

Felix Tenbrieg

**C-2-Substituierte Derivate des Chinizarins:
Synthese und In-vitro-Prüfung**

2002

Pharmazeutische Chemie

**C-2-Substituierte Derivate des Chinizarins:
Synthese und In-vitro-Prüfung**

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

vorgelegt von

Felix Tenbieg

aus Dortmund

2002

Dekan:	Prof. Dr. W. Lange
Erster Gutachter:	Prof. Dr. K. Müller
Zweiter Gutachter:	Prof. Dr. M. Lehr
Tag der mündlichen Prüfung:	19., 24. und 25.4.2002
Tag der Promotion:	25.4.2002

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von April 1998 bis März 2002 unter der Anleitung von Herrn Dr. H. Prinz und Herrn Prof. Dr. Klaus Müller am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster.

Ich danke Herrn Prof. Dr. Klaus Müller für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis, für seine stete Diskussions- und Hilfsbereitschaft sowie für die kritische Durchsicht der Arbeit.

Besonders danke ich Herrn Dr. Helge Prinz für die interessante Themenstellung, für viele wertvolle Ratschläge, praktische Hinweise und fruchtbare Diskussionen, die wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben. Ich danke ihm auch für die intensive kritische Durchsicht der Arbeit.

Ich danke Herrn Prof. Dr. H. J. Schäfer, Institut für Organische Chemie, für die Möglichkeit, in seinem Arbeitskreis cyclovoltammetrische Messungen durchführen zu können. Frau Katrin Bürger gilt mein Dank für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen.

Ich bedanke mich bei Herrn Dr. D. Bergenthal und Frau M. Heim für die Aufnahme der NMR-Spektren sowie Herrn Thomas Meiners für die Durchführung der MS-Analysen.

Ebenso möchte ich mich bei all denen bedanken, die mit großen oder kleinen Hilfestellungen zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben. Dazu gehören vor allem die Hausmeister sowie die Mitarbeiter der Werkstatt, der Glas- und der Chemikalienausgabe in unserem Institut.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Angelika Zinner, Herrn Dr. Aleksandar Putic, Herrn Dr. Lambert Stecher und Herrn Dr. Ulrich Kratz für ihre Freundschaft und stete Hilfsbereitschaft während der gesamten Promotionszeit. Sie haben wesentlich zu einem angenehmen Arbeitsklima in unserer Arbeitsgruppe beigetragen.

Meiner Freundin Katharina Hoffmann danke ich für die liebevolle Unterstützung während der Promotionszeit sowie für das Korrekturlesen der Arbeit.

*Meinen Eltern und
Großeltern*

Inhaltsverzeichnis

A	Einleitung	1
1	Biologisch aktive Anthrachinone	1
1.1	Pharmazeutisch bedeutsame Zytostatika mit Anthrachinonstruktur	1
1.2	Anthrachinone mit antineoplastischer Wirkung	2
1.2.1	Hemmstoffe von Protein-Tyrosinkinasen	2
1.2.2	Hemmstoffe von DNA-Topoisomerasen	3
1.2.3	Hemmstoffe der Telomerase	4
1.3	Redoxzyklus der Anthrachinone	5
2	Problemstellung und Ziel der Arbeit	6
B	Synthesen	8
1	Derivate des 1,4-Dihydroxyanthrachinons (Chinizarin)	8
1.1	Einleitung	8
1.2	C-2-Alkylierung nach <i>Marschalk</i>	9
1.2.1	<i>Marschalk</i> -Alkylierung von Hydroxyanthrachinonen	9
1.2.2	Chinizarin als Ausgangssubstanz für die <i>Marschalk</i> -Alkylierung	11
1.2.3	Chinizarinmonomethylether als Ausgangssubstanz für die <i>Marschalk</i> -Alkylierung	13
1.3	Synthese von 2-Methylchinizarin durch Kondensation von Phthalsäureanhydrid mit Methylhydrochinon	15
1.4	Synthese von 2-[2-(<i>E</i>)-Phenylethenyl]-substituierten Chinizarinderivaten durch <i>Wittig</i> -Olefinierung	17
1.4.1	Die <i>Wittig</i> -Reaktion	17
1.4.2	Synthese von [(1,4-Dimethoxy-9,10-dioxoanthracen-2-yl)-methyl]-triphenylphosphoniumbromid	18
1.4.3	Styrylsubstituierte Chinizarinderivate durch <i>Wittig</i> -Reaktion	18
1.5	Synthese von 2-[2-(<i>E</i>)-Phenylethenyl]-substituierten Chinizarinderivaten durch <i>Horner-Wadsworth-Emmons</i> -Olefinierung	20
1.5.1	Die <i>Horner-Wadsworth-Emmons</i> -Reaktion	20

1.5.2	Synthese von 1,4-Dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracen-2-carbaldehyd	21
1.5.3	Synthese von Benzyl-diethylphosphonaten	23
1.5.4	Styrylsubstituierte Chinizarinderivate durch <i>Horner-Wadsworth-Emmons</i> -Reaktion	24
1.6	Synthese von strukturell variierten Verbindungen durch <i>Horner-Wadsworth-Emmons</i> -Reaktion	25
1.7	Stereochemie der 2-[2-(<i>E</i>)-Phenylethenyl]-substituierten Chinizarinderivate	26
1.8	Synthese von hydroxysubstituierten Phenylethenyl-Derivaten	29
1.8.1	Etherspaltungen	29
1.8.2	Verwendung O-geschützter Synthesebausteine	32
1.9	Synthese von 2- ω -Phenylalkyl-substituierten Chinizarinderivaten	35
1.9.1	Alkylierung nach <i>Marschalk</i>	35
1.9.2	Katalytische Hydrierung von Phenylethenyl-substituierten Derivaten	39
1.10	Synthese von 1,4,9,10-Tetramethoxyanthracen-Derivaten durch reduktive Methylierung	42
1.11	Synthese von 2-(3-Oxo-3-phenyl-(1 <i>E</i>)-propenyl)-substituierten Chinizarinderivaten	43
2	Derivate des 1,6,8-Trihydroxy-3-methylanthrachinons (Frangula-Emodin)	45
2.1	Einleitung	45
2.2	Synthese des Emodins	46
2.3	Synthese von 3-[2-(<i>E</i>)-Phenylethenyl]-substituierten Emodinderivaten unter Verwendung von Emodin als Ausgangssubstanz	47
3	Derivate des 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinons	49
3.1	Einleitung	49
3.2	Synthese des 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinons	49
3.3	Versuche zur Etherspaltung an 94	54
3.4	Konstitution der synthetisierten Tetrahydroxyanthrachinon-Derivate	55
3.5	Einführung von Substituenten in <i>ortho</i> -Stellung zur freien Hydroxygruppe	58

C	Biochemischer Teil	59
1	Prüfung auf antiproliferative Aktivität an K562-Leukämiezellen	59
1.1	Einführung	59
1.2	Testsystem	61
1.3	Bestimmung der IC ₅₀ -Werte	61
1.4	Antiproliferative Aktivität der phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivate	62
1.5	Antiproliferative Aktivität der ω-phenylalkylsubstituierten Chinizarinderivate	66
1.6	Antiproliferative Aktivität weiterer Chinizarinderivate	67
1.6.1	Chinizarin-Derivate mit Chalkon-Partialstruktur	67
1.6.2	1,4,9,10-Tetramethoxyanthracen-Derivate	68
1.6.3	1,4-Dimethoxyanthrachinon und 2,5,3',4'-Tetramethoxystilben	69
1.6.4	Andere Chinizarinderivate	69
1.7	Antiproliferative Aktivität phenylethenylsubstituierter Derivate weiterer Anthrachinone	70
1.8	Diskussion	72
1.9	Prüfung auf Hemmung der BCR-ABL-Tyrosinkinase-Aktivität	78
2	Prüfung auf antiproliferative Aktivität an HL-60-Leukämiezellen	79
2.1	Einführung	79
2.2	Testsystem	79
2.3	Ergebnisse	80
3	Prüfung auf antiproliferative Aktivität an HepG2-Tumorzellen	81
3.1	Einführung	81
3.2	Testsystem	81
3.3	Ergebnisse	82
4	Prüfung auf antiproliferative Aktivität an HaCaT-Keratinocyten	83
4.1	Einführung	83
4.2	Testsystem	83
4.3	Ergebnisse	84
5	Prüfung auf antiproliferative Aktivität an weiteren Tumor-Zelllinien	85
6	Untersuchungen zur Viabilität von K562-Zellen	87

6.1	Einführung	87
6.2	Testsystem und Bestimmung von EC ₅₀ -Werten	87
6.3	Ergebnisse	88
6.4	Diskussion	91
7	Untersuchung auf direkte Wechselwirkungen mit nativer DNA	93
7.1	Einführung	93
7.2	UV-Differenz-Spektroskopie	94
7.2.1	Methode	94
7.2.2	Ergebnisse	95
7.3	Fluoreszenzmessungen	98
7.4	Zusammenfassung	99
8	Prüfung auf Hemmung der Topoisomerase I	100
8.1	DNA-Topoisomerasen	100
8.2	Topoisomerase-Hemmstoffe	100
8.3	Testsystem und Ergebnisse	103
8.4	Prüfung auf Hemmung der HIV-I-Integrase	105
D	Physikochemischer Teil	106
1	Cyclovoltammetrische Untersuchungen	106
1.1	Einführung	106
1.2	Grundlagen der Cyclovoltammetrie	107
1.3	Cyclovoltammetrische Untersuchung ausgewählter Verbindungen	110
1.3.1	Chinizarin	110
1.3.2	1,4-Dimethoxyanthrachinon	112
1.3.3	ω-Phenylalkylsubstituierte Chinizarinderivate	114
1.3.4	Phenylethenylsubstituierte Chinizarinderivate	116
1.4	Diskussion	118
2	Lipophilie der Testsubstanzen (logP)	119
2.1	Einführung	119
2.2	Bestimmung der logP-Werte	119
2.3	Ergebnisse	120

E	Zusammenfassung	124
F	Experimenteller Teil	128
1	Allgemeine Angaben	128
1.1	Synthesen	128
1.2	Biochemische Untersuchungen	130
2	Allgemeine Arbeitsvorschriften (AV)	131
3	Synthesevorschriften und analytische Daten	133
3.1	Synthese von Derivaten des 1,4-Dihydroxyanthrachinons (Chinizarin)	133
3.1.1	Synthese von 2-(<i>E</i>)-(2-Phenylethenyl)-substituierten Derivaten durch <i>Wittig</i> -Olefinierung	133
3.1.2	Synthese von 2-(<i>E</i>)-(2-Phenylethenyl)-substituierten Derivaten durch <i>Horner-Wadsworth-Emmons</i> -Olefinierung	141
3.1.3	Synthese von hydroxysubstituierten 2-(<i>E</i>)-(2-Phenylethenyl)-Derivaten	152
3.1.4	Synthese von 2- ω -Phenylalkyl-substituierten Derivaten durch Alkylierung nach <i>Marschalk</i>	160
3.1.5	Synthese von 2-(2-Phenylethyl)-substituierten Derivaten durch katalytische Hydrierung von 2-(<i>E</i>)-(2-Phenylethenyl)-Derivaten	172
3.1.6	Reduktive Methylierung zu 1,4,9,10-Tetramethoxyanthracen-Derivaten	174
3.1.7	Synthese von 2-(3-Phenyl-3-oxo-(1 <i>E</i>)-propenyl)-Derivaten	176
3.2	Synthese von Derivaten des 1,6,8-Trihydroxy-3-methyl-anthrachinons (<i>Frangula</i> -Emodin)	178
3.3	Synthese von Derivaten des 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinons	183
4	Prüfung auf antiproliferative Aktivität an K562- und HL-60- Leukämiezellen	190
4.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien	190
4.2	Herstellung der Zellsuspension zur Inkubation mit Testsubstanzen	191
4.3	Herstellung der Untersuchungslösungen der Testsubstanzen	191
4.4	Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen	192
4.5	Auszählen der Versuchsansätze und Ermittlung der IC ₅₀ -Werte	193

5	Prüfung auf antiproliferative Aktivität an HepG2-Zellen	194
5.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien	194
5.2	Herstellung der HepG2-Zellsuspension	194
5.3	Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen	195
5.4	Auszählen der Versuchsansätze und Ermittlung der IC ₅₀ -Werte	195
6	Prüfung auf antiproliferative Aktivität an HaCaT-Zellen	196
6.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien	196
6.2	Herstellung der HaCaT-Zellsuspension	196
6.3	Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen	197
6.4	Auszählen der Versuchsansätze und Ermittlung der IC ₅₀ -Werte.	197
7	Untersuchung der Zellviabilität (Trypanblautest)	198
7.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien	198
7.2	Herstellung der Zellsuspension und der Untersuchungslösungen	198
7.3	Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen	198
7.4	Anfärben der Zellen	198
7.5	Auszählen der Versuchsansätze	199
7.6	Ermittlung der Zellviabilität und der EC ₅₀ -Werte	199
8	Untersuchungen auf Wechselwirkungen mit nativer DNA	200
8.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien	200
8.2	Herstellung der DNA- und Substanzlösungen	200
8.3	UV-Differenzspektroskopie	200
8.4	Fluoreszenzspektroskopie	201
9	Cyclovoltammetrische Untersuchungen	202
9.1	Materialien, Chemikalien, Reagenzien	202
9.2	Durchführung der Messungen	202
G	Literaturverzeichnis	204
H	Formelübersicht	225

Abkürzungsverzeichnis

AV	Allgemeine Arbeitsvorschrift
Abb.	Abbildung
absol.	absolut
br	breit
Ber.	Elementaranalyse: berechnete Molekularmassenanteile (%)
Bz ₂ O ₂	Benzoylperoxid
d	Dublett
dc	dünnschichtchromatographisch
dd	Doppeltes Dublett
ΔT	Siedehitze
DBH	1,3-Dibrom-5,5-dimethylhydantoin
DMEM	Dulbecco`s Modified Eagle Medium
DMF	Dimethylformamid
DMS	Dimethylsulfat
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
ε	molarer Extinktionskoeffizient
E ₀	Redoxpotential
eV	Elektronenvolt
FBS	Fetal bovine serum
FT-IR	Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie
Gef.	Elementaranalyse: gefundene Molekularmassenanteile (%)
h	Stunde
HaCaT	Human keratinocytes adult skin Calcium reduced Temperature elevated
HL-60	Human Leukemic Promyelocytic Cells
HO•	Hydroxylradikal
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
<i>J</i>	Kopplungskonstante
Kap.	Kapitel
LDA	Lithiumdiisopropylamid
Lit.	Literatur
m	Multipllett
M	Mol
M ^{•+}	Molekülion

MHz	Megahertz
min	Minute
mL	Milliliter
MOM	Methoxymethyl-
MS	Massenspektrum
m/z	Verhältnis von Masse (u) zu Ladung (e)
NAD	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
NBS	N-Bromsuccinimid
nm	Nanometer
NMR	Kernresonanzspektrum
$O_2^{\bullet-}$	Superoxid-Radikal-Anion
org.	organisch
PBS	Phosphate-Buffered-Saline
PCC	Pyridiniumchlorochromat
PDC	Pyridiniumdichromat
PTK	Proteintyrosinkinase
q	Quartett
quint	Quintett
RP	Reversed Phase
RPMI	Rosewell Park Memorial Institute
RT	Raumtemperatur
s	Singulett
s	Sekunde
sc	säulenchromatographisch
Smp.	Schmelzpunkt
t	Triplett
t	Zeit
Tab.	Tabelle
TBAP	Tetrabutylammoniumperchlorat
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
UV	Ultraviolett
V	Volt

A Einleitung

1 Biologisch aktive Anthrachinone

Chinone sind in der Natur weit verbreitet¹ und besitzen zahlreiche biologische Aktivitäten. Das Anthrachinon-Skelett (9,10-Anthracendion) ist beispielsweise zentraler Bestandteil einiger pharmazeutisch genutzter Antitumorwirkstoffe sowie diverser weiterer Verbindungen mit antineoplastischer Wirkung. Die biologischen Effekte der Verbindungen werden dabei wesentlich durch das Substitutionsmuster am planaren Anthrachinongerüst beeinflusst.

1.1 Pharmazeutisch bedeutsame Zytostatika mit Anthrachinonstruktur

Das 9,10-Anthracendion (Anthrachinon) bildet die Partialstruktur der als Zytostatika verwendeten Anthracyclin-Antibiotika, die aus *Streptomyces*-Arten isoliert sowie partialsynthetisch hergestellt werden. Die bekanntesten Verbindungen aus der Anthracyclin-Reihe, Doxorubicin (Adriamycin) und Daunorubicin (*Abb. A-1*), sind vor mehr als 30 Jahren zur Behandlung verschiedener Krebserkrankungen eingeführt worden². Charakteristisch für die Struktur der Anthracycline ist das vom Naphthacen abgeleitete Ringsystem sowie der am gesättigten Ring A α -glykosidisch verknüpfte Aminozucker³. Strukturelle Voraussetzung für die Wirkung der Anthracyclin-Antibiotika ist die Verknüpfung einer koplanaren hydrophoben Region (Anthrachinon) mit einer gewinkelten hydrophilen Struktur (OH-Gruppen, Aminozucker in protoniertem Zustand)³. Im vollsynthetisch^{4,5} gewonnenen Mitoxantron (*Abb. A-1*), das ebenfalls als Zytostatikum genutzt wird, liegt ein vergleichbares Strukturprinzip vor. Das Anthrachinon-System ist mit basischen Seitenketten verknüpft, die bei physiologischen pH-Werten als kationoide Bindungsstellen fungieren³.

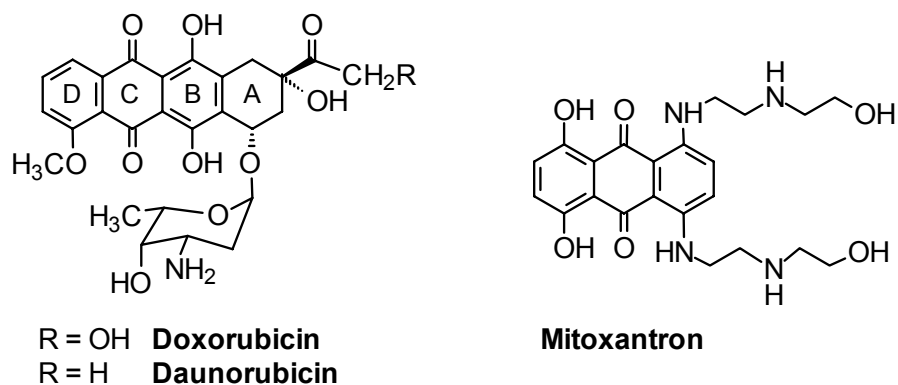


Abb. A-1: Zytostatika mit Anthrachinon-Partialstruktur.

Als ein gesicherter Mechanismus der antiproliferativen und zytotoxischen Wirkung der Anthracyclin-Antibiotika gilt eine Hemmung der Topoisomerase II^{2,6-9}. Die Substanzen führen zu DNA-Strangbrüchen infolge der Stabilisierung eines ternären Komplexes aus DNA, Topoisomerase II und Arzneistoff^{6,7}. Das planare Anthrachinon-Ringsystem befähigt die Anthracycline ferner zur Interkalation zwischen zwei Basenpaare der DNA¹⁰. Die Hemmung der DNA-Biosynthese durch Anthracycline wird mit einer solchen Interkalation und/oder einer Hemmung der DNA-Polymerase in Verbindung gebracht⁶. Als eine Erklärung für die biologischen Wirkungen der Anthracycline wird ferner die Bildung von freien Radikalen in einem Redoxzyklus (*Kap. A-1.3*) herangezogen. Die tatsächliche Bedeutung der Radikalbildung für die Antitumorwirkung ist aber umstritten^{6,11}. Im Falle des Mitoxantrons gelten ebenfalls Interkalation in die DNA und Hemmung der Topoisomerase II als Wirkprinzipien^{8-10,12}, während die Ausbildung freier Radikale nur von untergeordneter Bedeutung ist^{11,13}.

1.2 Anthrachinone mit antineoplastischer Wirkung

1.2.1 Hemmstoffe von Protein-Tyrosinkinasen

Einige Anthrachinonderivate sind als Hemmstoffe von Protein-Tyrosinkinasen bekannt¹⁴⁻²⁰. Protein-Tyrosinkinasen (PTK) katalysieren die Phosphorylierung von Tyrosin-Hydroxygruppen in vielen essentiellen Proteinen und regulieren dadurch deren Aktivität. Sie sind daher von großer Bedeutung für physiologische Vorgänge wie z. B. die Zellproliferation und -Differenzierung^{14,16,21}. Die Entwicklung von PTK-

Hemmstoffen gilt als vielversprechender Ansatz für die Entwicklung von Antitumor-Wirkstoffen^{15,20,22-25}.

1,6,8-Trihydroxy-3-methylantrachinon (Frangula-Emodin, *Abb. A-2*) hemmt die Leukozyten-Tyrosinkinase p56^{lck} in niedrigen mikromolaren Konzentrationen^{14,15}. Auch die Hemmung weiterer PTK durch Emodin und Emodinderivate konnte gezeigt werden¹⁶. Einen potenten und selektiven Inhibitor der p56^{lck} stellt auch der Anthrachinon-2-carbaldehyd Damnacanthal (*Abb. A-2*) dar¹⁷. Damnacanthal hemmt die p56^{lck}-Aktivität bereits im submikromolaren Bereich. Ferner weisen die als potente Hemmstoffe einiger PTK beschriebenen Paecilochinone A-F ein 1,3,6,8-Tetrahydroxy-anthrachinon-Grundgerüst auf (*Abb. A-2*)^{18,19}. Ein Alkylsubstituent in Position 2 gilt dabei als essentiell für die biologische Aktivität der Paecilochinone¹⁹.

Generell wurden für PTK-Inhibitoren flache aromatische Strukturen beschrieben, die in der Regel mit Elektronenakzeptor- oder mit Elektronendonorguppen substituiert sind²⁰. Sowohl die Anzahl als auch die Position von Hydroxy-Substituenten scheint für die Aktivität der Verbindungen von Bedeutung zu sein.

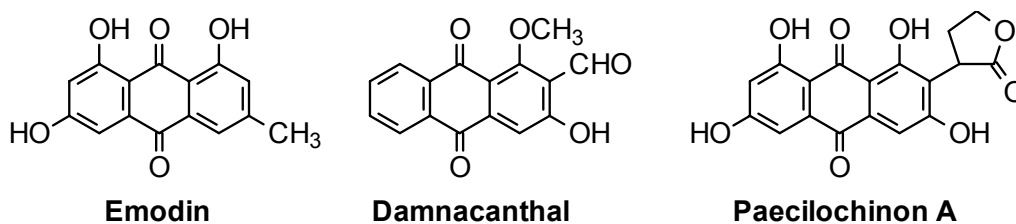


Abb. A-2: Ausgewählter Tyrosinkinase-Hemmstoffe mit Anthrachinonstruktur.

1.2.2 Hemmstoffe von DNA-Topoisomerasen

DNA-Topoisomerasen sind Enzyme, die die Entspiralisierung der DNA-Superhelix und infolgedessen ein Ablesen der DNA durch Polymerasen ermöglichen^{26,27}. Ihre Funktion ist unerlässlich für die DNA-Neusynthese und somit für die Zellproliferation. Wie bereits erwähnt, beruht die antineoplastische Wirkung der Anthracyclin-Antibiotika Doxorubicin und Daunorubicin sowie des Mitoxantrons unter anderem auf einer Hemmung der Topoisomerase II⁶⁻⁹. Neben zahlreichen Derivaten dieser Zytostatika mit Anthrachinonstruktur sind auch einige Naphthochinonderivate als Topoisomerase-Hemmstoffe bekannt. Für Shikonin (*Abb. A-3*) und strukturverwandte Naphthochinone pflanzlichen Ursprungs wird eine Hemmung der Topoisomerase II beschrieben^{8,28}. *Ahn*

et al. synthetisierten 5,8-Dimethoxy-1,4-naphthochinonderivate (*Abb. A-3*) mit Topoisomerase I-inhibitorischer Wirkung²⁹⁻³³. Das tetrazyklische Saintopin (*Abb. A-3*) mit Anthrachinonpartialstruktur gilt als Hemmstoff beider Topoisomerase-Typen^{9,34}.

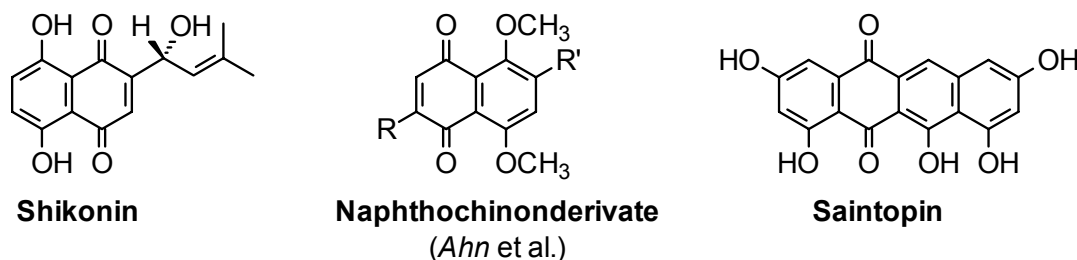


Abb. A-3: Ausgewählte Topoisomerase-Hemmstoffe mit Chinonstruktur.

1.2.3 Hemmstoffe der Telomerase

Die Telomerase ist ein Enzym zur Verlängerung spezieller DNA-Sequenzen am Ende der Eukaryonten-Chromosomen, der sogenannten Telomere, deren Replikation durch DNA-Polymerasen nicht möglich ist^{35,36}. Die Telomere schützen die Chromosomen vor unerwünschten Rekombinationen und dem möglichen Abbau durch Exonucleasen und sind somit von großer Bedeutung für die Aufrechterhaltung der Chromosomen-Funktion. Während in den meisten humanen somatischen Zellen keine Telomerase-Aktivität zu finden ist, kann man sie in 85–90 % menschlicher Tumore und davon abgeleiteter Zelllinien nachweisen³⁶. Aufgrund dieser Beobachtung stellt die Telomerase ein vielversprechendes Target für die Entwicklung neuer selektiver Krebstherapeutika dar^{36,37}. Mit zwei Amid-Seitenketten substituierte Anthrachinone sind als potente Hemmstoffe der menschlichen Telomerase beschrieben (*Abb. A-4*)^{36,37}.

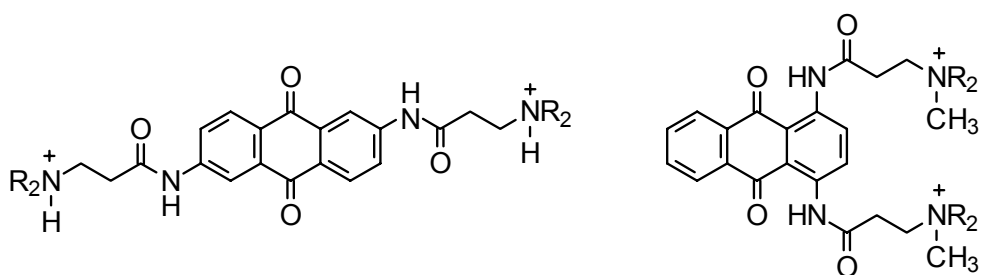


Abb. A-4: Ausgewählte Telomerase-Hemmstoffe mit Anthrachinon-Struktur.

1.3 Redoxzyklus der Anthrachinone

Chinoide Verbindungen können in biologischen Systemen unter Enzymkatalyse reduziert werden. Dabei sind sowohl die Einelektronen-Reduktion zum Semichinonradikal als auch die Zweielektronen-Reduktion zum korrespondierenden Hydrochinon möglich^{38,39}. Die enzymatische Reduktion der Anthracyclin-Antibiotika zum Semichinonradikal und der nachfolgende Redoxzyklus wurden eingehend untersucht und sind mit der Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) verbunden (Abb. A-5)⁴⁰.

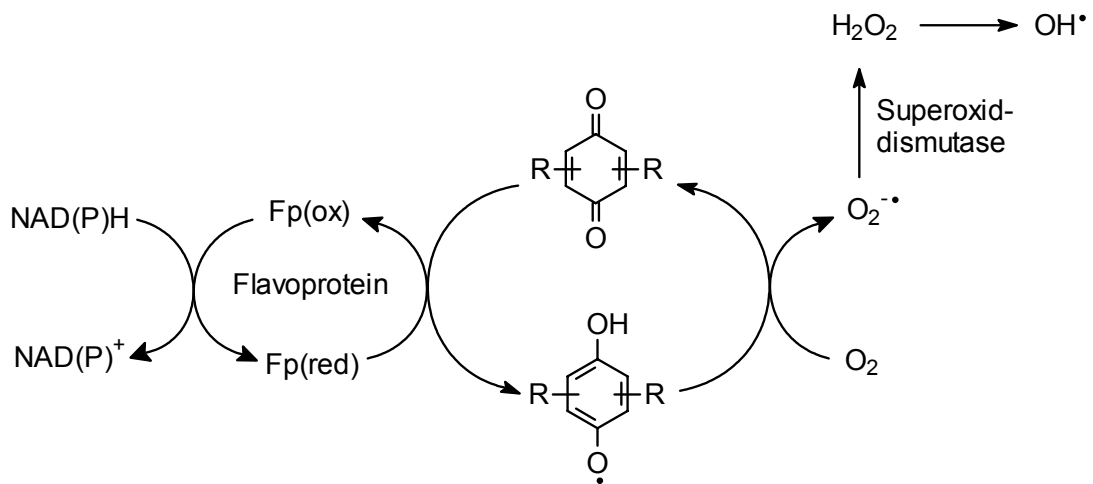


Abb. A-5: Bildung von Sauerstoffradikalen im Redoxzyklus von Doxorubicin nach Lit.^{11,41}

Die Bildung freier Radikale gilt als Ursache für die Kardiotoxizität der Anthracycline, die ihre Anwendbarkeit in der Krebstherapie einschränkt^{2,6,11,42,43}. Die Kardiotoxizität wird mit einer Beeinflussung der Mitochondrienfunktion und einer vermehrten Lipidperoxidation in Verbindung gebracht⁶. Die aus dem Redoxzyklus der Anthracycline hervorgehenden Radikale können an ungesättigten Fettsäuren zur Bildung von Hydroperoxiden führen, deren Zerfall wiederum radikalische Kettenreaktionen und eine Schädigung des Herzmuskels nach sich zieht. Da im Herzmuskel keine Katalase anzutreffen ist, kann dort kein H₂O₂ oder Hydroperoxid enzymatisch abgebaut werden.

Mitoxantron wird im Gegensatz zu den Anthracyclinen nicht oder nur in geringem Umfang von reduzierenden Enzymen umgesetzt^{11,12,39}. Die Ausbildung von freien Radikalen ist daher deutlich reduziert. Diese Tatsache gilt als Erklärung für die gegenüber den Anthracyclinen verminderte Kardiotoxizität von Mitoxantron. Freie

Radikale können aus dem gleichen Grund nur von untergeordneter Bedeutung für Antitumorwirkung des Mitoxantrons sein.

Die Bedeutung der Radikalbildung für die zytotoxischen Effekte der Anthracycline im Tumorgewebe ist umstritten (Lit.^{6,11} und dort zitierte Literatur). Die Spaltung und der Abbau von DNA und/oder Desoxyribose sowie Alkylierungen an DNA und Proteinen infolge der Bildung von freien Semichinonradikalen ist beschrieben. Es ist jedoch fraglich, ob derartige Radikale unter physiologischen Bedingungen im Tumorgewebe in klinisch relevantem Ausmaß gebildet werden⁶.

2 Problemstellung und Ziel der Arbeit

Die biologischen Aktivitäten von Anthrachinonderivaten werden, wie dargestellt, durch das jeweilige Substitutionsmuster des planaren Ringsystems entscheidend beeinflusst^{3,19,20,36,37}.

Das Ziel dieser Arbeit war die Synthese und biologische Prüfung neuer, 2-phenylethenylsubstituierter Anthrachinonderivate vom Chinizarintyp (*Abb. A-6*).

Durch die Einführung von Phenylethenyl-Substituenten sollte die Anthrachinonpartialstruktur mit dem Strukturelement biologisch aktiver Stilbene verknüpft werden. So sind Piceatannol (*Abb. A-6*) und vergleichbare Hydroxystilbene als Hemmstoffe von Protein-Tyrosinkinasen beschrieben^{44,45}. Combretastatine mit *cis*-Stilben-Struktur stellen potente Hemmstoffe der Tubulinpolymerisation und des Wachstums verschiedener Tumorzelllinien⁴⁶⁻⁵⁰ dar. Als olefinisch substituierte Aromaten besitzen auch Erbstatin (*Abb. A-6*) und die Gruppe der Tyrphostine ähnliche Strukturmerkmale. Diese Verbindungen sind bekannt als Hemmstoffe von Protein-Tyrosinkinasen sowie von DNA-Topisomerasen I und II⁵¹⁻⁵⁴. Die geplanten neuen Verbindungen stellen somit Hybridmoleküle aus biologisch aktiven Partialstrukturen dar (*Abb. A-6*).

Eine besondere Bedeutung kam außerdem der Konjugation des aromatischen Substituenten zur Chinonstruktur zu. Durch gezielte Variation des Substitutionsmusters, vorwiegend im Aromaten der Seitenkette, sollte ein möglicher Substituenteneinfluß auf das Redoxverhalten des Anthrachinonkerns in cyclovoltammetrischen Experimenten überprüft werden.

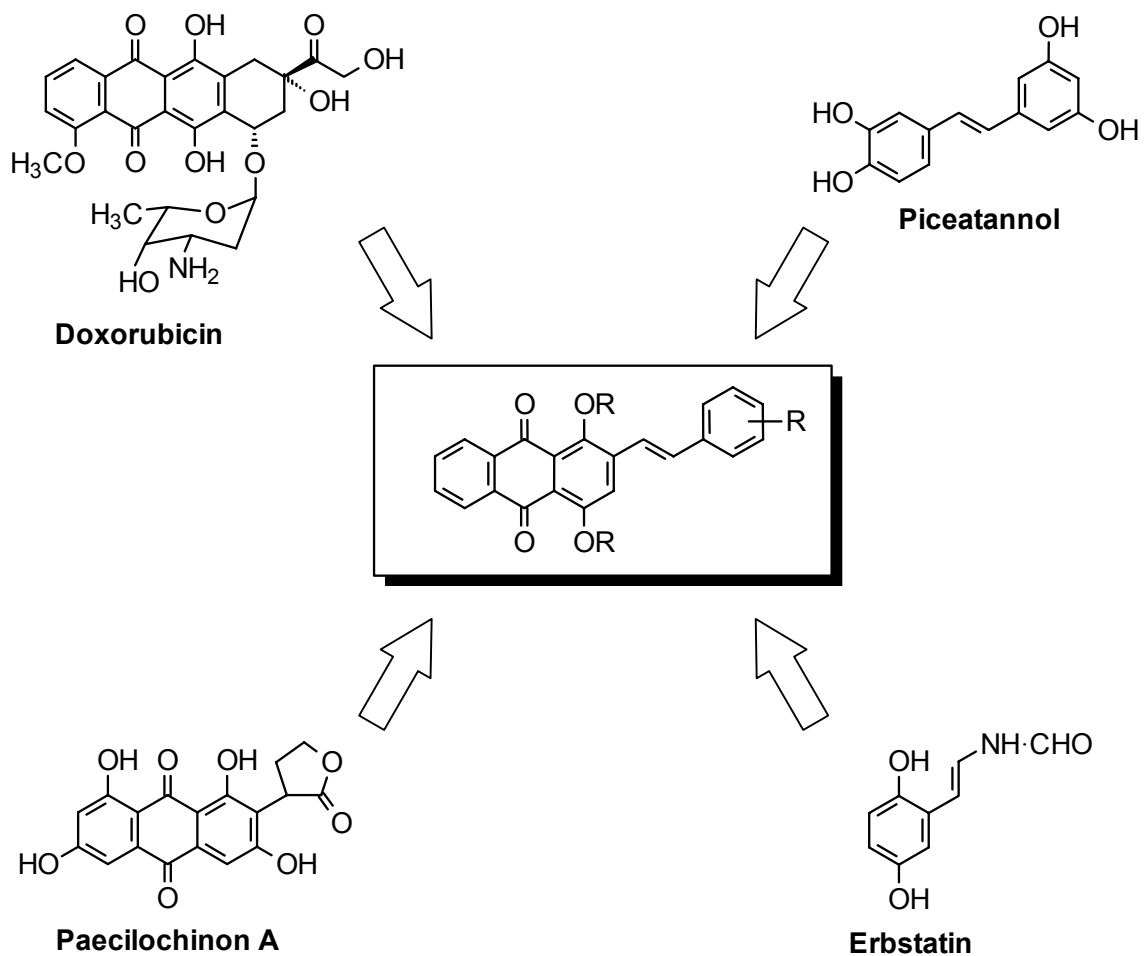


Abb. A-6: 2-Phenylethenylsubstituierte Chinizarinderivate als Hybridmoleküle aus biologisch aktiven Partialstrukturen.

Wir beabsichtigten, die neuen Verbindungen zunächst auf wachstumshemmende Eigenschaften gegenüber ausgewählten Zelllinien zu untersuchen. Für aktive Verbindungen sollten dann weiterführende Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus durchgeführt werden, so z. B. Prüfung auf Induktion von Zelltod, Studien zur Interkalationsfähigkeit in die DNA oder auch Experimente hinsichtlich einer möglichen Topoisomerase-Hemmung. Im Rahmen der präparativen Arbeiten stand außerdem die Ermittlung von detaillierten Struktur-Wirkungs-Beziehungen im Vordergrund. Die strukturellen Anforderungen für aktive Verbindungen sollten klar herausgearbeitet werden.

B Synthesen

1 Derivate des 1,4-Dihydroxyanthrachinons (Chinizarin)

1.1 Einleitung

Als Edukt für die Synthese der styrylsubstituierten Anthrachinone wählten wir zunächst das 1,4-Dihydroxyanthrachinon (Chinizarin, **1**). Die Chinizarin-Partialstruktur findet sich in den pharmazeutisch bedeutsamen Anthracyclinen Doxorubicin und Daunorubicin sowie im Mitoxantron (*Abb. B-1*). Chinizarin ist kommerziell erhältlich, preiswert und gilt als das am vielseitigsten derivatisierbare Anthrachinon⁵⁵.

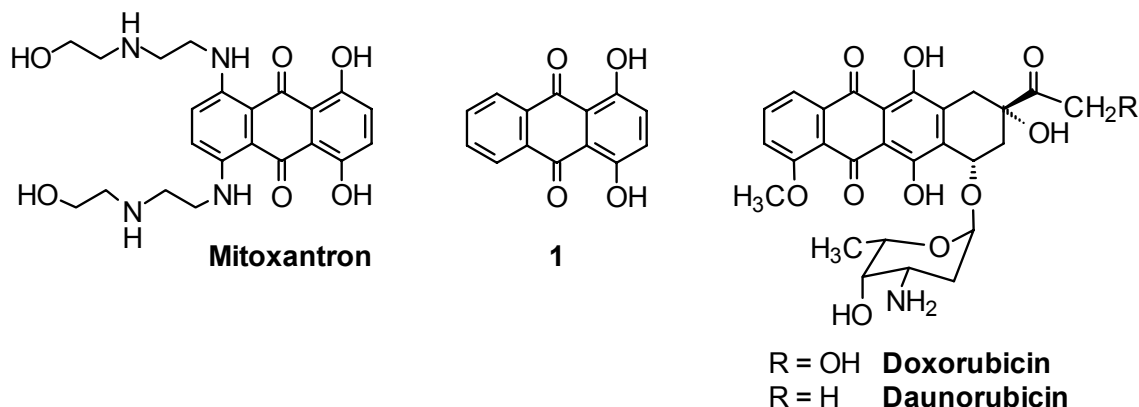


Abb. B-1: Strukturformeln von Chinizarin (**1**) und pharmazeutisch relevanten Zytostatika.

Aufgrund der strukturellen Analogie zu bekannten biologisch aktiven Anthrachinonderivaten (*Kap. A-1.2*) und in Anlehnung an Arbeiten von *Leukel*^{56,57}, *Prinz*^{58,59} und *Altmann*⁶⁰⁻⁶² planten wir die Einführung von Substituenten in Position 2 der jeweiligen Anthrachinone. C-2-substituierte Derivate des Chinizarins sind präparativ sehr gut zugänglich. Als Anthrachinon mit freien Hydroxygruppen in peri-Stellung zum Chinoncarbonyl kann Chinizarin mit Aldehyden nach *Marschalk*⁶³ alkyliert werden. Die *Marschalk*-Alkylierung des Chinizarins ist als wichtiger Syntheseschritt zur Herstellung von Anthracyclinonderivaten eingehend untersucht worden⁶⁴⁻⁷⁵. Die Umsetzung mit Formaldehyd ermöglicht die Einführung von Methyl- oder Hydroxymethylsubstituenten

und liefert damit präparativ interessante Ausgangsmaterialien zur weiteren Derivatisierung. Das durch Reduktion mit Natriumdithionit erhaltene Dihydrochinizarin (Leukochinizarin) kann auch mit aromatischen Aldehyden in einer Aldolreaktion reagieren, die zu C-2-alkylierten Chinizarinderivaten führt^{55,76}. Die Kondensation von Phthalsäureanhydrid mit Methylhydrochinon⁷⁴ ergibt 2-Methylchinizarin in guten Ausbeuten und stellt somit eine präparative Alternative zur C-2-Alkylierung nach *Marschalk* dar. Zunächst sollte eine Serie unterschiedlich substituierter 2-Phenylethenyl-Derivate des Chinizarins (*Abb. B-2*) hergestellt und auf wachstumshemmende Eigenschaften an Tumorzellen geprüft werden. Variationen dieser Grundstruktur sollten in der Folge zur Ermittlung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen beitragen.

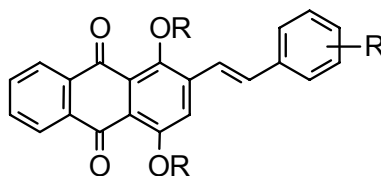


Abb. B-2: Allgemeine Struktur der geplanten phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivate.

1.2 C-2-Alkylierung nach *Marschalk*

1.2.1 *Marschalk*-Alkylierung von Hydroxyanthrachinonen

Bereits 1936 entdeckte *Marschalk* eine Reaktion zur selektiven Kernalkylierung von hydroxysubstituierten 9,10-Anthracendionen⁶³. Bedingt durch den desaktivierenden Effekt der Carbonylgruppen ist diese Verbindungsklasse ansonsten einer Alkylierung durch elektrophile aromatische Substitutionen kaum zugänglich. Als Voraussetzung für die *Marschalk*-Reaktion gilt nach den Untersuchungen von *Krohn*⁶⁴⁻⁶⁹ eine zum Chinoncarbonyl peri-ständige phenolische Hydroxygruppe. *Bredereck* beschreibt auch die Alkylierung von analogen Aminoanthrachinonen⁷².

Das Edukt **2** löst sich unter Einwirkung von Alkalihydroxid zunächst unter Phenolatbildung und wird anschließend durch Versetzen mit Natriumdithionit unter striktem Ausschluß von Luftsauerstoff (N₂-Begasung) reduziert (*Abb. B-3*). Dabei wird das elektronenarme Anthrachinonsystem in ein elektronenreiches Hydroxyanthra-

hydrochinon **3** überführt. Dieser Prozeß wird auch als „Redoxumpolung“ bezeichnet⁶⁶. Das elektronenreiche Hydrochinonsystem ist in der Lage, reaktive Aldehyde nucleophil anzugreifen. Der Aldehyd wird selektiv in *ortho*-Position zur phenolischen Hydroxygruppe eingeführt. Über die Zwischenstufe **4** entsteht durch H^+ -Wanderung das hydroxyalkylierte Hydrochinon-Anion **5**. Die *ortho*-Selektivität der Reaktion ist nach *Krohn* auf eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem H-Atom der phenolischen OH-Gruppe und dem Carbonylsauerstoff des Aldehyds zurückzuführen. Reaktionen in weniger stark protischen Lösungsmitteln, die eine Wasserstoffbrückenbildung begünstigen, scheinen diese Erklärung zu bestätigen, systematische Untersuchungen stehen aber noch aus^{69,77}. Unter den üblichen Bedingungen der *Marschalk*-Reaktion (90 °C) reagiert das hydroxyalkylierte Hydrochinon-Anion **5** nach Ansäuern unter Eliminierung der Hydroxylgruppe und nachfolgender Tautomerisierung zum C-2-alkylierten Anthrachinonderivat **7**. Polarographischen Untersuchungen zufolge verläuft diese intramolekulare Redoxreaktion über die Chinonmethidstruktur **6**, wobei die Hydroxylabspaltung einer *Retro-Michael*-Reaktion entspricht⁶⁸.

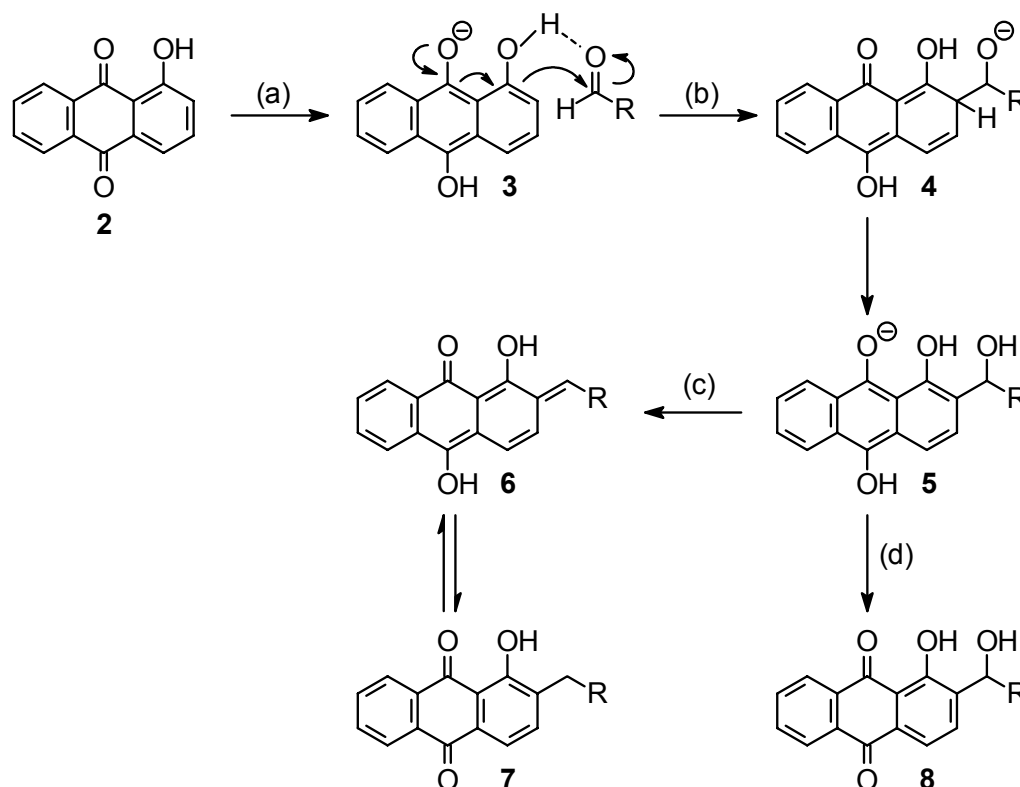


Abb. B-3: Postulierter Mechanismus der Marschalk-Alkylierung am Beispiel des 1-Hydroxyanthrachinons; (a) Methanol, NaOH, $Na_2S_2O_4$, N_2 , 40–50 °C, N_2 ; (b) RCHO, 0–5 °C bis 90 °C; (c) H_2O , 2N-HCl; (d) O_2 , 2N-HCl.

Mit sehr reaktiven Aldehyden, wie z. B. Formaldehyd oder Glyoxylsäure, läßt sich die *Marschalk*-Alkylierung auch bei 0–5 °C durchführen^{64,65}. Die thermische Eliminierung der benzyliischen Hydroxygruppe in **5** findet in diesem Fall nicht statt, und man erhält nach Reoxidation und Ansäuern präparativ wertvolle Hydroxyalkylanthrachinone **8** (*Abb. B-3*).

1.2.2 Chinizarin als Ausgangssubstanz für die *Marschalk*-Alkylierung

Chinizarin (**1**) wird unter Einwirkung von Reduktionsmitteln in schwach alkalischem oder saurem Medium in das nicht autoxidable und sehr reaktionsfähige Dihydrochinizarin (Leukochinizarin, **9**) überführt⁵⁵, das als Feststoff und in Lösung vollständig in der Diketoform (*Abb. B-4*) vorliegt⁷⁸.

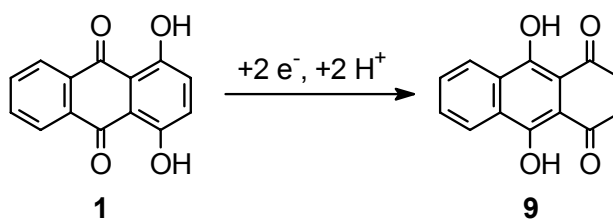


Abb. B-4: Bildung von Leukochinizarin (**9**).

Als Carbonylverbindung mit α -ständigen Methylengruppen kann Leukochinizarin unter Basenkatalyse mit Aldehyden eine Aldolkondensation eingehen^{55,76}. Neben der Reaktion in basischem Medium werden von *Lewis* auch säurekatalysierte Aldolkondensationen beschrieben⁷⁶. Wird die Umsetzung mit reaktiven Aldehyden wie Formaldehyd bei niedrigen Temperaturen durchgeführt, ist auch der Erhalt der benzyliischen Hydroxygruppe möglich. In diesem Fall entspräche die Umsetzung einer Aldoladdition. Der postulierte Mechanismus der basisch katalysierten Aldolreaktion von Leukochinizarin mit Aldehyden ist in *Abb. B-5* dargestellt.

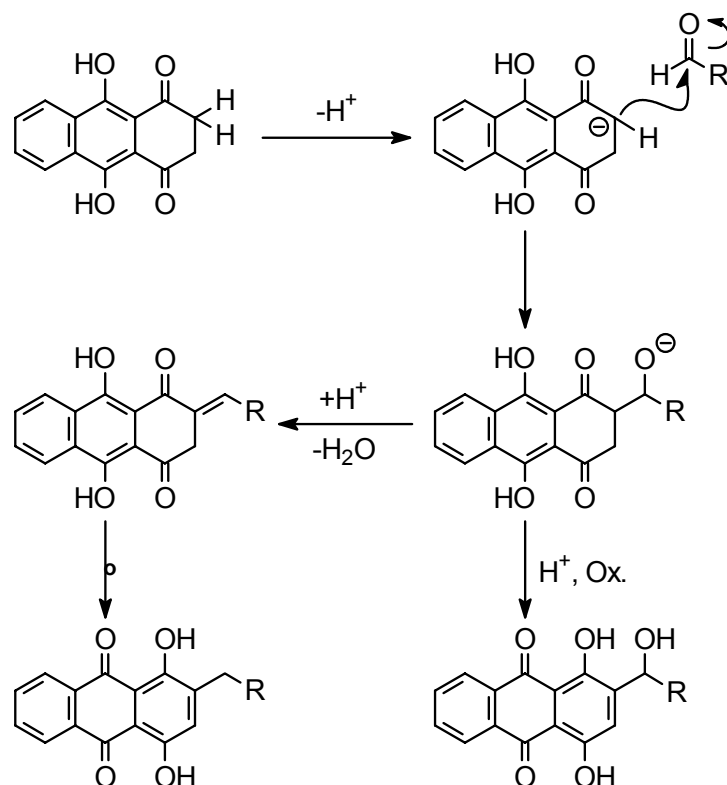


Abb. B-5: Postulierter Mechanismus der Aldolreaktion von Leukochinizarin mit Aldehyden unter *Marschalk*-Bedingungen.

Unabhängig davon, ob für diese Reaktion ein Mechanismus vom Aldoltyp oder der in *Abb. B-3* dargestellte Mechanismus einer *Marschalk*-Alkylierung zugrunde gelegt wird, besitzt das Chinizarinmolekül zwei Angriffsstellen für eine Kernalkylierung. Aufgrund der 1,4-Dihydroxysubstitution ist eine Alkylierung sowohl an C-2 als auch an C-3 möglich. Das Hauptprodukt der Umsetzung von Chinizarin mit Formaldehyd unter den Bedingungen der *Marschalk*-Reaktion ist das 1,4-Dihydroxy-2,3-dimethylantrachinon (**10**)⁶³. Durch Variation der Reaktionsbedingungen ist es auch möglich, 2-Hydroxymethylchinizarin (**11**) in relativ hohen Ausbeuten zu erhalten^{64,72}. Die hohe Reaktivität des Formaldehyds führt jedoch in der Reaktion mit Chinizarin bzw. Leukochinizarin generell zu einigen Nebenreaktionen, durch die mehrere unterschiedlich substituierte Chinizarinderivate entstehen können⁶⁹. *Abb. B-6* zeigt eine Auswahl der unter verschiedenen Reaktionsbedingungen erhaltenen Produkte.

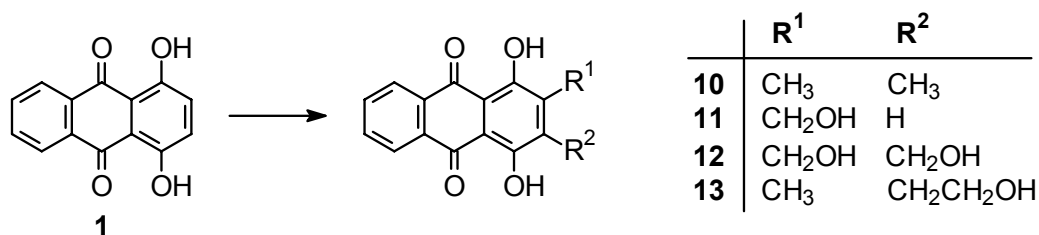


Abb. B-6: Produkte der Alkylierung von Chinizarin (**1**) mit Formaldehyd nach Lit.⁶⁹

1.2.3 Chinizarinmonomethylether als Ausgangssubstanz für die *Marschalk-*Alkylierung

Die oben beschriebene Bisalkylierung von Chinizarin durch Formaldehyd kann durch Verwendung des Chinizarinmonomethylethers **14** (*Abb. B-7*) vermieden werden. **14** weist nur noch eine der für die Alkylierung nach *Marschalk*⁶³ essentiellen Hydroxygruppen auf und erlaubt somit eine selektive Monoalkylierung in Position 2. Auch bei der Verwendung von sehr reaktivem Formaldehyd wurde keine Zweitalkylierung beobachtet^{67,75}. In der Literatur sind verschiedene Methoden zur Synthese von **14** beschrieben^{67,75,79,80}. Monomethylierung von Leukochinizarin mit Methanol in Gegenwart von Thionylchlorid und anschließende Oxidation durch Luftsauerstoff nach *Laatsch*⁸⁰ lieferte uns **14** in hohen Ausbeuten (90 %) (*Abb. B-7*).

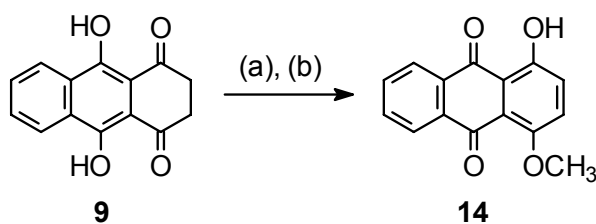


Abb. B-7: Darstellung von **14** nach *Laatsch*⁸⁰; (a) MeOH, SOCl₂, -78 °C bis 60 °C; (b) H₂O, O₂.

Die von *Krohn*⁶⁷ beschriebene Methylierung von Chinizarin mit Dimethylsulfat (DMS) in Aceton/Kaliumcarbonat nutzten wir in leicht modifizierter Form zur Darstellung der zweifach methylierten Verbindung **15** (*Abb. B-8*).

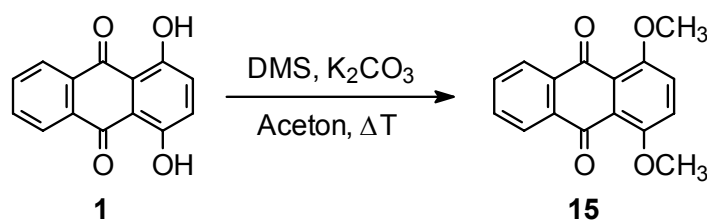


Abb. B-8: Darstellung des Chinizarindimethylethers **15**.

Die Umsetzung von **14** im Sinne einer *Marschalk*-Alkylierung mit Formaldehyd bei 90 °C⁷⁵ und auch bei 25 °C⁶⁷ lieferte die gewünschten hydroxymethyl- oder methylsubstituierten Verbindungen nur in sehr geringen Mengen. Als Hauptprodukte identifizierten *Krohn* und *Behnke* stattdessen die über eine Methylen- oder Ethylenbrücke verknüpften Dimere **16** und **17** (*Abb. B-9*)⁶⁷. Die Dimerisierung, die interessanterweise bei der Reaktion des Chinizarins nicht beobachtet wurde, wird durch Kopplungsreaktionen des intermediären Chinonmethids (vgl. *Abb. B-3*) mit der Leukoform von **14** bzw. mit einem weiteren Chinonmethid-Molekül erklärt⁶⁹.

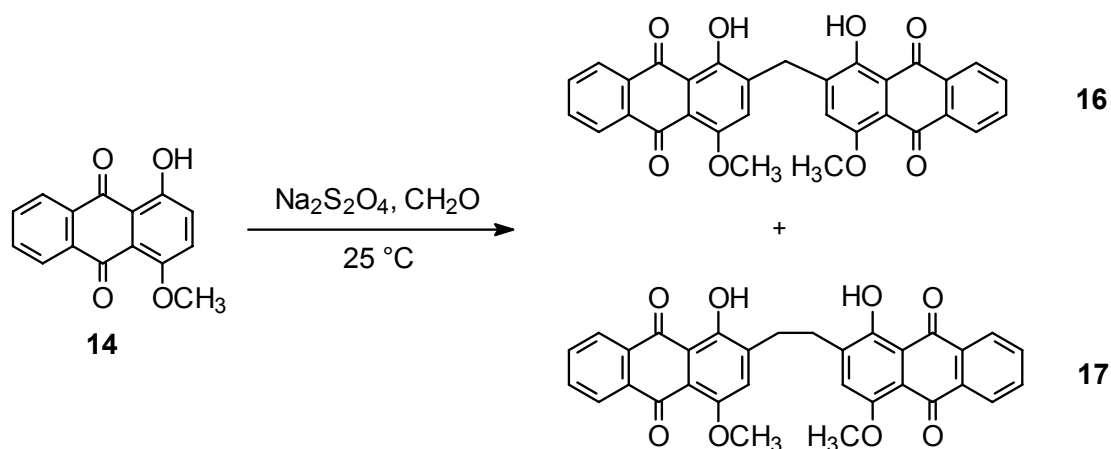


Abb. B-9: Dimere Produkte der *Marschalk*-Alkylierung von Chinizarinmonomethylether mit Formaldehyd bei 25 °C⁶⁷.

Durch Herabsetzen der Reaktionstemperatur auf 0 °C konnten wir das Hydroxymethylderivat **18** in Ausbeuten von bis zu 70 % herstellen (*Abb. B-10*). In Übereinstimmung mit Ergebnissen von *Krohn*^{67,69} zeigte sich, daß das Gelingen der Synthese außer von der Reaktionstemperatur auch von der zugesetzten Menge

Natriumdithionit abhängig ist. Ein 1.2-facher Überschuß des Reduktionsmittels gegenüber der eingesetzten Menge **14** erwies sich in unseren Versuchen als optimal. Variationen von Temperatur oder der eingesetzten Menge Dithionit führten zu teilweise deutlich verringerten Ausbeuten an **18**. Als Nebenprodukte konnten wir neben einem Gemisch der von *Krohn* beschriebenen Dimere **16** und **17** (*Abb. B-9*) auch das 2-Methylderivat von **14** identifizieren. Durch Methylierung von **18** mit Dimethylsulfat⁸¹ konnten wir die 1-Hydroxygruppe des Chinizarinmoleküls unter Erhaltung der präparativ interessanten benzylicischen Hydroxygruppe selektiv verethern (*Abb. B-10*). Die resultierende Verbindung **19** diente in der vorliegenden Arbeit zur Herstellung des 2-Carbaldehyds **29**, der Ausgangssubstanz für die Olefinierung nach *Horner-Wadsworth-Emmons* (*Kap. B-1.5*).

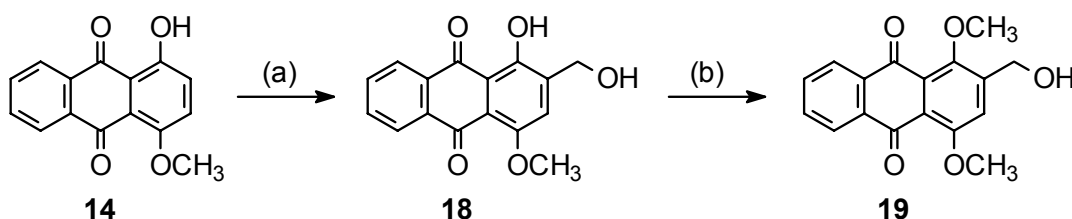


Abb. B-10: Darstellung der Hydroxymethylderivate **18** und **19**; (a) MeOH, NaOH, Na₂S₂O₄, N₂, CH₂O, 0 °C; (b) DMS, K₂CO₃, Aceton, ΔT.

1.3 Synthese von 2-Methylchinizarin durch Kondensation von Phthalsäureanhydrid mit Methylhydrochinon

Eine klassische Methode zur Synthese von Hydroxy-9,10-anthrachinonen besteht in der Kondensation von Phthalsäureanhydrid mit Phenolen⁸². Es handelt sich bei dieser Reaktion um eine zweifache *Friedel-Crafts*-Acylierung. Die unter Einwirkung von AlCl₃ zunächst entstehende Benzophenon-2-carbonsäure wird durch konz. Schwefelsäure zum entsprechenden Hydroxyanthrachinon zyklisiert (*Abb. B-11*).

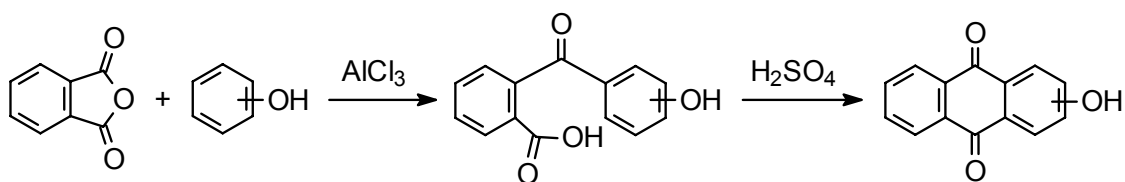


Abb. B-11: Hydroxyanthrachinone durch Kondensation von Phthalsäureanhydrid mit Phenolen.

Besser geeignet ist in einigen Fällen die Direktkondensation in einer Schmelze von Natriumchlorid und Aluminiumchlorid⁸². Chinizarin kann auf diesem Wege aus Phthalsäureanhydrid und Hydrochinon hergestellt werden⁸³. Zur technischen Produktion von Chinizarin ist die Kondensation von Phthalsäureanhydrid mit 4-Chlorphenol in Gegenwart von Schwefelsäure/Borsäure besser geeignet⁸². *Suzuki et al.* beschreiben die Direktkondensation von Phthalsäureanhydrid mit Methylhydrochinon zu 2-Methylchinizarin (**20**)⁷⁴. Unter Verwendung dieser Methode konnten wir **20** in einer Ausbeute von 60 % herstellen (*Abb. B-12*). Anschließende Methylierung der Hydroxygruppen mit Dimethylsulfat führte zum zweifach geschützten Derivat **21** (*Abb. B-12*). Das einfach und in guten Ausbeuten erhaltene **21** stellt mit der Methylgruppe in 2-Position eine präparative Alternative zum Hydroxymethylderivat **19** dar. Wir nutzten **21** als Ausgangsmaterial zur Synthese des Phosphoniumsalzes **23** (*Kap. B-1.4.2*) sowie des 2-Carbaldehyds **29** (*Kap. B-1.5.2*).

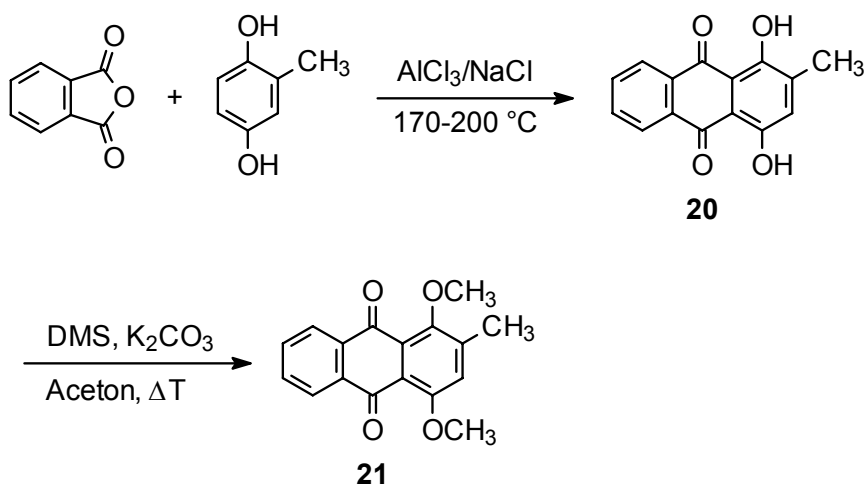


Abb. B-12: Darstellung von **20** und **21**.

1.4 Synthese von 2-[2-(*E*)-Phenylethenyl]-substituierten Chinizarinderivaten durch *Wittig*-Olefinierung

1.4.1 Die *Wittig*-Reaktion

Eine weit verbreitete und allgemein anwendbare Reaktion zur Darstellung von Olefinen ist die *Wittig*-Reaktion⁸⁴⁻⁸⁶. Es handelt sich dabei um eine Olefinsynthese aus Carbonylverbindungen und Phosphoniumyliden. Häufig werden Triphenylphosphoniumsalze als Edukte eingesetzt, aus denen durch Deprotonierung mit einer geeigneten Base Phosphoniumylide entstehen. Der ausgeprägt nukleophile Ylid-Kohlenstoff vermag mit Carbonylverbindungen zu reagieren. Der [2+2]-Cycloaddition zum Oxaphosphetan folgt eine Eliminierung von Triphenylphosphinoxid zum Olefin (*Abb. B-13*)⁸⁷.

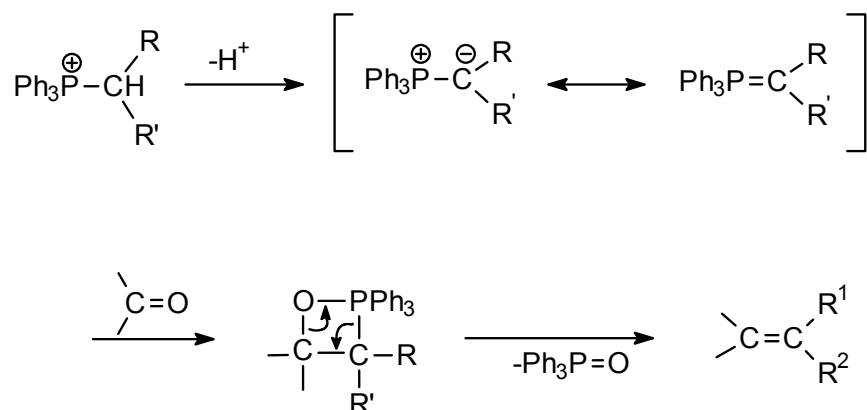


Abb. B-13: Mechanismus der *Wittig*-Olefinierung nach Lit.⁸⁷

Wir beabsichtigten, die *Wittig*-Reaktion zur Synthese von 2-Phenylethylderivaten des Chinizarins zu nutzen und planten die Umsetzung eines Chinizarin-Phosphoniumsalzes mit Benzaldehydderivaten. Dieser Überlegung lag eine Arbeit von *Cava et al.*⁸⁸ zugrunde, die 2-(1-Methoxy-9,10-dioxo-anthracenyl)methyltriphenylphosphoniumfluoroborat mit aliphatischen Aldehyden umsetzten. *Leukel*⁵⁶ und *Altmann*^{60,62} griffen die Methode zur Synthese von C-2-substituierten Dithranolderivaten auf. *Prinz*⁸⁹ synthetisierte styrylsubstituierte Derivate verschiedener Anthrachinongrundkörper unter Verwendung der *Wittig*-Reaktion.

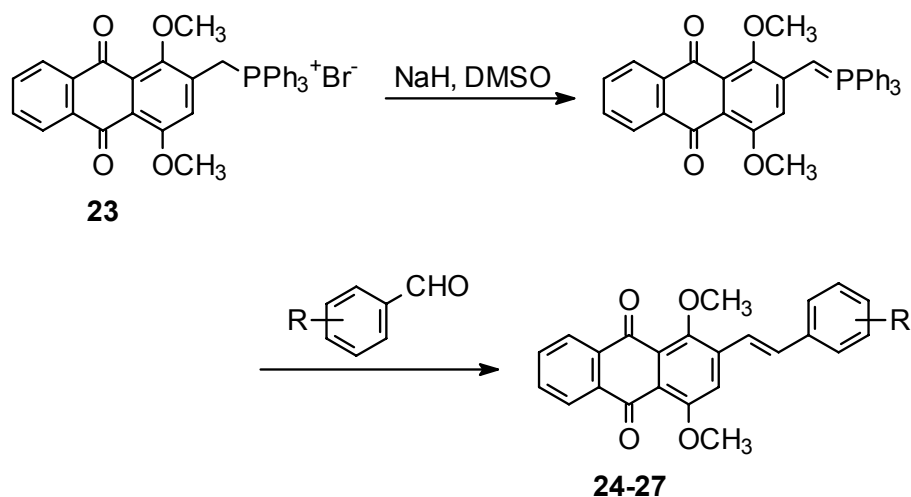
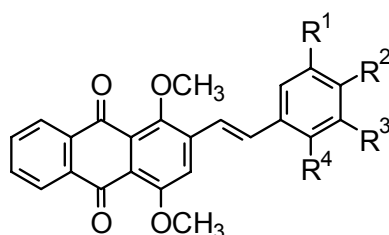


Abb. B-15: Darstellung von styrylsubstituierten Chinizarinderivaten durch *Wittig*-Synthese. Bezüglich des Substitutionsmusters s. *Tab. B-1*.

Tab. B-1: Durch *Wittig*-Olefinierung hergestellte Chinizarinderivate.



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
24	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
25	Cl	H	Cl	H
26	H	COOCH ₃	H	H
27	H	NO ₂	H	H

In einer Variante wurde der Chinizarin-2-carbaldehyd **29** (s. *Kap. B-1.5.2*) als Carbonylkomponente eingesetzt und mit benzylicchen Phosponiumyliden in einer *Wittig*-Reaktion umgesetzt. *Boniface et al.* beschreiben die erfolgreiche Umsetzung von **29** mit einem aliphatisch substituierten Triphenylphosphoniumsalz in einer *Wittig*-Reaktion⁹¹. Wir nutzten diesen Weg zur Synthese des Nitrils **28** durch Umsetzung von **29** mit

(4-Cyanobenzyl)-triphenylphosphoniumchlorid (*Abb. B-16*). **28** erhielten wir so jedoch nur in einer relativ niedrigen Ausbeute (12 %).

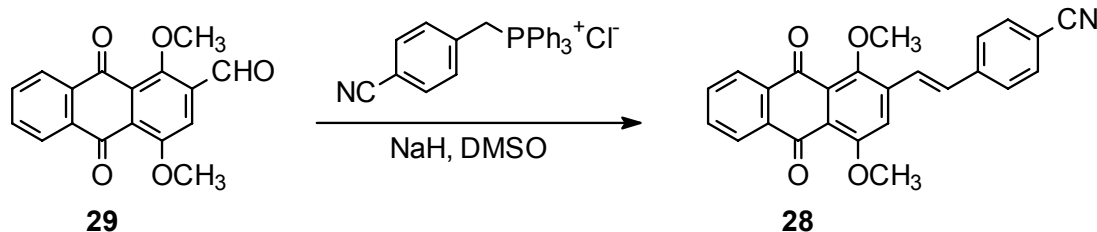


Abb. B-16: Darstellung von **28** durch *Wittig*-Reaktion.

1.5 Synthese von 2-[2-(*E*)-Phenylethenyl]-substituierten Chinizarinderivaten durch *Horner-Wadsworth-Emmons*-Olefinierung

1.5.1 Die *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktion

Die *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktion^{92,93} stellt eine Variante der *Wittig*-Reaktion dar. Die Olefinierung unter C-C-Verknüpfung erfolgt hierbei durch Kondensation zwischen einem Phosphonsäuredialkylester (Phosponat) mit α -ständiger, acider CH-Funktion und einer Carbonylverbindung. Der Ablauf dieser Reaktion ist in *Abb. B-17* schematisch dargestellt. In Gegenwart einer Base wird das Phosponat in α -Position deprotoniert. Der Addition des entstandenen Carbanions an die Carbonylverbindung folgt wegen der großen Affinität des Phosphors zum Sauerstoff die Eliminierung von Diethylphosphat unter Entstehung eines Olefins⁸⁷.

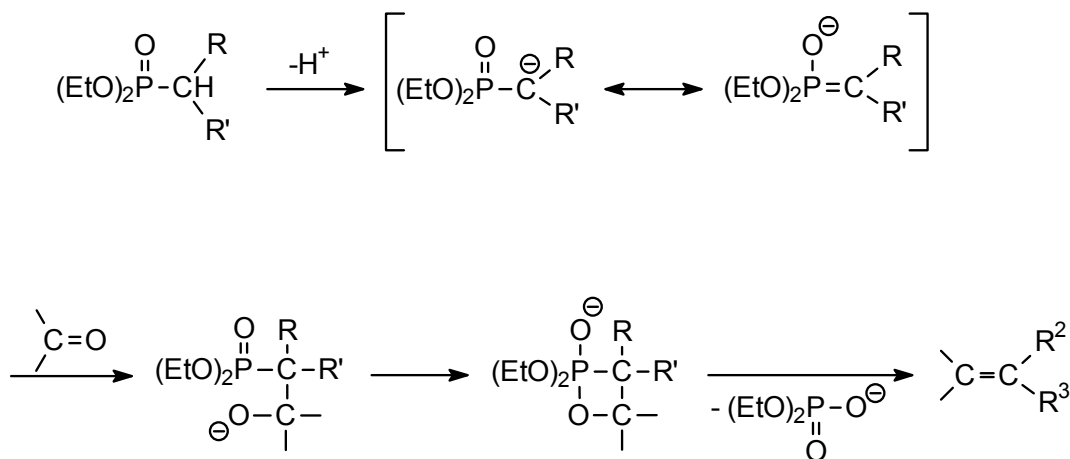


Abb. B-17: Mechanismus der *Horner-Wadsworth-Emmons*-Olefinierung nach Lit.⁸⁷

Altmann^{60,62} nutzte die *Horner-Wadsworth-Emmons*-Olefinierung zur Herstellung von C-2-substituierten Derivaten des Antipsoriatikums Dithranol, und *Prinz*^{58,89} synthetisierte auf diesem Wege olefinisch substituierte Anthrachinonderivate. Für die Synthese von analogen Chinazarinderivaten sollten benzylsubstituierte Diethylphosphonate mit dem 2-Carbaldehyd **29** umgesetzt werden. In der Literatur ist bisher lediglich die Umsetzung von **29** mit einem aliphatisch substituierten Triphenylphosphoniumsalz in einer *Wittig*-Reaktion beschrieben⁹¹.

