

**Synthese
potenzieller Inhibitoren
des molekularen Chaperons
Hsp90**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Stephanie Richter

aus Herford

Düsseldorf 2011

aus dem Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie
der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent: Prof. Dr. T. Kurz

Koreferent: Prof. Dr. M. Kassack

Tag der mündlichen Prüfung: 13.01.2011

Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter Anleitung von

Frau Dr. Barbara Gioffreda

am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie
der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Thomas Kurz sehr herzlich für die Erstellung des Erstgutachtens.

Herrn Prof. Dr. Matthias Kassack danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Tumorerkrankungen	1
1.1.1	Bedeutung	1
1.1.2	Krebsentstehung	1
1.1.3	Eigenschaften von Krebszellen	2
1.1.4	Krebs-Therapien	3
1.1.4.1	Arzneistoffe in der Tumorthherapie	4
1.1.4.1.1	Mitosehemmstoffe	4
1.1.4.1.2	DNA-modifizierende Wirkstoffe	4
1.1.4.1.3	DNA-interkalierende Wirkstoffe	5
1.1.4.1.4	Antimetabolite	5
1.1.4.1.5	Topoisomerase-Hemmstoffe	6
1.1.4.1.6	Hormone und Hormon-Rezeptorantagonisten	7
1.1.4.1.7	Sonstige Zytostatika	7
1.1.4.2	Gezielte Krebstherapie	8
1.1.4.2.1	Tyrosinkinase-Inhibitoren	9
1.1.4.2.2	Monoklonale Antikörper	9
1.1.4.2.3	Histon-Desacetylase-Inhibitoren	9
1.2	Hsp90 als neues molekulares Target	9
1.2.1	Hitzeschock-Proteine	9
1.2.2	Hsp90	10
1.2.3	Struktur des humanen Hsp90	12
1.2.4	Hsp90-Chaperon-Komplexe	14
1.2.5	Bekannte Inhibitoren von Hsp90	15
1.2.5.1	Naturstoffe	15
1.2.5.2	Synthetische Inhibitoren	16
1.2.5.3	Inhibitoren der C-terminalen ATP-Bindungstasche	19
1.2.5.4	Weitere Hsp90-Inhibitoren	20

1.3	Weitere Schwerpunkte der Forschung	20
2	Problemstellung und Zielsetzung der Arbeit	22
3	Entwicklung neuartiger Hsp90-Inhibitoren.....	23
3.1	Design	23
3.2	Docking der neuen potenziellen Liganden.....	25
4	Synthese-Planung	30
4.1	Synthesen in der Literatur	30
4.1.1	Molekülregion A.....	30
4.1.1.1	Chinazoline als Arzneistoffe	30
4.1.1.2	Synthese von 4-Amino-2(1H)-chinazolinonen	31
4.1.1.3	Synthese von 2,4(1H,3H)-Chinazolindionen	32
4.1.2	Linker-Region	33
4.1.2.1	Synthese von Diarylsulfonen	33
4.1.2.2	Synthese von Diarylmethanen	33
4.1.2.3	Synthese von Benzoylchinazolinonen	34
4.2	Synthese-Strategie	35
5	Synthese.....	37
5.1	Vorversuche	37
5.1.1	Synthese von 4-Aminochinazolinon	37
5.2	4-Amino-6-(arylthio)chinazolinone	39
5.2.1	Synthese der Vorstufen	40
5.2.1.1	Synthese von 4-Amino-6-iodchinazolinon	40
5.2.1.2	Analytik der Vorstufen	41
5.2.2	Synthese von 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinonen	43
5.2.2.1	Umsetzung ohne Schutzgasatmosphäre.....	44
5.2.2.2	Umsetzung unter Argonatmosphäre	45
5.2.2.3	Variationen der Versuchsbedingungen	46
5.2.3	Analytik der 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinone	48
5.2.4	Strukturaufklärung	51

5.2.4.1	IR-Spektroskopie	52
5.2.4.2	NMR-Spektroskopie.....	53
5.3	4-Amino-6-(arylsulfonyl)chinazolinone	56
5.3.1	Synthese	56
5.3.2	Analytik	58
5.4	4-Amino-6-benzoylchinazolinone	60
5.4.1	Syntheseweg A 1	61
5.4.2	Syntheseweg B1	64
5.4.3	Syntheseweg B2	65
5.4.3.1	Friedel-Crafts-Acylierung zu 4-Nitrobenzophenonen	66
5.4.3.2	Reduktion zu 4-Aminobenzophenonen	68
5.4.3.3	Halogenierung und Cyanierung der 4-Aminobenzophenone	69
5.4.3.3.1	Chlorierung und Bromierung der 4-Aminobenzophenone	69
5.4.3.3.2	Versuch der Cyanierung von 4-Amino-3-brombenzophenon.....	71
5.4.3.3.3	Iodierung der 4-Aminobenzophenone	72
5.4.3.3.4	Cyanierung von 4-Amino-3-iodbenzophenon	74
5.4.3.4	Synthese von 4-Amino-6-benzoylchinazolinonen	76
5.4.3.5	Analytik von 4-Amino-6-benzoylchinazolinonen.....	76
5.5	4-Amino-6-benzylchinazolinone	81
5.5.1	Reduktion der Carbonylfunktion.....	81
5.5.1.1	Versuche zur Reduktion von 4-Amino-6-benzoylchinazolinonen ..	82
5.5.1.2	Versuche zur Reduktion der Vorstufen	82
5.5.1.2.1	Reduktion von 4-Aminobenzophenonen.....	83
5.5.2	Iodierung der 4-Aminodiphenylmethan-Derivate	84
5.5.3	Cyanierung und Zyklisierung	86
5.6	Chinazolindione	88
5.6.1	Synthese	88
5.6.2	Analytik	90
6	Bestimmung der <i>in vitro</i>-Zytotoxizität.....	93

6.1	Ergebnisse der <i>in vitro</i> -Zytotoxizitätsbestimmungen	93
6.1.1	MTT-Test.....	93
6.1.2	NCI60-Tumorzell-Screening	94
6.1.3	Bewertung der Testergebnisse.....	95
7	Zusammenfassung	96
7.1	Darstellung der Zielverbindungen.....	96
7.2	<i>In vitro</i> - Aktivität	99
8	Summary	100
8.1	Synthesis	100
8.2	Cytotoxicity	103
9	Experimenteller Teil.....	104
9.1	Geräteverzeichnis.....	104
9.2	Allgemeine Arbeitsvorschriften	106
9.3	HPLC-Methode zur Reinheitsbestimmung	109
9.4	Bestimmung der Zytotoxizität	110
9.4.1	MTT-Test.....	110
9.4.2	NCI60-Tumorzell-Screening	111
9.5	Darstellung literaturbekannter Substanzen.....	113
9.6	Darstellung und Charakterisierung der Substanzen	116
10	Abkürzungsverzeichnis	167
11	Literaturverzeichnis	170
12	Danksagung	180
13	Lebenslauf	181

1 Einleitung

1.1 Tumorerkrankungen

1.1.1 Bedeutung

Krebserkrankungen stellen nach den Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache in Deutschland dar. So waren alleine im Jahr 2008 25 % aller Todesfälle auf eine Krebserkrankung zurückzuführen. Jedes Jahr werden in Deutschland über 420 000 Neuerkrankungen und über 200 000 Todesfälle registriert¹.

Vergleicht man den Anteil der Krebstoten an der Gesamtzahl der Todesfälle in Industrieländern mit ihrer Anzahl in Entwicklungsländern, so ist ein deutlicher Unterschied erkennbar. In Europa verzeichnete die WHO für 2004 gut 20 % der Todesfälle als krebsbedingt, wohingegen im gleichen Zeitraum in Afrika nur 4 % an Tumorerkrankungen starben. Weltweit gibt die WHO die Zahl der Krebstoten im Jahr 2004 mit 7,4 Millionen an, was 13 % aller Todesfälle entspricht².

1.1.2 Krebsentstehung

Der Begriff "Tumor" steht allgemein für Gewebeneubildungen. Diese werden in benigne und maligne Wucherungen unterteilt, wovon nur die malignen Veränderungen als Krebs bezeichnet werden. Krebs unterscheidet sich von gutartigen Tumoren durch 3 Merkmale: Er ist infiltrierend, destruierend und metastasierend. Tumore, die nicht alle 3 Merkmale erfüllen, werden als semimaligne klassifiziert. Aber auch gutartige Tumore können Komplikationen auslösen, wenn sie durch ihr Wachstum umliegende Körperregionen beeinflussen, indem sie zum Beispiel wichtige Gefäße verdrängen und dadurch verschließen.

Den Auslöser einer Krebserkrankung zu identifizieren ist so gut wie unmöglich. Oft liegen zwischen der Schädigung einer einzelnen Zelle und einer Krebsdiagnose mehrere Jahre oder Jahrzehnte. Es sind aber viele exogene Noxen bekannt, die zu einer Tumorentwicklung beitragen können. Dazu gehören mutagene Röntgen- und Gammastrahlung ebenso wie viele chemische Substanzen. Dazu zählen zum Beispiel Chrom(VI)-Verbindungen, β -Naphthylamine und Aflatoxin B1. Auch

Virusinfektionen können Krebs hervorrufen. Das Hepatitis-B- und das humane Papilloma-Virus (HPV) sind als Auslöser von Leberkrebs bzw. von Zervixkarzinomen bekannt. Eine Infektion mit diesen Viren führt jedoch nicht zwangsläufig zu Tumorerkrankungen.

1.1.3 Eigenschaften von Krebszellen

Krebszellen unterliegen nicht den üblichen Beschränkungen der Zellteilung, sondern weisen eine erhöhte Wachstumsrate auf. Hanahan et al.³ postulierten im Jahr 2000 sechs funktionelle Merkmale ("Hallmarks of Cancer"), die nahezu jede Krebsart im Laufe ihrer Entwicklung erwirbt:

- (1) Inhibition der Apoptose,
- (2) permanentes Empfangen von Wachstumssignalen,
- (3) Resistenz gegen wachstumshemmende Signale,
- (4) Metastasierung und Eindringen in fremde Gewebe,
- (5) unbegrenzte Teilungsfähigkeit und
- (6) erhöhte Angiogenese.

Somit wird deutlich, dass eine einzelne Mutation im Erbgut der Zelle noch nicht zu einer Krebserkrankung führt. Tatsächlich sind viele Veränderungen notwendig, damit eine Zelle die oben genannten Fähigkeiten entwickelt. Bei einem Vergleich des Genoms eines malignen Melanoms mit dem Genom gesunder Zellen desselben Patienten zeigten sich über 33 000 Veränderungen im Erbgut⁴. Davon waren allerdings nur 182 auf codierenden DNA-Abschnitten zu finden.

In einer gesunden Zelle greifen viele Regulationsmechanismen ineinander, die Veränderungen im Genom verhindern sollen. Es ist eine Vielzahl von Genen bekannt, die einen Einfluss auf Wachstum, Teilung und Differenzierung von Zellen haben. Gene, die einen hemmenden Effekt auf eine Krebsentwicklung ausüben, werden als Tumorsuppressor-Gene bezeichnet. Unterstützen dagegen Genprodukte eine Tumorbildung, spricht man von Proto-Onkogenen. Übermäßiges Zellwachstum kann sowohl durch Ausschalten von Tumorsuppressor-Genen als auch durch eine Überexpression von Proto-Onkogenen begünstigt werden. Diese werden dann als Onkogene bezeichnet. Wird die Regulation der Apoptose von Gen-Mutationen

beeinflusst, so kann sich die mutierte Zelle, anstatt zugrunde zu gehen, weiter vermehren und so zum Ausgangspunkt eines Krebsgeschehens werden.

Viele Krebszellen zeigen eine Mutation im Gen *p53*. Dieses gehört zu den Tumorsuppressor-Genen und spielt eine wichtige Rolle im Zellzyklus. Das von ihm kodierte Protein p53 ist in gesunden Zellen nur in geringen Mengen vorhanden und wird schnell abgebaut. Kommt es jedoch zu Schäden am DNA-Strang, wird das Protein stabilisiert und seine Konzentration in der Zelle erhöht sich. Dadurch werden über die Aktivierung von p21, einem Inhibitor von Cyclin-abhängigen Kinasen, der Zellzyklus in der G₁-Phase gestoppt und DNA-Reparaturmechanismen aktiviert. Bei zu großen Schäden am Erbgut induziert p53 den Zelltod. Mutationen im Gen *p53* können zum Funktionsverlust des Proteins führen. Es ist aber auch möglich, dass sich das Tumorsuppressor-Gen in ein Onkogen verwandelt und selbst cancerogenes Potential entwickelt⁵. Es wurde nachgewiesen, dass mutiertes p53, anders als der Wildtyp, durch Hsp90, ein Chaperon des Cytoplasmas, stabilisiert werden muss. Eine Inaktivierung des Hsp90 führt zu verminderter Expression der p53-Mutante^{5,6}, wodurch Wachstum und Apoptose der Zellen beeinflusst werden.

1.1.4 Krebs-Therapien

Die Überlebensprognose bei Krebserkrankungen ist sehr von der Art der Erkrankung abhängig. So ist die 5-Jahres-Überlebensrate* bei Bauchspeicheldrüsenkrebs in Deutschland mit 3 bis 8 % sehr gering, während der Wert bei Darmkrebs zwischen 53 und 63 % liegt. Hodenkrebs weist eine 5-Jahres-Überlebensrate von 95 % auf⁷. Allgemein gilt Krebs als geheilt, wenn 5 Jahre nach erfolgreicher Behandlung kein Rückfall beobachtet wird. Bei Brustkrebs wird dieser Zeitraum auf 10 Jahre ausgedehnt, da oft erst nach langer tumorfreier Zeit Rezidive beobachtet werden.

Um Krebs zu heilen ist es notwendig, alle entarteten Zellen aus dem Körper zu entfernen. Dies kann durch operative Entfernung der Geschwulst, Bestrahlung oder medikamentöse Behandlung (Chemotherapie) geschehen. Oftmals werden die Behandlungsarten miteinander kombiniert.

* = Prozentzahl der Patienten, die 5 Jahre nach Diagnosestellung noch leben

Ist eine endgültige Heilung nicht möglich, dient die Behandlung einer Verlängerung der Lebenszeit der Betroffenen. Zusätzlich werden palliative Maßnahmen ergriffen, um die Lebensqualität der Patienten so gut wie möglich zu erhalten.

1.1.4.1 Arzneistoffe in der Tumorthherapie

Zytostatika sollen die Vermehrung von Karzinomzellen verhindern und in den Zellen die Apoptose einleiten. Man kann sie nach ihrem Wirkmechanismus in verschiedene Klassen einteilen.

1.1.4.1.1 Mitosehemmstoffe

Durch eine Blockade der Mitose wird der Zellzyklus angehalten und somit die Teilung einer Zelle verhindert. Vinca-Alkaloide und ihre halbsynthetischen Derivate stören den Aufbau der Kernspindel durch einen Angriff am Tubulin. Dort wirken auch die Taxane, welche jedoch den Abbau des Tubulusapparates hemmen.

Substanzklasse	Wirkstoffe
Vinca-Alkaloide	Vinblastin, Vincristin, Vindesin, Vinorelbin
Taxane	Paclitaxel, Docetaxel

Tabelle 1: Mitosehemmstoffe

1.1.4.1.2 DNA-modifizierende Wirkstoffe

Alkylantien und Platinverbindungen greifen direkt am DNA-Strang einer Zelle an. Strukturell bilden die Alkylantien eine sehr heterogene Gruppe. Der Wirkmechanismus beruht jedoch auf dem gleichen Prinzip. Alkylantien greifen an nucleophilen Zentren der DNA-Basen an und können die DNA-Einzelstränge miteinander vernetzen. Aufgrund ihres Wirkungsmechanismus ist bei den Alkylantien keine Selektivität bezüglich des Wirkortes gegeben. Auch die Einführung von Prodrugs wie den Oxaphosphinanen brachte in dieser Hinsicht keine Besserung.

Platin-Verbindungen sind ebenso wie einige Alkylantien in der Lage, DNA-Stränge miteinander zu vernetzen, bilden die Verbindungen aber bevorzugt innerhalb eines Einzelstranges aus. Die Wirkform ist hier ein vor allem intrazellulär entstehender

elektrophiler Aquo-Komplex, der ebenfalls an nucleophilen Zentren der DNA-Basen angreift.

Substanzklasse	Wirkstoffe
N-Lost-Derivate	Chlormethin, Chlorambucil, Melphalan
Oxaphosphinane	Cyclophosphamid, Ifosfamid, Trofosfamid
Methansulfonsäureester	Busulfan, Treosulfan
N-Nitrosoharnstoff-Derivate	Carmustin, Lomustin, Nimustin
Hydrazin-Derivate	Procarbazin, Dacarbazin, Temozolomid
Platin-Verbindungen	Cisplatin, Carboplatin, Oxaliplatin
Verschiedene	Thiotepa, Mitomycin C, Estramustin

Tabelle 2: DNA-modifizierende Wirkstoffe

1.1.4.1.3 DNA-interkalierende Wirkstoffe

Um zwischen die Basen der DNA zu gelangen, müssen die Wirkstoffe eine planare Struktur aufweisen. Sie werden nicht-kovalent von der DNA gebunden und durch flexible hydrophile Seitenketten an den Phosphat-Gruppen der Helix verankert. So wird das Ablesen der DNA verhindert und die Proteinbiosynthese blockiert. Bis auf die synthetisch hergestellten Wirkstoffe Mitoxantron und Amsacrin handelt es sich um Antibiotika, die aus *Streptomyces*-Arten isoliert werden.

Substanzklasse	Wirkstoffe
Anthracycline	Daunorubicin, Doxorubicin, Epirubicin, Idarubicin
weitere Antibiotika	Dactinomycin, Bleomycin A ₂ , Bleomycin B ₂
Trizyklen	Mitoxantron, Amsacrin

Tabelle 3: DNA-interkalierende Wirkstoffe

1.1.4.1.4 Antimetabolite

Natürliche Stoffwechselbausteine werden durch Wirkstoffe dieser Substanzklasse verdrängt, wodurch die DNA- und RNA-Synthese sowie die DNA-Replikation beeinträchtigt werden.

Falsche DNA- und RNA-Bausteine werden in Form von Basen- und Nukleosid-Analoga in die Zelle eingebracht. Diese werden entweder direkt in die Stränge eingebaut oder hemmen weitere Enzyme der Zelle. So verhindert das aus Fluorouracil gebildete 5-Fluor-2'-desoxyuridin-monophosphat (FdUMP) die Thymidinsynthese, da FdUMP nicht durch die Thymidilat-Synthase umgesetzt werden kann. Die Nukleosid-Analoga Tegafur und Capecetabin stellen Prodrugs von Fluorouracil dar.

Folsäure-Antimetabolite hemmen die Dihydrofolat-Reduktase und verhindern so die Bildung von Tetrahydrofolsäure (THF). Diese ist ein wichtiger Kohlenstoff-Überträger für die Synthese methylierter Purin- und Pyrimidin-Basen.

Substanzklasse	Wirkstoffe
Pyrimidin-Basen-Analoga	Fluorouracil
Pyrimidin-Nukleosid-Analoga	Cytarabin, Gemcitabin, Tegafur, Capecitabin
Purin-Basen-Analoga	Mercaptopurin, Azathioprin, Thioguanin
Purin-Nukleosid-Analoga	Fludarabin, Cladribin, Pentostatin
Folsäure-Analoga	Methotrexat

Tabelle 4: Antimetabolite

1.1.4.1.5 Topoisomerase-Hemmstoffe

Die DNA liegt im Zellkern als Superhelix vor. Um sie für die Proteinbiosynthese ablesen zu können, verursachen Topoisomerasen gezielte Strangbrüche und verknüpfen die Stränge anschließend wieder. Aufgrund der starken Verdrillung der Superhelix wäre ohne die Topoisomerasen ein hoher Energieaufwand für die Trennung der Einzelstränge notwendig. Die Topoisomerase I führt zu Einzelstrangbrüchen, wohingegen die Topoisomerase II beide Stränge der DNA durchtrennt. Hemmstoffe der Enzyme greifen am DNA-Topoisomerase-Komplex an und verhindern die erneute Verknüpfung der unterbrochenen Stränge.

Substanzklasse	Wirkstoffe
Topoisomerase I-Hemmer	Camptothecin, Topotecan, Irinotecan
Topoisomerase II-Hemmer	Etoposid, Teniposid

Tabelle 5: Topoisomerase-Hemmstoffe

1.1.4.1.6 Hormone und Hormon-Rezeptorantagonisten

Ist das Wachstum von Tumoren hormonabhängig, so können zur Therapie Hormone und Hormon-Rezeptorantagonisten eingesetzt werden. Außerdem kommen Hemmstoffe der Estrogenbiosynthese (Aromatase-Hemmstoffe) zur Anwendung. Bei der additiven Therapie werden meist gegengeschlechtliche Hormone verabreicht, die in den hormonellen Regelkreis eingreifen. Unter ablativer Therapie versteht man die Unterdrückung der Hormonproduktion. Die Behandlung mit Hormonantagonisten wird als kompetitive Therapie bezeichnet.

Substanzklasse	Wirkstoffe
GnRH-Agonisten	Buserelin, Leuprorelin, Triptorelin, Goserelin
Estrogene	Fosfestrol, Estramustin
Antiestrogene	Clomifen, Tamoxifen, Toremifen
Aromatasehemmer	Formestan, Exemestan, Aminogluthethimid, Letrozol, Anastrozol
Gestagene	Megestrolacetat, Medroxyprogesteronacetat
Antigestagene	Mifepriston
Androgen-Rezeptorantagonisten	Cyproteron, Flutamid, Bicalutamid
5 α -Reduktase-Hemmer	Finasterid, Dutasterid

Tabelle 6: Hormone und Hormon-Rezeptorantagonisten

1.1.4.1.7 Sonstige Zytostatika

Verschiedene Tumorzellarten sind auf die Zufuhr von Asparagin angewiesen, so dass durch Gabe von Asparaginase eine Wachstumshemmung beobachtet wird.

Hydroxyharnstoff blockiert den Übergang der Zellen von der G₁- in die S-Phase durch Hemmung der Ribonukleotid-Diphosphat-Reduktase.

Miltefosin wird als synthetisches Phospholipid in Zellmembranen eingelagert und greift in zelluläre Transport- und Stoffwechselprozesse ein.

Retinoide beeinflussen durch Bindung an RAR- bzw. RXR-Rezeptoren die Transkription von Genen für Zellwachstum und Differenzierung.

Den meisten genannten Stoffen ist gemeinsam, dass sie störend in den Zellzyklus eingreifen und dadurch die Tumorzelle schädigen. Allerdings ist auch gesundes Gewebe betroffen, da die Arzneistoffe nicht spezifisch auf Krebszellen wirken. Jede sich teilende Zelle wird von diesen Substanzen beeinflusst. Insbesondere sind dadurch oft Gewebe mit hoher Mitosehäufigkeit wie die Haarfollikel und das Dünndarm-Epithel betroffen.

1.1.4.2 Gezielte Krebstherapie

Ein Ziel der Krebsforschung ist es daher, krebsspezifische Targets zu identifizieren, die als Angriffspunkt für eine gezielte Therapie dienen können. Es wird nach Strukturen wie Rezeptoren oder bestimmten Proteinen gesucht, die vermehrt oder sogar ausschließlich in Krebszellen zu finden sind. So soll Einfluss auf die Zellproliferation oder andere lebenswichtige Vorgänge der Tumorzellen genommen werden.

Es sind bereits einige Arzneistoffe auf dem Markt, die zur gezielten Krebstherapie eingesetzt werden (Tabelle 7)⁸.

Substanzklasse	Wirkstoffe
Tyrosinkinase-Inhibitoren	Imatinib, Nilotinib, Sorafenib u.a.
Monoklonale Antikörper	Rituximab, Alemtuzumab, Cetuximab, Panitumumab, Trastuzumab, Bevacizumab, Tositumomab, Ibritumomab
Histondeacetylase-Inhibitoren	Vorinostat, Romidepsin

Tabelle 7: Wirkstoffe zur gezielten Krebstherapie

1.1.4.2.1 Tyrosinkinase-Inhibitoren

Tyrosinkinasen sind als Phosphatgruppen-Überträger an der Aktivierung intrazellulärer Signalwege beteiligt. Durch Mutation veränderte Tyrosinkinasen spielen eine wichtige Rolle bei der Tumorentstehung. Hemmstoffe dieser veränderten Kinasen wurden in den letzten Jahren erfolgreich gegen verschiedene Krebsarten eingesetzt.

1.1.4.2.2 Monoklonale Antikörper

Monoklonale Antikörper besetzen spezifische Antigene auf der Krebszelle und wirken auf unterschiedliche Weise. Rituximab und Alemtuzumab führen beispielsweise zu einer erhöhten Immunantwort, während Cetuximab, Panitumumab und Trastuzumab die Vermittlung von Wachstumssignalen verhindern. Bevacizumab führt zu einer Angiogenese-Hemmung. Einsatz in der Radioimmuntherapie finden Tositumomab und Ibritumomab. Sie sind mit Radioisotopen verknüpft und führen die radioaktiven Stoffe spezifisch an die Krebszellen heran.

1.1.4.2.3 Histon-Desacetylase-Inhibitoren

Die Desacetylierung von Histonen führt zu einer verminderten Transkription der entsprechenden Genabschnitte. Sind Tumorsuppressor-Gene davon betroffen, kann es zur Ausbildung eines Krebsgeschehens kommen. Durch den Einsatz von Histon-Desacetylase-Inhibitoren erhalten Transkriptionsfaktoren Zugang zur DNA und bewirken eine erhöhte Aktivität der entsprechenden Genabschnitte.

Als weitere mögliche Wirkstofftargets für die gezielte Krebstherapie ist in den letzten Jahren die Gruppe der Hitzeschockproteine in das Interesse der Forschung gerückt.

1.2 Hsp90 als neues molekulares Target

1.2.1 Hitzeschock-Proteine

Die Gruppe der Hitzeschock-Proteine zählt zu den Chaperonen. Sie helfen Proteinen bei der korrekten Faltung zur Endstruktur und verhindern, dass ungefaltete Proteine in zufälligen Strukturen aggregieren. Chaperon-Komplexe aus verschiedenen

Hitzeschock-Proteinen (Hsp) und anderen Co-Faktoren vermitteln über nicht-kovalente Bindungen die physiologische Struktur der jeweiligen Proteine⁹. In dieser Funktion sind Hitzeschock-Proteine in jeder Zelle anzutreffen.

Die Hitzeschock-Proteine werden nach ihrem Molekulargewicht unterschieden. Zu den am besten untersuchten gehören Hsp60, Hsp70 und Hsp90.

Durch ihre Einbindung in die posttranslationale Proteinfaltung sind die Hitzeschock-Proteine essentiell für jede Zelle. Es ist eine Vielzahl von Signaltransduktionswegen bekannt, die bei Abwesenheit oder Inhibition von Hitzeschock-Proteinen unterbrochen werden, was schließlich zum Zelltod führt.

Nun stellt sich die Frage, warum eine Gruppe von Proteinen, die ubiquitär vorkommen und essentiell für die Zelle ist, ein interessantes Ziel in der Krebstherapie darstellt. Hitzeschock-Proteine werden vermehrt bei Zellstress gebildet. So helfen sie anderen Proteinen, unter ungünstigen Bedingungen funktionsfähig zu bleiben und die Zelle am Leben zu halten. Krebszellen stehen durch das rasche Wachstum und damit verbundenem Sauerstoff- und Nährstoffmangel unter enormen Stress. Dieser steigt unter chemotherapeutischer oder radiologischer Behandlung noch weiter an. Dadurch weisen viele Krebszellen eine erhöhte Expression von Hitzeschockproteinen auf und sind somit anfälliger für Wirkstoffe, die direkt an diesen Proteinen angreifen¹⁰. Zusätzlich sind durch Mutation veränderte Proteine stärker auf die Stabilisierung durch Chaperone angewiesen als die ursprünglichen Formen¹¹. Außerdem wurde in verschiedenen Tumorzellen ein Chaperon-Komplex des Hsp90 gefunden, der eine 100fach höhere Sensitivität gegenüber Inhibitoren zeigt als Hsp90 aus normalen Zellen¹².

1.2.2 Hsp90

Hsp90 ist ein hochkonserviertes Molekül. Es wurde in vielen Bakterien ebenso wie in allen Zweigen der Eukaryonten nachgewiesen¹³. In humanen Zellen existieren mehrere Isoformen von Hsp90 in verschiedenen Kompartimenten der Zellen. Im Cytoplasma wurden zwei Homologe gefunden. Hsp90 β stellt dabei die konstitutive Form dar, wohingegen Hsp90 α vor allem unter Stressbedingungen in der Zelle exprimiert wird¹⁴. Es liegt im Cytosol als Homo- und Heterodimer der beiden

homologen Formen vor¹⁵. Außerdem sind in der Mitochondrien-Matrix und im Endoplasmatischen Retikulum weitere Formen entdeckt worden.

Im Laufe der Zeit sind über 150 Proteine* gefunden worden, die durch Hsp90 in ihrer Funktion beeinflusst werden. Darunter fallen auch viele Onkoproteine, die für die in Kap. 1.1.2 genannten funktionellen Merkmale von Krebszellen mitverantwortlich sind (Abbildung 1).

Für seine Funktion als Chaperon ist die ATPase-Aktivität von Hsp90 essentiell. Durch Blockade der ATP-Bindungs tasche werden Signaltransduktionswege unterbrochen und der Abbau vieler Onkoproteine induziert¹⁶. Diese Beobachtung macht Hsp90 als Ziel einer neuartigen Krebstherapie interessant.

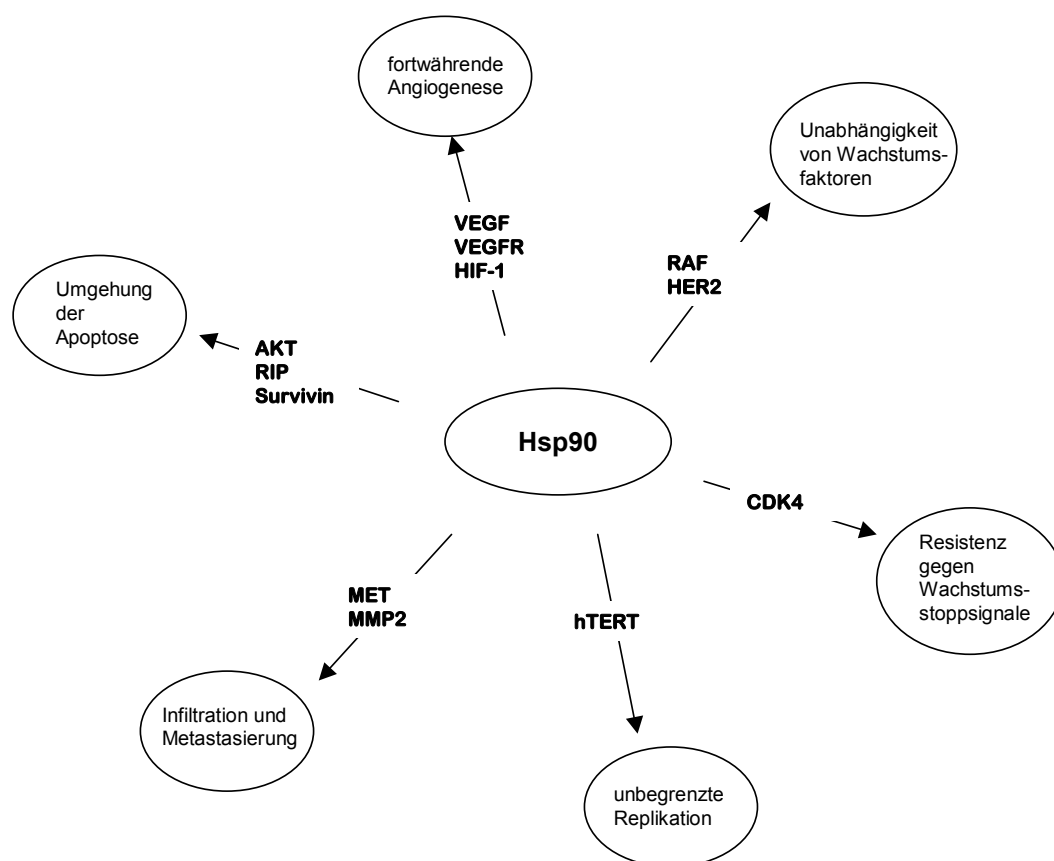


Abbildung 1: Einfluss von Hsp90 auf die funktionellen Merkmale von Krebszellen mittels verschiedener Proteine

* laufend aktualisierte Liste unter: <http://www.picard.ch>

1.2.3 Struktur des humanen Hsp90

Das Hsp90-Monomer besteht aus drei Teildomänen: Einer stark konservierten N-terminalen Domäne, einem Mittelteil und einer Dimerisierungs-Domäne am C-Terminus¹⁷ (Abbildung 2). Der N-Terminus beinhaltet eine ATP-Bindungstasche. Die Dimerisierung von zwei Hsp90-Monomeren erfolgt über den C-Terminus. Das Dimer zeigt eine deutlich höhere Affinität zum natürlichen Substrat ATP als die einzelnen Monomere¹⁸. Die Wechselwirkungen mit den Zielproteinen erfolgen über die Mitteldomänen.

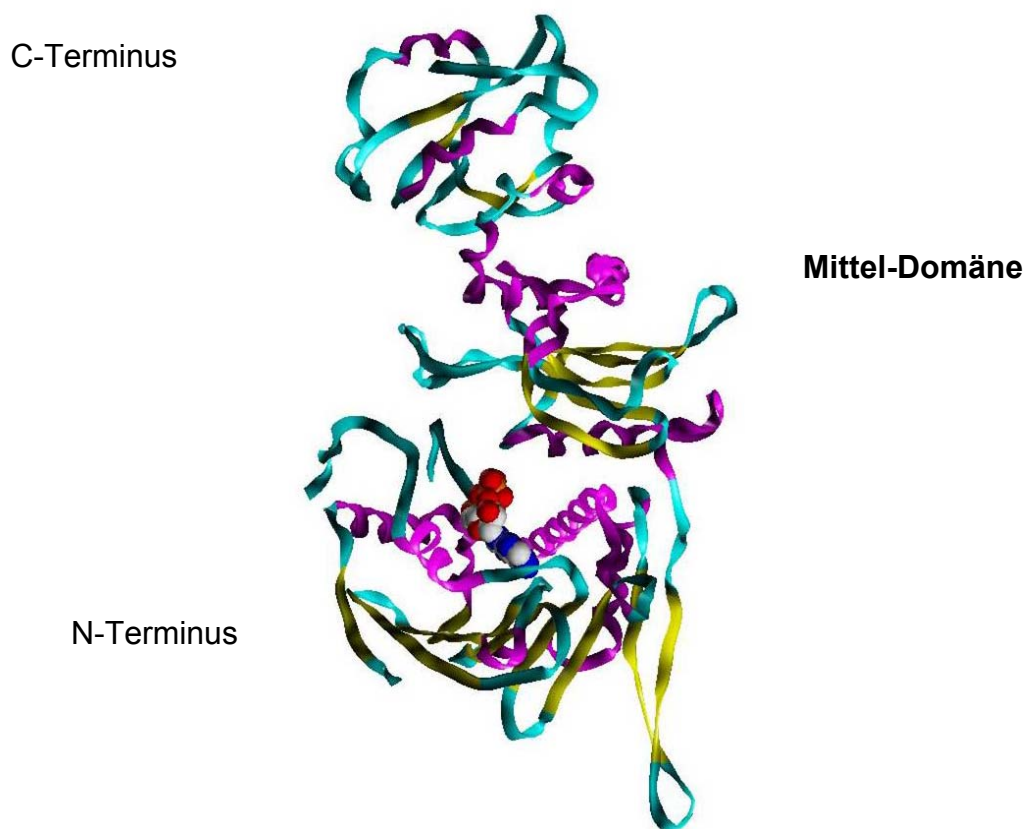


Abbildung 2: Struktur des Hsp90-Monomers (*E.coli*) mit ADP (PDB-ID 2IOP)¹⁹

Die ATP-Bindungsstelle im N-Terminus wird von den Aminosäuren Asn 51, Ser 52, Asp 93, Ile 96, Gly 97 und Thr 184 aufgespannt. In diesem Bereich binden die Nukleotide ATP und ADP. Die Ribose tritt mit Asn 106 in Wechselwirkung, während der Phosphatrest zwischen den Aminosäuren Asn 51, Lys112 und Phe138 aus der Bindungstasche herausragt (Abbildung 3). Vergleicht man die Lage des ATP im Hsp90 mit der in anderen ATP-bindenden Proteinen, so weist es hier eine ungewöhnlich stark geknickte Form auf²⁰.

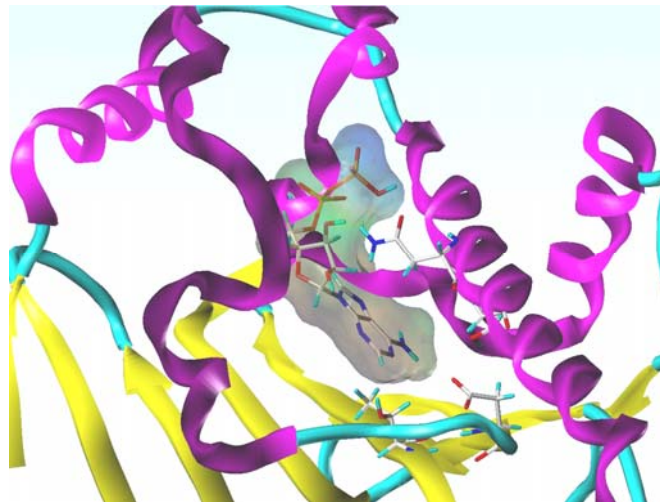


Abbildung 3: ADP in der Bindungstasche des Hsp90 (PDB-ID 2IOP)¹⁹

Die Hydrolyse von ATP ist essentiell für die Funktion von Hsp90. Wie gezeigt werden konnte, interagieren Mutanten ohne ATPase-Aktivität nicht mit p23, einem Co-Faktor des Hsp90. Die Geschwindigkeit der ATP-Hydrolyse ist sehr gering. Es dauert mehrere Minuten, bis ein ATP-Molekül hydrolysiert wird. Dies ist darin begründet, dass die Bindung von ATP zu weitreichenden Konformationsänderungen des Hsp90 führt^{19,21,22} (Abbildung 4). Zunächst wird die ATP-Bindungstasche durch einen Deckel, bestehend aus einem kleinen Segment der N-terminalen Domäne, verschlossen (Schritt 2). Dadurch treten zunächst die N-Termini der beiden Untereinheiten des Dimers in direkten Kontakt. Die dadurch hervorgerufene Konformationsänderung wiederum betrifft das gesamte Dimer, und sowohl die N-Termini als auch die Mitteldomänen der Untereinheiten liegen vorübergehend sehr dicht beieinander (Schritt 3). Erst jetzt kommt es zur Hydrolyse und die Untereinheiten entfernen sich wieder voneinander (Schritt 4 und 5). Nach Freisetzung von ADP wird wieder die Ausgangskonformation erreicht (Schritt 6).

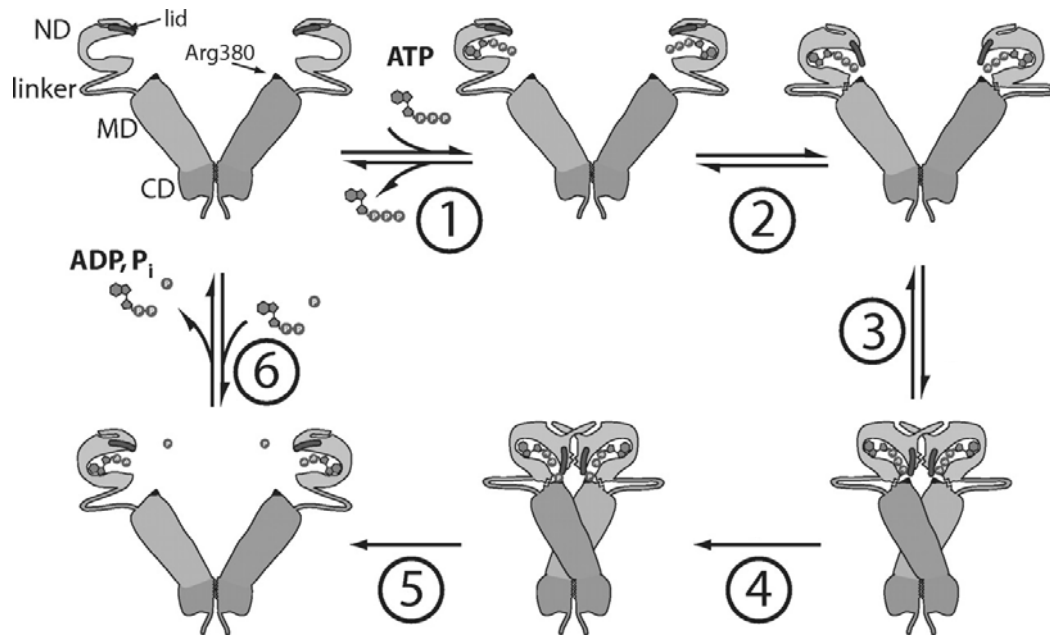


Abbildung 4: ATP-Hydrolyse von Hsp90 (Abb. aus ²³)

Die ATP-Bindungstasche ist zugleich auch der Angriffspunkt für viele Inhibitoren des Hsp90 wie Geldanamycin^{20,24}.

1.2.4 Hsp90-Chaperon-Komplexe

Hsp90 als einzelnes Protein ist nicht in der Lage, seine regulierende Funktion in der Zelle wahrzunehmen. Das Hitzeschock-Protein ist seinerseits auf eine große Zahl von Co-Faktoren angewiesen, um als Chaperon wirksam zu sein. Bevor ein Protein von Hsp90 gebunden werden kann, müssen Hsp40 und Hsp70 über das Adapterprotein Hop (Hsp70/Hsp90 organizing protein) einen Komplex mit Hsp90 bilden. Wird nun ATP vom Hsp90 aufgenommen, löst sich dieser intermediäre Komplex auf, Hsp70, Hsp40 und Hop dissoziieren und weitere Co-Chaperone wie p23, cdc37 und andere bilden einen zweiten Komplex mit Hsp90. Von diesem Komplex löst sich das korrekt gefaltete Zielprotein, der Chaperon-Komplex zerfällt und Hsp90 liegt wieder frei im Cytosol vor^{23,25}.

Wird die Bindung von ATP an Hsp90 durch Inhibitoren gehemmt, löst sich das ungefaltete Zielprotein von dem intermediären Komplex und wird über das Proteasom abgebaut.

1.2.5 Bekannte Inhibitoren von Hsp90

1.2.5.1 Naturstoffe

Die ersten Substanzen, die als Inhibitoren von Hsp90 identifiziert wurden, sind die aus Pilzen isolierten Verbindungen Geldanamycin und Radicol^{26,27}. Aus Kristallstruktur-Untersuchungen ist bekannt, dass beide Stoffe in der ATP-Bindungstasche der N-terminalen Domäne binden²⁸. Die selektive Wirkung der Inhibitoren auf Hsp90 könnte in der ungewöhnlichen Form der ATP-Bindetasche begründet sein, so dass sie nicht in der Lage sind, ATP-Bindungsstellen anderer Proteine zu besetzen.

Das makrozyklische Lacton Radicol, welches *in vitro* gute Inhibitoreigenschaften aufweist, zeigte bei *in vivo* Tests aufgrund mangelnder Stabilität im Serum keine Aktivität. Durch das Einführen eines Oxims in 2'-Position konnten verschiedene Radicol-Derivate erhalten werden, die eine erhöhte *in vivo*-Aktivität besitzen^{29,30} (Abbildung 5) und im Mausmodell keine Leber- und Nierentoxizität aufweisen. Allerdings befindet sich bisher keines in klinischen Prüfungen.

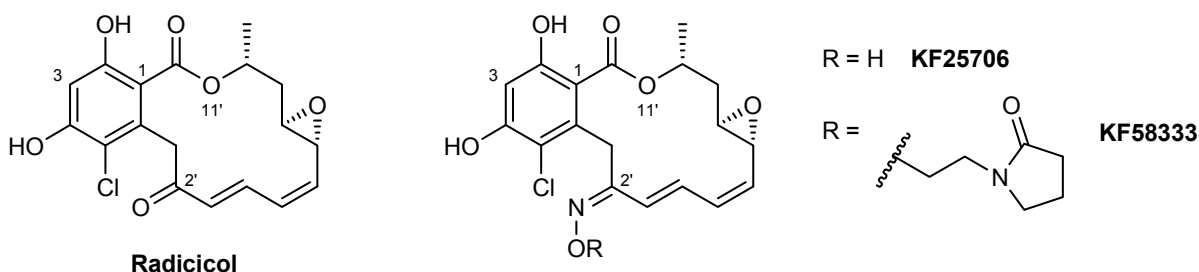


Abbildung 5: Radicol und Derivate

Das Benzochinon-Ansamycin Geldanamycin ist ein potenter Inhibitor für Hsp90, zeigt aber eine starke Hepatotoxizität, so dass es nicht als Therapeutikum einsetzbar ist. Die Carbamat-Gruppe an Position 7 hat sich als elementar für die Wirkung erwiesen und musste auch bei Strukturvariationen erhalten bleiben. Die Substitution der 17-Methoxy-Gruppe durch Amino- bzw. kleine Alkylamino-Gruppen führte dagegen zu erhöhter *in vitro*-Aktivität³¹ (Abbildung 6). Die Derivate 17-AAG und 17-DMAG besaßen vielversprechenden Eigenschaften, zeigten aber in klinischen Studien eine erhöhte Mortalität (17-AAG) bzw. ein ungeeignetes Toxizitäts-Profil (17-DMAG)³².

Eine Phase III-Studie mit dem Hydrochinon-Derivat von 17-AAG, IPI-504, wurde wegen erhöhter Mortalität vorzeitig abgebrochen³³.

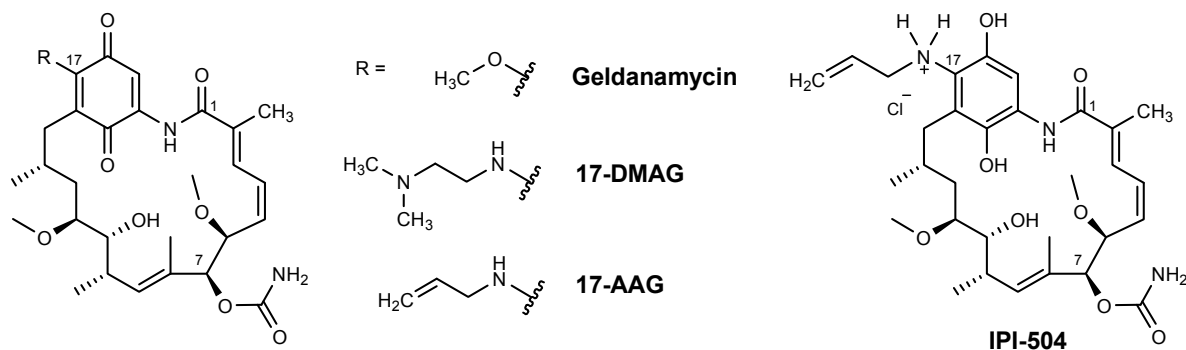


Abbildung 6: Geldanamycin und Derivate

1.2.5.2 Synthetische Inhibitoren

Durch Screening-Verfahren und gezieltes Strukturdesign konnten auch kleinere und strukturell stark veränderte Substanzen als Hsp90-Inhibitoren identifiziert werden. So zeigten Purin-, Pyrazol- und Isoxazol-Derivate vielversprechende Testergebnisse.

Chiosis et al.³⁴ identifizierten anhand von Röntgenstrukturanalysen und Molecular Modelling das Purinderivat PU3 als Leitstruktur für eine neue Klasse von Hsp90-Inhibitoren. Auf dieser Grundlage wurden verschiedene inhibitorisch wirksame Substanzen auf Purin-Basis entwickelt, von denen sich das Derivat BIIB021³⁵ zur Zeit in klinischen Studien befindet³⁶ (Abbildung 7). Auch Dimere von PU3 und anderen Purinen zeigen Affinität zu Hsp90³⁷.

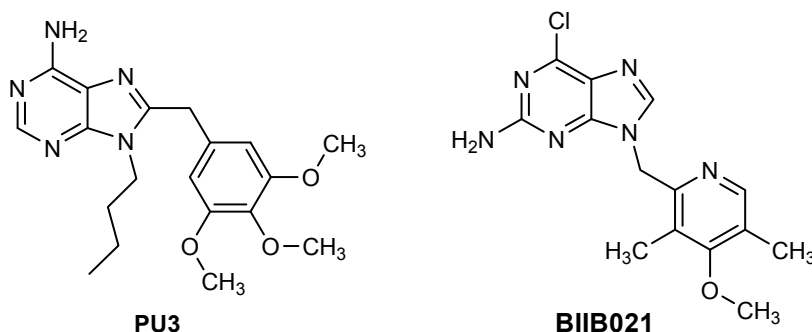


Abbildung 7: Purin-Analoga als Hsp90-Inhibitoren

Durch High-Throughput-Screening konnte das Pyrazol-Analogon CCT018159 ebenfalls als Hsp90-Inhibitor identifiziert werden³⁸, was zur Entdeckung weiterer

Vertreter dieser Stoffklasse führte³⁹ (Abbildung 8). Durch Strukturvariation des Pyrazolrings konnten auch Isoxazole mit Wirkung auf Hsp90 entwickelt werden (NVP-AUY922)⁴⁰. Ebenso sind mittlerweile Triazol-Derivate (STA-9090)⁴¹ und Dihydroindazolone (SNX-5422)⁴² als Hsp90-Inhibitoren entdeckt worden.

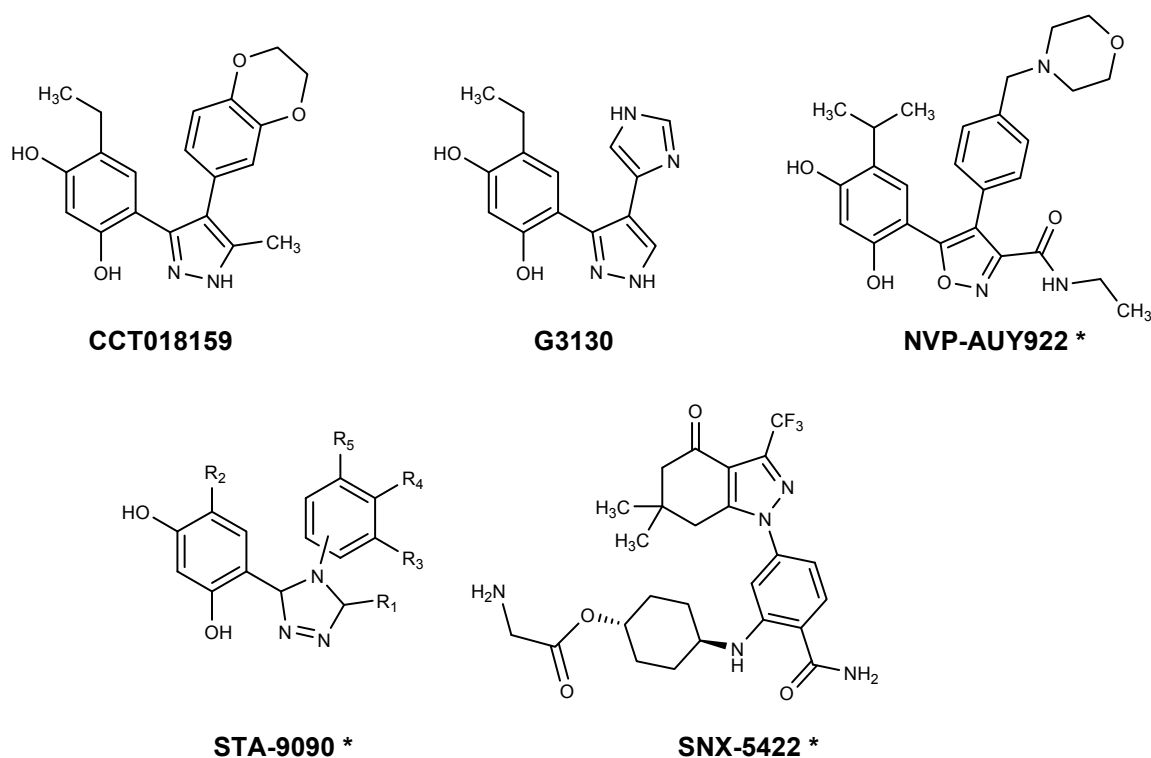


Abbildung 8: Hsp90-Inhibitoren (* zur Zeit in klinischen Studien³⁶; Stand: September 2010).

Durch virtuelles Screening und gezieltes Wirkstoffdesign wurden weitere Hsp90-Inhibitoren mit neuen Grundstrukturen gefunden⁴³⁻⁴⁵ (Abbildung 9).

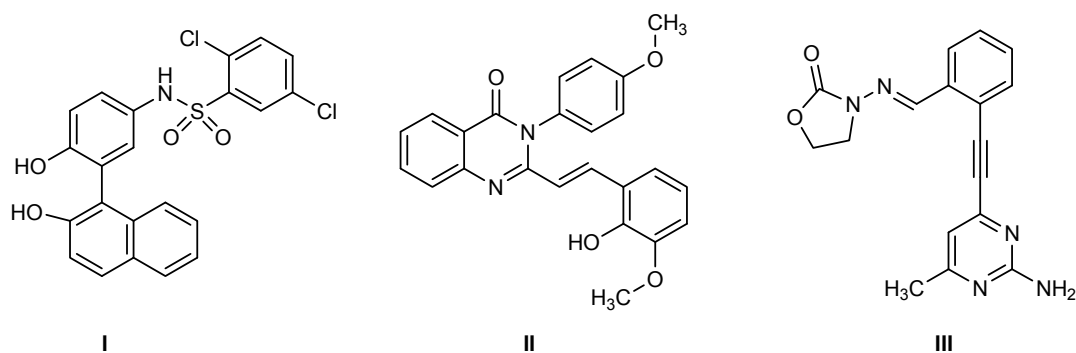


Abbildung 9: Einige neue Hsp90-Inhibitoren

Vergleicht man die Position von verschiedenen Hsp90-Inhibitoren in der N-terminalen Domäne des Proteins mit der von ATP, so erkennt man die Übereinstimmungen der Bindungsmodi (Abbildung 10). Die Lage der hydrophilen planaren Ringe ist nahezu identisch. Eine deutliche Wechselwirkung mit Asp 93 ist in allen Protein-Ligand-Komplexen sichtbar. Es entsteht ein Netz von Wasserstoffbrücken unter Beteiligung von Asn 51, Ser 52, Thr 184 und Gly 97⁴⁶. Sowohl Geldanamycin als auch Radicicol weisen auch im weiteren Teil der Bindungstasche ähnliche Wechselwirkungen wie ATP auf. Das Purinderivat PU3 besetzt einen hydrophoben Bereich, indem der Trimethoxyphenyl-Ring zwischen den Seitenketten von Phe 138 und Leu 107 zu liegen kommt⁴⁶.

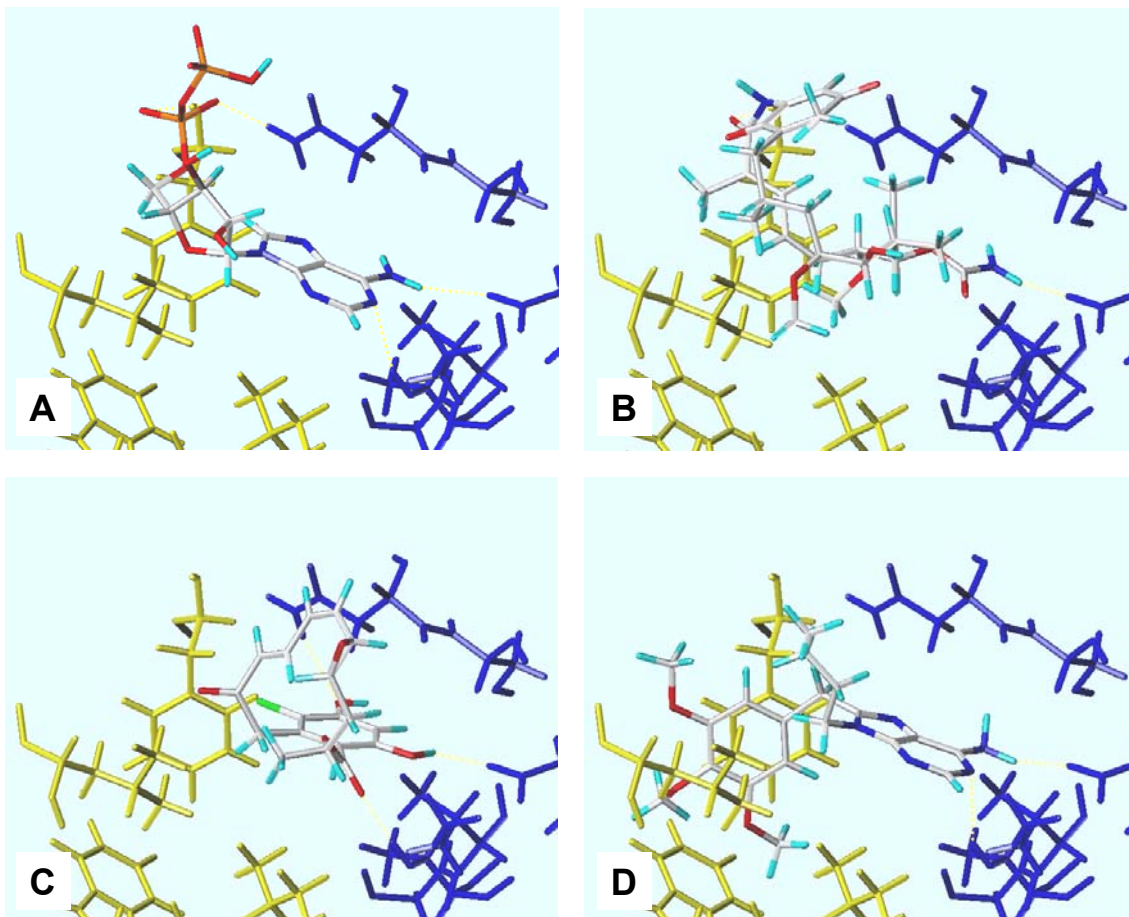


Abbildung 10: (A) ATP in Hsp90 (*S. cerevisiae*; PDB-ID: 1AMW)²⁰; (B) Geldanamycin in Hsp90 (human; PDB-ID: 1YET)²⁴; (C) Radicicol in Hsp90 (*S. cerevisiae*; PDB-ID: 1BGQ)⁴⁷; (D) PU3 in Hsp90 (human; PDB-ID: 1UY6)⁴⁶

1.2.5.3 Inhibitoren der C-terminalen ATP-Bindungstasche

Neben Inhibitoren, die die N-terminale ATP-Bindungstasche von Hsp90 besetzen, sind mittlerweile weitere inhibitorisch wirkende Substanzen bekannt. Durch Mutationsstudien konnte gezeigt werden, dass diese Inhibitoren mit einer weiteren ATP-Bindungstasche im C-Terminus des Proteins interagieren⁴⁸. Diese Region des C-Terminus wird erst durch Bindung eines ersten ATP in der N-terminalen Bindungstasche für Substrate zugänglich⁴⁹.

