



universität  
wien

# DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Untersuchungen zur Einführung einer Carbonsäureester-  
Funktion in Ring A des Alkaloids Luotonin A“

verfasst von

Mohamed Atia

angestrebter akademischer Grad

Magister der Pharmazie (Mag. pharm.)

Wien, 2015

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von:

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

*„Wer auf der Suche nach Wissen hinauszieht,  
der ist auf dem Wege Allahs, bis er wiederkehrt.“*

*Prophet Muhammad (sas)*

## **Danksagung und Widmung**

An erster Stelle möchte ich meinen aufrichtigen Dank und meine tiefste Wertschätzung an Herrn Ao. Univ.-Prof. Dr. Norbert Haider ausdrücken, der mich während der gesamten Entstehungszeit dieser Arbeit mit seinen wertvollen Ratschlägen großartig unterstützt hat.

Weiters gilt mein besonderer Dank meinem Vater, meinen Geschwistern, meiner Ehefrau und meiner kleinen Tochter Sandy.

Auch bei meinen Freunden und Kollegen, die mir während des Studiums immer zur Seite standen, möchte ich mich herzlich bedanken.

Letztendlich will ich diese Diplomarbeit meiner verstorbenen Mutter widmen, die mich stets motiviert hat, mein Bestes zu geben um das Studium der Pharmazie zu absolvieren.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
1.1 DNA-Topoisomerasen und ihre Bedeutung bei Zellteilung und Chemotherapie .....	1
1.2 Struktur, Eigenschaften und Vorkommen von Topoisomerase-I-Inhibitoren .....	3
1.3 Wirkmechanismus der Topoisomerase-I-Inhibitoren.....	6
1.4 Synthese von Luotonin A .....	8
1.5 Zielsetzung .....	12
<b>2. EIGENE UNTERSUCHUNGEN .....</b>	<b>13</b>
2.1 Herstellung des Ausgangsmaterials.....	13
2.2 Amidierung des Chinazolinoncarbonsäureesters .....	13
2.3 Alkylierung der Anilinderivate am Chinazolinon-Stickstoff .....	16
2.4 Intramolekulare Cycloadditionsreaktion des <i>para</i> -substituierten Eduktes zum pentacyclischen Ethylester .....	18
2.5 Versuchte Zyklisierung des <i>ortho</i> -substituierten Eduktes.....	19
<b>3. EXPERIMENTELLER TEIL .....</b>	<b>22</b>
3.1 Verwendete Geräte und Materialien.....	22
3.2 Arbeitsvorschriften.....	23
<b>4. LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>35</b>
<b>5. ANHANG .....</b>	<b>37</b>

# 1. Einleitung

## 1.1 DNA-Topoisomerasen und ihre Bedeutung bei Zellteilung und Chemotherapie

Die Topoisomerasen dienen als wichtiges Instrument der Zelle für die „Verpackung“ der DNA, ihre Hauptaufgabe ist die Verdrillung des Doppelstranges. Diese Enzyme können die räumliche Struktur der DNA so verändern, dass letztere in eine andere, sogenannte „topoisomere“ Form übergeführt wird. Die Topoisomerasen ermöglichen im Rahmen der Zellteilung die Neusynthese der DNA mit einem niedrigen Energieaufwand. Dieser Vorgang geschieht, indem sie die DNA-Stränge unterbrechen und nach erfolgreicher Replikation wieder zusammenfügen.<sup>1</sup>

Die Einzel- oder Doppelstrangbrüche in der DNA-Helix, die bei den von den DNA-Topoisomerasen katalysierten Reaktionen entstehen, ermöglichen somit eine Veränderung der Windungszahl.

Alle DNA-Topoisomerasen besitzen in ihrem aktiven Zentrum einen nukleophilen Tyrosinrest. Nachdem sich die Phosphodiesterbindung der DNA spaltet, geht dieser Tyrosinrest eine kovalente Verknüpfung mit dem 3'- oder dem 5'-Ende des gespaltenen Strangs ein. Der nukleophile Angriff der Hydroxygruppe des verbleibenden Endes stellt die Rückreaktion dar. Dadurch wird der Strangbruch wieder verknüpft und letztlich wird die Topoisomerase von der DNA freigesetzt.<sup>2-3</sup>

Die DNA-Topoisomerasen werden – je nach ihrer Funktion – in zwei Hauptgruppen eingeteilt:

- Topoisomerase Typ II:  
Durch Anlagerung an einen intakten Abschnitt des DNA-Doppelstrangs kann die Topoisomerase II zeitweise einen Doppelstrangbruch erzeugen, das heißt, sie kann beide Stränge der DNA-Doppelhelix zerschneiden. Dieser Bruch wird nach erfolgter Rotation der Bruchstücke gegeneinander wieder verschlossen. Die nötige Energie nimmt sich dieser Typ durch Hydrolyse von ATP.

- Topoisomerase Typ I:  
Hingegen induzieren Topoisomerasen des Typs I Einzelstrangbrüche (nur einer der beiden DNA-Stränge wird durchtrennt) und verbrauchen dabei kein ATP. Der verbleibende intakte Strang wandert durch die Bruchstelle, wodurch sich die Windungszahl ändert. Man findet diesen Typ sowohl bei einfachen als auch bei höheren Organismen.<sup>3</sup>

Man unterscheidet weiters die Topoisomerase Typ I nach der Art ihrer Verknüpfung mit dem DNA-Strang:

- Typ IA: bildet vorübergehend eine kovalente Bindung mit dem 5'-Ende des geöffneten Strangs.
- Typ IB: bildet vorübergehend eine kovalente Bindung mit dem 3'-Ende des geöffneten Strangs.<sup>4</sup>

Insgesamt gibt es sechs verschiedene Topoisomerase-Gene im menschlichen Genom. Davon codieren vier für Topoisomerasen Typ I und zwei für Topoisomerasen Typ II.<sup>2</sup>

Die in der Tumorthherapie (s. unten) genutzte Wirkung von Topoisomerase-Hemmstoffen erfolgt dadurch, dass dauerhaft Strangbrüche in DNA-Strängen verursacht werden. Dies hat einen zytotoxischen Effekt zur Folge. Die Topoisomerase-Aktivität ist in vielen Arten von Tumorzellen erhöht, daraus resultiert eine gewisse Selektivität der Topoisomerasehemmer.<sup>1</sup>

Derivate des Naturstoffs Camptothecin sind wichtige Beispiele für Tumorchemotherapeutika mit Topoisomerase-I-Hemmwirkung (die Topoisomerase-II-Isoenzyme werden u.a. von Epipodophyllotoxinen, Pyridocarbazol-Alkaloiden und Anthrazyklinen gehemmt). Der von der Topoisomerase I und DNA gebildete Spaltungskomplex ist das eigentliche Target von Camptothecin und seinen Abkömmlingen, hingegen besitzen diese Wirkstoffe zur Topoisomerase I bzw. zur DNA allein wenig bis gar keine Affinität.<sup>5</sup> Der unmodifizierte Naturstoff Camptothecin weist ein erhebliches Nebenwirkungsspektrum auf und ist darüberhinaus relativ schwer löslich.<sup>6</sup>

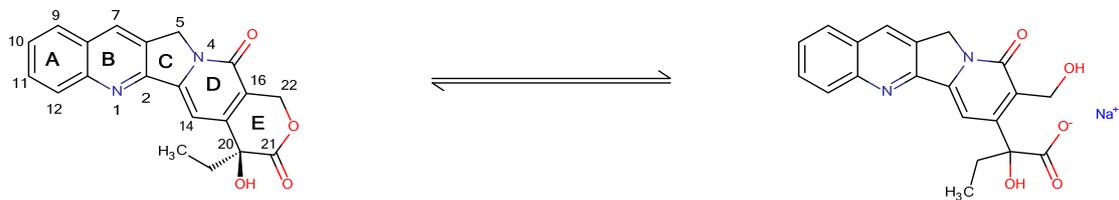
Bei Tumorerkrankungen, die mit einer Überexpression von Topoisomerase I in Verbindung gebracht werden, besitzen die Topoisomerase-I-Hemmer naturgemäß ein besonderes therapeutisches Potential. Beispielsweise in einigen Leukämiearten oder in Kolonkarzinomzellen wurde eine erhöhte Konzentration des Enzyms festgestellt.<sup>5</sup>

Nur zwei Arzneistoffe aus der Gruppe der Topoisomerase-I-Hemmer werden derzeit routinemäßig klinisch eingesetzt: Topotecan und Irinotecan, die halbsynthetischen Derivate von Camptothecin. Topotecan wird als Second-Line-Therapeutikum zur Behandlung des Ovarialkarzinoms und des Bronchialkarzinoms eingesetzt. Irinotecan wurde zur First-Line-Behandlung des metastasierenden Kolonkarzinoms zugelassen und wird dabei zusammen mit 5-Fluorouracil und Folsäure verwendet.<sup>7</sup>

## **1.2 Struktur, Eigenschaften und Vorkommen von Topoisomerase-I-Inhibitoren**

### **Camptothecin und –derivate**

Erstmals wurde die Camptothecin-Struktur von M. E. Wall und M. C. Wani 1966 im Rahmen eines Screenings von Naturstoffen aufgeklärt.<sup>8</sup> Die Hauptquelle von Camptothecin ist *Camptotheca acuminata* (*Nyssaceae*). Dieser Baum ist in den südlichen Regionen Chinas weit verbreitet.<sup>9</sup> In der traditionellen chinesischen Medizin wurden Zubereitungen aus dieser Pflanze schon lange zur Behandlung von Tumoren und vielen anderen Beschwerden verwendet. Ende der 1950er Jahre wies ein vom National Cancer Institute (USA) untersuchtes Drogenpulver eine antineoplastische Wirkung auf.<sup>10</sup>



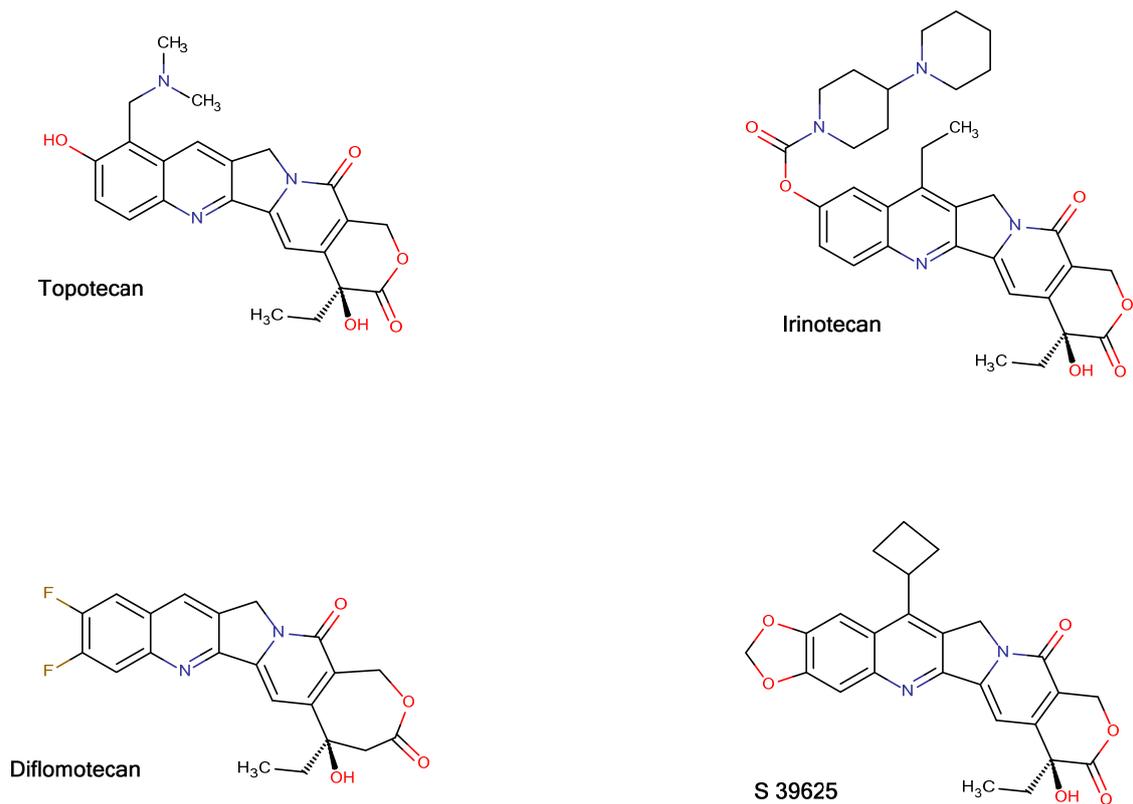
**Schema 1.** Camptothecin-Struktur (links die wirksame Lacton-Form)

Camptothecin stellt strukturell ein pentazyklisches Chinolinalkaloid dar, wobei der Ring E ein  $\alpha$ -Hydroxy-  $\delta$ -Lacton ist. Dieser geht in die ringoffene Carboxylatform über (siehe Schema 1), wenn der pH-Wert 7 übersteigt. Letztere ringgeöffnete Form ist signifikant weniger wirksam als die Lactonform. Bei einem pH-Wert von 7.4 und einer Temperatur von 37°C wandelt sich die Lactonform schnell und beinahe vollständig in die Carboxylatform um. Eine wichtige Voraussetzung für die Interaktion mit der Topoisomerase I und die passive Diffusion in die Tumorzellen scheint das geschlossene  $\delta$ -Lacton zu sein.<sup>11</sup> Die S-Konfiguration des Stereozentrums in Position 20 ist für die pharmakologische Wirkung ebenfalls wichtig, denn (20R)-Camptothecin ist pharmakologisch praktisch inaktiv.<sup>7</sup> Die Verbindung mit S-Konfiguration hat eine 10-fache antineoplastische Aktivität gegenüber dem anderen Enantiomer gezeigt.<sup>5</sup>

Die ringoffene Form des ansonsten schlecht wasserlöslichen Camptothecins wurde bei den ersten klinischen Studien in den späten 1960er Jahren als Na-Salz eingesetzt. Jedoch mussten diese Untersuchungen u.a. wegen den bereits genannten ungünstigen physikalisch-chemischen Eigenschaften von Camptothecin und den toxischen Nebenwirkungen, abgebrochen werden.<sup>5</sup>

Die Camptothecin-Derivate Topotecan und Irinotecan haben strukturelle Modifikationen an den Positionen 9 und 10 bzw. 9 und 7 des Chinolin-Ringsystems und sind beide besser wasserlöslich. Als Hydrochloride können sie intravenös appliziert werden. Außerdem sind sie in der Blutbahn besser stabilisiert und das mit einem höheren Anteil des Lactons im Gleichgewichtszustand, weil die Carboxylatform durch humanes Serumalbumin vermindert gebunden wird.<sup>11</sup>

Eine andere Möglichkeit zur Erhöhung der Stabilität besteht in der Modifikation von Ring E: eine Ringerweiterung zu einem siebengliedrigen  $\beta$ -Hydroxylacton führt zu den Homocamptothecin-Derivaten, die chemisch stabiler sind. Dabei bleibt die Topoisomerase-I-hemmende Wirkung weitgehend erhalten. In klinischer Erprobung befindet sich derzeit der Wirkstoff Diflomotecan (10,11-Difluorhomocamptothecin). Ein anderer Zugang besteht darin, die Lactongruppe zu entfernen, womit die Öffnung von Ring E vollständig verhindert wird. Ihre biologische Aktivität behalten die resultierenden Ketoderivate mit 5-gliedrigem Ring E immer noch.<sup>7</sup> Wenn die Hydroxygruppe in Position 20 verestert und anschließend mit Polyethylenglykol verknüpft wird, führt das zu Prodrugs mit verbesserten pharmakokinetischen Eigenschaften (siehe Abb. 1). Protecán<sup>R</sup> (PEG-Camptothecin) befindet sich schon in klinischer Erprobung.<sup>12</sup>



**Abbildung 1.** Derivate von Camptothecin in klinischer Verwendung bzw. Erprobung

### 1.3 Wirkmechanismus der Topoisomerase-I-Inhibitoren

Im Jahr 1985 wurde die Topoisomerase I als zelluläres Target von Camptothecin identifiziert, dies ließ das Interesse an dieser Substanzklasse steigen und führte zur Aufklärung des Wirkmechanismus von Camptothecin, nachdem die ersten klinischen Versuche gescheitert waren. Zu DNA oder Topoisomerase I allein zeigt Camptothecin wenig bis gar keine Affinität, aber es bindet und stabilisiert den „Spaltungskomplex“ aus DNA und Topoisomerase I.<sup>5</sup> Dadurch wird der Wiederverschluss des DNA-Strangbruchs verhindert, wobei diese Hemmung reversibel ist.

Die Kollision der Replikationsgabel mit dem ternären Komplex im Rahmen der DNA-Replikation wird als ausschlaggebend für die Zytotoxizität angenommen. Folglich führt dieser Vorgang zu Doppelstrangbrüchen und zum Zelltod.<sup>13</sup> Daraus ist abzuleiten, dass die Zytotoxizität von Camptothecin auf Zellen in der S-Phase beschränkt ist.

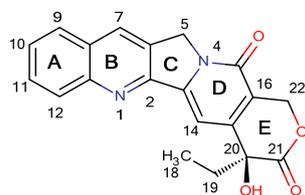
Derzeit wird noch untersucht, wie die exakten molekularen Wechselwirkungen von Camptothecin und seinen Analoga mit dem Topoisomerase-I-DNA-Komplex funktionieren. Für die Stabilisierung des Spaltungskomplexes ist die Fähigkeit zur Interkalation zwischen benachbarten Basenpaaren und zur Bildung von Wasserstoffbrücken wichtig. Jedoch sind die Beiträge der jeweiligen Wechselwirkungen zur Gesamtaffinität noch unklar.<sup>14</sup>

Dockingexperimente haben ergeben, dass neben dem interkalativen Bindungsmodus die Ausbildung von Wasserstoffbrücken ausgehend von der 20(S)- $\alpha$ -Hydroxylactonfunktion für die Stabilisierung verantwortlich sind.<sup>15</sup> Auch für die 20-Chlor-, 20-Brom- und 20-Aminoderivate von Camptothecin konnte eine Stabilisierung des binären Komplexes nachgewiesen werden. Jedoch sind 20(R)-Camptothecin und 20-Desoxy-Camptothecin pharmakologisch inaktiv.<sup>14</sup>

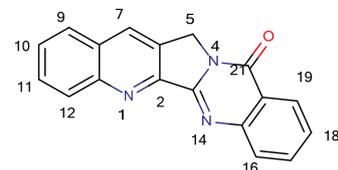
Im Jahr 1997 wurde von Ma *et al.* aus *Peganum nigellastrum* ein weiterer Wirkstoff isoliert: Luotonin A. Seine strukturelle Verwandtschaft mit Camptothecin ist direkt erkennbar (siehe Abb. 2). Es besitzt anstelle des elektrophilen 20(S)- $\alpha$ -Hydroxylactons einen Benzolring. Die Hemmwirkung auf die Topoisomerase I durch dieses Chinazolin-Alkaloid konnte bestätigt werden.<sup>16</sup>

## Luotonin A

Das Pyrrolochinazolino-Chinolinalkaloid Luotonin A wurde im Jahr 1997 erfolgreich aus den oberirdischen Anteilen von *Peganum nigellastrum* (Zygophyllaceae/Nitrariaceae/Peganaceae) isoliert und dessen Struktur aufgeklärt.<sup>10</sup> Dabei ist aufgefallen, dass es dem Grundgerüst von Camptothecin sehr ähnelt (siehe Abb. 2). Der Ring E besteht aus einem einfachen Benzolring und es befindet sich ein zweites Stickstoffatom im Ring D (in Position 14; Nummerierung gemäß dem Alkaloid-Schema). Die ersten Versuche mit murinen Leukämiezellen (P388) zeigten eine bemerkenswerte zytotoxische Aktivität.<sup>17</sup>



20(S)- Camptothecin



Luotonin A

## Abbildung 2

Es konnte außerdem mit der Stabilisierung des „Cleavage“-Komplexes im Enzym auch tatsächlich derselbe Wirkmechanismus aufgefunden werden, wenn auch bei 10-fach geringerer Affinität und nach einem vermutlich leicht unterschiedlichen Dockingmuster als bei Camptothecin. Das fehlende  $\alpha$ -Hydroxy- $\delta$ -lacton als elektrophile Teilstruktur wurde als Grund dafür vermutet.<sup>14</sup>

Diese Tatsache brachte die Erkenntnis, dass diese Lacton-Funktionalität für die Wirkung am Enzym nicht absolut essentiell ist. An Position 17 (Ring E) sind elektronegative Substituenten vorteilhaft, so konnten etwa mit 17-Amino- oder 17-Fluoroluotonin A auch relativ potente Derivate gefunden werden. Man erklärte sich das durch eine Imitation der 20-(S)-Hydroxylgruppe im Camptothecin.<sup>14, 16</sup>

Einerseits konnte manchmal bei anderen Derivaten, wie zum Beispiel bei 17-Hydroxymethyluotonin A, zwar eine gute Bindung am „Cleavage“-Komplex nachgewiesen werden, andererseits konnte jedoch im verwendeten Hefe-Assay keine Cytotoxizität festgestellt werden. Anscheinend ist eine ausreichende Wasserlöslichkeit für die Wirkung notwendig, die hier aber kaum gegeben war.<sup>14</sup>

Analog zur Entwicklung von Topotecan und Irinotecan begann man aufbauend auf diesen Erkenntnissen, Derivatisierungen an den Ringen A-D vorzunehmen, um eine verbesserte Wasserlöslichkeit und damit günstigere pharmakokinetische Eigenschaften zu erreichen. Durch geeignete Substituenten kann darüberhinaus die Interaktion mit der DNA im „Cleavage“-Komplex modifiziert werden.<sup>18</sup>

Es wurden A-Ring-substituierte Derivate systematisch auf ihre Zytotoxizität untersucht, wobei sich tertiäre 10-Aminoethoxyuotonin-A-Derivate als gleich potent wie die Grundstruktur erwiesen haben.<sup>19,20</sup>

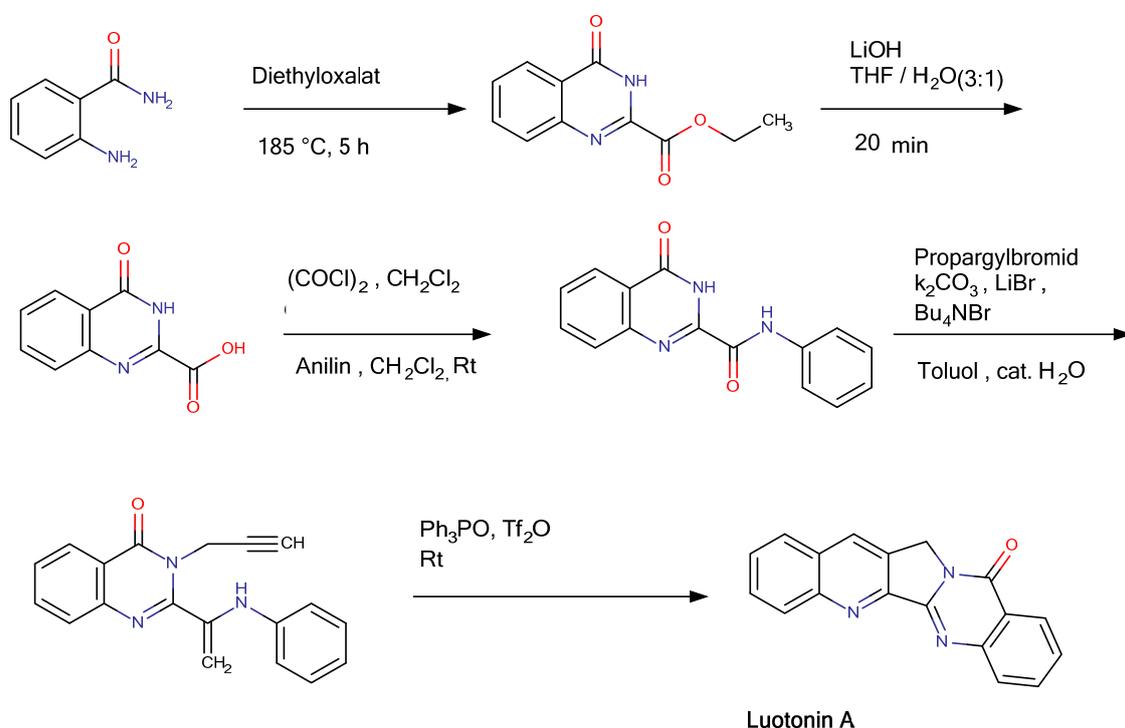
#### 1.4 Synthese von Luotonin A

Nach der Isolierung von Luotonin A aus *Peganum nigellastrum* beschäftigten sich viele Arbeitsgruppen mit der Synthese dieses Topoisomerase-I-Hemmers und dabei wurden viele Syntheserouten in unterschiedlichen Varianten entwickelt.<sup>21</sup>

Zhou *et al.* publizierten im Jahr 2007 eine Synthese, die in wenigen Reaktionsschritten eine gute Ausbeute von Luotonin A liefert (s. Schema 2).<sup>22</sup> Man geht von Anthranilsäureamid und Oxalsäurediethylester aus und man erhält zunächst das bekannte Chinazolinonderivat. Anschließend wird dieser Ester mittels Lithiumhydroxid hydrolysiert. Die Carbonsäure wird in das

Säurechlorid übergeführt, danach wird letzteres mit Anilin in das entsprechende Anilid umgewandelt.

Das Anilid wird mit Propargylbromid behandelt. Dabei wird der Stickstoff N-3 am Chinazolinonring selektiv alkyliert. Unter Einwirkung des „Hendrickson Reagens“<sup>23</sup> (Bis(triphenyl)oxodiphosphonium-Trifluor-methansulfonat) erfolgt durch eine intramolekulare Diels-Alder-Reaktion bei Raumtemperatur der abschließende Cyclisierungsschritt und somit der Aufbau der Ringe B und C. Die Gesamtausbeute liegt bei etwa 47%.

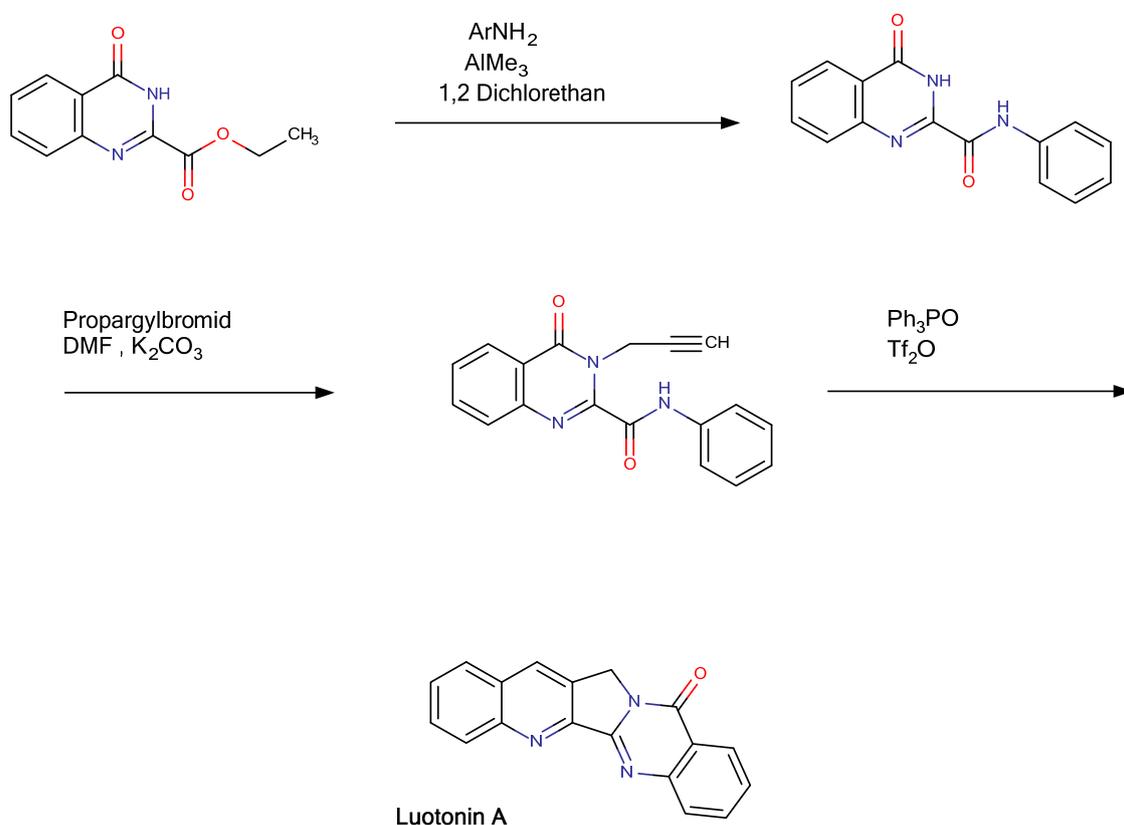


**Schema 2**

### Verbesserung der Methode mittels Weinreb-Amidierung

In unserer Arbeitsgruppe konnte eine deutliche Verbesserung der oben beschriebenen Syntheseroute erreicht werden und diese wurde mehrfach zur Herstellung 10-substituierter und 12-substituierter Derivate des Naturstoffs angewandt (s. Schema 3).<sup>24,25</sup> Die Esterfunktion wird dabei direkt in das

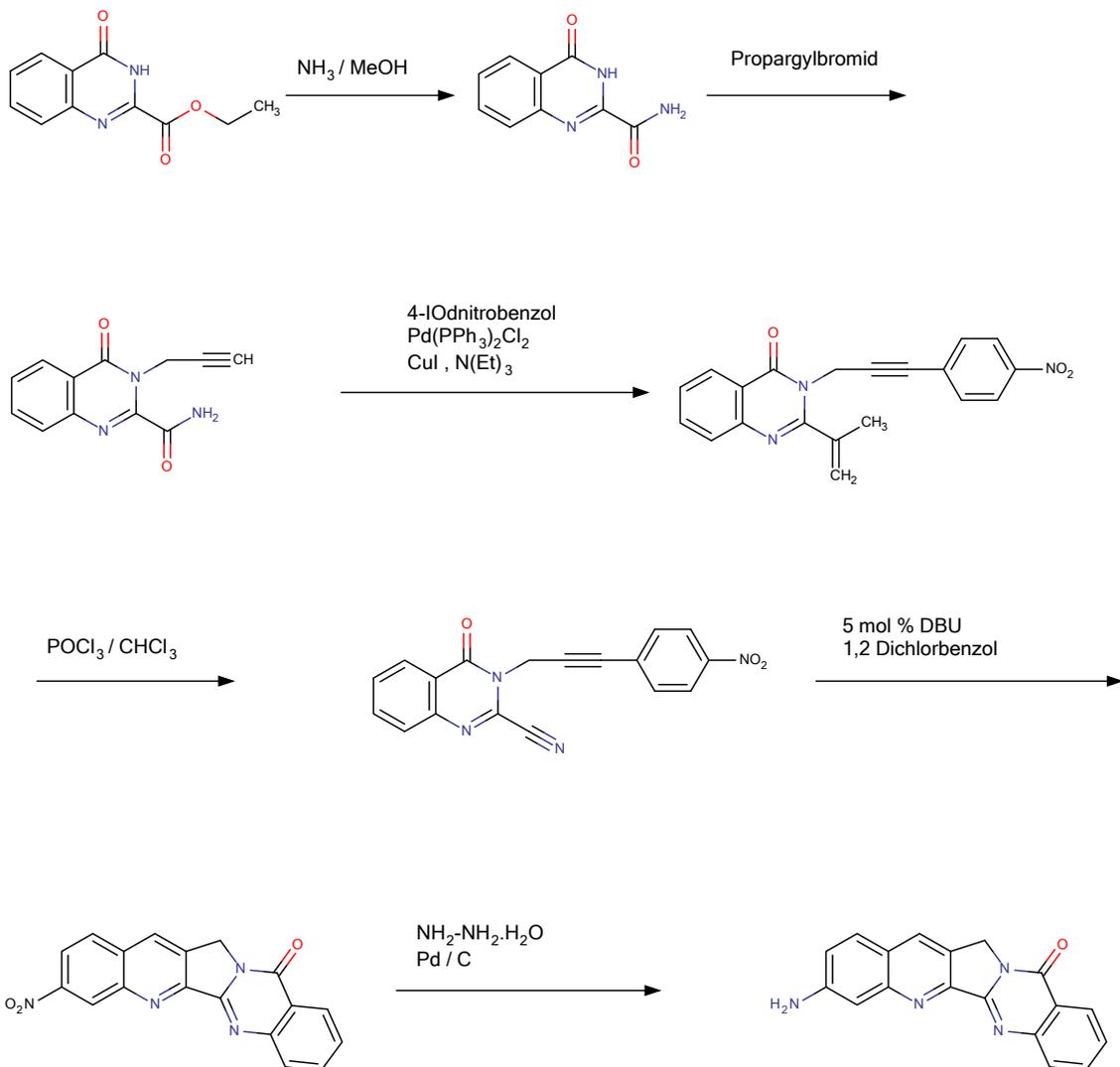
gewünschte Anilid umgewandelt. Der Ester wurde ursprünglich, wie oben beschrieben, mittels Lithiumhydroxid hydrolysiert und danach wurde die sehr decarboxylierungsempfindliche Carbonsäure in ein schwerlösliches und hydrolyseempfindliches Säurechlorid übergeführt. Stattdessen wird in unserer Variante der Chinazolinoncarbonsäureester mit Trimethylaluminium-aktivierten Anilinderivaten in 1,2-Dichlorethan bei 80°C mit durchwegs guten Ausbeuten in die gewünschten Anilide umgewandelt.<sup>26</sup> Auch der Propargylierungsschritt wurde modifiziert, indem man DMF als Lösungsmittel für das Anilid in Anwesenheit von Kaliumcarbonat verwendet, um Löslichkeitsprobleme mit sehr vielen Aniliden zu entgehen. Abschließend kann die Zyklisierung unverändert nach der Methode von Zhou *et al* angewendet werden.<sup>22</sup>



### Schema 3

In weiterer Folge wurde von unserer Gruppe eine andere, zum oben beschriebenen Weg orthogonale Synthesestrategie entwickelt. Diese ermöglichte die selektive Einführung z.B. einer Aminogruppe an den Positionen 11 bzw. 9 (s. Schema 4).<sup>27</sup> Durch die Reaktion mit methanolischem Ammoniak wird die Estergruppe in ein primäres Amid

umgewandelt. Danach wird der Aryl-Baustein (4-Iodnitrobenzol bzw. 2-Iodnitrobenzol) an den N-Propargyl-Rest mit Hilfe der Sonogashira-Reaktion gekoppelt. Das Amid wird unter Einwirkung von Phosphoroxychlorid in Chloroform (oder alternativ mit Ethyldichlorphosphat/DBU) zum Nitril dehydratisiert, welches als Dienophil in einer intramolekularen [4+2]-Cycloadditionsreaktion fungiert.<sup>28,29</sup> Unter Einwirkung von 5 mol-% DBU in 1,2-Dichlorbenzol bei 110-120°C erfolgt diese Zyklisierung zum entsprechenden Nitroluotonin A. Die Nitrogruppe wird mit Palladium/Kohle und Hydrazinhydrat zur Aminogruppe reduziert, wobei man letztendlich bei einem Aminoluotonin A landet.<sup>30,31</sup>



**Schema 4**

Mittels des zuletzt diskutierten Synthesewege wurden bisher auch bereits zwei Ring-A-Esterderivaten des Naturstoffs Luotonin A zugänglich gemacht, welche die Ethylestergruppe in Position 9 bzw. 11 tragen.<sup>27</sup> Letzter Verbindung zeigte im *in-vitro*-Assay eine deutliche Hemmwirkung auf das Wachstum verschiedener humaner Tumorzellen.