1.5.2 Synthese von 1,4-Dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracen-2-carbaldehyd

Zur Darstellung von Anthrachinoncarbaldehyden sind mehrere Verfahren beschrieben. Methylantrachinone⁹⁴ und Hydroxymethylantrachinone⁹⁵ stellen geeignete Edukte für die Herstellung dieser Aldehyde dar. Krohn⁹⁶ beschreibt die in hohen Ausbeuten verlaufende Oxidation benzylischer Alkohole des Anthrachinons zu Aldehyden mit *tert*-Butylhydroperoxid in Gegenwart von Titan- oder Zirkonium-Katalysatoren.

Zunächst stand auch in unserem Fall der durch *Marschalk*-Alkylierung hergestellte Benzylalkohol **19** als Edukt für die Synthese von **29** zur Verfügung. Die Oxidation mit Pyridiniumdichromat (PDC) in DMF lieferte uns den Aldehyd in ausreichender Ausbeute (52 %) (*Abb. B-18*).

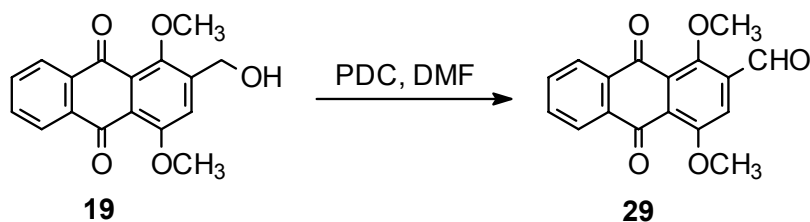


Abb. B-18: Darstellung von **29** durch Oxidation des benzylichen Alkohols **19**.

Nach der gleichen Methode konnten wir die monomethylierte Verbindung **18** zum 2-Carbaldehyd **30** oxidieren. Trotz der zahlreich durchgeführten Arbeiten zur Alkylierung von Chinizarinderivaten ist **30** in der Literatur bisher nicht beschrieben. **30** stellt ein Konstitutionsisomer von Damnacanthal dar (*Abb. B-19*). Damnacanthal ist ein potenter Inhibitor der Leukozyten-Tyrosinkinase p56^{lck}¹⁷ und diente uns als Vergleichssubstanz für einige biochemische Untersuchungen. Das kommerziell verfügbare, aber sehr teure Damnacanthal wurde von *Prinz* nach einer literaturbekannten Methode synthetisiert⁸⁹. Als Konstitutionsisomer von Damnacanthal wurde auch **30** zu entsprechenden Untersuchungen herangezogen. Für weitere präparative Arbeiten verwendeten wir **30** aufgrund der störenden freien Hydroxygruppe nicht.

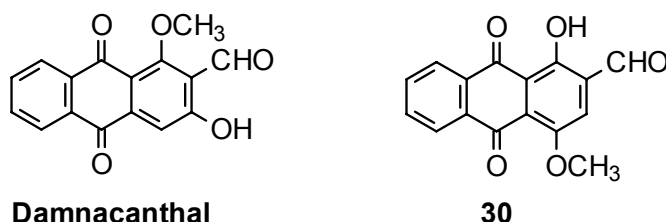


Abb. B-19: Damnacanthal und das Chinizarinderivat **30**.

Roberts et al. beschreiben einen Weg zur Synthese von **29**, der von 2-Methylchinizarin **20** bzw. dem zweifach methylierten Derivat **21** ausgeht⁹⁰. Analog zur Arbeit von *Roberts* bromierten wir das einfach und in guten Ausbeuten erhaltene **21** (*Kap. B-1.3*) an der 2-Methylgruppe mit N-Bromsuccinimid (NBS) und Benzoylperoxid (*Abb. B-20*). Durch Verwendung eines ausreichenden Überschusses an NBS konnten wir dabei das Dibrommethylderivat **31** als Hauptprodukt mit einer Ausbeute von 75 % isolieren. Abweichend von *Roberts et al.*⁹⁰ nutzten wir zur Hydrolyse des geminalen Dibromids

31 eine von *Krohn*⁹⁷ beschriebene Methode. Dazu wurde eine Lösung von **31** in THF unter Lichtausschluß mit wässriger Silbernitratlösung versetzt und unter Rückfluß 24 h zum Sieden erhitzt. **29** konnte auf diesem Weg in sehr guter Ausbeute (85 %) erhalten werden (*Abb. B-20*).

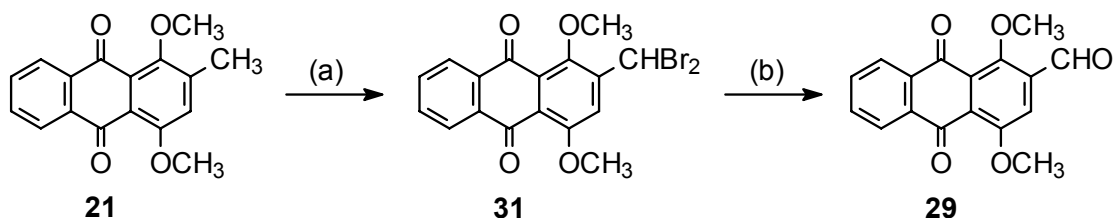


Abb. B-20: Darstellung von **29** durch Hydrolyse des geminalen Dibromids **31**; (a) NBS, Bz₂O₂, CCl₄, ΔT; (b) THF, AgNO₃, H₂O, Lichtausschluß, ΔT.

Zusätzlich konnten wir den Aldehyd **29** durch *Kornblum*-Oxidation^{98,99} des Monobromids **22** mit DMSO unter Zusatz von NaHCO₃ in einer Ausbeute von 45 % herstellen (*Abb. B-21*). **22** synthetisierten wir durch Bromierung von **21** mit N-Bromsuccinimid⁹⁰ sowie durch Behandlung des Hydroxymethylderivates **19** mit Phosphortribromid.

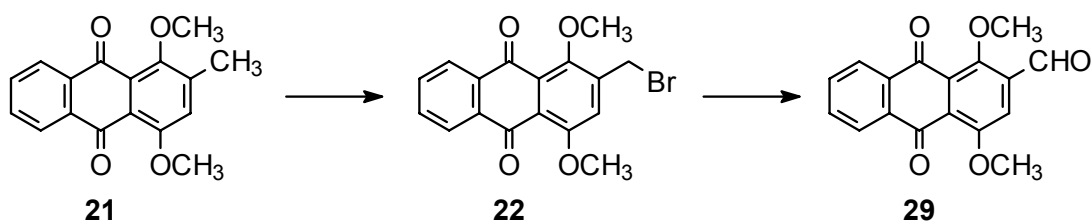


Abb. B-21: Darstellung von **29** durch *Kornblum*-Oxidation von **22**; (a) NBS, Bz₂O₂, CCl₄, ΔT; (b) DMSO, NaHCO₃, 40 °C.

1.5.3 Synthese von Benzyl-diethylphosphonaten

Zur Synthese von styrylsubstituierten Chinizarinderivaten nach *Horner-Wadsworth-Emmons* wurden neben **29** benzylsubstituierte Phosphonsäuredialkylester (Phosphonate) als Edukte benötigt, von denen nur wenige kommerziell erhältlich sind. Ausgehend von

Benzaldehydderivaten synthetisierten wir durch Reduktion mit NaBH_4 und anschließende Bromierung mit Phosphortribromid in CH_2Cl_2 zunächst die entsprechenden Benzylbromide (Abb. B-22). Alternativ konnten auch die korrespondierenden Benzoesäurederivate mit LiAlH_4 zur Alkoholstufe reduziert werden. Eine *Michaelis-Arbusow*-Reaktion^{100,101} der Benzylbromide mit Triethylphosphit lieferte die gewünschten substituierten Benzoldiethylphosphonate in hohen Ausbeuten.

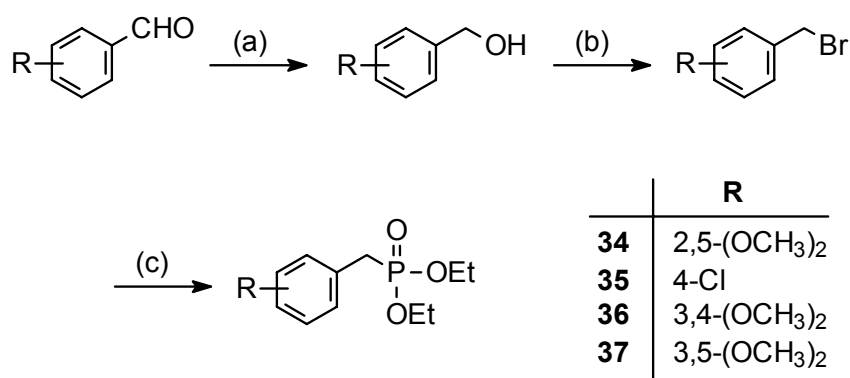


Abb. B-22: Synthese der Phosphonate **34-37**; (a) NaBH_4 , THF, RT; (b) PBr_3 , CH_2Cl_2 , 0–20 °C; (c) $\text{P}(\text{OEt})_3$, 100 °C.

1.5.4 Styrylsubstituierte Chinizarinderivate durch *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktion

Zur Umsetzung nach *Horner-Wadsworth-Emmons* deprotonierten wir die substituierten Phosphonsäurediethylester analog der *Wittig*-Reaktion (Kap. B-1.4.3) mit NaH in DMSO und setzten sie unter Schutzgas bei 50 bis 60 °C direkt mit **29** als Carbonylkomponente um (Abb. B-23). Die Chinizarinderivate **38-43** erhielten wir so in Ausbeuten von 20 bis 30 % (Tab. B-2).

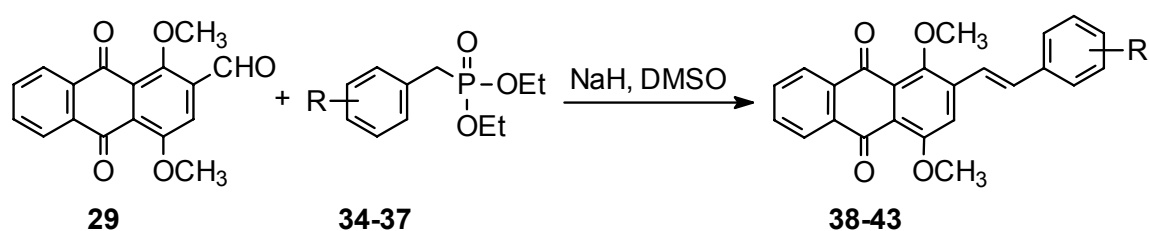
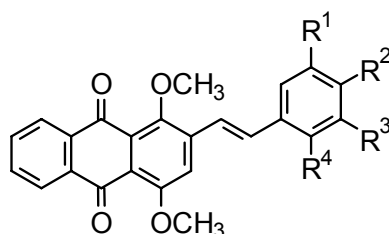


Abb. B-23: Horner-Wadsworth-Emmons-Synthese von phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivaten.

Tab. B-2: Übersicht über die nach *Abb. B-23* erhaltenen Verbindungen.



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
38	H	H	H	H
39	H	OCH ₃	H	H
40	OCH ₃	H	OCH ₃	H
41	H	OCH ₃	OCH ₃	H
42	OCH ₃	H	H	OCH ₃
43	H	Cl	H	H

1.6 Synthese von strukturell variierten Verbindungen durch *Horner-Wadsworth-Emmons-Reaktion*

In vorläufigen Untersuchungen hatten wir die hohe wachstumshemmende Aktivität des phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivates **41** gegenüber K562-Zellen festgestellt (*Kap. C-1.4*). Es war daher von Interesse, sowohl die Anthrachinon- als auch die Stilbenpartialstruktur von **41** zu synthetisieren und auf ihre biologischen Eigenschaften zu untersuchen (*Abb. B-24*). Die Synthese des 1,4-Dimethoxyanthrachinons **15** wurde

bereits erläutert (Kap. B-1.2.3). Das 2,5,3',4'-Tetramethoxystilben **44** erhielten wir durch *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktion aus 2,5-Dimethoxybenzaldehyd und Diethyl-(3,4-dimethoxybenzyl)-phosphonat (**36**) in einer Ausbeute von 23 %*.

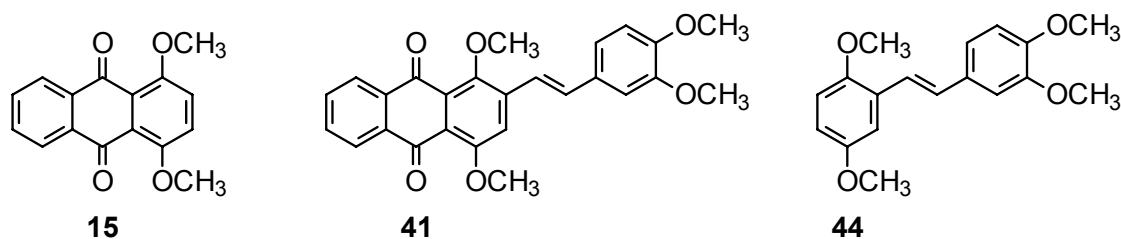


Abb. B-24: Das Chinizarinderivat **41** und die Partialstrukturen **15** und **44**.

Die durch *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktion von **29** mit Triethylphosphonoacetat erhaltene Verbindung **45** (Abb. B-25) weist im Gegensatz zu den styrylsubstituierten Chinizarinderivaten keinen aromatischen Substituenten in der Seitenkette auf und stellte somit ebenfalls eine interessante Vergleichssubstanz für die Struktur-Wirkungs-Beziehungen der Chinizarinderivate dar.

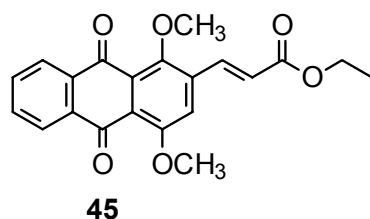


Abb. B-25: Strukturformel von **45**.

1.7 Stereochemie der 2-[2-(*E*)-Phenylethenyl]-substituierten Chinizarinderivate

Nachdem sowohl über die *Wittig*-Reaktion als auch die *Horner-Wadsworth-Emmons*-Variante einheitliche Produkte isoliert werden konnten, sollte die Frage nach deren Stereochemie geklärt werden. Die Stereoselektivität der *Wittig*-Reaktion von

* Nachdem wir die Synthese durchgeführt hatten, wurde eine Arbeit publiziert, in der die Synthese von **44** in einer *Wittig*-Reaktion ausgehend von 2,5-Dimethoxybenzyltriphenylphosphoniumbromid mit einer Ausbeute von > 90 % beschrieben ist¹⁰².

Phosphoniumyliden mit Aldehyden hängt wesentlich davon ab, ob das beteiligte Ylid labil oder stabilisiert ist⁸⁷. Labile Ylide ergeben bei der [2+2]-Cycloaddition an Aldehyde im allgemeinen das *cis*-Oxaphosphethan, während stabilisierte Ylide hauptsächlich zum *trans*-Oxaphosphethan reagieren. Die anschließende Olefinbildung unter Eliminierung von Triphenylphosphinoxid erfolgt stereospezifisch (Abb. B-26).

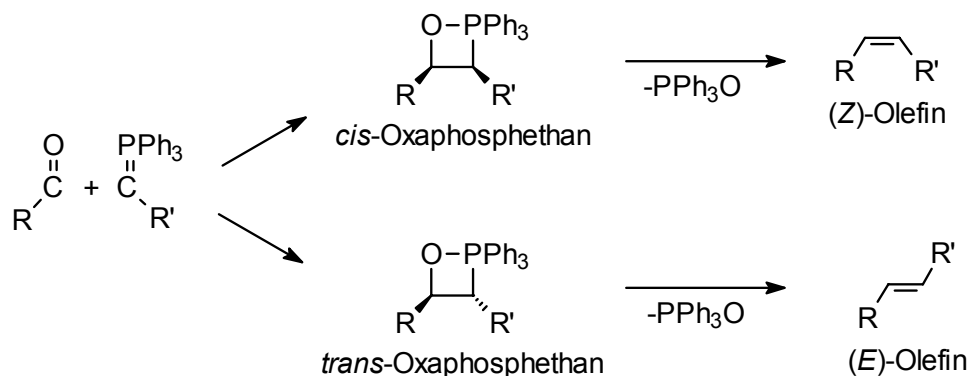


Abb. B-26: Stereochemie der *Wittig*-Reaktion nach Lit.⁸⁷

Aufgrund des stabilisierenden Effekts von aromatischen Substituenten am eingesetzten Phosphoniumylid und der in der Literatur beschriebenen Bildung von *E*-Olefinen bei der Umsetzung von Aldehyden mit stabilen Alkylidenphosphoranen^{103,104} war bei den durchgeführten Synthesen von phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivaten die Bildung der *E*-konfigurierten Isomere zu erwarten. Diese Annahme galt auch für die durch *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktion hergestellten Verbindungen, da die Umsetzung von Phosphonaten mit Aldehyden praktisch ausschließlich *E*-selektiv verläuft^{105,106}.

Anhand von 200 MHz-¹H-NMR-Spektren konnten wir diese Überlegungen bestätigen. Im Spektrum der durch *Wittig*-Reaktion hergestellten Verbindung **24** erschienen die Dubletts der olefinischen Protonen bei 7.43 und 7.21 ppm (Abb. B-27). Die Kopplungskonstante von 16.5 Hz beweist, daß **24** ausschließlich in der *E*-Konfiguration vorliegt. Ebenso verhielt es sich bei der mittels *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktion synthetisierten Verbindung **39** (Abb. B-28). Die Dubletts für die olefinischen Protonen traten bei 7.41 und 7.23 ppm auf, die Kopplungskonstante betrug 16.4 Hz. Dadurch konnte ebenfalls das Vorliegen der *E*-Konfiguration bewiesen werden. ¹H-NMR-Spektren der anderen styrylsubstituierten Verbindungen bestätigten dieses Ergebnis, das zudem mit Befunden von *Leukel* übereinstimmt⁵⁶.

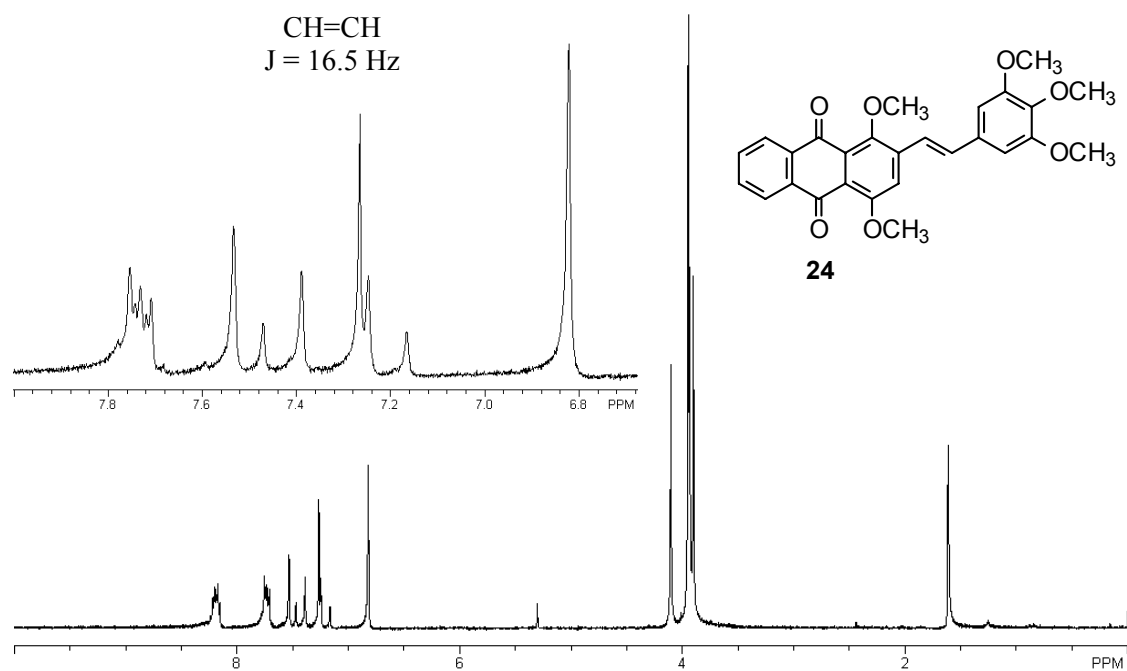


Abb. B-27: 200 MHz- ^1H -NMR-Spektrum von **24** (CDCl_3).

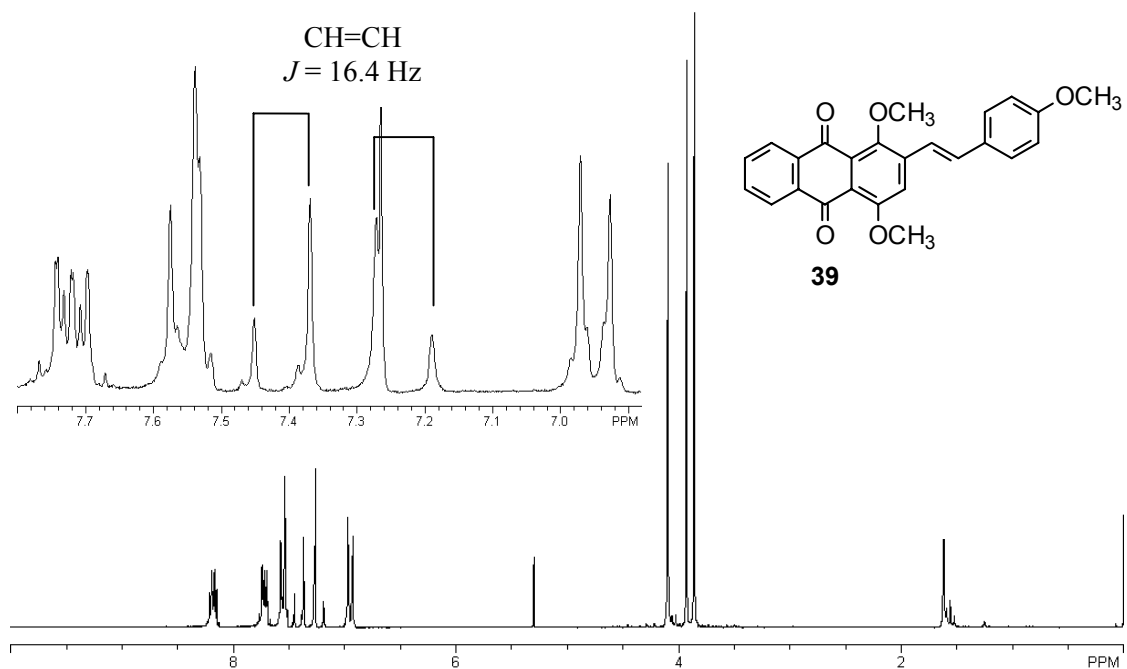


Abb. B-28: 200 MHz- ^1H -NMR-Spektrum von **39** (CDCl_3).

1.8 Synthese von hydroxysubstituierten Phenylethenyl-Derivaten

1.8.1 Etherspaltungen

Um die Untersuchungen zu den Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu vervollständigen, wollten wir die Serie der phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivate durch hydroxysubstituierte Verbindungen ergänzen. Der störende Einfluß der Hydroxygruppen erlaubte keine direkte Synthese dieser Verbindungen nach den gezeigten Methoden. Sie sollten daher durch Etherspaltungen aus den analogen methoxysubstituierten Derivaten hergestellt werden. Die Verwendung von wasserfreiem AlCl_3 in CH_2Cl_2 ¹⁰⁷ ist nach Untersuchungen von *Prinz* zur Etherspaltung von Methoxychryszinderivaten gut geeignet⁵⁸. Bei Behandlung von **45** mit AlCl_3 in CH_2Cl_2 bei Raumtemperatur war nach einer Reaktionszeit von 1 h das Edukt umgesetzt, und wir konnten das 1,4-Dihydroxyderivat **46** als Produkt isolieren (*Abb. B-29*).

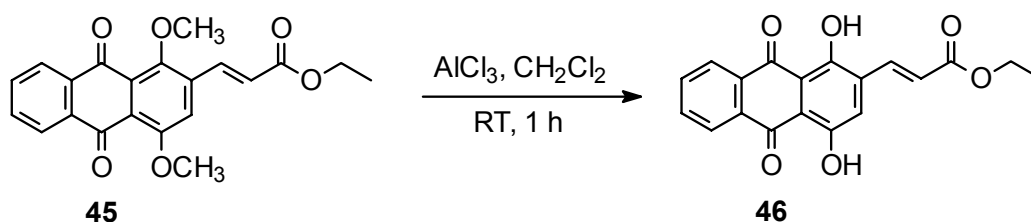


Abb. B-29: Darstellung von **46** durch Etherspaltung.

Bei der Umsetzung von **39** unter den gleichen Reaktionsbedingungen isolierten wir nach einer Reaktionszeit von 6 h ein Produkt, das lediglich eine freie Hydroxygruppe am Chinizaringerüst aufwies (**47**, *Abb. B-30*). Im 200 MHz- ^1H -NMR-Spektrum trat das Singulett einer chelatisierten OH-Gruppe bei 13.81 ppm auf. Mit Hilfe von NOE-Differenzspektren (NOE: Nuclear Overhauser Effect) konnten wir die Position der OH-Gruppe ermitteln (*Abb. B-31*). Einstrahlung in die Frequenzen der beiden Methoxygruppen führte jeweils zur Verminderung der Signalintensitäten der Protonen an C-3 und C-5 des aromatischen Substituenten bzw. an C-3 des Chinizarin-groundkörpers. Damit konnten wir zeigen, daß sich die Methoxygruppe des Chinizaringerüsts in Position 4 befindet, und die Etherspaltung demzufolge in Position 1 stattgefunden hat.

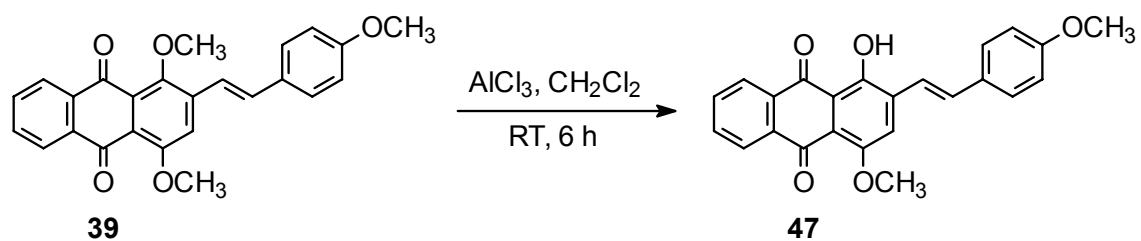


Abb. B-30: Darstellung von **47**.

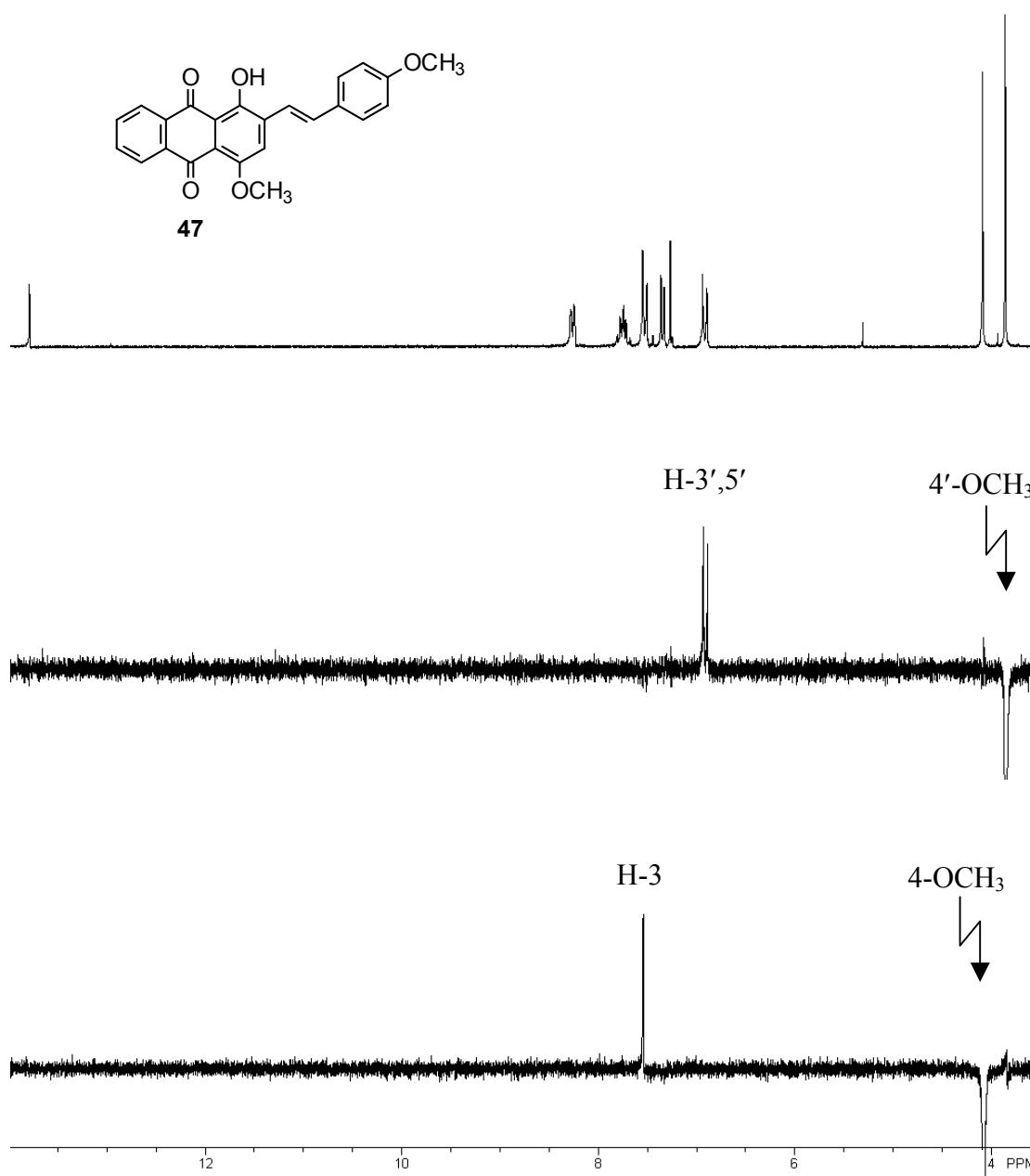


Abb. B-31: 200 MHz-¹H-NMR- und NOE-Differenzspektren von **47** (CDCl₃).

Das zweifach demethylierte Derivat **48** erhielten wir durch Behandeln von **39** mit konz. HBr¹⁰⁸. Nach einer Reaktionszeit von 3 h isolierten wir **48** in einer Ausbeute von 70 %. Eine Spaltung der Methylether am Styrylrest war auch nach 48 h unter Rückfluß nicht festzustellen (Abb. B-32).

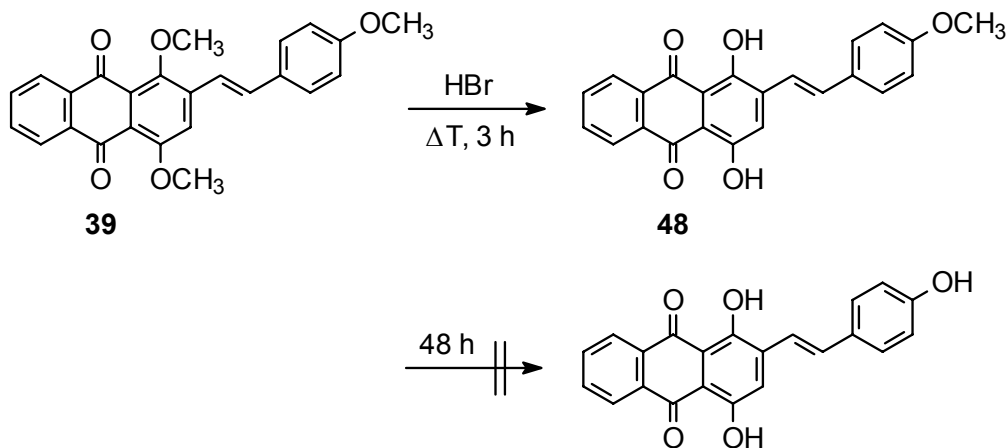


Abb. B-32: Etherspaltung von **39** mit HBr.

Die vollständig demethylierte Verbindung **49** erhielten wir aus der Schmelze von **40** mit einer Mischung aus AlCl_3 und NaCl (Abb. B-33).

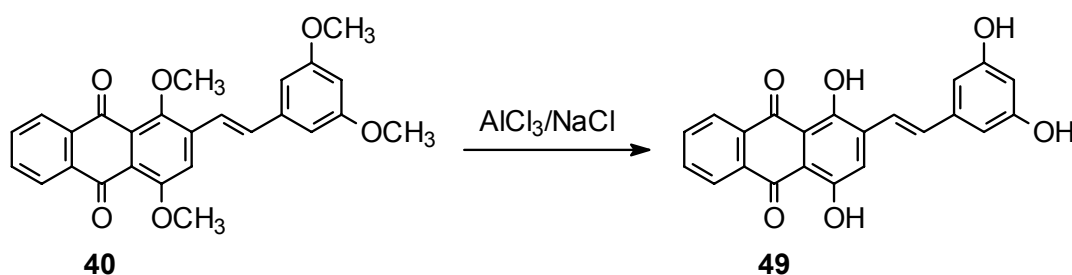


Abb. B-33: Darstellung der vollständig demethylierten Verbindung **49**.

Verbindungen mit einer 1,4-Dimethoxy-Substitution am Anthrachinonkern und einer phenolischen Hydroxygruppe am Styrylteil waren durch selektive Etherspaltungen nicht

herzustellen (Abb. B-34). Die Synthese dieser Strukturen erforderte die Verwendung geeigneter Schutzgruppen vor der Einführung des Styrylrestes (Kap. B-1.8.2).

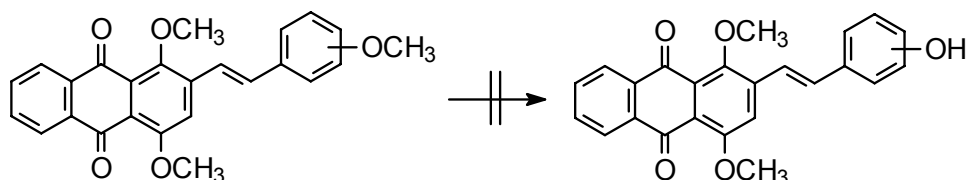


Abb. B-34

Da in orientierenden biochemischen Untersuchungen die 1,4-Dihydroxyanthrachinon-Derivate gegenüber den analogen 1,4-Dimethoxyverbindungen deutlich geringere Aktivität zeigten (Kap. C-1), führten wir keine weiteren Arbeiten in dieser Richtung durch.

1.8.2 Verwendung O-geschützter Synthesebausteine

Die von *Altmann*⁶⁰ durchgeführte Benzylierung der freien Hydroxygruppen war für die Synthese unserer Verbindungen nicht geeignet. Wie *Leukel* bereits zeigen konnte, hat die hydrogenolytische Entfernung der Benzylschutzgruppen eine gleichzeitige Hydrierung der olefinischen Doppelbindung zur Folge⁵⁶. Wir entschieden uns für die Verwendung von Methoxymethyl(MOM)-Ethern zum Schutz der phenolischen Hydroxygruppen. Diese acetalischen Schutzgruppen lassen sich nach Literaturangaben besonders leicht in ein Molekül einführen¹⁰⁹. Methoxymethylether sind chemisch stabil gegenüber verschiedenen Basen, Reduktionsmitteln und auch Carbonsäuren, werden aber unter Einwirkung von Mineralsäuren leicht gespalten¹¹⁰. Die Synthese von MOM-geschützten Hydroxybenzyltriphenylphosphoniumbromiden (Abb. B-35) sowie deren Umsetzung mit aromatischen Aldehyden in einer *Wittig*-Reaktion ist beschrieben^{111,112}.

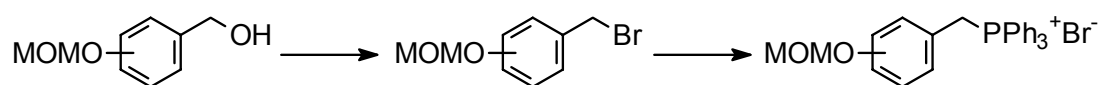


Abb. B-35

In ersten Versuchen konnten wir die Synthese eines MOM-geschützten Benzylbromids nicht in befriedigenden Ausbeuten reproduzieren. Daher wählten wir zur Synthese der styrylsubstituierten Chinizarinderivate die Umsetzung des Chinizarin-Phosphoniumsalzes **23** mit MOM-geschützten Benzaldehyden in einer *Wittig*-Reaktion. 4-Hydroxy- und 3,4-Dihydroxybenzaldehyd konnten unter Einwirkung von Na-Ethanolat mit MOM-Chlorid geschützt werden (*Abb. B-36*). Die Reaktionen zu den Aldehyden **50** und **51**¹¹³⁻¹¹⁶ verlief mit Ausbeuten von 40 bis 55 %. In beiden Fällen wurde das Edukt nicht vollständig umgesetzt, und bei der Synthese von **51** isolierten wir auch nach Variation der Reaktionsbedingungen stets einen Anteil des nur einfach geschützten Derivates **52** (*Abb. B-36*).

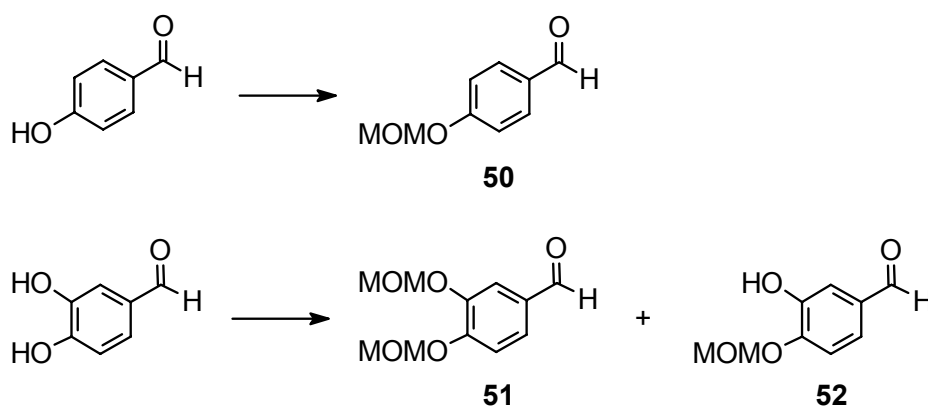


Abb. B-36: Synthese der Aldehyde **50** und **51**; NaOEt, MOM-Cl.

51 setzten wir in einer *Wittig*-Reaktion analog *Kap. B-1.4.3* mit **23** zu **53** um (*Abb. B-37*) und erhielten mit 25 % eine ähnliche Ausbeute wie bei der Umsetzung mit den vorher verwendeten Benzaldehyden. In Übereinstimmung mit Literaturangaben^{111,112} erwies sich die MOM-Schutzgruppe auch in unseren Versuchen als geeignet für die Umsetzung in einer *Wittig*-Reaktion. Die Spaltung der MOM-Ether erfolgte durch kurzes Erhitzen in methanolischer Salzsäure und führte zum gewünschten Derivat **54** (*Abb. B-37*).

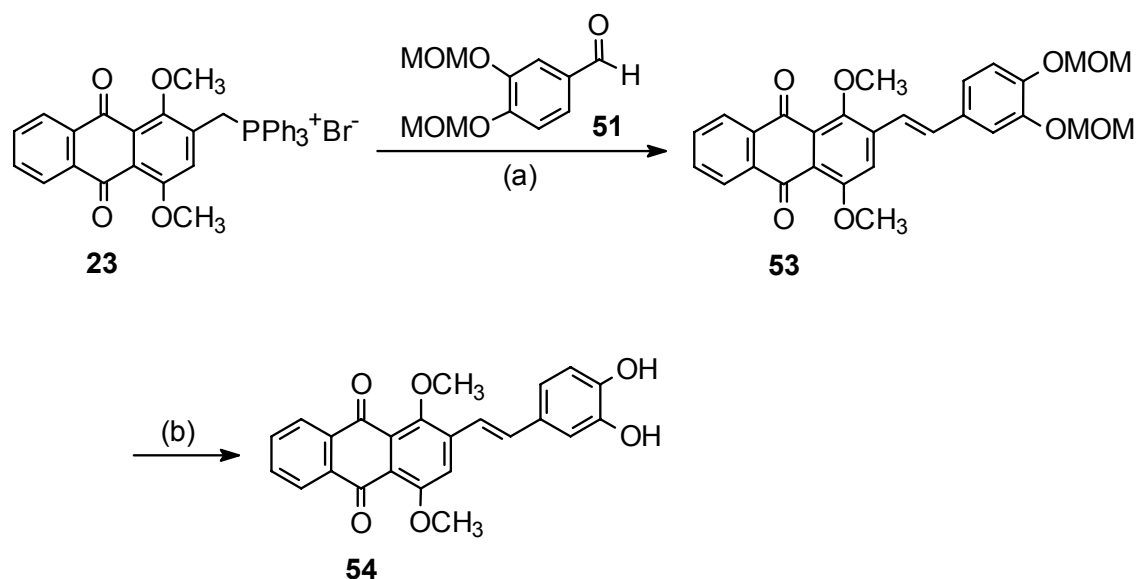


Abb. B-37: Darstellung von **53** und **54**; (a) NaH, DMSO; (b) MeOH, HCl, Δ T.

55 synthetisierten wir ebenfalls mittels *Wittig*-Reaktion. Auf die Isolierung der MOM-geschützten Zwischenstufe verzichteten wir in diesem Fall. Stattdessen wurde das aus der *Wittig*-Reaktion resultierende Gemisch direkt mit wässriger Salzsäure versetzt und dadurch die Schutzgruppe entfernt (*Abb. B-38*).

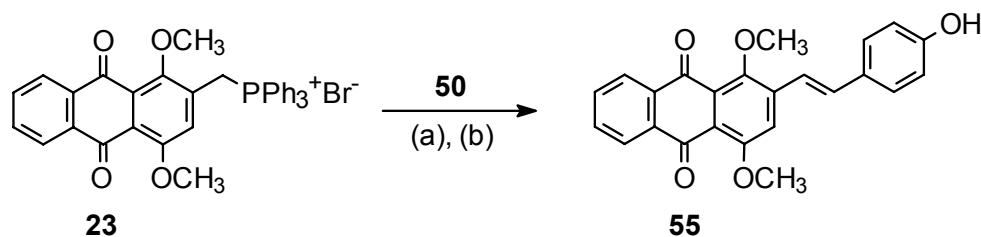


Abb. B-38: Darstellung von **55**; (a) NaH, DMSO; (b) H₂O, HCl, Δ T.

Für die Synthese von **56** wählten wir 3-Acetoxy-4-methoxy-benzaldehyd zur Umsetzung mit **23**. Ohne die geschützte Zwischenstufe zu isolieren, wurde der Ester nach erfolgter Umsetzung alkalisch hydrolysiert (*Abb. B-39*). **56** erhielten wir auf diesem Weg aber nur in sehr geringer Ausbeute (6 %).

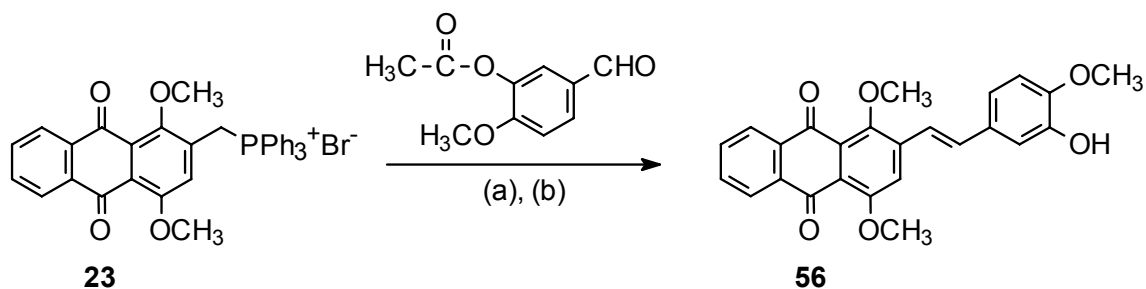


Abb. B-39: Darstellung von **56**; (a) NaH, DMSO; (b) H₂O, NaOH, 40 °C.

1.9 Synthese von 2- ω -Phenylalkyl-substituierten Chinizarinderivaten

Einige der styrylsubstituierten Chinizarinderivate zeigten gegenüber K562-Zellen sowie anderen Zelllinien gute antiproliferative Aktivität, wobei die Wirksamkeit der Verbindungen von der Substitution des Styrylrestes abhing (*Kap. C-1 bis C-4*). Zur Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen innerhalb der Serie der C-2-substituierten Chinizarinderivate wollten wir die aktivsten Verbindungen strukturell variieren. Zunächst wurde der Styrylsubstituent durch einen Phenylalkylrest mit gesättigter Alkylkette ersetzt (*Abb. B-40*). Die resultierenden Verbindungen verfügen nicht mehr über das erweiterte konjugierte Doppelbindungssystem der Styrylderivate. Des weiteren sollte die Variation der Kettenlänge zur Ermittlung eines Wirkoptimums beitragen.

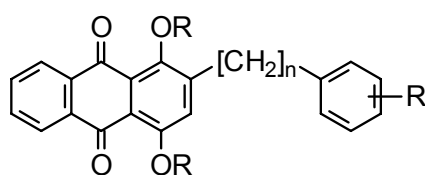


Abb. B-40: Allgemeine Struktur der ω -Phenylalkyl-Derivate.

1.9.1 Alkylierung nach *Marschalk*

Das Prinzip der Alkylierung von Hydroxyanthrachinonen mit reaktiven Aldehyden nach *Marschalk* wurde bereits erläutert (*Kap. B-1.2*). *Marschalk* setzte das Chinizarin (**1**) neben Formaldehyd auch mit höheren aliphatischen Aldehyden sowie Benzaldehydderivaten um⁶³. Im Gegensatz zur Reaktion mit Formaldehyd erhielt er

lediglich die monoalkylierten Produkte (*Abb. B-41*), die somit auch ohne vorherige Methylierung einer der beiden OH-Gruppen erhältlich sind⁶⁹.

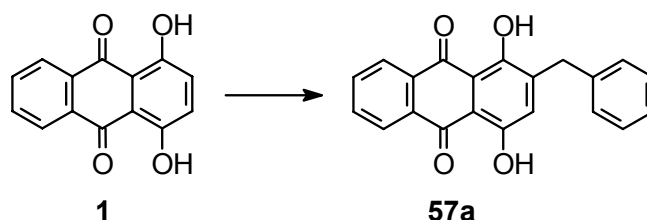


Abb. B-41: Darstellung von **57a** nach *Marschalk*⁶³; NaOH, Na₂S₂O₄, N₂, Benzaldehyd, 95 °C, 2 h.

Das Ausbleiben einer Zweitalkylierung unter *Marschalk*-Bedingungen ist Untersuchungen von *Lewis* zufolge nicht mit einer sterischen Hinderung zu begründen, sondern hängt mit der Reaktivität des eingesetzten Aldehyds zusammen⁷⁶. *Lewis* konnte durch Variation der Reaktionsbedingungen in einer sauer katalysierten Aldolkondensation beispielsweise 2,3-Dibenzylchinizarin und andere bisalkylierte Chinizarinderivate herstellen⁷⁶. Für die vorliegende Arbeit waren allerdings nur monoalkylierte Derivate von Interesse.

In Analogie zu den aktivsten phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivaten sollten entsprechende ω-Phenylalkylchinizarine mit Elektronendonatoren, insbesondere OCH₃-Gruppen, als Substituenten am Phenylrest synthetisiert werden. In Untersuchungen von *Leukel* am 1-Hydroxy-8-methoxy-anthrachinon (Methoxychrysazin) erwiesen sich nur Benzaldehyd sowie dessen Derivate mit elektronenziehenden Substituenten als geeignet für eine *Marschalk*-Alkylierung^{56,57}. Elektronendonatoren (-OH, -OCH₃, -NH₂) erhöhten die Elektronendichte am Carbonylkohlenstoff der Aldehydfunktion und machten dadurch den nucleophilen Angriff durch Methoxychrysazin unmöglich⁵⁶ (*Abb. B-42*). Im Gegensatz dazu ist Chinizarin auch einer Alkylierung mit Methoxybenzaldehyden zugänglich. Wir konnten unter den Bedingungen einer *Marschalk*-Alkylierung neben dem 2-Benzylchinizarin **57a** auch drei methoxysubstituierte Phenylmethylchinizarine (**58a-60a**) in Ausbeuten von bis zu 70 % herstellen (*Abb. B-42, Tab. B-3*).

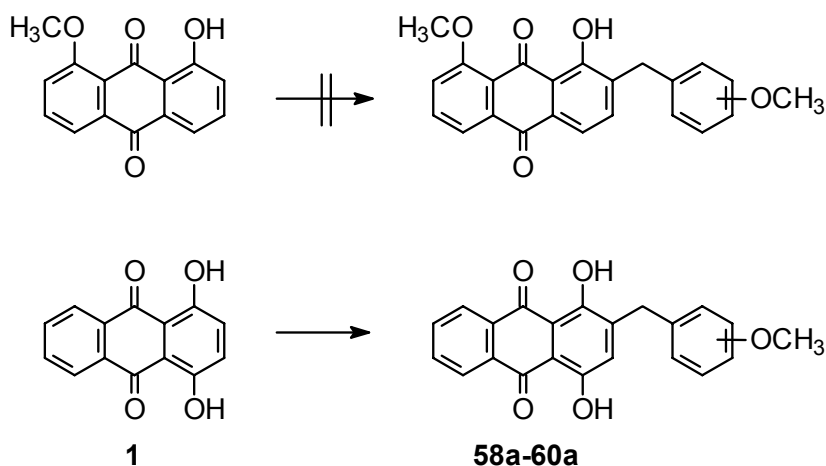


Abb. B-42: Alkylierung nach *Marschalk* mit methoxysubstituierten Benzaldehyden; NaOH, Na₂S₂O₄, N₂, 95 °C. Bezüglich des Substitutionsmusters s. Tab. B-3.

Das Gelingen dieser Alkylierungen am Chinizarin ist wohl dadurch zu erklären, daß die Aldolreaktion des durch Reduktion mit Dithionit entstehenden Leukochinizarins (s. Kap. B-1.2.2) auch mit weniger reaktiven Aldehyden möglich ist. Vergleichbare Phenylmethylchinizarine waren Gegenstand einiger Veröffentlichungen und Patentschriften zur Herstellung von Farbstoffen¹¹⁷⁻¹²². Abgesehen von der bereits von *Marschalk* synthetisierten Verbindung **57a**⁶³ sind die von uns hergestellten Verbindungen aber bisher nicht beschrieben.

Bei längerkettigen Homologen des Benzaldehyds verlief aufgrund fehlender Konjugation der Aldehydfunktion zum substituierten Aromaten auch die Umsetzung mit Chryszinmonomethylether problemlos⁵⁶. Daher war für die entsprechenden Reaktionen mit Chinizarin nicht mit Problemen zu rechnen. Während wir für die Synthese der Phenylmethylderivate kommerziell erhältliche Benzaldehyde einsetzen konnten, mußten wir für Derivate mit verlängerten Alkylketten die benötigten Aldehyde ausgehend von den entsprechenden Carbonsäuren synthetisieren. Durch Reduktion mit LiAlH₄ wurden diese zunächst zu den korrespondierenden Alkoholen umgesetzt¹²³, die dann mit Pyridiniumchlorochromat (PCC) zu den gewünschten Aldehyden oxidiert wurden¹²⁴ (Abb. B-43). Auf diesem Weg konnten wir den Phenylpropionaldehyd **64** sowie die Phenylbutyraldehyde **65** und **86** in großen Ausbeuten gewinnen.

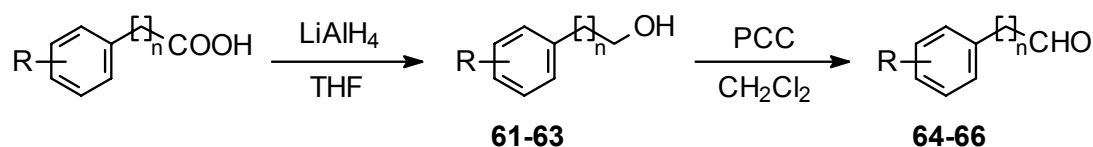


Abb. B-43: Darstellung der Aldehyde **64-66**; $n = 2, 3$; $R = \text{H}, \text{OCH}_3$.

Aus Untersuchungen von *Altmann* ist bekannt, daß die Synthese von Phenylacetaldehyden nach der gleichen Methode nicht gelingt⁶⁰. Phenylethylsubstituierte Chinizarinderivate synthetisierten wir aus diesem Grund nicht direkt durch *Marschalk*-Alkylierung, sondern durch katalytische Hydrierung der analogen Styrylverbindungen (*Kap. B-1.9.2*). Die Umsetzung von Chinizarin mit den längerkettigen Benzaldehyd-homologen nach *Marschalk* erforderte längere Reaktionszeiten (24 h) als mit den Benzaldehyden und lieferte die gewünschten Verbindungen **67a**, **68a** und **69a** in Ausbeuten von 20 bis 40 %. Alle unter *Marschalk*-Bedingungen hergestellten Phenylalkylchinizarine wurden anschließend mit Dimethylsulfat in Aceton methyliert, wodurch wir die entsprechenden 1,4-Dimethoxyanthrachinonderivate in guten Ausbeuten erhielten (*Abb. B-44*). Die auf diesem Wege synthetisierten Phenylalkylchinizarine sind in *Tab. B-3* dargestellt.

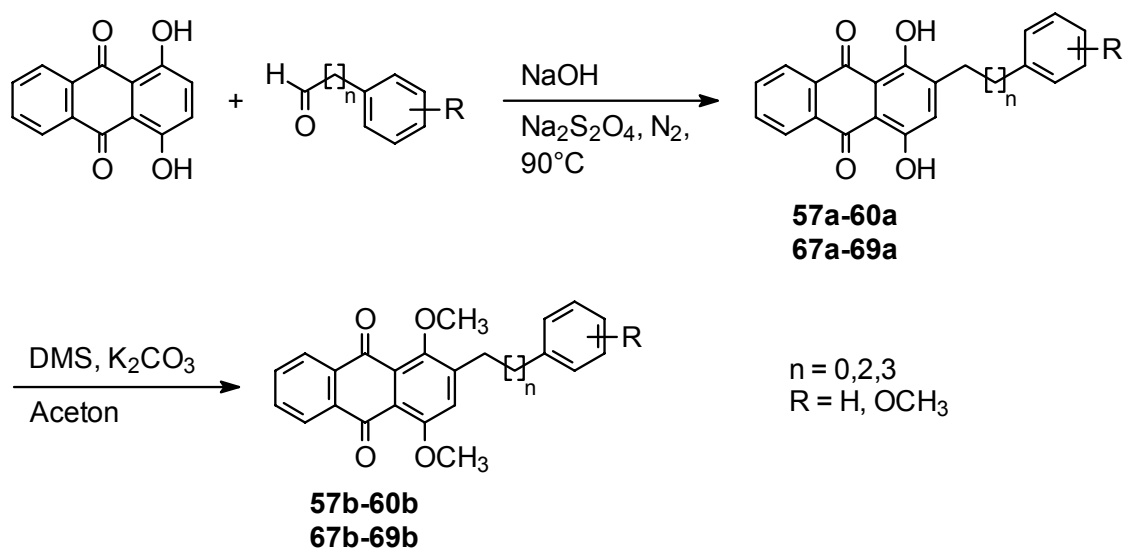
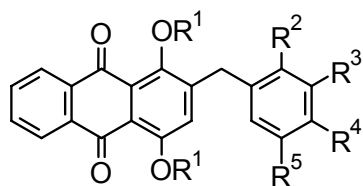


Abb. B-44: Synthese von phenylalkylsubstituierten Chinizarinderivaten.

Tab. B-3: Übersicht über die nach *Abb. B-44* erhaltenen Verbindungen.

Verbindung	N	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
57a	1	H	H	H	H	H
57b	1	CH ₃	H	H	H	H
58a	1	H	H	OCH ₃	H	OCH ₃
58b	1	CH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃
59a	1	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H
59b	1	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H
60a	1	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃
60b	1	CH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃
67a	3	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H
67b	3	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H
68a	4	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H
68b	4	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H
69a	4	CH ₃	H	H	H	H
69b	4	CH ₃	H	H	H	H

1.9.2 Katalytische Hydrierung von Phenylethenyl-substituierten Derivaten

Untersuchungen von *Altmann* haben gezeigt, daß die Oxidation von Phenylethylalkoholen nach verschiedenen Methoden zu den entsprechenden Benzaldehydderivaten anstelle der gewünschten Phenylacetaldehyde führt⁶⁰. 3,4-Dimethoxyphenylacetaldehyd konnte zwar durch die Glycidestersynthese nach Darzens in ausreichender Menge dargestellt werden, erwies sich aber als ungeeignet für die Marschalk-Alkylierung am Chrysinmonomethylether⁶⁰. Aufgrund dieser Ergebnisse stellten wir die Phenylethylchinizarine **70** und **71** durch katalytische Hydrierung aus den entsprechenden Styrylderivaten dar. Die Edukte wurden dazu bei Raumtemperatur in trockenem THF gelöst und unter Zusatz von Palladium/Kohle mit Wasserstoff und bei

Normaldruck für die Dauer von 3 bis 4 h hydriert (*Abb. B-45*). **70** und **71** isolierten wir aus einem heterogenen Produktgemisch in Ausbeuten von 28 % bzw. 15 %.

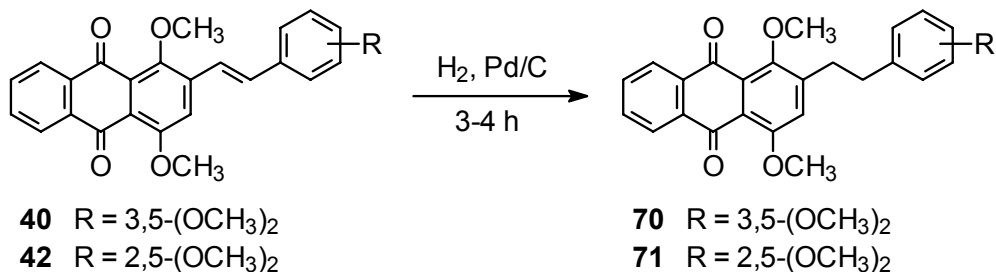


Abb. B-45: Synthese von Phenylethylchinzarinen durch katalytische Hydrierung.

Nach einer deutlich verlängerten Reaktionszeit (24 h) konnten wir ausgehend von **42** das Tetrahydroanthrachinon **72** als Hauptkomponente aus einem heterogenen Produktgemisch isolieren (*Abb. B-46*).

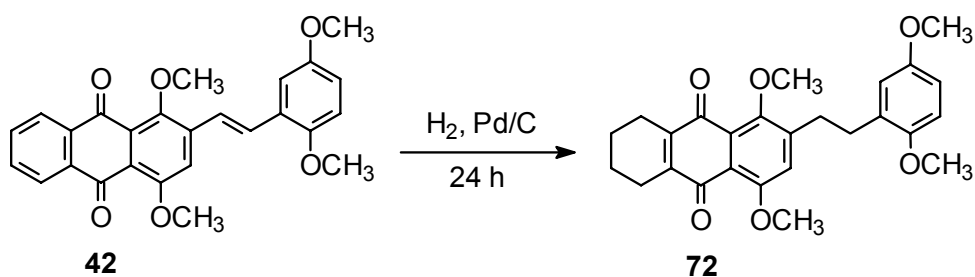


Abb. B-46: Hydrierung von **42** zu **72**.

Demnach kann unter den gewählten Bedingungen in Abhängigkeit von der Reaktionsdauer neben der olefinischen Doppelbindung auch der unsubstituierte Ring des Chinzarinsystems hydriert werden. Die Hydrierungen konnten durch Aufnahme von 200 MHz-¹H-NMR-Spektren bestätigt werden (*Abb. B-47, B-48*).

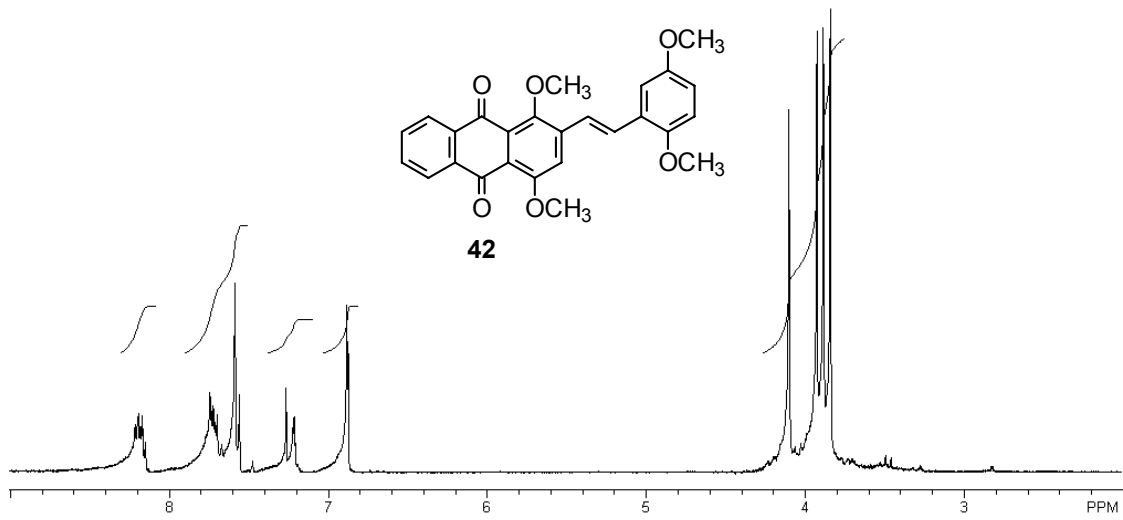


Abb. B-47: 200 MHz- ^1H -NMR-Spektrum von **42** (CDCl_3).

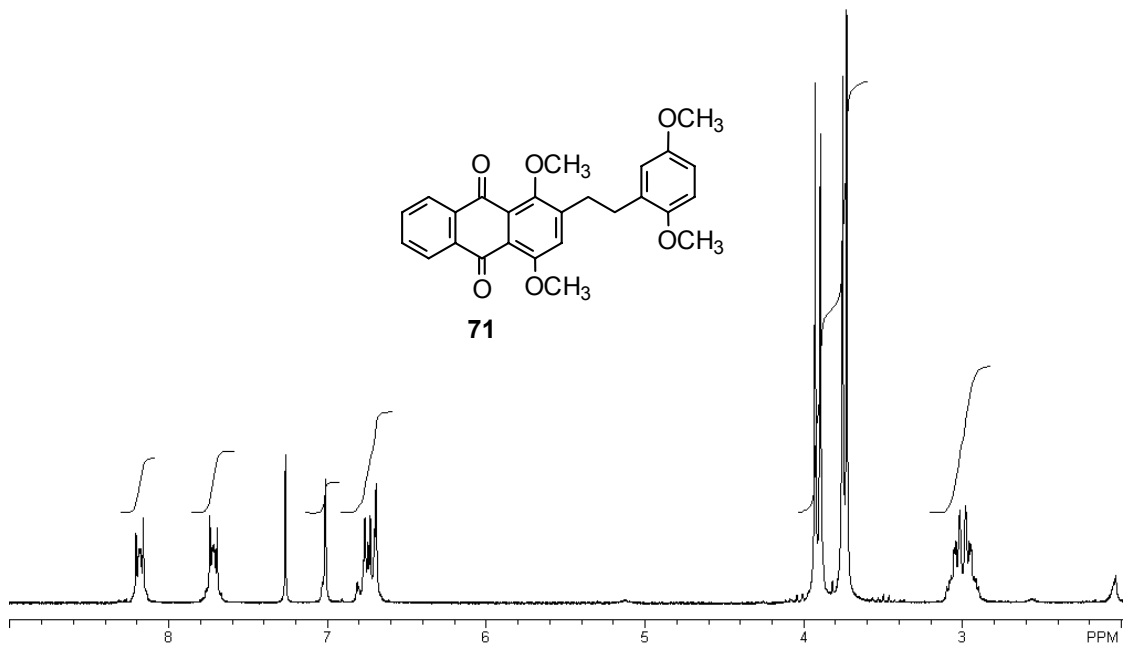


Abb. B-48: 200 MHz- ^1H -NMR-Spektrum von **71** (CDCl_3).

Der Vergleich der jeweiligen Peakintegrale der beiden Verbindungen **42** und **71** im Bereich von 6.6 bis 8.4 ppm zeigte für **71** eine um zwei erniedrigte Protonenzahl (Abb. B-47 und B-48). Die Signale für die Protonen an der olefinischen Doppelbindung treten nicht mehr auf. Stattdessen erscheint bei einer chemischen Verschiebung von 3 ppm ein Multipllett, das den vier Protonen der Ethylengruppe in **71** entspricht. Sowohl im Spektrum von **42** als auch von **71** waren die typischen Multipletts für die Protonen des unsubstituierten Anthrachinonrings deutlich zu erkennen (8.20–8.10 und 7.75–7.70 ppm). Das Spektrum von **72** hingegen wies diese Signale nicht mehr auf. Zusätzlich zu den Signalen der Ethylengruppe traten hier zwei Signale in Form von breiten Singulett für die Protonen an C-5 und 8 (2.53 ppm) bzw. an C-6 und 7 (1.70 ppm) auf. Diese Beobachtung deckt sich mit Ergebnissen von *Boniface*, der ebenfalls eine Hydrierung des unsubstituierten Rings von Chinizarinderivaten mit Wasserstoff an Pd/C feststellen konnte⁹¹.

1.10 Synthese von 1,4,9,10-Tetramethoxyanthracen-Derivaten durch reduktive Methylierung

Für weitere Struktur-Wirkungs-Beziehungen sollte die Bedeutung der Chinonstruktur in Hinblick auf die Aktivität der Verbindungen überprüft werden. Um den Einfluß des Chinonsystems auszuschalten, wählten wir die Methode der reduktiven Methylierung^{125,126}. Unter Phasentransferkatalyse werden Chinone mit Natriumdithionit reduziert und direkt mit Dimethylsulfat methyliert. Die Methode wurde in unserem Arbeitskreis bereits von *Putic* im Rahmen der Synthese von 1,8-Dihydroxyacridinon erfolgreich angewendet¹²⁷. Bei der reduktiven Methylierung des Phenylmethylderivates **59b** nach der in Lit.¹²⁶ beschriebenen Methode erhielten wir die Verbindung **73** (Abb. B-49).

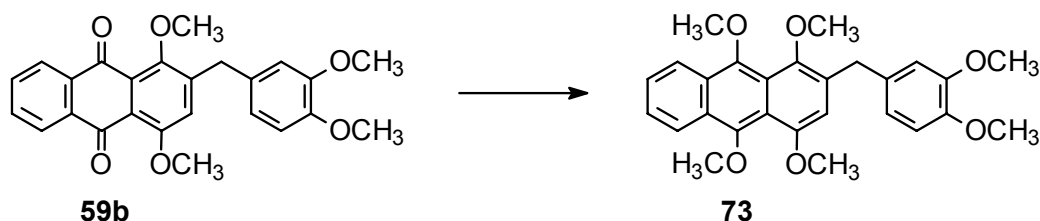


Abb. B-49: Reduktive Methylierung von **59b** zu **73**; Na₂S₂O₄, DMS, Bu₄N⁺Br⁻, KOH, THF, N₂, 0–25 °C.

Die Anwendung dieser Methode auf das Styrylderivat **41** führte allerdings auch nach wiederholten Versuchen nicht zum Erfolg (*Abb. B-50*). Es konnte jeweils nur ein nicht zu trennendes uneinheitliches Produktgemisch isoliert werden. Wir führten daher die reduktive Methylierung auf der Stufe des Aldehyds **29** durch. Das 1,4,9,10-Tetramethoxyanthracenderivat **74** konnte unter Erhalt der 2-Formylgruppe problemlos hergestellt werden. Den resultierenden Aldehyd **74** setzten wir anschließend nach *Horner-Wadsworth-Emmons* mit Diethyl-(3,4-dimethoxybenzyl)-phosphonat (**36**) um und erhielten dabei die Verbindung **75** (*Abb. B-50*).

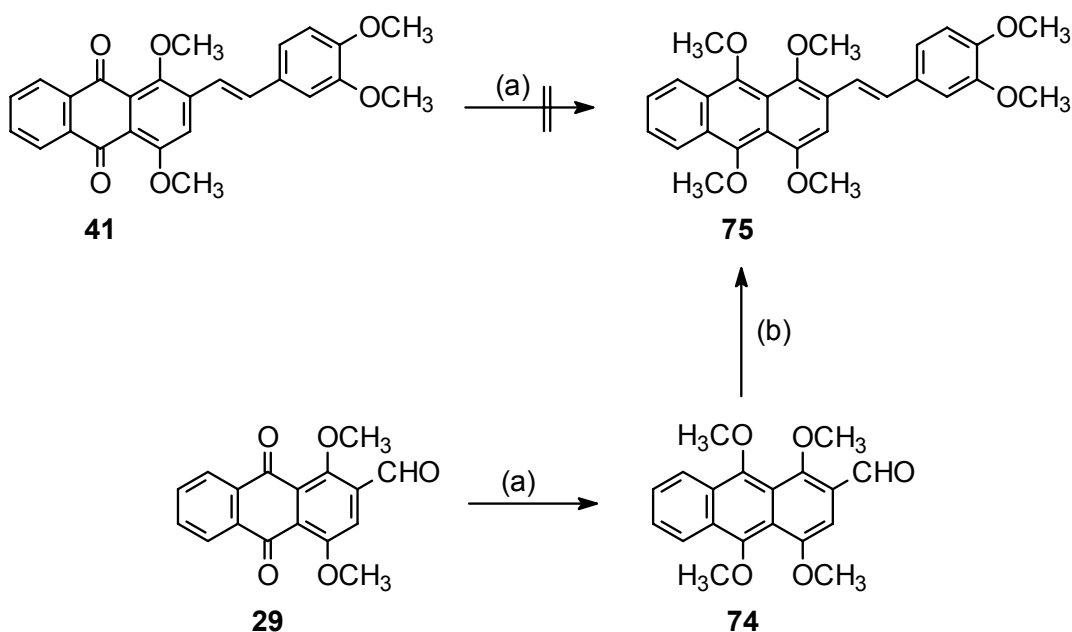


Abb. B-50: Darstellung von **75**; (a) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, DMS, $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{Br}^-$, KOH, THF, N_2 , $0\text{ }^\circ\text{C}$ bis $25\text{ }^\circ\text{C}$; (b) **36**, NaH, DMSO.

1.11 Synthese von 2-(3-Oxo-3-phenyl-(1E)-propenyl)-substituierten Chinizarinderivaten

Das durchgehend konjugierte Doppelbindungssystem sowie die weitgehend planare Struktur der styrylsubstituierten Chinizarinderivate stellen wichtige Strukturmerkmale für die biologische Aktivität unserer Verbindungen dar (*Kap. C-1*). Zur Ergänzung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen sollte das planare System der aktiven Verbindungen durch Einführung einer Carbonylfunktion erweitert werden. Es resultieren Chinizarinderivate mit einer Chalkon-Partialstruktur (*Abb. B-51*). Auch für diese

Verbindungen ist aufgrund der sp^2 -Hybridisierung des eingefügten Carbonylkohlenstoffs eine planare räumliche Struktur anzunehmen. Zudem sind in der Literatur einfach substituierte Chalkonderivate als potente Hemmstoffe des Wachstums von Tumorzellen beschrieben^{128,129}. Dies war ein weiterer interessanter Aspekt, der uns zur Synthese und biologischen Prüfung von Chinizarin-Chalkonderivaten veranlaßte (Abb. B-51).

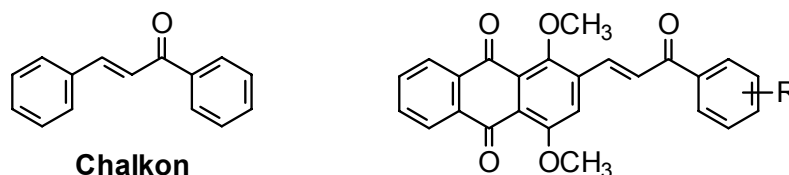


Abb. B-51: Chalkon und geplante Chinizarinderivate.

Bereits 1921 ist die Umsetzung von Anthrachinon-2-carbaldehyd mit Acetophenon und Acetonaphtholderivaten zu vergleichbaren Verbindungen beschrieben worden¹³⁰. Zur Synthese der Chinizarinderivate **76** und **77** verwendeten wir den 2-Carbaldehyd **29** als Ausgangssubstanz. Umsetzung mit Acetophenon bzw. Dimethoxyacetophenon in Methanol unter Zusatz von NaOH führte zu den gewünschten Verbindungen (Abb. B-52). Die von *Ducki et al.*¹²⁹ beschriebenen hohen Ausbeuten bei der Synthese von einfach substituierten Chalkonen konnten wir bei der Herstellung der Anthrachinonderivate **76** (28 %) und **77** (14 %) allerdings nicht erzielen.

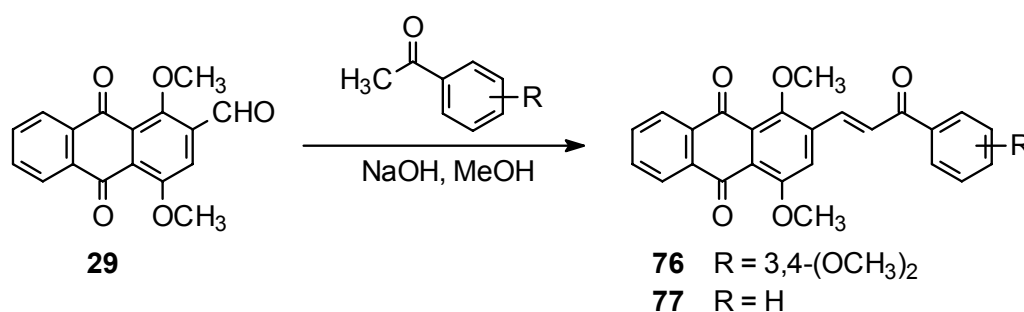


Abb. B-52: Darstellung von **76** und **77**.

2 Derivate des 1,6,8-Trihydroxy-3-methylantrachinons (Frangula-Emodin)

2.1 Einleitung

Neben dem Chinizarin wählten wir das 1,6,8-Trihydroxy-3-methylantrachinon (Frangulaemodin, **78**) als Grundkörper zur Synthese von styrylsubstituierten Anthrachinonderivaten. Als Emodine wurden früher alle laxierend wirkenden Derivate des 1,8-Dihydroxyanthrachinons bezeichnet¹³¹. Entsprechend ihrer biologischen Vorkommen werden heute **78** als Frangula- oder Rheum-Emodin und das 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethylantrachinon **79** als Aloe-Emodin bezeichnet (Abb. B-53). Im folgenden wird das von uns verwendete **78** als Emodin bezeichnet.

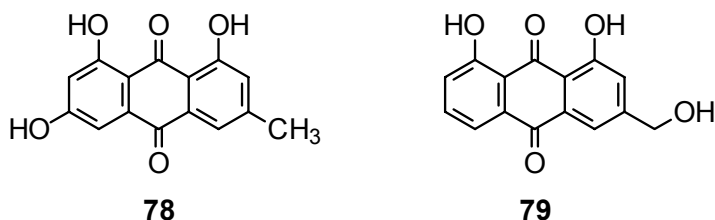


Abb. B-53: Frangula-/Rheum-Emodin (**78**) und Aloe-Emodin (**79**).

