



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Synthese neuer Luotonin-A-Derivate mit
Stickstoff-Substituenten in Position 12“

verfasst von

Ivan Louko

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag. pharm.)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt: Diplomstudium Pharmazie

Betreut von: Ao. Univ.-Prof. Dr. Norbert Haider

Danksagung

Eine Abschlussarbeit schreibt sich nicht von allein, daher möchte ich mich nachdrücklich auf dieser Seite bei Unterstützern bedanken.

Diese Diplomarbeit wird deshalb jenen Menschen gewidmet sein, welche mich die ganze Zeit konsequent mental unterstützt haben: meinen Eltern, meiner Frau und meinen ganzen Familienmitgliedern.

Nicht zuletzt danke ich wiederholt meinem Betreuer, Herrn Professor Norbert Haider für die geduldige und sehr gute Begleitung über die gesamte Arbeitszeit.

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	1
1.1 Entstehung und Behandlung von Krebs	1
1.2 Synthese von Luotonin A	4
1.3 Zielsetzung	8
2. Eigene Untersuchungen	9
2.1 Zur Darstellung der Ausgangsverbindungen	9
2.2 Amidierung des Chinazolinoncarbonsäureesters	9
2.3 Alkylierung am Chinazolinon-Stickstoff	11
2.4 Zyklisierung unter Ausbildung der Ringe B und C	13
2.5 Reduktion der Nitrogruppe in Position 12	14
3. Experimenteller Teil	17
4. Literaturverzeichnis	25
5. Anhang	28

1. Einleitung

1.1 Entstehung und Behandlung von Krebs

Pro Jahr erkranken in Österreich ca. 38.000 Menschen an Krebs, Männer sind häufiger betroffen als Frauen. Diese bösartige Tumorerkrankung stellt für beide Geschlechter die zweithäufigste Todesursache, nach den Herz-Kreislauferkrankungen, dar. Tatsache ist, dass diese Erkrankung überwiegend im höheren Alter auftritt (zu den wichtigsten Risikofaktoren s. Abb. 1), daher wird wegen der zunehmenden Alterung der Bevölkerung die Bedeutung der Krebserkrankung bei der Beschreibung des Gesundheitszustandes und bei der Planung der Gesundheitsversorgung auch in Zukunft weiter zunehmen.¹

Es handelt sich um krankhafte Veränderungen von Zellen, die dazu führen, dass sich die Krebszellen häufiger und schneller teilen als gesunde Zellen. Sie vermehren sich unkontrolliert und es entsteht ein Verband aus entarteten Zellen. Diese bösartigen (malignen) Zellverbände wachsen in benachbartes gesundes Gewebe ein und zerstören es. Von ihrem Ursprungsort wandern sie über das Blut oder das Lymphsystem in andere Organe im Körper und vermehren sich dort als Tochtergeschwulste (Metastasen).²

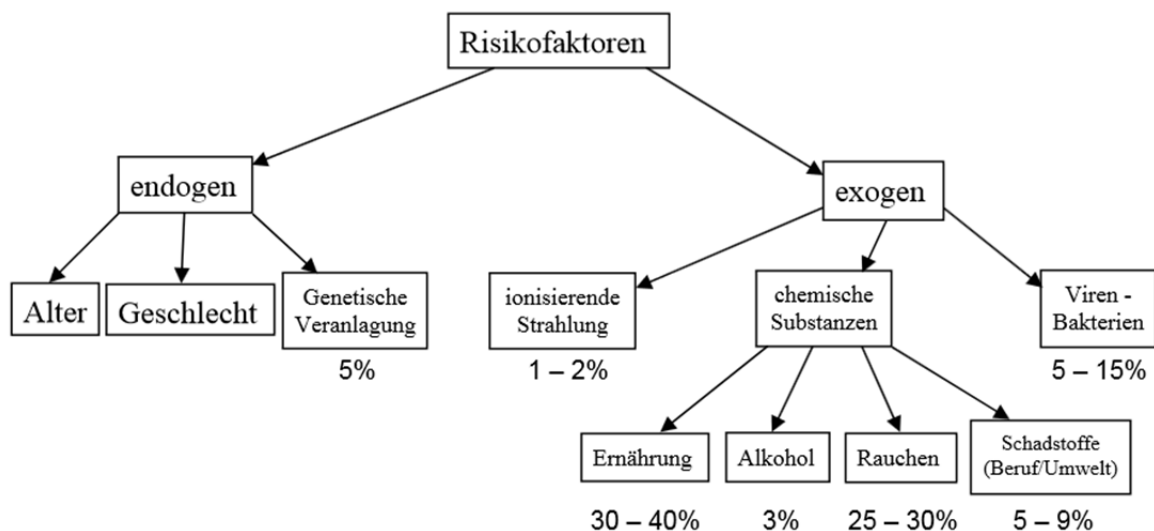


Abbildung 1. Krebs-Risikofaktoren (nach Lit.³)

Die Zellproliferation wird von vielen komplizierten Signalkaskaden reguliert. Wenn ein Rezeptor für Wachstumsfaktoren oder Hormone seinen eigenen Liganden bindet, dann

phosphoryliert er über Rezeptor-assoziierte Tyrosinkinasen andere Signalproteine. Diese bekommen die gleiche Aktivität von Kinasen, die dann andere Proteine phosphorylieren. Das Signal zur Proliferation wird über viele Kaskaden in den Zellkern transportiert. Die an dem Zyklus beteiligten Enzyme sind potentielle Proto-Onkogene, die zu Onkogenen mutieren können. Durch diese kann die Zellproliferation ohne Botenstoffe in Gang gesetzt werden und somit läuft die Zellteilung unkontrolliert ab.⁴

Therapie

Eine frühe Feststellung der Erkrankung ist aufgrund der raschen Ausbreitung der Zellen sehr wichtig für die Behandlung.⁵

Antikörper: Erkennen das sogenannte Epitop der Tumorzelle und eliminieren diese durch ADCC Effekt. Meist werden monoklonale Antikörper in der Therapie eingesetzt, sie können chimär oder human sein. Rituximab ist zum Beispiel ein chimärisierter Antikörper, der mit der CDR Region an die infizierte Zelle bindet und diese durch Aktivierung des Komplementsystems und der NK-Zellen eliminiert.⁶ Bekannt ist auch Imatinib. Dieser Antikörper hemmt sowohl c-KIT als auch PDGF-Rezeptoren und wird daher bei der chronischen Phase der CML eingesetzt.⁶

Alkylantien: Sind Tumorchemotherapeutika, die in der Lage sind, die Zellbestandteile zu alkylieren. Sie haben unterschiedliche Alkylierungsmechanismen. Der erste Vertreter wurde von Senfgas abgeleitet.

Hormone: Vor allem bei Tumoren, die die Hormone für Ihr Wachstum ausnutzen. Zum Einsatz kommen Hormonanaloga, Hormonagonisten bzw. -antagonisten und Substanzen, die die Hormonsynthese beeinträchtigen.^{4,7}

Mikrotubuli-Inhibitoren: Am bekanntesten sind die Vinca-Alkaloide (Vinblasin, Vincristin, Vindesin), die an Tubulin binden und dadurch die Bildung von Mikrotubuli verhindern, und die Taxane, die die Depolymerisation von Mikrotubuli verhindern und somit auch die Zellteilung stören.⁸

Topoisomerase-Hemmer:

Topoisomerasen sind Enzyme, die die räumliche Struktur der DNA so verändern, dass sie in eine andere, topoisomere Form übergeführt wird. Sie schneiden das DNA-Molekül und verbinden die „gedrehten“ DNA-Abschnitte an der Schnittstelle wieder miteinander.

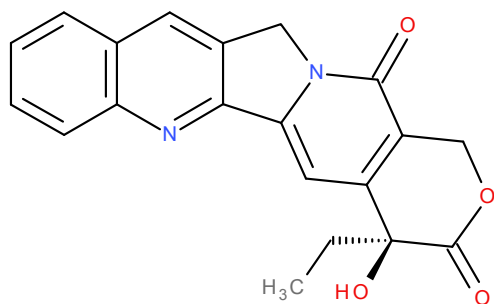
Bekannt sind Topoisomerase I und II, wobei die Topoisomerase II sich in die Subtypen II α und II β gliedert. Die Topoisomerase I findet man bei einfachen und auch höheren Organismen. Sie kann nur einen der beiden DNA-Stränge durchtrennen, während die Topoisomerase II beide Stränge der DNA-Doppelhelix zerschneiden kann. Besonders interessant ist die Topoisomerase vom Sybtyp II β . Diese wird vermehrt exprimiert, wenn der Sybtyp II α geschädigt wird. Bei Tumorzellen werden sehr hohe Konzentrationen dieser Enzyme nachgewiesen.⁹⁻¹¹

Ein wichtiges Beispiel für Tumorchemotherapeutika mit Topoisomerase-I-Hemmwirkung sind Derivate des Naturstoffs Camptothecin (s. Abb. 2), welcher von M.E. Wall und M.C. Wani im Jahr 1958 aus *Camptotheca acuminata* („tree of joy“) isoliert wurde. Die Struktur wurde erst 1966 aufgeklärt.¹²

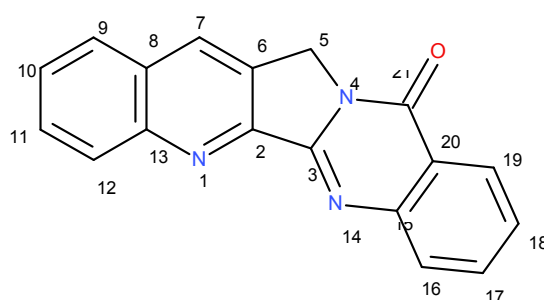
Camptothecin ist sehr schlecht wasserlöslich, daher wurde in ersten präklinischen Studien auch das gut wasserlösliche Natriumsalz der ringoffenen Form geprüft. Dieses Salz wies jedoch eine geringere Aktivität als Camptothecin auf und war sogar in mancher Hinsicht toxischer, deswegen wurden die Untersuchungen vorerst gestoppt.¹³

Als man dann identifiziert hatte, dass Camptothecin sich gezielt gegen Topoisomerase I richtet, wurde das Interesse an dieser Verbindung wieder größer. Von diesem Zeitpunkt an begann man an wasserlöslichen Derivaten zu arbeiten. Zur Zeit werden zwei dieser Derivate klinisch eingesetzt (Irinotecan, Topotecan).¹⁴

Im Jahr 1997 wurde eine neue Substanz, Luotonin A, aus *Peganum nigellastrum* isoliert, die eine sehr starke strukturelle Ähnlichkeit mit Camptothecin aufweist. Luotonin A wirkt prinzipiell gleich wie Camptothecin, aber mit deutlich geringerer Aktivität.^{15,16}



Camptothecin



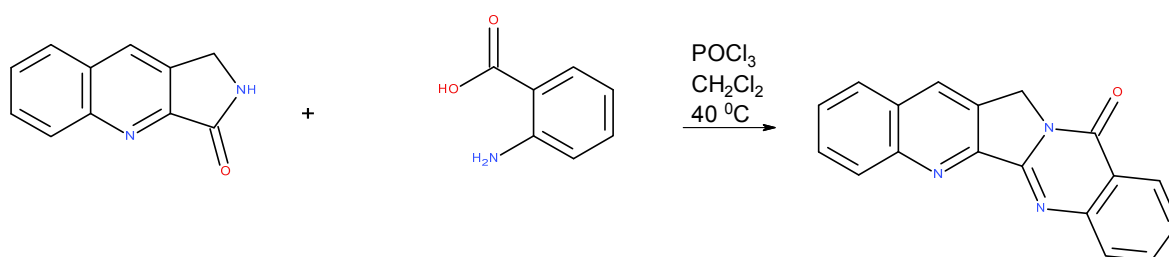
Luotonin A

Abbildung 2. Strukturen von Camptothecin und Luotonin A
(Alkaloidnummerierung nach Cagir *et al*¹⁷)

1.2 Synthese von Luotonin A

Nach der Strukturaufklärung von Luotonin A hat man verschiedene Synthesestrategien für diesen Naturstoff entwickelt.^{18,19} Einer der Synthesewege (Schema 1) besteht z.B. darin, dass man ausgehend von einer Pyrrolochinolin-Grundstruktur, in der sich die Ringe ABC befinden, und Anthranilsäurederivaten, die den Ring E darstellen, zu einem neuen Ring D kommt. Mit dieser Reaktion erhält man zwischen 10 und 20% Ausbeute.¹⁷

Schema 1

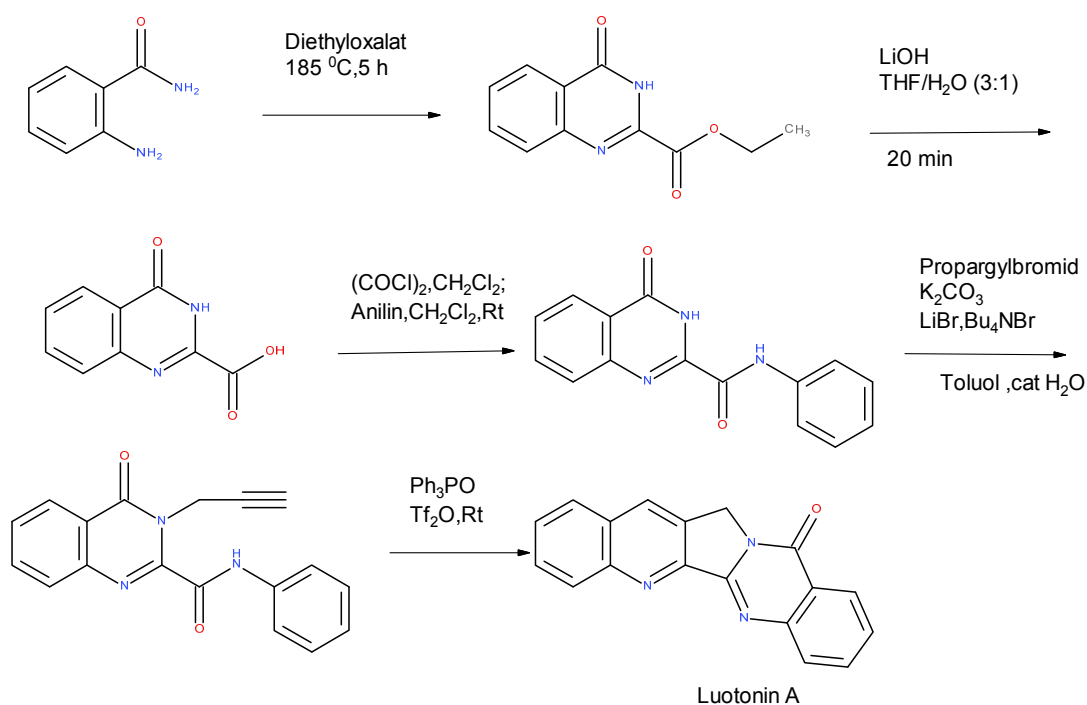


Im Jahr 2007 wurde eine Synthese von Zhou *et al.* publiziert, welche in relativ wenigen Reaktionsschritten (s. Schema 2) eine gute Ausbeute von Luotonin A liefert (s. Schema 2).²⁰ Ausgehend von Anthranilsäureamid und Oxalsäurediethylester erhält man zunächst das bekannte Chinazolinonderivat.²¹ Dieser Ester wird anschließend mittels Lithiumhydroxid

hydrolysiert, und die Carbonsäure in das Säurechlorid übergeführt, danach wird letzteres mit Anilin in das entsprechende Anilid umgewandelt.

Das so erhaltene Anilid wird mit Propargylbromid behandelt, wobei der Stickstoff am Chinazolinonring selektiv alkyliert wird. Der abschließende Cyclisierungsschritt und somit der Aufbau der Ringe B und C erfolgt durch eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion bei Raumtemperatur unter Einwirkung des „Hendrickson Reagens“²² (Bis(triphenyl)oxodiphosphonium-Trifluormethansulfonat), welches *in situ* aus Triphenylphosphinoxid und Trifluormethansulfonsäureanhydrid in trockenem Dichlormethan generiert wird. Die Gesamtausbeute dieses Weges liegt bei etwa 47%.²⁰

Schema 2

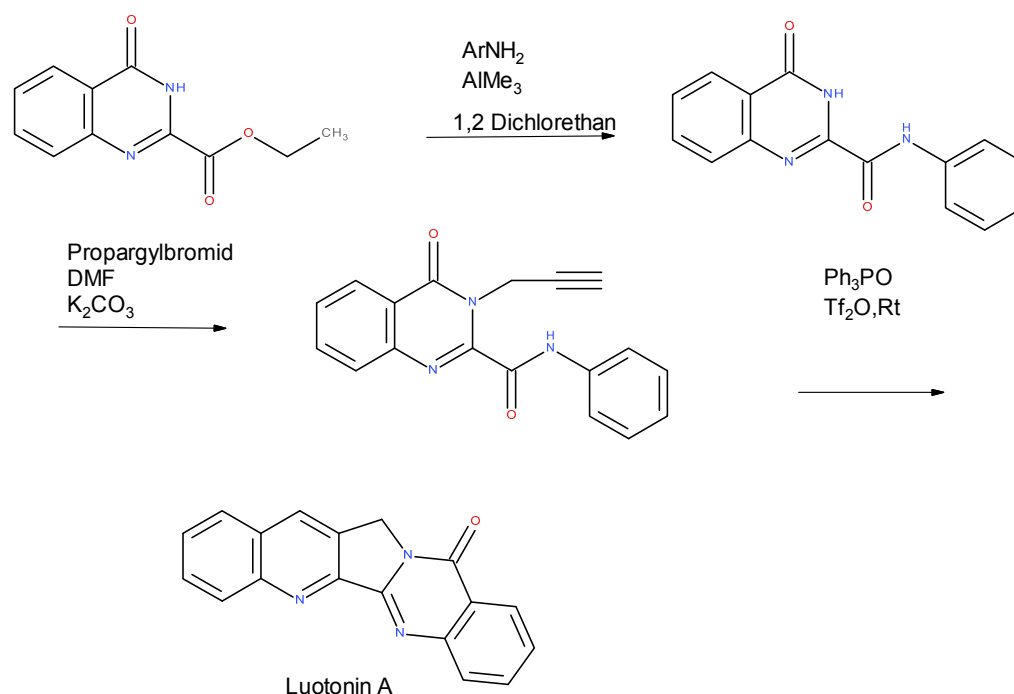


Eine Verbesserung mittels Weinreb-Amidierung

Ein neuerer Weg, welcher eine markante Verbesserung der oben beschriebenen Synthese darstellt, wurde in unserer Arbeitsgruppe entwickelt^{23, 24} und in letzter Zeit mehrfach zur Herstellung 10-substituierter und 12-substituierter Derivate des Naturstoffs angewandt. Dabei wird die Esterfunktion direkt in das gewünschte Anilid umgewandelt. Anstatt der Hydrolyse mit Lithiumhydroxid und der anschließenden Überführung der so erhaltenen (sehr

Decarboxylierungs-empfindlichen) Carbonsäure in ein Säurechlorid wird der Chinazolinoncarbonsäureester mit Trimethylaluminium-aktivierten²⁵ Anilinderivaten in 1,2-Dichlorethan bei 80 °C mit durchwegs sehr guten Ausbeuten in die gewünschten Anilide umgesetzt. Weiters wurde auf dieser Route auch der Propargylierungsschritt modifiziert, indem man DMF als Lösungsmittel für das Anilid in Anwesenheit von Kaliumcarbonat verwendet, um Löslichkeitsprobleme mit etlichen Aniliden zu umgehen. Die abschließende Zyklisierung²⁴ erfolgt unverändert nach der Methode von Zhou *et al*²⁰

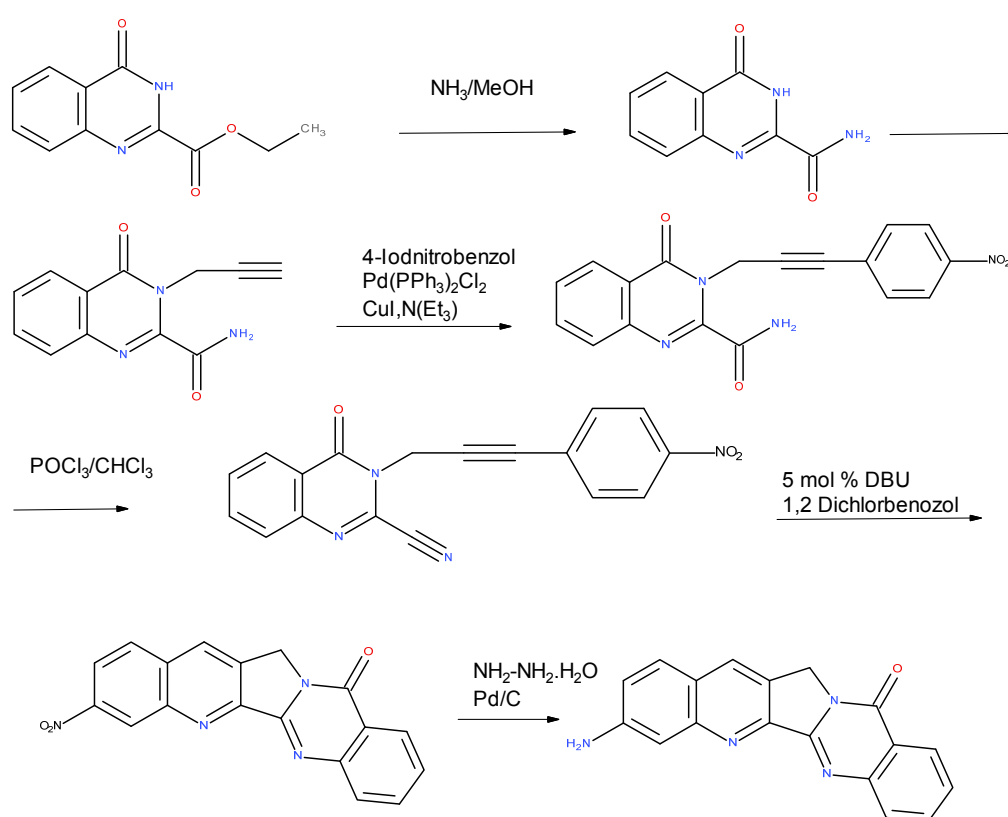
Schema 3. Verbesserte Synthese von Luotonin A unter Einsatz der Weinreb-Amidierung^{23,24,26,27}



Eine andere und zum oben beschriebenen Weg orthogonale Synthesestrategie wurde von unserer Gruppe erst kürzlich veröffentlicht²⁸ und hat sich im Rahmen der Diplomarbeiten von L. Tunjic²⁹ und M. Eder³⁰ zur Einführung einer Aminogruppe an den Positionen 11 bzw. 9 als erfolgreich erwiesen (s. Schema 4). Dabei wird die Estergruppe durch Reaktion mit methanolischem Ammoniak in ein primäres Amid umgewandelt. Danach wird der Aryl-Baustein (4-Iodnitrobenzol bzw. 2-Iodnitrobenzol) an den *N*-Propargyl-Rest mittels Sonogashira-Reaktion gekoppelt. Unter Einwirkung von Phosphoroxychlorid in Chloroform (oder alternativ mit Ethyldichlorphosphat/DBU³¹) wird das Amid zum Nitril dehydratisiert,

welches in der Folge als Dienophil in einer intramolekularen [4+2]-Cycloadditionsreaktion fungiert, in Analogie zu einer zuvor beschriebenen Synthese eines Camptothecin-Fragmentes.³² Die Zyklisierung zu 11-Nitroluotonin A erfolgt unter Einwirkung von 5 mol% DBU in 1,2-Dichlorbenzol bei 110–120°C. Dann findet die Reduktion dieser Nitrogruppe zur Aminogruppe mit Palladium/Kohle und Hydrazinhydrat statt (eine zur Reduktion von Nitrocarbazolen bewährte Methode³³), wobei man letztendlich bei 11-Aminoluotonin A landet.²⁹ Auf weitgehend analoge Weise ist auch 9-Amino-Luotonin A erhalten worden.³⁰

Schema 4. Synthese von 11-Amino-Luotonin A²⁹



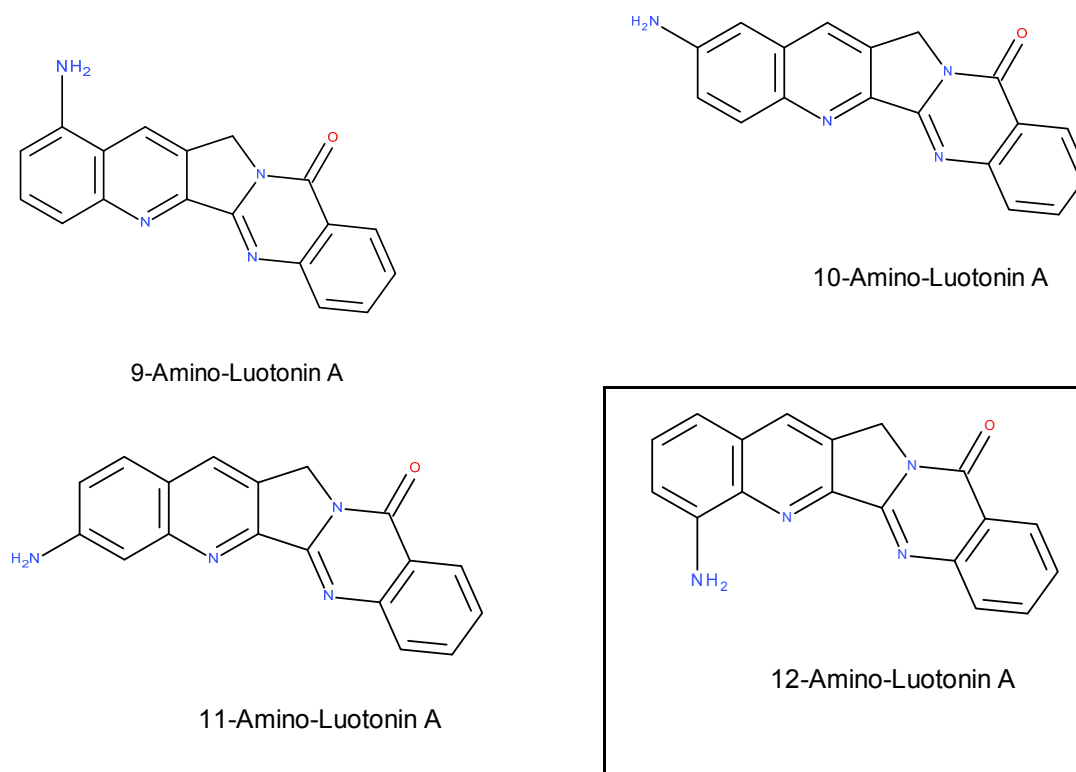
Mittels dieser beiden komplementären Synthesewege sind von unserer Gruppe bisher drei von vier möglichen Ring-A-Aminoderivaten des Naturstoffs Luotonin A zugänglich gemacht worden^{27, 29, 30} und es fehlt in dieser Serie somit nur noch das bisher unbekannte 12-Amino-Analogon.

