



universität
wien

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Strukturelle Modifikation des Alkaloids Luotonin A:
Einführung einer Hydroxyethyl-Seitenkette in Position 2“

verfasst von / submitted by

Sophie Deckardt

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of
Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2017 / Vienna, 2017

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

A 449

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

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

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

Danksagung

Als Erstes möchte ich mich aufrichtig bei Herrn Ao. Univ.-Prof. Dr. Norbert Haider bedanken, der mir stets mit viel Wissen und Engagement bei der Entstehung dieser Arbeit zur Seite gestanden hat und damit eine große Unterstützung war.

Ein besonderer Dank geht weiters an meine Familie, die immer an meiner Seite war und sein wird.

Ebenfalls ein großer Dank geht an meine Freunde und Mitbewohnerinnen, die viele Stunden lachend und lernend mit mir verbracht haben, sowie an alle, die mich in meinem Studium begleitet und es damit zu einer unvergesslichen Zeit gemacht haben.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 Topoisomerasen.....	1
1.2 Topoisomerasehemmer.....	1
1.3 Camptothecin und Derivate.....	2
1.4 Luotonin A und Derivate.....	4
1.5 Synthese Ring-A-modifizierter Derivate von Luotonin A.....	6
1.5.1 Syntheseroute nach Zhou <i>et al.</i>	6
1.5.2 Synthese weiterer Derivate <i>via</i> Sonogashira-Kupplung.....	7
1.5.3 Die Mitsunobu-Reaktion.....	9
1.6 Zielsetzung.....	11
2. Eigene Untersuchungen.....	12
2.1 Weinreb-Amidierung.....	12
2.2 Alkylierung mit Propargylbromid.....	14
2.3 Intramolekulare Cycloadditionsreaktion zur Zielverbindung.....	16
2.4 Fazit.....	19
3. Experimenteller Teil.....	20
3.1 Allgemeines.....	20
3.2 Arbeitsvorschriften.....	22
4. Literaturverzeichnis.....	27
5. Anhang.....	29
5.1 Spektren.....	29

1. Einleitung

1.1 Topoisomerasen

Topoisomerasen sind Enzyme im menschlichen Körper, die die Verdrillung der DNA vorübergehend aufheben können und damit eine wesentliche Rolle bei der Replikation und Transkription der DNA spielen.

Während die DNA in der Zelle zu einer platzsparenden Superhelix verdrillt ist, wird es bei der DNA-Replikation notwendig, die DNA kurzzeitig zu entspannen. Hier kommen die Topoisomerasen zum Einsatz. Sie binden kovalent an die Phosphatgruppen der DNA, spalten die hier vorhandene Esterbindung und führen so zu Strangbrüchen. Nach erfolgter Entwindung werden die Stränge wiederum durch die Topoisomerase zusammengefügt.

Es kann bei Menschen zwischen zwei Typen von Topoisomerasen unterschieden werden:

Die Topoisomerase I führt zu Einzelstrangbrüchen der DNA. Dadurch wird die freie Rotation eines Stranges um eine Phosphodiesterbindung ermöglicht. Mithilfe der Topoisomerase II kommt es hingegen zu Doppelstrangbrüchen, wodurch ein intakter DNA-Strang durch die entstandene Lücke in der DNA passieren kann.¹⁻³

1.2 Topoisomerasehemmer

Nachdem bei Krebserkrankungen und der damit verbundenen unkontrollierten Zellteilung eine erhöhte Topoisomerase-Aktivität involviert ist, stellt die gezielte Hemmung dieses Enzyms einen wirkungsvollen therapeutischen Ansatz in der Krebsbehandlung dar. Sowohl für Topoisomerase I als auch Topoisomerase II konnten bereits etliche funktionshemmende Wirkstoffe gefunden werden.

Topoisomerase-II-Hemmer bilden einen stabilen ternären Komplex mit Enzym und DNA, nachdem ein Doppelstrangbruch der DNA durch die Topoisomerase II herbeigeführt wurde. Dadurch ist die Wiederverknüpfung der Stränge nicht mehr möglich. Da Zellen mit fehlerhafter DNA nicht mehr funktionstüchtig sind und die DNA-Replikation nicht mehr erfolgen kann, folgt die Apoptose der betroffenen Zelle.¹

Auch Topoisomerase-I-Inhibitoren binden nach dem Einzelstrangbruch an DNA und Topoisomerase und verhindern damit, dass sich die Topoisomerase lösen und die beiden Enden der DNA wieder verknüpft werden können. An sich wäre diese Reaktion

reversibel. Trifft jedoch in der S-Phase des Zellzyklus die DNA-Polymerase in der Replikationsgabel auf diesen Komplex, so bricht auch der zweite Strang. Aufgrund fehlender Reparaturmechanismen kommt es auch hier zur Apoptose der betroffenen Zelle.^{1,2}

Die Wirkung der Topoisomerasehemmer ist demnach auf die S-Phase des Zellzyklus beschränkt, in welcher die Replikation der DNA stattfindet. Da die Zellteilung bei Tumorzellen um ein vielfaches häufiger stattfindet als bei gesunden Zellen und bei einigen Tumoren die Aktivität der Topoisomerase nachweislich erhöht ist, haben die Topoisomerasehemmer inzwischen eine wichtige Rolle in der Krebstherapie eingenommen. Bereits medizinisch verwendet werden die Topoisomerase-II-Hemmer Etoposid und Teniposid, welche Derivate des Podophyllotoxins darstellen, sowie die Topoisomerase-I-Hemmer Irinotecan und Topotecan. Diese sind Derivate des Alkaloids Camptothecin.¹

1.3 Camptothecin und Derivate

Camptothecin ist ein in der asiatischen Pflanze *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae) vorkommendes Alkaloid, das 1958 entdeckt und erstmals 1966 isoliert wurde.⁴ Es handelt sich um eine pentacyclische Verbindung mit einem δ -Lactonring und einem Chiralitätszentrum in Position 20 (bei Nummerierung nach dem Alkaloidschema). Das in der Natur vorkommende S-Camptothecin zeigt nachweislich eine hemmende Wirkung auf die Topoisomerase I (s. oben), wodurch sowohl die DNA als auch die RNA-Synthese blockiert werden kann. Das synthetisch hergestellte R-Enantiomer zeigt hingegen so gut wie keinen Effekt.^{1,4,5}

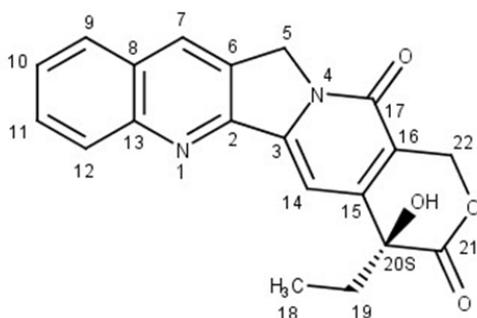
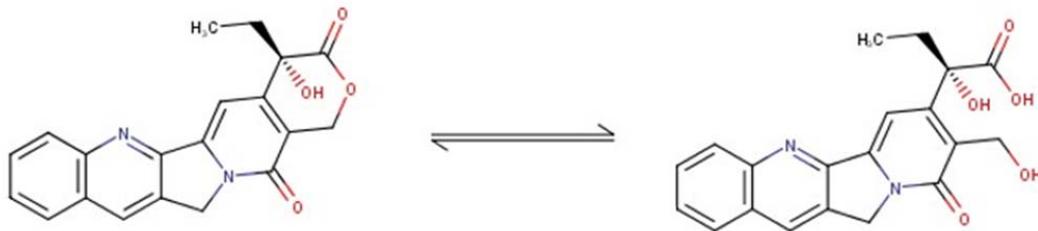


Abb. 1: S-Camptothecin, nummeriert nach Alkaloidschema

Untersuchungen zeigten, dass die Struktur mit geschlossenem Lactonring in dynamischem Gleichgewicht zu seiner Carboxylatform steht, wobei die geschlossene Form eine weitaus höhere zytotoxische Aktivität besitzt und hauptsächlich im sauren Milieu dominiert.⁵



Schema 1: Lakton- und Carboxylatform von Camptothecin

Als Arzneistoff wurde Camptothecin jedoch nie verwendet. Wegen der schlechten Wasserlöslichkeit wurde anfangs das Natriumsalz der Substanz auf seine Wirkung untersucht. Diese Modifikation war naturgemäß mit einer Öffnung des Lactonrings verbunden, wodurch sehr hohe Konzentrationen nötig wurden, um ausreichende Wirkung im Körper zu erzielen. Im Harn, in dem ein saures Milieu herrscht, kommt es jedoch wieder zum Schluss des Lactonrings und die Wirkung steigt um ein Vielfaches, erhöhte Blasentoxizität ist die Folge.⁵

Inzwischen konnte die Struktur von Camptothecin in der Weise modifiziert werden, dass Arzneistoffe mit verbessertem Wirkprofil zugänglich wurden. So besitzt das Derivat Topotecan eine basisch substituierte Seitenkette und weist eine phenolische OH-Gruppe in Position 10 auf. Dadurch konnte die Wasserlöslichkeit verbessert und gleichzeitig die Toxizität verringert werden.

Irinotecan, welches ein Prodrug der aktiven Verbindung SN-38 darstellt, besitzt ebenfalls die Hydroxygruppe in Position 10. Diese ist hier allerdings mit einer Dipiperidyl-carbonsäure verestert, die die Wasserlöslichkeit weiter verbessert und eine parenterale Applikation ermöglicht.⁵

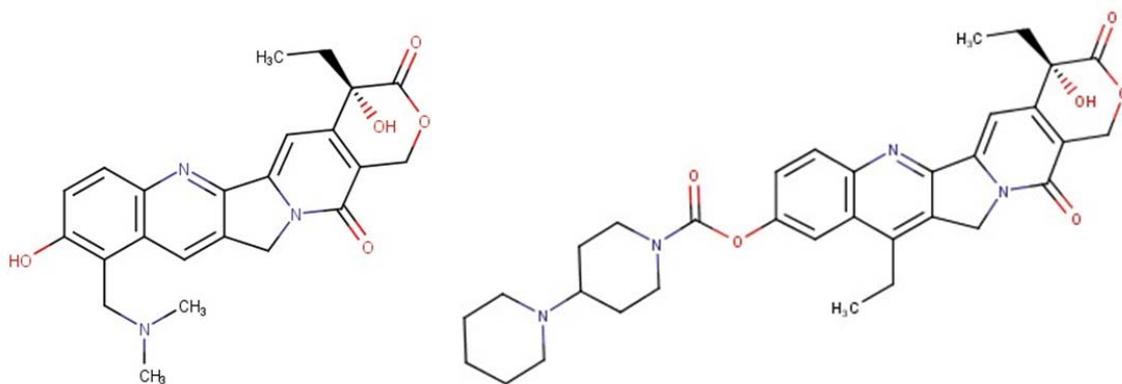


Abb. 2: Topotecan und Irinotecan

Beide Wirkstoffe werden heute in der Krebstherapie eingesetzt: Topotecan ist zugelassen bei metastasierendem Ovarialkarzinom sowie bei rezidivierendem kleinzelligem Bronchialkarzinom. Irinotecan ist hingegen zugelassen bei fortgeschrittenem Kolon-, oder Rektumkarzinom.^{1,5}

Beide Arzneistoffe zeigen allerdings schwere unerwünschte Nebenwirkungen. Myelosuppression und Diarrhoe stellen dosislimitierende Effekte dar. Darüberhinaus kommt es zur bereits erwähnten strukturbedingten Blasentoxizität.⁵ Es wird daher auch weiterhin nach neuen Vertretern aus der Klasse der Topoisomerase-I-Hemmer gesucht. Eine vielversprechende Ausgangsverbindung, an der zurzeit geforscht wird, ist das Alkaloid Luotonin A.⁶

1.4 Luotonin A und Derivate

Luotonin A, ein Alkaloid aus der chinesischen Pflanze *Peganum nigellastrum* (Zygophyllaceae), wurde erstmals 1997 isoliert. Es zeigt große Strukturähnlichkeiten zu Camptothecin. So weist es wie dieses eine pentacyclische Struktur auf. Die Ringe A, B und C sind bei den beiden Strukturen identisch, Ring D weist einen zusätzlichen Stickstoff auf. Beträchtliche Unterschiede finden sich hingegen in Ring E: es findet sich hier weder ein Chiralitätszentrum noch ein Lacton, welches bei Camptothecin als essentiell für die Topoisomerase-I-hemmende Wirkung angesehen wurde.⁷ Nummeriert kann die Struktur entweder nach IUPAC oder dem Alkaloidschema werden. Im Folgenden wird stets die IUPAC-konforme Nomenklatur und Nummerierung verwendet.

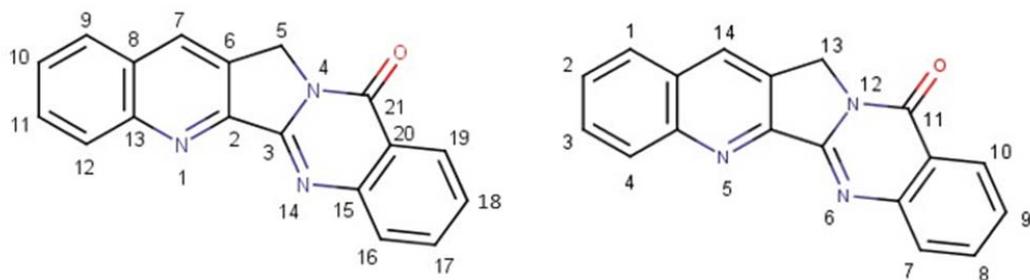


Abb. 3: Luotonin A, nummeriert nach Alkaloidschema (links) und nach IUPAC (rechts)

Trotzdem konnte gezeigt werden, dass auch Luotonin A in sehr ähnlicher Weise an den DNA-Topoisomerase-I-Komplex bindet und damit cytotoxische Aktivität zeigt, wenn auch die Wirkung deutlich schwächer ist als die von Camptothecin.⁶ Im Gegensatz zu Camptothecin konnte bei Luotonin A inzwischen auch eine Hemmung der Topoisomerase II festgestellt werden.⁸

Luotonin A könnte also eine gute Leitstruktur für die Entwicklung neuer Topoisomerase-I-Hemmer darstellen, und so wurde schon von mehreren Forschungsgruppen versucht, wirksamere Derivate von Luotonin A zu finden. Das Fehlen des Lactonrings kann dabei durchaus als Vorteil gesehen werden, da die Verbindung dadurch chemisch deutlich stabiler und einfacher zu synthetisieren ist.⁷ Auch die Tatsache, dass kein Chiralitätszentrum vorhanden ist, führt zu einer Erleichterung der Synthese.⁹

So synthetisierten Cagir *et al.*¹⁰ bereits einige Derivate mit Modifikation in Ring E, Nacro *et al.*¹¹ stellten einige an Ring A und E substituierte Luotonin-A-Derivate her. Diese zeigten allerdings höchstens moderate cytotoxische Aktivität.

Im Jahr 2008 fanden Rahman *et al.*⁸ ein an Ring A substituiertes Analogon mit vergleichbarer Aktivität zu Camptothecin. Gonzalez-Ruiz *et al.*⁹ konnten 2014 zwei Analoga mit Substituenten in Ring A und B synthetisieren, die ähnlich starke Cytotoxizität aufweisen.

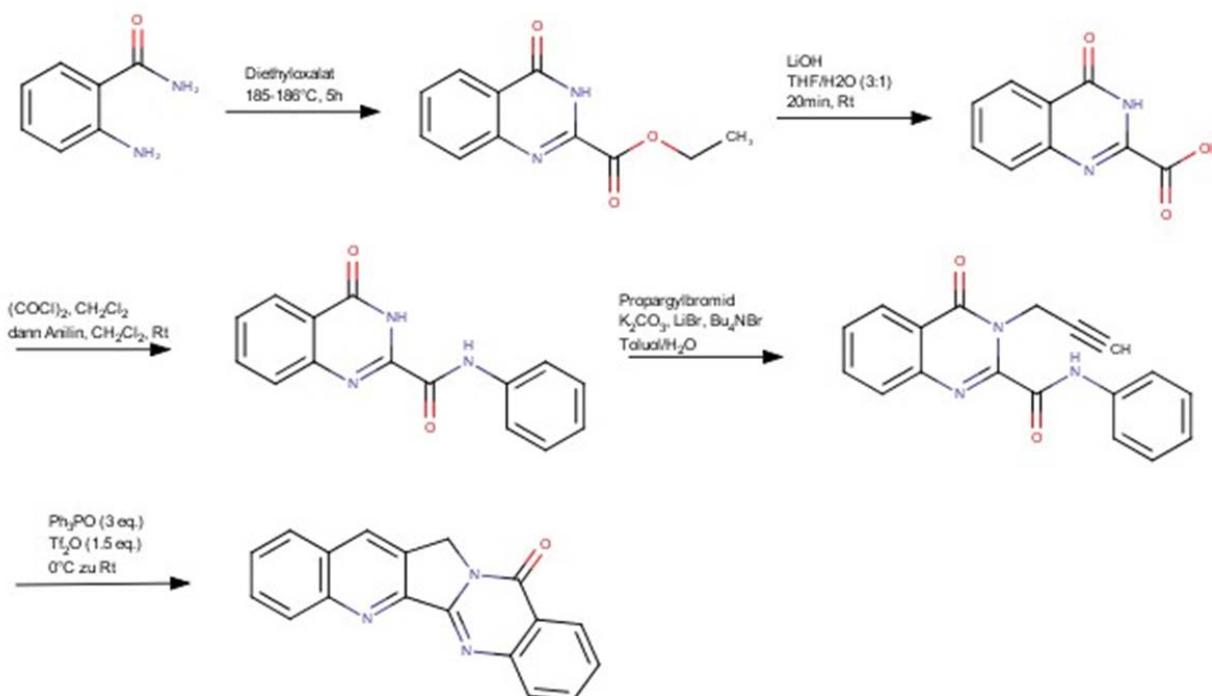
Auch unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit einigen Jahren mit der Herstellung neuer Derivate, wobei es sich hier um die Synthese Ring-A-modifizierter Analoga handelt. Inzwischen konnte durch Entwicklung geeigneter Syntheseverfahren auch schon viele Verbindungen dieser Art hergestellt werden.^{7,12}

1.5 Synthese Ring-A-modifizierter Derivate von Luotonin A

1.5.1 Syntheseroute nach Zhou *et al.*

Natürlich wurde versucht, eine möglichst effiziente Methode zur Herstellung der Luotonin-Derivate zu finden. Dabei stach vor allem die von Zhou *et al.*¹³ entwickelte Synthese von Luotonin A ins Auge.¹²

Mittels dieser Synthesestrategie kann Luotonin A in fünf Reaktionsschritten hergestellt werden, die Ausbeute liegt dabei bei 47%. Als Ausgangsmaterial dient Anthranilamid, das mithilfe von Diethyloxalat zu einem Chinazolinonderivat umgesetzt wird. Mittels Lithiumhydroxid wird der so erhaltene Ester zur Carbonsäure hydrolysiert und nach Umwandlung in das entsprechende Säurechlorid mit Anilin gekoppelt. Anschließend findet eine N-Alkylierung des Chinazolinon-Amids mit Propargylbromid am N-3 statt. Die finale Umsetzung zu Luotonin A erfolgt mit Bis(triphenyl)oxodiphosphonium-trifluormethansulfonat (Hendrickson-Reagens) durch eine intramolekulare aza-Diels-Alder-Reaktion.¹³



Schema 2: Syntheseweg nach Zhou *et al.*¹³

Bei dem Versuch, mit dieser Strategie neue, Ring-A-substituierte Luotonin-Derivate herzustellen, traf man allerdings schnell auf Hindernisse. Die freie Carbonsäure, die beim zweiten Schritt der Synthese aus dem Ester erhalten wird, ist überaus decarboxylierungsempfindlich und überdies in den meisten Lösungsmitteln schlecht löslich. Auch die Reaktion des Säurechlorids mit Anilin ist schlecht reproduzierbar.¹²

Diese Probleme konnten von Haider *et al.* umgangen werden. Statt der Hydrolyse des Esters und der Kopplung des Säurechlorids mit Anilin setzten sie die Weinreb-Amidierung ein. Hierbei wird zuerst die Amino-Komponente mittels Trimethylaluminium aktiviert und anschließend direkt mit dem Ester zum Anilid umgesetzt. Auch die Alkylierung mit Propargylbromid wurde ein wenig abgewandelt, um Löslichkeitsproblemen vorzubeugen. Statt dem Reaktionsmedium Toluol/Wasser mit Tetrabutylammoniumbromid als Katalysator wird in einer verbesserten Methode Dimethylformamid/Kaliumcarbonat verwendet.¹²

Dank dieser optimierten Methoden konnte unsere Arbeitsgruppe bereits eine Reihe von Ring-A-modifizierten Luotonin-A-Derivaten herstellen. So gelang es auf diese Weise, verschiedene Substituenten in Position 2 und 4 einzubringen, sowie 1,3-symmetrisch-disubstituierte Derivate zu erhalten.¹² Ebenfalls über diesen Weg hergestellt werden konnten Dimethyl-Derivate von Luotonin A mit Methylgruppen in Position 1,2 oder 1,3 oder 1,4, sowie ein Benzo[*c*]-Luotonin A.^{14,15}

Nicht in reiner Form auf diesem Weg synthetisierbar waren hingegen 1- oder 3-monosubstituierte Derivate von Luotonin A. Bei dem Versuch, derartige Verbindungen auf diesem Weg zu erhalten, resultiert erwartungsgemäß ein Gemisch der beiden möglichen Isomere.⁷

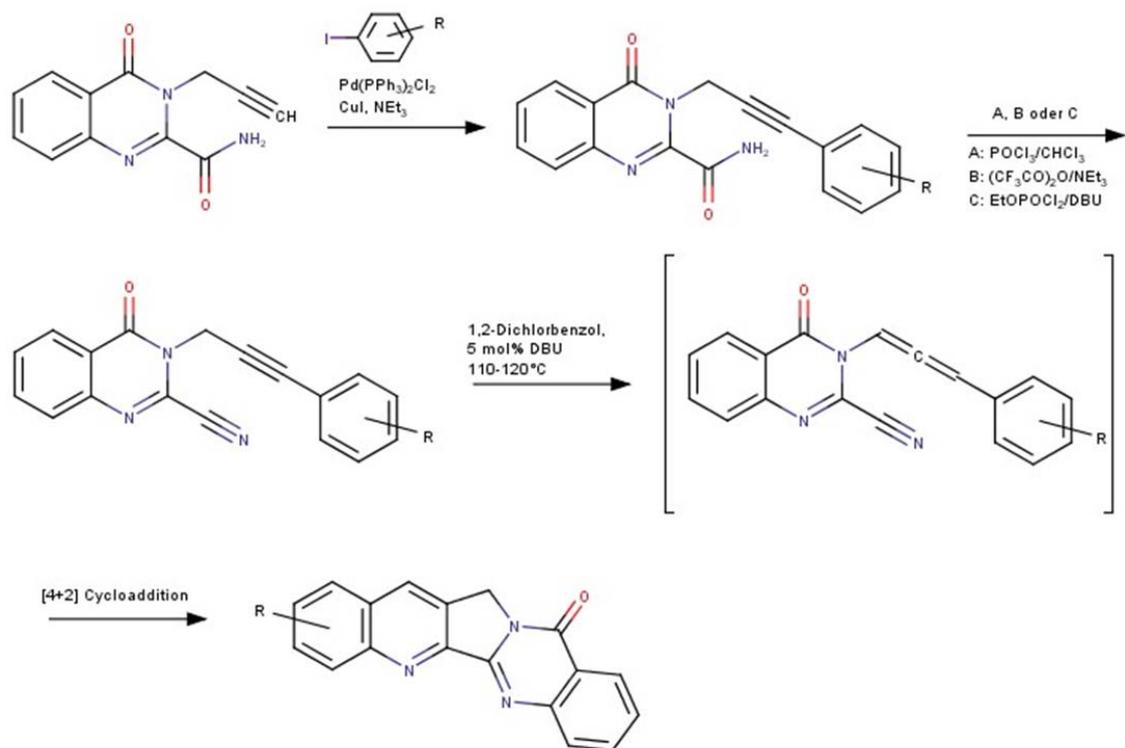
1.5.2 Synthese weiterer Derivate *via* Sonogashira-Kupplung

Um das zuletzt genannte Problem zu umgehen, wurde von Haider *et al.*⁷ nach einem alternativen Syntheseweg gesucht. Als Ausgangspunkt dafür sollte eine von Dai *et al.*¹⁶ publizierte Cycloadditionsreaktion dienen, die zur Synthese des ABCD Ringfragments von Camptothecin und Derivaten entwickelt worden war. Tatsächlich konnte gezeigt werden, dass diese Strategie auch zur Synthese von einigen Luotonin-A-Derivaten eingesetzt werden kann.