Aufgrund seiner vielfältigen biologischen Aktivitäten stellte Emodin eine interessante Grundstruktur für unsere Arbeiten dar. So hemmt Emodin bereits in niedrigen mikromolaren Konzentrationen die Leukozyten-Tyrosinkinase p56^{lck}¹⁴. *Fredenhagen* konnte auch die Hemmung weiterer Proteintyrosinkinasen durch Emodin und Emodinderivate feststellen¹⁶. Ferner wurden an der Methylgruppe substituierte Derivate von Emodin und Emodinmethylethern von *Koyama et al.* als potente Hemmstoffe des Wachstums von HL-60- und L1210-Leukämiezellen beschrieben¹³². In Analogie zu unseren bislang aktivsten Chinizarinderivaten sollten phenylethenylsubstituierte Derivate des Emodintrimethylethers hergestellt und zunächst auf ihre wachstumshemmenden Eigenschaften an K562-Leukämiezellen untersucht werden. Im Unterschied zu den 2-substituierten Chinizarinderivaten sollte die Seitenkette nicht durch *Marschalk*-Alkylierung⁶³, sondern durch Derivatisierung der im Emodinmolekül bereits vorhandenen Methylgruppe eingeführt werden (Abb. B-54).

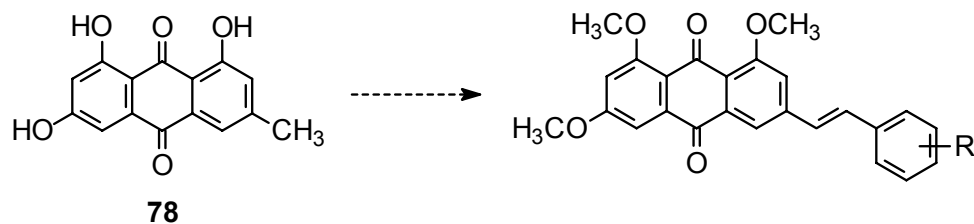


Abb. B-54: Emodin (**78**) und geplante styrylsubstituierte Derivate.

2.2 Synthese des Emodins

Neben der Isolierung von Emodin z. B. aus Rhabarberextrakt¹³³ ist auch eine Vollsynthese des Anthrachinongerüsts möglich. *Savard* beschreibt die Synthese des Emodinmonomethylethers Phycion (**82**) durch Diels-Alder-Reaktion von 3-Chlor-5-hydroxy-7-methoxy-1,4-naphthochinon (**80**) mit 1-Methoxy-3-methyl-1-trimethylsilyloxy-1,3-butadien (**81**) (*Abb. B-55*)¹³⁴. **80** konnten wir in einer vergleichbaren Reaktion ausgehend von 2,6-Dichlorbenzochinon¹³⁵ herstellen (*Kap. B-3.2*). Die benötigte Dienkomponente **81** erhielten wir durch Silylierung von kommerziell erhältlichem Methyl-3,3-dimethylacrylat in hohen Ausbeuten (*Abb. B-55*).

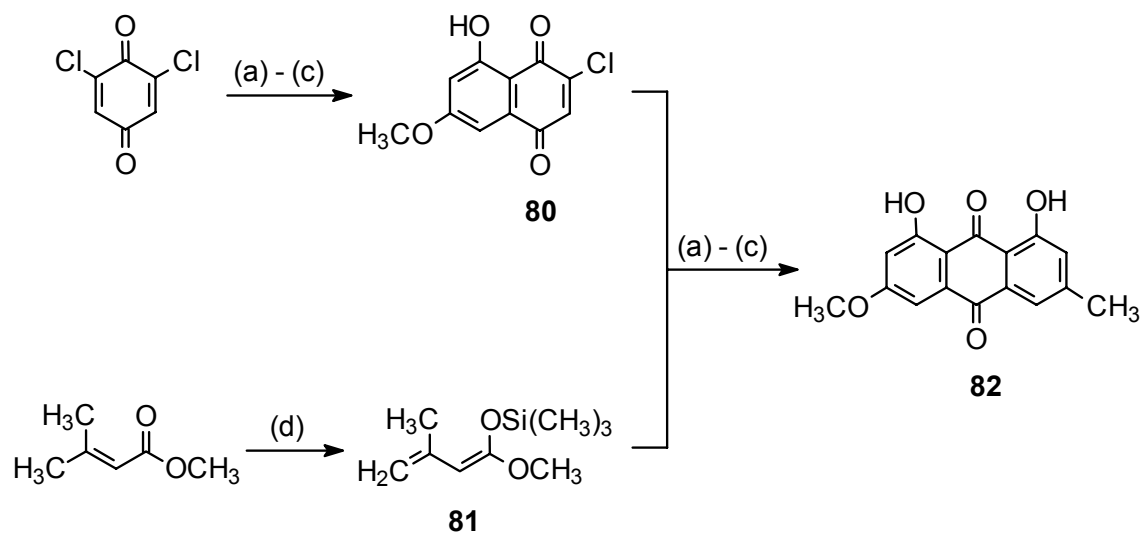


Abb. B-55: Darstellung von **82** (Phycion); (a) THF, RT; (b) 100 °C (Pyrolyse); (c) THF, HCl, ΔT ; (d) LDA, $\text{ClSi}(\text{CH}_3)_3$, -78 bis 25 °C.

2.3 Synthese von 3-[2-(*E*)-Phenylethenyl]-substituierten Emodinderivaten unter Verwendung von Emodin als Ausgangssubstanz

Da die o. a. Synthese des Emodin-Grundgerüsts relativ aufwendig und nicht in allen Schritten gut reproduzierbar war, griffen wir zunächst auf kommerziell erhältliches Emodin (Reag. Ph. Eur., Merck) als Ausgangssubstanz zurück.

Um Nebenreaktionen zu vermeiden, wurden die freien Hydroxygruppen durch Umsetzung mit Dimethylsulfat in Anwesenheit von K_2CO_3 in Aceton vollständig methyliert (Abb. B-56). **83** wurde anschließend mit 1,3-Dibrom-5,5-dimethylhydantoin (DBH) und Benzoylperoxid radikalisch bromiert. Die zugesetzte Menge DBH wählten wir dabei so, daß überwiegend das Dibromid **84** als Reaktionsprodukt isoliert werden konnte (Abb. B-56). Das geminale Dibromid **84** hydrolysierten wir anschließend zum Aldehyd **85** nach der Methode von Krohn⁹⁷, die sich bereits bei der Synthese des Chinizarin-Aldehyds **29** als sehr gut geeignet erwiesen hatte (Kap. B.1.5.2). Dazu behandelten wir **84** mit wässriger Silbernitratlösung unter Lichtausschluß und erhielten den Aldehyd **85** in Ausbeuten von 70–75 % (Abb. B-56). In der Literatur ist **85** als Fallacinaldimethylether beschrieben¹³⁶. Die Herstellung erfolgte dabei ausgehend von Parietin(Phycion, **82**)-diacetat über das entsprechende Anthrachinon-3-carbonsäurechlorid. Der von uns genutzte Syntheseweg ist bisher nicht beschrieben.

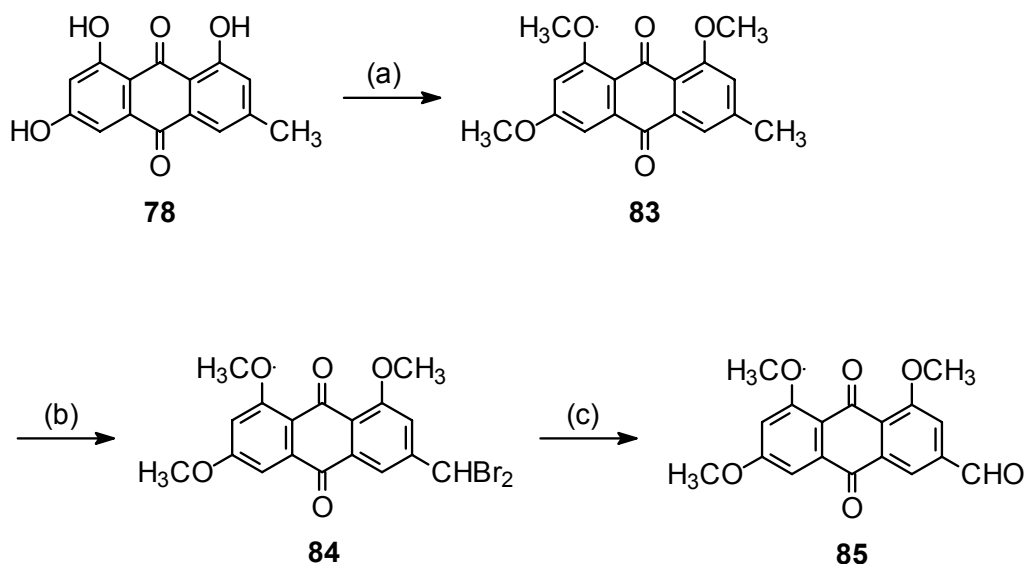


Abb. B-56: Synthese von **85**; (a) DMS, K_2CO_3 , Aceton, ΔT , 24 h; (b) DBH, Bz_2O_2 , THF, ΔT ; (c) THF, $AgNO_3$, H_2O , Lichtausschluß, ΔT , 24 h.

Analog zur Vorgehensweise bei den Chinizarinderivaten setzten wir **85** in einer *Horner-Wadsworth-Emmons*-Olefinierung mit substituierten Benzylphosphonaten um. Die Umsetzung wurde in DMSO mit NaH als Base durchgeführt und lieferte die Verbindungen **86** und **87** in Ausbeuten von 20–25 % (*Abb. B-57*).

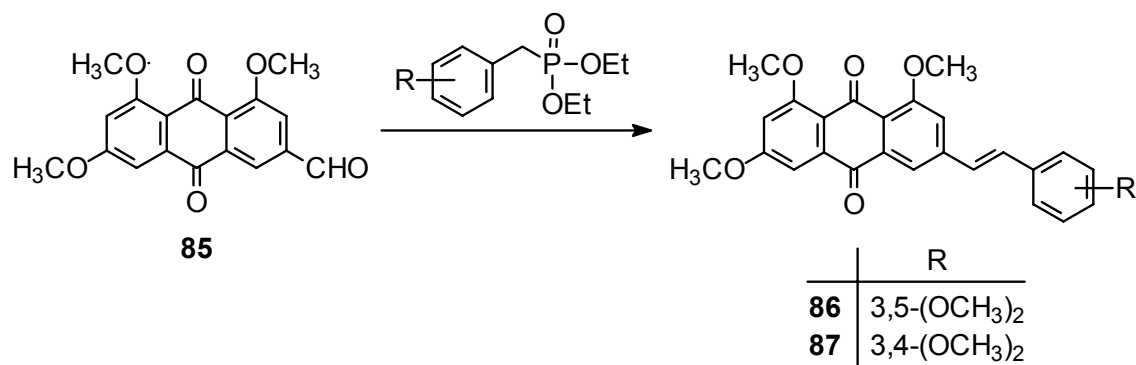


Abb. B-57: Darstellung von **86** und **87**; NaH, DMSO, 50 bis 60 °C.

3 Derivate des 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinons

3.1 Einleitung

Neben Chinizarin und Emodin stellte das 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinon (**88**) im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine weitere interessante Ausgangssubstanz dar.

88 ist als Grundstruktur biologisch aktiver Substanzen bekannt, so z. B. der Paecilochinone A-F, die als potente Hemmstoffe einiger Proteintyrosinkinasen (PTK) beschrieben wurden^{18,19}. Neben der PTK-Aktivität konnte auch das Wachstum von Mausepidermis-Keratinocyten mit IC₅₀-Werten im mikromolaren Bereich gehemmt werden. Ein Alkylsubstituent in Position 2 erwies sich dabei als essentiell für die biologische Aktivität der Paecilochinone¹⁹. In Anlehnung an diese Ergebnisse planten wir, C-2-styrylsubstituierte Derivate von **88** herzustellen (*Abb. B-58*).

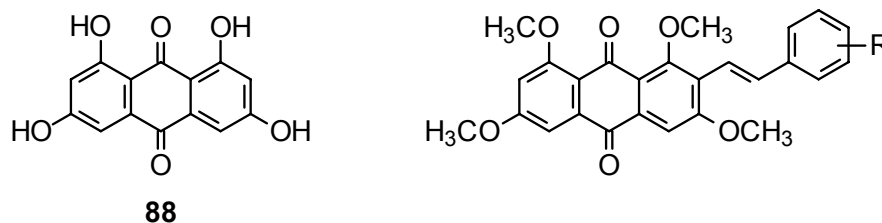


Abb. B-58: 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinon (**88**) und geplante styrylsubstituierte Derivate.

3.2 Synthese des 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinons

Da 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinon kommerziell nicht erhältlich ist, erforderte die Synthese der geplanten Verbindungen zunächst den Aufbau des Tetrahydroxy-substituierten Anthrachinongerüsts. In der Literatur sind dazu verschiedene Synthesewege beschrieben¹³⁷⁻¹⁴³. Am besten geeignet erschien uns zunächst die von *O'Malley et al.* beschriebene Methode¹⁴⁰, die auf einer *Diels-Alder*-Reaktion von 2,6-Dichlorbenzochinon mit 1,3-Bis[(trimethylsilyl)oxy]-1-methoxy-1,3-butadien (**90**) beruht (*Abb. B-59*). Für die Umsetzung in THF bei Raumtemperatur mit anschließender Pyrolyse und Entfernung der Silylschutzgruppen wird eine 50 %ige Ausbeute an 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinon (**88**) beschrieben¹⁴⁰.

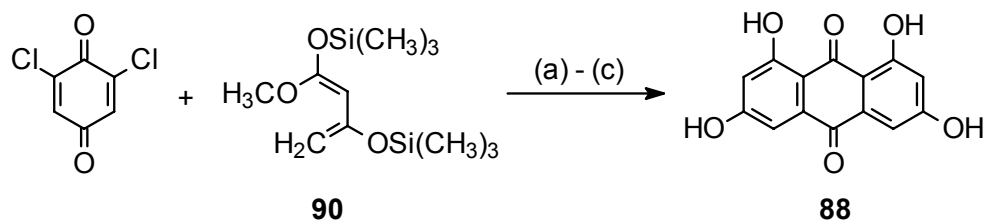


Abb. B-59: Darstellung von **88** nach *O'Malley*¹⁴⁰; (a) THF, N₂, -78 bis 25 °C; (b) 120 °C (Pyrolyse); (c) MeOH/HCl, ΔT.

Das Butadienderivat **90** sollte durch zweistufige Silylierung von Methylacetoacetat nach Enolisierung hergestellt werden (*Abb. B-60*). Ausgehend von Methylacetoacetat konnten wir mit Hexamethyldisilazan^{144,145} in Anwesenheit von Imidazol das monosilylierte Derivat **89** als Rohprodukt erhalten. Die von *Yamamoto*¹⁴⁶ beschriebene anschließende Silylierung der Estercarbonylgruppe mit Chlortrimethylsilan und Lithiumdiisopropylamid (LDA) als Base in THF konnten wir in unseren Versuchen nicht reproduzieren.

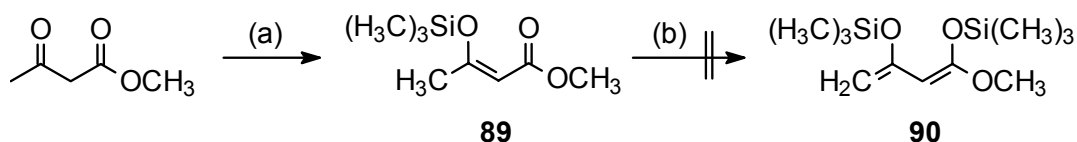


Abb. B-60: Versuch der Synthese von **90**; (a) THF, Hexamethyldisilazan, Imidazol, ΔT; (b), THF, LDA, ClSi(CH₃)₃, -78 bis 25 °C.

Wir erhielten lediglich ein nicht zu identifizierendes heterogenes Gemisch. Die Umsetzung dieses Rohprodukts mit Dichlorbenzochinon analog *O'Malley*¹⁴⁰ führte zu einem uneinheitlichen Produktgemisch, aus dem wir 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinon (**88**) nicht isolieren konnten. Aus Zeitgründen wurde dieser Syntheseweg nicht weiter verfolgt.

Als geeignete Edukte zur Darstellung von Anthrachinonderivaten sind Halogen-Naphthochinone insbesondere von *Brassard et al.* eingehend untersucht worden^{134,137,147-154}. Durch *Diels-Alder*-Reaktion der Naphthochinonderivate mit verschiedenen Vinylketenacetalen konnten zahlreiche in der Natur vorkommende

Anthrachinone synthetisiert werden. Die Addition von Vinylketenacetalen an Naphthochinone verläuft dabei regioselektiv^{134,137,147-156}. *Abb. B-61* stellt die Methode am Beispiel der Synthese von 1,8-Dihydroxy-3-methylanthrachinon (Chrysophanol) dar¹⁴⁹.

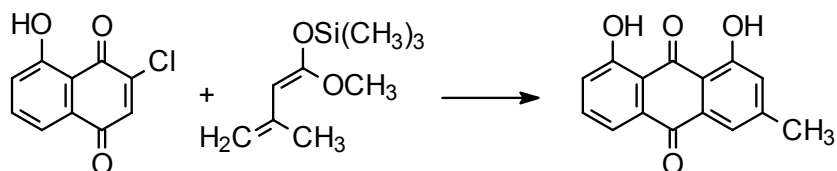


Abb. B-61: Synthese von Chrysophanol nach *Savard*¹⁴⁹.

Die benötigten Naphthochinonderivate können durch analoge Reaktionen mit Benzochinonen als Ausgangsmaterial hergestellt werden. So beschreiben *Savard* und *Brassard*¹⁴⁹ die Synthese von 2-Chlor-8-hydroxy-6-methoxy-1,4-naphthochinon (**80**) durch Umsetzung von 2,6-Dichlorbenzochinon¹³⁵ mit 1,3-Dimethoxy-1-trimethylsilyloxy-1,3-butadien (**92**) in einer Ausbeute von 93 % (*Abb. B-63*). **92** konnten wir ausgehend von Methylacetoacetat in einer zweistufigen Synthese herstellen (*Abb. B-62*). Methylierung von Methylacetoacetat mit Trimethylorthoformiat^{134,157} lieferte uns **91** in hohen Ausbeuten (90 %). Durch Silylierung von **91** mit Chlortrimethylsilan nach Enolisierung mit LDA¹³⁴ konnten wir das gewünschte Butadienderivat **92** in einer Ausbeute von 43 % erhalten. Dieser Silylierungsschritt war allerdings nicht vollständig reproduzierbar.

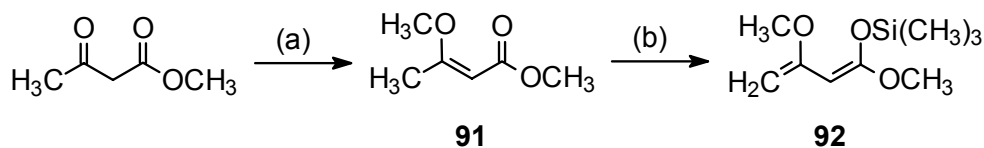


Abb. B-62: Darstellung des Butadienderivates **92**.

Durch Umsetzung von **92** mit 2,6-Dichlorbenzochinon¹³⁵ konnten wir das Chlornaphthochinonderivat **80** in Ausbeuten von 40–50 % herstellen (*Abb. B-63*). *Savard*¹⁴⁹ beschreibt deutlich bessere Ausbeuten bei einer Reaktionstemperatur von

-30 °C. Im Rahmen dieser Arbeit verzichteten wir jedoch zunächst auf weitere Versuche zu Optimierung der Synthese von **80**.

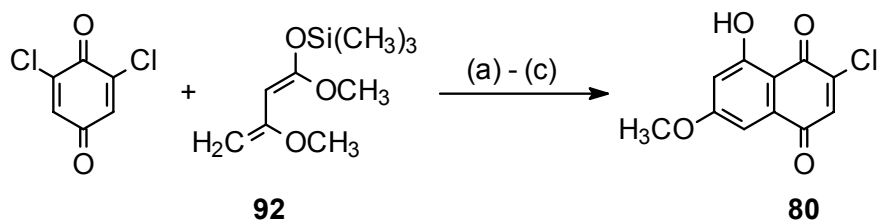


Abb. B-63: Synthese von **80**; (a) THF, RT; (b) 100 °C (Pyrolyse); (c) THF, HCl, ΔT.

Grandmaison konnte durch Umsetzung von 2-Chlor-6,8-dimethoxynaphthochinon mit 1,1-Dimethoxy-3-trimethylsilyloxybutadien in hohen Ausbeuten 3-Hydroxy-1,6,8-trimethoxyanthrachinon herstellen (*Abb. B-64*), das in der Folge zum Tetramethoxyderivat methyliert wurde ¹⁵⁰.

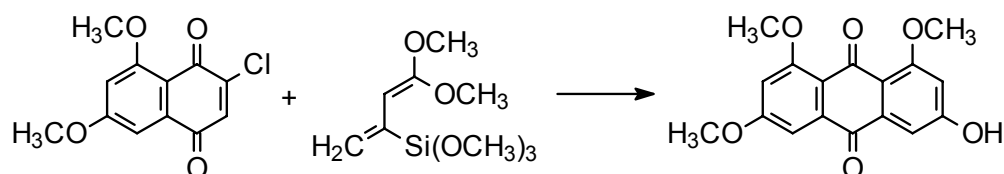


Abb. B-64: Darstellung von 3-Hydroxy-1,6,8-trimethoxyanthrachinon nach *Grandmaison*¹⁵⁰.

Iwao beschreibt die Reaktion von **92** mit einem Naphthochinon-2-sulfoxid, die ebenfalls zu methylierten Derivaten von 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinon führt (*Abb. B-65*)¹⁴².

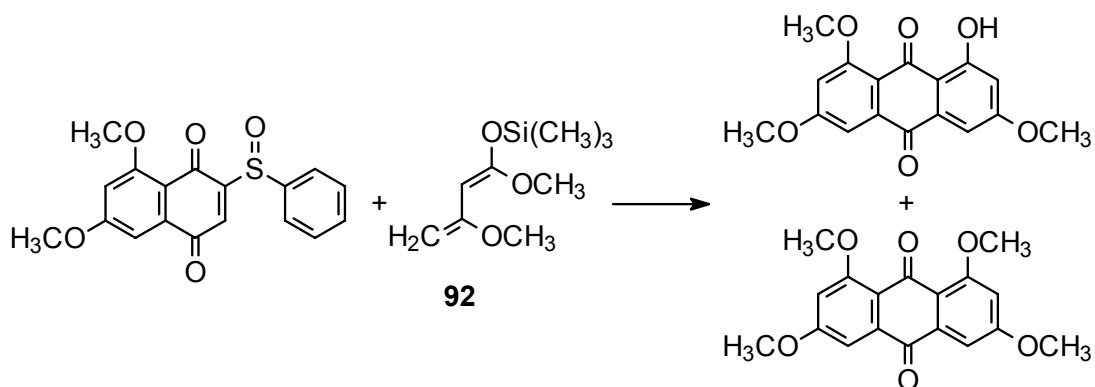


Abb. B-65: Darstellung von methylierten Derivaten des 1,3,6,8-Tetrahydroxy-anthrachinons nach *Iwao*¹⁴².

Wir setzten in einer vergleichbaren Reaktion **80** erneut mit dem Dien **92** um und konnten dadurch 1,8-Dihydroxy-3,6-dimethoxyanthrachinon (**93**) in einer Ausbeute von 20 % erhalten (*Abb. B-66*). Diese Synthese ist in der Literatur bisher nicht beschrieben. Die direkte Synthese von **93** durch Umsetzung von 2,6-Dichlorbenzochinon mit einem Überschuß **92** erscheint in Anlehnung an die Arbeit von *Grandmaison*¹⁵⁰ möglich, wurde aber an dieser Stelle nicht untersucht.

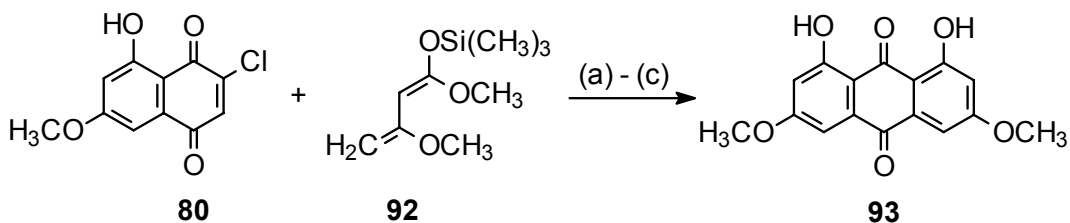


Abb. B-66: Darstellung von **93**; (a) THF, RT; (b) 100 °C (Pyrolyse); (c) THF, HCl, ΔT .

Für die Umsetzung von Halogen-Naphthochinonen zu Anthrachinonderivaten sind neben den Vinylketenacetalen auch einfach substituierte Ketendialkylacetale als geeignete Reagenzien beschrieben^{137,148,158}. *Cameron et al.* beschreiben beispielsweise die Synthese von 1,3,6,8-Tetramethoxyanthrachinon aus 3-Brom-5,7-dimethoxy-naphthochinon und Ketendimethylacetal¹³⁷. *Banville et al.* nutzten das analoge Diethylacetal zur Umsetzung von unterschiedlich substituierten Chlornaphthochinonen zu Anthrachinonderivaten.¹⁴⁸. Entsprechend der oben beschriebenen Reaktion mit

Vinylketenacetalen gilt auch die Addition von Ketendimethyl- und -diethylacetal an Chinonderivate als regioselektiv^{137,148,159,160}. Wir setzten **80** mit kommerziell erhältlichem Ketendiethylacetal um und konnten dadurch das in der Literatur bisher nicht beschriebene 1,3-Diethoxy-8-hydroxy-6-methoxyanthrachinon (**94**) in Ausbeuten bis zu 50 % erhalten (*Abb. B-67*).

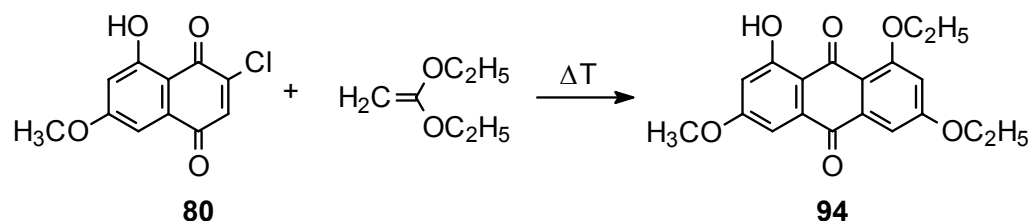


Abb. B-67: Darstellung von **94**.

Im Gegensatz zu **93** weist **94** lediglich eine freie Hydroxygruppe in peri-Stellung zur Carbonylfunktion auf. Dadurch sollte eine selektive Monoalkylierung nach *Marschalk*⁶³ möglich sein. Die Verwendung von **93** hingegen hätte die selektive Methylierung einer der beiden Hydroxygruppen erfordert. Dieses sollte aber analog beschriebener Methoden zur Monomethylierung von 1,8-Dihydroxyanthrachinon^{66,88,161} möglich sein.

3.3 Versuche zur Etherspaltung an **94**

Um die tatsächliche Konstitution der synthetisierten Tetrahydroxyanthrachinonderivate zu überprüfen, war die Spaltung der Ethyl- und Methylether von **94** erforderlich (s. *Kap. B-3.4*). Wir untersuchten zu diesem Zweck verschiedene Methoden der Etherspaltung (*Abb. B-68*). Die Umsetzung mit Bortribromid¹⁰⁸ in CH_2Cl_2 führte nicht zum Erfolg. Nach einer Reaktionszeit von 24 h konnte nur das Edukt **94** isoliert werden. Bei Behandlung von **94** mit HBr in Eisessig¹⁰⁸ konnten wir bereits nach 20 min vollständige Umsetzung des Eduktes feststellen und als Produkt 3-Ethoxy-1,8-dihydroxy-6-methoxyanthrachinon (**95**) in hoher Ausbeute (87 %) isolieren. Die vollständige Spaltung der Ether in **94** zur Herstellung von 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinon (**88**) erforderte eine Reaktionszeit von 24 h. Alternativ erhielten wir **88** aus der Schmelze von **94** mit einer Mischung aus AlCl_3 und NaCl ¹³⁹ (*Abb. B-68*).

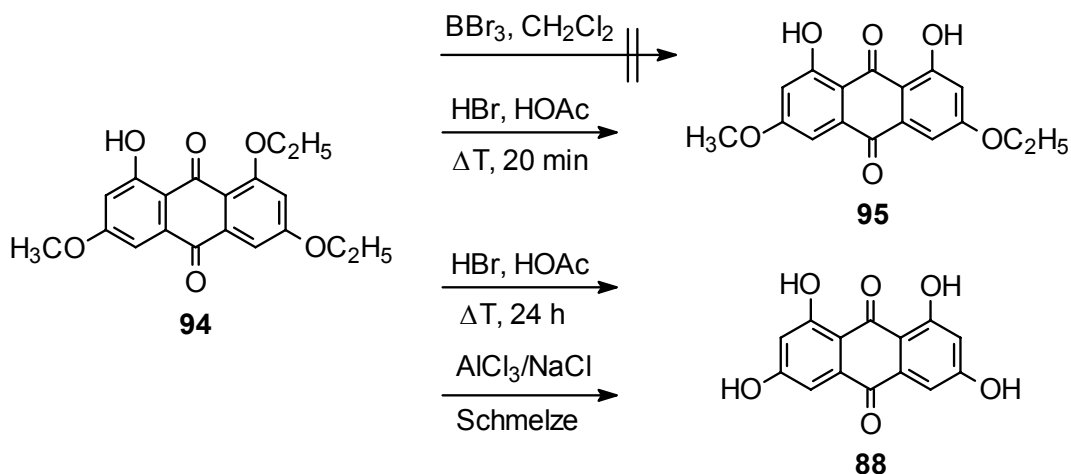


Abb. B-68: Versuche zur Etherspaltung an **94**.

3.4 Konstitution der synthetisierten Tetrahydroxyanthrachinon-Derivate

Die Addition von Ketenacetalen an halogenierte Chinone verläuft nach Literaturangaben regiospezifisch^{134,137,147-154,159,160}. Demzufolge war als Produkt des von uns genutzten Syntheseweges ausschließlich die Verbindung **94** mit 1,3,6,8-Tetraoxy-Substitution zu erwarten. Um dieses Substitutionsmuster zu verifizieren, wurde das Tetrahydroxyanthrachinon **88** durch Etherspaltung aus **94** hergestellt (Kap. B-3.3). **88** sollte spektroskopisch mit dem theoretisch denkbaren Konstitutionsisomer 1,3,5,7-Tetrahydroxyanthrachinon (**96**) verglichen werden. **96** konnten wir durch Kondensation aus 3,5-Dihydroxybenzoesäure herstellen (Abb. B-69)⁸².

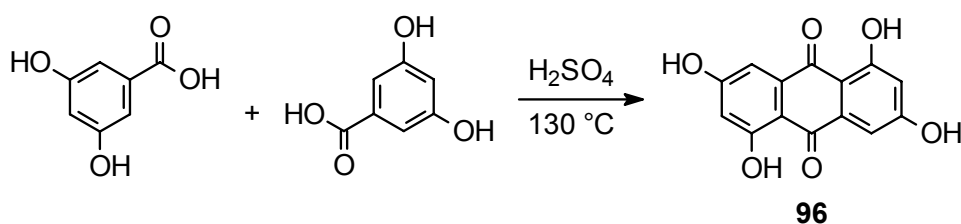


Abb. B-69: Darstellung von **96** aus 3,5-Dihydroxybenzoesäure.

96 weist zwei chemisch äquivalente Carbonylgruppen auf, die jeweils mit einer benachbarten OH-Gruppe Wasserstoffbrückenbindungen eingehen (Abb. B-70). Demgegenüber sind die Carbonylfunktionen von **88** nicht äquivalent. Während eine

Carbonylfunktion von zwei benachbarten OH-Gruppen chelatisiert wird, liegt die andere in freier Form vor (*Abb. B-70*). Diese Unterschiede in der Charakteristik der Carbonylgruppen lassen eine Differenzierung von **88** und **96** durch spektroskopische Untersuchungen zu. Die Verbindungen konnten nicht über ihren Schmelzpunkt unterschieden werden. In Übereinstimmung mit Literaturangaben^{82,140} schmelzen weder **88** noch **96** unterhalb von 350 °C.

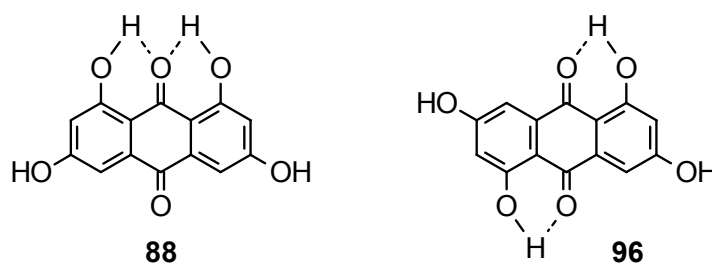


Abb. B-70: 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinon (**88**) und 1,3,5,7-Tetrahydroxyanthrachinon (**96**).

Das IR-Spektrum von **96** zeigte einen Peak bei einer Wellenzahl von 1615 cm^{-1} , der einer chelatisierten Carbonylfunktion entspricht. Bei **88** trat zusätzlich zum Peak bei 1615 cm^{-1} ein weiteres Signal bei 1673 cm^{-1} für eine nicht chelatisierte Carbonylgruppe auf. Die ^{13}C -NMR-Spektren verdeutlichten diese Beobachtung (*Abb. B-71*). Während im Spektrum von **96** ein gemeinsames Signal für die äquivalenten Carbonylkohlenstoffatome C-9 und C-10 auftrat (184.88 ppm), waren bei **88** zwei Carbonyl-Signale bei unterschiedlichen chemischen Verschiebungen (188.55 ppm und 181.26 ppm) zu beobachten. Damit konnten wir zeigen, daß der von uns genutzte Syntheseweg (*Kap. B-3.2*) regioselektiv zu Derivaten des 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinons führt.

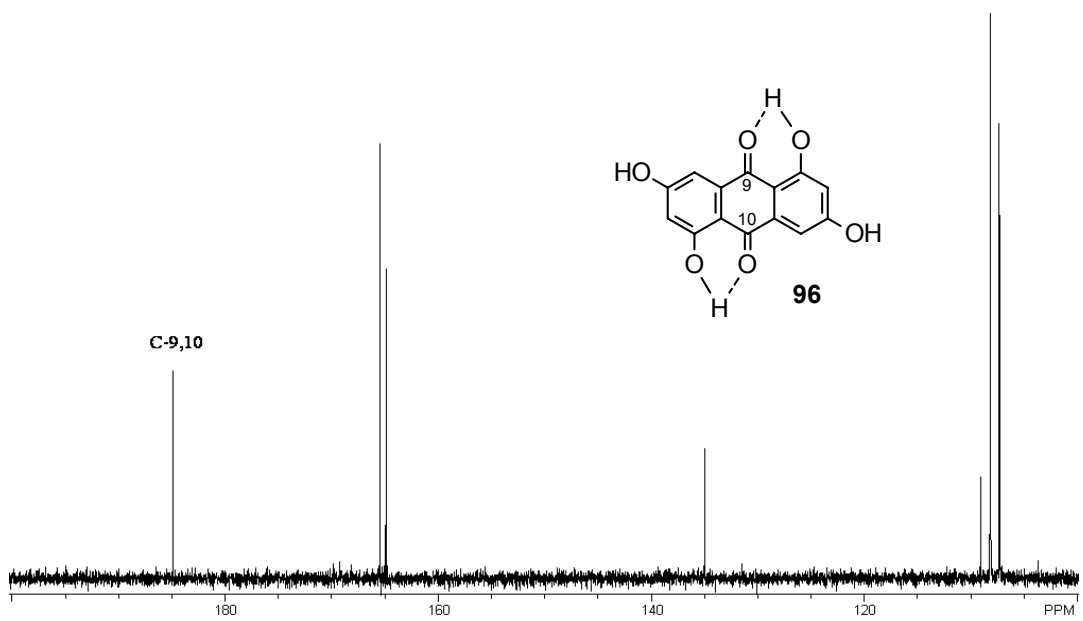
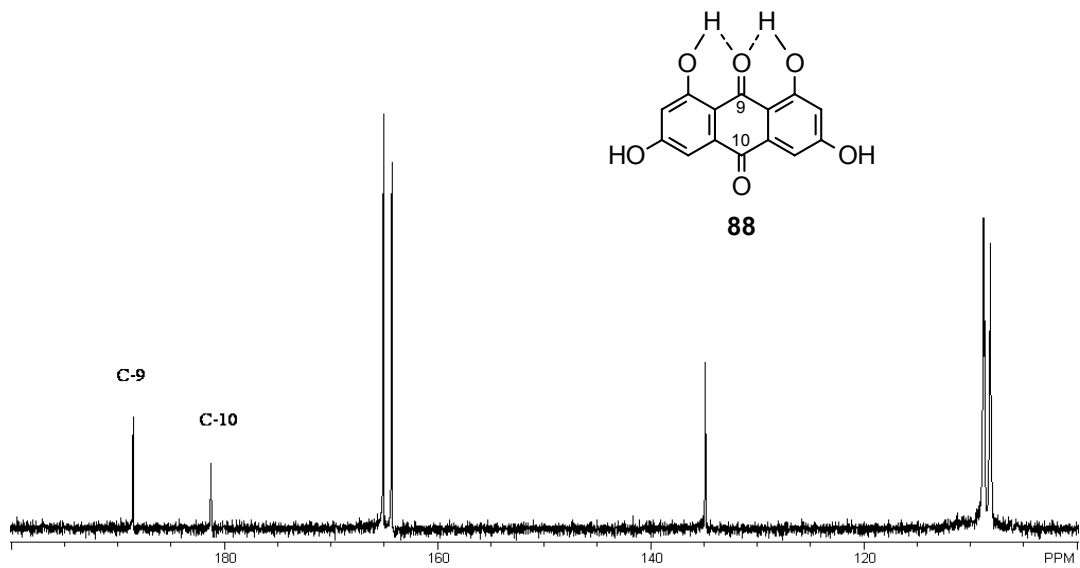


Abb. B-71: ^{13}C -NMR-Spektren der Konstitutionsisomere **88** und **96** ($\text{DMSO}-d_6$).

3.5 Einführung von Substituenten in *ortho*-Stellung zur freien Hydroxygruppe

Als Anthrachinon mit peri-ständiger Hydroxygruppe konnte **94** nach Marschalk⁶³ selektiv in *ortho*-Position zur Hydroxygruppe alkyliert werden (vgl. Kap. B-1.2.1). Wir setzten **94** dazu mit Formaldehyd bei 90 °C um und isolierten das Methylderivat **97** in guter Ausbeute (68 %) (Abb. B-72). Methylierung der freien Hydroxygruppe von **97** mit Dimethylsulfat führte zur Verbindung **98**. Die Methylgruppe in **98** konnte anschließend mit 1,3-Dibrom-5,5-dimethylhydantoin in Anwesenheit von Benzoylperoxid zum Brommethylderivat **99** bromiert werden (Abb. B-72).

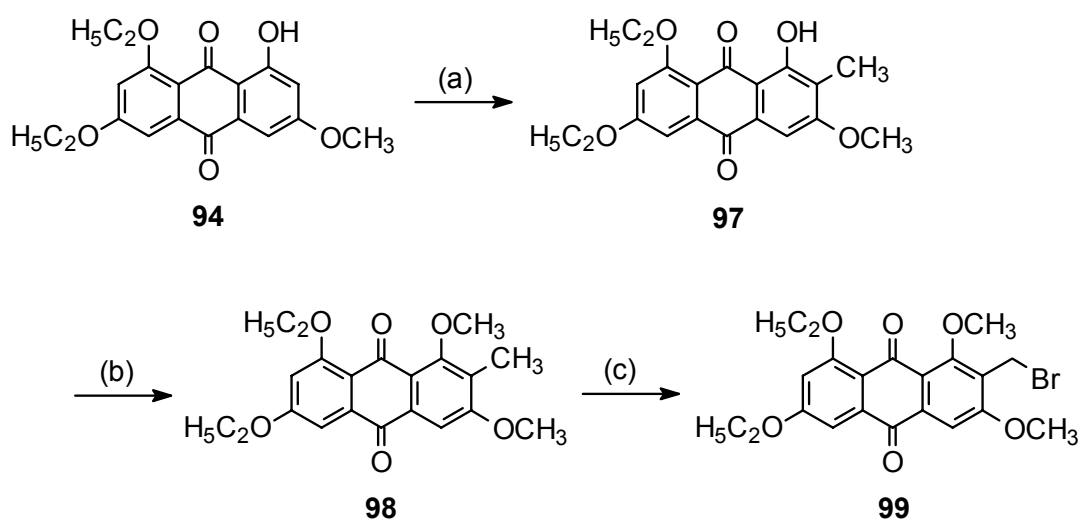


Abb. B-72: Darstellung von **97**, **98** und **99**; (a) NaOH, Na₂S₂O₄, CH₂O, 90 °C; (b) DMS, K₂CO₃, Aceton, ΔT; (c) CCl₄, DBH, Bz₂O₂, ΔT.

Aufgrund des aufwendigen Syntheseweges konnten wir die Arbeiten im zeitlichen Rahmen dieser Dissertation nicht mehr abschließen. Sie sind Gegenstand laufender Untersuchungen.

C Biochemischer Teil

1 Prüfung auf antiproliferative Aktivität an K562-Leukämiezellen

1.1 Einführung

Eine Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestand darin, die hergestellten Verbindungen auf ihre biologischen und chemischen Eigenschaften zu untersuchen. Im Vordergrund stand die Prüfung auf wachstumshemmende Eigenschaften gegenüber Tumorzellen.

Für diese Untersuchungen nutzten wir zunächst die humane Leukämiezelllinie K562, die uns aufgrund verschiedener Eigenschaften als ein geeignetes Testmodell zur Prüfung unserer Verbindungen erschien. Die K562-Zellen wurden 1970 aus dem Pleuraerguß einer 53jährigen Frau mit chronisch myeloischer Leukämie (CML) im terminalen Myeloblastenschub gewonnen und kultiviert¹⁶². Die in Suspension wachsenden Zellen (*Abb. C-1*) sind in den nachfolgenden Jahren intensiv auf ihre Eigenschaften und ihren zytogenetischen Ursprung hin untersucht worden¹⁶³⁻¹⁶⁹.

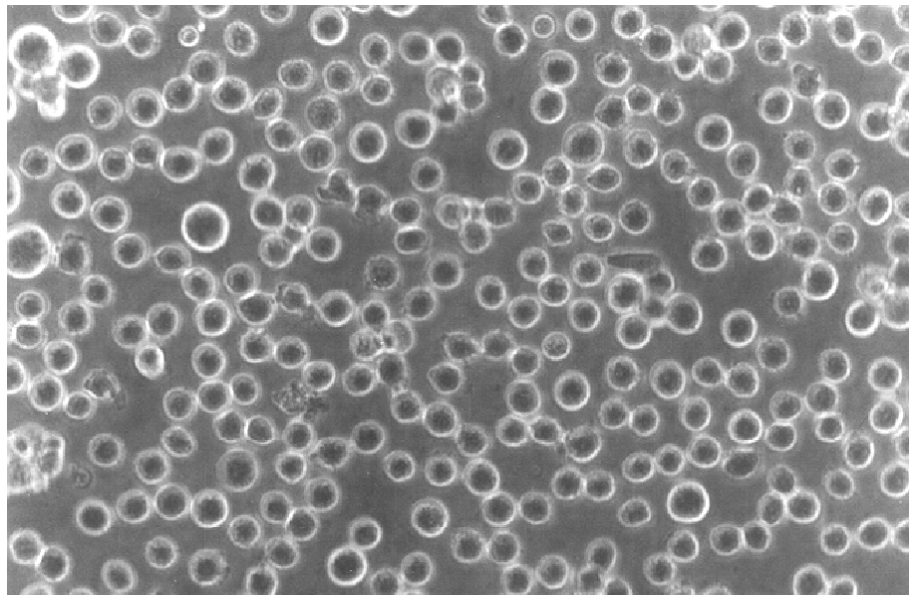


Abb. C-1: K562-Zellen, phasenkontrastmikroskopische Aufnahme.

Bei der K562-Zelllinie handelt es sich weder um B- noch um T-Lymphozyten¹⁶³, sie produzieren keine Immunglobuline und besitzen keine Komplement-Rezeptoren^{162,164}.

Die Zellen zeigen erythroide Eigenschaften (Lit.¹⁶⁸ und dort zitierte Literatur). *Andersson et al.* haben auf der Oberfläche von K562-Zellen eine starke Expression von Glycophorin A festgestellt, das als spezifischer Marker für Zellen aus der erythroiden Linie gilt¹⁶⁸. Als weiterer Beleg für die erythroiden Eigenschaften der K562-Zelllinie gilt die Tatsache, daß die Zellen z. B. durch Na-Butyrat zur Differenzierung angeregt werden können und daß die ausdifferenzierenden Zellen Hämoglobin produzieren und akkumulieren¹⁷⁰. Diese Induzierbarkeit der Differenzierung hat die Zellen zu einem attraktiven Untersuchungsobjekt in mehreren tausend Arbeiten gemacht.

Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Verbindungen weisen eine Anthrachinonstruktur auf. Somit könnte ein enzymabhängiger Redoxzyklus im Zusammenhang mit der biologischen Aktivität der Substanzen stehen. K562-Zellen besitzen die NADPH-Cytochrom-c(Cytochrom P450)-Reduktase als eines der wichtigsten Enzyme zur Einelektronen-Reduktion von Chinonen^{171,172} sowie die NAD(P)H:Chinon-Oxidoreduktase (DT-Diaphorase), die die Zweielektronen-Reduktion von Chinonen zu Hydrochinonen katalysiert. Die DT-Diaphorase kann Zellen vor den toxischen Effekten von Chinonen schützen, wird aber vor allem auch mit der reduktiven Bioaktivierung verschiedener Zytostatika mit Chinonstruktur in Verbindung gebracht^{39,173-176}. Die Aktivität der NADPH-Cytochrom-c-Reduktase ihrerseits wird mit der Aktivierung beispielsweise von zytotoxischen Indolchinonen¹⁷⁷ korreliert und ist offenbar an der Entstehung von DNA-Strangbrüchen unter Einwirkung von Chinonen beteiligt¹⁷². In dieser besonderen Enzymausstattung der K562-Zellen lag somit ein weiterer Grund, diese Zelllinie als initiales Testsystem zur Prüfung unserer Verbindungen auszuwählen.

Als weiteres Charakteristikum besitzen die K562-Zellen das Philadelphia-Chromosom (Ph¹), das auch nach Kultivierung über mehrere Jahre noch in den Zellen nachweisbar ist¹⁶². Das Philadelphia-Chromosom ist als zytogenetischer Defekt bei mehr als 90 % der CML-Patienten in allen myeloischen Zellen nachweisbar und stellt damit einen wichtigen Marker zur Diagnose der CML dar¹⁷⁸. Es resultiert aus einer Translokation zwischen Chromosom 9 und Chromosom 22 und ist Träger des chimären bcr-abl-Gens, das für ein Protein mit erhöhter Tyrosinkinaseaktivität (BCR-ABL-Tyrosinkinase) kodiert. Die neoplastische Transformation zahlreicher menschlicher Tumore wird mit aktivierten Onkogenen in Verbindung gebracht wird. Für die humane CML diskutiert man eine Aktivierung des abl-Onkogens¹⁷⁹. In K562-Zellen findet man ein strukturell verändertes c-abl Protein (p210^{c-abl}), das hohe Protein-Tyrosinkinase-Aktivität aufweist. Tyrosinkinase-Hemmstoffe wie Herbimycin, Genistein und Erbstatin führen bei K562-Zellen zur Differenzierung, die mit einer Benzidin-Färbung nachgewiesen werden kann^{180,181}. *Honma et al.* zeigen damit, daß die Hemmung der abl-Tyrosinkinase

möglicherweise eng mit der Induktion erythroider Differenzierung von K562-Zellen verknüpft ist und Tyrosinkinasehemmer daher als Chemotherapeutika bei einigen multiresistenten Leukämieformen in Frage kommen könnten¹⁸¹. Derartige Tyrosinkinaseinhibitoren könnten neben einer Verminderung der Zellproliferation auch eine Apoptose-Induktion als Wirkprinzip haben, da gezeigt werden konnte, daß abl-Tyrosinkinase-Aktivität mit der Hemmung von Apoptose verbunden ist¹⁸².

1.2 Testsystem

Die K562-Zellen werden in RPMI 1640-Medium, supplementiert mit 10 % FCS und 1 % Penicillin-Streptomycin-Lösung, bei einer Inkubationstemperatur von 37 °C und einem CO₂-Gehalt von 5 % kultiviert. Etwa alle 48–72 h wird eine Subkultivierung vorgenommen. Zur Prüfung auf antiproliferative Aktivität werden die Zellen nach Einstellung einer definierten Zelldichte mit den Testsubstanzen für die Dauer von 48 h inkubiert. Verwendet werden Stammlösungen der Verbindungen in einem Gemisch aus DMSO und Methanol (1:1). Zur Überprüfung des Zellwachstums sowie zum Ausschluß eines Lösungsmittelleffektes werden Kontrollkavitäten ausschließlich mit der Zellsuspension bzw. mit Zellsuspension und Lösungsmittel versetzt. Die im Endbehältnis resultierenden DMSO- und Methanolkonzentrationen von jeweils 0,5 % erwiesen sich dabei als nicht zelltoxisch und blieben ohne Einfluß auf die Zellproliferation. In bezug auf DMSO wird diese Beobachtung durch Literaturangaben bestätigt¹⁸³. Nach einer Inkubationszeit von 48 h werden die Zellen unter dem Phasenkontrastmikroskop mit Hilfe eines Hämocytometers ausgezählt.

1.3 Bestimmung der IC₅₀-Werte

Der IC₅₀-Wert stellt in unserem Fall die Substanzkonzentration dar, bei der die Zelldichte nach beendeter Inkubationszeit (48 h) um 50 % gegenüber der Kontrolle reduziert ist. Zur Bestimmung der IC₅₀-Werte werden die K562-Zellen in einer Verdünnungsreihe mit sechs verschiedenen Konzentrationen der Verbindungen inkubiert. Nach beendeter Inkubationszeit wird der prozentuale Anteil der vorhandenen Zellen, bezogen auf die Zellzahl in den Kontrollkavitäten, gegen die Konzentration der Testverbindung halblogarithmisch aufgetragen. Der IC₅₀-Wert wird graphisch ermittelt (*Abb. C-2*).

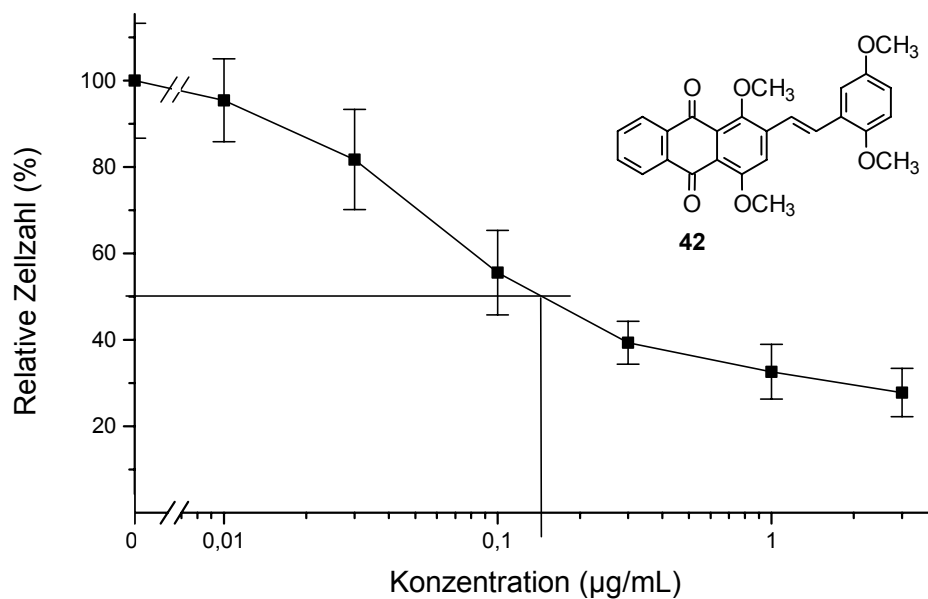


Abb. C-2: Bestimmung des IC_{50} -Wertes von 42.

1.4 Antiproliferative Aktivität der phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivate

Die phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivate wurden wie beschrieben auf ihre antiproliferative Aktivität untersucht. Als Referenzsubstanzen wurden neben den pharmazeutisch bedeutsamen Zytostatika Doxorubicin und Mitoxantron auch die literaturbekannten Anthrachinone Damnacanthal und Emodin (vgl. Kap. A-1.2.1) herangezogen (Abb. C-3).

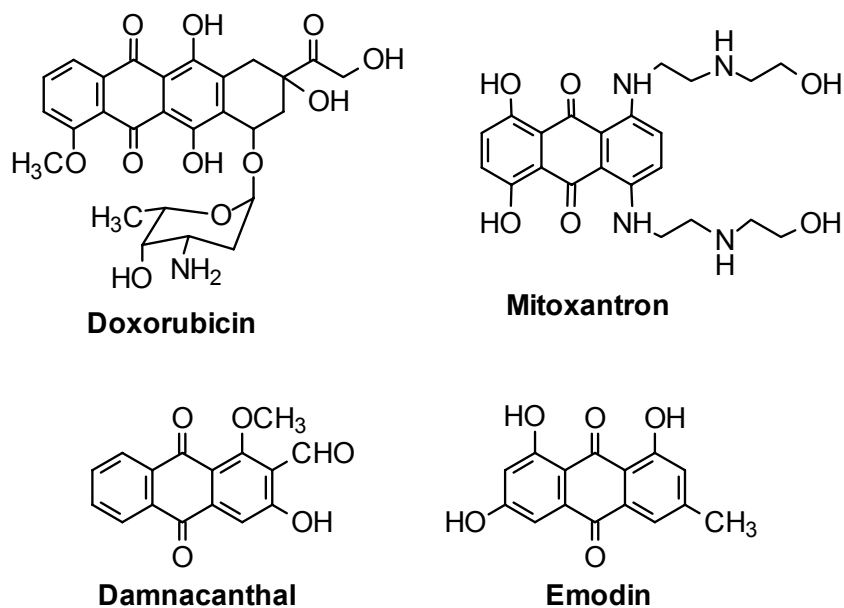
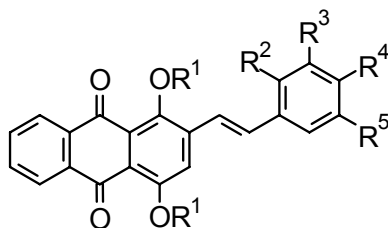


Abb. C-3: Referenzsubstanzen für die Prüfung auf antiproliferative Aktivität.

Die Ergebnisse sind in *Tab. C-1* dargestellt. Die IC_{50} -Werte resultieren aus mindestens zwei und bei den aktivsten Verbindungen aus mindestens drei Bestimmungen.

Unter den styrylsubstituierten Chinizarinderivaten befinden sich einige sehr aktive Substanzen mit IC_{50} -Werten $< 1 \mu\text{M}$, während andere nahezu unwirksam sind. Fast alle getesteten Substanzen weisen im Anthrachinonteil 1,4-Dimethoxy-Substitution auf und unterscheiden sich lediglich im Substitutionsmuster der Styrylseitenkette. Die wirksamsten Verbindungen mit IC_{50} -Werten $< 1 \mu\text{M}$ sind am Styrylrest OH- und/oder OCH_3 -substituiert (**41**, **42**, **54-56**). Lediglich **53**, die MOM-geschützte Vorstufe von **54**, weist eine etwas andere Substitution auf. Auch die am Styrylrest unsubstituierte Substanz **38** sowie die wiederum methoxysubstituierten Derivate **24**, **39**, und **40** sind mit IC_{50} -Werten von 1.2 bis $2.3 \mu\text{M}$ noch gut antiproliferativ wirksam. Andere Substituenten am Styrylrest bedingen eine teilweise drastisch verminderte Wirksamkeit. So sind die chlosubstituierten Verbindungen **25** und **43** mit IC_{50} -Werten von 6.3 bzw. $14.7 \mu\text{M}$ noch mäßig aktiv, während die Verbindungen **26-28**, deren Styrylrest in 4-Position CN -, COOCH_3 - bzw. NO_2 - substituiert ist, als unwirksam betrachtet werden müssen.

Tab. C-1: IC₅₀-Werte der phenylethylenylsubstituierten Chinizarinderivate (K562-Zellen).



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	IC ₅₀ (μM)
24	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	1.9
25	CH ₃	H	Cl	H	Cl	14.7
26	CH ₃	H	H	COOCH ₃	H	> 70
27	CH ₃	H	H	NO ₂	H	> 72
28	CH ₃	H	H	CN	H	> 76
38	CH ₃	H	H	H	H	2.2
39	CH ₃	H	H	OCH ₃	H	2.3 ¹⁸⁴
40	CH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	1.2 ¹⁸⁴
41	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	0.7
42	CH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃	0.5
43	CH ₃	H	H	Cl	H	6.3
47	H/CH ₃	H	H	OCH ₃	H	17.6
48	H	H	H	OCH ₃	H	> 80
49	H	H	OH	H	OH	9.6 ¹⁸⁴
53	CH ₃	H	OMOM	OMOM	H	0.9
54	CH ₃	H	OH	OH	H	0.4
55	CH ₃	H	H	OH	H	0.3
56	CH ₃	H	OH	OCH ₃	H	0.7
Emodin						25.9 ¹⁸⁴
Damnacanthal						28.0 ¹⁸⁴
Mitoxantron						0.004
Doxorubicin						0.01 ¹⁸⁴

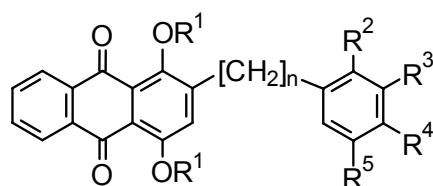
Etherspaltungen im Anthrachinonteil von **39** führen zu verminderter Wirksamkeit bei **47** ($IC_{50} = 17.6 \mu\text{M}$) und völligem Wirkverlust bei **48** ($IC_{50} > 80 \mu\text{M}$), wobei dies auch mit einer deutlich verminderten Löslichkeit der Verbindungen einhergeht. Diese schlechte Wirksamkeit der Hydroxyderivate bestätigt die Ergebnisse mit entsprechenden phenylmethylsubstituierten Chinizarinderivaten (*Kap. C-1.5*). Bei der Verbindung **49** ($IC_{50} = 9.6 \mu\text{M}$) wird der negative Effekt der 1,4-Dihydroxysubstitution im Anthrachinonteil auf die antiproliferative Aktivität offenbar durch die Hydroxygruppen am Styrylrest teilweise kompensiert.

Die aktivsten Chinizarinderivate erreichen zwar nicht die wachstumshemmende Wirkung der Zytostatika Mitoxantron ($IC_{50} = 0.004 \mu\text{M}$) und Doxorubicin ($IC_{50} = 0.01 \mu\text{M}$) gegenüber K562-Zellen, sie sind aber deutlich wirksamer als die ebenfalls zum Vergleich herangezogenen literaturbekannten chinoiden Tyrosinkinasehemmstoffe Emodin und Damnacanthal. Für diese Substanzen ermittelten wir gegenüber K562-Zellen IC_{50} -Werte von $25.9 \mu\text{M}$ (Emodin) bzw. $28.0 \mu\text{M}$ (Damnacanthal).

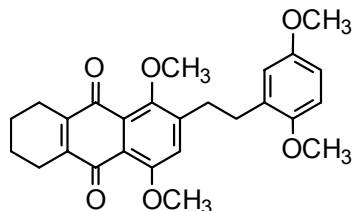
1.5 Antiproliferative Aktivität der ω -phenylalkylsubstituierten Chinizarinderivate

Zur Herausarbeitung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen untersuchten wir auch die ω -phenylalkylsubstituierten Chinizarinderivate auf ihre wachstumshemmenden Eigenschaften. Die IC_{50} -Werte sind in *Tab. C-2* dargestellt.

Tab. C-2: IC_{50} -Werte der phenylalkylsubstituierten Chinizarinderivate (K562-Zellen).



Verbindung	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	IC_{50} (μ M)
57a	1	H	H	H	H	H	> 91
57b	1	CH ₃	H	H	H	H	6.8
58b	1	CH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	2.4
59a	1	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H	> 77
59b	1	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	6.6
60a	1	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃	> 77
60b	1	CH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃	1.1
67b	3	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	10.6
68b	4	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	11.8
69b	4	CH ₃	H	H	H	H	> 75
70	2	CH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	7.2
71	2	CH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃	2.6
72							1.5



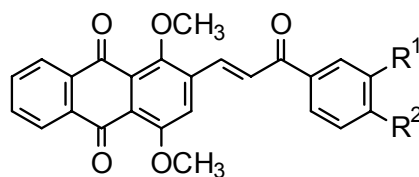
Als Voraussetzung für eine antiproliferative Wirksamkeit der geprüften Verbindungen erweist sich eine Dimethoxysubstitution im Anthrachinonteil. Dies zeigt sich in der Unwirksamkeit von **57a**, **59a** und **60a** mit freien Hydroxygruppen. Diese Substanzen zeichnen sich zudem durch eine schlechte Löslichkeit im Lösungsmittelgemisch (DMSO/MeOH) und im verwendeten Nährmedium aus. Die korrespondierenden 1,4-Dimethoxyderivate **57b**, **59b** und **60b** sowie **58b** sind mit IC_{50} -Werten von 1.1 μM bis 6.8 μM relativ gut wirksam. Sie erreichen aber nicht die Wirksamkeit der korrespondierenden Styrylderivate, sondern sind um den Faktor 2–9 weniger aktiv. Die durch katalytische Hydrierung der entsprechenden Styrylderivate hergestellten Phenylethylderivate **70** und **71** zeigen mit IC_{50} -Werten von 7.2 und 2.6 μM eine moderate Aktivität. Die IC_{50} -Werte sind etwa um den Faktor 5 größer als bei den styrylsubstituierten Ausgangssubstanzen (*Kap. C-1.4*). Das als Synthesenebenprodukt erhaltene Tetrahydroanthrachinon **72** ist mit einem IC_{50} -Wert von 1.5 μM etwas besser wirksam als **71**. Bei weiterer Verlängerung der Alkylkette zwischen Anthrachinonkern und dem aromatischen Ring des Substituenten nimmt die antiproliferative Wirksamkeit weiter ab (**67b-69b**).

1.6 Antiproliferative Aktivität weiterer Chinizarinderivate

Für weitere Struktur-Wirkungs-Beziehungen in der Chinizarin-Reihe haben wir neben styryl- und phenylalkylsubstituierten Derivaten weitere Strukturen synthetisiert und diese Verbindungen ebenfalls auf ihre antiproliferative Wirksamkeit gegenüber K562-Zellen untersucht.

1.6.1 Chinizarin-Derivate mit Chalkon-Partialstruktur

In Anlehnung an antiproliferativ wirksame einfach substituierte Chalkonderivate^{128,129} wurden die Chinizarinderivate **76** und **77** mit einer Chalkonpartialstruktur synthetisiert (*Kap. B-1.11*). Diese zeigen gegenüber K562-Zellen eine ähnliche wachstumshemmende Aktivität wie die korrespondierenden styrylsubstituierten Derivate. **77** ist mit einem IC_{50} -Wert von 1.7 μM geringfügig besser wirksam als das analoge Styrylderivat **38** ($IC_{50} = 2.2 \mu\text{M}$), während **76** ($IC_{50} = 1.6 \mu\text{M}$) etwa um den Faktor 2 schlechter wirksam ist als **41** ($IC_{50} = 0.7 \mu\text{M}$) (*Tab. C-3*).

Tab. C-3: IC₅₀-Werte von **76** und **77** (K562-Zellen).

Verbindung	R ¹	R ²	IC ₅₀ (μM)
76	OCH ₃	OCH ₃	1.6
77	H	H	1.7

1.6.2 1,4,9,10-Tetramethoxyanthracen-Derivate

Die Anthracenderivate **73** und **75** wurden synthetisiert, um die Bedeutung der Chinonstruktur in Hinblick auf die Aktivität der Verbindungen überprüfen zu können. Sie erweisen sich im Zelltest als deutlich weniger aktiv als die entsprechenden Anthrachinonderivate. Während das Phenylmethylanthrachinon **59b** mit einem IC₅₀-Wert von 6.6 μM relativ gut wirksam ist, zeigt das analoge Anthracenderivat **73** kaum wachstumshemmende Aktivität (IC₅₀ = 41 μM). Auch **75** ist mit einem IC₅₀-Wert von 5.1 μM etwa um den Faktor 7 schlechter wirksam als das entsprechende Anthrachinon **41** (0.7 μM) (Tab. C-4).

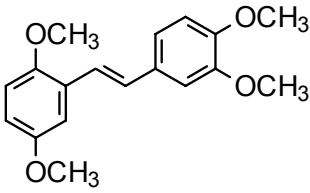
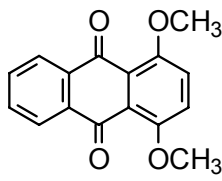
Tab. C-4: IC₅₀-Werte von **73** und **75** (K562-Zellen).

Verbindung	IC ₅₀ (μM)
73	41.0
75	5.1

1.6.3 1,4-Dimethoxyanthrachinon und 2,5,3',4'-Tetramethoxystilben

Die Verbindungen **44** und **15** können als Partialstrukturen der gut antiproliferativ wirksamen Verbindung **41** angesehen werden. Mit IC_{50} -Werten von 40.2 μM bzw. $> 110 \mu\text{M}$ erweisen sich beide Partialstrukturen als unwirksam (*Tab. C-5*).

Tab. C-5: IC_{50} -Werte von **15** und **44** (K562-Zellen).

Verbindung	IC_{50} (μM)
44 	40.2
15 	>110

1.6.4 Andere Chinizarinderivate

Im Rahmen der Struktur-Wirkungs-Studien wurden zwei weitere Chinizarinderivate synthetisiert und auf ihre wachstumshemmende Eigenschaft untersucht (*Abb. C-4*). **45** weist keinen aromatischen Substituenten in der Seitenkette auf und zeigt deutlich reduzierte antiproliferative Aktivität ($IC_{50} > 27 \mu\text{M}$). Der Anthrachinon-Carbaldehyd **30** stellt ein Konstitutionsisomer von Damnacanthal dar, das als Vergleichssubstanz für die biochemischen Untersuchungen verwendet wurde (s. *Kap. C-1.4*). **30** ist in unserem Testsystem nahezu inaktiv, wobei es zudem sehr schlechte Löslichkeit zeigt.

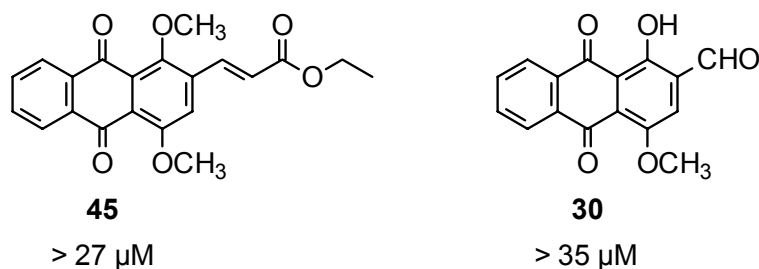


Abb. C-4: IC_{50} -Werte von **45** und **30** (K562-Zellen).

1.7 Antiproliferative Aktivität phenylethenylsubstituierter Derivate weiterer Anthrachinone

Um den Einfluß des Substitutionsmusters am Anthrachinonkern auf die biologische Aktivität zu prüfen, wurden neben den Chinizarinderivaten auch einige styrylsubstituierte Derivate weiterer Anthrachinone (*Abb. C-5*) untersucht. Wir synthetisierten zu diesem Zweck zwei Derivate des 1,6,8-Trihydroxy-3-methylanthrachinon (Frangula-Emodin, **78**) und prüften außerdem Derivate von 1,8-Dihydroxyanthrachinon (Chrysazin, **100**) und 1,3-Dihydroxyanthrachinon (Xanthopurpurin, **101**) aus den Arbeiten von *Prinz*⁸⁹ auf ihre wachstumshemmenden Eigenschaften.

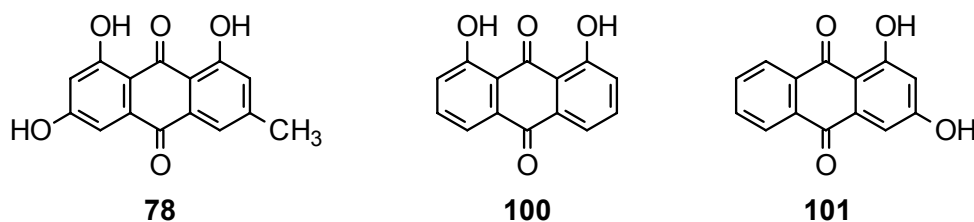
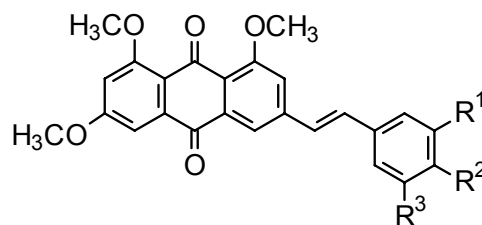
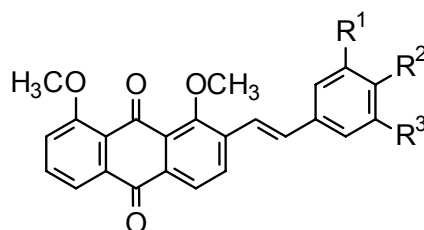


Abb. C-5: (Frangula-)Emodin (**78**), Chrysazin (**100**) und Xanthopurpurin (**101**) als weitere Grundstrukturen.

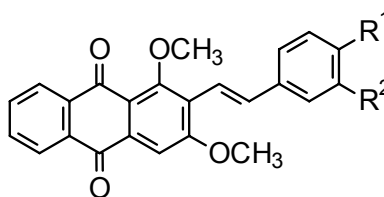
In Analogie zu den wirksamen Chinizarinderivaten wurden lediglich vollständig methylierte Derivate für die Untersuchungen ausgewählt. Sowohl die Emodinderivate **86** und **87** als auch die untersuchten Chrysazin- und Xanthopurpurinderivate sind in unserem Testsystem inaktiv (*Tab. C-6*).

Tab. C-6: IC₅₀-Werte weiterer phenylethenylsubstituierter Anthrachinonderivate (K562-Zellen).

Verbindung	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ (μM)
86	OCH ₃	H	OCH ₃	> 65
87	OCH ₃	OCH ₃	H	> 65



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀ (μM)
102 ⁸⁹	H	OCH ₃	H	> 75
103 ⁸⁹	OCH ₃	OCH ₃	H	> 70
104 ⁸⁹	OCH ₃	H	OCH ₃	> 70



Verbindung	R ¹	R ²	IC ₅₀ (μM)
105 ⁸⁹	OCH ₃	H	> 75
106 ⁸⁹	OCH ₃	OCH ₃	> 70

1.8 Diskussion

Die synthetisierten Chinizarinderivate sind mit IC_{50} -Werten von bis zu $0.3 \mu\text{M}$ teilweise sehr gut antiproliferativ wirksam gegenüber K562-Leukämiezellen. Dabei wird eine hohe Strukturabhängigkeit der Aktivität deutlich. Die am besten wirksamen Substanzen mit IC_{50} -Werten im niedrigen mikromolaren bzw. submikromolaren Bereich finden sich bei den Chinizarinderivaten mit Phenylethenylsubstitution (*Tab. C-1*). Innerhalb dieser Gruppe erweist sich eine 1,4-Dimethoxysubstitution am Anthrachinonteil des Moleküls als essentiell für eine gute wachstumshemmende Wirkung, wie die verminderte Aktivität von **47** und **48** zeigt. Des weiteren hängt das Ausmaß der Wachstumshemmung deutlich von der Substitution des Styrylrestes ab. Während Hydroxy- und/oder Methoxysubstituenten zu den wirksamsten Verbindungen führen (u.a. **41**, **42**, **54-56**), sind beispielsweise CN-, COOCH_3 - und NO_2 - substituierte Derivate (**26-28**) nahezu inaktiv. Dies könnte evtl. auf die elektronischen Effekte der Substituenten zurückzuführen sein. Hydroxy- und Methoxygruppen, die den Aromaten durch ihren positiven mesomeren Effekt (+M) elektronisch aktivieren, führen zu wirksamen Verbindungen, während desaktivierende Substituenten mit negativem induktiven und mesomeren Effekt (-I, -M) (NO_2 , COOCH_3 , CN) zu inaktiven Verbindungen führen. Es ist denkbar, daß diese Substituenten über das konjugierte Doppelbindungssystem Einfluß auf die elektrochemischen Eigenschaften der Chinonstruktur nehmen. Deren Redoxeeigenschaften könnten z. B. durch Stabilisierung oder Destabilisierung des Semichinonradikals, das durch Einelektronen-Reduktion aus dem Anthrachinon entstehen kann, modifiziert werden. Zudem dürften die unterschiedlichen elektronischen Effekte der Substituenten zu einer veränderten Elektronendichteverteilung über das Gesamtmolekül führen, die für die Interaktion der Verbindungen mit zellulären Targets entscheidend sein könnte.

Die antiproliferative Wirkung der Verbindungen ist des weiteren an die Hybridstruktur aus Anthrachinon und Stilben gebunden. Während **41** mit einem IC_{50} -Wert von $0.7 \mu\text{M}$ zu den aktivsten Verbindungen gehört, sind sowohl 2,5,3',4'-Tetramethoxystilben (**44**) als auch 1,4-Dimethoxyanthrachinon (**15**) als Partialstrukturen von **41** kaum wirksam ($IC_{50} = 40.2$ bzw. $> 110 \mu\text{M}$) (*Abb. C-6*).

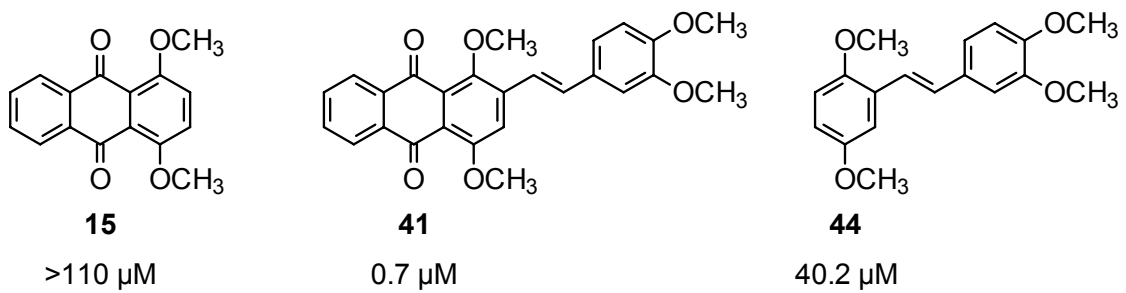


Abb. C-6: IC_{50} -Werte von **41** und den Partialstrukturen **15** und **44**.

Die Bedeutung der Chinonstruktur für die antiproliferative Wirksamkeit wird dadurch unterstrichen, daß die reduktive Methylierung von **41** zum entsprechenden Methoxyanthracenderivat zu einer verminderten antiproliferativen Aktivität führt. Ähnliches ist nach der reduktiven Methylierung des Phenylmethylderivates **59b** zu **73** zu beobachten. Der IC_{50} -Wert ist für die Anthracenderivate etwa um den Faktor 6–7 größer als für das jeweils entsprechende Anthrachinonderivat (*Abb. C-7*).

