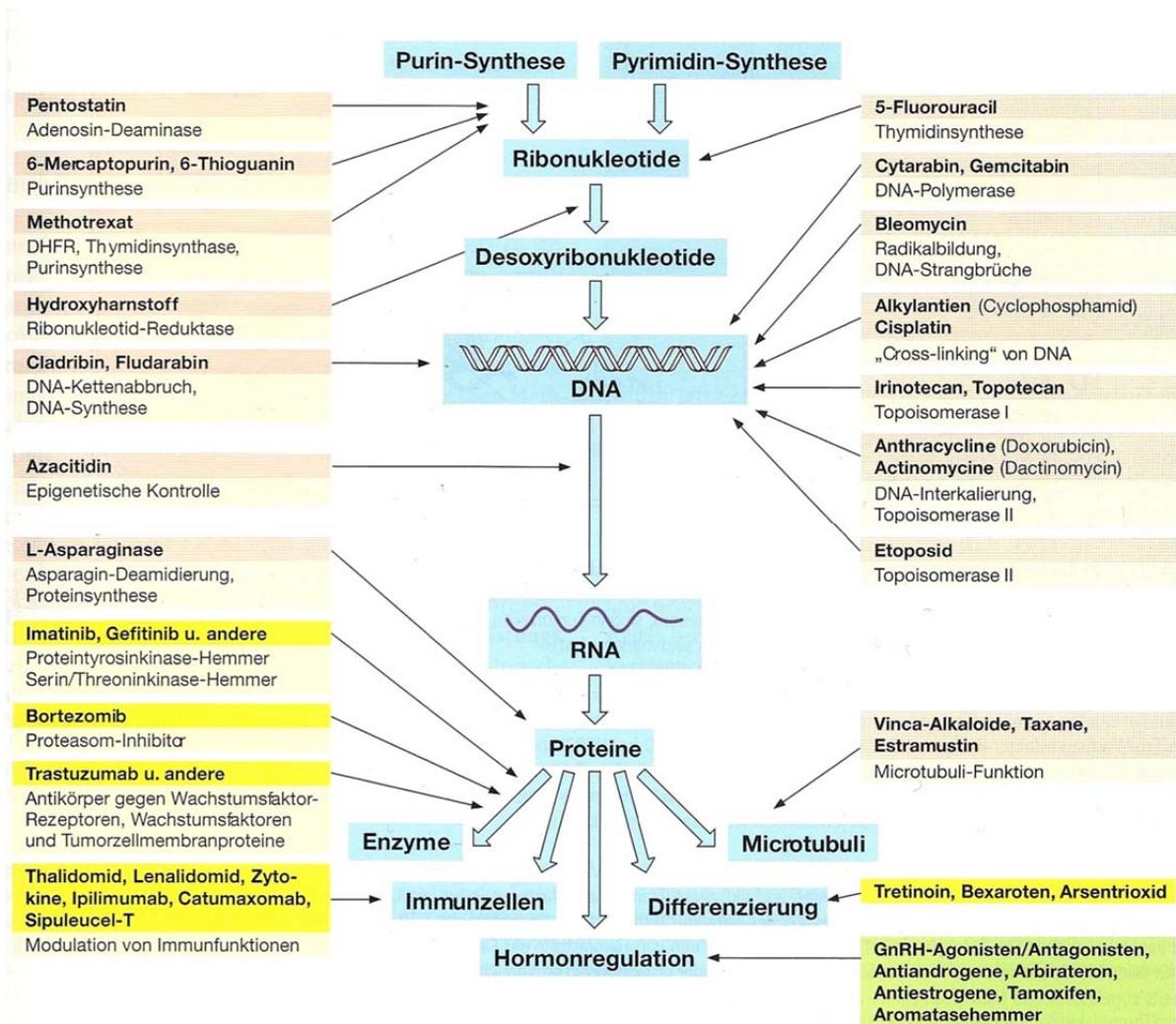
1.1 Krebs – eine immer häufiger auftretende Todesursache

Im Jahr 2012 starben 79436 Menschen in Österreich, wobei aufgrund des ständig steigenden Lebensalters Krankheiten im Alter immer häufiger eine Rolle spielen. Vier von zehn Menschen sterben dabei an Herz-Kreislaufkrankungen, die jedoch als Todesursache rückläufig sind. Krebserkrankungen sind schon bei einem Viertel der Fälle Grund für das Ableben gewesen. Auch Erkrankungen der Atmungs- und Verdauungsorgane, Verletzungen und Vergiftungen waren ausgewiesene Ursachen.¹

Da Krebserkrankungen immer häufiger die Todesursache darstellen, ist die Behandlung von Tumoren von zunehmender Bedeutung. Soweit es möglich ist, werden diese chirurgisch entfernt und mit Strahlentherapie behandelt. Dies ist jedoch nur bei lokalisierten Tumoren durchführbar. Daher ist die Tumorchemotherapie zur Behandlung von disseminierten Tumoren, Metastasen und erneut auftretenden Erkrankungen ebenso von enormer Wichtigkeit.²

Jede dieser Behandlungsmöglichkeiten bringt allerdings schwerwiegende Nebenwirkungen mit sich und der Einsatz einer bestimmten Behandlung muss somit gut überlegt sein. Die Überlegungen schließen Alter und Lebenserwartung des Patienten, Art und Stadium des Tumors sowie Wirksamkeit und Verträglichkeit der Therapie mit ein.³

Wenn eine Tumorchemotherapie nötig ist, werden Chemotherapeutika, auch Zytostatika genannt, eingesetzt. In Abweichung zu letzterer Bezeichnung weisen sie eigentlich eine stark zytotoxische und nicht zytostatische Aktivität auf. Angriffspunkt der meisten Zytostatika ist die DNA, Synthese der DNA und ihrer Bausteine (vgl. Schema 1).²



Schema 1: Wirkorte der Tumorchemotherapeutika (nach Lit.²⁾)

1.2 Behandlungsmöglichkeiten in der Tumorchemotherapie

Prinzipiell muss man bei der Behandlung von Tumoren zwischen kurativer und palliativer Therapie unterscheiden. Demnach kann das Behandlungsziel einerseits die Heilung und andererseits die Linderung der Beschwerden sein beziehungsweise die Lebensverlängerung beinhalten.

Leider ist die Heilung mittels Zytostatika lediglich in wenigen Fällen möglich, da hierbei die Abtötung aller entarteten Zellen nötig ist. Dies wird meist nur bei beispielsweise Lymphomen, Morbus Hodgkin, Hodentumoren oder Osteosarkomen erreicht. Eine Vielzahl an Tumoren kann auch heute noch bloß palliativ behandelt werden. Beispiele hierfür sind Mamma-, Bronchial-, Pankreas-, Ovarialkarzinome.³

Des Weiteren ist die Tatsache problematisch, dass Tumorchemotherapeutika nicht zwischen gesundem und entartetem Gewebe differenzieren können. Erst in den letzten zwei Jahrzehnten wurden Zytostatika entwickelt, die in der Lage sind spezifisch Tumorzellen

anzugreifen. Ausschlaggebend dafür war das Wissen über veränderte Signalwege in Tumorzellen gegenüber gesunden Zellen. Somit dienen etwa Wachstumsfaktoren, Signalmoleküle, Zellzyklus- und Apoptoseregulatoren als Ziele der Therapie.²

Alkylierende Substanzen

Die zytotoxische Wirkung dieser Substanzgruppe beruht auf der Alkylierung verschiedener Zellbestandteile wie zum Beispiel der DNA. Dadurch wird die DNA-Replikation gehemmt und die Transkription blockiert. Auf diese Weise wird der Zellzyklus zum Stillstand gebracht.

Vertreter dieser Gruppe sind Stickstofflostverbindungen, Aziridine, Sulfonsäurealkylester, Nitrosoharnstoffverbindungen und methylierende Substanzen.²

Antimetabolite

Zu diesen Chemotherapeutika gehören Folsäure-Antagonisten, Purin- und Purinnukleosidanaloga sowie Pyrimidin- und Pyrimidinnukleosidanaloga. Sie dienen als Stoffwechselbausteine, welche jedoch die DNA- und RNA-Synthese hemmen. Da Antimetabolite meist bevorzugt in die Synthese von Nukleotiden und Nucleinsäuren eingreifen, wirken sie besonders in der S-Phase des Zellzyklus.²

Mikrotubuli-Inhibitoren

Vertreter dieser Substanzgruppe hemmen den Zellzyklus in der Mitose-Phase. Eine der am längsten bekannten Substanzen der Mitosehemmstoffe ist Colchizin, ein Alkaloid aus der Herbstzeitlose. Es bindet an freies Tubulin und verhindert die Ausbildung der Mikrotubuli, damit ebenso die Spindelbildung und in weiterer Folge die Zellteilung. Ein Einsatz als Zytostatikum ist aber aufgrund der geringen therapeutischen Breite nicht denkbar. Weitere Zytostatika dieser Gruppe sind Vinca-Alkaloide und Taxane.^{3,4}

Vinca-Alkaloide aus Vinca-Arten führen zur Vernetzung der Spindelfasern in der Mitose-Phase und verursachen so die Hemmung der Zellteilung und die anschließende Apoptose. Taxane, ursprünglich aus der pazifischen Eibe isoliert, verhindern wiederum den Abbau des Spindelapparates und somit den Abschluss der Zellteilung.⁵

Zytostatisch wirksame Antibiotika

Zu dieser Gruppe zählen Actinomycine, Anthracycline und Bleomycine, die aufgrund ihrer zytotoxischen Wirkung nicht als Antibiotika eingesetzt werden können.

Actinomycine werden aus Actinomyceten isoliert, binden an die DNA und hemmen die RNA-Synthese. Weiters kommt es zu Topoisomerase-II-Hemmung und Radikalbildung.

Anthracycline wurden aus Kulturen von *Streptomyces*-Arten isoliert. Sie interkalieren in DNA-Stränge und hemmen die Nukleinsäuresynthese. Außerdem fungieren sie als Topoisomerase-II-Hemmer und bilden Radikale. Beides verursacht DNA-Strangbrüche.

Bleomycine stammen aus *Streptomyces verticillus* und führen zu einer DNA-Fragmentierung sowie deren Synthesehemmung.^{2,3}

Endokrine Tumorthherapie

Bei Hormonen, Hormonanaloga und –antagonisten handelt es sich nicht um Zytostatika im eigentlichen Sinn. Dennoch werden sie als solche eingesetzt, da manche Tumoren hormonabhängiges Wachstum aufweisen. Außerdem spielen sie eine Rolle als Substitutionstherapie, wenn die körpereigene Hormonproduktion aufgrund der Behandlung mit Zytostatika gehemmt ist.^{2,3}

Antikörper

Eine weitere Behandlungsmöglichkeit stellt der Einsatz von Antikörpern dar. Die verwendeten monoklonalen Antikörper stammen entweder von Mäusen oder Ratten, sind chimär, humanisiert oder human. Die Wirkmechanismen sind nicht immer vollständig geklärt, da häufig mehrere molekulare Mechanismen beteiligt sind. Oftmals spielt die Auslösung der antikörperabhängigen Zytotoxizität (ADCC), der komplementabhängigen Zytotoxizität (CDC) und/oder die direkte Auslösung der Apoptose eine wichtige Rolle. Beispiele für Antikörper in der Tumorthherapie sind Trastuzumab, Cetuximab, Bevacizumab.²

Topoisomerase-Inhibitoren

Topoisomerasen sind Enzyme, die dem Topologieproblem an der Replikationsgabel entgegen wirken. Die Doppelhelix der DNA wird an der Replikationsgabel gegen den Uhrzeigersinn geöffnet, da die Helix selbst rechtsgängig ist. So werden die Windungen nach der Replikationsgabel zwar verringert, jedoch entsteht davor ein sogenanntes „supercoiling“. Unter diesem Begriff versteht man Abweichungen vom normalen Windungszustand der DNA-Doppelhelix. Wenn die Windungsanzahl, wie nach der Polymerase, reduziert wird, spricht man wiederum von „negativem supercoiling“.

Zur Regulierung dieser Topologieprobleme gibt es die Topoisomerasen. Man unterscheidet dabei zwei verschiedene Formen.

Die Topoisomerase I durchtrennt nach der Bindung an die Doppelhelix einen der Stränge durch Spaltung der Phosphodiester-Bindung, da ein Tyrosinrest des Enzyms mit einem Phosphatrest der DNA einen Ester bildet. Somit ist ein Rotieren gegeneinander und folgedessen eine Entspannung möglich. Anschließend wird der Strang wieder geschlossen.

Die Topoisomerase II ist wiederum in der Lage, beide Stränge der DNA-Doppelhelix zu durchtrennen. Nach der Relaxation der DNA werden sie wieder verschlossen.^{2,6}

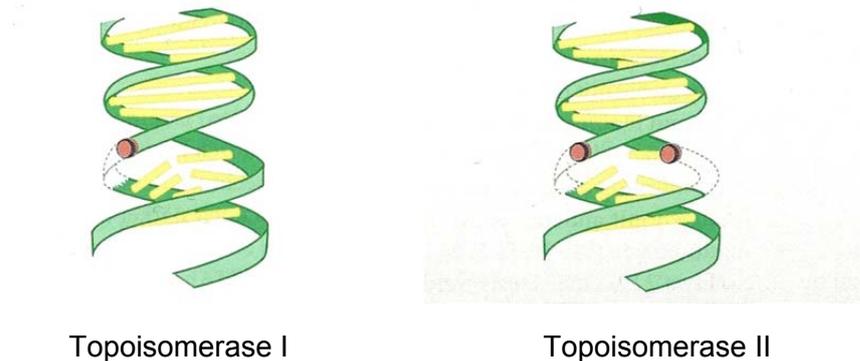


Abbildung 1: Angriffspunkte der Topoisomerasen (nach Lit.³)

Topoisomerase-Inhibitoren werden nun eingesetzt, um diese Enzyme zu hemmen. Vor allem wird die Dissoziation der Enzyme von der DNA verhindert. Auf diese Weise entsteht ein stabilisierter Komplex aus Topoisomerase und DNA. Dieser induziert Strangbrüche, die in weiterer Folge Apoptose einleiten. Die Tumorselektivität dieser Wirkstoffgruppe liegt darin, dass einige Tumore eine erhöhte Topoisomeraseaktivität aufweisen.³

Topoisomerase-I-Inhibitoren

Seit Jahrzehnten ist Camptothecin (Abbildung 2) bekannt. Dieses Alkaloid mit einer pentazyklischen δ -Lakton-Struktur stammt aus der Rinde des chinesischen Baums *Camptotheca acuminata*. Wall *et al.* isolierten und charakterisierten diesen Wirkstoff 1966. Therapeutisch interessant als Topoisomerase-I-Hemmer wurden aber erst die Derivate Irinotecan und Topotecan (Abbildung 2), da Camptothecin selbst eine schlechte Löslichkeit in Wasser aufweist.

Diese Camptothecin-Derivate wurden im Jahr 1996 in den USA zugelassen. Um das Problem der Wasserlöslichkeit zu verringern, hat man im Falle von Topotecan eine basische Dimethylaminogruppe hinzugefügt. Irinotecan liegt wiederum als Dipiperidylcarbonsäureester vor, der wasserlöslich ist und ein Prodrug darstellt.^{2,7}

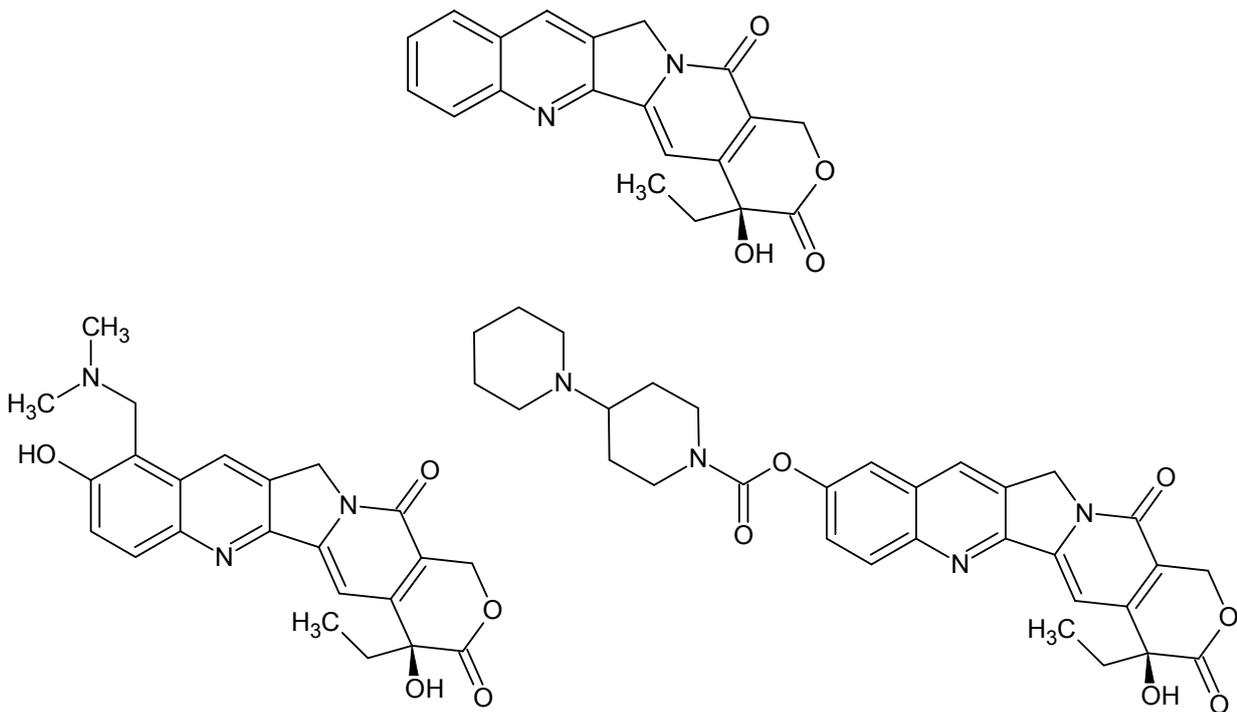


Abbildung 2: Camptothecin (oben), Topotecan (unten links), Irinotecan (unten rechts)

Wie Camptothecin stabilisiert auch Luotonin A (Abbildung 3) den DNA-Topoisomerase-I-Komplex und ist ein selektiver Topoisomerase-I-Inhibitor. Die Luotonin A enthaltende Pflanze *Peganum nigellastrum* (Zygophyllaceae) wird in der traditionellen chinesischen Medizin schon sehr lange bei Rheuma und Erkrankungen mit begleitenden Entzündungen eingesetzt. Jedoch ist Luotonin A hinsichtlich seiner biologischen Aktivität gegenüber humanen Krebszelllinien weniger wirksam als Camptothecin. Aufgrund seiner strukturellen Ähnlichkeit eignet es sich aber sehr gut als Leitstruktur, um neue potentielle Wirkstoffe dieser Gruppe zu entwickeln.⁸

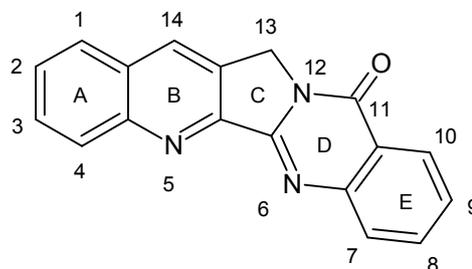


Abbildung 3: Luotonin A (Nummerierung nach IUPAC)

1.3 Das Bioisosterie-Konzept

Die Entwicklung neuer Wirkstoffe ist immer mit einem enormen finanziellen Aufwand verbunden, weshalb die Vorgangsweise dabei gut überlegt sein sollte. Eine sinnvolle Möglichkeit, wirksame Derivate einer Substanz zugänglich zu machen, stellt das Bioisosterie-Konzept dar.

Unter Bioisosteren versteht man Substanzen, die bei gleicher räumlicher Ausdehnung vergleichbare Wirkung aufweisen. Sie können allerdings eine durchaus abweichende Elektronenverteilung haben. Bei der Entwicklung von Derivaten einer wirksamen Substanz können verschiedenste Verbesserungen angestrebt werden. Neben einer möglichen Verbesserung von Affinität und Selektivität des Wirkstoffs kann auch eine Verringerung der Toxizität erreicht werden. Weiters ist eine Veränderung des Metabolismus oder auch die Optimierung physikochemischer Eigenschaften denkbar. So kann bei den Derivaten die Polarität und damit die Löslichkeit über die Elektronendichteverteilung modifiziert werden. Auch der Syntheseaufwand und die Entwicklungszeit müssen in einer zweckmäßigen Relation zur Ausbeute stehen und können einen Grund für die Entwicklung von Derivaten darstellen.

Die Wirkstoffe Triazolam und Brotizolam (Abbildung 4) folgen beispielsweise dem Bioisosterie-Konzept. Diese Benzodiazepine entsprechen der Benzol/Thiophen-Bioisosterie. Triazolam enthält zentral ein chloriertes Benzol, das im Brotizolam durch ein bromiertes Thiophen ersetzt ist. Die Bioisosterie ist gegeben, da die C=C Doppelbindung im Benzol mit dem Durchmesser eines Schwefelatoms annähernd übereinstimmt.

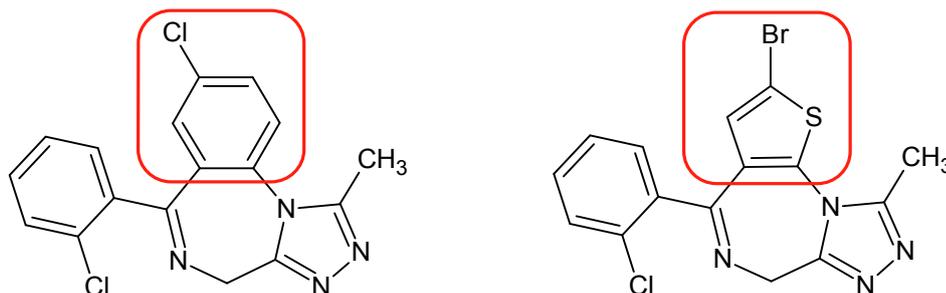


Abbildung 4: Triazolam (links), Brotizolam (rechts)

Einige andere Beispiele für Bioisosterie sind Pyridin/Thiazol, Thiophen/Furan, Sauerstoff/Schwefel oder Chlor/Brom. Die Benzol/Pyridin-Bioisosterie (Abbildung 5) ist bei neuroleptisch wirkenden Substanzen zur Anwendung gekommen. Durch den formalen

Austausch eines Benzol-Ringes durch ein Pyridin erhält man aus dem Phenothiazin Promazin Prothipendyl und aus Alimemazin Isothipendyl.⁹

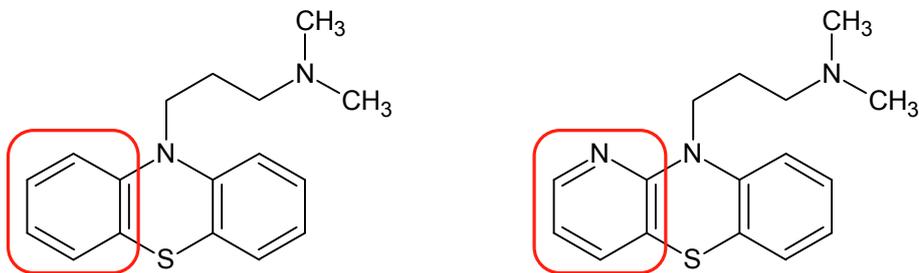


Abbildung 5: Promazin (links), Prothipendyl (rechts)

Die Option einen Benzol-Ring durch ein Pyridin zu ersetzen besteht auch bei Luotonin A und stellt eine interessante Möglichkeit dar, verbesserte Derivate zu entwickeln.

Lee und Mitarbeiter¹⁰ zeigten im Jahr 2006, dass Luotonin A und sein 4-Aza-Derivat (Abbildung 6) schwache inhibitorische Wirkung auf die Topoisomerase I und II aufweisen. Die weiteren in dieser Arbeitsgruppe zugänglich gemachten anellierten Derivate mit vergrößertem Ring C zeigten wiederum keine signifikante inhibitorische Aktivität bis 100 μM . Dies weist eventuell darauf hin, dass die Planarität des pentazyklischen Systems für die Wirkung von Bedeutung ist.¹⁰

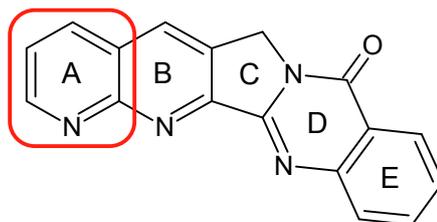


Abbildung 6: 4-Aza-Luotonin A

Nacro *et al.*¹¹ machten wiederum verschiedenste E-Ring-modifizierte Luotonin-A-Derivate zugänglich. Ihr Ziel war, dass die E-Ring-Derivate durch erhöhte Bindungsaffinität eine verstärkte Wirksamkeit in Bezug auf die Fähigkeit von Luotonin A, mit dem DNA/Topoisomerase-I-Komplex zu interagieren, zeigen sollten. Eines der zugänglich gemachten Derivate entspricht der Bioisosterie und weist anstatt des Benzols als Ring E ein Pyridin (Abbildung 7) auf.