Die Reaktionssequenz (s. Schema 3), die in drei Schritten zum gewünschten Produkt führt, eignet sich sowohl für elektronenarme sowie für elektronenreiche Substituenten.⁷

Der erste Schritt ist hier die nach K. Sonogashira benannte Sonogashira-Kupplung. Es handelt sich dabei um eine palladiumkatalysierte Kreuzkupplung, bei der in diesem Fall ein Aryliodid mit den gewünschten *ortho*- oder *para*-ständigen Substituenten mit einem in Position 3 propargylierten Chinazolinoncarboxamid gekuppelt wird. Das primäre Amid wird anschließend mithilfe von Phosphoroxychlorid, Trifluoressigsäureanhydrid oder Ethyldichlorphosphat dehydratisiert und damit in ein Nitril überführt. Der letzte Schritt ist, wie bei der Methode nach Zhou *et al.*¹³, eine intramolekulare aza-Diels-Alder-Reaktion, bei der die Ringe B und C des Luotonin-Gerüsts entstehen. Dabei findet vermutlich zunächst eine Isomerisierung des Alkins zu einer Allen-Struktur statt, bevor es zur eigentlichen Cycloadditionsreaktion kommt.⁷

Mithilfe dieser Reaktionsfolge konnten Haider *et al.* bereits Derivate mit Methyl-, Methoxy-, Nitro- und Aminogruppen in Position 1 oder 3 herstellen.^{7,17,18} Auch die von 1-Ethoxycarbonyl-, 3-Ethoxycarbonyl-, 1-Fluor- sowie Benzo[a]-Luotonin A war über diese Route erfolgreich.^{7, 15, 19}



Schema 3: Synthese nach Haider et al.⁷

1.5.3 Die Mitsunobu-Reaktion

Durch die zwei oben beschriebenen Synthesewege konnten allerdings noch nicht alle gewünschten Verbindungen zugänglich gemacht werden. So konnten für den Versuch, ein 3-Aza-Analogon von Luotonin A herzustellen, beide Synthesemöglichkeiten zunächst ausgeschlossen werden.²⁰

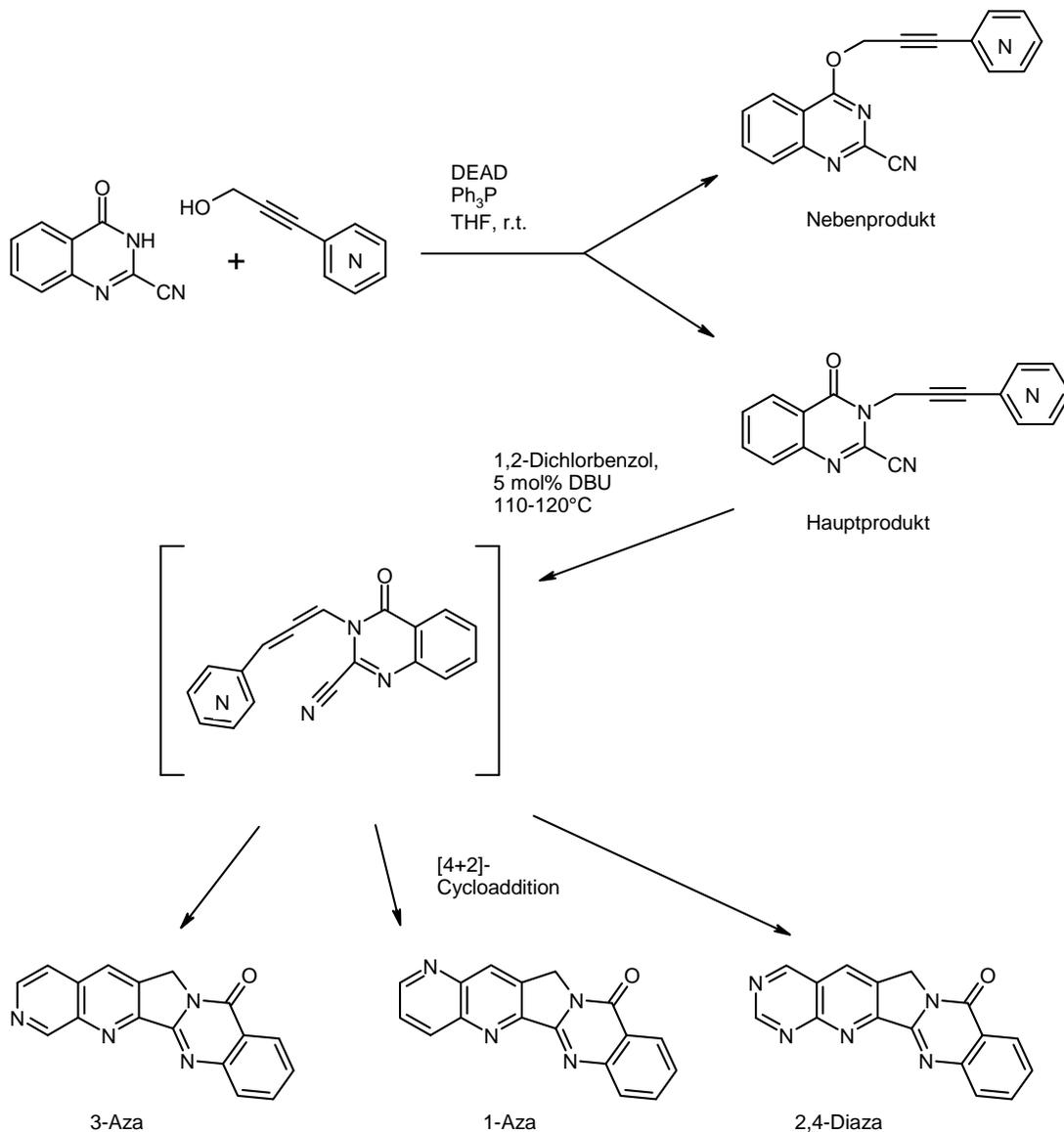
Es wurde schließlich für die erfolgreiche Synthese des Schlüssel-Zwischenproduktes die Mitsunobu-Reaktion herangezogen, die 1967 von Oyo Mitsunobu veröffentlicht worden war.²¹ Es handelt sich dabei um eine Kupplung eines Alkohols mit einem Pronukleophil oder einer Säure. Zur Umsetzung wird dafür ein oxidierendes Azoreagens, bei dem es sich meistens um Diethylazodicarboxylat (DEAD) handelt, und ein reduzierendes Phosphinreagens, meist Triphenylphosphin (TPP), verwendet. Die Reaktion findet in neutralem Milieu statt.^{20,22}



Schema 4: Mitsunobu-Reaktion (allgemeiner Ablauf)²¹

DEAD und TPP bilden gemeinsam eine zwitterionische Verbindung, welche das Pronukleophil deprotoniert. Aus dem Pronukleophil wird dadurch ein Nukleophil. Der Alkohol bildet nun mit dem Phosphoniumion ein Alkohol-Triphenylphosphoniumion, welches vom Nukleophil angegriffen wird. Unter Abspaltung von Triphenylphosphinoxid erhält man dadurch die gewünschte Verbindung.^{20,22}

Mithilfe dieser und den vorher beschriebenen Methoden konnten in unserer Arbeitsgruppe nun auch 3-Aza-Luotonin A ebenso wie 1-Aza-Luotonin A und 2,4-Diaza-Luotonin A synthetisiert werden.^{20,23,24}



Schema 5: Synthese verschiedener Aza-Analoga von Luotonin A^{20,23,24}

1.6 Zielsetzung

Somit hat unsere Arbeitsgruppe inzwischen verschiedene Möglichkeiten entwickelt, um Luotonin-A-Derivate mit Substituenten in Ring A herzustellen. Bei etlichen davon war es allerdings nicht möglich, die biologische Aktivität zu bestimmen. Die Ursache dafür liegt in der ungenügenden Löslichkeit dieser Substanzen in Wasser und vielen organischen Lösungsmitteln, wofür neben der Lipophilie auch die hohe Kristallisationstendenz des weitgehend planaren polycyclischen Grundkörpers verantwortlich ist.

Das Ziel der vorliegenden Diplomarbeit war daher, eine flexible, hydrophile Seitenkette in Form des Hydroxyethylrestes in Position 2 anzufügen, welche die Löslichkeit verbessern sollte, um diese hydrophilere Verbindung letztlich auf ihre Zytotoxizität testen zu können. Bei einem Erfolg der Synthese könnte der Hydroxyethylrest in Folge weiter funktionalisiert werden, was diese Verbindung zum Ausgangsmaterial für neue, potentiell wirksame Luotonin-A-Derivate machen könnte.

Als Syntheseweg bot sich hier die verbesserte Strategie nach Zhou *et al.*^{12,13} an. Es war allerdings von vornherein unklar, ob es möglich ist die Synthesesequenz mit einer ungeschützten Hydroxygruppe durchzuführen. Daher sollte jeder der drei Schritte (Weinreb-Amidierung, Propargylierung und Cycloadditionsreaktion) zunächst ohne OH-Schutzgruppe versucht werden und nur im Bedarfsfall eine geeignete Schutzgruppe angebracht werden.

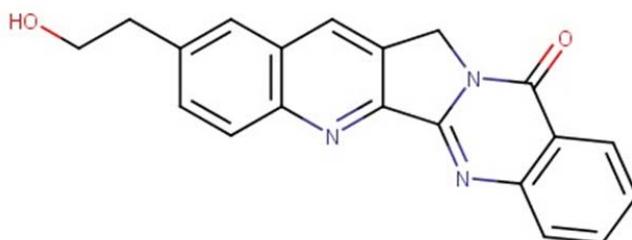
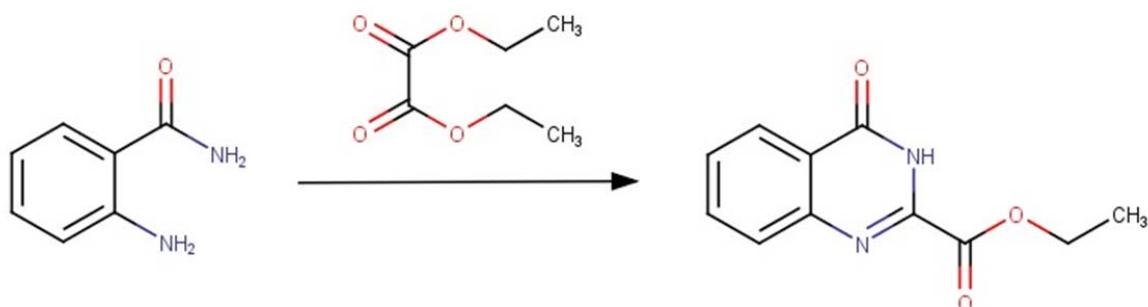


Abb. 4: die Zielverbindung 2-Hydroxyethyl-Luotonin A

2. Eigene Untersuchungen

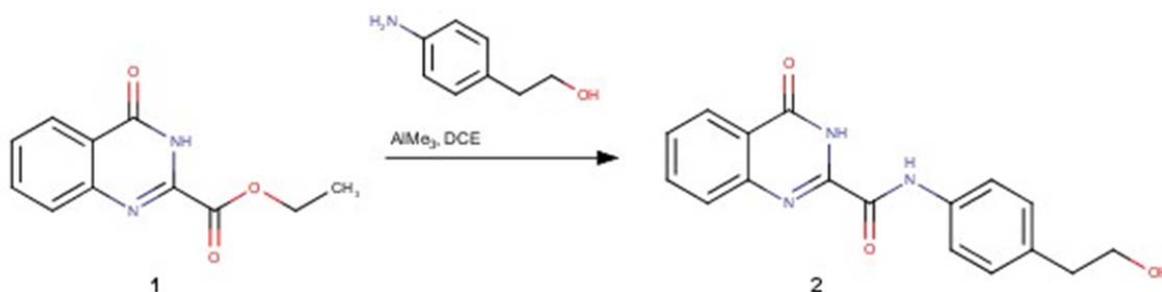
Zur Herstellung der Ausgangsverbindung wurde in Anlehnung an die von Zhou *et al.*¹³ beschriebene Methode kommerziell erhältlich Anthranilamid in überschüssigem Diethyloxalat ca. 36 Stunden unter Rückfluss erhitzt und damit zu Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**1**) umgesetzt. Zur Beschleunigung der Reaktion wurde eine katalytische Menge Essigsäure zugesetzt.



Schema 6: Herstellung von Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat

2.1 Weinreb-Amidierung

Als erster neuer Schritt in der geplanten Synthesesequenz sollte nun der Chinazolinon-carbonsäureester (**1**) unter den Bedingungen der Weinreb-Amidierung mit 2-(4-Aminophenyl)ethanol zu *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**) umgesetzt werden. Dabei sollte zuerst versucht werden, die Reaktion mit einem an der Hydroxygruppe ungeschützten Anilin-Baustein durchzuführen. Die Bedingungen wurden analog zu den meisten bisher in unserer Arbeitsgruppe durchgeführten Weinreb-Amidierungen¹² gewählt: die Anilin-Komponente wird unter Inertgas in trockenem 1,2-Dichlorethan gelöst und durch Zugabe von Trimethylaluminium (als Lösung in Heptan) „aktiviert“. Anschließend wird der Ester zugesetzt und das Gemisch zum Rückfluss erhitzt. In der Tat zeigte die DC-Kontrolle, dass nach zweistündiger Reaktionszeit kaum noch Edukt nachweisbar ist und eine neue Verbindung entstanden ist. Nach der üblichen Aufarbeitung mittels saurer Hydrolyse, gefolgt von Abnutschen des schwerlöslichen Niederschlages, erhält man die angestrebte Verbindung **2** in sehr guter Ausbeute (ca. 90%). Durch Umkristallisation aus Ethanol erhält man das reine Anilid in Form farbloser Kristalle.



Schema 7: Weinreb-Amidierung

Mittels spektroskopischer Methoden konnte eindeutig gezeigt werden, dass es sich bei der neuen Verbindung um das erwartete Produkt *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**) handelt. So ist im Massenspektrum deutlich der Molekülionenpeak bei $m/z = 309$ sichtbar (s. Anhang, Tafel 1). Die Summenformel konnte mittels HRMS bestätigt werden.

In den NMR-Spektren konnte jeder Peak dem entsprechenden Kohlenstoff- bzw. Wasserstoffatom zugeordnet werden. Im ^1H -NMR-Spektrum findet sich bei 4.65 ppm ein Peak, welcher im HSQC-Experiment mit keinem Kohlenstoffsignal korreliert ist, mit der CH_2 -Gruppe bei 3.61 ppm koppelt und damit eindeutig der Hydroxygruppe zugeordnet werden kann. Der Peak mit der geringsten chemischen Verschiebung bei 2.72 ppm kann damit der Aryl- CH_2 -Gruppe zugeordnet werden. Bei 7.25-7.23 ppm und 7.80-7.77 ppm sind die Teilsignale eines $\text{AA}'\text{BB}'$ -Systems (als Pseudo-Dubletts) zu sehen, die den Phenyl-Protonen 2'-H und 6'-H sowie 3'-H und 5'-H zugeordnet werden können. Vom Chinazolinon finden sich ein dublettisches Dublett von 5-H bei 8.20 ppm, ein dublettisch-dublettisches Dublett bei 7.64 ppm (6-H) und ein Multiplett bei 7.96-7.86 ppm (7-H und 8-H). Die Peaks der beiden NH-Wasserstoffe finden sich bei 12.47 ppm und 10.71 ppm (s. Tafel 2).

Im APT- ^{13}C -NMR-Spektrum (APT = attached proton test) sind auch die Signale der quartären Kohlenstoffe (also jene ohne Bindungen zu einem Wasserstoff) zu sehen. Die Peaks der beiden Amid-artigen Kohlenstoffe sind bei 161 ppm (4-C) und 157.9 ppm (Amid-C=O) zu sehen, die der restlichen quartären Kohlenstoffe befinden sich bei 146.9 ppm (8a-C), 146.1 ppm (2-C), 135.9 ppm (Phenyl 4'-C), 135.5 (Phenyl 1'-C) und 122.7 (4a-C) (s. Tafel 3).

Mittels weiterer NMR-Experimente, nämlich HSQC (heteronuclear single quantum coherence), HMBC (heteronuclear multiple bond correlation), COSY (correlation spectroscopy) und NOESY (nuclear Overhauser enhancement and exchange spectroscopy) konnte die Zuordnung sämtlicher Peaks ermittelt bzw. bestätigt werden. So konnte mithilfe des HSQC-Spektrums die Zugehörigkeit der Wasserstoffe zu den jeweiligen Kohlenstoffen gezeigt werden, im COSY-Spektrum sind miteinander koppelnde Wasserstoffe als Kreuzpeaks zu erkennen. Mithilfe des HMBC-Spektrums können u.a. die beiden C=O-Signale der Amid-artigen Kohlenstoffe unterschieden werden, da hier bei 161 ppm die Korrelation infolge 3J -Kopplung mit dem Wasserstoff 5-H zu sehen ist und es sich damit um das 4-C handeln muss. Die Zuordnung der beiden NH-Wasserstoffe kann durch das NOESY-Experiment ermittelt werden. Hier sieht man eine Wechselwirkung der Phenylprotonen 2'-H und 6'-H mit dem Amidwasserstoff bei 10.71 ppm, während das Chinazolinon-NH-Signal bei 12.47 ppm keinen solchen Kreuzpeak aufweist (s. Tafeln 4-10).

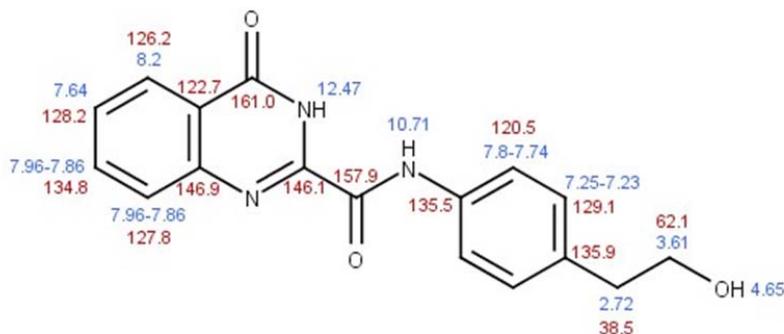


Abb. 5: ^1H -NMR- (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) von *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**)

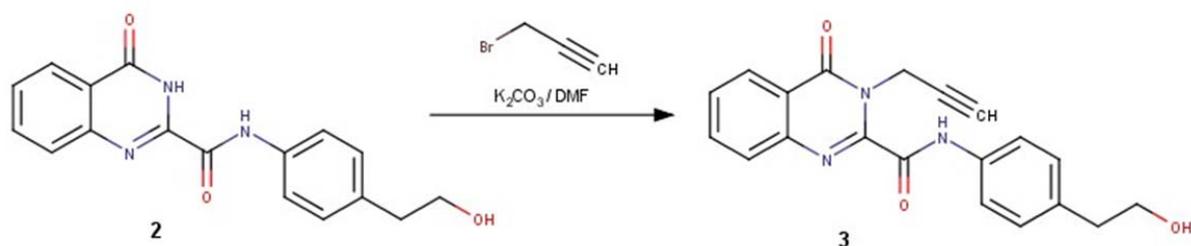
2.2 Alkylierung mit Propargylbromid

Im nächsten Schritt sollte das wie oben beschrieben erhaltene *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**) gemäß der Methode von Haider *et al.*¹³ (Dimethylformamid, Kaliumcarbonat, Propargylbromid) bei Raumtemperatur alkyliert werden. Ziel dabei war die selektive Propargylierung des Chinazolin-Stickstoffes in Position 3.

Nach 24 Stunden wurde mittels DC die Vollständigkeit der Reaktion überprüft, wobei keine Ausgangsverbindung mehr feststellbar war, dafür jedoch neben einem Haupt-

produkt auch ein deutlich erkennbares Nebenprodukt. Bei diesem könnte es sich entweder um ein Bis-Alkylierungsprodukt mit Propargylresten an N-3 und am Amid-N handeln (derartige Nebenprodukte waren schon früher beobachtet worden²⁵) oder um ein O-Alkylierungsprodukt. In Anbetracht der geringen Substanzmenge wurde auf eine Isolierung und Strukturaufklärung dieses Nebenprodukts verzichtet.

Nach Verdünnen des Reaktionsansatzes mit Wasser fällt das Produkt (**3**) größtenteils aus und kann abfiltriert werden, restliche Anteile lassen sich durch Extraktion des Filtrats mit Dichlormethan gewinnen. Nach Umkristallisation aus Ethanol erhält man die reine Propargyl-Verbindung (**3**) in akzeptabler Ausbeute (49%).



Schema 8: Propargylierung am Chinazolinon-N-3

Mittels Massenspektrometrie und NMR konnte wiederum gezeigt werden, dass es sich bei dem isolierten Material um die gewünschte Verbindung *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)-phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) handelt.

Im Massenspektrum ist der erwartete Molekülionenpeak bei $m/z = 347$ zu sehen (s. Tafel 11), auch die Summenformel konnte mittels HRMS bestätigt werden.