Zu dieser Klasse von Inhibitoren gehört das zur Gruppe der Cumarin-Antibiotika zählende Novobiocin, welches als Hemmstoff der bakteriellen DNA-Gyrase bekannt ist. Novobiocin war die erste Substanz, für die ein C-terminaler Bindungsmodus am Hsp90 nachgewiesen wurde⁴⁸. Seine Affinität zum Hsp90 ist allerdings nur gering, daher wurden Analoge entwickelt, welche selektiver an Hsp90 angreifen und im Gegenzug eine geringere Affinität zur DNA-Gyrase aufweisen^{50,51} (Abbildung 11).

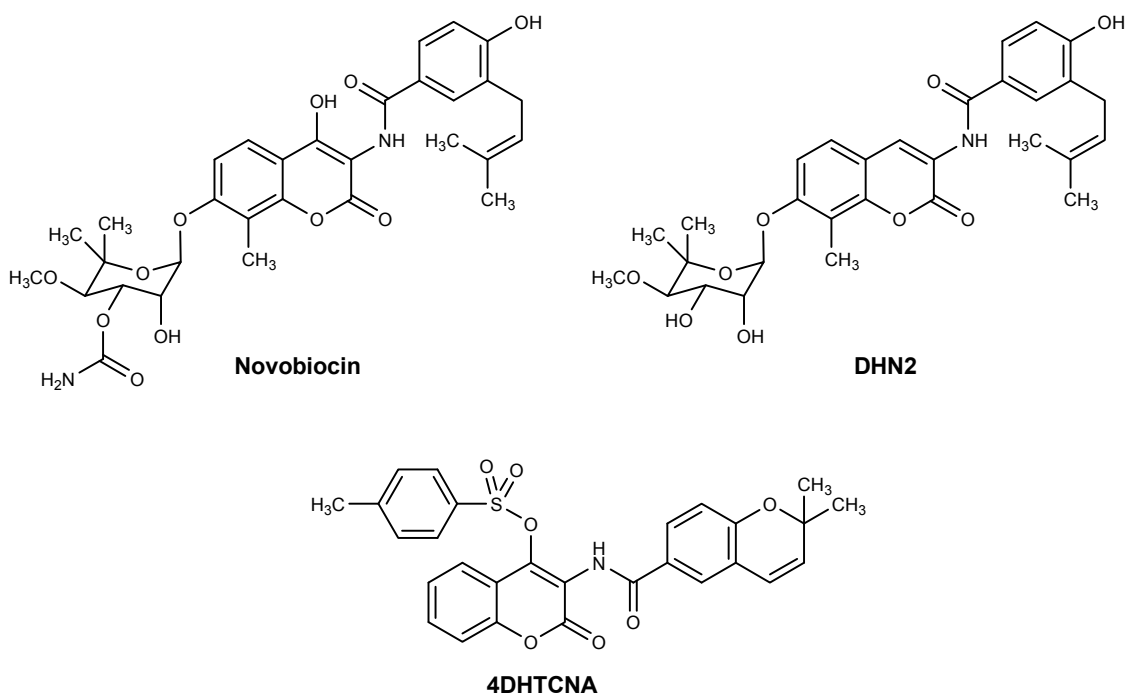


Abbildung 11: Inhibitoren der C-terminalen ATP-Bindungstasche

Weitere Substanzen, die am C-Terminus von Hsp90 angreifen, sind Cisplatin und Epigallocatechin-3-gallat, ein Polyphenol aus grünem Tee⁵².

1.2.5.4 Weitere Hsp90-Inhibitoren

Zusätzlich zu den Inhibitoren der bekannten ATP-Bindungsstellen sind wenige weitere Stoffe mit inhibitorischer Wirkung auf Hsp90 bekannt. Das pentacyclische Triterpen Celastrol verhindert die Wechselwirkung von Hsp90 mit dem Co-Chaperon Cdc37 durch Blockade der entsprechenden Molekülregion von Hsp90⁵³. Das Peptid CTPR390+ unterbindet hingegen die Interaktion von Hsp90 mit Hop durch Wechselwirkung mit einem Bereich im C-Terminus von Hsp90⁵⁴.

1.3 Weitere Schwerpunkte der Forschung

Das ubiquitäre Vorkommen von Hsp90 im menschlichen Körper und seine Bedeutung im Zellstoffwechsel lässt vermuten, dass es nicht nur in der Krebstherapie als Target in Betracht kommt. Auch bei weiteren Erkrankungen scheint eine Inhibition dieses Proteins ein vielversprechender Ansatz zur Behandlung zu sein.

Verschiedene neurodegenerative Erkrankungen gehen mit der Bildung von fehlgefalteten Protein-Aggregaten einher, welche zu neurologischen Störungen führen können⁵⁵. Bei der Alzheimerdemenz kommt es zum einen zur Aggregation von fehlerhaft gefaltetem β -Amyloid. Die physiologische Funktion dieses Peptids ist noch nicht geklärt, es scheint aber eine wichtige Rolle bei der synaptischen Übertragung von Signalen zu spielen⁵⁶. Zum anderem werden bei Morbus Alzheimer Ablagerungen von hyperphosphoryliertem Protein Tau beobachtet, welches physiologisch für die Anordnung und Stabilisierung von Mikrotubuli in Nervenzellen verantwortlich ist. Ähnliche Tau-Aggregate sind bei der fronttemporalen Demenz zu finden. Bei dieser Krankheit ist bekannt, dass eine Mutation auf Chromosom 17 zur Bildung von fehlerhaftem Protein und somit zur Aggregation führt. Solche unlöslichen Körper aus Tau-Protein konnten in Zellversuchen und am Mausmodell durch Einsatz von Hsp90-Inhibitoren aufgelöst werden^{57,58}. Für die Parkinsonerkrankung und Chorea Huntington wird ebenfalls eine Beteiligung von Hsp90 und anderen Hitzeschockproteinen diskutiert^{59,60}.

Auch für die spinobulbäre Muskelatrophie konnte ein Einfluss von Hsp90 nachgewiesen werden. Bei dieser zu den Polyglutaminerkrankungen zählenden Krankheit führen neuronale Einschlüsse eines mutierten Androgenrezeptors zu

Muskelschwäche und anschließender Atrophie⁶¹. Der Hsp90-Inhibitor 17-AAG führte in Zellversuchen und im Tiermodell zum Abbau dieser Einschlüsse⁶².

Ebenso konnte gezeigt werden, dass Hsp90 am Aufbau des Capsids von Picornaviren beteiligt ist. Eine Hemmung durch Geldanamycin führte zu einer verminderten Virusreplikation in Zellkultur. Auch im Mausmodell konnte die Replikation von Polioviren durch Einsatz von Geldanamycin stark eingeschränkt werden⁶³.

2 Problemstellung und Zielsetzung der Arbeit

Ein Großteil der momentan in der Krebstherapie verwendeten Arzneistoffe wirkt nicht spezifisch auf Tumorzellen, sondern schädigt auch die gesunden Körperzellen der Patienten. Im Rahmen der Entwicklung neuer Arzneistoffe wird daher vermehrt nach Targets gesucht, mit deren Hilfe ein gezielter Angriff auf Krebszellen ermöglicht wird. Eine interessante Zielstruktur ist hier das Hitzeschockprotein 90 (Hsp90), welches als Chaperon viele Stoffwechselwege in der Zelle reguliert und in vielen Krebszellen überexprimiert wird. Es ist bekannt, dass durch Inhibierung von Hsp90 durch Besetzung seiner ATP-Bindungsstelle Krebszellen soweit geschädigt werden können, dass ihr Überleben nicht mehr möglich ist. Einige Inhibitoren von Hsp90 werden bereits in klinischen Studien an Patienten getestet.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten verschiedene potenzielle Hsp90-Inhibitoren synthetisiert werden. Diese neuen Substanzklassen waren auf Grundlage von Kristallstrukturanalysen des humanen Hsp90 erstellt worden. Docking-Studien ließen einen inhibitorischen Effekt auf das Protein erwarten. Bei der Synthese sollten gezielte Variationen an den Strukturen vorgenommen werden, um später Rückschlüsse auf Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu ermöglichen.

Durch anschließende Testungen der Substanzen bezüglich ihrer Wirkung auf humane Krebszelllinien sollte die Übertragbarkeit der *in silico* - Untersuchungen auf die *in vitro* -Verhältnisse untersucht werden.

3 Entwicklung neuartiger Hsp90-Inhibitoren

3.1 Design

Die Betrachtung der N-terminalen ATP-Bindungsstelle und der bereits bekannten Inhibitoren gab Hinweise auf einige grundsätzliche Moleküleigenschaften, die potenzielle Bindungspartner aufweisen mussten. Alle bekannten Inhibitoren besaßen lipophile und hydrophile Strukturbereiche. Anhand der Lewisformeln war keine eindeutige Gemeinsamkeit dieser Strukturen erkennbar (Abbildung 12). Betrachtete man aber die Lage der Substanzen innerhalb der Bindungstasche, so zeigte sich, dass die lipophilen und hydrophilen Teilbereiche der verschiedenen Inhibitoren in der Bindungstasche ähnlich positioniert waren (Abbildung 10).

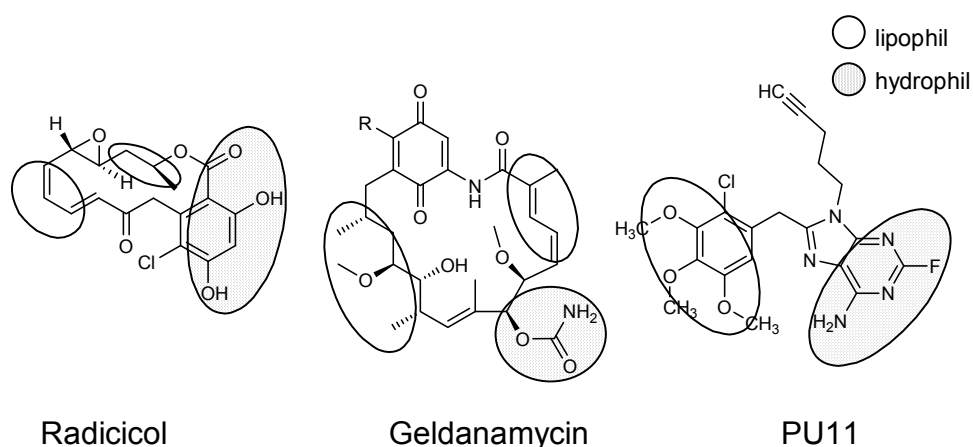


Abbildung 12: Lipophile und hydrophile Bereiche bekannter Hsp90-Inhibitoren

Somit zeigten die bekannten Hsp90-Inhibitoren drei wichtige Molekülbereiche (Abbildung 13): Eine hydrophile Region A und eine lipophile Region B, welche durch eine Linker-Struktur miteinander verbunden sind.

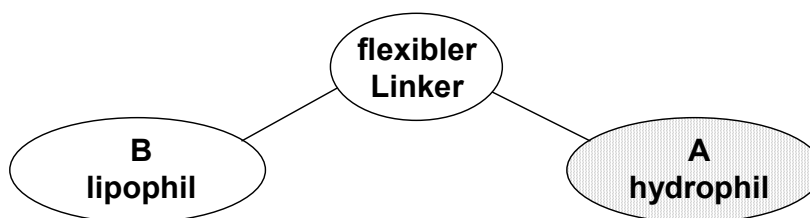
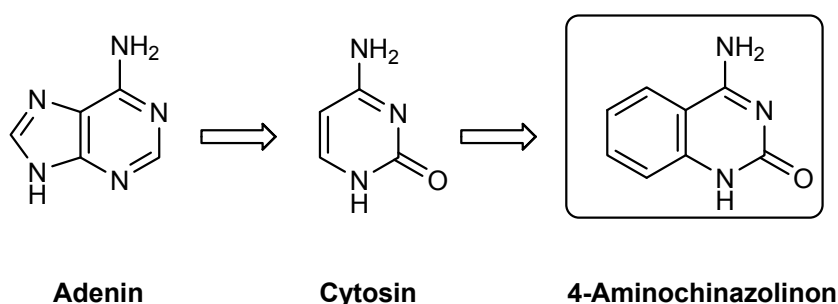


Abbildung 13: Strukturmerkmale bekannter Hsp90-Inhibitoren

Anhand dieser Überlegungen sollten nun ausgehend von ATP Grundstrukturen neuer Inhibitoren entwickelt werden.

Mit den Purinderivaten PU11, BII021 und anderen Vertretern dieser Klasse existierten bereits Inhibitoren, die direkt von Adenin abgeleitet waren. Als Abwandlung wurde daher eine auf der Pyrimidin-Base Cytosin basierende Struktur als hydrophile Molekülregion A gewählt (Schema 1). Durch den zusätzlichen exozyklischen Sauerstoff sollte die Hydrophilie des Systems erhöht werden. Um die räumliche Ausdehnung des Adenins zu imitieren, wurde ein Benzolring eingeführt, was schließlich zur Struktur der 4-Amino-2(1*H*)-chinazolinone führte.



Schema 1: Entwicklung der hydrophilen Molekülregion A

Der lipophile Molekülteil B sollte aus verschiedenen substituierten Aromaten unterschiedlicher Größe gebildet werden. Als kleinste und flexibelste Linker-Struktur wurde eine Methylenbrücke gewählt, so dass die Molekülregionen durch die sp^3 -Hybridisierung des Kohlenstoffatoms möglichst frei gegeneinander drehbar sind. Als Gegensatz dazu sollte der Einfluss einer Carbonylfunktion untersucht werden. Der Wasserstoffbrücken-Akzeptor erhöht die Hydrophilie des Moleküls und beschränkt dessen Flexibilität durch den sp^2 -hybridisierten Kohlenstoff. Außerdem sollte eine räumlich ausgedehnte Sulfonylgruppe als Linker untersucht werden (Abbildung 14).

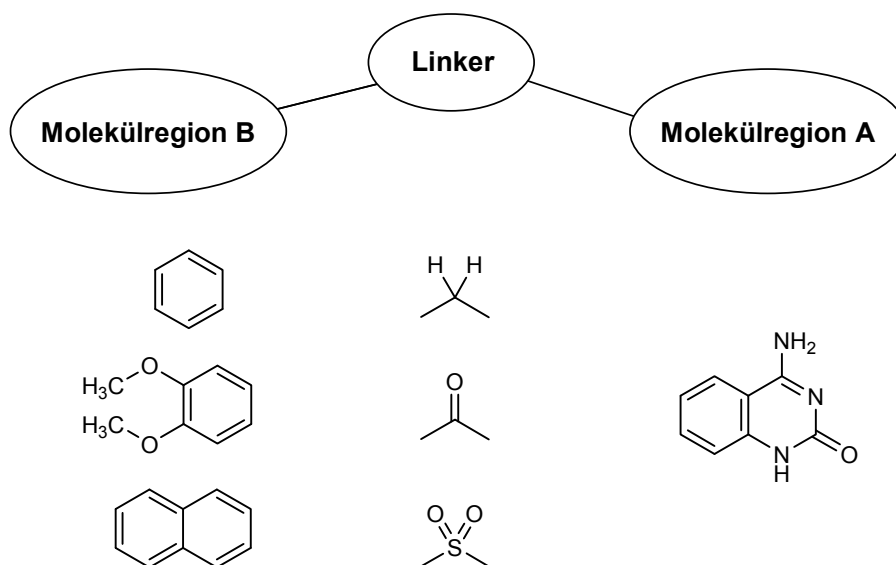
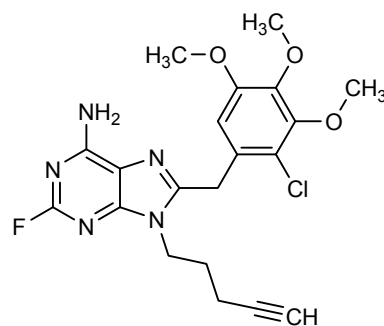
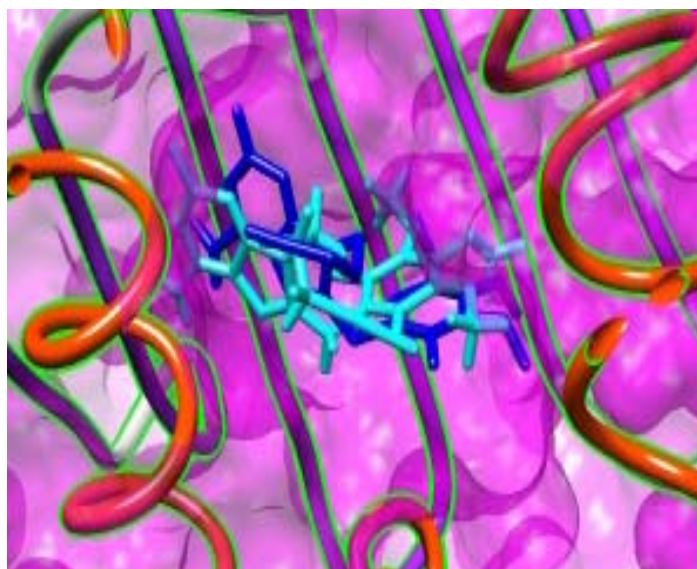


Abbildung 14: Übersicht über die Strukturbausteine neuartiger Hsp90-Inhibitoren

3.2 Docking der neuen potenziellen Liganden

Bevor die in Kapitel 3.1 beschriebenen Substanzen synthetisiert wurden, wurden ihre Wechselwirkungen mit Hsp90 mithilfe von Docking-Untersuchungen analysiert. Dabei wurde zunächst der bekannte Inhibitor PU11 mithilfe des Programms GOLD (*Genetic Optimization for Ligand Docking*; genetischer Algorithmus)⁶⁴ durch Frau Dr. Giffreda in ein von ihr aus der Kristallstruktur des N-Terminus von Hsp90 erstelltes Modell der Bindungstasche gedockt⁶⁵. Die so ermittelte Position des Liganden stimmte gut mit der aus Röntgenstrukturanalysen bekannten Lage von PU11 überein (Abbildung 15).



PU11

Abbildung 15: Position von PU11 in der ATP-Bindungstasche; hellblau: Röntgenstrukturanalyse (PDB-ID: 1UYF), dunkelblau: Docking

Im nächsten Schritt wurden die in Abschnitt 3.1 beschriebenen potenziellen Inhibitoren **Dock1a-c**, **Dock2a-c** und **Dock3a-c** (Abbildung 16) von Frau Dr. Gioffreda mittels Docking mit Hilfe des Programms GOLD unter Verwendung der selben Einstellungen wie für den Inhibitor PU11 in der Proteinstruktur überlagert⁶⁵.

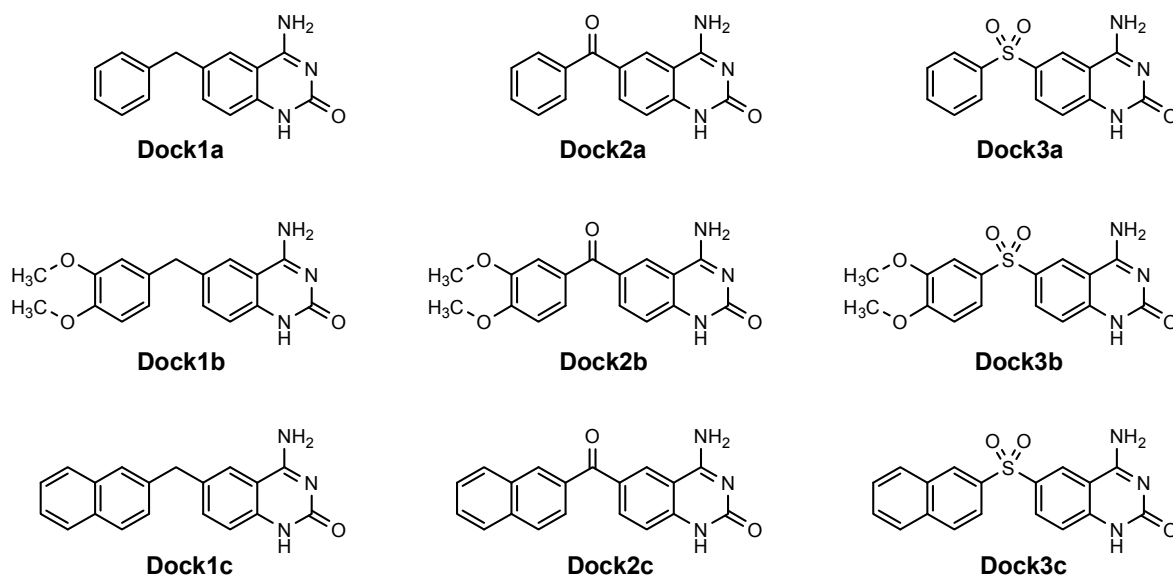


Abbildung 16: Substanz-Bibliothek für Docking-Versuche

Die potenziellen Inhibitoren kamen wie PU11 in der Bindungstasche zu liegen. Die Molekülregion A mit der Aminochinazolinon-Struktur war in der hydrophilen Tasche positioniert. Über die Aminofunktion wurde bei allen potenziellen Inhibitoren eine

Wasserstoffbrücke zu Asp93 ausgebildet, die Carbonylfunktion trat in Wechselwirkung mit dem Stickstoff des Backbone von Gly 97. Der Aromat der Molekülregion B kam in einem lipophilen Bereich der Tasche zu liegen und wurde von den Aminosäuren Ile 103, Ile 107, Phe 138 und Trp 162 sandwichartig umschlossen. Die berechneten Positionierungen der Liganden sind in Abbildung 17 dargestellt.

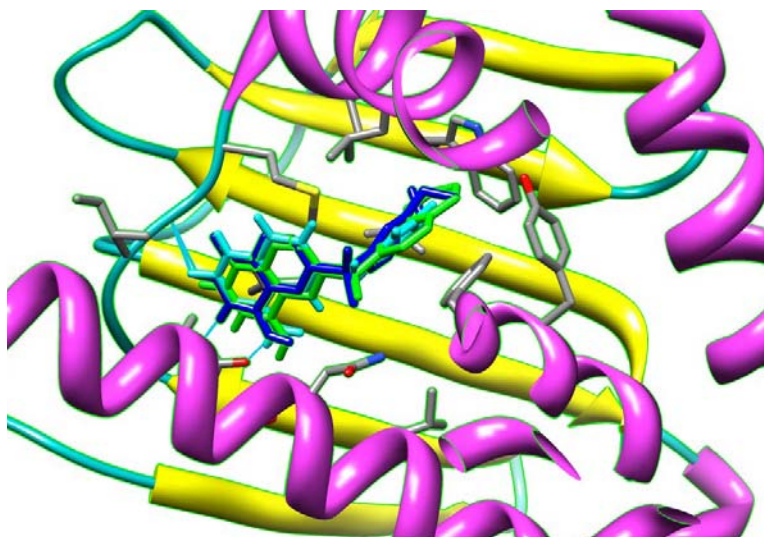


Abbildung 17: Lage der gedockten Substanzen in der ATP-Bindungstasche von Hsp90 (human, PDB-ID: 1UYF)⁴⁶; türkis: **Dock1a**, grün: **Dock2c**, blau: **Dock3b**

Der Übersichtlichkeit wegen wurde jeweils ein Vertreter pro Gruppe dargestellt, die Wechselwirkungsgeometrien der anderen Inhibitoren sind den dargestellten äquivalent.

Aussage über die Stärke der Wechselwirkungen und damit mögliche Bindungsenergien kann man über die Berechnung des GOLDScore treffen. Höhere Werte bedeuten dabei stärkere Wechselwirkungen. Der GOLDScore wurde für die potenziellen Inhibitoren mit Werten zwischen 54 und 72 berechnet, im Vergleich dazu erhielt der Inhibitor PU11 aus der Validierungsrechnung einen Wert von 53, so dass den potenziellen neuen Inhibitoren eine zumindest gleichwertige Bindungseigenschaft in die Bindungstasche des Hsp90 vorausgesetzt werden kann. In Tabelle 8 sind die GOLDScore-Werte für alle potenziellen Inhibitoren aufgeführt.

Die GOLDScore-Werte stiegen innerhalb der Substanzklassen **Dock1-3** jeweils von **a** nach **c** an. Die Differenzen der Werte waren nicht allzu groß, aber ein voluminöses lipophiles aromatisches System schien den lipophilen Bereich der

ATP-Bindungstasche besser auszufüllen als ein einfacher Benzolring. Inwieweit diese Tendenz der in der Theorie erhaltenen Werte auf die inhibitorische Wirkung der Substanzen übertragbar war, musste allerdings experimentell untersucht werden.

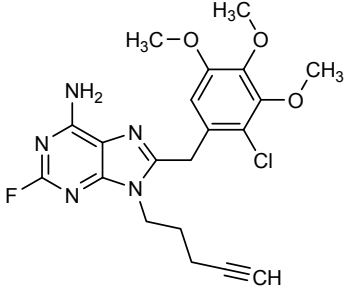
Substanz	GOLDScore	Substanz GOL	DScore	 PU11
Dock1a	65,77	Dock 2c	72,58	
Dock 1b	68,23	Dock 3a	59,03	
Dock 1c	72,62	Dock 3b	67,21	
Dock 2a	54,25	Dock 3c	68,75	
Dock 2b	66,68	PU11	53,07	

Tabelle 8: Ergebnisse der Docking-Untersuchungen

Auf der Grundlage dieser Daten sollten nun verschiedene Substanzklassen synthetisiert werden (Abbildung 18):

- (1) 4-Amino-6-benzyl-2(1H)-chinazolinone
- (2) 4-Amino-6-benzoyl-2(1H)-chinazolinone
- (3) 4-Amino-6-arylsulfonyl-2(1H)-chinazolinone

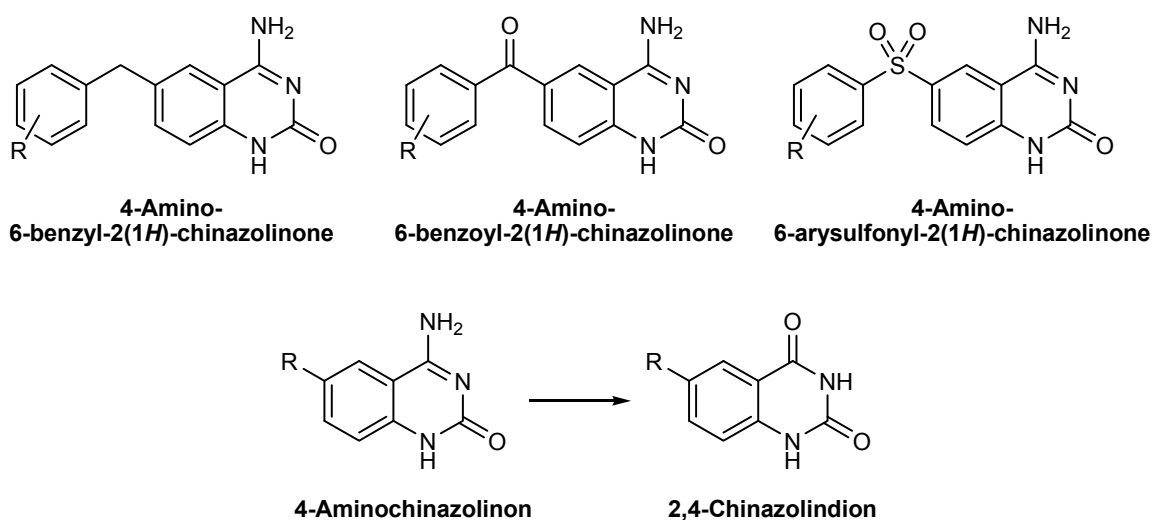


Abbildung 18: Übersicht über die zu synthetisierenden Substanzklassen

Außerdem sollte die Aminofunktion in Position 4 als Wasserstoffbrückendonator durch eine Carbonylfunktion als Wasserstoffbrückenakzeptor ersetzt werden. Dadurch sollte die Bedeutung der Wasserstoffbrücken-Bildung zwischen der Aminofunktion und Asp93 untersucht werden.

4 Synthese-Planung

4.1 Synthesen in der Literatur

4.1.1 Molekülregion A

4.1.1.1 Chinazoline als Arzneistoffe

Chinazoline bilden die Grundkörper vieler Arzneistoffe. Deren Wirkspektrum erstreckt sich von α 1-Blockern (Prazosin, Terazosin, Doxazosin u.a.) über Folsäureantagonisten (Trimetrexat, Raltitrexed) und thiazid-analoge Diuretika (Metolazon, Fenquizone, Chinetazone) bis hin zum Mittel gegen Thrombozythämie (Anagrelid) (Abbildung 19). Dabei hat sich jedoch das Chinazolin-Gerüst in keiner der genannten Gruppen als essentiell für die Wirkung der Arzneistoffe erwiesen. Als Einzelsubstanz ist Methaqualon zu nennen. Ursprünglich als Schlafmittel auf den Markt gebracht, ist es mittlerweile wegen seines hohen Sucht- und Missbrauchspotentials in die Anlage II des BtMG aufgenommen worden.

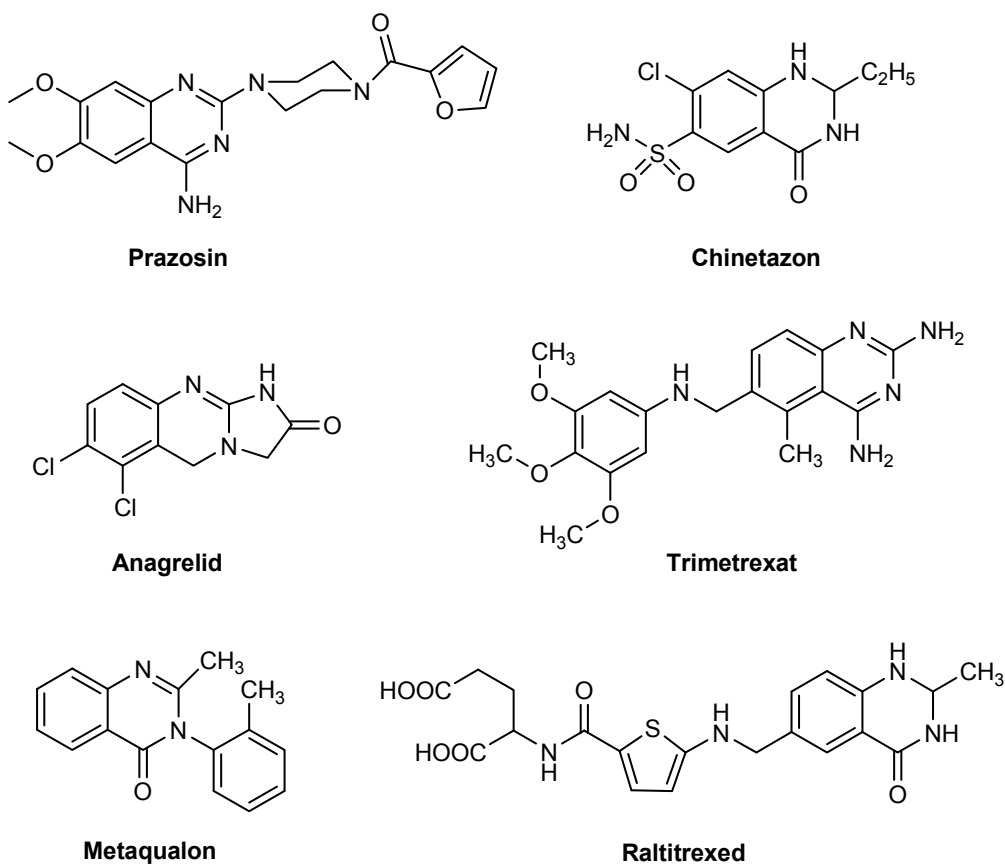
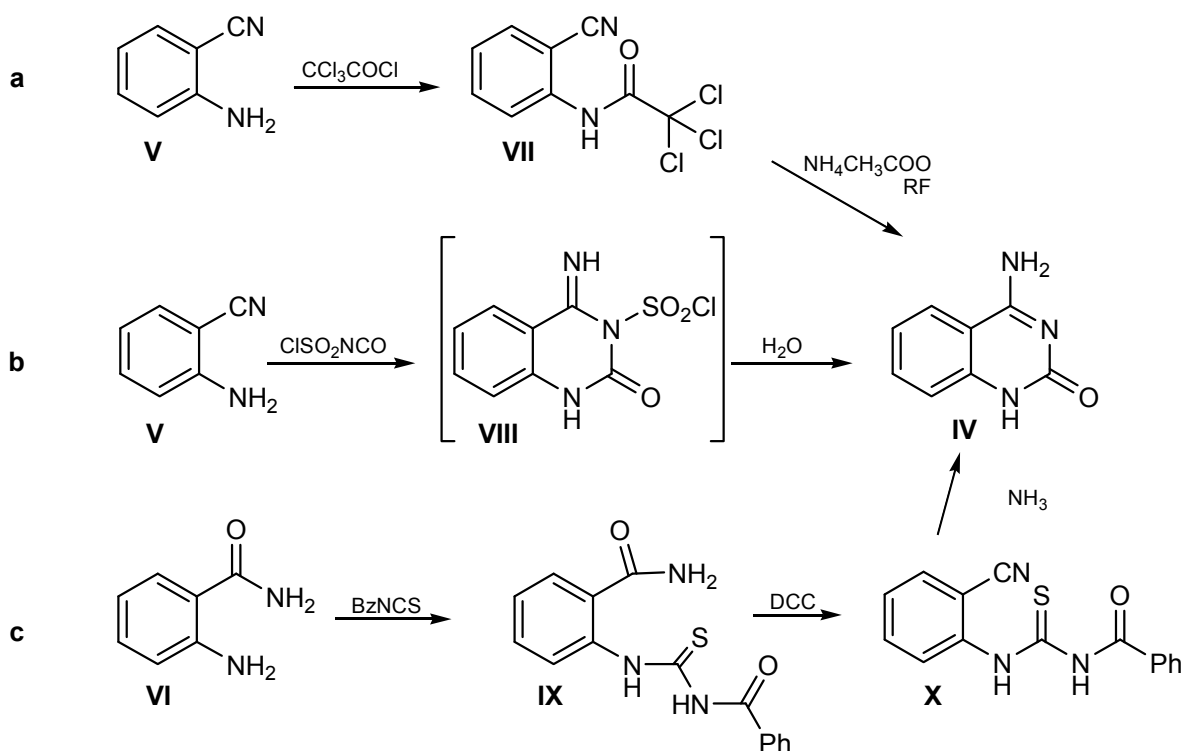


Abbildung 19: Arzneistoffe mit Chinazolin-Struktur

4.1.1.2 Synthese von 4-Amino-2(1H)-chinazolinonen

Bei der Fülle der in der Literatur verzeichneten Substanzen mit Chinazolin-Teilstrukturen fällt auf, dass die in dieser Arbeit zu synthetisierenden 4-Amino-2(1H)-chinazolinone nur einen geringen Teil der beschriebenen Chinazoline ausmachen. Die Datenbank SciFinder verzeichnet 260015 Substanzen mit dem Chinazolin-Grundgerüst, aber nur 6377 davon fallen unter die 2(1H)-Chinazolinone, und nur 118 sind an Position 4 mit einer freien Aminofunktion substituiert.

Bis auf wenige Ausnahmen wurde 4-Amino-2(1H)-chinazolinon **IV** (im Folgenden kurz als Aminochinazolinon bezeichnet) aus 2-Aminobenzonitril **V** bzw. Anthranilsäureamid **VI** gewonnen. Dies erfolgte durch Umsetzung mit verschiedenen Isocyanaten (Schema 2).



Schema 2: Bekannte Synthesewege für Aminochinazolinon **IV** aus Anthranilsäure-Derivaten

Yamamoto et al.⁶⁶ versetzten 2-Aminobenzonitril **V** mit Trichloracetylchlorid. In Gegenwart von Ammoniumacetat wurde der Reaktionsansatz anschließend in DMSO zum Rückfluss erhitzt (a). Aus dem abgekühlten Ansatz konnte 4-Amino-2(1H)-chinazolinon **IV** isoliert werden.

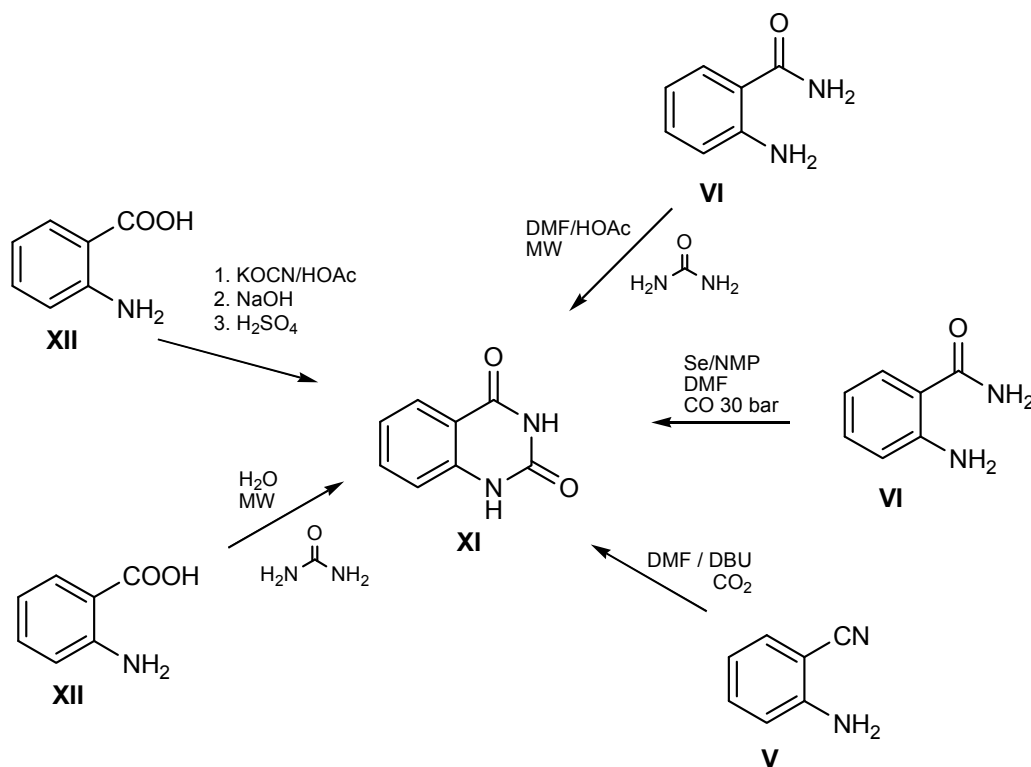
Ein weiterer Ansatz ist die Synthese von **IV** aus 2-Aminobenzonitril **V** mit Chlorsulfonylisocyanat in Dichlormethan bei Raumtemperatur⁶⁷. Durch Hydrolyse des nicht isolierten Zwischenproduktes **VIII** wird anschließend das Endprodukt erhalten (**b**).

Darüber hinaus kann 4-Aminochinazolinon **IV** aus der Umsetzung von Anthranilsäureamid **VI** mit Benzoylisothiocyanat erhalten werden. Bevor das Benzoylthioharnstoff-Intermediat **IX** cyclisiert werden kann, muss die Säureamid-Funktion durch Zusatz von DCC zum Nitril **X** umgewandelt werden (**c**)⁶⁸.

4.1.1.3 Synthese von 2,4(1H,3H)-Chinazolidionen

Als Variation der hydrophilen Molekülregion A sollten 2,4(1H,3H)-Chinazolidione synthetisiert werden, um den Einfluss der Aminofunktion auf die Bindung der Substanz in der Bindungstasche zu untersuchen.

Ebenso wie die 4-Aminochinazolinone wurden die Chinazolidione in der Literatur häufig aus Anthranilsäurederivaten synthetisiert (Schema 3).



Schema 3: Bekannte Synthesewege für 2,4-Chinazolidion **XI** aus Anthranilsäurederivaten

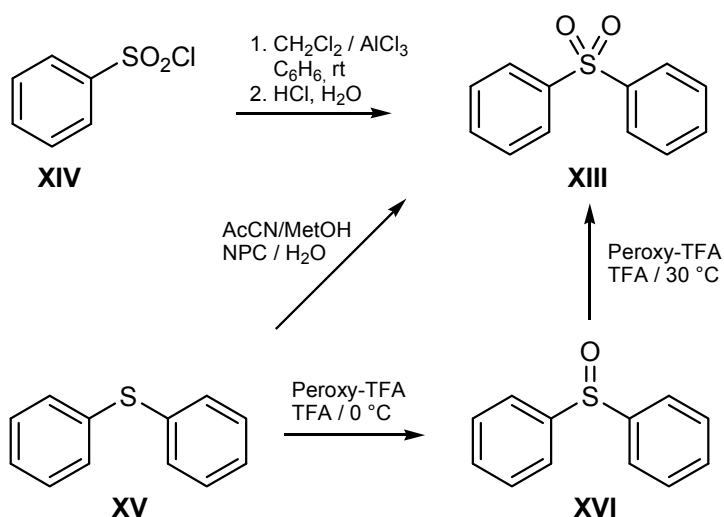
2,4(1H,3H)-Chinazolidion **XI** wurde aus Anthranilsäure **XII** und Kaliumcyanat⁶⁹ beziehungsweise Harnstoff⁷⁰ gewonnen. Ebenso gelang die Synthese von **XI**

ausgehend von Anthranilsäureamid **VI** und Harnstoff⁷¹ sowie durch die Umsetzung von **VI** mit Kohlenmonoxid⁷². Ein häufig angewandter Syntheseweg für Chinazolindione ist auch die Umsetzung von 2-Aminobenzonitril **V** mit Kohlendioxid⁷³.

4.1.2 Linker-Region

4.1.2.1 Synthese von Diarylsulfonen

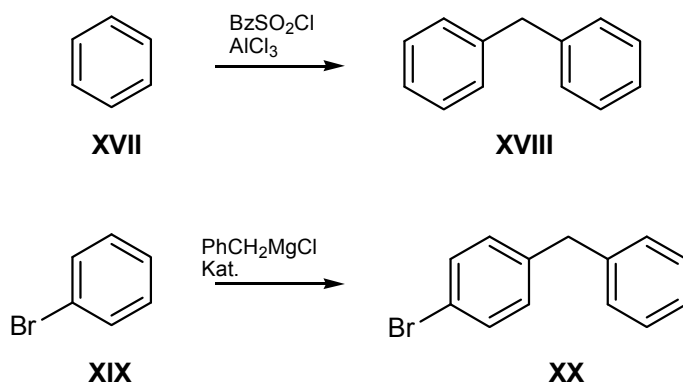
Die Synthese von Diarylsulfonen **XIII** erfolgt in der Literatur hauptsächlich über die Umsetzung von Arylsulfonylchloriden **XIV** mit Aromaten⁷⁴ und die Oxidation von Thioethern **XV**^{75,76}, welche über die Zwischenstufe der Sulfoxide **XVI** verläuft (Schema 4).



Schema 4: Synthese von Diphenylsulfon **XIII**

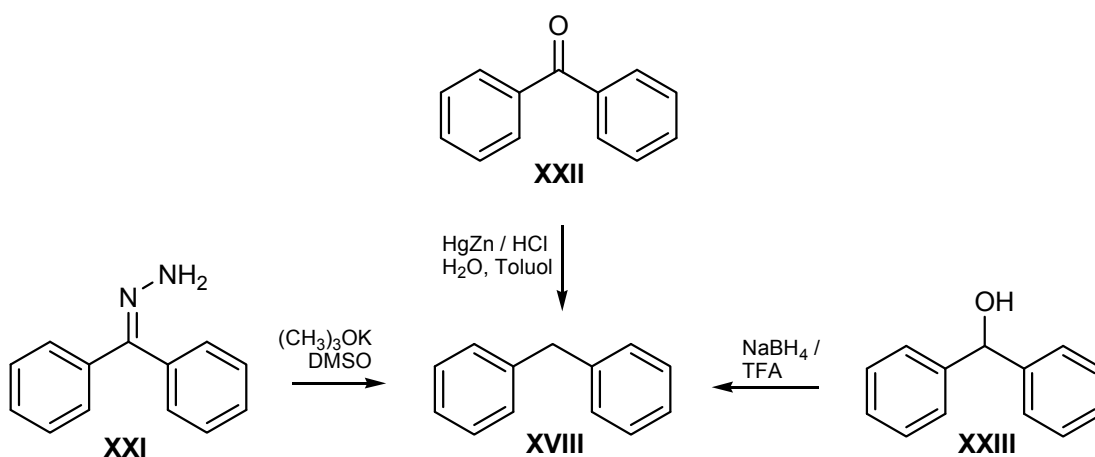
4.1.2.2 Synthese von Diarylmethanen

Die gängigsten Syntheseverfahren zur Darstellung von Diarylmethanen lassen sich in wenige Gruppen einteilen: Substitution von Aromaten **XVII** mittels Friedel-Crafts-Alkylierung^{77,78} und Umsetzung von Organometallarylen mit substituierten Aromaten **XIX**^{79,80} (Schema 5).



Schema 5: Synthese von Diarylmethan-Derivaten durch Substitution

Eine weitere Synthesemöglichkeit ist die Reduktion unterschiedlicher Ausgangsverbindungen **XXI**⁸¹, **XXII**^{82,83} oder **XXIII**⁸⁴ zum Kohlenwasserstoff **XVIII** (Schema 6).

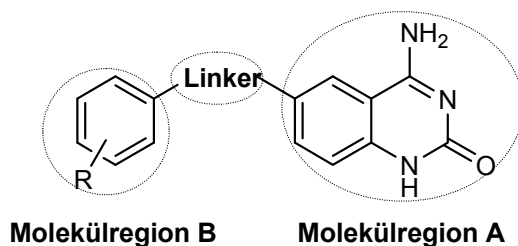


Schema 6: Synthesen von Diarylmethan **XVIII** durch Reduktion

4.1.2.3 Synthese von Benzoylchinazolinonen

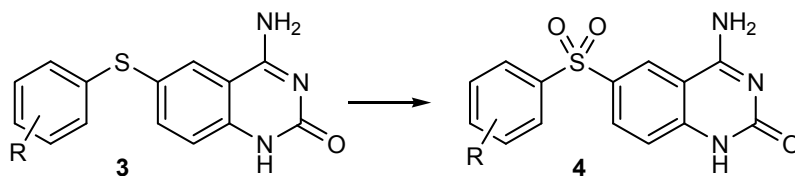
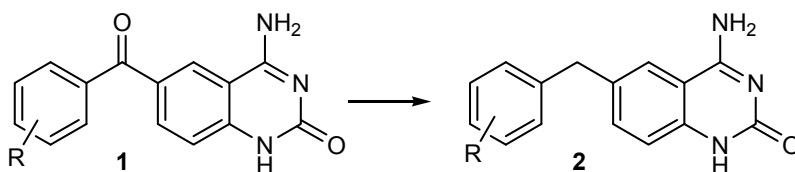
Die weitaus wichtigste Methode zur Synthese von Diarylketonen ist die Friedel-Crafts-Acylierung. Dabei werden vor allem elektronenreiche Aromaten mit aromatischen Säurechloriden und Säureanhydriden in Gegenwart von Katalysatoren in die gewünschten Produkte überführt⁸⁵.

4.2 Synthese-Strategie

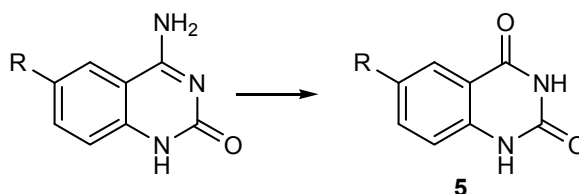


Nach der Sichtung der Literatur sollten die Synthesewege der einzelnen Substanzklassen entwickelt werden. Dabei wurde versucht, die verschiedenen Stoffklassen mit möglichst wenig Syntheseschritten ineinander zu überführen. Die Aminochinazolinone sollten zu 2,4-Chinazolidinonen **5** hydrolysiert und die Benzoylchinazolinone **1** direkt zu ihren Benzyl-Derivaten **2** reduziert werden, um durch nur einen zusätzlichen Reaktionsschritt eine neue Substanzklasse zu erhalten (Schema 7). Dies war im Rahmen einer effizienten Synthese mit hohen Ausbeuten wünschenswert.

Linkerregion



Molekülregion A

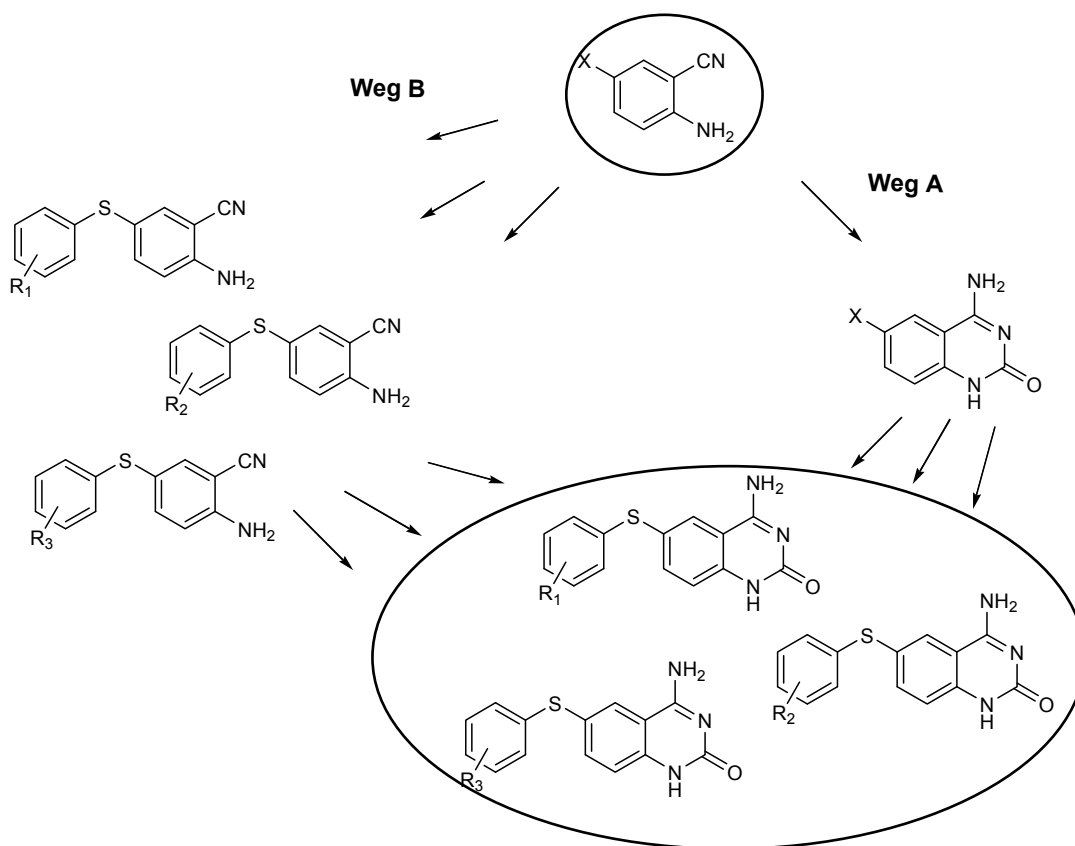


Schema 7: Umwandlung der Stoffklassen

Für die Synthese der 4-Amino-6-arylsulfonylchinazolinone **4** wurde der Weg über die Oxidation von Thioethern **3** gewählt, da diese leicht zugänglich zu sein schienen.

Durch Kupplung zwischen aromatischen Thiolen und einem halogenierten Aminoquinazolinon^{86,87} sollten verschiedene Derivate dargestellt werden, um diese dann in einem weiteren Schritt zu den Arylsulfonyl-Verbindungen zu oxidieren. Außerdem konnten die synthetisierten 6-(Arylthio)chinazolinone **3** ebenfalls auf ihre Wirksamkeit als Hsp90-Inhibitoren getestet werden und stellten somit eine weitere Stoffklasse dar.

Um die Anzahl der Syntheseschritte möglichst gering zu halten erschien es günstig, die verschiedenen Substanzklassen ausgehend von einem 4-Aminoquinazolinon-Derivat als Vorstufe aufzubauen (Schema 8, Weg A). So könnten zunächst Aminoquinazolinone mit verschiedenen Linkerregionen und lipophilen Bereichen dargestellt werden, die dann in jeweils einem Schritt zu Chinazolidinonen hydrolysiert werden. Der von nicht zyklisierten Vorstufen ausgehende Weg B beinhaltet eine frühzeitige Derivatisierung und damit eine größere Anzahl von Syntheseschritten für die Einzelsubstanzen.



Schema 8: Vergleich verschiedener Synthesewege am Beispiel der 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinone

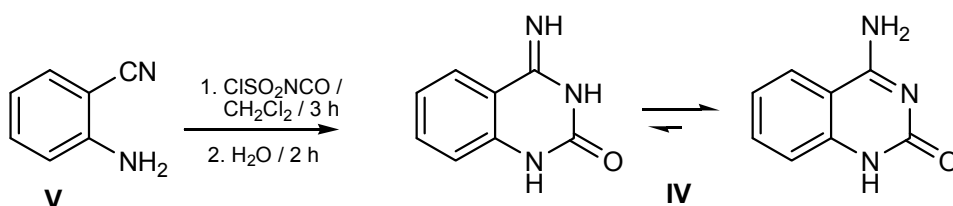
5 Synthese

5.1 Vorversuche

Zur Synthese der 4-Aminochinazolinon-Teilstruktur wurde die Synthesevorschrift nach Narender et al.⁶⁷ gewählt, da sie unter schonenden Bedingungen abläuft und mit 96 % eine höhere Produkt-Ausbeute liefert als andere bekannte Synthesen.

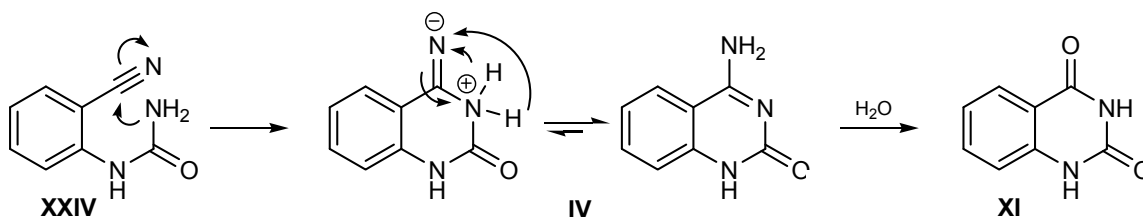
5.1.1 Synthese von 4-Aminochinazolinon

Als Beispielumsetzung wurde Anthranilsäurenitril **V** mit Chlorsulfonylisocyanat gemäß der Literaturvorschrift umgesetzt (Schema 9). Das Produkt wurde aus Ethanol umkristallisiert.



Schema 9: Umsetzung nach Narender et al.

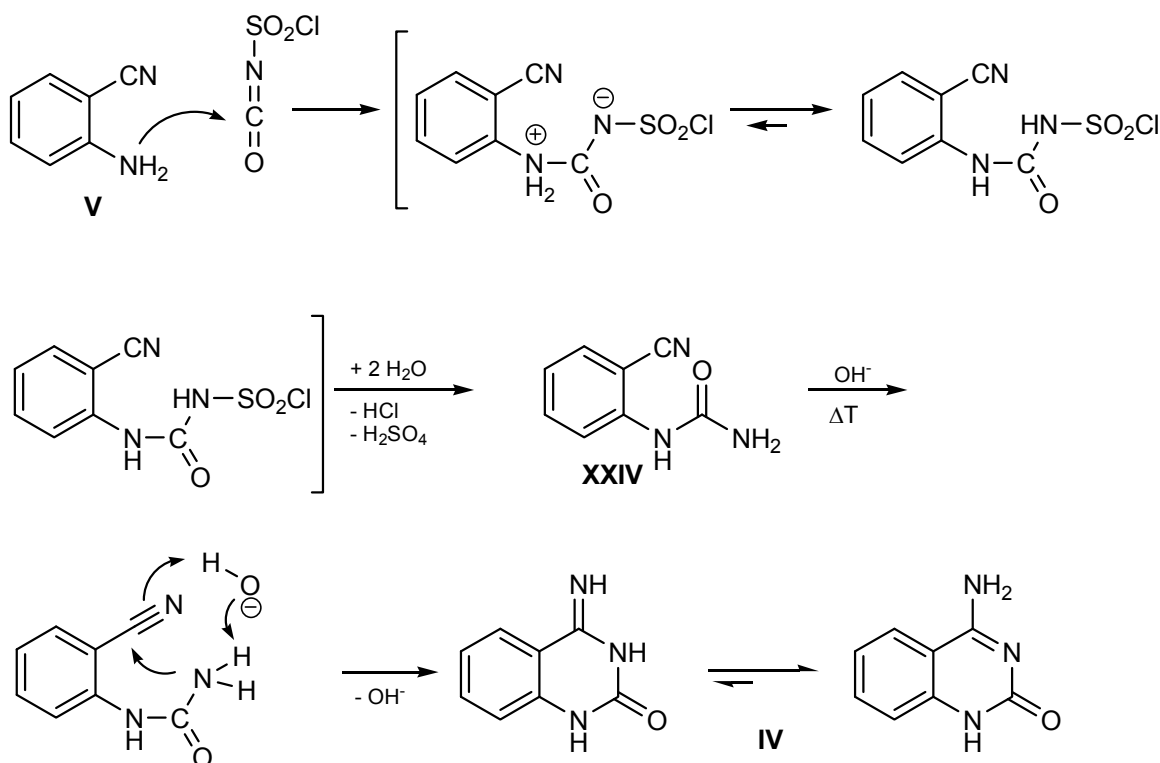
Im Gegensatz zu dem in der Literatur beschriebenen Produkt **IV** konnten zwei Produkte isoliert werden, die sich als der offenkettige N-(2-Cyanophenyl)harnstoff **XXIV** und 2,4(1*H*,3*H*)-Chinazolidion **XI** erwiesen (Schema 10). 4-Aminochinazolinon **IV** konnte dagegen nicht isoliert werden. Dies lässt darauf schließen, dass das intermediär gebildete **IV** unter den Reaktionsbedingungen oder bei der Aufarbeitung zum entsprechenden Chinazolidion **XI** hydrolysiert. Daraufhin wurde bei erneuten Versuchen die Dauer der Hydrolyse auf eine Stunde reduziert und Erhitzen in Lösungsmitteln über einen längeren Zeitraum vermieden.