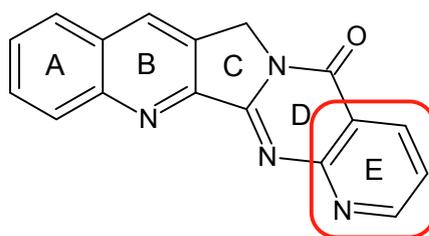


Abbildung 7: 7-Aza-Luotonin A

Allerdings zeigten fast alle E-Ring substituierten Derivate eine bedeutend schlechtere inhibitorische Aktivität gegenüber einer Gebärmutterhals- und zweier Brustkarzinom-Zelllinien (HeLa, MCF7, ADR-Res). Lediglich das 16-Amino-Derivat konnte mit der Wirkung von Luotonin A mithalten.¹¹

Dennoch ist das Bioisosterie-Konzept ein interessanter Ansatz, neue und wirksamere oder besser bioverfügbare Derivate zu entwickeln.

1.4 Zielsetzung

In unserer Arbeitsgruppe wurden bisher verschiedenste A-Ring-substituierte Luotonin-A-Derivate zugänglich gemacht.^{12,13} Auch ein entsprechendes Thiophen-Analogon des Alkaloids wurde kürzlich beschrieben.¹² Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit sollte nun ein Stickstoffatom in Position 3 des A-Rings eingebracht werden. Somit ist das Ziel, dass die Benzol/Pyridin-Bioisosterie am A-Ring von Luotonin A Anwendung findet. Von besonderem Interesse war es, einen geeigneten Syntheseweg für diese Zielverbindung zu finden. Wünschenswert wäre natürlich auch, mit dem angestrebten 3-Aza-Luotonin A (Abbildung 8) einen potenteren Topoisomerase-I-Hemmer zu erhalten, um den ohnehin geringen Bestand an Zytostatika dieses Typs eventuell zu vergrößern. Aber auch verbesserte physikochemische Eigenschaften mit dem neuen Derivat zu erreichen, erschien durchaus erstrebenswert.

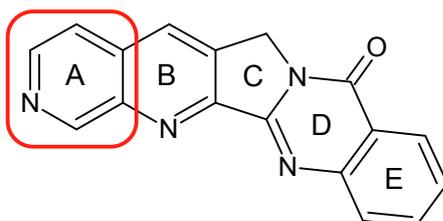


Abbildung 8: 3-Aza-Luotonin A

2 Eigene Untersuchungen

Auf der Suche nach einem geeigneten Syntheseweg zur Herstellung des angestrebten 3-Aza-Luotonin A konnten schon im Vorfeld einige Möglichkeiten als wenig erfolgversprechend ausgeschlossen werden.

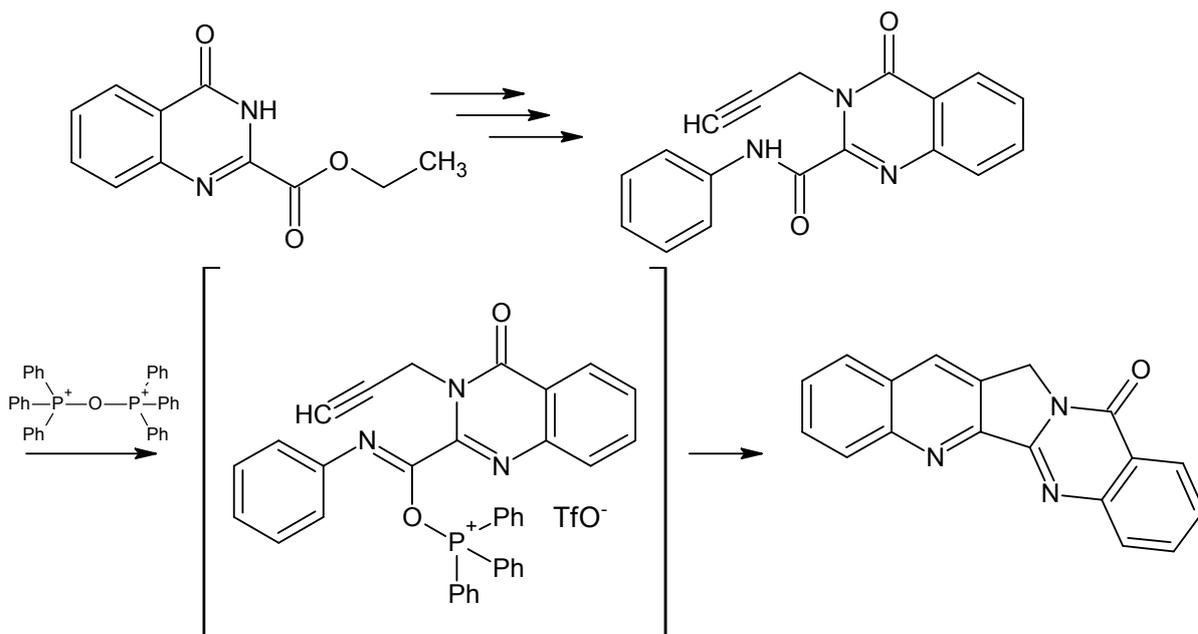
So hatten Zhou *et al.*¹⁴ eine fünfstufige Syntheseroute zu Luotonin A publiziert. Zu Beginn dieses Synthesewegs wurde kommerziell erwerbbares Anthranilamid mit Diethyloxalat zu einem Chinazolinonester umgesetzt. Anschließend wurde mit Lithiumhydroxid hydrolysiert. Nach der Umwandlung in das entsprechende Säurechlorid ergab sich durch Kupplung mit Anilin ein entsprechendes Anilid. In weiterer Folge wurde durch Alkylierung mit Propargylbromid und anschließende Zyklisierung unter Anwesenheit von Bis(triphenyl)-oxodiphosphonium-Trifluormethansulfonat (Hendrickson-Reagens) Luotonin A gewonnen. Auf diesem Weg ist eine Herstellung von Luotonin A mit einer Gesamtausbeute von 47% möglich.¹⁴

In unserer Arbeitsgruppe wurde jedoch festgestellt, dass es im Zuge der Synthese vor allem bei der Hydrolyse zur Chinazolinoncarbonsäure und bei der Umwandlung über das Säurechlorid zum Anilid immer wieder zu Problemen kommt. Diese beruhen auf der Decarboxylierungs-empfindlichen Carbonsäure und auf dem schwer löslichen und Hydrolyse-empfindlichen Säurechlorid. Somit ist eine breite Anwendbarkeit dieser Syntheseroute nicht möglich.¹⁵

Durch die Verwendung der Weinreb-Amidierung wurde in unserer Arbeitsgruppe jedoch eine elegante Optimierungsmöglichkeit gefunden. Das Anilid wird auf diese Weise durch direkte Umsetzung von N-3-unsubstituiertem Chinazolinoncarbonsäureester mit Trimethylaluminium-aktivierten Anilinen in 1,2-Dichlorethan zugänglich gemacht.¹² Weniger gute Ausbeuten lieferte dieser alternative Syntheseweg bei 3-Propargyl-substituierten Anilinen.

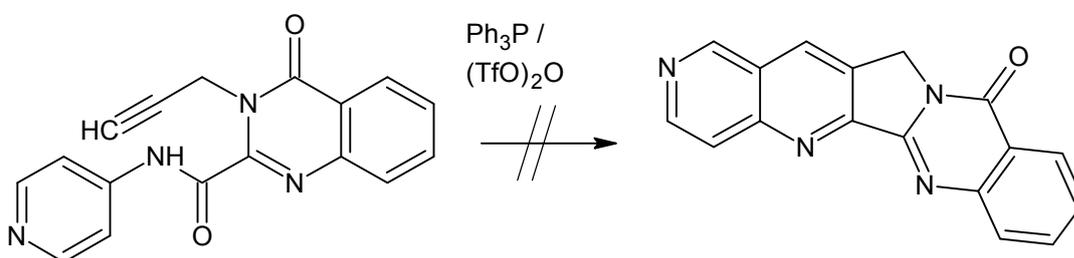
Um die bei der Alkylierung eventuell auftretenden Löslichkeitsprobleme zu vermeiden wurde auch bei diesem Schritt ein alternativer Weg zur von Zhou *et al.*¹⁴ beschriebenen Methode gewählt. Unsere Arbeitsgruppe verwendete Dimethylformamid in Gegenwart von Kaliumcarbonat anstelle des Toluol/Wasser-Gemisches und Tetrabutylammoniumbromid, womit nun auch im Fall schwerlöslicher Edukte durchwegs gute Ausbeuten erzielbar sind.^{15,16}

Bezüglich der finalen intramolekularen Cycloadditionsreaktion (Schema 2) stellte sich heraus, dass mit dem von Zhou *et al.*¹⁴ beschriebenen Verfahren gute Ausbeuten bei der Herstellung von 2- und 4-substituierten sowie von 1,3-symmetrisch-disubstituierten Luotonin-A-Derivaten erzielt werden können. Bei *meta*-substituierten Anilin-Derivaten kam es jedoch zur Ausbildung von Isomerenmischungen mit dem Substituenten in Position 1 oder 3.¹⁷



Schema 2: Luotonin-A-Synthese nach Zhou *et al.*¹⁴

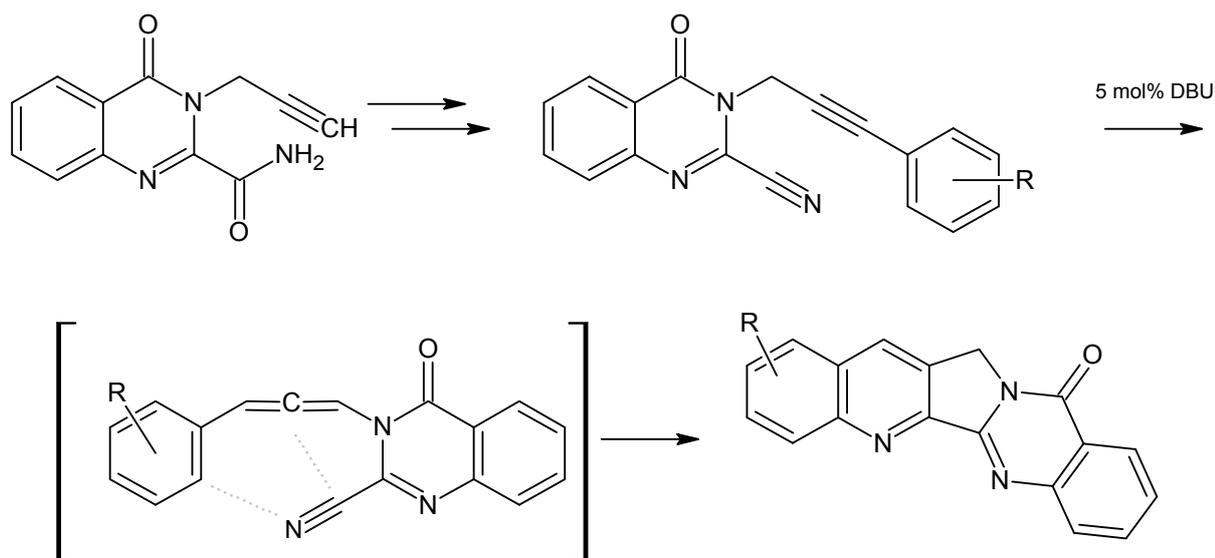
Der in Schema 2 skizzierte Syntheseweg schied als Möglichkeit zur Darstellung der Zielverbindung jedoch schon im Vorhinein aus, da hier die Cycloadditionsreaktion mittels Hendrickson-Reagens mit Pyridin-Derivaten, wie schon von Haider und Nuß^{12,18} beobachtet, nicht funktioniert (Schema 3). Auf diesem Weg war versucht worden, 2-Aza-Luotonin A zugänglich zu machen, es konnte aber nur unverändertes Ausgangsmaterial und Triphenylphosphinoxid wiedergefunden werden. Lediglich dünnschichtchromatographisch waren Spuren von intensiv blau fluoreszierendem Material (vermutlich 2-Aza-Luotonin A) erkennbar gewesen.¹²



Schema 3: Fehlgeschlagene Cycloadditionsreaktion an einem *N*-(4-Pyridyl)-Carboxamid^{12,18}

Eine zum oben beschriebenen Weg komplementäre Route wurde kürzlich von unserer Arbeitsgruppe vorgestellt.¹³ Dabei handelt es sich um eine Adaption einer zuvor von Dai *et*

*al.*¹⁹ veröffentlichten Synthese des ABCD-Ringfragmentes von Camptothecin. Auch hier stellt eine intramolekulare Aza-Diels-Alder-Reaktion den Schlüsselschritt dar, wobei ein Nitril als Dienophil fungiert und (höchstwahrscheinlich) ein intermediär aus einem Arylalkin gebildetes Aryllallen die Dienkomponente darstellt. Mittels dieses in Schema 4 gezeigten Syntheseweges konnte eine ganze Reihe neuer 1- und 3-substituierter Derivate von Luotonin A hergestellt werden.^{13,17}

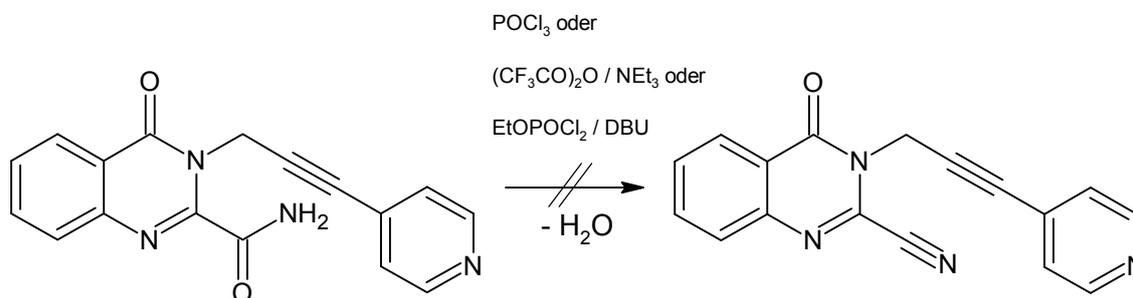


Schema 4: Luotonin-A-Synthese nach Haider *et al.*¹³

Das entsprechende N-Arylpropargyl-substituierte Chinazolinoncarbonitril wurde aus 3-Propargyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid und unterschiedlich substituierten Aryliodiden unter den Reaktionsbedingungen einer Sonogashira-Reaktion hergestellt. In weiterer Folge wurde die Amid-Funktion mittels Dehydratisierung in eine Nitril-Funktion übergeführt. Dabei kamen drei unterschiedliche Methoden zur Anwendung. Abhängig von der jeweiligen Ausgangsverbindung wurde Phosphoorychlorid, Trifluoracethanhydrid oder Ethyl-Dichlorphosphat verwendet. Bei der finalen, simultanen Ringbildung der Ringe B und C ist eine katalytische Menge der organischen Base 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) notwendig. Als geeignetes Lösungsmittel erwies sich 1,2-Dichlorbenzen. Nach einer 1,5-Wasserstoff-Verschiebung erhält man so die entsprechenden Luotonin-A-Derivate. Auf diesem Weg konnten in Position 1 oder 3 substituierte Methyl-, Methoxy- und Ethoxycarbonyl-Luotonin-A-Derivate zugänglich gemacht werden.^{13,19}

Die Sonogashira-Reaktion mit anschließender Amid-Dehydratisierung musste jedoch für die nun angestrebte Zielverbindung ebenfalls schon im Vorfeld als möglicher Syntheseweg

ausgeschlossen werden, da Vorversuche zur Dehydratisierung des Amids an einem 4-Pyridyl-Derivat fehlgeschlagen waren¹⁸ (Schema 5).



Schema 5: Fehlgeschlagene Versuche zur Amid-Dehydratisierung an einem 4-Pyridyl-propargyl-substituierten Chinazolinoncarboxamid¹⁸

Des Weiteren hatte ein Versuch zur Sonogashira-Kupplung eines Propargyl-substituierten Chinazolinoncarbonitrils mit 4-Iodpyridin ebenfalls nicht zum Erfolg geführt¹⁸, was im Einklang mit den Beobachtungen in der Serie carbocyclischer Analoga¹³ steht.

Somit bot sich eine weitere Variation der Reihenfolge an, mit der die erforderlichen Teilstrukturen bzw. funktionellen Gruppen aufgebaut werden können. Ausgehend vom literaturbekannten 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril²⁰, für welches erst kürzlich in unserer Gruppe ein alternativer und praktikabler Zugang entwickelt worden war, könnte die gesamte Pyridylpropargyl-Seitenkette in einem einzigen Schritt durch Alkylierung der aziden NH-Funktion in Position 3 des Chinazolinons eingeführt werden. Allerdings erschien für diesen Zweck die Verwendung eines reaktiven Alkylierungsmittels wie etwa eines (in der Literatur noch nicht beschriebenen) 4-Pyridylpropargylbromids wenig erfolgversprechend, da eine solche Verbindung wohl primär mit sich selbst unter Quaternisierung des Pyridinstickstoffs reagieren würde.

Aufgrund dieser Überlegungen erschien letztlich die Mitsunobu-Reaktion (zum allgemeinen Ablauf siehe Schema 6) als ein geeigneter Ausweg, da bei diesem Reaktionstyp ein Alkohol verwendet wird, um einen Alkylrest an einem Stickstoffatom einzuführen. Der entsprechende 4-Pyridylpropargylalkohol, der hier das alkylierende Agens dieser Alkylierung darstellen könnte, ist bereits literaturbekannt und leicht herzustellen.

Die Mitsunobu-Reaktion wurde erstmals von ihrem Namensgeber Oyo Mitsunobu 1967 beschrieben. Sie ist eine weit verbreitete Methode zur Kupplung eines Alkohols mit einem Pronukleophil oder einer Säure unter Abspaltung von Wasser. Meist wird dazu die

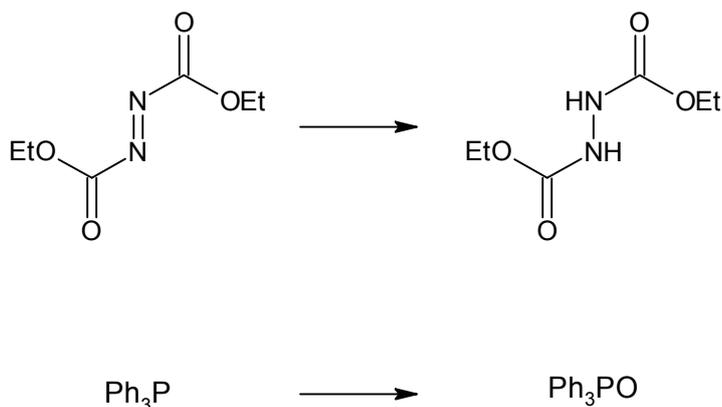
Kombination eines oxidierenden Azo-Reagens, wie Diethylazodicarboxylat (DEAD), und eines reduzierenden Phosphin-Reagens, wie Triphenylphosphin, verwendet.²¹



Schema 6: Allgemeiner Ablauf der Mitsunobu-Reaktion

Zu Beginn der Reaktion greift das Triphenylphosphin am DEAD an. Dabei entsteht ein zwitterionisches Zwischenprodukt, ein sogenanntes Betain. Das Zwischenprodukt deprotoniert die Säure bzw. das Pronukleophil und ein anionisches Nukleophil entsteht. Der Alkohol bindet nun an das Phosphoniumion und es entsteht ein Alkohol-Triphenylphosphonium-Ion. Dieses wird über einen $\text{S}_{\text{N}}2$ -Angriff vom Nukleophil angegriffen und es entsteht das Substitutionsprodukt unter Triphenylphosphinoxid-Abspaltung. Die Bildung einer stabilen Phosphor-Sauerstoff-Bindung als Nebenprodukt stellt die treibende Kraft dieser Reaktion dar.^{22,23}

Die bei der Reaktion somit als Nebenprodukte entstehenden Verbindungen Diethyl Hydrazin-1,2-dicarboxylat und Triphenylphosphinoxid sind in Schema 7 dargestellt.



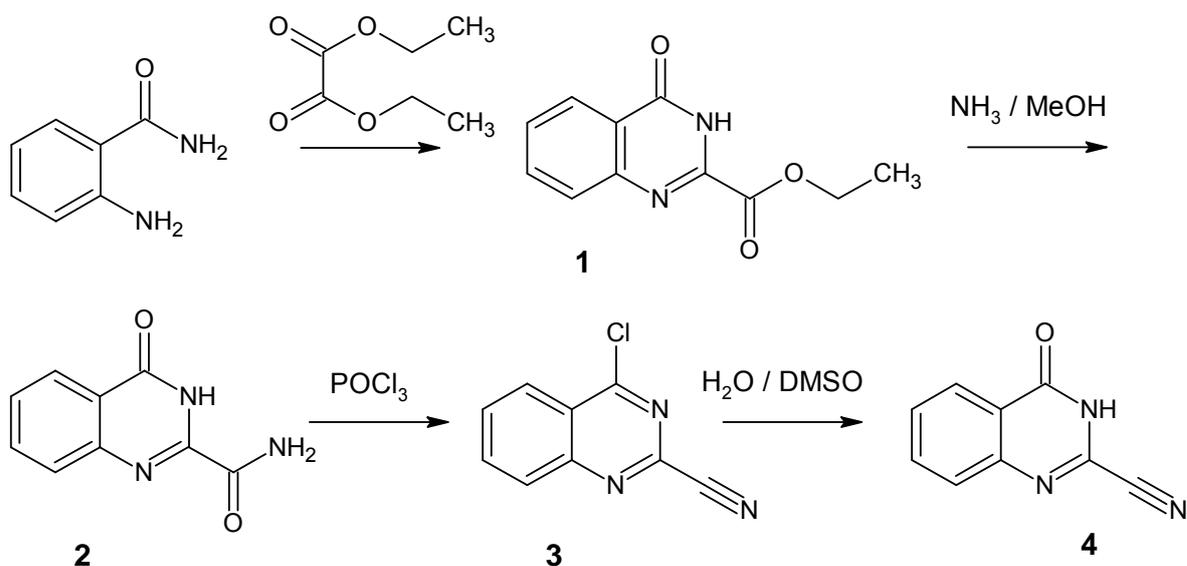
Schema 7: Nebenprodukte der Mitsunobu-Reaktion

Bei der Mitsunobu-Reaktion handelt es sich jedoch nicht um eine N-selektive Alkylierung, wenn das Substrat eine tautomeriefähige Struktur aufweist. Dies ist beim nun als Ausgangsmaterial ins Auge gefassten Oxonitril (**4**) (vgl. Schema 8) der Fall. Es ist daher

wahrscheinlich, dass auch die tautomere Form am Sauerstoff angegriffen wird. Somit muss mit einem zusätzlich entstehenden O-Alkylierungsprodukt gerechnet werden.

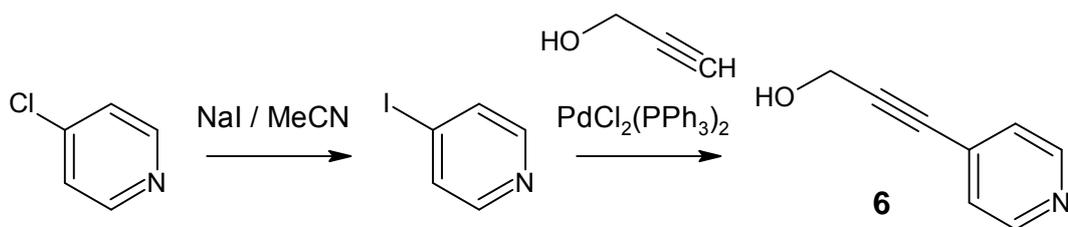
Um das geplante Konzept zur Synthese von 3-Aza-Luotonin A zu realisieren, war zunächst die Herstellung des literaturbekannten 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitrils (**4**) und des 4-Pyridylpropargylalkohols (**6**) notwendig.

