Zur Entwicklung neuer

aza-analoger Benzo[c]phenanthridine

mit antitumoraler Wirkung



Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Mathematisch Naturwissenschaftlichen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

Christopher Meier

Kiel 2014

Referent:

Korreferent:

Tag der mündlichen Prüfung:

Zum Druck genehmigt:

Prof. Dr. Bernd Clement

Prof. Dr. Christian Peifer

21. Mai 2014

21. Mai 2014

Prof. Dr. Wolfgang J. Duschl (Dekan) Solo se ve bien con el corazón. Lo esencial es invisible a los ojos.

- El principito

VORBEMERKUNG

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Prof. Dr. Bernd Clement an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Pharmazeutisches Institut, Abteilung Pharmazeutische/Medizinische Chemie, im Zeitraum April 2010 bis März 2014 angefertigt.

Teile dieser Arbeit wurden an folgenden Stellen bereits veröffentlicht:

Fachzeitschriften:

- Meier, C.; Kotthaus, J.; Stenzel, L.; Girreser, U.; Heber, D.; Clement, B. "Synthesis and physicochemical characterization of novel 6-aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolines as aza-analogs of benzo[c]phenanthridines." *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 9105–9112.
- Meier, C.; Sömmer, P.; Girreser, U.; Clement, B. "Synthesis of Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline - A Five-Step Procedure to a Novel N-Containing Ring Skeleton." Synthesis, 2013, 45, 893-895.

Patente:

 Clement, B.; Meier, C.; Stenzel, L.; Heber, D. "Neue aromatische Heterozyklen, Verfahren zu ihrer Herstellung und Arzneimittel enthaltend neue aromatische Heterozyklen" Anmeldetag: 05.04.2012, Offenlegungstag: 10.10.2013; DE 10 2012 006 903.0.

Posterbeiträge:

- Meier, C.; Kotthaus, J.; Stenzel, L.; Girreser, U.; Clement, B. "Synthesis, Characterization and Biological Evaluation of Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolines as Novel Antitumor Agents" 22nd International Symposium on Medicinal Chemistry, EFMC-ISMC, **2012**, Berlin, Deutschland.
- Meier, C.; Jarolim, K.; Steinhauer, T.; Peifer, C.; Marko, D.; Clement, B. "From an Unknown Ring System to High-Potent Cytotoxic Agents – Optimizing the Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolines as a New Class of Potential Anticancer Therapeutics" DPhG Jahrestagung, **2013**, Freiburg, Deutschland.

INHALTSVERZEICHNIS

Αвκί	JRZUN	GSVERZEICHNIS VI
Stru	KTURF	ORMELVERZEICHNIS IX
1	Einlei	TUNG UND ZIELSETZUNG 1
1.1	Mal	igne Tumorerkrankungen1
1.2	The	rapieoptionen bei Krebs 2
1.2	2.1 A	llgemeine Therapiemöglichkeiten2
1.2	2.2 ⊦	lemmstoffe humaner Topoisomerasen I und II5
1.3	Ben	zo[c]phenanthridine
1.3	3.1 N	latürlich vorkommende Benzo[c]phenanthridin-Alkaloide9
1.3	3.2 A	ktuelle Topoisomerase-Hemmstoffe abgeleitet von Benzo[c]phenanthridinen
1.3	3.3 6	-Aminobenzo[c]phenanthridine
1.4	Stic	kstoffhaltige Tetrazyklen abgeleitet vom Benzo[c]phenanthridin-Grundgerüst14
1.4	4.1 P	yrido[3,4-c][1,9]phenanthroline15
1.4	4.2 1	1H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole und Pyrido[2,3-c][1,10]-phenanthroline17
1.5	Ziels	setzung der Arbeit19
2	Synth	IETISCHER TEIL
2.1	Synt	thetische Arbeiten zur Substanzklasse der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline21
2.:	1.1 C	Darstellung 11-substituierter 6-Amino-11,12-dihydropyrido-[3,4-c][1,9]phenanthroline
2.2	1.2 C	xidation zu 11-substituierten 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen
2	2.1.2.1	Versuche zur Dehydrierung in 11,12-Position
2	2.1.2.2	Dehydrierung mit Pd/C in DMPU
2	2.1.2.3	Dehydrierung mit NaH in DMF
2.2	1.3 E	ntfernung der Aminogruppe in 6-Position
2	2.1.3.1	Etablierung der Syntheseroute
2	2.1.3.2	Synthese von 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-onen und 5,6-Dihydro-
		pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-onen
2	2.1.3.3	Versuche zur Synthese von 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4- c][1,9]phenanthrolin-6-thionen 38
2	2.1.3.4	Synthese von 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen und 6-Chlorpyrido-
		[3,4- <i>c</i>][1,9]phenanthrolinen

2.	1.3.5	Synthese von 6-unsubstituierten Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen und deren 11,12-Dihydro-
		Analoga 42
2.	1.3.6	Synthese des neuen heterozyklischen Grundkörpers Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin
2.1.	4 6-	Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline mit Methoxygruppen im Ringgerüst 46
2.	1.4.1	Versuche zur Darstellung 2,4,7,9-tetramethoxysubstituierter Verbindungen
2.	1.4.2	Versuche zur Darstellung 4,7-dimethoxysubstituierter Derivate
2.1.	5 Ve	erknüpfung aliphatischer Seitenketten an die Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline
2.	1.5.1	Synthese von Derivaten mit Dimethylaminoalkylamino-Seitenketten an der 6-Position
2.	1.5.2	Synthese von Derivaten mit Dimethylaminoalkyloxy-Seitenketten an der 6-Position
2.	1.5.3	Versuche zur N-Alkylierung an Position 5
2.2	Synt	hetische Arbeiten zur Substanzklasse der 11H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole68
2.2.	1 Sy	nthese 6-substituierter 5,6-Dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole
2.2.	2 D	ehydrierung zu 6-substituierten 11H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazolen
2.2.	3 Sy	nthese von 6-(2,4-Dimethoxyphenyl)-11-methyl-5,6-dihydro-11 <i>H</i> -pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol 74
2.2.	4 Sy	nthese des neuen unsubstituierten Heterozyklensystems 11 <i>H</i> -Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol76
2.3	Synt	hetische Arbeiten zur Substanzklasse der Pyrido-[2,3-c][1,10]phenanthroline80
2.4	Zusa	mmenfassung82
2.5	Ausb	Nick

3	S	SPEKTROSKOPIE	89
4	Ρ	Physikochemische Charakterisierung der Heterozyklensysteme	96
	4.1	Bestimmung der Löslichkeit in wässrigen Medien mittels HPLC-Analytik	96
	4.1.	.1 pH-abhängige Sättigungslöslichkeiten der Pyrido[3,4-c][1,9]-phenanthrolinklasse	97
	4.1.	.2 Löslichkeiten 6-O-aminoalkylierter Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline bei physiologischem p	он 99
	4.1.	.3 pH-abhängige Sättigungslöslichkeiten der 11 <i>H</i> -Pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazolklasse	102
	4.2	Bestimmung der Lipophilie durch HPLC-Analytik	104
	4.2.	.1 LogD-Werte der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinklasse	106
	4.2.	.2 LogD-Werte der 11H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole	112
	4.3	Abschätzung der oralen Bioverfügbarkeit nach LIPINSKIS "rule of five"	114
	4.4	Untersuchungen zur Phototoxizität	115
	4.5	Zusammenfassung und Diskussion	117

5	IN	νιτ	<i>RO</i> -TESTUNG AUF ANTITUMORALE A KTIVITÄT	.119
5.	.1	Das	Developmental Therapeutics Program des National Cancer Institutes (NCI)	.119
	5.1.1	D	as NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screening	121
	5.1	.1.1	Beschreibung des Testsystems	122
	5.1	.1.2	Dosis-Wirkungs-Beziehungen und Auswertungsparameter	122
5.	.2	In Vi	itro-Antitumoraktivität der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinklasse	.124
5.	.3	In Vi	itro-Antitumoraktivität der 11H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazolklasse	.134
5.	.4	Sele	ktivitäten ausgesuchter Verbindungen	.137
5.	.5	Zusa	immenfassung	.141
6	Ur	NTEF	RSUCHUNGEN ZUM WIRKMECHANISMUS AUSGEWÄHLTER VERBINDUNGEN	.143
6.	.1	NCI-	COMPARE-Analysen	.143
(6.1.1	В	eschreibung des COMPARE-Programms	143
	6.1.2	E	rgebnisse der COMPARE-Analysen ausgesuchter Verbindungen	144
6.	.2	Unte	ersuchungen auf Hemmung humaner Topoisomerasen	.150
	6.2.1	В	eschreibung der Assays und Methoden	151
	6.2	.1.1	Hemmung der katalytischen Aktivität der Topoisomerase I (Relaxationsassay)	151
	6.2	.1.2	Hemmung der katalytischen Aktivität der Topoisomerase IIα (Dekatenierungsassay)	152
	6.2.2	E	rgebnisse	154
6.	.3	Theo	oretische Betrachtungen zur Hemmung humaner Topoisomerasen	.157
	6.3.1	N	1ögliche Bindung von P8-D-6OEthNCH32 (151) in der Topoisomerase II	157
	6.3.2	D	ocking-Studien von P8-D-6OEthNCH32 (151) in Kristallstrukturen humaner Topoisomerasen .	163
6.	.4	Zusa	nmmenfassung	.168
7	Ζu	ISAN	MENFASSUNG UND AUSBLICK	.170
8	Еx	PFR		.175
- Q	1	Sunt	hoson	175
0.	Q 1 1	Jyin		175
	0.1.1 Q 1 7	. U	with a server schriften und synthetisierte Verbindungen	177
	0.1.2 Q 1	. J	Darctellung der 6-Amino-11 12-dibydropyrido[2 4-c][1 9]phenapthroline	177
	8 1	.2.1	Synthetisierte 6-Amino-11 12-dihydronyrido $[3, 4-c][1, 9]$ phenanthroline	178
	8.1	.2.3	Dehvdrierung der 6-Amino-11.12-dihvdronvrido[3,4-c][1,9]phenanthroline	198
	8.1	.2.4	Synthetisierte 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline	199

IV| Inhaltsverzeichnis

8.1.2.5	Dehydrierung der 11-halogenphenylsubstituierten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]-
	phenanthroline
8.1.2.6	Synthetisierte 11-halogenphenylsubstituierte 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline und
	5,6-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-one
8.1.2.7	Darstellung von 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-onen und 5,6-Dihydro-
	pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-onen
8.1.2.8	Synthetisierte 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-one und 5,6-Dihydro-
	pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-one210
8.1.2.9	Darstellung der 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline und 6-Chlorpyrido-
	[3,4-c][1,9]phenanthroline
8.1.2.10	Synthetisierte 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline und 6-Chlorpyrido-
	[3,4- <i>c</i>][1,9]phenanthroline
8.1.2.11	Darstellung der 6-unsubstituierten 11,12-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline und Pyrido-
	[3,4- <i>c</i>][1,9]phenanthroline
8.1.2.12	Synthetisierte 6-unsubstituierte 11,12-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]-phenanthroline und Pyrido-
	[3,4- <i>c</i>][1,9]phenanthroline
8.1.2.13	Darstellung der 11,12-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline und Pyrido[3,4-c][1,9]phen-
	anthroline mit Dimethylaminoalkylamino-Seitenkette in 6-Position
8.1.2.14	Fällung der 6-(2-Dimethylaminoalkylamino)-seitenkettentragenden Verbindungen als Hydro-
	chlorid-Salze
8.1.2.15	Synthetisierte 6-(2-dimethylaminoethylamino)-11, 12-dihydropyrido [3, 4-c] [1, 9] phen anthroline and the second seco
	und 6-(2-dimethylaminoethylamino)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline
8.1.2.16	Darstellung der 11,12-Dihyropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline und Pyrido[3,4-c][1,9]phen-
	anthroline mit Dimethylaminoalkyloxy-Seitenkette in 6-Position
8.1.2.17	Fällung der 6-(2-Dimethylaminoalkyloxy)-seitenkettentragenden Verbindungen als Hydro-
	chlorid-Salze
8.1.2.18	Synthetisierte 6-(2-dimethylaminoethoxy)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline und
	6-(2-dimethylaminoethoxy)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline232
8.1.2.19	Allgemeine Vorschriften zur Darstellung unterschiedlich substituierter Nitrile
8.1.2.20	Darstellung 6-substituierter 5,6-Dihydro-11 <i>H</i> -pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazole
8.1.2.21	Synthetisierte 5,6-Dihydro-11 <i>H</i> -pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazole
8.1.2.22	Dehydrierung der 5,6-Dihydro-11 <i>H</i> -pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazole
8.1.2.23	Synthetisierte und teilweise aufgereinigte 11 <i>H</i> -Pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazole
8.1.2.24	6-(2,4-Dimethoxyphenyl)-11-methyl-5,6-dihydro-11 <i>H</i> -pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazol
8.1.2.25	Synthese von 11 <i>H</i> -Pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazol

8.2 HPLC	-Analytik	256
8.2.1 Là	öslichkeit	. 256
8.2.1.1	Materialien und Geräte	. 256
8.2.1.2	HPLC-Analytik zur Bestimmung pH-abhängiger Sättigungslöslichkeiten	. 256
8.2.1.3	HPLC-Analytik zur Bestimmung der Löslichkeiten bei pH 7,4	. 257
8.2.2 Li	pophilie	. 258
8.2.2.1	Materialien und Geräte	. 258
8.2.2.2	Methode a zur Bestimmung von logD-Werten per HPLC-Analytik	. 258
8.2.2.3	Methode b zur Bestimmt von logD-Werten per HPLC-Analytik	. 259

9	LITERATURVERZEICHNIS	.260

10 ANHANG (Testdaten des NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screenings)i - xxv

Erklärung zu §10 Abs. 2 Nr. 2 der Promotionsordnung

Danksagung

Lebenslauf

Kurzfassung

Abstract

Abkürzungsverzeichnis

AcOH	Essigsäure
AMSA	m-Amsacrin (N-[4-(Acridin-9-yl-amino)-3-methoxyphenyl]methansulfonamid)
Aqua bidest.	Aqua bidestillata
Ar	Aryl
ATP	Adenosintriphosphat
BCR-ABL	Fusionsgen der Chromosomen 8 und 22. BCR - break point cluster region,
	ABL - Abelson Murine Leukemia Viral Oncogene Homologue 1
BCS	Biological Classification System
BEC	Biological Evaluation Comitee
br	breites Signal (NMR-Spektroskopie)
BSA	bovines Serumalbumin
CDCl ₃	Deuteriertes Chloroform
ClogP	Berechneter dekadischer Logarithmus des Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten
CML	Chronisch-myeloische Leukämie
CMS	Conventional Microwave Synthesis
COSY	Correlation Spectroscopy
d	Dublett (NMR-Spektroskopie)
δ	Chemische Verschiebung
d.Th.	der Theorie
DC	Dünnschichtchromatographie
dd	Dublett eines Dubletts (NMR-Spektroskopie)
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyan-p-benzochinon
DEAD	Diethylazodicarboxylat
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DIAD	Diisopropylazodicarboxylat
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMPU	1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-(1H)-pyrimidin-2-on
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	<i>Desoxyribonucleic Acid</i> = Desoxyribonukleinsäure
DTP	Developmental Therapeutics Program
DTT	Dithiothreitol
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
Eq.	<i>Equivalents</i> = Äquivalente
Fa.	Firma
(g)	gasförmig
GI ₅₀	Growth Inhibition 50%
GI _{50/60}	Growth Inhibition 50%, gemittelt über alle 60 Tumorzelllinien
h	Stunde
HCT-8	Menschliche Kolonkarzinomzelllinie HCT-8
НМВС	Heteronuclear Multiple Bond Coherence
НМРА	Hexamethylphosphoramid
HPLC	High Perfomance Liquid Chromatography
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy

HTS	High Throughput Screening
IC ₅₀	Mittlere inhibitorische Konzentration 50%
INCENP	Inner Centromer Protein
J	Kopplungskonstante in Hz
kDNA	Kinetoplasten-DNA
KO ^t Bu	Kalium- <i>tert</i> butanolat
LC/MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
LC ₅₀	Lethal Concentration 50%
LDA	Lithiumdiisopropylamid
LiHMDS	Lithiumhexamethyldisilazan
logD	Dekadischer Logarithmus des D-Wertes
logP	Dekadischer Logarithmus des Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten
m	Multiplett
Mel	Methyliodid
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MG_MID	meangraph midpoint
min	Minuten
μΜ	Mikromolar
mM	Millimolar
MTD	Maximum Tolerated Dose
NaHMDS	Natriumhexamethyldisilazan
NCI	National Cancer Institute
NCI-60	NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screening
NIH	National Institute of Health
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NRU	Neutral Red Uptake
NSCLC	Non Small Cell Lung Cancer
OECD	Organisation for Economic Cooperation and Development
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCC	Pearson'scher Korrelationskoeffizient
Pd/C	Palladium auf Aktivkohle
PDB	Protein Database
рН	potentia hydrogenii - (negativer dekadischer Logarithmus der
	Wasserstoffionenkonzentration)
PIF	Photo-Irritancy Factor
ppm	parts per million
рТѕОН	<i>p</i> -Toluensulfonsäure
pUC18	Bakterielles Plasmid pUC18
q	Quartett
Raney-Ni	Raney Nickel
reflux	zum Rückfluss
Rf	Retentionsfaktor
Rpm	rounds per minute
rt	Raumtemperatur
S	Singulett
Sarkosyl	N-Lauroylsarcosin

SCLC	Small Cell Lung Cancer
SM I	Salzmix 1
SP	Standard Precision
t	Triplett
TAE	Tris-Acetat-EDTA
ТСА	Trichloressigsäure
tert.	tertiär
TFA	Trifluoressigsäure
TGI	Total growth inhibition
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Tetramethylsilan
Торо I	Topoisomerase I
Торо II	Topoisomerase II
ТРР	Triphenylphosphin
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
U	Units
UV	Ultraviolett
z.B.	zum Beispiel

Strukturformelverzeichnis

Substanzklasse der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline (31):



Strukturformeln der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline (37):



Code	R = IUPAC-Name		
P13	S	6-Amino-11-(thien-2-yl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (58)	
P15	Br	6-Amino-11-(4-bromphenyl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (51)	
P16		6-Amino-11-(3-chlorphenyl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (52)	
P17	Br	6-Amino-11-(2-bromphenyl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (49)	
P18	CI	6-Amino-11-(3,4-dichlorphenyl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (53)	
P20	C	6-Amino-11-(fur-2-yl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (57)	
P21	F	6-Amino-11-(4-fluorphenyl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (55)	
P22	F	6-Amino-11-(3-fluorphenyl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (54)	
P24		6-Amino-11-(3-methoxyhenyl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (43)	
P25	OH C	6-Amino-11-(3-hydroxyhenyl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (70)	
P28	H ₃ C	6-Amino-11-propyl-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (60)	
P30		6-Amino-11-(2,3,4-trimethoxyphenyl)-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (47)	



Strukturformeln der 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline (74):

Strukturformeln der 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-one 93-97 und des 5,6-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-ons 98:

	R N	NH NH		N	
) 93 - 97	0	98	
Code	R =		IUPAC-Name		
P1-0		11-F pyrido[3,	henyl-5,6,11,12-tetra ,4-c][1,9]phenanthroli	hydro- n-6-on (93)	
P4-0	H-	5,6,11,12-tetrahydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on (95)			
Р5-О	Br	11-(3-Bromphenyl)-5,6,11,12-tetrahydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on (96)			
P16-0	CI	11-(3-Chlorphenyl)-5,6,11,12-tetrahydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on (97)			
P24-O		11-(3-Met pyrido[3,	hoxyphenyl)-5,6,11,12 ,4-c][1,9]phenanthroli	2-tetrahydro- n-6-on (94)	
P8-D-O	MeO	11-(3,4,5 pyrido[3,	-Trimethoxyphenyl)-5 ,4-c][1,9]phenanthroli	,6-dihydro- n-6-on (98)	

R R Ń N Ν 109 106 - 108 Cl Cl Code **IUPAC-Name** R = 6-Chlor-11-phenyl-11,12-dihydro-P1-Cl pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (106) 6-Chlor -11,12-dihydro-P4-Cl Hpyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (108) CI 6-Chlor-11-(3-Chlorphenyl)-11,12-dihydro-P16-Cl pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (107) OMe MeO 6-Chlor-11-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-P8-D-Cl pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (109) MeO

Strukturformeln der 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 106-108 und des 6-Chlorpyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolins 109:

Strukturformeln der 6-unsubstituierten 11,12-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 110, 111 und Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 31, 112:



Strukturformeln der 11,12-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 143-145 und des Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolins 146 mit Dimethylaminoalkylamino-Seitenkette in 6-Position:

N		$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	
143,	144, 146	CH ₃ 145	
Code	R =	IUPAC-Name	
P1-6NEthNCH32	6NEthNCH32 6-(2-Dimethylaminoethylamino)-11-phenyl-11,12-dihydro- pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (143)		
P16-6NEthNCH32		11-(3-Chlorphenyl)-6-(2-dimethylaminoethylamino)-11,12- dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (144)	
P16-6NPropNCH32	NPropNCH32 11-(3-Chlorphenyl)-6-(2-dimethylaminopropylamino)-11, dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (145)		
P8-D-6NEthNCH32	MeO MeO	6-(2-Dimethylaminoethylamino)-11-(3,4,5- trimethoxyphenyl)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (146)	

Strukturformeln der 11,12-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 147, 150 und Pyrido-[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 151,152 mit Dimethylaminoalkyloxy-Seitenkette in 6-Position:





Substanzklasse der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole



Strukturformeln der 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole (40):

		$ \begin{array}{c} H \\ N \\ R \\ 40 \end{array} $	
Code	R =	IUPAC-Name	
A2		6-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-5,6-dihydro-11 <i>H</i> - pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazol (170)	
A3	MeO OMe	6-(2,4-Dimethoxyphenyl)-5,6-dihydro-11 <i>H-</i> pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazol (160)	
A4		6-Phenyl-5,6-dihydro-11 <i>H-</i> pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazol (166)	
A5	Br	6-(4-Bromphenyl)-5,6-dihydro-11 <i>H-</i> pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazol (165)	
A7	CI	6-(3-Chlorphenyl)-5,6-dihydro-11 <i>H-</i> pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazol (163)	
A8	F	6-(4-Fluorphenyl)-5,6-dihydro-11 <i>H-</i> pyrido[3,2- <i>i</i>]-1-azacarbazol (164)	



Strukturformeln der 11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole (179):





Weitere Verbindungen der 11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol-Klasse (33, 184):

In dieser Arbeit häufig erwähnte Verbindungen der 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridine (27) und 6-Aminobenzo[c]phenanthridine (28):



Code	R =	IUPAC-Name
BP-D7		6-Amino-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)- benzo[c]phenanthridin (29)
BP-D8		6-Amino-11-(2,3,4-trimethoxyphenyl)- benzo[c]phenanthridin
BP-D9	()	6-Amino-11-(fur-2-yl)- benzo[c]phenanthridin
BP-D22	Meo	6-Amino-11-(3,5-dimethoxyphenyl)- benzo[c]phenanthridin

