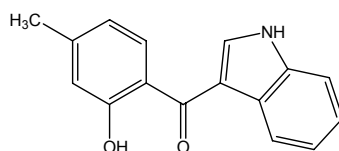


## 5 Zusammenfassung

### 5.1 Deutsche Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung neuer Wirkstoffe mit Salicyloyl- und bioisosterer Chinazolinanteilstruktur, die im Rahmen einer Krebstherapie Anwendung finden könnten.

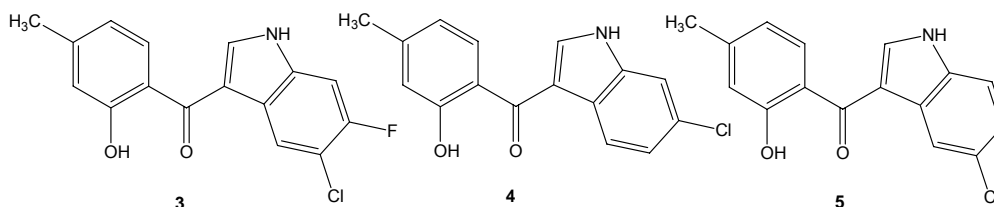
Da *Witzel* bei einigen Salicyloylindolen überraschenderweise zytotoxische Eigenschaften beobachtete, wobei eine Verbindung, **SW 62** (**Abb. 162**), sogar eine hervorragende, mit Cisplatin vergleichbare Zytotoxizität besitzt, sollten im ersten Teil dieser Arbeit weitere neue Salicyloylindole hergestellt und die Aufklärung des Wirkmechanismus vorangetrieben werden.



SW 62

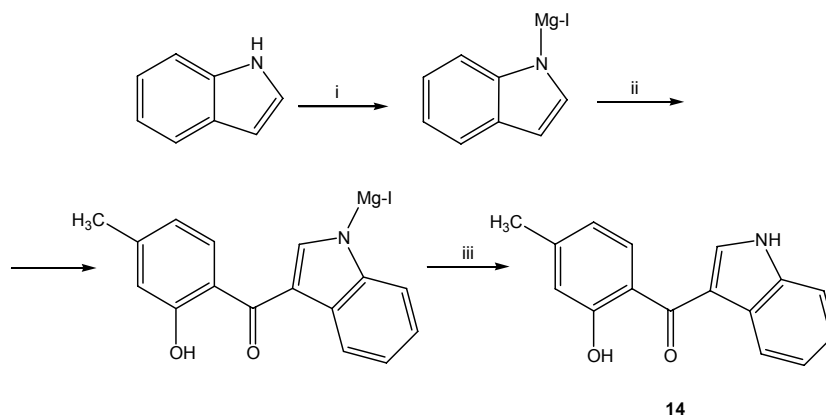
**Abb. 162:** Das Salicyloylindol **SW 62**

Während die Salicyloylindole von *Witzel* in einem aufwendigen Verfahren mit Hilfe der Aminoisoflavon-Ringtransformation hergestellt wurden, konnte das Syntheseverfahren nun mit einer Grignard-induzierten Acylierungsreaktion erheblich verbessert und die nachfolgend abgebildeten Verbindungen **3**, **4** und **5** sowie das bereits bekannte Salicyloylindol **SW 62** als **14** synthetisiert werden (**Abb. 163**).



**Abb. 163:** Durch Acylierung hergestellte Salicyloylindole

Stellvertretend für die im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Salicyloylindole wird der Herstellungsweg von Verbindung **14** in **Abb. 164** dargestellt.

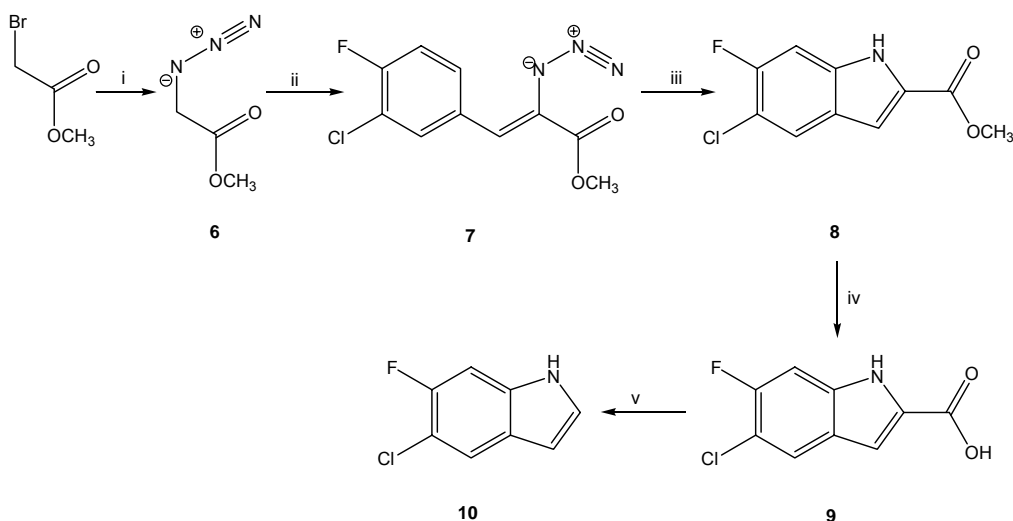


- i) Jod, Jodmethan, Magnesiumspäne, abs. Diethylether, Eiskühlung;  
 ii) 4-Methylsalicylsäurechlorid (**1**), abs. Diethylether, Eiskühlung  $\rightarrow \Delta T$ ; iii) Eis

**Abb. 164:** Synthese von Verbindung **14**

Das mit Hilfe einer Grignard-Verbindung metallierte Indol wird mit der zuvor chlorierten 4-Methylsalicylsäure zum Salicyloylindol **14** verknüpft.

