



universität
wien

DIPLOMARBEIT / DIPLOMA THESIS

Titel der Diplomarbeit / Title of the Diploma Thesis

„Synthese eines neuartigen 4,9-Diamino-Derivates
des Naturstoffs Luotonin A“

verfasst von / submitted by

Calvin Lee

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

Wien, 2019 / Vienna, 2019

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

UA 449

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

Diplomstudium Pharmazie

Betreut von / Supervisor:

ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Norbert Haider

*„Unsere größte Schwäche liegt im Aufgeben.
Der sichere Weg zum Erfolg ist immer,
es doch noch einmal zu versuchen.“*

— THOMAS EDISON

*„Per aspera ad astra.
- Durch Mühsal gelangt man
zu den Sternen.“*

— SENECA

Danksagung

Die experimentellen Untersuchungen im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit wurden von September bis Dezember 2018 in der Abteilung für Arzneistoffsynthese am Department für Pharmazeutische Chemie an der Universität Wien durchgeführt.

Ich möchte mich herzlichst bei Herrn **ao. Univ.-Prof. Dr. Norbert Haider** bedanken, nicht nur für das spannende Thema, der Aufnahme der Spektren und das angenehme Arbeitsklima, sondern auch für die ausgezeichnete und geduldige Betreuung.

Ganz besonderer Dank gilt der Frau Mag. Amra Ibrić für die Durchführung der zellbiologischen Untersuchungen am Institut für Krebsforschung der Medizinischen Universität Wien.

Sämtlichen anderen Professoren und KollegInnen der Abteilung für Arzneistoffsynthese möchte ich für die gute Zusammenarbeit sowohl während der Diplomarbeit als auch im Tutorium (Arzneistoffsynthese-Praktikum) danken.

Ein großes Dankeschön geht an meine StudienkollegInnen und FreundInnen für die lehrreiche, aber vor allem lustige Zeit im Studium. Besonders hier zu erwähnen ist mein Studienkollege Dominik Windisch. Danke für all die zahlreichen interessanten Diskussionen über deine gut überlegten Fragestellungen bezüglich dem Lernstoff für eine anstehende Prüfung^a und auch für die sehr gute Kooperation im Labor während des praktischen Teils der vorliegenden Diplomarbeit!

Zu guter Letzt bedanke ich mich bei meinen Eltern, die mich während der gesamten Studienzeit nicht nur finanziell unterstützt haben, sondern mich auch immer angespornt haben, mein Bestes zu geben.

^a Die Fragen waren meistens aber so komplex gestellt, dass sie ohnehin nicht in einer Prüfung gefragt wurden.

Verwendete Abkürzungen

Abb.	Abbildung
Anm.	Anmerkung
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
conc.	konzentriert
COSY	Correlated Spectroscopy
DC	Dünnschichtchromatographie
d.h.	das heißt
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EI	Elektronenstoßionisation
ESI	Elektrosprayionisation
EtOH	Ethanol
Fa.	Firma
GI	gastrointestinal
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HRMS	hochauflösende Massenspektrometrie
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
inkl.	inklusive
KG	Kieselgel
KOH	Kaliumhydroxid
Lit.	Literatur
MeOH	Methanol
MG	Molekulargewicht
MS	Massenspektrometrie
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
NMR	Kernresonanzspektroskopie
PDB	Protein Data Bank
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle (Hydrierkatalysator)
Pos.	Position

R_f..... Retentionsfaktor
RT Raumtemperatur
s. siehe
SC Säulenchromatographie
sog. sogenannt
THF Tetrahydrofuran
UV ultraviolettes Licht

Inhaltsverzeichnis

Verwendete Abkürzungen.....	vii
1 EINLEITUNG	1
1.1 Bedeutung der Zytostatika	1
1.2 Physiologische Rolle der DNA-Topoisomerasen.....	3
1.3 Topoisomerase-I-Hemmer	4
1.3.1 <i>Camptothecin und Derivate</i>	4
1.3.2 <i>Luotonin A</i>	8
1.4 Strategien zur Synthese von Luotonin A und dessen Derivaten	9
1.4.1 <i>Die „nördliche“ Syntheseroute</i>	10
1.4.2 <i>Die „südliche“ Syntheseroute</i>	12
1.5 Literaturbekannte Amino-Derivate von Luotonin A.....	14
1.6 Zielsetzung.....	15
2 EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	17
2.1 Herstellung von literaturbekannten Ausgangsverbindungen	17
2.2 Amidierung des 6-Nitrochinazolinoncarbonsäureesters	19
2.3 Alkylierung am Chinazolinon-Stickstoff	21
2.4 Cycloadditionsreaktion zum pentacyclischen System	24
2.5 Simultane Reduktion der Nitrogruppen in Position 4 und 9.....	26
2.6 Fazit und Ausblick	29
3 EXPERIMENTELLER TEIL.....	30
3.1 Verwendete Geräte und Materialien.....	30
3.2 Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (1).....	32
3.3 Ethyl-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (2).....	33
3.4 6-Nitro- <i>N</i> -(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)	34
3.5 6-Nitro- <i>N</i> -(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4)	35
3.6 4,9-Dinitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1- <i>b</i>]chinazolin-11(13 <i>H</i>)-on (5).....	37
3.7 4,9-Diaminochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1- <i>b</i>]chinazolin-11(13 <i>H</i>)-on (6)	38
4 LITERATURVERZEICHNIS	40
5 ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	45
6 SCHEMAVERZEICHNIS	46
7 APPENDIX	47
7.1 Spektren	
7.2 Zusammenfassung	

1 Einleitung

1.1 Bedeutung der Zytostatika

Krebs zählt nach wie vor zu den häufigsten Todesursachen, nach den Herz-Kreislauferkrankungen. In Österreich allein erkranken jährlich 40.000 Menschen an Krebs, wobei man bei Männern eine größere Tendenz zur Krebserkrankung feststellen konnte als bei Frauen. Zusätzlich zum Geschlecht wird das Krebsrisiko auch durch erhöhtes Alter, Umwelteinflüsse und einen schlechten Lebensstil begünstigt¹.

Die Krebstherapie heutzutage basiert nach wie vor auf den Grundpfeilern der chirurgischen Entfernung des Tumors, der Strahlentherapie, der Tumorchemotherapie und der relativ jungen Behandlungsmethode der Immuntherapie. Während die Entfernung von lokalen Tumoren vorwiegend chirurgisch oder durch radioaktive Strahlen erfolgt, spielen die Zytostatika eine besondere Rolle bei Metastasen, disseminierten Tumoren und ausgedehnten Rezidiven².

Dank des medizinischen Fortschritts steigt zwar die Überlebensdauer bei einer Krebserkrankung, jedoch erweist sich die vollständige Heilung durch Zytostatika (sog. kurative Chemotherapie) als sehr schwierig und ist nur bei relativ wenigen Tumoren möglich². Der Grund für die problematische Pharmakotherapie bei einer Krebserkrankung liegt in der Besonderheit von Krebszellen. Denn Tumorzellen unterscheiden sich wesentlich von normalen Körperzellen nur in dem Faktum, dass sie ungehemmt wachsen. Das bedeutet, dass eine herkömmliche und gezielte Chemotherapie wie in der Bekämpfung von Bakterien durch Antibiotika nicht möglich ist. Allgemein hemmen Tumorchemotherapeutika unselektiv das Zellwachstum, wobei eine relative Selektivität aufgrund der hohen Teilungsrate der Tumorzellen erreicht wird. Jedoch hat dies zur Folge, dass auch gesunde Körperzellen mit einer hohen Teilungsrate wie die Schleimhaut des Verdauungstraktes, Haarwurzeln und Knochenmarkszellen geschädigt werden³.

Ein Überblick über die wichtigsten und relevantesten Zytostatika in unserer Zeit inkl. deren Target ist in der Abb. 1 ersichtlich, wobei gleich an dieser Stelle

anzumerken ist, dass der Fokus der vorliegenden Arbeit auf den Topoisomerase-I-Hemmern liegt.

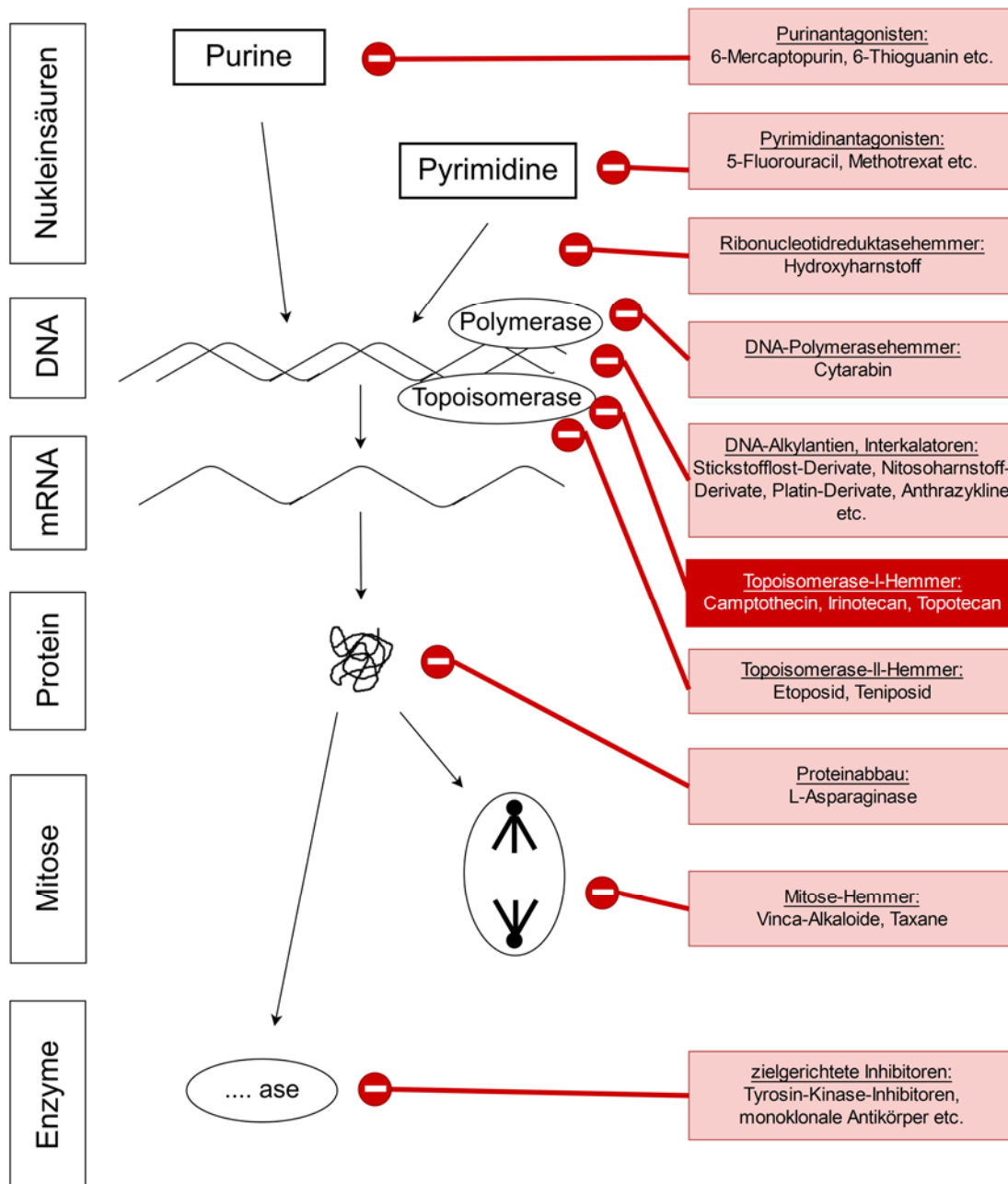


Abbildung 1: Wichtige Chemotherapeutika und deren Angriffspunkte, modifiziert nach Lit.³. Fokus auf den Topoisomerase-I-Hemmern (dunkelrot hinterlegt).

1.2 Physiologische Rolle der DNA-Topoisomerasen

Für eine erfolgreiche und platzsparende Verpackung der DNA im Zellkern muss eine wichtige Voraussetzung gegeben sein, nämlich ihre Verdrillung. Jedoch entsteht dadurch auch ein prinzipielles Problem bei der Neusynthese der DNA im Rahmen der Zellteilung, da ohne entsprechende Maßnahmen eine beträchtliche Energiemenge aufgewendet werden müsste: Die DNA-Polymerase würde nämlich eine energieaufwändige Rotation in Richtung der zu replizierenden DNA durchführen müssen⁴.

Deswegen gibt es Enzyme, die die DNA-Stränge vorübergehend unterbrechen können, um sie dann wieder nach erfolgreicher Entwindung zusammenzufügen. Dadurch wird der Torsionsstress, der durch die DNA-Polymerase erzeugt wird, aufgehoben. Diese sog. DNA-Topoisomerasen (s. Abb. 2) sind als reversible Nucleasen in der Lage, kovalent an eine Phosphatgruppe der DNA zu binden, die Esterbindung zu spalten und nach Strangrotation wieder zu verknüpfen. Denn im aktiven Zentrum dieser Enzymfamilie befindet sich ein Tyrosin, dessen phenolische OH-Gruppe als Nukleophil am Phosphat des DNA-Backbones angreift, um ein kovalentes Addukt zu bilden. Somit ist der DNA-Strang bzw. die beiden DNA-Stränge (abhängig vom Typ der Topoisomerase) vorübergehend gebrochen. Die Bruchstelle bzw. Bruchstellen werden nach erfolgter relativer Drehung verschlossen und das Enzym mit dem regenerierten Tyrosin im aktiven Zentrum kann von der DNA abdissoziieren^{4,5}.

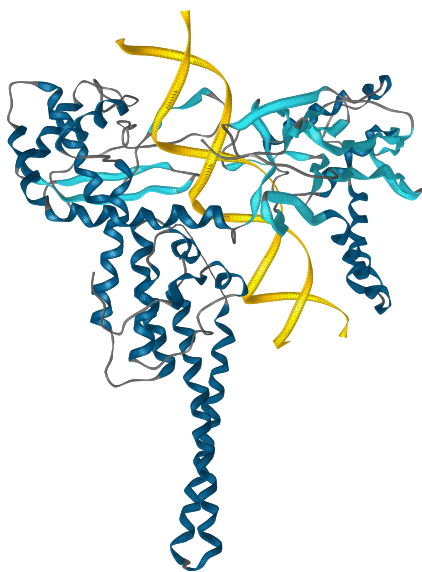


Abbildung 2: Humane Topoisomerase-I
in einem Komplex mit DNA (gelb)
(PDB Code: 1A36)⁶

Man unterscheidet zwei Formen:
Topoisomerasen I und **Topoisomerasen II**.

Topoisomerasen I spalten einen Strang der doppelsträngigen DNA-Helix und ermöglichen damit eine freie Rotation des Gegenstrangs um eine Phosphodiesterbindung⁴.

Topoisomerasen II spalten beide DNA-Stränge und erlauben dadurch die Rotation beider Stränge⁴. Anders als bei der Topoisomerase I ist bei der Topoisomerase II eine Energiezufuhr in Form von ATP für ihre

physiologische Aktivität erforderlich. Dementsprechend befindet sich dort auch eine ATPase².

1.3 Topoisomerase-I-Hemmer

Aufgrund der hohen Proliferationsrate der Tumorzellen spielt die DNA-Topoisomerase I eine essenzielle Rolle bei der Vergrößerung des Tumors. Die heutigen wissenschaftlichen Erkenntnisse suggerieren, dass die Sensitivität der Zellen gegenüber Topoisomerase-I-Hemmern, wie dem pflanzlichen Alkaloid Camptothecin und dessen Derivaten, von ihrem Topoisomerase-I-Gehalt abhängig ist⁷. Es wurde unter anderem von Giovanella *et al.* festgestellt, dass die Topoisomerase-I-Level in fortgeschrittenen Stadien des humanen kolorektalen Adenokarzinoms im Gegensatz zur Kolonmukosa erhöht sind und damit anfälliger gegenüber Topoisomerase-I-Hemmern sind⁸. Aus dieser Entdeckung konnte ein neuer Weg zur selektiven Wachstumsinhibition von malignen Tumorentartungen dargestellt werden⁷.

1.3.1 Camptothecin und Derivate

Das pflanzliche Alkaloid Camptothecin, welches aus dem Holz, der Rinde und den Früchten des asiatischen Krebs- und Glücksbaums *Camptotheca acuminata* (Nyssaceae) gewonnen werden kann, wurde bereits 1966 vom US National Cancer Institute im Rahmen eines Screening-Programms als ein Naturstoff mit einer potentiell antitumoralen Wirkung entdeckt⁹.

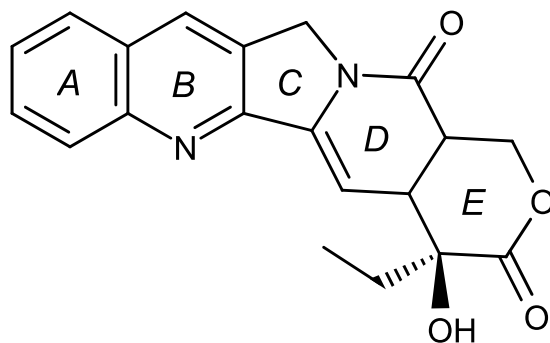


Abbildung 3: Camptothecin

Camptothecin als ein neuer potentieller Wirkstoff traf vor allem am Anfang der Untersuchungen durchaus auf viele Komplikationen. Präklinische Studien zeigten zwar eine vielversprechende zytostatische Wirkung bei Kolon- und Gastrointestinal-Tumoren, aber es waren andererseits unter anderem toxische Effekte auf den GI-Trakt sowie hämorrhagische Zystitis und dosislimitierende Myelosuppression als vermehrt auftretende Nebenwirkungen festzustellen⁹.

Außerdem stellte für die klinische Entwicklung und Applikation dieses pflanzlichen Alkaloids seine äußerst schlechte Löslichkeit eine große Herausforderung dar. Daher wurde unter anderem das Natriumsalz von Camptothecin in seiner Carboxylatform verwendet. (s. Abb. 4). Da man sich zu diesem Zeitpunkt noch nicht bewusst war, dass die Lactonform (in ihrer S-Konfiguration an Pos. 20) die weitaus aktivere Form darstellt, mussten dementsprechend sehr hohe Konzentrationen des Salzes für die Erzielung einer klinischen Wirkung verabreicht werden. Während die weniger aktive Carboxylatform im neutralen bis alkalischen pH-Wert, also im physiologischen Milieu mit einem pH-Wert von 7.4, vorliegt, verschiebt sich das Gleichgewicht bei saurem pH-Wert (wie es im Harnmilieu der Fall ist) in Richtung der Lactonform (s. Abb. 4). Dadurch kommt es zum vermehrten Ringschluss und damit zu einer höheren Konzentration des aktiveren Lactons unter Einwirkung des aziden Harnmilieus. Dies führt daher auch verstärkt zur hämorrhagischen Zystitis⁹. Als weitere problematische Eigenschaft gilt die starke Plasmaproteinbindung des Camptothecin-Carboxylats an Serumalbumin, wodurch wiederum die Wirksamkeit des Alkaloids herabgesetzt wird¹⁰.

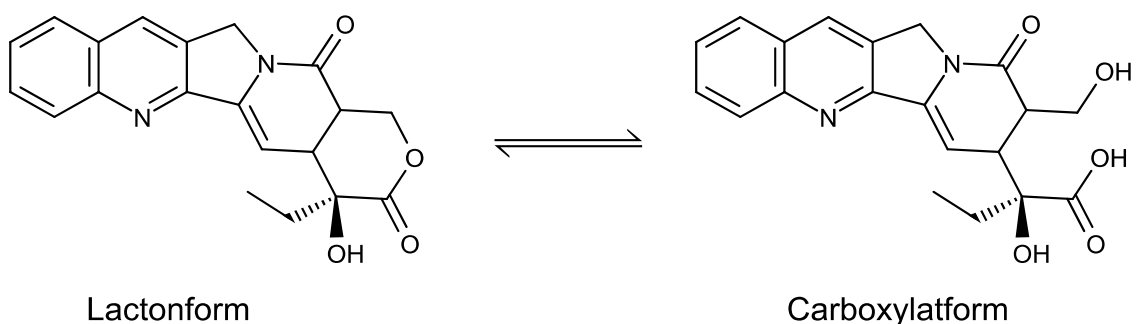


Abbildung 4: Formen von Camptothecin (links: intakter Lactonring, rechts: geöffneter Lactonring)

Der Wirkmechanismus von Camptothecin beruht auf seiner Bindung an den spaltbaren Komplex („cleavable complex“), bestehend aus DNA und Topoisomerase I. Somit können die ursprünglich reversiblen Einzelstrangbrüche durch das Alkaloid fixiert werden. Jedoch zeigt sich die zytotoxische Wirkung erst im Zuge der DNA-Replikation durch die Polymerasen, wobei letztlich irreversible Doppelstrangbrüche aufgrund einer Kollision mit der Replikationsgabel auftreten (s. Abb. 5)².

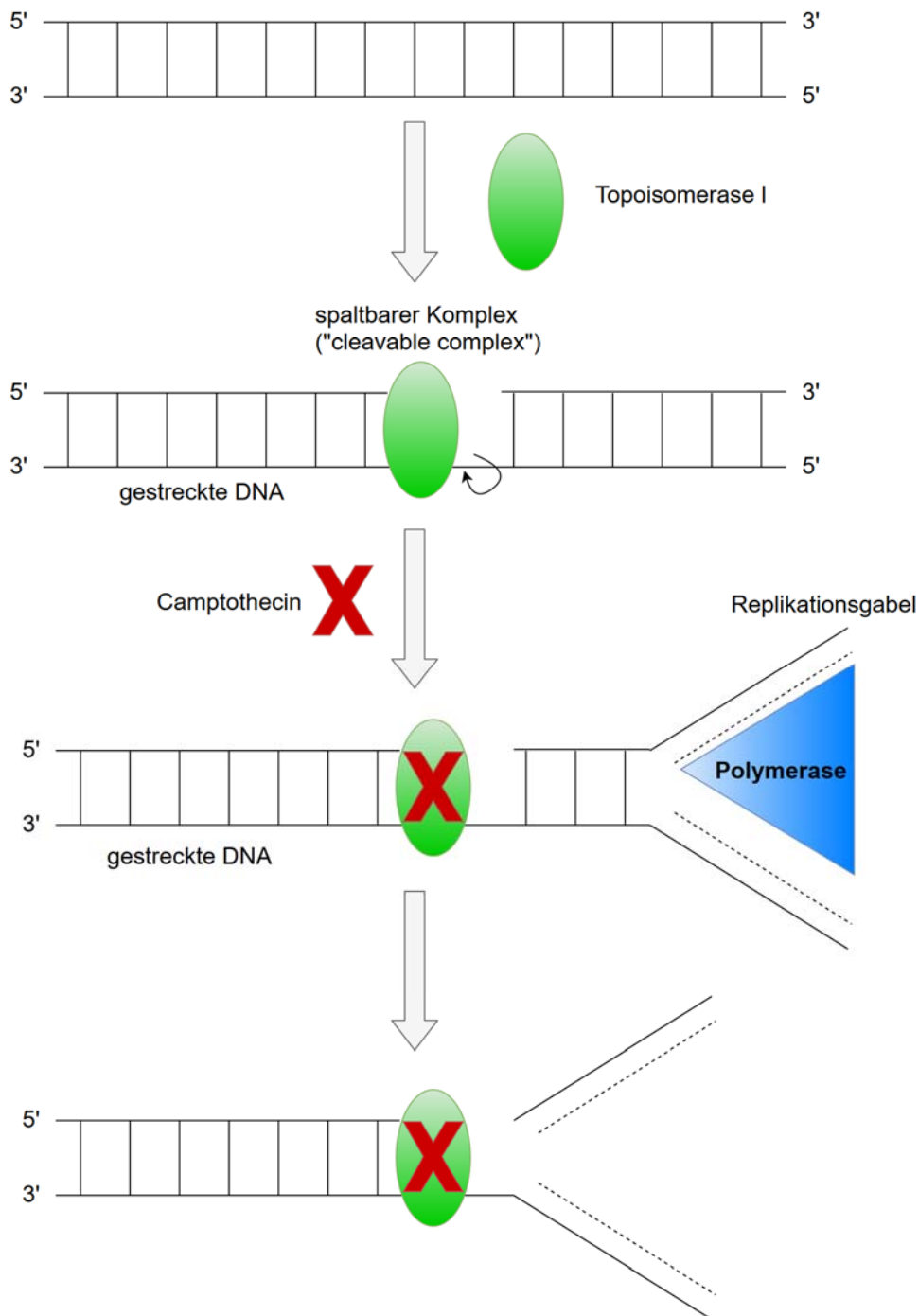


Abbildung 5: Wirkungsmechanismus der Topoisomerase-I-Hemmstoffe, modifiziert nach Lit.²

Aufgrund der bereits erwähnten schlechten Löslichkeit konnte sich Camptothecin nicht als Arzneistoff etablieren. Heutzutage werden daher die Weiterentwicklungen Topotecan (s. Abb. 6) und Irinotecan (s. Abb. 7) klinisch verwendet⁹.

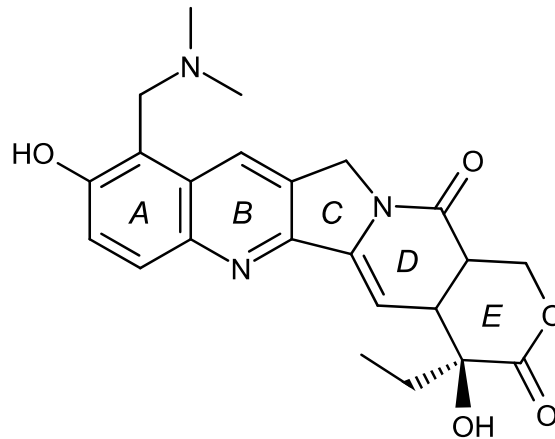


Abbildung 6: Topotecan

Topotecan ist ein halbsynthetisches Analogon des pflanzlichen Alkaloids Camptothecin. Durch die Einführung hydrophiler funktioneller Gruppen wie der phenolischen Hydroxygruppe und der protonierbaren, basischen Diethylaminomethylgruppe am Ring A ist die Wasserlöslichkeit im Gegensatz zu Camptothecin deutlich verbessert worden. Anwendung findet dieser Wirkstoff gegen metastasierendes Ovarialkarzinom und kleinzelliges Bronchialkarzinom⁹.

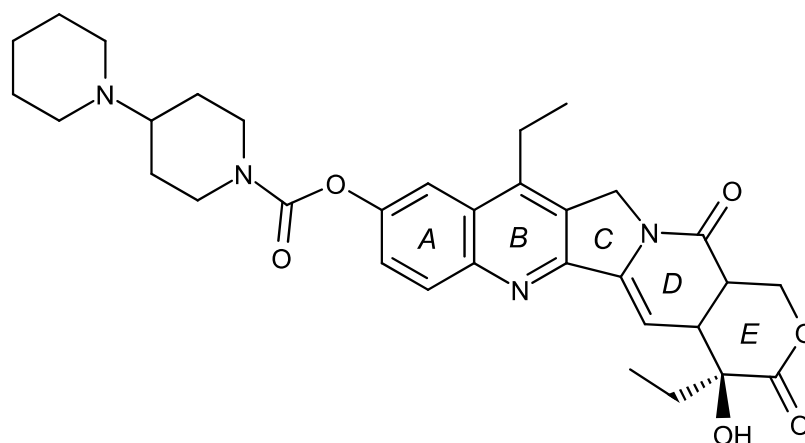


Abbildung 7: Irinotecan

Beim später auf dem Markt erschienenen Irinotecan handelt es sich ebenfalls um ein halbsynthetisches Analogon von Camptothecin, das eine weitere

pharmakokinetische Optimierung im Vergleich zu Topotecan aufweist. Denn die Dipiperidylgruppe dient nicht nur (analog zu Topotecan) als protonierbare, hydrophile Seitenkette zur Verbesserung der Wasserlöslichkeit, sondern ist auch essentiell für das Prodrug-Wirkprinzip des Arzneistoffes Irinotecan^{9,11}.

Des Weiteren gilt die verminderte Serumalbuminbindung beider Pharmaka als eine deutliche Verbesserung gegenüber der Leitverbindung Camptothecin. Als Resultat verschiebt sich hier das Gleichgewicht zugunsten der weitaus aktiveren Lactonform, was eine deutliche Steigerung der Wirksamkeit und Stabilität zur Folge hat¹¹. Jedoch bleiben den beiden Abkömmlingen analog zu Camptothecin nach wie vor dosislimitierende Knochenmarksuppression und hämorrhagische Zystitis als häufige Nebenwirkungen erhalten^{2,9,11}.

1.3.2 Luotonin A

Strukturelle Ähnlichkeit zu Camptothecin besitzt das zytotoxische Pyrrolochinazolino-Chinolinalkaloid Luotonin A, das 1997 erstmals von Ma *et al.*¹² aus den oberiridischen Teilen von *Peganum nigellastrum* (Zygophyllaceae) isoliert wurde (s. Abb. 8). Diese ebenfalls in Asien heimische Pflanze fand ebenso wie *Camptotheca acuminata* Anwendung in der traditionellen chinesischen Medizin, hier vor allem bei Rheumatismus, Abszessen und anderen entzündlichen Erkrankungen¹³.

