



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Synthese eines 9-Aza-Bioisosteren des Alkaloids

Luotonin-A“

verfasst von

Romana Schanta

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2015

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Pharmazie

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



## **DANKSAGUNG**

Die experimentellen Untersuchungen zur vorliegenden Diplomarbeit erfolgten von März bis Juni 2014 am Department für Pharmazeutische Chemie, Abteilung für Arzneistoffsynthese, der Universität Wien.

Besonderer Dank im Zusammenhang mit dieser Arbeit gilt Herrn Ao. Univ.-Prof. Dr. Norbert Haider, der mir mit seinem umfangreichen Fachwissen, sehr viel Engagement und Freundlichkeit während der gesamten Entstehungsphase dieser Arbeit unterstützend zur Seite stand.

Ich bedanke mich außerdem bei allen anderen Mitarbeitern und Professoren des Departments für ihre Kollegialität, ihre Hilfsbereitschaft und das angenehme Arbeitsklima. Vor allem aber bei meiner Kollegin Patrizia Gasser, mit der mich seit der praktischen Arbeit an dieser Diplomarbeit auch eine sehr wertvolle Freundschaft verbindet.

Mein Dank gilt auch jenen Studienkolleginnen, die mich von Anfang an durch das Studium begleitet haben und seitdem ein wichtiger Bestandteil meines Lebens geworden sind.

Ein herzliches Dankeschön gebührt meiner Mutter, meinem Bruder und meinem Freund. Sie haben mich während meines gesamten Studiums stets ermutigt und sind auch außerhalb in allen Lebenslagen immer für mich da.



# INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung .....	1
1.1	Topoisomerase-Inhibitoren als zytostatisch wirksame Pharmaka .....	1
1.2	Topoisomerase-I-Hemmer .....	2
1.2.1	Topoisomerase-I-Hemmer – Wirkmechanismus .....	3
1.2.2	Topoisomerase-I-Hemmer – Strukturen und chemische Eigenschaften ..	4
1.3	Das Prinzip der Bioisosterie .....	8
1.4	Derivate von Luotonin A .....	10
1.5	Zielsetzung .....	13
2	Eigene Untersuchungen .....	14
2.1	Untersuchungen zur Sonogashira-Kupplung .....	16
2.1.1	Synthese der Ausgangsverbindungen .....	20
2.1.2	Sonogashira-Kupplung mit 2-Iodpyridin .....	22
2.1.3	Versuche zur Dehydratisierung der Carboxamid-Funktion .....	23
2.2	Untersuchungen zur Mitsunobu-Reaktion .....	26
2.2.1	Synthese der Ausgangsverbindungen .....	29
2.2.2	Mitsunobu-Reaktion des Chinazolinoncarbonitrils .....	32
2.2.3	Bildung des Pentacyclus 9-Aza-Luotonin A <i>via</i> Cycloadditionsreaktion ..	34
2.3	Untersuchungen zur Herstellung von 9-Aza-Luotonin A ausgehend von einem Dithiazol-Baustein .....	36
2.3.1	Synthese der Ausgangsverbindungen .....	40
2.3.2	Versuche zur Synthese des Chinazolinoncarbonitrils durch Reaktion des Dithiazols mit dem Pyridinylpropargylamin .....	42
2.4	Fazit .....	45
3	Experimenteller Teil .....	47
3.1	Allgemeines .....	47
3.2	Arbeitsvorschriften zu Abschnitt 2.1 .....	49

3.3	Arbeitsvorschriften zu Abschnitt 2.2.....	53
3.4	Arbeitsvorschriften zu Abschnitt 2.3.....	60
4	Literaturverzeichnis.....	64
5	Anhang .....	66

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Topoisomerase-Inhibitoren als zytostatisch wirksame Pharmaka

DNA-Topoisomerasen sind im Zellkern von Pro- und Eukaryonten lokalisierte Enzyme, die bei topologischen Problemen gezielte und reversible DNA-Strangbrüche verursachen und somit bei einer Reihe von zellulären Prozessen, wie zum Beispiel der DNA-Replikation und Transkription, bzw. bei allen anderen Reaktionen, bei denen es zu einer Veränderung der DNA-Helixwindungen oder Verdrillungen kommt, eine essentielle Rolle spielen.<sup>1</sup>

Von Topoisomerasen verursachte Doppel- oder Einzelstrangbrüche in der DNA-Doppelhelix ermöglichen eine Änderung der Verwindungszahl und katalysieren damit die Entspannung superspiralisierter DNA vor der Replikationsgabel bzw. die Einführung neuer Superhelixwindungen hinter der Replikationsgabel. Das Enzym bindet dabei kovalent über einen Tyrosinrest in seinem aktiven Zentrum an den Phosphatrest des 3'- oder 5'-Endes des gespaltenen Stranges und ermöglicht damit eine Entwindung und infolgedessen eine Entspannung der DNA-Helix. Im Anschluss folgt die Rückreaktion und Wiederverknüpfung des Strangbruchs.<sup>2</sup>

Man unterscheidet bei Topoisomerasen entsprechend ihrer Funktion zwei Gruppen:

Typ-I-Topoisomerasen verursachen Einzelstrangbrüche, wodurch der ungespaltene Strang durch die Lücke geführt werden kann und eine Änderung der Windungszahl erfolgt. Sie können wiederum in zwei weitere Untergruppen unterteilt werden: Bei Typ-IA handelt es sich um eine bakterielle Topoisomerase, welche vorübergehend eine kovalente Bindung mit dem 5'-Ende des geöffneten Stranges eingeht. Typ-IB ist bei eukaryotischen Zellen zu finden und bindet an das 3'-Ende.<sup>1,2</sup>

Typ-II-Topoisomerasen hingegen durchtrennen beide Stränge der DNA-Helix, leiten einen intakten Strang durch die Bruchstelle hindurch und verknüpfen die geöffnete DNA anschließend wieder. Bei diesem Vorgang wird eine zusätzliche negative Superhelixwindung erzeugt, für deren Einführung Energie in Form von ATP benötigt wird.<sup>1,2</sup>

Durch die Hemmung dieser Enzyme kommt es zu einer Störung der körpereigenen Reparaturmechanismen, den damit verbundenen zellulären Prozessen und somit zu einem empfindlichen Eingriff in das Zellwachstum bzw. die Zellteilung. Da insbesondere Tumorzellen eine außergewöhnlich schnelle Teilungsrate aufweisen und in ihrem Wachstum auf die Topoisomeraseaktivität angewiesen sind, eignen sich Topoisomerase-Inhibitoren durch ihre toxische Wirkung auf den Zellzyklus als Chemotherapeutikum in der Krebstherapie.<sup>3</sup>

Vor allem bei Tumorarten, welche das Enzym Topoisomerase überexprimieren, dazu zählen unter anderem gastrointestinale Karzinome, Bronchial-, Mamma- und Cervixkarzinome, sowie einige Formen von Non-Hodgkin Lymphome, aber auch spezielle Leukämieformen, verspricht man sich durch Topoisomerase-Inhibitoren Therapieerfolge.<sup>4</sup>

## **1.2 Topoisomerase-I-Hemmer**

Ein wichtiger Prototyp der Topoisomerase-I-Hemmer, Camptothecin, wurde bereits 1958 von Wall *et al.* entdeckt und in den darauffolgenden Jahren isoliert und charakterisiert.<sup>5</sup> Camptothecin ist ein in Rinde, Holz und Samen des Baumes *Camptotheca acuminata* vorkommender Naturstoff, dessen zytostatische Wirksamkeit im Rahmen eines Screening-Programms des US National Cancer Institute festgestellt wurde. Aufgrund seiner schlechten Wasserlöslichkeit weist Camptothecin jedoch ungünstige pharmakologische und physikochemische Eigenschaften auf. Deshalb wurde in den späten 1980er Jahren intensiv an der Weiterentwicklung der Leitverbindung gearbeitet, aus der die beiden Derivate Irinotecan und Topotecan resultierten.<sup>4</sup>

Die antitumorale Wirksamkeit dieser beiden Camptothecin-Derivate konnte in zahlreichen klinischen Studien nachgewiesen werden. Zudem wurde durch die Einführung hydrophiler Gruppen die Pharmakokinetik verbessert.<sup>4</sup> Seit der Zulassung 1996 in den USA wird Irinotecan für die Behandlung von fortschreitenden Rektum- oder Kolonkarzinomen und Topotecan zur Behandlung von rezidivierenden kleinzelligen Bronchialkarzinomen sowie Ovarialkarzinomen nach Versagen einer Primär- oder Folgetherapie eingesetzt.<sup>3,6</sup>

Auch andere Derivate befinden sich derzeit in klinischer Erprobung. Dennoch sind Irinotecan und Topotecan die bislang einzigen, tatsächlich klinisch eingesetzten Topoisomerase-I-Inhibitoren. Aus diesem Grund ist das Interesse an weiteren biologisch aktiven Substanzen mit potentieller Anwendbarkeit in der Chemotherapie von Krebserkrankungen groß und auch Gegenstand unserer Arbeitsgruppe.

### 1.2.1 Topoisomerase-I-Hemmer – Wirkmechanismus

Topoisomerase-I-Hemmer inhibieren durch Bindung an den spaltbaren Komplex („cleavable complex“) aus Topoisomerase I und DNA mit Hilfe von Wasserstoffbrücken und der damit verbundenen Stabilisierung des Komplexes, die Wiederverknüpfung des DNA-Stranges. Dieser Vorgang ist jedoch reversibel und kann somit nicht alleine für die zytotoxische Wirkung verantwortlich sein.<sup>7</sup>

Viel eher lässt sich der Wirkmechanismus von Camptothecin und seinen Analoga anhand des „Kollisionsmodells“ erklären. Hierbei wird davon ausgegangen, dass es im Rahmen der Replikation zu einer Kollision von Replikationsgabel und dem durch den Inhibitor stabilisierten Spaltungskomplex kommt und infolgedessen zu Doppelstrangbrüchen, welche zu einem Sistieren des Zellzyklus in Phase G<sub>2</sub> und letztendlich zum Zelltod führen.<sup>8</sup>

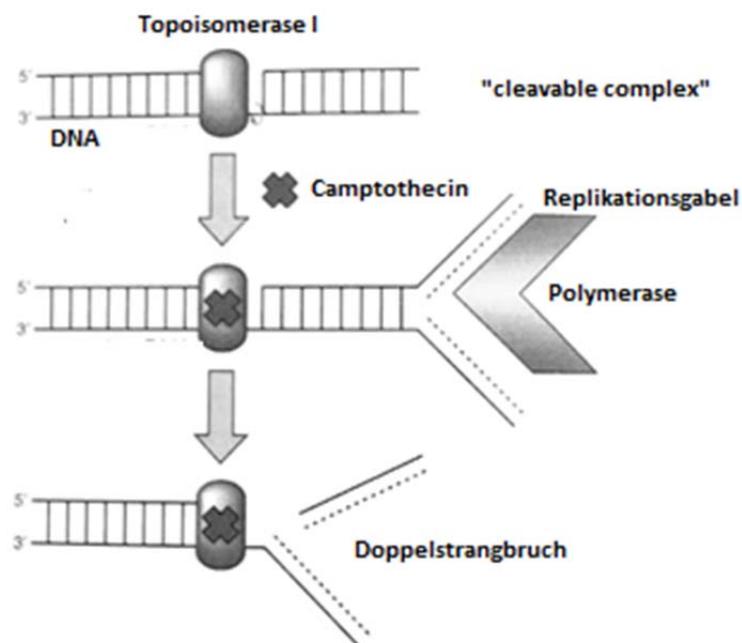


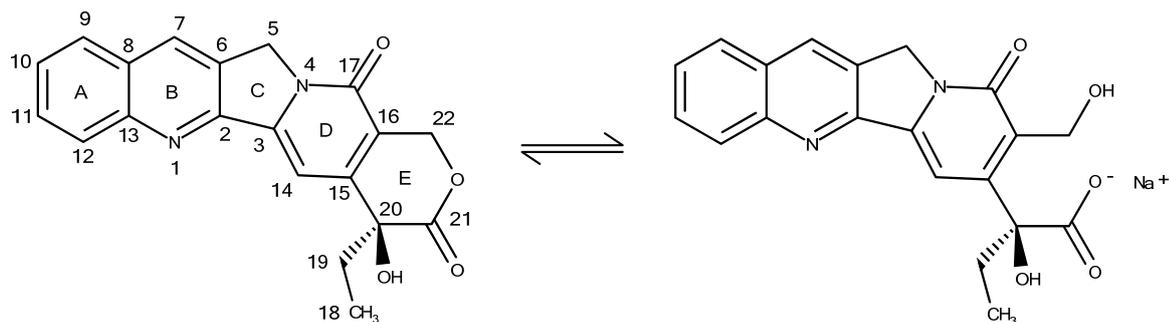
Abbildung 1: Kollisionsmodell<sup>3</sup>

Dieses Modell beschränkt sich jedoch nur auf die zytotoxischen Effekte der Topoisomerase-I-Inhibitoren während der Replikation und geht nicht auf andere, von der Replikation unabhängige zelluläre Effekte, wie zum Beispiel die Hemmung der RNA-Synthese oder Chromatin Kondensation, ein. Um die gesamten molekularen Wechselwirkungen von Camptothecin und seinen Derivaten zu verstehen sind darum weitere Untersuchungen und Dockingexperimente notwendig.

## 1.2.2 Topoisomerase-I-Hemmer – Strukturen und chemische Eigenschaften

### 1.2.2.1 Camptothecin und Derivate

Chemisch gesehen handelt es sich bei Camptothecin um ein pentacyclisches Chinolinalkaloid mit Stereozentrum in Position 20 und einem  $\alpha$ -Hydroxylactonring (Ring E) (siehe Schema 1).<sup>9</sup>



Schema 1: Camptothecin – Lactonform und Carboxylatform

Aufgrund seiner schlechten Wasserlöslichkeit kam Camptothecin in frühen klinischen Studien in der ringoffenen Carboxylatform als Na-Salz zum Einsatz. Erst in späteren Untersuchungen stellte sich heraus, dass der offene Lacton-Ring, verglichen mit der geschlossenen Form nur eine minimale zytostatische Wirkung erzielen kann und überdies toxische Nebenwirkungen aufweist.<sup>10</sup>

Auch bei einem physiologischen Blut-pH-Wert von 7.4 kommt es zu einer Öffnung des Lactonrings und einem raschen Übergang in die offene Carboxylatform und damit zu einem Verlust der klinisch relevanten pharmakologischen Wirkung.<sup>11</sup> Durch die Bindung der Carboxylatform an Serumalbumin und der damit verbundenen

Entfernung aus dem Gleichgewicht liegt im Gleichgewichtszustand somit ein außerordentlich geringer Anteil in Form des geschlossenen Lactons vor.<sup>5</sup>

Als relevant für die zytostatische Wirksamkeit und die Interaktion mit dem Enzym Topoisomerase I haben sich neben dem  $\alpha$ -Hydroxylactonring überdies die S-Konfiguration des Stereozentrums in Position 20, das 2-Pyridonelement (Ring D) und die überwiegende Planarität des gesamten Ringsystems erwiesen.<sup>10</sup>

Aufgrund der bereits erwähnten ungünstigen physikochemischen Eigenschaften hat Camptothecin in der therapeutischen Praxis jedoch keine Relevanz und dient vielmehr als Leitsubstanz zur Synthese von Analoga mit strukturellen Modifikationen. Insbesondere Abwandlungen des Chinolinrings in Position 7, 9, 10 oder 11, wie bei den Derivaten Irinotecan und Topotecan (siehe Abbildung 2) führten bei in vivo und in vitro Studien zu einer gesteigerten Wirksamkeit und erhöhten Stabilität in der Blutbahn.<sup>10</sup> Gleichzeitig konnte durch den Einbau einer basischen Dimethylaminogruppe (Position 10) im Falle von Topotecan und das Vorliegen von Irinotecan als Dipiperidylcarbonsäureester (Position 9) die Hydrophilie verbessert werden. Bei Irinotecan handelt es sich zudem um ein Prodrug, das erst durch Esterasen im Körper in seinen aktiven Metaboliten SN-38 übergeführt wird.<sup>7</sup>

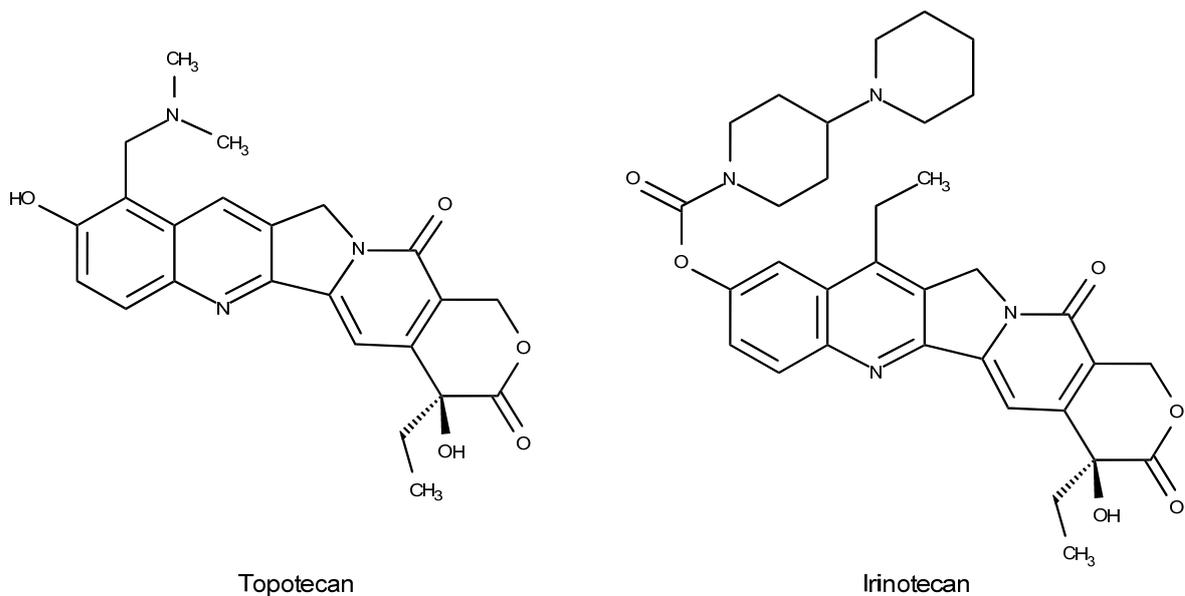


Abbildung 2: therapeutisch verwendete Camptothecinderivate

Eine andere Weiterentwicklung von Camptothecin sind die sogenannten Homocamptothecin-Derivate, wie zum Beispiel Diflomotecan, welche einen siebengliedrigen  $\beta$ -Hydroxylactonring aufweisen (siehe Abbildung 3). Durch die Erweiterung des Lactonrings um ein C-Atom wird dieser stabilisiert und seine Öffnung weitgehend blockiert.<sup>10</sup>

Eine vollständige Stabilisierung von Ring E konnte durch die Entfernung der Lactongruppierung erreicht werden und führte zur Entwicklung der fünfgliedrigen  $\alpha$ -Ketoderivaten (siehe Abbildung 3: S39625), welche ebenso wie die Homocamptothecin-Derivate über eine gesteigerte biologische Aktivität verfügen.<sup>9</sup>

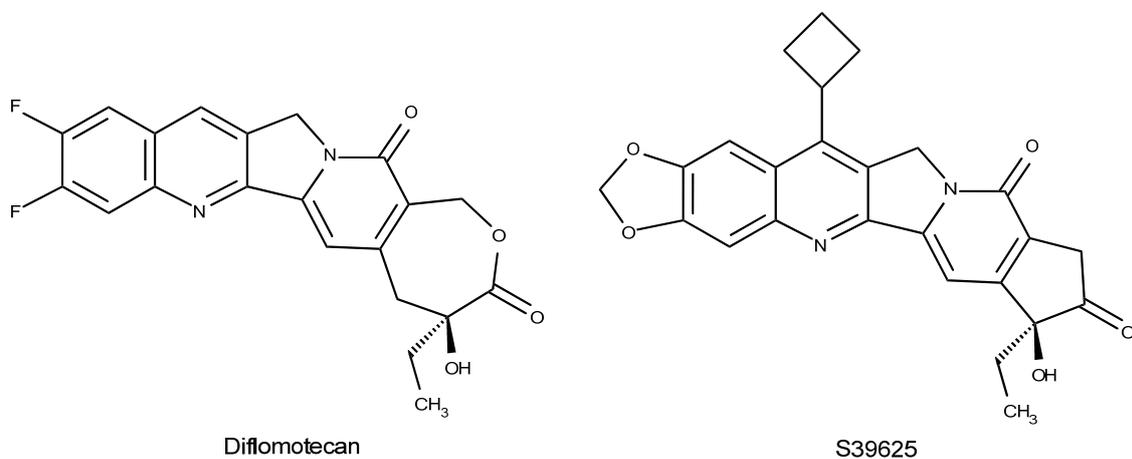


Abbildung 3: Beispiele für Homocamptothecin-Derivate und  $\alpha$ -Ketoderivate

Neben Camptothecin und seinen Abkömmlingen gibt es aber auch andere, strukturell ähnliche Substanzen, die klinisch zwar noch nicht erprobt sind, jedoch in Untersuchungen eine Hemmwirkung auf das Topoisomerase-I-Enzym gezeigt haben. Vor allem Luotonin A und seine Derivate sind hierbei Gegenstand neuerer Untersuchungen.

### 1.2.2.2 Luotonin A

Luotonin A ist ein Pyrrolochinazolino-Chinolinalkaloid aus den oberirdischen Anteilen der Pflanze *Peganum nigellastrum* und wurde erstmals 1997 von Ma *et al.* isoliert und charakterisiert (siehe Abbildung 4).<sup>12</sup> Während die Ringe A, B und C identisch zu Camptothecin sind, ist der  $\alpha$ -Hydroxylactonring bei Luotonin A durch einen Benzolring ersetzt. In Position 14 (gemäß Nummerierung nach Alkaloid-Schema) liegt außerdem ein zusätzliches Stickstoffatom vor. Wie Abbildung 4 zeigt kann die Nummerierung der Ringatome bei Luotonin A sowohl nach IUPAC-Regel, als auch nach einem Alkaloid-Schema erfolgen, wobei sich die vorliegende Diplomarbeit immer auf die Nummerierung nach Alkaloid-Schema bezieht.

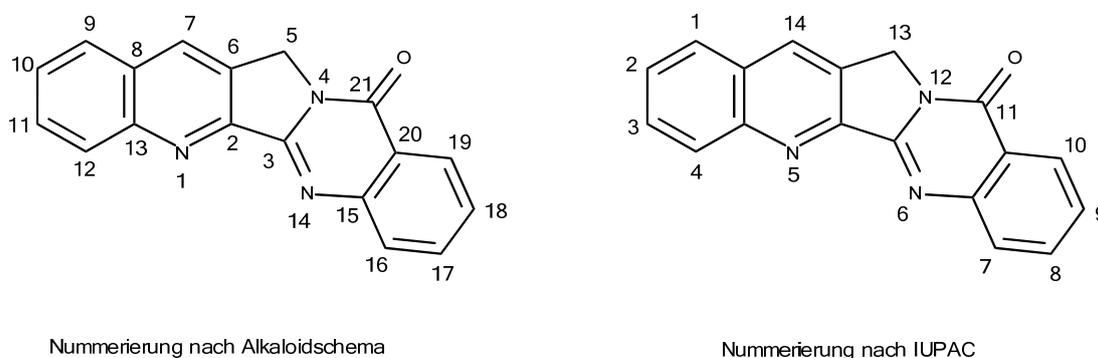


Abbildung 4: Luotonin A

In Anbetracht der strukturellen Ähnlichkeit zu Camptothecin ist es nicht verwunderlich, dass es sich auch bei Luotonin A um einen Topoisomerase-I-Hemmer mit ähnlichem Wirkmechanismus handelt. Hecht und Mitarbeiter konnten im Jahr 2003 zeigen, dass auch Luotonin A zu einer Stabilisierung des „cleavable complex“ aus dem Phosphodiester-Rückgrat der DNA und dem Topoisomerase-I-Enzym führt.<sup>13</sup> Die Zytotoxizität des unmodifizierten Luotonin A ist jedoch mit einem Zehntel der Potenz im Vergleich zu Camptothecin deutlich geringer.<sup>14</sup>

Dennoch etablierte sich Luotonin A, ebenso wie Camptothecin, auf der Suche nach neuen, potentiellen Wirkstoffen für die Chemotherapie von Krebserkrankungen zu einer Leitstruktur und induzierte eine Reihe von Untersuchungen um potentere Artgenossen zu finden und synthetisch zugänglich zu machen.

### 1.3 Das Prinzip der Bioisosterie

Beim Versuch, anhand einer nachweislich wirksamen Leitverbindung weitere, optimierte Derivate aufzufinden, folgen Forscher in der Pharmaindustrie häufig dem Konzept der Bioisosterie. Dieses Prinzip ermöglicht es mitunter, die teure Entwicklung von Arzneimitteln durch gezieltes Wirkstoffdesign erfolgsorientierter und kosteneffizienter zu gestalten.

Das Konzept der Bioisosterie besagt: Zwei Moleküle verhalten sich bioisoster, wenn sie bei identer räumlicher Ausdehnung eine vergleichbare biologische Wirkung erzielen können.<sup>15</sup>

Die Gründe, warum eine Leitstruktur mit einer interessanten pharmakologischen Wirkung nach ihrer Entdeckung chemisch modifiziert wird, können sehr vielfältig sein: Beispielsweise lässt sich durch die Einführung zusätzlicher Substituenten oder durch eine geringfügige Veränderung des Grundkörpers die Affinität und Selektivität eines Wirkstoffes zu seinem Rezeptor beeinflussen. Auch eine abweichende Verteilung der Elektronendichte kann dabei durchaus wünschenswert sein, um die Polarität und somit die Löslichkeit und Bioverfügbarkeit einer Substanz zu verbessern. Der Austausch einzelner Struktureinheiten kann neben einer Optimierung der pharmakokinetischen Eigenschaften aber auch eine Veränderung des Metabolismus und dadurch eine Minimierung der Nebenwirkungen durch weniger toxische Abbauprodukte ermöglichen. Darüberhinaus können durch bioisostere Abwandlungen manchmal auch umständliche und teure Synthesewege, deren Aufwand nicht in Relation zur Ausbeute steht, optimiert werden. Denkbar ist aber auch ein pekuniäres Interesse, da durch Ersatz einer Substruktur möglicherweise Patente umgangen werden können.

In Rahmen der Arzneistoffsynthese stehen dem Chemiker hierbei zahlreiche Derivatisierungsmöglichkeiten zur Verfügung. Bekannte Beispiele für Bioisosterie in der Wirkstoffforschung sind die Teilstruktur-Paare Benzol-Thiophen, Chlor-Brom, Sauerstoff-Schwefel, Benzol-Pyridin und Thiophen-Furan.

So handelt es sich beispielsweise bei den beiden atypischen Neuroleptika Clozapin und Olanzapin um zwei klassische bioisostere Moleküle, bei denen es unter Erhalt der antipsychotischen Wirkung zum Ersatz von Benzol gegen Thiophen gekommen

ist (siehe Abbildung 5). Dieser Austausch ist möglich, da die C=C Teilstruktur im Benzolring eine vergleichbare Länge wie das Thiophen-Schwefelatom aufweist.<sup>15</sup>

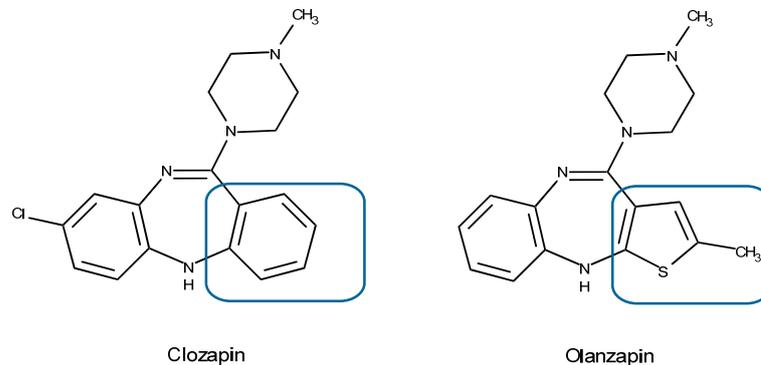


Abbildung 5: Benzol-Thiophen-Bioisosterie

Der Vorteil von Olanzapin gegenüber Clozapin in der Therapie ist, dass es zu keinen ernstzunehmenden toxischen Nebenwirkungen, in diesem speziellen Fall einer unter Umständen tödlich verlaufenden Agranulozytose, kommen kann und somit keine engmaschigen Blutbild-Kontrollen notwendig sind.<sup>16</sup>

Auch der bioisostere Ersatz eines Benzolrings durch ein Pyridin führte in der Vergangenheit zu einigen erfolgreichen Wirkstoffentwicklungen in der Pharmaforschung. Da eine aromatische =CH-Einheit in Bezug auf ihre Elektronenbilanz und ihre Raumerfüllung (annähernd) einer =N-Einheit entspricht, ist auch hier eine Bioisosterie-Beziehung gegeben. Besonders die Ableitung von 1-Azaphenothiazin aus Phenothiazin, welche erstmals in den 1960er Jahren von Wilhelm Schuler erfolgreich durchgeführt und beschrieben wurde, lieferte den Durchbruch zu einigen sehr wichtigen Arzneistoffen dieser Substanzklasse. So entstand beispielsweise aus Promazin das Neuroleptikum Prothipendyl (siehe Abbildung 6) oder aus Alimemazin das Antiallergikum Isothipendyl (siehe Abbildung 7).<sup>17</sup>

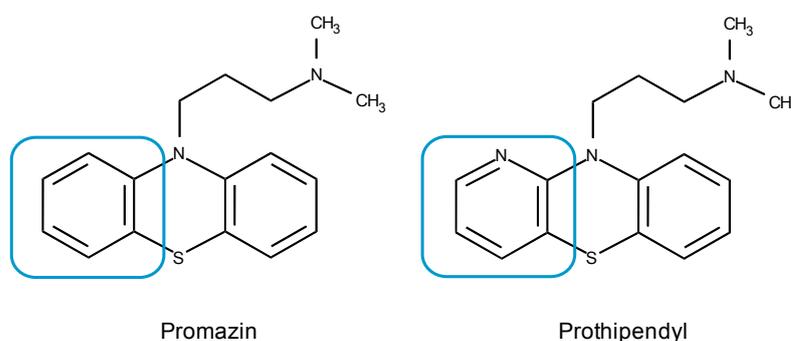


Abbildung 6: Benzol-Pyridin-Bioisosterie

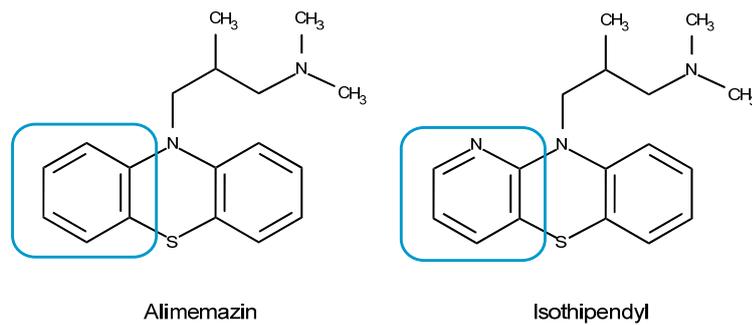


Abbildung 7: Benzol-Pyridin-Bioisosterie

Auch Pipazetat, ein Hustenmittel, und Oxypendyl, das gegen Übelkeit eingesetzt wird, verdanken ihre Existenz dem bioisosteren Austausch eines Benzolrings gegen ein Pyridin.<sup>17</sup>

Angesichts dieser bisherigen Erfolge kommt auch im Zuge der Entwicklung neuer und wirksamerer Luotonin A Analoga das Bioisosterie-Prinzip in Betracht, so auch in der vorliegenden Diplomarbeit.

#### 1.4 Derivate von Luotonin A

In früheren Untersuchungen wurden verschiedene Ansätze verfolgt, welche die Wirksamkeit des Pyrrolochinazolino-Chinolinalkaloids verbessern sollten. Die eher bescheidene Potenz von Luotonin A im Vergleich zu Camptothecin wurde zunächst durch die fehlende Lacton-Funktionalität in Ring E begründet, weshalb anfangs vor allem die Synthese von Ring-E-modifizierten Analoga im Mittelpunkt der Forschung stand. Cagir *et al.*<sup>14</sup> beispielsweise versuchten vorzugsweise durch Substituenten in Position 17, welche grob und formal der OH-Gruppe in Position 20 des Camptothecins entsprechen, die zytostatische Aktivität von Luotonin A zu optimieren (siehe Abbildung 8).

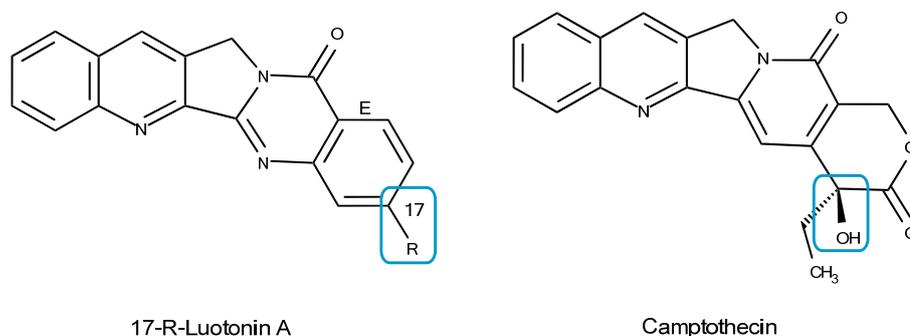
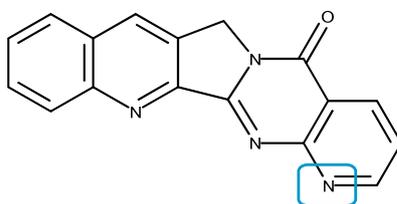


Abbildung 8: E-Ring-modifizierte Luotonin A Derivate und Camptothecin

Ausgehend von diesem Ansatz entstanden so unter anderem die Derivate 17-Aminoluotonin A, 17-Cyanoluotonin A, 17-Hydroxymethyluotonin A, 17-Chlorluotonin A, 17-Bromluotonin A und einige Isoluotonin-Analoga, welche nachweislich zu einer Stabilisierung des Spaltungskomplexes aus DNA und Topoisomerase-I-Enzym führen, jedoch in Bezug auf die Zytotoxizität sehr unterschiedliche Ergebnisse lieferten.<sup>14</sup>

Auch Nacro *et al.*<sup>18</sup> strebten durch Modifizierung des E-Rings eine Verbesserung der inhibitorischen Wirkung von Luotonin A an. In dieser Serie an Derivaten befindet sich unter anderem auch ein bioisosteres Benzol-Pyridin-Analogon, 16-Aza-Luotonin A (siehe Abbildung 9).



16-Aza-Luotonin A

Abbildung 9

Diese und die meisten anderen neuen Strukturen aus den letztgenannten Untersuchungen wiesen jedoch ebenfalls keine gesteigerte zytostatische Aktivität auf. Lediglich 16-Amino-Luotonin A zeigte an einer humanen Leukämiezelllinie eine antiproliferative Wirkung.<sup>18</sup>

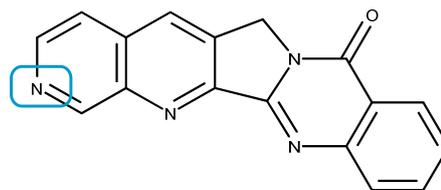
Diese Resultate lassen darauf schließen, dass das  $\alpha$ -Hydroxylacton in Camptothecin zwar eine Interaktion mit der Topoisomerase begünstigt, jedoch nicht essentiell ist für die Bindung und Stabilisierung des Spaltungskomplexes sowie die damit verbundene Hemmung des Enzyms. Sie führten zur Entwicklung neuer Strategien, um die Potenz von Luotonin A durch Derivatisierung zu erhöhen.

Vor allem Substitutionen an den Ringen A und B rückten in das Interesse der Forschung und lieferten vielversprechende Derivate, die verglichen mit ihrer Leitstruktur eine gesteigerte Fähigkeit Topoisomerase I zu inhibieren aufweisen.<sup>18,19,20,21</sup>

So synthetisierten beispielweise Rahman *et al.* im Jahr 2008 erstmals verschiedene Ring-A-Analoga von Luotonin A und untersuchte sie hinsichtlich ihrer Zytotoxizität gegenüber verschiedenen Tumorzelllinien (HeLa, HCT-116, HL-60 und andere).<sup>19</sup>

Auch unsere Arbeitsgruppe beschäftigte sich in den vergangenen Jahren mit der Synthese Ring-A-modifizierter Luotonin A Derivate. Unter der Leitung von Haider konnten dabei anhand eines optimierten, zuvor von Zhou *et al.*<sup>22</sup> veröffentlichten Synthesekonzeptes 10- und 12-substituierte sowie 9,11-symmetrisch-disubstituierte Luotonin A Analoga in guter Ausbeute zugänglich gemacht werden.<sup>20</sup> Eine dazu komplementäre Route führte über die Adaption der von Dai *et al.*<sup>23</sup> zur Synthese des Camptothecin-ABCD-Ringsystems beschriebenen Strategie außerdem zu einer Serie von neuartigen 9- und 11-substituierten Derivaten.<sup>21,24</sup>

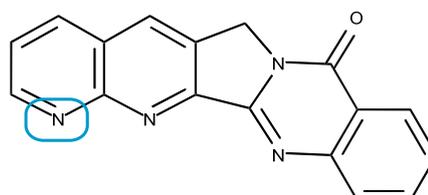
Erst kürzlich gelang es unserer Arbeitsgruppe auch, unter Anwendung der Mitsunobu-Reaktion als Schlüsselschritt einen Stickstoff-Heterozyklus als Ring-A-Strukturelement in die Leitverbindung einzubauen und die Substanzbibliothek so um ein Benzol-Pyridin-Bioisoster, 11-Aza-Luotonin A (siehe Abbildung 10) zu erweitern.<sup>25</sup>



11-Aza-Luotonin A

Abbildung 10

Eine ähnliche Verbindung, 12-Aza-Luotonin A (siehe Abbildung 11), wurde bereits 2006 von Lee *et al.* über einen anderen und relativ aufwändigeren Syntheseweg hergestellt und zeigte in diesen Untersuchungen eine hemmende Wirkung auf die Topoisomerase I und Zytotoxizität gegenüber mehreren ausgewählten Krebszelllinien.<sup>26</sup>

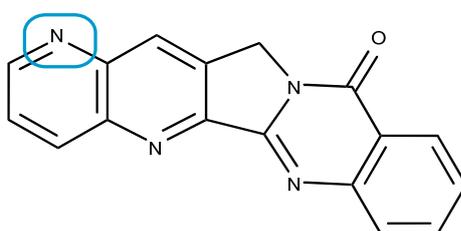


12-Aza-Luotonin A

Abbildung 11

## 1.5 Zielsetzung

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit sollte nun unter Anwendung des Bioisosterie-Konzepts ebenfalls ein Stickstoff-Heterozyklus (Pyridin) in die zytostatisch wirksame Leitstruktur Luotonin A eingeführt werden. Ziel war es vor allem das bislang in unserer Substanzbibliothek fehlende Benzol-Pyridin-Analogon mit einem Stickstoffatom in Position 9 (siehe Abbildung 12) zugänglich zu machen und im Rahmen eines Kooperationsprojektes hinsichtlich seiner Zytotoxizität zu überprüfen.



9-Aza-Luotonin A

Abbildung 12

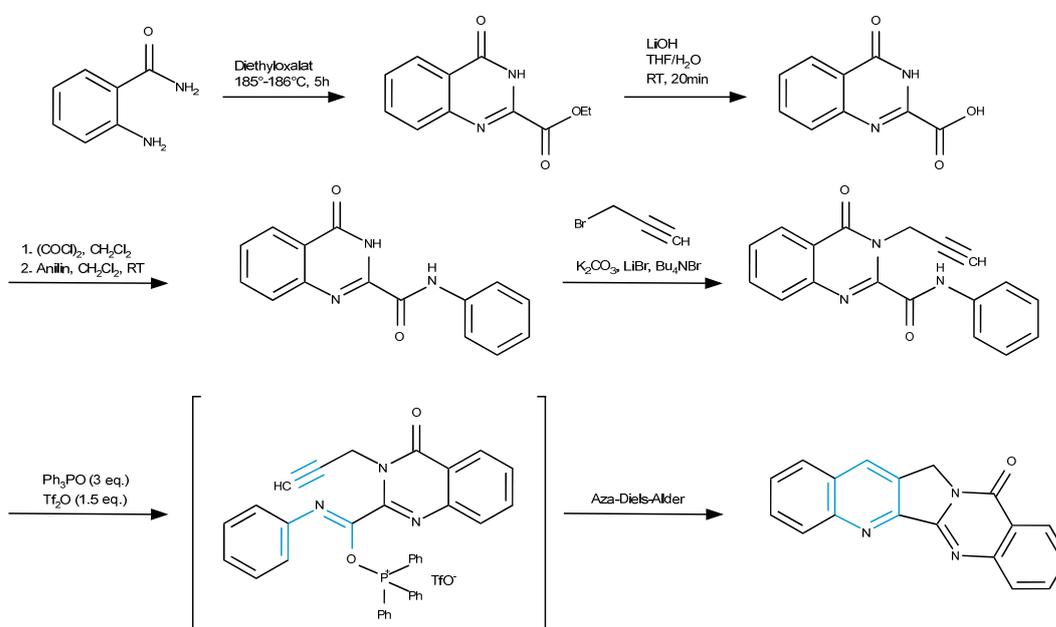
Auf Basis des Bioisosterie-Prinzips ist es durchaus denkbar, dass es sich bei der angestrebten Verbindung um einen potentiellen und selektiven Topoisomerase-I-Hemmstoff handelt, dessen Synthese im Hinblick auf den therapeutischen Bedarf an derartigen Zytostatika, durchaus erstrebenswert erscheint.

Für die Synthese dieses 9-Aza-Bioisosteren sollten zunächst bereits erprobte Synthesewege betreffend ihrer Eignung überprüft werden. Aufgrund der mäßigen Ausbeute im Rahmen der Synthese von 11-Aza-Luotonin A<sup>25</sup> war aber auch ein Bestreben hinsichtlich der Entwicklung neuer und effizienterer Syntheserouten vorhanden.

## 2 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Bei der Synthese von Luotonin A und seinen Derivaten kamen in der Vergangenheit bereits unterschiedlichste Strategien zum Einsatz. Die meisten dieser Syntheserouten schieden jedoch schon im Vorhinein als Möglichkeit zur Darstellung der von uns angestrebten Zielverbindung aus.

Zhou *et al.* beispielweise veröffentlichten 2006 einen Syntheseweg, der durch die Anwendung von Cycloadditions-Strategien in nur 5 Stufen und mit einer Gesamtausbeute von 47% sehr effizient zu Luotonin A führt. Dabei wird ausgehend von kommerziell erwerbbaarem Anthranilamid durch die Umsetzung mit Diethyloxalat zunächst ein Chinazolinoncarbonsäureester hergestellt. Nach anschließender Hydrolyse mit LiOH und Überführung in das Säurechlorid erhält man durch die Umsetzung mit einem Anilin ein stabiles Anilid. Dieses wird durch Propargylbromid alkyliert und in einem anschließenden finalen Schritt unter Anwesenheit von Bis(triphenyl)oxodiphosphonium-trifluormethansulfonat (Hendrickson-Reagens) als Katalysator durch eine intramolekulare Aza-Diels-Alder-Reaktion zu Luotonin A zyklisiert (Schema 2).<sup>22</sup>



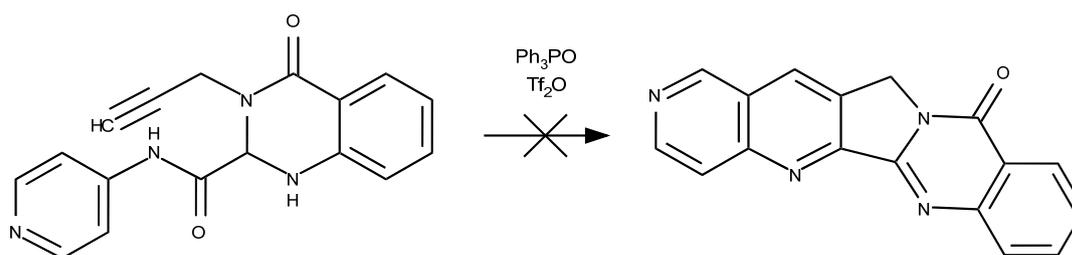
Schema 2: Synthese von Luotonin A nach Zhou *et al.*<sup>22</sup>

Unsere Arbeitsgruppe hatte jedoch beobachtet, dass es bei dieser Syntheseroute, vor allem bei der Hydrolyse zu der besonders decarboxylierungsempfindlichen Carbonsäure bzw. bei deren Umwandlung in das schwerlösliche Säurechlorid, gehäuft zu Schwierigkeiten kommt, wodurch ihre Anwendbarkeit stark limitiert ist.<sup>27</sup>

Diese Untersuchungen veranlassten unsere Arbeitsgruppe bereits in der Vergangenheit zu einer Optimierung des von Zhou publizierten Verfahrens. Es konnte gezeigt werden, dass unter Anwendung der Weinreb-Amidierung eine direkte Umsetzung des Chinazolinoncarbonsäureesters mit Trimethylaluminum-aktivierten Anilinen zu dem entsprechenden Anilid möglich ist. 1,2-Dichlorethan hat sich hierbei als Lösungsmittel bewährt.<sup>28</sup> Aufgrund der schlechten Löslichkeit einiger Anilinderivate wurde zudem bei der anschließenden Alkylierung auf die von Zhou *et al.* beschriebene Phasentransferkatalyse-Methode mit Tetrabutylammoniumbromid in einem Toluol/Wasser-Gemisch verzichtet und stattdessen Dimethylformamid in Gegenwart von Kaliumcarbonat für die Umsetzung der Edukte mit Propargylbromid verwendet.<sup>20</sup> Die Anwendung dieser Modifikationen auf das von Zhou *et al.* veröffentlichte Verfahren ermöglichte u.a. auch die Synthese von Derivaten mit basischem Substituenten in Position 10.<sup>28</sup>

Bei der Herstellung von 10- und 12-substituierten sowie 9,11-symmetrisch-disubstituierten Luotonin A Derivaten kam es durch diese alternative Variante ebenfalls zu einer deutlichen Verbesserung der Synthesergebnisse.<sup>27-29</sup> Lediglich beim Einsatz von *meta*-substituierten Aniliden resultiert wie erwartet ein Isomerengemisch aus 9- und 11-substituierten Analoga.<sup>27</sup>

Für die von uns angestrebte Zielstruktur musste dieser Syntheseweg jedoch bereits im Vorfeld ausgeschlossen werden, da die finale Cycloadditionsreaktion unter Verwendung des sonst sehr effektiven Hendrickson-Reagenz, wie schon von Haider *et al.*<sup>20</sup> beschrieben, mit einem Pyridin-Analogen nicht zum gewünschten Produkt führt (Schema 3).



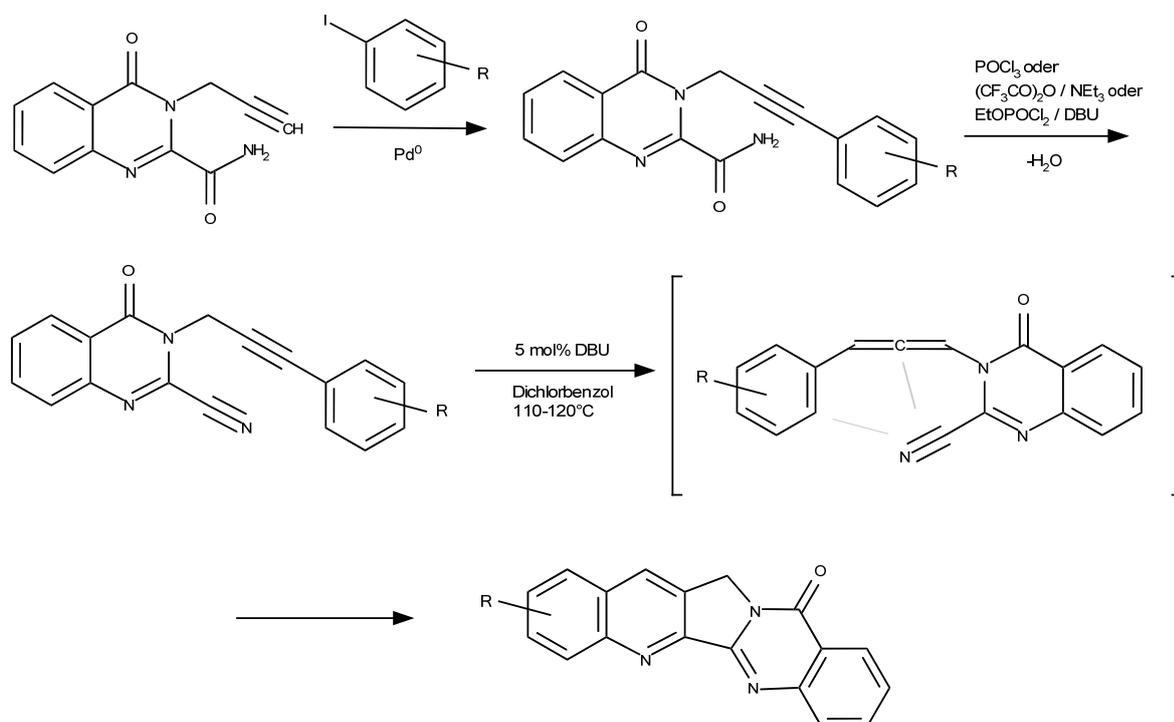
Schema 3: Fehlgeschlagene Cycloadditionsreaktion zu einem 10-Aza-Luotonin A<sup>20</sup>

Beim Versuch, auf diese Weise ein 10-Aza-Luotonin A Derivat herzustellen, zeigte sich bei einer DC-Kontrolle zwar eine schwache, intensiv blau fluoreszierende Bande, welche möglicher Weise auf Spuren des angestrebten 10-Aza-Luotonin hindeutet, jedoch konnten in der Reaktionsmischung vorwiegend nur unveränderte Ausgangssubstanzen wiedergefunden werden.<sup>20</sup>

Aus diesem Grund sollte nun eine komplementäre und in unsere Arbeitsgruppe ebenfalls bereits erprobte Route auf ihre Eignung für die Herstellung der von uns angestrebten Zielstruktur überprüft werden.

## 2.1 Untersuchungen zur Sonogashira-Kupplung

Wie eingangs bereits erwähnt, hat sich eine modifizierte Variante der von Dai *et al.* publizierten Cycloadditionsreaktion bei der regioselektiven Einführung von Substituenten an Position 9 und 11 bewährt.<sup>21,24</sup> Wie in Schema 4 ersichtlich, wird hierbei ausgehend von einem entsprechend substituierten Arylhalogenid und einem N<sub>3</sub>-Propargyl-substituierten Chinazolinoncarboxamid durch eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung (Sonogashira-Kupplung) das entsprechende N<sub>3</sub>-Arylpropargyl-substituierte Chinazolinoncarboxamid gebildet. Durch anschließende Amid-Dehydratisierung mit Phosphoroxychlorid, Trifluoressigsäureanhydrid oder Ethyldichlorphosphat wird die Amid-Funktion in ein Nitril übergeführt.



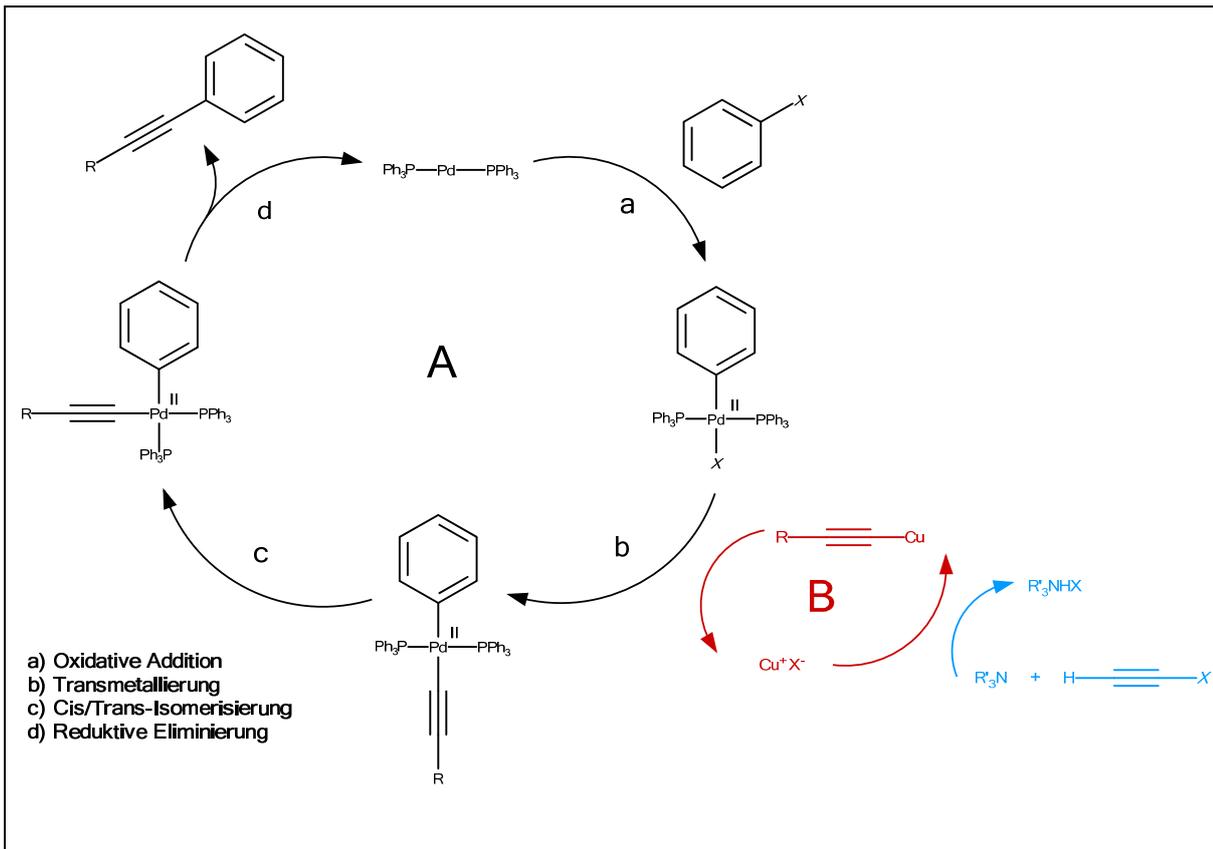
Schema 4: Luotonin-A-Synthese nach Haider *et al.*<sup>21</sup>

Finaler Reaktionsschritt ist auch hier eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion. Das Dien stellt hierbei wahrscheinlich ein als Intermediat gebildetes Aryllallen dar, während die Nitrilfunktion als Dienophil fungiert. Die Acetylen-Allen-Umlagerung kann basisch und besonders effizient durch DBU (1,8-Diazabicyclo[5.4.0.]undec-7-en] katalysiert werden und ermöglicht so die simultane Ringbildung der Ringe B und C in einer akzeptablen Reaktionszeit.<sup>21,23</sup> 1,2-Dichlorbenzen hat sich hierbei als Lösungsmittel bewährt.<sup>24</sup>

Die Sonogashira-Kupplung wurde erstmals 1975 von ihrem Entdecker und Namensgeber Sonogashira *et al.* veröffentlicht. Es handelt sich dabei wie schon erwähnt um eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung zwischen einem Arylhalogenid und einem endständigen Alkin. Neben Palladium in seiner nullwertigen Form sind aber auch Kupfer(I)salze, wie z.B. CuI oder CuCN, für die Katalyse der Reaktion notwendig.<sup>30</sup>

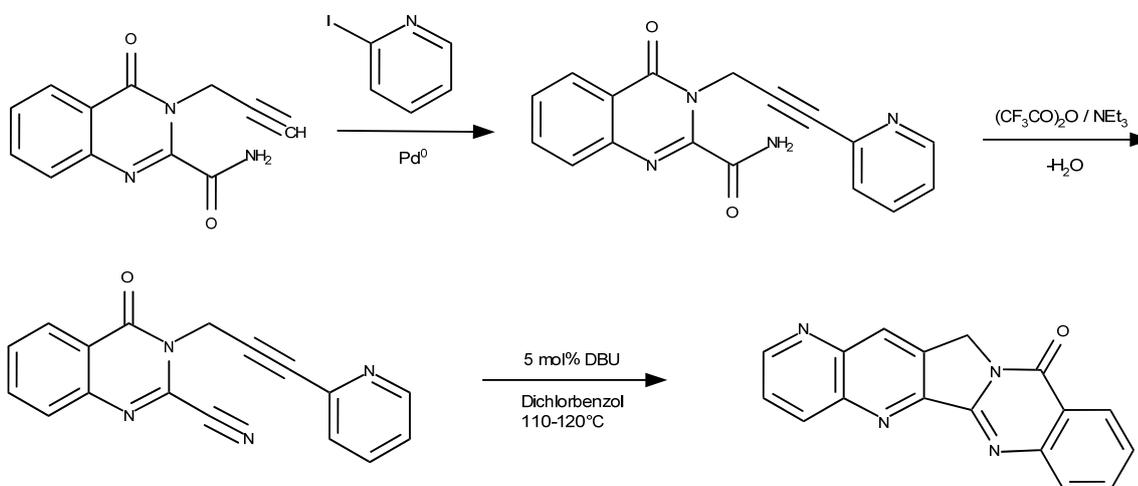
Wie Schema 5 verdeutlicht, werden im Verlauf der Kupplung zwei katalytische Zyklen durchlaufen. Durch oxidative Addition des Arylhalogenids an den nullwertigen Palladium-Katalysator wird anfänglich zunächst ein zweiwertiger Palladium-Komplex gebildet. Gleichzeitig kommt es zur Deprotonierung des endständigen Alkins in Gegenwart eines basischen Amins und damit zur Bildung des organischen Kupferacetylids, welches seinen organischen Rest bei der anschließenden „Transmetallierung“ auf den zweiwertigen Palladium-Komplex überträgt. Im Zuge dieser Reaktion erfolgt auch die Regeneration der Kupfer(I)verbindung.

In Folge einer Cis/Trans-Isomerisierung wird das angestrebte Produkt letztendlich durch reduktive Eliminierung freigesetzt, wodurch der Palladium-Katalysator wieder in seine nullwertige Form zurückgeführt wird. Aufgrund der Oxidationsempfindlichkeit des Katalysators sollte die Sonogashira-Reaktion unter Inertgas-Atmosphäre erfolgen.<sup>30</sup>



Schema 5

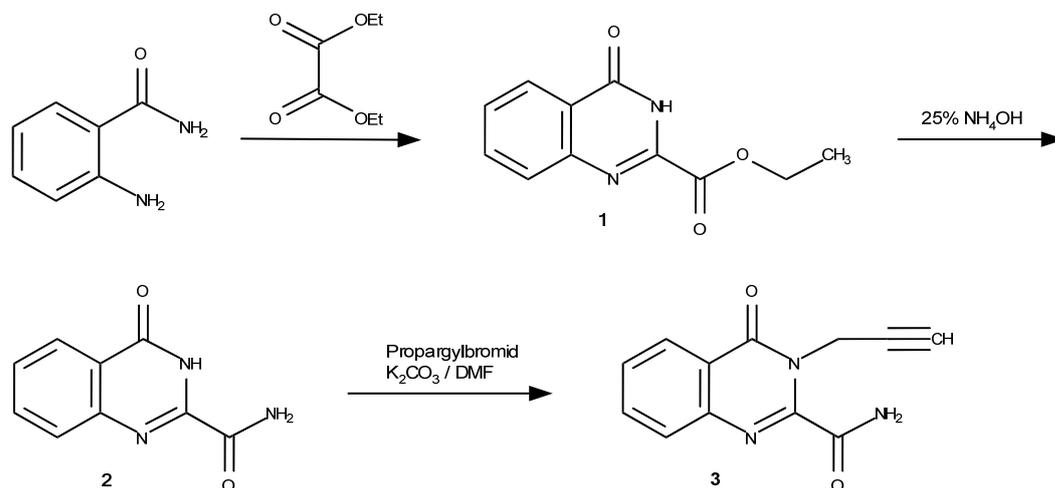
Das Konzept der Sonogashira-Reaktion mit anschließender Amid-Dehydratisierung und Cycloadditionsreaktion sollte nun auch für die Synthese des von uns angestrebten 9-Aza-Luotonin A Anwendung finden und durch den Einsatz eines 2-Iodpyridins als Kupplungspartner für das *N*-Propargyl-substituierte Chinazolinoncarboxamid zur gewünschten Zielstruktur führen (Schema 6).



Schema 6: Geplantes Konzept zur Synthese von 9-Aza-Luotonin A *via* Sonogashira-Reaktion

Um die geplante Synthese zu realisieren, galt es zunächst das literaturbekannte N-Propargyl-substituierte Chinazolinoncarboxamid (**3**) herzustellen. 2-Iodpyridin hingegen kann kommerziell erworben werden.

Die Herstellung dieses Chinazolinoncarboxamids sollte über nachfolgende in unserer Arbeitsgruppe bereits erprobte, dreistufige Syntheseroute erfolgen (Schema 7).



Schema 7: Herstellung des N-Propargyl-substituierten Chinazolinoncarboxamids

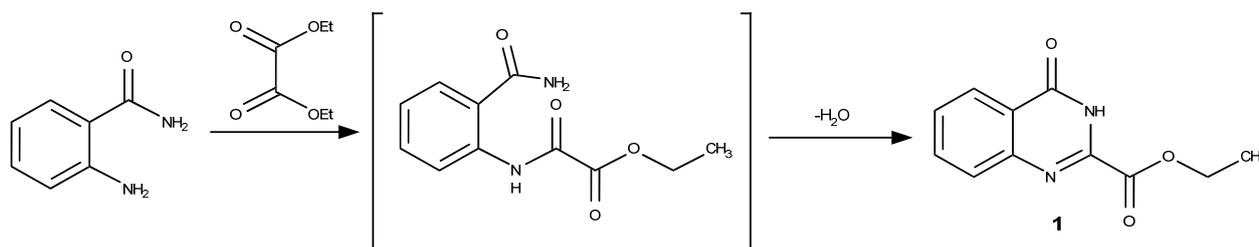
Durch Kondensation von Anthranilsäureamid mit Diethyloxalat sollte zunächst der Chinazolinoncarbonsäureester<sup>31</sup> (**1**) hergestellt werden. Weiters war geplant diesen Carbonsäureester durch anschließende Ammonolyse in das entsprechende Carbonsäureamid<sup>32</sup> (**2**) überzuführen und im darauffolgenden letzten Schritt durch N-Alkylierung in Position 3 mit Propargylbromid das erforderliche, endständige Alkin einzuführen um schließlich zum entsprechenden 3-Propargylamid<sup>33</sup> (**3**) zu gelangen.

### 2.1.1 Synthese der Ausgangsverbindungen

#### Ethyl 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat

Die Herstellung des literaturbekannten Ethyl 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**1**) erfolgt in Anlehnung an die von Zhou *et al.* beschriebene Syntheseroute durch Kondensation von Anthranilamid mit Diethyloxalat (Schema 8).<sup>22</sup> Zur Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion werden stündliche DC-Kontrollen durchgeführt. Die in der Literatur angegebene Reaktionszeit von 5 Stunden musste jedoch trotz Katalyse mit konzentrierter Essigsäure um ein Vielfaches überschritten werden, um eine weitestgehende Umsetzung der Edukte zu

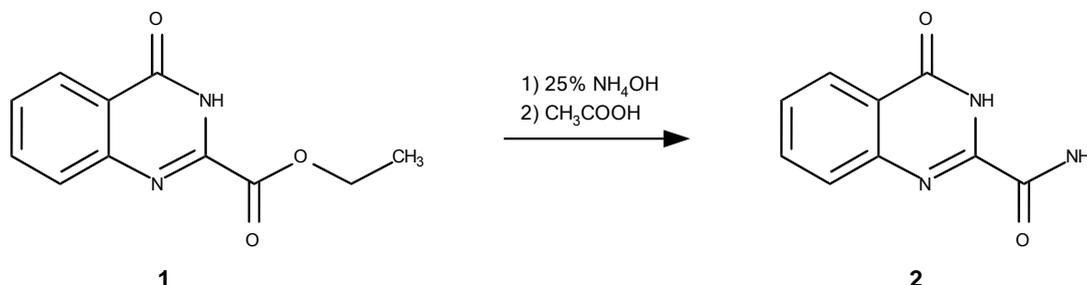
gewährleisten. Für die Reinigung des so erhaltenen Produktes wird der entstandene Niederschlag einfach mit Ethanol und Diethylether gewaschen.



Schema 8

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

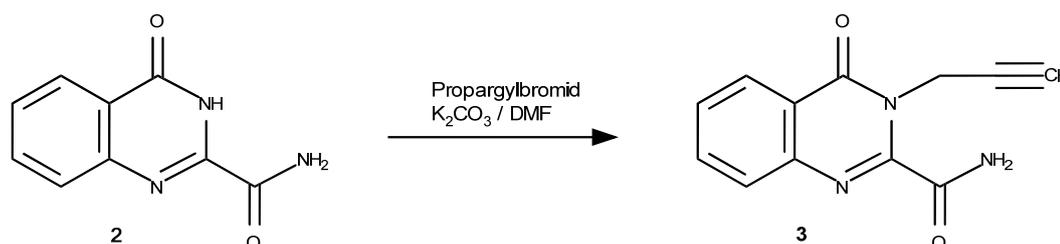
Die Umsetzung des Carbonsäureesters (1) in das entsprechende 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2) erfolgte, abweichend von der in unserer Arbeitsgruppe bereits erprobten Syntheseroute, unter den kürzlich von Váradi *et al.*<sup>32</sup> beschriebenen Reaktionsbedingungen. Entsprechend dieser Literatur wird die Ammonolyse des Esters durch Einbringen in 25% wässrigen Ammoniak und anschließendem Erhitzen bei 70°C auf sehr einfache und effiziente Weise durchgeführt. Durch Verwendung des wässrigen Ammoniaks anstelle der bislang verwendeten methanolischen Ammoniak-Lösung konnte die Reaktionszeit von 16 h auf nur 2 h verkürzt werden und somit eine attraktivere Variante des bislang angewandten Syntheseweges gefunden werden. Auch die anschließende Isolierung des Reaktionsprodukts erwies sich als wenig aufwändig. Durch Ansäuern der Reaktionsmischung mit Essigsäure kann das angestrebte Carbonsäureamid (2) ausgefällt und im Anschluss durch Abnutschen und Waschen mit kaltem Ethanol in praktisch quantitativer Ausbeute und guter Reinheit isoliert werden (Schema 9).



Schema 9

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

Beim Einbringen des für die Sonogashira-Kupplung benötigten Alkin-Bausteins wurden die literaturbekannten Bedingungen angewandt.<sup>33</sup> Wie Schema 10 zeigt, führt die Umsetzung des Carbonsäureamids (2) mit Propargylbromid durch N-Alkylierung in Position 3 in hoher Ausbeute zum gewünschten 4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3). Da für eine derartige  $S_N2$ -Reaktion ein aprotisch-polares Lösungsmittel von Vorteil ist, wird die Reaktion in Dimethylformamid (DMF) durchgeführt. Zudem weist DMF auch passable Lösungseigenschaften für das Ausgangsmaterial auf. Nach Zugabe des Alkylierungsmittels wird zum Auffangen des entstehenden Bromwasserstoffs außerdem Kaliumcarbonat zugesetzt. Die Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion erfolgt nach 24 h Rühren bei Raumtemperatur mittels DC-Kontrolle. Für die Isolierung des Reaktionsproduktes wird die Reaktionsmischung mit kaltem Wasser verdünnt und der gebildete Niederschlag abgenutscht.



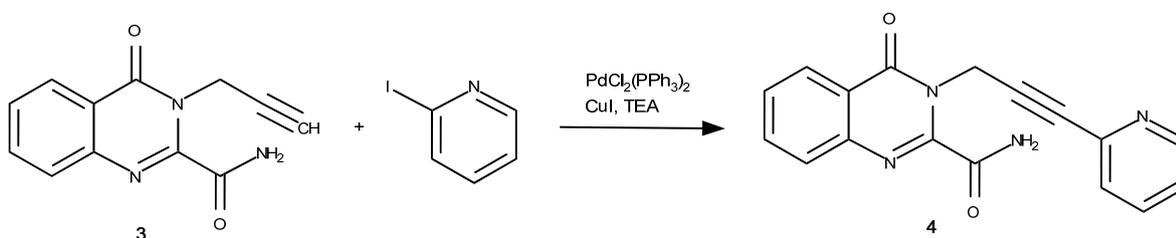
Schema 10

#### 2.1.2 Sonogashira-Kupplung mit 2-Iodpyridin

Nachdem die Ausgangsverbindung 4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3) hergestellt war, sollte im nächsten Schritt die Sonogashira-Kupplung mit dem kommerziell erhältlichen 2-Iodpyridin erfolgen. Hierfür wurde das Chinazolinoncarbonsäureamid analog zu dem in Lit.<sup>21</sup> beschriebenen Verfahren in trockenem Dichlormethan gelöst. Anschließend erfolgte unter Inertgas-Atmosphäre die Zugabe der restlichen Reaktanden. Neben 2-Iodpyridin als Kupplungspartner wurden wie eingangs erwähnt Palladium (in Form von  $Pd(Ph_3)_2Cl_2$ ) und Kupfer(I)iodid als Katalysatoren zugesetzt. Triethylamin als Base und Butylhydroxytoluol als Antioxidans wurden ebenfalls zum Reaktionsansatz hinzugefügt. Nach erfolgter Zugabe aller Reaktanden wurde erneut mit Argon gespült und bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch verfärbte sich –

charakteristisch für eine Sonogashira-Reaktion - bereits in den ersten Minuten braun bis gräulich-schwarz. Nach 2 Stunden wurde die Reaktion aufgrund einer DC-Kontrolle, welche keine Spuren von Ausgangsubstanzen mehr erkennen ließ, beendet.

Anschließend erfolgte die Vorreinigung des erhaltenen Rohprodukts über eine kurze Kieselgelsäule. Zur Entfernung von Triethylamin-Resten wurde das Eluat zwischen Dichlormethan und verdünnter Salzsäure verteilt und erneut über eine Kieselgelsäule gereinigt. Durch Eindampfen der entsprechenden Fraktionen am Rotationsverdampfer und anschließender Umkristallisation wurde schließlich das angestrebte Produkt 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**) mit einer Ausbeute von 50% erhalten (Schema 11).



Schema 11

Diese Ausbeute entspricht ungefähr jener bereits in der Vergangenheit durch unsere Arbeitsgruppe an ähnlichen Bausteinen durchgeführten Sonogashira-Kupplungen, weshalb das Ergebnis als durchaus zufriedenstellend bezeichnet werden kann.<sup>21</sup>

Spektroskopische Untersuchungen sollten im Anschluss den Erfolg der Kupplungsreaktion und somit die angestrebte Zielstruktur bestätigen.

Im  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum des isolierten Produktes ist die gelungene Einführung des Pyridins einerseits durch die Abwesenheit des dem Acetylen-H zugeordneten Triplets bei 2.44 ppm ersichtlich, andererseits zeigen sich auch eindeutige Signale der H-Atome des Pyridinelements. Das 3'-H des Pyridinrings ist bei 7.5 ppm als Dublett erkennbar, das 5'-H liefert ein dublettisches Dublett bei 7.38 ppm. Das Signal des 4'-H zeigt sich als Multiplett im Bereich von 7.83–7.74 ppm. Ein nicht aufgelöstes, weiteres Multiplett ist bei 8.55–8.50 ppm ersichtlich und kann dem 6'-H des Pyridinrings zugeordnet werden. Auch alle anderen Signale konnten durch COSY- und NOESY-Experimente sicher zugeordnet werden (Tafeln 7,8) und sind in Abbildung 13 ersichtlich.

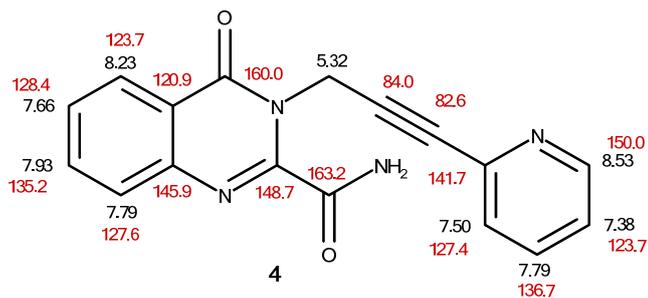


Abbildung 13: NMR-Signale von Verbindung **4**:  $^1\text{H}$ -NMR (schwarz) und  $^{13}\text{C}$ -NMR (rot)

Das  $^{13}\text{C}$ -NMR Spektrum, welches mittels APT Verfahren aufgenommen wurde, zeigt die 4 aromatischen CH-Kohlenstoffatome des eingeführten Pyridinrestes durch vier Signale mit positiver Intensität bei 150.0, 136.7, 127.4 sowie 123.7 ppm. Ein negatives Signal bei 141.7 ppm kann dem quartären Pyridin-2'-C zugeordnet werden. Auch hier erfolgten zur Absicherung der Zuordnung HSQC- (Heteronuclear Single Quantum Coherence) und HMBC- (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) Experimente (s. Tafeln 4,5 und Abbildung 13).

Im Massenspektrum ist der erwartete Molekülionenpeak bei  $m/z = 304$  ersichtlich, den Basispeak bildet ein Signal bei  $m/z = 158$ .

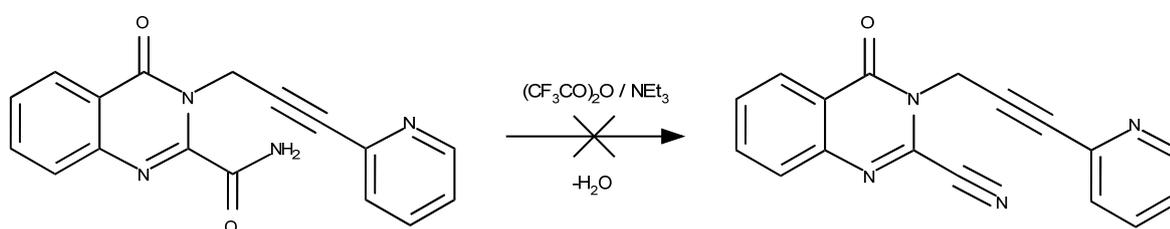
### 2.1.3 Versuche zur Dehydratisierung der Carboxamid-Funktion

Nachdem der Pyridylpropargyl-Rest nachweislich erfolgreich eingeführt werden konnte (s. Abschnitt 2.1.2), galt es nun die Amid-Funktion unter Abspaltung von Wasser in das als Dienophil notwendige Nitril überzuführen. Als Dehydratisierungsreagens sollte hierbei Trifluoressigsäure zum Einsatz kommen, da sich dieses im Rahmen ähnlicher Reaktionssequenzen, die von unserer Arbeitsgruppe durchgeführt worden waren, durch eine hohe Effizienz auszeichnete und sich als am zuverlässigsten erwiesen hatte.<sup>24</sup> Außerdem erfordert diese Dehydratisierungsreaktion gemäß Lit.<sup>24</sup> den Einsatz einer geeigneten Hilfsbase weshalb auch Triethylamin zum Reaktionsansatz hinzugefügt wurde. Da es sich bei dieser Dehydratisierung um eine deutlich exotherme Reaktion handelt, erfolgte ihre Durchführung außerdem unter Eiskühlung.

Bei einer dünnschichtchromatographischen Kontrolle nach 3 h Rühren war zwar das Verschwinden des Eduktes (**4**) ersichtlich, jedoch kein eindeutiges Hauptprodukt mit der zu erwartenden geringeren Polarität. Aus diesem Grund wurde der Versuch

unternommen, zumindest eines der entstandenen Produkte zu isolieren. Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgemisch zunächst mit Hilfe von Eiswasser verdünnt und mit Dichlormethan extrahiert. Nach Eindampfen der gesammelten organischen Phasen wurde eine säulenchromatographische Trennung versucht.

Letztendlich resultierte aber nur ein komplexes Reaktionsgemisch aus dem kein definiertes Produkt isoliert werden konnte. Auch eine Alkalisierung der ursprünglich erhaltenen wässrigen Phase und anschließende Extraktion mit Dichlormethan lieferten nicht das angestrebte 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (Schema 12).



Schema 12: Fehlgeschlagene Amid-Dehydratisierung

Da mehrere Dehydratisierungsversuche am zuvor hergestellten *N*-Pyridylpropargyl-substituierten Chinazolinoncarboxamid (**4**) scheiterten konnte auch nicht mit der anschließenden finalen Cycloadditionsreaktion fortgefahren werden.

Die Sonogashira-Reaktion an Verbindung **3** mit anschließender Amid-Dehydratisierung und Zyklisierung eignet sich somit nicht zur Darstellung der von uns angestrebten Zielverbindung 9-Aza-Luotonin A.

Auch Vorversuche zur Sonogashira-Kupplung eines Propargyl-substituierten Chinazolinoncarbonitrils mit 4-Iodpyridin waren in der Vergangenheit fehlgeschlagen,<sup>34</sup> was sich mit den Ergebnissen der Serie 9- und 11-substituierter, carbozyklischer Derivate deckt.<sup>21</sup>

Für die Herstellung des als Schlüssel-Zwischenprodukt befundenen 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril musste somit eine andere Syntheseroute entwickelt werden.

## 2.2 Untersuchungen zur Mitsunobu-Reaktion

Da in unserer Arbeitsgruppe mit Hilfe der Mitsunobu-Alkylierung ausgehend vom literaturbekannten 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril erst kürzlich ein alternativer und praktikabler Zugang zu einem entsprechenden 4-Pyridylpropargyl-Derivat realisiert worden war, erschien dieser Reaktionstyp auch im Falle des von uns angestrebten 2-Pyridylpropargyl-Analogons als erfolgsversprechend.<sup>25</sup>

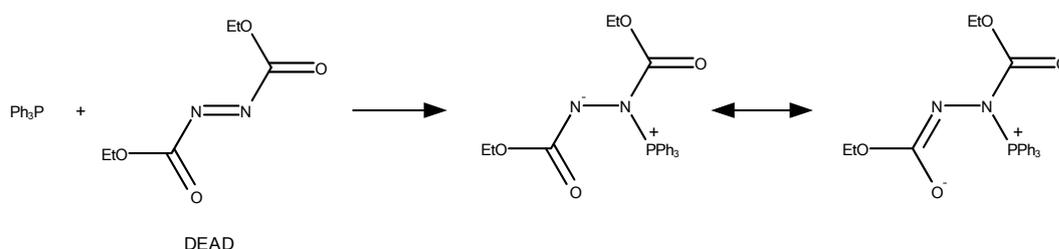
Die von Diesenreiter<sup>25</sup> durchgeführte Synthese zeigte, dass die Einführung der gesamten Pyridylpropargyl-Seitenkette durch N-Alkylierung der aziden NH-Gruppierung in Position 3 des Chinazolinoncarbonitrils unter Anwendung der Reaktionsbedingungen einer Mitsunobu-Reaktion in einem einzigen Syntheseschritt möglich ist. Als Alkylierungsmittel wird bei diesem Reaktionstyp anstelle eines entsprechenden Pyridylpropargylhalogenids, welches höchstwahrscheinlich unter Quaternisierung des Pyridinstickstoffs vorrangig mit sich selbst interagieren würde, ein Pyridylpropargylalkohol verwendet. Dieser Baustein ist bereits literaturbekannt und über eine einfache Sonogashira-Kupplung (vgl. Abschnitt 2.1) herstellbar. Auch für das entsprechende 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril kann in der Literatur eine Darstellungsmöglichkeit gefunden werden. Zudem erarbeitete auch unsere Arbeitsgruppe erst neulich eine alternative und geeignete Herstellungsstrategie für diese Verbindung.<sup>21,24</sup>

Die Mitsunobu Reaktion, welche 1967 erstmals von Oyo Mitsunobu publiziert wurde, ermöglicht unter Anwesenheit der Reagenzien Triphenylphosphin und Diethylazodicarboxylat (DEAD) oder Diisopropylazodicarboxylat (DIAD) die Überführung eines primären oder sekundären Alkohols in eine Vielzahl von funktionellen Gruppen und damit die Synthese von Substanzen verschiedenster Verbindungsklassen.<sup>35</sup> Unter den Reaktionsbedingungen einer Mitsunobu-Reaktion kommt es durch das oxidierende Azo-Reagens DEAD zu einer Oxidation von Triphenylphosphin zum entsprechenden Phosphinoxid. Die Hydroxylgruppe des Alkohols wird dabei unter milden Reaktionsbedingungen in eine potente Abgangsgruppe übergeführt und kann durch ein saures Pronukleophil ersetzt werden.<sup>36</sup>

Der genaue Reaktionsmechanismus der Mitsunobu-Reaktion ist bereits mehrfach untersucht worden und es werden vier Reaktionsschritte angenommen,<sup>37</sup> die im

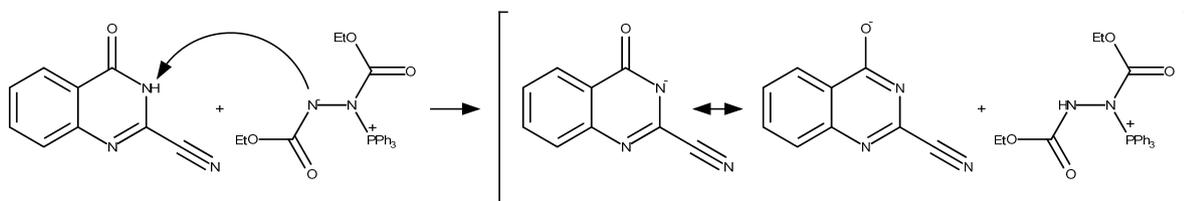
Folgenden am Beispiel der nun erstmals versuchten Reaktion des Chinazolinon-carbonitrils mit einem 2-Pyridylpropargylalkohol beschrieben werden sollen.

Im einleitenden Schritt der Mitsunobu-Reaktion reagieren zunächst das Triphenylphosphin und DEAD zu einem zwitterionischen Zwischenprodukt, einem sogenannten Betain.



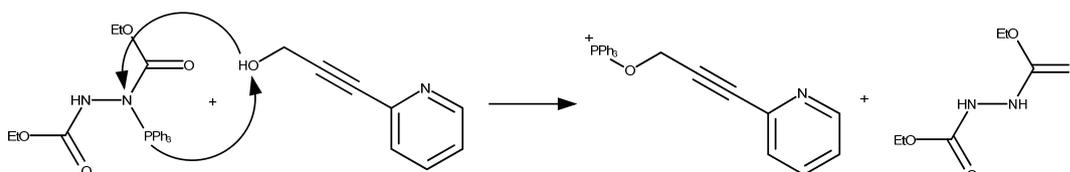
Schema 13: Betainbildung

Das Betain deprotoniert im darauffolgenden Schritt das saure Pronukleophil und liefert so das anionische und später angreifende Nukleophil. Da das Chinazolinoncarbonitril in unserem Fall eine tautomeriefähige Struktur aufweist, kann sich die negative Ladung des Nukleophils auch zum Sauerstoff hin verlagern. Infolgedessen ist auch mit einem Angriff am Sauerstoffatom und einem zusätzlichen O-Alkylierungsprodukt zu rechnen.



Schema 14: Bildung des Nukleophils

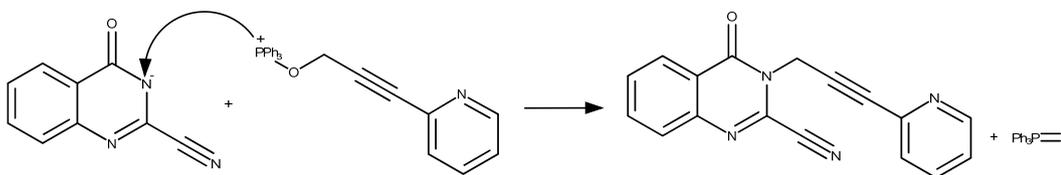
Im weiteren Verlauf bindet der 2-Pyridylpropargylalkohol an das Triphenylphosphoniumion und ein Alkohol-Phosphonium-Ion wird gebildet.



Schema 15: Bildung des Alkohol-Triphenylphosphonium-Ions

Im Rahmen einer  $S_N2$ -Reaktion greift nun das zuvor gebildete Nukleophil das Alkohol-Triphenylphosphoniumion an. Unter Abspaltung von Triphosphinoxid

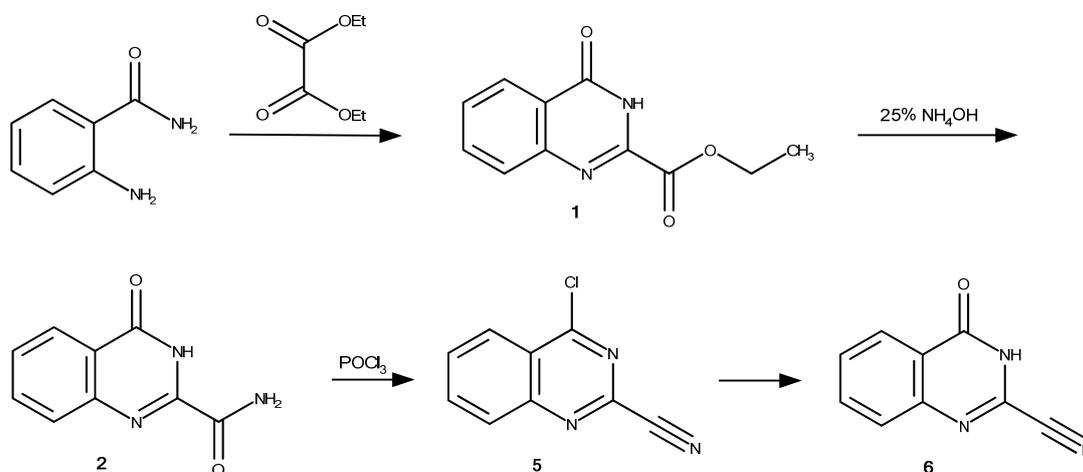
entsteht schließlich das Alkylierungsprodukt und im Falle der von uns eingesetzten Edukte wünschenswerter Weise das als Schlüssel-Zwischenprodukt befundene 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (Schema 16). Als weiteres Nebenprodukt dieser Reaktion entsteht zudem Diethyl-Hydrazin-1,2-dicarboxylat (siehe Schema 15).



Schema 16:  $S_N2$ -Reaktion

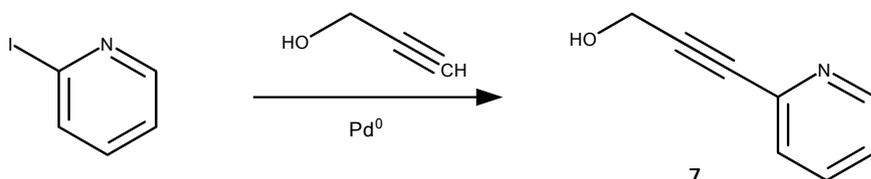
Um die geplante Syntheseroute auch dementsprechend realisieren zu können, galt es nun zunächst, die Ausgangsverbindung 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril und den 2-Pyridylpropargylalkohol herzustellen.

Die mehrstufige Synthese des erforderlichen Oxonitrils erfolgte bis zur Stufe des Carbonsäureamids (**2**) in identischer Weise wie in Abschnitt 2.1 beschrieben. Das Carbonsäureamid sollte anschließend durch Erhitzen mit Phosphoroxychlorid zum Chlornitril<sup>38</sup> (**5**) dehydratisiert werden, um die im weiteren Verlauf der Synthesekette als Dienophil notwendige Nitril-Funktion einzuführen. Im Anschluss war geplant, durch selektive Hydrolyse der Chlorfunktion wieder ein Laktam-artiges Chinazolinon zu bilden, wodurch das angestrebte 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril<sup>28</sup> (**6**) entstehen sollte (Schema 17).



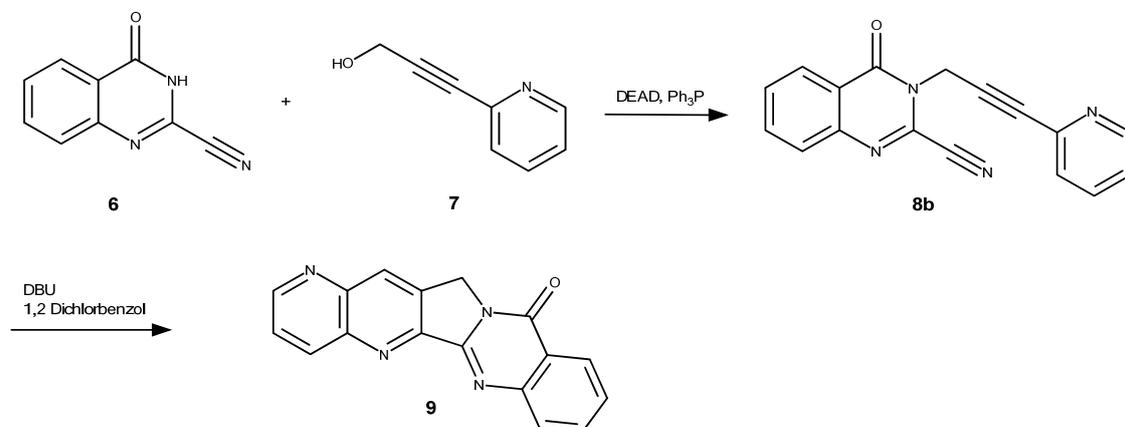
Schema 17

Die Herstellung des 2-Pyridylpropargylalkohols<sup>39</sup> (**7**) sollte nach dem Prinzip einer Palladium-katalysierten Sonogashira-Kupplung ausgehend von kommerziell erwerbbar 2-Iodpyridin und Propargylalkohol nach einer bekannten Vorschrift erfolgen (Schema 18).



Schema 18

Unter Anwendung der Mitsunobu Reaktion sollten diese beiden Vorstufen in der Folge zusammengeführt werden, wodurch eine Alkylierung nach oben beschriebenen Mechanismus zum Schlüssel-Zwischenprodukt 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril zu erwarten war. Eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion sollte letztendlich die angestrebte Zielverbindung 9-Aza-Luotonin A zugänglich machen (Schema 19).



Schema 19

## 2.2.1 Synthese der Ausgangsverbindungen

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

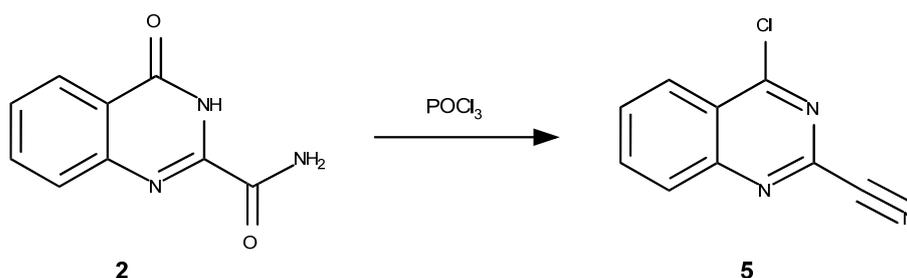
Siehe Abschnitt 2.1.1

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

Siehe Abschnitt 2.1.1

#### 4-Chlorchinazolin-2-carbonitril (5)

Die Dehydratisierung des wie in Abschnitt 2.1.1 beschrieben hergestellten Carbonsäureamids (2) in das entsprechende und im weiteren Verlauf notwendige Nitril wurde gemäß einer Arbeitsvorschrift aus der Patentliteratur<sup>38</sup> durch Erhitzen mit Phosphoroxychlorid durchgeführt, wobei gleichzeitig und unvermeidbar auch die Laktamartige-Struktur in das entsprechende 4-Chlorchinazolin übergeführt wird (Schema 20). Bei der Reaktion nicht verbrauchtes Phosphoroxychlorid muss im Anschluss durch gründliche Vakuumdestillation entfernt werden, da es sonst bei der darauffolgenden Zugabe von Eis zu örtlichen Überhitzungen kommen kann, was die Ausbeute verschlechtern kann. Das so erhaltene thermisch und hydrolytisch nicht sehr stabile Rohprodukt 4-Chlorchinazolin-2-carbonitril (5) wurde rasch abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Anschluss mit Hilfe einer kurzen Kieselgelsäule gereinigt.



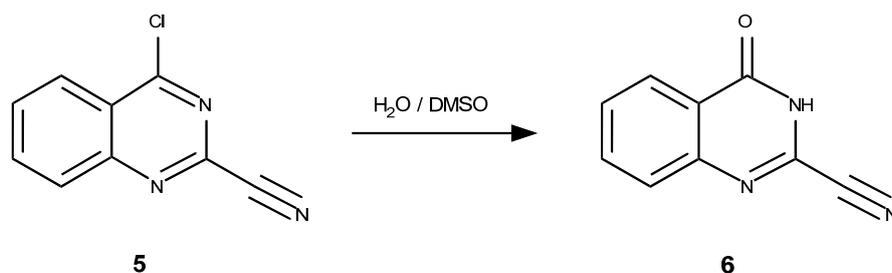
Schema 20

#### 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (6)

Nachdem es bei der Dehydratisierung des Amids und der Einführung der Nitril-Funktion - wie bereits angesprochen - auch zu einer unerwünschten und unvermeidbaren Umwandlung der Oxogruppierung in eine Chlorfunktion gekommen ist, sollte diese im nächsten Schritt mittels Hydrolyse unter sehr milden Bedingungen wieder rückgängig gemacht werden, ohne dabei die Nitril-Funktion zu schädigen (Schema 21).<sup>34</sup>

Hierfür wurde das Chlornitril in wässrigem DMSO (10% H<sub>2</sub>O) erwärmt und die Vollständigkeit der Reaktion wiederum mittels DC-Kontrolle überprüft. Das Produkt wurde anschließend durch Verdünnen mit Wasser ausgefällt und konnte danach abfiltriert werden. Allenfalls noch im Filtrat vorhandenes Produkt wurde durch

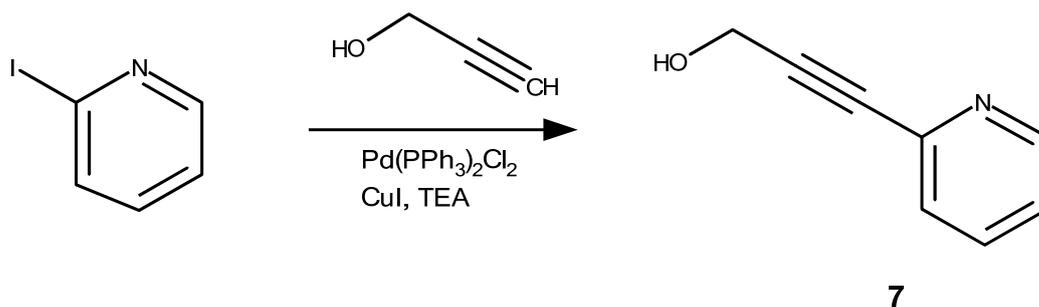
mehrmaliges Ausschütteln mit Ethylacetat gewonnen. Die Reinigung des so erhaltenen Rohprodukts erfolgte durch einfache Filtrations- und Lösungsvorgänge, wie in Lit.<sup>25</sup> beschrieben (s. Experimenteller Teil). Auf diese Weise konnte eine Ausbeute von 79% an gereinigtem Oxonitril erzielt werden. Um die Stabilität des Produktes zu gewährleisten, wurde es bis zur weiteren Verarbeitung bei tiefen Temperaturen gelagert.



Schema 21

### 3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-ol (7)

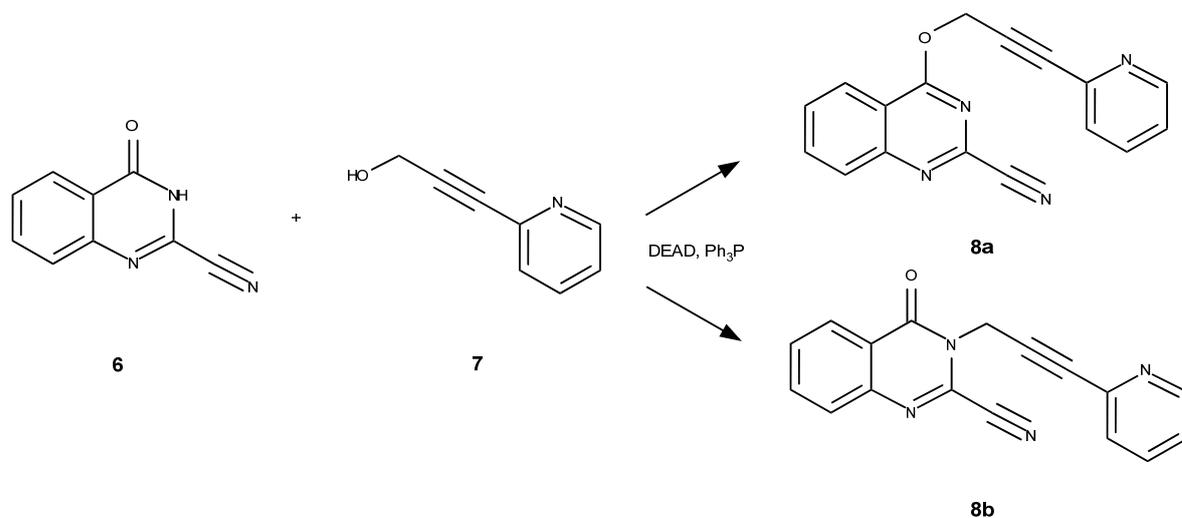
Um den für die Mitsunobu-Reaktion als Alkylierungsreagens notwendigen 2-Pyridinpropargylalkohol zu erhalten, wurde 2-Iodpyridin mit Propargylalkohol im Rahmen einer Sonogashira-Reaktion gekuppelt (Schema 22). In Anlehnung an die Diplomarbeit von Diesenreiter<sup>25</sup> und das von Wessig und Pick beschriebene Verfahren<sup>39</sup> wurde hierbei Triethylamin nicht nur als Base, sondern auch als Lösungsmittel verwendet, da unter Anwendung dieser Modifikation höhere Ausbeuten erzielt werden konnten. Auf das Antioxidationsmittel wurde deshalb verzichtet. 2-Iodpyridin und 2-Propin-1-ol wurden folglich in trockenem Triethylamin gelöst und durch Zugabe von Kupfer(I)iodid und einem Palladium-Katalysator unter Inertgasatmosphäre zur Reaktion gebracht. Die Vollständigkeit der Reaktion konnte dünnschichtchromatographisch bereits nach 2.5 h festgestellt werden. Die Aufarbeitung und Reinigung des so erhaltenen Rohproduktes erfolgte mit Hilfe einer Kieselgelsäule (s. Experimenteller Teil).



Schema 22

### 2.2.2 Mitsunobu-Reaktion des Chinazolinoncarbonitrils

Nächster und entscheidender Schritt war es nun das zuvor synthetisierte Chinazolinoncarbonitril (**6**) und den 2-Pyridylpropargylalkohol (**7**) unter den Reaktionsbedingungen einer Mitsunobu-Reaktion zusammenzuführen und so durch Alkylierung das als Schlüsselverbindung erachtete 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**8b**) herzustellen (Schema 23).



Schema 23

Gemäß dem von Roopan *et al.*<sup>40</sup> beschriebenen Verfahren zur Alkylierung von (u.a.) Chinazolin-4(3*H*)-on mit verschiedenen Chinolinylmethylalkoholen wurde als Lösungsmittel für die Durchführung der geplanten Reaktion trockenes Tetrahydrofuran gewählt und unter Argonatmosphäre gearbeitet. Die beiden Bausteine **6** und **7** wurden im Lösungsmittel vorgelegt und die Reaktion schließlich durch langsames Zutropfen von Diethylazodicarboxylat (DEAD) gestartet, was – ersichtlich an einer sofort einsetzenden Dunkelfärbung der Reaktionslösung – auch unmittelbar vonstattenging.

Die Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion erfolgte wie üblich mittels DC-Kontrolle und zeigte nach 4 h Rühren bei Raumtemperatur kein Ausgangsmaterial mehr an, weshalb mit der Aufarbeitung begonnen werden konnte.

Wie erwartet zeigte das nach extraktiver Aufarbeitung erhaltene ölige Rohprodukt in einer dünnschichtchromatographischen Überprüfung 2 neue Verbindungen, bei denen es sich offenbar um das gewünschte N-Alkylierungsprodukt und das durch die Tautomeriefähigkeit der Struktur bedingte, isomere O-Alkylierungsprodukt handelt. Diese Vermutung bestätigte sich bereits durch das  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum des Rohgemisches, in dem die für die  $\text{OCH}_2$ - und  $\text{NCH}_2$ -Teilstrukturen typischen Signale als Singulets bei 5.51 bzw. 5.33 ppm ersichtlich waren. Aus den Integralen der erwähnten Signale ließ sich ein Isomerenverhältnis für **8a:8b** von 1:1.59 berechnen. Wie erhofft, dominierte somit das angestrebte N-Alkylierungsprodukt im Rohgemisch, wenn auch nur in geringem Ausmaß.

Die chromatographische Reinigung des Rohgemisches erfolgte zunächst mit einem Gemisch aus Dichlormethan und Ethylacetat als Elutionsmittel über eine Kieselgelsäule. Da die beiden Isomeren dabei jedoch ein ähnliches Laufverhalten aufweisen musste für die vollständige Trennung der solcherart vorgereinigten Mischfraktionen anschließend mit einer Mitteldrucksäule (MPLC) weitergearbeitet werden. Hierbei konnte das angestrebte N-Alkylierungsprodukt schließlich mit einer Ausbeute von 55% isoliert werden.

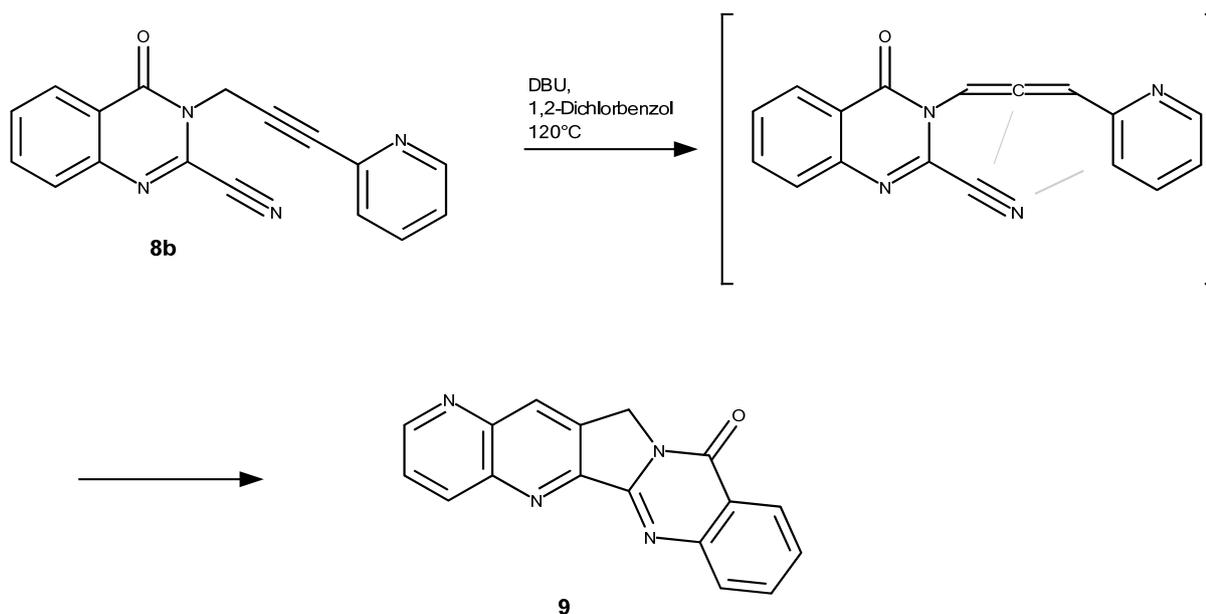
Analysenreine Kristalle beider isomerer Verbindungen konnten durch Umkristallisation aus Ethanol erhalten werden. Im Falle von **8a** war dies sogar zwingend erforderlich um den bei der Mitsunobu-Reaktion als Nebenprodukt gebildeten Hydrazindicarbonsäureester zu entfernen, der selbst bei der MPLC nur unzureichend abgetrennt werden kann.

Beide Produkte wurden im Anschluss mittels spektroskopischer Methoden charakterisiert (siehe Anhang: Tafeln 9-23).

Das  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **8b** zeigt ein Multiplett des 4'-H-Atoms des Pyridinrings und des Chinazolin-6-H im Bereich von 7.71-7.62 ppm, und ein solches bei 7.30-7.22 ppm für das Pyridin-5'-H. Desweiteren ist je ein Dublett bei 8.57 ppm und bei 7.48 ppm ersichtlich, wobei ersteres dem 6'-H-Atom und zweiteres dem 3'-H-Atom zugeordnet werden kann. Die  $\text{NCH}_2$ -Funktion wird durch ein Singulett bei 5.53 ppm angezeigt. Das 5-H liefert ein dublettisches Dublett bei 8.36 ppm, das 7-H ein



sich dabei um eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion bei der die Nitril-Funktion als Dienophil und ein als Intermediat gebildetes Aryllallen als Dien fungiert. Die Reaktionsbedingungen wurden gemäß den Erfahrungswerten, die unsere Arbeitsgruppe im Rahmen der Synthese ähnlicher Verbindungen gemacht hatte, gewählt.<sup>21</sup> Das Edukt **8b** wurde dementsprechend mit 1,2-Dichlorbenzol vermergt und anschließend mit 5 mol-% DBU versetzt. Dieses Reaktionsgemisch wurde schließlich 24 h unter Inertgasatmosphäre auf 120°C erhitzt. In der Tat konnte unter diesen Bedingungen eine vollständige Umsetzung zum angestrebten 9-Aza-Luotonin A erzielt werden. Durch Verdünnung der erkalteten Reaktionslösung mit *tert*-Butylmethylether scheidet sich das Reaktionsprodukt in Form eines kristallinen Niederschlages aus der Reaktionslösung ab und kann abfiltriert werden. Man erhält so die angestrebte Verbindung 9-Aza-Luotonin A (**9**) in DC-reiner Form und praktisch quantitativer Ausbeute (siehe Schema 24). Analysenreine Kristalle können durch Umkristallisation aus Ethanol gewonnen werden.



Schema 24

Bei der so erhaltenen Zielverbindung [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-8(6*H*)-on bzw. 9-Aza-Luotonin A (**9**) handelt es sich um einen nahezu farblosen und elektrostatischen Feststoff, dessen erfolgreiche Synthese im Anschluss durch spektroskopische Untersuchungen zweifelsfrei sichergestellt werden konnte.

Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum zeigt sich das Signal der  $\text{CH}_2$ -Funktionalität nun durch ein Singulett bei 5.44 ppm. Alle anderen Signale wurden durch COSY und NOESY Experimente eindeutig zugewiesen und sind in Form ihrer chemischen Verschiebung in Abbildung 15 ersichtlich.

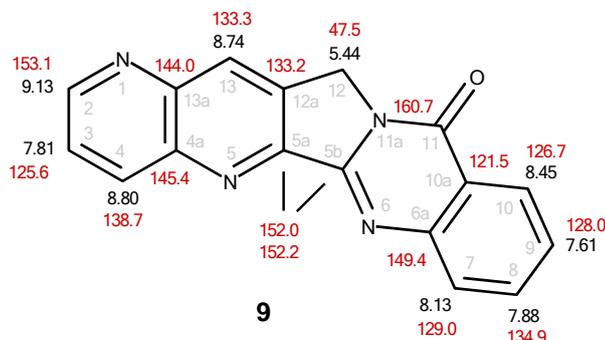


Abbildung 15:  $^1\text{H}$ -NMR- (schwarz) und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signallagen (rot) der Zielstruktur 9-Aza-Luotonin A (Nummerierung der Ringatome nach IUPAC in hellgrau)

Im  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum des Pentacyclus **9** ist die  $\text{CH}_2$ -Gruppe nun bei 47.5 ppm ersichtlich, im Gegensatz zum Edukt **8b**, bei dem das Signal bei 35.8 ppm erscheint (s.o.). Die Zuordnung und Absicherung aller in Abbildung 15 ersichtlichen C-Signale erfolgte ebenfalls durch HSQC- und HMBC-Experimente.

Das Massenspektrum zeigt den erwarteten Molekülionenpeak wie erwartet bei  $m/z = 286$ . Die Tendenz zur Fragmentierung ist zudem gering. Auch mittels HRMS konnte die Summenformel eindeutig bestätigt werden.

Mit Hilfe der Mitsunobu Reaktion gelang es somit, einen Stickstoff-Heterozyklus in Ring A der zytostatisch wirksamen Leitstruktur Luotonin A einzubauen. Da jedoch vor allem bei der Synthese des als Schlüssel-Zwischenprodukt erachteten N-Pyridyl-propargyl-substituierten Oxo-Chinazolincarbonitrils (**8b**) durch die konkurrierende O-Alkylierung eine nur mäßige Ausbeute (55%) erzielt werden konnte, erschien weiterhin die Entwicklung effizienterer Syntheserouten von Interesse.

## 2.3 Untersuchungen zur Herstellung von 9-Aza-Luotonin A ausgehend von einem Dithiazol-Baustein

Nach einer Literaturrecherche wurde schließlich ein weiterer potentieller Zugang zur Schlüsselverbindung **7** und somit ein möglicher alternativer Syntheseweg für den von uns angestrebten Pentacyclus **9** ins Auge gefasst.

Hyi-Seung Lee *et al.*<sup>41</sup> gelang 1998 die Synthese von entsprechenden *N*-3-Alkyl-substituierten Chinazolinoncarbonitrilen ausgehend von einem Dithiazol-Derivat, welches unter Verwendung des sogenannten „Appel-Salzes“ leicht aus einem Anthranilsäureester zugänglich ist. Chemisch gesehen handelt es sich bei diesem Reagens (Appel-Salz) um ein 4,5-Dichlor-1,2,3-dithiazoliumchlorid (siehe Abbildung 16), welches erstmal 1985 von seinem Namensgeber Rolf Appel synthetisiert und beschrieben wurde.<sup>42</sup>

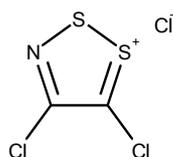
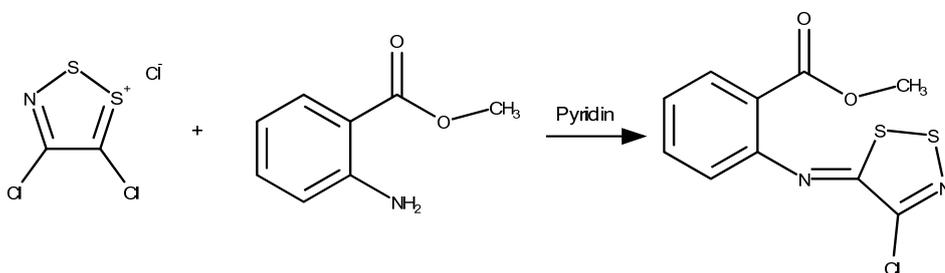


Abbildung 16: „Appel-Salz“

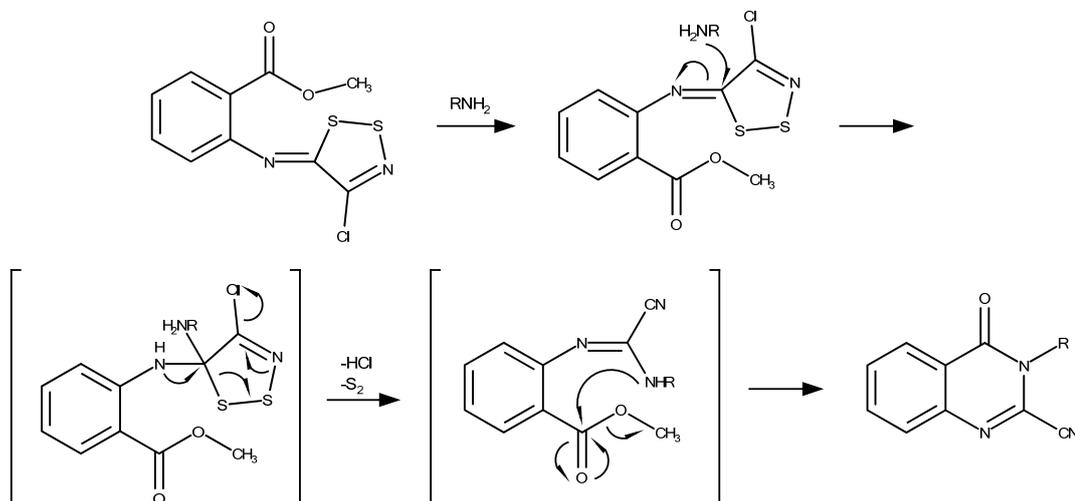
Gemäß den Veröffentlichungen von Lee<sup>41</sup> und Appel<sup>42</sup> wird dieses Appel-Salz durch Reaktion mit einem Anthranilsäuremethylester in Anwesenheit von Pyridin in einen *N*-(4-Chlor-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-yliden)anthranilsäuremethylester, einer wichtigen Vorstufe der von den genannten Autoren beschriebenen Syntheserouten, übergeführt (Schema 25).



Schema 25

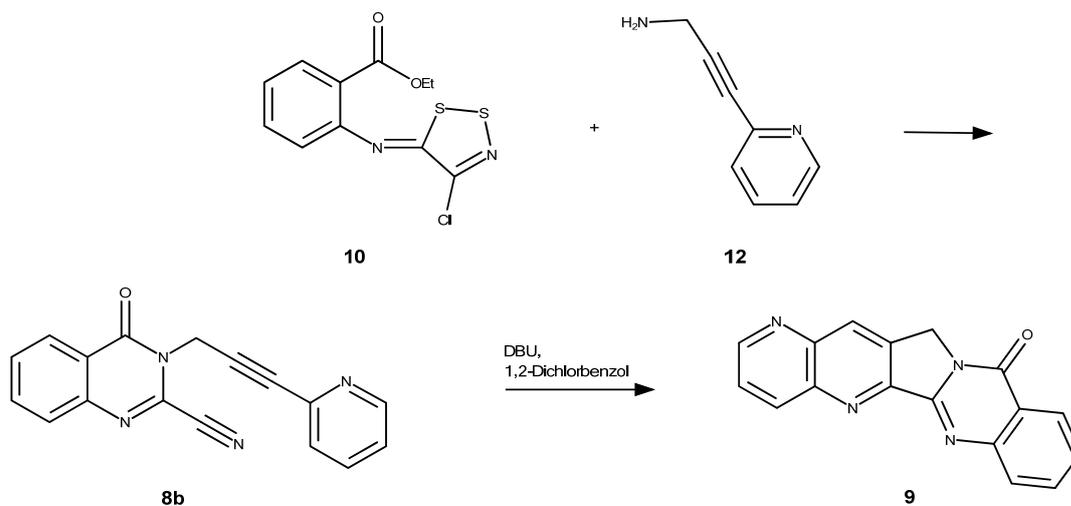
Wird dieses Zwischenprodukt nun mit primären Alkylaminen umgesetzt, so kommt es zunächst zu einem nukleophilen Angriff am C-5 des Dithiazols und zur Bildung eines Intermediates, welches im weiteren Verlauf unter Abspaltung von Chlorwasserstoff

und Schwefel zu einer Cyanoamidin-artigen Verbindung weiterreagiert. Durch einen weiteren  $S_N2$ -Angriff der als Nukleophil fungierenden Aminogruppe an das Ester-Carboxyl-C-Atom erfolgt aber relativ rasch eine intramolekulare Zyklisierung zum Chinazolinoncarbonitril, welches nun den entsprechenden Alkylrest am Stickstoffatom in Position 3 trägt (siehe Schema 25).<sup>41</sup>



Schema 26: Reaktionsmechanismus nach Lee<sup>41</sup>

Da es sich bei der von uns angestrebten und als Schlüssel-Zwischenprodukt erachteten Verbindung (**8b**) wie bereits erwähnt um ein eben solches Chinazolinoncarbonitril mit einer Pyridylpropargyl-Seitenkette am Stickstoff in Position 3 handelt, erschien dieser Syntheseweg durch Einsatz eines Pyridylpropargylamins als Nukleophil durchaus zielführend. Geplantes Konzept war es dementsprechend, das *N*-3-Pyridylpropargyl-substituierte Chinazolinoncarbonitril (**8b**) ausgehend von einem *N*-(4-Chlor-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-yliden)anthranilsäureethylester durch Umsetzung mit einem 2-Pyridylpropargylamin in nur einem Schritt herzustellen (siehe Schema 27).



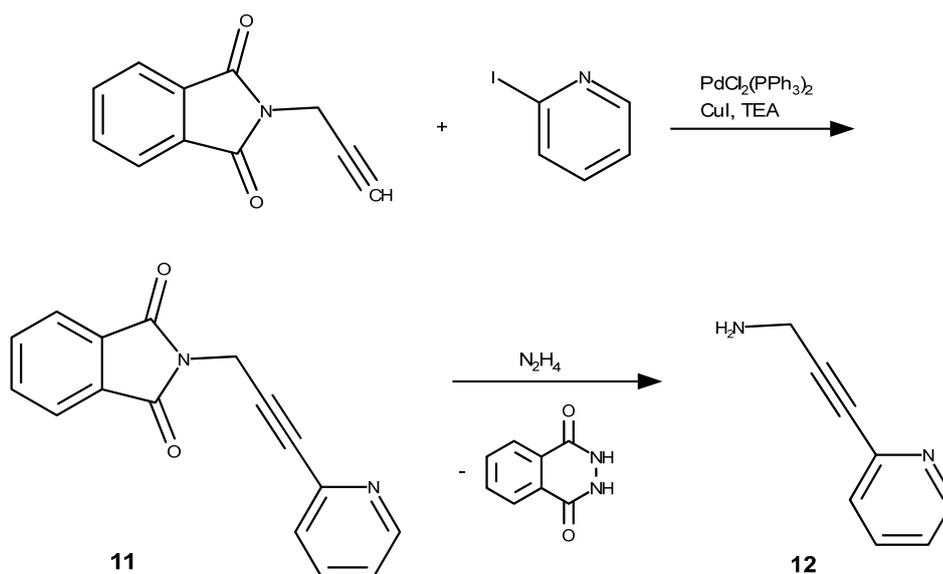
Schema 27: Geplantes Konzept zur Synthese von 9-Aza-Luotonin-A via Dithiazol

Auch hierbei sollte im letzten Schritt der geplanten Synthesekette durch die bereits bewährte intramolekulare Cycloadditionsreaktion die Zielverbindung 9-Aza-Luotonin A zugänglich gemacht werden (siehe Schema 27).

Um die geplante Syntheseroute dementsprechend realisieren zu können, musste zunächst die Synthese der Ausgangsverbindungen erfolgen.

Die Herstellung des Ethyl 2-[[*(5Z)*-4-Chlor-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-yliden]anthranilats<sup>41,42</sup> (**10**) gelingt in nur einem Schritt ausgehend von den kommerziell erwerbbaaren Reaktanden Anthranilsäureethylester und 4,5-Dichloro-1,2,3-dithiazolium-chlorid (Appel-Salz) in Anwesenheit von Pyridin als Katalysator (Schema 25).

Der andere Synthesebaustein 3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-amin (**12**) sollte über eine zweistufige Synthese erhalten werden. Im ersten Schritt sollte durch eine Palladium-katalysierte Sonogashira-Kupplung von *N*-Propargylphthalimid mit 2-Iodpyridin ein 2-[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-1,3-dion<sup>43</sup> (**11**) hergestellt werden. Anschließend war es geplant durch Entfernen der Phthalimid-Schutzgruppe das entsprechende, literaturbekannte primäre Amin 3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-amin<sup>43</sup> (**12**) zu erhalten.

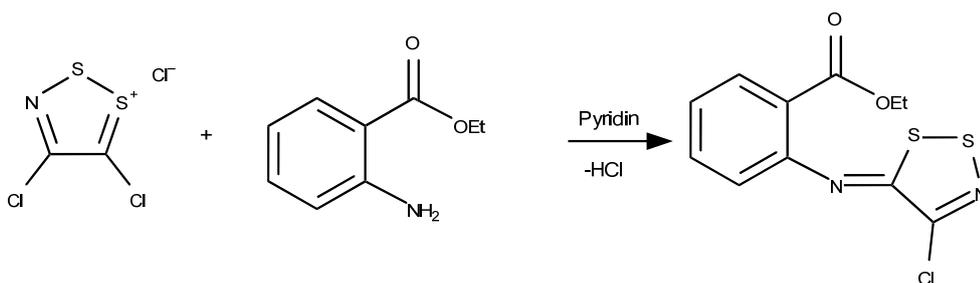


Schema 28: Synthese des 2-Pyridinylpropargylamins nach Russo *et al.*<sup>43</sup>

### 2.3.1 Synthese der Ausgangsverbindungen

#### Ethyl 2-[[*(5Z)*-4-Chlor-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-yliden] anthranilat (10)

Der *N*-(4-Chlor-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-yliden)anthranilsäureethylester (**10**) konnte gemäß Lit.<sup>41,42</sup> durch Reaktion des Appel-Salzes mit Anthranilsäureethylester in Anwesenheit von Pyridin hergestellt werden (Schema 29). Das Ethylanthranilat wurde hierfür in trockenem Dichlormethan gelöst und mit 4,5-Dichlor-1,2,3-dithiazoliumchlorid (Appel-Salz) versetzt, wodurch eine grünliche Suspension entstand, welche 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt wurde. Um die bei der Reaktion abgespaltene HCl zu neutralisieren, wurden 2 Äquivalente Pyridin zur Reaktionsmischung hinzugefügt und nochmals 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion mittels DC-Kontrolle wurde die Reaktionsmischung filtriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Die Reinigung des so entstandenen Rohprodukts erfolgte über eine Kieselgelsäule. Durch Eindampfen der entsprechenden Fraktionen wurde schließlich das Produkt **10** in Form eines orangefarbenen Öls in nahezu quantitativer Ausbeute (97%) erhalten.

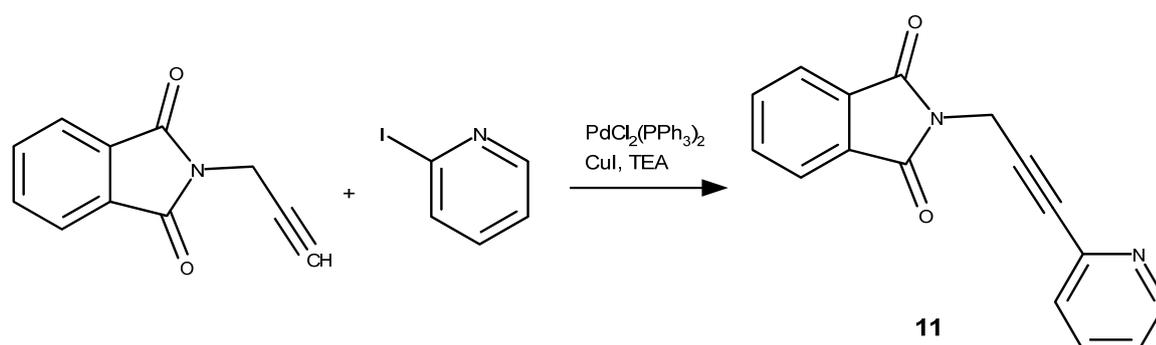


Schema 29

### 2-[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-2,3-dihydro-1H-isoindol-1,3-dion (11)

Die Synthese von 2-[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-2,3-dihydro-1H-isoindol-1,3-dion (**11**) erfolgte gemäß dem von Russo *et al.*<sup>43</sup> publizierten Verfahren durch eine Palladium-katalysierte Kreuzkupplung ausgehend von kommerziell erwerblichem *N*-Propargylphthalimid und 2-Iodpyridin (siehe Schema 30).

Zu diesem Zweck wurde eine Lösung von *N*-Propargylphthalimid in DMF und Triethylamin unter Argonatmosphäre mit 2-Iodpyridin als Kupplungspartner und dem Palladium-Komplex (Pd(Ph<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) und Kupfer(I)iodid als Katalysatoren zur Reaktion gebracht. Nach dreistündigem Rühren bei Raumtemperatur zeigte eine DC-Kontrolle die vollständige Umsetzung an. Nach Abdampfen des Triethylamins am Rotationsverdampfer wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser verdünnt. Dadurch scheidet sich das Reaktionsprodukt in Form eines beige Niederschlages aus der braunen Reaktionslösung ab und kann einfach abfiltriert werden.

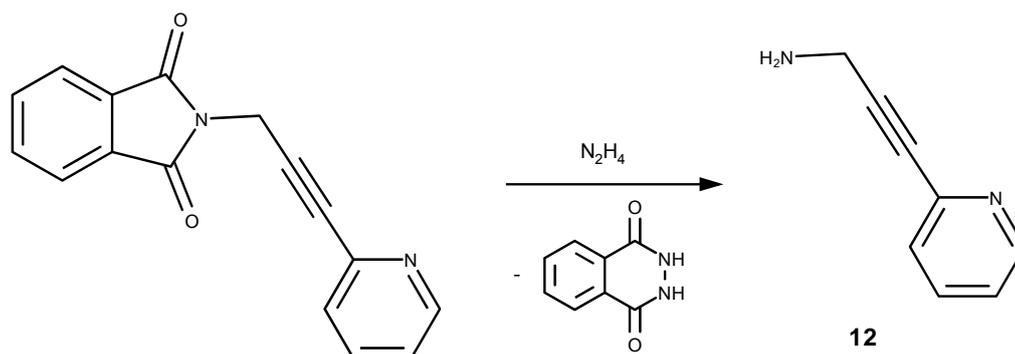


Schema 30

### 3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-amin (12)

Um ausgehend von **11** zum primären 2-Pyridylpropargylamin (**12**) zu gelangen war es im nächsten Schritt notwendig, die Phthaloyl-Schutzgruppe abzuspalten. Dies

gelingt gemäß Lit.<sup>43</sup> unter relativ milden Reaktionsbedingungen durch einstündiges Rückflusserhitzen von **11** in einer ethanolischen Hydrazin-Lösung (siehe Schema 31). Aus dem auf 0°C abgekühlten Reaktionsgemisch scheidet sich das entstandene Phthalazindion ab und wird durch Filtration entfernt. Das Filtrat wird unter vermindertem Druck eingedampft, nach säulenchromatographischer Reinigung erhält man das primäre Amin **12** in einer Ausbeute von 61% (Lit.<sup>43</sup>: 63%).

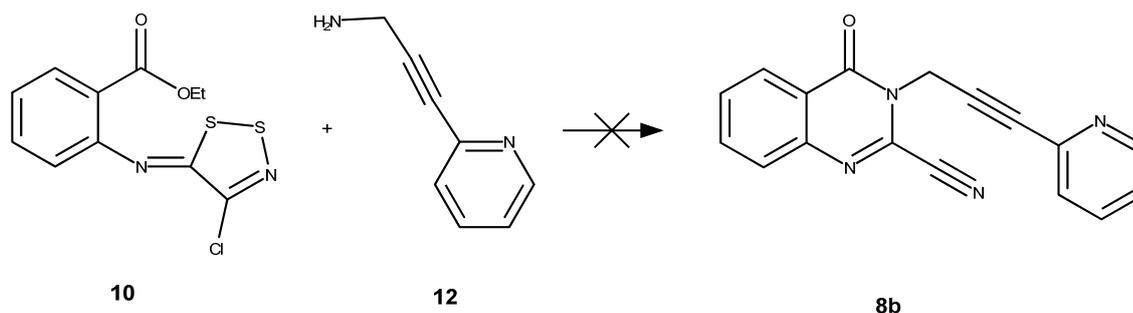


Schema 31

### 2.3.2 Versuche zur Synthese des Chinazolinoncarbonitrils durch Reaktion des Dithiazols mit dem Pyridinylpropargylamin

Im entscheidenden Schritt dieser Synthesekette sollten nun **10** und **12** unter den von Hyi-Seung Lee<sup>41</sup> beschriebenen Bedingungen zur Reaktion gebracht werden um die für die Synthese von 9-Aza-Luotonin essentielle Schlüsselverbindung 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**8b**) auf dieser alternativen Route zugänglich zu machen (Schema 32). Analog zu den genannten Literaturangaben wurde hierfür eine Lösung von **10** in DMF mit Triethylamin und dem 2-Pyridylpropargylamin (**12**) versetzt. Dieses Reaktionsgemisch wurde mehrere Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei der Fortschritt der Reaktion durch regelmäßige DC-Kontrollen überprüft wurde. Nachdem jedoch nach 40 Stunden Reaktionszeit noch immer deutliche Spuren des Ausgangsmaterials ersichtlich waren, wurde die Reaktion an dieser Stelle abgebrochen. Es resultierte letztendlich ein komplexes Reaktionsgemisch, das mittels einer Kieselgelsäule aufgetrennt wurde. Dadurch konnten schließlich 21% Edukt (**10**) rückgewonnen und geringere Mengen einer zunächst nicht identifizierten Verbindung isoliert werden. Letztere wurde nach Umkristallisation aus Toluol/Petrolether durch spektroskopische Untersuchungen sorgfältig charakterisiert und in ihrer Struktur geklärt.

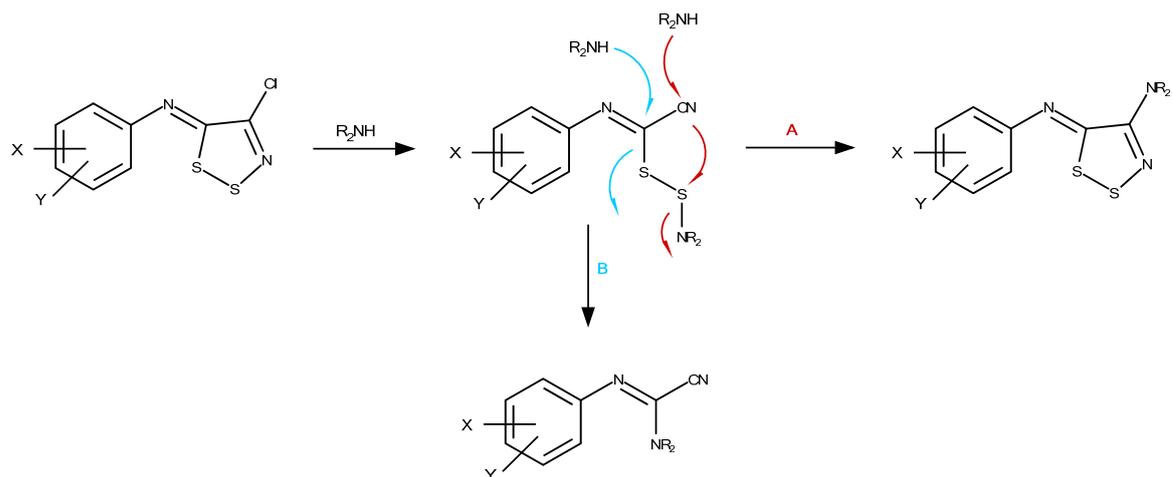
Da das Massenspektrum (Tafel 32) der unbekanntes Verbindung keinen Peak bei  $m/z = 286$  aufweist, konnte zunächst ausgeschlossen werden, dass es sich bei dem erhaltenen Produkt um die angestrebte Zielverbindung (**8b**) handelt. Das von Lee veröffentlichte Verfahren für die Synthese von N-3-Alkyl-substituierten Chinazolinoncarbonitrilen eignet sich somit definitiv nicht zur Herstellung der für uns wichtigen Vorstufe von 9-Aza-Luotonin A (Schema 32).



Schema 32: Gescheiterte Versuche zur Synthese des Chinazolinoncarbonitrils nach Lee et al

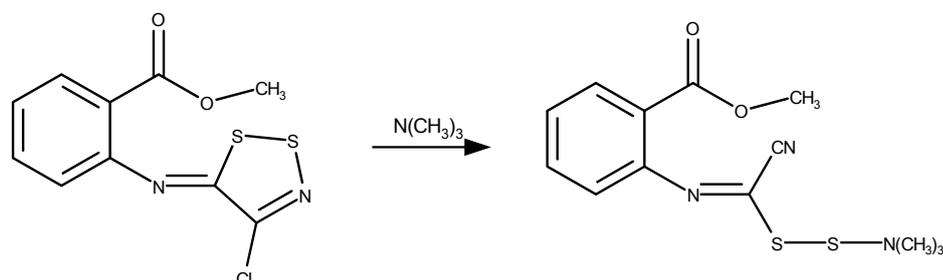
Eine Charakterisierung der unbekanntes Struktur erschien aber dennoch von Interesse, weshalb durch eine erneute Literaturrecherche andere mögliche Produkte dieses Syntheseweges mit den entsprechenden von uns eingesetzten Edukten auffindig gemacht werden sollten.

Hyunil Lee *et al.*<sup>44</sup> beispielsweise beschreiben in ihrer Publikation die Reaktion von sekundären und sterisch sperrigeren Dialkylaminen (Diethyl-, Di-N-propyl- und Di-N-butylamin) mit N-Aryl-4-chlor-5H-1,2,3-dithiazolen und deren Reaktionsmechanismus. Im Gegensatz zu der von Hyi-Seung Lee<sup>41</sup> veröffentlichten Synthese kommt es dabei durch eine nukleophile Addition des Amins (z.B. Diethylamin) an das C-Atom der Nitrilfunktion zu einer Ringöffnung des Dithiazols und zu einer Abspaltung des Chlor-Atoms. Anschließend wird durch Rezyklisierung ein 5-(Arylimino)-4-(dialkylamino)-5H-1,2,3-dithiazol gebildet (siehe Schema 33, Weg A). In Abhängigkeit vom eingesetzten Amin und vom Rest am Aryl-Ring kann es gemäß dieser Literaturstelle aber auch zur Entstehung von entsprechenden Cyanoforamidinen kommen (siehe Schema 33, Weg B).



Schema 33: Reaktionsmechanismus von sekundären Aminen und Dithiazolen nach Hyunil Lee<sup>45</sup>

Auch in der ursprünglichen Publikation von Hyi-Seung Lee<sup>41</sup>, die uns zur Entwicklung dieser Syntheseroute inspirierte, wird eine Reaktion eines ebenfalls sperrigen *tert*-Butylamins mit einem entsprechenden Dithiazolderivat beschrieben. Hierbei berichten die Autoren allerdings von der Bildung eines instabilen Disulfides (siehe Schema 34).



Schema 34: Reaktion von *tert*-Butylamin und einem Dithiazol nach Hyi-Seung Lee<sup>41</sup>

Unter Berücksichtigung dieser Ergebnisse<sup>41,45</sup> bei der Reaktion von Dithiazolen mit sekundären und sperrigen primären Aminen wurden für das unbekannte Produkt der von uns durchgeführten Synthese zunächst mehrere mögliche Strukturen ins Auge gefasst (siehe Abbildung 17).

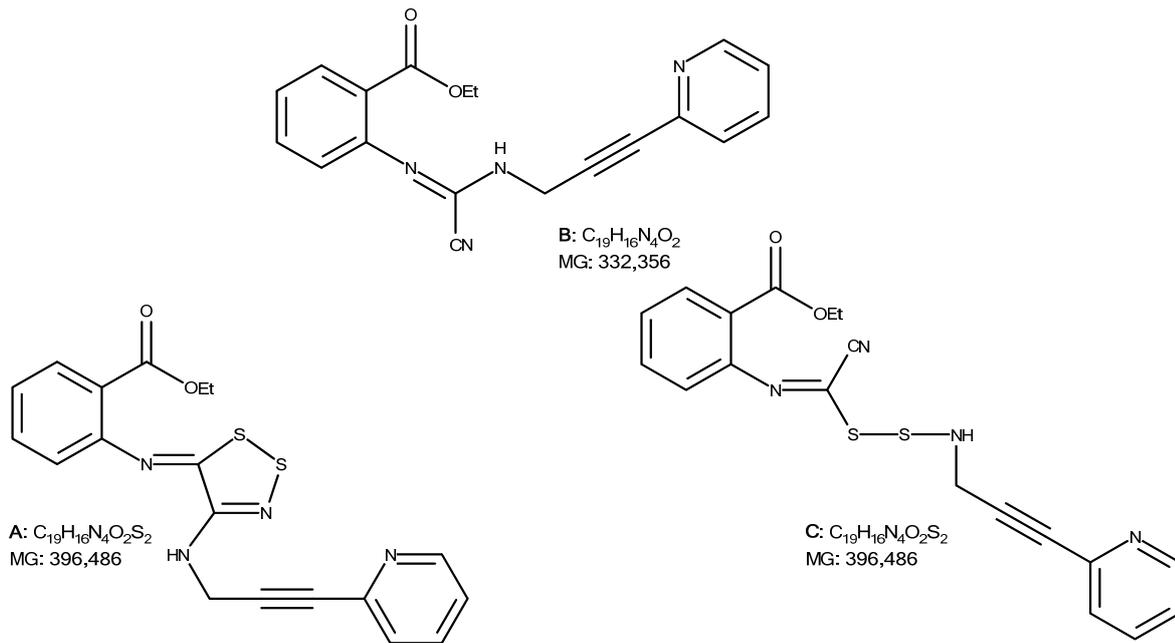


Abbildung 17: Mögliche Produkte der Reaktion des Dithiazols mit 2-Pyridylpropargylamin

Durch die Abwesenheit eines (Molekülionen-)Peaks im Massenspektrum bei  $m/z = 332$  konnte das Cyanoforamidin (Abbildung 17, Verbindung **B**) als mögliches Produkt jedoch mit einiger Sicherheit ausgeschlossen werden. Ein entsprechender Peak bei  $m/z = 396$  ist hingegen vorhanden und eine in der Folge durchgeführte Elementaranalyse bestätigte zudem das Vorhandensein von 2 Schwefelatomen. Nach diesem Kenntnisstand konnte es sich folglich sowohl um die Verbindung A als auch um die Verbindung C handeln. Im Fall von A ist in der Struktur ein Dithiazol in geschlossener Form vorhanden, bei Verbindung C hingegen hat eine Ringöffnung stattgefunden (siehe Abbildung 17).

Um nun zwischen der ringgeschlossenen und der ringoffenen Struktur mit der hier vorhandenen Nitril-Funktionalität eine Unterscheidung treffen zu können wurde ein IR-Spektrum aufgenommen. Die völlige Abwesenheit einer für eine Nitril-Funktion typischen IR-Absorptionsbande bei einer Wellenzahl von  $2200-2260\text{ cm}^{-1}$  führte schließlich zum Ausschluss der Struktur C.

In den mittels APT-Verfahren aufgenommenen  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren zeigt sich das noch immer in der Struktur vorhandene Dithiazol durch zwei Signale negativer Intensität bei 160.2 und 154.0 ppm. Durch HSQC- und HMBC-Experimente konnten diese beiden Signale zweifelsfrei dem 5-C und 4-C-Atom des Dithiazols zugeordnet werden. Auch die Zuordnung aller anderen Signale gelang mit Hilfe der genannten

2D-Experimente, die spektroskopischen Daten stehen im Einklang mit der vorgeschlagenen Struktur des erhaltenen Produktes.

Bei der in 20% Ausbeute entstandenen Verbindung handelt es sich folglich um einen noch nicht literaturbekannten 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (**13**) (siehe Abbildung, Verbindung A), welcher durch die von uns entwickelte Synthese erstmalig zugänglich wurde. Für die eigentlich angestrebte Herstellung von 9-Aza-Luotonin A hat diese Verbindung jedoch keine Relevanz.

## 2.4 Fazit

Im Rahmen dieser Arbeit wurden mehrere Syntheserouten hinsichtlich ihrer Eignung für das Einbringen eines Stickstoffatoms in Position 9 der zytostatisch wirksamen Leitstruktur Luotonin A diskutiert und überprüft. Unter den so entwickelten Synthesewegen war letztendlich nur die Mitsunobu-Reaktion zur Herstellung der Zielverbindung geeignet. Die Anwendung einer Sonogashira-Kupplung zur Darstellung der angestrebten Struktur scheiterte an der anschließenden Amid-Dehydratisierung. Auch die Synthese von 9-Aza-Luotonin A ausgehend von einem Dithiazol-Baustein führte nicht zum gewünschten Erfolg. Dennoch wurde die Zielverbindung 9-Aza-Luotonin A durch diese Diplomarbeit erstmals zugänglich gemacht. Die Überprüfung der biologischen Aktivität erfolgt derzeit im Zuge eines Kooperationsprojektes. Diesbezügliche Ergebnisse sind zum momentanen Zeitpunkt aber noch ausständig.

### **3 EXPERIMENTELLER TEIL**

#### **3.1 Allgemeines**

##### **Chromatographie**

###### **DC**

Für Reaktionskontrollen und Identitätsprüfungen dienten DC-Fertigfolien ALUGRAM® Xtra SIL G/UV<sub>254</sub> Kieselgel 60 der Fa. Macherey-Nagel (Art.-Nr. 818333). Die Detektion erfolgte mit Hilfe von Fluoreszenzminderung unter UV<sub>245</sub> und Eigenfluoreszenz unter UV<sub>365</sub> mittels einer Camag UV-Lampe.

###### **SC**

Als Sorbensmaterialien für die Säulenchromatographie wurden Kieselgel 60 (0.063-0.200 mm) der Fa. 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 KGF<sub>254</sub>-Folien.

###### **MPLC**

Das Eluieren des zu trennenden Gemisches erfolgte mit Hilfe einer Laboprep-MPLC Pump Unit MD-50/80/100 der Firma Labomatic. Als Sorbensmaterial diente Kieselgel LiChroPrep Si 60, 0.040-0.063 mm der Fa. Merck (Art.-Nr. 13905). Die Detektion erfolgte kontinuierlich mittels UV-Detektor Pharmacia LKB Uvicord SII. Zur Registrierung der Signale wurde ein SE 120 Schreiber der Firma BBC Goerz Metrawatt nachgeschaltet.

##### **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 am Institut für Chemische Technologien und Analytik der Technischen Universität Wien sowie auf einem Bruker maXis HD am Department für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien gemessen.

## **NMR**

Alle  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren (400 MHz) und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren (100 MHz) wurden auf einem Bruker Avance III 400 Spektrometer vermessen.

## **IR**

Die Infrarotspektren wurden am Department für Pharmakognosie auf einem Brucker Tensor 27 aufgenommen.

## **Elementaranalyse**

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

## **Schmelzpunkte**

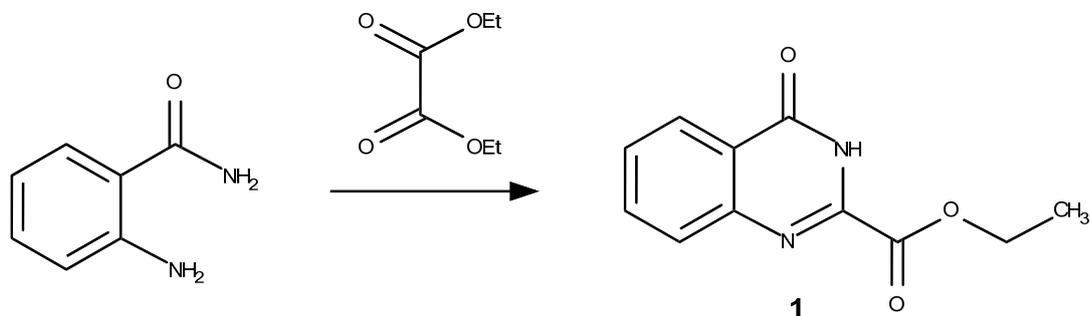
Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztischmikroskop der Firma Reichert ermittelt. Sie wurden allesamt nicht korrigiert.

## **Reagenzien und Lösungsmittel**

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

### 3.2 Arbeitsvorschriften zu Abschnitt 2.1

#### Ethyl 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (1)<sup>31</sup>



Eine Lösung von 6.8 g (50 mmol) Anthranilamid, 50 ml Diethyloxalat und 0.5 ml konz. Essigsäure als Katalysator wird 72 h unter Rückfluss erhitzt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC-Kontrolle überprüft (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH, 9+1). Überschüssiges Diethyloxalat wird anschließend unter Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird abgenutscht, mit EtOH gewaschen und danach in Ether resuspendiert. Man lässt ca. 30 Min rühren, dann wird erneut abgenutscht, mit Ether/EtOH gewaschen und das Produkt im Vakuum getrocknet.

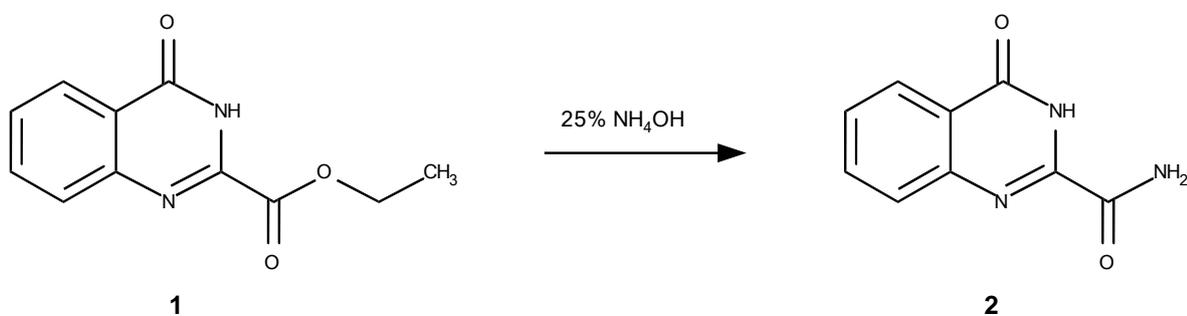
**Ausbeute:** 7.52 g (69%)

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

**Molekulargewicht:** 218.21

**Schmelzpunkt:** 182-183°C

#### 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)<sup>32</sup>



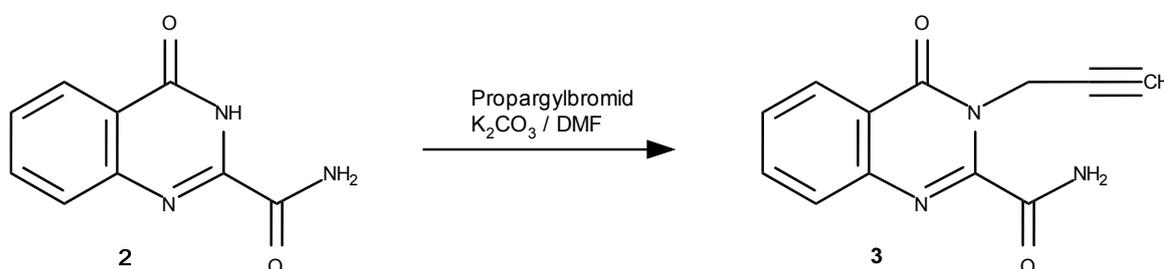
Eine Suspension von 4.0 g (18 mmol) Ethyl 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (1) in 25% wässrigem NH<sub>3</sub> wird 2 h bei 70°C Ölbadtemperatur erhitzt. Das abgekühlte Reaktionsgemisch wird über Nacht im Kühlschrank gelagert, danach wird mit Essigsäure angesäuert. Der entstandene Niederschlag wird abgenutscht, mit Wasser und kaltem EtOH gewaschen und im Vakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 2.8 g (82%)

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

**Molekulargewicht:** 189.18

#### 4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)<sup>33</sup>



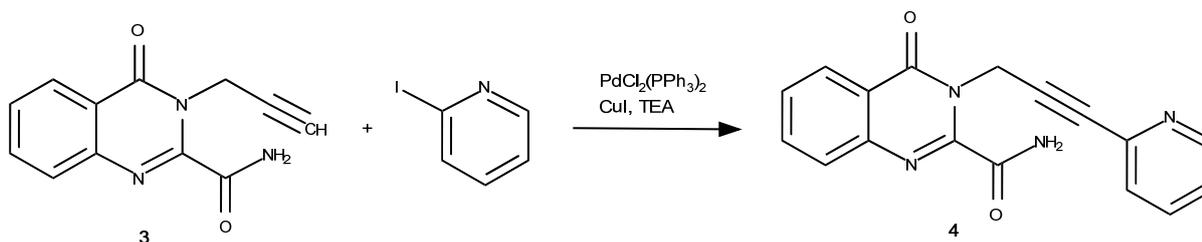
Eine Lösung von 0.946 g (5 mmol) 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2) in 15 ml DMF wird mit 0.830 g (6 mmol) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und 0.892 g (6 mmol) Propargylbromid-Lösung (80% in Toluol) versetzt. Dieses Reaktionsgemisch wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt, wobei die Vollständigkeit der Reaktion mittels DC-Kontrolle überprüft wird. Anschließend wird die Reaktionslösung unter Eiskühlung mit 50 ml Wasser verdünnt, wodurch sich das Produkt als hellbrauner Niederschlag abscheidet und nach weiteren 20 min im Eisbad abgenutscht wird. Das Rohprodukt wird mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 0.987 g (87%)

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

**Molekulargewicht:** 227.22

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



Eine Suspension von 0.227 g (1 mmol) 4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) in 1 ml DMF wird mit 15 ml trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> versetzt. Anschließend werden unter Argonatmosphäre 0.308 g (1.5 mmol) 2-Iodpyridin, 0.055 g (0.25 mmol) 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol, 0.038 g (0.2 mmol) CuI, 0.070 g (0.1 mmol) PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> und 0.243 g (2.4 mmol) Triethylamin zugesetzt und das Gemisch wird 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die Reaktionslösung mit 10 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> verdünnt und über eine kurze Kieselgelsäule (10 x 3 cm, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 19+1) gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen werden am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht und der verbleibende Rückstand in 50 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> aufgenommen. Es wird 2x mit je 10 ml 0.5 N HCl ausgeschüttelt und mit Wasser neutral gewaschen. Nach dem Trocknen über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wird das Lösungsmittel abgedampft und das so erhaltene Rohprodukt erneut über eine Kieselgelsäule gereinigt. Durch Eindampfen der entsprechenden Fraktionen am Rotationsverdampfer, gefolgt von Umkristallisation aus EtOH wird das Produkt (**4**) in analysenreiner Form als nahezu farblose Kristalle gewonnen.

**Ausbeute:** 0.158 g (52%)

**Schmelzpunkt:** 199-200°C

**Summenformel:** C<sub>17</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 304,31

**MS** (Tafel 1):

*m/z* (rel. int.) = 304 (M<sup>+</sup>, 50%), 276 (17), 261 (15), 236 (27), 205 (20), 183 (16), 159 (26), 158 (100), 131 (49), 129 (31), 89 (55), 78 (32), 63 (42)

**HRMS:**

<b>[M+H]<sup>+</sup></b>	
<b>berechnet</b>	305.1033
<b>gefunden</b>	305.1033

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Tafeln 2,7,8):

$\delta$  = 8.56 (s, 1H, Amid NH), 8.55-8.50 (m, nicht aufgelöst, 1H, Pyridin 6'-H), 8.23 (br s + dd,  $J$  = 7.9, 1.1 Hz, 2H, 5-H, Amid NH), 7.93 (ddd,  $J$  = 8.5, 7.2, 1.5 Hz, 1H, 7-H), 7.83–7.74 (m, 2H, 8-H, Pyridin 4'-H), 7.70–7.63 (m, 1H, 6-H), 7.50 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H, Pyridin 3'-H), 7.38 (dd,  $J$  = 6.6, 4.8 Hz, 1H, Pyridin 5'-H), 5.32 (s, 2H, CH<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Tafeln 3-6):  $\delta$  = 163.2 (Amid C=O), 160.0 (4-C), 150.0 (Pyridin 6'-C), 148.7 (2-C), 145.9 (8a-C), 141.7 (Pyridin 2'-C), 136.7 (Pyridine 4'-C), 135.2 (7-C), 128.4 (6-C), 127.6 (8-C), 127.4 (Pyridin 3'-C), 126.5 (5-C), 123.7 (Pyridin 5'-C), 120.9 (4a-C), 84.0 (Propargyl 2-C), 82.6 (Propargyl 3-C), 33.7 (CH<sub>2</sub>)

### 3.3 Arbeitsvorschriften zu Abschnitt 2.2

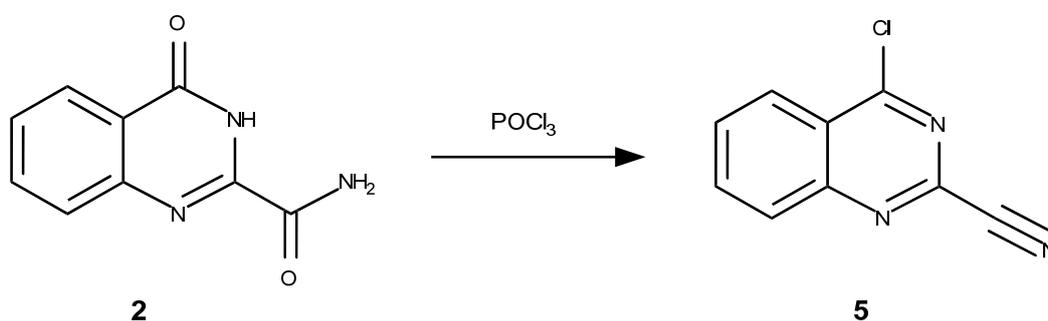
#### Ethyl 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (1)<sup>31</sup>

Siehe Abschnitt 3.1

#### 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)<sup>32</sup>

Siehe Abschnitt 3.1

#### 4-Chlorchinazolin-2-carbonitril (5)<sup>38</sup>



Unter Feuchtigkeitsausschluss werden 2.04 g (10.8 mmol) 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**) in 28 ml Phosphoroxychlorid suspendiert und 3 h unter ständigem Rühren bei 110°C Badtemperatur erhitzt. Überschüssiges, während der Reaktion nicht verbrauchtes Phosphoroxychlorid wird anschließend unter Vakuum abdestilliert. Der cremige, bräunliche Rückstand wird auf Raumtemperatur abgekühlt und im Anschluss auf Eis gestellt. Es werden ca. 50 ml Eiswasser vorsichtig und portionsweise zugefügt. Die braune Suspension wird nach einer kurzen Verweildauer unter dem Abzug abgenutscht. Das erhaltene Reaktionsprodukt wird mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

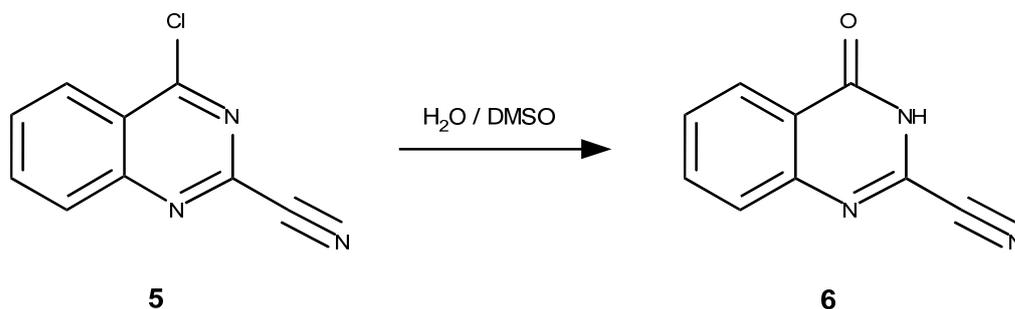
Die Reinigung erfolgt über eine Kieselgelsäule (10 x 3 cm, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), wobei die entsprechende Fraktion am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft wird.

**Ausbeute:** 1.714 g (83%)

**Summenformel:** C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>ClN<sub>3</sub>

**Molekulargewicht:** 191.03

#### 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6**)<sup>32,34</sup>



Unter leichtem Erwärmen werden 1.714 g (9 mmol) 4-Chlorchinazolin-2-carbonitril (**5**) in 73 ml Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst. Dieser Lösung werden anschließend 7.3 ml (10% der DMSO-Menge) Wasser zugefügt und das Reaktionsgemisch wird 25 h auf 40°C Badtemperatur erwärmt. Nach Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion mittels DC-Kontrolle wird das Reaktionsgemisch mit der 10fachen Menge Wasser (730 ml) verdünnt. Das Reaktionsprodukt fällt als farbloser bis gelblicher Niederschlag aus und wird nach „Reifung“ im Kühlschrank abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Noch eventuell vorhandenes Produkt im Filtrat kann durch mehrmaliges Ausschütteln mit Ethylacetat (4 x 40 ml) gewonnen werden. Die organischen Phasen werden anschließend vereinigt, mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Nach Eindampfen der Ethylacetat-Phasen am Rotationsverdampfer kann das durch Ausschütteln gewonnene Produkt mit dem Niederschlag vereinigt werden.

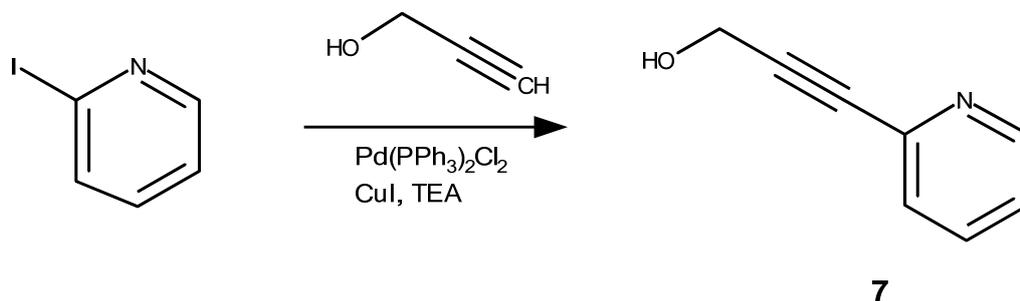
Die Abtrennung von polaren Nebenprodukten erfolgt durch Aufkochen mit *tert*-Butylmethylether, wobei der unlösliche Anteil noch heiß abfiltriert wird. Das Filtrat wird anschließend eingedampft. Allenfalls noch im Rohprodukt vorhandenes Edukt (**5**) wird durch Waschen des festen Abdampfrückstandes mit heißem Petrolether entfernt. Die Reinigung des Produkts wird mittels DC-Kontrolle überprüft und beide Reinigungsschritte können bei Bedarf wiederholt werden. Das gereinigte Produkt wird im Vakuum getrocknet. Analysenreine Kristalle können durch Umkristallisation aus Ethanol erhalten werden.

**Ausbeute:** 1.214 g (79%)

**Summenformel:** C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O

**Molekulargewicht:** 171.04

### 3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-ol (7)<sup>39</sup>



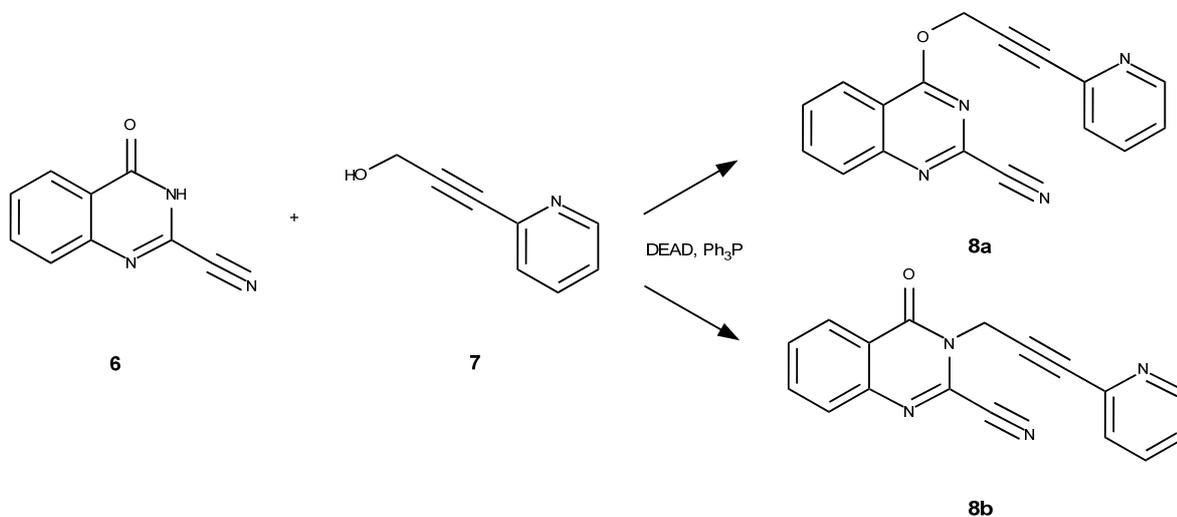
Zu einer Lösung von 2.0 g (9.8 mmol) 2-Iodpyridin in 140 ml trockenem Triethylamin (TEA), werden 0.186 g Kupfer(I)iodid, 0.206 g Palladium-Katalysator (Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) und 0.548 g (9.8 mmol) 2-Propin-1-ol zugefügt. Das Reaktionsgemisch wird 2.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird zunächst über eine Celite-Säule vorfiltriert. Die eigentliche Reinigung erfolgt über eine Kieselgelsäule (10 x 3 cm, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EA 2+1), wobei die entsprechende Fraktion abgetrennt und am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft wird.

**Ausbeute:** 1.250 g (96%)

**Summenformel:** C<sub>8</sub>H<sub>7</sub>NO

**Molekulargewicht:** 133.05

### 4-{{3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl}oxy}chinazolin-2-carbonitril (8a) und 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (8b)



Eine Lösung von 0.205 g (1.2 mmol) 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6**) und 0.198 g (1.49 mmol) 2-Pyridylpropargylalkohol (**7**) in 4 ml trockenem Tetrahydrofuran wird mit 0.314 g (1.2 mmol) Triphenylphosphin und 0.121 g (1.2 mmol) Triethylamin versetzt. Nach Kühlung des Reaktionsgemisches auf 0°C wird eine Lösung von 0.209 g (1.2 mmol) DEAD in 1 ml trockenem Tetrahydrofuran unter Argonatmosphäre langsam zugetropft. Anschließend wird das Reaktionsgefäß gut verschlossen und die Reaktionsmischung 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC-Kontrolle überprüft (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Ethylacetat 3+1). Danach wird die Reaktionslösung in 50 ml Wasser gegossen und mit Ethylacetat (2 x 100 ml) ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden schließlich mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft.

Die Vorreinigung des erhaltenen Rohprodukts erfolgt über eine Kieselgelsäule (10 x 3 cm, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Ethylacetat 9+1). Mittels MPLC werden im Anschluss die beiden entstandenen Produkte (**8a**) und (**8b**) getrennt und entsprechende Fraktionen am Rotationsverdampfer eingedampft. Analysenreine Kristalle können jeweils durch Umkristallisation aus Ethanol erhalten werden.

#### 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]oxy]chinazolin-2-carbonitril (**8a**)

**Ausbeute:** 0.064 g (18%) nach Umkristallisation

**Schmelzpunkt:** 156-157°C

**Summenformel:** C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O

**Molekulargewicht:** 286.29

**MS** (Tafel 9):

*m/z* (rel. int.) = 286 (M<sup>+</sup>, 49%), 259 (19), 258 (100), 257 (40), 231 (13), 116 (54), 90 (36), 89 (88), 63 (73)

**HRMS:**

<b>[M+H]<sup>+</sup></b>	
<b>berechnet</b>	287.0927
<b>gefunden</b>	287.0921

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Tafeln 10,15,16):

δ = 8.62 (m, nicht aufgelöst, 1H, Pyridin 6'-H), 8.31 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, 5-H), 8.05 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, 8-H), 8.02–7.93 (m, 1H, 7-H), 7.78-7.70 (m, 2H, 6-H, Pyridin 4'-H), 7.53 (m, nicht aufgelöst 1H, Pyridin 3'-H), 7.31 (m, nicht aufgelöst, 1H, Pyridin 5'-H), 5.52 (s, 2H, CH<sub>2</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Tafeln 11-14):

δ = 166.4 (4-C), 150.9 (8a-C), 149.8 (Pyridin 6'-C), 141.8 (Pyridin 2'-C), 139.4 (2-C), 137.0 (Pyridin 4'-C), 135.3 (7-C), 130.2 (6-C), 128.5 (8-C), 127.8 (Pyridin 3'-C), 124.0 (5-C), 123.9 (Pyridin 5'-C), 116.8 (4a-C), 116.2 (Nitril C), 86.3 (Propargyl 3-C), 83.2 (Propargyl 2-C), 56.2 (CH<sub>2</sub>)

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

**Ausbeute:** 0.188 g (55%); nach Umkristallisation 0.031 g (9%)

**Schmelzpunkt:** 172-173°C

**Summenformel:** C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O

**Molekulargewicht:** 286.29

**MS** (Tafel 17):

*m/z* (rel. int.) = 286 (M<sup>+</sup>, 53%), 257 (12), 227 (14), 226 (100), 205 (11), 152 (23), 132 (35), 116 (32), 89 (35), 78 (38), 69 (37), 63 (38), 57 (65), 55 (44)

**HRMS:**

<b>[M+H]<sup>+</sup></b>	
<b>berechnet</b>	287.0927
<b>gefunden</b>	287.0927

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Tafeln 18, 22, 23):

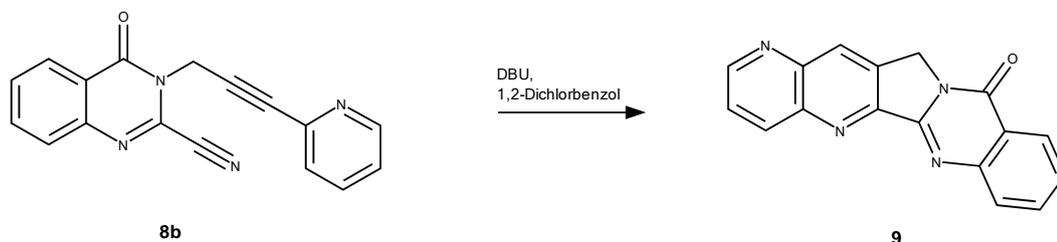
δ = 8.57 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H, Pyridin 6'-H), 8.36 (dd, *J* = 8.0, 1.0 Hz, 1H, 5-H), 7.87 (td, *J* = 7.6, 7.0, 1.5 Hz, 1H, 7-H), 7.84–7.79 (m, 1H, 8-H), 7.71–7.62 (m, 2H, 6-H, Pyridin

4'-H), 7.48 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H, Pyridin 3'-H), 7.30–7.22 (m, 1H, Pyridin 5'-H), 5.33 (s, 2H, CH<sub>2</sub>)

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Tafeln 19-21):

$\delta = 159.3$  (4-C), 149.8 (Pyridin 6'-C), 146.3 (8a-C), 141.7 (Pyridin 2'-C), 136.9 (Pyridin 4'-C), 135.5 (7-C), 130.8 (2-C), 130.5 (6-C), 128.8 (8-C), 127.9 (Pyridin 3'-C), 127.5 (5-C), 123.8 (Pyridin 5'-C), 122.8 (4a-C), 111.3 (Nitril C), 84.3 (Propargyl 3-C), 82.8 (Propargyl 2-C), 35.8 (CH<sub>2</sub>)

**[1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-8(6*H*)-on („9-Aza-Luotonin A“) (9)**



Zur Herstellung von 9-Aza-Luotonin A werden 0.025 g (0.08 mmol) **8b** mit 2.4 ml 1,2-Dichlorbenzol vermengt. Nach Zugabe von 0.05 ml einer 0.1 M Lösung von DBU in 1,2-Dichlorbenzol wird kurz mit Argon gespült und das Reaktionsgefäß gut verschlossen. In einem Ölbad wird 24 h auf 120°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch mit 4 ml *tert*-Butylmethylether verdünnt und das entstandene Produkt abgenutscht, mit *tert*-Butylmethylether gewaschen und anschließend getrocknet. Analysenreine Kristalle können durch Umkristallisation aus Ethanol erhalten werden.

**Ausbeute:** 0.025 g (100%); nach Umkristallisation 0.20 g (80%)

**Schmelzpunkt:** 314-315°C

**Summenformel:** C<sub>17</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O

**Molekulargewicht:** 286.29

**MS** (Tafel 24):

$m/z$  (rel. int.) = 287 (18%), 286 ( $M^+$ , 100), 285 (28), 258 (14), 257 (11), 230 (9), 143 (8), 129 (9)

**HRMS:**

$[M+H]^+$	
berechnet	287.0927
gefunden	287.0921

 **$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ , Tafeln 25, 30, 31):

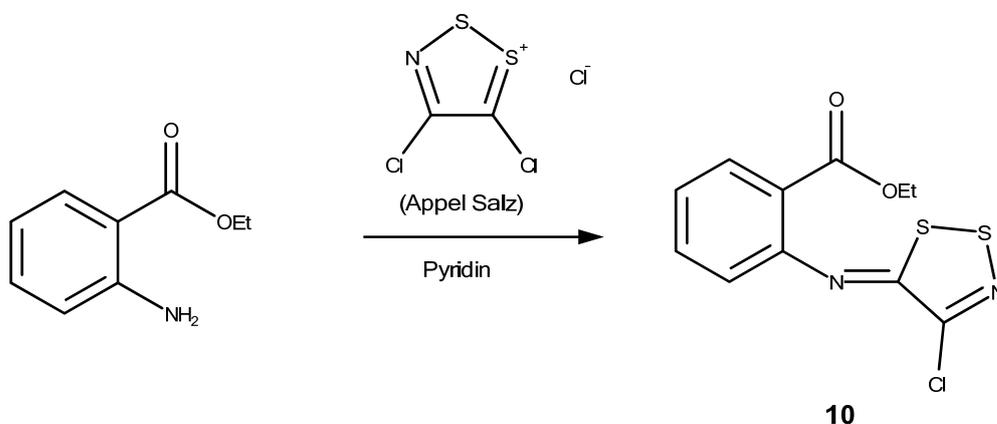
$\delta$  = 9.13 (d, nicht aufgelöst, 1H, 2-H), 8.80 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H, 4-H), 8.74 (s, 1H, 14-H), 8.45 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H, 10-H), 8.13 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H, 7-H), 7.88 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1H, 8-H), 7.81 (dd,  $J$  = 8.6, 4.1 Hz, 1H, 3-H), 7.61 (t,  $J$  = 7.6 Hz, 1H, 9-H), 5.44 (s, 2H,  $CH_2$ )

 **$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ , Tafeln 26-29):

$\delta$  = 160.7 (11-C), 153.1 (2-C), 152.2 (5a-C oder 5b-C), 152.0 (5b-C oder 5a-C), 149.4 (6a-C), 145.5 (4a-C), 144.0 (14a-C), 138.7 (4-C), 134.9 (8-C), 133.3 (14-C), 133.2 (13a-C), 129.0 (7-C), 128.0 (9-C), 126.7 (10-C), 125.6 (3-C), 121.5 (10a-C), 47.5 (13-C)

### 3.4 Arbeitsvorschriften zu Abschnitt 2.3

#### Ethyl 2-[[*(5Z)*-4-Chlor-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-yliden] anthranilat (10)<sup>41,42</sup>



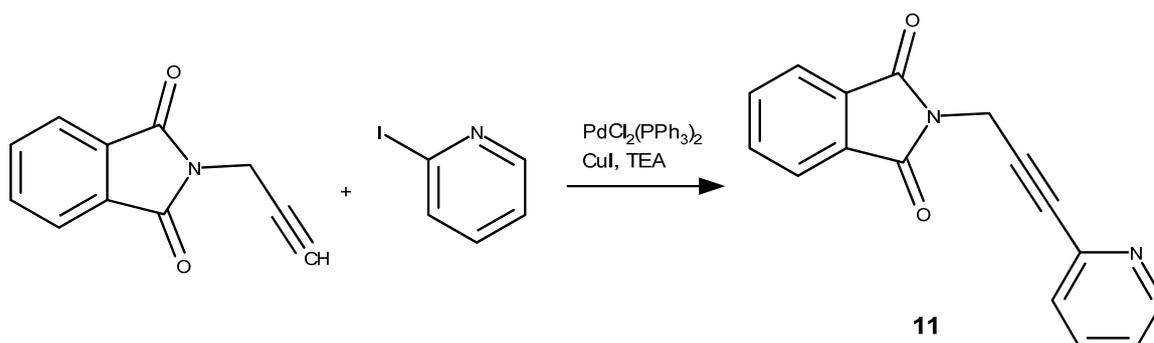
Zu einer Lösung von 0.660 g (4 mmol) Ethylanthranilat in 10 ml trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> werden 0.832 g (4 mmol) 4,5-Dichlor-1,2,3-dithiazolium-chlorid zugefügt. Es entsteht eine grünliche Suspension, die 2 h bei Raumtemperatur gerührt wird. Anschließend wird das Reaktionsgemisch mit 0.72 ml (8 mmol) Pyridin versetzt und weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion mittels DC-Kontrolle (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) wird filtriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingedampft. Die Reinigung des erhaltenen Rohprodukts erfolgt über eine Kieselgelsäule (10 x 3 cm, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Es resultiert ein oranges, öliges Produkt.

**Ausbeute:** 1.170 g (97%)

**Summenformel:** C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 300.78

#### 2-[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-1,3-dion (11)<sup>43</sup>



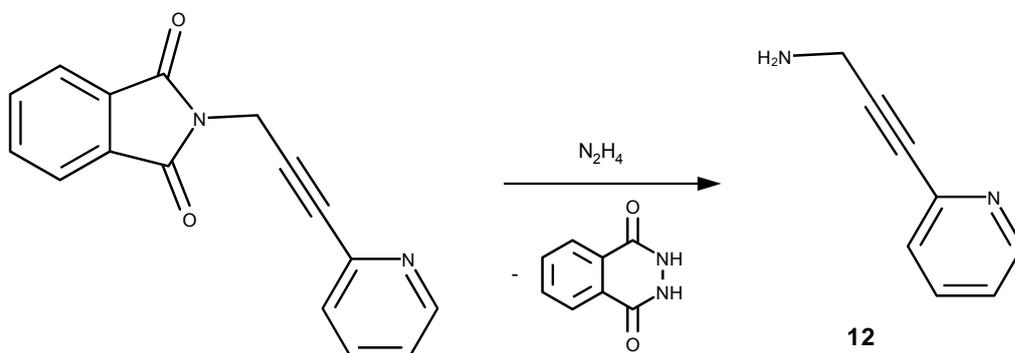
Zu einer Lösung von 0.925 g (5 mmol) *N*-Propargylphthalamid in 10 ml DMF und 25 ml Triethylamin werden 1.025 g 2-Iodpyridin zugefügt. Dieses Reaktionsgemisch wird anschließend unter Argonatmosphäre mit 0.175 g Palladium-Katalysator ( $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ ) und 0.095 g CuI versetzt und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Überprüfung der Vollständigkeit der Reaktion mittels DC-Kontrolle wird TEA am Rotationsverdampfer abgedampft und der Rest der Reaktionslösung in 25 ml  $\text{H}_2\text{O}$  gegossen. Der entstandene Niederschlag wird abgenutscht, mit Wasser gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet. Die Reinigung des so erhaltenen Rohprodukts erfolgt über eine Kieselgelsäule (10 x 3 cm,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$  25+1).

**Ausbeute:** 0.700 g (53%)

**Summenformel:**  $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$

**Molekulargewicht:** 262.268

### 3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-amin (**12**)<sup>43</sup>



Eine Lösung von 0.656 g (2.5 mmol) **11** in 87.5 ml EtOH wird bei Raumtemperatur mit 0.626 g 80% Hydrazinhydrat versetzt und 1 h unter Rückfluss erhitzt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC-Kontrolle überprüft. Bis zur weiteren Verarbeitung wird das Reaktionsgemisch im Kühlschrank bei  $0^\circ\text{C}$  aufbewahrt. Der entstandene Niederschlag von Phthalazindion wird abfiltriert und mit kaltem EtOH gewaschen. Anschließend wird das Filtrat am Rotationsverdampfer zur Trockene eingedampft. Der verbleibende Rückstand wird in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  aufgenommen und mit 5% HCl ausgeschüttelt. Im Anschluss wird die wässrige Phase mit conc.  $\text{NH}_3$  alkalisiert und wiederum mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ausgeschüttelt. Die organische Phase wird zur Trockene

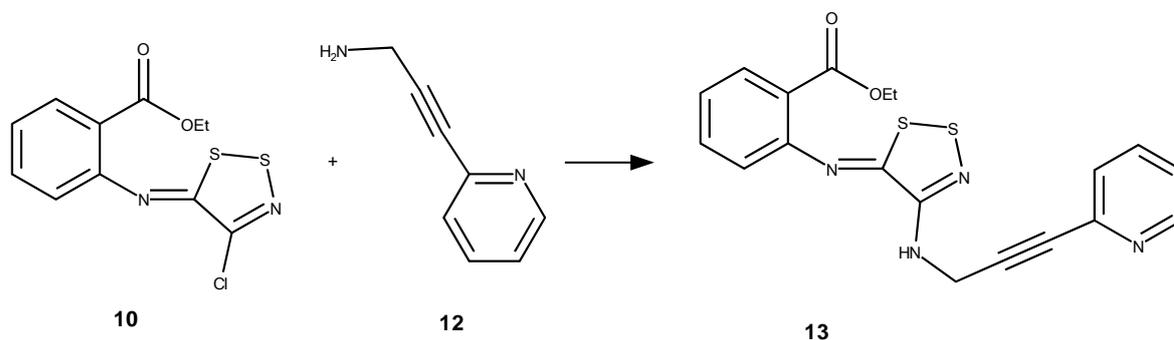
eingedampft und das Rohprodukt danach über eine Kieselgelsäule gereinigt (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/TEA 455 + 50 + 5).

**Ausbeute:** 0.201 g (61%)

**Summenformel:** C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 132.168

**2-[[*(5Z)*-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5*H*-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino}benzoesäureethylester (**13**)<sup>41,44</sup>**



Eine Lösung von 0.451 g (1.5 mmol) **10** in 40 ml THF wird mit 0.230 g (1.7 mmol) **12** und 0.455 g (4.5 mmol) TEA versetzt. Das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur gerührt und die Vollständigkeit der Reaktion mittels DC-Kontrolle überprüft (ca. 40 h). Es resultiert ein komplexes Reaktionsgemisch, aus welchem mit Hilfe einer Kieselgelsäule (10 x 3 cm, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 10+1) 0.120 g **13** isoliert und 0.095 g Edukt (Dithiazol) rückgewonnen werden können. Analysenreine Kristalle können durch Umkristallisation aus Toluol/Petrolether erhalten werden.

**Ausbeute:** 0.120 g (20%)

**Schmelzpunkt:** 89-91°C

**Summenformel:** C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>

**Molekulargewicht:** 396.48

**Elementaranalyse:**

	% C	% H	% N	% S
berechnet	57.56	4.07	14.13	16.17
gefunden	58.74	4.39	13.06	14.36

**MS** (Tafel 32):

$m/z$  (rel. int.) = 396 ( $M^+$ , 5%), 366 (41), 323 (61), 293 (100), 162 (37), 157 (41), 149 (51), 148 (62), 146 (95), 131 (55), 117 (45), 116 (46), 89 (50)

**HRMS:**

<b>[M+H]<sup>+</sup></b>	
<b>berechnet</b>	397.0787
<b>gefunden</b>	397.0792

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Tafeln 39-42):

$\delta$  = 8.57 (ddd,  $J$  = 4.9, 1.8, 0.9 Hz, 1H, Pyridin 6'-H), 8.00 (dd,  $J$  = 7.9, 1.5 Hz, 1H, Phenyl 6-H), 7.66 (td,  $J$  = 7.7, 1.8 Hz, 1H, Pyridin 4'-H), 7.56 (ddd,  $J$  = 8.0, 7.4, 1.6 Hz, 1H, Phenyl 4-H), 7.44 (dt,  $J$  = 7.8, 1.1 Hz, 1H, Pyridin 3'-H), 7.29–7.21 (m, 2H, Phenyl 5-H, Pyridin 5'-H), 7.08 (dd,  $J$  = 8.0, 0.8 Hz, 1H, Phenyl 3-H), 6.27 (t,  $J$  = 5.5 Hz, 1H, NH), 4.56 (d,  $J$  = 5.6 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>), 4.27 (q,  $J$  = 7.1 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 1.27 (t,  $J$  = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, Tafeln 33-38):

$\delta$  = 166.1 (C=O), 160.2 (Dithiazol 5-C), 154.0 (Dithiazol 4-C), 152.2 (Benzen 2-C), 150.0 (Pyridin 6-C), 142.8 (Pyridin 2-C), 136.4 (Pyridin 4-C), 134.0 (Benzen 4-C), 131.9 (Benzen 6-C), 127.3 (Pyridin 3-C), 125.3 (Benzen 5-C), 123.2 (Pyridin 5-C), 121.8 (Benzen 1-C), 119.4 (Benzen 3-C), 85.3 (Propargyl 2-C), 83.0 (Propargyl 3-C), 61.2 (OCH<sub>2</sub>), 34.2 (NCH<sub>2</sub>), 14.3 (CH<sub>3</sub>)

## 4 LITERATURVERZEICHNIS

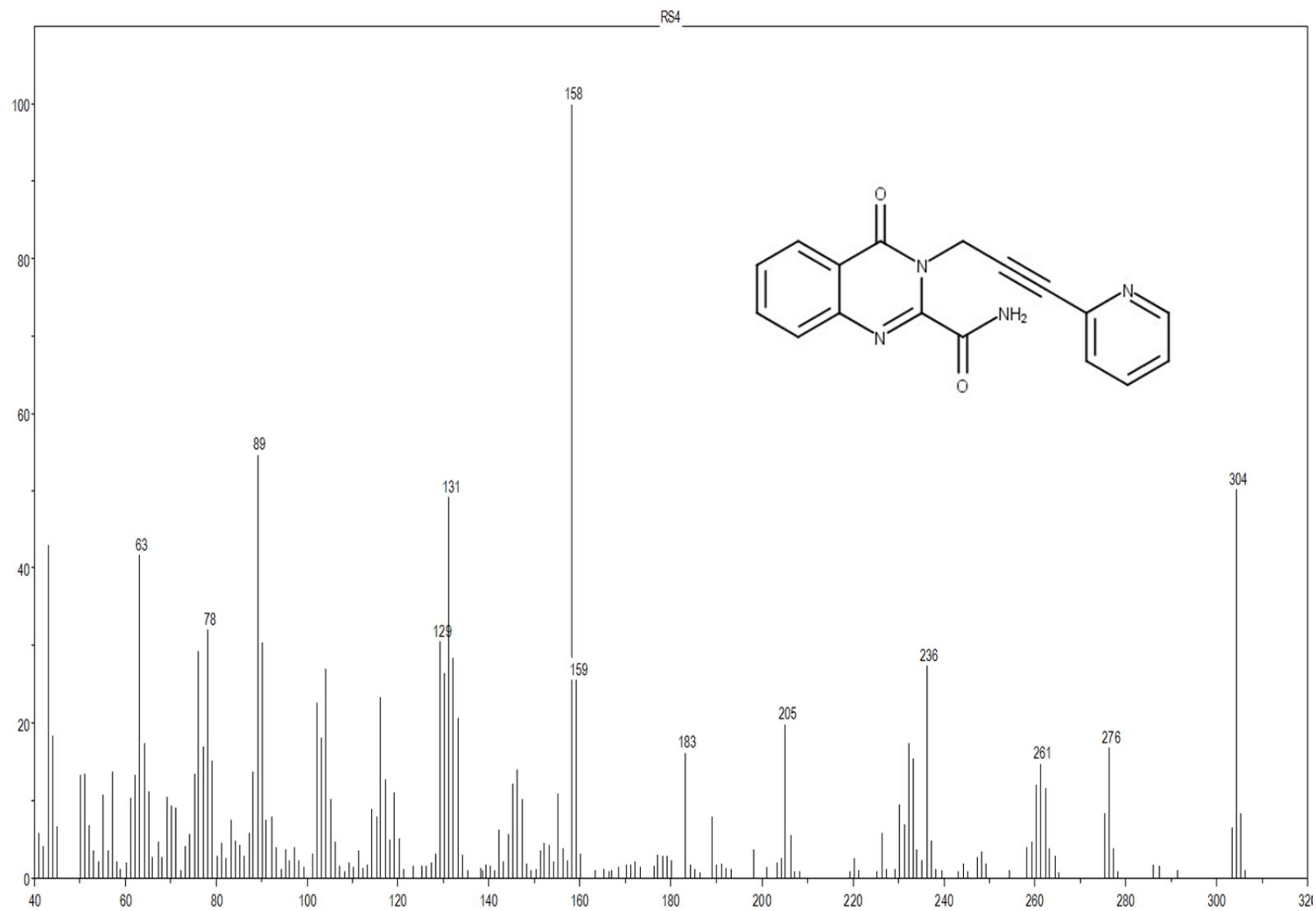
- 1 Knippers, R., Molekulare Kinetik, 9. Komplett überarbeitete Auflage, Thieme, Stuttgart, Kapitel 7 (2006)
- 2 Berk, A., Baltimore, D., Lodish, H., Darnell, J., Matsudaira, P., Zipursky, S.L., Molekulare Zellbiologie, 2. Auflage, Walter de Gruyter, New York, Berlin, Kapitel 10 (1996)
- 3 Mutschler, 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 Potmesil, M., *Cancer Res.*, **54**, 1431-1439 (1994)
- 5 Wall, M. E., Wani, M. C., Cook, C. E., Palmer, K. H., McPhail, A. T., Sim, G. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, 3888–3890 (1966)
- 6 Du, W., *Tetrahedron*, **59**, 8649–8687 (2003)
- 7 Aktories, K., Förstermann, U., Hofmann, F., Starke, K., Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 11. Auflage, Elsevier, München, Kapitel 35 (2013)
- 8 Chen, A. Y., Liu, L. F., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **34**, 191-218 (1994)
- 9 Pommier, Y., *Nat. Rev. Cancer*, **6**, 789-802 (2006)
- 10 Verma, R. P., Hansch, C., *Chem. Rev.*, **109**, 213–235 (2009)
- 11 Burke, T. G., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **803**, 29–31. (1996)
- 12 Ma, Z., Hano, Y., Nomura, T., Chen, Y., *Heterocycles*, **46**, 541-546 (1997)
- 13 Cagir, A., Jones, S. H., Gao, R., Eisenhauer, B. M., Hecht, S. M., *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 13628–13629 (2003)
- 14 Cagir, A., Eisenhauer B. M., Gao R., Thomas S. J., Hecht S. M., *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 6287-6299 (2004)
- 15 Siebert, C. D., *Chem. Unserer Zeit*, **38**, 320-324 (2004)

- 16** Dellas, C., Crashkurs Pharmakologie, 3. Auflage, Elsevier, München, Kapitel 37 (2011)
- 17** Offermanns, H., *Nachrichten aus der Chemie*, **59**, 1152 (2011)
- 18** Nacro, K., Zha, C., Guzzo, P. R., Herr, R. J., Peace, D., Friedrich, T. D., *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 4237-4246 (2007)
- 19** Rahman, A. F. M. M., Kim, D. H., Liang, J. L., Lee, E.-S., Na, Y., Jun, K.-Y., Kwon, Y., Jahng, Y. *Bull. Korean, Chem. Soc.*, **29**, 1988-1992 (2008)
- 20** Haider, N., Nuß, S., *Molecules*, **17**, 11363-11378 (2012)
- 21** Haider, N., Meng, G., Roger, S., Wank, S., *Tetrahedron*, **69**, 7066-7072 (2013)
- 22** Zhou, H.-B., Liu G.-S., Yao Z.-J., *J. Org. Chem.*, **72**, 6270-6272 (2007)
- 23** Dai, W., Petersen, J. L., Wang, K. K., *Org. Lett.*, **8**, 4665-4667 (2006)
- 24** Wank, S., Diplomarbeit, Universität Wien (2012)
- 25** Diesenreiter, S., Diplomarbeit, Universität Wien (2012)
- 26** Lee, E. S., Park, J. G., Kim, S. I., Jahng, Y., *Heterocycles*, **68**, 151-168 (2006)
- 27** Haider, N., Parth, S. Concise Synthesis of A-Ring Modified Analogs of the Antitumor Alkaloid Luotonin A, 13<sup>th</sup> Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, Bled, Slowenien, *Abstract volume of the 13th BDSHC*, PO-28 (2009)
- 28** Eckerstorfer, S., Diplomarbeit, Universität Wien (2011)
- 29** 21. Nuß, S., Diplomarbeit, Universität Wien (2012)
- 30** Sonogashira, K., Tohda, Y., Hagihara, N., *Tetrahedron Lett.*, **50**, 4467-4470 (1975)
- 31** Baker, B.R., Almaula, P.I., *J. Org. Chem.*, **27**, 4672-4674 (1962)
- 32** Váradi, A., Horváth, P., Kurtán, T., Mándi, A., Tóth, G., Gergely, A., Kökösi, J., *Tetrahedron*, **68**, 10365-10371 (2012)
- 33** Usifoh, C.O., Scriba, G.K.E., *Arch. Pharm (Weinheim)*, **333**, 261–266 (2000)
- 34** Haider, N., unpublizierte Ergebnisse

- 35 Mitsunobu, O., Yamada, M., Mukaiyama, T., *J. Org. Chem.*, **40**, 935 – 939 (1967)
- 36 Mitsunobu, O., Yamada, M., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **40**, 2380-2382 (1967)
- 37 Hughes, D.L., Reamer, R.A., Bergan, J.J., Grabowski, E.J.J., *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 6487–6491 (1988)
- 38 Bouzida, D., Dong, L., Guo, C., Hong, Y., Li, H., Marakovits, J. T., Yang, A., Zhang, J., *PCT Int. Patent Appl. WO 2006072831* (2006)
- 39 Wessig, P., Pick, C., *J. Photochem. Photobiol., A*, **222**, 263-265 (2011)
- 40 Roopan, S. M., Khan, F.-R. N., Jin, J. S., *Chem. Pap.*, **65**, 345-351 (2011)
- 41 Lee, H.-S., Chang, Y.-G., Kim, K., *J. Heterocyclic Chem.*, **35**, 659–668 (1998)
- 42 Appel, R., Janssen, H., Siray, M., Knoch, F., *Chem. Ber.*, **118**, 1632–1643 (1985)
- 43 Russo, O., Messaoudi, S., Hamze, A., Olivi, N., Peyrat, J.-F., Brion, J.-D., Sicsic, S., Berque-Bestel, I., Alami, M., *Tetrahedron*, **63**, 10671-10683 (2007)
- 44 Lee, H., Kim, K., Whang, D., Kim, K., *J. Org. Chem.*, **59**, 6179-6183 (1994)

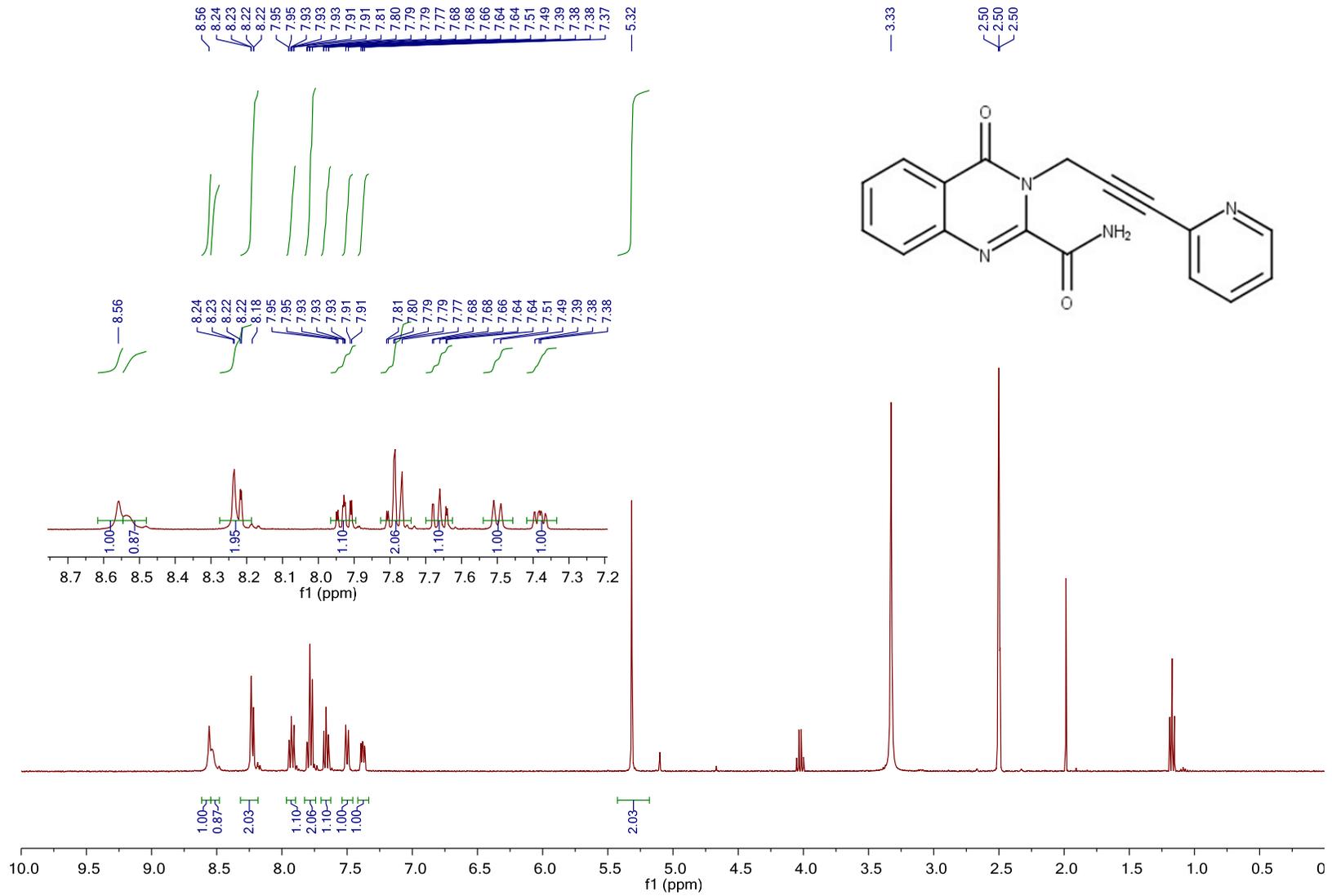
## **5 ANHANG**

### **5.1 Spektren**



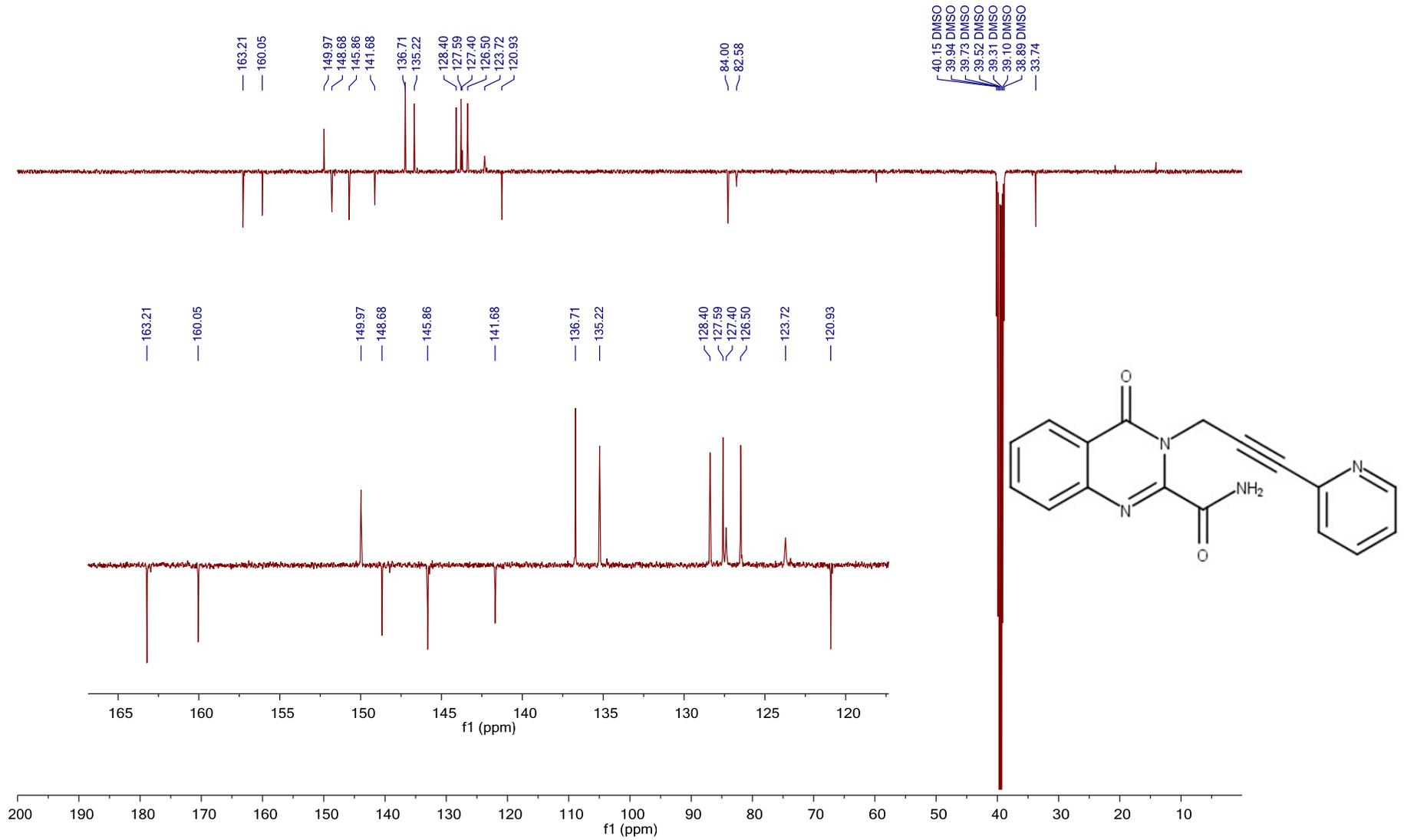
**Tafel 1:** 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

RS4; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazolin-2-carboxamide 1H / DMSO



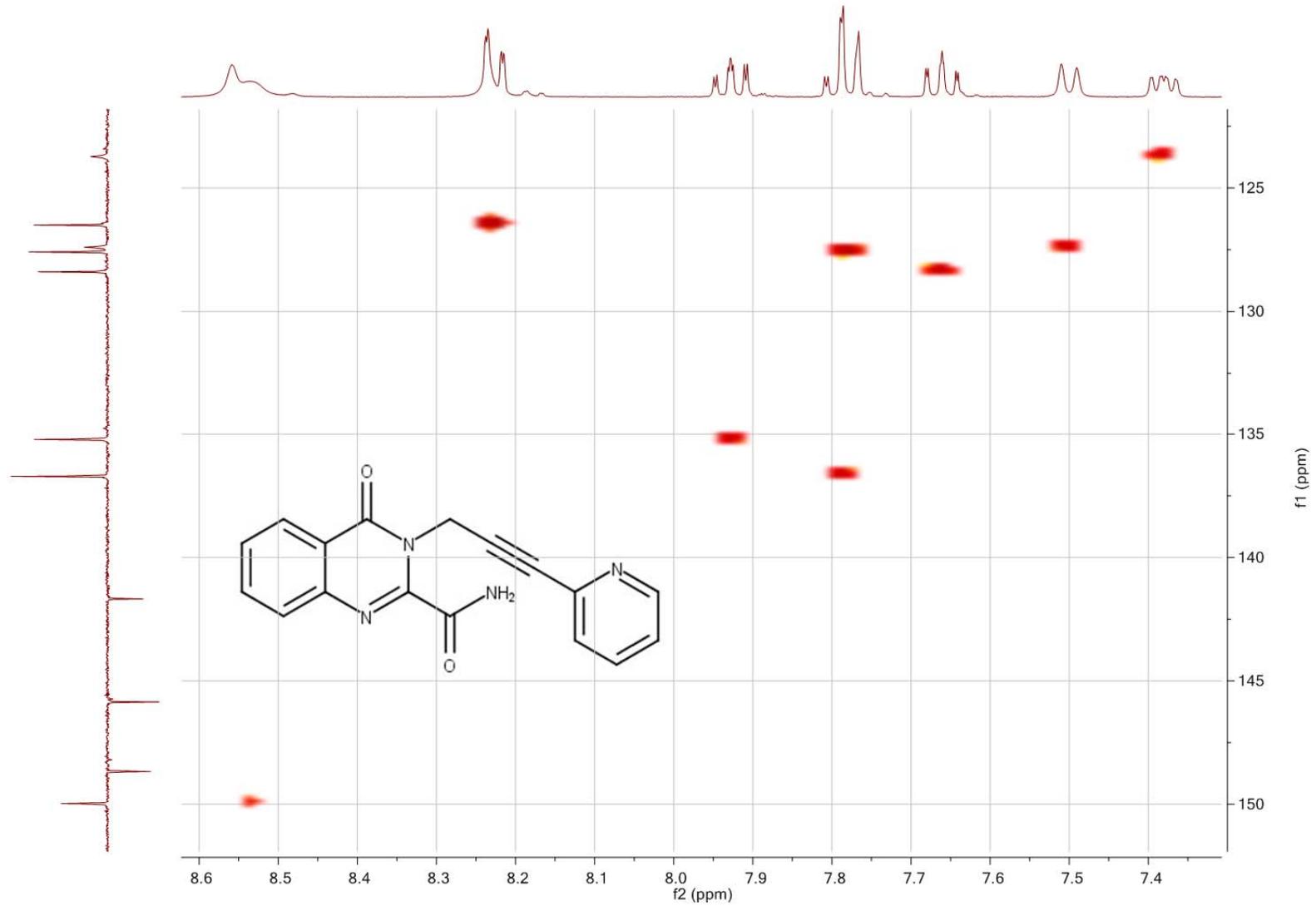
Tafel 2: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

RS4; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazolin-2-carboxamide C13APT / DMSO



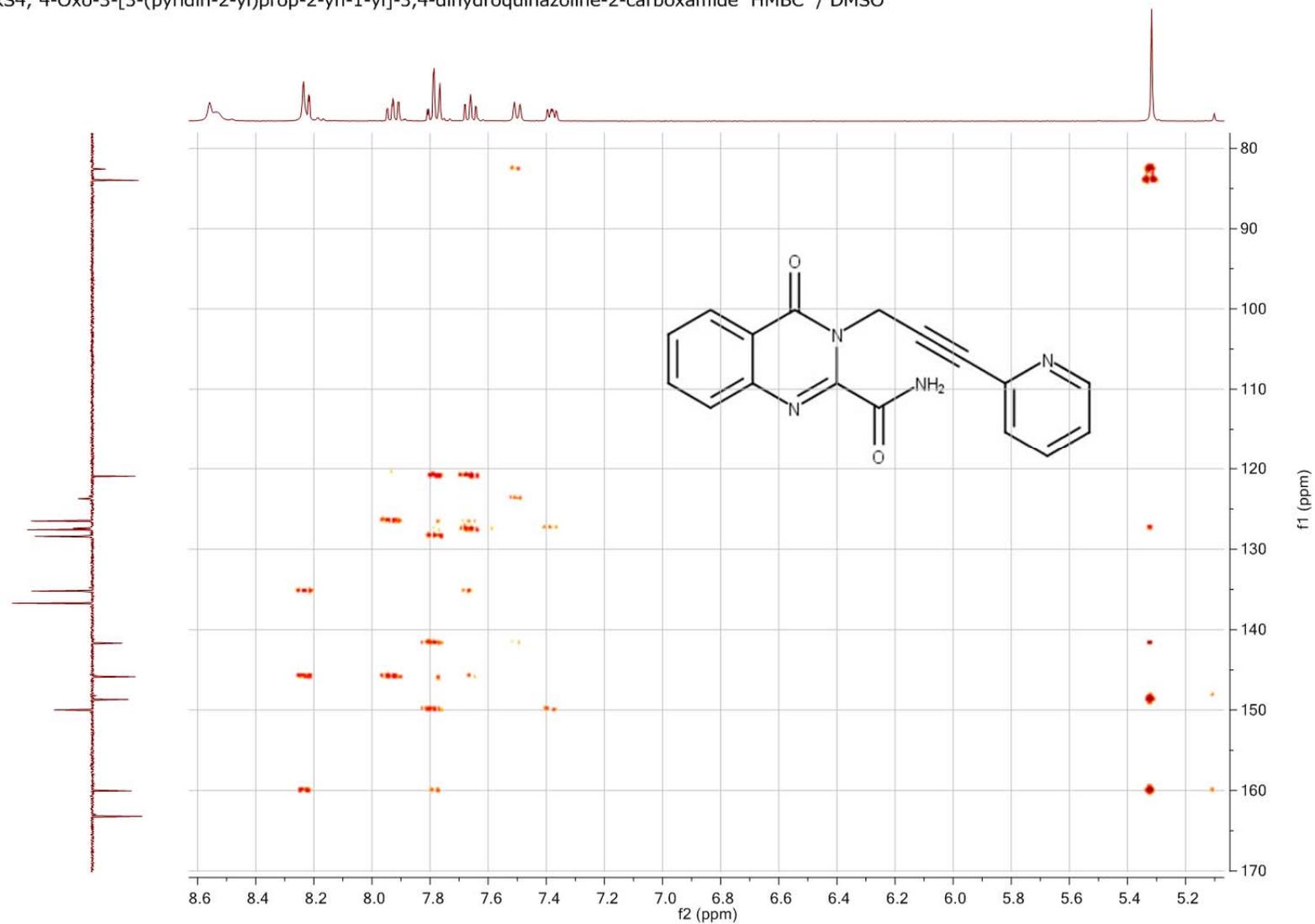
Tafel 3: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

RS4; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO



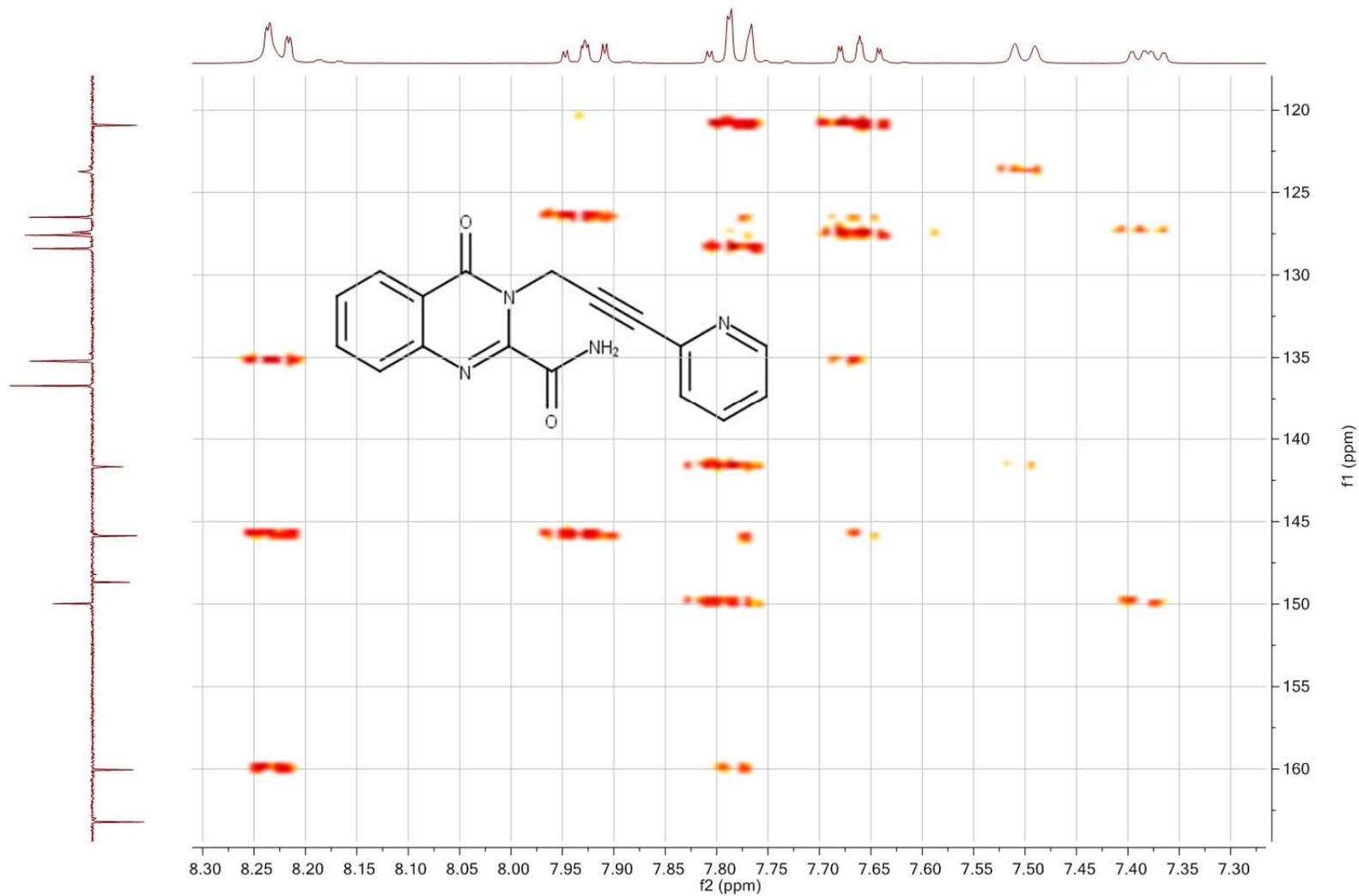
**Tafel 4:** 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

RS4; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / DMSO



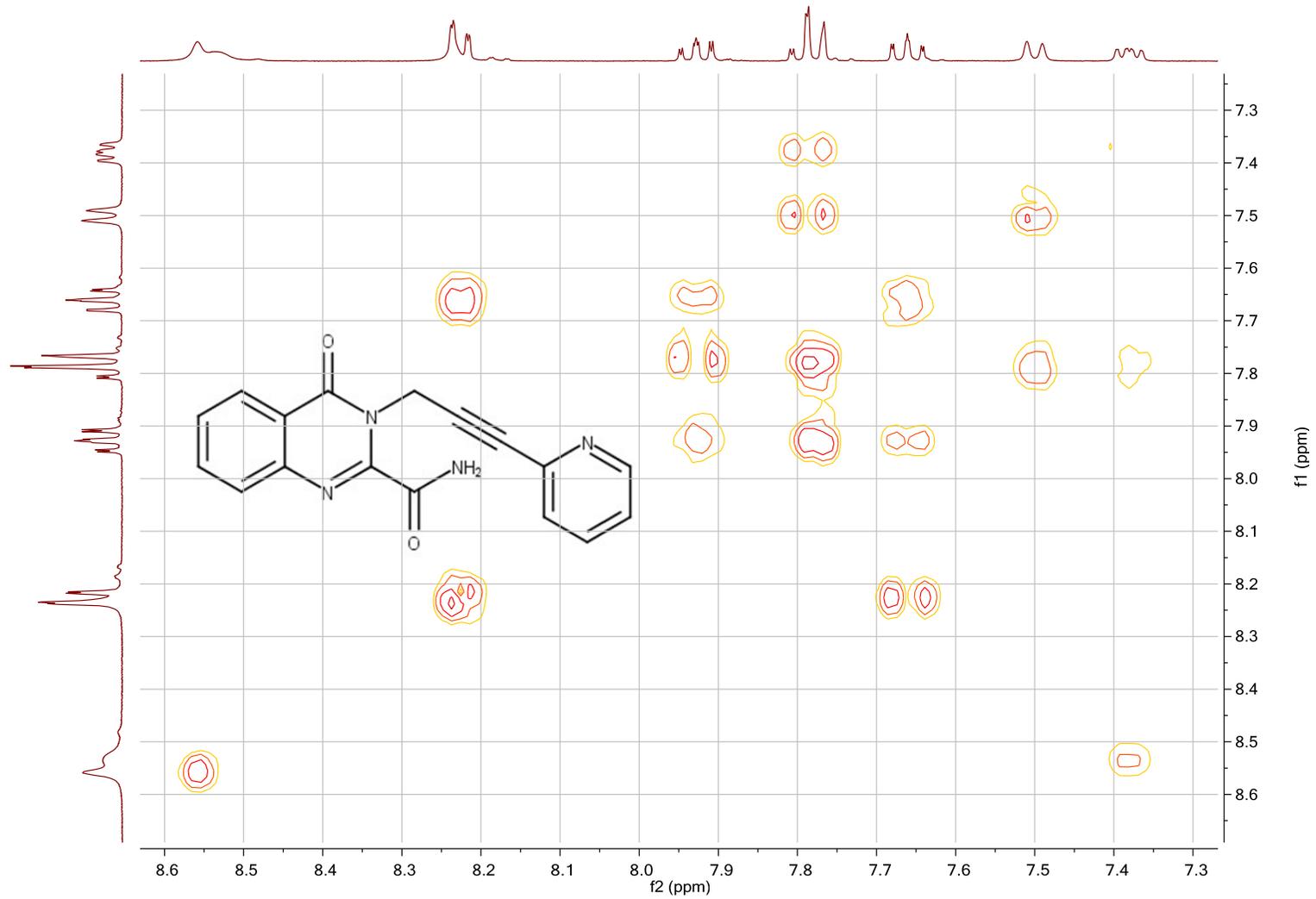
Tafel 5: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

RS4; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / DMSO



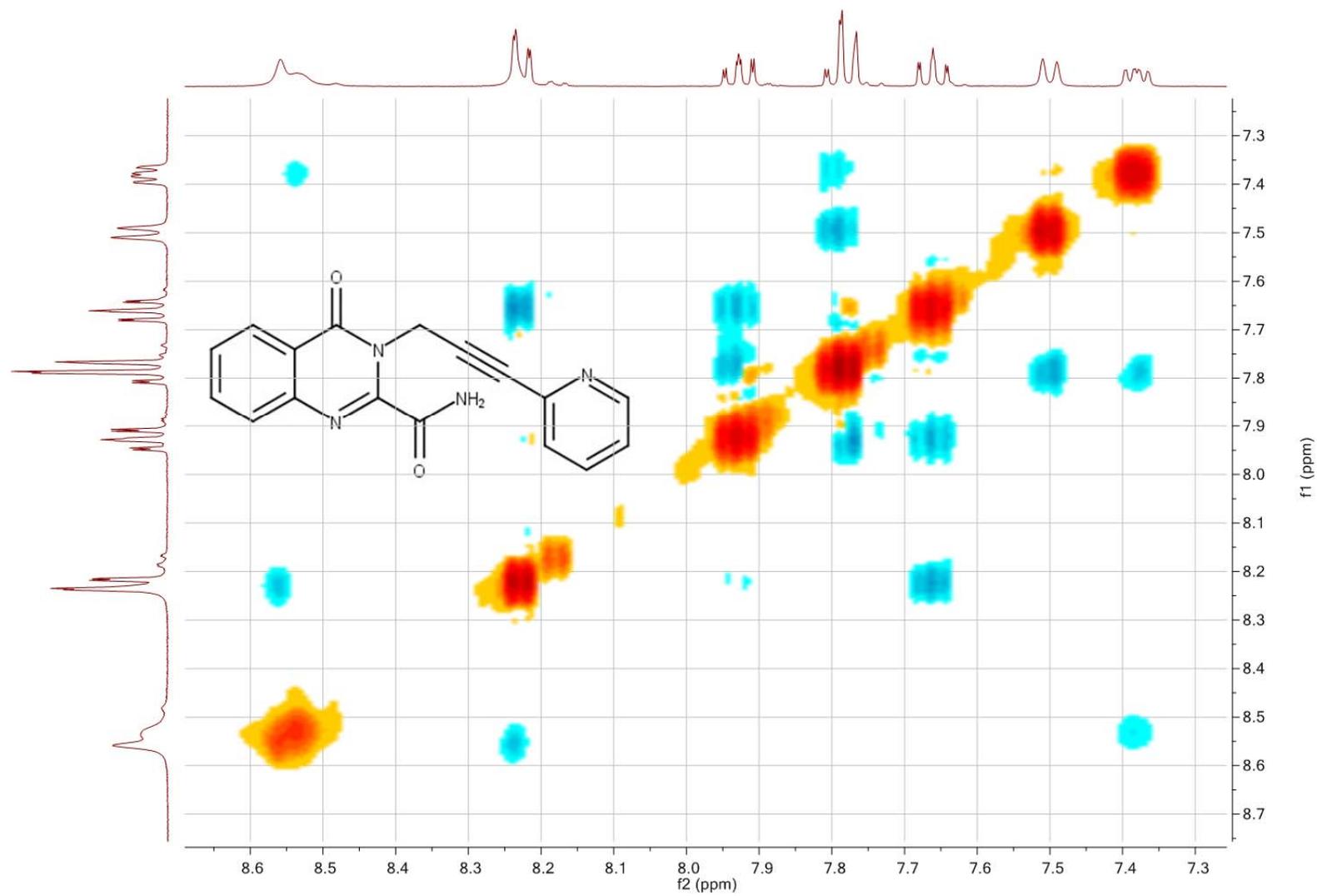
**Tafel 6:** 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

RS4; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazolin-2-carboxamide COSY / DMSO

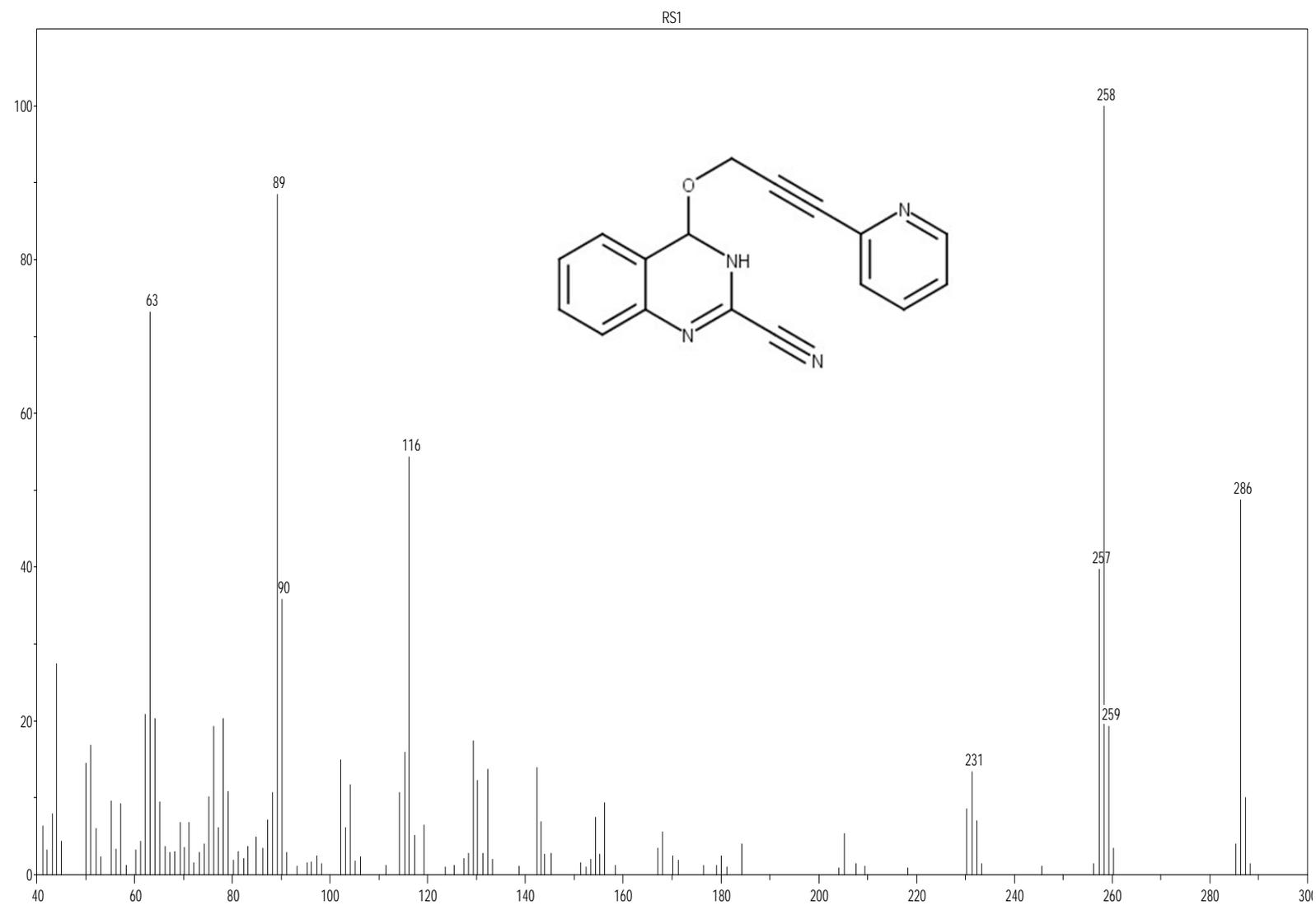


Tafel 7: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)

RS4; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazolin-2-carboxamide NOESY / DMSO

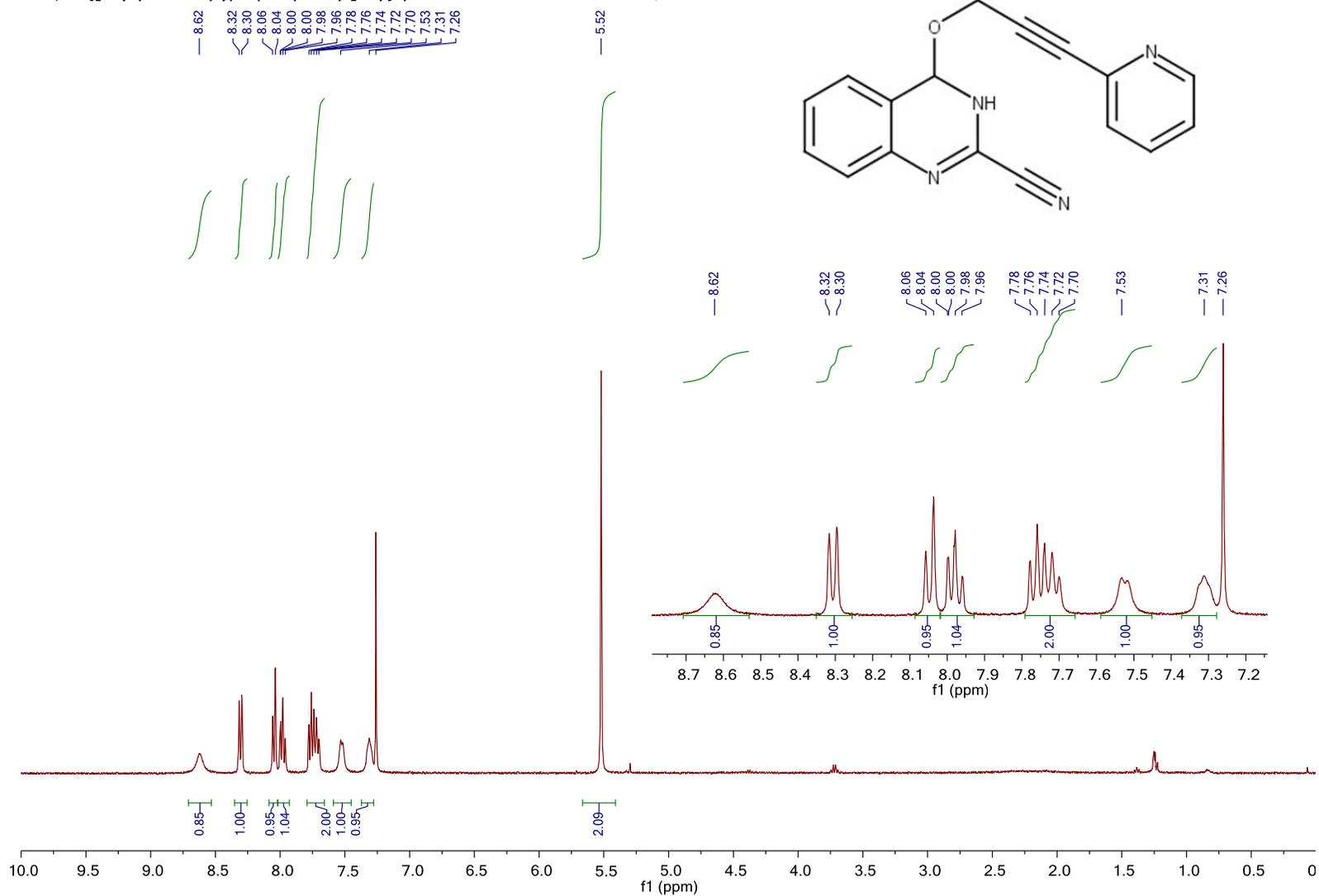


**Tafel 8:** 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)



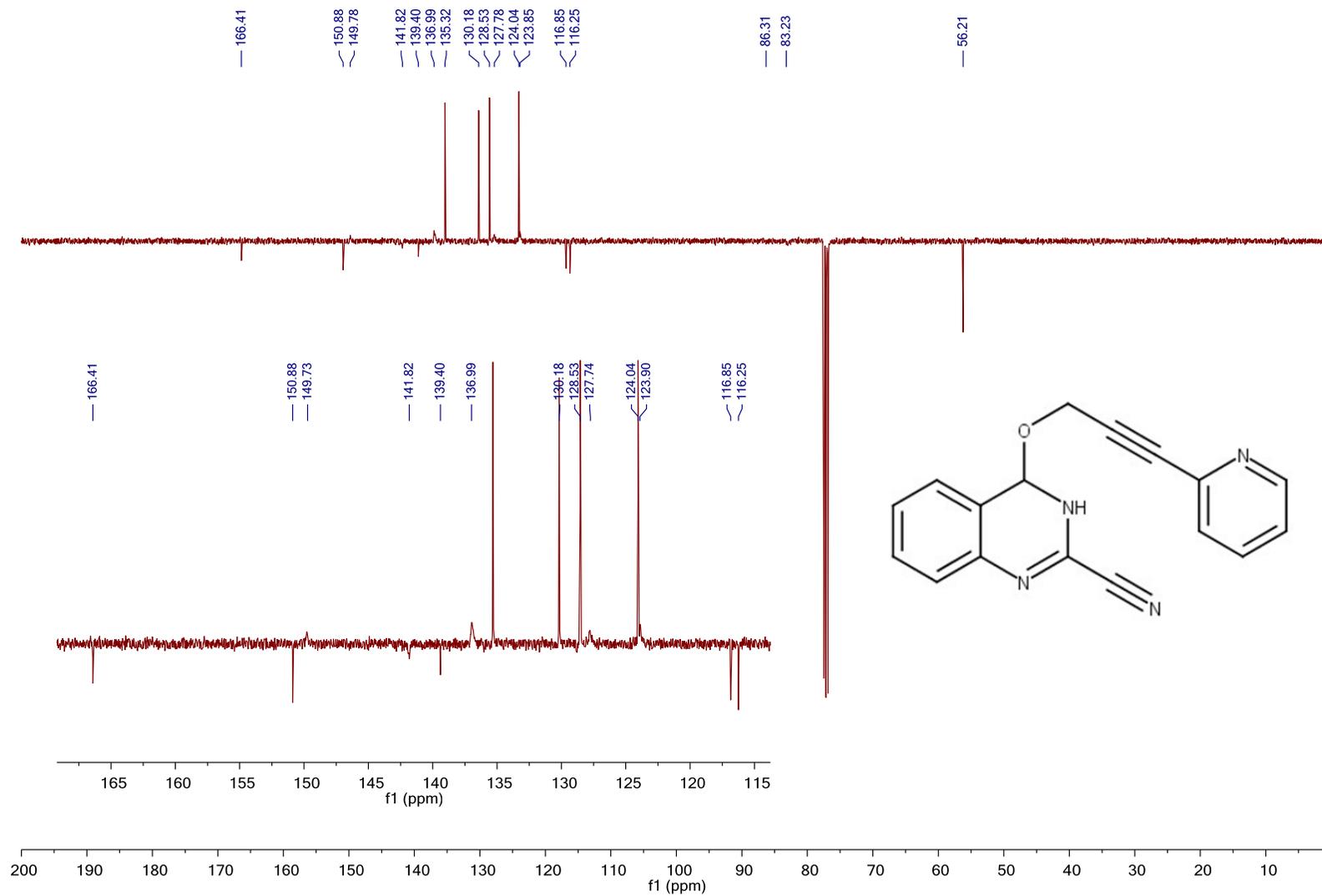
**Tafel 9:** 4-([3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]oxy)chinazolin-2-carbonitril (**8a**)

RS1; 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]oxy]quinazoline-2-carbonitrile 1H / CDCl3



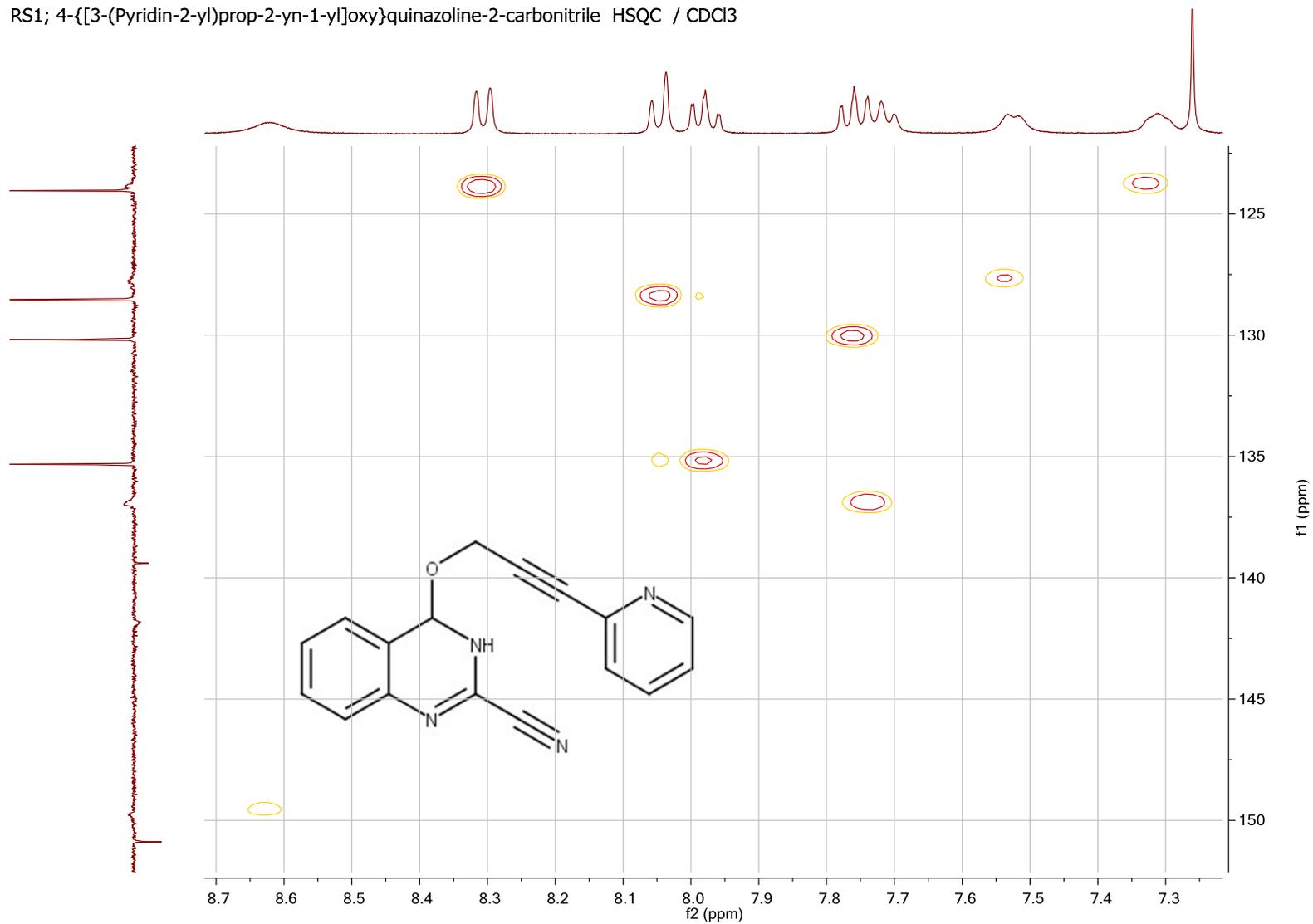
Tafel 10: 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]oxy]chinazolin-2-carbonitril (8a)

RS1; 4-{{3-(Pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl}oxy}quinazoline-2-carbonitrile C13APT / CDCI3



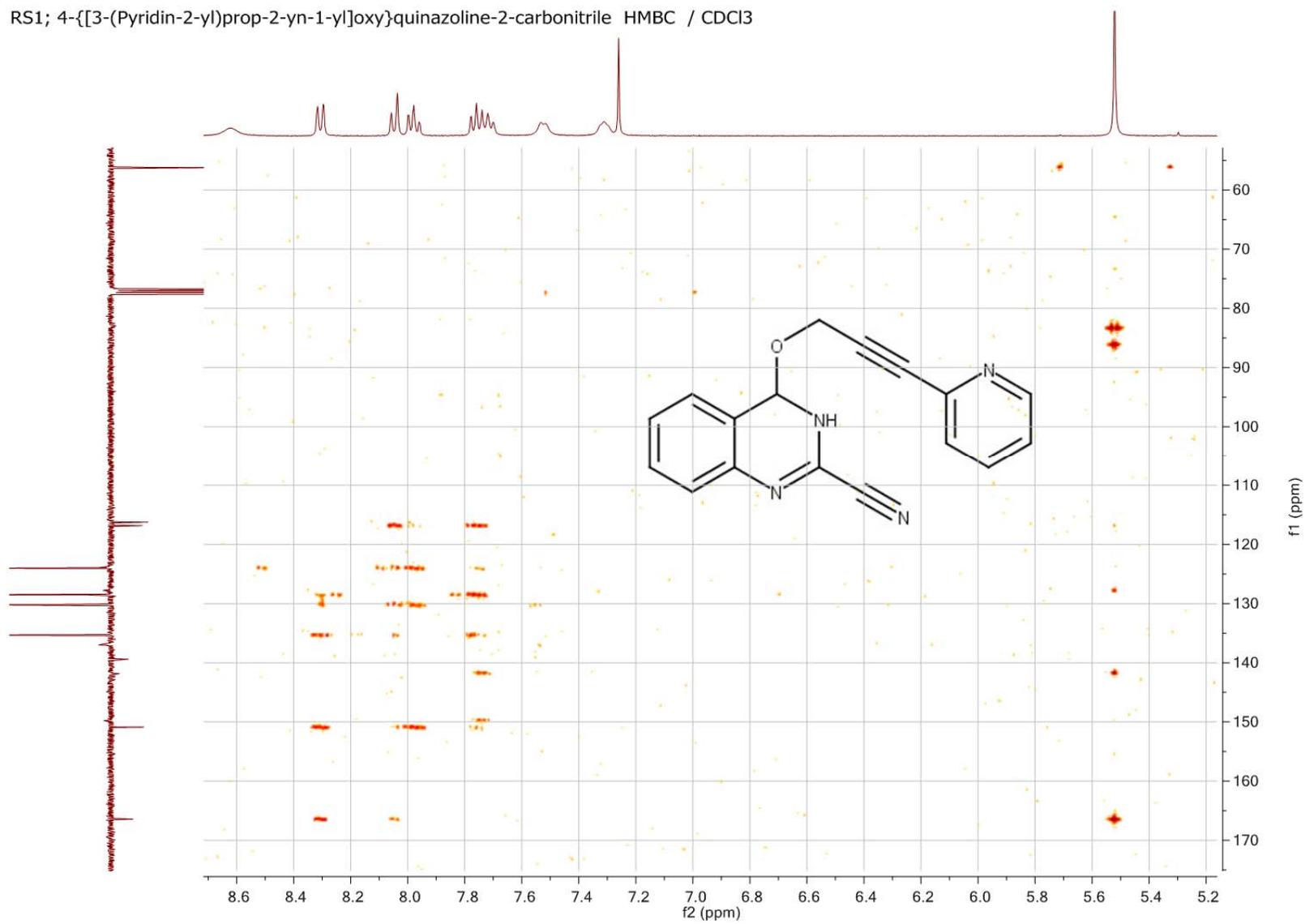
Tafel 11: 4-{{3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl}oxy}chinazolin-2-carbonitril (**8a**)

RS1; 4-{{[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]oxy}quinazoline-2-carbonitrile HSQC / CDCl3



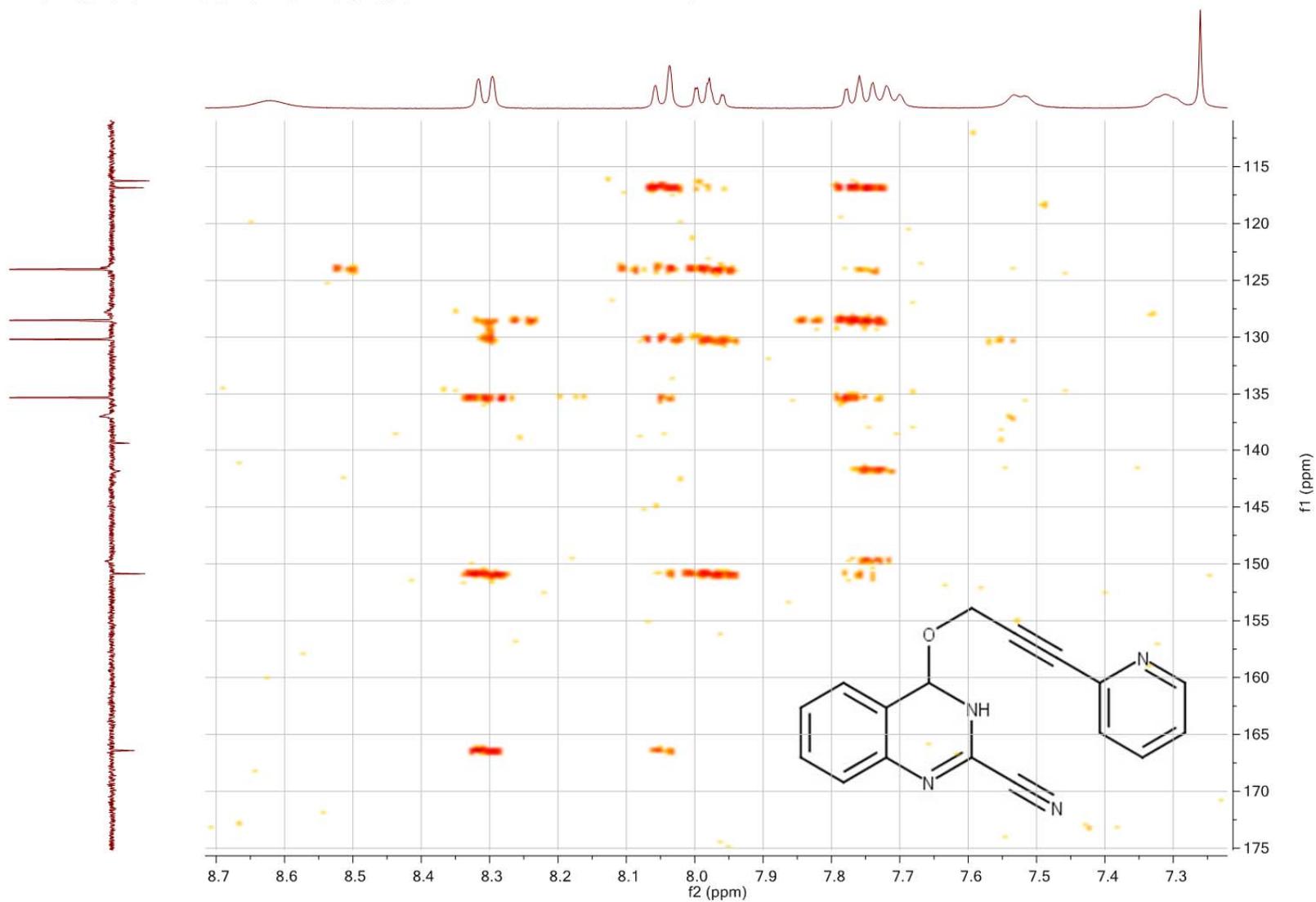
**Tafel 12:** 4-{{[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]oxy}chinazolin-2-carbonitril (**8a**)

RS1; 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]oxy]quinazoline-2-carbonitrile HMBC / CDCl<sub>3</sub>



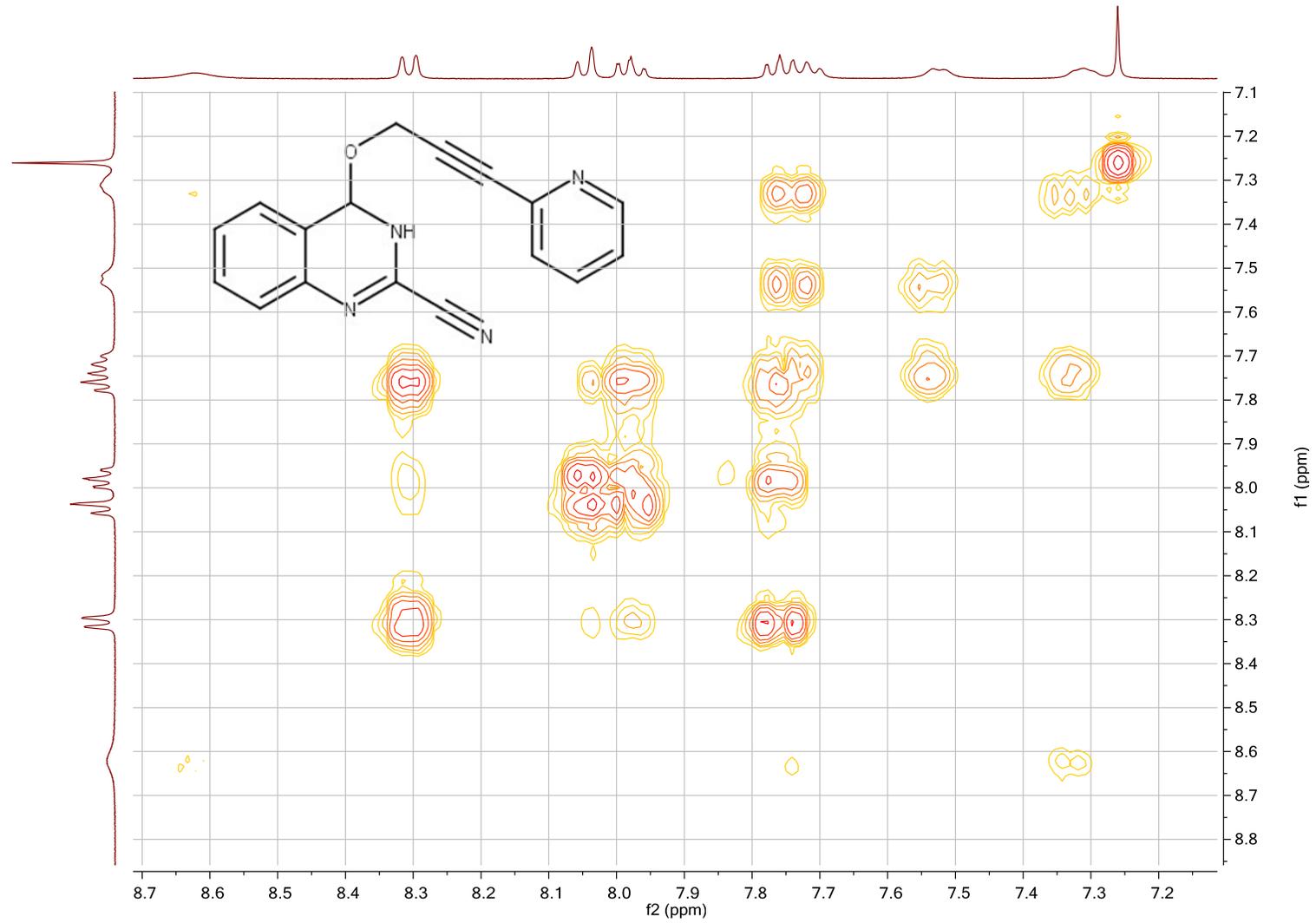
**Tafel 13:** 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]oxy]chinazolin-2-carbonitril (**8a**)

RS1; 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]oxy]quinazoline-2-carbonitrile HMBC / CDCl3



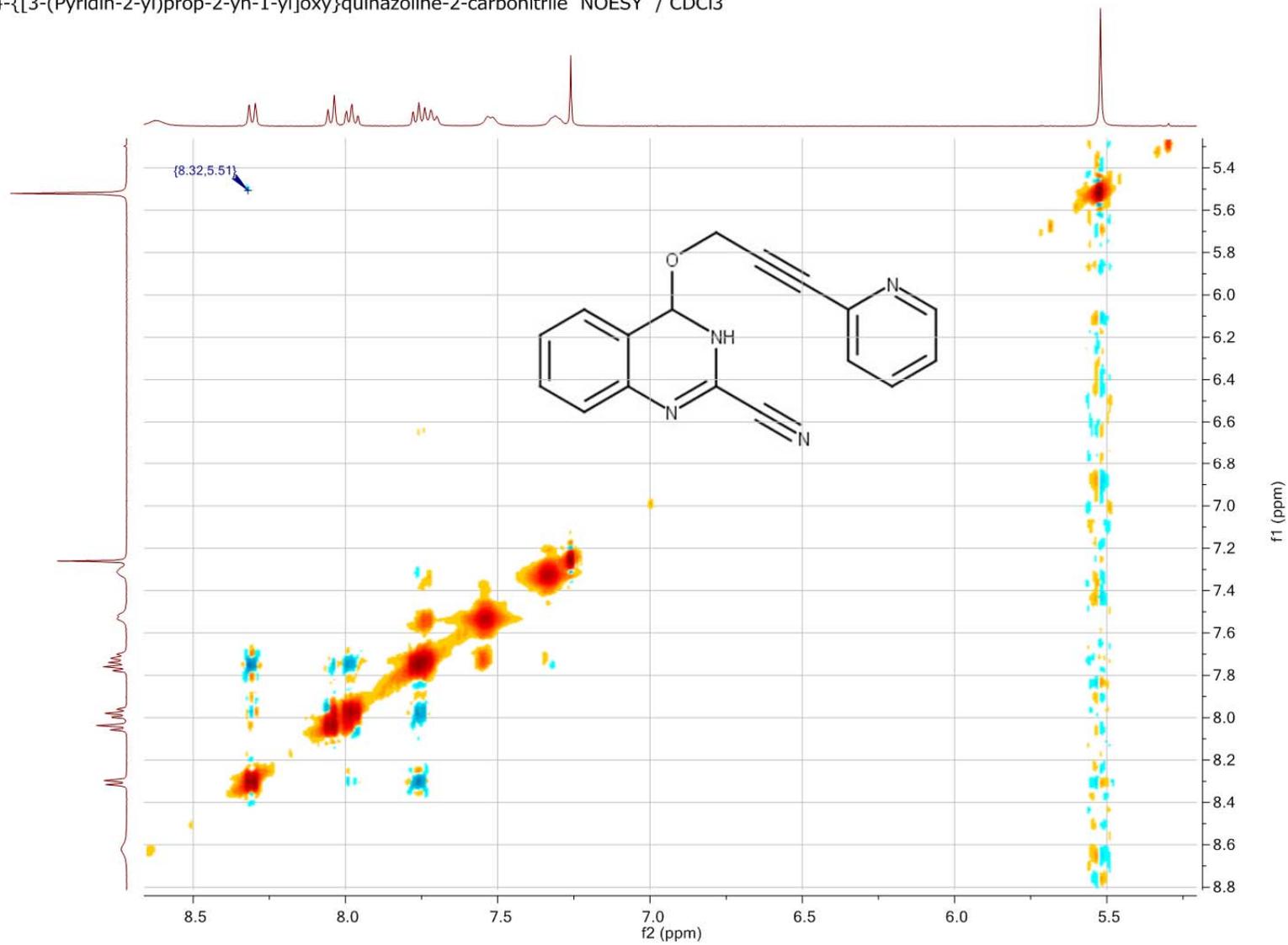
Tafel 14: 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]oxy]chinazolin-2-carbonitril (**8a**)

RS1; 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]oxy]quinazoline-2-carbonitrile COSY / CDCl<sub>3</sub>

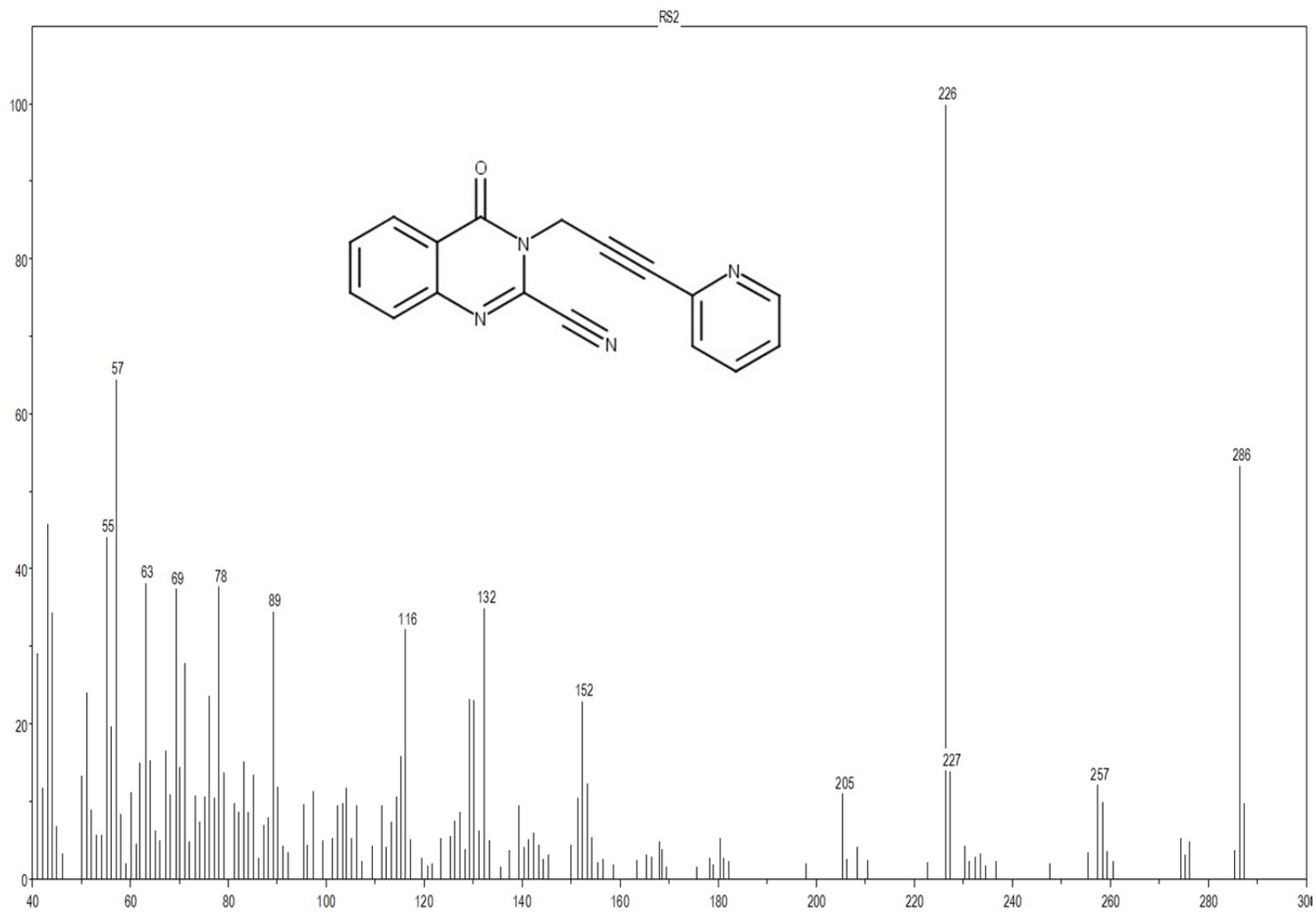


Tafel 15: 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]oxy]chinazolin-2-carbonitril (**8a**)

RS1; 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]oxy]quinazoline-2-carbonitrile NOESY / CDCl<sub>3</sub>

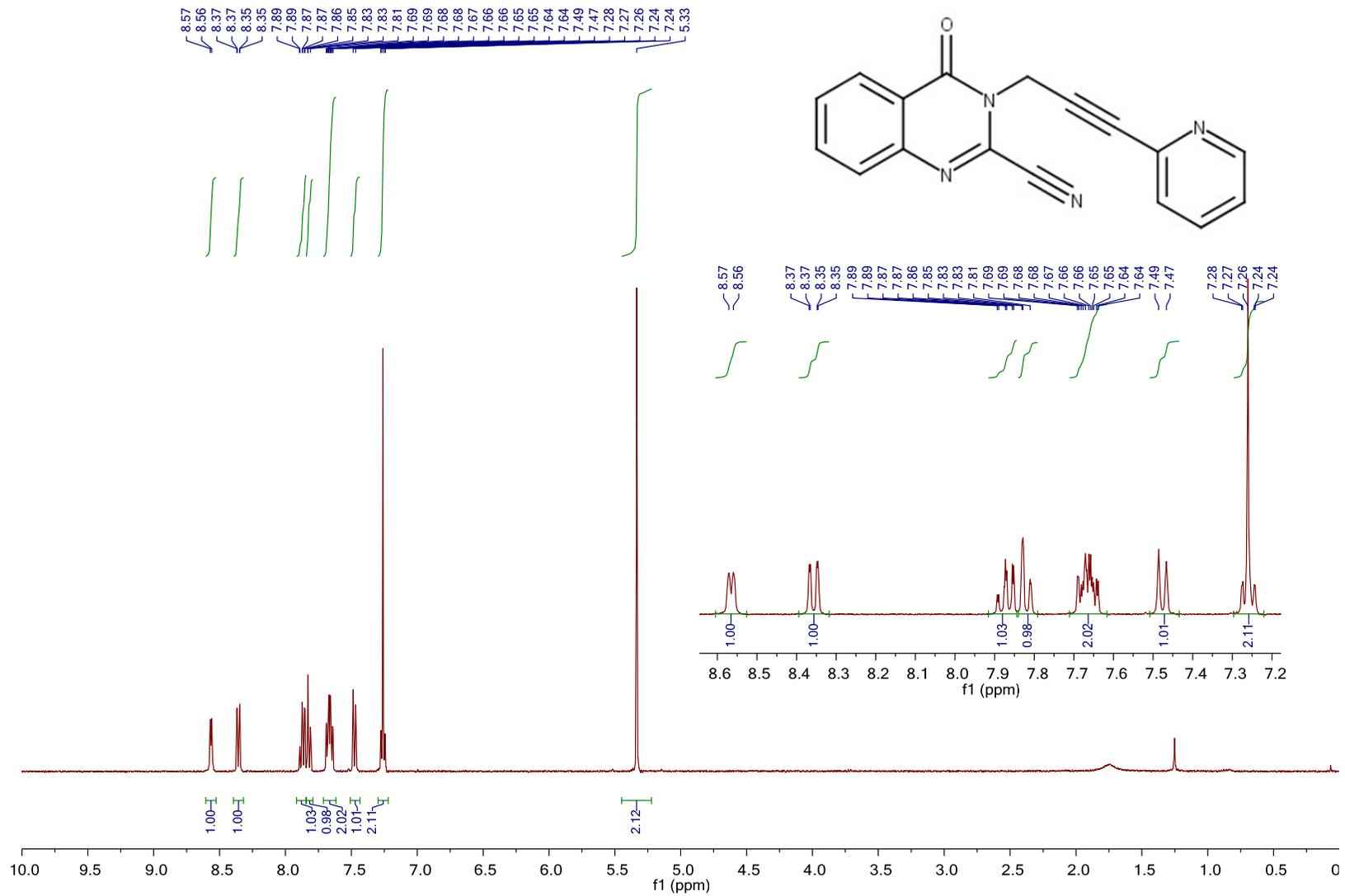


**Tafel 16:** 4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]oxy]chinazolin-2-carbonitril (**8a**)

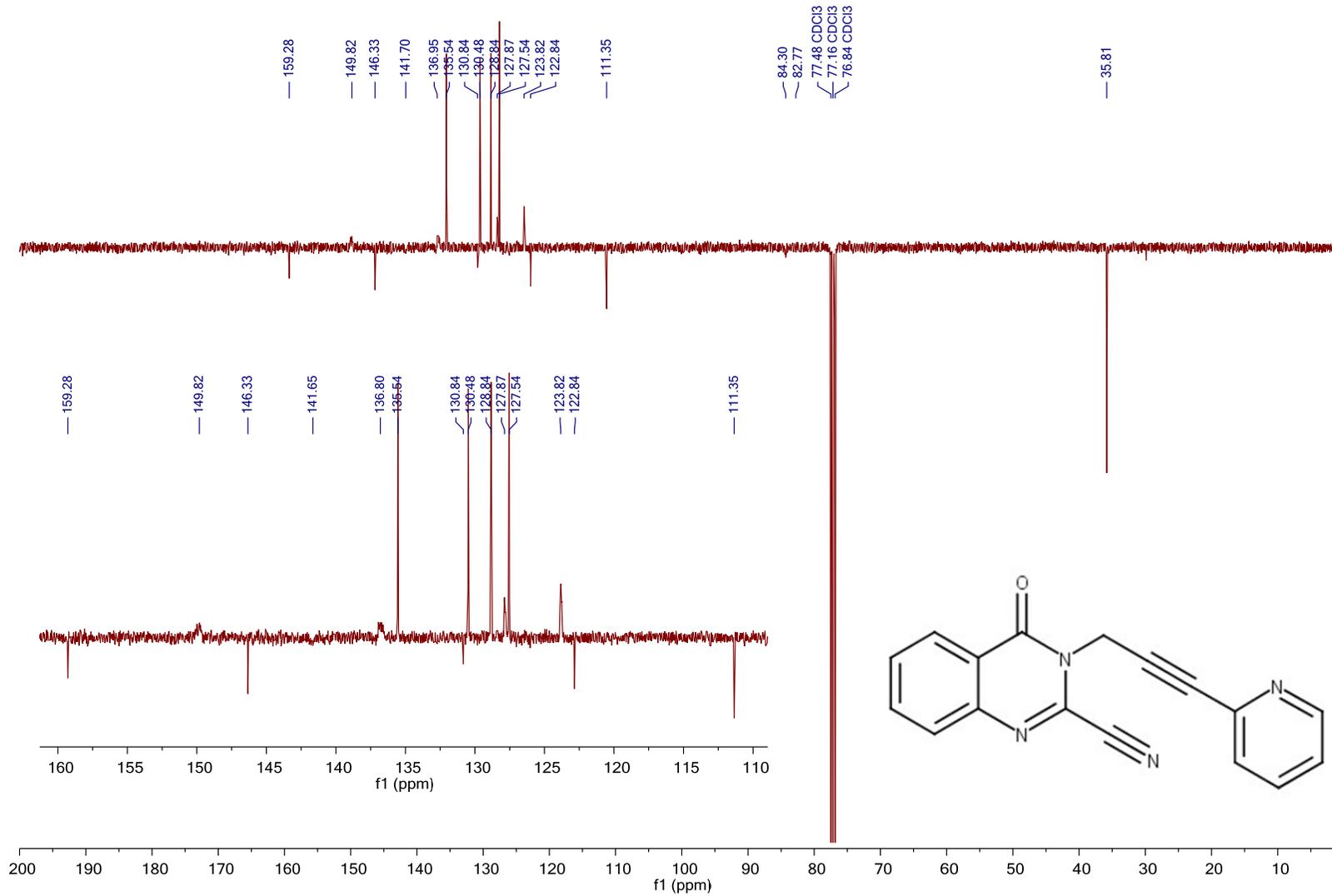


**Tafel 17:** 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**8b**)

RS2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile 1H / CDCl3

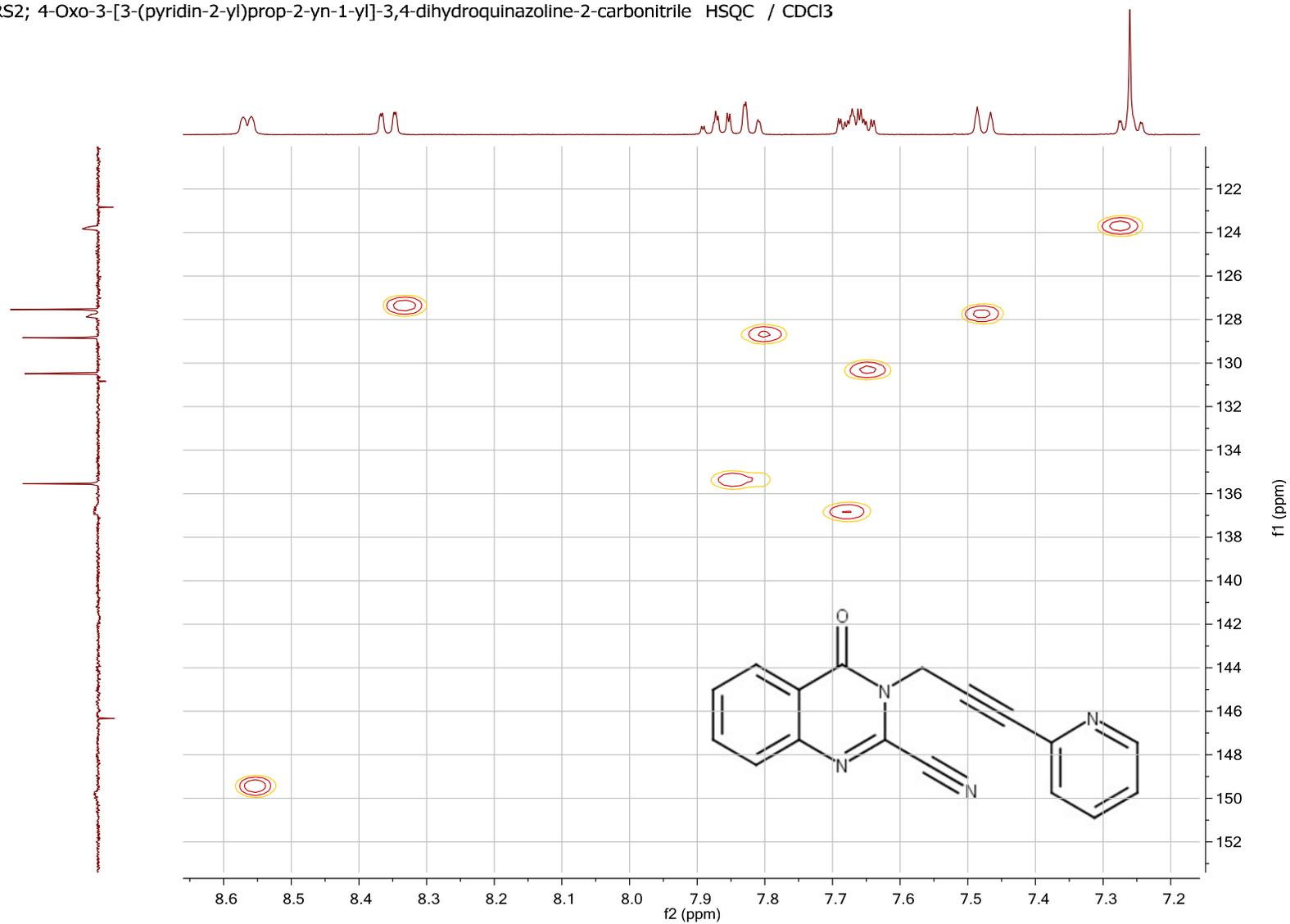


RS2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazolin-2-carbonitrile C13APT / CDCl3



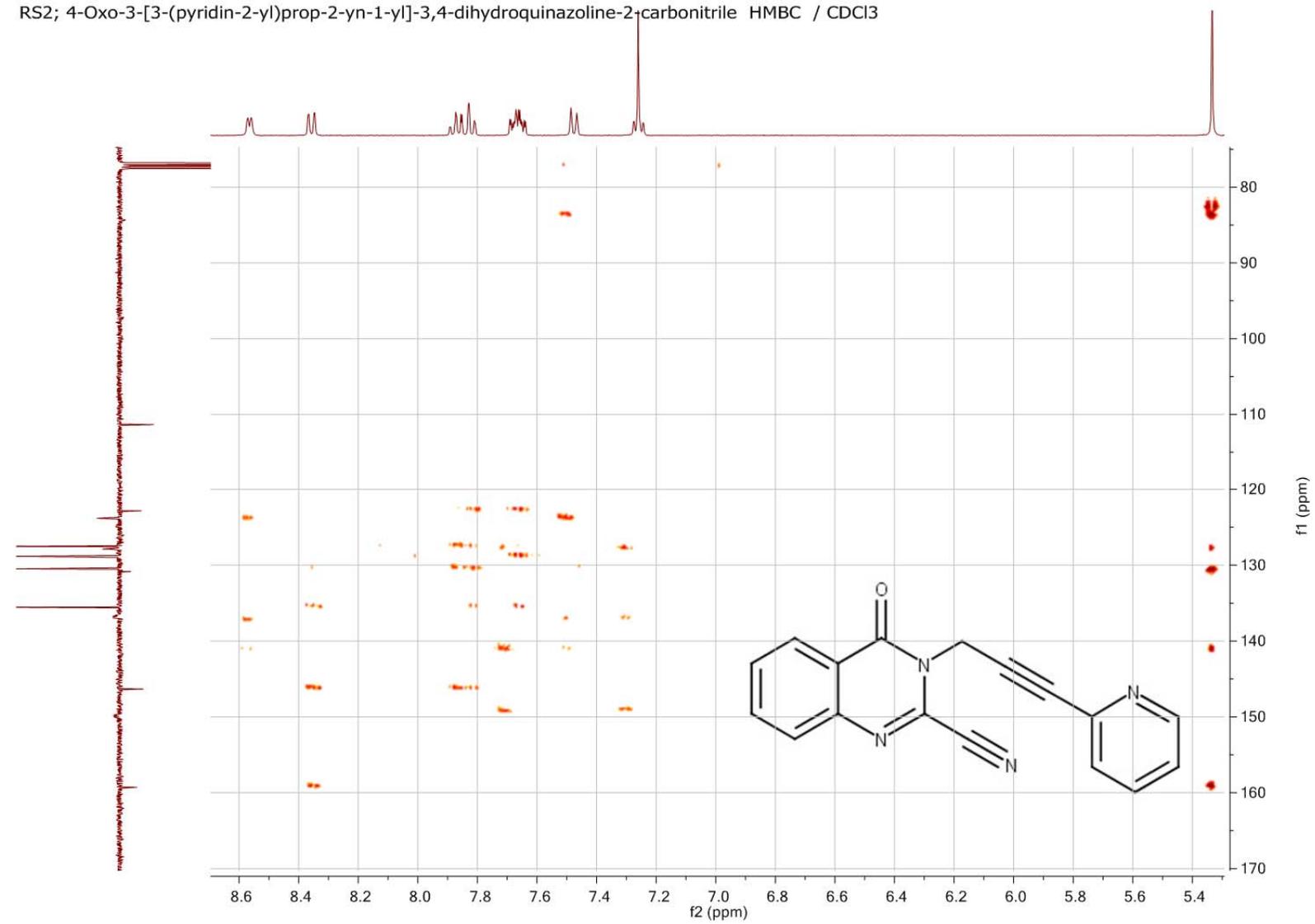
Tafel 19: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (8b)

RS2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazolin-2-carbonitrile HSQC / CDCl<sub>3</sub>



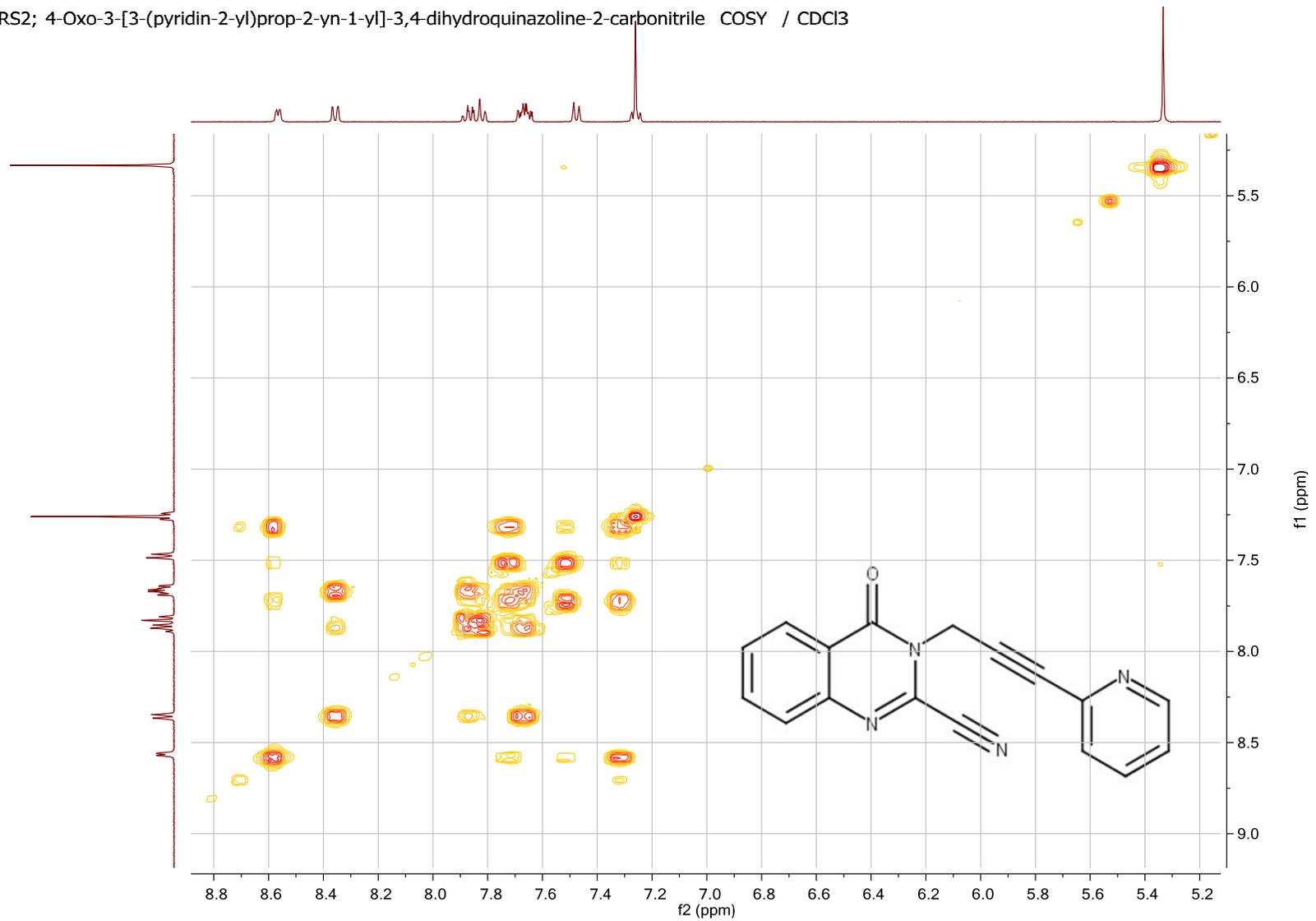
**Tafel 20:** 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**8b**)

RS2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazolin-2-carbonitrile HMBC / CDCl<sub>3</sub>



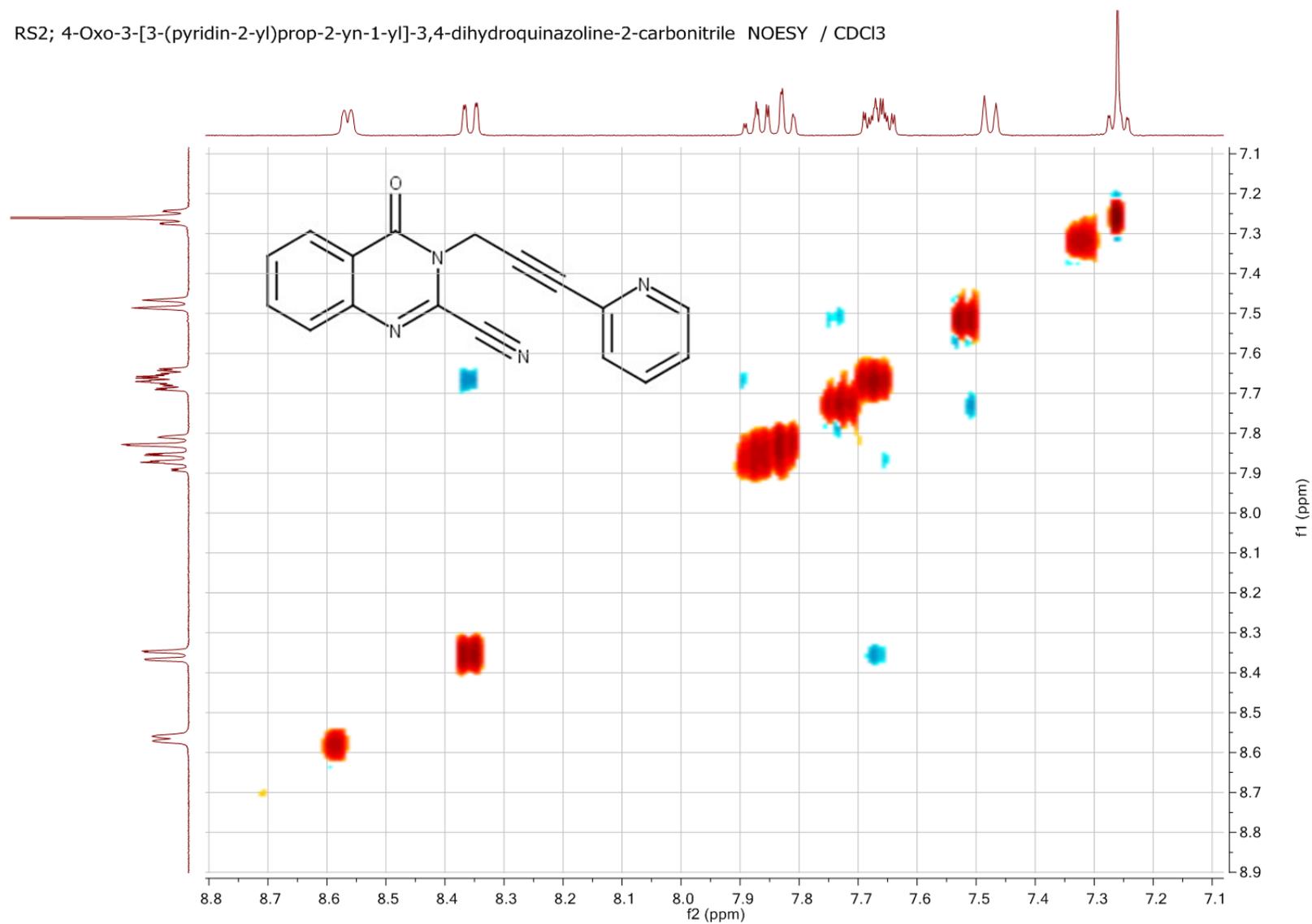
Tafel 21: 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**8b**)

RS2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile COSY / CDCl<sub>3</sub>

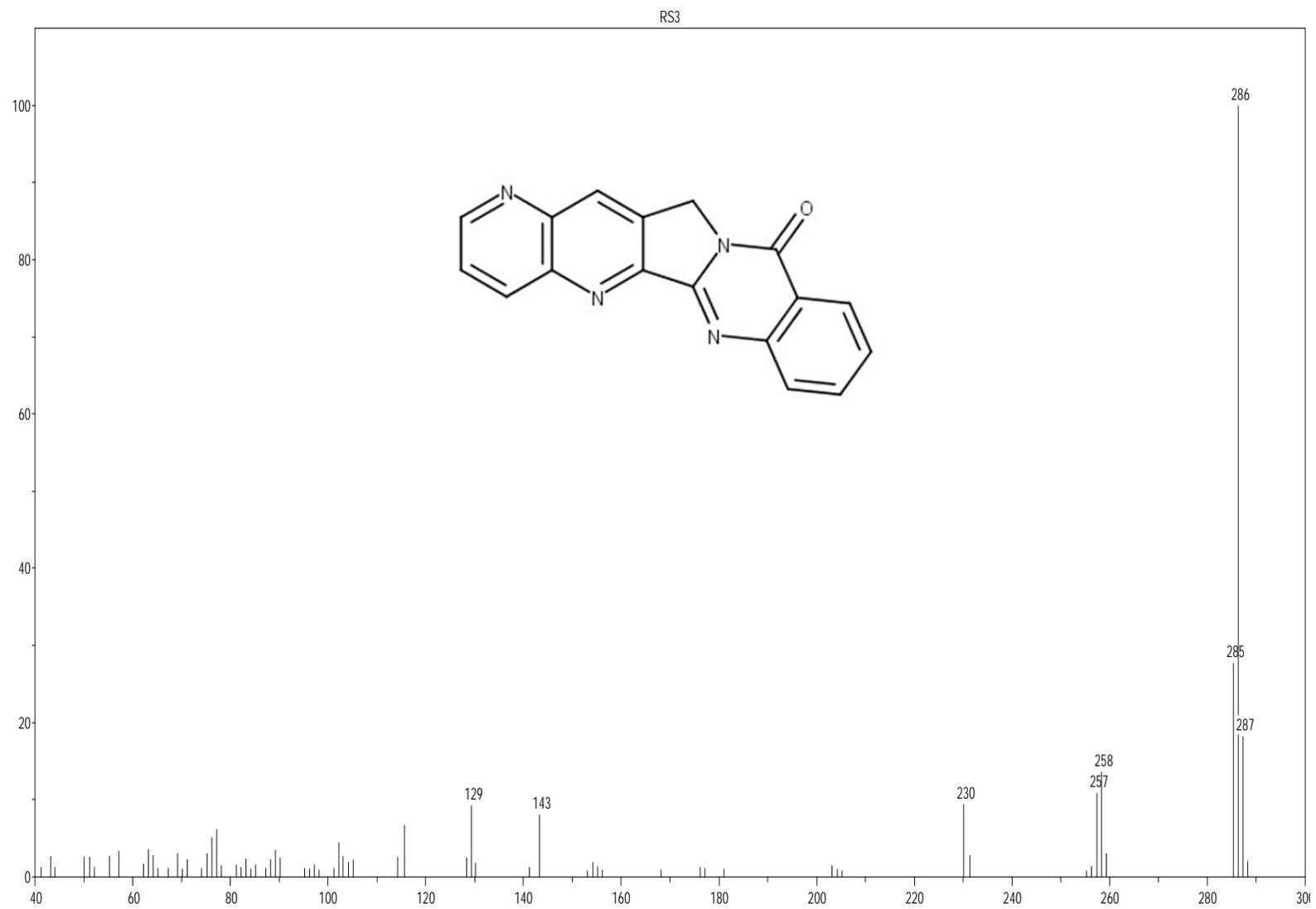


**Tafel 22:** 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**8b**)

RS2; 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-yn-1-yl]-3,4-dihydroquinazoline-2-carbonitrile NOESY / CDCl<sub>3</sub>

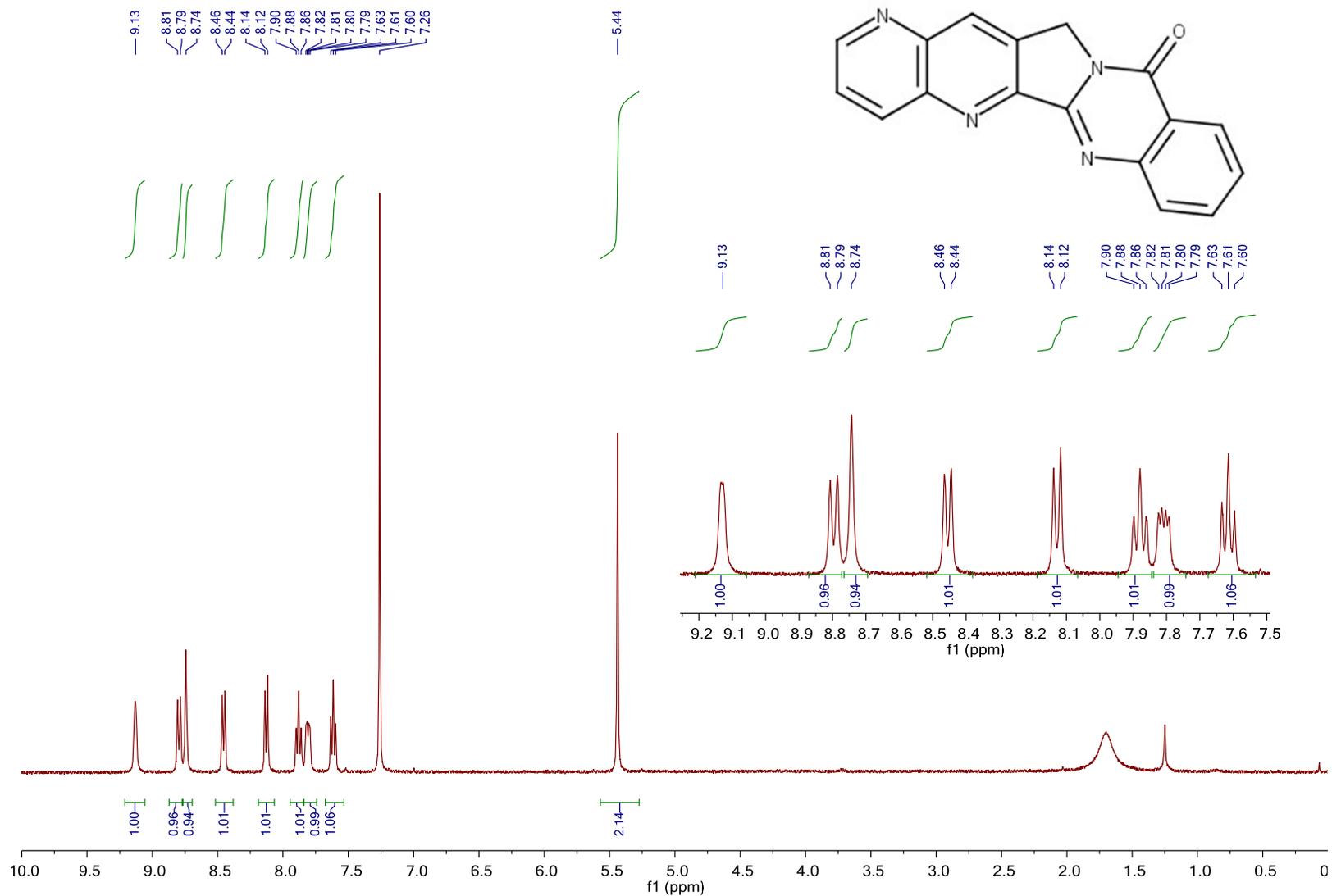


**Tafel 23:** 4-Oxo-3-[3-(pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**8b**)



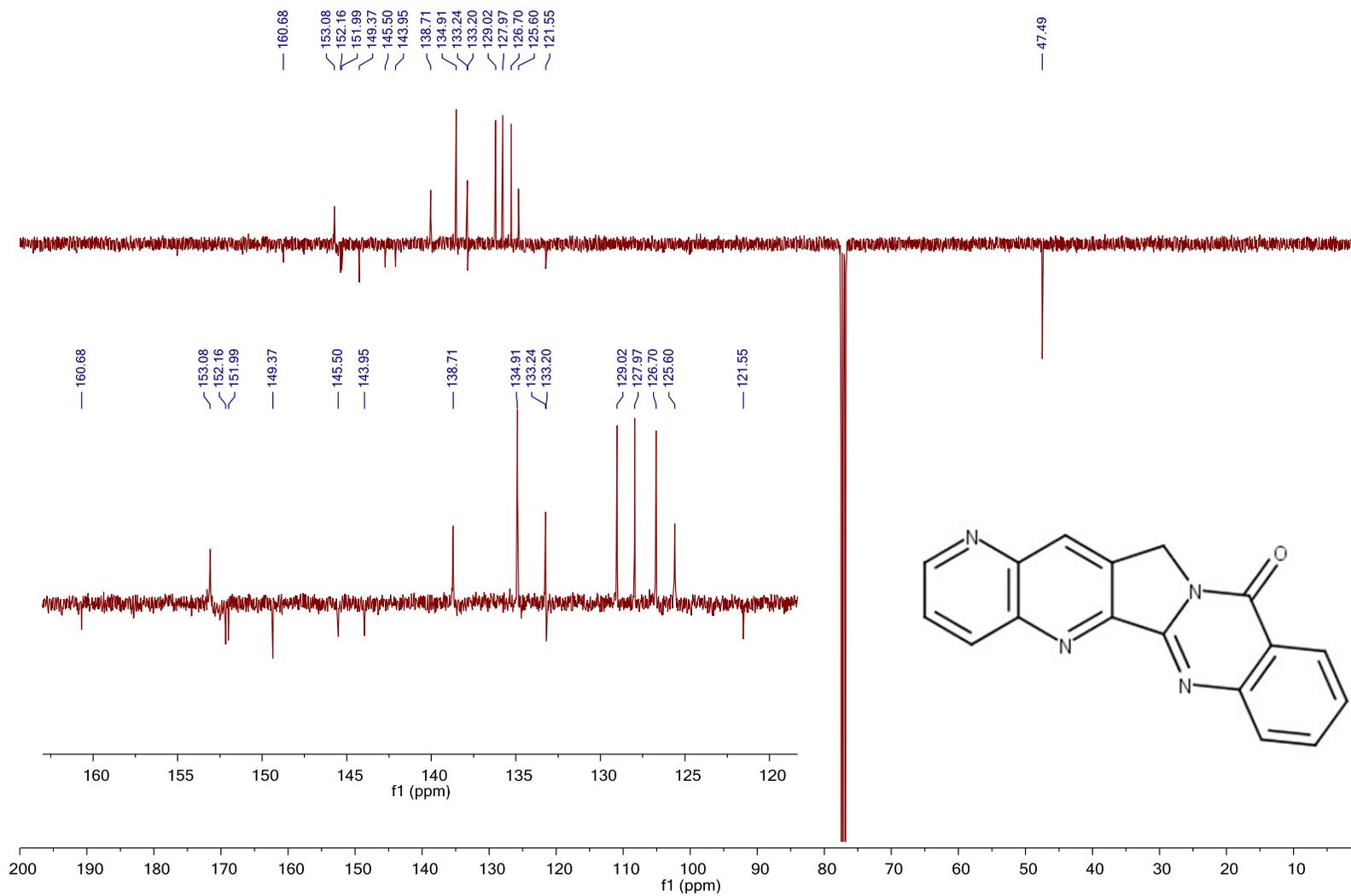
**Tafel 24:** [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-8(6*H*)-on (9-Aza-Luotonin A) (**9**)

RS3; [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one (1-aza-Luotonin A) 1H / CDCl3



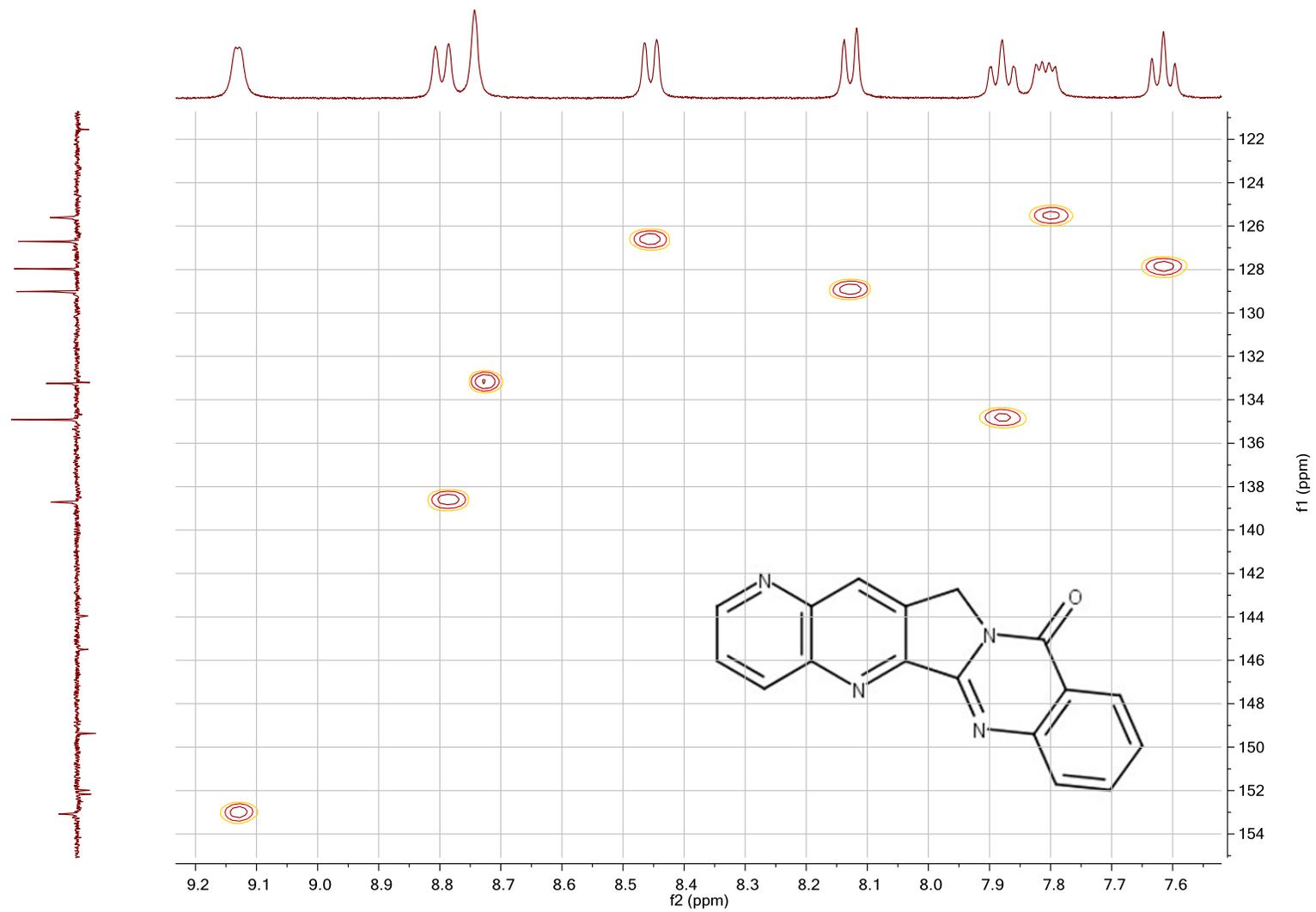
Tafel 25: [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (9-Aza-Luotonin A) (9)

RS3; [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one (1-aza-Luotonin A) C13APT / CDCl3



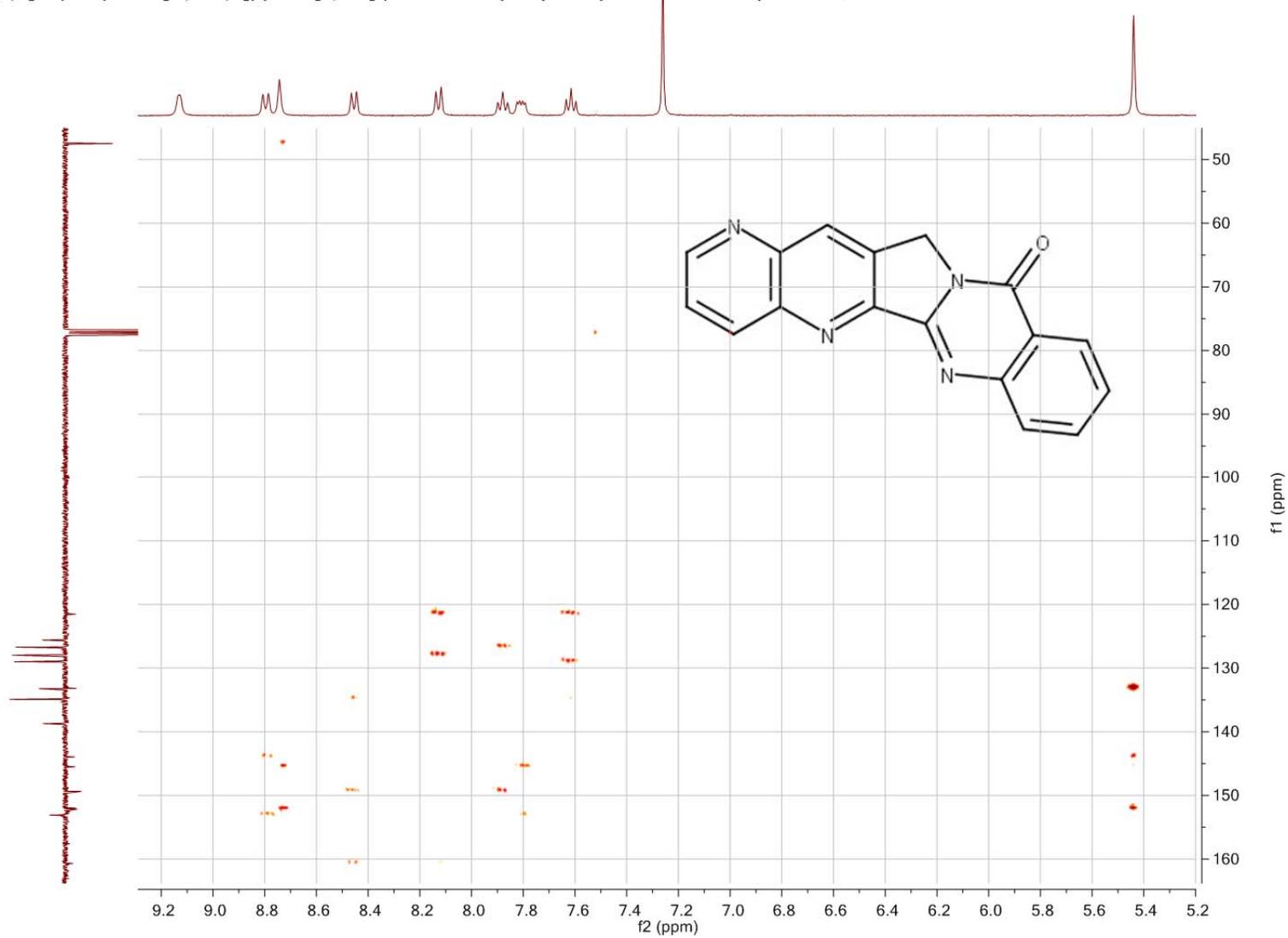
Tafel 26: [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (9-Aza-Luotonin A) (9)

RS3; [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one (1-aza-Luotonin A) HSQC / CDCl<sub>3</sub>



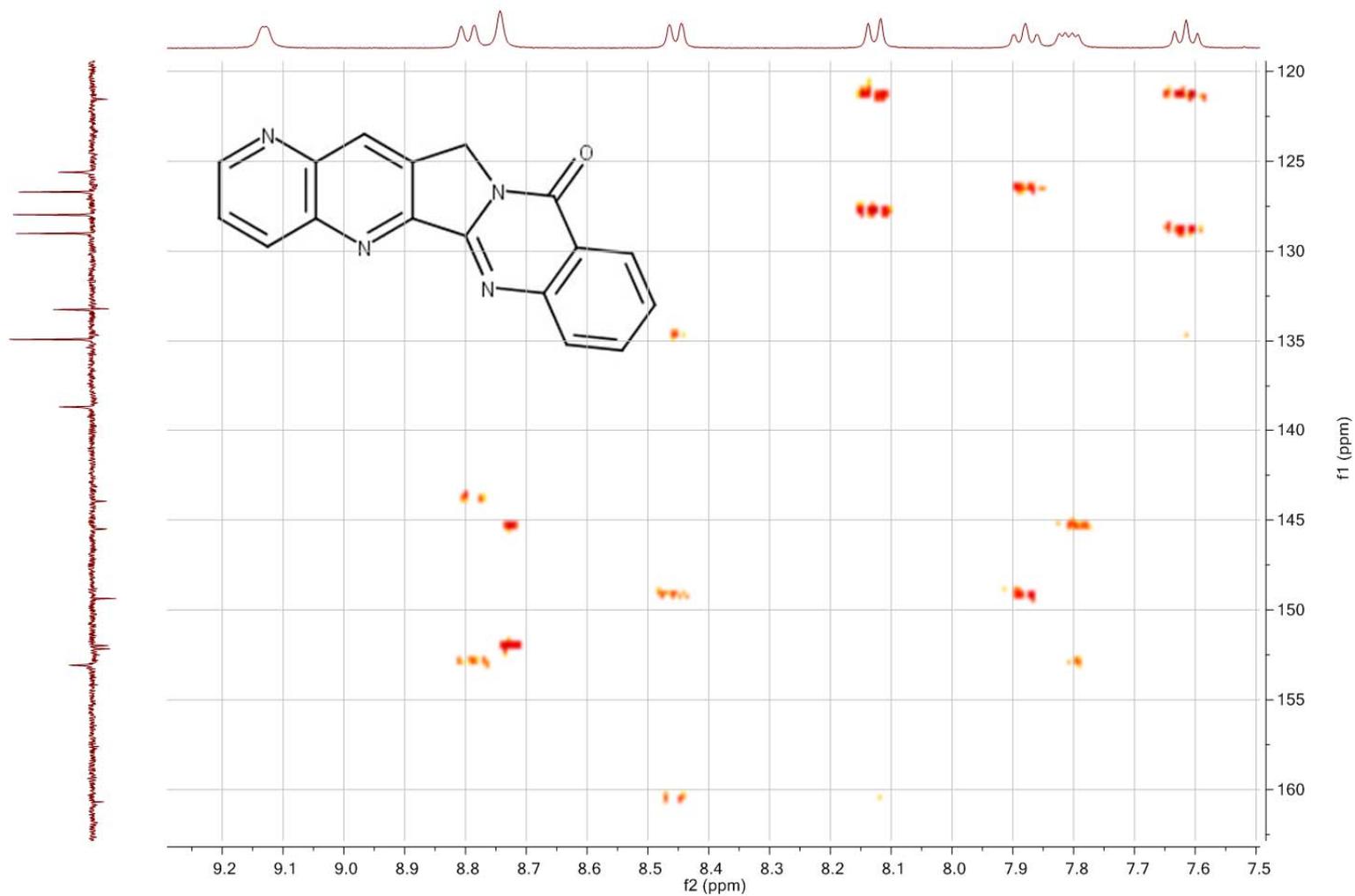
Tafel 27: [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (9-Aza-Luotonin A) (9)

RS3; [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one (1-aza-Luotonin A) HMBC / CDCl<sub>3</sub>



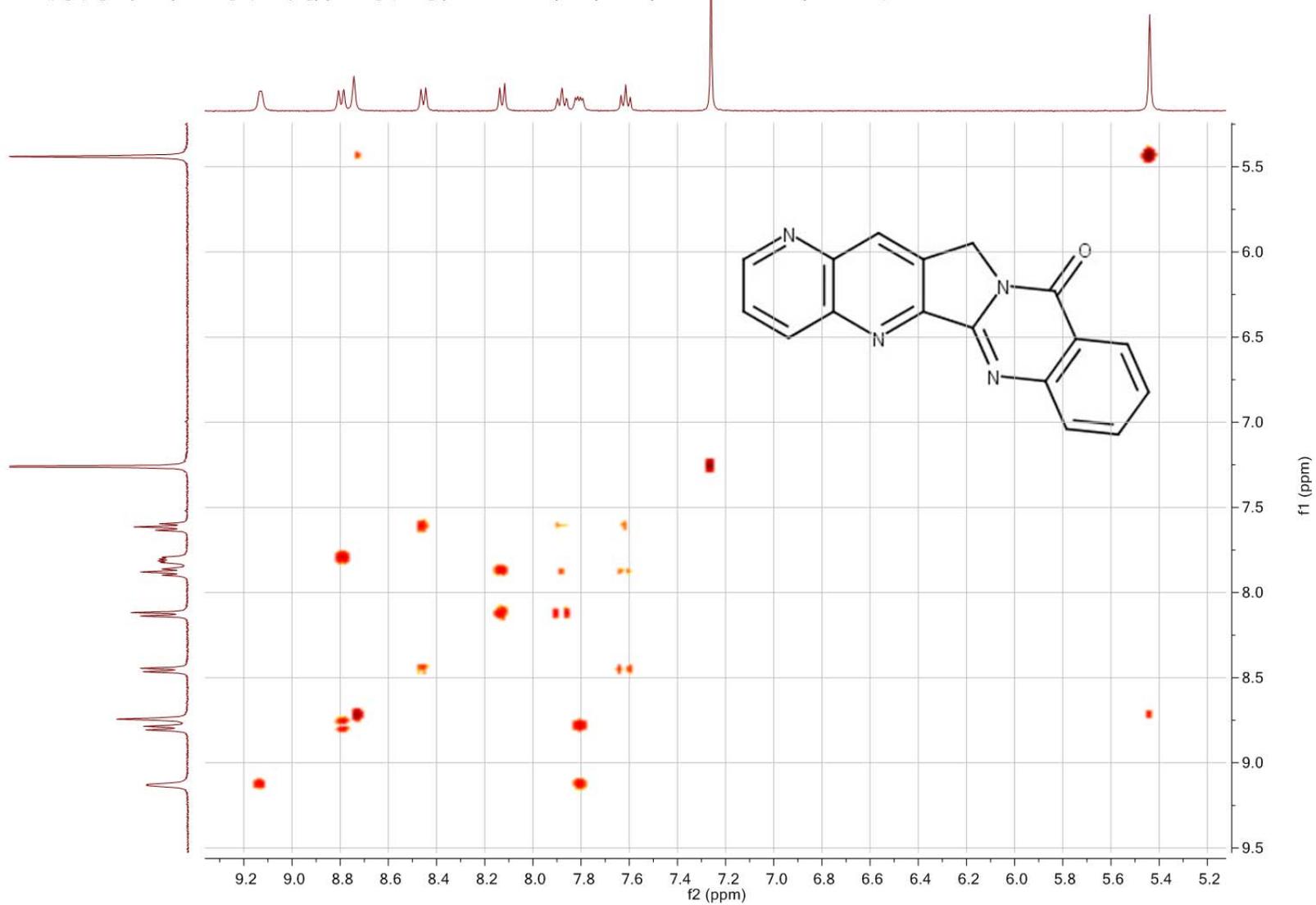
Tafel 28: [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (9-Aza-Luotonin A) (9)

RS3; [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one (1-aza-Luotonin A) HMBC / CDCl<sub>3</sub>



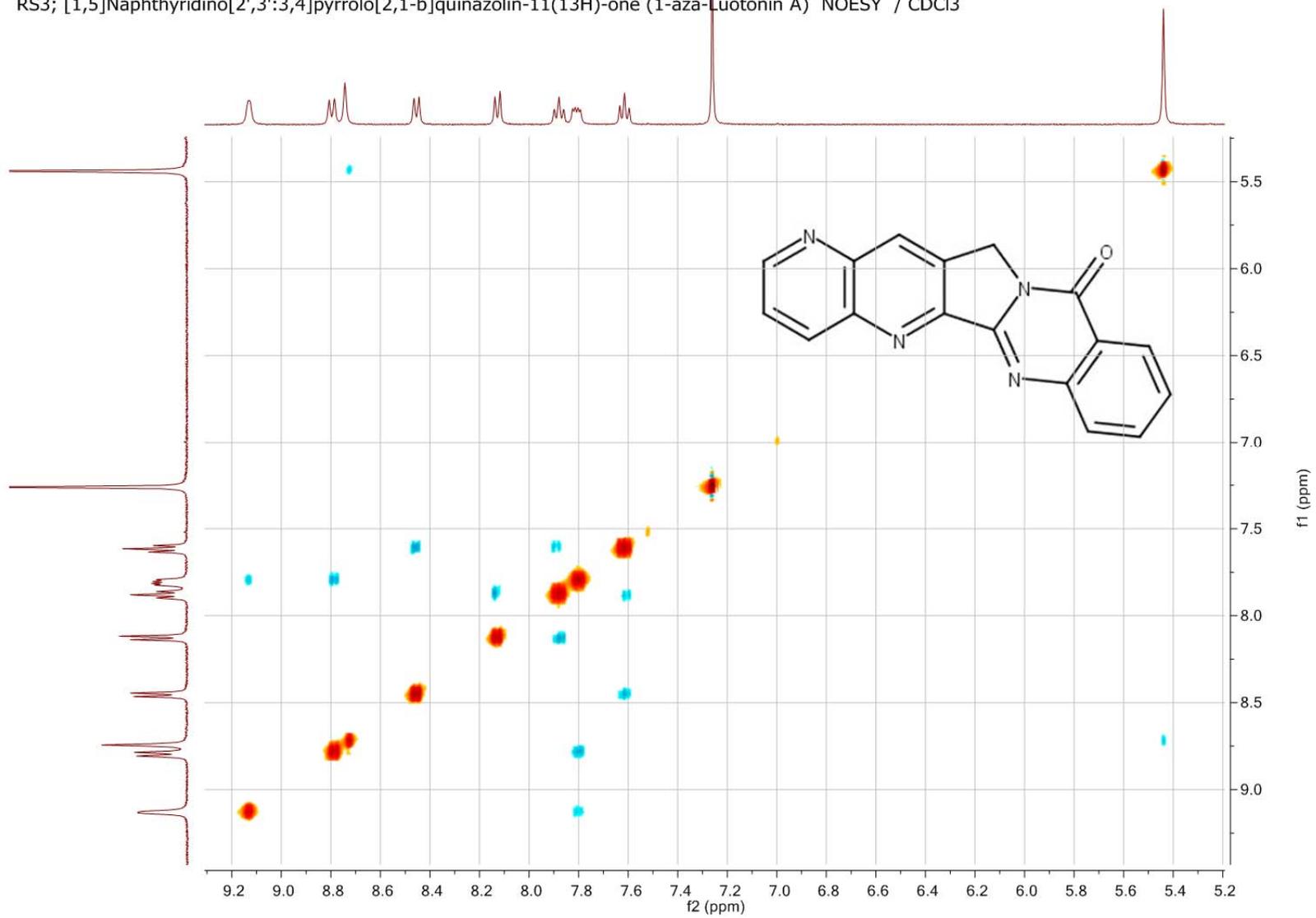
Tafel 29: [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-8(6*H*)-on (9-Aza-Luotonin A) (9)

RS3; [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one (1-aza-Luotonin A) COSY / CDCl<sub>3</sub>

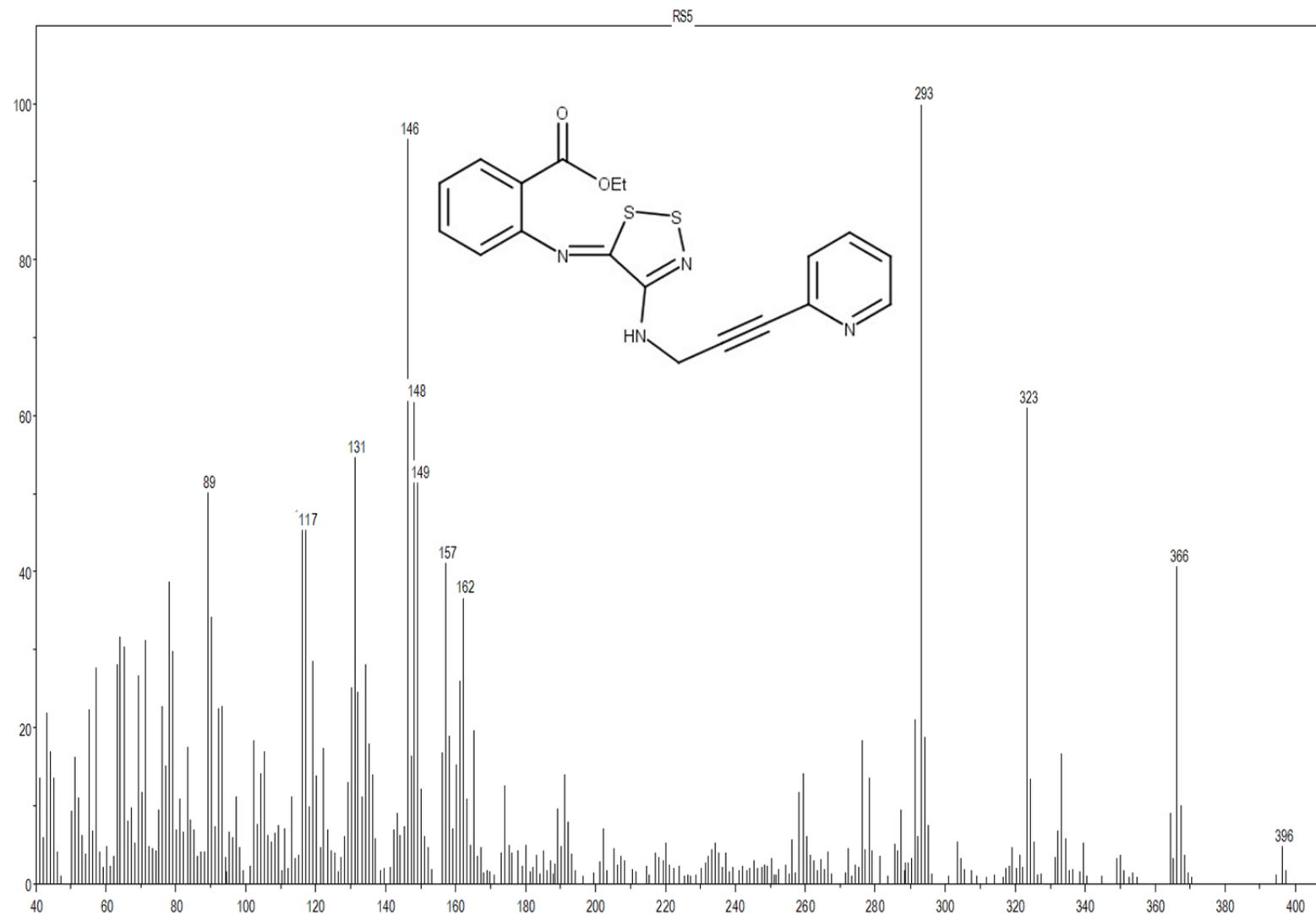


Tafel 30: [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (9-Aza-Luotonin A) (9)

RS3; [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one (1-aza-Luotonin A) NOESY / CDCl<sub>3</sub>

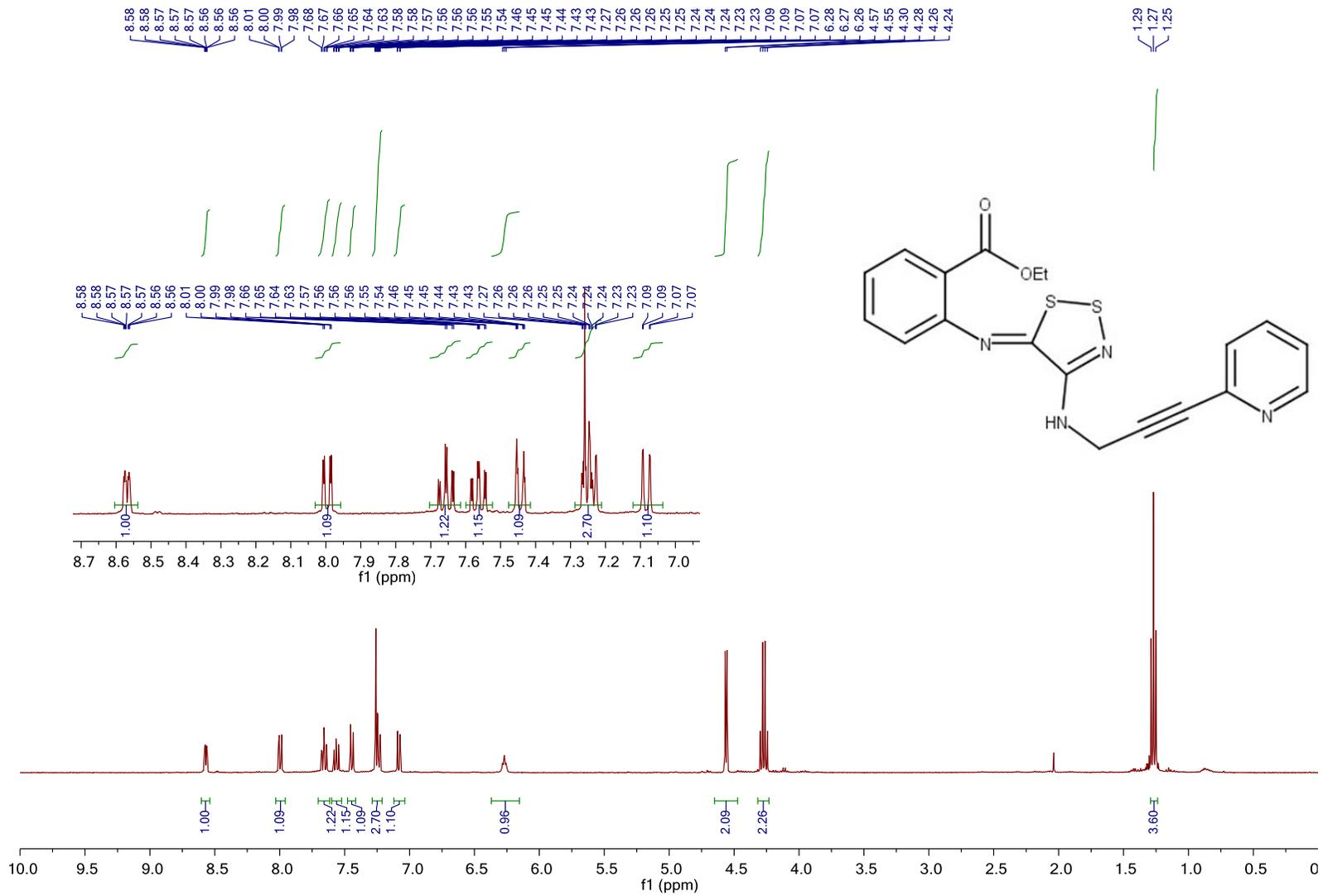


Tafel 31: [1,5]Naphthyridino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-8(6H)-on (9-Aza-Luotonin A) (9)



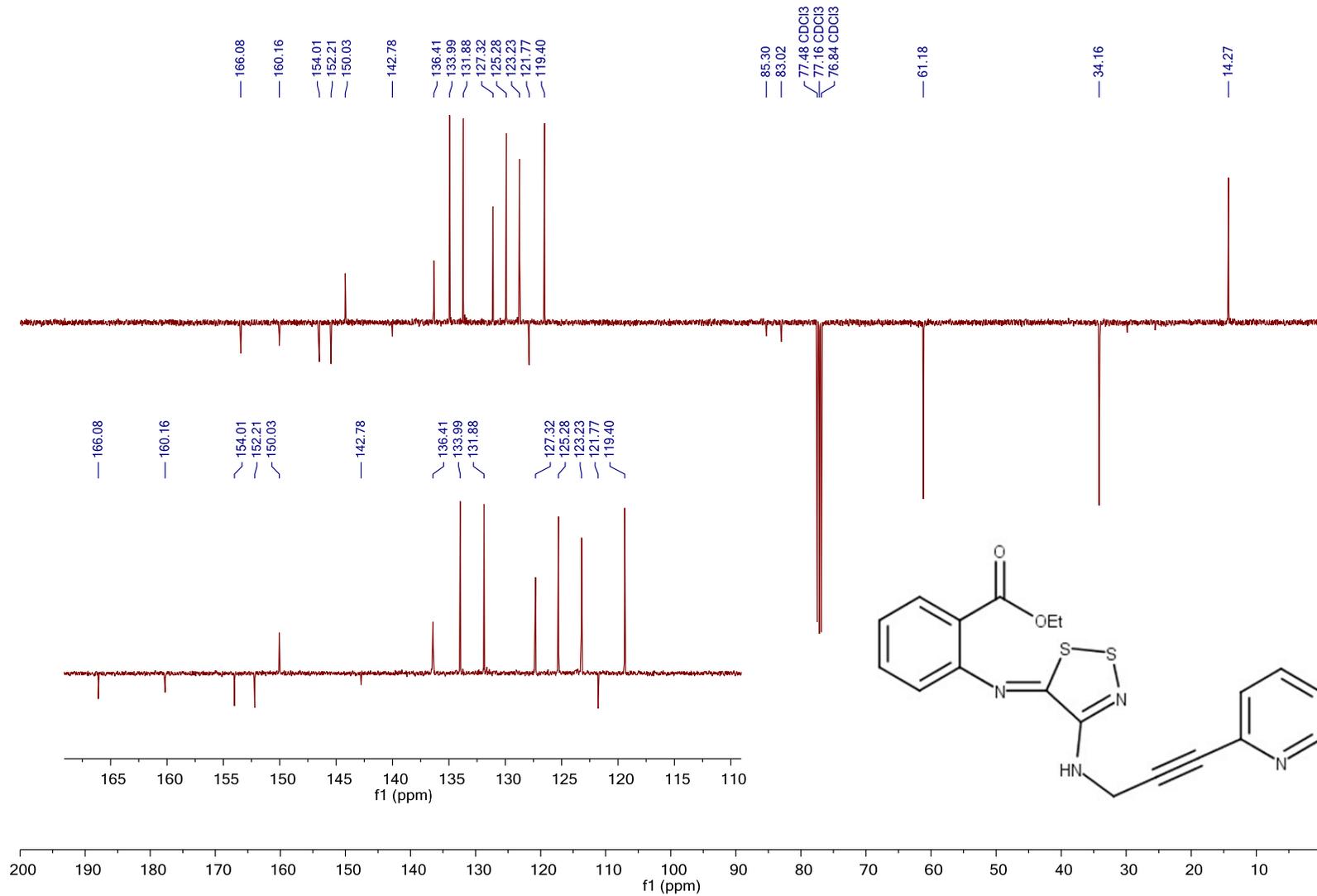
**Tafel 32:** 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (**13**)

RS5; Re Dithiazol + 2-Pyridylpropargylamin, SC-Frakt. 4 / CDCl3



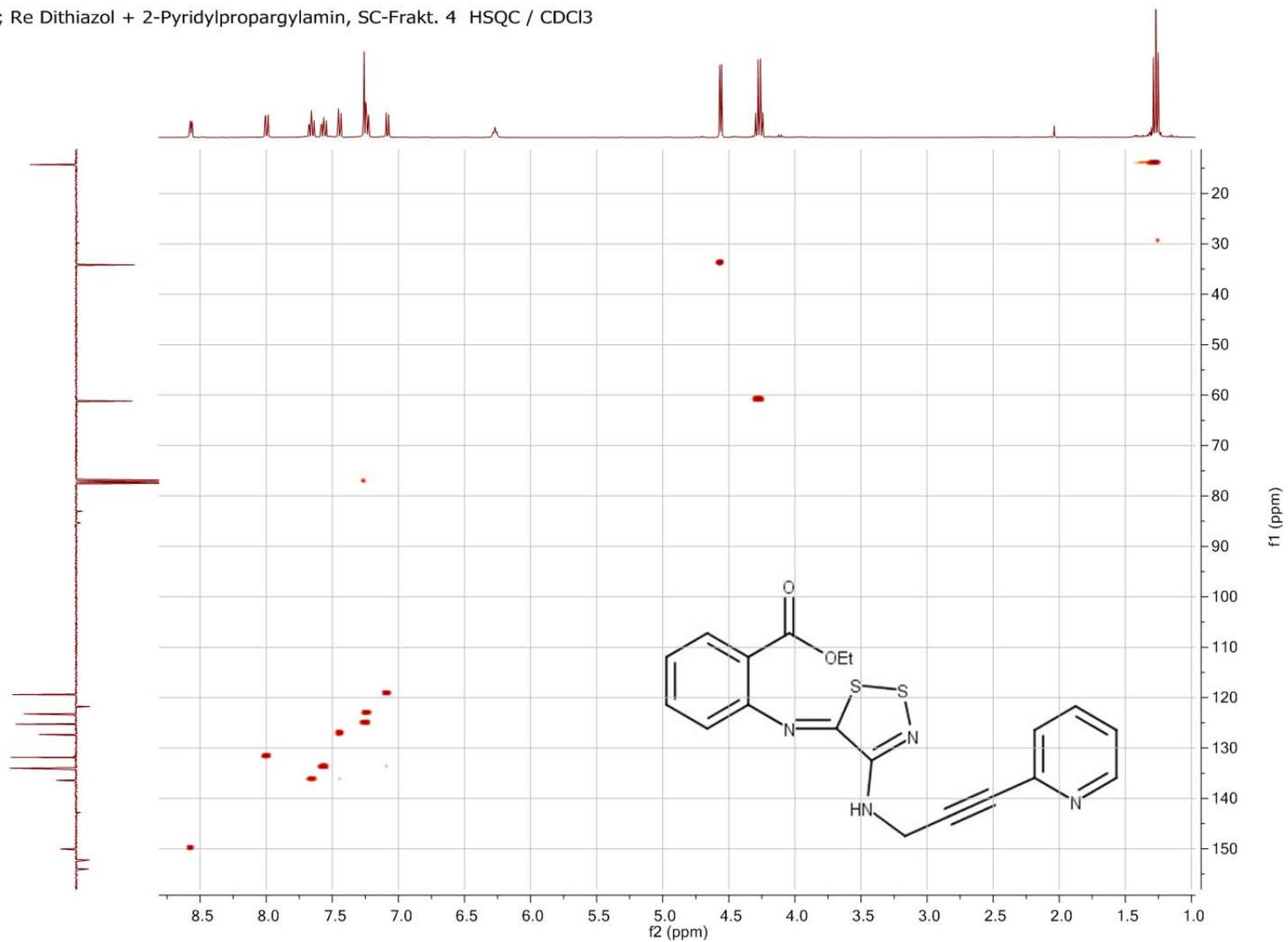
Tafel 33: 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (13)

RS5; Re Dithiazol + 2-Pyridylpropargylamin, SC-Frakt. 4 C13APT / CDCl3



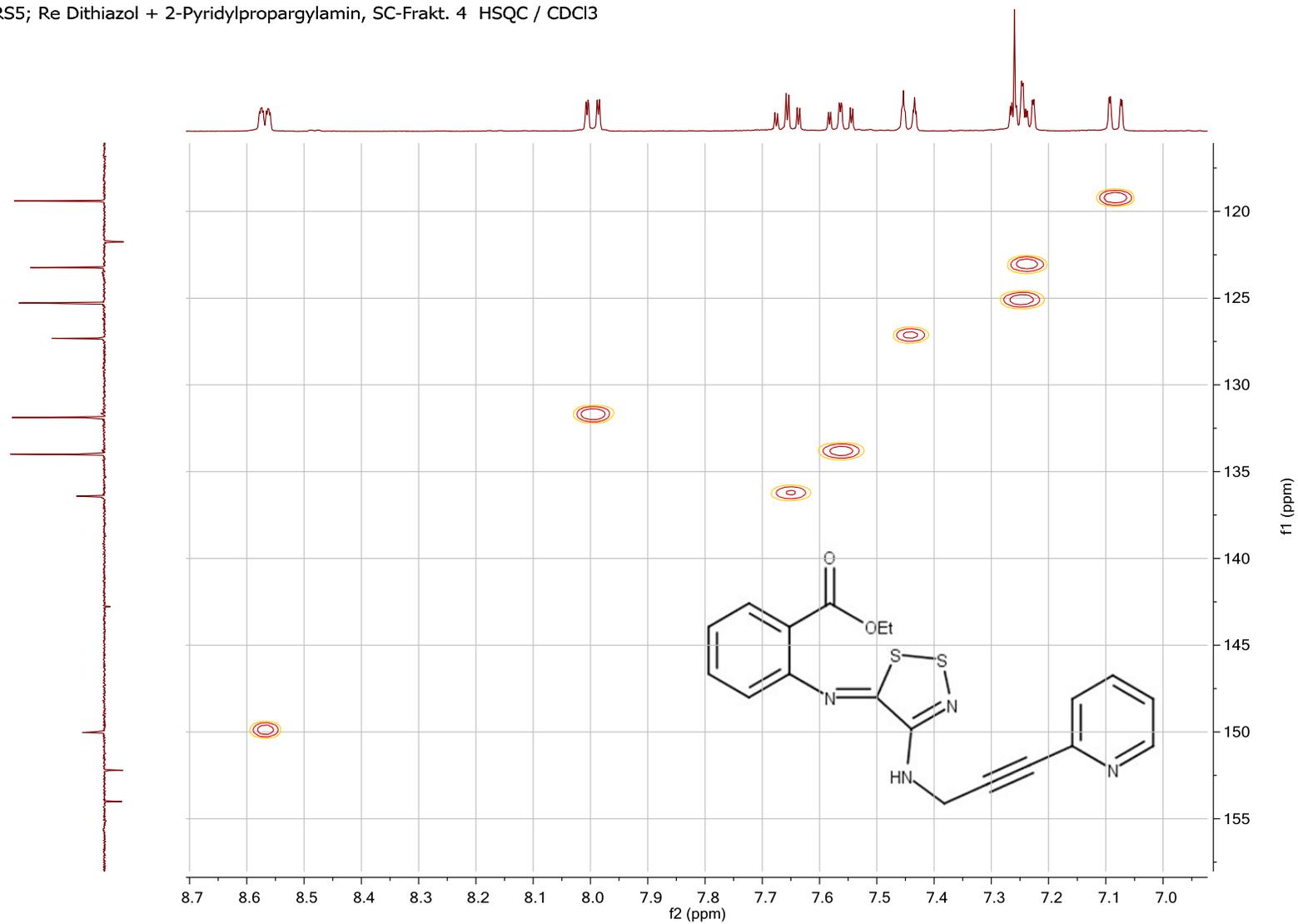
**Tafel 34:** 2-[[{(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino}-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino}benzoesäureethylester (**13**)

RS5; Re Dithiazol + 2-Pyridylpropargylamin, SC-Frakt. 4 HSQC / CDCl3



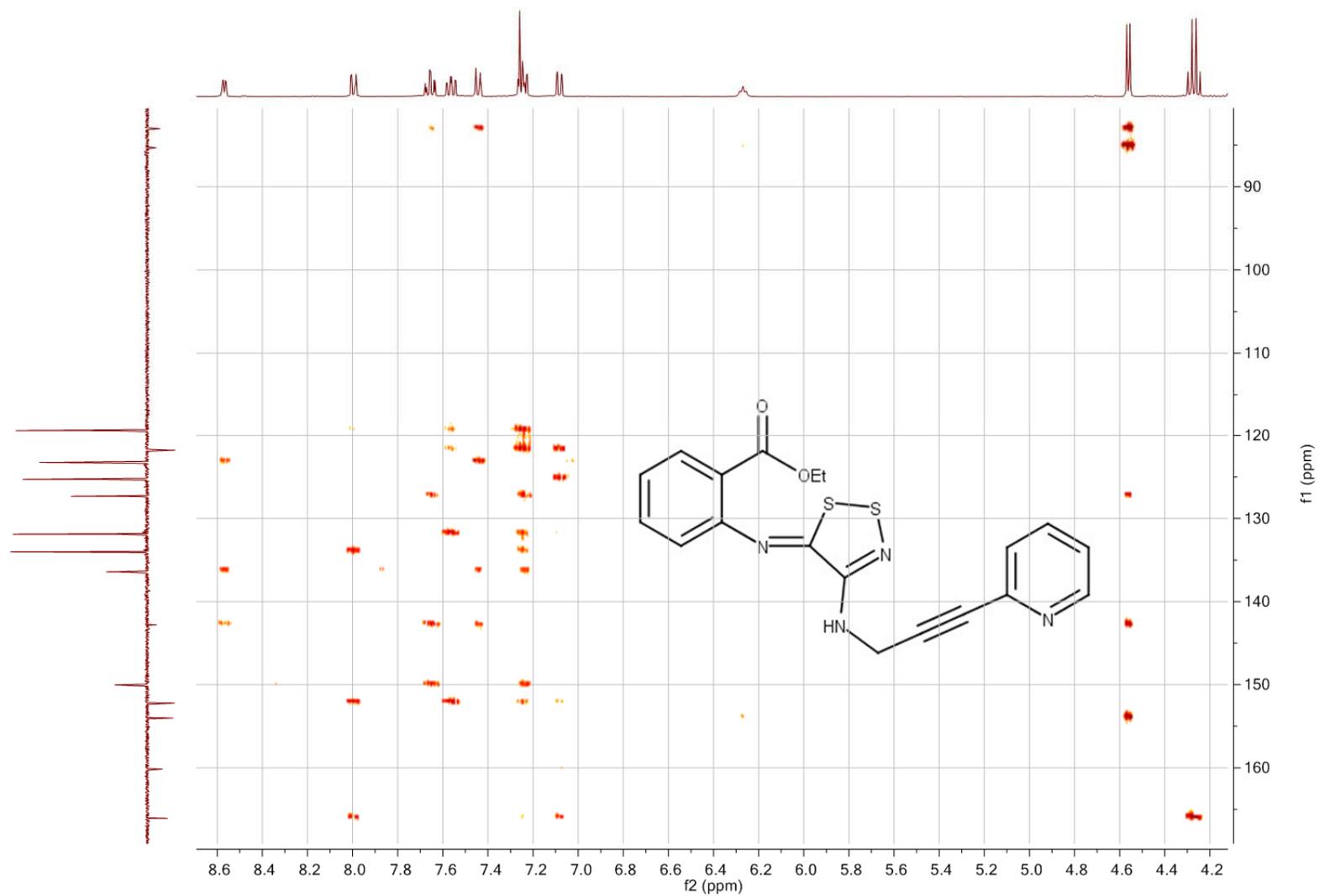
**Tafel 35:** 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (**13**)

RS5; Re Dithiazol + 2-Pyridylpropargylamin, SC-Frakt. 4 HSQC / CDCl<sub>3</sub>



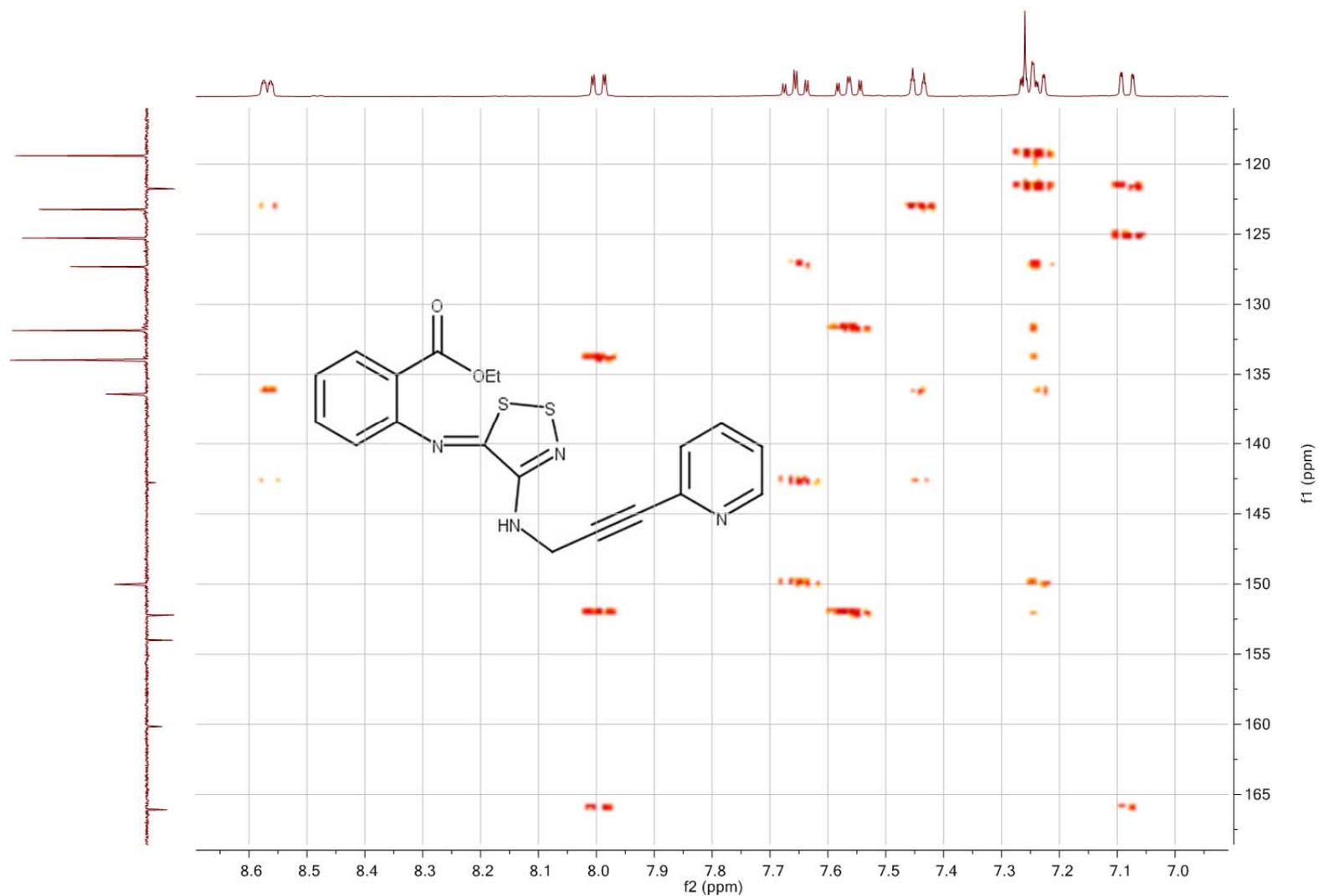
**Tafel 36:** 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (**13**)

RS5; Re Dithiazol + 2-Pyridylpropargylamin, SC-Frakt. 4 HMBC / CDCl<sub>3</sub>



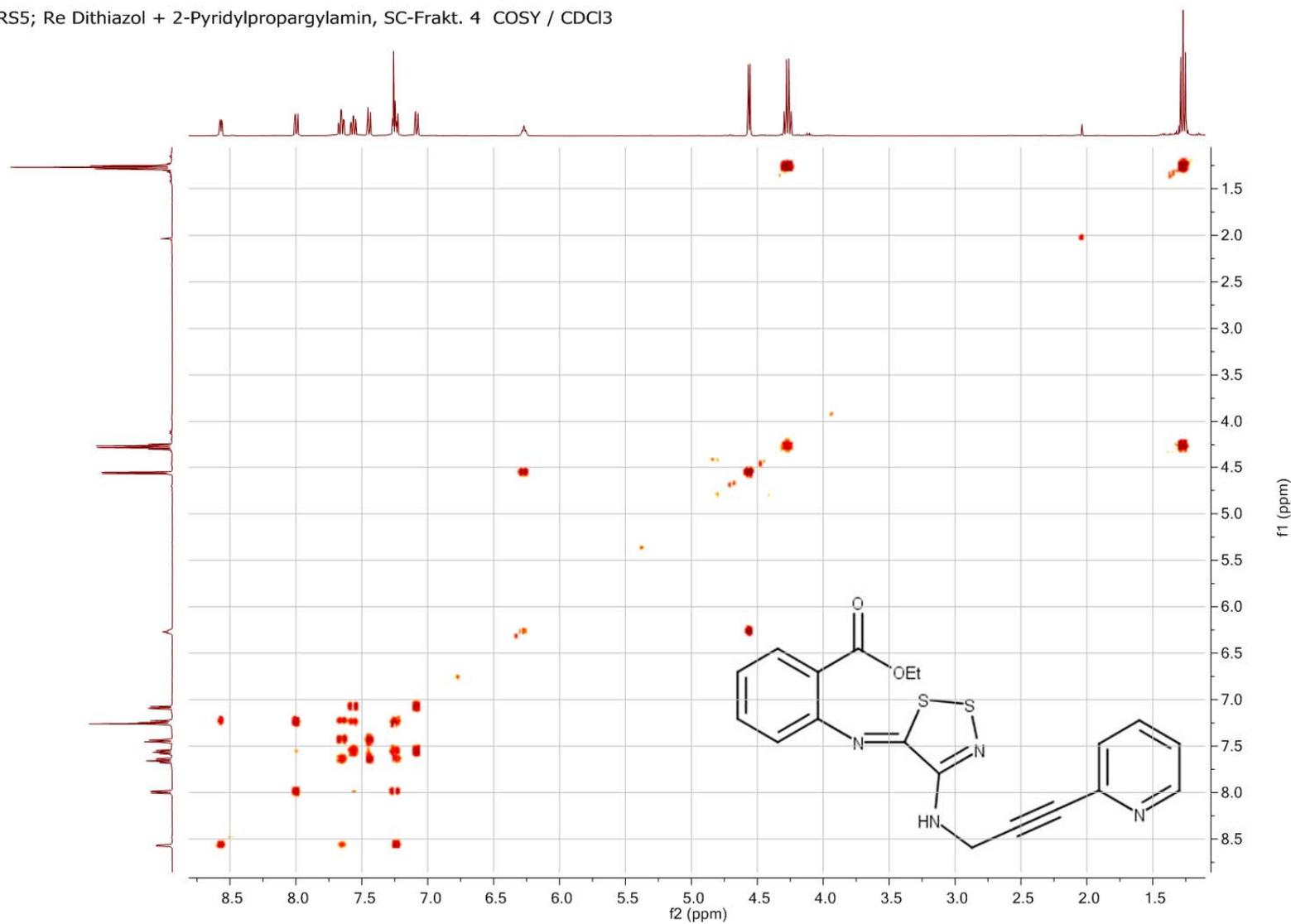
**Tafel 37:** 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (**13**)

RS5; Re Dithiazol + 2-Pyridylpropargylamin, SC-Frakt. 4 HMBC / CDCl3



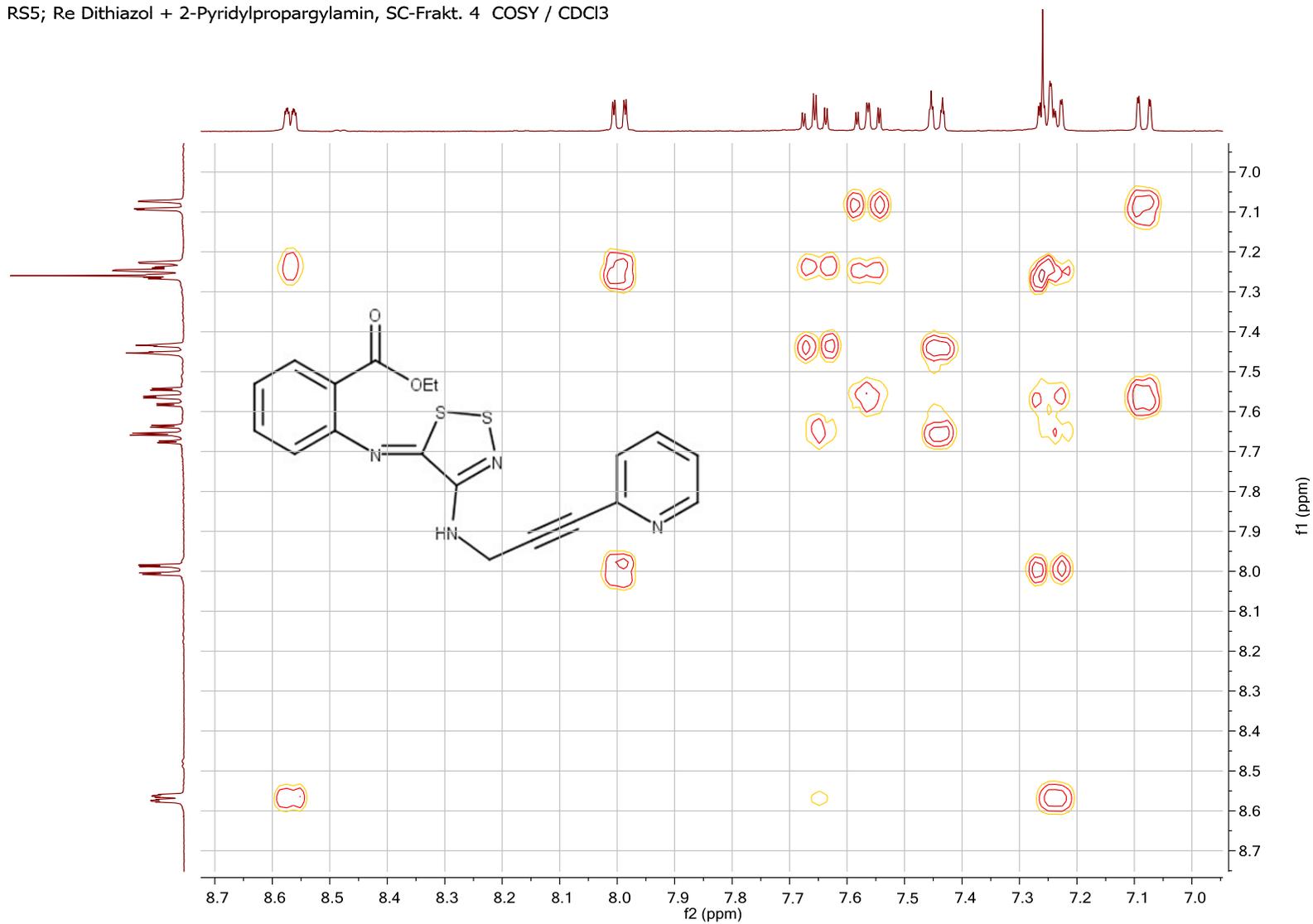
**Tafel 38:** 2-[[5Z]-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (**13**)

RS5; Re Dithiazol + 2-Pyridylpropargylamin, SC-Frakt. 4 COSY / CDCl3



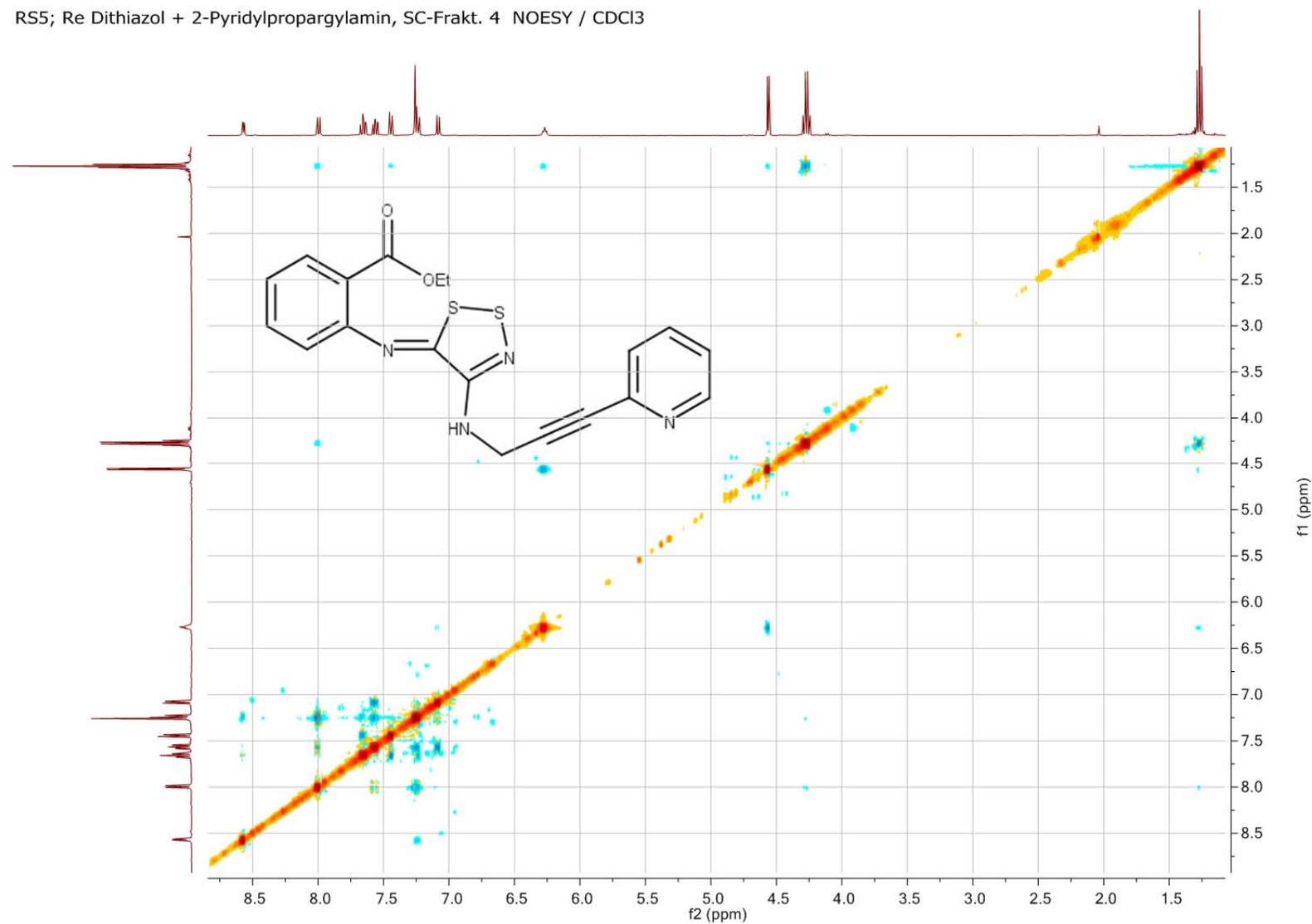
**Tafel 39:** 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (**13**)

RS5; Re Dithiazol + 2-Pyridylpropargylamin, SC-Frakt. 4 COSY / CDCl3



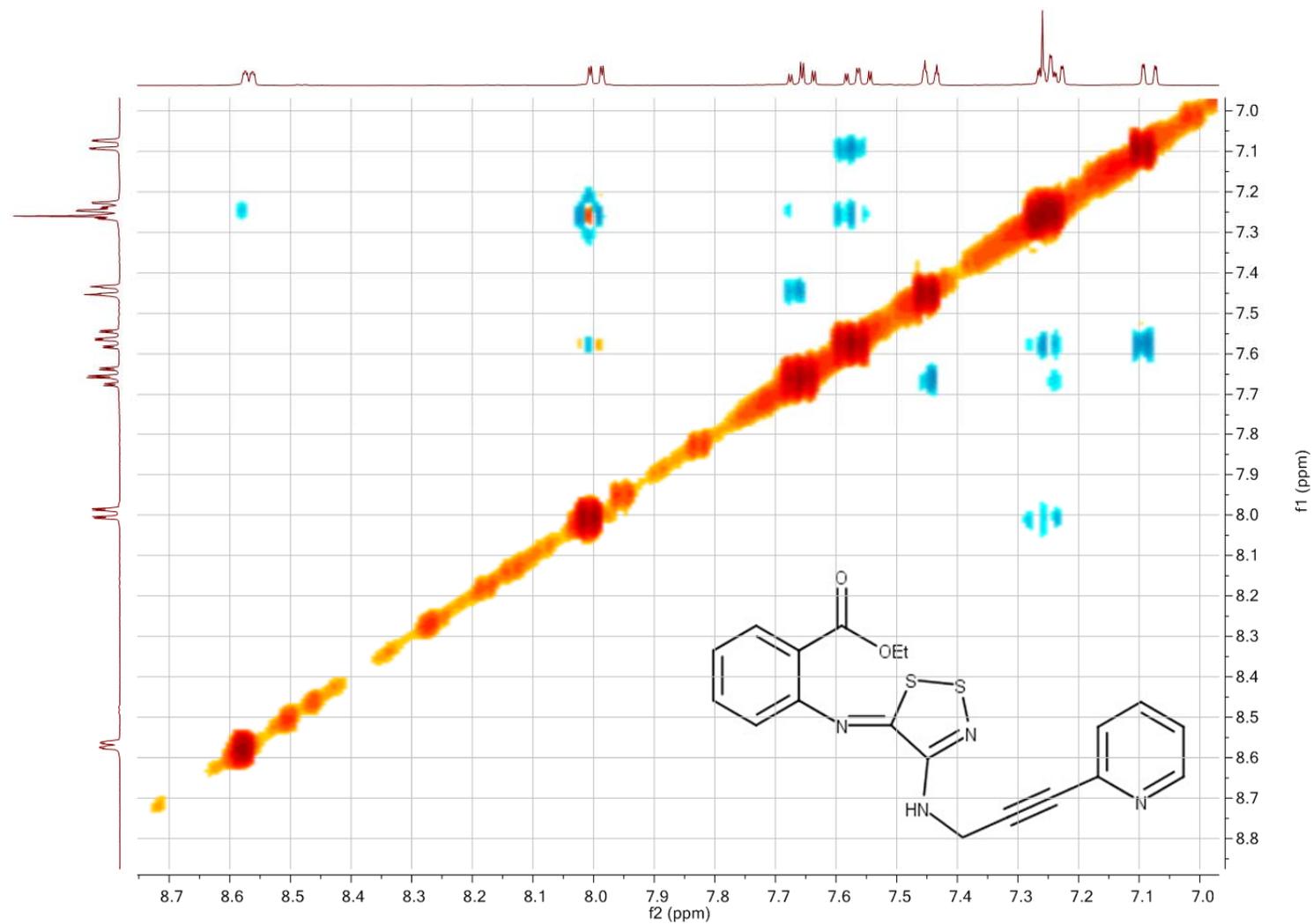
**Tafel 40:** 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (13)

RS5; Re Dithiazol + 2-Pyridylpropargylamin, SC-Frakt. 4 NOESY / CDCl<sub>3</sub>

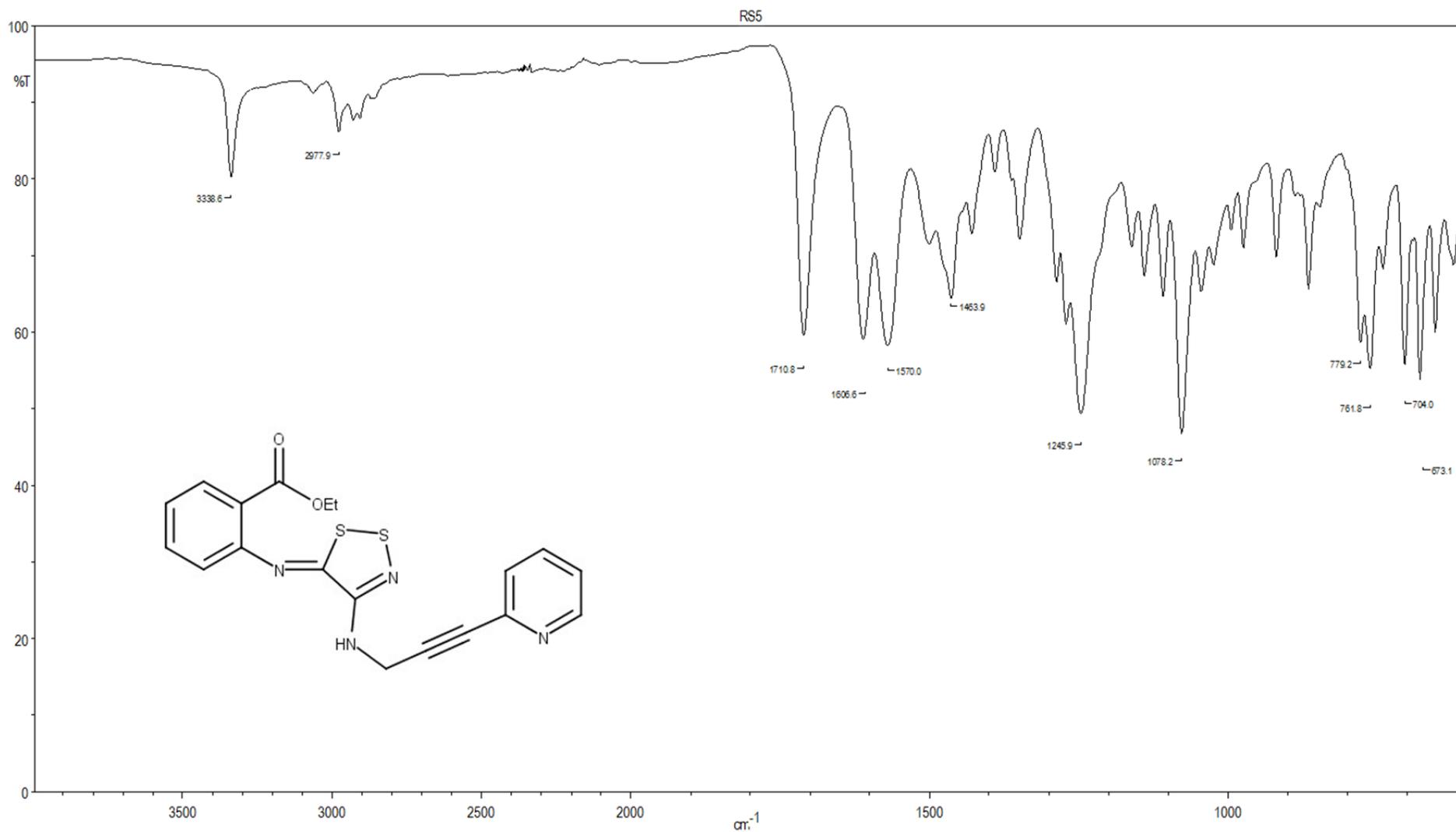


**Tafel 41:** 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (**13**)

RS5; Re Dithiazol + 2-Pyridylpropargylamin, SC-Frakt. 4 NOESY / CDCl<sub>3</sub>



**Tafel 42:** 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (**13**)



**Tafel 43:** 2-[[[(5Z)-4-[[3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-yl]amino]-5H-1,2,3-dithiazol-5-ylidene]amino]benzoesäureethylester (**13**)



## 5.2 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit konnte unter Anwendung des Bioisosterie-Konzepts ein Stickstoff-Heterozyklus (Pyridin) in Ring A der zytostatisch wirksamen Leitstruktur Luotonin A eingeführt werden. Unter mehreren möglichen, diskutierten und zum Teil auch erprobten Synthesestrategien war letztendlich nur der Weg über eine Mitsunobu-Reaktion zielführend um die angestrebte Zielverbindung 9-Aza-Luotonin A (**8**) zugänglich zu machen. Ausgehend von zwei literaturbekannten Vorstufen konnte die Synthese des Alkaloid-Analogons hierbei in nur zwei Stufen erfolgen. Den limitierenden Schlüsselschritt stellte dabei die Alkylierung von 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonitril (**6**) mit 3-(Pyridin-2-yl)prop-2-in-1-ol (**7**) unter Mitsunobu-Bedingungen dar, da es hier aufgrund der Tautomeriefähigkeit von **6** auch zu einer konkurrierenden O-Alkylierung kommt, was eine nur mäßige Ausbeute an gewünschtem N-Alkylierungsprodukt zur Folge hat. Der finale Reaktionsschritt zum angestrebten Pentacyclus 9-Aza-Luotonin A durch eine intramolekulare Cycloadditionsreaktion gelang hingegen in praktisch quantitativer Ausbeute. Somit konnte die Substanzbibliothek unserer Arbeitsgruppe um das fehlende Benzol-Pyridin-Analogon mit einem Stickstoffatom in Position 9 erweitert werden und auf Basis des Bioisosterie-Konzepts ein potentieller und selektiver Topoisomerase-I-Hemmstoff hergestellt werden, dessen zytostatische Aktivität es noch zu überprüfen gilt.

Alle neuen Verbindungen, die im Zuge der praktischen Arbeit an dieser Diplomarbeit zugänglich gemacht wurden, wurden mittels spektroskopischer Methoden und teilweise auch durch Elementaranalysen vollständig charakterisiert.



### **5.3 Lebenslauf**

#### **Persönliche Daten:**

Name: Romana Schanta  
Geburtsdatum: 02.04.1991  
Geburtsort: Eisenstadt  
Staatsbürgerschaft: Österreich  
Eltern: Rosemarie Schanta und DI Manfred Schanta  
Geschwister: Markus Schanta, MS, geb. 1987

#### **Ausbildung:**

2009-2015: Diplomstudium Pharmazie, Universität Wien  
2001-2009: BG/BRG/BORG Eisenstadt mit Schwerpunkt Informatik  
1997-2001: Volksschule Eisenstadt