1.3. Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit sollte die erstmalige Synthese von 12-Amino-Luotonin A sein (s. Schema 5). Dabei sollte ein Weg gewählt werden, der sich an der Route zu 10-Amino-Luotonin A orientiert und somit eine Variante des in Schema 3 skizzierten Verfahrens darstellt. Ein wichtiger Anknüpfungspunkt in methodischer Hinsicht ist hier die Diplomarbeit von S. Eckerstorfer,²⁷ da sich die verwendeten Anilin-Bausteine nur durch die relative Position der Substituenten unterscheiden.

Mit der Einführung einer primären Aminogruppe in den Grundkörper von Luotonin A wird neben einer erhöhten DNA-Affinität letztlich auch eine Verbesserung der Wasserlöslichkeit derartiger Topoisomerase-I-Hemmer angestrebt, da solche Verbindungen mit basischen Substituenten (an verschiedenen Positionen) naturgemäß leicht in wasserlösliche Salze übergeführt werden können. Darüberhinaus bietet die Aminogruppe zusätzliche Möglichkeiten zur Derivatisierung, etwa mittels Alkylierung oder Acylierung mit geeigneten Resten. Derartige weitergehende Modifikationen würden es ermöglichen, das Wirkprofil in Bezug auf Metabolismus, Resorption, Verteilung, Kompartimentmodell, Pharmakokinetik und Pharmakodynamik zu beeinflussen.³⁴⁻³⁶

Schema 5

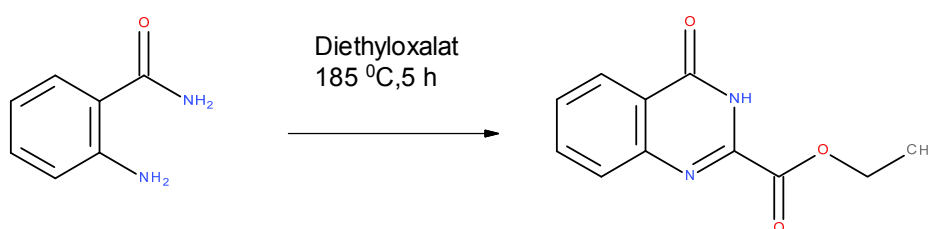


2. Eigene Untersuchungen

2.1 Zur Darstellung der Ausgangsverbindungen

Der erste Schritt in der Reaktionssequenz folgt dem von Zhou *et al.*²⁰ publizierten Weg und besteht aus der Kondensation der beiden käuflich erhältlichen Komponenten Anthranilsäureamid und Oxalsäurediethylester bei Rückflusstemperatur.²¹ Eine Kontrolle des Reaktionsverlaufs mittels DC ist unbedingt erforderlich, da die erforderliche Reaktionszeit durchaus variieren kann. Eine Umkristallisation des beim Abkühlen ausfallenden Rohproduktes ist nicht notwendig, sorgfältiges Waschen mit Ethanol und Ether ist ausreichend.

Schema 6



2.2 Amidierung des Chinazolinoncarbonsäureesters

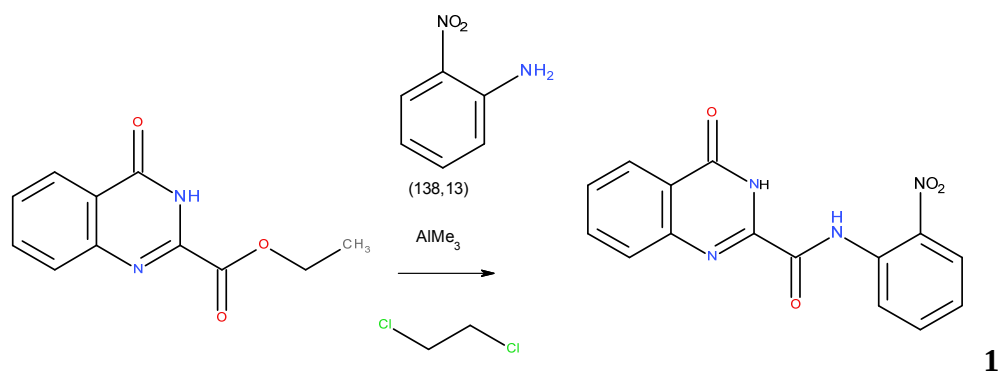
Für den nächsten Reaktionsschritt, die Umwandlung des Esters in das benötigte neue Anilid **1** (s. Schema 7), wurde die bereits erwähnte Weinreb-Methode gewählt (vgl. Einleitung, Schema 3). Dabei erfolgt eine Aktivierung der relativ schwachen nucleophilen Anilin-Aminogruppe durch Zugabe von Trimethylaluminium, als Lösungsmittel hat sich 1,2-Dichlorethan bewährt.^{24,26} Der nun verwendete Synthesebaustein 2-Nitroanilin stellt allerdings eine besondere Herausforderung dar, weil in dieser Verbindung die ohnehin schon geringe Nucleophilie der NH₂-Gruppe sowohl aus elektronischen als auch aus sterischen Gründen weiter herabgesetzt ist.

Trotz dieser ungünstigen Voraussetzungen erwies sich die verwendete Methode als durchaus brauchbar: nach Zugabe von Trimethylaluminium zur Lösung von 2-Nitroanilin in 1,2-

Dichlorethan bildet sich bei Raumtemperatur der erwartete Komplex, worauf eine deutliche Farbvertiefung hindeutet. Nach 15 min wird der Ester hinzugefügt, die Reaktion setzt dann beim Erhitzen auf 80 °C ein, was sich in einer deutlichen Gasentwicklung zeigt (welche jedoch nicht so stark ausfällt wie im Falle der zum Vergleich durchgeführten Reaktion mit dem 4-Nitroanilin-Trimethylaluminium-Komplex). Die DC-Kontrolle zeigt, dass nach zwei Stunden Rückflusserhitzen kein Ausgangsmaterial mehr vorhanden ist. Die Aufarbeitung gestaltet sich relativ einfach: nach Abkühlen wird das Reaktionsgemisch mit verd. Salzsäure und dann mit Wasser versetzt und das in beiden Phasen schwerlösliche Produkt abgenutscht und gründlich gewaschen. Die Ausbeute von 58% bleibt erwartungsgemäß (s. oben) hinter jener der 4-Nitro-Verbindung (86%) zurück, ist aber durchaus zufriedenstellend.

Die Struktursicherung des so erhaltenen Anilids **1** erfolgte mittels Elementaranalyse, Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie. Im ¹H-NMR-Spektrum sieht man die beiden NH-Signale bei relativ tiefem Feld (12.15 ppm und 10.08 ppm). Die Protonen des *ortho*-substituierten Phenylrestes zeigen sich bei ca. 7.42–8.45 ppm. Im Massenspektrum findet man den Molekülionenpeak bei $m/z = 310$, der nächste signifikante Peak ($m/z = 264$) weist dazu eine Differenz von 46 Masseneinheiten auf, was auf eine Abspaltung der NO₂-Gruppe hindeutet. Des Weiteren sind Peaks bei $m/z = 146$ und bei $m/z = 119$ zu beobachten, die darauf hinweisen dass auch eine Spaltung in Position 2 unter Bildung des Chinazolin-4-on-Grundgerüsts ($m/z = 146$) und Phenylisocyanat ($m/z = 119$) stattfindet.

Schema 7



2.3 Alkylierung des Chinazolinon-Stickstoffes

Zur Einführung des Propargylrestes in Position 3 des Chinazolinon-Skeletts sollte, auf den Erfahrungen unserer Gruppe aufbauend, nicht das von Zhou *et al.* beschriebene Verfahren²⁰ (Phasentransfer-katalysierte Alkylierung im Zweiphasensystem Toluol/Wasser) zum Einsatz kommen, sondern das System Propargylbromid/Kaliumcarbonat/Dimethylformamid. Letzteres Lösungsmittel hatte sich im Fall schwerlöslicher Anilide als deutlich besser erwiesen.^{24, 26} Es zeigte sich aber, dass das Anilid **1** auch in DMF nur sehr schwer löslich ist. Trotz Zugabe des Alkylierungsmittels in zwei Portionen über einen längeren Zeitraum kommt es daher stets zu einem lokalen Überschuss an Propargylbromid und deshalb in beträchtlichem Ausmaß zu einer weiteren Alkylierung (am Amidstickstoff) des zunächst gebildeten 3-Propargylproduktes. Dementsprechend bleibt ein Anteil des Eduktes **1** unumgesetzt. Diesen Schluss legen jedenfalls DC- und ¹H-NMR-Analysen des resultierenden Gemisches nahe.

Eine deutliche Verbesserung bringt der Wechsel der Base von Kaliumcarbonat zu Natriumhydrid. Hier erfolgt wohl eine vollständige Deprotonierung der aciden Laktam-Funktion, was zur Ausbildung einer beinahe klaren Lösung führt, offenbar infolge einer relativ guten Löslichkeit des Natriumsalzes von **1** in DMF. Infolge des nun viel geringeren lokalen Propargylbromid-Überschusses verbessert sich das Mengenverhältnis von Mono- zu Dialkylierungsprodukt auf ca. 4:1.

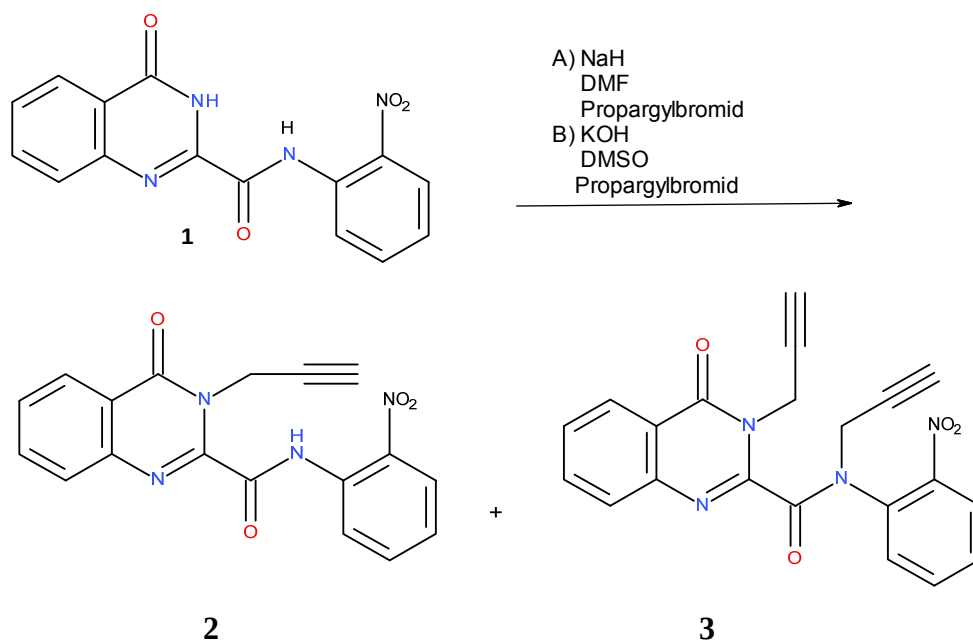
Als noch günstiger erwies sich letztlich ein kompletter Wechsel auf DMSO als Lösungsmittel und feinkörniges Kaliumhydroxid als Base. Nach mehrminütiger Einwirkung von Ultraschall resultiert hier eine klare Lösung, zu der dann eine verdünnte Lösung des Alkylierungsmittels in DMSO langsam zugetropft wird. Das oben genannte Produktverhältnis kann auf diese Weise von 4:1 auf knapp 9:1 gesteigert werden und man erhält die gewünschte Verbindung **2** nach säulenchromatographischer Trennung in einer isolierten Ausbeute von 76%, während das Nebenprodukt **3** in 9% Ausbeute anfällt.

Im ¹H-NMR-Spektrum des Hauptproduktes **2** findet man Signale eines einzigen Propargylrestes. Die Protonen der Methylengruppe erscheinen als Dublett bei 5.59 ppm, während das terminale Acetylen-Proton ein Triplett mit der selben Kopplungskonstante ($J =$

2.5 Hz) bei 2.27 ppm liefert. Erwartungsgemäß ist im Gegensatz zu Verbindung **1** hier nur mehr ein NH-Signal zu beobachten. Letzterer Signaltyp fehlt zur Gänze im Spektrum des zweifach alkylierten Nebenproduktes **3**. Hier zeigen die Methylen-signale beider Propargylreste jeweils einen bemerkenswerten Anisotropie-Effekt in Gestalt von ABX-Systemen, was wohl auf die eingeschränkte Rotationsmöglichkeit der Reste in diesem sterisch ziemlich ausgefüllten Teil des Moleküls zurückzuführen ist.

Im Massenspektrum von **2** wird neben dem Molekülion ($m/z = 348$) auch ein Peak bei $m/z = 119$ beobachtet, sodass man davon ausgehen kann, dass auch hier eine Abspaltung des Restes in Position 2 des Chinazolinsystems unter Bildung von Phenylisocyanat (nach Verlust der Nitrogruppe) stattfindet. Im Massenspektrum von **3** tritt der Molekülionenpeak in Übereinstimmung mit der postulierten Struktur bei $m/z = 386$ in Erscheinung.

Schema 8

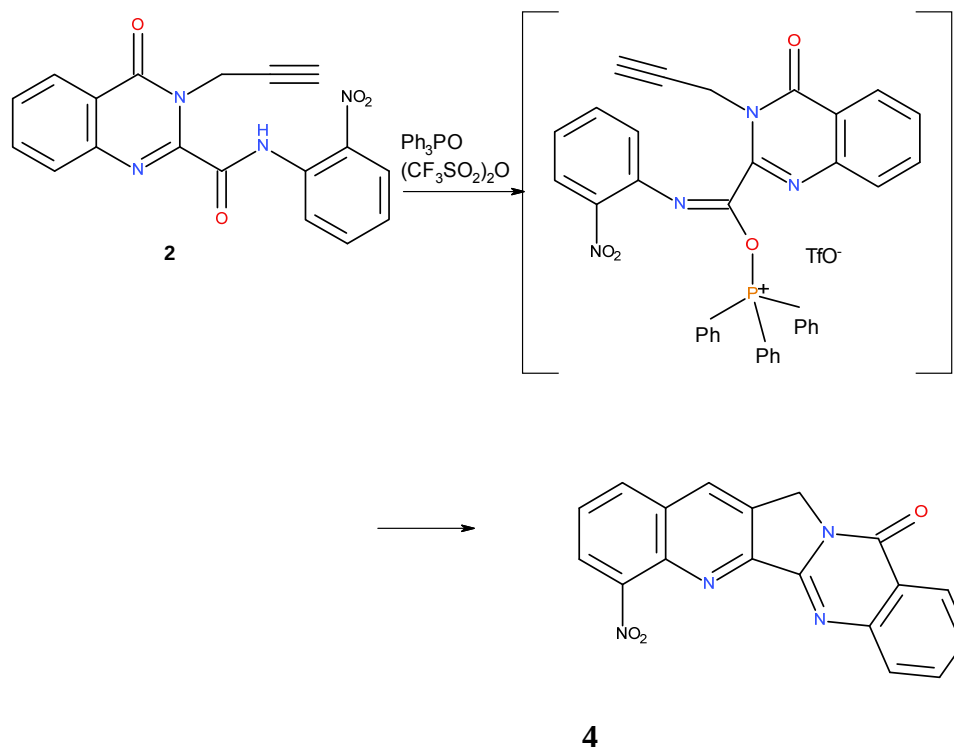


2.4 Zyklisierung unter Ausbildung der Ringe B und C

Mittels einer intramolekularen [4+2]-Cycloadditionsreaktion, wie sie in der Einleitung beschrieben wurde, sollte nun Verbindung **2** in ein Nitroderivat des angestrebten Chinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-Systems umgewandelt werden. Dabei kommt es zur simultanen Ausbildung der Ringe B und C des pentacyclischen Systems. Als Dienophil in dieser Diels-Alder-Reaktion fungiert die Alkinstruktur der Seitenkette, das Dien (genauer: Azadien) besteht aus zwei C-Atomen des Anilinrestes und aus einer C=N-Gruppe, welche aus dem sekundären Amid generiert wird. Zu diesem Zweck hat sich, wie von Zhou *et al.*²⁰ beschrieben, das sogenannte „Hendrickson-Reagens“²² („POP-Reagens“ bzw. Bis(triphenyl)-oxodiphosphonium-Trifluormethansulfonat) sehr gut bewährt, welches leicht aus Triphenylphosphinoxid und Trifluormethansulfonsäureanhydrid in trockenem Dichlormethan bei 0 °C *in situ* hergestellt werden kann. Zu dieser Reagenslösung wird unter Inertgasatmosphäre das Edukt **2** in einer Portion zugegeben. Die Reaktion setzt rasch ein, was sich in einer intensiven Grünfärbung äußert, und ist spätestens nach 24-stündigem Rühren bei Raumtemperatur vollständig (DC-Kontrolle). Diese im Vergleich zu analogen Umsetzungen²⁴ relativ lange Reaktionsdauer ist offenbar durch die geringere Löslichkeit von Verbindung **2** im verwendeten Lösungsmittel bedingt. Bei der Cycloadditionsreaktion und dem nachfolgenden „Quench“ mit wässrigem Natriumhydrogencarbonat entstehen außer dem regenerierten Triphenylphosphinoxid praktisch keine Nebenprodukte und das angestrebte Produkt **4** wird nach Umkristallisation in 64% Ausbeute erhalten.

Im ¹H-NMR-Spektrum von **4** (Tafel 21) bemerkt man, dass das Amid-NH-Signal des Eduktes **2** nun verschwunden ist. Dafür ist ein charakteristisches Singulett der CH₂-Gruppe bei 5.36 ppm zu sehen, was darauf hindeutet dass die Zyklisierung zum kondensierten Chinolin funktioniert hat. Dieses Signal bildet auch einen sehr guten Ausgangspunkt für die weiteren Signalzuordnungen mittels NOESY-Technik (vgl. Tafel 24). In Kombination mit einem COSY-Spektrum (Tafel 23) wird somit auch bei dieser Verbindung eine vollständige Zuordnung aller Signale im ¹H-NMR-Spektrum möglich (s. Experimenteller Teil). Auch das ¹³C-NMR-Spektrum steht im Einklang mit der formulierten Struktur, allerdings konnte dabei aufgrund der schlechten Löslichkeit von **4** statt des sonst bevorzugten APT-Spektrums nur ein Breitband-entkoppeltes Spektrum aufgenommen werden (Tafel 22). Im Massenspektrum wird das Signal des Molekülions bei *m/z* = 330 beobachtet, darüberhinaus sind keine auffälligen Fragmentationen zu sehen. Mittels hochauflösender Massenspektrometrie wurde die korrekte Summenformel bestätigt.

Schema 9



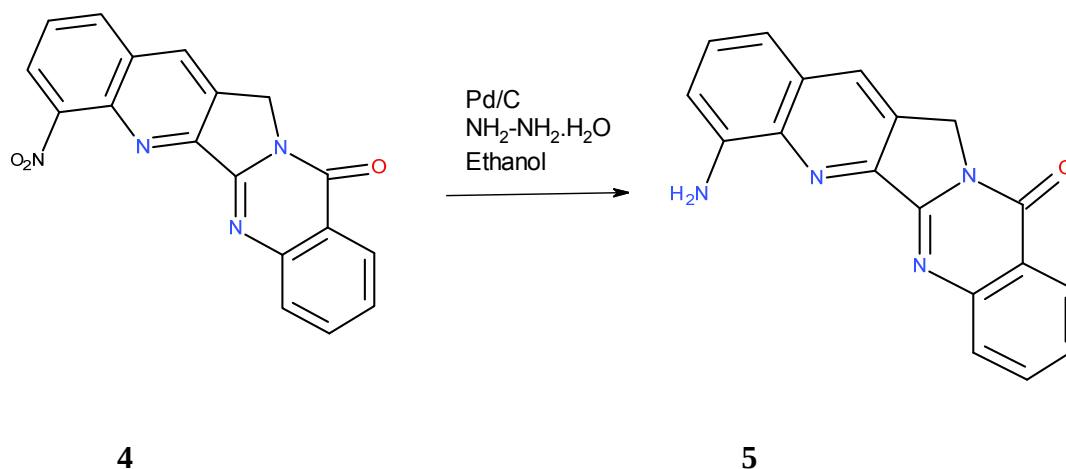
2.5 Reduktion der Nitrogruppe in Position 12

Für den letzten Schritt in der vorgesehenen Synthesekette ist eine Reduktion der Nitrogruppe in Position 12 zur entsprechenden Amino-Funktion erforderlich. Was die Auswahl einer geeigneten Reduktionsmethode unter den zahlreichen möglichen Verfahren betrifft, konnte hier auf die Erfahrungen in unserer Arbeitsgruppe bei der Darstellung der drei anderen Ring-A-Aminoderivate zurückgegriffen werden.^{27,29,30} Hierfür hatte sich die von Deady *et al.* zur Reduktion von Nitrodibenzofuranen und Nitrocarbazolen beschriebene katalytische Methode³³ als sehr nützlich erwiesen. Dabei handelt es sich um eine Palladium-katalysierte Transferhydrierung unter Verwendung von Hydrazinhydrat als *in-situ*-Lieferant des benötigten Wasserstoffs. Auf diese Weise kann auf den Einsatz von gasförmigem Wasserstoff verzichtet werden, es verbleibt nach dem Entfernen des Lösungsmittels (Ethanol) aber trotzdem kein nichtflüchtiges Reagens bzw. Folgeprodukt des selben. Außerdem kann unter diesen Bedingungen das Reaktionsgemisch problemlos zum Rückfluss erhitzt werden und ebenso leicht können Proben für die Reaktionskontrolle mittels DC gezogen werden.