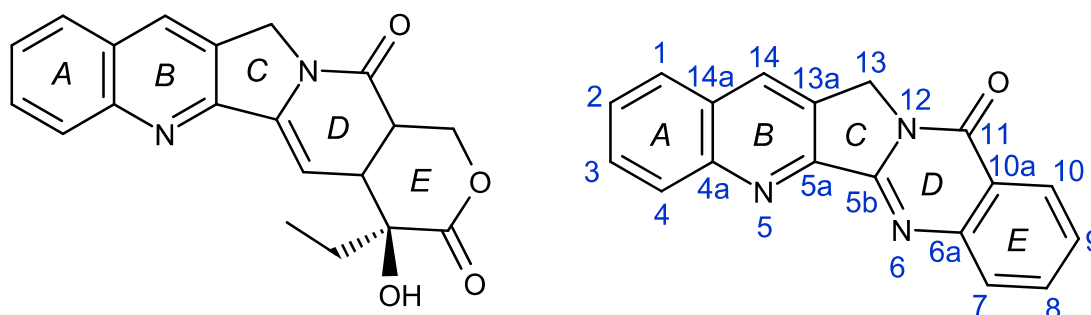


Abbildung 8: Vergleich von Camptothecin und Luotonin A (mit IUPAC-konformer Nummerierung).

Strukturelle Gemeinsamkeiten von Luotonin A und Camptothecin liegen in den identischen Ringen A, B und C. Im Unterschied zu Camptothecin besitzt Luotonin A als Ring D einen Pyrimidin-Ring statt eines Pyridin-Ringes. Andererseits hebt

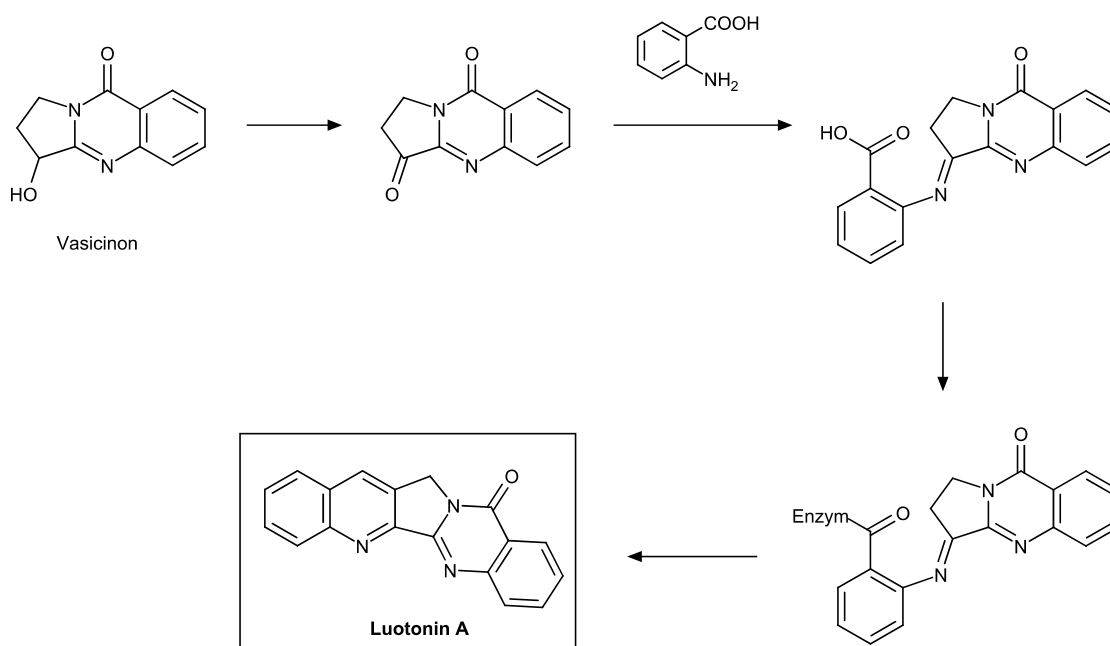
sich Luotonin A bezüglich des Ringes E deutlicher von Camptothecin ab, da es hier einen Benzolring statt des Lactonringes besitzt.

Trotz dieser fehlenden Lactonfunktion und des Faktums, dass die Lactonform bei Camptothecin die weitaus aktivere Wirkform darstellt, zeigte Luotonin A ebenfalls eine beachtliche zytotoxische Aktivität an murinen Leukämiezellen (P-388), wobei eine IC_{50} -Hemmkonzentration von 1.8 $\mu\text{g/ml}$ gemessen wurde^{14,15}. Später stellten Hecht *et al.*¹⁴ fest, dass der Wirkmechanismus von Luotonin A dem von Camptothecin entspricht, nämlich eine Stabilisierung des binären Komplexes aus Topoisomerase I und DNA. Dies ist aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zu Camptothecin nicht verwunderlich. Allerdings hat Luotonin A eine deutlich geringere Affinität zum Spaltungskomplex im Vergleich zu Camptothecin, was wohl doch auf den fehlenden Lactonring zurückzuführen sein könnte^{14,15}.

Der Ersatz der labilen Lactonfunktion im Ring E durch Benzol in Luotonin A bringt aber den großen Vorteil mit sich, dass die Problematik der zusätzlichen toxischen Wirkung auf die Harnblase wegfällt. Denn hier kann es nicht wie bei Camptothecin zu einer Akkumulation einer wirksameren Form in der Harnblase infolge der Rezyklisierung des Ringes E im sauren Harn kommen, folglich fehlt hier der Auslöser für eine hämorrhagische Zystitis. Auch aufgrund derartiger Überlegungen zeigten in den letzten Jahren mehrere Forschungsgruppen vermehrtes Interesse an Luotonin A, um durch dessen strukturelle Modifikation neue, potentere Topoisomerase-I-Hemmer zu entdecken¹⁶.

1.4 Strategien zur Synthese von Luotonin A und dessen Derivaten

Nach erstmalig erfolgreicher Isolierung des Alkaloids Luotonin A wurden verschiedenste Strategien zu dessen Synthese entwickelt. Der vermutete Biosyntheseweg wurde von Ma *et al.* beschrieben (s. Schema 1)¹². Heute sind schon diverse Synthesestrategien bekannt, um verschiedene Derivate von Luotonin A zugänglich zu machen. Eine übersichtliche Darstellung und Diskussion der unterschiedlichen Synthesewege findet man in dem 2011 veröffentlichten Review von Liang *et al.*¹³. In unserer Arbeitsgruppe wurden die beiden in der Folge näher beschriebenen Syntheserouten zur Herstellung von Luotonin A bzw. von entsprechenden Derivaten gewählt.



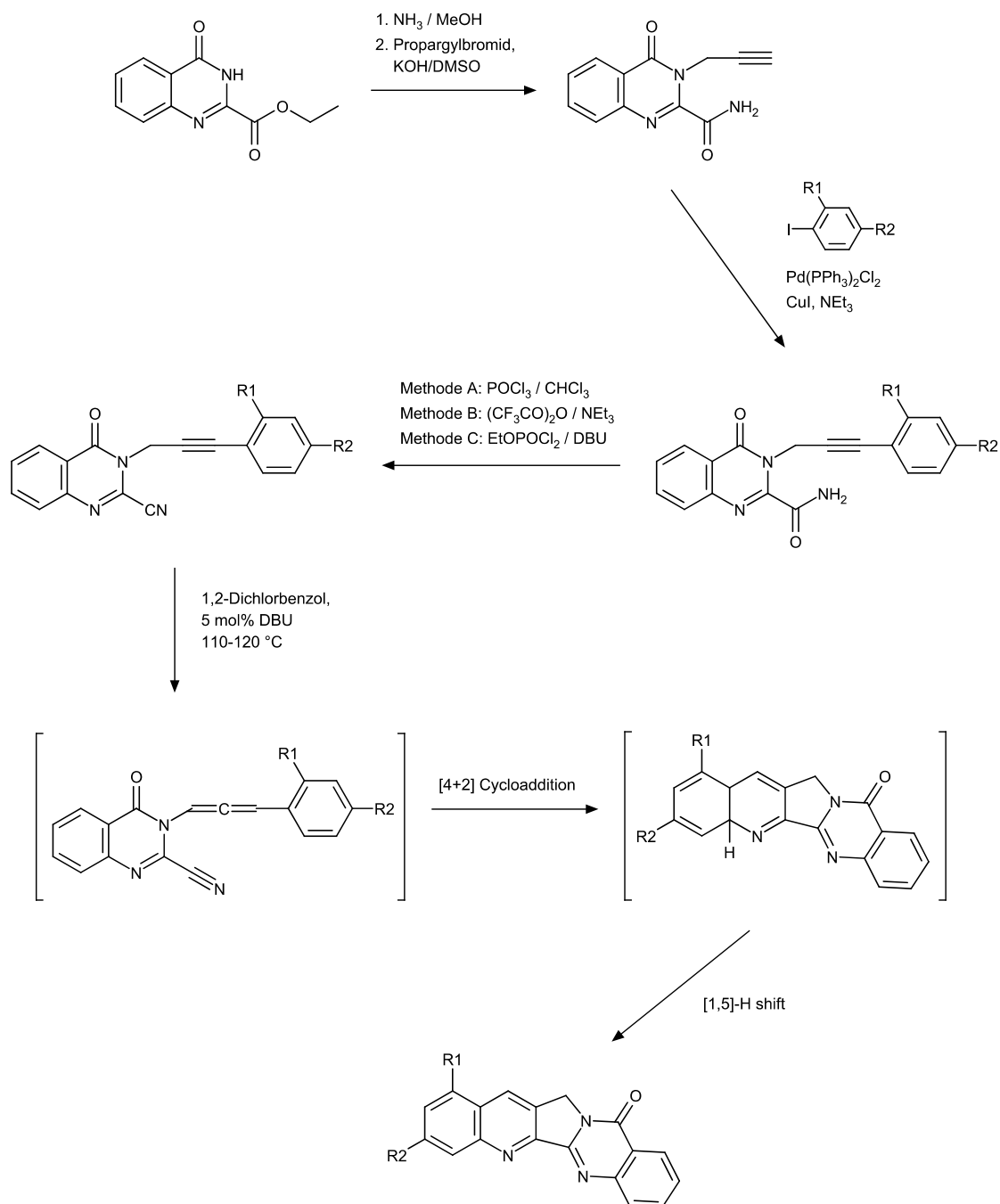
Schema 1: Hypothetischer Biosyntheseweg nach Ma *et al.*¹²

1.4.1 Die „nördliche“ Syntheseroute

Dieser Syntheseweg wurde in unserer Arbeitsgruppe entwickelt, um eine effiziente Herstellung von 1-substituierten und 3-substituierten Luotonin-A-Derivaten zu ermöglichen. Hierbei stellt die sog. Sonogashira-Kupplung einen wichtigen Schritt zur Synthese eines Substrates für eine anschließende Cycloadditionsreaktion dar.

Bereits 1975 ist die nach ihrem Entdecker benannte Sonogashira-Reaktion veröffentlicht worden¹⁷. Im Zuge der Anwendung dieses Reaktionstyps auf unsere „nördliche“ Syntheseroute kommt es ausgehend von einem Aryliodid, welches die entsprechenden Zweit-Substituenten in *ortho*- bzw. *para*-Stellung trägt, und einem an N-3 propargylierten Chinazolinoncarbonsäureamid mittels der typischen Palladium-katalysierten Kupplungsreaktion zur Bildung eines 3-Arylpropargyl-substituierten Chinazolinoncarbonsäureamids. Anschließend folgt eine Dehydratisierung mittels Trifluoracethanhydrid/Triethylamin, womit das primäre Amid in das für die Cycloaddition essentielle Nitril übergeführt wird. Mit dem als Dienophil fungierende Nitril kann nun komplementär zur weiter unten diskutierten Syntheseroute nach Zhou *et al.*¹⁸ eine intramolekulare Diels-Alder-

Reaktion stattfinden, um das pentacyclische Grundgerüst unter simultaner Ausbildung der Ringe B und C zu erzeugen¹⁹ (s. Schema 2).

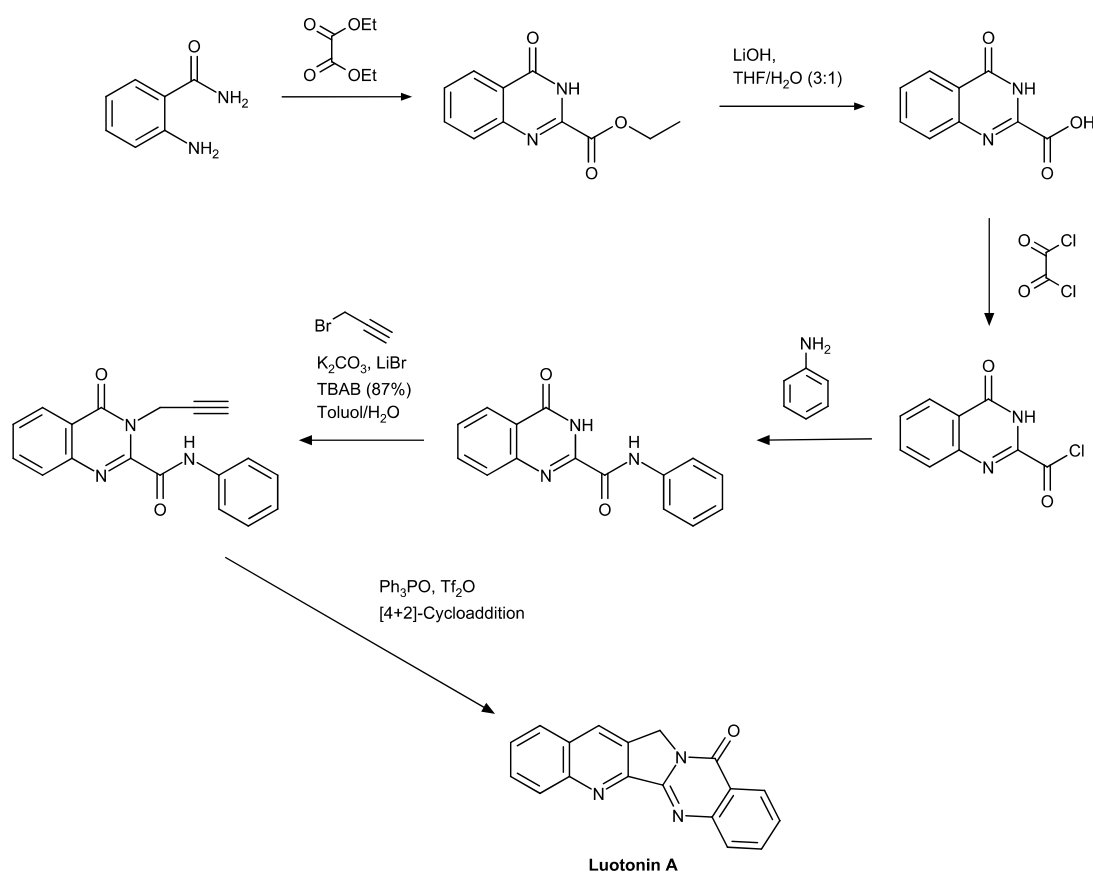


Schema 2: „Nördliche“ Syntheseroute nach Haider *et al.*¹⁹

1.4.2 Die „südliche“ Syntheseroute

Für die Synthese von 2- und 4-substituierten Derivaten von Luotonin A wird eine von unserer Arbeitsgruppe optimierte Syntheseroute nach Zhou *et al.*¹⁸ als Mittel der Wahl herangezogen.

Die Syntheseroute nach Zhou *et al.* beginnt ausgehend von den kommerziell erwerbbaaren Edukten Anthranilsäureamid und Diethyloxalat, die zu einem Chinazolinoncarbonsäureethylester reagieren. Mithilfe einer Esterhydrolyse durch Lithiumhydroxid in wässrigem THF und darauffolgender Umwandlung der freien Carbonsäure in das entsprechende Säurechlorid kann letzteres nun mit Anilin zum Anilid reagieren. Dann erfolgt die Alkylierung des Chinazolinon-Stickstoffs in Pos. 3 mittels Propargylbromid. Unter Einwirkung von Bis(triphenyl)-oxodiphosphonium-Trifluormethansulfonat (sog. Hendrickson-Reagens) entsteht aus dem Anilid unter simultaner Ausbildung der Ringe B und C das pentacyclische Grundgerüst von Luotonin A mittels einer intramolekularen Diels-Alder-Reaktion¹⁸ (s. Schema 3).



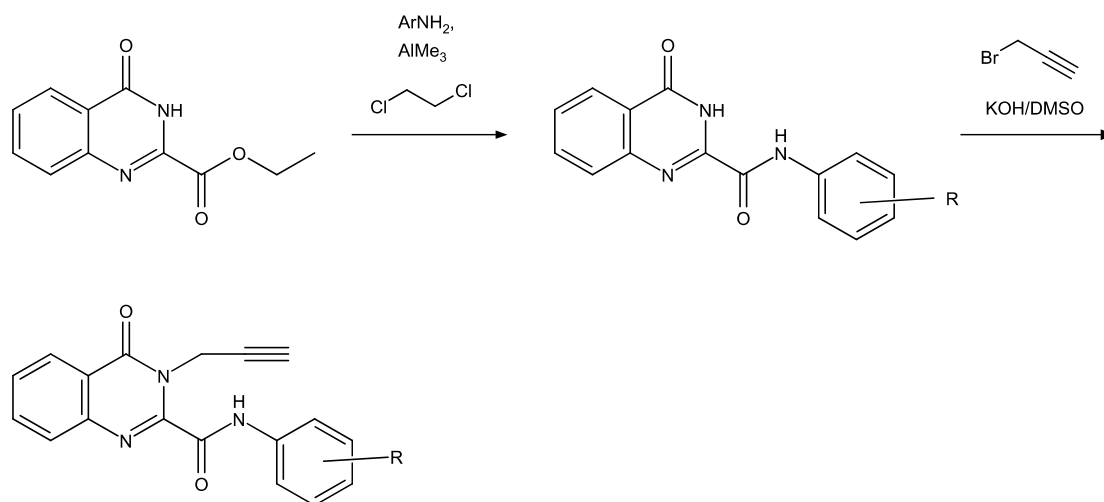
Schema 3: Synthese von Luotonin A nach Zhou *et al.*

Optimierung der Synthese von Zhou et al.

Bei dieser relativ kurzen und eleganten Syntheseroute nach Zhou *et al.*¹⁸ erfolgt sowohl die Umsetzung der Ausgangsverbindungen zum Chinazolinoncarbonsäureethylester als auch die abschließende Cycloadditionsreaktion problemlos mit sehr guten Ausbeuten. Jedoch stieß unsere Arbeitsgruppe bei der beschriebenen Esterhydrolyse des Chinazolinoncarbonsäureesters nach Zhou *et al.*¹⁸ und der anschließenden Überführung der Carbonsäure über das Säurechlorid mit Anilin ins Anilid auf Reproduzierbarkeitsprobleme. Es zeigte sich nämlich, dass die genannte Carbonsäure sehr stark zur Decarboxylierung neigt, außerdem ist das Säurechlorid sehr hydrolyseempfindlich und darüberhinaus schlecht löslich.

Eine entscheidende Optimierung gelang unserer Arbeitsgruppe mit einer eleganten Lösung zur direkten Herstellung der benötigten Anilide aus dem Ester unter Anwendung der Weinreb-Amidierung. Hierbei können mit dieser von Weinreb in den 1970er-Jahren erstmals vorgestellten Reaktion¹⁹ Trimethylaluminium-aktivierte Anilinderivate direkt mit dem Ester zum entsprechenden Anilid in sehr guter Ausbeute umgesetzt werden^{20,21} (s. Schema 4).

Einen weiteren Fortschritt brachte die Modifikation des Alkylierungsschrittes mit Propargylbromid im Vergleich zur ursprünglichen Synthesesequenz nach Zhou *et al.*. Hierbei wird in unserer Arbeitsgruppe auf Tetrabutylammoniumbromid als Phasentransferkatalysator verzichtet, jedoch wird das Lösungsmittel Dimethylformamid in Gegenwart von Kaliumcarbonat im Gegensatz zum Zweiphasensystem Toluol/H₂O nach Zhou *et al.* verwendet²⁰. Im Fall besonders schwerlöslicher Edukte erwies sich hingegen der Einsatz von Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel in Kombination mit Kaliumhydroxid und Tetrabutylammoniumbromid unter Ultraschall-Einwirkung als optimal²². Mit Hilfe dieser beiden Varianten konnten die genannten Löslichkeitsprobleme der eingesetzten Anilide in der Regel umgangen werden^{21,22} (s. Schema 4).



Schema 4: Modifikationen einzelner Synthesen der „südlichen“ Route

1.5 Literaturbekannte Amino-Derivate von Luotonin A

Da sowohl Luotonin A als auch Camptothecin problematische Löslicheitseigenschaften besitzen, liegt der Synthesefokus der Arbeitsgruppe unter anderem auf Derivatisierungen von Luotonins A durch Einführung einer Aminofunktion. Die primäre Aminogruppe bietet den Vorteil, dass mit ihrer aktiven Hydrophilie als H-Brücken-Donor nicht nur eine gewisse Löslichkeitsverbesserung im alkalischen oder neutralen Milieu, sondern auch die Herstellung von (noch besser wasserlöslichen) Salzen möglich ist. Bereits bekannte Luotonin-A-Abkömmlinge mit einer primären Aminofunktion sind sowohl das 7-Amino-Luotonin A (synthetisiert von Nacro *et al.*²³) als auch das 8-Amino-Luotonin A (beschrieben von Cagir *et al.*¹⁵).

In unserer Arbeitsgruppe wurden die vier möglichen, am A-Ring NH₂-substituierten Luotonin-A-Derivate erstmals zugänglich gemacht und deren biologische Aktivität *in vitro* eingehend untersucht²⁴. Dabei stellte sich heraus, dass das 4-Amino-Derivat in dieser Reihe die höchste zytotoxische Aktivität hat. Jedoch konnte entgegen den Erwartungen ein markanter G2/M-Zellzyklusarrest festgestellt werden. Dies bietet nun die Basis für Spekulationen, dass das Target dieser Verbindung eventuell nicht (bzw. nicht nur) die Topoisomerase I ist oder dass ein unbekannter, atypischer Wirkmechanismus nebst der Stabilisierung des binären Komplexes aus Topoisomerase I/DNA vorliegt²⁴. Das liefert nun den Anlass, neue Luotonin-A-Derivate mit einer Aminogruppe an Pos. 4 zu

synthetisieren, um weitere Untersuchungen über die Besonderheit der Aminogruppe an dieser Position anzustellen.

Des Weiteren gelang unserer Arbeitsgruppe mehrmals auch die erfolgreiche, selektive Einführung der Aminogruppe in Position 9^{25–27}. Unter den von unserer Gruppe erstmals zugänglich gemachten Verbindungen ist vor allem 9-Amino-Luotonin A zu nennen²⁵, dessen Synthese aus einer 9-Nitro-Vorstufe zuvor vergeblich von Dallavalle *et al.*²⁸ versucht worden war: Unter den gewählten (offenbar zu aggressiven) Reaktionsbedingungen war es dabei auch zur partiellen Hydrierung des Ringes B gekommen.

1.6 Zielsetzung

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit sollte nun versucht werden, erstmalig ein Luotonin-A-Derivat mit zwei Aminogruppen zugänglich zu machen, bei dem je eine Aminogruppe am Ring A und am Ring E lokalisiert ist.

Anlass für die Synthese eines solchen Derivates bildet die besonders vielversprechende zytotoxische Aktivität von 4-Amino-Luotonin A²⁴. Da auch bereits das dazu isomere 9-Amino-Luotonin A in unserer Arbeitsgruppe erfolgreich synthetisiert worden war²⁵, wurde als Zielverbindung der vorliegenden synthetisch-chemischen Arbeit 4,9-Diamino-Luotonin A gewählt, um die Substanzbibliothek der Arbeitsgruppe um diesen besonders interessanten Vertreter zu vergrößern (s. Abb. 9). Durch die Einführung zweier Aminogruppen erwartet man letztlich auch eine Steigerung der Wasserlöslichkeit, welche einen positiven Effekt auf die Pharmakokinetik des potentiellen Topoisomerase-I-Hemmers zur Folge haben sollte.

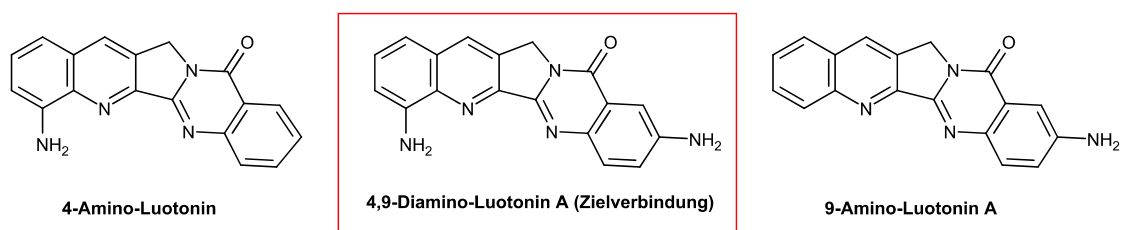
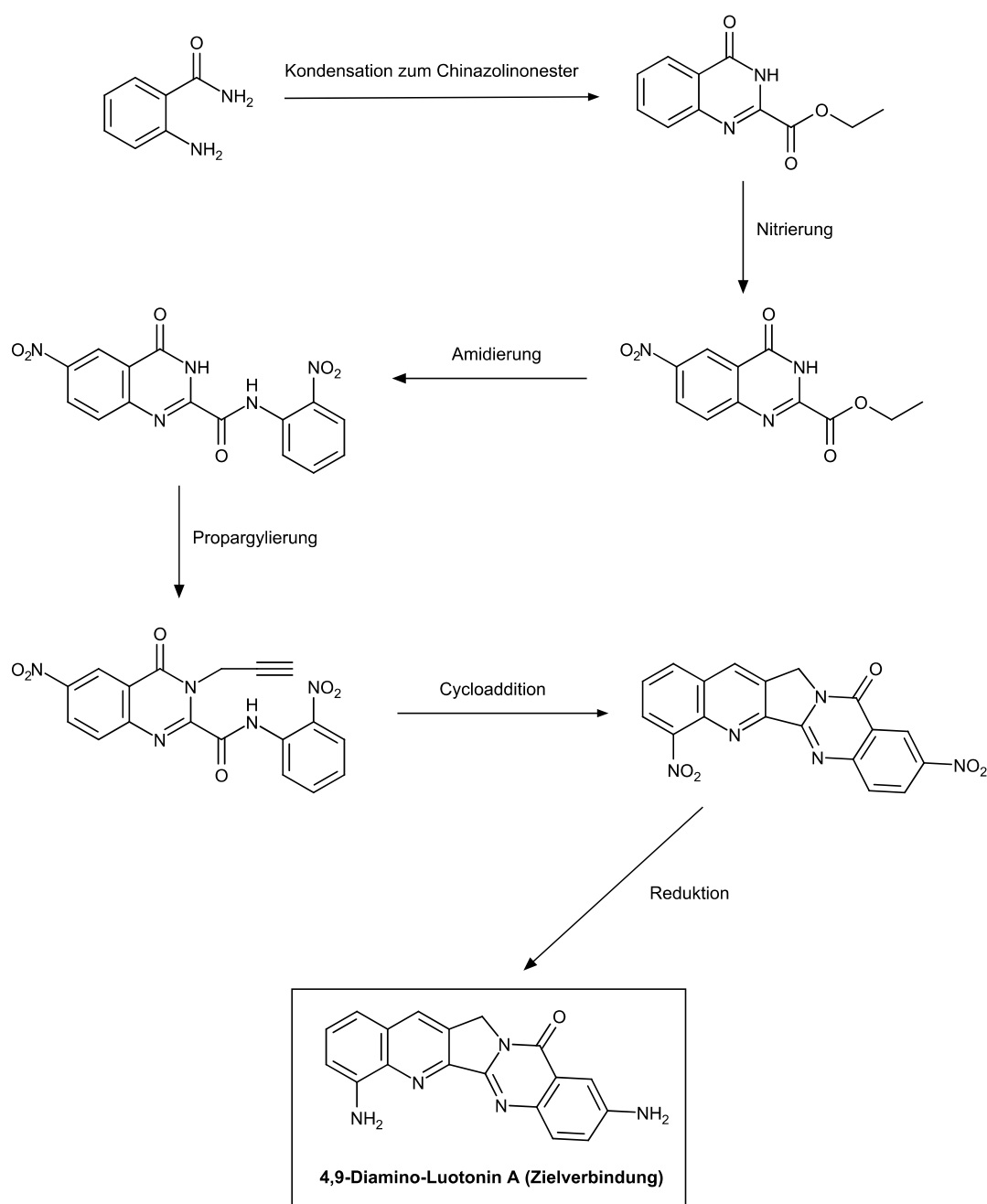


Abbildung 9: links und rechts: bereits in unserer Arbeitsgruppe erfolgreich synthetisierte Amino-Derivate.
Mitte: Zielverbindung

Zur Herstellung des angestrebten Luotonin-A-Derivates mit zwei Aminogruppen erschien die „südliche“ Syntheseroute als gut geeignet, weil einige der bereits erwähnten Amino-Derivate von Luotonins A (s. Abb. 9) auch auf diese Weise synthetisiert worden sind^{24,25}. Da die Zwischenprodukte in der vorgesehenen Sequenz (s. Schema 5) bis zur abschließenden Reduktion zum Endprodukt eine bzw. zwei Nitrogruppen besitzen, waren allerdings experimentelle Herausforderungen aufgrund der typischerweise sehr geringen Löslichkeit derartiger Verbindungen zu erwarten.



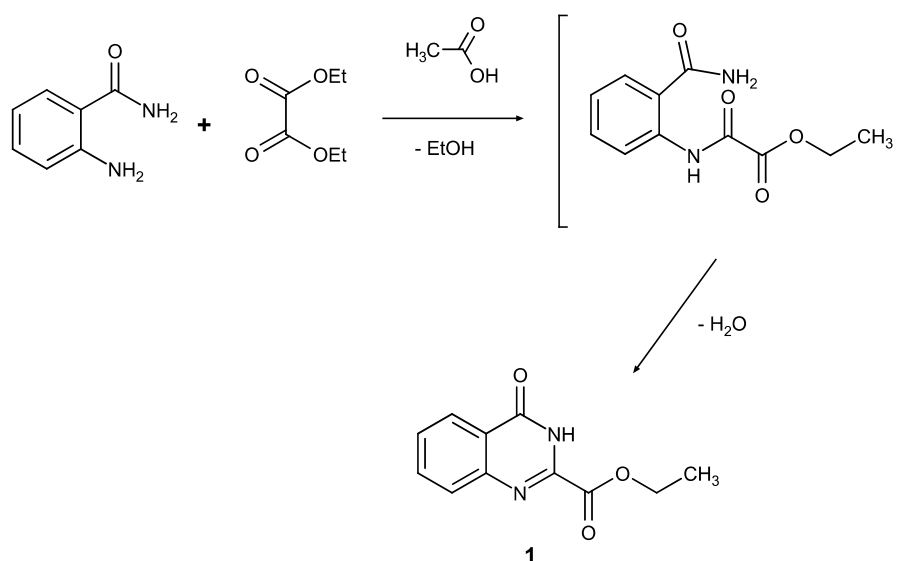
Schema 5: Geplante Syntheseroute zur Zielverbindung

2 Eigene Untersuchungen

2.1 Herstellung von literaturbekannten Ausgangsverbindungen

Synthese des Chinazolinoncarbonsäureesters

Für diese relativ einfache Synthese werden die kommerziell erhältlichen Reagentien Anthranilsäureamid und Diethyloxalat unter Rückfluss erhitzt. Zur Beschleunigung der Reaktion werden katalytische Mengen an Eisessig dazugegeben. Nach 24 h wird erstmals der Reaktionsverlauf mittels Dünnschichtchromatographie kontrolliert. Neben dem Edukt und dem Produkt kann zu diesem Zeitpunkt auch noch das Zwischenprodukt (s. Schema 6) detektiert werden. Grundsätzlich variiert die dabei beobachtete Reaktionsdauer zwischen 24 und 48 h, somit unterscheidet sie sich deutlich von den Literaturangaben nach Baker²⁹ und Zhou *et al.*¹⁸, obwohl in den entsprechenden Prozeduren kein Katalysator verwendet wurde und die Reaktionsdauer mit nur 5 h beschrieben wurde. Unter identischen Bedingungen waren in unserem Labor hingegen bis zu 72 h für eine vollständige Umsetzung erforderlich. Die Reinigung des in hoher Ausbeute aus dem Reaktionsgemisch auskristallisierenden Produktes erfolgt zweckmäßigerweise durch Waschen mit Ethanol, gefolgt von Diethylether.

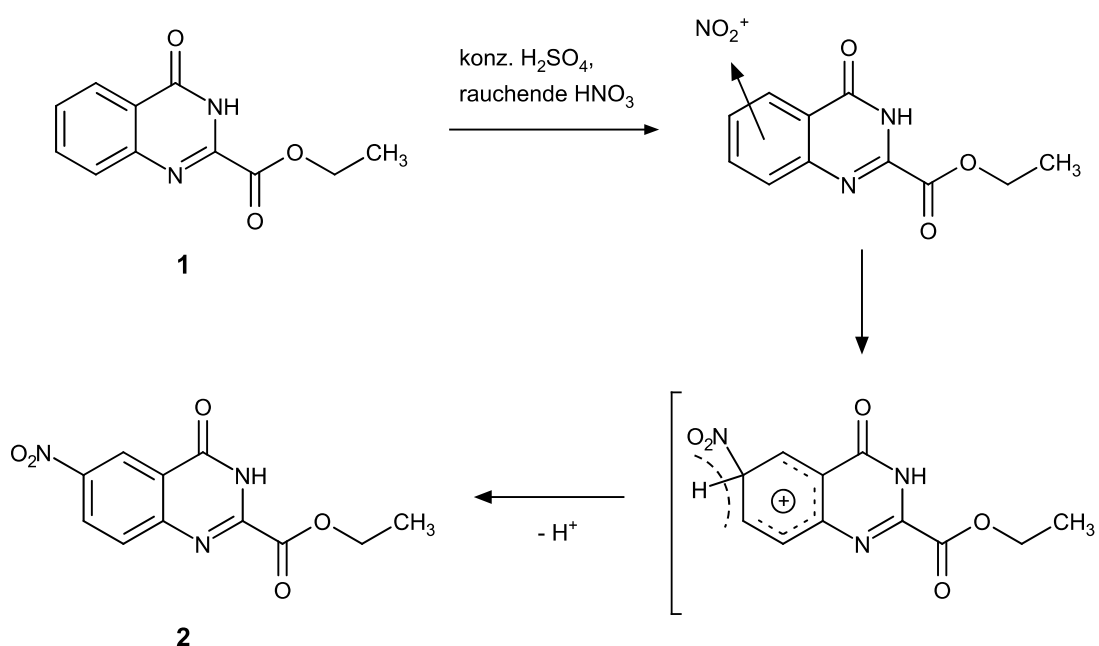


Schema 6: Herstellung des Chinazolinoncarbonsäureesters

Nitrierung des Chinazolinoncarbonsäureesters

Vor der anstehenden Weinreb-Amidierung sollte eine Nitrogruppe in Position 6 des Chinazolin-Systems eingeführt werden. Dabei erzielt folgender patentierter Reaktionsschritt³⁰, der bereits mehrmals erfolgreich in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt wurde, die besten Ergebnisse: Der zuvor beschriebene Ester (**1**, s. oben) wird in einem Gemisch von konzentrierter Schwefelsäure und rauchender Salpetersäure 2 h bei Raumtemperatur gerührt.

Hierbei erfolgt die Einführung der Nitrogruppe über eine klassische elektrophile aromatische Substitution, wobei das Nitroniumion NO_2^+ als elektrophiles Teilchen fungiert. Dieses entsteht durch die Dehydratisierung der protonierten Salpetersäure durch die conc. Schwefelsäure. Der Eintritt der NO_2 -Gruppe erfolgt dabei regioselektiv in der elektronenreichen Position 6 des Substrates.



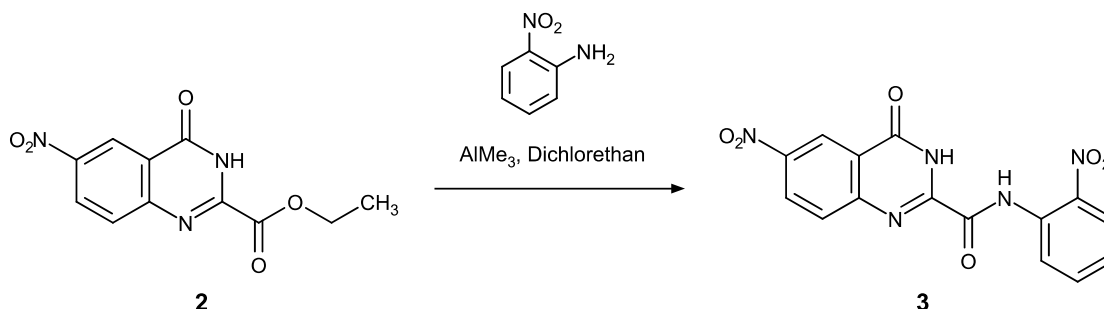
Schema 7: Nitrierung des Chinazolinoncarbonsäureesters

Hier erweist sich die Kontrolle der vollständigen Umsetzung mittels Dünnschichtchromatographie als nicht aussagekräftig, da Edukt (**1**) und Produkt (**2**) in verschiedenen Fließmitteln denselben R_f -Wert aufweisen und daher nicht voneinander unterschieden werden können. Aus diesem Grund wird das Produkt mittels Schmelzpunktbestimmung und NMR-Spektroskopie überprüft.

2.2 Amidierung des 6-Nitrochinazolinoncarbonsäureesters

Die Synthese des benötigten Nitroanilid-Zwischenprodukts (**3**) wird auf effiziente Weise unter den Reaktionsbedingungen analog zu Lit.^{20,21} mittels der bereits in der Einleitung erwähnten Weinreb-Amidierung durchgeführt.

Als Amin-Komponente dieser Reaktion wird dabei 2-Nitroanilin gewählt. Die Anilin-Aminogruppe wird hierbei durch Zugabe von Trimethylaluminium „aktiviert“, d.h. die sonst relativ schwache Nukleophilie desamins ist nun stark erhöht und letzteres kann somit nukleophil am Carboxyl-C des Esters (**2**) angreifen (s. Schema 8). Als Lösungsmittel hat sich 1,2-Dichlorethan bewährt, da es mit seinem Siedepunkt von ca. 83°C im Bedarfsfall auch eine ausreichend hohe Reaktionstemperatur ermöglicht.



Schema 8: Überführung des Esters in das Anilid mittels Weinreb-Amidierung

Nach Zugabe des Esters (**2**) zum zuvor hergestellten Amin/ AlMe_3 -Komplex ist beim Erwärmen eine deutliche Gasentwicklung bemerkbar. Für die vollständige Umsetzung der Reaktionspartner wird 2 h zum Rückfluss erhitzt, wobei im Laufe der Reaktionsdauer eine Farbvertiefung festzustellen ist. Das Reaktionsende kann man zwar prinzipiell mittels DC-Kontrolle feststellen, jedoch erwies sich dies als experimentell besonders schwierig, da das entstandene Produkt (**3**) wohl aufgrund der zwei Nitrogruppen nun sehr schwer löslich ist und es stets zu starkem Tailing auf der DC-Platte kommt.

Das bei der Hydrolyse des Reaktionsansatzes aus dem Trimethylaluminium entstandene Aluminiumhydroxid wird durch Säurezugabe in eine wasserlösliche Form überführt. Aufgrund dieser exothermen Reaktion erfolgt die Hydrolyse unter Eiskühlung. Nun kann der Niederschlag des Anilids (**3**) problemlos abgenutscht und gewaschen werden.

Die Struktursicherung erfolgte mittels NMR-Spektroskopie und (hochauflösende) Massenspektrometrie.

Erwartungsgemäß zeigt das Massenspektrum (s. Tafel 8) den Molekülionenpeak (M^+) bei $m/z = 355$. Der nächste signifikante Peak befindet sich bei $m/z = 263$. Die Differenz von 46 zum Molekülionenpeak deutet auf eine Abspaltung einer NO_2 -Gruppe hin. Außerdem suggerieren die Peaks bei $m/z = 164$ und 191, dass auch eine Abspaltung der Seitenkette an Pos. 2 stattfindet, bei der es zur Bildung von 2-Nitrophenylisocyanats ($\text{MG} = 164$) und 6-Nitrochinazolin-4(3H)-on ($\text{MG} = 191$) kommt.

Die NH-Signale des Chinazolinons und des Amids im ^1H -NMR-Spektrum (s. Tafel 1) sind, wie angenommen, bei relativ tiefem Feld lokalisiert (13.31 ppm und 12.16 ppm). Eine eindeutige Unterscheidung dieser beiden NH-Signale gelingt mit Hilfe des NOESY-Crosspeaks zwischen dem Amid-NH (12.16 ppm) und dem H-6 am Phenylrest (8.50 ppm). Des Weiteren sind erwartungsgemäß nicht nur im ^1H -Spektrum die Multipllett-Signale der Protonen des Phenylrestes zwischen 7.44 und 8.50 ppm, sondern auch für derartige Verbindungen typische Signale im Aromaten-Bereich des ^{13}C -NMR-Spektrums (s. Tafeln 2,3) bei 122.9-138.9 ppm zu beobachten. Die Signale konnten mittels HSQC, HMBC, COSY und NOESY (s. Tafeln 4-7) erfolgreich und eindeutig zugeordnet werden, daher gilt die Struktur als gesichert.

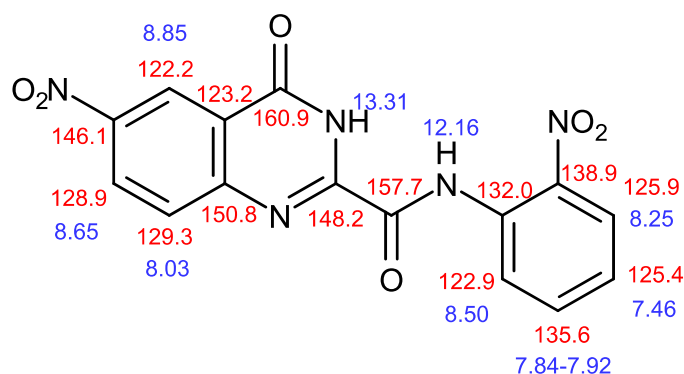


Abbildung 10: 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3): ^1H -NMR-Signale (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) in ppm

2.3 Alkylierung am Chinazolinon-Stickstoff

Die Einführung des Propargylrests am Chinazolinon-Stickstoff in Position N-3 stellt den essentiellen Schritt dar, um die Zyklisierung zum pentacyclischen System unter Ausbildung der Ringe B und C erst zu ermöglichen. Aus Gründen der sehr geringen Löslichkeit des Eduktes (**3**) wurde das ursprünglich von Zhou *et al.*¹⁸ beschriebenen Verfahren gar nicht erst in Betracht gezogen, sondern die in unserer Arbeitsgruppe zuletzt erprobte Variante versucht. Dazu wird das Anilid (**3**) in DMSO nach Zugabe von KOH und dem Phasentransferkatalysator Tetrabutylammoniumbromid auf 50 °C erhitzt³¹. Danach wird Propargylbromid, gelöst in DMSO, mit einem geringen Überschuss gegenüber dem Edukt über einen Zeitraum von 2 h zugetropft. Dabei erwies sich diese Methode jedoch in mehreren Versuchen als erfolglos, da mittels Dünnschichtchromatographie keinerlei Produktbildung zu erkennen war.

Nach mehreren Versuchen, bei denen sowohl die Temperatur des Ansatzes als auch die Portionierung und Zutropfgeschwindigkeit des Reagens variiert wurden, konnte man feststellen, dass die rasche Zugabe von Propargylbromid in einer einzigen Portion bei einer Reaktionstemperatur von 70 °C die besten Ergebnisse liefert. Dies überrascht insofern, als normalerweise die Zugabe des Alkylierungsreagens langsam erfolgen sollte, weil es sonst zu einer Dialkylierung am Amid- und am Lactam-Stickstoff durch einen lokalen Reagens-Überschuss kommen kann^{22,32}.

Jedoch wurde im Falle des in DMSO sehr schlecht löslichen Nitroanilides (**3**) interessanterweise beobachtet, dass nach Zugabe von KOH zur Suspension und Erwärmen auf 70 °C eine großteils klare Lösung resultiert. Deswegen kommt es durch die rasche Zugabe des Propargylbromids in einer Portion hier nicht zu einem lokalen Überschuss des alkylierenden Agens. Folglich ist die Bildung des zunächst erwarteten (doppelt alkylierte) Nebenproduktes zurückgedrängt.

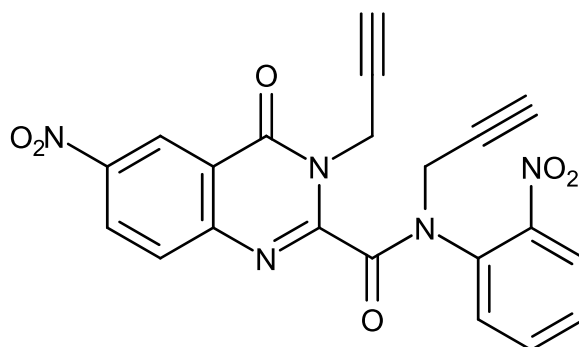
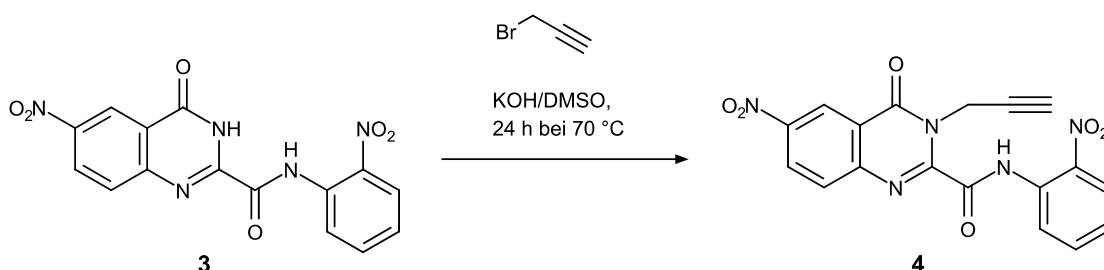


Abbildung 11: Vermutetes dialkyliertes Nebenprodukt aus dem Propargylierungsschritt

Warum die Reaktion bei einer sehr langsamen Zugabe von Propargylbromid fehlschlägt, könnte sich dadurch erklären lassen, dass es dabei zu einem konkurrierenden Abbau des Reagens kommt. Naturgemäß laufen sowohl erwünschte als auch unerwünschte Prozesse bei erhöhter Temperatur um ein Vielfaches rascher ab als bei RT, daher könnte es auch zur verstärkten Hydrolyse des Alkylhalogenids durch das im DMSO stets vorhandene Wasser kommen. Deswegen liegt die Vermutung nahe, dass im gegenständlichen Fall die langsame Zugabe des Alkylierungsreagens sogar von Nachteil ist.

Aufgrund der ebenfalls geringen Löslichkeit des nach einer Reaktionszeit von 24 h erhaltenen Produkts (**4**) fällt dieses nach Verdünnen des Reaktionsgemisches mit Wasser als dunkelbrauner Niederschlag aus und kann durch einfaches Abnutschen isoliert werden. Im Dünnschichtchromatogramm dieses Rohproduktes sind noch geringe Anteile an Edukt (**3**) und Spuren eines Nebenproduktes (s. oben) erkennbar.



Schema 9: Alkylierung am Chinazolinon-Stickstoff

Versuche zur Trennung von Edukt und Produkt

Da sowohl Edukt (**3**) als auch Produkt (**4**) schwerlöslich sind, erwies sich die Trennung der beiden Verbindungen als kompliziert. Umkristallisationsversuche mit Ethanol, Ethylacetat und Toluol schlugen fehl, da beim Abkühlen der heißen Lösungen jeweils beide Komponenten ausfallen.

Letztlich gelang die Trennung durch präparative Säulenchromatographie, da das chromatographische Laufverhalten von **3** und **4** deutlich verschieden ist. Erwartungsgemäß ist das Produkt mit seinem Alkylrest an N-3 lipophiler als das NH-unsubstituierte Edukt und eluiert aus der Säule als Erstes. Die besten Ergebnisse erzielt man durch eine Gradientenelution von Dichlormethan hin zu einem Gemisch von Dichlormethan und Ethylacetat.

Nach der erfolgreichen Trennung erhält man durch Eindampfen der entsprechenden Fraktionen die gewünschte Verbindung (**4**) in einer Ausbeute von 83%. Umkristallisation aus Ethanol liefert gelbe Kristalle.

Das Massenspektrum von **4** (s. Tafel 18) zeigt erwartungsgemäß den Molekülionenpeak (M^+) bei $m/z = 393$. Wie im Fall von Verbindung **3** deutet ein Peak bei $[M-46]^+$ (hier: $m/z = 347$) auf den Verlust einer Nitrogruppe im Zuge der Fragmentierung des Moleküls hin. Auch hier suggeriert ein Peak bei $m/z = 164$, dass eine Abspaltung des Arylcarbamoyle-Restes an Pos. 2 unter Bildung von 2-Nitrophenylisocyanat ($MG = 164$) stattgefunden hat.

Die erfolgreiche Alkylierung am Lactam-Stickstoff erkennt man im 1H -NMR-Spektrum (s. Tafel 9) anhand des dublettischen Signals der Protonen der Methylengruppe bei 5.10 ppm und anhand des Triplets des Acetylen-H bei 3.37 ppm. Erwartungsgemäß findet man hier im Gegensatz zum Edukt (**3**) nur mehr ein einziges NH-Signal im 1H -NMR-Spektrum. Außerdem erscheinen nun entsprechende Signale des Propargylrestes im ^{13}C -NMR-Spektrum (s. Tafel 10) bei 78.2 ppm (Propargyl 2-C), 75.3 ppm^a (Propargyl 3-C) und bei 34.3 ppm

^a Im ^{13}C -APT-NMR-Spektrum ist die Phasenlage des Propargyl 3-C (terminales Acetylen-C) aufgrund der atypisch großen $^1J_{C-H}$ -Kopplungskonstante anders als zu erwarten und das Signal zeigt aufgrund des eingestellten Standard-Delays der verwendeten Pulsfolge im Spektrum dementsprechend nach oben statt nach unten. Auf die Anpassung der Standardpulsfolge wurde verzichtet, da die Zuordnung der Signale ohnehin eindeutig ist.

(Propargyl 1-C). Die Signale konnten mittels HSQC, HMBC, COSY- und NOESY-Experimenten (s. Tafeln 11-17) erfolgreich und eindeutig zugeordnet werden, daher gilt die Struktur als gesichert.

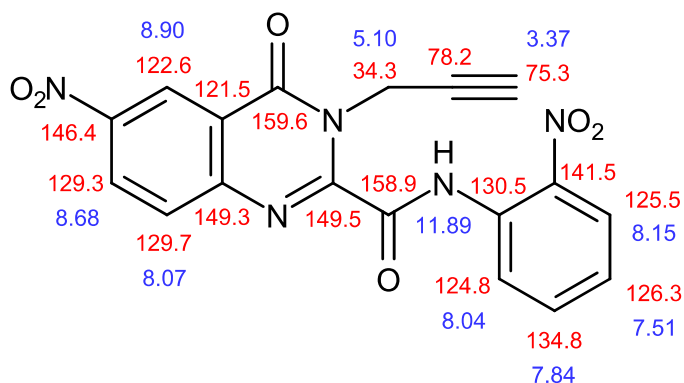
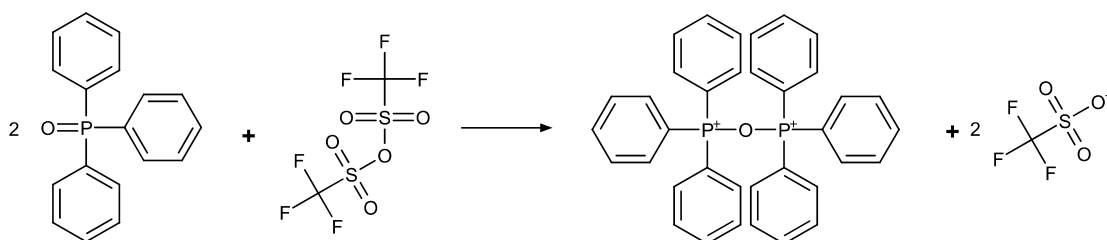


Abbildung 12: 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4): ¹H-NMR-Signale (blau) und ¹³C-NMR-Signale (rot) in ppm

2.4 Cycloadditionsreaktion zum pentacyclischen System

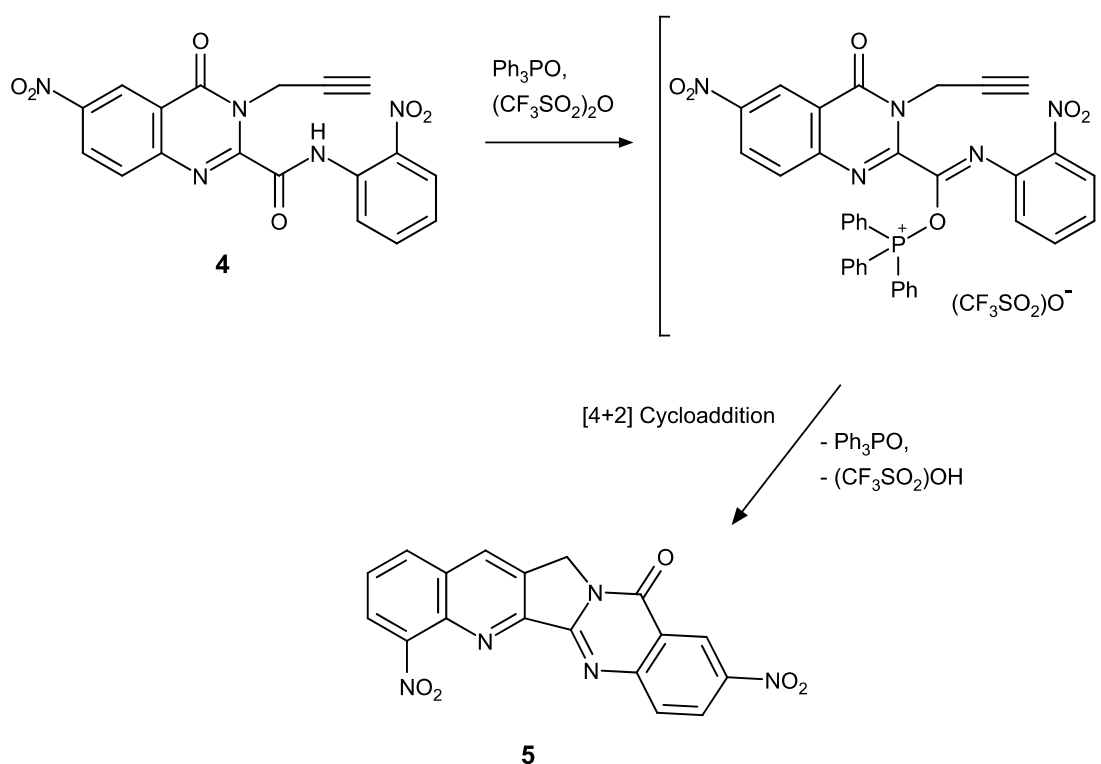
Die intramolekulare Diels-Alder-Reaktion stellt in der gewählten Syntheseroute den essentiellen Schritt zum Aufbau des pentacyclischen Grundgerüsts von Luotonin A dar. Dabei sollte es zur gleichzeitigen Ausbildung der Ringe B und C kommen.

Dazu wird das erforderliche (hydrolyseempfindliche) Hendrickson-Reagens [Bis(triphenyl)oxodiphosphonium-Triflat bzw. „POP-Reagens“]^{33–36} aus Tri-fluormethansulfonsäureanhydrid und Triphenylphosphinoxid in trockenem Dichlormethan unter Inertgasatmosphäre *in situ* hergestellt (s. Schema 7). Wegen des exothermen Charakters der Reaktion wird unter Eiskühlung gearbeitet.



Schema 10: *in situ*-Herstellung des Hendrickson-Reagens

Aufgrund der hohen Oxophilie des Phosphors im Hendrickson-Reagens bindet dieser am Sauerstoff des sekundären Amids und verursacht somit formal eine Tautomerisierung zur Imidsäure-Form (s. Schema 11). Das dadurch erzeugte Aza-Dien kann nun intramolekular mit dem zuvor eingeführten Propargylrest reagieren. Dabei dient das Alkin als Dienophil und es kommt als Resultat der intramolekularen Diels-Alder-Reaktion zur simultanen Ausbildung der Ringe B und C (s. Schema 11) unter Abspaltung von Triphenylphosphinoxid. Aufgrund seiner sehr geringen Löslichkeit geht nur ein Teil des Edukts (**4**) in Dichlormethan in Lösung und kann somit mit dem Hendrickson-Reagens reagieren. Folglich muss für eine vollständige Umsetzung eine entsprechend lange Reaktionszeit veranschlagt werden. Nach 48-stündigem Rühren bei Raumtemperatur wurde das Reaktionsende mittels Dünnschichtchromatographie festgestellt.



Schema 11: [4+2] Cycloadditionsreaktion unter simultaner Ausbildung der Ringe B und C

Die Isolierung und Reinigung des so erhaltenen Produktes (**5**) ist aufgrund seiner äußerst geringen Löslichkeit recht simpel. Dazu wird der gelblich-braune Niederschlag lediglich abgenutscht und mit viel Dichlormethan gewaschen, um überschüssiges Triphenylphosphinoxid zu entfernen. Nachdem bei der *in-situ*-

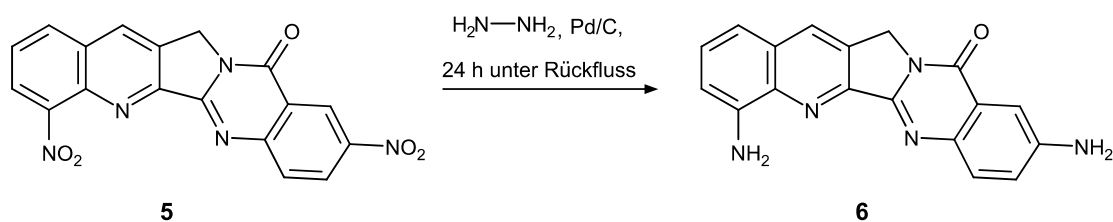
Generierung und anschließenden Umsetzung des Hendrickson-Reagens auch Trifluormethansulfonsäure freigesetzt wird (s. Schema 10) und letztere den Pyridin-Stickstoff in Verbindung **5** protonieren kann, wird das Rohprodukt zwecks Neutralisation auch mit einer wässrigen Bicarbonatlösung behandelt. Das so in einer Ausbeute von 75% erhaltene Produkt (**5**) zeigt unter UV-Licht der Wellenlänge 366 nm eine intensive blaugrüne Fluoreszenz.