Im Gegensatz zu dem unsubstituierten Indol und den beiden Chlorindolen, wurde das 5-Chlor-6-fluorindol (**10**), das zur Herstellung von Verbindung **3** Verwendung findet, aus finanziellen Gründen in einer mehrstufigen Synthese hergestellt. Das nachfolgend vereinfachte Syntheschema (**Abb. 165**) verdeutlicht den Herstellungsweg.



- i) Natriumazid, *N,N*-Dimethylformamid, Methylbromacetat, RT;  
 ii) Natriummethanolat, 3-Chlor-4-fluorbenzaldehyd, RT;  
 iii) Xylen,  $\Delta T$ ; iv) NaOH, Ethanol, RT; v) Diphenylether,  $\Delta T$

**Abb. 165:** Herstellung des 5-Chlor-6-fluorindols **10**

Die zytotoxische Untersuchung von **3**, **4** und **5** an humanen MCF-7-Zelllinien ergab zwar bei allen drei Verbindungen eine Wachstumshemmung der Krebszellen, wobei die Fluor- und Chlorsubstitution für die stärkste Wirkung verantwortlich ist. Allerdings ist keine der Aktivitäten mit der Zytotoxizität von **WS 62 (14)** bzw. Cisplatin vergleichbar.

Um eine mögliche EGFR-TK-Inhibition zu untersuchen, wurde die Verbindung **4** stellvertretend für die drei Salicyloylindole getestet. Dabei zeigte sich, dass diese in einer Konzentration von 10  $\mu\text{M}$  nur eine sehr geringe Hemmung von 13% aufweist. Auch **WS 62 (14)** zeigt nur eine schwache EGFR-TK-Inhibition von 18% bei der gleichen Konzentration.

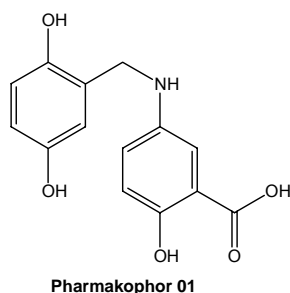
Die starke zytotoxische Aktivität kann also nicht auf eine Hemmung der EGFR-Tyrosinkinase zurückgeführt werden.

Da Salicyloylindole auch als Stilben-Derivate formuliert werden können, lag die Vermutung einer möglichen Tubulin-Inhibition nahe. Der mit einer Konzentration von 10  $\mu\text{M}$  durchgeführte Colchicin-Radioligand-Binding-Assay ergab jedoch nur eine minimale Stimulation von 5%, so dass auch dadurch die starke Zytotoxizität nicht erklärt werden kann.

Durch die Acylierungsreaktionen ist es gelungen, in einem praktikablen Verfahren neue Salicyloylindole herzustellen und dabei teils gute zytotoxische Eigenschaften zu beobachten. Allerdings konnte noch kein abschließendes Ergebnis hinsichtlich des Wirkmechanismus erzielt werden.

Die starke Zytotoxizität von Verbindung **SW 62 (14)** wird jedenfalls nicht durch eine EGFR-TK-Inhibition vermittelt. Jedoch spielt die 4-Methylsalicyloylstruktur eine wichtige Rolle für die zytotoxische Aktivität, so dass nun Verbindungen entwickelt werden, die sich im Substitutionsmuster des Indol-Teils von **SW 62 (14)** unterscheiden.

So wird im zweiten Teil der Arbeit das **Pharmakophor 01 (Abb. 166)** der beiden aus *Streptomyces griseolavendus* isolierten EGFR-TK-inhibitorisch wirksamen Verbindungen Lavendustin A und B zum Vorbild für die Entwicklung weiterer Salicylsäure-Verbindungen genommen.

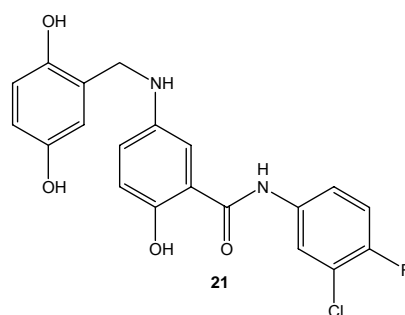


**Abb. 166:** Das Lavendustin A **Pharmakophor 01**

Das Phamakophor, das selbst eine *in-vitro* EGFR-TK-Inhibition mit einer  $IC_{50}$  von  $0,0044 \mu\text{M}$  zeigt, sollte dahingehend verändert werden, dass die Aminosalicyloyl-Struktur mit dem 2,5-Dihydroxybenzylamino-Rest erhalten bleibt und die Carboxylfunktion mit 3-Chlor-4-fluoranilin substituiert wird.

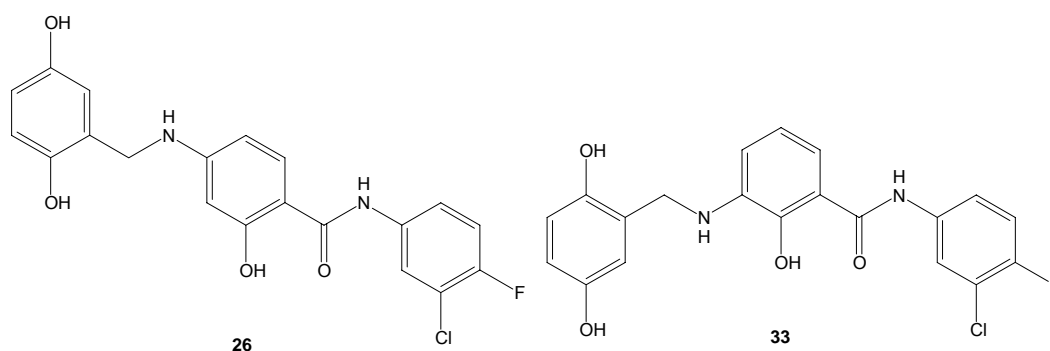
*Albuschat* entwickelte unterschiedliche 4- bzw. 5-Aminosalicylsäure-Derivate mit Lavendustin-Teilstruktur, bei denen es sich entweder um verschieden Halogen-substituierte Phenylester oder Säureanilide handelte.