Dementsprechend wurde die Nitroverbindung **4** mit überschüssigem Hydrazinhydrat und Palladium/Kohle-Katalysator in ethanolischer Lösung zum Rückfluss erhitzt. Das Eintreten der Reaktion macht sich in einer deutlichen Farbänderung von grünlichgelb nach orangerot bemerkbar. Die DC-Kontrolle zeigt, dass nach zwei Stunden die Umsetzung vollständig ist. Nach Abtrennen des Katalysators wird die Zielverbindung **5** in Form roter Kristalle erhalten, die Ausbeute beträgt 71%.

Im ^1H -NMR-Spektrum zeigen sich erwartungsgemäß deutliche Unterschiede zwischen der Nitroverbindung **4** und der Aminoverbindung **5**. In letzterer sind praktische alle Signale zu höherem Feld verschoben, wobei sich dieser Effekt besonders deutlich bei den Protonen an den Ringen A und B (Chinolin-System) manifestiert, da hier die Abschirmung durch die elektronenreiche Aminogruppe am stärksten zum Tragen kommt. So verringert sich die chemische Verschiebung von H-11 von 8.43 auf 6.98 ppm, jene von H-9 von 8.49 auf 7.22 ppm und selbst jene des weiter entfernten H-7 von 8.99 auf 8.55 ppm. Die nun vorhandene primäre Aminogruppe macht sich in Form eines verbreiterten Singulett der relativen Intensität 2 bei 6.18 ppm bemerkbar. Das ^{13}C -NMR-Spektrum steht ebenfalls in Übereinstimmung mit der Struktur **5**. Im Massenspektrum ist ein deutlicher M^+ -Peak bei $m/z = 300$ zu beobachten. Ein hochaufgelöstes Massenspektrum (CI) für den $[\text{M}+\text{H}]^+$ -Peak bestätigt die Summenformel.

Schema 10



Mit der erfolgreichen Synthese der Zielverbindung 5 (12-Amino-Luotonin A) sind nunmehr alle vier Ring-A-Aminoderivate des Naturstoffs Luotonin A zugänglich. Die Verbindungen weisen ein gegenüber der Leitstruktur deutlich günstigeres Löslichkeitsverhalten auf und sollen in nächster Zeit im Rahmen eines Kooperationsprojektes auf ihre biologische Aktivität untersucht werden.

3. Experimenteller Teil

Geräte und Materialien:

Massenspektroskopie: Shimadzu QP 5050A DI50 (EI, 70 eV)

^1H -NMR- (400 MHz) und ^{13}C -NMR-Spektroskopie (100 MHz): Bruker Avance III 400

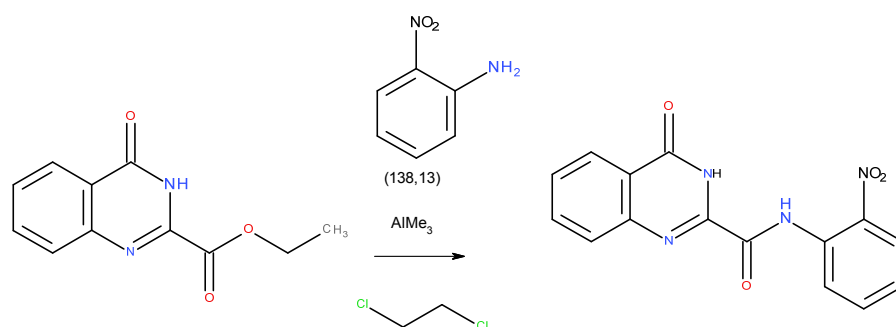
Dünnschichtchromatographie: Merck DC-Alufolien, Kieselgel 60 F₂₅₄

Schmelzpunktbestimmung: Kofler-Heiztischmikroskop, Fa. Reichert

Elementaranalysen: Mikroanalytisches Labor der Fakultät für Chemie, Universität Wien

Chemikalien und Reagenzien: Fa. Sigma Aldrich und Fa. Merck

3.1 N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (1).



In einer ausgeheizten Apparatur bestehend aus einem Dreihalskolben (250 ml) mit Gummiseptum und Rückflusskühler werden unter Argonatmosphäre 1.105 g (8 mmol) 2-Nitroanilin in 20 ml trockenem CH_2Cl_2 gelöst. Danach werden unter Eiskühlung 4.0 ml (8 mmol) einer Trimethylaluminium-Lösung (2M in Heptan) mittels Spritze langsam und portionsweise zugegeben. Das Kühlbad wird entfernt und nach 30 min Rühren werden 1.091 g (5 mmol) 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonsäureethylester²¹ in einer Portion hinzugefügt. Das Gemisch wird 2 h auf 80 °C erhitzt, wobei beim Erreichen von ca. 70 °C eine deutliche Gasentwicklung eintritt. Nach Beendigung der Reaktion (DC-Kontrolle) wird das Gemisch auf 0 °C abgekühlt und langsam mit 20 ml Salzsäure (5%), gefolgt von 80 ml Wasser versetzt. Das feste Produkt wird abgenutscht und mit 500 ml 70% EtOH, 50 ml Wasser und 50 ml 95% EtOH gewaschen. Das Material wird im Exsikkator getrocknet und kann für den nächsten Schritt ohne weitere Reinigung verwendet werden. Umkristallisation aus EtOH liefert gelbliche Kristalle.

Ausbeute: 0.903 g (58%)

Schmelzpunkt: >315 °C

Summenformel: $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_4$

MG: 310.26

Elementaranalyse: ber. f. $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot 0.1 \text{ H}_2\text{O}$

	%C	%H	%N
ber.	57.73	3.29	17.95
gef.	57.87	2.96	17.56

HRMS:

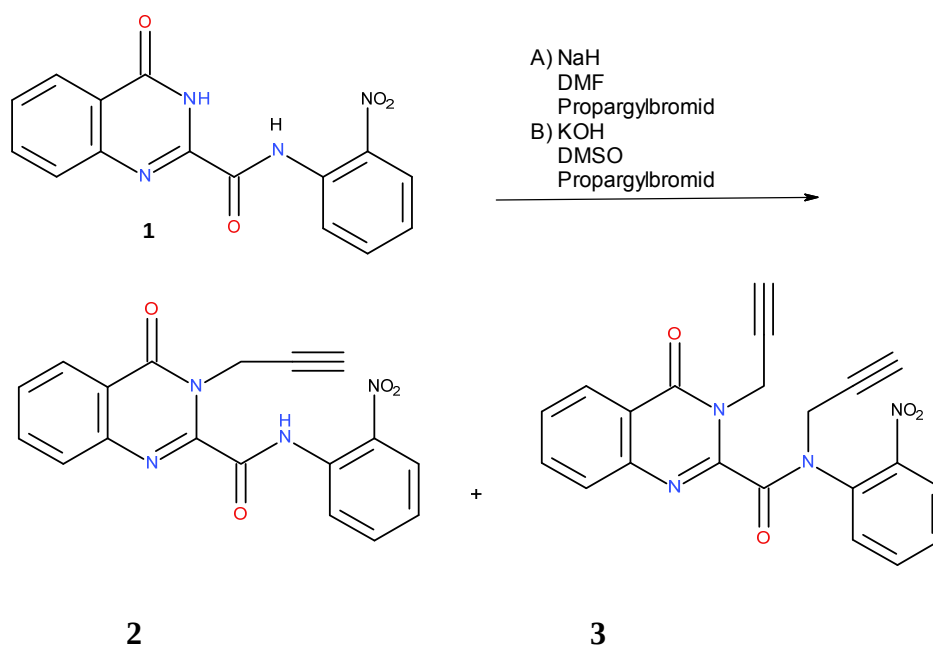
ber.f. $[\text{M}+\text{H}]^+$	311.0775
gef.	311.0775

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 1): δ 12.76 (br s, 1H, 3-H), 12.15 (br s, 1H, Amid-H), 8.54 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, Phenyl 6'-H), 8.26 (dd, *J* = 8.4 Hz, 1.5 Hz, 1H, Phenyl 3'-H), 8.22 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, 5H), 7.98–7.93 (m, 1H, 7-H), 7.89–7.85 (m, 2H, 8-H, Phenyl 5'-H), 7.68 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, 6-H), 7.46–7.42 (m, 1H, Phenyl 4'-H)

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 2) δ 161.0, 158.0, 146.4, 145.1, 138.7, 135.7, 135.1, 132.3, 128.7, 127.9, 126.3, 125.9, 125.1, 122.9, 122.7

MS (Tafel 6): *m/z* = 310 (*M*⁺, 25%), 264 (84), 146 (78), 145 (22), 119 (100), 118 (21), 91 (18), 90 (49).

3.2 N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2) und N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-N,3-di(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)



Methode A: Eine Suspension von 155 mg (0.5 mmol) fein pulverisiertem Anilid **1** in 20 ml trockenem DMF wird unter Feuchtigkeitsausschluss kurz erwärmt und dann 30 min gerührt (Abkühlung auf Raumtemperatur). Man setzt 17 mg (0.55 mmol) einer 80% Suspension (bzw. 22 mg einer 60% Suspension) von NaH in Mineralöl zu und rührt weitere 30 min bei

Raumtemperatur. Unter kräftigem Rühren folgt die tropfenweise Zugabe einer Lösung von 82 mg (0.55 mmol) Propargylbromid (80% Lösung in Toluol) in 10 ml DMF über einen Zeitraum von 2 h. Die zwischenzeitlich klare gelborange Lösung wird in der Folge wieder trüb. Nach Beendigung der Reaktion (DC-Kontrolle; Fließmittel: Dichlormethan/Ethylacetat, 95:5) wird das Gemisch mit 100 ml Wasser versetzt und der Niederschlag abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das so erhaltene Gemisch aus **2** und **3** wird durch Säulenchromatographie (Fließmittel: Dichlormethan/Ethylacetat, 95:5) getrennt. Man erhält 123 mg (71%) **2** und 31 mg (16%) **3**.

Methode B: Eine Suspension von 155 mg (0.5 mmol) fein pulverisiertem Anilid **1** in 20 ml DMSO wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach folgt die Zugabe von 34 mg (0.6 mmol) fein pulverisiertem KOH und 10 mg Tetrabutylammoniumbromid. Das Gemisch wird 10 min im Ultraschallbad beschallt. Unter kräftigem Rühren folgt die tropfenweise Zugabe einer Lösung von 82 mg (0.5 mmol) Propargylbromid (80% Lösung in Toluol) in 10 ml DMSO über einen Zeitraum von 2 h. Nach weiteren 24 h (DC-Kontrolle, Fließmittel: Dichlormethan/Ethylacetat, 95:5) wird das Gemisch mit 100 ml Wasser versetzt und der Niederschlag abgenutscht, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das so erhaltene Gemisch aus **2** und **3** wird durch Säulenchromatographie (Fließmittel: Dichlormethan/Ethylacetat, 95:5) getrennt. Man erhält 133 mg (76%) **2** und 17 mg (9%) **3**. Beide Verbindungen werden aus Ethylacetat/Petroleumbenzin umkristallisiert und jeweils in Form gelber Kristalle erhalten.

***N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**)**

Schmelzpunkt: 207–208 °C

Summenformel: C₁₈H₁₂N₄O₄

MG: 348.32

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, Tafel 7): δ 12.72 (s, 1H, NH), 8.92 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1.2 Hz, 1H, Phenyl 6'-H), 8.41–8.35 (m, 1H, 5-H), 8.32 (dd, *J* = 8.4 Hz, 1.5 Hz, 1H, Phenyl 3'-H), 7.95–7.90 (m, 1H, 8-H), 7.87 (ddd, *J* = 8.2 Hz, 7.0 Hz, 1.5 Hz, 1H, 7-H), 7.79–7.70 (m, 1H, Phenyl 5'-H), 7.64 (ddd, *J* = 8.2 Hz, 7.0 Hz, 1.4 Hz, 1H, 6-H), 7.31 (ddd, *J* = 8.5 Hz, 7.3 Hz, 1.3 Hz, 1H, Phenyl 4'-H), 5.59 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, CH₂), 2.27 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H, C≡CH)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, Tafel 8): δ 161.4, 159.4, 144.9, 144.5, 137.3, 136.1, 135.3, 133.8, 129.6, 128.6, 127.6, 126.2, 124.4, 122.1, 121.9, 78.9, 72.2, 33.7

MS (Tafel 12): m/z = 348 (M⁺, 16%), 347 (39), 331 (30), 330 (25), 303 (49), 302 (100), 300 (42), 273 (26), 156 (37), 155 (49), 145 (75), 130 (39), 129 (61), 119 (58), 102 (37), 90 (78)

***N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-*N*,3-di(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)**

Schmelzpunkt: 217–218 °C

Summenformel: C₂₁H₁₄N₄O₄

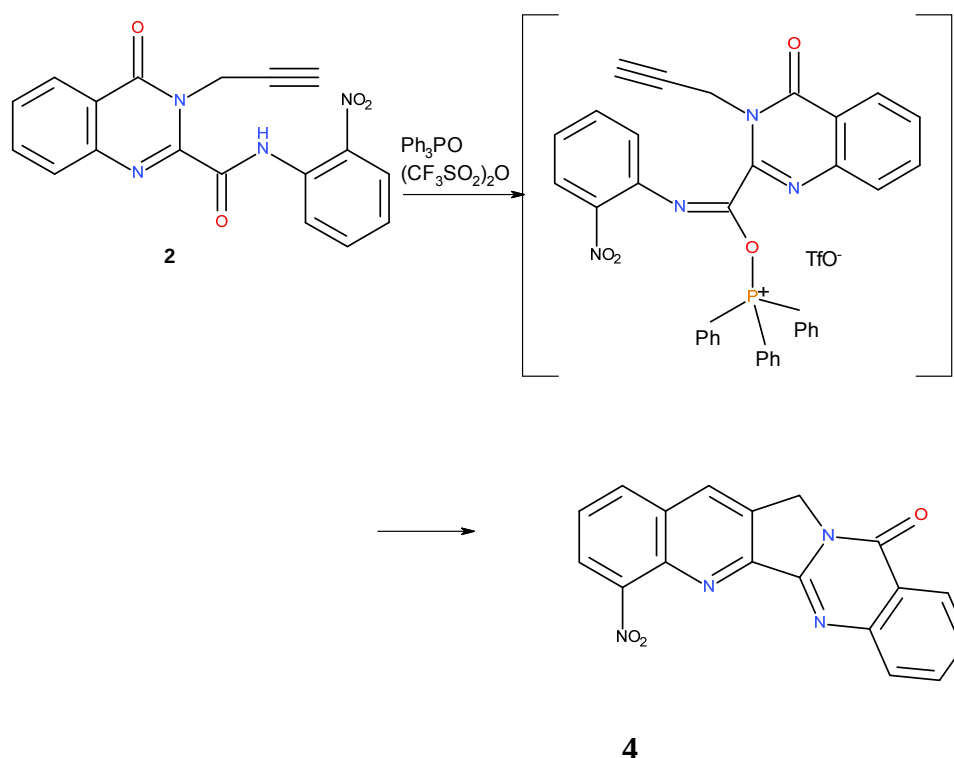
MG IL3: 386.38

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, Tafeln 13, 14): δ 8.16 (ddd, J = 7.9 Hz, 1.5 Hz, 0.6 Hz, 1H, 5-H), 8.06 (dd, J = 8.0 Hz, 1.6 Hz, 1H, Phenyl 6'-H), 7.69–7.62 (m, 2H, 8-H, Phenyl 3'-H), 7.52 (td, J = 7.7 Hz, 1.6 Hz, 1H, 7-H), 7.47–7.40 (m, 3H, 6-H, Phenyl 4'-H und 5'-H), 5.41 (dd, J = 17.4 Hz, 2.5 Hz, 1H, Methylen-H), 5.39–5.34 (dd, J = 17.6 Hz, 2.5 Hz, 1H, Methylen-H), 5.02 (dd, J = 17.4 Hz, 2.5 Hz, 1H, Methylen-H), 4.34 (dd, J = 17.6 Hz, 2.5 Hz, 1H, Methylen-H), 2.41 (t, J = 2.5 Hz, 1H, C≡CH), 2.33 (t, J = 2.5 Hz, 1H, C≡CH)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, Tafel 15): δ 160.53, 160.49, 148.2, 145.3, 145.3, 134.9, 134.0, 133.8, 132.3, 130.3, 128.6, 128.0, 127.0, 125.6, 121.3, 78.7 (2 Resonanzen), 73.8, 72.9, 39.5, 32.9

MS (Tafel 20): m/z = 386 (M⁺, 15%), 340 (45), 287 (15), 212 (100), 184 (66), 183 (37), 145 (42), 130 (39), 129 (56), 119 (41), 102 (46), 90 (45)

3.3 4-Nitrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13*H*)-on (4) (12-Nitro-Luotonin A)



Zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 0.835 g (3 mmol) Triphenylphosphinoxid in 22 ml trockenem CH₂Cl₂ werden unter Argonatmosphäre 0.25 ml (1.5 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid langsam zugetropft und die klare Lösung wird 15 min unter Eiskühlung gerührt. Danach werden 0.348 g (1 mmol) *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**) in einer Portion zugesetzt und das Gemisch wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wird mit 5 ml NaHCO₃-Lösung (10%) versetzt und 1 h gerührt. Danach wird mit 100 ml Wasser verdünnt und das feste Rohprodukt durch Abdekantieren isoliert. Man wäscht mit Wasser, trocknet im Vakuumexsikkator und kristallisiert aus CHCl₃ um. Das in Form gelblicher Kristalle erhaltene 12-Nitro-Luotonin A zeigt in Lösung eine blaue Fluoreszenz unter UV₃₆₆.

Ausbeute: 0.211 g (64%)

Schmelzpunkt: 263–264 °C

Summenformel: C₁₈H₁₀N₄O₃

MG: 330.30 g

HRMS:

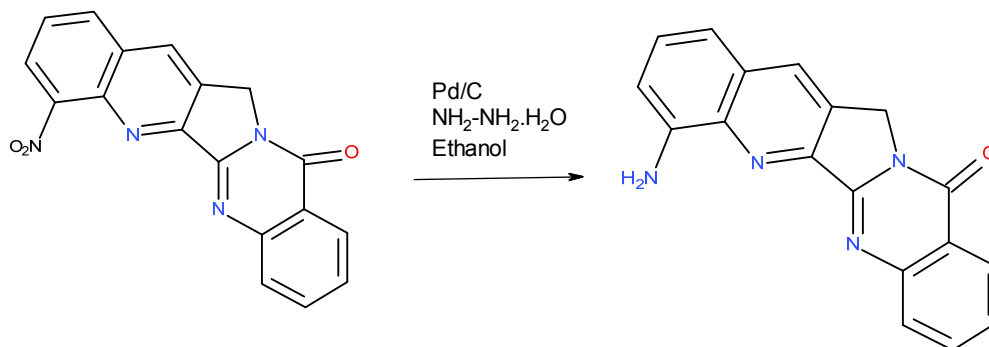
ber.f.[M+H] ⁺	331.0826
gef.	331.0824

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 21; Signalzuordnung bezogen auf Alkaloid-Nummerierung): δ 8.99 (s, 1H, 7-H), 8.49 (d, J = 8.7 Hz, 1H, 9-H), 8.43 (d, J = 7.7 Hz, 1H, 11-H), 8.32 (d, J = 7.6 Hz, 1H, 19-H), 8.03 (d, J = 8.3 Hz, 1H, 16-H), 8.00–7.85 (m, 2H, 10-H, 17-H), 7.67 (t, J = 7.4 Hz, 1H, 18-H), 5.36 (s, 2H, CH₂)

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 22): δ 159.6, 153.6, 152.3, 148.8, 148.4, 139.0, 134.6, 133.1, 132.5, 132.3, 129.0, 128.2, 127.6, 127.4, 125.9, 124.0, 121.2, 47.6.

MS (Tafel 25): *m/z* = 330 (M⁺, 12%), 300 (10), 284 (6), 81 (8), 69 (100), 65 (39), 64 (15), 57 (9)

3.4 4-Aminochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (5)
(12-Amino-Luotonin A)



4

5

In einem 100 ml Rundkolben werden 165 mg (0.5 mmol) 12-Nitro-Luotonin A (**4**) in 50 ml EtOH aufgenommen. Die Suspension wird mit 350 mg (7 mmol) Hydrazinhydrat und 30 mg Pd/C-Katalysator versetzt und 2 h unter Rückfluss erhitzt. Die Lösung wird heiß filtriert, beim Abkühlen bilden sich orangefarbene Kristalle, die abgenutscht und mit kaltem EtOH gewaschen werden. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingedampft, der Rückstand in

15 ml DMF aufgenommen und nochmals zwecks Entfernung von restlichem Katalysator filtriert. Nach Zusatz von 20 ml Wasser bilden sich dunkelrote Kristalle, die ebenfalls abgenutscht und mit kaltem EtOH gewaschen werden. Die vereinigten kristallinen Rohprodukte werden im Exsikkator getrocknet und danach mehrmals aus Chloroform umkristallisiert.

Ausbeute: 107 mg (71%)

Schmelzpunkt: >315 °C

Summenformel: C₁₈H₁₂N₄O

MG: 300.3

HRMS:

ber.f.[M+H] ⁺	301.1084
gef.	301.1081

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 26; Signalzuordnung bezogen auf Alkaloid-Nummerierung): δ 8.55 (s, 1H, 7-H), 8.30 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, 19-H), 7.96–7.90 (m, 2H, 16-H, 17-H), 7.62 (ddd, *J* = 7.7 Hz, 5.7 Hz, 2.5 Hz, 18-H), 7.45 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, 10-H), 7.22 (dd, *J* = 8.2 Hz, 1.0 Hz, 1H, 9-H), 6.98 (dd, *J* = 7.6 Hz, 1.1 Hz, 1H, 11-H), 6.18 (br s, 2H, NH₂), 5.28 (s, 2H, CH₂)

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, Tafel 27) δ 159.7, 153.2, 149.1, 147.9, 146.2, 138.1, 134.5, 131.3, 131.1, 129.7, 129.3, 127.8, 127.0, 125.9, 121.0, 113.8, 109.1, 47.4

MS (Tafel 30): *m/z* = 300 (M⁺, 44%), 215 (18), 204 (18), 203 (40), 178 (81), 145 (24), 57 (100), 41 (25)

4. Literaturverzeichnis:

1. Statistik Austria: Jahrbücher der Gesundheitsstatistik von 2011 und 2012,
http://www.statistik.at/web_de/statistiken/gesundheit/krebserkrankungen/ - zuletzt besucht am 19. August 2013.
2. Weiland, F.; Waitz, M. (Onmeda-Redaktion), *Krebs: Definition*,:
<http://www.onmeda.de/krankheiten/krebsdefinition-1416-2.html> - zuletzt besucht am 20. August 2013.
3. Landesakademie für Fortbildung und Personalentwicklung an Schulen, Baden-Württemberg, BRD, http://lehrerfortbildung-bw.de/faecher/bio/gym/fb1/05_material/-04warum/loes6cab/ (zuletzt besucht am 22. August 2013).
4. Aktories, K.; Förstermann, U.; Hofmann, F.B.; Starke, K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 10. Auflage, Urban&Fischer/Elsevier, München, 2009.
5. Kreienberg, R.; Möbus, V.; Jonat, W.; Kühn, T. *Mammakarzinom Interdisziplinär*, 4. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, 2010, S. 70.
6. Offermanns, S.; Freissmuth, M.; Böhm, S. *Pharmakologie und Toxikologie: von den molekularen Grundlagen zur Pharmakotherapie*, Springer-Verlag, Berlin, 2012, S. 91.
7. Frey, H.H.; Löscher, W. *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*, 3. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, 2010, S 338.
8. Dingerman, T.; Hänsel, R.; Zündorf, I. *Pharmazeutische Biologie: Molekulare Grundlagen und klinische Anwendung*, Springer-Verlag, Berlin, 2002, S. 442.
9. Graefe, K.-H.; Lutz, W.K.; Bönisch, H. *Duale Reihe Pharmakologie und Toxikologie*, Thieme, Stuttgart, 2011, S. 668.
10. Rietbrock, N.H.; Bey, H.; Lohrmann, H.-P.E. *Fragen Sie Ihren Arzt oder Apotheker – Therapie im Dialog mit dem Patienten*, Steinkopff-Verlag, Darmstadt, 2000, S. 175.
11. Bäumer, R.; Maiwald, A. *THIEMEs Onkologische Pflege*, Thieme-Verlag, Stuttgart, 2008, S. 118.