Erwartungsgemäß zeigt das Massenspektrum von **5** (s. Tafel 19) den Molekülionenpeak (M^+) bei $m/z = 355$. Aufgrund der erwähnten Löslicheitseigenschaften dieser Dinitro-Verbindung konnte trotz mehrerer Versuche weder ein ^1H -NMR-Spektrum noch ein ^{13}C -NMR-Spektrum aufgenommen werden. Die korrekte Summenformel zur postulierten Struktur wird durch das hochaufgelöste Massenspektrum bestätigt. Als ein weiterer, zumindest indirekter Strukturbeweis für **5** ist die vollständige Charakterisierung und Struktursicherung des Folgeproduktes (**6**) zu werten (s. Abschnitt 2.5).

2.5 Simultane Reduktion der Nitrogruppen in Position 4 und 9

In der vorgesehenen Synthesekette stellt die Reduktion der Nitrogruppen zur entsprechenden Aminofunktion den finalen Schritt zur Zielverbindung dar. Eine in der Literatur beschriebene Reduktionsmethode^{37,38} wurde basierend auf den Erfahrungen unserer Arbeitsgruppe gewählt, da sie bei analogen Verbindungen die besten Ergebnisse erzielte^{24,25}. Hierbei handelt es sich um eine Pd/C-katalysierte Transferhydrierung in ethanolischer Lösung bzw. Suspension unter Inertgasatmosphäre, wobei Hydrazinhydrat als *in-situ*-Lieferant für den benötigten Wasserstoff fungiert.

Im Fall der Dinitro-Verbindung **5** wird die ethanolische Suspension unter Rückfluss erhitzt, um die sehr geringe Löslichkeit des Eduktes im Reaktionsmedium zu erhöhen. Dabei beobachtet man eine langsame Farbänderung der Suspension von gelblich-braun über hellgrün zu dunkelgrün. Die Vollständigkeit der Reaktion wird nach 24 h mittels Dünnschichtchromatographie bestätigt.



Schema 12: Schonende Reduktion der Nitrogruppen zu den entsprechenden Aminofunktionen

Trotz der im Vergleich zur Dinitro-Verbindung (**5**) merklich besseren Löslichkeit der so erhaltenen Diamino-Verbindung (**6**) liegt letztere im Reaktionsgemisch größtenteils ungelöst vor, was die Abtrennung des in Ethanol ebenfalls unlöslichen Hydrierkatalysators erschwert. Als zweckmäßige Aufarbeitung erwies sich hier ein anschließender Lösungsmittelwechsel von Ethanol zu DMF. In letzterem ist das Produkt (**6**) nun ausreichend löslich und der Katalysator kann somit durch Filtration abgetrennt werden. Nach dem Eindampfen der DMF-Lösung, Waschen des Rückstandes mit Wasser und Umkristallisation aus Ethanol erhält man die Zielverbindung (**6**) in einer Ausbeute von 93% in Form orangefarbener Kristalle. Eine Lösung der Verbindung zeigt unter UV-Licht der Wellenlänge 366 nm eine intensive orange-gelbe Fluoreszenz.

Die Zielverbindung (**6**) ist durch das Vorhandensein zweier aktiv hydrophiler Aminogruppen deutlich besser in Wasser und in aprotisch-dipolaren Lösungsmitteln löslich als die Dinitro-Verbindung (**5**). Daher war hier die Aufnahme der NMR-Spektren in DMSO-*d*₆-Lösung problemlos möglich. Allerdings konnte aufgrund der nicht ausreichenden Flüchtigkeit und Thermostabilität der Verbindung kein EI-MS gemessen werden. Die ESI-Massenspektrometrie hingegen bestätigt die Summenformel C₁₈H₁₃N₅O dieser Verbindung ([M+H]⁺ bei *m/z* = 316.1190).

Naturgemäß sollten deutliche Unterschiede zwischen der NMR-spektroskopischen Eigenschaften der Nitroverbindung und der Aminoverbindung existieren, was etwa bei früheren ¹H-NMR-Untersuchungen an 4-Amino-Luotonin A und 9-Amino-Luotonin A im Vergleich zu den jeweiligen Nitroverbindungen beobachtet worden war^{32,39}. Grund dafür ist eine deutliche magnetische Abschirmung der Aromaten-Protonen durch die elektronenreichen Aminogruppen. Vor allem ist dieser Effekt des Hochfeld-Shifts an den Protonen

in *ortho*- und *para*-Stellung zur Aminogruppe festzustellen. Da, wie bereits erwähnt, im Falle der Dinitroverbindung (**5**) die NMR-Spektrenaufnahme aufgrund von Löslichkeitsproblemen scheiterte, kann in diesem Fall kein direkter Vergleich zum Diamin (**6**) gezogen werden.

Erwartungsgemäß geben im ^1H -NMR-Spektrum (s. Tafel 20) die beiden primären Aminogruppen an Pos. 4 und Pos. 9 der Zielverbindung (**6**) jeweils ein breites Signal der relativen Intensität 2, nämlich bei 6.11 ppm (4-NH₂) und bei 5.83 ppm (9-NH₂). Die eindeutige Unterscheidung basiert auf den Crosspeaks im NOESY-Spektrum (s. Tafel 27). Das vollständige Kopplungsmuster der Protonensignale und damit deren Zuordnung ergibt sich zweifelsfrei aus dem COSY-Spektrum (Tafel 26). Weiters steht die Struktur im vollen Einklang mit dem ^{13}C -NMR-Spektrum (APT; s. Tafel 21), dessen Signale mittels HSQC- und HMBC-Experimenten (s. Tafeln 22-25) weitestgehend zugeordnet werden konnten (s. Abb. 13), womit letztlich die erfolgreiche Synthese der Zielverbindung (**6**) verifiziert ist.

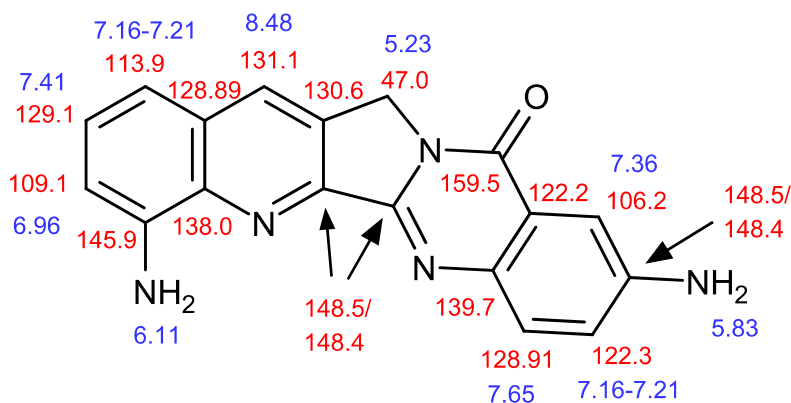


Abbildung 13: 4,9-Diaminokino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**6**):
 ^1H -NMR-Signale (blau) und ^{13}C -NMR-Signale (rot) in ppm

2.6 Fazit und Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit konnte somit erfolgreich ein neuartiges Derivat von Luotonin A zugänglich gemacht werden, bei dem erstmalig eine primäre Aminogruppe sowohl am Ring A als auch am Ring E lokalisiert ist. Die Zielverbindung weist gegenüber der Leitstruktur Luotonin A sowie gegenüber dem noch ausgeprägter zytotoxisch wirkenden 4-Amino-Luotonin A²⁴ aufgrund der beiden aktiv hydrophilen Aminofunktionen eine bessere Löslichkeit auf.

Zurzeit wird dieser neue potentielle Topoisomerase-I-Hemmer im Rahmen einer Dissertation in Zusammenarbeit mit dem Institut für Krebsforschung der Medizinischen Universität Wien auf zytotoxische Wirkung untersucht⁴⁰. Zum Zeitpunkt der Abfassung der vorliegenden Diplomarbeit ist bereits bekannt, dass die gegenständliche Zielverbindung 4,9-Diamino-Luotonin A (**6**) sowohl an Zellen des kolorektalen Karzinoms als auch an Leukämiezellen eine vielversprechende antiproliferative Aktivität besitzt. Weitere *in-vitro*-Untersuchungen zum biologischen Profil (z.B. hinsichtlich G2/M-Zellzyklusarrest wie im Fall von 4-Amino-Luotonin A²⁴) sind vorgesehen und sollen in der Folge publiziert werden. In Anbetracht der vielversprechenden Aktivität könnte 4,9-Diamino-Luotonin A den Ausgangspunkt für weitere Synthesen von 4-Amino-Luotonin-A-Derivate mit Modifikationen am Ring E bilden.

3 Experimenteller Teil

3.1 Verwendete Geräte und Materialien

Chromatographie

DC

Für Identitätsprüfungen und Kontrollen der Reaktionsvollständigkeit wurden DC-Fertigfolien mit einer 0.20 mm Schicht KG 60 mit Fluoreszenz-Indikator UV₂₅₄ der Fa. Macherey-Nagel (ALUGRAM® Xtra SIL G/UV254 KG 60) verwendet. Die Detektion erfolgte mittels einer Camag-UV-Lampe unter UV₂₅₄ via Fluoreszenzminderung sowie unter UV₃₆₆ via Eigenfluoreszenz.

SC

Säulenchromatographie wurde zur präparativen Auftrennung von Reaktionsgemischen eingesetzt. Dafür wurde als Sorbens Kieselgel 60 (0.063–0.200 mm) der Fa. Merck verwendet. Die Substanzdetektion in den erhaltenen Eluatfraktionen erfolgte diskontinuierlich durch Tüpfeln auf KG 60-Folien mit Fluoreszenz-Indikator UV₂₅₄.

Spektroskopie

MS

El-Massenspektren (70 eV) wurden am Department für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien auf einem Shimadzu QP5050A DI50 Massenspektrometer von Herrn OR Mag. Dr. Leopold Jirovetz aufgenommen.

HRMS

Hochauflösende ESI-Massenspektrometrie wurden am Department für Pharmazeutische Chemie der Universität Wien auf einem Bruker maXis HD von Herrn MSc. Daniel Dobusch durchgeführt.

NMR

Alle ^1H -NMR-Spektren (400 MHz), ^{13}C -NMR-Spektren (100 MHz) sowie sämtliche 2D-NMR-Spektren (HSQC, HMBC, COSY, NOESY) wurden auf einem Bruker Avance III 400 Spektrometer aufgenommen. Die Referenzierung der chemischen Verschiebungen (δ -Werte in ppm) erfolgte mittels des Signals undeuterierter Lösungsmittelanteile.

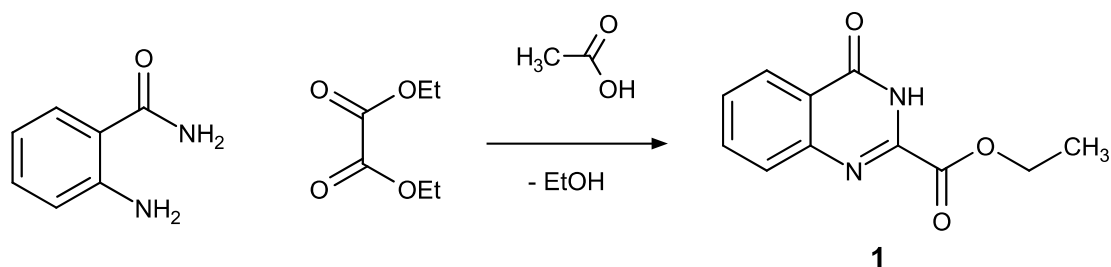
Schmelzpunkte

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

Reagenzien und Lösungsmittel

Die Reagenzien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Sigma-Aldrich, Alfa Aesar und VWR Chemicals in „purissimum“-Qualität bezogen.

3.2 Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (1)



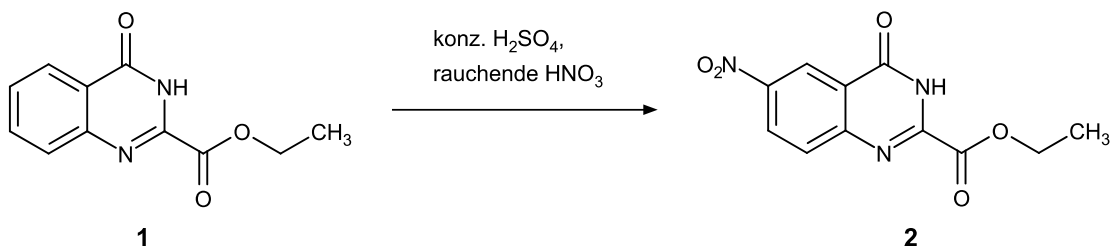
In einem 250 ml Birnenkolben werden 13.62 g (100 mmol) Anthranilamid mit 100 ml (736 mmol) Diethyloxalat nach Zugabe von 1 ml Eisessig 24–48 h zum Rückfluss erhitzt^b. Die Vollständigkeit der Reaktion wird mittels Dünnschichtchromatographie kontrolliert (Fließmittel: CH₂Cl₂/MeOH, 9+1). Dabei wird nach 24 h eine erste DC-Kontrolle durchgeführt. Sollte noch eine Edukt- oder Zwischenproduktbande vorhanden sein, wird die Reaktion weitergeführt und die Reaktionsvollständigkeit wiederholt mittels DC überprüft.

Nach vollständiger Umsetzung wird das Reaktionsgemisch zuerst auf Raumtemperatur gebracht und danach 30 min im Kühlschrank abgekühlt. Das Produkt wird anschließend abgenutscht, mit Ethanol gewaschen und in 100 ml Diethylether suspendiert. Danach wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt, wiederum abgenutscht, mit Ethanol gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet.

(1) <u>Ausbeute</u> :	16.86 g (77%; Lit.²⁹: 57%)
(2) <u>Summenformel</u> :	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O ₃
(3) <u>Molekulargewicht</u> :	218.21 g/mol
(4) <u>Schmelzpunkt</u> :	192–193 °C (Lit. ²⁹ : 179–180 °C)

^b Anm.: Bei Verwendung einer Heizhaube sollte diese den Kolben nicht dicht umschließen, da es aufgrund lokaler Überhitzung zu vermehrter Verharzung kommen kann (braunes anstatt farbloses Reaktionsgemisch).

3.3 Ethyl-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (2)

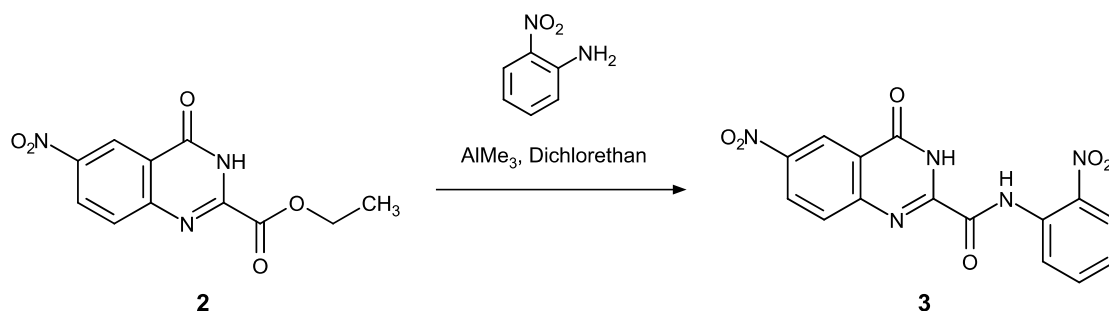


In einem 250 ml Dreihalskolben mit Rückflüsskühler werden 14.20 g (65.1 mmol) Ethyl-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**1**) in 100 ml konz. H_2SO_4 unter Rühren bei Raumtemperatur gelöst. Die Lösung wird im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Auf dem Rückflüsskühler wird ein T-Rohr angebracht, das zum Absaugen der im Folgenden entstehenden nitrosen Gase dient. Nun werden zur gerührten Lösung über einen Tropftrichter langsam in einem Zeitraum von ca. 10 min 50 ml rauchende HNO_3 zugesetzt und danach das Eisbad entfernt.

Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wird das Reaktionsgemisch in einen Tropftrichter gefüllt und langsam unter Rühren in ein Becherglas mit ca. 800 ml Eiswasser getropft. Die resultierende Suspension wird nun weitere 10 min gerührt. Anschließend wird das Produkt abgenutscht und so lange mit H_2O gewaschen, bis das ablaufende Waschwasser einen nahezu neutralen pH-Wert hat. Das so gewonnene säurefreie Produkt wird unter Vakuum im Exsikkator getrocknet. Die Reinheit wird über die Bestimmung des Schmelzpunktes kontrolliert, gegebenenfalls kann das Material durch Waschen in siedendem EtOH weiter gereinigt werden.

(1) <u>Ausbeute</u> :	16.76 g (97%; Lit.³⁰: 94%)
(2) <u>Summenformel</u> :	$\text{C}_{11}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_5$
(3) <u>Molekulargewicht</u> :	263.21 g/mol
(4) <u>Schmelzpunkt</u> :	228–230 °C

3.4 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)



In einem ausgeheiztem Dreihalskolben mit Gummiseptum und Rückflusskühler werden unter Argonatmosphäre 1.105 g (8 mmol) 2-Nitroanilin in 20 ml trockenem 1,2-Dichlorethan gelöst. Die Lösung wird in einem Eiswasserbad auf 0 °C gekühlt, dann werden mit einer Spritze 4.0 ml (8 mmol) einer Trimethylaluminium-Lösung (2 M in Heptan) langsam hinzugefügt. Danach wird das Eisbad entfernt und nach 30 min Rühren werden 1.316 g (5 mmol) Ethyl-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxylat (**2**) in einer Portion hinzugegeben. Nun wird das Gemisch im Ölbad 2 h auf 80 °C erhitzt. Dabei ist eine deutliche Gasentwicklung beim Erreichen von ca. 60 °C zu erkennen. Die dunkle Reaktionslösung enthält bereits einen dunklen Niederschlag.

Der Dreihalskolben wird nach Beendigung der Reaktion mittels Eisbad abgekühlt. Anschließend werden langsam 20 ml Salzsäure (5%) zum Gemisch hinzugefügt und dieses dann mit 80 ml Wasser versetzt. Dabei entsteht ein 3-Phasensystem (organische, wässrige und feste Phase). Nach 10 min Rühren wird das feste Produkt abgenutscht und mit 96% EtOH gewaschen. Dieses Material wird unter Vakuum im Exsikkator getrocknet. Eine DC-Kontrolle (Fließmittel: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 9+1) dient zur Überprüfung der Reinheit. Das Rohprodukt wird vor der Weiterverwendung mit EtOH für 20–30 min heiß gewaschen. Analysenreines Material in Form nahezu farbloser Kristalle kann durch Umkristallisation aus DMF erhalten werden.

(1) <u>Ausbeute:</u>	1.34 g (75%)
(2) <u>Summenformel:</u>	C ₁₅ H ₉ N ₅ O ₆
(3) <u>Molekulargewicht:</u>	355.27 g/mol
(4) <u>Schmelzpunkt:</u>	Sublimation ab 300 °C

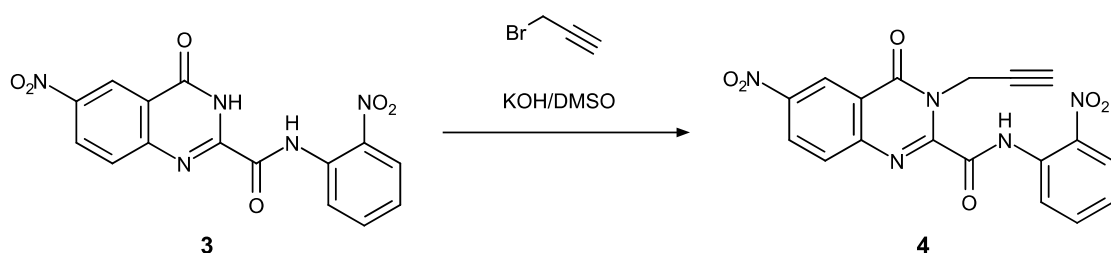
MS (s. Tafel 8): *m/z* (rel. Int.) = 355 (M⁺, 12%), 310 (19), 309 (100), 263 (26), 191 (34), 164 (86), 144 (19), 90 (55), 63 (20)

HRMS (ESI) ber. f. C₁₅H₉N₅NaO₆ ([M+Na]⁺): 378.0445; gef.: 378.0446

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆; s. Tafel 1) δ 13.31 (br s, 1H, Chinazolinon-NH), 12.16 (br s, 1H, Amid-NH), 8.85 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, 5-H), 8.65 (dd, *J* = 8.9, 2.8 Hz, 1H, 7-H), 8.50 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, Phenyl 6'-H), 8.25 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, Phenyl 3'-H), 8.03 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, 8-H), 7.84–7.92 (m, 1H, Phenyl 5'-H), 7.46 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, Phenyl 4'-H)

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆; s. Tafel 2) δ 160.9 (4-C), 157.7 (Amid C=O), 150.8 (8a-C), 148.2 (2-C), 146.1 (6-C), 138.9 (Phenyl 2'-C), 135.6 (Phenyl 5'-C), 132.0 (Phenyl 1'-C), 129.3 (8-C), 128.9 (7-C), 125.9 (Phenyl 3'-C), 125.4 (Phenyl 4'-C), 123.2 (4a-C), 122.9 (Phenyl 6'-C), 122.2 (5-C)

3.5 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)



In einem 100 ml Zweihalskolben, ausgestattet mit einem Rückflusskühler und Trockenrohr, werden 355 mg (1 mmol) 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**) in 20 ml DMSO 30 min bei RT gerührt. Danach werden 88.2 mg (1.6 mmol) fein pulverisiertes KOH und 20 mg Tetrabutylammoniumbromid zur Suspension hinzugegeben und 20 min im

Ultraschallbad behandelt. Unter Rühren des Reaktionsgemisches im Ölbad bei 70°C Badtemperatur wird die hellbraune Suspension zu einer großteils klaren dunkelbraunen Lösung. Dann wird in einer Portion eine Lösung von 178 mg (1.2 mmol) Propargylbromid (80% Lösung in Toluol) in 20 ml DMSO hinzugefügt. Nach 24 h Rühren bei der selben Temperatur wird mittels DC-Kontrolle die Vollständigkeit der Reaktion überprüft. Hierbei wird mittels Pasteurpipette etwas Lösung in eine Phiole gegeben und dann je 1 ml Wasser und Ethylacetat hinzugefügt. Nach dem Verschließen und Schütteln der Phiole wird aus der Ethylacetatphase die DC-Kontrolle (Fließmittel: CH₂Cl₂/Ethylacetat, 95+5) durchgeführt. Das Reaktionsgemisch wird auf RT gebracht, in einem Becherglas mit 100 ml Wasser versetzt und 30 min in ein Wasserbad gestellt. Dann wird der dunkelbraune Niederschlag abgenutscht, mit Wasser gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet.

Das getrocknete Material wird mittels Säulenchromatographie durch Gradientenelution mit Dichlormethan und schließlich mit Dichlormethan/Ethylacetat (99:1) getrennt^c. Die Fraktionen mit dem gewünschten Produkt werden am Rotationsverdampfer eingeeengt. Umkristallisation aus EtOH liefert gelbe Kristalle.

(1) <u>Ausbeute</u> :	327 mg (83%)
(2) <u>Summenformel</u> :	C ₁₈ H ₁₁ N ₅ O ₆
(3) <u>Molekulargewicht</u> :	393.32 g/mol
(4) <u>Schmelzpunkt</u> :	208–210 °C

MS (s. Tafel 18): *m/z* (rel. Int.) = 393 (M⁺, 6%), 392 (13), 376 (31), 375 (52), 347 (69), 345 (39), 301 (41), 183 (37), 155 (46), 128 (38), 90 (70), 75 (42), 63 (46), 39 (100)

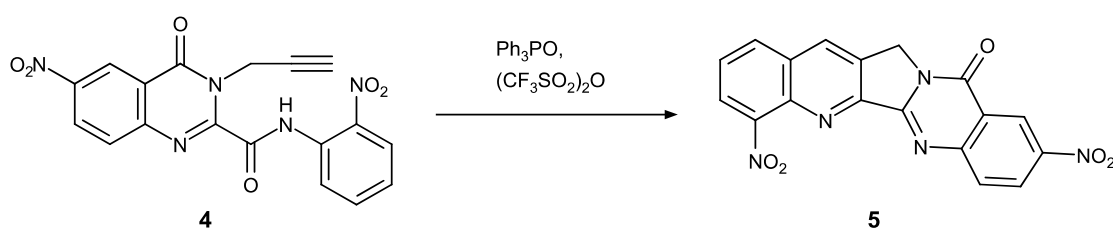
HRMS (ESI) ber. f. C₁₈H₁₁N₅NaO₆ ([M+Na]⁺): 416.0602; gef.: 416.0604

^c Anm.: Eine weitere Erhöhung des Ethylacetat-Anteils bei der Gradientenelution erwies sich als nachteilig für das Trennergebnis.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆; s. Tafel 9) δ 11.89 (br s, 1H, NH), 8.90 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H, 5-H), 8.68 (dd, *J* = 8.9, 2.7 Hz, 1H, 7-H), 8.15 (dd, *J* = 8.3, 1.4 Hz, 1H, Phenyl 3'-H), 8.07 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, 8-H), 8.04 (dd, *J* = 8.2, 1.1 Hz, 1H, Phenyl 6'-H), 7.84 (ddd, *J* = 8.3, 7.2, 1.5 Hz, 1H, Phenyl 5'-H), 7.51 (ddd, *J* = 8.4, 7.4, 1.3 Hz, 1H, Phenyl 4'-H), 5.10 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, NCH₂), 3.37 (t, *J* = 2.4 Hz, 1H, Acetylen-H)

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆; s. Tafel 10) δ 159.6 (4-C), 158.9 (Amid C=O), 149.5 (2-C), 149.3 (8a-C), 146.4 (6-C), 141.5 (Phenyl 2'-C), 134.8 (Phenyl 5'-C), 130.5 (Phenyl 1'-C), 129.7 (8-C), 129.3 (7-C), 126.3 (Phenyl 4'-C), 125.5 (Phenyl 3'-C), 124.8 (Phenyl 6'-C), 122.6 (5-C), 121.5 (4a-C), 78.2 (Propargyl 2-C), 75.3 (Propargyl 3-C), 34.3 (Propargyl 1-C)

3.6 4,9-Dinitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (5)



In einem trockenen 100 ml Zweihalskolben mit Gummiseptum werden zu einer auf 0 °C gekühlten Lösung von 835 mg (3 mmol) Triphenylphosphinoxid in 22 ml trockenem CH₂Cl₂ unter Argonatmosphäre mittels Spritze langsam 0.25 ml (1.5 mmol) Trifluormethansulfonsäureanhydrid zugetropft. Das Gemisch wird 15 min gerührt, danach erfolgt die Zugabe von 393 mg (1 mmol) 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**) in einer Portion, wonach das Gemisch langsam eine ockergelbe Farbe annimmt. Anschließend wird 48 h bei RT gerührt. Nach DC-Kontrolle (Fließmittel: CH₂Cl₂/Ethylacetat, 95+5) wird der Niederschlag abgenutscht und mit CH₂Cl₂ gewaschen. Dieses Rohprodukt wird in einem Rundkolben mit ca. 10 ml 10% NaHCO₃-Lösung versetzt, 20 min gerührt und erneut abgenutscht. Der Niederschlag wird in einem Rundkolben in ca. 20 ml Wasser resuspendiert, 20 min gerührt und wieder abgenutscht. Die bräunlichen Kristalle werden nun unter Vakuum im Exsikkator getrocknet.

(1) <u>Ausbeute:</u>	280 mg (75%)
(2) <u>Summenformel:</u>	C ₁₈ H ₉ N ₅ O ₅
(3) <u>Molekulargewicht:</u>	375.30 g/mol
(4) <u>Schmelzpunkt:</u>	Zersetzung ab 320 °C

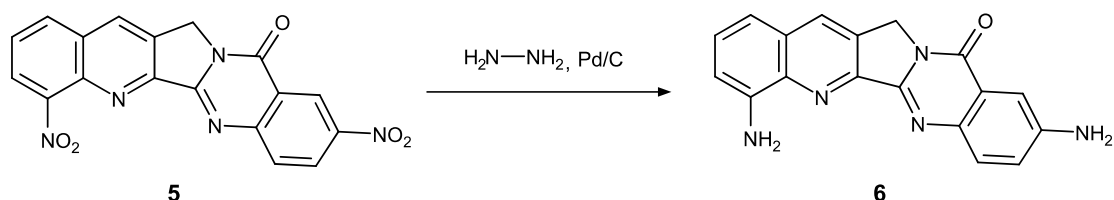
MS (s. Tafel 19): m/z (rel. Int.) = 375 (M^+ , 100%), 345 (19), 329 (29), 299 (17), 283 (26), 271 (33), 254 (32), 228 (24), 139 (30), 114 (33), 88 (30), 75 (53), 63 (43)

HRMS (ESI) ber. f. C₁₈H₁₀N₅O₅ ($[M+H]^+$): 376.0676; gef.: 376.0673

NMR: Aufgrund der zu geringen Löslichkeit konnte weder ein ¹H-NMR- noch ein ¹³C-NMR-Spektrum aufgenommen werden.

3.7 4,9-Diaminochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (6)

(4,9-Diamino-Luotonin A)



In einem 100 ml Zweihalskolben werden 56 mg (0.15 mmol) 4,9-Dinitro-chino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-11(13*H*)-on (**5**) mit 30 ml EtOH versetzt und die Suspension wird mit Argon gespült. Anschließend werden unter Argonatmosphäre 210 mg (4.2 mmol) Hydrazinhydrat (80% in H₂O) und 10 mg Pd/C Katalysator (10%) hinzugefügt und das Gemisch wird 24 h unter Rückfluss erhitzt. Hierbei nimmt die Suspension langsam eine hellgrüne Farbe an, die nach Vollständigkeit der Reaktion (DC-Kontrolle: Fließmittel CH₂Cl₂/ MeOH, 9+1) dunkelgrün wird.