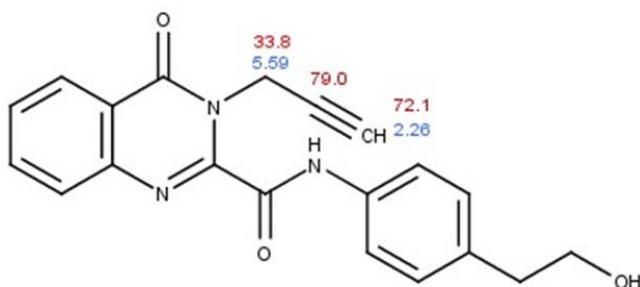
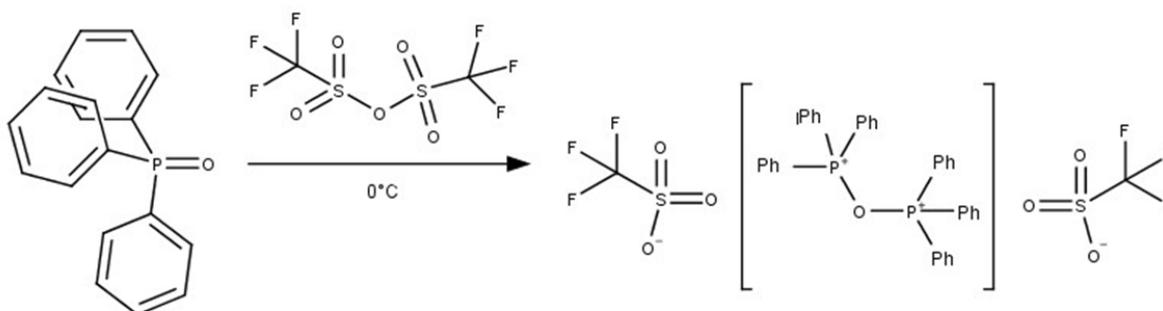


Abb. 6: diagnostisch relevante ¹H-NMR- (blau) und ¹³C-NMR-Signale (rot) von *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Verbindung **3** kann die Anwesenheit des Propargylrestes durch Peaks bei 2.26 ppm (Alkin-H) und 5.59 ppm (N-CH₂) erkannt werden. Da zur Aufnahme dieses Spektrums nicht wie im Falle von **2** DMSO-*d*₆ sondern CDCl₃ verwendet wurde, ist der Peak der Hydroxygruppe nun bei einer deutlich anderen chemischen Verschiebung (1.45 ppm statt 4.65 ppm) zu sehen. Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum sind neue Signale bei 33.8 ppm (N-CH₂), 72.1 ppm (Propargyl 3-C) sowie 79.0 ppm (Propargyl 2-C) zu sehen. Die Kopplungsbeziehungen der Kohlenstoff- und Wasserstoffkerne zueinander bzw. untereinander konnten wiederum u.a. mit HSQC- und COSY-Experimenten gezeigt werden (s. Tafeln 12-20).

2.3 Intramolekulare Cycloadditionsreaktion zur Zielverbindung

Den letzten Schritt sollte wie bereits in Abschnitt 1.5.1 erwähnt eine aza-Diels-Alder-Reaktion unter Einwirkung des Hendrickson-Reagens ermöglichen. Auch bei diesem Reaktionsschritt war von vornherein nicht sicher, ob die Umsetzung ohne Schutz der alkoholischen OH-Gruppe funktionieren würde, da das bei der Reaktion verwendete Hendrickson-Reagens mit seinem oxophilen Phosphoratom auch an der genannten Hydroxygruppe angreifen und die Reaktion damit nicht wie gewünscht ablaufen könnte.

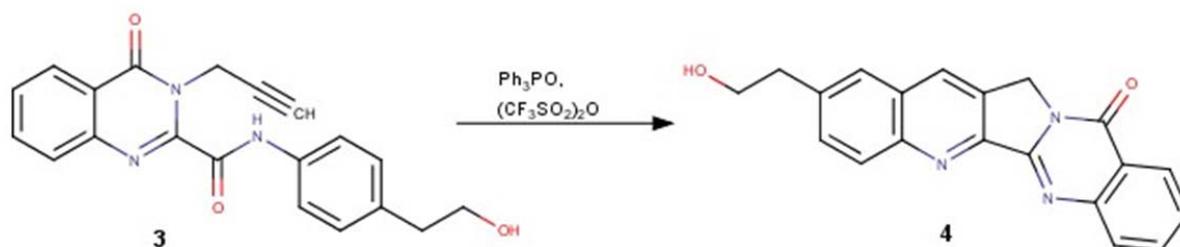


Schema 9: Herstellung des Hendrickson-Reagens

Beim Hendrickson-Reagens handelt es sich um die ionische Verbindung Bis(triphenyl)-oxodiphosphonium-Trifluoromethansulfonat.²⁶ Dieses Reagens erhält man, indem man in trockenem Dichlormethan gelöstes Triphenylphosphinoxid unter Inertgas (Argon) bei 0°C mit Trifluoromethansulfonsäureanhydrid versetzt.¹³

Nach der Herstellung des Hendrickson-Reagens (1.5 Äquivalente) wurde das Edukt *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid

(**3**) zugegeben und das Gemisch bei Raumtemperatur gerührt. Es zeigte sich, dass Verbindung **3** sich vollständig löst und das Reaktionsgemisch sehr rasch eine deutliche Gelbfärbung entwickelt. Nach einstündiger Reaktionszeit zeigte eine erste DC-Kontrolle einen intensiv blau fluoreszierenden neuen Fleck, wie er für die meisten Luotonin-A-Derivate typisch ist. Daneben waren noch geringere Mengen an Edukt (**3**) feststellbar, deren Anteil nach einer weiteren Stunde allerdings unverändert blieb. Daher wurde die Reaktion durch Zugabe von wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung beendet und der Ansatz mit Dichlormethan erschöpfend extrahiert.



Schema 10: Bildung der Zielverbindung „2-Hydroxyethyl-Luotonin A“ (**4**)

Eine Herausforderung bei der Reinigung des Rohproduktes stellte das Entfernen von überschüssigem Triphenylphosphinoxid dar, welches sich noch zur Gänze im eingedampften Extrakt befand. Zum Umkristallisieren wurde 96% Ethanol gewählt, da sich Triphenylphosphinoxid darin sehr gut, das Produkt (**4**) aber nur mäßig löst. Auch nach zweimaligem Umkristallisieren konnte allerdings das Triphenylphosphinoxid nicht vollständig entfernt werden. Auch ein blau fluoreszierendes Nebenprodukt war nach mehrmaligem Umkristallisieren noch schwach auf der DC-Platte erkennbar.

Um die Aufarbeitungsverluste zu minimieren, wurden die nach dem Umkristallisieren erhaltenen Mutterlaugen mittels Säulenchromatographie gereinigt. Als Fließmittel diente ein Gemisch aus Dichlormethan und Methanol im Verhältnis 95:5. Nach Eindampfen des Eluates und einmaligem Umkristallisieren konnte schließlich das reine Produkt (**4**) in Form gelblich-weißer Nadeln erhalten und für spektroskopische Untersuchungen (s. unten) verwendet werden. Letztere bestätigten, dass es sich wie erwartet um das angestrebte „2-Hydroxyethyl-Luotonin A“ (**4**) handelt.

Die Ausbeute der auf diese Weise hergestellten und isolierten Zielverbindung 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**4**) beträgt relativ mäßige 35.6%. Um zu versuchen, diese Ausbeute noch etwas zu erhöhen, wurde die Reaktion auch unter Zusatz der Base DBU (Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en) versucht. Dabei konnte allerdings auch nach 24 Stunden keine nennenswerte Umsetzung festgestellt werden. Auch ein Versuch unter Standard-Bedingungen, jedoch mit einer höheren Menge an Hendrickson-Reagens brachte keine Verbesserung des ursprünglich erzielten Ergebnisses. Die bescheidene Ausbeute wird allerdings durch die Tatsache relativiert, dass die gesamte Synthesesequenz mit einer ungeschützten alkoholischen OH-Gruppe funktioniert und somit zusätzliche Schritte zum Einführen bzw. Abspalten einer Schutzgruppe entfallen können.

Im Massenspektrum der Zielverbindung (**4**) ist der Molekülionenpeak wie zu erwarten bei $m/z = 329$ zu sehen, auch der Peak von $[M+H]^+$ bei $m/z = 330$ ist sichtbar. Der Basispeak liegt bei $m/z = 298$ (s. Tafel 21). Mittels HRMS konnte wiederum die Summenformel bestätigt werden.

Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von „2-Hydroxyethyl-Luotonin A“ (**4**) unterscheidet sich in verschiedenen Details von jenem der Ausgangsverbindung *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-*in*-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**). Da als Lösungsmittel $\text{DMSO-}d_6$ verwendet wurde, erscheint das Signal der Hydroxygruppe nun wieder bei tieferem Feld (4.76 ppm). Das Singulett des 14-H-Atoms ist bei 8.65 ppm zu sehen. Anstelle des AA'BB'-Systems des *para*-substituierten Phenylrestes finden sich nun die unterschiedlichen Resonanzen der drei verbleibenden Protonen an diesem Fragment (nun Ring A): 4-H liefert ein Dublett ($J = 8.7$ Hz) bei 8.17 ppm, 3-H ein dublettisches Dublett ($J = 8.7$ und 1.9 Hz) bei 7.79 ppm, das Signal von 1-H wird vom Multipllett der Protonen 7-H und 8-H überlagert (7.94–7.92 ppm). Die Signale der Chinazolin-Protonen finden sich bei ähnlichen chemischen Verschiebungen wie die der Ausgangsverbindung (s. Tafel 22).

Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum findet sich das Signal der Methylengruppe (13-C) nun bei charakteristischen 47.5 ppm, im Vergleich zum N-CH₂-Signal des Eduktes (**3**), das bei 33.8 ppm erscheint. Die Signale der Chinolin-C-Atome 13a-C und 14-C finden sich nun bei etwa 131 ppm, im Gegensatz zu jenen der Alkin-Kohlenstoffe des entsprechenden Vorläufer-Bausteins in Form des Propargylrestes von (**3**) bei 70-80 ppm. Der Peak des 5a-C, welches nun nicht mehr als Amid-C=O-Gruppe vorliegt, ist nun bei einer

chemischen Verschiebung von 150.6 ppm zu beobachten (s. Tafel 23). Mittels HSQC- und HMBC-Experimenten konnten alle Signale eindeutig zugeordnet werden (s. Tafeln 24-27).

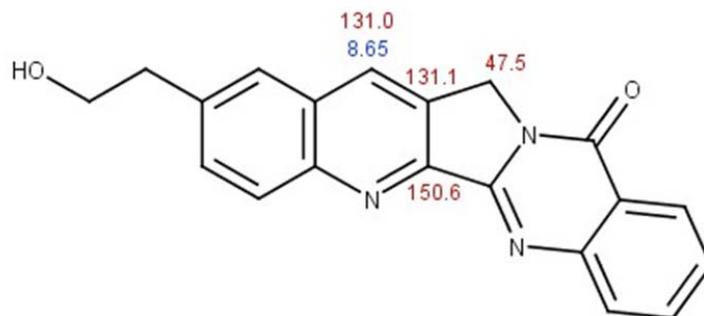


Abb. 7: Typische ^1H -NMR- (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) der Zielverbindung „2-Hydroxyethyl-Luotonin A“ (4)

2.4 Fazit

In der vorliegenden Diplomarbeit konnte somit gezeigt werden, dass eine Hydroxyethylgruppe in Position 2 des Alkaloids Luotonin A ohne Probleme eingeführt werden kann. Ein derartiger Substituent erscheint nicht zuletzt aufgrund der zu erwartenden Verbesserung der Löslichkeitseigenschaften des Grundkörpers von Interesse. Als Syntheseweg zur Herstellung der bisher unbekanntenen Zielverbindung eignet sich die von unserer Arbeitsgruppe verbesserte Route nach Zhou *et al.*¹² Wie weiters gezeigt werden konnte, ist die Einführung einer Schutzgruppe für die alkoholische Hydroxygruppe nicht notwendig, um die Synthesesequenz erfolgreich durchzuführen. Mittels spektroskopischer Methoden konnten sowohl die Zielverbindung „2-Hydroxyethyl-Luotonin A“ als auch die beiden Zwischenprodukte eindeutig charakterisiert werden.

3. Experimenteller Teil

3.1 Allgemeines

Chromatographie

DC

Zur Überprüfung der Vollständigkeit der durchgeführten Reaktionen sowie zur Identitätskontrolle wurden DC-Fertigfolien ALUGRAM® Xtra SIL G/UV₂₅₄ Kieselgel 60 der Fa. Macherey-Nagel (Art.-Nr. 818333) verwendet. Die Detektion erfolgte mittels einer Camag-UV-Lampe durch Fluoreszenzminderung unter UV₂₅₄ bzw. Eigenfluoreszenz unter UV₃₆₆.

SC

Für die Säulenchromatographie wurde als Sorbens Kieselgel 60 (0.063-0.200 mm) der Fa. Merck (Art.-Nr. 1.07734) verwendet. Die Detektion erfolgte diskontinuierlich mittels Tüpfeln auf DC-Folien.

Spektroskopie

MS

EI-Massenspektren (70 eV) wurden auf einem Shimadzu QP5050A DI50 Massenspektrometer am Department für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien gemessen.

HRMS

Hochauflösende ESI-Massenspektren wurden am Department für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien auf einem Bruker maXis HD gemessen.

NMR

¹H-NMR-Spektren (400 MHz) sowie ¹³C-NMR-Spektren (100 MHz) wurden auf einem Bruker Avance III 400 Spektrometer gemessen.

Schmelzpunkte

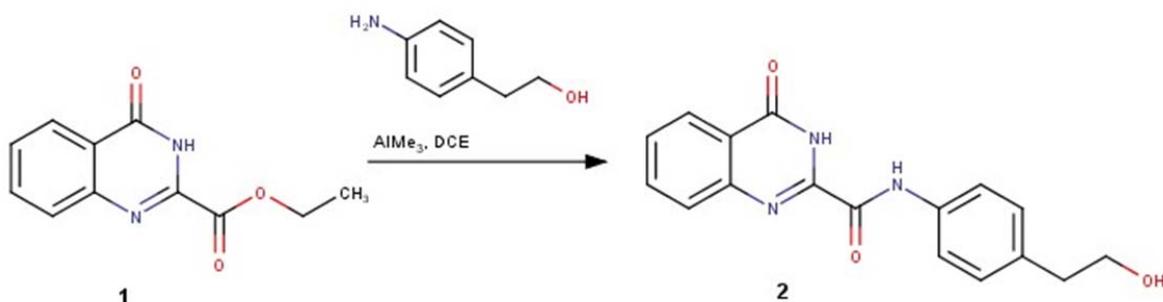
Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heiztischmikroskop der Fa. Leica ermittelt.

Reagenzien und Lösungsmittel

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

3.2 Arbeitsvorschriften

N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)



Eine Lösung von 4-(2-Hydroxyethyl)anilin (1.097 g, 8 mmol) in 1,2-Dichlorethan (20 ml) wird unter Argon tropfenweise mit 2M AlMe₃-Lösung in Heptan (4 ml, 8 mmol) versetzt. Nach 30 min Rühren wird Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**1**) (1.091 g, 8 mmol) hinzugefügt und das Gemisch 2 h auf 90°C (Badtemperatur) erhitzt. Der Kolben wird mit Eis auf 0°C abgekühlt, das Reaktionsgemisch wird mit 2N HCl (20 ml) versetzt und der pH-Wert gemessen, der <7 sein soll. Durch Zugabe von H₂O (80 ml) entsteht ein Niederschlag, der abgenutscht wird. Das Filtrat wird verworfen, der Niederschlag mit 35% EtOH gewaschen und im Exsiccator getrocknet. Die Waschflüssigkeit wird unter vermindertem Druck konzentriert und das ausgefallene Material erneut abgenutscht, im Exsiccator getrocknet und nach Reinheitskontrolle mittels DC mit dem ersten Anteil vereinigt.. Das so erhaltene Produkt kann ohne weitere Reinigung für den folgenden Schritt verwendet werden, analysenreines Anilid erhält man durch Umkristallisation aus EtOH.

Aussehen: farblose Kristalle

Molekulargewicht: 309.32 g/Mol

Ausbeute: 2.766 g (89.5%)

Summenformel: C₁₇H₁₅N₃O₃

Schmelzpunkt: 234-235°C

MS (Tafel 1):

m/z (rel. Int.) = 309 (M^+ , 16%), 279 (33), 278 (33), 146 (49), 132 (83), 119 (100), 91 (42), 90 (80), 78 (33), 77 (46)

HRMS:

[M+Na] ⁺	
berechnet	332.1006
gefunden	332.1007

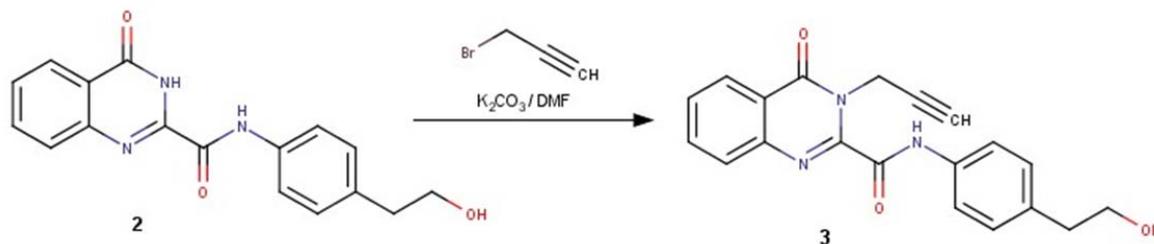
¹H-NMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 2)

δ 12.47 (s, 1H, Chinazolinon-NH), 10.71 (s, 1H, Amid-NH), 8.20 (dd, $J = 7.6, 1.1$ Hz, 1H, 5-H), 7.96–7.86 (m, 2H, 7-H, 8-H), 7.80–7.74 (m, 2H, Phenyl 2'-H, 6'-H), 7.64 (ddd, $J = 8.1, 6.5, 1.8$ Hz, 1H, 6-H), 7.25–7.23 (m, 2H, Phenyl 3'-H, 5'-H), 4.65 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H, OH), 3.61 (td, $J = 7.1, 5.3$ Hz, 2H, OCH₂), 2.72 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H, ArCH₂)

¹³C-NMR: (100 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 3)

δ 161.0 (4-C), 157.9 (Amid C=O), 146.9 (8a-C), 146.1 (2-C), 135.9 (Phenyl 4'-C), 135.5 (Phenyl 1'-C), 134.8 (7-C), 129.1 (Phenyl 3'-C, 5'-C), 128.2 (6-C), 127.8 (8-C), 126.2 (5-C), 122.7 (4a-C), 120.5 (Phenyl 2'-C, 6'-C), 62.1 (OCH₂), 38.5 (ArCH₂)

***N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)**



N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**) (927 mg, 3 mmol) wird in DMF (20 ml) gelöst und mit K₂CO₃ (455 mg, 3 mmol) und Propagylbromid (80%ige Lösung in Toluol, 490 mg, 3 mmol) versetzt und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC überprüft. Das Gemisch wird in H₂O (200 ml) gegossen und 20 min gerührt, danach 20 min stehen gelassen. Der Niederschlag wird abgenutscht und im Exsiccator getrocknet. Das Filtrat wird mit CH₂Cl₂ ausgeschüttelt (4 x 50 ml) und die vereinigten Extrakte werden über Na₂SO₄ getrocknet. Das Trocknungsmittel wird abfiltriert und das Filtrat eingedampft. Die vereinigten Rohprodukte werden aus EtOH umkristallisiert.

Aussehen: farblose Nadeln

Molekulargewicht: 347.37 g/Mol

Ausbeute: 0.510 g (49%)

Summenformel: C₂₀H₁₇N₃O₃

Schmelzpunkt: 187°C

MS (Tafel 11):

m/z (rel. Int.) = 347 (M⁺, 10%), 346 (26), 302 (67), 184 (22), 155 (32), 132 (100), 129 (62), 119 (79), 102 (43), 90 (73), 78 (54), 77 (86)

HRMS :

[M+Na] ⁺	
berechnet	370.1162
gefunden	370.1162

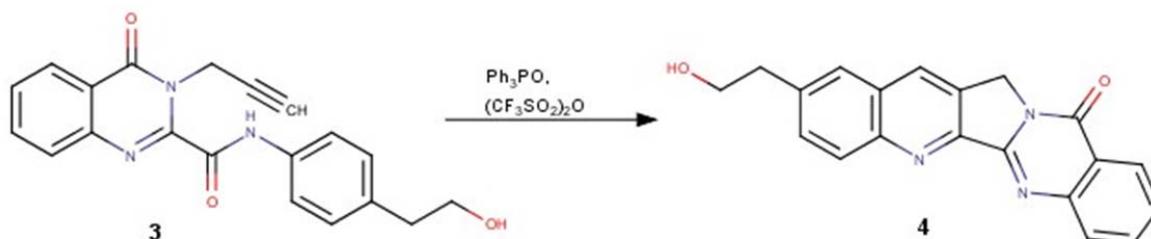
¹H-NMR: (400 MHz, CDCl₃, Tafel 12)

δ 9.61 (s, 1H, NH), 8.36 (dd, *J* = 8.0, 1.0 Hz, 1H, 5-H), 7.84 (ddd, *J* = 8.4, 7.0, 1.5 Hz, 1H, 7-H), 7.78 (dd, *J* = 8.2, 0.8 Hz, 1H, 8-H), 7.72–7.65 (m, 2H, Phenyl 2'-H, 6'-H), 7.61 (ddd, *J* = 8.2, 7.0, 1.4 Hz, 1H, 6-H), 7.30–7.29 (m, 2H, Phenyl 3'-H, 5'-H), 5.59 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, NCH₂), 3.88 (q, *J* = 6.4 Hz, 2H, OCH₂), 2.89 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H, ArCH₂), 2.26 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H, Alkin-H), 1.45 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, OH)

¹³C-NMR: (100 MHz, CDCl₃, Tafel 13)

δ 161.4 (4-C), 158.3 (Amid C=O), 145.5 (2-C), 145.1 (8a-C), 135.8 (Phenyl 4'-C), 135.4 (Phenyl 1'-C), 135.1 (7-C), 129.9 (Phenyl 3'-C, 5'-C), 129.1 (6-C), 127.9 (8-C), 127.6 (5-C), 121.9 (4a-C), 120.6 (Phenyl 2'-C, 6'-C), 79.0 (Propargyl 2-C), 72.1 (Propargyl 3-C), 63.8 (OCH₂), 38.8 (ArCH₂), 33.8 (NCH₂)

2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)on (4)
(„2-Hydroxyethyl-Luotonin A“)



In einem Dreihalskolben mit Gummiseptum wird Triphenylphosphinoxid (835 mg, 3 mmol) unter Argon in trockenem CH₂Cl₂ (22 ml) gelöst. Nachdem die Lösung im Eisbad auf 0°C gekühlt wurde, wird Trifluormethansulfonsäureanhydrid (0.25 ml, 1.5 mmol) tropfenweise zugegeben. Es wird 15 min gerührt, danach wird N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) (347 mg, 1 mmol) in einer Portion zugegeben. Nach 5 min wird das Eisbad entfernt und das Gemisch 1 h unter langsamer Erwärmung auf Raumtemperatur gerührt. Die Lösung wird mit 10% NaHCO₃-Lösung (15 ml) gequench und mit CH₂Cl₂ (3 x 30 ml) ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Trocknungsmittel wird abfiltriert, gut nachgewaschen und die Lösung eingedampft. Der Rückstand von rohem Produkt (**4**) wird aus EtOH umkristallisiert. Durch Konzentration und anschließendes Kühlen der Mutterlauge lässt sich weiteres kristallines Material mittels Filtration gewinnen. Ein weiterer Anteil kann aus dem Filtrat mittels Säulenchromatographie gewonnen werden (Fließmittel: CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

Aussehen: gelblich-weiße Nadeln, zersetzen sich beim Schmelzen

Molekulargewicht: 329.36 g/Mol

Ausbeute: 0.117 g (35.6%)

Summenformel: C₂₀H₁₅N₃O₂

Schmelzpunkt: 284-287°C

MS (Tafel 21):

m/z (rel. Int.) = 330 (18%), 329 (M⁺, 80), 299 (40), 298 (100), 77 (17), 57 (33), 55 (19)

HRMS :

[M+Na] ⁺	
berechnet	352.1056
gefunden	352.1057

¹H-NMR: (400 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 22)