Schema 10: Ablauf der Bildung und Hydrolyse von 4-Aminochinazolinon **IV**

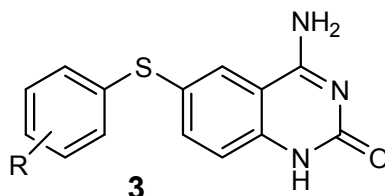
Durch Behandlung des offenkettigen Produkts **XXIV** mit 10%iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung kam es nicht zur Zyklisierung zu **IV**. Allerdings wurde aus der am Rotationsverdampfer eingedampften Suspension das gewünschte Aminochinazolinon **IV** isoliert. Alle Produkte konnten über ihre IR- und ^1H -NMR-Spektren durch Vergleich mit Literaturdaten^{67,68,88} identifiziert werden. Die Ausbeute von **IV** war mit 73 % deutlich niedriger als in der Literatur angegeben.

Die Isolierung des offenkettigen N-(2-Cyanophenyl)harnstoffs **XXIV** als Zwischenprodukt ließ Rückschlüsse auf den Reaktionsmechanismus zu. So wurde wahrscheinlich das positiviert Kohlenstoffatom des Isocyanates elektrophil vom Stickstoff der Aminofunktion angegriffen. Durch den -M-Effekt der Carbonylfunktion und des Chlorsulfonylrestes war der zweite Stickstoff nicht bzw. nur im geringen Maße in der Lage, elektrophil am Kohlenstoff der Nitrilgruppe anzugreifen. Durch Wasserzugabe kam es nun zur Hydrolyse des Chlorsulfonylrestes und das Harnstoffderivat **XXIV** lag in saurer Lösung vor (Schema 11). Wurde das Produkt in konzentrierter alkalischer Lösung erwärmt, erfolgte der Ringschluss zu **IV**.

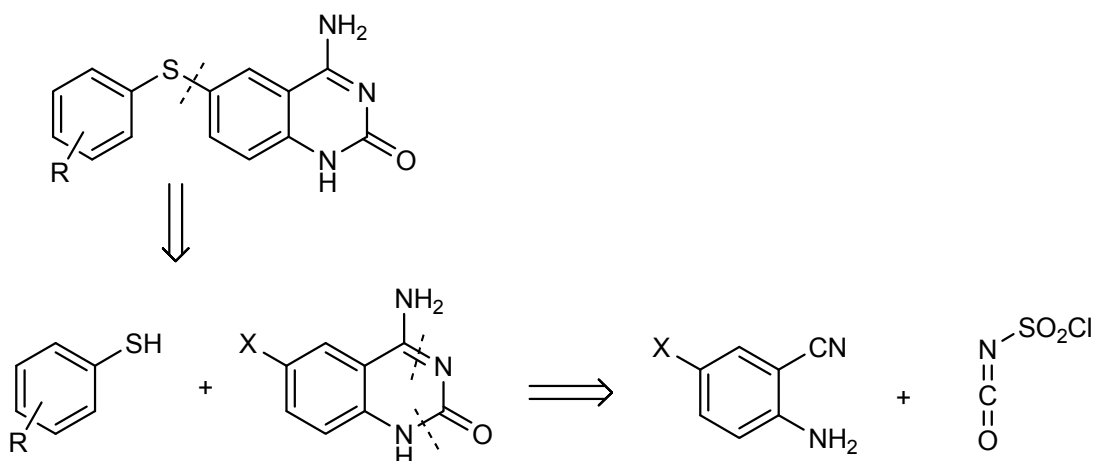


Schema 11: Möglicher Reaktionsablauf der Zyklisierung

5.2 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinone

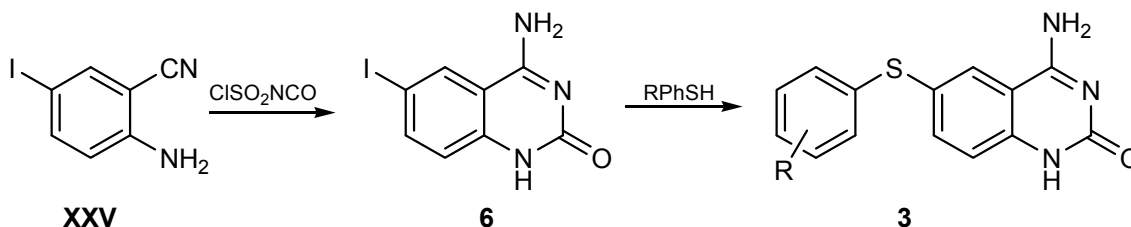


Wie in Kapitel 4.2 beschrieben, sollten die (Arylthio)chinazolinone **3** durch Kupplung zwischen aromatischen Thiolen und einem halogenierten Aminochinazolinon erhalten werden. Übereinstimmend berichteten mehrere Gruppen⁸⁹⁻⁹¹, dass Aryliodide bei der Kupplungs-Reaktion mit Thiolen reaktiver seien als die bromierten oder chlorierten Aromaten.



Schema 12: Retrosynthetische Betrachtung von (Arylthio)chinazolinonen

Nach retrosynthetischer Betrachtung (Schema 12) ergab sich unter Einbeziehung der Vorüberlegungen in Kapitel 4.2 folgender Syntheseweg (Schema 13):



Schema 13: Synthese von (Arylthio)chinazolinonen

Es finden sich in der Literatur⁹² nur zwei Aminochinazolinon-Derivate, die an Position 6 über eine Thioether-Brücke mit einem Aromaten verbunden sind (Abbildung 20). Die Autoren formulierten die Strukturen als 4-Amino-2-hydroxychinazoline, ohne diese tautomere Form durch weitere Angaben zu belegen.

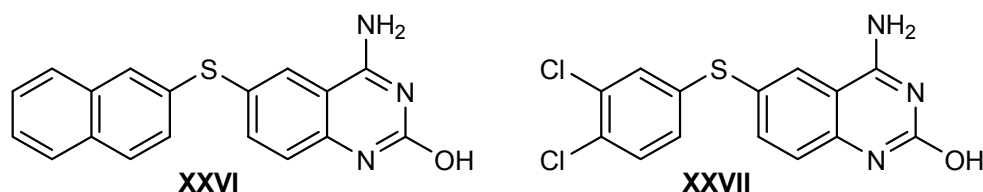
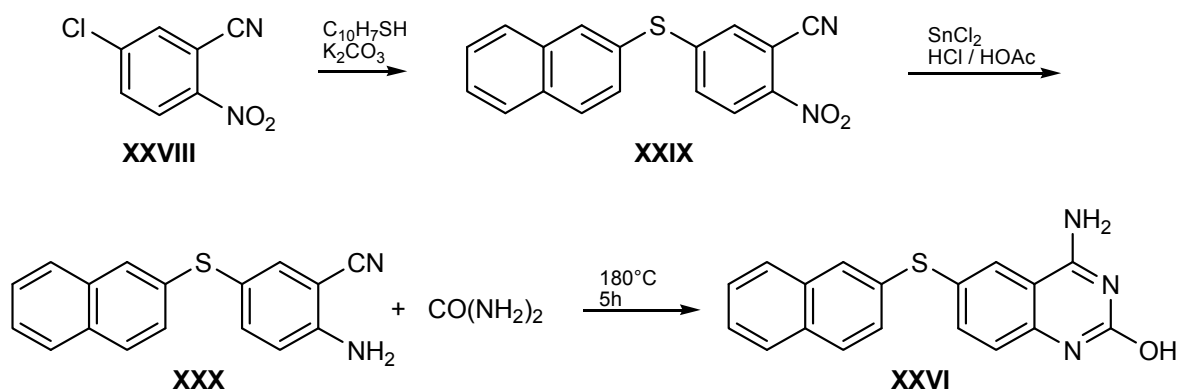


Abbildung 20: Bekannte 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinone

Die beschriebenen Thioether **XXVI** und **XXVII** wurden aus 2-Nitro-5-(arylthio)benzonitrilen erhalten, die zunächst reduziert und anschließend mit Harnstoff zyklisiert wurden (Schema 14).



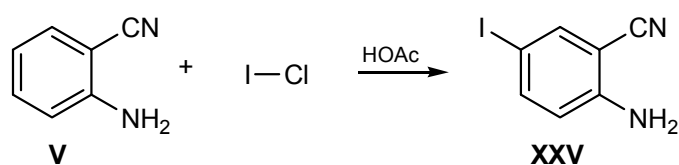
Schema 14: Synthese von 6-Arylthio-4-aminochinazolinonen nach Hynes et al.⁹²

Der in Schema 13 beschriebene Syntheseweg ist zur Synthese mehrerer Vertreter dieser Klasse jedoch sinnvoller, da erst im letzten Schritt verschiedene Derivate dargestellt werden und die Synthese somit effizienter sein sollte.

5.2.1 Synthese der Vorstufen

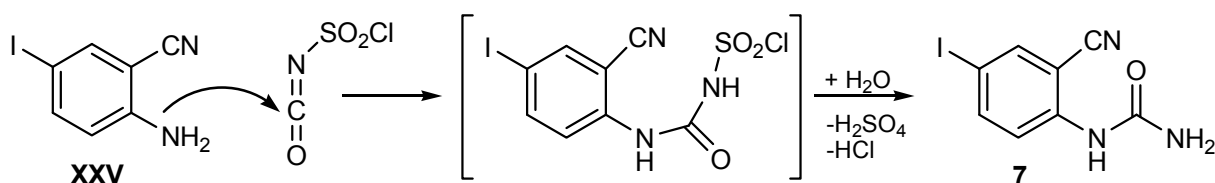
5.2.1.1 Synthese von 4-Amino-6-iodchinazolinon

XXV wurde aus in konzentrierter Essigsäure gelöstem 2-Aminobenzonitril **V** durch Zusatz von Iodmonochlorid synthetisiert (Schema 15)⁸⁰.



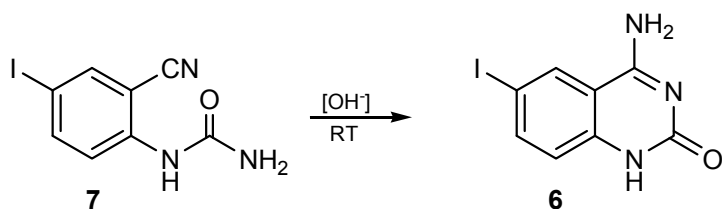
Schema 15: Iodierung von 2-Aminobenzonitril

Die Synthese des bisher nicht beschriebenen 4-Amino-6-iodchinazolinons **6** erfolgte nun mit Chlorsulfonylisocyanat in trockenem Dichlormethan bei Raumtemperatur⁶⁷. Dabei wurde bei der wässrigen Aufarbeitung eine Gelbildung beobachtet, deren Ursache nicht geklärt werden konnte. Um diese Gelbildung zu vermeiden, wurde in Abwandlung der Literaturvorschrift die Hydrolyse mit 50%igem Ethanol durchgeführt. Der isolierte Niederschlag erwies sich wie bei den Vorversuchen als das ringoffene Produkt **7** (Schema 16), welches in einer Ausbeute von 47 % erhalten wurde.



Schema 16: Reaktionsablauf bei der Synthese von **7**

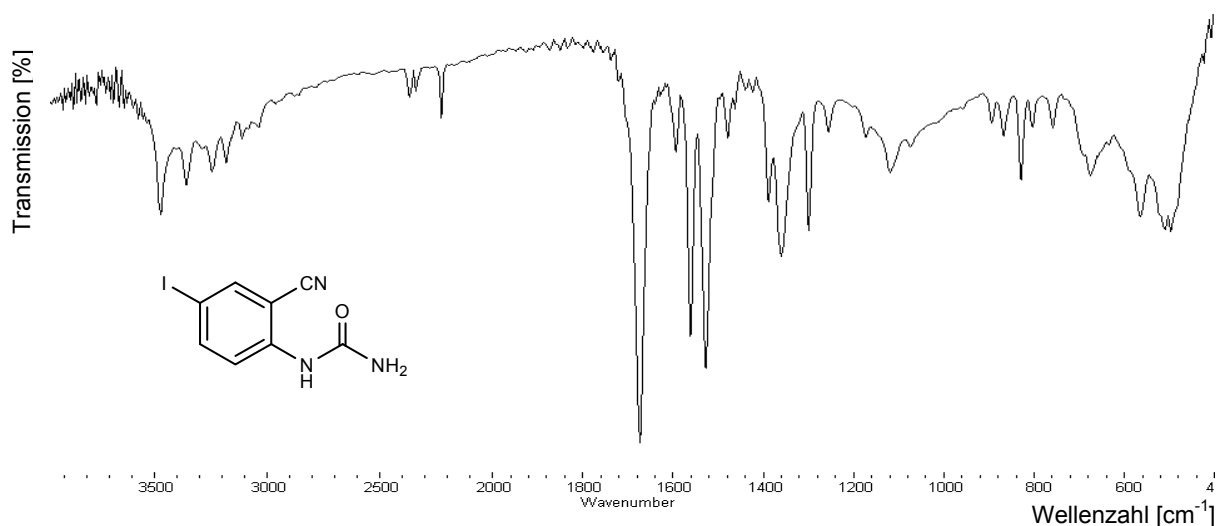
Dieses Derivat zyklisierte ohne Erwärmen durch Behandlung mit 10%iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung in 30 Minuten zum gewünschten Produkt 4-Amino-6-iodchinazolinon **6** mit einer Gesamtausbeute von 45 % (Schema 17).



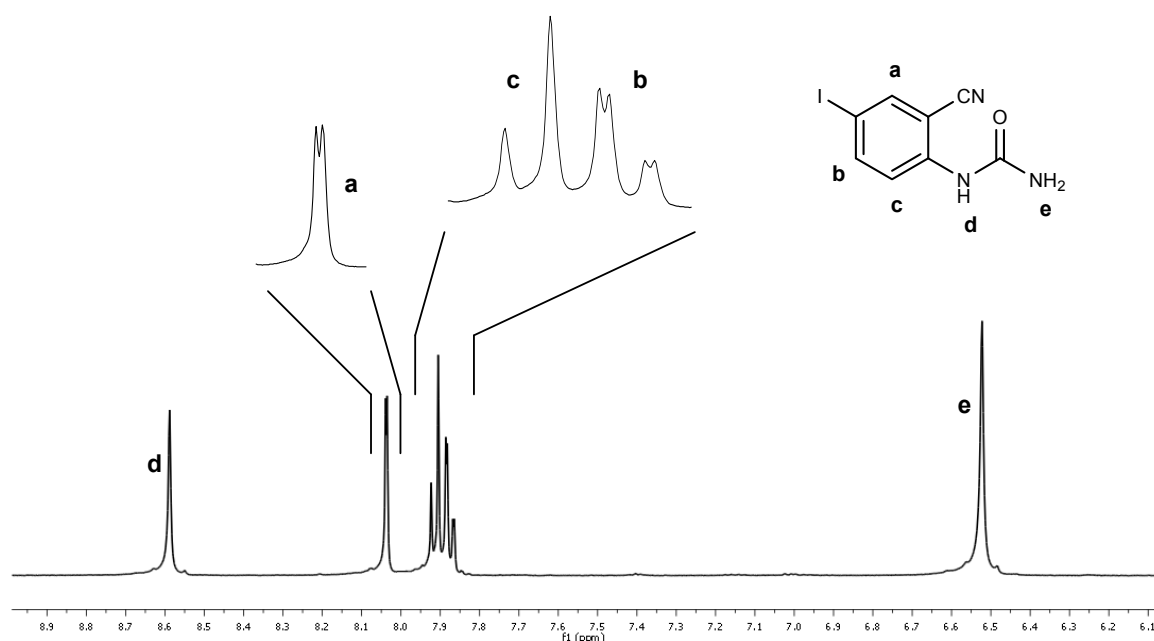
Schema 17: Zyklisierung von N-(2-Cyano-4-iodphenyl)harnstoff

5.2.1.2 Analytik der Vorstufen

Im IR-Spektrum des N-(2-Cyano-4-iodphenyl)harnstoffs **7** zeigten sich im Bereich 3000-3500 cm⁻¹ die Signale der NH-Valenzschwingungen (Abbildung 21). Die Bande der Nitril-Funktion war bei 2229 cm⁻¹ und das C=O-Signal bei 1673 cm⁻¹ zu sehen.

Abbildung 21: IR-Spektrum von **7**

Das ^1H -NMR Spektrum in $\text{DMSO-}d_6$ zeigte zwei Signale, die den Protonen des Harnstoffes zuzuordnen waren (6,52 ppm, 2H und 8,59 ppm, 1H) (Abbildung 22). Weiterhin gut zu erkennen waren die Fernkopplungen zwischen H(3) und H(5) mit einer Kopplungskonstanten von 1,86 Hz, so dass das Dublett bei 7,87 ppm dem Proton an C5 zugeordnet werden konnte.

Abbildung 22: Ausschnitt aus dem ^1H -NMR der offenkettigen Verbindung **7**

Die erfolgte Zyklisierung zu 4-Amino-6-iodchinazolinon **6** war infrarotspektroskopisch gut zu erkennen (Abbildung 23). Die Bande der Nitrilfunktion war nicht mehr sichtbar,

während das Signal der Carbonylfunktion leicht bathochrom verschoben bei 1669 cm^{-1} zu finden war. Ein weiteres Signal bei 1628 cm^{-1} ist auf die neu entstandene Amidin-Struktur zurückzuführen.

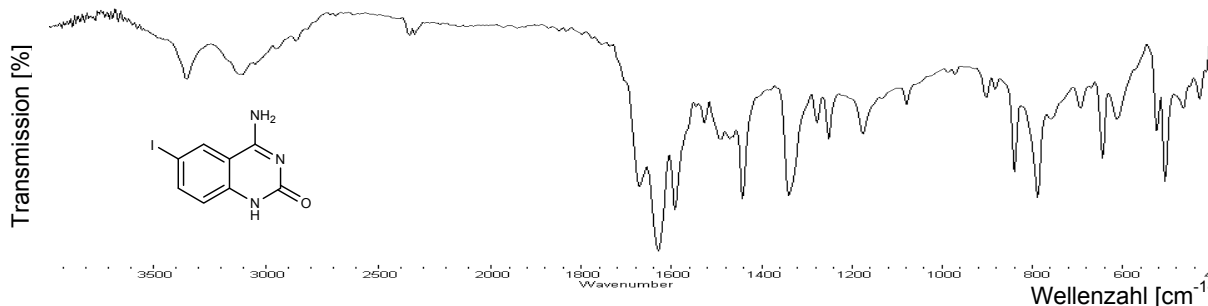


Abbildung 23: IR-Spektrum von 6

Das ^1H -NMR-Spektrum zeigte ebenfalls eine deutliche Veränderung. Das Dublett des Protons an C(8) des Chinazolinons wurde deutlich ins hohe Feld zu 6,95 ppm verschoben (Abbildung 24). Darüber hinaus waren die Signale der an Stickstoff gebundenen Protonen tieffeldverschoben (6,52 zu 7,91 ppm und 8,59 zu 10,77 ppm).

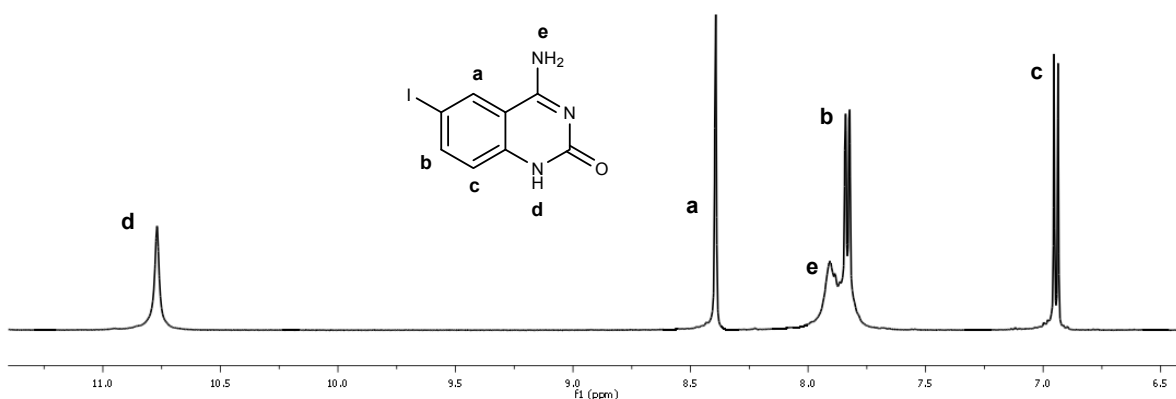
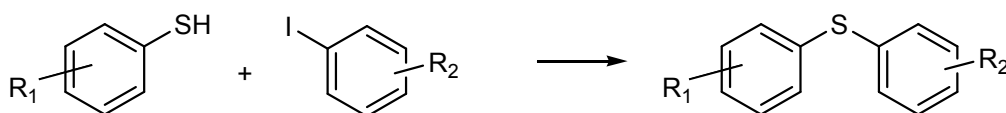


Abbildung 24: Ausschnitt aus dem ^1H -NMR der Verbindung 1

5.2.2 Synthese von 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinonen



Schema 18: Kupplungsreaktion zwischen Arylthiolen und Aryliodiden

Kupplungsreaktionen von Arylthiolen mit Aryliodiden (Schema 18) sind in der Literatur unter verschiedensten Bedingungen untersucht worden. Es haben sich

dabei mehrere Faktoren für eine erfolgreiche Umsetzung als notwendig erwiesen. So läuft die Reaktion nur unter Zusatz eines Katalysators (verschiedene Metallsalze) ab, eine Base (Alkalicarbonat) muss anwesend sein und in einigen Fällen wird ein Ligand (zum Beispiel Ethylenglykol) zur Komplexierung des Katalysators eingesetzt. Einige Autoren beschreiben die Umsetzung unter Schutzgas^{90,93,94}, während andere darauf verzichteten^{89,91,95-97}.

5.2.2.1 Umsetzung ohne Schutzgasatmosphäre

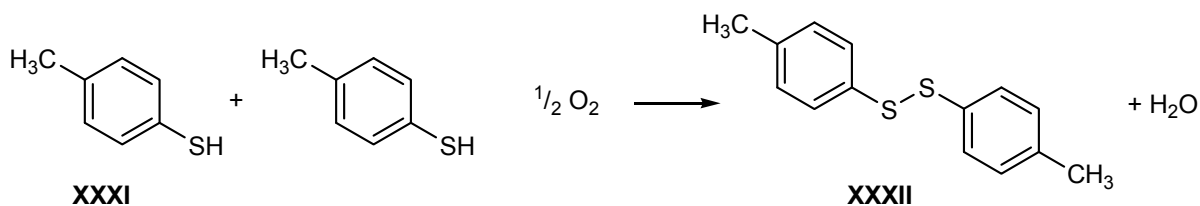
Zunächst wurden in Anlehnung an Literaturvorschriften^{95,97} die Iodverbindung **7** in DMF mit Kaliumcarbonat als Base und 4-Methylthiophenol **XXXI** ohne Zusatz eines Liganden und ohne Schutzgas umgesetzt.

Als Katalysator wurde Kupfer(I)iodid eingesetzt. Der Reaktionsansatz wurde im verschlossenen Kolben bei Raumtemperatur gerührt, aber weder nach 1,5 noch nach 17 Stunden konnte mittels Dünnschichtchromatographie eine Umsetzung festgestellt werden. Dagegen konnte nach mehrstündigem Erhitzen auf 70 °C dünnschichtchromatographisch eine Umsetzung beobachtet werden. Bei dem isolierten Produkt handelte es sich jedoch um das nicht erwünschte Disulfid **XXXII** des 4-Methylthiophenols **XXXI**. Daraufhin wurden verschiedene Faktoren der Umsetzung variiert (Tabelle 9), was ohne Erfolg blieb. Es wurde weiterhin das Disulfid **XXXII** isoliert.

Temperatur [°C]	Dauer [h]	Lösungsmittel	Menge CuI	Ligand	Edukt
70	16	DMF	kat.	-	1
130	16	DMF	äqu.	-	1
70	16	AcCN	kat.	-	1
70	16	AcCN	äqu.	-	XXV
130	16	DMF	kat.	ED	1

Tabelle 9: Variationen der Reaktionsbedingungen ohne Schutzgas

Da sich **XXXII** durch Oxidation von **XXXI** zum Beispiel mit Luftsauerstoff bildet (Schema 19), sollte in weiteren Versuchen unter Argon-Atmosphäre gearbeitet werden.



Schema 19: Oxidation von Arylthiolen zu Diarylsulfiden

Unter Zusatz von Ethylendiamin konnte beobachtet werden, dass der zuvor in allen Lösungsmitteln fast komplett unlösliche Ansatz in DMF unter Gelbfärbung in Lösung ging. Ohne Zusatz von Kupfer(I)iodid blieb die Substanz **1** auch in Gegenwart von Ethylendiamin fast vollständig ungelöst. Das lässt darauf schließen, dass Kupfer(I)iodid von Ethylendiamin komplexiert wurde, so dass der Katalysator wiederum mit dem Aminochinazolinon in Wechselwirkung treten konnte und dieses in Lösung brachte. Der Zusatz eines Liganden schien somit essentiell für die Kupplungsreaktion mit Arylchinazolinonen zu sein.

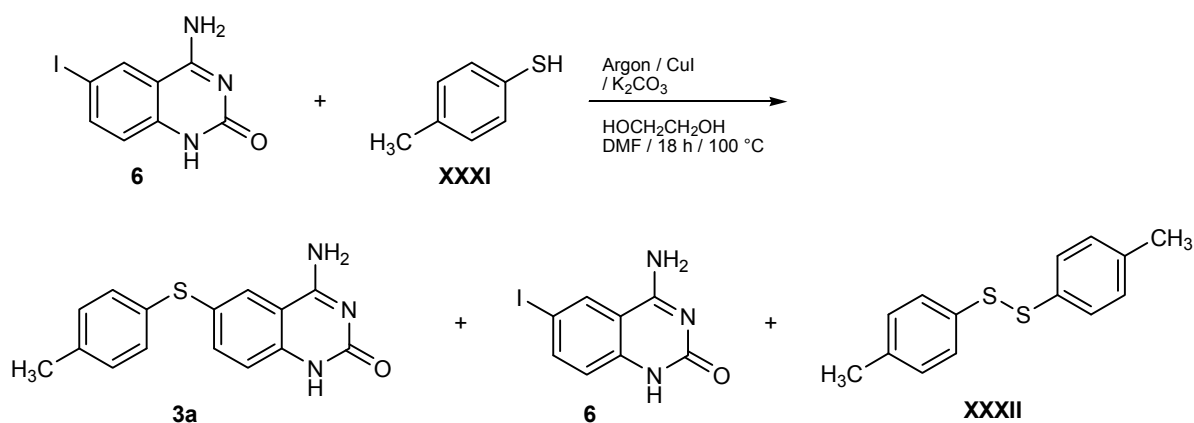
Die Struktur dieses Aminochinazolinon-Kupfer-Komplexes wurde nicht weiter aufgeklärt. Es ist aber vorstellbar, dass sie der Struktur von Cytosin-Kupfer-Komplexen ähnlich ist. Cytosin-Kupfer(I)-Komplexe sind nur wenig untersucht, da Kupfer(I) in wässrigen Lösungen nicht stabil ist und schnell oxidiert wird. Cytosin-Kupfer(II)-Komplexe werden zumeist als lineare Komplexe der Form $[\text{Cyt-Cu-Cyt}]^{2+}$ beschrieben, wobei die Bindung über N(3) des Cytosins verläuft⁹⁸. Dos Santos et al.⁹⁹ machten bei voltammetrischen Untersuchungen die Beobachtung, dass Cytosin und Cytidin in der Lage waren, Cu(I) zu stabilisieren. Daher ist in nichtwässriger Umgebung auch die Ausbildung von Kupfer(I)-Komplexen denkbar.

5.2.2.2 Umsetzung unter Argonatmosphäre

Da die eingesetzten Edukte nur in DMF und unter Zusatz eines Liganden gelöst werden konnten, wurde nun DMF als Lösungsmittel verwendet. Kupfer(I)iodid und Kaliumcarbonat wurden als Reaktanden beibehalten, als Ligand wurde in Anlehnung an Kwong et al.⁹³ zunächst Ethylenglykol eingesetzt.

Sowohl 4-Amino-6-iodchinazolinon **6** als auch dessen Vorstufe 2-Amino-5-iodbenzonitril **XXV** wurden als Edukte mit **XXXI** im Verhältnis 1:2 zur Reaktion gebracht. Beide Ansätze zeigten nach 18 Stunden bei 100 °C eine Umsetzung (Dünnschichtchromatographie).

Während die dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle für den Ansatz mit Aminoiodbenzonitril ein Substanzgemisch ohne Hauptprodukt zeigte, entstand bei der Umsetzung des Iodchinazolinons **6** ein gelber Niederschlag. Dieser wurde aufgearbeitet und als 4-Amino-6-(4-tolylthio)chinazolinon **3a** identifiziert. Mittels Dünnschichtchromatographie und im ^1H -NMR-Spektrum konnte allerdings trotz des Überschusses von **XXXI** eine Verunreinigung des Produktes mit nicht umgesetzten 6-Iodaminochinazolinon **6** festgestellt werden (Schema 20).



Schema 20: Synthese von 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinonen

Die Abtrennung des Eduktes **6** vom Produkt **3a** wurde durch die schlechte Löslichkeit beider Substanzen erschwert. So konnte mit keinem Elutionsmittel-Gemisch eine erfolgreiche säulenchromatographische Trennung erreicht werden. Auch nach Umkristallisation in DMF wurde kein reines Produkt erhalten. Um die Verunreinigung mit nicht umgesetzten Edukt zu vermeiden, sollte durch Variationen der Synthesebedingungen das Reaktionsgleichgewicht zu den Produkten verschoben werden.

5.2.2.3 Variationen der Versuchsbedingungen

Zunächst wurde ein deutlicher Überschuss (2,5fach) des Thiols eingesetzt, wodurch allerdings nur eine vermehrte Bildung von **XXXII** erreicht wurde. Auch eine verlängerte Reaktionszeit von 40 Stunden konnte das Reaktionsgleichgewicht nicht weiter auf die Seite des Produktes verschieben. So lag der Edukt-Anteil bei allen Umsetzungen zwischen 20 und 50 %, ermittelt über die Integrale im ^1H -NMR-Spektrum (Abbildung 25).

Als Variationsmöglichkeiten boten sich somit noch ein Austausch der Base, des Liganden und des Katalysators an.

Als Katalysator wurde zunächst anstatt Kupfer(I)iodid wasserfreies Eisen(III)chlorid eingesetzt⁹⁴. Allerdings fand in DMF mit K_2CO_3 und Ethylenglykol keine Umsetzung statt.

Triethylamin als Basenvariation⁹⁵ führt mit CuI und Ethylenglykol in DMF ebenfalls nur zum Ausgangsprodukt.

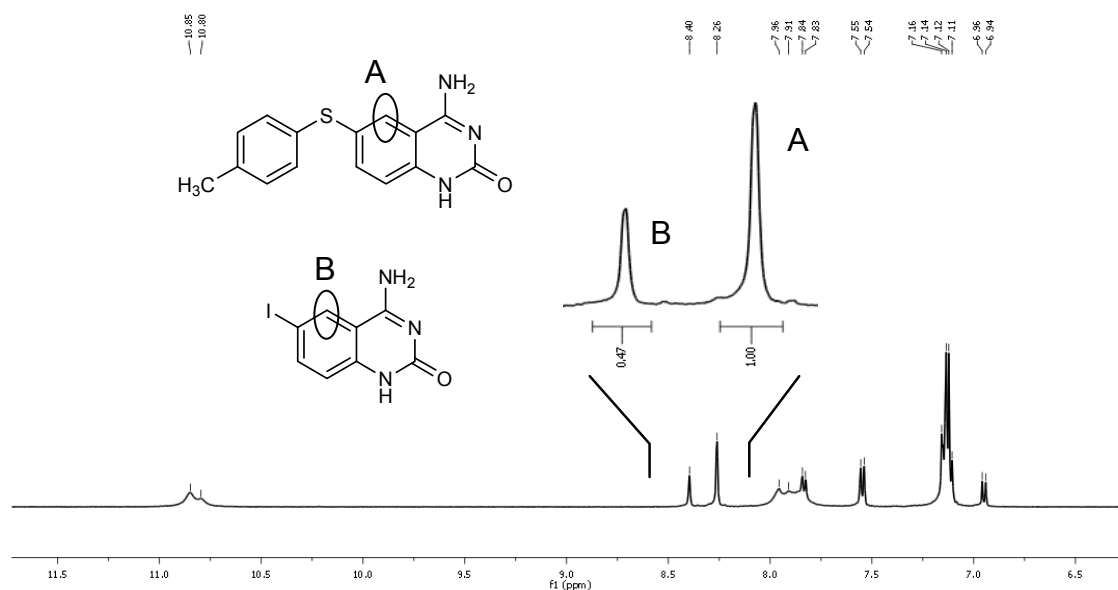


Abbildung 25: Ausschnitt aus dem ¹H-NMR-Spektrum des Substanzgemisches

Erst der Austausch des Liganden konnte die Umsetzung verbessern. Der Einsatz von Ethylendiamin führte zu **3a**, welches nur noch gering mit dem Edukt **6** verunreinigt war. Nicht umgesetztes Edukt **6** fiel nach ein bis zwei Tagen aus den Waschflüssigkeiten aus. Wurde zusätzlich die Thiolkomponente in zwei Portionen von jeweils einem Äquivalent im Abstand von 2 Stunden zugegeben, so war das Produkt **3a** frei von Verunreinigungen mit **6**. In Anbetracht der zuvor vergeblich durchgeführten Reinigungsversuche wurde die geringe Ausbeute von 20 % in Kauf genommen.

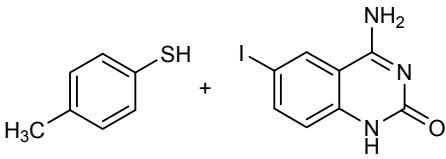
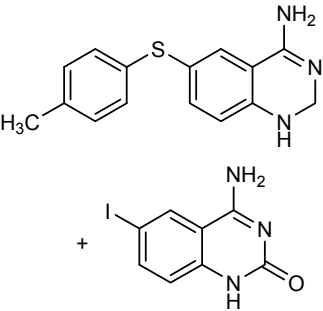
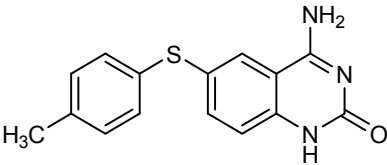
			
Ligand	Base	Katalysator	Produkt
Ethylenglykol	K ₂ CO ₃	CuI	
Ethylenglykol	K ₂ CO ₃	FeCl ₃	keine Umsetzung
Ethylenglykol	Triethylamin	CuI	keine Umsetzung
Ethylendiamin	K ₂ CO ₃	CuI	
Reaktionsbedingungen: Argonatmosphäre, in DMF, 100 °C , 16-20 h			

Tabelle 10: Versuche zur Optimierung der Reaktionsbedingungen

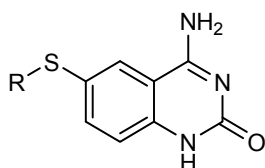
5.2.3 Analytik der 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinone

IR-, Massen- und NMR-Spektren unterstützten zunächst die Struktur des erwarteten Produktes. Die elementaranalytischen Untersuchungen ergaben jedoch eine deutliche Differenz im Kohlenstoffanteil. Die ermittelten Werte waren gut 4 % niedriger als erwartet. Auch nach Umkristallisieren der Substanz aus heißem DMF und Wasser konnten keine Analysenwerte erhalten werden, welche die erwartete Struktur unterstützten. Die Vermutung, dass die Substanz noch mit Kupferionen verunreinigt war, welches durch die Aminochinazolinon-Teilstruktur komplexiert wurde, konnte durch Behandlung mit Ethylendiamin-Lösung bestätigt werden. Es bildete sich ein tiefvioletter Kupfer-Ethylendiamin-Komplex aus. Da Kupfer(I)iodid als

Katalysator nur in katalytischen Mengen eingesetzt worden war, konnte über eine Elementaranalyse keine Aussage zur stöchiometrischen Zusammensetzung des Komplexes gemacht werden.

Durch Suspendieren des Rohprodukts in einer Mischung aus 10%iger Ethylendiamin-Lösung und Methanol (1:1) konnte das Kupfer nahezu vollständig aus dem Produkt entfernt werden.

Allerdings konnten die Substanzen selbst durch wiederholtes Umkristallisieren nicht in analysenreiner Form erhalten werden. Nur für Verbindung **3f** konnten elementaranalytische Werte mit einer Abweichung von unter 0,3 % ermittelt werden. Daher wurde ein HPLC-Verfahren zur Reinheitsbestimmung der Substanzen entwickelt. Die Substanzen zeigten ein UV-Absorptionsmaximum zwischen 222 und 231 nm, daher wurde 225 nm als Detektionswellenlänge gewählt. Die so ermittelten Reinheiten lagen zwischen 95,2 und 98,4 % (Tabelle 11) und erfüllten somit die Anforderungen für biologische Testungen.



Substanz	R	Ausbeute [%]	t _{ret} [min] ^{a)}	AUC [%]
3a	<i>p</i> -Tolyl	21	9,5	97,3
3b	Phenyl	17	7,5	97,0
3c	4-Methoxyphenyl	9	8,0	97,8
3d	4-Chlorphenyl	13	9,3	97,0
3e	4-(2-Propyl)phenyl	18	11,7	95,2
3f	4-Fluorphenyl	22	7,9	95,2
3g	2-Naphthyl ⁹²	23	10,6	98,4

^{a)} Edukt **6**: t_{ret} = 5,5 min

Tabelle 11: Synthetisierte 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinone

Alle Vertreter dieser Klasse wiesen analytische Übereinstimmungen auf, so dass folgende Charakteristika für die Substanzklasse der 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinone zusammengefasst werden konnten (Tabelle 12).

	- Signal der NH-Valenzschwingungen zwischen 3050 und 3450 cm^{-1}
IR-Spektrum	- Bande der NH_2 -Deformationsschwingung oder C=N-Valenzschwingung um 1630 cm^{-1} , eine Schulter bei etwa 1670 cm^{-1} entspricht der C=O-Valenz
^1H -NMR (DMSO- d_6)	- Das Signal des Protons an Position 5 des Chinazolingerüsts liegt zwischen 8,24 und 8,34 ppm und zeigt oft eine Aufspaltung durch Fernkopplung mit H(7). - Das Signal der Aminofunktion erscheint als koaleszierendes Dublett zwischen 7,80 und 8,00 ppm. - Das Signal des Protons an N(1) erscheint um 10,80 ppm.
^{13}C -NMR (DMSO- d_6)	- Das Signal des C(4a) erscheint zwischen 105 und 110 ppm - C(2) und C(4) ergeben Signale um 156 und 163 ppm

Tabelle 12: Spektroskopische Eigenschaften der Thioether **3a-g**

Beispielhaft sind die Spektren der Verbindung **3c** aufgeführt (Abbildung 26 und Abbildung 27).

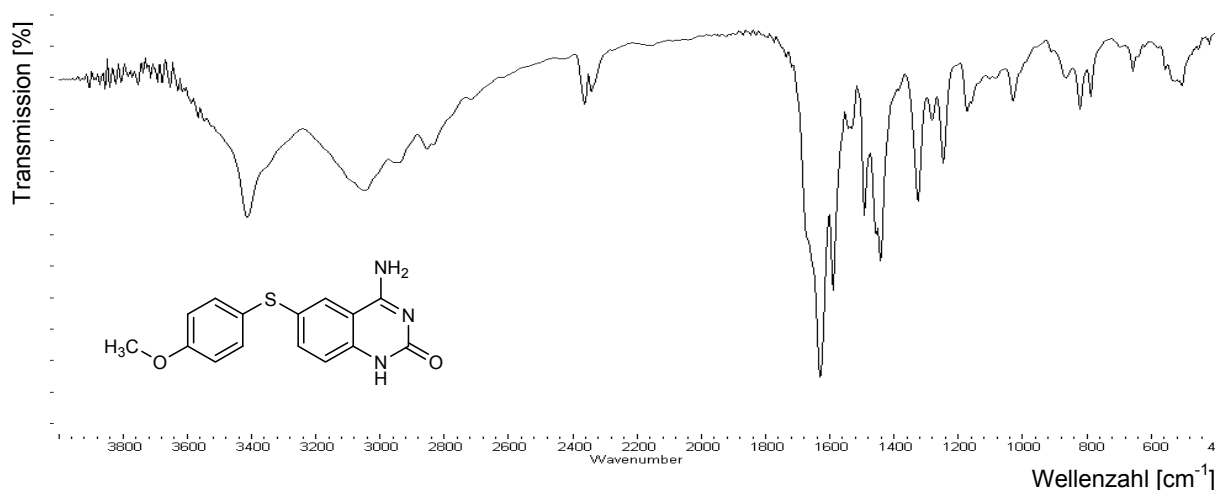


Abbildung 26: IR-Spektrum von **3c**

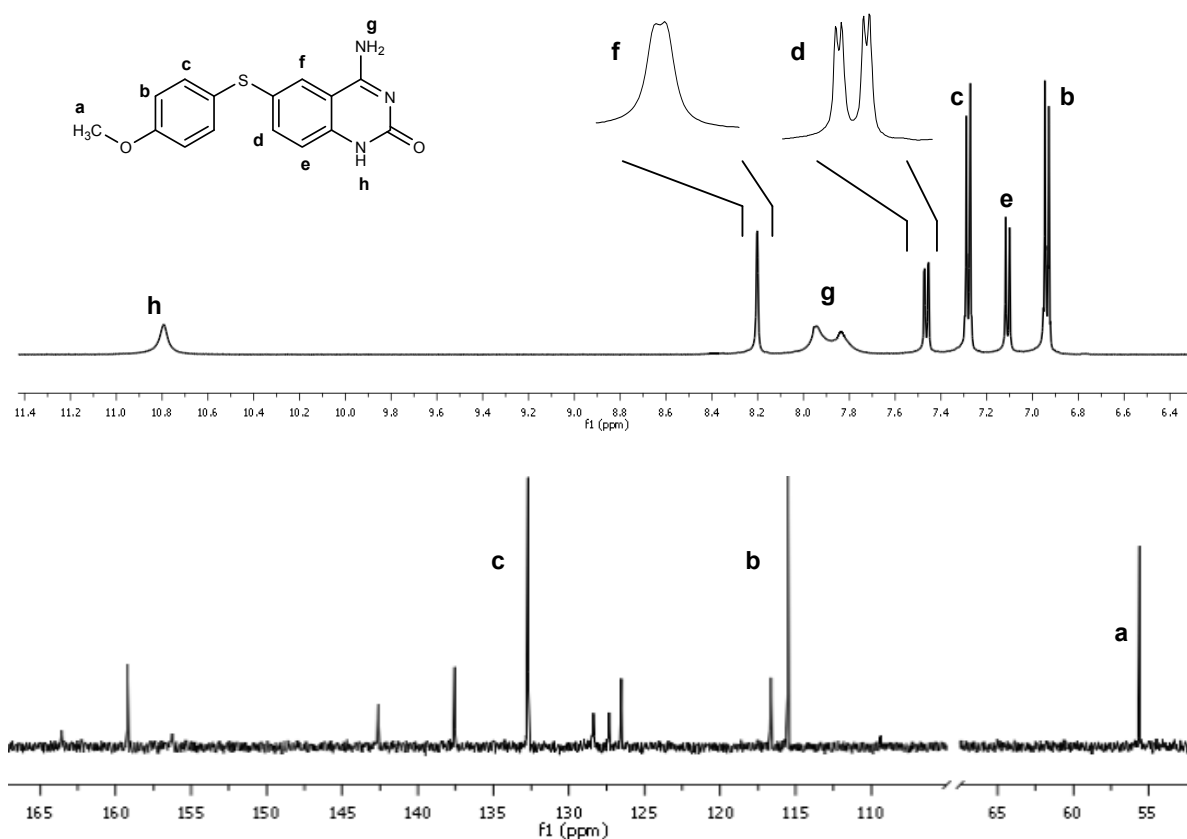


Abbildung 27: Ausschnitte aus den ^1H -NMR- und ^{13}C -Spektren von 3c

5.2.4 Strukturaufklärung

Die Aminochinazolinon-Struktur kann theoretisch in verschiedenen tautomeren Formen vorliegen. Die Modellverbindung **IV** wurde in der Literatur unterschiedlich beschrieben. Bei Chien et al.⁶⁸ und in einer Patentschrift¹⁰⁰ wurde das Produkt als Aminochinazolinon bezeichnet, wohingegen eine dritte Quelle⁶⁷ vom Vorliegen des Iminochinazolinons ausging.

In Abbildung 28 sind die 5 möglichen Tautomeren angegeben, bei denen das aromatische System des annelierten Ringes nicht beteiligt ist.

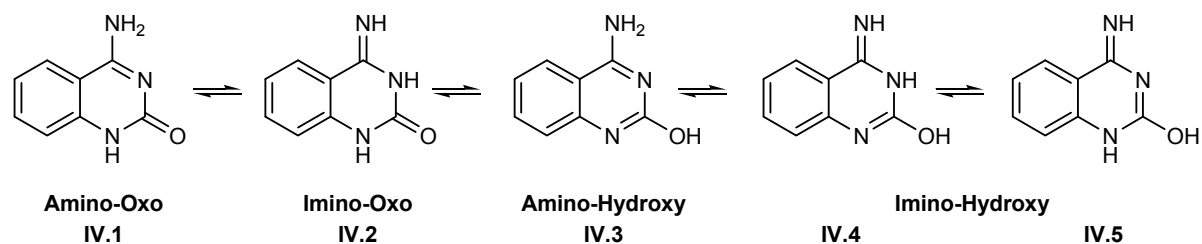


Abbildung 28: 5 mögliche Tautomere von 4-Aminochinazolinon

Da die für eine Röntgenstrukturanalyse notwendigen Kristalle nicht erhalten werden konnten, sollte aus den vorhandenen analytischen Daten der synthetisierten Substanzen **IV** und **3a-g** auf deren tautomere Struktur geschlossen werden.

5.2.4.1 IR-Spektroskopie

Die charakteristischen Strukturen der Tautomere sind die exozyklischen Amino- bzw. Iminogruppen sowie die Carbonyl- bzw. Hydroxyfunktionen. Sie alle sind in der Regel im IR-Spektrum durch die Lage der Signale gut zu identifizieren.

Teilstruktur	erwartete Absorptionen [cm ⁻¹]	
	Bereich > 3000	Bereich < 3000
NH ₂	3100 - 3400 ^{a)} ν(NH)	1600 - 1660 ν(NH)
C=NH	3300 - 3400 ν(NH)	1640 - 1690 ν(C=N)
C=O	-	1640 - 1700 ν(C=O)
O-H	3100 - 3600 ν(OH)	-

^{a)} 2 Signale

Tabelle 13: Frequenzbereiche einzelner Strukturmerkmale im IR-Spektrum

Durch Vergleich der IR-Spektren verschiedener aromatischer Verbindungen* mit ähnlichen Strukturmerkmalen wurden Absorptionsfrequenzen ermittelt, die für die verschiedenen Tautomere zu erwarten wären (Tabelle 13). Dabei wurde deutlich, dass sich die Frequenzbereiche der NH-Deformationsschwingungen und der C=O- und C=N-Valenzschwingungen überschneiden. Eine eindeutige Zuordnung der in

* Anilin, Phenol, 2-Pyridinamin, 2-Pyridon, 4(3*H*)-Pyrimidinon, Uracil, Cytosin¹⁰¹, 4-Aminopyrimidin¹⁰², 2(*H*)-Pyrimidinon¹⁰³

diesem Bereich auftretenden Banden zu einer dieser Strukturen war folglich schwer möglich.

Die Spektren der Modellsubstanz **IV** und auch der synthetisierten (Arylthio)chinazolinone **3a-g** wiesen sowohl oberhalb von 3100 cm^{-1} als auch zwischen 1600 und 1700 cm^{-1} ausgeprägte Absorptionsbanden auf. Bei allen Substanzen waren diese über 3100 cm^{-1} allerdings weniger intensiv, als es für eine exozyklischen Aminofunktion zu erwarten wäre. Im Vergleich mit dem Spektrum des strukturverwandten Cytosins waren jedoch Ähnlichkeiten zu erkennen (Tabelle 14).

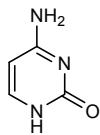
Absorptionen		4-Amino- chinazolinon IV	4-Amino-6-(4- methoxyphenylthio)- chinazolinon 3c	Cytosin ¹⁰⁴
				
Wellenzahlen [cm⁻¹] in KBr	$\nu(\text{NH}_2)$	3475	3350	3383
	$\nu(\text{NH}_2)$	3132	3105	3118
	$\nu(\text{C=O}) /$ $\nu(\text{C=N})$	1654	1668	1661
	$\nu(\text{NH}_2)$	1629	1628	1634

Tabelle 14: Vergleich der ermittelten Wellenzahlen

Cytosin liegt kristallin bevorzugt in der Amino-Oxo-Form vor^{104,105}, was durch Röntgenstrukturanalysen bestätigt wurde¹⁰⁶. Das Signal bei 1634 cm^{-1} im IR-Spektrum des Cytosins führten Samijlenko et al.¹⁰⁴ auf die Deformationsschwingungen der NH_2 -Gruppe zurück. Die Absorption bei 1668 cm^{-1} entsprach der Carbonylfunktion.

Der Vergleich mit dem Cytosin unterstützte die Struktur **IV.1** für die synthetisierten Substanzen. Die ähnlichen Frequenzbereiche der Teilstrukturen der verschiedenen Tautomeren ließen jedoch keine endgültige Aussage hinsichtlich des vorliegenden Tautomers zu.

5.2.4.2 NMR-Spektroskopie

Im ^1H -NMR-Spektrum eines 4-Aminochinazolin-2-ons der Form **IV.1** sind nur zwei Einzelsignale für NH-Protonen zu erwarten, wovon eines den beiden Wasserstoffen der Aminofunktion entsprechen sollte. Wie schon bei der Modellsubstanz **IV**, waren

im Spektrum aller synthetisierten Verbindungen **2a-g** aber drei Signale für NH-Protonen zu erkennen. Zwei davon lagen zwischen 7,8 und 8 ppm und koaleszierten deutlich. Im Fall der Modells substanz **IV** lagen diese beiden Signale nur 0,09 ppm (= 42,7 Hz) auseinander (Tabelle 15).

	4-Amino- chinazolinon IV	4-Amino-6-(4-methoxyphenylthio)- chinazolinon 3c	Cytosin	Quelle
¹ H-NMR [ppm]	7,78	7,78	7,03	104
NH-Protonen	7,87	7,94	-	
	10,69	10,79	10,39	
¹³ C-NMR [ppm]				107
C(2)	156,11	156,28	156,0	
C(4)	163,71	163,55	165,7	

Tabelle 15: Vergleich der Signale in den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren (in DMSO-d₆)

Die Nähe der Signale deutete darauf hin, dass die beiden Protonen nicht notwendigerweise an verschiedene Stickstoffe gebunden waren. Wenn die freie Drehbarkeit einer Aminofunktion eingeschränkt ist, sind ihre beiden Protonen nicht mehr äquivalent und geben somit zwei verschiedene Signale im ¹H-NMR-Spektrum. Dies wird zum Beispiel für Cytosinhydrochlorid oder auch für Cytosin-Platin-Komplexe berichtet¹⁰⁷ (Abbildung 29). Bei diesen Substanzen ist die freie Drehbarkeit der Aminofunktion durch Substitution oder Komplexierung an N(3) beeinträchtigt. Es wurden Aufspaltungen des NH₂-Signals von bis zu 1,1 ppm (Cytosinhydrochlorid) beobachtet¹⁰⁵.

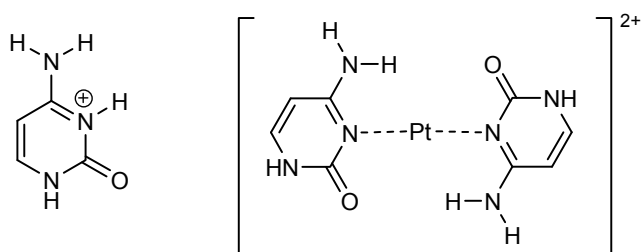


Abbildung 29: Am N(3) substituierte Cytosin-Verbindungen

Die vorliegenden Verbindungen **IV** und **3a-g** besaßen am N(3) keinen Substituenten, der auf die Drehbarkeit der Aminofunktion Einfluss nehmen konnte. Auch der annellierte Ring sollte sich räumlich nicht auf die Aminofunktion auswirken. Wie in Abbildung 30 schematisch gezeigt, war jedoch eine Wechselwirkung mehrerer Substanzmoleküle untereinander oder mit dem Lösungsmittel DMSO- d_6 denkbar. Durch Ausbildung von Wasserstoffbrücken könnte somit die Äquivalenz der Protonen gestört werden.

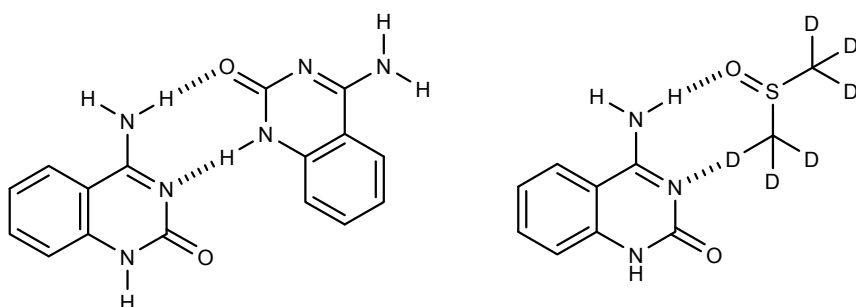
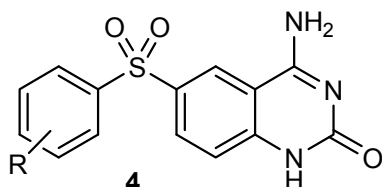


Abbildung 30: Mögliche Ursachen des koaleszierenden NH_2 -Signals im ^1H -NMR-Spektrum von **IV** und **3a-g**

Der Vergleich der ^{13}C -NMR-Spektren der Aminochinazolinone zeigte große Ähnlichkeiten zum Cytosin. Die Lage des C(2)-Signals war mit 156 ppm bei allen Verbindungen identisch. Das C(4)-Signal ist bei den 4-Aminochinazolinonen **3a-g** im Vergleich zum Cytosin bedingt durch den annellierten Benzolring um 2 ppm hochfeldverschoben.

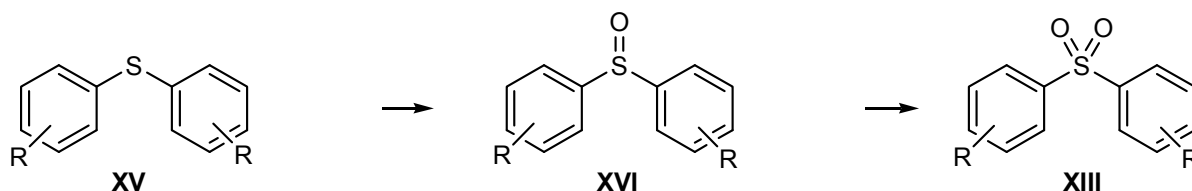
Auch wenn im Rahmen dieser Arbeit nicht abschließend geklärt werden konnte, welche tautomere Form die synthetisierten Verbindungen einnehmen, schien das Vorliegen der Amino-Oxo-Form in Analogie zum Cytosin auf der Grundlage der vorhandenen Daten wahrscheinlich zu sein.

5.3 4-Amino-6-(arylsulfonyl)chinazolinone



5.3.1 Synthese

Die 4-Amino-6-(arylsulfonyl)chinazolinone sollten durch Oxidation der in Kapitel 5.2.2 beschriebenen (Arylthio)chinazolinone **3a-g** erhalten werden. Die Oxidation von Thioethern verläuft über die Zwischenstufe der Sulfoxide, die unter geeigneten Bedingungen auch isoliert werden können¹⁰⁸ (Schema 21).



Schema 21: Ablauf der Oxidation von Thioethern zu Sulfonen

Zunächst wurde versucht, die (Arylthio)chinazolinone **3a-g** durch Erhitzen mit 30%iger Wasserstoffperoxid-Lösung in Essigsäure zu oxidieren¹⁰⁸. Da das so erhaltene Substanzgemisch nicht weiter aufgetrennt werden konnte, wurden für weitere Versuche mildere Oxidationsbedingungen gewählt.

In Anlehnung an Alonso et al.¹⁰⁹ wurde im alkalischen Milieu in Gegenwart von Wasserstoffperoxid und Mangan(II)sulfat gearbeitet. Im Gegensatz zur Literatur konnte weder in DMF noch in Acetonitril nach 15 Minuten bei Raumtemperatur eine Umsetzung festgestellt werden. Während längeres Rühren über 24 Stunden in DMF nicht zur Oxidation führte, konnte im Ansatz mit Acetonitril als Lösungsmittel dagegen nach 24 Stunden kein Ausgangsprodukt mehr nachgewiesen werden. Im ¹H-NMR-Spektrum zeigte sich allerdings erneut ein Produktgemisch, welches dünnschichtchromatographisch nicht zu erkennen gewesen war. Über das Massenspektrum konnten die Komponenten als das gewünschte Sulfon **XIII** und das als Zwischenprodukt entstandene Sulfoxid **XVI** identifiziert werden (Schema 21).

Um eine vollständige Umsetzung in angemessener Zeit zu erreichen, sollte ein weiteres Oxidationssystem verwendet werden. Es wurde mit Wasserstoffperoxid und

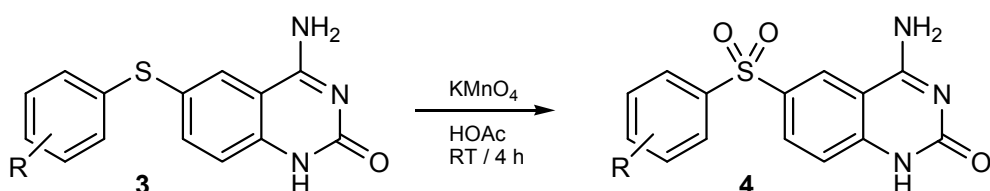
Silicaschwefelsäure¹¹⁰ bei Raumtemperatur gearbeitet. Die Silicaschwefelsäure wurde aus Kieselgel 60 und Chlorsulfonsäure hergestellt¹¹¹.

Die Umsetzung des Thioethers **3a** zeigte bei Raumtemperatur weder in DMF noch mit Acetonitril als Lösungsmittel eine Reaktion. Auch Erhitzen auf 60 °C für 60 Minuten führte nicht zur gewünschten Umsetzung. Der Ansatz in Acetonitril wurde nun für 65 Stunden bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde erneut ein Gemisch aus Sulfoxid und Sulfon isoliert (Tabelle 16).