1 EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

1.1 Maligne Tumorerkrankungen

Vor keiner Diagnose hat der Mensch so viel Angst wie vor der einer bösartigen (malignen) Tumorerkrankung.¹ Diese Furcht ist berechtigt, betrachtet man die alarmierenden Daten der weltweiten Entwicklung von Krebs. Im Jahr 2012 lag die Zahl der Tumorneuerkrankungen (Inzidenz) weltweit bei 14 Millionen Fällen pro Jahr, eine Zahl, die sich rasant entwickeln wird und in den nächsten zwei Jahrzehnten auf 22 Millionen Neuerkrankungen ansteigen könnte. In dem gleichen Zeitraum wird von den derzeit 8,2 Millionen eine voraussichtliche Steigerung auf 13 Millionen Menschen zu verzeichnen sein, die pro Jahr einem Krebsleiden erliegen.² Die Ursache für diesen Trend ist dabei nicht nur der allgemeine Anstieg der Lebenserwartung der Bevölkerung, sondern auch eine disproportionale Zunahme an Krebserkrankungen in Entwicklungsländern und sich rasch industrialisierenden Regionen. So fallen bereits jetzt ca. 60% der Tumorneuerkrankungen auf Afrika, Asien und Zentral- und Südamerika, eine mangelnde Früherkennung und der fehlende Zugang zu effektiven bezahlbaren Therapien ist dabei verantwortlich dafür, dass ca. 70% der Krebstoten weltweit in diesen Gebieten ausgemacht werden. Tatsächlich könnte wahrscheinlich die Hälfte aller Erkrankungen vermieden werden, wenn das derzeitige Wissen, vor allem über Präventionsmaßnahmen, adäguat umgesetzt werden würde.² Auch in westlichen Industrienationen stellen maligne Tumorerkrankungen ein immenses, finanziell kaum beherrschbares Problem dar. Hier sind neben der Alterung der Bevölkerung und unbekannter Ätiologie vor allem eine ungesunde Lebensweise wie der Konsum von Tabak und Alkohol, falsche Ernährung, hauptsächlich durch übermäßig gezuckerte Lebensmittel, sowie unzureichende Bewegung und Übergewicht Ursachen für einen Anstieg der Tumorneuerkrankungen,²⁻⁴ wobei bereits jetzt Krebs nach den Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache in diesen Ländern darstellt.^{3,5} Als Beispiel einer westlichen Industrienation wurden 2010 in Deutschland rund 477.300 Krebserkrankungen neu diagnostiziert (Männer: 252.400; Frauen: 224.900), von denen mehr als die Hälfte der Fälle Tumore der Brustdrüse (71.000), der Prostata (65.800), des Darms (62.400) oder der Lunge (52.100) waren. Dies entsprach einem Anstieg in der Zeitspanne von 2000 bis 2010 um 21% bei Männern und 14% bei Frauen. Jeder zweite Mann und 43% aller Frauen müssen derzeit damit rechnen, im Laufe des Lebens an Krebs zu erkranken. Das mittlere Erkrankungsalter beider Geschlechter liegt in diesem Zusammenhang bei 69 Jahren.⁴

Maligne Tumoren (Malignome) bestehen aus körpereigenen Zellen, bei denen grundlegende Änderungen in ihrer genetischen Ausstattung und der Zellphysiologie dafür gesorgt haben, dass diese Zellen einem Kontrollverlust und einem ungeregelten Zellwachstum (Proliferation) unterliegen.⁶ Hierfür können einerseits eine zur homöostatischen Apoptoserate überproportionale Zunahme der Zellzahl und/oder eine durch Störungen in den Apoptosewegen erniedrigte Apoptoserate verantwortlich sein. Neben diesem permanenten unkontrollierten Wachstum und der Entstehung von Gewebsneubildungen (Neoplasien) infiltriert der Tumor in umliegende Gewebe und zerstört diese dadurch irreversivel. Die schwerwiegendste Eigenschaft von Malignomen ist die Metastasierung, die Befähigung, durch Ablösen von Tumorzellen des Primärtumors und den Transport über den Blutkreislauf oder das lymphatische System an weit entfernten Stellen des Organismus Tochtergeschwülste (Sekundärtumoren) auszubilden. Sehr oft versterben krebskranke Menschen an den Metastasen und deren Folgen und nicht an dem Primärtumor.⁵

Die dramatische Zunahme an Krebsneuerkrankungen weltweit, die Schwere vieler Krebserkrankungen, sowie die unbefriedigen Therapieoptionen trotz vielversprechender Ansätze, verlangen eine enorme Nachfrage nach neuen Behandlungsmöglichkeiten und Medikamenten, der sich die Krebsforschung in erheblich größerem Maße als derzeitig annehmen muss, um die komplexe Problematik in den Griff zu bekommen.

1.2 Therapieoptionen bei Krebs

1.2.1 Allgemeine Therapiemöglichkeiten

Da bisher keine Rückführung von Tumorzellen in normal geartete Zellen möglich ist, müssen Tumoren zerstört werden. Eine Krebstherapie ist dabei stets individuell und vor allem von Art und Fortschritt der Tumorerkrankung, sowie der Wirksamkeit und Verträglichkeit der Behandlungsmaßnahmen abhängig.⁵ Demnach muss entschieden werden, ob eine kurative Therapie, die die vollständige Heilung oder die Verlängerung des Patientenlebens über einen langen Zeitraum bewirken könnte, oder, wie zum Beispiel bei einem bereits stark metastasierenden Tumor, lediglich eine Teilremission des kranken Gewebes und eine begrenzte Verlängerung der Lebenszeit (palliative Therapie) im Vordergrund stehen soll.⁷ Zur Behandlung solider Tumoren stehen drei Therapieoptionen zur Verfügung: Die operative Entfernung, Bestrahlung und die antineoplastische Chemotherapie.⁵ Eine frühzeitige Operation in Kombination mit der Gabe von Zytostatika danach (adjuvante Chemotherapie) oder davor (neo-adjuvante Chemotherapie) bietet in diesem Zusammenhang die besten Therapieerfolge, während die alleinige Gabe von Arzneistoffen in vielen Fällen nur palliativen Charakter hat.⁷

Es gibt aber auch Krankheitsbilder, wie z.B. Keimzelltumoren oder akute lymphatische Leukämien im Kindesalter, bei denen lediglich durch die Anwendung von Zytostatika sogar bei fortgeschrittenerem Verlauf eine Heilung erreicht werden kann.⁵

Im Folgenden wird näher auf die medikamentöse Behandlung mit Zytostatika eingegangen. Zur Behandlung der meisten Krebserkrankungen sind Medikamente aus der Obergruppe der allgemein zytotoxisch wirksamen Chemotherapeutika für die Erstlinientherapie vorgesehen.⁸ Dabei werden heutzutage im Sinne einer Polychemotherapie meist mehrere Substanzen mit unterschiedlichen Angriffspunkten kombiniert verabreicht, um die Effektivität der Therapie größtenteils ohne gefährliche Erhöhung der Toxizität zu steigern und gleichzeitig Resistenzentwicklungen zu minimieren ("*Hit early, hit hard"*).^{9,5} Die Resistenzen gegenüber den Medikamenten, die auf zellulärer oder nicht-zellulärer Ebene entstehen, können ein großes Problem darstellen und zum Versagen der Therapie führen.⁵ Die Anwendung klassischer zytotoxischer Chemotherapeutika bringt zum Teil starke Nebenwirkungen mit sich, da sich die Arzneistoffe gegen im Organismus weit verbreitete, für die Zelle überlebenswichtige Strukturen richten. Deswegen sind besonders Gewebe mit hoher Proliferationsrate wie die Schleimhäute des Gastrointestinaltraktes, das Knochenmark, Haut und Haarfolikel und Keimzellen in hohem Maße betroffen.⁷ Eine Reduktion der Nebenwirkungen wird durch die intermittierende Gabe von Zytostatika erreicht, da sich das geschädigte Normalgewebe schneller von den zytotoxischen Effekten erholen kann als der Tumor.⁵ Tabelle 1.1 gibt eine Übersicht über die unterschiedlichen Gruppen der klassischen Antitumortherapeutika:

Substanzgruppe	Wirkmechanismus	Beispiele
Alkylantien	Alkylierung intrazellulärer, nukleophiler Gruppen von DNA, RNA und Proteinen	Cyclophosphamid, Busulfan, Carmustin, Cisplatin, Procarbazin
Antimetabolite	Hemmung der Nukleotidsynthese und damit der DNA und RNA	Methotrexat, Cytarabin, Gemcitabin, 6-Mercapto- purin, Pentostatin
Mitose-Hemmstoffe	Hemmung der Tubulin-Polymerisation oder Bildung funktionsunfähiger Mikrotubuli	Vinca-Alkaloide: Vincristin, Vinblastin; Taxane: Paclitaxel, Docetaxel
Topoisomerase-Hemmer	Störung der Topologie der DNA – Hemmung der DNA-Replikation	Irinotecan, Topotecan; Etoposid, Teniposid, Amsacrin
Interkalatoren	Interkalation in die DNA	Mitoxantron, Doxorubicin, Daunorubicin, Bleomycin

Tabelle 1.1: Allgemein zytotoxisch wirksame Chemotherapeutikaklassen.

Quellen: Herdegen, 2008⁶ und MUTSCHLER, 2008⁵.

Keine klassischen Zytostatika im eigentlichen Sinne sind Hormone oder Hormonantagonisten, die bereits seit langer Zeit erfolgreich bei hormonabhängig wachsenden Geschwüren, zum Beispiel bei Formen des Mammakarzinoms, eingesetzt werden.⁵

Da die Kenntnisse über die Biologie von Tumorzellen und die daran beteiligten Signalübertragungskaskaden ständig zunehmen, sind mittlerweile einige Arzneistoffe auf dem Markt, die im Sinne einer "gezielten onkologischen Therapie" selektiv verschiedene Rezeptoren von Wachstumsfaktoren, die in den meisten Fällen Kinasen sind, inhibieren.^{6,5} Ein großer Vorteil dieser Therapeutika ist, dass die Nebenwirkungen im Allgemeinen schwächer sind.⁶ Neben der Applikation neuartiger monoklonaler Antikörper wie zum Beispiel *Trastuzumab* oder *Bevacizumab*, die vorzugsweise gegen membranständige Wachstumsrezeptoren gerichtet sind, gelten vor allem kleine Moleküle aus der Klasse der Tyrosinkinase-Inhibitoren als vielversprechende Option in der Krebstherapie.⁵ Das Paradebeispiel eines erfolgreichen Kinase-Inhibitors war die Einführung von *Imatinib* im Jahre 2001 zur Behandlung der chronisch-myeloischen Leukämie (CML).



Abb. 1.1: Imatinib als selektiver Hemmstoff der Bcr-Abl Tyrosinkinase.

Imatinib hemmt ein BCR-ABL-Fusionsprotein, eine Tyrosinkinase mit verstärkter Funktion, die von 90% der Patienten mit CML exprimiert wird. Das codierende BCR-ABL-Gen entsteht durch Translokation genetischen Materials von Chromosom 9 und 22, was zur Bildung des sogenannten *Philadelphia-Chromosoms* führt.⁵ Der Arzneistoff gehört mittlerweile zur Primärtherapie bei CML und ist auch für die Behandlung gastrointestinaler stromaler Tumore zugelassen, viele weitere Studien werden derzeit durchgeführt. Der Erfolg von Imatinib führte zu einer rasanten Entwicklung weiterer Kinase-Inhibitoren,¹⁰ allein 2013 waren von allen 20 neu eingeführten Arzneimitteln in Deutschland ca. ein Drittel Zytostatika aus der Klasse dieses Verbindungstyps.¹¹ Bei aller Euphorie stehen die Entwickler dieser Derivate aber vor einigen noch zu lösenden Problemen. So ist es zum Beispiel vermehrt zu Resistenzen gegenüber Imatinib gekommen, womöglich durch Selektion einiger aggressiver Imatinib-resistenter Bcr-Abl-Mutanten durch die Imatinib-Therapie, welche im späteren Verlauf zu schwer therapierbaren Rezidiven führten.¹² Dadurch, dass die Verbindungen so akkurat an das spezifische Enzym binden, ist es für dieses kein großer Aufwand, durch nur eine geringfügige Mutation und strukturelle Veränderung die Funktion aufrecht zu erhalten, so dass kürzlich wiederum Stimmen nach unselektiveren Zytostatika (dirty drugs) lauter wurden.¹³ Nebenbei verursacht die Therapie mit Kinase-Inhibitoren immensen finanziellen Aufwand. Derzeit kostet eine Behandlung mit Glivec® (Imatinib, Novartis) pro Jahr und Patient ca. 41.000 Euro, eine einzige Tablette mit 400 mg Imatinib hat dabei eine Preis von über 100 Euro.¹⁴ Auch ein begrenztes Anwendungsspektrum von Kinase-Inhibitoren auf wenige spezifische Tumorformen schränkt die Anwendung dieser Therapeutika ein.