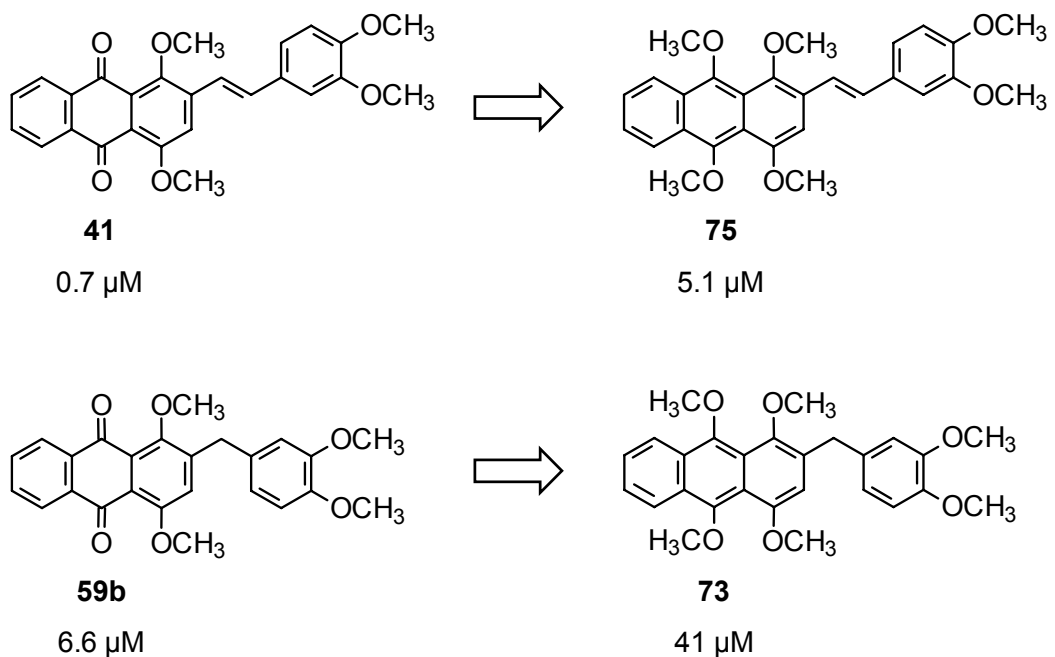


Abb. C-7: Veränderung der IC_{50} -Werte durch reduktive Methylierung der Verbindungen **41** und **59b**.

Ersetzt man den Styrylsubstituenten der wirksamen Verbindungen durch Phenylalkylreste mit gesättigter Alkylkette, so resultieren Verbindungen mit verminderter antiproliferativer Aktivität. Die 1,4-Dimethoxy-2-phenylmethyl-anthrachinone **58b**, **59b**, **60b** und **57b** weisen dabei mit IC_{50} -Werten von 1.1–6.8 μ M noch relativ gute Aktivität gegenüber K562-Zellen auf. Sie erreichen aber nicht die Hemmwirkung der analogen Styrylderivate, sondern sind um den Faktor 2–9 schlechter wirksam. Die durch katalytische Hydrierung der Styrylderivate **40** und **42** erhaltenen Phenylethylanaloga **70** und **71** sind ebenfalls etwa um den Faktor 5 schlechter wirksam als die styrylsubstituierten Ausgangsverbindungen. Sie sind dabei auch weniger aktiv als die analogen Phenylmethyl-derivate **58b** und **60b**. Durch weitere Verlängerung der Alkylkette zwischen dem Anthrachinongerüst und dem aromatischen Substituenten auf drei bzw. vier Methylengruppen nimmt die antiproliferative Wirksamkeit weiter ab (*Tab. C-2*). Die Styrylderivate weisen ein durchgehend konjugiertes Doppelbindungssystem auf, das eine wenig flexible Molekülstruktur erwarten läßt. Die durchgehend sp^2 -hybridisierten C-Atome lassen zudem eine nahezu planare Struktur erwarten, während die gesättigte Alkylkette der Phenylalkyl-derivate zu einer erhöhten konformativen Beweglichkeit führt. Die folgenden Abbildungen verdeutlichen dies am Beispiel der styrylsubstituierten Verbindung **41** (*Abb. C-8*) und des Phenylmethyl-derivates **59b** (*Abb. C-9*). **41** erscheint in einer energieminierten Raumstruktur nahezu planar. Lediglich die Methoxysubstituenten am Anthrachinonteil ragen deutlich aus der Molekülebene heraus. Im Gegensatz dazu wird der Substituent an **59b** deutlich aus der Ebene herausgedreht. Eine Planarität über das gesamte Molekül ist in der energieminierten Konformation nicht mehr gegeben. Phenylalkyl-derivate mit verlängerten Alkylketten ergeben ein ähnliches Bild, wobei die räumliche Flexibilität der Moleküle mit größerer Kettenlänge weiter zunimmt. Inwieweit diese Strukturmerkmale tatsächlich mit den jeweiligen biologischen Aktivitäten zusammenhängen, kann hier nicht abschließend geklärt werden. Die Abnahme der antiproliferativen Wirksamkeit von phenylalkylsubstituierten Chinizarinderivaten mit zunehmender Kettenlänge könnte auch mit einer erhöhten Lipophilie der Verbindungen einhergehen.

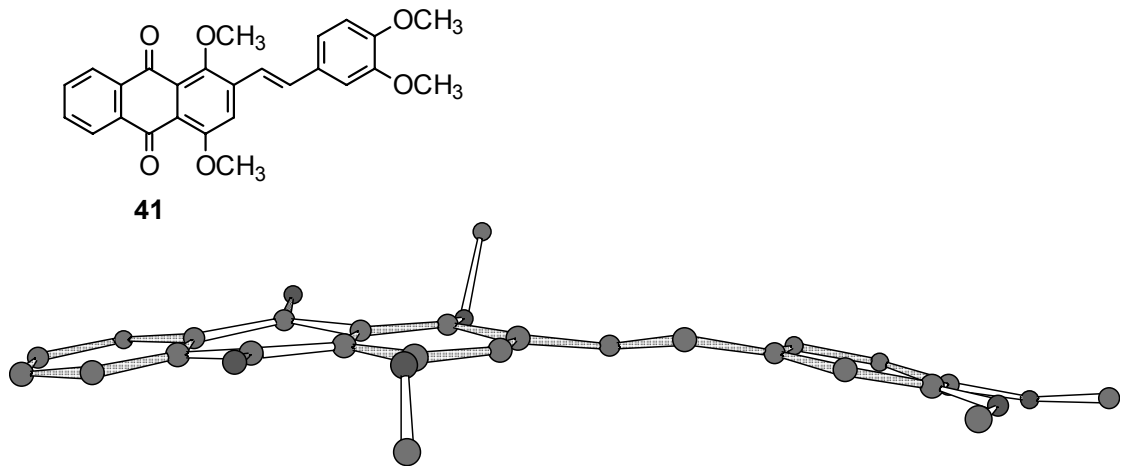


Abb. C-8: Energieminimierte Raumstruktur von **41** (Chem3D Ultra 6.0).

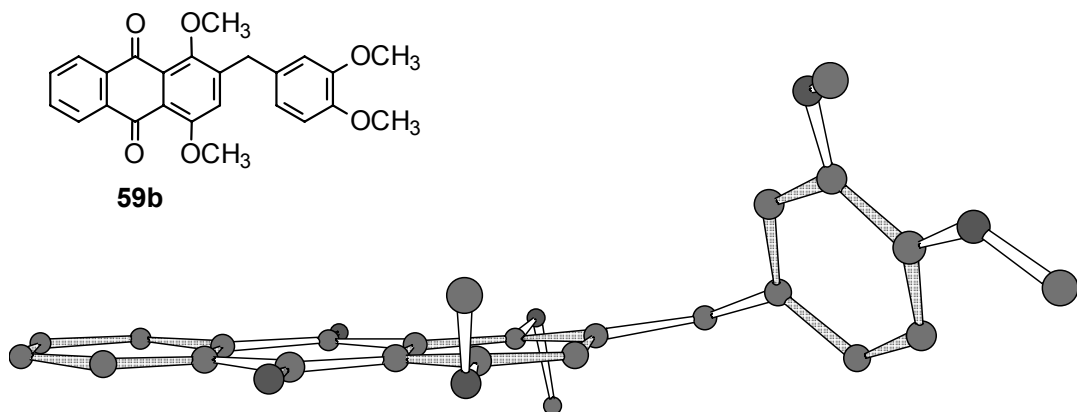


Abb. C-9: Energieminimierte Raumstruktur von **59b** (Chem3D Ultra 6.0).

Die Phenylmethyl derivative **57a**, **59a** und **60a** mit 1,4-Dihydroxysubstitution im Anthrachinonkern sind nahezu unwirksam (*Tab. C-2*). Eine Dimethoxysubstitution des Anthrachinongerüsts erweist sich somit als essentiell für eine gute Wachstumshemmung an K562-Zellen, während Etherspaltungen zu inaktiven Verbindungen führen. Der IC_{50} -Wert von $1.5 \mu\text{M}$ für die am Anthrachinonsystem hydrierte Verbindung **72** läßt vermuten, daß evtl. auch eine Naphthochinonstruktur Aktivität zeigen könnte. Austausch des Styrylsubstituenten an den Verbindungen **38** bzw. **41** durch eine Chalkonpartialstruktur führt zu aktiven Verbindungen mit IC_{50} -Werten $< 2 \mu\text{M}$ (**76**, **77**, *Tab. C-3*). Der im Vergleich zu den styrylsubstituierten Derivaten zusätzlich in die Seitenkette eingefügte Carbonyl-Kohlenstoff ist ebenfalls sp^2 -hybridisiert. Aus diesem Grund läßt sich, anknüpfend an die Diskussion über die mögliche Bedeutung der konformativen Beweglichkeit für die Aktivität der Verbindungen (s.o.), für die Chalkonderivate eine ähnliche Planarität und Starrheit des Moleküls vermuten wie für die styrylsubstituierten Derivate.

Die Wirksamkeit der styrylsubstituierten Anthrachinonderivate ist deutlich abhängig vom Substitutionsmuster des Anthrachinonteils. Wie bereits erwähnt sind 1,4-Dihydroxyderivate im Gegensatz zu den entsprechenden 1,4-Dimethoxyverbindungen nahezu inaktiv. Aber auch die Abweichung vom Substitutionsmuster des 1,4-Dimethoxyanthrachinons führt zu inaktiven Verbindungen. Styrylsubstituierte Derivate von 1,8-Dimethoxy- und 1,3-Dimethoxyanthrachinon aus den Arbeiten von *Prinz*⁸⁹ zeigen ebenso wie die Emodinderivate **86** und **87** mit IC_{50} -Werten von $> 30 \mu\text{g/mL}$ nur geringfügige wachstumshemmende Wirkung gegenüber K562-Zellen.

In *Abb. C-10* sind die wichtigsten Struktur-Wirkungs-Beziehungen der geprüften Anthrachinonderivate in bezug auf ihre wachstumshemmende Aktivität gegenüber K562-Zellen zusammengefaßt.

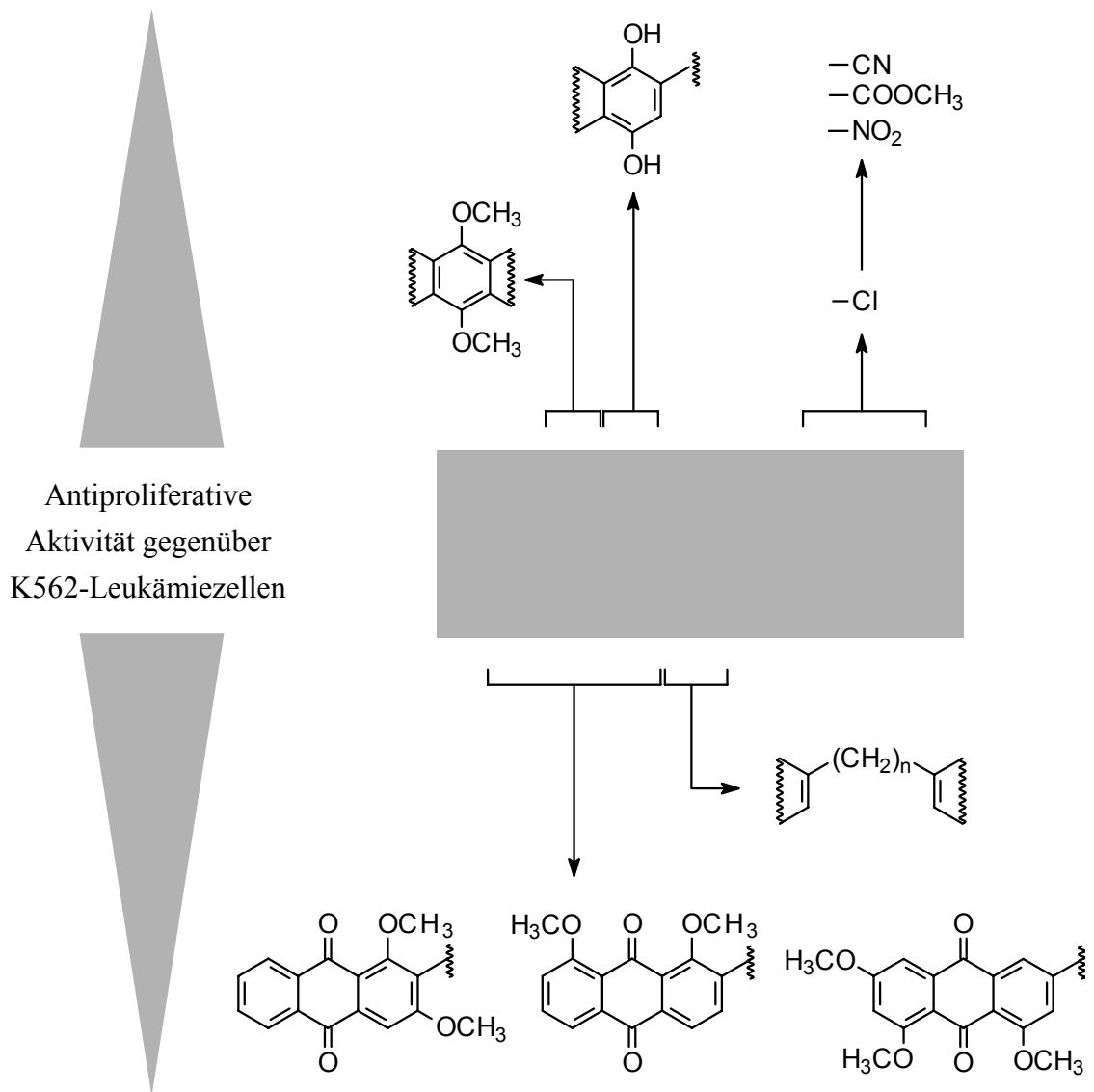


Abb. C-10: Struktur-Wirkungs-Beziehungen zu Chinizarinderivaten.

1.9 Prüfung auf Hemmung der BCR-ABL-Tyrosinkinase-Aktivität

Die Leukämiezelllinie K562 exprimiert ein chimäres Onkoprotein (p210^{BCR-ABL}) mit erhöhter Proteintyrosinkinase-Aktivität¹⁸⁵. Es handelt sich dabei um das Translationsprodukt des in Folge einer chromosomalen Translokation entstandenen bcr-abl-Fusionsgens. Dieses Protein ist in die Pathogenese der Philadelphia-Chromosompositiven Leukämien involviert¹⁷⁹.

Im Jahr 2001 ist mit Imatinib (STI571, Glivec[®]) der erste Hemmstoff der BCR-ABL-Tyrosinkinase zur Behandlung von Patienten mit CML in der Blastenkrise, der akzelerierten und der chronischen Phase zugelassen worden¹⁸⁶⁻¹⁸⁸. Da für strukturell verwandte Verbindungen PTK-hemmende Eigenschaften beschrieben sind^{14-19,44-54} (s. Kap. A-1.2.1 und A-2), sollten die antiproliferativ wirksamen Chinizarinderivate auf eine BCR-ABL-Proteintyrosinkinase-Hemmung untersucht werden.

Die Proteintyrosinkinase-Aktivität von BCR-ABL resultiert in dessen Autophosphorylierung¹⁸⁹. Die Verbindungen **41** und **38** wurden zur Ermittlung ihres Angriffspunktes auf molekularer Ebene auf eine Hemmung der BCR-ABL-Autophosphorylierung in K562-Zellen geprüft. Nach den von *Prinz* konzentrationsabhängig durchgeführten Untersuchungen kann eine Hemmung der BCR-ABL-Autophosphorylierung als Mechanismus der wachstumshemmenden Wirkung der Verbindungen ausgeschlossen werden¹⁸⁴. Eine hemmende Wirkung auf die Expression des BCR-ABL-Proteins in K562-Zellen konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden.

2 Prüfung auf antiproliferative Aktivität an HL-60-Leukämiezellen

2.1 Einführung

Neben der K562-Zelllinie haben wir für unsere Untersuchungen HL-60-Zellen (**H**uman **L**eukemic **P**romyelocytic **C**ells) verwendet. Diese Zellen wurden 1976 von *Collins et al.* aus dem peripheren Blut einer 35jährigen Frau mit Promyelozytenleukämie, einer Form der akuten myeloischen Leukämie (AML), gewonnen und kultiviert¹⁹⁰. Myelozyten und Promyelozyten sind teilungsfähige Vorstufen während der Granulozytopoese, die bei myeloischen Leukämieerkrankungen entdifferenzieren und sich sehr stark vermehren¹⁷⁸. Die kultivierten HL-60-Zellen bestehen im wesentlichen aus Promyelozyten, enthalten aber auch etwa 10-12 % reifere Zellen mit morphologischen Charakteristika von Myelozyten, Metamyelozyten sowie bestimmten neutrophilen Granulozyten¹⁹¹. Der Verlust der Differenzierungsfähigkeit ist nicht irreversibel. Bereits in frühen Arbeiten wurde gezeigt, daß DMSO in Konzentrationen > 1.1 % und auch andere Substanzen eine Zelldifferenzierung induzieren können¹⁹¹⁻¹⁹³. Die Zellen reifen dann zu Myelozyten, Metamyelozyten und neutrophilen Granulozyten heran und erlangen wieder ihre physiologischen und funktionalen Eigenschaften zurück. Die Zelllinie wurde in der Folge häufig als geeignetes Modell zum Studium der Differenzierung myeloider Zellen verwendet (Lit.¹⁹⁴ und dort zitierte Literatur). In unserem Arbeitskreis sind die Zellen auch zur Untersuchung der antiproliferativen Aktivität von Acridon- und Dichloranthronderivaten genutzt worden^{195,196}. Wir verwendeten HL-60-Zellen als weiteres Testmodell zur Prüfung unserer Verbindungen auf wachstumshemmende Eigenschaften.

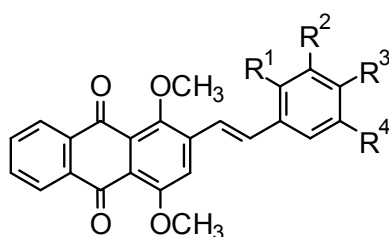
2.2 Testsystem

Die HL-60-Zellen werden unter den gleichen Bedingungen kultiviert wie für die K562-Zellen beschrieben (*Kap. C-1.2*). Analog den K562-Zellen wird eine eingestellte Zellsuspension mit Lösungen der Testsubstanzen inkubiert. Nach einer Inkubationszeit von 48 h werden die Zellen unter dem Mikroskop ausgezählt. Die IC₅₀-Werte werden wie für K562-Zellen beschrieben graphisch bestimmt (*Kap. C-1.3*).

2.3 Ergebnisse

Eine Auswahl der an K562-Zellen aktivsten Chinizarinderivate wurde zum Vergleich auch an HL-60-Zellen geprüft. In *Tab. C-7* werden die Ergebnisse gegenübergestellt. Die angegebenen IC₅₀-Werte stellen den Mittelwert aus 2 bis 3 Bestimmungen mit je sechs Konzentrationen dar.

Tab. C-7: IC₅₀-Werte von styrylsubstituierten Chinizarinderivaten und Mitoxantron an HL-60-Zellen und K562-Zellen.



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	IC ₅₀ (μM)	
					K562	HL-60
38	H	H	H	H	2.2	2.0
41	H	H	OCH ₃	OCH ₃	0.7	0.4
42	OCH ₃	H	H	OCH ₃	0.5	0.5
54	H	H	OH	OH	0.4	0.2
55	H	H	OH	H	0.3	0.4
Mitoxantron					0.004	0.0012

Die Verbindungen sind gegenüber HL-60-Zellen ebenso gut wirksam wie gegenüber K562-Zellen. Die IC₅₀-Werte für die Verbindungen **41**, **42**, **54** und **55** liegen auch bei HL-60-Zellen unterhalb von 1 μM und unterscheiden sich dabei kaum von den Werten an K562-Zellen. Gleiches gilt auch für die Verbindung **38** mit IC₅₀-Werten von 2.0 μM bzw. 2.2 μM.

3 Prüfung auf antiproliferative Aktivität an HepG2-Tumorzellen

3.1 Einführung

Neben den oben beschriebenen Leukämiezelllinien K562 und HL-60 prüften wir auch auf antiproliferative Aktivität an HepG2-Lebertumorzellen. Die Zellen wurden 1975 von *Knowles et al.* aus dem Tumorgewebe eines 15jährigen Argentiniers mit einem hepatozellulären Karzinom isoliert und charakterisiert^{197,198}. Die Zellen wachsen adhärent als Monolayer. Morphologisch gleichen die HepG2-Zellen Leberparenchymzellen, weisen aber Unterschiede im Chromosomensatz auf. Im Gegensatz zu anderen Lebertumorzellen wie Hep3B hängen Vermehrungsrate und ausbleibende Differenzierung der HepG2-Zellen nicht mit dem Vorhandensein von Hepatitis B-Virus-Genom zusammen. Die Zellen bilden kein Hepatitis-B-Oberflächenantigen aus. HepG2-Zellen produzieren eine große Zahl an Proteinen, die identisch im menschlichen Blutplasma vorkommen. Somit stellt die Zelllinie ein geeignetes Studienobjekt für zahlreiche metabolische Studien dar, die z.B. im Zusammenhang mit Lipoproteinen, Cholesterol und Gallensäuren stehen¹⁹⁹. In der vorliegenden Arbeit dienen die Zellen als Modell für einen solide wachsenden Tumor, an dem wir die antiproliferative Wirksamkeit einer Auswahl unserer Verbindungen prüfen und mit der Wirksamkeit gegenüber den beschriebenen Leukämiezellen (*Kap. C-1. und C.2*) vergleichen konnten.

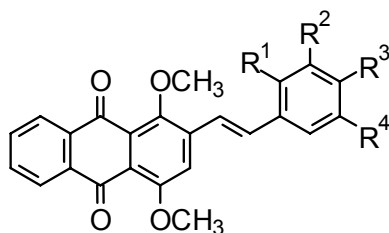
3.2 Testsystem

Da HepG2-Zellen adhärent wachsen, mußte das Testsystem gegenüber den in Suspension wachsenden Leukämie-Zelllinien K562 und HL-60 modifiziert werden. Zur Subkultivierung sowie zur Prüfung auf antiproliferative Aktivität werden die Zellen unter Einwirkung von Trypsin/EDTA vom Boden der Kulturflasche abgelöst. Die auf 3×10^5 Zellen/mL eingestellte Zellsuspension wird in Gewebekulturplatten überführt und 24 h unter Inkubationsbedingungen aufbewahrt, um ein Anwachsen der Zellen zu gewährleisten. Danach werden die Zellen analog den Leukämiezellen mit den Testsubstanzen für die Dauer von 48 h inkubiert. Die IC_{50} -Werte wurden nach demselben Schema ermittelt wie für die Leukämiezellen beschrieben (*Kap. C-1.3*).

3.3 Ergebnisse

Die IC₅₀-Werte der geprüften Verbindungen werden in *Tab. C-8* den Ergebnissen an den Leukämiezelllinien gegenübergestellt. Die IC₅₀-Werte resultieren aus zwei bis drei Bestimmungen.

Tab. C-8: IC₅₀-Werte von styrylsubstituierten Chinizarinderivaten und Mitoxantron an HepG2-Zellen im Vergleich zu K562- und HL-60-Zellen.



Verb.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	IC ₅₀ (μM)		
					K562	HL-60	HepG2
38	H	H	H	H	2.2	2.0	4.3
41	H	H	OCH ₃	OCH ₃	0.7	0.4	1.8
42	OCH ₃	H	H	OCH ₃	0.5	0.5	3.6
54	H	H	OH	OH	0.4	0.2	3.9
55	H	0.4	OH	H	0.3	0.4	1.7
Mitoxantron					0.004	0.0012	0.003

Das als Referenzsubstanz verwendete Mitoxantron zeigt gegenüber auf HepG2-Lebertumorzellen die gleiche wachstumshemmende Aktivität wie gegenüber K562- und HL-60-Leukämiezellen. Im Vergleich hierzu sind die untersuchten Styrylchinizarine an HepG2-Zellen weniger wirksam. Die IC₅₀-Werte liegen zwischen 1.7 μM und 4.3 μM und sind damit um den Faktor 2 bis 20 größer als die entsprechenden Werte für die Leukämiezelllinien.

4 Prüfung auf antiproliferative Aktivität an HaCaT-Keratinocyten

4.1 Einführung

In unserem Arbeitskreis werden seit mehreren Jahren potentielle Antipsoriatika an HaCaT-Zellen auf ihre antiproliferative Aktivität getestet^{56-60,127,195,196,200-209}. Da es zur Prüfung auf antipsoriatische Wirkung bisher kein geeignetes Tiermodell gibt, werden hierzu vorwiegend In-vitro-Zellsysteme mit kultivierten menschlichen Epidermiszellen verwendet²¹⁰⁻²¹². Zu diesen gehören neben HeLa-²¹² vor allem auch HaCaT-Zellen²¹³. Die HaCaT-Zellen zeichnen sich durch rasche Proliferation und hohe Empfindlichkeit gegenüber dem Antipsoriatikum Dithranol (IC₅₀-Wert: 0.6 µM) als Standard-Antipsoriatikum aus²¹⁴. HaCaT-Zellen besitzen im Vergleich zu tierischen Keratinocyten („Meerschweinchenepidermis“) eine höhere Stabilität. HaCaT-Zellen gehören nicht zu den Tumorzelllinien und besitzen keine invasive Wirkung, zeichnen sich aber trotzdem durch eine lange Lebensdauer aus und behalten ihre Eigenschaften auch über 140 Passagen bei²⁰⁰. Sie besitzen volle Differenzierungsfähigkeit und natürliche Regulationsmechanismen. Hierfür sind nicht genetische Veränderungen durch Transduktion verantwortlich, sondern die verwendeten Kulturbedingungen. Diese finden sich in der Bezeichnung **HaCaT** wieder: **H**uman **k**eratinocytes **a**dult skin **C**alcium level reduced **T**emperature elevated. Es handelt sich um menschliche Keratinocyten aus der Haut Erwachsener mit einer verringerten Ca²⁺-Konzentration im Nährmedium und einer erhöhten Inkubationstemperatur²¹³.

In der vorliegenden Arbeit sollte geklärt werden, ob die Aktivität der hergestellten Chinizarinderivate auf Tumorzellen beschränkt ist oder auch Nicht-Tumorzellen in ihrem Wachstum gehemmt werden. Dazu wurde eine Auswahl der an Tumorzellen aktiven Verbindungen auch auf wachstumshemmende Eigenschaften gegenüber HaCaT-Keratinocyten geprüft.

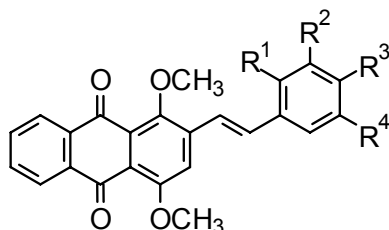
4.2 Testsystem

In früheren Arbeiten wurden zahlreiche Untersuchungen mit der HaCaT-Zelllinie durchgeführt^{56-60,200-209}. Das von *Gawlik* in unserer Arbeitsgruppe entwickelte Testsystem⁵⁷ wurde später leicht modifiziert^{127,195,196}. Für die vorliegende Arbeit wurde das System zur Angleichung an die Untersuchungen mit den übrigen Zelllinien erneut geringfügig verändert.

4.3 Ergebnisse

Fünf der an den Tumorzelllinien aktivsten styrylsubstituierten Chinizarinderivate wurden auf wachstumshemmende Eigenschaften an HaCaT-Keratinocyten untersucht. In *Tab. C-9* sind die ermittelten IC₅₀-Werte den Ergebnissen an den übrigen Zelllinien gegenübergestellt. Die angegebenen IC₅₀-Werte resultieren aus mindestens drei Bestimmungen.

Tab. C-9: IC₅₀-Werte von styrylsubstituierten Chinizarinderivaten an HaCaT-Keratinocyten und Tumorzelllinien.



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	IC ₅₀ (μM)			
					K562	HL-60	HepG2	HaCaT
38	H	H	H	H	2.2	2.0	4.3	5.4
41	H	H	OCH ₃	OCH ₃	0.7	0.4	1.8	0.7
42	OCH ₃	H	H	OCH ₃	0.5	0.5	3.6	1.4
54	H	H	OH	OH	0.4	0.2	3.9	1.4
55	H	H	OH	H	0.3	0.4	1.7	1.5

Die Chinizarinderivate erweisen sich auch gegenüber HaCaT-Keratinocyten als antiproliferativ wirksam. Die IC₅₀-Werte sind um den Faktor 2 bis 7 größer als bei den Leukämiezelllinien K562 und HL-60. Lediglich **41** weist gegenüber HaCaT-Zellen mit 0.7 μM den gleichen IC₅₀-Wert auf wie gegenüber K562-Zellen. **41** erreicht allerdings in unseren Untersuchungen an HaCaT-Zellen lediglich eine maximale Wachstumshemmung von weniger als 60 %.

5 Prüfung auf antiproliferative Aktivität an weiteren Tumor-Zelllinien

Eine Auswahl der aktivsten Chinizarinderivate wurde auf wachstumshemmende Eigenschaften an acht weiteren Tumorzelllinien untersucht. Die Untersuchungen wurden am Institut für Experimentelle Onkologie in Freiburg durchgeführt. Das Zellwachstum wurde dabei mittels eines etablierten und beschriebenen Propidiumiodid-Assays^{215,216} bestimmt. Für die Untersuchungen wurden neben vier permanenten Tumorzelllinien auch vier Xenograft-Zelllinien genutzt, die in Freiburg etabliert wurden²¹⁶. Es handelt sich dabei um Zellen humaner Tumore, die in der Unterhaut von Nacktmäusen wachsen. Sie spiegeln dadurch die Eigenschaften der ursprünglichen Tumore oftmals besser wieder als es bei den oft über lange Zeiträume kultivierten permanenten Zelllinien der Fall ist²¹⁶. Folgende Zelllinien wurden für die Untersuchung der Verbindungen herangezogen:

Permanente Tumorzelllinien (CL, Cancer line)

CCL HT29	Colon cancer line HT29 (Dickdarmtumor)
CNCL SF286	Central nerval system cancer line (ZNS-Tumor)
LCL H460	Lung cancer line, large cell adeno H460 (Lungentumor)
MACL MCF7	Mammary cancer line (Brust-Tumor)

Xenograft-Zelllinien (XF, Xenograft Freiburg)²¹⁶

LXFA 629L	Lung adeno carcinoma line (Lungentumor)
LXFL 529L	Large cell lung cancer line (Lungentumor)
MAXF 401NL	Mammary cancer line, papillary carcinoma (Brust-Tumor)
RXF 944L	Renal cancer cell line (Nierentumor).

Für die Untersuchungen wurden die styrylsubstituierten Chinizarinderivate **41**, **42** und **38** sowie das phenylmethylsubstituierte Derivat **60b** ausgewählt. Die Verbindungen zeigen auch in dem hier genutzten Testsystem antiproliferative Aktivität (*Tab. C-10*). Die IC₅₀-Werte liegen im niedrigen mikromolaren Bereich, insbesondere **42** ist an einigen Zelllinien auch im submikromolaren Bereich wirksam. Diese Ergebnisse bestätigen die von uns festgestellten wachstumshemmenden Eigenschaften der Verbindungen.

Tab. C-10: IC₅₀-Werte (μM) der Verbindungen **41**, **42**, **38** und **60b** an verschiedenen Tumor-Zelllinien.

Zelllinie	38	41	42	60b
CCL HT29	3.3	14.2	14.5	7.2
CNCL SF268	2.3	2.4	0.4	0.05
LCL H460	2.6	3.6	0.7	1.5
MACL MCF7	3.0	8.4	4.2	6.2
LXFA 629L	2.5	3.0	2.3	0.6
LXFL 529L	2.9	2.3	0.4	0.3
MAXF 401NL	1.6	2.8	3.0	7.2
RXF 944L	3.1	3.4	1.0	3.7

6 Untersuchungen zur Viabilität von K562-Zellen

6.1 Einführung

Die wachstumshemmende Eigenschaft einer Substanz kann sich auf eine spezifische Wechselwirkung mit Biomolekülen oder auf ungerichtete Zelltoxizität, z. B. durch unspezifische Membranschädigung, gründen. Bei wirksamen Substanzen besteht die Möglichkeit einer rein wachstumshemmenden Wirkung, bei der die Zellen sich zwar nicht vermehren, aber lebensfähig bleiben, und einer zytotoxischen Wirkung, bei der die Zellen absterben. Um die synthetisierten Substanzen auf diese Effekte zu untersuchen, wählten wir den Trypanblau-Test. Bei diesem Test handelt es sich um einen Farbstoffausschlußtest, der darauf beruht, daß vitale Zellen impermeabel für Trypanblau wie auch für eine weitere Anzahl von Farbstoffen sind^{217,218}. Der Trypanblautest ist der am weitesten verbreitete Test auf die Lebensfähigkeit von Zellen und ist als Routinetest einfach und schnell anzuwenden²¹⁹. Der saure Diazofarbstoff Trypanblau (*Abb. C-11*) färbt tote Zellen durchgängig blau an, während lebende Zellen nicht angefärbt werden. Nach dem Anfärben werden die Zellen mikroskopisch ausgezählt und der Anteil der lebenden Zellen an der Gesamtzellzahl rechnerisch bestimmt.

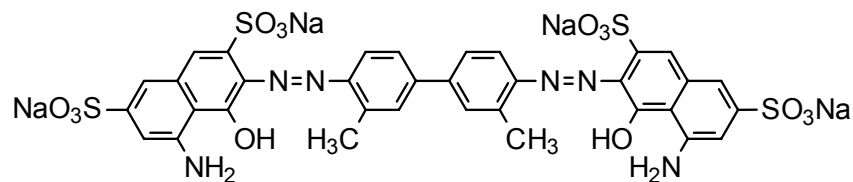


Abb. C-11: Trypanblau, Tetranatriumsalz

6.2 Testsystem und Bestimmung von EC₅₀-Werten

Die K562-Zellen werden zunächst analog der Prüfung auf Wachstumshemmung mit ausgewählten Verbindungen inkubiert. Nach festgelegten Inkubationszeiten werden die Zellen mit Trypanblaulösung versetzt und unter dem Mikroskop ausgezählt, wobei lebende Zellen nicht gefärbt sind, während tote Zellen den blauen Farbstoff aufnehmen. Die Zellviabilität wird als prozentualer Anteil der lebenden Zellen an der Gesamtzahl aller Zellen angegeben. Diejenige Substanzkonzentration, bei der die Viabilität der Zellen auf 50 % reduziert ist, stellt den EC₅₀-Wert dar. Er wird graphisch bestimmt.

6.3 Ergebnisse

Die Viabilität von K562-Zellen nach 48 h Inkubation mit den Verbindungen **38**, **41**, **42** und **55** in Abhängigkeit von der Substanzkonzentration ist in *Abb. C-12* dargestellt. **41**, **42** und **55** zeigen dabei nahezu keinen Effekt auf die Lebensfähigkeit der K562-Zellen. Auch nach der Inkubation mit den höchsten geprüften Konzentrationen bleibt der weitaus größte Teil der Zellen lebensfähig, obwohl die Wachstumshemmung bei diesen Konzentrationen nahezu vollständig ist und die ermittelten IC_{50} -Werte (*Kap. C-1.4*) um ein Vielfaches überstiegen werden. Die EC_{50} -Werte von **41**, **42** und **55** wurden nicht bestimmt, da die Substanzen in den höchsten Konzentrationen im Medium bereits auszukristallisieren begannen. Lediglich **38** verringert die Zellviabilität nennenswert, erreicht aber in mehreren unabhängigen Versuchen nicht die 50 %-Grenze, so daß auch für diese Verbindung nach einer Inkubationsdauer von 48 h kein EC_{50} -Wert ermittelt werden kann. Der Anstieg der Viabilität bei Erhöhung der Konzentration von 10 auf 30 $\mu\text{g/mL}$ ist vermutlich durch vermehrte Auskristallisation der Testsubstanz zu erklären.

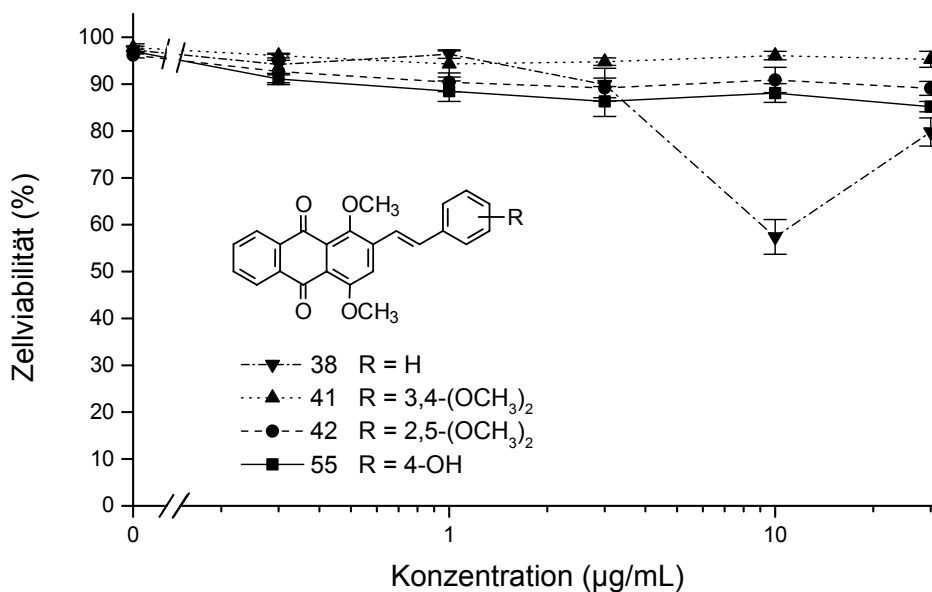
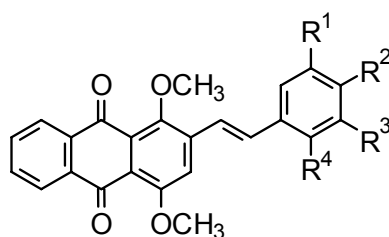


Abb. C-12: Viabilität von K562-Zellen nach Inkubation mit **38**, **41**, **42** und **55** (48 h).

Die Ergebnisse in *Tab. C-11* zeigen, daß auch nach 72 h Inkubation mit den Verbindungen **41**, **42** und **55** in Konzentrationen von 30 µg/mL (70–80 µM) noch bis zu 95 % der Zellen lebensfähig sind. Nur **38** führt in einer Konzentration von 30 µg/mL (81 µM) nach 72 h zu einer Zellviabilität von < 50 %. Auf die Bestimmung eines EC₅₀-Wertes wurde verzichtet. Die angegebenen Werte für 24 und 48 h resultieren aus 3–5 Bestimmungen, die Viabilität nach 72 h stellt das Ergebnis einer Einzelbestimmung dar.

Tab. C-11: Viabilität von K562-Zellen nach Inkubation mit **38**, **41**, **42**, und **55** in Konzentrationen von 30 µg/mL (70–80 µM) über verschiedene Zeiträume.



Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Viabilität (%)		
					24 h	48 h	72 h
38	H	H	H	H	78	69	27
41	H	OCH ₃	OCH ₃	H	94	94	92
42	OCH ₃	H	H	OCH ₃	91	92	95
55	H	OH	H	H	87	85	78

Die Verbindung **54** mit 3,4-Dihydroxysubstitution im Styrylrest führt im Trypanblautest zu anderen Ergebnissen als die übrigen untersuchten styrylsubstituierten Chinizarinderivate. *Abb. C-13* zeigt deutlich, daß **54** in höheren Konzentrationen Zelltod induziert.

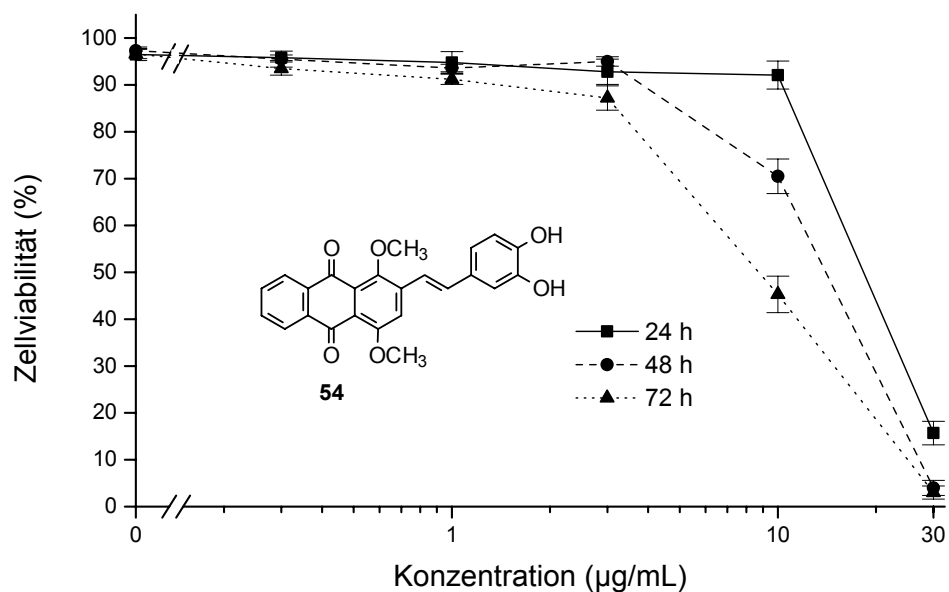


Abb. C-13: Zeit- und konzentrationsabhängige Induktion von Zelltod durch **54**.

In *Tab. C-12* sind die EC_{50} -Werte den Werten für Mitoxantron gegenübergestellt. Beide Verbindungen induzieren Zelltod in Konzentrationen, die deutlich über den jeweiligen antiproliferativ wirksamen Konzentrationen liegen. Der EC_{50} -Wert für Mitoxantron ist nach 48 h um den Faktor 1100 größer als der entsprechende IC_{50} -Wert, bei **54** ist der EC_{50} etwa um den Faktor 90 größer als der IC_{50} -Wert.

Tab. C-12: EC_{50} -Werte nach verschiedenen Inkubationszeiten und IC_{50} -Werte (48 h) von **54** und Mitoxantron.

Verbindung	IC_{50} (µM)		EC_{50} (µM)	
	48 h	24 h	48 h	72 h
54	0.4	46.0	34.8	21.9
Mitoxantron	0.004	13.3	4.4	3.0

6.4 Diskussion

Die styrylsubstituierten Chinizarinderivate sind zum Teil schon im niedrigen Konzentrationsbereich gut antiproliferativ wirksam, wobei die Aktivität vom Substitutionsmuster des Styrylrestes und des Anthrachinonkerns abhängt (*Kap. C-1.4*). Diese Tatsache deutet darauf hin, daß die wachstumshemmende Wirkung der Verbindungen nicht auf einer unspezifischen Toxizität der Verbindungen beruht. Dies wird durch die Ergebnisse der Trypanblautests bestätigt. Im Falle einer unspezifischen Zytotoxizität, z. B. durch direkte Schädigung der Zellmembran, wäre mit dem Auffinden eines hohen Anteils an toten Zellen zu rechnen. Die Beobachtung, daß auch nach Inkubation mit Substanzkonzentrationen, die weit über dem jeweiligen IC_{50} -Wert liegen, über 80 % der in ihrem Wachstum gehemmten Zellen lebensfähig bleiben, spricht für einen anderen, spezifischeren Vorgang als Ursache für die Wachstumshemmung. Eine unspezifische Zytotoxizität schließen wir aus.

Die im Unterschied zu den anderen styrylsubstituierten Chinizarinderivaten auffällige Induktion von Zelltod durch **54** in hohen Konzentrationen läßt sich möglicherweise durch die 3,4-Dihydroxyphenylstruktur erklären. Eine solche Catecholstruktur kann leicht zum *o*-Chinon oxidiert werden. Im Rahmen eines Redoxzyklus können reaktive Sauerstoffspezies (ROS) entstehen, die möglicherweise durch Schädigung verschiedener Zellbestandteile zum Zelltod führen. In der Literatur ist beispielsweise die Oxidation von Catecholstrukturen in polyaromatischen Kohlenwasserstoffen zu den entsprechenden reaktiven *o*-Chinonen beschrieben²²⁰⁻²²². Diese *o*-Chinone unterliegen einem für chinoide Verbindungen typischen Redoxzyklus unter Freisetzung von ROS ($O_2^{\bullet-}$, H_2O_2 , OH^{\bullet}) und gelten infolgedessen als zytotoxisch^{220,223,224}. Einen ähnlichen Mechanismus kann man daher auch als Ursache für die Zytotoxizität von **54** annehmen (*Abb. C-14*). Da diese Zytotoxizität für **54** erst in relativ hohen Konzentrationen zu beobachten ($EC_{50} = 34.8 \mu M$ nach 48 h) ist, kann für die wachstumshemmende Aktivität der Verbindung in niedrigen Konzentrationen ($IC_{50} = 0.4 \mu M$) ebenfalls ein spezifischer Mechanismus angenommen werden.

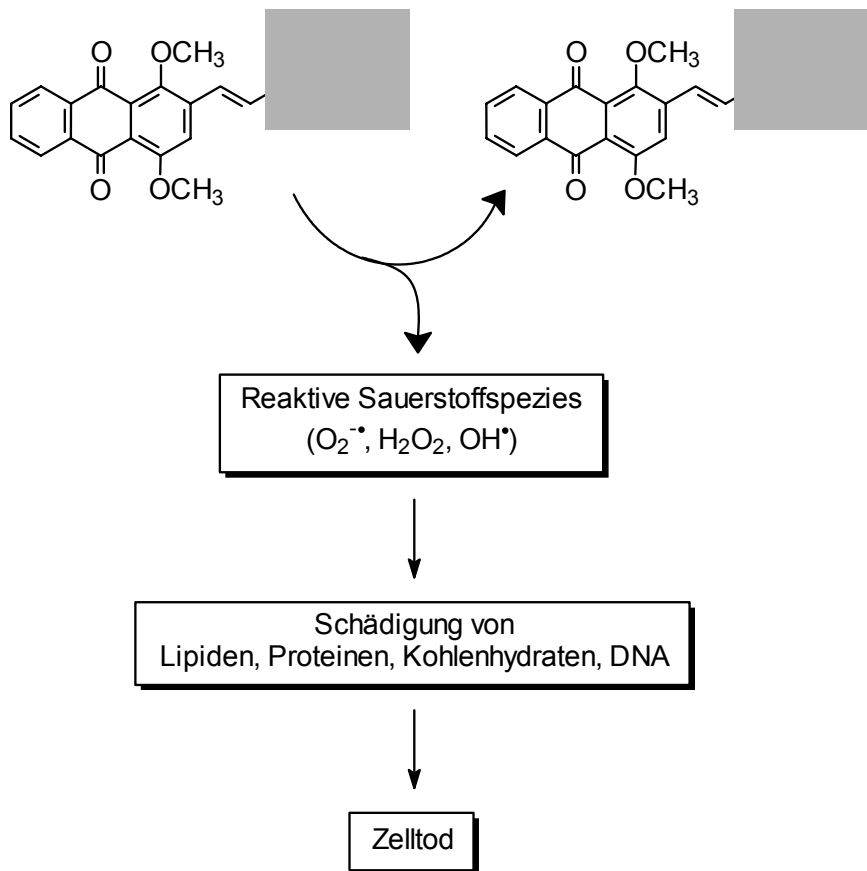


Abb. C-14: Mögliche Erklärung für die zytotoxische Wirkung von 54.

7 Untersuchung auf direkte Wechselwirkungen mit nativer DNA

7.1 Einführung

Die wachstumshemmenden Eigenschaften der Verbindungen gegenüber Leukämiezellen (K562 und HL-60), Lebertumorzellen (HepG2) und HaCaT-Keratinocyten warf die Frage nach dem Wirkungsmechanismus auf.

In den letzten Jahrzehnten haben pharmakologische Studien gezeigt, daß die meisten Antitumor-Wirkstoffe an die DNA binden. Daraus wird ein direkter Zusammenhang zwischen der Antitumoraktivität der Arzneistoffe und ihren Effekten auf die Nukleinsäuren abgeleitet (Lit.³⁴ und dort zitierte Literatur). Die wichtigste Gruppe innerhalb der Verbindungen, die reversibel mit der DNA-Doppelhelix interagieren, sind die DNA-Interkalatoren¹⁰. Der Begriff der Interkalation wurde von *Lermann* eingeführt, der in den frühen 60er Jahren physikalische Studien über die Wechselwirkungen zwischen planaren aromatischen Kationen und DNA-Molekülen durchführte²²⁵. Diese Art der Bindung an DNA wurde inzwischen für eine große Zahl von polyzyklischen Aromaten bestätigt²²⁶. Ein gemeinsames Strukturmerkmal dieser Verbindungen ist ein planares polyaromatisches System, das zwischen DNA-Basenpaaren eingeschoben wird (interkaliert). Die Chromophore sind mit basischen Seitenketten verknüpft, die möglicherweise ebenfalls von Bedeutung für die Affinität und Selektivität der Verbindungen sind¹⁰. *Abb. C-15* zeigt die Strukturformel des DNA-Interkalators Ethidiumbromid.

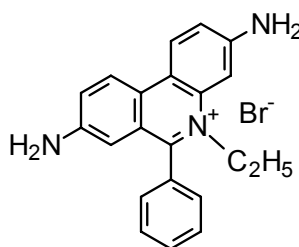


Abb. C-15: Ethidiumbromid

Ihre zytostatische Wirkung entfalten die Interkalatoren, indem sie die Funktion von DNA-bindenden Proteinen wie z.B. Polymerasen oder Topoisomerasen stören. Interkalation und Topoisomerase-Hemmung gehören auch zum Wirkungsmechanismus der Anthracycline (s. *Kap. A-1.1*), deren Anthrachinonpartialstruktur Bestandteil der von uns hergestellten Verbindungen ist. Neben der spezifischen Interkalation zwischen

Basenpaare kommen als mögliche Wechselwirkung zwischen Arzneistoff und DNA noch eine unspezifische, zumeist elektrostatische Bindung außerhalb der Doppelhelix sowie eine spezifischere Bindung durch Wechselwirkung mit DNA-Basen innerhalb der großen oder kleinen Furchen der DNA-Helix in Frage¹⁰.

Die beschriebene Wechselwirkung mit der DNA bei Antitumorwirkstoffen veranlaßte uns, die Chinizarinderivate auf eine mögliche Bindung an native DNA zu untersuchen, zumal bei unseren aktivsten Verbindungen die für potentielle Interkalatoren geforderte planare polyaromatische Struktur gegeben ist (vgl. *Kap. C-1.8*). Andererseits fehlt unseren Verbindungen eine basische Seitenkette, die ebenfalls als typisches Strukturmerkmal von Interkalatoren gilt¹⁰. Zur Untersuchung auf eine Wechselwirkung mit nativer DNA wählten wir die UV-Differenzspektroskopie sowie die Fluoreszenzspektroskopie, zwei einfach durchzuführende In-vitro-Methoden, die eine qualitative Aussage über vorhandene Wechselwirkungen ermöglichen.

7.2 UV-Differenz-Spektroskopie

7.2.1 Methode

Für die Voruntersuchung von Substanzen auf eine Wechselwirkung mit nativer DNA wurde bisher hauptsächlich die herkömmliche UV-Spektroskopie verwendet. Sie dient als schnelle und reproduzierbare Methode zur Untersuchung von Substanzen, die neben einer DNA-Affinität zugleich potentielle Antitumoraktivität besitzen. *Stefanovic* korrelierte die Antitumoraktivität von Actinomycinderivaten mit ihrer Fähigkeit, Komplexe mit der DNA einzugehen²²⁷. Diese wurde anhand von Veränderungen im UV-Absorptionsspektrum der Verbindungen unter DNA-Einfluß deutlich gemacht. Damit konnte gezeigt werden, daß eine Vorhersage über die biologische Aktivität einer Verbindung alleine mit Hilfe von spektrophotometrischen Untersuchungen möglich ist²²⁷. Die UV-Differenzspektroskopie stellt eine Weiterentwicklung der herkömmlichen UV-Spektroskopie dar und hat den Vorteil, daß auch minimale Veränderungen gegenüber den Grundspektren gemessen und durch die Spektrumsverschiebung gegenüber der Grundlinie erkannt werden können. Wir führten unsere Untersuchungen in Anlehnung an Arbeiten aus der Arbeitsgruppe von *Wiegrebe* durch^{228,229}.

Es werden UV-Spektren einer Lösung von Kalbsthymus-DNA in Phosphatpuffer aufgenommen, der in kleinen Portionen eine Lösung der Testsubstanz zugegeben wird. Nach jeder Substanzzugabe wird erneut gemessen. Als Referenzlösung dient jeweils der verwendete Phosphatpuffer ohne DNA-Zusatz, dem parallel zur Meßlösung die

gleichen Mengen der Testsubstanz zupipettiert werden. Mit Hilfe eines Zweistrahlphotometers erhält man ein Differenzspektrum aus den UV-Spektren des DNA-Substanz-Gemisches und der Testsubstanz alleine. Von diesem Spektrum wird anschließend das UV-Spektrum der reinen DNA-Lösung subtrahiert. Das resultierende UV-Differenzspektrum stellt die Veränderungen in der UV-Absorption des DNA-Substanz-Gemisches gegenüber der Summe der Einzelspektren dar und ermöglicht somit eine qualitative Aussage über eine Wechselwirkung der untersuchten Verbindungen mit der DNA.

7.2.2 Ergebnisse

Zur Prüfung auf eine Wechselwirkung mit nativer DNA wählten wir vier styrylsubstituierte und zwei phenylalkylsubstituierte Chinizarinderivate aus. Als Referenzsubstanzen dienten Ethidiumbromid, Doxorubicin und Mitoxantron.

Abb. C-16 stellt die erhaltenen UV-Differenzspekten der gut antiproliferativ wirksamen Styrylderivate **41** und **42** im Vergleich zu Ethidiumbromid dar. Das Konzentrationsverhältnis von Substanz zu DNA beträgt jeweils etwa 1:1. Der als Positivkontrolle verwendete DNA-Interkalator Ethidiumbromid führt zu einem deutlichen Signal. Infolge der Interkalation in die DNA-Doppelhelix führt das DNA-Ethidiumbromidgemisch zu einem anderen UV-Absorptionsspektrum als es der Summe der Einzelspektren entspräche. Dieser Unterschied wird im dargestellten Differenzspektrum deutlich. Die Untersuchung der Vergleichsubstanzen Doxorubicin und Mitoxantron führte zu ähnlichen Differenzspekten. Für **41** und **42** hingegen ist nahezu kein Effekt festzustellen (*Abb. C-16*). Eine Variation des Konzentrationsverhältnisses R von Verbindung zu DNA führte zu keiner nennenswerten Veränderung der Differenzspekten. Eine Konzentrationsabhängigkeit der gemessenen Absorption konnten wir nicht beobachten.

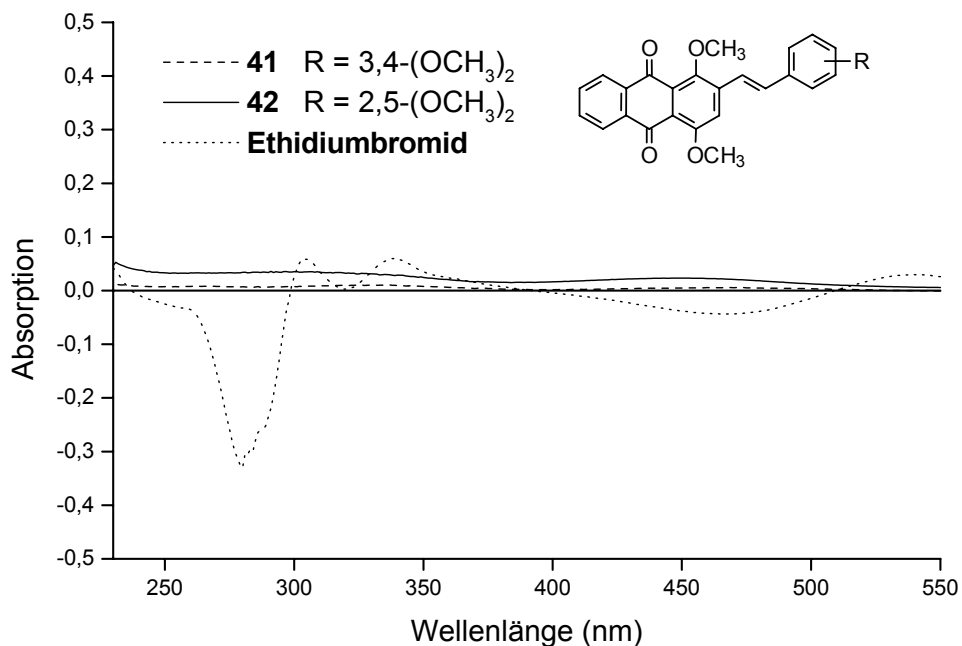


Abb. C-16: UV-Differenzspektren von **41**, **42** und Ethidiumbromid; [Subst.]/[DNA] = 1.09.

Das Styrylderivat **55** und das Phenylalkylderivat **60b** führten zu ähnlichen Resultaten. Die Absorptionen fielen zwar teilweise höher aus als bei **41** und **42**, zeigten aber deutliche Schwankungen und keine Konzentrationsabhängigkeit. Lediglich für die Verbindung **49** konnten wir eine konzentrationsabhängige Veränderung des UV-Differenzspektrums beobachten. Die Spektren für unterschiedliche Substanzkonzentrationen sind in *Abb. C-17* dargestellt. Der Kurvenverlauf zeigt zwei Absorptionsmaxima bei 310 nm und 510 nm. Die Absorption bei diesen Wellenlängen erweist sich als abhängig vom Konzentrationsverhältnis [Substanz]/[DNA] (*Abb. C-18*).

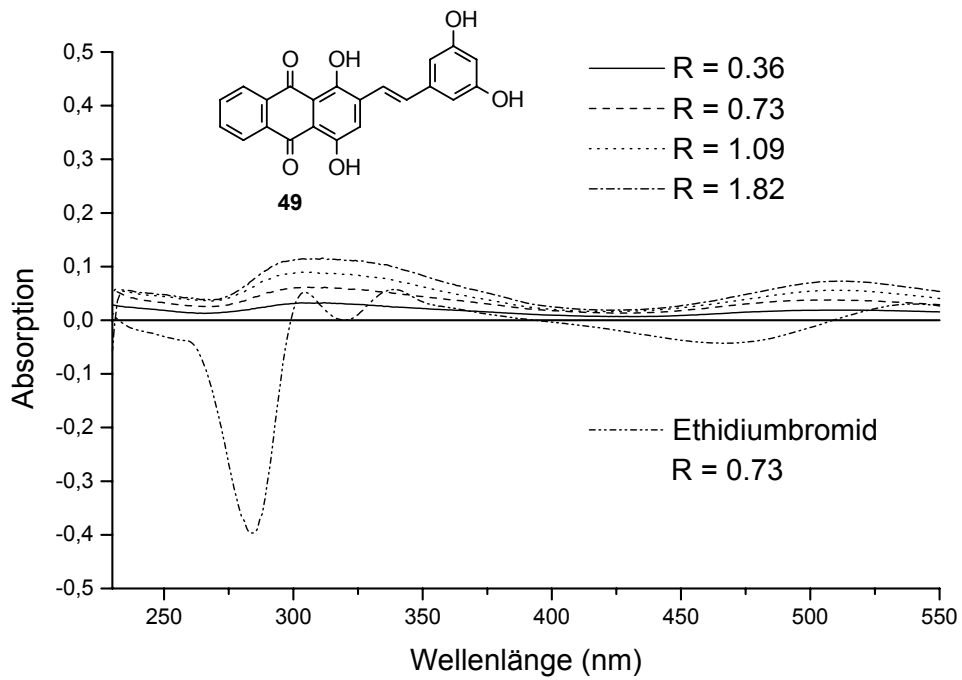


Abb. C-17: UV-Differenzspektren von **49** bei verschiedenen Konzentrationsverhältnissen $R = [\text{Substanz}]/[\text{DNA}]$ im Vergleich zu Ethidiumbromid.

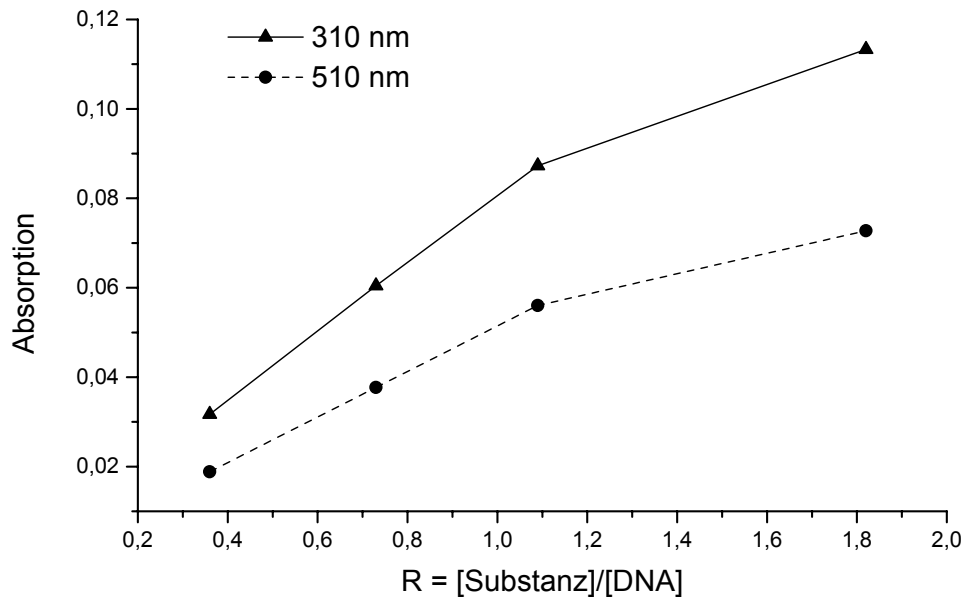


Abb. C-18: Konzentrationsabhängigkeit der Absorption im UV-Differenzspektrum von **49** bei 310 bzw. 510 nm.

Diese Beobachtung spricht für eine Interaktion zwischen **49** und der DNA, die aber gemessen an der Veränderung des UV-Spektrums im Vergleich zu Ethidiumbromid (*Abb. C-17*), Mitoxantron und Doxorubicin gering ausfällt.

Insgesamt zeigen die Untersuchungen mittels UV-Differenzspektroskopie, daß zwischen den antiproliferativ wirksamen Chinizarinderivaten und nativer DNA keine oder allenfalls geringe Interaktionen stattfinden.

7.3 Fluoreszenzmessungen

Neben der UV-Differenzspektroskopie versuchten wir, die Eigenfluoreszenz der Chinizarinderivate zur Prüfung auf Wechselwirkung mit der DNA zu nutzen. Bei einer Interaktion mit der DNA müßte sich eine Änderung des Fluoreszenzspektrums der jeweiligen Verbindung ergeben²³⁰. Wir untersuchten eine kleine Auswahl von Verbindungen in Anlehnung an die Untersuchungen von *Weimar*²²⁸, der für Berberinderivate eine Verschiebung des Emissionsmaximums in längerwellige Bereiche durch Wechselwirkung mit DNA feststellte.

Zunächst wird durch die Aufnahme eines UV-Spektrums der zu prüfenden Substanz ein geeignetes Absorptionsmaximum bestimmt. Die zugehörige Wellenlänge dient bei der Fluoreszenzmessung als Anregungswellenlänge. Von der jeweiligen Substanzlösung (10 mM in DMSO) werden 5 µL zu Phosphatpuffer (2 mL) gegeben und nach vorsichtigem Durchmischen in einer Quarzküvette fluorimetrisch vermessen (*Tab. C-13*). Die DNA-Lösung (50 µM in Phosphatpuffer) wird portionsweise zupipettiert und die Lösung jeweils nach einer Inkubationszeit von einer Minute erneut vermessen.

Bei keiner der geprüften Verbindungen konnte eine auffällige Veränderung des Fluoreszenzspektrums unter DNA-Einfluß beobachtet werden. Die Lage des Emissionsmaximums wird durch die zugefügte DNA nicht, die Emissionsintensität allenfalls minimal beeinflusst. Für **42** und **55** erhielten wir auch bei Verwendung von zwei unterschiedlichen Anregungswellenlängen kein anderes Ergebnis. Hohe DNA-Konzentrationen führen lediglich dazu, daß ein Teil des Anregungslichts durch die DNA absorbiert wird und infolgedessen die Fluoreszenzintensität proportional abnimmt. Demgegenüber führen zunehmende DNA-Konzentrationen bei den Vergleichssubstanzen Ethidiumbromid und Mitoxantron zu einer deutlichen Zunahme der Fluoreszenzintensität. Im Falle des Ethidiumbromids ist diese Beobachtung, die bereits von *LePecq* eingehend untersucht wurde²³⁰, Grundlage für die sogenannte

Ethidiumbromid-Verdrängungstitration, die ein Standardverfahren zur Untersuchung von Substanzen auf interkalierende Eigenschaften darstellt.

Tab. C-13: Anregungs- und Emissionswellenlängen der fluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen.

Verbindung	Anregungswellenlänge (nm)	Emissionswellenlänge (nm)
42	242	485
	340	680
49	260	520
55	265	530
	335	670
Ethidiumbromid	285, 484, 546	590
Mitoxantron	276	550

7.4 Zusammenfassung

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, daß die getesteten Verbindungen nicht oder nur in sehr geringem Ausmaß mit nativer DNA interagieren. Die UV-Differenzspektroskopie ergab für einige Verbindungen lediglich Hinweise auf eine Wechselwirkung, die jedoch in allen Fällen nur zu geringen Veränderungen im UV-Spektrum führten und nur im Falle von **49** reproduzierbar konzentrationsabhängig waren. Die fluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen ergaben keinerlei Hinweis auf Interaktionen der Verbindungen mit der DNA. Das planare System der styrylsubstituierten Chinizarinderivate führt offenbar nicht zu einer Interkalation in die DNA. Dies könnte im Fehlen einer basischen Seitenkette begründet sein, die als essentielles Strukturelement von Interkalatoren angesehen wird¹⁰. Auch andere Formen einer Wechselwirkung mit der DNA als eine Interkalation (s. *Kap. C-7.1*) können aufgrund der spektroskopischen Untersuchungen ausgeschlossen werden.

8 Prüfung auf Hemmung der Topoisomerase I

8.1 DNA-Topoisomerasen

Um die für die Zellproliferation unerläßliche Replikation von DNA zu ermöglichen, muß die DNA-Superhelix entspiralisiert werden. Erst dann können Polymerasen die DNA ablesen. Der Grad der Superspiralisierung der DNA wird von Topoisomerasen kontrolliert. Die Namensgebung dieser Enzyme beruht darauf, daß sie den topologischen Zustand, nicht aber die kovalente Struktur der DNA verändern²⁶. Sie wandeln topologische Isomere der DNA ineinander um²⁷. Eine Topoisomerase bindet dazu kovalent an eine Phosphatgruppe der DNA und spaltet eine Phosphodiesterbindung in der DNA-Kette. Dadurch wird der Durchtritt eines DNA-Stranges durch den anderen und infolgedessen die Entspiralisierung der DNA ermöglicht. Die Spaltung der DNA-Kette ist reversibel und kann schnell und ohne zusätzliche Energiezufuhr rückgängig gemacht werden. Aus diesem Grund kann eine DNA-Topoisomerase als „reversible Nuclease“ angesehen werden^{26,231}. Es gibt zwei Klassen von Topoisomerasen: Typ-I-Topoisomerasen führen transiente Einzelstrangbrüche, Typ-II-Topoisomerasen transiente Doppelstrangbrüche in der DNA aus²⁶. Typ-I-Topoisomerasen sind bei Prokaryonten wie Eukaryonten weit verbreitet und katalysieren die Entspannung einer negativen Superspiralisierung der DNA. Prokaryotische Typ-II-Topoisomerasen, die auch DNA-Gyrase genannt werden, katalysieren die Superspiralisierung der DNA unter ATP-Verbrauch. In Abwesenheit von ATP wird die Superhelix mit geringer Geschwindigkeit entspiralisiert. Typ-II-Topoisomerasen in Eukaryonten dagegen können die Superhelix nur entspiralisieren, aber nicht bilden.

8.2 Topoisomerase-Hemmstoffe

Hemmstoffe der bakteriellen Typ-II-Topoisomerase (DNA-Gyrase) sind in Form von Chinoloncarbonsäurederivaten, abgeleitet von der Nalidixinsäure, im Handel. Sie werden als antibakterielle Wirkstoffe vor allem bei Harnwegs- und Atemwegsinfektionen eingesetzt^{3,232}. Von größerem Interesse für die vorliegende Arbeit ist die Verwendung von Hemmstoffen der eukaryotischen Topoisomerasen Typ I und/oder II als Zytostatika. Die antineoplastische Wirkung der Anthracyclin-Antibiotika Doxorubicin und Daunorubicin und des Mitoxantrons beruht unter anderem auf einer Hemmung der Topoisomerase II⁶⁻⁹. Therapeutisch verwendet werden ferner das Acridinderivat Amsacrin (Amsidyl[®]) und das Podophylloctoxin-Analogon Etoposid

(u. a. Vepesid®). Sie werden für die systemische Behandlung humaner Tumore eingesetzt⁹. Zahlreiche weitere Topoisomerase-II-Hemmstoffe sind in der Literatur beschrieben. Dazu gehören neben Derivaten der Anthracyclinreihe und des Mitoxantrons auch Naphthochinonderivate pflanzlichen Ursprungs (Abb. C-19)^{8,28}.

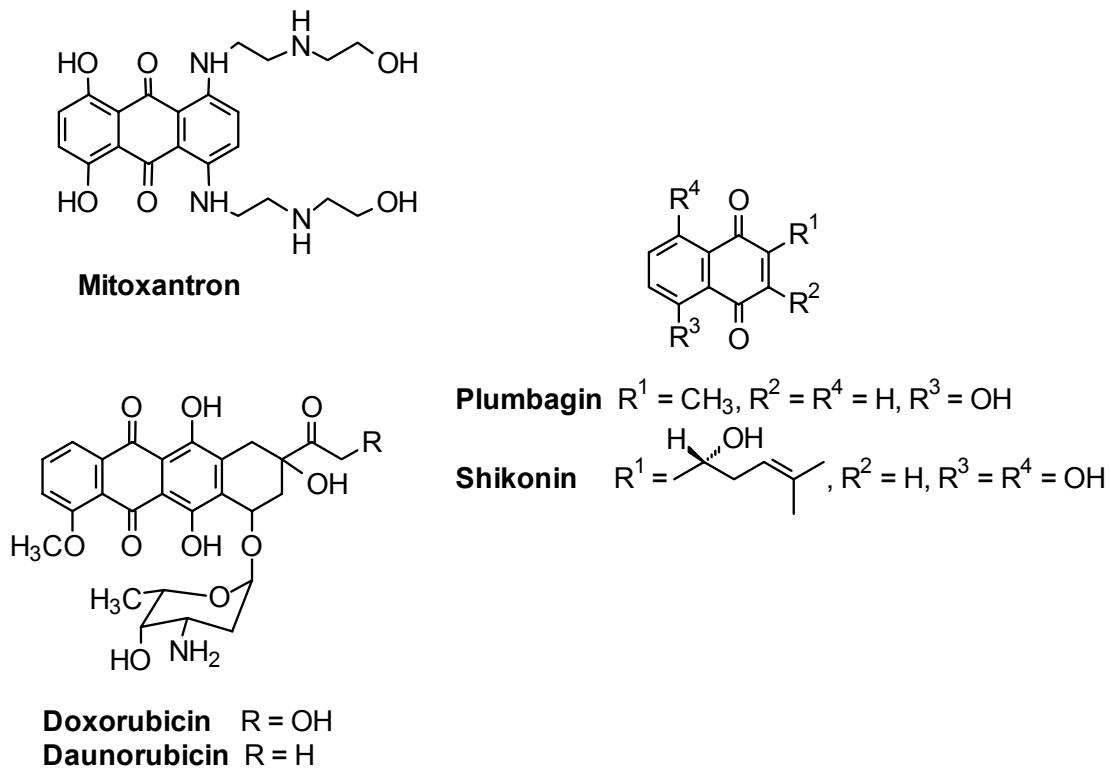


Abb. C-19: Ausgewählte Topoisomerase II-Inhibitoren mit Chinonstruktur.

Auch Topoisomerase I-Hemmstoffe bilden eine attraktive Klasse potentieller selektiver Krebstherapeutika, da in verschiedenen Tumoren die Regulierung der Topoisomerase I-Aktivität gestört und die Konzentration dieses Enzyms deutlich erhöht ist³⁴.

Bisher hat sich mit den Camptothecinderivaten erst eine Klasse von Topoisomerase I-Hemmstoffen in der klinischen Anwendung bewährt (Abb. C-20)^{8,34}. Topotecan (Hycamtin®) und Irinotecan (Campto®) sind als Arzneimittel zugelassen und werden als Zytostatika bei Ovarial- bzw. Kolorektalkarzinomen eingesetzt¹⁷⁸. Daneben sind weitere Hemmstoffe beschrieben, beispielsweise anellierte tetrazyklische Chromophore wie das chinoide Saintopin (Abb. C-20) sowie Interkalatoren mit Indol-, Pyrrol- und Carbazolstruktur³⁴. Die tetrazyklischen Verbindungen wirken dabei gleichzeitig auch hemmend auf die Topoisomerase II. *Ahn et al.* haben im Rahmen ihrer Arbeiten zu

antiproliferativ wirksamen Chinonen C-2- und C-6-substituierte 5,8-Dimethoxy-1,4-naphthochinone (Naphthazarinderivate) hergestellt, die als Topoisomerase I-Inhibitoren fungieren (Abb. C-20)²⁹⁻³³. Der chinoiden Grundkörper dieser Verbindungen ist in den von uns hergestellten Chinizarinderivaten als Partialstruktur enthalten.

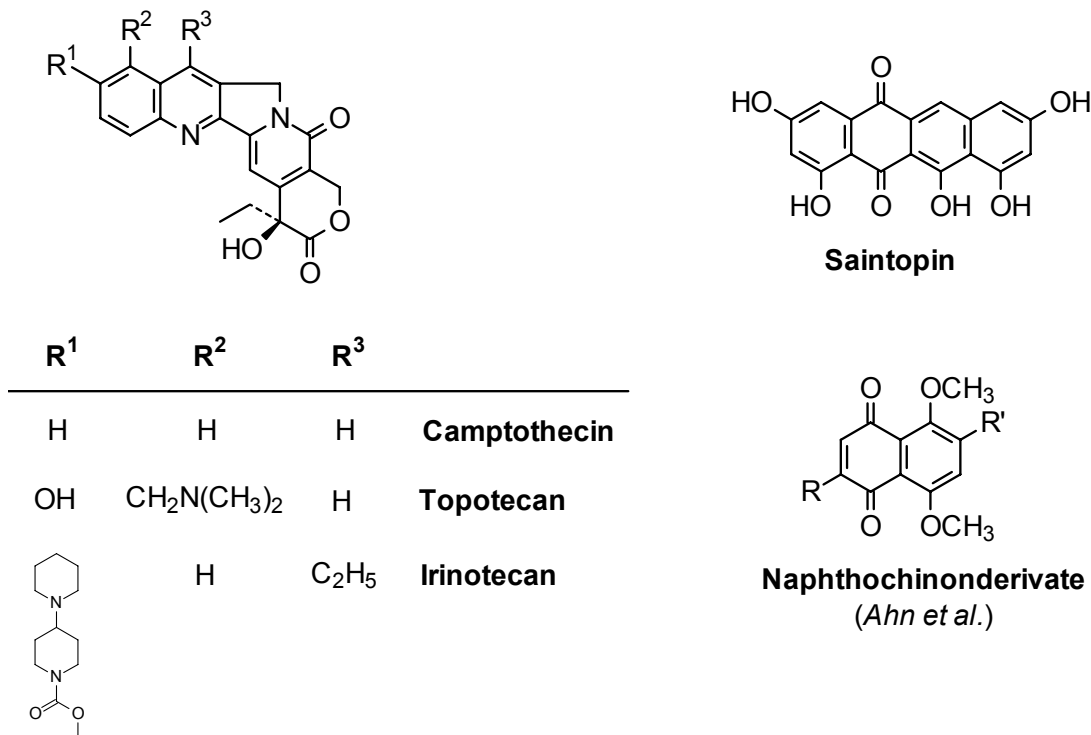


Abb. C-20: Strukturformeln ausgewählter Topoisomerase I-Inhibitoren.