12. Wall, M.E.; Wani, M.C.; Cook, C.E.; Palmer, K.H.; McPhail, A.T.; Sim, G.A. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 3888–3890.
13. Thomas, C.J.; Rahier, N.J.; Hecht, S.M. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 1585–1604.
14. (a) Herzog, T. J. *Oncologist* **2002**, *7* (Suppl. 5), 3–10.
(b) Garcia-Carbonero, R.; Supko, J.G. *Clin. Cancer Res.* **2002**, *8*, 641–661.
15. Ma, Z.Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.J. *Heterocycles* **1997**, *46*, 541–546.
16. Cagir, A.; Jones, S.H.; Eisenhauer, B.M.; Gao, R.; Hecht, S.M. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13628–13630.
17. Cagir, A.; Eisenhauer, B.M.; Gao, R.; Thomas, S.J.; Hecht, S.M. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 6287–6299.
18. Liang, J.L.; Cha, H.C.; Jahng, Y. *Molecules* **2011**, *16*, 4861–4883.
19. Ma, Z.; Hano, Y.; Nomura, T. *Heterocycles* **2005**, *65*, 2203–2219.
20. Zhou, H.-B.; Liu, G.-S.; Yao, Z.-J. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 6270–6272.
21. Baker, B.R.; Almaula, P.I. *J. Org. Chem.* **1962**, *27*, 4672–4674.
22. Hendrickson, J.B.; Schwartzman, S.M. *Tetrahedron Lett.* **1975**, 277–280.
23. Haider, N.; Parth, S. *Concise Synthesis of A-Ring Modified Analogs of the Antitumor Alkaloid Luotonin A*, 13th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, Bled, Slowenien, Sept. 2009; *Abstract volume of the 13th BDSHC*, 2009, PO-28.
24. Haider, N.; Nuß, S. *Molecules* **2012**, *17*, 11363–11378.
25. Basha, A.; Lipton, M.; Weinreb, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1977**, 4171–4172.
26. Nuß, S., Diplomarbeit, Universität Wien, 2011.
27. Eckerstorfer, S., Diplomarbeit, Universität Wien, 2011.
28. Haider, N.; Meng, G.; Roger, S.; Wank, S. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 7066–7072.
29. Tunjic, L., Diplomarbeit, Universität Wien, 2013.
30. Eder, M., geplante Diplomarbeit, Universität Wien.

31. Kuo, C.W.; Zhu, J.L.; Wu, J.D.; Chu, C.M.; Yao, C.F.; Shia, K.S. *Chem. Commun.* **2007**, 301–303.
32. Dai, W.; Petersen, J.L.; Wang, K.K. *Org. Letters* **2006**, 8, 4665–4667.
33. Deady, L.W.; Sette, R.M. *Aust. J. Chem* **2001**, 54, 177–180.
34. Klebe, G. *Wirkstoffdesign: Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen*, 2. Auflage, Spektrum Verlag, Heidelberg, 2009, S. 289.
35. Aktories, K.; Förstermann, U.; Hofmann, F.B.; Starke, K. *Repetitorium Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*, 10. Auflage, Urban&Fischer/Elsevier, München, 2009, S. 5–13.
36. Schneemann, H.; Young, L.; Koda-Kimble, M.A. *Angewandte Arzneimitteltherapie: klinisch-pharmazeutische Betreuung in Fallbeispielen*, Springer-Verlag, Berlin, 2001, S. 27–36.

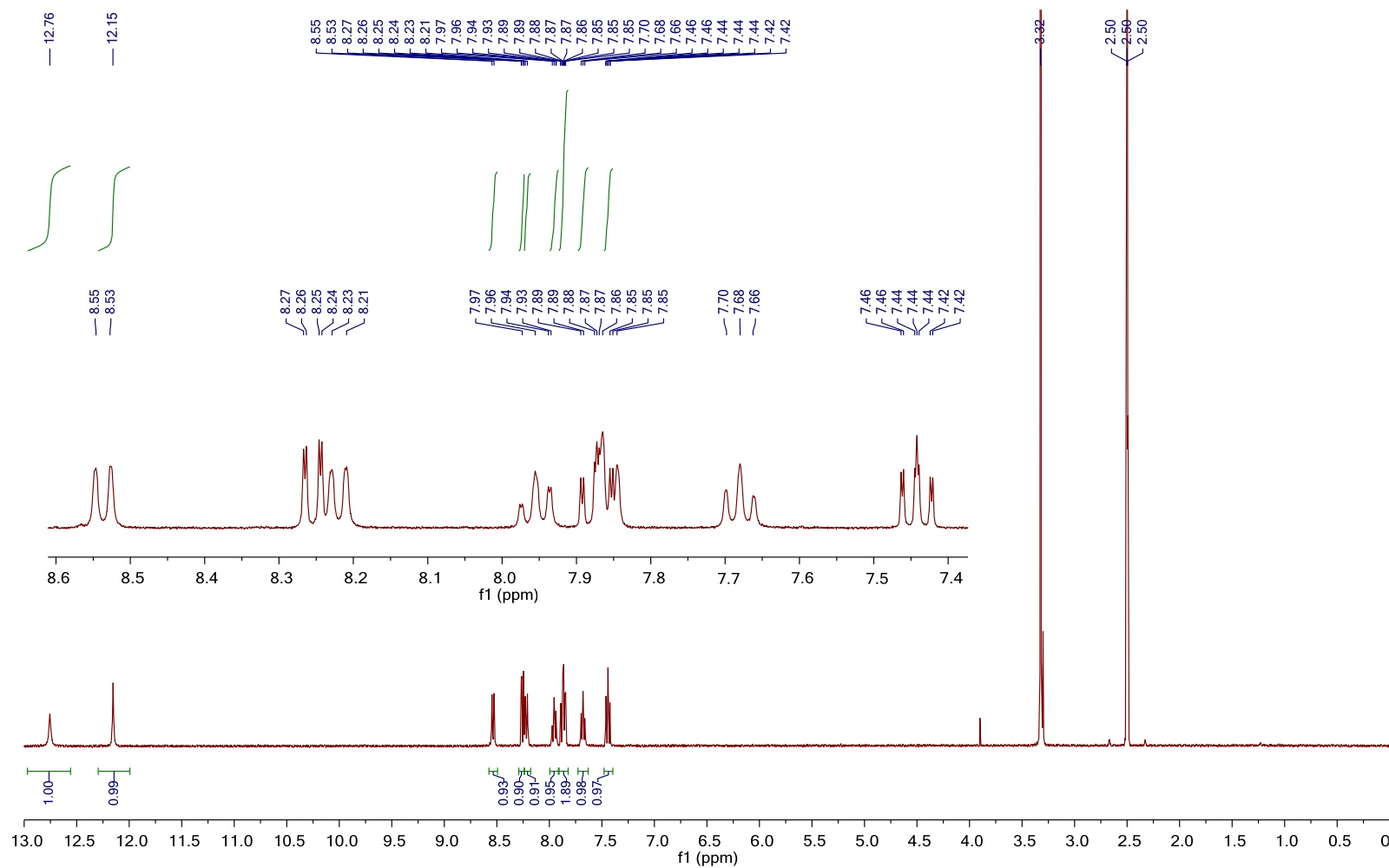
5. Anhang

Spektren

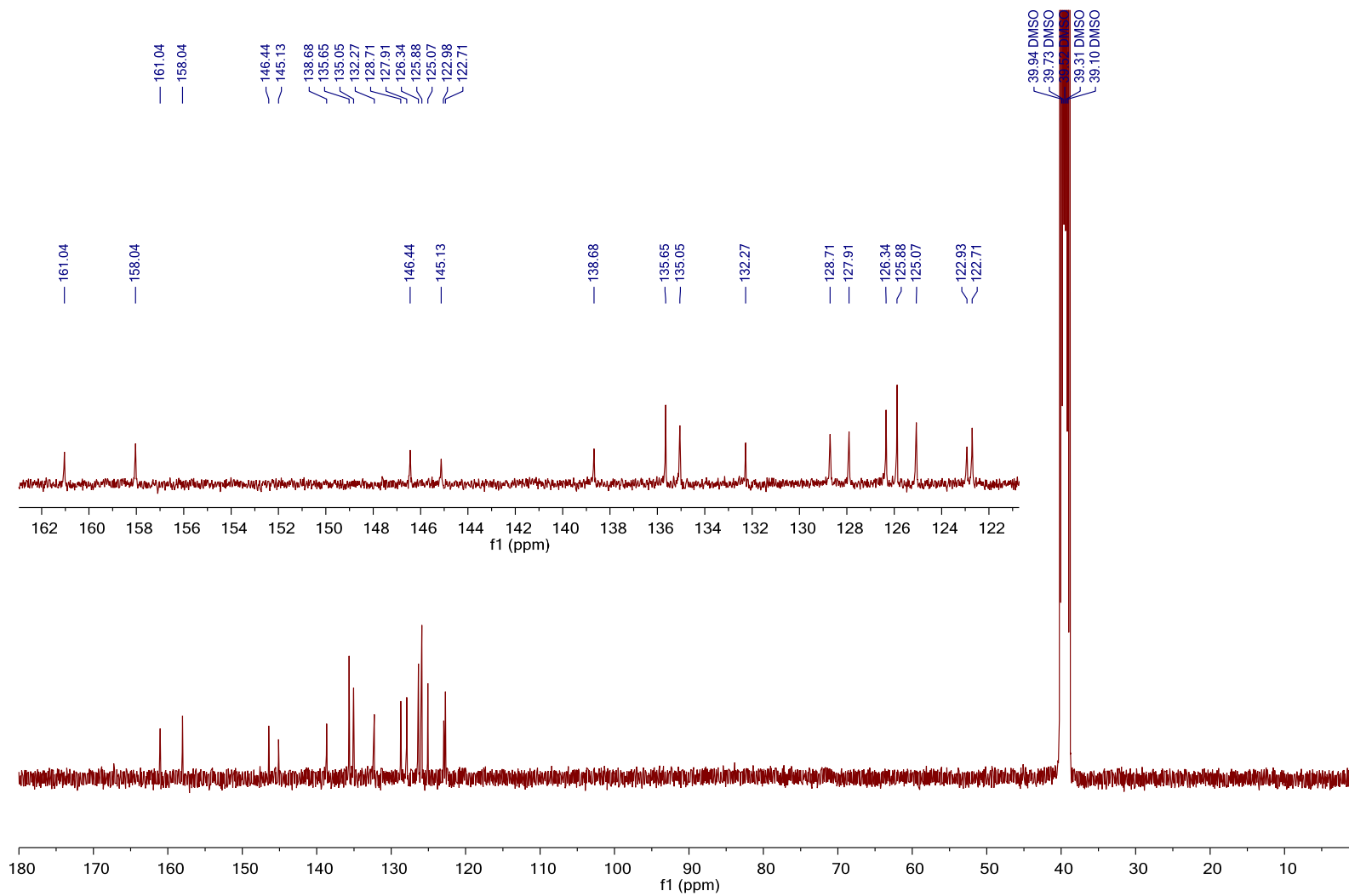
Zusammenfassung

Lebenslauf

IL1; 2-Nitrophenyl-Amid / DMSO 1H

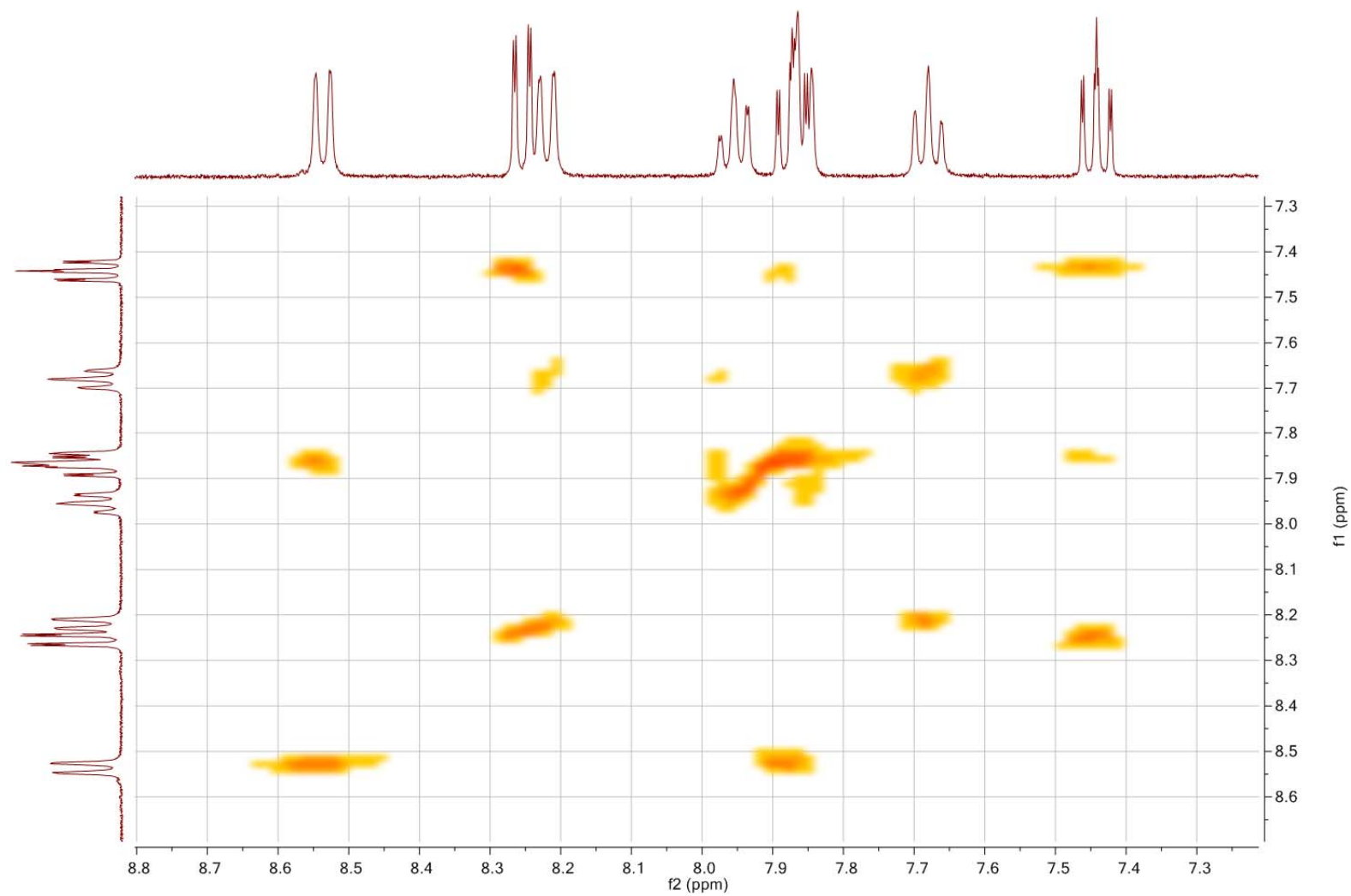
Tafel 1: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**1**) (DMSO-*d*₆)

IL1; 2-Nitrophenyl-Amid / DMSO 13C CPD



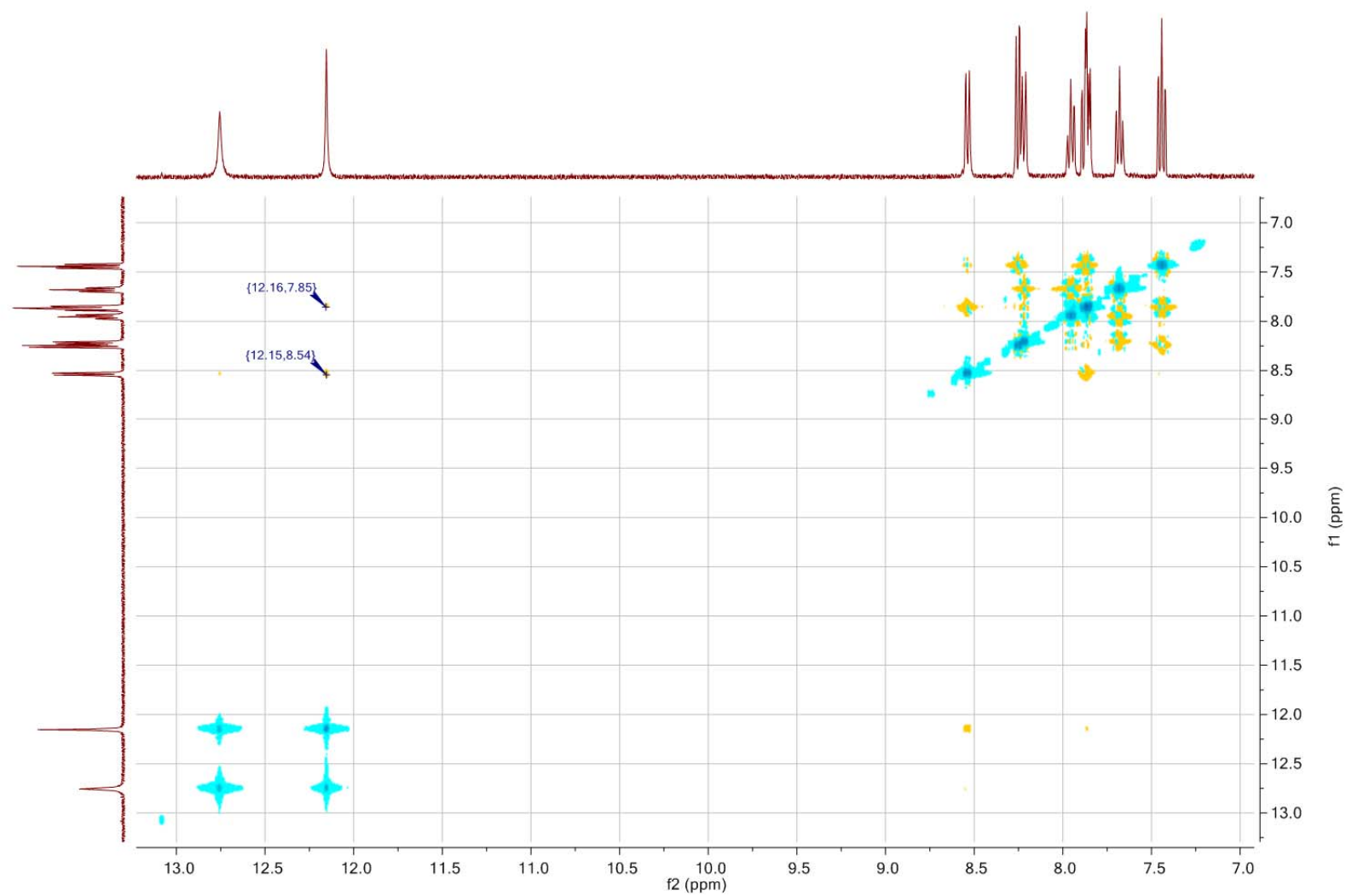
Tafel 2: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**1**) (DMSO-*d*₆)

IL1; 2-Nitrophenyl-Amid / DMSO 1H COSY



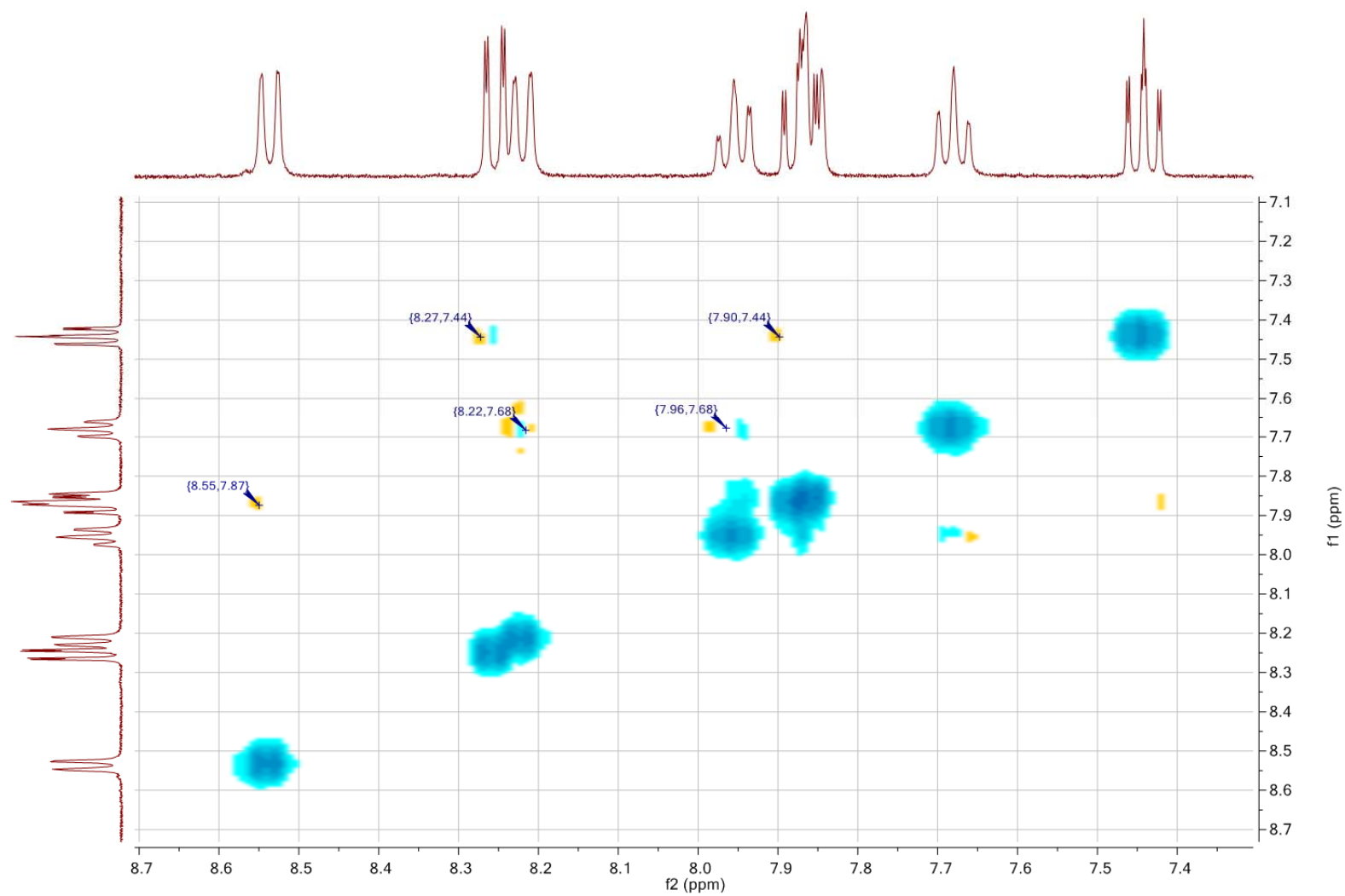
Tafel 3: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**1**) (DMSO-*d*₆)