Für die allgemeine Tumortherapie sind die klassischen Zytostatika immer noch die wichtigsten Substanzen und Erstlinientherapeutika,⁶ so dass hier weiterhin ein enormer Bedarf an neuen Verbindungen besteht. Die Kombination von Kinase-Inhibitoren mit klassischen Chemotherapeutika scheint in diesem Zusammenhang, gerade in Hinblick auf eine Erhöhung der Effektivität der Therapie durch mehrere Angriffsorte in der Tumorzelle, eine vielversprechende Option zu sein, was in Studien erfolgreich gezeigt werden konnte.^{15,16}

1.2.2 Hemmstoffe humaner Topoisomerasen I und II

In der vorliegenden Arbeit spielen die humanen Topoisomerasen und die Hemmung der Aktivität dieser Enzyme eine übergeordnete Rolle, so dass im Folgenden eine detaillierte Betrachtung der Therapieoptionen im Zusammenhang mit Aktivitäten gegenüber diesen Proteinen abgehandelt wird.

Bei Säugetieren sind insgesamt sechs Gene beschrieben, die für Enzyme der Topoisomerasen kodieren. Davon kodieren zwei für Proteine der Topoisomerase I-Familie, zwei weitere tragen die Informationen der Topoisomerase II-Unterklasse und zwei kodieren für Topoisomerase III-Enzyme.¹⁷ Diese Enzyme sind für das Überleben nahezu jeden Lebewesens essentiell, da sie an fast allen Prozessen beteiligt sind, die mit der geometrischen Anordnung (Topologie) der DNA und/oder Bewegungsabläufen von DNA im Zellkern verknüpft sind.^{18,19} Im Zusammenhang mit dem ubiquitären Vorkommen dieser Enzyme sind Topoisomerasen somit bedeutende klinisch validierte Targets in der Krebstherapie.¹⁸

Bei bestimmten Prozessen im Zellkern, vor allem bei der DNA-Replikation, Transkription und Chromosomentrennung, muss die DNA partiell entwunden werden, was sogenannte positive und negative Überspiralisierungen (Ver- und Entdrillungen der DNA) zur Folge hat. Topoisomerasen sind in diesem Zusammenhang in der Lage, durch nukleophilen Angriff am Desoxyribose-Phosphat-Rückgrat der DNA vorübergehend Strangbrüche einzuführen und die DNA, zum Beispiel nach erfolgter Replikation, im Nachhinein wieder zu verschließen (Ligation).⁵

Eukaryotische Typ I Topoisomerasen sind monomere Enzyme, unterteilbar in die Unterklassen Typ IA und Typ IB. Sie katalysieren frei von energieliefernden Kofaktoren die Bildung von DNA-Einzelstrangbrüchen, gefolgt vom Hindurchleiten des intakten Strangs durch die Bruchstelle (Typ IA) oder einer Rotation dessen um den Bruch (Typ IB).¹⁸ Zum Zeitpunkt des transienten Einzelstrangbruchs ist der sogenannte spaltbare Komplex (*cleavage complex*) aus Topoisomerase I und der DNA verwundbar, so dass sich kleine Moleküle in die entstandene Lücke einlagern, mit dem Komplex interagieren und somit zum permanenten Bestehen dieser Komplexe führen können (Abb. 1.2).



Abb. 1.2: Schematische Darstellung der Stabilisierung spaltbarer DNA/Topoisomerase-Komplexe durch Topoisomerase-Gifte. Grafik in Anlehnung an POMMIER.¹⁷

Es ist hinreichend belegt, dass hohe Spiegel an diesen spaltbaren Komplexen in der Zelle Todessignalwege aktivieren, respektive zu Modifikationen der DNA, wie unter anderem zu persistierenden Doppelstrangbrüchen, führen können, die letztendlich die Apoptose der Zelle einleiten.¹⁹ In der Chemotherapie zugelassene Topoisomerase I-Hemmstoffe werden daher auch als Topoisomerase I-Gifte bezeichnet, da sie den spaltbaren Komplex aus Topoisomerase und DNA in ein zelluläres Toxin verwandeln, was für die Zelle letale Konsequenzen bedeutet.

Das natürliche Alkaloid *Camptothecin,* isoliert aus *Camptotheca acuminata*, war der erste Vertreter von Topoisomerase I-Giften, welches allerdings aufgrund seiner schlechten Wasserlöslichkeit nie zur Verwendung als Zytostatikum in Betracht gezogen wurde.¹⁹ Zwei halbsynthetische Derivate des *Camptothecins Irinotecan* und *Topotecan* sind hingegen weltweit zur Behandlung maligner Erkrankungen zugelassen. Das pro-drug *Irinotecan* ist Erstlinientherapeutikum beim metastasierenden Dickdarmkrebs, *Topotecan* wird bei bei der Behandlung des Ovarialkarzinoms und des kleinzelligen Bronchialkarzinoms (SCLC = *small cell lung cancer*) eingesetzt.⁶ Trotz relevanter Erfolge in der Krebstherapie zeigen Topoisomerase I-Gifte mit *Camptothecin*-Grundgerüst einige Nachteile auf. Zum Teil sind schwere Nebenwirkungen, wie Knochenmarksupression und Leukozytopenie beschrieben.^{19,6}

Außerdem sind die Verbindungen hydrolyseempfindlich. Die zur Lactonstruktur entsprechende ringoffene Form ist Topoisomerase I-inaktiv und hat eine hohe Plasmaeiweißbindung. Modifikationen an der Lactonstruktur, wie eine Ringerweiterung bei *Diflomotecan* (5) oder dem Austausch des Lactons durch ein Keton, verwirklicht in S39625 (6), führten zu hydrolysestabilen Verbindungen, welche sich in klinischen Studien befinden (Abb. 1.3).¹⁹



Abb. 1.3: Camptothecin und halbsynthetische Derivate des Camptothecins.

Mehrere Topoisomerase I-Gifte mit nicht-*camptothecin*artiger Struktur befinden sich derzeit in der präklinischen/klinischen Entwicklung. Wichtige Vertreter dieser Stoffe basieren auf dem Benzo[c]phenanthridin-Grundgerüst und werden in **Abschnitt 1.3.2** behandelt.

Eukaryotische Typ II Topoisomerasen sind Homodimere und benötigen Magnesium-Ionen, sowie ATP (Adenosintriphosphat) als Kofaktor, um katalytische Aktivität zu zeigen.¹⁸ Das Enzym ist durch die dimere Struktur in der Lage, an zwei vier-Basenpaare entfernten Stellen der beiden DNA-Stränge zu binden, an einem der katalytischen Zentren einen DNA-Doppelstrangbruch herbeizuführen, das zweite DNA-Segment durch die entstandene Lücke zu manövrieren und abschließend eine Ligation der Stränge zu bewirken. Es vermag, wie auch die Topoisomerase I, sowohl negative als auch positivte Überspiralisierungen aufzuheben und ist zusätzlich in der Lage, durch die Einführung von Doppelstrangbrüchen in der DNA entstandene Knoten und knäuelartige Strukturen zu entfernen.^{18,20} Höhere Wirbeltiere exprimieren zwei Topoisomerase II-Isoformen, IIα und IIβ. Die beiden Isoformen zeigen 70% Sequenzhomologie und ähneln sich auch in ihren Funktionen sehr stark.¹⁸

8| Einleitung

Es konnte gezeigt werden, dass vor allem die α-Variante für das Überleben proliferierender Zellen essentiell ist,²¹ während die β-Form von Wachstumsstatus und Zellzyklus der Zelle unabhängig zu sein scheint.¹⁸ Unter anderen deswegen werden der aktuellen Datenlage nach die Nebenwirkungen von Topoisomerase II-Hemmstoffen, zum Beispiel der Kardiotoxizität von Anthrazyklinen, sowie die beschriebene Induktion sekundärer Leukämien hervorgerufen durch eine Chemotherapie mit Topoisomerase II-Hemmern in Verbindung mit einer Adressierung der Topoisomerase IIβ gebracht.^{18,22} Der Mechanismus von Topoisomerase II-Hemmern, die im Wesentlichen Topoisomerase II-Gifte sind, besteht in der Stabilisierung der spaltbaren Komplexe aus Enzym und DNA und einer damit verbundenen Verhinderung der erneuten Ligation der DNA-Stränge mit den bereits für Topoisomerase I-Gifte beschriebenen toxischen Folgen für die Zelle. In Abbildung 1.4 ist eine Übersicht über die in der Chemotherapie angewandten Topisomerase II-Gifte dargestellt.



Abb. 1.4: In der Chemotherapie eingesetzte Topoisomerase II-Gifte.¹⁸

Topoisomerase II-Hemmstoffe sind bei einer Vielzahl systemischer Krebserkrankungen und solider Tumoren indiziert und gehören zumeist zu den Erstlinientherapeutika. Tatsächlich beinhaltet fast jedes Therapieschema, das auf eine kurative Therapie abzielt, mindestens ein Topoisomerase II-Gift. Dabei wirken alle Substanzen unselektiv auf beide Isoformen, echte isoformspezifische Wirkstoffe sind bisher in der Chemotherapie nicht verfügbar.¹⁸

An dieser Stelle nicht aufgeführt sind Forschungsansätze zu Inhibitoren der Topoisomerase II, welche mit der ATP-Binderegion interagieren.¹⁸

1.3 Benzo[c]phenanthridine

Benzo[*c*]phenanthridin ist ein auf dem Chrysen-Grundgerüst basierendes heterotetrazyklisches System, dessen erstmalige Erwähnung in der Literatur durch PROBST im Zusammenhang mit Inhaltsstoffen des Schöllkrauts (*Chelidonium maius*) auf das Jahr 1839 zurückgeht.²³



Abb.1.5: Die Ringsysteme Chrysen und Benzo[c]phenanthridin.²⁴

Für unterschiedlich substituierte Benzo[c]phenanthridine wurde eine Vielzahl an pharmakologischen Aktivitäten gefunden, die vor allem zytotoxischer, aber auch antimikrobieller, antiinflammatorischer und antidiabetischer Natur sind.^{25–28} Dieses heterozyklische Grundgerüst ist daher ein wichtiger Ausgangspunkt für die Entwicklung von Arzneistoffen, die seit Beginn der 70er Jahre mit der Isolierung und Charakterisierung wichtiger Benzo[c]phenanthridin-Alkaloide intensiviert wurde (**Abschnitt 1.3.1**) und derzeit, gerade in Hinblick auf die Entwicklung von Krebstherapeutika, wichtige synthetische Verbindungen hervorbringt (**Abschnitt 1.3.2**).

1.3.1 Natürlich vorkommende Benzo[c]phenanthridin-Alkaloide

Über 30 natürliche Alkaloide mit Benzo[c]phenanthridin-Grundgerüst sind mittlerweile durch Isolation aus verschiedenen Pflanzenarten zugänglich gemacht worden, die zumeist den Pflanzenfamilien der *Papaveraceae* und *Rutaceae* angehören.^{29,30} Die Substanzen können auf vier Grundstrukturen eingegrenzt werden (Abb. 1.6).³¹



Abb. 1.6: Natürlich vorkommende Alkaloide der Benzo[c]phenanthridin-Klasse.

Hauptalkaloide sind zumeist *Sanguinarin* und *Chelerythrin*, hinsichtlich einer antitumoralen Aktivität *in vitro* und *in vivo* zeigten jedoch *Fagaronin* und *Nitidin* die vielversprechendsten Eigenschaften.^{30,26,32} Nach der erstmaligen Isolation von *Fagaronin* durch MESSMER *et al.* im Jahr 1972 wurden die Substanzen intensiv untersucht,³³ dabei konnte *in vitro* eine ausgeprägte Hemmung der Topoisomerasen I und II und ein gutes DNA-Interkalationsvermögen,^{34–36} sowie ausgeprägte *in vivo*-Aktivitäten gegenüber murinen Leukämien und des Kolonkarzinoms gezeigt werden.^{33,37} Die gute *in vivo* antileukämische Aktivität wurde unter anderem mit dem quartären Stickstoffatom in 5-Position in Zusammenhang gebracht.²⁶ *Fagaronin* und *Nitidin* sind auch synthetisch zugänglich, was allerdings für beide Alkaloide über verschiedene Routen nur in geringen bis sehr niedrigen Ausbeuten gelang.^{38–40}

Letztendlich wurde die weitere Entwicklung von *F.* und *N.* zur Anwendung als Zytostatika, die vor allem vom *National Cancer Institute* (NCI, Maryland, USA) durchgeführt wurde, aufgrund akuter Toxizitäten in Tierstudien gestoppt.⁴¹ In der heutigen Entwicklung gelten *Fagaronin* und *Nitidin* aber als Modellverbindungen, vor allem für die zielgerichtete Forschung an selektiven und hochpotenten Hemmstoffen humaner Topoisomerasen.^{19,42} Mehrere vielversprechende, auf der Weiterentwicklung der Grundstruktur dieser natürlichen Benzo[*c*]phenanthridine beruhender Substanzen befinden sich derzeit in klinischen Studien der Krebstherapie und werden im folgenden Abschnitt diskutiert.