Die Bedeutung der Topoisomerasen für die DNA-Replikation und damit für die Zellproliferation insbesondere von Tumorzellen sowie die mit unseren Verbindungen vergleichbare Grundstruktur einiger bekannter Topoisomerase-Inhibitoren veranlaßte uns, eine Topoisomerase-Hemmung als möglichen Wirkmechanismus der antiproliferativen Chinizarinderivate in Betracht zu ziehen. Im Rahmen einer Kooperation mit Prof. N. Neamati an der University of Southern California, School of Pharmacy, Los Angeles, USA haben wir einige Verbindungen auf eine Hemmung von eukaryotischer Topoisomerase I untersucht.

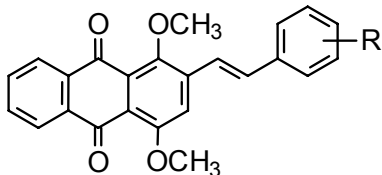
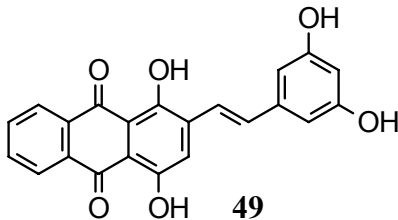
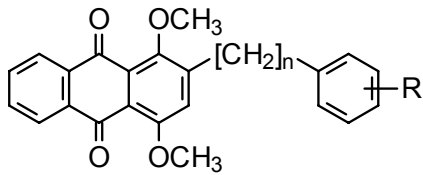
8.3 Testsystem und Ergebnisse

Ausgewählte Verbindungen wurden auf eine Hemmwirkung gegenüber eukaryotischer Topoisomerase I untersucht. Dabei kam ein von *Pommier* und Mitarbeitern entwickeltes Testsystem zur Bestimmung von DNA-Spaltung durch aufgereinigte Topoisomerase I wurde^{233,234} zur Anwendung.

Das Wirkprinzip der meisten Topoisomerase-Hemmstoffe beruht auf einer Stabilisierung des DNA-Topoisomerase-Komplexes durch Ausbildung eines ternären Komplexes bestehend aus DNA, Topoisomerase und Hemmstoff. Dies führt zu einer vermehrten Spaltung von DNA-Strängen und/oder gestörter Wiederverknüpfung der geteilten Stränge^{9,34}. Es entstehen proteinassoziierte DNA-Fragmente. Dieses Wirkprinzip liegt dem von *Neamati* verwendeten Testsystem zugrunde²³³⁻²³⁵. Für den Assay wird ein Doppelstrang-Oligonucleotid verwendet, das eine definierte Angriffsstelle für Topoisomerase I enthält. Der Nucleotidstrang, der die Topoisomerase-I-Angriffsstelle enthält, wird mit ³²P radioaktiv markiert, und das Nucleotid wird in der Folge mit DNA-Topoisomerase I inkubiert. Nach dem Abstoppen der Reaktion wird die Topoisomerase durch Denaturierung am Nucleotid fixiert und die beiden Nucleotid-Stränge voneinander getrennt. Man trennt die vorhandenen Nucleotidfragmente elektrophoretisch und mißt die Verteilung der Radioaktivität von ³²P. Findet kein Strangbruch statt, beobachtet man nur den intakten radioaktiv markierten Strang des Oligonucleotids. Strangbrüche infolge Topoisomerasehemmung führen zu vermehrtem Auftreten eines definierten radioaktiv markierten Bruchstücks.

Vier phenylalkyl- und sieben styrylsubstituierte Chinizarinderivate wurden auf eine mögliche Topoisomerase I-Hemmung geprüft. Als Referenzsubstanz diente Camptothecin. Die vorläufigen Ergebnisse sind in *Tab. C-14* den IC₅₀-Werten an K562-Zellen gegenübergestellt. Alle untersuchten Verbindungen zeigen bei 100 µM eine deutliche Induktion des Topoisomerase-Spaltkomplexes, besitzen aber nicht die Aktivität von Camptothecin. Bei einer Konzentration von 10 µM nimmt die Topoisomerase-Hemmung insbesondere im Vergleich mit Camptothecin deutlich ab. Lediglich **41**, **42** und **59b** führen noch in nennenswertem Maße zu Strangbrüchen im eingesetzten Oligonucleotid. **41** und **42** hatten auch im Zelltest die größte Aktivität gezeigt.

Tab. C-14: Ergebnisse der Prüfung auf Topoisomerase I-Hemmung und IC₅₀-Werte an K562-Zellen.

Verbindung	Induktion des Topo I-Spaltkomplexes*		IC ₅₀ (μM)	
	100 μM	10 μM	Topo I	K562
				
27 R = 4-NO ₂	+++	-		> 70
38 R = H	+++	-		2.2
39 R = 4-OCH ₃	+++	+		2.3
41 R = 3,4-(OCH ₃) ₂	+++	++	10	0.7
42 R = 2,5-(OCH ₃) ₂	+++	++	15	0.5
43 R = 4-Cl	+++	-		6.3
				
49	+++	-		9.6
				
59b n = 1, R = 3,4-(OCH ₃) ₂	+++	++	33	6.6
60b n = 1, R = 2,5-(OCH ₃) ₂	+++	+		1.1
67b n = 3, R = 3,4-(OCH ₃) ₂	+++	+/-		10.6
68b n = 4, R = 3,4-(OCH ₃) ₂	+++	+		11.8
Camptothecin	++++	++++		

* Die verwendeten Symbole stellen die beobachteten Effekte dar: „-“ = kein Effekt; „++++“ = maximaler Effekt.

Die für **41**, **42** und **59b** ermittelten IC_{50} -Werte von 10 μ M, 15 μ M bzw. 33 μ M zeigen, daß für eine Hemmung der Topoisomerase I höhere Substanzkonzentrationen erforderlich sind als für die Hemmung des Zellwachstums in den von uns durchgeführten Versuchen. Die Ergebnisse lassen die Vermutung zu, daß eine Hemmung der Topoisomerase I an der antiproliferativen Wirkung der Verbindungen gegenüber den untersuchten Zelllinien zumindest beteiligt sein könnte. So ist neben Tumorzellen auch für HaCaT-Keratinocyten eine hohe Sensitivität gegenüber Topoisomerase-Hemmstoffen beschrieben²³⁶.

8.4 Prüfung auf Hemmung der HIV-I-Integrase

Die für den Topoisomerase-Test ausgewählten Verbindungen wurden von *Neamati* außerdem auf eine Hemmung der HIV I-Integrase untersucht. Die virale Integrase dient der Einschleusung viraler DNA in das Chromosom einer Wirtszelle durch DNA-Strang-Transfer²³⁷. Inhibitoren der HIV-Integrase gelten als vielversprechende potentielle Therapeutika in der AIDS-Therapie²³⁸⁻²⁴³. Zu den in der Literatur beschriebenen Inhibitoren gehören u.a. Doxorubicin und Mitoxantron. Ferner ist für zahlreiche hydroxylierte Aromaten eine HIV-Integrase-Hemmung beschrieben, darunter auch für einige Verbindungen mit Anthrachinonstruktur (*Abb. C-21*)²³⁸.

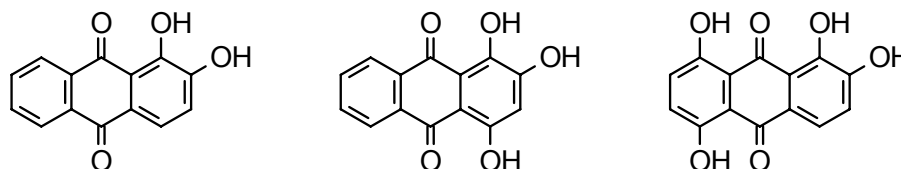


Abb. C-21: Ausgewählte HIV-I-Integrase-Hemmstoffe mit Anthrachinonstruktur

Über die Anthrachinonstruktur hinaus zeigen unsere Verbindungen eine entfernte Ähnlichkeit zu der postulierten allgemeinen Struktur von HIV-Integrase-Inhibitoren, bestehend aus zwei über eine geeignete Linkerkette verknüpften Aromaten²⁴⁴.

Die untersuchten Chinizarinderivate erwiesen sich im Testsystem von *Neamati* als unwirksam ($IC_{50} > 333 \mu$ M).

D Physikochemischer Teil

1 Cyclovoltammetrische Untersuchungen

1.1 Einführung

Die biologischen und chemischen Eigenschaften von Anthrachinonderivaten werden in hohem Maße durch deren Substitutionsmuster beeinflusst^{3,19,20,36,37} (vgl. *Kap. A-1*). Der Einfluß des Substitutionsmusters auf die antiproliferative Aktivität der von uns hergestellten Verbindungen ist in den *Kapiteln C-1.4 bis C-1.8* beschrieben. Während das 1,4-Dimethoxyanthrachinon (**15**) nahezu wirkungslos ist, konnten wir durch die Einführung des Styrylrestes in Position 2 gut antiproliferativ wirksame Verbindungen herstellen. Der Anthrachinongrundkörper **15** und die Stilbenpartialstruktur **44** sind jeweils im Zelltest nicht aktiv. Da außerdem die Tetramethoxyanthracenderivate **73** und **75** gegenüber den analogen Anthrachinonderivaten eine deutlich reduzierte Wirksamkeit aufwiesen, erscheint die antiproliferative Wirkung an das Vorhandensein der Anthrachinonstruktur gebunden zu sein. Diese Chinonstruktur könnte im Zellsystem dem für chinoide Verbindungen typischen enzymabhängigen Redoxverhalten unterliegen. Eine Reduktion sowohl zum Semichinonradikal als auch zum Hydrochinon ist prinzipiell möglich (*Abb. D-1*, vgl. *Kap. A-1.3*).

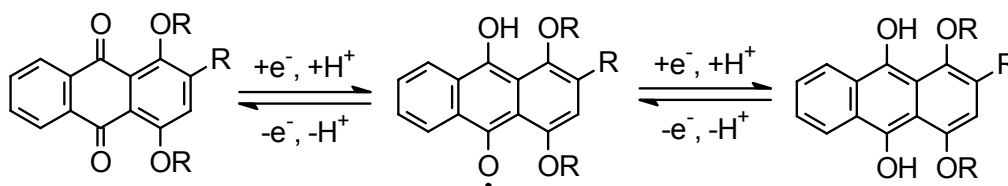


Abb. D-1: Denkbare Reduktionsschritte der untersuchten Chinizarinderivate.

Wie wir zeigen konnten, hängt die Aktivität der styrylsubstituierten Chinizarinderivate von der Art der Substitution am Styrylrest ab. Substituenten mit elektronenziehendem Effekt (Cl, CN, COOR, NO₂) führen zu inaktiven Verbindungen, während Elektronendonatoren (OH, OCH₃) an gleicher Position wirksamen Verbindungen führen. Es schien denkbar, daß diese Substituenteneinflüsse über das durchgehend konjugierte Doppelbindungssystem die Redox Eigenschaften der Chinonstruktur beeinflussen könnten. Um den Substituenteneinfluß auf die Redox Eigenschaften sowie

einen möglichen Zusammenhang mit der antiproliferativen Wirksamkeit der Verbindungen zu untersuchen, führten wir cyclovoltammetrische Messungen durch.

1.2 Grundlagen der Cyclovoltammetrie

Die Cyclovoltammetrie hat in der elektroanalytischen Chemie eine weite Verbreitung gefunden und gegenüber der Polarographie an Bedeutung gewonnen²⁴⁵. Cyclovoltammogramme liefern neben Informationen über die Thermodynamik von Redoxprozessen auch Erkenntnisse über die Kinetik heterogener Elektronentransferreaktionen und daran gekoppelter chemischen Folgeprozesse²⁴⁵.

In einem cyclovoltammetrischen Experiment verwendet man eine Drei-Elektroden-Anordnung mit Arbeits-, Referenz- und Gegenelektrode. Das Potential der Arbeitselektrode wird in Bezug zur Referenzelektrode, ausgehend vom Startpotential (Anfangspotential, E_A), mit einer konstanten Vorschubgeschwindigkeit bis zum Umkehrpotential (E_U) und zurück zum Startpotential verändert. Während dieses Vorgangs wird der Stromfluß zwischen Arbeits- und Gegenelektrode gemessen. Die elektroaktive Substanz wird unter Zusatz eines Leitsalzes (Grundelektrolyt) gelöst. Als Grundelektrolyte finden vor allem Tetraalkylammoniumsalze Anwendung, die auch die Verwendung von aprotischen Lösungsmitteln ermöglichen. Der Massentransport der elektroaktiven Teilchen erfolgt in der Cyclovoltammetrie ausschließlich durch Diffusion. Um Migrations- und Polarisierungseffekte auszuschließen, werden die Tetraalkylammoniumsalze im hundertfachen Konzentrationsüberschuß zugesetzt. Die Messungen erfolgen im ruhenden Elektrolyten, um Konvektionseinflüsse zu vermeiden. Wird an der Elektrode ein Potential erreicht, bei dem ein Redoxprozeß stattfindet, registriert man einen ansteigenden Stromfluß. Eine Erhöhung der Spannung über das Peakpotential (E_p) hinaus führt zu einem Abfall des Stromflusses, da die elektroaktive Substanz an der Elektrode schneller verbraucht wird als sie durch Diffusion durch die sich ausdehnende Diffusionsschicht zur Elektrode gelangen kann. Da in der Cyclovoltammetrie im Unterschied zur Polarographie eine stationäre Elektrode verwendet wird, registriert man keinen Diffusionsgrenzstrom, sondern eine Stromspitze²⁴⁶. Für den Fall eines reversiblen Redoxprozesses wiederholt sich der Vorgang beim Rücklauf vom Umkehrpotential zum Startpotential. *Abb. D-2* zeigt eine typische Strom-Spannungs-Kurve eines reversiblen Einelektronentransfers. Parameter, die man aus einem solchen Cyclovoltammogramm ablesen kann, sind der kathodische Reduktions- und der anodische Oxidationsstrom i_p^{ox} und i_p^{red} sowie die zugehörigen Peakpotentiale E_p^{ox} und E_p^{red} . Die Lage der Peakpotentiale ist spezifisch für die

jeweilige Substanz, die Spitzenstromstärke ist abhängig von der Substanzkonzentration sowie von Meßparametern wie z. B. der Vorschubgeschwindigkeit²⁴⁶.

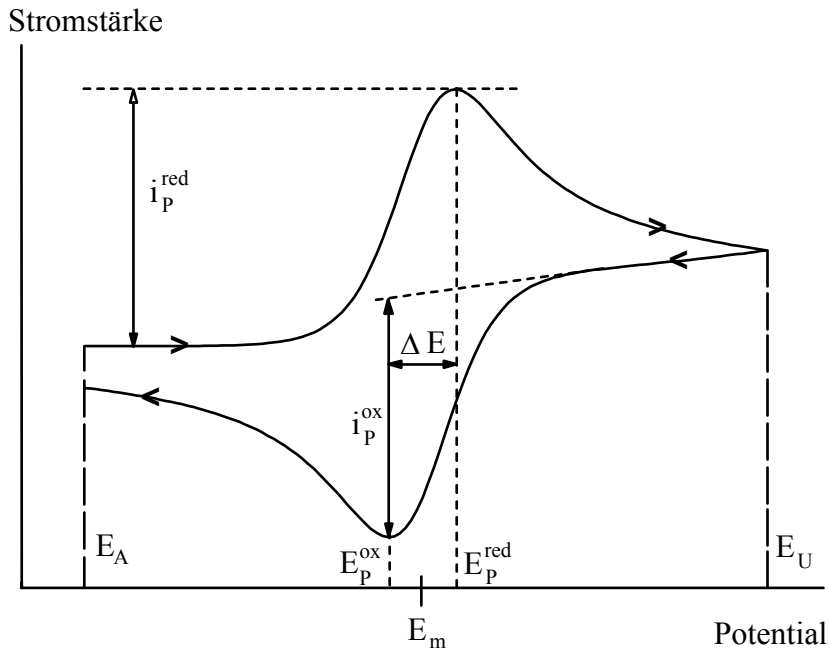


Abb. D-2: Idealisiertes Cyclovoltammogramm eines reversiblen Einelektronenübergangs; E_p^{red} = Reduktionspotential, E_p^{ox} = Oxidationspotential, E_m = Mittelwertpotential, ΔE = Signalseparation, i_p^{ox} = Oxidationsstrom, i_p^{red} = Reduktionsstrom, E_A = Anfangspotential, E_U = Umkehrpotential.

Die cyclovoltammetrischen Strom-Spannungs-Kurven werden hauptsächlich vom heterogenen Ladungstransfer an der Phasengrenze von Elektrode und Elektrolyt und dem diffusionsbedingten Massentransport beeinflusst²⁴⁵. Den heterogenen Ladungstransfer beschreibt die *Butler-Volmer*-Gleichung:

$$j = \frac{i}{nFA} = c_{ox}^0(t) \cdot k^0 \cdot e^{-\alpha \frac{nF}{RT}(E-E^0)} - c_{red}^0(t) \cdot k^0 \cdot e^{(1-\alpha) \frac{nF}{RT}(E-E^0)}$$

j : Ladungsfluß an der Phasengrenzfläche; $c^0(t)$: Oberflächenkonzentration der Redoxpartner an der Elektrode; α : Durchtrittsfaktor; E : Potential an der Arbeitselektrode; E^0 : Standardpotential; k^0 : Standardgeschwindigkeitskonstante des heterogenen Durchtritts; F : Faraday-Konstante; A : Elektrodenfläche.

Aus der *Butler-Volmer*-Gleichung geht hervor, daß der heterogene Ladungsfluß, also die meßbare Stromdichte, abhängig ist von den Oberflächenkonzentrationen $c^0(t)$ der Redoxpartner, dem Elektrodenpotential E und der Standardgeschwindigkeitskonstanten des heterogenen Durchtritts k^0 . Die unterschiedlichen Konzentrationen der Redoxpartner an der Elektrodenoberfläche und in der übrigen Lösung führen zu einem diffusionskontrollierten Massentransport. Die Konzentrationsverteilung in der Diffusionsschicht läßt sich aus dem 2. *Fick*'schen Gesetz bzw. aus modifizierten Diffusionsgleichungen berechnen²⁴⁵.

In der Praxis unterscheidet man drei Typen von Cyclovoltammogrammen:

1. *Reversibler Typ*: Der heterogene Ladungstransfer verläuft wesentlich schneller als die Diffusion des Substrats zur Elektrode. An der Elektrodenoberfläche stellt sich ein thermodynamisches Gleichgewicht ein, und die *Butler-Volmer*-Gleichung reduziert sich zur Nernst-Gleichung²⁴⁵:

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{c_{ox}}{c_{red}}$$

Die auftretende Peakseparation ΔE beträgt 59 mV. Der Spitzenstrom ist für Hin- und Rückreaktion gleich groß und proportional zur Wurzel der Vorschubgeschwindigkeit²⁴⁷.

2. *Irreversibler Typ*: Der Ladungstransfer an der Elektrodenoberfläche ist extrem langsam. Je nach Potential hat nur eine der beiden Reaktionen eine meßbare Geschwindigkeit. Es stellt sich kein thermodynamisches Gleichgewicht ein, die Nernst-Gleichung ist nicht anwendbar²⁴⁵. Eine irreversible Reaktion kann auch durch einen sehr schnellen chemischen Folgeprozeß bedingt sein, durch den der eine Redoxpartner sofort nach seiner Bildung dem Gleichgewicht entzogen wird. Im Cyclovoltammogramm läßt sich kein Strompeak für die Rückreaktion erkennen.

3. *Quasireversibler Typ*: Sowohl der heterogene Ladungstransfer als auch der Massentransport durch Diffusion bestimmen den Stromfluß. Die Peakseparation ist größer als 59 mV und nimmt mit steigender Vorschubgeschwindigkeit zu. Der Strompeak der Rückreaktion ist abgeflacht, der Spitzenstrom erniedrigt.

Die Cyclovoltammetrie bietet die Möglichkeit, die Zeitskala des Experiments durch Variation der Vorschubgeschwindigkeit stark zu variieren und damit Elektrodenreaktionen sowohl durchtritts- als auch diffusionskontrolliert durchzuführen. Je nachdem, welche Komponente überwiegt, sind deren Merkmale im Cyclovoltammogramm stärker ausgeprägt²⁴⁵.

1.3 Cyclovoltammetrische Untersuchung ausgewählter Verbindungen

1.3.1 Chinizarin

Cyclovoltammetrisch untersucht wurden Chinizarin und 1,4-Dimethoxyanthrachinon als Grundstrukturen sowie ausgewählte styryl- und phenylalkylsubstituierte Derivate. Als Grundelektrolyt wurde für alle cyclovoltammetrischen Messungen eine Lösung von 0.1 mol/L Tetrabutylammoniumperchlorat (TBAP) in Acetonitril verwendet. Die jeweilige Untersuchungslösung wurde vor jeder Messung mit Argon durchspült, um gelösten Sauerstoff zu entfernen. Die Vorschubgeschwindigkeit betrug 100 mV/s. Vor der Untersuchung von Chinizarin und ausgewählten Derivaten wurde zunächst der Grundelektrolyt alleine vermessen, um dessen Zersetzungsspannung und damit den für die folgenden Untersuchungen nutzbaren Potentialbereich zu ermitteln. Der in *Abb. D-3* zu sehende starke Stromfluß, der ab einem Elektrodenpotential von etwa -2.75 V einsetzt, wird durch Reduktion des Leitsalzes und/oder des Elektrolyten bedingt. Die Stromflüsse im Rücklauf im Potentialbereich unterhalb von -1 V sind vermutlich auf Oxidation von entstandenen Zersetzungsprodukten des Grundelektrolyten zurückzuführen. Bei Vermessung des Grundelektrolyten nur bis zu einer Spannung von -2 V traten diese Stromflüsse nicht mehr auf.

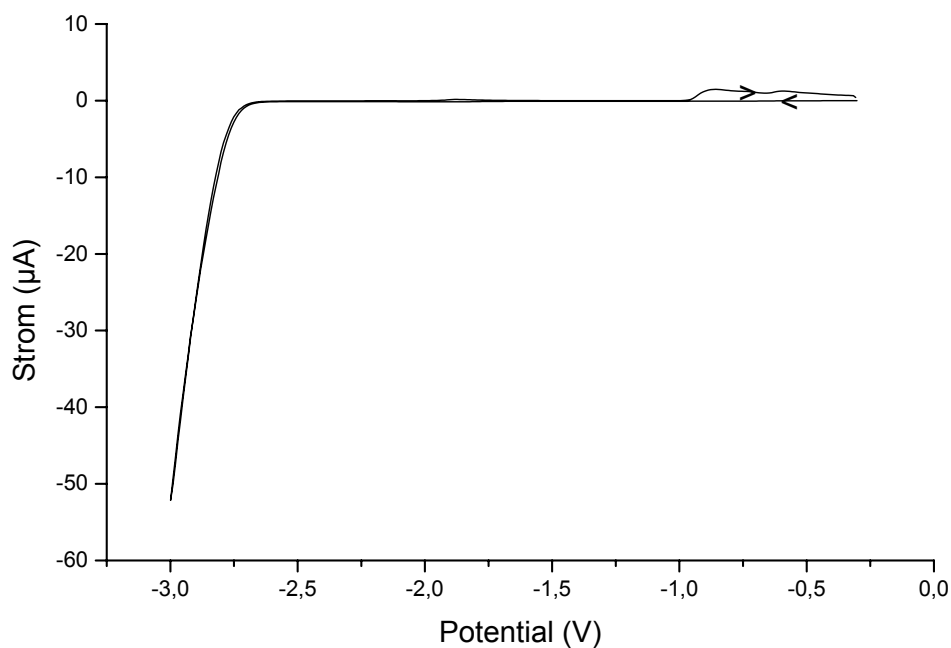


Abb. D-3: Cyclovoltammogramm von 0.1 M TBAP in Acetonitril; $v = 100 \text{ mV/s}$.

Chinizarin sowie alle anderen Testsubstanzen wurden in Konzentrationen von 10^{-3} mol/L im Grundelektrolyten gelöst und zunächst ebenfalls in einem Potentialbereich von -0.3 V bis -3 V cyclovoltametrisch vermessen, um einen Überblick über den gesamten Meßbereich zu bekommen. Potentialbereiche, in denen ein Stromfluß beobachtet werden konnte, wurden im Anschluß ggf. noch einmal gesondert untersucht. *Abb. D-4* zeigt die erhaltenen Cyclovoltammogramme von Chinizarin. Man erkennt zwei Reduktionsströme, die der zweistufigen Reduktion des Anthrachinons entsprechen (s. *Abb. D-1*). Die Reduktion zum Semichinonradikal (erste Stufe) findet demnach bei einem Elektrodenpotential von -0.58 V statt, die weitere Reduktion zum Hydrochinon (zweite Stufe) erfolgt bei -1.09 V .

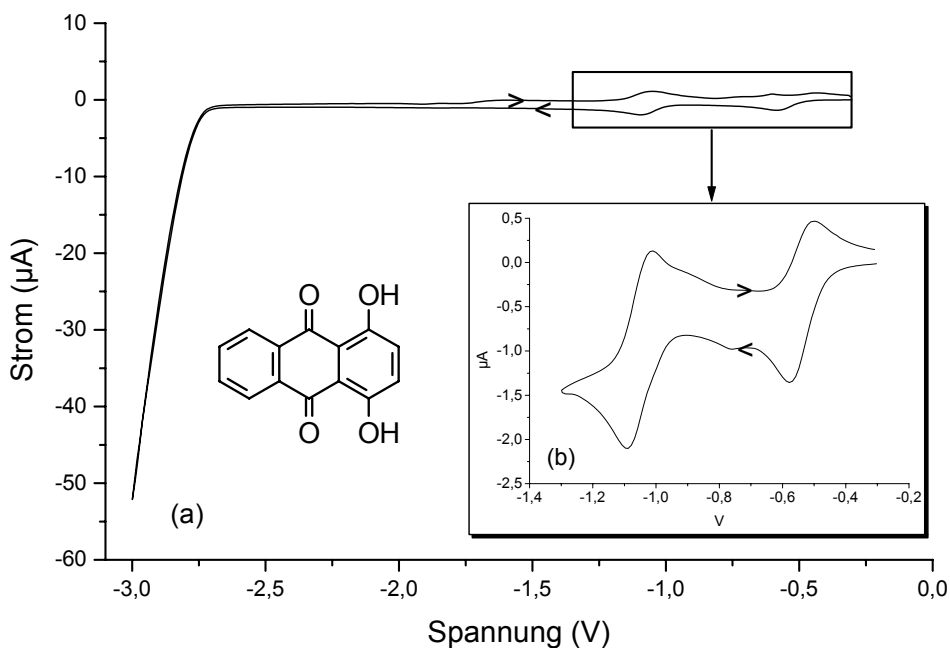


Abb. D-4: Cyclovoltammogramme von Chinizarin; (a) $E_A = -0.3 \text{ V}$, $E_U = -3 \text{ V}$; (b) $E_A = -0.3 \text{ V}$, $E_U = -1.4 \text{ V}$; $v = 100 \text{ mV/s}$

Im Spannungsrücklauf zeigt das Cyclovoltammogramm die Strompeaks, die den beiden Oxidationsschritten zurück zur Anthrachinonstufe entsprechen (*Abb D-4*). Sie liegen bei Elektrodenpotentialen von -1.01 V bzw. -0.50 V . Die Peakseparation liegt für beide Redoxstufen mit 80 mV geringfügig über der für reversible Prozesse theoretischen Differenz von 59 mV . Auch die jeweiligen Peakströme für Oxidation und Reduktion sind nicht gleich groß, sondern der Oxidationsstrom ist jeweils etwas kleiner. Da diese Abweichungen jedoch relativ gering ausfallen und das Cyclovoltammogramm somit den Charakteristika eines reversiblen Vorgangs nahekommt, läßt sich annehmen, daß die Reduktion von Chinizarin in beiden Stufen vollständig reversibel ist. Diese Reversibilität ist für das Chinizarin in der Literatur beschrieben²⁴⁸.

1.3.2 1,4-Dimethoxyanthrachinon

In *Abb. D-5* ist das Cyclovoltammogramm von 1,4-Dimethoxyanthrachinon (**15**) im Vergleich zu Chinizarin (**1**) dargestellt. *Tab. D-1* faßt die erhaltenen Meßdaten zusammen. Die Peakpotentiale für beide Reduktionsstufen (E_p^{red}) sowie auch für die Reoxidationen (E_p^{ox}) im Rücklauf sind bei **15** gegenüber Chinizarin weiter in den

negativen Bereich verschoben. Chinizarin ist also leichter zu reduzieren als das methylierte Derivat **15**. Die Peakseparation für den Redoxprozeß der ersten Stufe ist mit 70 mV gegenüber Chinizarin geringfügig verkleinert. Die Reduktion zum Semichinonradikal kann somit unter Versuchsbedingungen auch für **15** als reversibel betrachtet werden. Anders verhält es sich bei der zweiten Reduktionsstufe, der Reduktion vom Semichinon zum Hydrochinon. Dieser Vorgang im Cyclovoltammogramm die Merkmale eines quasireversiblen Prozesses auf. Die Peakseparation ist bei **15** mit 150 mV etwa doppelt so groß wie bei Chinizarin mit 80 mV und der Strompeak der Rückreaktion ist abgeflacht, der Spitzenstrom erniedrigt. Die beobachtete Veränderung der Redoxeigenschaften des Anthrachinons durch die Methylierung der Hydroxygruppen entspricht qualitativ den Ergebnissen von *Jeziorek et al.* für 1,8-Dihydroxy- und 1,8-Dimethoxyanthrachinon²⁴⁸ (Tab. D-1).

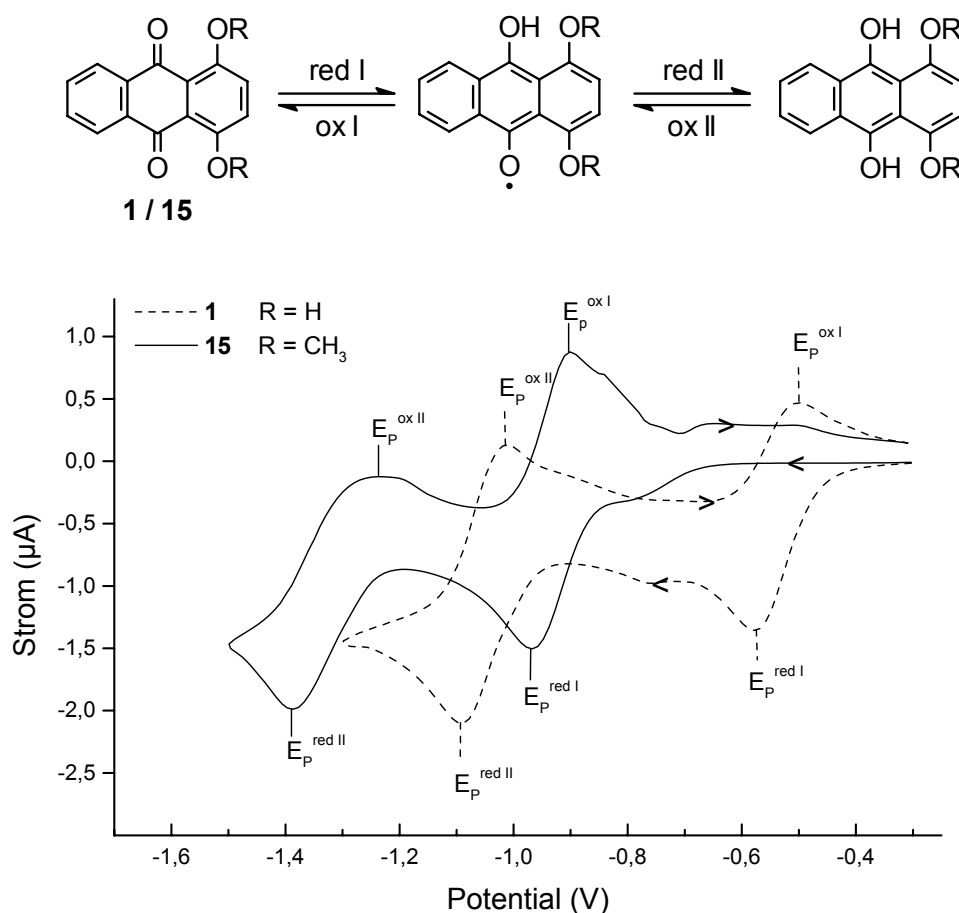


Abb. D-5: Cyclovoltammogramme von Chinizarin (**1**) und **15**; $E_A = -0.3$ V, $E_U = -1.5$ bzw. -1.3 V, $v = 100$ mV/s.

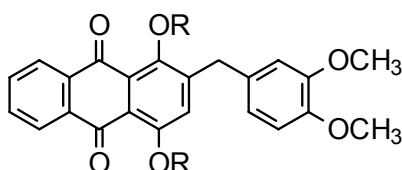
Tab. D-1: Aus *Abb. D-5* resultierende Meßdaten von **1** und **15** sowie entsprechende Daten für 1,8-Dihydroxy- und 1,8-Dimethoxyanthrachinon nach Lit.²⁴⁸; $E^{\text{ox/red}}$ = jeweiliges Peakpotential, ΔE = Peakseparation, AQ = Anthrachinon.

Verbindung	1. Redoxstufe			2. Redoxstufe		
	E^{red} (V)	E^{ox} (V)	ΔE (mV)	E^{red} (V)	E^{ox} (V)	ΔE (mV)
1	-0.58	-0.50	80	-1.09	-1.01	80
15	-0.97	-0.90	70	-1.39	-1.24	150
1,8-Dihydroxy-AQ	-0.630	-0.565	65	-1.260	-1.190	70
1,8-Dimethoxy-AQ	1.050	0.978	72	-1.374	-1.242	132

1.3.3 ω -Phenylalkylsubstituierte Chinizarinderivate

Ebenso wie Chinizarin und **15** unterscheiden sich auch die phenylmethylsubstituierten Derivate **59a** und **59b** nur durch die 1,4-Dihydroxy- bzw. 1,4-Dimethoxysubstitution des Anthrachinongerüsts voneinander. In bezug auf die erste Redoxstufe konnten wir nahezu identische Peakpotentiale und Peakseparationen feststellen wie bei Chinizarin bzw. **15**. Auch hier bewirkt offenbar die Methylierung der Hydroxygruppen von **59a** zu **59b** eine Verschiebung der Peakpotentiale weiter in den negativen Bereich bei geringfügig verringerter Peakseparation (*Tab. D-2*). Die zweite Reduktionsstufe zeigt allerdings auch schon für das 1,4-Dihydroxyderivat **59a** und nicht nur für **59b** mit einer Peakseparation von etwa 150 mV die Charakteristik eines quasireversiblen Vorgangs. Bei **59b** sind die Strompeaks gegenüber **59a** lediglich verschoben, ihre Separation bleibt unverändert (*Tab. D-2*).

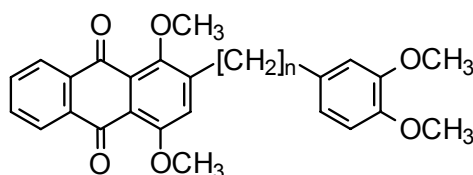
Tab. D-2: Cyclovoltammetrische Meßdaten von **59a** und **59b**; $E^{\text{ox/red}}$ = jeweiliges Peakpotential, ΔE = Peakseparation.



Verb.	R	1. Redoxstufe			2. Redoxstufe		
		E^{red} (V)	E^{ox} (V)	ΔE (mV)	E^{red} (V)	E^{ox} (V)	ΔE (mV)
59a	H	-0,59	-0,51	80	-1.11	-0.96	150
59b	CH ₃	-0,95	-0,88	70	-1.40	-1.25	150

Die Phenylalkylchinizarine **59b**, **67b** und **68b** weisen alle eine 1,4-Dimethoxysubstitution auf und unterscheiden sich strukturell nur in der Länge der Alkylkette des Substituenten. In den cyclovoltammetrischen Untersuchungen lassen sich im Vergleich der drei Verbindungen keine Unterschiede in bezug auf die Lage der Peakpotentiale sowie die Peakseparationen feststellen (*Tab D-3*).

Tab. D-3: Cyclovoltammetrische Meßdaten von phenylalkylsubstituierten Chinizarinderivaten; $E^{\text{ox/red}}$ = jeweiliges Peakpotential, ΔE = Peakseparation.



Verbindung	n	1. Redoxstufe			2. Redoxstufe		
		E^{red} (V)	E^{ox} (V)	ΔE (mV)	E^{red} (V)	E^{ox} (V)	ΔE (mV)
59b	1	-0.95	-0.88	70	-1.40	-1.25	150
67b	3	-0.97	-0.90	70	-1.39	-1.27	120
68b	4	-0.97	-0.89	80	-1.40	-1.25	150

Die unterschiedlichen Kettenlängen der Alkylreste zeigen keinen Einfluß auf das Redoxverhalten des Anthrachinonkerns, das für alle drei Verbindungen dem der Grundstruktur **15** entspricht. Demzufolge hat eine Phenylalkylsubstitution in Position 2 offenbar keinen Einfluß auf die Redox Eigenschaften von 1,4-Dimethoxyanthrachinon (**15**).

1.3.4 Phenylethenylsubstituierte Chinizarinderivate

Für die cyclovoltammetrische Untersuchung von styrylsubstituierten Chinizarinderivaten wählten wir die Verbindungen **26**, **38**, **39** und **43** aus. Diese unterscheiden sich nur durch die Substitution am Styrylrest voneinander. **38** weist einen unsubstituierten Styrylrest auf, die anderen Verbindungen sind jeweils in Position 4 des Aromaten unterschiedlich substituiert. Diese Substituenten unterscheiden sich in ihren elektronischen Eigenschaften und haben in den Antiproliferationstests an K562-Zellen einen deutlichen Einfluß auf die Wirksamkeit der Verbindungen gezeigt. Zudem schien eine Beeinflussung der Redox Eigenschaften über das konjugierte Doppelbindungssystem möglich. Eine solche Beeinflussung der Redox Eigenschaften sollte sich in veränderten Cyclovoltammogrammen zeigen. Bei der Untersuchung der ausgewählten Styrylderivate trat im Gegensatz zu den phenylalkylsubstituierten Verbindungen bei einem Elektrodenpotential im Bereich von -2 V bis -2.5 V ein Stromfluß auf, der offenbar mit einer Reduktion des Styrylsystems zusammenhängt (*Abb. D-6*). Dieser Prozeß erschien quasireversibel oder irreversibel, wurde aber nicht weiter untersucht.

In den Untersuchungen der vier Styrylchinizarine konnten wir keinen nennenswerten Substituenteneinfluß auf die Redox Eigenschaften der Chinonstruktur beobachten. Die Lage der Strompeaks und ihre Separation sind nahezu gleich und entsprechen in etwa den Werten des unsubstituierten 1,4-Dimethoxyanthrachinons (**15**). Somit kann auch durch die Einführung eines Styrylrestes in Position 2 des 1,4-Dimethoxyanthrachinons kein Einfluß auf die Redox Eigenschaften der Chinonstruktur festgestellt werden. Variation des Substituenten am Styrylrest scheint das Redoxverhalten nicht zu beeinflussen. Die Ergebnisse sind in *Tab. D-4* zusammengefaßt. Stellvertretend für Reduktions- und Oxidationspotential ist das Mittelwertspotential E_m angegeben.

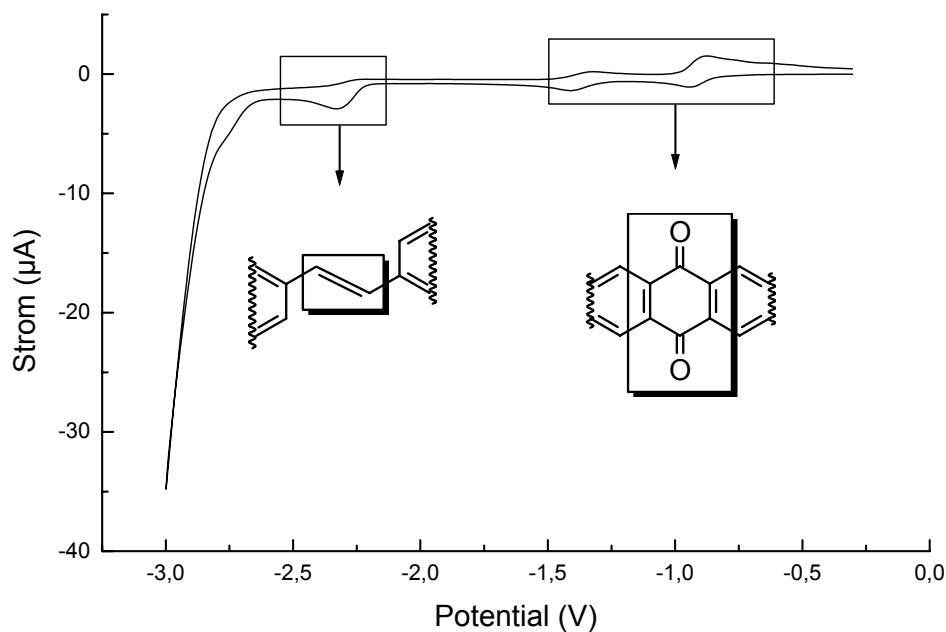
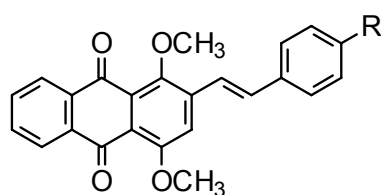


Abb. D-6: Cyclovoltammogramm von **38**; hervorgehoben die für Styrylchinizarine charakteristischen Signale; Meßbereich -0.3 bis -3 V, $v = 100$ mV.

Tab. D-4: Cyclovoltammetrische Meßdaten von Styrylderivaten; E_m = Mittelwertspotential, ΔE = Peakseparation.



Verbindung	R	1. Redoxstufe		2. Redoxstufe	
		E_m (V)	ΔE (mV)	E_m (V)	ΔE (mV)
26	COOCH ₃	-0.82	80	-1.27	110
38	H	-0.91	80	-1.35	120
39	OCH ₃	-0.86	70	-1.29	130
43	Cl	-0.90	70	-1.33	120
15	1,4-Dimethoxyanthrachinon	-0.94	70	-1.32	150

1.4 Diskussion

Für die cyclovoltammetrischen Untersuchungen wurden neben Chinizarin und **15** als Grundstrukturen ausgewählte phenylalkyl- und phenylethenylsubstituierte Derivate eingesetzt. Die Vergleiche der Daten von Chinizarin und **15** sowie von **59a** und **59b** läßt einen deutlichen Einfluß der Substitution in den Positionen 1 und 4 des Anthrachinons auf das Redoxverhalten erkennen. Die Methylierung der Chinizarin-Hydroxygruppen bewirkt eine deutliche Verschiebung der Redoxpotentiale in den stärker negativen Bereich. Chinizarin und C-2-substituierte 1,4-Dihydroxyanthrachinonderivate sind leichter zum Semichinonradikal und weiter zum Hydrochinon zu reduzieren als die methylierten Analoga. Diese Beobachtung könnte von Bedeutung für die Zytotoxizität der jeweiligen Verbindungen sein. Der Redoxzyklus der Anthrachinone führt über die Entstehung von ROS beispielsweise zur Kardiotoxizität der Anthracycline (*Kap. A-1.3*). Da die Methylierung der Hydroxygruppen offensichtlich die Reduktion des Anthrachinons erschwert, ist theoretisch eine Verminderung der ROS-vermittelten zytotoxischen Effekte denkbar, zumal das Einelektronen-Reduktionspotential von Chinonen mit deren Reduktion durch zelluläre NADPH-Cytochrom-P450-Reduktase und andere Flavoenzyme korreliert werden kann^{40,249}. Die Reduktion zum Semichinon entspricht bei allen untersuchten Verbindungen in etwa den Charakteristika eines reversiblen Vorgangs. Die zweite Reduktionsstufe scheint dagegen lediglich bei Chinizarin selbst reversibel zu verlaufen. Bei allen anderen Testsubstanzen deutet eine Peakseparation von 110–150 mV unter den gewählten Bedingungen auf einen quasireversiblen Vorgang hin. Die styryl- und phenylalkylsubstituierten 1,4-Dimethoxyanthrachinone zeigen in den cyclovoltammetrischen Untersuchungen keine Unterschiede zum unsubstituierten **15**. Die Mittelwertpotentiale E_m liegen in allen Fällen zwischen -0.82 und -0.93 V für die erste bzw. zwischen -1.27 und -1.33 V für die zweite Redoxstufe. Die Peakseparation für den ersten Reduktionsschritt kommt mit -70 mV bis -80 mV einer reversiblen Charakteristik nahe, der zweite Schritt entspricht einer quasireversiblen Charakteristik ($\Delta E = 110 - 150$ mV). Die Ergebnisse der cyclovoltammetrischen Untersuchungen zeigen somit keinen Zusammenhang zwischen dem Substituenteneinfluß auf die antiproliferative Aktivität der Chinizarinderivate und einer Beeinflussung des Redoxverhaltens der Anthrachinone. Die wachstumshemmende Wirksamkeit der Verbindungen gegenüber Leukämiezellen scheint somit nicht unmittelbar mit dem thermodynamischen Redoxpotential der Anthrachinonstruktur zusammenzuhängen.

2 Lipophilie der Testsubstanzen (logP)

2.1 Einführung

Die synthetisierten Verbindungen wurden am intakten Zellsystem auf ihre antiproliferative Aktivität geprüft. Die hohe Strukturabhängigkeit der antiproliferativen Wirkung sowie die beobachtete hohe Zellviabilität sprechen gegen eine unspezifische Membranschädigung als Ursache für die wachstumshemmende Wirkung. Die Lipophilie bzw. Polarität einer Verbindung kann ein entscheidender Faktor für ihre biologische Aktivität im Zellinneren sein. Um zu ihrem Wirkort zu gelangen, müssen die Verbindungen zunächst die Zellmembran durchdringen. Dabei gelangen sie ausgehend vom polaren, hydrophilen Extrazellulärraum über die hydrophobe Lipiddoppelschicht der Zellmembran in das wiederum polare Zytosol. Andererseits können lipophile Wechselwirkungen eines potentiellen Wirkstoffs mit einem zellulären Enzym oder einem Rezeptor Voraussetzung für einen pharmakologischen Effekt sein. Hydrophile und lipophile Eigenschaften eines Moleküls ergeben ein spezifisches Verteilungsverhalten zwischen zwei nicht mischbaren Phasen, das durch den Verteilungskoeffizienten logP ausgedrückt wird. Durch Gegenüberstellung der ermittelten logP-Werte und der IC₅₀-Werte an K562-Zellen wollten wir einen eventuellen Zusammenhang zwischen der Lipophilie der Verbindungen und ihrer wachstumshemmenden Aktivität aufzeigen.

2.2 Bestimmung der logP-Werte

Zur Bestimmung des Verteilungskoeffizienten logP verwendet man in der Regel Wasser und n-Octanol als nicht mischbare Standardphasen. Die konventionelle Schüttelmethode²⁵⁰ wurde durch eine effektivere RP-HPLC-Methode^{251,252} ersetzt. Bei der Verwendung von RP-18-Material als stationärer Phase kommen die Verteilungsbedingungen dem System Wasser/n-Octanol nahe²⁵². Wir verwendeten allerdings zur Bestimmung der logP-Werte der untersuchten Verbindungen eine computergestützte Berechnung. Diese Simulation erlaubt uns eine vorläufige Abschätzung, inwieweit unterschiedliche Wirksamkeiten der Testsubstanzen mit unterschiedlicher Lipophilie in Zusammenhang stehen. Zur Berechnung der logP-Werte nutzten wir das Programm ChemDraw Ultra 6.0 (CambridgeSoft.Com). Dieses bietet mehrere Möglichkeiten zur Berechnung von logP-Werten, denen verschiedene mathematische Modelle zugrunde liegen. Neben den Berechnungen nach *Crippen*²⁵³, *Viswanadhan*²⁵⁴ und *Broto*²⁵⁵ wird als vierte Methode die Berechnung von ClogP

angeboten. Diese Berechnungsmethoden wurden auf ausgewählte Substanzen angewendet, deren logP-Werte literaturbekannt sind (*Tab. D-5*) und die in vorigen Arbeiten bereits zur Kalibrierung der HPLC-Bestimmung von logP-Werten herangezogen wurden^{56,60,202}. In allen Fällen kam der ClogP-Wert dem in der Literatur angegebenen logP-Wert am nächsten. Die Werte sind in *Tab. D-5* gegenübergestellt. Aufgrund dieser Feststellung nutzten wir die Berechnung von ClogP als Grundlage für unsere Untersuchungen.

Tab. D-5: LogP- und ClogP-Werte ausgewählter Eichsubstanzen.

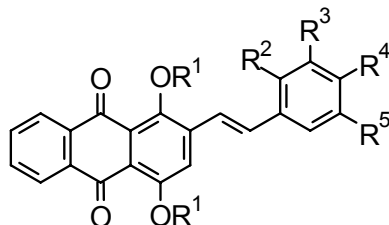
Verbindung	logP	ClogP
4-Nitrophenol	1.91 ²⁵⁶	1.85
4-Chlorphenol	2.39 ²⁵⁶	2.48
Benzophenon	3.18 ²⁵¹	3.18
Naphthalin	3.44 ²⁵⁷	3.32
Anthracen	4.49 ²⁵⁷	4.49
Hexachlorbenzol	6.45 ²⁵⁷	6.06

2.3 Ergebnisse

Die so ermittelten ClogP-Werte der untersuchten styryl- und phenylalkylsubstituierten Chinizarinderivate sind zusammen mit den IC₅₀-Werten an K562-Zellen in den folgenden Tabellen aufgeführt.

Die ClogP-Werte für die antiproliferativ wirksamen styrylsubstituierten Chinizarinderivate mit IC₅₀-Werten <10 µM bewegen sich im Bereich von 3.34 bis 5.66 (*Tab. D-6*). Dabei ist keine Korrelation zwischen IC₅₀-Wert und ClogP zu erkennen. Zu den wirksamsten Verbindungen mit IC₅₀-Werten <1 µM gehören sowohl die weniger lipophile Verbindung **54** (ClogP 3.68) als auch das lipophile Derivat **42** (ClogP 4.95). **43** und **49** zeigen mit IC₅₀-Werten von 6.3 µM bzw. 9.6 µM nahezu gleiche antiproliferative Aktivitäten, die zugehörigen ClogP-Werte sind mit 5.66 (**43**) und 3.84 (**49**) aber deutlich unterschiedlich. Betrachtet man zusätzlich die ClogP-Werte der in unserem Zelltest nahezu unwirksamen Verbindungen **26-28** und **48**, deren IC₅₀-Werte allesamt > 70 µM sind, so liegen hier die ClogP-Werte zwischen 4.39 und 5.09 und damit im gleichen Bereich wie bei den wirksamen Verbindungen.

Tab. D-6: IC₅₀-Werte (K562-Zellen) und ClogP-Werte von styrylsubstituierten Chinizarinderivaten sowie den Vergleichssubstanzen **FD41** und **44**.

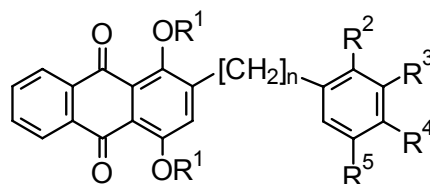


Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	IC ₅₀ (μM) [*]	ClogP
24	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	1.9	4.24
25	CH ₃	H	Cl	H	Cl	14.7	6.37
26	CH ₃	H	H	COOCH ₃	H	>70	4.91
27	CH ₃	H	H	NO ₂	H	>72	4.69
28	CH ₃	H	H	CN	H	>76	4.38
38	CH ₃	H	H	H	H	2.2	4.94
39	CH ₃	H	H	OCH ₃	H	2.3	4.86
40	CH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	1.2	4.95
41	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	0.7	4.60
42	CH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃	0.5	4.95
43	CH ₃	H	H	Cl	H	6.3	5.66
47	H/CH ₃	H	H	OCH ₃	H	17.6	5.12
48	H	H	H	OCH ₃	H	>80	5.09
49	H	H	OH	H	OH	9.6	3.84
53	CH ₃	H	OMOM	OMOM	H	0.9	3.34
54	CH ₃	H	OH	OH	H	0.4	3.68
55	CH ₃	H	H	OH	H	0.3	4.28
56	CH ₃	H	OH	OCH ₃	H	0.7	4.13
15	1,4-Dimethoxyanthrachinon					>110	2.65
44	2,5,3',4'-Tetramethoxystilben					40.2	4.10

Auch für die zumeist weniger antiproliferativ wirksamen phenylalkylsubstituierten Chinizarinderivate liegen die ClogP-Werte in der gleichen Größenordnung wie für die Styrylderivate (Tab. D-7). Der deutliche Unterschied in der antiproliferativen Wirksamkeit zwischen 1,4-Dihydroxy- und 1,4-Dimethoxyderivaten spiegelt sich in den

berechneten ClogP-Werten nicht wider. Die Differenz der ClogP-Werte beträgt jeweils nur etwa 0.2 Einheiten und kann damit nicht als Erklärung für den Wirkverlust bei den Hydroxyderivaten herangezogen werden. Im Zelltest haben sich die Hydroxyderivate gegenüber den Methoxyderivaten als deutlich schlechter löslich erwiesen, was durch eine erhöhte Lipophilie, aber auch durch andere Substanzeigenschaften bedingt sein könnte. Inwieweit die Computerberechnung die speziellen Eigenschaften unserer Verbindungen wie z.B. den Einfluß der Wasserstoff-Brückenbindungen in den 1,4-Dihydroxyderivaten zutreffend einbezieht, bleibt im Rahmen dieser Arbeit ungeklärt.

Tab. D-7: IC₅₀-Werte (K562-Zellen) und ClogP-Werte von phenylalkyl-substituierten Chinizarinderivaten.



Verb.	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	IC ₅₀ (µM)	ClogP
58a	1	H	H	OCH ₃	H	OCH ₃	n.b.*	4.90
58b	1	CH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	2.4	4.73
59a	1	H	H	OCH ₃	OCH ₃	H	>75	4.55
59b	1	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	6.6	4.38
60a	1	H	OCH ₃	H	H	OCH ₃	>75	4.90
60b	1	CH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃	1.1	4.73
57a	1	H	H	H	H	H	>90	4.90
57b	1	CH ₃	H	H	H	H	6.8	4.72
67b	3	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	10.6	5.29
68b	4	CH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H	11.8	5.81
69b	4	CH ₃	H	H	H	H	>75	6.16
70	2	CH ₃	H	OCH ₃	H	OCH ₃	7.2	5.11
71	2	CH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃	2.6	5.11

* n.b. = nicht bestimmt

Zusammenfassend läßt sich festhalten, daß wir durch Vergleich der ClogP-Werte und der biologischen Daten keinen direkten Zusammenhang zwischen der antiproliferativen Wirksamkeit der geprüften Substanzen und ihrer Lipophilie erkennen können. Die berechneten ClogP-Werte können den drastischen Wirkverlust von 1,4-Dihydroxy-anthrachinonderivaten gegenüber den entsprechenden 1,4-Dimethoxyderivaten ebensowenig erklären wie den deutlichen Einfluß der Substituenten am Styrylrest von styrylsubstituierten Chinizarinderivaten auf die Wirksamkeit der Verbindungen.

E Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit bestand in der Synthese und biologischen Prüfung von 2-phenylethenylsubstituierten Derivaten des Chinizarins (1,4-Dihydroxyanthrachinon). Die Partialstrukturen biologisch aktiver Anthrachinone und Stilbene sollten miteinander kombiniert werden. Als Parameter für die biologische Aktivität der neuen Anthrachinonderivate untersuchten wir die wachstumshemmenden Eigenschaften gegenüber ausgewählten Zelllinien, insbesondere K562-Leukämiezellen. Zur Herausarbeitung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen sowie einer optimalen Wirkstruktur wurden Verbindungen mit guter antiproliferativer Aktivität in orientierenden biologischen Prüfungen strukturell verändert. Darüberhinaus wurden aktive Verbindungen im Rahmen der Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus auf die Induktion von Zelltod, Interaktion mit der DNA sowie auf eine Hemmung der DNA-Topoisomerase I untersucht. In cyclovoltammetrischen Experimenten untersuchten wir die Beeinflussung des Redoxverhaltens der Anthrachinon-Struktur durch die eingeführten Substituenten.

Für die Synthese der neuen Verbindungen verwendeten wir zunächst das Chinizarin selbst als Grundstruktur. Die Einführung eines Alkylrestes in die Position 2 gelang durch *Marschalk*-Alkylierung des Chinizarinmonomethylethers sowie alternativ durch Kondensation von Phthalsäureanhydrid mit Methylhydrochinon in einer zweifachen *Friedel-Crafts*-Acylierung. Nach Derivatisierung zum 2-Carbaldehyd **29** bzw. zum Triphenylphosphoniumbromid **23** konnten wir durch *Wittig*- und *Horner-Wadsworth-Emmons*-Reaktionen zahlreiche neue phenylethenylsubstituierte Chinizarinderivate synthetisieren. Zur Ermittlung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen stellten wir ferner 2- ω -Phenylalkylderivate mit gesättigter Alkylkette durch *Marschalk*-Alkylierung des Chinizarins sowie durch katalytische Hydrierung von Phenylethylderivaten dar. Des Weiteren stellten wir ausgehend vom Carbaldehyd **29** auch Chinizarinderivate mit Chalkon-Partialstruktur her. Um die Bedeutung der Chinonstruktur aktiver Verbindungen für die biologische Aktivität zu ermitteln, eliminierten wir diese durch reduktive Methylierung. Zur weiteren Ergänzung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen synthetisierten wir analog den Chinizarinderivaten phenylethenylsubstituierte Derivate des 1,6,8-Trihydroxy-3-methylanthrachinons (Frangula-Emodin) durch *Horner-Wadsworth-Emmons*-Olefinierung nach Derivatisierung der im Molekül vorhandenen Methylgruppe zum Carbaldehyd. Außerdem konnten wir einen geeigneten Syntheseweg zum bisher nicht beschriebenen 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinon-Derivat **94** zeigen, das einer Alkylierung nach *Marschalk* in Position 2 zugänglich ist.

In den biochemischen Untersuchungen konnten wir eine deutliche Strukturabhängigkeit der antiproliferativen Aktivität der Verbindungen gegenüber K562-Leukämiezellen zeigen. Die mit IC_{50} -Werten $< 1 \mu\text{M}$ aktivsten Verbindungen sind innerhalb der 2-phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivate zu finden. Sie weisen im Anthrachinonteil 1,4-Dimethoxysubstitution auf und sind am aromatischen Ring der Seitenkette hydroxy- und/oder methoxysubstituiert (**41**, **42**, **54-56**). Auch **53** als zweifach MOM-geschützte Vorstufe des Catecholderivates **54** gehört zu den aktivsten Verbindungen ($IC_{50} = 0.9 \mu\text{M}$). Die methoxysubstituierten Derivate **24**, **39** und **40** sowie das am Styrylrest unsubstituierte **38** sind mit IC_{50} -Werten von 1.2 bis $2.3 \mu\text{M}$ ebenfalls als gut wirksam zu betrachten. Die Einführung von anderen Substituenten in den aromatischen Ring der Seitenkette führt zu deutlich verminderter Aktivität. So sind die chloresubstituierten Verbindungen **25** und **43** mit IC_{50} -Werten von 14.7 bzw. $6.3 \mu\text{M}$ noch mäßig aktiv, während **26-28** mit COOCH_3 -, NO_2 -, bzw. CN -Substituenten als unwirksam betrachtet werden müssen. Die 2- ω -Phenylalkyl-Derivate des Chinizarins zeigen gegenüber den korrespondierenden styrylsubstituierten Verbindungen verminderte antiproliferative Aktivität. Die IC_{50} -Werte der Phenylmethylderivate **57b-60b** sind mit $1.1 \mu\text{M}$ bis $6.8 \mu\text{M}$ um den Faktor 2–9 größer als die der korrespondierenden Styrylderivate. Die Verlängerung der Alkylkette zwischen dem Anthrachinongerüst und dem aromatischen Substituenten der Seitenkette führt im allgemeinen zu weiter abnehmender antiproliferativer Wirksamkeit. Etherspaltungen im Anthrachinonteil führen zu Verbindungen mit deutlich reduzierter Aktivität. Während die styrylsubstituierten Derivate **47** ($IC_{50} = 17.6 \mu\text{M}$) und **49** ($IC_{50} = 9.6 \mu\text{M}$) noch moderate wachstumshemmende Eigenschaften zeigen, können **48** sowie die Phenylmethylderivate **57a**, **59a** und **60a** mit 1,4-Dihydroxysubstitution des Anthrachinonkerns als völlig inaktiv betrachtet werden. Durch den Vergleich mit 2-phenylethenylsubstituierten Derivaten anderer Anthrachinone erweist sich auch die Lage der beiden Methoxysubstituenten an den Positionen 1 und 4 des Anthrachinonkerns als essentiell für eine wachstumshemmende Aktivität. So sind die Emodinderivate **86** und **87** ebenso wie Verbindungen aus früheren Arbeiten inaktiv gegenüber K562-Zellen. Die antiproliferative Wirkung der Verbindungen ist darüberhinaus an die Hybridstruktur aus Anthrachinon und Stilben gebunden. Während das Anthrachinonstilbenderivat **41** zu den aktivsten Verbindungen gehört ($IC_{50} = 0.7 \mu\text{M}$), sind mit **44**, das nicht das Anthrachinongerüst aufweist, und **15**, das lediglich ein Anthrachinon ohne Substituent in 2-Position darstellt, beide Partialstrukturen kaum wirksam ($IC_{50} = 40.2$ bzw. $> 110 \mu\text{M}$). Die Bedeutung der Chinonstruktur für die antiproliferative Wirksamkeit der Verbindungen wird dadurch unterstrichen, daß die durch reduktive Methylierung erhaltenen Tetramethoxyanthracenderivate **73** und **75**

etwa um den Faktor 6–7 schlechter wirksam sind als die entsprechenden Anthrachinone. Die Chinizarinderivate **76** und **77** mit Chalkon-Partialstruktur erweisen sich mit IC_{50} -Werten von 1.6 μM bzw. 1.7 μM als ähnlich wirksam wie die korrespondierenden Styrylderivate.

Unsere aktivsten Verbindungen erreichen zwar nicht die wachstumshemmende Wirkung der pharmazeutisch bedeutsamen Zytostatika Mitoxantron ($IC_{50} = 0.004 \mu\text{M}$) und Doxorubicin ($IC_{50} = 0.01 \mu\text{M}$), sie sind aber deutlich wirksamer als die Referenzsubstanzen Emodin und Damnacanthal, die dokumentierte biologische Aktivität in zellulären Testsystemen aufweisen. Wir konnten die gute wachstumshemmende Aktivität der Chinizarinderivate auch an anderen Zelllinien bestätigen. Die aktivsten Verbindungen hemmen auch das Wachstum von HL60-Leukämiezellen in submikromolaren Konzentrationen sowie das Wachstum von HepG2-Lebertumorzellen und HaCaT-Keratinocyten im unteren mikromolaren Konzentrationsbereich. Für **38**, **41**, **42** und **60b** konnte antiproliferative Aktivität ferner gegenüber acht weiteren Zelllinien, darunter vier Xenograft-Zelllinien, gezeigt werden.

Untersuchungen zur Zellviabilität zeigen, daß auch nach Inkubation mit den Styrylderivaten **41**, **42** und **55** in Konzentrationen, die deutlich größer sind als die jeweiligen IC_{50} -Werte, über 80 % der in ihrem Wachstum gehemmten Zellen lebensfähig bleiben. Aufgrund dieser Ergebnisse sowie der erläuterten hohen Strukturabhängigkeit der wachstumshemmenden Wirkung, ist eine unspezifische Zytotoxizität als Ursache für die Aktivität der Verbindungen auszuschließen. Die antiproliferative Wirksamkeit der untersuchten Verbindungen beruht ebensowenig auf einer Interkalation in die DNA. Weder durch UV-Differenzspektroskopie noch durch fluoreszenzspektroskopische Untersuchungen konnte eine Wechselwirkung zwischen den untersuchten Verbindungen und der DNA nachgewiesen werden.

Eine Auswahl von Chinizarinderivaten wurde auf die Hemmung eukaryotischer Topoisomerase I geprüft. Die Verbindungen führen in einer Konzentration von 100 μM zu Nucleotid-Strangbrüchen infolge der Stabilisierung eines Komplexes aus Nucleotid, Topoisomerase I und Testverbindung. Für **41**, **42** und **59b** konnten IC_{50} -Werte von 10 μM , 15 μM bzw. 33 μM ermittelt werden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß eine Hemmung der Topoisomerase I an der antiproliferativen Wirkung der Verbindungen beteiligt sein könnte.

In cyclovoltammetrischen Untersuchungen von Chinizarinderivaten konnten wir keine Korrelation zwischen der antiproliferativen Aktivität der Verbindungen und einem Substituenteneinfluß auf das Redoxverhalten der Chinonstruktur feststellen. Die wachstumshemmende Wirkung der Chinizarinderivate scheint somit nicht unmittelbar mit dem Redoxpotential der Anthrachinonstruktur zusammenzuhängen. Ebensowenig

läßt sich die unterschiedliche Aktivität der Verbindungen durch ihre Lipophilie erklären. Die berechneten ClogP-Werte konnten nicht mit den ermittelten IC₅₀-Werten korreliert werden.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß wir mit der Synthese von 2-phenylethenylsubstituierten Chinizarinderivaten Verbindungen mit guter antiproliferativer Wirkung gegenüber mehreren Zelllinien erhalten konnten. In bezug auf die Aktivität gegenüber K562-Zellen konnten wir klare Struktur-Wirkungsbeziehungen herausarbeiten. Als Ursachen für die wachstumshemmende Wirkung schließen wir eine unspezifische Zytotoxizität sowie eine Interkalation in die DNA aus. Eine Topoisomerase I-Hemmung scheint an der Wirkung der Verbindungen beteiligt zu sein. Weitergehende Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus konnten im zeitlichen Rahmen dieser Arbeit nicht mehr durchgeführt werden. Sie stellen neben einer weiteren Optimierung der wirksamen Strukturen, etwa durch die Synthese von wasserlöslichen Derivaten in Analogie zum Mitoxantron, interessante Aufgaben für zukünftige Projekte dar.

F Experimenteller Teil

1 Allgemeine Angaben

1.1 Synthesen

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. Falls nichts anderes angegeben ist, wurden KBr-Preßlinge verwendet.

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

Die ¹H-NMR-Spektren wurden am Institut für Pharmazeutische und Medizinische 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, quint = Quintett, m = Multipllett und br = breit gekennzeichnet. Die Kopplungskonstanten (*J*) sind in Hertz (Hz) angegeben. Die Spektren wurden bei 25 °C aufgenommen. Als Lösungsmittel wurden CDCl₃ und DMSO-*d*₆ verwendet.

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

Die ¹³C-NMR-Spektren wurden am Institut für Pharmazeutische und Medizinische 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 wurden CDCl₃ und DMSO-*d*₆ verwendet.

Massenspektren (MS, 70 eV)

Die Massenspektren wurden am Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie der Universität Münster als Direkteinlaß mit dem Gerät MAT GCQ (70 eV) der Firma Finnigan aufgenommen. Die in Klammern angegebenen 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 Instituts für Organische Chemie 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 im UV-Licht 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. Wenn nichts anderes angegeben ist, kristallisierten die Produkte nach säulenchromatographischer Reinigung beim Einengen der Reifractionen 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 Untersuchungen

Geräte

Autoklav	Webeco-Bad Schwartau, Typ B
Begasungsbrutschrank	Labotect NAPCO Series 5400 CO ₂ Incubator, Modell 5420-1
Bidest.-Anlage	Heraeus
Photometer	Uvikon Spektrophotometer 922, Kontron Instruments
Fluorimeter	Shimadzu Spectrofluorophotometer RF-540, Data Recorder DR-3
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	Schüttelwasserbad Julabo SW-20C
Hämocytometer	Zählkammer nach Neubauer, improved bright line
Zentrifuge	Jouan CR 412

Verbrauchsmaterialien und Reagenzien

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

2 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AV)

AV 1: Wittig-Olefinierung

Herstellung von 1,4-Dimethoxy-2-(E)-(2-phenylethenyl)-9,10-anthracendionen

Variante A: In einem ausgeheizten und mit N₂ gespülten Dreihalskolben wird NaH (60 % in Mineralöl, 0.1 g, 2.5 mmol) in DMSO (5 mL) suspendiert und 15 min auf 45 °C erwärmt. Der Suspension werden **23** (0.62 g, 1 mmol), gelöst in DMSO (5 mL), und nach weiteren 10 min eine Lösung des Aldehyds^{***} (1 mmol) in DMSO (5 mL) zugegeben. Der Ansatz wird 30 min (DC-Kontrolle) 50-60 °C erhitzt. Man überführt das Gemisch in Wasser (200 mL), säuert mit HCl (2 mol/L, 5 mL) an und extrahiert mit CH₂Cl₂ (3 × 100 mL). Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingengt. Der Rückstand wird gereinigt.

Variante B: Abweichend von Variante A gibt man zur NaH-Suspension zunächst das Phosphoniumsalz^{***} (1 mmol), dann den Aldehyd **29** (0.30 g, 1 mmol). Ansonsten entsprechen Reaktionsbedingungen und Aufarbeitung Variante A.

AV 2: Horner-Wadsworth-Emmons-Olefinierung

Herstellung von 1,4-Dimethoxy-2-(E)-(2-phenylethenyl)-9,10-anthracendionen

Analog zu AV 1 wird in einem ausgeheizten und mit N₂ gespülten Dreihalskolben NaH (60 %, 0.1 g, 2.5 mmol) in DMSO (5 mL) suspendiert und die Suspension 15 min auf 45 °C erwärmt. Man ergänzt zunächst das Phosphonat^{***} (1 mmol), gelöst in DMSO (5 mL), und nach 10 min eine Lösung des Aldehyds **29**^{***} (1 mmol) in DMSO (5 mL). Der Ansatz wird 30 min (DC-Kontrolle) auf 50-60 °C erwärmt und analog AV 1 aufgearbeitet.

AV 3: Alkylierung nach Marschalk

Herstellung von 1,4-Dihydroxy-2-ω-phenylalkyl-9,10-anthracendionen

Zu einer Lösung von 1,4-Dihydroxyanthrachinon (Chinizarin)^{***} in NaOH (1 mol/L, 100 mL) gibt man bei 40 °C unter N₂-Atmosphäre Natriumdithionit (1.5 molare Äquivalente) und erwärmt auf 60–65 °C. Nach 20 min wird der Aldehyd^{***} zugegeben, und man erhitzt unter Rückflußkühlung auf 90 °C. Die Reaktion wird nach der jeweils angegebenen Reaktionszeit beendet, indem man 30 min unter Luftzutritt rührt und auf

Raumtemperatur abkühlen läßt. Man überführt das Gemisch in Wasser (200 mL) und säuert mit HCl (2 mol/L) an.

Variante A: Der Niederschlag wird abgesaugt und in Toluol am Wasserabscheider getrocknet. Man engt am Rotationsverdampfer ein und kristallisiert das Produkt durch Zugabe von Petrolether aus. Das Produkt wird sc gereinigt.

Variante B: Man extrahiert mit CH_2Cl_2 (3×100 mL), wäscht die vereinigten organischen Phasen mit Wasser und trocknet über Na_2SO_4 . Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und das erhaltene Produkt sc gereinigt.

AV 4: Methylierung mit Dimethylsulfat

Das Edukt wird mit der 10-fachen molaren Menge an K_2CO_3 in trockenem Aceton suspendiert und das Gemisch langsam zum Sieden erhitzt. Die 5-fache molare Menge Dimethylsulfat, bezogen auf die Eduktmenge, wird langsam zugetropft, und man erhitzt unter Rückfluß bis zur vollständigen Methylierung (12–48 h, DC-Kontrolle). Man läßt auf Raumtemperatur abkühlen, filtriert das Kaliumsalz ab und wäscht gründlich mit Aceton nach. Man engt im Vakuum ein und kristallisiert das Produkt durch Stehenlassen im Eisbad und Zugabe von Petrolether aus. Bei Bedarf wird sc gereinigt.

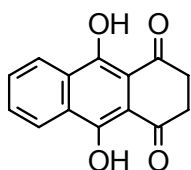
*** Genaue Angaben unter der jeweiligen Verbindung.

3 Synthesevorschriften und analytische Daten

3.1 Synthese von Derivaten des 1,4-Dihydroxyanthrachinons (Chinizarin)

3.1.1 Synthese von 2-(*E*)-(2-Phenylethenyl)-substituierten Derivaten durch Wittig-Olefinierung

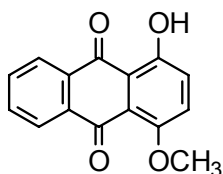
2,3-Dihydro-9,10-dihydroxy-1,4-anthracendion (Leukochinizarin, **9**)^{55,63,76,78}



Die Herstellung erfolgt modifiziert nach Lit.⁵⁵ Man löst Na₂CO₃ (12 g) in Wasser (100 mL), erwärmt auf 60–70 °C und versetzt mit Chinizarin (10.0 g, 41.6 mmol). In das kräftig gerührte Gemisch tropft man unter N₂-Atmosphäre eine Lösung von Natriumdithionit (11.5 g, 66.0 mmol) in Wasser (100 mL) und erhitzt auf 85 °C. Nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle) wird das Gemisch auf Raumtemperatur abgekühlt, der Niederschlag abfiltriert und in Toluol am Wasserabscheider getrocknet. Man engt am Rotationsverdampfer ein und kristallisiert das Produkt durch Zugabe von Petrolether aus.

Reinigung	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	gelbes Pulver (8.47 g, 84 %)
Smp:	154–156 °C (Lit. ^{63,76} 158, 155–156 °C)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 13.58 (s, 2H, OH), 8.44–8.39 (m, 2H, H-5,8), 7.78–7.73 (m, 2H, H-6,7), 3.06 (s, 4H, H-2,3), entspricht Lit. ⁷⁸
MS:	m/z 242 (100, M ⁺)

1-Hydroxy-4-methoxy-9,10-anthracendion (**14**)^{75,80}

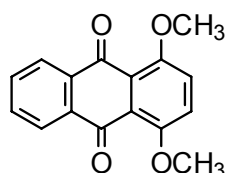


Analog Lit.⁸⁰ wird Thionylchlorid (30 mL) bei -78 °C (Trockeneis/Aceton) in Methanol (150 mL) gelöst. Man läßt die Lösung auf Raumtemperatur erwärmen, gibt **9** (5.0 g,

20.6 mmol) hinzu und erwärmt im Ölbad auf 60 °C. Nach vollständiger Umsetzung (DC-Kontrolle) gießt man das Gemisch in Wasser (200 mL) und läßt unter Luftzutritt 30 min rühren. Der Niederschlag wird abgesaugt und in Toluol am Wasserabscheider getrocknet. Das Produkt kristallisiert aus Toluol durch Zugabe von Petrolether aus und wird bei Bedarf so gereinigt (SiO₂; CH₂Cl₂).

Ausbeute: orange-rote Kristalle (4.74 g, 90 %)
 Smp: 175 °C (Lit.^{75,80} 188, 170°C)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 12.97 (s, 1H, OH), 8.30–8.24 (m, 2H, H-5,8), 7.85–7.71 (m, 2H, H-6,7), 7.41 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, Ar) 7.31 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, Ar), 4.02 (s, 3H, OCH₃), entspricht Lit.⁸⁰
 MS: *m/z* 254 (100, M⁺), 225 (97)

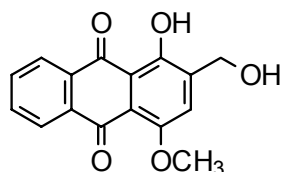
1,4-Dimethoxy-9,10-anthracendion (15)²⁵⁸



Aus Chinizarin (2.0 g, 8.3 mmol) nach **AV 4**.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂
 Ausbeute: gelbe Nadeln (1.93 g, 86.4 %)
 Smp: 172–173 °C (Lit.^{83,258} 170–171 °C)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.19–8.14 (m, 2H, H-5,8), 7.73–7.69 (m, 2H, H-6,7), 7.35 (s, 2H, H-2,3), 4.01 (s, 6H, 2 × OCH₃), entspricht Lit.²⁵⁸

1-Hydroxy-2-hydroxymethyl-4-methoxy-9,10-anthracendion (18)^{75,156}

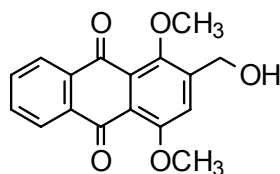


In einem mit Innenthermometer versehenen Dreihalskolben löst man **14** (5.0 g, 19.7 mmol) in Methanol (250 mL) und kühlt die Lösung im Eis/NaCl-Bad auf 0 °C ab. Unter N₂-Atmosphäre gibt man zunächst NaOH (1 mol/L, 30 mL) und 15 min später Natriumdithionit (4.2 g, 24.1 mmol) in Wasser (25–30 mL) dazu. Nach weiteren 20 min wird Formaldehydlösung (37 %, 27 mL) zugetropft. Der Ansatz wird bei 0 °C 3 h (DC-

Kontrolle) unter N₂-Atmosphäre und anschließend 20 min unter Luftzutritt gerührt. Man säuert das Gemisch mit HCl (2 mol/L) an und filtriert nach 30 min den gebildeten Niederschlag ab. Das Produkt wird in Toluol am Wasserabscheider getrocknet und unter Eiskühlung aus Toluol kristallisiert. Das Rohprodukt wird ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute:	oranges Pulver (3.82 g, 68.3 %)
Smp:	175–178 °C (Lit. ^{75,156} 178, 174–177 °C)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆):	δ 13.15 (s, 1H, OH), 8.15–8.05 (m, 2H, H-5,8), 7.90–7.82 (m, 2H, H-6,7), 7.64 (s, 1H, H-3), 5.60 (t, <i>J</i> = 5.3 Hz, 1H, CH ₂ OH), 4.62 (d, <i>J</i> = 5.3 Hz, 2H, CH ₂ OH), 3.89 (s, 3H, OCH ₃)
MS:	m/z 284 (100, M ⁺)

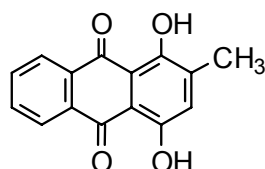
2-Hydroxymethyl-1,4-dimethoxy-9,10-anthracendion (19)⁸¹



Aus **18** (2.0 g, 7 mmol) nach **AV 4**.

Reinigung:	SiO ₂ ; Ether
Ausbeute:	gelbes Pulver (1.29 g, 62 %)
Smp:	177–178 °C (Lit. ⁸¹ 180 °C)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.20–8.14 (m, 2H, H-5,8), 7.77–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.53 (s, 1H, H-3), 4.90 (d, <i>J</i> = 4.5 Hz, 2H, CH ₂ OH), 4.02 (s, 3H, OCH ₃), 3.91 (s, 3H, OCH ₃), 2.55 (br s, 1H, OH)

1,4-Dihydroxy-2-methyl-9,10-anthracendion (20)^{74,90}

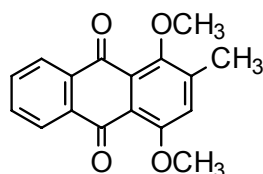


Die Herstellung erfolgt modifiziert nach Lit.⁷⁴ AlCl₃ (92.0 g, 690 mmol) und NaCl (18.0 g, 308 mmol) werden gemischt und auf 170 °C erwärmt (Ölbad). Phthalsäureanhydrid (10 g, 67.5 mmol) und Methylhydrochinon (8.40 g, 67.7 mmol)

werden der Schmelze zugegeben, und man rührt 20 min unter weiterem Erhitzen auf 200 °C. Das Gemisch wird abgekühlt, mit Eiswasser (700 mL) und konz. HCl (150 mL) versetzt und für 1 h auf 70 °C erwärmt. Man extrahiert gründlich mit CH₂Cl₂, wäscht die vereinigten organischen Phasen mit Wasser und trocknet über Na₂SO₄. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer auf ein kleines Volumen eingengt und das Produkt durch Zugabe von Petrolether kristallisiert.

Ausbeute: orange-rote Kristalle (10.54 g, 61.5 %)
 Smp: 176–178 °C (Lit.^{74,90} 178–179, 175 °C)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 13.33 (s, 1H, OH), 12.95 (s, 1H, OH), 8.34–8.29 (m, 2H, H-5,8), 7.85–7.79 (m, 2H, H-6,7), 7.14 (s, 1H, H-3), 2.36 (s, 3H, Ar-CH₃), entspricht Lit.^{74,90}

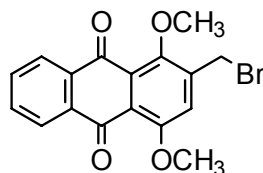
1,4-Dimethoxy-2-methyl-9,10-anthracendion (**21**)⁷⁴



Aus **20** (10.54 g, 41.5 mmol) nach **AV 4**.

Reinigung: SiO₂; Ether
 Ausbeute: gelbe Nadeln (9.6 g, 82 %)
 Smp: 132–134 °C (Lit.⁷⁴ 133–134 °C)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.20–8.12 (m, 2H, H-5,8), 7.76–7.67 (m, 2H, H-6,7), 7.20 (s, 1H, H-3), 4.01 (s, 3H, OCH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 2.44 (s, 3H, Ar-CH₃), entspricht Lit.⁷⁴

2-Brommethyl-1,4-dimethoxy-9,10-anthracendion (**22**)^{74,90}



Variante A: Zu einer Lösung von **19** (0.54 g, 1.8 mmol) in CH₂Cl₂ (40 mL) gibt man unter N₂-Atmosphäre und unter Eiskühlung Phosphortribromid (0.17 mL, 1.8 mmol). Das Gemisch wird 2 h im Eisbad gerührt und anschließend in Eiswasser (200 mL) überführt. Man extrahiert mit CH₂Cl₂ (3 × 80 mL), wäscht die vereinigten organischen

Phasen mit Wasser und trocknet über Na_2SO_4 . Man engt auf ein kleines Volumen ein, bringt das Produkt durch Zugabe von Methanol zur Kristallisation und reinigt sc (SiO_2 ; CH_2Cl_2).

Ausbeute: gelb-orange Kristalle (0.34 g, 52.3 %)

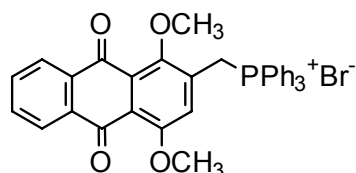
Variante B: Analog Lit.⁹⁰ wird **21** (3.0 g, 10.6 mmol) in CCl_4 (150 mL) suspendiert und die Mischung zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von N-Bromsuccinimid (2.45 g, 13.8 mmol) und Benzoylperoxid (0.4 g) erhitzt man unter Rückfluß 24 h zum Sieden. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand in CH_2Cl_2 (150 mL) aufgenommen. Man wäscht mehrmals mit Wasser, trocknet die organische Phase über Na_2SO_4 , engt am Rotationsverdampfer ein und reinigt den Rückstand sc (SiO_2 ; CH_2Cl_2).

Ausbeute: gelb-orange Kristalle (1.57 g, 41 %)

Smp: 185–187 °C, (Lit.^{74,90} 184–186, 180–181 °C)

H-NMR (CDCl_3): δ 8.20–8.16 (m, 2H, H-5,8), 7.75–7.72 (m, 2H, H-6,7), 7.40 (s, 1H, H-3), 4.63 (s, 2H, CH_2Br), 4.04 (s, 3H, OCH_3), 4.02 (s, 3H, OCH_3), entspricht Lit.⁷⁴

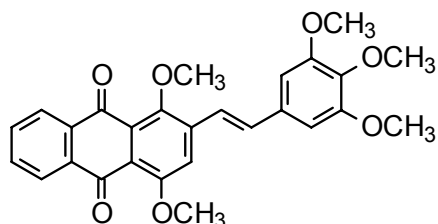
[(1,4-Dimethoxy-9,10-dioxoanthracen-2-yl)-methyl]-triphenylphosphoniumbromid (23)



22 (1.55 g, 4.3 mmol) und Triphenylphosphin (1.13 g, 4.3 mmol) werden in Toluol (30 mL) unter Rückfluß erhitzt. Nach 24 h kühlt man ab, saugt den Niederschlag ab und wäscht mit Petrolether. Das Rohprodukt wird im Ölpumpenvakuum getrocknet und ohne weitere Reinigung umgesetzt.

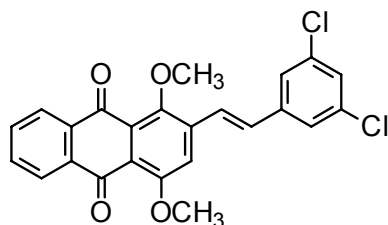
Ausbeute: gelbes Pulver (2.50 g, 93.4 %)

¹H-NMR (CDCl_3): δ 8.14–8.03 (m, 2H, H-5,8), 7.86–7.61 (m, 18 H, Ar), 5.56 (d, 2H, $J_{\text{HP}} = 15.3$ Hz, $-\text{CH}_2\text{-P}$), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.64 (s, 3H, OCH_3)

1,4-Dimethoxy-2-(*E*)-[2-(3,4,5-trimethoxyphenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (24)

Aus **23** und Trimethoxybenzaldehyd nach **AV 1**, Variante A.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	rote Kristalle (89 mg, 19.3 %)
Smp:	211–213 °C
FTIR:	1662 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.22–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.75–7.71 (m, 2H, H-6,7), 7.53 (s, 1H, Ar), 7.43 (d, <i>J</i> = 16.4 Hz, 1H, CH=CH), 7.21 (d, <i>J</i> = 16.6 Hz, 1H, CH=CH), 6.82 (s, 2H, Ar), 4.10 (s, 3H, OCH ₃), 3.95 (s, 6H, 2 × OCH ₃), 3.93 (s, 3H, OCH ₃), 3.90 (s, 3H, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.54, 182.63 (2 × C=O), 156.77, 153.64 (2C), 151.98, 140.15 (2C), 134.55, 134.02, 132.33 (2C), 128.05 (11 × C arom.), 133.77, 133.71, 133.29, 126.65, 126.45, 121.28, 115.28, 104.47 (2C) (9 × CH arom.), 62.62, 61.09, 56.94, 56.34 (2C) (5 × OCH ₃)
MS:	<i>m/z</i> 460 (100, M ⁺), 445 (13), 429 (15), 397 (12), 181 (18)
Anal. (C ₂₇ H ₂₄ O ₇ , 460.5):	Ber C, 70.43; H, 5.25 Gef C, 70.24; H, 5.08

2-(*E*)-[2-(3,5-Dichlorphenyl)ethenyl]-1,4-dimethoxy-9,10-anthracendion (25)

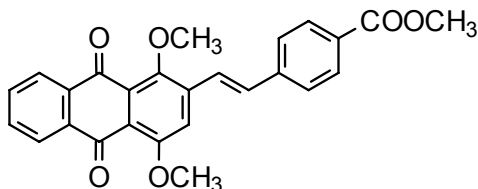
Aus **23** und 3,5-Dichlorbenzaldehyd nach **AV 1**, Variante A.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	gelb-orange Nadeln (210 mg, 48 %)
Smp:	190 °C

FTIR:	1669 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.20–8.14 (m, 2H, H-5,8), 7.77–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.53–7.31 (m, 5H: 4H, Ar; 1H, CH=CH), 7.12 (d, <i>J</i> = 16.5 Hz, 1H, CH=CH), 4.09 (s, 3H, OCH ₃), 3.93 (s, 3H, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 177.98, 177.27 (2 × C=O), 151.32, 146.94 (2 × C-OCH ₃), 130.25 (2C, 2 × C-Cl), 134.34, 133.69, 129.14, 128.65, 122.83, 117.29 (6 × C arom.), 128.43, 128.07, 125.52, 123.10, 121.33, 121.17, 120.06 (2C), 119.33, 110.29 (10 × CH arom.), 57.48, 51.64 (2 × OCH ₃)
MS:	<i>m/z</i> 438 (100, M ⁺), 423 (28), 407 (31), 391(21), 279 (35)
Anal. (C ₂₄ H ₁₆ Cl ₂ O ₄ , 438.0):	Ber C, 65.62; H, 3.67 Gef C, 64.37; H, 3.40 ***

*** Trotz wiederholter Bestimmung kein besseres Ergebnis.

4-[2-(1,4-Dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracen-2-yl)-(E)-vinyl]-benzoesäuremethylester (26)

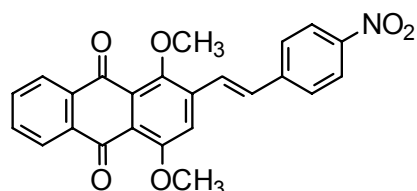


Aus **23** und 4-Formylbenzoesäuremethylester nach **AV 1**, Variante A.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂ Kristallisation aus CH ₂ Cl ₂ /MeOH
Ausbeute:	orange Kristalle (99 mg, 23 %)
Smp:	221–223 °C
FTIR:	1719 (Ester), 1659 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.21–8.06 (m, 4H, Ar), 7.78–7.56 (m, 6H: 5H, Ar; 1H, CH=CH), 7.29 (d, <i>J</i> = 16.6 Hz, 1H, CH=CH), 4.11 (s, 3H, OCH ₃), 3.95 (s, 6H, 2 × OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.41, 182.61 (2 × C=O), 166.72 (COOCH ₃), 156.70, 152.25, 140.97, 139.52, 134.49, 134.00, 130.09, 128.14 (8 × C arom.), 133.71, 133.35, 132.49, 130.25 (2C), 127.02 (2C), 126.65, 126.49, 124.29, 115.55 (11 × CH arom.), 62.74, 56.97, 52.26 (3 × OCH ₃)

MS: m/z 428 (100, M^{+}), 399 (25), 381 (38), 368 (41)
 Anal. ($C_{26}H_{20}O_6$, 428.4): Ber C, 72.89; H, 4.71
 Gef C, 72.08; H, 4.29

1,4-Dimethoxy-2-(*E*)-[2-(4-nitrophenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (27)



Aus **23** und 4-Nitrobenzaldehyd nach **AV 1**, Variante A.

Ausbeute: gelb-orange Kristalle (95 mg, 23 %)

Smp: 265 °C

FTIR: 1673 cm^{-1} (CO)

1H -NMR($CDCl_3$): δ 8.30–8.16 (m, 4H, Ar), 7.77–7.28 (m, 7H: 5H, Ar; 2H, CH=CH), 4.11 (s, 3H, OCH_3), 3.96 (s, 3H, OCH_3)

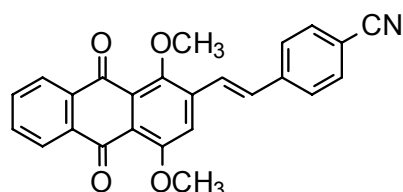
^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ 183.34, 182.63 (2 \times C=O), 156.71, 152.51, 147.67, 142.99, 138.83, 134.49, 134.00, 129.82, 123.92 (9 \times C arom.), 133.86, 133.46, 131.11, 127.67 (2C), 126.72, 126.56, 126.41, 124.39 (2C), 115.81 (11 \times CH arom.), 62.92, 57.08 (2 \times OCH_3)

MS: m/z 415 (99, M^{+}), 398 (100)

Anal. ($C_{24}H_{17}NO_6$, 415.4): Ber C, 69.39; H, 4.12; N, 3.37

Gef C, 68.53; H, 4.14; N, 3.03

4-[2-(1,4-Dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracen-2-yl)-(E)-vinyl]-benzonnitril (28)



Aus **29** und (4-Cyanobenzyl)-triphenylphosphoniumchlorid nach **AV 1**, Variante B.

Reinigung: SiO_2 ; $CH_2Cl_2/MeOH$ (99:1)

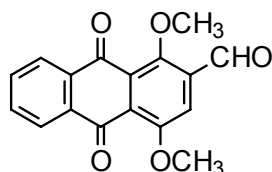
Ausbeute: gelb-orange Nadeln (50 mg, 12.7 %)

Smp:	226–228°C
FTIR:	2224 (CN), 1663 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.21–8.16 (m, 2H, H-5,8), 7.76–7.55 (m, 8H: 7H, Ar; 1H, CH=CH), 7.26 (d, <i>J</i> = 16.5 Hz, 1H, CH=CH), 4.11 (s, 3H, OCH ₃), 3.94 (s, 3H, OCH ₃)
MS:	<i>m/z</i> 395 (100, M ⁺), 380 (26), 279 (26)
Anal. (C ₂₅ H ₁₇ NO ₄ , 395.4):	Ber C, 75.94; H, 4.33; N, 3.54 Gef C, 73.91; H, 4.26; N, 3.24 ^{***}

^{***} Trotz wiederholter Bestimmung kein besseres Ergebnis.

3.1.2 Synthese von 2-(*E*)-(2-Phenylethenyl)-substituierten Derivaten durch Horner-Wadsworth-Emmons-Olefinierung

1,4-Dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracen-2-carbaldehyd (**29**)⁹⁰



Variante A: **19** (5.0 g, 16.8 mmol) wird mit Pyridiniumdichromat (15.8 g, 42 mmol) in DMF (30 mL) bei Raumtemperatur gerührt. Nach 3 h (DC-Kontrolle) überführt man das Gemisch in Wasser (500 mL) und extrahiert mehrfach mit CH₂Cl₂. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen und anschließend über Na₂SO₄ getrocknet. Man engt am Rotationsverdampfer ein, kristallisiert durch Zugabe von Petrolether und reinigt sc (SiO₂; CH₂Cl₂/MeOH 99.5:0.5).

Ausbeute: gelbe Kristalle (2.6 g, 52 %)

Variante B: Man suspendiert NaHCO₃ (2.8 g, 33.3 mmol) in DMSO (50 mL) und erwärmt auf 40 °C. Man gibt das Monobromid **22** (2.5 g, 6.9 mmol) dazu und rührt bei 50–60 °C. Nach 3 h (DC-Kontrolle) wird der Ansatz in Eiswasser (500 mL) überführt, mit HCl (2 mol/L) angesäuert und einige Minuten kräftig gerührt. Man extrahiert mit CH₂Cl₂ (3 × 100 mL), wäscht die vereinigten organischen Phasen gründlich mit Wasser

und trocknet über Na_2SO_4 . Man engt am Rotationsverdampfer ein, kristallisiert durch Zugabe von Methanol und reinigt sc (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99.5:0.5).

Ausbeute: gelbe Kristalle (0.95 g, 46 %)

Variante C: Zu einer Suspension des Dibromids **31** (1.70 g, 3.86 mmol) in THF (20 mL) gibt man eine Lösung von Silbernitrat (1.7 g, 10 mmol) in Wasser (3 mL) und refluxiert 24 h unter Lichtausschluß. Man läßt auf Raumtemperatur abkühlen, filtriert den Niederschlag ab und wäscht mit CH_2Cl_2 . Zum Filtrat gibt man CH_2Cl_2 (100 mL) und wäscht mit Wasser (3×100 mL). Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird sc gereinigt (SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 99.5:0.5).

Ausbeute: gelbe Kristalle (0.97 g, 85 %)

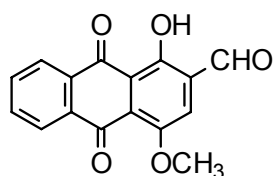
Smp: 188–189 °C (Lit.⁹⁰ 189–190 °C)

FTIR: 1694 (CHO), 1676 cm^{-1} (CO) (Lit.⁹⁰ 1695, 1672)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 10.54 (s, 1H, CHO), 8.22–8.16 (m, 2H, H-5,8), 7.80–7.75 (m, 3H, H-3,6,7), 4.08 (s, 3H, OCH_3), 4.07 (s, 3H, OCH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 188.81 (CHO), 182.75, 182.55 ($2 \times \text{C}=\text{O}$), 156.91, 156.53 ($2 \times \text{OCH}_3$), 135.22, 134.35, 129.04, 127.40, 121.93 ($5 \times \text{C arom.}$), 134.08, 133.80, 126.89, 126.63, 116.86 ($5 \times \text{CH arom.}$), 65.00, 57.07 ($2 \times \text{OCH}_3$)

1-Hydroxy-4-methoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracen-2-carbaldehyd (**30**)



18 (200 mg, 0.7 mmol) wird mit Pyridiniumdichromat (0.66 g, 1.75 mmol) in DMF (10 mL) bei Raumtemperatur gerührt. Nach 3 h (DC-Kontrolle) überführt man das Gemisch in Wasser (200 mL) und extrahiert gründlich mit CH_2Cl_2 . Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen und anschließend über Na_2SO_4 getrocknet. Man engt am Rotationsverdampfer ein, kristallisiert durch Zugabe von Petrolether und reinigt sc (SiO_2 ; CH_2Cl_2).

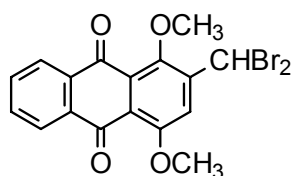
Ausbeute: rote, filzartige Kristalle (93 mg, 47 %)

Smp: 208–209 °C

FTIR: 1690 (CHO), 1669 (CO), 1643 cm^{-1} ($\text{CO}\cdots\text{HO}$)

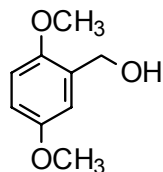
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 13.48 (s, 1H, OH), 10.61 (s, 1H, CHO), 8.31–8.24 (m, 2H, H-5,8), 7.87–7.79 (m, 3H, H-3,6,7), 4.05 (s, 3H, OCH_3)
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 189.30, 181.48 ($2 \times \text{C=O}$), 187.74 (CHO), 159.04 (C-OH), 153.53 (C- OCH_3), 135.39, 133.80, 127.63, 126.63, 120.53 ($5 \times \text{CH arom.}$), 134.87, 132.08, 129.47 (2C), 118.12 ($5 \times \text{C arom.}$), 57.15 (OCH_3)
MS:	m/z 282 (76, M^+), 254 (100), 225 (98), 197(35), 152 (35)
Anal. ($\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{O}_5$, 282.3):	Ber C, 68.09; H, 3.57 Gef C, 67.74; H, 3.75

2-Dibrommethyl-1,4-dimethoxy-9,10-anthracendion (**31**)



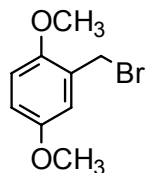
Analog Lit.⁹⁰ wird **21** (10.5 g, 37.2 mmol) in CCl_4 (150 mL) suspendiert und die Mischung zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von N-Bromsuccinimid (20.86 g, 117.2 mmol) und Benzoylperoxid (1.0 g) erhitzt man unter Rückfluß 24 h zum Sieden. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand in CH_2Cl_2 (150 mL) aufgenommen. Man wäscht mehrmals mit Wasser, trocknet die organische Phase über Na_2SO_4 , engt am Rotationsverdampfer ein und reinigt den Rückstand sc (SiO_2 ; CH_2Cl_2).

Reinigung:	SiO_2 ; CH_2Cl_2
Ausbeute:	orange-gelbe Kristalle (12.0 g, 73.3 %)
Smp:	173–175 °C (Lit. ^{74,90} 175–178, 173–174 °C)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 8.20–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.87 (s, 1H, H-3), 7.77–7.73 (m, 2H, H-6,7), 7.20 (s, 1H, CHBr_2), 4.11 (s, 3H, OCH_3), 4.01 (s, 3H, OCH_3), entspricht Lit. ^{74,90}

2,5-Dimethoxybenzylalkohol (32)²⁵⁹

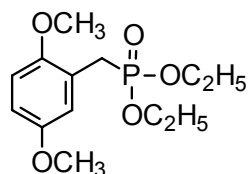
Eine Lösung von 2,5-Dimethoxybenzaldehyd (4.0 g, 24 mmol) in trockenem THF (30 mL) wird zu einer gut gerührten Suspension von NaBH₄ (0.91 g, 24 mmol) in THF (50 mL) gegeben und bei Raumtemperatur 2 h gerührt (DC-Kontrolle, CH₂Cl₂). Die Reaktion wird durch vorsichtige Zugabe von Wasser (10 mL) beendet. Man fügt CH₂Cl₂ (50 mL) hinzu, trocknet über Na₂SO₄ und filtriert über Kieselgel. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: gelbliches Öl (4.0 g, 98 %)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.89–6.74 (m, 3H, Ar), 4.65 (s, 2H, CH₂OH), 3.81 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 2.59 (br s, 1H, CH₂OH), entspricht Lit.²⁵⁹

2,5-Dimethoxybenzylbromid (33)²⁵⁹

Man löst **32** (3.58 g, 21.3 mmol) in CH₂Cl₂ und versetzt unter Eiskühlung mit Phosphortribromid (5.77 g, 21.3 mmol). Die Lösung wird 2 h im Eisbad und anschließend 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Man überführt das Gemisch in Eiswasser (200 mL) und extrahiert mehrfach mit CH₂Cl₂. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und trocknet den Rückstand anschließend im Ölpumpenvakuum.

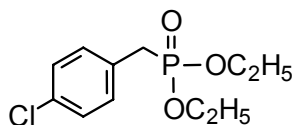
Ausbeute: weiße Kristalle (4.27 g, 87 %)
 Smp: 73–76 °C (Lit.²⁵⁹ 75–77 °C)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.91–6.82 (m, 3H, Ar), 4.54 (s, 2H, CH₂Br), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), entspricht Lit.²⁵⁹
¹³C-NMR (CDCl₃): δ 153.64, 151.84 (2 × C-OCH₃), 127.16 (C arom.), 116.57, 115.21, 112.42 (CH arom.), 56.36, 55.90 (2 × OCH₃), 28.90 (CH₂), entspricht Lit.²⁵⁹

Diethyl-(2,5-dimethoxybenzyl)-phosphonat (34)²⁶⁰

33 (3.50 g, 15.15 mmol) wird unter N₂-Atmosphäre mit Triethylphosphit (2.54 g, 15.30 mmol) auf 100 °C erhitzt. Nach 24 h erhitzt man auf 160 °C und entfernt überschüssiges Triethylphosphit im Wasserstrahlvakuum. Das Rohprodukt wird im Ölpumpenvakuum getrocknet und ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: zähes gelbliches Öl (3.30 g, 76 %)

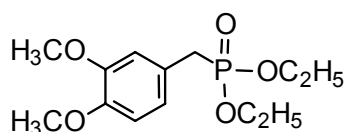
¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.92–6.76 (m, 3H, Ar), 4.06 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 4.02 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.23 (d, 2H, *J*_{HP} = 21.7 Hz, -CH₂-P), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, 2 × CH₃)

Diethyl-(4-chlorbenzyl)-phosphonat (35)^{261,262}

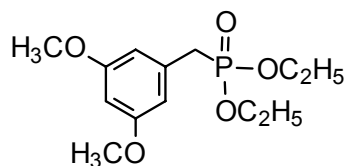
4-Chlorbenzylbromid¹⁹⁵ (400 mg, 1.94 mmol) wird unter N₂-Atmosphäre mit Triethylphosphit (500 mg, 3 mmol) auf 100–120 °C erhitzt. Nach 4 h erhitzt man auf 160 °C und entfernt im Wasserstrahlvakuum restliches Triethylphosphit. Das Rohprodukt wird im Ölpumpenvakuum getrocknet und ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: gelbliches Öl (500 mg, 98 %)

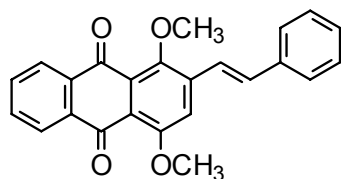
¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.27–7.16 (m, 4H, Ar), 4.01 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.97 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.08 (d, 2H, *J*_{HP} = 21.7 Hz, -CH₂-P), 1.21 (t, *J* = 7.1 Hz, 6H, 2 × CH₃)

Diethyl-(3,4-dimethoxybenzyl)-phosphonat (36)^{262,263}

Freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Dr. Helge Prinz.⁸⁹

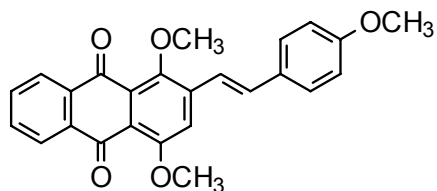
Diethyl-(3,5-dimethoxybenzyl)-phosphonat (37)²⁶⁴

Freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Dr. Helge Prinz.⁸⁹

1,4-Dimethoxy-2-(*E*)-(2-phenylethenyl)-9,10-anthracendion (38)

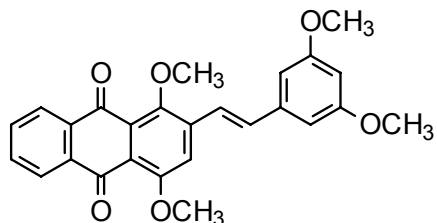
Aus **29** und Diethylbenzylphosphonat nach **AV 2**.

Reinigung:	SiO ₂ ; Ether
Ausbeute:	orange-gelbe Kristalle (95 mg, 25.7 %)
Smp:	177–178 °C
FTIR:	1666 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.21–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.74–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.63–7.23 (m, 8H: 6H, Ar; 2H, CH=CH), 4.10 (s, 3H, OCH ₃), 3.94 (s, 3H, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.54, 182.61 (2 × C=O), 156.79, 152.11 (2 × C-OCH ₃), 140.28, 136.71, 134.60, 134.11, 133.46, 128.13 (6 × C arom.), 133.77, 133.66, 133.26, 129.00 (2C), 128.89, 127.22 (2C), 126.65, 126.47, 121.90, 115.51 (12 × CH arom.)
MS:	m/z 370 (100, M ⁺), 355 (15), 279 (47), 261 (25), 239 (20)
Anal. (C ₂₄ H ₁₈ O ₄ , 370.4):	Ber C, 77.82; H, 4.90 Gef C, 77.45; H, 5.36

1,4-Dimethoxy-2-(*E*)-[2-(4-methoxyphenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (39)

Aus **29** und Diethyl-(4-methoxybenzyl)-phosphonat nach **AV 2**.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	orange-rote Kristalle (139 mg, 34.6 %)
Smp:	129–130 °C
FTIR:	1666 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.21–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.74–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.58–7.52 (m, 3H, Ar), 7.41 (d, <i>J</i> = 16.4 Hz, 1H, CH=CH), 7.23 (d, <i>J</i> = 16.4 Hz, 1H, CH=CH), 6.95 (d, <i>J</i> = 8.9 Hz, 2H, Ar), 4.10 (s, 3H, OCH ₃), 3.93 (s, 3H, OCH ₃), 3.86 (s, 3H, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.63, 182.59 (2 × C=O), 160.43, 156.84, 15.95 (3 × C-OCH ₃), 140.70, 134.66, 134.15, 129.54, 128.54 (5 × C arom.), 133.62, 133.37, 133.20, 128.63 (2C), 126.63, 126.47, 119.63, 115.17, 114.51 (2C) (11 × CH arom.), 62.47, 56.97, 55.48 (3 × OCH ₃)
MS:	<i>m/z</i> 400 (100, M ⁺), 385 (18), 279 (45), 135 (21), 121 (29)
Anal. (C ₂₅ H ₂₀ O ₅ , 400.4):	Ber C, 74.99; H, 5.03 Gef C, 75.02; H, 5.15

1,4-Dimethoxy-2-(*E*)-[2-(3,5-dimethoxyphenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (40)

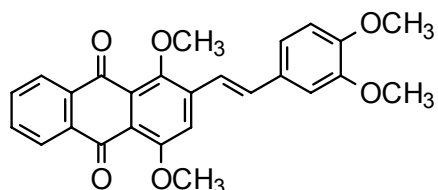
Aus **29** und **37** nach **AV 2**.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	orange-gelber Feststoff (0.14 g, 32.5 %)
Smp:	179–180 °C
FTIR:	1665 cm ⁻¹ (CO)

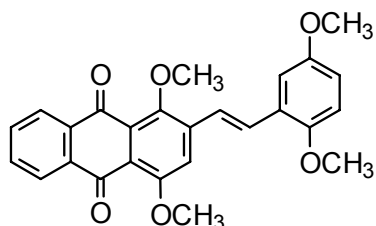
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 8.21–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.75–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.54–7.47 (m, 2H; 1H, H-3; 1H, CH=CH), 6.96 (d, $J=16.44$ Hz, 1H, CH=CH), 6.75 (d, $J=2.2$ Hz, 2H, H-2',6'), 6.47 (t, $J=2.2$ Hz, 1H, H-4'), 4.10 (s, 3H, OCH_3), 3.93 (s, 3H, OCH_3), 3.86 (s, 6H, $2 \times \text{OCH}_3$)
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 183.48, 182.59 ($2 \times \text{C=O}$), 161.30 (2C), 156.79, 152.18 ($4 \times \text{C-OCH}_3$), 140.10, 138.72, 134.62, 134.13, 128.14, 107.02 ($6 \times \text{C arom.}$), 133.77, 133.66, 133.26, 126.65, 126.49, 122.48, 115.68, 105.43 (2C), 101.12 ($10 \times \text{CH arom.}$), 62.60, 57.01, 55.56 (2C) ($4 \times \text{OCH}_3$)
MS:	m/z 430 (59, M^+), 399 (31), 367 (100), 338 (12)
Anal. ($\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{O}_6$, 430.5):	Ber C, 72.55; H, 5.15 Gef C, 72.20; H, 4.68

1,4-Dimethoxy-2-(*E*)-[2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (41)

Aus **29** und **36** nach **AV 2**.

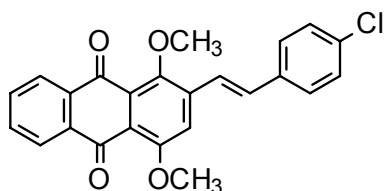


Reinigung:	SiO_2 ; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (99.5:0.5)
Ausbeute:	orange-rote Nadeln (0.11 g, 26.5 %)
Smp:	215 °C
FTIR:	1662 cm^{-1} (CO)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 8.22–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.77–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.54 (s, 1H, H-3), 7.44–6.89 (m, 5H: 3H, Ar; 2H, CH=CH), 4.10 (s, 3H, OCH_3), 3.98 (s, 3H, OCH_3), 3.94 (s, 6H, $2 \times \text{OCH}_3$)
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 183.61, 182.63 ($2 \times \text{C=O}$), 156.75, 151.82, 150.02, 149.34 ($4 \times \text{C-OCH}_3$), 140.50, 134.55, 129.73, 128.00 ($4 \times \text{C arom.}$), 133.66, 133.58, 133.22, 126.62, 126.41, 120.90, 119.74, 114.93, 111.33, 109.40 ($10 \times \text{CH arom.}$), 62.52, 56.88, 56.06 (2C) ($4 \times \text{OCH}_3$)
MS:	m/z 430 (100, M^+), 399 (40), 367 (53), 279 (24), 151 (32)
Anal. ($\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{O}_6$, 430.5):	Ber C, 72.55; H, 5.15 Gef C, 72.18; H, 4.82

1,4-Dimethoxy-2-(*E*)-[2-(2,5-dimethoxyphenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (42)

Aus **29** und **34** nach **AV 2**.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	orange-rote Kristalle (77 mg, 18 %)
Smp:	193-194 °C
FTIR:	1667 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.21–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.77–7.67 (m, 2H, H-6,7), 7.59–6.88 (m, 6H: 4H, Ar; 2H, CH=CH), 4.10 (s, 3H, OCH ₃), 3.93 (s, 3H, OCH ₃), 3.89 (s, 3H, OCH ₃), 3.84 (s, 3H, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.59, 182.61 (2 × C=O), 156.8, 153.97, 152.05, 140.83 (4 × C-OCH ₃), 133.60, 133.20, 128.40, 126.63, 126.45, 122.50, 115.66, 115.11, 112.57, 112.46 (10 × CH arom.), 134.64, 134.15, 128.23, 128.05, 122.94 (5 × C arom.), 62.52, 57.05, 56.32, 55.96 (4 × OCH ₃)
MS:	m/z 430 (100, M ⁺), 415 (16), 399 (13), 279 (32), 151 (16)
Anal. (C ₂₆ H ₂₂ O ₆ , 430.5):	Ber C, 72.55; H, 5.15 Gef C, 72.12; H, 4.94

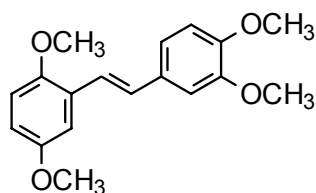
2-(*E*)-[2-(4-Chlorphenyl)ethenyl]-1,4-dimethoxy-9,10-anthracendion (43)

Aus **29** und **35** nach **AV 2**.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	orange Kristalle (130 mg, 32 %)
Smp:	215–216 °C
FTIR:	1669 cm ⁻¹ (CO)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 8.20–8.14 (m, 2H, H-5,8), 7.77–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.54–7.35 (m, 6H: 5H, Ar; 1H, CH=CH), 7.21 (d, J = 16.5 Hz, 1H, CH=CH), 4.09 (s, 3H, OCH_3), 3.92 (s, 3H, OCH_3), 3.86 (s, 3H, OCH_3)
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 183.44, 182.57 ($2 \times \text{C=O}$), 156.75, 152.13, 139.81, 135.20, 134.62, 134.55, 134.06, 128.13 ($8 \times \text{C arom.}$), 133.68, 133.29, 132.33, 129.20 (2C), 128.34 (2C), 126.63, 126.47, 122.47, 115.48 ($12 \times \text{CH arom.}$), 62.62, 56.99 ($2 \times \text{OCH}_3$)
MS:	m/z 404/406 (100/39, M^{++}), 279 (80)
Anal. ($\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{ClO}_4$, 404.8):	Ber C, 71.20; H, 4.23 Gef C, 71.07; H, 3.76

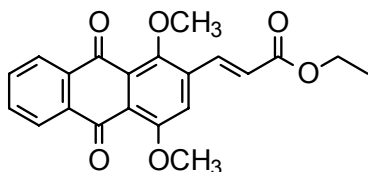
(*E*)-2,5,3',4'-Tetramethoxystilben (44)¹⁰²



Aus 2,5-Dimethoxybenzaldehyd (330 mg, 2 mmol) und **36** nach **AV 2**.

Reinigung:	SiO_2 ; CH_2Cl_2
Ausbeute:	farblose Kristalle (140 mg, 23 %)
Smp:	90–91 °C
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 7.31 (d, J = 16.4 Hz, 1H, CH=CH), 7.15–6.99 (m, 4H: 3H, Ar; 1H, CH=CH), 6.88–6.79 (m, 3H, Ar), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 3.82 (s, 3H, OCH_3), entspricht Lit. ¹⁰²
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 153.98, 151.48, 149.27, 149.05 ($4 \times \text{C-OCH}_3$), 131.14, 127.69 ($2 \times \text{C arom.}$), 129.37, 121.58, 120.11, 113.52, 112.48, 111.72, 111.42, 109.23 ($8 \times \text{CH arom.}$), 56.43, 56.06 (2C), 55.90 ($4 \times \text{OCH}_3$)
MS:	m/z 300 (100, M^{++}), 285 (10), 257 (15), 149 (10)
Anal. ($\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_4$, 300.4):	Ber C, 71.98; H, 6.71 Gef C, 71.82; H, 6.91

3-(1,4-Dimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracen-2-yl)-(E)-acrylsäure-ethylester (45)

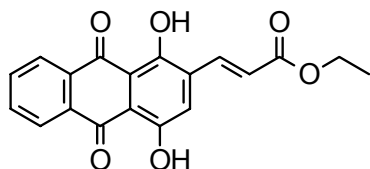


Aus **29** und Triethylphosphonoacetat nach **AV 2**.

Reinigung:	SiO ₂ ; Ether
Ausbeute:	orange-gelbe Kristalle (125 mg, 34 %)
Smp:	133–135 °C
FTIR:	1715 (Ester), 1667 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.20–8.15 (m, 2H, H-5,8), 8.05 (d, <i>J</i> = 16.2 Hz, 1H, CH=CH-CO), 7.77–7.72 (m, 2H, H-6,7), 7.48 (s, 1H, H-3), 6.61 (d, <i>J</i> = 16.2 Hz, 1H, Ar-CH=CH), 4.32 (q, <i>J</i> = 7.1 Hz, 2H, OCH ₂ CH ₃), 4.06 (s, 3H, OCH ₃), 3.94 (s, 3H, OCH ₃), 1.37 (t, <i>J</i> = 7.1 Hz, 3H, OCH ₂ CH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.05, 182.63 (2 × C=O Chinon), 166.24 (C=O Ester), 156.42, 153.16 (2 × C-OCH ₃), 137.01, 134.40, 133.97, 128.38 (4 × C arom.), 137.73, 133.82, 133.53, 126.69, 126.56, 123.28, 116.91 (7 × C arom.), 63.13, 56.99 (2 × OCH ₃), 61.03 (OCH ₂), 14.37 (CH ₃)
MS:	<i>m/z</i> 366 (67, M ⁺), 292 (100), 263 (42), 165 (20)
Anal. (C ₂₁ H ₁₈ O ₆ , 366.4):	Ber C, 68.85; H, 4.95 Gef C, 69.10; H, 5.02

3.1.3 Synthese von hydroxysubstituierten 2-(*E*)-(2-Phenylethenyl)-Derivaten

3-(1,4-Dihydroxy-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracen-2-yl)-(*E*)-acrylsäureethylester (46)



45 (0.10 g, 0.27 mmol) wird mit AlCl_3 (0.40 g) in CH_2Cl_2 (5 mL) 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Man überführt das Gemisch in Wasser (250 mL), säuert mit HCl (2 mol/L) an und läßt 1 h rühren. Das Produkt wird mit CH_2Cl_2 extrahiert, die vereinigten organischen Phasen werden anschließend mit Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Man engt im Vakuum ein und reinigt sc (SiO_2 ; CH_2Cl_2).

Ausbeute: dunkelrote Kristalle (54 mg, 58.5 %)

Smp: 180–181 °C

FTIR: 1716 (Ester), 1629 cm^{-1} (CO...HO)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 13.67 (s, 1H, OH), 12.71 (s, 1H, OH), 8.35–8.31 (m, 2H, H-5,8), 7.91 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H, CH=CH), 7.89–7.83 (m, 2H, H-6,7), 7.46 (s, 1H, H-3), 6.78 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H, Ar-CH=CH), 4.31 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 1.37 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, OCH_2CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 187.36, 186.61 (2 \times C=O Chinon), 166.39 (C=O Ester), 157.06, 156.88 (2 \times C-OH), 133.53, 133.42, 113.77, 113.31 (4 \times C arom.), 136.57, 134.80, 134.71, 127.29, 127.18, 127.02, 124.58 (7 \times C arom.), 60.98 (OCH_2), 14.37 (CH_3)

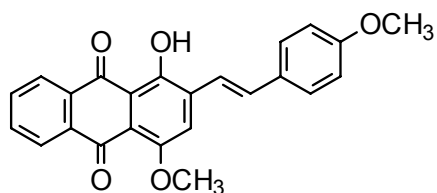
MS: m/z 338 (38, M^+), 265 (100)

Anal. ($\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_6$, 338.3): Ber C, 67.45; H, 4.17

Gef C, 66.67; H, 4.62 ***

*** Trotz wiederholter Bestimmung kein besseres Ergebnis.

1-Hydroxy-4-methoxy-2-(*E*)-[2-(4-methoxyphenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (47)



39 (0.10 g) wird mit AlCl_3 (0.30 g) in CH_2Cl_2 (5 mL) 6 h bei Raumtemperatur gerührt. Man überführt das Gemisch in Wasser (150 mL), säuert mit HCl (2 mol/L) an und läßt 20 min rühren. Man extrahiert mit CH_2Cl_2 (3×50 mL). Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser (3×50 mL) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum auf ein kleines Volumen eingengt. Das Produkt kristallisiert durch Zugabe von Petrolether.

Ausbeute: dunkelrote Kristalle (23 mg, 25 %)

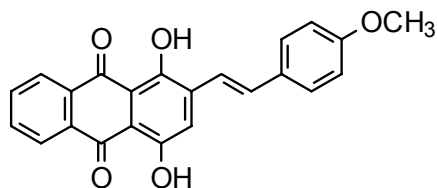
Smp: 174–176 °C

FTIR: 1659 (CO), 1625 cm^{-1} (CO...HO)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 13.81 (s, 1H, 1-OH), 8.28–8.25 (m, 2H, H-5,8), 7.78–7.71 (m, 2H, H-6,7), 7.55–7.51 (m, 3H, Ar), 7.40 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H, CH=CH), 7.29 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H, CH=CH), 6.91 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, Ar), 4.08 (s, 3H, 4-OCH₃), 3.85 (s, 3H, 4'-OCH₃)

MS: m/z 386 (100, M^+)

1,4-Dihydroxy-2-(*E*)-[2-(4-methoxyphenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (48)



39 (100 mg) wird in HBr (47–49 %, 10 mL) für 3 h (DC-Kontrolle) unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Man überführt den Ansatz in Wasser (200 mL) und extrahiert mit CH_2Cl_2 (3×50 mL). Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser (3×50 mL) gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und im Vakuum auf ein kleines Volumen eingengt.

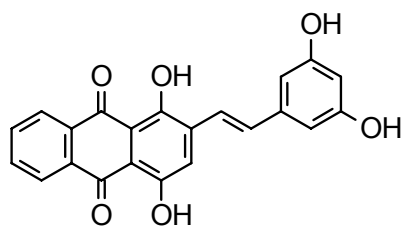
Reinigung: SiO_2 ; CH_2Cl_2 /Hexan (7:3)

Ausbeute: dunkelrote Kristalle (67 mg, 72 %)

Smp: 216 °C

FTIR:	1617 cm ⁻¹ (CO···HO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 13.78 (s, 1H, OH), 13.00 (s, 1H, OH), 8.39–8.35 (m, 2H, H-5,8), 7.85–7.81 (m, 2H, H-6,7), 7.57–6.91 (m, 7H: 5H, Ar; 2H, CH=CH), 3.86 (s, 3H, OCH ₃)
MS:	m/z 372 (100, M ⁺), 354 (77), 311 (25)

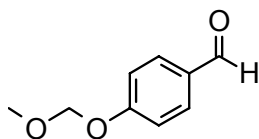
1,4-Dihydroxy-2-(*E*)-[2-(3,5-dihydroxyphenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (49)



40 (0.12 g) wird mit NaCl (0.40 g) und AlCl₃ (0.40 g) vermischt und geschmolzen (ca. 150 °C). Nach 20 min läßt man abkühlen und nimmt den Schmelzkuchen in Wasser (200 mL) auf. Man säuert mit konz. HCl (1 mL) an und rührt 2 h bei Raumtemperatur. Anschließend wird mit Ethylacetat extrahiert, und die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet. Man engt zur Trockne ein und reinigt den Rückstand sc (SiO₂; EtOAc/Hexan 1:1).

Ausbeute:	dunkelrote Kristalle (0.04 g, 38 %)
Smp:	Zersetzung ab 260°C
FTIR:	3373 (OH), 1621 cm ⁻¹ (CO···HO)
¹ H-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆):	δ 13.51 (s, 1H, OH), 12.74 (s, 1H, OH), 9.39 (s, 2H, 2 × OH), 8.24–7.25 (m, 7H: 5H, Ar; 2H, CH=CH), 6.50 (s, 2H, H-2',6'), 6.22 (s, 1H, H-4')
¹³ C-NMR (DMSO- <i>d</i> ₆):	δ 186.93, 185.51 (2 × C=O), 158.60 (2C), 156.65, 155.20 (4 × C-OH), 137.93, 137.35, 132.98, 132.65, 112.58, 111.54 (6 × C arom.), 135.56, 135.00, 134.71, 126.61, 126.43, 122.90, 118.88, 105.28 (2C), 103.63 (10 × CH arom.)
MS:	m/z 374 (48, M ⁺), 356 (100), 339 (20)
Anal. (C ₂₂ H ₁₄ O ₆ , 374.3):	Ber C, 70.59; H, 3.77 Gef C, 69.69; H, 3.94 ***

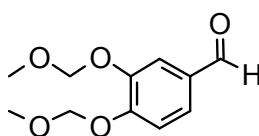
*** Trotz wiederholter Bestimmung kein besseres Ergebnis.

4-Methoxymethoxybenzaldehyd (50)¹¹⁵

Die Herstellung erfolgt analog der von *Oyamada* beschriebenen Methode zur Herstellung von 2',4'-Bis(methoxymethoxy)acetophenon und 3,4-Bis(methoxymethoxy)benzaldehyd (**51**)¹¹⁴.

Man löst Natrium (0.85 g, 37 mmol) in absolutem Ethanol (50 mL) und gibt 4-Hydroxybenzaldehyd (4.0 g, 32.8 mmol) dazu. Der Ansatz wird im Eisbad auf 0 °C abgekühlt. Nach 10 min läßt man langsam Methoxymethylchlorid (2.7 g, 33.5 mmol) zutropfen. Nach weiteren 20 min wird das Eisbad entfernt und der Ansatz 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Man versetzt mit CH₂Cl₂ (100 mL) und wäscht anschließend erst mit NaOH (1 mol/L), dann mit Wasser. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt. Der Rückstand wird im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂
 Ausbeute: blaß-gelbe Flüssigkeit (3.0 g, 55 %)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 9.89 (s, 1H, CHO), 7.83 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar), 7.14 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, Ar), 5.24 (s, 2H, OCH₂O), 3.48 (s, 3H, OCH₃), entspricht Lit.¹¹⁵

3,4-Bis(methoxymethoxy)benzaldehyd (51)¹¹⁶

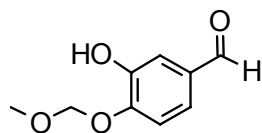
Analog zur Synthese von **50** aus 3,4-Dihydroxybenzaldehyd (3.0 g, 21.7 mmol) unter Verwendung von Natrium (1.2 g, 52.2 mmol) in Ethanol (50 mL) und Methoxymethylchlorid (4.4 g, 54.7 mmol). Nach Entfernen des Lösungsmittels wird der Rückstand in Ether/Petrolether (1:1) aufgenommen und unter Eiskühlung kristallisiert. Man filtriert ab und trocknet im Ölpumpenvakuum.

Ausbeute: weiße Kristalle (2.03 g, 41 %)
 Smp: 58–59 °C (Lit.^{113,114} 60, 59–60 °C)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 9.87 (s, 1H, CHO), 7.69 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-2), 7.52 (dd, *J* = 1.8 und 8.3 Hz, 1H, H-6), 7.29 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H,

5-H), 5.33 (s, 2H, OCH₂O), 5.30 (s, 2H, OCH₂O), 3.53 (s, 6H, 2 × OCH₃), entspricht Lit.¹¹⁶

MS: m/z 226 (25, M⁺), 166 (38), 150 (100), 134 (41)

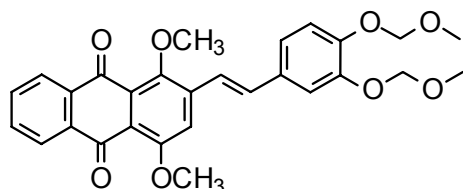
3-Hydroxy-4-(methoxymethoxy)-benzaldehyd (52)



Bei der Synthese von **51** kann nach der Aufarbeitung **52** aus der wässrig-alkalischen Phase als gelbliches Öl isoliert werden.

¹H-NMR (CDCl₃): δ 9.85 (s, 1H, CHO), 7.47 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, H-2), 7.41 (dd, *J* = 1.9 und 8.4 Hz, 1H, H-6), 7.22 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-5), 6.21 (br s, 1H, OH), 5.32 (s, 2H, OCH₂O), 3.53 (s, 3H, OCH₃)

1,4-Dimethoxy-2-(*E*)-[2-(3,4-bis(methoxymethoxy)phenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (53)



Aus **23** und **51** nach AV 1, Variante A. Nachdem man den Ansatz in Wasser überführt hat, neutralisiert man mit HCl (2 mol/L) und extrahiert sofort mit CH₂Cl₂. Die weitere Aufarbeitung erfolgt nach AV 1.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂

Ausbeute: orange-rote Kristalle (0.12 g, 24 %)

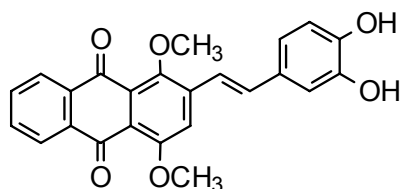
Smp: 141–142 °C

FTIR: 1661 cm⁻¹ (CO)

¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.22–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.75–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.54–7.18 (m, 6H: 4H, Ar; 2H CH=CH), 5.31 (s, 2H, OCH₂O), 5.29 (s, 2H, OCH₂O), 4.10 (s, 3H, Ar-OCH₃), 3.93 (s, 3H, Ar-OCH₃), 3.57 (s, 3H, CH₂-OCH₃), 3.54 (s, 3H, CH₂-OCH₃)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 183.61, 182.66 (2 \times C=O), 156.73, 151.87, 148.00, 147.54, 140.39, 134.55, 134.04, 131.36, 128.02 (9 \times C arom.), 133.66, 133.26 (2C), 126.62, 126.43, 121.56, 120.59, 116.73, 115.61, 115.01 (10 \times CH arom.), 95.64, 95.39 (2 \times CH ₂), 62.56, 56.96, 56.43 (3 \times OCH ₃)
MS:	m/z 490 (63, M ⁺), 414 (100), 383 (47), 352 (32), 279 (59)
Anal. (C ₂₈ H ₂₆ O ₈ , 490.5):	Ber C, 68.56; H, 5.34 Gef C, 68.10; H, 5.33

2-(*E*)-[2-(3,4-Dihydroxyphenyl)ethenyl]-1,4-dimethoxy-9,10-anthracendion (**54**)



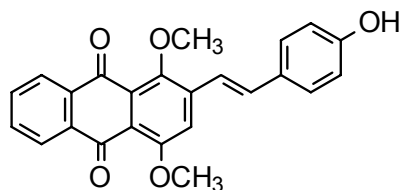
53 (0.06 g) wird in Methanol (3 mL) unter Zusatz von HCl (2 mol/L, 1.5 mL) unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach wenigen Minuten (DC-Kontrolle) überführt man die dunkelrote Suspension in Eiswasser (100 mL) und extrahiert erschöpfend mit EtOAc. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird aus CH₂Cl₂/MeOH/Hexan umkristallisiert.

Ausbeute:	dunkelrote Kristalle (0.03 g, 61 %)
Smp:	241–244 °C
FTIR:	3281 (OH), 1655 cm ⁻¹ (CO)
$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- <i>d</i> ₆):	δ 8.06–7.98 (m, 2H, H-5,8), 7.83–7.78 (m, 3H, Ar), 7.48 (d, J = 16.6 Hz, 1H, CH=CH), 7.17 (d, J = 16.6 Hz, 1H, CH=CH), 7.10–6.75 (m, 3H, Ar), 3.98 (s, 3H, OCH ₃), 3.79 (s, 3H, OCH ₃)
$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO- <i>d</i> ₆):	δ 182.80, 181.26 (2 \times C=O), 156.36, 150.67, 146.94, 145.70, 140.28, 134.11, 133.56, 128.30, 127.36, 120.30 (10 \times C arom.), 134.67, 134.00, 133.51, 126.03, 125.96, 120.08, 117.11, 115.97, 115.26, 113.62 (10 \times CH arom.), 62.03, 56.75 (2 \times OCH ₃)
MS:	m/z 402 (100, M ⁺), 353 (56), 341 (19)

Anal. (C₂₄H₁₈O₆, 402.4): Ber C, 71.64; H, 4.51
 Gef C, 70.23^{***}; H, 4.49

^{***} Trotz wiederholter Bestimmung kein besseres Ergebnis.

2-(E)-[2-(4-Hydroxyphenyl)ethenyl]-1,4-dimethoxy-9,10-anthracendion (55)



Aus **23** und **50** nach **AV 1**. Nach erfolgter Umsetzung überführt man das Gemisch in Wasser (200 mL), versetzt mit HCl (30–33 %, 50 mL) und erhitzt 1 h unter Rückfluß. Die weitere Aufarbeitung erfolgt nach **AV 1**.

Reinigung: SiO₂; Ether

Ausbeute: rote Kristalle (38 mg, 10 %)

Smp: 155–157 °C

FTIR: 3358 (OH), 1670 cm⁻¹(CO)

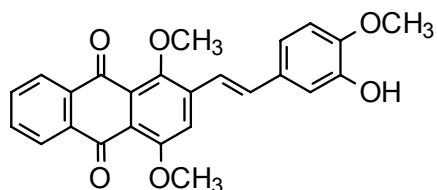
¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 8.07–7.99 (m, 2H, H-5,8), 7.84–7.51 (m, 6H: 5H, Ar; 1H, CH=CH), 7.26 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H, CH=CH), 6.82 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, Ar), 3.99 (s, 3H, OCH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 182.57, 181.00 (2 × C=O), 158.36 (C-OH), 156.18, 150.65 (2 × COCH₃), 140.13, 133.96, 133.43, 127.46 (4 × C arom.), 134.16, 133.74, 133.27, 128.68 (2C), 125.83, 125.76, 117.20, 115.75 (2C), 115.38 (11 × CH arom.), 61.83, 56.62 (2 × OCH₃)

MS: m/z 386 (100, M⁺)

Anal. (C₂₄H₁₈O₅, 386.4): Ber C, 74.60; H, 4.70
 Gef C, 74.53; H, 4.48

2-(*E*)-[2-(3-Hydroxy-4-methoxyphenyl)ethenyl]-1,4-dimethoxy-9,10-anthracendion (56)

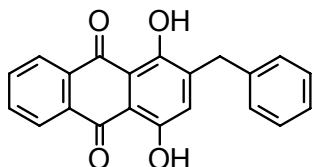


Aus **23** und 3-Acetoxy-4-methoxy-benzaldehyd nach **AV 1**, Variante A. Abweichend davon wird die Mischung nach erfolgter Umsetzung in NaOH (1 mol/L, 200 mL) überführt und 4 h bei 35–40 °C gerührt. Die Lösung wird anschließend mit HCl angesäuert und nach **AV 1** aufgearbeitet.

Reinigung:	SiO ₂ ; Ether
	Kristallisation aus CH ₂ Cl ₂ /Hexan
Ausbeute:	rote Kristalle (25 mg, 6 %)
Smp:	154–156 °C
FTIR:	3381 (OH), 1662 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.21–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.77–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.53–6.86 (m, 6H: 4H, Ar; 2H CH=CH), 5.70 (s, 1H, OH), 4.10 (s, 3H, OCH ₃), 3.94 (s, 3H, OCH ₃), 3.93 (s, 3H, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.66, 182.68 (2 × C=O), 156.73, 151.84, 147.45, 146.00, 140.54, 134.57, 134.04, 130.40, 128.02, 121.48 (10 × C arom.), 133.64, 133.37, 133.22, 126.62, 126.43, 120.41, 120.03, 114.91, 112.29, 110.75 (10 × CH arom.), 62.51, 56.90, 56.10 (3 × OCH ₃)
MS:	m/z 416 (100, M ⁺), 385 (38), 353 (47), 279 (23)
Anal. (C ₂₅ H ₂₀ O ₆ , 416.4):	Ber C, 72.11; H, 4.84 Gef C, 71.87; H, 5.37

3.1.4 Synthese von 2- ω -Phenylalkyl-substituierten Derivaten durch Alkylierung nach Marschalk

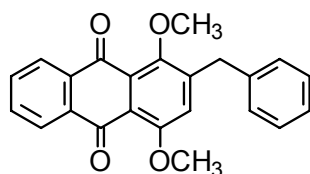
1,4-Dihydroxy-2-phenylmethyl-9,10-anthracendion (57a)⁶³



Aus Chinizarin (2.0 g, 8.3 mmol) und Benzaldehyd (0.89 g, 8.4 mmol) nach AV 3 (Variante A) mit einer Reaktionszeit von 4 h.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂ /Hexan (7:3)
Ausbeute:	rote Kristalle (0.82 g, 30 %)
Smp:	182–183 °C (Lit. ⁶³ 180–181 °C)
FTIR:	1625 cm ⁻¹ (CO···HO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 13.42 (s, 1H, OH), 12.91 (s, 1H, OH), 8.35–8.27 (m, 2H, H-5,8), 7.85–7.76 (m, 2H, H-6,7), 7.38–7.22 (m, 5H, Ar), 7.03 (s, 1H, H-3), 4.08 (s, 2H, CH ₂)
MS:	m/z 330 (100, M ⁺), 312 (51)
Anal. (C ₂₁ H ₁₄ O ₄ , 330.3):	Ber C, 76.36; H, 4.27 Gef C, 76.11; H, 4.21

1,4-Dimethoxy-2-phenylmethyl-9,10-anthracendion (57b)

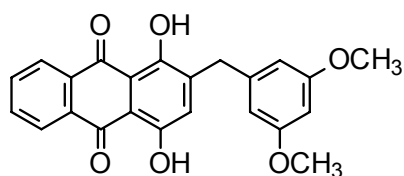


Aus 57a (750 mg, 2.27 mmol) nach AV 4.

Reinigung:	SiO ₂ ; Ether
Ausbeute:	gelb-orange Kristalle (690 mg, 85 %)
Smp:	122–124 °C
FTIR:	1665 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.19–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.76–7.69 (m, 2H, H-6,7), 7.37–7.21 (m, 5H, Ar), 7.09 (s, 1H, H-3), 4.15 (s, 2H, CH ₂), 3.90 (s, 3H, OCH ₃), 3.81 (s, 3H, OCH ₃)

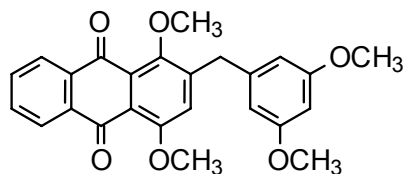
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 183.52, 182.88 ($2 \times \text{C=O}$), 156.53, 152.69, 145.01, 139.26, 134.51, 134.06, 127.34, 121.56 ($8 \times \text{C arom.}$), 133.60, 133.24, 129.07, 128.80, 126.71, 126.60, 126.49, 120.97 ($8 \times \text{CH arom.}$), 62.16, 56.79 ($2 \times \text{OCH}_3$), 36.48 (CH_2)
MS:	m/z 358 (100, M^+), 340 (31), 311 (43), 267 (52)
Anal. ($\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{O}_4$, 358.4):	Ber C, 77.08; H, 5.06 Gef C, 77.00; H, 5.24

1,4-Dihydroxy-2-[(3,5-dimethoxyphenyl)methyl]-9,10-anthracendion (58a)



Aus Chinizarin (3.6 g, 15 mmol) und 3,5-Dimethoxybenzaldehyd (2.5 g, 15 mmol) nach **AV 3** (Variante A) mit einer Reaktionszeit von 4 h.

Reinigung:	SiO_2 ; CH_2Cl_2 /Hexan (2:1) Umkristallisation aus Toluol
Ausbeute:	rote Kristalle (3.1 g, 53 %)
Smp:	181-182 °C
FTIR:	1624 cm^{-1} ($\text{CO}\cdots\text{HO}$)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 13.42 (s, 1H, OH), 12.90 (s, 1H, OH), 8.35–8.29 (m, 2H, H-5,8), 7.83–7.78 (m, 2H, H-6,7), 7.04 (s, 1H, H-3), 6.43 (d, $J=2.2$ Hz, 2H, H-2',6'), 6.35 (t, $J=2.2$ Hz, 1H, H-4'), 3.99 (s, 2H, CH_2), 3.78 (s, 6H, $2 \times \text{OCH}_3$)
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 187.22, 186.44 ($2 \times \text{C=O}$), 161.18 ($2 \times \text{C-OCH}_3$), 157.84, 156.79 ($2 \times \text{C-OH}$), 143.37, 140.41, 133.74, 133.60, 112.42, 111.53 ($6 \times \text{C arom.}$), 134.47, 134.35, 128.79, 127.11, 127.01, 107.55 (2C), 98.72 ($8 \times \text{CH arom.}$), 55.39 ($2 \times \text{OCH}_3$), 36.08 (CH_2)
MS:	m/z 390 (100, M^+), 372 (84), 357 (23), 341 (13)
Anal. ($\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{O}_6$, 390.4):	Ber C, 70.76; H, 4.65 Gef C, 70.89; H, 4.81

1,4-Dimethoxy-2-[(3,5-dimethoxyphenyl)methyl]-9,10-anthracendion (58b)

Aus **58a** (1.0 g, 2.56 mmol) nach **AV 4**.

Reinigung: SiO₂; Ether

Ausbeute: gelb-orange Kristalle (0.99 g, 92.4 %)

Smp: 169–170 °C

FTIR: 1670 cm⁻¹ (CO)

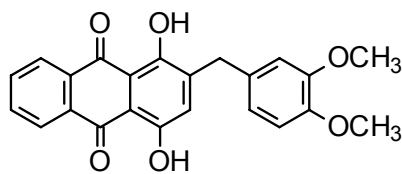
¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.20–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.74–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.12 (s, 1H, H-3), 6.36–6.33 (m, 3H, Ar), 4.08 (s, 2H, CH₂), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (s, 6H, 2 × OCH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 183.52, 182.88 (2 × C=O), 161.16, 156.52, 152.66, 144.63, 141.57, 134.50, 134.05 (7 × C arom.), 133.60, 133.24, 126.59, 126.47, 120.98, 107.36 (2C), 98.45 (8 × CH arom.), 62.21, 56.86, 55.39 (2C) (4 × OCH₃), 36.52 (CH₂)

MS: m/z 418 (100, M⁺), 400 (24), 388 (24), 385 (24)

Anal. (C₂₅H₂₂O₆, 418.4): Ber C, 71.76; H, 5.30

Gef C, 71.52; H, 5.33

1,4-Dihydroxy-2-[(3,4-dimethoxyphenyl)methyl]-9,10-anthracendion (59a)

Aus Chinizarin (2.0 g, 8.3 mmol) und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd (1.4 g, 8.4 mmol) nach **AV 3** (Variante A) mit einer Reaktionszeit von 4 h.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂

Ausbeute: rote Kristalle (2.1 g, 65 %)

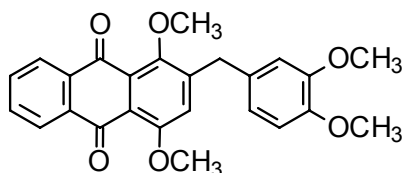
Smp: 176–177 °C

FTIR: 1622 cm⁻¹ (CO···HO)

¹H-NMR (CDCl₃): δ 13.43 (s, 1H, OH), 12.90 (s, 1H, OH), 8.34–8.28 (m, 2H, H-5,8), 7.82–7.78 (m, 2H, H-6,7), 7.01 (s, 1H, H-3), 6.82 (m, 3H, Ar), 4.00 (s, 2H, CH₂), 3.87 (s, 6H, 2 × OCH₃)

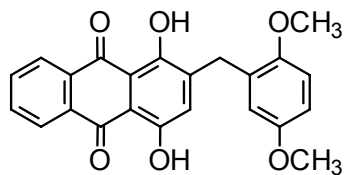
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 187.21, 186.37 ($2 \times \text{C=O}$), 157.88, 156.79 ($2 \times \text{C-OH}$), 149.34, 148.10 ($2 \times \text{C-OCH}_3$), 144.07, 133.73, 133.58, 130.64, 112.31, 111.44 ($6 \times \text{C arom.}$), 134.44, 134.31, 128.56, 127.07, 126.96, 121.47, 112.77, 111.71 ($8 \times \text{CH arom.}$), 56.06, 56.03 ($2 \times \text{OCH}_3$), 35.54 (CH_2)
MS:	m/z 390 (100, M^+), 372 (20), 359 (49), 357 (13), 343 (12)
Anal. ($\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{O}_6$, 390.4):	Ber C, 70.76; H, 4.65 Gef C, 70.51; H, 4.18

1,4-Dimethoxy-2-[(3,4-dimethoxyphenyl)methyl]-9,10-anthracendion (59b)



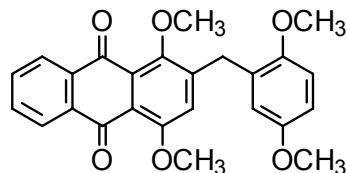
Aus **59a** (1.9 g, 4.9 mmol) nach **AV 4**.

Reinigung:	SiO_2 ; Ether
Ausbeute:	zitronengelbes Pulver (1.5 g, 72 %)
Smp:	117–118 °C
FTIR:	1665 cm^{-1} (CO)
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 8.20–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.74–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.08 (s, 1H, H-3), 6.85–6.73 (m, 3H, Ar), 4.10 (s, 2H, CH_2), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.85 (s, 3H, OCH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3)
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 183.61, 182.97 ($2 \times \text{C=O}$), 156.55, 152.56, 149.25, 147.92, 145.34, 134.49, 134.02, 131.66, 127.29 ($9 \times \text{C arom.}$), 133.66, 133.29, 126.62, 126.49, 121.21, 120.74, 112.40, 111.51, ($8 \times \text{CH arom.}$), 62.18, 56.81, 56.01 (2C) ($4 \times \text{OCH}_3$), 36.94 (CH_2)
MS:	m/z 418 (79, M^+), 403 (100), 386 (15), 385 (21), 151 (41)
Anal. ($\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{O}_6$, 418.4):	Ber C, 71.76; H, 5.30 Gef C, 71.35; H, 5.11

1,4-Dihydroxy-2-[(2,5-dimethoxyphenyl)methyl]-9,10-anthracendion (60a)

Aus Chinizarin (2.0 g, 8.3 mmol) und 2,5-Dimethoxybenzaldehyd (1.4 g, 8.4 mmol) nach **AV 3** (Variante A) mit einer Reaktionszeit von 4 h.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	rote Kristalle (2.5 g, 77 %)
Smp:	175–176 °C
FTIR:	1623 cm ⁻¹ (CO···HO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 13.48 (s, 1H, OH), 12.95 (s, 1H, OH), 8.36–8.30 (m, 2H, H-5,8), 7.85–7.79 (m, 2H, H-6,7), 7.00 (s, 1H, H-3), 6.86–6.74 (m, 3H, Ar), 4.05 (s, 2H, CH ₂), 3.78 (s, 3H, OCH ₃), 3.76 (s, 3H, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 187.21, 186.43 (2 × C=O), 158.01, 157.19 (2 × C-OCH ₃), 153.77, 152.04 (2 × C-OH), 143.56, 133.84, 133.71, 127.51, 112.13, 111.31 (6 × C arom.), 134.39, 134.28, 128.67, 127.09, 126.98, 117.55, 112.42, 111.71 (8 × CH arom.), 56.08, 55.83 (2 × OCH ₃), 30.39 (CH ₂)
MS:	m/z 390 (100, M ⁺), 359 (43), 358 (33), 357 (20), 343 (12)
Anal. (C ₂₃ H ₁₈ O ₆ , 390.4):	Ber C, 70.76; H, 4.65 Gef C, 70.38; H, 4.23

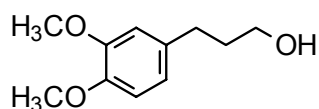
1,4-Dimethoxy-2-[(2,5-dimethoxyphenyl)methyl]-9,10-anthracendion (60b)

Aus **60a** (2.20 g, 5.6 mmol) nach **AV 4**.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	zitronengelbe, filzartige Nadeln (1.52 g, 64 %)
Smp:	96–98 °C
FTIR:	1669 cm ⁻¹ (CO)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 8.19–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.73–7.69 (m, 2H, H-6,7), 7.10 (s, 1H, H-3), 6.86–6.71 (m, 3H, Ar), 4.10 (s, 2H, CH_2), 3.90 (s, 3H, OCH_3), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.78 (s, 3H, OCH_3), 3.73 (s, 3H, OCH_3)
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 183.61, 182.95 ($2 \times \text{C=O}$), 156.49, 153.78, 152.76, 151.85, 144.99, 134.57, 134.13, 128.69, 127.12 ($9 \times \text{C arom.}$), 133.53, 133.18, 126.56, 126.47, 120.86, 117.37, 112.17, 111.58 ($8 \times \text{CH arom.}$), 62.00, 56.72, 55.99, 55.79 ($4 \times \text{OCH}_3$), 30.92 (CH_2)
MS:	m/z 418 (100, M^+), 371 (82), 369 (18), 354 (16), 151(78)
Anal. ($\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{O}_6$, 418.4):	Ber C, 71.76; H, 5.30 Gef C, 71.52; H, 5.24

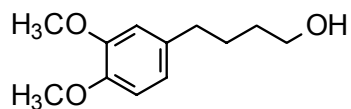
3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-propanol (61)²⁶⁵



In einem ausgeheizten Kolben suspendiert man unter Stickstoffatmosphäre LiAlH_4 (1.62 g, 42.7 mmol) in wasserfreiem THF (15 mL). Eine Lösung von 3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-propionsäure (10.0 g, 47.6 mmol) in wasserfreiem THF (50 mL) wird tropfenweise unter ständigem Rühren und Eiskühlung zugegeben. Anschließend wird 1 h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt (DC-Kontrolle). Das Gemisch wird auf 0°C abgekühlt und vorsichtig solange mit Wasser versetzt, bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten ist. Man überführt das Gemisch in Eiswasser, das mit HCl (2 mol/L) angesäuert wird, und extrahiert gründlich mit Ether. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser (3×100 mL) gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Man entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer und trocknet den Rückstand im Ölpumpenvakuum.

Ausbeute: blaß-gelbes Öl (8.4 g, 90 %)

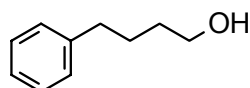
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 6.83–6.72 (m, 3H, Ar), 3.87 (s, 3H, OCH_3), 3.86 (s, 3H, OCH_3), 3.68 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H, CH_2OH), 2.66 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H, Ar- CH_2), 1.95–1.81 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), entspricht Lit.²⁶⁵

4-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-butanol (62)²⁶⁶

Die Herstellung erfolgt analog zu **61** durch Reduktion von 4-(3,4-Dimethoxyphenyl)-buttersäure (10.0 g, 44.6 mmol) mit LiAlH₄ (1.52 g, 40.1 mmol).

Ausbeute: blaß-gelbes Öl (9.0 g, 96 %)

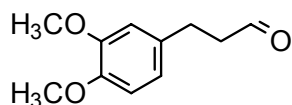
¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.81–6.71 (m, 3H, Ar), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.66 (t, *J* = 6.2 Hz, CH₂OH), 2.87 (br s, 1H, OH), 2.59 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, Ar-CH₂), 1.73–1.57 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₂), entspricht Lit.²⁶⁶

4-Phenyl-1-butanol (63)²⁶⁷

Die Herstellung erfolgt analog zu **61** durch Reduktion von 4-Phenylbuttersäure (10.0 g, 60.9 mmol) mit LiAlH₄ (2.08 g, 54.8 mmol).

Ausbeute: blaß gelbes Öl (8.6 g, 94 %)

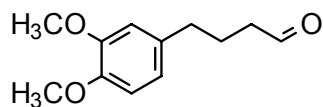
¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.34–7.20 (m, 5H, Ar), 3.65 (t, *J* = 6.2 Hz, CH₂OH), 2.67 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, Ar-CH₂), 2.55 (br s, 1H, OH), 1.79–1.52 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₂), entspricht Lit.²⁶⁷

3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-propionaldehyd (64)²⁶⁸

Aus **61** (6.8 g, 34.7 mmol) durch Oxidation mit PCC analog Lit.¹²⁴

Ausbeute: gelbliches Öl (4.8 g, 71.2 %)

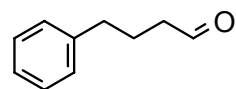
¹H-NMR (CDCl₃): δ 9.81 (t, *J* = 1.3 Hz, 1H, CHO), 6.81–6.69 (m, 3H, Ar), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 2.94–2.86 (m, 2H, CH₂), 2.79–2.70 (m, 2H, CH₂), entspricht Lit.²⁶⁸

4-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1-butyraldehyd (65)²⁶⁹

Aus **62** (7.6 g, 36.1 mmol) durch Oxidation mit PCC analog Lit.¹²⁴

Ausbeute: gelbliches Öl (4.9 g, 65.2 %)

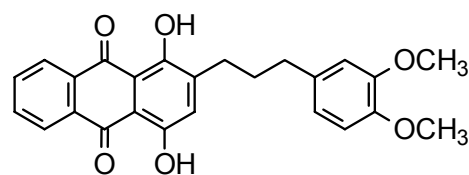
¹H-NMR (CDCl₃): δ 9.76 (t, *J* = 1.5 Hz, 1H, CHO), 6.82–6.69 (m, 3H, Ar), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 2.61 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, Ar-CH₂), 2.46 (dt, *J* = 7.3, 1.5 Hz, 2H, CH₂CHO), 1.93 (quint, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂CH₂CH₂)

4-Phenyl-1-butyraldehyd (66)^{270,271}

Aus **63** (10.2 g, 67.9 mmol) durch Oxidation mit PCC analog Lit.¹²⁴

Ausbeute: gelbliches Öl (7.7 g, 76.5 %)

¹H-NMR (CDCl₃): 9.76 (t, *J* = 1.4 Hz, 1H, CHO), 7.37–7.19 (m, 5H, Ar), 2.68 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, Ar-CH₂), 2.46 (dt, *J* = 7.3, 1.4 Hz, 2H, CH₂CHO), 1.93 (quint, *J* = 7.4 Hz, 2H, CH₂CH₂CH₂), entspricht Lit.^{270,271}

1,4-Dihydroxy-2-[3-(3,4-dimethoxyphenyl)propyl]-9,10-anthracendion (67a)

Aus Chinizarin (2.4 g, 10 mmol) und **64** (4.1 g, 21 mmol) nach AV 3 (Variante B) mit einer Reaktionszeit von 18 h.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂

Ausbeute: rotes Pulver (1.6 g, 38 %)

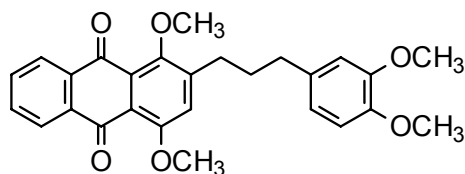
Smp: 149–150 °C

FTIR: 1619 cm⁻¹ (CO···HO)

¹H-NMR (CDCl₃): δ 13.40 (s, 1H, OH), 12.96 (s, 1H, OH), 8.34–8.30 (m, 2H, H-5,8), 7.85–7.79 (m, 2H, H-6,7), 7.13 (s, 1H, H-3), 6.83–

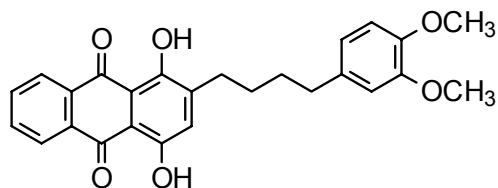
	6.73 (m, 3H, Ar), 3.88 (s, 3H, OCH ₃), 3.85 (s, 3H, OCH ₃), 2.81–2.64 (m, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂), 2.08–1.93 (m, 2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 187.27, 186.34 (2 × C=O), 157.84, 157.19, 148.94, 147.34, 144.94, 133.73, 133.57, 112.11, 111.20 (9 × C arom.), 134.44, 134.29, 128.22, 127.05, 126.94, 120.34, 111.82, 111.37 (8 × CH arom.), 56.01, 55.92 (2 × OCH ₃), 35.23, 30.41, 29.93 (3 × CH ₂)
MS:	m/z 418 (81, M ⁺), 400 (54), 254 (100), 164 (32), 151(20)
Anal. (C ₂₅ H ₂₂ O ₆ , 418.4):	Ber C, 71.76; H, 5.30 Gef C, 71.10; H, 4.90

1,4-Dimethoxy-2-[3-(3,4-dimethoxyphenyl)propyl]-9,10-anthracendion (67b)



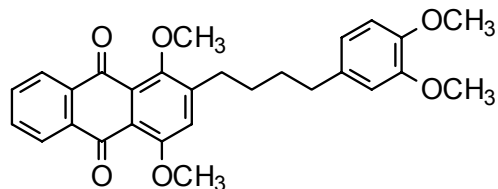
Aus **67a** (1.50 g, 3.58 mmol) nach **AV 4**.

Reinigung:	SiO ₂ ; Ether
Ausbeute:	gelbe, filzartige Nadeln (1.46 g, 91 %)
Smp:	121–122 °C
FTIR:	1670 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.22–8.13 (m, 2H, H-5,8), 7.76–7.67 (m, 2H, H-6,7), 7.17 (s, 1H, H-3), 6.84–6.74 (m, 3H, Ar), 4.00 (s, 3H, OCH ₃), 3.88 (s, 3H, OCH ₃), 3.86 (s, 6H, 2 × OCH ₃), 2.84–2.65 (m, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂), 2.07–1.91 (m, 2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	183.68, 182.92 (2 × C=O), 156.48, 152.64, 148.94, 147.36, 146.47, 134.44, 134.33, 133.98, 127.20, 121.10 (10 × C arom.), 133.58, 133.22, 126.54, 126.43, 120.32, 120.19, 111.84, 111.33 (8 × CH arom.), 62.12, 56.83, 55.99, 55.94 (4 × OCH ₃), 35.39, 31.92, 30.52 (3 × CH ₂)
MS:	m/z 446 (91, M ⁺), 414 (100), 383 (37), 276 (35), 247 (31)
Anal. (C ₂₇ H ₂₆ O ₆ , 446.5):	Ber C, 72.63; H, 5.87 Gef C, 72.46; H, 6.17

1,4-Dihydroxy-2-[4-(3,4-dimethoxyphenyl)butyl]-9,10-anthracendion (68a)

Aus Chinizarin (2.4 g, 10 mmol) und **65** (4.6 g, 22 mmol) nach **AV 3** (Variante B) mit einer Reaktionszeit von 24 h.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	rote Kristalle (910 mg, 21 %)
Smp:	129–130 °C
FTIR:	1620 cm ⁻¹ (CO···HO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 13.42 (s, 1H, OH), 12.98 (s, 1H, OH), 8.36–8.31 (m, 2H, H-5,8), 7.84–7.80 (m, 2H, H-6,7), 7.14 (s, 1H, H-3), 6.77–6.71 (m, 3H, Ar), 3.87 (s, 3H, OCH ₃), 3.85 (s, 3H, OCH ₃), 2.78–2.62 (m, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂), 1.76–1.70 (m, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	183.68, 182.92 (2 × C=O), 157.90, 157.22, 148.94, 147.29, 145.19, 135.04, 133.78, 133.64, 112.15, 111.20 (10 × C arom.), 134.46, 134.31, 128.20, 127.09, 126.98, 120.30, 111.89, 111.38 (8 × CH arom.), 56.03, 55.94 (2 × OCH ₃), 35.37, 31.43, 30.06, 28.40 (4 × CH ₂)
MS:	m/z 432 (84, M ⁺), 414 (60), 396 (25), 276 (25), 255 (43), 191 (100), 151 (33)
Anal. (C ₂₆ H ₂₄ O ₆ , 432.5):	Ber C, 72.21; H, 5.59 Gef C, 71.85; H, 5.18

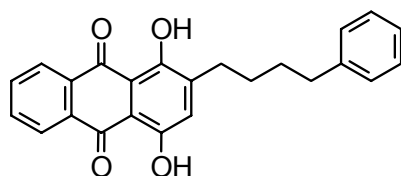
1,4-Dimethoxy-2-[4-(3,4-dimethoxyphenyl)butyl]-9,10-anthracendion (68b)

Aus **68a** (700 mg, 1.6 mmol) nach **AV 4**.

Reinigung:	SiO ₂ ; Ether
Ausbeute:	zitronengelbe, filzartige Nadeln (680 mg, 91 %)
Smp:	124–125 °C

FTIR:	1670 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.20–8.15 (m, 2H, H-5,8), 7.76–7.69 (m, 2H, H-6,7), 7.15 (s, 1H, H-3), 6.81–6.70 (m, 3H, Ar), 3.99 (s, 3H, OCH ₃), 3.88 (s, 3H, OCH ₃), 3.87 (s, 3H, OCH ₃), 3.85 (s, 3H, OCH ₃), 2.79–2.62 (m, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂), 1.71–1.70 (m, 2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.63, 182.94 (2 × C=O), 156.49, 152.66, 148.92, 147.27, 146.65, 134.95, 134.48, 134.02, 127.20, 121.10 (10 × C arom.), 133.57, 133.22, 126.56, 126.43, 120.25, 120.10, 111.89, 111.35 (8 × CH arom.), 62.18, 56.83, 56.01, 55.92 (4 × OCH ₃), 35.34, 31.53, 30.66, 29.90 (4 × CH ₂)
MS:	m/z 460 (81, M ⁺), 428 (100), 410 (52), 397 (54), 381 (67), 290 (64), 261 (26), 151 (57)
Anal. (C ₂₈ H ₂₈ O ₆ , 460.5):	Ber C, 73.03; H, 6.13 Gef C, 72.61; H, 5.83

1,4-Dihydroxy-2-(4-phenylbutyl)-9,10-anthracendion (69a)



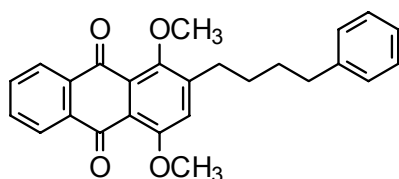
Aus Chinizarin (2.4 g, 10 mmol) und **66** (4.6 g, 22 mmol) nach **AV 3** (Variante B) mit einer Reaktionszeit von 24 h.

Reinigung:	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂ /Hexan (7:3)
Ausbeute:	orange-rote Kristalle (800 mg, 21 %)
Smp:	132–133 °C
FTIR:	1624 cm ⁻¹ (CO...HO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 13.40 (s, 1H, OH), 12.96 (s, 1H, OH), 8.35–8.29 (m, 2H, H-5,8), 7.85–7.78 (m, 2H, H-6,7), 7.33–7.12 (m, 6H, Ar), 2.80–2.65 (m, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂), 1.77–1.70 (m, 4H, CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 187.23, 186.32 (2 × C=O), 157.88, 157.20, 145.16, 142.34, 133.75, 133.60, 112.09, 111.17 (8 × C arom.), 134.40, 134.28, 128.49 (2C), 128.40 (2C), 128.14, 127.05, 126.94, 125.83 (8 × CH arom.), 56.03, 55.94 (2 × OCH ₃), 35.37, 31.43, 30.06, 28.40 (4 × CH ₂)

MS: m/z 372 (16, M⁺), 354 (100), 336 (22), 263 (34), 255 (17)
Anal. (C₂₄H₂₀O₄, 372.4): Ber C, 77.40; H, 5.41
Gef C, 76.64^{***}; H, 5.36

^{***} Trotz wiederholter Bestimmung kein besseres Ergebnis.

1,4-Dimethoxy-2-(4-phenylbutyl)-9,10-anthracendion (69b)



Aus **69a** (650 mg, 1.75 mmol) nach AV 4.

Reinigung: SiO₂; CH₂Cl₂

Ausbeute: zitronengelbe, filzartige Nadeln (640 mg, 91.5 %)

Smp: 126–128 °C

FTIR: 1670 cm⁻¹ (CO)

¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.20–8.13 (m, 2H, H-5,8), 7.76–7.67 (m, 2H, H-6,7), 7.32–7.15 (m, 6H, Ar), 3.99 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 2.82–2.64 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₂), 1.75–1.64 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₂)

¹³C-NMR (CDCl₃): δ 183.68, 183.01 (2 × C=O), 156.48, 152.62, 146.67, 142.25, 134.46, 134.02, 127.16, 121.03 (8 × C arom.), 133.58, 133.22, 128.47, 128.40, 126.56, 126.45, 125.85, 120.10 (8 × CH arom.), 62.18, 56.79 (2 × OCH₃), 35.74, 31.33, 30.66, 29.84 (4 × CH₂)

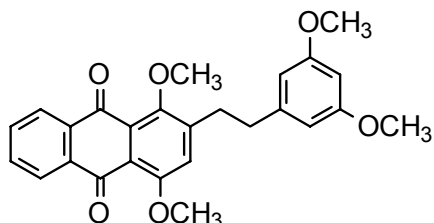
MS: m/z 400 (61, M⁺), 368 (100), 339(17), 321 (28), 277 (14)

Anal. (C₂₆H₂₄O₄, 400.5): Ber C, 77.98; H, 6.04

Gef C, 77.72; H, 5.54

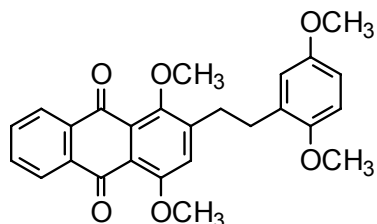
3.1.5 Synthese von 2-(2-Phenylethyl)-substituierten Derivaten durch katalytische Hydrierung von 2-(*E*)-(2-Phenylethenyl)-Derivaten

1,4-Dimethoxy-2-[2-(3,5-dimethoxyphenyl)ethyl]-9,10-anthracendion (70)



Zu einer Suspension von H₂-gesättigtem Pd/C (10 %, 50 mg) in THF (30 mL) wird **40** (100 mg) gegeben. Das Gemisch wird unter H₂-Atmosphäre bei Normaldruck und Raumtemperatur gerührt. Nach 3 h wird filtriert und mit CH₂Cl₂ gründlich nachgewaschen. Man engt das Filtrat am Rotationsverdampfer ein und reinigt sc (EtOAc/Hexan 1:1).

Reinigung:	SiO ₂ ; EtOAc/Hexan (1:1)
Ausbeute:	gelbe Nadeln (28 mg, 28 %)
Smp:	120–122 °C
FTIR:	1666 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.21–8.16 (m, 2H, H-5,8), 7.75–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.04 (s, 1H, H-3), 6.36–6.32 (m, 3H, Ar), 3.92 (s, 6H, 2 × OCH ₃), 3.76 (s, 6H, 2 × OCH ₃), 3.11–3.03 (m, 2H, CH ₂), 2.95–2.87 (m, 2H, CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.66, 182.99 (2 × C=O), 161.01, 156.35, 152.66, 145.41, 143.45, 134.51, 134.04, 127.25 (8 × C arom.), 133.66, 133.29, 126.66, 126.52, 120.65, 106.80 (2C), 98.15 (8 × CH arom.), 62.31, 56.79, 55.39 (2C) (4 × OCH ₃), 36.65, 32.74 (2 × CH ₂)
MS:	m/z 432 (77, M ⁺), 399 (34), 369 (100), 281 (46), 253 (16), 165 (17), 151 (21)
Anal. (C ₂₆ H ₂₄ O ₆ , 432.5):	Ber C, 72.21; H, 5.59 Gef C, 71.59; H, 5.22

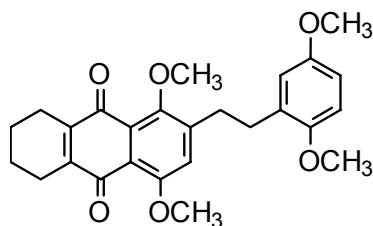
1,4-Dimethoxy-2-[2-(2,5-dimethoxyphenyl)ethyl]-9,10-anthracendion (71)

Zu einer Suspension von H₂-gesättigtem Pd/C (10 %, 50 mg) in THF (30 mL) wird **42** (100 mg) gegeben. Die Mischung wird unter H₂-Atmosphäre bei Normaldruck und Raumtemperatur gerührt. Nach 3 h wird filtriert und mit CH₂Cl₂ gründlich nachgewaschen. Man engt das Filtrat am Rotationsverdampfer ein und reinigt es (EtOAc/Hexan 1:1).

Ausbeute:	gelbe Kristalle (15 mg, 15 %)
Smp:	126 °C
FTIR:	1661 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.21–8.16 (m, 2H, H-5,8), 7.74–7.70 (m, 2H, H-6,7), 7.01 (s, 1H, H-3), 6.81–6.69 (m, 3H, Ar), 3.93 (s, 3H, OCH ₃), 3.90 (s, 3H, OCH ₃), 3.76 (s, 3H, OCH ₃), 3.73 (s, 3H, OCH ₃), 3.07–2.92 (m, 4H, CH ₂ -CH ₂)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.72, 183.04 (2 × C=O), 156.26, 153.57, 152.78, 151.85 (4 × C-OCH ₃), 146.12, 134.51, 134.08, 130.58, 127.34, 120.97 (6 × C arom.), 133.58, 133.24, 126.60, 126.49, 120.59, 116.68, 111.47, 111.27 (8 × CH arom.), 62.29, 56.72, 55.90, 55.79 (4 × OCH ₃), 31.17, 31.10 (2 × CH ₂)
MS:	m/z 432 (71, M ⁺), 281 (18), 151 (100), 91 (21)
Anal. (C ₂₆ H ₂₄ O ₆ , 432.5):	Ber C, 72.21; H, 5.59 Gef C, 68.77; H, 5.09 ***

*** Aufgrund der geringen Substanzmenge konnte kein besseres Ergebnis mehr erzielt werden.

5,6,7,8-Tetrahydro-1,4-dimethoxy-2-[2-(2,5-dimethoxyphenyl)ethyl]-9,10-anthracendion (72)



42 (100 mg) wird analog **71** hydriert; nach 24 h Reaktionszeit wird **72** isoliert.

Reinigung: SiO₂; EtOAc/Hexan (1:1)

Ausbeute: gelbe Kristalle (20 mg, 20 %)

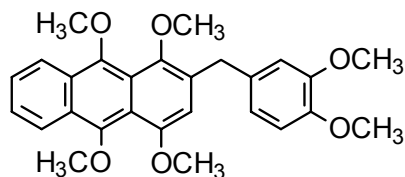
Smp: 132–133 °C

¹H-NMR (CDCl₃): δ 6.92 (s, 1H, H-3), 6.81–6.68 (m, 3H, H-3',4',6'), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.04–2.88 (m, 4H, Ar-CH₂-CH₂-Ar), 2.53 (br s, 4H, H-5,8), 1.70 (br s, 4H, H-6,7)

MS: 436 (87, M⁺), 285 (55), 151 (100)

3.1.6 Reduktive Methylierung zu 1,4,9,10-Tetramethoxyanthracen-Derivaten

1,4,9,10-Tetramethoxy-2-[(3,4-dimethoxyphenyl)methyl]-anthracen (73)



Reduktive Methylierung von **59b** (750 mg, 1.8 mmol) analog Lit.¹²⁶ Das Produkt kristallisiert aus Ether analysenrein aus.

Ausbeute: zitronengelbe Kristalle (440 mg, 54.7 %)

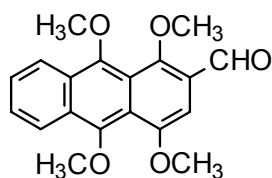
Smp: 133–134 °C

FTIR: 2831 (OCH₃), 1624, 1517 cm⁻¹ (C=C)

¹H-NMR (CDCl₃): δ 8.38–8.32 (m, 2H, H-5,8), 7.54–7.48 (m, 2H, H-6,7), 6.87–6.81 (m, 3H, Ar), 6.49 (s, 1H, Ar), 4.17 (s, 2H, CH₂), 4.01 (s, 3H, OCH₃), 3.98 (s, 3H, OCH₃), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 3.83 (s, 3H, OCH₃), 3.82 (s, 3H, OCH₃)

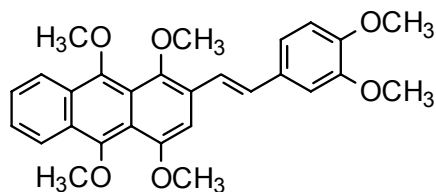
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 152.62, 149.43, 149.02, 147.47, 146.03 ($5 \times \text{C-OCH}_3$), 126.21, 125.61, 123.07, 122.61, 120.86, 112.35, 111.24, 106.20 ($8 \times \text{CH arom.}$), 133.73, 128.69, 127.03, 126.32, 121.23, 119.32 ($6 \times \text{C arom.}$), 63.54 (2 C), 62.38, 56.45, 55.97, 55.86 ($6 \times \text{OCH}_3$), 35.25 (CH_2)
MS:	m/z 448 (100, M^+), 433 (42), 151 (94)
Anal. ($\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{O}_6$, 448.5):	Ber C, 72.30; H, 6.29 Gef C, 72.08; H, 5.92

1,4,9,10-Tetramethoxyanthracen-2-carbaldehyd (74)^{91,272}



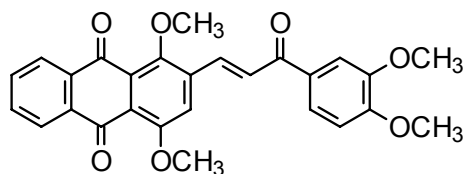
Reduktive Methylierung von **29** (590 mg, 2 mmol) analog Lit.¹²⁶

Reinigung	SiO_2 ; EtOAc/PE 1:2
Ausbeute:	zitronengelbe Kristalle (350 mg, 53.7 %)
Smp:	160–162 °C (Lit. ²⁷² 139 °C)
FTIR:	1670 cm^{-1} (CHO), entspricht Lit. ⁹¹
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 10.63 (s, 1H, CHO), 8.43–8.38 (m, 2H, H-5,8), 7.65–7.60 (m, 2H, H-6,7), 7.03 (s, 1H, H-3), 4.10 (s, 3H, OCH_3), 4.04 (s, 3H, OCH_3), 4.02 (s, 3H, OCH_3), 4.00 (s, 3H, OCH_3), entspricht Lit. ^{91,272}
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 190.05 (CHO), 157.79, 153.33, 150.42, 149.91 ($4 \times \text{C-OCH}_3$), 129.11, 124.81, 121.39, 120.54 ($4 \times \text{C arom.}$), 127.54, 127.00, 123.30, 123.08, 97.21 ($5 \times \text{CH arom.}$), 65.49, 64.09, 63.74, 56.41 ($4 \times \text{OCH}_3$)
MS:	m/z 326 (100, M^+), 311 (66), 280 (11), 249 (12)
Anal. ($\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_5$, 326.3):	Ber C, 69.93; H, 5.56 Gef C, 69.62; H, 5.21

1,4,9,10-Tetramethoxy-2-(*E*)-[2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethenyl]-anthracen (75)

Aus **74** und **36** analog AV 2.

Reinigung	SiO ₂ ; CH ₂ Cl ₂
Ausbeute:	zitronengelbe Nadeln (150 mg, 32.5 %)
Smp:	131–132 °C
FTIR:	2996, 2834 (OCH ₃), 1600, 1512 cm ⁻¹ (C=C)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.38–8.33 (m, 2H, H-5,8), 7.67 (d, <i>J</i> = 16.5 Hz, 1H, CH=CH), 7.55–7.51 (m, 2H, H-6,7), 7.21–6.89 (m, 5H: 4H, Ar; 1H, CH=CH), 4.14 (s, 3H, OCH ₃), 4.02 (s, 3H, OCH ₃), 4.01 (s, 3H, OCH ₃), 4.00 (s, 3H, OCH ₃), 3.94 (s, 3H, OCH ₃), 3.89 (s, 3H, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 152.95, 149.56, 149.29, 149.12, 148.14, 146.78 (6 × C-OCH ₃), 131.04, 127.43, 126.85, 125.45, 119.41 (5 × C arom.), 129.29, 126.43, 125.94, 123.14, 122.68, 121.30, 120.14, 111.38, 109.13, 100.47 (10 × CH arom.), 63.65, 62.92, 56.56, 56.06 (OCH ₃)
MS:	<i>m/z</i> 460 (100, M ⁺), 445 (56), 415 (21), 151 (66)
Anal. (C ₂₈ H ₂₈ O ₆ , 460.5):	Ber C, 73.03; H, 6.13 Gef C, 72.74; H, 6.17

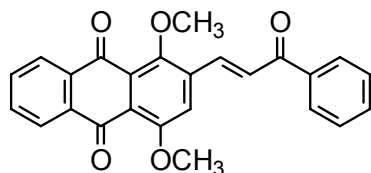
3.1.7 Synthese von 2-(3-Phenyl-3-oxo-(1*E*)-propenyl)-Derivaten**2-[3-(3,4-Dimethoxyphenyl)-3-oxo-(1*E*)-propenyl]-1,4-dimethoxy-9,10-anthracendion (76)**

Unter Stickstoff werden **29** (0.30 g, 1 mmol) und 3,4-Dimethoxyacetophenon (0.18 g, 1 mmol) mit NaOH (0.1 g) in Methanol (50 mL) bei Raumtemperatur gerührt. Nach

24 h (DC-Kontrolle) ergänzt man Wasser (200 mL) und neutralisiert mit Essigsäure. Man extrahiert mit CH₂Cl₂, wäscht die vereinigten organischen Phasen mit Wasser und trocknet über Na₂SO₄. Das Lösungsmittel wird im Vakuum entfernt und der Rückstand sc (SiO₂; EtOAc) gereinigt.

Ausbeute:	orange Kristalle (130 mg, 28.4 %)
Smp:	207–209 °C
FTIR:	1669 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.21–8.17 (m, 2H, H-5,8), 8.04 (d, <i>J</i> = 15.8 Hz, 1H, CH=CH), 7.80–7.64 (m, 5H: 4H, Ar; 1H, CH=CH), 7.56 (s, 1H, H-3), 6.96 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H, Ar), 4.10 (s, 3H, OCH ₃), 3.99 (s, 6H, 2 × OCH ₃), 3.95 (s, 3H, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 188.52, 183.21, 182.70 (3 × C=O), 156.44, 153.78, 153.51, 149.51, 137.64, 134.35, 130.86, 128.34 (8 × C arom.), 137.19, 133.88, 133.57, 127.02, 126.69, 126.56, 123.52, 117.86, 110.87, 110.04 (10 × CH arom.), 62.91, 57.07, 56.25, 56.17 (4 × OCH ₃)
MS:	<i>m/z</i> 458 (20, M ⁺), 427 (100), 165(33)
Anal. (C ₂₇ H ₂₂ O ₇ , 458.5):	Ber C, 70.74; H, 4.84 Gef C, 70.89; H, 4.87

1,4-Dimethoxy-2-(3-oxo-3-phenyl-(1*E*)-propenyl)-9,10-anthracendion (77)

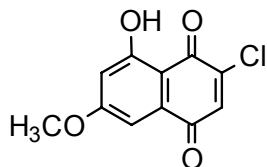


Analog der Synthese von **76** aus **29** und Acetophenon.

Ausbeute:	orange-gelbe Kristalle (56 mg, 14 %)
Smp:	200–202 °C
FTIR:	1673 cm ⁻¹ (CO)
MS:	<i>m/z</i> 398 (21, M ⁺), 367 (100), 293(41)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 8.21–8.03 (m, 5H: 4H, Ar; 1H, CH=CH), 7.77–7.54 (m, 7H: 6H, Ar; 1H, CH=CH), 4.10 (s, 3H, OCH ₃), 3.95 (s, 3H, OCH ₃)
Anal. (C ₂₅ H ₁₈ O ₅ , 398.4):	Ber C, 75.37; H, 4.55 Gef C, 74.89; H, 4.43

3.2 Synthese von Derivaten des 1,6,8-Trihydroxy-3-methyl-anthrachinons (Frangula-Emodin)

3-Chlor-5-hydroxy-7-methoxy-1,4-naphthochinon (**80**)^{147,149}



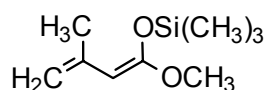
92 (1.50 g, 7.4 mmol) und 2,6-Dichlorbenzochinon (durch Oxidation von Trichlorphenol mit CrO_3 ¹³⁵; 1.32 g, 7.4 mmol) werden in THF (20 mL) bei Raumtemperatur gerührt. Nach 1 h entfernt man das Lösungsmittel im Vakuum und pyrolysiert den Rückstand 1 h bei 90–100°C. Man läßt abkühlen, ergänzt THF (20 mL) und konz. HCl (0.5 mL) und erhitzt unter Rückfluß 30 min zum Sieden. Das Gemisch wird in Wasser (200 mL) überführt. Man extrahiert erschöpfend mit CH_2Cl_2 , wäscht die vereinigten organischen Phasen mit Wasser (3 × 100 mL) und trocknet sie über Na_2SO_4 . Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird das Produkt aus Ether/Petrolether (1:1) kristallisiert und ohne weitere Reinigung umgesetzt.

Ausbeute: gelb-braunes Pulver (0.81 g, 46 %)

¹H-NMR (CDCl_3): δ 11.93 (s, 1H, OH), 7.19 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-5), 7.14 (s, 1H, H-3), 6.67 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-7), 3.93 (s, H, OCH_3), entspricht Lit.¹⁴⁷

MS: m/z 238/240 (100/34, M^+)

1-Methoxy-3-methyl-1-trimethylsiloxy-1,3-butadien (**81**)^{134,149}



Die Herstellung erfolgt modifiziert nach Lit.¹³⁴

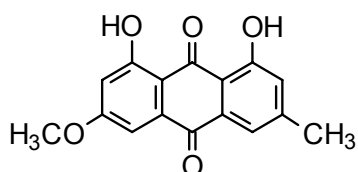
a) *Herstellung von Lithiumdiisopropylamid (LDA)*: In einem ausgeheizten und N_2 -gespülten Dreihalskolben wird Diisopropylamin (7.7 mL, 55 mmol) in trockenem THF (50 mL) gerührt und auf -78 °C (Aceton/Trockeneis) abgekühlt. Im N_2 -Gegenstrom wird n-Butyllithium (1.6 mol/L; 35 mL, 55 mmol) durch ein Septum zugegeben. Nach 15 min bei -78 °C wird das Gemisch im Eisbad auf 0 °C abgekühlt und weitere 1.5 h gerührt. Die Lösung wird ohne weitere Aufarbeitung sofort umgesetzt.

b) *Synthese von 81*: Die frisch hergestellte LDA-Lösung wird erneut auf -78 °C abgekühlt. Im N_2 -Gegenstrom gibt man durch das Septum zunächst Methyl-3,3-

dimethylacrylat (5.7 g, 50 mmol) und nach 15 min Chlortrimethylsilan (7.5 mL, 60 mmol) zu. Nach weiteren 30 min wird die Mischung auf Raumtemperatur erwärmt und 3 h gerührt. Das Lösungsmittel wird im Wasserstrahlvakuum entfernt und das Produkt anschließend im Ölpumpenvakuum destilliert.

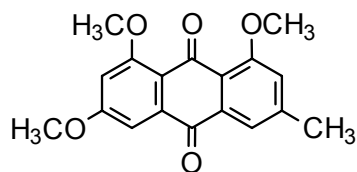
Ausbeute: blaß gelbliche Flüssigkeit (7.12g, 77 %)
 Sdp: 53–55 °C, 1 Torr
¹H-NMR (CDCl₃): δ 4.79 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H, C=CH₂), 4.55 (m, 1H, C=CH₂), 4.26 (s, 1H, H-2), 3.57 (s, 3H, OCH₃), 1.93 (s, 3H, C-CH₃), 0.23 (s, 9H, OSi(CH₃)₃), entspricht Lit.^{134,149}

1,8-Dihydroxy-6-methoxy-3-methyl-9,10-anthracendion (Physson, **82**)¹³⁴



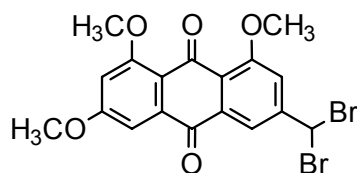
Die Synthese erfolgt analog Lit.¹³⁴ aus **80** (0.24 g, 1.0 mmol) und **81** (0.19 g, 1.0 mmol). Die Edukte werden in THF (10 mL) bei Raumtemperatur gerührt. Nach 1–2 h (DC-Kontrolle) wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der braune ölige Rückstand 2 h bei 100 °C pyrolysiert. Anschließend werden THF (20 mL) und konz. HCl (0.5 mL) zugegeben, und das Gemisch wird 1 h refluxiert. Man überführt in Wasser (200 mL) und extrahiert gründlich mit CH₂Cl₂. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und im Vakuum eingengt. Den Rückstand reinigt man sc (SiO₂; CH₂Cl₂).

Ausbeute: gelb-orange Kristalle (0.11 g, 38.7 %)
 Smp: 196 °C (Lit.¹³⁴ 206–206.5 °C)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 12.29 (s, 1H, OH), 12.09 (s, 1H, OH), 7.60 (s, 1H, Ar), 7.34 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, Ar), 7.06 (s, 1H, Ar), 6.67 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, Ar), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 2.44 (s, 3H, CH₃), entspricht Lit.¹³⁴
 MS: m/z 284 (100, M⁺)

1,6,8-Trimethoxy-3-methyl-9-10-anthracendion (83)^{273,274}

Aus Emodin (3.10 g, 87.2 mmol) nach AV 4.

Ausbeute: gelbe Kristalle (2.92 g, 81.5 %)
 Smp: 224–226 °C (Lit.^{273,274} 225–226 °C, 230–232 °C)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.64 (s, 1H, Ar), 7.32 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, Ar), 7.09 (s, 1H, Ar), 6.76 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, Ar), 3.98 (s, 3H, OCH₃), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 2.46 (s, 3H, CH₃), entspricht Lit.²⁷⁴

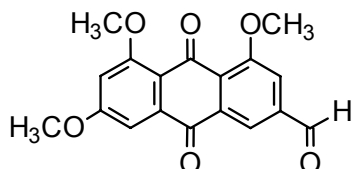
3-Dibrommethyl-1,6,8-trimethoxy-9,10-anthracendion (84)²⁷⁵

83 (2.50 g, 8.0 mmol) wird in Tetrachlorkohlenstoff (150 mL) suspendiert und die Mischung unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Anschließend werden auf einmal 1,3-Dibrom-5,5-dimethylhydantoin (4.85 g, 17.0 mmol) und Benzoylperoxid (0.50 g) zugegeben. Nach einer Stunde gibt man nochmals Benzoylperoxid (0.50 g) zu. Das Gemisch wird bis zur vollständigen Umsetzung unter Rückfluß zum Sieden erhitzt (DC-Kontrolle). Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer vollständig entfernt und der Rückstand in CH₂Cl₂ aufgenommen. Man wäscht mehrmals mit Wasser, trocknet über Na₂SO₄ und engt am Rotationsverdampfer ein. Der Rückstand wird sc (SiO₂; Ether) gereinigt.

Ausbeute: gelbe Kristalle (2.29 g, 61 %)
 Smp: 241–245 °C (Lit.²⁷⁵ 254–257 °C)
¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 7.93 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, Ar), 7.68 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, Ar), 7.48 (s, 1H, CHBr₂), 7.18 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, Ar), 6.99 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, Ar), 3.93 (s, 6H, 2 × OCH₃), 3.89 (s, 3H, OCH₃)
¹H-NMR (CDCl₃): δ 7.92 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H, Ar), 7.56 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, Ar), 7.34 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, Ar), 6.79 (d, *J* = 2.5 Hz, 1H, Ar),

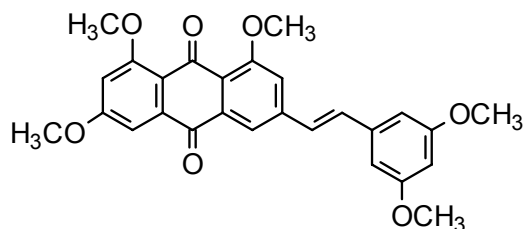
6.68 (s, 1H, CHBr₂), 4.07 (s, 3H, OCH₃), 3.97 (s, 3H, OCH₃), 3.96 (s, 3H, OCH₃), entspricht Lit.²⁷⁵

1,6,8-Trimethoxy-9,10-dioxo-9,10-dihydro-anthracen-3-carbaldehyd (85)¹³⁶



Zu einer Suspension des Dibromids **84** (1.58 g, 3.36 mmol) in THF (20 mL) gibt man eine Lösung von Silbernitrat (1.43 g, 8.42 mmol) in Wasser (3 mL) und refluxiert 24 h unter Lichtausschluß. Man läßt auf Raumtemperatur abkühlen, filtriert den Niederschlag ab und wäscht mit CH₂Cl₂ erschöpfend nach. Zum Filtrat gibt man CH₂Cl₂ (100 mL) und wäscht mit Wasser (3 × 100 mL). Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und am Rotationsverdampfer auf ein kleines Volumen eingengt. Nach Zugabe von Petrolether kristallisiert das Produkt aus.

Reinigung:	SiO ₂ ; EtOAc
Ausbeute:	gelbe Kristalle (0.81 g, 74 %)
Smp:	263–264 °C (Lit. ¹³⁶ 221–223 °C)
FTIR:	1704 (CHO), 1668 cm ⁻¹ (CO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 10.12 (s, 1H, CH=O), 8.30 (d, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H, Ar), 7.78 (d, <i>J</i> = 1.4 Hz, 1H, Ar), 7.35 (d, <i>J</i> = 2.5 Hz, 1H, Ar), 6.80 (d, <i>J</i> = 2.4 Hz, 1H, Ar), 4.07 (s, 3H, OCH ₃), 3.98 (s, 3H, OCH ₃), 3.97 (s, 3H, OCH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 190.74 (CHO), 183.16, 181.08 (2 × C=O), 164.36, 162.01, 160.35 (3 × C-OCH ₃), 139.49, 136.22, 135.60, 127.97 (4 × C arom.), 121.73, 115.60, 105.63, 102.41 (4 × CH arom.), 56.92, 56.61, 56.03 (3 × OCH ₃)
MS:	m/z 326 (40, M ⁺), 311 (100)

1,6,8-Trimethoxy-3-(*E*)-[2-(3,5-dimethoxyphenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (86)

Aus **85** und **37** nach **AV 2**.

Reinigung:

SiO₂; EtOAc

Kristallisation aus CH₂Cl₂/Hexan

Ausbeute:

gelbe Kristalle (0.10 g, 22 %)

Smp:

239–240 °C

FTIR:

1662 cm⁻¹ (CO)

¹H-NMR (CDCl₃):

δ 7.95–6.75 (m, 6H: 4H, Ar; 2H, CH=CH), 6.69 (d, *J* = 2.13 Hz, 2H, H-2',6'), 6.44 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, H-4'), 4.05 (s, 3H, OCH₃), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 3.85 (s, 6H, 2 × OCH₃)

¹³C-NMR (CDCl₃):

δ 184.21, 181.39 (2 × C=O), 163.90, 161.92, 161.21 (2C), 160.32 (5 × C-OCH₃), 142.54, 138.44, 136.53, 135.04, 106.80 (5 × C arom.), 132.64, 127.52, 117.08, 115.92, 105.51, 105.16 (2C), 102.23, 101.19 (9 × CH arom.), 56.70, 56.59, 55.96, 55.53 (2C) (5 × OCH₃)

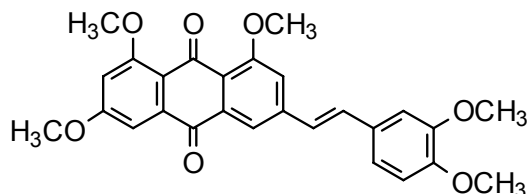
MS:

m/z 460 (100, M⁺), 445 (52), 399 (15)

Anal. (C₂₇H₂₄O₇, 460.5):

Ber C, 70.43; H, 5.25

Gef C, 69.93; H, 4.56

1,6,8-Trimethoxy-3-(*E*)-[2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethenyl]-9,10-anthracendion (87)

Aus **85** und **36** nach **AV 2**.

Ausbeute:

gelb-orange Kristalle (0.08 g, 17.5 %)

Smp:

198–199 °C

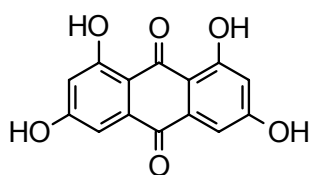
FTIR:

1656 cm⁻¹ (CO)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 7.93 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H, Ar), 7.31–6.74 (m, 8H: 6H, Ar; 2H, CH=CH), 4.05 (s, 3H, OCH_3), 3.97 (s, 3H, OCH_3), 3.96 (s, 3H, OCH_3), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 3.92 (s, 3H, OCH_3)
MS:	m/z 460 (100, M^+), 445 (33), 429 (27), 399 (16)

3.3 Synthese von Derivaten des 1,3,6,8-Tetrahydroxyanthrachinons

1,3,6,8-Tetrahydroxy-9,10-anthracendion (88)¹⁴⁰



Variante A: **94** (0.10 g) wird mit NaCl (0.40 g) und AlCl_3 (0.40 g) vermischt und bis zur Schmelze erhitzt. Nach 20 min läßt man abkühlen und nimmt den Schmelzkuchen in Wasser (200 mL) auf. Man säuert mit konz. HCl (1 mL) an und rührt 2 h bei Raumtemperatur. Anschließend wird mehrmals mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und zur Trockne eingengt. Den Rückstand reinigt man sc (SiO_2 ; EtOAc/Hexan 1:1).

Ausbeute: orange-gelbe Kristalle (0.04 g, 47 %)

Variante B: **94** (0.10 g) wird in Eisessig (10 mL) unter Zusatz von HBr (45–47 %, 5 mL) 24 h refluxiert. Man läßt auf Raumtemperatur abkühlen, überführt die Mischung in Wasser (150 mL) und extrahiert mit CH_2Cl_2 . Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Den Rückstand reinigt man sc (SiO_2 ; EtOAc/Hexan 1:1).

Ausbeute: orange Kristalle (0.05 g, 65 %)

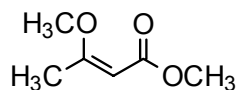
Smp: >350 °C (Lit.¹⁴⁰ >350 °C)

FTIR: 1673 (CO), 1615 cm^{-1} (CO \cdots HO)

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ 12.14 (s, 2H, OH-1,8), 7.05 (d, $J = 1.9$ Hz, 2H, H-4,5), 6.53 (s, $J = 1.7$ Hz, 2H, H-2,7), entspricht Lit.¹⁴⁰

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ 188.55, 181.26 ($2 \times \text{C=O}$), 165.08, 164.28 ($2 \times \text{C-OH}$), 134.87, 108.63 ($2 \times \text{C arom.}$), 108.76, 108.12 ($2 \times \text{CH arom.}$)

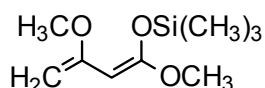
MS: m/z 272 (100, M^+)

Methyl-3-methoxybutenoat (91)¹³⁴

Analog zur für den Ethylester beschriebenen Methode¹⁵⁷ wird Methylacetoacetat (23.2 g, 200 mmol) mit Trimethylorthoformiat (21.2 g, 200 mmol) und H₂SO₄ konz. (0.5 mL) bei Raumtemperatur gerührt. Nach 24 h gibt man Chinolin (2 mL) zu und destilliert das Produkt im Wasserstrahlvakuum ab (Sdp. 110–115 °C).

Ausbeute: farblose Flüssigkeit (23.7 g, 91 %)

¹H-NMR (CDCl₃): δ 5.03 (s, 1H, H-2), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.63 (s, 3H, OCH₃), 2.30 (s, 3H, CH₃), entspricht Lit.¹³⁴

1,3-Dimethoxy-1-trimethylsiloxy-1,3-butadien (92)^{134,149}

Die Herstellung erfolgt modifiziert nach Lit.¹³⁴

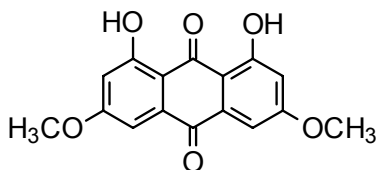
a) *Herstellung von Lithiumdiisopropylamid (LDA)*: Diisopropylamin (6.3 mL, 45 mmol) wird mit n-Butyllithium (1.6 mol/L; 28.3 mL, 45 mmol) analog zur Synthese von **81** umgesetzt. Die Lösung wird ohne weitere Aufarbeitung sofort umgesetzt.

b) *Synthese von 92*: Analog zur Synthese von **81** wird **91** (5.2 g, 40 mmol) unter Zusatz von Chlortrimethylsilan (5.7 mL, 45 mmol) umgesetzt. Das Lösungsmittel wird im Wasserstrahlvakuum entfernt und das Produkt anschließend im Ölpumpenvakuum destilliert.

Ausbeute: gelbliche Flüssigkeit (3.45 g, 43 %)

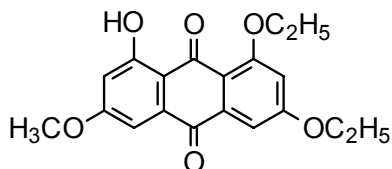
Sdp: 55–60 °C, 1 Torr

¹H-NMR (CDCl₃): δ 4.33 (d, *J* = 1.7 Hz, 1H, H-2), 4.03 (d, *J* = 1.4 Hz, 1H, H-4), 3.99 (m, 1H, H-4), 3.57 (s, 3H, OCH₃), 3.56 (s, 3H, OCH₃), 0.26 (s, 9H, Si(CH₃)₃), entspricht Lit.^{134,149}

1,8-Dihydroxy-3,6-dimethoxy-9,10-anthracendion (93)²⁷⁶

Analog zur Synthese von **82** wird **80** (0.24 mg, 1.0 mmol) mit **92** (0.23 g, 1.1 mmol) in THF (10 mL) bei Raumtemperatur gerührt. Nach 3 h (DC-Kontrolle) wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der braune ölige Rückstand 2 h bei 100 °C pyrolysiert. Anschließend werden THF (20 mL) und konz. HCl (0.5 mL) zugegeben, und das Gemisch wird 1 h refluxiert. Man überführt in Wasser (200 mL) und extrahiert gründlich mit CH₂Cl₂. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Den Rückstand reinigt man sc (SiO₂; CH₂Cl₂).

Ausbeute:	orange Kristalle (0.06 g, 20 %)
Smp:	244–246 °C (Lit. ²⁷⁶ 246–247 °C)
FTIR:	1685 (CO), 1612 (CO···HO) cm ⁻¹
MS:	m/z 300 (100, M ⁺)

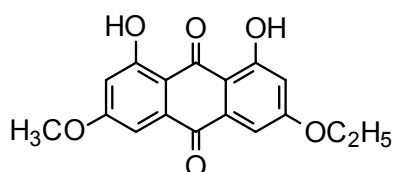
1,3-Diethoxy-8-hydroxy-6-methoxy-9,10-anthracendion (94)

80 (0.24 g, 1 mmol) wird mit Ketendiethylacetal (1.03 g, 8.9 mmol) unter Rückflußkühlung auf 90 °C erhitzt. Nach 1.5 h (DC-Kontrolle) entfernt man überschüssiges Ketendiethylacetal im Vakuum und reinigt den Rückstand sc (SiO₂; CH₂Cl₂).

Ausbeute:	orange Nadeln (0.17 g, 50 %)
Smp:	162–163 °C
FTIR:	1673 (CO), 1630 cm ⁻¹ (CO···HO)
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 13.47 (s, 1H, OH), 7.38 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H, Ar), 7.26 (d, <i>J</i> = 2.6 Hz, 1H, Ar), 6.73 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H, Ar), 6.68 (d, <i>J</i> = 2.6 Hz, 1H, Ar), 4.26–4.14 (2 × q, <i>J</i> = 7.0 Hz, 4H, 2 × OCH ₂ CH ₃), 3.90 (s, 3H, OCH ₃), 1.58 (t, <i>J</i> = 6.9 Hz, 3H, CH ₂ CH ₃), 1.47 (t, <i>J</i> = 6.9 Hz, 3H CH ₂ CH ₃)

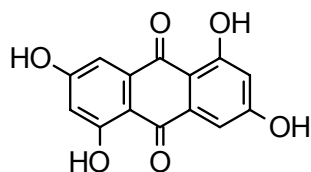
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3):	δ 186.52, 182.84 ($2 \times \text{C=O}$), 165.14, 164.99, 164.34, 162.41 ($4 \times \text{C-O}$), 137.48, 134.20, 115.35, 111.60 ($4 \times \text{C arom.}$), 107.53, 106.29, 106.25, 104.74 ($4 \times \text{CH arom.}$), 65.45, 64.47 ($2 \times \text{OCH}_2$ -) 55.88 (OCH_3), 14.68, 14.65 ($2 \times \text{CH}_3$)
MS:	m/z 342 (43, M^{++}), 324 (100)
Anal. ($\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$, 342.3):	Ber C, 66.66; H, 5.30 Gef C; 66.44; H, 5.07

3-Ethoxy-1,8-dihydroxy-6-methoxy-9,10-anthracendion (95)



94 (0.20 g, 0.6 mmol) wird in Eisessig (10 mL) unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Man gibt HBr (45–47 %, 5 mL) zu, läßt nach 20 min auf Raumtemperatur abkühlen und überführt das Gemisch in Wasser (150 mL). Man extrahiert mehrfach mit CH_2Cl_2 , trocknet die vereinigten organischen Phasen über Na_2SO_4 und engt am Rotationsverdampfer ein.

Reinigung:	SiO_2 ; CH_2Cl_2
Ausbeute:	orange Kristalle (0.16 g, 87 %)
Smp:	181–182 °C
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3):	δ 12.31 (s, 1H, OH), 12.29 (s, 1H, OH), 7.29 (t, $J = 2.4$ Hz, 2H, Ar), 6.64 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, Ar), 6.62 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, Ar), 4.14 (q, $J = 7.0$ Hz, 2H, OCH_2CH_3), 3.91 (s, 3H, OCH_3), 1.47 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H, CH_2CH_3)
$^{13}\text{C-NMR}$:	δ 189.70, 181.73 ($2 \times \text{C=O}$), 166.25, 165.72, 165.12 (2C) ($4 \times \text{C-O}$), 135.20, 110.07 ($2 \times \text{C arom.}$), 108.69, 108.16, 107.44, 107.03 ($4 \times \text{CH arom.}$), 64.64 (OCH_2), 56.08 (OCH_3), 14.57 (CH_2CH_3)
MS:	m/z 314 (100, M^{++}), 286 (57), 258 (51)
Anal. ($\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$, 314.3):	Ber C, 64.97; H, 4.49 Gef C, 64.84; H, 4.16

1,3,5,7-Tetrahydroxy-9,10-anthracendion (96)^{82,277}

Aus 3,5-Dihydroxybenzoesäure (10.0 g, 64.9 mmol) analog Lit.⁸²

Reinigung: SiO₂; EtOAc/Hexan (1:1)

Ausbeute: gelb-oranges Pulver (2.50 g, 28 %)

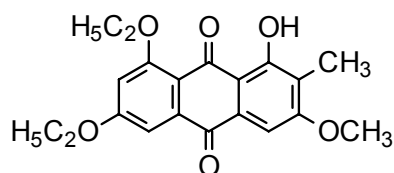
Smp: >350 °C
(Lit.⁸² >360 °C)

FTIR: 1615 cm⁻¹ (CO...HO)

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 12.65 (s, 2H, OH-1,5), 7.07 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, H-3,8), 6.51 (d, *J* = 2.5 Hz, 2H, H-2,6), entspricht Lit.²⁷⁷

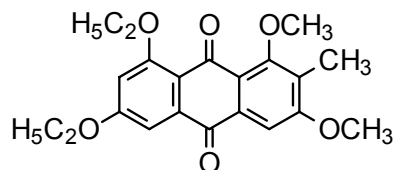
¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 184.88 (C=O), 165.44, 164.88 (2 × C-OH), 134.96, 109.09 (2 × C arom.), 108.16, 107.32 (2 × CH arom.)

MS: *m/z* 272 (100, M⁺)

6,8-Diethoxy-1-hydroxy-3-methoxy-2-methyl-9,10-anthracendion (97)

Die Herstellung erfolgt analog zu **AV 3** unter Verwendung von **94** (2.0 g, 5.8 mmol) und Formaldehyd bei einer Reaktionszeit von 2.5 h. Die Aufarbeitung erfolgt nach **AV 3**, Variante B. Nach dem Entfernen des organischen Lösungsmittels wird der Rückstand in Ether/Petrolether (1:1) aufgeschlämmt, abgesaugt und getrocknet. Das Rohprodukt wird ohne weitere Aufreinigung direkt weiter umgesetzt. Eine Charakterisierung erfolgt erst nach der Methylierung zu **98**.

Ausbeute: gelb-oranges Pulver (1.40 g, 68 %)

6,8-Diethoxy-1,3-dimethoxy-2-methyl-9,10-anthracendion (98)

Aus **97** (als Rohprodukt, 1.25 g, 3.5 mmol) nach **AV 4**.

Reinigung: SiO_2 ; CH_2Cl_2

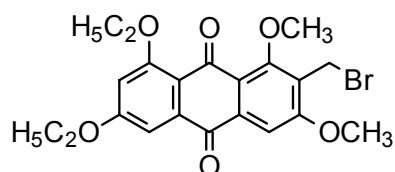
Ausbeute: zitronengelbe Nadeln (0.92 g, 70 %)

Smp: 185–187 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ 7.48 (s, 1H, H-4), 7.31 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, H-5), 6.76 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H-7), 4.20 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H, $2 \times \text{OCH}_2\text{CH}_3$), 3.98 (s, 3H, OCH_3), 3.91 (s, 3H, OCH_3), 2.24 (s, 3H, CH_3), 1.54 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 1.47 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H, CH_2CH_3)

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): δ 183.99, 181.04 ($2 \times \text{C}=\text{O}$), 163.05, 161.61, 161.22, 159.73 ($4 \times \text{C-O}$), 136.55, 133.36, 128.97, 122.18, 118.50 ($5 \times \text{C arom.}$), 107.05, 103.65, 103.12 ($3 \times \text{CH arom.}$), 65.49, 64.27 ($2 \times \text{OCH}_2$) 61.57, 56.09 ($2 \times \text{OCH}_3$), 14.77, 14.71 ($2 \times \text{CH}_3$)

MS: m/z 370 (5, M^{+}), 355 (49), 341 (100)

2-Bromomethyl-6,8-diethoxy-1,3-dimethoxy-9,10-anthracendion (99)

98 (0.60 g, 1.6 mmol) wird in CCl_4 (30 mL) suspendiert und zum Sieden erhitzt. Man gibt auf einmal 1,3-Dibrom-5,5-dimethylhydantoin (DBH, 0.23 g, 0.8 mmol) und Benzoylperoxid (0.1 g mit 25 % Wasser) zu und rührt die Mischung unter Rückfluß. Nach 1 h werden noch einmal die gleichen Mengen DBH und Peroxid zugegeben. Nach der vollständigen Umsetzung des Eduktes (DC-Kontrolle) entfernt man das Lösungsmittel im Vakuum, nimmt den Rückstand in CH_2Cl_2 (100 mL) auf und wäscht mit Wasser (3×80 mL). Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wird sc gereinigt (SiO_2 ; CH_2Cl_2).

Ausbeute: gelbe Kristalle (0.33 g, 45 %)

Smp:	203–205 °C
¹ H-NMR (CDCl ₃):	δ 7.52 (s, 1H, H-4), 7.31 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H, H-5), 6.77 (d, <i>J</i> = 2.3 Hz, 1H, H-7), 4.69 (s, 2H, CH ₂ Br), 4.25–4.14 (2 × q, <i>J</i> = 7.0 Hz, 4H, 2 × OCH ₂ CH ₃), 4.08 (s, 3H, OCH ₃), 4.06 (s, 3H, OCH ₃), 1.54 (t, <i>J</i> = 7.0 Hz, 3H, CH ₂ CH ₃), 1.48 (t, <i>J</i> = 6.9 Hz, 3H CH ₂ CH ₃)
¹³ C-NMR (CDCl ₃):	δ 183.65 (C=O), 163.26, 161.32, 161.14, 160.43 (4 × C-O), 136.31, 135.77, 127.80, 121.94, 118.34 (5 × C arom.), 107.22, 104.32, 103.27 (3 × CH arom.), 65.55, 64.34 (2 × OCH ₂), 62.87, 55.88 (2 × OCH ₃), 21.40 (CH ₂ Br), 14.76, 14.68 (2 × CH ₃)
MS:	<i>m/z</i> 448/450 (<5, M ⁺), 369 (100)

4 Prüfung auf antiproliferative Aktivität an K562- und HL-60-Leukämiezellen

4.1 Materialien, Chemikalien, Reagenzien

K562-Zellen	Human chronic myeloid leukemia in blast crisis, DSMZ GmbH Braunschweig, kultiviert in Gewebekulturflaschen
HL-60-Zellen	Human promyelocytic leukemic cells, aus dem Bestand des Dermatologischen Instituts der WWU Münster, kultiviert in Gewebekulturflaschen
RPMI 1640-Medium	Rosewell Park Memorial Institut, mit L-Glutamin (Gibco)
FBS	Fetal Bovine Serum (Gibco)
Pen-Strep-Lösung	Penicillin-Streptomycin-Lösung (Gibco), 10000 IE/mL Penicillin und 10 mg/mL Streptomycin in physiologischer Kochsalzlösung
Ethanol	70 % (V/V)
Methanol	p.a. (Merck)
CuSO ₄ -Lösung	5 % (G/V): 12.5 g CuSO ₄ p.a. (Merck) ad 2.5 L H ₂ O bidest.
DMSO	p.a. (Merck)
Nährmedium	500 mL RPMI 1640 werden unter sterilen Bedingungen mit 50 mL FBS und 10 mL Pen-Strep-Lösung versetzt. Die Sterilität wird durch eine Sterilprobe in einer Gewebekulturflasche (25 cm ²) 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.

4.2 Herstellung der Zellsuspension zur Inkubation mit Testsubstanzen

Die Zellen werden in einer T₇₅-Flasche unter Inkubationsbedingungen kultiviert, wobei alle 48–72 h ein Teil der Zellen zur Subkultivierung in eine neue Kulturflasche mit frischem Nährmedium passagiert wird.

Zunächst wird mit einem Hämocytometer die Zellzahl in dem verbrauchten Nährmedium bestimmt. 4 mL dieser Zellsuspension werden durch Verdünnen mit frischem Nährmedium auf eine Zellzahl von 20×10^4 Zellen/mL nach folgender Formel eingestellt:

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

4.3 Herstellung der Untersuchungslösungen der Testsubstanzen

Die zu untersuchenden Verbindungen werden zunächst in Konzentrationen von 30–0.1 µg/mL geprüft. Als Stammlösung (**ST**) stellt man dazu eine Lösung von 3 mg Substanz/mL her, wobei als Lösungsmittel (**LM**) eine Mischung aus gleichen Teilen DMSO und Methanol dient.

Durch entsprechende Verdünnung werden folgende weitere Lösungen der Testsubstanz hergestellt:

L1	1000 µg/mL	20 µL ST + 40 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

Zur Inkubation der Zellen werden alle Lösungen im Verhältnis 1:100 verdünnt (*Kap. F-4.4*). Dadurch ergeben sich im Endbehältnis die genannten Konzentrationen von 30–0.1 µg/mL.

4.4 Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen

Für jede gewählte Testkonzentration beimpft man je drei Kavitäten einer Gewebekulturplatte (24 Kavitäten). Dazu werden in jede Kavität 495 μL der eingestellten Zellsuspension und 5 μL der entsprechenden Untersuchungslösung (Kap. F-4.3) gegeben. In den Kavitäten ergeben sich die gewünschten Testkonzentrationen (Kap. F-4.3) und die Konzentrationen an DMSO und Methanol betragen jeweils 0.5 %. Als Kontrollen zur Überprüfung des Zellwachstums sowie zum Ausschluß eines Lösungsmittelleffektes werden je drei Kavitäten ausschließlich mit der Zellsuspension (500 μL) bzw. mit Zellsuspension (495 μL) und Lösungsmittel (5 μL) versetzt. Die Gewebekulturplatte wird 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:

30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL ST	10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L1	3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L2	1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L3	0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L4	0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L5
30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL ST	10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L1	3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L2	1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L3	0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L4	0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L5
30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL ST	10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L1	3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L2	1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L3	0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L4	0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 495 μL ZS 5 μL L5
Kontrolle 495 μL ZS 5 μL LM	Kontrolle 495 μL ZS 5 μL LM	Kontrolle 495 μL ZS 5 μL LM	Vergleich 500 μL ZS	Vergleich 500 μL ZS	Vergleich 500 μL ZS

ZS Eingestellte Zellsuspension (Kap. F-4.2)

ST Stammlösung (Kap. F-4.3)

L1–5 Substanzlösungen (Kap. F-4.3)

LM Lösungsmittel (DMSO/MeOH 1:1)

4.5 Auszählen der Versuchsansätze und Ermittlung der IC₅₀-Werte

Nach 48 h wird unter dem Phasenkontrastmikroskop die Zellzahl jeder Kavität mit einem Hämocytometer bestimmt. Die prozentuale Hemmung des Zellwachstums bzw. der Prozentsatz noch vorhandener Zellen bei der jeweiligen Substanzkonzentration wird wie folgt ermittelt:

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

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

Z_T Mittlere Zellzahl der Testkavitäten

Z_K Mittlere Zellzahl der Kontrollkavitäten mit Lösungsmittelzusatz

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

5 Prüfung auf antiproliferative Aktivität an HepG2-Zellen

5.1 Materialien, Chemikalien, Reagenzien

HepG2-Zellen	Human he patocellular carcinoma, aus der Arbeitsgruppe Prof. Verspohl, Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie, Universität Münster, kultiviert in Gewebekulturflaschen
Trypsin-EDTA-Lösung	flüssig, 10-fach (Gibco)
Trypsin-Lösung	Trypsin-EDTA-Lösung (0.5 mL) in PBS-Puffer (4.5 mL)
PBS-Puffer	isotonisch, pH 7.4; 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.; vor Gebrauch autoklaviert

Weitere Materialien, Chemikalien und Reagenzien wie für Proliferationstests an K562- und HL-60-Zellen (*Kap. F-4.1*).

5.2 Herstellung der HepG2-Zellsuspension

Die Zellen werden in einer T₇₅-Flasche unter Inkubationsbedingungen kultiviert, wobei alle 48-72 h das Nährmedium ersetzt wird. Bei Erreichen der Konfluenz (etwa nach 4–5 Tagen) werden die Zellen subkultiviert.

Zunächst wird das Medium abgesaugt. Die Zellen werden zweimal mit PBS-Puffer gewaschen (jeweils 5 mL). Die Pufferlösung wird abgesaugt und man versetzt mit Trypsin-Lösung (3 mL). Die T₇₅-Flasche wird unter Inkubationsbedingungen in den Brutschrank gestellt, bis alle Zellen vom Boden der Kulturflasche abgelöst sind (10–15 min). Durch Zugabe von Nährmedium (10 mL) wird das Ablösen der Zellen beendet. Man überführt die so erhaltene Zellsuspension in ein 50 mL-Probenröhrchen und homogenisiert vorsichtig. Ein kleiner Teil dieser Zellsuspension wird zur Subkultivierung in eine Kulturflasche mit frischem Nährmedium überführt. Man bestimmt mit einem Hämocytometer die Zelldichte der Suspension und stellt 4 mL davon durch Verdünnen mit Nährmedium auf 30×10^4 Zellen/mL nach folgender Formel ein:

$$\text{mL zusätzliches Nährmedium} = \frac{\text{Zellzahl} \times 4}{30} - 4$$

5.3 Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen

Jeweils 500 μL der eingestellten Zellsuspension (*Kap. F-5.2*) werden in die 24 Kavitäten einer Gewebekulturplatte pipettiert. Die Gewebekulturplatte wird zum Anwachsen der Zellen einen Tag unter Inkubationsbedingungen im Brutschrank belassen.

Nach 24 h wird das Nährmedium abgesaugt. Man ersetzt es durch 495 μL frisches Nährmedium und ergänzt 5 μL der jeweiligen Substanzlösung (*Kap. F-4.3*). Dabei werden die Zellen nach dem gleichen Schema beimpft wie für K562- und HL-60-Zellen beschrieben (*Kap. F-4.4*). Die Gewebekulturplatte wird anschließend 48 h unter Inkubationsbedingungen im Brutschrank belassen.

5.4 Auszählen der Versuchsansätze und Ermittlung der IC_{50} -Werte

Nach 48 h wird das Nährmedium abgesaugt, und die am Boden der Gewebekulturplatte anhaftenden Zellen werden mit PBS-Puffer (200 μL) gespült. Nach dem Absaugen des PBS-Puffers wird mit Trypsin-Lösung (200 μL) versetzt. Die Platten werden zum Ablösen der Zellen für 10–15 min unter Inkubationsbedingungen in den Brutschrank gestellt. Wenn die Zellen vollständig abgelöst sind (Mikroskop), gibt man Nährmedium (300 μL) dazu und homogenisiert die Zellsuspension in jeder Kavität durch Aufspülen mittels einer Pipette. Unter dem Phasenkontrastmikroskop wird die Zellzahl jeder Kavität mit einem Hämocytometer bestimmt. Die Ermittlung der IC_{50} -Werte erfolgt analog *Kap. F-4.5*.

6 Prüfung auf antiproliferative Aktivität an HaCaT-Zellen

6.1 Materialien, Chemikalien, Reagenzien

HaCaT-Zellen	H uman k eratinocytes a dult skin C alcium level reduced T emperature elevated, Dermatologische Klinik WWU Münster, mit freundlicher Genehmigung von Prof. N. E. Fusenig, Deutsches Krebs- forschungs-Center Heidelberg ²¹³ , kultiviert in Gewebekulturflaschen
DMEM	D ulbecco's M odified E agle M edium, mit L-Glutamin, 4500 mg/L D-Glucose, Natriumbicarbonat, Flüssig- medium (Gibco)
Nährmedium	500 mL DMEM werden unter sterilen Bedingungen mit 50 mL FBS und 5 mL Pen-Strep-Lösung versetzt. Die Sterilität wird durch eine Sterilprobe in einer Gewebe- kulturflasche (25 cm ²) geprüft, die mehrere Tage bei 37 °C inkubiert wird.

Weitere Materialien, Chemikalien und Reagenzien wie für Proliferationstests an HepG2-Zellen (*Kap. F-5.1*).

6.2 Herstellung der HaCaT-Zellsuspension

Die Zellen werden in einer T₇₅-Flasche unter Inkubationsbedingungen kultiviert, wobei alle 48–72 h das Nährmedium ersetzt wird. Bei Erreichen der Konfluenz wird zunächst das Medium abgesaugt. Die Zellen werden mit PBS-Puffer gewaschen (5 mL) und anschließend mit Trypsin-Lösung (3 mL) versetzt. Die T₇₅-Flasche wird für ca. 20 min zum Ablösen der Zellen unter Inkubationsbedingungen in den Brutschrank gestellt. Mit Nährmedium (7 mL) wird das Ablösen der Zellen beendet, und die so erhaltene Zellsuspension wird in ein 50 mL-Probenröhrchen überführt. Das Probenröhrchen wird 3 min bei 1000-1200 rpm zentrifugiert. Man saugt den Überstand ab, nimmt die Zellen in Nährmedium (5 mL) auf und durchmischt sorgfältig. Ein kleiner Teil dieser Zellsuspension wird zur Subkultivierung in eine Kulturflasche mit frischem Nährmedium überführt. Mit einer Neubauerkammer wird mikroskopisch die Zellzahl in

der Suspension bestimmt, und man stellt durch Verdünnen mit Nährmedium auf 125×10^4 Zellen/mL nach folgender Formel ein:

$$\text{mL zusätzliches Nährmedium} = \frac{\text{Zellzahl} \times 5}{125} - 5$$

6.3 Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen

In jede Kavität einer Gewebekulturplatte pipettiert man 100 μL der auf 125×10^4 Zellen/mL eingestellten Zellsuspension und ergänzt Nährmedium (1 mL). Die Gewebekulturplatte wird zum Anwachsen der Zellen 24 h unter Inkubationsbedingungen im Brutschrank belassen.

Nach 24 h wird das Nährmedium abgesaugt. Man ersetzt es durch 990 μL frisches Nährmedium und ergänzt 10 μL der jeweiligen Substanzlösung (*Kap. F-4.3*). Die Zellen werden nach einem Schema analog *Kap. F-4.4* beimpft und anschließend 48 h inkubiert.

6.4 Auszählen der Versuchsansätze und Ermittlung der IC_{50} -Werte.

Nach 48 h Inkubation werden die Zellen analog *Kap. F-5.4* vom Boden der Gewebekulturplatte abgelöst und mikroskopisch ausgezählt. Die Bestimmung der IC_{50} -Werte erfolgt analog *Kap. F-4.5*.

7 Untersuchung der Zellviabilität (Trypanblautest)

7.1 Materialien, Chemikalien, Reagenzien

K562-Zellen	Human chronic myeloid leukemia in blast crisis, DSMZ GmbH Braunschweig, kultiviert in Gewebekultur- flaschen
Trypanblau-Lsg. (0.5 %)	NaCl 0.9 g Trypanblau 0.5 g Aqua bidest. ad 100 g Kleine Mengen werden vor Gebrauch ggf. filtriert, um störende Trypanblau-Partikel zu entfernen

Weitere Materialien, Chemikalien und Reagenzien wie für die Prüfung auf wachstumshemmende Eigenschaften beschrieben (*Kap. F-4.1*).

7.2 Herstellung der Zellsuspension und der Untersuchungslösungen

Man stellt eine Suspension von K562-Zellen analog *Kap. F-4.2* auf 20×10^4 Zellen/mL ein. Die Lösungen der zu prüfenden Verbindungen werden analog *Kap. F-4.3* hergestellt.

7.3 Aussaat der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen

Für jede gewählte Konzentration und/oder Inkubationsdauer einer Testsubstanz wird eine Kavität der Gewebekulturplatte beimpft. Zu diesem Zweck gibt man analog zur Prüfung auf antiproliferative Aktivität 495 μL der eingestellten Zellsuspension in jede Kavität und pipettiert 5 μL der jeweiligen Substanzlösung bzw. für den Kontrollwert 5 μL Lösungsmittel dazu.

7.4 Anfärben der Zellen

Jeweils nach den gewählten Inkubationszeiten werden die Zellsuspensionen aus den entsprechenden Kavitäten in Multifunktionsgefäße überführt und 5 min bei 3500 U/min zentrifugiert. Vom Überstand werden mit einer Pipette 380 μL abgenommen. Man

ergänzt 20 μL der auf 37 °C vorgewärmten Trypanblau-Lösung, homogenisiert die Zellsuspension vorsichtig und zählt nach 3–5 min aus.

7.5 Auszählen der Versuchsansätze

Die mit Trypanblau angefärbten Zellsuspensionen werden unter dem Phasenkontrastmikroskop mit einer Neubauerkammer ausgezählt. Dabei bestimmt man die Anzahl der lebenden (farblosen) und der toten (blau angefärbten) Zellen getrennt voneinander.

7.6 Ermittlung der Zellviabilität und der EC_{50} -Werte

Die Zellviabilität gibt den prozentualen Anteil lebender Zellen an der Gesamtzellzahl wieder und wird wie folgt ermittelt:

$$\text{Viabilität} = \frac{Z_{\text{Tot}}}{Z_{\text{Tot}} + Z_{\text{Leb}}} \times 100\%$$

Z_{Tot} Zahl der toten Zellen

Z_{Leb} Zahl der lebenden Zellen

Aus dem Graphen, der sich durch halblogarithmisches Auftragen der Zellviabilität nach einer bestimmten Inkubationszeit gegen die Konzentration der Testsubstanz ergibt, wird der EC_{50} -Wert ermittelt.

8 Untersuchungen auf Wechselwirkungen mit nativer DNA

8.1 Materialien, Chemikalien, Reagenzien

DNA:	Kalbsthymus-DNA Typ I, Sigma D1501
Phosphatpuffer	0.01 mol/L, pH 7.0; KH_2PO_4 in Aqua bidest. mit NaOH (1 mol/L) auf pH 7 eingestellt
Methanol	p.a. (Merck)
DMSO	p.a. (Merck)

8.2 Herstellung der DNA- und Substanzlösungen

DNA wird über Nacht in einer Konzentration von etwa $55 \mu\text{mol/L}$, bezogen auf Phosphor, im Phosphatpuffer gelöst. Der DNA-Gehalt wird UV-photometrisch überprüft, wobei bei einer Wellenlänge von 260 nm ein molarer Absorptionskoeffizient $\varepsilon = 6600$ vorausgesetzt wird²⁷⁸.

Von den zu prüfenden Verbindungen werden Stammlösungen von 10 mmol/L in DMSO hergestellt. Zur Prüfung der Vergleichssubstanzen Doxorubicin- und Mitoxantronhydrochlorid werden die für die Prüfung auf antiproliferative Eigenschaften hergestellten Lösungen von 3 mg/mL in $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}$ (1:1) verwendet. Als Referenzlösung dient der Phosphatpuffer.

8.3 UV-Differenzspektroskopie

Zur Messung im Zweistrahlphotometer wird in die Meßküvette die hergestellte DNA-Lösung (2 mL) und in die Referenzküvette Phosphatpuffer (2 mL) pipettiert. Man mißt die Extinktionsunterschiede im UV-Spektrum zwischen 230 und 550 nm. Das resultierende Absorptionsspektrum dient als Nullwert für die Berechnung des UV-Differenzspektrums. Die anschließende Substanzzugabe erfolgt in mehreren Portionen von je $2 \mu\text{L}$ der Stammlösung zeitgleich in beide Küvetten. Nach jeder Zugabe wird vorsichtig durchmischt und man mißt nach 2 min Inkubationszeit erneut die UV-Absorption zwischen 230 und 550 nm. Es werden maximal $10 \times 2 \mu\text{L}$ Substanzlösung zupipettiert. Daraus resultieren Testkonzentrationen von 10–100 μM bei einem maximalen DMSO-Gehalt von 1 %.

Von allen erhaltenen Spektren wird das Nullwert-Spektrum (DNA ohne Substanzzusatz, s.o.) rechnerisch substrahiert. Es resultiert das UV-Differenzspektrum für die jeweilige Testverbindung.

8.4 Fluoreszenzspektroskopie

Zunächst wird durch die Aufnahme eines UV-Spektrums der zu prüfenden Verbindung ein geeignetes Absorptionsmaximum bestimmt. Die ermittelte Wellenlänge dient bei der Fluoreszenzmessung als Anregungswellenlänge. Es wird ein Fluoreszenzspektrum von 5 μL der jeweiligen Substanzlösung in Phosphatpuffer (2 mL) aufgenommen. Anschließend wird DNA-Lösung in Portionen von 5 μL zupipettiert. Nach jeder DNA-Zugabe läßt man zwei Minuten inkubieren und mißt erneut das Fluoreszenzspektrum des Gemisches.

Geräteeinstellungen:	Geschwindigkeit:	sehr schnell
	Spaltbreite:	Excitation 10 nm Emission 10 nm
	Empfindlichkeit:	niedrig

9 Cyclovoltammetrische Untersuchungen

9.1 Materialien, Chemikalien, Reagenzien

Potentiostat	PG-STAT 20 in Kombination mit VA-Stand 663, Firma Metrohm
Steuersoftware	GPES Version 4.8, Eco Chemie B.V. Steuerung, Datenerfassung und Auswertung
Acetonitril	HPLC-S Gradient grade (Biosolve), mehrere Tage über Molekularsieb 3Å getrocknet und unter N ₂ aufbewahrt
TBAP	puriss. für elektrochemische Zwecke (Fluka)
Grundelektrolyt	TBAP (0.1 mol/L) in Acetonitril
Arbeitselektrode	Quecksilbertropfelektrode
Gegenelektrode	Glaskohlenstoff
Referenzelektrode	Ag/AgCl in Ethanol/LiCl (ges.)

9.2 Durchführung der Messungen

Die cyclovoltammetrischen Messungen werden in einer ungeteilten Meßzelle (Volumen 20 mL) durchgeführt. Die Elektroden sowie ein Gaseinleitungsrohr werden durch Bohrungen im Deckel zugeführt. Die Verbindung zwischen Referenzelektrode und Elektrolytlösung wird durch eine mit Grundelektrolyt gefüllte Luggin-Kapillare sichergestellt (*Abb. F-1*). Die zu testenden Substanzen werden in einer Konzentration von 10^{-3} mol/L im Grundelektrolyten gelöst. Man entlüftet die Testlösungen unmittelbar vor Aufnahme eines Cyclovoltammogramms durch zweiminütiges Einleiten von Argon. Die Messungen erfolgen in ungerührter Lösung am ruhenden (stationären) Quecksilbertropfen, der vor jeder Messung erneuert wird.

Startpotential:	-0.3 V
Umkehrpotential:	Nach Bedarf bis maximal -3.0 V
Spannungsvorschub:	0.1 V/s

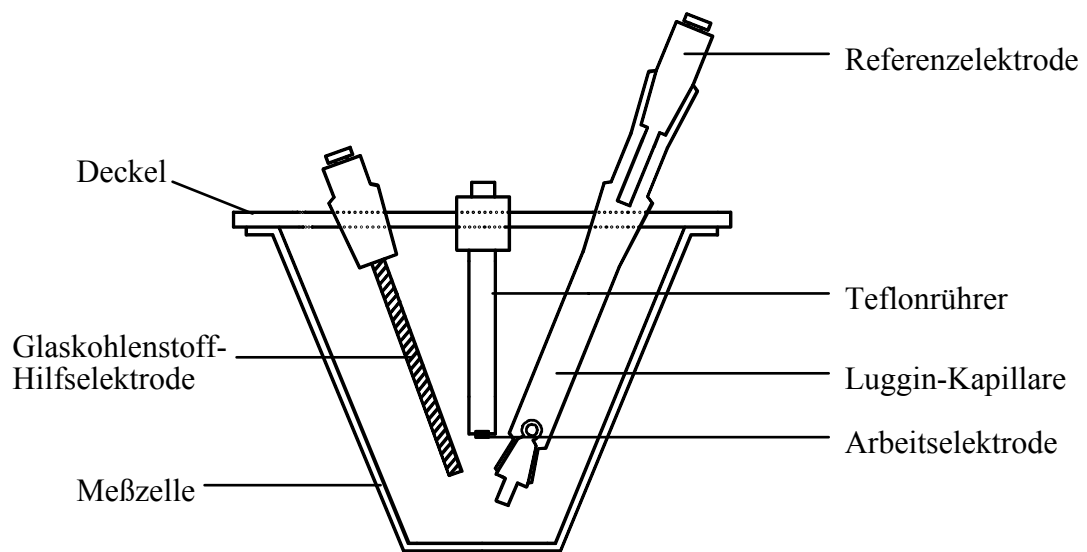


Abb. F-1: Zellanordnung für die Cyclovoltammetrie. Nicht dargestellt ist ein zusätzliches Gaseinleitungsrohr.

G Literaturverzeichnis

- (1) Thomson, R. H. *Naturally occurring quinones*; Academic Press: London, New York, **1971**.
- (2) Monneret, C. Recent developments in the field of antitumor anthracyclines. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 483-493.
- (3) Roth, H. J.; Fenner, H. *Arzneistoffe: Struktur, Bioreaktivität, wirkungsbezogene Eigenschaften*; Deutscher Apotheker Verlag: Stuttgart, **2000**; S. 172-176.
- (4) Murdock, K. C.; Child, R. G.; Fabio, P. F.; Angier, R. B.; Wallace, R. E.; Durr, F. E.; Citarella, R. V. Antitumor agents. 1. 1,4-Bis[(aminoalkyl)amino]-9,10-anthracenediones. *J. Med. Chem.* **1979**, *22*, 1024-1030.
- (5) Zee-Cheng, R. K.-Y.; Cheng, C. C. Antineoplastic Agents. Structure-activity relationship study of bis(substituted aminoalkylamino)anthraquinones. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 291-294.
- (6) Gewirtz, D. A. A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochem. Pharmacol.* **1999**, *57*, 727-741.
- (7) Tewey, K. M.; Rowe, T. C.; Yang, L.; Halligan, B. D.; Liu, L. F. Adriamycin-induced DNA damage mediated by mammalian DNA topoisomerase II. *Science* **1984**, *226*, 466-468.
- (8) Insaf, S. S.; Danks, M. K.; Witiak, T. A structure-function analysis of DNA topoisomerase II inhibitors. *Curr. Med. Chem.* **1996**, *3*, 437-466.
- (9) Froelich-Ammon, S. J.; Osheroff, N. Topoisomerase poisons: Harnessing the dark side of enzyme mechanism. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 21429-21432.
- (10) Brana, M. F.; Cacho, M.; Gradillas, A.; De Pascual-Teresa, B.; Ramos, A. Intercalators as anticancer drugs. *Curr. Pharm. Des.* **2001**, *7*, 1745-1780.
- (11) Powis, G. Free radical formation by antitumor quinones. *Free Radic. Biol. Med.* **1989**, *6*, 63-101.
- (12) Remers, W. A. Antineoplastic agents. In *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*; Delgado, J. N., Remers, W. A., Hrsg.; **1998**; S. 343-401.
- (13) Fisher, G. R.; Brown, J. R.; Patterson, L. H. Redox cycling in MCF-7 human breast cancer cells by antitumor agents based on mitoxantrone. *Free Radic. Res. Commun.* **1989**, *7*, 221-226.

- (14) Jayasuriya, H.; Koonchanok, N. M.; Geahlen, R. L.; L., M. J.; Chang, C.-J. Emodin, a protein tyrosine kinase inhibitor from *Polygonum cuspidatum*. *J. Nat. Prod.* **1992**, *55*, 696-698.
- (15) Chang, C.-J.; Ashendel, C. I.; Geahlen, R. L.; Mclaughlin, J. L.; Waters, D. J. Oncogene signal transduction inhibitors from medicinal plants. *in vivo* **1996**, *10*, 185-190.
- (16) Fredenhagen, A.; Mett, H.; Meyer, T.; Buchdunger, E.; Regenass, U.; Roggo, B. E.; Petersen, F. Protein tyrosine kinase and protein kinase C inhibition by fungal anthraquinones related to emodin. *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 1355-1358.
- (17) Faltynek, C. R.; Schroeder, J.; Mauvais, P.; Miller, D.; Wang, S.; Murphy, D.; Lehr, R.; Kelley, M.; Maycock, A.; Michne, W.; Miski, M.; Thunberg, A. L. Damnacanthal is a highly potent, selective inhibitor of p56lck tyrosine kinase activity. *Biochemistry* **1995**, *34*, 12404-12410.
- (18) Fredenhagen, A.; Hug, P.; Sauter, H.; Peter, H. H. Paecilquinones A, B, C, D, E and F: New potent inhibitors of protein tyrosine kinase produced by *Paecilomyces carneus*. II. Characterization and structure determination. *J. Antibiot.* **1995**, *48*, No.3, 199-204.
- (19) Petersen, F.; Fredenhagen, A.; Mett, H.; Lydon, N. B.; Delmendo, R.; Jenny, H.-B.; Peter, H. H. Paecilquinones A, B, C, D, E and F: New potent inhibitors of protein tyrosine kinase produced by *Paecilomyces carneus*. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activity. *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 191-198.
- (20) Burke, T. R. Protein-tyrosine kinase inhibitors. *Drugs Future* **1992**, *17*, 119-131.
- (21) Yarden, Y.; Ullrich, A. Growth factor receptor tyrosine kinases. *Ann. Rev. Biochem.* **1988**, *57*, 443-478.
- (22) Ciardiello, F. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as anticancer agents. *Drugs* **2000**, *60 Suppl. 1*, 25-32.
- (23) Noonberg, S. B.; Benz, C. C. Tyrosine kinase inhibitors targeted to the epidermal growth factor receptor subfamily. Role as anticancer agents. *Drugs* **2000**, *59*, 753-767.
- (24) Raymond, E.; Faivre, S.; Armand, J. P. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase as a target for anticancer therapy. *Drugs* **2000**, *60 Suppl. 1*, 15-23.
- (25) Levitzki, A.; Gazit, A. Tyrosine kinase inhibition: An approach to drug development. *Science* **1995**, *267*, 1782-1788.
- (26) Voet, D.; Voet, J. G. *Biochemie*; VCH: Weinheim, **1992**; S. 826-829.
- (27) Wang, J. C. DNA topoisomerases. *Annu. Rev. Biochem.* **1996**, *65*, 635-692.

- (28) Fujii, N.; Yamashita, Y.; Arima, Y.; Nagashima, M.; Nakano, H. Induction of topoisomerase II-mediated DNA cleavage complex by the plant naphthoquinones plumbagin and shikonin. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**, *36*, 2589-2594.
- (29) You, Y. J.; Zheng, X. G.; Yong, R.; Ahn, B. Z. Naphthazarin derivatives: Synthesis, cytotoxic mechanism and evaluation of antitumor activity. *Arch. Pharm. Res.* **1998**, *21*, 595-598.
- (30) Kim, Y.; You, Y.-J.; Ahn, B.-Z. Naphthazarin derivatives (VIII): Synthesis, inhibitory effect on DNA topoisomerase-I, and antiproliferative activity of 6-(1-acyloxyalkyl)-5,8-dimethoxy-1,4-naphthoquinones. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2001**, *334*, 318-322.
- (31) Song, G. Y.; Zheng, X. G.; Kim, Y.; You, Y. J.; Sok, D. E.; Ahn, B. Z. Naphthazarin derivatives (II): Formation of glutathione conjugate, inhibition of DNA topoisomerase-I and cytotoxicity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 2407-2412.
- (32) Song, G.-Y.; Kim, Y.; You, Y.-J.; Cho, H.; Kim, S.-H.; Sok, D.-E.; Ahn, B. Z. Naphthazarin derivatives (VI): Synthesis, inhibitory effect on DNA topoisomerase-I and antiproliferative activity of 2- or 6-(1-oxyminoalkyl)-5,8-dimethoxy-1,4-naphthoquinones. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **2000**, *333*, 87-92.
- (33) Song, G.-Y.; Kim, Y.; Zheng, X.-G.; You, Y.-J.; Cho, H.; Chung, J.-H.; Sok, D.-E.; Ahn, B. Z. Naphthazarin derivatives (IV): Synthesis, inhibition of DNA topoisomerase I and cytotoxicity of 2- or 6-acyl-5,8-dimethoxy-1,4-naphthoquinones. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 291-298.
- (34) Pindur, U.; Lemster, T. Antitumor drug design: DNA-binding ligands, which inhibit the topoisomerase I. *Pharmazie* **1998**, *53*, 79-86.
- (35) Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J. D. *Molekularbiologie der Zelle*; VCH: Weinheim, **1995**; S. 427-429.
- (36) Perry, P. J.; Kelland, L. R. Telomeres and telomerase: targets for cancer chemotherapy? *Exp. Opin. Ther. Patents* **1998**, *8*, 1567-1586.
- (37) Perry, P. J.; Gowan, S. M.; Reszka, A. P.; Polucci, P.; Jenkins, T. C.; Kelland, L. R.; Neidle, S. 1,4- and 2,6-disubstituted amidoanthracene-9,10-dione derivatives as inhibitors of human telomerase. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3253-3260.
- (38) Halinska, A.; Belej, T.; O'Brien, P. J. Cytotoxic mechanisms of anti-tumour quinones in parental and resistant lymphoblasts. *Br. J. Cancer* **1996**, *74*, S23-S27.

- (39) Gutierrez, P. L. The role of NAD(P)H oxidoreductase (DT-diaphorase) in the bioactivation of quinone-containing antitumor agents: A review. *Free. Radic. Biol. Med.* **2000**, *29*, 263-275.
- (40) Powis, G.; Appel, P. L. Relationship of the single-electron reduction potential of quinones to their reduction by flavoproteins. *Biochem. Pharmacol.* **1980**, *29*, 2567-2572.
- (41) Iarussi, D.; Indolfi, P.; Casale, F.; Coppolino, P.; Tedesco, M. A.; Di Tullio, M. T. Recent advances in the prevention of anthracycline cardiotoxicity in childhood. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 1649-1660.
- (42) Buzdar, A. U.; Marcus, C. M.; Smith, T. L.; Blumenschein, G. R. Early and delayed clinical cardiotoxicity of doxorubicin. *Cancer* **1985**, *55*, 2761-2765.
- (43) Myers, C. E.; McGuire, W. P.; Liss, R. H.; Ifrim, I.; Grotzinger, K.; Young, R. C. Adriamycin: The role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response. *Science* **1977**, *197*, 165-167.
- (44) Geahlen, R. L.; McLaughlin, J. L. Piceatannol (3,4,3',5'-tetrahydroxy-*trans*-stilbene) is a naturally occurring protein tyrosine kinase inhibitor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *165*, 241-245.
- (45) Thakkar, K.; Geahlen, R. L.; Cushman, M. Synthesis and protein-tyrosine kinase inhibitory activity of polyhydroxylated stilbene analogues of piceatannol. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2950-2955.
- (46) Pettit, G. R.; Singh, S. B. Isolation, structure, and synthesis of combretastatin A-2, A-3, and B-2. *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 2390-2396.
- (47) Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Boyd, M. R.; Hamel, E.; Pettit, R. K.; Schmidt, J. M.; Hogan, F. Antineoplastic agents. 291. Isolation and synthesis of combretastatins A-4, A-5, and A-6. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 1666-1672.
- (48) Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Niven, M. L.; Hamel, E.; Schmidt, J. M. Isolation, structure and synthesis of combretastatins A-1 and B-1, potent new inhibitors of microtubule assembly, derived from *Combretum caffrum*. *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 119-131.
- (49) Pettit, G. R.; Singh, S. B.; Hamel, E.; Lin, C. M.; Alberts, D. S.; Garcia-Kendall, D. Isolation and structure of the strong cell growth and tubulin inhibitor combretastatin A4. *Experientia* **1989**, *45*, 209-211.
- (50) Cushman, M.; Nagarathnam, D.; Gopal, D.; Chakraborti, A. K.; Lin, C. M.; Hamel, E. Synthesis and evaluation of stilbene and dihydrostilbene derivatives as potential anticancer agents that inhibit tubulin polymerization. *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2579-2588.

- (51) Levitzki, A. Tyrphostins: tyrosine kinase blockers as novel antiproliferative agents and dissectors of signal transduction. *FASEB* **1992**, *6*, 3275-3282.
- (52) Markovits, J.; Larsen, A. K.; Ségal-Bendirdjian, E.; Fossé, P.; Saucier, J.-M.; Gazit, A.; Levitzki, A.; Umezawa, K.; Jacquemin-Sablon, A. Inhibition of DNA topoisomerases I and II and induction of apoptosis by erbstatin and tyrphostin derivatives. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, *48*, 549-560.
- (53) Nakamura, H.; Iitaka, Y.; Imoto, M.; Isshiki, K.; Naganawa, H.; Takeuchi, T.; Umezawa, H. The structure of an epidermal growth factor-receptor tyrosine kinase inhibitor, erbstatin. *J. Antibiot.* **1986**, *39*, 314-315.
- (54) Imoto, M.; Umezawa, K.; Sawa, T.; Takeuchi, T.; Umezawa, H. In situ inhibition of tyrosine protein kinase by erbstatin. *Biochem. Int.* **1987**, *15*, 989-995.
- (55) Bayer, O. Der Chinizarin-Komplex. In *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl)*; Müller, E., Bayer, O., Hrsg.; Thieme: Stuttgart, **1979**; S. 87-94.
- (56) Leukel, P. C-2-substituierte Anthronderivate mit modifizierten Redoxeigenschaften: Synthese, 5-Lipoxygenasehemmung und antiproliferative Aktivität. *Dissertation Universität Regensburg* **1994**.
- (57) 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.
- (58) Prinz, H. C-2-substituierte Derivate des Antipsoriatikums Dithranol mit Hydroxamsäurestruktur: Synthesen und In-vitro-Prüfung. *Dissertation Universität Regensburg* **1995**.
- (59) 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.
- (60) Altmann, R. E. Entwicklung selektiver 12-Lipoxygenase-Inhibitoren aus der Anthracenon-Reihe. *Dissertation Universität Regensburg* **1999**.
- (61) Müller, K.; Altmann, R.; Prinz, H. 2-Arylalkyl-substituted anthracenones as inhibitors of 12-lipoxygenase enzymes. 1. Structure-activity relationships of the terminal aryl ring. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 569-575.
- (62) Müller, K.; Altmann, R.; Prinz, H. 2-Arylalkyl-substituted anthracenones as inhibitors of 12-lipoxygenase enzymes. 2. Structure-activity of the linker chain. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, *37*, 83-89.

- (63) Marschalk, C.; Koenig, F.; Ouroussoff, N. Nouvelle méthode d'introduction des chaînes latérales dans le noyau anthraquinonique. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1936**, *3*, 1545-1575.
- (64) Krohn, K.; Hemme, C. Synthetische Anthracyclinone, V. Alkylierung von Anthrachinonen als variabler Syntheseweg zu Anthracyclinon-Vorstufen. *Liebigs Ann. Chem.* **1979**, 19-34.
- (65) Krohn, K.; Hemme, C. Synthese strukturanaloger Anthracyclinone. *Liebigs Ann. Chem.* **1979**, 35-42.
- (66) Krohn, K.; Müller, U.; Priyono, W.; Sarstedt, B.; Stoffregen, A. Intramolekulare Addition von Carbanionen an Anthrachinone. *Liebigs Ann. Chem.* **1984**, 306-318.
- (67) Krohn, K.; Behnke, B. Synthetische Anthracyclinone, XV. Regio- und stereoselektive Synthese der α -, β - und γ -Rhodomycinone über intramolekulare Marschalk-Cyclisierung. *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 2994-3009.
- (68) Krohn, K.; Radeloff, M. Stereoselektive Totalsynthese von Anthracyclinen. *Chem. Ber.* **1978**, *111*, 3822-3837.
- (69) Krohn, K. Synthesis of anthracyclines by electrophilic and nucleophilic addition to anthraquinones. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 291-318.
- (70) Morris, M. J.; Brown, J. R. Synthesis of hydroxytetrahydronaphthacenequinones by annelation of hydroxyanthraquinone derivatives. *Tetrahedron Lett.* **1978**, *32*, 2937-2940.
- (71) Bredereck, K.; Banzhaf, L.; Koch, E. Untersuchungen zur Methylierung, Hydroxymethylierung und Aminomethylierung von Anthrachinonen. *Chem. Ber.* **1972**, *105*, 1062-1071.
- (72) Bredereck, K.; Metwally, S. A.; Koch, E.; Weckmann, R. Anthrachinone, VI. Hydroxymethylierung und Aminomethylierung von Anthrachinonen. *Liebigs Ann. Chem.* **1975**, 972-987.
- (73) Blankespoor, R. L.; Schutt, D. L.; Tubergen, M. B.; De Jong, R. L. The influence of ion pairing on the electroreductive cleavage of substituted 9,10-anthraquinones in DMF solution. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2059-2064.
- (74) Suzuki, F.; Trenbeath, S.; Gleim, R. D.; Sih, C. J. Total synthesis of anthracyclines via intramolecular base-catalyzed cyclizations. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4159-4169.
- (75) Imre, S.; Ersoy, L. Neue Alkylierungsprodukte von Chinizarin und seinem Monomethylether. *Liebigs Ann. Chem.* **1978**, 2018-2023.
- (76) Lewis, E. L. Aldol condensations of leucoquinizarin. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 2938-2942.

- (77) Qureshi, S.; Shaw, G.; Burgess, G. E. Anthracyclines, Part 4. The use of DBN or DBU in a novel extension of the Marschalk reaction leading to hydroxyglycylanthraquinones. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1985**, 1557-1563.
- (78) Bloom, S. M.; Hutton, R. F. Nuclear magnetic resonance studies of tautomerism: Loss of aromaticity in "leuco"-hydroxy and amino anthraquinones. *Tetrahedron Lett.* **1963**, 28, 1993-1997.
- (79) Waldmann, H. Several derivatives of quinizarin. *Chem. Abstr.* **1931**, 25, 3648; *J. Prakt. Chem.* **1931**, 130, 92-102.
- (80) Laatsch, H. Dimere Naphthochinone III. Notiz über die Monoalkylierung von 1,4-Anthracendiol; Synthese von Chinizarin-monoalkylethern. *Liebigs Ann. Chem.* **1980**, 814-818.
- (81) Dufat-Trinh, H.; Seguin, E.; Tillequin, F.; Monneret, C.; Koch, M. Synthèses totales d'oxa-9 anthracyclines. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, 37, 3294-3300.
- (82) Bayer, O. Hydroxy-9,10-anthrachinone durch Ringschluß-Reaktionen. In *Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl)*; Müller, E., Bayer, O., Hrsg.; Thieme: Stuttgart, **1979**; S. 94-99.
- (83) Zahn, K.; Ochwat, P. Zur Konstitution und Reaktionsweise mehrkerniger Polyoxy-chinone. Über Naphthazarin und Chinizarin. *Liebigs Ann. Chem.* **1928**, 462, 72-97.
- (84) Wittig, G.; Schöllkopf, U. Über Triphenyl-phosphin-methylene als olefinbildende Reagenzien (I. Mitteilung). *Chem. Ber.* **1954**, 87, 1318-1330.
- (85) Wittig, G.; Haag, W. Über Triphenyl-phosphin-methylene als olefinbildende Reagenzien (II. Mitteilung). *Chem. Ber.* **1955**, 88, 1654-1667.
- (86) Schöllkopf, U. Carbonyl-Olefinierung mit Triphenyl-phosphonium-methylenen. Wittig-Reaktion. *Angew. Chem.* **1959**, 71, 260-273.
- (87) Becker, H. G. O.; Beckert, R.; Domschke, G.; Fanghänel, E.; Habicher, W. D.; Metz, P.; Pavel, D.; Schwetlick, K. *Organikum*; Wiley-VCH: Weinheim, **2001**; S. 536-540.
- (88) Cava, M. P.; Ahmed, Z.; Benfaremo, N.; Murphy, R. A.; O'Malley, G. J. Anthraquinone dye intermediates as precursors of aklavinone-type anthracyclines. *Tetrahedron* **1984**, 40, 4767-4776.
- (89) Prinz, H. Unveröffentlichte Ergebnisse.
- (90) Roberts, J. L.; Rutledge, P. S.; Trebilcock, M. J. Experiments directed towards the synthesis of anthracyclines. I. Synthesis of 2-formylmethoxyanthraquinones. *Aust. J. Chem.* **1977**, 30, 1553-1560.
- (91) Boniface, P. J.; Cambie, R. C.; Carroll, D. R.; Marsh, N. F.; Milbank, J. B. J.; Rutledge, P. S.; Woodgate, P. D. Experiments directed towards the synthesis of

- anthracyclines. XIX. Elaboration of 2-formylquinizarin through a Wittig reaction. *Aust. J. Chem.* **1994**, *47*, 441-449.
- (92) Horner, L.; Hoffmann, H.; Wippel, H. G.; Klahre, G. Phosphororganische Verbindungen, XX. Phosphinoxide als Olefinierungsreagenzien. *Chem. Ber.* **1959**, *92*, 2499-2505.
- (93) Wadsworth, W. S. Synthetic applications of phosphoryl-stabilized anions. *Org. React.* **1977**, *25*, 73-253.
- (94) *Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie*; Verlag Chemie: Weinheim, **1974**; S. 609.
- (95) Brederick, K.; Kimmich, H.; Sigmund, G. Anthrachinone, VIII. Notiz über die Oxidation von (Hydroxymethyl)anthrachinonen. *Liebigs Ann. Chem.* **1977**, 184-188.
- (96) Krohn, K.; Khanbabaee, K.; Rieger, H. Titanium- or zirconium-catalyzed selective dehydrogenation of benzyl alcohols to aldehydes and ketones with *tert*-butyl hydroperoxide. *Chem. Ber.* **1990**, *123*, 1357-1364.
- (97) Krohn, B.; Bernhard, S. Reductive cyclization of (3-) and (4-oxoalkyl)-9,10-anthraquinones to the cyclopenta[*a*]anthraquinone and naphthacene-5,12-dione systems. *J. Prakt. Chem.* **1998**, *340*, 26-33.
- (98) Kornblum, N.; Powers, J. W.; Anderson, G. J.; Jones, W. J.; Larson, H. O.; Levand, O.; Weaver, W. M. A new and selective method of oxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 6562.
- (99) 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.
- (100) Arbusow, B. A. Michaelis-Arbusow- und Perkow-Reaktionen. *Pure Appl. Chem.* **1964**, *9*, 307-335.
- (101) Taira, K.; Gorenstein, D. G. Experimental tests of the stereoelectronic effect at phosphorus: Michaelis-Arbusow reactivity of phosphite esters. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 3215-3222.
- (102) Dupont, R.; Cotelte, P. An expeditious synthesis of polyhydroxylated 2-arylbenzo[*b*]furans. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 5585-5589.
- (103) House, H. O.; Rasmusson, G. H. Stereoselective synthesis of α -substituted α,β -unsaturated esters. *J. Org. Chem.* **1961**, *26*, 4278-4281.
- (104) Bissing, D. E. Steric requirements at phosphorus in the Wittig reaction. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 1296-1298.
- (105) Gattermann, L.; Wieland, T.; Sucrow, W. *Die Praxis des organischen Chemikers*; Walter de Gruyter: Berlin, New York, **1982**; S. 460.

- (106) Wadsworth, D. H.; Schupp, O. E.; Seus, E. J.; Ford, J. A. The stereochemistry of the phosphonate modification of the Wittig reaction. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 680-685.
- (107) Johnson, F. In *Friedel-Crafts and related reactions*; Olah, G. A., Hrsg.; John Wiley & Sons: New York, London, Sydney, **1965**; S. 1-109.
- (108) Bhatt, M. V.; Kulkarni, S. U. Cleavage of ethers. *Synthesis* **1983**, 249-282.
- (109) Kocienski, P. J. *Protecting groups*; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, New York, **1994**; S. 68-71.
- (110) Yardley, J. P.; Fletcher, H. Introduction of the methoxymethyl ether protecting group. *Synthesis* **1976**, 244.
- (111) Mylona, A.; Nikokavouras, J. Preparation of (*E*)-2-hydroxy-4'-substituted stilbenes. *J. Chem. Res. Miniprint* **1986**, 3510-3518.
- (112) Mylona, A.; Nikokavouras, J.; Takakis, I. M. Stereoselectivity differences in Wittig reactions of semistabilized ylides. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3838-3841.
- (113) Edwards, R. L.; Wilson, D. V. Constituents of the higher fungi. Part II. The synthesis of hispidin. *J. Chem. Soc.* **1961**, 5003-5004.
- (114) Oyamada, T.; Baba, H. A new synthesis of polyhydroxydihydroflavonols. *Bull. Chem. Soc. Japan* **1966**, *39*, 507-511.
- (115) Takahashi, H.; Kubota, Y.; Iguchi, M.; Onda, M. Heterocycles. XVII. Sodium borohydride reduction of flavanols and hydrolysis of (\pm)-fistacacidin acetates. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, *33*, 3134-3141.
- (116) Takahashi, H.; Kubota, Y.; Iguchi, M.; Fang, L.; Onda, M. Heterocycles. XVIII. Synthesis of the racemates of naturally occurring flavonoids. *Heterocycles* **1986**, *24*, 369-377.
- (117) Metwally, S. A. M. Preparation and application of some new disperse anthraquinone dyes. *J. Appl. Chem. Biotechnol.* **1976**, *26*, 1-8.
- (118) Johnson, G. S. Procédé perfectionné de préparation de 2-alcoyl-quinizarines et de 2-aryl-méthylène-quinizarines, et une nouvelle classe utile de 2-alcoyl-quinizarines,. *Patent FR 1540726*, 1966; *Chem. Abstr.* **1969**, *71*, 81031b.
- (119) Braun, W.; Maier, K. Nouveaux colorants anthraquinoniques et procédé pour leur préparation. *Patent FR 1461959*, 1966; *Chem. Abstr.* **1967**, *67*, 12526x.
- (120) Braun, W.; Maier, K. Procédé pour la préparation d'aryl-2 méthylquinizarines. *Patent FR 1503485*, 1967; *Chem. Abstr.* **1969**, *70*, 12665d.
- (121) Braun, W.; Maier, K. Verfahren zur Herstellung von Anthrachinonfarbstoffen. *Patent DE 1284545*, 1964; *Chem. Abstr.* **1969**, *70*, 116226c.
- (122) Verfahren zur Herstellung von Zwischenprodukten und Farbstoffen der Anthrachinonreihe. *Patent DE 602133*, **1933**.

- (123) Rapoport, H.; Campion, J. E. The synthesis of 2,3,4-trimethoxybenzocyclohepten-6-one. *J. Am. Chem. Soc.* **1951**, *73*, 2239-2241.
- (124) Corey, E. J.; Suggs, J. W. Pyridinium chlorochromate. An efficient reagent for oxidation of primary and secondary alcohols to carbonyl compounds. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *31*, 2647-2650.
- (125) Kraus, G. A.; Man, T. O. An improved reductive methylation procedure for quinones. *Synth. Comm.* **1986**, *16*, 1037-1042.
- (126) Allevi, P.; Anastasia, M.; Bingham, S.; Ciuffreda, P.; Fiecchi, A.; Cighetti, G.; Muir, M.; Scala, A.; Tyman, J. Synthesis of carminic acid, the colourant principle of cochineal. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1998**, 575-582.
- (127) Putic, A. Synthese und biologische Evaluierung von 9(10H)-Acridinonen als potentielle Antipsoriatika. *Dissertation Universität Münster* **2000**.
- (128) De Vincenzo, R.; Scambia, G.; Benedetti Panici, P.; Ranelletti, F. O.; Bonanno, G.; Ercoli, A.; Delle Monache, F.; Ferrari, F.; Piantelli, M.; Mancuso, S. Effect of synthetic and naturally occurring chalcones on ovarian cancer cell growth: structure-activity relationships. *Anti-Cancer Drug Design* **1995**, *10*, 481-490.
- (129) Ducki, S.; Forrest, R.; Hadfield, J. A.; Kendall, A.; Lawrence, N. J.; McGown, A. T.; Rennison, D. Potent antimetabolic and cell growth inhibitory properties of substituted chalcones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1051-1056.
- (130) Jacob, W. Zur Kenntnis des 2-Anthrachinonaldehyds. *Helv. Chim. Acta* **1921**, *4*, 782-788.
- (131) Hänsel, R.; Sticher, O.; Steinegger, E. *Pharmakognosie-Phytopharmazie*; Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, **1999**; S. 891.
- (132) Koyama, M.; Kelly, T. R.; Watanabe, K. A. Novel type of potential anticancer agents derived from chrysophanol and emodin. Some structure-activity relationship studies. *J. Med. Chem.* **1988**, *31*, 283-284.
- (133) Kelly, T. R.; Chandrakumar, N. S.; Walters, N.; Blancaflor, J. Practical procedure for the isolation of emodin and chrysophanol. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 3573-3574.
- (134) Savard, J.; Brassard, P. Reactions of ketene acetals - 14. The use of simple mixed vinylketene acetals in the annulation of quinones. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 3455-3464.
- (135) Kehrmann, F.; Tiesler, W. Über einige Derivate des m-Dichlorchinons. *J. Prakt. Chem.* **1889**, *40*, 481.
- (136) Murakami, T. The coloring matters of *Xanthoria fallax* (Hepp.) ARN. Fallacinal and fallacinol. *Chem. Pharm. Bull.* **1956**, *4*, 298-302.

- (137) Cameron, D. W.; Feutrill, G. I.; Griffiths, P. G. Regioselective bromination of 1,4-naphthoquinones. *Aust. J. Chem.* **1981**, *34*, 1513-1522.
- (138) Castonguay, A.; Brassard, P. Reactions of ketene acetals V. The reaction with p-benzoquinone dihalides. *Synth. Comm.* **1975**, *5*, 377-385.
- (139) Castonguay, A.; Brassard, P. C-Alkylation of 1,3-dihydroxyanthraquinones. Total synthesis of (±)-averufin and (±)-bipolarin. *Can. J. Chem.* **1977**, *55*, 1324-1332.
- (140) O'Malley, G. J.; Murphy, R. A.; Cava, M. P. Aflatoxin precursors: Total synthesis of (±)-averufin and (±)-nidurufin. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 5533-5537.
- (141) Holmwood, G. M.; Roberts, J. C. Studies in mycological chemistry. Part XXIX. Total synthesis of (±)-O-methylaversin [(±)-tri-O-methylversicolorin B]: The structure of aversin. *J. Chem. Soc. (C)* **1971**, 3899-3902.
- (142) Iwao, M.; Kuraishi, T. Utilization of sulfide, sulfoxide, and sulfone groups as regiochemical control elements in the Diels-Alder reaction of naphthoquinones. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *60*, 4051-4060.
- (143) Low, T. F.; Park, R. J.; Sutherland, M. D.; Vessey, I. Pigments of marine animals. III. The synthesis of some substituted polyhydroxyanthraquinones. *Aust. J. Chem.* **1965**, *18*, 182-189.
- (144) Torkelson, S.; Ainsworth, C. Silylation of 1,3-dicarbonyl compounds with hexamethyldisilazane and imidazole. *Synthesis* **1976**, 722-724.
- (145) Chu, D. T. W.; Huckin, S. N. Chemistry of hexamethyldisilazane. Silylation of β-diketones and amination of β-triketones. *Can. J. Chem.* **1980**, *58*, 138-142.
- (146) Yamamoto, K.; Suzuki, S.; Tsuji, J. Diels-Alder reactions of trimethylsiloxy-substituted butadiens with dimethyl acetylenedicarboxylate. *Chem. Lett.* **1978**, 649-652.
- (147) Grandmaison, J.-L.; Brassard, P. Reactions of ketene acetals. 10. Total syntheses of the anthraquinones rubrocomatulic pentamethyl ether, 2-acetylemodin, 2-acetyl-5-hydroxyemodin tetramethylether, and xanthorin. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 1435-1438.
- (148) Banville, J.; Grandmaison, J.-L.; Lang, G.; Brassard, P. Reactions of ketene acetals. Part I. A simple synthesis of some naturally occurring anthraquinones. *Can. J. Chem.* **1974**, *52*, 80-87.
- (149) Savard, J.; Brassard, P. Regiospecific syntheses of quinones using vinylketene acetals derived from unsaturated esters. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 4911-4914.
- (150) Grandmaison, J.-L.; Brassard, P. Reactions of ketene acetals - IX. The synthesis of naphthoquinones from benzoquinones. *Tetrahedron* **1977**, *33*, 2047-2053.

- (151) Banville, J.; Brassard, P. Reactions of ketene acetals. Part VI. Total synthesis of the anthraquinones (\pm)-Nalgiovensin, (\pm)-Isorhodoptilometrin, and (\pm)-Rhodoptilometrin. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1976**, 613-619.
- (152) Brisson, C.; Brassard, P. Regiospecific reactions of some vinylogous ketene acetals with haloquinones and their regioselective formation by dienolization. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 1810-1814.
- (153) Guay, V.; Brassard, P. Reactions of ketene acetals 15. Regiospecific syntheses of erythrolaccin and "7-hydroxyerythrolaccin". *Tetrahedron* **1984**, *40*, 5039-5045.
- (154) Roberge, G.; Brassard, P. Reactions of ketene acetals. 13. Synthesis of contiguously trihydroxylated naphtho- and anthraquinones. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 4161-4166.
- (155) Krohn, K. Synthetische Anthracyclinone, XVIII. Synthese des 13-Desoxo-6-desoxydaunomycinons und des β_1 -Citromycinons. *Liebigs Ann. Chem.* **1981**, 2285-2297.
- (156) Krohn, K. Synthetische Anthracyclinone XVI. Synthese hydroxylierter Anthrachinone durch regioselektive Diels-Alder-Reaktion. *Tetrahedron Lett.* **1980**, *21*, 3557-3560.
- (157) Smissman, E. E.; Voldeng, A. N. The synthesis of 3-alkoxy-cis-2-trans-4-unsaturated acids. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 3161-3165.
- (158) Cameron, D. W.; Crossley, M. J.; Feutrill, G. I.; Griffiths, P. G. Intermediates in the 1:2-addition of 1,1-diethoxyethene to quinones: synthesis of deoxyerythrolaccin. *J. Chem. Soc.* **1977**, 297-298.
- (159) Cameron, D. W.; Crossley, M. J.; Feutrill, G. I.; Griffiths, P. G. Nucleophilic alkenes. III. Addition of 1,1-dialkoxyethenes to 1,4-naphthoquinones. The 1:2-process. *Aust. J. Chem.* **1978**, *31*, 1335-1352.
- (160) Cameron, D. W.; Crossley, M. J. Nucleophilic alkenes. IV. Addition of 1,1-dialkoxyethenes to 1,4-benzoquinones. The 1:1-process. *Aust. J. Chem.* **1978**, *31*, 1353-1362.
- (161) Prinz, H.; Müller, K. 2-Anthracenonyl acetic acids as 5-lipoxygenase inhibitors. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **1996**, *329*, 262-266.
- (162) Lozzio, C. B.; Lozzio, B. B. Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome. *Blood* **1975**, *45*, 321-334.
- (163) Klein, E.; Ben-Bassat, H.; Neumann, H.; Ralph, P.; Zeuthen, J.; Polliack, A.; Vánky, F. Properties of the K562 cell line, derived from a patient with chronic myeloid leukemia. *Int. J. Cancer* **1976**, *18*, 421-431.

- (164) Lozzio, C. B.; Lozzio, B. B.; Yang, W.-K.; Ichiki, A. T.; Bamberger, E. G. Absence of thymus-derived lymphocyte markers in myelogenous leukemia (Ph¹⁺) cell line K-562. *Cancer Res.* **1976**, *36*, 4657-4662.
- (165) Lozzio, B. B.; Lozzio, C. B. *Int. J. Cancer* **1977**, *19*, 136.
- (166) Lozzio, B. B.; Lozzio, C. B. Absence of erythrocytic components in the original K562 cell line. *Int. J. Cancer* **1979**, *24*, 513.
- (167) Andersson, L. C.; Jokinen, M.; Klein, E.; Nilsson, K. Presence of erythrocytic components in the K562 cell line. *Int. J. Cancer* **1979**, *24*, 514.
- (168) Gahmberg, C. G.; Andersson, L. C. K562 - a human leukemia cell line with erythroid features. *Semin. Hematol.* **1981**, *18*, 72-77.
- (169) Lozzio, B. B.; Lozzio, C. B. Properties and usefulness of the original K-562 human myelogenous leukemia cell line. *Leuk. Res.* **1979**, *3*, 363-370.
- (170) Andersson, L. C.; Jokinen, M.; Gahmberg, C. G. Induction of erythroid differentiation in the human leukemia cell line K562. *Nature* **1979**, *278*, 717-720.
- (171) Nishiyama, M.; Suzuki, K.; Kumazaki, T.; Yamamoto, W.; Toge, T.; Okamura, T.; Kurisu, K. Molecular targeting of mitomycin C chemotherapy. *Int. J. Cancer* **1997**, *72*, 649-656.
- (172) Morgan, W. A.; Hartley, J. A.; Cohen, G. M. Quinone-induced DNA single strand breaks in rat hepatocytes and human chronic myolegenous leukaemic K562 cells. *Biochem. Pharmacol.* **1992**, *44*, 215-221.
- (173) Dinkova-Kostova, A. T.; Talalay, P. Persuasive evidence that quinone reductase type 1 (DT diaphorase) protects cells against the toxicity of electrophils and reactive forms of oxygen. *Free Radic. Biol. Med.* **2000**, *29*, 231-240.
- (174) Swann, E.; Barraja, P.; Oberlander, A. M.; Gardipee, W. T.; Hudnott, A. R.; Beall, H. D.; Moody, C. J. Indolequinone antitumor agents: Correlation between quinone structure and rate of metabolism by recombinant human NAD(P)H:quinone oxidoreductase. Part 2. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3311-3319.
- (175) Riley, R. J.; Workman, P. DT-diaphorase and cancer chemotherapy. *Biochem. Pharmacol.* **1992**, *43*, 1657-1669.
- (176) Cummings, J.; Spanswick, V. J.; Tomasz, M.; Smyth, J. F. Enzymology of mitomycin C metabolic activation in tumour tissue - Implications for enzyme-directed bioreductive drug development. *Biochem. Pharmacol.* **1998**, *56*, 405-414.
- (177) Saunders, M. P.; Jaffar, M.; Patterson, A. V.; Nolan, J.; Naylor, M. A.; Phillips, R. M.; Harris, A. L.; Stratford, I. J. The relative importance of NADPH: cytochrome c (P450) reductase for determining the sensitivity of human tumor

- cells to the indolequinone EO9 and related analogues lacking functionality at the C-2 and C-3 positions. *Biochem. Pharmacol.* **2000**, *59*, 993-996.
- (178) Porta Coeli Hyperbook, Windows Version 1.10. *Pschyrembel und Hunnius* **1998**.
- (179) Konopka, J. B.; Witte, O. N. Activation of the *abl* oncogene in murine and human leukemias. *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, *823*, 1-17.
- (180) Honma, Y.; Okabe-Kado, J.; Hozumi, M.; Uehara, Y.; Mizuno, S. Induction of erythroid differentiation of K562 human leukemic cells by herbimycin A, an inhibitor of tyrosine kinase activity. *Cancer Res.* **1989**, *49*, 331-334.
- (181) Honma, Y.; Okabe-Kado, J.; Kasukabe, T.; Hozumi, M.; Umezawa, K. Inhibition of *abl* oncogene tyrosine kinase induces erythroid differentiation of human myelogenous leukemia K562 cells. *Jpn. J. Cancer Res.* **1990**, *81*, 1132-1136.
- (182) Evans, C. A.; Owen-Lynch, P. J.; Whetton, A. D.; Dive, C. Activation of the Abelson tyrosine kinase activity is associated with suppression of apoptosis in hemopoietic cells. *Cancer Res.* **1993**, *53*, 1735-1738.
- (183) Bamberger, E. G.; Aggio, M. C.; Lozzio, C. B.; Lozzio, B. B. Inhibition of human leukemia cell proliferation by dimethyl sulfoxide. *Leukemia Res.* **1978**, *2*, 305-311.
- (184) Prinz, H. private Mitteilung.
- (185) Groffen, J.; Morris, C.; Heisterkamp, N. Philadelphia chromosome translocation. In *Chronic myelogenous leukemia*; Deisseroth, A. B., Arlinghaus, R. B., Hrsg.; Dekker: New York, **1991**; S. 181-209.
- (186) Hellwig, B. Imatinib - neues Wirkprinzip gegen Krebs. *Dtsch. Apoth. Ztg.* **2001**, *141*, 3179-3181.
- (187) Druker, B. J.; Talpaz, M.; Resta, D. J.; Peng, B.; Buchdunger, E.; Ford, J. M.; Lydon, N. B.; Kantarjian, H.; Capdeville, R.; Ohno-Jones, S.; Sawyers, C. L. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* **2001**, *344*, 1031-1037.
- (188) Druker, B. J.; Sawyers, C. L.; Kantarjian, H.; Resta, D. J.; Reese, S. F.; Ford, J. M.; Capdeville, R.; Talpaz, M. Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of the chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N. Engl. J. Med.* **2001**, *344*, 1038-1042.
- (189) Gambacorti-Passerini, C.; le Coutre, P.; Mologni, L.; Fanelli, M.; Bertazzoli, C.; Marchesi, E.; Di Nicola, M.; Biondi, A.; Corneo, G. M.; Belotti, D.; Pogliani, E.; Lydon, N. B. Inhibition of the ABL kinase activity blocks the proliferation of

- BCR/ABL⁺ leukemic cells and induces apoptosis. *Blood Cells Mol. Dis.* **1997**, *23*, 380-394.
- (190) Collins, S. J.; Gallo, R. C.; Gallagher, R. E. Continuous growth and differentiation of human myeloid leukaemic cells in suspension culture. *Nature* **1977**, *270*, 347-349.
- (191) Collins, S. J.; Ruscetti, F. W.; Galalgher, 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**, *75*, 2458-2462.
- (192) Chaplinski, T. J.; Niedel, J. E. Cyclic nucleotide-induced maturation of human promyelocytic leukemia cells. *J. Clin. Invest.* **1982**, *70*, 953-964.
- (193) 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.
- (194) Birnie, G. D. The HL60 cell line: A model system for studying human myeloid cell differentiation. *Br. J. Cancer* **1988**, *58*, Suppl. IX, 441-45.
- (195) Kratz, U. Synthese und biologische Evaluierung von 4,5-Dichlor-9(10H)-anthracenonen und O-9-substituierten 4,5-Dichloranthracenen als potentielle Antipsoriatika. *Dissertation Universität Münster* **2001**.
- (196) Stecher, L. Substituierte 9(10H)-Acridinone als potentielle Antipsoriatika: Synthese und In-vitro-Prüfung. *Dissertation Universität Münster* **2001**.
- (197) Aden, D. P.; Fogel, A.; Plotkin, S.; Damjanov, I.; Knowles, B. B. Controlled synthesis of HBsAg in a differentiated human liver carcinoma-derived cell line. *Nature* **1979**, *282*, 615-616.
- (198) Knowles, B. B.; Howe, C. C.; Aden, D. P. Human hepatocellular carcinoma cell lines secrete the major plasma proteins and hepatitis B surface antigen. *Science* **1980**, *209*, 497-499.
- (199) Javitt, N. B. Hep G2 cells as a resource for metabolic studies: Lipoprotein, cholesterol, and bile acids. *FASEB J.* **1990**, *4*, 161-168.
- (200) Gawlik, I. Entwicklung und Durchführung von In-vitro-Testsystemen zur Charakterisierung der antipsoriatischen Aktivität neuer Anthrone. *Dissertation Universität Regensburg* **1996**.
- (201) Breu, K. Substitution des Antipsoriatikums Dithranol in C-10-Position: Synthese und In-vitro-Prüfung. *Dissertation Universität Regensburg* **1996**.
- (202) Gürster, D. Neue C-10-substituierte Derivate des Antipsoriatikums Dithranol: Synthese und in vitro-Prüfung. *Dissertation Universität Regensburg* **1993**.

- (203) Reindl, H. Synthese und Charakterisierung der biologischen Aktivität neuer 10-Acylderivate des Antipsoriatikums Dithranol. *Dissertation Universität Regensburg* **1999**.
- (204) Müller, K.; Huang, H.-S.; Wiegrebe, W. Antipsoriatic anthrones with modulated redox properties. 3. 10-Thio-substituted 1,8-dihydroxy-9(10*H*)-anthracenones as inhibitors of keratinocyte growth, 5-lipoxygenase, and the formation of 12(*S*)-HETE in mouse epidermis. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 3132-3138.
- (205) Müller, K.; Reindl, H.; Gawlik, I. 10-Hydrocinnamoyl- and 10-cinnamoyl-1,8-dihydroxy-9(10*H*)-anthracenones as inhibitors of leukotriene B₄ biosynthesis and HaCaT cell growth. *Eur. J. Med. Chem.* **1998**, *33*, 969-973.
- (206) 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.
- (207) Müller, K.; Breu, K. 10- α -aminoacyl-9(10*H*)-anthracenones: Inhibition of 12(*S*)-HETE biosynthesis and HaCaT cell growth. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **1999**, *332*, 31-35.
- (208) Müller, K.; Sellmer, A.; Wiegrebe, W. Potential antipsoriatic agents: lapacho compounds as potent inhibitors of HaCaT cell growth. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1134-1136.
- (209) Müller, K.; Breu, K.; Reindl, H. 10-Phenylbutyryl-substituted anthracenones as inhibitors of keratinocyte growth and LTB₄ biosynthesis. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, *36*, 179-184.
- (210) 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.
- (211) Reichert, U.; Jacques, Y.; Grangeret, M.; Schmidt, R. Antirespiratory and antiproliferative activity of anthralin in cultured human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* **1985**, *84*, 130-134.
- (212) 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.
- (213) 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.
- (214) 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.

- (215) Dengler, W. A.; Schulte, J.; Berger, D. P.; Mertelsmann, R.; Fiebig, H. H. Development of a propidium iodide fluorescence assay for proliferation and cytotoxicity assays. *Anticancer Drugs* **1995**, *6*, 522-532.
- (216) Roth, T.; Burger, A. M.; Dengler, W.; Willmann, H.; Fiebig, H. H. Human tumor cell lines demonstrating the characteristics of patient tumors as useful models for anticancer drug screening. In *Relevance of tumor models for anticancer drug development. Contrib. Oncol.*; Fiebig, H. H., Burger, A. M., Hrsg.; Karger-Verlag: Basel, **1999**; S. 145-156.
- (217) Freshney, R. I. *Tierische Zellkultur: Ein Methoden-Handbuch*; W. de Gruyter & Co.: Berlin, **1990**; S. 252.
- (218) Kaltenbach, J. P.; Kaltenbach, M. H.; Lyons, W. B. Nigrosin as a dye for differentiating live and dead ascites cells. *Exp. Cell Res.* **1958**, *15*, 112-117.
- (219) Lindl, T.; Bauer, J. *Zell- und Gewebekultur*; Gustav Fischer Verlag: Stuttgart, **1994**; S. 189-190.
- (220) Penning, T. M.; Ohnishi, S. T.; Harvey, R. G. Generation of reactive oxygen species during the enzymatic oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbon *trans*-dihydrodiols catalyzed by dihydrodiol dehydrogenase. *Chem. Res. Toxicol.* **1996**, *9*, 84-92.
- (221) Smithgall, T. E.; Harvey, R. G.; Penning, T. M. Regio- and stereospecificity of homogenous 3α -hydroxysteroid-dihydrodiol dehydrogenase for *trans*-dihydrodiol metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 6184-6191.
- (222) Smithgall, T. E.; Harvey, R. G.; Penning, T. M. Spectroscopic identification of *ortho*-quinones as the products of polycyclic aromatic *trans*-dihydrodiol oxidation catalyzed by dihydrodiol dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 1814-1820.
- (223) Flowers-Geary, L.; Harvey, R. G.; Penning, T. M. Examination of polycyclic aromatic hydrocarbon *o*-quinones produced by dihydrodiol dehydrogenase as substrates for redox-cycling in rat liver. *Biochemistry* **1992**, *11*, 49-58.
- (224) Flowers-Geary, L.; Harvey, R. G.; Penning, T. M. Cytotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbon *o*-quinones in rat and human hepatoma cells. *Chem. Res. Toxicol.* **1993**, *6*, 252-260.
- (225) Lerman, L. S. Structural considerations in the interaction of DNA and acridines. *J. Mol. Biol.* **1961**, *3*, 18-30.
- (226) Graves, D. E.; Velea, L. M. Intercalative binding of small molecules to nucleic acids. *Curr. Org. Chem.* **2000**, *4*, 915-929.

- (227) Stefanovic, V. Spectrophotometric studies of the interaction of anthramycin with deoxyribonucleic acid. *Biochem. Pharmacol.* **1968**, *17*, 315-323.
- (228) Weimar, C. *Dissertation Universität Regensburg* **1990**.
- (229) Seidl, E. *Dissertation Universität Regensburg* **1990**.
- (230) LePecq, J.-B.; Paoletti, C. A fluorescent complex between ethidium bromide and nucleic acids. *J. Mol. Biol.* **1967**, *27*, 87-106.
- (231) Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J. D. *Molekularbiologie der Zelle*; VCH: Weinheim, **1995**; S. 303.
- (232) Mutschler, E.; Geisslinger, G.; Kroemer, H. K.; Schäfer-Korting, M. *Arzneimittelwirkungen*; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft: Stuttgart, **2001**; S. 811-816.
- (233) Enna, S. J.; Williams, M.; Ferkany, J. W.; Kenakin, T.; Porsolt, R. D.; Sullivan, J. P. *Current protocols in pharmacology*; Wiley: New York, **2000**; S. 3.3.1-3.3.21.
- (234) Tanizawa, A.; Kohn, K. W.; Kohlhagen, G.; Leteurtre, F.; Pommier, Y. Differential stabilization of eukaryotic DNA topoisomerase I cleavable complexes by camptothecin derivatives. *Biochemistry* **1995**, *34*, 7200-7206.
- (235) Neamati, N. Private Mitteilung.
- (236) Pessina, A.; Raimondi, A.; Cerri, A.; Piccirillo, M.; Neri, M. G.; Croera, C.; Foti, P.; Berti, E. High sensitivity of human epidermal keratinocytes (HaCaT) to topoisomerase inhibitors. *Cell Prolif.* **2001**, *34*, 243-252.
- (237) Esposito, D.; Craigie, R. HIV integrase structure and function. *Adv. Virus Res.* **1999**, *52*, 319-333.
- (238) Pommier, Y.; Neamati, N. Inhibitors of human immunodeficiency virus integrase. *Adv. Virus Res.* **1999**, *52*, 427-458.
- (239) Thomas, M.; Brady, L. HIV integrase: a target for AIDS therapeutics. *Trends Biotechnol.* **1997**, *15*, 167-172.
- (240) D'Angelo, J.; Mouscadet, J. F.; Desmele, D.; Zouhiri, F.; Leh, H. HIV-integrase: the next target for AIDS therapy? *Pathol. Biol.* **2001**, *49*, 237-246.
- (241) Mathé, G. The non-enumerable described retrovirus integrase inhibitors are not a lure, as evidenced by ten years of clinical experience. *Biomed. Pharmacother.* **2000**, *54*, 3-6.
- (242) Mathé, G. Why have ten or so nontoxic, retrovirus integrase inhibitors not been made available for AIDS treatment? A ten-year experience [correction of experiment, **2000**, *54* (1), 60] must liberate them. *Biomed. Pharmacother.* **1999**, *53*, 484-486.

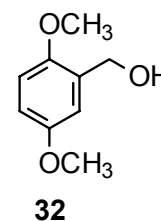
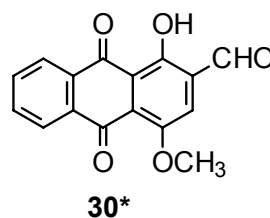
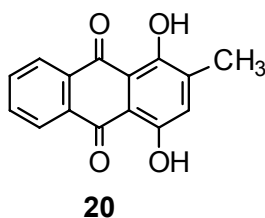
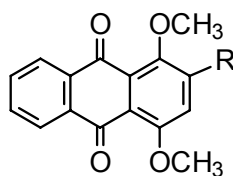
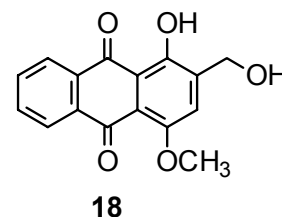
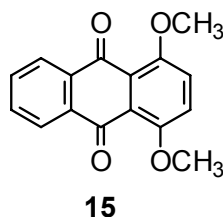
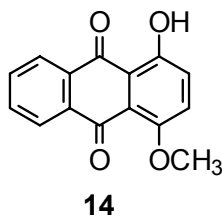
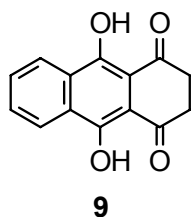
- (243) Pani, A.; Marongiu, M. E. Anti-HIV-1 integrase drugs: How far from the shelf? *Curr. Pharm. Des.* **2000**, *6*, 569-584.
- (244) Zhao, H.; Neamati, N.; Mazumder, A.; Sunder, S.; Pommier, Y.; Burke, T. R. Arylamide inhibitors of HIV-1 integrase. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 1186-1194.
- (245) Heinze, J. Cyclovoltammetrie - die "Spektroskopie" des Elektrochemikers. *Angew. Chemie* **1984**, *96*, 823-840.
- (246) Rücker, G.; Neugebauer, M.; Willems, G. G. *Instrumentelle Pharmazeutische Analytik*; **2001**; S. 580.
- (247) Nicholson, R. S.; Shain, J. Theory of stationary electrode polarography. Single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible and kinetic systems. *Anal. Chem.* **1964**, *36*, 706-723.
- (248) Jeziorek, D.; Ossowski, T.; Liwo, A.; Dyl, D.; Nowacka, M.; Woznicki, W. Theoretical and electrochemical study of the mechanism of anthraquinone-mediated one-electron reduction of oxygen: the involvement of adducts of dioxygen species to anthraquinones. *J. Chem. Soc. Perk. Trans. 2* **1997**, 229-236.
- (249) Butler, J.; Hoey, B. M. The one-electron reduction potential of several substrates can be related to their reduction rates by cytochrome P-450 reductase. *Biochim. Biophys. Acta* **1993**, *1161*, 73-78.
- (250) Leo, A.; Hansch, C.; Elkins, D. Partition coefficients and their uses. *Chem. Rev.* **1971**, *71*, 525-616.
- (251) Unger, S. H.; Cook, J. R.; Hollenberg, J. S. Simple procedure for determining octanol-aqueous partition, distribution, and ionization coefficients by reversed-phase high-pressure liquid chromatography. *J. Pharm. Sci.* **1978**, *67*, 1364-1367.
- (252) Terada, H. Determination of $\log P_{\text{oct}}$ by high-performance liquid chromatography, and its application in the study of quantitative structure-activity relationships. *Quant. Struct.-Act. Relat.* **1986**, *5*, 81-88.
- (253) Ghose, A. K.; Crippen, G. M. Atomic physicochemical parameters for three-dimensional-structure-directed quantitative structure-activity relationships. 2. Modeling dispersive and hydrophobic interactions. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1987**, *27*, 21-35.
- (254) Viswanadhan, V. N.; Ghose, A. K.; Revankar, G. R.; Robins, R. K. Atomic physicochemical parameters for three dimensional structure directed quantitative structure-activity relationships. 4. Additional parameters for hydrophobic and dispersive interactions and their application for an automated superposition of certain naturally occurring nucleosid antibiotics. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1989**, *29*, 163-172.

- (255) Broto, P.; Moreau, G.; Vandycke, C. Molecular structures: perception, autocorrelation descriptor and sar studies. System of atomic contributions for the calculation of the n-octanol/water partition coefficients. *Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther.* **1984**, *19*, 71-78.
- (256) Carlson, R. M.; Carlson, R. E.; Koppermann, H. L. Determination of partition coefficients by liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **1975**, *107*, 219-223.
- (257) de Kock, A. C.; Lord, D. A. A simple procedure for determining octanol-water partition coefficients using reverse phase high performance liquid chromatography (RPHPLC). *Chemosphere* **1987**, *16*, 133-142.
- (258) Krapcho, A. P.; Shaw, K. J.; Landi, J. J.; Phinney, D. G. Synthesis of unsymmetrical 1,4-bis[(aminoalkyl)amino]anthracene-9,10-diones for antineoplastic evaluation. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 5253-5255.
- (259) Hartzfeld, D. G.; Rose, S. D. Efficient pyrimidine dimer radical anion splitting in low polarity solvents. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 850-854.
- (260) Rakov, A. P.; Rudnitskaya, G. F.; Andreev, G. F. Dialkyl (2,5-dimethoxybenzyl)phosphonates: Their synthesis and some of their properties. *J. Gen. Chem. USSR (Engl. Transl.)* **1976**, *46*, 1450-1452.
- (261) Bergmann, E. D.; Solomonovici, A. Fulvenes and thermochromic ethylenes. Part 57. The Wittig-Horner reaction with fulvene ketones and related ketones. *Synthesis* **1970**, 183-189.
- (262) Fresneda, P. M.; Molina, P. Synthesis of diethyl arylmethanephosphonates from arylmethanamines. *Synthesis* **1981**, 222-223.
- (263) Bellucci, C.; Teodori, E.; Gualteri, F.; Piacenza, G. Search for new Ca²⁺ antagonists. Lipophilic oximes and phosphonates. *Farmaco Ed. Sci.* **1985**, *40*, 730-744.
- (264) Meier, H.; Petermann, R. Near infrared dyes by combination of squaraine and ferrocene chromophores. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5475-5478.
- (265) Bode, J. W.; Doyle, M. P.; Protopopova, M. N.; Zhou, Q.-L. Intramolecular regioselective insertion into unactivated prochiral carbon-hydrogen bonds with diazoacetates of primary alcohols catalyzed by chiral dirhodium(II) carboxamidates. Highly enantioselective total synthesis of natural lignan lactones. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 9146-9155.
- (266) Amatayakul, T.; Cannon, J. R.; Dampawan, P.; Dechatiwongse, T.; Giles, R. G. F.; Huntrakul, C.; Kusamran, K.; Mokkaasmit, M.; Raston, C. L.; Reutrakul, V.; White, A. H. Chemistry and crystal structures of some constituents of *Zingiber cassumunar*. *Aust. J. Chem.* **1979**, *32*, 71-88.

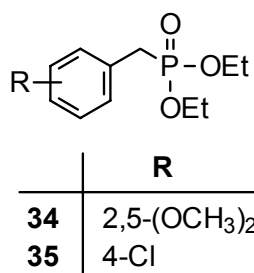
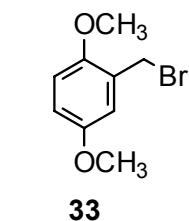
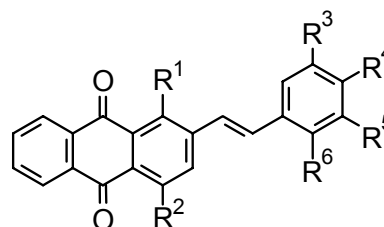
- (267) Guennouni, N.; Lhermitte, F.; Cochard, S.; Carboni, B. Radical reactions in organoboron chemistry II - Inter- and intramolecular addition of carbon centered radicals to alkenylboranes. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 6999-7018.
- (268) Padwa, A.; Brodney, M. A.; Marino, J. P.; Sheehan, S. M. Utilization of the intramolecular cycloaddition - cationic π -cyclization of an isomünchnone derivative for the synthesis of (\pm)-lycopodine. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 78-87.
- (269) Muehldorf, A. V.; Guzman-Perez, A.; Kluge, A. F. The enantiospecific Nicholas reaction. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8755-8758.
- (270) Moosavi, S. M.; Beddoes, R. S.; Watt, C. I. F. Base-catalysed ring openings of 1,2-diphenylcycloalkanols having five-, six-, seven-, and eight-membered rings. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1997**, 1585-1596.
- (271) De Esch, I. J. P.; Gaffar, A.; Menge, W. M. P. B.; Timmermann, H. Synthesis and histamin H₃ receptor activity of 4-(n-alkyl)-1H-imidazoles and 4-(ω -phenylalkyl)-1H-imidazoles. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 3003-3009.
- (272) Ayyangar, N. R.; Argade, A. B.; Mehendale, A. R.; Deshpande, V. H. Total synthesis of (+)-4-demethoxydaunomycin. *Indian J. Chem. Sect. B* **1991**, *30*, 377-384.
- (273) Kelly, T. R.; Ghoshal, M. An expeditious synthesis of resistomycin. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3879-3884.
- (274) Falk, H.; Tran, T. N. H. Synthesis and properties of an ω, ω' -appended eighteen carbon chains hypericin derivative. *Monatsh. Chem.* **1996**, *127*, 717-723.
- (275) Koyama, M.; Takahashi, K.; Chou, T.-C.; Darzynkiewicz, Z.; Kapuscinski, J.; Kelly, T. R.; Watanabe, K. A. Intercalating agents with covalent bond forming capability. A novel type of potential anticancer agents. 2. Derivatives of chrysophanol and emodin. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1594-1599.
- (276) Sutherland, M. D.; Wells, J. W. Pigments of marine animals. IV. The anthraquinoid pigments of the crinoids, *Comatulata pectinata* L. and *C. cratera* A. H. Clark. *Aust. J. Chem.* **1967**, *20*, 515-533.
- (277) Chan, A. W. K.; Crow, W. D. Chemical constituents of *eriococcus confusus* Maskell. I. The quinoid pigments. *Aust. J. Chem.* **1966**, *19*, 1701-1708.
- (278) Galy, A.-M.; Galy, J.-P.; Barbe, J.; Sharples, D. Preparation of a series of 9-alkylaminoacridines and 9-imino-10-alkylacridines and their binding to desoxyribonucleic acid. *Arzneim.-Forsch.* **1987**, *37*, 1095-1098.

H Formelübersicht

Dargestellt sind die in dieser Arbeit synthetisierten Verbindungen. Bisher nicht beschriebene Verbindungen sind mit „*“ gekennzeichnet.

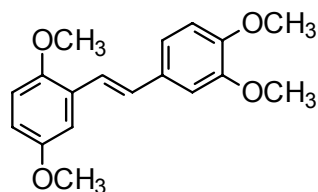
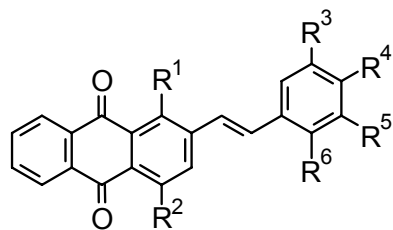


	R
19	CH ₂ OH
21	CH ₃
22	CH ₂ Br
23*	CH ₂ PPh ₃ ⁺ Br ⁻
29	CHO
31	CHBr ₂



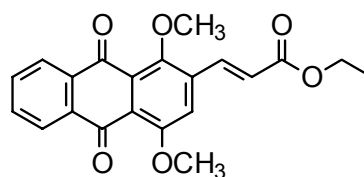
	R
34	2,5-(OCH ₃) ₂
35	4-Cl

	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
24*	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
25*	OCH ₃	OCH ₃	Cl	H	Cl	H
26*	OCH ₃	OCH ₃	H	COOCH ₃	H	H
27*	OCH ₃	OCH ₃	H	NO ₂	H	H
28*	OCH ₃	OCH ₃	H	CN	H	H
38*	OCH ₃	OCH ₃	H	H	H	H
39*	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H
40*	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃	H
41*	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃	OCH ₃	H
42*	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	H	OCH ₃

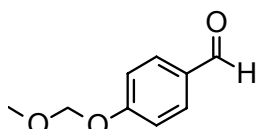


44

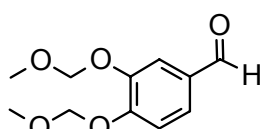
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
43*	OCH ₃	OCH ₃	H	Cl	H	H
47*	OH	OCH ₃	H	OCH ₃	H	H
48*	OH	OH	H	OCH ₃	H	H
49*	OH	OH	OH	H	OH	H
54*	OCH ₃	OCH ₃	H	OH	OH	H
55*	OCH ₃	OCH ₃	H	OH	H	H
56*	OCH ₃	OCH ₃	H	OCH ₃	OH	H



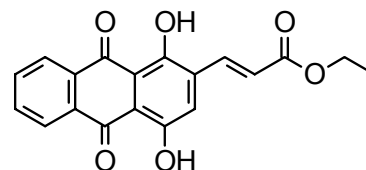
45*



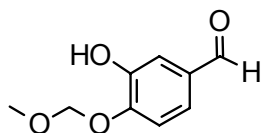
50



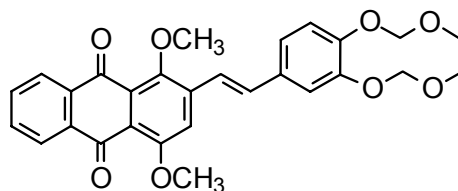
51



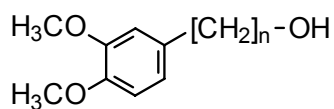
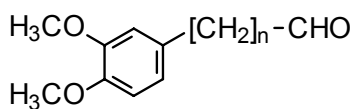
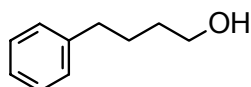
46*



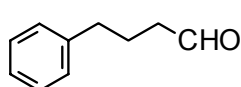
52



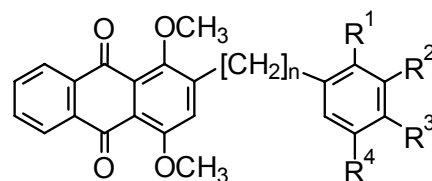
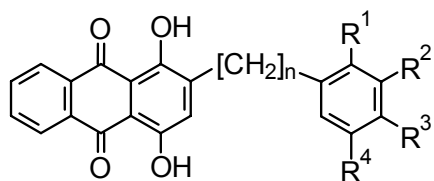
53*

61 n = 3
62 n = 464 n = 2
65 n = 3

63

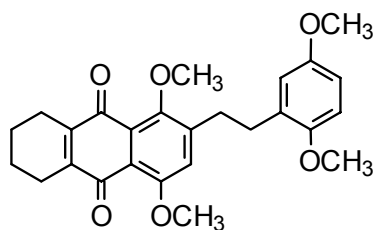
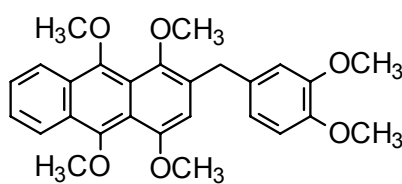
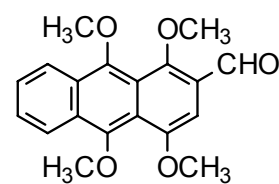
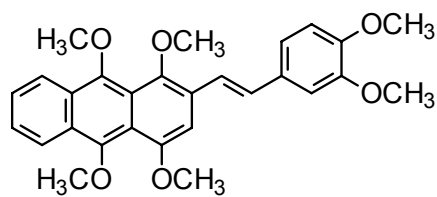
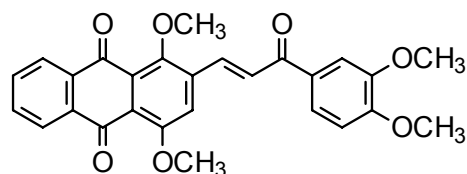
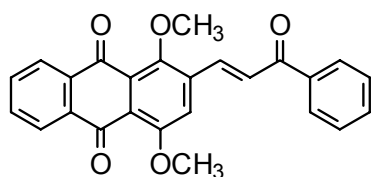
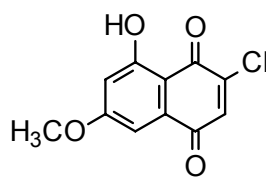
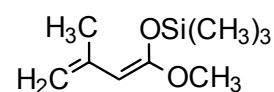


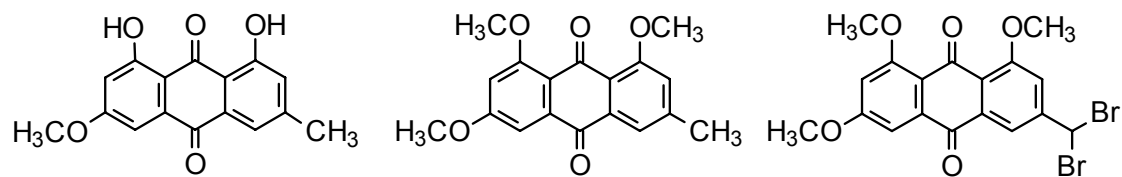
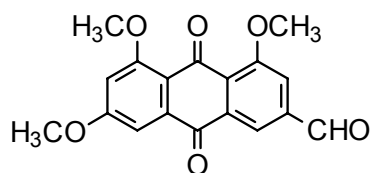
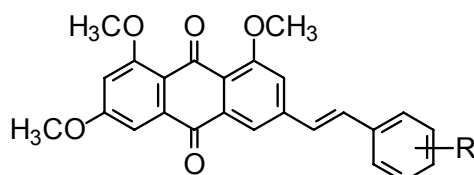
66



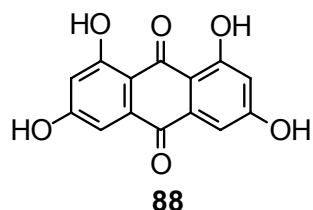
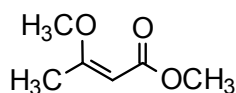
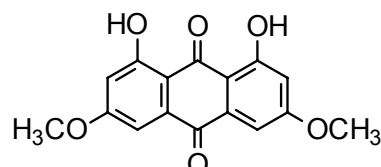
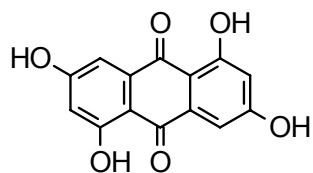
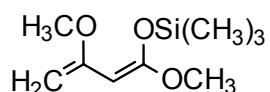
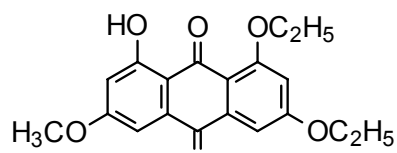
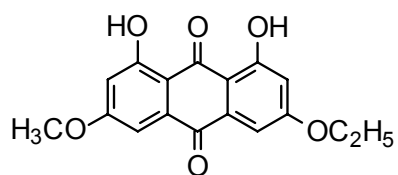
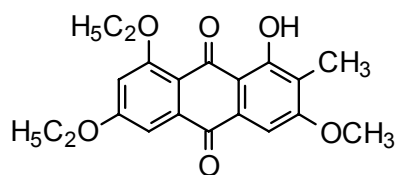
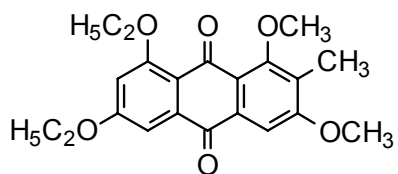
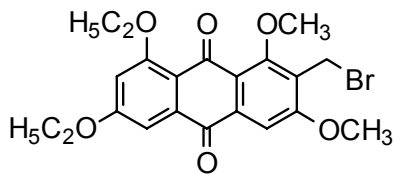
	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
57a	1	H	H	H	H
58a*	1	H	OCH ₃	H	OCH ₃
59a*	1	H	OCH ₃	OCH ₃	H
60a*	1	OCH ₃	H	H	OCH ₃
67a*	3	H	OCH ₃	OCH ₃	H
68a*	4	H	OCH ₃	OCH ₃	H
69a*	4	H	H	H	H

	n	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
57b*	1	H	H	H	H
58b*	1	H	OCH ₃	H	OCH ₃
59b*	1	H	OCH ₃	OCH ₃	H
60b*	1	OCH ₃	H	H	OCH ₃
67b*	3	H	OCH ₃	OCH ₃	H
68b*	4	H	OCH ₃	OCH ₃	H
69b*	4	H	H	H	H
70*	2	H	OCH ₃	H	OCH ₃
71*	2	OCH ₃	H	H	OCH ₃

**72*****73*****74****75*****76*****77*****80****81**

**82****83****84****85**

	R
86*	3,5-(OCH ₃) ₂
87*	3,4-(OCH ₃) ₂

**88****91****93****96****92****94*****95*****97*****98*****99***

Lebenslauf

Thomas Felix Tenbieg

geboren am 26.2.1972 in Dortmund

Familienstand: ledig

Eltern: Cornelius Hermann Josef Tenbieg
Renate Tenbieg, geb. Heinemann

Schulbildung

1978 – 1982 Olpketal-Grundschule, Dortmund

1982 – 1991 Stadtgymnasium Dortmund

13.6.1991 Abitur

Wehrdienst:

7/1991 – 6/1992 Grundwehrdienst in Hamm, Westf.

Studium:

10/1992 – 10/1996 Pharmaziestudium an der WWU Münster

Prüfungen:

01.9.1994 Erster Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung

9.10.1996 Zweiter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung

21.11.1997 Dritter Abschnitt der Pharmazeutischen Prüfung

Tätigkeiten:

11/1996 – 4/1997 Pharmaziepraktikum in der Farmacia Dott. Domenico Gallotta,
Rom, Italien

5/1997 – 10/1997 Pharmaziepraktikum in der Adler-Apotheke, Münster

4/1998 – 3/1999 Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Pharmazeutische und
Medizinische Chemie der WWU-Münster

4/1999 – 3/2002 Wissenschaftlicher Mitarbeiter

Beginn der Dissertation

1.4.1998 Institut für Pharmazeutische und Medizinische Chemie
Betreuer: Prof. Dr. Klaus Müller