IL1; 2-Nitrophenyl-Amid / DMSO 1H NOESY

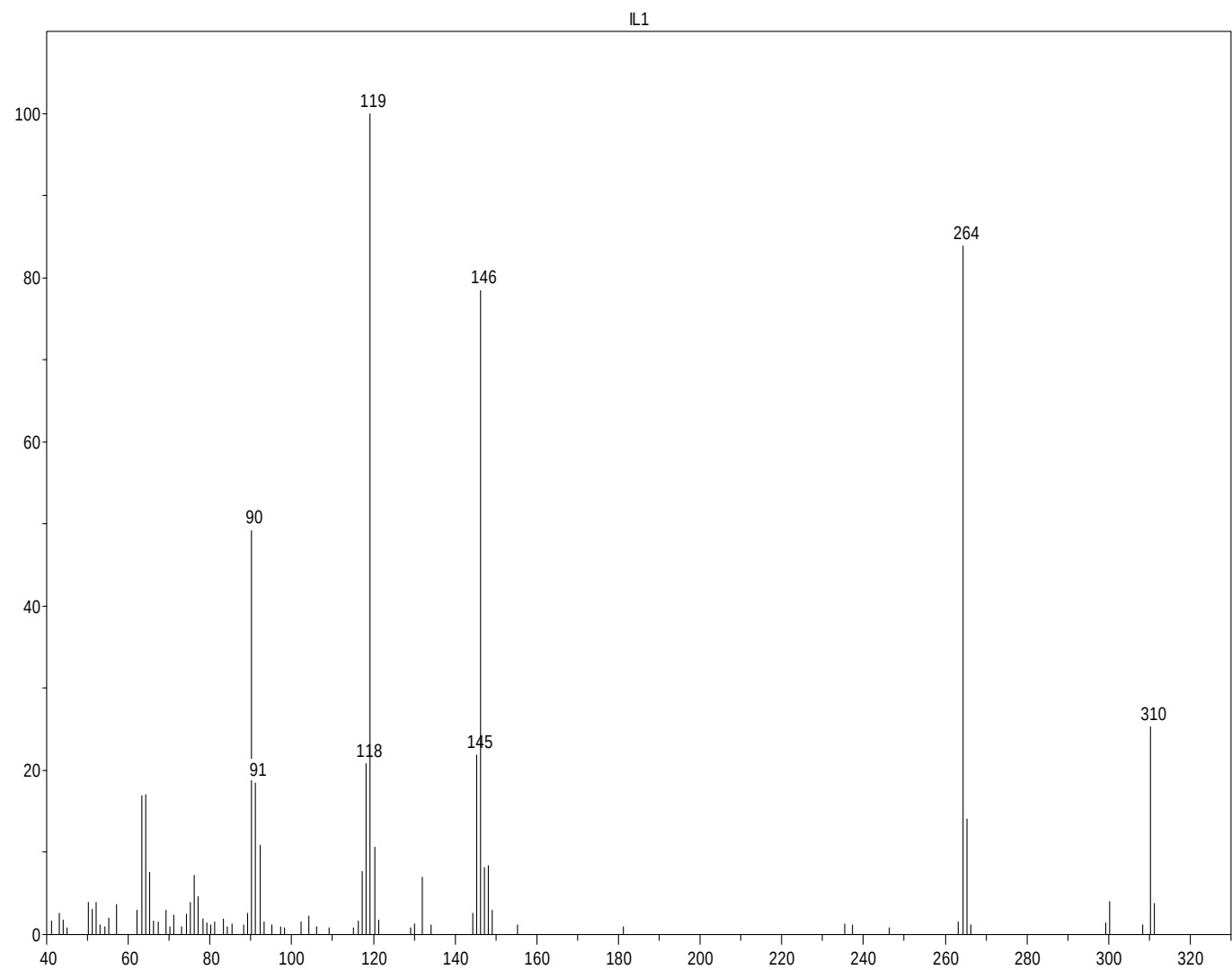


Tafel 4: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**1**) (DMSO-*d*₆)

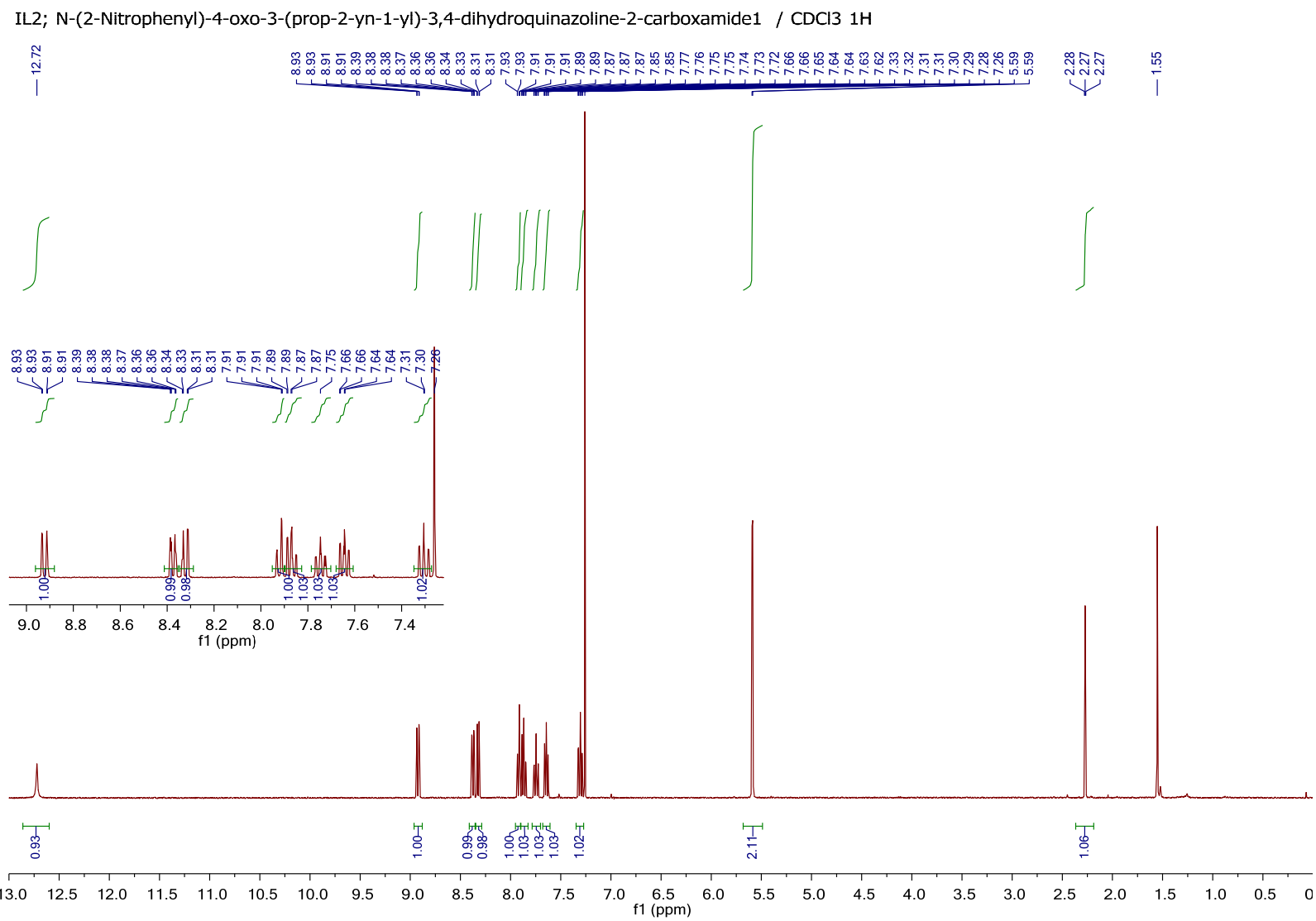
IL1; 2-Nitrophenyl-Amid / DMSO 1H NOESY



Tafel 5: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**1**) (DMSO-*d*₆)

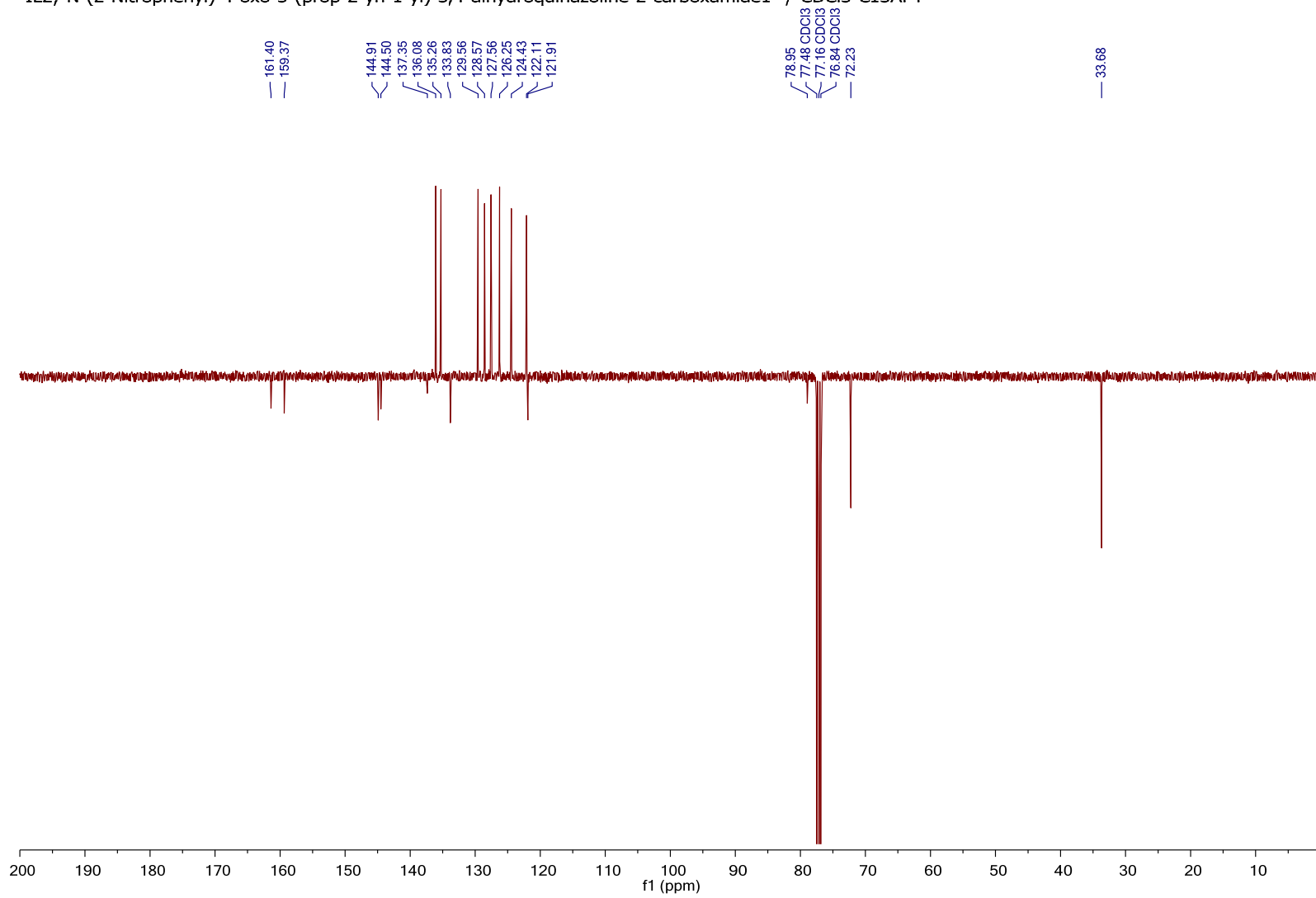


Tafel 6: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**1**)



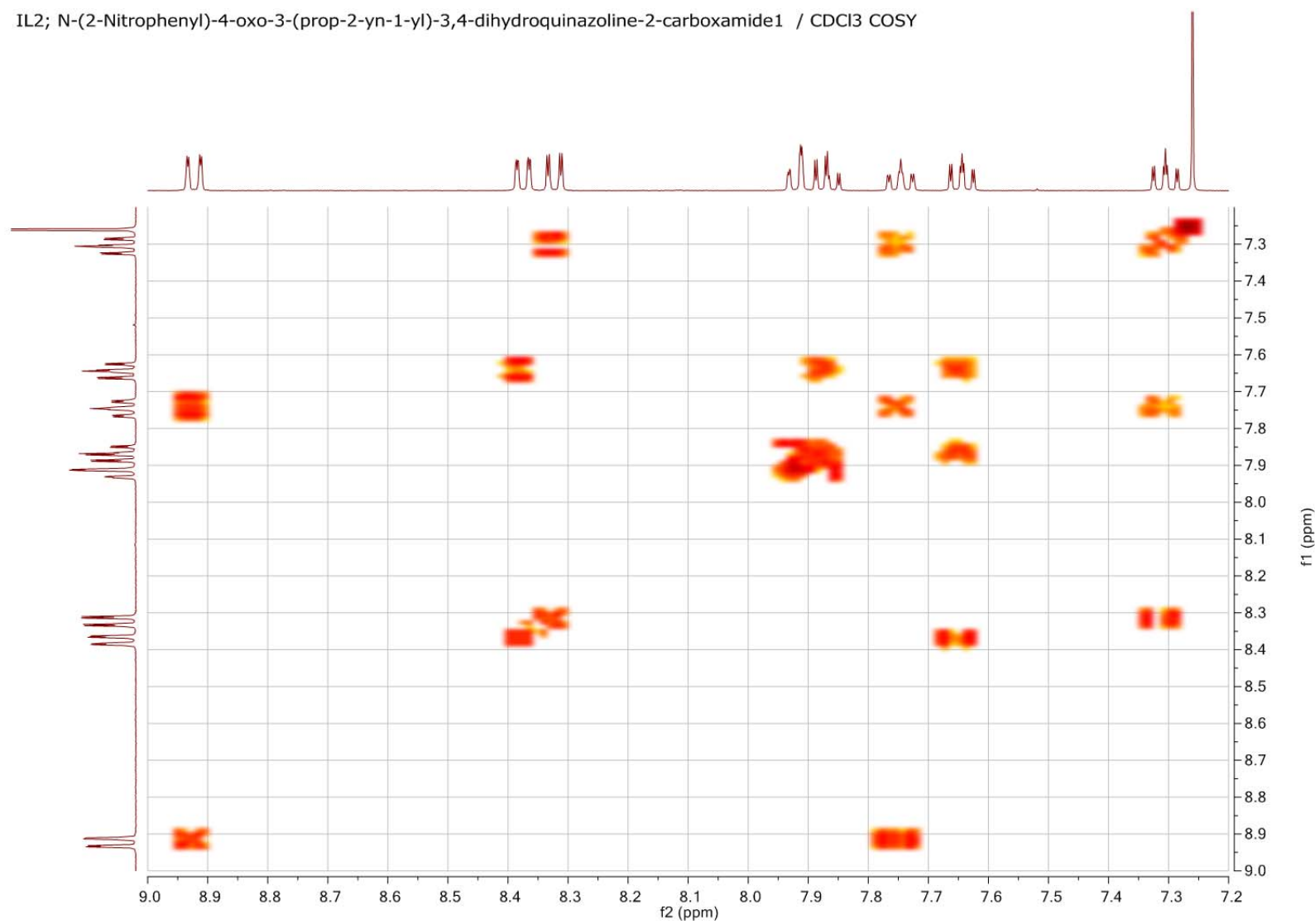
Tafel 7: N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2) (CDCl₃)

IL2; N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide1 / CDCl₃ C13APT



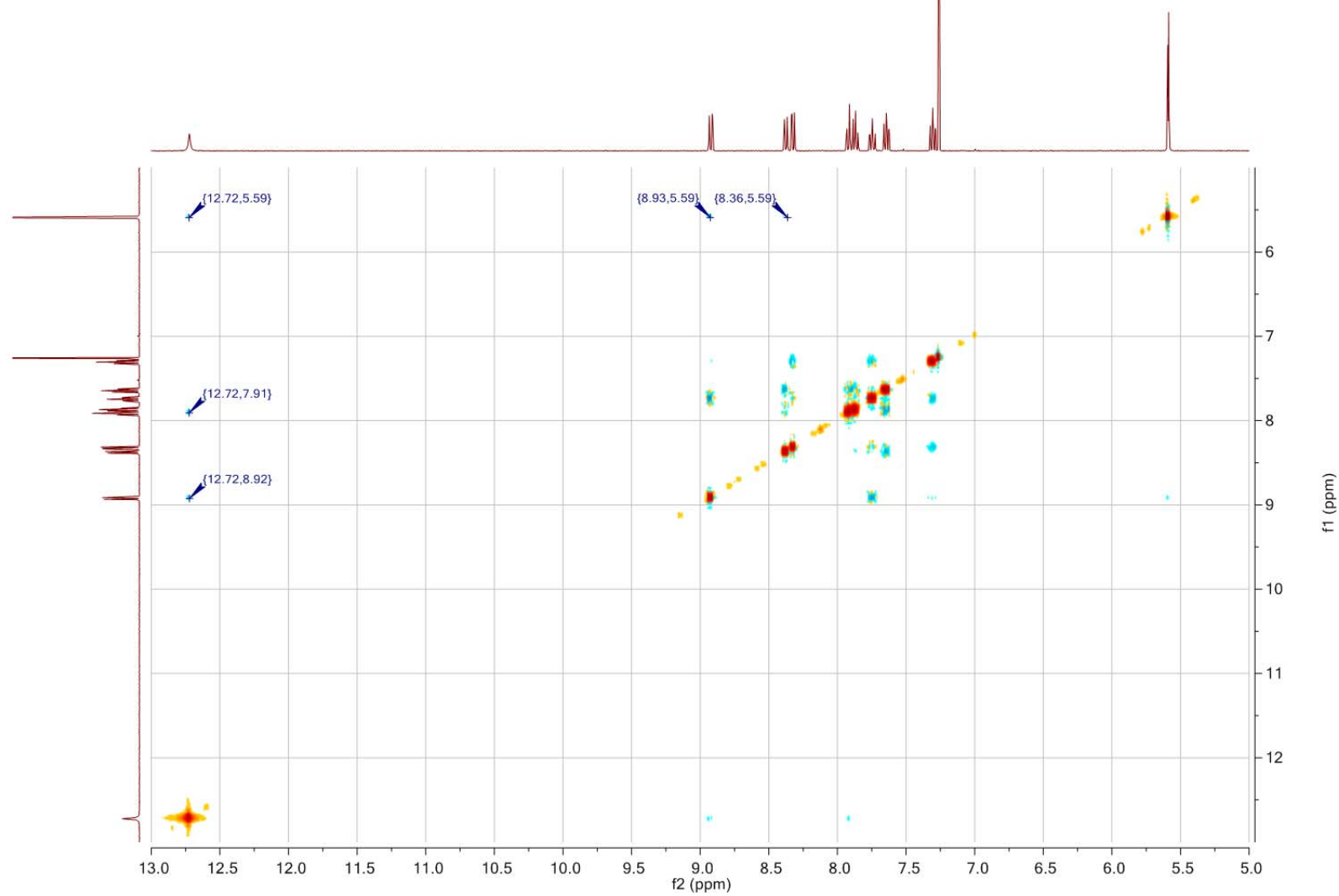
Tafel 8: N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2) (CDCl₃)

IL2; N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide1 / CDCl₃ COSY



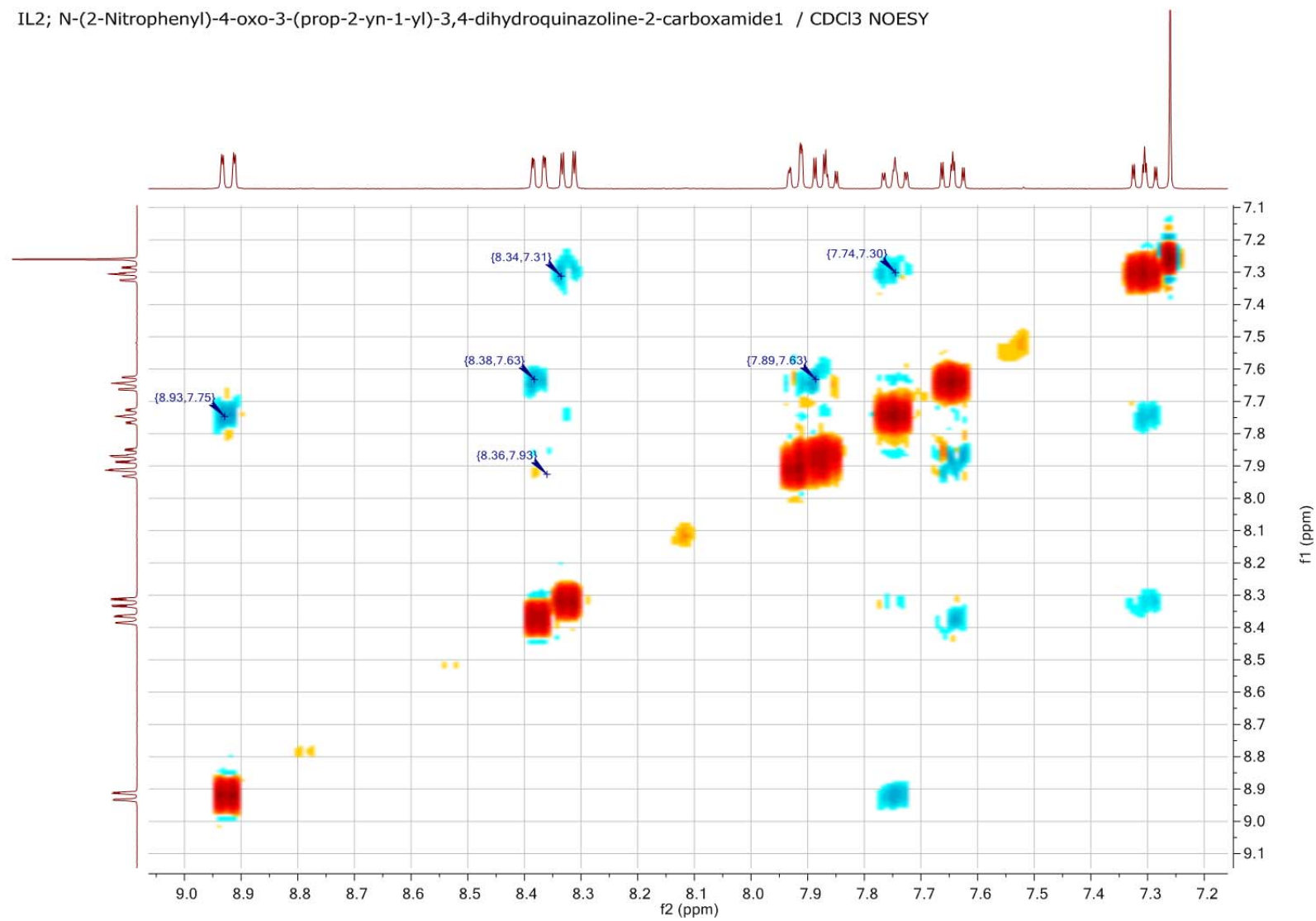
Tafel 9: N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2) (CDCl₃)

IL2; N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide1 / CDCl₃ NOESY

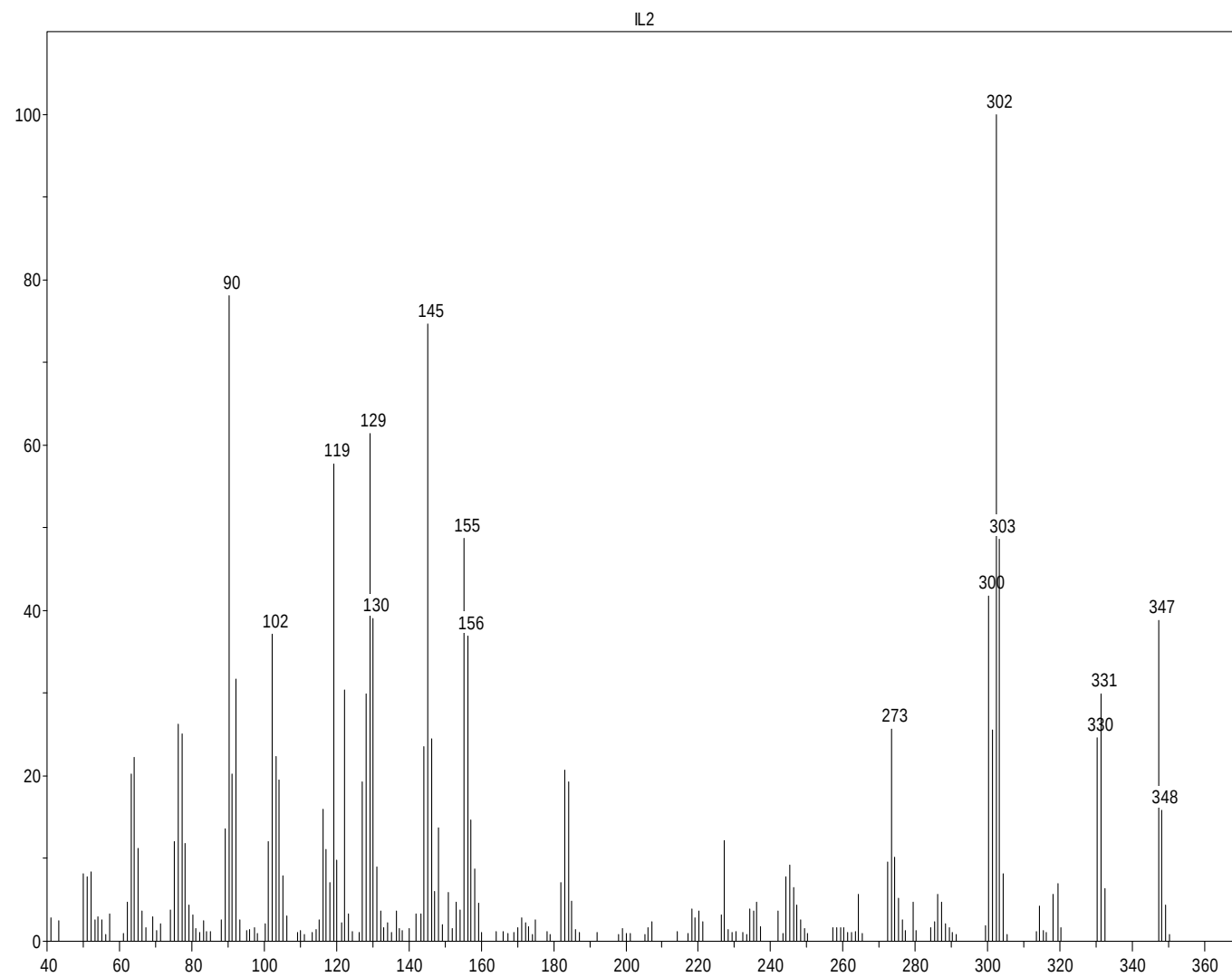


Tafel 10: N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2) (CDCl₃)