Um das Oxonitril (**4**) herzustellen, sollte der in unserer Arbeitsgruppe bereits erprobte vierstufige Syntheseweg zur Anwendung kommen (Schema 8). Ausgehend von Diethyloxalat und Anthranilsäureamid sollte Ethyl 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat²⁴ (**1**) hergestellt werden. Weiters war geplant durch Ammonolyse des Carbonsäureesters (**1**) das Carbonsäureamid²⁵ (**2**) zu erhalten. Mittels Phosphoroxchlorid sollte das Amid (**2**) anschließend zum Chlornitril²⁶ (**3**) dehydratisiert werden, welches die in weiterer Folge als Dienophil benötigte Nitril-Funktion aufweist. Der letzte Schritt der Synthese der Vorstufe (**4**) besteht aus einer selektiven Hydrolyse der Chlorfunktion von **3** zurück zum Laktam-artigen Chinazolinon.¹⁸



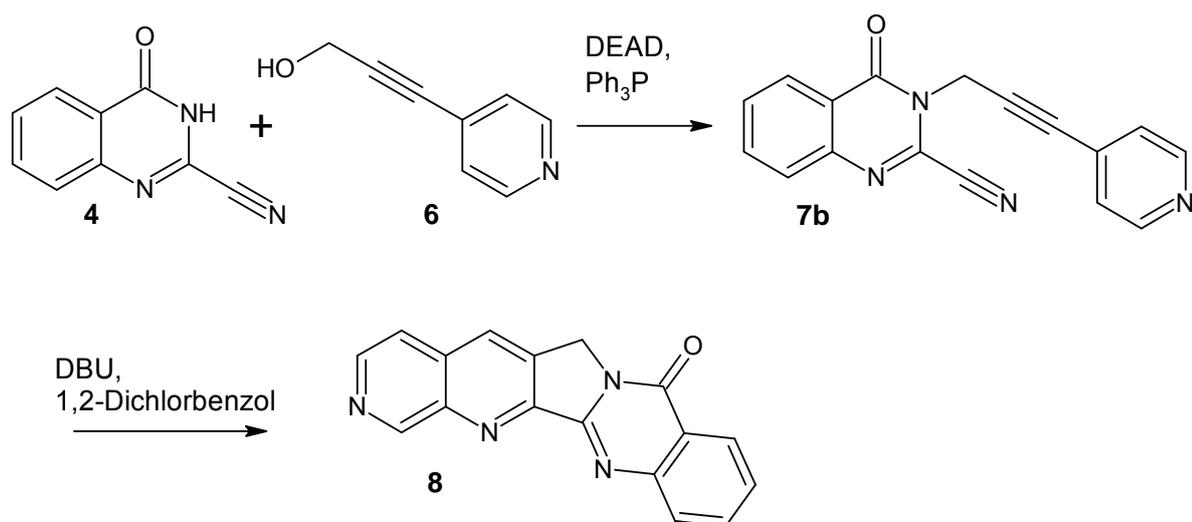
Schema 8

Die Herstellung des 4-Pyridylpropargylalkohols (**6**) sollte ausgehend von 4-Chlorpyridin stattfinden (Schema 9). Dazu ist es notwendig, zunächst das kommerziell verfügbare 4-Chlorpyridin in 4-Iodpyridin überzuführen, aus welchem wiederum mittels Sonogashira-Reaktion der benötigte 4-Pyridylpropargylalkohols (**6**) zugänglich ist.



Schema 9

Die gewählte Syntheseroute sieht nun vor, aus den Vorstufen (**4**) und (**6**) mittels Mitsunobu-Reaktion das Schlüssel-Zwischenprodukt 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**7b**) herzustellen. Ausgehend von Letzterem sollte es anschließend möglich sein, die Zielverbindung über eine Diels-Alder-Reaktion zugänglich zu machen (Schema 10).



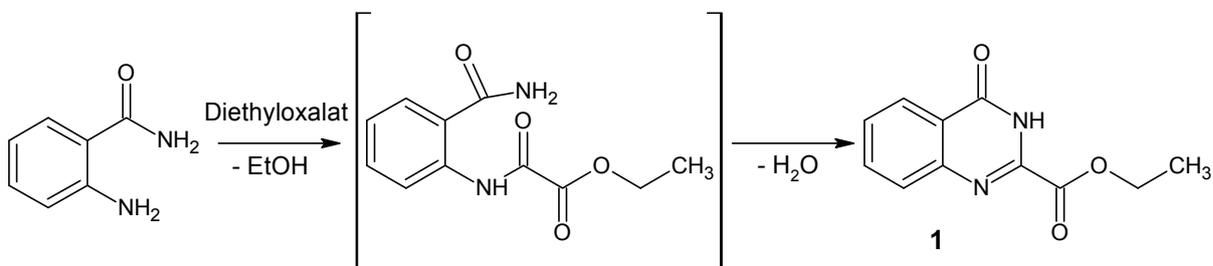
Schema 10

2.1 Herstellung der Ausgangsverbindungen

Ethyl 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**1**)

Das literaturbekannte Ethyl 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat²⁴ (**1**) wurde aus Diethyloxalat und Anthranilsäureamid hergestellt (Schema 11). Beide Komponenten sind kommerziell verfügbar. Weiters wurde eine katalytische Menge konzentrierte Essigsäure zugefügt, wodurch sich die Kondensationsreaktion etwas beschleunigen lässt. Der Ablauf der Reaktion wird mittels Dünnschichtchromatographie auf seine Vollständigkeit kontrolliert.

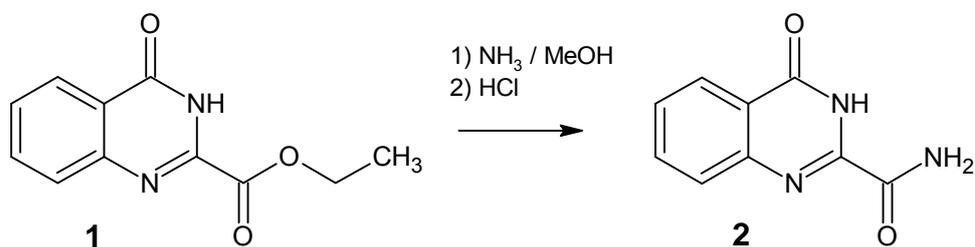
Die Reaktion ist einfach durchzuführen und unproblematisch, überschreitet die in der Literatur angegebene Reaktionszeit von fünf Stunden jedoch um ein Vielfaches trotz der Verwendung eines sauren Katalysators. Die Reinigung des Produkts erfolgte durch Waschen mit Ethanol und Diethylether.



Schema 11

4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**)

Das Carbonsäureamid (**2**) konnte durch Ammonolyse des Carbonsäureesters (**1**) entsprechend der Literatur²⁵ hergestellt werden. Der Ester (**1**) wurde dazu in methanolische Ammoniaklösung eingebracht und die Vollständigkeit der Reaktion wurde nach etwa 16 h mittels Dünnschichtchromatographie festgestellt. Anschließend wird die Suspension auf Eiswasser gegossen, wobei sich das entstandene Ammoniumsalz wieder löst. Durch Ansäuern mit konzentrierter Salzsäure fällt **2** aus. Das Produkt kann nun abgenutscht und mit Wasser gewaschen werden. Die Reaktion verläuft unproblematisch und liefert sehr gute Ausbeuten (Schema 12).

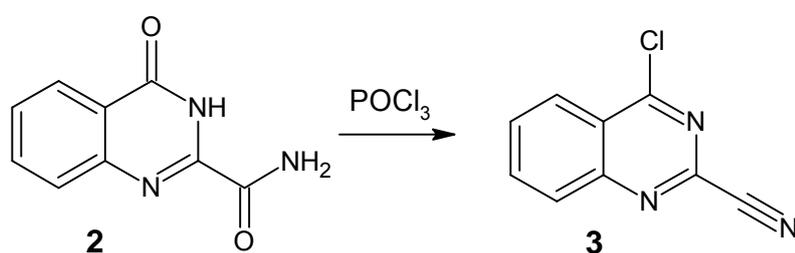


Schema 12

4-Chlorchinazolin-2-carbonitril (**3**)

Im nächsten Schritt wurde das Carbonsäureamid (**2**) in ein entsprechendes Nitril (**3**) übergeführt (Schema 13), da letztere Funktionalität im späteren Verlauf der Synthesekette notwendig ist, um bei der geplanten Diels-Alder-Reaktion als Dienophil zu fungieren (vgl. Schema 10).

Zur Dehydratisierung des Amids (**2**) wird dieses gemäß einer Arbeitsvorschrift aus der Patentliteratur²⁶ mit Phosphoorychlorid erhitzt, wobei auch gleichzeitig die Laktam-artige Chinazolinon-Struktur in das entsprechende 4-Chlorchinazolin umgewandelt wird. Entscheidend bei der Aufarbeitung ist, dass das nicht verbrauchte Phosphoorychlorid möglichst vollständig mittels Vakuumdestillation entfernt wird. Andernfalls kann es bei der anschließenden Zugabe von Eis zu lokalen Überhitzungen kommen, wodurch sich die Ausbeute verringern kann. Das so erhaltene Chlornitril (**3**) wird abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Eine Extraktion des Filtrats mit Dichlormethan liefert lediglich sehr geringe zusätzliche Anteile an **3** und lohnt sich somit nicht. Die Reinigung des thermisch und hydrolytisch nicht sehr stabilen Chlornitrils (**3**) erfolgt mittels Kurzsäulenchromatographie an Kieselgel.



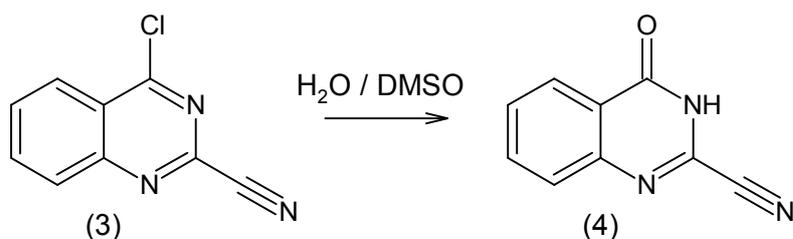
Schema 13

4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**4**)

Bei der Dehydratisierung des Carbonsäureamids (**2**) mit Phosphoorychlorid entsteht, wie erwähnt, neben dem gewünschten Nitril unvermeidbar aus der Oxo-Gruppierung in Position 4 des Chinazolins eine Chlorfunktion. Mittels Hydrolyse unter sehr milden Bedingungen wird im nächsten Schritt diese unerwünschte Umwandlung rückgängig gemacht, ohne dabei die Nitrilfunktion anzugreifen (Schema 14).¹⁸

Dazu wird das Chlornitril (**3**) in wasserhältigem DMSO (10% H₂O) auf 40°C erwärmt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels Dünnschichtchromatographie kontrolliert. Durch Verdünnen mit Wasser lässt sich das Produkt ausfällen und kann durch Filtration isoliert werden. Weitere Anteile erhält man durch Extraktion des Filtrates mit Ethylacetat. Das

Rohprodukt lässt sich durch einfache Lösungs- und Filtrationsoperationen hinreichend reinigen. Zunächst wird das Material in heißem *tert*-Butylmethylether gelöst und von polaren Verunreinigungen durch Filtration befreit. Nach Eindampfen wird der verbleibende Rückstand mit heißem Petroleumbenzin gewaschen, wodurch auch die apolaren Verunreinigungen (allenfalls noch vorhandenes Chlornitril) entfernt werden. Die Ausbeute an so erhaltenem, dünnschichtchromatographisch reinem Oxonitril (**4**) beträgt 65%.



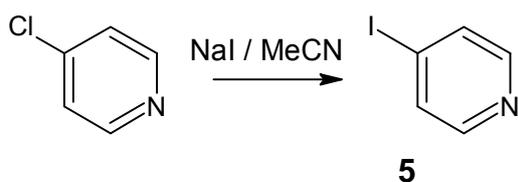
Schema 14

4-Iodpyridin (**5**)

Da das benötigte 4-Iodpyridin (**5**) kommerziell nicht erhältlich ist, wurde es aus 4-Chlorpyridin nach einer bekannten Arbeitsvorschrift hergestellt (Schema 15).²⁷

Dazu wurde 4-Chlorpyridinhydrochlorid mit Natriumiodid in Acetonitril zum Rückfluss erhitzt. Bei steigender Temperatur veränderte sich die Farbe der Reaktionslösung von gelb über dunkelgrün nach schwarz. Nach 24 h wurde das entstandene 4-Iodpyridin (**5**) durch Ausschütteln gewonnen. Dieser Schritt stellte sich wegen der schlechten bzw. kaum erkennbaren Phasentrennung als herausfordernd dar.

Zur Reinigung des Produkts wurde es über eine kurze Kieselgelsäule chromatographiert. Aufgrund der Thermolabilität der Verbindung ist beim Eindampfen des Eluates jegliche Erwärmung über Zimmertemperatur zu vermeiden, außerdem sollte **5** dunkel und kühl gelagert werden.



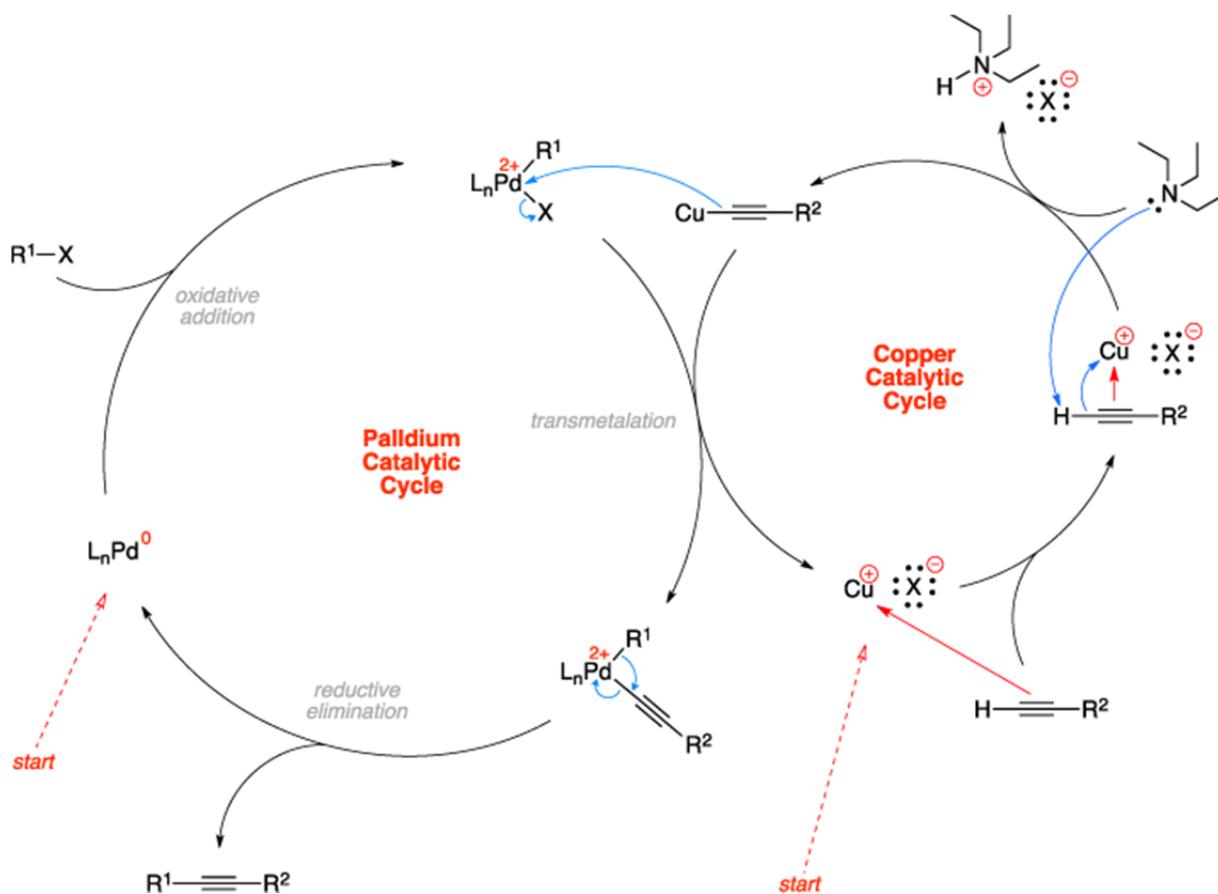
Schema 15

3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-ol (6)

Im nächsten Schritt wurde das Aryliodid (5) mit Propargylalkohol als endständiges Alkin gekuppelt, um den als wichtigen Baustein benötigten 4-Pyridylpropargylalkohol (6) zu erhalten (Schema 17). Die dafür angewandte Sonogashira-Kupplung ist eine palladiumkatalysierte Reaktion, sie ist entsprechend ihrer Entdecker auch bekannt unter dem Namen Sonogashira-Hagihara-Kupplung und wurde 1975 erstmals publiziert.²⁸

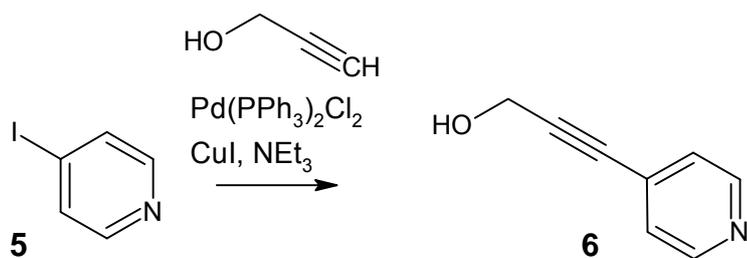
Neben Palladium ist auch ein Kupferhalogenid (typischerweise Kupferiodid) als Katalysator notwendig. Um die Reaktion in Gang zu setzen, muss der Palladium-Katalysator in nullwertiger Form vorliegen. Außerdem ist das Arbeiten unter Inertgas-Atmosphäre Voraussetzung, da der Palladiumkomplex gegenüber Luftsauerstoff unbeständig ist.

Wie man dem Schema 16 (nach Lit.²⁹) entnehmen kann, werden im Zuge der Reaktion zwei katalytische Zyklen durchlaufen. Zunächst reagiert das Arylhalogenid mit dem nullwertigen Palladium-Katalysator mittels oxidativer Addition zu einem zweiwertigen Palladium-Komplex. Währenddessen reagiert das Kupferiodid mit dem Alkin. Damit das Kupferacetylid entstehen kann, muss ein basisches Reaktionsmedium verwendet werden, welches in der Lage ist das abgegebene Proton aufzunehmen. Bei der anschließenden Transmetallierung wird nun der organische Rest der Kupferverbindung auf den zweiwertigen Palladium-Komplex übertragen. Im Zuge dieser Reaktion wird das Kupferhalogenid regeneriert und der katalytische Kupfer-Zyklus schließt sich hiermit. Durch reduktive Eliminierung wird schließlich das gewünschte Produkt freigesetzt und es steht nun wieder der nullwertige Palladium-Komplex zur Verfügung. Somit schließt sich auch der katalytische Palladium-Zyklus.^{30,31}



Schema 16: Allgemeiner Ablauf der Sonogashira-Reaktion (nach Lit.²⁹)

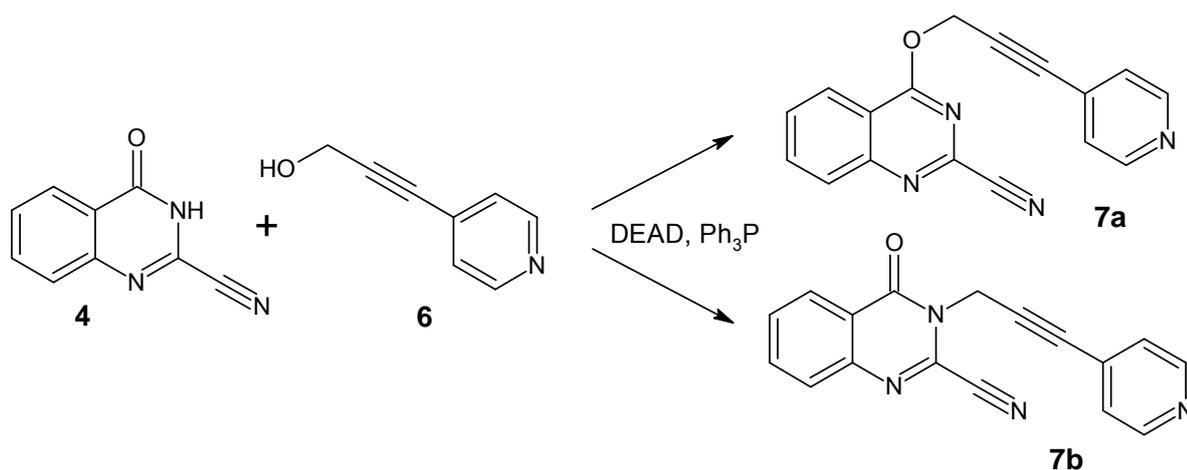
Um den benötigten Baustein **6** zu erhalten, wurde zunächst ein Protokoll verwendet, welches sich zur Synthese des in Schema 4 skizzierten Zyklisierungs-Edukts (s. Einleitung) bewährt hatte.¹³ Dazu wurde 4-Iodpyridin mit Propargylalkohol in trockenem Dichlormethan/DMF in Gegenwart von Bis(triphenylphosphin)palladiumdichlorid, Kupfer(I)iodid, 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol (als Antioxidans) sowie 2.5 Äquivalenten Triethylamin unter Argonatmosphäre zur Reaktion gebracht. Das nach Beendigung der Umsetzung (ca. 3 h, DC-Kontrolle) isolierte Kupplungsprodukt musste mehrfach chromatographisch gereinigt werden (SC gefolgt von MPLC) und die Ausbeute blieb mit ca. 20% unter den Erwartungen. Eine deutliche Verbesserung (65%) brachte die Anwendung des von Wessig und Pick beschriebenen Verfahrens³², bei welchem Triethylamin nicht nur als Base, sondern auch als Lösungsmittel fungiert. Auf das Antioxidationsmittel wurde verzichtet. Die Reaktionszeit wurde in Lit.³² mit 16 h angegeben. Dünnschichtchromatographisch konnte der vollständige Ablauf der Reaktion jedoch schon nach 4 h festgestellt werden. Zur Aufarbeitung wird die resultierende Suspension über eine Celit-Säule filtriert. Das eingedampfte Produkt wird in Dichlormethan aufgenommen, mit Wasser gewaschen und zuletzt mittels Säulenchromatographie gereinigt.



Schema 17

2.2 Untersuchungen zur Mitsunobu Reaktion

Im nächsten entscheidenden Schritt sollte nun versucht werden, aus dem zuvor hergestellten Oxonitril (**4**) und dem Alkohol (**6**) das als Schlüssel-Zwischenprodukt erachtete 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**7b**) zu erhalten (Schema 18).



Schema 18

Wie bereits zuvor diskutiert (vgl. S 13-16), erschien unter mehreren möglichen Synthesestrategien der Weg über eine Mitsunobu-Alkylierung als der am ehesten zielführende. Die erfolgreiche Durchführung dieses Reaktionsschrittes sollte es in weiterer Folge ermöglichen, die letztlich angestrebte Zielverbindung 3-Aza-Luotonin A zugänglich zu machen.

In Anlehnung an die von Roopan *et al.*³³ beschriebene Alkylierung von (u.a.) Chinazolin-4(3*H*)-on mit verschiedenen Chinolinylmethylalkoholen wurde als Lösungsmittel für die Mitsunobu-Reaktion trockenes Tetrahydrofuran gewählt. Die Umsetzung erfolgt unter

Inertgas bei 0°C. Nach Vorlage der beiden Bausteine **4** und **6** sowie Triphenylphosphin im genannten Lösungsmittel wird die Reaktion durch langsame Zugabe von Diethyl Azodicarboxylat (DEAD) gestartet. Dabei zeigte sich anhand der sehr rasch einsetzenden Dunkelfärbung, dass die Reaktion unverzüglich einsetzt, nach vier Stunden ist dünnschichtchromatographisch kein Edukt mehr nachweisbar. Das nach extraktiver Aufarbeitung erhaltene ölige Rohprodukt enthält gemäß DC zwei neue Verbindungen, bei denen es sich offenbar um die beiden isomeren Alkylierungsprodukte (**7a**) und (**7b**) handelt. Diese Vermutung konnte bereits durch das ¹H-NMR-Spektrum des rohen Gemisches bestätigt werden, welches die für OCH₂- und NCH₂-Teilstrukturen typischen Signale als Singulets bei 5.51 bzw. 5.32 ppm aufweist. Wie erhofft, dominiert das gewünschte N-Alkylierungsprodukt (**7b**) im Gemisch, aus den Integralen der genannten NMR-Signale ergibt sich ein Isomerenverhältnis für **7a:7b** von 1:2.15.