Die am stärksten EGFR-TK-inhibitorisch wirksame Verbindung **RA 62** (96% bei einer Konzentration von  $10 \mu\text{M}$ ) wurde am National Cancer Institute nach einem *in-vitro* Anti-Tumor-Screen zunächst an drei und anschließend an 60 humanen Zelllinien in das *in-vivo* Testprogramm aufgenommen. Die dafür benötigte Substanzmenge wurde im Rahmen dieser Arbeit durch ein aufwendiges mehrstufiges Syntheseverfahren als Verbindung **21** (**Abb. 167**) hergestellt.



**Abb. 167:** Die 5-Aminosalicyloyl-Verbindung **21** (bzw. **RA 62**)

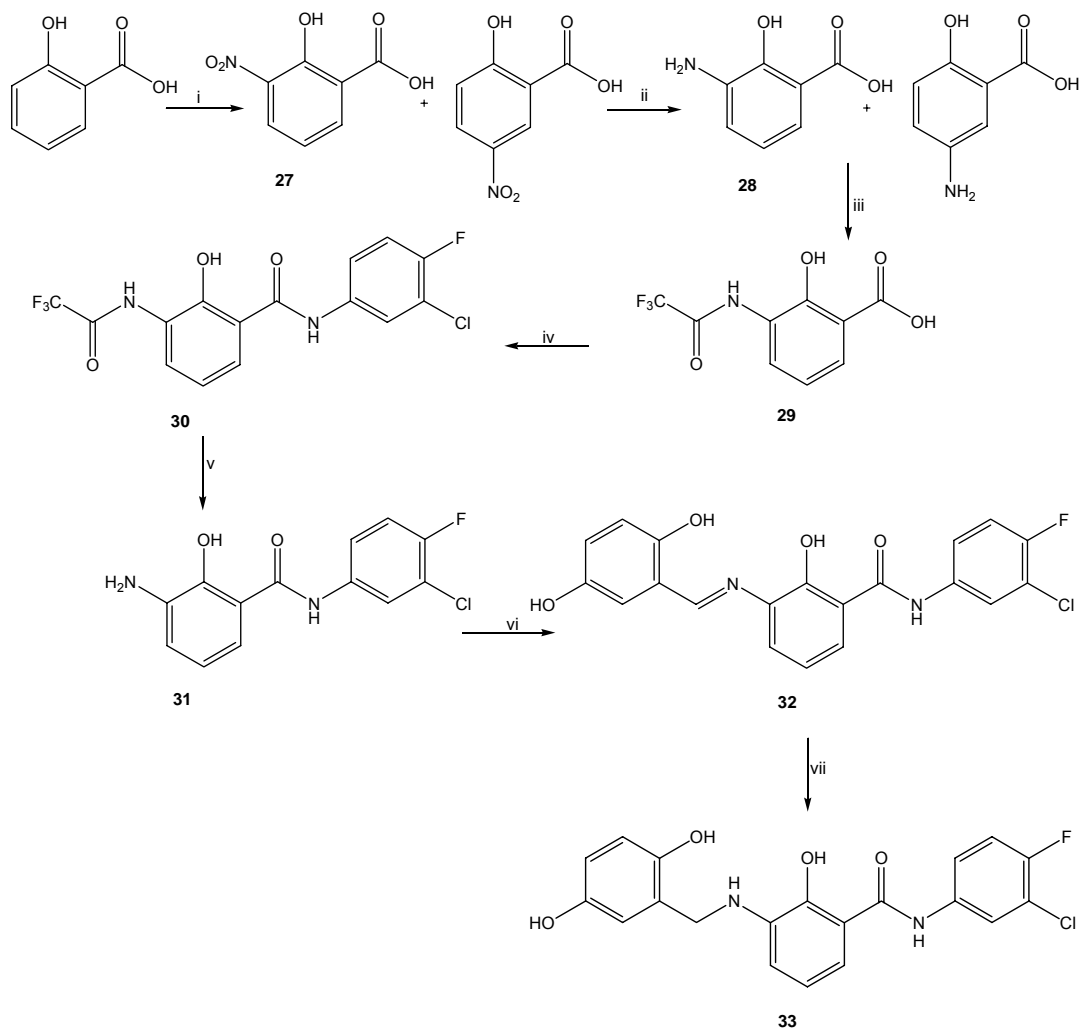
Aufgrund der bemerkenswerten Hemmung der EGFR-Tyrosinkinase wurden zusätzlich zwei weitere Isomere **26** und **33** konzipiert, die sich von der 3- bzw. 4-Aminosalicylsäure ableiten lassen (**Abb. 168**).



**Abb. 168:** Das 4-Aminosalicylsäure-Derivat **26** und das 3-Aminosalicylsäure-Derivat **33**

Das 5-Aminosalicylsäure-Derivat **21** und das 4-Aminosalicylsäure-Derivat **26** erschienen außerdem deshalb interessant, weil die zugrunde liegenden Aminosalicylsäuren bekannte Arzneistoffe sind (PAS, Mesalazin).