Lösungsmittel	Katalysator / Zusätze	Temperatur [°C]	Zeit [h]	Ergebnis
HOAc	-	100	0,5	Zersetzung
DMF	MnSO ₄ / NaHCO ₃ -Lsg	RT	24	keine Umsetzung
AcCN	MnSO ₄ / NaHCO ₃ -Lsg	RT	24	Sulfon / Sulfoxid
DMF	Silica-H ₂ SO ₄	60	1	keine Umsetzung
AcCN	Silica-H ₂ SO ₄	60	1	keine Umsetzung
AcCN	Silica-H ₂ SO ₄	60	65	Sulfon / Sulfoxid

Tabelle 16: Oxidationsversuche mit Wasserstoffperoxid 30 %

Da sich Wasserstoffperoxid für die Oxidation von Thioethern zu Sulfonen als ungeeignet erwiesen hatte, wurde nach einem alternativen Oxidationsmittel gesucht. Chinazoline mit Sulfonsubstituenten sind schon durch Umsetzung mit Kaliumpermanganat in Essigsäure erfolgreich synthetisiert worden¹¹². Auch die in dieser Arbeit gewünschten Sulfone konnten so in niedriger Ausbeute erhalten werden (Schema 22).



Schema 22: Darstellung von 4-Amino-6-(arylsulfonyl)chinazolinonen

Folgende Substanzen konnten analysenrein synthetisiert werden:

Substanz	R	Ausbeute [%]
4a	<i>p</i> -Tolyl	21
4b	4-Methoxyphenyl	29
4c	4-Chlorphenyl	14
4d	4-(2-Propyl)phenyl	15
4e	2-Naphthyl	18

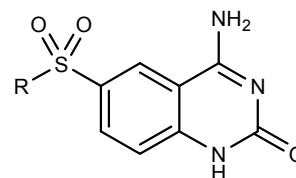


Tabelle 17: Synthetisierte 4-Amino-6-(arylsulfonyl)chinazolinone

5.3.2 Analytik

Anhand der schon in Kapitel 5.2.3 genannten analytischen Daten der (Arylthio)chinazolinone **3a-g** konnte die Bildung der Sulfone gut verfolgt werden. In den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren waren deutliche Veränderungen zu beobachten.

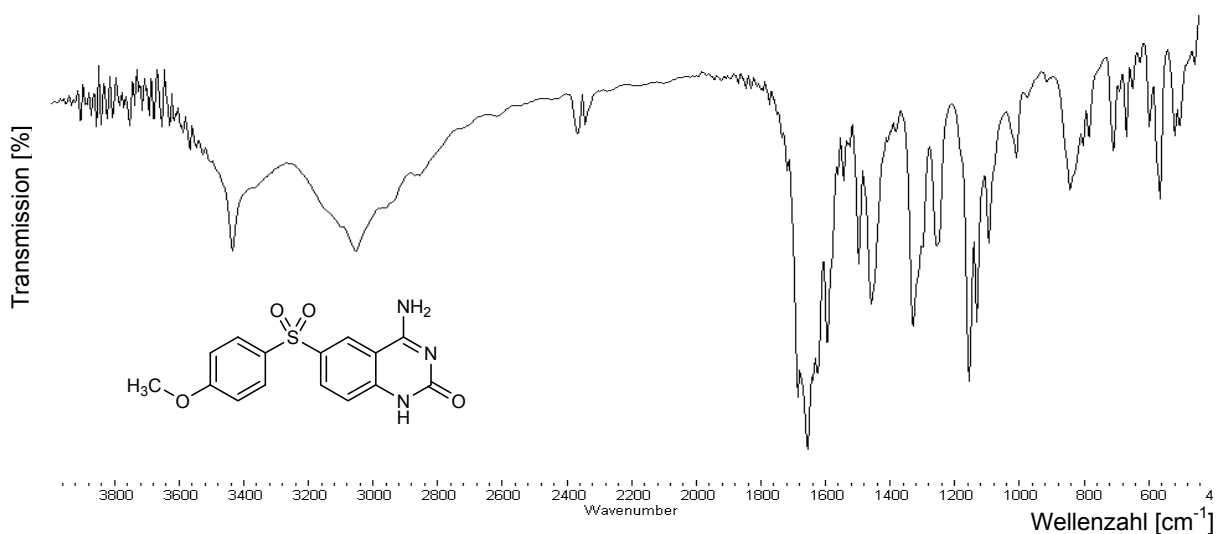
In den IR-Spektren von **4a-e** waren zwei Signale bei etwa 1650 cm^{-1} und 1620 cm^{-1} zu sehen, die den C=N-Valenzschwingungen und den NH_2 -Deformationsschwingungen zuzuordnen waren. Ein Signal der S=O-Valenzschwingung war bei etwa 1160 cm^{-1} zu erkennen.

Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum waren die Signale der NH-Protonen im Vergleich zu den Substanzen **3a-g** um 0,3 ppm tieffeldverschoben. Auch H(5) erschien 0,4 ppm weiter im tiefen Feld. Im ^{13}C -Spektrum waren dagegen keine charakteristischen Veränderungen auszumachen.

	- Signal der NH-Valenzschwingungen zwischen 3050 und 3450 cm^{-1}
IR-Spektrum	- 1 Schulter zw. 1670 und 1690 cm^{-1} (C=O-Valenz) - 2 Banden zw. 1650 und 1660 cm^{-1} und um 1620 cm^{-1} - Bande der S=O-Valenzschwingung bei etwa 1160 cm^{-1}
$^1\text{H-NMR}$	- Das Signal des H(5) erscheint zwischen 8,67 und 8,74 ppm, auch hier ist die Aufspaltung durch die Fernkopplungen mit H(7) gut zu erkennen.
(DMSO- d_6)	- Das Signal der Aminofunktion ist aufgespalten und zeigt zwei einzelne Protonen bei ca. 8,00 und 8,30 ppm. - Das dritte acide Proton ist etwa bei 11,10 ppm zu sehen.
$^{13}\text{C-NMR}$	- Das Signal des C(4a) ist zwischen 105 und 110 ppm zu finden
(DMSO- d_6)	- C(2) und C(4) ergeben Signale um 156 und 163,5 ppm

Tabelle 18: Spektroskopische Eigenschaften von 4-Amino-6-(arylsulfonyl)chinazolinonen

Als Beispiel sind hier das IR-Spektrum und die NMR-Spektrum der Verbindung **4b** abgebildet.

Abbildung 31: IR-Spektrum von **4b**

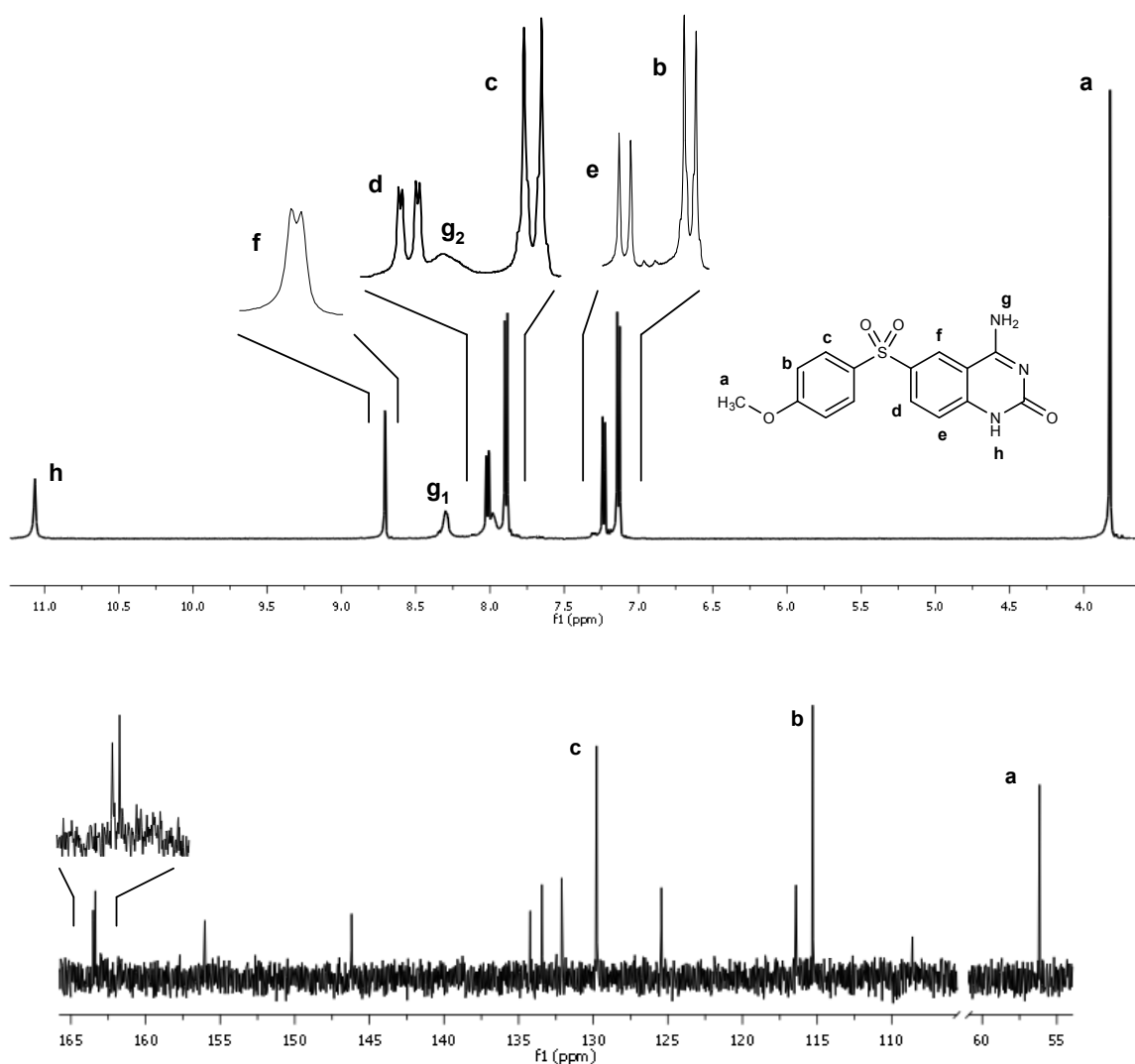
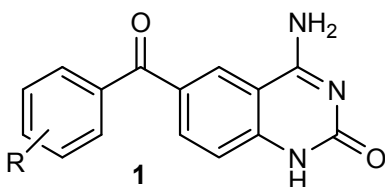


Abbildung 32: Ausschnitte aus den ¹H-NMR- und ¹³C-Spektren von **4b**

5.4 4-Amino-6-benzoylchinazolinone



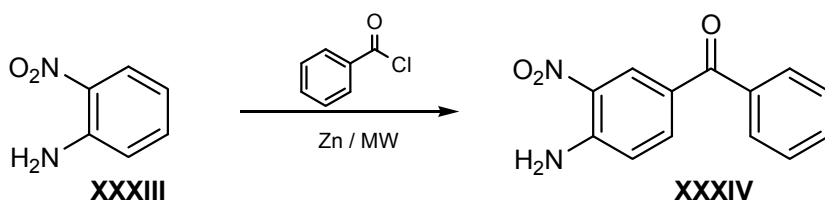
Die 4-Amino-6-benzoylchinazolinon-Derivate **1** sollten mittels Friedel-Crafts-Acylierung dargestellt werden. Abhängig vom eingesetzten Säurederivat können mittels elektrophiler Substitution Arylalkyl- oder Diarylketone gebildet werden. Als

elektrophiles Agens kann das während der Reaktion gebildete Acylium-Ion nicht an elektronenarmen Aromaten angreifen. Nur wenige Autoren berichten zum Beispiel von einer Umsetzung von Nitroaromaten^{113,114}.

5.4.1 Syntheseweg A 1

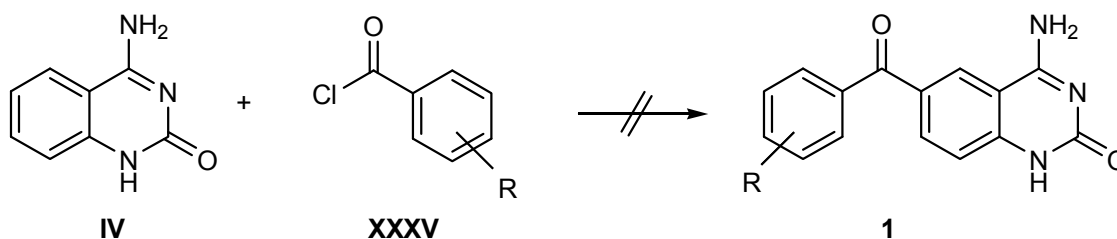
Auch bei den Benzoylchinazolinonen sollte ein möglichst effektiver Syntheseweg beschritten werden (Schema 8, Weg A). Der direkteste Weg war die Umsetzung von 4-Aminochinazolinon **IV** mit verschiedenen Säurechloriden. Die Synthese sollte mittels einer mikrowellen-gestützten Friedel-Crafts-Acylierung unter lösungsmittelfreien Bedingungen mit Zinkpulver als Katalysator durchgeführt werden¹¹⁴.

Bei der Reaktion eines Säurechlorids mit einer ungeschützten Aminofunktion ist die Bildung eines Säureamids zu erwarten. Laut Paul et al.¹¹⁴ seien allerdings durch die erwähnte mikrowellen-gestützte Synthese sowohl 2- als auch 3-Nitroanilin zu 4-Aminobenzophenonen ohne Amidbildung umgesetzt worden (Schema 23).



Schema 23: Umsetzung nach Paul et al.¹¹⁴

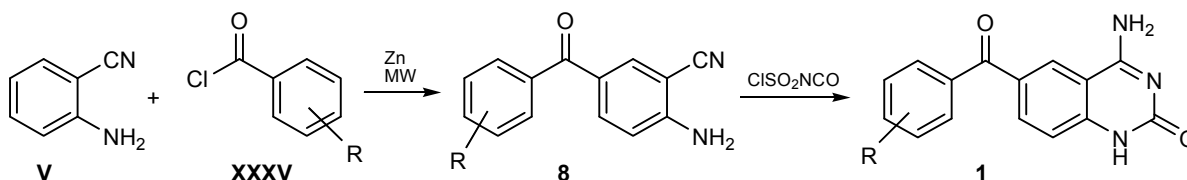
Eine orientierende Umsetzung von 4-Aminochinazolinon **IV** mit Benzoylchlorid **XXXV** schlug jedoch fehl. Auch Variationen der Wattzahl und Reaktionsdauer führten nicht zu einer Umsetzung. Ebenso wenig konnte eine Umsetzung bei einer konventionell durchgeführten Acylierung in Dichlorethan mit Aluminiumchlorid als Katalysator festgestellt werden (Schema 24). Eine Acylierung der exozyklischen Aminofunktion konnte ebenfalls nicht beobachtet werden.



Schema 24: Umsetzungsversuch von **IV** mit Benzoylchlorid **XXXV**

Daher wurde zunächst die Reaktivität der unmittelbaren Heterozyklus-Vorstufe, 2-Aminobenzonitril **V**, untersucht.

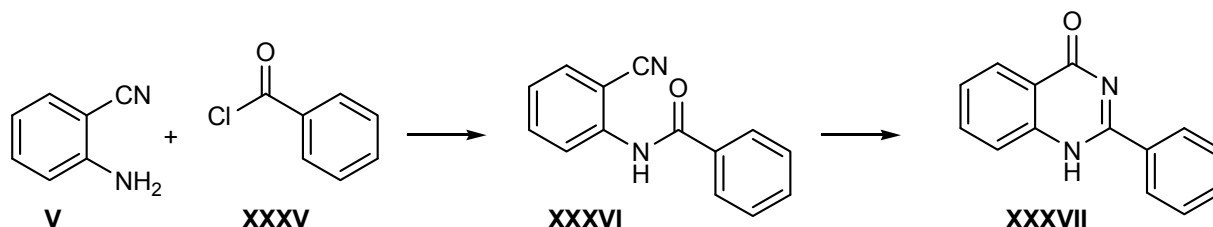
Eine Friedel-Crafts-Acylierung von elektronenarmen Aromaten ist oft nicht möglich. Die Nitrilfunktion wirkt sowohl durch negativ induktiven als auch durch negativ mesomeren Effekt elektronenziehend auf den Aromaten ein. Einen noch stärker deaktivierenden Effekt besitzt die Nitrofunktion¹¹⁵. Da mit der Methode nach Paul et al. Nitroaniline ohne Schutz der Aminofunktion umgesetzt worden waren, sollte es möglich sein, 2-Aminobenzonitril **V** auf diese Weise mit Benzoylchloriden **XXXV** zu 2-Amino-5-benzoylbenzonitrilen **8** umzusetzen. Diese sollten in einem weiteren Schritt mit Chlorsulfonylisocyanat zu **1** cyclisiert werden (Schema 25).



Schema 25: Erwünschte Umsetzung von 2-Aminobenzonitril mit Benzoylchlorid

Der überraschende Befund von Paul et al., die Acylierung von Anilinen mit deaktivierenden Substituenten ohne Bildung eines Säureamids, sollte überprüft werden. Eine erfolgreiche Umsetzung von **V** mit Benzoylchlorid würde eine effektive Synthese der 4-Amino-6-benzoylchinazolinone **1** ermöglichen. Für den Fall einer Acylierung von **V** war eine regioselektive Reaktion zu erwarten, da die Aminogruppe einen Substituenten vor allem in *para*-Stellung und die Nitrilfunktion in *meta*-Stellung dirigiert. Daher wurde 2-Amino-5-benzoylbenzonitrile als Hauptprodukte erwartet. Es wurden 2-Aminobenzonitril **V**, Zinkpulver und Benzoylchlorid **XXXV** in äquimolaren Mengen in der Mikrowelle umgesetzt. Nach Extraktion mit Dichlormethan und Durchführung einer Säulenchromatographie lagen zwei Produkte vor. Beide konnten über die Schmelzpunkte und ¹H-NMR-Spektren durch Vergleich mit Literaturdaten eindeutig identifiziert werden^{71,116}. Wie schon zuvor erwartet, war

N-Benzoylanthranilsäurenitril **XXXVI** entstanden. Das zweite Produkt wurde als dessen Zyklisierungsprodukt 2-Phenylchinazolin-4(3H)-on **XXXVII** identifiziert (Schema 26).

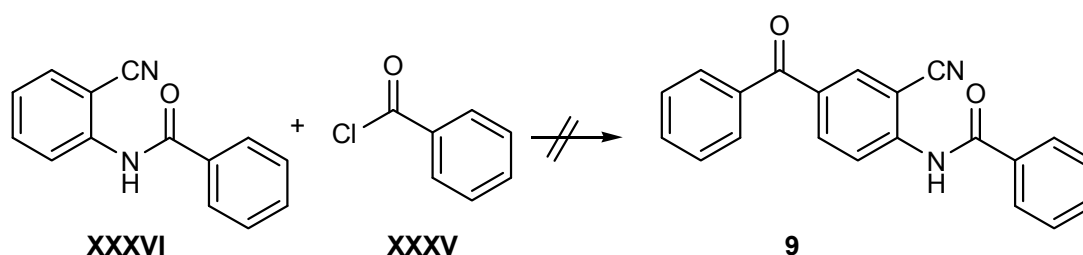


Schema 26: Tatsächliche Umsetzung von 2-Aminobenzonitril mit Benzoylchlorid

Verschiedene Variationen der Wattzahl und Bestrahlungsdauer führten ebenso wenig zur Acylierung des Aromaten wie der Wechsel des Katalysators von Zink zu Zirkonium(IV)oxid¹¹⁷. Erneut wurden die Produkte **XXXVI** und **XXXVII** isoliert.

Um die unerwünschte Amidbildung zu umgehen, musste die Aminofunktion geschützt werden. Anschließend sollte die Umsetzung mit Benzoylchlorid in der Mikrowelle zum gewünschten Benzophenon führen. Mit Verbindung **XXXVI** lag bereits eine N-geschützte Modellsubstanz vor. Diese wurde erneut mit Benzoylchlorid versetzt und in der Mikrowelle umgesetzt. Allerdings kam es zu keiner weiteren Reaktion (Schema 27).

Auch unter klassischen Friedel-Crafts-Bedingungen¹⁰⁸ mit Aluminiumchlorid in 1,2-Dichlorethan konnte das Amid **XXXVI** nicht weiter umgesetzt werden.

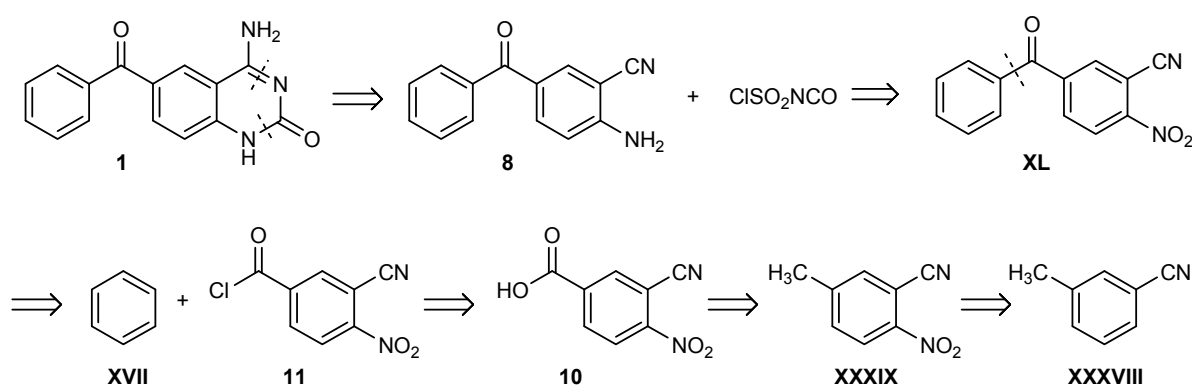


Schema 27: Acylierungsversuch von N-Benzoylanthranilsäurenitril

Da also weder die offenkettige Vorstufe noch das Aminochinazolinon mit Benzoylchlorid wie gewünscht umgesetzt werden konnte, musste ein anderer Weg für die Darstellung von 4-Amino-6-benzoylchinazolinonen gefunden werden.

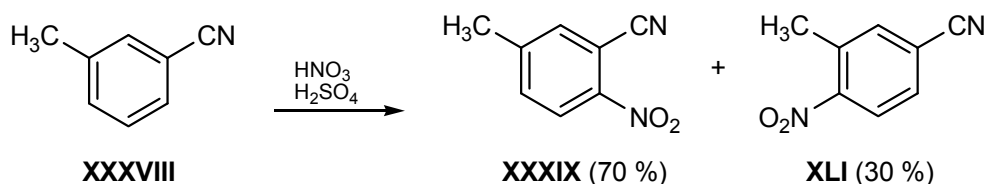
5.4.2 Syntheseweg B1

Durch retrosynthetische Betrachtung (Schema 28) wurde ein weiterer Syntheseweg entwickelt. Ausgehend von 3-Tolunitril **XXXVIII** sollte zunächst 5-Methyl-2-nitrobenzonitril **XXXIX** synthetisiert werden, das anschließend zu 3-Cyano-4-nitrobenzoesäure **10** oxidiert werden sollte. Ein daraus gewonnenes Säurechlorid **11** könnte dann mit verschiedenen Aromaten in Friedel-Crafts-Acylierungen umgesetzt werden, um anschließend nach Reduktion der Nitrogruppe zur Aminofunktion zyklisiert zu werden.



Schema 28: geplanter Syntheseweg B1

Die Nitrierung von **XXXVIII** mit Nitriersäure lieferte neben 5-Methyl-2-nitrobenzonitril **XXXIX** auch 3-Methyl-4-nitrobenzonitril **XLI** (Schema 29). Die Isomere wurden mittels Säulenchromatographie voneinander getrennt, wobei das Mengenverhältnis der beiden Produkte 70:30 betrug. Durch Vergleich mit Literaturdaten¹¹⁸ konnte das Hauptprodukt über Schmelzpunkt und ¹H-NMR-Spektrum als das gewünschte 5-Methyl-2-nitrobenzonitril **XXXIX** identifiziert werden.



Schema 29: Produkte der Nitrierung

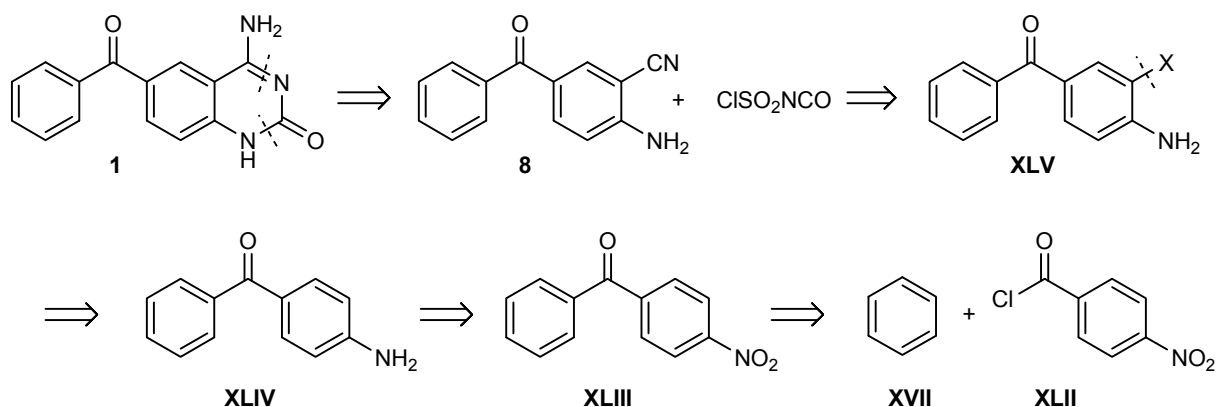
Die Oxidation der Methylgruppe zu **10** sollte mit Kaliumpermanganat in alkalisch-wässriger Lösung mittels Phasentransfer-Katalyse erfolgen¹⁰⁸. **XXXIX** wurde unter

Rückfluss für 60 Minuten mit Tetrabutylammoniumhydrogensulfat als Katalysator erhitzt. Die Nitrilfunktion war unter diesen Reaktionsbedingungen aber nicht stabil.

Auch Oxidationsversuche mit Percarbamid unter Mikrowellenbestrahlung¹¹⁹ blieben ebenso wie die Umsetzung mit Chrom(VI)oxid in Acetanhydrid¹²⁰ erfolglos.

5.4.3 Syntheseweg B2

Im Rahmen einer neuen Synthesestrategie sollte die deaktivierende Nitrilgruppe erst nach der Benzophenonsynthese eingeführt werden. Zur Vermeidung der Amidbildung sollte auch die Aminofunktion erst zu einem späteren Zeitpunkt ergänzt werden (Schema 30).



Schema 30: Syntheseweg B2

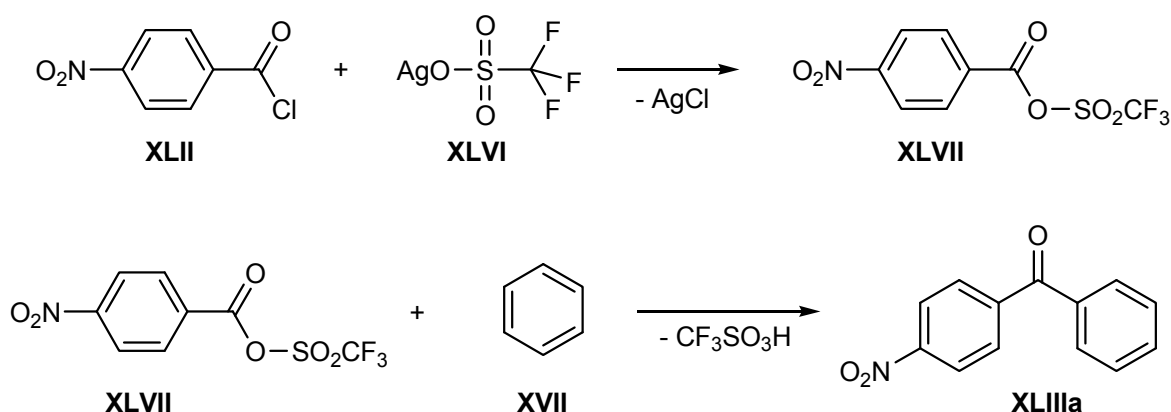
Als Ausgangssubstanz wurde 4-Nitrobenzoylchlorid **XLII** gewählt, welches ein bei Raumtemperatur festes Säurechlorid darstellt und über längere Zeit ohne Zersetzung gelagert werden kann.

Im ersten Schritt sollten verschiedene 4-Nitrobenzophenone **XLIII** gewonnen werden, die dann zu 4-Aminobenzophenonen **XLIV** reduziert werden konnten. Nach Einführen eines Halogensubstituenten in *ortho*-Position zur Aminofunktion sollte dieser gegen eine Nitrilgruppe ausgetauscht werden, um anschließend den Ringschluss zum 4-Amino-6-benzoylchinazolinon **1** zu ermöglichen.

5.4.3.1 Friedel-Crafts-Acylierung zu 4-Nitrobenzophenonen

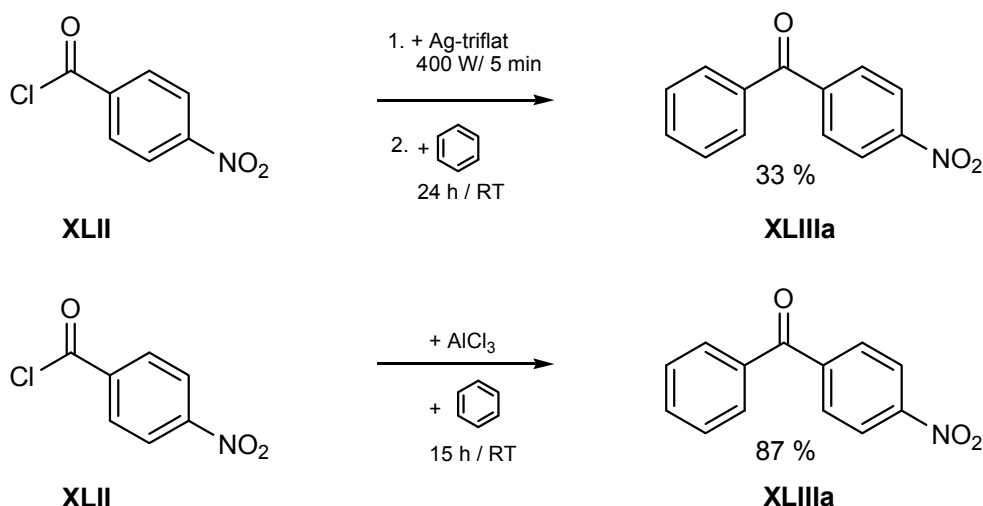
Bei der Friedel-Crafts-Acylierung können nur genügend reaktive Aromaten eingesetzt werden. Bereits für wenig aktivierte Aromaten wie Toluol und deaktivierte Halogenbenzole müssen andere Reaktionsbedingungen gewählt werden. Bei der Umsetzung von Halogenbenzolen mit Säurechloriden unter Aluminiumchlorid-Katalyse wird der Aromat selbst als Lösungsmittel unter Erwärmen eingesetzt. Reaktive Aromaten lassen sich in Dichlorethan schon bei Raumtemperatur acylieren¹⁰⁸.

Nach Effenberger et al.^{121,122} sollte eine Umsetzung von nicht aktivierten Aromaten wie Benzol oder Toluol mit dem Silbersalz der Trifluormethansulfonsäure (Silbertriflat) bessere Ausbeuten liefern als mit Aluminiumchlorid in Nitrobenzol oder Dichlorethan. Dieses System sollte im Rahmen dieser Arbeit erprobt werden. Dafür wurde 4-Nitrobenzoylchlorid **XLII** mit Silbertriflat **XLVI** gut durchmischt und für 2,5 Stunden bei 100 °C erhitzt. Das dabei intermediär gebildete Anhydrid **XLVII** wurde nicht isoliert. Der Ansatz wurde mit Benzol versetzt und 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt (Schema 31). In einem zweiten Ansatz wurde das Anhydrid in der Mikrowelle synthetisiert. Auch hier wurde anschließend Benzol zugesetzt und für weitere 24 Stunden gerührt.



Schema 31: Acylierung von Benzol nach Effenberger et al.^{121,122}

Nach Aufarbeitung mit wässriger Kalilauge und Ausschütteln mit Ether konnte aus beiden Ansätzen das gewünschte 4-Nitrobenzophenon **XLIIIa** isoliert werden. Die postulierte gute Ausbeute der Silbertriflat-Methode war jedoch mit 33 % (Rohprodukt) nicht zu reproduzieren. Die Acylierung von Benzol unter Aluminiumchlorid-Katalyse dagegen führte zu einer Ausbeute von 87 % (Schema 32).



Schema 32: Methoden-Vergleich zur Friedel-Crafts-Acylierung

Daraufhin wurden drei verschiedene Aromaten jeweils mit Silbertriflat und mit Aluminiumchlorid in Lösungsmittel umgesetzt, um die effektivere Methode zu ermitteln.

Aromat	Ausbeute [%]	
	Silbertriflat	AlCl_3
Benzol	33	87 ^{a)}
o-Xylol	48	66 ^{a)}
Anisol	51	74 ^{b)}

^{a)} Lösungsmittel: Aromat
^{b)} Lösungsmittel: Dichlorethan

Tabelle 19: Methoden-Vergleich zur Friedel-Crafts-Acylierung

An den Ergebnissen in Tabelle 19 ist deutlich zu erkennen, dass die klassische Friedel-Crafts-Synthese der Umsetzung mit Silbertriflat überlegen ist. In Anbetracht dessen wurde von der Benzophenon-Synthese nach Effenberger et al. abgesehen und die weiteren Acylierungen unter AlCl_3 -Katalyse durchgeführt. Die so erhaltenen Produkte sind in Tabelle 20 aufgeführt.

Substanz	R ₃	R ₄	Ausbeute [%]
XLIIIa	H	H	87
XLIIIb	H	OCH ₃	66
XLIIIc	OCH ₃	OCH ₃	71
XLIIId	H	Cl	69
12	CH ₃	CH ₃	74

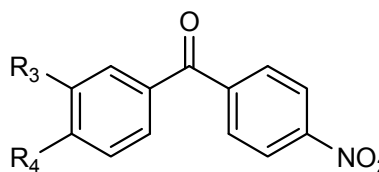


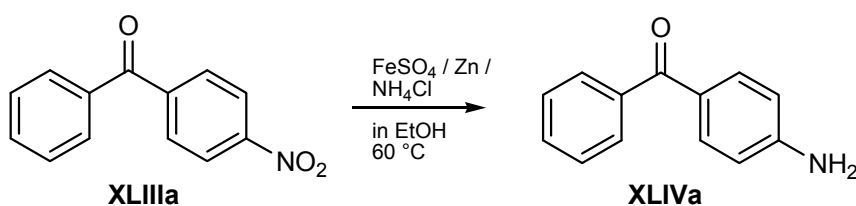
Tabelle 20: Produkte der Friedel-Crafts-Acylierung von 4-Nitrobenzoylchlorid

Die literaturbekannten Substanzen wurden über ihre Schmelzpunkte und IR-Spektren identifiziert. Für Verbindung **12** war ein Schmelzpunkt von 111 °C bekannt. Da das hier erhaltene Syntheseprodukt jedoch einen Schmelzpunkt von 125-128 °C aufwies, wurde diese Substanz auch per ¹H-NMR- und Massenspektrum sowie Elementaranalyse charakterisiert. Es stellte sich heraus, dass es sich trotz des deutlich höheren Schmelzpunktes um die gewünschte Verbindung handelte.

5.4.3.2 Reduktion zu 4-Aminobenzophenonen

In Anlehnung an Literatur¹²³ wurde die katalytische Reduktion von **XLIIIa** mit Wasserstoff über Palladium auf Kohle in Aceton durchgeführt. Das Produkt erwies sich als Substanzgemisch aus dem gewünschten Amin, der Nitrosoverbindung und einer Azoverbindung. Die Nebenprodukte wurden durch den Vergleich der Schmelzpunkte und Massenspektren mit Literaturdaten identifiziert^{124,125}.

Als Alternative zur katalytischen Hydrierung wurde daher anschließend in Ethanol unter Zusatz von Eisen(II)sulfat, Zinkpulver und Ammoniumchlorid gearbeitet¹²⁶ (Schema 33). Nach 2,5 Stunden bei 60 °C war die Umsetzung beendet. Nach Aufarbeitung des Ansatzes konnte 4-Aminobenzophenon **XLIVa** ohne weitere Nebenprodukte mit einer Ausbeute von 63 % isoliert werden.



Schema 33: Reduktion von 4-Nitrobenzophenon

Die Produkte in Tabelle 21 wurden, soweit bekannt, über ihre Schmelzpunkte und IR-Spektren durch Vergleich mit Literaturdaten identifiziert.

Substanz	R ₃	R ₄	Ausbeute [%]
XLIVa	H	H	63
XLIVb	H	OCH ₃	76
XLIVc	OCH ₃	OCH ₃	75
XLIVd	H	Cl	82
13	CH ₃	CH ₃	93

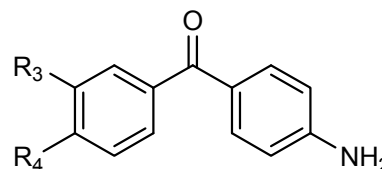


Tabelle 21: Synthetisierte 4-Aminobenzophenone

5.4.3.3 Halogenierung und Cyanierung der 4-Aminobenzophenone

Die für den Ringschluss notwendige Nitrilgruppe sollte über einen Halogensubstituenten in *ortho*-Stellung zur Aminofunktion eingeführt werden. Sowohl bromierte als auch chlorierte Aromaten konnten in guten Ausbeuten zu aromatischen Nitrilen umgesetzt werden¹²⁷.

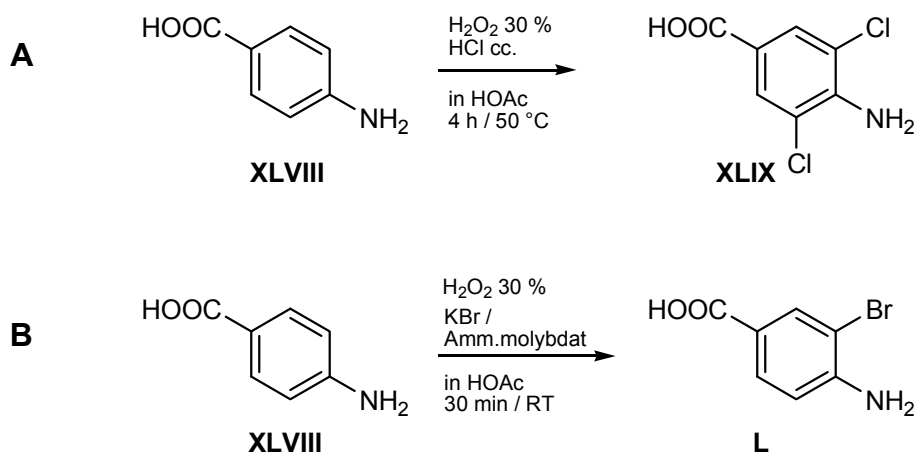
5.4.3.3.1 Chlorierung und Bromierung der 4-Aminobenzophenone

Zuerst wurde untersucht, welches der beiden Halogene leichter in *ortho*-Position zur Aminofunktion einzuführen war. Dafür wurde statt der 4-Aminobenzophenone 4-Aminobenzoessäure **XLVIII** als Modellsubstanz gewählt. Die Carbonsäuregruppe steht ebenso wie die Carbonylfunktion der Benzophenone in *para*-Position zur Aminogruppe und übt einen Elektronenzug auf den aromatischen Ring aus. Dadurch ist die Halogenierung am Aromaten erschwert.

Die Chlorierung erfolgte in Eisessig unter Zugabe von konzentrierter Salzsäure und 30%iger Wasserstoffperoxid-Lösung¹²⁸. Der Ansatz wurde für 4 Stunden auf 50 °C erhitzt.

Das resultierende Präzipitat erwies sich nach der Aufreinigung als 4-Amino-3,5-dichlorbenzoessäure **XLIX**, obwohl Salzsäure nur in geringem Überschuss (1,2 Äquivalente) eingesetzt worden war (Schema 34, A). Die zweifache Chlorierung konnte im Massenspektrum sehr gut beobachtet werden. Die beiden Chlorisotope ³⁵Cl und ³⁷Cl führen zu typischen Massenpeaks, deren Werte eine Differenz von 2

aufweisen. Eine Substanz mit einem Chlorsubstituenten zeigt zwei solcher Peaks im Verhältnis von etwa 10 zu 3, entsprechend der natürlichen Isotopenverteilung des Chlors. Enthält eine Verbindung 2 Chlortome, sind 3 Peaks im Verhältnis 10 zu 6,5 zu 1 erkennbar. Das Massenspektrum des Produktes aus der Chlorierungs-Reaktion zeigte deutlich drei Signale bei 205, 207 und 209 im Verhältnis 10:6:1 (Abbildung 33).



Schema 34: Halogenierung von 4-Aminobenzoesäure

Die Bromierung wurde ebenfalls in Eisessig mit 30%iger Wasserstoffperoxid-Lösung unter Kaliumbromid-Zusatz und in Gegenwart von Ammoniummolybdat als Katalysator durchgeführt¹²⁹. Die leicht exotherme Reaktion wurde gestoppt, indem der Ansatz auf Eis gegossen wurde. Nach der Aufarbeitung konnte 4-Amino-3-brombenzoessäure **L** isoliert werden (Schema 34 B), die ebenfalls gut anhand des Massenspektrums identifiziert werden konnte. Auch bei bromhaltigen Substanzen rufen die Isotope ⁷⁹Br und ⁸¹Br einen Doppelpeak mit einer Massendifferenz von 2 hervor. Eine Einfachbromierung führt zu zwei Signalen im Verhältnis von etwa 1 zu 1, zwei Bromatome zeigen 3 Peaks im Verhältnis 1:2:1. Das Spektrum des isolierten Produktes wies 2 Signale bei 215 und 217 im Verhältnis 10:9,5 auf, was eindeutig die Einfachbromierung bewies (Abbildung 33).

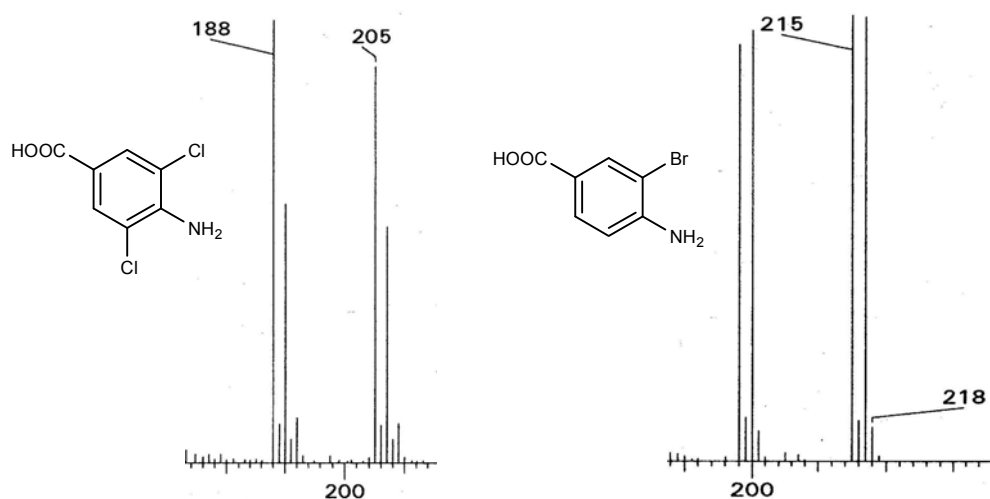


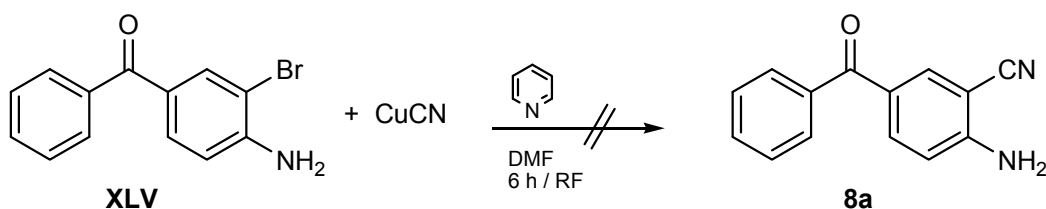
Abbildung 33: Ausschnitte aus den Massenspektren der Verbindungen **XLIX** und **L** mit den typischen Isotopenpeaks

Daher wurde die Methode nach Roche et al.¹²⁹ gewählt, um einen Bromsubstituenten in *ortho*-Stellung zur Aminofunktion der 4-Aminobenzophenone einzuführen.

Es wurde zunächst 4-Amino-3-brombenzophenon **XLV** hergestellt, um in Anschluss daran den Bromsubstituenten gegen eine Cyanofunktion auszutauschen.

5.4.3.3.2 Versuch der Cyanierung von 4-Amino-3-brombenzophenon

Die Umsetzung erfolgte mit Kupfer(I)cyanid in DMF unter Rückfluss¹²⁷ (Rosenmund-von-Braun-Reaktion). Nach 6 Stunden wurde der Reaktionsansatz mit Ethylendiamin-Lösung (20 %) und 10%iger Natriumcyanid-Lösung aufgearbeitet. Aus der organischen Phase konnte nur das Edukt isoliert werden, eine Umsetzung hatte nicht stattgefunden. Auch der Zusatz von Pyridin¹³⁰ führte nicht zur gewünschten Reaktion (Schema 35).



Schema 35: Umsetzung von 4-Amino-3-brombenzophenon mit CuCN

5.4.3.3 Iodierung der 4-Aminobenzophenone

Da eine Einfach-Chlorierung nicht gelungen war und der Bromsubstituent nicht gegen eine Nitrilgruppe ausgetauscht werden konnte, sollte nun der reaktivere Iodsubstituent¹³¹ eingeführt werden. Die Iodierung von 4-Aminobenzophenonen **XLIV** in *ortho*-Position zur Aminogruppe gelang mit Iodmonochlorid in Essigsäure. Nach der Aufarbeitung wurde die gewünschten 4-Amino-3-iodbenzophenone **14a-e** erhalten (Tabelle 22).

Substanz	R ₃	R ₄	Ausbeute [%]
14a	H	H	49
14b	H	OCH ₃	53
14c	OCH ₃	OCH ₃	45
14d	H	Cl	41
14e	CH ₃	CH ₃	55

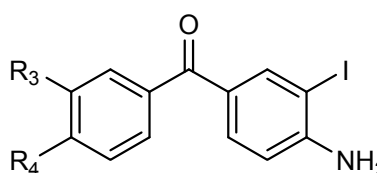
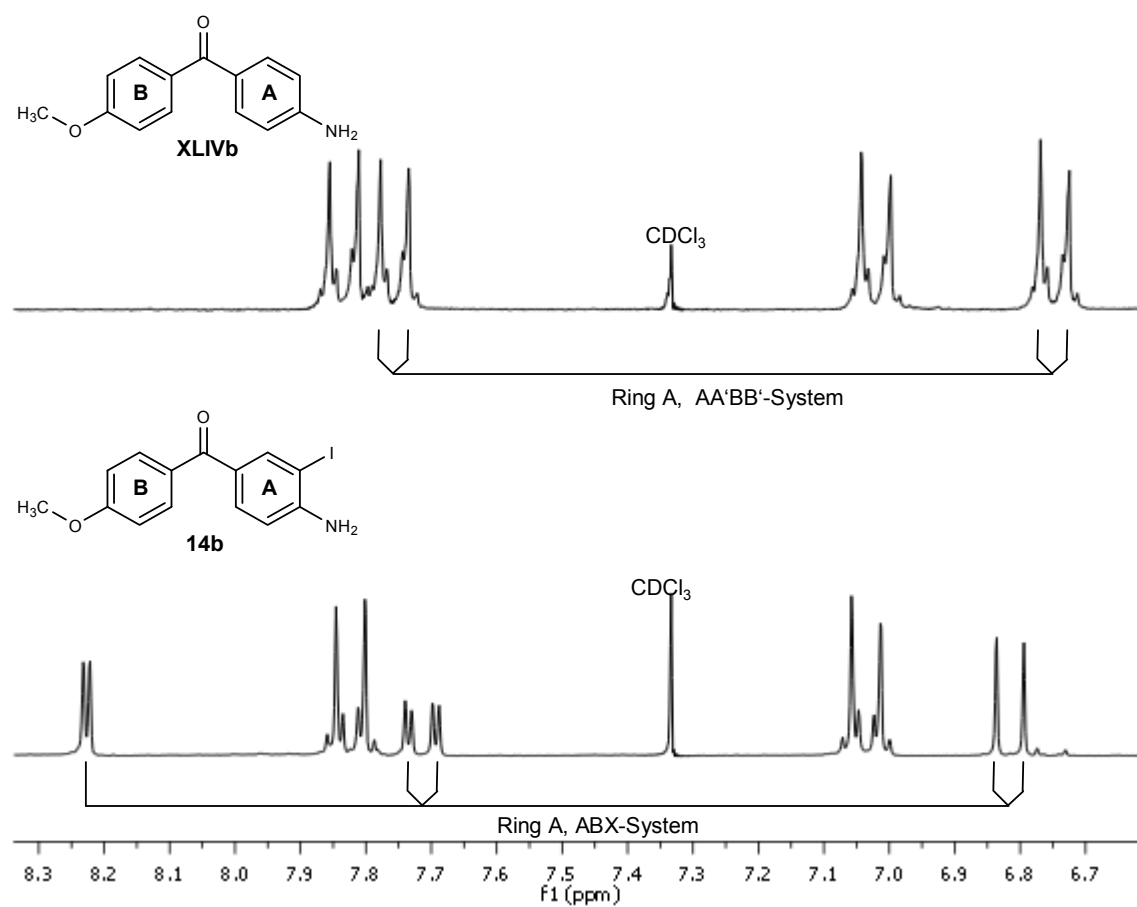
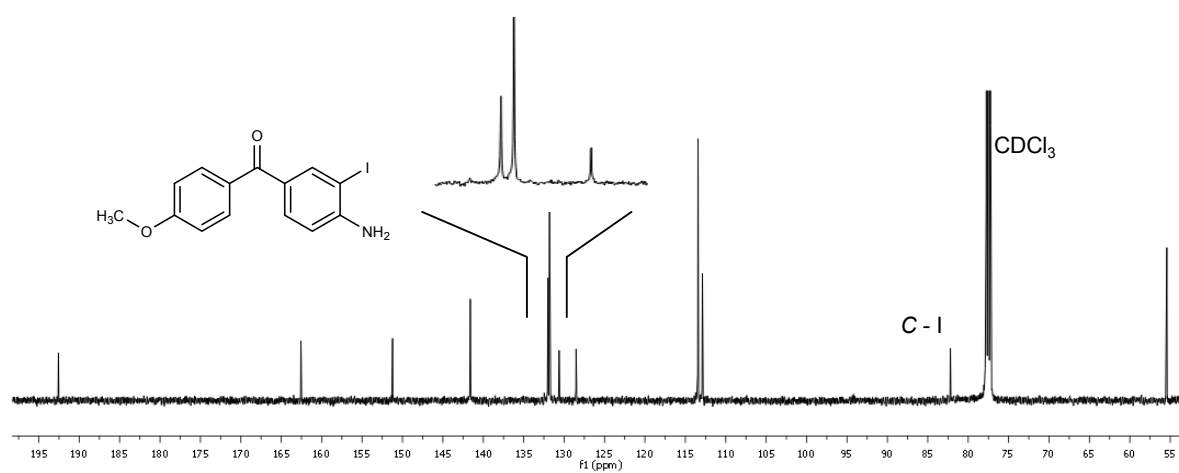
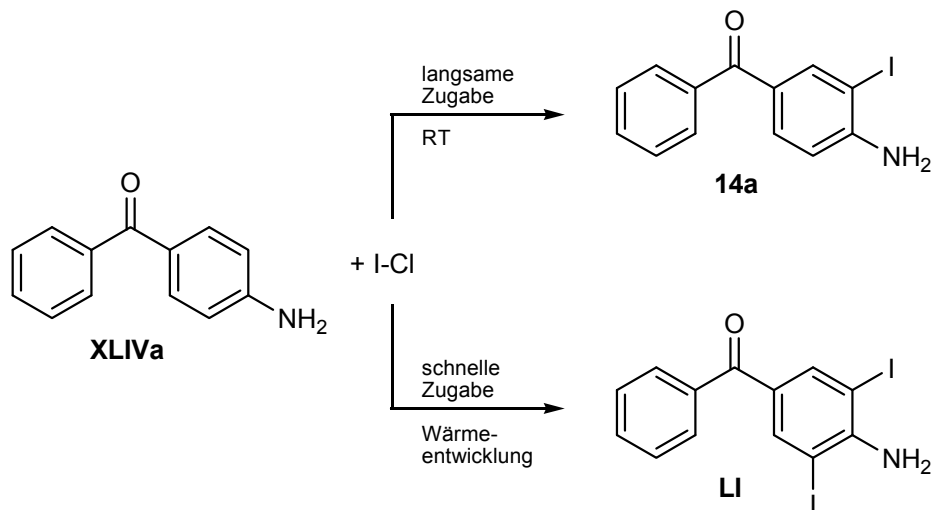


Tabelle 22: Dargestellte 4-Amino-3-iodbenzophenone

Die erfolgte Monosubstitution war in den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren gut zu verfolgen. Im ¹H-NMR-Spektrum der unsubstituierten Substanz **XLIVb** war deutlich das AA'BB'-System des Ringes A mit 2 Dubletts für insgesamt 4 Protonen zu erkennen. Die iodierter Substanz **14b** zeigte stattdessen ein Singulett und 2 Dubletts für je ein Wasserstoffatom, wobei die Fernkopplung zwischen den Protonen in *meta*-Position zur Aminogruppe gut zu erkennen war (²J = 1,61 Hz) (Abbildung 34). Im ¹³C-Spektrum war ein Signal bei 82,20 ppm zu finden, welches dem iodierten Kohlenstoff entsprach. Dessen Signal wurde durch den Iodsubstituenten abgeschirmt und war daher im Vergleich zu H-substituierten Kohlenstoffen deutlich hochfeldverschoben (Abbildung 35).

Abbildung 34: ^1H -NMR-Spektren im VergleichAbbildung 35: ^{13}C -NMR-Spektrum von **14b**

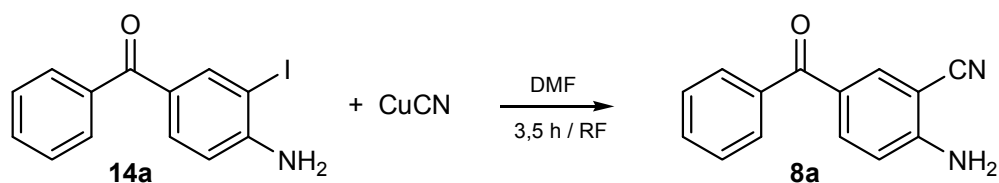
Wurde bei der Umsetzung das Iodmonochlorid zu schnell in den Ansatz gegeben, so kam es zu Wärmeentwicklung, die wiederum die Entstehung von 4-Amino-3,5-diiodbenzophenon **LI** begünstigte (Schema 36).



Schema 36: Einfluss der Reaktionsbedingungen auf die Iodierung

5.4.3.3.4 Cyanierung von 4-Amino-3-iodbenzophenon

Das iodierte Produkt **14a** konnte innerhalb von 3,5 Stunden mit CuCN in DMF durch Erhitzen unter Rückfluss direkt zum gewünschten Produkt umgesetzt werden (Schema 37). Nach der Aufarbeitung konnte 2-Amino-5-benzoylbenzonitril **8a** in 51%iger Ausbeute isoliert werden.



Schema 37: Umsetzung von 4-Amino-3-iodbenzophenon mit CuCN

Tabelle 23 zeigt die synthetisierten Verbindungen.

Substanz	R ₃	R ₄	Ausbeute [%]
8a	H	H	51
8b	H	OCH ₃	43
8c	OCH ₃	OCH ₃	34
8d	H	Cl	41
8e	CH ₃	CH ₃	45

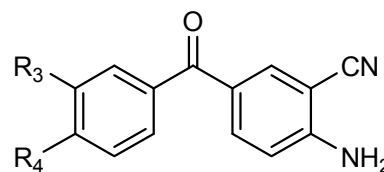


Tabelle 23: Synthetisierte 2-Amino-5-benzoylbenzonitrile

Die erfolgte Cyanierung konnte durch die ^{13}C -NMR- und IR-Spektren bestätigt werden. Bei 4-Amino-3-iodbenzophenon war im ^{13}C -NMR das Signal für C-I bei 82,20 ppm zu finden (DMSO- d_6), welches nach der Nitrilierung um 10 ppm zu 92,89 verschoben war (C-CN). Gleichzeitig trat ein neues Signal bei 115,16 ppm auf, welches auf den zusätzlichen Kohlenstoff der Nitril-Funktion zurückzuführen war. Das IR-Spektrum zeigte bei 2222 cm^{-1} eine deutliche Nitril-Bande. Das Signal der C=O-Valenzschwingung verschob sich von 1622 cm^{-1} zu 1657 cm^{-1} (Abbildung 36).

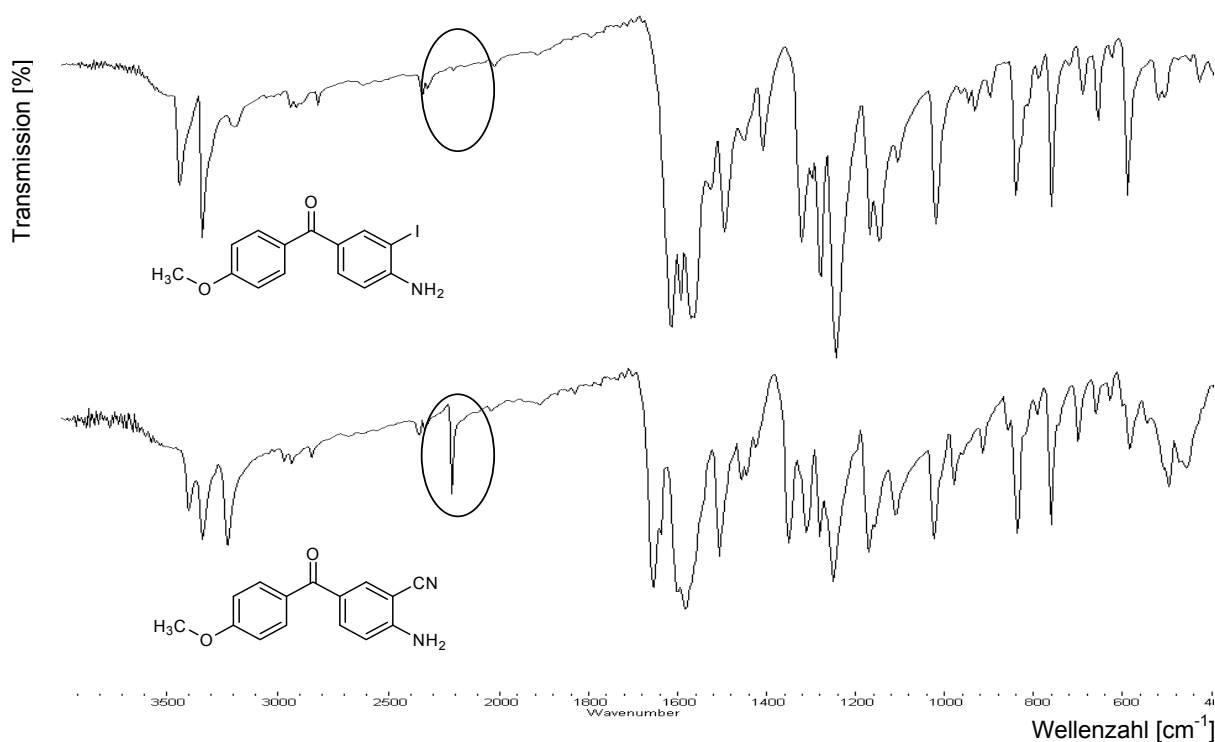


Abbildung 36: IR-Spektrum von Verbindung 8c

5.4.3.4 Synthese von 4-Amino-6-benzoylchinazolinonen

Die synthetisierten 2-Amino-5-benzoylbenzonitrile **8a-e** wurden mit Chlorsulfonylisocyanat in Dichlormethan umgesetzt. Nach 3 Stunden wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und Wasser zugegeben. Da sich ein lockeres Präzipitat bildete, wurde auf die Zugabe von Ethanol, wie bei der Synthese der (Arylthio)chinazolinone geschehen, verzichtet. Die Niederschläge wurden abfiltriert und mit Wasser und Ether gewaschen. Im Gegensatz zur Darstellung von 6-Iodaminochinazolinon **6**, wo die Zyklisierung ein alkalisches Milieu erforderte, fand der Ringschluss zu **15** hier bereits in saurer Umgebung statt.