1.3.2 Aktuelle Topoisomerase-Hemmstoffe abgeleitet von Benzo[c]phenanthridinen

Seit der Entdeckung der natürlichen Benzo[*c*]phenanthridin-Alkaloide in den 70er Jahren wurde eine Vielzahl an synthetischen Modifikationen am Benzo[*c*]phenanthridin-Grundgerüst vorgenommen, um zu potenten Antitumortherapeutika zu gelangen. In Abb. 1.7 sind Verbindungen dargestellt, die, orientierend an den natürlichen Leitstrukturen, vielversprechende Hemmeigenschaften gegenüber Topoisomerasen, sowie ausgeprägte zytotoxische Eigenschaften besitzen und demnach größtenteils zu klinischen Studien zugelassen wurden.



Abb. 1.7: Vielversprechende von Benzo[c]phenanthridin-Alkaloiden abgeleitete Substanzen.

In Abb. 1.7 ist ersichtlich, dass alle aufgeführten Strukturen Methoxy- und/oder Methylendioxygruppen im tetrazyklischen Ringgerüst aufweisen. Dabei entspricht die 2,3,8,9-Substitution von *Topovale* dem Substitutionsmuster des *Nitidins*, auch die 5,11-Diketoindenoisochinoline NSC 725776 und 724998 sind sehr ähnlich strukturiert. Das quartäre Ammoniumion ist nur noch in der Verbindung NK314 realisiert, bei allen anderen Derivaten wurde dieses Strukturelement gegen eine basische hydrophile Seitenkette ersetzt. Das Benzo[*c*][1,6]phenanthrolinon-Derivat *Topovale* ist ein hochpotentes Topoisomerase I-Gift, das zytotoxische Eigenschaften im unteren nanomolaren Bereich aufweist und in mehreren humanen Tumor-Xenograft-Studien eine gute Wirksamkeit, zum Beispiel im HCT-8 Colon-Tumormodell und auch bei *Camptothecin*-resistenten Tumoren, zeigen konnte.⁴³ Es befindet sich derzeit in klinischen Studien in Phase I.¹⁹ Auch die nanomolar zytotoxisch wirksamen Topoisomerase I-Gifte NSC 725776 und NSC734998 wurden unter den Namen *Imiditecan* und *Indotecan* zu über das NCI finanzierten klinischen Studien zugelassen.⁴⁴ Für Verbindung 35-k7887 konnten wachstumshemmende Eigenschaften auf Tumorzellen im nanomolaren Bereich gefunden werden, eine Hemmung humaner Topoisomerasen wurde jedoch nicht beobachtet.⁴² Die einzige, sich derzeit in klinischen Studien (Japan) befindliche Substanz mit Benzo[*c*]phenanthridin-Grundgerüst, die die Topoisomerase II adressiert, ist NK314. Die Substanz weist eine Präferenz für die Topoisomerase II α auf und ist damit die erste beschriebene Verbindung mit einer gewissen Selektivität für die α -Isoform,⁴⁵ während Topoisomerase II β -selektive Verbindungen bereits bekannt waren.⁴⁶

1.3.3 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine

Eine einfache und effiziente Möglichkeit zur Darstellung des tetrazyklischen Benzo[c]phenanthridin-Systems konnten 1995 CLEMENT und WEIDE aufzeigen. Sie beschrieben eine Eintopf-Synthese, die unter vergleichsweise milden Bedingungen zu 6-Aminobenzo[c]phenanthridinen führte.47,48 Die basenkatalysierte Kondensation von zwei Äquivalenten o-Tolunitril 25 mit einem Äquivalent einer (vorzugsweise aromatischen) Aldehydkomponente 26 in dem dipolaren aprotischen Lösungsmittel DMPU (1,3-Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-(1H)-pyrimidin-2-on) eröffnete eine hohe synthetische Variabilität durch Austausch der Aldehydkomponente 26 und damit der Möglichkeit der Synthese einer bemerkenswerten Bandbreite unterschiedlich an 11-substituierten 6-Aminobenzo[c]phenanthridin-Derivaten.^{47,49} Die aus der Eintopf-Synthese erhaltenen 11,12-Dihydro-Derivate **27** konnten in einem weiteren Schritt mit DDQ (2,3-Dichlor-5,6-dicyan-p-benzochinon) zu den entsprechenden vollständig ungesättigten Heterozyklen 28 umgesetzt werden (Abb. 1.8).



Abb. 1.8: Zweistufige Synthese von 6-Aminobenzo[c]phenanthridinen nach CLEMENT und WEIDE.⁴⁷

Eine Vielzahl an in 11-Position unterschiedlich substituierten Verbindungen konnte auf diese Art und Weise hergestellt werden.^{48,50–52} Auch die Aminogruppe konnte durch einige Funktionen, hier seien beispielhaft eine Oxo-Gruppe, oder ein Chloratom erwähnt, ersetzt oder auch entfernt werden.^{51,52} Desweiteren gelang durch den Einsatz von Formaldehyd in der Eintopf-Synthese und anschließender reduktiver Desaminierung in insgesamt vier Schritten ebenfalls ein bisher unbekannter Zugang zu dem komplett unsubstituierten Benzo[c]phenanthridin **15**.⁵³

Die beschriebenen 6-Aminobenzo[c]phenanthridine und 11,12-Dihydro-Analoga wurden intensiv auf ihr Antitumorpotential untersucht. Im *NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screening* des NCI konnten für einige Derivate wachstumshemmende Eigenschaften auf Tumorzellen *in vitro* gefunden werden, die kleiner 1 µM lagen und somit aktiver als die natürlichen Alkaloide *Fagaronin* und *Nitidin* waren. Die wirksamsten Substanzen waren hier im Wesentlichen 11-di- oder 11-trimethoxyphenylsubstituierte Verbindungen.^{49,52} Die Einführung von Methoxygruppen in das tetrazyklische Grundgerüst hingegen führte zu keiner signifikanten Erhöhung der Zytotoxizität.⁴⁹ Auch erste *in vivo*-Studien wurden am NCI durchgeführt, im sogenannten *in vivo hollow fiber assay* konnten sich die untersuchten Verbindungen als wirksam erweisen, das vielversprechendste Derivat war in diesem Kontext BP-D7 (**29**), welches einen 11-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)Rest aufweist.⁵⁰

Die hinsichtlich ihrer Wirkmechanismen untersuchten 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine entpuppten sich als *dirty drugs*. Für mehrere Verbindungen wurde die Fähigkeit zur Interkalation in die DNA bestätigt. Untersuchungen auf Topoisomerasehemmungen in Kooperationsarbeiten identifizierten BP-D7 (**29**) aus acht untersuchten Derivaten als Topoisomerase I- und II-Gift, was eventuell dessen gutes Abschneiden in den *in vivo*-Studien des NCI erklären könnte (Abb. 1.9).⁵⁴ Untersuchungen zum Wirkmechanismus von BP-11 (**30**) zeigten dass durch die Herunterregelung von apoptosehemmenden Proteinen wie Survivin und INCENP und mitotischen Veränderungen in der Zelle durch BP-11 die Apoptose eingeleitet wurde.⁵⁵



Abb. 1.9: Das Topoisomerase-Gift BP-D7 (29) und das antimitotisch wirksame BP-11 (30).^{54,55}

Trotz der vielversprechenden antitumoralen Eigenschaften der Substanzklasse *in vitro* und *in vivo* war ein potentieller Einsatz dieser Moleküle als Arzneistoffe als kritisch zu beurteilen. Neben einer hohen Lipophilie war vor allem die Löslichkeit der 6-Aminobenzo[*c*]-phenanthridine und 11,12-Dihydroformen, die in wässrigen Medien lediglich im nano-molaren bis unteren mikromolaren Bereich anzusiedeln war, ein Kriterium dafür, dass die Weiterentwicklung der Substanzklasse gerade in Hinblick auf eine daraus resultierende schlechte Bioverfügbarkeit nicht erstrebenswert war.⁵⁶ Ein Ansatz, dieser Problematik entgegenzuwirken, wurde von ZUR NIEDEN erprobt, die Löslichkeit eines von ihr synthetisierten 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridins mit Ethylendiamin-Seitenkette in der 6-Position lag in diesem Zusammenhang im unteren millimolaren Bereich.⁵²

Da für mehrere Derivate der Substanzklasse allerdings starke phototoxische Eigenschaften nachgewiesen werden konnten,⁵⁷ wurde im Einklang mit dem ungünstigen physikochemischen Profil die Entwicklung möglicher Arzneistoffkandidaten aus der Klasse der beschriebenen Benzo[c]phenanthridin-Verbindungen nicht weiter in Betracht gezogen und dieses Forschungsprojekt mit der Darstellung aza-analoger Benzo[c]phenanthridine und strukturähnlicher Verbindungen fortgeführt.

1.4 Stickstoffhaltige Tetrazyklen abgeleitet vom Benzo[*c*]phenanthridin-Grundgerüst

Um durch zusätzliche endozyklische Stickstoffatome und der damit verbundenen erhöhten Polarität des Gerüstes und zusätzlichen Möglichkeiten der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen eine eventuelle Verbesserung der Löslichkeit und Erniedrigung der Lipophilie zu erreichen, wurden Aza-Analoga der Benzo[c]phenanthridin-Klasse synthetisiert. Die aromatische C=CH-Einheit entspricht in ihrer Elektronenbilanz der C=N-Einheit, daher findet der Austausch dieser und anderer Molekülteile durch entsprechende isostere Gruppen häufig Anwendung in der Arzneistoffentwicklung.⁵⁸ Die in diesem Falle postulierte erniedrigte Lipophilie könnte sich zudem auch positiv auf die phototoxischen Eigenschaften der neu entstandenen Heterozyklen auswirken. In diesem Zusammenhang wurde in der Literatur für mehrere stickstoffhaltige Heterozyklen eine erniedrigte Phototoxizität verglichen mit den entsprechenden Carbozyklen beschrieben, die unter anderem auf die reduzierte Lipophilie der aza-analogen Verbindungen zurückgeführt wurde.^{59,60}

STENZEL konnte bereits zeigen, dass die von CLEMENT und WEIDE etablierte Syntheseroute zur Darstellung von 11-substituierten 6-Aminobenzo[c]phenanthridinen nicht auf den Einsatz carbozyklischer *o*-Methylarylnitrile beschränkt ist, indem er verschiedene Pyridin-Analoga mit unterschiedlichen Aldehyden kondensieren ließ und damit zu drei neuen Heterozyklen-klassen gelangte. Diese Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline (**31**), Pyrido[2,3-c][1,10]phenanthroline (**32**) und 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole (**33**) sind Gegenstand der vorliegenden Arbeit und werden in den folgenden Unterkapiteln im Detail beschrieben.
1.4.1 Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline

Das Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-Grundgerüst **31** besteht formal aus einem 1,9-Phenanthrolin-Stammsystem **35**, welches an der *c*-Seite mit einem Pyridinring **34** über dessen Positionen 3 und 4 anelliert ist (Abb. 1.10):



Abb. 1.10: IUPAC-Benennung und Bezifferung der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinklasse.