IL2; N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide1 / CDCl₃ NOESY

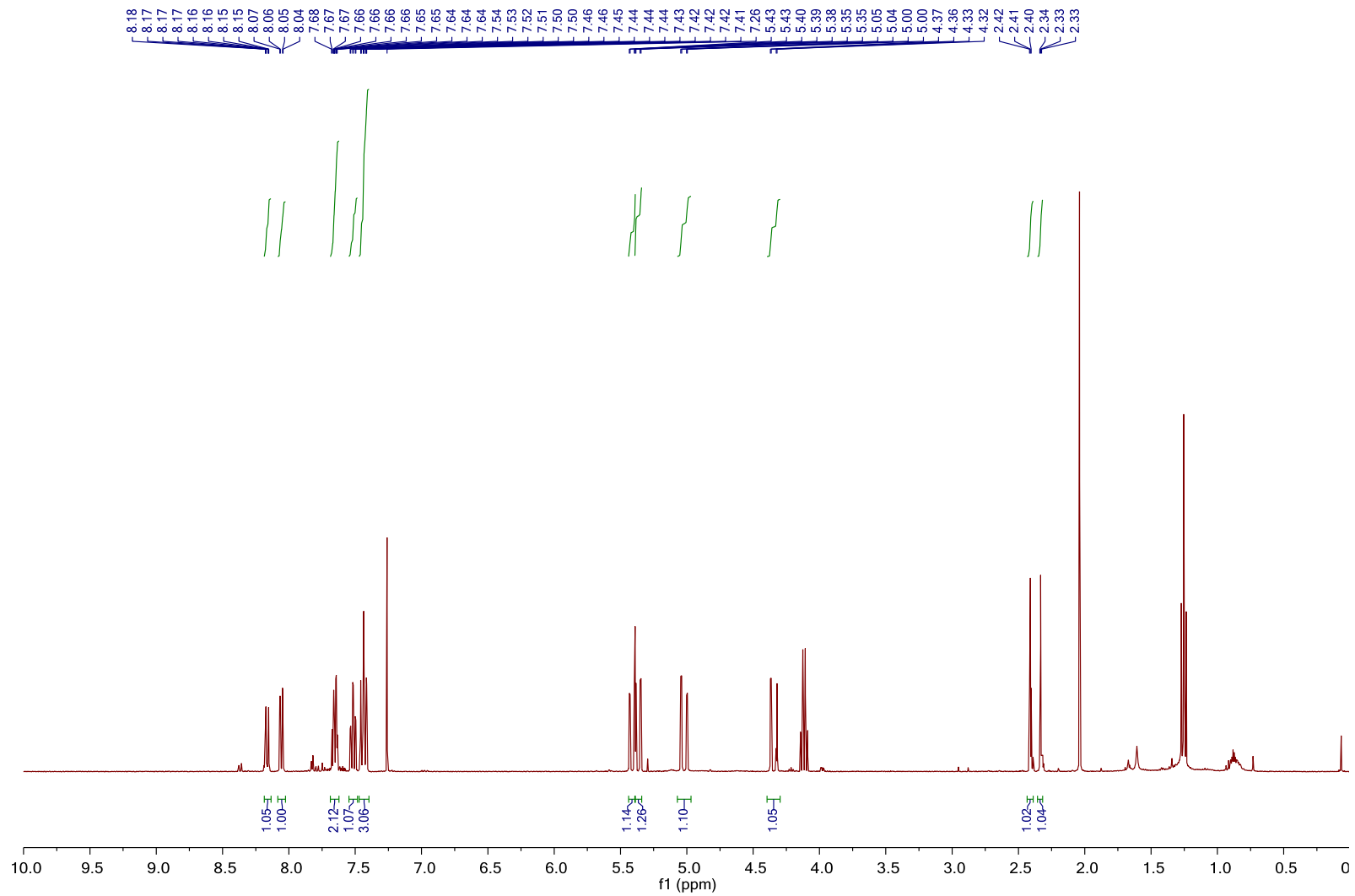


Tafel 11: N-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (2) (CDCl₃)



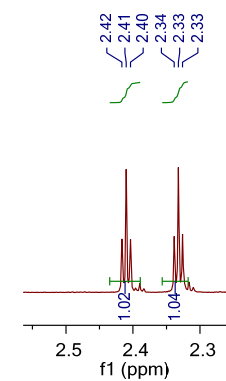
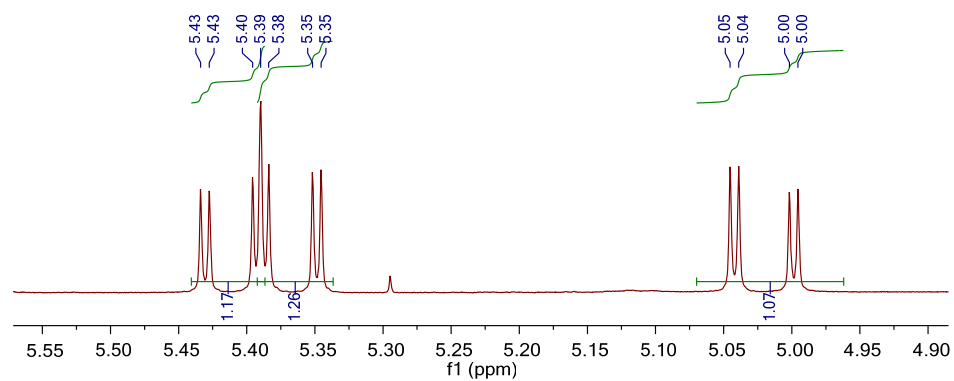
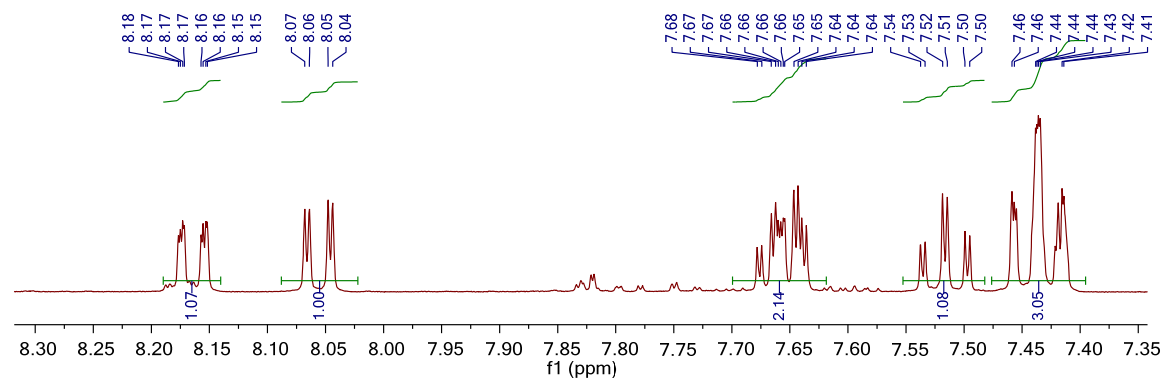
Tafel 12: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**2**)

IL3; ex IL1 mit kleinem Ueberschuss Propargylbromid, SC Fraktion 2 / CDCl₃ 1H



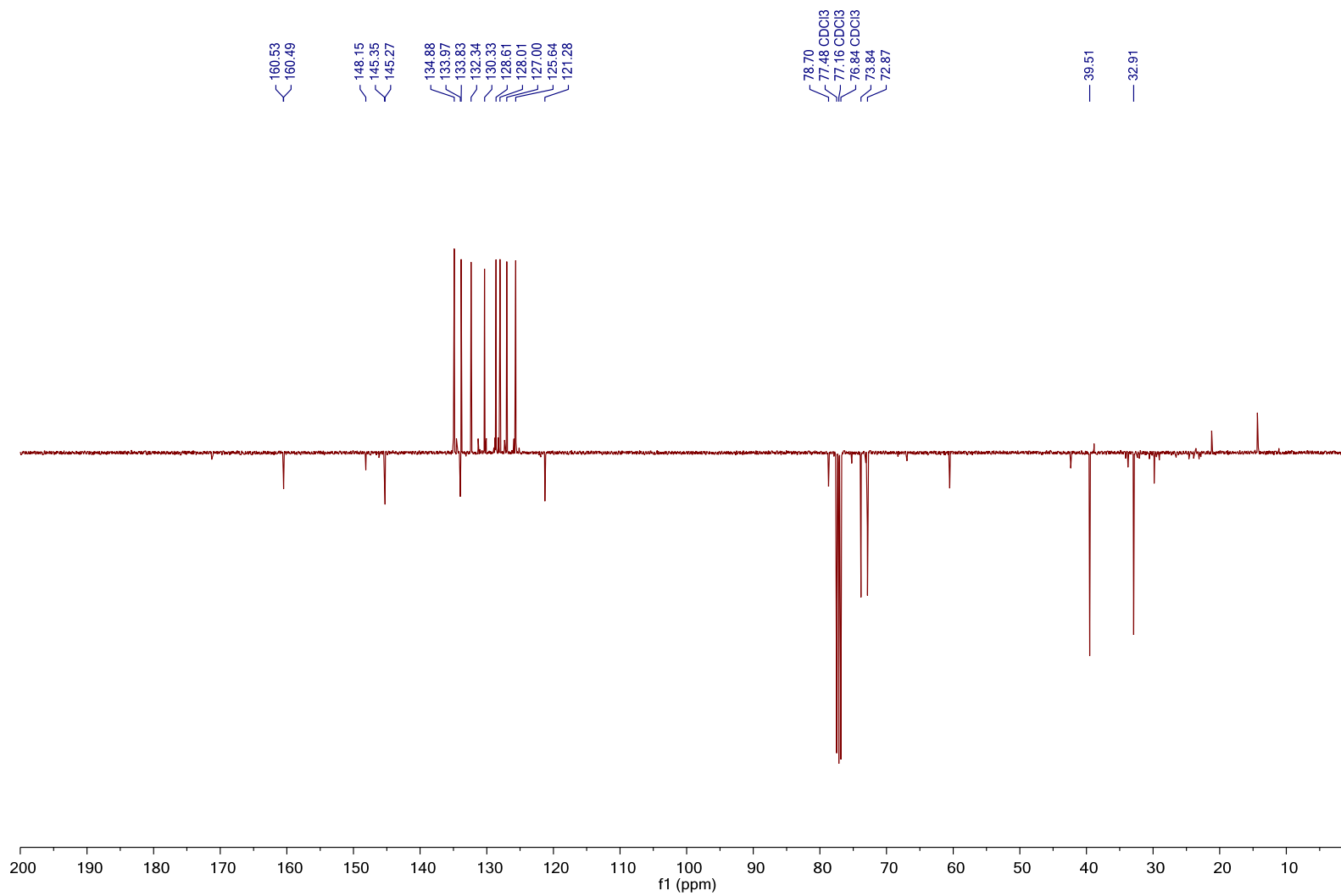
Tafel 13: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-*N*,3-di(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) (CDCl₃)

IL3; ex IL1 mit kleinem Ueberschuss Propargylbromid, SC Fraktion 2 / CDCl₃ 1H



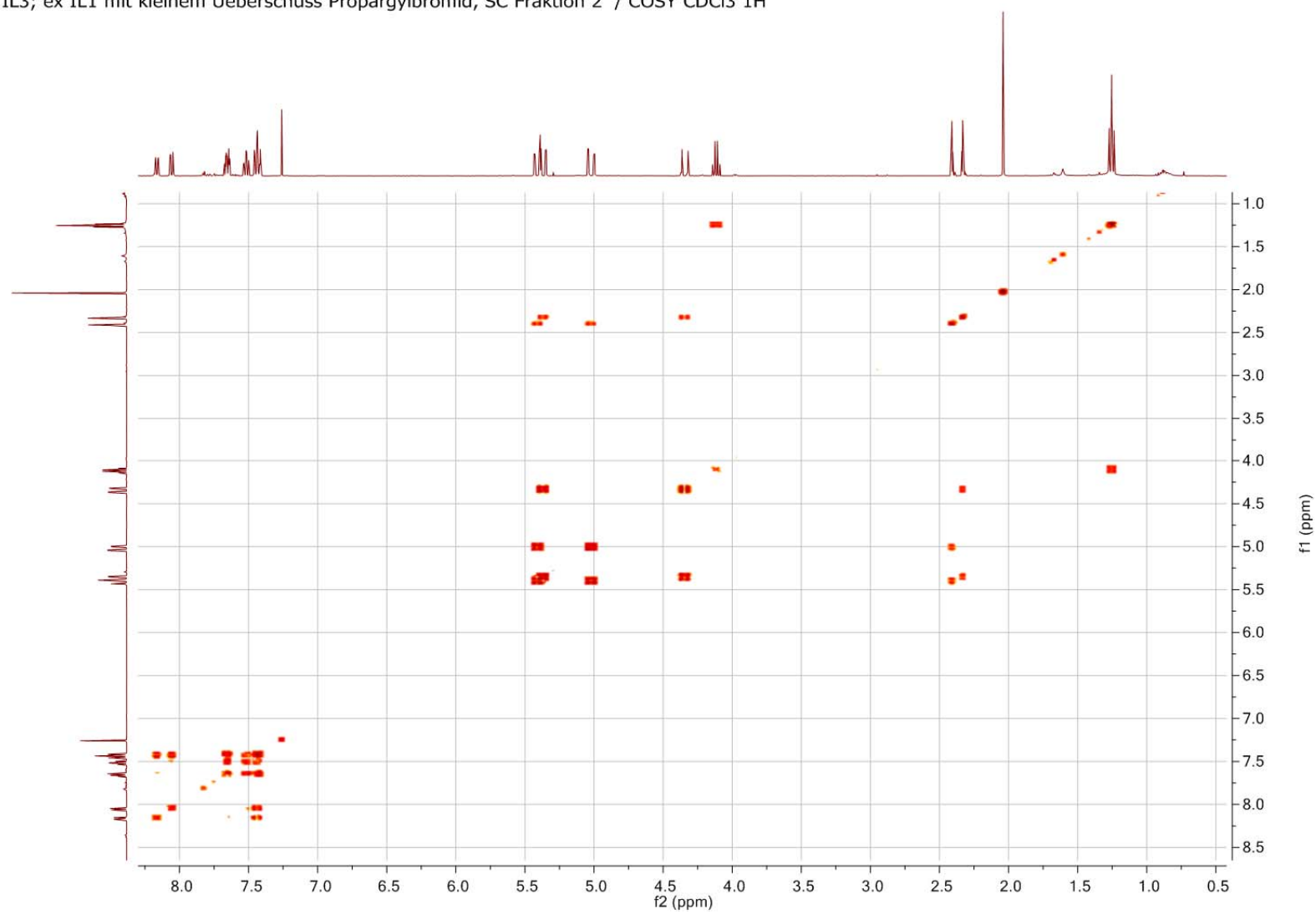
Tafel 14: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-*N*,3-di(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) (CDCl₃)

IL3; ex IL1 mit kleinem Ueberschuss Propargylbromid, SC Fraktion 2 / C13APT CDCl₃ 1H



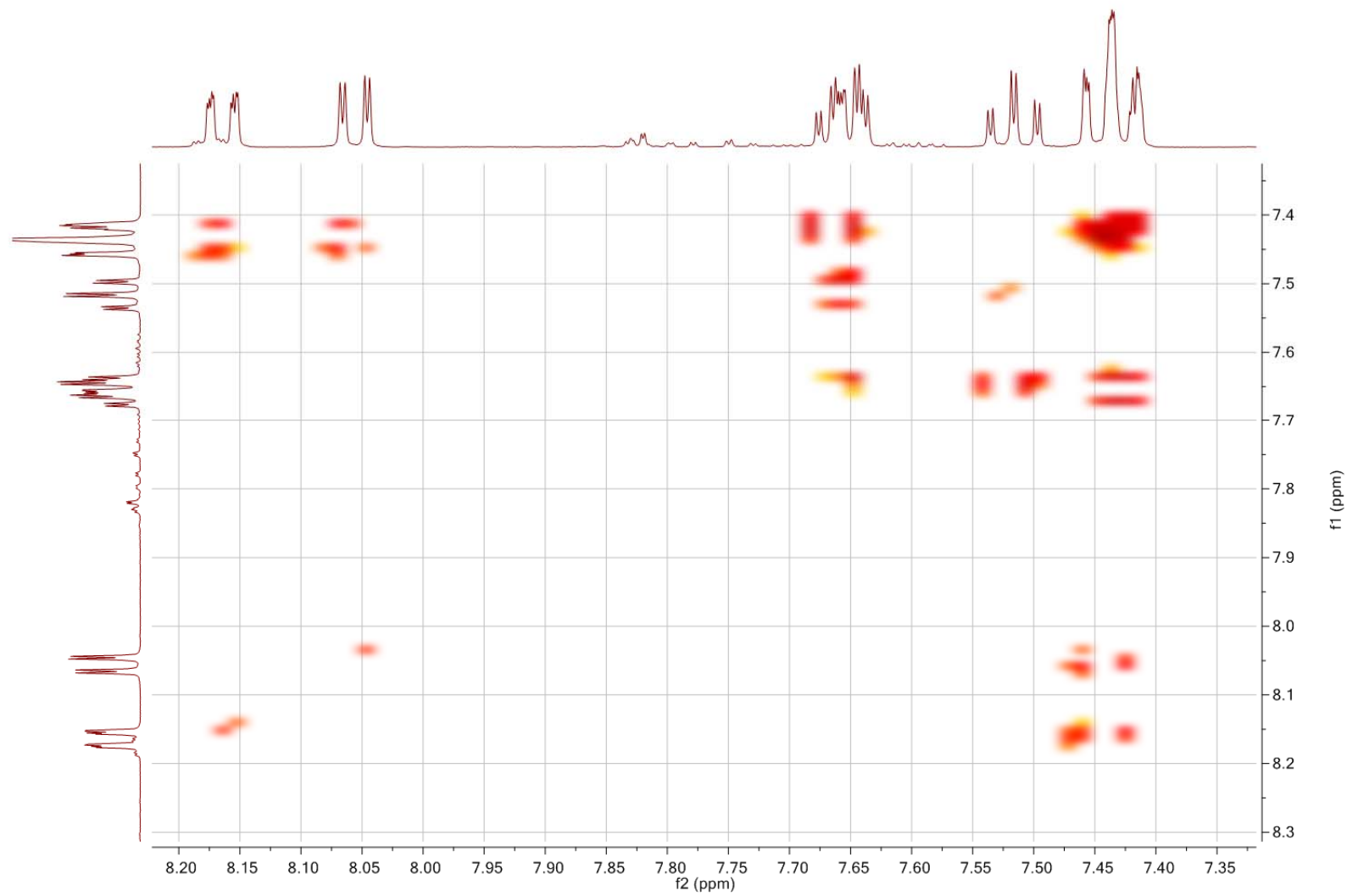
Tafel 15: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-*N*,3-di(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) (CDCl₃)

IL3; ex IL1 mit kleinem Ueberschuss Propargylbromid, SC Fraktion 2 / COSY CDCl₃ 1H



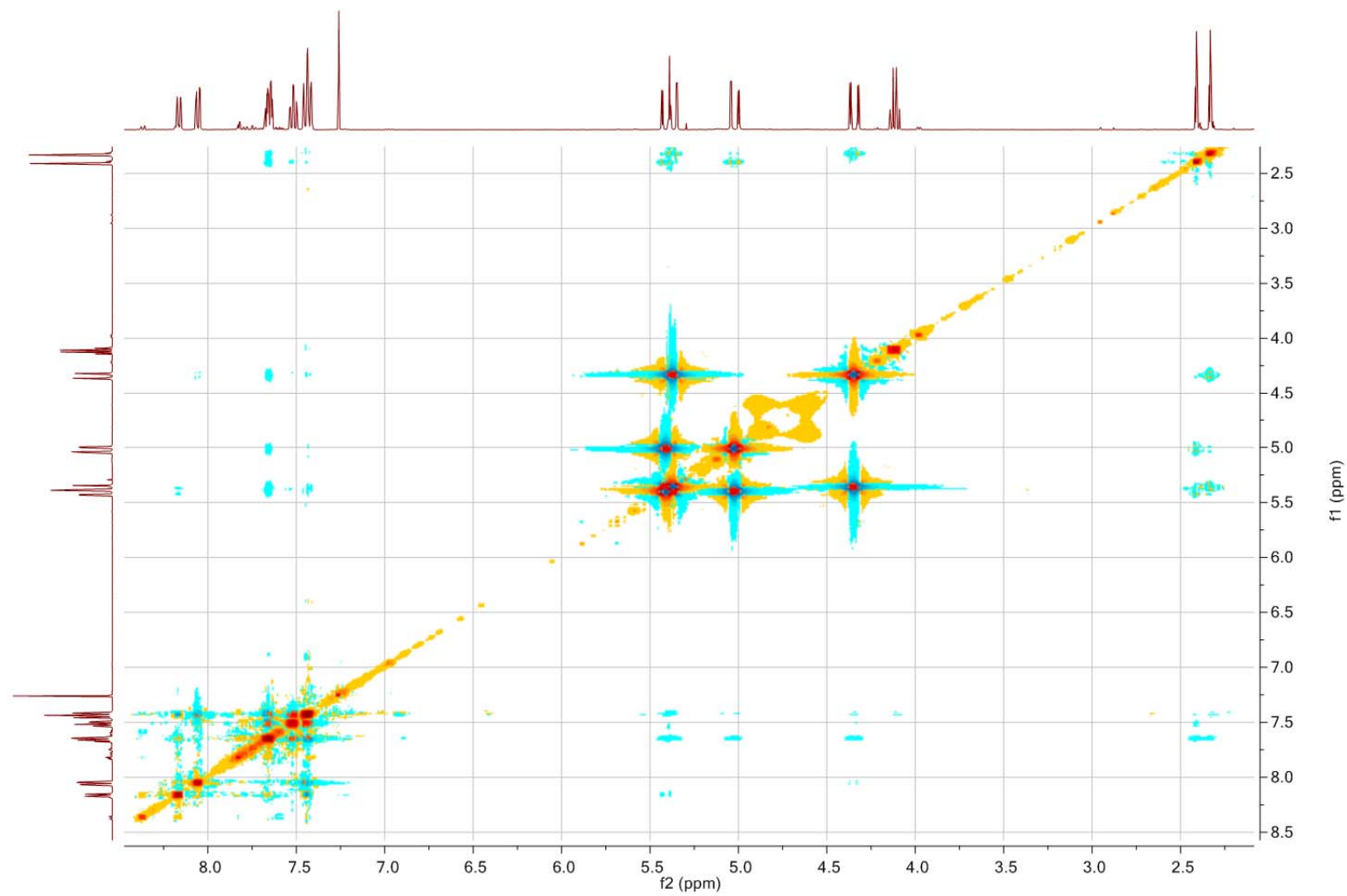
Tafel 16: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-*N*,3-di(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) (CDCl₃)

IL3; ex IL1 mit kleinem Ueberschuss Propargylbromid, SC Fraktion 2 / COSY CDCl₃ 1H