δ 8.65 (s, 1H, 14-H), 8.28 (dd, $J = 7.9, 1.0$ Hz, 1H, 10-H), 8.17 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, 4-H), 7.94–7.92 (m, 3H, 1-H, 7-H, 8-H), 7.79 (dd, $J = 8.7, 1.9$ Hz, 1H, 3-H), 7.62 (dt, $J = 8.1, 4.2$ Hz, 1H, 9-H), 5.28 (s, 2H, 13-H), 4.76 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H, OH), 3.81–3.69 (m, 2H, OCH₂), 2.98 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H, ArCH₂)

¹³C-NMR: (100 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 23)

δ 159.7 (11-C), 153.1 (5b-C), 150.6 (5a-C), 149.1 (6a-C), 147.3 (4a-C), 140.3 (2-C), 134.5 (8-C), 132.4 (3-C), 131.1 (14-C), 131.0 (13a-C), 129.3 (4-C), 128.4 (14a-C), 128.0 (7-C), 127.3 (1-C), 127.1 (9-C), 125.9 (10-C), 121.0 (10a-C), 61.7 (OCH₂), 47.5 (13-C), 38.9 (ArCH₂)

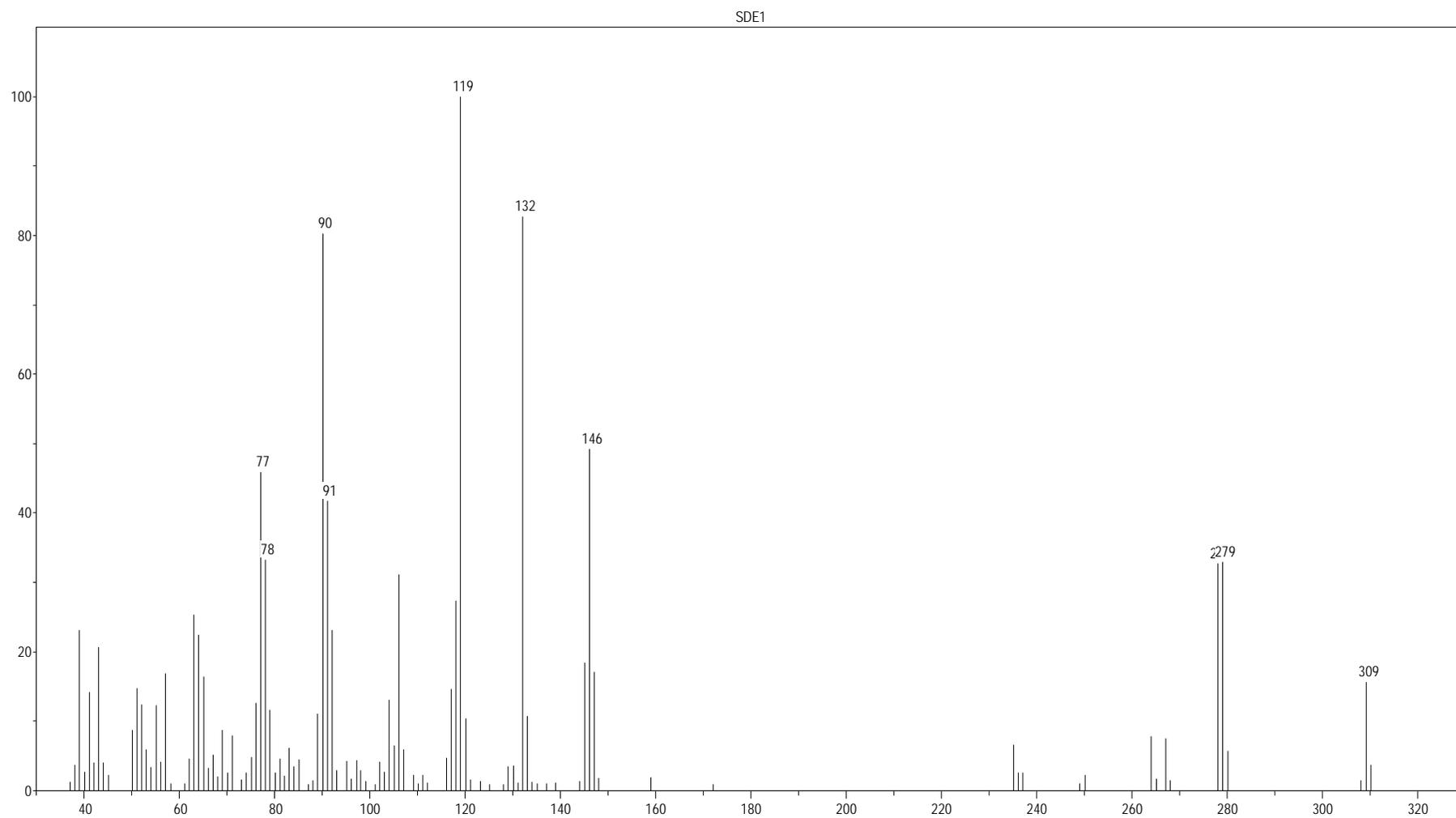
4. Literaturverzeichnis

- 1 Mutschler, E., Geisslinger, G., Kroemer, H. K., Menzel, S., Ruth, P., *Mutschler Arzneimittelwirkungen – Lehrbuch der Pharmakologie, Klinische Pharmakologie und Toxikologie*, 9. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, Kapitel 12 (2008).
- 2 Aktories, K., Förstermann, U., Hofmann, F., Starke, K., *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 11. Auflage, Elsevier, München, Kapitel 35 (2013).
- 3 Steinhilber, D., Schubert-Zsilavecz, M., Roth, H., *Medizinische Chemie*, 2. Auflage, Deutscher Apothekerverlag, Stuttgart, Kapitel 12 (2010).
- 4 Hsiang, Y., Hertzberg, R., Hecht, S., Liu, L., *J. Biol. Chemistry*, **260**, 14873–14878 (1985).
- 5 Pizzolato, J. F., Saltz, L. B., *Lancet*, **361**, 2235–2242 (2003).
- 6 Cagir, A., Jones, S., Gao, R., Eisenhauer, B., Hecht, S., *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 13628–13629 (2003).
- 7 Haider, N., Meng, G., Roger, S., Wank, S., *Tetrahedron*, **69**, 7066–7072 (2013).
- 8 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).
- 9 Gonzalez-Ruiz, V., Pascua, I., Fernandez-Marcelo, T., Ribelles, P., Bianchini, G., Sridharan, V., Iniesta, P., Ramos, M. T., Olives, A. I., Martin, M. A., Menendez, J. C., *PLoS ONE*, **9**, e95998 (2014).
- 10 Cagir, A., Eisenhauer, B. M., Gao, R., Thomas, S. J., Hecht, S. M., *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 6287–6299 (2004).
- 11 Nacro, K., Zha, C., Guzzo, P. R., Herr, R. J., Peace, D., Friedrich, T. D., *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 4237–4246 (2007).
- 12 Haider, N., Nuß, S., *Molecules*, **17**, 11363–11378 (2012).
- 13 Zhou, H.-B., Liu, G.-S., Yao, Z.-J., *J. Org. Chem.*, **72**, 6270–6272 (2007).
- 14 Prötsch, C., Diplomarbeit, Universität Wien (2014).

- 15 Gasser, P., Diplomarbeit, Universität Wien (2016).
- 16 Dai, W., Petersen, J. L., Wang, K. K., *Org. Lett.*, **8**, 4665–4667 (2006).
- 17 Tunjic, L., Diplomarbeit, Universität Wien (2013).
- 18 Eder, M., Diplomarbeit, Universität Wien (2013).
- 19 Dutter, K., Diplomarbeit, Universität Wien (2014).
- 20 Diesenreiter, S., Diplomarbeit, Universität Wien (2014).
- 21 Mitsunobu, O., Yamada, M., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **40**, 2380–2382 (1967).
- 22 But, T. Y. S., Toy, P. H., *Chem. Asian J.*, **2**, 1340–1355 (2007).
- 23 Schanta, R., Diplomarbeit, Universität Wien (2015).
- 24 Zuber, K., Diplomarbeit, Universität Wien (2016).
- 25 Louko, I., Diplomarbeit, Universität Wien (2013).
- 26 Hendrickson, J., Schwartzman, S., *Tetrahedron Lett.*, **4**, 277–280 (1975).

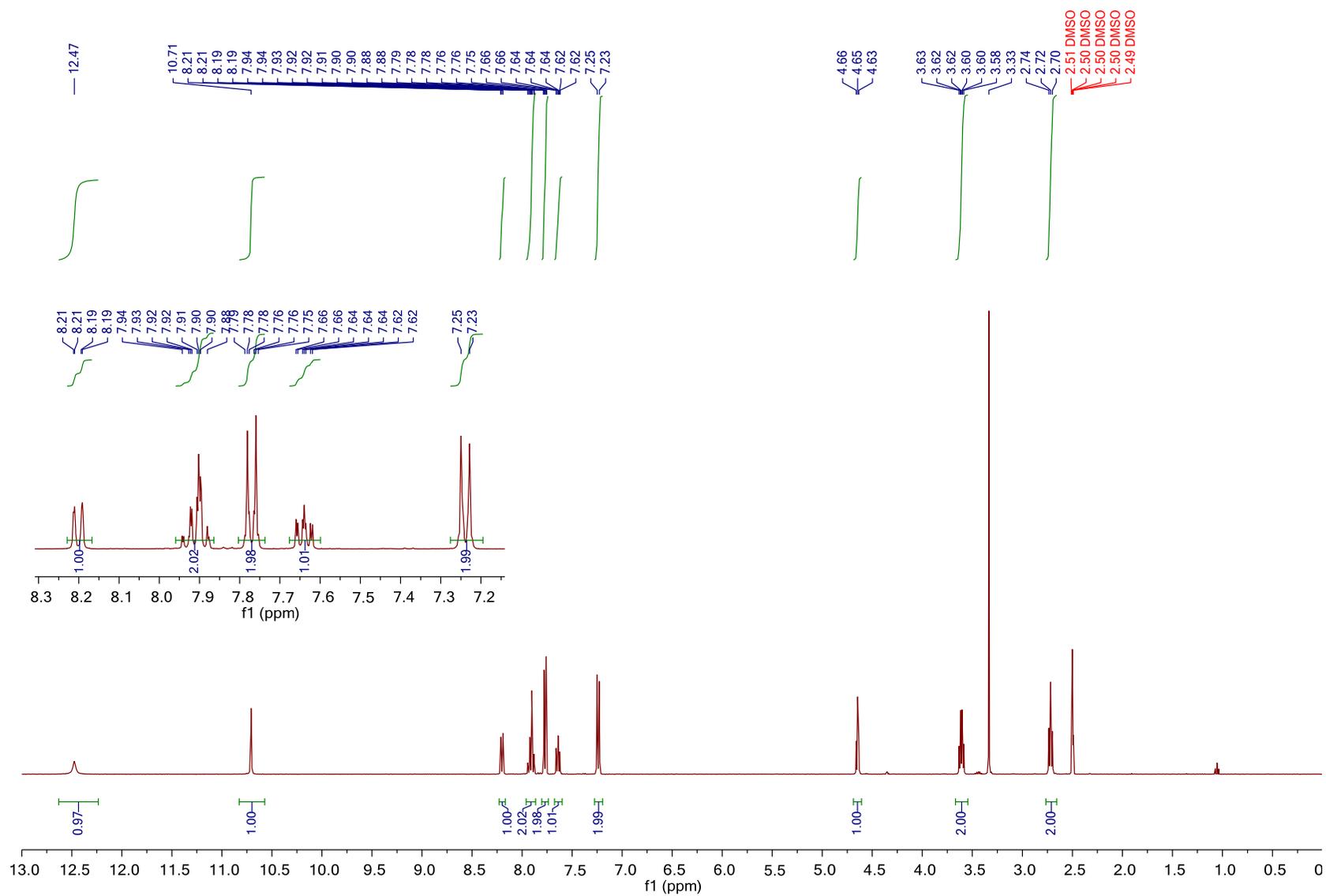
5. Anhang

5.1 Spektren



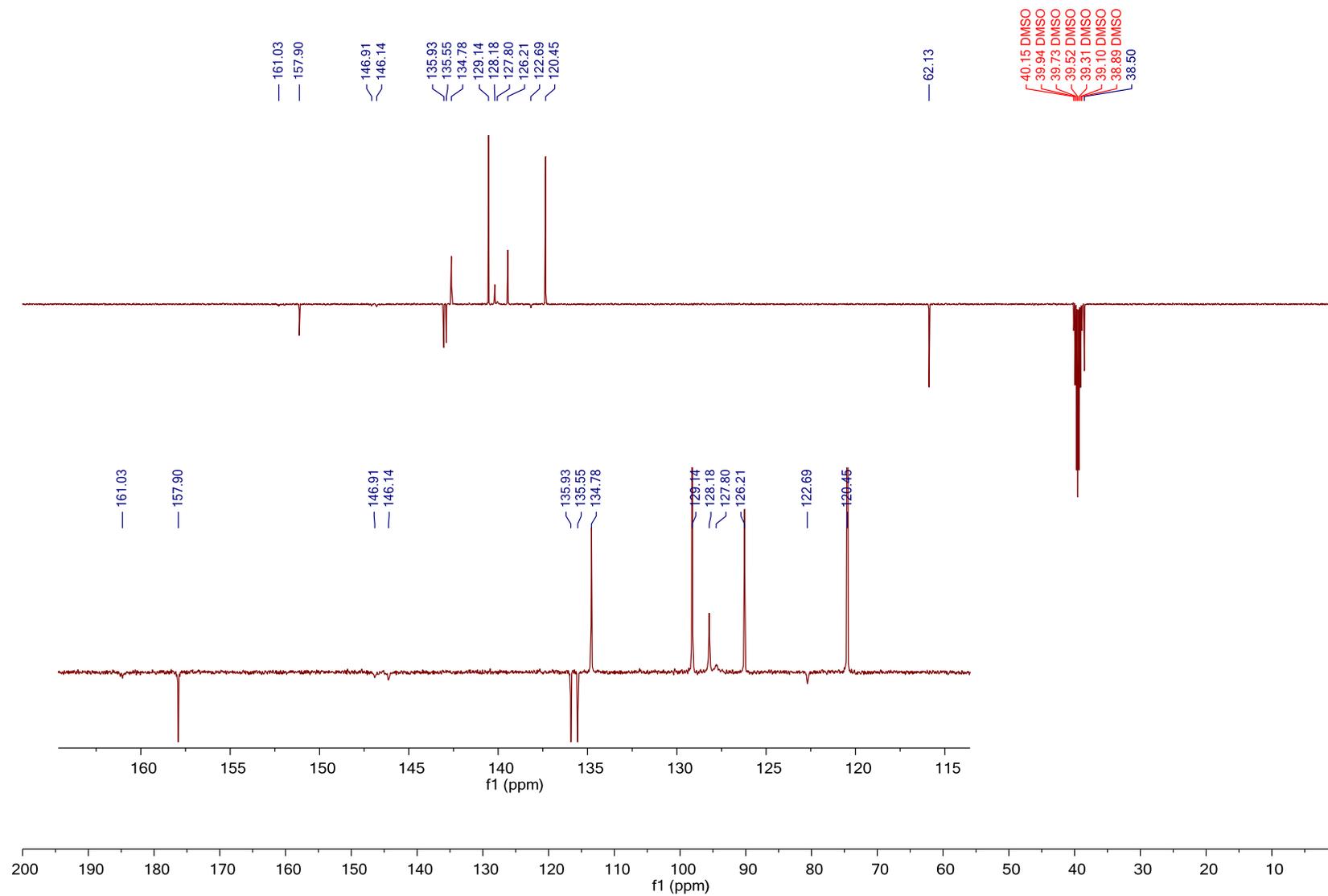
Tafel 1: *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**)

SDE1; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide 1H / DMSO



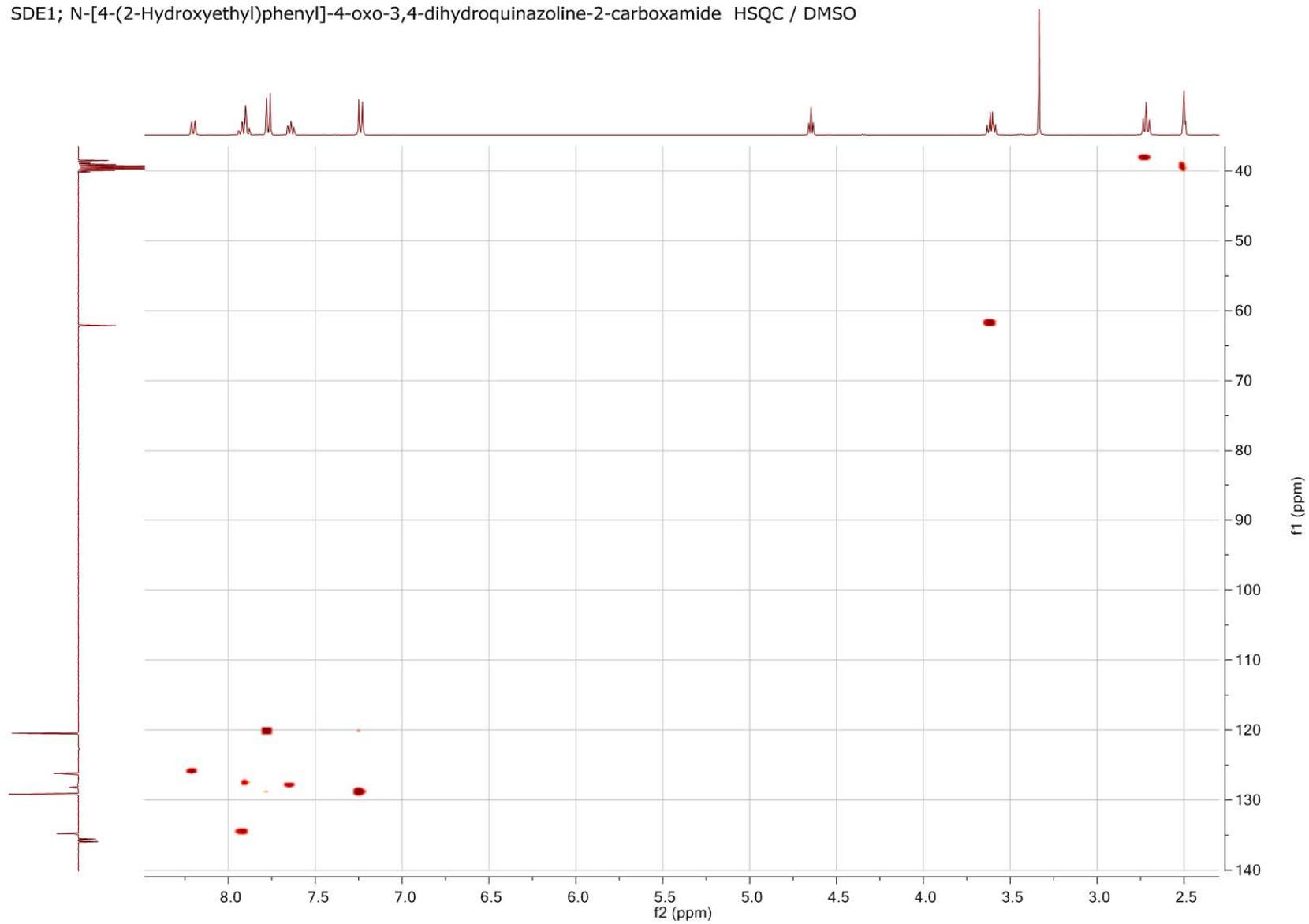
Tafel 2: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)

SDE1; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide C13APT / DMSO



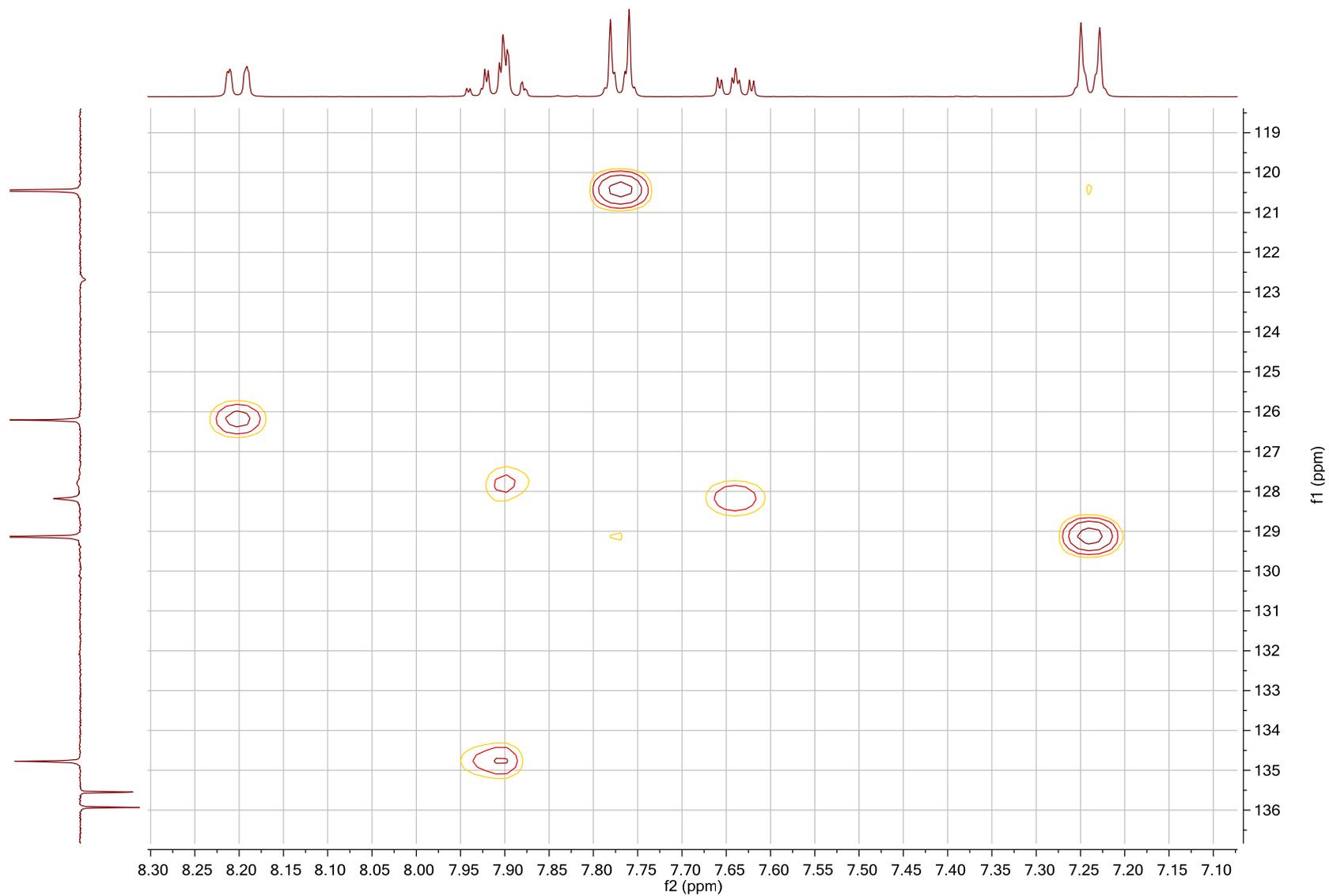
Tafel 3: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)