Bei der systematischen Benennung des Heterozyklensystems wird in der ersten Klammer die Position und Ausrichtung der Anellierung beschrieben, der zweite Term nennt die ursprünglichen Positionen der Stickstoffatome des Phenanthrolin-Stamms vor der Anellierung.²⁴ Zur endgültigen Bezifferung des resultierenden Ringsystems erfolgt zunächst eine Ausrichtung des Moleküls im Raum auf eine Art und Weise, in der möglichst viele Ringe horizontal, sowie im oberen rechten Quadranten ausgerichtet sind. Der niedrigste Lokantensatz für alle Heteroatome gemeinsam determiniert aus zwei möglichen Ausrichtungs- und Bezifferungsmöglichkeiten die in Abb. 1.10 dargestellte Bezifferung als die korrekte Variante.²⁴

Entsprechende 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **37** können durch die Kondensation von zwei Äquivalenten 4-Methylpyridin-3-carbonitril (**36**) mit einer Aldehydkomponente **26** in der beschriebenen Eintopf-Synthese nach CLEMENT und WEIDE bei Raumtemperatur im Stickstoffstrom dargestellt werden (Abb. 1.11).^{61,47} STENZEL gelang auf diese Art und Weise bereits die Synthese von vier in 11-Position unterschiedlich substituierten Derivaten dieser zuvor nicht zugänglichen Heterozyklenklasse, die nunmehr zwei zusätzliche Stickstoffatome an den beiden Positionen 3 und 8 aufweist.⁶¹



Abb. 1.11: Synthese von 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen.^{61,47}

Abbildung 1.12 zeigt den basisch katalysierten Reaktionsmechanismus im Detail, der analog zur Bildung der 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridine **27** verläuft:



Abb. 1.12: Der zur Bildung der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 37 postulierte Reaktionsmechanismus.⁶¹

1.4.2 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole und Pyrido[2,3-*c*][1,10]phenanthroline

Bei der Umsetzung von 3-Methylpyridin-2-carbonitril (**38**) in der Eintopf-Synthese nach CLEMENT und WEIDE konnte STENZEL bei variierenden Reaktionszeiten und Temperaturen überraschenderweise neben der Bildung der zu erwartenden nicht literaturbekannten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[2,3-c][1,10]phenanthroline **49** die gleichzeitige Formation einer anderen Substanzklasse mit neuartiger Struktur, den 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolen **40**, nachweisen. (Abb. 1.13). ⁶¹



Abb. 1.13: Der Einsatz von 3-Methylpyridin-2-carbonitril führte überraschenderweise zu zwei gleichzeitig entstehenden neuen Substanzklassen.⁶¹

Die systematische Benennung der Pyrido[2,3-*c*][1,10]phenanthroline **32** erfolgt analog zu **Abschnitt 1.4.1**, daher wird hier nur die Benennung der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **33** erläutert (Abb. 1.14).



Abb. 1.14: IUPAC-Benennung und Bezifferung der 11H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazolklasse 33.

Das Stammsystem besteht bei dieser Verbindungsklasse aus einem 9*H*-1-Azacarbazol (**41**), das über die *i*-Seite mit Pyridin (**34**) über dessen Positionen 2 und 3 anelliert ist. Da die Bezifferung im ursprünglichen Stammsystem beim N-1-Atom beginnt und bei fortlaufender Zählweise zuerst auf die 3-Position des Pyridins trifft, ergibt sich der Term [3,2-*i*]. Die räumliche Ausrichtung des anellierten Moleküls im Raum erfolgt erneut dahingehend, dass möglichst viele Ringe horizontal, sowie im oberen rechten Quadranten ausgerichtet sind.

Damit ergibt sich nur eine mögliche Ausrichtung des 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazols (**33**), die Bezifferung beginnt im oberen rechten Quadranten an der ersten, nicht an der Anellierung beteiligten Position und setzt sich im Uhrzeigersinn fort.²⁴

Der Reaktionsmechanismus zur Bildung der beiden in diesem Abschnitt dargestellten Heterozyklenklassen **39** und **40** stimmt nahezu vollständig überein und gleicht bis auf die veränderten Positionen der Ringstickstoffatome (4 und 7) der Entstehung der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline (**37**) (Abschnitt 1.4.1). Lediglich der finale Schritt ist unterschiedlich: Ausgehend von der letzten gemeinsamen Zwischenstufe **42** erfolgt zur Bildung des entsprechenden 1,10-Phenanthrolin-Derivats **39** in bekannter Weise der Angriff des deprotonierten Enamin-Stickstoffs am positiv polarisierten Nitril-Kohlenstoffatom, gefolgt von einem Protonierungs- und Tautomerisierungsschritt. Zusätzlich ereignet sich ein überraschender nukleophiler Angriff des Enamin-Anions von **42** direkt am Ringgerüst unter dem Austritt von Cyanid, was zur Bildung des Azacarbazol-Derivates **40** führt. Dieser Angriff wird durch die direkte Nachbarschaft zum endozyklischen Stickstoffatom ermöglicht, der zu einer für einen nukleophilen Angriff ausreichenden Elektronenarmut des betroffenen Kohlenstoffatoms in *ortho*-Position führt (Abb.1.15).⁶¹



Abb. 1.15: Postulierter Reaktionsmechanismus zur Bildung der beiden Stoffklassen 39 und 40 ab der letzten gemeinsamen Zwischenstufe 42.

1.5 Zielsetzung der Arbeit

Hauptziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung eines aza-analogen Benzo[*c*]phenanthridin-Derivats mit herausragenden zytotoxischen Eigenschaften, das gleichzeitig ein physikochemisches Profil besäße, welches eine Anwendung als Arzneistoff in der Krebstherapie erlaubte.

Dafür sollten in einer ersten Phase unter Einbezug der über die Substanzklasse der 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine **27** vorhandenen Informationen breite Substanzbibliotheken durch Variation der Aldehydkomponente in der vorgestellten Syntheseroute nach CLEMENT und WEIDE an 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen **37**, 6-Amino-11,12dihydroyrido[2,3-*c*][1,10]phenanthrolinen **39** und 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolen **40** aufgebaut werden. Das Potential an synthetisch möglichen Verbindungen bezogen auf die eingesetzte Nitrilkomponente sollte evaluiert werden, bevorzugt könnten letztere mit den Aldehyden umgesetzt werden, die bei den 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridinen **27** zu den *in vitro* wirksamsten Verbindungen geführt haben. Gleichzeitig müsste ein Oxidationsverfahren entwickelt werden, welches effektiven Zugang zu den gänzlich ungesättigten Heterozyklensystemen böte.

Die dargestellten Substanzen sollten im standardisierten *NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screening (NCI-60 screening)* auf ihr zytotoxisches Potential im Sinne eines Primärscreenings untersucht werden. Daraus sollten Struktur-Wirkungs-Beziehungen abgeleitet werden und unter Zuhilfenahme des Molecular Modelling-Programms *Maestro* (Schrödinger[®]) und Docking-Studien an in Frage kommenden Zielstrukturen vor allem an humanen Topoisomerasen die erhaltenen Informationen validiert und gegebenenfalls erklärt werden.

Weitere synthetische Ziele waren die Annäherung an die natürlichen Leitstrukturen *Fagaronin* **16** und *Nitidin* **17**, realisierbar durch die Darstellung von im tetrazyklischen Grundgerüst methoxy- und/oder methylendioxysubstituierten Molekülen, sowie der Zugang zu den gänzlich unsubstituierten Systemen Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (**31**), Pyrido[2,3-*c*][1,10]phenanthrolin (**32**) und Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol (**33**) (Abb. 1.16).



Abb. 1.16: Vollständig unsubstituierte Vertreter der drei in dieser Arbeit thematisierten Heterozyklenklassen.

Einhergehend mit der Synthese verschiedener Vertreter der Substanzklassen wären die neuen Heterozyklenklassen hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften umfassend zu charakterisieren, so dass Aussagen über eine eventuelle verbesserte Löslichkeit der Verbindungen in wässrigen Medien, sowie eine Erniedrigung der Lipophilie durch die zusätzlichen endozyklischen Stickstoffatome allein und durch weitere eventuell vorgenommene Strukturabwandlungen zur Löslichkeitsverbesserung getroffen werden können.

Aus diesem Kontext heraus war die Überprüfung der phototoxischen Eigenschaften der Heterozyklen eine entscheidende Untersuchung, weil eventuell positive Befunde zur Phototoxizität zu einem Abbruch der weiteren Forschung an der entsprechenden Substanzklasse führen könnten.

Die zweite Phase sollte durch die Strukturoptimierung zuvor identifizierter Derivate mit vielversprechender *in vitro*-Zytotoxizität im *NCI-60 screening* gekennzeichet sein. Die Optimierung bezöge sich dabei sowohl auf eine eventuelle weitere Verbesserung des zytotoxischen Potentials durch das Adressieren bestimmter Zielenzyme insbesondere Topoisomerasen als auch der Erhöhung der Wasserlöslichkeit etwaiger Verbindungen in pharmazeutisch relevante Bereiche. In Analogie zu aktuellen strukturverwandten Molekülen aus der Literatur sollte hier in erster Linie die Einführung hydrophiler basischer Seitenketten an das entsprechende Grundgerüst erfolgen.



Abb. 1.17: Plan zur Strukturoptimierung mittels hydrophiler basischer Seitenkette(n).

Im Anschluss sollten die auf diese Weise strukturoptimierten Substanzen hinsichtlich ihres Wirkmechanismus untersucht werden. Dafür kamen vor allem der Vergleich des spezifischen Zellantwortmusters der 60 Tumorzellen des *NCI-60 screenings* auf die Substanz mit den entsprechenden Mustern von Stoffen mit bekanntem Wirkmechanismus (*NCI-COMPARE*-Programm), sowie theoretische Betrachtungen unter Einbezug der Literatur und computer-gestützter Verfahren im Sinne von *Docking*-Studien an Zielenzymen in Frage. Die aufgestellten Theorien zum Wirkmechanismus sollten durch *in vitro*-Testung in geeigneten Enzymassays verifiziert werden.

2.1 Synthetische Arbeiten zur Substanzklasse der Pyrido-[3,4-c][1,9]phenanthroline

Die 1995 von CLEMENT und WEIDE etablierte Syntheseroute, welche die Kondensation zweier Moleküle eines *o*-Methyl-(het)arylnitrils mit vorzugsweise aromatischen Aldehyden in der Anwesenheit der starken Base Kalium-*tert.*-butanolat in DMPU (1,3-Dimethyltetrahydropyrimidin-2-on) beschreibt, bietet einen einfachen und effizienten Zugang zu tetrazyklischen, auf dem Chrysen-Grundgerüst basierenden Systemen.⁴⁷ Mit Hilfe dieser Syntheseroute konnten zahlreiche Derivate der 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine mit vielversprechender Zytotoxizität *in vitro* (Gl_{50/60} < 1 μ M) im "NCI-60 screening", sowie *in vivo* im "*in vivo* hollow fiber assay" des National Cancer Instituts (NCI) erfolgreich entwickelt werden.⁴⁹

Aufgrund der nachteiligen physikochemischen Eigenschaften der 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine, hier ist vor allem die schlechte Wasserlöslichkeit zu nennen, sowie ausgeprägten phototoxischen Eigenschaften, war eine Weiterentwicklung dieser Substanzklasse bis hin zu potentiellen Arzneistoffkandidaten nicht erstrebenswert.⁵²

Ein Ansatz, diesen unvorteilhaften Eigenschaften entgegenzukommen, war das Inkorporieren zusätzlicher Stickstoffatome in den viergliedrigen Grundkörper. STENZEL konnte durch den Einsatz von 4-Methylpyridin-3-carbonitril (**36**) in der Syntheseroute nach CLEMENT und WEIDE zu der neuen Heterozyklenklasse der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]-phenanthroline (**37**) gelangen, die nunmehr 2 zusätzliche Stickstoffatome an den Positionen 3 und 8 enthält (Abb. 2.1).⁶¹



Abb. 2.1: Synthese von 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen (37) nach STENZEL.⁶¹

2.1.1 Darstellung 11-substituierter 6-Amino-11,12-dihydropyrido-[3,4-*c*][1,9]phenanthroline

Durch den in Abb. 2.1 dargestellten Austausch von *o*-Tolunitril gegen 4-Methylpyridin-3carbonitril in der klassischen Syntheseroute nach CLEMENT und WEIDE konnte STENZEL bereits vier Derivate des Verbindungstyps **37** mit Methoxyphenyl-, sowie Alkylphenylsubstitution in 11-Position, und die 11-unsubstituierte Verbindung darstellen.⁶¹

Ein primäres Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die breite Anwendbarkeit dieser Eintopf-Synthese mit der entsprechenden Nitrilkomponente **36** aufzuzeigen. Daher wurde eine große Bandbreite an Aldehyden eingesetzt, um zu einer aussagekräftigen Substanzbibliothek an sowohl potentiell zytostatisch wirksamen, als auch synthetisch möglichen Heterozyklen zu gelangen. Hierbei war es möglich, durch die an diese Substanzklasse adaptierte Synthesemethode von STENZEL 18 neue in 11-Position unterschiedlich substituierte Verbindungen zu synthetisieren, welche in Abb. 2.2 aufgeführt sind (sechs mono- und polymethoxyphenyl-, sieben halogenphenylsubstituierte Verbindungen, sowie fünf weitere Derivate mit unterschiedlichen Resten in 11-Position, darunter auch ein aliphatischer Rest). Die Reaktionsbedingungen konnten bis auf eine zum Teil erforderliche Erhöhung der Reaktionszeit auf drei Stunden übernommen werden. Die Aufreinigung der Moleküle erfolgte mittels Umkristallisation aus Dichlormethan/Methanol oder säulenchromatographisch an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (5-20%)).