Zur Reinigung wurde das Gemisch zunächst über eine Kieselgelsäule eluiert (Fließmittel: Dichlormethan/Ethylacetat). Aufgrund des ähnlichen Laufverhaltens der beiden isomeren Verbindungen gelang eine vollständige Trennung jedoch erst mittels Mitteldrucksäulenchromatographie (MPLC). Auf diese Weise erhält man das gewünschte N-Alkylierungsprodukt (**7b**) in einer Ausbeute von 32%.

Sowohl **7a** als auch **7b** können aus Ethanol umkristallisiert werden. Im Fall von **7a** ist dies jedenfalls notwendig, da der bei der Mitsunobu-Reaktion entstehende Hydrazindicarbonsäureester (vgl. Schema 7) auch mittels MPLC nicht zufriedenstellend von **7a** abgetrennt werden kann.

Um das Verhältnis von O- versus N-Alkylierung zu verbessern und das Isomerenverhältnis somit in Richtung des benötigten N-Alkylierungsprodukts (**7b**) zu verschieben, sollte die Mitsunobu-Reaktion auch unter Verwendung von Acetonitril anstelle von Tetrahydrofuran als Lösungsmittel versucht werden, da dieses bekanntermaßen die Bildung des jeweiligen N-Alkylierungsproduktes bevorzugt.³⁴

Es zeigte sich, dass unter diesen Bedingungen die Umsetzung bereits nach zwei Stunden beendet ist und in der Tat deutlich weniger O-Alkylierungsprodukt (**7a**) entsteht. Das Verhältnis des Isomerengemisches vor der Trennung liegt nun bei **7a:7b** = 1:2.86. Trotzdem liegt die isolierte Ausbeute an reinem **7b** mit knapp 20% unter jenem Wert, der bei Verwendung von Tetrahydrofuran erzielt wurde (32%), sodass letzteres Lösungsmittel nach wie vor die bessere Wahl darstellt.

Die so erhaltenen Produkte (**7a**) und (**7b**) wurden mittels Elementaranalyse und spektroskopischer Methoden charakterisiert (siehe experimenteller Teil und Tafeln 1-14).

Das Signal von 2'-H und 6'-H des Pyridinrings in **7b** ist im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum als Multiplett bei 8.62-8.54 ppm erkennbar. Die Signale von 3'-H und 5'-H treten bei 7.35-7.28 ppm auf. Die entsprechenden Signale im Spektrum von **7a** sind bei 8.62-8.60 ppm und 7.35-7.34 ppm zu finden.

Weiters liefert 5-H von **7b** ein dublettisches Dublett bei 8.37 ppm und 8-H ein solches bei 7.84 ppm. Das H-Atom in Position 7 tritt als Multiplett bei 7.93-7.86 ppm in Erscheinung. Ein weiteres Multiplett ist bei 7.73-7.65 ppm sichtbar, welches 6-H zuzuordnen ist. Die CH_2 -Gruppe liefert ein Singulett bei 5.32 ppm. Mittels COSY-Experiment wurde das Kopplungsmuster der $^1\text{H-NMR}$ -Signale von **7b** bestätigt (Tafel 13 und Abbildung 9), ebenso wie im Fall der isometren Verbindung **7a**.

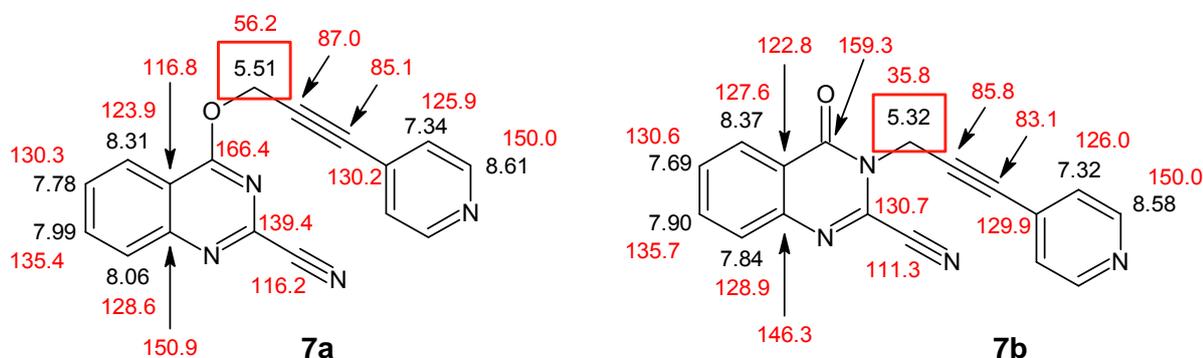


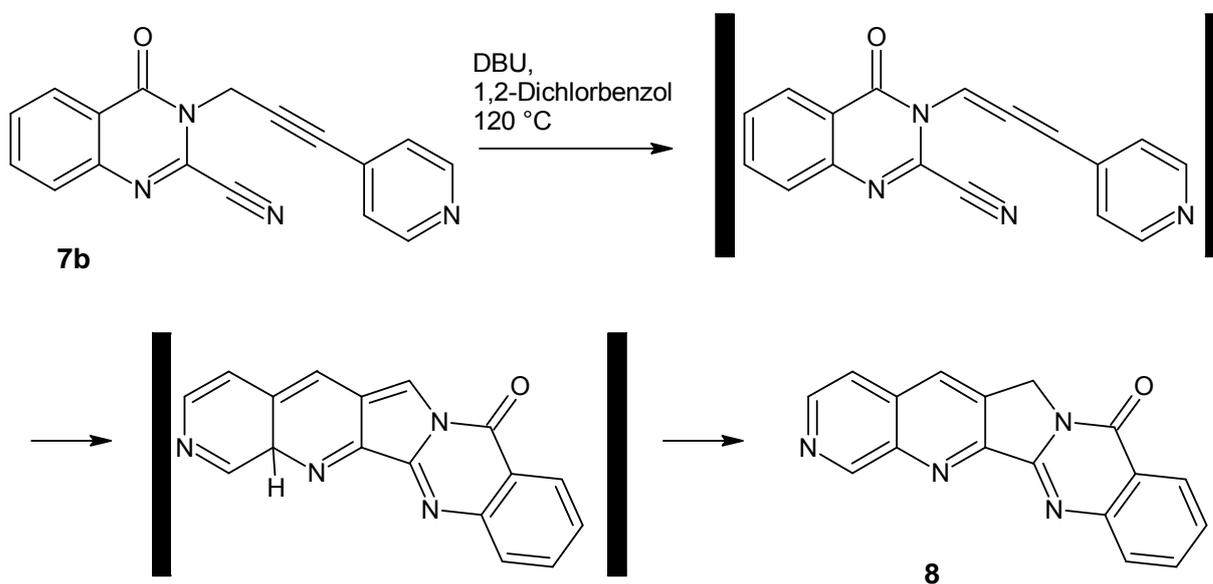
Abbildung 9: Signallagen in den $^1\text{H-NMR}$ (schwarz) und $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrn (rot)

Der diagnostische Wert des Methylen-Signals zeigt sich auch in den $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrn von **7a** und **7b**, die mittels APT-Verfahren (Attached Proton Test) aufgenommen wurden. Das Spektrum von **7a** zeigt bei 56.16 ppm das Signal der OCH_2 -Gruppe. Bei **7b** ist das entsprechende NCH_2 -Signal bei 35.76 ppm sichtbar. Zur Absicherung der Zuordnung einzelner Signale wurden HSQC- (Heteronuclear Single Quantum Coherence) und HMBC- (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) Experimente durchgeführt (Tafeln 11, 12 und Abbildung 9).

Im Massenspektrum zeigt sich bei beiden Verbindungen der Molekülionenpeak bei $m/z = 286$, verbunden mit einer geringen Tendenz zur Fragmentierung. Mittels HRMS (High Resolution Mass Spectrometry) wurden die Summenformeln zusätzlich bestätigt.

2.3 Ringschluss zum 3-Aza-Luotonin A

Den letzten Schritt in der geplanten Synthesekette sollte nun die basisch katalysierte intramolekulare [4+2]-Cycloadditionsreaktion des Nitrils (**7b**) bilden. Dabei konnte auf die Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe bei der Synthese einer Reihe ähnlicher Verbindungen zurückgegriffen werden.¹³ Dementsprechend wurde das Edukt **7b** in 1,2-Dichlorbenzol-Lösung mit 5 mol% DBU versetzt und unter Argon-Atmosphäre 24 Stunden auf 120°C erhitzt. Tatsächlich kommt es unter diesen Bedingungen zu einer vollständigen Umwandlung in das angestrebte pentacyclische System (Schema 19) und man isoliert nach Abkühlen und Verdünnen der Reaktionslösung mit *tert*-Butylmethylether die Zielverbindung **8** in praktisch quantitativer Ausbeute durch einfaches Abfiltrieren.



Schema 19

Das so erhaltene [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-8(6*H*)-on bzw. „3-Aza-Luotonin A“ (**8**) stellt eine stark elektrostatische, farblose Festsubstanz dar, die nach Umkristallisation aus Ethanol in analysenreiner Form vorliegt. In Lösung zeigt die Verbindung wie die meisten anderen Derivate von Luotonin A eine intensive blaue Fluoreszenz.

Die Struktur der Zielverbindung **8** lässt sich mittels elementaranalytischer und spektroskopischer Daten zweifellos sicherstellen (siehe experimenteller Teil und Tafeln 15-22).

Im ¹H-NMR-Spektrum ist das Signal der CH₂-Gruppe in Form eines Dubletts (*J* = 1.0 Hz) nun bei 5.41 ppm sichtbar, die Aufspaltung erfolgt offenbar infolge einer Wechselwirkung mit dem benachbarten 5-H, wie ein Crosspeak im COSY-Spektrum zeigt. Die weiteren Signale sind in

einer DBU-katalysierten, thermisch induzierten intramolekularen Cycloaddition. Somit konnte mit diesem Alkaloid-Analogen ein neuer potenzieller Topoisomerase-I-Hemmer hergestellt werden, der basierend auf dem Bioisosterie-Konzept eventuell einen potenteren Wirkstoff darstellt.

Um die biologische Aktivität von 3-Aza-Luotonin A (**8**) festzustellen, wird diese Verbindung im Rahmen eines Kooperationsprojektes untersucht. Diesbezügliche Ergebnisse sind aktuell ausständig.

Die im Rahmen der Diplomarbeit zugänglich gemachten neuen Verbindungen wurden mit Hilfe spektroskopischer Methoden und Elementaranalysen vollständig charakterisiert.

3 Experimenteller Teil

3.1 Materialien und Geräte

Chromatographie

DC

Für die Dünnschichtchromatographie wurden DC-Fertigfolien ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄ Kieselgel 60 Schichtdicke 0.2 mm der Firma Macherey-Nagel (Art.-Nr. 818333) verwendet.

Die Detektion erfolgte mittels Fluoreszenzminderung bei 254 nm und Eigenfluoreszenz bei 366 nm mit Hilfe einer Camag UV-Lampe.

SC

Als Sorbensmaterialien wurden Kieselgel 60, 0.063-0.200 mm der Firma Merck (Art.-Nr. 1.07734) sowie Hyflo Super Cel, 2-25 µm der Firma Fluka (Art.-Nr. 56678) verwendet.

Die Detektion erfolgte diskontinuierlich mittels Tüpfeln auf KGF₂₅₄-Folien.

MPLC

Es wurde eine Laboprep-MPLC Pump Unit MD-50/80/100 der Firma Labomatic verwendet. Als Sorbensmaterial wurde Kieselgel LiChroPrep Si 60, 0.040-0.063 mm der Fa. Merck (Art.-Nr. 13905) gebraucht. Die Detektion erfolgte kontinuierlich mittels UV-Detektor Pharmacia LKB Uvicord SII. Zur Registrierung wurde ein SE 120 Schreiber der Firma BBC Goerz Metrawatt verwendet.

Spektroskopie

MS

EI-Massenspektren wurden auf einem Shimadzu QP5050A DI50 (EI: 70 eV) Massenspektrometer gemessen.

HRMS

Hochauflösende ESI-Massenspektren wurden auf einem Shimadzu LCMS-IT-TOF an der Technischen Universität Wien am Institut für Chemische Technologie und Analytik gemessen.

NMR

Alle Aufnahmen der ^1H -NMR-Spektren (400 MHz) und ^{13}C -NMR-Spektren (100 MHz) wurden auf einem Bruker Avance III 400 Spektrometer getätigt.

Elementaranalyse

Die Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium der Fakultät für Chemie an der Universität Wien unter der Leitung von Mag. J. Theiner durchgeführt.

Schmelzpunkte

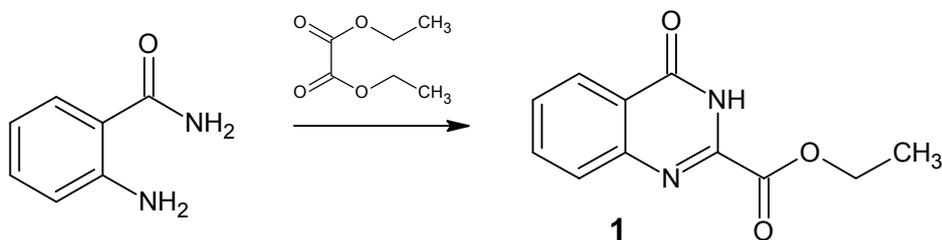
Sämtliche Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztischmikroskop der Firma Reichert gemessen und sind unkorrigiert.

Lösungsmittel, Reagenzien, Chemikalien

Die verwendeten Lösungsmittel, Reagenzien und Chemikalien wurden in „reinst“ Qualität von den Firmen Sigma-Aldrich und Merck bezogen.

3.2 Arbeitsvorschriften

Ethyl 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**1**)²⁴



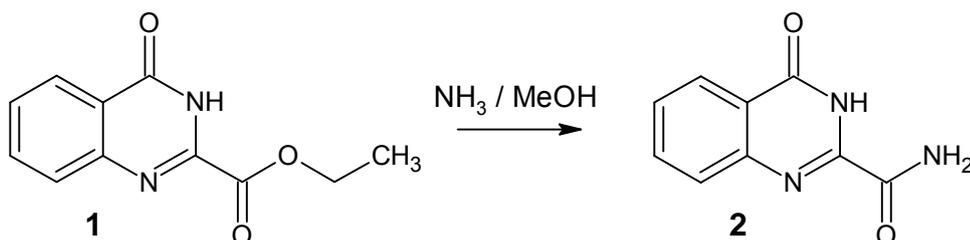
Die Herstellung von **1** erfolgt aus 13.591 g (99.93 mmol) Anthranilsäureamid und 100 ml Diethyloxalat unter Zusatz von 0.5 ml konz. Essigsäure als Katalysator. Das Reaktionsgemisch wird 48-72 h zum Rückfluss erhitzt (DC-Kontrolle: CH₂Cl₂/Methanol, 9+1). Nach dem Abkühlen wird der entstandene Niederschlag abfiltriert und mit Ethanol gewaschen. Anschließend wird das gewonnene Produkt erneut in 100 ml Diethylether aufgenommen und 0.5 h gerührt. Das Material wird abermals abfiltriert, mit Ethanol und Ether gewaschen und im Exsikkator getrocknet.

Ausbeute: 17.235 g (79%; Lit.²⁴ 57%)

Summenformel: C₁₁H₁₀N₂O₃

Molekulargewicht: 218.21

4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**)²⁵



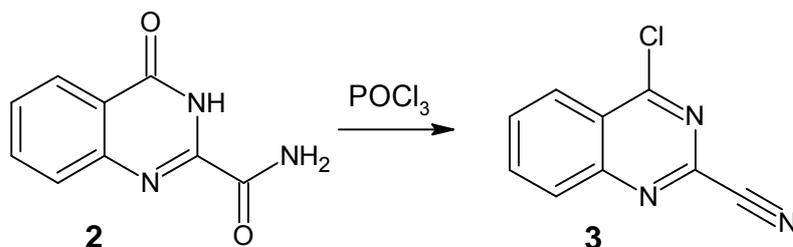
Unter Rühren werden 4.364 g (20 mmol) Ethyl 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**1**) portionsweise in 40 ml methanolische NH₃-Lösung (7 N) eingebracht. Dabei entsteht eine weiße Suspension, die 16 h gerührt wird. Anschließend wird das Reaktionsgemisch unter Eiskühlung in 200 ml Wasser gegossen und weitere 10 min gerührt. Das Produkt (**2**) fällt nach Ansäuern mit konz. HCl unter Eiskühlung aus. Nach 5 min Rühren wird der Niederschlag abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 3.482 g (92%; Lit.²⁵ 87%)

Summenformel: C₉H₇N₃O₂

Molekulargewicht: 189.17

4-Chlorchinazolin-2-carbonitril (**3**)²⁶



Die Herstellung von **3** erfolgt gemäß Lit.²⁶ aus 1.023 g (5.42 mmol) Amid (**2**) und 14 ml Phosphorylchlorid. Das Gemisch wird unter Feuchtigkeitsausschluss 3 h auf 110°C erhitzt. Überschüssiges Reagens wird im Vakuum abdestilliert und der Rückstand vorsichtig mit 25 ml Eiswasser versetzt. Der rotbraune Niederschlag wird abgenutscht und mit Wasser gewaschen.

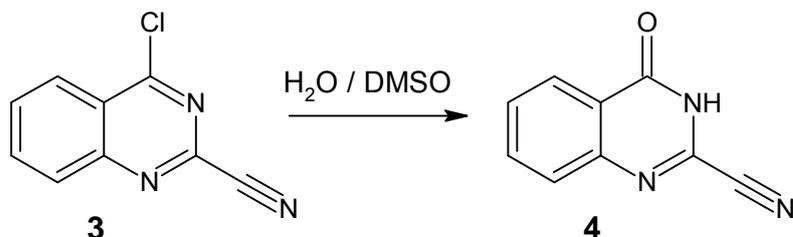
Das so gewonnene Produkt wird zur Reinigung in CH₂Cl₂ aufgenommen und über eine Kieselgelsäule (3 x 11 cm) filtriert.

Ausbeute: 0.532 g (52%; Lit.²⁶ 62%), vor der Reinigung 0.842 g (82%; Lit.²⁶ 95%)

Summenformel: C₉H₄N₃Cl

Molekulargewicht: 189.60

4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**4**)^{18,20,35}



Unter leichtem Erwärmen werden 0.957 g (5.05 mmol) 4-Chlorchinazolin-2-carbonitril (**3**) in 40 ml Dimethylsulfoxid gelöst. Nach Zugabe von 4 ml Wasser und Aufsetzen eines

Rückflusskühlers wird das Reaktionsgemisch ca. 40-48 h auf 40°C erwärmt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC kontrolliert. Dazu werden wenige Tropfen der Lösung mit Wasser verdünnt und mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die organische Phase wird auf die DC Platte aufgetragen und mit CH₂Cl₂/Methanol (9+1) entwickelt.

Nach Beendigung der Reaktion wird die Lösung mit 400 ml Wasser verdünnt und mindestens 15 min im Kühlschrank aufbewahrt. Der Niederschlag wird abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das Filtrat wird mit 4 x 40 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die gesammelten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen und mit Na₂SO₄ getrocknet. Die getrocknete Ethylacetat-Phase wird am Rotationsverdampfer eingedampft und mit dem zuvor abgenutschten Niederschlag vereinigt.

Zur Reinigung des Produkts von polaren Nebenprodukten wird es einige Minuten in 100 ml *tert*-Butylmethylether aufgeköcht. Der unlösliche Teil wird noch heiß abfiltriert und das Filtrat wird eingedampft. Das Nitril (**4**) verbleibt als nahezu farbloser Rückstand. Allfällige apolare Verunreinigungen können durch Extraktion des so erhaltenen Materials mit heißem Petroleumbenzin entfernt werden.

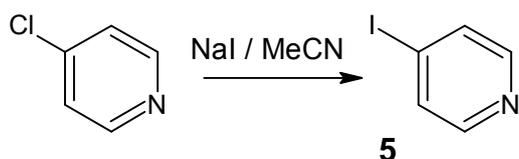
Ausbeute: 0.589 g (68%); nach der Reinigung 0.565 g (65%)

Schmelzpunkt: Zersetzung ab 340°C

Summenformel: C₉H₅N₃O

Molekulargewicht: 171.16

4-Iodpyridin (**5**)²⁷



4-Iodpyridin wird aus 1.005 g (6.70 mmol) 4-Chlorpyridin Hydrochlorid und 4.004 g Natriumiodid unter Verwendung von 30 ml trockenem Acetonitril als Lösungsmittel hergestellt. Das Reaktionsgemisch wird 24 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen werden 10 ml einer wässrigen Lösung von 10% K₂CO₃ und 5% NaHSO₃ zugegeben. Anschließend wird erschöpfend mit CH₂Cl₂ extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit NaCl-Lösung gewaschen. Nach dem Trocknen mit Na₂SO₄ wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgedampft.

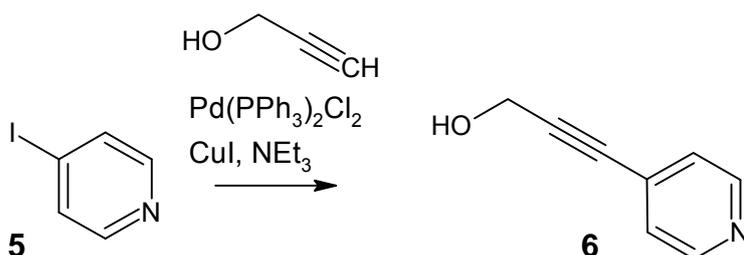
Zur Reinigung wird **5** erneut in CH₂Cl₂ aufgenommen, über eine Kieselgelsäule (3 x 5 cm) filtriert und danach wiederum zur Trockene gebracht.

Ausbeute: 1.067 g (78%; Lit.²⁷ 84%)

Summenformel: C₅H₄Nl

Molekulargewicht: 205.00

3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-ol (**6**)³²



Wie in Lit.³² beschrieben, wurde der Pyridylpropargylalkohol (**6**) aus 1.000 g (4.88 mmol) 4-Iodpyridin und 0.285 g (5.09 mmol) 2-Propin-1-ol in 75 ml trockenem Triethylamin unter Zugabe von 0.090 g (0.48 mmol) Kupfer(I)iodid und 0.100 g (0.14 mmol) Bis(triphenylphosphin)-palladium(II)-chlorid hergestellt.

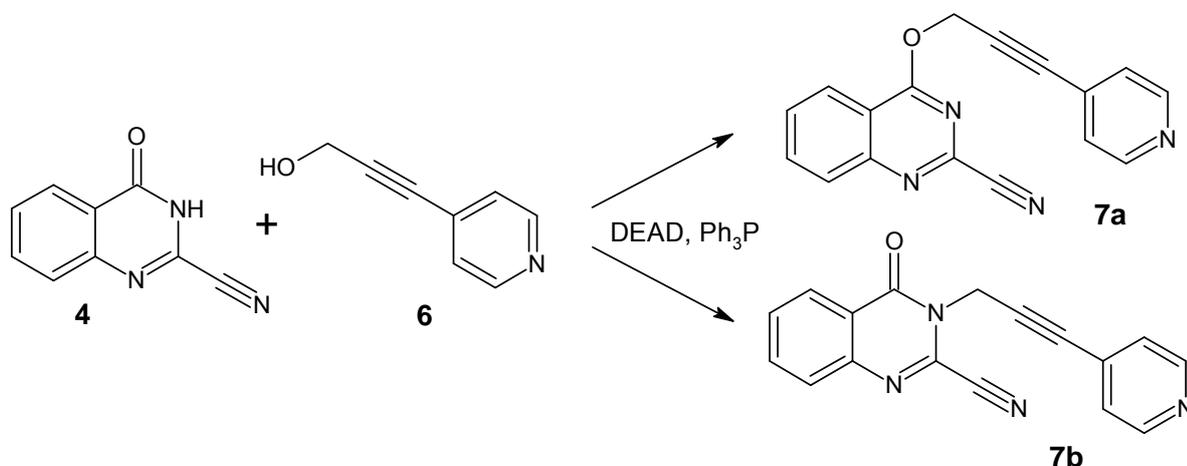
Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch über eine Celit-Säule filtriert und anschließend am Rotationsverdampfer bei Raumtemperatur eingedampft. Der Rückstand wird in CH₂Cl₂ aufgenommen, mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und danach erneut zur Trockene gebracht. Zur Reinigung wird das Rohprodukt auf eine Kieselgelsäule (3 x 10 cm) aufgetragen und mit CH₂Cl₂ unter Anwendung eines Gradienten von 0% bis 100% Ethylacetat eluiert. Nach Eindampfen erhält man **6** als beigefarbenen Feststoff.