SDE1; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO



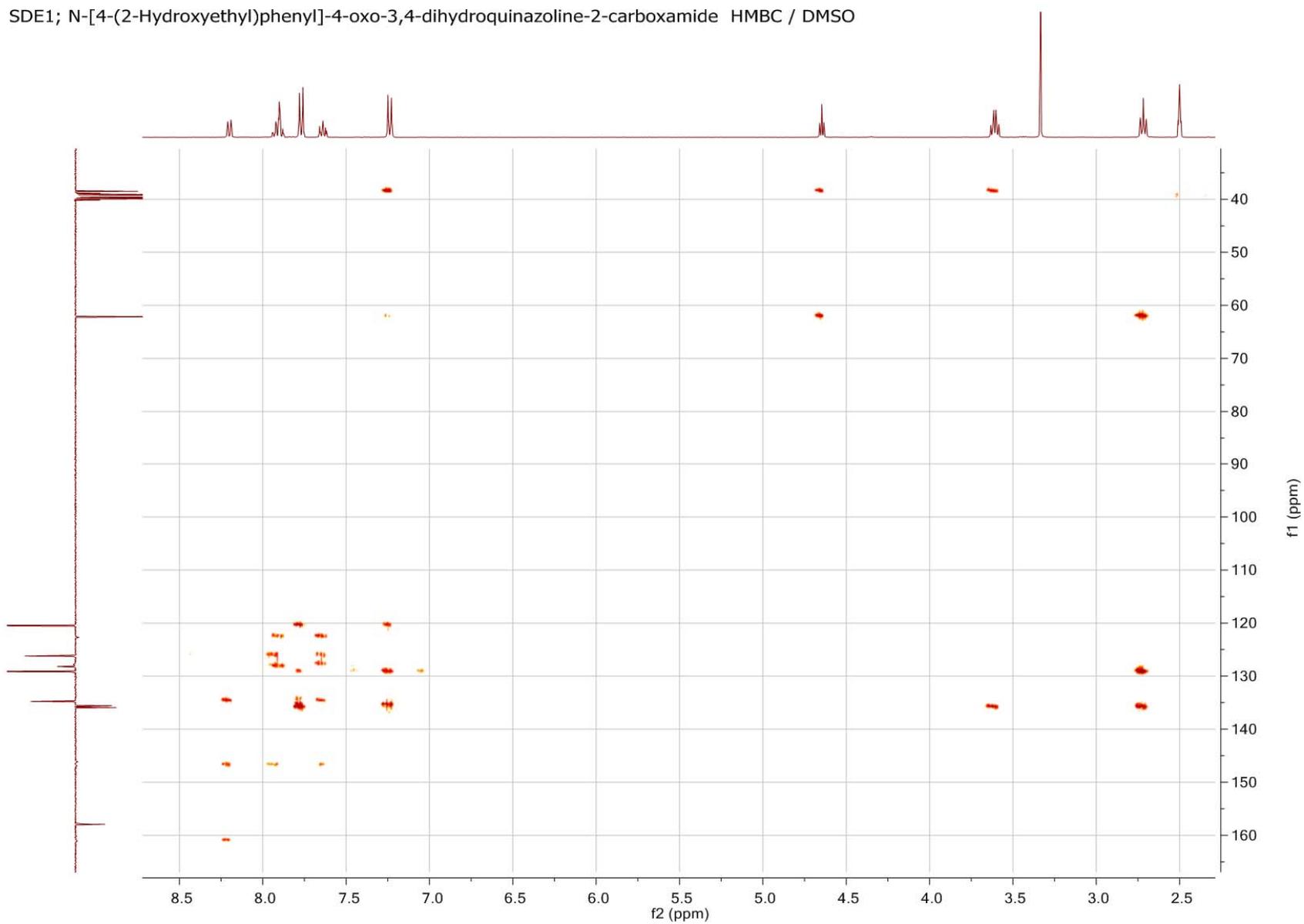
Tafel 4: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)

SDE1; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO



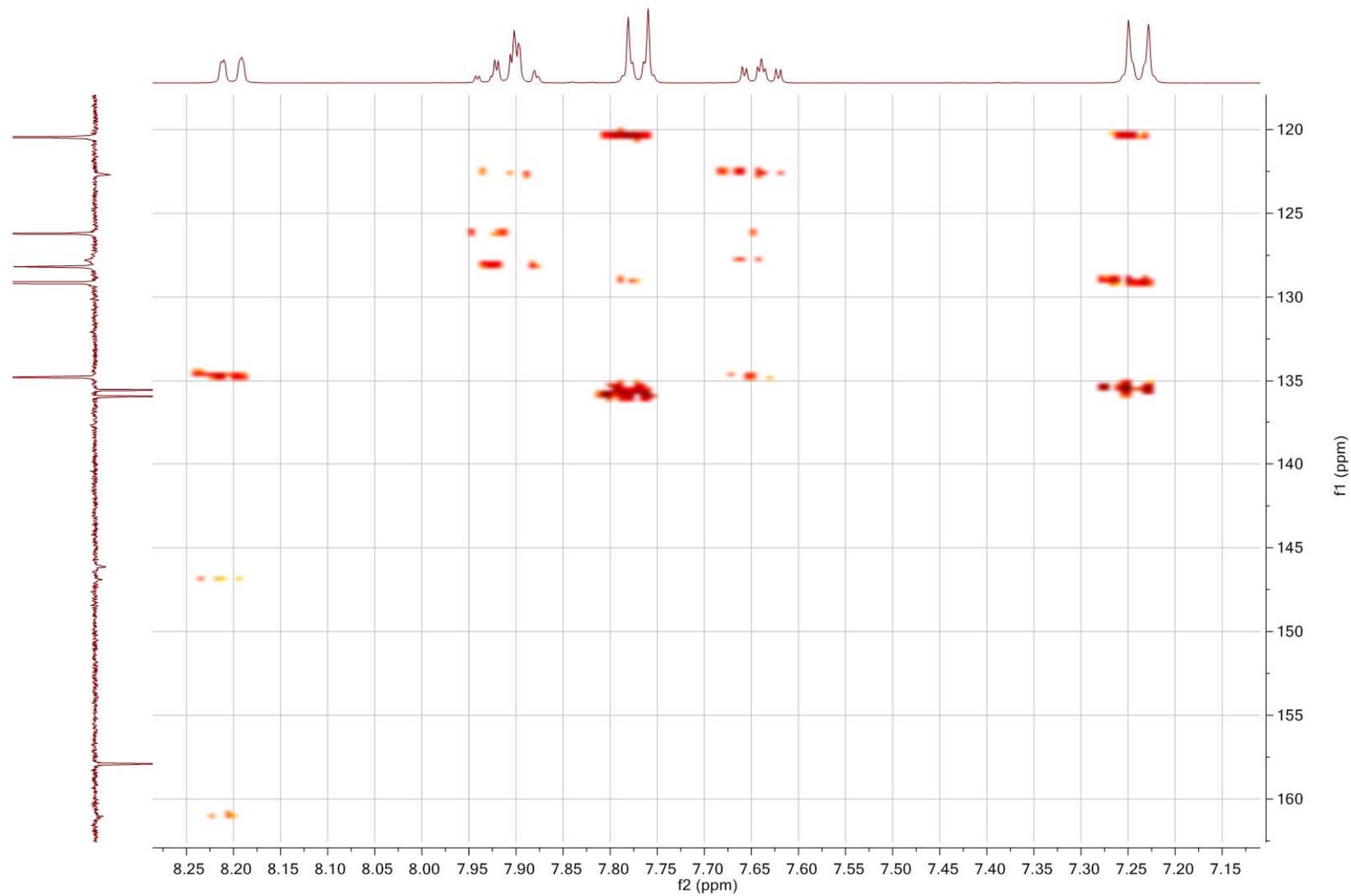
Tafel 5: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)

SDE1; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / DMSO



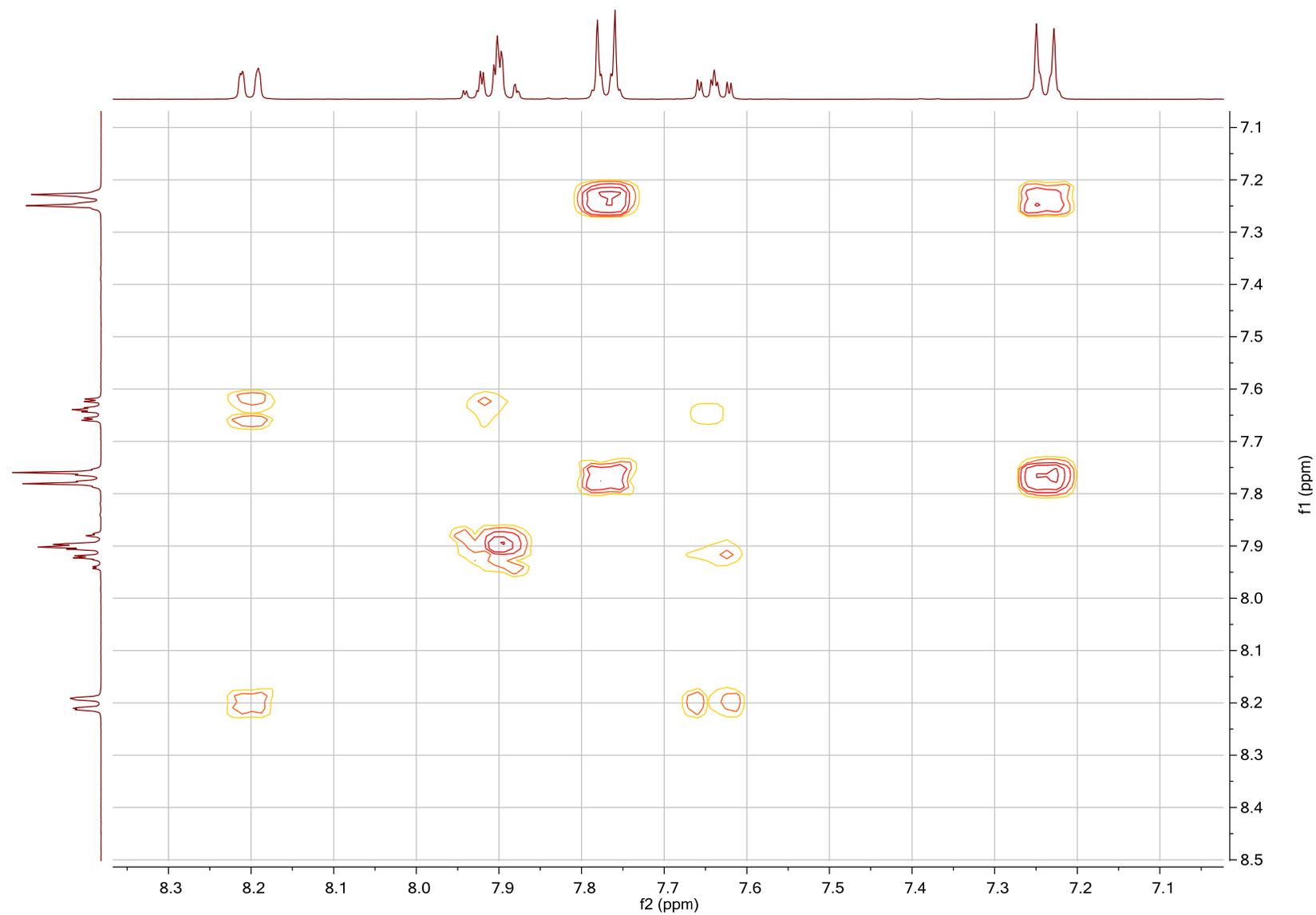
Tafel 6: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)

SDE1; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / DMSO



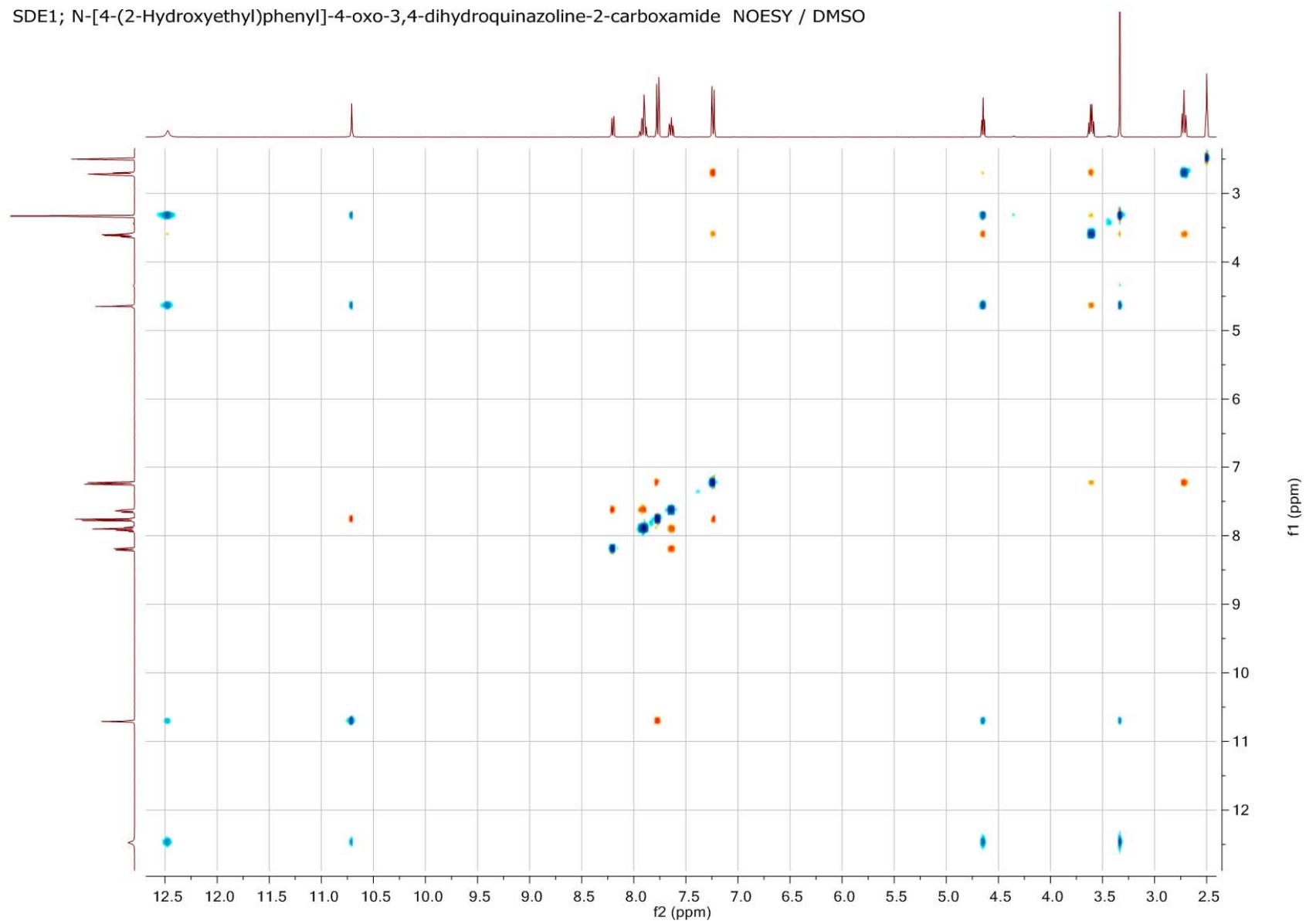
Tafel 7: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)

SDE1; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide COSY / DMSO

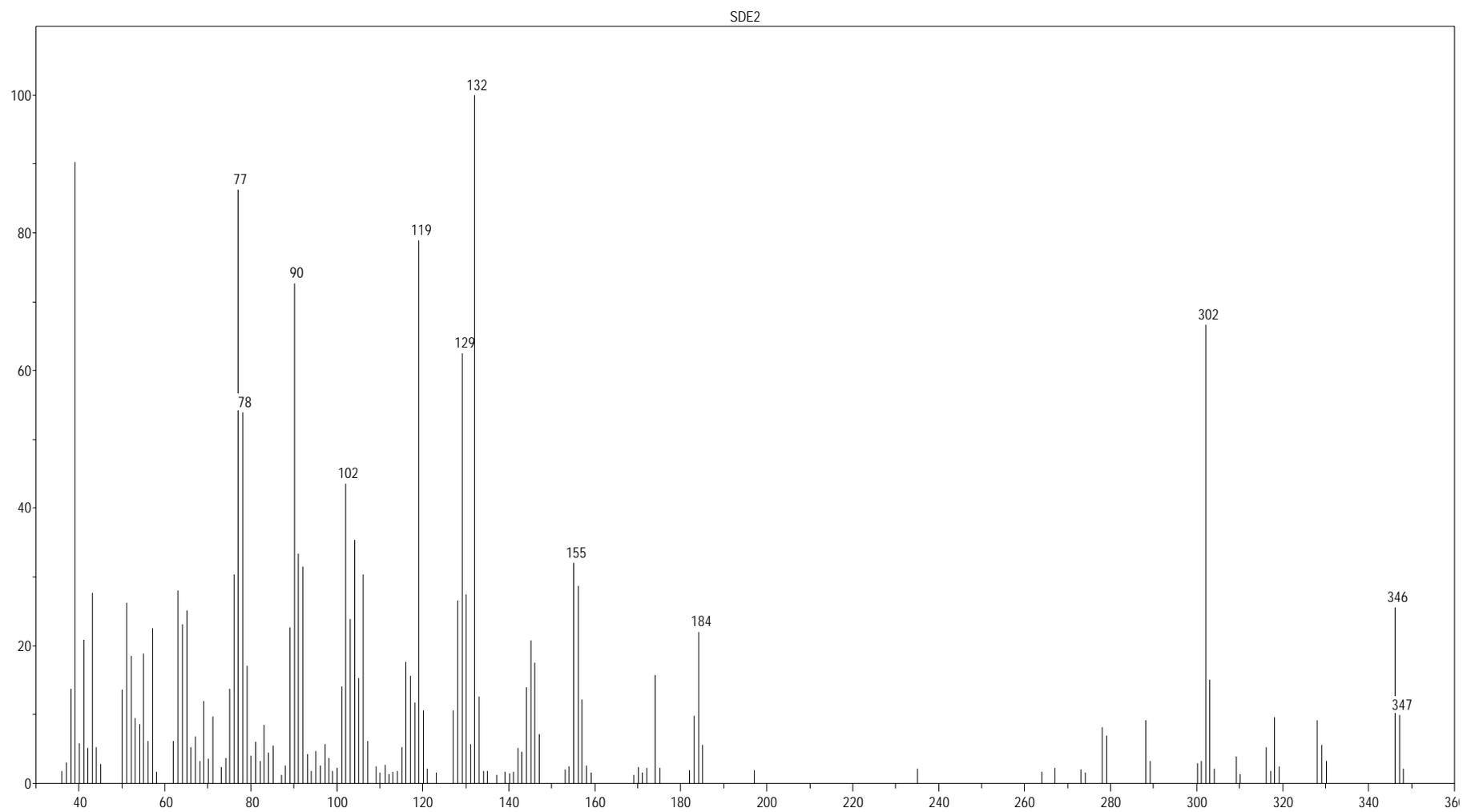


Tafel 9: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)

SDE1; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide NOESY / DMSO

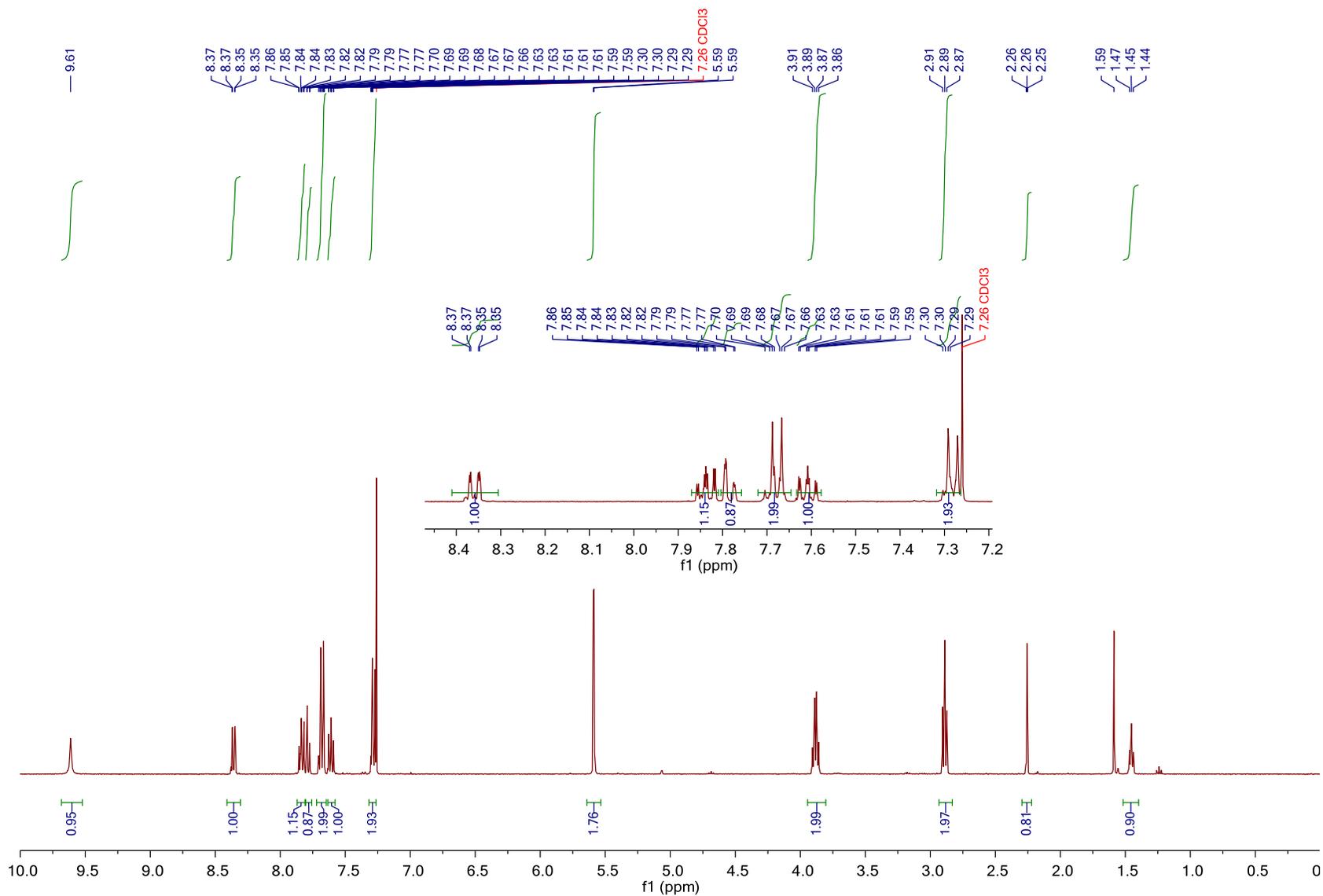


Tafel 10: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2)



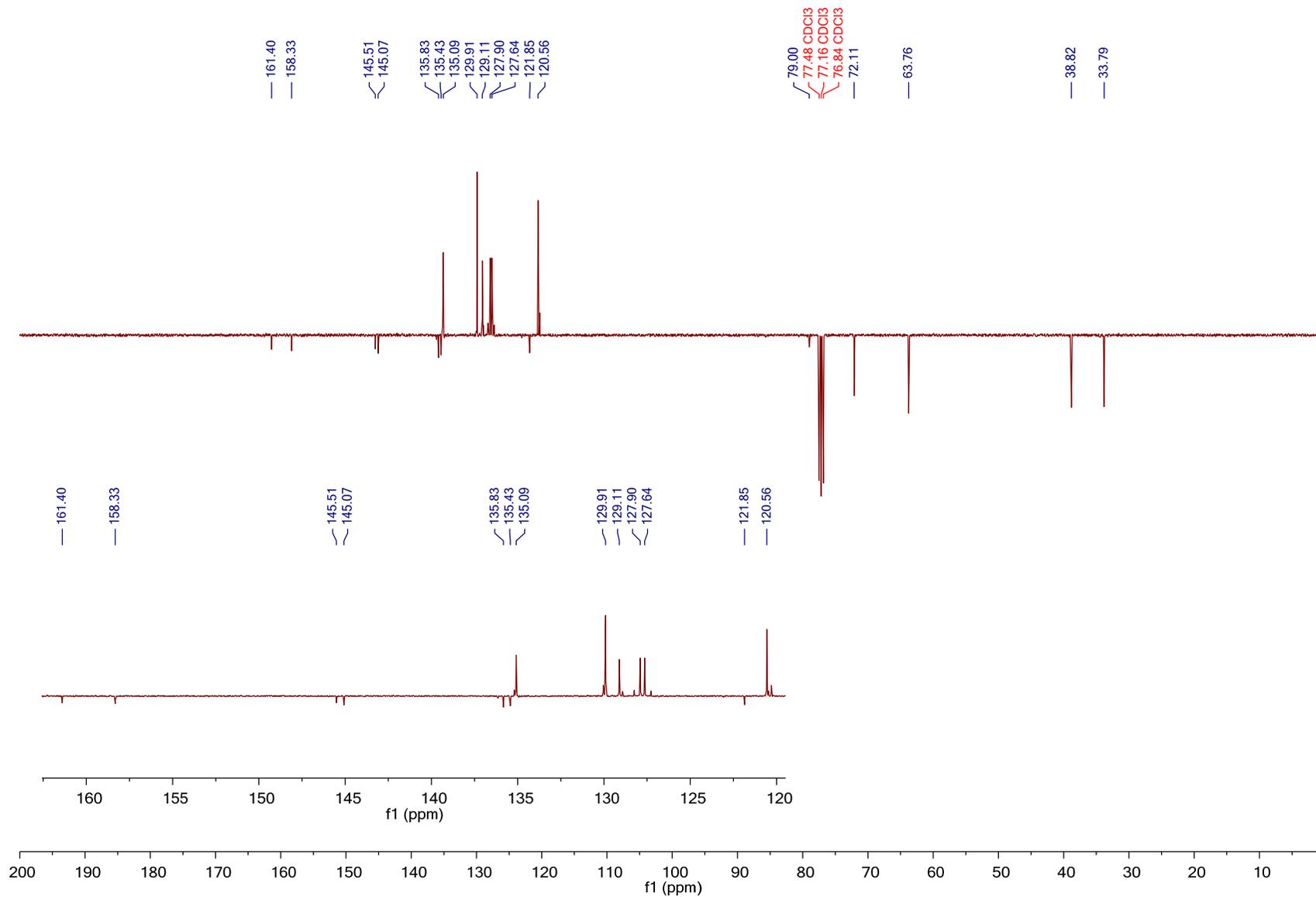
Tafel 11: *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

SDE2; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide 1H / CDCl3



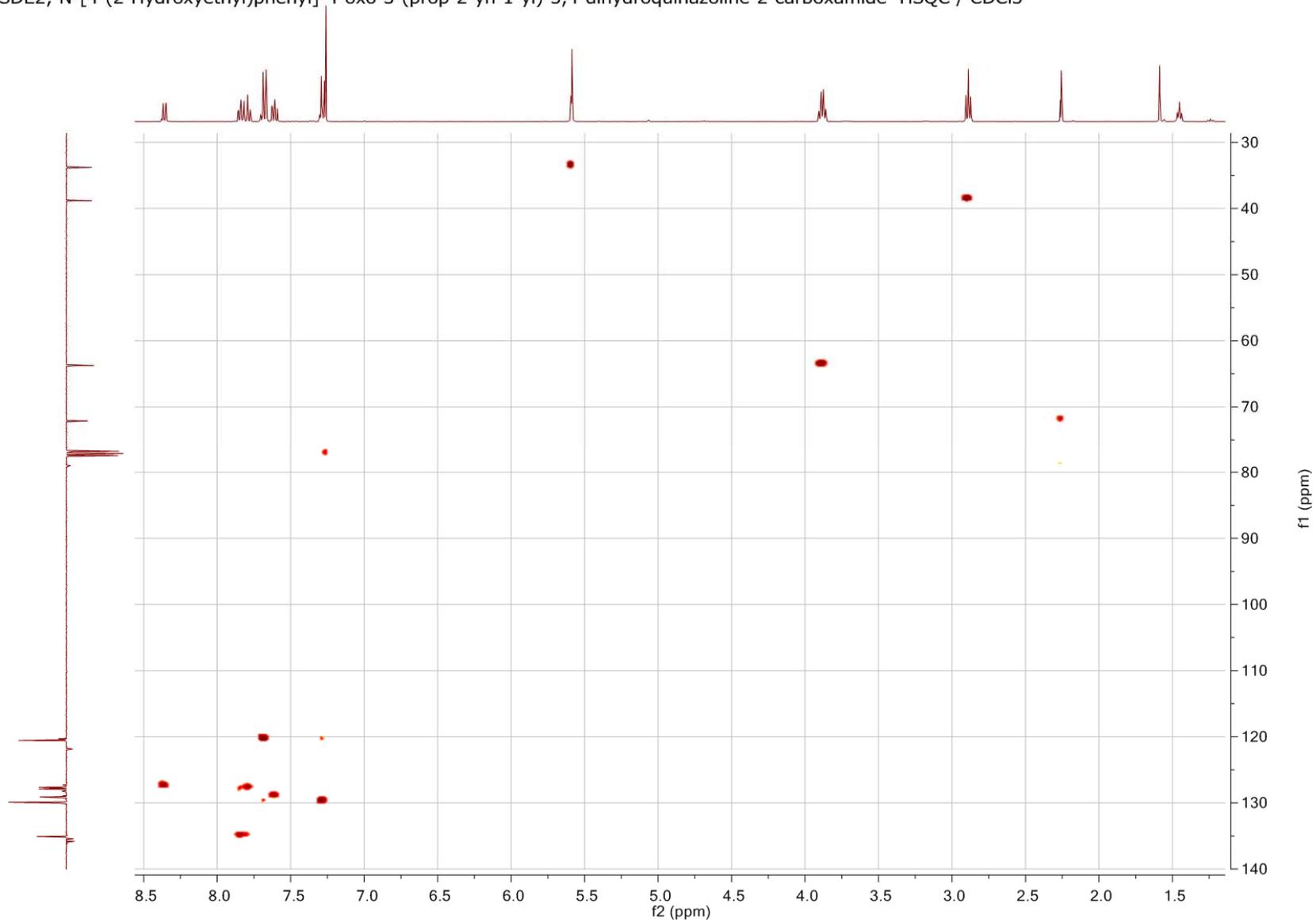
Tafel 12: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)

SDE2; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide C13APT / CDCl3



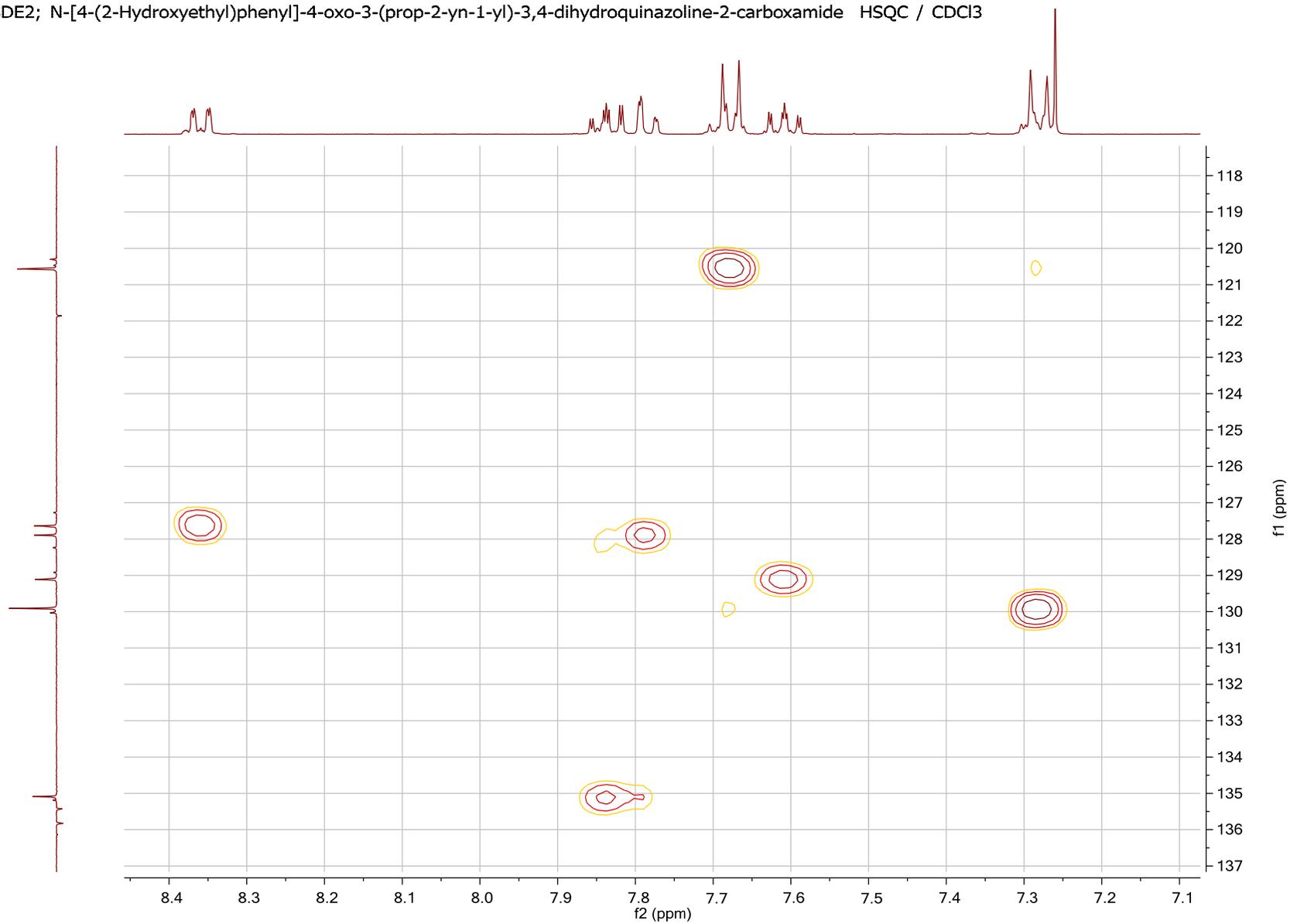
Tafel 13: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)

SDE2; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / CDCl₃



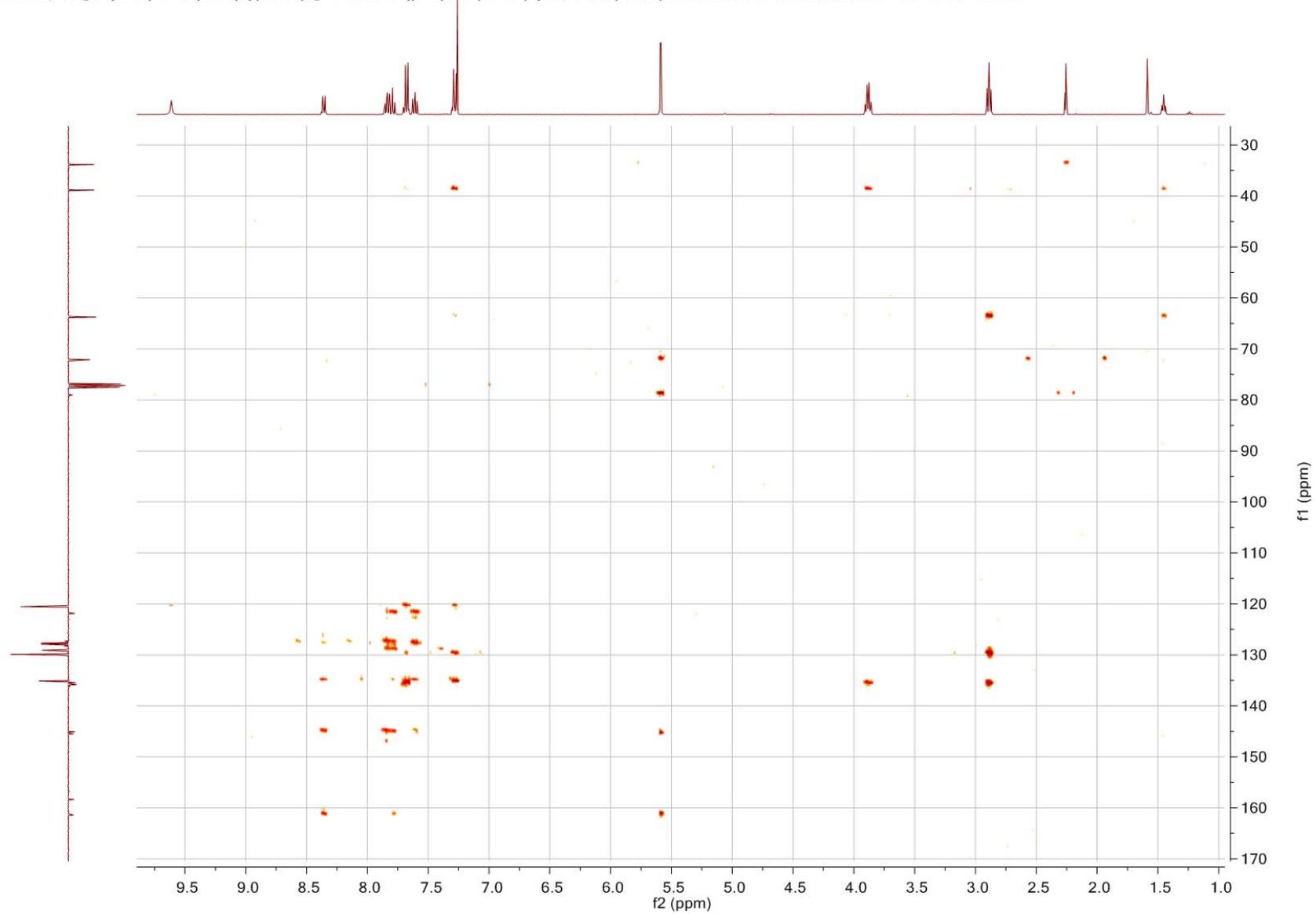
Tafel 14: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

SDE2; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / CDCl₃



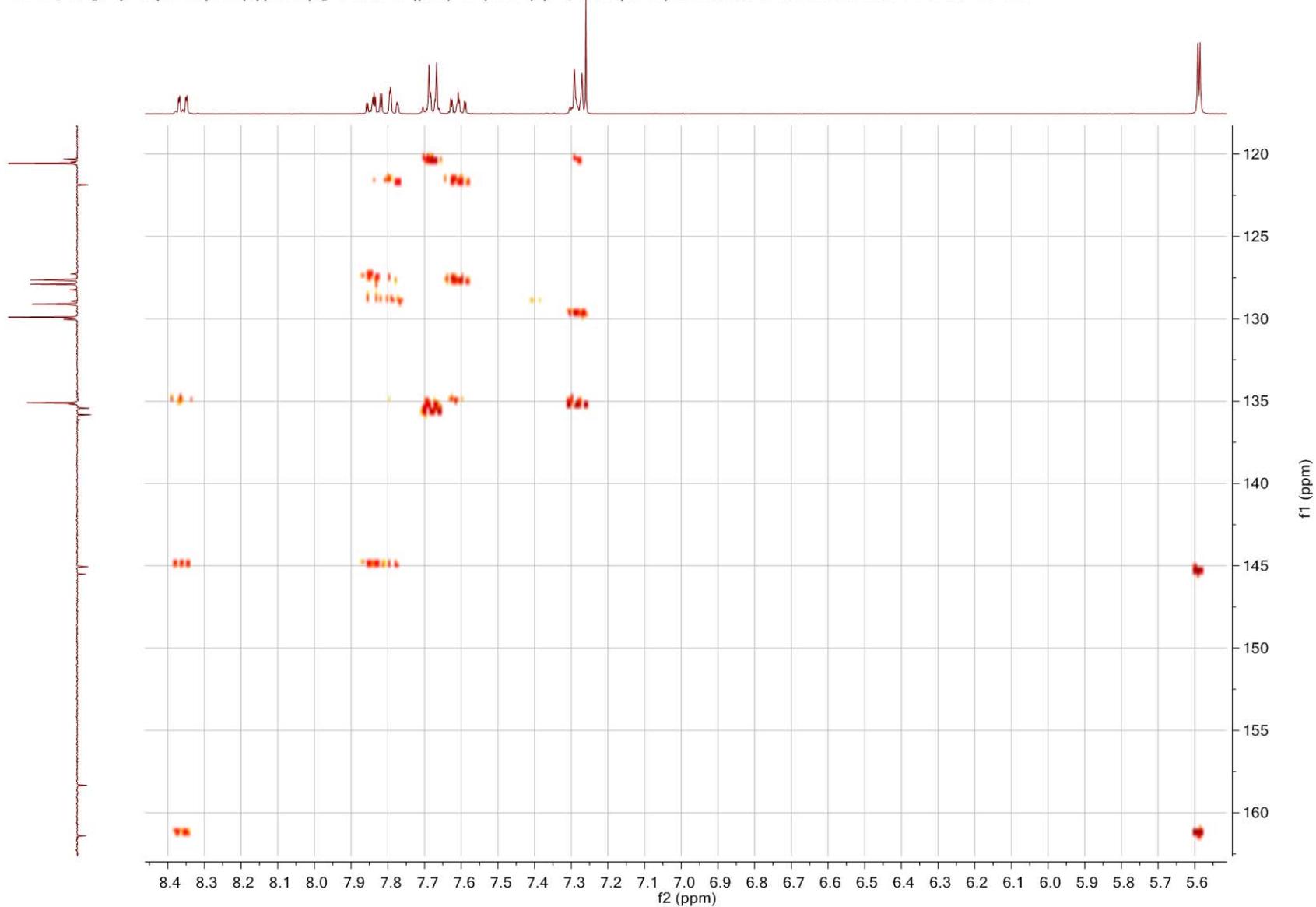
Tafel 15: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

SDE2; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / CDCl₃



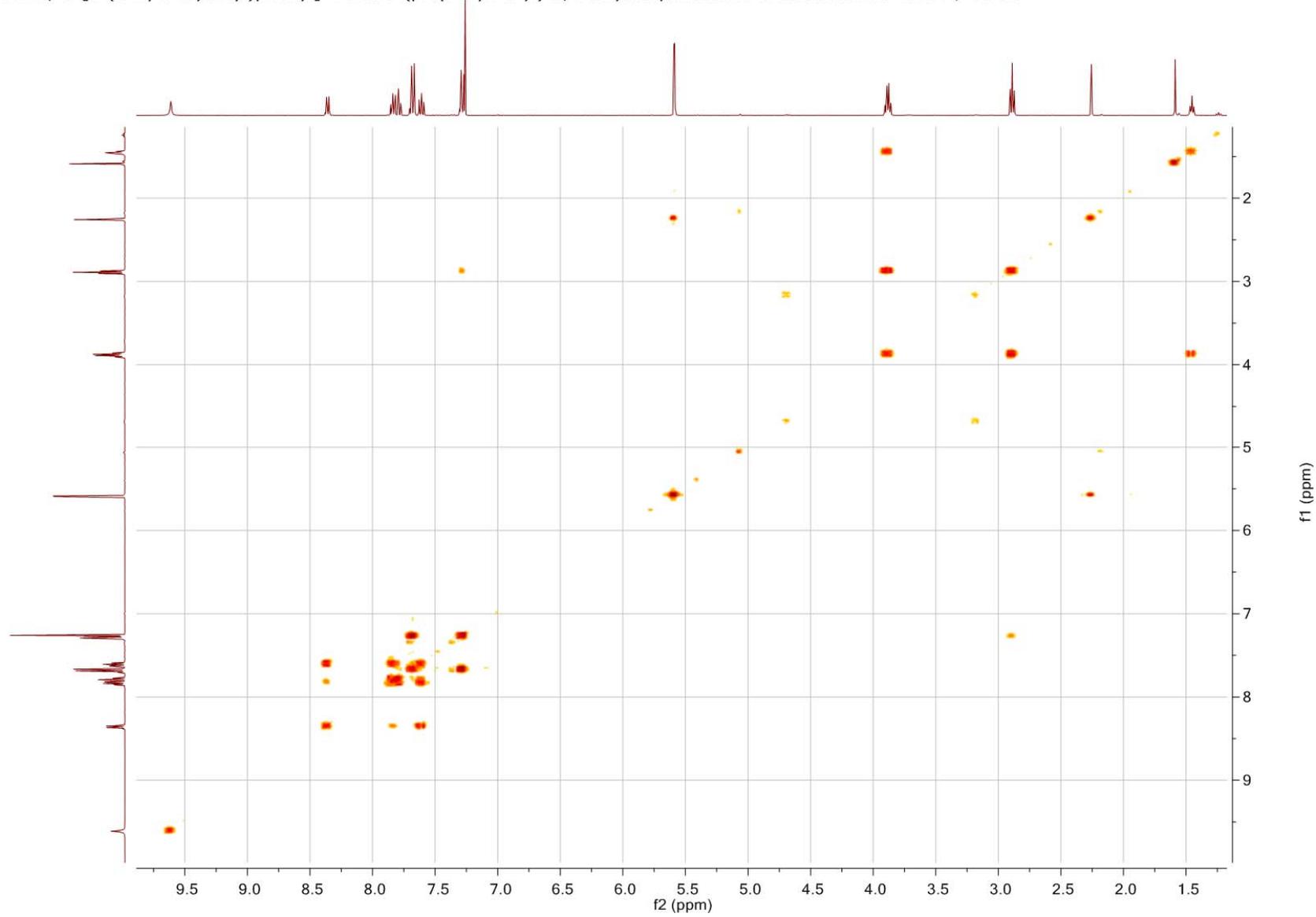
Tafel 16: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

SDE2; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC / CDCl₃



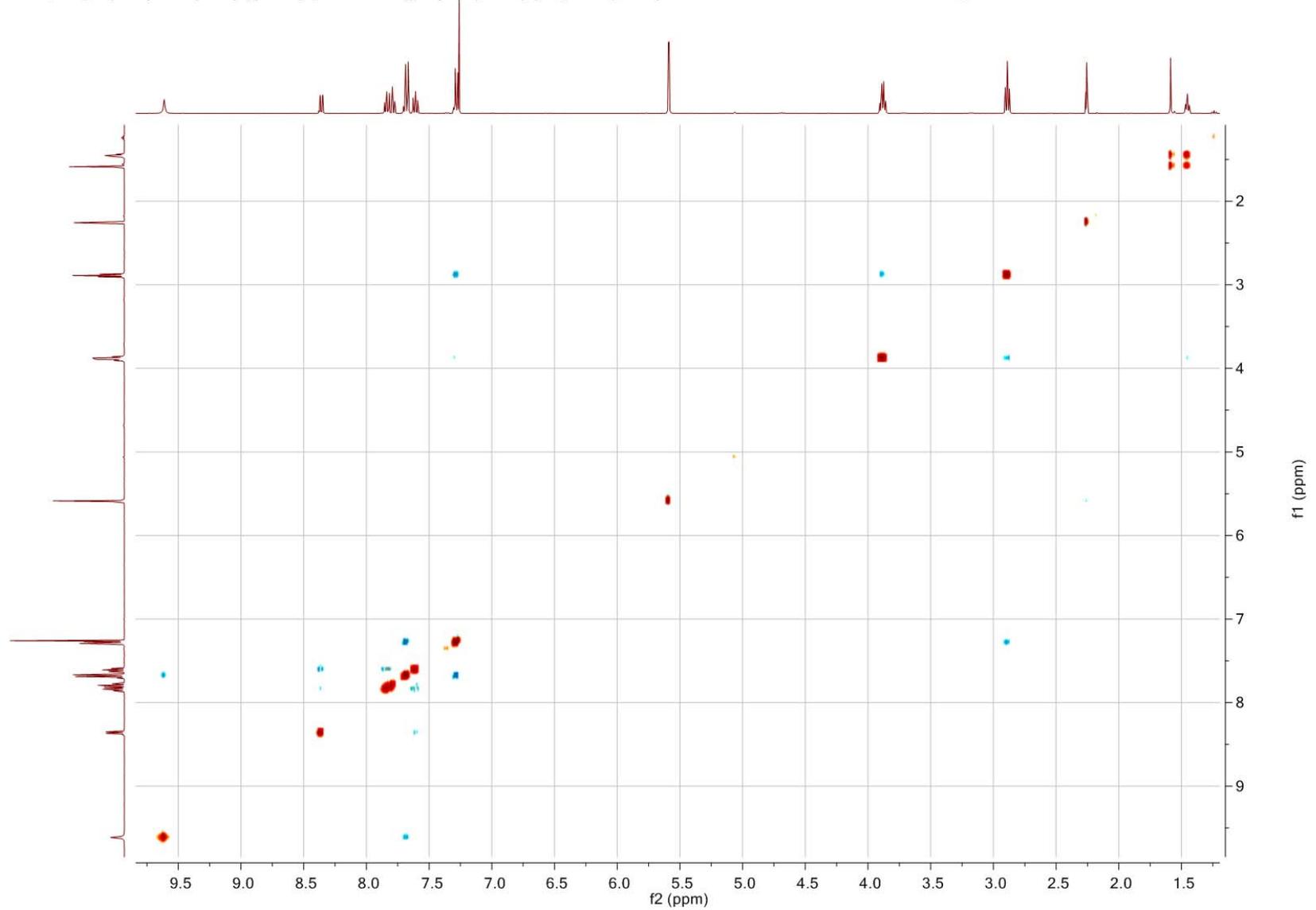
Tafel 17: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

SDE2; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide COSY / CDCl₃

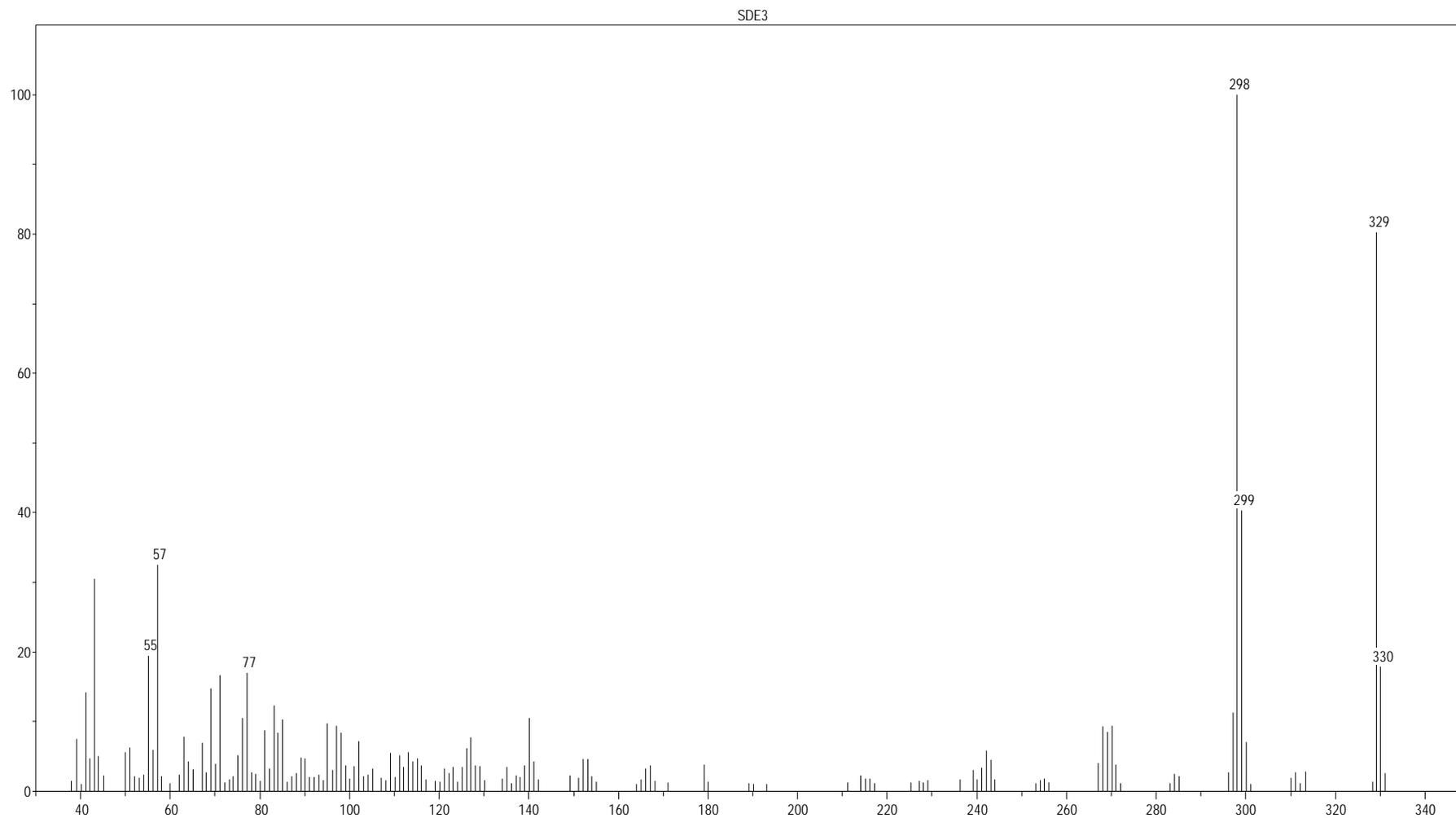


Tafel 18: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)

SDE2; N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide NOESY / CDCl₃

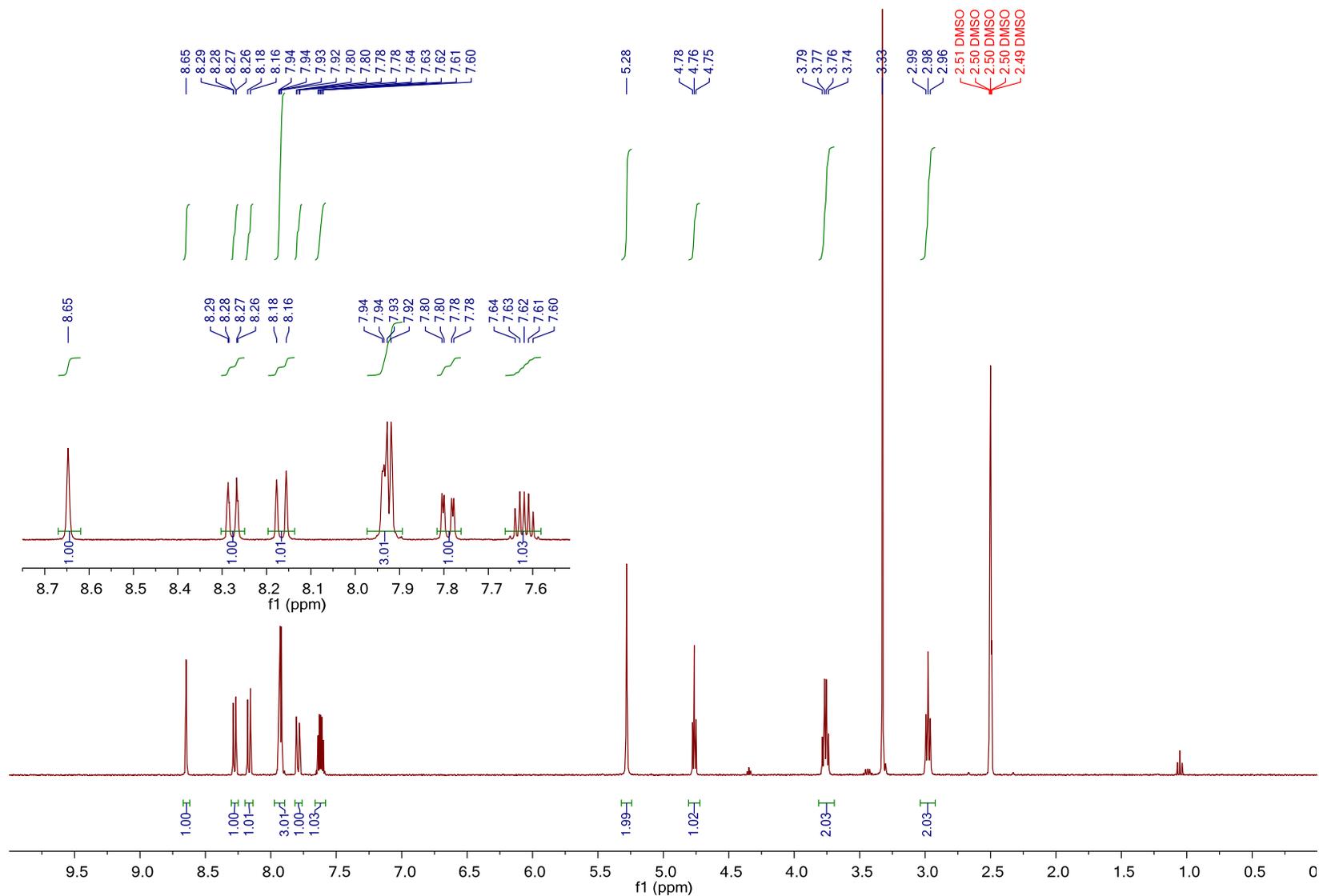


Tafel 20: N-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)



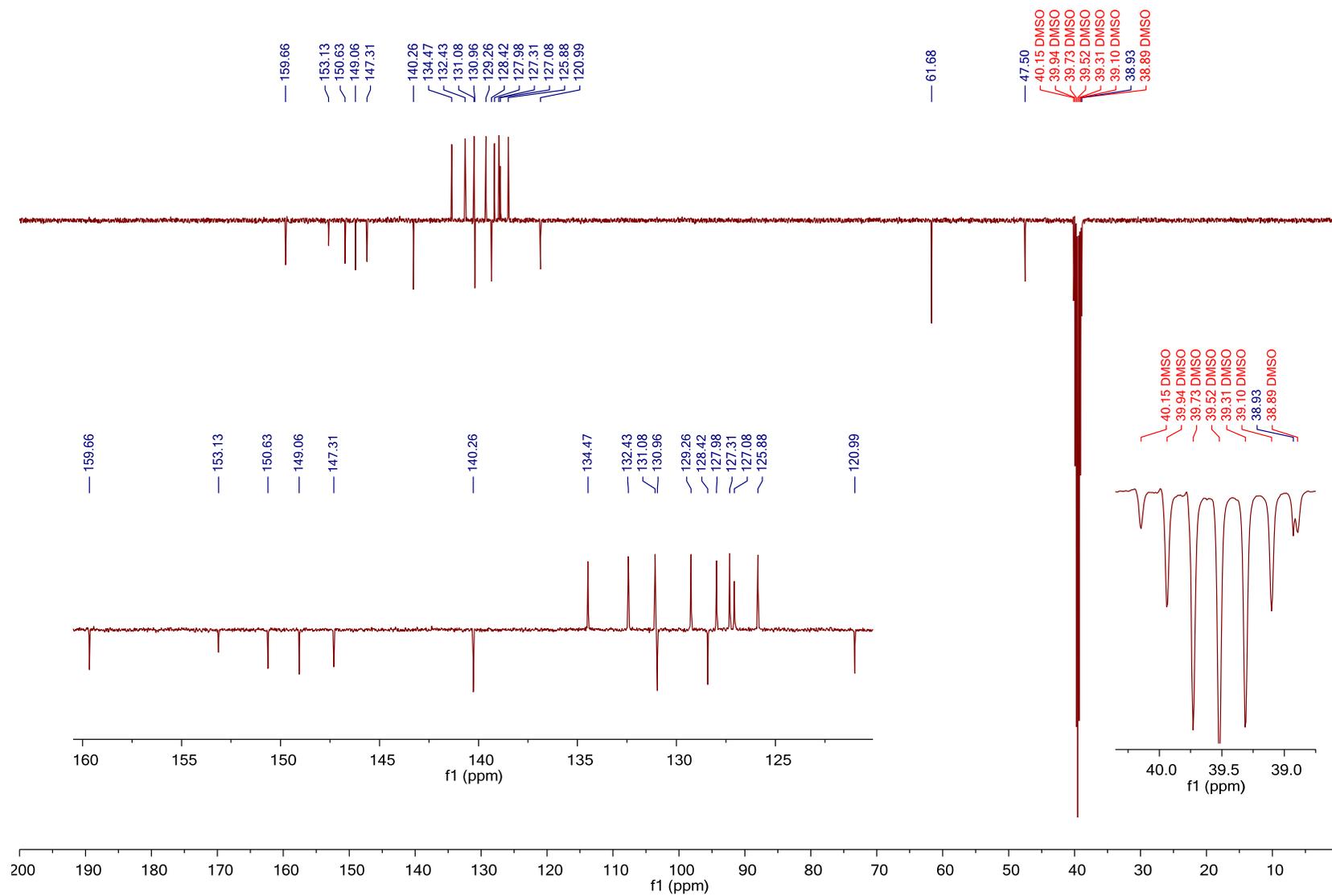
Tafel 21: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)on (**4**)

SDE3; 2-(2-Hydroxyethyl)quinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one 1H / CDCl3



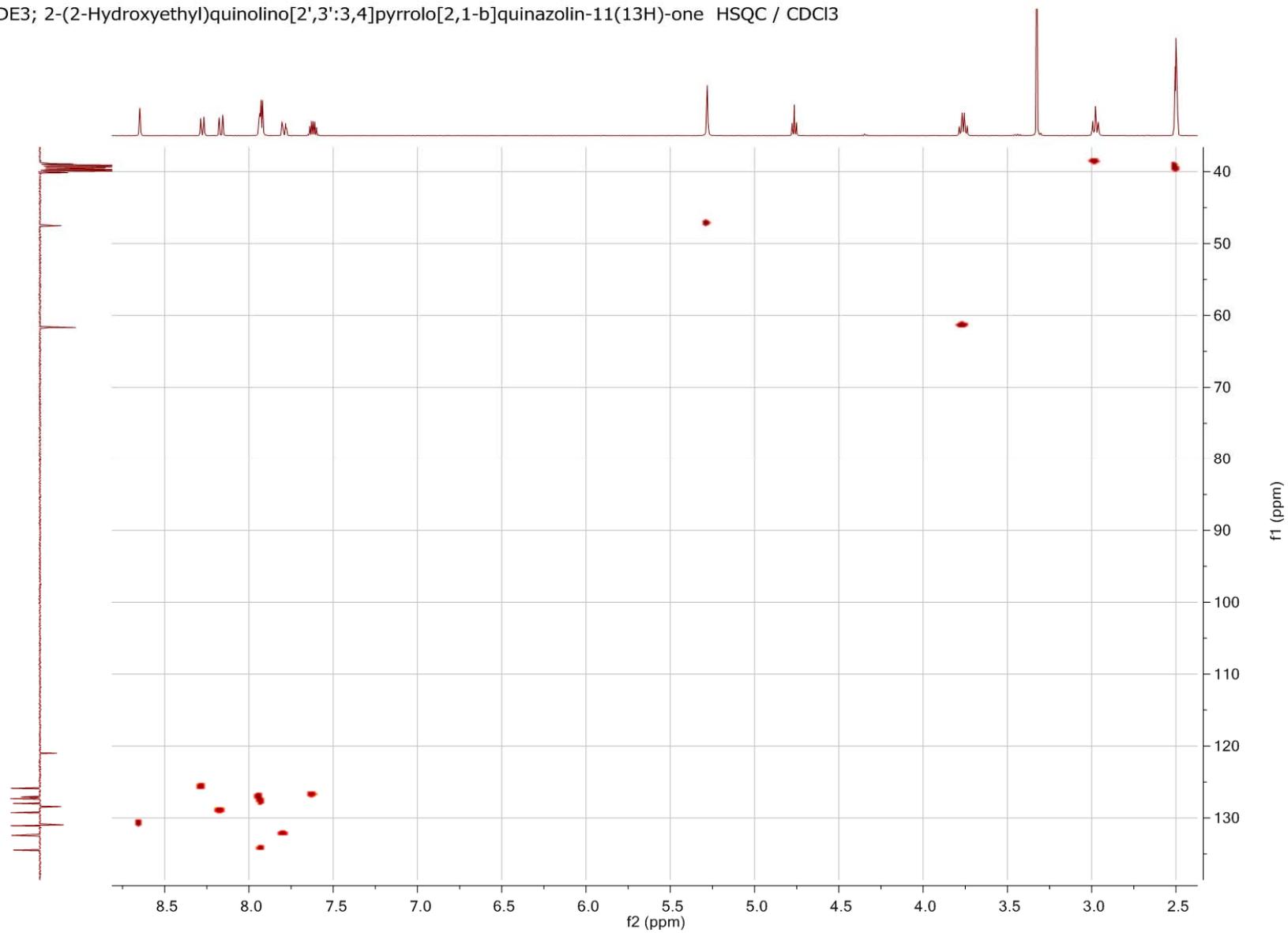
Tafel 22: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)on (4)

SDE3; 2-(2-Hydroxyethyl)quinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one C13APT / CDCl3



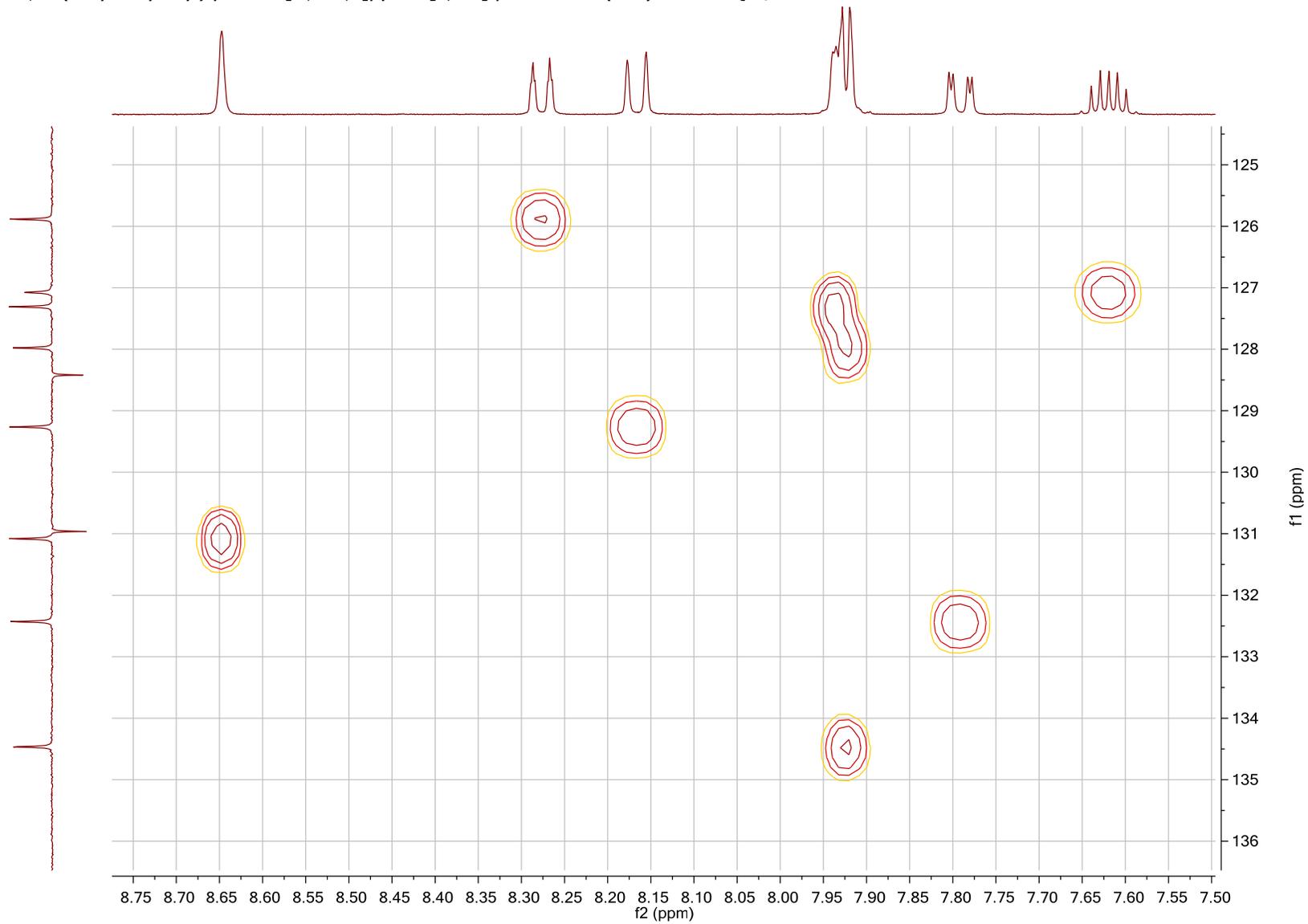
Tafel 23: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)on (4)

SDE3; 2-(2-Hydroxyethyl)quinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / CDCl₃



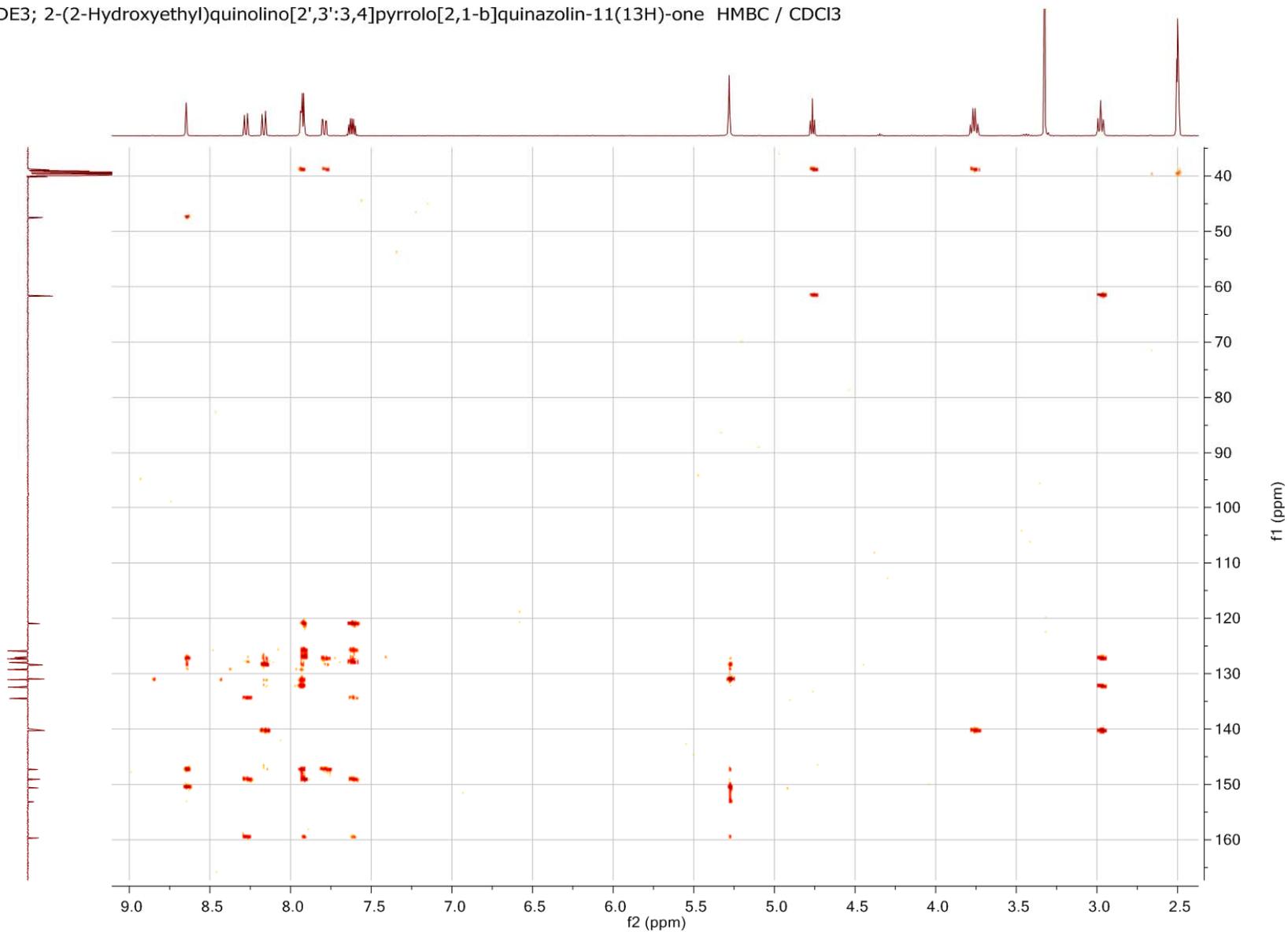
Tafel 24: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)on (4)

SDE3; 2-(2-Hydroxyethyl)quinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / CDCl₃



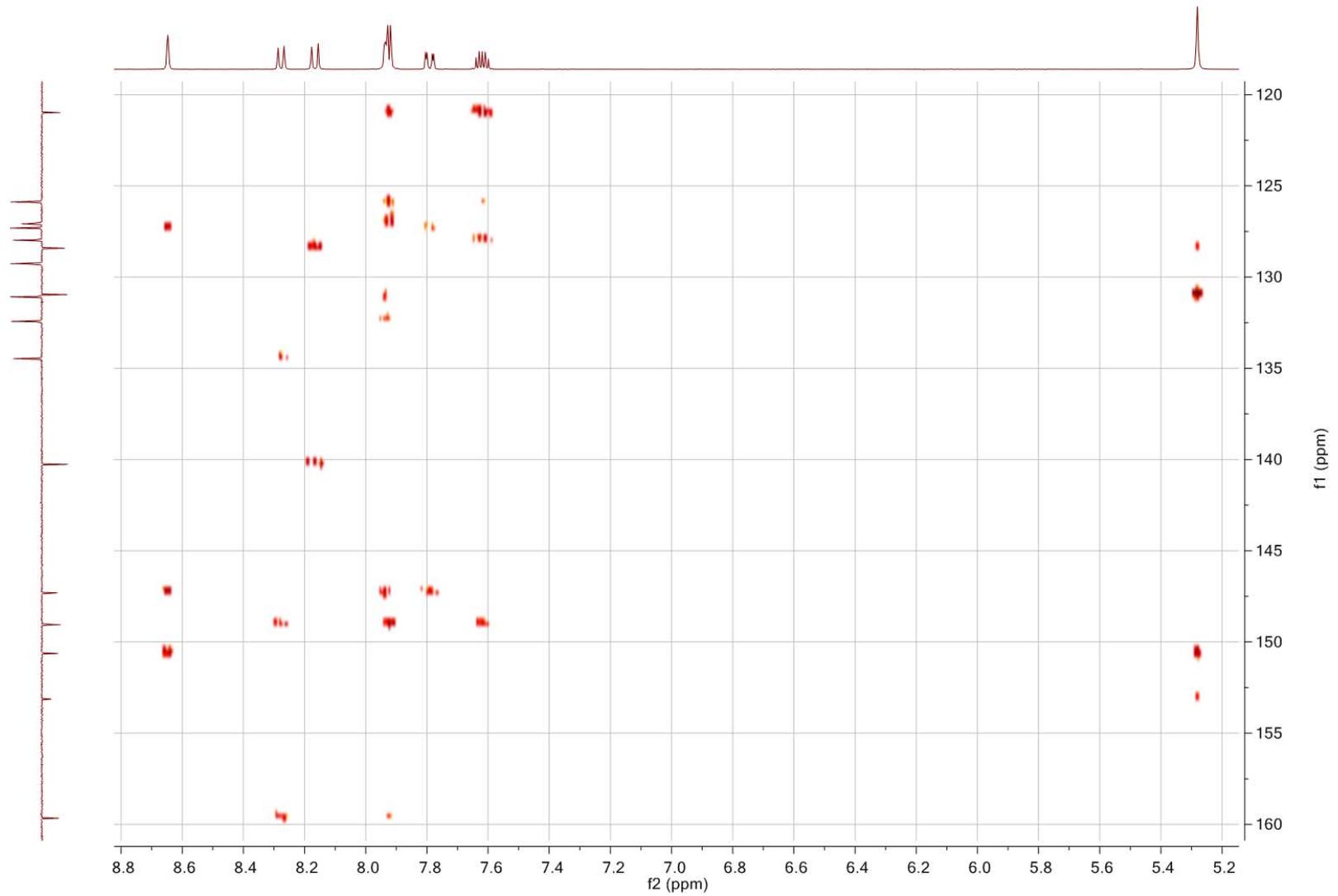
Tafel 25: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)on (4)

SDE3; 2-(2-Hydroxyethyl)quinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HMBC / CDCl₃



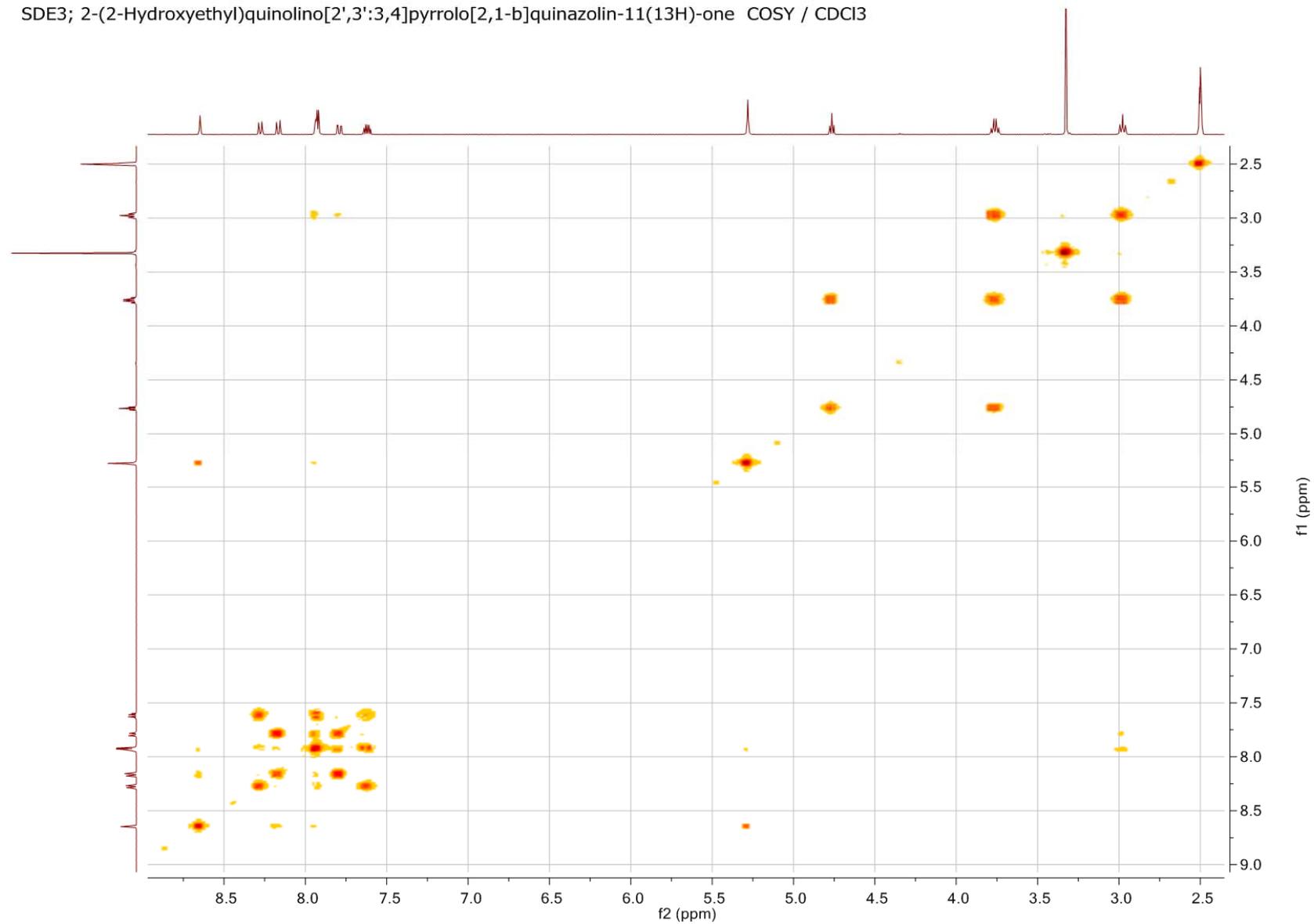
Tafel 26: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)on (4)

SDE3; 2-(2-Hydroxyethyl)quinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HMBC / CDCl₃



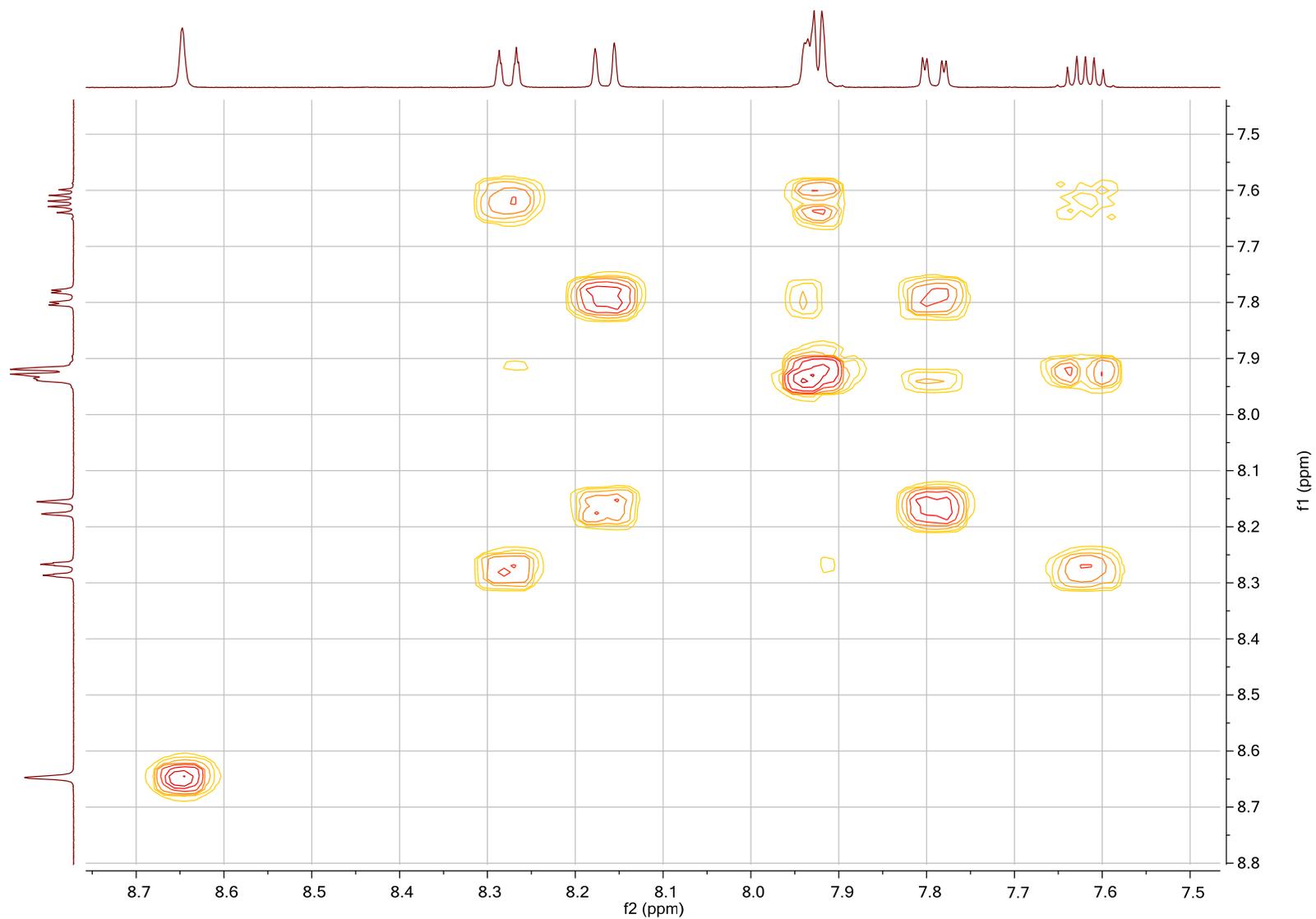
Tafel 27: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)on (4)

SDE3; 2-(2-Hydroxyethyl)quinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / CDCl₃



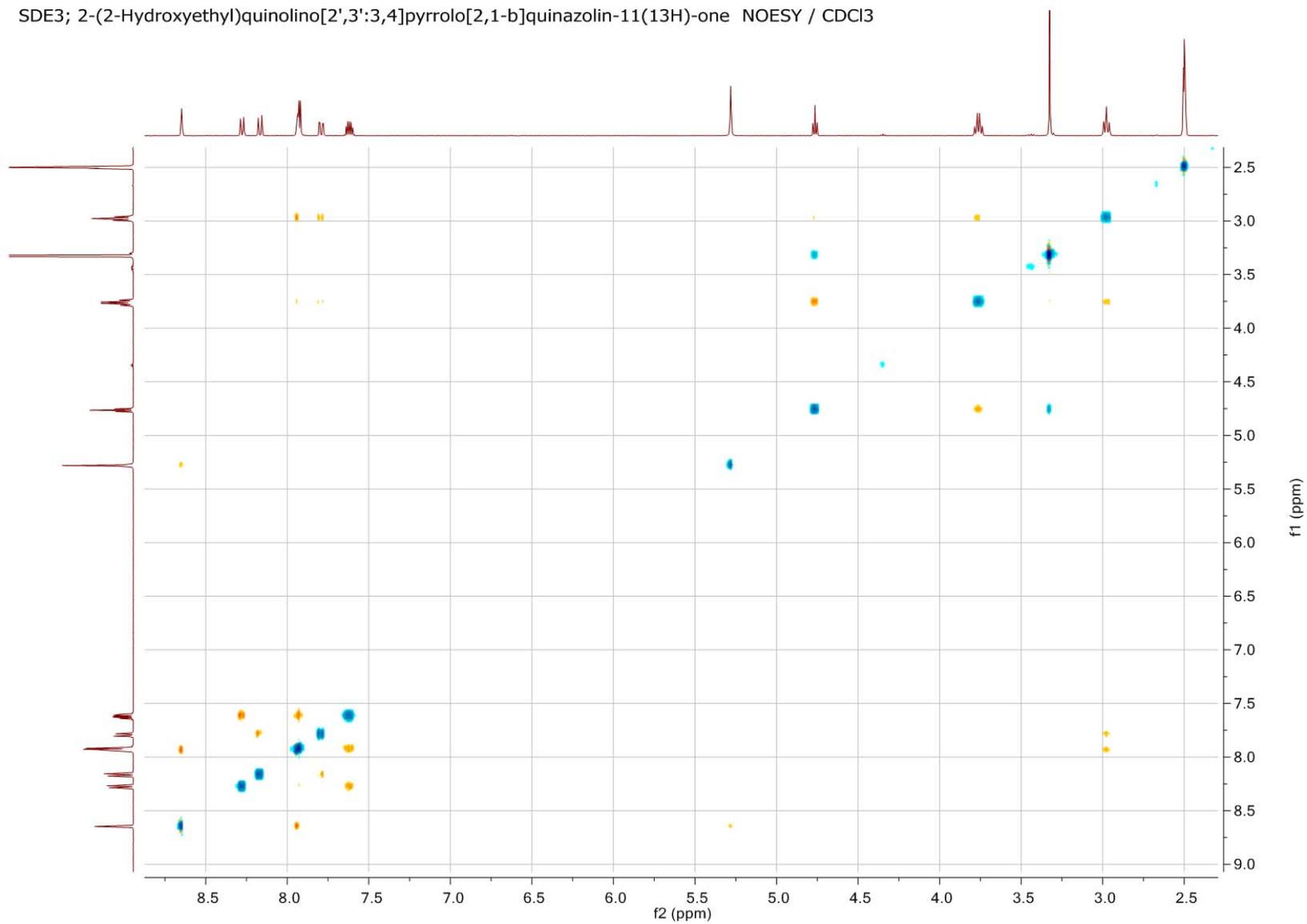
Tafel 28: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)on (4)

SDE3; 2-(2-Hydroxyethyl)quinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / CDCl₃



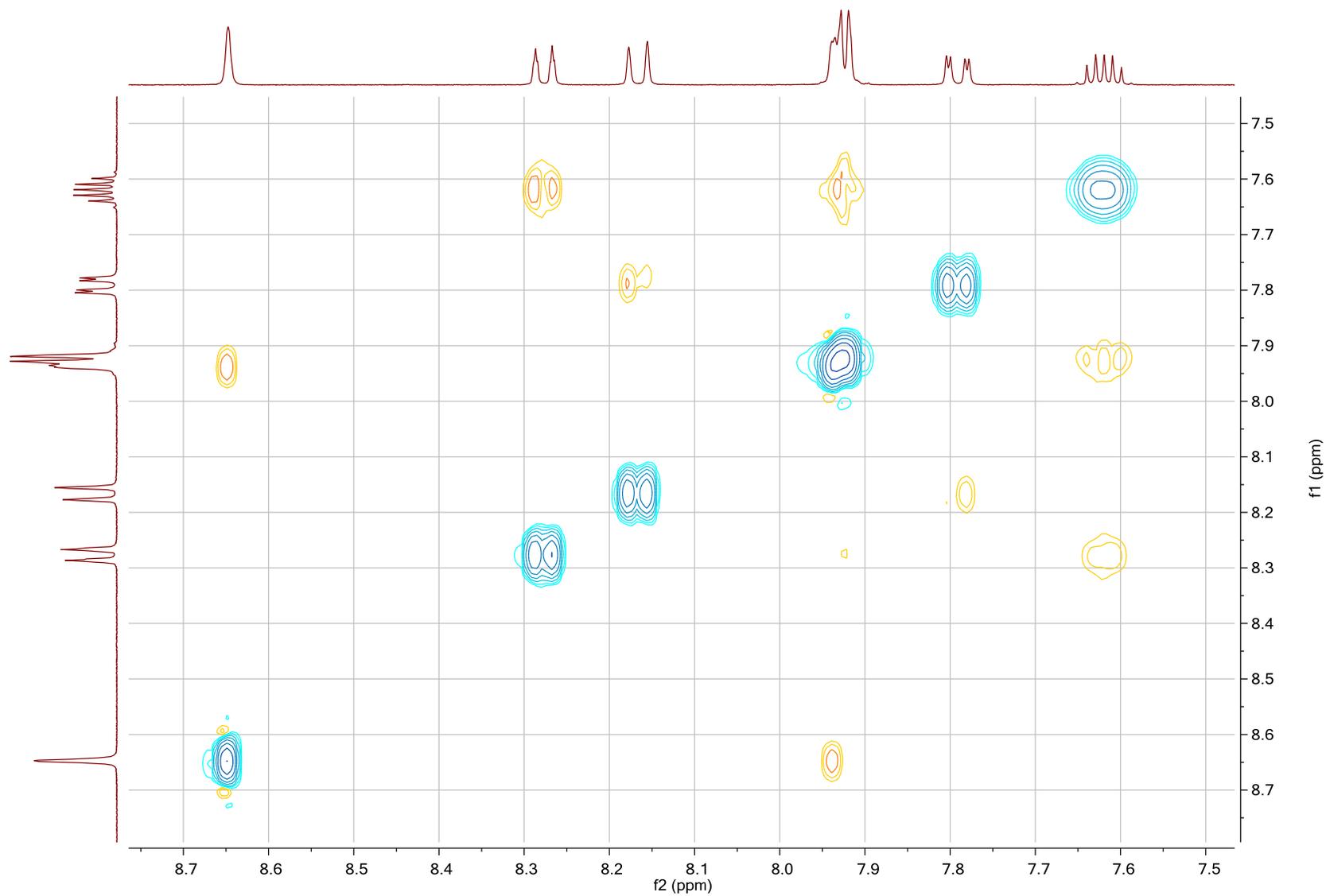
Tafel 29: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)on (4)

SDE3; 2-(2-Hydroxyethyl)quinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one NOESY / CDCl₃



Tafel 30: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)on (4)

SDE3; 2-(2-Hydroxyethyl)quinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one NOESY / CDCl₃



Tafel 31: 2-(2-Hydroxyethyl)chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)on (4)

5.2 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Diplomarbeit konnte erfolgreich ein bisher unzugängliches 2-Hydroxyethyl-Derivat des zytotoxischen Naturstoffs Luotonin A hergestellt werden. Als Syntheseweg hierfür wurde die von unserer Arbeitsgruppe optimierte Strategie nach Zhou *et al.* gewählt, welche in nur vier Reaktionsschritten zum gewünschten Produkt führte. Nach Herstellung der Ausgangsverbindung Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**1**) wurde mithilfe der Weinreb-Amidierung das Zwischenprodukt *N*-[4-(2-Hydroxyethyl)phenyl]-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**) synthetisiert. Es folgte eine regioselektive Propargylierung des Stickstoffes in Position 3 mit Propargylbromid. Zuletzt konnte durch eine aza-Diels-Alder-Reaktion mithilfe des Hendrickson-Reagens die Zielverbindung „2-Hydroxyethyl-Luotonin A“ (**4**) erhalten werden. Bemerkenswerterweise gelangen sämtliche Reaktionsschritte unter Verzicht auf eine Schutzgruppe für die alkoholische Hydroxygruppe in der Seitenkette. Somit konnten das neue Luotonin-A-Derivat sowie die beiden ebenfalls neuen Zwischenprodukte in die Substanzbibliothek unserer Arbeitsgruppe aufgenommen werden. Sämtliche neu synthetisierte Zwischen- und Endprodukte wurden mittels spektroskopischer Methoden vollständig charakterisiert.