Danach wird die Suspension auf RT abgekühlt und am Rotationsverdampfer zur Trockene gebracht. Das Produkt wird unter leichtem Erwärmen in 30 ml DMF aufgenommen und durch zwei Faltenfilterpapier filtriert, um den Katalysator zu entfernen. Anschließend wird das braune Filtrat am Rotationsverdampfer eingeeengt und mit ca. 10 ml Wasser versetzt. Der Niederschlag wird abgenutscht und mit Wasser gewaschen. Die Umkristallisation erfolgt aus EtOH in einem Spitzkolben und liefert orangefarbene Kristalle. Nach dem Abnutschen wird das Produkt im Vakuumexsikkator getrocknet.

(1) <u>Ausbeute</u> :	44 mg (93%)
(2) <u>Summenformel</u> :	$C_{18}H_{13}N_5O$
(3) <u>Molekulargewicht</u> :	315.34 g/mol
(4) <u>Schmelzpunkt</u> :	Zersetzung ab 350 °C

MS: Verbindung nicht ausreichend flüchtig/thermostabil für EI-MS

HRMS (ESI) ber. f. $C_{18}H_{14}N_5O$ ($[M+H]^+$): 316.1193; gef.: 316.1190

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6 ; s. Tafel 20) δ 8.48 (s, 1H, 14-H), 7.65 (d, J = 8.7 Hz, 1H, 7-H), 7.41 (t, J = 7.8 Hz, 1H, 2-H), 7.36 (d, J = 2.6 Hz, 1H, 10-H), 7.16–7.21 (m, 2H, 1-H, 8-H), 6.96 (dd, J = 7.6, 1.2 Hz, 1H, 3-H), 6.11 (br s, 2H, 4-NH₂), 5.83 (br s, 2H, 9-NH₂), 5.23 (s, 2H, 13-CH₂)

^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6 ; s. Tafel 21) δ 159.5 (11-C), 148.5 (5a-C und/oder 5b-C oder/und 9-C), 148.4 (5a-C oder/und 5b-C und/oder 9-C), 145.9 (4-C), 139.7 (6a-C), 138.0 (4a-C), 131.1 (14-C), 130.6 (13a-C), 129.1 (2-C), 128.91 (7-C), 128.89 (14a-C), 122.3 (8-C), 122.2 (10a-C), 113.9 (1-C), 109.1 (3-C), 106.2 (10-C), 47.0 (13-C)

4 Literaturverzeichnis

1. Statistik Austria. *Krebserkrankungen*.
https://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/gesundheit/krebserkrankungen/index.html. (zuletzt besucht am 01.06.2019)
2. Aktories, K., Förstermann, U., Hofmann, F. B., Starke, K. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 12. Auflage, Elsevier, München, S. 825-919 (2017).
3. Karow, T., Lang-Roth, R. Allgemeine und Spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 27. Auflage, Thomas Karow, Pulheim, S. 966 (2018).
4. Mutschler, E., Geisslinger, G., Kroemer, H. K., Menzel, S., Ruth, P. Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie, Klinische Pharmakologie und Toxikologie. 10. Auflage, Elsevier, München, S. 867-918 (2013).
5. Chen, S. H., Chan, N.-L., Hsieh, T. New Mechanistic and Functional Insights into DNA Topoisomerases. *Annu. Rev. Biochem.* **82**, 139–170 (2013).
6. Stewart, L., Redinbo, M. R., Qiu, X., Hol, W. G., Champoux, J. J. A Model for the Mechanism of Human Topoisomerase I. *Science* **279**, 1534–1541 (1998).
The Protein Data Bank, URL: rcsb.org, PDB Code: 1A36.
7. Husain, I., Mohler, J. L., Seigler, H. F. Elevation of Topoisomerase I Messenger RNA, Protein, and Catalytic Activity in Human Tumors: Demonstration of Tumor-type Specificity and Implications for Cancer Chemotherapy. *Cancer Res.* **54**, 539–546 (1994).
8. Giovanella, B. C., Stehlin, J. S., Wall, M. E., Wani, M. C., Nicholas A. W., Liu, L. F., Silber, R., Potmesil, M. DNA topoisomerase I - Targeted Chemotherapy of Human Colon Cancer in Xenografts. *Science* **246**, 1046–1048 (1989).

9. Pizzolato, J. F., Saltz, L. B. The Camptothecins. *Lancet* **361**, 2235–2242 (2003).
10. Mi, Z., Malak, H., Burke, T. G. Reduced Albumin Binding Promotes the Stability and Activity of Topotecan in Human Blood. *Biochemistry* **34**, 13722–13728 (1995).
11. Pommier, Y. DNA Topoisomerase I Inhibitors: Chemistry, Biology, and Interfacial Inhibition. *Chem. Rev.* **109**, 2894–2902 (2009).
12. Ma, Z.-Z., Hano, Y., Nomura, T., Chen, Y.-J. Two New Pyrroloquinazolinoquinoline Alkaloids from *Peganum nigellastrum*. *Heterocycles* **46**, 541–546 (1997).
13. Liang, J. L., Cha, H. C., Jahng, Y. Recent Advances in the Studies on Luotonins. *Molecules* **16**, 4861–4883 (2011).
14. Cagir, A., Jones, S. H., Gao, R., Eisenhauer, B. M., Hecht, S. M. Luotonin A. A Naturally Occurring Human DNA Topoisomerase I Poison. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 13628–13629 (2003).
15. Cagir, A., Eisenhauer, B. M., Gao, R., Thomas, S. J., Hecht, S. M. Synthesis and Topoisomerase I Inhibitory Properties of Luotonin A Analogues. *Bioorg. Med. Chem.* **12**, 6287–6299 (2004).
16. Ibric, A., Dutter, K., Marian, B., Haider, N. A Facile Oxidative Opening of the C-Ring in Luotonin A and Derivatives. *Molecules* **22**, 1540 (2017).
17. Sonogashira, K., Tohda, Y., Hagihara, N. A Convenient Synthesis of Acetylenes: Catalytic Substitutions of Acetylic Hydrogen with Bromoalkenes, Iodarenes, and Dromopyridines. *Tetrahedron Lett.* **50**, 4467–4470 (1975).

18. Zhou, H.-B., Liu, G.-S., Yao, Z.-J. Short and Efficient Total Synthesis of Luotonin A and 22-Hydroxyacuminatine Using A Common Cascade Strategy. *J. Org. Chem.* **72**, 6270–6272 (2007).
19. Haider, N., Meng, G., Roger, S., Wank, S. An Efficient and Selective Access to 1-Substituted and 3-Substituted Derivatives of Luotonin A. *Tetrahedron* **69**, 7066–7072 (2013).
20. Basha, A., Lipton, M., Weinreb, S. M. A Mild, General Method for Conversion of Esters to Amides. *Tetrahedron Lett.* **18**, 4171–4172 (1977).
21. Haider, N., Nuß, S. Weinreb Amidation as the Cornerstone of an Improved Synthetic Route to A-Ring-Modified Derivatives of Luotonin A. *Molecules* **17**, 11363–11378 (2012).
22. Atia, M., Bogdán, D., Brügger, M., Haider, N., Mátyus, P. Remarkable Regioselectivities in the Course of the Synthesis of Two New Luotonin A Derivatives. *Tetrahedron* **73**, 3231–3239 (2017).
23. Nacro, K., Zha, C., Guzzo, P. R., Herr, R. J., Peace, D., Friedrich T. D. Synthesis and Topoisomerase Poisoning Activity of A-Ring and E-Ring Substituted Luotonin A Derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **15**, 4237–4246 (2007).
24. Ibric, A., Eckerstorfer, S., Eder, M., Louko, I., Tunjic, L., Heffeter, P., Schueffl, H. H., Marian, B., Haider, N. Position-Selective Synthesis and Biological Evaluation of Four Isomeric A-Ring Amino Derivatives of the Alkaloid Luotonin A. *Molecules* **24**, 716 (2019).
25. Schneider, E., Haider, N. 9-Aminoquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one. *Molbank* **2019**, M1050 (2019).
26. Kernstock, K. Diplomarbeit, Universität Wien. (2019).

27. Windisch, D. geplante Diplomarbeit, Universität Wien.
28. Dallavalle, S., Merlini, L., Beretta, G. L., Tinelli, S., Zunino, F. Synthesis and Cytotoxic Activity of Substituted Luotonin A Derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14**, 5757–5761 (2004).
29. Baker, B. R., Almaula, P. I. Nonclassical Antimetabolites. X. ^{1,2} A Facile Synthesis of 4-Quinazolone-2-carboxylic Acid and the Structure of Bogert's Ammonium Salt. *J. Org. Chem.* **27**, 4672–4674 (1962).
30. Gege, C., Schneider, M., Chevrier, C., Deng, H., Sucholeiki, I., Gallagher, B. M. Jr., Bosies, M., Steeneck, C., Wu, X., Hochguertel, M., Nolte, B., Taveras, A. Heterobicyclic Metalloprotease Inhibitors. *PCT Int Appl.* WO 2008063668 (2008).
31. Schuckert, C. geplante Diplomarbeit, Universität Wien.
32. Louko, I. Diplomarbeit, Universität Wien. (2013).
33. Hendrickson, J. B. In: Paquette LA, ed. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, Wiley **8**, 5405–5407 (1995).
34. Hendrickson, J. B., Singer, M., Hussoin, M. S. Direct Borohydride Reduction of Alcohols to Alkanes with Phosphonium Anhydride Activation. *J. Org. Chem.* **58**, 6913–6914 (1993).
35. Paintner, F. F., Allmendinger, L., Bauschke, G. Highly Efficient 4-O-Alkylations of Tetronic Acids Involving Oxyphosphonium Intermediates. *Synlett*, 83–86 (2003).
36. You, S.-L., Razavi, H., Kelly, J. W. A Biomimetic Synthesis of Thiazolines Using Hexaphenyloxodiphosphonium Trifluoromethanesulfonate. *Angew. Chem. Int. Ed.* **42**, 83–85 (2003).

37. Deady, L. W., Sette, R. M. Lithiation of Pivaloylamino Derivatives of Dibenzofuran and 9-Methylcarbazole. *Aust. J. Chem.* **54**, 177–180 (2001).
38. Haider, N., Tropper, K. Dimethyl 6-Amino-1-methyl-9H-carbazole-2,3-dicarboxylate. *Molbank* **2015**, M849 (2015).
39. Schneider, E. Diplomarbeit, Universität Wien. (2019).
40. Ibric, A. geplante Dissertation, Universität Wien.

5 Abbildungsverzeichnis

Ich habe mich bemüht, sämtliche Inhaber der Bildrechte ausfindig zu machen und ihre Zustimmung zur Verwendung der Bilder in dieser Arbeit eingeholt. Sollte dennoch eine Urheberrechtsverletzung bekannt werden, ersuche ich um Meldung bei mir.

Abbildung 1: Wichtige Chemotherapeutika und deren Angriffspunkte, modifiziert nach Lit. ³ . Fokus auf den Topoisomerase-I-Hemmern (dunkelrot hinterlegt). 2	
Abbildung 2: Humane Topoisomerase-I in einem Komplex mit DNA (gelb) (PDB Code: 1A36) ⁶	3
Abbildung 3: Camptothecin	4
Abbildung 4: Formen von Camptothecin (links: intakter Lactonring, rechts: geöffneter Lactonring)	5
Abbildung 5: Wirkungsmechanismus der Topoisomerase-I-Hemmstoffe, modifiziert nach Lit. ²	6
Abbildung 6: Topotecan	7
Abbildung 7: Irinotecan	7
Abbildung 8: Vergleich von Camptothecin und Luotonin A (mit IUPAC-konformer Nummerierung).	8
Abbildung 9: links und rechts: bereits in unserer Arbeitsgruppe erfolgreich synthetisierte Amino-Derivate. Mitte: Zielverbindung.....	15
Abbildung 10: 6-Nitro- <i>N</i> -(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3): ¹ H-NMR-Signale (blau) und ¹³ C-NMR-Signale (rot) in ppm	20
Abbildung 11: Vermutetes dialkyliertes Nebenprodukt aus dem Propargylierungsschritt	22
Abbildung 12: 6-Nitro- <i>N</i> -(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (4): ¹ H-NMR-Signale (blau) und ¹³ C-NMR-Signale (rot) in ppm.....	24
Abbildung 13: 4,9-Diaminochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1- <i>b</i>]chinazolin-11(13 <i>H</i>)-on (6): ¹ H-NMR-Signale (blau) und ¹³ C-NMR-Signale (rot) in ppm	28

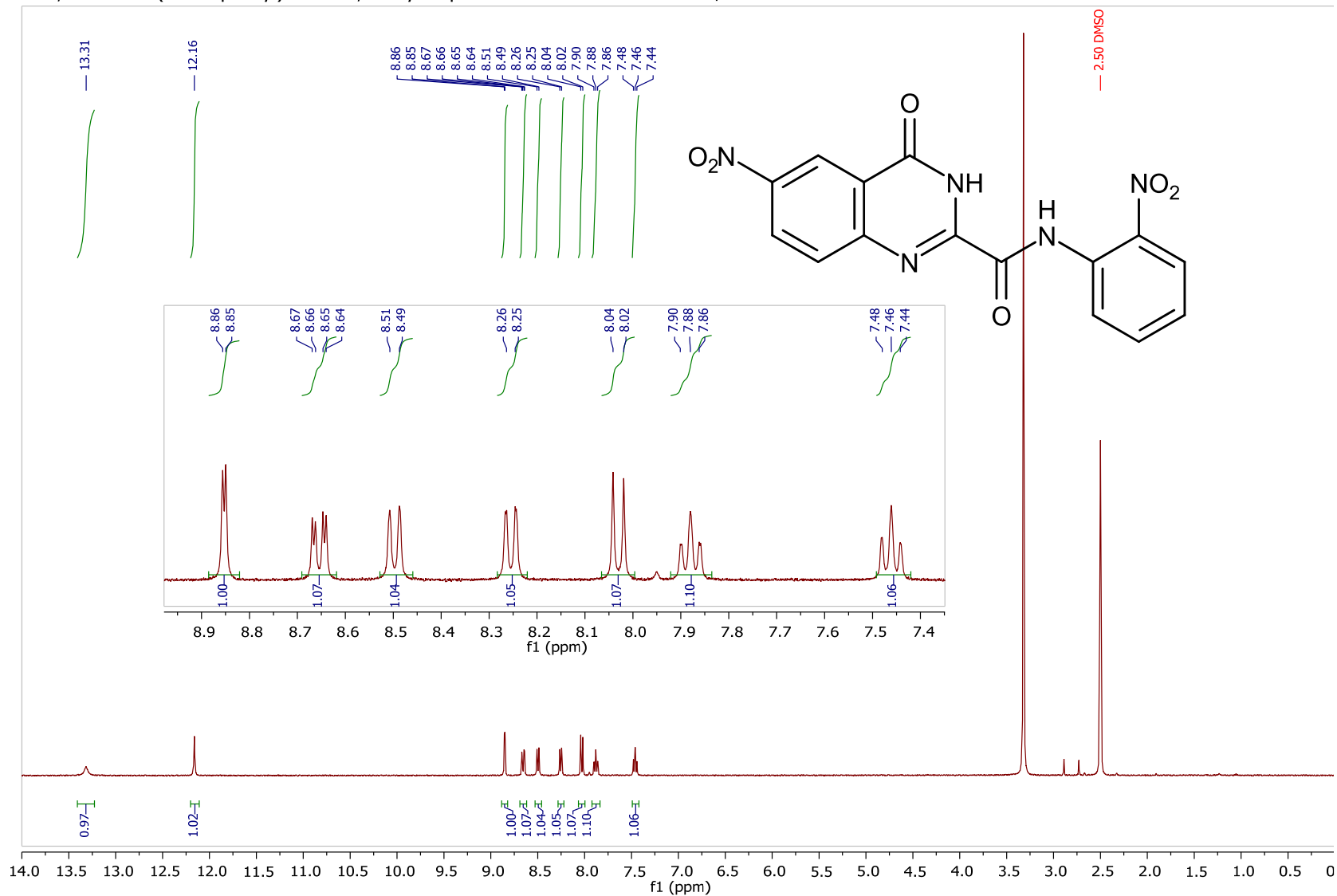
6 Schemaverzeichnis

Schema 1: Hypothetischer Biosyntheseweg nach Ma <i>et al.</i> ¹²	10
Schema 2: „Nördliche“ Syntheseroute nach Haider <i>et al.</i> ¹⁹	11
Schema 3: Synthese von Luotonin A nach Zhou <i>et al.</i>	12
Schema 4: Modifikationen einzelner Synthesen der „südlichen“ Route	14
Schema 5: Geplante Syntheseroute zur Zielverbindung	16
Schema 6: Herstellung des Chinazolinoncarbonsäureesters	17
Schema 7: Nitrierung des Chinazolinoncarbonsäureesters	18
Schema 8: Überführung des Esters in das Anilid mittels Weinreb-Amidierung	19
Schema 9: Alkylierung am Chinazolinon-Stickstoff	22
Schema 10: <i>in situ</i> -Herstellung des Hendrickson-Reagens	24
Schema 11: [4+2] Cycloadditionsreaktion unter simultaner Ausbildung der Ringe B und C	25
Schema 12: Schonende Reduktion der Nitrogruppen zu den entsprechenden Aminofunktionen	27

7 Appendix

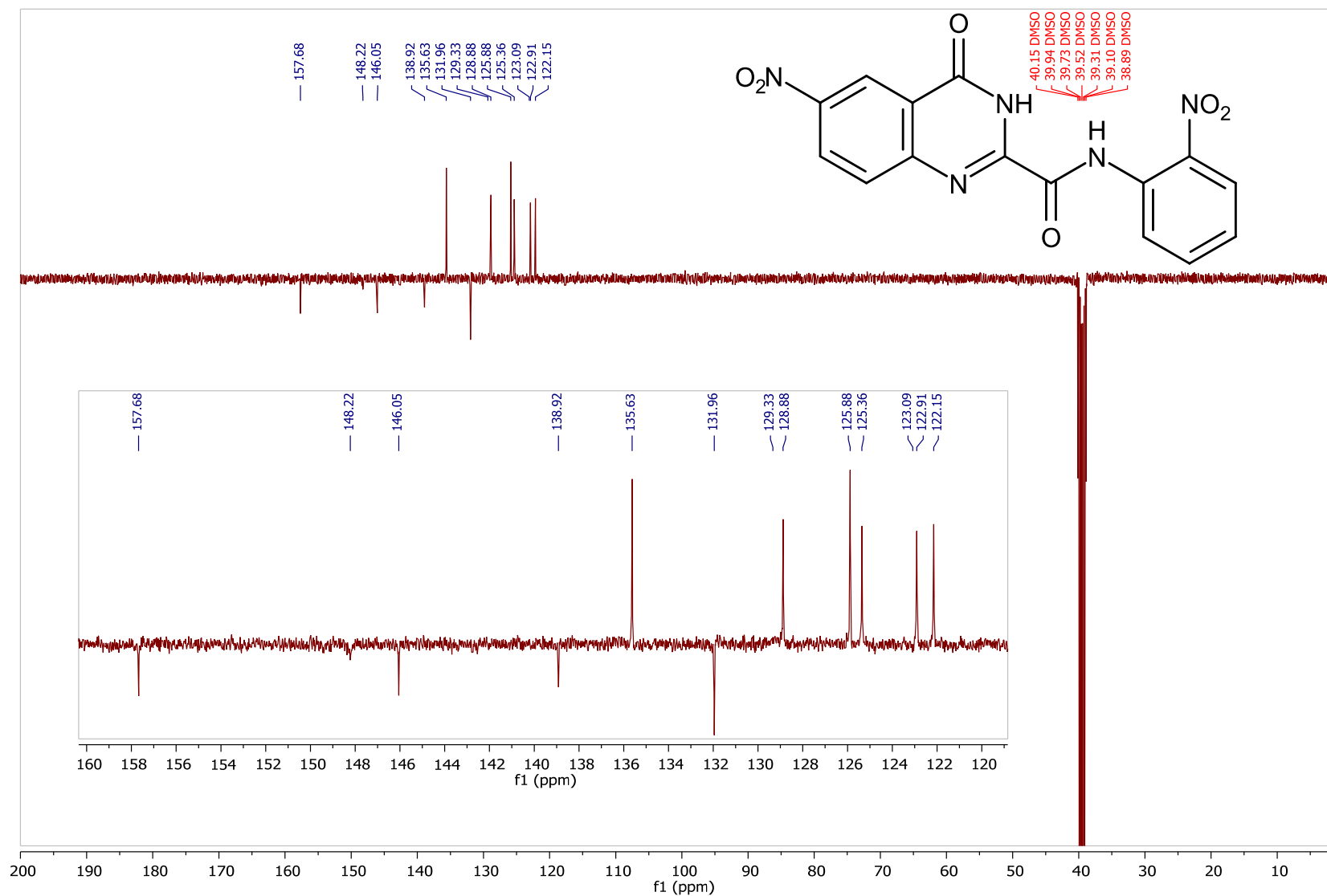
7.1 Spektren

CL1; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide 1H / DMSO



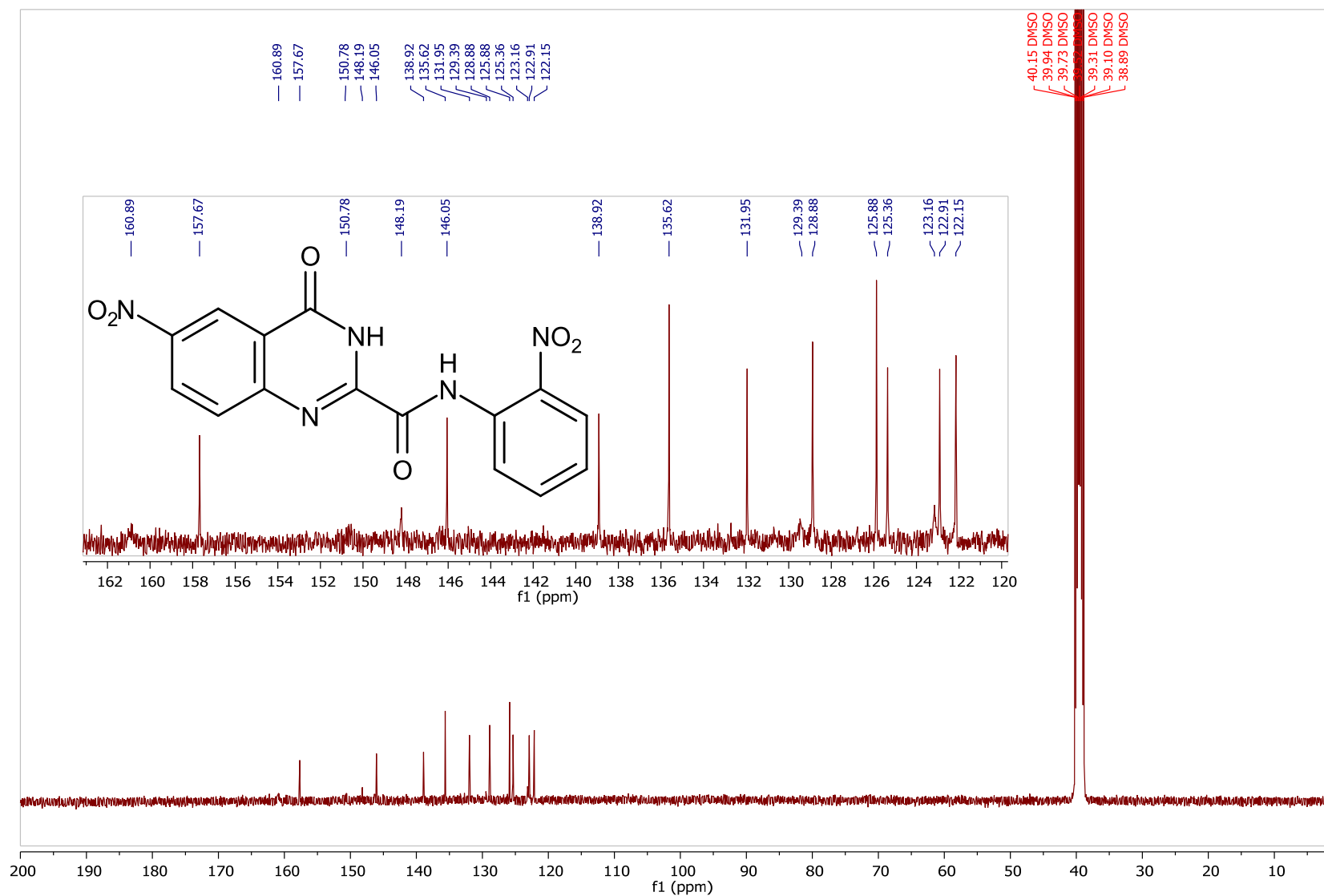
Tafel 1: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)

CL1; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide C13APT / DMSO



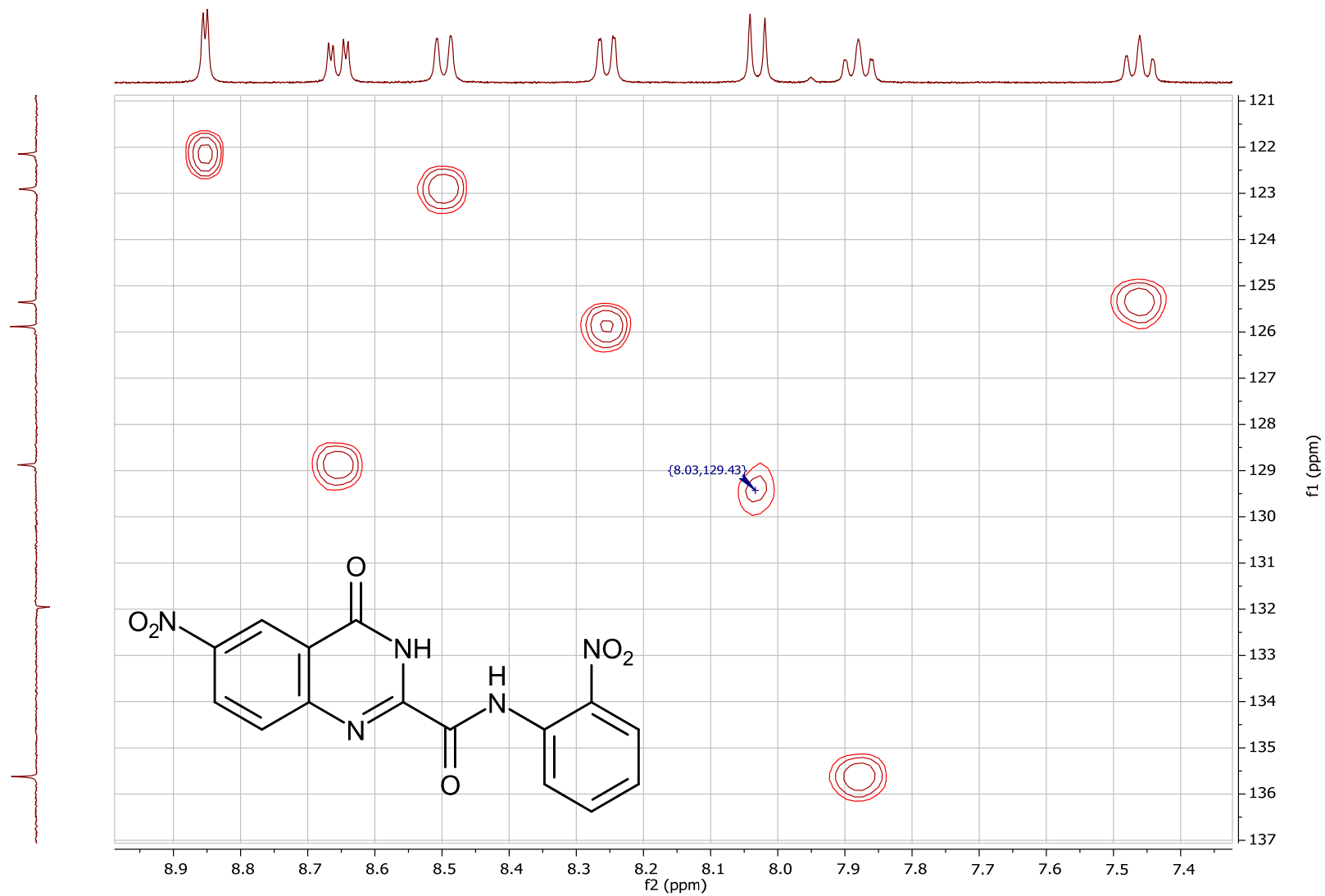
Tafel 2: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)

CL1; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide C13CPD / DMSO



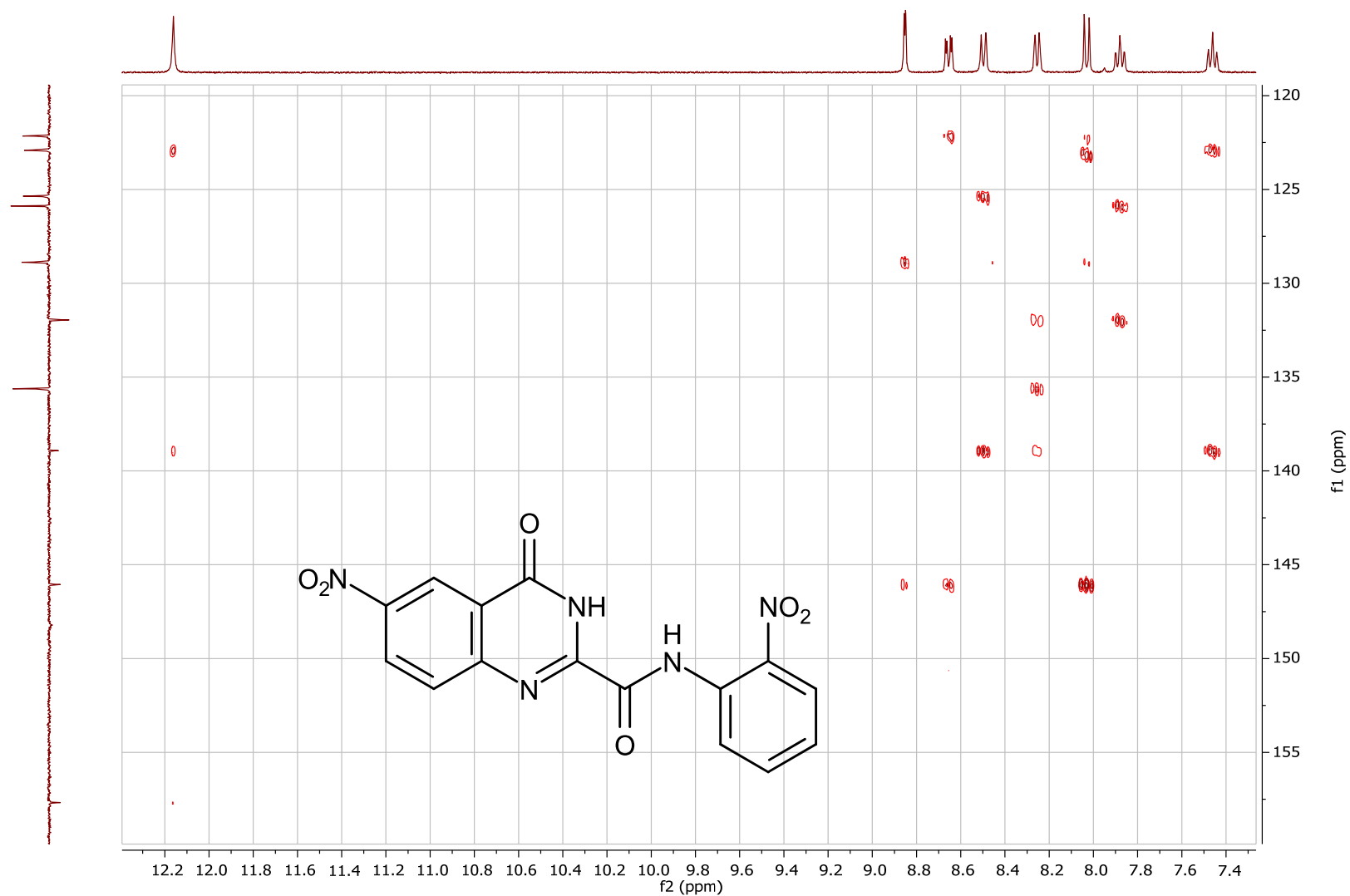
Tafel 3: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)

CL1; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC / DMSO



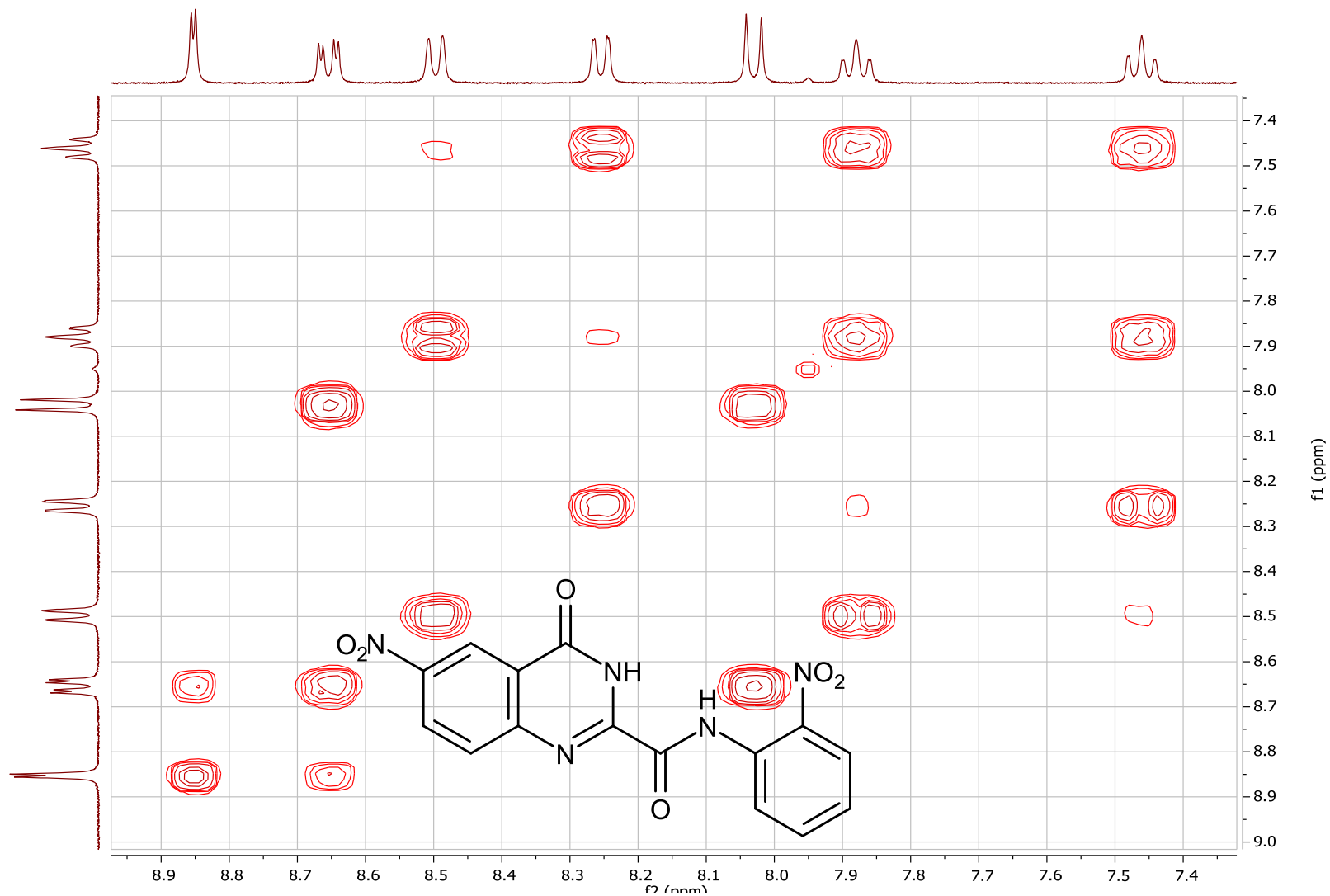
Tafel 4: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

CL1; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBQC / DMSO



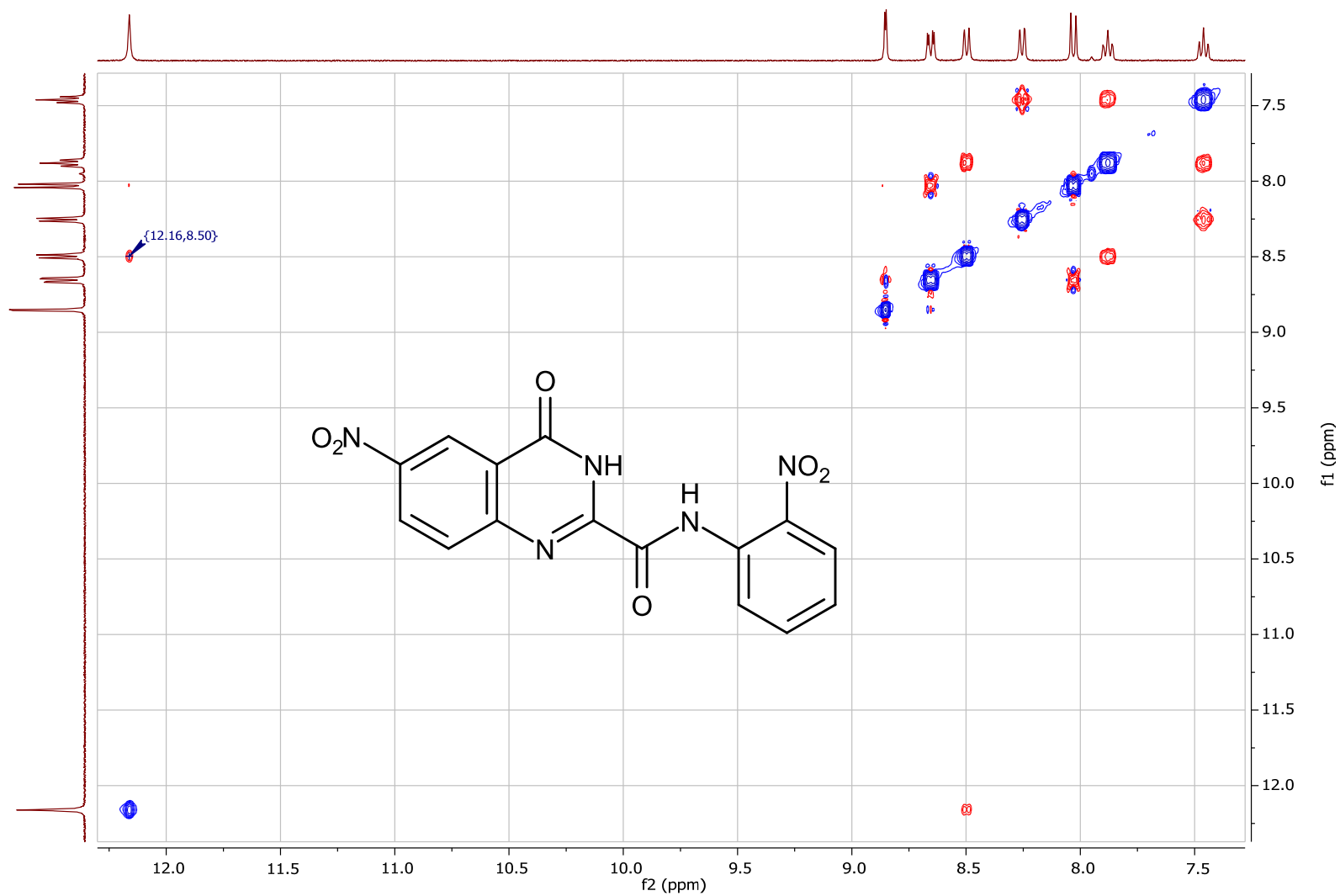
Tafel 5: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

CL1; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide COSY / DMSO

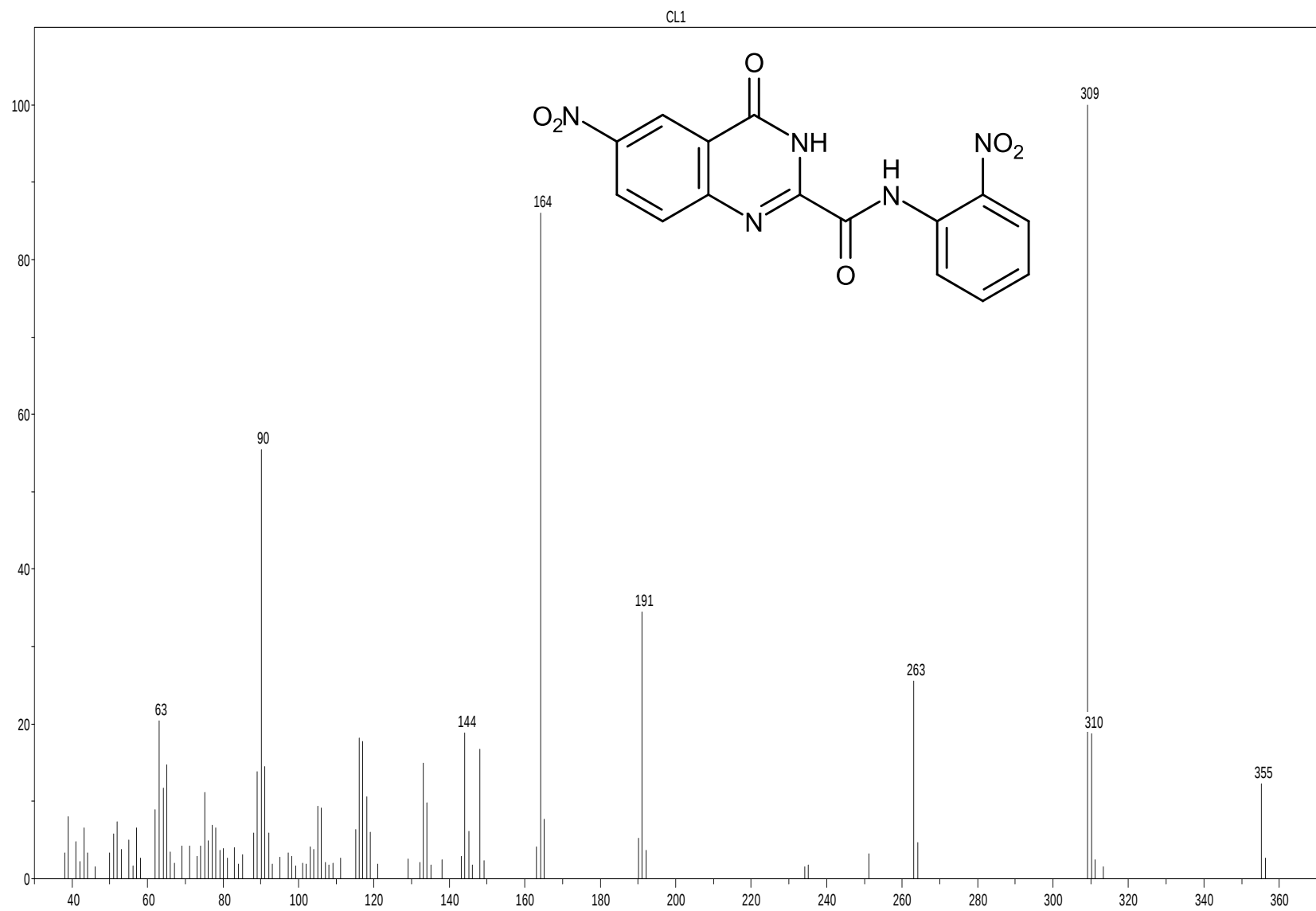


Tafel 6: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (3)

CL1; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide NOESY / DMSO

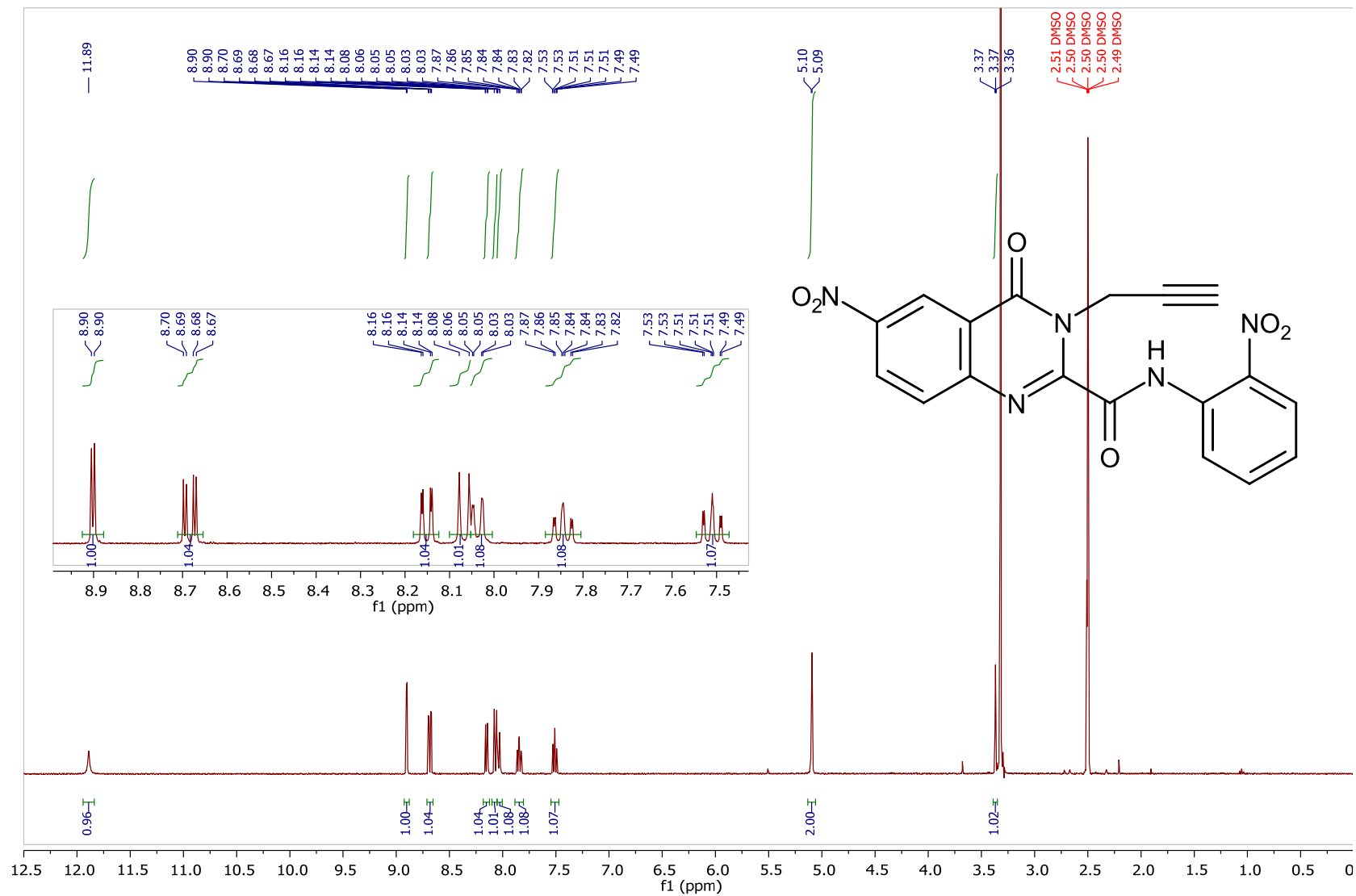


Tafel 7: 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)



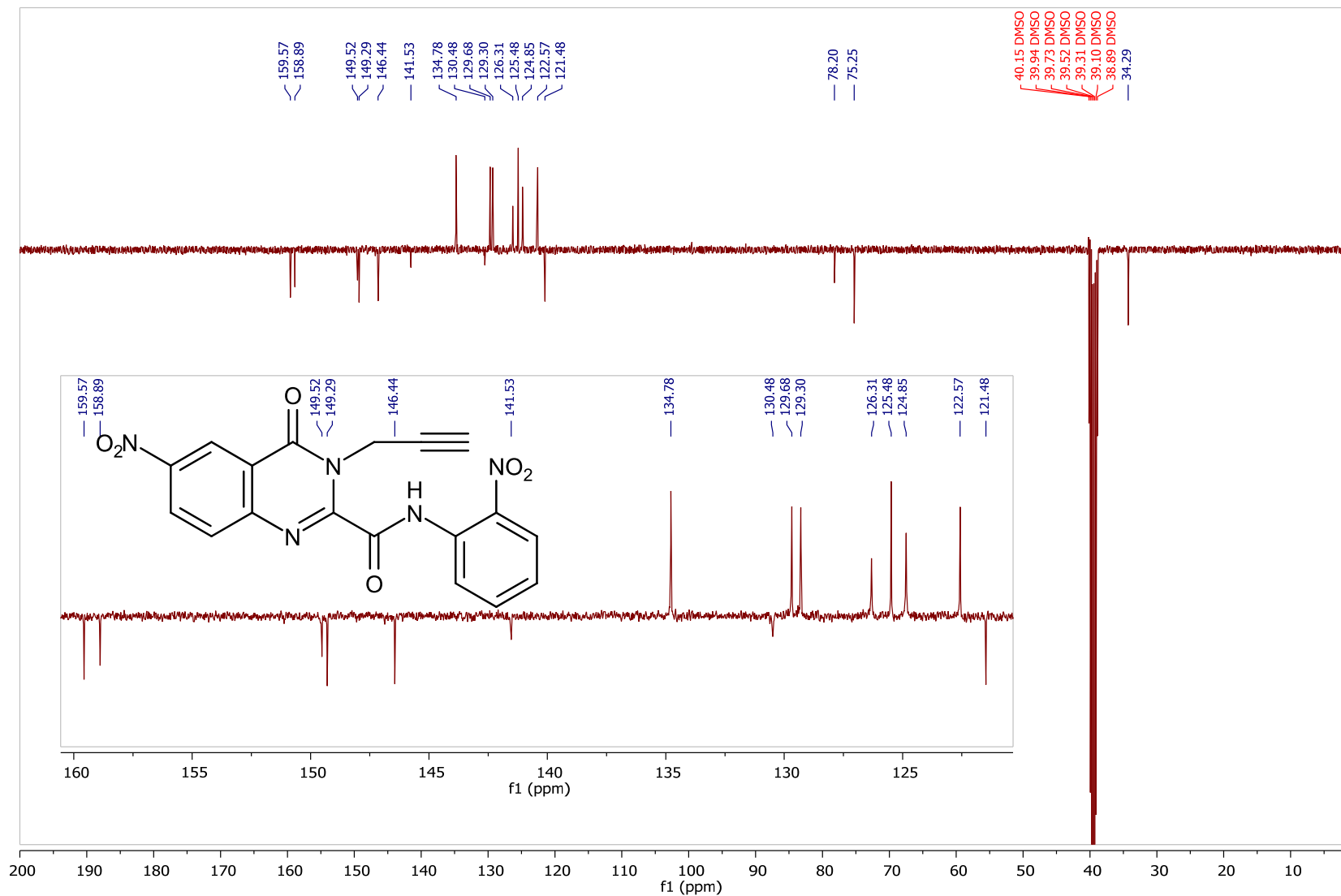
Tafel 8: 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**3**)

CL2; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide 1H / DMSO



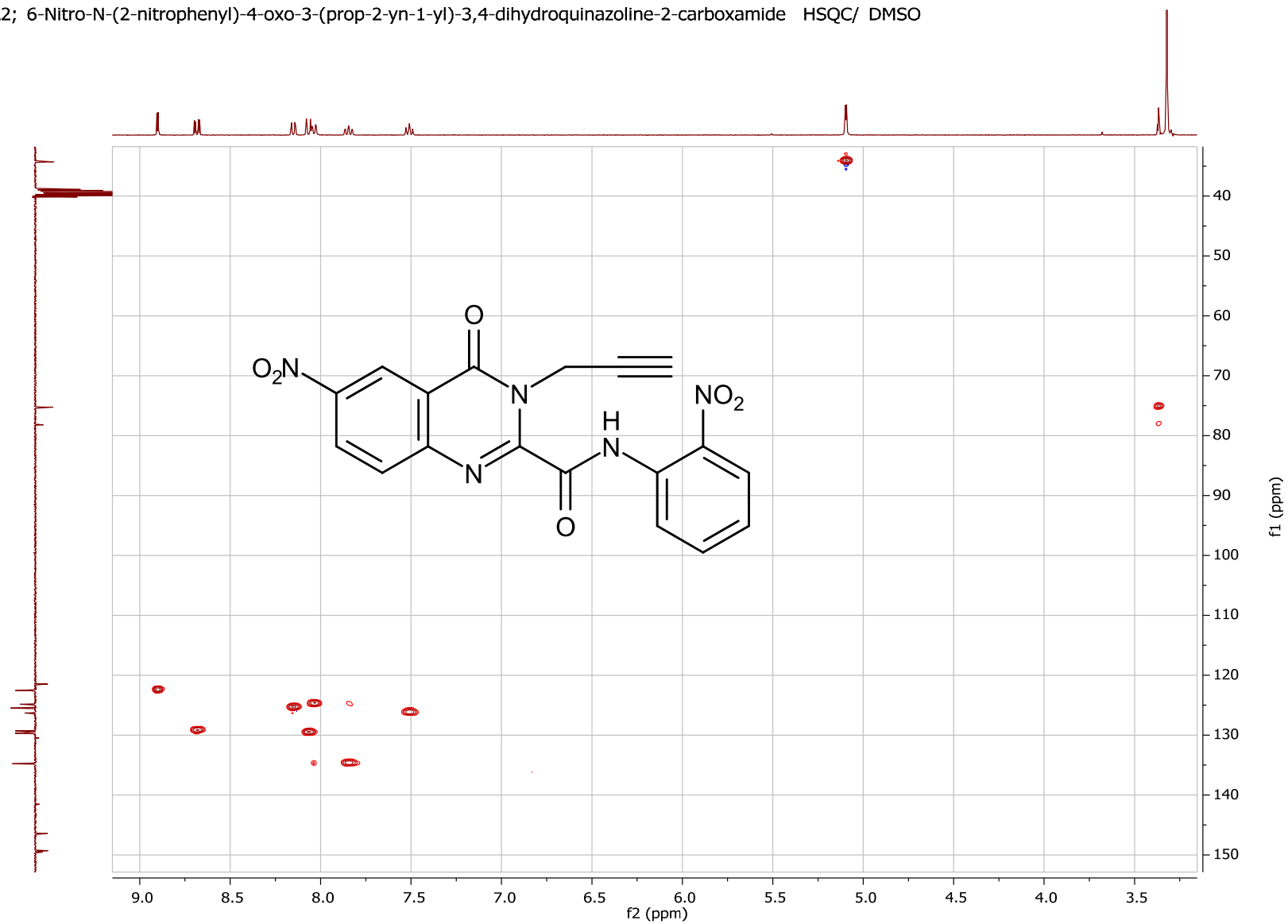
Tafel 9: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

CL2; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide C13APT/ DMSO



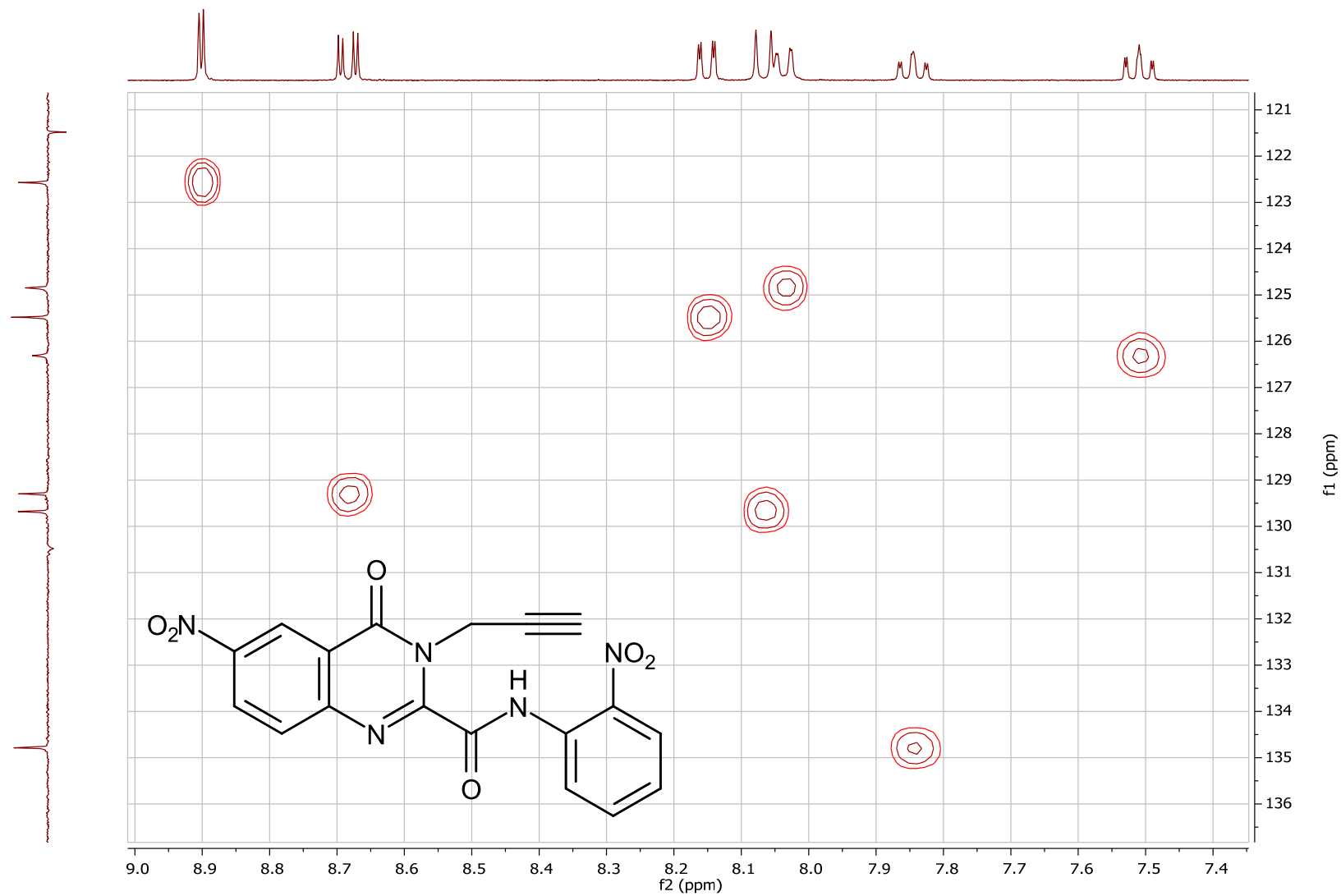
Tafel 10: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

CL2; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC/ DMSO



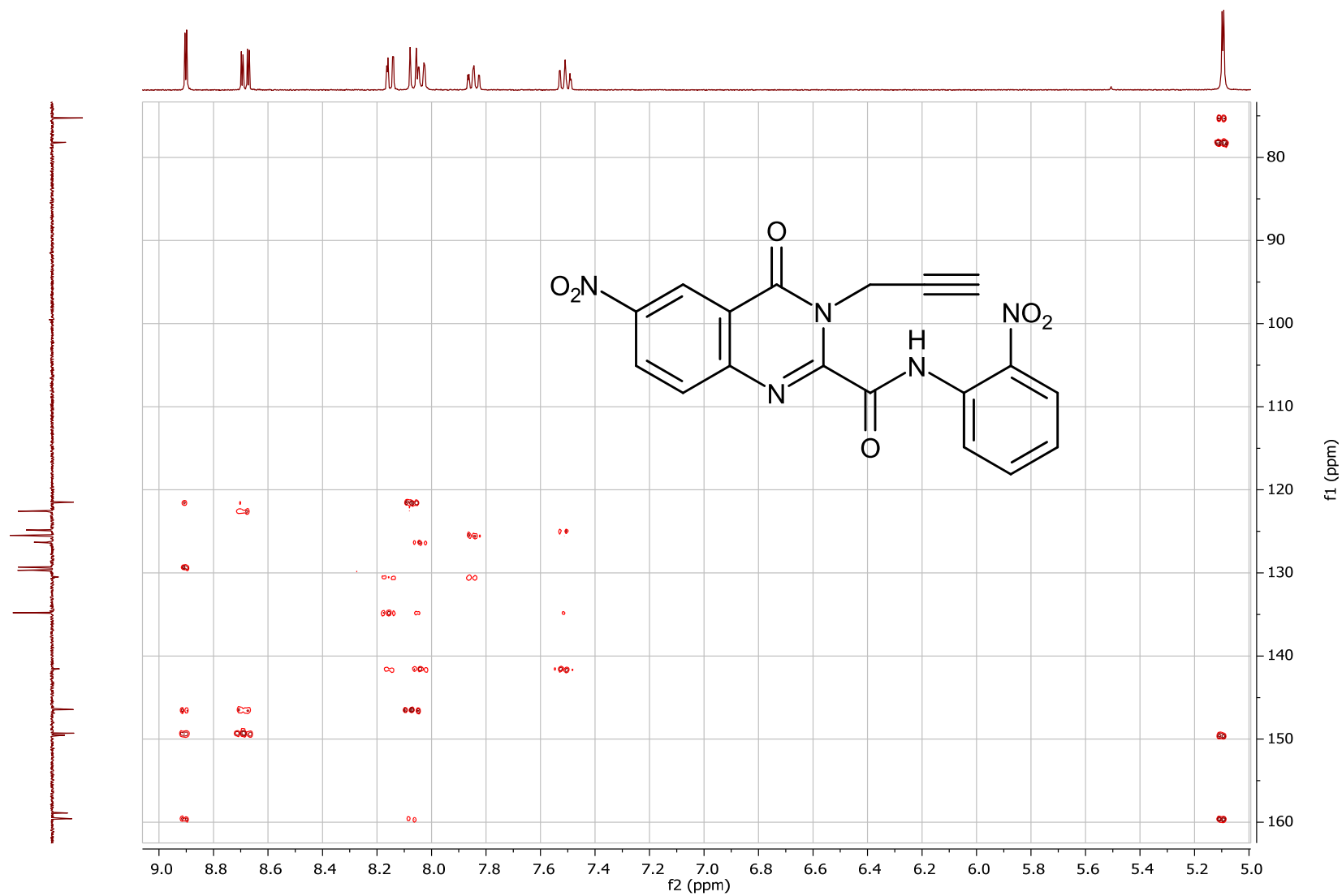
Tafel 11: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

CL2; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HSQC/ DMSO



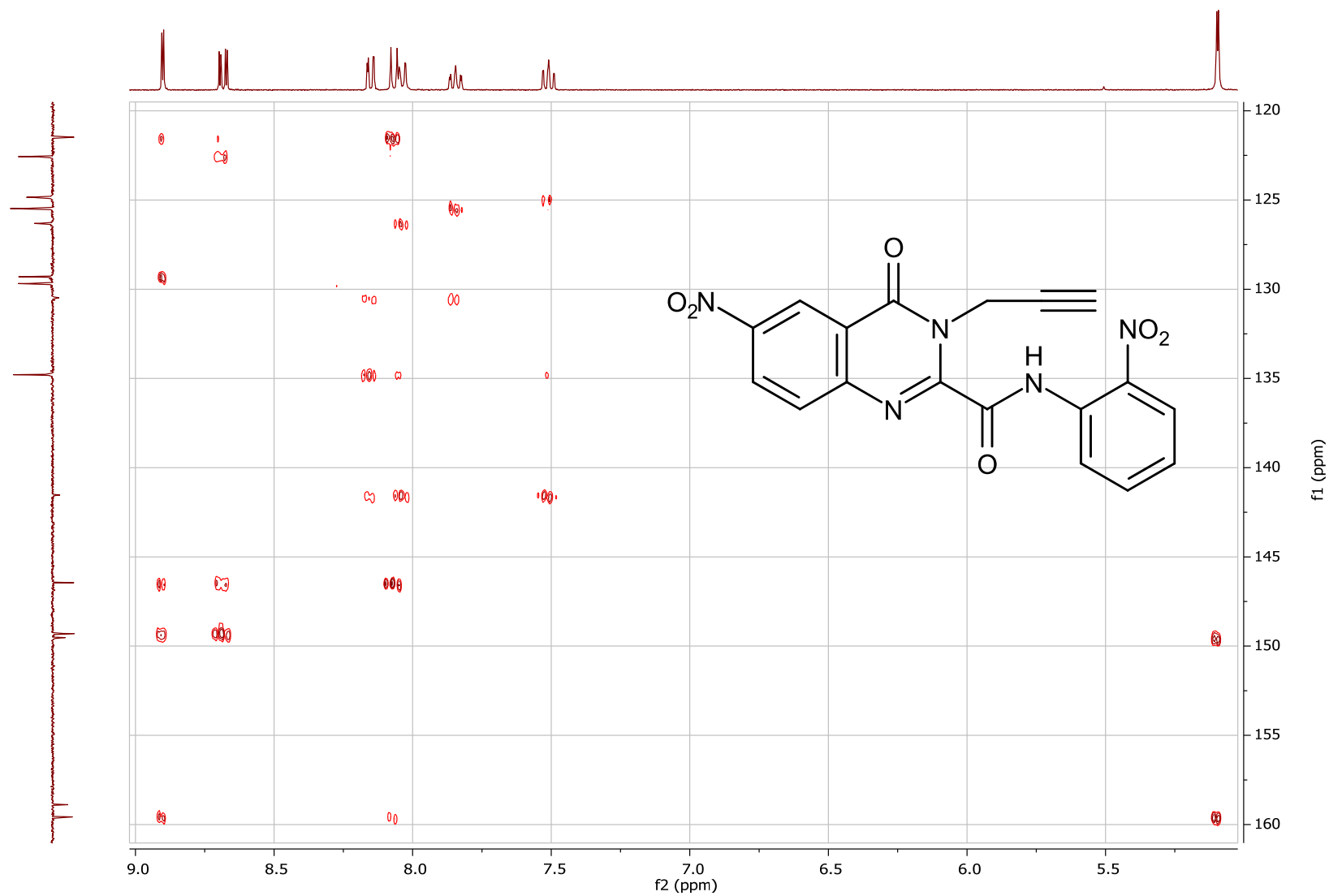
Tafel 12: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

CL2; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC/ DMSO



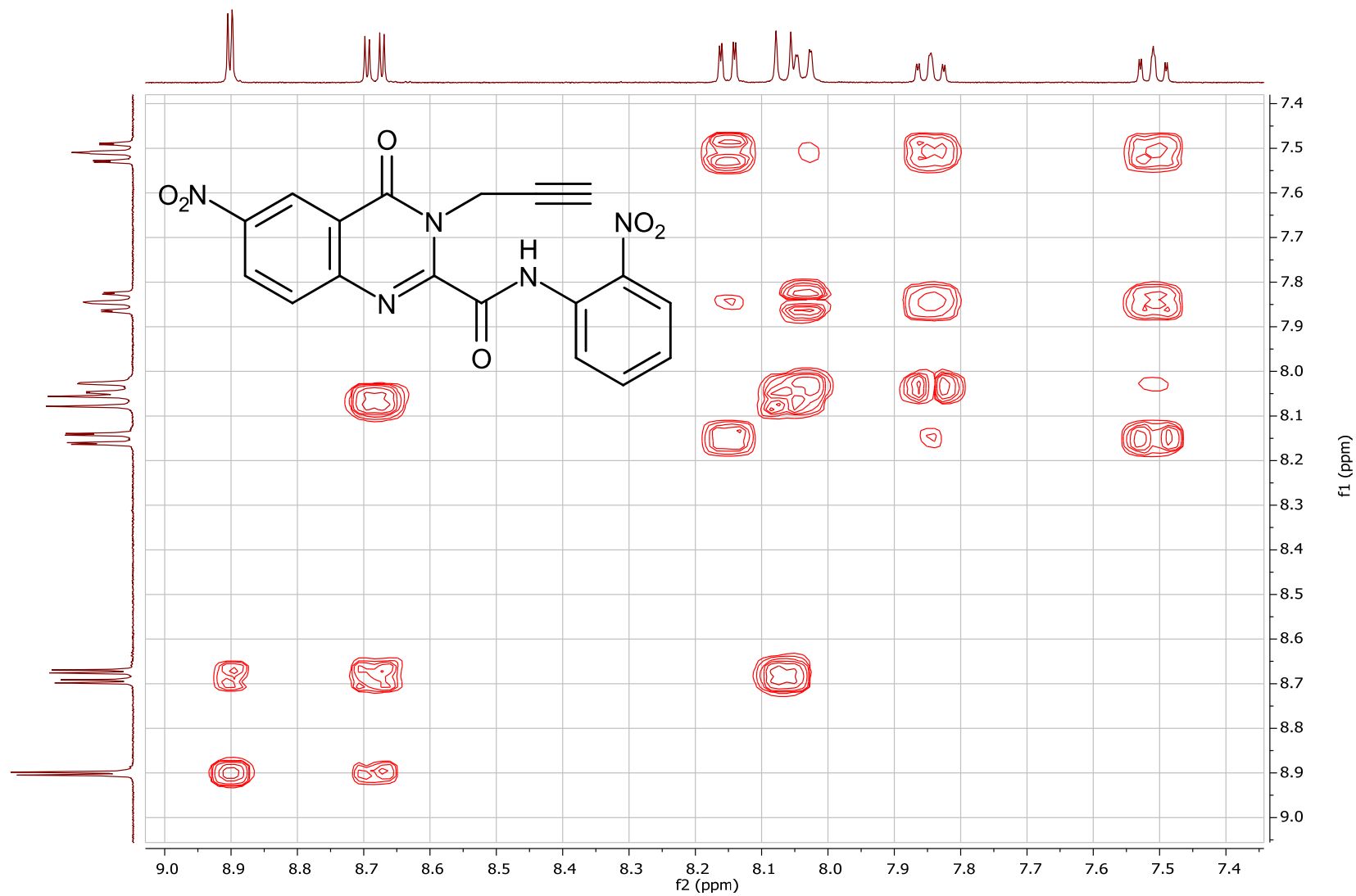
Tafel 13: 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

CL2; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide HMBC/ DMSO



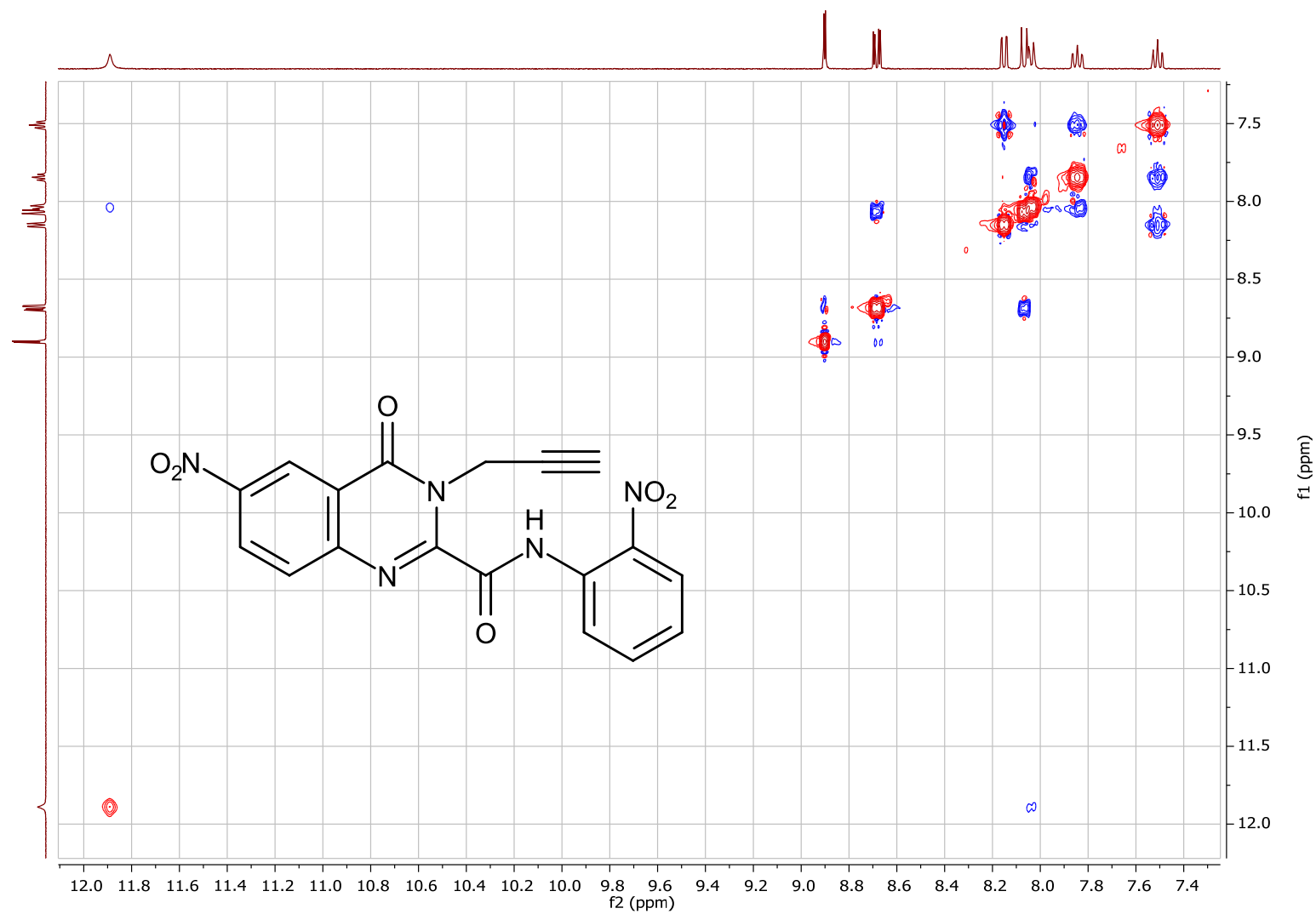
Tafel 14: 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

CL2; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide COSY/ DMSO



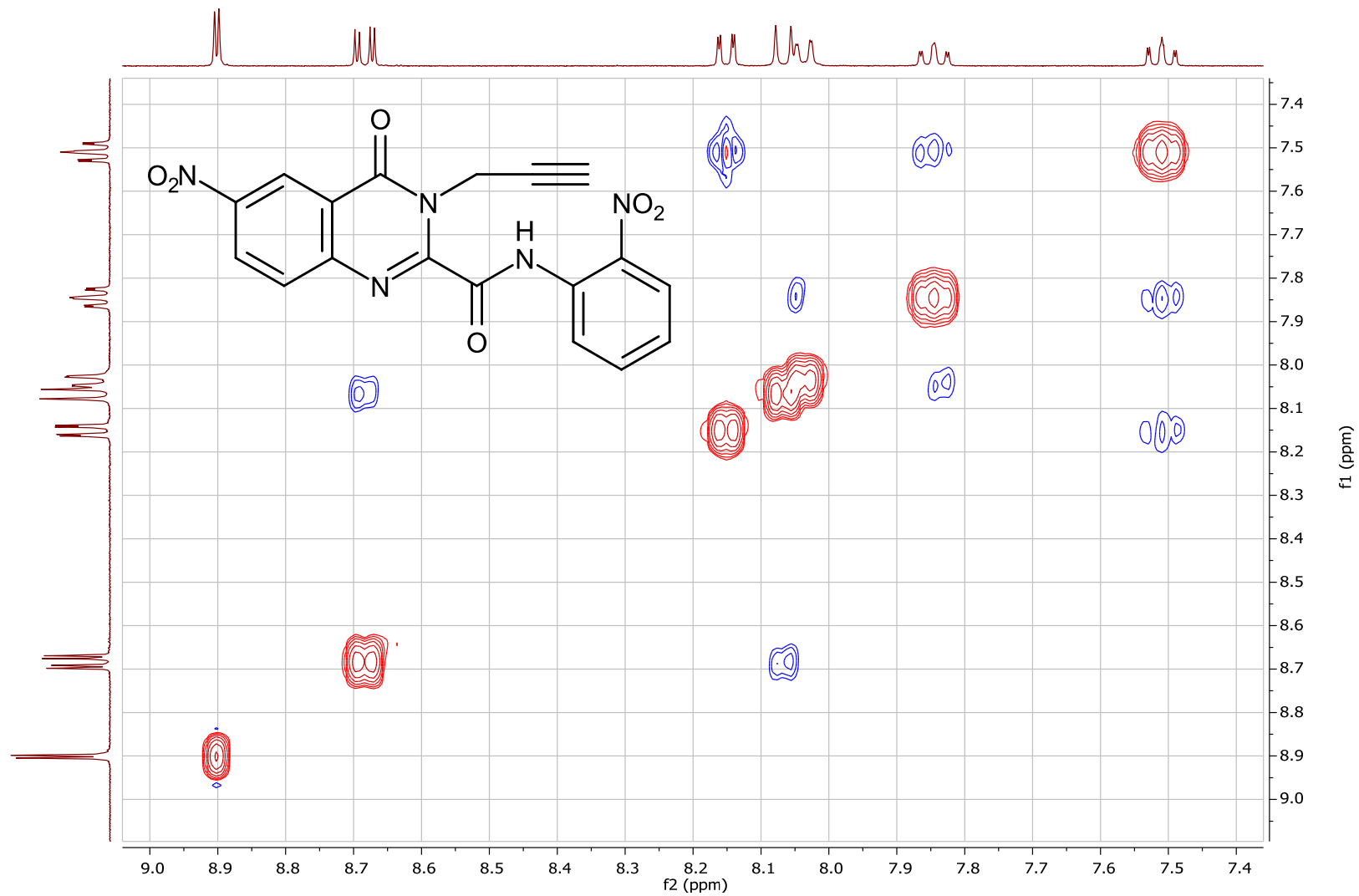
Tafel 15: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

CL2; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide NOESY/ DMSO

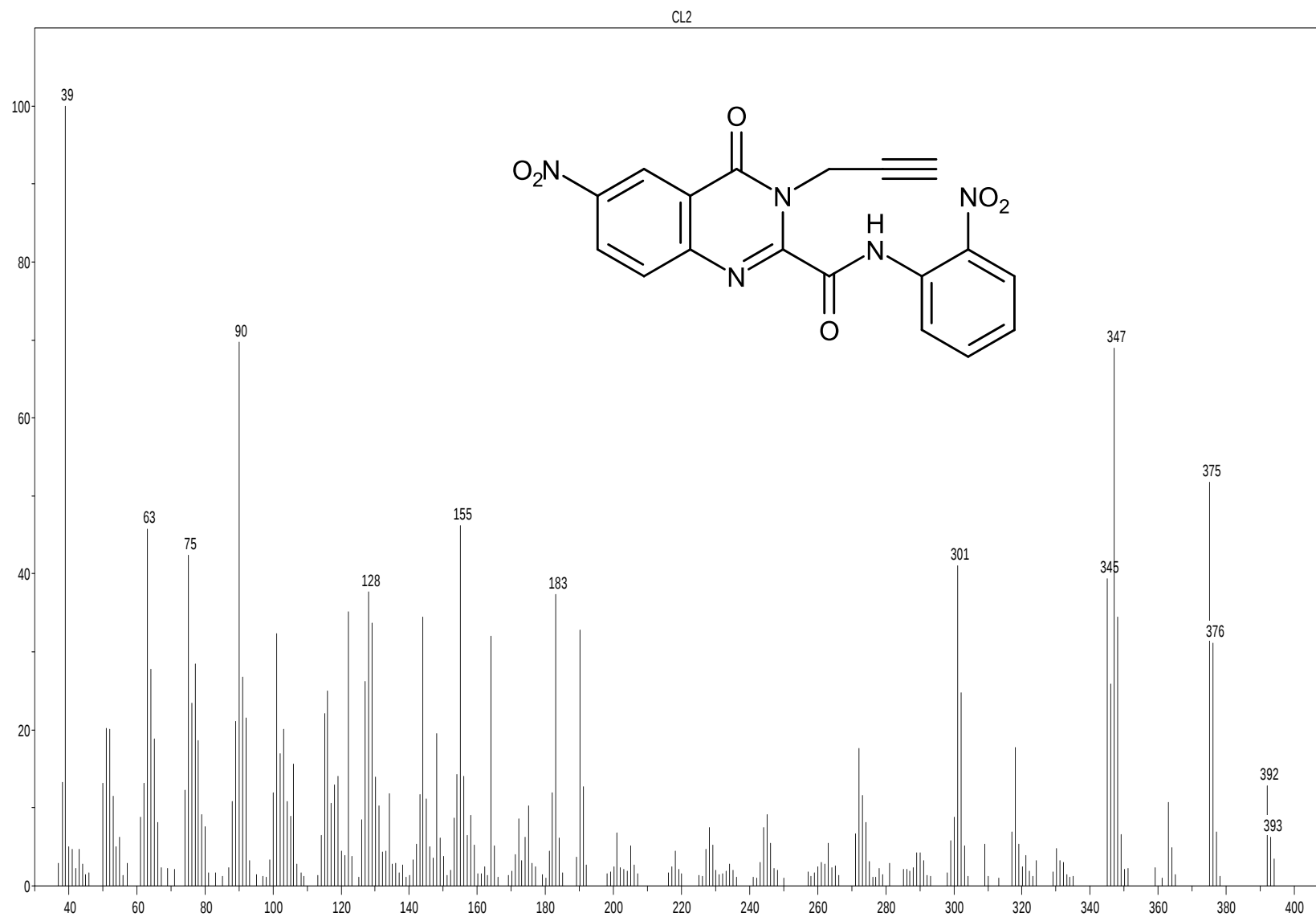


Tafel 16: 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

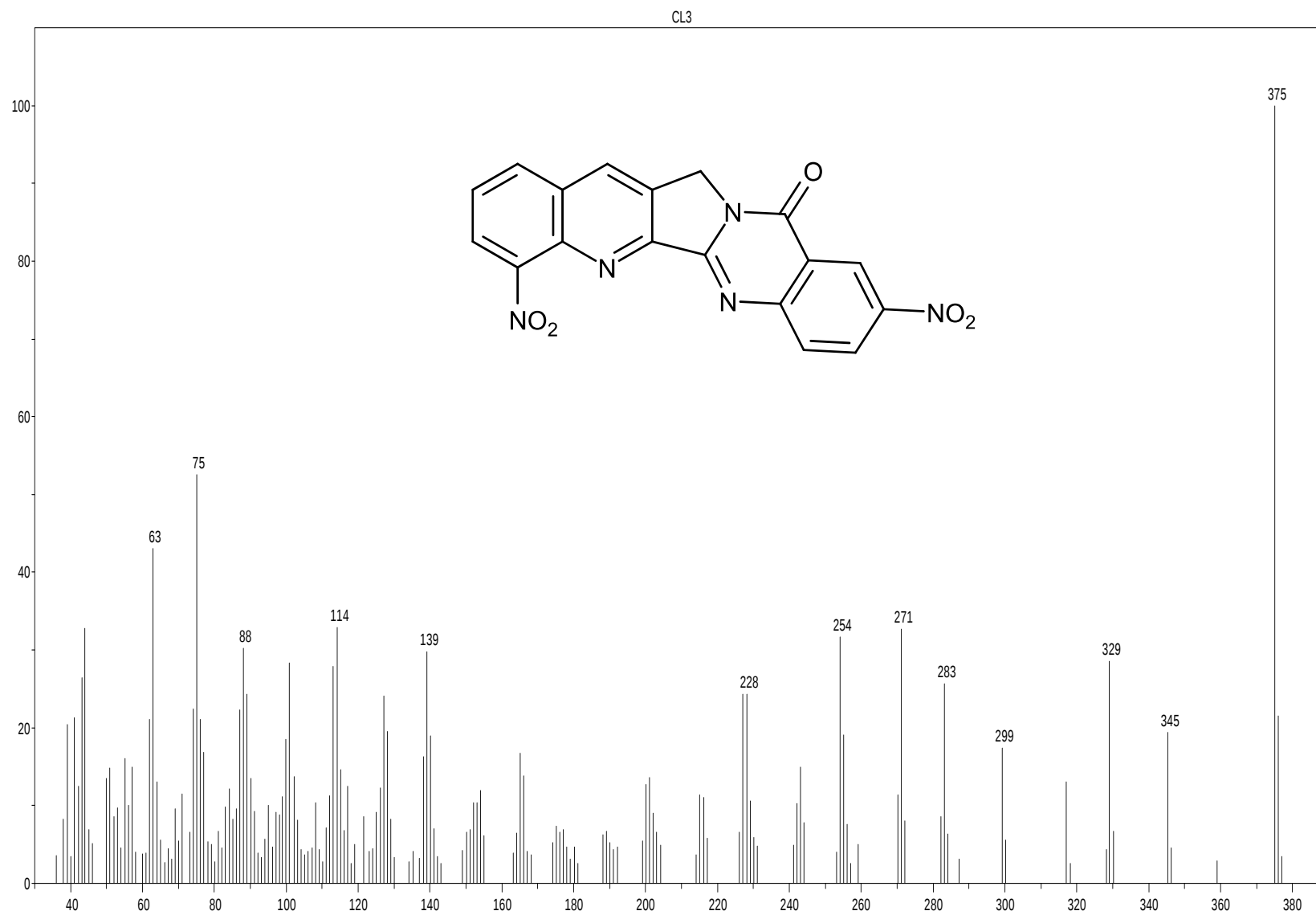
CL2; 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-yn-1-yl)-3,4-dihydroquinazoline-2-carboxamide NOESY/ DMSO



Tafel 17: 6-Nitro-N-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)

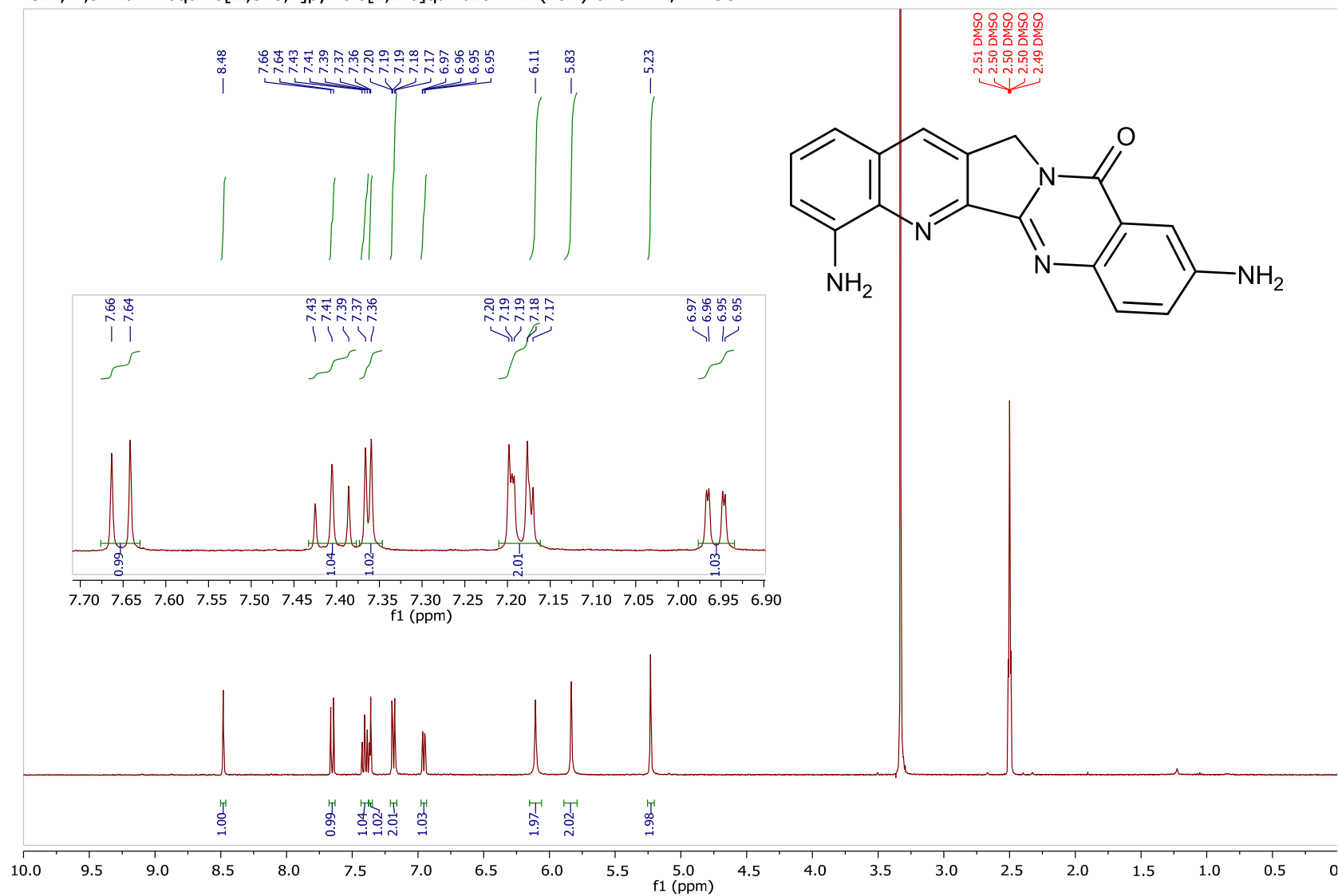


Tafel 18: 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3-(prop-2-in-1-yl)-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid (**4**)



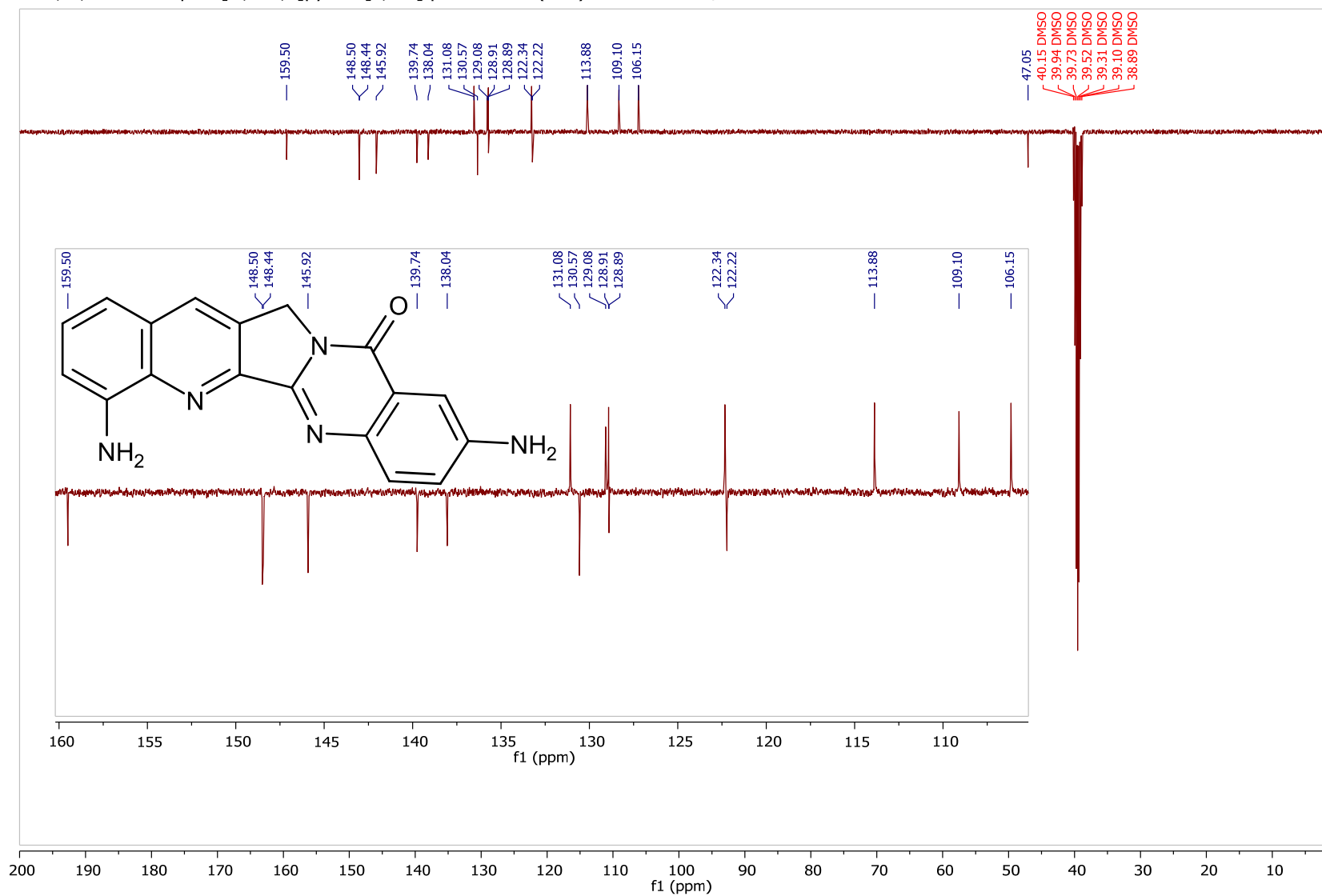
Tafel 19: 4,9-Dinitrochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (5)

CL4; 4,9-Diaminoquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one 1H / DMSO



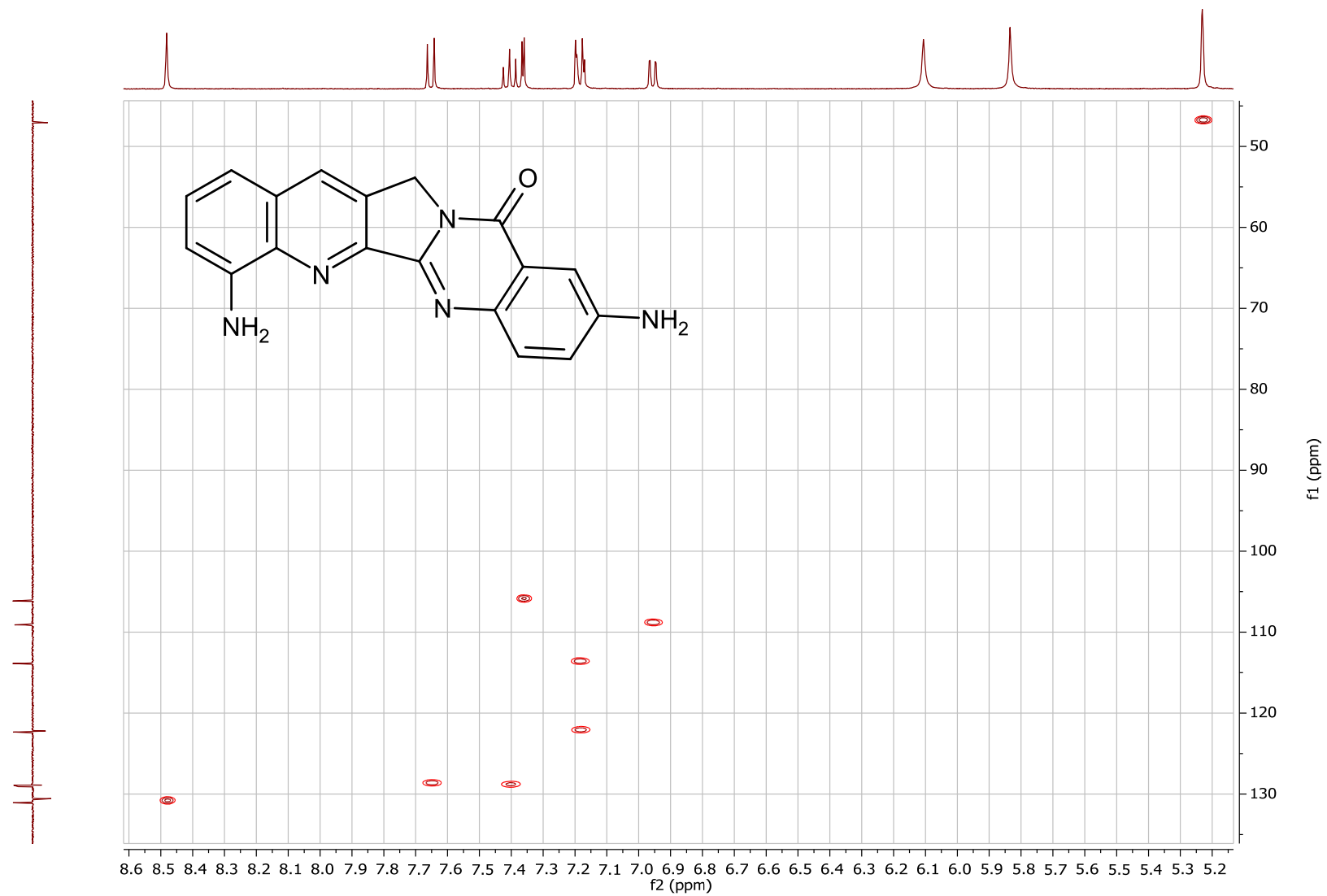
Tafel 20: 4,9-Diaminoquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

CL4; 4,9-Diaminoquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one C13APT / DMSO



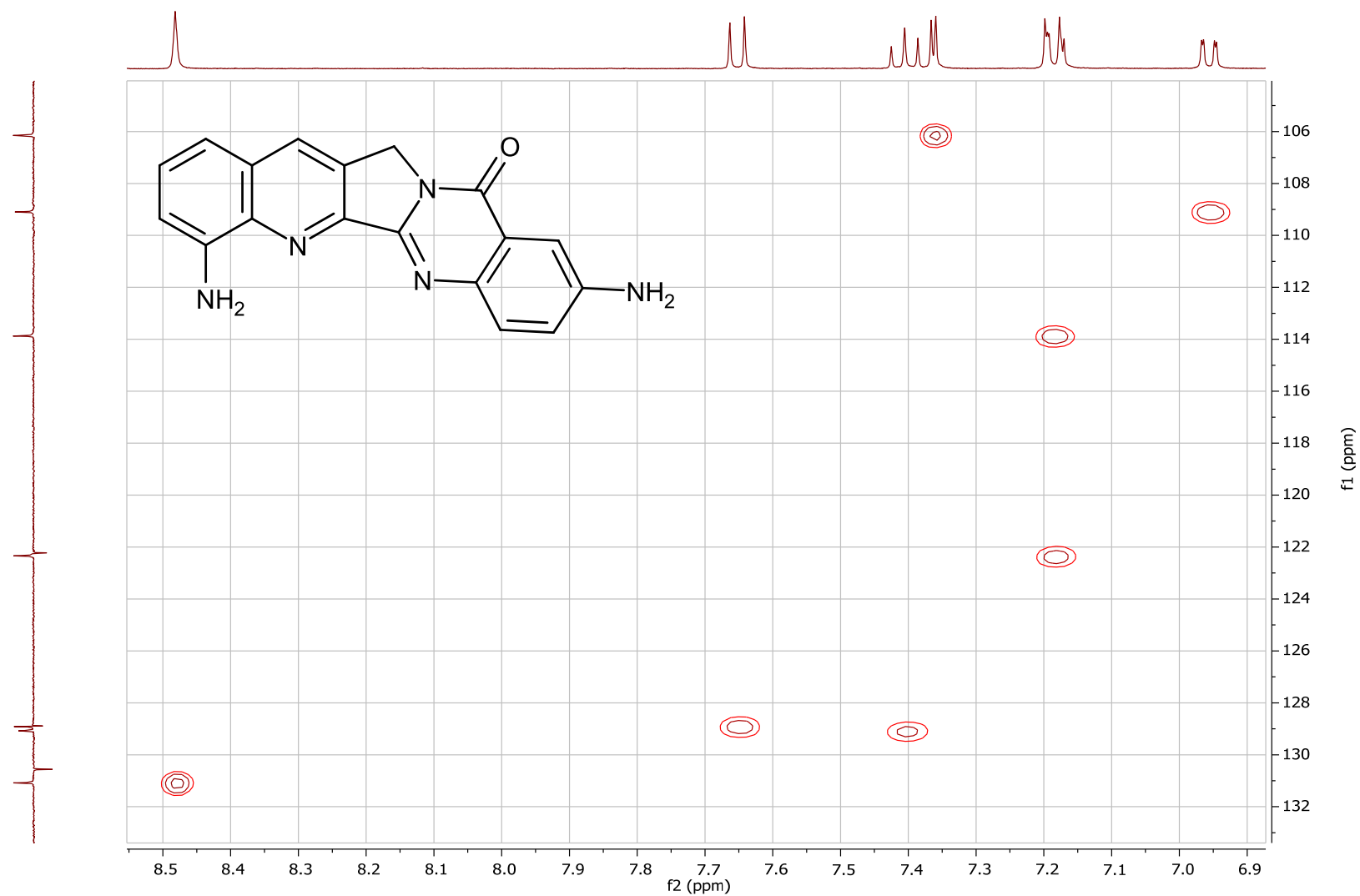
Tafel 21: 4,9-Diaminochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

CL4; 4,9-Diaminoquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO



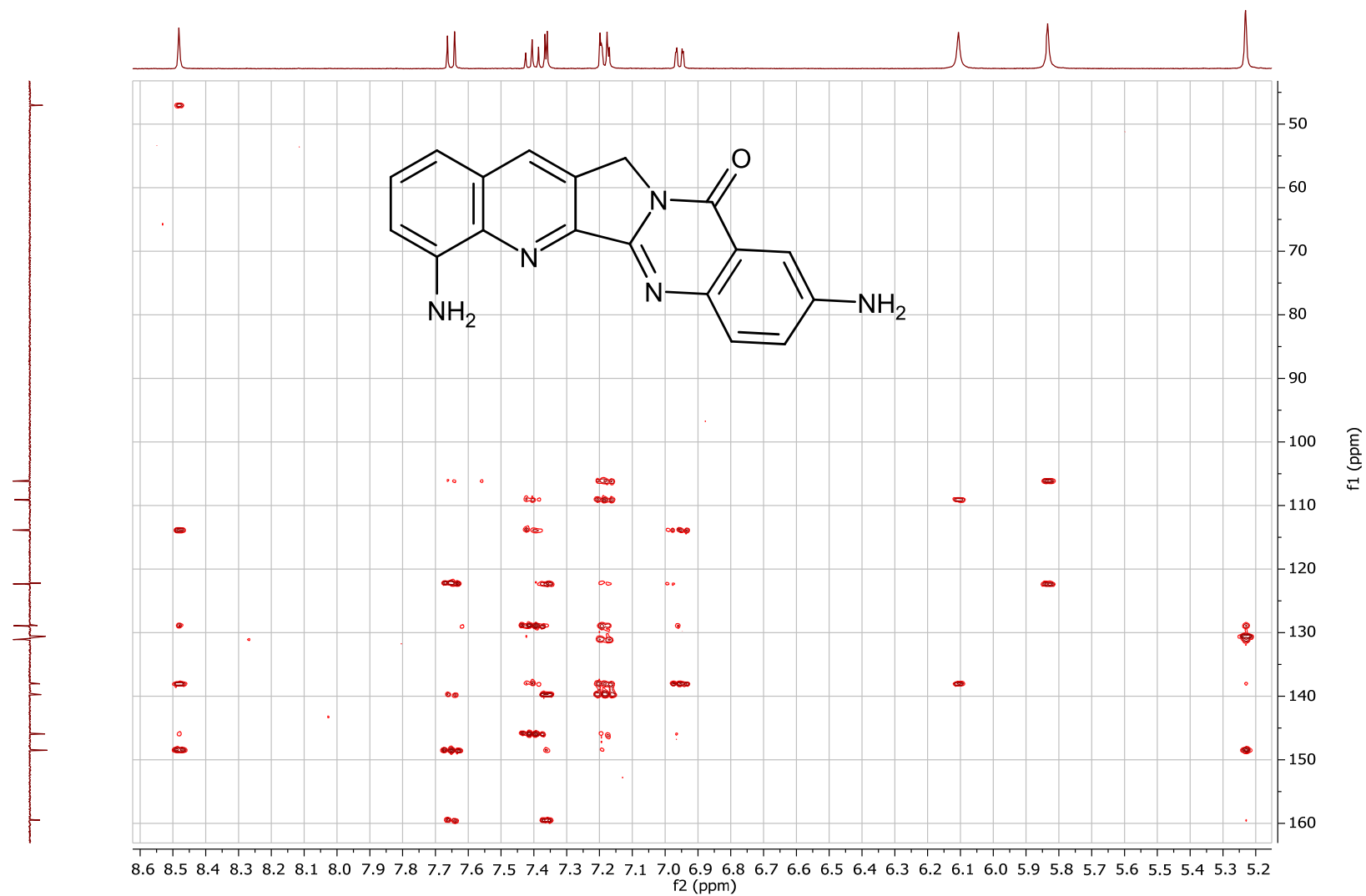
Tafel 22: 4,9-Diaminochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

CL4; 4,9-Diaminoquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HSQC / DMSO



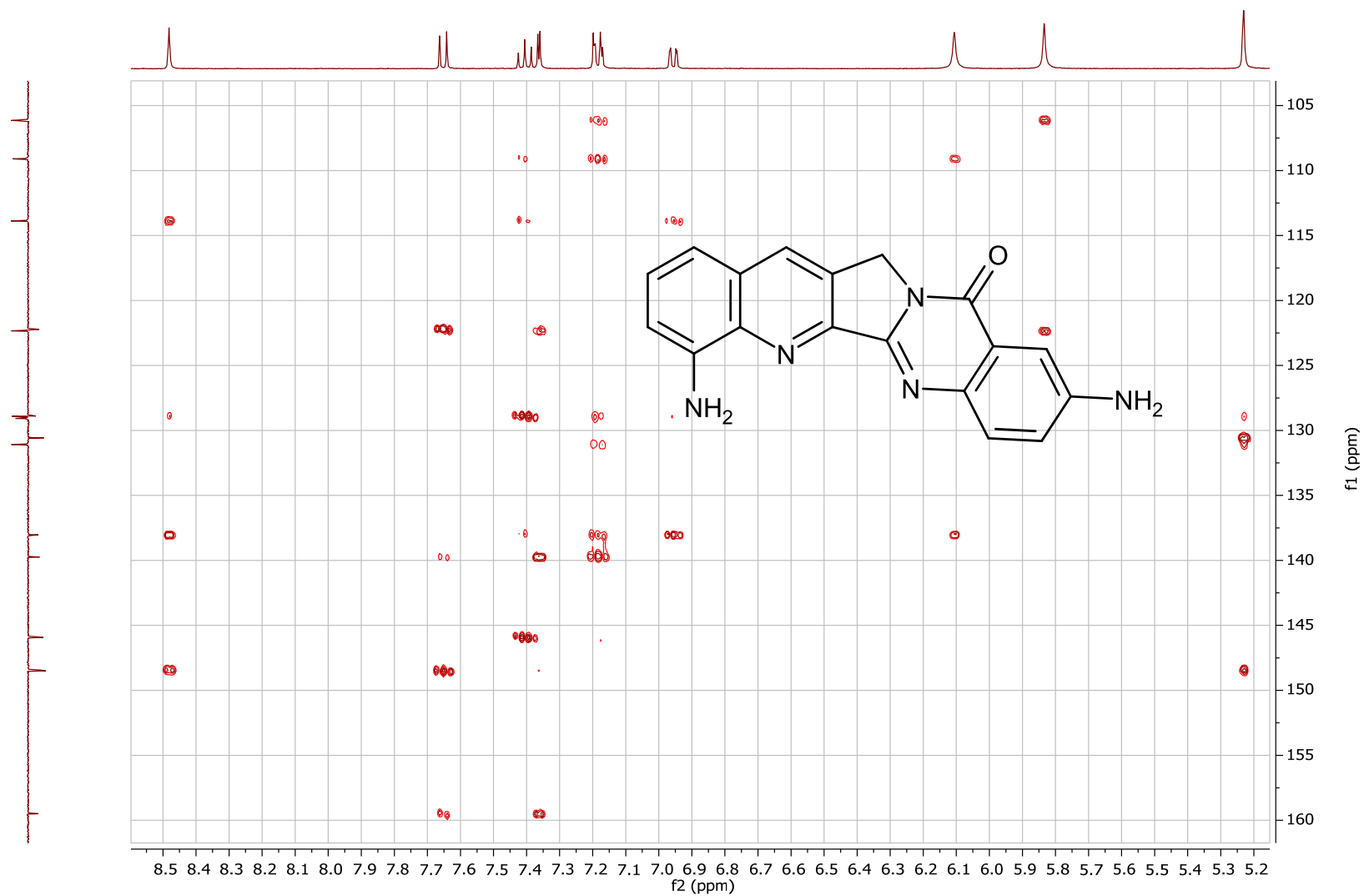
Tafel 23: 4,9-Diaminochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

CL4; 4,9-Diaminoquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HMBC / DMSO



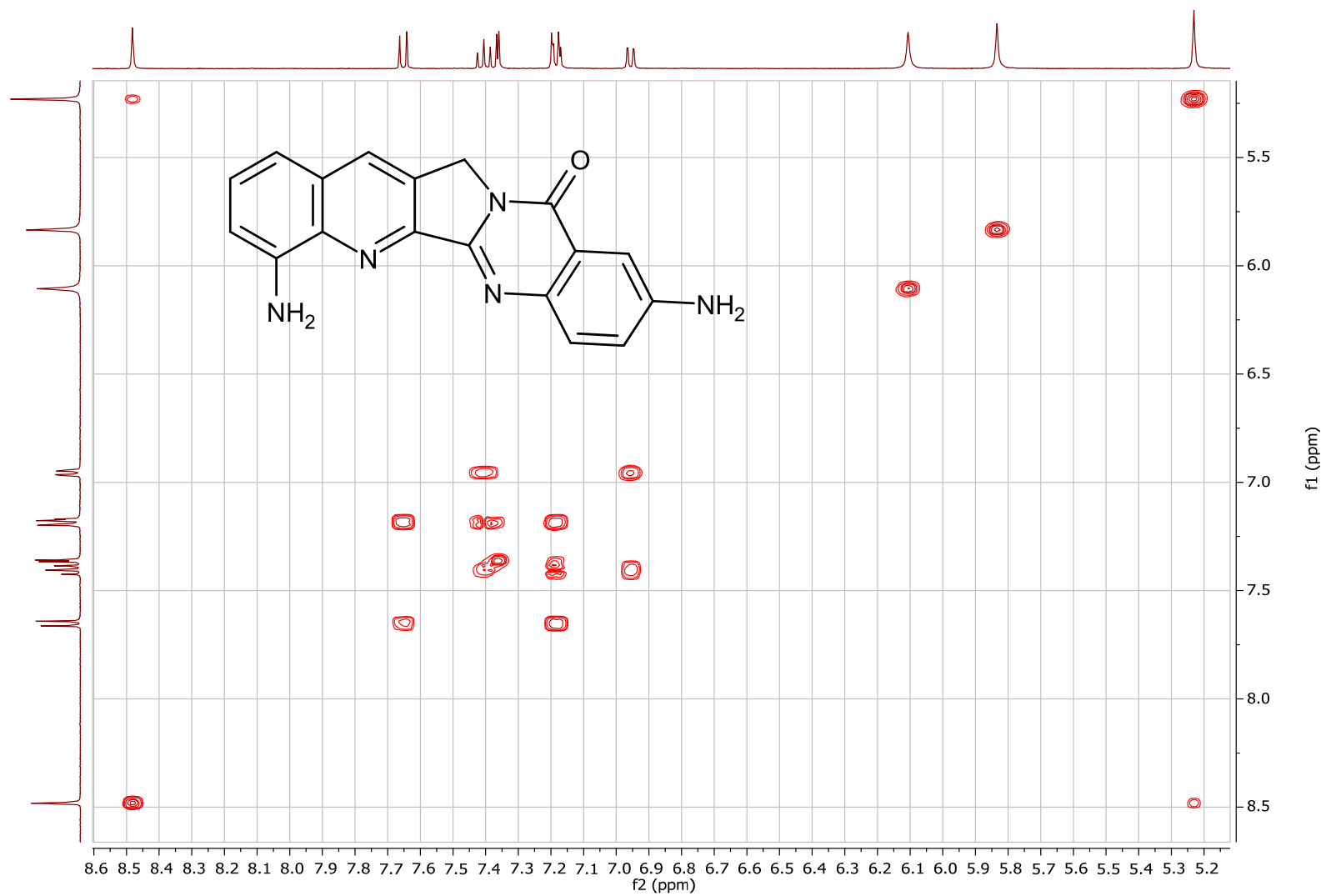
Tafel 24: 4,9-Diaminochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

CL4; 4,9-Diaminoquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one HMBC / DMSO



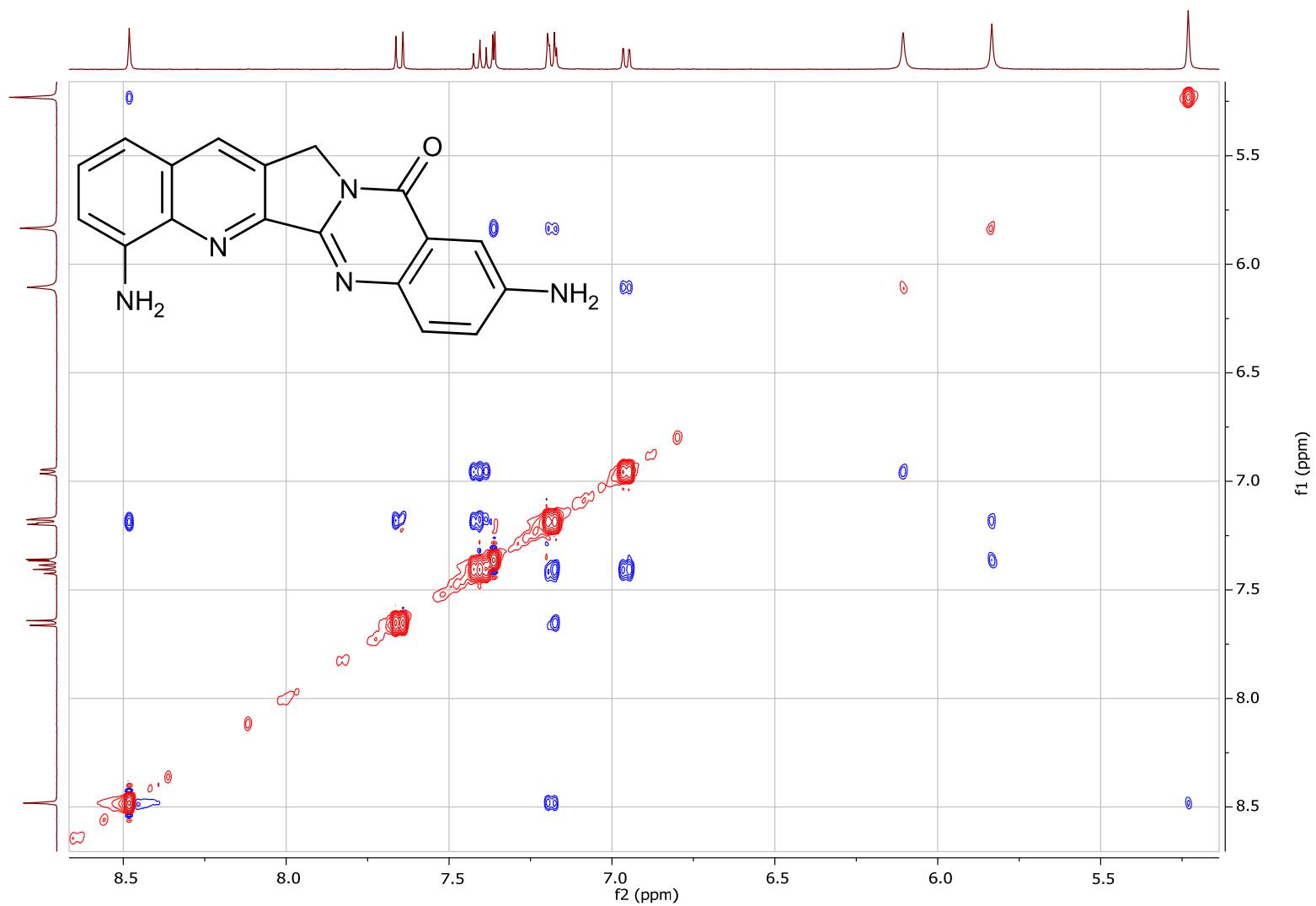
Tafel 25: 4,9-Diaminochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

CL4; 4,9-Diaminoquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one COSY / DMSO



Tafel 26: 4,9-Diaminochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

CL4; 4,9-Diaminoquino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]quinazolin-11(13H)-one NOESY / DMSO



Tafel 27: 4,9-Diaminochino[2',3':3,4]pyrrolo[2,1-b]chinazolin-11(13H)-on (6)

7.2 Zusammenfassung

In der vorliegenden Diplomarbeit konnte mit der Synthese von 4,9-Diamino-Luotonin A mit bereits bestätigter antiproliferativer Wirkung ein neues Ring-A- und Ring-E-modifiziertes Derivat des Naturstoffs Luotonin A zugänglich gemacht werden. Anlass für die vorliegende chemisch-synthetische Arbeit bildete die kürzlich beobachtete besonders vielversprechende zytotoxische Aktivität von 4-Amino-Luotonin A.

Für den Aufbau der Zielstruktur erwies sich die in der Arbeitsgruppe bereits bewährte „südliche Syntheseroute“ als geeignet, welche zuvor erfolgreich für die Synthesen anderer Luotonin-A-Derivate verwendet worden war. Ausgehend vom literaturbekannten Ethyl-6-nitro-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-3-carboxylat erfolgt die Darstellung von 6-Nitro-*N*-(2-nitrophenyl)-4-oxo-3,4-dihydrochinazolin-2-carboxamid durch Weinreb-Amidierung. Die Einführung eines Propargylrests stellt einen weiteren essentiellen Schritt dar, mit dem anschließend eine intramolekulare [4+2]-Cycloadditionsreaktion unter Einwirkung des Hendrickson-Reagens zum Aufbau des pentacyclischen Grundgerüsts ermöglicht wird. Der letzte Schritt der Synthesesequenz ist die selektive und schonende Reduktion der beiden Nitrogruppen zu den entsprechenden Aminofunktionen mittels katalytischer Transferhydrierung. Die Zielverbindung wurde wie sämtliche Zwischenprodukte mittels spektroskopischer Methoden umfassend charakterisiert.