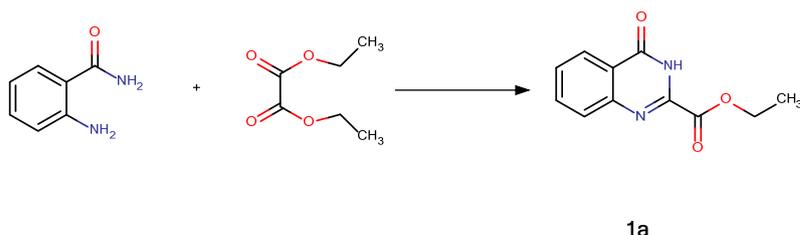
## 1.5 Zielsetzung

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit sollte die erstmalige Synthese von 10- bzw 12-Ethoxycarbonyl-Luotonin A versucht werden. Zu diesem Zweck wurde der im vorangegangenen Abschnitt bereits beschriebene von unserer Arbeitsgruppe verbesserte Syntheseweg nach Zhou *et al.* gewählt. Dabei sollte untersucht werden, ob die beschriebene Variante unter Anwendung der Weinreb-Amidierung überhaupt mit einem Synthesebaustein kompatibel ist, welcher selbst eine Estergruppe enthält.

Mit der Einführung einer Ethoxycarbonyl-Gruppe in die Grundstruktur von Luotonin A könnte einerseits ein positiver Effekt auf das pharmakodynamische Profile des Wirkstoffs, andererseits aber auch auf seine pharmakokinetischen Eigenschaften (etwa eine bessere Löslichkeit) erzielt werden.

## 2. Eigene Untersuchungen

### 2.1 Herstellung des Ausgangsmaterials



#### Schema 5

Die Initialreaktion erfolgt nach dem ursprünglich von Baker<sup>32</sup> und später von Zhou *et al.*<sup>22</sup> beschriebenen Schema. Dabei werden Anthranilsäureamid und Oxalsäurediethylester, die beide im Handel erhältlich sind, unter Rückfluss zum Chinazolinon **1a** kondensiert. Da diese Reaktion nicht sehr zeitspezifisch abläuft, ist eine DC-Reaktionskontrolle essentiell. Eine Umkristallisation des beim Abkühlen ausfallenden Rohproduktes ist nicht notwendig, das Endprodukt wird stattdessen sorgfältig mit Ethanol und Ether gewaschen.

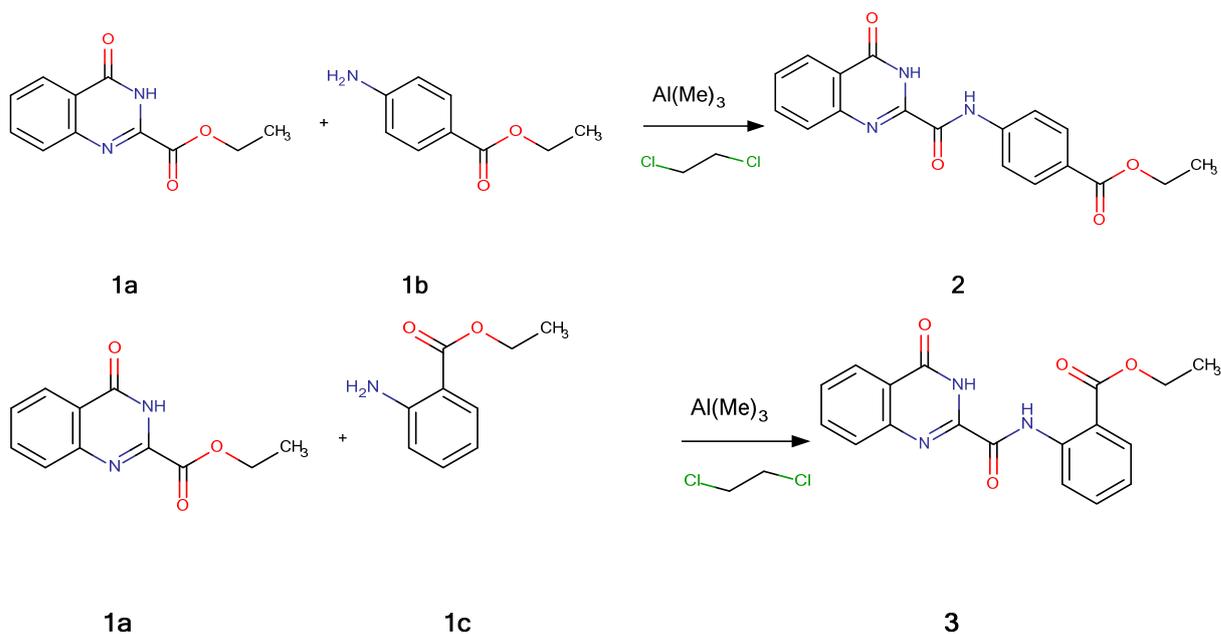
### 2.2 Amidierung des Chinazolinoncarbonsäureesters

Für die Synthese des wichtigen Anilid-Zwischenproduktes sollte, wie in der Einleitung diskutiert, die effektive und einfache Weinreb-Amidierung gewählt werden. Der große Vorteil dieser Methode zur Herstellung von Amidien besteht wie erwähnt darin, dass damit ein Ester auch mit einem wenig reaktiven Amin (wie etwa einem primären aromatischen Amin) infolge der Aktivierung mittels Aluminiumkomplex zum entsprechenden Amid umgesetzt werden kann. Allerdings stellt dieses Reaktionsverhalten im gegenständlichen Fall eine besondere Herausforderung dar, da hier auch in der Anilin-Komponente eine Estergruppe vorhanden ist, welche im Prinzip ebenfalls zur Reaktion mit dem aktivierten Amin befähigt ist. Dementsprechend musste damit gerechnet werden, dass es durch die

Aktivierung der  $\text{NH}_2$ -Gruppe des schwachen nukleophilen Aminobenzoesäureethylesters (das Reagens) zu dessen Polymerisation kommen, noch bevor das Edukt **1a** an der Reaktion teilnehmen kann.

Somit boten sich verschiedene Möglichkeiten zum selektiven Aufbau der benötigten Amide des Typs 2 bzw. 3 (s. Schema 6) an:

- Verwendung eines Aminobenzoesäureesters mit einem sterisch anspruchsvollen Alkylrest, z.B. der entsprechende *tert*-Butylester, gefolgt von Umesterung zum angestrebten Ethylester in einem späteren Schritt.
- Verwendung der freien Aminobenzoesäure anstatt eines Esters, gefolgt von Veresterung mit Ethanol in einem späteren Schritt.
- Verwendung des jeweiligen Ethylesters ohne „Umwege“, aber unter sorgfältig kontrollierten Reaktionsbedingungen unter Ausnutzung der vermutlich höheren Reaktivität des heteroaromatischen Esters gegenüber seinem Pendant im Aminobenzoesäure-Baustein.



**Schema 6**

Überraschenderweise zeigte sich, dass bereits mit der letztgenannten „direkten“ Variante das angestrebte Synthesziel sehr effizient erreicht werden kann, wenn die Reaktionsbedingungen gegenüber dem Standard-

Verfahren geringfügig modifiziert werden: Nach Zugabe von Trimethylaluminium zu einer Lösung von 4-Aminobenzosäureethylester in 1,2-Dichlorethan bildet sich offenbar bereits bei 0°C (anstatt der sonst üblichen Raumtemperatur) der erwartete Komplex. Durch diese niedrige Temperatur gelingt es, die Selbstkondensation des Reagens zuverlässig zu verhindern. Nach weiteren 30 Minuten bei dieser Temperatur wird der Ester **1a** hinzugegeben. Die Umsetzung zu dem gewünschten Amid findet dabei offensichtlich gleich nach der Zugabe des Chinazolinon-Carbonsäureesters statt, was sich in einer deutlichen Gasentwicklung zeigt (Methanfreisetzung aus Trimethylaluminium). Die erfolgreiche Umsetzung kann man auch mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie eindeutig feststellen.

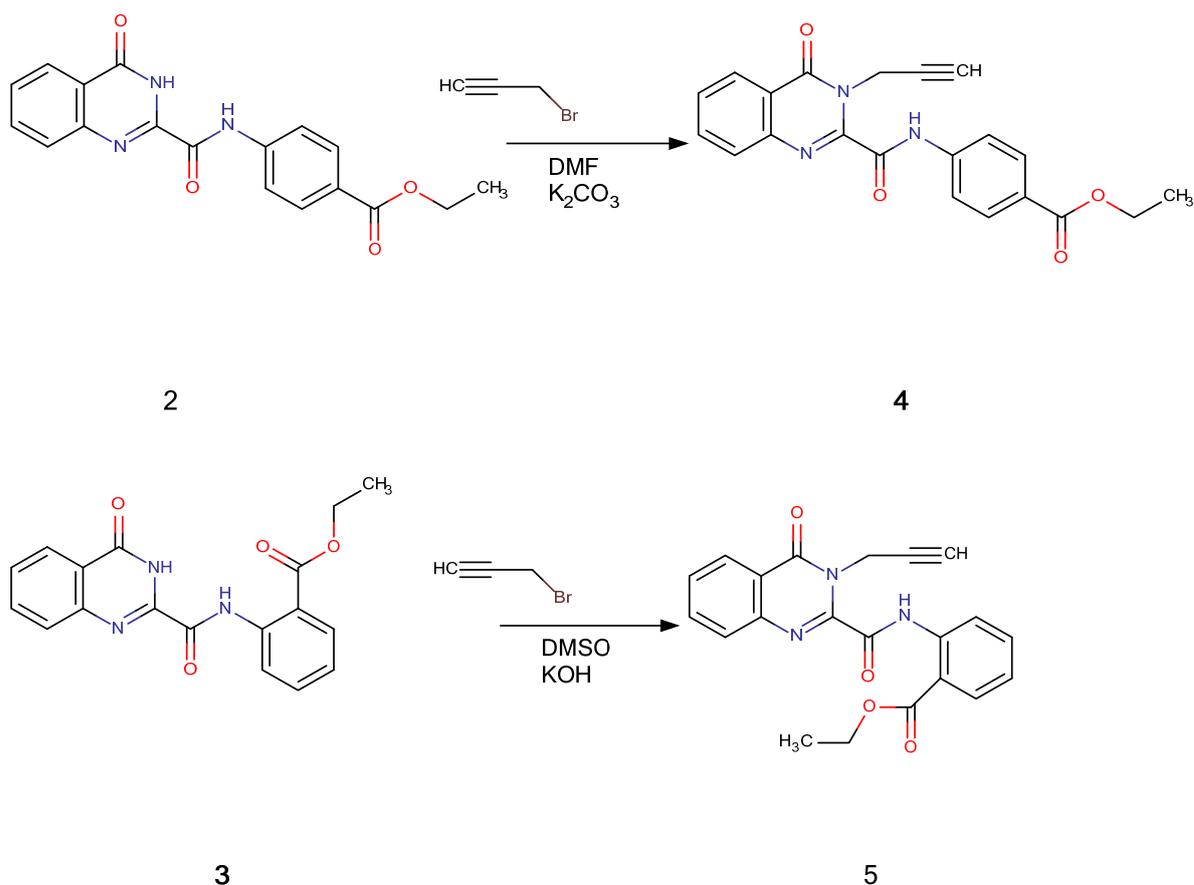
Die Reaktion läuft beim sterisch deutlich stärker gehinderten 2-Aminobenzoesäureethylester deutlich langsamer ab als beim 4-Aminobenzoesäureester, außerdem verläuft sie nicht vollständig. Diese geringere Reaktivität kann man durch einen etwas größeren Überschuss des Anilins und durch längeres Erhitzen jedoch kompensieren, sodass auch das Anilid **3** in durchaus zufriedenstellender Ausbeute erhalten wird (63% im Vergleich zu 74% für Verbindung **2**).

Die Aufarbeitung ist in beiden Fällen relativ einfach: nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch zuerst mit verd. HCl und danach mit Wasser versetzt, um den überschüssigen Aluminium-Komplex zu zerstören. Die Isolierung des jeweiligen Produktes erfolgt durch Extraktion mit Dichlormethan aus der sauren Lösung (s. experimenteller Teil), analysenreines Produkt erhält man nach Umkristallisation aus Ethanol.

Die Strukturen der Anilid-Zwischenprodukte wurden durch <sup>1</sup>H-NMR-, <sup>13</sup>C-NMR- und Massenspektroskopie sowie durch hochaufgelöste Massenspektren eindeutig bewiesen. Die beide Verbindungen zeigen im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum NH-Signale bei tiefem Feld als Singulets bei ca. 12.58–12.74 ppm und bei ca. 11.07–12.62 ppm, wobei das NH-Signal bei tieferem Feld dem Amid-H entspricht. Ebenfalls als charakteristisch erweisen sich die Signale eines AA'BB'-Systems für die H-Atome des *para*-substituierten Phenylrests der Verbindungen **2**. Im Gegensatz dazu zeigen sich die Signale eines ABCD-Systems für die H-Atome des *ortho*-substituierten Phenylrests der Verbindung **3**. Die Ethylreste beider Verbindungen zeigen sich jeweils als Triplett für CH<sub>3</sub> und als Quartett für OCH<sub>2</sub> bei ca. 1.33 und 4.45 ppm

### 2.3 Alkylierung der Anilinderivate am Chinazolinon-Stickstoff

Der in weiterer Folge nötige C<sub>3</sub>-Baustein wird in das Molekül durch Alkylierung des Chinazolinon-Stickstoffs in Position N-3 mit Propargylbromid eingeführt. Dadurch wird letztlich die intramolekulare Zyklisierung, mit simultaner Ausbildung der Ringe B und C, als Endprodukt möglich gemacht.



**Schema 7**

Die Synthesemethode nach Zhou *et al.*<sup>22</sup> sieht vor, diesen Schritt unter Phasentransferkatalyse mit Tetrabutylammoniumbromid als Katalysator, in einem Zweiphasensystem von Toluol und Wasser, durchzuführen. Um nun den Propargylrest in Position 3 des Chinazolinon-Skeletts von Verbindung **2** einzuführen, sollte aufgrund der Schwerlöslichkeit dieses Anilids allerdings nicht das von Zhou *et al.* beschriebene Verfahren, sondern eine der von unserer Gruppe bereits früher erfolgreich eingesetzten Methoden angewendet werden.

Die *para*-substituierte Verbindung **2** löst sich relativ gut in Dimethylformamid (DMF), daher wurde für die Alkylierung von **2** das System DMF/Kaliumcarbonat mit einem geringen Überschuss an Propargylbromid gewählt. Da das Edukt von Anfang an vollständig gelöst vorliegt, konnte auf eine langsame, portionsweise Zugabe des Alkylierungsmittels verzichtet werden, wie sie beim Arbeiten in Suspension zweckmäßig ist, um einen lokalen Reagens-Überschuss und damit Mehrfach-Alkylierung zu vermeiden. Nach 24-stündigem Rühren bei Raumtemperatur ist die Umsetzung beendet und das gewünschte Produkt **4** kann mittels extraktiver Aufarbeitung in 80% Ausbeute isoliert werden.

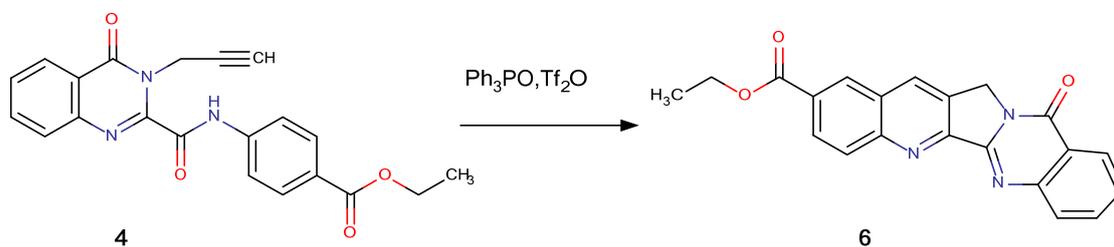
Im Gegensatz dazu löst sich die *ortho*-substituierte Verbindung **3** sehr schlecht in DMF (sowie allen anderen gängigen organischen Lösungsmitteln). Bei einem zur Darstellung von **4** analogen Versuch wurde deshalb nur ca. ein Drittel des Eduktes **3** in das gewünschte alkylierte Anilid **5** umgewandelt. Auf Grund dieser Beobachtung wurden schließlich Reaktionsbedingungen gewählt, die kürzlich bei der analogen Propargylierung eines sehr schwer löslichen Nitroanilids zum Erfolg geführt hatten.<sup>33</sup> Dabei wird das Edukt in Dimethylsulfoxid (DMSO) gelöst bzw. suspendiert, mit feingepulvertem Kaliumhydroxid versetzt und anschließend mit Ultraschall behandelt. Das so gebildete Kaliumsalz löst sich bemerkenswerterweise deutlich besser in DMSO als das ungeladene Anilid. Anschließend wird das Alkylierungsmittel über einen längeren Zeitraum verteilt zugesetzt (s. Experimenteller Teil). Nach Beendigung der Reaktion (DC-Kontrolle) und Verteilung des Reaktionsgemisches zwischen Wasser und Ethylacetat kann mit dieser Methode das gewünschte Produkt **5** in immerhin 62% Ausbeute erhalten werden.

Die Strukturen der Verbindungen **4** und **5** wurden mittels <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR- und Massenspektrometrie bewiesen. Das nunmehr einzige NH-Signal erscheint jeweils als Singulett bei ca. 9.89–12.90 ppm. Im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum sind die Signale des Propargylrestes leicht zu erkennen. Die CH<sub>2</sub>-Gruppe in beide Verbindungen wird in Form eines Dubletts im engen Bereich bei ca. 5.53–5.59 sichtbar, das terminale Acetylen-Proton erscheint jeweils als Triplett mit der selben Kopplungskonstante ( $J = 2.5$  Hz) bei ca. 2.25 ppm. Im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum wird die erfolgreiche Einführung des Propargylrest bestätigt, indem drei typische Signale bei ca. 33.6–33.9 ppm (CH<sub>2</sub>), 78.9 ppm (2-C im Propargylrest) und bei ca. 72.2 ppm (3-C im Propargylrest) erscheinen.

## 2.4 Intramolekulare Cycloadditionsreaktion des *para*-substituierten Eduktes zum pentacyclischen Ethylester

Die zunächst von Zhou *et al.*<sup>22</sup> beschriebene und später von unserer Arbeitsgruppe mehrfach erfolgreich angewandte<sup>24,25</sup> Methode für die Umsetzung von *N*-Aryl-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamiden zu den entsprechenden Luotonin-A-Derivaten bringt im Allgemeinen durchaus gute Ausbeuten und ist einfach durchzuführen.

Diese intramolekulare [4+2]-Cycloadditionsreaktion gelingt mit folgender Vorgangsweise: es wird eine Lösung von *in situ* generiertem Triphenylphosphoniumhydrid-Triflat (Hendrickson-Reagens) in trockenem Dichlormethan mit dem Edukt versetzt und bei Raumtemperatur gerührt. Die sekundäre Amid-Funktion reagiert dabei mit dem Hendrickson-Reagens und es bildet sich ein reaktives Aza-Dien mit Imidoesterstruktur. Der als Dienophil fungierende Propargylrest reagiert nun mit diesem reaktiven Aza-Dien und dies führt zu simultaner Ausbildung der Ringe B und C des pentacyclischen Systems (s. Einleitung).



### Schema 8

Beim Einsatz der *para*-substituierten Verbindung **4** als Substrat zeigte sich nun, dass die oben beschriebene Methode sehr gut funktioniert, allerdings erwies sich die Reaktionsgeschwindigkeit als relativ gering (vollständige Umsetzung gemäß DCV-Kontrolle erst nach 24 Stunden). Die Zielverbindung **6** wird in praktisch quantitativer Ausbeute durch einfache Filtration isoliert, nach Umkristallisieren aus Ethanol erhält man analysenreines Produkt.

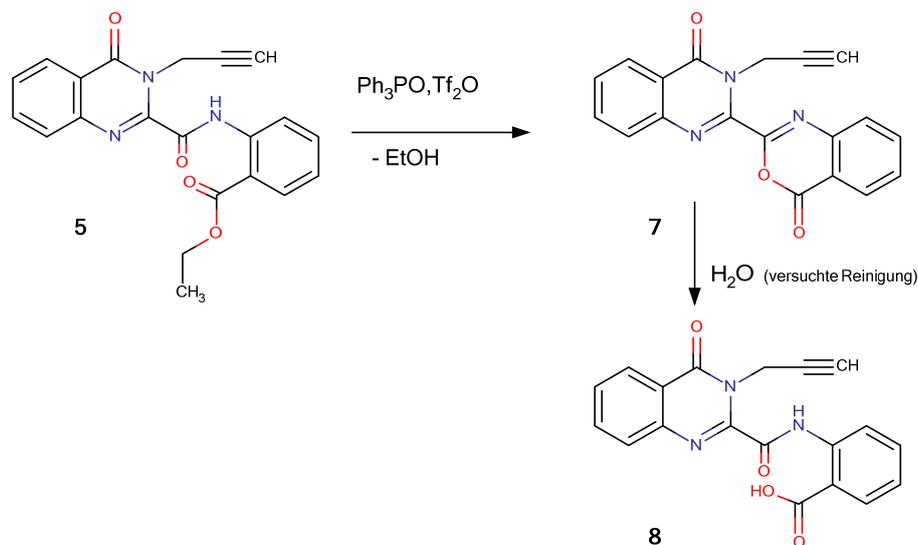
Die Struktur der Verbindung **6** wurde in erster Linie durch  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bestätigt. Das Fehlen des Signals des Amid-H-Atoms liefert

erste wichtige Hinweise auf eine erfolgreiche Zyklisierung des Edukts zur Zielverbindung. Als charakteristisch für die zyklisierte Verbindung **6** ist außerdem das Singulett bei 5.36 ppm zu sehen, welches der Methylengruppe zuordnen ist. Vergleicht man die Signale der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der Verbindungen **4** und **5** mit jenen von Verbindung **6**, so zeigt sich erwartungsgemäß, dass die Methylen-Gruppe der zyklisierten Verbindung als Singulett und bei den korrespondierenden Edukten als Dublett erscheint. Mit Hilfe zweidimensionaler NMR-Techniken (COSY, NOESY) konnten sämtliche Protonensignale zugeordnet werden. Auch das  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum steht in völligem Einklang mit der postulierten Struktur, was durch Vergleich mit den Spektren strukturell ähnlicher Verbindungen aus früheren Untersuchungen abgesichert wurde. Im Massenspektrum bildet das Molekülion ( $m/z = 357$ ) den Basispeak.

## 2.5 Versuchte Zyklisierung des *ortho*-substituierten Eduktes

Im Falle der *ortho*-substituierten Verbindung **5** zeigte sich überraschenderweise, dass hier die Behandlung mit dem Hendrickson-Reagens einen gänzlich anderen Reaktionsverlauf zur Folge hat, was sich bereits bei der dünnschichtchromatographischen Überwachung manifestiert. Anstatt eines deutlich polarerer Produktes resultiert hier ganz überwiegend eine deutlich apolarere Verbindung, welche auch nicht die für Luotonin-A-Derivate typische (meist blaue) Fluoreszenz aufweist. Die so erhaltene Verbindung **7** ist sehr schwer löslich und fällt aus der Dichlormethan-Lösung aus, was die Isolierung aus dem Reaktionsgemisch sehr erleichtert. Allerdings gelang es nicht, die Verbindung durch Umkristallisation aus verschiedenen Lösungsmitteln zu reinigen, da bei diesen Versuchen stets eine Umwandlung in ein relativ polares Folgeprodukt **8** eintrat.

Für Verbindung **7** wird basierend auf dem Massenspektrum und dem  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Rohproduktes (für ein  $^{13}\text{C}$ -NMR reicht die Löslichkeit nicht aus) die Struktur eines 2-substituierten 3,1-Benzoxazin-4-ons (s. Schema 9) vorgeschlagen. Das entsprechende Molekülion ist im EI-MS bei  $m/z = 329$  deutlich sichtbar. Im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum fehlen die Ethoxy-Signale, jedoch ist der Propargylrest offensichtlich noch vorhanden. Darüberhinaus finden sich die zu Struktur **7** passenden Multipletts von acht Protonen im Aromatenbereich.



### Schema 9

Offenbar bewirkt das Hendrickson-Reagens im Falle des Substrates **5** eine intramolekulare Zyklisierung der sekundären Amid-Funktion mit der räumlich benachbarten Estergruppe unter (formaler) Abspaltung von Ethanol. Die bei der versuchten Reinigung (s. oben) beobachtete Umwandlung von **7** in eine polare Verbindung kann durch Hydrolyse der Benzoxazinon-Struktur in die Carbonsäure **8** erklärt werden. Letztere weist ein weniger problematisches Löslichkeitsverhalten als **7** auf und konnte mittels  $^1\text{H-NMR}$  und  $^{13}\text{C-NMR}$  (einschließlich COSY, NOESY, HSQC, HMBC), dem Massenspektrum sowie HR-MS vollständig charakterisiert und hinsichtlich seiner Struktur zweifelsfrei zugeordnet werden.

Somit konnte im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit eines der beiden bis dahin noch fehlenden Ring-A-Carbonsäureethylester-Derivate des Alkaloids Luotonin A zugänglich gemacht werden. Für die Synthese dieses an C-2 substituierten Abkömmlings des Naturstoffes hat sich die bereits bewährte Route unter Anwendung der Weinreb-Amidierung als wichtigen Zwischenschritt auf Anhieb als erfolgreich erwiesen. Bemerkenswerterweise

konnte dafür sogar der „ungeschützte“ 4-Aminobenzoessäureethylester als Anilinkomponente verwendet werden, da dessen Estergruppe offenbar deutlich weniger reaktiv ist als jene des anderen Reaktanden, Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat. Während dieser Syntheseschritt auch mit dem isomeren Anthranilsäureethylester gelingt, führt die versuchte intramolekulare Cycloadditionsreaktion von dessen 3-Propargyl-Derivat nicht zum angestrebten 4-Ethoxycarbonyl-substituierten Luotonin A, sondern zu einer Verbindung mit 3,1-Benzoxazin-4-on-Struktur. Für die Synthese des somit weiterhin noch ausstehenden „Luotonin-A-4-Carbonsäureesters“ wird deshalb eine andere Strategie zu wählen sein, was allerdings zukünftigen Untersuchungen vorbehalten bleibt.

### **3. Experimenteller Teil**

#### **3.1 Verwendete Geräte und Materialien**

##### **Dünnschichtchromatographie:**

Im Zuge der Identitätsprüfungen und Kontrolle der Reaktionen wurden DC-Alufolien Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Art.-Nr. 1.05554) der Firma Merck verwendet. Die Detektion erfolgte mittels Fluoreszenzminderung unter UV<sub>254</sub> und Eigenfluoreszenz unter UV<sub>366</sub> (Camag UV-Lampe).

##### **Schmelzpunkte:**

Sämtliche Schmelzpunkte wurden auf einem Kofler-Heiztischmikroskop der Firma Reichert bestimmt und sind unkorrigiert.

##### **Elementaranalysen:**

Sämtliche Elementaranalysen wurden im Mikroanalytischen Laboratorium unter der Leitung von Herrn Mag. Johannes Theiner an der Fakultät für Chemie der Universität Wien durchgeführt.

##### **Spektroskopie:**

##### **Massenspektrometrie:**

##### **Niedrigauflösung:**

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

##### **Hochauflösung (HRMS):**

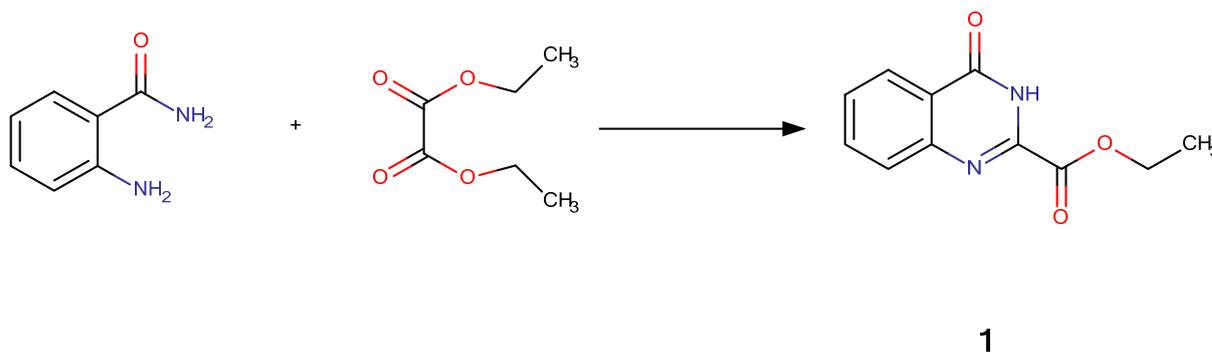
Die hochaufgelösten ESI-TOF-Spektren wurden auf einem Bruker maXis (ESI Q-TOF) Spektrometer gemessen, das hochaufgelöste EI-Massenspektrum wurde am Massenspektrometriezentrum der Fakultät für Chemie der Universität Wien auf einem Finnigan MAT 95S gemessen.

## NMR:

Die Aufnahme der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren (400 MHz) und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren (100 MHz) erfolgte auf einem Bruker Avance III 400 Spektrometer ( $\delta$ -Werte in ppm).

## 3.2 Arbeitsvorschriften

### 3.2.1 Synthese von Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxlat (1) aus Anthranilamid



Ein Gemisch von 6.80 g (50 mmol) Anthranilamid und 50 mL Oxalsäure-diethylester wird 36 h unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ , 9+1) überprüft. Das Reaktionsgemisch wird abgekühlt, der Niederschlag wird abgenutscht, mit Ethanol gewaschen und danach in 50 mL Ether resuspendiert. Nach ca. 30 min Rühren wird erneut abgenutscht, mit Ethanol und Ether gewaschen und das Produkt im Exsikkator getrocknet.

**Ausbeute:** 8.11 g (73%) (Lit.<sup>22</sup>: 81%)

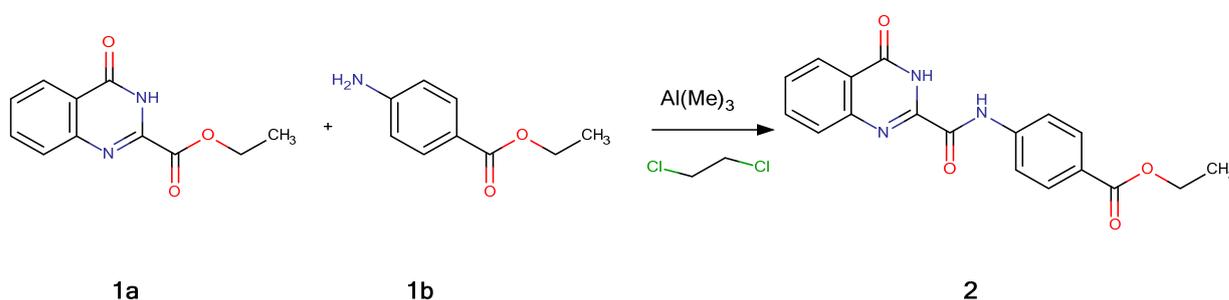
**Schmelzpunkt:** 184-185 °C (Lit.<sup>32</sup>: 179-180 °C)

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

**MG:** 218.21

### 3.2.2 Amidierung des Chinazolinoncarbonsäureesters

#### 3.2.2.1 Synthese von Ethyl-4-[[[(4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)-carbonyl]amino]benzoat (**2**)



Eine Lösung von 0.990 g (6 mmol) 4-Aminobenzosäureethylester (**1b**) in 20 mL trockenem 1,2-Dichlorethan wird unter Argon-Atmosphäre auf 0°C gekühlt (Eisbad). Anschließend werden unter Rühren 3.0 mL (6 mmol) einer Trimethylaluminium-Lösung (2.0 M in Heptan) langsam hinzugegeben und das Gemisch wird 30 min bei 0°C gerührt. Es folgt die Zugabe von 1.097 g (5 mmol) 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonsäureethylester (**1a**). Nun wird zunächst 10 min unter Eiskühlung, danach 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch 1 h auf 50°C erhitzt. Die vollständige Umsetzung wird mittels DC überprüft (Fließmittel:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Ethylacetat, 9:1). Das Reaktionsgemisch wird im Eisbad gekühlt. Es folgt die langsame Zugabe von 20 mL 5% HCl. Nun werden 80 mL Wasser hinzugegeben und das Reaktionsgemisch 5 x mit je 100 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Das organische Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert. Der als Rückstand verbleibende rohe Ester **2** wird im Exsikkator getrocknet. Zur Reinigung wird aus Ethanol umkristallisiert: man erhält farblose Kristalle

**Ausbeute:** 1249 mg (74%)

**Schmelzpunkt:** 232-234 °C

**Summenformel:** C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

**MG:** 337.33

**Elementaranalyse:** ber. f. C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> und C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> • 0.25 H<sub>2</sub>O

	% C	% H	% N
ber.	64.09	4.48	12.46
ber.f. 0.25 H <sub>2</sub> O	63.25	4.57	12.29
gef.	63.34	4.28	12.07

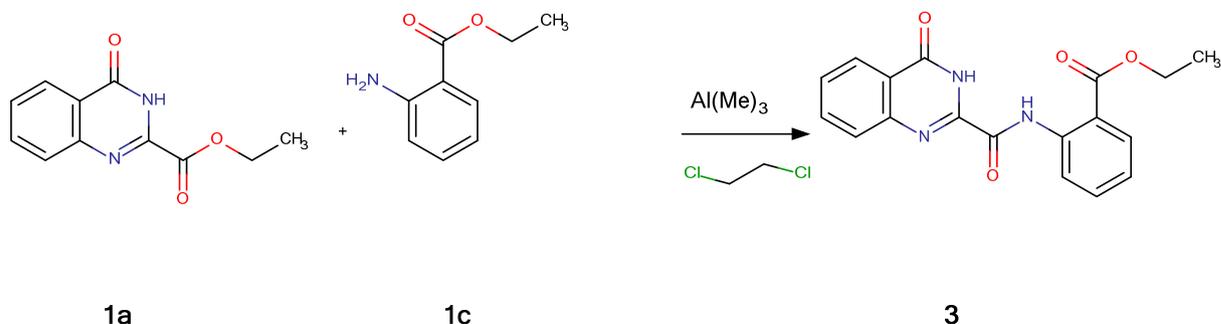
**HRMS:**

ber. f. [M+Na] <sup>+</sup>	360.0955
gef.	360.0953

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.58 (s, 1H, 3-H), 11.07 (s, 1H, Amid-NH), 8.21 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, 5-H), 8.06-8.04 (BB'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, Phenyl 3'-H, 5'-H), 8.00-7.98 (AA'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, Phenyl 2'-H, 6'-H), 7.97-7.88 (m, 2H, 7-H, 8-H), 7.65 (td, *J* = 8.1, 7.4, 1.7 Hz, 1H, 6-H), 4.31 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 1.33 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 165.2, 161.1, 158.6, 146.8, 145.8, 142.0, 134.8, 130.1, 128.4, 127.9, 126.2, 125.5, 122.8, 120.0, 60.6, 14.2

### 3.2.2.2 Synthese von Ethyl-2-[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonylamino]benzoat (**3**)



Eine Lösung von 0.990 g (6 mmol) Anthranilsäureethylester (**1c**) in 20 mL trockenem 1,2-Dichlorethan wird unter Argon-Atmosphäre auf 0°C gekühlt (Eisbad). Anschließend werden 3.0 mL (6 mmol) einer Trimethylaluminium-Lösung (2.0 M in Heptan) langsam hinzugegeben und das Gemisch wird 30 min bei 0°C gerührt. Es folgt die Zugabe von 1.097 g (5 mmol) 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonsäureethylester (**1a**). Nun wird zunächst 10 min unter Eiskühlung, danach 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Reaktionsgemisch 1 h auf 50°C erhitzt. Die vollständige Umsetzung wird mittels DC überprüft (Fließmittel: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Ethylacetat, 9:1). Das Reaktionsgemisch wird im Eisbad gekühlt. Es folgt die langsame Zugabe von 20 mL 5% HCl. Nun werden 80 mL Wasser hinzugegeben und das Reaktionsgemisch 5 x mit je 100 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ausgeschüttelt.<sup>1</sup>

Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser und mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das organische Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abdestilliert. Der als Rückstand verbleibende rohe Ester **3** wird im Exsikkator getrocknet. Durch Umkristallisation aus Ethanol erhält man nahezu farblose Kristalle.