Die neben den Verbindungen **21** und **26** erhaltene 3-Aminosalicyloyl-Verbindung **33** wird im nachfolgenden Syntheschema beschrieben (**Abb. 169**). Die Herstellung der Verbindung **33** erschien wegen der vicinalen Anordnung der Substituenten bezüglich der Raumbeanspruchung besonders interessant.



- i) Tetrabutylammoniumhydrogensulfat, Isopropylnitrat, konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , Dichlormethan; Eiskühlung  $\rightarrow$  RT;  
 ii) Pd/C, Cyclohexan, Ethanol,  $\Delta$ T; iii) Trifluoressigsäureanhydrid, abs. 1,4-Dioxan, RT;  
 iv) Thionylchlorid,  $\Delta$ T, 3-Chlor-4-fluoranilin, 1,4-Dioxan,  $\Delta$ T; v) methanolische  $\text{K}_2\text{CO}_3$ -Lsg.,  $\Delta$ T;  
 vi) 2,5-Dihydroxybenzaldehyd, Ethanol/Eisessig,  $\Delta$ T; vii) Borandimethylamin-Komplex, Eisessig, RT

**Abb. 169:** Herstellung der 3-Aminosalicyloyl-Verbindung **33**

Somit sind die drei Lavendustin-Derivate **21**, **26** und **33** synthetisch herstellbar, und die pharmakologischen Ergebnisse können miteinander verglichen werden.

Die Untersuchung der beiden Arzneistoffe 4- und 5-Aminosalicylsäure auf EGFR-TK-Inhibition in einer Konzentration von 1  $\mu\text{M}$  zeigt, dass mit einer Hemmung von 0% bzw. 2% von keiner EGFR-TK-Inhibition ausgegangen werden kann.

Die Ergebnisse für die drei Isomere **21**, **26** und **33** sind in der **Tab. 13** dargestellt.

Verbindung	<b>21</b>	<b>26</b>	<b>33</b>
EGFR-TK-inhibitorische Aktivität in % (c=100 nM)	13	22	54

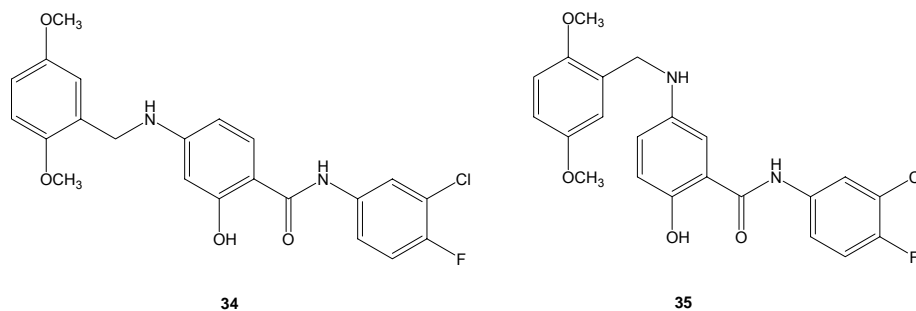
**Tab. 13:** EGFR-TK-inhibitorische Aktivität der Lavendustin A-Derivate

Weiterhin wurden ebenso wie **21** die Verbindungen **26** und **33** auch vom National Cancer Institute an 60 humanen Zelllinien in einem *in-vitro* Test auf Zytotoxizität untersucht. Bei allen verwendeten Zelllinien wurden von allen drei Verbindungen  $\text{GI}_{50}$ -Werte von  $10^{-5}$  bzw.  $10^{-6}$  M erreicht. Das Zellwachstum einiger Zelllinien wurde sogar schon in einer Konzentration von  $10^{-7}$  bzw.  $10^{-8}$  M inhibiert. Das 4-Aminosalicyloyl-Derivat **26** besitzt die stärkste Zytotoxizität, aber **21** wurde über die *in-vitro* Tests hinaus noch für einen *in-vivo* Hollow Fiber Assay und anschließend für einen special EGFR+Hollow Fiber Assay ausgewählt. Leider ergab diese Untersuchung eine komplette Inaktivität von Verbindung **21**.

Diese Beobachtungen lassen sich jedoch nicht mit den ermittelten EGFR-TK-Inhibitionen in Zusammenhang bringen, und auch nicht alle verwendeten Zelllinien sind EGFR-TK-abhängig. Auch wurden weitere Tests nicht durchgeführt, so dass keine Aussagen über den Wirkmechanismus der Zytotoxizität gemacht werden können.

Durch die Verwendung von 2,5-Dimethoxybenzaldehyd wurden die beiden Methoxyderivate von **21** und **26** angestrebt und auf mögliche Tubulin-Inhibition untersucht. Durch die Strukturähnlichkeit zu dem bekannten Tubulin-Inhibitor Combretastatin A-4 konnte eine ähnliche Wirkung angenommen werden.

Jedoch konnte nur das 5-Aminosalicylsäure-Derivat **35** in reiner Form erhalten werden und nicht die 4-Aminosalicylsäure-Verbindung **34** (**Abb. 170**).



**Abb. 170:** Die beiden Dimethoxy-Derivate **34** und **35**

Die Untersuchung einer möglichen EGFR-TK-Hemmung in einer Konzentration von 100 nM ergab eine Inhibition von 34%. Damit bleibt die von der 3-Aminosalicylsäure abgeleitete Hydroxy-Verbindung **33** die am stärksten Wirksame.