Ausbeute: 0.426 g (66%; Lit.³² 96%)

Summenformel: C₈H₇NO

Molekulargewicht: 133.15

4-[[3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]oxy]chinazolin-2-carbonitril (7a) und 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (7b)³³



In einem 50 ml Zweihalskolben werden 0.205 g (1.2 mmol) 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**4**) und 0.198 g (1.49 mmol) 4-Pyridylpropargylalkohol (**6**) in 4 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und mit 0.314 g (1.2 mmol) Triphenylphosphin und 0.121 g (1.2 mmol) Triethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wird auf 0°C gekühlt und eine Lösung von 0.209 g (1.2 mmol) DEAD in 1 ml trockenem Tetrahydrofuran wird unter Argon-Atmosphäre langsam zutropft. Anschließend wird der Kolben verschlossen und die Reaktionslösung bei Raumtemperatur 4 h gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC kontrolliert (CH₂Cl₂/Ethylacetat, 3+1).

Die Reaktionslösung wird in 50 ml Wasser gegossen und mit 2 x 100 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die gesammelten organischen Phasen werden 2 x mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, anschließend mit Na₂SO₄ getrocknet und bei Raumtemperatur im Vakuum eingedampft.

Das so erhaltene blutrote, ölige Rohprodukt wird zur Vorreinigung über eine Kieselgelsäule (3 x 11 cm) mit CH₂Cl₂/Ethylacetat (3+1) als Eluens chromatographiert. Die beiden entstandenen Produkte **7a** und **7b** werden anschließend mittels MPLC (CH₂Cl₂/Ethylacetat, 3+1) getrennt und die entsprechenden Fraktionen eingedampft.

Zur weiteren Reinigung werden die erhaltenen Substanzen aus Ethanol umkristallisiert: Man erhält jeweils farblose Kristalle.

4-[[3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]oxy]chinazolin-2-carbonitril (7a)

Ausbeute: 0.068 g (20%); nach Umkristallisation 0.023 g (6.7%)

Schmelzpunkt: 153-154°C

Summenformel: C₁₇H₁₀N₄O

Molekulargewicht: 286.29

Elementaranalyse:

	% C	% H	% N
berechnet	71.32	3.52	19.57
ber. für 0.45 H ₂ O	69.36	3.73	19.03
gefunden	69.43	3.41	18.75

MS (Tafel 1):

m/z = 287 (21%), 286 (M⁺, 100), 285 (25), 258 (29), 232 (44), 144 (14), 116 (59), 89 (57), 63 (78)

HRMS:

[M+H] ⁺	
berechnet	287.0927
gefunden	287.0925

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, Tafeln 2,6,7):

δ = 8.62-8.60 (BB'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, Pyridin 2'-H, 6'-H), 8.36–8.26 (m, 1H, 5-H), 8.06 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, 8-H), 7.99 (ddd, *J* = 8.4 Hz, 6.9 Hz, 1.4 Hz, 1H, 7-H), 7.78 (ddd, *J* = 8.2 Hz, 7.0 Hz, 1.2 Hz, 1H, 6-H), 7.35–7.34 (AA'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, Pyridin 3'-H, 5'-H), 5.51 (s, 2H, CH₂)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, Tafeln 3-5):

δ = 166.4 (4-C), 150.9 (8a-C), 150.0 (Pyridin 2'-C, 6'-C), 139.4 (2-C), 135.4 (7-C), 130.3 (6-C), 130.2 (Pyridin 4'-C), 128.6 (8-C), 125.9 (Pyridin 3'-C, 5'-C), 123.9 (5-C), 116.8 (4a-C), 116.2 (Nitril-C), 87.0 (Propargyl 2-C), 85.1 (Propargyl 3-C), 56.2 (OCH₂)

4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (7b)**Ausbeute:** 0.110 g (32%)**Schmelzpunkt:** 156-157°C**Summenformel:** C₁₇H₁₀N₄O**Molekulargewicht:** 286.29**Elementaranalyse:**

	% C	% H	% N
berechnet	71.32	3.52	19.57
ber. für 0.45 H ₂ O	69.36	3.73	19.03
gefunden	69.31	3.50	18.77

MS (Tafel 8):

m/z = 287 (18%), 286 (M⁺, 100), 257 (25), 208 (18), 171 (34), 143 (22), 116 (73), 89 (41), 76 (28), 63 (80), 62 (34)

HRMS:

[M+H] ⁺	
berechnet	287.0927
gefunden	287.0923

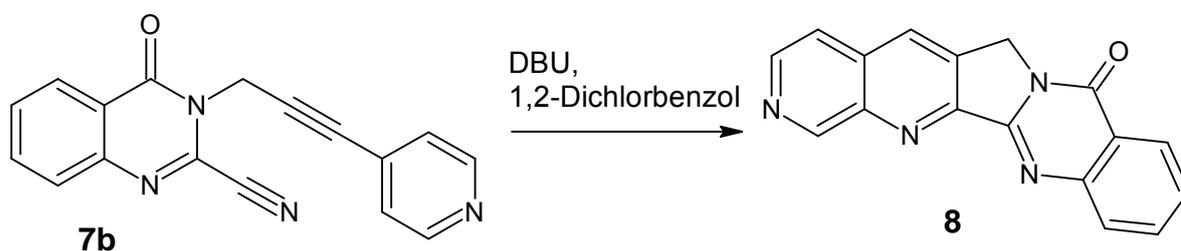
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, Tafeln 9,13,14):

δ = 8.62–8.54 (m, 2H, Pyridin 2'-H, 6'-H), 8.37 (dd, *J* = 8.0 Hz, 1.1 Hz, 1H, 5-H), 7.93–7.86 (m, 1H, 7-H), 7.84 (dd, *J* = 8.1 Hz, 0.9 Hz, 1H, 8-H), 7.73–7.65 (m, 1H, 6-H), 7.35–7.28 (m, 2H, Pyridin 3'-H, 5'-H), 5.32 (s, 2H, CH₂)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, Tafeln 10-12):

δ = 159.3 (4-C), 150.0 (Pyridin 2'-C, 6'-C), 146.3 (8a-C), 135.7 (7-C), 130.7 (2-C), 130.6 (6-C), 129.9 (Pyridin 4'-C), 128.9 (8-C), 127.6 (5-C), 126.0 (Pyridin 3'-C, 5'-C), 122.8 (4a-C), 111.3 (Nitril-C), 85.8 (Propargyl 2-C), 83.1 (Propargyl 3-C), 35.8 (NCH₂)

**[1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-8(6*H*)-on („3-Aza-Luotonin A“)
(8)¹³**



In einer Schraubeprouvette werden 0.043 g (0.15 mmol) **7b** mit 4 ml 1,2-Dichlorbenzol versetzt und durch leichtes Erwärmen in Lösung gebracht. Nach Zugabe von 0.08 ml (0.008 mmol) einer 0.1 M Lösung von DBU in 1,2-Dichlorbenzol wird mit Argon gespült, die Epruvette verschlossen und anschließend 24 h auf 120°C erhitzt. Das ausgekühlte Reaktionsgemisch wird mit 4 ml *tert*-Butylmethylether verdünnt und 2 h im Kühlschrank aufbewahrt. Die ausgefallenen Kristalle von 3-Aza-Luotonin A (**8**) werden abgenutscht, mit *tert*-Butylmethylether gewaschen und im Exsikkator getrocknet.

Zur Reinigung kann die Verbindung **8** aus Ethanol umkristallisiert werden: Man erhält farblose, elektrostatische Kristalle.

Ausbeute: 0.043 g (100%); nach Umkristallisation 0.038 g (88%)

Schmelzpunkt: >310°C

Summenformel: C₁₇H₁₀N₄O

Molekulargewicht: 286.29

Elementaranalyse:

	% C	% H	% N
berechnet	71.32	3.52	19.57
ber. für 0.5 H ₂ O	69.15	3.75	18.97
gefunden	69.08	3.39	18.66

MS (Tafel 15):

m/z = 287 (18%), 286 (M⁺, 100), 285 (22), 258 (20), 143 (28), 129 (24), 71 (32), 69 (27), 57 (65), 55 (42)

HRMS:

[M+H] ⁺	
berechnet	287.0927
gefunden	287.0929

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, Tafeln 16,20-22):

δ = 9.88 (s, 1H, 1-H), 8.76 (d, J = 5.7 Hz, 1H, 3-H), 8.48 (s, 1H, 5-H), 8.44 (dd, J = 8.0 Hz, 1.3 Hz, 1H, 9-H), 8.14 (d, J = 7.8 Hz, 1H, 12-H), 7.89 (ddd, J = 8.4 Hz, 7.2 Hz, 1.5 Hz, 1H, 11-H), 7.81 (d, J = 5.7 Hz, 1H, 4-H), 7.67–7.58 (m, 1H, 10-H), 5.41 (d, J = 1.0 Hz, 2H, CH₂)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, Tafeln 17-19):

δ = 160.6, 155.7, 153.1, 151.8, 149.3, 145.4, 144.2, 135.0, 133.5, 131.6, 130.7, 129.1, 128.1, 126.7, 121.6, 120.1, 47.6

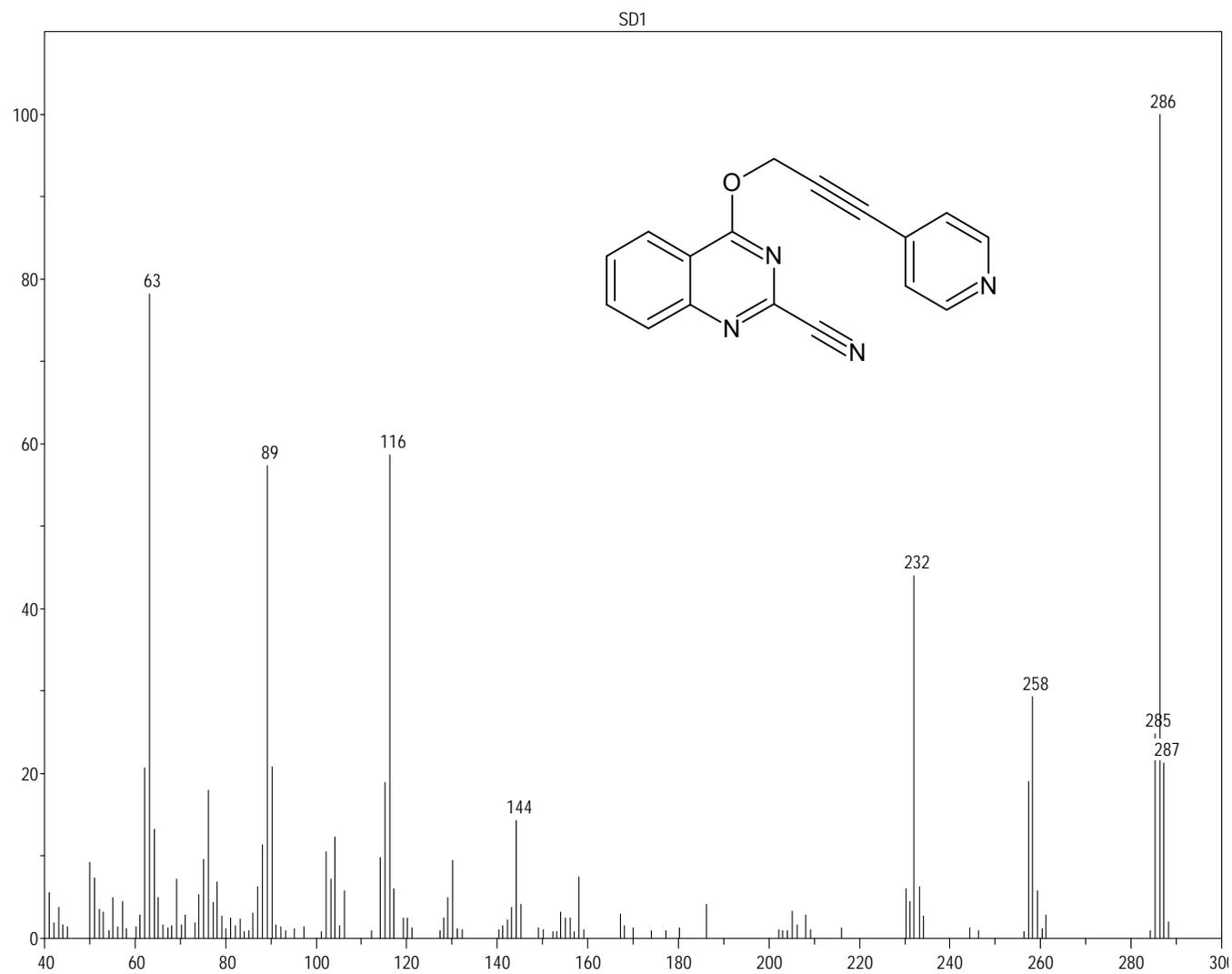
4 Literaturverzeichnis

- 1 Statistik Austria (2013): Todesursachen gesamt,
http://statistik.gv.at/web_de/statistiken/gesundheit/todesursachen/todesursachen_im_ueberblick/index.html [13.05.2014]
- 2 Aktories, K.; Unger, C.; Mittel zur Behandlung von Tumoren – Tumorchemotherapie. In: Aktories, K.; Förstermann, U.; Hofmann, F.; Starke, K.; *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 11. Auflage, Elsevier, München, Kapitel 35 (2013)
- 3 Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Menzel, S.; Ruth, P.; Mutschler Arzneimittelwirkungen – *Lehrbuch der Pharmakologie, Klinische Pharmakologie und Toxikologie*, 10. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, Kapitel 22 (2013)
- 4 Müller-Esterl, W.; *Biochemie – Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler*, korrigierte 1. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Kapitel 31 (2009)
- 5 Dettmer, U.; Genetik. In: Dettmer, U.; Folkerts, M.; Kächler, E.; Sönnichsen, A.; *Intensivkurs Biochemie*, 1. Auflage, Elsevier, München, Kapitel 10 (2005)
- 6 Müller-Esterl, W.; *Biochemie – Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler*, korrigierte 1. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Kapitel 21 (2009)
- 7 Schultz, A. G.; *Chem. Rev.*, **73**, 385-405 (1973)
- 8 Liang, J. L.; Cha, H. C.; Jahng, Y.; *Molecules*, **16**, 4861-4883 (2011)
- 9 Siebert, C. D.; *Chem. Unserer Zeit*, **38**, 320-324 (2004)
- 10 Lee, E. S.; Park, J. G.; Kim, S. I.; Jahng, Y.; *Heterocycles*, **68**, 151-168 (2006)
- 11 Nacro, K.; Zha, C.; Guzzo, P. R.; Herr, R. J.; Peace, D.; Friedrich, T. D.; *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 4237-4246 (2007)
- 12 Haider, N.; Nuß, S.; *Molecules*, **17**, 11363-11378 (2012)
- 13 Haider, N.; Meng, G.; Roger, S.; Wank, S.; *Tetrahedron*, **69**, 7066-7072 (2013)
- 14 Zhou, H.-B.; Liu, G.-S.; Yao, Z.-J.; *J. Org. Chem.*, **72**, 6270-6272 (2007)
- 15 Nuß, S.; Diplomarbeit, Universität Wien (2012) und darin zitierte Literatur
- 16 Eckerstorfer, S.; Diplomarbeit, Universität Wien (2011) und darin zitierte Literatur

- 17 Wank, S.; Diplomarbeit, Universität Wien (2012) und darin zitierte Literatur
- 18 Haider, N.; unpublizierte Ergebnisse
- 19 Dai, W.; Petersen, J. L.; Wang, K. K.; *Org. Lett.*, **8**, 4665-4667 (2006)
- 20 Bowman, W. R.; Cloonan, M. O.; Fletcher, A. J.; Stein, T.; *Org. Biomol. Chem.*, **3**, 1460-1467 (2005)
- 21 But, T. Y. S.; Toy, P. H.; *Chem. Asian J.*, **2**, 1340-1355 (2007)
- 22 Mitsunobu, O.; Yamada, M.; Mukaiyama, T.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **40**, 935-939 (1967)
- 23 Mitsunobu, O.; Yamada, M.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **40**, 2380-2382 (1967)
- 24 Baker, B.R.; Almaula, P.I.; *J. Org. Chem.*, **27**, 4672-4674 (1962)
- 25 Joshi, V.; Chaudhari, R. P.; *Indian J. Chem. B*, **26B**, 602-604 (1987)
- 26 Bouzida, D.; Dong, L.; Guo, C.; Hong, Y.; Li, H.; Marakovits, J. T.; Yang, A.; Zhang, J.; PCT Int. Patent Appl. WO 2006072831 (2006)
- 27 Wolf, C.; Tumambac, G. E.; Villalobos, C. N.; *Synlett*, **12**, 1801-1804 (2003)
- 28 Sonogashira, K.; Tohda, Y.; Hagihara, N.; *Tetrahedron Lett.*, **50**, 4467-4470 (1975)
- 29 Name-Reaction (2014): Sonogashira cross-coupling,
<http://www.name-reaction.com/sonogashira-cross-coupling> [27.02.2014]
- 30 Chinchilla, R.; Nájera, C.; *Chem. Soc. Rev.*, **40**, 5084-5121 (2011)
- 31 Chinchilla, R.; Nájera, C.; *Chem. Rev.*, **107**, 874-922 (2007)
- 32 Wessig, P.; Pick, C.; *J. Photochem. Photobiol., A*, **222**, 263-265 (2011)
- 33 Roopan, S. M.; Khan, F.-R. N.; Jin, J. S.; *Chem. Pap.*, **65**, 345-351 (2011)
- 34 Holzer, W.; Plagens, B.; Lorenz, K.; *Heterocycles*, **45**, 309-313 (1997)
- 35 Váradi, A.; Horváth, P.; Kurtán, T.; Mándi, A.; Tóth, G.; Gergely, A.; Kökösi, J.; *Tetrahedron*, **68**, 10365-10371 (2012)

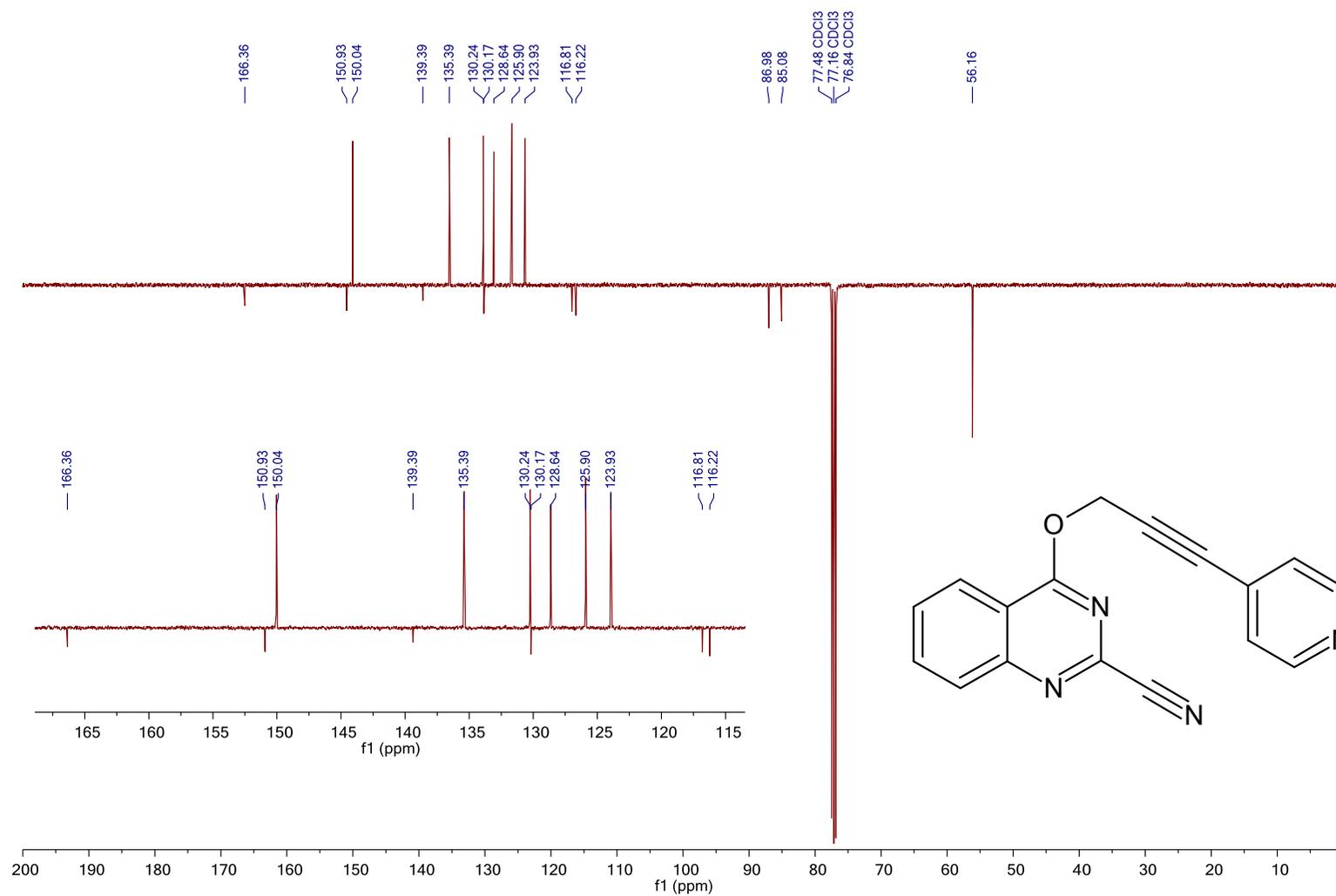
5 Anhang

Spektren



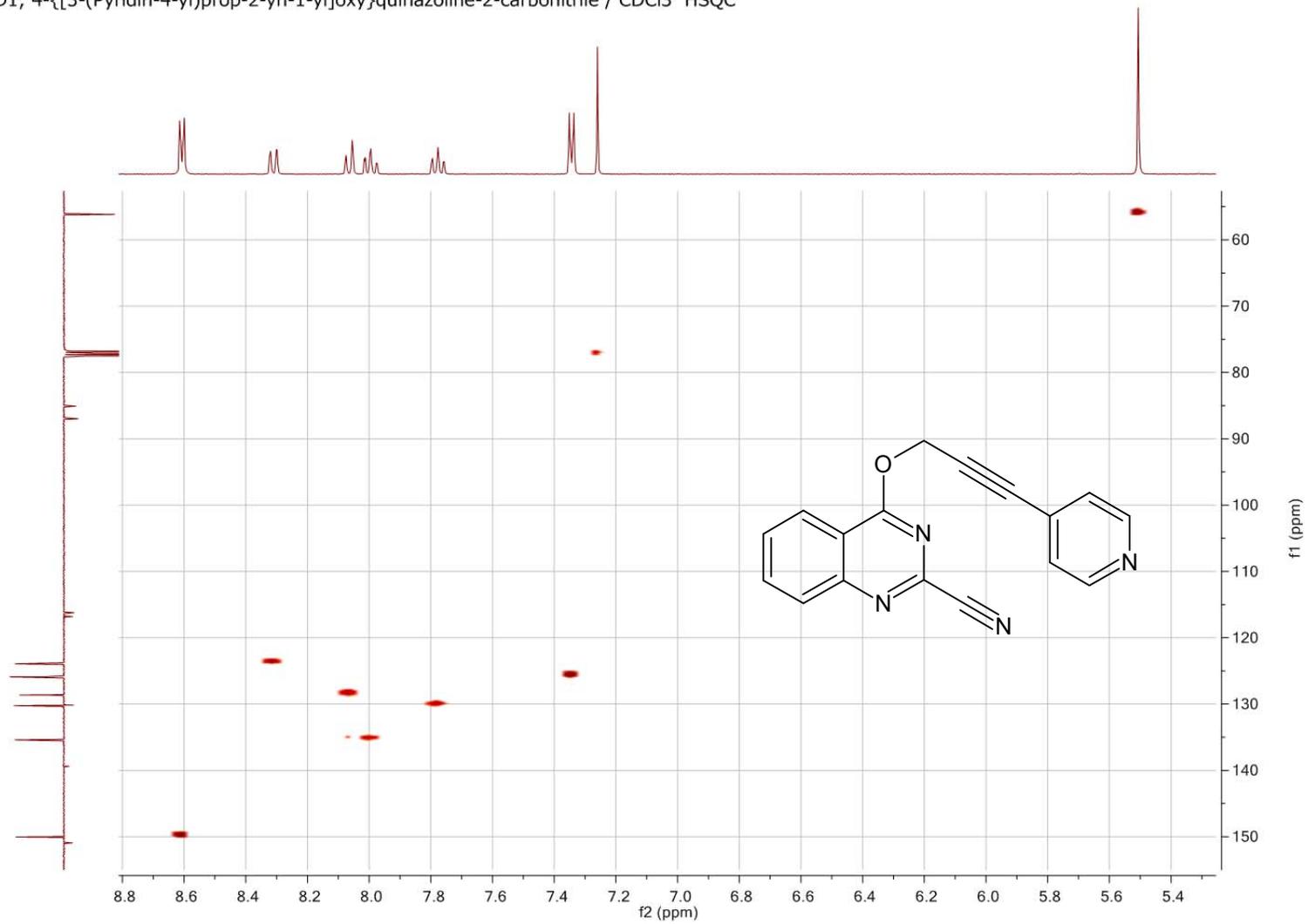
Tafel 1: 4-[[3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]oxy]chinazolin-2-carbonitril (**7a**)