Betrachtet man die Ausbeuten der synthetisierten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthroline **37**, liegen diese im Bereich von 14 – 69%, wobei die methoxyphenylsubstituierten Derivate die höchsten Ausbeuten lieferten, während bei den halogenphenylsubstituierten Heterozyklen im Durchschnitt weniger Produkt zu isolieren war (Abb. 2.2). Im Allgemeinen waren die Ausbeuten verglichen mit den Synthesen der 6-Amino-11,12dihydrobenzo[*c*]phenanthridine **27** leicht niedriger, so konnte WOLSCHENDORF Ausbeuten zwischen 30 – 81% vorlegen, Kock beschrieb einen Bereich von 23 – 89%.^{50,51}



Methoxyphenyl-Substituenten (R =):



Halogenphenyl-Substituenten (R =):



Abb. 2.2: Neue 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-Derivate mit Ausbeuten.

Die spektroskopische Charakterisierung eines 11-substituierten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolins **37** erfolgte bereits beispielhaft für die Verbindung 6-Amino-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (**46**) durch STENZEL.⁶¹

Neben den in Abb. 2.2 dargestellten Verbindungen sollten ebenfalls verschiedene Hydroxyund Hydroxy-alkoxybenzaldehyde eingesetzt werden. Die Hydroxyfunktion ist nicht nur durch ihre lösungsverbessernden Eigenschaften, bedingt durch die Möglichkeit, Wasserstoffbrückenbindungen mit einem polaren Lösungsmittel einzugehen, sondern auch aufgrund zahlreicher Möglichkeiten zur Funktionalisierung und Derivatisierung als Substituent von großem Interesse.⁶²

Die direkte Einführung über den entsprechenden hydroxysubstituierten Benzaldehyd gelang hierbei für die eingesetzten Aldehyde zur Bildung von **61** und **62** nicht (Abb. 2.3). Auch eine Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 50°C, sowie eine Verlängerung der Reaktionszeit auf 6 Stunden brachte keinen Erfolg.

Vermutlich kommt es unter den stark basischen Reaktionsbedingungen zu einer Deprotonierung der Hydroxyfunktion, was eine Isolierung der Derivate durch Hydrolyse stark erschwerte. Die Möglichkeit der Extraktion aus der wässrigen Phase und anschließender Destillation des DMPUs im Hochvakuum führte ebenfalls nicht zu den gewünschten Produkten, hierbei war eine Zersetzung der Verbindungen, vermutlich bedingt durch den hohen Siedepunkt des DMPU (247°C, GESTIS-Stoffdatenbank), zu beobachten.⁶³



Abb. 2.3: Versuchter Einsatz hydroxysubstituierter Benzaldehyde.

Von der Möglichkeit der Acetylierung der Hydroxygruppen im Sinne einer Schutzgruppe wurde aufgrund der Basenlabilität dieser Funktion abgesehen.⁶⁴ Außerdem beschrieb Kocκ in diesem Zusammenhang beim Einsatz von 4-Acetoxy-3-methoxy-benzaldehyd die Entstehung eines unerwünschten 3-Aryl-isochinolin-1-ons als Nebenprodukt.⁵¹

Die Synthese eines hydroxyphenylsubstituierten Derivates konnte dennoch über einen anderen Weg realisiert werden. In **Abschnitt 2.1.1.1** wird eine zweistufige Methode zur erfolgreichen Darstellung von 6-Amino-(3-hydroxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]-phenanthrolin vorgestellt.

Erfolglos blieben Syntheseversuche unter Einsatz weiterer Aldehydkomponenten, dargestellt in Abbildung 2.4. Die Gründe hierfür sind unterschiedlicher Natur.



Abb. 2.4: Bei dem Versuch der Synthese der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline nicht isolierbare Produkte.

Die Verwendung von 2,4,5-Trimethoxybenzaldehyd führte zu einem Produktgemisch (Kontrolle per Dünnschichtchromatographie (=DC)), die Hydrolyse ergab kein Präzipitat, so dass aufgrund der zu komplizierten chromatographischen Trennung bedingt durch zu geringe Unterschiede in den R_f-Werten der entstandenen Substanzen von einer weiteren Aufarbeitung/Aufreinigung von **63** abgesehen wurde.

Bei der Aufarbeitung der Synthese von **64** konnte durch Hydrolyse ein Rohprodukt ausgefällt werden, das hellgelbe flockige Pulver unterlag dann aber einem raschen Zersetzungsprozess zu einem braunen Feststoff, dessen Identität nicht weiter untersucht wurde. Aufgrund der besonderen Reaktivität der Benzylposition werden hier oxidative Prozesse als Grund für die Zersetzung angenommen.⁶² Möglicherweise könnte die Synthese, sowie die darauffolgende Lagerung der Substanz unter permanenter Schutzgasatmosphäre diese Prozesse verhindern.

Beim Einsatz von Acetaldehyd konnte eine Verbindung mit ähnlichem R_f-Wert und Fluoreszenz-Eigenschaften wie bei strukturverwandten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthrolinen dünnschichtchromatograpisch ausgemacht werden, eine Isolierung von **65** schlug aufgrund sowohl fehlenden Niederschlags nach der Hydrolyse, als auch nach Destillation des DMPUs fehl.

66 und **67** konnten aufgrund einer Wechselwirkung zwischen den entsprechenden Nitrobenzaldehyden und der Base Kalium-*tert.*-butanolat, die ionischer Art sein könnten, nicht erhalten werden.

2.1.1.1 Zweistufige Synthese von 6-Amino-(3-hydroxyphenyl)-11,12dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin mittels *O*-Demethylierung

Eine Hydroxyfunktion am über die Aldehydkomponente eingeführten 11-Substituenten ist aus mehreren Gründen, die sowohl synthetischer, als auch physikochemischer Natur sind, erstrebenswert. Eine Erörterung dieser Gründe erfolgte bereits in **Abschnitt 2.1.1**. Aus diesem Kontext heraus wurde eine zweistufige Synthese bestehend aus der Bildung des 3-Methoxyphenyl-Derivates **43** (6-Amino-11-(3-methoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthrolin) und anschließender *O*-Demethylierung etabliert.

Demethylierungen von Alkyl-Aryl-Ethern verlaufen im Allgemeinen unter drastischen Bedingungen, so kann *Vanillin* (4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd) erst bei 250°C in Anwesenheit starker Base demethyliert werden.⁶⁵ Ein klassisches Demethylierungsreagenz ist Tribromboran, mit Hilfe dessen die Reaktion auch bei sehr niedrigen Temperaturen ablaufen kann.⁶⁶ SCHNEIDER und SCHILLER beschreiben die Demethylierung mit Bortribromid des zu den hier behandelten Verbindungen strukturverwandten 1-(3-Methoxyphenyl)-6-methoxytetralins in Dichlormethan bei -60°C zum Dihydroxy-Analogon mit einer Ausbeute von 77%.⁶⁷

Da die Substanzklasse der 6-Aminopyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline und 11,12-Dihydro-Analoga allerdings sehr gute Lösungseigenschaften in wässrigen sauren Medien besitzt (siehe **Abschnitt 4.1.1**) wurde in Anlehnung an eine andere Vorschrift verfahren. ZIMMERMANN *et al.* gelingt die Umsetzung eines 4a-(3-methoxyphenyl)perhydroisochinolins in HBr/Eisessig (Volumenverhältnis 1:1) unter Rückfluss über 18 Stunden mit einer Ausbeute von sogar 90%. (Abb. 2.5).⁶⁸



Abb. 2.5: Demethylierung mit HBr in Eisessig nach ZIMMERMANN.⁶⁸

In Abbildung 2.6 ist die Übertragung der Reaktionsbedingungen von ZIMMERMANN *et al.* auf die Demethylierung von **43** wiedergegeben. Dabei kam es wider Erwarten zu einer teilweisen Bromierung der 4'-Position des 11-Substituenten (*ortho*-Position zur Hydroxygruppe). Eine Bromierung des Kerns im wässrigen Milieu erfordert zumeist eine Bromat/Bromid-Mischung im stark Sauren und/oder einen Katalysator.⁶⁹ Das Verhältnis von nicht-bromiertem Zyklus **70** zu monobromierter Verbindung **71** betrug ca. 3:1 (LC/MS-Analyse).



Abb. 2.6: Teilweise 4'-Bromierung unter den Bedingungen von ZIMMERMANN.⁶⁸

Verdoppelte man den Anteil wässriger Bromwasserstoffsäure (Volumenverhältnis HBr/AcOH 2:1) führte die Reaktion glatt und ausschließlich zum gewünschten 3-Hydroxyphenyl-Derivat **70**. Hierbei konnte die Reaktionsdauer sogar auf fünf Stunden herabgesenkt werden. Abbildung 2.7 illustriert die zweistufige Syntheseroute von **70** unter den adaptierten Reaktionsbedingungen. Die Ausbeute der Demethylierungsprozedur liegt bei 80%, die Gesamtausbeute ist mit 34% befriedigend.



Abb. 2.7: Zweistufige Synthese von 6-Amino-11-(3-hydroxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c]-[1,9]phenanthrolin (70), modifiziert nach ZIMMERMANN.⁶⁸

Testdaten zur *in-vitro* Zytotoxizität von Verbindung **70** sind in **Abschnitt 5.2** wiedergegeben.

2.1.2 Oxidation zu 11-substituierten 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen

Die Dehydrierung der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline zu den korrespondierenden vollständig aromatisierten Heterozyklen war aufgrund mehrerer Aspekte erstrebenswert. WOLSCHENDORF konnte anhand von Daten aus dem standardisierten *in vitro* Zytotoxizitätsassay *"NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screen"* des *National Cancer Institutes* (NCI, Maryland, USA) für die entsprechenden carbozyklischen Analoga, den 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridinen, zeigen, dass die dehydrierten Derivate **28** bereits bei 10-100-fach niedrigerer Konzentration dieselbe entsprechende Aktivität zeigten wie die dazugehörigen 11,12-Dihydro-Verbindungen **27**.⁵⁰ Auch ZUR NIEDEN konnte diesen Befund für die von ihr synthetisierten und/oder am NCI getesten 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine bestätigen.⁵²

Ein weiterer Grund für die Durchführung der Oxidation der 11,12-Position lag in der Entfernung des Stereozentrums an Position 11, was deutliche Vorteile in einer möglichen Weiterentwicklung eines, respektive mehrerer potentieller Arzneistoffkandidaten mit sich bringt. Nahezu ein Viertel aller sich auf dem Markt befindlicher Arzneistoffe sind "racemische Mischungen", die meist synthetischer Herkunft sind. Hierbei muss für jedes Enantiomer die Wirksamkeit, Metabolisierung und natürlich in Hinblick auf eine mögliche Toxizität die Unbedenklichkeit in aufwendigen Studien dargelegt werden.⁷⁰ Das Vorhandensein einer einzigen Form der Verbindung reduziert diesen Aufwand immens.

2.1.2.1 Versuche zur Dehydrierung in 11,12-Position

Es wurde zunächst analog zu den 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridinen verfahren, die mit DDQ **73** (2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon) in Dioxan mit Gesamtausbeuten von 14-38% erfolgreich oxidiert werden konnten (Abb. 2.8).^{47,49}



Abb. 2.8: Oxidation der 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridine 27.

Eine Oxidation der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **27** konnte unter Verwendung von DDQ in mehreren Lösungsmitteln und Variationen der Reaktionsdauer, als auch der Temperatur nicht erreicht werden. Die eingesetzten Derivate, die verschiedenartig angewandten Reaktionsbedingungen, sowie die Resultate sind in Tabelle 2.1 aufgeführt.