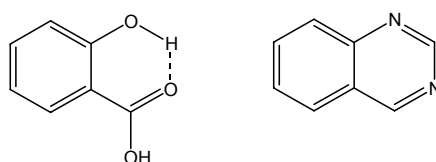
In dem Primary Screen vom National Cancer Institute in einer Konzentration von 100  $\mu$ M an drei humanen Tumorzelllinien zeigt die Verbindung **35** keine nennenswerte Zytotoxizität.

Im Colchicin-Radioligand-Binding-Assay zeigt **35** eine Inhibition von -1%, was eher einer Stimulation als einer Hemmung entspricht. Das Signifikanzkriterium für eine Stimulation oder Hemmung liegt bei mehr als 50%.

Leider konnte damit unsere Vermutung einer Tubulin-Inhibition durch das Dimethoxy-Derivat der 5-Aminosalicylsäure-Verbindung **35** nicht bestätigt werden.

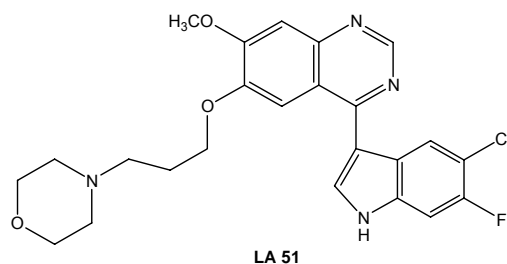
Insgesamt bieten die neuen Lavendustin-Derivate mit Salicyloylstruktur durch ihre guten EGFR-TK-inhibitorischen und zytotoxischen Aktivitäten interessante Ansatzpunkte für Weiterentwicklungen zu Wirkstoffen.

Im dritten Teil der Arbeit wurde die ringoffene Salicyloyl-Struktur durch ein bioisosteres Chinazolinon-System ersetzt (**Abb. 171**).



**Abb. 171:** Bioisosterie zwischen der Salicylsäure und dem Chinazolin

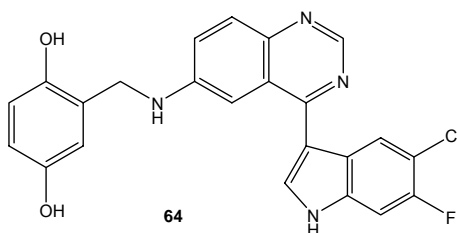
So fand *Lüth* bei den 4-(Indol-3-yl-)chinazolinen sehr gute EGFR-TK-inhibitorische und hervorragende zytotoxische Wirkungen. Die **Abb. 172** zeigt die wirksame Verbindung **LA 51**.



**Abb. 172:** Die Verbindung **LA 51**

Die bioisostere Umwandlung der Salicylsäurestruktur in ein Chinazolin erfolgte in Anlehnung an die selektiven EGFR-TK-Inhibitoren Gefitinib (Iressa<sup>®</sup>) und Erlotinib (Tarceva<sup>®</sup>). Es wurde dadurch eine Hemmung der EGFR-Tyrosinkinase erwartet, welche durch den Austausch des Anilinrestes in ein Indol unterstützt werden sollte.

Im Rahmen dieser Arbeit sollte nun ein 4-(Indol-3-yl)-chinazolin (Verbindung **64**) entwickelt werden, das in Position 6 des Chinazolins mit der 2,5-Dihydroxybenzylamino-Seitenkette des Lavendustin-Pharmakophors substituiert werden soll, da diese eine wichtige Rolle bei der Hemmung der EGFR-Tyrosinkinase zu spielen scheint (**Abb. 173**).

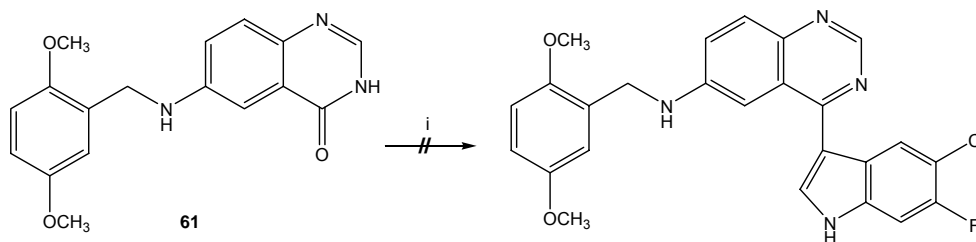


**Abb. 173:** Geplantes 4-(Indol-3-yl)chinazolin mit Lavendustin-Seitenkette (**64**)

Die von mir angestrebte Verbindung **64** unterscheidet sich von **LA 51** durch die verwendete Seitenkette, die in die Zuckertasche des EGF-Rezeptors ragt. Bei **64** ist es die Teilstruktur des Lavendustins.

Leider konnte die angestrebte Verbindung **64** auch durch zahlreiche Versuche nicht erhalten werden. Die Synthese scheiterte zumeist bei der Herstellung der ersten Stufen. In einem Fall konnte aber der substituierte Chinazolin-Teil erhalten werden, der nach Chlorierung nur noch mit dem 5-Chlor-6-fluorindol (**10**) hätte verknüpft werden müssen (**Abb. 174**).



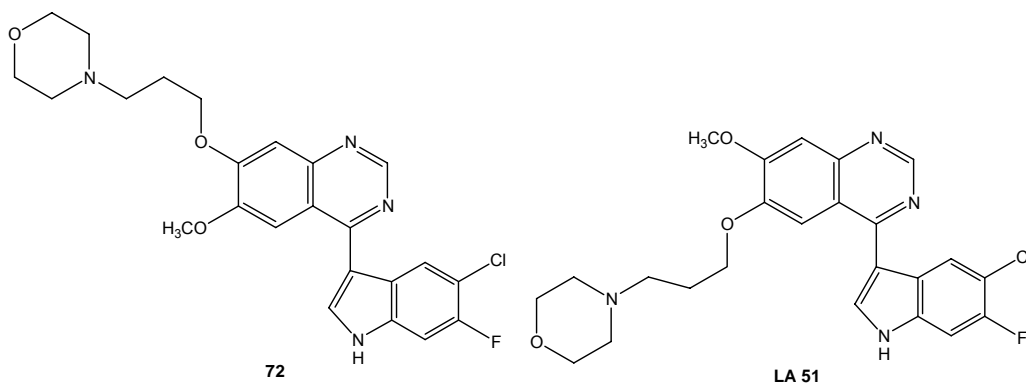


i) Phosphorylchlorid/Phosphorpentachlorid,  $\Delta$ T; abs. Diethylether, **10**, Eiskühlung  $\rightarrow$   $\Delta$ T; Eis

**Abb. 174:** Kurz vor dem gewünschten Endprodukt gescheiterter Syntheserversuch für das dimethoxy-substituierte Derivat der Verbindung **64**

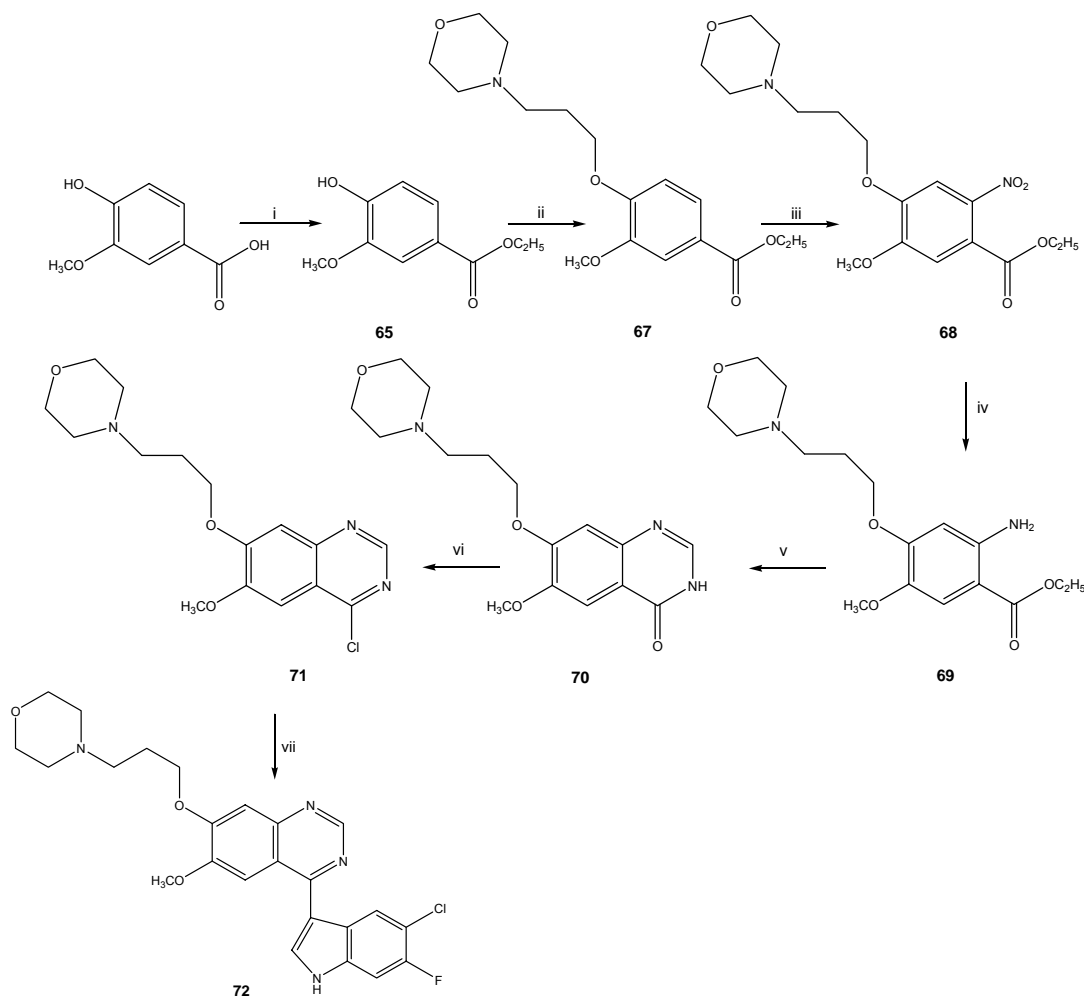
Das Gelingen dieser Reaktion konnte allerdings nicht bestätigt werden.

Daraufhin wurde im letzten Teil dieser Arbeit ein bioisosteres Salicyloyl-Derivat mit Chinazolin-Teilstruktur ohne die Lavendustin-Seitenkette hergestellt, dessen Struktur sich an dem EGFR-TK-Inhibitor Iressa<sup>®</sup> und der von *Lüth* synthetisierten Verbindung **LA 51** orientiert. Durch den Austausch der Positionen der Methoxy- und des Morpholinpropoxy-Restes sollte die Auswirkung auf die EGFR-TK-inhibitorischen und zytotoxischen Wirkungen untersucht werden. Die **Abb. 175** zeigt das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte 4-(Indol-3-yl)chinazolin **72** zusammen mit **LA 51**.



**Abbildung 175:** Die 4-(Indol-3-yl)chinazoline **72** und **LA 51**

Die Synthese der Verbindung **72** wird nach dem abgebildeten Schema durchgeführt (**Abb. 176**).



- i) Ethanol, konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\Delta\text{T}$ ; ii)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 18-Krone-6, Acetonitril, **66**,  $\Delta\text{T}$ ; iii) konz.  $\text{HNO}_3$ , Eiskühlung;  
 iv) Pd/C,  $\Delta\text{T}$ ; v) Formamidinacetat, 2-Methoxyethanol,  $\Delta\text{T}$ ;  
 vi) Phosphorylchlorid, Phosphorpentachlorid,  $\Delta\text{T}$ ;  
 vii) Methylmagnesiumiodid, Diethylether, **10**, Eiskühlung  $\rightarrow \Delta\text{T}$ ; Eis/Wasser

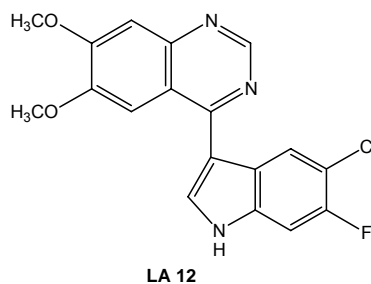
**Abb. 176:** Syntheseweg für die Verbindung **72**

In der folgenden **Tab. 14** sind die Ergebnisse des EGFR-TK-Inhibitionstests von **72** und **LA 51** aufgeführt.

Verbindung	LA 51	72
EGFR-TK-inhibitorische Aktivität in % (c=100 nM)	61	43
HER-2-TK-inhibitorische Aktivität in % (c=100 nM)	19	37

**Tab. 14:** EGFR-Inhibition von **LA 51** und **72**

Hinsichtlich der EGFR-TK-inhibitorischen und HER-2-inhibitorischen Wirkungen sind die Aktivitäten von **72** und **LA 51** in etwa vergleichbar. Von Verbindung **72** wurden außerdem die  $IC_{50}$ -Werte für die EGFR-TK-Inhibition und die HER-2-Inhibition bestimmt und diese sowohl mit **LA 51** als auch mit der Di-methoxy-substituierten Verbindung **LA 12** (**Abb. 177**) verglichen.



**Abb. 177:** Verbindung **LA 12**

Die  $IC_{50}$ -Werte sind in **Tab. 15** aufgeführt.

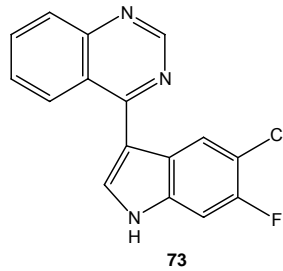
Verbindung	<b>LA 51</b>	<b>72</b>	<b>LA 12</b>
$IC_{50}$ (EGFR-TK)	333 nM	211 nM	209 nM
$IC_{50}$ (HER-2-TK)	Nicht untersucht	717 nM	Nicht untersucht

**Tab. 15:**  $IC_{50}$ -Werte von **LA 51** und **72**

Anhand der ähnlichen Ergebnisse kann die Vermutung angestellt werden, dass es für die EGFR-Hemmung keine Rolle zu spielen scheint, ob sich die Methoxy-Gruppe oder die Morpholinopropoxy-Seitenkette in Position 6 oder 7 des Chinazolins befindet.

Da **LA 12** und **LA 51** außerdem ähnliche zytotoxische Eigenschaften in dem *in-vitro* Test an 60 humanen Zelllinien zeigen, scheint das Vorhandensein der basischen Seitenkette für die EGFR-TK-inhibitorische Aktivität und die Zytotoxizität an den untersuchten Zelllinien nicht essentiell zu sein.

Um die generelle Notwendigkeit der Substituenten zu untersuchen, wurde die am Chinazolin-Teil unsubstituierte Verbindung **73** als Modell konzipiert (**Abb. 178**).



**Abb. 178:** Am Chinazolin-Teil unsubstituierte Verbindung **73**

Die Untersuchung auf EGFR-TK-inhibitorische Aktivität brachte bei einer Konzentration von 0,1  $\mu\text{M}$  ein Ergebnis von -18%, was leider keiner Hemmung sondern vielmehr einer Stimulation der EGFR-Tyrosinkinase entspricht.

Daraus lässt sich ableiten, dass das Vorhandensein von Substituenten in den Positionen 6 und 7 des Chinazolin-Teils für eine inhibitorische Wirkung auf die EGFR-Tyrosinkinase verantwortlich sein könnte. Die Auswirkungen verschiedenartiger Substituenten wurden jedoch nicht weiter untersucht, so dass hier noch ein interessanter Ansatzpunkt für weitergehende Überlegungen gegeben ist.

Aus dieser Arbeit resultieren einige interessante Ansatzpunkte für die Entwicklung potentieller Krebstherapeutika mit Salicyloyl- bzw. bioisosterer Chinazolin-Teilstruktur, deren weitere Untersuchungen, z.B. in einem Tumor Xenograft Modell, und Aufklärung der Wirkmechanismen lohnenswert erscheinen.

## 5.2 English summary

*For figures and schemes, please see **chapter 5.1***

The aim of the doctoral thesis was the development of salicylic and bioisosteric compounds as potential drugs for the therapy for several types of cancer.

The purpose of the first part was the synthesis of salicyloylindoles and clarifying their pharmacological mechanism of action. *Witzel* discovered a very good cytotoxic activity on human MCF-7 cells which were comparable with cisplatin by compound **WS 62**. Using a new method of preparation (Grignard-reagent induced heterylation) instead of the salicyloylindole ring transformation described by *Witzel* it was possible to gain different substituted salicyloylindoles (**3**, **4**, **5** and **SW 62** now as **14**) (**figure 51 and 57**).

This interesting cross-coupling reaction included the connection of salicylchlorides with indolyl-magnesium compounds to give salicyloylindoles.

The results of the test of **3**, **4** and **5** on human MCF-7 cells showed a cytotoxic activity but not as strong as cisplatin (**figure 56**).

To examine an EGFR-TK-inhibition compound **4** was tested representatively. However, it only showed a poor inhibition of 13% at a concentration of 10  $\mu$ M. This result is comparable to **WS 62 (14)** which only shows a poor inhibition (18%) at the same concentration as well.

Therefore, the strong cytotoxicity was not caused by an EGFR-TK-inhibition.

Due to the possibility to formulate the salicyloylindoles as stilbene-derivatives a tubulin-inhibition could be assumed. Yet the result of the test even represented a stimulation of 5% at a concentration of 10  $\mu$ M instead of an estimated inhibition.

Hence, the new synthesis was successful, we obtained new salicyloylindoles by employing a workable method but we could not clarify the mechanism of the strong cytotoxicity yet.

In the second section the active compounds Lavendustin A and its pharmacophore **1** served as leading structures for the design of new EGFR tyrosine kinase inhibitors. Lavendustin A was isolated from *Streptomyces griseolavendus* and discovered as a potent *in-vitro* protein tyrosine kinase inhibitor ( $IC_{50} = 0.010 \mu$ M) as well as its pharmacophore **1** ( $IC_{50} = 0.044 \mu$ M) (**figure 68**).

To create new Lavendustin A-derivatives the structure of the pharmacophore should be modified in a way that the dihydroxybenzylamino-moiety remained and should be combined with a 3-chloro-4-fluoro-aniline. Furthermore, we tried to examine if the substitution pattern 3-,4- or 5-amino side chain has any influence on the EGFR tyrosine kinase inhibitory activity.

The obtained isomeric compounds **21**, **26** and **33** (**figure 73**) showed significant EGFR tyrosine kinase inhibitory activities at a concentration of 0.1  $\mu\text{M}$  whereas the 3-aminosalicylic derivative **33** was the most active one with an EGFR-TK-inhibition of 54%.

In addition the three isomeres have been submitted to the NCI for evaluation of their anticancer activity. They maintained high antiproliferative activity with  $\text{GI}_{50}$ -values of  $10^{-5}$  and  $10^{-6}$  respectively in all cell lines. E.g. the growth of the cell lines CCRF-CEM, RPMI-8226 (both leukemia), HOP-92 (NSCLC), HCT-15 (colon), HS 578T, BT-549 (both breast), were even inhibited by **26** at a concentration of  $10^{-7}$  or  $10^{-8}$  M. The 4-aminosalicylic-derivative **26** showed the highest cytotoxicity however the 5-aminosalicylic derivative **21** was selected for an *in-vivo* hollow fiber assay and afterwards for a special EGFR + hollow fiber assay. Unfortunately, **21** was completely inactive in these tests (**table 8**).

Using the same synthesis by applying 2,5-dimethoxybenzaldehyde instead of 2,5-dihydroxybenzaldehyde the two methoxy-derivatives **34** and **35** were designed to examine a tubulin inhibition (**figure 82**). But it was only possible to get the methoxy-derivative of the 5-aminosalicylic acid **35** which showed a EGFR-TK-inhibition of 34% at a concentration of 0.1  $\mu\text{M}$  but no cytotoxic activity on three human cell lines in a primary screen. The result of the tubulin-test was a stimulation of 1% instead of an inhibition.

According to Gefitinib (Iressa<sup>®</sup>) and Erlotinib (Tarceva<sup>®</sup>) the ring-open salicylic moiety was inserted into the bioisosteric quinazoline part in the third part of this thesis.

A 4-(indole-3-yl)quinazoline (**64**) was designed which was substituted with the 2,5-dihydroxybenzylamino-moiety of the Lavendustin pharmacophore in the position 6 of the quinazoline part (**figure 98** and **99**). This side chain should be necessary for an EGFR-TK-inhibition. The inhibition of the EGFR tyrosine kinase should be supported by a change of the aniline into an indole so a potent inhibitor of the EGFR tyrosine kinase was estimated.

In spite of several trials, the desired compound **64** could not be gained.

In the last section the replacement of the methoxy and morpholinopropoxy moiety of the quinazoline part in respect of the EGFR-TK-inhibition was examined (**figure 135**). The structure of the designed compound **72** derived from the potent EGFR-TK-inhibitor and cytotoxic compound **LA 51** and Iressa<sup>®</sup>. In addition, the results of the EGFR-TK-inhibition-test were compared to the dimethoxy-derivative **LA 12**. Notably, the three compounds showed similar results thus it should not be necessary if the methoxy and the morpholinopropoxy moiety is substituted in the position 6 or 7 of the quinazoline part. Furthermore, **LA 12** and **LA 51** showed comparable cytotoxic activities so that it was not clear if the existence of the side chain is essential for the EGFR-TK-inhibition and the cytotoxicity on the selected cell lines.

Thereupon we designed another 4-(indole-3-yl)quinazoline without a substituent of the quinazoline part (**73**) (**figure 157**).

However, **73** did not show any inhibition of the EGFR-tyrosine kinase but a stimulation of 18% at a concentration of 0.1  $\mu\text{M}$

These studies lead to the assumption that the substituents in position 6 and 7 are necessary for an EGFR-TK-inhibition. But it could be interesting to examine the effects of different moieties concerning EGFR-TK inhibition and cytotoxicity.