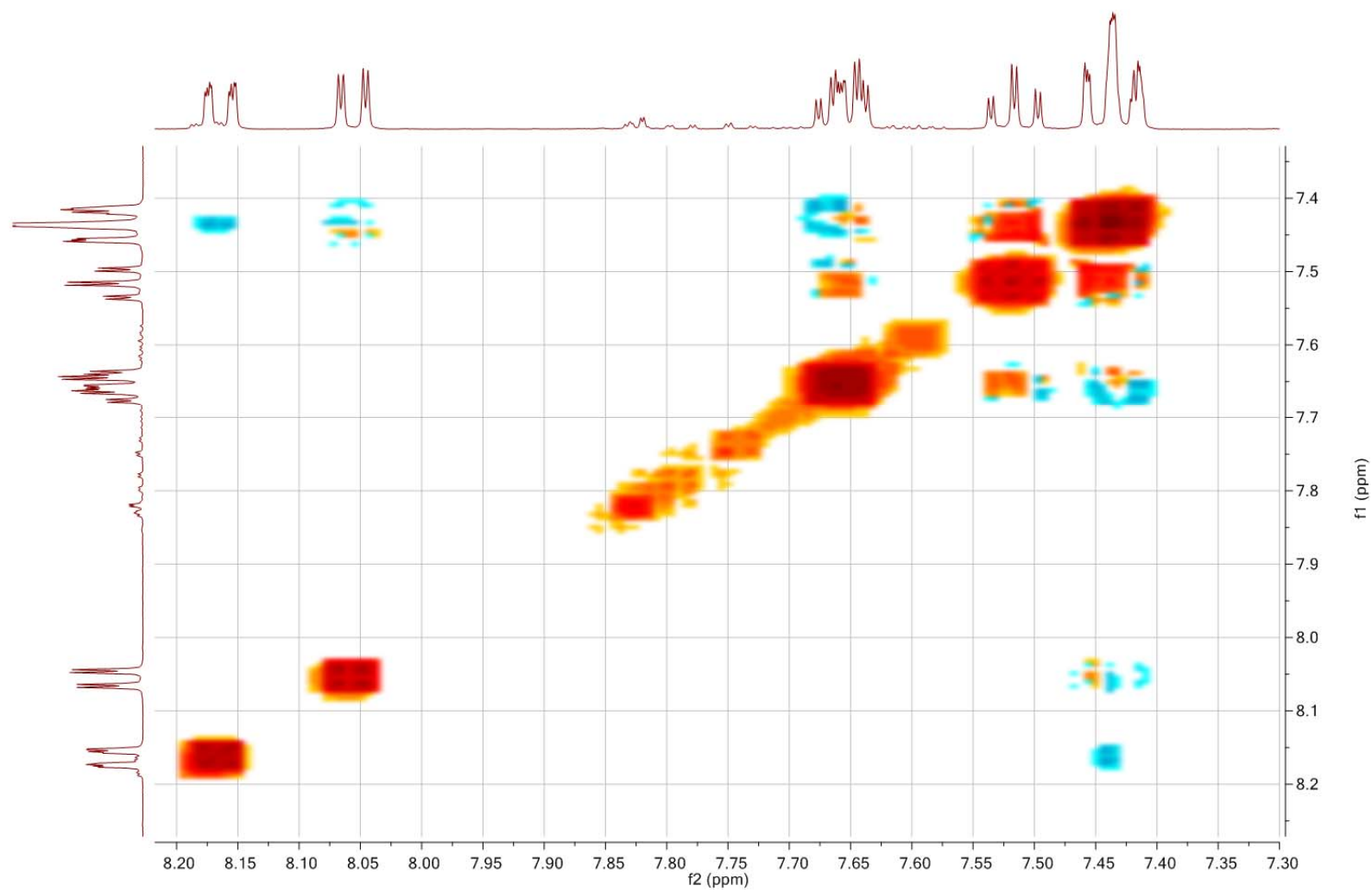
Tafel 17: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-*N*,3-di(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) (CDCl₃)

IL3; ex IL1 mit kleinem Ueberschuss Propargylbromid, SC Fraktion 2 / NOESY CDCl₃ 1H

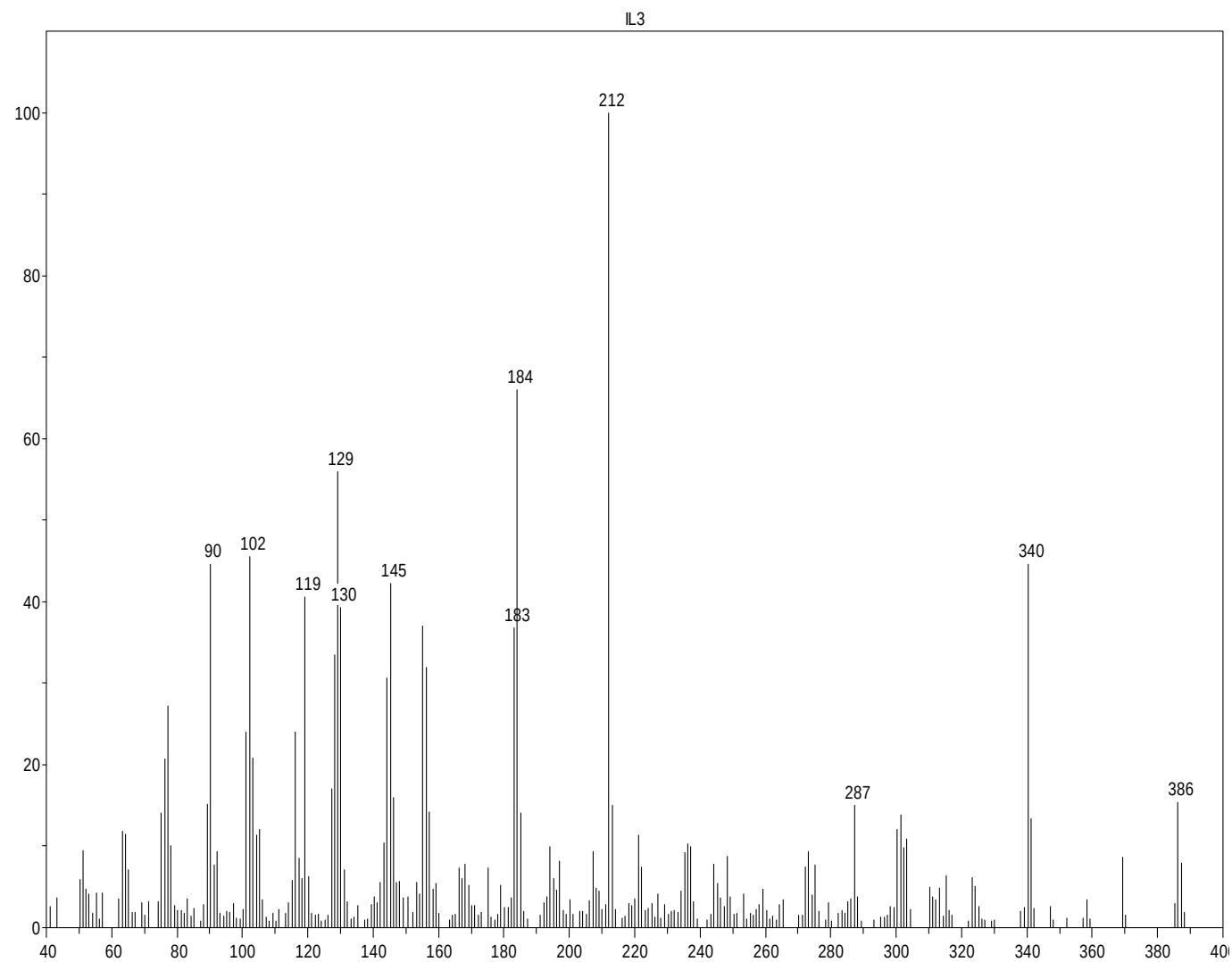


Tafel 18: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-*N*,3-di(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) (CDCl₃)

IL3; ex IL1 mit kleinem Ueberschuss Propargylbromid, SC Fraktion 2 / NOESY CDCl₃ 1H

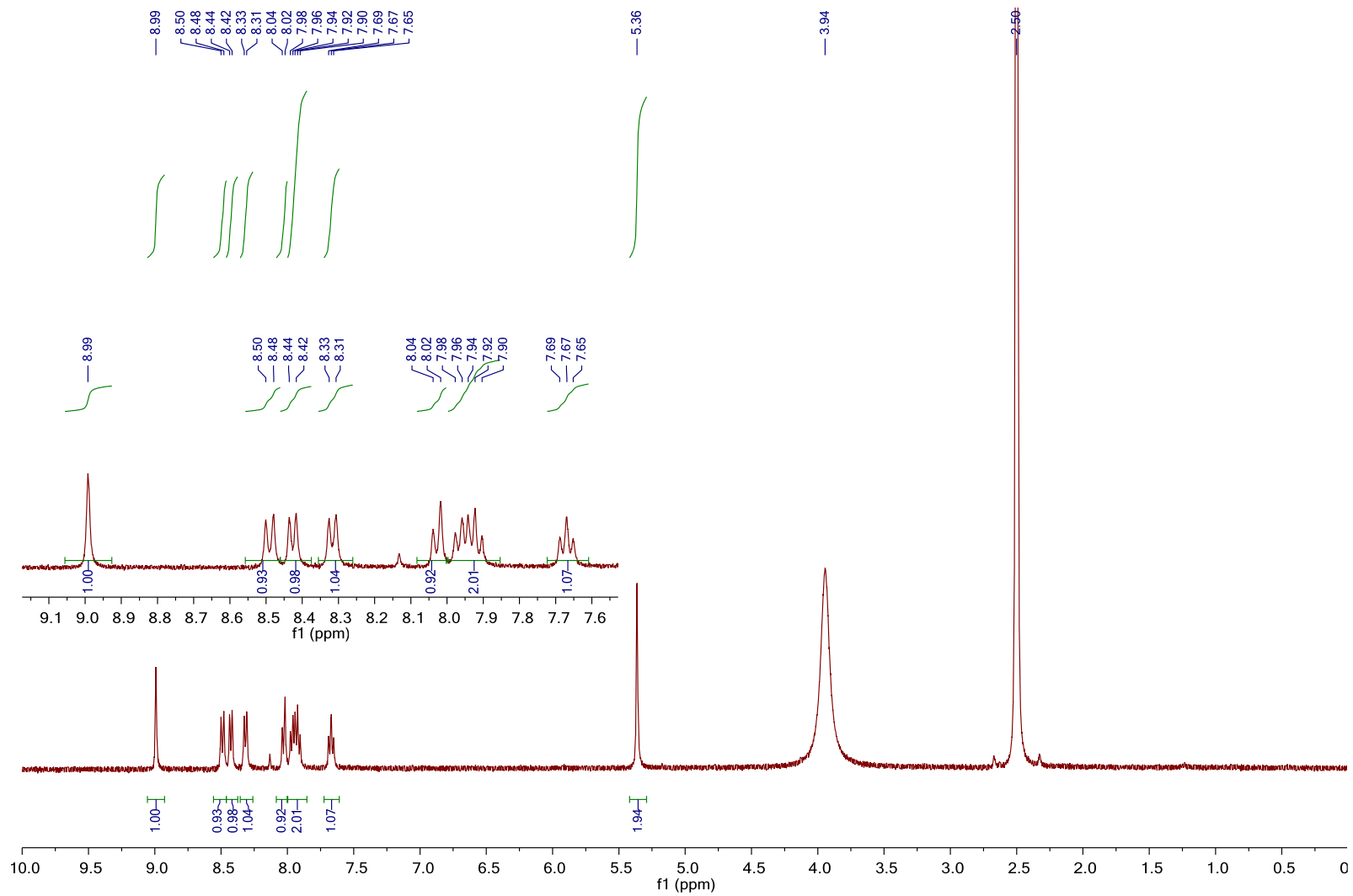


Tafel 19: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-*N*,3-di(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) (CDCl₃)



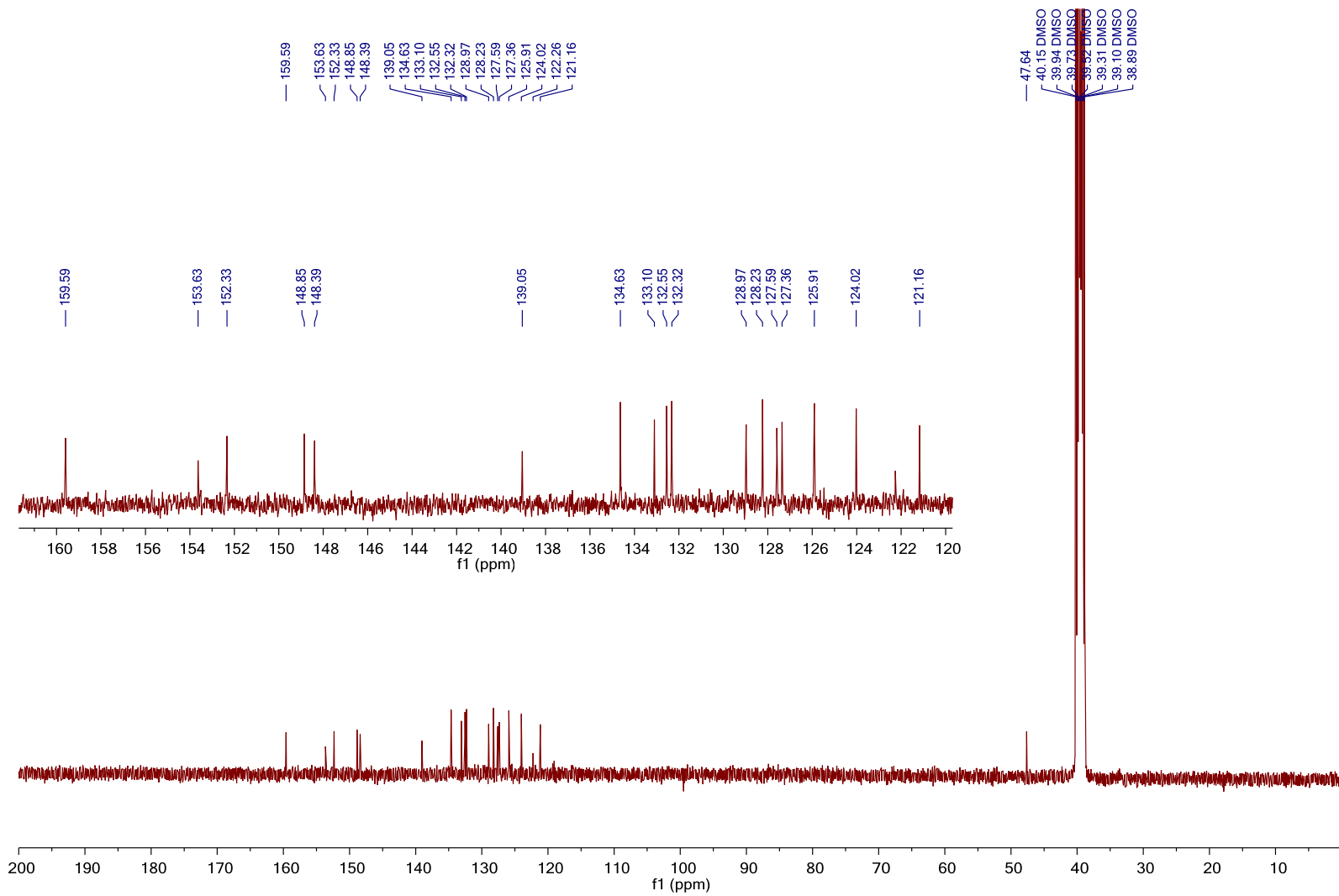
Tafel 20: *N*-(2-Nitrophenyl)-4-oxo-*N*,3-di(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

IL4; 4-Nitroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one / DMSO 1H



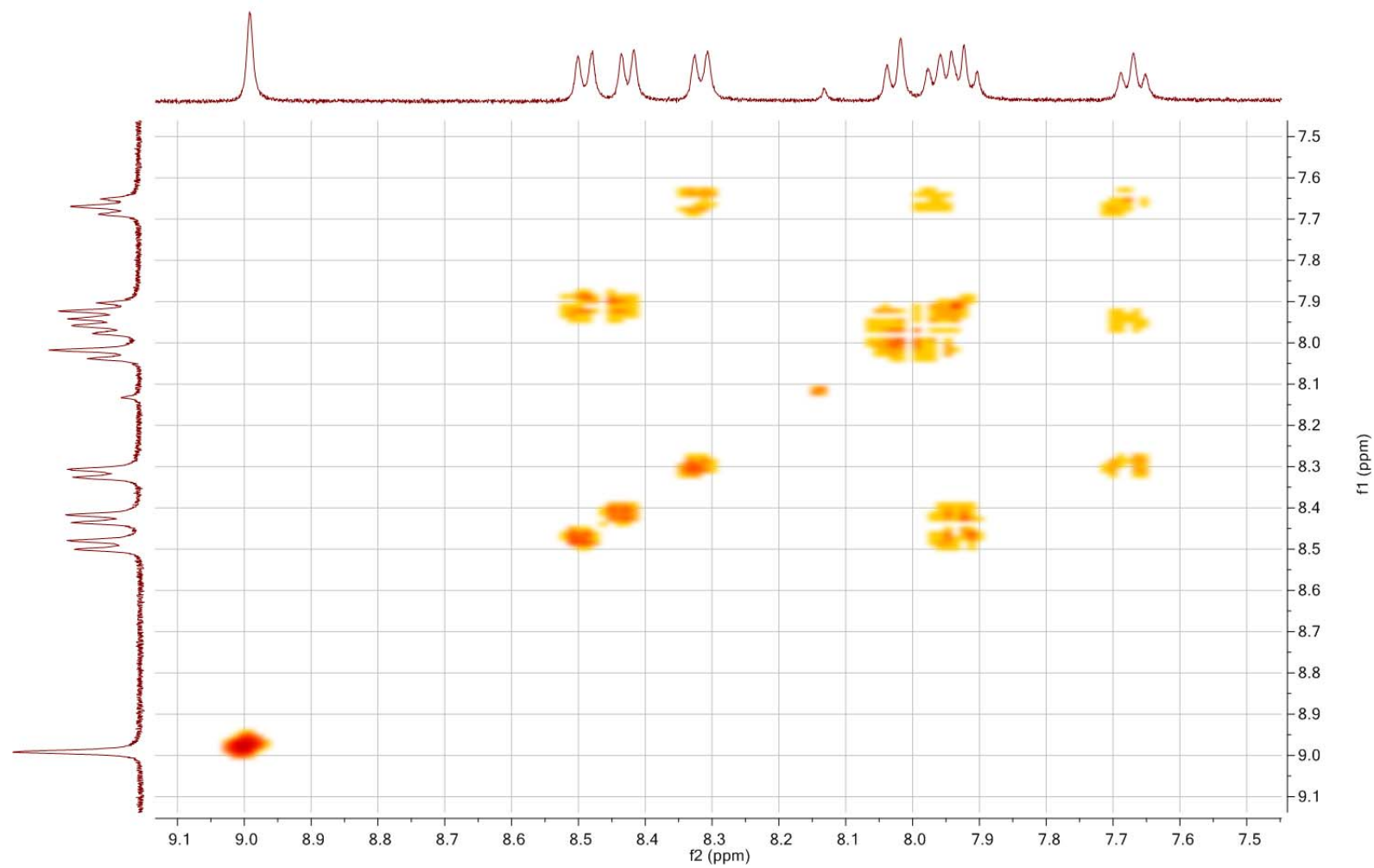
Tafel 21: 4-Nitrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (**4**; 12-Nitro-Luotonin A) ($\text{DMSO}-d_6$)

IL4; 4-Nitroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one / DMSO C13CPD



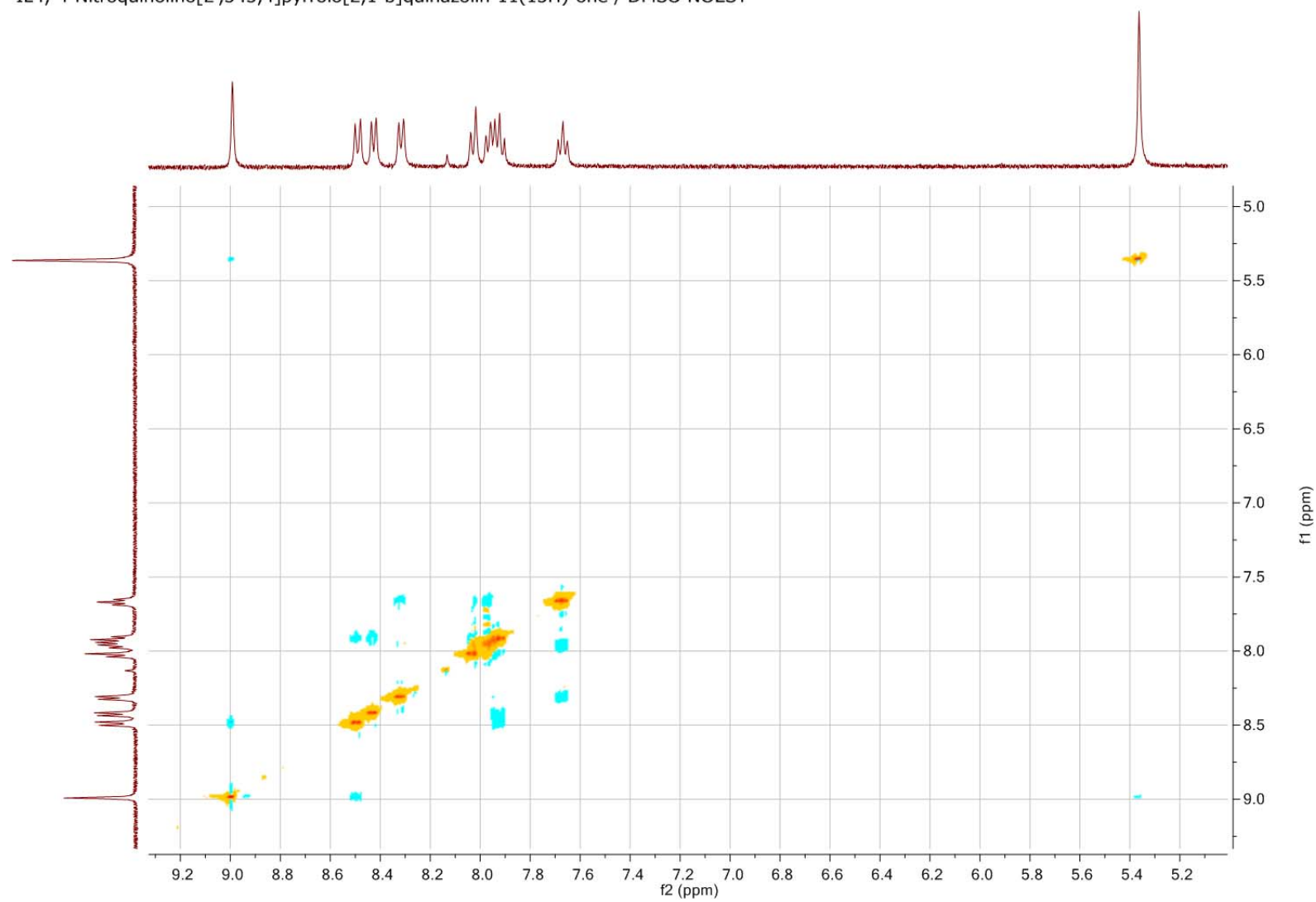
Tafel 22: 4-Nitrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (**4**; 12-Nitro-Luotonin A) (DMSO-*d*₆)