<sup>1</sup> Als alternative Methode für die Aufarbeitung wird das ausgefallene Produkt abgutscht und mit 150 mL 70% Ethanol gewaschen. Dieses Rohprodukt wird im Exsikkator getrocknet und kann für den nächsten Syntheseschritt ohne weitere Reinigung verwendet werden. Durch Umkristallisation aus Ethanol erhält man nahezu farblose Kristalle.

**Ausbeute:** 1062 mg (63%)

**Schmelzpunkt:** 253-255 °C

**Summenformel:** C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

**MG:** 337.33

**Elementaranalyse:** ber. f. C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

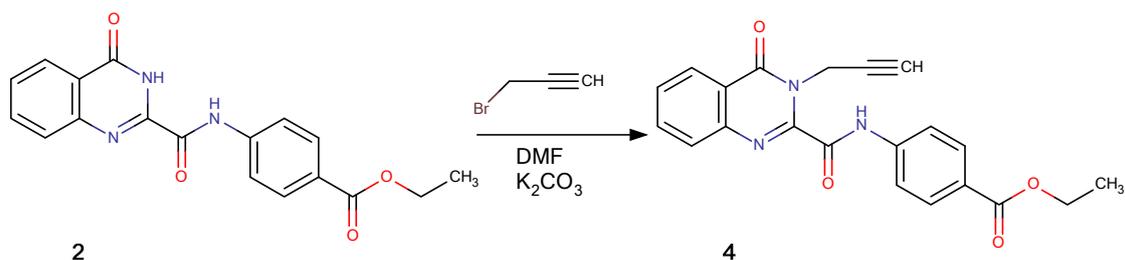
	% C	% H	% N
ber.	64.09	4.48	12.46
gef.	63.97	4.49	12.21

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.74 (s, 1H, NH), 12.62 (s, 1H, NH), 8.72 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, Phenyl 3'-H), 8.21 (dd, *J* = 7.9, 1.1 Hz, 1H, 5-H), 8.09 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H, Phenyl 6'-H), 7.98–7.90 (m, 1H, 7-H), 7.82 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, 8-H), 7.77–7.70 (m, 1H, Phenyl 4'-H), 7.66 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, 6-H), 7.34–7.26 (m, 1H, Phenyl 5'-H), 4.45 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 1.39 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 166.7, 157.9, 139.0, 134.9, 134.6, 131.1, 128.4, 126.3, 124.0, 120.1, 116.9, 61.5, 14.1

### 3.2.3 Alkylierung am Chinazolinon-Stickstoff

#### 3.2.3.1 Synthese von Ethyl-4-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (4)



Eine Lösung von 1.011 g (3 mmol) Ethyl-4-{{(4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)carbonyl]amino}benzoat (**2**) in 22.5 mL DMF wird mit 465 mg (3.3 mmol)  $K_2CO_3$  und 490 mg (3.3 mmol) einer 80%-igen Propargylbromid-Lösung in Toluol versetzt. Das Reaktionsgemisch wird 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Mittels DC wird die vollständige Umsetzung überprüft (Fließmittel:  $CH_2Cl_2$ /Ethylacetat, 9:1). Das Reaktionsgemisch wird in 100 mL Wasser gegossen und 3x mit je 100 mL  $CH_2Cl_2$  ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden 2x mit je 100 mL Wasser und 1x mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über  $Na_2SO_4$  getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird der verbleibende Rückstand von rohem Ethyl-2-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat aus Ethanol umkristallisiert: man erhält farblose Nadeln.

**Ausbeute:** 825 mg (80%)

**Schmelzpunkt:** 226-227 °C

**Summenformel:**  $C_{21}H_{17}N_3O_4$

**MG:** 375.38

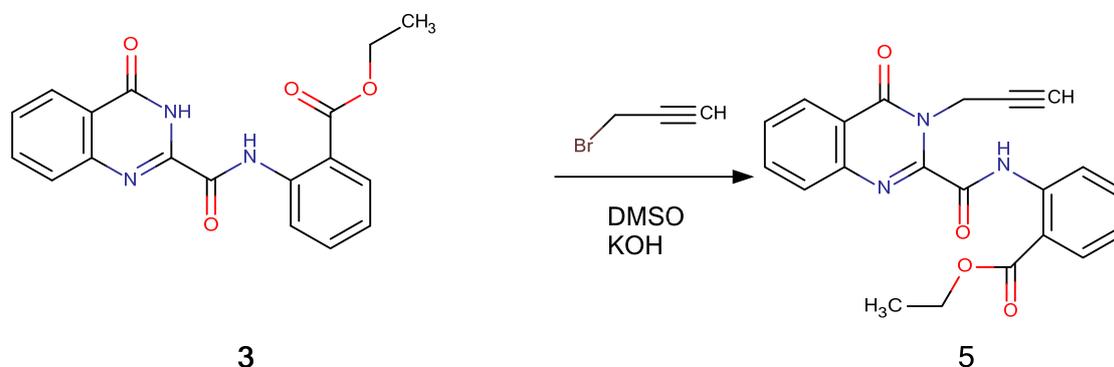
**Elementaranalyse:** ber. f.  $C_{21}H_{17}N_3O_4$

	% C	% H	% N
ber.	67.19	4.56	11.19
gef	67.03	4.41	11.09

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9.89 (s, 1H, NH), 8.37 (ddd, *J* = 8.0, 1.5, 0.5 Hz, 1H, 5-H), 8.13–8.07 (BB'-Teil eines AA'BB'-Systems, 2H, Phenyl 2'-H, 6'-H), 7.89–7.82 (m, 3H, 7-H, Phenyl 3'-H, 5'-H), 7.80 (dd, *J* = 7.5, 0.7 Hz, 1H, 8-H), 7.63 (ddd, *J* = 8.3, 7.0, 1.4 Hz, 1H, 6-H), 5.59 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>), 4.39 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 2.27 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H, Acetylen-H), 1.41 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 166.1, 161.3, 158.4, 145.0, 144.8, 140.9, 135.2, 131.0, 129.4, 127.9, 127.7, 127.1, 121.9, 119.4, 78.9, 72.2, 61.2, 33.9, 14.5

### 3.2.3.2 Synthese von Ethyl-2-([4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoat (5)



Bei Raumtemperatur werden 1.011 g (3 mmol) fein pulverisiertes Ethyl-2-[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino)benzoat (**3**) unter Rühren in 120 mL DMSO suspendiert. Danach folgt die Zugabe von 204 mg (3.6 mmol) fein pulverisiertem KOH und 60 mg Tetrabutylammoniumbromid. Im Anschluss wird das Gemisch 10 min im Ultraschallbad beschallt. Die tropfenweise Zugabe einer Lösung von 492 mg (6 mmol) Propargylbromid (80% Lösung in Toluol) in 60 mL DMSO erfolgt unter kräftigem Rühren über einen Zeitraum von 2 h. Nach weiteren 24 h werden weitere 246 mg (3 mmol) Propargylbromid (80% Lösung in Toluol) und

102 mg (1.8 mmol) fein pulverisiertes KOH sowie 30 mg Tetrabutylammoniumbromid hinzugegeben. Die vollständige Umsetzung wird mittels DC überprüft (Fließmittel: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Ethylacetat 9:1). Das Reaktionsgemisch wird mittels eines Faltenfilters filtriert und der Filtrerrückstand mit wenig DMSO gewaschen.<sup>2</sup> Das Filtrat wird in 800 mL Wasser gegossen und 3x mit je 300 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten Extrakte werden mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wird der verbleibende Rückstand von rohem Ethyl-2-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat aus Ethanol umkristallisiert: man erhält nahezu farblose Kristalle.

**Ausbeute:** 699 mg (62%)

**Schmelzpunkt:** 216-218 °C

**Summenformel:** C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

**MG:** 375.38

**Elementaranalyse:** ber. f. C<sub>21</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

	% C	% H	% N
ber.	67.19	4.56	11.19
gef.	67.47	4.71	10.68

**HRMS:**

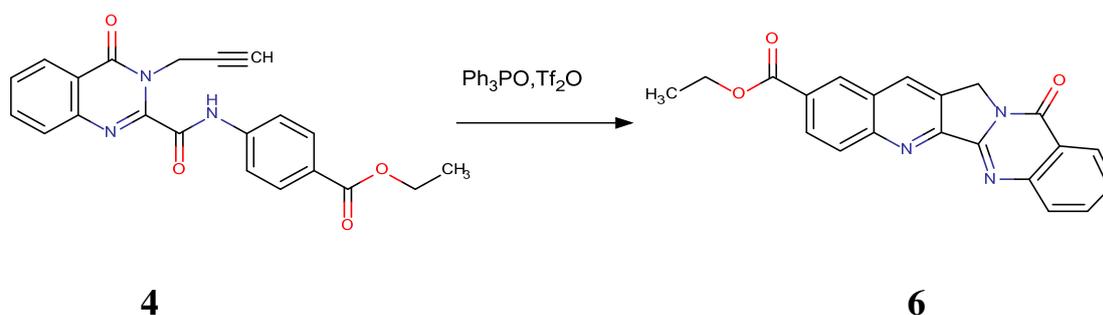
ber. f. [M+Na] <sup>+</sup>	398.1111
gef.	398.1112

<sup>2</sup> Der im Filter verbleibende Rückstand ist reines Produkt (5). Dieses wird in Wasser resuspendiert, abgenutscht, getrocknet und mit der Hauptmenge vereinigt.

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 12.90 (br s, 1H, NH), 8.85 (dd, *J* = 8.5, 1.0 Hz, 1H, Phenyl 3'-H), 8.36 (dd, *J* = 8.0, 1.0 Hz, 1H, 5-H), 8.14 (dd, *J* = 8.0, 1.6 Hz, 1H, Phenyl 6'-H), 7.90 (dd, *J* = 8.1, 0.8 Hz, 1H, 8-H), 7.84 (ddd, *J* = 8.2, 7.1, 1.5 Hz, 1H, 7-H), 7.63-7.56 (m, 2H, 6-H, Phenyl 4'-H), 7.24-7.17 (m, 1H, Phenyl 5'-H), 5.53 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>), 4.46 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 2.24 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H, Acetylen-H), 1.44 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 167.8, 161.5, 159.6, 146.1, 145.5, 140.2, 135.0, 134.6, 131.3, 129.0, 128.4, 127.5, 123.8, 121.9, 120.8, 117.0, 78.9, 72.2, 61.7, 33.6, 14.4

### 3.2.4 Synthese von Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino-[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxy-carbonyl-Luotonin A) (6)



Zu einer Lösung von Triphenylphosphinoxid (835 mg, 3 mmol) in trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> werden tropfenweise 0.25 mL (1.5 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid unter Argonatmosphäre bei 0 °C zugegeben. Die Lösung wird unter Eiskühlung 15 min gerührt. Dann folgt die Zugabe von 375 mg (1 mmol) Ethyl-4-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (**4**) und das Gemisch wird zunächst 10 min bei 0 °C und dann 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Die

Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC überprüft (Fließmittel: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Ethylacetat, 9:1). Das Reaktionsgemisch wird durch eine Glas-Sinternutsche filtriert, der Filtrerrückstand mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gewaschen und aus Ethanol umkristallisiert; man erhält blassgelbe Kristalle.

**Ausbeute:** 357 mg (100%)

**Schmelzpunkt:** 336-338 °C

**Summenformel:** C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

**MG:** 357.37

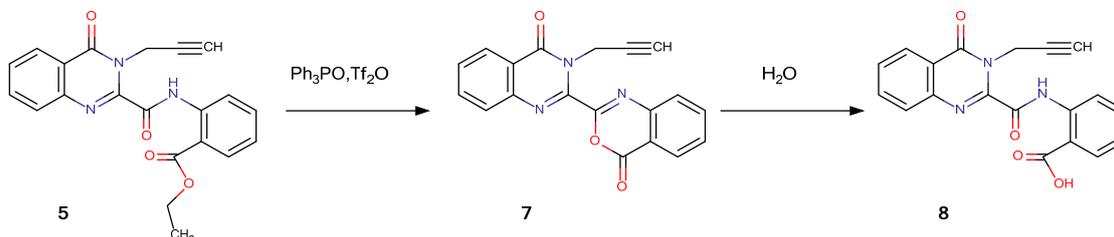
**Elementaranalyse:** ber. f. C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

	% C	% H	% N
ber.	70.58	4.23	11.76
gef.	70.29	4.17	11.61

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.69 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, 1-H), 8.56 (s, 1H, 14-H), 8.50 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, 4-H), 8.43-8.40 (m, 2H, 3-H, 10-H), 8.12 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, 7-H), 7.87 (ddd, *J* = 8.4, 7.2, 1.6 Hz, 1H, 8-H), 7.64–7.55 (m, 1H, 9-H), 5.38 (s, 2H, 13-H), 4.49 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>), 1.48 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 165.8, 160.6, 153.3, 152.3, 151.2, 149.3, 134.9, 133.1, 131.0, 131.0, 130.3, 130.3, 130.3, 129.0, 128.0, 127.9, 126.7, 121.5, 61.9, 47.5, 14.5.

### 3.2.5 Versuch zur intramolekularen Cycloadditionsreaktion am *ortho*-substituierten Ester **5**



Zu einer Lösung von Triphenylphosphinoxid (835 mg, 3 mmol) in trockenem  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  werden tropfenweise 0.25 mL (1.5 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid unter Argonatmosphäre bei  $0\text{ }^\circ\text{C}$  zugegeben. Die Lösung wird unter Eiskühlung 15 min gerührt. Dann folgt die Zugabe von 375 mg (1 mmol) Ethyl-2-([4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoat (**5**) und das Gemisch wird zunächst 10 min bei  $0\text{ }^\circ\text{C}$  und dann 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels DC überprüft (Fließmittel:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Ethylacetat, 9:1). Der feinkristalline Niederschlag wird durch eine Glas-Sinternutsche (G4) abfiltriert und das so erhaltene rohe 2-[4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]-4*H*-3,1-benzoxazin-4-on (**7**) mit  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  gewaschen; man erhält nahezu farblose Kristalle.

**Ausbeute:** 172 mg (53%)

**Schmelzpunkt:** 186-188  $^\circ\text{C}$

**Summenformel:**  $\text{C}_{19}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3$

**MG:** 329.31

**HRMS:** (EI, 70 eV)

ber. f. $\text{M}^+$	329.0795
gef.	329.0793

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8.44 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.35 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 8.19 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.07–8.00 (m, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.85–7.79 (m, 1H), 7.76 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 5.48 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 2.31 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H)

Beim Versuch, Verbindung **7** aus Toluol oder Ethanol umzukristallisieren, tritt Umwandlung in eine deutlich polarere Verbindung ein, bei der es sich um 2-({[4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}-amino)benzoesäure (**8**) handelt.

**Schmelzpunkt:** 216–220 °C

**Summenformel:** C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

**MG:** 347.33

**HRMS:**

ber. f. [M+Na] <sup>+</sup>	370.0798
gef.	370.0799

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 12.97 (s, 1H, NH), 8.69 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, Phenyl 3'-H), 8.25 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H, 5-H), 8.09 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H, Phenyl 6'-H), 7.98 (td, *J* = 7.7, 7.2, 1.5 Hz, 1H, 7-H), 7.80 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, 8-H), 7.75–7.67 (m, 2H, 6-H, Phenyl 4'-H), 7.33–7.25 (m, 1H, Phenyl 5'-H), 5.24 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H, NCH<sub>2</sub>), 3.26 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, Acetylen-H)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>): δ 169.2, 160.5, 158.9, 146.3, 144.8, 139.5, 135.4, 134.4, 131.5, 129.2, 127.7, 126.7, 123.9, 121.1, 119.8, 117.3, 79.3, 74.4, 33.8

## 4. Literaturverzeichnis

1. Mutschler, E.; Geislinger, G.; Krömer, H.-K., Ruth, P.; Schäfer-Korting, M.: *Mutschler Arzneimittelwirkungen kompakt*, Wissenschaftliche Verlags-GmbH, Stuttgart, 2005, S. 417.
2. Pommier, Y., *Chem. Rev.*, **109**, 2894-2902 (2009)
3. Watson, J. D., Baker, T., Bell, S., Gann, A., Levine, M., Losick, R., „DNA-Topologie“ in: „Molekularbiologie“, 6. Auflage, Pearson Studium, München, 2011
4. Champoux, J. J.: *Annu. Rev. Biochem.*, **70**, 369-413 (2001)
5. Potmesil, M., *Cancer Res.*, **54**, 1431-1439 (1994)
6. Steinhilber, D.; Schubert-Zsilavecz, M.; Roth, H. J.: *Medizinische Chemie*, 1. Auflage, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, 2005, Kapitel 12: Zellproliferation und Neoplasien, S. 461–502.
7. Pommier, Y., *Nat. Rev. Cancer*, **6**, 789-802 (2006)
8. Wall, M. E.; Wani, M. C.; Cook, C. E.; Palmer, K. H.; McPhail, A. I.; Sim, G. A.: *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 3888–3890.
9. Dingermann, T.; Hiller, K.; Schneider, G.; Zündorf, I.: *SchneiderArzneidrogen*, 5. Auflage, Elsevier GmbH, Spektrum Akademischer Verlag, München, 2004, S. 495.
10. Sheahan, M. C., Chase, M. W. *Bot. J. Lin. Soc.* **122**, 279-300 (1996).
11. Burke, T. G., *Annals of the New York Academy of Sciences*, **803**, 29–31. (1996)
12. Cuong, N., Hsieh M., *Curr. Drug Metab.*, **10**, 842-850, (2009)
13. Aktories, K., Förstermann, U., Hofmann, F. B., Starke, K., „Mittel zur Behandlung von Tumoren“ in: „Repetitorium Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie“, 2. Auflage, Elsevier, München, 2009
14. Cagir, A., Eisenhauer B. M., Gao R., Thomas S. J., Hecht S. M., *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 6287-6299 (2004)
15. Kerrigan, J. E., Pilch D. S., *Biochemistry*, **40**, 9792-9798 (2001)

16. Cagir, A.; Jones, S. H.; Gao, R.; Eisenhauer, B. M.; Hecht, S. M.: *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 13628–13629 (2003)
17. Ma, Z. Z., Hano, Y., Nomura, T., Chen, Y. J. *Heterocycles* **46**, 541-546 (1997).
18. Dai, W., Petersen, J. L., Wang, K. K. *Org. Letters* **8**, 4665-4667 (2006).
19. Nacro, K., Zha, C., Guzzo, P. R., Herr, R. J., Peace, D., Friedrich, T. D. *Bioorg. Med. Chem.* **15**, 4237–4246 (2007).
20. Rahman, A. M., Kim, D. H., Liang, J. L., Lee, E. S., Na, Y., Jun, K. J., Kwon, Y., Jahng, Y. *Bull. Korean Chem. Soc.* **29**, 1988-1992 (2008).
21. Ma, Z., Hano, Y., Nomura, T. *Heterocycles* **65**, 2203–2219 (2005).
22. Zhou, H.-B., Liu G.-S., Yao Z.-J., *J. Org. Chem.*, **72**, 6270-6272 (2007)
23. Nuß, S., Diplomarbeit, Universität Wien, 2012
24. Haider, N., Parth, S. *Concise Synthesis of A-Ring Modified Analogs of the Antitumor Alkaloid Luotonin A*, 13<sup>th</sup> Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry, Bled, Slowenien, Sept. 2009; *Abstract volume of the 13<sup>th</sup> BDSHC*, PO-28.
25. Haider, N., Nuß, S. *Molecules* **17**, 11363-11378 (2012).
26. Basha, A.; Lipton, M.; Weinreb, S. M.: *Tetrahedron Lett.*, **1977**, 4171–4174.
27. Haider, N.; Meng, G.; Roger, S.; Wank, S. *Tetrahedron* **69**, 7066–7072 (2013).
28. Kuo, C.W.; Zhu, J.L.; Wu, J.D.; Chu, C.M.; Yao, C.F.; Shia, K.S. *Chem. Commun.* **2007**, 301–303.
29. Dai, W.; Petersen, J.L.; Wang, K.K. *Org. Letters* **8**, 4665–4667 (2006).
30. Tunjic, L., Diplomarbeit, Universität Wien, 2013.
31. Eder, M., Diplomarbeit, Universität Wien, 2013.
32. Baker, B.R; Almaula P.I. *J. Org. Chem.* **27**, 4672-4674 (1962).
33. Louko, I., Diplomarbeit, Universität Wien, 2013

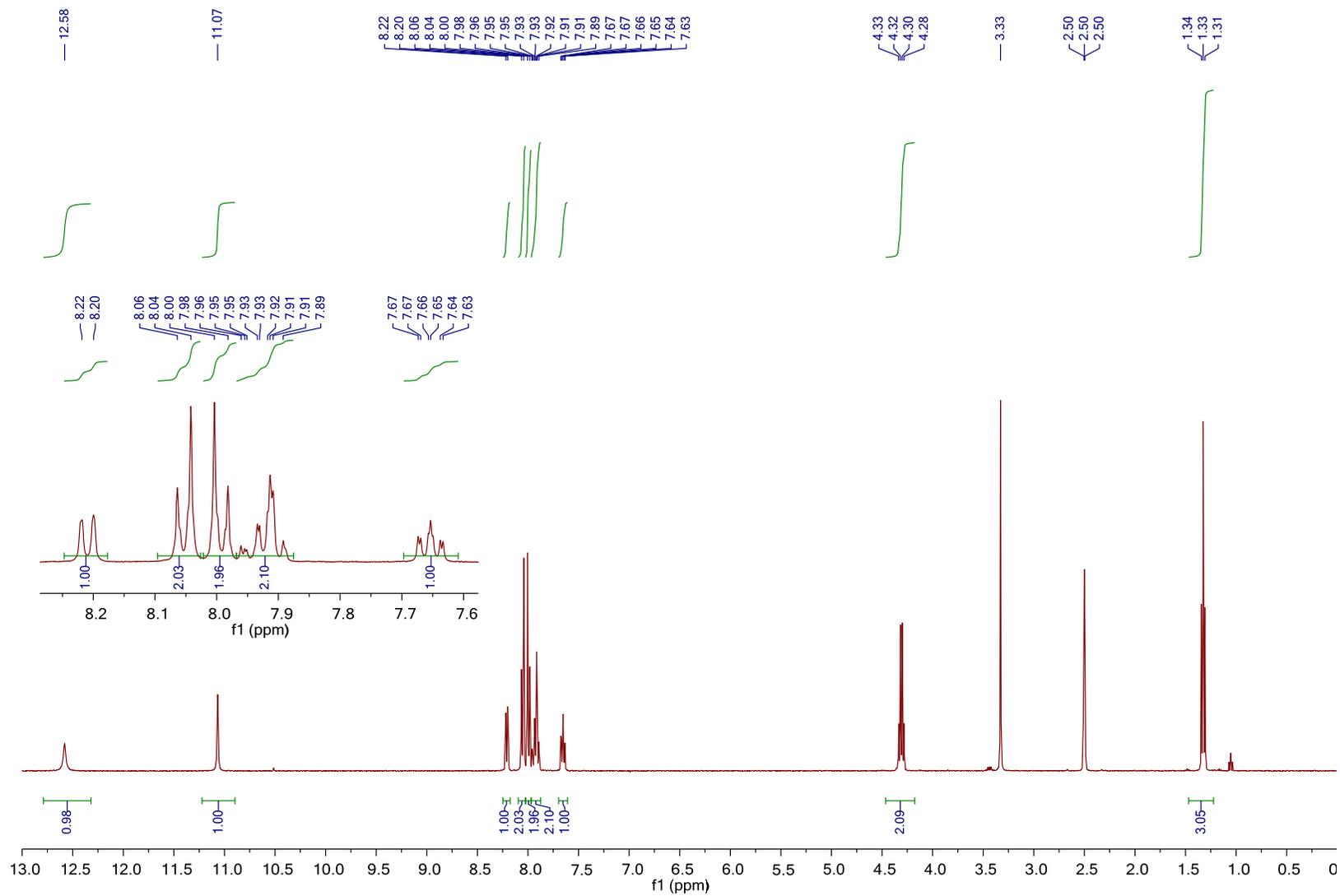
## **5. Anhang**

**Spektern**

**Zusammenfassung**

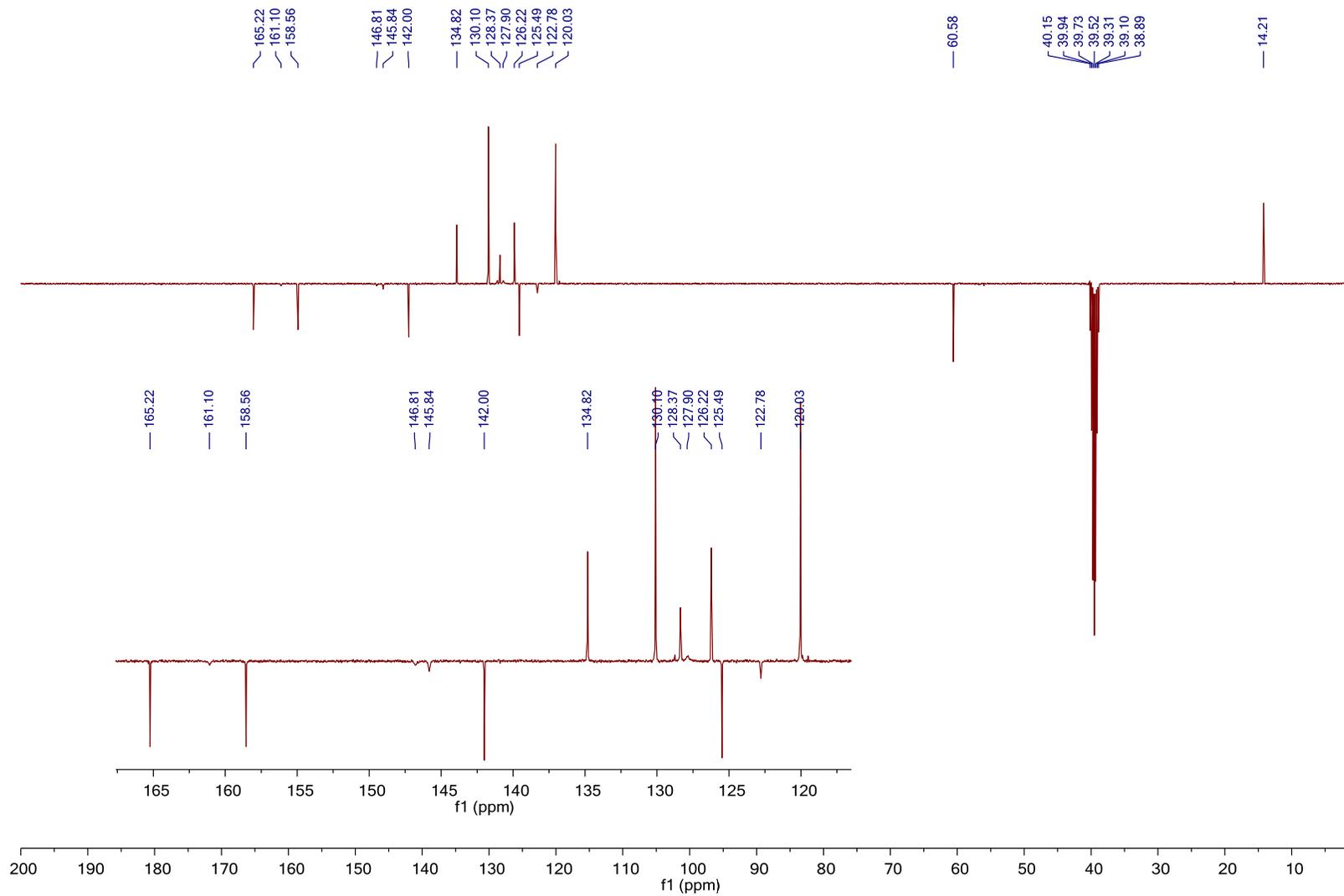
**Lebenslauf**

MA1; Ethyl 4-[[4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoate 1H / DMSO



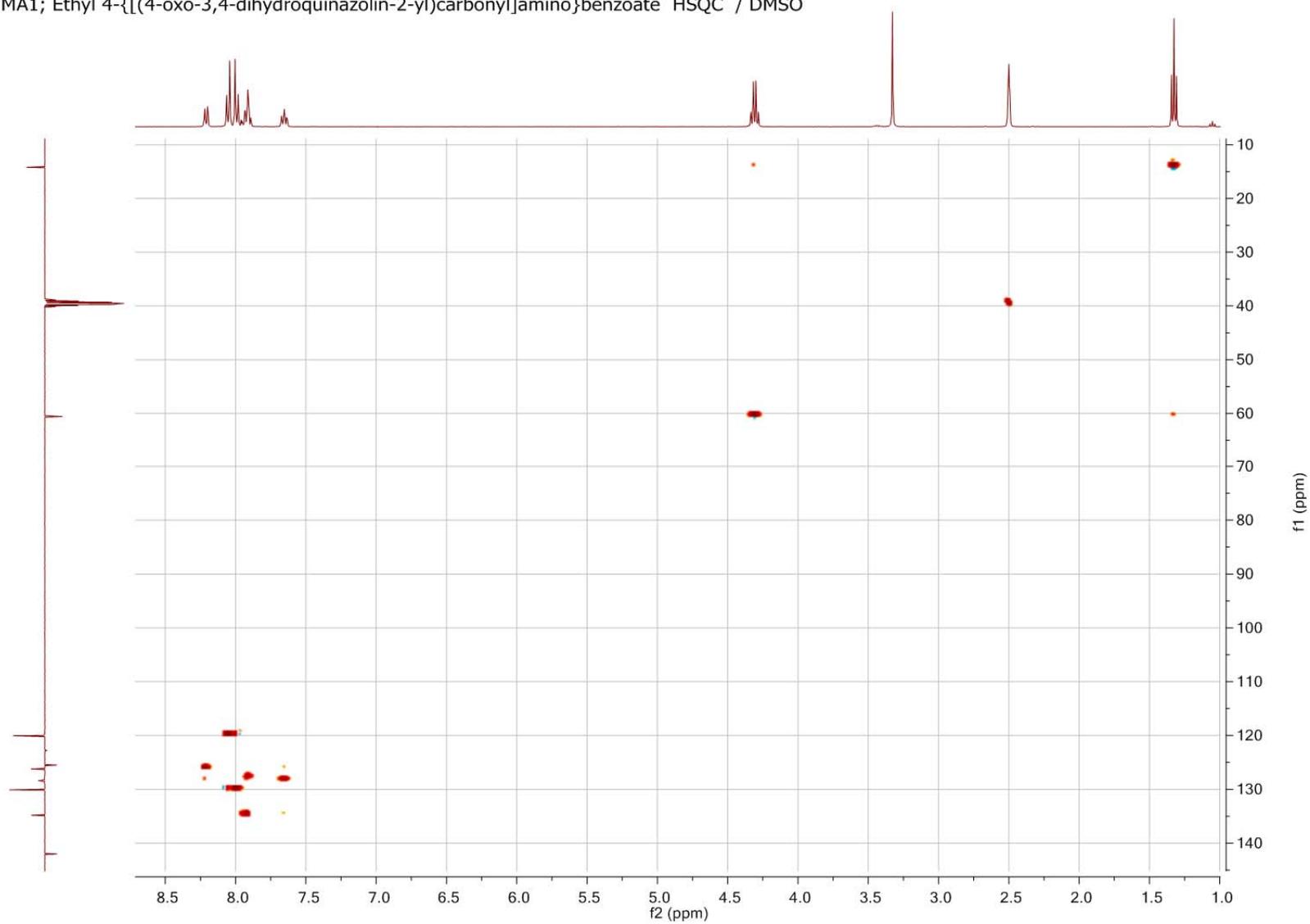
Tafel 1: Ethyl-4-[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoat (2) (DMSO-d<sub>6</sub>)

MA1; Ethyl 4-[[[(4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl)carbonyl]amino]benzoate C13APT / DMSO



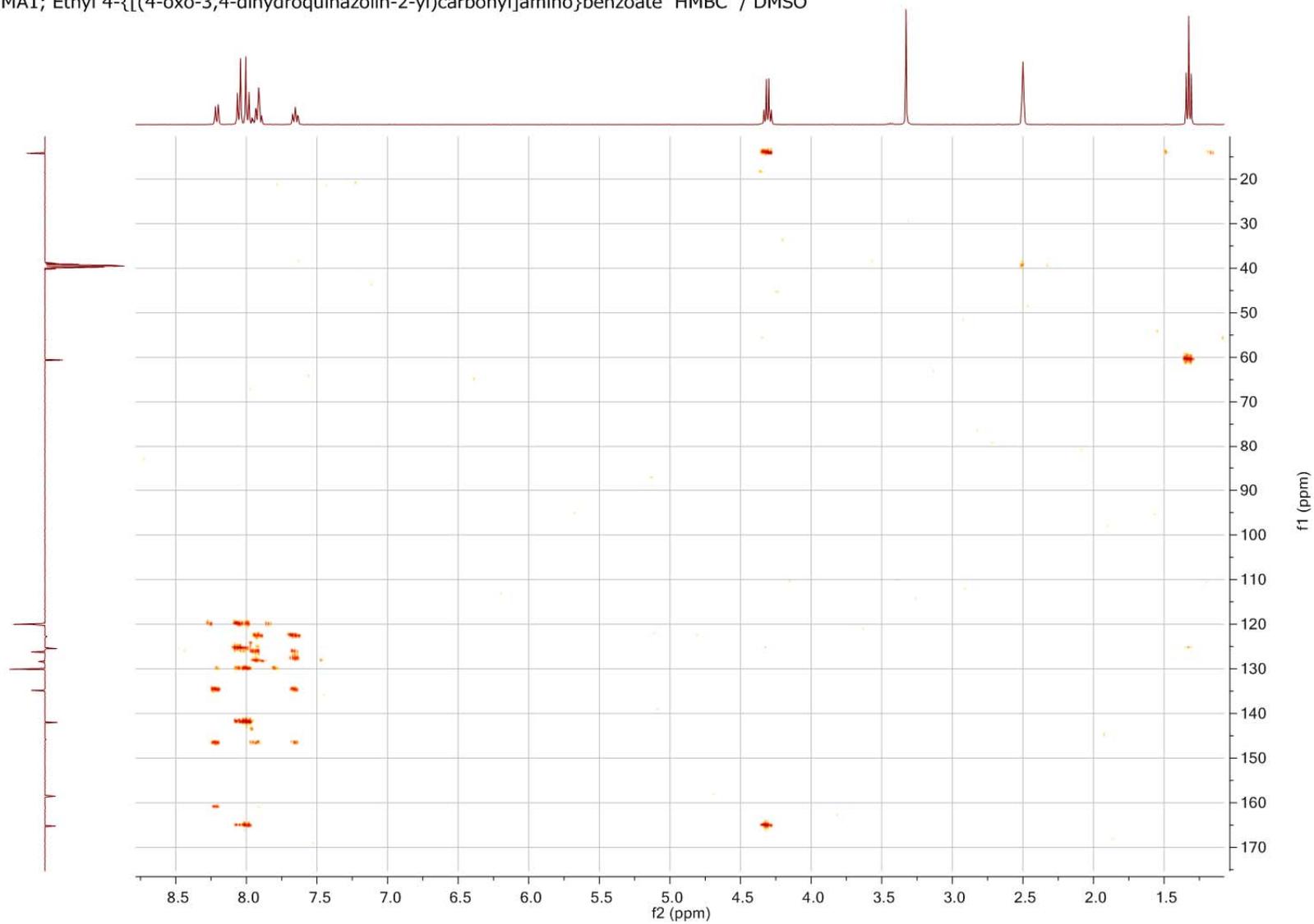
Tafel 2: Ethyl-4-[[[(4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)carbonyl]amino]benzoat (2) (DMSO-d<sub>6</sub>)