5.4.3.5 Analytik von 4-Amino-6-benzoylchinazolinonen

Sowohl die IR- als auch die ^1H - und ^{13}C -Spektren der Substanzen **15a-e** wiesen deutliche Unterschiede zu den bisher erhaltenen Aminochinazolinonen **3a-g** und **4a-e** auf (Abbildung 37).

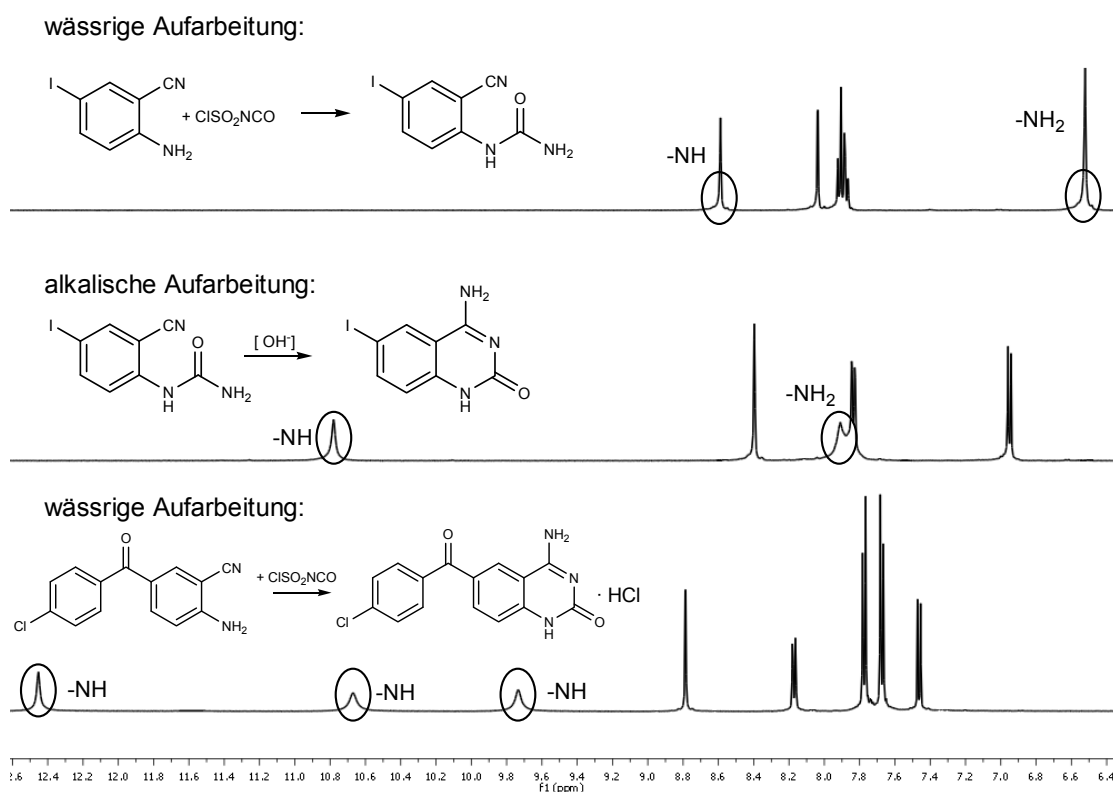


Abbildung 37: Vergleich der ^1H -NMR-Spektren von verschiedenen Produkten nach der Reaktion von *ortho*-Aminobenzonitrilen mit Chlorsulfonylisocyanat

Wurde zuvor bei der Synthese von **6** aus der sauren wässrigen Phase die offenkettige Vorstufe **7** erhalten, so zeigte das ^1H -NMR-Spektrum des ebenfalls aus der wässrig-sauren Phase erhaltenen Benzophenon-Derivates drei NH-Protonen, was auf eine erfolgreiche Zyklisierung zurückzuführen war. Auffällig war allerdings, dass sich die chemischen Verschiebungen der austauschbaren Protonen deutlich von denen der bisherigen Produkte unterschieden. Bei der chemischen Analyse stellte sich heraus, dass die Produkte als Hydrochloride **15a-e** vorlagen (Tabelle 24).

Substanz	R ₄	R ₃	Ausbeute [%]
15a	H	H	23
15b	OCH ₃	H	31
15c	OCH ₃	OCH ₃	25
15d	Cl	H	33
15e	CH ₃	CH ₃	44

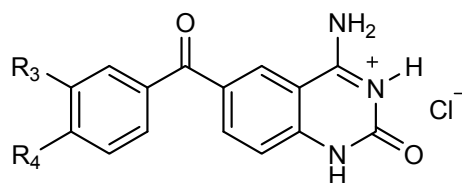
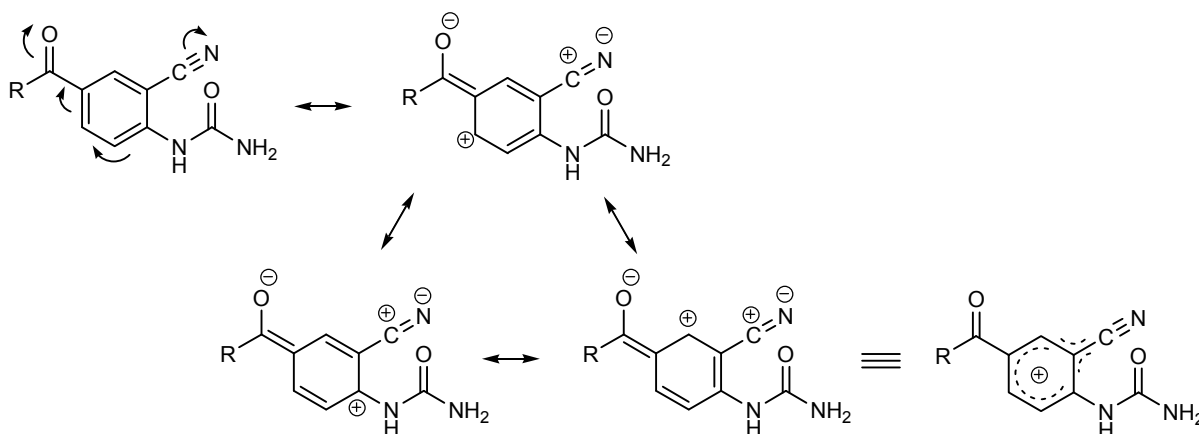


Tabelle 24: Synthetisierte 4-Amino-6-benzoylchinazolinon - Hydrochloride

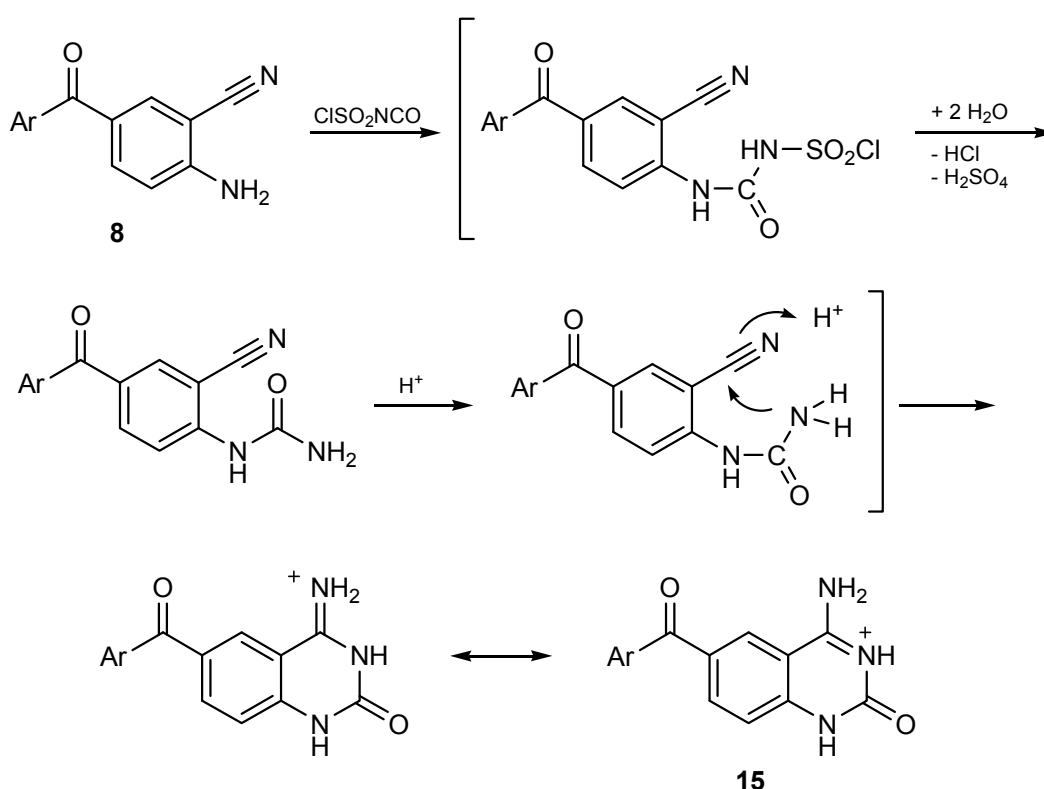
Die schon im Säuren erfolgte Zyklisierung musste durch den Substituenten an Position 5 der 2-Aminobenzonitrile hervorgerufen werden.

Die Carbonylgruppe übte einen negativ induktiven und negativ mesomeren Effekt auf den Aromaten aus und bewirkte so eine positive Partialladung im aromatischen System (Schema 38). Dadurch wurde der Nitril-Kohlenstoff zusätzlich positiviert, was sich aktivierend auf den Reaktionsablauf auswirkte und zum Ringschluss führte (s. auch Schema 11, Seite 38).



Schema 38: Mesomere Grenzstrukturen von N-(2-Cyano-4-benzoylphenyl)harnstoffen

Daher konnte im Gegensatz zum unsubstituierten N-(2-Cyanophenyl)harnstoff **XXX** und auch zu N-(2-Cyano-4-iodphenyl)harnstoff **7** die Zyklisierung bereits in saurer Lösung erfolgen. Die Reaktion verlief schneller und es wurde ohne alkalische Aufarbeitung das zyklisierte Produkt in Form des Hydrochlorids erhalten (Schema 39).



Schema 39: Synthese von 4-Amino-6-benzoylchinazolinon-Hydrochloriden

Der Vergleich der chemischen Verschiebungen der isolierten Hydrochloride **15a-e** im ^1H -NMR-Spektrum mit denen der entsprechenden Thioether- und Sulfonderivate **3a-g** und **4a-e**, die als freie Basen vorliegen, zeigte eine deutliche Tieffeld-Verschiebung (Abbildung 38 und Tabelle 25). Die Unterschiede zwischen den NH-Protonen von Thioether und Sulfon betrugen zum Beispiel bei den *para*-Chlor-substituierten Verbindungen 0,2 - 0,3 ppm, die des neu synthetisierten Derivates waren im Gegensatz dazu um 1,3 - 2,3 ppm ins tiefe Feld verschoben.

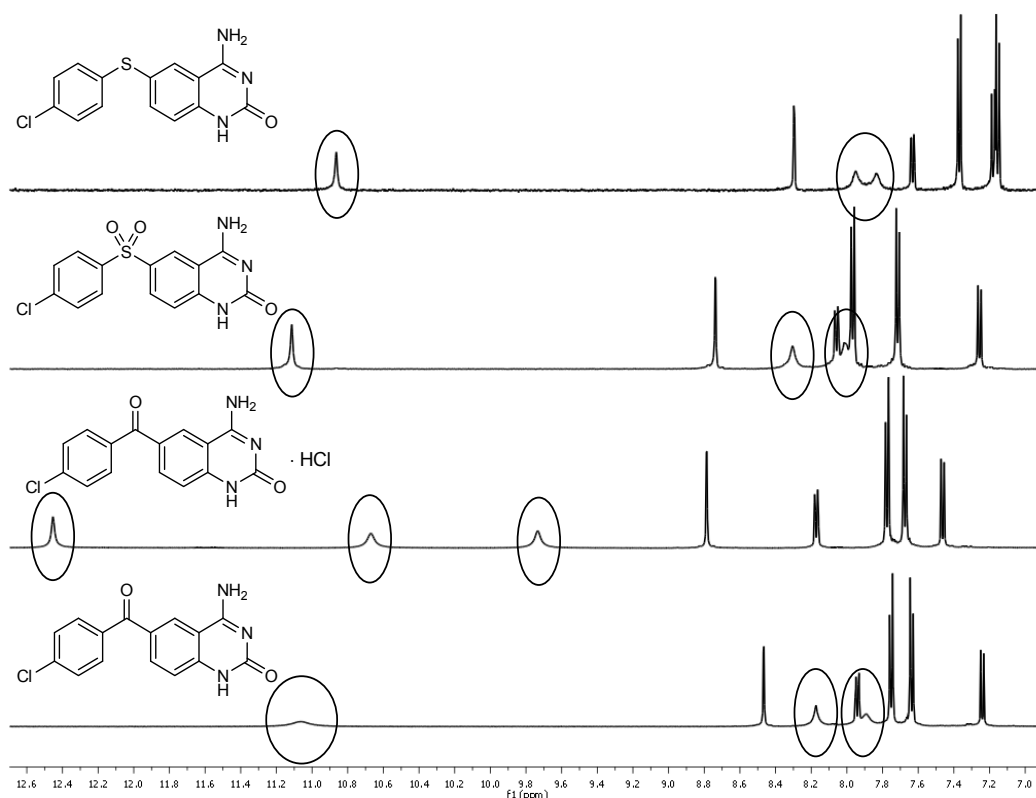


Abbildung 38: Ausschnitte aus den ^1H -NMR-Spektren der verschiedenen Substanzklassen

Die Hydrochloride konnten durch Suspendieren in 10%iger Natriumhydrogencarbonat-Lösung in die freien Basen **1a-e** überführt werden. Dies wurde durch die Lage der Signale im ^1H -NMR-Spektrum bestätigt, welche im Bereich zwischen denen des Sulfons und des Thioethers lagen. Bemerkenswert war, dass in keinem der Spektren der Hydrochloride das vierte acide Proton beobachtet werden konnte.

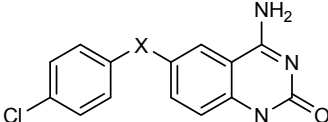
		chemische Verschiebung [ppm] der				
		NH-Protonen ¹ H-NMR			Kohlenstoffe ¹³ C-NMR	
		1	2	3	C=NH	C=O
X=	S	7,83	7,95	10,86	161,78	156,24
	SO ₂	8,01	8,31	11,11	163,49	156,00
	CO	7,89	8,17	11,07	162,98	154,66
	CO (· HCl)	9,73	10,67	12,45	159,49	146,80

Tabelle 25: Vergleich der chemischen Verschiebungen der unterschiedlichen Stoffklassen (in DMSO- d_6)

Die IR-Spektren der Hydrochloride wiesen bei 1710 cm^{-1} eine deutliche Bande auf, die in den Spektren der freien Basen nicht zu beobachten war. Das Signal der C=O-Valenzschwingung der Ketone war im Hydrochlorid bei 1650 cm^{-1} zu beobachten. Die freien Basen wiesen wie schon die Arylthio- und Arylsulfonyl-Aminochinazolinone ein breites Signal mit einer Schulter zwischen 1670 und 1690 cm^{-1} auf (Abbildung 39).

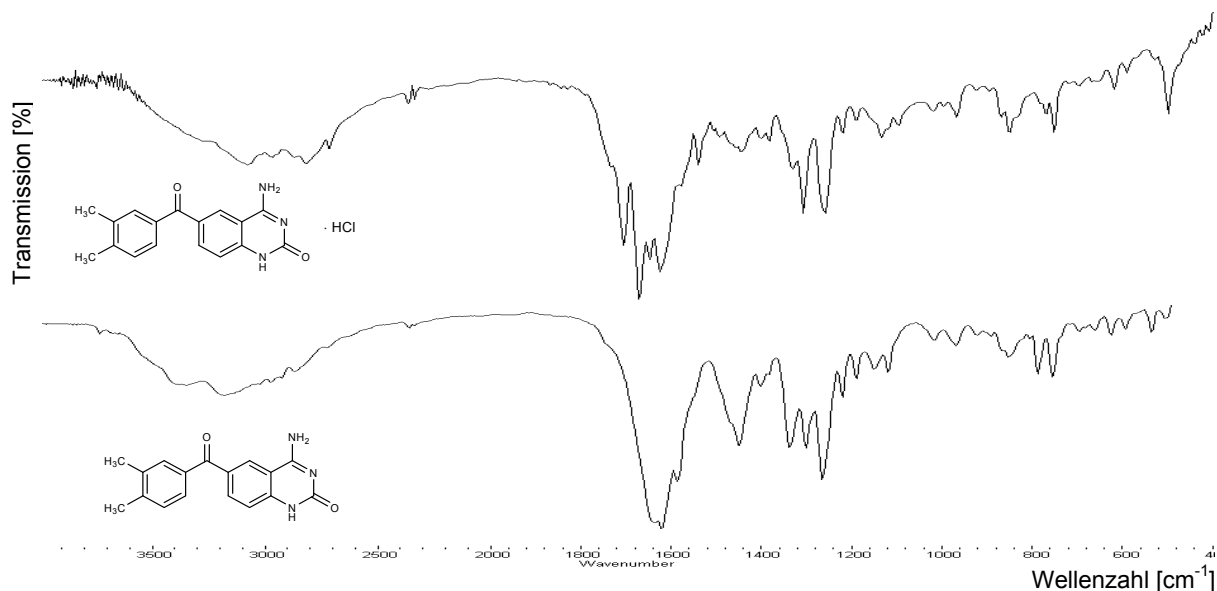


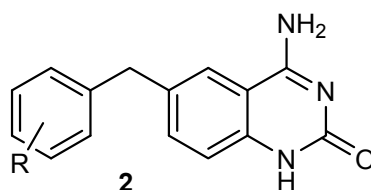
Abbildung 39: Vergleich der IR-Spektren von Hydrochlorid **15e** und freier Base **1e**

Analog zu den Chinazolinonen **3a-g** und **4a-e** lassen sich auch hier spektroskopische Eigenschaften für die Klasse der Aminobenzoylchinazolinone zusammenfassen (Tabelle 26).

	- schwache Banden im Bereich der NH-Valenzschwingungen zwischen 3050 und 3450 cm^{-1}
IR-Spektrum	- 1 Schulter zw. 1670 und 1690 cm^{-1} (C=O-Valenz Heterozyklus) - 2 Signale zw. 1640 und 1650 cm^{-1} (Diaryl-C=O) und um 1620 cm^{-1}
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6)	- Das Signal des H(5) erscheint zwischen 8,45 und 8,51 ppm, auch hier ist die Aufspaltung durch Fernkopplung mit H(7) gut zu erkennen. - Das Signal der Aminofunktion ist aufgespalten und zeigt zwei einzelne Protonen bei ca. 7,9 - 8,0 und 8,1-8,3 ppm. - Das dritte acide Proton ist zwischen 11,0 und 11,1 ppm zu beobachten.
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- d_6)	- Das Signal des C(4a) ist zwischen 105 und 110 ppm zu finden - C(2) und C(4) ergeben Signale um 155 und 163 ppm - Der Kohlenstoff des Diaryl-Ketons gibt ein Signal bei etwa 195 ppm.

Tabelle 26: Spektroskopische Eigenschaften der 4-Amino-6-benzoylchinazolinone

5.5 4-Amino-6-benzylchinazolinone



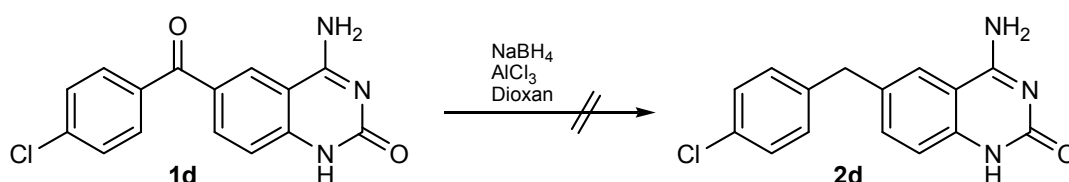
5.5.1 Reduktion der Carbonylfunktion

Die Benzylderivate sollten direkt aus den Aminobenzoylchinazolinonen **1a-e** durch Reduktion der Carbonylfunktion gewonnen werden.

Mit der Clemmensen- und der Wolff-Kishner-Reduktion sind zwei gut beschriebene Reduktions-Verfahren bekannt. Diarylketone reagieren allerdings unter den Bedingungen der Clemmensen-Reduktion nur schlecht¹⁰⁸. Bei der Wolff-Kishner-Reduktion wird mit Hydrazin gearbeitet, dessen Einsatz aus toxischen Gründen vermieden werden sollte. Daher sollte die Umsetzung mit Natriumborhydrid und Aluminiumchlorid¹³² durchgeführt werden.

5.5.1.1 Versuche zur Reduktion von 4-Amino-6-benzoylchinazolinonen

Dazu wurde die Verbindung **1d** mit Natriumborhydrid und wasserfreiem Aluminiumchlorid in Dioxan für 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt (Schema 40).



Schema 40: Umsetzungsversuche mit **14d**

Der Ansatz zeigte bei einer dünnschichtchromatographischen Untersuchung nur ein Produkt. Im den ¹H-NMR-Spektren war jedoch ein Produktgemisch zu erkennen, welches allerdings kein Signale für die Methylenprotonen zeigte. Daher wurde von einer weiteren Aufarbeitung des Produktgemisches abgesehen.

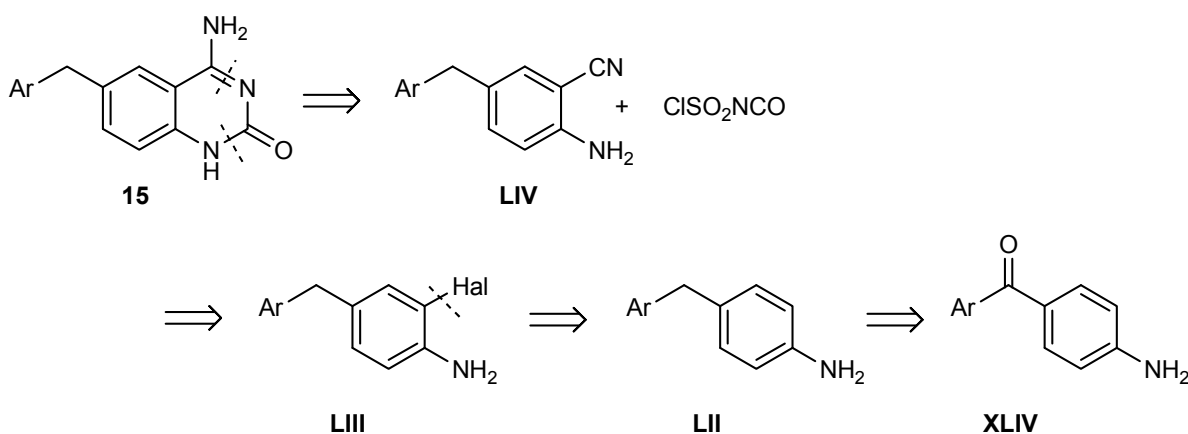
5.5.1.2 Versuche zur Reduktion der Vorstufen

Da die Aminobenzoylchinazolinone **1a-e** selbst nicht zu den Benzyl-Derivaten umgesetzt werden konnten, sollte versucht werden, die Carbonylfunktion zu einem früheren Zeitpunkt im Syntheseablauf zu reduzieren.

Die 2-Amino-5-benzoylbenzonitrile **8a-e** als unmittelbaren Vorstufen der Chinazolinone konnten nicht eingesetzt werden, da Nitrile unter Reaktionsbedingungen, die Ketone reduzieren können, in der Regel zu Aminen umgesetzt werden. Als Beispiele seien die Reduktion von Nitrilen mit Natriumborhydrid in Gegenwart von Metallsalzen¹³³ genannt.

Ebenso wenig war eine Reduktion der iodierten Aminobenzophenone **14a-e** möglich, da es unter den genannten Reaktionsbedingungen zu einem Verlust des Halogensubstituenten kommt^{134,135}.

Daher wurden die 4-Aminobenzophenone **XLIV** als Ausgangsverbindungen zur Reduktion der Carbonylfunktion ausgewählt (Schema 41).

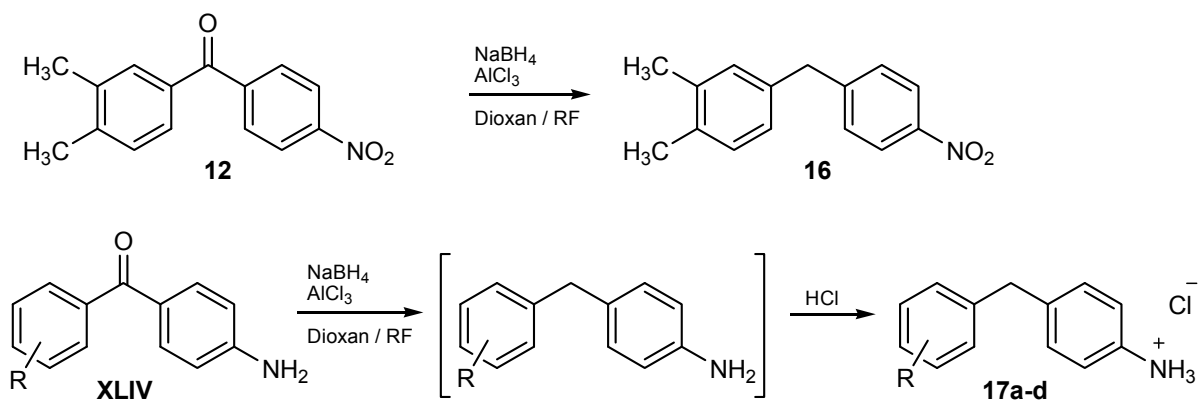


Schema 41: Retrosynthetische Betrachtung der Darstellung von 4-Amino-6-benzylchinazolinonen

5.5.1.2.1 Reduktion von 4-Aminobenzophenonen

Das reduktive Potential von Natriumborhydrid allein reicht nicht aus, um Ketone zu Kohlenwasserstoffen zu reduzieren. Hier bleibt die Reaktion auf der Stufe der sekundären Alkohole stehen. In Gegenwart von Aluminiumchlorid können Ketone mit NaBH_4 jedoch zur Methylenfunktion reduziert werden.

Auch die Umsetzung von **12** mit NaBH_4 / AlCl_3 in Dioxan bewirkte eine Reduktion der Ketofunktion, die Nitrogruppe blieb allerdings unverändert (**16**). Die 4-Aminobenzophenone **XLIV** konnten mit diesem Reduktionssystem aber in die gewünschten Diphenylmethan-Derivate **17a-d** überführt werden (Schema 42).



Schema 42: Erfolgreiche Reduktion von Benzophenonen

Nach vollständiger Umsetzung der Edukte wurde der Ansatz nach Zugabe von Wasser mit Ether ausgeschüttelt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die nach Aufarbeitung erhaltenen öligen Produkte konnten mit verdünnter Salzsäure in ihre kristallinen Hydrochloride überführt werden (Tabelle 27).

Substanz	R ₃	R ₄	Ausbeute [%]
17a	H	H	49
17b	H	OCH ₃	28
17c	H	Cl	40
17d	CH ₃	CH ₃	53

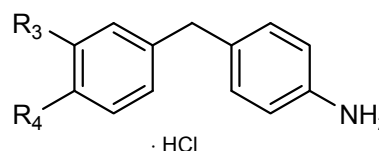


Tabelle 27: Produkte der Reduktion mit NaBH₄/AlCl₃ in Dioxan

Das ¹H-NMR-Spektrum bestätigte die erfolgreiche Umsetzung, da bei allen Substanzen **17a-d** ein Singulett bei etwa 4 ppm als Signal der Methylenbrücke zu erkennen war (Abbildung 40).

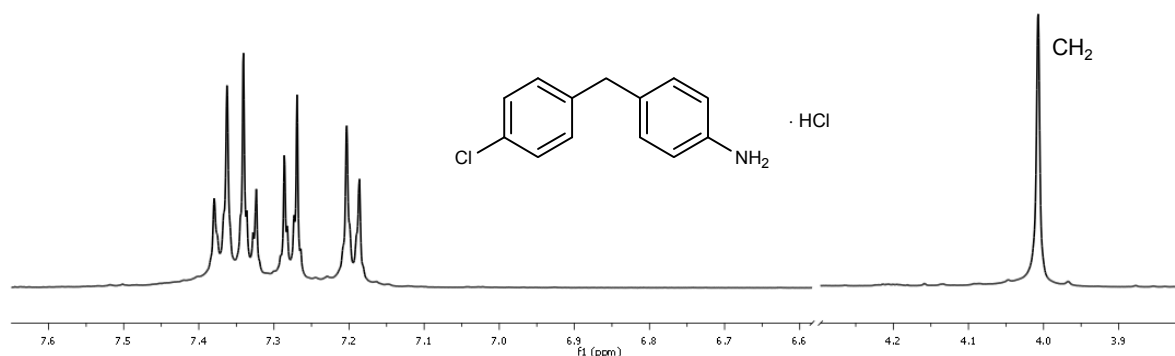
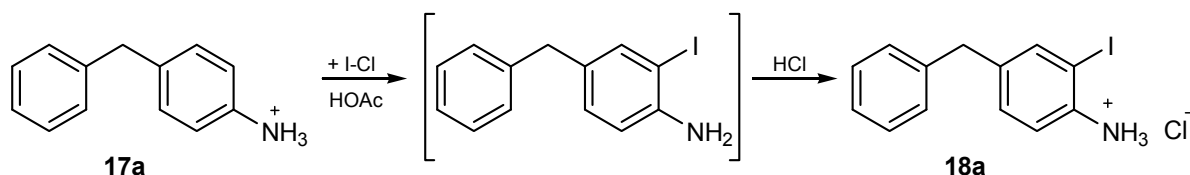


Abbildung 40: Ausschnitte aus dem ¹H-NMR der Substanz **17c** in MeOH-d₄

5.5.2 Iodierung der 4-Aminodiphenylmethan-Derivate

Die Iodierung erfolgte analog zu Kapitel 5.4.3.3.3 mit Iodmonochlorid in Essigsäure. Die Edukte **17a-d** wurden in Essigsäure gelöst und eine äquivalente Menge Iodmonochlorid in Essigsäure so langsam zugetropft, dass eine Erwärmung des Reaktionsansatzes vermieden wurde. Dadurch konnte eine Zweifachsubstitution unterbunden werden. Durch Zugabe von Wasser wurde die Reaktion nach 15 - 30

Minuten gestoppt (Schema 43). Bei dem Versuch, die erhaltenen Niederschläge umzukristallisieren, kam es zur Ausbildung von Ölen. Wie bei den Vorstufen **17a-d** konnten jedoch die Produkte durch Salzsäurezugabe als Hydrochloride in kristalliner Form gewonnen werden (Tabelle 28).



Schema 43: Iodierung und Salzbildung der Aminodiphenylmethane

Substanz	R ₃	R ₄	Ausbeute [%]
18a	H	H	34
18b	H	OCH ₃	27
18c	H	Cl	44
18d	CH ₃	CH ₃	43

R3c1cc(R4)ccc1Cc2cc(I)cc(N)c2 · HCl

Tabelle 28: Produkte der Iodierung

Die Iodierung konnte wie bei den Benzophenonen in den ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren bestätigt werden (Abbildung 41). In den Protonen-Spektren von **18a-d** war statt eines AA'BB'-Systems ein ABX-System erkennbar, welches die erfolgreiche Substitution anzeigte. Die ¹³C-NMR-Spektren zeigten bei etwa 91 ppm das Signal des iodierten Kohlenstoffs.

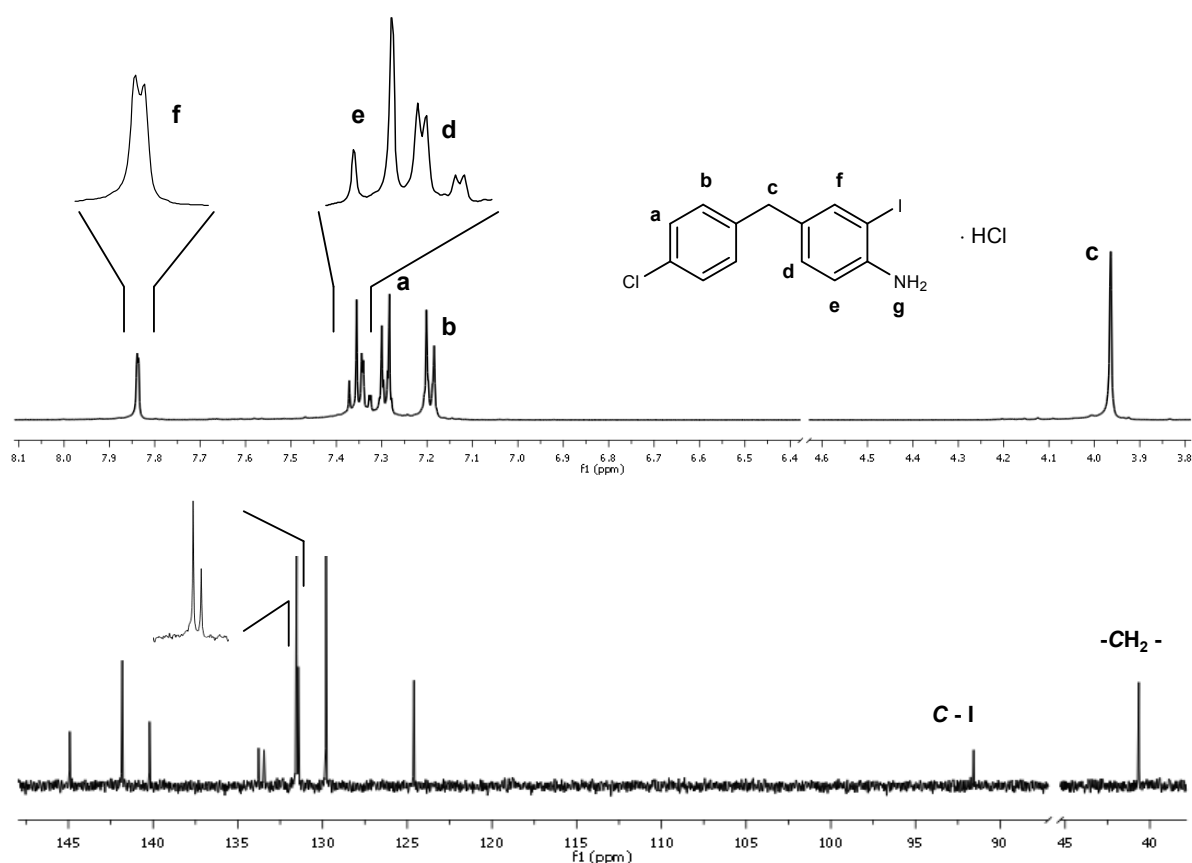
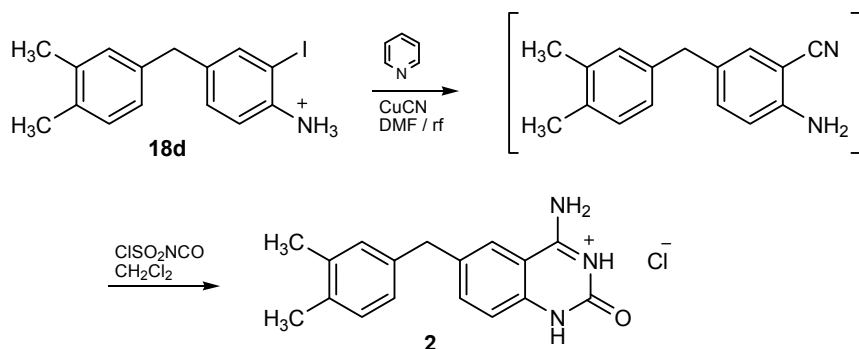


Abbildung 41: Ausschnitte aus den ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren von **19c**

5.5.3 Cyanierung und Zyklisierung

Die Hydrochloride **18a-d** sollten anschließend zu den heterozyklischen Endprodukten umgesetzt werden. Dazu wurden die Verbindungen zunächst mit CuCN in DMF für mehrere Stunden zum Rückfluss erhitzt, um in einer Rosenmund-von Braun-Reaktion den Iodsubstituenten gegen eine Cyanofunktion auszutauschen. Um auszuschließen, dass die protonierte Aminofunktion durch den veränderten Substituenten-Effekt eine Substitution des Iods durch eine Cyanogruppe verhindert, wurde als Protonenakzeptor Pyridin im Überschuss zugesetzt. Mit einem pK_B -Wert von etwa 8,8 ist Pyridin eine etwas stärkere Base als die eingesetzten Substanzen (pK_B -Wert Anilin: 9,4). Der Zusatz von Pyridin bei der Nitrilierung mit CuCN ist schon in der Literatur beschrieben worden¹³⁰, so dass keine negativen Auswirkungen auf die Reaktion zu erwarten waren.

Die nach der Aufarbeitung erhaltenen Öle zeigten in allen Fällen dünnschichtchromatographisch einen deutlichen Hauptfleck, eine säulenchromatographische Aufreinigung der Nitrile schlug jedoch fehl. Daher wurden die Öle direkt mit Chlorsulfonylisocyanat und trockenem Dichlormethan versetzt.



Schema 44: Darstellung von 4-Amino-6-(3,4-dimethylbenzyl)-2(1H)-chinazolinon-Hydrochlorid **17**

Nach der Hydrolyse konnte nur ein Produkt **2** isoliert werden (Schema 44). Auch dieses Produkt lag als Hydrochlorid vor, wie die Lage der NH-Signale im ¹H-NMR-Spektrum zeigte (Abbildung 42).

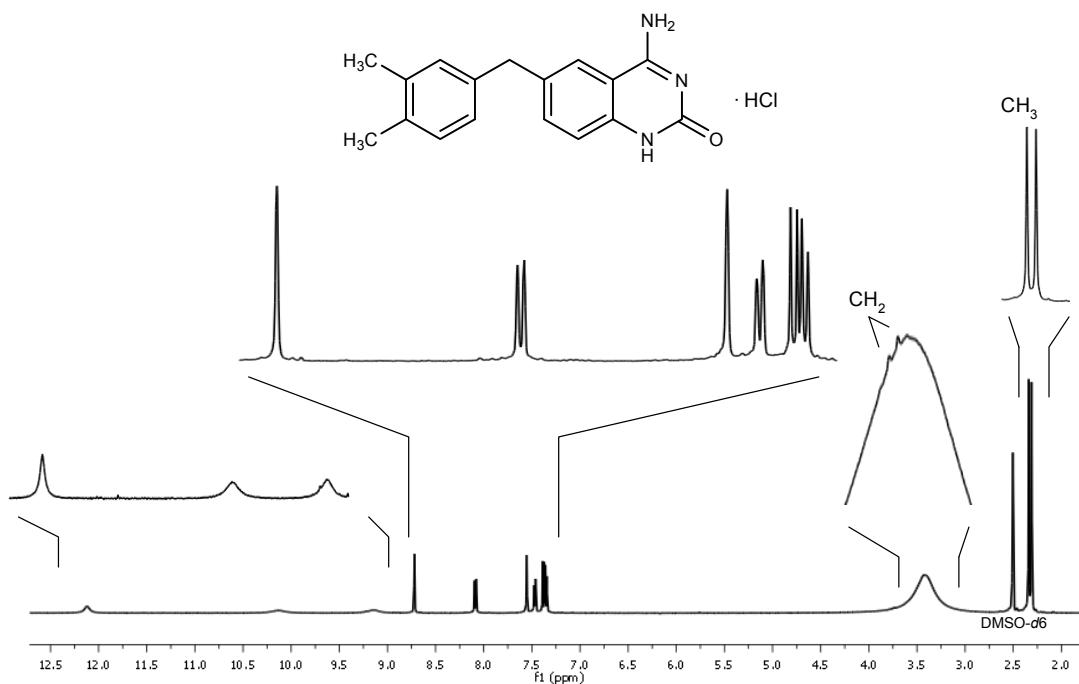


Abbildung 42: Ausschnitte aus dem ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung **2**

Das IR-Spektrum des analogen Benzoylchinazolinon-Hydrochlorids **15e** zeigte zwei Banden der Carbonylvalenzschwingungen bei 1673 cm⁻¹ (Diarylketon) und 1651 cm⁻¹

(Abbildung 43). Im Spektrum des Benzylderivates **2** war nur ein Signal bei 1647 cm^{-1} zu erkennen, welches der zyklischen Harnstoffstruktur zuzuordnen ist.

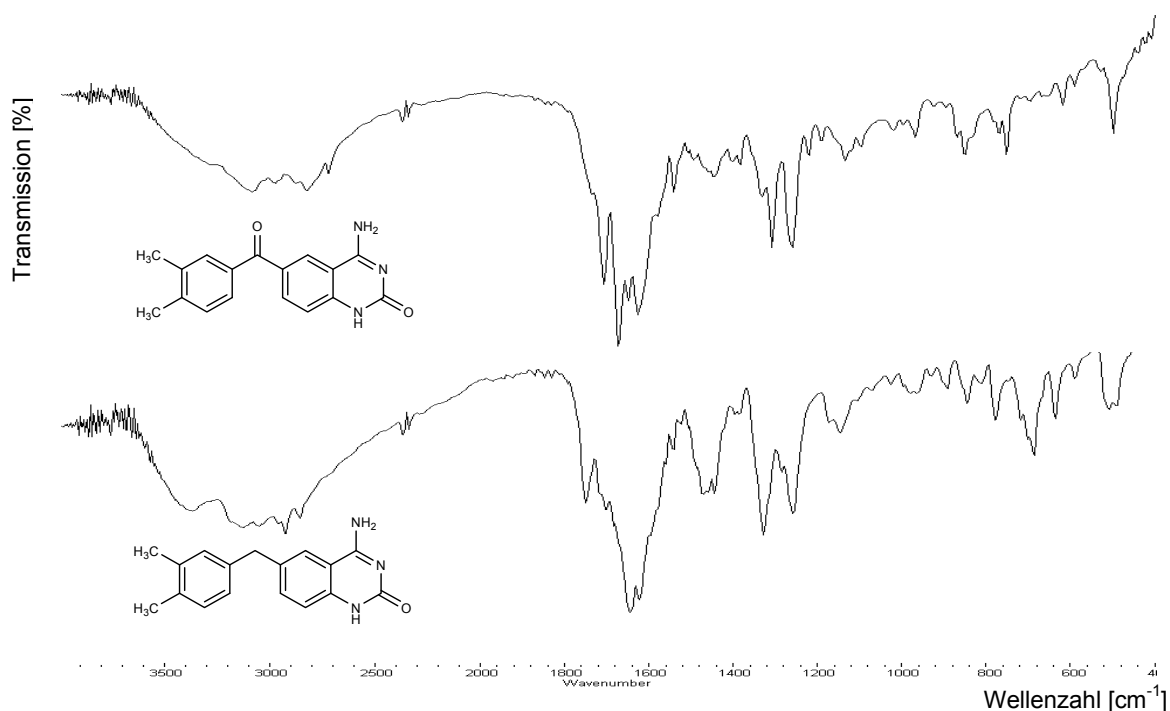
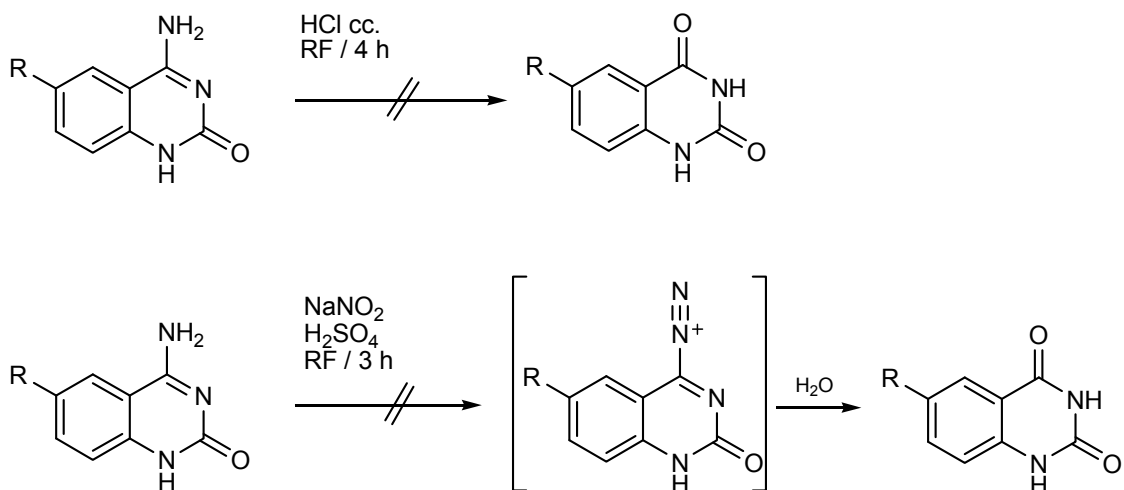


Abbildung 43: Vergleich der IR-Spektren der Verbindungen **15e** und **2**

5.6 Chinazolindione

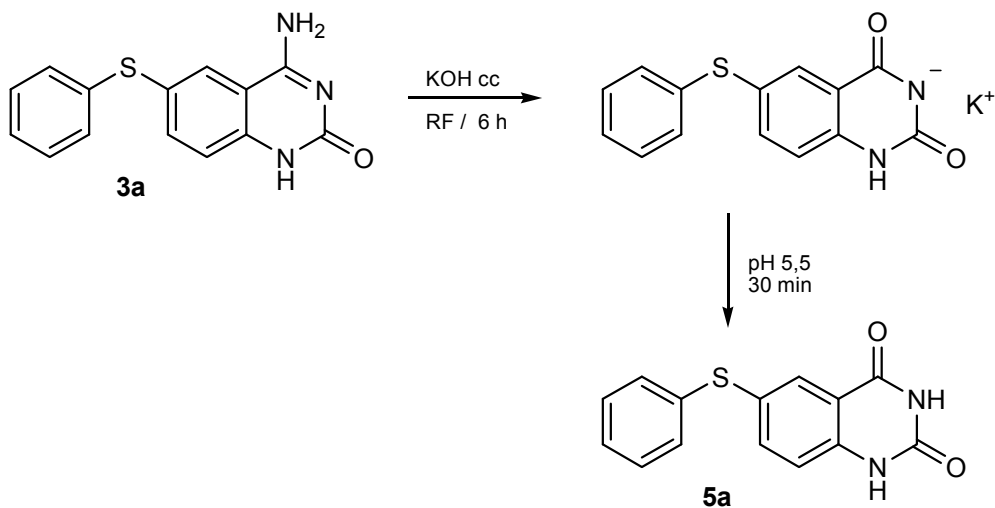
5.6.1 Synthese

Zur Synthese der 2,4-Chinazolindione sollten die synthetisierten Aminoquinazolinone **1**, **3** und **4** hydrolysiert werden. Zunächst wurde versucht, Verbindung **3a** im Sauren umzusetzen, aber weder mehrstündiges Erhitzen in verdünnter noch in konzentrierter Salzsäure¹³⁶ führte zu einer Reaktion. Daraufhin sollte die freie Aminofunktion mit Natriumnitrit in Schwefelsäure diazotiert werden, um anschließend durch Desaminierung ein 2,4-Chinazolindion zu erhalten¹³⁷. Auch hier konnte das gewünschte Produkt nicht isoliert werden (Schema 45).



Schema 45: Versuche zur sauren Hydrolyse

Erst mehrstündiges Erhitzen zum Rückfluss in konzentrierter Kalilauge¹³⁸ zeigte Erfolg. Nach Zugabe von Wasser wurde zunächst das kristalline Kaliumsalz **20a** des 2,4-Chinazolidions isoliert, das durch Rühren in Essigsäure / Acetat-Puffer (pH 5,5) in die freie Säure **5a** überführt werden konnte (Schema 46, Tabelle 29).

Schema 46: Alkalische Hydrolyse von 4-Aminochinazolinonen am Beispiel von **5a**

Substanz	R	Y	Ausbeute [%]
5a	CH ₃	S	51
5b	Cl	S	63
5c	H	S	45
5d	F	S	38
5e	CH ₃	SO ₂	5
5f	Cl	SO ₂	4

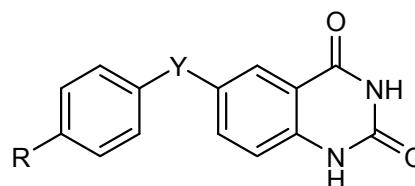
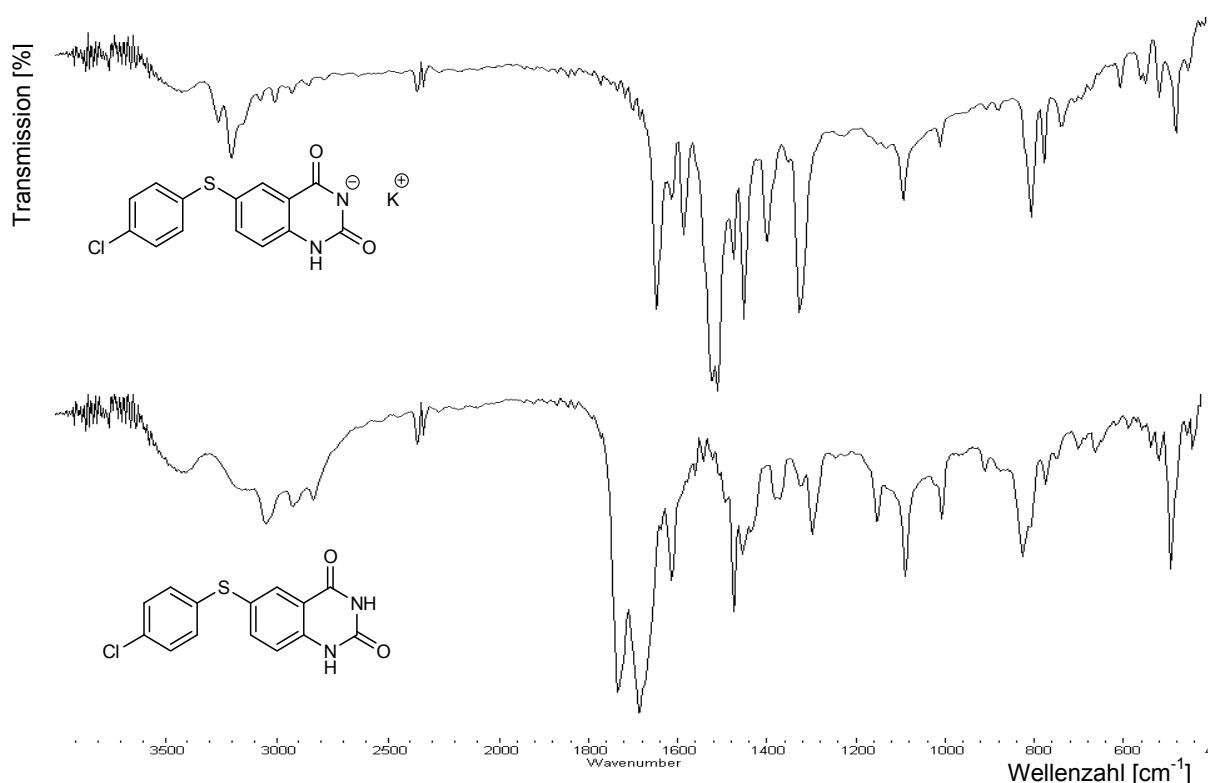


Tabelle 29: Synthetisierte Chinazolidione

5.6.2 Analytik

Im IR-Spektrum des Kaliumsalzes der Verbindung **5f** fielen die Signale der C=O-Valenzschwingungen bei 1650 cm^{-1} zusammen. Die korrespondierende Säure hingegen wies zwei Banden bei 1688 cm^{-1} und 1735 cm^{-1} auf (Abbildung 44). Die IR-Spektren der Aminochinazolinone zeigten die C=O-Bande des C(2) bei etwa 1670 cm^{-1} . Die Bande bei 1735 cm^{-1} war somit der neuen Carbonylfunktion am C(4) zuzuordnen.

Abbildung 44: IR-Spektren des Kaliumsalzes **20c** und der korrespondierenden Säure **5c**

Die ^1H -NMR-Spektren der Chinazolidione zeigten nur ein breites Signal oberhalb von 11,30 ppm, welches den beiden aciden Protonen entsprach (Abbildung 45). Nur bei der Verbindung **5a** war dieses Signal in 2 Singulets aufgeteilt.

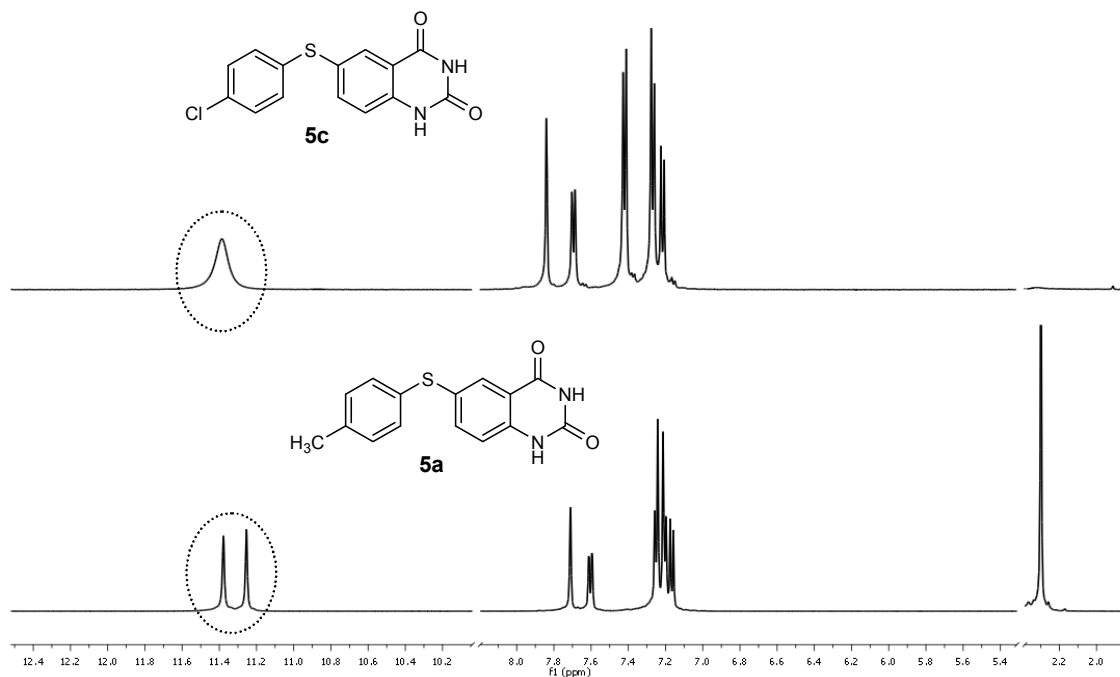


Abbildung 45: Vergleich der ^1H -Spektren zweier Chinazolidione

Die ^{13}C -Spektren zeigten erwartungsgemäß eine Verschiebung des Signals von C(4) (Abbildung 46). Während die 4-Aminochinazolinone für C(2) und C(4) zwei Signale bei etwa 155 und 163 ppm zeigten, wiesen die 2,4-Chinazolidione ebenfalls ein Signal bei 163 ppm und ein etwas hochfeldverschobenes Signal bei 150 ppm auf.

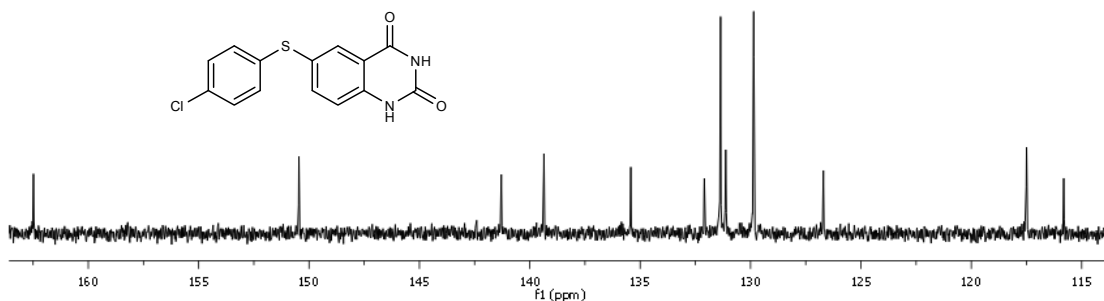


Abbildung 46: ^{13}C -Spektrum von **5c**

Die analytischen Gemeinsamkeiten sind in Tabelle 30 zusammengefasst.

IR-Spektrum	- mehrere Banden im Bereich der NH-Valenzschwingungen zwischen 3050 und 3450 cm^{-1}
	- 2 Banden von C=O-Valenzschwingungen zwischen 1715 und 1735 cm^{-1} sowie 1690 und 1700 cm^{-1}
	- 1 Bande bei 1615 cm^{-1} (C=N-Valenz)
	- 1 Bande zwischen 1590 und 1600 cm^{-1} (NH-Deformation)
^1H -NMR (DMSO- d_6)	- Das Singulett des H(5) erscheint zwischen 7,71 und 7,84 ppm.
	- 2 NH-Protonen sind meist als Singulett zwischen 11,25 und 11,60 ppm sichtbar.
^{13}C -NMR (DMSO- d_6)	- Das Signal des C(4a) ist bei 115 ppm zu finden.
	- C(2) und C(4) geben Signale um 150 und 162 ppm

Tabelle 30: Spektroskopische Eigenschaften der Chinazolindione

6 Bestimmung der *in vitro*-Zytotoxizität

Die synthetisierten Substanzen wurden auf zytotoxische Effekte an humanen Krebszelllinien getestet. Dazu wurden zwei verschiedene Methoden eingesetzt:

- Der MTT-Test wurde in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. M. Kassack (Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf) zur Bestimmung der Zytotoxizität durchgeführt.
- Der SRB-Test (Sulforhodamin-Färbung) wurde am NCI (National Cancer Institute, Bethesda, USA) an insgesamt 60 Zelllinien durchgeführt.