SD1; 4-{{[3-(Pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl]oxy}quinazoline-2-carbonitrile / CDCl3 C13APT



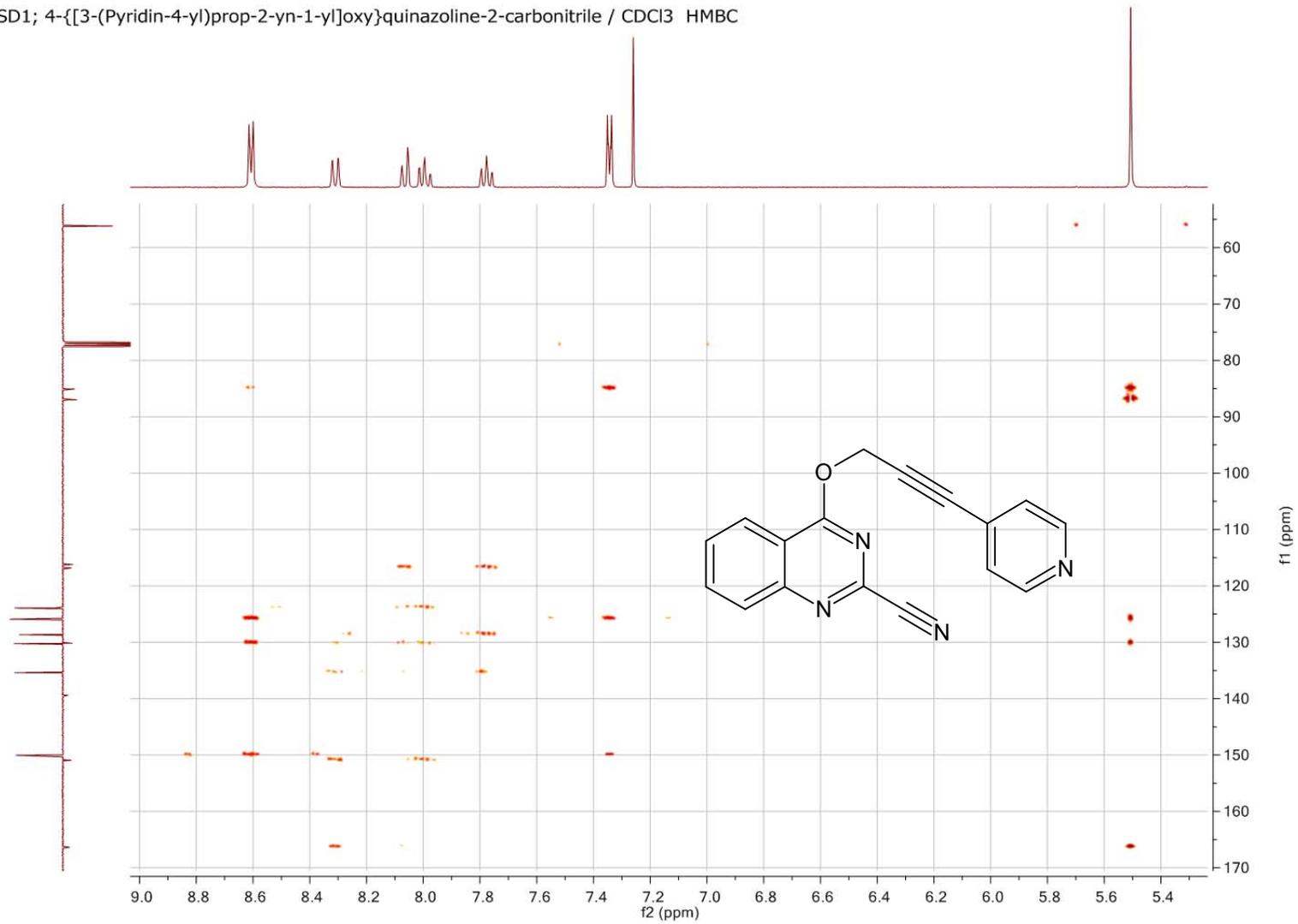
Tafel 3: 4-{{[3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]oxy}chinazolin-2-carbonitril (7a)

SD1; 4-{{3-(Pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl}oxy}quinazoline-2-carbonitrile / CDCl3 HSQC



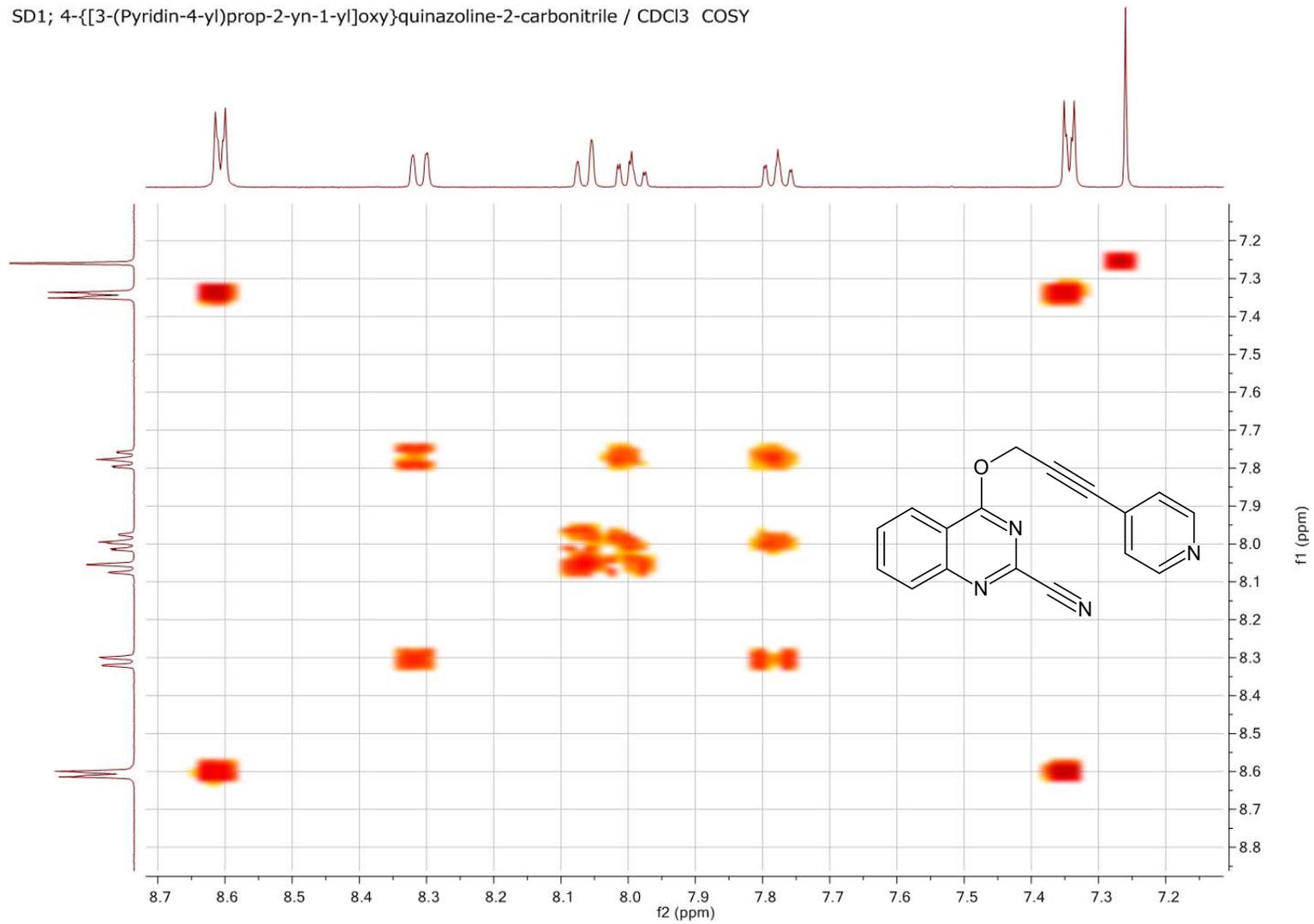
Tafel 4: 4-{{3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl}oxy}chinazolin-2-carbonitril (7a)

SD1; 4-{{3-(Pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl}oxy}quinazoline-2-carbonitril / CDCl3 HMBC



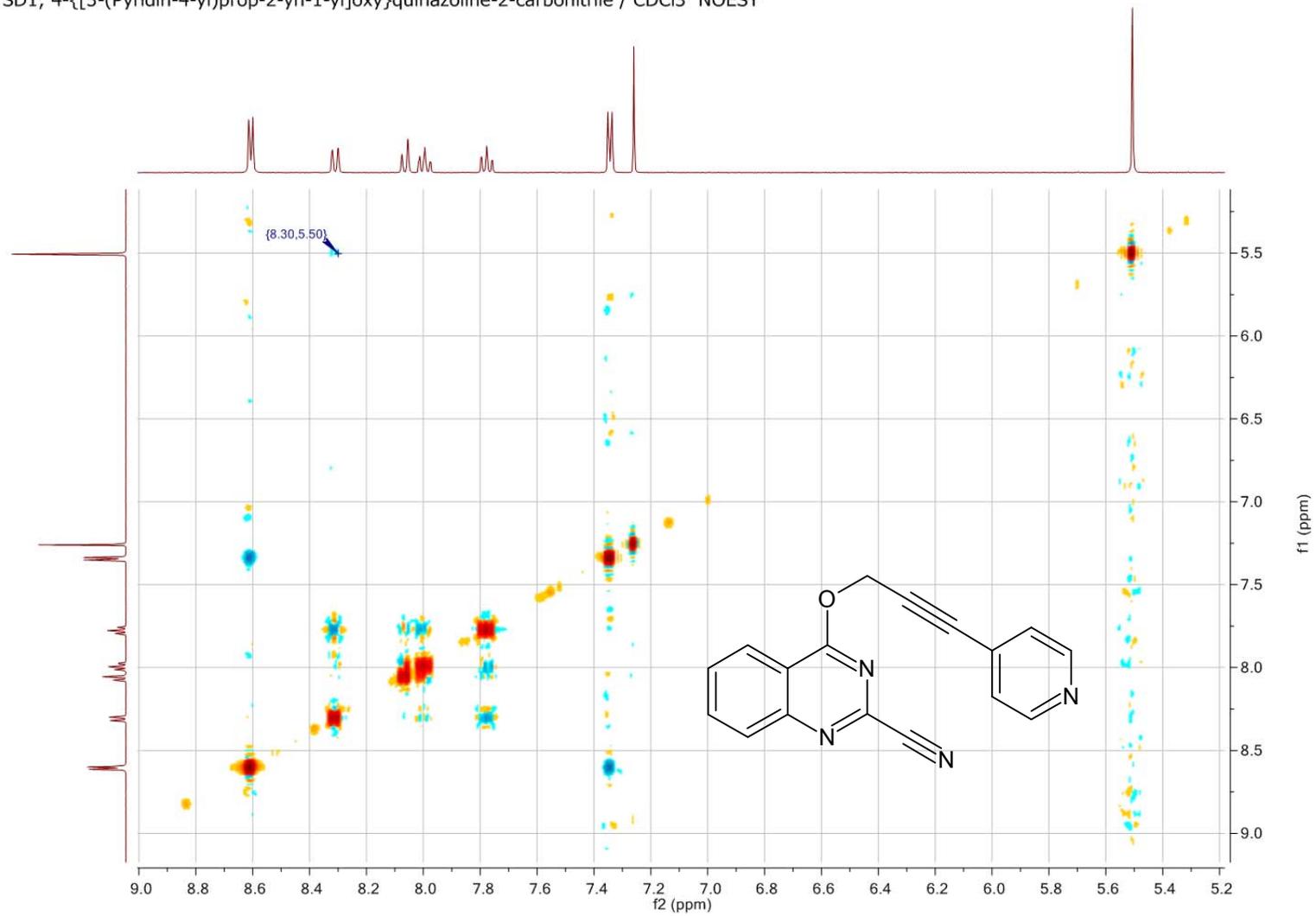
Tafel 5: 4-{{3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl}oxy}chinazolin-2-carbonitril (7a)

SD1; 4-{{[3-(Pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl]oxy}quinazoline-2-carbonitrile / CDCl3 COSY

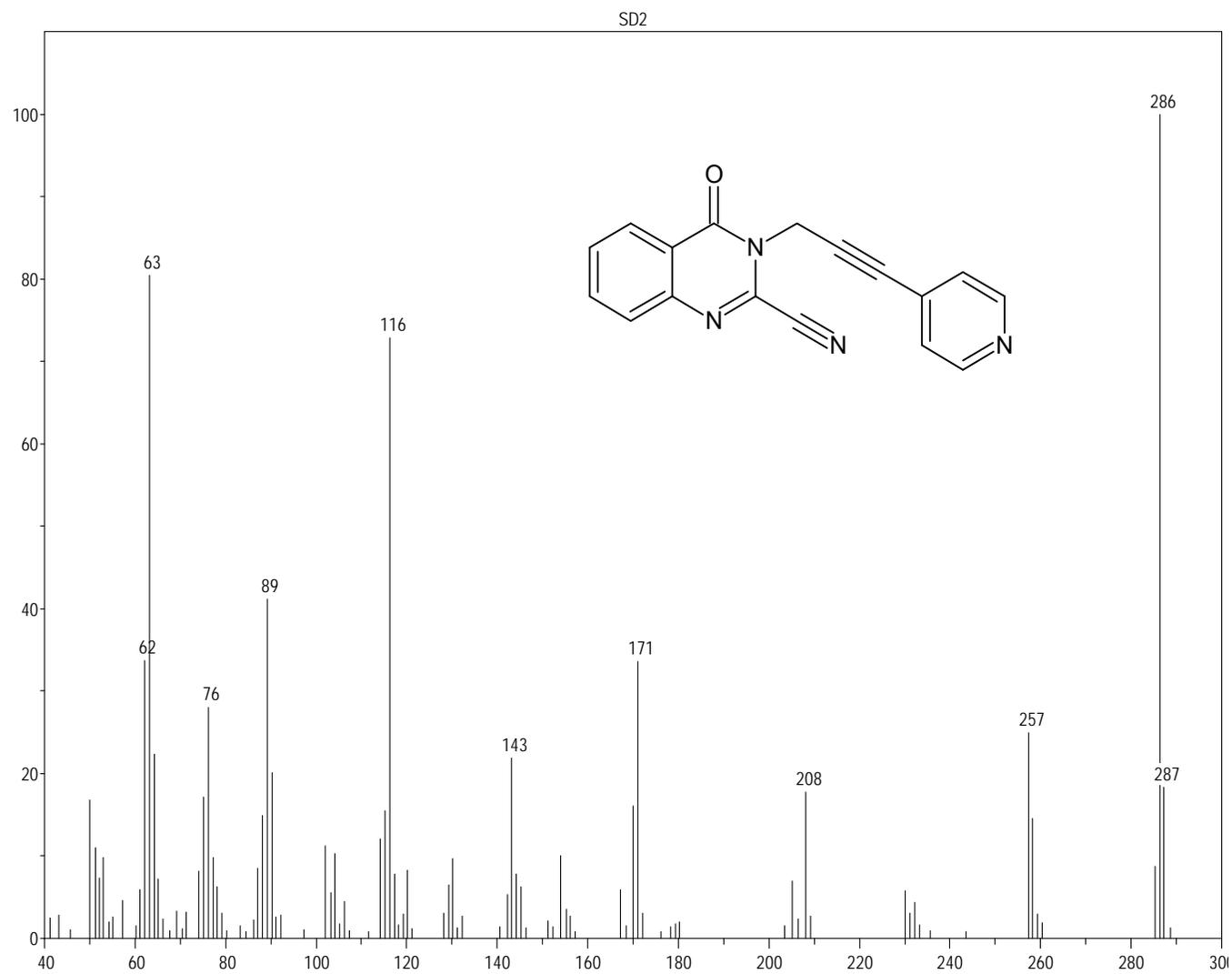


Tafel 6: 4-{{[3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]oxy}chinazolin-2-carbonitril (7a)

SD1; 4-{{[3-(Pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl]oxy}quinazoline-2-carbonitril / CDCl3 NOESY

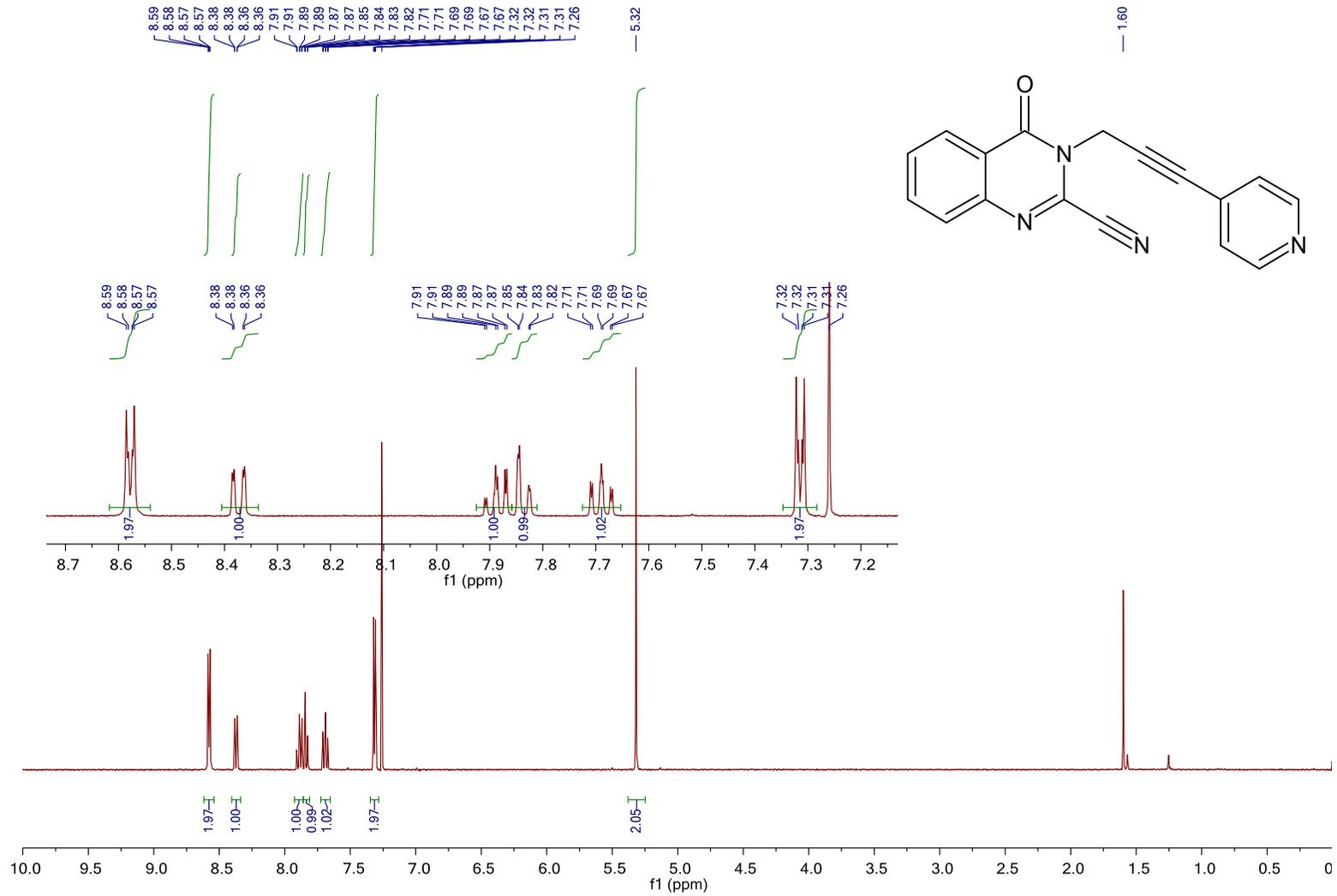


Tafel 7: 4-{{[3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]oxy}chinazolin-2-carbonitril (7a)



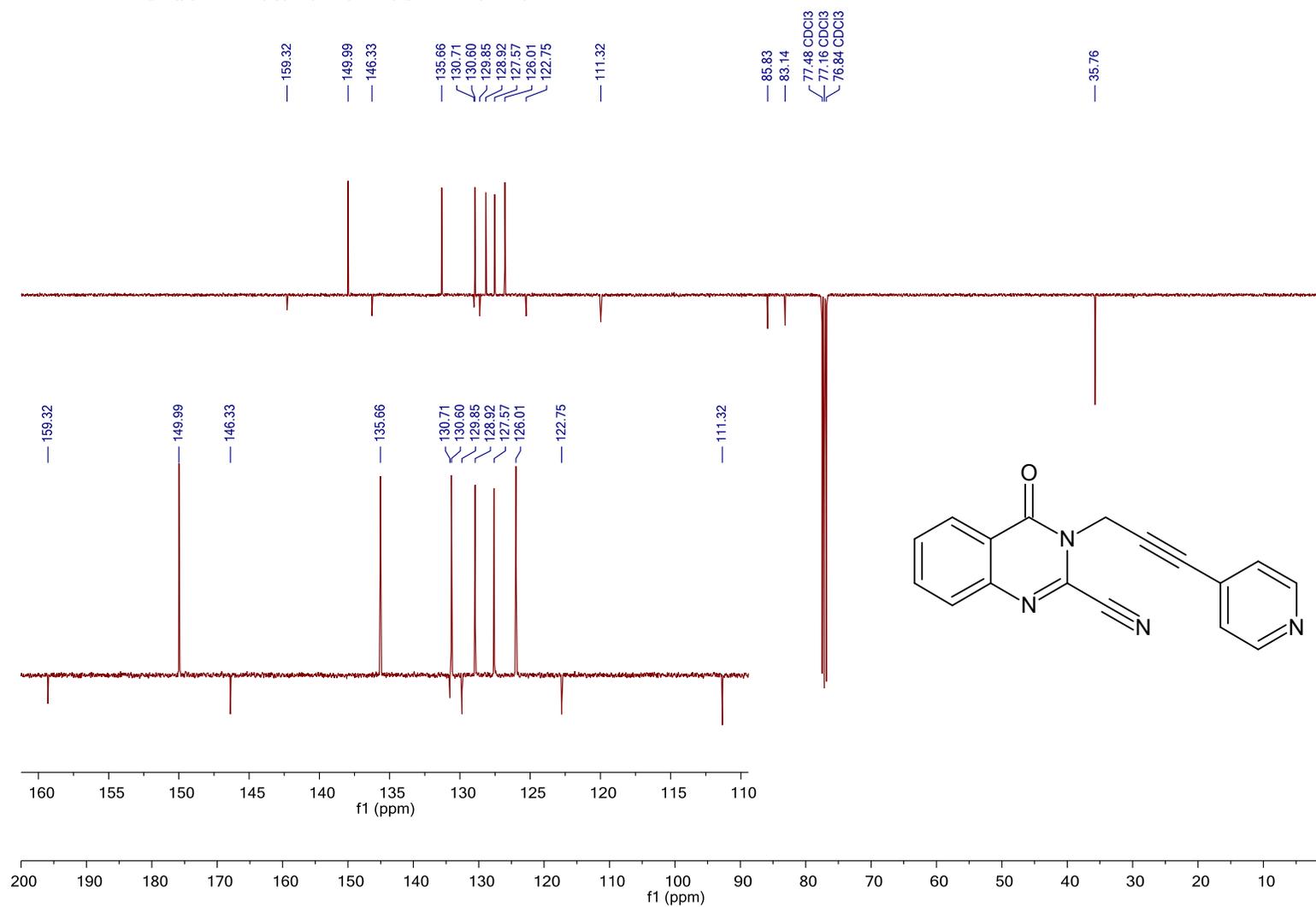
Tafel 8: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**7b**)