MA1; Ethyl 4-[[[4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl]amino]benzoate HSQC / DMSO



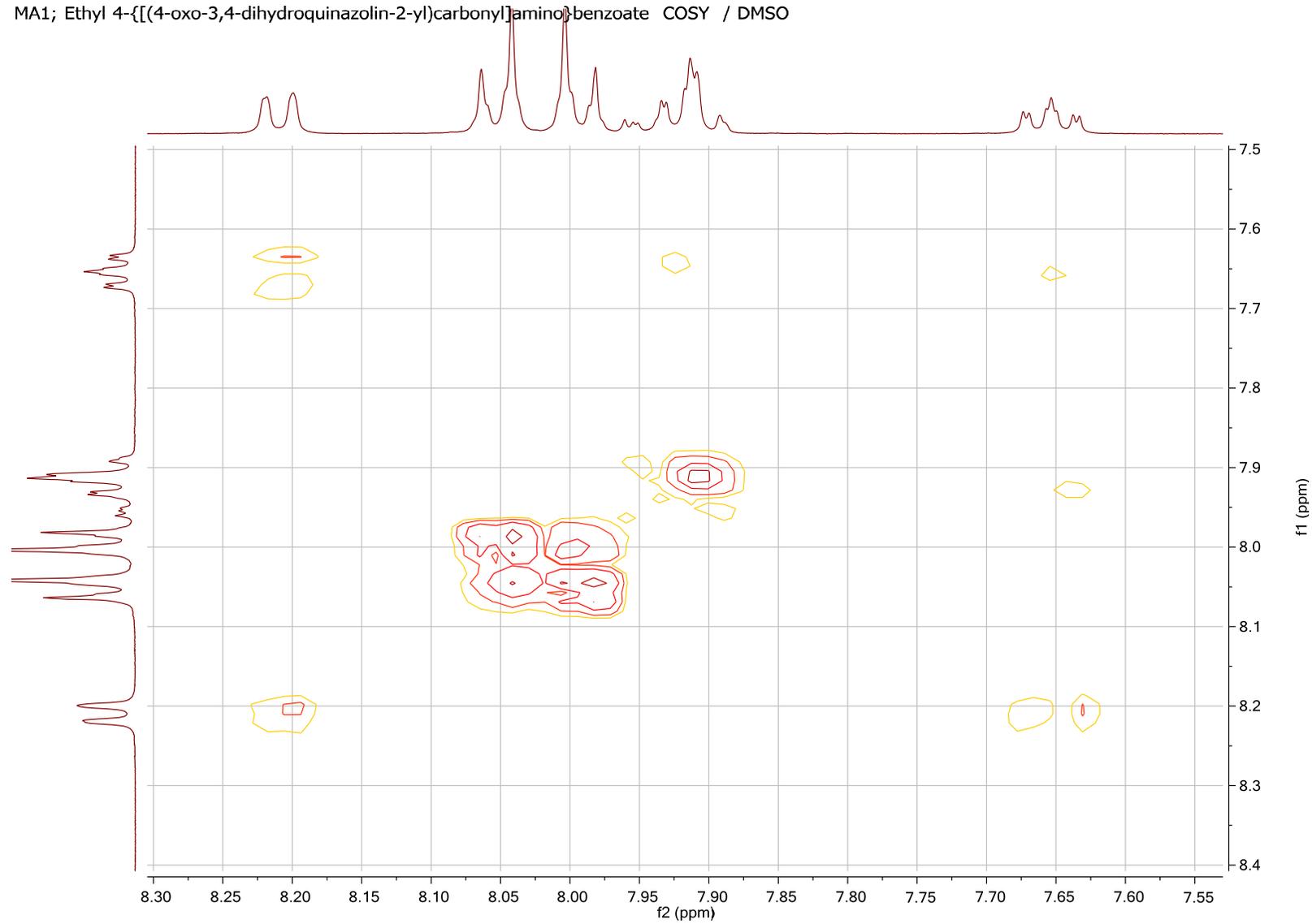
Tafel 3: Ethyl-4-[[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino]benzoat (**2**) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA1; Ethyl 4-[[[4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl]amino]benzoate HMBC / DMSO



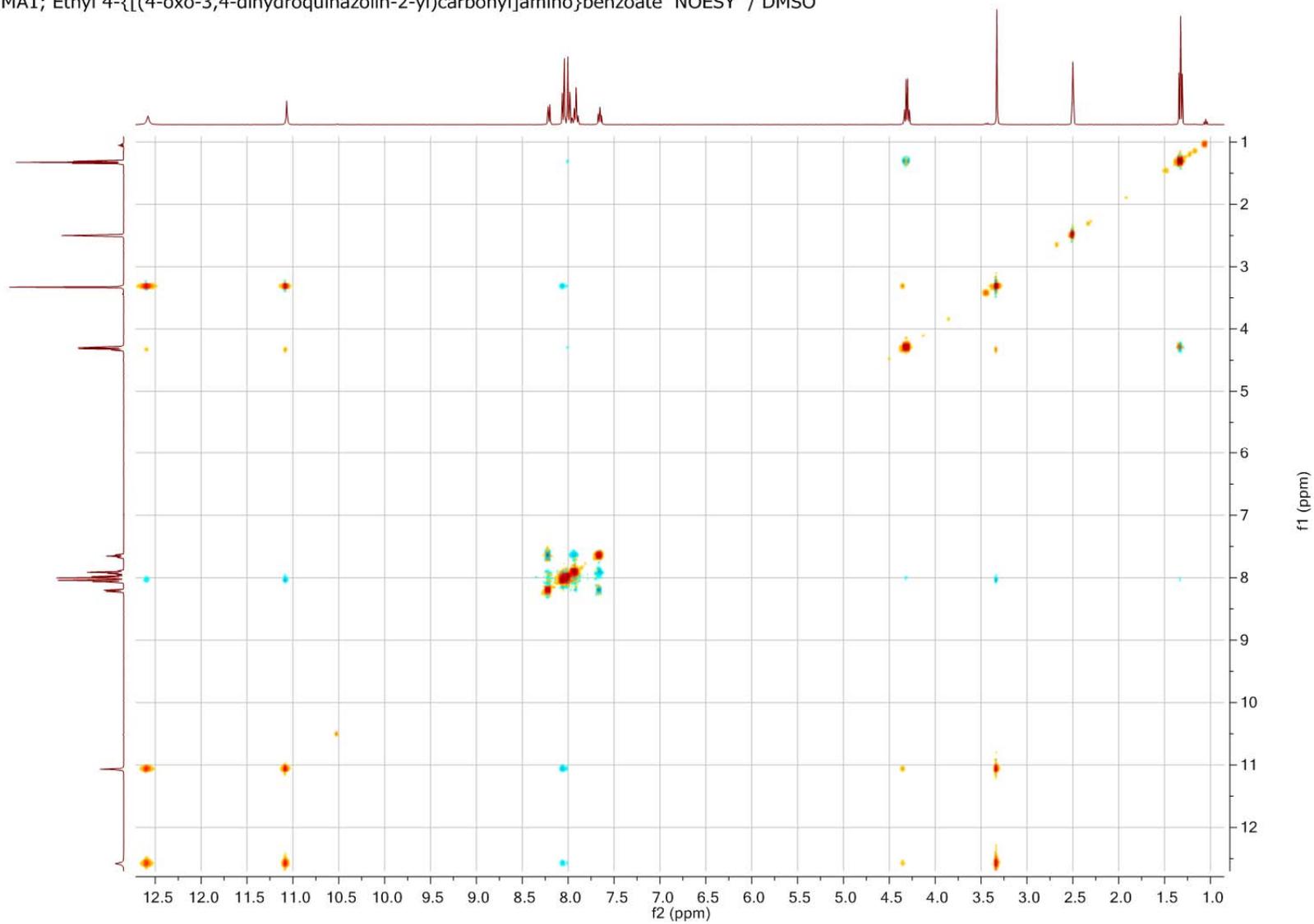
Tafel 4: Ethyl-4-[[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino]benzoat (**2**) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA1; Ethyl 4-[[[(4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl)carbonyl]amino]benzoate COSY / DMSO



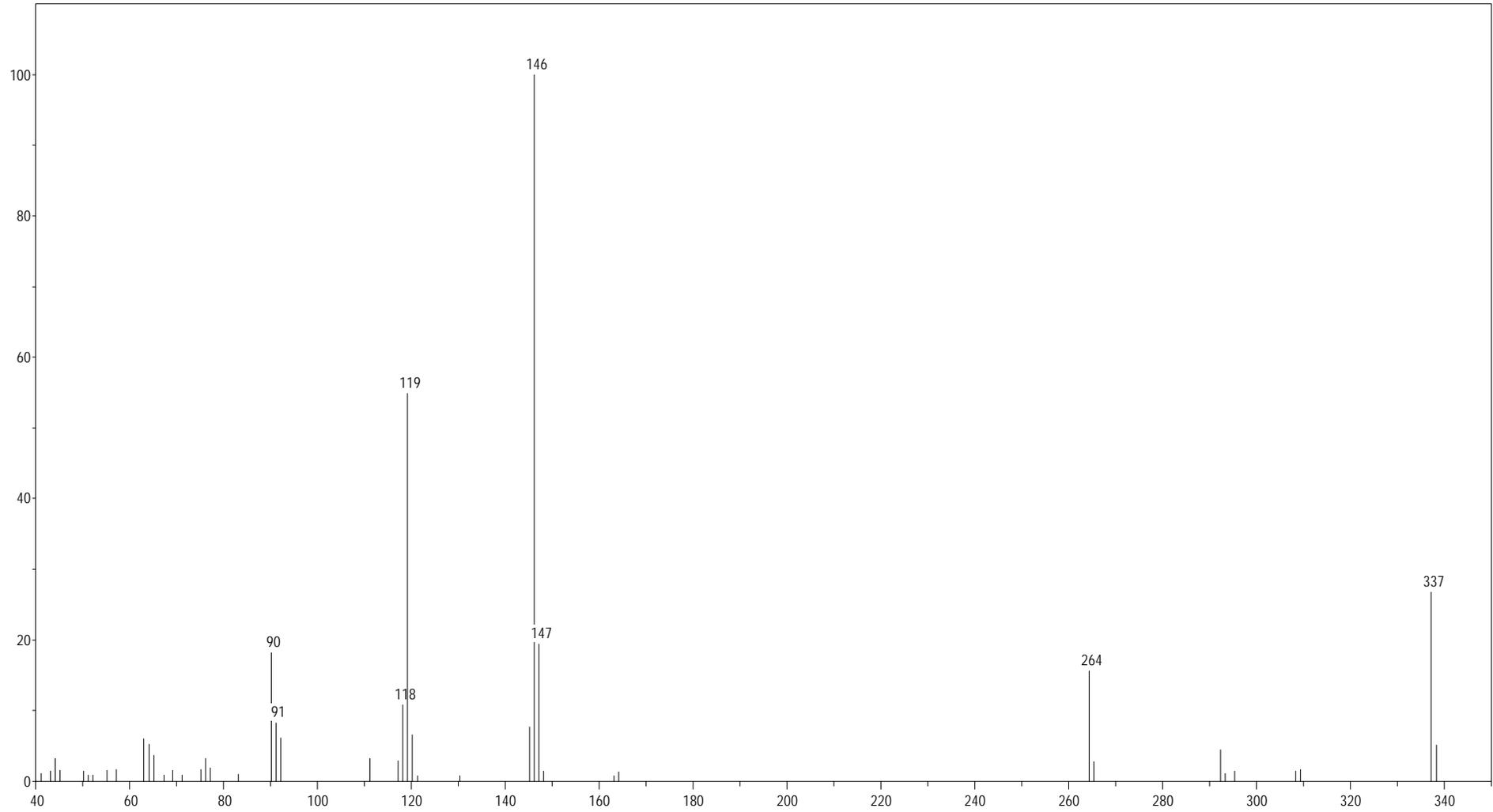
Tafel 5: Ethyl-4-[[[(4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)carbonyl]amino]benzoat (2) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA1; Ethyl 4-[[[4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl]amino]benzoate NOESY / DMSO



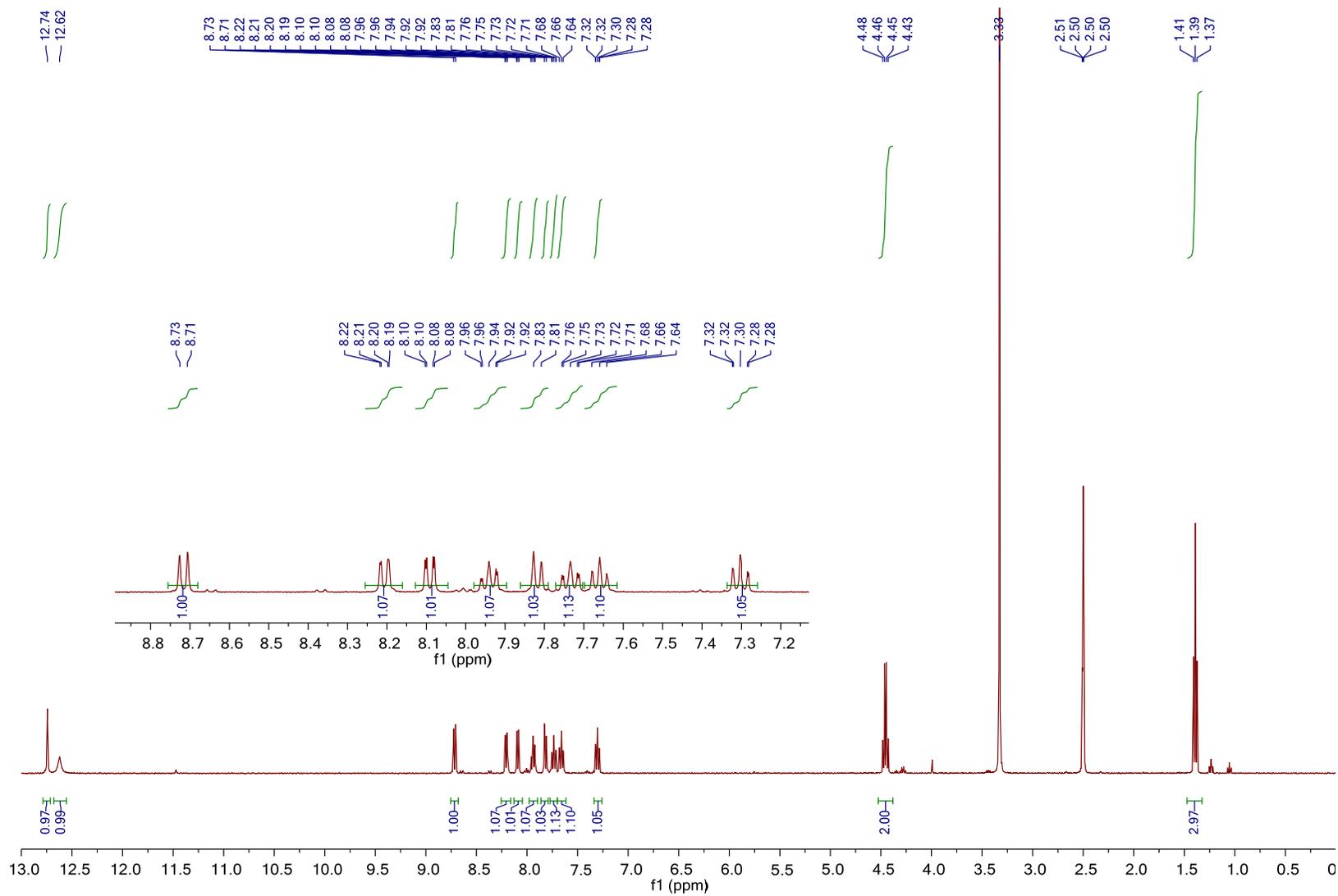
Tafel 6: Ethyl-4-[[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino]benzoat (**2**) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA1



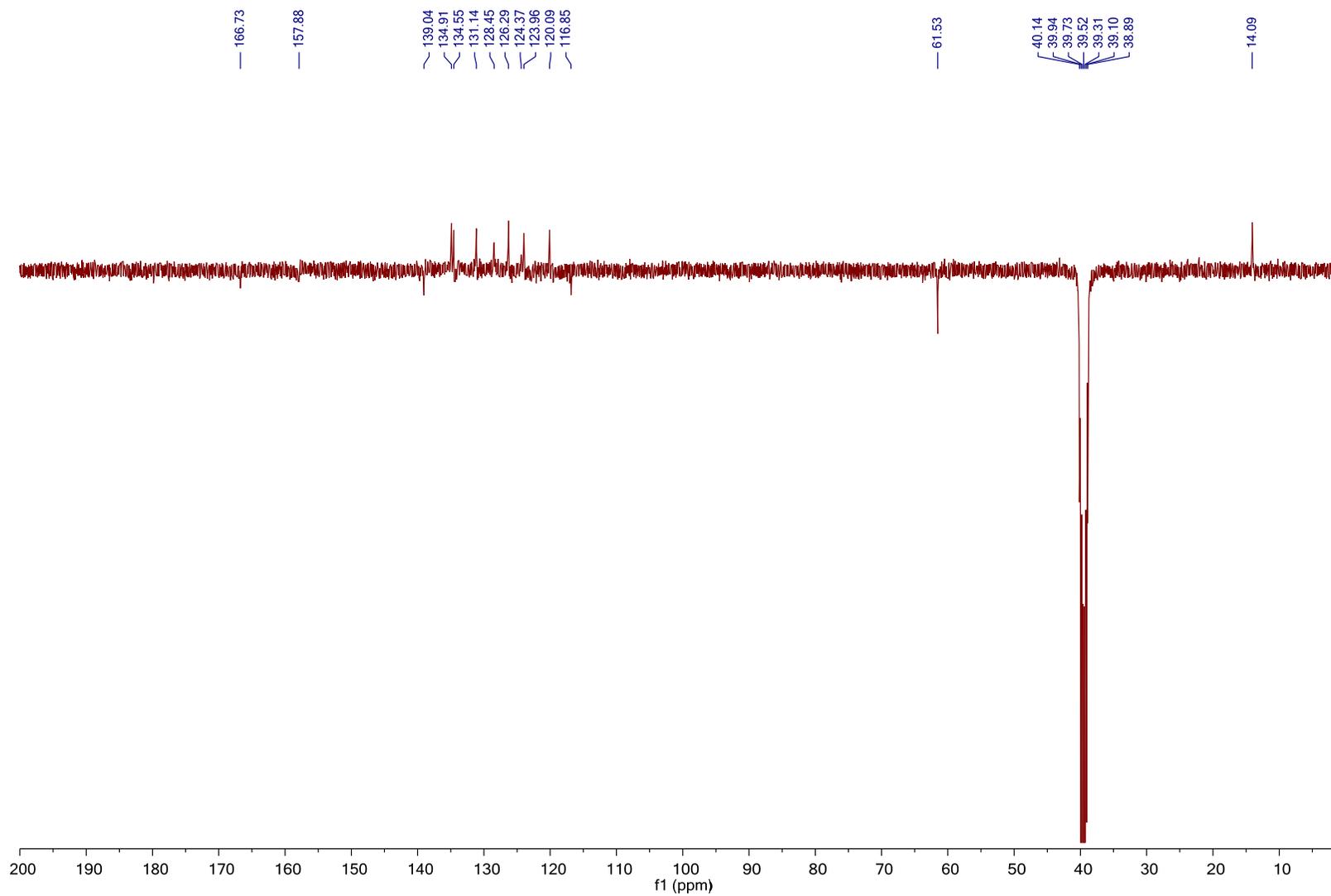
Tafel 7: Ethyl-4-[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoat (2)

MA3; Ethyl 2-[[4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoate 1H / DMSO



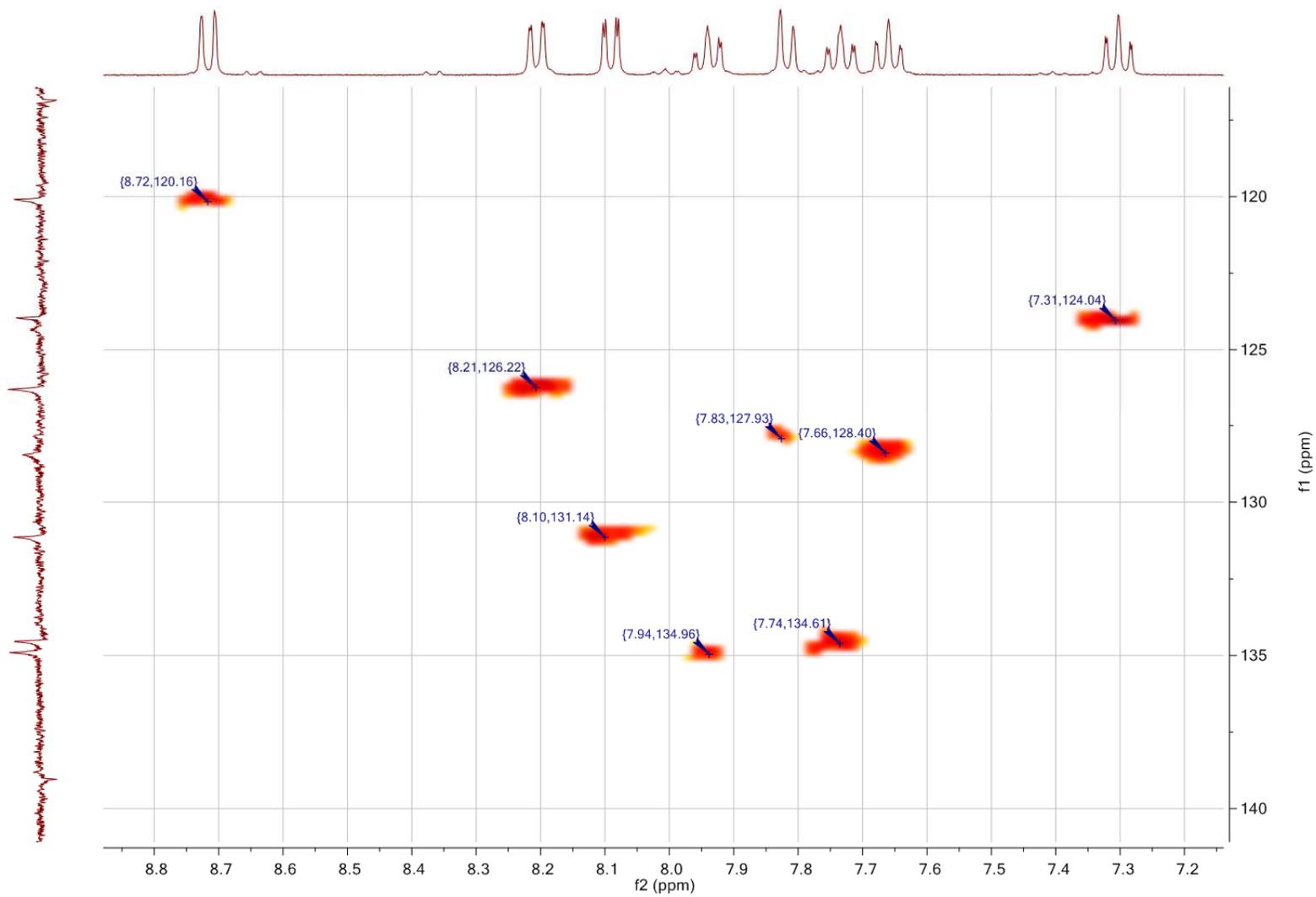
Tafel 8: Ethyl-2-[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoat (3) (DMSO-d<sub>6</sub>)

MA3; Ethyl 2-[[4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoate C13APT / DMSO



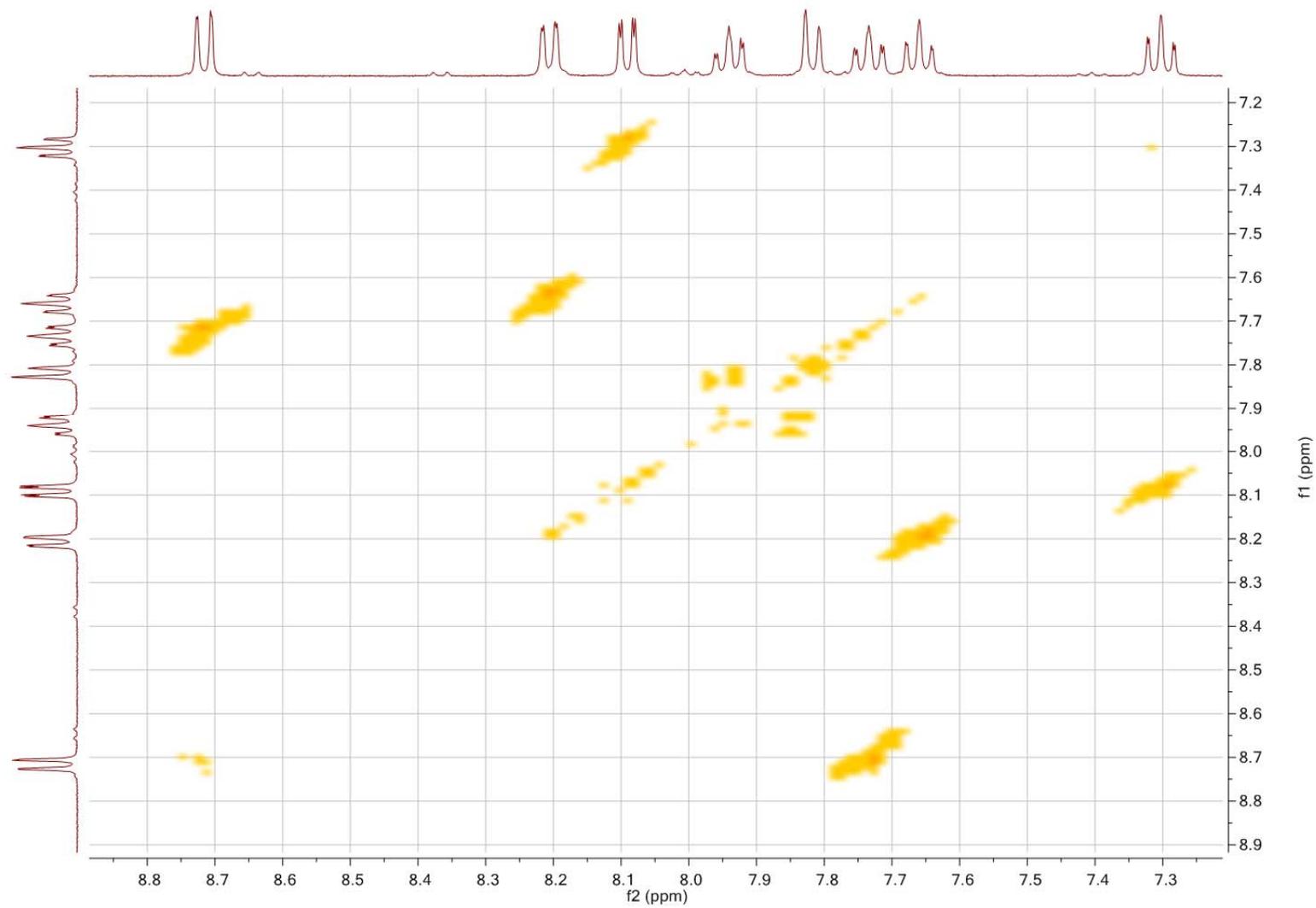
Tafel 9: Ethyl-2-[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoat (**3**) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA3; Ethyl 2-[[4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoate HSQC / DMSO



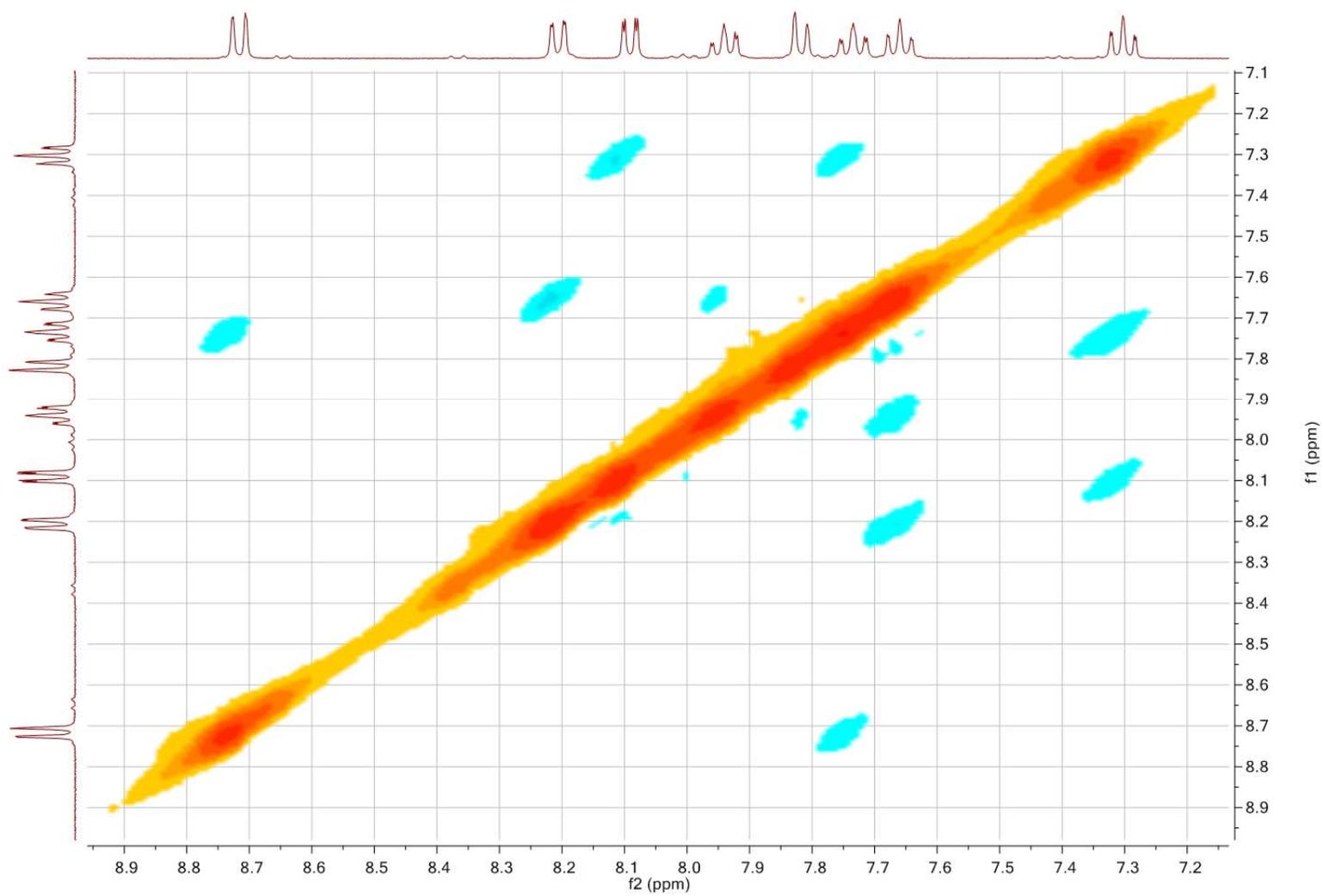
Tafel 10: Ethyl-2-[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoat (**3**) (DMSO- $d_6$ )

MA3; Ethyl 2-[[[4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl)carbonyl]amino]benzoate COSY / DMSO



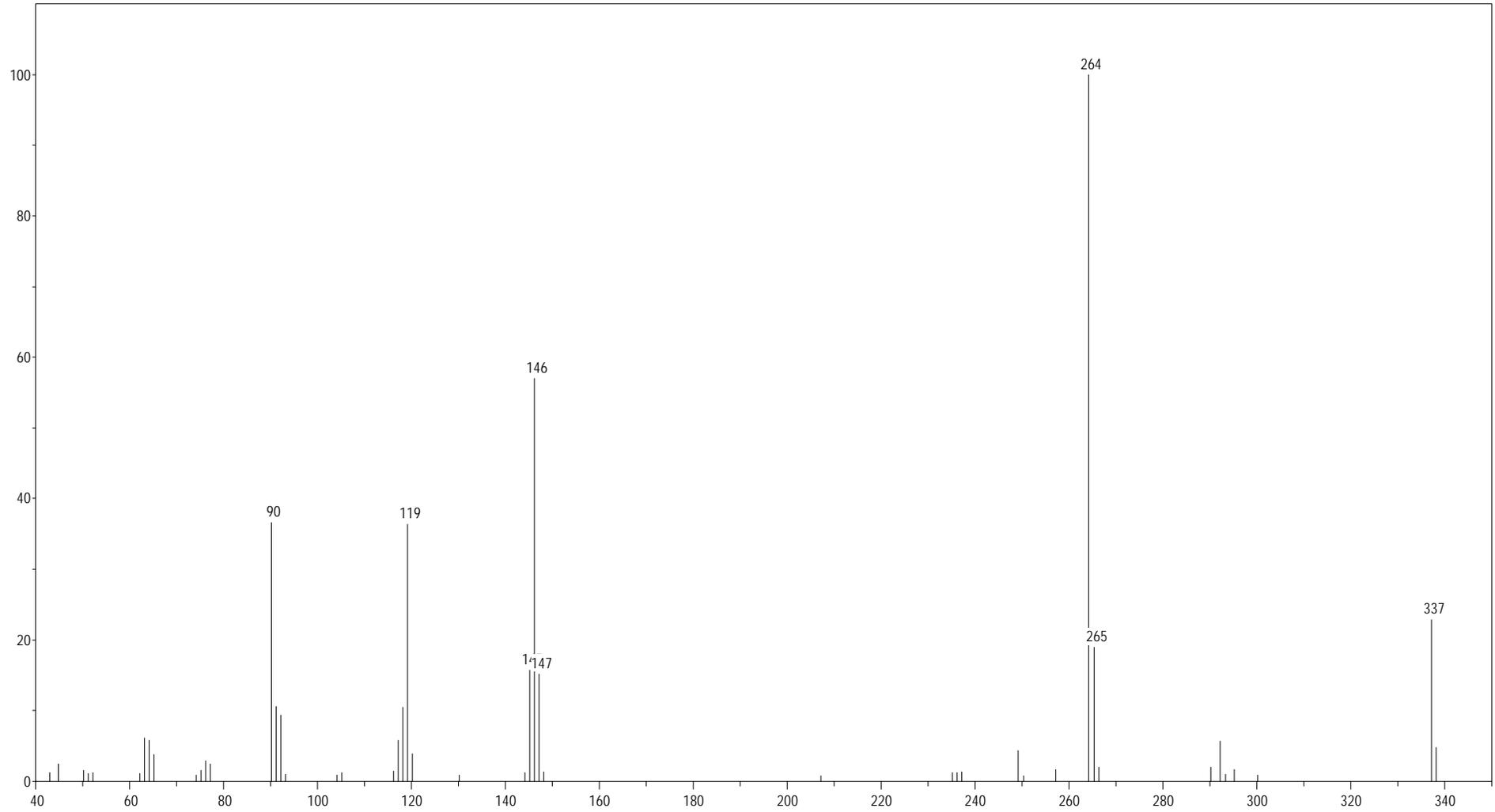
Tafel 11: Ethyl-2-[[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)carbonyl]amino]benzoat (**3**) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA3; Ethyl 2-[[4-oxo-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoate NOESY / DMSO