Beide Testsysteme stellen etablierte Methoden zur Determinierung zytotoxischer Effekte dar. Obwohl es sich um unterschiedliche Messprinzipien handelt, sind die erhobenen Ergebnisse nach Perez¹³⁹ korrelierbar.

6.1 Ergebnisse der *in vitro*-Zytotoxizitätsbestimmungen

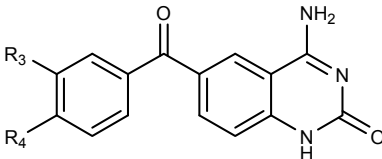
6.1.1 MTT-Test

Bei einer Konzentration von 10^{-5} M bewirkte keine der getesteten Substanzen eine deutliche Wachstumshemmung der MCF7-Zellen. Den stärksten Einfluss besaß Verbindung **1a**. Das Wachstum der damit behandelten Zellen wurde im Vergleich zu unbehandelten Zellen um 27,0 % gehemmt. Auch die mit **1b** und **1c** versetzten Zellen wiesen mit 21,7 und 13,7 % ein geringeres Wachstum auf als die Kontrollzellen. Alle anderen Substanzen zeigten keine inhibitorischen Eigenschaften und sind als inaktiv anzusehen. Aufgrund der geringen bzw. nicht vorhandenen Zytotoxizität der Substanzen wurde auf Messungen mit verschiedenen Substanzkonzentrationen zur Determinierung von EC_{50} -Werten verzichtet.

6.1.2 NCI60-Tumorzell-Screening

Die vom NCI untersuchten Testsubstanzen zeigten nur eine geringe wachstumshemmende Wirkung, so dass keine Bestimmung der EC_{50} durchgeführt wurde.

Bei den Untersuchungen zeigten die Verbindungen bei einer Konzentration von 10^{-5} M schwache zytotoxische Wirkungen (Tabelle 31). Verbindung **5b** erwies sich als aktivste Testsubstanz an der Zelllinie SNB-75, die unter Behandlung mit **5b** eine Wachstumshemmung von 27,3 % zeigte. **3f** und **5d** verminderten das Wachstum der Zelllinie NCI-H522 um 26,2 % bzw. 27,0 %, während **4c** das Wachstum der Zelllinie SR um fast 21 % reduzierte. In Tabelle 31 sind für jede Substanz der Wert der stärksten Wachstumshemmung und die jeweilige Zelllinie angegeben.

Benzoyl 				
Substanz	R ₃	R ₄	Zelllinie	% Inhibition
1a	H	H	CCRF-CEM	16,6
1b	H	OCH ₃	SNB-75	14,8
1c	OCH ₃	OCH ₃	SR	14,1
1d	H	Cl	SR	20,6

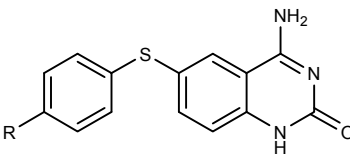
Thioether 			
Substanz	R	Zelllinie	% Inhibition
3a	CH ₃	SNB-75	22,4
3c	OCH ₃	A549/ATCC	19,7
3d	Cl	SR	15,5
3f	F	NCI-H522	26,2

Tabelle 31: Zelllinien mit der stärksten Wachstumshemmung in Gegenwart der Testsubstanzen (10^{-5} M)

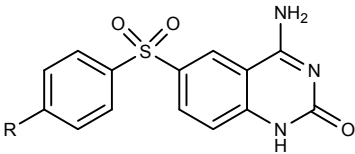
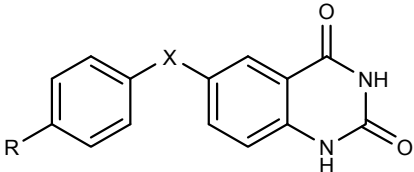
Sulfone					
	Substanz	R	Zelllinie	% Inhibition	
	4a	CH ₃	NCI-H522	17,9	
	4b	OCH ₃	SNB-75	21,8	
	4c	Cl	SR	20,9	
Dione					
	Substanz	R	X	Zelllinie	% Inhibition
	5a	CH ₃	S	NCI-H522	22,8
	5b	Cl	S	SNB-75	27,3
	5d	F	S	NCI-H522	27,0
5e	CH ₃	SO ₂	A549/ATCC	19,3	

Tabelle 31: Zelllinien mit der stärksten Wachstumshemmung in Gegenwart der Testsubstanzen (10⁻⁵M)

6.1.3 Bewertung der Testergebnisse

Die Substanzen sind durchweg als nicht aktiv anzusehen. Die aufgrund der vielversprechenden Docking-Untersuchungen erwartete Inhibition von Hsp90 durch die synthetisierten Substanzen scheint nicht zu erfolgen.

7 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit sollten potenzielle Hsp90-Inhibitoren synthetisiert werden. Die Leitstrukturen mit 4-Amino-2(1*H*)-chinazolinon-Grundgerüst (Abbildung 47) waren im Vorfeld dieser Arbeit nach Betrachtung der N-terminalen ATP-Bindungstasche des Proteins entwickelt worden. Docking-Studien ließen einen inhibitorischen Effekt auf das Protein erwarten⁶⁵.

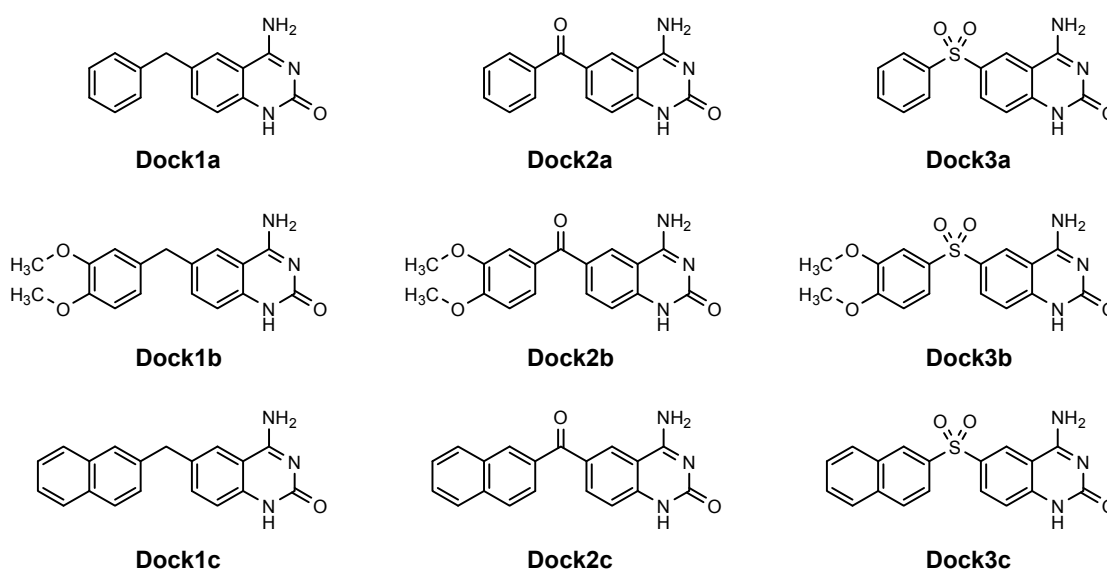
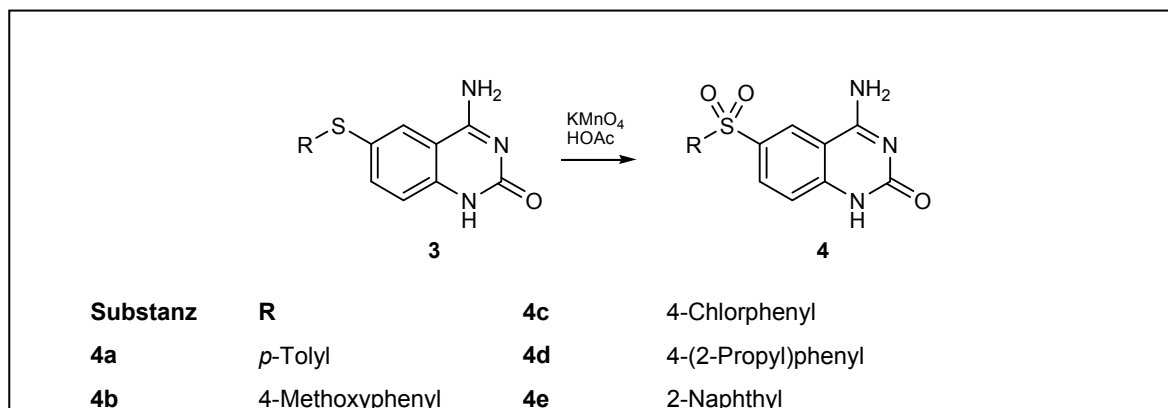


Abbildung 47: *In silico* entwickelte neuartige Substanzen

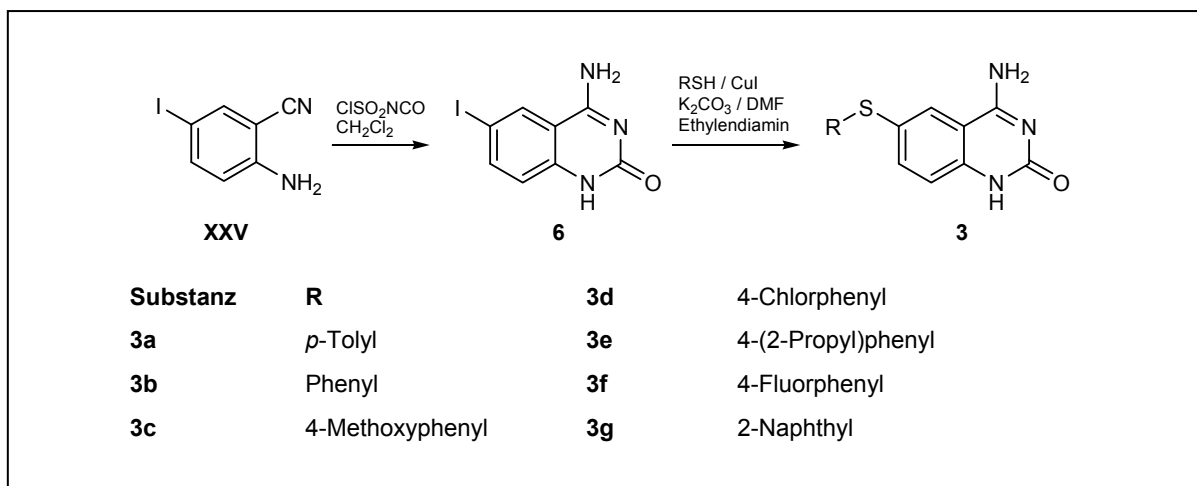
7.1 Darstellung der Zielverbindungen

Die 6-(Arylsulfonyl)chinazolinone **4** (= **Dock3**) waren über die Oxidation von Thioethern **3** zugänglich (Schema 47), welche als weitere Stoffklasse auf Hsp90-Inhibition untersucht werden sollten.



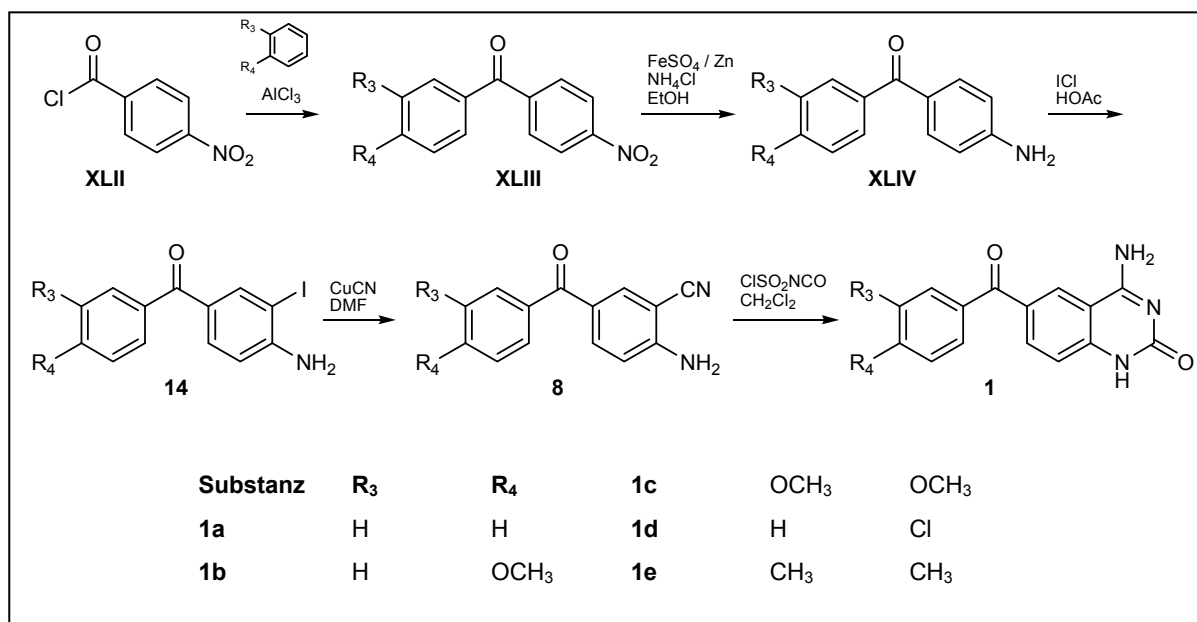
Schema 47: Synthese der 4-Amino-6-(arylsulfonyl)chinazolinone **4a-e**

Die Synthese der 6-(Arylthio)chinazolinone **3a-g** (Schema 48) erfolgte über die Kupplung von **6** mit aromatischen Thiolen unter Zusatz von K_2CO_3 und CuI . Die Vorstufe 4-Amino-6-iodchinazolinon **6** wurde aus **XXV** und Chlorsulfonylisocyanat dargestellt.



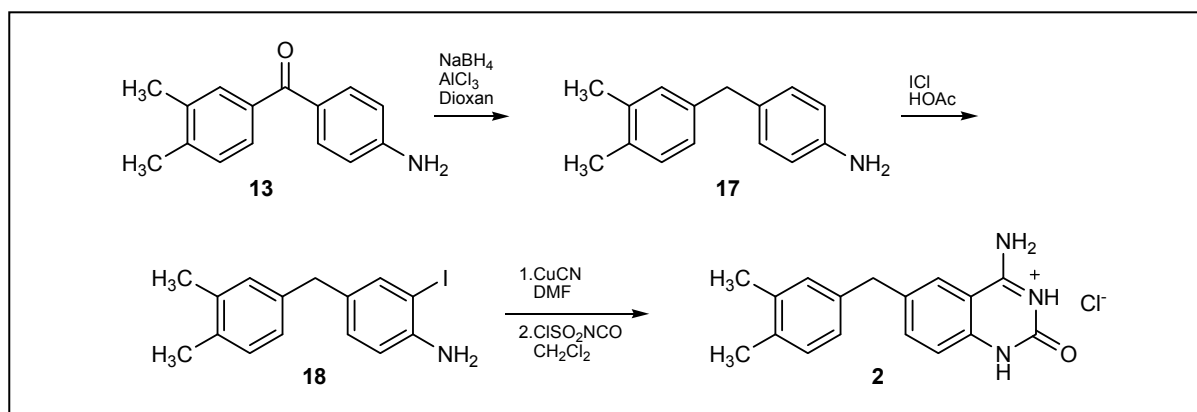
Schema 48: Synthese der 4-Amino-6-(arylthio)chinazolinone **3a-g**

Die Stoffklasse der 4-Amino-6-benzoylchinazolinone **1** (= **Dock2**) (Schema 49) konnte wie folgt erschlossen werden. Ausgehend von **XLII** wurden in Gegenwart von katalytischen Mengen $AlCl_3$ Benzophenonderivate **XLIII** dargestellt. Die Nitrofunktion wurde mit $FeSO_4$ und Zink zur Amingruppe reduziert (**XLIV**). Anschließend wurde mit Iodmonochlorid in *ortho*-Position zur Amin ein Iodsubstituent eingeführt (**14**). Durch Erhitzen mit $CuCN$ in DMF konnte dieser Substituent gegen eine Nitrilfunktion ausgetauscht werden (**8**). In Gegenwart von Chlorsulfonylisocyanat kam es direkt zur Zyklisierung zu den gewünschten Derivaten **1a-e**. Diese lagen als Hydrochloride vor, konnten jedoch einfach in die freien Basen überführt werden.



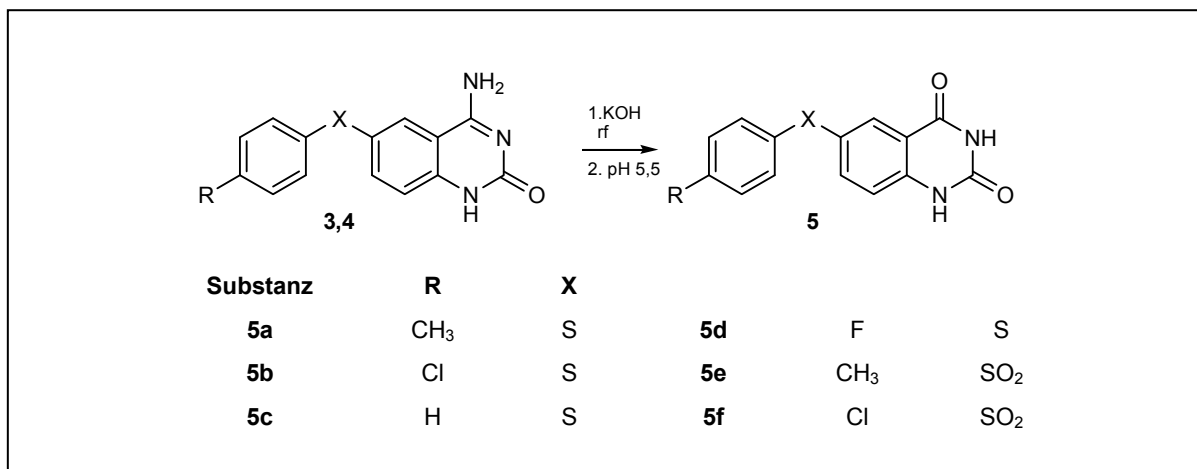
Schema 49: Synthese der 4-Amino-6-benzoylchinazolione **1a-e**

Die direkte Reduktion der 4-Amino-6-benzoylchinazolinone **1** zu den Benzyl-Derivaten gelang nicht. Daher wurde der Reduktionsschritt zu einem früheren Zeitpunkt in der Synthese vollzogen (Schema 50). **13** wurde mithilfe von NaBH₄ und AlCl₃ zu **17** reduziert und dann analog zu den Benzophenonen umgesetzt. Auf diese Weise konnte **2** dargestellt werden.



Schema 50: Synthese von 4-Amino-6-(3,4-dimethylbenzyl)chinazolinon-Hydrochlorid **2**

Die Umsetzung der Aminochinazolinone **3** und **4** zu Chinazolinindionen **5** (Schema 51) gelang durch alkalische Hydrolyse in konzentrierter Kaliumhydroxid-Lösung unter Rückfluss.



Schema 51: Synthese von 2,4-(1H,3H)-Chinazolidionen **5a-f**

7.2 In vitro - Aktivität

Die synthetisierten Substanzen wurden mit zwei verschiedenen Testverfahren (MTT-Test und Sulforhodamin B-Assay) auf ihre Zytotoxizität gegenüber humanen Krebszelllinien untersucht. Im MTT-Test zeigten nur die 4-Amino-6-benzoylchinazolinone **1a-c** eine leichte zytotoxische Wirkung gegen MCF7-Zellen. Im SRB-Assay bewirkten alle Stoffe eine leichte Wachstumshemmung verschiedener Zelllinien.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die aufgrund der vielversprechenden Docking-Ergebnisse erwartete Inhibition von Hsp90 durch die synthetisierten Substanzen nicht erfolgt.

8 Summary

Within this thesis potential novel inhibitors of the Hsp90 chaperon should be synthesized. These molecules with a 4-amino-2(1*H*)-quinazolinone substructure had been designed *in silico*⁶⁵ (figure 1). Docking studies respective their inhibitory effect to Hsp90 showed promising results.

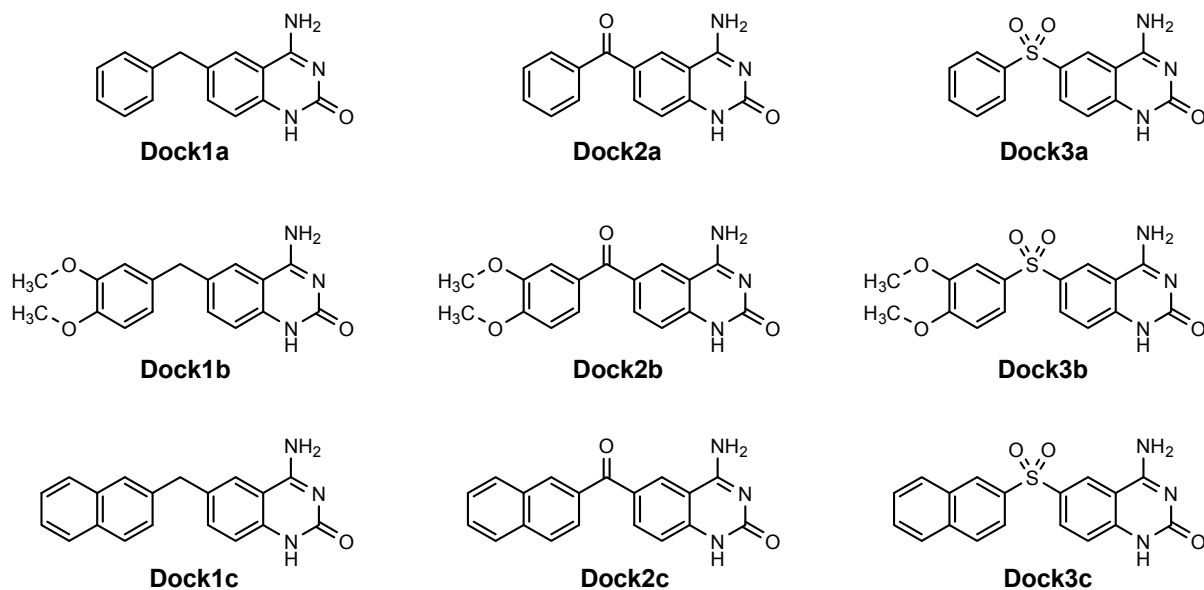
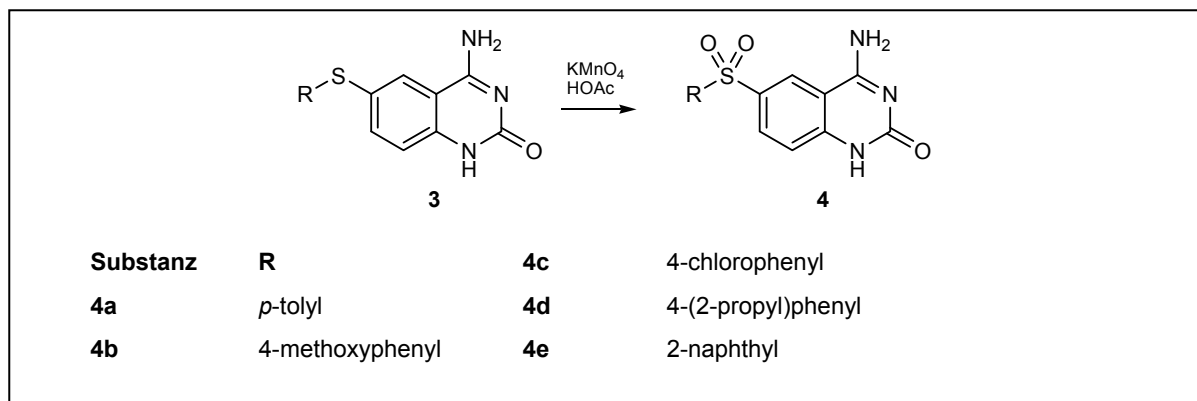


figure 1: *in-silico* designed novel compounds

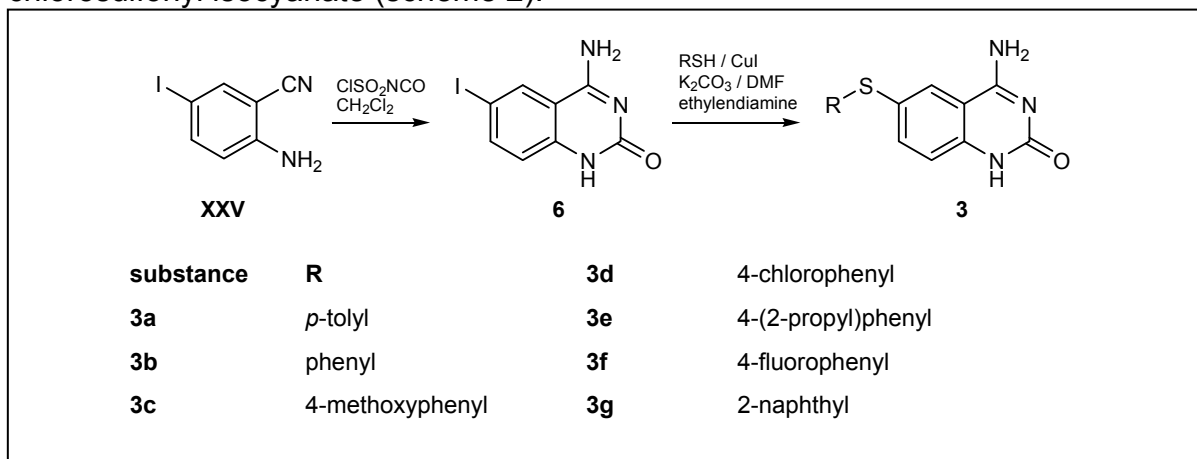
8.1 Synthesis

The class of 6-(arylsulfonyl)quinazolinones **4** (= **Dock3**) was obtained by oxidation of thioethers **3** (scheme 1). They also should be tested for their inhibitory effect on Hsp90.



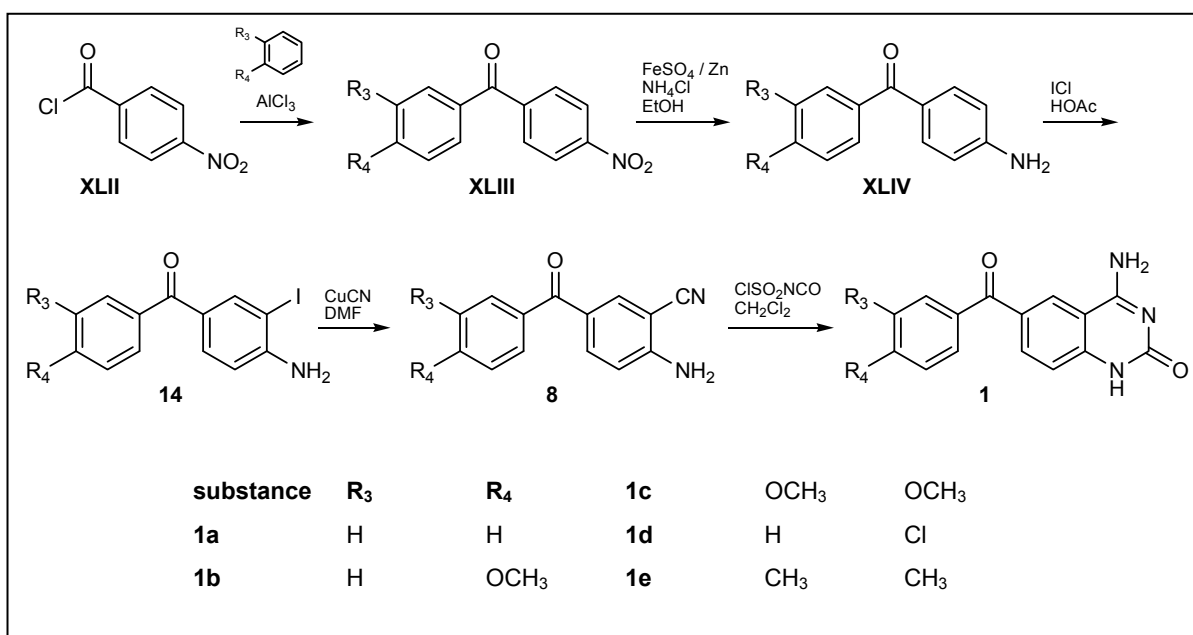
scheme 1: synthesis of 4-amino-6-(arylsulfonyl)quinazolinones **4a-e**

These 6-(arylthio)quinazolinones **3** were synthesized by coupling of aromatic thiols with 4-amino-6-iodoquinazolinone **6**, which was obtained by the reaction of **XXV** with chlorosulfonyl isocyanate (scheme 2).



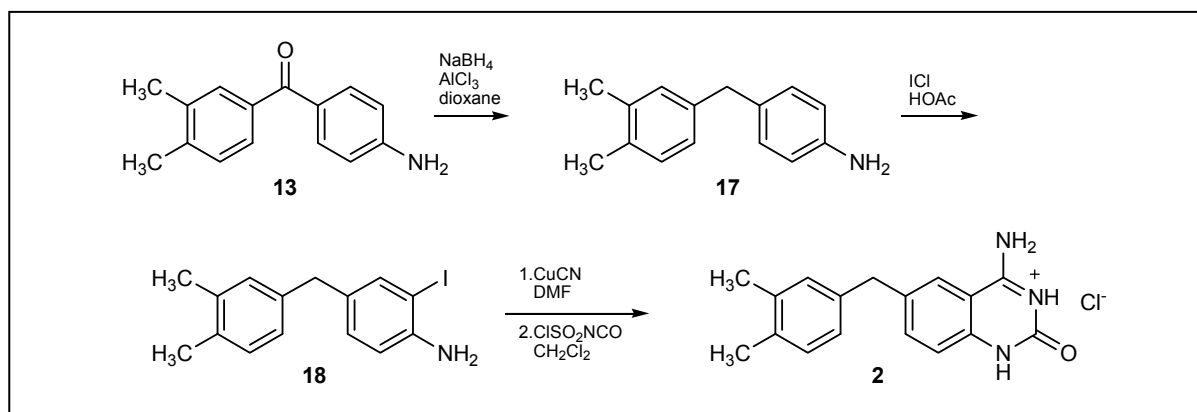
scheme 2: synthesis of 4-amino-6-(arylthio)quinazolinones **3a-g**

The 6-benzoylquinazolinones **1** (**Dock2**) were obtained starting with 4-nitrobenzoyl chloride **XLII** (scheme 3). Nitrobenzophenones **XLIII** were synthesized with AlCl_3 as a catalyst. Afterwards the nitro function was reduced by FeSO_4 and Zn to yield **XLIV**. With iodine monochloride a iodine atom was attached in *o*-position to the amino group (**14**). Afterwards iodine was directly replaced with a nitrile function by heating the compound with CuCN in DMF to yield **8**. Now chlorosulfonyl isocyanate was added and the cyclized products were obtained as hydrochlorides, which could easily be deprotonated to **1a-e**.



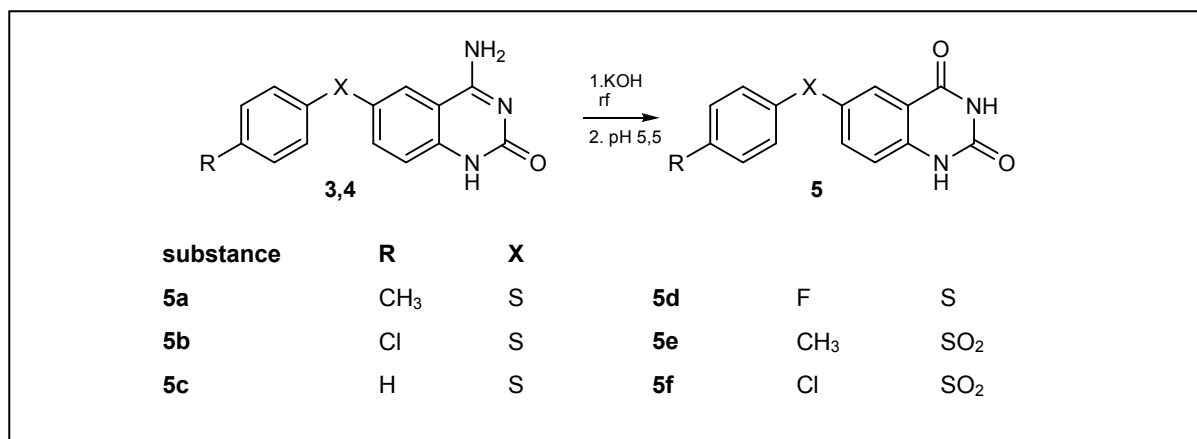
scheme 3: synthesis of 4-amino-6-benzoylquinazolinones **1a-e**

The direct reduction of the 6-benzoylquinazolinones **1** to their benzyl derivatives failed. Therefore a precursor of the quinazolinones had to be reduced. The reduction of aminobenzophenone **13** to **17** was successful using NaBH_4 and AlCl_3 . Further reactions were carried out analog to the benzophenones **1**. In this manner product **2** could be isolated (scheme 4).



scheme 4: synthesis of 4-amino-6-(3,4-dimethylbenzyl)quinazolinone **2**

The conversion of the aminoquinazolinones **3** and **4** to quinazolinones **5** succeeded with basic hydrolysis in concentrated potassium hydroxide solution under reflux (scheme 5).



scheme 5: synthesis of 2,4(1H,3H)-quinazolindiones **5a-f**

8.2 Cytotoxicity

The compounds were tested for their cytotoxic potential against human cancer cell lines by two different assays. The MTT assay revealed a slight activity against MCF7 cells only for the benzoylchinazolinones **1a-c**. The SRB assay showed a weak growth inhibition for all compounds on different cell lines.

Unlike the promising docking results had predicted, based on this results an inhibition of Hsp90 seems to be implausible.

9 Experimenteller Teil

9.1 Geräteverzeichnis

<u>Schmelzpunkt-</u>	Gallenkamp-Apparatur
<u>bestimmung</u>	Angaben in °C, Werte sind unkorrigiert
<u>¹H-NMR-Spektroskopie</u>	200 MHz: Bruker AC200 500 MHz: Bruker Avance500 Angabe der chemischen Verschiebung in ppm gegen TMS als internen Standard
<u>¹³C-NMR-Spektroskopie</u>	125 MHz: Bruker Avance500 Angabe der chemischen Verschiebung in ppm gegen TMS als internen Standard
<u>IR-Spektroskopie</u>	Perkin Elmer IR-Spektralphotometer 1600 FT-IR Varian 800 FTIR Scimitar series Angabe der Wellenzahlen ν in cm^{-1} Aufnahmemedium: Kaliumbromid
<u>Massenspektrometrie</u>	Finnigan MAT 4000 bzw. Finnigan MAT 8200 Messverfahren: Elektronenstoßionisation (EI) Ionisierungsenergie: 70 eV Angaben als m/z (relative Intensitäten als Prozent)
<u>Elementaranalytik</u>	Perkin Elmer PE 2400 Elemental Analyser (Zentrale Einrichtung der Chemie und Pharmazie)

Chromatographie

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen auf
DC-Alufolien Kieselgel 60 F 254 (Merck Nr. 5554)

Säulenchromatographie über Kieselgel 60, Korngröße
0,04-0,063 mm (Fluka Nr. 60752)

Mikrowellensynthese

Gerät: Panasonic NN-T251

HPLC

VWR Hitachi LaChrom Elite

Pumpe: L2130

UV-Detektor: L2400

Säule: LiChroCART® 125-4 LiChrospher® 60

RP-select B (5 µm)

9.2 Allgemeine Arbeitsvorschriften

AAV 1: Synthese von 4-Aminochinazolinonen⁶⁷ (IV, 2, 6, 7, 15a-e)

2 mmol des Benzonitrils werden in trockenem Dichlormethan suspendiert und 2,2 mmol Chlorsulfonylisocyanat in 5 ml Dichlormethan zugetropft. Nach 3 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und 20 ml Wasser zugegeben. Nach weiteren 30 Minuten wird der Niederschlag abfiltriert, mit Wasser gewaschen und getrocknet.

AAV 2: Synthese von 4-Amino-6-(arylthio)aminochinazolinonen (3a-g)

In einem Zweihals-Spitzkolben werden 5 ml DMF 10 Minuten lang mit Argon durchspült. Die Zugabe aller Reagenzien erfolgt nun im Argon - Gegenstrom. Es werden 2,5 mmol (0,7 g) 4-Amino-6-iodchinazolinon (hergestellt nach AAV 1) im Lösungsmittel suspendiert. Nach Zugabe von 5 mmol (0,7 g) K_2CO_3 wird 10 Minuten gerührt, anschließend werden 50 mg Kupfer(I)iodid und 0,3 ml Ethylendiamin zugesetzt. Zum Schluss werden 5 mmol des entsprechenden Thiophenols zugefügt und der Kolben verschlossen. Unter Argon wird für 16 Stunden bei 80 °C gerührt.

Der abgekühlte Ansatz wird in 20 ml Methanol (50%) gegossen, 10 Minuten gerührt und über eine Porzellanfritte abgetrennt. Der Rückstand wird in 20%iger Ethylendiamin-Lösung mindestens 30 Minuten gerührt, bis die Lösung deutlich blau gefärbt ist. Der Rückstand mit einer Porzellanfritte abgetrennt, in Methanol gerührt, wieder abgetrennt und erst mit Wasser, dann mit Diethylether in der Fritte gewaschen.

AAV 3: Synthese von Diarylsulfonen¹¹² (4a-e)

150 mg des zu oxidierenden Thioethers werden in Essigsäure 96% suspendiert. 0,15 g Kaliumpermanganat werden in wenig Wasser gelöst und über 30 Minuten zugetropft. Der Ansatz wird für weitere 60 Minuten gerührt.

Dann wird Ammoniaklösung 25% bis zur alkalischen Reaktion zugesetzt und der Niederschlag abgetrennt. Der Rückstand wird in der Fritte erst mit Wasser, dann mit Methanol gewaschen und anschließend mit wenig heißem DMF übergossen. Die

DMF-Phase wird mit Wasser versetzt, bis ein Niederschlag auftritt. Dieser wird abgetrennt und mit Wasser und Diethylether gewaschen.

AAV 4: Synthese von *p*-Nitrobenzophenonen¹⁰⁸ (XLIIIa-e, 12)

63 mmol (11,7 g) Nitrobenzoylchlorid in Dichlorethan werden vorsichtig mit 72 mmol (9,6 g) Aluminiumchlorid versetzt. Der Aromat (60 mmol) wird langsam unter Eiskühlung zugetropft. Bei Raumtemperatur wird über Nacht gerührt. Anschließend wird der Ansatz auf Eis gegossen, die Phasen werden im Scheidetrichter getrennt und die wässrige Phase mit Dichlormethan ausgeschüttelt. Die organische Phasen werden vereinigt und mit Wasser, verdünnter NaOH und wieder Wasser geschüttelt. Nach Trocknen über MgSO_4 wird die organische Phase am Rotationsverdampfer entfernt.

AAV 5: Reduktion der *p*-Nitrofunktion¹²⁶ (XLIVa-d, 13)

In einem 250 ml-Rundkolben werden 10 mmol der Nitroverbindung in 50 ml Ethanol suspendiert. 30 mmol (8,3 g) Eisen(II)sulfat, 9 ml Wasser, 80 mmol (4,3 g) Ammoniumchlorid und 30 mmol (2,0 g) Zinkpulver werden unter gutem Rühren zugesetzt. Es tritt Wärmeentwicklung ein, der Ansatz wird 2 h bei 50 °C auf dem Ölbad gerührt. Der abgekühlte Ansatz wird filtriert und der Filtrückstand mit warmen Ethanol behandelt. Die vereinigten Filtrate werden am Rotationsverdampfer bis zur Trockne eingeeengt, der Rückstand mit Ethylacetat aufgenommen und mit Ammoniumchlorid-Lösung 25% geschüttelt. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

AAV 6: Iodierung von Arylaminen (14a-e, 18a-e)

Je 10 mmol Aminobenzophenon und Iodmonochlorid werden in Essigsäure 96% gelöst. Die Iodmonochlorid-Lösung wird langsam zur Lösung des Aminobenzophenons zugetropft, so dass keine Erwärmung eintritt. Falls nötig wird mit Eis gekühlt. Wenn ein Niederschlag auftritt (ca. 15 min), werden 500 ml Wasser zugegeben. Überschüssiges ICl wird durch Zusatz von Natriumhydrogensulfit-Lösung zerstört.

Der Rückstand wird mit Wasser gewaschen, in Dichlormethan gelöst und mit NaHCO_3 -Lösung geschüttelt. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer entfernt.

AAV 7: Synthese von 5-Benzoylbenzonitrilen¹²⁷ (8a-e)

10 mmol 4-Amino-3-iod-benzophenon werden in 20 ml Dimethylformamid suspendiert. Es werden 11,5 mmol Kupfer(I)cyanid zugesetzt und der Ansatz 2,5 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird 20%ige Ethylendiamin-Lösung zugegeben und 30 min gerührt. Nach Zugabe von Dichlormethan werden die Phasen im Scheidetrichter getrennt, die Dichlormethanphase wird mit Natriumcyanid-Lösung (10%) geschüttelt und mehrmals mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über MgSO_4 getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

AAV 8: Reduktion von Diarylketonen¹³² (16, 17a-d)

10 mmol des 4-Aminobenzophenons werden in 25 ml Dioxan suspendiert. 3,34 g AlCl_3 (25 mmol) und 0,76 g NaBH_4 (20 mmol) werden zugesetzt und der Ansatz für 30 bis 60 Minuten zum Sieden erhitzt. Nicht umgesetztes NaBH_4 wird durch Wasserzugabe zerstört und die Lösung mit Diethylether ausgeschüttelt. Die Etherphase wird mit Wasser und NaHCO_3 -Lösung geschüttelt. Die Lösungsmittel werden am Rotationsverdampfer entfernt und das verbleibende Öl über Nacht mit der gleichen Menge verdünnter Salzsäure gerührt. Der Rückstand wird abfiltriert und mit Ether gewaschen.

AAV 9: Synthese von Chinazolin-2,4-dionen¹³⁸ (5a-f)

100 mg des Aminochinazolinons werden mit 10 ml konzentrierter Kalilauge für 4 Stunden gekocht. Der Rückstand wird abgetrennt und für eine Stunde bei pH 5,5 (Essigsäure / Acetat-Puffer) gerührt. Der Rückstand wird nun gründlich mit Wasser und anschließend mit Diethylether gewaschen.

9.3 HPLC-Methode zur Reinheitsbestimmung

Von den Substanzen werden 10mM Untersuchungslösungen in DMSO hergestellt. Eine Substanz gilt als rein, wenn die AUC des Substanzsignals mindestens 95 % der Gesamtfläche beträgt. Das Signal des DMSO erscheint bei 4,03 min und bleibt bei der Auswertung unberücksichtigt.

Säule:

Größe: Länge 125 mm, Durchmesser 4 mm

Stationäre Phase: octylsilyliertes Kieselgel (Korngröße 5 µm)

Mobile Phase:

Mobile Phase A: Methanol

Mobile Phase B: Phosphat-Puffer pH 7,2; eine Mischung von 0,45 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ und 0,34 g NaH_2PO_4 in 1000 ml Wasser

Zeit (min)	Mobile Phase A (% V / V)	Mobile Phase B (% V / V)
0-15	50 → 100	50 → 0
15-20	100	0

Durchflussrate: 0,8 ml / min

Detektion: UV-spektroskopisch bei 225 nm

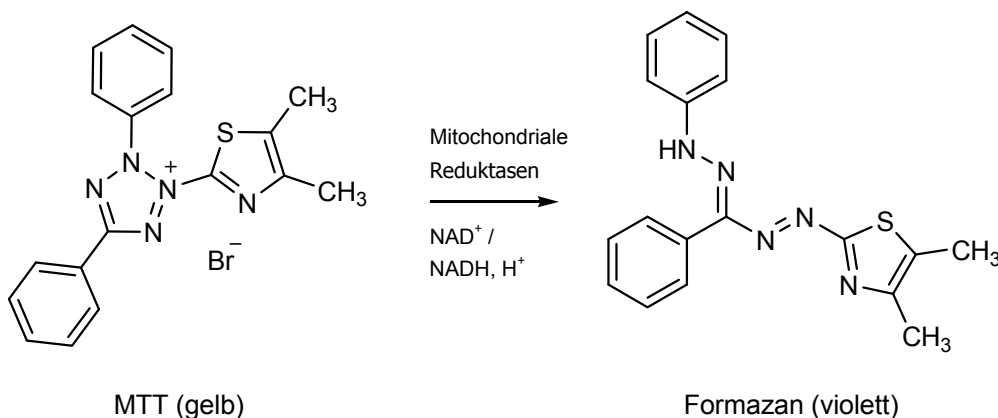
Einspritzvolumen: 20 µl

9.4 Bestimmung der Zytotoxizität

9.4.1 MTT-Test

Der MTT-Test basiert auf der Reduktion des gelben, wasserlöslichen 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT) unter Öffnung des Tetrazol-Ringes zu einem violetten, wasserunlöslichen Formazan (Schema 52).

MTT diffundiert durch die Zellmembran und reichert sich vorwiegend in den Mitochondrien an. Hier findet die Reduktion des Reagenzes unter Beteiligung der mitochondrialen Dehydrogenasen des Succinat-Tetrazolium-Reduktase-Systems statt. Nur vitale Zellen sind zu dieser Umsetzung befähigt. Somit steht die Menge des kolorimetrisch zu quantifizierenden Formazans in direktem Zusammenhang mit der Zellvitalität und ermöglicht nach Inkubation der Zellen mit den Testsubstanzen eine Beurteilung der Zytotoxizität. Der Formazankonzentration unbehandelter Zellen wird der Referenzwert 1 zugeordnet. Die Bestimmung der Formazankonzentration erfolgt absorptionsspektroskopisch bei einer Wellenlänge von 544 nm gegen eine Hintergrundmessung bei 690 nm.



Schema 52: Intrazelluläre Reduktion von MTT zu Formazan

Die Untersuchungen wurden an der humanen Brustkrebszelllinie MCF7 durchgeführt. Die Zellen wurden in einer Zelldichte von 6000 Zellen / Vertiefung in eine sterile 96-Well-Mikrotiterplatte überführt. Nach einer 24stündigen Inkubation unter Kulturbedingungen (37°C, 5% CO₂, 90% relative Luftfeuchte) wurden die Zellen mit 90 µl frischem Nährmedium / Vertiefung versehen und mit den Testsubstanzen in einer finalen Konzentration von 10⁻⁵ M versetzt. Dazu wurde zunächst eine Stammlösung der Testsubstanzen in einer Konzentration von 10⁻² M in DMSO

hergestellt, die mit Nährmedium auf eine Konzentration von 10^{-4} M verdünnt wurde. 10 μ l der jeweiligen Lösung wurde zu den Zellen pipettiert (= 10^{-5} M Endkonzentration). Als Kontrolle wurde isotone NaCl-Lösung bzw. Cisplatin und Geldanamycin in einer finalen Konzentration von 10^{-5} M zur Bestimmung der maximal möglichen Formazankonzentration (NaCl) bzw. als Zytotoxizitätskontrollen eingesetzt. Alle Testsubstanzen und Kontrollen wurden in Triplikaten vermessen. Die finale DMSO-Konzentration betrug 0,1%, so dass ein zytotoxischer DMSO-Effekt ausgeschlossen werden konnte. Nach einer 72stündigen Inkubation der Zellen mit den Testsubstanzen unter Kulturbedingungen wurde der Inkubationsansatz entfernt und jede Vertiefung mit 30 μ l MTT-Lösung (5 mg / ml MTT in PBS 1x) versehen. Nach einer 10minütigen Inkubation unter Kulturbedingungen wurde das überschüssige Reagenz entfernt und durch Zugabe von 75 μ l DMSO / Vertiefung Zelllyse induziert und das entstandene Formazan gelöst. Die Bestimmung der Formazankonzentration pro Vertiefung erfolgte absorptionsspektroskopisch im FluoStar (BMG Labtech) bei einer Wellenlänge von $\lambda = 544$ nm gegen eine Hintergrundmessung bei $\lambda = 690$ nm. Zur Auswertung der Daten wurde die Absorption bei $\lambda = 690$ nm von der Formazanabsorption bei $\lambda = 544$ nm subtrahiert. Die Absorptionswerte der Wachstumskontrolle NaCl wurden als Referenzwert gleich 100% gesetzt. Die Absorptionen der Testsubstanzen wurden als Prozent auf diesen Mittelwert bezogen (= % Wachstum). Aus dem erhaltenen Wert konnte der Inhibitionswert (= % Inhibition) errechnet werden.

9.4.2 NCI60-Tumorzell-Screening

Das Wachstum der Zellen bzw. ein zytotoxischer Effekt von Substanzen wird am NCI durch Anfärben mit Sulforhodamin B (SRB) nachgewiesen. Der Farbstoff bindet unspezifisch an basische Aminosäuren, so dass die Farbstoffkonzentration proportional zur Zellzahl steigt. Die ermittelten Werte sind demnach ein Maß für die Gesamtzahl der Zellmasse ohne Berücksichtigung der Zellviabilität. Die Farbstoffkonzentration kann absorptionsspektroskopisch bei 515 nm ermittelt werden. Auch hier wurden die Messungen an unbehandelten Zellen als Referenzwerte auf den Wert 1 gesetzt.

Die zum Screening eingesetzten humanen Krebszelllinien stammen aus neun verschiedenen Ursprungsgeweben (Blut, Kolon, ZNS, Haut, Ovarien, Nieren, Prostata, Brust und Lunge). Die Zellen wurden in 96-Well-Mikrotiterplatten ausgesät und über Nacht unter Kulturbedingungen inkubiert. Am nächsten Tag wurden einige Wells von jeder Zelllinie mit Trichloressigsäure zur Fixierung (= Ende des Zellwachstums) behandelt. Diese Zellen dienten der Bestimmung des Zellwachstums zum Zeitpunkt der Substanzzugabe. Am NCI werden Testsubstanzen standardmäßig in einer Konzentration von 10^{-5} M vermessen. Zeigt eine Substanz eine deutliche Wachstumshemmung, so werden die Zellen mit fünf verschiedenen Substanzkonzentrationen zur Bestimmung der EC_{50} der Wachstumshemmung inkubiert. Die Testsubstanzen wurden analog zum MTT-Test gelöst und mit Nährmedium auf eine Konzentration von 10^{-4} M (=Endkonzentration 10^{-5} M) verdünnt. Die DMSO-Konzentration lag bei 0,1 %. Zu den restlichen Zellen wurden nun die Lösungen der Testsubstanzen gegeben und erneut für 48 Stunden unter Kulturbedingungen inkubiert. Durch Zugabe von Trichloressigsäure wurde das Zellwachstum gestoppt. Der Überstand, der auch abgestorbene Zellen enthielt, wurde verworfen und die Platten mehrfach mit Wasser gespült. Anschließend wurde Sulforhodamin B zugesetzt und für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Ungebundener Farbstoff wurde nun durch Waschen mit Essigsäure entfernt. Nach Trocknen der Platten wurde durch Zugabe von TRIS-Puffer der Farbstoff in Lösung gebracht und die Farbstoff-Konzentration absorptionsspektroskopisch bestimmt.

Die Werte für das prozentuale Wachstum der Zellen wurden nach der Formel

$$[(Ti-Tz)/(C-Tz)] \times 100 \quad (6.1)$$

berechnet, wobei Tz das Zellwachstum zum Zeitpunkt der Substanzzugabe bezeichnet, Ti das Wachstum der behandelten Zellen nach 48h Inkubation und C das Wachstum unbehandelter Kontrollzellen.

9.5 Darstellung literaturbekannter Substanzen

4-Amino-2(1H)-chinazolinon (IV)

Aus 0,2 g (1,2 mmol) **XXIV** durch Rühren in konz. NaHCO₃-Lsg bei 70 °C.
Schmelzpunkt [°C]: > 360 (Lit.⁶⁶ >360)

2,4-Chinazolin-(1H,3H)-dion (XI)

Aus 0,24 g (2 mmol) 2-Aminobenzonitril nach AAV 1 bei 3stündiger Hydrolyse.
Schmelzpunkt [°C]: 355 (Lit.⁶⁶ 358)

N-(2-Cyanophenyl)harnstoff (XXIV)

Aus 0,24 g (2 mmol) 2-Aminobenzonitril nach AAV 1.
Schmelzpunkt [°C]: 192 (Lit.⁶⁷ 193-194)

2-Amino-5-iodbenzonitril (XXV)

Aus 4,7 g (40 mmol) 2-Aminobenzonitril mit Iodmonochlorid in Essigsäure¹⁴⁰.
Schmelzpunkt [°C]: 83 °C (Lit.¹⁴⁰ 85-86).

N-Benzoylanthranilsäurenitril (XXXVI)

Aus 1,2 g (10 mmol) 2-Aminobenzonitril, 0,6 g (10 mmol) Zinkpulver und 1,5 g (10 mmol) Benzoylchlorid. Umsetzung erfolgte bei 250 W für 30 Sekunden in der Mikrowelle. Schmelzpunkt [°C]: 156 (Lit.¹¹⁶ 158-159)

2-Phenylchinazolin-4(3H)-on (XXXVII)

Aus 1,2 g (10 mmol) 2-Aminobenzonitril, 0,6 g (10 mmol) Zinkpulver und 1,5 g (10 mmol) Benzoylchlorid (MW, 250 W, 30 s). Schmelzpunkt [°C]: 235 (Lit.⁷¹ 242-246)

5-Methyl-2-nitrobenzonitril (XXXIX)

Aus 4,7 g (40 mmol) *meta*-Tolunitril durch Zutropfen einer Mischung aus 4 ml HNO₃ 100 % und 5,6 ml H₂SO₄ 96 % unter Eiskühlung¹⁰⁸. Schmelzpunkt [°C]: 90 (Lit.¹¹⁸ 92-93)

3-Methyl-4-nitrobenzonitril (XLI)

Aus 4,7 g (40 mmol) *meta*-Tolunitril durch Zutropfen einer Mischung aus 4 ml HNO₃ 100 % und 5,6 ml H₂SO₄ 96 % unter Eiskühlung¹⁰⁸. Schmelzpunkt [°C]: 77 (Lit.¹¹⁸ 80-81)

(4-Nitrophenyl)(phenyl)methanon (XLIIIa)

Aus 5,3 ml (60 mmol) Benzol nach **AAV 4**. Schmelzpunkt [°C]: 139 (Lit.¹⁴¹ 138-139)

(4-Methoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanon (XLIIIb)

Aus 6,5 ml (60 mmol) Anisol nach **AAV 4**. Das aus *ortho*- und *para*-Isomer bestehende Produkt wird in Dichlormethan gelöst und die gleiche Menge Methanol wird zugegeben. Nun wird das Dichlormethan am Rotationsverdampfer langsam abrotiert, bis ein Niederschlag auftritt. Dieser wird abfiltriert und besteht aus reinem **XXXVb**. Schmelzpunkt [°C]: 123-125 (Lit.¹⁴² 126-127)

(3,4-Dimethoxyphenyl)(4-nitrophenyl)methanon (XLIIIc)

Aus 7,7 ml (60 mmol) Veratrol nach **AAV 4**. Schmelzpunkt [°C]: 170 (Lit.¹⁴³ 174-175)

(4-Chlorphenyl)(4-nitrophenyl)methanon (XLIIId)

Zu 25 ml Chlorbenzol werden 63 mmol (11,7 g) Nitrobenzoylchlorid gegeben und unter Rühren vorsichtig 72 mmol (9,6 g) wasserfreies Aluminiumchlorid zugesetzt. Der Ansatz wird 4 Stunden auf 50 °C erhitzt. Die Aufarbeitung erfolgt nach **AAV 4**. Schmelzpunkt [°C]: 98 (Lit.:¹⁴² 99-102)

(4-Aminophenyl)(phenyl)methanon (XLIVa)

Aus 2,3 g (10 mmol) **XLIIIa** nach AAV 5. Schmelzpunkt [°C]: 123 (Lit.¹⁴⁴ 124)

(4-Aminophenyl)(4-methoxyphenyl)methanon (XLIVb)

Aus 2,6 g (10 mmol) **XLIIIb** nach AAV 5. Schmelzpunkt [°C]: 120 (Lit.¹⁴⁵ 121)

(4-Aminophenyl)(3,4-dimethoxyphenyl)methanon (XLIVc)

Aus 2,9 g (10 mmol) **XLIIIc** nach AAV 5. Schmelzpunkt [°C]: 191 (Lit.¹⁴⁶ 191)

(4-Aminophenyl)(4-chlorphenyl)methanon (XLIVd)

Aus 2,6 g (10 mmol) **XLIIId** nach AAV 5. Schmelzpunkt [°C]: 179-180 (Lit.¹⁴⁷ 185)

4-Amino-3,5-dichlorbenzoesäure (XLIX)

Aus 1,4 g (10 mmol) 4-Aminobenzoessäure¹²⁸. Schmelzpunkt [°C]: 276 (Lit.¹⁴⁸ 289-291)

4-Amino-3-brombenzoesäure (L)

Aus 1,4 g (10 mmol) 4-Aminobenzoessäure¹²⁹. Schmelzpunkt [°C]: 210 (Lit.¹⁴⁹ 213 - 214)

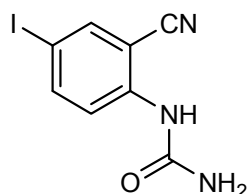
(4-Amino-3-bromphenyl)phenylmethanon (XLV)

Aus 1,0 g (5 mmol) **XLIVa**¹²⁸. Schmelzpunkt [°C]: 154-156 (Lit.¹⁵⁰ 157)

4-Amino-3,5-diiodbenzophenon (LI)

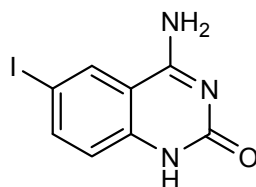
Aus 2,0 g (10 mmol) **XLIVa** nach AAV 6 ohne Kühlen des Reaktionsansatzes. Schmelzpunkt [°C]: 152 (Lit.¹⁵¹ 153)

9.6 Darstellung und Charakterisierung der Substanzen

N-(2-Cyano-4-iodophenyl)harnstoff (7)

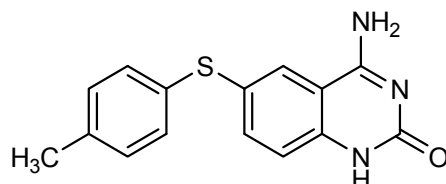
Hergestellt aus 2,4 g (10 mmol) **XXV** nach AAV 1.