IL4; 4-Nitroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one / DMSO COSY

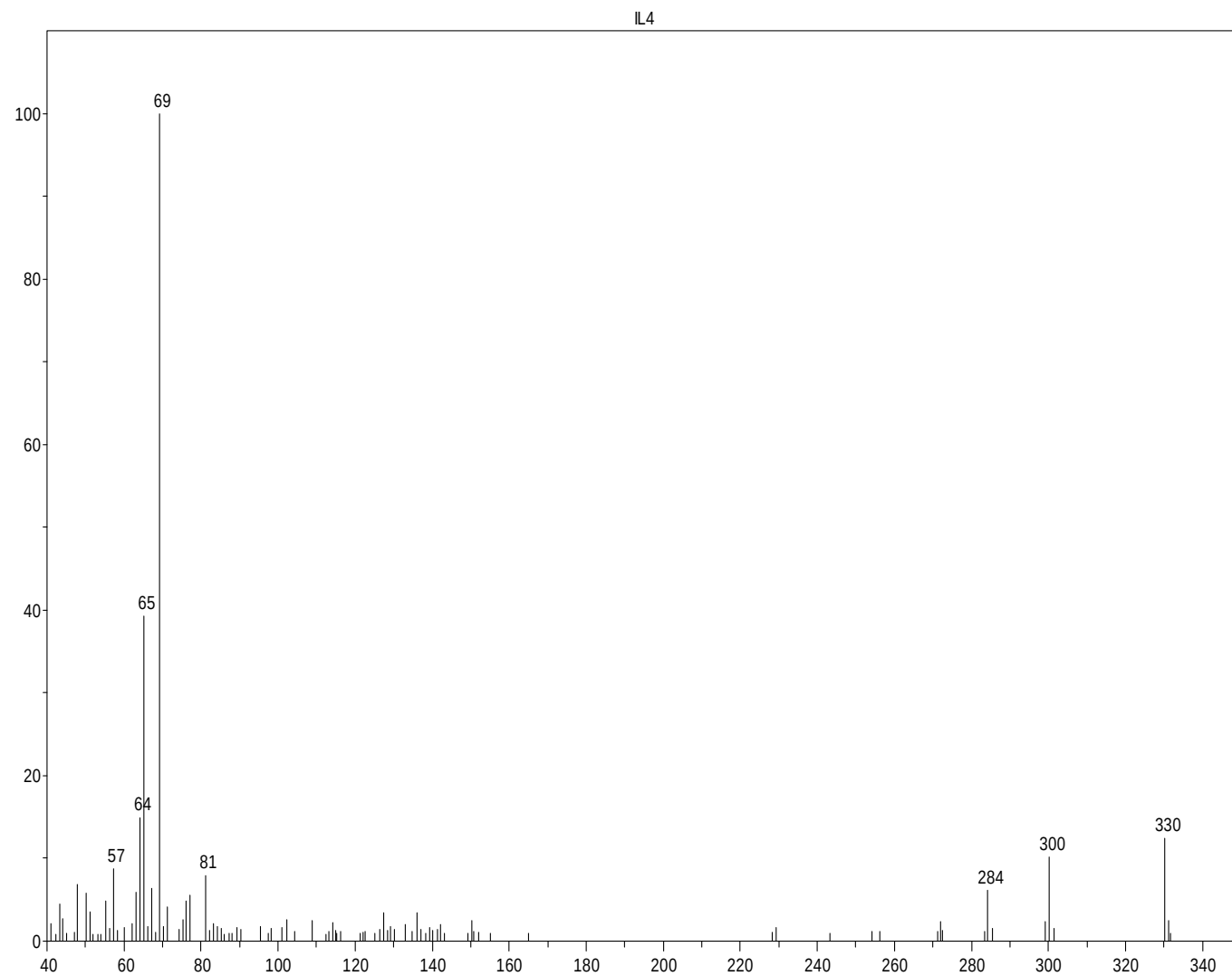


Tafel 23: 4-Nitrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (**4**; 12-Nitro-Luotonin A) (DMSO-*d*₆)

IL4; 4-Nitroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one / DMSO NOESY

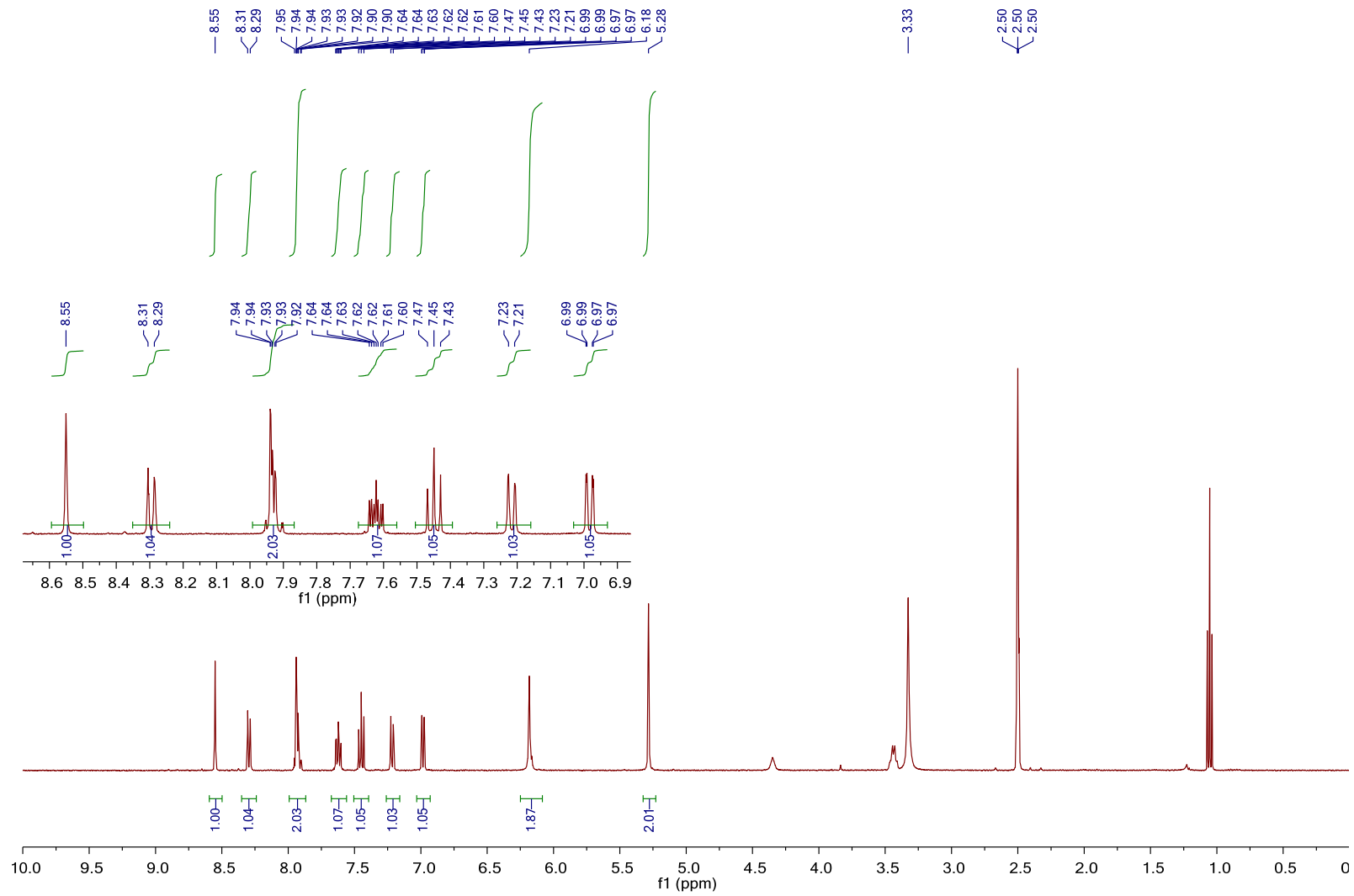


Tafel 24: 4-Nitrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (**4**; 12-Nitro-Luotonin A) (DMSO-*d*₆)



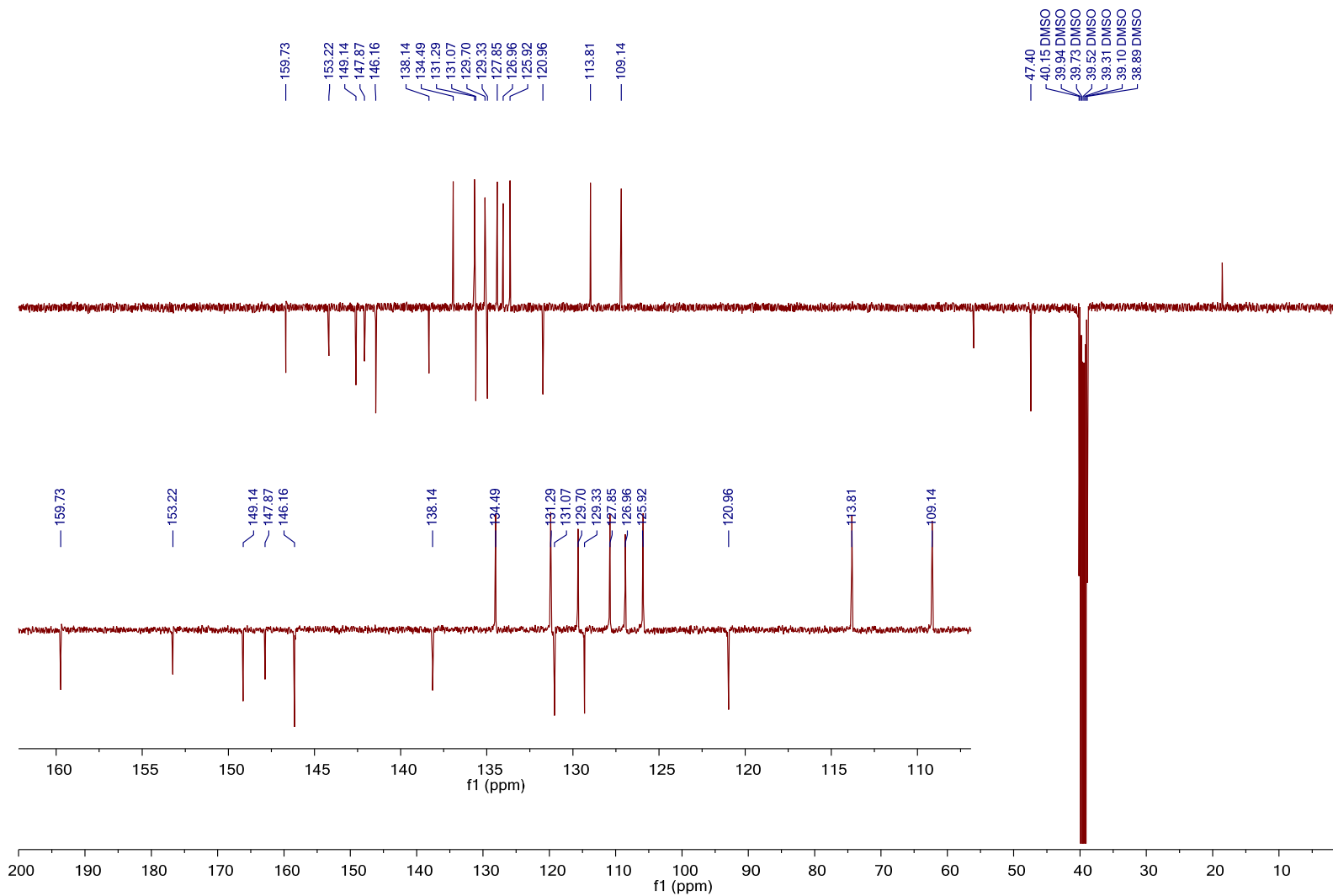
Tafel 25: 4-Nitrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**4**; 12-Nitro-Luotonin A)

IL5; 4-Aminoquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one / DMSO 1H



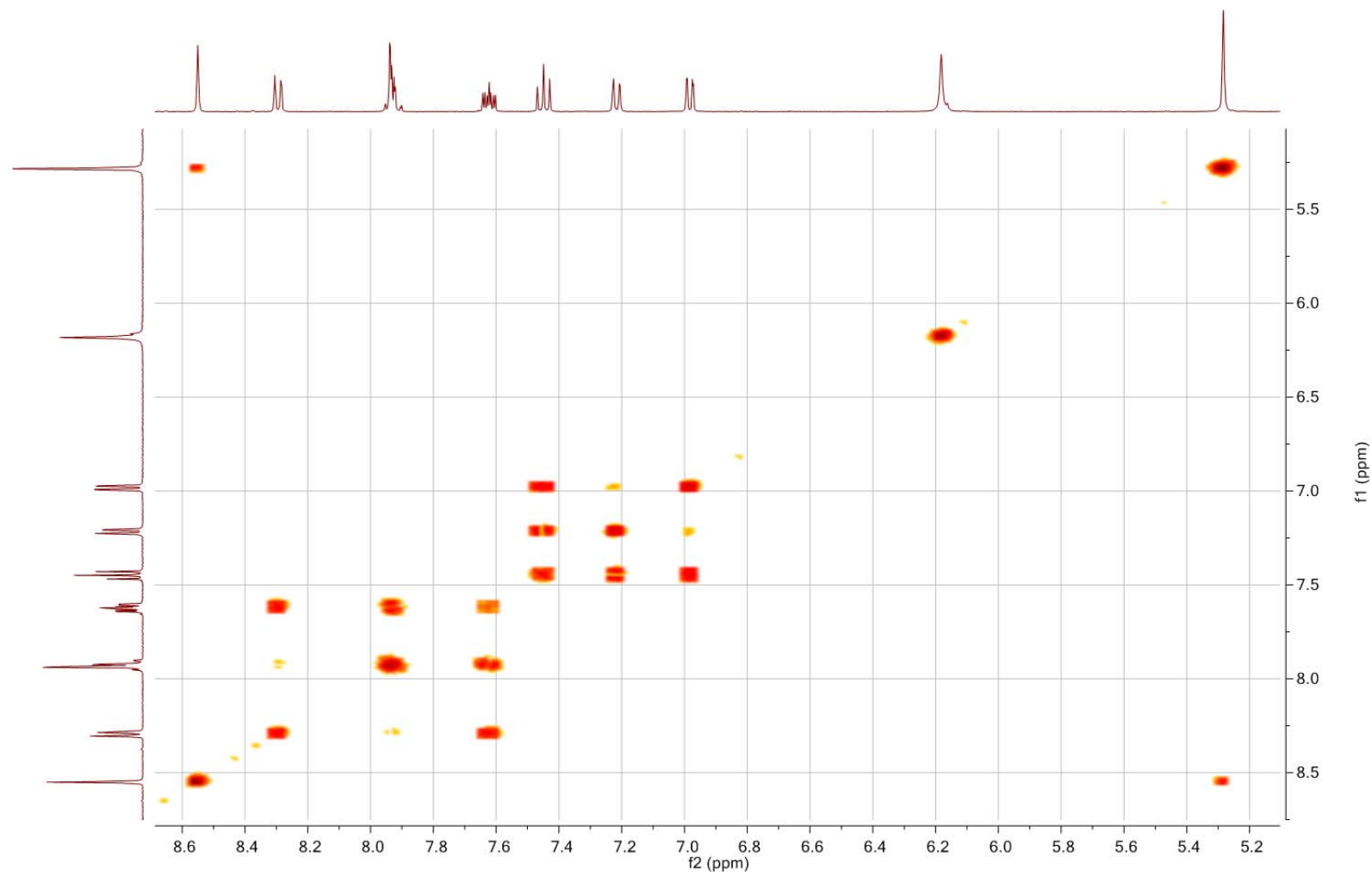
Tafel 26: 4-Aminochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (5; 12-Amino-Luotonin A) (DMSO- d_6)

IL5; 4-Aminoquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one / DMSO C13APT



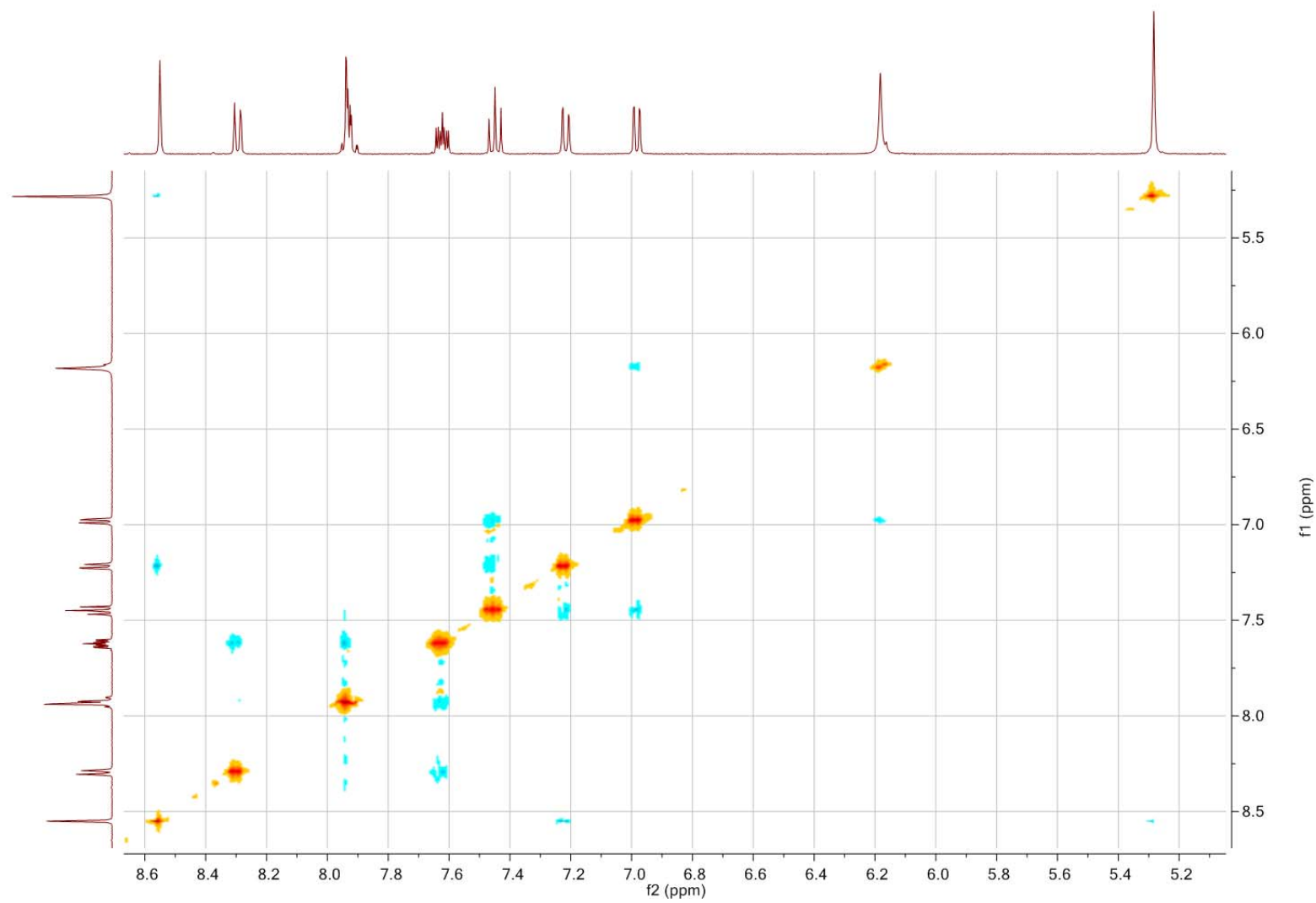
Tafel 27: 4-Aminochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (5; 12-Amino-Luotonin A) (DMSO-d₆)

IL5; 4-Aminoquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one / DMSO COSY

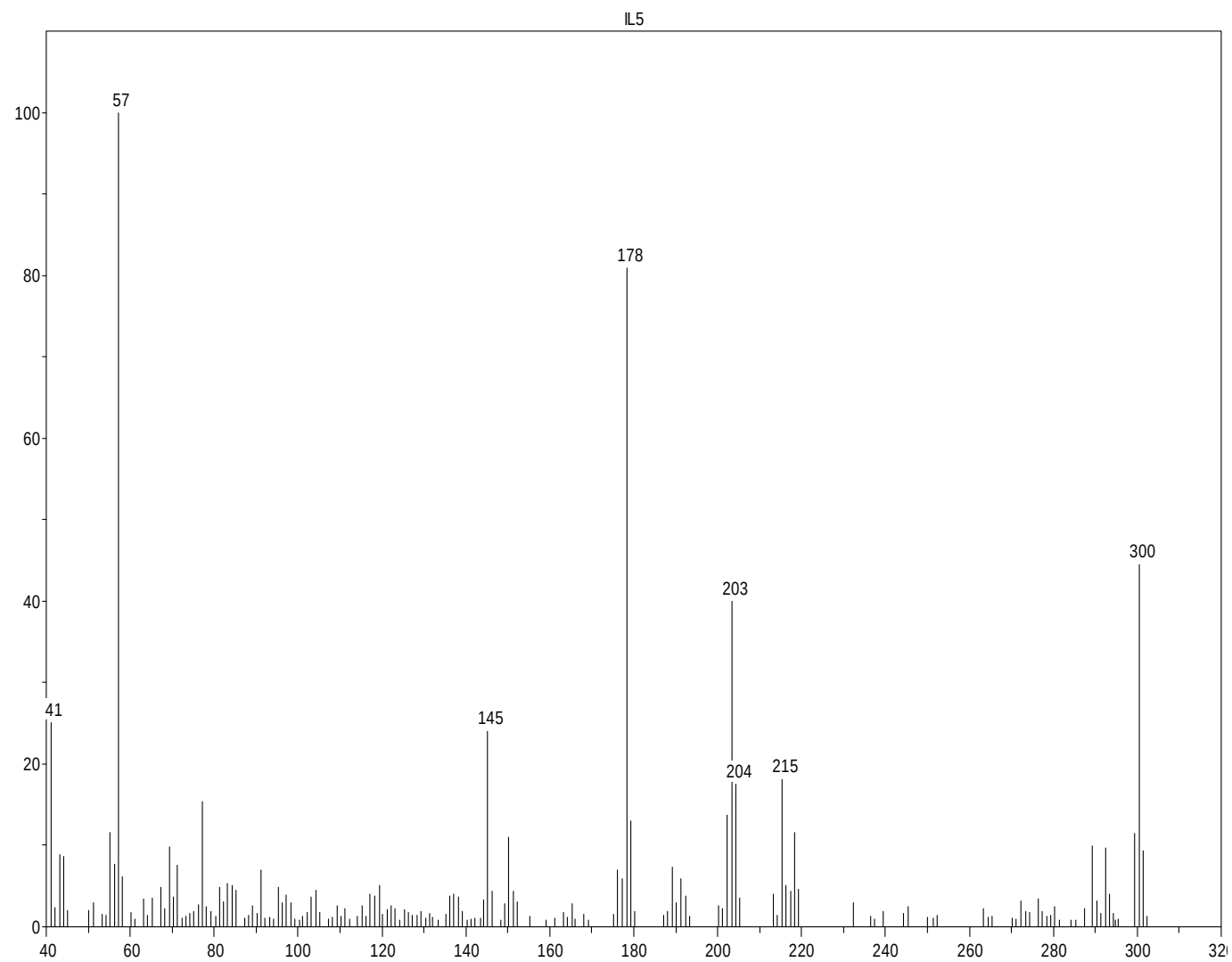


Tafel 28: 4-Aminochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (5; 12-Amino-Luotonin A) (DMSO-*d*₆)

IL5; 4-Aminoquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one / DMSO NOESY



Tafel 29: 4-Aminochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (5; 12-Amino-Luotonin A) (DMSO- d_6)



Tafel 30: 4-Aminochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (5; 12-Amino-Luotonin A)

Zusammenfassung

Gegenstand der vorliegenden Diplomarbeit ist die Synthese von 12-Amino-Luotonin A, einem Derivat des Naturstoffes Luotonin A, welcher aufgrund seiner Topoisomerase-I-Hemmwirkung seit einiger Zeit vermehrtes Interesse findet. Nachdem in der Arbeitsgruppe bereits drei andere Ring-A-Aminoderivate des Alkaloids erstmals synthetisiert worden waren, konnte nunmehr auch das noch fehlende 12-Amino-Isomer zugänglich gemacht werden.

Die Synthese geht vom literaturbekannten 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonsäureethylester aus, welcher mittels der Weinreb-Methode direkt in das entsprechende *N*-(2-Nitrophenyl)carboxamid umgewandelt wird. Im nächsten Schritt wird ein Propargylrest in Position N-3 des Chinazolinon-Systems eingeführt. Die dabei aufgetretenen Probleme (Zweit-substitution am Amid-Stickstoff) konnten durch Optimierung der Bedingungen für diese Alkylierungsreaktion gelöst werden. Das so erhaltene 3-Propargyl-Derivat unterliegt bei Behandlung mit „Hendrickson-Reagens“ einer intramolekularen [4+2]-Cycloadditionsreaktion unter Bildung von 12-Nitro-Luotonin A. Im letzten Schritt der Sequenz wird die Nitrogruppe mittels katalytischer Transferhydrierung zur Aminogruppe reduziert.

Die Zielverbindung 12-Amino-Luotonin A wurde ebenso wie alle anderen neuen Verbindungen mittels spektroskopischer Methoden vollständig charakterisiert und soll in nächster Zeit auf ihre Antitumor-Wirkung getestet werden.

Lebenslauf

<u>Name:</u>	Ivan Louko
<u>Geburtsdatum:</u>	20.07.1985
<u>Anschrift:</u>	Am Modenapark 8–9/7/4, 1030 Wien
<u>Familienstand:</u>	verheiratet
<u>Schulbildung:</u>	Volksschule 1991–1997 Mittelschule 1997–2000 Gymnasium 2000–2003
<u>Studium:</u>	Pharmazie 2006–2013
<u>Sprachkenntnisse:</u>	Deutsch Französisch Arabisch
<u>Berufspraxis:</u>	Floridus-Apotheke (Februar 2012 – Dezember 2012) Mise en place Austria GmbH, Oktober 2008 – Jänner 2009 McDonalds Praterstern