SD2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile / CDCl₃ 1H



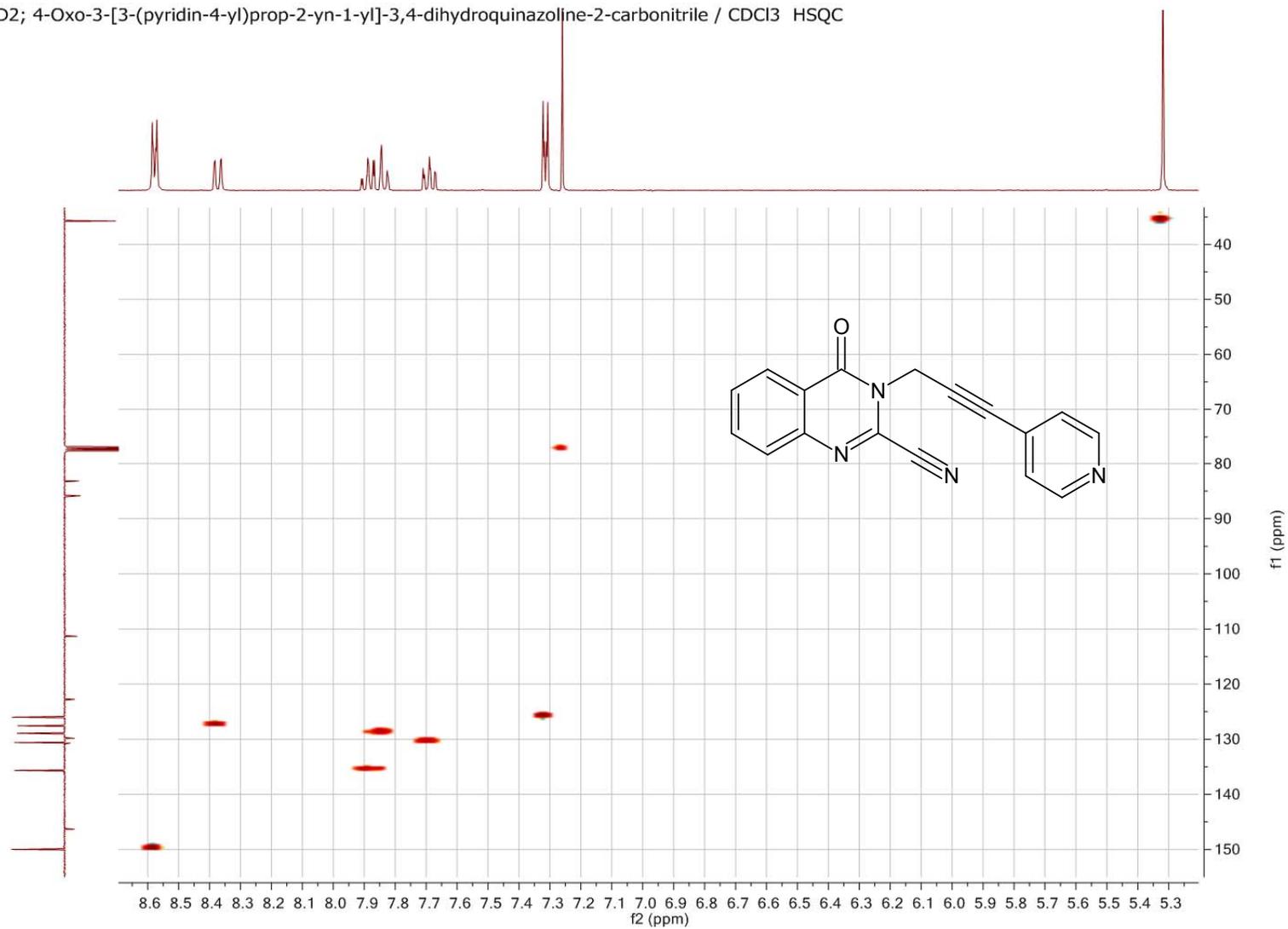
Tafel 9: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**7b**)

SD2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile / CDCl₃ C13APT



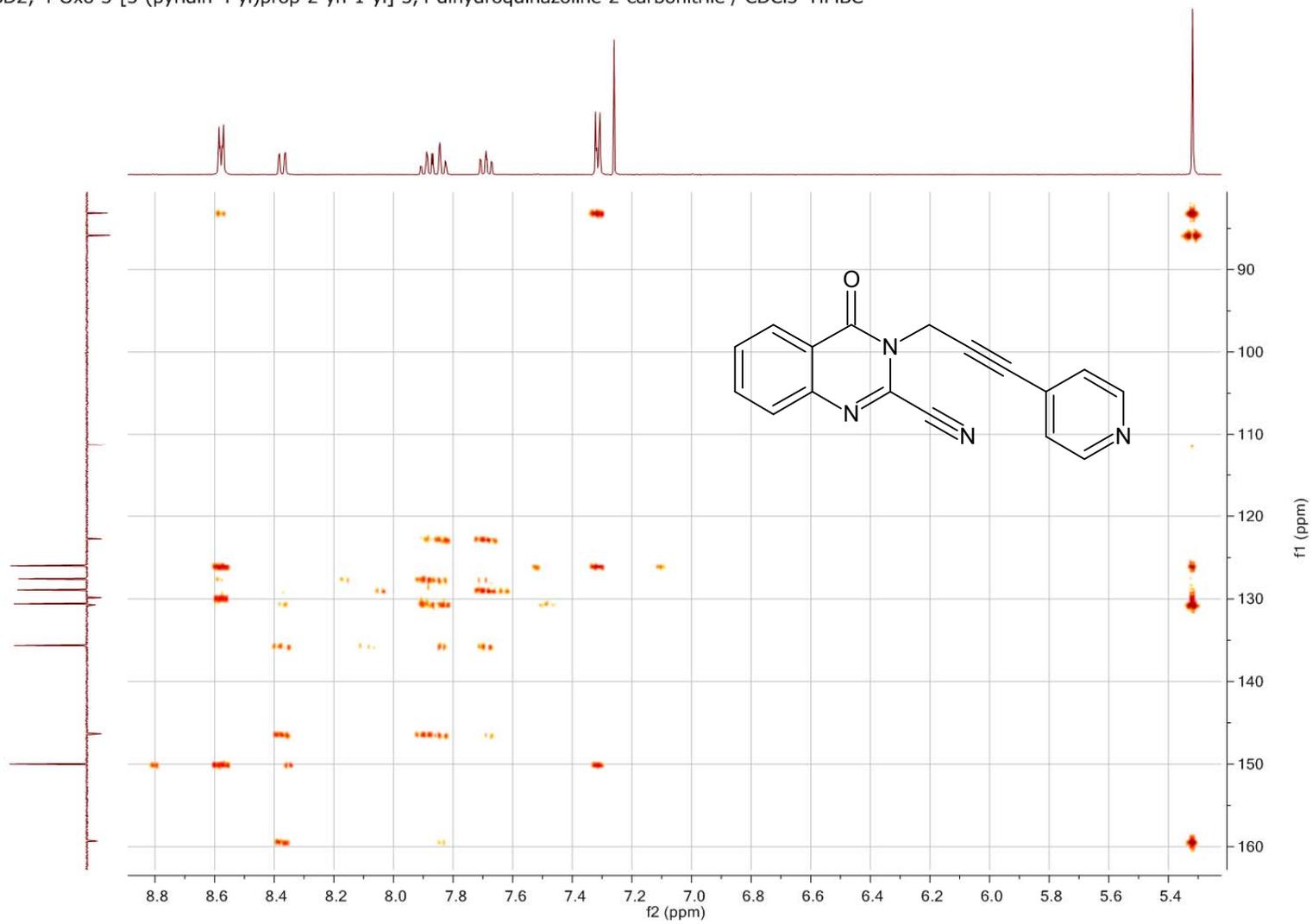
Tafel 10: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (7b)

SD2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazolin-2-carbonitrile / CDCl₃ HSQC



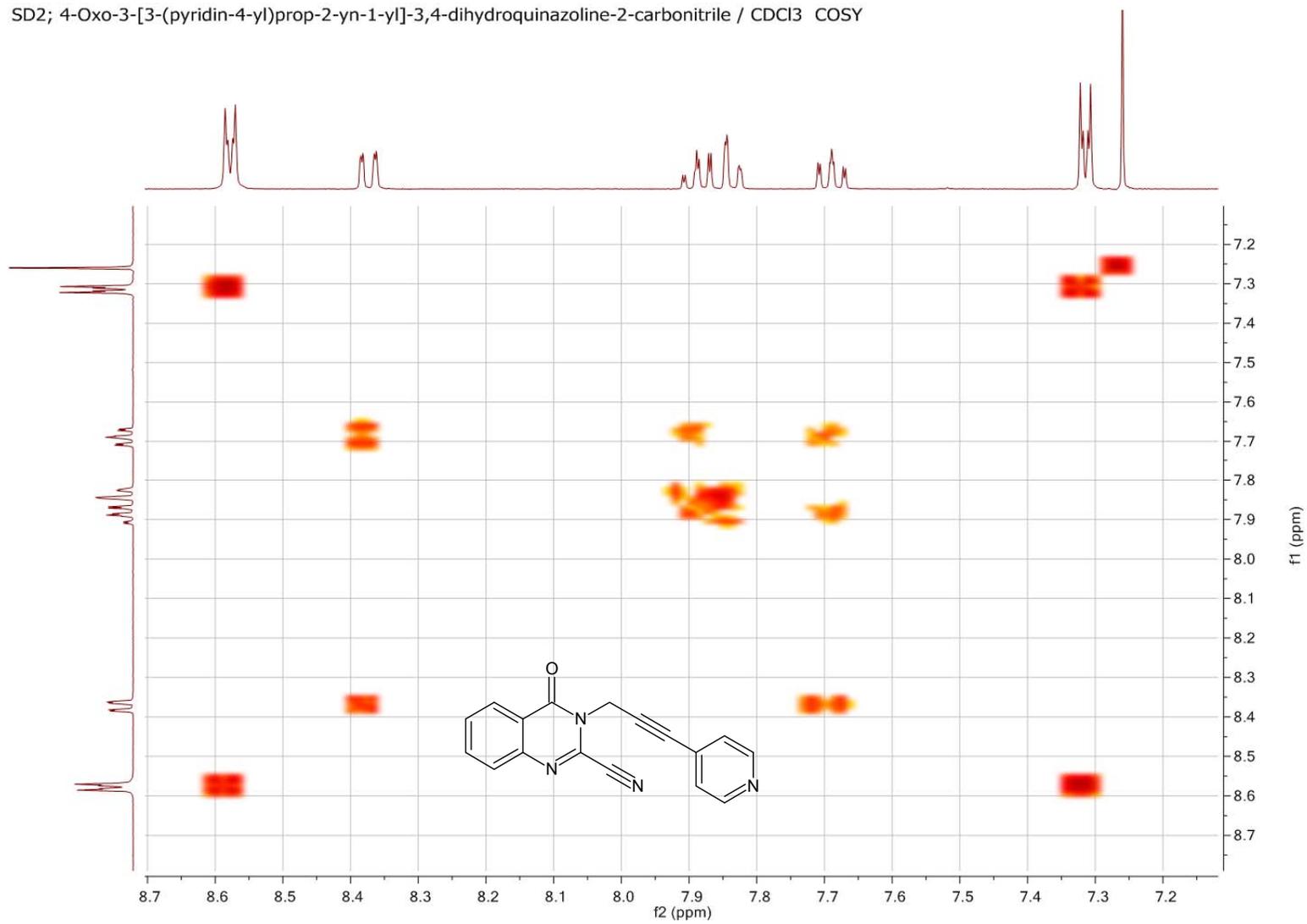
Tafel 11: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (7b)

SD2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile / CDCl₃ HMBC



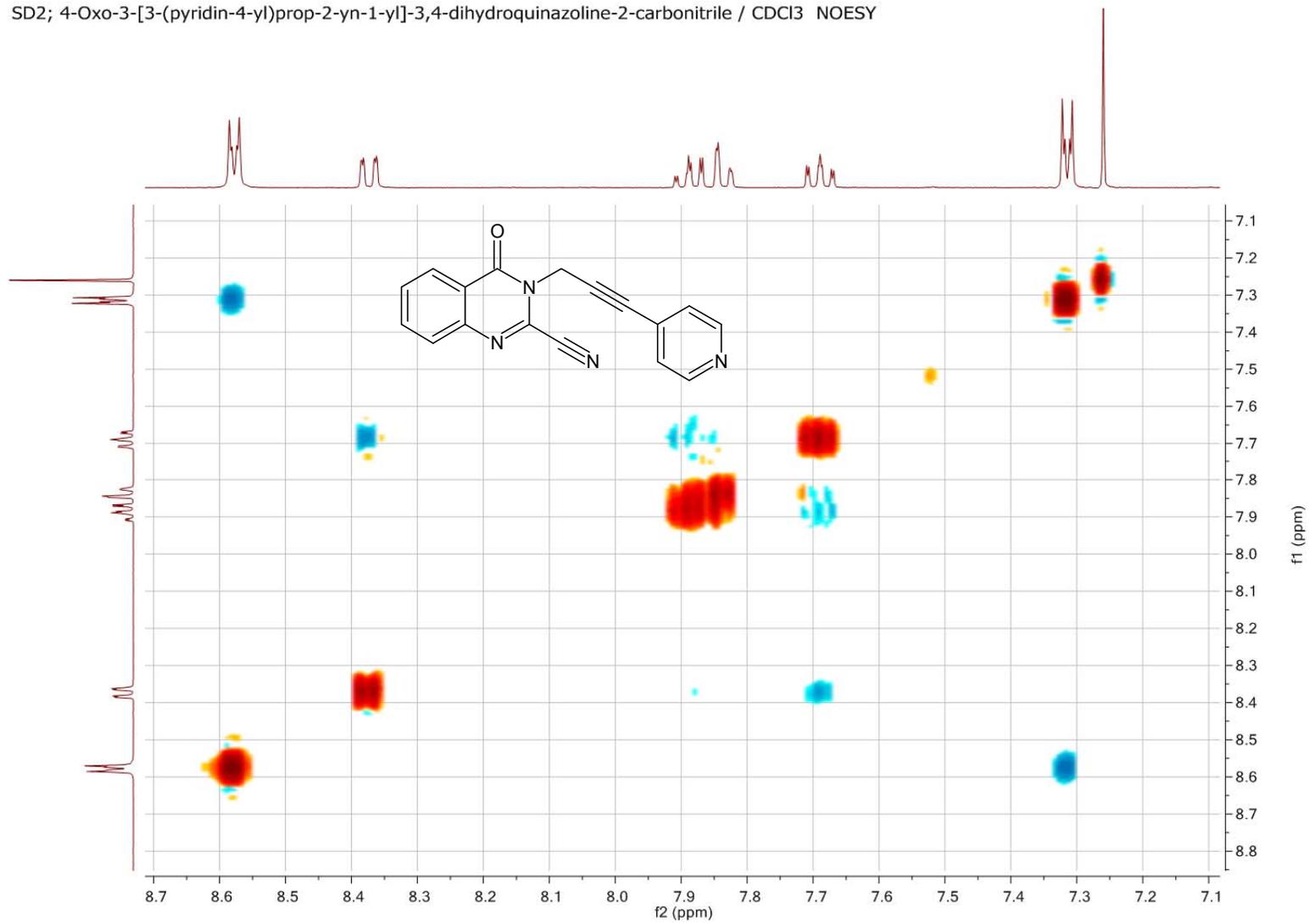
Tafel 12: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**7b**)

SD2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazolin-2-carbonitrile / CDCl₃ COSY

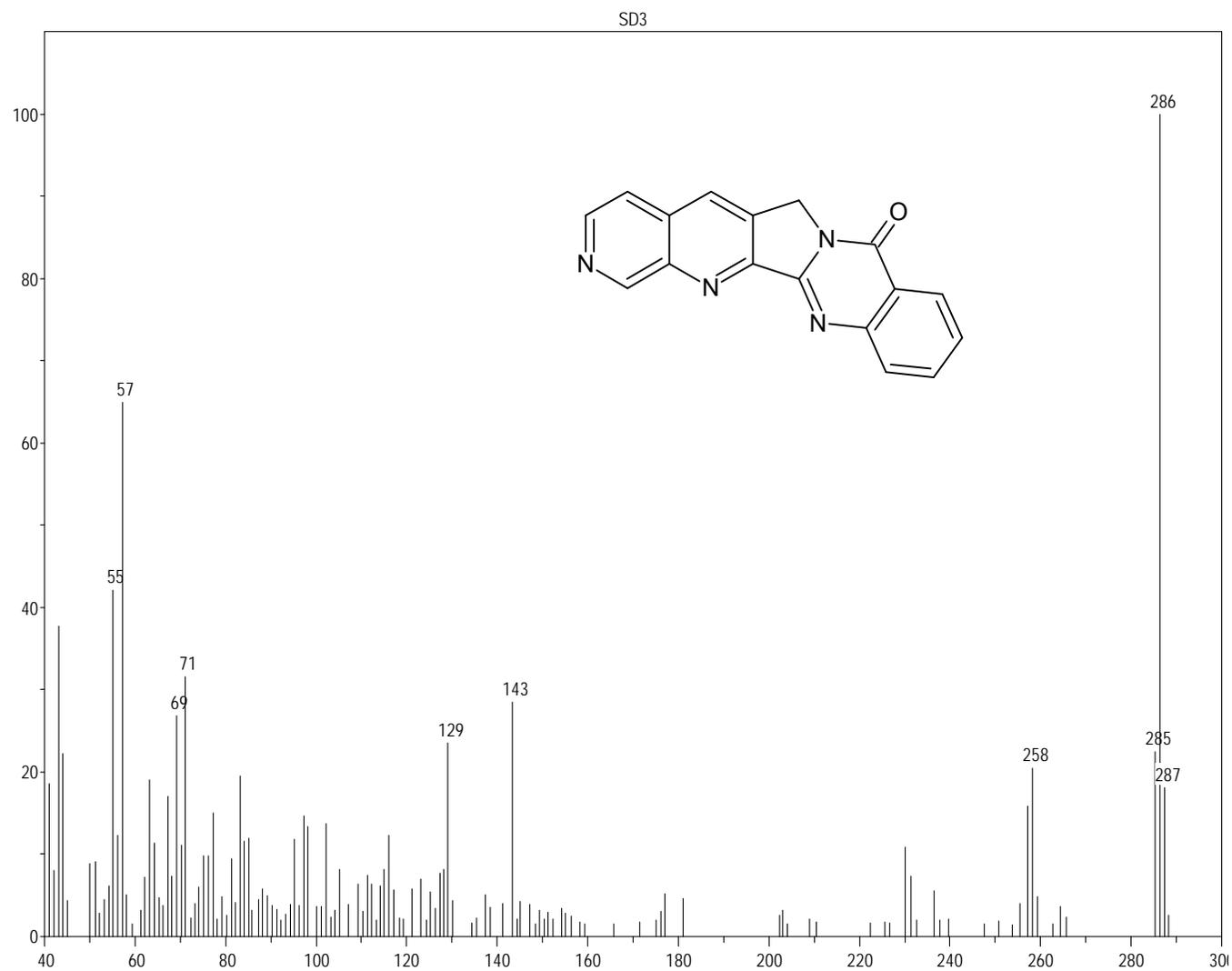


Tafel 13: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**7b**)

SD2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazolin-2-carbonitrile / CDCl₃ NOESY

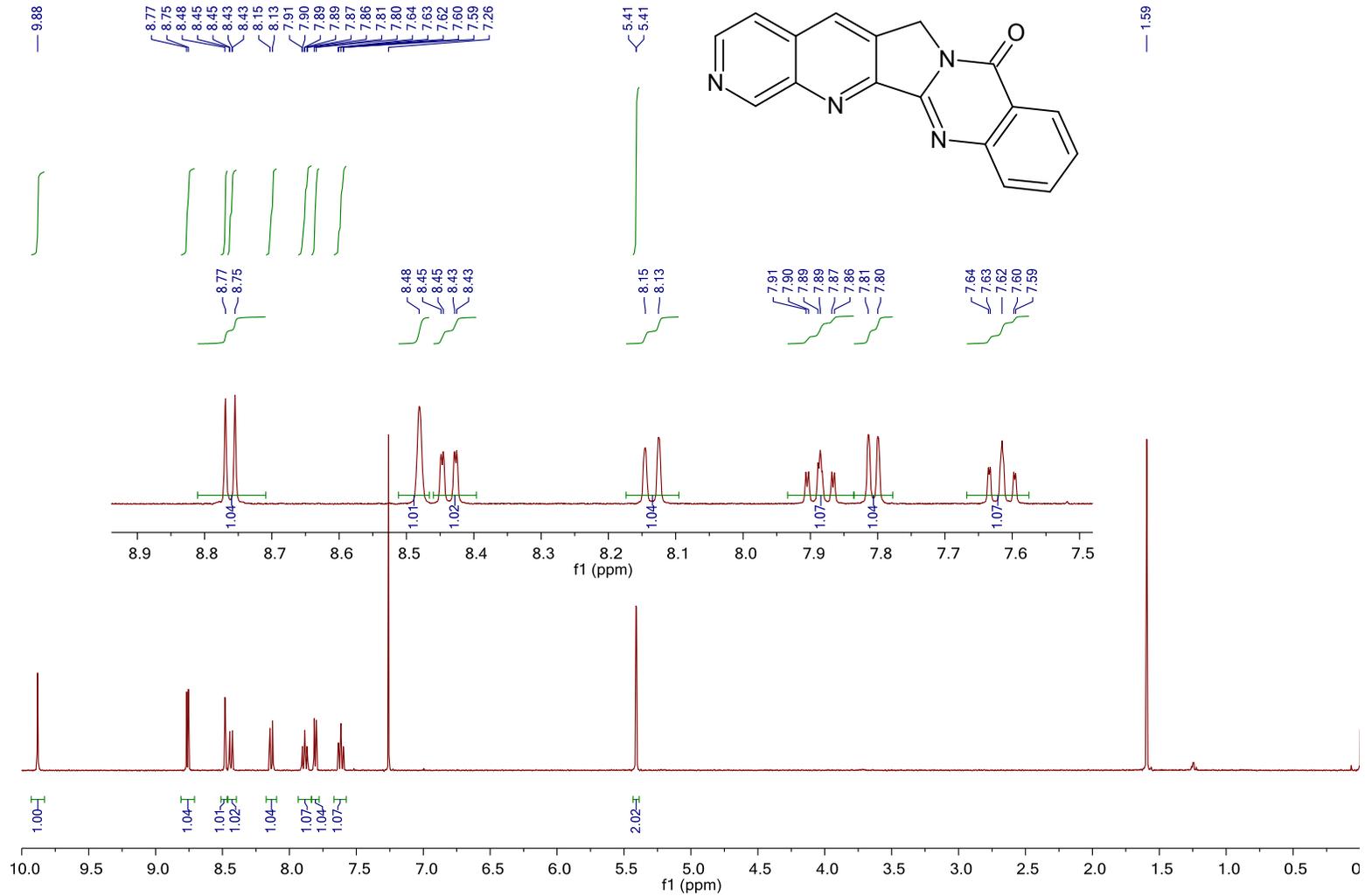


Tafel 14: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-4-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**7b**)