Ausbeute	1,4 g (47 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3472, 3357, 3242, 3110, 2229, 1673		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	6,52 (s, 2H, NH ₂), 7,88 (dd, 1H, ² <i>J</i> = 1,86 Hz, ³ <i>J</i> = 8,96 Hz), 7,92 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,96 Hz), 8,59 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	84,56 (C-I), 103,34 (C-CN), 116,02 (CN), 122,93, 140,64, 142,62, 142,98, 155,41 (CO)		
Massenspektrum	287 (19, M ⁺), 244 (100, MH ⁺ -CONH ₂), 117 (33, PhCNNH ₂)		
C ₈ H ₆ IN ₃ O	287,0		
Berechnet [%]	C 33,47	H 2,11	N 14,64
Gefunden [%]	C 33,27	H 2,34	N 14,85

4-Amino-6-iod-2(1*H*)-chinazolinon (6)

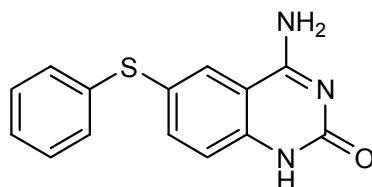
Hergestellt aus 2,4 g (10 mmol) **XXV** nach AAV 1. Durch 30 minütiges Rühren in Natriumhydrogencarbonat-Lösung (10%) wird der Ringschluss vollzogen.

Ausbeute	0,6 g (21 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350 °C		
IR ν [cm ⁻¹]	3352, 3118, 1669, 1628, 1592		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	6,95 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,83 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,90-7,92 (d, 2H, NH), 8,39 (s, 1H), 10,77 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	83,89 (C-I), 110,77, 117,51, 132,90, 142,08, 142,49, 156,12 (C=O), 162,93 (C=NH)		
Massenspektrum	287 (100, M ⁺), 244 (17, M ⁺ -CONH), 160 (22, M ⁺ -I)		
C ₈ H ₆ IN ₃ O	287,0		
Berechnet [%]	C 33,47	H 2,11	N 14,64
Gefunden [%]	C 33,39	H 1,90	N 14,24
HPLC	5,5 min	98,4 %	

4-Amino-6-(4-tolylthio) -2(1*H*)-chinazolinon (3a)

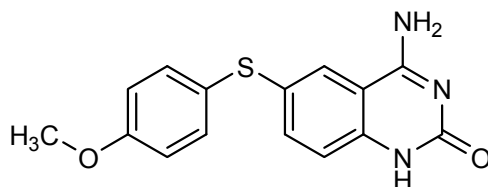
Hergestellt aus 0,62 g (5 mmol) 4-Methylthiophenol nach AAV 2.

Ausbeute	150 mg (21 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	357-359		
IR ν [cm ⁻¹]	3284, 3018, 1671, 1630, 1581		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	2,26 (s, 3H), 7,11-7,15 (m, 5H), 7,54 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,84 (s, 1H, NH), 7,94 (s, 1H, NH), 8,26 (s, 1H), 10,84 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	104,99, 116,30, 124,87, 128,73 (s, 2C), 129,48, 129,91 (s, 2C), 133,22, 135,99, 138,41, 142,56, 155,79, 163,04		
Massenspektrum	283 (100, M ⁺), 240 (15, M ⁺ -CONH), 224, 196, 160 (3, C ₈ H ₆ N ₃ O), 149, 105		
C ₁₅ H ₁₃ N ₃ OS	283,1		
Berechnet [%]	C 63,58	H 4,62	N 14,83
Gefunden [%]	C 62,28	H 4,68	N 14,73
HPLC	9,5 min	97,1 %	

4-Amino-6-(phenylthio)-2(1H)-chinazolinon (3b)

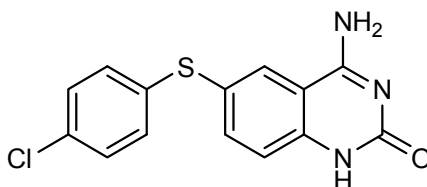
Hergestellt aus 0,55 g (5 mmol) Thiophenol nach AAV 2.

Ausbeute	110 mg (17 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR v [cm ⁻¹]	3410, 3070, 1671, 1631, 1590		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,15-7,22 (m, 4H), 7,31 (t, 2H, ³ J = 7,7 Hz), 7,61 (d, 1H, ³ J = 8,6 Hz), 7,82 (s, 1H, NH), 7,95 (s, 1H, NH), 8,30 (s, 1H), 10,84 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	109,51, 116,90, 123,96, 126,53, 128,02 (s, 2C), 129,73 (s, 2C), 130,95, 137,86, 139,68, 143,40, 156,29 (C=O), 163,52 (C=NH)		
Massenspektrum	269 (100, M ⁺), 226 (14, M ⁺ -CONH), 149 (18, SPh(CNH)(NH))		
C ₁₄ H ₁₁ N ₃ OS	269,1		
Berechnet [%]	C 62,43	H 4,12	N 15,60
Gefunden [%]	C 61,32	H 4,21	N 15,34
HPLC	7,5 min	97,0 %	

4-Amino-6-[(4-methoxyphenyl)thio] -2(1*H*)-chinazolinon (3c)


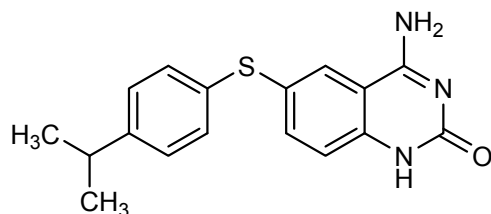
Hergestellt aus 0,70 g (5 mmol) 4-Methoxythiophenol nach AAV 2.

Ausbeute	70 mg (9 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3350, 3105, 1668, 1628, 1590		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	3,74 (s, 3H, OCH ₃), 6,94 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,10 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,28 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,46 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,79 (s, 1H, NH), 7,94 (s, 1H, NH), 8,20 (s, 1H), 10,79 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	55,62 (-O-CH ₃), 109,34, 115,50 (s, 2C), 116,64, 126,54, 127,33, 128,36, 132,71 (s, 2C), 137,56, 142,62, 156,28, 159,20 (C=O), 163,55 (C=NH)		
Massenspektrum	299 (100, M ⁺), 256 (13, M ⁺ -CONH), 224, 196, 149		
C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₂ S	299,1		
Berechnet [%]	C 60,18	H 4,38	N 14,04
Gefunden [%]	C 59,35	H 4,33	N 13,70
HPLC	8,0 min	97,1 %	

4-Amino-6-[(4-chlorphenyl)thio] -2(1*H*)-chinazolinon (3d)

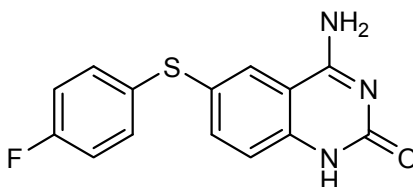
Hergestellt aus 0,72 g (5 mmol) 4-Chlorthiophenol nach AAV 2.

Ausbeute	100 mg (13 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3280, 3018, 1673, 1627, 1584		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,15 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,18 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,37 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,63 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,83 (s, 1H, NH), 7,95 (s, 1H, NH), 8,30 (s, 1H), 10,86 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	107,04, 116,57, 124,51, 129,09 (s, 2C), 129,12 (s, 2C), 130,69, 130,80, 136,61, 139,15, 145,00, 156,24 (C=O), 161,78 (C=NH)		
Massenspektrum	303/305 (100, M ⁺), 260/262 (13, M ⁺ -CONH), 224, 196, 160 (5, C ₈ H ₆ N ₃ O), 149, 105		
C ₁₄ H ₁₀ ClN ₃ OS	303,8		
Berechnet [%]	C 55,35	H 3,32	N 13,84
Gefunden [%]	C 53,87	H 3,14	N 13,79
HPLC	9,3 min	97,0 %	

4-Amino-6-[(4-isopropylphenyl)thio] -2(1*H*)-chinazolinon (3e)


Hergestellt aus 0,72 g (5 mmol) 4-Isopropylthiophenol nach AAV 2.

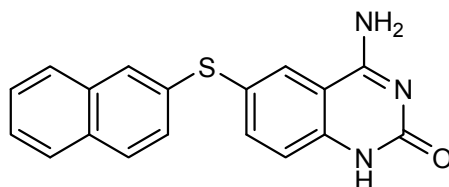
Ausbeute	140 mg (18 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR v [cm ⁻¹]	3419, 3048, 2962, 2865, 1671, 1631, 1587		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	1,15 (s, 3H, CH ₃), 1,17 (s, 3H, CH ₃), 7,12 (d, 2H, ³ J = 8,1 Hz), 7,15 (d, 1H, ³ J = 8,7 Hz), 7,20 (d, 2H, ³ J = 8,2 Hz), 7,58 (d, 1H, ³ J = 8,5 Hz), 7,84 (s, 1H, NH), 7,94 (s, 1H, NH), 8,28 (s, 1H), 10,83 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	24,08 (s, 2C, (CH ₃) ₂ CH), 33,35 ((CH ₃) ₂ CH), 108,79, 117,79, 127,94 (s, 2C), 128,03, 129,97 (s, 2C), 130,16, 132,96, 140,72, 142,06, 147,96, 150,20 (C=O), 160,73 (C=NH)		
Massenspektrum	311 (100, M ⁺), 296 (52, M ⁺ -CH ₃), 268 (9, M ⁺ -CONH)		
C ₁₇ H ₁₇ N ₃ OS	311,1		
Berechnet [%]	C 65,57	H 5,50	N 13,49
Gefunden [%]	C 61,92	H 5,13	N 12,59
HPLC	11,7 min	95,2 %	

4-Amino-6-[4-fluorphenyl]thio]-2(1*H*)-chinazolinon (3f)

Hergestellt aus 0,80 g (5 mmol) 4-Fluorphenylthiophenol nach AAV 2.

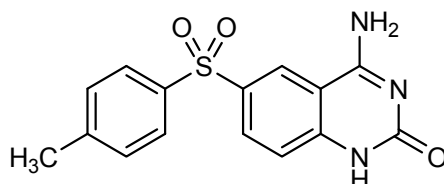
Ausbeute	160 mg (22 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3291, 3034, 1630, 1585		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,11-7,22 (m, 4H), 7,25-7,28 (m, 2H), 7,58 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,82 (s, 1H, NH), 7,95 (s, 1H, NH), 8,27 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	109,11, 116,74-116,91 (d, 2C, ² <i>J</i> _{C,F} = 22 Hz), 116,89, 127,00, 130,20, 131,13-131,19 (d, 2C, ³ <i>J</i> _{C,F} = 9 Hz), 132,86 (d, 1C, ⁴ <i>J</i> _{C,F} = 3 Hz), 138,99, 143,25, 156,26, 160,51-162,48 (d, 1C, ¹ <i>J</i> _{C,F} = 248 Hz), 163,50		
Massenspektrum	287 (100, M ⁺), 244 (14, M ⁺ -CONH), 212 (19, PhSPh(CHNH)), 149 (24, SPh(CNH)(NH))		
C ₁₄ H ₁₀ FN ₃ OS	287,1		
Berechnet [%]	C 58,53	H 3,51	N 14,63
Gefunden [%]	C 58,78	H 3,41	N 14,36

4-Amino-6-(2-naphthylthio)-2(1*H*)-chinazolinon (3g)



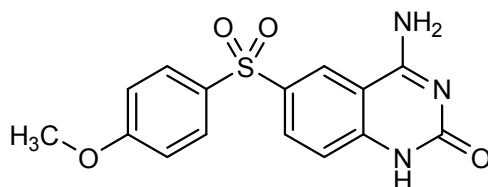
Hergestellt aus 0,80 g (5 mmol) 2-Naphthylthiophenol nach AAV 2.

Ausbeute	180 mg (23 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350 (Lit. ⁷⁸ 380-382)		
IR v [cm ⁻¹]	3411, 3052, 1667, 1630, 1591		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,20 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,30 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,48 (m, 2H), 7,65 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,70 (s, 1H), 7,80 (s, 1H, NH), 7,82 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 7,5 Hz), 7,87 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,96 (s, 1H, NH), 8,34 (s, 1H), 10,86 (s, 1H, NH)		
Massenspektrum	319 (100, M ⁺), 276 (12, M ⁺ -CONH), 149 (20, SPh(CNH)(NH)), 127 (20, Naphthyl)		
C ₁₈ H ₁₃ N ₃ OS	319,1		
Berechnet [%]	C 67,69	H 4,10	N 13,16
Gefunden [%]	C 68,31	H 4,65	N 12,69
HPLC	10,6 min	98,4 %	

4-Amino-6-(4-tolylsulfonyl)-2(1H)-chinazolinon (4a)

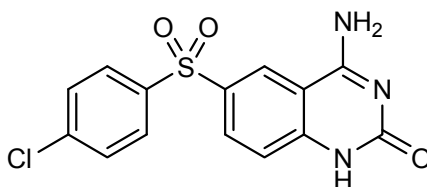
Hergestellt aus 150 mg (0,5 mmol) **3a** nach AAV 3.

Ausbeute	35 mg (21 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3399, 3035, 1668, 1621, 1593		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	2,36 (s, 3H, CH ₃), 7,24 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,8 Hz), 7,43 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,1 Hz), 7,85 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,2 Hz), 8,00 (s, 1H, NH), 8,02 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,8 Hz), 8,32 (s, 1H, NH), 8,72 (s, 1H), 11,09 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	21,36 (CH ₃), 108,66, 116,47, 125,70, 127,50 (s, 2C), 130,52 (s, 2C), 132,26, 133,69, 139,10, 144,51, 146,35, 156,03 (C=O), 163,51 (C=NH)		
Massenspektrum	315 (26, M ⁺), 287 (11, M ⁺ -CO), 208 (2, C ₈ H ₆ N ₃ O ₂ S), 176 (3, C ₈ H ₆ N ₃ S), 165 (3, C ₇ H ₅ N ₂ OS), 133 (6, Phenyl(NH)C(NH) ₂)		
C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	315,1		
Berechnet [%]	C 57,13	H 4,16	N 13,33
Gefunden [%]	C 55,39	H 3,90	N 13,14
HPLC	5,3 min	98,4 %	

4-Amino-6-[(4-methoxyphenyl)sulfonyl]-2(1*H*)-chinazolinon (4b)


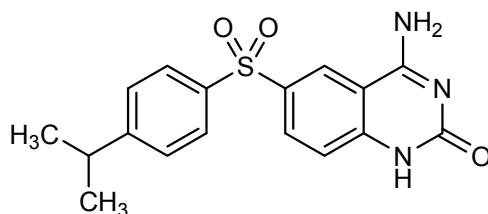
Hergestellt aus 150 mg (0,5 mmol) **3c** nach AAV 3.

Ausbeute	50 mg (29 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3437, 3053, 1687, 1656, 1625, 1595		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	3,82 (s, 3H, CH ₃), 7,14 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 9,0 Hz), 7,23 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,8 Hz), 7,89 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 9,0 Hz), 7,98 (s, 1H, NH), 8,02 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,30 (s, 1H, NH), 8,71 (s, 1H), 11,07 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	56,17 (-OCH ₃), 108,62, 115,30 (s, 2C), 116,42, 125,43, 129,78 (s, 2C), 132,11, 133,44, 134,22, 146,20, 156,02 (C=O), 163,37 (C=NH), 163,51		
Massenspektrum	331 (61, M ⁺), 288 (8, M ⁺ -CONH), 208 (8, C ₈ H ₆ N ₃ O ₂ S), 176 (15, C ₈ H ₆ N ₃ S), 165 (15, C ₇ H ₅ N ₂ OS), 133 (28, Phenyl(NH)C(NH) ₂)		
C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₄ S	331,1		
Berechnet [%]	C 54, 37	H 3,95	N 12,68
Gefunden [%]	C 54,28	H 3,71	N 12,39

4-Amino-6-[(4-chlorphenyl)sulfonyl]-2(1*H*)-chinazolinon (4c)

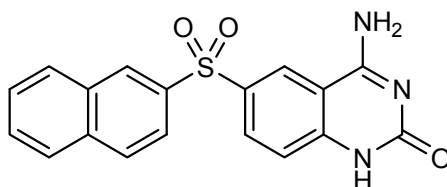
Hergestellt aus 150 mg (0,5 mmol) **3d** nach AAV 3.

Ausbeute	25 mg (14%) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3481, 3052, 1683, 1658, 1621, 1593		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,26 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,8 Hz), 7,72 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,97 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,01 (s, 1H, NH), 8,06 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,31 (s, 1H, NH), 8,74 (s, 1H), 11,11 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	108,77, 116,61, 126,08, 129,42 (s, 2C), 130,28 (s, 2C), 132,39, 132,72, 138,99, 140,77, 146,63, 156,00 (C=O), 163,49 (C=NH)		
C ₁₄ H ₁₀ ClN ₃ O ₃ S	335,0		
Berechnet [%]	C 50,08	H 3,00	N 12,51
Gefunden [%]	C 50,37	H 3,18	N 12,30

4-Amino-6-[(4-isopropylphenyl)sulfonyl]-2(1*H*)-chinazolinon (4d)


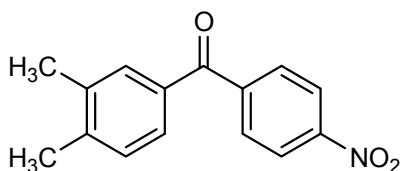
Hergestellt aus 150 mg (0,5 mmol) **3e** nach AAV 3.

Ausbeute	25 mg (15 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR v [cm ⁻¹]	3347,3053, 2963, 2871, 1673, 1650, 1624, 1593		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	1,18 (s, 3H, CH ₃), 1,19 (s, 3H, CH ₃), 2,96 (m, 1H, CH), 7,24 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,8 Hz), 7,49 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,3 Hz), 7,88 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,3 Hz), 8,00 (s, 1H, NH), 8,04 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,8 Hz), 8,32 (s 1H, NH), 8,73 (s, 1H), 11,09 (s, 1H, NH)		
Massenspektrum	343 (100, M ⁺), 328 (43, -CH ₃), 208 (17, SC ₈ H ₆ N ₃ O ₂), 176 (22, C ₈ H ₆ N ₃ S), 165 (39, SC ₇ H ₅ N ₂ O), 133 (55, (Phenyl(NH)C(NH) ₂)		
C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₃ S	343,1		
Berechnet [%]	C 59,46	H 4,99	N 12,24
Gefunden [%]	C 59,53	H 5,13	N 12,11

4-Amino-6-(2-naphthylsulfonyl)-2(1*H*)-chinazolinon (4e)

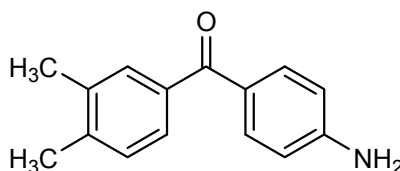
Hergestellt aus 150 mg (0,5 mmol) **3g** nach AAV 3.

Ausbeute	30 mg (18 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR v [cm ⁻¹]	3468, 3052, 1653, 1640, 1619, 1592		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,26 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,8 Hz), 7,72 (m, 2H), 7,93 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,05 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 7,9 Hz), 8,06 (s, 1H, NH), 8,11 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,15 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,8 Hz), 8,20 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 7,9 Hz), 8,34 (s, 1H, NH), 8,67 (s, 1H), 8,81 (s, 1H), 11,10 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	108,74, 116,56, 122,66, 126,02, 128,29, 128,65, 129,80, 129,97, 130,33, 132,09, 132,45, 133,24, 134,84, 138,85, 141,55, 146,49, 156,02 (C=O), 163,53 (C=NH)		
Massenspektrum	351 (M ⁺), 208 (17, SC ₈ H ₆ N ₃ O ₂), 176 (26, C ₈ H ₆ N ₃ S), 165 (39, SC ₇ H ₅ N ₂ O), 133 (Phenyl(NH)C(NH) ₂)		
C ₁₈ H ₁₃ N ₃ O ₃ S	351,1		
Berechnet [%]	C 61,53	H 3,73	N 11,96
Gefunden [%]	C 59,99	H 3,48	N 11,58
HPLC	6,8 min	96,6 %	

(3,4-Dimethylphenyl)(4-nitrophenyl)methanon (12)

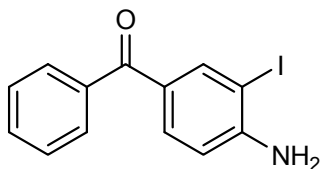
Hergestellt aus 60 mmol (6,4 g) o-Xylol nach AAV 4.

Ausbeute	11,3 g (74 %) gelbliche Kristalle		
Schmelzpunkt [°C]	125-128 (Lit. ¹⁴³ 111)		
IR ν [cm ⁻¹]	1648, 1519, 1352 (-NO ₂)		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, CDCl ₃)	2,34 (s, 3H, CH ₃), 2,37 (s, 3H, CH ₃), 7,27 (d, 1H, ³ J = 7,8 Hz), 7,52 (d, 1H, ³ J = 7,8 Hz), 7,60 (s, 1H), 7,91 (d, 2H, ³ J = 8,9 Hz), 8,34 (d, 2H, ³ J = 8,9 Hz)		
Massenspektrum	255 (21, M ⁺), 150 (6, BzNO ₂), 133 (100, M ⁺ -PhNO ₂), 105 (31, Ph(CH ₃) ₂)		
C ₁₅ H ₁₃ NO ₃	255,1		
Berechnet [%]	C 70,58	H 5,13	N 5,49
Gefunden [%]	C 70,31	H 5,17	N 5,48

(4-Aminophenyl)(3,4-dimethylphenyl)methanon (13)

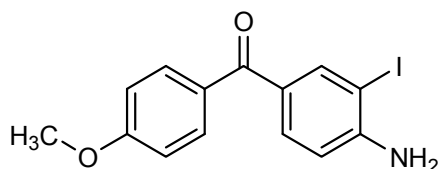
Hergestellt aus 2,6 g (10 mmol) **12** nach AAV 5.

Ausbeute	2,1 g (93 %) gelbe Kristalle		
Schmelzpunkt [°C]	122-125		
IR ν [cm ⁻¹]	3453, 3351, 3222, 1636		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, CDCl ₃)	2,31 (s, 3H), 2,33 (s, 3H), 4,10 (s, 2H, NH ₂), 6,69 (d, 2H, ³ J = 8,6 Hz), 7,20 (d, 1H, ³ J = 7,7 Hz), 7,46 (d, 1H, ³ J = 7,7 Hz), 7,53 (s, 1H), 7,71 (d, 2H, ³ J = 8,6 Hz)		
Massenspektrum	225 (42, M ⁺), 210 (16, M ⁺ -CH ₃), 133 (13, Bz(CH ₃) ₂), 120 (100, BzNH ₂)		
C ₁₅ H ₁₅ NO	225,3		
Berechnet [%]	C 79,97	H 6,71	N 6,22
Gefunden [%]	C 79,70	H 6,42	N 6,19

(4-Amino-3-iodophenyl)phenylmethanon (14a)

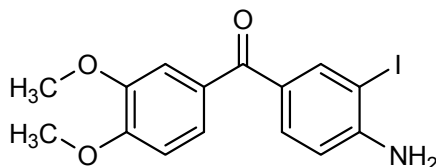
Hergestellt aus 2,0 g (10 mmol) **XLIVa** nach AAV 6.

Ausbeute	1,6 g (49 %) sandfarbenes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	173 (Lit. ¹⁴⁴ 177)		
IR ν [cm ⁻¹]	3438, 3320, 1638		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, CDCl ₃)	4,61 (s, 2H, NH ₂), 6,75 (d, 1H, ³ J = 8,4 Hz), 7,47 (t, 2H, ³ J = 7,8 Hz), 7,56 (t, 1H, ³ J = 8,4 Hz), 7,72 (d, 2H, ³ J = 8,1 Hz), 8,19 (s, 1H)		
Massenspektrum	323 (8, M ⁺), 246 (18, M ⁺ -Ph), 127 (65, I), 120 (19, BzNH ₂), 105 (23, Bz)		
C ₁₃ H ₁₀ INO	323,0		
Berechnet [%]	C 48,32	H 3,12	N 4,34
Gefunden [%]	C 48,59	H 3,04	N 4,15

(4-Amino-3-iodophenyl)(4-methoxyphenyl)methanon (14b)

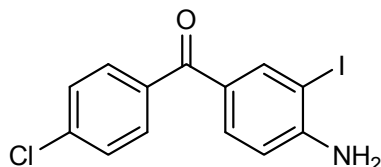
Hergestellt aus 2,3g (10 mmol) **XLIVb** nach AAV 6.

Ausbeute	1,9 g (53 %) gelbes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	140		
IR v [cm ⁻¹]	3460, 3358, 2837, 1620		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, CDCl ₃)	3,96 (s, 3H, -OCH ₃), 4,64 (s, 2H, -NH ₂), 6,82 (d, 1H, ³ J = 8,57 Hz), 7,04 (d, 2H, ³ J = 8,57 Hz), 7,72 (d, 1H, ³ J = 8,57), 7,82 (d, 2H, ³ J = 8,57 Hz), 8,23 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, CDCl ₃)	55,42 (-OCH ₃), 82,20, 112,89, 113,43 (s, 2C), 128,52, 130,62, 131,79 (s, 2C), 131,99, 141,60, 151,22, 162,57, 192,57 (C=O)		
Massenspektrum	353 (16, M ⁺), 246 (24, M ⁺ -PhOCH ₃), 135 (56, BzOCH ₃)		
C ₁₄ H ₁₂ INO ₂	353,0		
Berechnet [%]	C 47,61	H 3,43	N 3,97
Gefunden [%]	C 47,33	H 3,61	N 4,11

(4-Amino-3-iodophenyl)(3,4-dimethoxyphenyl)methanon (14c)

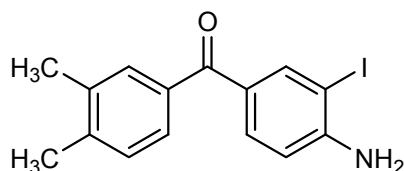
Hergestellt aus 2,6 g **XLIVc** nach AAV 6.

Ausbeute	2,0 g (45 %) gelbliches Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	173		
IR ν [cm ⁻¹]	3446, 3341, 1616		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, CDCl ₃)	3,94 (s, 3H, -OCH ₃), 3,96 (s, 3H, -OCH ₃), 6,76 (d, 1H, ³ J = 8,3 Hz), 6,91 (d, 1H, ³ J = 8,3 Hz), 7,34 (d, 1H, ³ J = 8,2 Hz), 7,38 (s, 1H), 7,66 (d, 1H, ³ J = 8,3 Hz), 8,17 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	55,84 (-OCH ₃), 56,04 (-OCH ₃), 81,77 (C-I), 110,96, 112,34, 113,07, 123,92, 127,09, 130,68, 132,07, 141,76, 148,81, 152,33, 153,01, 191,67 (C=O)		
Massenspektrum	383 (28, M ⁺), 352 (5, M ⁺ -OCH ₃), 246 (42, M ⁺ -Ph(OCH ₃) ₂), 165 (49, Bz(CH ₃) ₂)		
C ₁₅ H ₁₄ INO ₃	383,0		
Berechnet [%]	C 47,02	H 3,68	N 3,66
Gefunden [%]	C 47,27	H 3,73	N 3,45

(4-Amino-3-iodophenyl)(4-chlorophenyl)methanon (14d)

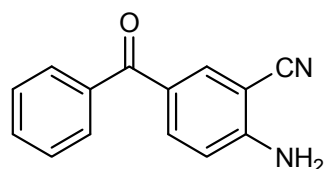
Hergestellt aus 2,3 g (10 mmol) **XLIVd** nach AAV 6.

Ausbeute	1,5 g (41 %) helles Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	145		
IR v [cm ⁻¹]	3462, 3340, 1618		
¹ H-NMR δ [ppm] (MHz,)	4,58 (s, 2H, -NH ₂), 6,74 (d, 1H, ³ J = 8,4 Hz), 7,45 (d, 2H, ³ J = 8,5 Hz), 7,64 (d, 1H, ³ J = 8,4 Hz), 7,67 (d, 2H, ³ J = 8,5 Hz), 8,16 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, CDCl ₃)	81,75 (C-I), 112,69, 126,42, 128,28 (s, 2C), 131,92 (s, 2C), 141,58, 152,57, 191,56 (C=O)		
Massenspektrum	357/359 (19, M ⁺), 246 (40, M ⁺ -PhCl), 230/232 (17, M ⁺ -I), 139/141 (57, BzCl), 111/113 (64, PhCl)		
C ₁₃ H ₉ ClINO	356,9		
Berechnet [%]	C 43,67	H 2,54	N 3,92
Gefunden [%]	C 43,88	H 2,46	N 3,83

(4-Amino-3-iodophenyl)(3,4-dimethylphenyl)methanon (14e)

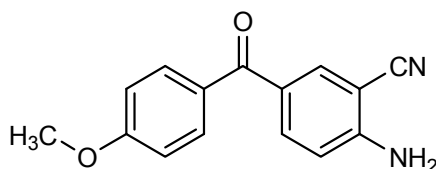
Hergestellt aus 2,3 g (10 mmol) **13** nach AAV 6.

Ausbeute	1,9 g (55 %) gelbliches Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	152		
IR ν [cm ⁻¹]	3462, 3340, 2935, 1608		
¹ H-NMR δ [ppm] (MHz, CDCl ₃)	2,32 (s, 3H, -CH ₃), 2,34 (s, 3H, -CH ₃), 4,58 (s, 2H, -NH ₂), 6,75 (d, 1H, ³ J = 8,4 Hz), 7,22 (d, 1H, ³ J = 7,7 Hz), 7,45 (d, 1H, ³ J = 7,7 Hz), 7,53 (s, 1H), 7,66 (d, 1H, ³ J = 8,4 Hz), 8,19 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, CDCl ₃)	19,73 (CH ₃), 19,97 (CH ₃), 82,44 (C-I), 112,96, 127,46, 129,33, 129,37, 130,74, 132,29, 135,81, 141,24, 141,95, 150,43, 193,96 (C=O)		
Massenspektrum	351 (100, M ⁺), 336 (9, M ⁺ -CH ₃), 246 (44, M ⁺ -Ph(CH ₃) ₂), 133 (25, Bz(CH ₃) ₂), 120 (16, BzNH ₂)		
C ₁₅ H ₁₄ INO	351,0		
Berechnet [%]	C 51,30	H 4,02	N 3,99
Gefunden [%]	C 51,39	H 3,80	N 3,83

2-Amino-5-benzoylbenzonitril (8a)

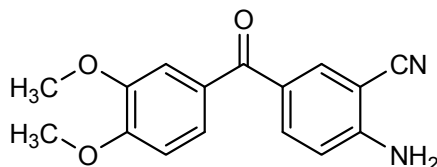
Hergestellt aus 1,6 g (5 mmol) **14a** nach AAV 7.

Ausbeute	0,6 g (51 %) sandfarbenes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	157-159 (Lit. ¹⁴⁵ 158-160)		
IR ν [cm ⁻¹]	3464, 3328, 3222, 2214, 1651		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, CDCl ₃)	6,88 (d, 1H, ³ J = 9,2 Hz), 7,04 (2H, s, NH ₂), 7,61 (m, 5H), 7,77 (m, 2H)		
Massenspektrum	222 (33, M ⁺), 145 (100, M ⁺ -Ph), 117 (23, M ⁺ -Bz), 105 (36, Bz)		
C ₁₄ H ₁₀ N ₂ O	222,1		
Berechnet [%]	C 75,66	H 4,54	N 12,60
Gefunden [%]	C 75,37	H 4,48	N 12,60

2-Amino-5-(4-methoxybenzoyl)benzonitril (8b)

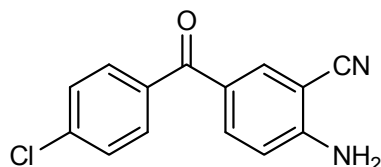
Synthetisiert aus 1,8 g (5 mmol) **14b** nach AAV 7.

Ausbeute	0,5 g (43 %) bräunliches Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	200		
IR ν [cm ⁻¹]	3400, 3367, 3225, 2222, 1657		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	3,85 (s, 3H), 6,87 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 9,4 Hz), 6,96 (s, 2H, NH ₂), 7,70 (m, 4H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	55,84 (-OCH ₃), 92,89 (C-CN), 114,15 (s, 2C), 115,16 (CN), 117,65, 125,20, 130,28, 131,94 (s, 2C), 135,71, 136,50, 154,87, 162,73, 191,60 (C=O)		
Massenspektrum	252 (70, M ⁺), 221 (18, M ⁺ -OCH ₃), 145 (46, C ₈ H ₅ N ₂ O), 135 (100, M ⁺ -Bn(CN)(NH ₂)), 117 (13, Bn(CN)(NH ₂))		
C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂	252,3		
Berechnet [%]	C 71,41	H 4,79	N 11,11
Gefunden [%]	C 71,24	H 4,70	N 10,91

2-Amino-5-(3,4-dimethoxybenzoyl)benzonitril (8c)

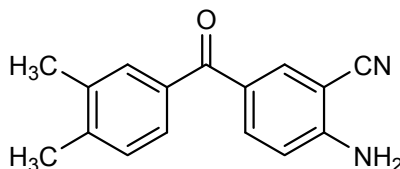
Synthetisiert aus 1,9 g (5 mmol) **14c** nach AAV 7.

Ausbeute	0,5 g (34 %) braunes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	208		
IR v [cm ⁻¹]	3456, 3362, 3232, 2218, 1639		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, CDCl ₃)	3,94 (s, 1H), 3,97 (s, 1H), 4,90 (s, 2H, NH ₂), 6,81 (d, 1H, ³ J = 7,9 Hz), 6,91 (d, 1H, ³ J = 8,4 Hz), 7,30 (d, 1H, ³ J = 8,3 Hz), 7,39 (s, 1H), 7,87 (d, 1H, ³ J = 8,0 Hz), 7,90 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	55,84, 92,89 (C-CN), 114,15 (s, 2C), 115,16 (CN), 117,65, 125,20, 130,28, 131,94 (s, 2C), 135,71, 136,50, 154,87, 162,73, 191,60 (C=O)		
Massenspektrum	282 (100, M ⁺), 251 (31, M ⁺ -OCH ₃), 165 (63, Bz(OCH ₃) ₂), 145 (51, C ₈ H ₅ N ₂ O), 117 (13, Bn(CN)(NH ₂))		
C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O ₃	282,3		
Berechnet [%]	C 68,07	H 5,00	N 9,92
Gefunden [%]	C 68,02	H 4,73	N 9,84

2-Amino-5-(4-chlorbenzoyl)benzonitril (8d)


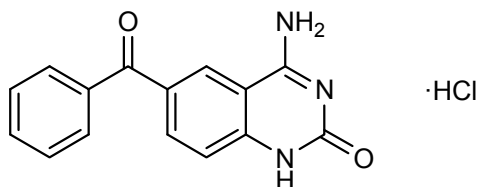
Synthetisiert aus 1,8 g (5 mmol) **14d** nach AAV 7.

Ausbeute	0,5 g (41 %) braunes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	223-225		
IR ν [cm ⁻¹]	3400, 3338, 3227, 2224, 1658		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	6,87 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,4 Hz), 7,07 (s, 2H, NH ₂), 7,60 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,73-7,78 (m, 2H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	55,87 (-OCH ₃), 56,06 (-OCH ₃), 92,91 (C-CN), 111,02, 112,23, 115,12 (CN), 117,65, 124,18, 125,26, 130,23, 135,77, 136,50, 148,93, 152,60, 154,84, 191,67 (C=O)		
Massenspektrum	256/258 (56,7, M ⁺), 221 (14, M ⁺ -Cl), 145 (100, C ₈ H ₅ N ₂ O), 139/141 (29, BzCl), 117 (22, Bn(CN)(NH ₂)), 111 / 113 (24, BnCl)		
C ₁₄ H ₉ ClN ₂ O	256,7		
Berechnet [%]	C 65,51	H 3,53	N 10,92
Gefunden [%]	C 65,29	H 3,67	N 11,05

2-Amino-5-(3,4-dimethylbenzoyl)benzonitril (8e)

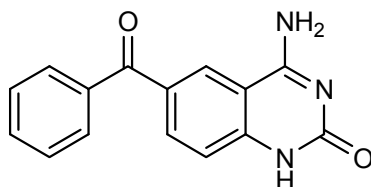
Synthetisiert aus 1,8 g (5 mmol) **14e** nach AAV 7.

Ausbeute	0,6 g (45 %) gelbbraunes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	171		
IR v [cm ⁻¹]	3400, 3338, 3227, 2224, 1658		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	2,29 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 6,85 (d, 1H, ³ J = 6,8 Hz), 6,99 (s, 2H, NH ₂), 7,29 (d, 1H, ³ J = 7,8 Hz), 7,39 (d, 1H, ³ J = 7,8 Hz), 7,45 (s, 1H), 7,72 (d, 1H, ³ J = 6,9 Hz), 7,75 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	19,71 (CH ₃), 19,88 (CH ₃), 92,93 (C-CN), 115,16 (CN), 117,61, 124,99, 127,25, 129,77, 130,39, 135,70, 141,34, 155,01, 192,68 (C=O)		
Massenspektrum	250 (76, M ⁺), 235 (49, M ⁺ -CH ₃), 145 (100, C ₈ H ₅ N ₂ O), 133 (93, Bz(CH ₃) ₂), 117 117 (11, Bn(CN)(NH ₂))		
C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O	250,3		
Berechnet [%]	C 76,78	H 5,64	N 11,19
Gefunden [%]	C 77,01	H 5,51	N 10,91

4-Amino-6-benzoyl-2(1*H*)-chinazolinon - Hydrochlorid (15a)


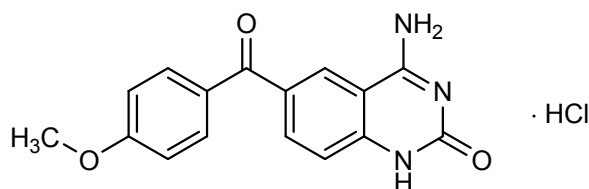
Synthetisiert aus 0,45 g (2 mmol) **8a** nach AAV 1.

Ausbeute	140 mg (23 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3071, 1736, 1715, 1672, 1629		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,41 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,60 (t, 2H, ³ <i>J</i> = 7,6 Hz), 7,72 (t, 1H, ³ <i>J</i> = 7,4 Hz), 7,76 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 7,2 Hz), 8,09 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 8,74 (s, 1H), 9,30 (s, 1H, NH), 10,04 (s, 1H, NH), 12,09 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	107,24, 116,11, 128,09, 128,63 (s, 2C), 129,66 (s, 2C), 131,31, 132,85, 136,55, 137,00, 144,51, 149,26 (C=O cycl.), 160,63 (C=NH), 193,77 (Diaryl-C=O)		
Massenspektrum	265 (9, M ⁺), 222 (35, M ⁺ -CONH), 145 (100, C ₈ H ₅ N ₂ O ₉), 105 (51, Bz)		
C ₁₅ H ₁₁ N ₂ O ₃ · HCl	301,7		
Berechnet [%]	C 59,71	H 4,01	N 13,93
Gefunden [%]	C 59,51	H 4,25	N 13,73

4-Amino-6-benzoyl-2(1H)-chinazolinon 1a

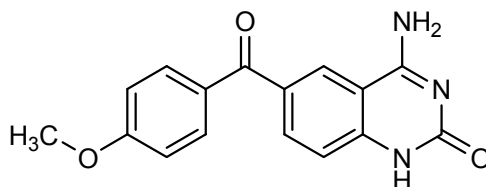
Synthetisiert aus **15a**. Zur Freisetzung der Base aus dem vorliegenden Hydrochlorid wird für 30 Minuten in 10% Natriumhydrogencarbonat-Lösung gerührt.

Ausbeute	100 %		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3424, 1698 (s), 1651, 1621, 1596		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,26 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,57 (t, 2H, ³ <i>J</i> = 7,6 Hz), 7,68 (t, 1H, ³ <i>J</i> = 7,4 Hz), 7,74 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 7,8 Hz), 7,92 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,96 (s, 1H, NH), 8,29 (s, 1H, NH), 8,52 (s, 1H), 11,11 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	108,21, 115,44, 127,78, 128,98 (s, 2C), 130,04 (s, 2C), 130,39, 132,94, 135,37, 137,54, 145,99, 155,81 (C=O cycl.), 162,69 (C=NH), 194,69 (Diaryl-C=O)		
Massenspektrum	265 (9, M ⁺), 222 (35, M ⁺ -CONH), 145 (100, C ₈ H ₅ N ₂ O), 105 (51, Bz)		
C ₁₅ H ₁₁ N ₂ O ₃	265,3		
Berechnet [%]	C 67,92	H 4,18	N 15,84
Gefunden [%]	C 67,60	H 4,12	N 15,59

4-Amino-6-(4-methoxybenzoyl)-2(1*H*)-chinazolinon - Hydrochlorid (15b)


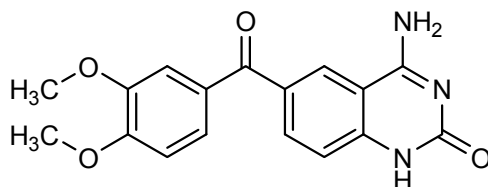
Synthetisiert aus 0,50 g (2 mmol) **8b** nach AAV 1.

Ausbeute	210 mg (31 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	295-297		
IR ν [cm ⁻¹]	3072, 2838, 1739, 1716, 1689, 1624		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	3,88 (s, 3H), 7,12 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,32 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,76 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,02 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 8,60 (s 1H, NH), 8,61 (s, 1H), 9,38 (s, 1H, NH), 11,70 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	56,00 (-OCH ₃), 107,74, 114, 38 (s, 2C), 116,14, 127,90, 129,61, 132,08, 132,66 (s, 2C), 136,63, 144,92, 151,84 (C=NH), 161,71(C=O cycl.), 163,44, 193,04 (Diaryl-C=O)		
Massenspektrum	295 (7, M ⁺), 252 (52, M ⁺ -CONH), 145 (39, C ₈ H ₅ N ₂ O), 135 (100, BzOCH ₃)		
C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃ · HCl	331,8		
Berechnet [%]	C 57,92	H 4,25	N 12,67
Gefunden [%]	C 58,17	H 4,49	N 12,51

4-Amino-6-(4-methoxybenzoyl)-2(1H)-chinazolinon (1b)

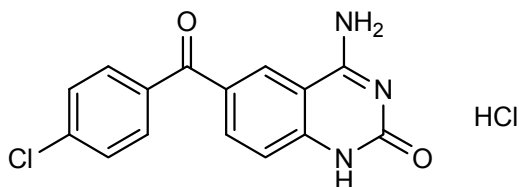
Synthetisiert aus **15b**. Zur Freisetzung der Base aus dem vorliegenden Hydrochlorid wird für 30 Minuten in 10% Natriumhydrogencarbonat-Lösung gerührt.

Ausbeute	100 %		
Schmelzpunkt [°C]	303-306		
IR ν [cm ⁻¹]	3400, 3083, 2859, 1684, 1652, 1620, 1597		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	3,87 (s, 3H), 7,10 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,23 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,75 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,85 (s, 1H, NH), 7,88 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 8,14 (s 1H, NH), 8,45 (s, 1H), 11,00 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	55,92 (-OCH ₃), 108,12, 114,25 (s, 2C), 115,20, 127,28, 129,99, 132,56, 134,91 (s, 2C), 145,71, 156,34 (C=NH), 163,21(C=O cycl.), 164,13, 193,40 (Diaryl-C=O)		
Massenspektrum	295 (7, M ⁺), 252 (52, M ⁺ -CONH), 145 (39, C ₈ H ₅ N ₂ O), 135 (100, BzOCH ₃)		
C ₁₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	295,3		
Berechnet [%]	C 65,08	H 4,44	N 14,23
Gefunden [%]	C 64,82	H 4,73	N 14,35

4-Amino-6-(3,4-dimethoxybenzoyl)-2(1*H*)-chinazolinon (1c)


Synthetisiert aus 0,56 g (2 mmol) **8c** nach AAV 1. Zur Freisetzung der Base aus dem vorliegenden Hydrochlorid wird für 30 Minuten in 10% Natriumhydrogencarbonat-Lösung gerührt

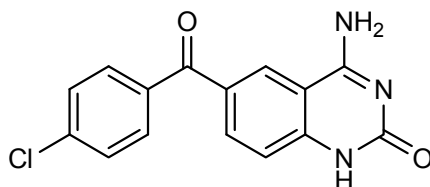
Ausbeute	160 mg (25 %) gräuliches Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	310-313		
IR ν [cm ⁻¹]	3425, 3190, 1623, 1595		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	3,82 (s, 3H), 3,88 (s, 3H), 7,12 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,3 Hz), 7,30 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,32 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,2 Hz), 7,36 (s, 1H), 8,04 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 8,19 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	55,92 (-OCH ₃), 56,15 (-OCH ₃), 111,09, 112,25, 114,19, 116,08, 124,87, 129,61, 129,69, 131,73, 136,11, 144,13, 149,07, 150,58, 153,17 (C=O cycl.), 162,80 (C=NH), 192,99 (Diaryl-C=O)		
Massenspektrum	325 (62, M ⁺), 282 (25, M ⁺ -CONH), 165 (100, Bz(OCH ₃) ₂), 145 (22, C ₈ H ₅ N ₂ O)		
C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O ₄	325,3		
Berechnet [%]	C 60,11	H 3,36	N 14,02
Gefunden [%]	C 59,86	H 3,56	N 13,73

4-Amino 6-(4-chlorbenzoyl)-2(1*H*)-chinazolinon - Hydrochlorid (15d)

Synthetisiert aus 0,50 g (2 mmol) **8d** nach AAV 1.

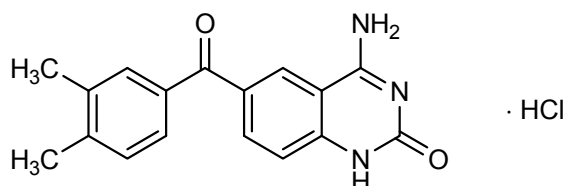
Ausbeute	220 mg (33 %) graues Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR v [cm ⁻¹]	3080, 1712, 1674, 1631, 1583		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,42 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,67 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,78 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,17 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,76 (s, 1H), 9,39 (s, 1H, NH), 10,45 (s, 1H, NH), 12,33 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	106,95, 116,67, 128,60, 128,77 (s, 2C), 131,42, 131,55 (s, 2C), 135,14, 137,69, 137,80, 144,33, 146,80 (C=O cycl.), 159,49 (C=NH), 192,56 (Diaryl-C=O)		
Massenspektrum	299/301 (17, M ⁺), 256/258 (14, M ⁺ -CONH), 145 (34, C ₈ H ₅ N ₂ O), 139/141 (30, BzCl)		
C ₁₅ H ₁₀ ClN ₃ O ₂ · HCl	336,2		
Berechnet [%]	C 53,59	H 3,30	N 12,50
Gefunden [%]	C 53,75	H 3,40	N 12,25

4-Amino-6-(4-chlorbenzoyl)-2(1*H*)-chinazolinon (1d)



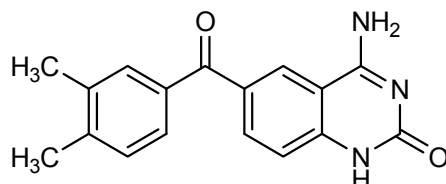
Synthetisiert aus **15d**. Zur Freisetzung der Base aus dem vorliegenden Hydrochlorid wird für 30 Minuten in 10% Natriumhydrogencarbonat-Lösung gerührt.

Ausbeute	100 %		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3405, 3135, 1698, 1646, 1622, 1590		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,24 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,64 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,75 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,4 Hz), 7,89 (s, 1H, NH), 7,94 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,17 (s, 1H, NH), 8,47 (s, 1H), 11,07 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	107,57, 115,25, 127,63, 128,62 (s, 2C), 129,66, 131,43 (s, 2C), 134,99, 135,80, 137,30, 144,81, 145,58, 154,66 (C=O cycl.), 162,98 (C=NH), 193,09 (Diaryl-C=O)		
Massenspektrum	299/301 (17, M ⁺), 256/258 (14, M ⁺ -CONH), 145 (34, C ₈ H ₅ N ₂ O), 139/141 (30, BzCl)		
C ₁₅ H ₁₀ ClN ₃ O ₂	299,7		
Berechnet [%]	C 60,11	H 3,36	N 14,02
Gefunden [%]	C 59,86	H 3,56	N 13,73

4-Amino-6-(3,4-dimethylbenzoyl)-2(1*H*)-chinazolinon - Hydrochlorid (15e)

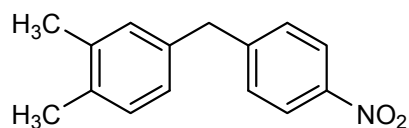
Synthetisiert aus 0,50 g (2 mmol) **8e** nach AAV 1.

Ausbeute	160 mg (24 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	340		
IR ν [cm ⁻¹]	3084, 2976, 2824, 1738, 1708, 1673, 16,50, 1628		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	2,31 (s, 3H), 2,34 (s, 1H), 7,32 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,34 (s, 1H, ³ <i>J</i> = 7,9 Hz), 8,01 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), ~ 8,60 (s, 1H, NH), 8,62 (s, 1H), 9,36 (s, 1H, NH), 11,71 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	19,25 (CH ₃), 19,49 (CH ₃), 107,37, 115,57, 127,54, 127,61, 129,53, 130,55, 131,26, 134,46, 136,15, 136,71, 141,98, 144,66, 151,49 (C=O), 161,50 (C=NH), 193,75 (Diaryl-C=O)		
Massenspektrum	293 (100, M ⁺), 250 (23, M ⁺ -CONH), 145 (20, C ₈ H ₅ N ₂ O), 133 (100, Bz(CH ₃) ₂)		
C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O ₂ · HCl	329,8		
Berechnet [%]	C 61,91	H 4,89	N 12,74
Gefunden [%]	C 61,97	H 5,05	N 12,69

4-Amino-6-(3,4-dimethylbenzoyl)-2(1*H*)-chinazolinon (1e)


Synthetisiert aus **15e**. Zur Freisetzung der Base aus dem vorliegenden Hydrochlorid wird für 30 Minuten in 10% Natriumhydrogencarbonat-Lösung gerührt.

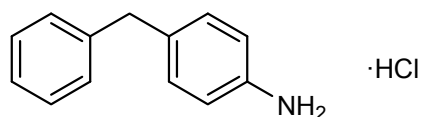
Ausbeute	100 %		
Schmelzpunkt [°C]	337-341		
IR ν [cm ⁻¹]	3383, 3183, 2975, 1677, 1639, 1623, 1589		
¹ H-NMR δ [ppm] (200 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	2,30 (s, 3H), 2,33 (s, 1H), 7,24 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,33 (s, 1H, ³ <i>J</i> = 7,8 Hz), 7,46 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 7,9 Hz), 7,54 (s, 1H), 7,90 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,96 (s, 1H, NH), 8,34 (s, 1H, NH), 8,50 (s, 1H), 11,13 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	19,25 (CH ₃), 19,47 (CH ₃), 107,67, 114,84, 127,10, 127,49, 129,47, 130,38, 130,50, 134,78, 134,83, 136,61, 141,69, 145,28, 155,28 (C=O), 163,34 (C=NH), 194,06 (Diaryl-C=O)		
Massenspektrum	293 (100, M ⁺), 250 (23, M ⁺ -CONH), 145 (20, C ₈ H ₅ N ₂ O), 133 (100, Bz(CH ₃) ₂)		
C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O ₂	293,3		
Berechnet [%]	C 69,61	H 5,85	N 14,33
Gefunden [%]	C 69,33	H 5,49	N 14,01

1,2-Dimethyl-4-(4-nitrobenzyl)benzol (16)

Synthetisiert aus 1,3 g (5 mmol) **12** nach AAV 8.

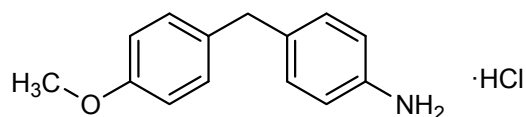
Ausbeute	0,76 g (63 %) braune Nadeln		
Schmelzpunkt [°C]	56-59		
IR ν [cm ⁻¹]	1597, 1510, 1346		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	4,00 (s, 2H), 6,95-7,08 (m, 3H), 7,48 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,15 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz)		
Massenspektrum	241 (35, M ⁺), 226 (27, M ⁺ -CH ₃), 195 (5, M ⁺ -NO ₂), 119 (7, (CH ₃) ₂ Bn ⁺), 105 (10, (CH ₃) ₂ Bz ⁺)		
C ₁₄ H ₁₆ ClNO	241,3		
Berechnet [%]	C 74,67	H 6,27	N 5,81
Gefunden [%]	C 74,83	H 6,49	N 5,59

4-Benzylanilin-Hydrochlorid (17a)



Synthetisiert aus 2,0 g (10 mmol) **XLIVa** nach AAV 8

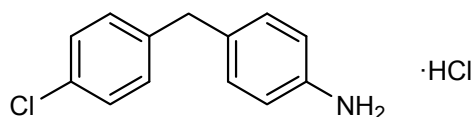
Ausbeute	1,3 g (57 %) gelbliche Nadeln		
Schmelzpunkt [°C]	219-220 (Lit. ¹⁴⁶ 219)		
IR ν [cm ⁻¹]	2847, 2593, 1951, 1620, 1577, 1509		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	4,01 (s, 2H, CH ₂), 7,17-7,20 (m, 3H), 7,28 (t, 2H, ³ <i>J</i> = 7,5 Hz), 7,32 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,37 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	42,07 (CH ₂), 123,99 (s, 2C), 127,36, 129,61 (s, 2C), 129,85 (s, 2C), 129,99, 131,52 (s, 2C), 141,79, 144,13		
C ₁₃ H ₁₃ N · HCl	219,7 (183,2 + 36,5)		
Berechnet [%]	C 71,07	H 6,42	N 6,38
Gefunden [%]	C 70,73	H 6,59	N 6,11

4-(4-Methoxybenzyl)anilin - Hydrochlorid (17b)

Synthetisiert aus 2,3 g (10 mmol) **XLIVb** nach AAV 8

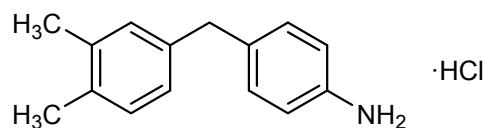
Ausbeute	1,6 g (64 %) gelbliches Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	220		
IR ν [cm ⁻¹]	2924, 2802, 2611, 2579, 1610, 1581, 1511		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	3,74 (s, 3H, OCH ₃), 3,98 (s, 2H, CH ₂), 6,88 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,11 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,31 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,35 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	41,21 (CH ₂), 55,89 (OCH ₂), 115,36 (s, 2C), 124,51 (s, 2C), 130,53 (s, 2C), 131,25 (s, 2C), 131,60, 133,15, 145,98, 159,71		
Massenspektrum	213 (22, M ⁺), 182 (10, M ⁺ -OCH ₃), 121 (5, BnOCH ₃), 106 (30, BnNH ₂)		
C ₁₄ H ₁₅ NO · HCl	249,7 (213,2 + 36,5)		
Berechnet [%]	C 67,33	H 6,46	N 5,61
Gefunden [%]	C 67,15	H 6,58	N 5,73

4-(4-Chlorbenzyl)anilin - Hydrochlorid (17c)



Synthetisiert aus 2,3 g (10 mmol **XLIVc** nach AAV 8

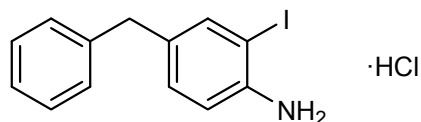
Ausbeute	1,8 g (72 %) gelbliche Kristalle		
Schmelzpunkt [°C]	213		
IR ν [cm ⁻¹]	2854, 2600, 1578, 1510		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	4,01 (s, 2H, CH ₂), 7,20 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,8 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,4 Hz), 7,33 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,37 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	42,07 (CH ₂), 123,99 (s, 2C), 127,36, 129,61 (s, 2C), 129,85 (s, 2C), 129,99, 131,52 (s, 2C), 141,79, 144,13		
Massenspektrum	217/219 (33, M ⁺), 182 (22, M ⁺ -Cl), 125/127 (5, BnCl), 106 (82, BnNH ₂)		
C ₁₃ H ₁₂ ClN · HCl	254,2 (217,7+ 36,5)		
Berechnet [%]	C 61,43	H 5,16	N 5,51
Gefunden [%]	C 61, 66	H 5,32	N 5,59

4-(3,4-Dimethylbenzyl)anilin - Hydrochlorid (17d)

Synthetisiert aus 2,2 g (10 mmol) **13** nach AAV 8

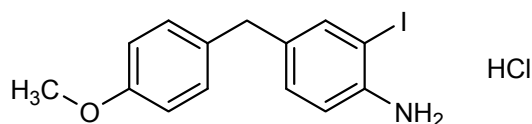
Ausbeute	1,5 g (62 %) gelbes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	216		
IR ν [cm ⁻¹]	2920, 2582, 1612, 1571, 1499		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	2,22 (s, 6H), 3,94 (s, 2H, CH ₂), 6,92 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 7,7 Hz), 6,96 (s, 1H), 7,05 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 7,7 Hz), 7,33 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,36 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	19,83 (CH ₃), 20,27 (CH ₃), 42,15 (CH ₂), 124,41 (s, 2C), 127,76, 130,34, 131,21, 131,54, 131,9 (s, 2C), 135,96, 138,19, 139,63, 145,00		
Massenspektrum	211 (100, M ⁺), 196 (75, M ⁺ -CH ₃), 181 (11), 106 (49, BnNH ₂)		
C ₁₅ H ₁₇ N · HCl	247,8 (211,3 + 36,5)		
Berechnet [%]	C 72,71	H 7,32	N 5,65
Gefunden [%]	C 72,52	H 7,21	N 5,41

4-Benzyl-2-iodanilin - Hydrochlorid (18a)



Synthetisiert aus 1,1 g (5 mmol) **17a** nach AAV 6. Der ölige Rückstand wurde über Nacht mit der gleichen Menge verdünnter Salzsäure gerührt. Die Kristalle wurden abgetrennt und mit Ether gewaschen.

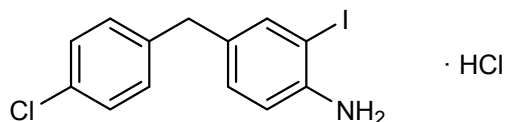
Ausbeute	0,75 g (43 %) bräunliches Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	153-154		
IR v [cm ⁻¹]	2844, 2556, 1594, 1493		
¹ H-NMR δ [ppm]			
(500 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	3,96 (s, 2H, CH ₂), 7,20 (m, 3H), 7,29 (m, 4H), 7,78 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm]			
(125 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	41,41, 90,91, 123,86, 127,54, 129,72 (s, 2C), 129,89 (s, 2C), 131,35, 134,56, 141,39, 141,58, 144,61		
Massenspektrum	309 (24, M ⁺), 232 (7, M ⁺ -Bn), 182 (25, M ⁺ -I)		
C ₁₃ H ₁₂ IN · HCl	345,6 (309,1 + 36,5)		
Berechnet [%]	C 45,18	H 3,79	N 4,05
Gefunden [%]	C 45,01	H 3,52	N 4,19

2-Iod-4-(4-methoxybenzyl)anilin - Hydrochlorid (18b)

Synthetisiert aus 1,25 g (5 mmol) **17b** nach AAV 6. Der ölige Rückstand wurde über Nacht mit der gleichen Menge verdünnter Salzsäure gerührt. Die Kristalle wurden abgetrennt und mit Ether gewaschen.