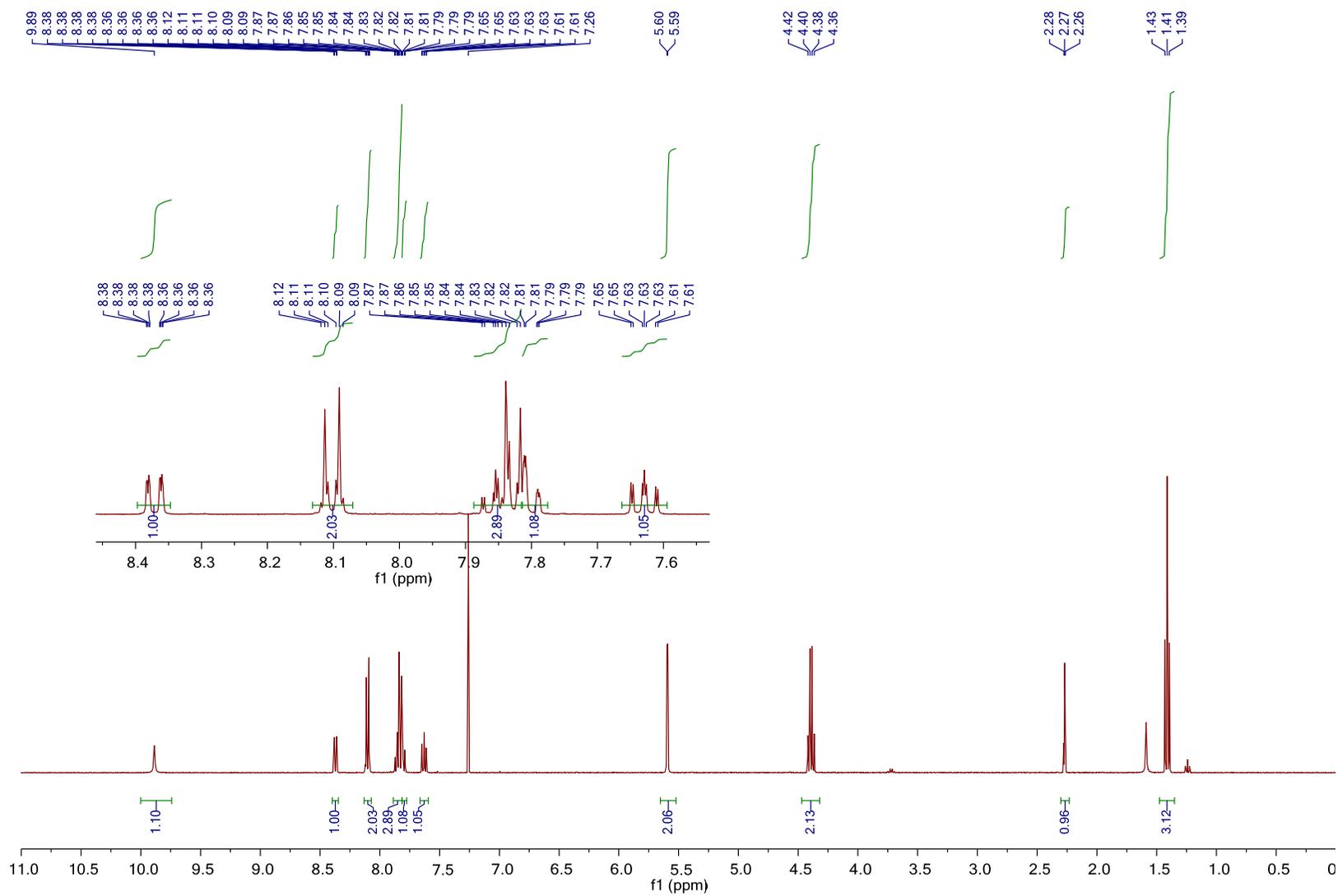
Tafel 12: Ethyl-2-[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoat (**3**) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA3



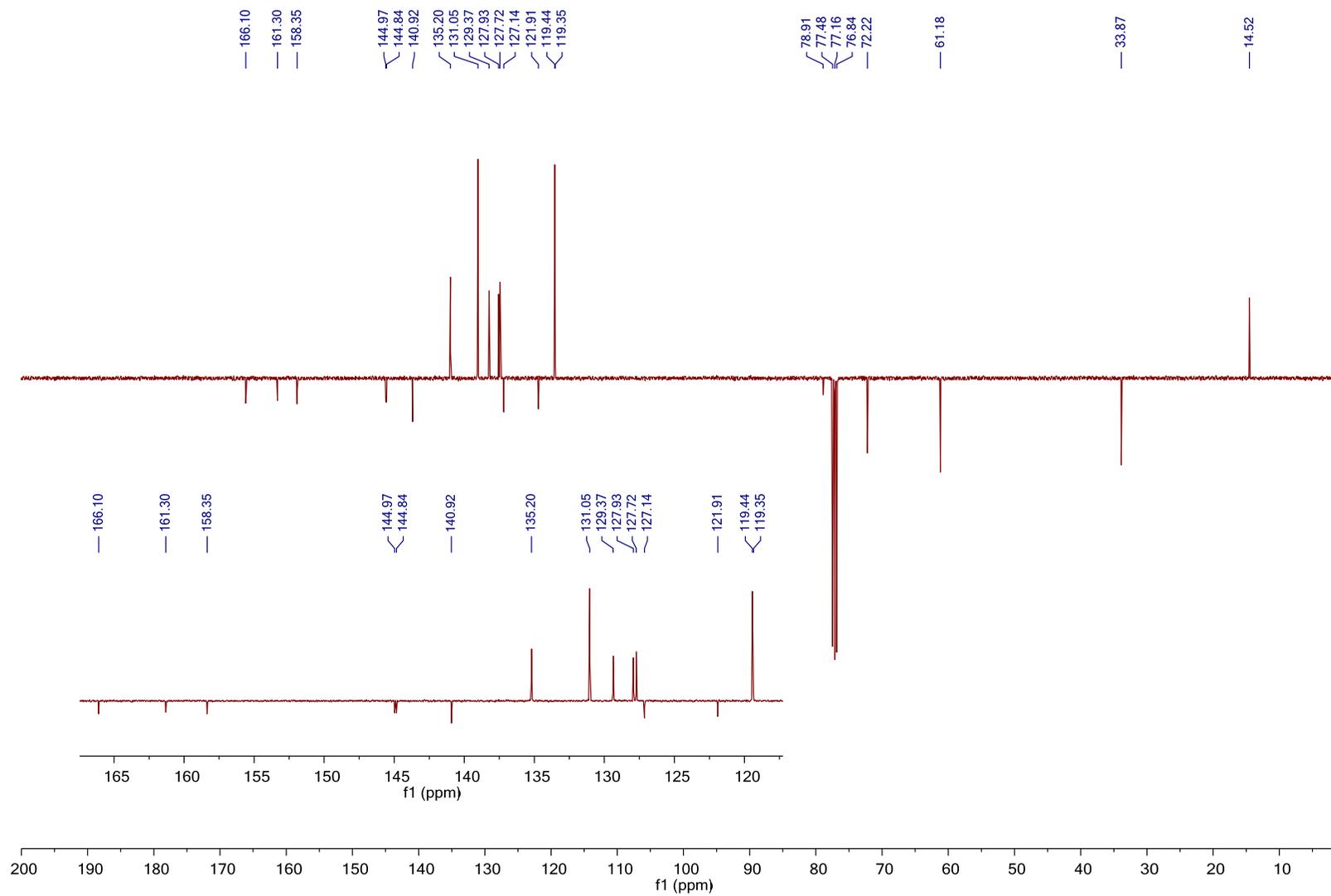
Tafel 13: Ethyl-2-[[4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl]amino}benzoat (**3**)

MA2; Ethyl 4-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoate 1H / CDCl3



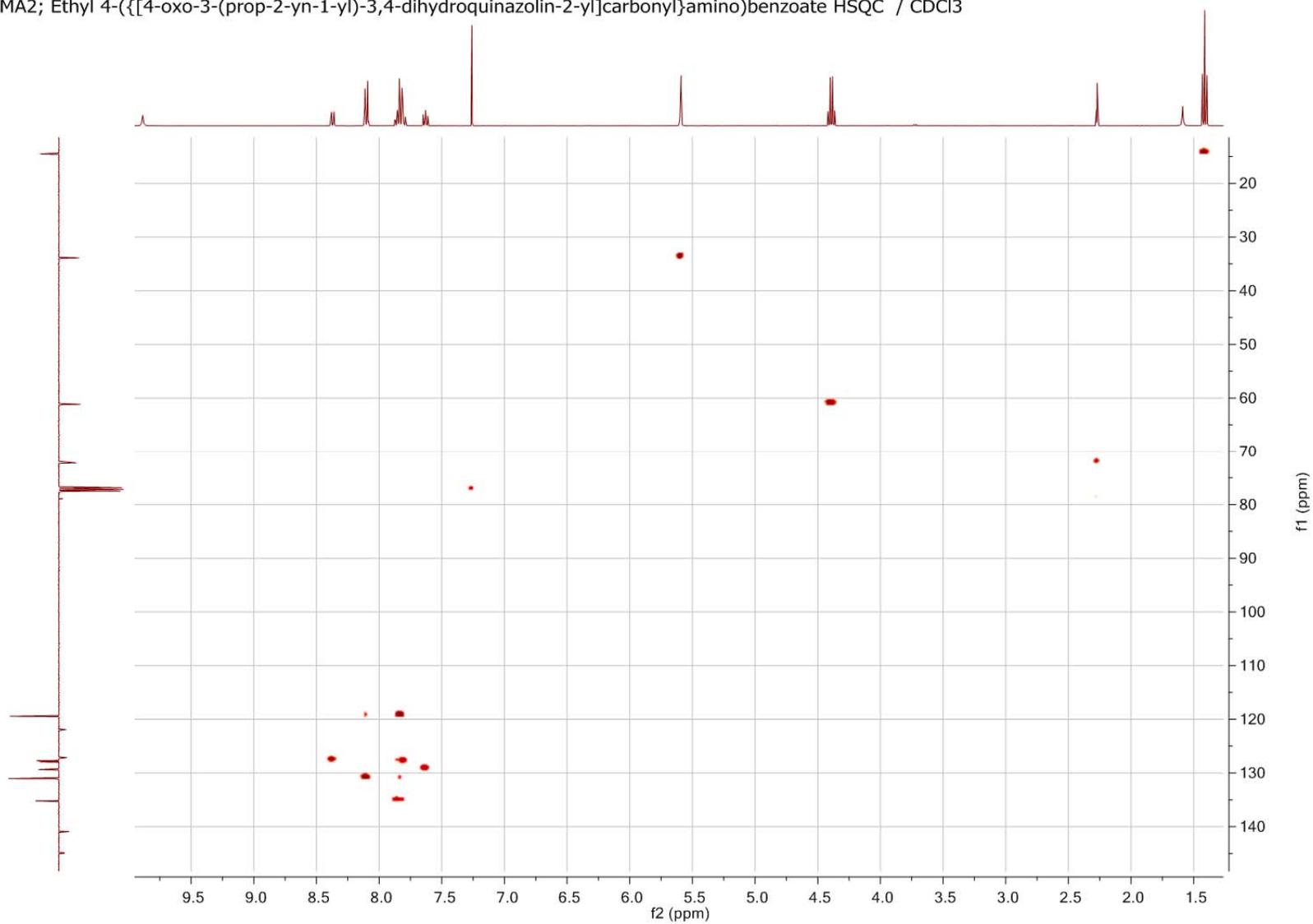
Tafel 14: Ethyl-4-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (**4**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA2; Ethyl 4-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoate C13APT / CDCl3



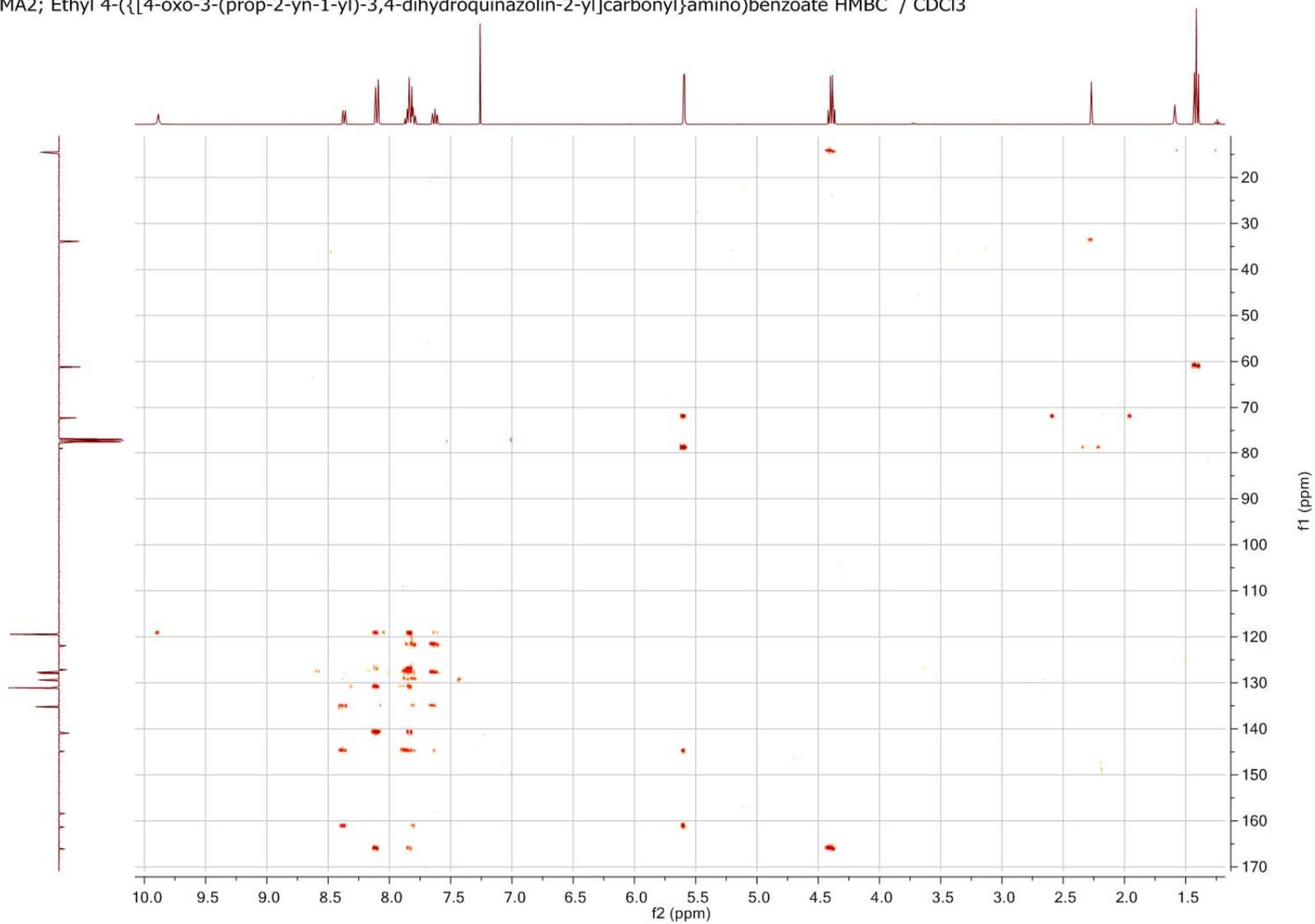
Tafel 15: Ethyl-4-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (**4**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA2; Ethyl 4-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoate HSQC / CDCl<sub>3</sub>



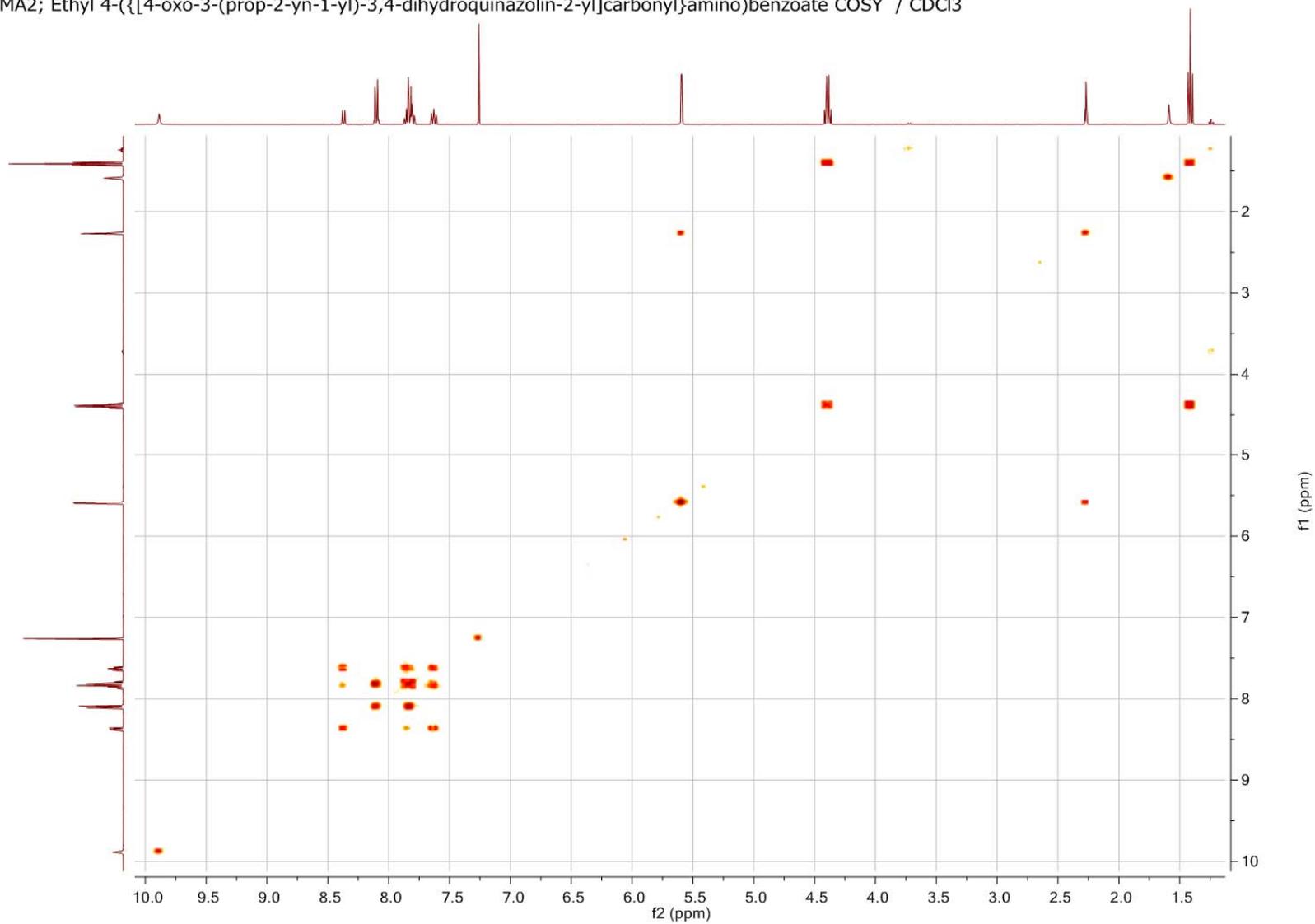
Tafel 16: Ethyl-4-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (**4**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA2; Ethyl 4-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoate HMBC / CDCl<sub>3</sub>



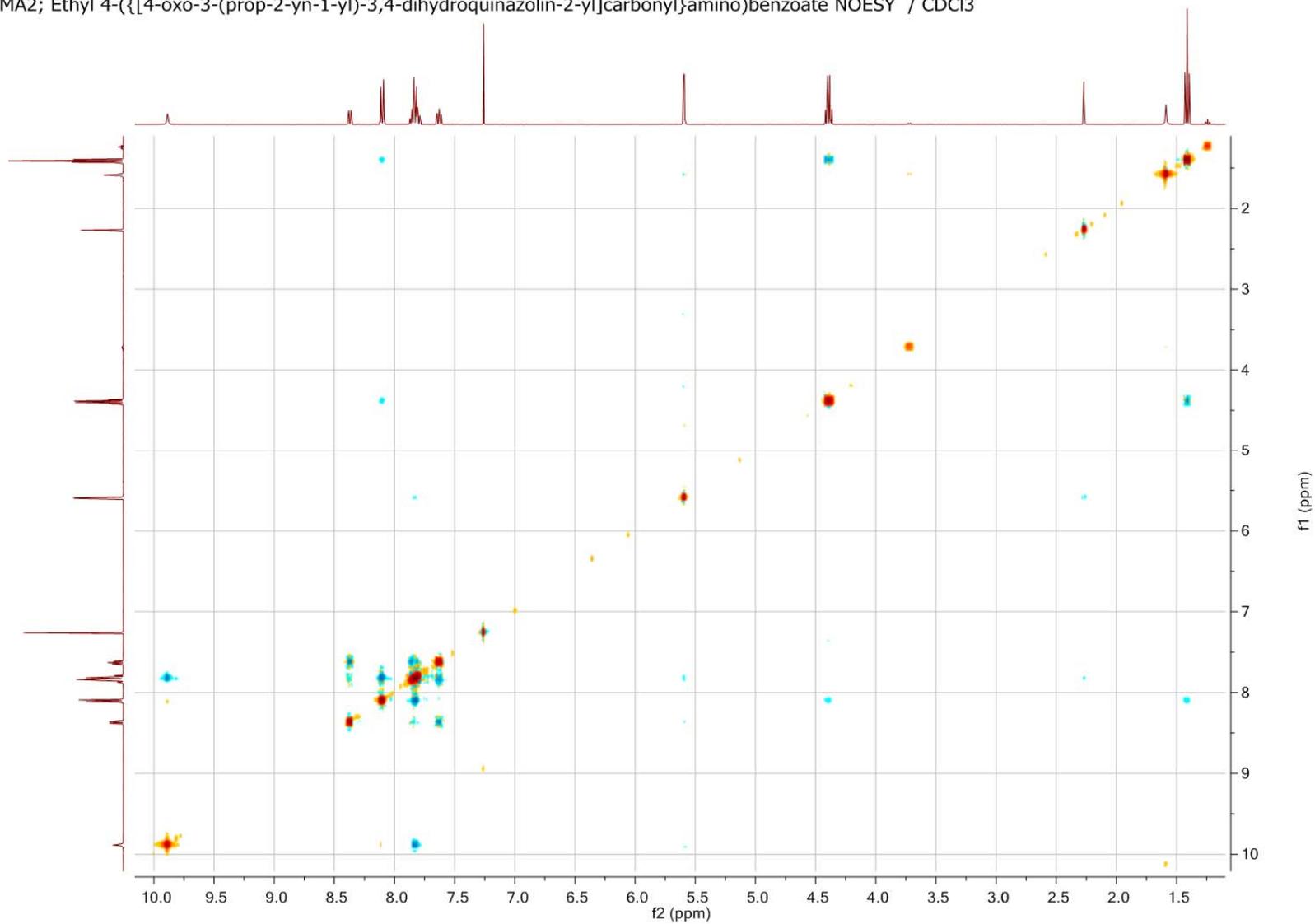
Tafel 17: Ethyl-4-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (**4**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA2; Ethyl 4-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoate COSY / CDCl<sub>3</sub>



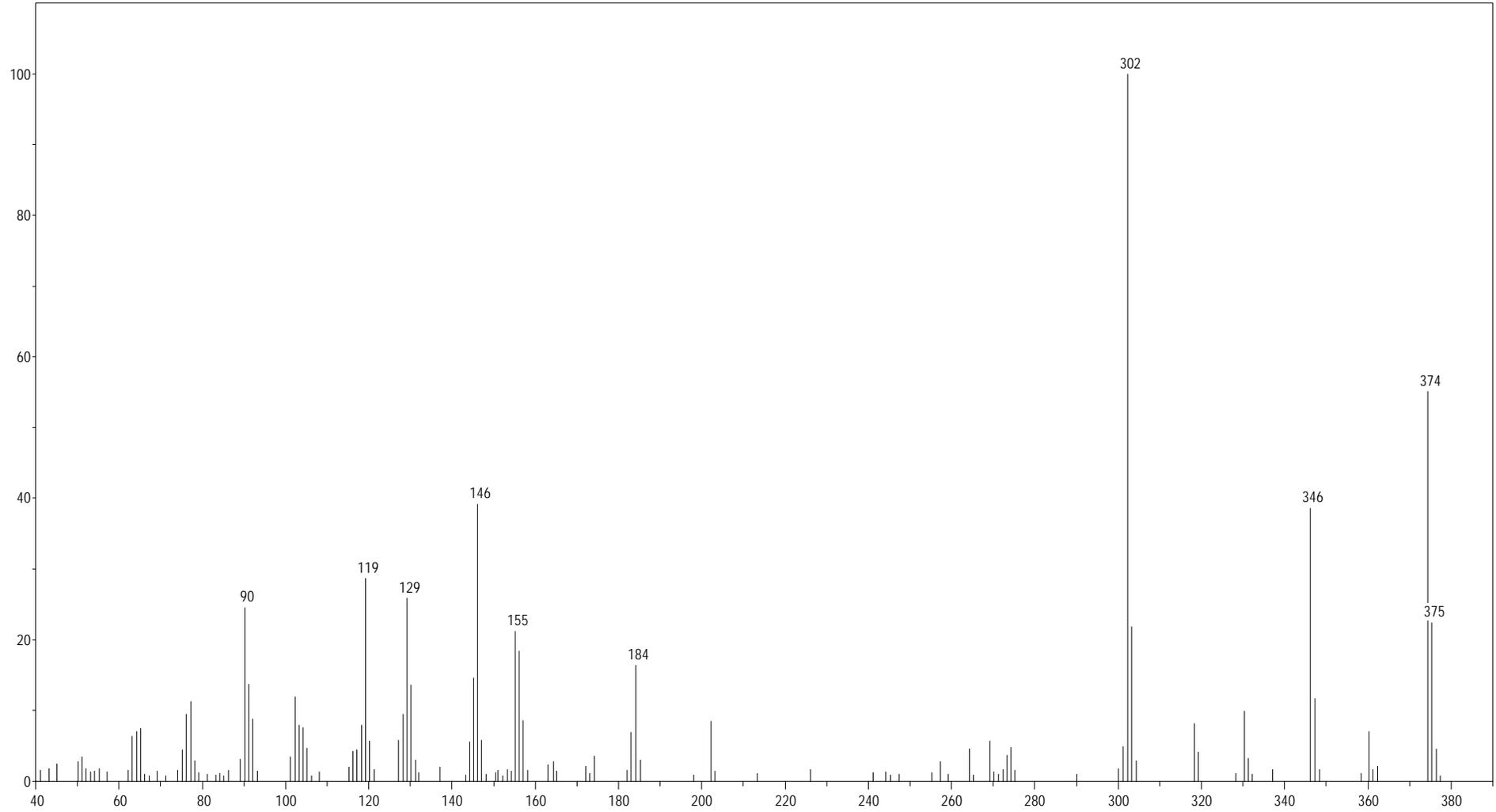
Tafel 18: Ethyl-4-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (**4**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA2; Ethyl 4-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoate NOESY / CDCl<sub>3</sub>



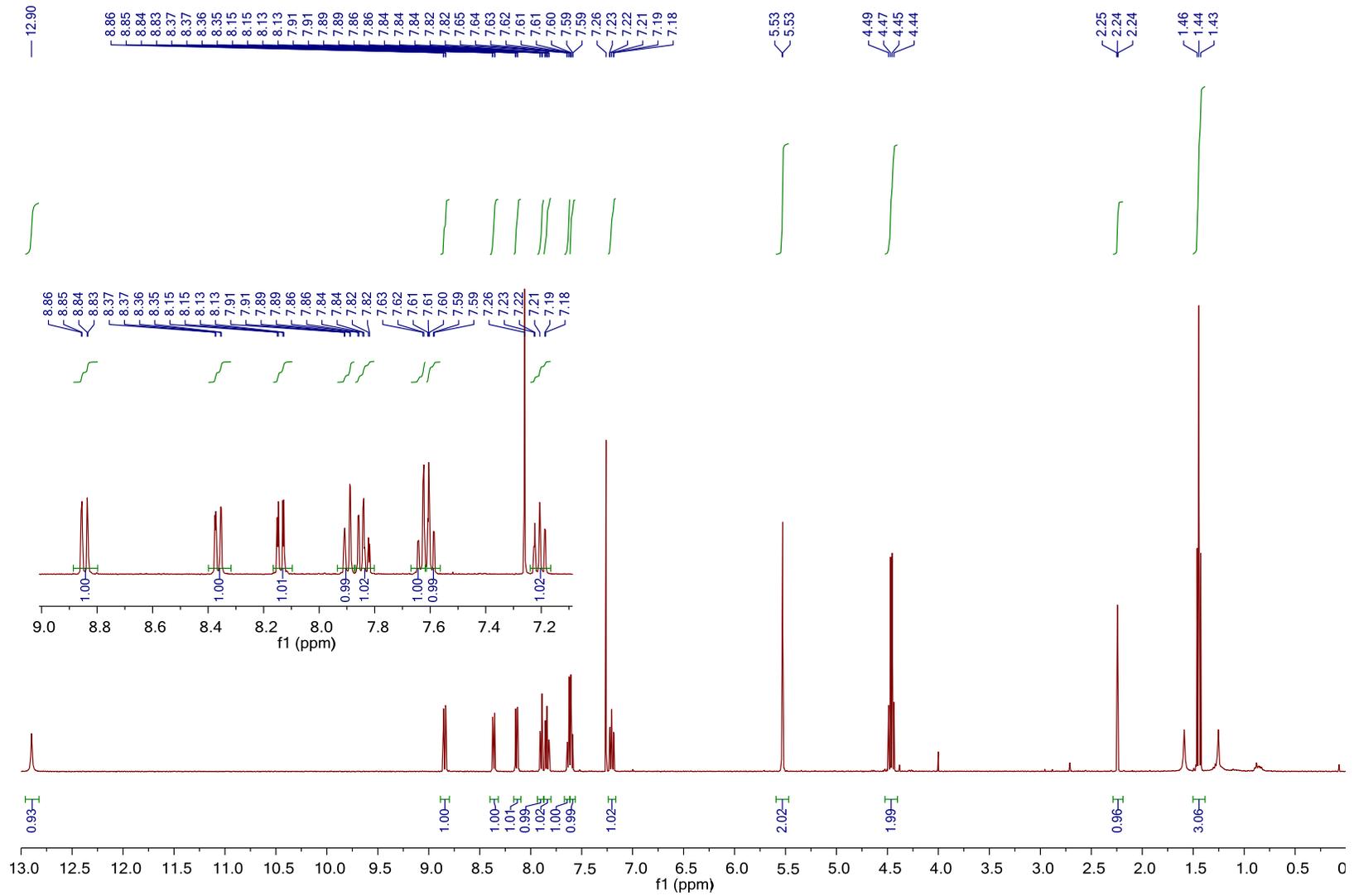
Tafel 19: Ethyl-4-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (**4**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA2



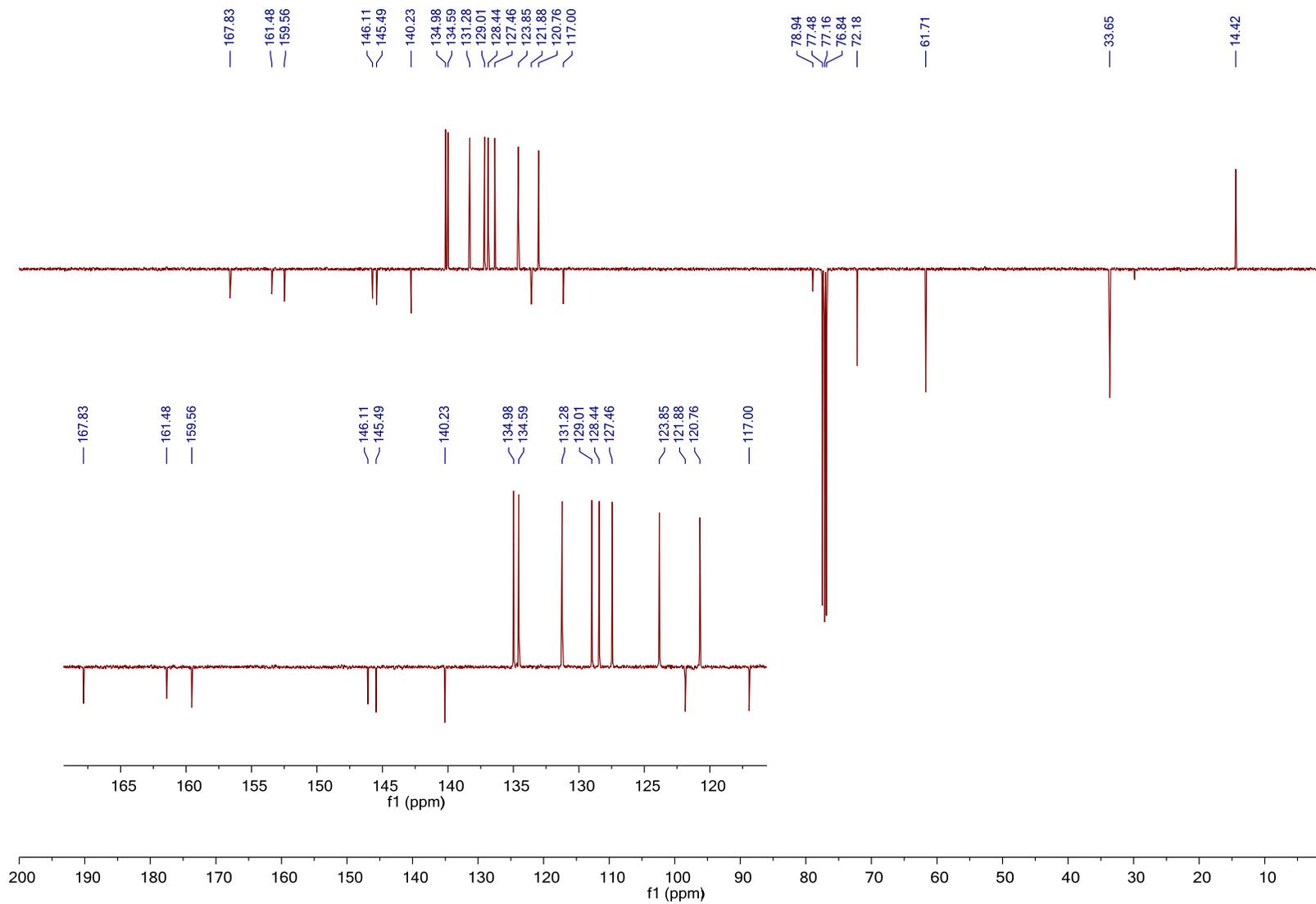
Tafel 20: Ethyl-4-([4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoat (**4**)

MA4; Ethyl 2-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoate 1H / CDCl3



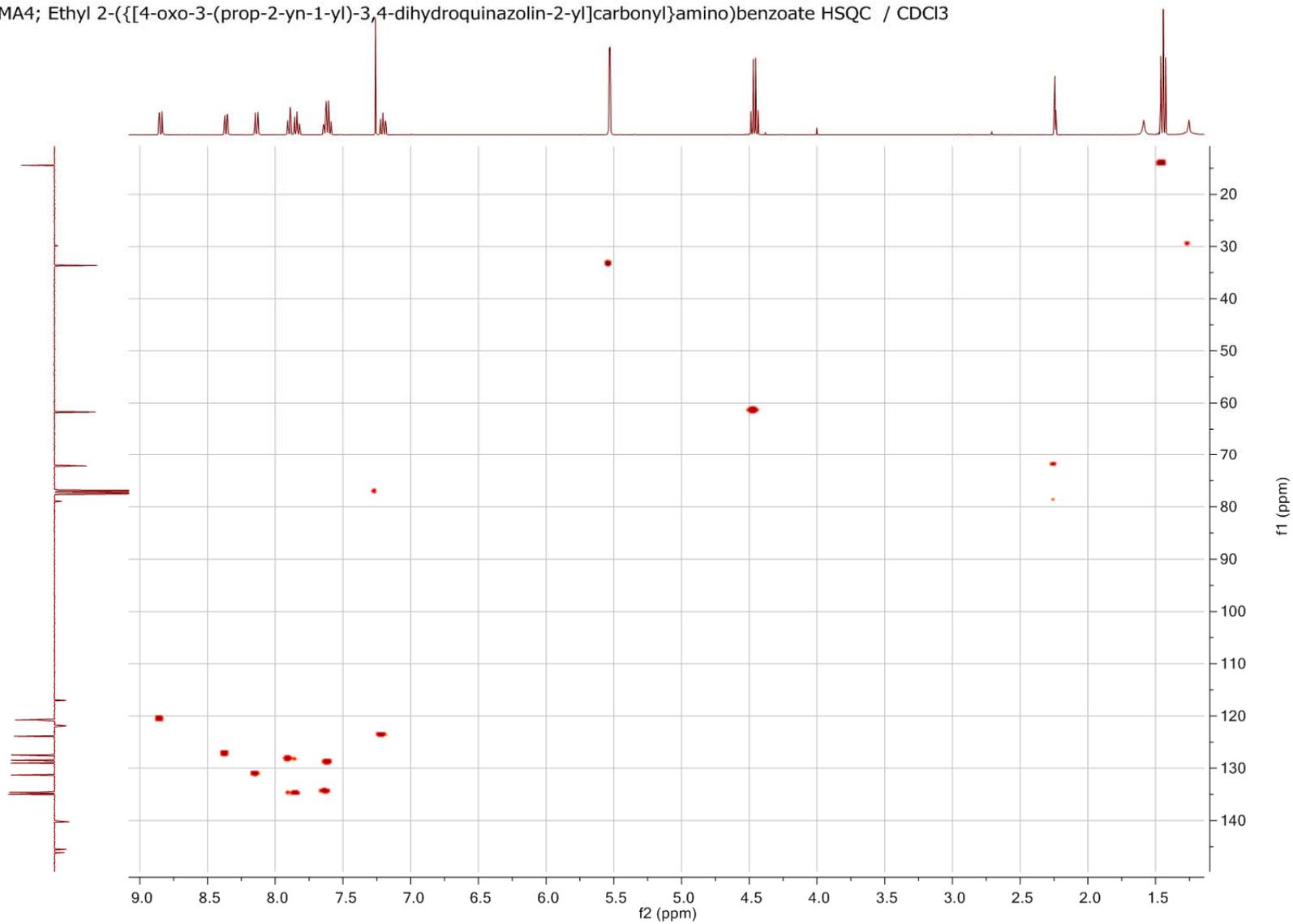
Tafel 21: Ethyl-2-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (5) (CDCl<sub>3</sub>)

MA4; Ethyl 2-([4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoate C13APT / CDCl3



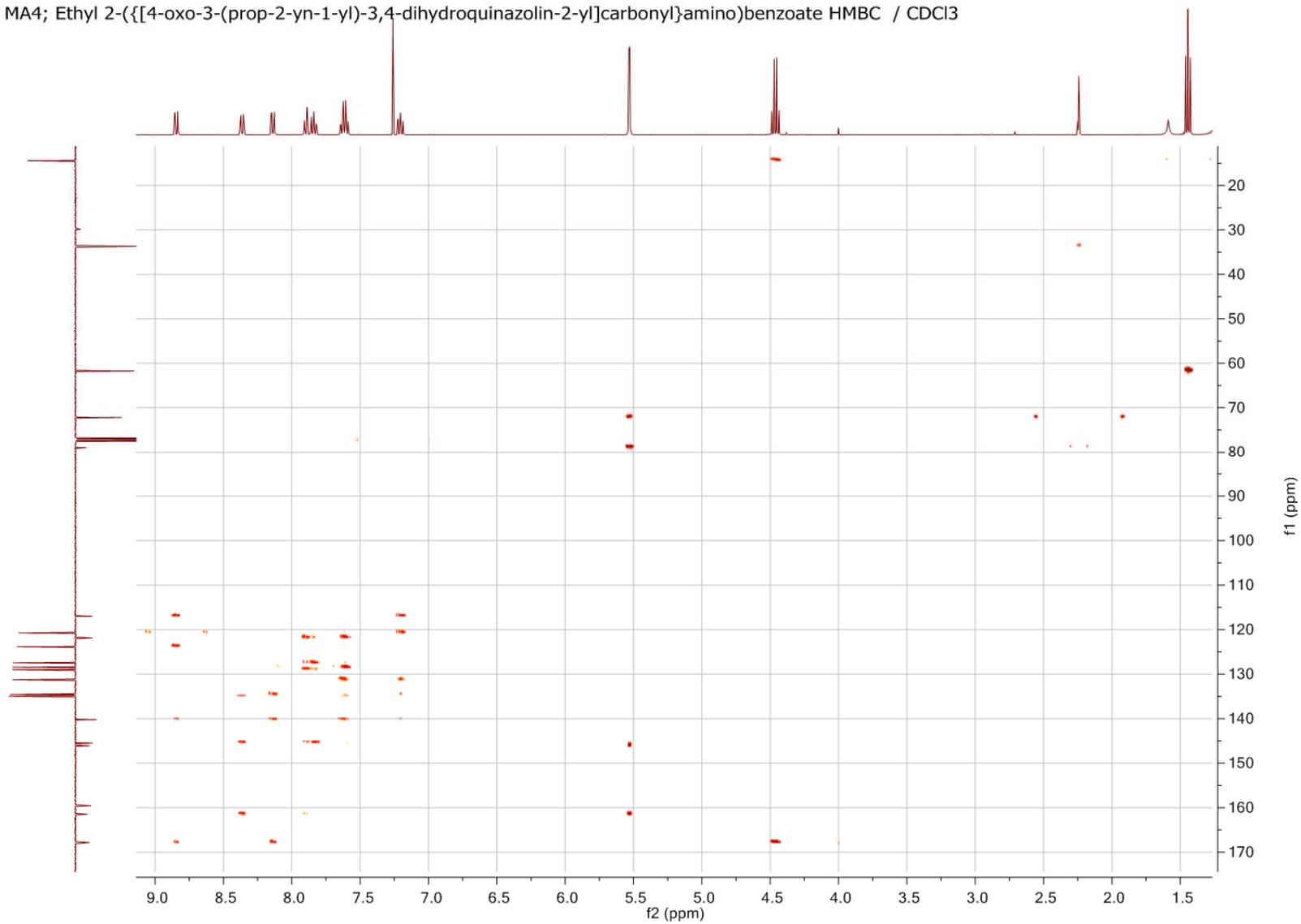
Tafel 22: Ethyl-2-([4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoat (5) (CDCl<sub>3</sub>)

MA4; Ethyl 2-([4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoate HSQC / CDCl<sub>3</sub>



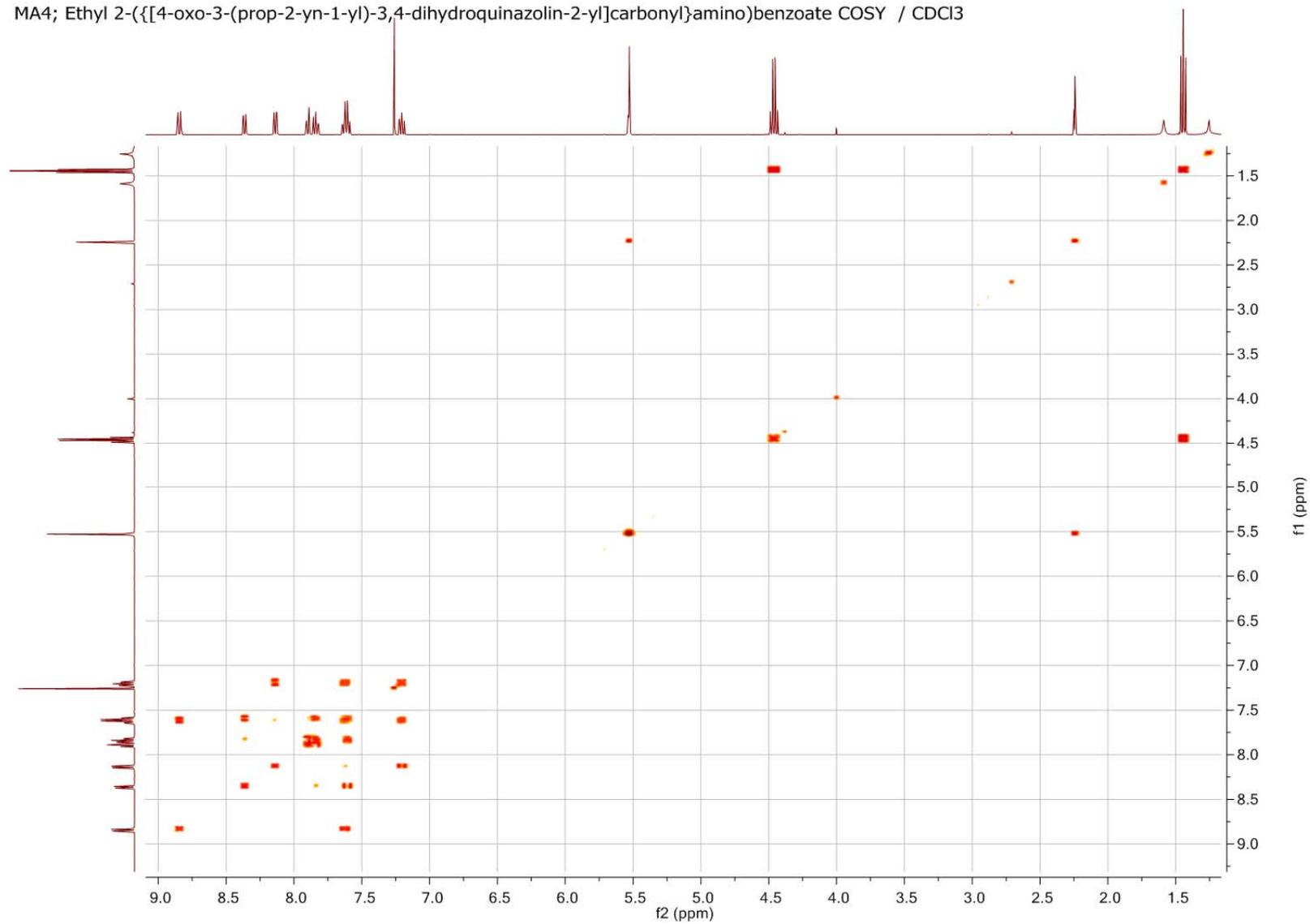
Tafel 23: Ethyl-2-([4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoat (**5**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA4; Ethyl 2-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoate HMBC / CDCl<sub>3</sub>



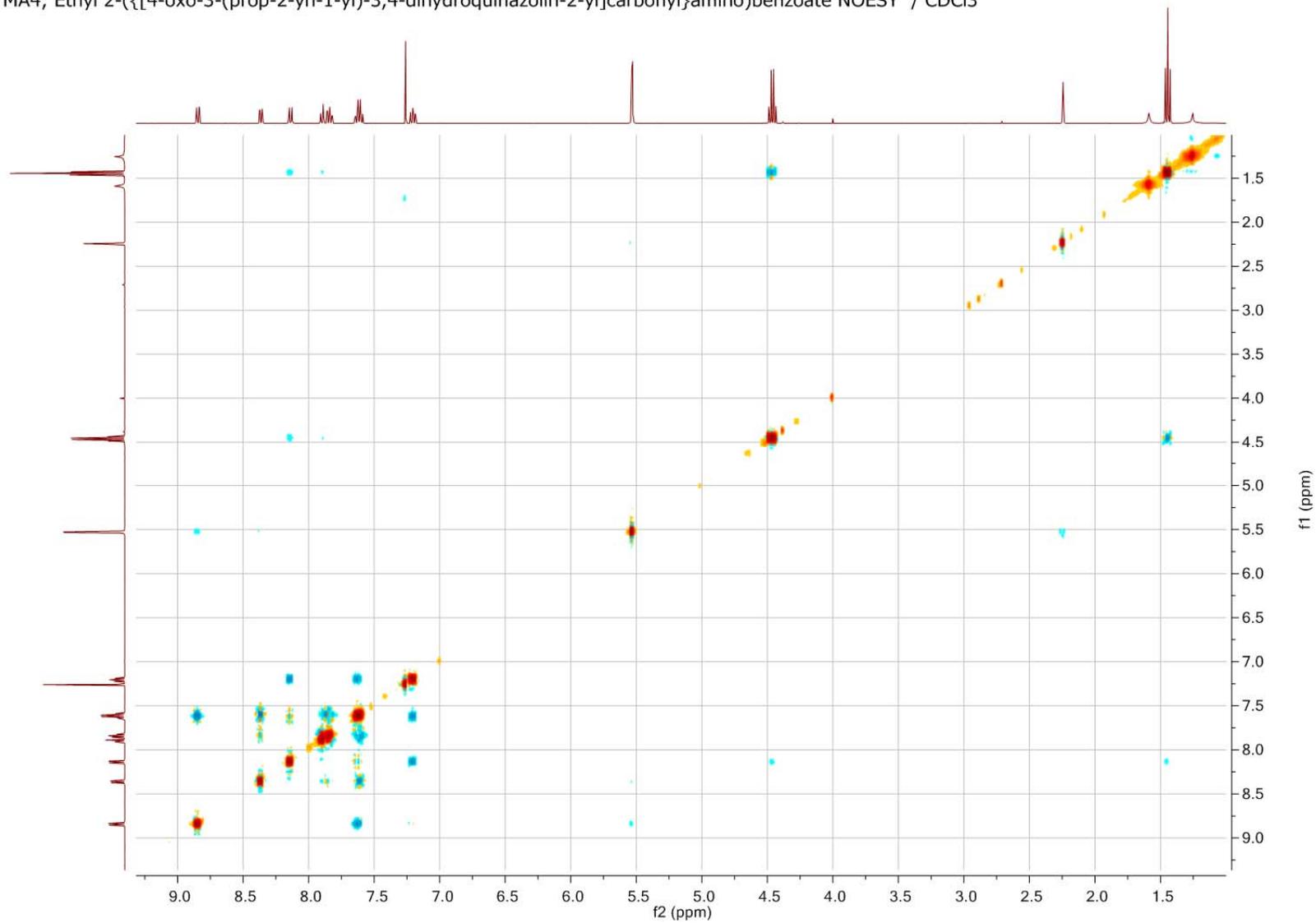
Tafel 24: Ethyl-2-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (**5**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA4; Ethyl 2-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoate COSY / CDCl<sub>3</sub>



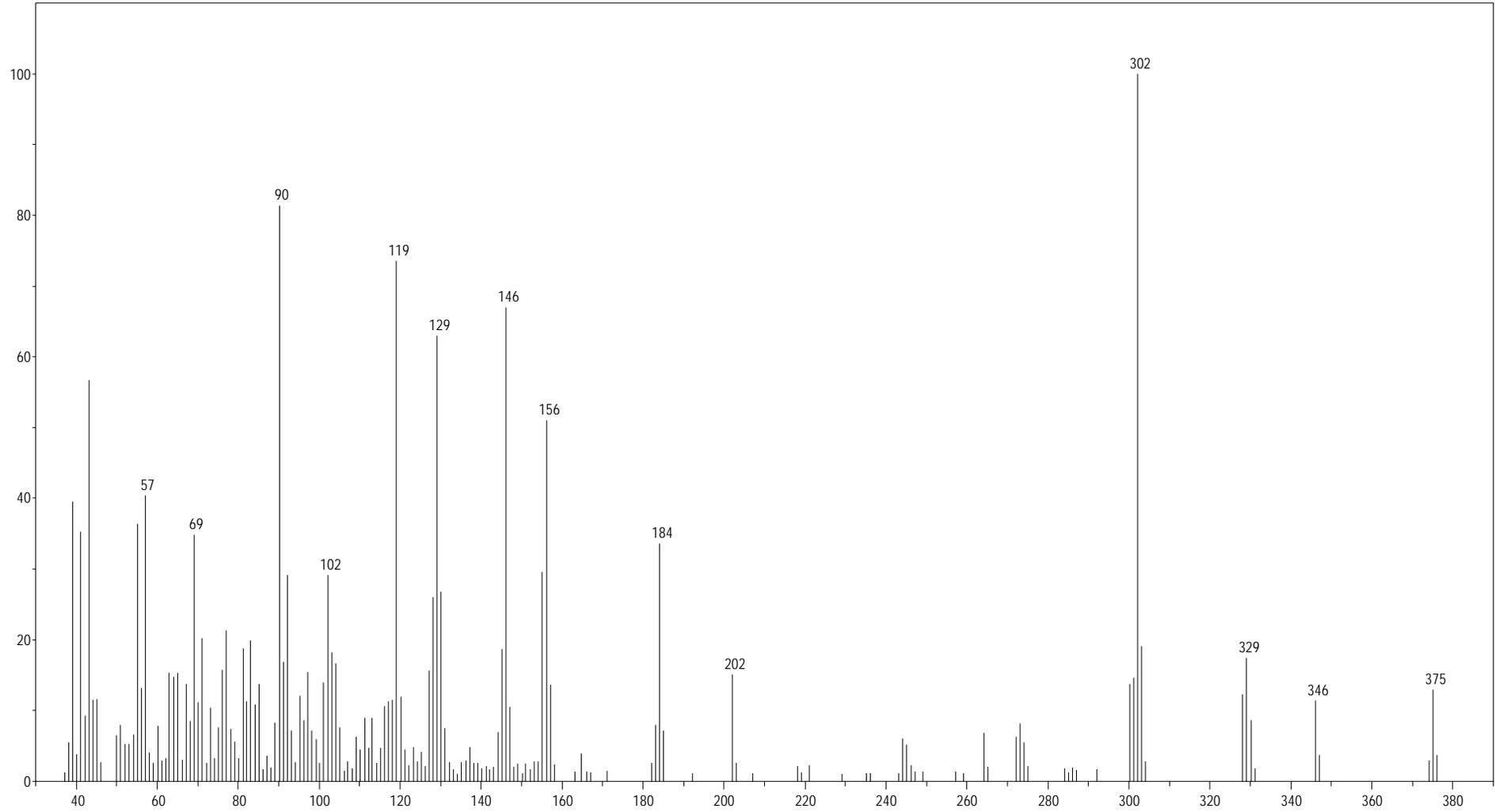
Tafel 25: Ethyl-2-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (**5**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA4; Ethyl 2-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoate NOESY / CDCl<sub>3</sub>



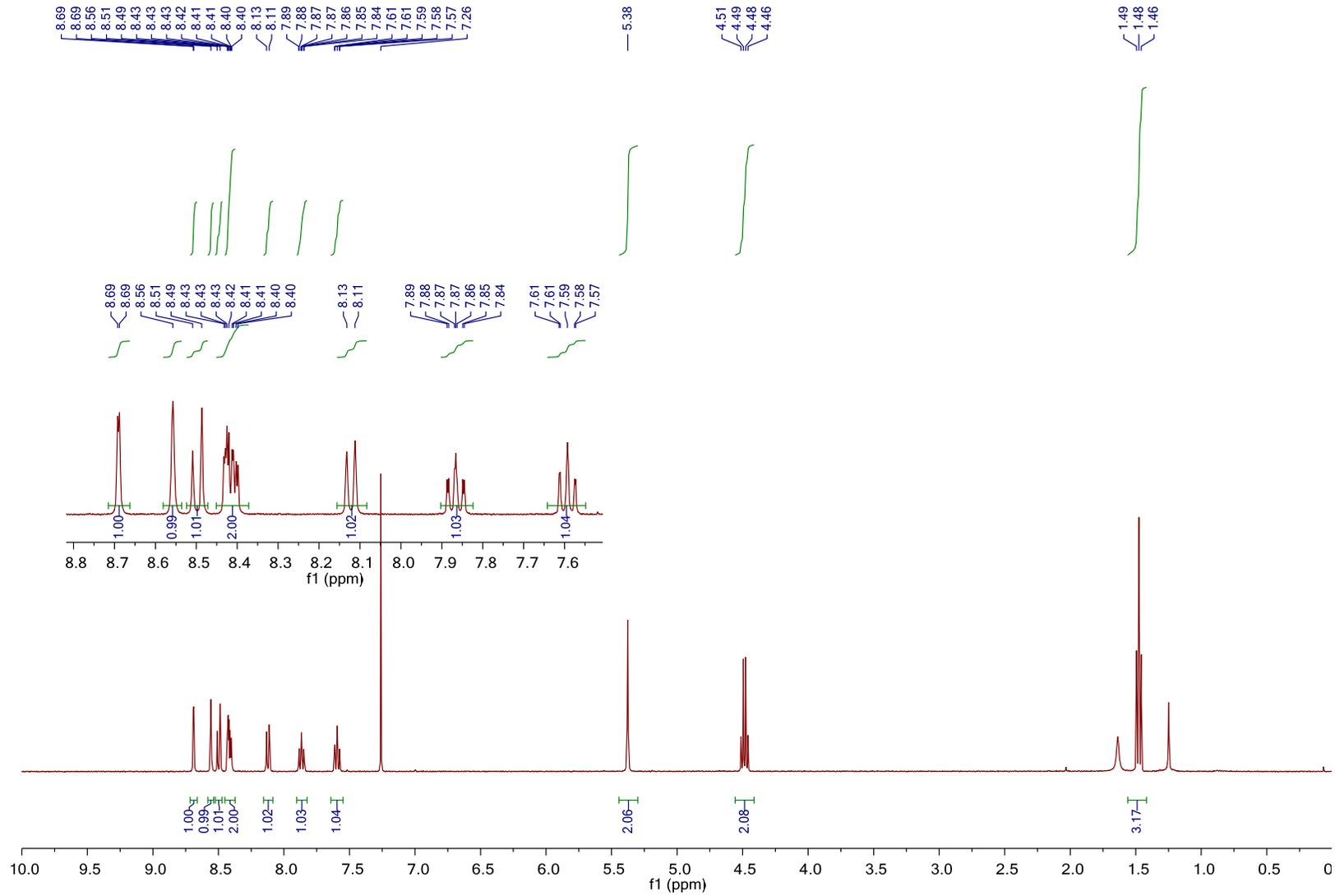
Tafel 26: Ethyl-2-({[4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoat (**5**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA4



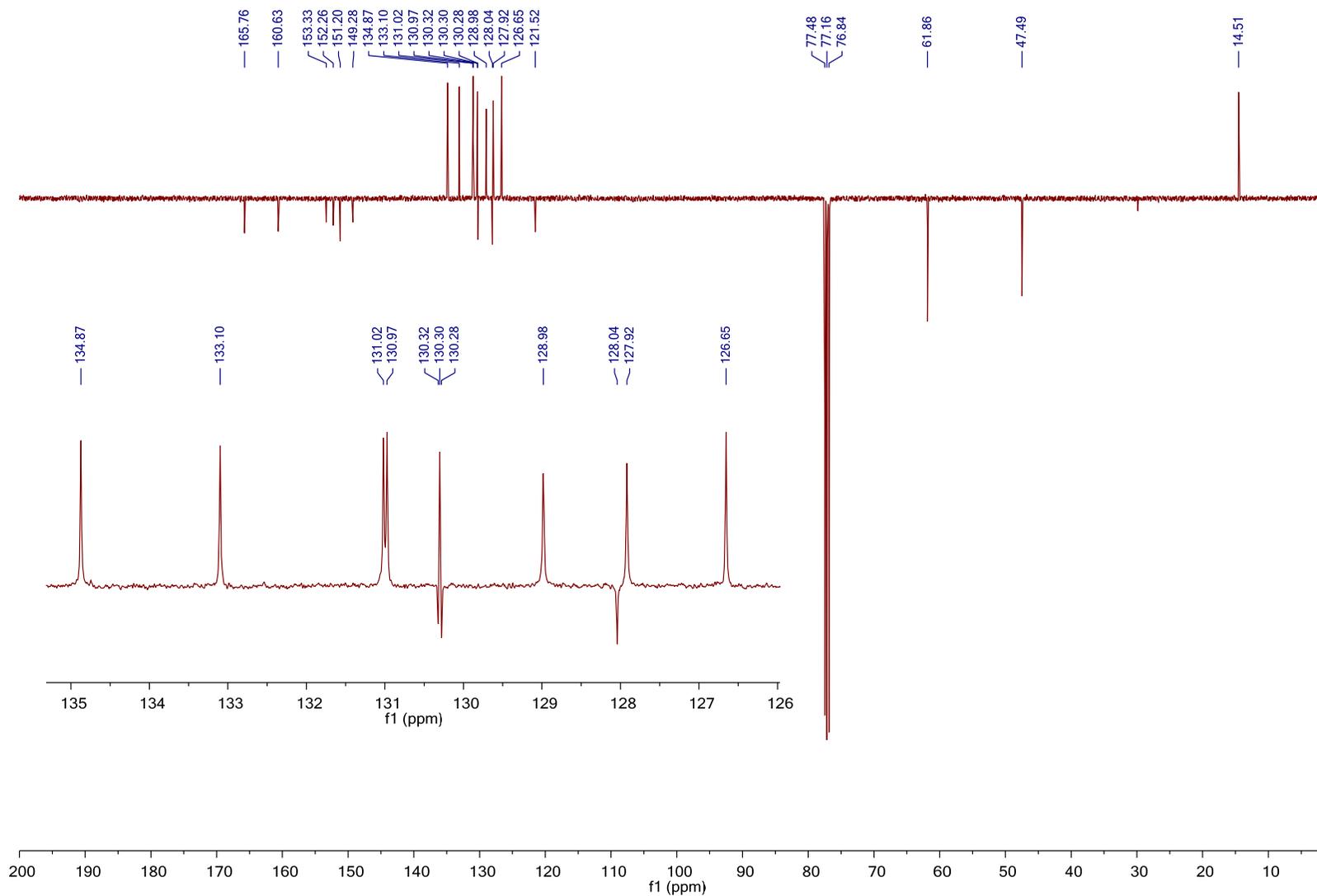
Tafel 27: Ethyl-2-([4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoat (**5**)

MA5; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-2-carboxylate (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) <sup>1</sup>H / CDCl<sub>3</sub>



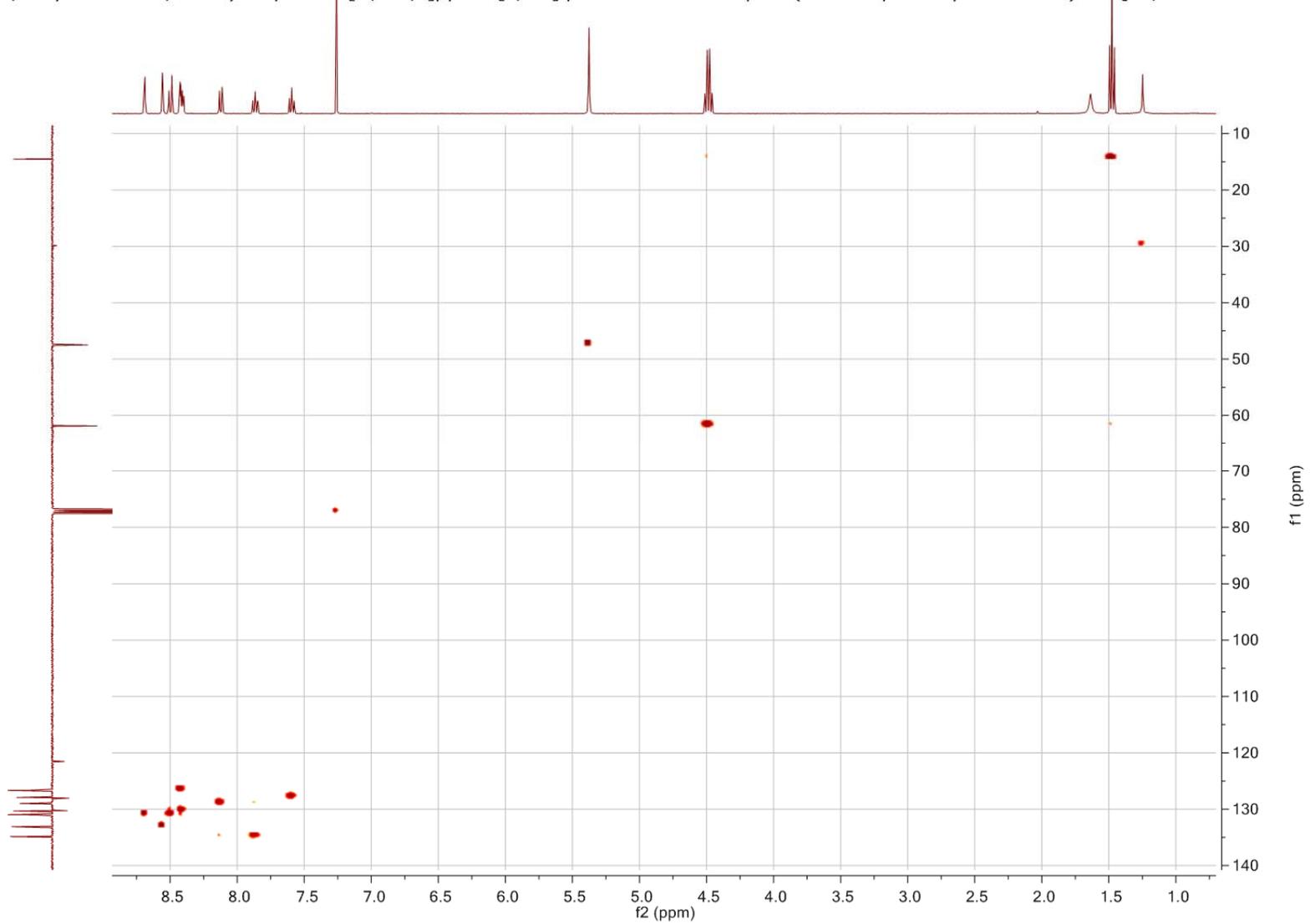
Tafel 28: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (**6**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA5; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-2-carboxylate (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) C13APT / CDCl3



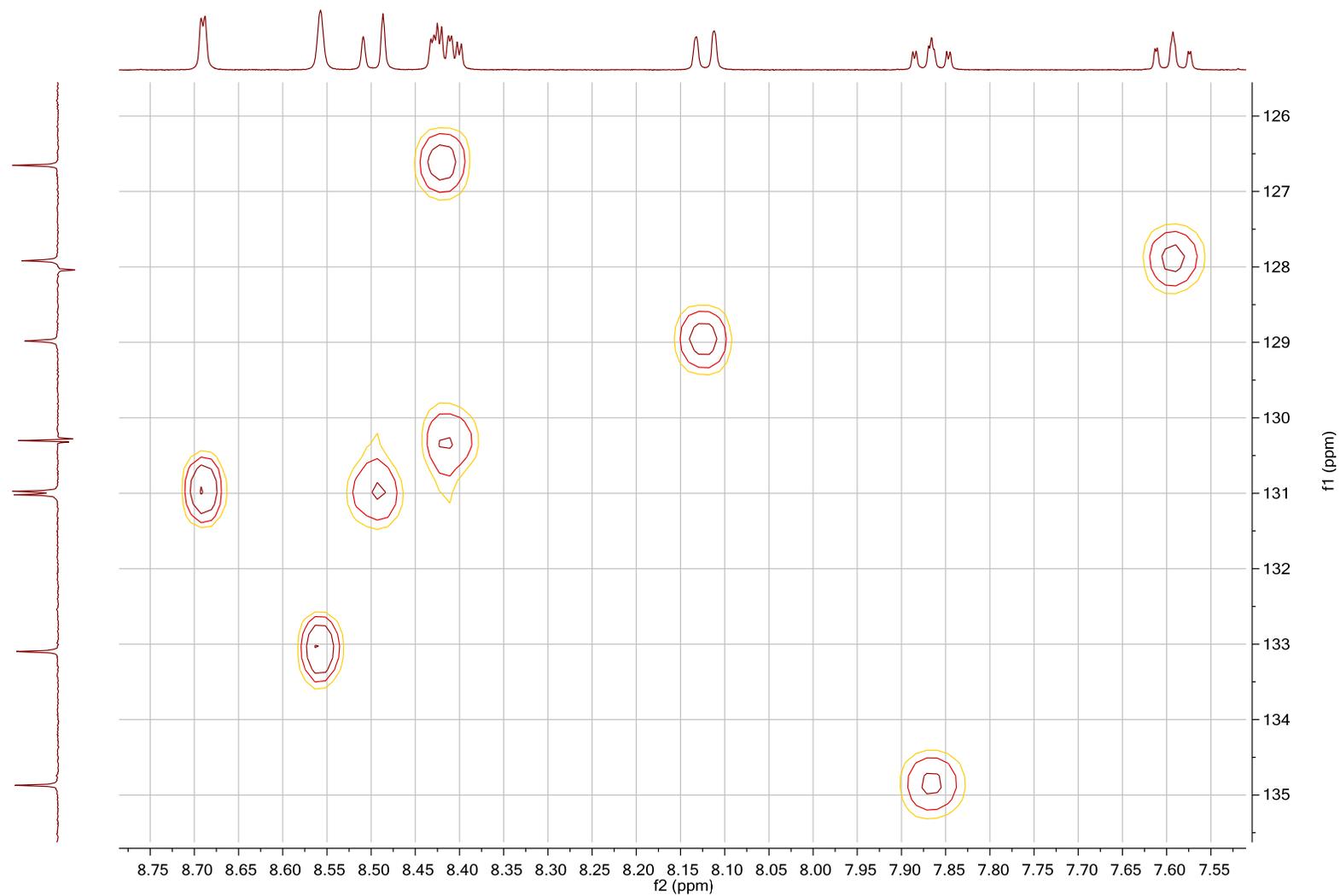
Tafel 29: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (6) (CDCl<sub>3</sub>)

MA5; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-2-carboxylate (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) HSQC / CDCl<sub>3</sub>



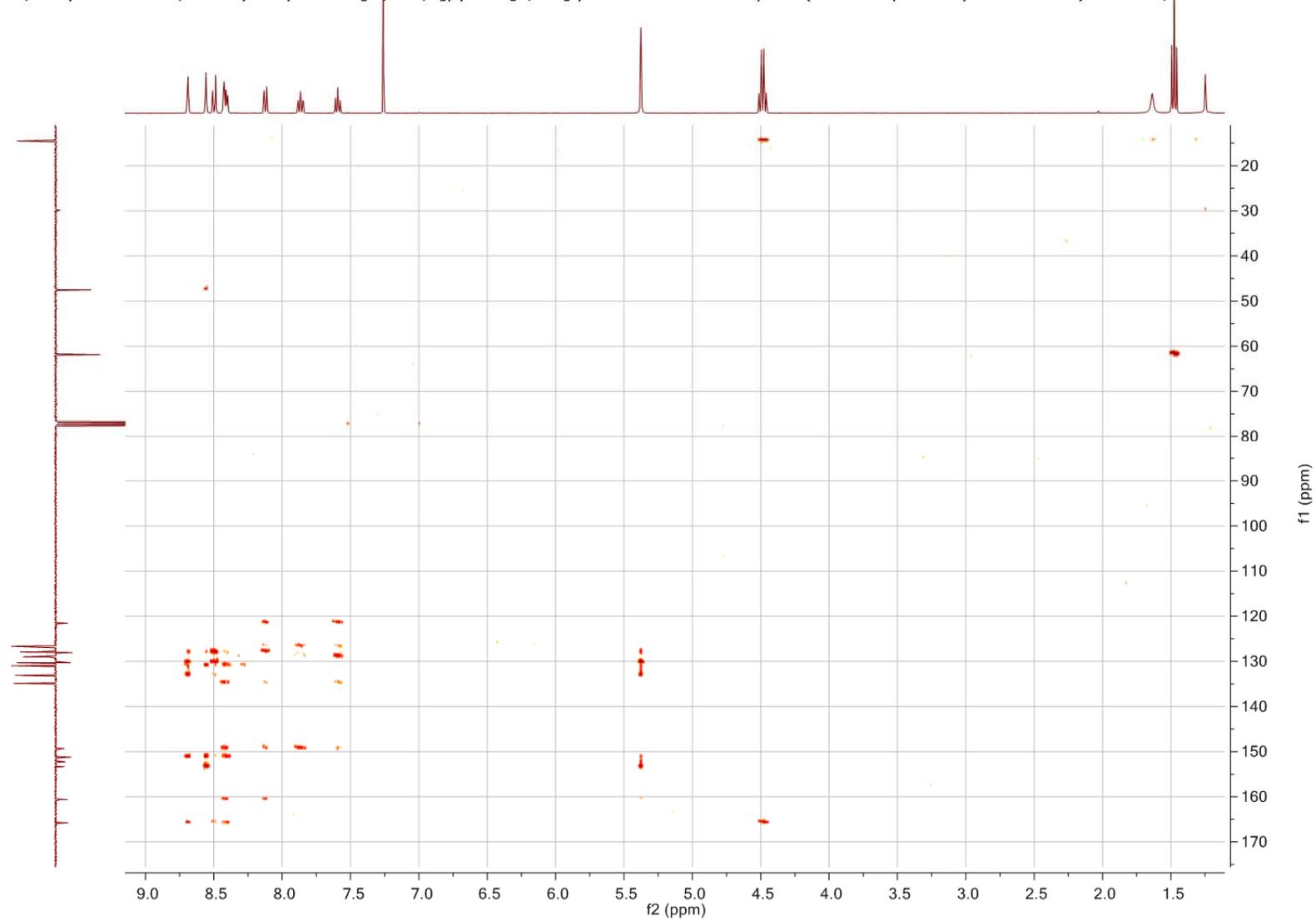
Tafel 30: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (**6**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA5; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-2-carboxylate (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) HSQC / CDCl<sub>3</sub>



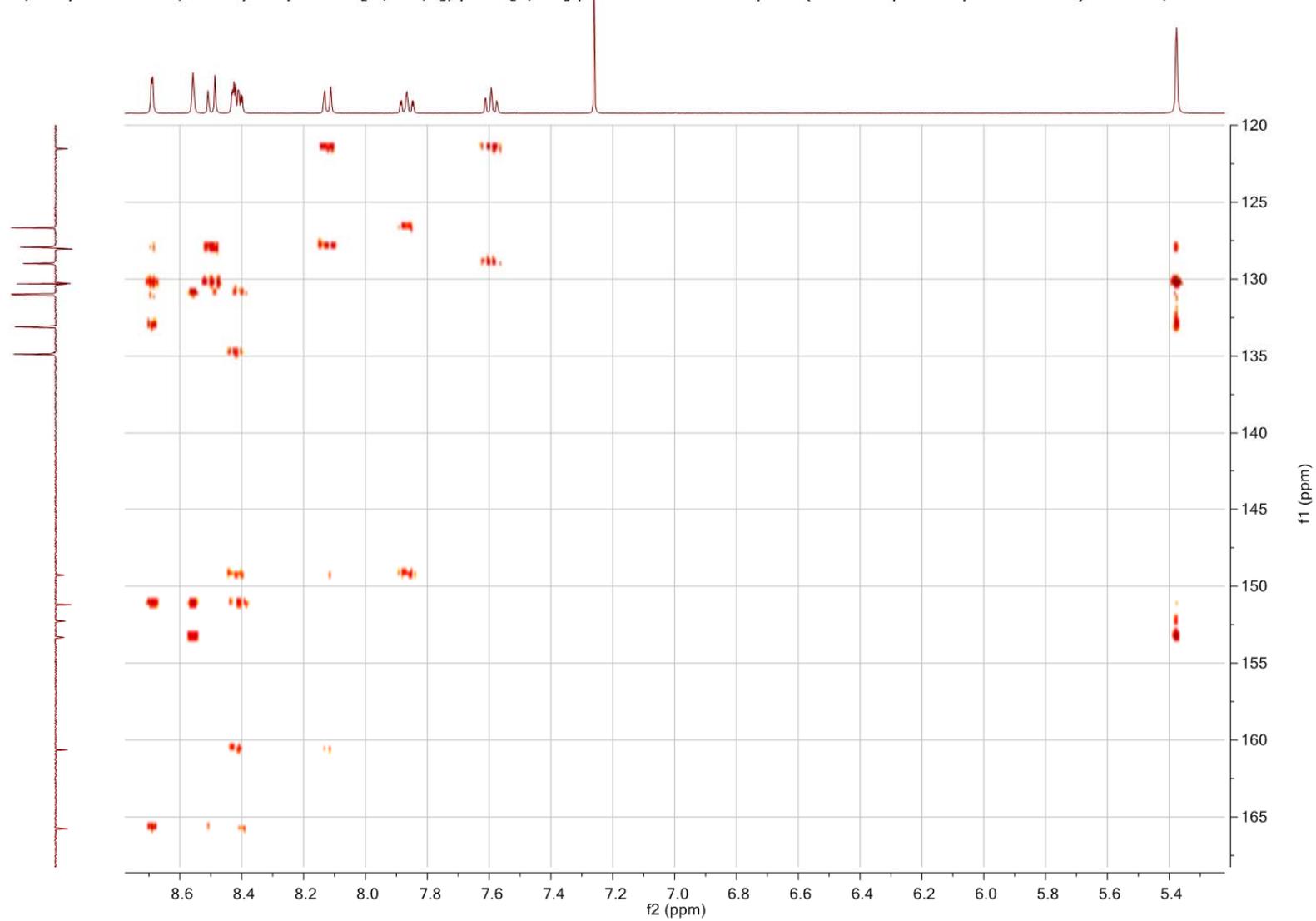
Tafel 31: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (**6**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA5; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-2-carboxylate (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) HMBC /CDCl<sub>3</sub>



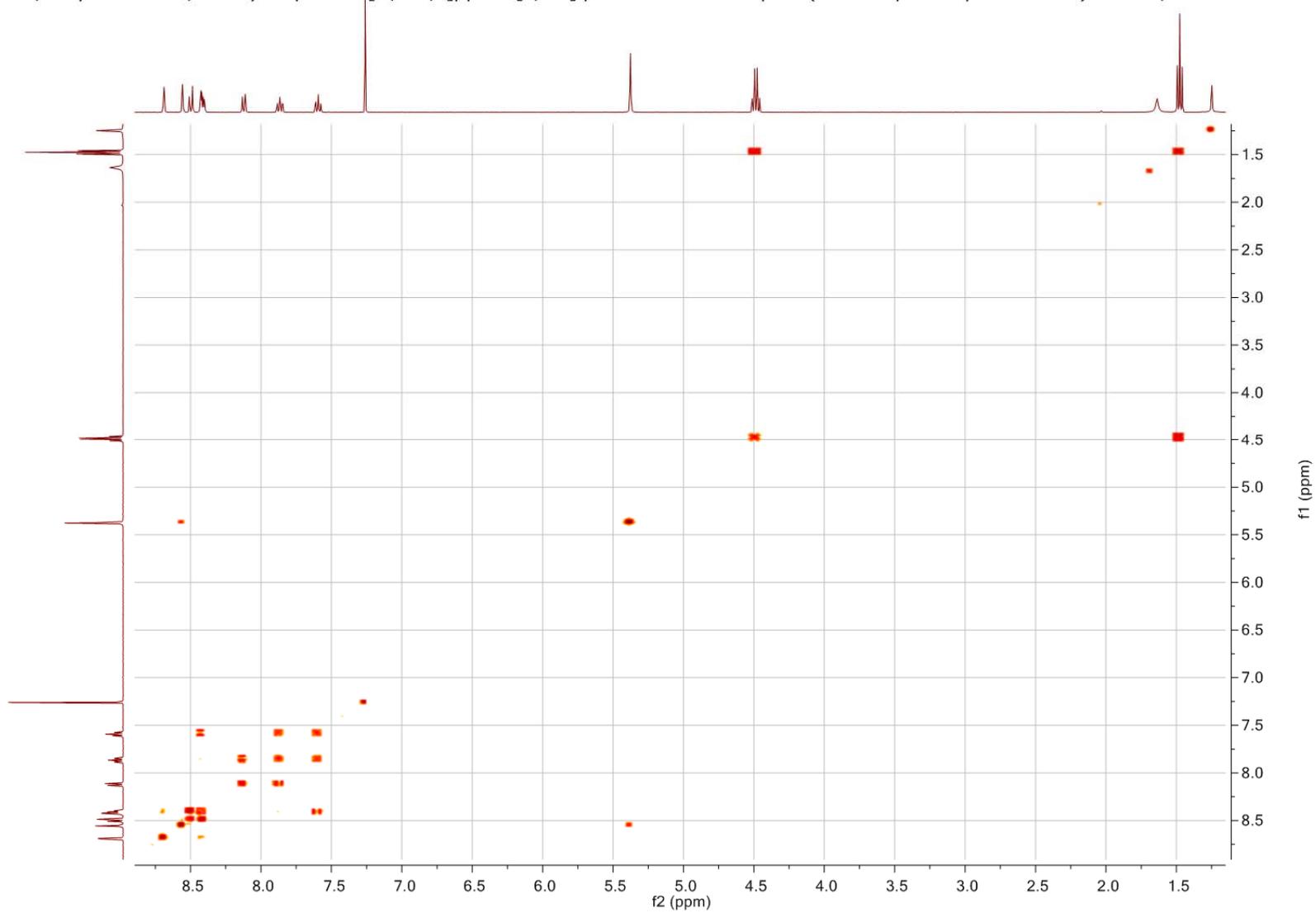
Tafel 32: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (**6**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA5; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-2-carboxylate (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) HMBC / CDCl<sub>3</sub>



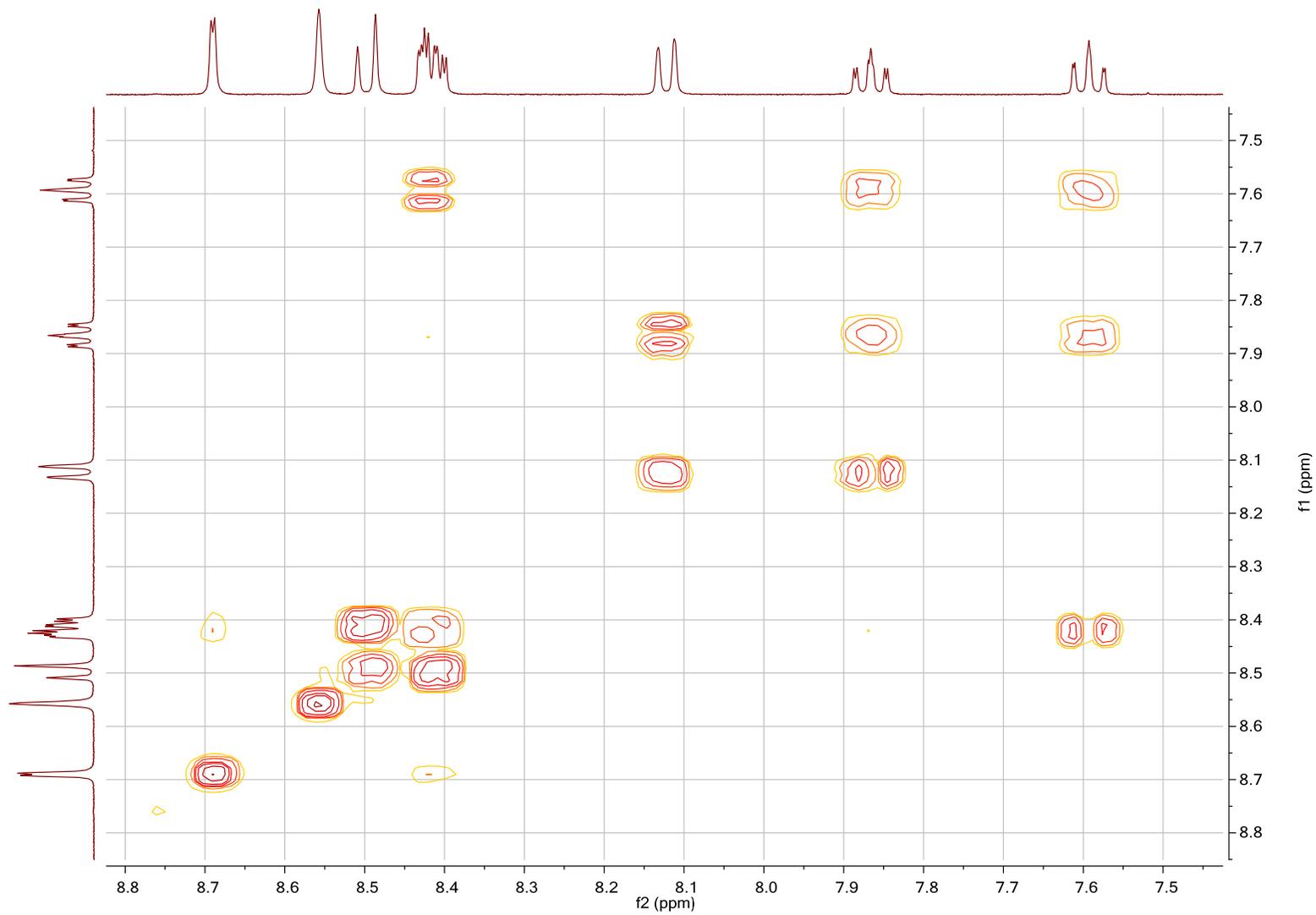
Tafel 33: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (**6**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA5; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-2-carboxylate (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) COSY / CDCl<sub>3</sub>



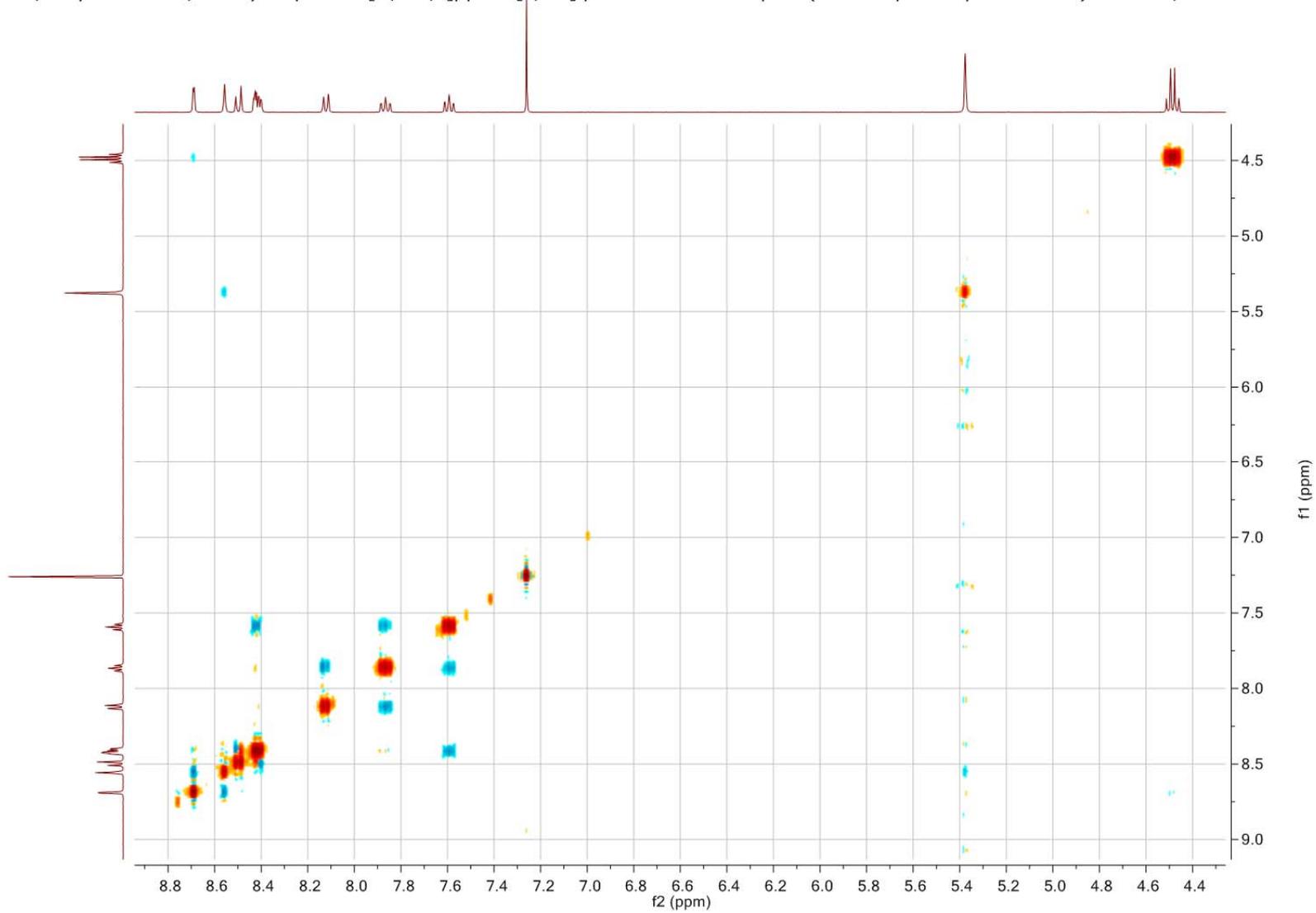
Tafel 34: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (**6**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA5; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-2-carboxylate (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) COSY / CDCl<sub>3</sub>



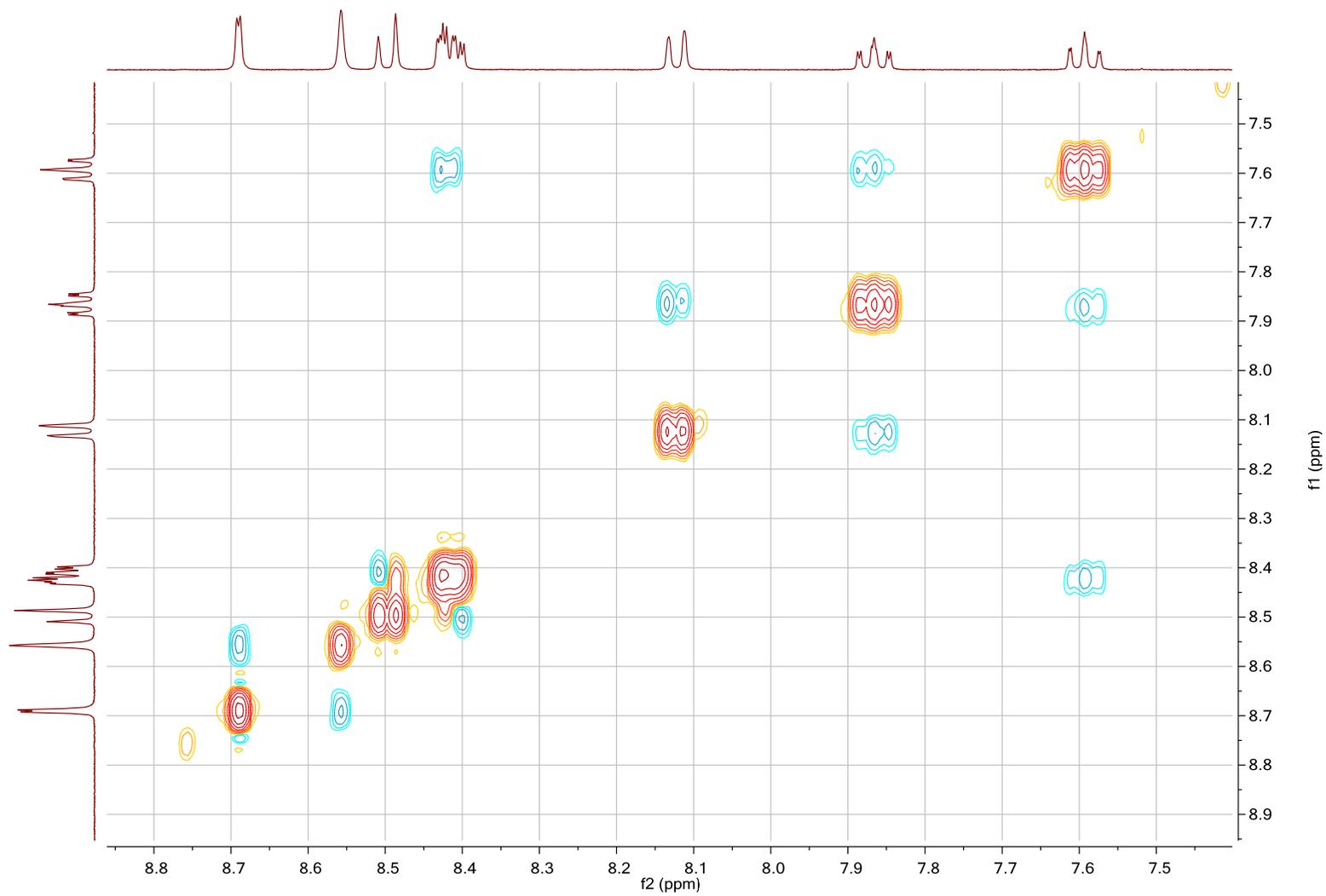
Tafel 35: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (**6**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA5; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-2-carboxylate (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) NOESY / CDCl<sub>3</sub>



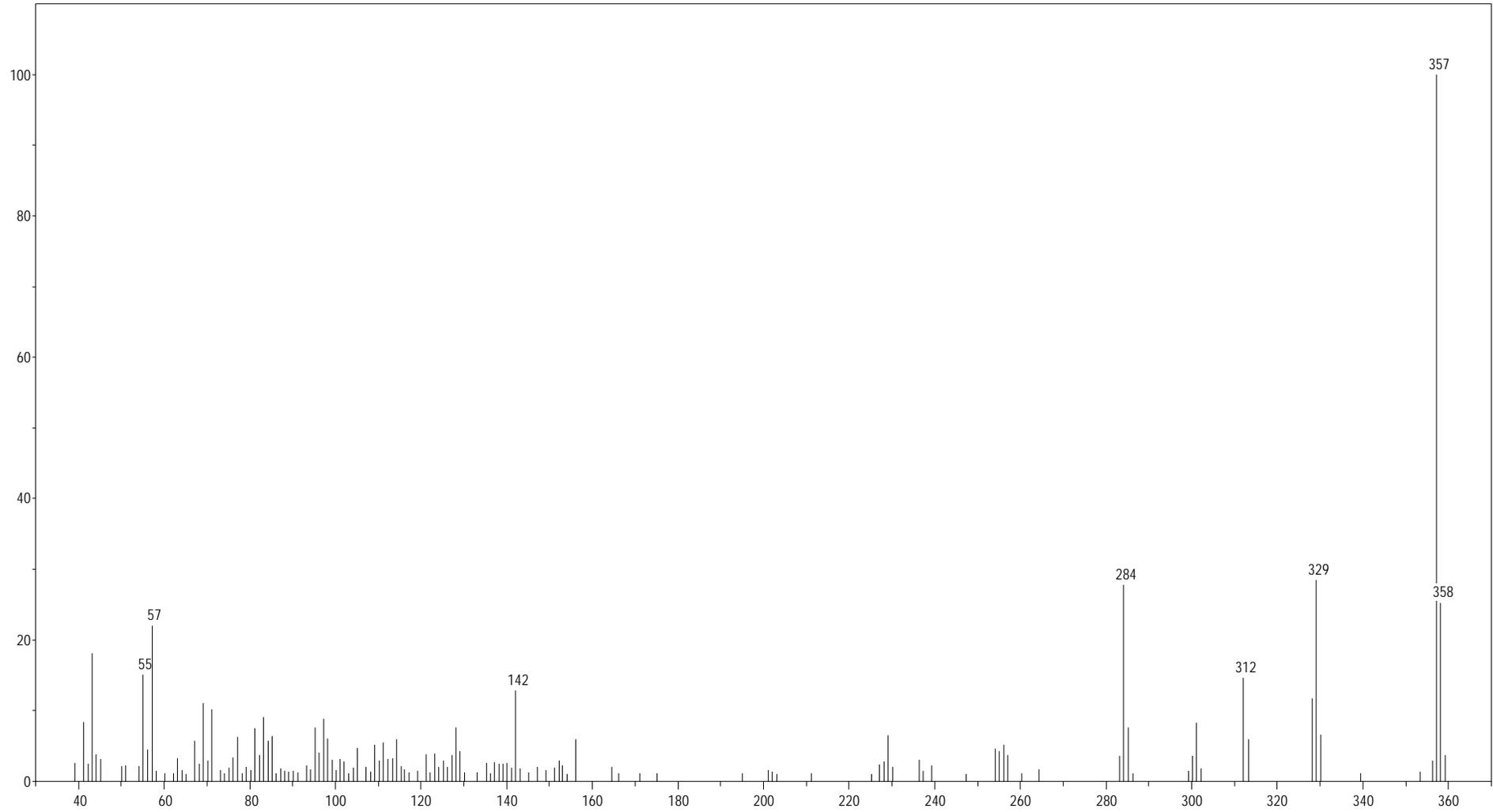
Tafel 36: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (**6**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA5; Ethyl 11-oxo-11,13-dihydroquinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazoline-2-carboxylate (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) NOESY / CDCl<sub>3</sub>



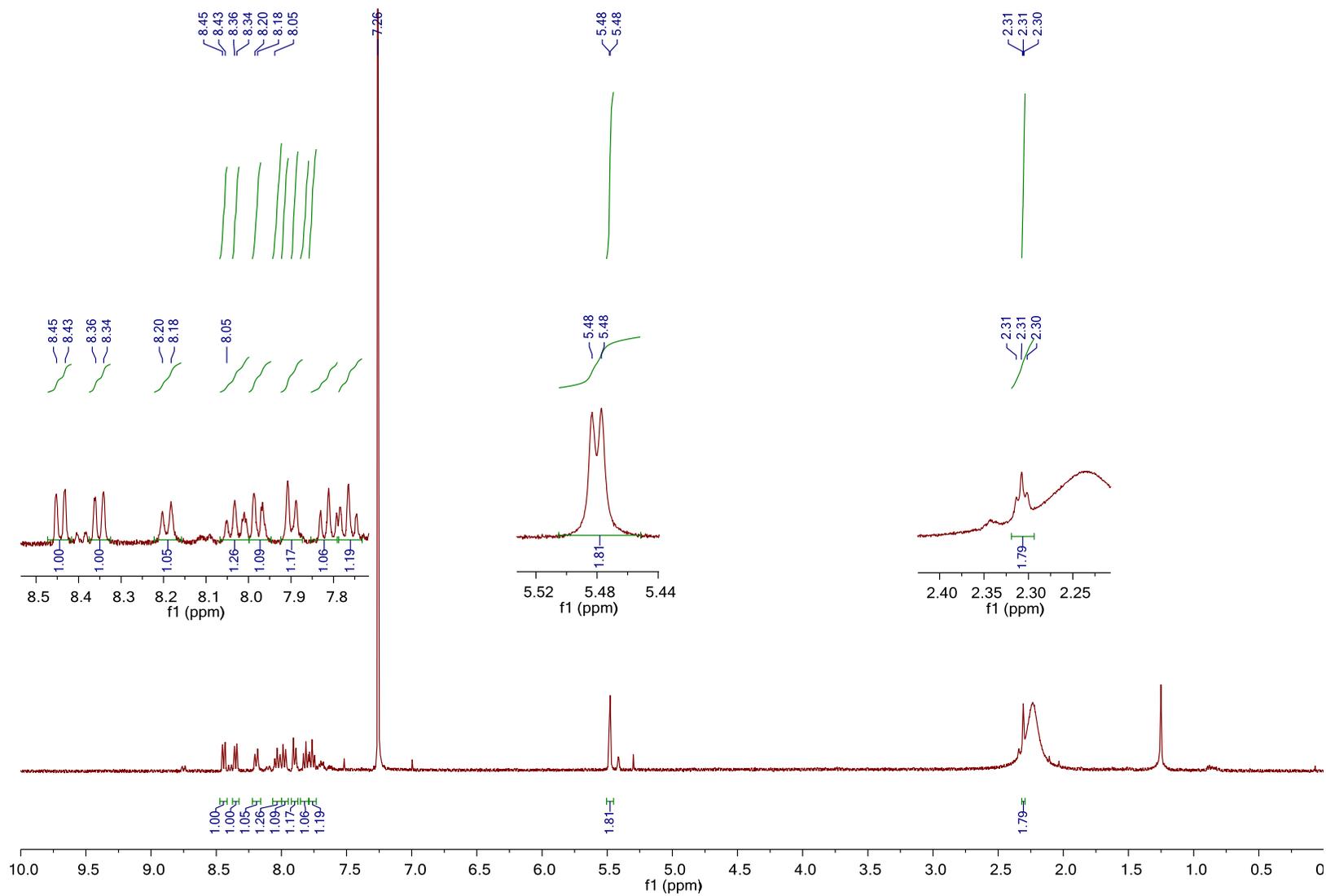
Tafel 37: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (**6**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA5



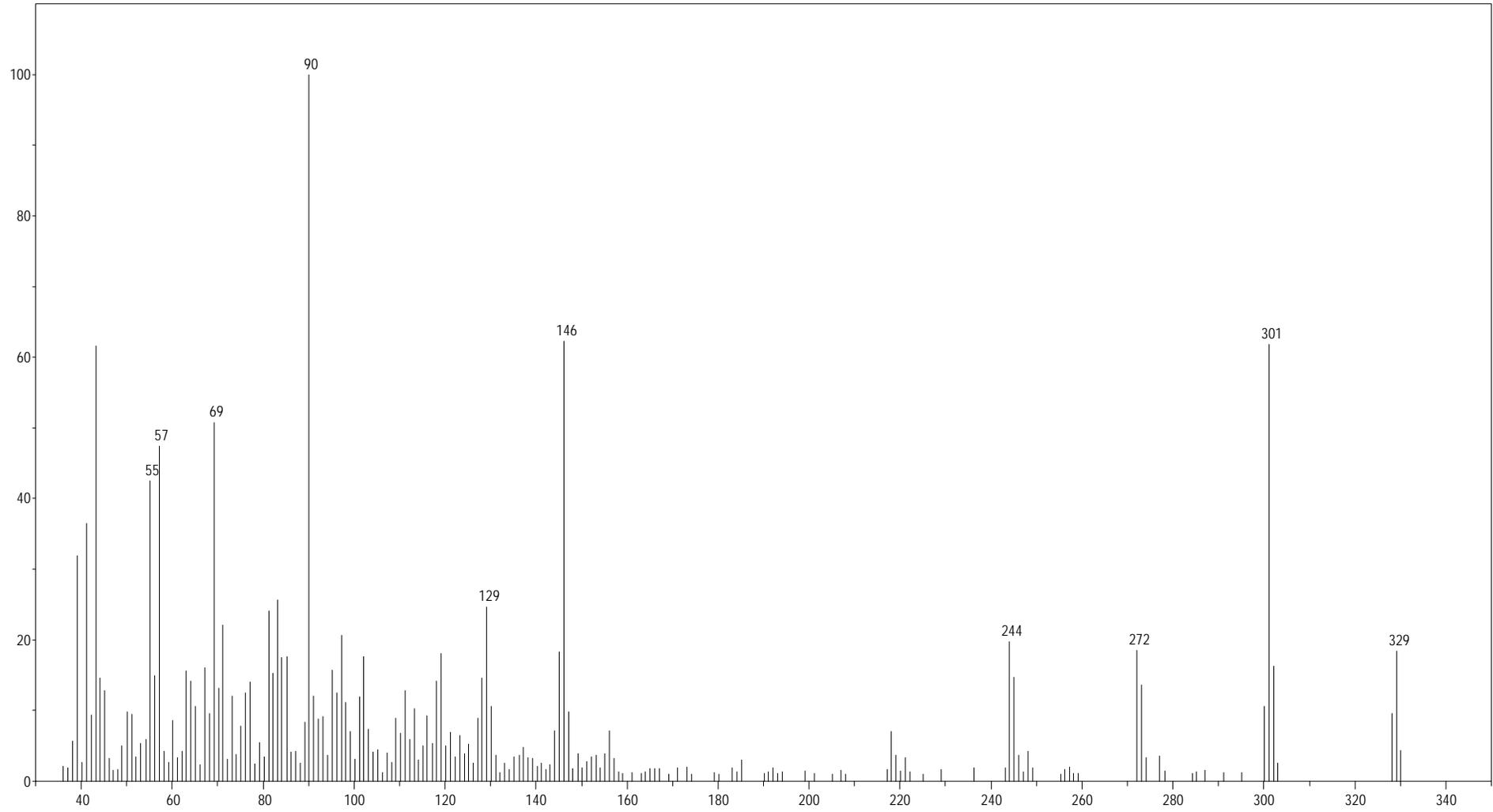
Tafel 38: Ethyl-11-oxo-11,13-dihydrochinolino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-2-carboxylat (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A) (**6**)

MA6 (apolares Produkt ex Cyclisierung von MA4) 1H - CDCl3



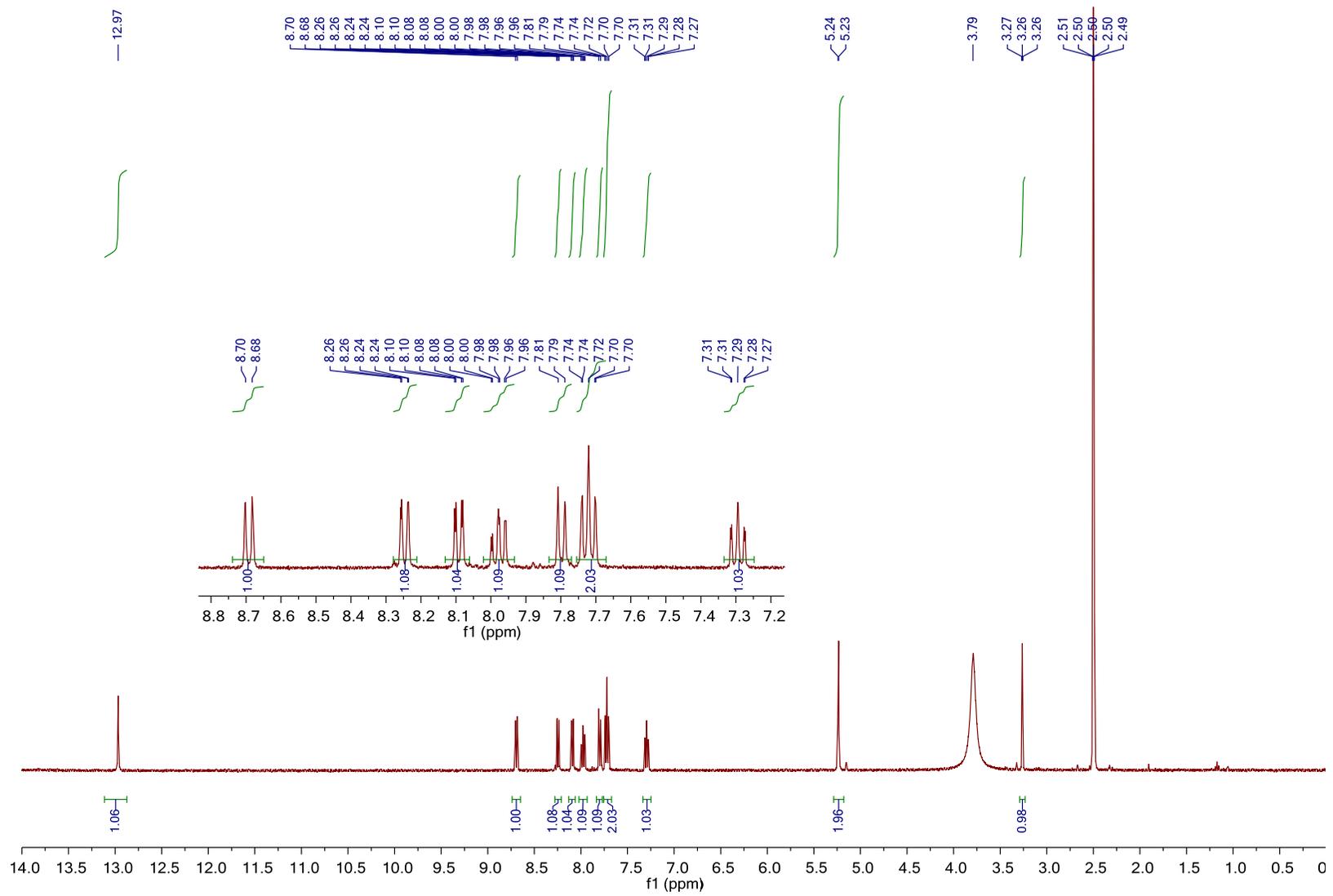
Tafel 39: 2-[4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]-4*H*-3,1-benzoxazin-4-on (**7**) (CDCl<sub>3</sub>)

MA6



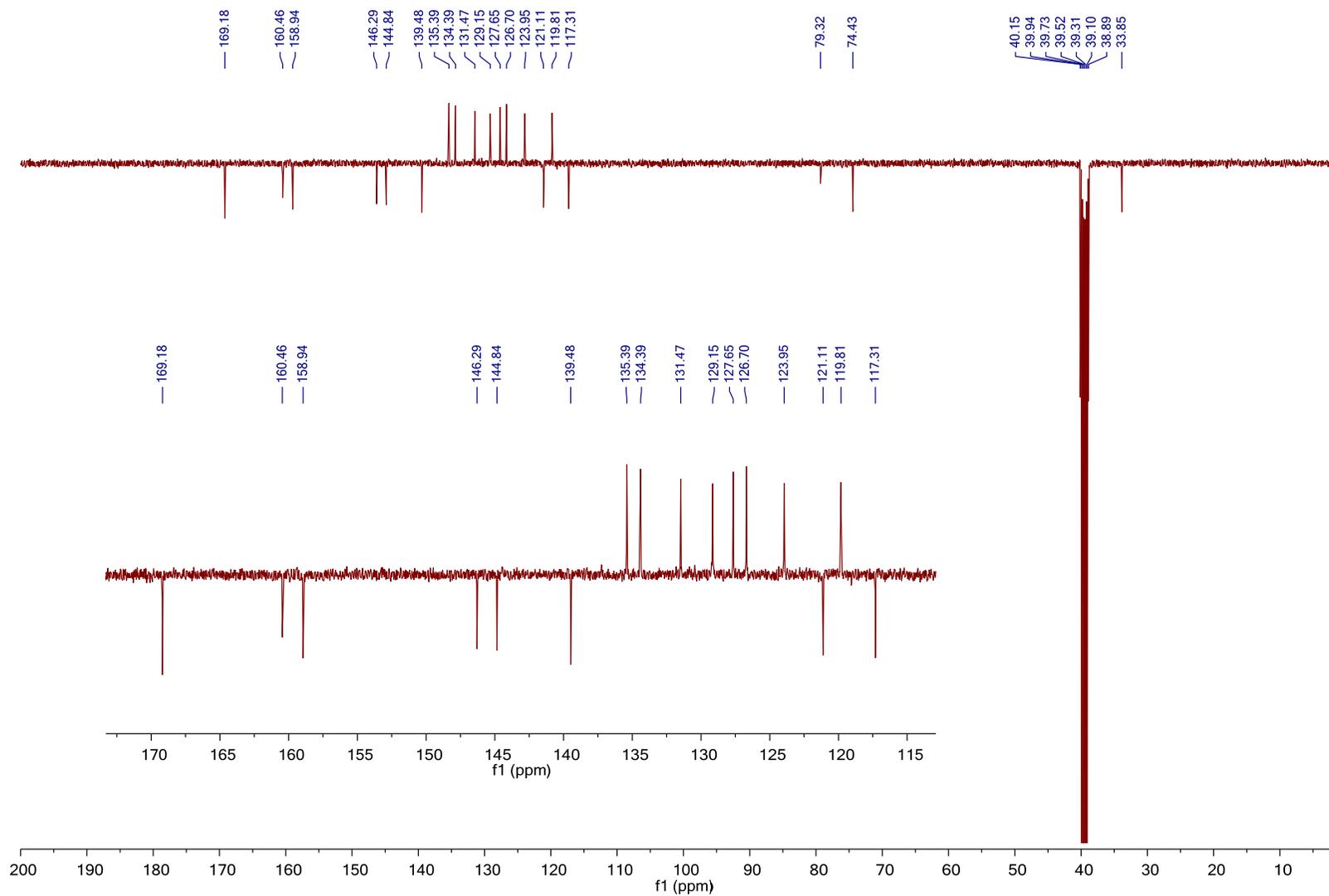
Tafel 40: 2-[4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]-4H-3,1-benzoxazin-4-on (7)

MA7; 2-([4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoic acid 1H / DMSO



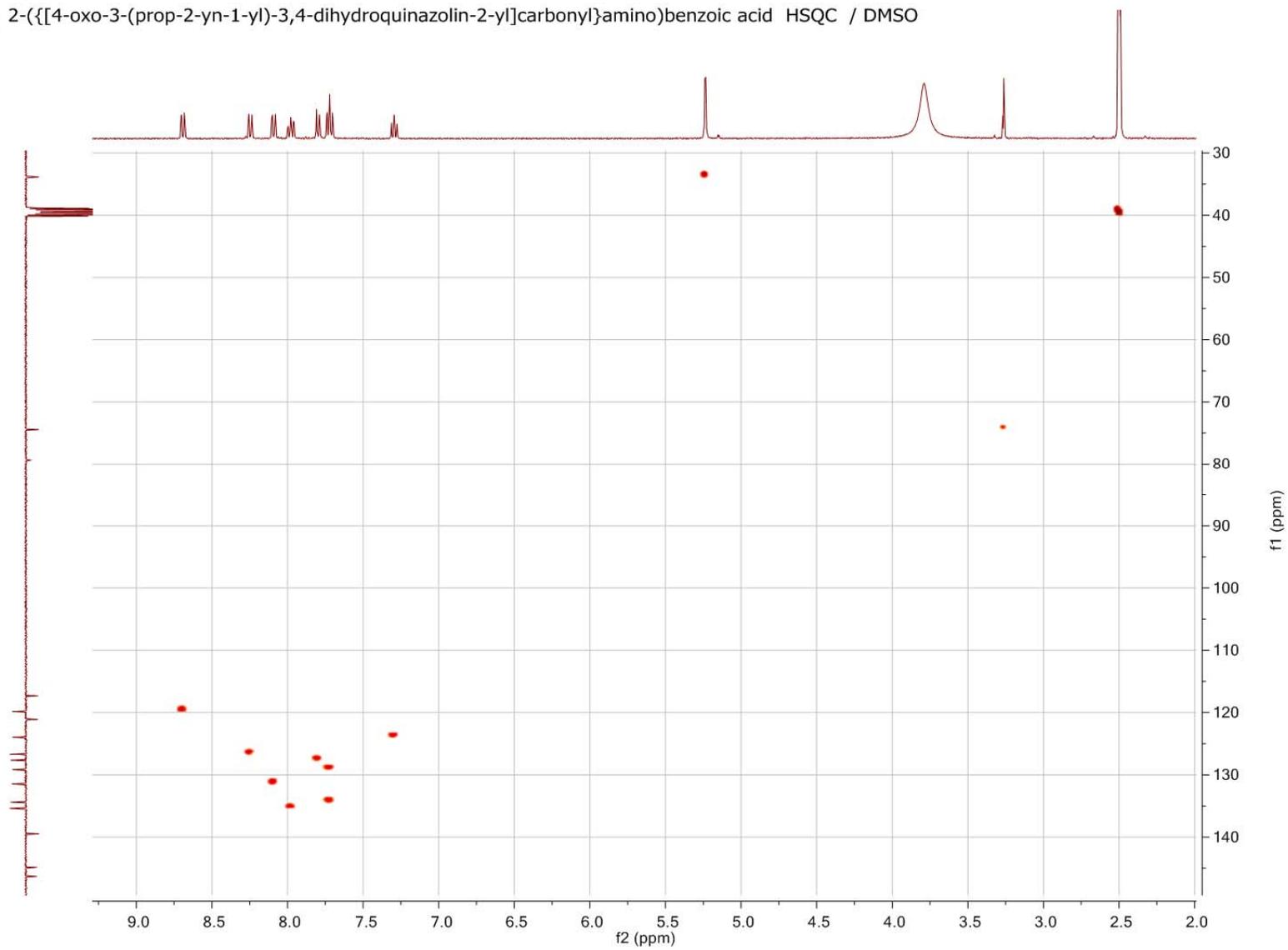
Tafel 41: 2-([4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoesäure (8) (DMSO-d<sub>6</sub>)

MA7; 2-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoic acid C13APT / DMSO



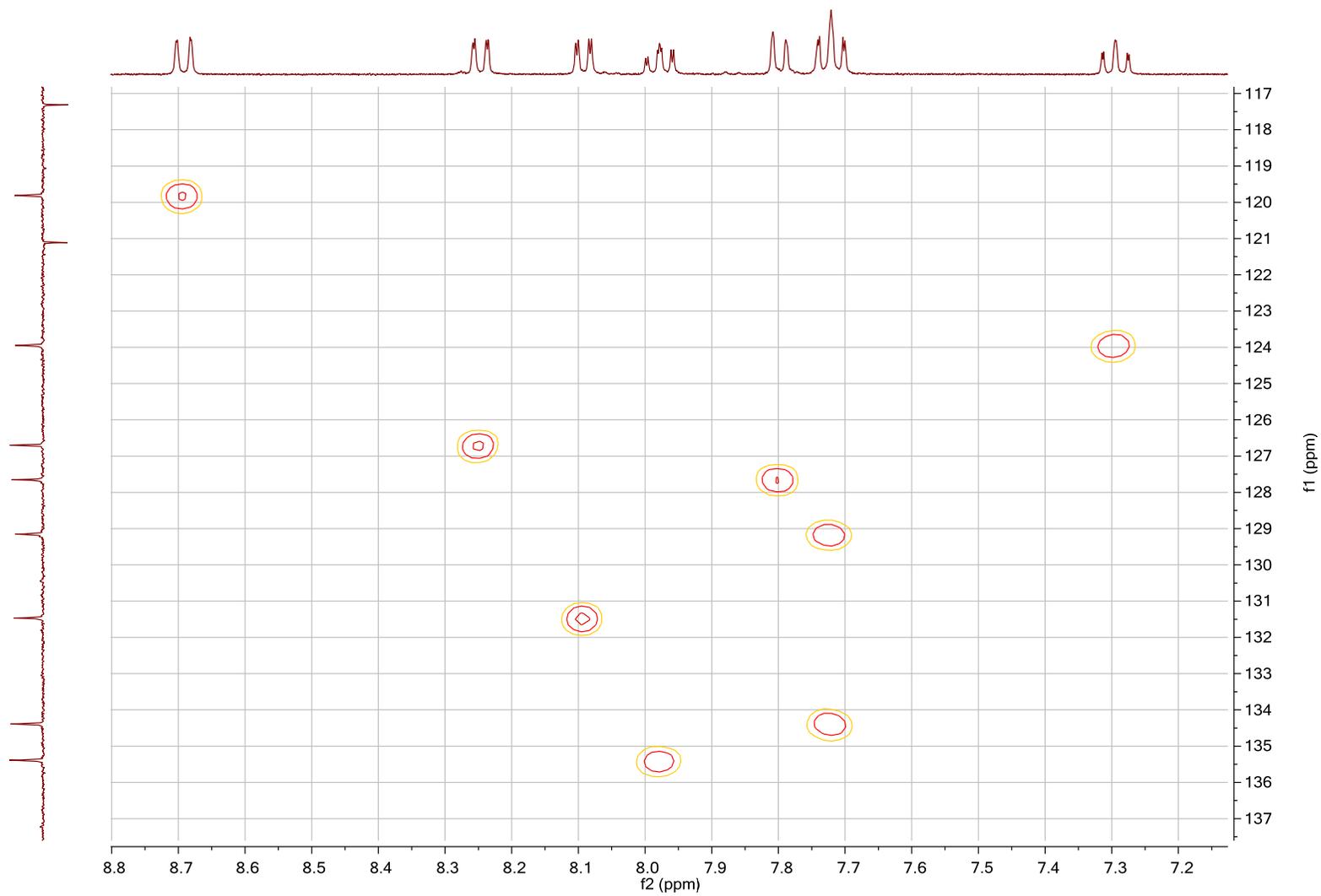
Tafel 42: 2-({[4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoesäure (8) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA7; 2-([4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoic acid HSQC / DMSO



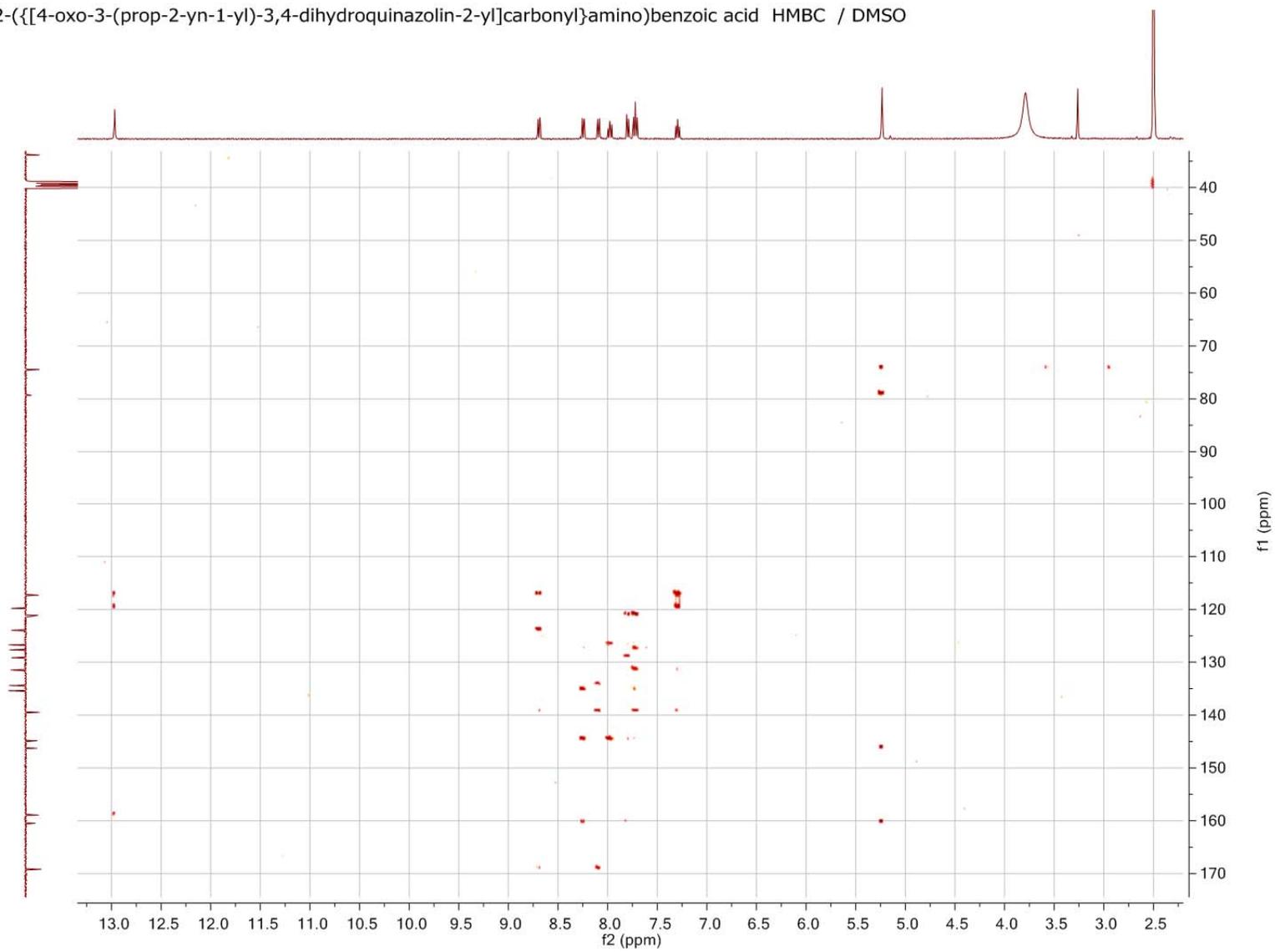
Tafel 43: 2-([4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoesäure (**8**) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA7; 2-([4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoic acid HSQC / DMSO



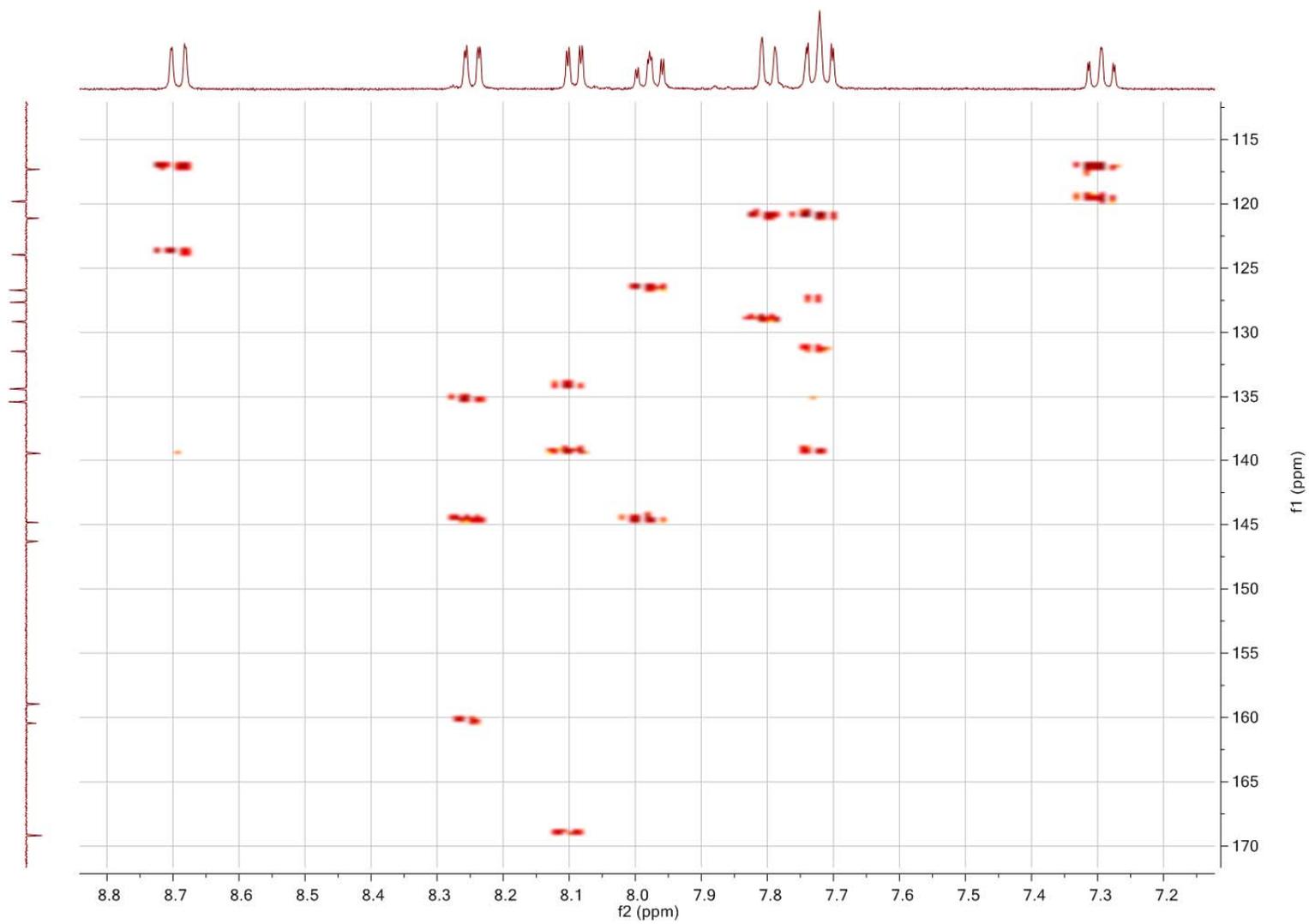
Tafel 44: 2-([4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoesäure (**8**) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA7; 2-([4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoic acid HMBC / DMSO



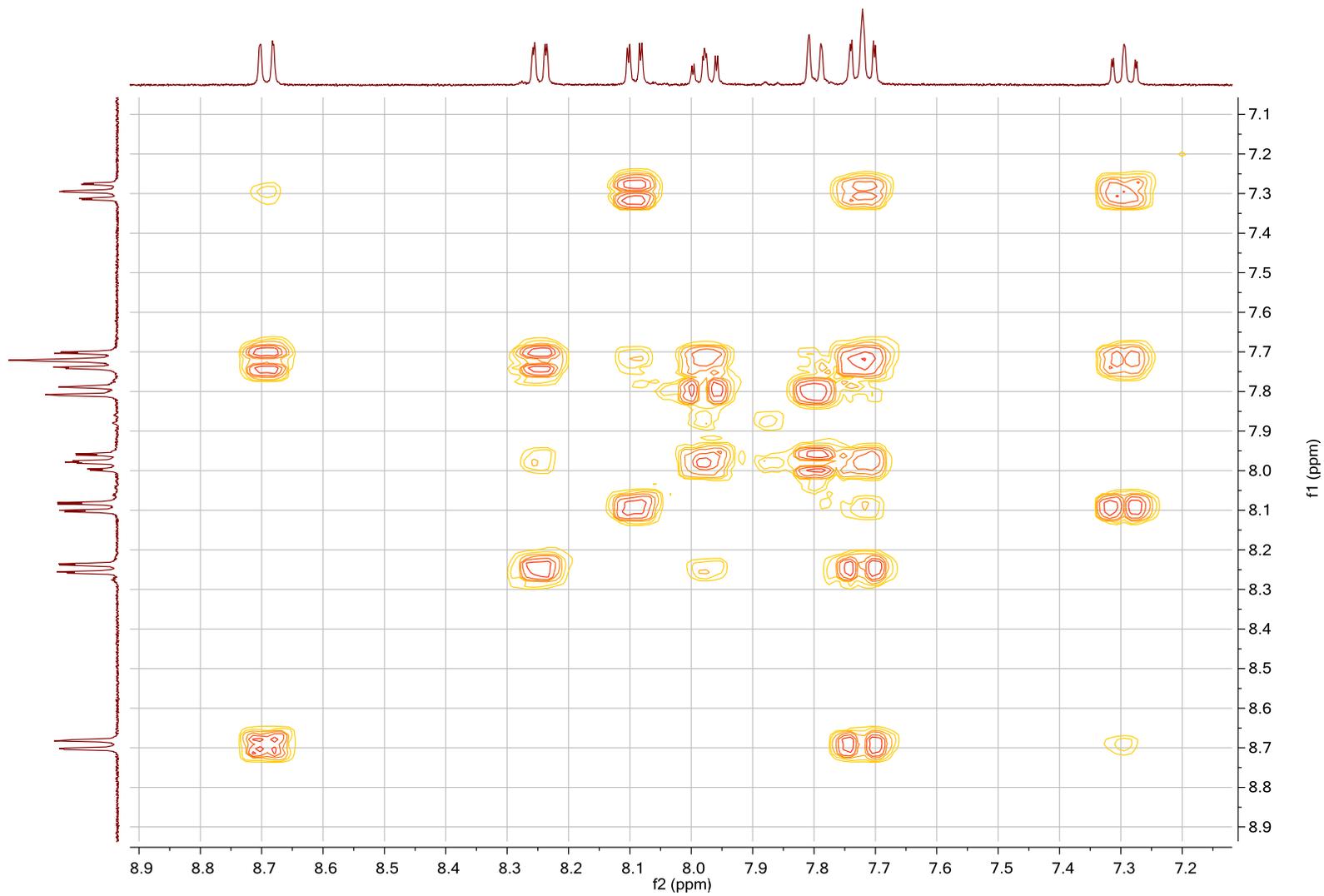
Tafel 45: 2-([4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoesäure (**8**) (DMSO- $d_6$ )

MA7; 2-({[4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoic acid HMBC / DMSO



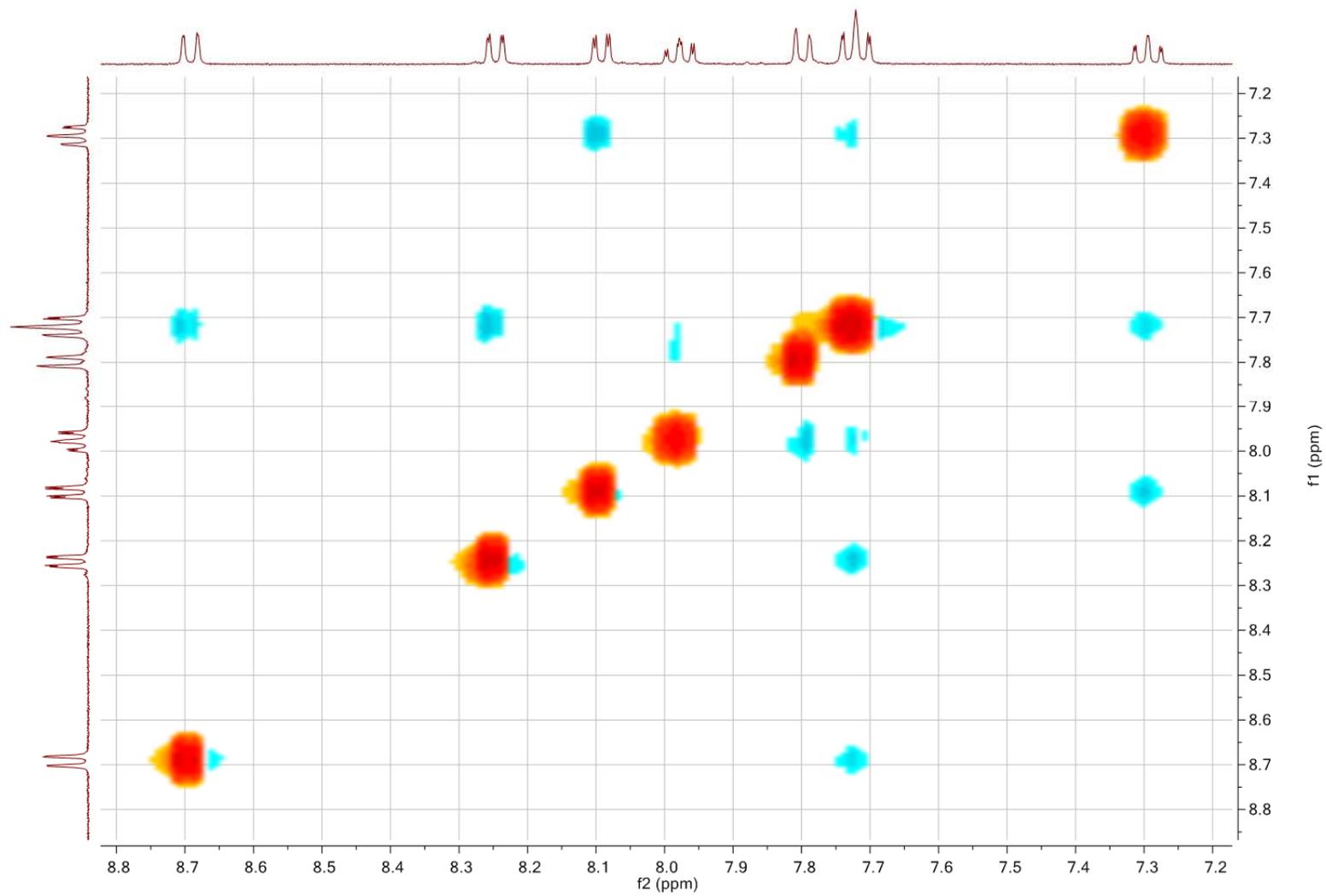
Tafel 46: 2-({[4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl}amino)benzoesäure (**8**) (DMSO- $d_6$ )

MA7; 2-([4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoic acid COSY / DMSO



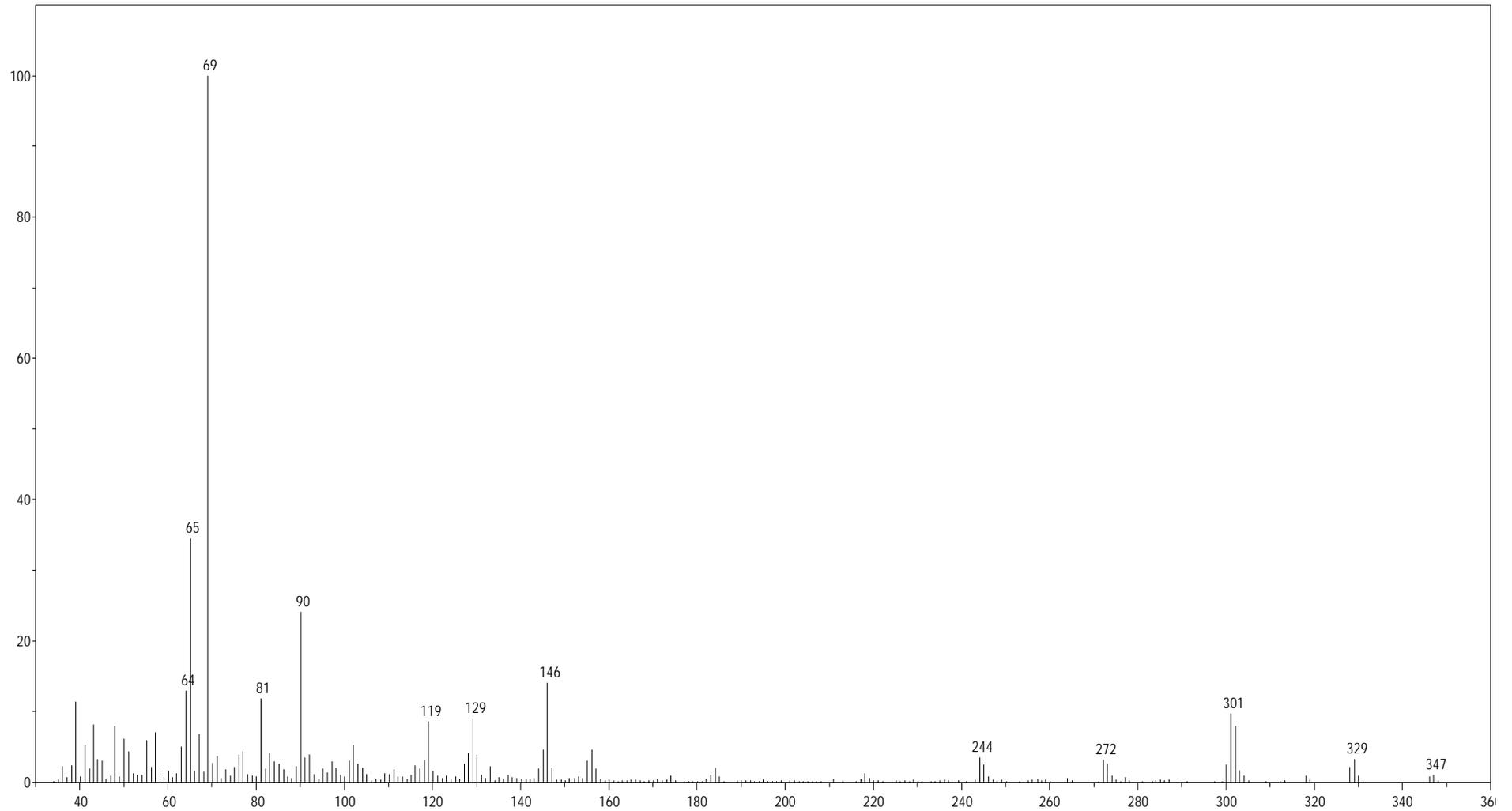
Tafel 47: 2-([4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoesäure (**8**) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA7; 2-([4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoic acid NOESY / DMSO



Tafel 48: 2-([4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl]carbonyl)amino)benzoesäure (**8**) (DMSO-*d*<sub>6</sub>)

MA7



Tafel 49: 2-((4-Oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)carbonyl)amino)benzoesäure (**8**)

## Zusammenfassung

In letzter Zeit steigt das Interesse an der strukturellen Modifikation des Topoisomerase-I-Hemmstoffes Luotonin A, wobei einerseits die Verbesserung der cytotoxischen Aktivität entsprechender Derivate und andererseits die Optimierung von deren Bioverfügbarkeit angestrebt werden. Als eine weitere Modifikation wurde nun die Einführung einer Carbonsäureethylester-Funktion in Ring A des Alkaloids Luotonin A versucht.

Mittels der Weinreb-Methode (Aktivierung der Amin-Komponente mittels Trimethylaluminium) gelang überraschenderweise die direkte Amidierung von 4-Oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carbonsäureethylester mit 4-Aminobenzoessäureethylester in das entsprechende Anilid, obwohl dieses Reagens selbst eine Estergruppe enthält. Der anschließende Alkylierungsschritt mit Propargylbromid verläuft relativ problemlos, ebenso bei einem isomeren 2-Aminobenzoessäurederivat, welches auf analoge Weise erhalten werden konnte. Die zunächst von Zhou *et al.* beschriebene und später von unserer Arbeitsgruppe mehrfach erfolgreich angewandte Methode für die intramolekulare [4+2]-Cycloaddition von *N*-Aryl-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamiden zu den pentacyclischen Strukturen führte jedoch nur mit dem *para*-substituierten Anilid zur Zielverbindung (10-Ethoxycarbonyl-Luotonin A). Im Gegensatz dazu führt die versuchte Cycloadditionsreaktion am *ortho*-substituierten Edukt zu einem Benzoxazinon-Derivat.

## **Lebenslauf**

**Name:** Mohamed Atia

**Geburtsdatum:** 27.07.1983

**Geburtsort:** Menoufia/Ägypten

**Nationalität:** Ägypten

**Familienstand:** Verheiratet

**Ausbildung:** Seit 2010: Diplomstudium der Pharmazie an der Universität Wien  
2000-2004: Bachelorstudium der Chemie an der Universität Menoufia/Ägypten  
1997-2000: Gymnasium, Menoufia/Ägypten  
1994-1997: Mittelschule, Menoufia/Ägypten  
1989-1994: Volksschule, Menoufia/Ägypten

**Sprachkenntnisse:** Arabisch, Englisch, Deutsch