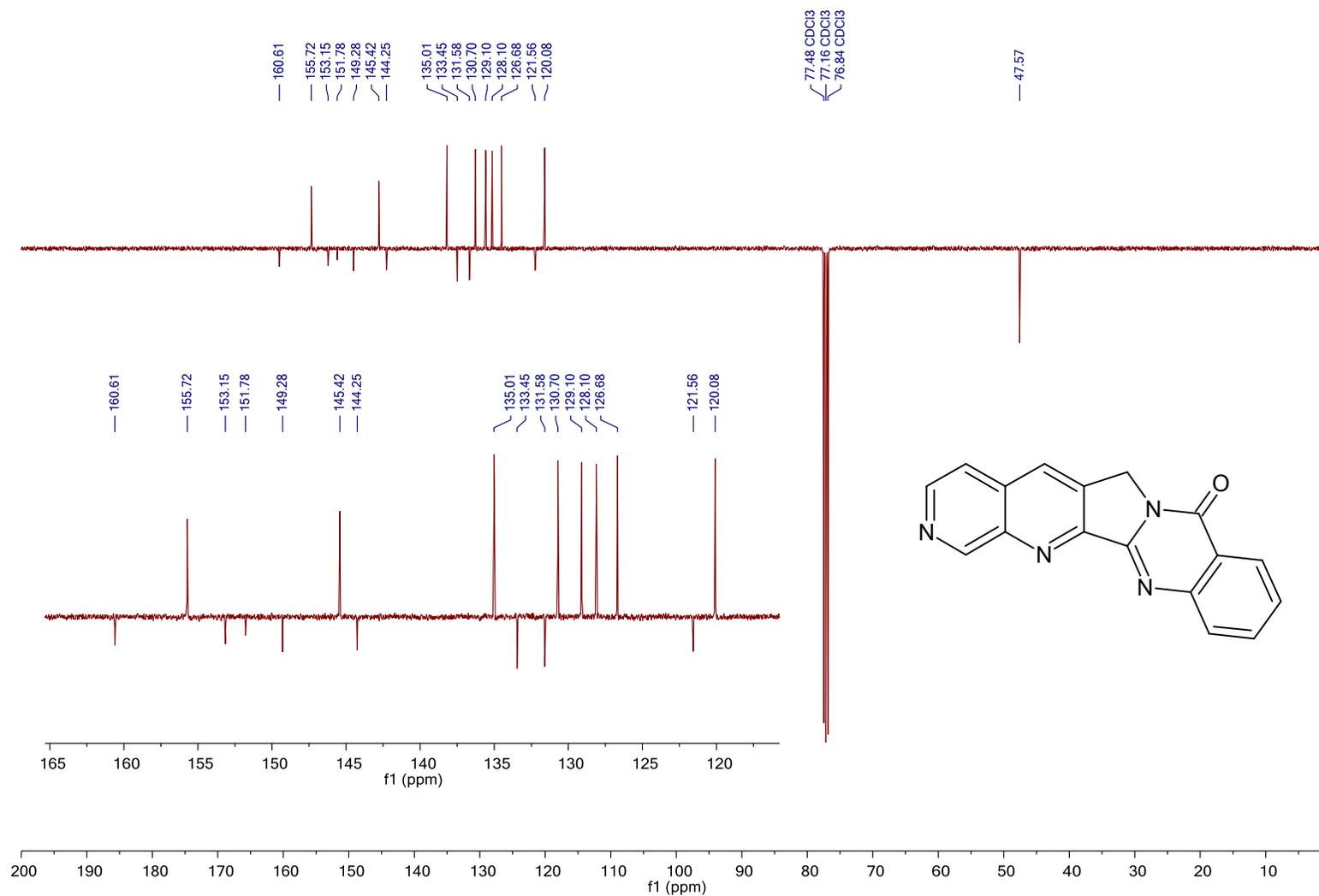
Tafel 15: [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (3-Aza-Luotonin A) (**8**)

SD3; [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-8(6H)-one (3-aza-Luotonin A) / CDCl₃ 1H



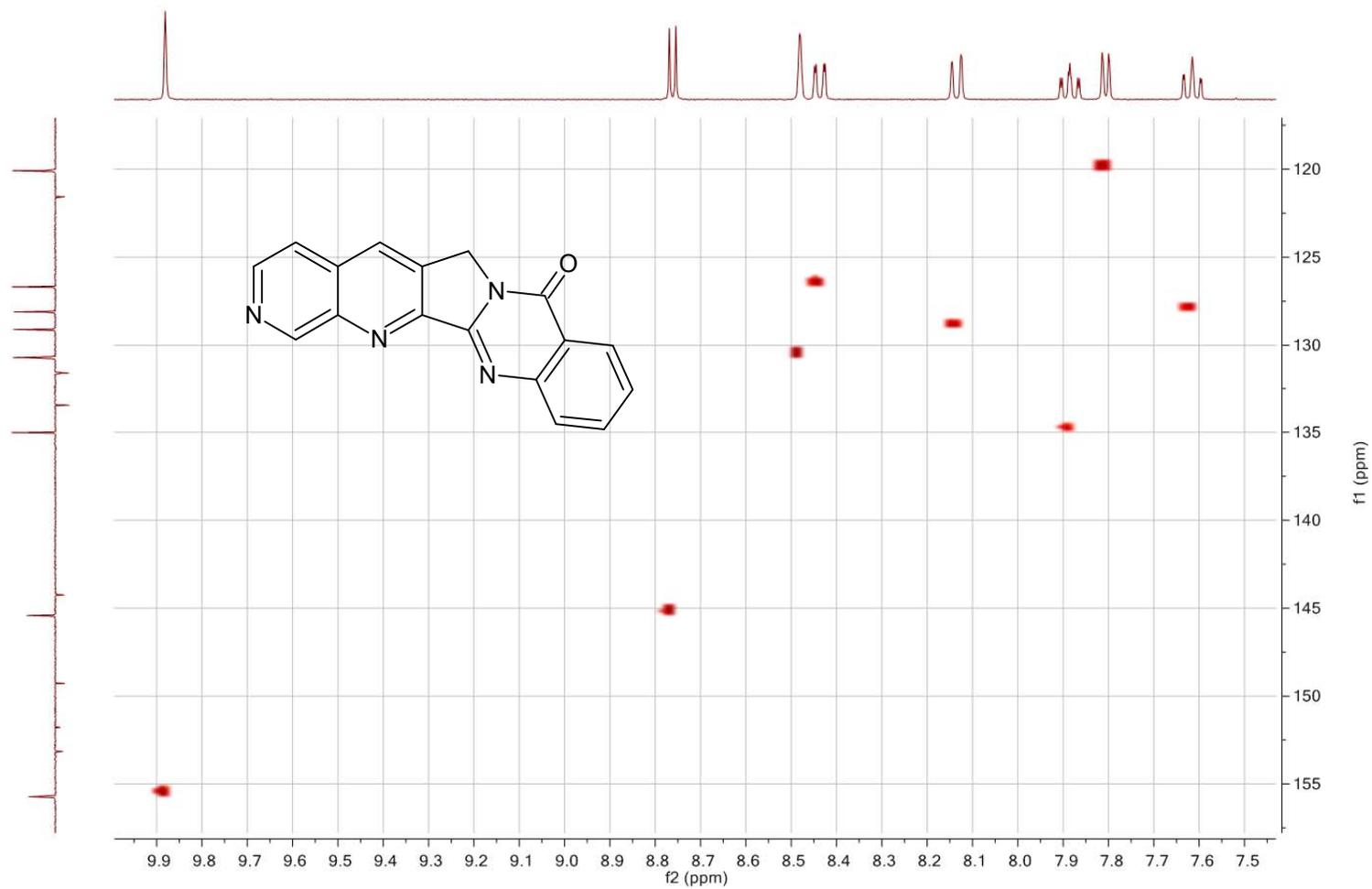
Tafel 16: [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (3-Aza-Luotonin A) (8)

SD3; [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-8(6H)-one (3-aza-Luotonin A) / CDCl₃ C13APT



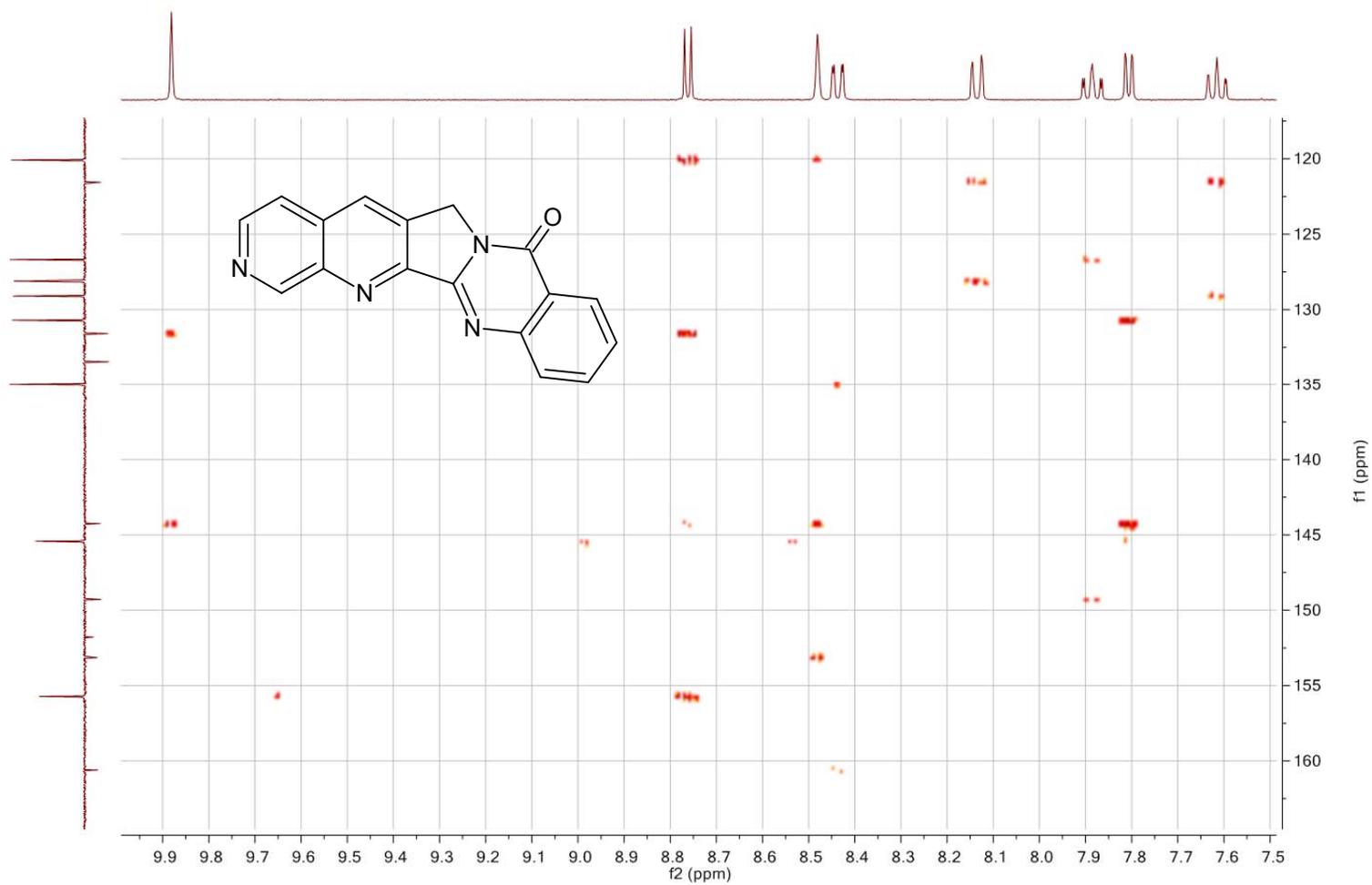
Tafel 17: [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (3-Aza-Luotonin A) (8)

SD3; [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-8(6H)-one (3-aza-Luotonin A) / CDCl₃ HSQC



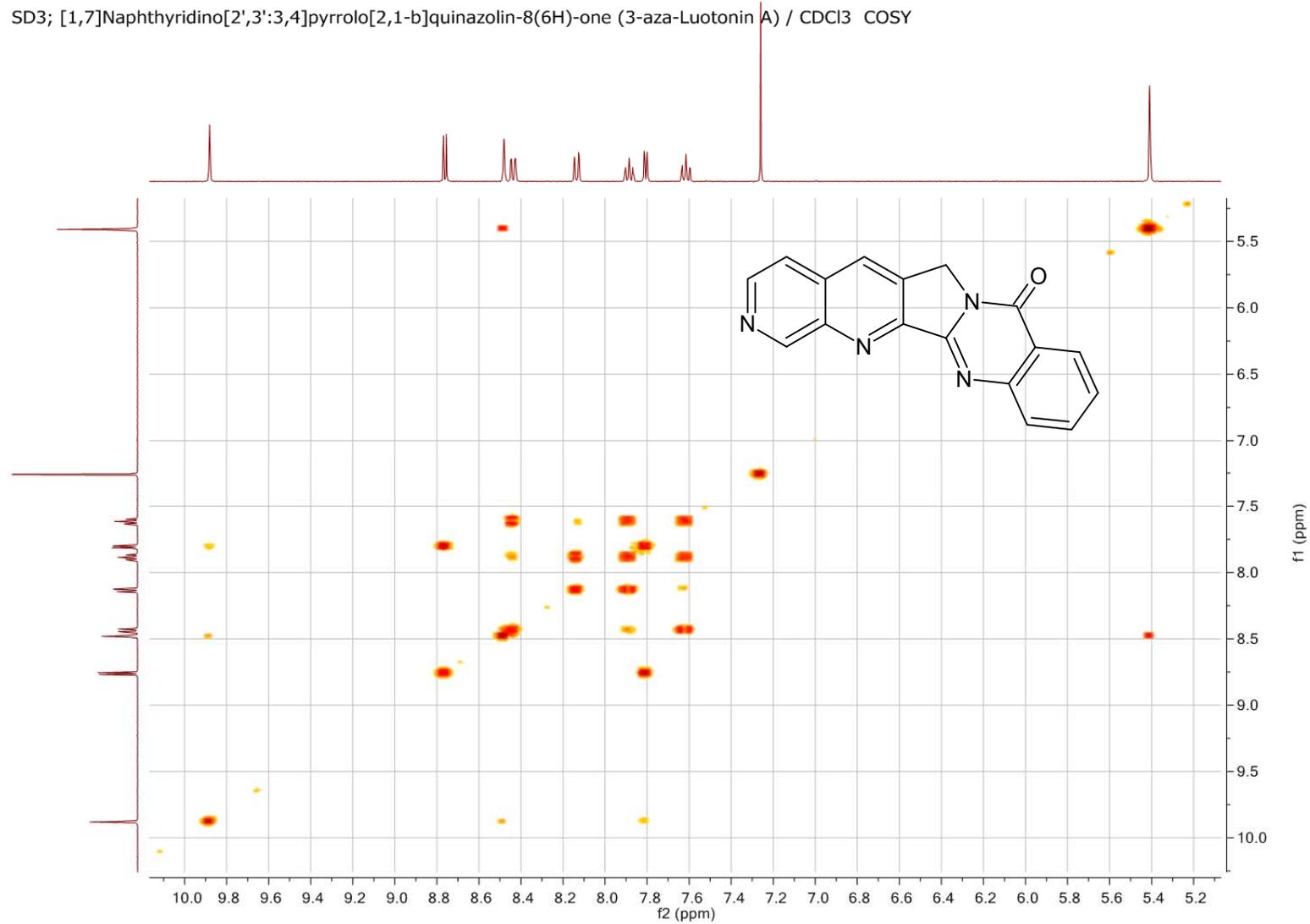
Tafel 18: [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (3-Aza-Luotonin A) (8)

SD3; [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-8(6H)-one (3-aza-Luotonin A) / CDCl₃ HMBC



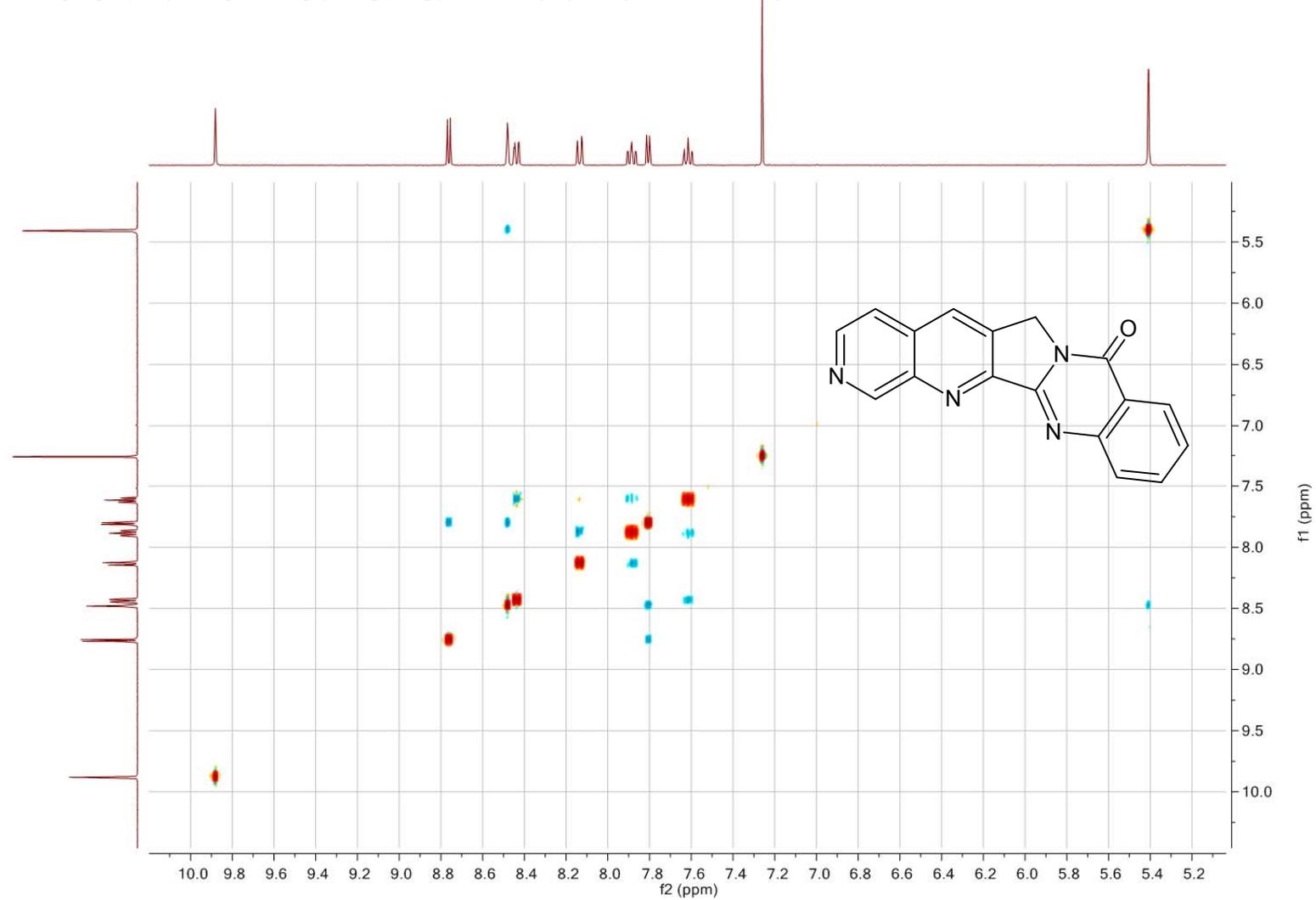
Tafel 19: [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (3-Aza-Luotonin A) (8)

SD3; [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-8(6H)-one (3-aza-Luotonin A) / CDCl₃ COSY



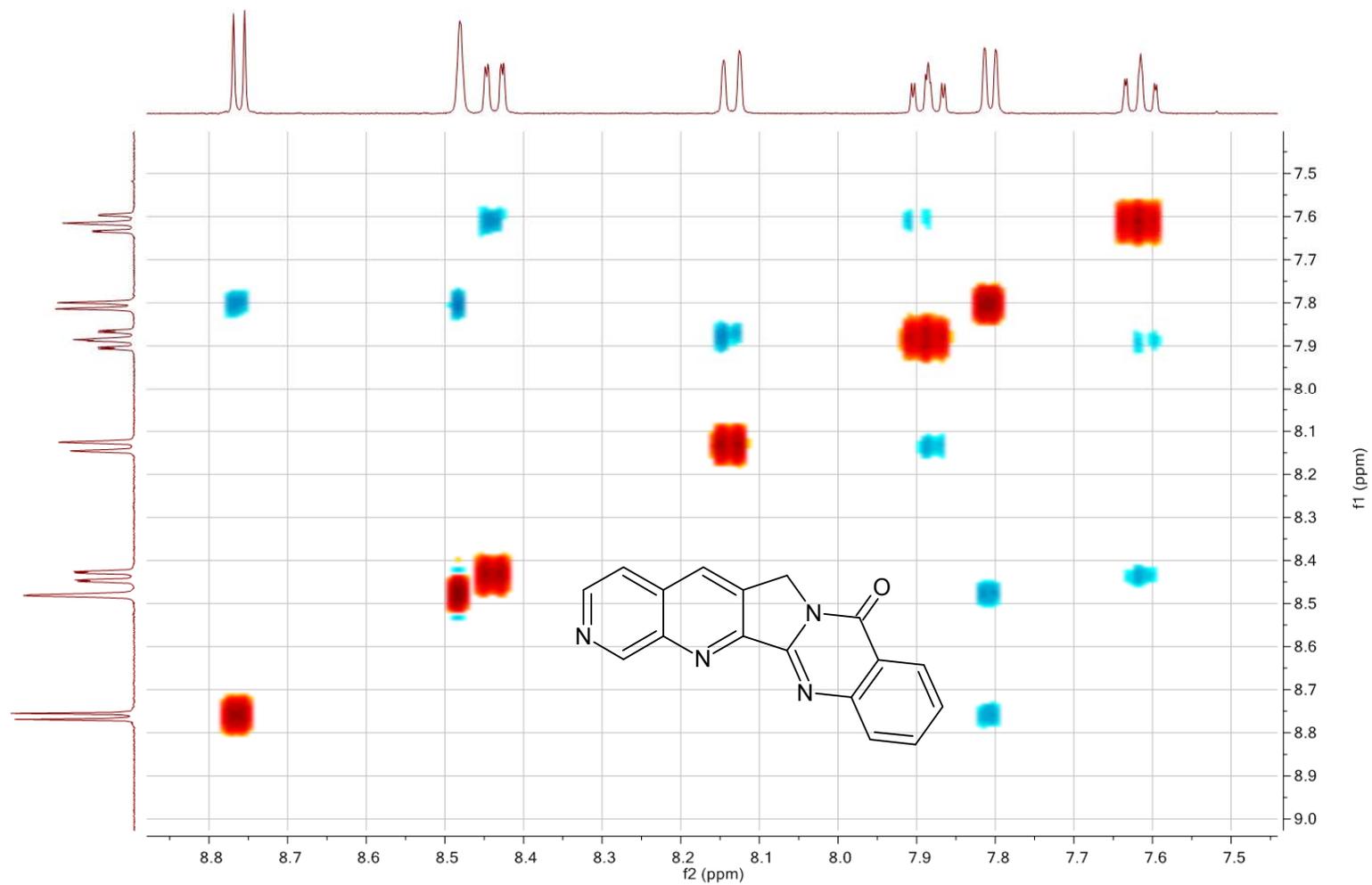
Tafel 20: [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (3-Aza-Luotonin A) (8)

SD3; [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-8(6H)-one (3-aza-Luotonin A) / CDCl₃ NOESY



Tafel 21: [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (3-Aza-Luotonin A) (8)

SD3; [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-8(6H)-one (3-aza-Luotonin A) / CDCl₃ NOESY



Tafel 22: [1,7]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (3-Aza-Luotonin A) (8)

Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit wurde ein Stickstoff-Heterozyklus (Pyridin) als Ring-A-Strukturelement in das zytostatisch wirkende Alkaloid Luotonin A eingebracht. Somit konnte die in der Arbeitsgruppe aufgebaute Substanzbibliothek um ein bisher unbekanntes 3-Aza-Bioisoster der Leitstruktur erweitert werden. Die Synthese gelang in nur zwei Schritten ausgehend von literaturbekannten Vorstufen. Im ersten Schritt wurde 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**4**) mit 3-(Pyridin-4-yl)prop-2-in-1-ol (**6**) unter Mitsunobu-Bedingungen an N-3 alkyliert. Während diese Reaktion nur mäßige Ausbeuten lieferte (u.a. wegen der konkurrierenden O-Alkylierung), gelang der finale Schritt zur Zielverbindung **8** in praktisch quantitativer Ausbeute durch eine DBU-katalysierte, thermisch induzierte intramolekulare Cycloaddition. Somit konnte unter Anwendung des Bioisosterie-Prinzips mit diesem Alkaloid-Analogen ein neuer potenzieller Topoisomerase-I-Hemmer hergestellt werden, dessen biologische Aktivität noch zu evaluieren ist.

Sämtliche im Rahmen der Diplomarbeit zugänglich gemachten neuen Verbindungen wurden mit Hilfe spektroskopischer Methoden und Elementaranalysen vollständig charakterisiert.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name:	Sarah Diesenreiter
Geburtsdatum:	25.06.1989
Geburtsort:	Wien
Staatsbürgerschaft:	Österreich
Eltern:	Silvia und Johannes Diesenreiter
Schwester:	Carina Diesenreiter, BSc (WU); geb. 1992

Ausbildung

2008-2014	Diplomstudium der Pharmazie, Uni Wien
2003-2008	Bundesbildungsanstalt für Kindergartenpädagogik, 1100 Wien
1999-2003	BRG Ettenreichgasse, 1100 Wien