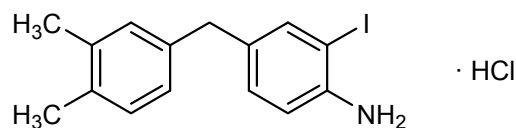
Ausbeute	0,7 g (37 %) bräunliches Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	178		
IR ν [cm ⁻¹]	2909, 2553, 1595, 1545, 1513, 1493		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	3,76 (s, 3H, OCH ₃), 3,91 (s, 2H, CH ₂), 6,85 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,11 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,32 (dd, 1H, ³ <i>J</i> = 8,2 Hz, ² <i>J</i> = 1,7 Hz), 7,36 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,2 Hz), 7,81 (s, 1H, ² <i>J</i> = 1,7 Hz)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	40,60 (CH ₂), 55,69 (OCH ₃), 91,61, 115,15 (s, 2C), 124,71, 130,93 (s, 2C), 131,33, 141,75, 146,36, 159,89		
Massenspektrum	339 (13, M ⁺), 232 (7, BnINH ₂), 212 (22, M ⁺ -I), 121 (18, BnOCH ₃), 106 (30, BnNH ₂)		
C ₁₄ H ₁₄ INO · HCl	375,6 (339,1 + 36,5)		
Berechnet [%]	C 44,76	H 4,02	N 3,73
Gefunden [%]	C 44,99	H 4,23	N 3,55

4-(4-Chlorbenzyl)-2-iodanilin - Hydrochlorid (18c)



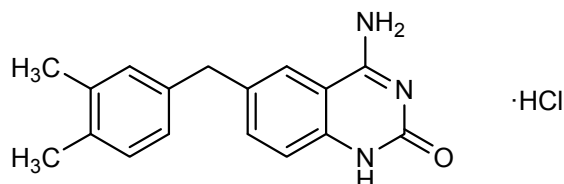
Synthetisiert aus 1,25 g (5 mmol) **17c** nach AAV 6. Der ölige Rückstand wurde über Nacht mit der gleichen Menge verdünnter Salzsäure gerührt. Die Kristalle wurden abgetrennt und mit Ether gewaschen.

Ausbeute	0,8 g (43 %) bräunliches Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	180-182		
IR ν [cm ⁻¹]	2841, 2557, 1594, 1544, 1512, 1490		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	3,96 (s, 2H, CH ₂), 7,19 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,29 (d 2H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,33 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,2 Hz, ² <i>J</i> = 1,8 Hz), 7,37 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,2 Hz), 7,84 (s, 1H, ² <i>J</i> = 1,6 Hz)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	40,65 (CH ₂), 91,57, 124,60, 129,79 (s, 2C), 131,43, 131,53 (s, 2C), 133,45, 133,78, 140,21, 144,92		
C ₁₃ H ₁₁ ClN · HCl	380,1 (343,6 + 36,5)		
Berechnet [%]	C 41,08	H 3,18	N 3,69
Gefunden [%]	C 41,21	H 3,39	N 3,51

4-(3,4-Dimethylbenzyl)-2-iodanilin - Hydrochlorid (18d)

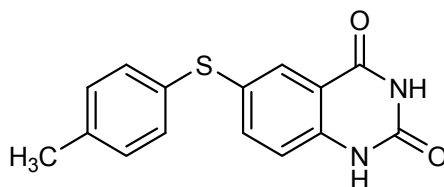
Synthetisiert aus **17d** nach AAV 6. Der ölige Rückstand wurde über Nacht mit der gleichen Menge verdünnter Salzsäure gerührt. Die Kristalle wurden abgetrennt und mit Ether gewaschen.

Ausbeute	0,64 g (34 %) bräunliches Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	166-167		
IR ν [cm ⁻¹]	2920, 2562, 1595, 1541, 1507		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	2,21 (s, 6H), 3,87 (s, 2H, CH ₂), 6,89 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 7,6 Hz), 6,95 (s, 1H), 7,04 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 7,6 Hz), 7,30 (m, 2H), 7,75 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, MeOH- <i>d</i> ₄)	19,38 (CH ₃), 19,81 (CH ₃), 41,03 (CH ₂), 90,88, 123,84, 127,30, 130,83, 131,08, 131,29, 134,33, 135,68, 137,83, 138,67, 141,51, 145,07		
Massenspektrum	337 (10, M ⁺), 232 (2, BnINH ₂), 210 (5, M ⁺ -I)		
C ₁₄ H ₁₆ IN · HCl	373,7 (337,2 + 36,5)		
Berechnet [%]	C 48,22	H 4,59	N 3,75
Gefunden [%]	C 47,95	H 4,41	N 3,93

4-Amino-6-(3,4-dimethylbenzyl)-2(1*H*)-chinazolinon - Hydrochlorid (15)


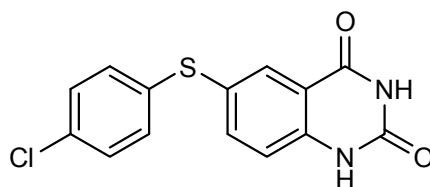
Synthetisiert aus der eingegangenen organischen Phase der Nitrilierung (AAV 7) von **18d** nach AAV 1.

Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3367, 3131, 2929, 1750, 1647, 1620		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	2,31 (s, 3H, CH ₃), 2,34 (s, 3H, CH ₃), 3,43 (s), 3,45 (s), 7,35 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 7,8 Hz), 7,38 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 7,47 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 7,9 Hz), 7,55 (s, 1H), 8,09 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 8,72 (s, 1H, NH), 10,14 (s, 1H, NH), 12,12 (s, 1H, NH)		
C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O · HCl	315,8 (279,3 + 36,5)		
Berechnet [%]	C 64,66	H 5,75	N 13,31
Gefunden [%]	C 64,38	H 5,97	N 13,07

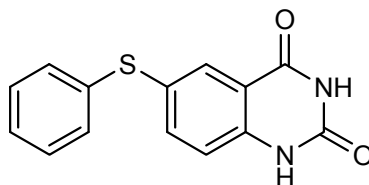
6-(4-Tolylthio)-2,4(1*H*,3*H*)-chinazolindion (5a)

Synthetisiert aus 100 mg (0,35 mmol) **3a** nach AAV 9.

Ausbeute	50 mg (50 %)		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3247, 3057, 1717, 1701, 1687, 1674, 1614		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	2,30 (s, 3H, CH ₃), 7,17 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,21 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,0 Hz), 7,25 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,0 Hz), 7,61 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,4 Hz), 7,71 (s, 1H), 11,25 (s, 1H, NH), 11,38 (s, 1H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	21,00 (CH ₃), 115,62, 117,15, 129,08, 129,11, 130,66 (s, 2C), 131,41 (s, 2C), 131,51, 137,71, 137,77, 140,52, 150,44 (C=O), 162,54 (C=O)		
Massenspektrum	284 (100, M ⁺), 241 (9, M ⁺ -CONH), 213 (4, M ⁺ -CONHCO), 186 (11, SPh ₂)		
C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₂ S	284,1		
Berechnet [%]	C 63,36	H 4,25	N 9,85
Gefunden [%]	C 63,55	H 4,32	N 9,67

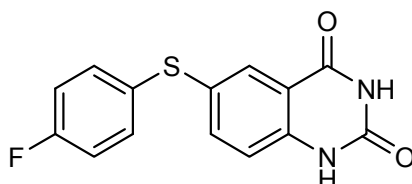
6-[(4-Chlorphenyl)thio]-2,4(1*H*,3*H*)-chinazolindion (5b)

 Synthetisiert aus 100 mg (0,33 mmol) **3d** nach AAV 9

Ausbeute	65 mg (65 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR v [cm ⁻¹]	3424, 3048, 1735, 1688, 1616		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,21 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,27 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,4 Hz), 7,42 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,4 Hz), 7,69 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,84 (s, 1H), 11,38 (s, 2H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	115,81, 117,50, 126,70, 129,86, 131,13, 132,10, 135,43, 139,36, 141,29, 150,46 (C=O), 162,48 (C=O)		
Massenspektrum	304/306 (100, M ⁺), 261/263 (14, M ⁺ -CONH), 206/208 (20, M ⁺ -CONHCONHC), 150 (6, SPhCONH)		
C ₁₄ H ₉ ClN ₂ O ₂ S	304,0		
Berechnet [%]	C 55,18	H 2,98	N 9,19
Gefunden [%]	C 55,00	H 3,10	N 9,08

6-(Phenylthio)-2,4(1*H*,3*H*)-chinazolindion (5c)

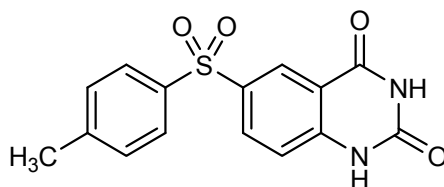
Synthetisiert aus 100 mg (0,37 mmol) **3b** nach AAV 9.

Ausbeute	45 mg (45 %)		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3461, 3053, 1727, 1698, 1617, 1613		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,14 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,25 (m, 3H), 7,35 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 7,5 Hz), 7,59 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,79 (s, 1H)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	115,33, 116,88, 126,88, 127,15, 129,33, 129,49, 130,38, 130,99, 138,49, 139,67, 150,75 (C=O), 162,09 (C=O)		
Massenspektrum	270 (100, M ⁺), 227 (14, M ⁺ -CONH), 199 (7, M ⁺ -CONHCO), 172 (31, M ⁺ -CONHCONHC)		
C ₁₄ H ₁₀ N ₂ O ₂ S	270,0		
Berechnet [%]	C 62,21	H 3,73	N 10,36
Gefunden [%]	C 58,33	H 3,39	N 9,55
HPLC	8,8 min	97,0 %	

6-[(4-Fluorphenyl)thio]-2,4(1*H*,3*H*)-chinazolindion (5d)


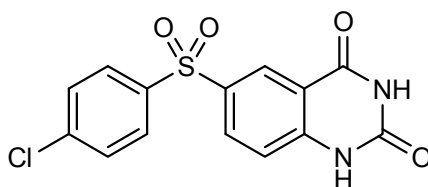
Synthetisiert aus 100 mg (0,35 mmol) **3f** nach AAV 9.

Ausbeute	40 mg (40 %)		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR v [cm ⁻¹]	3189, 3055, 1731, 1698, 1673, 1613		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,18 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,24 (m, 2H), 7,39 (m, 2H), 7,64 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,5 Hz), 7,75 (s, 1H), 11,35(s, 2H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	115,70, 117,02-117,20 (d, 2C, ² <i>J</i> _{C,F} = 22 Hz), 117,34, 128,41, 129,65, 130,93 (d, 1C, ⁴ <i>J</i> _{C,F} = 3 Hz), 133,39-133,46 (d, 2C, ³ <i>J</i> _{C,F} = 8 Hz), 138,18, 140,86, 150,47 (C=O), 161,05-163,01 (d, 1C, ¹ <i>J</i> _{C,F} = 245 Hz), 162,52(C=O)		
Massenspektrum	288 (100, M ⁺), 245 (17, M ⁺ -CONH), 217 (6, M ⁺ -CONHCO), 189 (25, C ₁₁ H ₁₁ NS)		
C ₁₄ H ₉ FN ₂ O ₂ S	288,3		
Berechnet [%]	C 58,32	H 3,15	N 9,72
Gefunden [%]	C 54,47	H 3,01	N 8,75
HPLC	8,7 min	90,0 %	

6-(4-Tolylsulfonyl)-2,4(1*H*,3*H*)-chinazolindion (5e)

Synthetisiert aus 100 mg (0,32 mmol) **4a** nach AAV 9.

Ausbeute	20 mg (20 %)		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3259, 3040, 1720, 1675, 1616		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	2,37 (s, 3H), 7,30 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,43 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,2 Hz), 7,84 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,2 Hz), 8,13 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 8,29 (s, 1H), 11,59 (s, 2H, NH)		
Massenspektrum	316 (84, M ⁺), 230 (14, M ⁺ -CONHCO), 209 (65, OSC ₈ H ₅ N ₂ O ₂), 166 (OSC ₇ H ₄ NO), 139 (TolylSO)		
C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₄ S	316,3		
Berechnet [%]	C 56,95	H 3,82	N 8,86
Gefunden [%]	C 57,21	H 3,66	N 8,99

6-[(4-Chlorphenyl)sulfonyl]-2,4(1*H*,3*H*)-chinazolindion (5f)


Synthetisiert aus 100 mg (0,30 mmol) **4c** nach AAV 9.

Ausbeute	25 mg (25 %) weißes Pulver		
Schmelzpunkt [°C]	> 350		
IR ν [cm ⁻¹]	3480, 3048, 1685, 1660, 1624		
¹ H-NMR δ [ppm] (500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	7,32 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,7 Hz), 7,70 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8,2 Hz), 7,99 (d, 2H, ³ <i>J</i> = 8, Hz), 8,16 (d, 1H, ³ <i>J</i> = 8,6 Hz), 8,33 (s, 1H), 11,62 (s, 2H, NH)		
¹³ C-NMR δ [ppm] (125 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	115,25, 117,49, 127,48, 129,64, 130,38, 133,69, 134,19, 139,23, 140,23, 145,17, 150,41 (C=O), 162,13 (C=O)		
Massenspektrum	336/338 (86, M ⁺), 209 (90, OSC ₈ H ₅ N ₂ O ₂), 166 (51, OSC ₇ H ₄ NO), 161 (26, C ₈ H ₅ N ₂ O ₂), 111/113 (29, ClPh)		
C ₁₄ H ₉ ClN ₂ O ₄ S	336,8		
Berechnet [%]	C 49,93	H 2,69	N 8,32
Gefunden [%]	C 49,99	H 2,91	N 8,11

10 Abkürzungsverzeichnis

AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
AcCN	Acetonitril
ADP	Adenosindiphosphat
AKT	Proteinkinase B
Asn	Asparagin
Asp	Asparaginsäure
ATP	Adenosintriphosphat
ATPase	Adenosintriphosphatase
AUC	area under curve
Bn	Benzyl
BtMG	Betäubungsmittelgesetz
Bz	Benzoyl
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CDCl ₃	Chloroform, deuteriert
CDK4	Cyclin-abhängige Kinase 4
d	Dublett
d.h.	das heißt
DBU	(1,8-diazabicyclo[5.4.0]-undec-7-en)
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
dd	Dublett vom Dublett
DMF	Dimethylformamid
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimethylsulfoxid, deuteriert
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ED	Ethylendiamin
FdUMP	5-Fluor-2'-desoxyuridin-monophosphat
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
Gly	Glycin

HER2	humaner epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor
HIF-1	Hypoxie-induzierbarer Faktor
HOAc	Essigsäure
Hop	Hsp70/Hsp90 Organizing Protein
Hsp	Hitzeschock-Protein
hTERT	humane Telomerase reverse Transkriptase
Hz	Hertz
Ile	Isoleucin
IR	Infrarot
<i>J</i>	Kopplungskonstante
m	Multiplett
M	molar
MD	Moleküldynamik
M-Effekt	mesomerer Effekt
MeOH	Methanol
MET	eine Rezeptortyrosinkinase
MIF	molekulares Interaktionsfeld
MMP2	Matrixmetalloprotease 2
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
NCI	National Cancer Institute
NMP	<i>N</i> -Methyl-2-pyrrolidon
NMR	nuclear magnetic resonance; Kernresonanz
NPC	Natriumpercarbonat
<i>p</i>	para-
Pd / C	Palladium auf Aktivkohle
PDB	Protein Data Bank
Ph	Phenyl
Phe	Phenylalanin
ppm	parts per million
RAF	eine Serin/Threonin-Proteinkinase

RF	Rückfluss
RIP	Ribosom-inaktivierendes Protein
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur
s	singulett
s.	siehe
SD	standard deviation; Standardabweichung
SRB	Sulforhodamin B
t	Triplett
THF	Tetrahydrofolsäure
Thr	Threonin
Trp	Tryptophan
u.a.	und andere
usw.	und so weiter
UV	Ultraviolett
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
WHO	World Health Organisation

11 Literaturverzeichnis

- [1] Statistisches Bundesamt. <https://www-genesis.destatis.de/>.
- [2] World Health Organization. The global burden of disease: 2004 update. http://www.who.int/entity/healthinfo/global_burden_disease/DTH6%202004.xls.
- [3] Hanahan, D.; Weinberg, R. A. The Hallmarks of Cancer. *Cell* **2000**, 100, 57–70.
- [4] Erin D. Pleasance. A comprehensive catalogue of somatic mutations from a human cancer genome. *Nature* **2009**, 463, 191–196.
- [5] Lin, K.; Rockliffe, N.; Johnson, G. G.; Sherrington, P. D.; Pettitt, A. R. Hsp90 inhibition has opposing effects on wild-type and mutant p53 and induces p21 expression and cytotoxicity irrespective of p53/ATM status in chronic lymphocytic leukaemia cells. *Oncogene* **2007/online**, 27, 2445–2455.
- [6] Blagosklonny, M.; Toretsky, J.; Bohen, S.; Neckers, L. Mutant conformation of p53 translated in vitro or in vivo requires functional HSP90. *Cell Biology* **1996**, 93, 8379–8383.
- [7] Robert-Koch-Institut. *Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends.*, 7.th ed., Berlin, 2010.
- [8] National Cancer Institute. <http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Therapy>.
- [9] Ortiz, A. G.; Salcedo, J. M. Heat shock proteins as targets in oncology. *Clinical and Translational Oncology* **2010**, 12, 166–173.
- [10] Ciocca, D. R.; Calderwood, S. K. Heat shock proteins in cancers: diagnostic, prognostic, predictive and treatment implications. *Cell Stress & Chaperones* **2005**, 10, 86–103.
- [11] Grbovic, O. M.; Basso, A. D.; Sawai, A.; Ye, Q.; Friedlander, P.; Solit, D.; Rosen, N. V600E B-Raf requires the Hsp90 chaperone for stability and is degraded in response to Hsp90 inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2006**, 103, 57–62.
- [12] Kamal, A.; Thao, L.; Sensintaffar, J.; Zhang, L.; Boehm, M. F. F. L. C.; Burrows, F. J. A high-affinity conformation of Hsp90 confers tumour selectivity on Hsp90 inhibitors. *Nature* **2003**, 425, 407–410.
- [13] Wegele, H.; Müller, L.; Buchner, J. Hs70 and Hsp90 - a relay team for protein folding. *Reviews of Physiology, Biochemistry & Pharmacology* **2004**, 151, 1–44.
- [14] Chen, B.; Piel, W. H.; Gui, L.; Bruford, I.; Monteiro, A. The HSP90 family of genes in the human genome, insights into their divergence and evolution. *Genomics* **2005**, 86, 627–637.
- [15] Nemoto, T.; Matsusaka, T.; Ota, M.; Tagaki, T.; Collinge, D. B.; Walther-Larsen, H. Dimerization characteristics of the 94-kDa glucose-regulated protein. *The Journal of Biochemistry* **1996**, 249–256.
- [16] Workman, P. Combinatorial attack on multistep oncogenesis by inhibiting the Hsp90 molecular chaperone. *Cancer letters* **2004**, 149–157.
- [17] Chadli, A.; Bouhouche, J.; Sullivan, W.; Stensgard, B.; McNahon, N.; Catelli, M. G.; Toft, D. O. Dimerization and N-terminal domain proximity underlie the function of the molecular chaperone heat shock protein 90. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2000**, 12524–12529.
- [18] Prodromou, C.; Panaretou, B.; Chohan, S.; Siligardi, G.; O'Brien, R.; Ladbury, J. E.; Roe, S. M.; Piper, P. W.; Pearl, L. H. The ATPase cycle of Hsp90 drives a molecular 'clamp' via transient dimerization of the N-terminal domains. *EMBO J* **2000**, 19, 4383–4392.
- [19] Shiau, A. K.; Harris, S. F.; Southworth, D. R.; Agard, D. A. Structural Analysis of E. coli hsp90 Reveals Dramatic Nucleotide-Dependent Conformational Rearrangements. *Cell* **2006/**, 127, 329–340.

- [20] Prodromou, C.; Roe, S. M.; O'Brien, R.; Ladbury, J. E.; Piper, P. W.; Pearl, L. H. Identification and structural characterization of the ATP/ADP-binding site in the Hsp90 molecular chaperone. *Cell* **1997**, 90, 65–75.
- [21] Richter, K.; Moser, S.; Hagn, F.; Friedrich, R.; Hainzl, O.; Heller, M.; Schlee, S.; Kessler, H.; Reinstein, J.; Buchner, J. Intrinsic Inhibition of the Hsp90 ATPase Activity. *Journal of Biological Chemistry* **2006**, 281, 11301–11311.
- [22] Richter, K.; Reinstein, J.; Buchner, J. N-terminal Residues Regulate the Catalytic Efficiency of the Hsp90 ATPase Cycle. *Journal of Biological Chemistry* **2002**, 277, 44905–44910.
- [23] Wandinger, S. K.; Richter, K.; Buchner, J. The Hsp90 Chaperone Machinery. *Journal of Biological Chemistry* **2008**, 283, 18473–18477.
- [24] Stebbins, C. E.; Russo, A. A.; Schneider, C.; Rosen, N.; Hartl, F. U.; Pavletich, N. P. Crystal Structure of an Hsp90-Geldanamycin Complex: Targeting of a Protein Chaperone by an Antitumor Agent. *Cell* **1997**, 89, 239–250.
- [25] Kamal, A.; Boehm, M. F.; Burrows, F. J. Therapeutic and diagnostic implications of Hsp90 activation. *Trends in Molecular Medicine* **2004**, 10, 283–290.
- [26] Sharma, S. V.; Agatsuma, T.; Nakano, H. Targeting of the protein chaperone, HSP90, by the transformation suppressing agent, radicicol. *Oncogene* **1998**, 16, 2639–2645.
- [27] Whitesell, L.; Mimnaugh, E. G.; Costa, B. de; Myers, C. E.; Neckers, L. M. Inhibition of the heat shock protein HSP90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1994**, 91, 8324–8328.
- [28] Roe, S. M.; Prodromou, C.; O'Brien, R.; Ladbury, J. E.; Piper, P. W.; Pearl, L. H. The structural basis for inhibition of the Hsp90 molecular chaperone by the anti-tumour antibiotics geldanamycin and radicicol. *Journal of Medicinal Chemistry* **1999**, 42, 260–266.
- [29] Kurebayashi, J.; Otsuki, T.; Kurosumi, M.; Soga, S.; Akinaga, S.; Sonoo, H. A Radicicol Derivative, KF58333, Inhibits Expression of Hypoxia-inducible Factor-1 α and Vascular Endothelial Growth Factor, Angiogenesis and Growth of Human Breast Cancer Xenografts. *Cancer Science* **2001**, 92, 1342–1351.
- [30] Soga S.; Shiotsu Y.; Akinaga S.; Sharma S. V. Development of Radicicol Analogues. *Current Cancer Drug Targets* **2003**, 3, 359–369.
- [31] Schnur, R. C.; Corman, M. L.; Gallaschun, R. J.; Cooper, B. A.; Dee, M. F.; Doty, J. L.; Muzzi, M. L.; Moyer, J. D.; DiOrio, C. I. Inhibition of the oncogene product p185erbB-2 in vitro and in vivo by geldanamycin and dihydrogeldanamycin derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry* **1995**, 38, 3806–3812.
- [32] Peyrat, J. F.; Messaoudi, S.; Brion, J. D.; Alami, M. Inhibitors of the heat shock protein 90: from cancer clinical trials to neurodegenerative diseases.
<http://AtlasGeneticsOncology.org/Deep/HSP90inCancerTreatmentID20086.html>.
- [33] Demetri, G.; Le Cesne, A.; Mohren, M. von; Chmielowski, B.; Chow, W.; Rodenas, E.; McKee, K.; Grayzel, D.; Kang, Y. . *Final results from a Phase III study of IPI-504 (retaspimycin hydrochloride) versus placebo in patients with gastrointestinal stromal tumors (GIST) following failure of tyrosine kinase inhibitor (TKI) therapies*, American Society for Clinical Oncology, 2010.

- [34] Chiosis, G.; Timaul, M. N.; Lucas, B.; Munster, P. N.; Zheng, F. F.; Sepp-Lorenzino, L.; Rosen, N. A small molecule designed to bind to the adenine nucleotide pocket of Hsp90 causes Her2 degradation and the growth arrest and differentiation of breast cancer cells. *Chemistry & Biology* **2001**, 8, 289–299.
- [35] Kasibhatla, S. R.; Hong, K.; Biamonte, M. A.; Busch, D. J.; Karjian, P. L.; Sensintaffar, J. L.; Kamal, A.; Lough, R. E.; Brekken, J.; Lundgren, K.; Grecko, R.; Timony, G. A.; Ran, Y.; Mansfield, R.; Fritz, L. C.; Ulm, E.; Burrows, F. J.; Boehm, M. F. Rationally Designed High-Affinity 2-Amino-6-halopurine Heat Shock Protein 90 Inhibitors That Exhibit Potent Antitumor Activity. *Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, 50, 2767–2778.
- [36] <http://clinicaltrials.gov>.
- [37] Sekiguchi, H.; Muranaka, K.; Osada, A.; Ichikawa, S.; Matsuda, A. Efficient synthesis of Hsp90 inhibitor dimers as potential antitumor agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2010**, 18, 5732–5737.
- [38] Rowlands, M. G.; Newbatt, Y. M.; Prodromou, C.; Pearl, L. H.; Workman, P.; Aherne, W. High-throughput screening assay for inhibitors of heat-shock protein 90 ATPase activity. *Analytical Biochemistry* **2004**, 327, 176–183.
- [39] Kreusch, A.; Han, S.; Brinker, A.; Zhou, V.; Choi, H.-s.; He, Y.; Lesley, S. A.; Caldwell, J.; Gu, X.-j. Crystal structures of human HSP90[α]-complexed with dihydroxyphenylpyrazoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, 15, 1475–1478.
- [40] Sharp, S. Y.; Prodromou, C.; Boxall, K.; Powers, M. V.; Holmes, J. L.; Box, G.; Matthews, T. P.; Cheung, K.-M. J.; Kalusa, A.; James, K.; Hayes, A.; Hardcastle, A.; Dymock, B.; Brough, P. A.; Barril, X.; Cansfield, J. E.; Wright, L.; Surgenor, A.; Foloppe, N.; Hubbard, R. E.; Aherne, W.; Pearl, L.; Jones, K.; McDonald, E.; Raynaud, F.; Eccles, S.; Drysdale, M.; Workman, P. Inhibition of the heat shock protein 90 molecular chaperone in vitro and in vivo by novel, synthetic, potent resorcinylic pyrazole/isoxazole amide analogues. *Molecular Cancer Therapeutics* **2007**, 6, 1198–1211.
- [41] Ying, W.; Sun, L.; Koya, K.; Chimmanamada, D.; Zhang, S.; Przewloka, T.; Li, H. Triazole Compounds That Modulate Hsp90 Activity. WO/2009/023211, February 19, 2009.
- [42] Huang, K.; Eaves, J.; Veal, J.; Barta, T.; Geng, L.; Hinkley, L.; Hanson, G. Tetrahydroindolone and tetrahydroindazolone derivatives. WO2006091963, August 31, 2006.
- [43] Barril, X.; Brough, P.; Drysdale, M.; Hubbard, R. E.; Massey, A.; Surgenor, A.; Wright, L. Structure-based discovery of a new class of Hsp90 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2005**, 15, 5187–5191.
- [44] Park, H.; Kim, Y.-J.; Hahn, J.-S. A novel class of Hsp90 inhibitors isolated by structure-based virtual screening. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2007**, 17, 6345–6349.
- [45] Huth, J. R.; Park, C.; Petros, A. M.; Kunzer, A. R.; Wendt, M. D.; Wang, X.; Lynch, C. L.; Mack, J. C.; Swift, K. M.; Judge, R. A.; Chen, J.; Richardson, P. L.; Jin, S.; Tahir, S. K.; Matayoshi, E. D.; Dorwin, S. A.; Lador, U. S.; Severin, J. M.; Walter, K. A.; Bartley, D. M.; Fesik, S. W.; Elmore, S. W.; Hajduk, P. J. Discovery and Design of Novel HSP90 Inhibitors Using Multiple Fragment-based Design Strategies. *Chemical Biology & Drug Design* **2007**, 70, 1–12.
- [46] Wright, L.; Barril, X.; Dymock, B.; Sheridan, L.; Surgenor, A.; Beswick, M.; Drysdale, M.; Collier, A.; Massey, A.; Davies, N.; Fink, A.; Fromont, C.; Aherne, W.; Boxall, K.; Sharp, S.; Workman, P.; Hubbard, R. E. Structure-Activity Relationships in Purine-Based Inhibitor Binding to HSP90 Isoforms. *Chemistry & Biology* **2004/6/1**, 11, 775–785.

- [47] Roe, S. M.; Prodromou, C.; O'Brien, R.; Ladbury, J. E.; Piper, P. W.; Pearl, L. H. Structural Basis for Inhibition of the Hsp90 Molecular Chaperone by the Antitumor Antibiotics Radicicol and Geldanamycin. *Journal of Medicinal Chemistry* **1999**, 42, 260–266.
- [48] Marcu, M. G.; Chadli, A.; Bouhouche, I.; Catelli, M.; Neckers, L. M. The Heat Shock Protein 90 Antagonist Novobiocin Interacts with a Previously Unrecognized ATP-binding Domain in the Carboxyl Terminus of the Chaperone. *Journal of Biological Chemistry* **2000**, 275, 37181–37186.
- [49] Söti, C.; Racz, A.; Csermely, P. A Nucleotide-dependent Molecular Switch Controls ATP Binding at the C-terminal Domain of Hsp90. *Journal of Biological Chemistry* **2002**, 277, 7066–7075.
- [50] Burlison, J. A.; Neckers, L.; Smith, A. B.; Maxwell, A.; Blagg, B. S. J. Novobiocin: Redesigning a DNA Gyrase Inhibitor for Selective Inhibition of Hsp90. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128, 15529–15536.
- [51] Radanyi, C.; Le Bras, G.; Messaoudi, S.; Bouclier, C.; Peyrat, J.-F.; Brion, J.-D.; Marsaud, V.; Renoir, J.-M.; Alami, M. Synthesis and biological activity of simplified denoviose-coumarins related to novobiocin as potent inhibitors of heat-shock protein 90 (hsp90). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2008**, 18, 2495–2498.
- [52] Donnelly, A.; Blagg, B. J. S. Novobiocin and Additional Inhibitors of the Hsp90 C-Terminal Nucleotide-binding Pocket. *Current medicinal chemistry* **2008**, 15, 2702–2717.
- [53] Zhang, T.; Hamza, A.; Cao, X.; Wang, B.; Yu, S.; Zhan, C.-G.; Sun, D. A novel Hsp90 inhibitor to disrupt Hsp90/Cdc37 complex against pancreatic cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics* **2008**, 7, 162–170.
- [54] Cortajarena, A. L.; Yi, F.; Regan, L. Designed TPR Modules as Novel Anticancer Agents. *ACS Chemical Biology* **2008**, 3, 161–166.
- [55] Taylor, J. P.; Hardy, J.; Fischbeck, K. H. Toxic Proteins in Neurodegenerative Disease. *Science* **2002**, 296, 1991–1995.
- [56] Abramov, E.; Dolev, I.; Fogel, H.; Ciccotosto, G. D.; Ruff, E.; Slutsky, I. Amyloid-[beta] as a positive endogenous regulator of release probability at hippocampal synapses. *Nat Neurosci* **2009**, 12, 1567–1576.
- [57] Luo, W.; Dou, F.; Rodina, A.; Chip, S.; Kim, J.; Zhao, Q.; Moulick, K.; Aguirre, J.; Wu, N.; Greengard, P.; Chiosis, G. Roles of heat-shock protein 90 in maintaining and facilitating the neurodegenerative phenotype in tauopathies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2007**, 104, 9511–9516.
- [58] Dickey, C. A.; Kamal, A.; Lundgren, K.; Klosak, N.; Bailey, R. M.; Dunmore, J.; Ash, P.; Shoraka, S.; Zlatkovic, J.; Eckman, C. B.; Patterson, C.; Dickson, D. W.; Nahman, N. S.; Hutton, M.; Burrows, F.; Petrucelli, L. The high-affinity HSP90-CHIP complex recognizes and selectively degrades phosphorylated tau client proteins. *J Clin Invest* **2007**, 117, 648–658.
- [59] Luo, W.; Sun, W.; Taldone, T.; Rodina, A.; Chiosis, G. Heat shock protein 90 in neurodegenerative diseases. *Molecular Neurodegeneration* **2010**, 5, 24.
- [60] Sittler, A.; Lurz, R.; Lueder, G.; Priller, J.; Hayer-Hartl, M. K.; Hartl, F. U.; Lehrach, H.; Wanker, E. E. Geldanamycin activates a heat shock response and inhibits huntingtin aggregation in a cell culture model of Huntingtônâ™s disease. *Human Molecular Genetics* **2001**, 10, 1307–1315.
- [61] Adachi, H.; Katsuno, M.; Minamiyama, M.; Waza, M.; Sang, C.; Nakagomi, Y.; Kobayashi, Y.; Tanaka, F.; Doyu, M.; Inukai, A.; Yoshida, M.; Hashizume, Y.; Sobue, G. Widespread nuclear and cytoplasmic accumulation of mutant androgen receptor in SBMA patients. *Brain* **2005**, 128, 659–670.

- [62] Waza, M.; Adachi, H.; Katsuno, M.; Minamiyama, M.; Sang, C.; Tanaka, F.; Inukai, A.; Doyu, M.; Sobue, G. 17-AAG, an Hsp90 inhibitor, ameliorates polyglutamine-mediated motor neuron degeneration. *Nat Med* **2005**, 11, 1088–1095.
- [63] Geller, R.; Vignuzzi, M.; Andino, R.; Frydman, J. Evolutionary constraints on chaperone-mediated folding provide an antiviral approach refractory to development of drug resistance. *Genes & Development* **2007**, 21, 195–205.
- [64] Jones, G.; Willett, P.; Glen, R. C.; Leach, A. R.; Taylor, R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *Journal of Molecular Biology* **1997**, 267, 727–748.
- [65] Gioffreda., *Archiv der Pharmazie*, eingereicht 10/2010
- [66] Yamamoto, M.; Inaba, S.; Yamamoto, H. Synthetic Studies on Quinazoline Derivatives. I. Formation of 2(1H)-Quinazolinones from the Reaction of 2-Trihaloacetamido-phenyl Ketones with Ammonia. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1978**, 26, 1633–1651.
- [67] Narender, A. V.; Kamal, A.; Sattur, P.B. An efficient synthesis of 3,4-dihydro-4-imino-2(1H)-quinazolinones. *Synthetic Communications* **1988**, 18, 525–530.
- [68] Chien, T.-C.; Chen, C.-S.; Yu, F.-H.; Chern, J.-W. Nucleosides XI. Synthesis and Antiviral Evaluation of 5'-Alkylthio-5'-deoxy Quinazolinone Nucleoside Derivatives as S-Adenosyl-L-homocystein Analogs. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **2004**, 52, 1422–1426.
- [69] Lange, N. A.; Sheibley, F. E. Benzoylene Urea. *Organic Syntheses* **1937**, 17, 16.
- [70] Nikpour, F.; Paibast, T. A Green, Facile, and One-pot Synthesis of 2,4-(1H,3H)-Quinazolinones under Microwave Irradiations. *Chemistry Letters* **2005**, 34, 1438–1439.
- [71] Li, F.; Feng, Y.; Meng, Q.; Li, W.; Li, Z.; Wang, Q.; Tao, F. An efficient construction of quinazolin-4(3H)-ones under microwave irradiation. *ARKIVOC* **2007**, 1, 40–50.
- [72] Yoshida, T.; Kambe, N.; Murai, S.; Sonoda, N. A New Synthesis of Cyclic Ureas, Cyclic Urethanes, and a Quinazolinone. Selenium-Assisted Carbonylation of Aromatic Amines with Carbon Monoxide. *Bulletin of the Chemical Society Japan* **1987**, 60, 1793–1799.
- [73] Mizuno, T.; Okamoto, N.; Ito, T.; Miyata, T. Synthesis of 2,4-dihydroxyquinazolines using carbon dioxide in the presence of DBU under mild conditions. *Tetrahedron Letters* **2000**, 41, 1051–1053.
- [74] Holt, G.; Pagdin, B. Preparation of diaryl sulfones. *Journal of the Chemical Society* **1960**, 2508–2511.
- [75] Venier, C. G.; Squires, T. G.; Chen, Y. Y.; Smith, B. Peroxytrifluoroacetic acid oxidation of sulfides to sulfoxides and sulfones. *Journal of Organic Chemistry* **1982**, 47, 3773–3774.
- [76] Ando, T.; Cork, D. G.; Kimura, T. "Sodium percarbonat" (SPC) as a hydrogen peroxide source for organic synthesis. *Chemistry Letters* **1986**, 665–666.
- [77] Olah, G. A.; Nishimura, J.; Yamada, Y. Friedel-Crafts chemistry. IX. Aluminium chloride and antimony pentafluoride catalyzed desulfonylativealkylation of aromatics with isopropyl, tert-butyl, and benzoylsulfonyl halides and with related sulfones. *Journal of Organic Chemistry* **1974**, 39, 2430–2432.
- [78] Mine, N.; Fujiwara, Y.; Taniguchi, H. Trichlorolanthanoid(LnCl₃)-catalyzed Friedel-Crafts alkylation reactions. *Chemistry Letters* **1986**, 357–360.
- [79] Negishi, E.-i.; King, A. O.; Okukado, N. Selective carbon-carbon bond formation via transition metal catalysis. 3. A highly selective synthesis of unsymmetrical biaryls and diarylmethanes by the nickel- or palladium catalyzed reaction of aryl- and benzylzinc derivatives with aryl halides. *Journal of Organic Chemistry* **1977**, 42, 1821–1823.

- [80] Rosowsky, A.; Chen, H. A Novel Method of Synthesis of 2,4-Diamino-6-arylmethylquinazolines Using Palladium(0)-catalyzed Organozinc Chemistry. *Journal of Organic Chemistry* **2001**, 66, 7522–7526.
- [81] Grundon, M. F.; Henbest, H. B.; Scott, M. D. Reactions of hydrazones and related compounds with strong bases. i. Modified Wolff-Kishner procedure. *Journal of the Chemical Society* **1963**, 1855–1858.
- [82] Bradlow, H. L.; VanderWerf, C. A. Studies on the Reduction of Aromatic Ketones by the Clemmensen Method. *Journal of the American Chemical Society* **1947**, 69, 1254–1256.
- [83] Brown, B. R.; White, A. M. S. Hydrogenolysis of aromatic carbonyl compounds and alcohols with aluminium chloride lithium aluminium hydride. *Journal of the Chemical Society* **1957**, 3755–3757.
- [84] Gribble, G. W.; Leese, R. M.; Evans, B. E. Reactions of Sodium Borohydride in Acidic Media; IV. Reduction of Diarylmethanols and Triarylmethanols in Trifluoroacetic Acid. *Synthesis* **1977**, 172–175.
- [85] Olah, G. A.; Reddy, V. Prakash; Prakash; G. K. Surya. Friedel-Crafts Reactions. In *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology*; John Wiley & Sons Inc., Ed.; A John Wiley & Sons, Inc., publication; Wiley-Interscience: Hoboken, NJ, 2004/2007, pp 159–199.
- [86] Mauthner, F. General method of preparing aryl sulfides. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* **1906**, 3593–3598.
- [87] Campbell, J. R. Synthesis of thioethers. Amide solvent-promoted nucleophilic displacement of halide by thiolate ion. *Journal of Organic Chemistry* **1964**, 29, 1830–1833.
- [88] Bischoff, C.; Schröder, E. Über die Nitril-Carboxamid-Umlagerung und die Heterocyclusbildung aus 2-Cyancyclohexenylharnstoff. *Journal für praktische Chemie* **1983**, 88–94.
- [89] Rout, L.; Saha, P.; Jammi, S.; Punniyamurthy, T. Efficient Copper(I)-Catalyzed C-S Cross Coupling of Thiols with Aryl Halides in Water. *European Journal of Organic Chemistry* **2008**, 640–643.
- [90] Carril, M.; SanMartin, R.; Dominguez, T. I. Simple and Efficient Recyclable Catalytic System for Performing Copper-Catalyzed S-Arylation Reactions in the Presence of Water. *Chemistry A European journal* **2007**, 13, 5100–5105.
- [91] Ku, X.; Huang, H.; Jiang, H.; Liu, H. Efficient Iron/Copper Cocatalyzed S-Arylations of Thiols with Aryl Halides. *Journal of Combinatorial Chemistry* **2009**, 11, 338–340.
- [92] Hynes, J. B.; Ashton, W. T.; Merriman III, H. G.; Walker III, F. C. Synthesis of analogs of 6-arylthio-, 6-arylsulfinyl-, and 6-arylsulfonyl-2,4-diaminoquinazolines as potential antimalarial agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **1974**, 17, 682–684.
- [93] Kwong, F. Y.; Buchwald, S. L. A General, Efficient, and Inexpensive Catalyst System for the coupling of Aryl Iodides and Thiols. *Organic Letters* **2002**, 4, 3517–3520.
- [94] Correa, A.; Carril, M.; Bolm, C. Iron-Catalyzed S-Arylation of Thiols with Aryl Iodides. *Angewandte Chemie* **2008**, 120, 2922–2925.
- [95] Sperotto, E.; van Klink, G. P. M.; Vries, J. G. de; van Koten, G. Ligand-Free Copper-Catalyzed C-S Coupling of Aryl Iodides and Thiols. *Journal of Organic Chemistry* **2008**, 73, 5625–5628.
- [96] She, J.; Jiang, Z.; Wang, Y. Simple, efficient and recyclable catalytic system for performing copper-catalyzed C...S coupling of thiols with aryl iodides in PEG and PEG...H₂O. *Tetrahedron Letters* **2009**, 50, 593–596.
- [97] Ranu, B. C.; Saha, A.; Jana, R. Microwave-Assisted Simple and Efficient Ligand Free Copper Nanoparticle Catalyzed Aryl-Sulfur Bond Formation. *Advanced synthesis & catalysis* **2007**, 2690–2696.

- [98] Sundaralingam, M.; Carrabine, J. A. Stereochemistry of Nucleic Acids and their Constituents. XIX. Copper Binding Sites and Mechanism G-C Selective Denaturation of DNA. Crystal and Molecular Structures of Guanine-Copper(II) Chloride and Cytosine-Copper(II) Chloride Complexes. *Journal of Molecular Biology* **1971**, 61, 287–309.
- [99] Correia dos Santos, M. M.; Sousa, P. M. P.; Modesto, A. M. M.; Simoes Goncalves, M. L. Voltammetric behavior of copper complexes with cytosine and its nucleoside. *Biochemistry and Bioenergetics* **1998**, 45, 267–273.
- [100] Tachdjian, C. T. X.-Q. Modulation of Chemosensory Receptors and Ligands associated therewith. US2008306053 (A1).
- [101] AIST. Spectral Database for Organic Compounds SDBS. http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/cre_index.cgi.
- [102] Akyuz, S.; Akyuz, T.; Akkaya, Y.; Akalin, E. Infrared and Raman spectroscopic study of 4-aminopyrimidine tetracyanonickelate complexes. *Journal of Molecular Structure* **2007/5/271**, 834–836, 403–407.
- [103] Angell, C. L. An Infrared Spectroscopic Investigation of Nucleic Acid Constituents. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1961**, 504.
- [104] Samijlenko, S. P.; Alexeeva, I. V. Structural peculiarities of 6-azacytosine and its derivatives imply intramolecular H-bonds. *Journal of Molecular Structure* **1999**, 484, 31–38.
- [105] Katritzky, A. R.; Waring, A. J. Tautomeric Azines. Part III. The Structure of Cytosine and its Mono-cation. *Journal of the Chemical Society* **1963**, 3046–3051.
- [106] Jeffrey, G. A.; Kinoshita, Y. The crystal structure of cytosine monohydrate **1963**, 16, 20–28.
- [107] Coletta, F.; Ettore, R.; Gambaro, A. ¹H and ¹³C NMR Studies of Palladium(II) and Platinum(II) Complexation of Cytosine. *Journal of Magnetic Resonance* **1976**, 22, 453–457.
- [108] Becker, H. G. *Organikum: Organisch-chemisches Grundpraktikum*; mit 210 Tabellen, 18. berichtigte Aufl.; Dt. Verl. der Wiss., Berlin, 1990.
- [109] Alonso, D. A.; Najera, C.; Varea, M. Simple, economical environmentally friendly sulfone synthesis. *Tetrahedron Letters* **2002**, 43, 3459–3461.
- [110] Shaabani, A.; Rezayan, A. H. Silica sulfuric acid promoted selective oxidation of sulfides to sulfoxides or sulfones in the presence of aqueous H₂O₂. *Catalysis Communications* **2007**, 8, 1112–1116.
- [111] Zolfigol, M. A. Silica sulfuric acid/NaNO₂ as a novel heterogeneous system for production of thionitrites and disulfides under mild conditions. *Tetrahedron* **2001**, 57, 9509–9511.
- [112] Ashton, W. T.; Hynes, J. B. Synthesis of 5-substituted Quinazolines as Potential Antimalarial Agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **1973**, 16, 1233–1237.
- [113] Hwang, J. P.; Prakash, G. K. S.; Olah, G. A. Trifluoromethanesulfonic Acid Catalyzed Novel Friedel–Crafts Acylation of Aromatics with Methyl Benzoate. *Tetrahedron* **2000**, 56, 7199–7203.
- [114] Paul, S.; Nanda, P.; Gupta, R.; Loupy, A. Zinc Mediated Friedel–Crafts Acylation in Solvent-Free Conditions under Microwave Irradiation. *Synthesis* **2003**, 2877–2881.
- [115] Smith, M. B.; March, J. *March's advanced organic chemistry: Reactions, mechanisms, and structure*, 6. ed.; Wiley-Interscience, Hoboken, NJ, 2007.
- [116] González, A.; Gálvez, C. Preparation of 2-Acylaminobenzonitriles from 3-Hydroxyimino-3H-indoles. *Synthesis* **1982**, 946.

- [117] Patil, M. L.; Jnaneshwara, G. K.; Sadbe, D. P.; Dongare, M. K.; Sudalai, A.; Deshpande, V. H. Regiospecific Acylations of Aromatics and Selective Reductions of Azobenzenes over Hydrated Zirconia. *Tetrahedron Letters* **1997**, 38, 2137–2140.
- [118] Peng, X. Nitration of moderately deactivated arenes with nitrogen dioxide and molecular oxygen under neutral conditions. Zeolite-induced enhancement of regioselectivity and reversal of isomer ratios. *Organic & biomolecular chemistry* **2003**, 1, 2326.
- [119] Paul, S.; Nanda, P.; Gupta, R. Solvent-Free Benzylic Oxidations Using Urea-Hydrogen Peroxide Complex (UHP) under Microwave Irradiation. *Synlett* **2004**, 531–533.
- [120] Bosche, H. G. Chromverbindungen als Oxidationsmittel. In *Houben-Weyl. Methoden der Organischen Chemie. Band IV / 1b Oxidation II*; Kropf, H.; Blome, H.; Houben, J.; Müller, E.; Weyl, T.; Büchel, K. H.; Bayer, O., Eds.; Methoden der organischen Chemie / (Houben-Weyl). Hrsg. von Eugen Müller ... ; Bd. 4,1b; Thieme: Stuttgart, 1975, p 433.
- [121] Effenberger, F.; Eppe, G.; Eberhard, J. K.; Bühler, U.; Sohn, E. Carbonsäure-trifluormethansulfonsäure- und -methansulfonsäure-anhydride, Darstellung und Dissoziationstendenz. *Chemische Berichte* **1983**, 116, 1183–1194.
- [122] Effenberger, F.; Sohn, E.; Eppe, G. Carbonsäure-trifluormethansulfonsäure-anhydride als hochwirksame Acylierungsmittel. - Perfluoralkansulfonsäure-katalysierte Aromatenacylierungen. *Chemische Berichte* **1983**, 116, 1195–1208.
- [123] Markees, D. G.; Burger, A. Antitubercular Compounds. bis-(Aminoaryl)-cyclopropane Derivatives. 1-(2-Amino-4-thiazolyl)-2-(4-aminophenyl)-cyclopropane. *Journal of the American Chemical Society* **1948**, 70, 3329–3332.
- [124] Defoin, A. Simple preparation of nitrosobenzenes and nitrobenzenes by oxidation of anilines with H₂O₂ catalyzed with molybdenum salts. *Synthesis* **2004**, 2004, 706.
- [125] Gandhi, S. S. Reactions of some aromatic nitro compounds with alkali metal amides. *Journal of Organic Chemistry* **1979**, 44, 4705.
- [126] Liu, Y.; Lu, Y.; Prasad, M.; Repic, O.; Blacklock, T. J. A Practical and Chemoselective Reduction of Nitroarenes to Anilines Using Activated Iron. *Advanced synthesis & catalysis* **2005**, 217–219.
- [127] Friedman, L.; Shechter, H. Dimethylformamide as a useful solvent in preparing nitriles from aryl halides and cuprous cyanide. *Journal of Organic Chemistry* **1961**, 26, 2522–2524.
- [128] Mukhopadhyay, S.; Chandnani, K. H.; Chandalia, S. B. Highly Selective Oxidative Monochlorination To Synthesize Organic Intermediates: 2-Chlorotoluene, 2-Chloroaniline, 2-Chlorophenol, and 2-Chloro-4-methylphenol. *Organic Process Research & Development* **1999**, 196–200.
- [129] Roche, D.; Prasad, K.; Repic, O.; Blacklock, T. J. Mild and regioselective oxidative bromination of anilines using potassium bromide and sodium perborate. *Tetrahedron Letters* **2000**, 2083–2085.
- [130] Ellis, G. P.; Romney-Alexander, T. M. Cyanation of Aromatic Halides. *Chemical Reviews* **1987**, 779–794.
- [131] Suzuki, H.; Hanafusa, T. A Convenient Synthesis of Highly Substituted Benzonitriles and Benzenepolynitriles. *Synthesis* **1974**, 53–55.
- [132] Ono, A.; Maruyama, T.; Suzuki, N. Hydrogenation of Diaryl and Arylalkyl Ketones by Sodium Borohydride and Aluminium Chloride. *Synthetic Communications* **1987**, 17, 1001–1005.
- [133] Khurana, J. M. Rapid reduction of nitriles to primary amines with nickel boride at ambient temperature. *Synthetic Communications* **2002**, 32, 1265.

- [134] Narisada, M. Selective reduction of aryl halides and α,β -unsaturated esters with sodium borohydride-cuprous chloride in methanol and its application to deuterium labeling. *Journal of Organic Chemistry* **1989**, 54, 5308.
- [135] Cortese, N. A. Palladium catalyzed reductions of halo- and nitroaromatic compounds with triethylammonium formate. *Journal of Organic Chemistry* **1977**, 42, 3491.
- [136] Godde, F.; Toulme, J.-J.; Moreau, S. Benzoquinazoline Derivatives as Substitutes for Thymine in Nucleic Acid Complexes. Use of Fluorescence Emission of Benzo[g]quinazoline-2,4-(1H,3H)-dione in Probing Duplex and Triplex Formation. *Biochemistry* **1998**, 37, 13765–13775.
- [137] Caldwell, W. T.; Tyson, F. T.; Lauer, L. Substituted 2-Sulfonamido-5-aminopyridines. II. *Journal of the American Chemical Society* **1944**, 66, 1479–1484.
- [138] Dyachenko, V. Synthesis of N-Methylmorpholinium 1-Amino-2,4-dicyano-4-phenylcarbamoyl(ethoxycarbonyl)-1,3-butadiene-1-thiolates and Their Transformation into Pyridine-2-thiol Derivatives. *Russian journal of organic chemistry* **2002**, 38, 731.
- [139] Perez, R. P.; Godwin, A. K.; Handel, L. M.; Hamilton, T. C. A comparison of clonogenic, microtetrazolium and sulforhodamine B assays for determination of cisplatin cytotoxicity in human ovarian carcinoma cell lines. *European Journal of Cancer* **1993**, 29, 395–399.
- [140] Harris, N. V.; Smith, C.; Bowden, K. Antifolate and antibacterial activities of 6-substituted 2,4-diaminoquinazolines. *European Journal of Medicinal Chemistry* **1992**, 7–18.
- [141] Kulp, S. S. Oxidative decyanation of benzyl and benzhydryl cyanides. A simplified procedure. *Journal of Organic Chemistry*, 1983, 4097–4098.
- [142] Suzuki, Y. N-Heterocyclic Carbene-Catalyzed Nucleophilic Aroylation of Fluorobenzenes. *Journal of Organic Chemistry*, 2008, 2420–2423.
- [143] Vejdelek, Z. Reactions of 4-chloro-1-nitrobenzene with (3-chloro-4-methoxyphenyl)acetonitrile and (3,4-dimethoxyphenyl)acetonitrile. Synthesis of 8-chloro-1-methyl- (and methylthiomethyl)-6-(3,4-disubstituted phenyl)-4H-s-triazolo[4,3-a]-1,4-benzodiazepines. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, 1988, 361–372.
- [144] Gopalakrishnan, M. Aluminum metal powder (atomized) catalyzed Friedel-Crafts acylation in solvent-free conditions: A facile and rapid synthesis of aryl ketones under microwave irradiation. *Catalysis Communications*, 2005, 753–756.
- [145] Fullhart, L., JR. Some substituted alkylamino sulfides and sulfones. *Journal of Science*, 1947, 27–28.
- [146] Ivanov, I. Efficient one-pot Friedel-Crafts acylation of benzene and its derivatives with unprotected aminocarboxylic acids in polyphosphoric acid. *Synthetic Communications*, 2006, 1405–1411.
- [147] Davis. *Journal of Organic Chemistry*, 1965, 2607–2609.
- [148] Cosulich, D. B.; Seeger, D. R.; Fahrenbach, M. J.; Roth, B.; Mowat, J. H.; Smith, J. M.; Hultquist, M. E. Analogs of Pteroylglutamic Acid. VI. 3',5'-Dihaloptyroyl Derivatives. *Journal of the American Chemical Society* **1951**, 73, 2554–2557.
- [149] Shcherbina, F. Synthesis of p-aminobenzoic acid and its halogen derivatives by the liquid-phase catalytic oxidation of N-acylated p-toluidines. *Zhurnal organicheskoi khimii* **1980**, 16, 381.
- [150] Dippy, J. F. J.; Moss, V. The rearrangement of NN-diacylanilines and the nuclear benzylation of anilines. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1952**, 2205–2210.

-
- [151] Waters, W. A. Halogen substitution products of 4-aminobenzophenone. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1929**, 2108.

12 Danksagung

Ich möchte allen Menschen danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen und mich auch in schwierigen Phasen unterstützt und ermuntert haben.

Mein Dank geht an Frau Dr. Barbara Gioffreda für die Überlassung des Arbeitsthemas. Herrn Professor Thomas Kurz möchte ich ganz besonders dafür danken, dass er das Erstgutachten erstellt und sich dafür eingesetzt hat, diese Arbeit zu einem guten Abschluss zu bringen. Desweiteren danke ich Herrn Professor Matthias Kassack herzlich für die Erstellung des Zweitgutachtens. Herrn Professor Hans-Dieter Höltje danke ich für seinen Einsatz, der meine Arbeit an der Heinrich-Heine-Universität erst ermöglicht hat, ebenso wie Herrn Professor Joachim Jose für die weitere Unterstützung.

Nicht vergessen möchte ich an dieser Stelle Frau Dr. Miriam Pein. Ohne Deine fachliche und moralische Unterstützung wäre diese Arbeit vielleicht nie zu einem Abschluss gekommen.

Für die Durchführung der zytotoxischen Untersuchungen danke ich Frau Magda Matyja und Frau Kathrin Christoph, ebenso wie Frau Dr. Alexandra Hamacher, Susanne Kögel und Christian Urban für die fachliche Hilfe auf diesem Gebiet.

Frau Krystina Kuna danke ich für die praktische Hilfe bei den Synthesen.

Bei den Mitgliedern der Arbeitskreise von Herrn Professor Höltje und Herrn Professor Jose möchte ich mich für die Aufnahme in ihrer Mitte herzlich bedanken. Insbesondere danke ich Jasmin Schrobang, Nadine Sonnenberg und Peter Sippel für die vielen Gespräche um und über die Arbeit hinaus, für die Mensagänge und die Grillabende. Geun-Yung Ko, Sabine Meis, Tanja Völker und allen anderen Praktikumskollegen danke ich für die meist sehr lustige Zeit und die gute Zusammenarbeit. Aber auch die Kollegen aller anderen Arbeitskreise haben mit praktischen Tipps und Gesprächen zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Vielen Dank dafür!

Jenseits der Universität haben mir viele andere Menschen geholfen, denen ich für ihre Unterstützung dankbar bin. Allen voran danke ich meinem Mann Julius. Du hast immer an mich geglaubt, selbst und ganz besonders als ich kurz davor war aufzugeben. Henriette Hansen danke ich für viele kritische Gespräche und weinselige Abende. Zu guter Letzt möchte ich meinen Eltern dafür danken, dass sie mir immer zur Seite gestanden und mir den Weg bis zum Abschluss dieser Arbeit ermöglicht haben. Ohne Euch wären diese Seiten nie geschrieben worden. DANKE!

13 Lebenslauf

Stephanie Oberste-Dommès geb. Richter

geboren am 10.8.1976 in Herford

August 1987 – Juli 1996	Gymnasium Lohfeld, Bad Salzuflen, Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
Oktober 1996 - September 1997	Geophysikstudium an der Universität Köln
Oktober 1997 - März 2000	Ausbildung zur Pharmazeutisch-Technischen Assistentin in Minden (Schule) und Bad Salzuflen, Born-Apotheke (Praktikum)
März 2000 - September 2000	Pharmazeutisch-Technische Assistentin in der Born-Apotheke, Bad Salzuflen
Oktober 2000 - November 2004	Studium der Pharmazie an der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig
November 2004	2. Staatsexamen
Januar 2005 - Dezember 2005	Praktisches Jahr bei der Bayer Health Care AG (Pharma Research, Cardiovascular Pharmacology), Wuppertal, und in der Pinguin-Apotheke, Wuppertal
Januar 2006	3. Staatsexamen
Februar 2006	Approbation zur Apothekerin
April 2006 - August 2010	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie an der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf.