

Ulrich Kratz

**Synthese und biologische Evaluierung von
4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenonen und
O-9-substituierten 4,5-Dichloranthracenen als
potentielle Antipsoriatika**

2001

Pharmazeutische Chemie

**Synthese und biologische Evaluierung von
4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenonen und
O-9-substituierten 4,5-Dichloranthracenen als
potentielle Antipsoriatika**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften im Fachbereich Chemie und Pharmazie
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Ulrich Kratz
aus Werl (Westf.)

2001

Dekan:

Prof. Dr. W. Lange

Erster Gutachter:

Prof. Dr. K. Müller

Zweiter Gutachter:

Prof. Dr. M. Lehr

Tag der mündlichen Prüfung:

Tag der Promotion:

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

A	Einleitung	1
1	Psoriasis vulgaris	1
2	Therapie der Psoriasis.....	7
2.1	Allgemeines.....	7
2.2	Adjuvante Antipsoriatika	8
2.3	Basistherapeutika.....	12
3	Dithranol als Basistherapeutikum	14
4	9(10<i>H</i>)-Anthracenone.....	19
4.1	Natürliches Vorkommen	19
4.2	Biologische Wirkungen.....	21
4.3	Therapeutische Anwendung.....	22
5	Problemstellung und Ziel der Arbeit.....	22
B	Präparativer Teil	24
1	10-Alkyl-4,5-dichlor-9(10<i>H</i>)-anthracenone	24
1.1	Einführung und Zielverbindungen	24
1.2	4,5-Dichlor-9(10 <i>H</i>)-anthracenon als Ausgangssubstanz.....	24
1.3	4,5-Dichlor-10-phenyl-9(10 <i>H</i>)-anthracenone	31
1.3.1	10-Brom-4,5-dichlor-9(10 <i>H</i>)-anthracenon als Ausgangssubstanz zur Darstellung von 4,5-Dichlor-10-phenyl-9(10 <i>H</i>)-anthracenonen.....	31
1.3.2	Darstellung der 4,5-Dichlor-10-phenyl-9(10 <i>H</i>)-anthracenone.....	31
1.4	Methoden zur weiteren Alkylierung von Anthracenonen	33
1.4.1	Phasentransferkatalyse	34
1.5	10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10 <i>H</i>)-anthracenone.....	36
1.5.1	Darstellung der Alkylierungsmittel.....	36

1.5.2	Benzylierungen nach der Phasentransfermethode.....	37
1.5.3	4,5-Dichlor-10-hydroxybenzyl-9(10 <i>H</i>)-anthracenone	41
1.5.3.1	Versuche zur Darstellung der Hydroxybenzyl-derivate aus den entsprechenden Methoxyderivaten mittels Etherspaltung.....	42
1.5.3.2	Darstellung von 4,5-Dichlor-10-hydroxybenzyl-9(10 <i>H</i>)-anthracenonen durch hydrogenolytische Etherspaltung entsprechender Benzyloxybenzyl-derivate.....	43
1.6	Versuch der Darstellung von 4,5-Dichlor-10-phenylethyl- und phenylpropyl-9(10 <i>H</i>)-anthracenonen mittels der Phasentransferkatalyse.....	44
2	9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracene	48
3	9-Acoyl-4,5-dichloranthracene	48
4	Versuche zur Herstellung des 10-Benzyliden-4,5dichlor-9(10<i>H</i>)- anthracenons	52
5	Darstellung des 4,5,4',5'-Tetrachlor-9(10<i>H</i>),9'(10'<i>H</i>)-dianthracenons...	53

C Biochemischer Teil..... 54

1	Bestimmung der Redoxeigenschaften von neuen 4,5-Dichlor-9(10<i>H</i>)- anthracenonen und O-9-substituierten 4,5-Dichloranthracenen im Vergleich zu bekannten antipsoriatisch wirksamen Anthracenonen.....	54
1.1	Allgemeines.....	54
1.2	Bestimmung der reduzierenden Aktivität gegenüber dem stabilen Radikal 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl.....	56
1.2.1	Einführung.....	56
1.2.2	Testsystem	59
1.2.3	Bisherige Untersuchungen	60
1.2.4	Ergebnisse zur Reaktivität der 4,5-Dichlor-9(10 <i>H</i>)-Anthracenone und ausgewählter Vergleichssubstanzen gegenüber DPPH	64

1.2.5	Ergebnisse zur Reaktivität der 9-Acoyl- und 9-Alkyloxy-4,5-dichlor-anthracene gegenüber DPPH.....	67
1.2.6	Diskussion	68
2	Hemmung der Keratinozytenproliferation	71
2.1	Einführung.....	71
2.2	Testsystem	73
2.3	Bestimmung der IC ₅₀ -Werte.....	77
2.4	Bisherige Untersuchungen	78
2.5	Ergebnisse der 4,5-Dichlor-9(10 <i>H</i>)-anthracenone	83
2.6	Ergebnisse der 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene.....	85
2.7	Ergebnisse der 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracene.....	86
2.8	Diskussion	87
3	Hemmung der Proliferation von HL-60-Zellen.....	90
3.1	Einführung.....	90
3.2	Testsystem.....	92
3.3	Bestimmung der IC ₅₀ -Werte.....	92
3.4	Bisherige Untersuchungen	93
3.5	Ergebnisse der 4,5-Dichlor-9(10 <i>H</i>)-anthracenone und O-9-substituierten 4,5-Dichloranthracene.....	95
3.6	Diskussion	98
4	Untersuchung auf Zytotoxizität.....	100
4.1	Allgemeines.....	100
4.2	Testsystem.....	101
4.3	Bisherige Untersuchungen	102
4.3.1	Untersuchungen zur Zytotoxizität von Dithranol	102
4.3.2	Untersuchungen zur Zytotoxizität von Dithranolderivaten.....	103
4.4	Zytotoxizitätsuntersuchungen an HaCaT-Zellen	104
4.4.1	Untersuchungen zur Zytotoxizität von 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10 <i>H</i>)- anthracenonen und 9-Acoyl-4,5-dichloranthracenen	104
4.5	Zytotoxizitätsuntersuchungen an HL-60-Zellen	107
4.6	Diskussion.....	108

5	Untersuchungen zu der Stabilität antiproliferativ wirksamer 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene.....	111
5.1	Einführung und Fragestellung.....	111
5.2	Stabilität des 4,5-Dichlor-9(10 <i>H</i>)-anthracenons	112
5.3	HPLC-analytische Untersuchung der Stabilität von 9-Acoyl-4,5-dichloranthracenen	116
5.4	Diskussion	119
D	Zusammenfassung.....	121
E	Experimenteller Teil	124
1	Allgemeine Angaben.....	124
1.1	Synthese.....	124
1.2	Biochemische Tests	126
2	Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)	128
3	Synthesevorschriften und analytische Daten	130
3.1	Darstellung der 4,5-Dichlor-10-phenyl-9(10 <i>H</i>)-anthracenone.....	130
3.2	Darstellung der 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10 <i>H</i>)-anthracenone	135
3.3	Darstellung der 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracene.....	171
3.4	Darstellung der 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene	176
3.5	Darstellung des 4,5,4',5'-Tetrachlor-9(10 <i>H</i>),9'(10' <i>H</i>)- dianthrons	185
4	Bestimmung der reduzierenden Aktivität gegenüber dem stabilen Radikal 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl	186
4.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien.....	186
4.2	Vergleichssubstanzen	186
4.3	Herstellung der Stammlösung der Testsubstanzen.....	187
4.4	Beschicken der Gewebekulturplatte	188

4.5	Ermittlung der IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen	189
5	Keratinocytenproliferationstest	191
5.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien	191
5.2	Vergleichssubstanzen	192
5.3	Herstellung der Stammlösung der Testsubstanzen.....	192
5.4	Herstellung der HaCaT-Zellsuspension	193
5.5	Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen im 48-h-Test	193
5.6	Auszählen der Versuchsansätze	195
5.7	Ermittlung der IC ₅₀ -Werte der Testverbindungen.....	195
6	HL-60-Proliferationstest.....	197
6.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien.....	197
6.2	Vergleichssubstanzen.....	198
6.3	Herstellung der Untersuchungslösungen der Testsubstanzen.....	199
6.4	Herstellung der HL-60-Suspension.....	199
6.5	Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen im 48h-Test-.....	200
6.6	Auszählen der Versuchsansätze.....	201
6.7	Ermittlung der IC ₅₀ -Werte der Testsubstanzen.....	201
7	Lactatdehydrogenase-Test zur Bestimmung der Zytotoxizität.....	202
7.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien.....	202
7.2	Herstellung der LDH-Lösungen.....	202
7.3	Herstellung der Stammlösungen von Dithranol und der Testsubstanzen....	203
7.3.1	Testung an HaCaT-Zellen.....	203
7.3.2	Testung an HL-60-Zellen.....	203
7.4	Durchführung.....	204
7.4.1	4 h Test	204
7.4.2	Bestimmung der Gesamt-LDH-Aktivität	204
7.4.3	24 h Test zur Untersuchung der Stabilität des Enzyms in der HL-60-Zellsuspension	205
7.4.4	UV-Messung	205
7.5	Auswertung durch Aufstellung einer Kalibriergeraden	205

8	Untersuchungen zur Stabilität von 9-Acoyl-4,5-dichloranthracenen....	207
8.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien.....	207
8.2	Vergleichssubstanzen	207
8.3	Stabilität in DMSO	208
8.4	Stabilität in DMEM und in HaCaT-Zellsuspension unter Inkubationsbedingungen.....	209
8.5	HPLC-Analyse der Proben	209
F	Literaturverzeichnis.....	211
G	Formelübersicht	230

Abkürzungsverzeichnis

A	Absorption
AAV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
absol.	absolut
Ber.	Elementaranalyse: berechnete Molekularmassenanteile [%]
d	Dublett
dd	Doppeltes Dublett
ΔT	Siedehitze
dc	dünnschichtchromatographisch
DMEM	Dulbecco`s Modified Eagle Medium
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
DPPH ₂	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazin
ε	molarer Extinktionskoeffizient
E	Extinktion
E ₀	Redoxpotential
EGF	Epithelcell Growth Factor
eV	Elektronenvolt
FCS	Fetal calf serum
FT-IR	Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie
Gef.	Gefunden
h	Stunde
HaCaT	Human keratinocytes adult skin Calcium reduced Temperature elevated
5-HETE	5S-Hydroxy-6,8,11,14-(E,Z,Z,Z)-eicosatetraensäure
12-HETE	12S-Hydroxy-5,8,10,14-(Z,Z,E,Z)-eicosatetraensäure bzw.

	12 <i>R</i> -Hydroxy-5,8,10,14-(<i>Z,Z,E,Z</i>)-eicosatetraensäure
HL-60	Human Leukemic Promyelocytic Cells
HO [•]	Hydroxylradikal
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
<i>J</i>	Kopplungskonstante
<i>k</i>	Geschwindigkeitsreaktionskonstante
LDH	Lactat-Dehydrogenase
Lit.	Literatur
LTB ₄	Leukotrien B ₄
<i>m</i>	Multipllett
<i>M</i>	Mol
<i>M</i> ⁺	Molekülion
MeOH	Methanol
MHz	Megahertz
MG	Molgewicht
min	Minute
mL	Milliliter
MS	Massenspektrum
mU	Milliunits
<i>m/z</i>	Verhältnis von Masse [<i>u</i>] zu Ladung [<i>e</i>]
μg	Microgramm
μL	Microliter
μM	Micromol
NAD	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NDGA	Nordihydroguaiaretsäure
nm	Nanometer
NMR	Kernresonanzspektrum
O ₂ ^{•-}	Superoxid-Radikal-Anion
¹ O ₂	Singulett-Sauerstoff
³ O ₂	Triplet-Sauerstoff

org.	organisch
PBS	Phosphate-Buffered-Saline
PG-E ₂	Prostaglandin-E ₂
ppm	Parts per million
q	Quartett
RNA	Ribonucleinsäure
RP	Reversed Phase
RPMI	Rosewell Park Memorial Institute
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
s	Sekunde
SA	Standardabweichung
sc	säulenchromatographisch
Smp.	Schmelzpunkt
S _N 1	Monomolekulare Substitutionsreaktion
S _N 2	Bimolekulare Substitutionsreaktion
t	Triplett
t	Zeit
Tab.	Tabelle
TEBAC	Triethylbenzylammoniumchlorid
TGF- α	Tumor Growth Factor- α
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
UV	Ultraviolett
V	Volt
X ⁻	Halogenid

A Einleitung

1. Psoriasis vulgaris

Die Psoriasis oder Schuppenflechte ist eine chronische Erkrankung der Haut, welche seit dem Altertum bekannt ist und zu jener Zeit als Krätze, Räude, Aussatz oder *Lepra graecorum*¹ bezeichnet wurde. Jedoch wurde die Krankheit erst zu Beginn des 19. Jahrhunderts von dem englischen Wissenschaftler *Willan*² eingehend beschrieben und im Jahre 1841 durch *Hebra* endgültig von anderen Hauterkrankungen, wie *Lepra*, einer durch *Mycobacterium leprae* verursachten Infektionskrankheit² differenziert.

Heute ist die Erscheinung im allgemeinen unter der Bezeichnung Schuppenflechte oder Psoriasis bekannt, wobei Psoriasis vulgaris die häufigste klinische Erscheinungsform ist. Der Begriff Psoriasis leitet sich aus dem griechischen *psora* = „Krätze; ich kratze“ ab.

Nach US-amerikanischen Studien zählt die Schuppenflechte neben Akne vulgaris, Warzen und Kontaktdermatitis zu den zehn häufigsten Hauterkrankungen in den Vereinigten Staaten³. In Europa liegt die Morbidität bei 2-3 %, was einer Gesamtzahl von ca. 5 Millionen Patienten entspricht⁴. Damit ist die Erkrankung in ihrer Häufigkeit mit Diabetes mellitus gleichzusetzen. Es ist davon auszugehen, daß pro Jahr allein in Europa 150 000 – 200 000 Neuerkrankungen hinzukommen. Die Patienten leiden unter einem quälenden Juckreiz und zum Teil stark entzündeter Haut. Obwohl es sich bei der Psoriasis um keine ansteckende Erkrankung handelt, kann die Entstellung des Erscheinungsbildes des Patienten zu starken psychischen und sozialen Belastungen, bedingt durch Isolation und Vereinsamung, führen.

Pathologie, Leidensdruck und nicht zuletzt die damit verbundenen Kosten für das Gesundheitssystem von 3.2 Milliarden U. S. Dollar in den Vereinigten Staaten (entspricht ca. 3 000 – 14 000 DM pro Patient)⁵ bieten ausreichende Ansatzpunkte, sich eingehend mit der Behandlung dieser Krankheit zu beschäftigen.

Bei der Psoriasis vulgaris handelt es sich um eine chronische, rezidivierende, hyperproliferative und inflammatorische Hauterkrankung. Befallene Hautareale treten durch gerötete, rundliche und eng begrenzte Veränderungen hervor, welche durch silbrig weiße Schuppen bedeckt sind. Besonders gehäuft treten diese an Knien, Ellenbogen, Rücken (*Abb. A1*) und am behaarten Kopf auf.

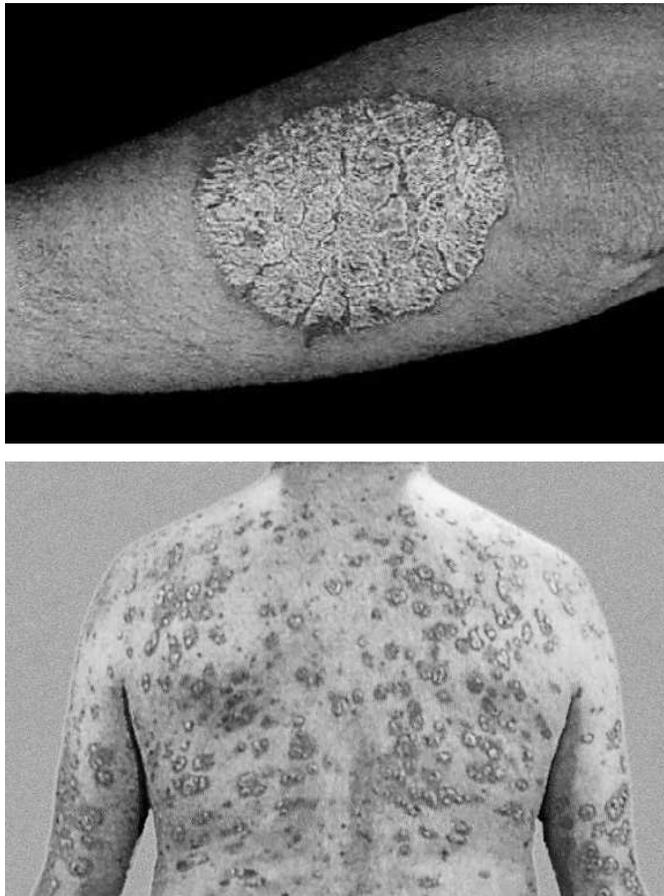


Abb. A1 : Psoriasis vulgaris⁶

Diese Schuppen lassen sich in Form von ganzen Platten abheben. Die Entfernung führt zu punktförmigen Blutungen aus arrodiierten Kapillaren, welche als Auspitz-Zeichen oder auch als „blutiger Tau“ bezeichnet werden. Sie ermöglichen die diagnostische Differenzierung von anderen schuppenden Dermatosen⁷.

Eine lokale mechanische Beanspruchung der Haut, insbesondere durch Kratzen, führt nicht etwa zum Abklingen des Juckreizes oder Rückgang der psoriatischen Herde, sondern bedingt im Gegenteil die Bildung neuer Effloreszenzen (Köbner-Phänomen, *Abb. A2*).



Abb. A2 : Köbner-Phänomen⁶

Bei einem Teil der Patienten (30-50 %) können Nagelveränderungen wie Tüpfelnägel und sogenannte Ölflecken beobachtet werden.

Die Erkrankung kann sich grundsätzlich in allen Altersstufen manifestieren. Vor allem aber zwischen dem 16. und 20. Lebensjahr (Psoriatiker Typ I), sowie zwischen der 5. und 6. Lebensdekade (Psoriatiker Typ II)^{8,9}. Während die Schuppenflechte nicht geschlechtsspezifisch ist und Frauen und Männer gleichermaßen befällt, zeigen sich aber deutliche rassenspezifische Unterschiede.

Menschen mit roter Hautfarbe, wie Eskimos oder Indianer, sind fast nie betroffen. Negroide und Angehörige der gelben Rasse erkranken nur sehr selten. Hingegen tritt die Psoriasis mit einem Anteil von bis zu 6 % bei Menschen mit weißer Hautfarbe am häufigsten auf^{2,10}.

Die Erscheinungsformen der Erkrankung sind sehr vielfältig. So wird zwischen kleinfleckigen Varianten wie Psoriasis follicularis, Psoriasis punctata oder Psoriasis guttata und den großflächigen Formen Psoriasis nummularis, Psoriasis anularis und Psoriasis geographica unterschieden. Schwere Verlaufsformen wie die psoriatische Erythrodermie oder die Knochen und Gelenke befallende Psoriasis arthropathica treten mit einer Inzidenz von 7 – 10 % aller Psoriasispatienten seltener auf⁹.

Typisch für den psoriatischen Formenkreis ist das schubweise Auftreten der Symptome unterbrochen durch beschwerdefreie Intervalle.

Die Ätiologie der Schuppenflechte konnte bisher nicht vollständig geklärt werden. In epidemiologischen Studien konnte eine auffällige familiäre Häufung beobachtet werden. Ist ein Elternteil erkrankt, liegt die Prävalenz bei den Kindern bei ca. 16 % und steigt auf 60-70 %, wenn auch der zweite Elternteil betroffen ist⁸. Auch die überdurchschnittlich hohe Zahl von bestimmten HLA-Antigenen (HLA Cw 6, B 13, Bw 57, DR 7)⁹ lassen auf eine genetische Disposition schließen^{2,11}, wobei nicht die Erkrankung selbst, sondern nur die Bereitschaft zur Erkrankung genetisch terminiert ist. So kann diese über Jahre latent, symptomfrei verlaufen. Auslösende Faktoren für eine klinische Manifestation der Krankheit können sowohl exogener als auch endogener Natur sein. Zu diesen zählen Streß, Allergien, Verletzungen, Verbrennungen, Infektionen, hormonelle Veränderungen sowie Nikotin- und Alkoholgenuß. Zudem kann auch die Einnahme verschiedener Arzneimittel zum Ausbruch der Erkrankung führen. Beobachtet wurde dies insbesondere bei ACE-Hemmern, Lithium, Chloroquin, nichtsteroidalen Antirheumatika/Antiphlogistika und Betablockern^{8,10,12,13}.

Die Pathogenese der Schuppenflechte läßt sich grundsätzlich auf hyperproliferative und inflammatorische Vorgänge zurückführen¹⁴.

Hyperproliferative Komponente: Die Keratinozyten werden im Stratum basale der Epidermis gebildet und nach einer Transitzeit von 24-28 Tagen im Stratum corneum abgestoßen (*Abb. A3*). Dieser Zeitraum ist während eines psoriatischen Schubes auf 4-5 Tage verkürzt. Des weiteren verkürzt sich der Zellzyklus von 19 auf 1-2 Tage¹⁵. Als

Folge von erhöhter Mitoserate und mangelnder Zellausdifferenzierung (Parakeratose) der Keratinozyten kommt es zu einer Verdickung der Epidermis (Hyperkeratose), sowie zu einer extremen Schuppung der Haut^{10,16}. Auch steht die Hyperproliferation mit einer erhöhten Nukleinsäuresynthese und gesteigerten Enzymaktivität innerhalb der Zellen in Zusammenhang¹⁷.

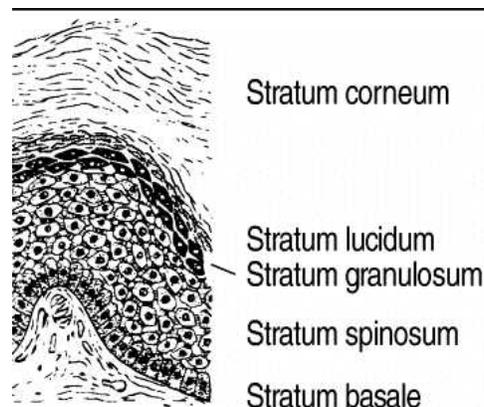


Abb. A3: Aufbau der Epidermis⁶

Inflammatorische Komponente: Erhöhte Nukleinsäuresynthese und Enzymaktivität, insbesondere der Phospholipase A_2 , bewirken einen Anstieg der intrazellulären Konzentration von Arachidonsäure und deren Metaboliten Leukotrien B_4 (LTB_4) und 12-Hydroxyeicostetraensäure (12-HETE)¹⁷⁻²⁰. Diese Lipoxygenaseprodukte locken durch ihre chemotaktischen Eigenschaften neutrophile Granulozyten, Makrophagen, Mastzellen, Leukozyten und Lymphozyten an und tragen somit entscheidend zur entzündlichen Reaktion der betroffenen Hautareale bei²⁰⁻²². Neben ihrer Funktion als starke Entzündungsmediatoren sind sie auch potente Stimulatoren der Keratinozytenproliferation. Die Extravasation der Granulozyten und deren Invasion in psoriatische Herde wird zudem durch die vermehrte Bildung von Adhäsionsmolekülen^{23,24} an der Endotheloberfläche der versorgenden Blutgefäße begünstigt¹². Aus Leukozyten freigesetzte Sauerstoffradikale sowie eine Vielzahl

anderer Zytokine (IL-2, IL-8, INF- γ) sind ebenfalls an der Unterhaltung der entzündlichen Prozesse beteiligt²⁵.

Neben der hyperproliferativen und der inflammatorischen Komponente werden auch *autoimmunologische* Mechanismen als Motor eines akuten Schubes angenommen, da Autoantikörper gegen das Stratum corneum nachgewiesen wurden²⁰.

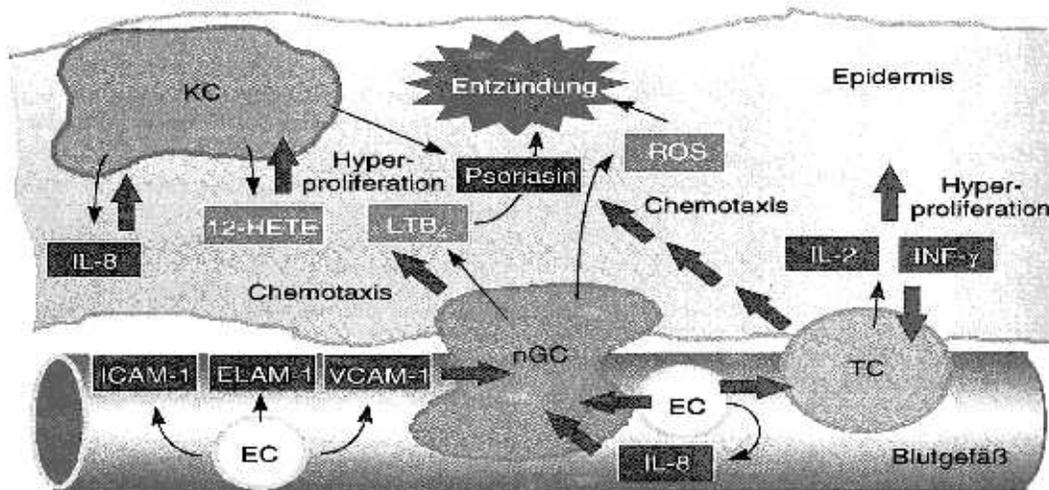


Abb. A4: Modell zur Pathogenese der Psoriasis nach Müller²⁶. EC: Endothelzelle; ELAM-1: Endothelzell-Leukozyten-Adhäsionsmolekül-1; 12-HETE: 12-Hydroxyeicosatetraensäure; INF- γ : Interferon- γ ; IL-2: Interleukin-2; IL-8: Interleukin-8; ICAM-1: interzelluläres Adhäsionsmolekül-1; KC: Keratinozyt; LTB₄: Leukotrien B₄; nGC: neutrophiler Granulozyt; ROS: reaktive Sauerstoffspezies; TC: T-Lymphozyt; VCAM-1: Gefäßzell-Adhäsionsmolekül-1.

2. Therapie der Psoriasis vulgaris

2.1 Allgemeines

Aufgrund der unklaren Ätiologie und der Vielschichtigkeit der beteiligten Stoffwechselprozesse ist eine Kausaltherapie der Schuppenflechte und somit die vollständige Heilung bis heute nicht möglich. Die Behandlung beschränkt sich daher auf die Linderung und Unterdrückung der Symptome, um den Patienten eine möglichst lange beschwerdefreie Zeit zu ermöglichen bzw. die Schwere von akuten Schüben einzudämmen⁷. Zur Zeit stehen zur palliativen Behandlung drei Therapieformen zur Verfügung.

Eine rein *physikalische Behandlung* basiert auf Bestrahlung der betroffenen Hautareale mit UV-Licht²⁷ oder auf Wannen- bzw. Meerbädern.

Oft wird die Bestrahlung auch in *Kombination* mit Teerpräparaten (Göckermann-Therapie) oder Dithranolzubereitungen (Ingram-Methode)¹⁰ eingesetzt.

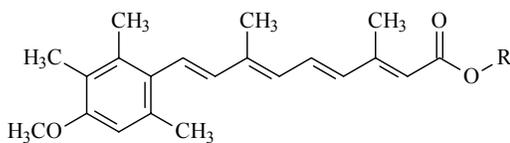
Im Vordergrund der symptomatischen Therapie steht die *topische und systemische Applikation* verschiedener Wirkstoffe, welche in Basistherapeutika und adjuvante Antipsoriatika eingeteilt werden¹⁰.

Als ein Basistherapeutikum wird ein Stoff verstanden, dessen monotherapeutische Anwendung bei über 75 % der Patienten eine starke Verbesserung bis hin zur vollständigen Remission der Symptomatik führt. Adjuvantien sollen die Wirksamkeit der Basistherapeutika verbessern und den Verlauf der Erkrankung lindern.

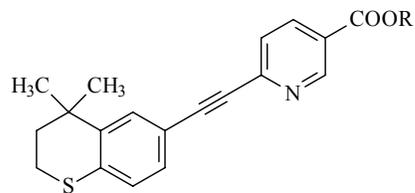
2.2 Adjuvante Antipsoriatika

Vitamin-A-Derivate (Retinoide). Die Behandlung mit den wichtigsten Vertretern dieser Substanzklasse, Etreinat und dessen aktiven Metaboliten Acitretin (*Abb. A5*), erfolgt systemisch. Die Gabe führt zu verstärkter Zelldifferenzierung und Proliferationshemmung²⁸ sowie zur Ablösung der Schuppen (Desquamation). Retinoide greifen modulierend in immunologische Prozesse ein, hemmen die Chemotaxis und wirken somit antiinflammatorisch. Jedoch ist ihre Teratogenität als Risiko für eine Therapie keinesfalls außer Acht zu lassen.

Neuere Wirkstoffe dieser Gruppe sind polyaromatische Retinoide, die sogenannten Arotinoide²⁹⁻³¹, welche topisch appliziert werden. Zu diesen zählt mit Tazaroten ein Prodrug, das im Organismus zur biologisch wirksamen Tazarotensäure metabolisiert wird (*Abb. A5*). Häufig erfolgt eine Kombination mit UV-B-Bestrahlung³² oder mit Glucocorticoiden³³. Weitere Arotinoide befinden sich zur Zeit in der klinischen Prüfung.



Acitretin R = H
 Etreinat R = C₂H₅



Tazarotensäure R = H
 Tazaroten R = C₂H₅

Abb. A5: Retinoide als adjuvante Antipsoriatika

Vitamin-D₃-Derivate. Als erstes Vitamin D₃-Analogon wurde Calcipotriol zur Therapie der Psoriasis eingesetzt³⁴ und später durch Tacalcitol ergänzt (Abb. A6). Die topische Applikation beider Derivate führt zu einer Hemmung der epidermalen Hyperproliferation sowie zu einer Förderung der normalen Differenzierung der Keratinozyten³⁵. Außerdem wirken sie immunmodulatorisch und haben gegenüber anderen Vitamin-D₃-Derivaten einen geringeren Einfluß auf die Calciumregulation (Calciumhomöostase) und somit ein vermindertes Nebenwirkungsrisiko³⁶.

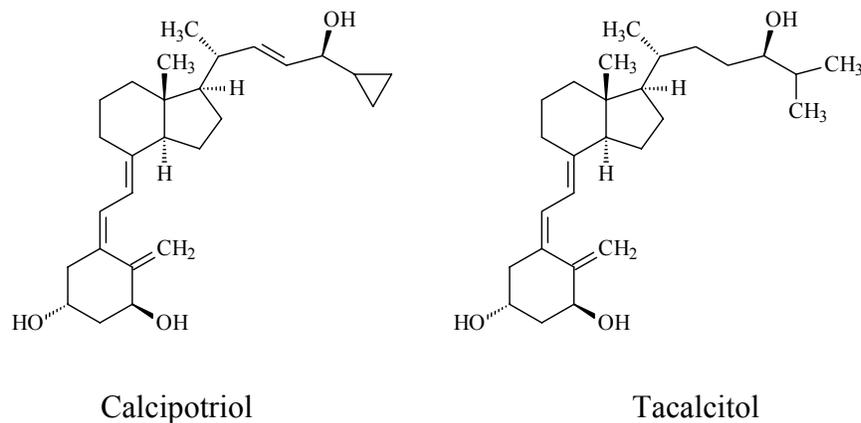


Abb. A6: Vitamin D₃-Derivate als adjuvante Psoriasistherapeutika

Glucocorticoide. Glucocorticoide wie Hydrocortisonacetat oder Triamcinolonacetamid (Abb. A7) können an intrazelluläre Rezeptoren binden, wodurch Transkriptionvorgänge und Genexpression beeinflusst werden. Vor allem die Biosynthese von proinflammatorischen Glykoproteinen, wie IL-1, IL-6 und IL-8, wird durch die Interaktion der Corticoide mit zelleigenen Rezeptoren gehemmt³⁷. Darüber hinaus wird eine inhibierende Wirkung auf den Wachstumsfaktor TGF- α ³⁷ und den Transkriptionsfaktor NF- κ B³⁸ diskutiert. Auch dürfte der Eingriff in die Arachidonsäurekaskade durch die Inhibition der Phospholipase A₂ als Teil des Wirkmechanismus betrachtet werden²². Die Applikation der Glucocorticoide erfolgt

topisch. Vereinzelt wurde das prompte Auftreten schwerer Rezidive und eine Verschlimmerung der Erkrankung nach Absetzen der Corticosteroide beobachtet¹⁰.

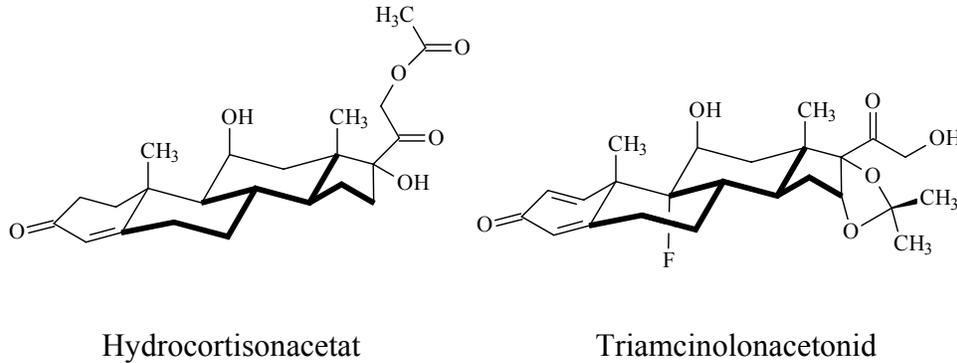


Abb. A7: Glucocorticoide als Antipsoriatika

Immunsuppressiva. Als systemisch verabreichtes Immunsuppressivum zur Psoriasis-therapie ist vor allem Cyclosporin A zu erwähnen. Hierbei handelt es sich um ein cyclisches Oligopeptid, welches strukturelle Ähnlichkeit mit den Polypeptid-Antibiotika besitzt (Abb. A8). Es wurde erstmals 1970 als Stoffwechselprodukt der Pilze *Tolypocladium inflatum* und *Cylindrocarpon lucidum* isoliert.

Seine immunsuppressive Wirkung beruht auf der Bildung eines Adduktes mit einem Immunglobulin, das letztlich nach einer komplexen Reaktionsfolge die Synthese von Interleukin-2 hemmt³⁹. Somit wird ein wichtiges Zytokin für die Aktivierung immunkompetenter Zellen wie T- und B-Zellen dem immunologischen Geschehen entzogen. Cyclosporin A interferiert nur mit solchen Lymphozyten, die im Begriff sind, auf einen antigenen Stimulus zu reagieren. Da es bei einer Langzeittherapie mit Cyclosporin A zu Nierenfunktionsstörungen kommen kann, müssen Nutzen und Risiko sehr sorgfältig gegeneinander abgewogen werden.

Eine Therapie mit hochpotenten Immunsuppressiva ist deshalb auch nur bei schweren Verlaufsformen wie der Psoriasis-Arthritis indiziert.

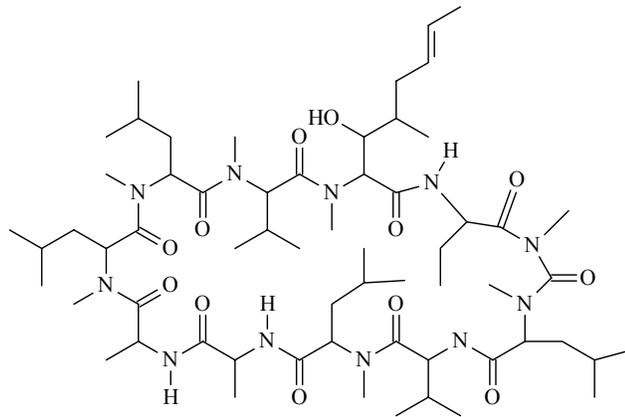


Abb. A8: Struktur von Cyclosporin A

2.3 Basistherapeutika

Zu den Basistherapeutika zählen neben Dithranol (s.u.) 9-Methoxypsoralen und Methotrexat (*Abb. A9*).

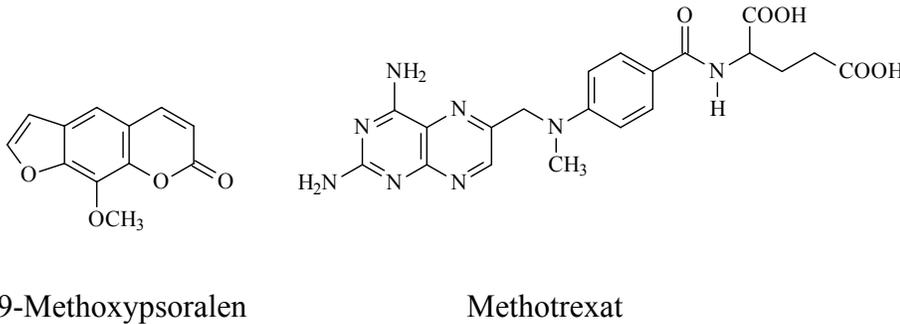


Abb. A9: Basistherapeutika zur Behandlung der Psoriasis

9-Methoxypsoralen ist ein Furocoumarin, welches aus Pflanzen wie *Ammi majus* und *Ruta graveolens* oder synthetisch gewonnen werden kann. Es hat photosensibilisierende Eigenschaften und wird sowohl systemisch als auch lokal verabreicht. Mehrere Stunden nach der Applikation wird der Patient für einen kurzen Zeitraum mit UV-A-Licht (360 nm) bestrahlt (*Psoralen plus UV-A=PUVA*-Therapie). *9-Methoxypsoralen* reagiert hierbei über eine Photocycloaddition mit der DNA-Base Thymin und behindert hierdurch die Zellreplikation.

Methotrexat wird systemisch als kompetitiver Hemmstoff der Dihydrofolatreduktase eingesetzt. Die so unterdrückte Synthese der Tetrahydrofolsäure führt zu einer stark verminderten DNA- und RNA-Bildung und dadurch zur Inhibition der überschießenden Zellproliferation. Durch eine Kombination mit Cyclosporin A läßt sich eine Senkung der Methotrexatdosierung erreichen.

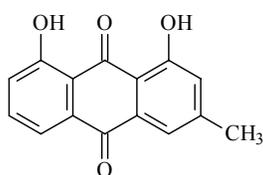
Bei beiden Basistherapeutika liegt ein beträchtlich hohes Nebenwirkungsrisiko vor. Aufgrund ihrer Beeinflussung der DNA/RNA-Synthese besitzen diese mutagenes und cancerogenes Potenzial und kommen daher nur bei den schwersten Erscheinungsformen der Psoriasis zum Einsatz.

Präparat		Applikation	Wirkprinzip
Basis- therapeutika	Dithranol	topisch	komplex, Eingriff in verschiedene Stoffwechselfvorgänge
	Methotrexat	systemisch	zytostatisch durch Hemmung der Dihydrofolatreduktase
	PUVA	systemisch/ topisch	Eingriff in Replikationsmechanismen
adjuvante Anti- psoriatika	Retinoide	systemisch	verstärkte Zelldifferenzierung und Proliferationshemmung
	Glucocorticoide	topisch	komplex, Eingriff in verschiedene Stoffwechselfvorgänge
	Vitamin-D-Analoga	topisch	Proliferationshemmung, Förderung der Differenzierung
	Cyclosporin A	systemisch	Unterdrückung immunologischer Prozesse

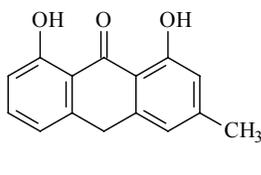
Tab. A1: Systemische und topische Psoriasisstherapie

3. Dithranol als Basistherapeutikum

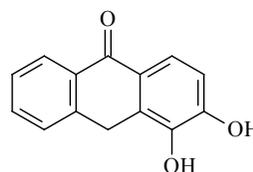
Im Jahre 1876 berichtete *Squire*⁴⁰ erstmals über die antipsoriatische Wirkung eines Extraktes aus Goa-Pulver (Goa: Teil des früheren Portugiesisch-Indien). Dieses Pulver wurde aus den Markhöhlen des in Brasilien beheimateten Fabaceenbaumes *Andira araroba* gewonnen. Nur zwei Jahre später gelang es *Liebermann* und *Seidler* das Chrysarobin als antipsoriatische Wirkkomponente zu identifizieren. Anfänglich hatte man der Chrysophansäure die Wirkung zugeschrieben⁴¹. Wiederum war es *Liebermann*, der das Chrysarobin durch das besser verträgliche Anthrarobin in der Psoriasisstherapie ersetzte⁴²(*Abb. A10*).



Chrysophansäure



Chrysarobin



Anthrarobin

Abb. A10: Inhaltsstoffe des Goa-Pulvers und Anthrarobin

Durch den ersten Weltkrieg wurde der Handel zwischen Brasilien und dem Deutschen Reich erschwert, so daß verstärkt nach Ersatzstoffen für das immer schwerer zu beschaffende Goa-Pulver gesucht wurde. Federführend war hier die Firma Bayer, für die im Jahre 1916 *Unna*^{43,44} und *Galewsky*⁴⁵ schließlich die Synthese des Dithranols gelang (*Abb. A11*).

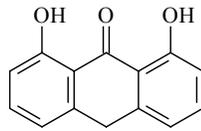


Abb. A11: Dithranol (1,8-Dihydroxy-9(10*H*)-anthracenon, Anthralin, Cignolin[®])

In der Folgezeit wurden zwar weitere substituierte Anthrone, wie das 1-Hydroxy-9-anthron, hergestellt, diese zeigten jedoch entweder eine geringere antipsoriatische Wirksamkeit oder größere Nebenwirkungen^{43,46}. Somit gilt Dithranol auch noch nach über 80 Jahren als eines der bedeutendsten Psoriasismedikamente.

Die Substanz wird ausschließlich topisch appliziert. Hierzu werden meist Vaseline-Dithranol-Zubereitungen mit Konzentrationen von 0.01 bis 1 % benutzt. Der Wirkstoff kann aufgrund seiner hohen Lipophilie und der zerstörten Barrierefunktion in den psoriatischen Hautarealen gut penetrieren. Oft wird er in Handelspräparaten mit Stoffen wie Harnstoff (Psoradexan[®]) und Salicylsäure (Psoralen[®]) kombiniert, um die Entschuppung zu fördern. Die Verweildauer auf der Haut kann bis zu 24 Stunden betragen. Um die Patienten-Compliance bei Anwendung außerhalb der Klinik auf einem hohen Niveau zu halten, werden oft Salben mit einem höheren Wirkstoffgehalt von bis zu 4 % über maximal 60 Minuten appliziert⁴⁷.

Eine geringe Akzeptanz der Therapie mit Dithranol wird bei den Patienten oftmals durch die störende Braunfärbung der Haut, der Kleidung und der Badewannen durch das sogenannte Dithranolbraun verursacht. Während diese Verfärbung lediglich wirtschaftlich eine Rolle spielen mag und sie unbedenklich für die Behandlung ist, so sind Nebenwirkungen wie Hautrötungen und schmerzhafte Hautentzündungen therapeutisch relevant⁴⁸.

Trotz der jahrzehntelangen Erfahrung mit Anthralin in der Therapie der Schuppenflechte ist dessen Wirkmechanismus als Antipsoriaticum noch nicht vollständig geklärt. Im Wesentlichen werden folgende Eingriffe in zelluläre Stoffwechselforgänge als Ursache für die Wirkung diskutiert:

1. Hemmung der DNA-Synthese durch Beeinflussung der DNA-Replikation und DNA-Reparaturmechanismen⁴⁹⁻⁵³
2. Eingriff in enzymatische Stoffwechselprozesse:
 - ⇒ Hemmung der Calmodulin-Aktivität⁵⁴
 - ⇒ Hemmung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase^{55,56}
 - ⇒ Hemmung der Ornithin-Decarboxylase⁵⁷
 - ⇒ Hemmung der 5- und 12-Lipoxygenase durch Eingriff in den Arachidonsäurestoffwechsel⁵⁷⁻⁵⁹
3. Eingriff in die Signaltransduktions-Kaskade
 - ⇒ Hemmung der Proteinkinase C⁶⁰
 - ⇒ Hemmung der Calmodulin-Aktivität⁵⁴
 - ⇒ mögliche Hemmung der Protein-Tyrosin-Kinase-Aktivität⁶¹
4. Hemmung der zellulären Atmung durch Beeinflussung der Mitochondrienfunktion^{62,63}

Während die antipsoriatische Potenz von Dithranol unbestritten bleibt, so stehen dieser jedoch die oben genannten Nebenwirkungen Verfärbung und Hautreizung bzw. – entzündung gegenüber. Dithranol ist im allgemeinen eine sehr instabile Substanz⁶⁴, die schnell unter Licht- und Luftsauerstoffeinwirkung zu Chrysazin oxidiert und für die Verfärbung verantwortliche Polymere, wie das Bianthron (Dithranolbraun), bildet (*Abb. A12*).

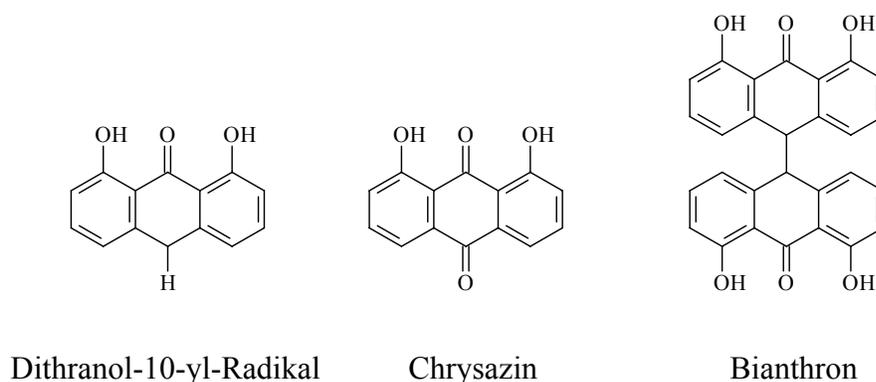


Abb. A12: Oxidationsprodukte des Dithranols

Verantwortlich für Haupt- und Nebenwirkungen sind vor allem reaktive Sauerstoffspezies⁶⁵, die unter physiologischen Bedingungen aus dem Dithranolabbau hervorgehen. Im Organismus erfolgt zuerst die Deprotonierung von Dithranol an der C-10-Position unter Basenbeteiligung. Das so gebildete Dithranol-Anion überträgt ein Elektron auf Tripletsauerstoff ($^3\text{O}_2$) wodurch es zum Dithranol-10-yl-Radikal oxidiert wird. Der Tripletsauerstoff reagiert über intermediär gebildetes Superoxid-Radikal-Anion⁶⁶⁻⁶⁹ ($\text{O}_2^{\bullet-}$) und Wasserstoffperoxid^{44,70} zum Hydroxylradikal⁷¹ (HO^{\bullet}). Das Dithranolanion wird unter Lichteinwirkung zu Chrysazin oxidiert, wobei aus dem Tripletsauerstoff energiereicher Singuletsauerstoff^{72,73} ($^1\text{O}_2$) entsteht. Das Dithranol-10-yl-Radikal dimerisiert zum Bianthron.

Superoxid-Radikal-Anion, Hydroxyl-Radikal und Singuletsauerstoff führen dann sowohl zur antipsoriatischen, als auch zur proinflammatorischen Wirkung des Dithranols (*Abb. A13*).

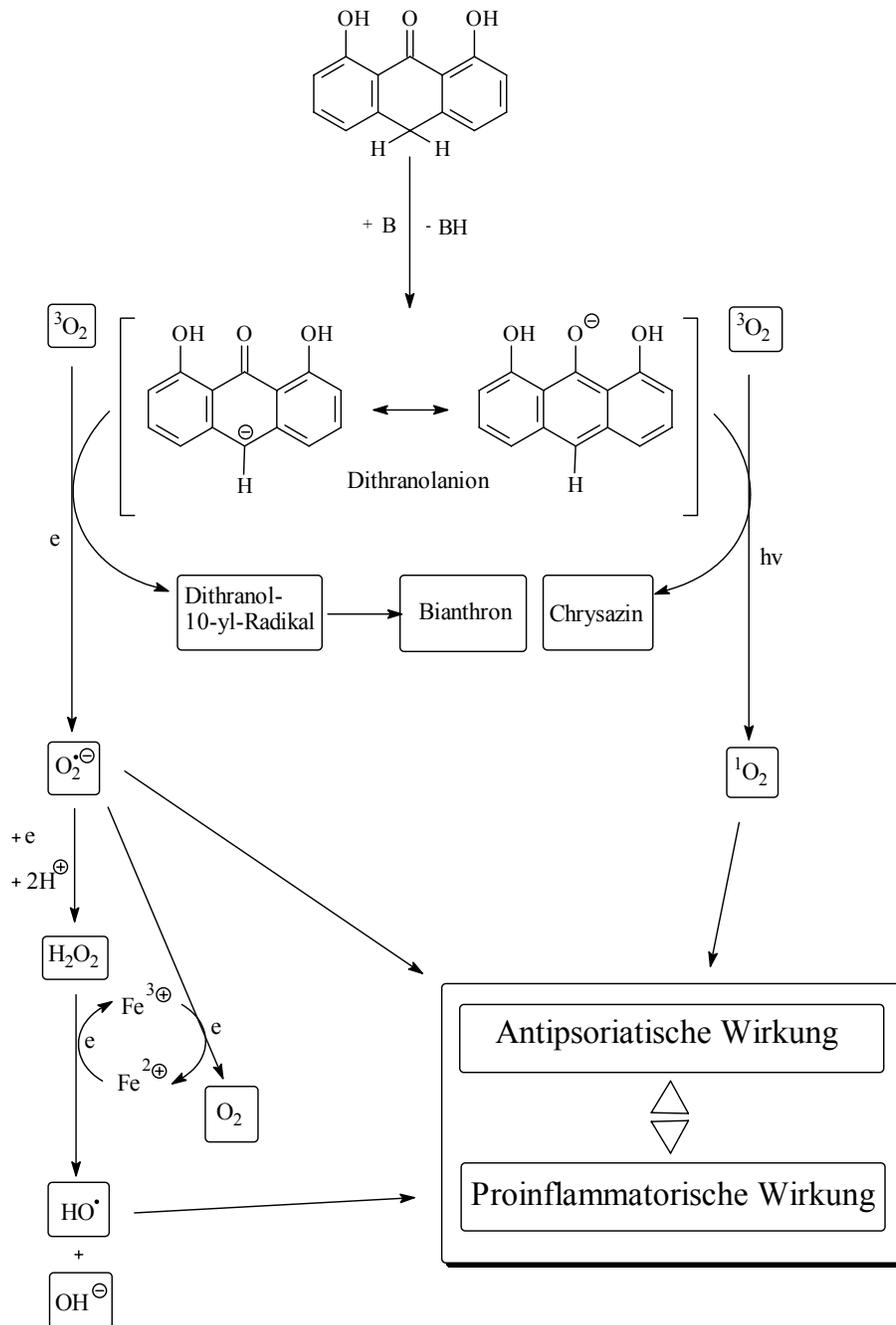


Abb. A13: Sauerstoffaktivierung durch Dithranol

4. 9(10H)-Anthracenone

4.1 Natürliches Vorkommen

Das natürliche Vorkommen von 9(10H)-Anthracenonen ist untrennbar mit dem Vorkommen weiterer sogenannter Anthranoide verknüpft. Nach einem Vorschlag von *Marini-Bettólo* (1978) werden alle Naturstoffe mit dem Anthracengrundgerüst als Anthranoide bezeichnet⁷⁴. Diese lassen sich mit Anthronen, Bianthronen, 10-Glucosylanthronen und Anthrachinonen sowie deren jeweiligen O-Glykosiden in insgesamt 8 Typen unterteilen. Ein weiterer Begriff, der seit 1858 (nach *The Shorter Oxford Dictionary*) in Zusammenhang mit Anthranoiden gebraucht wird, ist Emodin, unter dem man heute die Aglyka der natürlich vorkommenden Anthrone und Anthrachinone versteht. So werden auch die Drogen, in denen jene Inhaltsstoffe zu finden sind als Emodindrogen bezeichnet. Zu diesen zählen im wesentlichen Rhabarber, Aloe, Faulbaumrinde, Sennesblatt und Senneschote^{75,76}.

Freie Anthracenone kommen relativ selten vor. Ein Beispiel bietet die unter **A3** schon erwähnte Baumart *Andira araroba*, welche das Chrysarobin liefert. In der Regel liegen sie aber mit Zuckern O- oder C-glykosidisch verbunden, d.h. als Glucosid oder Glykosid vor. Wobei als Zuckerpartner D-Glucose, L-Rhamnose, Apiose oder Xylose fungieren kann.

Des Weiteren können die Anthrone zu Bianthronen dimerisieren oder zu den entsprechenden Anthrachinonen oxidiert werden. Biosynthetisch sind die Emodine Kondensationsprodukte aus acht Acetatbausteinen, wodurch sich die Methylgruppe an Position 3 des Grundgerüsts erklären lässt. Diese liegt oft in höheren Oxidationsstufen, wie z.B. als Hydroxymethyl (Aloeemodinanthron) oder als Carboxyl (Rheinanthron) vor⁷⁵.

Abb. A14 gibt einen Überblick über die möglichen biogenetischen Beziehungen zwischen den verschiedenen Oxidationsstufen und Glykosidierungsmustern der natürlich vorkommenden Anthranoide.

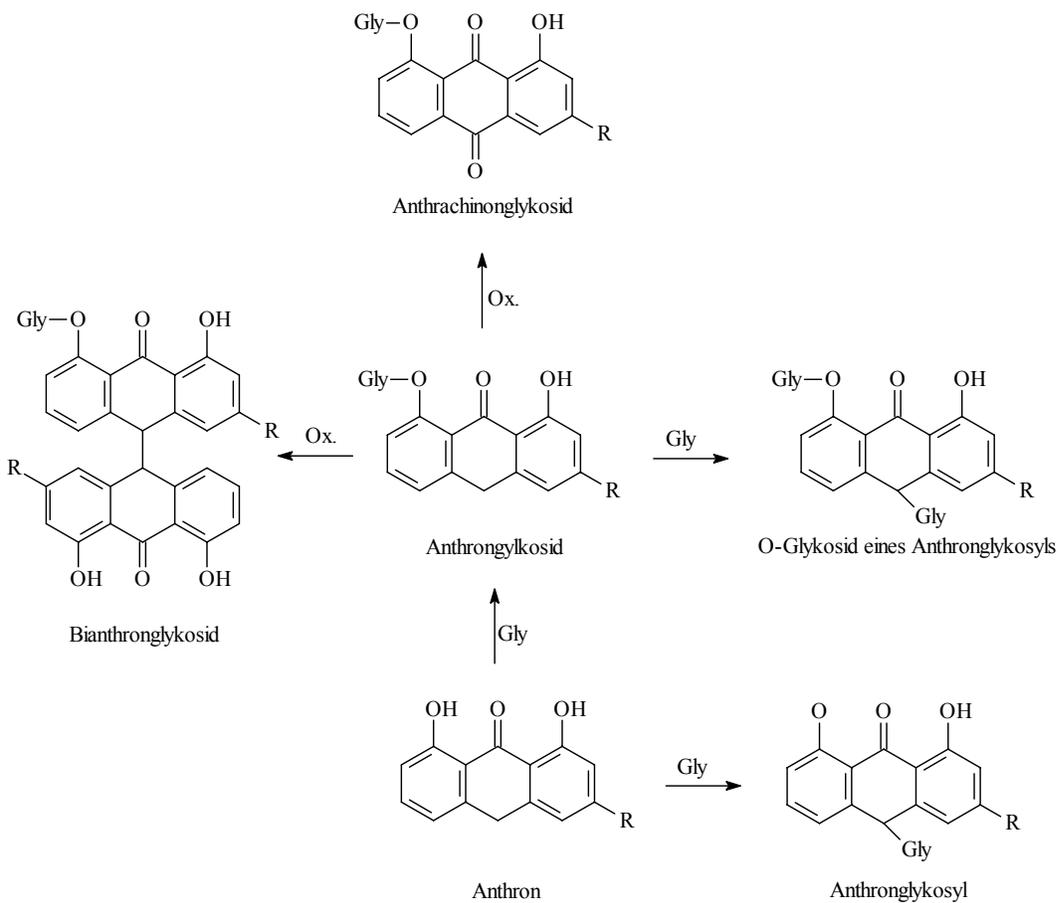


Abb. A14: Mögliche biogenetische Beziehungen zwischen den verschiedenen Oxidationsstufen und Glykosidierungsmustern der natürlich vorkommenden Anthranoide. (Gly=Übertragung von Glykosylresten, Ox.=Oxidation)⁷⁵

Als ein weiteres natürliches Anthron kann das Naphthodianthronderivat Hypericin angesehen werden, welches aus den getrockneten Zweigspitzen von *Hypericum perforatum* gewonnen wird (Abb. A15).

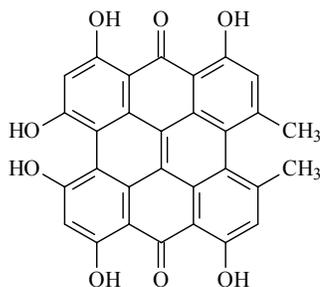


Abb. A15: Hypericin als polycyclisches Anthron

Dithranol und das in der vorliegenden Arbeit als Ausgangssubstanz verwendete 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenon kommen nicht in der Natur vor und werden synthetisch gewonnen.

4.2 Biologische Wirkungen

Die biologischen Wirkungen von Dithranol sind bereits unter **A3** beschrieben worden. Unter den Anthranoiden wird den Anthronderivaten eine laxierende Wirkung zugeschrieben, während es sich bei den Anthrachinon- und Dianthronglykosiden lediglich um Transportformen handelt. Nach Hydrolyse durch bakterielle Enzyme zu Emodinen und Sacchariden im Darmlumen hemmen die Anthrone die Na^+/K^+ -ATPase der Dickdarm-Epithelzellen, wodurch die Resorption von Natrium-Ionen und Wasser vermindert wird (antiresorptive Wirkung). Des weiteren kommt es zu einer gesteigerten intestinalen PGE_2 -Synthese und somit zu einer erhöhten Sekretion von Ionen und Wasser in das Darmlumen (hydragoge Wirkung)⁷⁶.

Als weiteren biologischen Effekt postulierten *Barnard et al.* eine antivirale Potenz von Emodin-Anthron und anderer Anthranoide gegenüber dem Zytomegalievirus (HCMV)⁷⁷. Ebenso wird Hypericin neben seines stimmungsaufhellenden Effektes eine antivirale Aktivität zugeschrieben⁷⁸.

4.3. Therapeutische Anwendung

Das 1,8-Dihydroxy-9(10*H*)-anthracenon wird wie unter **A3** beschrieben als Basistherapeutikum bei Psoriasis vulgaris eingesetzt. Die Anthranoide finden Anwendung als Laxantien bei akuter Obstipation oder zur Reinigung des Darmes vor radiologischen, endoskopischen oder chirurgischen Eingriffen. Hypericin wird in Form von verschiedenen Johanniskrautpräparaten bei psychovegetativen Störungen eingesetzt. Trotz der nachgewiesenen antiviralen Wirkung ist bis heute kein Anthron als Virustatikum im Handel.

Somit kommen 9(10*H*)-Anthracenone lediglich zur Therapie der Schuppenflechte und als Abführmittel zum Einsatz, nehmen aber hier eine herausragende Stellung ein.

5. Problemstellung und Ziel der Arbeit

Dithranol ist auch heute noch eine der wichtigsten Substanzen in der Therapie der Psoriasis vulgaris. Jedoch besitzt es neben seiner hohen antiproliferativen Potenz unangenehme Nebenwirkungen, wie Verfärbung der Haut und Kleidung sowie Reizung bzw. Entzündung gesunder Hautareale. Daher wurden bisher zahlreiche Versuche unternommen, durch Abwandlung der Struktur insbesondere an der kritischen C-10-Position Derivate des Dithranols mit verbesserter Nutzen/Risiko-Relation bereit zustellen. Darüber hinaus fand *Gawlik*⁷⁹ mit dem 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenon (**1**) eine antiproliferativ wirksame Substanz, welche nicht mehr eine von *Krebs* und *Schaltegger*⁴⁶ als essentiell für die Wirkung von antipsoriatischen Anthronen postulierten 1-Hydroxygruppe besitzt.

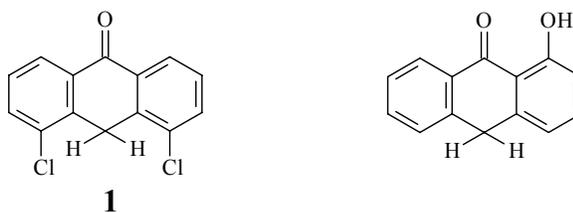


Abb. A16: 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenon und die von *Krebs* und *Schaltegger* postulierte antipsoriatisch wirksame Minimalstruktur.

In früheren Arbeiten konnte gezeigt werden, daß die Alkylierung oder Acylierung der für die Wirkung und Nebenwirkungen kritischen Methylengruppe nicht zwangsläufig zum Wirkverlust führt. So war das Ziel unserer Arbeit, die Verbindung **1** als wachstumshemmende und stabile Ausgangssubstanz für die Herstellung neuer, antiproliferativ wirksamer Anthracenone in Position 10 zu derivatisieren. Dies sollte in Anlehnung an entsprechende wirksame Dithranolderivate geschehen. So sollten verschiedene Alkyl- und Acyl-, sowie Benzylidenderivate des 4,5-Dichloranthrons synthetisiert und in Hinblick auf folgende biochemische Parameter untersucht werden:

- ⇒ Pro- und antioxidative Eigenschaften, sowie Radikalbildungstendenz im DPPH-Test
- ⇒ Antiproliferatives Potential an der Keratinozyten-Zelllinie HaCaT
- ⇒ Antiproliferatives Potential an der Tumorzelllinie HL-60
- ⇒ Zytotoxizität an beiden Zelllinien

Die Ergebnisse sollten mit denen von ausgewählten Dithranolderivaten und anderen Referenzsubstanzen verglichen werden.

B Präparativer Teil

1. 10-Alkyl-4,5-dichlor-9(10H)-anthracenone

1.1 Einführung und Zielverbindungen

Das 4,5-Dichlor-9(10H)-anthracenon erwies sich in den Arbeiten von *Gawlik* als guter Hemmstoff der Keratinozytenproliferation⁷⁹. Daher beabsichtigten wir, in Anlehnung an die von *Müller et al.* synthetisierten Dithranolverbindungen^{80,81}, 10-Alkylderivate unseres Ausgangsmoleküls herzustellen, um die Wirksamkeit gegenüber der HaCaT-Zelllinie zu verbessern und die Reaktivität der für Redoxprozesse kritischen C-10-Position zu vermindern. Als Substituenten sollten Phenylalkylgruppen mit verschiedenen Kettenlängen und unterschiedlichem Substitutionsmuster eingeführt werden.

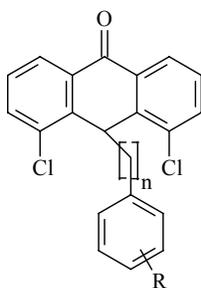


Abb. B1: $n = 0-3$, $R = \text{H}, \text{Cl}, \text{CF}_3, \text{CH}_3, \text{OCH}_3, \text{NO}_2, \text{OH}, \text{OBn}$

1.2 4,5-Dichlor-9(10H)-anthracenon als Ausgangssubstanz

Als Ausgangssubstanz für unsere Arbeiten diene das 4,5-Dichlor-9(10H)-anthracenon (**1**). Dieses ist schnell und in guten Ausbeuten durch selektive Reduktion des 1,8-Dichloranthrachinons zugänglich. *Prinz et al.* beschreiben zwei Methoden zur

Reduktion des Anthrachinons: Methode A führt durch Umsetzung mit Zinn(II)-chlorid in Salzsäure/Essigsäure zum 1,8-Dichloranthron, Methode B unter Einwirkung von Natriumdithionit in einem DMF/Wasser-Gemisch ausschließlich zum 4,5-Dichloranthron⁸² und war in unseren Arbeiten Methode der Wahl.(Abb. B2)

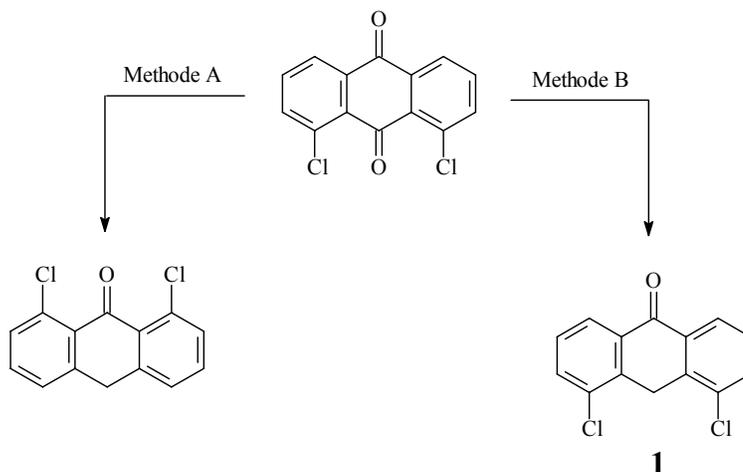


Abb. B2: Methoden zur selektiven Reduktion des 1,8-Dichloranthrachinons

Methode A: SnCl_2 , HCl, Eisessig, 118 °C

Methode B: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, DMF/ H_2O , 90 °C, N_2

Als Reaktionsmechanismus postuliert *Prinz* in Anlehnung an *de Vries* eine intermediäre Bildung des 9,10-Dihydro-9,10-dihydroxyanthracens, aus welchem durch Dehydratation das 9-Hydroxyanthracen und schließlich das Anthron gebildet wird. (Abb. B3).

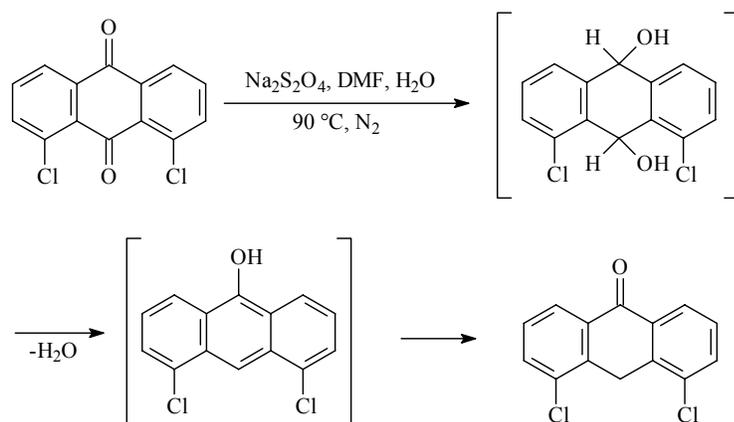


Abb. B3: Reaktionsmechanismus der Reduktion des 1,8-Dichloranthrachinons zum 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenon nach *Prinz*⁸² und *de Vries*⁸³

Das Molekül zeigt sich im kristallinen Zustand als stabil. In polaren, aprotischen Lösungsmitteln wie DMSO liegt es vorwiegend in der Anthracenolform vor und ist unter Raumtemperatur und Lichteinwirkung in diesen instabil (siehe **C5**). Im apolaren CHCl_3 verschiebt sich das Tautomerengleichgewicht fast ausschließlich zugunsten der Anthronform.

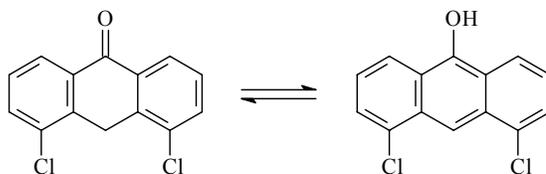


Abb. B4: Keto-Enol-Tautomerie von **1**

Die folgenden Abbildungen zeigen UV- und ^1H -NMR-Spektren des 4,5-Dichloranthrons und des unsubstituierten Anthrons in CHCl_3 und DMSO.

Im UV-Spektrum der Verbindung **1** sind nicht die für Anthracene charakteristischen Absorptionsbanden zwischen 350 und 400 nm vorhanden. Des weiteren zeigt das ^1H -NMR-Spektrum ein Singulett bei 4.2 ppm, welches für zwei Protonen einer Methylengruppe integriert. Die Substanz liegt in Chloroform somit in der Anthracenonform vor.

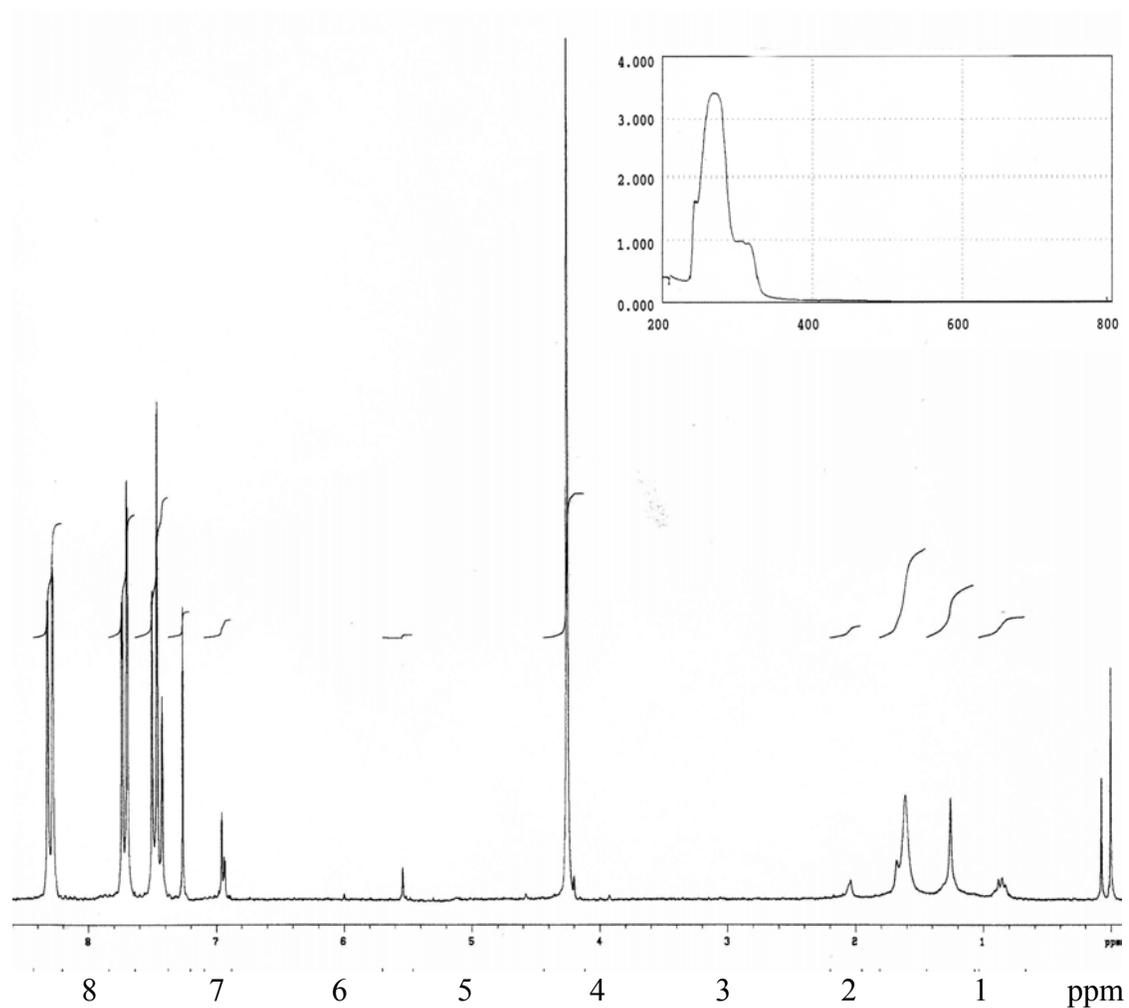


Abb. B5: UV-Spektrum und ^1H -NMR-Spektrum von **1** in Chloroform

Zum Vergleich dienen die Spektren des unsubstituierten Anthrons in Chloroform, welche die gleichen Charakteristika aufweisen.

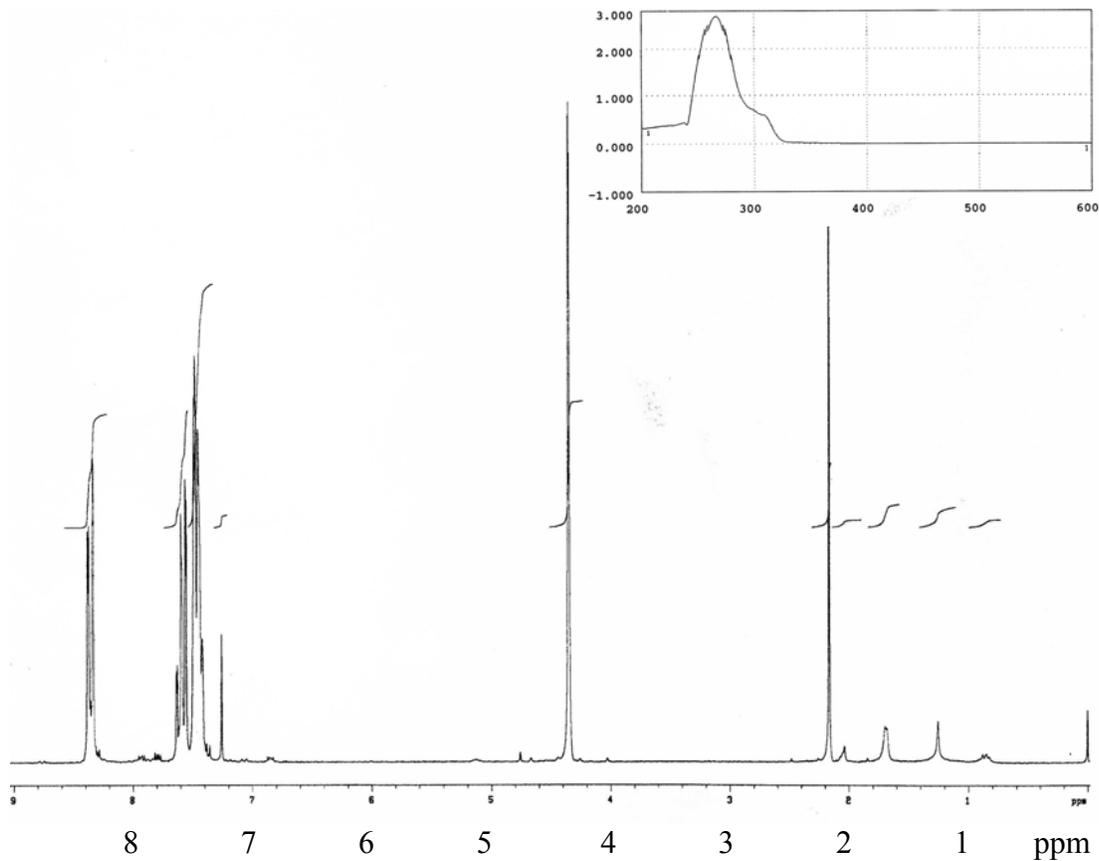


Abb. B6: UV-Spektrum und $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des unsubstituierten Anthrons in Chloroform

Hingegen sind im UV-Spektrum von **1** in Dimethylsulfoxid deutlich die Absorptionsbanden des Anthracengerüsts (Maxima bei 350 nm, 370 nm, 380 nm, 403 nm und 425 nm) zu erkennen. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum ist das Signal für die Methylengruppe fast vollkommen verschwunden, dafür erscheint bei 11 ppm der Peak einer aromatischen Hydroxygruppe auf. Unsere Ausgangsverbindung liegt in DMSO daher in der Anthracenolform vor.

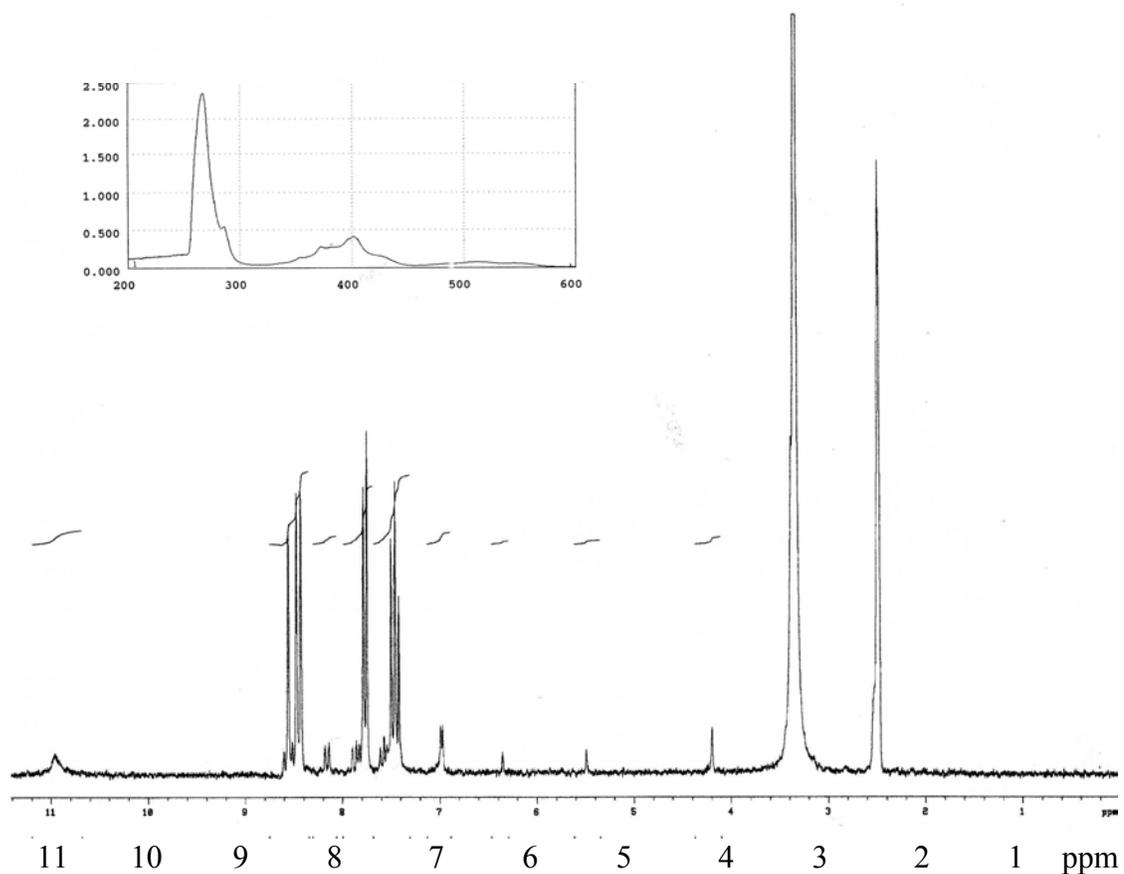


Abb. B7: UV-Spektrum und $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **1** in Dimethylsulfoxid

Zum Vergleich dienen auch hier die in Dimethylsulfoxid aufgenommenen Spektren des unsubstituierten Anthrons. Im UV-Spektrum sind ebenfalls die charakteristischen Absorptionsbanden des Anthracengerüsts zu erkennen (Maxima bei 350 nm, 362 nm, 384 nm und 410 nm).

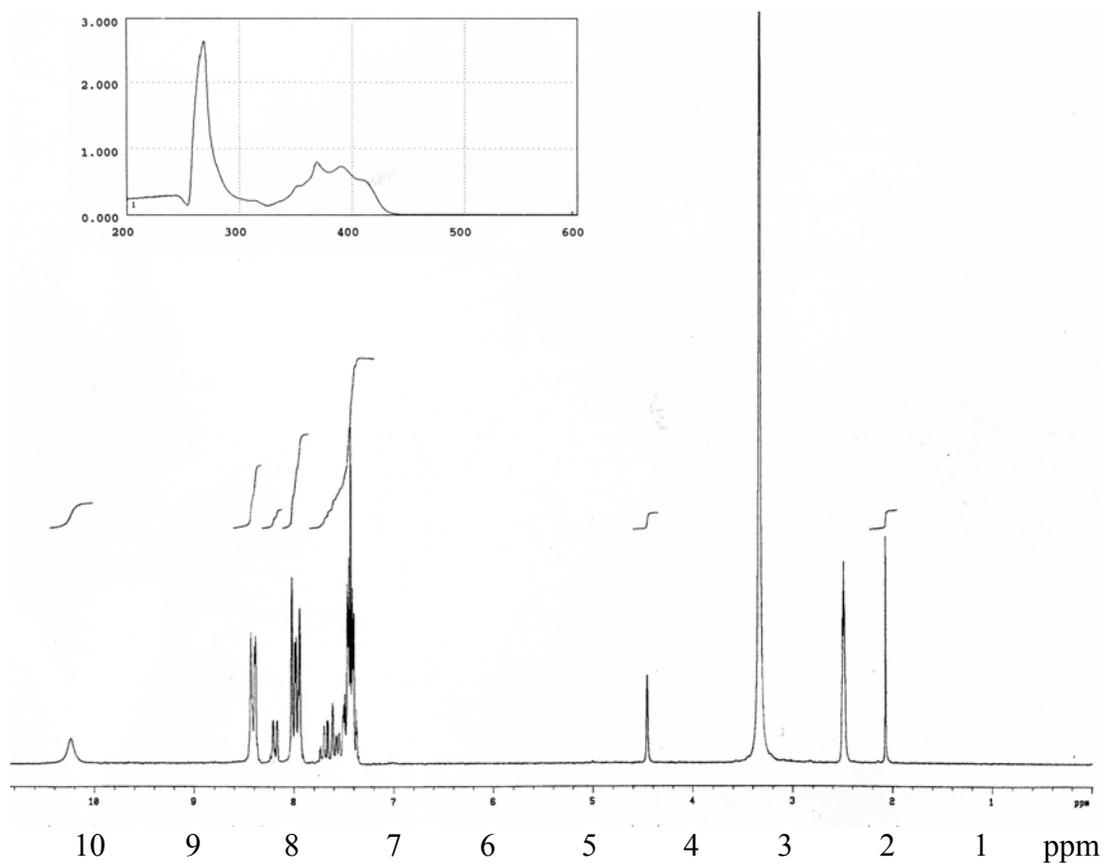


Abb. B8: UV-Spektrum und ¹H-NMR-Spektrum des unsubstituierten Anthrons in Dimethylsulfoxid

Die Carbonylfunktion in Position 9 bedingt CH-Acidität der Methylengruppe in Position 10 und macht diese somit empfänglich für nucleophile Substitutionsreaktionen.

1.3 4,5-Dichlor-10-phenyl-9(10*H*)-anthracenone

1.3.1 10-Brom-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenon als Ausgangssubstanz zur Darstellung von 4,5-Dichlor-10-phenyl-9(10*H*)-anthracenonen

Die Synthese der 10-Phenylanthrone ging vom 10-Brom-4,5-dichloranthron (**2**) aus. Dieses wurde von *Barnett* bereits in den 30er Jahren durch Suspension von **1** in Schwefelkohlenstoff und Zugabe von Br₂ hergestellt⁸⁴. Auch wir machten uns dieses Verfahren zu Nutze, nachdem Versuche, **1** mittels N-Bromsuccinimid zu bromieren, fehlschlagen.

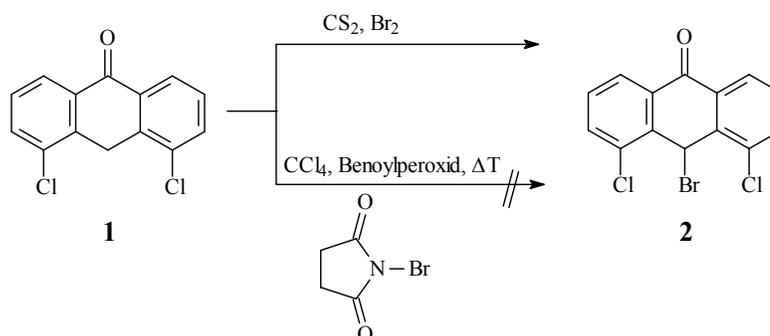


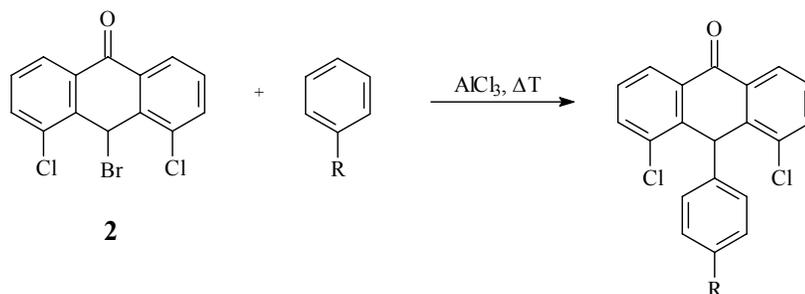
Abb. B9: Synthese von **2**

1.3.2 Darstellung der 4,5-Dichlor-10-phenyl-9(10*H*)-anthracenone

In den Arbeiten von *Müller* und *Breu*^{80,81} ist die Synthese und biochemische Testung von Phenylalkylderivaten des Dithranols beschrieben. Es handelt sich hierbei um

Substanzen, die zwischen dem Kohlenstoff 10 des Anthrongerüsts und dem terminierenden Phenylring des Substituenten ein bis vier CH₂-Spacer besitzen. Ein Dithranolderivat, bei dem der Phenylring direkt mit C-10 verbunden ist, ist jedoch bisher nicht hergestellt und getestet worden. Daher war es für uns von Interesse, welche Auswirkungen eine solche Veränderung der Struktur auf die Wirksamkeit von **1** hat.

Die Synthese der 10-Phenylanthrone erfolgte nach dem Prinzip einer Friedel-Crafts-Alkylierung. Hierzu wurde das 10-Bromanthron **2** in Benzol, Toluol oder Anisol in Gegenwart von AlCl₃ als Katalysator suspendiert und erhitzt⁸⁴.



Verb.	R
3	H
4	CH ₃
5	OCH ₃

Tab. B1: Darstellung der 4,5-Dichlor-10-phenyl-9(10*H*)-anthracenone

1.4 Methoden zur weiteren Alkylierung von Anthracenonen

Aufgrund der Carbonylfunktion in Position 9 besitzen Anthrone eine CH-acide Methylengruppe in Position 10, welche durch das Einwirken einer Base deprotoniert werden kann. Die anschließende Alkylierung erfolgt durch Umsetzung mit einem entsprechendem Alkylhalogenid.

In der Literatur sind verschiedene Methoden zur Alkylierung beschrieben: So führten *Schaltegger*⁸⁵ und *Breu*^{80,81} ihre Synthesen in absol. Aceton mit K_2CO_3 als Base zur Deprotonierung durch. *Gürster*⁸⁶ benutzte ein Gemisch aus Na_2CO_3 und Aceton. Als weitere Basen können NaOH, KOH oder NaH, als Lösungsmittel MeOH, DMSO oder THF fungieren.

Die von uns zu Beginn gewählte Methode der Alkylierung von **1** in NaH/THF erwies sich für die Umsetzung mit Benzylbromid als erfolgreich.

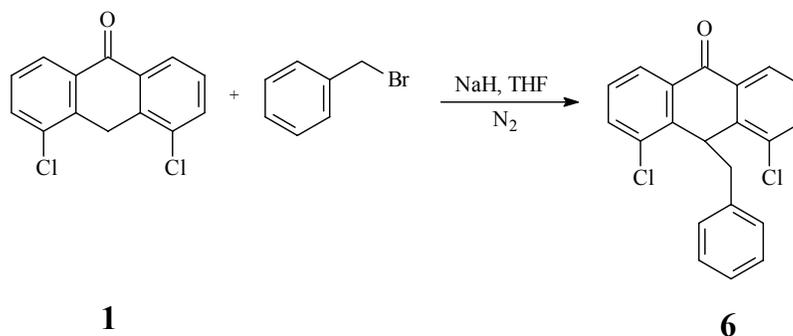


Abb. B10: Benzylierung von **1** in NaH/THF

Bei dem Versuch, unter diesen Bedingungen Phenylalkylsubstituenten mit längeren CH_2 -Ketten einzuführen, blieb jedoch eine Reaktion gänzlich aus. Auch durch Variation der Basen und Lösungsmittel (*Abb. B11*) gelang es uns nicht, ein entsprechendes 10-Phenylethylderivat zu erhalten

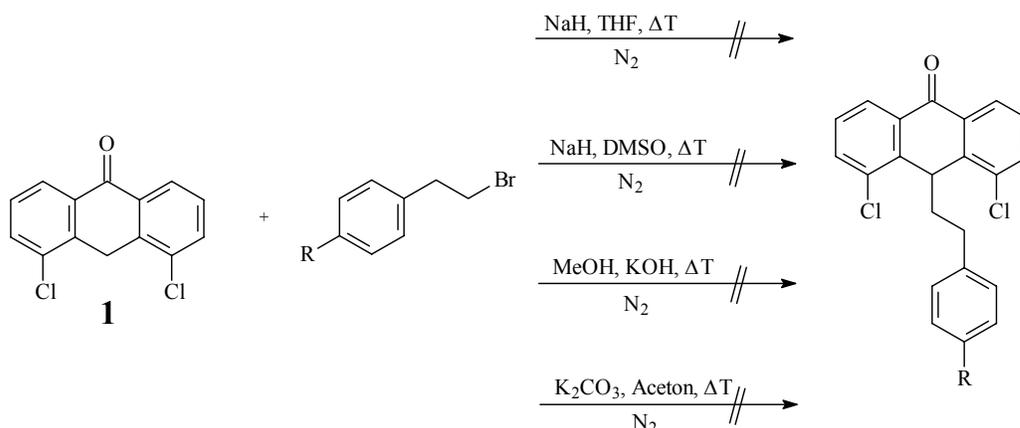


Abb. B11: Variation der Reaktionsbedingungen zur Alkylierung von **1** mit Phenylethylbromiden, R = H, OCH₃

1.4.1 Phasentransferkatalyse

Es ist anzunehmen, daß die Reaktivität von Phenylalkylhalogeniden mit steigender Kettenlänge abnimmt und diese bei Phenylethyl- und Phenylpropylbromid nicht mehr ausreicht, um **1** unter den gewählten Bedingungen in 10-Position zu alkylieren. Auch eine O-Alkylierung konnte bei den genannten Umsetzungen nicht beobachtet werden. Eine Synthesemethode zur Verbesserung bzw. Beschleunigung der Reaktion von einer CH-aciden Verbindung mit einem Phenylalkylhalogenid ist die Phasentransferkatalyse. Bei dieser findet die Umsetzung in einem Zweiphasensystem, in der Regel Wasser/organisches Lösungsmittel oder Alkalisalz/organisches Lösungsmittel, statt. Als Phasentransferkatalysatoren werden für flüssig/flüssig-Systeme meist lipophile quartäre Ammoniumsalze eingesetzt⁸⁷. Für unsere Synthesen benutzten wir als solchen Katalysator das Triethylbenzylammoniumchlorid (TEBAC).

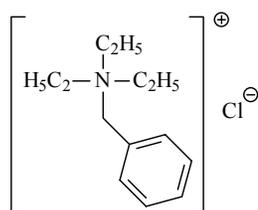


Abb. B12: TEBAC als Phasentransferkatalysator

Wird in einem Zweiphasensystem mit wäßrigem Alkali gearbeitet, so beeinflussen quartäre Ammoniumsalze dabei das Deprotonierungsgleichgewicht der schwachen Säure, in unserem Falle der Verbindung **1**. Nach deren Deprotonierung wird das an der Grenzfläche befindliche lipophile Carbanion durch den Katalysator in das Innere der organischen Phase transportiert, wo es mit dem Alkylhalogenid (R-X) reagiert.

Für die Umsetzung von **1** mit R-X in einem System NaOH 30 %/CH₂Cl₂ kann somit folgender Reaktionsverlauf postuliert werden:

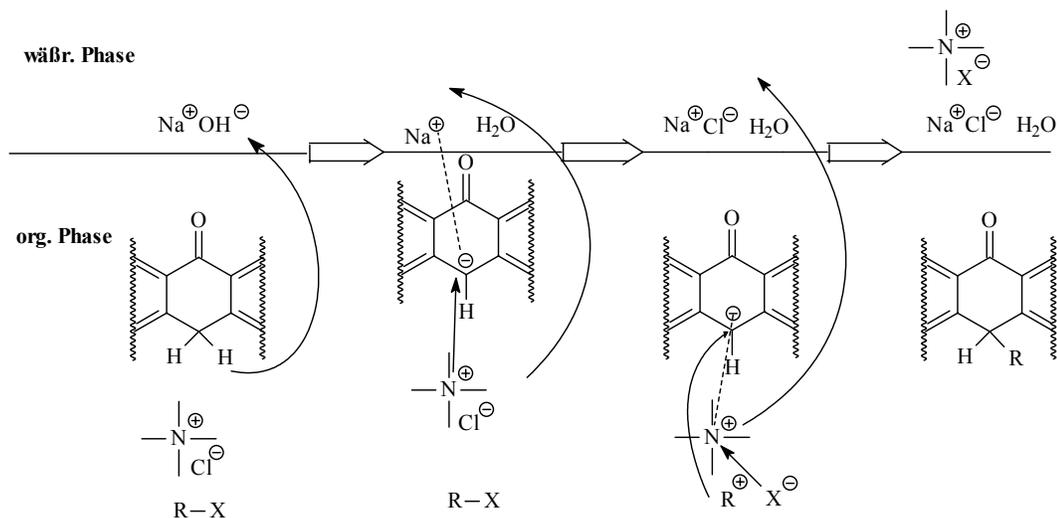


Abb. B13: Postulierte Phasentransfer-katalysierte Umsetzung von Anthronen mit Alkylhalogeniden

An der Grenzfläche geben Moleküle des Anthrons ein Proton in die wässrige Phase unter Bildung von Wasser ab. Das lipophile Carbanion wird in der organischen Phase an der Grenzfläche fixiert, da das hydratisierte Alkaliionen Na^+ aus der wässrigen Schicht nicht in die organische Phase übertreten kann. Das quartäre Ammoniumion ($\text{R}_4\text{N}^\oplus$) kann dagegen unter Abgabe des Chloridanions in die wässrige Phase das Carbanion von der Phasengrenze ablösen und als Ionenpaar in das Innere der organischen Phase transportieren. Hier kommt es zur Abspaltung von X^- und zur Reaktion des nun elektrophilen Phenylalkylrestes mit dem deprotonierten Anthron, während das Ammoniumion X^- in die wässrige Phase überführt⁸⁷.

1.5 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenone

1.5.1 Darstellung der Alkylierungsmittel

Nicht käufliche Benzylhalogenide wurden nach dem in *Abb. B14* dargestellten Schema synthetisiert.

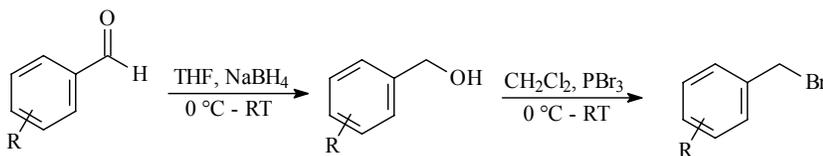


Abb. B14: Synthese der Benzylbromide. R = H, CH_3 , CF_3 , Cl, OCH_3 , NO_2 , OBn

1.5.2 Benzylierungen nach der Phasentransfermethode

Die Methode unserer Wahl zur Synthese der 10-Benzylanthrone war die unter **B1.4.1** erklärte Phasentransferkatalyse, da die Umsetzungen rascher und in besseren Ausbeuten abliefen als die Reaktion unter NaH/THF. Die Herstellung der Derivate erfolgte nach leicht modifizierten Arbeitsvorschriften von *Majumdar*⁸⁸. Dieser setzt als Zweiphasensystem ein Gemisch aus NaOH 30% und CH₂Cl₂ mit TEBAC als Phasentransferkatalysator ein. Durch Erhöhung des TEBAC-Anteils von 50 mg auf 500 mg konnten wir eine schnellere und bessere Umsetzung erzielen. Das Verhältnis von Anthron und Benzylhalogenid variierten wir zwischen den Verhältnissen 1:2 – 1:4, da vor allem große Überschüsse von Benzyloxybenzylbromiden das spätere Auskristallisieren der Endprodukte z.T. in erheblichem Maße erschwerten.

Die folgende Abbildung *B15* und Tabelle *B2* zeigt die nach der Methode der Phasentransferkatalyse dargestellten 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenone

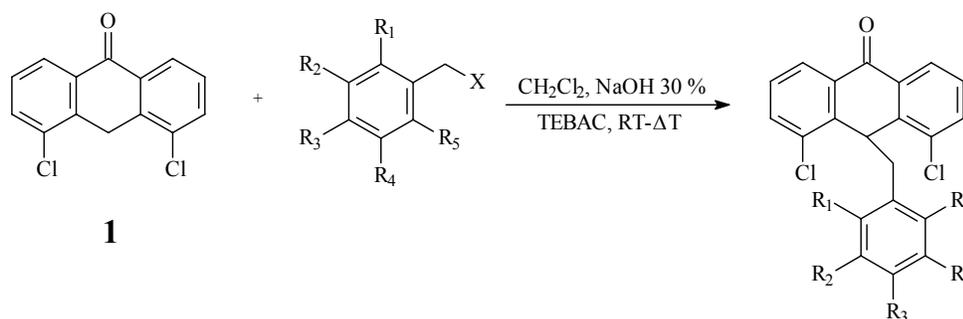
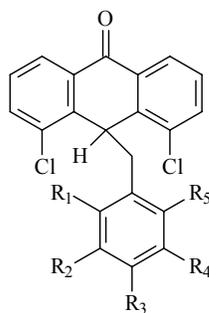


Abb. B15: Benzylierung von **1** mittels Phasentransferkatalyse (X = Br, Cl)



Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
6	H	H	H	H	H
7	H	H	CH ₃	H	H
8	H	H	CF ₃	H	H
11	Cl	H	H	H	H
14	H	H	Cl	H	H
17	OCH ₃	H	H	H	H
20	H	OCH ₃	H	H	H
22	H	H	OCH ₃	H	H
25	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H
28	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H
31	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H
34	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
37	NO ₂	H	H	H	H
40	H	NO ₂	H	H	H
41	H	H	NO ₂	H	H
42	NO ₂	H	NO ₂	H	H
45	H	OBn	H	H	H
48	H	H	OBn	H	H
51	H	OBn	OBn	H	H
54	H	OBn	OCH ₃	H	H

Tab. B2: Durch Phasentransferkatalyse synthetisierte 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenone

Die Umsetzung von **1** mit Benzylhalogeniden führte ausschließlich zu den in 10-Position monobenzilylierten Derivaten. Eine Bisalkylierung oder O-Alkylierung blieb völlig aus. Erklärt werden kann dies durch den Reaktionsmechanismus von Benzilylierungsreaktionen. Benzylhalogenide spalten sehr rasch das Halogenid ab und bilden intermediär stabile Carbeniumionen (R^+). Diese reagieren bevorzugt nach dem Mechanismus einer monomolekularen Substitutionsreaktion (S_N1) mit einem Nucleophil. Je stabiler ein solches Carbeniumion ist, desto besser und schneller läuft eine S_N1 -Reaktion ab. Dies ist insbesondere bei Benzylverbindungen der Fall, die mesomeriestabilisierte Carbeniumionen bilden können^{87,89,90}.

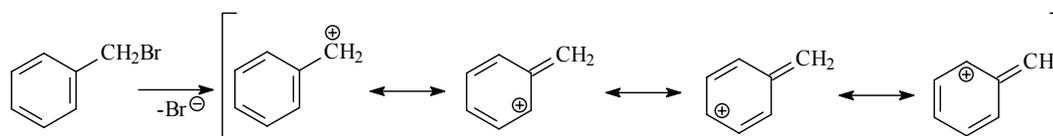


Abb. B16: Bildung eines resonanzstabilisiertem Carbeniumions bei Benzylverbindungen als Voraussetzung für eine S_N1 -Reaktion

Bei S_N1 -Reaktionen spielen die sterische Faktoren keine Rolle^{87,89,90}. Daraus folgt, daß der nucleophile Angriff sowohl von dem Sauerstoff, als auch vom Kohlenstoff 10 ausgehen kann. Wir konnten jedoch immer nur die C-alkylierten Verbindungen isolieren. Erklärt werden kann dieses Phänomen mit dem *Prinzip der harten und weichen Säuren und Basen (HSAB, Hard and Soft Acids and Bases)*, wonach weiche Basen bevorzugt mit weichen Säuren und harte Basen bevorzugt mit harten Säuren reagieren⁹¹. Analog zu *Chiaffa*⁹² und *Blanchard*⁹³, die das 2-Methoxy-9(10H)-acridinon unter basischen Bedingungen N-alkylierten, kann das nach Abspaltung des Halogenids entstandene Carbeniumion als *weiche Säure* und das durch Deprotonierung gebildete Anthroncarbanion als *weiche Base* bezeichnet werden. Der Sauerstoff in Position 9 ist definitionsgemäß eine starke Base und reagiert somit nicht mit dem benzyllischen Carbeniumion^{87,91-93}.

In der Literatur sind einige Umsetzungen von Anthronen mit Benzylhalogeniden in alkalischem Milieu beschrieben, die fast ausschließlich zu den C-10-alkylierten

Verbindungen führten⁹⁴⁻⁹⁷. Insbesondere *Barnett* beschäftigte sich ausgiebig mit der Reaktivität verschiedenartig substituierter Anthrone. So erhielt er bei seinen Benzylierungsversuchen die C-10-Benzyl-derivate, wobei es sich meistens um bisalkylierte Produkte handelte. Er konnte des weiteren zeigen, daß die Gegenwart von mindestens einem Chloratom an Position 4 oder 5 des Anthracenengerüsts eine Bisalkylierung verhindert und nur monoalkylierte Produkte entstehen. Befinden sich die Chloratome hingegen nicht in direkter Nachbarschaft zu der 10-Methylengruppe, so kommt es zum Austausch beider Wasserstoffe durch Benzylreste⁹⁸⁻¹⁰¹. *Barnett* führt dieses Phänomen auf eine koordinierte Bindung eines Wasserstoffes zu einem 4- oder 5-ständigem Chloratom zurück, wodurch dieser fester gebunden ist und infolgedessen weniger dazu neigt, sich abzuspalten⁹⁸. Somit kann kein weiteres Carbanion gebildet werden und ein weiterer nucleophiler Angriff bleibt aus. Eine Koordination beider Wasserstoffe im 4,5-Dichloranthron wird aus strukturellen Gründen ausgeschlossen.

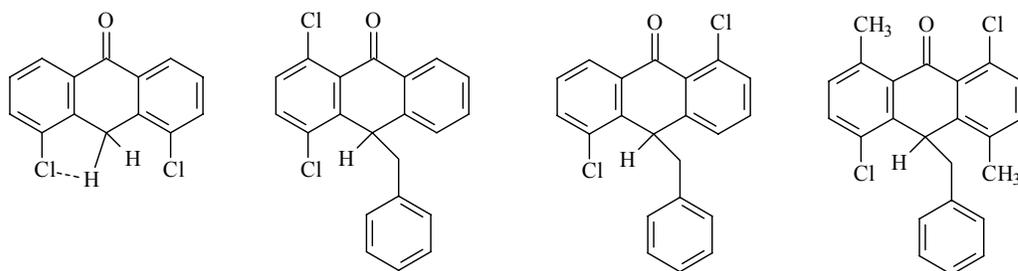


Abb. B17: Von *Barnett* synthetisierte 10-Benzyl-4-chloranthronderivate. Fixierung eines Wasserstoffatoms durch ein benachbartes Chloratom nach *Barnett*.

Sind die kritischen Positionen nicht durch Chloratome substituiert sind beide Wasserstoffatome gut abstrahierbar und eine Bisalkylierung ist möglich.

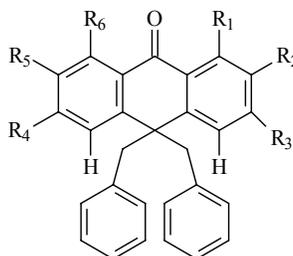


Abb. B18: Von *Barnett* synthetisierte 10,10-Bisbenzyl-9(10*H*)-anthracenone.
($R_1 - R_6 = \text{H, CH}_3, \text{Cl}$)

Gürster konnte nach der Umsetzung von Dithranol, das in 4- und 5- Position nicht substituiert ist, mit Benzylbromid in $\text{K}_2\text{CO}_3/\text{Aceton}$ das bisalkylierte Produkt isolieren^{86,96}. *Beckwith*⁹⁴ und *Dimmel*⁹⁷ erhielten durch Umsetzung des unsubstituierten Anthracenons mit Benzylchloriden in alkalischen Milieu ausschließlich die C-10-bisalkylierte Produkte. Diese Ergebnisse sind mit unseren Resultaten in Einklang zu bringen. Eine O-Benzilylierung fand unter den von uns gewählten alkalischen Bedingungen nicht statt. Wir isolierten stets die C-10-benzilylierten Verbindungen. Des weiteren konnten wir in keiner der von uns durchgeführten Synthesen eine Bisalkylierung des Kohlenstoffes in Position 10 aufgrund der benachbarten Chloratome in Position 4 und 5 beobachten.

1.5.3 4,5-Dichlor-10-hydroxybenzyl-9(10*H*)-anthracenone

Durch das Einbringen verschiedener funktioneller Gruppen in den Benzylring wollten wir grundlegende Aussagen über mögliche Struktur-Wirkungs-Beziehungen der 10-Benzylanthrone treffen. So wurden von uns Gruppierungen mit unterschiedlichen elektronischen Eigenschaften, wie Methoxy- oder Nitrofunktionen, eingeführt. Weitere Zielstrukturen waren 10-Hydroxybenzyl-derivate. Diese sind nicht über den üblichen

Weg der Alkylierung von einem Anthron mit einem entsprechendem Hydroxybenzylbromid zugänglich, da unter den gegebenen alkalischen Bedingungen die Alkylhalogenide durchpolymerisieren und somit die Zielstrukturen auf diesem Wege nicht darstellbar sind.

Unser Ziel war es dann, aus bereits synthetisierten Benzylanthronen die angestrebten Hydroxyderivate herzustellen.

1.5.3.1 Versuche zur Darstellung der Hydroxybenzylderivate aus den entsprechenden Methoxyderivaten mittels Etherspaltung

Für unsere Versuche zur Freisetzung einer Hydroxygruppe wählten wir das parasubstituierte Methoxybenzylderivat **22**. Allerdings fand bei den von uns versuchten Methoden zur Etherspaltung entweder keine Umsetzung statt, so daß nur das Edukt **22** isoliert werden konnte oder es wurde der gesamte Benzylrest vom Molekül abgespalten.

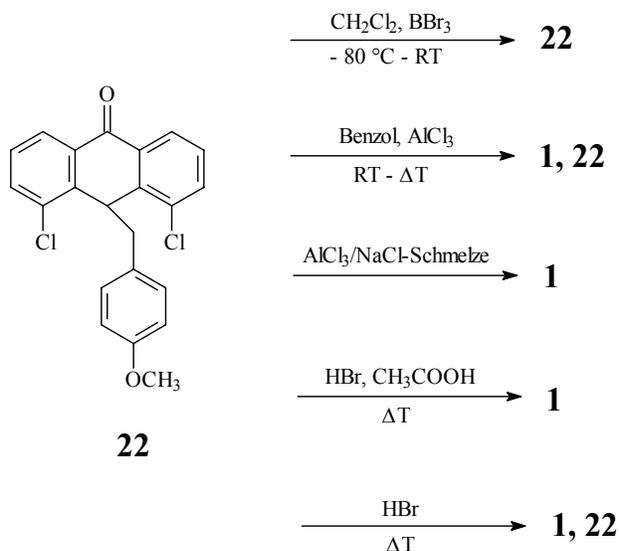


Abb. B19: Versuche zur Etherspaltung an Verbindung **22**

1.5.3.2 Darstellung von 4,5-Dichlor-10-hydroxybenzyl-9(10*H*)-anthracenonen durch hydrogenolytische Etherspaltung entsprechender Benzyloxybenzyl-derivate

In der Literatur ist die Benzylgruppe als eine gute Schutz- und Abgangsgruppe für die Hydroxyfunktion von Alkoholen charakterisiert¹⁰². Daher setzten wir Benzyloxybenzylbromide mit **1** um und erhielten die in *Tab. B2* aufgeführten entsprechenden 10-Benzyloxybenzyl-derivate. Zur hydrogenolytischen Etherspaltung wurden diese dann in THF (absol.) gelöst und mit einer Mischung aus Palladium/Kohle^{86,103} unter Wasserstoffeinwirkung und Normaldruck mehrere Stunden gerührt.

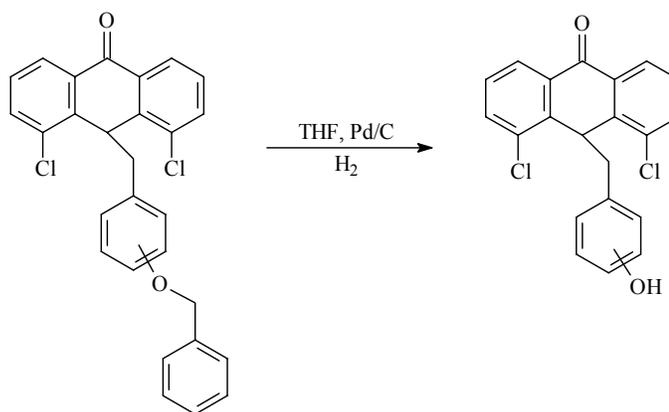
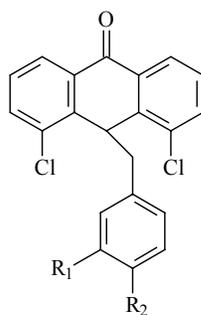


Abb. B20: Allgemeines Reaktionsschema zur Darstellung der 4,5-Dichlor-10-hydroxybenzyl-9(10*H*)-anthracenone

Die folgenden Zielstrukturen konnten nach Filtration, Evakuierung des Lösungsmittels und Kristallisation aus Hexan/Petrolether isoliert werden



Verb.	R ₁	R ₂
55	OH	H
56	H	OH
57	OH	OH
58	OH	OCH ₃

Tab. B3: 4,5-Dichlor-10-hydroxybenzyl-9(10*H*)-anthracenone

1.6 Versuch zur Darstellung von 4,5-Dichlor-10-phenylethyl- und 10-phenylpropyl-9(10*H*)-anthracenonen mittels der Phasentransferkatalyse

Unter **B1.4** ist bereits beschrieben worden, daß zahlreiche Alkylierungsmethoden nicht zu den angestrebten Alkylderivaten führten und keine Umsetzung beobachtet werden konnte. Vermutlich ist die Reaktivität der länger-kettigen Phenylalkylhalogenide nicht hoch genug, um das 4,5-Dichloranthron zu alkylieren. Daher wurde von uns die Phasentransferkatalyse zur Beschleunigung und Verbesserung der Umsetzung als Synthesemethode gewählt. Während unter den beschriebenen Bedingungen die 10-Benzyl-derivate schnell und in guter Ausbeute zugänglich waren, ist es uns nicht gelungen, die länger-kettigen Phenylalkyl-derivate auf diesem Wege herzustellen. Wir isolierten lediglich die entsprechenden O-alkylierten Verbindungen. Auch der Zusatz von weiterem Alkylierungsmittel nach vollständiger Veretherung von **1** und ggf. zusätzlichem Erhitzen führte nicht zur Alkylierung des Kohlenstoffes an Position 10.

Es ist davon auszugehen, daß die Anzahl der CH₂-Spacer zwischen Phenylring und Halogenatom des Alkylierungsmittels dafür verantwortlich ist, ob es zu einer O- oder C-Alkylierung kommt. Die Ausschließlichkeit beider Reaktionen läßt weiterhin vermuten, daß sie nach zwei verschiedenen Reaktionsmechanismen, einer S_N1- bzw. einer S_N2-Reaktion verlaufen. Unter **B1.5.2** wurde die bevorzugte Reaktion von Benzylhalogeniden aufgrund der Bildung eines stabilen Carbeniumions nach einem S_N1-Mechanismus beschrieben.

Phenylethyl- oder Phenylpropylhalogenide besitzen diese ausgeprägte Eigenschaft nicht mehr, so daß Alkylierungen mit solchen Reagenzien im Sinne einer S_N2-Reaktion verlaufen^{87,89,90}. Definitionsgemäß kommt es bei S_N2-Reaktionen nicht zur Bildung einer Zwischenstufe, sondern es wird lediglich ein Übergangszustand durchlaufen. In diesem Zustand wird die Bindung R-X gerade gelöst und die Bindung von R zum Nucleophil gerade geknüpft^{87,89,90}. Im Falle des 4,5-Dichloranthrons sind unter alkalischen Bindungen zwei Alkylierungspositionen denkbar:

1. der Sauerstoff an Position 9
2. der Kohlenstoff in Position 10

Bei Einsatz von Phenylalkylhalogeniden mit einer CH₂-Kette n>1 ist jedoch ausschließlich eine O-Alkylierung zu beobachten, was dadurch zu erklären sein könnte, daß der Verlauf von S_N2-Reaktionen u.a. von sterischen Faktoren abhängig ist^{87,89,90}. Der Zugang zum Kohlenstoff 10 des 4,5-Dichloranthrons ist durch die beiden Chloratome in 4 und 5 Position sterisch gehindert, so daß nur eine O-Alkylierung erfolgen kann.

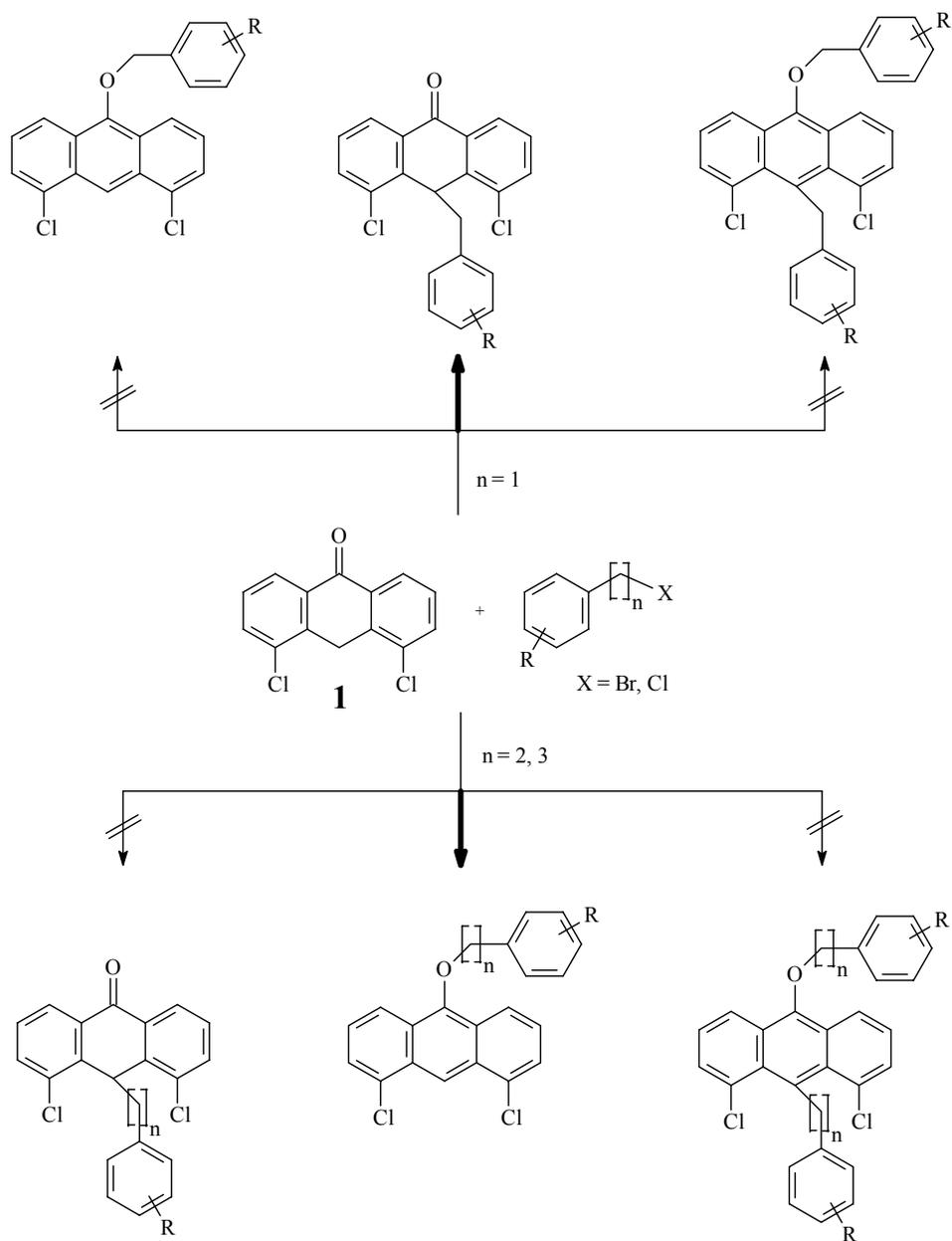


Abb. B21: Von der Kettenlänge des Phenylalkylhalogenids abhängige Produktbildung

Die erfolgreichen C-Alkylierungen von Dithranol mit längerkettigen Phenylalkylhalogeniden müssen gesondert betrachtet werden. *Breu* gelang es sowohl Benzyl-, als auch Phenylethyl, Phenylpropyl- und Phenylbutyl-derivate des 1,8-Dihydroxyanthrons herzustellen^{80,81}.

Die Carbonylfunktion in Position 9 ist an beiden Seiten von Hydroxygruppen flankiert. Dies führt zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen, die den Sauerstoff der Ketofunktion stabilisieren und somit schlechter alkylierbar machen. Der Kohlenstoff in Position 10 ist nicht von voluminösen Substituenten umgeben, so daß eine Alkylierung über einen S_N2-Mechanismus durch längerkettige Phenylalkylhalogenide nicht sterisch gehindert wird.

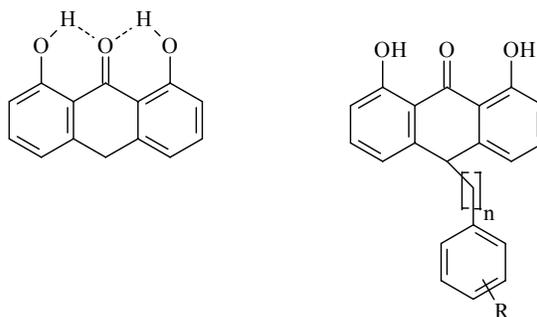
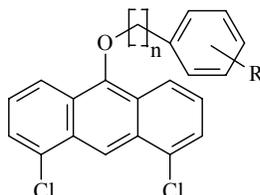


Abb. B22: Der Schutz der Carbonylfunktion durch Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen und die sterisch nicht abgeschirmte Methylengruppe ermöglicht die Synthese von längerkettigen Phenylalkylderivaten ($n = 1-4$, $R = \text{H}, \text{OCH}_3, \text{OH}, \text{NO}_2$)

2. 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracene

Aus den unter 1.6 genannten Syntheseversuchen entstand die nachstehende Serie von 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracenen.



Verb.	n	R
59	2	H
61	2	4-OCH ₃
63	2	(3,4-OCH ₃) ₂
65	2	(3,4,5-OCH ₃) ₃
66	3	H

Tab. B4: 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracene

3. 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene

Die guten Testergebnisse einiger 10-Acylderivate des Dithranols^{79,96,104} (siehe C2.4) boten für uns den Anlaß, die Struktur des 4,5-Dichloranthrons auf ähnliche Weise zu modifizieren.

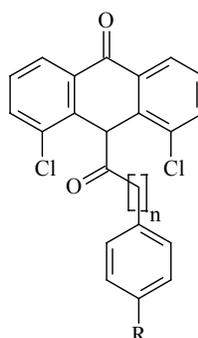
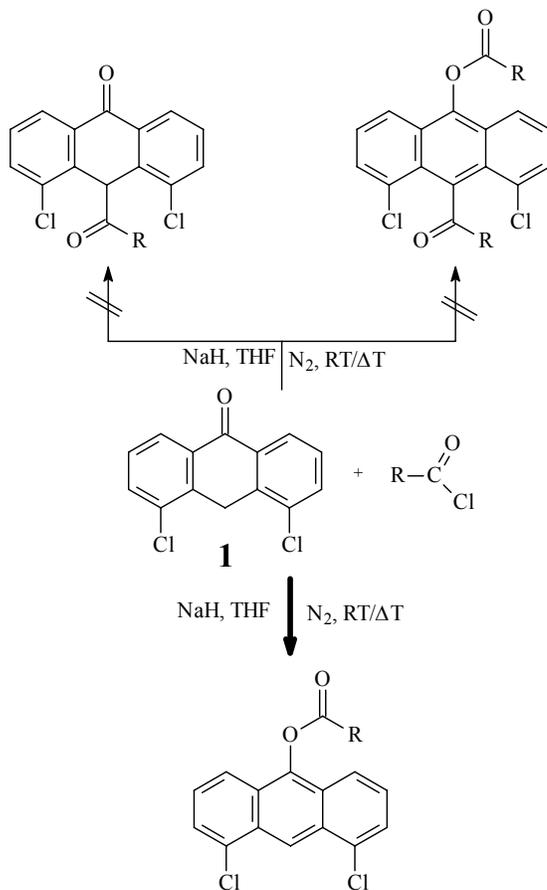


Abb. B23: $n = 0-3$, $R = H, OCH_3, NO_2$

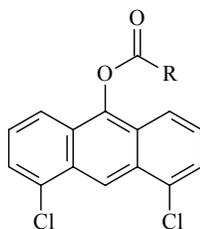
In der Literatur sind bisher nur wenige 10-Acylanthracenone beschrieben. Den weitaus größten Teil nehmen Veröffentlichungen über die Synthese von Acylderivaten des Dithranols ein. So führte *Van Duuren* unter alkalischen Bedingungen aliphatische Acylreste ein¹⁰⁵ während in unserem Arbeitskreis Phenylacylverbindungen hergestellt wurden^{79,96,104,106}. Im allgemeinen waren diese Derivate nicht sehr gut zugänglich, da es sich oft um Produktgemische aus O- und C-acylierten Verbindungen handelte. Die Darstellung des 10-Benzoylderivates gelang sogar lange Zeit überhaupt nicht^{81,86}. Versuche, Anthrone mit einem anderen Substitutionsmuster am Kohlenstoff 10 zu acylieren, wurden wesentlich seltener unternommen. Beispielsweise setzte *Barnett* u.a. das 4,5-Dichloranthron in Pyridin mit Acetanhydrid um und konnte lediglich das 9-O-Acetylderivat isolieren⁹⁸. Auch Versuche mit anderen Anthronen führten ausschließlich zu den entsprechenden Estern¹⁰⁰. Durch die Reaktion des 9-Anthracenoltrimethylsilylethers mit Acetylchlorid bzw. Benzoylchlorid und nachfolgender Hydrolyse gelang es *Camaioni*¹⁰⁷, die entsprechenden C-10-acylierten Substanzen bereitzustellen. Letztlich ist jedoch zu bemerken, daß Umsetzungen von Anthronen mit Anhydriden oder Säurechloriden am häufigsten zu O-acylierten Produkten führen^{98,100,107-109}, während C-Acylierungen wesentlich seltener gelingen. Entsprechendes konnten wir bei unseren Acylierungsversuchen beobachten, die ausschließlich die entsprechenden 9-Acoylanthracene hervorbrachten.

Die Reaktionen erfolgten nach der Methode von *Prinz* in THF (absol.) mit NaH als Base unter Stickstoffatmosphäre¹¹⁰. Je nach Reaktionsverlauf wurden die Ansätze bis zur vollständigen Umsetzung unter Raumtemperatur oder Rückfluß gehalten. Waren die Säurechloride nicht käuflich, so wurden diese aus den entsprechenden Carbonsäuren durch Umsetzung mittels SOCl_2 in CH_2Cl_2 gewonnen.



Verb.	R
67	CH_3
68	C_6H_5
69	$4\text{-OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$

Tab. B5: 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene

Fortsetzung **Tab. B5**

Verb.	R
70	4-NO ₂ C ₆ H ₄
71	CH ₂ C ₆ H ₅
73	CH ₂ (4-CH ₃)C ₆ H ₄
74	CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄
75	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₄
77	CH ₂ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅

Tab. B5: 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene

Prinz setzte als Ausgangssubstanz für die erfolgreiche Synthese des 10-Benzoyl-1,8-dihydroxy-9(10*H*)-anthracenons das Anthralindiacetat ein. *Camaioni* erhält ebenfalls nach Einführung einer Schutzgruppe und deren abschließender hydrolytischen Abspaltung die gewünschte C-acylierte Substanz. Bei unseren Versuchen war hingegen zu beobachten, daß auch nach der vollständigen Bildung der Ester, trotz eines Überschusses an Säurechloriden und Erhöhung der Reaktionstemperatur, keine Acylierung des Kohlenstoffes 10 stattfand. Die Einführung einer Schutzgruppe führt somit nicht zur Herstellung der Zielverbindungen.

Acylierungen unterliegen einem Additions-Eliminations-Mechanismus, bei dem die Substitution über ein tetraedrisches Zwischenprodukt verläuft. Diese auch S_N2_t genannten Reaktionen sind ebenfalls wie die einfachen S_N2-Reaktionen von sterischen Faktoren abhängig⁸⁹. Daraus läßt sich vermuten, daß die Chloratome in Position 4 und

5 den Kohlenstoff 10 in dem Maße abschirmen, daß eine Acylierung an dieser Stelle nicht erfolgt.

Die Synthese einer kleinen Serie der 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene mit wachsender Kettenlänge und verschiedenen Substituenten am Benzolring war dennoch von Interesse für uns, da sich einige der Verbindungen als antiproliferativ wirksam auf HaCaT-Zellen erwiesen.

4. Versuche zur Darstellung des 10-Benzyliden-4,5-dichlor-9(10H)-anthracenons

In früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe zeigten sich einige 10-Benzylidenderivate des Dithranols als antiproliferativ hochwirksam^{79,96}. Aus diesem Grunde war es unser Bestreben, 10-Benzylidenderivate des 4,5-Dichloranthrons herzustellen. *Barnett* hatte dies schon 1930 unter Verwendung von Benzaldehyd, Pyridin und Piperidin ohne Erfolg versucht. Gleiches beobachtete er bei der 1,5-Dichlorverbindung, während das 1,8-Dichloranthron unter den gleichen alkalischen Bedingungen rasch zum gewünschten Produkt reagierte. *Barnett* führt die Reaktionsträgheit der an 4- und/oder 5- Position chlosubstituierten Anthrone auf die schon unter **B1.6** erwähnte Fixierung eines Wasserstoffatoms durch ein benachbartes Chloratom¹¹¹ zurück.

Neben der Methode von *Barnett* versuchten wir, über drei weitere Synthesemethoden das angestrebte 10-Benzylidenderivat des 4,5-Dichloranthrons zu gewinnen. Jedoch schlugen alle Versuche fehl.

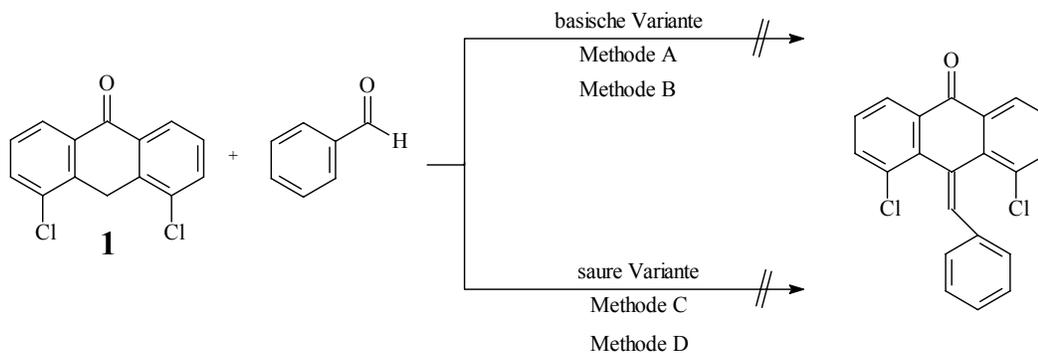


Abb. B24: Versuche zur Synthese des 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenons

Methode A: Pyridin, Piperidin, Δ T, N₂

Methode B: EtOH, Piperidin, RT - Δ T

Methode C: H₂SO₄ 85 %, 40 °C

Methode D: EtOH, Einleiten von HCl, RT - Δ T

5. Darstellung des 4,5,4',5'-Tetrachlor-9(10*H*),9'(10'*H*)-dianthracenons

Wir benötigen das 4,5,4',5'-Tetrachlorbianthron als Vergleichssubstanz bei unseren Untersuchungen zur Stabilität des 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenons und der 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene. Die Synthese erfolgte analog einer Vorschrift von Auerhoff zur Herstellung von Hydroxybianthronen¹¹².

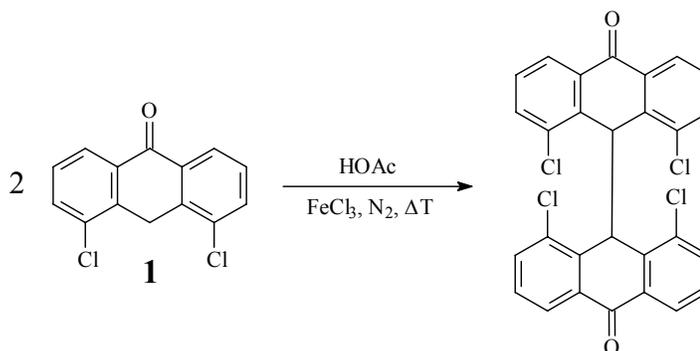


Abb. B25: Synthese des 4,5,4',5'-Tetrachlor-9(10*H*),9'(10'*H*)-bianthracenons

C Biochemischer Teil

1. Bestimmung der Redoxeigenschaften von neuen 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenonen und O-9-substituierten 4,5-Dichlor-anthracenen im Vergleich zu bekannten antipsoriatisch wirksamen Anthracenonen

1.1 Allgemeines

Dithranol besitzt aufgrund seiner Anthronstruktur mit freier Methylengruppe die gewünschten antipsoriatischen Eigenschaften, aber mit Erythembildung, Hautreizung und Verfärbung von Haut und Wäsche auch Nebenwirkungen, die zum Teil zu einer schlechten Patientencompliance oder sogar zum Abbruch der Therapie führen können. Mit einem stark negativen Redoxpotential von $E_0 = -0.76 \text{ V}$ besitzt es antioxidative Eigenschaften¹¹³, die unter anderem in der Wirkung auf die Mitochondrien zum Ausdruck kommen. Hier reichert sich Dithranol an und reduziert die Ubichinone 9 und 10 zu den korrespondierenden Ubichinolen. Die Mitochondrien der Keratinozyten werden in Struktur und Funktion so verändert, daß auch die Elektronentransportkette beeinträchtigt wird^{62,114,115}. Die hieraus resultierende Hemmung der zellulären Atmung wird als wichtiger Faktor für die antipsoriatische Wirksamkeit des Dithranols angesehen^{63,116,117}. Schlüsselstrukturelemente für das reduktive Potential der Substanz dürften die phenolischen Hydroxylgruppen, sowie die C-10-Methylengruppe, mit der Möglichkeit der H^\bullet -Abstraktion sein.

Dieser antioxidativen Eigenschaft des Anthralins steht jedoch eine prooxidative Komponente gegenüber. Das Molekül neigt in erheblichem Maße zur Bildung des Dithranol-10-yl-Radikals und somit zur Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) wie Superoxid-Radikal-Anion ($\text{O}_2^{\bullet-}$), Hydroxylradikal (OH^\bullet) und Singulett-Sauerstoff

($^1\text{O}_2$)^{67,68,71,72}. Diese greifen im Organismus Zellkompartimente an, zerstören Lipidstrukturen (Lipidperoxidation), Kohlenhydrate und Nucleinsäuren und führen so zu Irritationen gesunder Hautareale während der Dithranoltherapie. Das Dithranol-10-yl-Radikal ist zentraler Ausgangspunkt für die Entstehung der reaktiven Spezies (*Abb. C1*) und dimerisiert bzw. polymerisiert selbst sehr rasch zu Bianthron und Dithranolbraun, wodurch es zu einer Verfärbung der Haut kommt

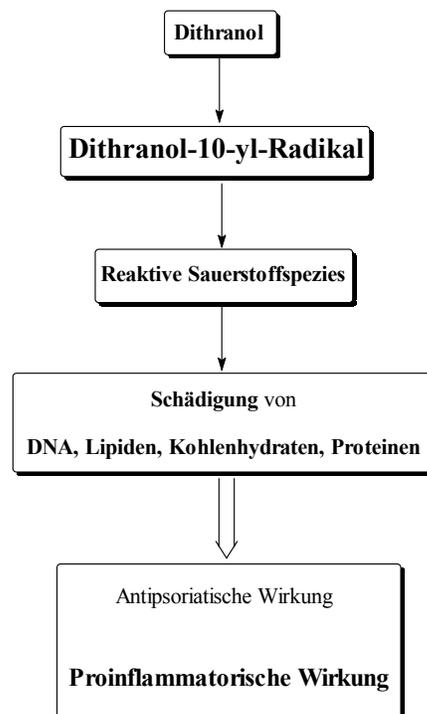


Abb. C1: ROS-vermittelte prooxidative Eigenschaften des Dithranol-10-yl-Radikals

Die nachfolgenden Untersuchungen sollen die neuen Verbindungen in Hinsicht auf ihre Redoxeigenschaften und ihre Radikalbildungstendenz charakterisieren und mit Dithranol, ausgewählten Dithranolderivaten sowie ausgewählten Standardsubstanzen

vergleichen. Insbesondere sind 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenone von Interesse, die gute antiproliferative Wirkung an der HaCaT-Zelllinie zeigen.

Als Testmodell dient die Reaktivität gegenüber dem stabilen Radikal 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

1.2 Bestimmung der reduzierenden Aktivität gegenüber dem stabilen Radikal 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

1.2.1 Einführung

DPPH findet erstmals im Jahre 1922 unter dem Begriff „Goldschmidts Radikal“ in der Literatur Erwähnung¹¹⁸. Bei der Substanz handelt es sich um ein freies Radikal mit einem ungepaarten Elektron, das ein Wasserstoffatom abstrahieren kann. Erhalten werden die dunkelvioletten Kristalle durch Schütteln einer Lösung von Diphenylpicrylhydrazin in wasserfreiem Toluol mit Silberoxid¹¹⁹. *Braude et al.*¹²⁰ bestimmten erstmalig die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten von DPPH mit aromatischen Verbindungen als Wasserstoffdonatoren. Das stabile Radikal ist in ethanolischer Lösung tief violett gefärbt und zeigt bei 517 nm ein Absorptionsmaximum¹²¹. Bei der Reaktion mit Radikalbildnern wie Dithranol, die eine erhebliche Neigung zur H[•]-Abstraktion besitzen, nimmt DPPH ein Elektron und ein Proton auf und bildet so ein gelb gefärbtes reduziertes Hydrazin-Derivat (DPPH₂)¹²².

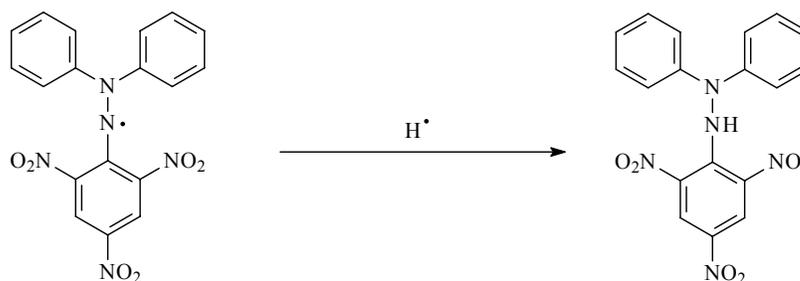


Abb. C2: Reduktion von 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) zum 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazin (DPPH₂)

In Abhängigkeit vom Anteil des DPPH₂ kommt es zu einer Abnahme der Absorption, die UV-spektroskopisch verfolgt werden kann¹²¹. Somit eignet sich das DPPH-Testsystem zur Abschätzung der Redoxeigenschaften und der Radikalbildungstendenzen verschiedener Substanzen. *Blois* ermittelte mit dieser Methode u.a. die antioxidativen Eigenschaften von Ascorbinsäure, Tocopherolen und polyhydroxylierten Aromaten. Für die Reaktion von Phenolen mit DPPH wurde eine Kinetik 2. Ordnung ermittelt¹²³⁻¹²⁶. *Hogg* und *Schenk* postulierten als Reaktionsmechanismus eine Wasserstoffübertragung auf DPPH, wobei aus den Phenolen die entsprechenden Phenoxy-Radikale entstehen^{125,127}.

*Gürster*⁸⁶ konnte in Anlehnung an das Phenol/DPPH-System^{123-125,127} durch HPLC-Untersuchungen für Dithranol/DPPH ebenfalls eine Reaktionskinetik 2. Ordnung zeigen. Dithranol überträgt hierbei einen Wasserstoff auf DPPH und bildet so das resonanzstabilisierte Dithranol-Radikal, das schließlich zu Bianthron dimerisiert.

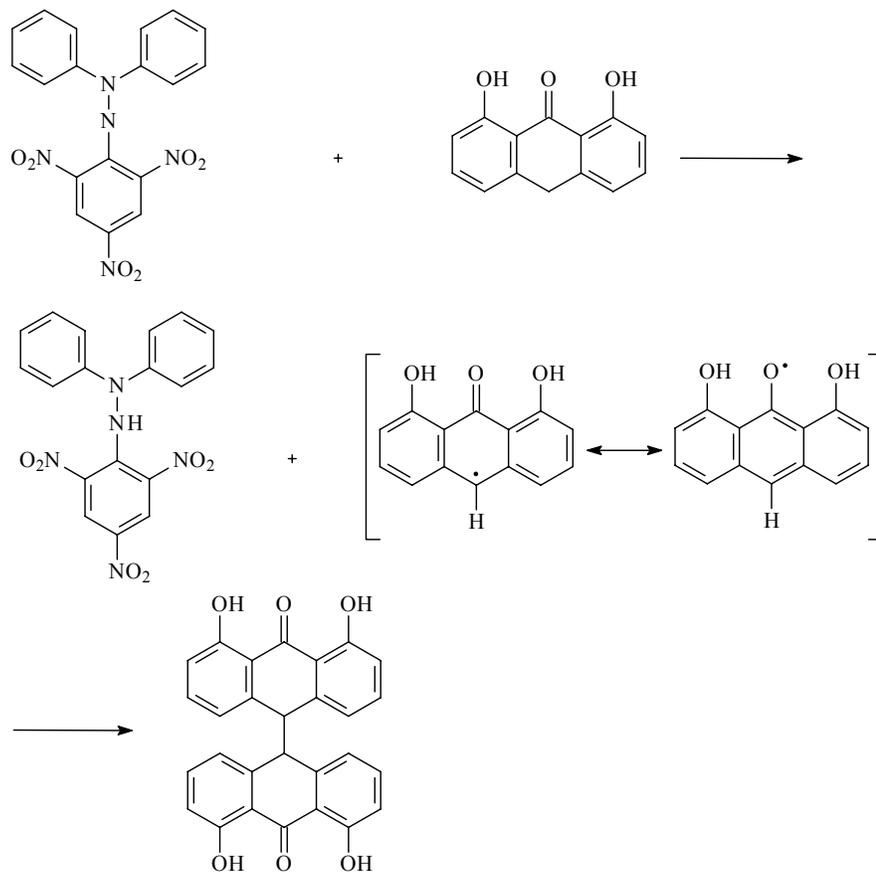


Abb. C3: Reaktion Dithranol/DPPH

Die Studien belegen die Annahme von *Zwaenepoel et al.*¹²⁸, daß für die Reaktion von Dithranol mit DPPH das Anthronmolekül in 10-Position über ein abstrahierbares Wasserstoffatom und damit über eine hohe Radikalbildungstendenz verfügen muß und die Reaktion einer Kinetik 2. Ordnung unterliegt.

Aufgrund verschiedener Reaktivitäten gegenüber DPPH lassen sich Substanzen in Hinblick auf ihre Redox- und radikalbildende Eigenschaften charakterisieren¹²⁹⁻¹³¹.

1.2.2 Testsystem

Unter Annahme einer Kinetik 2. Ordnung für das System Testsubstanz/DPPH, etablierten *Gürster* und *Müller* ein Testsystem, bei dem die Reaktionsgeschwindigkeitskonstante der zu testenden Verbindung bestimmt wird¹³². Je größer der Wert der Geschwindigkeitskonstante ist, desto schneller läuft die Reaktion ab und um so höher liegt das Redoxpotential einer getesteten Substanz. So wurden für nicht antipsoriatisch wirksame Agentien wie NDGA und DL- α -Tocopherol Reaktionsgeschwindigkeiten von $k \gg 100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ermittelt. Das Antipsoriatikum Dithranol hingegen reagiert mit einer Geschwindigkeitskonstante $k = 24.2 \pm 4.2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ wesentlich langsamer mit DPPH¹³².

*Putic*¹³³ modifizierte dieses Testsystem, um das Redoxpotential der Testsubstanzen einfacher darstellen zu können und um besser vergleichbare Ergebnisse zu erhalten. Zu diesem Zweck wurden von ihm nicht mehr die Reaktionsgeschwindigkeiten der Testsubstanzen mit DPPH bestimmt, sondern deren ED₅₀-Werte. Der ED₅₀-Wert gibt die Konzentration einer Verbindung an, die DPPH zur Hälfte reduziert. Hierzu wurden die zu testenden Verbindungen in Konzentrationen von 1.0 bis 500.0 μM mit 30 μM DPPH auf einer 96-Kavitäten-Gewebekulturplatte gemischt und nach 20 min im Mikroplatten-Reader UV-spektroskopisch bei 520 nm vermessen. Für jede Konzentration wurden drei Bestimmungen durchgeführt¹³⁴⁻¹³⁶. Als Lösungsmittel diente Ethanol, da sich DPPH hierin als gut löslich und stabil erweist¹³³. Für unsere Untersuchungen wählten wir ein modifiziertes Verfahren: Je nach Testsubstanz reagiert mindestens 1 Mol DPPH mit 1 Mol des Analyten. So reagieren DPPH und Dithranol im Verhältnis 1:1, d.h. es reichen rechnerisch 15 μM Dithranol aus, um 50% der eingesetzten 30- μM -DPPH-Lösung umzusetzen. Tatsächlich konnten wir für Dithranol einen ED₅₀-Wert von 18.0 μM ermitteln, welcher diese These stützt und den von *Putic* bestimmten Wert von 17.0 μM ¹³³ bestätigt. Daher entschlossen wir uns, die Testsubstanzen nur in Konzentrationen von 1.0 bis 60.0 μM aufzutragen. Somit war auch eine optimale Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen der Untersuchungen zum antiproliferativen Potential gewährleistet.

Die Auswertung erfolgte graphisch durch Auftragung des Prozentsatzes der verbleibenden Absorption von DPPH bezogen auf die Absorption der Kontrolle gegen die Konzentration der Testsubstanz.

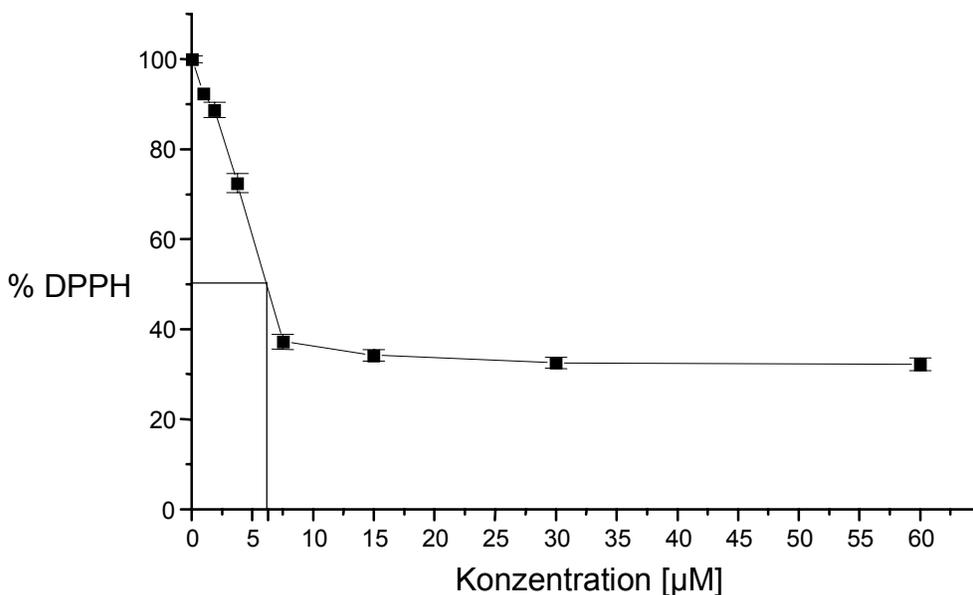


Abb. C4: Bestimmung des ED₅₀-Wertes von der Verbindung **57**

1.2.3 Bisherige Untersuchungen

In unserem Arbeitskreis wurden für zahlreiche Alkyl- und Acyllderivate des Dithranols sowie für Dithranol selbst Geschwindigkeitskonstanten für die Umsetzung mit DPPH bestimmt. Dithranol zeigt mit einer Konstanten $k = 24.2 \pm 4.2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ausgeprägte Redox Eigenschaften, die aber schwächer als die von NDGA oder DL- α -Tocopherol mit Werten $k \gg 100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ sind^{81,96}. Der Verlust der antioxidativen Eigenschaft des Dithranols durch Oxidation zu Chrysazin und Dimerisierung zu Bianthron wird des weiteren durch deren geringe Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten von $k < 1$ dokumentiert¹³².

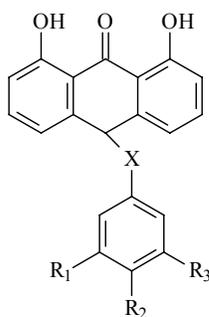
Die Einführung von Acyl- oder Alkylgruppierungen in die C-10-Position des Dithranolgerüsts führt weitgehend zum Verlust der antioxidativen Eigenschaften. Ausnahmen bilden solche Substanzen, deren Alkylkette mit einer Catechol- oder Pyrogallolstruktur terminiert sind. Diese Derivate mit benachbarten phenolischen Hydroxygruppen besitzen Konstanten von $k > 100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ und reichen somit fast an die antioxidative Potenz der sehr gut wirksamen Verbindungen wie NDGA heran¹³².

Einfache 9(10*H*)-Anthracenonderivate zeigen mit Reaktionskonstanten von $k > 10 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ keine ausgeprägten Redox Eigenschaften⁷⁹. Die Substitution des Kohlenstoffes in Position 10 des Anthrons durch Stickstoff zum 1,8-Dihydroxy-9(10*H*)-acridinon hat ebenfalls einen kompletten Verlust der Reaktivität gegenüber DPPH zur Folge. Die Variation der Position(en) der Hydroxylgruppierung(en) am Acridinongrundgerüst führte hingegen teilweise zur erheblichen Erhöhung der Reaktivität. Für diese postulierte *Putic* eine Resonanzstabilisierung der gebildeten Radikale durch Ausbildung entsprechender Chinonimine¹³³.

Die folgenden Tabellen geben einen Überblick über die bisherige Untersuchungen.

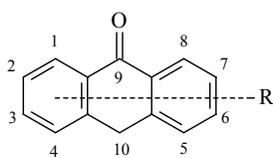
Verbindung	$k \text{ [M}^{-1}\text{s}^{-1}]$
Dithranol	24.2 ± 4.2
NDGA	$\gg 100$
DL- α -Tocopherol	$\gg 100$
Chrysazin	< 1
Bianthron	< 1

Tab. C1: Reaktivität ausgewählter Vergleichssubstanzen gegenüber DPPH nach Lit.¹³²



X	R ₁	R ₂	R ₃	k [M ⁻¹ s ⁻¹]	Lit.
(CH ₂) ₂	OCH ₃	OCH ₃	H	< 1	81
(CH ₂) ₂	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	< 1	81
(CH ₂) ₂	H	OH	H	3.7 ± 0.4	81
(CH ₂) ₂	OH	OH	H	> 100	81
(CH ₂) ₂	OH	OH	OH	> 100	81
CH ₂	H	H	H	1.3 ± 0.2	79
CH ₂	H	NO ₂	H	3.0 ± 0.3	132

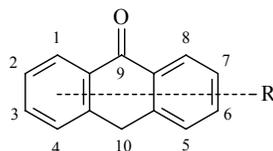
Tab. C2: Reaktivität von 10-Alkyldithranol-Derivaten gegenüber DPPH



R	k [M ⁻¹ s ⁻¹]
H	>1
1-OH	9.6 ± 0.5
1,8-Cl ₂	1.9 ± 0.2

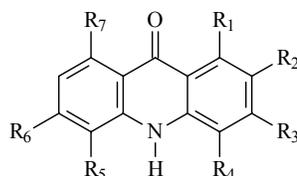
Tab. C3: Reaktivität einfacher 9(10H)-Anthracenone gegenüber DPPH⁷⁹

Fortsetzung **Tab. C3**



R	k [M⁻¹s⁻¹]
4,5-(OH) ₂	1.85 ± 0.2
4,5-(OCH ₃) ₂	1.28 ± 0.3
4,5-Cl ₂	3.44 ± 0.6
1,8,9-Triacetoxyanthracen	>1

Tab. C3: Reaktivität einfacher 9(10*H*)-Anthracenone gegenüber DPPH⁷⁹



R₁	R₂	R₃	R₄	R₅	R₆	R₇	ED₅₀ [μM]
OH	H	H	H	H	H	OH	> 500
OH	H	H	H	H	OH	H	> 500
H	OH	H	H	H	H	OH	3.9
OH	H	OH	H	OH	H	H	15.0

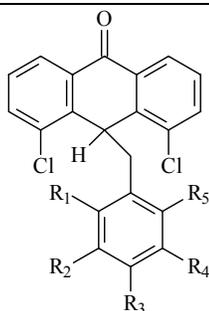
Tab. C4: Reaktivität Hydroxy-9(10*H*)-acridinone gegenüber DPPH¹³³

1.2.4 Ergebnisse zur Reaktivität der 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenone gegenüber DPPH

In den folgenden Tabellen werden die Ergebnisse der Untersuchungen zu den Redoxeigenschaften der neuen 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenone und ausgewählter Vergleichssubstanzen zusammengefaßt. Die Reaktivität der einzelnen Verbindungen gegenüber DPPH wird als ED₅₀-Wert in µM angegeben, der den Mittelwert aus drei Bestimmungen pro Substanz darstellt (SA < 10 %). Zum Vergleich sei auf den Test auf antiproliferative Wirkung an HaCaT-Zellen hingewiesen (**C2**). Die fettgedruckten Derivate erweisen sich mit IC₅₀-Werten < 10 µM an HaCaT-Keratinocyten gut wirksam. Alle anderen hemmen das Wachstum erst in höheren Konzentrationen oder erweisen sich als unwirksam.

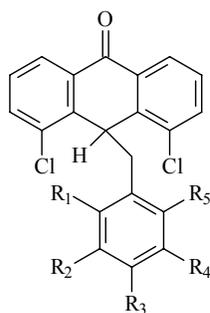
Verbindung	ED₅₀ [µM]
Dithranol	18.0
NDGA	4.2
DL-α-Tocopherol	8.2
Ascorbinsäure	11.3

Tab. C5: Ausgewählte Vergleichssubstanzen

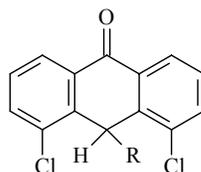


Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	ED ₅₀ [μM]
6	H	H	H	H	H	>60
7	H	H	CH ₃	H	H	>60
8	H	H	CF ₃	H	H	>60
11	Cl	H	H	H	H	>60
14	H	H	Cl	H	H	>60
17	OCH ₃	H	H	H	H	>60
20	H	OCH₃	H	H	H	>60
22	H	H	OCH₃	H	H	>60
25	H	H	OCH₃	OCH₃	H	>60
28	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	>60
31	OCH₃	H	H	OCH₃	H	>60
34	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	>60
37	NO ₂	H	H	H	H	>60
40	H	NO₂	H	H	H	>60
41	H	H	NO ₂	H	H	>60
42	NO ₂	H	NO ₂	H	H	>60
45	H	OBn	H	H	H	>60
48	H	H	OBn	H	H	>60
51	H	OBn	OBn	H	H	>60

Tab. C6: 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenone

Fortsetzung **Tab. C6**

Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	ED ₅₀ [μM]
54	H	Obn	OCH ₃	H	H	>60
55	H	OH	H	H	H	>60
56	H	H	OH	H	H	>60
57	H	OH	OH	H	H	>6.3
58	H	OH	OCH₃	H	H	>60

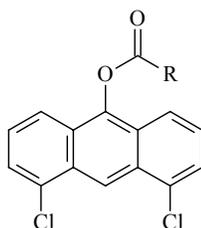
Tab. C6: 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenone

Verb.	R	ED ₅₀ [μM]
1	H	29.5
2	Br	>60
3	C ₆ H ₅	>60
4	4-CH ₃ C ₆ H ₄	>60
5	4-OCH ₃ C ₆ H ₄	>60

Tab.C7: 4,5-Dichlor-10-substituierte-9(10*H*)-anthracenone

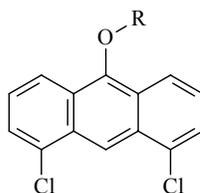
1.2.5 Ergebnisse zur Reaktivität der 9-Acoyl- und 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracene gegenüber DPPH

Die Ermittlung der Ergebnisse erfolgte wie in Kapitel C1.2.4 beschrieben. Auf Keratinozyten gut antiproliferativ wirksame Substanzen werden hier ebenfalls fett gedruckt.



Verb.	R	ED ₅₀ [μM]
67	CH ₃	>60
68	C ₆ H ₅	>60
69	4-OCH ₃ C ₆ H ₄	>60
70	4-NO₂C₆H₄	>60
71	CH ₂ C ₆ H ₅	>60
73	CH ₂ (4-CH ₃)C ₆ H ₄	>60
74	CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄	>60
75	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₄	>60
77	CH ₂ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	>60

Tab. C8: 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene



Verb.	R	ED ₅₀ [μM]
59	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	>60
61	CH ₂ CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄	>60
63	CH ₂ CH ₂ (3,4-OCH ₃) ₂ C ₆ H ₃	>60
65	CH ₂ CH ₂ (3,4,5-OCH ₃) ₃ C ₆ H ₂	>60
66	CH ₂ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	>60

Tab. C9: 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracene

1.2.6 Diskussion

Für die Reaktionsgeschwindigkeit einer Substanz mit DPPH ist deren Fähigkeit zur H[•]-Abstraktion und die Stabilität des bei dieser Reaktion entstehenden Radikals von entscheidender Bedeutung. Untersuchungen von *Rousseau-Richard*, *Schenk* und *Gürster*, in denen die schnelle Reaktion von antioxidativen Verbindungen wie Vitamin E, Catechol und NDGA mit DPPH beschrieben werden konnten, belegen diese Tatsache. Durch Ausbildung von p- bzw. o-Hydrochinonstrukturen werden die aus diesen Antioxidantien formierten Radikale resonanzstabilisiert und führen so zu einer sehr raschen Umsetzung von DPPH^{86,126,127}.

Die von uns ermittelten ED₅₀-Werte für die ausgewählten Vergleichssubstanzen korrelieren mit den in früheren Arbeiten bestimmten Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten. Mit Konstanten $k \gg 100 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ reagierten NDGA und DL- α -Tocopherol am schnellsten mit DPPH und zeigen mit ED₅₀-Werten

von 4.2 bzw. 8.2 μM die stärksten Redoxeigenschaften. Dithranol wird aufgrund seiner Reaktionsgeschwindigkeitskonstante von $k = 24.2 \pm 4.2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ein ausgeprägtes antioxidatives Potential zugeschrieben, was durch die Ermittlung eines ED_{50} -Wertes von 18.0 μM bestätigt werden kann.

Hingegen fand *Breu* für strukturverwandte 10-Alkyldithranol-Derivate keine Reaktivität gegenüber dem *Goldschmidtschen Radikal*. Als Grund hierfür führte er die Abschirmung der 10-Position durch die Alkylsubstituenten und den damit verbundenen Verlust der Abstraktionsfähigkeit des verbliebenen Protons in dieser Position an⁸¹.

Für die von uns vorgelegten 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenone gilt dies um so mehr, da die kritische 10-Position nicht nur von den Alkylresten, sondern zusätzlich noch von den beiden Chlorsubstituenten abgeschirmt wird. So zeigen die Anthracenone weitgehend keine Reaktivität mit DPPH und können mit ED_{50} -Werten $>60 \mu\text{M}$ als Substanzen mit geringem Radikalbildungsvermögen charakterisiert werden.

Ausnahmen bildet das 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenon (**1**) und das Catecholderivat **57**. Mit einer Wirksamkeit von ED_{50} -Wert von 29.5 μM ordnet sich **1** in seinem Redoxpotential zwischen Dithranol und den unwirksamen Anthracenonen ein. Die verminderte Reaktivität im Vergleich zu Dithranol läßt sich durch die zusätzlichen Chloratome in Position 4 und 5 erklären. Da aber die 10-Position nicht derivatisiert ist, verliert das Molekül nicht gänzlich die Fähigkeit zur H^\bullet -Abstraktion.

Die Verbindung **57** hingegen ist am Kohlenstoff 10 benzyliert, zeigt aber mit einem ED_{50} -Wert von 6.3 μM sogar eine noch bessere Reaktivität als DL- α -Tocopherol. Begründen läßt sich dieses Ergebnis mit der Catecholstruktur des Benzylsubstituenten. Es kann angenommen werden, daß die beiden orthoständigen Hydroxylgruppen die Radikalbildungstendenz des Moleküls dadurch erhöhen, daß beide funktionelle Gruppen unter Einwirkung von DPPH je ein Wasserstoffradikal abstrahieren können und es somit zur Ausbildung eines resonanzstabilisierten Orthochinons kommt.

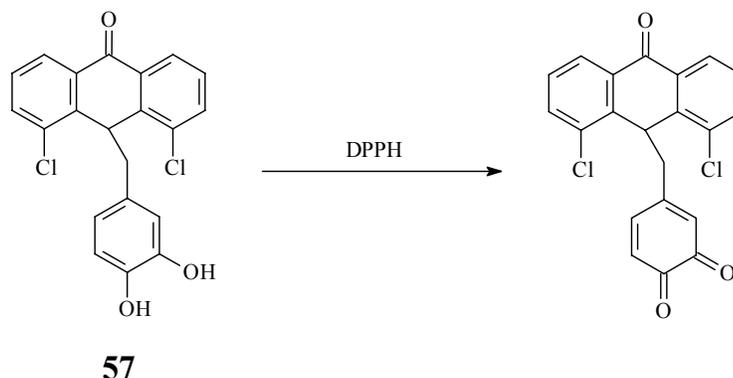


Abb. C5: Bildung einer Orthochinonstruktur durch DPPH-Einwirkung auf das Catecholderivat **57**

Die Untersuchungsreihe zu den 4,5-Dichlor-9-anthracenderivaten ergab, daß weder die 9-Acoyl- noch die 9-Alkyloxyderivate in der Lage waren, DPPH umzusetzen. Sie können daher als nicht redoxaktiv eingestuft werden.

10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenone und 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene, die sich als antiproliferativ an HaCaT-Zellen erwiesen, zeigten ohne Ausnahme keine Reaktivität im DPPH-Test. Die Verbindung **57** hingegen besitzt eine höhere Reaktivität als Dithranol. Es erwies sich aber im Antiproliferationstest gegenüber Keratinozyten als nicht wachstumshemmend. Hieraus ist zu schließen, daß als Wirkmechanismus für das antipsoriatische Potential der getesteten 4,5-Dichloranthronderivate eine Beteiligung von Redoxvorgängen in oder an der Zelle unwahrscheinlich sind. Eine Sonderstellung nimmt das unsubstituierte 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenon (**1**) ein, da es mit einem IC_{50} -Wert von 1.7 μ M nur wenig schlechter antiproliferativ wirksam ist als Dithranol und im DPPH-Test sich ebenfalls als reaktiv zeigt. Somit sind dessen Redoxeigenschaften zumindest als Teil des Wirkmechanismus in Betracht zu ziehen.

2. Hemmung der Keratinozytenproliferation

2.1 Einführung

Bei der Pathologie der Psoriasis vulgaris greifen im Wesentlichen eine inflammatorische²¹ und eine hyperproliferative^{14,137} Komponente als charakteristische Merkmale ineinander. Die epidermale Hyperproliferation äußert sich in einer starken Verdickung der Epidermis, sowie einer extremen Schuppung der betroffenen Haut. Hervorgerufen werden diese Erscheinungen durch die erhöhte Mitoserate und die verkürzte Transitzeit der Keratinozyten. Des weiteren kommt es zu Reizung und Entzündung der psoriatischen Hautareale. Am Auftreten beider Symptomatiken sind in einem hohen Maße verschiedene Lipoxigenaseprodukte beteiligt, die in befallenen Geweben in gesteigerter Konzentration nachzuweisen sind^{21,138-142}.

Arachidonsäuremetaboliten wie LTB₄, 5-HETE und 12-HETE locken durch ihre chemotaktischen Eigenschaften an inflammatorischen Prozessen beteiligte Zellen wie Granulozyten und Makrophagen an und stimulieren direkt die Keratinozytenproliferation^{21,138-144}. Das durch Endothelzellen gebildete IL-8 führt ebenfalls zu einem gesteigerten Keratinozytenwachstum, wie auch zur Unterhaltung der Entzündung durch Aktivierung von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten¹⁴⁵. In Zusammenhang mit der Hyperproliferation und der verkürzten Transitzeit der Keratinozyten steht deren mangelnde Ausdifferenzierung, auch hervorgerufen durch das gestörte zytokinregulierte Wachstum in der Epidermis. Als Folge treten Parakeratose und ein Fehlen des Stratum granulosum auf¹⁰. Als weiterer mitogener Mediator fungiert der autokrin regulierende Wachstumsfaktor TGF- α in psoriatischen Zellen und bindet außerdem an den EGF-Rezeptor¹⁴⁶.

Aus der Pathogenese der Schuppenflechte geht hervor, daß neu entwickelte Antipsoriasismedikamente sowohl antiproliferativ als auch antiinflammatorisch, wirken müssen. Besitzt der Wirkstoff nur die eine oder andere Wirkkomponente, so kann er nicht zu einer optimalen Therapie der Psoriasis vulgaris führen. Für die antiproliferative Wirkung neuer Substanzen ist bislang noch kein geeignetes reproduzierbares

Tiermodell beschrieben. Somit wird das wachstumshemmende Potential durch verschiedene *In-vitro*-Zellsysteme evaluiert^{49,63,147}. Hauptsächlich werden für solche Tests kultivierte menschliche Epidermiszellen wie HeLa¹⁴⁷- und HaCaT-Zellen¹⁴⁸ verwendet. *Bernd et al.*¹⁴⁹ bestimmte für den „Goldstandard“ der Antipsoriatika Dithranol einen IC₅₀-Wert von 1.9 µM an HeLa-Zellen. Die HaCaT-Zelllinie zeigte sich mit einer Hemmkonzentration von 0.6 µM gegenüber Dithranol wesentlich empfindlicher und daher bestens geeignet für die Ermittlung der antiproliferativen Wirkung neuer potentieller Verbindungen zur Psoriasisstherapie¹⁵⁰. Darüber hinaus zeichnen sich HaCaT-Zellen durch ihre sichere und einfache Handhabung aus. Sie proliferieren sehr rasch und besitzen im Vergleich zu tierischen Keratinozyten („Meerschweinchenepidermis“) eine höhere Stabilität. Eine Gefährdung geht von ihnen kaum aus, da es sich um keine Tumorzelllinie handelt und ihr Wachstum nicht invasiv ist. HaCaT-Zellen besitzen volle Differenzierungsfähigkeit und natürliche Regulationsmechanismen. Mit über 140 möglichen Passagen sind sie nahezu unsterblich⁷⁹. Dies wird nicht durch Transduktion mit Bakteriophagen (z.B. SV40) erreicht, sondern durch die Variation der Kulturbedingungen, die in der Bezeichnung **HaCaT** ihren Ausdruck findet: Menschliche Keratinozyten der Haut Erwachsener (**H**uman keratinocytes **a**dult skin) werden in einem Nährmedium mit verringertem Calcium-Gehalt (**C**alcium level reduced) bei erhöhter Inkubationstemperatur (**T**emperatur elevated) kultiviert und erlangen so ihre Stabilität und Langlebigkeit¹⁴⁸. Die Wirkung von Dithranol auf HaCaT-Zellen ist in zahlreichen Veröffentlichungen dokumentiert. So führt es zu Veränderung der Zellmorphologie und beeinträchtigt eine Vielzahl von Stoffwechselfvorgängen. Darunter sind Einwirkungen auf die DNA-Synthese^{49,63,151-153}, die Proteinbiosynthese^{63,153}, die Mitochondrienatmung^{63,116} und die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase^{56,154} nachgewiesen. Die durch Dithranol gebildeten Sauerstoffspezies^{71,155} beeinflussen die Zellproliferation und wirken zytotoxisch^{79,156-158}. Die ausgeprägten prooxidativen und antiproliferativen Eigenschaften des Dithranols können durch gleichzeitige Behandlung der Zellen mit Superoxid-Dismutase und Katalase (enzymatische Antioxidantien) abgeschwächt werden¹⁵⁸.

2.2 Testsystem

In unserem Arbeitskreis wurden zahlreiche Arbeiten mit der HaCaT-Zelllinie als Testsystem angefertigt^{81,86,159-162}. So entwickelten *Gawlik et al.*¹⁶³ ein System, auf das auch wir für unsere Untersuchungen in leicht modifizierter Form zurückgriffen. Wir erhielten die Zellen von den Dermatologischen Kliniken der Universitäten Regensburg und Münster, mit freundlicher Genehmigung von Prof. Fusenig, Heidelberg. Die Zellen werden in T₇₅-Flaschen unter Verwendung von DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) als Nährmedium gezüchtet. DMEM enthält 4 500 mg/l Glucose, 0,584 mg /l Glutamin, Natriumcarbonat und Phenolrot als pH-Indikator. Des weiteren wird dem Medium 10% fetales Kälberserum und 1% Penicillin-Streptomycin als Verkeimungsschutz zugesetzt.

Bei einer Temperatur von 37 °C und einem Kohlendioxidgehalt von 5% werden die Zellen inkubiert. Bei der HaCaT-Linie handelt es sich um adhärenente Zellen. Diese wachsen am Boden an und bilden nach einigen Tagen einen Zellteppich (*Abb. C6*). In der Regel ist dieser nach einer Woche konfluent, der gesamte Flaschenboden also zugewachsen, so daß der Inhalt passagiert werden muß.

Zur Vorbereitung eines Zelltests werden die konfluenten Zellen mit einer Trypsinlösung abgelöst, überschüssiges Trypsin durch Zusatz von DMEM inaktiviert, die Zellen abzentrifugiert und schließlich eine auf 25×10^4 Zellen eingestellte Zellsuspension hergestellt. Jede Kavität wird mit 100 µl der Zellsuspension und 1 ml DMEM beschickt und 24 h unter Inkubationsbedingungen aufbewahrt, um den Zellen das Anwachsen am Boden der Kulturplatten zu ermöglichen. Nach der Erneuerung des Nährmediums am nächsten Tag erfolgt der Zusatz der zu untersuchenden Verbindungen in verschiedenen Konzentrationen. Als Lösungsmittel dient DMSO, da Anthrone im allgemeinen in wäßrigem Medium sehr schlecht löslich sind und Dimethylsulfoxid sich in einer Konzentration von 0.2 % als untoxisch für die HaCaT-Zellen erweist. Der DMSO-Gehalt in jeder Kavität wird daher auf 0.2 % eingestellt. Zur Kontrolle werden zum einen Zellen nur mit Medium, zum anderen mit Medium und 0.2 % DMSO inkubiert. Bei allen Testansätzen kann eine Beeinflussung der Keratinozytenproliferation durch das Lösungsmittel ausgeschlossen werden, da beide

Kontrollansätze stets übereinstimmende Wachstumsraten zeigen. Eine Hemmung des Keratinozytenwachstumes ist somit ausschließlich auf die Testverbindung zurückzuführen

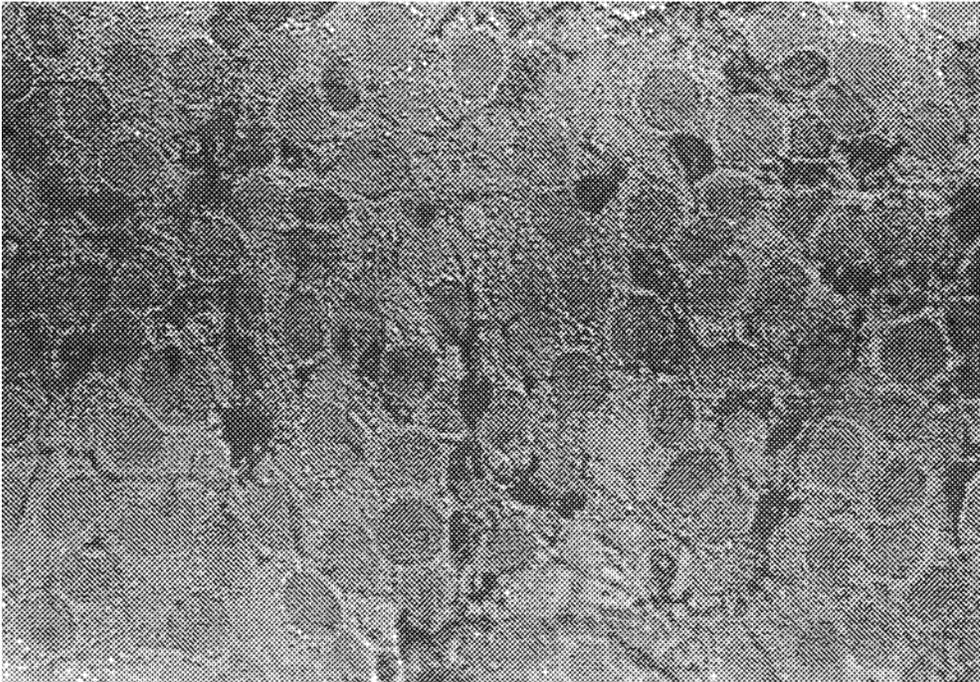


Abb. C6: Keratinozytenzellverband am Boden der Gewebekulturplatte 24 h nach Zugabe der eingestellten Zellsuspension (128-fache Vergrößerung)

Die folgende Inkubationszeit beträgt 48 h. Danach wird das Medium abgesaugt und die Zellen mit einer Trypsinlösung von dem Boden der Platte abgelöst. Durch Zugabe von DMEM bricht man den Ablösevorgang ab, die Suspension wird gut durchmischt und die Zellzahl mit Hilfe der Neubauerkammer (improved) unter dem Phasenkontrastmikroskop ausgezählt.

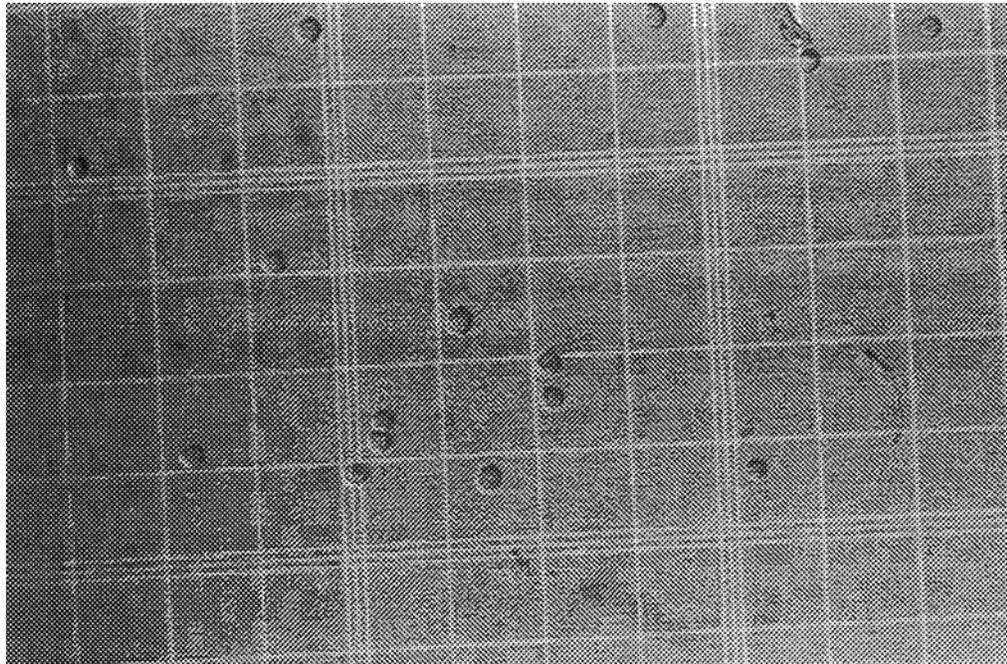


Abb. C7: Phasenkontrastmikroskopisches Bild von HaCaT-Zellen in einer Neubauerkammer (32-fache Vergrößerung)

Abb. C8 fasst das Testsystem zu Bestimmung der antiproliferativen Wirkung einer Substanz schematisch zusammen.

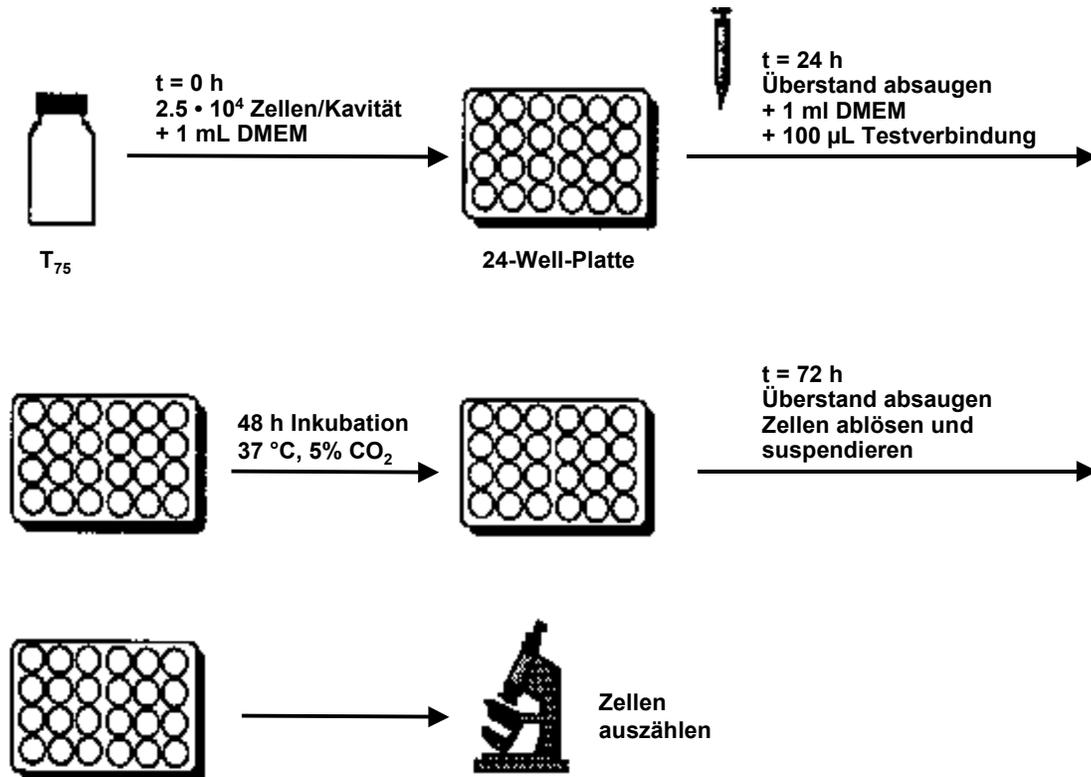


Abb. C8: Testschema zur Bestimmung der antiproliferativen Wirkung

2.3 Bestimmung der IC_{50} -Werte

Die Konzentration, bei der eine Substanz das Wachstum der HaCaT-Zellen zu 50 % hemmt, wird graphisch ermittelt. Hierzu wird die relative Zahl der vorhandenen lebenden Zellen, bezogen auf den Kontrollansatz mit 0.2 % DMSO, gegen die Konzentration der Testsubstanz aufgetragen. Es ergibt sich eine Kurve, aus der der IC_{50} -Wert abgelesen werden kann.

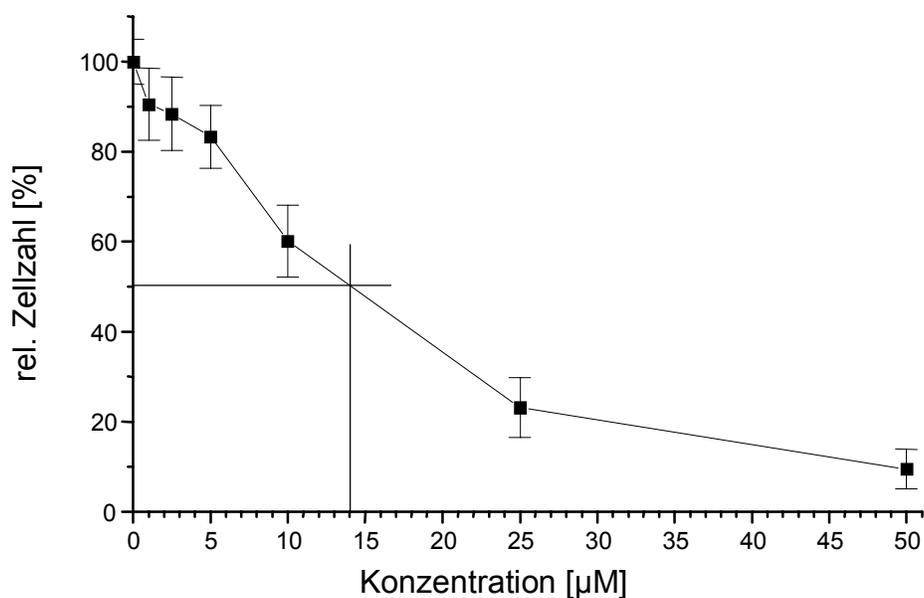


Abb. C9: Bestimmung des IC_{50} -Wertes der Verbindung 2

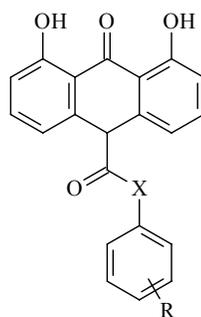
2.4 Bisherige Untersuchungen

In unserem Arbeitskreis wurden bisher zahlreiche Untersuchungen zu der antiproliferativen Wirkung von Dithranol und verschiedenen Dithranolderivaten angestellt^{81,86,159-162}. Für das Dithranol als Standard-Antipsoriatikum konnte ein IC_{50} -Wert von 0.4-0.7 μM bestimmt werden. Es besitzt somit ein wesentlich höheres wachstumhemmendes Potential an HaCaT-Zellen als andere antiproliferativ wirkende Substanzen wie Bufexamac, Hydrocortison oder Vitamin D₃.

Verbindung	IC_{50} μM	Lit.
Dithranol	0.4-0.7	164
Bianthron	0.4	164
Chrysazin	> 5	164
Bufexamac	> 10	165
Hydrocortison	> 10	165
Vitamin D ₃	> 10	165

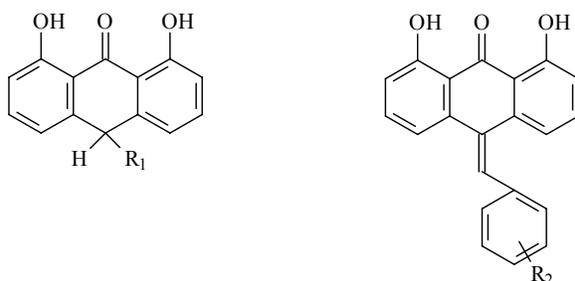
Tab. C10: Antiproliferative Aktivität ausgewählter Vergleichssubstanzen

Gawlik beschäftigte sich mit der biochemischen Testung von verschiedenen Dithranolderivaten. Durch seine Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß die Einführung einer Acyl-, Benzyliden- oder Benzylgruppe in die C-10-Position nicht zwangsläufig zum Verlust der antiproliferativen Potenz führen muß. Zahlreiche Verbindungen weisen mit IC_{50} -Werten von unter 5 μM eine gute Wirksamkeit auf. Die folgenden Tabellen zeigen eine Auswahl von Substanzen, die neben dem strukturanalogen Grundgerüst auch Ähnlichkeiten im Substitutionsmuster zu den von uns vorgelegten 9(10*H*)-Anthracenonen besitzen.



X	R	IC ₅₀ [μM]
CH ₂	H	1.9
CH ₂	NO ₂	4.7
CH ₂	4-OCH ₃	1.1
(CH ₂) ₂	H	1.6
(CH ₂) ₂	4-OCH ₃	1.4
(CH ₂) ₃	H	1.5

Tab. C11: Antiproliferative Aktivität ausgewählter Acyldithranolderivate



	R₁ oder R₂	IC₅₀ [μM]
R₁	CH ₂ -Ph	>5
	CH ₂ -Ph(4-OCH ₃)	>5
	CH ₂ -Ph(4-NO ₂)	3.2
R₂	H	2.7
	NO ₂	0.4
	4-OCH ₃	1.9
	3,4,5-(OCH ₃) ₃	1.6
	4-OH	1.9
	3,4-(OH) ₂	2.1

Tab. C12: Antiproliferative Aktivität ausgewählter Benzyliden- und Benzylidithranolderivate

Da sich der größte Teil der Studien über die antiproliferative Wirksamkeit von 9(10*H*)-Anthracenonen an HaCaT-Zellen auf Dithranol und dessen Derivate konzentriert, liegen bis heute wenige Erkenntnisse über die Potenz von Anthronen mit anderen Substituenten vor. *Schaltegger* und *Krebs*⁴⁶ postulierten eine „antipsoriatische Minimalstruktur“, nach der eine phenolische Hydroxygruppe in Nachbarstellung zu einer Carbonylfunktion und eine freie Methylengruppe in Position 10 des Anthracenongrundgerüsts essentiell für die Wirksamkeit ist. (*Abb. C10*)

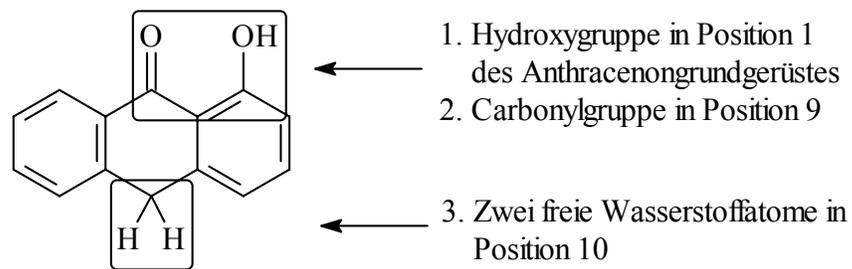
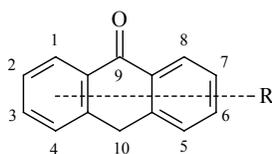


Abb. C10: Minimalstruktur für antipsoriatische Anthrone nach Schaltegger und Krebs

Da sich jedoch 10- ω -Phenylacetyl-, 10- ω -Phenylalkyliden und auch 10-Benzylderivate als wirksam erwiesen, scheint die Forderung nach einer freien Methylenkomponente am C-10 als Strukturvoraussetzung nicht haltbar. *Gawlik*^{79,164} konnte durch seine Untersuchungen zeigen, daß die postulierte Minimalstruktur selbst nicht antiproliferativ auf HaCaT-Zellen wirkt und freie Hydroxygruppen nicht unbedingt entscheidend für die wachstumshemmende Potenz einer Substanz sind. Zahlreiche getestete einfache Anthronderivate sind an den Zellen nicht aktiv. Mit dem 4,5-Dichlor-9(10H)-anthracenon ist jedoch eine Verbindung gefunden worden, die keine Hydroxygruppe besitzt und mit einem IC₅₀-Wert von 2.1 μ M eine gute antiproliferative Wirksamkeit auf Keratinozyten zeigt (*Tab. C13*).



R	IC ₅₀ [μM]
1,8-(OH) ₂	0.4-0.7
Anthracen	>5
H	>5
1-OH	>5
1,8-(OCH ₃) ₂	>5
1,8-Cl ₂	>5
4,5-(OH) ₂	>5
4,5-(OCH ₃) ₂	>5
4,5-Cl₂	2.1
1,8,9-Triacetoxyanthracen	0.3

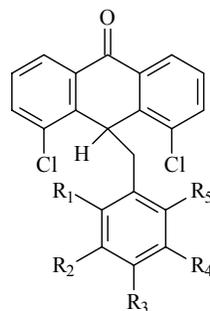
Tab. C13: Antiproliferatives Potential einfacher Anthronderivate⁷⁹

Die hohe Wirksamkeit des 1,8,9-Triacetoxyanthracens dürfte auf dessen Prodrugcharakter zurückzuführen sein. *Wiegrebe et al.* konnten zeigen, daß die Ester des Dithranol-Triacetates nach der perkutanen Resorption oder der Inkubation von Mäusehauthomogenisat gespalten werden und u.a. Dithranol entsteht^{166,167}. Gleiches nimmt *Gawlik* für das HaCaT-Testsystem an⁷⁹.

Das 4,5-Dichlor-Derivat stellt in dieser Reihe eine Ausnahme dar und ist Ausgangspunkt für unsere Untersuchungen.

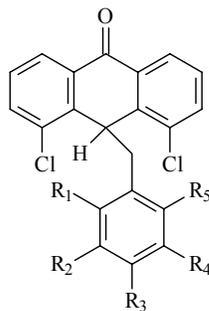
2.5 Ergebnisse für 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenone

Wir untersuchten unter den beschriebenen Bedingungen die von uns synthetisierten Derivate des 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenons. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen C14 und C17 aufgeführt. Die angegebenen IC₅₀-Werte resultieren aus ein bis drei Bestimmungen zu je sechs Konzentrationen (SA < 10 %). Als gut wirksam gelten solche Verbindungen mit einem IC₅₀-Wert < 5 µM. Liegt der Wert zwischen 5 und 50 µM so wird die Substanz als moderat wirksam, bei einem IC₅₀-Wert > 50 µM als unwirksam eingestuft.



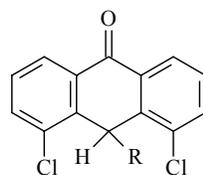
Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	IC ₅₀ [µM]
6	H	H	H	H	H	4.3
7	H	H	CH ₃	H	H	44
8	H	H	CF ₃	H	H	25
11	Cl	H	H	H	H	30
14	H	H	Cl	H	H	36
17	OCH ₃	H	H	H	H	>50
20	H	OCH ₃	H	H	H	2.0
22	H	H	OCH ₃	H	H	5.0
25	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H	5.0
28	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	24

Tab. C14: 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenone

Fortsetzung **Tab. C14**

Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	IC ₅₀ [μM]
31	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	3.8
34	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	>50
37	NO ₂	H	H	H	H	>50
40	H	NO ₂	H	H	H	5.0
41	H	H	NO ₂	H	H	>50
42	NO ₂	H	NO ₂	H	H	17
45	H	OBn	H	H	H	21.5
48	H	H	OBn	H	H	36
51	H	OBn	OBn	H	H	>50
54	H	OBn	OCH ₃	H	H	>50
55	H	OH	H	H	H	15
56	H	H	OH	H	H	18.7
57	H	OH	OH	H	H	17.5
58	H	OH	OCH ₃	H	H	1.5
Dithranol						0.5

Tab. C14: 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenone

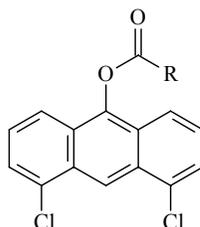


Verb.	R	IC ₅₀ [μM]
1	H	1.7
2	Br	14
3	C ₆ H ₅	>50
4	4-CH ₃ C ₆ H ₄	>50
5	4-OCH ₃ C ₆ H ₄	20

Tab.C15: 4,5-Dichlor-10-substituierte-9(10*H*)-anthracenone

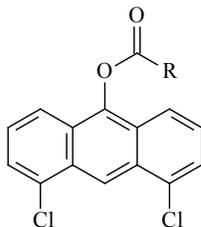
2.6 Ergebnisse für 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene

Die Durchführung der Testreihe und die Bewertung erfolgte wie unter **C2.5** beschrieben.



Verb.	R	IC ₅₀ [μM]
67	CH ₃	25
68	C ₆ H ₅	35
69	4-OCH ₃ C ₆ H ₄	>50

Tab. C16: 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene

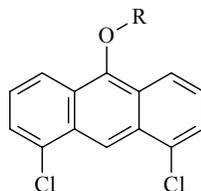
Fortsetzung **Tab. C16**

Verb.	R	IC ₅₀ [μM]
70	4-NO ₂ C ₆ H ₄	5.0
71	CH ₂ C ₆ H ₅	5.0
73	CH ₂ (4-CH ₃)C ₆ H ₄	9.0
74	CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄	8.0
75	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₄	16.5
77	CH ₂ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	24

Tab. C16: 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene

2.7 Ergebnisse für 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracen

Die Durchführung der Testreihe und die Bewertung erfolgte wie unter **C2.5** beschrieben.



Verb.	R	IC ₅₀ [μM]
59	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	30
61	CH ₂ CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄	>50
63	CH ₂ CH ₂ (3,4-OCH ₃) ₂ C ₆ H ₃	28.5
65	CH ₂ CH ₂ (3,4,5-OCH ₃) ₃ C ₆ H ₂	46
66	CH ₂ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	>50

Tab. C17: 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracene

2.8 Diskussion

In vorhergehenden Untersuchungen zur Hemmung der Keratinozytenproliferation durch Dithranolderivate konnte bereits die hohe antiproliferative Potenz von Dithranol nachgewiesen werden. Die Variation der IC₅₀-Werte im Bereich von 0.2 – 0.6 μM¹⁶³ ist vermutlich auf die geringe Stabilität des Moleküls zurückzuführen. Wir konnten diese sehr hohe wachstumshemmende Aktivität des Dithranols als Vergleichssubstanz für unsere Testreihen mit einem IC₅₀-Wert von 0.5 μM bestätigen. Der von *Gawlik* ermittelte IC₅₀-Wert von 2.1 μM⁷⁹ für die Ausgangsverbindung 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenon (**1**) konnte von uns auf 1.7 μM korrigiert werden. Die strukturelle Modifikation der Substanz **1** führt grundsätzlich nicht zu einer Wirkverbesserung, jedoch zeigen einige Derivate mit IC₅₀-Werten von 1.5 – 5.0 μM noch gute inhibitorische Aktivitäten.

In der Serie der 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenone fallen vor allem die methoxysubstituierten Substanzen auf. So besitzen die Meta- und Paramethoxyderivate

20 und **22** mit IC_{50} -Werten von 2.0 μM bzw 5.0 μM gute Wirksamkeiten. Hingegen ist Verbindung **17** mit einer Methoxygruppe in Orthoposition inaktiv. Auch die Dimethoxyderivate **25** und **31** hemmen das Wachstum der Keratinozyten in sehr niedrigen Konzentrationen von 5.0 bzw. 3.8 μM , während die Wirksamkeit eines weiteren Dimethoxybenzylanthracenons **28** auf den Wert von 24 μM stark abfällt. Wird eine dritte O-Methylgruppe eingeführt (**34**), hat dies einen totalen Wirkverlust zur Folge. Die Methyl- (**7**), Trifluormethyl- (**8**), Chlor- (**11**, **14**) und Benzyloxyderivate (**45**, **48**, **51**, **54**) sind mit IC_{50} -Werten zwischen 21.5 und >50 μM ebenfalls nur mäßig antiproliferativ wirksam, während das unsubstituierte 10-Benzylanthracenon (**6**) mit 4.8 μM einen guten Wert aufweist. Unter den Nitrobenzylanthracenonen zeigt lediglich das Metanitroderivat (**40**) eine inhibitorische Aktivität ($IC_{50} = 5.0$ μM).

Durch Einführung von einer bzw. zwei Hydroxygruppen (**55**, **56**, **57**) in den Benzylring kommt es zu einer Abschwächung der hemmenden Potenz. Die IC_{50} -Werte variieren zwischen 17.5 und 21.5 μM . Eine Ausnahme bildet das 4,5-Dichlor-10-(3-hydroxy-4-methoxybenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (**58**): Mit einer sehr niedrigen Hemmkonzentration von 1.5 μM ist es genauso wirksam wie **1** und nur wenig schwächer aktiv als die Standardsubstanz Dithranol. Einen Zusammenhang zwischen der inhibitorischen Aktivität einer Substanz und deren Substitutionsmuster am Benzylring ist in dieser Serie nur schwer zu erkennen. Auffällig ist, daß fast alle Methoxyderivate gute Wirksamkeiten besitzen, insbesondere wenn sich die funktionelle Gruppe an Meta- und/oder Paraposition befindet. Der IC_{50} -Wert verschlechtert sich jedoch, wenn beide Metapositionen besetzt sind. Die Einführung einer dritten, paraständigen Methoxygruppe führt sogar zum Wirkverlust. Dies ist ebenso der Fall, wenn nur die Orthoposition belegt ist. Befindet sich aber gleichzeitig eine O-Methylgruppe an der 3-Position kommt es zur sprunghaften Wirksteigerung. Es ist zu vermuten, daß die Para- und Metapositionen des Benzylringes eine gewisse Rolle für das Ausmaß der antiproliferativen Aktivität der 10-Benzyl-9(10*H*)-anthracenone spielen. Werden diese mit lipophilen Substituenten wie Benzyloxy oder Methylgruppen besetzt, so zeigen die entsprechenden Derivate keinen wachstumshemmenden Effekt auf die Keratinozyten. Nach Einführung von hydrophileren Substituenten wie Nitro- oder Hydroxygruppen zeigt sich ein uneinheitliches Bild: Während das 3-

Nitrobenzylanthron (**40**) das Wachstum der HaCaT-Zellen bei einer geringen Konzentration von 5.0 μM hemmt, sind die 2-Nitro-, 4-Nitro- und 2,4-Dinitroverbindungen weitestgehend inaktiv. Auch die Monohydroxyderivate **55** und **56** sowie das zweifach hydroxylierte Derivat **57** zeigen eine wesentlich schwächere Potenz als **1** und **6**. Hingegen ist das in Paraposition O-methylierte und in Metaposition hydroxylierte 10-Benzylanthracenon **58** die wirksamste Verbindung.

Eine Auswirkung der unterschiedlichen elektronischen Effekte der Substituenten auf die antiproliferative Aktivität der Verbindungen ist ebenso nicht zu erkennen, wie ein auf Redoxeigenschaften beruhender Wirkmechanismus.

Die 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracen-Derivate sind alle unwirksam. Eine Sonderstellung nehmen die 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene ein. Von diesen besitzen die vier Verbindungen **70**, **71**, **73** und **74** mit IC_{50} -Werten zwischen 5.0 und 9.0 μM relativ gute antiproliferative Eigenschaften. Aufgrund ihrer Esterstruktur liegt bei diesen Derivaten die Vermutung nahe, daß es sich um Prodrugs handeln könnte, die entweder durch enzymatische oder nichtenzymatische Esterhydrolyse in ihre eigentliche Wirkform **1** überführt werden. Ein ähnliches Verhalten ist beim 1,8,9-Triacetoxyanthracen beobachtet worden^{166,167}. Das Kapitel **C5** befaßt sich mit den Untersuchungen zur Stabilität der von uns synthetisierten und getesteten 9-Acoyl-4,5-dichloranthracenen.

Abschließend kann festgestellt werden, daß es uns gelungen ist, neue antiproliferativ wirksame Verbindungen bereitzustellen, die nicht mehr das 1,8-Dihydroxy-9(10H)-anthracenongrundgerüst besitzen. Darüber hinaus konnten wir zeigen, daß entgegen den Untersuchungen von *Krebs* und *Schaltegger*, weder eine freie Hydroxylgruppe noch die freie C-10-Methylengruppe der 9(10H)-Anthracenone zwingend notwendig für eine antipsoriasische Aktivität ist. Zwar erreichen unsere beiden potentesten Vertreter **1** und **58** mit IC_{50} -Werten von 1.7 und 1.5 μM nicht ganz die Wirksamkeit des Goldstandards Dithranol, besitzen aber keine ausgeprägten Redoxeigenschaften, wodurch das Risiko von Hautirritationen bei topischer Applikation erheblich geringer wäre als bei Dithranol.

3. Hemmung der Proliferation von HL-60-Zellen

3.1 Einführung

Wie unter A4.3 beschrieben finden Anthrone hauptsächlich als Laxantien und Antipsoriatika therapeutische Anwendung. Ihr wachstumshemmendes Potential auf menschliche Hautzellen ist durch zahlreiche Arbeiten untersucht und dokumentiert worden. Veröffentlichungen über ihre Wirkung an anderen Zelllinien, wie z. B. an Tumorzellen, liegen hingegen bisher nur wenige vor. Anthrone besitzen strukturelle Ähnlichkeiten mit zytostatisch wirksamen Substanzen wie Anthracyclinen und Acridonen. So sind die Anthracyclinderivate Daunorubicin und Doxorubicin vor allem bei leukämischen Erkrankungen als hochwirksame Zytostatika indiziert¹. Acridone sind bislang nicht als Krebstherapeutika auf dem Markt, die wachstumshemmende Wirksamkeit und der Differenzierung induzierende Effekt auf Tumorzellen sind aber durch einige Untersuchungen belegt¹⁶⁸⁻¹⁷¹. Prinz befaßt sich zurzeit in unserem Arbeitskreis im Rahmen seiner Habilitation erfolgreich mit der Synthese und Testung zytostatisch wirksamer Benzylidenanthrone¹⁷².

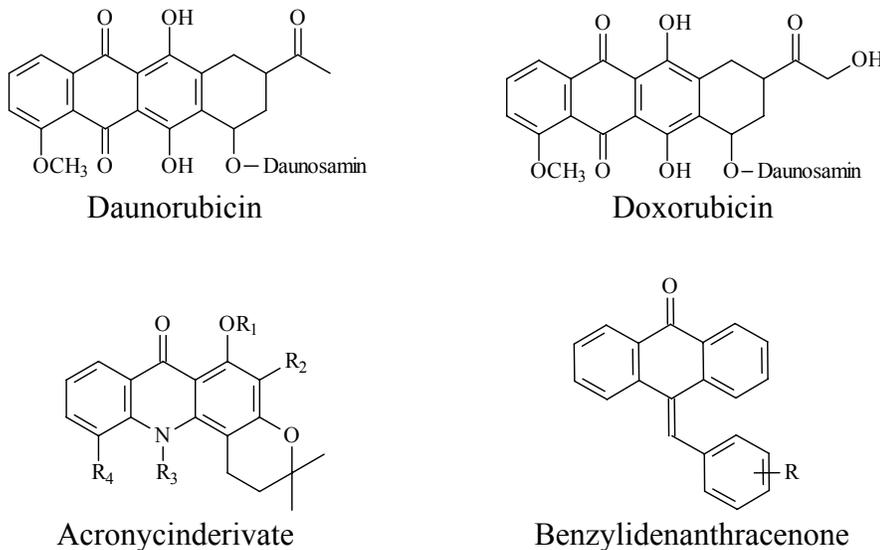


Abb. C11: Auswahl mit Anthronen strukturverwandter zytostatisch wirksamer Substanzen

Somit war es für uns von Interesse, die neuen Anthracenone und Anthracene, sowie Dithranol in Hinblick auf ihre antiproliferative Aktivität an Tumorzellen zu charakterisieren.

Der heutigen Forschung stehen eine ganze Reihe von Tumorzelllinien zur Verfügung. Darunter adhärente Leberkarzinomzellen (HepG2-Zellen) und nicht-adhärente Leukämiezellen wie z. B. K-562 oder HL-60-Zellen. Unsere Testungen führten wir an der HL-60-Zelllinie (**H**uman **L**eukemic **P**romyelocytic **C**ells) durch. Diese Zellen wurden Ende der siebziger Jahre von *Collins et al.* aus Leukozyten einer an akuter promyeloischer Leukämie erkrankten erwachsenen Frau gewonnen und kultiviert (RPMI-1640-Medium + 15 % FCS + 50 µg/mL Gentamicin, 5 % CO₂, 37 °C)¹⁷³. Promyelozyten und Myelozyten sind teilungsfähige Vorstufen während der Granulozytopoese, die bei myeloischen Leukämieerkrankungen entdifferenzieren und sich sehr stark vermehren⁶. HL-60-Zellen zeigen ein verringertes Kern-Zytoplasma-Verhältnis, einen Verlust der Nucleoli und nehmen die morphologische Charakteristik von Metamyelozyten an^{174,175}. Der Verlust der Differenzierungsfähigkeit ist nicht irreversibel. So vermag DMSO in Konzentrationen > 1.1 % diese wieder zu induzieren. Die Zellen reifen dann zu Myelozyten, Metamyelozyten und Neutrophilen Granulozyten heran und erlangen ihre physiologischen, funktionalen Eigenschaften wieder zurück¹⁷⁶. Bei Inkubation der HL-60-Zellen mit einer DMSO-Konzentration unterhalb von 1 % wird dieser Effekt nicht mehr beobachtet¹⁷⁷. In der Krebstherapie sind bisher fast ausschließlich Substanzen im Einsatz, die aufgrund ihrer hohen Zytotoxizität wachstumshemmend wirken, dies jedoch meist unselektiv, so daß gravierende Nebenwirkungen während der Therapie auftreten. Ein ideales Tumorthapeutikum wäre daher eine Substanz, welche wie DMSO bei entarteten Zellen zur Rückgewinnung ihrer normalen Funktionen führt. Beschrieben ist ein solcher Effekt u.a. für einige Acridone¹⁶⁹. Auch die Induktion von apoptotischen Prozessen ist bei HL-60-Zellen beobachtet worden und könnte als bevorzugter Therapieansatz dienen¹⁷⁸. Um schwere Nebenwirkungen zu vermeiden, sollte in jedem Falle bei hoher zytostatischer Potenz die unspezifische Zytotoxizität auf möglichst geringem Niveau gehalten werden.

3.2 Testsystem

Die Zellen werden unter Verwendung von RPMI-1640-Medium mit 10 % FCS und 1 % Penicillin-Streptomycin als Nährmedium bei einer Inkubationstemperatur von 37 °C kultiviert und vermehrt. Nach 2-3 Tagen werden die Zellen durch den Ersatz von verbrauchtem Medium durch frisches Medium passagiert. Zur Testung einer Substanz wird jede Kavität einer Gewebekulturplatte mit 495 µL einer auf 20×10^4 Zellen eingestellten Zellsuspension beschickt. Die zu untersuchenden Verbindungen, gelöst in DMSO, werden in der Regel in Konzentrationen von 0.1-30.0 µg/mL zugesetzt. Nach Ablauf der 48 stündigen Inkubation wird die Zellsuspension in den einzelnen Kavitäten gut durchmischt und die Zellzahl mit Hilfe der Neubauerkammer (improved) unter dem Phasenkontrastmikroskop ausgezählt. Die DMSO-Konzentration in jeder Kavität wird auf 0.5 % eingestellt, da bei dieser Konzentration Verfälschungen der Testergebnisse durch Ausdifferenzierung der Zellen ausgeschlossen werden können¹⁷⁷.

3.3 Bestimmung der IC₅₀-Werte

Die Auswertung erfolgt durch graphisches Auftragen des Prozentsatzes der vorhandenen Zellen bezogen auf den Kontrollansatz mit 0.5 % DMSO gegen die Konzentration der Testsubstanz. Anhand der resultierenden Kurve kann der IC₅₀-Wert in µg/mL abgelesen werden. Zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse wird der Wert unter Einbeziehung der jeweiligen molekularen Massen auf µM umgerechnet.

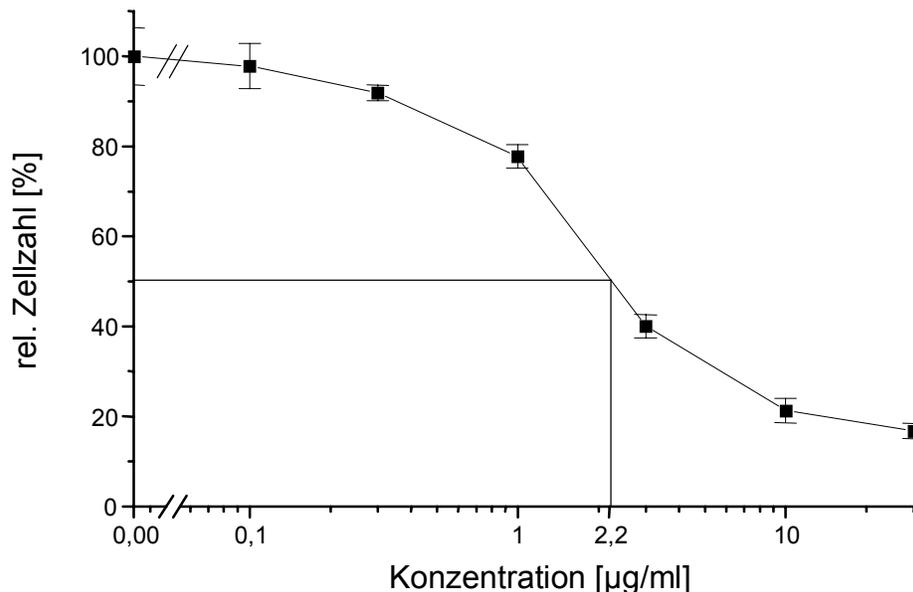


Abb. C12: Bestimmung des IC₅₀-Wertes der Verbindung **22** (MG 382 g/mol)
IC₅₀ = 2.2 µg/mL = 5.7 µM

3.4 Bisherige Untersuchungen

Die HL-60-Zelllinie ist seit Ende der siebziger Jahre in zahlreichen Veröffentlichung als Testsystem verwendet worden^{168-171,173-187}. Ein erschöpfender Überblick würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen, so daß hier nur auf einige wenige Untersuchungen eingegangen werden kann. Unter **C3.1** wurde bereits erwähnt, daß einige Acridonderivate in Hinblick auf ihr antiproliferatives Potential an HL-60-Zellen getestet wurden. So zeigt das Acronycinderivat Atalaphyllidin eine bessere wachstumshemmende Wirksamkeit als Acronycin selbst¹⁷⁰. Darüber hinaus wird dem Derivat ein hoher Differenzierung-induzierender Effekt zugeschrieben¹⁶⁹, wie er u.a. auch bei DMSO, 12-*O*-tetradecanoyl-phorbol-13-acetat¹⁷⁷ und all-*trans*-Retinolsäure¹⁷⁹ beobachtet wird. Als weitere antileukämische Substanz ist das aus *Aloe*

vera isolierte Diethylhexylphthalat beschrieben, das bei HL-60-Zellen zum apoptotischen Zelltod führt¹⁷⁸.

Weitere Untersuchungen befassen sich u.a mit der zytostatischen Wirkung von Anthracyclinen wie Doxorubicin, Daunorubicin und Moflomycin^{183,184}, sowie von Mitoxantron¹⁸⁷ und Chinolonantibiotika wie Difloxacin¹⁸⁶.

Die Substanzgruppe der Anthracenone im allgemeinen und somit auch Dithranol waren bislang in der Erforschung ihrer antiproliferativen Wirksamkeit an HL-60-Zellen von keiner Bedeutung. *Lansiaux* veröffentlichte im Jahre 2001 eine Arbeit über den zytostatischen und apoptotischen Effekt des Anthronderivates Peroxisomicin auf HL-60-Zellen. Das Anthrondimer wird aus den Früchten und Wurzeln der Pflanze *Karwinskia humboldtiana* isoliert und befindet sich zurzeit in der vorklinischen Prüfung als Antitumorthapeutikum. Neben seiner sehr hohen wachstumshemmenden Potenz mit einem IC₅₀-Wert von 0.35 µM vermag das Anthracenon über einen radikalischen Metaboliten Apoptose in den Leukämiezellen zu induzieren¹⁸⁵.

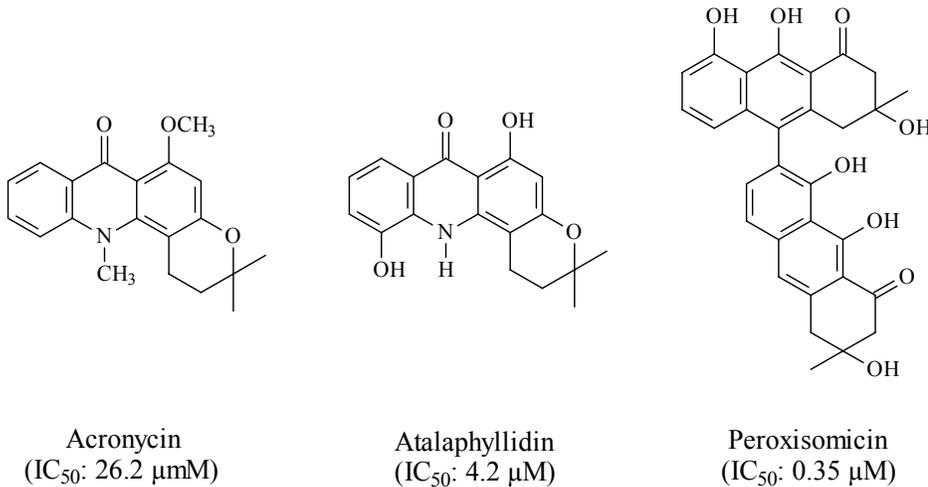


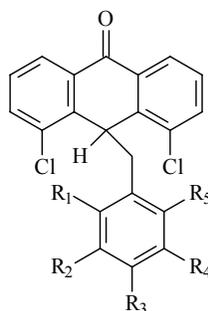
Abb. C13: Hemmstoffe der HL-60-Zellproliferation

3.5 Ergebnisse der 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenone und O-9-substituierten 4,5-Dichloranthracene

Wir untersuchten unter den beschriebenen Bedingungen die von uns synthetisierten Anthracenone und Anthracene, sowie Dithranol und Acronycin als Vergleichssubstanzen. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen C18 – C22 aufgeführt. Die angegebenen IC₅₀-Werte resultieren aus ein bis zwei, bei gut wirksamen Verbindungen aus drei Bestimmungen (SA < 10 %). Als unwirksam oder wenig wirksam gelten solche Verbindungen, deren IC₅₀-Wert über 50 μM liegt.

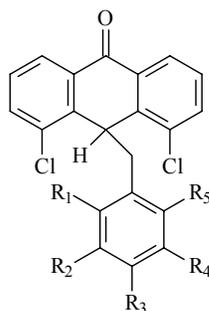
Verbindung	IC ₅₀ [μM]
Dithranol	0.6
Acronycin	26 ¹⁸⁸

Tab. C18: Vergleichssubstanzen



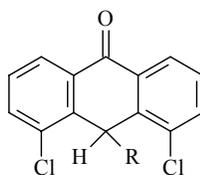
Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	IC ₅₀ [μM]
6	H	H	H	H	H	16
7	H	H	CH ₃	H	H	22
8	H	H	CF ₃	H	H	22
11	Cl	H	H	H	H	>70

Tab. C19: 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenone

Fortsetzung **Tab. C19**

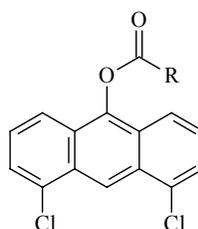
Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	IC ₅₀ [μM]
14	H	H	Cl	H	H	24.5
17	OCH ₃	H	H	H	H	49.6
20	H	OCH ₃	H	H	H	26
22	H	H	OCH ₃	H	H	5.7
25	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H	13.8
28	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	21.8
31	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H	15.7
34	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	14
37	NO ₂	H	H	H	H	19.3
40	H	NO ₂	H	H	H	22
41	H	H	NO ₂	H	H	>70
42	NO ₂	H	NO ₂	H	H	20.9
45	H	OBn	H	H	H	65
48	H	H	OBn	H	H	25
51	H	OBn	OBn	H	H	>70
54	H	OBn	OCH ₃	H	H	28.6
55	H	OH	H	H	H	10.8
56	H	H	OH	H	H	21
57	H	OH	OH	H	H	9.3
58	H	OH	OCH ₃	H	H	0.7

Tab. C19: 10-Benzyl-4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenone



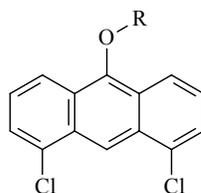
Verb.	R	IC ₅₀ [μM]
1	H	12
2	Br	32
3	C ₆ H ₅	>70
4	4-CH ₃ C ₆ H ₄	>70
5	4-OCH ₃ C ₆ H ₄	>70

Tab. C20: 10-substituierte 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenone



Verb.	R	IC ₅₀ [μM]
67	CH ₃	>70
68	C ₆ H ₅	21.2
69	4-OCH ₃ C ₆ H ₄	>70
70	4-NO ₂ C ₆ H ₄	58
71	CH ₂ C ₆ H ₅	29
73	CH ₂ (4-CH ₃)C ₆ H ₄	>70
74	CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄	>70
75	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	>70
77	CH ₂ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	>70

Tab. C21: 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene



Verb.	R	IC ₅₀ [μM]
59	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	49
61	CH ₂ CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄	55
63	CH ₂ CH ₂ (3,4-OCH ₃) ₂ C ₆ H ₃	65.5
65	CH ₂ CH ₂ (3,4,5-OCH ₃) ₃ C ₆ H ₂	>65
66	CH ₂ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	>70

Tab. C22: 9-Alkyloxy-4,5-dichlor-9-anthracene

3.6 Diskussion

Während die Vergleichssubstanz Acronycin das Wachstum nur in einem moderaten Maße hemmt (IC₅₀ : 26 μM) zeigt Dithranol eine starke Hemmwirkung auf die HL-60-Zellen, die der Wirkung an Keratinozyten gleich kommt. An beiden Zelllinien wurden von uns nach 48 stündiger Inkubation IC₅₀-Werte von 0.6 μM bestimmt. Dithranol wirkt somit ähnlich gut an den Leukämiezellen wie das in der präklinischen Testungsphase befindliche Peroxisomicin¹⁸⁵. Aufgrund der starken strukturellen Ähnlichkeiten der beiden Substanzen ist ein analoger Wirkmechanismus und die Induktion von Zellapoptose durch radikalische Metaboliten denkbar.

Die von uns neu synthetisierten Acoyl- und Alkyloxyanthracene (Tab. C21 und C22) inhibieren die Proliferation der Zellen nur geringfügig oder meist gar nicht. Auch die 10-Phenylanthracenone (Tab. C20) und das 10-Bromanthron (**2**) bleiben ohne Wirkung. Dem 4,5-Dichloranthron (**1**) kommt mit einem IC₅₀-Wert von 12 μM nur eine moderate antiproliferative Potenz zu. Unter den 10-Benzylanthracenonen (Tab. C19) fallen die parasubstituierten Methoxyderivate sowie die Hydroxyderivate auf. Die

Verbindung **22** besitzt in Paraposition eine Methoxyfunktion und zeigt mit 5.7 μM einen niedrigen IC_{50} -Wert. Verschiebt man die O-Methylgruppe in die Meta- oder Orthoposition (**20** und **17**), so verliert das Anthracenon seine Wirksamkeit. Die Einführung eines zweiten und dritten Methoxysubstituenten (**25**, **28**, **31**, **34**) führt zu einer Abschwächung der Wirkung. Die Parasubstitution durch eine Methoxygruppe scheint für die Wirkstärke von besonderem Gewicht zu sein, da die IC_{50} -Werte solcher Derivate nicht größer als 14 μM und damit niedriger als der Wert des unsubstituierten 10-Benzylderivates (**6**, 16 μM) sind. Verbindungen ohne p-Methoxysubstituent weisen hingegen eine wesentlich schlechtere Wirksamkeit auf. Die Hydroxyderivate zeigen mit Ausnahme der Verbindung **56** gegenüber dem 4,5-Dichloranthron (**1**) und dem unsubstituierten Benzylderivat (**6**) verbesserte IC_{50} -Werte um 10 μM . Hier könnte insbesondere beim Catecholderivat **57** eine teilweise Beteiligung von Radikalen zum Wirkungsmechanismus beitragen (siehe Dithranol und Peroxisomicin).

Die Einführung einer paraständigen Methoxygruppe oder die Hydroxylierung des Benzylrestes führt somit zu einer Steigerung der inhibitorischen Potenz gegenüber dem 4,5-Dichloranthron (**1**) und dem unsubstituierten 10-Benzylderivat (**6**). Andere 10-Benzylanthracenone sind weitgehend wirkungslos. Die Verbindung **58** vereinigt beide Substitutionsmuster: einen in Paraposition O-methylierten und in Metaposition hydroxylierten Benzylring. In ihrer Wirksamkeit ist sie mit einem IC_{50} -Wert von 0.7 μM nahezu dem Dithranol gleich zu setzen. Das Ergebnis belegt unsere These, daß für die antiproliferative Wirksamkeit von 10-Benzylderivaten an HL-60-Zellen eine Methoxygruppe in Paraposition und eine Hydroxyfunktion am Benzylring von entscheidender Bedeutung sind.

4. Untersuchung auf Zytotoxizität

4.1. Allgemeines

Das antiproliferative Potential einer Substanz kann sich zum einen auf deren spezifische Wechselwirkung mit Biomolekülen oder zum anderen auf ungerichtete Zelltoxizität gründen. Bei der Psoriasis-therapie mit Anthronen kommt es häufig zu unerwünschten Nebenwirkungen wie Hautreizungen, die auf zytotoxische Eigenschaften der eingesetzten Substanz zurückzuführen sind^{47,48}. Viele der für Dithranol beschriebenen Effekte an intakten Zellen können die Folge einer unspezifischen Zerstörung der Plasmamembran mit Austritt von Zytoplasma und den darin enthaltenen Enzymsystemen sein.

Bonnekoh et al. konnten einen direkten Zusammenhang zwischen der Zelltoxizität und der Hemmung des ³H-Thymidin-Einbaus in die DNA aufzeigen¹⁵⁰. Die toxische Wirkung des Dithranols beruht auf der bei der Autoxidation ausgelösten Radikalkaskade^{68,189} und der folgenden Lipidperoxidation in biologischen Membranen^{114,132}. Des Weiteren wird eine Hemmung der Thioredoxin-Reduktase¹⁹⁰ sowie ein Eingriff in die energieliefernden Prozesse der mitochondrialen Atmung diskutiert¹¹⁷. Eine direkte Interaktion des Moleküls mit der Zellmembran kann hingegen aufgrund des äußerst niedrigen IC₅₀-Wertes und der somit sehr geringen Stoffkonzentration ausgeschlossen werden¹⁵⁰.

Neue antipsoriatisch wirksame Substanzen sollten bei hohem antiproliferativen Potential nur sehr geringe zytotoxische Eigenschaften aufweisen, um unerwünschte Nebenwirkungen zu vermeiden. Auch bei der Entwicklung von Anti-Tumor-Wirkstoffen sollten deren zytotoxischen Aktivitäten möglichst gering gehalten werden. Wir untersuchten daher, inwieweit eine Inhibition der Proliferation von HaCaT- und HL-60-Zellen durch die neuen Verbindungen auf zytotoxische Eigenschaften zurückzuführen ist.

4.2 Testsystem

Als Maß für die Zytotoxizität infolge einer Plasmamembranzerstörung wählten wir die extrazelluläre Lactat-Dehydrogenase-Aktivität. Das Enzym ist physiologisch vorwiegend im Zytoplasma lokalisiert und zeigt nur eine sehr geringe extrazelluläre Aktivität. Die Einwirkung von zytotoxischen Substanzen auf die Zelle kann zu Perforation der Membran und somit zum Austritt der LDH führen (Abb.C14). Die freigesetzte Menge bzw. die Aktivität des Enzyms steigt proportional zum Ausmaß der Zellschädigung. Eine direkte Interaktion von Dithranol mit dem 135-kDa-Enzym konnte durch die Untersuchungen von Gawlik ausgeschlossen werden⁷⁹.

Die Methode zur Bestimmung der Aktivität basiert auf einem kinetischen UV-Test. Das Prinzip des Experimentes umfaßt die LDH-katalysierte, NADH⁺-abhängige Reduktion von Pyruvat zu Lactat unter Bildung von NAD⁺ (Abb. C14). Gemessen wurde die Abnahme von NADH⁺.

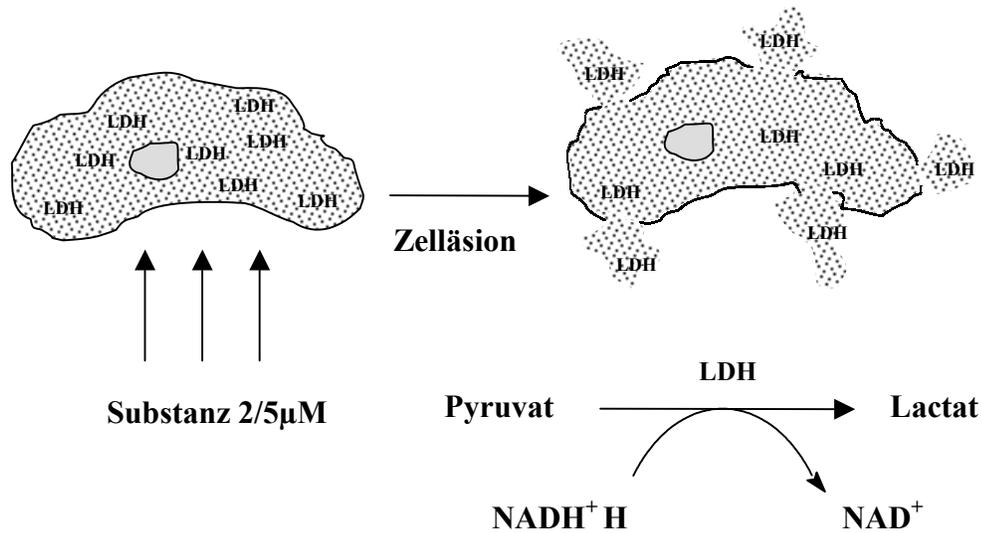


Abb. C14: Testschema zur Bestimmung der Zytotoxizität

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir eine auf 25 000 Zellen pro mL eingestellte HaCaT-Zellsuspension und eine auf 20 000 Zellen pro mL eingestellte HL-60-Zellsuspension. Von diesen wurden je Probenansatz 1.0 mL in ein Multifunktionsgefäß pipettiert und die Zellen mit Dithranol bzw. den Testverbindungen bei 37 °C im Schüttelbad 4 h inkubiert. Der zellschädigende Effekt von Substanzen mit einem IC₅₀-Wert < 5 µM wurde bei einer Konzentration von 2 µM ermittelt. Lag der IC₅₀-Wert zwischen 5 und 10 µM, so erfolgte eine Behandlung der Zellen mit 5 µM der Testverbindung. Als Vergleich dienten Ansätze, die statt Dithranol oder einer Testverbindung nur Medium und 0.2 % DMSO (HaCaT-Ansätze) oder 0.5 % DMSO (HL-60-Ansätze) enthielten. Durch Einwirkung von Ultraschall und Zusatz eines Detergens bei einem Teil der DMSO-Proben erreichten wir durch vollständige Zerstörung der Zellmembran eine maximale Freisetzung der intrazellulären LDH. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Proben mit Pyruvat und NADH⁺ versetzt, und die freie extrazelluläre LDH wurde durch ihre katalytische Aktivität bei der Überführung von Pyruvat zu Lactat, unter NADH⁺-Verbrauch, spektroskopisch nachgewiesen. Gemessen wurde die Abnahme der Extinktion von NADH⁺ bei 340 nm über einen Zeitraum von 5 Minuten. Die Auswertung erfolgte anhand einer mit Lactat-Dehydrogenase-Reinenzym aufgestellten Kalibriergeraden. Die LDH-Aktivität wird in mU/mL angegeben.

4.3 Bisherige Untersuchungen

4.3.1 Untersuchungen zur Zytotoxizität von Dithranol

Gawlik konnte durch seine Untersuchungen zeigen, daß unter unseren Testbedingungen Dithranol erst in Konzentrationen höher als 0.5 µM zytotoxisch auf HaCaT-Zellen wirkt. Zwischen Konzentrationen von 0.5 und 2.5 µM steigt die Zytotoxizität der Substanz stark an und zeigt bei 2.5 µM eine LDH-Aktivität, die der Aktivität der mit Ultraschall und Detergens behandelten Kontrollansätzen entspricht. Das radikalische Folgeprodukt Bianthron verhält sich in der Studie ähnlich wie Dithranol.

Des Weiteren entfaltet Dithranol bei 2.0 μM seine zytotoxischen Eigenschaften zeitabhängig. Während nach 90 Minuten noch keine Membranschädigungen beobachtet werden können, steigt anschließend die LDH-Aktivität innerhalb weniger Minuten auf den Maximalwert an^{79,191}.

Bonnekoh et al. stellten fest, daß der Beginn der Zellschädigung zu einem Zeitpunkt einsetzt, bei dem Dithranol bereits vollständig zerfallen ist¹⁹¹, was die These stützt, daß die Zytotoxizität der Verbindung nicht durch das Molekül selbst vermittelt wird, sondern über seine radikalischen Folgeprodukte. So zeigt dementsprechend das Dimer Bianthron ähnliche Zytotoxizitätswerte wie das Anthron und neigt ebenfalls zur Bildung reaktiver Sauerstoffspezies⁷⁹.

4.3.2 Untersuchungen zur Zytotoxizität von Dithranolderivaten

In unserem Arbeitskreis sind mehrere Dissertationen mit dem Ziel angefertigt worden, das Dithranolmolekül strukturell so zu variieren, daß bei gleichbleibend guter antiproliferativen Potenz die für die Nebenwirkungen verantwortlichen prooxidativen und zytotoxischen Effekte abgeschwächt werden oder im Idealfall ganz eliminiert werden.

So führten *Gürster* und *Breu* Acyl-, Alkyl- sowie Alkylidenreste in die C-10-Position des Dithranols ein^{81,86}, und *Prinz* synthetisierte C-2-substituierte Dithranolhydroxamsäurederivate¹⁵⁹. Durch diese Substitutionsmuster gelang es, Verbindungen bereitzustellen, die mit IC_{50} -Werten von 0.4 – 3.2 μM gute antiproliferative Eigenschaften an HaCaT-Zellen besitzen und zudem nicht zytotoxisch sind. Die nachgewiesenen LDH-Aktivitäten lagen nur geringfügig über den Werten der DMSO-Kontrollen. *Abb. C15* zeigt eine Auswahl dieser Dithranolderivate.

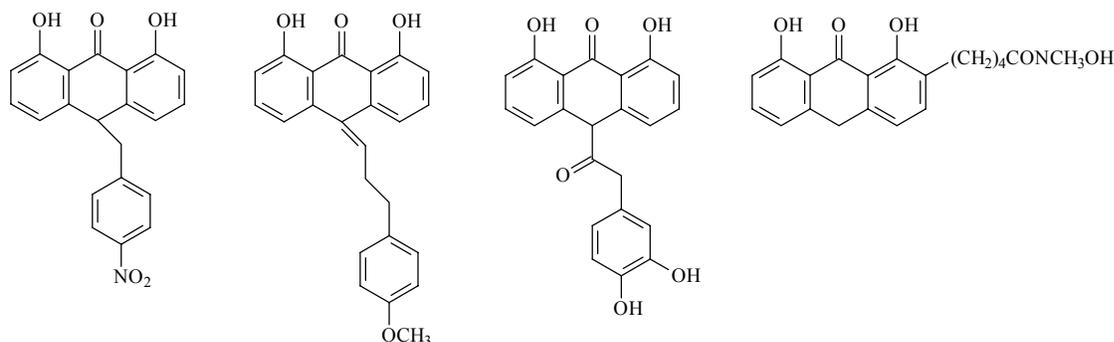


Abb. C15: Verschiedenartig substituierte Dithranolderivate mit guter antiproliferativer Potenz an HaCaT-Zellen und geringer Zytotoxizität

4.4. Zytotoxizitätsuntersuchungen an HaCaT-Zellen

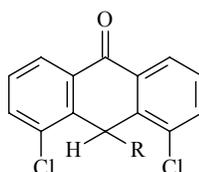
4.4.1 Untersuchungen zur Zytotoxizität von 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenonen und 9-Acoyl-4,5-dichloranthracenen

Wir untersuchten nur Verbindungen auf ihre Zytotoxizität, die gegenüber HaCaT-Zellen mit IC_{50} -Werten $< 10 \mu\text{M}$ gute bis moderate antiproliferative Wirkung zeigen. Substanzen mit höheren Hemmkonzentrationen wurden nicht in die Testung einbezogen, da die Zellen auch in höheren Konzentrationen durch diese nur wenig bis gar nicht in ihrem Wachstum gehemmt werden und somit deren Atoxizität vorausgesetzt werden kann.

Die Testung erfolgte nach dem in Kapitel 4.2 beschriebenem Schema. Pro Substanz wurden drei Bestimmungen durchgeführt (SA $< 10\%$). Tabelle C23 zeigt die Ergebnisse der Kontrollansätze. Die Tabellen C24 und C25 stellen die Ergebnisse der LDH-Testung für die Anthracenone und Acoylanthracene den Hemmkonzentrationen an HaCaT-Zellen gegenüber. Werte, die signifikant größer als die der DMSO-Kontrolle sind werden mit ^c gekennzeichnet ($p < 0.05$). Werte, die signifikant im Bereich der DMSO-Kontrolle liegen, sind nicht gekennzeichnet ($p > 0.05$).

Inkubationsbedingungen	LDH [mU/ml]
Dithranol 2 μ M	90.1 ^c
Dithranol 5 μ M	122.8 ^c
DMSO	70.9
DMSO Brij+Ultraschall	251.1 ^c
Medium	70.6

Tab. C23: Vergleichswerte zur Zytotoxizität an HaCaT-Zellen



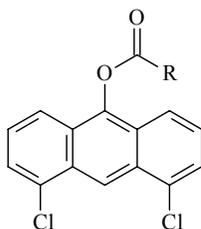
Verb.	R	IC ₅₀ [μ M]	LDH [mU/ml]
1^b	H	1.7	64.4
6^a	CH ₂ C ₆ H ₅	5.0	69.6
20^b	CH ₂ (3-OCH ₃)C ₆ H ₄	2.0	65.0
22^a	CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄	5.0	57.6
25^a	CH ₂ (3,4-(OCH ₃) ₂)C ₆ H ₃	5.6	68.4
31^b	CH ₂ (2,5-(OCH ₃) ₂)C ₆ H ₃	3.8	60.6
40^a	CH ₂ (3-NO ₂)C ₆ H ₄	5.0	69.9
58^b	CH ₂ (3-OH, 4-OCH ₃)C ₆ H ₃	1.5	77.4
Dithranol^b		0.6	90.2 ^c

^a LDH-Aktivität bei 5 μ M bestimmt

^b LDH- Aktivität bei 2 μ M bestimmt

^c Die Werte liegen signifikant über den Werten der Kontrolle mit DMSO 0.2 % (P<0.05)

Tab. C24: Antiproliferatives Potential (IC₅₀-Werte) und Zytotoxizität von 4,5-Dichlor-9(10H)-anthracenonen gegenüber HaCaT-Zellen



Verb.	R	IC ₅₀ [μM]	LDH [mU/ml] [*]
70	4-NO ₂ C ₆ H ₄	5.0	73.0
71	CH ₂ C ₆ H ₅	5.0	68.7
73	CH ₂ (4-CH ₃)C ₆ H ₄	9.0	70.9
74	CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄	8.0	63.9

^{*} LDH-Aktivität bei 5μM bestimmt

Tab. C25: Antiproliferatives Potential (IC₅₀-Werte) und Zytotoxizität von 9-Acyloxy-4,5-dichloranthracenen gegenüber HaCaT-Zellen

Da für die 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracene kein wachstumshemmendes Potential auf HaCaT-Keratinocyten beobachtet werden konnte, wurde keines dieser Derivate in die Testreihe einbezogen.

4.5 Zytotoxizitätsuntersuchungen an HL-60-Zellen

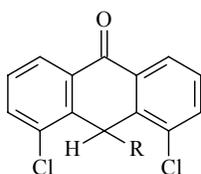
Die Untersuchungen erfolgten nach dem unter C4.2 beschriebenen Schema. Getestet wurden nur Substanzen mit einer wachstumshemmenden Konzentration $< 13 \mu\text{M}$. Um die Stabilität des Enzymes in der HL-60-Zellsuspension zu untersuchen, wurden Ansätze mit Dithranol ($2 \mu\text{M}$ und $5 \mu\text{M}$) 24 h inkubiert und vermessen.

Inkubationsbedingungen	LDH [mU/ml]	
	4 h	24 h
Dithranol $2 \mu\text{M}$	60.6	70.6 ^c
Dithranol $5 \mu\text{M}$	60.0	74.3 ^c
DMSO (0.5 %)	56.0	n. b.
Medium	56.0	n. b.
Brij 35 + Ultraschall	206.1 ^c	179.0 ^c

n. b. : nicht bestimmt

^c Die Werte liegen signifikant über den Werten der Kontrolle mit DMSO 0.5 % (P<0.05)

Tab. C26: Vergleichswerte zur Zytotoxizität an HL-60-Zellen



Verb.	R	IC ₅₀ [μM]	LDH [mU/ml]
1^a	H	12	70.3 ^c
22^a	CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄	5.7	69.3 ^c
55^a	CH ₂ (3-OH)C ₆ H ₄	10.8	73.9 ^c
57^a	CH ₂ (3,4-(OH) ₂)C ₆ H ₃	9.3	76.6 ^c
58^b	CH ₂ (3-OH, 4-OCH ₃)C ₆ H ₃	0.7	69.5 ^c
Dithranol^b		0.6	60.6

^a LDH-Aktivität bei 5 μM bestimmt

^b LDH- Aktivität bei 2 μM bestimmt

^c Die Werte liegen signifikant über den Werten der Kontrolle mit DMSO 0.2 %
(P<0.05)

Tab. C27: Antiproliferatives Potential (IC₅₀-Werte) und Zytotoxizität von 4,5-Dichlor-9(10H)-anthracenonen gegenüber HL-60-Zellen

4.6 Diskussion

Durch unsere Untersuchungen zur antiproliferativen Wirkung und Zytotoxizität der Testsubstanzen kann ein wachstumshemmender und zellschädigender Effekt des Lösungsmittels DMSO auf HaCaT-Keratinocyten sowie auf HL-60-Zellen ausgeschlossen werden. So beeinflusst es an beiden Zelllinien weder deren Wachstumsrate noch führt es zu einer erhöhten LDH-Freisetzung gegenüber Inkubationsansätzen mit reinem Medium. Antiproliferative und zytotoxische Wirkungen sind daher nur auf die betreffende Testsubstanz zurückzuführen. Die

gemessenen Werte der LDH-Aktivität der HaCaT-Kontrollen liegen in geringem Maße über denen der HL-60-Kontrollen.

Der konzentrationsabhängige, zellschädigende Charakter der Vergleichssubstanz Dithranol an HaCaT-Zellen ist in vorangegangenen Arbeiten beschrieben worden und konnte durch unsere Untersuchungen bestätigt werden. Die Maximalfreisetzung von 251 mU/ml, die durch Zerstörung der Membran erhalten wird, konnte jedoch nicht erreicht werden. Über das antiproliferative Potential und die Zytotoxizität von Dithranol gegenüber HL-60-Zellen lagen bisher keine Untersuchungen vor. In unseren Testungen zeigt sich die Verbindung mit einem IC_{50} -Wert von 0.6 μ M an HaCaT- und HL-60-Zellen gleich gut antiproliferativ wirksam. Hingegen bewirkt das Molekül an den Tumorzellen nach 4 h in 2 μ molarer und 5 μ molarer Konzentration eine LDH-Freisetzung, die im Bereich des Kontrollwertes mit 0.5 % DMSO liegt. Auch nach 24-stündiger Inkubation zeigt Dithranol nur eine leichte Zytotoxizität mit geringfügig höherer LDH-Freisetzung. Eine mögliche Instabilität des extrazellulären Enzymes in der HL-60-Zellsuspension über den Zeitraum von 24 h kann hier nicht als Hauptbegründung für die niedrige Aktivität herangezogen werden. Der Vergleichswert 179 mU/mL nach Zerstörung der Biomembran und nachfolgender 24-h-Inkubation mit ist nur um ca. 15 % geringer als der entsprechende Wert, der direkt nach der Behandlung im Ultraschallbad ermittelt wurde (206 mU/mL). Während der wachstumshemmende Effekt des Dithranols gegenüber Keratinozyten auch auf sein zytotoxisches Potential zurückzuführen ist, kann dieser Wirkmechanismus an den Tumorzellen weitgehend ausgeschlossen werden. Grund hierfür könnte eine unterschiedliche Enzymausstattung der beiden Zelllinien sein.

Das Ausmaß der Enzymfreisetzung der an Keratinozyten antiproliferativ gut wirksamen Anthracenone und Acyolanthracene liegt signifikant im Bereich der DMSO- und Mediumkontrollen. Die wachstumshemmende Wirkung dieser Substanzen gründet sich daher nicht auf einen zytotoxischen Effekt durch Membranschädigung, sondern muß durch einen anderen Mechanismus vermittelt werden.

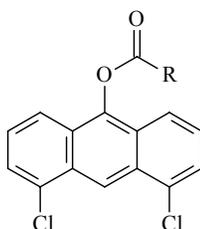
An den HL-60-Zellen rufen die wirksamen Anthrone zwar stärkere Zellwandschädigungen und damit eine leicht erhöhte LDH-Freisetzung als DMSO oder Medium hervor, als wirkliche Ursache für die Wachstumsinhibition kommt eine

ausgeprägte Zytotoxizität der Substanzen jedoch nicht in Frage. Hierzu sind die freigesetzten Mengen an LDH zu gering. Darüber hinaus ist keine Korrelation zwischen IC_{50} -Werten und LDH-Aktivitäten zu erkennen.

5. Untersuchungen zu der Stabilität antiproliferativ wirksamer 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene

5.1 Einführung und Fragestellung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die von uns synthetisierten Verbindungen in Hinblick auf ihr antiproliferatives Potential an HaCaT-Zellen untersucht. Neben einigen 10-Benzylanthracenonen inhibieren auch vier 9-Acoylanthracene das Wachstum der Keratinozyten mit IC_{50} -Werten $< 10 \mu\text{M}$, während die 9-O-alkylierten Verbindungen unwirksam sind.



Verb.	R	IC_{50} [μM] (HaCaT)
70	4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$	5.0
71	$\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$	5.0
73	$\text{CH}_2(4\text{-OCH}_3)\text{C}_6\text{H}_4$	8.0
74	$\text{CH}_2(4\text{-CH}_3)\text{C}_6\text{H}_4$	9.0

Tab.C28: Antiproliferativ wirksame 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene

Bei O-acylierten und O-alkylierten Derivaten des Dithranols beobachtet man ähnliche Ergebnisse: So wirkt das Dithranol-Triacetat mit einem IC_{50} -Wert von $0.3 \mu\text{M}$ sogar ein wenig besser an HaCaT-Zellen als Dithranol selbst, das 1,8,9-Trimethoxyanthracen ist hingegen unwirksam⁷⁹. *Wiegrebe et al.* konnten zeigen, daß die Ester des Dithranol-

Triacetates nach der perkutanen Resorption oder der Inkubation von Mäusehauthomogenisat gespalten werden und u.a. Dantron und Dithranol entstehen¹⁶⁷. Gleiches nimmt *Gawlik* für dieses Derivat unter den Bedingungen des HaCaT-Testsystems an⁷⁹.

In Anlehnung daran kann von uns ein ähnlicher Wirkmechanismus für die 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene postuliert werden.

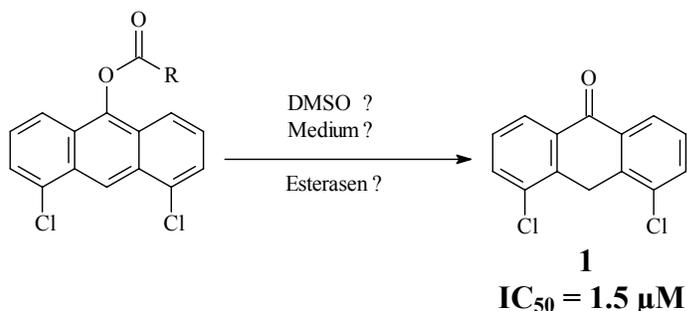


Abb. C16

Eine solche Esterhydrolyse kann in unserem Testsystem durch die Einwirkung von DMSO, Medium und/oder Esterasen auf die 9-Acoylantracene erfolgen. Nach einer Spaltung der Ester müßte das 4,5-Dichloranthron und/oder seine Abbauprodukte mittels einer HPLC-Methode nachweisbar sein.

5.2 Stabilität des 4,5-Dichlor-9(10H)-anthracenons

Von Dithranol ist bekannt, daß es sich im allgemeinen um ein äußerst instabiles Anthracenon handelt⁶⁴, welches unter Licht- und Sauerstoffeinwirkung zum 1,8-Dihydroxyanthrachinon (Danthron oder Chrysazin) und zum Dithranoldimer (Bianthron) oxidiert wird.

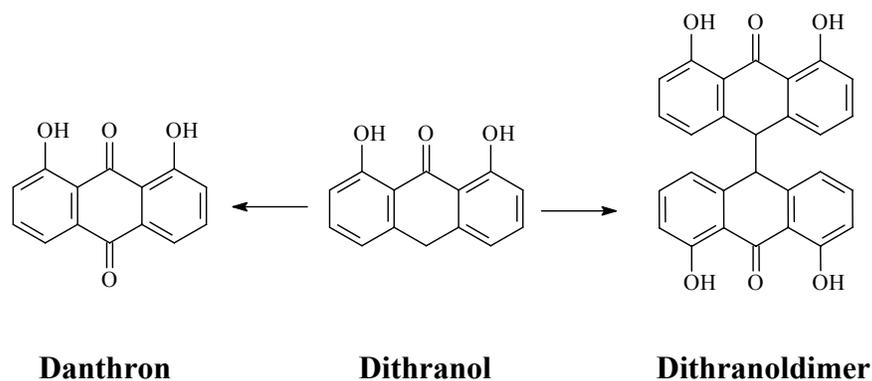


Abb. C17: Oxidation von Dithranol zu Danthron und dem Dithranoldimer

Thoma und Holzmann untersuchten die Stabilität des Dithranols in verschiedenen Fertigarzneimitteln und konnten die oxidativen Abbauprodukte des Dithranols HPLC-analytisch nachweisen¹⁹².

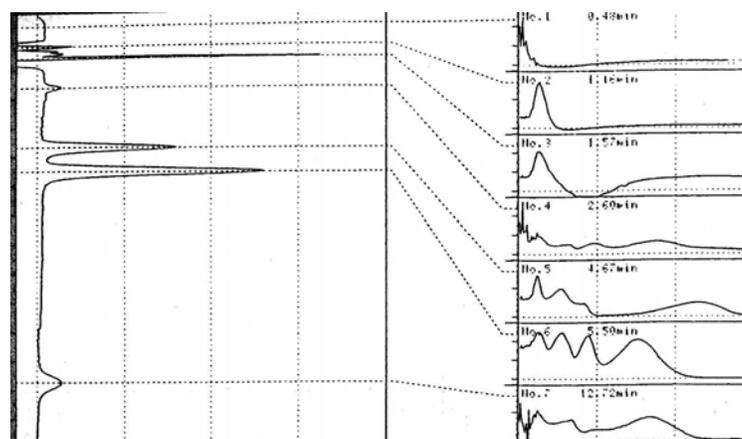
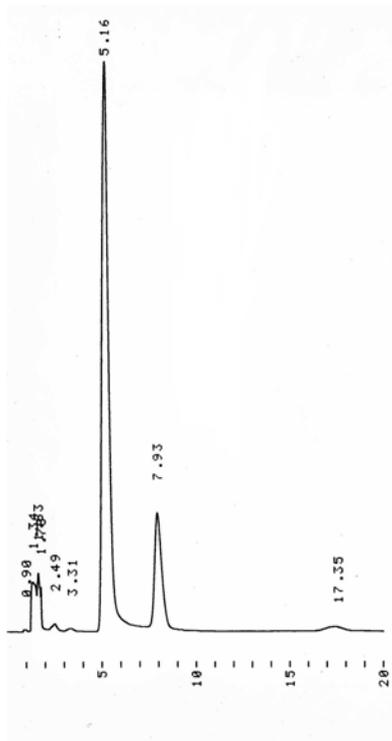


Abb. C18: HPLC-Trennung des Dithranols und seiner Abbauprodukte:
4.67 min Danthron, 5.50 min Dithranol, 12.72 min Dithranoldimer¹⁹²

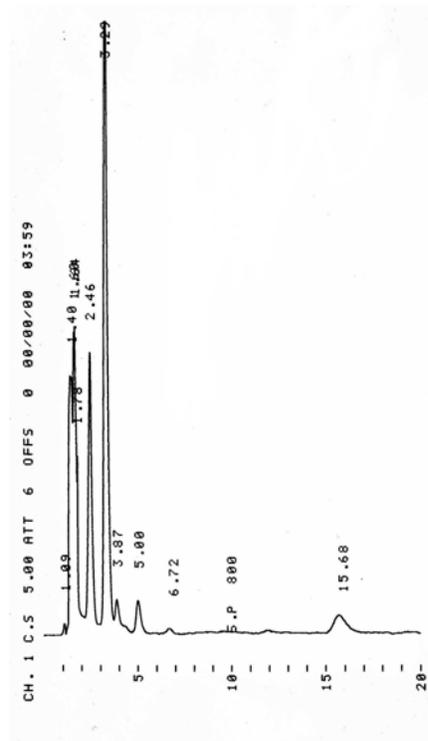
Für unsere Untersuchungen war es nun von Interesse, ob sich das 4,5-Dichloranthron unter Testbedigungen als stabil erweist oder ähnlich wie Dithranol zum 1,8-Dichloranthrachinon und Dimer oxidiert wird. Hierzu wurde eine 50- μ M-Lösung in

DMSO hergestellt, zu adäquaten Zeitpunkten eine Probe entnommen und über eine HPLC-Methode analysiert. Des weiteren wurde die Substanz unter in Kapitel C2 beschriebenen Zelltestbedingungen auf die Keratinozyten gegeben bzw. in Medium gelöst, 48 h im Brutschrank inkubiert und HPLC-analytisch untersucht. Nach direkter Injektion der Medium enthaltenden Proben wurden zu viele störende Substanzen detektiert, daß eine Auftrennung nicht möglich war. Die Proben mußten daher zuvor ausgeethert werden.

In der DMSO-Lösung zersetzte sich das Anthracenon unter Licht- und Sauerstoffeinwirkung über einen Zeitraum von 8 h völlig. Gleiches war nach 48 h in den mit Medium und Zellen inkubierten Proben zu beobachten.



frische Lösung

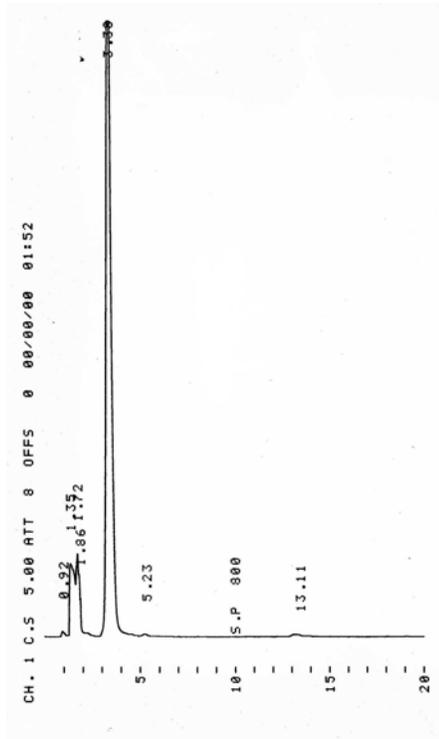


nach 8h

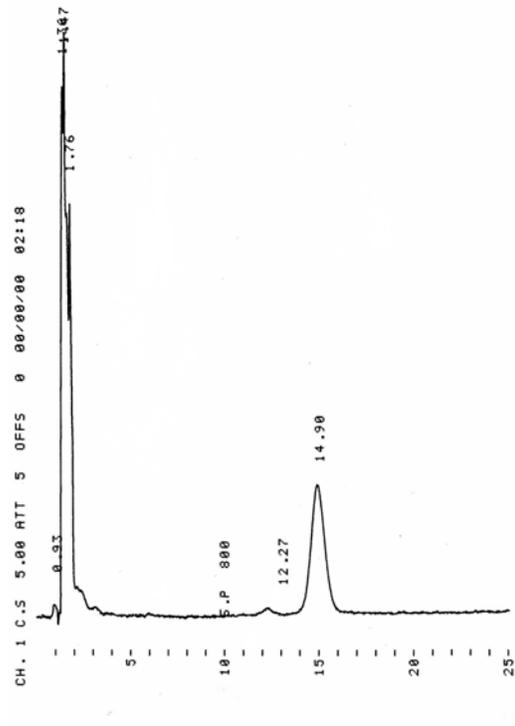
Abb. C19: HPLC-Chromatogramme einer frischen und einer 8 h alten DMSO-Lösung der Verbindung **1**

Aus den Chromatogrammen wird ersichtlich, daß das Anthron (detektiert bei einer Retentionszeit von 5.16 min in der frischen Lösung) nach 8 h vollkommen abgebaut ist, dafür aber zwei neue Produkte nach 3.29 und 15.68 min auftreten. Die über 48 h inkubierten Zellen und Medium enthaltenden Proben zeigen vergleichbare Werte.

Die Signale der Abbauprodukte von Dithranol, 1,8-Dihydroxyanthrachinon und 1,8,1',8',-Tetrahydroxybianthron besitzen ähnliche Retentionszeiten. So injizierten wir im folgenden Proben des 1,8-Dichloranthrachinons und des für diesen Zweck von uns synthetisierten 4,5,4',5'-Tetrachlorbianthrons und verglichen die Retentionszeiten mit denen der Zersetzungsprodukte des 4,5-Dichloranthracenons.



1,8-Dichloranthrachinon



4,5,4',5'-Tetrachlorbianthron

Abb. C20: Retentionszeiten von 1,8-Dichloranthrachinon (3.38 min) und 4,5,4',5'-Tetrachlorbianthron (14.90 min)

Die Retentionszeiten der Vergleichssubstanzen stimmen mit denen der Abbauprodukte des 4,5-Dichloranthracenons überein. Eine Probe, der das entsprechende Anthrachinon

und Bianthron zugesetzt wurden, zeigt keine zusätzlichen Signale. Aus diesem qualitativen Vergleich wird ersichtlich, daß das Anthron in DMSO und im wäßrigen Milieu oxidativ zu den oben genannten Verbindungen abgebaut wird.

Bei den HPLC-analytischen Untersuchungen zu der Stabilität unserer 9-Acoylanthracene mußten wir daher auf das Auftreten der in *Abb. C20* gezeigten charakteristischen Signale der Abbauprodukte achten.

5.3 HPLC-analytische Untersuchung der Stabilität von 9-Acoyl-4,5-dichloranthracenen

Zunächst wurde die Stabilität der Substanzen in DMSO geprüft. Hierzu wurden 50- μ M-Lösungen der betreffenden Substanzen in DMSO hergestellt, 48 h im Brutschrank aufbewahrt und mittels HPLC analysiert. Alle Verbindungen zeigten sich als stabil, da keines der Abbauprodukte detektiert werden konnte.

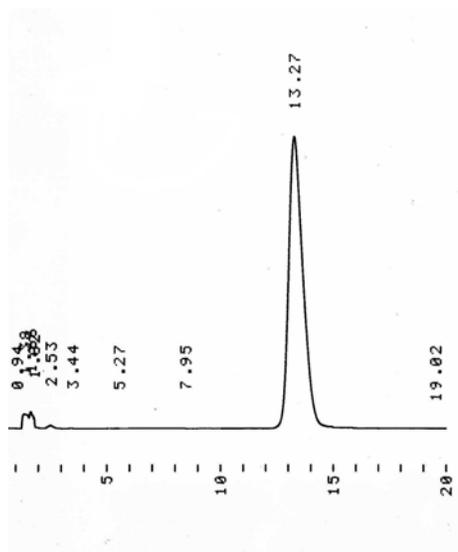


Abb. C21: HPLC-Chromatogramm einer 48 h alten DMSO-Lösung des 9-Acoylanthracens **71**. Es werden neben der reinen Verbindung **71** (13.27 min) keine Nebenprodukte detektiert.

Danach wurden die Anthracene wie unter C2 beschrieben in Konzentrationen von 10 μM und 50 μM auf die Zellen gegeben und 48 h inkubiert. Des weiteren wurde pro Substanz eine Kavität der Gewebekulturplatte ausschließlich mit einer 50- μM -Lösung in Medium beschickt und unter Inkubationsbedingungen 2 Tage im Brutschrank belassen. Nach Ablauf der Inkubationszeit konnten in jeder der Probelösungen neben dem unverändertem Substrat das 1,8-Dichloranthrachinon und das Tetrachlorbianthron nachgewiesen werden. Die folgenden Abbildungen zeigen exemplarisch für die anderen Verbindungen die Chromatogramme der Verbindung 71.

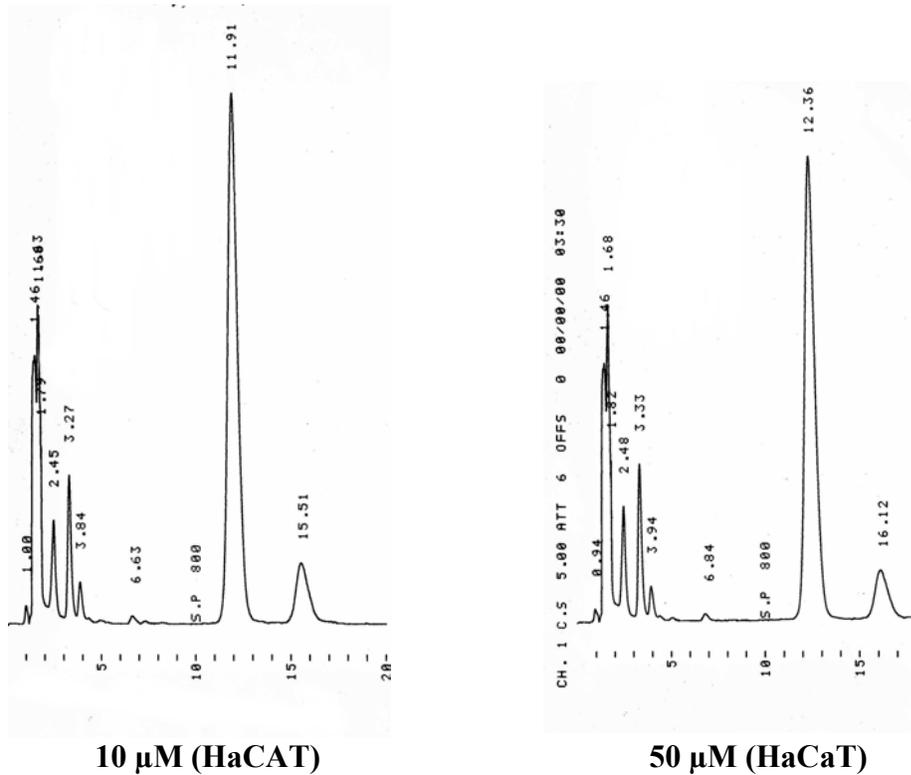
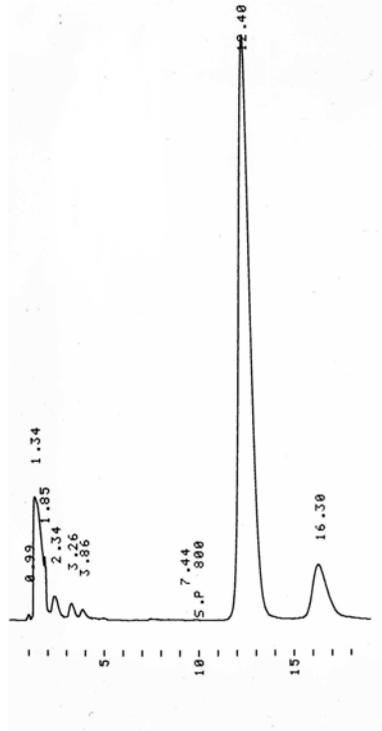


Abb. C22: HPLC-Chromatogramme der Verbindung 71 nach 48 h Inkubation in HaCaT-Zellsuspension



50 μ M (Medium)

Abb. C23: HPLC-Chromatogramm der Verbindung **71** nach 48-h-Inkubation in DMEM-Medium

Alle drei Chromatogramme zeigen die charakteristischen Signale der Verbindung **71** sowie der Abbauprodukte des 4,5-Dichloranthrons. Eine Probe, der die Abbauprodukte Anthrachinon und Bianthron zugesetzt wurden, zeigt keine zusätzlichen Signale. Somit kann es als erwiesen angesehen werden, daß das 9-Acoylantracen im Medium und in Gegenwart von Keratinozyten teilweise hydrolysiert und dabei das 1,8-Dichloranthrachinon sowie das Tetrachloranthron entstehen. Da der Anteil der nichthydrolysierten Verbindung aber noch sehr hoch ist, stellt sich die Frage, ob die antiproliferative Wirkung allein durch das freigesetzte Anthron zu erklären ist, oder die Anthracene selbst in die Zelle gelangen und dort ihre Wirkung entfalten können. Somit wurden die Zellen nach dem bekannten Schema noch einmal mit 10 μ M der

Verbindung **71** inkubiert. Nach Ablauf der 48 h wurde das überstehende Medium entfernt, mit PBS-Puffer gespült, 1.1 mL Puffer hinzugefügt und die Zellen unter Ultraschallbehandlung zerstört. Die Probe wurde ausgeethert, nach Abdampfen des Lösungsmittels in DMSO aufgenommen und HPLC-analytisch untersucht. Es konnten lediglich geringe Spuren des Anthrachinons und Bianthrone gefunden werden. Das 9-Acoylantracen konnte hingegen nicht detektiert werden (*Abb. C24*). Grund für die geringen nachgewiesenen Mengen könnte die Adsorption der Substanzen an zelluläre Bestandteile sein.

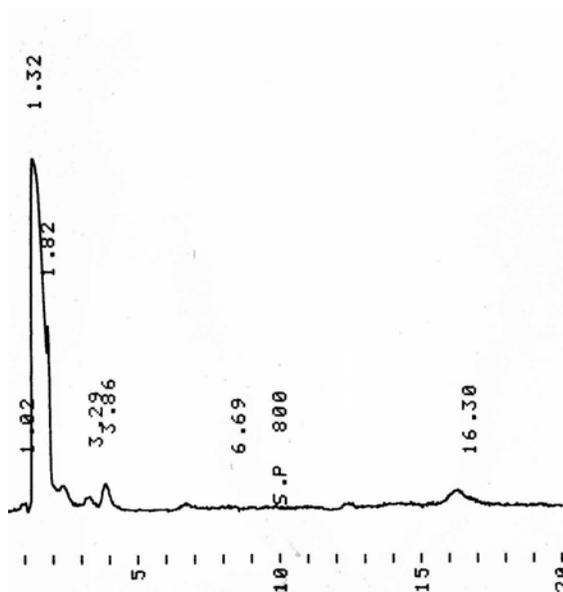


Abb. C24: Chromatogramm nach Entfernung von überstehendem Medium und Zerstörung der Zellen

5.4 Diskussion

Wir konnten durch unsere Untersuchungen den oxidativen Abbau des 4,5-Dichloranthrons in DMSO und wässrigem Milieu zu Anthrachinon und Bianthron zeigen. Die 9-Acoylantracene erweisen sich in DMSO als stabil. In DMEM-Medium hydrolysieren sie zum Teil zu der entsprechenden Säure und zum 4,5-Dichloranthron,

welches weiter zu den Abbauprodukten oxidiert wird. Der größte Teil liegt aber als O-acyliertes Anthracen vor. Da wir jedoch in den zerstörten Zellen kein Substrat mehr fanden, ist zwar davon auszugehen, daß die Anthracene selbst nicht in die Zelle gelangen können und somit Pro-Drug-Charakter besitzen, genaue Rückschlüsse über die Metabolisierung der Verbindungen an oder gar in der Zelle sind durch unsere bisherigen Untersuchungen aber nicht möglich. Unsere Ergebnisse sind mit den Untersuchungen zur Wirkung von Mäusehauthomogenisat auf das Dithranol-Triacetat vergleichbar. *Wiegrebe* fand hier neben großen Mengen des unveränderten Dithranolesters auch hydrolysierte Produkte wie Danthron und Dithranoldiacetat. Den Dithranolestern schreibt der Autor einen ausgeprägten Pro-Drug-Charakter zu, da bei *In-vivo*-Testungen an Ratten nach Applikation von radioaktiv markiertem Dithranotriacetat ca. 33 % resorbiert wurden und in Form von Dithranol nachgewiesen werden konnten¹⁶⁷.

D Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit waren die Synthese und die biologische Evaluierung verschiedener Alkyl- und Acylderivate des 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenons. Dies sollte in Anlehnung an früher hergestellte Dithranolverbindungen geschehen. Durch biochemische Testungen an HaCaT-Zellen und gegenüber dem stabilen Radikal 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) sollten die Verbindungen in Hinblick auf ihr antipsoriatisches Potential, ihre Zytotoxizität und Redoxeigenschaften charakterisiert werden. Da bislang nur wenige Untersuchungen über die Anti-Tumor-Wirkung von Anthracenonen vorliegen, bezogen wir einen Test auf antiproliferative Wirkung an HL-60-Tumorzellen mit in die biologische Evaluierung der Substanzen ein.

Die Synthese der Ausgangssubstanz erfolgte durch selektive Reduktion des 1,8-Dichloranthrachinons mittels Natriumdithionit. Aus dem 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenon sollten dann Phenylalkylderivate mit steigender CH₂-Kettenlänge zwischen Phenylrest und Anthracenongrundgerüst hergestellt werden. Die Umsetzungen zu 10-Phenylanthronen im Sinne einer Friedel-Crafts-Alkylierung und die Alkylierungen mit Benzyhalogeniden zu den entsprechenden 10-Benzylderivaten gelangen in guten Ausbeuten. Hingegen wurden 10-Phenylalkylderivate mit längeren Alkylketten und 10-Phenylacylverbindungen nicht erhalten. Statt dessen konnten bei diesen Versuchen lediglich die O-alkylierten bzw. O-acylierten Verbindungen isoliert werden. Auch die Synthese der Benzylidenderivate sowohl unter alkalischen als auch unter sauren Bedingungen schlug fehl, da die Abspaltung beider Wasserstoffe an C-10 wohl durch die Präsenz benachbarter Chloratome verhindert wird.

Die reduzierenden bzw. radikalbildenden Eigenschaften der Substanzen ermittelten wir im DPPH-Test, und die Ergebnisse stellten wir in Form von ED₅₀-Werten dar. Mit Vergleichssubstanzen wie NDGA oder Dithranol wurde genauso verfahren, deren bekannte Reaktionskonstanten mit den von uns gemessenen ED₅₀-Werten korrelierten. So zeigt NDGA mit einem ED₅₀-Wert 4.2 µM die größte Reaktivität. Im Vergleich dazu liegt der ED₅₀-Wert von Dithranol bei 18.0 µM. Das 4,5-Dichloranthron (**1**) hat mit einem ED₅₀-Wert von 29.5 µM eine schwächere Aktivität als Dithranol, da die

Abstraktion der Wasserstoffatome der Methylengruppe durch die benachbarten Chloratome erschwert wird. Das Catecholderivat **57** zeigt mit $6.3 \mu\text{M}$ einen deutlich geringeren Wert und somit stärkere Redoxeigenschaften als Dithranol. Die Orthostellung der beiden benzylichen Hydroxygruppen ermöglicht hier nach Oxidation die Bildung eines resonanzstabilisierten Orthochinons. Alle anderen Derivate reagierten nicht mit DPPH. Bei der Bestimmung des antiproliferativen Potentials an HaCaT-Zellen zeigen einige Verbindungen gute Wirksamkeit mit IC_{50} -Werten von 1.5 bis $9.0 \mu\text{M}$. In der 10-Benzylserie zeigen insbesondere die Methoxyderivate sowie die Metanitroverbindung gute Aktivitäten. Am wirksamsten erwies sich **58** mit einer paraständigen Methoxy- und einer metaständigen Hydroxyfunktion. Der IC_{50} -Wert von $1.5 \mu\text{M}$ liegt nur geringfügig über dem Dithranolwert von $0.6 \mu\text{M}$. Zudem zeigt die Verbindung gegenüber unserer Ausgangssubstanz eine Wirkverbesserung. Während 10-Phenyllderivate und O-alkylierte Verbindungen unwirksam sind, ist bei einigen 9-Acoylantracenen ein antiproliferativer Effekt festzustellen. Ausgehend von der These, daß es sich bei den wirksamen Verbindungen um Prodrugs handelt, die nach Hydrolyse des Esters das 4,5-Dichloranthron freisetzen, stellten wir Versuche zur Stabilität der Verbindungen an. Hierzu wurden die Substanzen in DMSO, Medium und Zellsuspension gelöst und die Proben nach 48 h HPLC-analytisch untersucht. Es zeigte sich, daß das 4,5-Dichloranthron unter Licht- und Sauerstoffeinwirkung ähnlich dem Dithranol zum entsprechenden Anthrachinon und Bianthron oxidiert wird. Diese beiden Abbauprodukte konnten neben den 9-Acoylantracenen nach Inkubation mit Zellen und Medium in den Proben nachgewiesen werden, was eine Beteiligung des Anthrons an der antiproliferativen Wirkung der getesteten Anthracenderivate vermuten läßt. Des weiteren fanden sich in den Zellen geringe Mengen der Oxidationsprodukte, nicht aber das Anthracen selbst. Es ist daher wahrscheinlich, daß die 9-Acoylantracene einen gewissen Pro-Drug-Charakter besitzen. Rückschlüsse über eine Esterhydrolyse der Derivate an oder gar in den HaCaT-Zellen sind jedoch durch unsere bisherigen Untersuchungen nicht möglich.

Neben der HaCaT-Zelllinie nutzten wir die Tumorzellen HL-60 zur Bestimmung antiproliferativer Effekte. Diese Zellen zeigen sich insgesamt resistenter gegenüber den

Testverbindungen als die Keratinozyten. Die wachstumshemmende Potenz der wirksamen Methoxyderivate liegt mit 5.7 bis 14 μM auf einem niedrigeren Niveau als bei den HaCaT-Zellen. Auch das 4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenon verliert mit einer Hemmkonzentration von 12 μM erheblich an Wirksamkeit gegenüber den Keratinozyten. Hingegen zeigt die Substanz **58** mit einem IC_{50} -Wert von 0.7 μM eine stärkere Aktivität als bei den Keratinozyten, die der des Dithranols ($\text{IC}_{50} = 0.6 \mu\text{M}$) gleich kommt.

Die an HaCaT-Zellen und HL-60-Zellen beobachteten wachstumshemmenden Eigenschaften einiger Anthracenone bzw. Anthracene waren weder auf ausgeprägte Redoxeigenschaften (DPPH-Test), noch auf eine gesteigerte Zytotoxizität der entsprechenden Verbindungen zurückzuführen. Als Maß für die Zytotoxizität infolge einer Membranschädigung wählten wir die extrazelluläre Lactat-Dehydrogenase-Aktivität. Auf zellschädigende Eigenschaften wurden nur die Derivate untersucht, die das Wachstum der Zellen mit IC_{50} -Werten $< 10 \mu\text{M}$ hemmen. Diese Substanzen zeigten weder an HaCaT- noch an HL-60-Zellen gegenüber den Medium- und DMSO-Kontrollen wesentlich gesteigerte Werte. So liegen die für das sehr gut antiproliferativ wirkende Dithranol gemessenen Werte nur geringfügig über den Medium- und DMSO-Kontrollen.

Abschließend ist festzuhalten, daß die von uns synthetisierten 9(10*H*)-Anthracenone und Anthracene keine der von *Krebs* und *Schaltegger* geforderten Strukturmerkmale für antipsoriatische Aktivität besitzen, einige aber mit IC_{50} -Werten von 1.5 – 9.0 μM an HaCaT-Zellen dennoch antipsoriatisch aktiv sind. Auch eine zytostatische Wirkung konnte durch unsere Untersuchungen aufgezeigt werden. In beiden Testreihen fiel insbesondere die Verbindung **58** mit niedrigen Hemmkonzentrationen von 1.5 bzw. 0.7 μM auf. Als Wirkmechanismus kann sowohl eine ausgeprägte Radikalbildungstendenz und Redoxeigenschaft, sowie ein zellschädigender Effekt ausgeschlossen werden, was ein vermindertes Nebenwirkungsrisiko bei der Psoriasis- und Krebstherapie erwarten läßt.

E Experimenteller Teil

1 Allgemeine Angaben

1.1 Synthese

Schmelzpunkte (Smp)

Die Schmelzpunkte wurden mit dem Kofler-Heiztisch-Mikroskop der Firma Reichert bestimmt. Die angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert.

Infrarotspektren (FT-IR)

Die Messungen der IR-Spektren erfolgten mit dem FT-IR Spektrometer vom Typ FTS 135 der Firma Bio-Rad Laboratories. Als Software diente Win-IR Foundation. Vermessen wurden KBr-Preßlinge. Die Bandenlagen sind in Wellenzahlen (cm^{-1}) angegeben.

UV-Spekten

Die UV-Spektren wurden mit dem Gerät Uvikon Spektrophotometer 922 der Firma Kontron Instruments aufgenommen. Gemessen wurde in einer Schichtdicke von 1 cm in Uvasol[®] Ethanol (Merck).

Protonen-(¹H)-Resonanzspektren (¹H-NMR)

Die ¹H-NMR-Spektren wurden am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Münster mit dem Gerät Gemini 200 (200 MHz) der Firma Varian aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen der Signale sind in den Einheiten der Deltaskala in ppm angegeben. Als innerer Standard diente Tetramethylsilan (TMS = 0 ppm). Die Form

der Signale ist durch die Abkürzungen s = Singulett, d = Dublett, dd = doppeltes Dublett, t = Triplett, q = Quartett und m = Multiplett gekennzeichnet. Die Kopplungskonstanten (J) sind in Hertz (Hz) angegeben. Die Spektren wurden bei 25 °C aufgenommen. Als Lösungsmittel wurde CDCl₃ verwendet.

Kohlenstoff-(¹³C)-Resonanzspektren (¹³C-NMR)

Die ¹³C-NMR-Spektren wurden am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Münster mit dem Gerät Gemini 200 (50,29 MHz) der Firma Varian gemessen. Die chemischen Verschiebungen der Signale sind in den Einheiten der Deltaskala in ppm angegeben. Als innerer Standard diente Tetramethylsilan (TMS = 0 ppm). Als Lösungsmittel wurde CDCl₃ verwendet.

Massenspektren (MS (70 eV))

Die Massenspektren wurden am Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Münster als Direkteinlaß mit dem Gerät MAT GCQ (70 eV) der Firma Finnigan aufgenommen. Die in Klammern gesetzten Prozentzahlen geben die Intensität der Signale bezogen auf den Basispeak (I = 100 %) an.

Elementaranalysen (Anal. (C,H,N))

Die Elementaranalysen wurden im mikroanalytischen Labor des Organisch-Chemischen Instituts der Universität Münster mit dem Elementaranalysator C,H,N-O-Rapid der Firma Heraeus oder mit dem VarioEL III von der Firma Elementar Analysensystem angefertigt.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Als stationäre Phase wurden DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ mit der Artikelnummer 1.05554 der Firma Merck benutzt. Die Detektion der Dünnschichtchromatogramme erfolgte bei den Wellenlängen 254 nm und 366 nm.

Säulenchromatographie (SC)

Als stationäre Phase diente Kieselgel 60 (70-230 mesh ASTM, Porengröße 0,063-0,200 mm) mit der Artikelnummer 1.07734.9025. Als mobile Phasen wurden destillierte Lösungsmittel der Hochschullieferung benutzt. Die Verhältnisse der Laufmittelkomponenten in den Laufmittelgemischen sind in Volumenanteilen angegeben. Nach säulenchromatographischer Reinigung kristallisierten die Produkte beim Einengen der Reiffraktionen sowie anschließender Zugabe von wenig Petrolether oder Hexan und gegebenenfalls Stehenlassen im Tiefkühlfach aus.

Chemikalien

Die Chemikalien für die präparativen Arbeiten wurden von den Firmen Acros, Aldrich, Avocado, Fluka, Lancaster, Merck und Riedel-de Haen erworben.

1.2 Biochemische Tests

Geräte

Autoklav	Webeco-Bad Schwartau, Typ B
Begasungsbrutschrank	Labotect NAPCO Series 5400 CO ₂ Incubator, Modell 5420-1
Destillationsanlage für bidest. H ₂ O	Heraeus
Mikroplatten-Reader	Molecular Devices, Typ Spectra Max 340, Software Softmax Pro-Version 2.2

Mikroskop	Olympus CK2, Phasenkontrastmikroskop
Schüttler	IKA Labortechnik MS1 Minishaker
Sterilbank	Labotect SterilGARD Class II, Typ A/B3, Modell SG 400 DIN
Ultraschallbad	Bandelin Sonorex Super RK 255 H
Analysenwaage	Kern 770
Wasserbad	Julabo SW-20C
Zählkammer	nach Neubauer, improved
Zentrifuge	Jouan CR 412

Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Stationäre Phase	Hibar [®] RT 125-4, Prepacked Column LiChrospher [®] RP-18 (5 µM) 125 x 4 mm
Injektionssystem	Rheodine
Pumpe	L-6200A Intelligent Pump, Merck/Hitachi
Detektion	655A Variable Wavelength UV Monitor, Merck/Hitachi
Integrator	D2500 Chromato-Integrator, Merck/Hitachi

Verbrauchsmaterialien und Reagenzien

Die Verbrauchsmaterialien und die Reagenzien für die biochemischen Tests wurden von den Firmen Costar, Gibco, Life Technologies, Merck und Steiner bezogen.

2. Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von Benzylalkoholen aus den entsprechenden Benzaldehyden (AAV 1):

Zu einer eisgekühlten Suspension von NaBH_4 (1.14 g, 30.0 mmol) in absol. THF (20 mL) gibt man tropfenweise eine Lösung des entsprechenden Benzaldehydes (20 mmol) in absol. THF (30 mL) und läßt bis zum Erreichen der Raumtemperatur rühren.

Der Ansatz wird tropfenweise mit H_2O (50 mL) versetzt und mit CH_2Cl_2 (2 x 25 mL) ausgeschüttelt.

Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum abgezogen.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von Benzylbromiden aus den entsprechenden Benzylalkoholen (AAV 2):

Zu einer eisgekühlten Lösung des Benzylalkohols^{***} in CH_2Cl_2 (20 mL) gibt man PBr_3 ^{***} und läßt bis zum Erreichen der Raumtemperatur rühren.

Der Ansatz wird vorsichtig tropfenweise unter Eiskühlung mit H_2O (50 mL) versetzt und mit Diethylether (2 x 25 mL) ausgeschüttelt. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum abgezogen.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10H)-anthracenonen und 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracenen (AAV 3):

Zu einer Lösung von 4,5-Dichlor-9(10H)-anthracenon (**1**)^{***} und des entsprechenden Alkylierungsmittels^{***} in CH_2Cl_2 (20 mL) wird eine Lösung von TEBAC (0.5 g) in NaOH (30 %, 15 mL) gegeben und bei Raumtemperatur 2 h gerührt. Nach Beendigung der Reaktion versetzt man den Ansatz mit H_2O (50 mL) und schüttelt mit CH_2Cl_2 (2 x 25 mL) aus. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt.

Das Produkt wird aus dem jeweils angegebenen Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch auskristallisiert, mehrmals gewaschen, abgesaugt und in der Trockenpistole getrocknet. Produktgemische werden sc gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von 4,5-Dichlor-10-hydroxybenzyl-9(10H)-anthracenonen (AAV 4):

Zu einer Suspension von H₂-gesättigtem Pd/C (10 %, 0.15 g) in absol. THF (50 mL) gibt man das entsprechende 10-Benzyloxy-4,5-dichlor-9(10H)-anthracenon (0.09 g – 0.25 g, 0.2 - 0.44 mmol) und läßt unter H₂ bei Normaldruck und Raumtemperatur bis zur Aufnahme der theoretischen H₂-Menge rühren (4 – 24 h, DC-Kontrolle).***

Die Mischung wird filtriert und das Filtrat eingedampft. Das Produkt wird aus den jeweils angegebenen Lösungsmittelgemischen auskristallisiert, mehrmals mit dieser Mischung gewaschen, abgesaugt und in der Trockenpistole getrocknet. Produktgemische werden sc gereinigt.

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese von 9-Acoyl-4,5-dichlor-9-anthracenen (AAV 5):

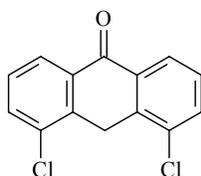
Eine Mischung von NaH (0.6 g, 25.0 mmol), **1** (0.7 – 2.0 mmol) und absol. THF (15 mL) wird 15 min unter N₂ bei Raumtemperatur gerührt. Nach tropfenweiser Zugabe einer Lösung des entsprechenden Säurechlorids (1.0 – 6.4 mmol) in absol. THF wird je nach Reaktionsverlauf unter Erhitzen oder bei Raumtemperatur 2 h unter N₂-Atmosphäre gerührt.*** Der Ansatz wird nach Beendigung der Umsetzung vorsichtig tropfenweise mit HCl (3.7 %, 100 mL) versetzt und mit CH₂Cl₂ (2 x 100 mL) ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingeeengt. Produktgemische werden sc gereinigt.

*** Abweichungen und genaue Angaben sind unter der jeweiligen Verbindung angegeben

3. Synthesevorschriften und analytische Daten

3.1 Darstellung der 4,5-Dichlor-10-phenyl-9(10*H*)-anthracenone

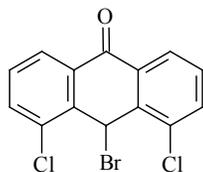
4,5-Dichlor-9(10*H*)-anthracenon (1)



1,8-Dichloranthrachinon 10.0 g, 36.2 mmol) wird in H₂O (250 mL) und DMF (250 mL) suspendiert. Nach Zugabe von Na₂S₂O₄ (70.0 g, 402.3 mmol)) wird das Gemisch langsam unter N₂ und rühren auf 90 °C erwärmt. Nach 2 h wird das Reaktionsgemisch in H₂O (2 L) gegeben, mit CH₂Cl₂ (4 x 100 mL) ausgeschüttelt, und die vereinigten organischen Phasen werden mit H₂O (4 x 200 mL) gewaschen. Nach Trocknung über Na₂SO₄ und Einengen am Rotationsverdampfer fällt das Produkt in Form von gelben Nadeln aus, welche sc gereinigt werden.

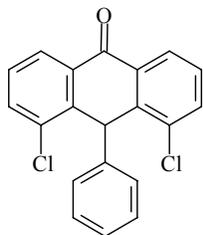
Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	6.20 g (76 %), gelbe Nadeln
Smp:	193 – 194° C (Lit. ¹⁹³ 196 – 197 °C)
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1659 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{\max} (log ϵ) = 384 nm (3.52), 371 (3.46), 313 (3.27), 256 (4.52), 215 (4.34)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 8.30 (2H, dd, J_1 = 1.2 Hz, J_2 = 7.9 Hz, Ar), 7.77 (2H, dd, J_1 = 1.3 Hz, J_2 = 7.8 Hz, Ar), 7.47 (2H, t, J = 7.9 Hz, Ar), 4.80 (2H, s, CH ₂)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3)	δ (ppm) = 182.8 (C=O), 137.4, 134.3, 133.0, 127.8, 127.4, 120.0 (6 C arom.), 133.8, 128.2, 126.5 (6 CH arom.), 29.8 (CH_2)
---	--

10-Brom-4,5-dichlor-9(10H)-anthracenon (2)

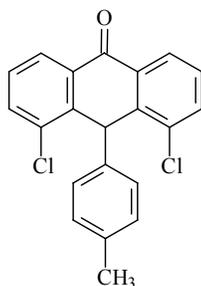
Man suspendiert **1** (0.46 g, 1.75 mmol) in CS_2 (2 mL), tropft eine Lösung von Br_2 (0.32 g, 2.0 mmol) in CS_2 (1 mL) hinzu und läßt die Lösung 7 h bei Raumtemperatur rühren. Nach Zugabe von Petrolether (20 mL) und Eiskühlung kristallisiert die Substanz aus.

Ausbeute:	0.346 g (75 %), weiß-gelbe Kristalle
Smp:	171 – 174 °C (Lit. ⁸⁴ 174 °C)
FT-IR:	ν (cm^{-1}) = 1668 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} ($\log \epsilon$) = 212 nm (4.36)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ (ppm) = 8.20 (2H, d, J = 7.7 Hz, Ar), 7.73 (2H, dd, J_1 = 1.37 Hz, J_2 = 8.00 Hz, Ar), 7.52 (2H, t, J = 7.5 Hz, Ar), 6.83 (1H, s, H-10) entspricht Lit ¹⁹⁴
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3)	δ (ppm) = 182.1 (C=O), 138.2, 134.3, 132.9 (3 C arom.), 135.0, 130.2, 127.1 (6 CH arom.), 37.7 (CH)

4,5-Dichlor-10-phenyl-9(10*H*)-anthracenon (3)

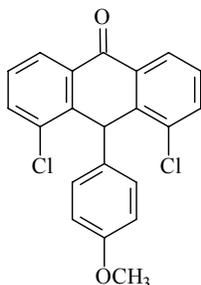
2 (0.1 g, 0.3 mmol) wird in Benzol (1 mL) suspendiert. Nach Zugabe von AlCl_3 (0.1 g, 0.75 mmol) wird die Mischung 30 min unter Rückfluß erhitzt. Danach wird der Ansatz abgekühlt, mit HCl (1 mol/L, 10 mL) und Petrolether (10 mL) versetzt und das Produkt abgesaugt.

Reinigung:	SiO_2 ; CH_2Cl_2
Ausbeute:	0.041 g (40 %), weißes Pulver
Smp:	238 – 239 °C (Lit. ⁸⁴ 237 °C)
FT-IR:	ν (cm^{-1}) = 1673 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} ($\log \epsilon$) = 298 nm (4.03), 267 nm (4.04), 218 nm (4.42)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ (ppm) = 8.25 (2H, dd, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 7.7$ Hz, Ar), 7.58 (2H, dd, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 8.00$ Hz, Ar), 7.39 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 7.29-7.09 (5H, m, Ar), 6.11 (1H, s, H-10)
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ (ppm) = 141.7, 137.7, 133.9, 133.1 (4 C arom.) 134.7, 130.3, 128.4, 128.3 126.7, 126.5 (11 C arom.), 44.0 (CH)
MS (70 eV):	m/z (%) = 338 (100, M^+), 303 (73), 261 (49)

4,5-Dichlor-10-(4-methylphenyl)-9(10*H*)-anthracenon (4)

2 (0.1 g, 0.3 mmol) wird in Toluol (1 mL) suspendiert. Nach Zugabe von AlCl_3 (0.1 g, 0.75 mmol) wird die Mischung 30 min unter Rückfluß erhitzt. Danach wird der Ansatz abgekühlt, mit HCl (1 mol/L), 20 mL) und Petrolether (20 mL) versetzt und das Produkt abgesaugt.

Reinigung:	SiO_2 ; CH_2Cl_2
Ausbeute:	0.081 g (78 %), weißes Pulver
Smp:	241 – 242 °C
FT-IR:	ν (cm^{-1}) = 1676 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 273 nm (4.16), 220 nm (4.41)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	8.23 (2H, dd, $J_1 = 1.5$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.57 (2H, dd, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz; Ar), 7.35 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, Ar), 7.15 (2H, d, $J = 8.2$ Hz, H-2', H-6', AB-System), 6.80 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', H-5', AB-System), 6.08 (1H, s, H-10), 2.22 (3H, s, CH_3)
MS (70 eV):	m/z (%) = 352 (100, $\text{M}^{+\bullet}$)
Anal. ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{O}$, 352):	Ber C, 71.40; H, 3.99 Gef C, 71.40; H, 3.71

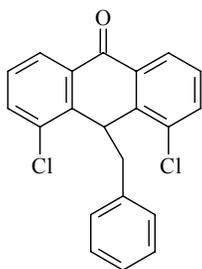
4,5-Dichlor-10-(4-methoxyphenyl)-9(10*H*)-anthracenon (5)

2 (0.5 g, 1.5 mmol) wird in Anisol (0.5 g) suspendiert. Nach Zugabe von AlCl_3 (0.5 g, 3.8 mmol) wird die Mischung 2 h unter Rückfluß erhitzt. Danach wird der Ansatz abgekühlt, mit HCl (1 mol/L), 50 mL) versetzt, mit CH_2Cl_2 (3 x 50 mL) ausgeschüttelt, und die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet. Die nach Abdampfen des Lösungsmittels erhaltenen gelb-weißen Kristalle werden auf eine Nutsche gebracht und mehrmals mit Petrolether gewaschen. Die endgültige Reinigung erfolgt sc.

Reinigung:	SiO_2 ; CH_2Cl_2
Ausbeute:	0.405 g (73 %), gelb-weißes Pulver
Smp:	240 °C
FT-IR:	ν (cm^{-1}) = 1672 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} ($\log \epsilon$) = 268 nm (4.04), 227 nm (4.37)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ (ppm) = 8.24 (2H, dd, $J_1 = 1.1$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.57 (2H, dd, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.38 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, Ar), 7.17 (2H, dd, $J_1 = 2.2$ Hz, $J_2 = 6.7$ Hz, H-2', H-6', AB-System), 6.71 (2H, dd, $J_1 = 2.08$ Hz, $J_2 = 6.71$ Hz, H-3', H-5', AB-System), 6.05 (1H, s, H-10), 3.69 (3H, s, OCH_3)
MS (70 eV):	m/z (%) = 368 (100, $\text{M}^{+\bullet}$)
Anal. ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{O}_2$, 368):	Ber C, 66.31; H, 3.82 Gef C, 67.04; H, 3.47

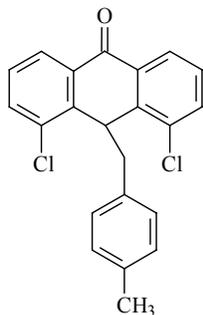
3.2 Darstellung der 10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenone

10-Benzyl-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenon (6)



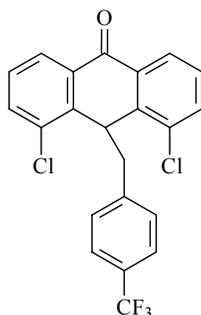
Aus **1** (0.25 g, 1.0 mmol) und Benzylbromid (0.51 g, 3.0 mmol) in CH₂Cl₂ (8 mL) nach **AAV 3**.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	0.169 g (48 %), gelbe Kristalle
Smp:	133 – 134 °C (Lit ⁹⁸ 148 °C)
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1666 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 268 nm (4.11), 220 nm (4.38)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.89 (2H, dd, $J_1 = 1.1$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.70 (2H, dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.37 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 7.03 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-4'), 6.83 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-3', H-5'), 5.96 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, H-2', H-6'), 5.41 (1H, t, $J = 4.4$ Hz, H-10), 3.4 (2H, d, $J = 4.4$ Hz, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 352 (18, M ⁺), 261 (60), 91 (100)
Anal.(C ₂₁ H ₁₄ Cl ₂ O, 352)	Ber.C, 71.40; H, 3.99 Gef.C, 71.29; H, 3.79

4,5-Dichlor-10-(4-methylbenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (7)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und 4-Methylbenzylbromid (1.42 g, 8.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 3**.

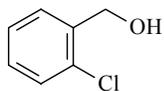
Reinigung:	Umkristallisation aus MeOH
Ausbeute:	0.222 g (30 %), weiß-gelbe Kristalle
Smp:	153° C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1670 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 268 nm (4.07), 218 nm (4.39)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.90 (2H, dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.70 (2H, dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.37 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, Ar), 6.64 (2H, d, $J = 7.7$ Hz, H-2', H-6', AB-System), 5.84 (2H, d, $J = 7.9$ Hz, H-3', H-5', AB-System), 5.39 (1H, t, $J = 4.5$ Hz, H-10), 3.37 (2H, d, $J = 4.4$ Hz, CH ₂), 2.16 (3H, s, CH ₃)
MS (70 eV):	m/z (%) = 366 (2.46, M ⁺), 105 (100)
Anal. (C ₂₂ H ₁₆ Cl ₂ O, 366):	Ber C, 71.95; H, 4.39 Gef C, 71.98; H, 4.56

4,5-Dichlor-10-(4-trifluormethylbenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (8)

Aus **1** (0.25 g, 1.0 mmol) und 4-Trifluormethylbenzylbromid (0.95 g, 8.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 3**.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂ /Hexan (4:1)
Ausbeute:	0.104 g (12 %), weiß-gelbe Kristalle
Smp:	131 – 132 °C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1670 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 268 nm (4.13), 218 nm (4.40)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.94 (2H, dd, $J_1 = 1.0$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.72 (2H, dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.38 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 7.11 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', H-6', AB-System), 6.15 (2H, d, $J = 8.1$ Hz, H-3', H-5', AB-System), 5.43 (1H, t, $J = 4.6$ Hz, H-10), 3.45 (2H, d, $J = 4.6$ Hz, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 420 (14, M ⁺), 261 (100)
Anal. (C ₂₂ H ₁₃ Cl ₂ F ₃ O, 420):	Ber C, 62.73; H, 3.11 Gef C, 61.84*; H, 3.47

* Trotz mehrfacher sc Reinigung und wiederholter Bestimmung kein besseres Resultat

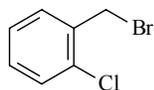
2-Chlorbenzylalkohol (9)

Aus 2-Chlorbenzaldehyd nach **AAV 1**. Ansatzdauer 4h.

Ausbeute 2.63 g (92 %), weiße Kristalle

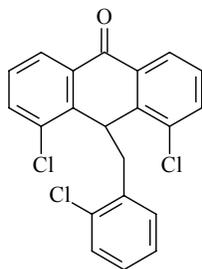
Smp 60 – 62 °C (Lit.¹⁹⁵ 70 °C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.51 – 7.24 (4H, m, Ar), 4.78 (2H, s, CH₂), 2.11 (1H, s, OH), entspricht Lit.¹⁹⁶

2-Chlorbenzylbromid (10)

Aus dem Rohprodukt von **9** (2.0 g, 14.0 mmol) und PBr₃ (9.5 g, 36.2 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 2**.

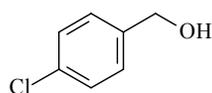
Ausbeute 1.83 g (64 %), gelbes Öl

4,5-Dichlor-10-(2-chlorbenzyl)-9(10H)-anthracenon (11)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt von **10** (1.7 g, 8.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 3**.

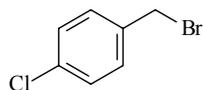
Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂ /Hexan (4:1)
Ausbeute:	0.123 g (16 %), gelbes Pulver
Smp:	121 – 123 °C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1671 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 269 nm (4.03), 216 nm (4.37)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.92 (2H, dd, $J_1 = 1.1$ Hz, $J_2 = 7.74$ Hz, Ar), 7.65 (2H, dd, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.39 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, Ar), 7.01 (2H, m, Ar), 6.73 (1H, m, Ar), 5.89 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, Ar), 5.50 (1H, t, $J = 4.7$ Hz, H-10), 3.53 (2H, d, $J = 4.9$ Hz, CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 182.8 (C=O), 140.0, 136.1, 134.9, 133.8, 129.4, 129.1, 128.8, 126.9 (8 C arom.), 133.7, 132.7, 129.2, 128.4, 125.8, (10 CH arom.), 38.8, 37.8 (CH, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 386 (22, M ⁺), 261 (100)
Anal. (C ₂₁ H ₁₃ Cl ₃ O, 386):	Ber C, 65.06; H, 3.38 Gef C, 64.47; H, 3.19

4-Chlorbenzylalkohol (**12**)



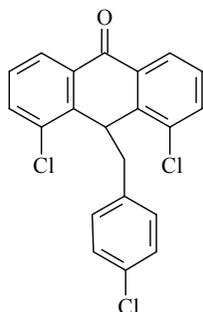
Aus 4-Chlorbenzaldehyd nach **AAV 1**.

Ausbeute	2.44 g (86 %), weiße Kristalle
Smp.	57 – 59 °C (Lit. ¹⁹⁷ 70 – 72 °C)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.34 – 7.24 (4H, m, Ar), 4.62 (2H, s, CH ₂), 2.28 (1H, s, OH), entspricht Lit. ¹⁹⁷

4-Chlorbenzylbromid (13)

Aus dem Rohprodukt von **12** (2.0 g, 14.0 mmol) und PBr₃ (9.5 g, 36.2 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 2**.

Ausbeute 1.92 g (67 %), ocker-weiße Kristalle
 Smp 22 – 24 ° C (Lit.¹⁹⁸ 28 – 30 °C)
¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.36 – 7.26 (4H, m, Ar), 4.45 (2H, s, CH₂),
 entspricht Lit.¹⁹⁸

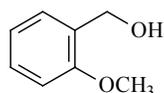
4,5-dichlor-10-(4-chlorbenzyl)-9(10H)-anthracenon (14)

Aus 0.5 g (2.0 mmol) **1** und dem Rohprodukt von **13** (1.6 g, 8.0 mmol) in 20 mL CH₂Cl₂ nach **AAV 3**.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂/Hexan (4:1)
 Ausbeute: 0.175 g (23 %), gelbes Pulver
 Smp: 130 – 132 °C
 FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1685 (C=O)
 UV (EtOH) λ_{max} (log ε) = 268 nm (4.07), 218 nm (4.38)
¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.94 (2H, d, J = 7.8 Hz, Ar), 7.71 (2H, d, J = 7.8 Hz, Ar), 7.39 (2H, t, J = 7.8 Hz, Ar), 6.82 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-2', H-6', AB-System), 5.92 (2H, d, J = 8.2 Hz,

	H-3', H-5', AB-System), 5.38 (1H, t, $J = 4.4$ Hz, H-10), 3.39 (2H, d, $J = 4.5$ Hz, CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 182.3 (C=O), 140.0, 137.8, 134.8, 133.4, 133.3, 133.1, 133.0, 126.2 (8 C arom.), 134.0, 131.4, 128.3, 127.8, 125.8 (10 CH arom.), 39.9, 39.1 (CH, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 386 (11, M ⁺), 261 (69.8), 125 (100)
Anal. (C ₂₁ H ₁₃ Cl ₃ O, 386):	Ber C, 65.06; H, 3.38 Gef C, 64.66; H, 3.00

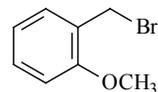
2-Methoxybenzylalkohol (15)



Aus 2-Methoxybenzaldehyd nach **AAV1**. Ansatzdauer 4 h.

Ausbeute	2.40 g (87 %), gelbes Öl
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.29 (2H, d, $J = 6.6$ Hz, Ar), 6.94 (2H, q, $J_1 = 7.8$ Hz, $J_2 = 7.3$ Hz, Ar), 4.69 (2H, s, CH ₂), 3.87 (3H, s, OCH ₃), 2.42 (1H, s, OH)

2-Methoxybenzylbromid (16)

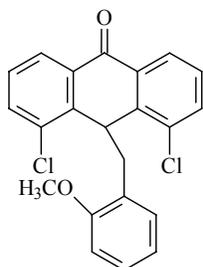


Aus dem Rohprodukt von **16** (3.0 g, 21.7 mmol) und PBr₃ (9.5 g, 36.2 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 2**.

Ausbeute	2.84 g (64 %), weiß-gelbe Kristalle
Smp	25 – 27 °C

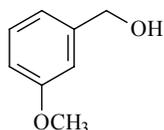
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 7.35 – 7.25 (2H, m, Ar), 6.96 – 6.86 (2H, m, Ar), 4.57 (2H, s, CH_2), 3.89 (3H, s, OCH_3), entspricht Lit.¹⁹⁹

4,5-Dichlor-10-(2-methoxybenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (17)



Aus **1** (0.33 g, 1.25 mmol) und dem Rohprodukt von **16** (1.0 g, 5.0 mmol) in CH_2Cl_2 (20 mL) nach **AAV 3**.

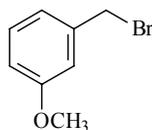
Reinigung: SiO_2 ; CH_2Cl_2
 Ausbeute: 0.100 g (21 %), gelbe Nadeln
 Smp: 134 – 135 °C
 FT-IR: ν (cm^{-1}) = 1670 (C=O)
 UV (EtOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) = 270 nm (4.15), 218 nm (4.40)
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 7.87 (2H, d, J = 7.8 Hz, Ar), 7.67 (2H, d, J = 8.0 Hz, Ar), 7.34 (2H, t, J = 8.0 Hz, Ar), 7.04 (1H, t, J = 6.6 Hz, Ar), 6.44 (2H, t, J = 8.3 Hz, Ar), 5.78 (1H, d, J = 7.4 Hz, Ar), 5.45 (1H, t, J = 4.3 Hz, H-10), 3.46 (2H, d, J = 4.4 Hz, CH_2), 3.09 (3H, s, OCH_3)
 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 182.7 (C=O), 140.8, 137.8, 134.9, 133.7, 133.4, 126.2, 122.8 (7 C arom.), 133.2, 132.3, 128.5, 127.8, 125.1, 119.5, 109.3 (10 CH arom.), 54.6 (OCH_3), 39.0, 33.9 (CH, CH_2)
 MS (70 eV): m/z (%) = 382 (2, M^{+}), 121 (100)
 Anal. ($\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{O}_2$, 382): Ber C, 68.94; H, 4.21
 Gef C, 68.80; H, 3.97

3-Methoxybenzylalkohol (18)

Aus 3-Methoxybenzaldehyd nach **AAV 1**.

Ausbeute 2.35 g (85 %), schwach gelbes Öl

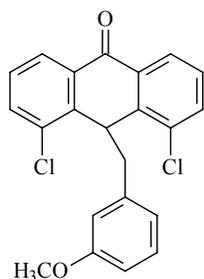
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 7.27 (1H, t, $J_1 = 7.9$ Hz, $J_2 = 8.0$ Hz, Ar), 6.89 (3H, m, Ar), 4.65 (2H, s, CH_2), 3.81 (3H, s, OCH_3), 2.09 (1H, s, OH), entspricht Lit¹⁹⁷

3-Methoxybenzylbromid (19)

Aus dem Rohprodukt von **18** (3.0 g, 21.7 mmol) und PBr_3 (9.5 g, 36.2 mmol) in CH_2Cl_2 (20 mL) nach **AAV 2**.

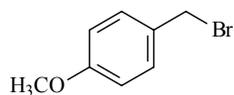
Ausbeute 3.16 g (73 %), gelbes Öl

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 7.25 (1H, t, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 7.6$ Hz, Ar), 6.99 – 6.92 (2H, m, Ar), 6.83 (1H, dd, $J_1 = 2.3$ Hz, $J_2 = 8.1$ Hz, Ar), 4.46 (2H, s, CH_2), 3.81 (3H, s, OCH_3), entspricht Lit.²⁰⁰

4,5-Dichlor-10-(3-methoxybenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (20)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt von **19** (1.7 g, 4.5 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 3**.

Reinigung:	Umkristallisation aus Hexan/Petrolether
Ausbeute:	0.222 g (29 %), weiß-gelbe Kristalle
Smp:	139 – 141° C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1685 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 269 nm (4.13), 219 nm (4.37)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.92 (2H, dd, $J_1 = 1.3$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.70 (2H, dd, $J_1 = 1.3$ Hz, $J_2 = 8.0$, Ar), 7.38 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 6.76 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, Ar), 6.58 (1H, dd, $J_1 = 1.5$ Hz, $J_2 = 8.2$ Hz, Ar), 5.59 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, Ar), 5.48 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, Ar), 5.42 (1H, t, $J = 4.4$ Hz, H-10), 3.42 (3H, s, OCH ₃) 3.38 (2H, d, $J = 4.4$ Hz, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 382 (12, M ⁺), 261 (18), 121 (100)
Anal. (C ₂₂ H ₁₆ Cl ₂ O ₂ , 382):	Ber C, 68.94; H, 4.21 Gef C, 68.68; H, 4.20

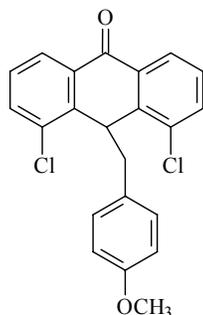
4-Methoxybenzylbromid (21)

Aus 4-Methoxybenzylalkohol (5.0 g, 36.2 mmol) und PBr_3 (9.5 g, 36.2 mmol) in CH_2Cl_2 (15 mL) nach **AAV 2**.

Ausbeute: 5.66 g (78 %), schwach gelbes Öl

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 7.32 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, Ar, H-2, H-6, AB-System), 6.86 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, Ar, H-3, H-5, AB-System), 4.50 (2H, s, CH_2), 3.80 (3H, s, OCH_3)

4,5-Dichlor-10-(4-methoxybenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (**22**)



Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt von **21** (1.0 g, 5.0 mmol) in CH_2Cl_2 (16 mL) nach **AAV 3**.

Reinigung: Umristallisation aus Hexan/Petrolether (1:1). SiO_2 ; CH_2Cl_2

Ausbeute: 0.224 g (29 %), weiß-gelbe Kristalle

Smp: 142 – 143° C

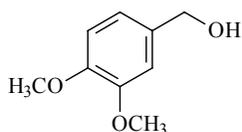
FT-IR: ν (cm^{-1}) = 1672 (C=O)

UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 276 nm (4.08), 218 nm (4.39)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 7.92 (2H, dd, $J_1 = 1.1$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.70 (2H, dd, $J_1 = 1.3$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.37 (2H, t, $J = 7.89$ Hz, Ar), 6.37 (2H, dd, $J_1 = 2.0$ Hz, $J_2 = 6.7$ Hz, H-2', H-6, AB-System), 5.86 (2H, dd, $J_1 = 1.9$ Hz, $J_2 = 6.7$ Hz, H-3', H-5', AB-System), 5.39 (1H, t, $J = 4.3$ Hz, H-

10), 3.65 (3H, s, OCH₃), 3.34 (2H, d, $J = 4.4$ Hz, CH₂)
 MS (70 eV): m/z (%) = 382 (<1, M⁺), 261 (3), 121 (100)
 Anal. (C₂₂H₁₆Cl₂O₂, 382): Ber C, 68.94; H, 4.21
 Gef C, 68.55; H, 4.35

3,4-Dimethoxybenzylalkohol (23)

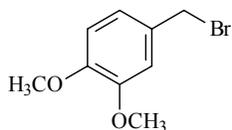


Aus 3,4-Dimethoxybenzaldehyd und NaBH₄ (1.52 g, 40 mmol) nach **AAV 1**.

Ausbeute 2.73 g (81 %), gelbes Öl

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.10 – 6.86 (3H, m, Ar), 4.71 (2H, s, CH₂),
 3.89 (6H, s, 2 x OCH₃), 2.28 (1H, s, OH), entspricht
 Lit.²⁰¹

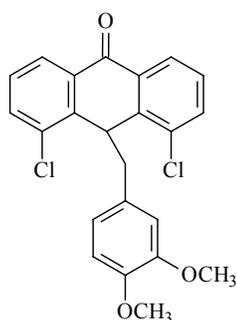
3,4-Dimethoxybenzylbromid (24)



Aus dem Rohprodukt von **23** (3.0 g, 17.8 mmol) und PBr₃ (9.5 g, 36.2 mmol) in
 CH₂Cl₂ (10 mL) nach **AAV 2**. Ansatzdauer 6 h.

Ausbeute 2.58 g (63 %), braun-gelbes Öl

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.12 – 6.81 (3H, m, Ar), 4.56 (2H, s, CH₂),
 3.96 (3H, s, OCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃)

4,5-Dichlor-10-(3,4-dimethoxybenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (25)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt von **24** (1.84 g, 8.0 mmol) in 20 mL CH₂Cl₂ nach **AAV 3**.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂/Hexan (4:1), Umkristallisation aus Hexan/Petrolether/MeOH (1:1:1)

Ausbeute: 0.109 g (13 %), gelbes Pulver

Smp: 153° C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1685 (C=O)

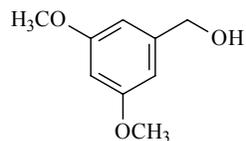
UV (EtOH) λ_{\max} (log ϵ) = 267 nm (4.13), 261 nm (4.13), 218 (4.41)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.93 (2H, dd, $J_1 = 1.1$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.70 (2H, dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.37 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, Ar), 6.35 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, Ar), 5.54 (1H, dd, $J_1 = 1.9$ Hz, $J_2 = 8.1$ Hz, Ar), 5.43 - 5.38 (2H, m, 1H, Ar, H-10), 3.72 (3H, s, OCH₃), 3.36 - 3.33 (5H, m, CH₂, OCH₃)

MS (70 eV): m/z (%) = 412 (2, M⁺), 151 (100)

Anal. (C₂₃H₁₈Cl₂O₃, 412): Ber C, 66.84; H, 4.39

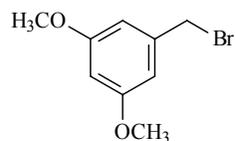
Gef C, 66.63; H, 4.37

3,5-Dimethoxybenzylalkohol (26)

Aus 3,5-Dimethoxybenzaldehyd nach **AAV 1**.

Ausbeute 2.68 g (80 %), gelbes Öl

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 6.52 (2H, d, $J = 2.1$ Hz, Ar), 6.38 (1H, t, $J_1 = J_2 = 2.3$ Hz, Ar), 4.62 (2H, s, CH_2), 3.79 (6H, s, 2 x OCH_3), 1.95 (1H, s, OH), entspricht Lit.²⁰²

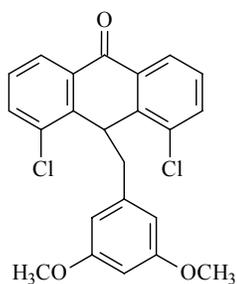
3,5-Dimethoxybenzylbromid (27)

Aus dem Rohprodukt von **26** (3.0 g, 17.8 mmol) und PBr_3 (9.5 g, 36.2 mmol) in CH_2Cl_2 (20 mL) nach **AAV 2**.

Ausbeute 2.38 g (58 %), weiß-gelbe Kristalle

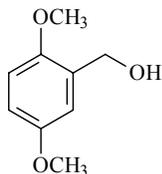
Smp 55 – 56 °C (Lit.²⁰³ 69 – 70 °C)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 6.54 (2H, d, $J = 2.1$ Hz, Ar), 6.39 (1H, t, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 2.1$ Hz, Ar), 4.42 (2H, s, CH_2), 3.79 (6H, s, 2 x OCH_3), entspricht Lit.²⁰³

4,5-Dichlor-10-(3,5-dimethoxybenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (28)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt von **27** (1.8 g, 8.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 3**.

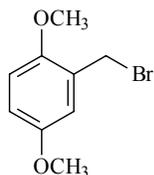
Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	0.135 g (16 %)
Smp:	165° C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1676 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 271 nm (4.18), 218 nm (4.40)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.95 (2H, dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 7.7$ Hz, Ar), 7.71 (2H, dd, $J_1 = 1.3$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.38 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 6.13 (1H, t, $J = 2.3$ Hz, Ar), 5.40 (1H, t, $J = 4.4$ Hz, H-10), 5.14 (2H, d, $J = 2.4$ Hz, Ar), 3.41 (6H, s, 2 x OCH ₃), 3.34 (2H, d, $J = 4.5$ Hz, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 412 (16, M ⁺), 151 (100)
Anal. (C ₂₃ H ₁₈ Cl ₂ O ₃ , 412):	Ber C, 66.84; H, 4.39 Gef C, 66.65; H, 4.14

2,5-Dimethoxybenzylalkohol (29)

Aus 2,5-Dimethoxybenzaldehyd und nach **AAV 1**.

Ausbeute 2.68 g (80 %), gelbes Öl

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 6.89 – 6.79 (3H, m, Ar), 4.66 (2H, d, $J = 4.8$ Hz, CH_2), 3.82 (3H, s, OCH_3), 3.77 (3H, s, OCH_3), 2.47 (1H, s, OH), entspricht Lit.²⁰⁴

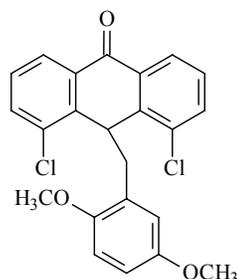
2,5-Dimethoxybenzylbromid (30)

Aus dem Rohprodukt von **29** (3.0 g, 17.8 mmol) und PBr_3 (9.5 g, 36.2 mmol) in CH_2Cl_2 (10 mL) nach **AAV 2**. Ansatzdauer 6 h.

Ausbeute 2.56 g (62 %), gelb-braune Kristalle

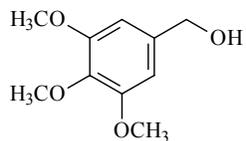
Smp. 70 – 72 °C (Lit.²⁰⁴ 75 – 77°C)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 6.91 – 6.82 (3H, m, Ar), 4.54 (2H, s, CH_2), 3.84 (3H, s, OCH_3), 3.77 (3H, s, OCH_3), entspricht Lit.²⁰⁴

4,5-Dichlor-10-(2,5-dimethoxybenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (31)

Aus **1** (0.22 g, 0.83 mmol) und dem Rohprodukt von **30** (0.7g, 3.0 mmol) in CH₂Cl₂ (16 mL) nach **AAV 3**.

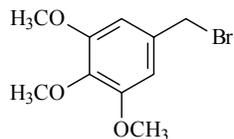
Reinigung:	Umkristallisation aus MeOH
Ausbeute:	0.109 mg (31 %), weiß-gelbe Kristalle
Smp:	167 – 169° C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1668 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 273 nm (4.16), 220 nm (4.41)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.89 (2H, d, J = 7.7 Hz, Ar), 7.62 (2H, d, J = 7.8 Hz, Ar), 7.34 (2H, t, J = 7.9 Hz, Ar), 6.58 (1H, dd, J_1 = 3.0 Hz, J_2 = 8.9 Hz, Ar), 6.33 (1H, d, J = 8.9 Hz, Ar), 5.44 (1H, t, J = 4.4 Hz, H-10), 5.36 (1H, d, J = 2.0 Hz, Ar), 3.42 (2H, d, J = 4.6 Hz, CH ₂), 3.39 (3H, s, OCH ₃), 3.04 (3H, s, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 182.6 (C=O), 152.6, 152.0, 140.8, 135.0, 133.7, 123.6 (8 C arom.), 133.2, 127.8, 125.3, 118.0, 114.0, 110.2 (9 CH arom.), 55.8 (OCH ₃), 55.0 (OCH ₃), 39.0, 34.1 (CH, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 412 (6, M ⁺), 151 (100)
Anal. (C ₂₃ H ₁₈ Cl ₂ O ₃ , 412):	Ber C, 66.84; H, 4.39 Gef C, 66.56; H, 4.56

3,4,5-Trimethoxybenzylalkohol (32)

Aus 3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd nach **AAV 2**.

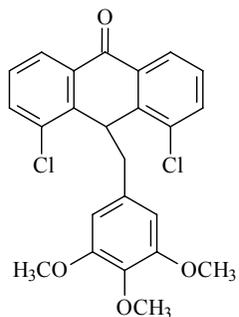
Ausbeute 3.52 g (89 %), schwach gelbes Öl

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 6.98 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar), 6.64 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, Ar), 4.62 (2H, d, $J = 5.9$ Hz, CH_2), 3.96 – 3.86 (9H, m, 3 x OCH_3), 2.14 (1H, t, $J_1 = J_2 = 6.0$ Hz, OH), entspricht Lit.²⁰⁵

3,4,5-Trimethoxybenzylbromid (33)

Aus dem Rohprodukt von **32** (3.0 g, 15.1 mmol) und PBr_3 (9.5 g, 36.2 mmol) in CH_2Cl_2 (10 mL) nach **AAV 2**. Ansatzdauer 3 h

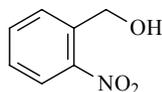
Ausbeute 2.20 g (56 %), gelb-braunes Öl

4,5-Dichlor-10-(3,4,5-trimethoxybenzyl)-9(10H)-anthracenon (34)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt von **33** (2.1 g, 8.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 3**.

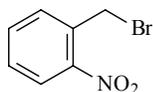
Reinigung:	Umkristallisation aus Petrolether/MeOH (1:1)
Ausbeute:	0.515 g (58 %), gelbes Pulver
Smp:	156 – 157° C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1676 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 269 nm (4.07), 218 nm (4.40)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.93 (2H, dd, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.71 (2H, dd, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.38 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 5.42 (1H, t, $J = 4.4$ Hz, H-10), 5.15 (2H, s, Ar, H-2', H-6'), 3.72 (3H, s, OCH ₃), 3.35-3.31 (8H, m, CH ₂ , 2 x OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 181.8 (C=O), 152.3, 140.3, 137.6, 135.2, 133.1, 129.9 (6 C arom.), 133.7, 128.0, 125.5, 107.7 (8 CH arom.), 61.2 (OCH ₃), 55.8 (2 x OCH ₃), 40.2, 39.3 (CH, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 442 (2, M ⁺), 181 (100)
Anal. (C ₂₄ H ₂₀ Cl ₂ O ₄ , 442):	Ber C, 65.02; H, 4.55 Gef C, 64.57; H, 4.82

2-Nitrobenzylalkohol (35)



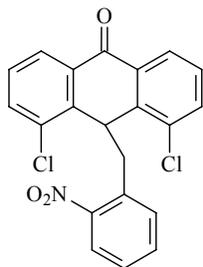
Aus 2-Nitrobenzaldehyd nach **AAV 1**.

Ausbeute	2.78 g (91 %), weiß-gelbe Kristalle
Smp	63 – 64 °C (Lit. ²⁰⁶ 71 – 72 °C)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 8.11 – 7.43 (4H, m, Ar), 4.97 (2H, s, CH ₂), 2.72 (1H, s, OH), entspricht Lit. ²⁰⁶

2-Nitrobenzylbromid (36)

Aus dem Rohprodukt von **35** (3.0 g, 19.6 mmol) und PBr₃ (9.5 g, 36.2 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 2**.

Ausbeute 2.47 g (58 %), gelb-weiße Kristalle
 Smp 42 – 44 °C (Lit.²⁰⁷ 46 – 47 °C)
¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 8.06 (1H, d, J = 8.5 Hz, Ar), 7.72 – 7.62 (2H, m, Ar), 7.56 – 7.47 (1H, s, Ar), 4.98 (2H, s, CH₂) entspricht Lit.²⁰⁷

4,5-Dichlor-10-(2-nitrobenzyl)-9(10H)-anthracenon (37)

Aus **1** (0.25 g, 1.0 mmol) und dem Rohprodukt von **36** (0.7 g, 4.0 mmol) in CH₂Cl₂ (16 mL) nach **AAV 3**.

Reinigung: SiO₂; Hexan/CH₂Cl₂ (3:1)
 Ausbeute: 0.142 g (36 %), gelbes Pulver
 Smp: 175 – 177 °C
 FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1668 (C=O)
 UV (EtOH) λ_{max} (log ε) = 266 nm (4.09), 215 nm (4.36)
¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.90 (2H, dd, J₁ = 1.2 Hz, J₂ = 7.7 Hz, Ar), 7.66 (2H, dd, J₁ = 1.4 Hz, J₂ = 8.0 Hz, Ar), 7.56 (1H, dd,

$J_1 = 1.3$ Hz, $J_2 = 8.1$ Hz, Ar), 7.41 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 7.23 (1H, dt, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 7.7$ Hz, Ar), 7.05 (1H, dt, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 7.5$ Hz, Ar), 6.07 (1H, dd, $J_1 = 1.3$ Hz, $J_2 = 7.7$ Hz, Ar), 5.48 (1H, t, $J = 5.0$ Hz, H-10), 3.87 (2H, d, $J = 4.9$ Hz, CH₂)

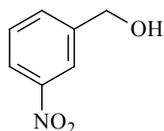
¹³C-NMR (CDCl₃) δ (ppm) = 182.5 (C=O), 150.2, 134.7, 133.6, 129.8 (7 C arom.), 134.1, 133.7, 131.7, 128.8, 128.2, 126.0, 124.6 (10 CH arom.), 38.9, 36.7 (CH, CH₂)

MS (70 eV): m/z (%) = 397 (7, M⁺), 261 (100)

Anal. (C₂₁H₁₃Cl₂NO₃, 397): Ber C, 63.34; H, 3.29; N, 3.52

Gef C, 62.83; H, 3.12; N, 3.39

3-Nitrobenzylalkohol (38)



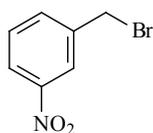
Aus 3-Nitrobenzaldehyd nach **AAV 1**.

Ausbeute 2.92 g (95 %), weiß-gelbe Kristalle

Smp 21 – 23 °C (Lit.²⁰⁸ 26 – 27 °C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 8.23 (1H, s, Ar), 8.13 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, Ar), 7.70 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, Ar), 7.55 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, Ar), 4.82 (2H, s, CH₂), 2.21 (1H, s, OH), entspricht Lit.²⁰⁸

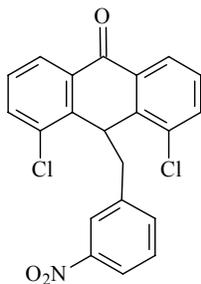
3-Nitrobenzylbromid (39)



Aus dem Rohprodukt von **38** (3.0 g, 19.6 mmol) und PBr₃ (7.5 g; 27.7 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 2**.

Ausbeute 3.02 g (71 %), gelbe Kristalle
 Smp 37 – 39 °C
¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 8.28 – 8.15 (2H, m, Ar), 7.74 (1H, d, *J* = 7.7 Hz), 7.55 (1H, t, *J*₁ = 7.9 Hz, *J*₂ = 8.00 Hz, Ar), 4.55 (2H, s, CH₂)

4,5-Dichlor-10-(3-nitrobenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (**40**)



Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt von **39** (1.7 g, 8.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 3**.

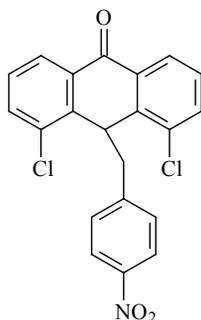
Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂/Hexan (4:1)
 Ausbeute: 0.465 (58 %), weiß-gelbes Pulver
 Smp: 170 – 172 °C
 FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1669 (C=O)
 UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 268 nm (4.25), 218 nm (4.40)
¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.92 (1H, dd, *J*₁ = 1.0 Hz, *J*₂ = 8.3 Hz, Ar), 7.90 (2H, dd, *J*₁ = 1.3 Hz, *J*₂ = 7.8 Hz, Ar), 7.76 (2H, dd, *J*₁ = 1.4 Hz, *J*₂ = 7.9 Hz, Ar), 7.42 (2H, t, *J* = 8.0 Hz, Ar), 7.03 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, Ar), 6.83 (1H, t, *J* = 1.9 Hz, Ar), 6.32 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, Ar), 5.47 (1H, t, *J* = 4.5 Hz, H-10), 3.50 (2H, d, *J* = 4.7, CH₂)

MS (70 eV): m/z (%) = 397 (12, M^+), 261 (100)

Anal. ($C_{21}H_{13}Cl_2NO_3$, 397): Ber C, 63.34; H, 3.29; N, 3.52

Gef C, 62.76; H, 2.92; N, 3.37

4,5-Dichlor-10-(4-nitrobenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (41)



Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und 4-Nitrobenzylchlorid (0.7 g, 4.0 mmol) in CH_2Cl_2 (20 mL) nach **AAV 3**.

Reinigung: SiO_2 ; CH_2Cl_2

Ausbeute: 0.363 g (46 %), orangenes Pulver

Smp: 198 – 200° C

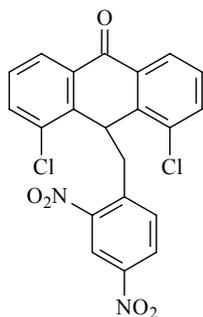
FT-IR: ν (cm^{-1}) = 1664 (C=O)

UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 273 nm (4.37), 217 nm (4.40)

1H -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 7.97 (2H, dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.80-7.74 (4H, m, Ar), 7.46 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 6.23 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, Ar), 5.47 (1H, t, $J = 4.7$ Hz, H-10), 3.54 (2H, d, $J = 4.7$ Hz, CH_2)

^{13}C -NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) = 182.2 (C=O), 146.9, 142.8, 139.5, 134.6, 133.1 (8 C arom.), 134.2, 130.9, 128.7, 126.0, 122.7 (10 CH arom.), 40.4, 38.8 (CH, CH_2)

MS (70 eV): m/z (%) = 397 (3.4, M^+), 261 (100)

4,5-Dichlor-10-(2,4-dinitrobenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (42)

Aus **1** (0.25 g, 1.0 mmol) und 2,4-Dinitrobenzylbromid (0.9 g, 4.0 mmol) in CH₂Cl₂ (16 mL) nach **AAV 3**.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂/Hexan (4:1)

Ausbeute: 0.136 g (31 %), gelbes Pulver

Smp: 178 – 180 °C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1670 (C=O)

UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 263 nm (4.32), 220 nm (4.43)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 8.44 (1H, d, J = 2.3 Hz, Ar), 7.96 (2H, dd, J_1 = 1.0 Hz, J_2 = 7.8 Hz, Ar), 7.89 (1H, d, J = 2.5 Hz, Ar), 7.50 (2H, dd, J_1 = 1.3 Hz, J_2 = 8.0 Hz, Ar), 7.46 (2H, t, J = 7.8 Hz, Ar), 6.38 (1H, d, J = 8.5 Hz, Ar), 5.10 (1H, t, J = 5.3 Hz, H-10), 3.85 (2H, d, J = 5.3 Hz, CH₂)

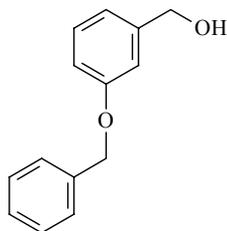
MS (70 eV): m/z (%) = 442 (<1, M⁺), 261 (100)

Anal. (C₂₁H₁₂Cl₂N₂O₅, 442): Ber C, 56.91; H, 2.73; N, 6.32

Gef C, 55.76*; H, 2.67; N, 6.68

* Trotz mehrfacher sc Reinigung und wiederholter

Bestimmung kein besseres Resultat

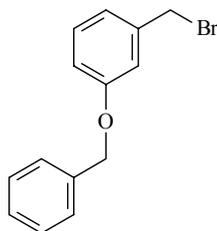
3-Benzyloxybenzylalkohol (43)

Aus 3-Benzyloxybenzaldehyd nach **AAV 1**.

Ausbeute 4.08 g (95 %), weiß-gelbe Kristalle

Smp 39 – 41 °C (Lit.²⁰⁹ 47 – 48 °C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.47 – 6.89 (9H, m, Ar), 5.08 (2H, s, OCH₂), 4.67 (2H, s, CH₂), 1.82 (1H, s, OH), entspricht Lit.²⁰⁹

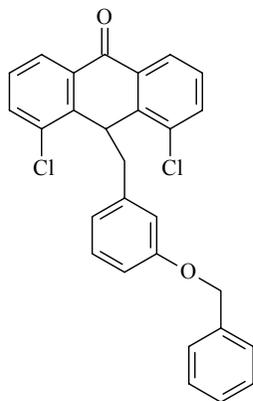
3-Benzyloxybenzylbromid (44)

Aus dem Rohprodukt von **43** (3.4 g, 15.9 mmol) und PBr₃ (9.5 g, 36.2 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 2**.

Ausbeute 2.90 g (66 %), farblose Kristalle

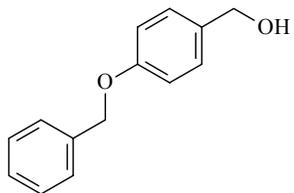
Smp 33 – 35 °C (Lit.²¹⁰ 37 – 39 °C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.45 – 7.38 (9H, m, Ar), 5.06 (2H, s, OCH₂), 4.45 (2H, s, CH₂), entspricht Lit.²¹⁰

10-(3-Benzyloxybenzyl)-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenon (45)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt von **44** (1.1 g, 4.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 3**:

Reinigung:	SiO ₂ , CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	0.170 g (19 %), weiß-gelbes Pulver
Smp:	188 – 189° C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1669 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 269 nm (4.03), 245 nm (3.85), 223 nm (4.42)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.94 (2H, d, J = 7.2 Hz, Ar), 7.70 (2H, dd, J_1 = 1.3 Hz, J_2 = 7.9 Hz, Ar), 7.42-7.26 (7H, m, Ar), 6.80-6.62 (2H, m, Ar), 5.61 (2H, m, Ar), 5.42 (1H, t, J = 4.4 Hz, H-10), 4.65 (2H, s, OCH ₂), 3.38 (2H, d, J = 4.6 Hz, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 458 (12.8, M ⁺), 197 (100)
Anal. (C ₂₈ H ₁₈ Cl ₂ O ₃ , 458):	Ber C, 73.21; H, 4.39 Gef C, 72.68; H, 4.25

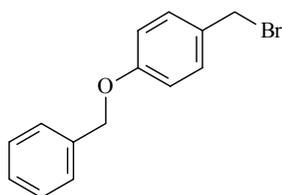
4-Benzyloxybenzylalkohol (46)

Aus 4-Benzyloxybenzaldehyd nach **AAV 1**.

Ausbeute 3.90 g (91 %), weiße Kristalle

Smp 80 – 82 °C (Lit.²⁰⁹ 86 – 89 °C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.47 – 7.35 (5H, m, Ar), 7.30 (2H, d, J = 8.8 Hz, Ar, H-2, H-6, AB-System), 6.98 (2H, d, J = 8.6 Hz, Ar, H-3, H-5, AB-System), 5.08 (2H, s, OCH₂), 4.61 (2H, s, CH₂), 1.79 (1H, s, OH), entspricht Lit.²⁰⁹

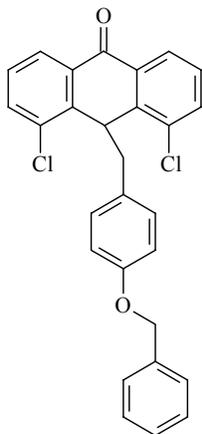
4-Benzyloxybenzylbromid (47)

Aus dem Rohprodukt von **46** (3.0 g, 14.0 mmol) und PBr₃ (9.5 g, 36.2 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 2**.

Ausbeute 2.71 g (70 %), weiße Kristalle

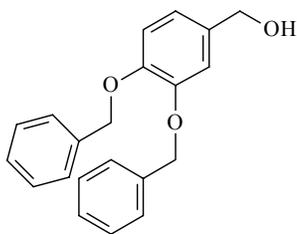
Smp 68 – 70 °C (Lit.²¹¹ 78 – 80 °C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.44 – 7.27 (7H, m, Ar), 6.96 – 6.89 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar), 5.05 (2H, s, OCH₂), 4.49 (2H, s, CH₂), entspricht Lit.²¹¹

10-(4-Benzyloxybenzyl)-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenon (48)

Aus **1** (1.0 g, 4.0 mmol) und dem Rohprodukt von **47** (2.2 g, 8.0 mmol) in CH₂Cl₂ (40 mL) nach **AAV 3**.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	0.863 g (47 %), gelbes Pulver
Smp:	192 – 193 °C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1669 (C=O)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.92 (2H, d, J = 7.6 Hz, Ar), 7.69 (2H, d, J = 7.8 Hz, Ar), 7.40-7.30 (7H, m, Ar), 6.44 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', H-6', AB-System), 5.87 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', H-5', AB-System), 5.39 (1H, t, J = 4.3 Hz, H-10), 4.90 (2H, s, OCH ₂), 3.34 (2H, d, J = 4.4 Hz, CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃)	δ (ppm) = 182.3 (C=O), 157.8, 140.4, 137.1, 134.9, 133.0, 130.5, 128.7, 126.8, 121.9 (9 C arom.), 133.8, 131.2, 128.5, 128.1, 127.9, 127.5, 125.6, 115.2, 114.0 (15 CH arom.), 70.1 (OCH ₂), 39.5, 39.3 (CH, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 458 (<1, M ⁺), 91 (100)
Anal. (C ₂₈ H ₂₀ Cl ₂ O ₂ , 458):	Ber C, 73.21; H, 4.39 Gef C, 72.51; H, 3.94

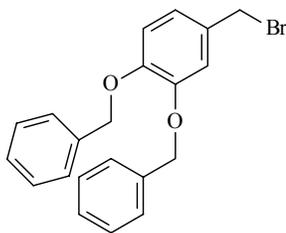
3,4-Dibenzyloxybenzylalkohol (49)

Aus 3,4-Dibenzyloxybenzaldehyd (3.2 g, 10.0 mmol) nach **AAV 1**.

Ausbeute 2.70 g (84 %), rosa-weiße Kristalle

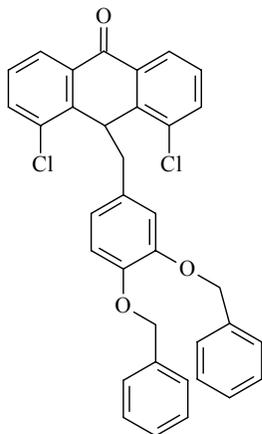
Smp 55 – 57 °C (Lit.²⁰⁹ 66 – 68 °C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.50 – 7.27 (10H, m, Ar), 7.01 – 6.84 (3H, m, Ar), 5.17 (4H, s, 2 x OCH₂), 4.57 (2H, s, CH₂), 1.68 (1H, s, OH), entspricht Lit.²⁰⁹

3,4-Dibenzyloxybenzylbromid (50)

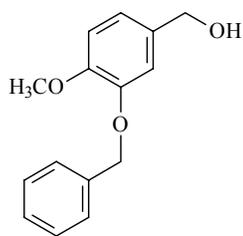
Aus dem Rohprodukt von **49** (3.0 g, 9.4 mmol) und PBr₃ (7.0 g, 25.9 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 2**.

Ausbeute 2.37 g (66 %), braun-gelbes Öl

10-(3,4-Dibenzyloxybenzyl)-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenon (51)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt von **50** (1.5 g, 3.9 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 3**.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂ /Hexan (4:1)
Ausbeute:	0.223 g (20 %), weiß-gelbes Pulver
Smp:	113 – 115 °C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1670 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 268 nm (3.97), 248 nm (3.81), 218 nm (4.38)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.93 (2H, d, J = 7.8 Hz, Ar), 7.68 (2H, d, J = 8.0 Hz, Ar), 7.39-7.25 (12H, m, Ar), 6.41 (1H, d, J = 8.1 Hz, Ar), 5.56 (2H, m, Ar), 5.37 (1H, t, J = 4.4 Hz, H-10), 4.99 (2H, s, OCH ₂), 4.60 (2H, s, OCH ₂), 3.30 (2H, d, J = 4.4 Hz, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 564 (<1, M ⁺), 181 (100)
Anal. (C ₃₅ H ₂₆ Cl ₂ O ₃ , 564):	Ber C, 74.34; H, 4.63 Gef C, 73.41*; H, 4.39
	* Trotz mehrfacher sc Reinigung und wiederholter Bestimmung kein besseres Resultat

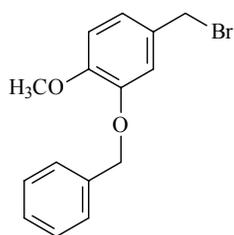
3-Benzyloxy-4-methoxybenzylalkohol (52)

Aus 3-Benzyloxy-4-methoxybenzaldehyd (2.5 g, 10.0 mmol) nach **AAV 1**.

Ausbeute 2.13 g (87 %), weiß-gelbe Kristalle

Smp 66 – 68 °C

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.48 – 7.26 (5H, m, Ar), 6.95 – 6.88 (3H, m, Ar), 5.15 (2H, s, OCH₂), 4.55 (2H, s, CH₂), 3.88 (3H, s, OCH₃), 1.74 (1H, s, OH)

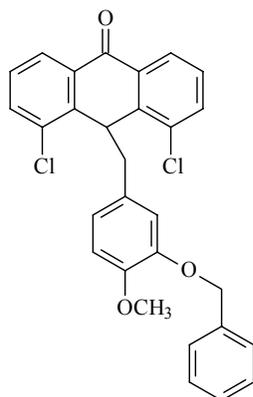
3-Benzyloxy-4-methoxybenzylbromid (53)

Aus dem Rohprodukt von **52** (2.0 g, 8.2 mmol) und PBr₃ (7.0 g, 25.9 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 2**.

Ausbeute 1.80 g (71 %), weiß-braune Kristalle

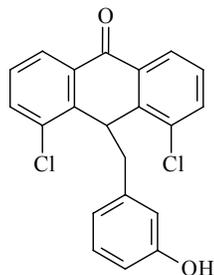
Smp 79 – 81 °C (Lit.²¹² 94 – 95 °C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.48- 7.26 (5H, m, Ar), 6.99 – 6.82 (3H, m, Ar), 5.15 (2H, s, OCH₂), 4.50 (2H, s, CH₂), 3.88 (3H, s, OCH₃)

10-(3-Benzyloxy-4-methoxybenzyl)-4,5-dichlor-9(10*H*)-anthracenon (54)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt von **53** (1.2 g, 3.9 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) nach **AAV 3**.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂ /Hexan (4:1)
Ausbeute:	0.573 g (59 %), weiß-bräunliches Pulver
Smp:	138 – 140 °C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1670 (C=O)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 268 nm (3.96), 248 nm (3.79), 216 nm (4.35)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 7.88 (2H, dd, $J_1 = 1.1$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.62 (2H, d, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.25 (7H, m, Ar), 6.33 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, Ar), 5.49 (2H, m, Ar), 5.29 (1H, t, $J = 4.3$ Hz, H-10), 4.50 (2H, s, OCH ₂), 3.65 (3H, s, OCH ₃), 3.22 (2H, d, $J = 4.3$ Hz, CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃)	δ (ppm) = 182.2 (C=O), 147.6, 140.5, 137.3, 134.9, 133.4, 127.0 (10 C arom.), 133.7, 128.5, 128.0, 127.8, 127.3, 125.6, 123.3, 116.5, 111.1 (14 CH arom.). 71.5 (OCH ₂), 56.0 (OCH ₃), 39.8, 39.3 (CH, CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 488 (2, M ⁺), 261 (5), 227 (100)
Anal. (C ₂₉ H ₂₂ Cl ₂ O ₃ , 488):	Ber C, 71.17; H, 4.53 Gef C, 71.77; H, 4.11

4,5-Dichlor-10-(3-hydroxybenzyl)-9(10H)-anthracenon (55)

Aus **45** (0.1 g, 0.6 mmol) nach **AAV 4**. Ansatzdauer: 13 h

Reinigung: Umkristallisation aus Hexan/Petrolether (1:1). SiO₂; MeOH

Ausbeute: 0.019 g (9 %), weißes Pulver

Smp: 211 – 212 °C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1657 (C=O), 3451 (C-OH)

UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 275 nm (3.99), 247 nm (3.84), 217 nm (4.34)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.93 (2H, dd, $J_1 = 1.1$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.70 (2H, dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 8.0$ Hz, Ar), 7.38 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, Ar), 6.70 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, Ar), 6.49 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, Ar), 5.57-5.39 (3H, m, 2 x Ar, H-10), 4.36 (1H, s, Ar-OH), 3.36 (2H, d, $J = 4.4$ Hz, CH₂)

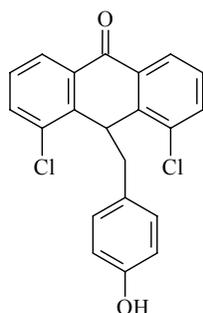
¹³C-NMR (CDCl₃) δ (ppm) = 154.9, 140.3, 136.3, 135.0, 133.0, 130.3, 127.6, 126.8 (8 C arom.), 133.9, 128.7, 128.3, 125.5, 122.7, 117.4, 113.8 (10 CH arom.), 40.1, 39.1 (CH, CH₂)

MS (70 eV): m/z (%) = 368 (<1, M⁺), 262 (100)

Anal. (C₂₁H₁₄Cl₂O₂, 368): Ber C, 68.31; H, 3.82

Gef C, 69.10; H, 3.44

4,5-Dichlor-10-(4-hydroxybenzyl)-9(10H)-anthracenon (56)



Aus **48** (0.2 g, 1.27 mmol) nach **AAV 4**. Ansatzdauer: 6 h

Reinigung: Umkristallisation aus Hexan/Petrolether (1:1). SiO₂; MeOH

Ausbeute: 0.081 g (17 %), gelb-weißes Pulver

Smp: 210 – 212 °C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1650 (C=O), 3476-3330 (C-OH)

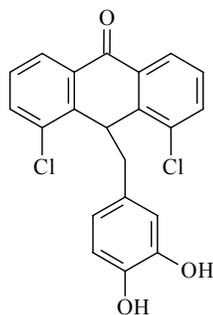
UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 275 nm (4.01), 247 nm (3.86), 217 nm (4.35)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.90 (2H, d, J = 7.7 Hz, Ar), 7.72 (2H, d, J = 7.8 Hz, Ar), 7.37 (2H, t, J = 7.8 Hz, Ar), 6.35 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-2', H-6', AB-System), 5.80 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-3', H-5', AB-System), 5.66 (1H, s, Ar-OH), 5.41 (1H, t, J = 4.1 Hz, H-10), 3.35 (2H, d, J = 4.3 Hz, CH₂)

MS (70 eV): m/z (%) = 368 (<1, M⁺), 262 (100)

Anal. (C₂₁H₁₄Cl₂O₂, 368): Ber C, 68.31; H, 3.82

Gef C, 68.90; H, 3.30

4,5-Dichlor-10-(3,4-dihydroxy)-9(10H)-anthracenon (57)

Aus **51** (0.15 g, 0.27 mmol) nach **AAV 4**. Ansatzdauer: 12 h

Reinigung: Umkristallisation aus Hexan/Petrolether (1:1)

Ausbeute: 0.023 g (30 %), weiß-gelbes Pulver

Smp: 160 – 162 °C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1656 (C=O), 2475-3330 (C-OH)

UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 268 nm (3.99), 246 nm (3.85), 215 nm (4.35)

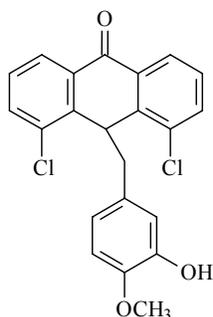
¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.87 (2H, d, J = 7.7 Hz, Ar), 7.71 (2H, d, J = 7.7 Hz, Ar), 7.36 (2H, t, $J_1 = J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 6.35 (1H, d, J = 7.9 Hz, Ar), 6.15 (1H, s, Ar-OH), 5.48 – 5.35 (4H, m, 2 x Ar, Ar-OH, H-10), 3.30 (2H, d, J = 4.2 Hz, CH₂)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 183.8 (C=O), 143.3, 142.8, 140.6, 135.0, 133.0, 128.5, 126.9, 125.8, 112.4 (9 C arom.), 134.1, 128.2, 125.4, 122.6, 117.6, 114.6 (9 CH arom.), 39.4 (CH, CH₂)

MS (70 eV): m/z (%) = 384 (<1), 262 (100)

Anal. (C₂₁H₁₄Cl₂O₃, 384): Ber C, 65.47; H, 3.66

Gef C, 65.56; H, 4.03

4,5-Dichlor-10-(3-hydroxy-4-methoxybenzyl)-9(10*H*)-anthracenon (58)

Aus **54** (0.2 g, 0.41 mmol) nach **AAV 4**. Ansatzdauer: 7 h

Reinigung: Umkristallisation aus Hexan/Petrolether (1:1)

Ausbeute: 0.091 g (57 %), braunes Pulver

Smp: 136 – 138 °C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1671 (C=O), 3504 (C-OH)

UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 269 nm (4.20), 261 nm (3.96), 221 nm (4.41)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.95 (2H, dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, Ar), 7.71 (2H, dd, $J_1 = 1.3$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz, Ar), 7.37 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, Ar), 6.30 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, Ar), 5.55 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, Ar), 5.41 (1H, dd, $J_1 = 2.2$ Hz, $J_2 = 8.2$ Hz, Ar), 5.37 (1H, t, $J = 4.3$ Hz, H-10), 5.30 (1H, s, Ar-OH), 3.72 (3H, s, OCH₃), 3.31 (2H, d, $J = 4.5$ Hz, CH₂)

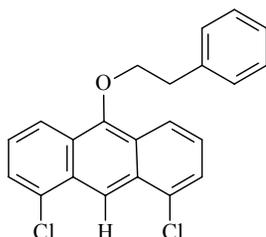
MS (70 eV): m/z (%) = 398 (1.5, M⁺), 261 (3.9), 137 (100)

Anal. (C₂₂H₁₆Cl₂O₃, 398): Ber C, 66.18; H, 4.04

Gef C, 65.93; H, 3.68

3.3 Darstellung der 9-Alkyloxy-4,5-dichloranthracene

4,5-Dichlor-9-(2-phenylethoxy)-anthracen (59)



Aus **1** (0.25 g, 1.0 mmol), 2-Bromethylbenzol (0.6 g, 3.0 mmol) und TEBAC (0.05 g) in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{NaOH}$ (30%) (35 mL) nach **AAV 3** unter 24 h Rückfluß.

Reinigung: SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Hexan}$ (2:1)

Ausbeute: 0.112 g (31 %), gelbes Pulver

Smp: 98 – 99 °C

FT-IR: ν (cm^{-1}) = 1338 (COR)

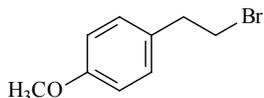
UV (EtOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) = 401 nm (3.82), 380 nm (3.89), 360 nm (3.69), 250 nm (4.52), 205 nm (4.18)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 9.04 (1H, s, Ar, H-10), 7.97 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, Ar), 7.59 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, Ar), 7.40-7.20 (7H, m, Ar), 4.37 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, -O- CH_2CH_2 -Ar), 3.32 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, -O- CH_2CH_2 -Ar)

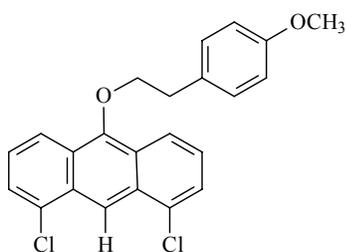
MS (70 eV): m/z (%) = 366 (9, M^{++}), 105 (100)

Anal. ($\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{O}$, 366): Ber C, 71.95; H, 4.39

Gef C, 71.51; H, 3.98

1-(2-Bromomethyl)-4-methoxybenzol (60)

Darstellung und analytische Daten siehe Dissertation Putic¹³³

4,5-Dichlor-9-[2-(4-methoxyphenyl)ethoxy]-anthracen (61)

Aus **1** (0.17 g, 0.7 mmol), **60** (0.4 g, 2.0 mmol) und TEBAC (0.05 g) in CH₂Cl₂/NaOH (30 %) (35 mL) nach **AAV 3** unter 6 h Rückfluß.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂/Hexan (4:1)

Ausbeute: 0.045 g (17 %), gelbe Nadeln

Smp: 108 – 109 °C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1338 (COR)

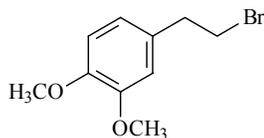
UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 402 nm (3.89), 389 nm (3.95), 361 nm (3.76), 345 nm (3.45), 259 nm (4.52), 254 nm (4.53), 249 nm (4.52), 223 nm (4.32), 207 nm (4.20)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 9.04 (1H, s, Ar, H-10), 8.00 (2H, d, J = 8.8 Hz, Ar), 7.60 (2H, d, J = 7.0 Hz, Ar), 7.37-6.90 (6H, m, Ar), 4.33 (2H, t, J = 6.7 Hz, -O-CH₂CH₂-Ar), 2.83 (3H, s, OCH₃), 3.23 (2H, t, J = 6.8 Hz, -O-CH₂CH₂-Ar)

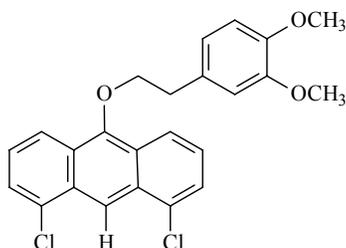
MS (70 eV): m/z (%) = 396 (2, M⁺), 135 (100)

Anal. (C₂₃H₁₈Cl₂O₂, 396): Ber C, 69.53; H, 4.57

Gef C, 70.12; H, 4.01

1-(2-Bromethyl)-3,4-dimethoxybenzol (62)

Darstellung und analytische Daten siehe Dissertation Putic¹³³

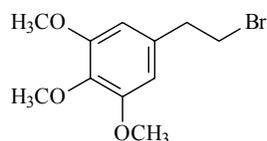
4,5-Dichlor-9-[2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethoxy]-anthracen (63)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und **62** (1.0 g, 4.0 mmol) nach **AAV 3** unter 12 h Rückfluß.

Reinigung:	Umkristallisation aus Diethylether. SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂ /Hexan (4:1)
Ausbeute:	0.152 g (18 %), gelbes Pulver
Smp:	84 – 86 °C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1335 (COR)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 390 nm (3.50), 380 nm (3.90), 369 nm (3.48), 361 nm (3.71), 345 nm (3.41), 308 nm (2.82), 254 nm (4.52)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 9.05 (1H, s, Ar, H-10), 8.03 (2H, d, J = 8.8 Hz, Ar), 7.51 (2H, d, J = 7.2 Hz, Ar), 7.30 (2H, t, J = 8.1 Hz, Ar), 6.90 (3H, m, Ar), 4.36 (2H, t, J = 6.6 Hz, -OCH ₂ CH ₂ -Ar), 3.90 (6H, s, 2 x OCH ₃), 3.27 (2H, t, J = 6.6 Hz, -O-CH ₂ CH ₂ -Ar)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 152.2, 149.1, 148.0, 137.8, 135.0, 133.0, 132.5,

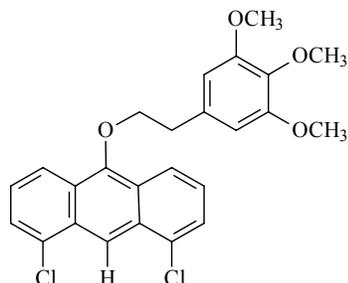
	130.9, 130.1, 126.1 (10 C arom.), 1126.3, 125.4, 121.8, 121.4, 116.7, 112.6, 111.5 (10 CH arom.), 76.5 (OCH ₂) 56.1 (OCH ₃), 56.0 (OCH ₃), 36.7 (CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 426 (3, M ⁺), 165 (100)
Anal. (C ₂₄ H ₂₀ Cl ₂ O ₃ , 426):	Ber C, 67.46; H, 4.72 Gef C, 66.98; H, 4.34

1-(2-Bromethyl)-3,4,5-trimethoxybenzol) (64)



Darstellung und analytische Daten siehe Dissertation Putic¹³³

4,5-Dichlor-9-[2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethoxy]-anthracen (65)



Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und **64** (1.0 g, 3.6 mmol) nach **AAV 3** unter 12 h Rückfluß.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂/Hexan (4:1)

Ausbeute: 0.312 g (34 %), gelbes Pulver

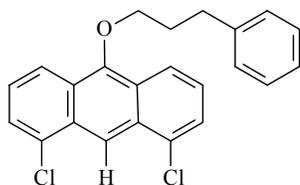
Smp: 91 – 92 °C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1334 (COR)

UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 390 nm (3.50), 380 nm (3.89), 269 nm (3.48), 361 nm (3.72), 348 nm (3.45), 345 nm (3.44), 311

	nm (2.85), 252 nm (4.52), 215 nm (4.36)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ (ppm) = 9.05 (1H, s, Ar, H-10), 8.03 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, Ar), 7.61 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, Ar), 7.38-7.28 (4H, m, Ar), 4.39 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{Ar}$), 3.88 (9H, s, 3 x OCH_3), 3.26 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{Ar}$)
MS (70 eV):	m/z (%) = 456 (5, M^+), 195 (100)
Anal. ($\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{O}_4$, 456):	Ber C, 65.65; H, 4.85
	Gef C, 64.57*; H, 4.82
	* Trotz mehrfacher sc Reinigung und wiederholter Bestimmung kein besseres Resultat

4,5-Dichlor-9-(3-phenylpropoxy)-anthracen (66)

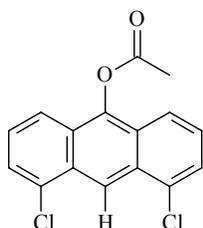


Aus 1 (0.5 g, 2.0 mmol) und 3-Brompropylbenzol (1.4 g, 7.2 mmol) nach AAV 3 .	
Reinigung:	SiO_2 ; Hexan/ CH_2Cl_2 (2:1)
Ausbeute:	0.188 g (25 %)
Smp:	94 – 95 °C
FT-IR:	ν (cm^{-1}) = 1335 (COR)
UV (EtOH)	λ_{max} ($\log \epsilon$) = 401 nm (3.87), 380 nm (3.94), 250 nm (4.52), 215 nm (4.19)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ (ppm) = 9.05 (1H, s, Ar, H-10), 8.19 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, Ar), 7.62 (2H, d, $J = 7.1$ Hz, Ar), 7.43-7.25 (7H, m, Ar), 4.20 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{Ar}$), 3.03 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{Ar}$), 2.37 (2H, q, $J_1 = 6.4$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{Ar}$)
MS (70 eV):	m/z (%) = 380 (29, M^+), 91 (100)

Anal. (C₂₃H₁₈Cl₂O, 380.1): Ber C, 72.45; H, 4.76
 Gef C, 72.18; H, 4.70

3.4 Darstellung der 9-Acoyl-4,5-dichloranthracene

4,5-Dichlor-9-anthryl-acetat (67)



Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und Acetylchlorid (0.5 g, 6.4 mmol) nach **AAV 5** bei Raumtemperatur. Ansatzdauer 3 h.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂/Hexan (3:2)

Ausbeute: 0.357 g (44 %), gelbe Nadeln

Smp: 162 – 163° C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1734 (COOR)

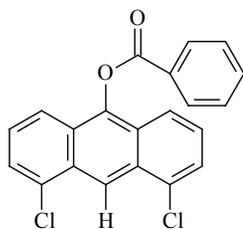
UV (EtOH) λ_{\max} (log ϵ) = 398 nm (3.72), 374 nm (3.77), 355 nm (3.60), 339 nm (3.32), 252 nm (4.50), 215 nm (3.92)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 9.24 (1H, Ar, H-10), 7.88 (2H, d, J = 8.7 Hz, Ar), 7.66 (2H, d, J = 7.7 Hz, Ar), 7.45 (2H, t, J = 8.0 Hz, Ar), 2.64 (3H, s, -O-CO-CH₃)

MS (70 eV): m/z (%) = 304 (12, M⁺), 262 (100)

Anal. (C₁₆H₁₀Cl₂O₂, 304): Ber C, 62.98; H, 3.30

Gef C, 63.35; H, 3.56

(4,5-Dichlor-9-anthryl)-benzoat (68)

Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und Benzoylchlorid (0.4 g, 3.0 mmol) nach **AAV 5** bei Raumtemperatur. Ansatzdauer 3 h.

Reinigung: SiO_2 ; CH_2Cl_2 /Hexan (4:1)

Ausbeute: 0.449 g (61 %), hellgelbes Pulver

Smp: 195 – 197° C

FT-IR: ν (cm^{-1}) = 1737 (COOR)

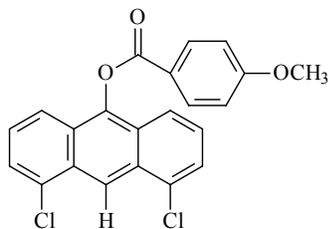
UV (EtOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) = 396 nm (4.04), 375 nm (4.08), 353 nm (3.67), 335 nm (3.42), 252 nm (4.57), 213 nm (3.90)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ (ppm) = 9.39 (1H, s, Ar, H-10), 8.44 (2H, d, $J = 7.0$ Hz, Ar), 7.94 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, Ar), 7.65 (5H, m, Ar), 7.42 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, Ar)

MS (70 eV): m/z (%) = 366 (5, M^+), 105 (100)

Anal. ($\text{C}_{21}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{O}_2$, 366): Ber C, 68.68; H, 3.29

Gef C, 68.71; H, 3.47

(4,5-Dichlor-9-anthryl)-4-methoxybenzoat (69)

Aus **1** (0.25 g, 1.0 mmol) und 4-Methoxybenzoylchlorid (0.3 g, 2.0 mmol) in absol. THF (35 mL) nach **AAV 5** bei Raumtemperatur. Ansatzdauer 2.5 h

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂/Hexan (3:2)

Ausbeute: 0.158 g (40 %), gelbe Nadeln

Smp: 219 – 220° C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1738 (COOR)

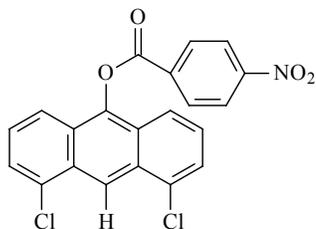
UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 396 nm (4.09), 375 nm (4.12), 356 nm (3.92), 339 nm (3.59), 324 nm (3.20), 261 nm (4.55), 250 nm (4.56), 215 nm (4.34)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 9.25 (1H, s, Ar, H-10), 8.38 (2H, d, J = 9.0 Hz, Ar), 7.93 (2H, d, J = 8.8 Hz, Ar), 7.64 (2H, d, J = 6.6 Hz, H-2', H-6', AB-System), 7.39 (2H, t, J = 8.0 Hz, Ar), 7.10 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', H-5', AB-System), 3.95 (3H, s, OCH₃)

MS (70 eV): m/z (%) = 396 (3, M⁺), 135 (100)

Anal. (C₂₂H₁₄Cl₂O₃, 396): Ber C, 66.52; H, 3.55

Gef C, 67.18; H, 3.69

(4,5-Dichlor-9-anthryl)-4-nitrobenzoat (70)

Aus **1** (0.25 g, 1.0 mmol) und 4-Nitrobenzoylchlorid (0.4 g, 2.0 mmol) in absol. THF (35 mL) nach **AAV 5** unter 4 h Rückfluß.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂/Hexan (4:1)

Ausbeute: 0.282 g (68 %), orange Nadeln

Smp: 287° C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1739 (COOR)

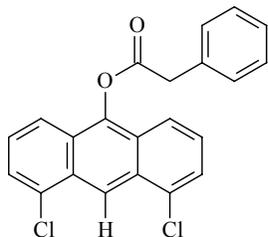
UV (EtOH) λ_{\max} (log ϵ) = 395 nm (3.72), 375 nm (3.73), 356 nm (3.56), 339 nm (3.39), 252 nm (4.57), 250 nm (4.56), 206 nm (4.18)

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 9.33 (1H, s, Ar, H-10), 8.63 (2H, d, J = 9.1 Hz, H-2', H-6', AB-System), 8.48 (2H, d, J = 8.9 Hz, H-3', H-5', AB-System), 7.87 (2H, d, J = 9.0 Hz, Ar), 7.69 (2H, d, J = 7.0 Hz, Ar), 7.45 (2H, t, J = 7.9 Hz, Ar)

MS (70 eV): m/z (%) = 411 (21, M⁺), 150 (100)

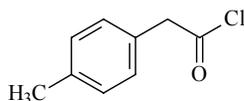
Anal. (C₂₁H₁₁Cl₂NO₄, 411): Ber C, 61.19; H, 2.69; N, 3.40

Gef C, 60.82; H, 2.49; N, 3.13

(4,5-Dichlor-9-anthryl)-2-phenylacetat (71)

Aus **1** (0.2 g, 0.7 mmol) und Phenylessigsäurechlorid (0.3 g, 2.0 mmol) in absol. THF (35 mL) nach **AAV 5** bei Raumtemperatur. Ansatzdauer: 6 h

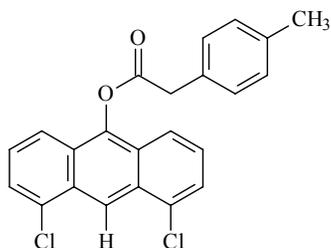
Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	0.154 g (58 %), gelbe Nadeln
Smp:	167 – 170° C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1758 (COOR)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 395 nm (3.80), 374 nm (3.84), 356 nm (3.65), 339 nm (3.36), 224 nm (4.52), 251 nm (4.52), 210 nm (4.27)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 9.13 (1H, s, Ar, H-10), 7.55-7.18 (11H, m, Ar), 4.10 (2H, s, -O-CO-CH ₂ -Ar)
MS (70 eV):	m/z (%) = 380 (4, M ⁺), 262 (100)
Anal. (C ₂₂ H ₁₄ Cl ₂ O ₂ , 380):	Ber C, 69.31; H, 3.70 Gef C, 69.14; H, 3.51

4-Methylphenylessigsäurechlorid (72)

Zu einer Suspension von 4-Methylphenylessigsäure (2.4 g, 16.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) wird tropfenweise eine Lösung von SOCl₂ (8.0 g, 66.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) gegeben und die Mixtur bei 65 – 70 °C gerührt. Nach 4 h destilliert man unter

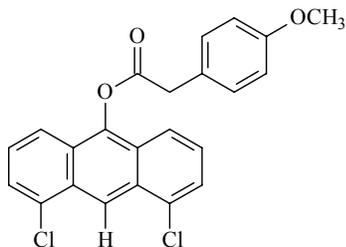
Wasserstrahlpumpenvakuum das Lösungsmittel sowie das überschüssige SOCl_2 ab. Im Kolben verbleibt ein gelbes, klares Öl, welches direkt weiter umgesetzt wird.

(4,5-Dichlor-9-anthryl)-2-(4-methylphenyl)-acetat (73)



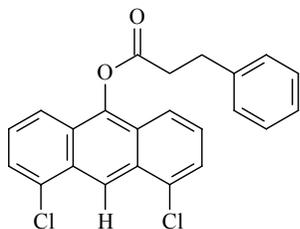
Aus **1** (0.5 g, 2.0 mmol) und dem Rohprodukt (0.7 g, 4.0 mmol) von **72** nach **AAV 5** bei Raumtemperatur. Ansatzdauer 2 h.

Reinigung:	SiO_2 ; CH_2Cl_2
Ausbeute:	0.282 g (36 %), gelbe Nadeln
Smp:	187° - 189° C
FT-IR:	ν (cm^{-1}) = 1738 (COOR)
UV (EtOH)	λ_{max} ($\log \epsilon$) = 396 nm (3.98), 384 nm (3.98), 378 nm (4.02), 363 nm (3.54), 356 nm (3.82), 344 nm (3.40), 339 nm (3.49), 326 nm (3.11), 324 nm (2.78), 252 nm (4.51), 228 nm (3.73), 211 nm (4.17)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ (ppm) = 9.18 (1H, s, Ar, H-10), 7.62-7.24 (10H, m, Ar), 4.11 (2H, s, -O-CO- CH_2). 2.41 (3H, s, CH_3)
MS (70 eV):	m/z (%) = 394 (5, M^+), 262 (100)
Anal. ($\text{C}_{23}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{O}$, 394):	Ber C, 69.89; H, 4.08 Gef C, 69.72; H, 3.77

(4,5-Dichlor-9-anthryl)-2-(4-methoxyphenyl)-acetat (74)

Aus **1** (0.2 g, 0.8 mmol) und 4-Methoxyphenylessigsäurechlorid (0.4 g, 1.0 mmol) in absol. THF (35 mL) nach **AAV 5** bei Raumtemperatur. Ansatzdauer: 2 h

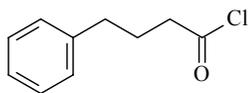
Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	0.189 g (66 %), gelbe Nadeln
Smp:	167 – 168° C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1747 (COOR)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 396 nm (3.50), 375 nm (3.54), 350 nm (3.41), 250 nm (4.52)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 9.21 (1H, s, Ar, H-10), 7.65-7.60 (3H, m, Ar), 7.49 (2H, d, J = 8.3 Hz, H-2', H-6', AB-System), 7.38-7.26 (3H, m, Ar), 7.00 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', H-5', AB-System), 4.11 (2H, s, -O-CO-CH ₂), 3.86 (3H, s, OCH ₃)
MS (70 eV):	m/z (%) = 410 (10, M ⁺), 262 (100)
Anal. (C ₂₃ H ₁₆ Cl ₂ O ₃ , 410):	Ber C, 67.17; H, 3.92 Gef C, 66.90; H, 3.49

(4,5-Dichlor-9-anthryl)-3-phenylpropanoat (75)

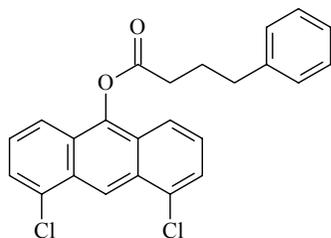
Aus **1** (0.25 g, 1.0 mmol) und Phenylpropionsäurechlorid (0.3 g, 2.0 mmol) in absol. THF (20 mL) nach **AAV 5** bei Raumtemperatur. Ansatzdauer: 1 h

Reinigung:	Kristallisation aus MeOH. SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂ /Hexan (4:1)
Ausbeute:	0.176 g (45 %), hellgelbe Nadeln
Smp:	151 – 152° C
FT-IR:	ν (cm ⁻¹) = 1737 (COOR)
UV (EtOH)	λ_{max} (log ϵ) = 396 nm (3.96), 384 nm (3.45), 375 nm (4.01), 363 nm (3.52), 356 nm (3.80), 344 nm (3.37), 339 nm (3.47), 325 nm (3.06), 305 nm (2.65), 252 nm (4.51), 228 nm (3.73), 211 nm (4.17)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 9.19 (1H, s, Ar, H-10), 7.62-7.25 (11H, m, Ar), 3.26 (4H, s, -O-CO-CH ₂ CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ (ppm) = 171.3 (C=O), 143.0, 139.9, 133.0, 129.5, 126.8, 125.2 (6 C arom.), 128.9, 128.8, 126.4, 126.3, 120.7, 119.4 (12 CH arom.), 35.8, 31.1 (2 x CH ₂)
MS (70 eV):	m/z (%) = 395 (6, M ⁺), 262 (100)
Anal. (C ₂₃ H ₁₆ Cl ₂ O ₂ , 395):	Ber C, 69.89; H, 4.08 Gef C, 69.79; H, 4.21

Phenylbuttersäurechlorid (76)



Zu einer Suspension von Phenylbuttersäure (2.6 g, 16.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) wird tropfenweise eine Lösung von SOCl₂ (8.0 g, 66.0 mmol) in CH₂Cl₂ (20 mL) gegeben und die Mischung bei 65 – 70 °C gerührt. Nach 4 h destilliert man unter Wasserstrahlpumpenvakuum das Lösungsmittel sowie das überschüssige SOCl₂ ab. Im Kolben verbleibt ein braunes Öl, welches direkt weiter umgesetzt wird.

(4,5-Dichlor-9-anthryl)-4-phenylbutanoat (77)

Aus **1** (0.25 g, 1.0 mmol) und dem Rohprodukt von **76** (0.4 g, 2.2 mmol) in absol. THF (20 mL) nach **AAV 5** bei Raumtemperatur. Ansatzdauer: 1 h

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂/Hexan (4:1)

Ausbeute: 0.158 g (39 %), hellgelbe Nadeln

Smp: 120° - 121° C

FT-IR: ν (cm⁻¹) = 1737 (COOR)

UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) = 395 nm (3.91), 384 nm (3.41), 374 nm (3.96), 363 nm (3.51), 356 nm (3.76), 344 nm (3.36), 339 nm (3.45), 332 nm (3.12); 312 nm (2.91), 249 nm (4.51), 228 nm (3.85), 212 nm (4.23)

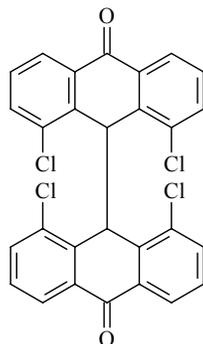
¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 9.21 (1H, s, Ar, H-10), 7.80 (2H, d, J = 8.8 Hz, Ar), 7.63 (2H, d, J = 7.1 Hz, Ar), 7.45-7.24 (7H, m, Ar), 2.97-2.83 (4H, m, -O-CO-CH₂CH₂CH₂), 2.35-2.20 (2H, m, O-CO-CH₂CH₂CH₂)

MS (70 eV): m/z (%) = 409 (4, M⁺), 262 (100)

Anal. (C₂₄H₁₈Cl₂O₂, 409): Ber C, 70.43; H, 4.43

Gef C, 69.92; H, 4.31

3.5 Darstellung des 4,4',4,5'-Tetrachlor-9(10*H*),9'(10'*H*)-dianthracenons



1 (0.25 g, 1.0 mmol) wird in siedendem Eisessig (25 mL) gelöst und unter N₂-Atmosphäre und Ausschluß von Tageslicht am Rückflußkühler langsam mit einer FeCl₃-Lösung (10 %, 2 mL) versetzt. Nach zweistündigem Rühren und Zusatz von H₂O (25 mL) wird das Reaktionsgemisch mit CH₂Cl₂ (2 x 50 mL) ausgeschüttelt, die vereinigten organischen werden Phasen über Na₂SO₄ getrocknet, und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen.

Ausbeute: 0.112 g (43 %), gelb-grünes Pulver

Smp: 297 ° C

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.68 – 7.27 (12H, m, Ar), 5.99 (2H, s, 2 x CH)

MS (70 eV): m/z (%) = 524 (<1, M⁺), 262 (42), 261 (73), 227 (100)

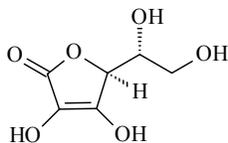
4 Bestimmung der reduzierenden Aktivität gegenüber dem stabilen Radikal 2,2-Diphenyl-1-pikrylhydrazyl

4.1 Materialien, Chemikalien, Reagenzien

DPPH (60.0 μ M):	0.0024 g 2,2-Diphenyl-1-pikrylhydrazyl (95 %) (Aldrich) werden ad 10.0 mL Ethanol gelöst. 1.0 mL dieser Lösung werden ad 10.0 mL Ethanol verdünnt.
Ethanol:	Uvasol [®] Ethanol (Merck)
Gewebekulturplatten:	96 Kavitäten (Costar)

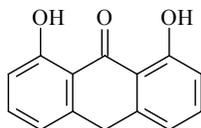
4.2 Vergleichssubstanzen

L(+)-Ascorbinsäure (Vitamin C)

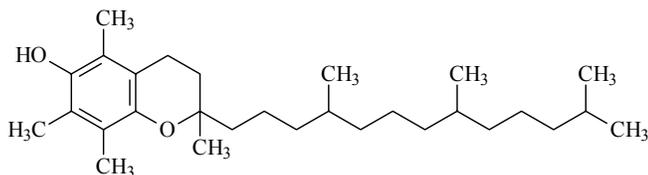


Käuflich bei Merck erworben.

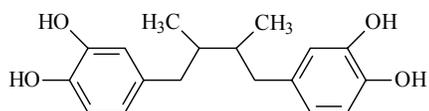
Dithranol



Aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. K. Müller, Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Münster¹¹².

DL- α -Tocopherol (Vitamin E)

Käuflich bei Fluka erworben.

Nordihydroguaiarsäure (NDGA)

Käuflich bei Fluka erworben. Es handelt sich um die meso-Form.

4.3 Herstellung der Stammlösung der Testsubstanzen

Die zu untersuchenden Testsubstanzen werden in Konzentrationen von 0.94 – 60.0 μM geprüft. Dazu wird die Stammlösung in Ethanol direkt vor Testbeginn wie folgt hergestellt:

1000.0 μM Stammlösung:
 $\text{MG} \times 10^{-5} = \text{g Testsubstanz ad } 10.0 \text{ mL Ethanol lösen}$

Zur Herstellung einer 120- μM -Lösung wird die 1000- μM -Stammlösung im Verhältnis 1 : 8.3 mit Ethanol verdünnt. Durch weiteres Verdünnen mit Ethanol werden Lösungen mit den Konzentrationen 60 μM , 30 μM , 15 μM , 7.5 μM , 3.75 μM und 1.88 μM gewonnen.

LW	Leerwert	200 μ L Ethanol
K	Kontrollösung	100 μ L Ethanol + 100 μ L 60- μ M-DPPH-Lösung
PK₁	Positivkontrolle	100 μ L 1- μ M-NDGA-Lösung + 100 μ L 60- μ M-DPPH-Lösung
PK₂	Positivkontrolle	100 μ L 10- μ M-NDGA-Lösung + 100 μ L 60- μ M-DPPH-Lösung
T₁	Testsubstanz 1 (0.94 – 60 μ M)	100 μ L Testsubstanz-Lösung + 100 μ L 60- μ M-DPPH-Lösung (angegeben ist die Konzentration in der Kavität)
T₂	Testsubstanz 2 (0.94 – 60 μ M)	100 μ L Testsubstanz-Lösung + 100 μ L 60- μ M-DPPH-Lösung (angegeben ist die Konzentration in der Kavität)

4.5 Ermittlung der IC₅₀-Werte der Testsubstanzen

Der IC₅₀-Wert ist die Konzentration der Testsubstanz in μ M, die zu einer 50%igen Abnahme der Absorption gegenüber der Absorption der Kontrolle führt. Es werden 50% des DPPH umgesetzt.

Die prozentuale Abnahme der Absorption des Testansatzes bei der jeweiligen Konzentration bezogen auf die Absorption des Kontrollansatzes bzw. der Prozentsatz der noch vorhandenen Absorption des Testansatzes bei der jeweiligen Konzentration bezogen auf die Absorption des Kontrollansatzes wird nach folgenden Formeln bestimmt:

$$\% \text{ Abnahme der Absorption} = 100 \times \left(1 - \frac{A_T}{A_K} \right)$$

$$\% \text{ Absorption} = 100 \times \frac{A_T}{A_K}$$

A_T = Absorption des Testansatzes

A_K = Absorption des Kontrollansatzes

Aus dem Graphen, der sich durch Auftragen der vorhandenen Absorption gegen die Konzentration der Testsubstanz ergibt, wird der IC_{50} -Wert ermittelt.

5 Keratinozytenproliferationstest

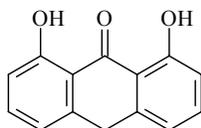
5.1 Materialien, Chemikalien, Reagenzien

HaCaT	<i>Human keratinocytes adult skin Calcium level reduced Temperature elevated</i> , Klinikum Regensburg und WWU Münster kultiviert in Gewebekulturflaschen. Mit freundlicher Genehmigung von Prof. N. E. Fusenig, Deutsches Krebsforschungs-Center, Heidelberg ¹⁴⁸
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i> , mit L-Glutamin, 4500 mg/L D-Glucose, Natriumbicarbonat, Flüssigmedium (Gibco)
FBS	<i>Foetal Bovine Serum</i> (Gibco)
Pen-Strep-Lösung	Penicillin-Streptomycin-Lösung aus 10000 Einheiten Penicillin und 10 mg Streptomycin/mL in physiologischer Kochsalzlösung (Gibco)
Trypsin-EDTA-Lösung	flüssig (Gibco)
Trypsin-Lösung	Mischung aus Trypsin-EDTA-Lösung (0.5 mL) und PBS-Puffer (5.0 mL)
PBS-Puffer	Mischung aus: KCl (0.20 g), KH ₂ PO ₄ (0.20 g), NaCl (8.0 g), Na ₂ HPO ₄ · 2 H ₂ O (1.0 g), NaH ₂ PO ₄ · 1 H ₂ O (0.15 g) ad 1.0 L H ₂ O bidest.; autoklaviert, isotonisch, pH 7.4
Ethanol	70% (V/V)
CuSO ₄	5% (G/V): 12.5 g CuSO ₄ p.a. (Merck) ad 2.5 L H ₂ O bidest.
DMSO	p.a. (Merck)
Nährmedium	1 L DMEM wird unter sterilen Bedingungen mit 100 mL FBS und 10 mL Pen-Strep-Lösung versetzt. Die Sterilität wird durch eine Sterilprobe in einer 25 cm ²

	Gewebekulturflasche geprüft, die mehrere Tage bei 37 °C inkubiert wird.
Gewebekulturflaschen	25 cm ² (T ₂₅) und 75 cm ² (T ₇₅) mit schrägem Hals und Filterkappe (Costar, Greiner)
Gewebekulturplatten	24 und 96 Kavitäten (Costar)
Probenröhrchen	15 mL und 50 mL mit Schraubverschluß (Greiner)
Inkubationsbedingungen	Brutschrank bei 37 °C mit einem CO ₂ -Gehalt von 5% und gesättigter Wasserdampfatmosphäre.

5.2 Vergleichssubstanz

Dithranol



Aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. K. Müller, Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Münster¹¹².

5.3 Herstellung der Stammlösung der Testsubstanzen

Die Testsubstanzen werden in Konzentrationen von 1.0 – 50.0 µM und falls erforderlich in Konzentrationen von 0.1 – 5.0 µM geprüft. Dazu wird die Stammlösung in DMSO direkt vor Testbeginn wie folgt hergestellt:

Stammlösung für die Testkonzentrationen von 1.0 – 50.0 µM

$$50.0\text{-}\mu\text{M}\text{-Stammlösung} \quad \frac{\text{Einwaage (mg)} \times 10^6}{1.1 \times \text{MG} \times 25000} = \text{mL DMSO}$$

Stammlösung für die Testkonzentrationen von 0.1 – 5.0 μM

$$5.0\text{-}\mu\text{M}\text{-Stammlösung} \quad \frac{\text{Einwaage (mg)} \times 10^6}{1.1 \times \text{MG} \times 2500} = \text{mL DMSO}$$

Die Einwaage der Testsubstanz liegt bei 0.5 – 2.0 mg.

5.4 Herstellung der HaCaT-Zellsuspension

Die HaCaT-Zellen werden in einer T₇₅-Flasche unter Inkubationsbedingungen kultiviert, wobei alle 48-72 h verbrauchtes durch frisches Nährmedium ersetzt wird. Zunächst wird das Medium abgesaugt. Die Zellen werden mit PBS-Puffer gewaschen (5 mL) und nach erneutem Absaugen mit Trypsin-Lösung (5.5 mL) versetzt. Die T₇₅-Flasche wird für 20-30 min zum Ablösen der Zellen unter Inkubationsbedingungen in den Brutschrank gestellt. Mit Nährmedium (5 mL) wird das Ablösen der Zellen beendet und die so erhaltene Zellsuspension in ein 50-mL-Probenröhrchen überführt. Das Probenröhrchen wird bei 1000-1200 U/min 3 min zentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt, die Zellen werden in Nährmedium (10 mL) aufgenommen und gut durchmischt. Mit einer Neubauerkammer (improved) wird die Zellzahl bestimmt und durch Verdünnen mit Nährmedium auf eine Zellzahl von $25 \cdot 10^4$ Zellen/mL nach folgender Formel eingestellt:

$$\text{mL zusätzliches Nährmedium} = \frac{\text{Zellzahl} \times 10}{25} - 10$$

5.5 Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen im 48-h-Test

24 h vor Inkubation mit den Testsubstanzen wird die unter 5.2 hergestellte und auf $25 \cdot 10^4$ Zellen/mL eingestellte Zellsuspension (100 μL) in jede Kavität der

Gewebekulturplatten pipettiert und mit Nährmedium (1 mL) versehen. Die Gewebekulturplatten werden zum Anwachsen der Zellen einen Tag unter Inkubationsbedingungen im Brutschrank belassen.

Am Tag des Beimpfens mit den Testsubstanzen wird das Nährmedium abgesaugt. Die Testverbindungen (Stammlösungen in DMSO) und Nährmedium (1 mL) werden den Zellen zugegeben, so daß sich Testkonzentrationen von 1.0 – 50.0 μM und falls erforderlich von 0.1 – 5.0 μM pro Kavität ergeben. Die DMSO-Konzentration beträgt 0.2% pro Kavität. Für jede Konzentration der Testsubstanzen werden 3 Kavitäten beimpft. Zur Wachstumskontrolle der Zellen und zur Kontrolle der Lösungsmitteltoxizität werden je 3 Kavitäten ausschließlich mit Nährmedium (1 mL) versetzt und 3 weitere Kavitäten mit Nährmedium (1.1 mL), das 0.2% DMSO enthält. Die Gewebekulturplatten werden anschließend 48 h unter Inkubationsbedingungen im Brutschrank belassen.

Schema für das Auftragen der Testsubstanzen in Konzentrationen von 1.0 – 50.0 μM auf einer Gewebekulturplatte mit 24 Kavitäten:

1.0 μM	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	10.
	80 μL K	80 μL K	80 μL K	80 μL K	80 μL K	80 μL K	0
	20 μL PZ	20 μL PZ	20 μL PZ	20 μL P	20 μL P	20 μL P	μM
2.5 μM	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	25.
	50 μL K	50 μL K	50 μL K	50 μL K	50 μL K	50 μL K	0
	50 μL PZ	50 μL PZ	50 μL PZ	50 μL P	50 μL P	50 μL P	μM
5.0 μM	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	50.
	0 μL K	0 μL K	0 μL K	0 μL K	0 μL K	0 μL K	0
	100 μL PZ	100 μL PZ	100 μL PZ	100 μL P	100 μL P	100 μL P	μM
0 μM	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	1 mL M	0
				100 μL K	100 μL K	100 μL K	μM
	Vergleich	Vergleich	Vergleich	Kontrolle	Kontrolle	Kontrolle	

Pro Kavität: 1.1 mL mit 0.2 % DMSO (außer Vergleich: ohne DMSO),
3 Bestimmungen je Konzentration

M	Medium	Nährmedium
K	Kontrollösung	20 µL DMSO + 980 µL M
S	Stammlösung	Einwaage Testsubstanz (mg) + berechnetes DMSO-Volumen (mL)
P	Pipettierlösung Testsubstanz	20 µL S + 980 µL M
PZ	Pipettierzehntellösung Testsubstanz (1/10 konzenzentrierte Pipettierlösung)	100 µL P + 900 µL K

5.6 Auszählen der Versuchsansätze

Nach 48 h wird das Nährmedium abgesaugt, und die am Boden der Gewebekulturplatte anhaftenden Zellen werden mit PBS-Puffer (100 µL) gespült. Nach dem Absaugen des PBS-Puffers wird mit Trypsin-Lösung (200 µL) versetzt. Die Platten werden zum Ablösen der Zellen für 20 min unter Inkubationsbedingungen in den Brutschrank gestellt. Der Ablösevorgang wird durch Zugabe von Nährmedium (50 µL) beendet und die Zellsuspension in jeder Kavität gut homogenisiert. Unter dem Phasenkontrastmikroskop wird die Zellzahl jeder Kavität mit einer Neubauerkammer (improved) bestimmt.

5.7 Ermittlung der IC₅₀-Werte der Testsubstanzen

Die prozentuale Hemmung des Zellwachstums bzw. der Prozentsatz noch vorhandener Zellen bezogen auf die Kontrolle bei der jeweiligen Substanzkonzentration wird wie folgt ermittelt:

$$\% \text{ Hemmung} = 100 \times \left(1 - \frac{Z_T}{Z_K}\right)$$

$$\% \text{ Zellzahl} = 100 \times \frac{Z_T}{Z_K}$$

Z_T Zellzahl des Testansatzes

Z_K Zellzahl des Kontrollansatzes mit 0.2% DMSO

Aus dem Graphen, der sich durch Auftragen der prozentualen Zellzahl bezogen auf die Kontrolle gegen die Konzentration der Testsubstanz ergibt, wird der IC_{50} -Wert ermittelt.

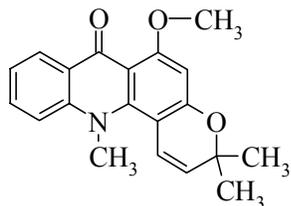
6 HL-60-Proliferationstest

6.1 Materialien, Chemikalien, Reagenzien

HL-60	<i>Human promyelocytic leukemic cells,</i> aus dem Bestand des Dermatologischen Instituts der WWU Münster, kultiviert in Gewebekulturflaschen
RPMI 1640-Medium	<i>Rosewell Park Memorial Institut,</i> mit L-Glutamin,
FBS	<i>Foetal Bovine Serum (Gibco)</i>
Pen-Strep-Lösung	Penicillin-Streptomycin-Lösung aus 10000 Einheiten Penicillin und 10 mg Streptomycin/mL in physiologischer Kochsalzlösung (Gibco)
Ethanol	70% (V/V)
Methanol	p.a. (Merck)
CuSO ₄	5% (G/V): 12.5 g CuSO ₄ p.a. (Merck) ad 2.5 L H ₂ O bidest.
DMSO	p.a. (Merck)
Nährmedium	1 L RPMI 1640 wird unter sterilen Bedingungen mit 100 mL FBS und 10 mL Pen-Strep-Lösung versetzt. Die Sterilität wird durch eine Sterilprobe in einer 25 cm ² Gewebekulturflasche geprüft, die mehrere Tage bei 37 °C inkubiert wird.
Gewebekulturflaschen	25 cm ² (T ₂₅) und 75 cm ² (T ₇₅) mit schrägem Hals und Filterkappe (Costar, Greiner)
Gewebekulturplatten	24 und 96 Kavitäten (Costar)
Probenröhrchen	15 mL und 50 mL mit Schraubverschluß (Greiner)
Inkubationsbedingungen	Brutschrank bei 37 °C mit einem CO ₂ -Gehalt von 5% und gesättigter Wasserdampfatmosphäre.

6.2 Vergleichssubstanzen

Acronycin (Acronin)

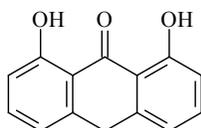


Von Prof. Dr. F. Tillequin, Laboratoire de Pharmacognosie, Faculté de Pharmacie, Université René Descartes, Paris V, Frankreich. Durch das United States Adopted Names Committee (USAN) wurde für das Acronycin als „*Generic name*“ Acronin festgelegt²¹³.

UV (MeOH): λ_{\max} (log ϵ) = 392 nm (3.83), 306 (4.27), 294 (4.39), 246 (3.63)

MS (70 eV): m/z (%) = 321 (65, M^{*+}), 306 (100), 292 (64), 277 (14),
262 (65)

Dithranol



Aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. K. Müller, Institut für Pharmazeutische Chemie der Universität Münster¹¹².

6.3 Herstellung der Untersuchungslösungen der Testsubstanz

Die zu untersuchenden Testsubstanzen werden in Konzentrationen von 0.1 – 30.0 µg/mL und falls erforderlich in Konzentrationen von 0.01 – 0.03 µg/mL geprüft. Als Lösungsmittel dient eine Mischung aus gleichen Teilen DMSO und Methanol (**LM**).

Es werden folgende Lösungen der Testsubstanz verwendet:

ST	Stammlösung (3000 µg/mL)	3 mg Substanz in 1 mL LM
L1	1000 µg/mL	40 µL ST + 80 µL LM
L2	300 µg/mL	10 µL ST + 90 µL LM
L3	100 µg/mL	10 µL L1 + 90 µL LM
L4	30 µg/mL	10 µL L2 + 90 µL LM
L5	10 µg/mL	10 µL L3 + 90 µL LM
L6	3 µg/mL	10 µL L4 + 90 µL LM
L7	1 µg/mL	10 µL L5 + 90 µL LM

6.4 Herstellung der HL-60-Zellsuspension

Die HL-60-Zellen werden in einer T₇₅-Flasche unter Inkubationsbedingungen kultiviert, wobei alle 48-72 h verbrauchtes durch frisches Nährmedium ersetzt wird. Zunächst wird mit einer Neubauerkammer (improved) die Zellzahl im verbrauchten Nährmedium bestimmt. Hiervon werden 4 mL durch Verdünnen mit frischem

Nährmedium auf eine Zellzahl von $20 \cdot 10^4$ Zellen/mL nach folgender Formel eingestellt:

$$\text{mL zusätzliches Nährmedium} = \frac{\text{Zellzahl} \times 4}{20} - 4$$

6.5 Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen im 48-h-Test

Den Zellen werden 495 μL der eingestellten Zellsuspension (**S**) und jeweils 5 μL der unter 6.3 hergestellten Testlösungen zugegeben, so daß sich Testkonzentrationen von 0.1 – 30.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ und falls erforderlich von 0.03 – 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ pro Kavität ergeben. Die DMSO-Konzentration beträgt 0.5 % pro Kavität. Für jede Konzentration der Testsubstanzen werden 3 Kavitäten beimpft. Zur Wachstumskontrolle der Zellen und zur Kontrolle der Lösungsmitteltoxizität werden je 3 Kavitäten ausschließlich mit der Zellsuspension (0.5 mL) versetzt und 3 weitere Kavitäten mit Zellsuspension (495 μL) und 5 μL LM. Die Gewebekulturplatten werden anschließend 48 h unter Inkubationsbedingungen im Brutschrank belassen.

Schema für das Auftragen der Testsubstanzen in Konzentrationen von 0.1 – 30.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ auf einer Gewebekulturplatte mit 24 Kavitäten:

0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$	495 μL S 5 μL L5	495 μL S 5 μL L5	495 μL S 5 μL L5	495 μL S 5 μL L2	495 μL S 5 μL L2	495 μL S 5 μL L2	3.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$
0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	495 μL S 5 μL L4	495 μL S 5 μL L4	495 μL S 5 μL L4	495 μL S 5 μL L1	495 μL S 5 μL L1	495 μL S 5 μL L1	10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$
1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	495 μL S 5 μL L3	495 μL S 5 μL L3	495 μL S 5 μL L3	495 μL S	495 μL S 5 μL ST	495 μL S 5 μL ST	30.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$
0 $\mu\text{g}/\text{mL}$	500 μL S Vergleich	500 μL S Vergleich	500 μL S Vergleich	495 μL S 5 μL LM Kontrolle	495 μL S 5 μL LM Kontrolle	495 μL S 5 μL LM Kontrolle	0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Pro Kavität: 0.5 mL mit 0.5 % DMSO (außer Vergleich: ohne DMSO),
3 Bestimmungen je Konzentration

6.6 Auszählen der Versuchsansätze

Nach 48 h wird unter dem Phasenkontrastmikroskop die Zellzahl jeder Kavität mit einer Neubauerkammer (improved) bestimmt.

6.7 Ermittlung der IC₅₀-Werte der Testsubstanzen

Die prozentuale Hemmung des Zellwachstums bzw. der Prozentsatz noch vorhandener Zellen bezogen auf die Kontrolle bei der jeweiligen Substanzkonzentration wird wie folgt ermittelt:

$$\% \text{ Hemmung} = 100 \times \left(1 - \frac{Z_T}{Z_K}\right)$$

$$\% \text{ Zellzahl} = 100 \times \frac{Z_T}{Z_K}$$

Z_T Zellzahl des Testansatzes

Z_K Zellzahl des Kontrollansatzes mit 0.5% DMSO

Aus dem Graphen, der sich durch Auftragen der prozentualen Zellzahl bezogen auf die Kontrolle gegen die Konzentration der Testsubstanz ergibt, wird der IC₅₀-Wert ermittelt.

7 Lactatdehydrogenase-Test zur Bestimmung der Zytotoxizität

7.1 Materialien, Chemikalien und Reagenzien

Neben den unter **E5.1** und **E6.1** aufgeführten Materialien werden zusätzlich folgende Reagenzien und Chemikalien verwendet:

Brij 35:	Sigma
Puffer (66.7 mM):	9.1 g KH_2PO_4 p.a. (Merck) werden in 800 mL H_2O bidest. gelöst. Anschließend wird mit KOH auf pH 7.5 eingestellt und auf 1000 mL aufgefüllt.
LDH EC 1.1.1.27:	Suspension: 10 mg/2 mL; 550 U/mg (Boehringer Mannheim)
NADH-Lösung (3.6 mM):	6.553 mg NADH (Merck) werden in 1.00 mL H_2O bidest. gelöst.
Natriumpyruvat-Lösung (6.0 mM):	0.66 mg Natriumpyruvat (Aldrich) werden in 1.00 mL H_2O bidest. gelöst.

7.2 Herstellung der LDH-Lösungen

Lösung A (7.0 U/mL):	50 μL der unter 7.1 genannten Suspension werden mit 950 μL KH_2PO_4 -Puffer verdünnt. Hiervon werden 100 μL mit 1864 μL Puffer verdünnt.
Lösung B (5.0 U/mL):	500 μL Lösung A werden mit 200 μL Puffer verdünnt.
Lösung C (2.5 U/mL):	200 μL Lösung B werden mit 200 μL Puffer verdünnt.

7.3 Herstellung der Stammlösungen von Dithranol und der Testsubstanzen

7.3.1 Testung an HaCaT-Zellen

Es werden nur solche Substanzen getestet, die einen IC_{50} -Wert $< 10 \mu\text{M}$ besitzen. Liegt dieser unter $5 \mu\text{M}$ so wird die betreffende Substanz bei einer Konzentration von $2 \mu\text{M}$, anderenfalls bei $5 \mu\text{M}$ geprüft. Die Testung von Dithranol erfolgt bei beiden Konzentrationen. Hierzu verdünnt man die Stammlösung in DMSO direkt vor Testbeginn 1:50 mit Medium.

$$\text{2-}\mu\text{M-Stammlösung} \quad \frac{\text{Einwaage (mg)} \times 10^6}{1.1 \times \text{MG} \times 1000} = \text{mL DMSO}$$

$$\text{5-}\mu\text{M-Stammlösung} \quad \frac{\text{Einwaage (mg)} \times 10^6}{1.1 \times \text{MG} \times 2500} = \text{mL DMSO}$$

7.3.2 Testung an HL-60-Zellen

Wie unter **E7.3.1** beschrieben, werden je nach IC_{50} -Wert 2- oder 5- μmolare Lösungen der Testsubstanzen geprüft. Von Dithranol werden beide Konzentrationen getestet. Dazu wird die Stammlösung in DMSO direkt vor Testbeginn 1:20 mit Medium verdünnt.

$$\text{2-}\mu\text{M-Stammlösung} \quad \frac{\text{Einwaage (mg)} \times 10^6}{1.1 \times \text{MG} \times 400} = \text{mL DMSO}$$

$$5\text{-}\mu\text{M-Stammlösung} \quad \frac{\text{Einwaage (mg)} \times 10^6}{1.1 \times \text{MG} \times 2500} = \text{mL DMSO}$$

7.4 Durchführung

7.4.1 4-h-Test

Die HaCaT- und HL-60-Zellsuspensionen werden analog E5.4 und E6.4 hergestellt. Zur Zeit $t = 0$ min werden 1 mL Zellsuspension und 100 μL Testverbindung bzw. Dithranol in ein Multifunktionsgefäß gegeben, gemischt und das Gefäß verschlossen. Der Inkubationsansatz wird 240 min bei 37 °C unter Schütteln im Wasserbad gehalten. Es werden pro Substanz drei Ansätze inkubiert. Des weiteren werden pro Testreihe drei Kontrollen benötigt, die anstelle der Testverbindung 0.2 % (HaCaT-Ansätze) bzw. 0.5 % (HL-60-Ansätze) DMSO enthalten. Von diesen Proben werden nach Beendigung der Inkubationszeit – ohne vorherige Zentrifugation – 100 μL zur Bestimmung der extrazellulären LDH-Aktivität verwendet.

7.4.2 Bestimmung der Gesamt-LDH-Aktivität

Zur Bestimmung der Gesamt-LDH werden jeweils 3 Kontrollansätze der HaCaT- und HL-60-Zellsuspension mit einer kleinen Menge Brij 35 versetzt und 10 min im Ultraschallbad behandelt. Ebenfalls wird die LDH-Aktivität einer nicht entsprechend behandelten Kontrolle vermessen.

7.4.3 24-h-Test zur Untersuchung der Stabilität des Enzyms in der HL-60-Suspension

Zur Untersuchung der Stabilität des Enzyms werden 3 x 1.1 mL HL-60-Zellsuspension jeweils mit einer kleinen Menge Brij 35 versetzt, 10 min im Ultraschallbad behandelt und 24 h bei 37 °C inkubiert.

Auch Dithranol wird in beiden Konzentrationen 24 h inkubiert.

7.4.4 UV-Messung

Jeweils 100 µL der unter E7.4.1 – E7.4.3 gewonnenen Lösungen werden nach folgendem Schema mit Puffer, Natriumpyruvat und NADH versetzt

Volumen	Inkubationsansatz	Konz.
750 µL	KH ₂ PO ₄ Puffer (62.5 mM)	50 mM
100 µL	Natriumpyruvat-Lösung (6 mM)	0.6 mM
50 µL	NADH Lösung (3.6 mM)	0.18 mM

Die Lösungen werden gemischt und in eine 1-mL-Quarzküvette überführt. Anschließend wird die Abnahme der Absorption über 5 min verfolgt.

Wellenlänge: 340 nm

Küvetten: 1 cm Schichtdicke

Meßtemperatur: 25 °C

7.5 Auswertung durch Aufstellung einer Kalibriergeraden

Zum Erstellen einer LDH-Kalibriergeraden werden dem unter E7.4.4 aufgeführten Inkubationsansatz anstelle einer Zellsuspension die Lösungen A, B und C des Reinenzyms zugesetzt und die Abnahme der Extinktion pro min bestimmt. Durch

Auftragen von $\Delta E/\text{min}$ gegen mU/mL erhält man eine Kalibriergerade, anhand deren Geradengleichung die LDH-Aktivität berechnet werden kann.

$$\text{LDH-Aktivität (mU/mL)} = 3108.1 \times \Delta E/\text{min} - 9.32$$

8. Untersuchungen zur Stabilität von 9-Acoyl-4,5-dichloranthracenen

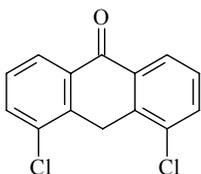
8.1 Materialien, Chemikalien, Reagenzien

Neben den unter **E5.1** aufgeführten Materialien werden zusätzlich folgende Reagenzien und Chemikalien verwendet:

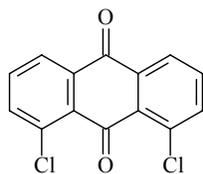
Ultraschallbad	Bandelin Sonorex Super RK 255 H
Zentrifugengläser mit Schliff	
Diethylether	
Na ₂ SO ₄	J. T. Baker
Acetonitril	HPLC-Qualität, Biosolve, Ltd.
Aqua bidestillata	

8.2 Vergleichssubstanzen

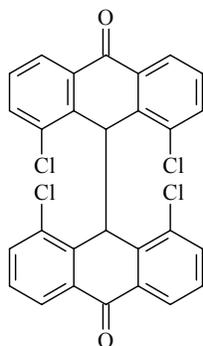
4,5-Dichlor-9(10H)-anthracenon



Synthesevorschrift und analytische Daten unter **E3.1**

1,8-Dichloranthrachinon

Käuflich bei der Firma Aldrich erworben

4,5,4',5'-Tetrachlor-9(10*H*),9'(10'*H*)-dianthracenon

Synthesevorschrift und analytische Daten unter **E3.5**

8.3 Stabilität in DMSO

Je Testverbindung werden 10 mL einer 50- μ M-Lösung in DMSO hergestellt, die 48 h unter Inkubationsbedingungen im Brutschrank aufbewahrt wird.

8.4 Stabilität in DMEM und in HaCaT-Zellsuspension unter Inkubationsbedingungen

Die Herstellung der Stammlösungen der Testverbindungen sowie die Herstellung und Aussaat der Zellsuspension erfolgt wie unter **E5.3** bis **E5.5** beschrieben. Die Testverbindungen (Stammlösungen in DMSO) werden in Testkonzentrationen von 10.0 und 50.0 μM den Zellen zugegeben. Die DMSO-Konzentration beträgt 0.2% pro Kavität. Für jede Konzentration der Testsubstanzen wird eine Kavität beimpft. Pro Substanz wird eine weitere Kavität ausschließlich mit Nährmedium (1 mL) und einer 50- μM -Lösung (100 μL) der entsprechenden Testsubstanz beschickt. Anschließend beläßt man die Gewebekulturplatte 48 h im Brutschrank unter Inkubationsbedingungen und überführt danach den Inhalt der Kavitäten jeweils in ein Zentrifugenglas mit Schliff. Jede Probelösung wird mit Diethylether (2 x 3 mL) ausgeschüttelt, die vereinigten org. Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet, und das Lösungsmittel wird mit Stickstoff vertrieben. Abschließend werden die Proben in 50 μL DMSO aufgenommen.

In einem weiteren Versuch werden die Zellen mit 10 μM der Substanz **71** beimpft und 48 h im Brutschrank inkubiert. Nach zwei Tagen wird das überstehende Medium abgesaugt, mit PBS-Puffer (2 x 100 μL) nachgewaschen und Puffer (1.1 mL) hinzugefügt. Danach erfolgt eine Behandlung mit Ultraschall (30 min) und die Überführung der Suspension in ein Zentrifugenglas mit Schliff. Die Aufarbeitung der Probe erfolgt wie oben beschrieben.

8.5 HPLC-Analyse der Proben

Von den unter **E8.3** und **E8.4** erhaltenen Probelösungen in DMSO werden je 50 μL mit 100 μL Aqua bidest. verdünnt und durch HPLC mit UV-Detektion unter folgenden Trennbedingungen analysiert.

Stationäre Phase: Hibar[®] RT 125-4, Prepacked Column LiChrospher[®] RP-18 (5
μM) 125 x 4 mm

Fließmittel: Acetonitril/Aqua bidest. (75+25)

Flußrate: 1.0 mL/min

Wellenlänge: 254 nm

Injektionsvolumen: 50 μL

Die Auswertung erfolgt qualitativ anhand der Vergleichssubstanzen.

F Literaturverzeichnis

- (1) Pschyrembel, W.; Hildebrandt, H. *Klinisches Wörterbuch*; de Gruyter, New York, Berlin. **1994**.
- (2) Fry, L. Psoriasis. *Br. J. Dermatol.* **1988**, *119*, 445-461.
- (3) Thompson, T. T.; Feldman, S. R.; Fleischer, A. B. Only 33 % of visits for skin disease in the US in 1995 were to dermatologists: is decreasing the number of dermatologists the appropriate response? *Dermatol. Online* **1998**, *4*, 3.
- (4) Braun-Falco, O.; Galosi, A.; Ruzicka, T. Was ist gesichert in der Behandlung von Psoriasis? *Internist* **1987**, *28*, 58-64.
- (5) Marchetti, A.; LaPensee, K.; An, P. A pharmacoeconomic analysis of topical therapies for patients with mild-to-moderate stable plaque psoriasis: a US study. *Clin. Ther.* **1998**, *20*, 851-869.
- (6) Pschyrembel, W.; Hunnius Porta Coeli Hyperbook, Windows Version 1.10. *Pschyrembel und Hunnius*; **1998**.
- (7) Farber, E. M.; Nall, L. Psoriasis. A review of recent advances in treatment. *Drugs* **1984**, *28*, 324-346.
- (8) Schüppel Übersichtsartikel Schuppenflechte. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1992**, *132*, 661.
- (9) Engst, R. Psoriasis-Krankheitsverlauf und Therapie. *Pharm. Ztg.* **2001**, *146*, 44-48.
- (10) Szeimies, R.-M.; Grimm, W.; Ruzicka, T. Psoriasis und ihre medikamentöse Therapie. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1990**, *130*, 2617-2624.
- (11) Henseler, T.; Christophers, E. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J. Am. Acad. Dermatol.* **1985**, *13*, 450-456.
- (12) Fricke, U. Acitretin und Calcipotriol. Neue Wirkstoffe in der Psoriasis therapie. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1994**, *134*, 467-476.
- (13) Ortonne, J.-P. Recent developments in the understanding of the pathogenesis of psoriasis. *Br. J. Dermatol.* **1999**, *54*, 1-7.

- (14) Ziboh, V. A. Psoriasis: Hyperproliferative/inflammatory skin disorder. *Drug Dev. Res.* **1988**, *13*, 137-146.
- (15) Gelfant, S. *Brit. J. Dermatol.* **1976**, *54*, 111-116.
- (16) Stork, K.; Korting, H. C.; Schäfer-Korting, M. Glucocorticoide bei Ekzem und Psoriasis. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1996**, *136*, 1657-1662.
- (17) Bartel, R. L.; Marcelo, C. L.; Voorhees, J. J. Partial characterization of phospholipase C activity in normal, psoriatic uninvolved, and lesional epidermis. *J. Invest. Dermatol.* **1987**, *88*, 447-451.
- (18) Rassner, G. *Arch. Klin. Exp. Dermatol.* **1966**, *225*, 398-407.
- (19) Rassner, G. Aktivitätsmuster von Enzymen des energieliefernden Stoffwechsels in normaler menschlicher Epidermis und bei Psoriasis vulgaris. II. *Arch. Klin. Exp. Dermatol.* **1966**, *226*, 111-120.
- (20) Bergstresser, P. R.; Gilliam, J. N. The immunology of psoriasis. *Chemotherapy of Psoriasis* **1984**, 185-194.
- (21) Hammarström, S.; Hamberg, M. S., B.; Duell, E. A.; Stawiski, M.; Voorhees, J. J. Increased concentrations of nonesterified arachidonic acid, 12L-hydroxy-5,8,10,14-eicosetraenoic acid, prostaglandin E₂, and prostaglandin F_{2α}, in epidermis of psoriasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1975**, *72*, 5130-5134.
- (22) Ikai, K. Psoriasis and the arachidonic acid cascade. *J. Derm. Sci.* **1999**, *21*, 135-146.
- (23) Köpper, S. Anti-Adhäsionstherapie. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1995**, *43*, 421-427.
- (24) Wasielewski, S. Adhäsionsmoleküle - Mittler zwischen den Zellen. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1996**, *136*, 4645-4646.
- (25) Braun-Falco, O. *Hautarzt* **1976**, *27*, 363-374.
- (26) Müller, K.; Wiegrebe, W. Psoriasis und Antipsoriatika. Pathobiochemische Grundlagen und Wirkungsmechanismen. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1997**, *137*, 1893-1902.
- (27) Schiffner, R.; Schiffner-Rohe, J.; Wölfl, G.; Landthaler, M.; Gläbl, A.; Walther, T.; Hofstädter, F.; Stolz, W. Evaluation of a multicentre study of synchronous

- application of narrowband ultraviolet B phototherapy (TL-01) and bathing in dead sea salt solution for psoriasis vulgaris. *Br. J. Dermatol.* **2000**, *142*, 740-747.
- (28) Schäfer-Korting, M. Retinoide. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1989**, *129*, 2039-2044.
- (29) Johnson, A.; Chandraratna, R. A. S. Novel retinoids with receptor selectivity and functional selectivity. *Br. J. Dermatol.* **1999**, *54*, 12-17.
- (30) Marks, R. The role of tazarotene in the treatment of psoriasis. *Br. J. Dermatol.* **1999**, *140*, 24-28.
- (31) Foster, R. H.; Brogden, R. N.; Benfield, P. Tazarotene. *Drugs* **1998**, *55*, 705-711.
- (32) Lowe, N. J. Optimizing therapy: Tazarotene in combination with phototherapy. *Br. J. Dermatol.* **1999**, *140*, 8-11.
- (33) Gollnick, H. M., A. Combination therapy with tazarotene plus a topical corticosteroid for the treatment of plaque psoriasis. *Br. J. Dermatol.* **1999**, *140*, 18-23.
- (34) Murdoch, D.; Clissold, S. C. Calcipotriol. A review of its pharmacological properties and therapeutic use in psoriasis vulgaris. *Drugs* **1992**, *43*, 415-429.
- (35) Bikle, D. D.; Gee, E.; Pillai, S. Regulation of keratinocyte growth, differentiation, and vitamin D metabolism by analogs of 1,25-dihydroxyvitamin D. *J. Invest. Dermatol.* **1993**, *101*, 713-718.
- (36) Schilli, M. B.; Paus, R.; Czarnetzki, B. M.; Reichrath, J. Vitamin D3 und seine Analoga als multifunktionelle Steroidhormone. Molekulare und klinische Aspekte aus dermatologischer Sicht. *Hautarzt* **1994**, *45*, 445-452.
- (37) Stork, K.; Korting, H. C.; Schäfer-Korting, M. Glucocorticoide bei Ekzem und Psoriasis. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1996**, *136*, 27-32.
- (38) Schmitz, M. L.; Hehner, S. P.; Bacher, S.; Dröge, W.; Heinrich, M. Transkriptionsfaktor NF- κ B. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1998**, *138*, 59-69.
- (39) Borel, J. F.; Baumann, G.; Chapman, I. D., P.; Fahr, A.; Mueller, E. A.; Vigouret, J.-M. In vivo pharmacological effects of ciclosporin and some analogues. *Adv. Pharmacol.* **1996**, *35*, 115-246.

- (40) Squire, B. Treatment of psoriasis by an ointment of chrysophanic acid. *Br. J. Dermatol.* **1876**, 2, 819-820.
- (41) Liebermann, C.; Seidler, P. Über Chrysarobin und die angebliche Chrysophansäure im Goapulver. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1878**, 14, 1603-137.
- (42) Liebermann, C. Ueber therapeutische Ersatzmittel des Chrysarobins. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1888**, 21, 447-452.
- (43) Unna, P. G. Cignolin als Heilmittel der Psoriasis. *Dermatol. Wochenschr.* **1916**, 62, 116-137.
- (44) Unna, P. G. Cignolin als Heilmittel der Psoriasis. *Dermatol. Wochenschr.* **1916**, 62, 150-163.
- (45) Galewsky, E. Über Cignolin, ein Ersatzpräparat des Chrysarobins. *Dermatol. Wochenschr.* **1916**, 62, 111-115.
- (46) Krebs, A.; Schaltegger, H. Untersuchungen zur Strukturspezifität der Psoriasisheilmittel Chrysarobin und Dithranol. *Hautarzt* **1969**, 20, 204-209.
- (47) Ashton, R. E. A., P.; Lowe, N. J.; Whitefield, M. Anthralin: historical and current perspectives. *J. Am. Acad. Dermatol.* **1983**, 9, 173-192.
- (48) Kemény, L.; Ruzicka, T.; Braun-Falco, O. Dithranol: a review of the mechanism of action in the treatment of psoriasis vulgaris. *Skin Pharmacol.* **1990**, 3, 1-20.
- (49) Clark, J. M.; Hanawalt, P. C. Inhibition of DNA replication and repair by anthralin or danthron in cultured human cells. *J. Invest. Dermatol.* **1982**, 79, 18-22.
- (50) Gaudin, D.; Greggs, R. S.; Yielding, J. S. Inhibition of DNA repair by cocarcinogens. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **1972**, 48, 945-949.
- (51) Swanbeck, G. Interaction between desoxyribonucleic acid and some anthracene and anthraquinone derivatives. *Biochim. Biophys. Acta* **1966**, 123, 630-633.
- (52) Swanbeck, G.; Linden, S. The inhibitory effect of dithranol (anthralin) on DNA synthesis. *Acta Derm.-Venereol. (Stockholm)* **1966**, 46, 228-230.
- (53) Kulkarni, M. S.; Yielding, K. L. Inhibition of UV-induced DNA repair at different steps by quinacrine and anthralin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1978**, 83, 1531-1537.

- (54) Tucker, W. F. G.; Mac Neil, S.; Dawson, R. A.; Tomlinson, S.; Bleehen, S. S. An investigation of the ability of antipsoriatic drugs to inhibit calmodulin activity: a possible mode of action of dithranol (anthralin). *J. Invest. Dermatol.* **1986**, *87*, 232-235.
- (55) Cavey, D.; Caron, J. C.; Shroot, B. Anthralin: chemical instability and glucose-6-phosphate dehydrogenase inhibition. *J. Pharm. Sci.* **1982**, *71*, 980-983.
- (56) Hammer, H. Glyceraldehydephosphate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities in psoriasis and neurodermatitis, and the effect of dithranol. *J. Invest. Dermatol.* **1970**, *54*, 121-125.
- (57) Bohlen, P.; Grove, J.; Beya, M. F.; Koch-Weser, J.; Henry, M. H.; Grosshans, E. Skin polyamine levels in psoriasis: the effect of dithranol therapy. *Eur. J. Clin. Invest.* **1978**, *8*, 215-218.
- (58) Schröder, J.-M. Anthralin (1,8-dihydroxyanthrone) is a potent inhibitor of leukotriene production and LTB₄- ω oxidation by human neutrophils. *J. Invest. Dermatol.* **1986**, *87*, 624-629.
- (59) Schröder, J.-M. Inhibition of 5-lipoxygenase and LTB₄-20-hydroxylase in human neutrophils by anthralin (1,8-dihydroxyanthrone). *J. Invest. Dermatol.* **1986**, *86*, 331.
- (60) Greaves, M. W. Irritation and staining by 10-butyryl-dithranol (butantrone). *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.* **1986**, *6*, 315-316.
- (61) Ockenfels, H. M.; Nußbaum, G.; Schultewolter, T.; Bürger, P. M.; Goos, M. Cyclosporin A, FK506, and dithranol alter tyrosine-specific protein phosphorylation in HaCaT keratinocytes. *Arch. Dermatol. Res.* **1995**, *287*, 304-309.
- (62) Morlière, P.; Dubertret, L.; Sa e Malo, T.; Salet, C.; Fosse, M.; Santus, R. The effect of anthralin (dithranol) on mitochondria. *Br. J. Dermatol.* **1985**, *112*, 509-515.
- (63) Reichert, U.; Jacques, Y.; Grangeret, M.; Schmidt, R. Antirespiratory and antiproliferative activity of anthralin in cultured human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* **1985**, *85*, 130-134.

- (64) Berset, J. D.; Krebs, A. Chemische Instabilität der Antipsoriatika Dithranol und Chrysarobin in wässrigen Systemen: Ein Beitrag zum Oxidationsverhalten. *Pharm. Acta Helv.* **1990**, *65*, 66-69.
- (65) Müller, K. Antipsoriatic anthrones: Aspects of oxygen radical formation, challenges and prospects. *Gen. pharmacol.* **1996**, *27*, 1325-1335.
- (66) Davies, A. G.; Hawari, J. A.-A.; Whitefield, M. Generation and ESR spectrum of the 1,8-dihydroxy-9-anthrone-10-yl-radical. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 4465-4468.
- (67) Shroot, B.; Brown, C. Free radicals in skin exposed to dithranol and its derivatives. *Arzneim--Forsch.* **1986**, *36*, 1253-1255.
- (68) Müller, K.; Wiegrebe, W.; Younes, M. Formation of active oxygen species by dithranol, III. Dithranol, active oxygen species and lipid peroxidation in vivo. *Arch. Pharm (Weinheim, Ger.)* **1987**, *320*, 59-66.
- (69) Bruce, J. M.; Kerr, C. W.; Dodd, N. J. F. Formation of superoxide during the auto-oxidation of anthralin (1,8-dihydroxy-9-anthrone). *J. Chem. Soc., Faraday Trans. I* **1987**, *83*, 85-89.
- (70) Ippen, H. Grundfragen der externen Psoriasis-Therapie. *Arch. Klin. Exp. Dermatol.* **1966**, *227*, 202-216.
- (71) Müller, K.; Kappus, H. Hydroxyl radical formation by dithranol. *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37*, 4277-4280.
- (72) Müller, K.; Mayer, K. K.; Wiegrebe, W. Dithranol and active oxygen species, II $^1\text{O}_2$ -Oxidation of dithranol to chrysazin. *Arch. Pharm (Weinheim, Ger.)* **1986**, *319*, 1009-1018.
- (73) Müller, K.; Eibler, E.; Mayer, K. K.; Wiegrebe, W.; Klug, G. Dithranol, singlet oxygen and unsaturated fatty acids. *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)* **1986**,
- (74) Marini-Bettólo, B. G.; della Monache, F.; McQuahe, M. Biogenetic correlations of anthranoids in *Vismia* genus. *Cl. SciFis. Mat. Nat.* **1978**, *65*, 302-306.
- (75) Steinegger, E.; Hänsel, R. *Pharmakognosie*; 4. Aufl., Springer Verlag, Berlin/New York. **1992**.
- (76) Roth, H. J.; Fenner, H. *Arzneistoffe*; 3. Aufl., Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart. **2000**.

- (77) Barnard, D. L.; Huffman, J. H.; Morris, J. L.; Wood, S. G.; Hughes, B. G.; Sidwell, R. W. Evaluation of the antiviral activity of anthraquinones, anthrones and anthraquinone derivatives against human cytomegalovirus. *Antiviral Res.* **1992**, *17*, 63-77.
- (78) Tang, J.; Colacino, J. M.; Larsen, S. H.; Spitzer, W. Virucidal activity of hypericin against enveloped and non enveloped DNA and RNA viruses. *Antiviral Res.* **1990**, *13*, 313-325.
- (79) Gawlik, I. C. Entwicklung und Durchführung von In-vitro-Testsystemen zur Charakterisierung der antipsoriatischen Aktivität neuer Anthrone. *Dissertation*; Universität Regensburg, **1996**.
- (80) Müller, K.; Breu, K. 10- ω -Phenylalkyl-9(10*H*)-anthracenones as inhibitors of keratinocyte growth with reduced membrane damaging properties. *Bioorg. Med. Chem Lett.* **1998**, *8*, 3211-3216.
- (81) Breu, K. Substitution des Antipsoriatikums Dithranol in C-10-Position: Synthese und In-vitro-Prüfung. *Dissertation*; Universität Regensburg, **1996**.
- (82) Prinz, H.; Wiegrebe, W.; Müller, K. Syntheses of Anthracenones. 1. Sodium dithionite reduction of peri-substituted anthracendiones. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2853-2856.
- (83) De Vries, J. G.; Kellog, R. M. Reduction of aldehydes and ketones by sodium dithionite. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 4126-4129.
- (84) Barnett, E. d. B., Wiltshire J. L. Über ms-Alkyl-anthracene und "Transanellartautomerie" (X. Mitteil.). *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1930**, *63*, 1114-1123.
- (85) Schaltegger, A.; Steiger, W. Darstellung von 10-Alkylderivaten des 1,8-Dihydroxy-9(10*H*)-anthracenon (Dithranol). *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1986**, *319*, 575-576.
- (86) Gürster, D. Neue C-10-substituierte Derivate des Antipsoriatikums Dithranol: Synthese und in vitro-Prüfung. *Dissertation*; Universität Regensburg, **1993**.
- (87) Becker, H. G. O.; Berger, W.; Domschke, G.; Fanghänel, E.; Faust, J.; Fischer, M.; Gentz, F.; Gewalt, K.; Gluch, R.; Mayer, R.; Müller, K.; Pavel, D.; Schmidt, H.; Schollberg, K.; Schwetlick, K.; Seiler, E.; Zeppenfeld, G.

- Organikum*; 20. Auflage, Johann Ambrosius Barth Verlag, Hüthig GmbH, Heidelberg, Leipzig, **1996**.
- (88) Majumdar, K. C.; Chattopadhyay, S. K.; Khan, A. T. Phase-transfer-catalyzed alkylation of anthrone and 10-propargylanthrones. *Synthesis* **1988**, 552-553.
- (89) Ehlers, E. *Chemie II*; 5. Aufl., Jungjohann Verlagsgesellschaft Neckarsulm Stuttgart, Stuttgart. **1992**.
- (90) Vollhardt, K. P. C. *Organische Chemie*; 1. Aufl., korrigierter Nachdruck, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, **1990**.
- (91) Pearson, R. G.; Songstad, J. Application of the principle of hard and soft acids and bases to organic chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 1827-1836.
- (92) Chaffia, B. A.; Môtginoul, C.; Toreilles, E.; Giral, L. Alkylation et acétylation d'acridones. Cas de la méthoxy-2-acridanone-9. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1980**, 345-350.
- (93) Blanchard, C.; Fabre, J.-M.; Montginoul, C.; Chaffia, B. A.; Torreilles, E.; Giral, L. Alcoylation d'acridone-9. Premiers exemples de O-alcoylation dans cette série de composés. *J. Heterocycl. Chem.* **1978**, *15*, 149-153.
- (94) Beckwith, A. L. J.; Waters, W. A. The reaction of anthracene with benzyl radicals. *J. Chem. Soc.* **1957**, 1001-1008.
- (95) Keller, R. A. Intramolecular energy transfer between triplet states of weakly interacting chromophores. II. Compounds in which the chromophores are perpendicular to each other. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *90*, 1940-1944.
- (96) Müller, K.; Gürster, D.; Piwek, S.; Wiegrebe, W. Antipsoriatic anthrones with modulated redox properties. 1. Novel 10-substituted 1,8-dihydroxy-9(10*H*)-anthracenones as inhibitors of 5-lipoxygenase. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 4099-4107.
- (97) Dimmel, D. R.; Shepard, D. Regioselective alkylation of anthrahydroquinone and anthrone in water with quinonemethides and other alkylating agents. *J. org. Chem.* **1982**, *47*, 22-29.
- (98) Barnett, E. d. B.; Wiltshire, J. L. Über ms-Alkyl-anthracene und "Transannular-tautomerie" (VII. Mitteil.). *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1929**, 3063-3077.

- (99) Barnett, E. d. B.; Goodway, N. F. The synthesis of meso-alkyl and meso-aryl anthracene derivatives. Part VII. *J. Chem. Soc.* **1930**, 1348-1352.
- (100) Barnett, E. d. B.; Goodway, N. F.; Watson, J. W. Beiträge zur Kenntnis der Anthracen-Derivate (X. Mitteil.). *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1933**, *66*, 1876-1891.
- (101) Barnett, E. d. B.; Hewlett, C. L. The influence of Bz.-substituents upon some reactions of the anthrones. **1932**, *J. Chem. Soc.*, 1452-1458.
- (102) Reese, C. B. *Protective groups in organic chemistry*; McOmie, J. F. W.; Plenum Publishing Company Ltd., London and New York, **1973**.
- (103) Zymalkowski, F. *Katalytische Hydrierungen*; Pummerer, R., Birkhofer, L., Goubeau, J.; Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, **1965**.
- (104) Müller, K.; Altmann, R.; Prinz, H. 10-Benzoyl-1,8-dihydroxy-9(10*H*)-anthraquinones: Synthesis and biological properties. *Eur.J.Med.Chem.* **1998**, *33*, 209-214.
- (105) Van Duuren, B.; Segal, A.; Tseng, S. S.; Rusch, G. M.; Loewengart, G.; Mathé, U.; Roth, D.; Smith, S.; S., M. Structure and tumor-promoting activity of analogues of anthralin. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 26-31.
- (106) Müller, K.; Reindl, H.; Breu, K. Antipsoriatic anthrones with modulated redox properties. 5. Potent inhibition of human keratinocyte growth, induction of keratinocyte differentiation, and reduced membrane damage by novel 10-Arylacetyl-1,8-dihydroxy-9(10*H*)-anthracenones. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 814-821.
- (107) Camaioni, D. M.; Alnajjar, M. S. Aromatic hydroxylation and deacylation of 9-acylanthracenes by copper(II)-peroxydisulfate. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *50*, 4456-4461.
- (108) Nonhebel, D. C.; Russell, J. A. Reactions of cupric halides with organic compounds-IV. Reactions of 9-alkoxy- and 9-acyloxyanthracenes. *Tetrahedron* **1969**, *25*, 3493-3500.
- (109) Whitlock, B. J.; Whitlock, H. W. Regiospecific synthesis of islandicin methyl ether. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *45*, 12-15.

- (110) Prinz, H.; Wiegrebe, W.; Müller, K. Syntheses of Anthracenones. 3. Revised preparative route to 10-Benzoyl-1,8-dihydroxy-9(10*H*)-anthracenones. *J.Org.Chem.* **1996**, *61*, 2861-2864.
- (111) Barnett, E. d. B.; Goodway, N. F.; Wiltshire, J. L. Beiträge zur Kenntnis der Anthracen-Derivate (I.Mitteilung). *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1930**, *63*, 1690-1697.
- (112) Auterhoff, H.; Scherff, F. C. Die Dianthrone der pharmazeutisch interessierenden Hydroxyanthrachinone. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1960**, *293*, 918-925.
- (113) Mustakallio, K. K.; Martinmaa, J.; Vilvala, R.; Halmekoski, J. Free radicals and the treatment of psoriasis with special reference to dithranol. *Med. Biol.* **1984**, *62*, 155-158.
- (114) Fuchs, J.; Nitschmann, W.; Packer, L. Antioxidant and prooxidant effects of the antipsoriatic compound anthralin in skin and subcellular fractions. *Antioxidants in Therapy and Preventive Medicine*; Plenum Press, New York. **1990**.
- (115) Malterud, K. E.; Farbrot, T. L.; Huse, A. E.; Sund, R. B. Antioxidant and radical scavenging effects of anthraquinones and anthrones. *Pharmacology* **1993**, *47 (Suppl. 1)*, 77-85.
- (116) Fuchs, J.; Zimmer, G.; Wölbling, R. H.; Milbradt, R. On the interaction between anthralin and mitochondria: a revision. *Arch. Dermatol. Res.* **1986**, *279*, 59-65.
- (117) Fuchs, J.; Nitschmann, W. H.; Packer, L. The antipsoriatic compound anthralin influences bioenergetic parameters and redox properties of energy transducing membranes. *J. Invest. Dermatol.* **1990**, *94*, 71-76.
- (118) Goldschmidt, S.; Renn, K. Zweiwertiger Stickstoff: Über das α,α -Diphenyl- β -trinitrophenyl-hydrazyl. (IV. Mitteilung über Amin-Oxydation.). *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1922**, *55*, 628-643.
- (119) Tietze, L. F.; Eicher, T. Reaktionen und Synthesen im organisch-chemischen Praktikum und Forschungslaboratorium. Georg Thieme Verlag Stuttgart, Stuttgart, New York. **1991**.

- (120) Braude, E. A.; Brook, A. G.; Linstead, R. P. Hydrogen transfer. Part V. Dehydrogenation reactions with diphenylpicrylhydrazyl. *J. Chem. Soc.* **1954**, 3574-3578.
- (121) Blois, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **1958**, *181*, 1199-1200.
- (122) Ayscough, P. B.; Russell, K. E. Spectroscopic studies of the reversible reaction between 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and 2,4,6-tri-*t*-butylphenol. *Can. J. Chem.* **1965**, *43*, 3039-3044.
- (123) Papariello, G. J.; Janish, M. A. M. Diphenylpicrylhydrazyl as an organic analytical reagent in the spectrophotometric analysis of phenols. *Anal. Chem.* **1966**, *38*, 211-214.
- (124) McGowan, J. C.; Powell, T.; Raw, R. The rates of reaction of α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl with certain amines and phenols. *J. Chem. Soc.* **1959**, 3103-3110.
- (125) Hogg, J. S.; Lohmann, G. H.; Russel, K. E. The kinetics of reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with phenols. *Can. J. Chem.* **1961**, *39*, 1588-1594.
- (126) Rousseau-Richard, C.; Richard, C.; Martin, R. Kinetics of bimolecular decay of α -tocopheroxyl free radicals studied by ESR. *FEBS Lett.* **1988**, *233*, 307-310.
- (127) Schenk, G. H.; Brown, D. J. Free radical oxidation of dihydric phenols with diphenylpicrylhydrazyl. *Talanta* **1967**, *14*, 257-261.
- (128) Zwaenepoel, E.; Lemli, J.; Cuveele, J.; Thyron, F. Recherches sur les drogues à principes anthraquinoniques XXI. Sur la formation de radicaux libres par les dianthrones. *Pharm. Acta Helv.* **1971**, *46*, 179-191.
- (129) Hatano, T.; Edamatsu, R.; Hiramatsu, M.; Mori, A.; Fujita, Y.; Yasuhara, T.; Yoshida, T.; Okuda, T. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 2016-2021.
- (130) Yoshida, T.; Mori, K.; Hatano, T.; Okumara, T.; Uehara, I.; Komagoe, K.; Fujita, Y.; Okuda, T. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by

- tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 1919-1921.
- (131) Ratty, A. K.; Sunamoto, J.; Das, N. P. Interaction of flavonoids with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical, liposomal membranes and soybean lipoxygenase-1. *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37*, 989-995.
- (132) Müller, K.; Gürster, D. Hydroxyl radical damage to DNA sugar and model membranes induced by anthralin (dithranol). *Biochem. Pharmacol.* **1993**, *46*, 1695-1704.
- (133) Putic, A. Synthese und biologische Evaluierung von 9(10H)-Acridinonen als potentielle Antipsoriatika. *Dissertation*; Westf. Wilh. Universität Münster, **2000**.
- (134) Rekka, E.; Kourounakis, P. N. Effect of hydroxyethyl rutosides and related compounds on lipid peroxidation and free radical scavenging activity. Some structural effects. *J. Pharm. Pharmacol.* **1991**, *43*, 486-491.
- (135) Kato, K.; Terao, S.; Shimamoto, N.; Hirata, M. Studies on scavengers of active oxygen species. 1. Synthesis and biological activity of 2-O-alkylascorbic acids. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 793-798.
- (136) Yokozawa, T.; Chen, C. P.; Dong, E.; Tanaka, T.; Nonaka, G.-I.; Nishioka, I. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochem. Pharmacol.* **1998**, *56*, 213-222.
- (137) Ruzicka, T. *Hautarzt, Suppl. VIII* **1988**, *39*, 81-82.
- (138) Woollard, P. M. Stereochemical differences between 12-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid in platelets and psoriatic lesions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1986**, *136*, 169-176.
- (139) Brain, S. D.; Camp, R. D.; Leigh, I. M.; Ford-Hutchinson, A. W. The synthesis of LTB₄-like material by cultured human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* **1982**, *78*, 328.
- (140) Kragballe, K.; Fallon, J. D. Increased aggregation and arachidonic acid transformation by psoriatic platelets: Evidence that platelet-derived 12-hydroxy-

- eicosatetraenoic acid increases keratinocyte DNA synthesis in vitro. *Arch. Dermatol. Res.* **1986**, 278, 449-453.
- (141) Hein, R.; Rieger, G.; Krieg, T.; Ruzicka, T. Effects of eicosanoids on human fibroblast chemotaxis. *Eicosanoids and the Skin*; Ruzicka, T.; CRC Press, Boca Raton. **1990**.
- (142) Kragballe, K.; Desjarlais, L.; Voorhees, J. J. Leukotrienes B₄, C₄ and D₄ stimulate DNA synthesis in cultured human epidermal keratinocytes. *Br. J. Dermatol.* **1985**, 113, 43-52.
- (143) Hein, R.; Gross, E.; Ruzicka, T.; Krieg, T. 12-Hydroxyeicosatetraenoic acid (12-HETE) is a chemotactic stimulus for epidermal cells. *Arch. Dermatol. Res.* **1991**, 283, 135-137.
- (144) Cunningham, F. M.; Woollard, P. M. 12(R)-Hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid is a chemoattractant for human polymorphonuclear leucocytes in vitro. *Prostaglandins* **1987**, 34, 71-78.
- (145) Bruch-Gerharz, D.; Fehsel, K.; Suschek, C.; Michel, G.; Ruzicka, T.; Kolb-Bachofen, V. A proinflammatory activity of interleukin 8 in human skin: expression of the inducible nitric oxide synthase in psoriatic lesions and cultured keratinocytes. *J. Exp. Med.* **1996**, 184, 2007-2012.
- (146) Dvir, A.; Milner, Y.; Chomsky, O.; Gilon, C.; Gazit, A.; Levitzki, A. The inhibition of EGF-dependent proliferation of keratinocytes by tyrphostin tyrosine kinase blockers. *J. Cell Biol.* **1991**, 113, 857-865.
- (147) Klem, E. B. Effects of antipsoriasis drugs and metabolic inhibitors on the growth of epidermal cells in culture. *J. Invest. Dermatol.* **1978**, 70, 27-32.
- (148) Boukamp, P.; Petrussevska, R. T.; Breitkreutz, D.; Hornung, J.; Markham, A.; Fusenig, N. E. Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. *J. Cell Biol.* **1988**, 106, 761-771.
- (149) Bernd, A.; Holzmann, H.; Marsch, W. C.; Kurelec, B.; Britovic, S.; Müller, W. E. G. Antimutagenic potency of the cytotoxic and antipsoriatic compound anthralin (cignolin). *Pharmacol. Res. Commun.* **1987**, 19, 367-378.

- (150) Bonnekoh, B.; Farkas, B.; Geisel, J.; Mahrle, G. Lactate dehydrogenase release as an indicator of dithranol-induced membrane injury in cultured human keratinocytes. *Arch. Dermatol. Res.* **1990**, *282*, 325-329.
- (151) Lowe, N. J. Psoriasis: in vivo models for topical drug evaluation. *Drug Dev. Res.* **1988**, *13*, 147-155.
- (152) Reichert, U.; Shroot, B. Effect of antipsoriatic drugs on the basic metabolism of cultured human keratinocytes. *Models Dermatol.* **1987**, *3*, 16-22.
- (153) van't Riet, B.; Wampler, G. L.; Elford, H. L. Synthesis of hydroxy- and amino-substituted benzohydroxamic acids: inhibition of ribonucleotide reductase and antitumor activity. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 589-592.
- (154) Retzow, A.; Plumier, E.; Wiegrebe, W. Untersuchungen zur Hemmung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase durch Dithranol. *Pharm. Ztg.* **1981**, *126*, 2150-2155.
- (155) Müller, K. Aktive Sauerstoffspezies, Bedeutung für Krankheit und Gesundheit. *Pharm. Unserer Zeit* **1988**, *17*, 71-80.
- (156) Vroegop, S. M.; E.Decker, D.; Buxser, S. E. Localization of damage induced by reactive oxygen species in cultured cells. *Free Radic. Biol. Med.* **1995**, *18*, 141-151.
- (157) Burdon, R. H.; Gill, V.; Rice-Evans, C. Cell proliferation and oxidative stress. *Free Radical Res. Commun.* **1989**, *7*, 149-159.
- (158) Hsieh, G. C.; Acosta, D. Dithranol-induced cytotoxicity in primary cultures of rat epidermal keratinocytes. I. The role of reactive oxygen species. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1991**, *107*, 16-26.
- (159) Prinz, H. C-2-substituierte Derivate des Antipsoriatikums Dithranol mit Hydroxamsäurestruktur: Synthesen und In-vitro-Prüfung. *Dissertation*; Universität Regensburg, **1995**.
- (160) Altmann, R. E. Entwicklung selektiver 12-Lipoxygenase-Inhibitoren aus der Anthracenon-Reihe; Universität Regensburg, *Dissertation*, **1999**.
- (161) Leukel, P. C-2-substituierte Anthronderivate mit modifizierten Redoxeigenschaften: Synthese, 5-Lipoxygenasehemmung und antiproliferative Aktivität. *Dissertation*; Universität Regensburg, **1994**.

- (162) Reindl, H. Synthese und Charakterisierung der biologischen Aktivität neuer 10-Acylderivate des Antipsoriatikums Dithranol. *Dissertation*; Universität Regensburg, **1999**.
- (163) Müller, K.; Leukel, P.; Ziereis, K.; Gawlik, I. Antipsoriatic anthrones with modulated redox properties. 2. Novel derivatives of chrysarobin and isochrysarobin — antiproliferative activity and 5-lipoxygenase inhibition. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1660-1669.
- (164) Müller, K.; Prinz, H.; Gawlik, I.; Ziereis, K.; Huang, H.-S. Simple analogues of anthralin: Unusual specificity of structure and antiproliferative activity. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3773-3780.
- (165) Müller, K.; Prinz, H. Antipsoriatic anthrones with modulated redox properties. 4. Synthesis and biological activity of novel 9,10-dihydro-1,8-dihydroxy-9-oxo-2-anthracenecarboxylic and hydroxamic acids. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2780-2787.
- (166) Wiegrebe, W.; Gerber, A.; Kappler, J.; Bayeri, C. Untersuchungen zum Stoffwechsel antipsoriatischer wirksamer Anthron-Derivate. *Arzneim.-Forsch./Drug research* **1979**, *29(II)*, 1083-1088.
- (167) Wiegrebe, W.; Retzow, A.; Plumier, E.; Ersoy, N.; Garbe, A.; Faro, H.-P.; Kunert, R. Dermal absorption and metabolism of the antipsoriatic drug dithranol triacetate. *Arzneim.-Forsch.* **1984**, *34*, 48-51.
- (168) Ferlin, M. G.; Marzano, C.; Chiarelto, G.; Baccichetti, F.; Bordin, F. Synthesis and antiproliferative activity of some variously substituted acridine and azacridine derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 827-837.
- (169) Kawaii, S.; Tomono, Y.; Katase, E.; Ogawa, K.; Yano, M.; Takemura, Y.; Juichi, M.; Ito, C.; Furukawa, H. Acridones as inducers of HL-60 cell differentiation. *Leuk. Res.* **1999**, *23*, 263-269.
- (170) Chou, T.-C.; Tzeng, C.-C.; Wu, T.-S.; Watanabe, K. A.; Su, T.-L. Inhibition of cell growth and macromolecule biosynthesis of human promyelocytic leukemic cells by acridone alkaloids. *Phytoth. Res.* **1989**, *3*, 237-242.

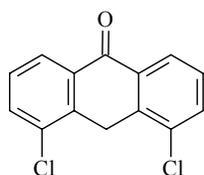
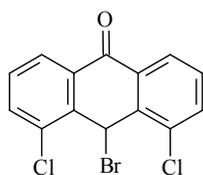
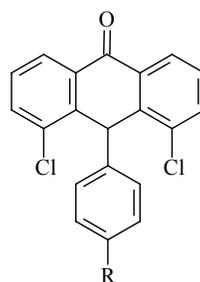
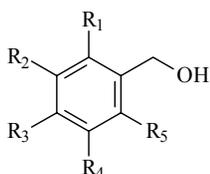
- (171) Tabarrini, O.; Cecchetti, V.; Fravolini, A.; Nocentini, G.; Barzi, A.; Sabatini, S.; Miao, H.; Sissi, C. Design and synthesis of modified quinolones as antitumoral acridones. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 2136-2144.
- (172) Prinz, H. *Priv. Mitteil.* **2001**,
- (173) Collins, S. J.; Gallo, R. E.; Gallagher, R. E. Continuous growth and differentiation of human myeloid leukemic cells in suspension culture. *Nature* **1977**, *270*, 347-349.
- (174) Chaplinski, T. J.; Niedel, J. E. Cyclic nucleotide-induced maturation of human promyelocytic leukemia cells. *J. Clin. Invest.* **1982**, *70*, 953-964.
- (175) Collins, S. J.; Ruscetti, F. W.; Gallagher, R. E.; Gallo, R. C. Terminal differentiation of human promyelocytic leukemia cells induced by dimethyl sulfoxide and other polar compounds. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1978**, 2458-2462.
- (176) Collins, S. J.; Ruscetti, F. W.; Gallagher, R. E.; Gallo, R. C. Normal functional characteristics of cultured human promyelocytic leukemia cells (HL-60) after induction of differentiation by dimethylsulfoxide. *J. Exp. Med.* **1979**, *149*, 969-974.
- (177) Fibach, E.; Peled, T.; Rachmilewitz, E. A. Self-renewal and commitment to differentiation of human leukemic promyelocytic cells (HL-60). *J. Cell. Physiol.* **1982**, *113*, 152-158.
- (178) Lee, K. H.; Hong, H. S.; Lee, C. H.; Kim, C. H. Induction of apoptosis in human leukaemic cell lines K562, HL-60 and U937 by diethylhexylphthalate isolated from Aloe Vera Linne. *J. Pharm. Pharmacol.* **2000**, *52*, 1037-1041.
- (179) Fibach, E.; Peled, T.; Fibich, T.; Rachmilewitz, E. A. Isolation and characterization of HL-60 cell variants with different potentials for spontaneous differentiation. *Leukemia* **1991**, *5*, 912-916.
- (180) Rajbahandari, I.; Takamatsu, S.; Nagle, D. G. A new dehydrogeranylgeraniol antioxidant from *Saurus cernuus* that inhibits intracellular reactive oxygen species (ROS)-catalyzed oxidation within HL-60 cells. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 693-695.
- (181) Pilz, R. B.; Berjjs, M.; Idriss, S. D.; Scheele, J. S.; Suhasini, M.; Gao, L.; Scheffler, I. E.; Boss, G. R. Isolation and characterization of HL-60 cells

- resistant to nitroprussid-induced differntiation. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 32155-32161.
- (182) Bhalla, K.; Huang, Y.; Tang, C.; Self, S.; Swapan, R.; Mahoney, M. E.; Ponnathpur, V.; Tourkina, E.; Ibrado, A. M.; Bullock, G.; Willingham, M. C. Characterization of a human myeloid leukemia cell line highly resistant to taxol. *Leukemia* **1994**, *8*, 465-475.
- (183) Andrivon, W.; Monneret, C.; Nafziger, J.; Florent, J.-C.; Guilosson, J.-J. A new anthracycline with potent anti-leukemic activity overcomes p-glycoprotein multidrug resistance. *Leukemia Res.* **1998**, *22*, 719-725.
- (184) Yung, Y.-M.; Yung, K. J.; Hui, E. K.-W. Interaction of leukemia agents adriamycin and daunomycin with sphgamine on the differntiation of human leukemia cell line HL-60. *Cancer Res.* **1992**, *52*, 3593-3597.
- (185) Lansiaux, A.; Laine, W.; Baldeyrou, B.; Mahieu, C.; Wattez, N.; Vezin, H.; Martinez, F. J.; Pinerio, A.; Bailly, C. DNA topoisomerase II inhibition by peroxisomicin A1 and its radical metabolite induces apoptotic Cell death of HL-60 and HL-60/MX2 human leukemia cells. *Chem. Res. Toxicol.* **2001**, *14*, 16-24.
- (186) Gollapudi, S.; Thadepalli, F.; Choong, H. K.; Gupta, S. Difloxacin reverses multidrug resistance in HL-60/AR cells that overexpress the multidrug resistance-related protein (MRP) gene. *Oncol. Res.* **1995**, *7*, 213-225.
- (187) Harker, W. G.; Slade, D. L.; Dalton, W. S.; Meltzer, P. S.; Trent, J. M. Multidrug resistance in mitoxantrone-selected HL-60 leukemia cells in the absence of p-glycoprotein overexpression. *Cancer Res.* **1989**, *49*, 4542-4549.
- (188) Stecher, L. *Dissertation*; Westf. Wilh. Universität, Münster, **2001**.
- (189) Fuchs, J.; Parker, L. *J. Invest. Dermatol.* **1989**, *92*, 677-682.
- (190) Schallreuter, K. U.; Pittelkow, M. R. *Arch. Dermatol.* **1987**, *123*, 1494-1498.
- (191) Bonnekoh, B.; Tanzer, H.; Seidel, M.; Geisel, J.; Merk, H. F.; Mahrle, G.; Wiegrebe, W. Structure-function relationship of new anthralin derivatives assayed for growth inhibition and cytotoxicity in human keratinocyte cultures. *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)* **1991**, *324*, 899-906.

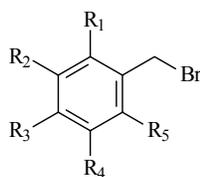
- (192) Thoma, K.; Holzmann, C. Dithranol-Präparate. Stabilität von Dithranol in Fertigarzneimitteln. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **1997**, *137*, 52-60.
- (193) House, H. O.; Ghali, N. I.; Haack, J. L.; VanDerveer, D. Reactions of the 1,8-diphenylanthracene system. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 1807-1817.
- (194) Morley, J. O. Reactions of substituted anthracene with nitric acid. *J. Appl. Chem. Biotechnol.* **1977**, *27*, 143-149.
- (195) Shoesmith, J. B.; Slater, R. H. Preparation, hydrolysis and reduction of the fluoro-, chloro-, and bromo-benzyl bromides. *J. Chem. Soc.* **1926**, 214-222.
- (196) Henrick, C. A.; Ridley, D. D.; Ritchie, E.; Taylor, W. C. Some Experiments on the Smith Reaction. *Aust. J. Chem.* **1970**, *23*, 329-339.
- (197) Brown, H. C., Narasimhan, S., Choi, Y. M. Selective reductions. 30. effect of cation and solvent on the reactivity of saline borohydrides for reduction of carboxylic esters. improved procedures for the conversion of esters to alcohols by metal borohydrides. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 4702-4708.
- (198) Campbell, J. J.; Glover, S. A.; Hammond, G. P.; Rowbottom, C. A. Evidence for the formation of nitrenium ions in the acid-catalysed solvolysis of mutagenic N-acetoxy-N-alkoxybenzamides. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1991**, 2067-2079.
- (199) Kelley, J. L.; Linn, J. A.; Selway, J. W. T. Synthesis and antirhinovirus activity of 6-(dimethylamino)-2-(trifluoromethyl)-9-(substituted benzyl)-9H-purines. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1757-1763.
- (200) Collins, D. J.; Fallon, G. D.; Skene, C. E. The structure and function of estrogens. XI Synthesis of (\pm)-7(8 \rightarrow 11 α)abeo-estradiol and its 9,11-Didehydro derivative. *Aust. J. Chem.* **1991**, *45*, 71-97.
- (201) Figadère, B., Chaboche, C., Franck, X., Peyrat, J.-F., Cavé, A. Carbonyl reduction of functionalized aldehydes and ketones by tri-n-butyltin hydride and SiO₂. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7138-7141.
- (202) Pincock, J. A.; Wedge, P. J. The photochemistry of methoxy-substituted benzyl acetates and benzyl pivalates: Homolytic vs heterolytic cleavage. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5587-5595.

- (203) Stewart, G. M.; Fox, M. A. Chromophore-labeled dendrons as light harvesting antennae. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4354-4360.
- (204) Hartzfeld, D. G.; Rose, S. D. Efficient pyrimidine dimer radical anion splitting in low polarity solvents. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 850-854.
- (205) Olszewski, J. D.; Marshalla, M.; Sabat, M.; Sundberg, R. J. Potential photoaffinity labels for tubulin. Synthesis and evaluation of diazocyclohexadienone and azide analogs of colchicine, combretastatin, and 3,4,5-trimethoxybiphenyl. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4285-4296.
- (206) Le Stanc, Y.; Le Corre, M. L'ortho-nitrobenzylidenediméthylsulfurane: synthèse, réactivité. *Can. J. Chem.* **1985**, *63*, 2958-2960.
- (207) Baldwin, J. E.; Cha, J. K.; Kruse, L. I. Total synthesis of antitumor agent AT-125, (α S, 5S)- α -amino-3-chloro-4,5-dihydro-5-isoxazoleacetic acid. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 5241-5260.
- (208) Takadate, A.; Tahara, T.; Goya, S. A convenient preparation of arylmonofluoromethanes. *Synthesis* **1983**, *10*, 806-807.
- (209) Thakkar, K.; Geahlen, R. L.; Cushman, M. Synthesis and protein-tyrosine kinase inhibitory activity of polyhydroxylated stilbene analogues of piceatannol. *J. Org. Chem.* **1993**, *36*, 2950-2955.
- (210) Bender, D. M.; Williams, R. M. An efficient synthesis of (S)-m-tyrosine. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6690-6691.
- (211) Chow, H. F.; Mak, C. C. Dendritic bis-(oxazoline)-copper(II) catalysts. 2. Synthesis, reactivity, and substrate selectivity. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 5116-5127.
- (212) Barton, D. H. R.; D., B. R.; Gunatilaka, A. A. L.; Widdowson, D. A. Phenol oxidation and biosynthesis. Part XXV. New synthesis of bis-(2-arylethyl)amines of biosynthetic importance. *J. Chem. Soc. Perk. Trans. I* **1975**, 579-588.
- (213) Reisch, J. Die Darstellung biologisch aktiver Acridon-Derivate unter Berücksichtigung natürlicher Vorbilder. *Forschungsberichte des Landes Nordrhein-Westfalen*; **1978**.

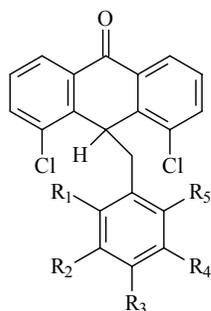
G Formelübersicht

**1****2****3** : R = H**4** : R = CH₃**5*** : R = OCH₃

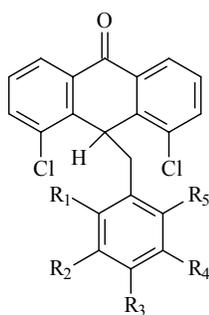
Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
9	Cl	H	H	H	H
12	H	H	Cl	H	H
15	OCH ₃	H	H	H	H
18	H	OCH ₃	H	H	H
23	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H
26	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H
29	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H
32	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
35	NO ₂	H	H	H	H
38	H	NO ₂	H	H	H
43	H	OBn	H	H	H
46	H	H	OBn	H	H
49	H	OBn	OBn	H	H
52	H	OBn	OCH ₃	H	H



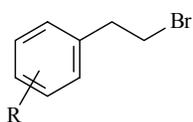
Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
10	Cl	H	H	H	H
13	H	H	Cl	H	H
16	OCH ₃	H	H	H	H
19	H	OCH ₃	H	H	H
21	H	H	OCH ₃	H	H
24	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H
27	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H
30	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H
33	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
36	NO ₂	H	H	H	H
39	H	NO ₂	H	H	H
44	H	OBn	H	H	H
47	H	H	OBn	H	H
50	H	OBn	OBn	H	H
53	H	OBn	OCH ₃	H	H



Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
6	H	H	H	H	H
7*	H	H	CH ₃	H	H
8*	H	H	CF ₃	H	H
11*	Cl	H	H	H	H
14*	H	H	Cl	H	H
17*	OCH ₃	H	H	H	H
20*	H	OCH ₃	H	H	H
22*	H	H	OCH ₃	H	H
25*	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H
28*	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H
31*	OCH ₃	H	H	OCH ₃	H
34*	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
37*	NO ₂	H	H	H	H
40*	H	NO ₂	H	H	H
41	H	H	NO ₂	H	H
42*	NO ₂	H	NO ₂	H	H
45*	H	OBn	H	H	H
48*	H	H	OBn	H	H
51*	H	OBn	OBn	H	H
54*	H	OBn	OCH ₃	H	H
55*	H	OH	H	H	H
56*	H	H	OH	H	H



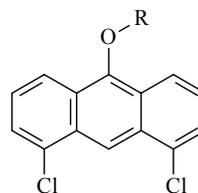
Verb.	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
57*	H	OH	OH	H	H
58*	H	OH	OCH ₃	H	H



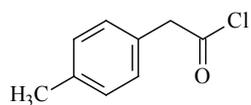
60 : 4-OCH₃

62 : 3,4-(OCH₃)₂

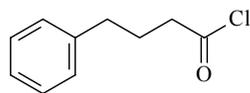
64 : 3,4,5-(OCH₃)₃



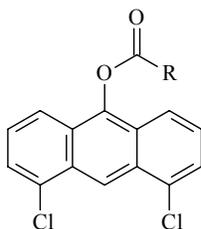
Verb.	R
59*	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅
61*	CH ₂ CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄
63*	CH ₂ CH ₂ (3,4-OCH ₃) ₂ C ₆ H ₃
65*	CH ₂ CH ₂ (3,4,5-OCH ₃) ₃ C ₆ H ₂
66*	CH ₂ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅



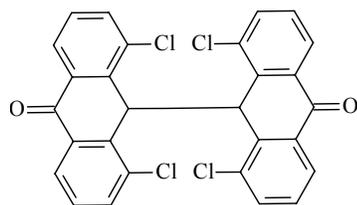
72



76



Verb.	R
67	CH ₃
68*	C ₆ H ₅
69*	4-OCH ₃ C ₆ H ₄
70*	4-NO ₂ C ₆ H ₄
71*	CH ₂ C ₆ H ₅
73*	CH ₂ (4-CH ₃)C ₆ H ₄
74*	CH ₂ (4-OCH ₃)C ₆ H ₄
75*	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₄
77*	CH ₂ CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅



78

Neue Substanzen sind gekennzeichnet mit: *

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Dezember 1997 bis September 2001 unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. Klaus Müller am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Westfälische Wilhelms-Universität Münster.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Klaus Müller für die interessante Problemstellung, seine stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft und die kritische Durchsicht der Arbeit.

Herrn Dr. Helge Prinz danke ich für seine Unterstützung bei den synthetischen und biochemischen Arbeiten und seine stete Diskussionsbereitschaft.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Gottfried Blaschke und seinem Arbeitskreis für die Bereitstellung der Gerätschaften für die HPLC-analytischen Untersuchungen. Besonderer Dank gebührt hier Herrn Apotheker Dr. Jörg Fabian, der mir bei den Arbeiten mit Rat und Tat zur Seite stand.

Mein größter Dank gilt Frau Angelika Zinner, Herrn Dr. Aleksander Putic, Herrn Lambert Stecher und Herrn Felix Tenbieg, die mich während der gesamten Promotion zu jedem Zeitpunkt mit ihrer Freundschaft begleitet haben.

Lebenslauf

Ulrich Kratz, geboren am 17. Mai 1972 in Werl (Westf.)

Familienstand:	ledig
Eltern:	Brigitte Kratz, geb. Schulze Rüdiger Kratz
1978 – 1982	Kath. Bekenntnisgrundschule, Dinschede
1982 – 1991	Städt. Gymnasium Laurentianum, Arnsberg
18. Juni 1991	Abitur
Juli 1991 – Sept. 1992	Zivildienst im Caritas-Behindertenwohnheim Mariannahill, Arnsberg
Oktober 1992	Aufnahme des Studiums der Pharmazie an der Westfälischen Wilhelms Universität Münster
01. September 1994	Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
10. Oktober 1996	Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
Nov. 1996 – April 1997	Pharmaziepraktikum in der Engel – Apotheke, Münster
Mai 1997 – Okt. 1997	Pharmaziepraktikum bei Wyeth-Pharma, Münster
11. November 1997	Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung
16. Dezember 1997	Erteilung der Approbation als Apotheker
01. Dezember 1997	Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Universität Münster, Beginn der Dissertation bei Prof. Dr. K. Müller
01. Dezember 1998	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Universität Münster

Who can say where the road goes ?

Where the day flows ?

...only time

(Only time, Enya, 2000)