Tabelle 2.1: Erfolglose Oxidationsversuche mit DDQ in Anlehnung an CLEMENT et al., 2005; KOCK et al., 2005.^{47,49}

R 11 N N NH ₂	DDQ N /// N 37	$R \xrightarrow{11} N$ $N \xrightarrow{N}$ $NH_2 74$
Rest in 11-Position	Reaktionsbedingungen	Ergebnis
Phenyl-	Dioxan, 4 h, Rückfluss	Zersetzung, hohe Anzahl an Nebenprodukten
Phenyl-	CH_2Cl_2 , 15 min, rt	Keine Umsetzung
2,3-Dimethoxyphenyl-	Dioxan, 3 h, Rückfluss	Zersetzung, hohe Anzahl an Nebenprodukten
2,3-Dimethoxyphenyl-	CH ₂ Cl ₂ , 8 h, Rückfluss	Keine Umsetzung
H-	Dioxan, 4 h, Rückfluss	Zersetzung, hohe Anzahl an Nebenprodukten
H-	CH ₂ Cl ₂ , 8 h, Rückfluss	Keine Umsetzung

Die Umsetzung in Dioxan führte bereits bei einem Drittel der von Kock angegebenen Reaktionszeit von 12 Stunden zu einer merklichen Zersetzung der Produkte. Im niedrig siedenden Lösungsmittel Dichlormethan hingegen konnte dem System zu wenig Energie hinzugeführt werden, so dass es zu keiner Umsetzung kam. Die Wahl anderer Lösungsmittel gestaltete sich als schwierig, da DDQ bereits mit einigen Lösungsmitteln reagierte (DMSO, DMPU, Pyridin, Xylol), so dass von einer Weiterverfolgung dieser Methode abgesehen wurde. Nach einer Vorschrift von BEUGELMANS wurde versucht, die Verbindungen als Verreibungen lösungsmittelfrei mit Palladium (30%) auf Aktivkohle zu erhitzen.⁷¹ Bei diesen Vorversuchen kam es oberhalb von Reaktionstemperaturen von 250°C zu merkbaren, teilweise vollständigen Umsetzungen, aber die Ausbeuten waren nicht zufriedenstellend (< 30%) und die Reaktionszeiten mit bis zu sechs Stunden sehr lang. Die Versuche zeigten aber, dass mit Pd/C die Dehydrierung der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phen-anthroline **37** ohne das Entstehen zahlreicher Nebenprodukte gelingt.

Aufgrund der Tatsache, dass für diese Reaktion anscheinend sehr hohe Temperaturen benötigt wurden, wurden Versuche in hochsiedenden Lösungsmitteln durchgeführt, die in DMPU letztendlich zum Erfolg führten (**Abschnitt 2.1.2.2**).

2.1.2.2 Dehydrierung mit Pd/C in DMPU

Die Oxidation der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **37** gelang mit Palladium (10%) auf Aktivkohle in DMPU unter Rückfluss bei nur sehr geringen Reaktionszeiten von 10 – 30 min. Die Entstehung weniger Nebenprodukte wurde weiter auf ein Minimum reduziert, wenn die Reaktion unter Schutzgas (im Stickstoffstrom) durchgeführt wurde. In Abbildung 2.9 sind die mit dieser Dehydrierungsmethode synthetisierten Verbindungen aufgeführt, die mit 58 bis 89% befriedigende bis sehr gute Ausbeuten liefert.



Abb. 2.9: Mit Pd/C in DMPU erfolgreich dehydrierte Derivate.

Die Oxidation der 6-Amino-11,12-dihydropyrido-[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **37** scheint für eine Vielzahl an unterschiedlich 11-substituierten Derivaten geeignet zu sein. Elektronenreiche Substituenten in 11-Position, wie (Mono-oder Poly-)methoxyphenyl-, oder Furyl- ließen sich glatt umsetzen, ebenso gut wie Verbindung **75**, die einen nicht weiter substituierten Phenylrest trägt. Ebenfalls problemlos verlief die Dehydrierung des 11-Propyl-Derivates, daraufhindeutend, dass die Beschaffenheit des 11-Restes für diese Dehydrierungsmethode keine große Rolle zu spielen scheint. Eine vollständige Umsetzung zu den aromatisierten Heterozyklen, wie sie bei dieser Methode erreicht wird, ist von enormer Wichtigkeit, da eine sich an die Reaktion anschließende säulenchromatographische Abtrennung der 11,12-Dihydro-Form **37** von der oxidierten Spezies **74** aufgrund zu geringer Unterschiede im R_f-Wert nicht möglich ist.

Bei der Anwesenheit von Halogensubstituenten am Rest in 11-Position schlug die Methode aufgrund einer Konkurrenzreaktion fehl, was in **Abschnitt 2.1.2.3** genauer erörtert wird.

Testdaten zur *in vitro* Zytotoxizität der dehydrierten Verbindungen werden in **Abschnitt 5.2** präsentiert.

2.1.2.3 Dehydrierung mit NaH/DMF

Die Umsetzung von 11-halogenphenylsubstituierten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthrolinen **81** nach **Kapitel 2.1.2.2** gelang nicht. Der Grund hierfür war die unerwünschte partielle Abspaltung des Halogenatoms im Sinne der Bildung eines metallorganischen Phenyl-Pd-X – Komplexes (X= Cl, Br) und dem anschließenden nukleophilen Angriff von Hydrid unter Ausbildung eines Phenylrestes. (Abb. 2.9).



Abb. 2.9: Oxidation von 11-Halogenphenyl-Derivaten mit Pd/C in DMPU führt zur Dehalogenierung.

Auch Veränderungen in der Reaktionszeit oder zugesetzter Menge an Katalysator führten stets dazu, dass als Hauptprodukt das dehalogenierte Derivat **75** entstand.

Die chemoselektive metallkatalysierte Hydrierung funktioneller Gruppen in der Anwesenheit von Halogensubstituenten stellt eine gewisse Herausforderung in der organischen Synthese dar.⁷² Für die Hydrierung von Chlornitroarenen zu den entsprechenden Aminen sind zum Beispiel mehrere Methoden entwickelt worden, die die unerwünschte Dehalogenierung vermeiden/mindern sollen, diese beinhalten aber zumeist teure (Platin-basierte) oder toxische nickelhaltige Zusätze.⁷³

Die Problematik der unerwünschten Dehalogenierung ergibt sich auch, wenn man Palladium auf Aktivkohle, das sowohl für Hydrierungen als auch Dehydrierungen eingesetzt wird, als Dehydrierungsreagenz verwendet. Wu *et al.* beschreiben für die Pd/C katalysierte Hydrierung mehrerer funktioneller Gruppen durch den Zusatz katalytischer Mengen ZnX₂ (X = Cl, Br) den vollständigen Erhalt des entsprechenden Halogenatoms.⁷²

Analog zu WU *et al.* wurde versucht durch den Zusatz von ZnX_2 (X = Cl, Br) die Dehalogenierung zu verhindern.⁷² Hierbei konnte ein Verhältnis von oxidierter halogenierter zu oxidierter dehalogenierter Verbindung von maximal 2:3 erreicht werden.

Da die Verwendung von Pd/C als Dehydrierungsreagenz bei der Oxidation halogensubstituententragender Verbindungen nicht zielführend war, wurde eine alternative Dehydrierungsmethode entwickelt. So konnte letztendlich mit der starken, sterisch ungehinderten Base Natriumhydrid in DMF über eine Reaktionszeit von 24 Stunden bei Raumtemperatur eine vollständige Oxidation dieses Verbindungstyps unter Erhalt des jeweiligen Halogenatoms erzielt werden. (Abb. 2.10). Die 3-Chlorphenyl-Verbindung **83**, sowie das 3-Bromphenyl-Derivat **84** wurden mit Ausbeuten von 71% und 67% erhalten.



Abb. 2.10: Erfolgreiche Dehydrierung halogentragender Derivate mit NaH in DMF.

Die hier beschriebene Methode entstand aus dem Versuch, die Verbindung 11-(3-Chlorphenyl)-5,6,11,12-tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-on **(85)** am Stickstoffatom in 5-Position nach einer Vorschrift von YONG-BAIK CHO zu alkylieren,⁷⁴ wobei als Produkt aussschließlich die in 11,12-dehydrierte 6-Oxo Verbindung **86** entstand (Abb. 2.11). Dies macht deutlich, dass auch 11-halogenphenyl-substituierte Derivate mit 6-Oxo-Funktion problemlos mit dieser Variante dehydriert werden können. Die Umsetzung der 6-Amino- zu den 6-Oxo-Verbindungen ist in **Abschnitt 2.1.3.2** dargestellt.



Abb. 2.11: Der Erhalt von 86 als Zufallsprodukt aus versuchter N5-Alkylierung nach Yong-Baik Cн0.⁷⁴

Interessanterweise ist die hier beschriebene Oxidationsvariante anscheinend nur für halogentragende Verbindungen die Methode der Wahl. Ein –I-Effekt, bzw. ein elektronenarmer Aromat in 11-Position scheint hier also Voraussetzung für das Gelingen der Reaktion bzw. die vollständige Umsetzung in die oxidierte Form zu sein. In Testversuchen konnte die 6-Amino-Verbindung **43** mit NaH in DMF nur in Ausbeuten von 12% (vgl. mit 58% mit der Methode aus **Abschnitt 2.1.2.2**), das 6-Amino-Derivat **56** mit 11-Phenyl-Rest unter gleichen Bedingungen sogar nur zu einer Mischung aus 11,12-Dihydro- und oxidierter Form reagieren.

Testdaten zur in vitro Zytotoxizität der Verbindung 83 sind in Abschnitt 5.2 dargestellt.

2.1.3 Entfernung der Aminogruppe in 6-Position

Die Reduktion der Aminofunktion in 6-Position der 6-Aminopyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline und 11,12-Dihydro-Analoga war ein Teilziel dieser Arbeit. Dabei war neben der pharmakologischen Wirkung dieser unsubstituierten Heterozyklen auch der Zugang zu diesen Verbindungen aus organisch-chemischer Sicht interessant, da in der Literatur keine Triaza-Tetrazyklen basierend auf dem Chrysengrundgerüst mit Stickstoffatomen in den Positionen 3, 5 und 8 bekannt sind. Besonders erstrebenswert war hierbei der Zugang zu Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin, der Verbindung, die weder einen Rest in 6-Position, noch in 11-Position aufweist (**Abschnitt 2.1.3.6**).

2.1.3.1 Etablierung der Syntheseroute

Die Synthese der 6-unsubstituierten Verbindungen war zunächst analog zu den Arbeiten von Kock angedacht, der die Entfernung der Aminogruppe der 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine über eine 6-Oxo- und anschließende 6-Thiono-Funktion mittels einer Entschwefelung an Raney-Nickel gelang.⁵¹ Dargestellt in Abb. 2.12 ist die auf die Klasse der Pyrido[3,4-c]-[1,9]phenanthroline übertragene Route zur Desaminierung.

Der Dehydrierungsschritt sollte für die Klasse der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline optional sein und direkt als zweiter Schritt aus der 6-Aminoform heraus erfolgen, weil bei der Dehydrierung der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **37** die meisten Erfahrungen mit der Methode aus **Abschnitt 2.1.2.2** (Pd/C in DMPU) im Rahmen dieser Arbeit gemacht worden waren.



Abb. 2.12: Ursprünglich geplante Syntheseroute zur Darstellung der 6-unsubstituierten Derivate 91 in Anlehnung an KOCK.⁵¹

Diese in Abb. 2.12 dargestellte, zuerst durchgeführte synthetische Route musste allerdings variiert werden, da die Überführung der 6-Amino- **88** in die 6-Oxo-Verbindungen **89** nach der von Kock beschriebenen Diazotierungsmethode mit NaNO₂ im wässrigen sauren Milieu zwar funktionierte, die weitere Derivatisierung zu den entsprechenden Thio-Ketonen **90** aber misslang (siehe Abschnitt 2.1.3.3).

Deshalb wurde analog zu einer bereits bei Kock im synthetischen Ausblick für die 6-Aminobenzo[c]phenanthridine erwähnten alternativen Syntheseroute vorgegangen, die eine Umsetzung der 6-Oxo-Verbindungen zu 6-Chlor-Derivaten und anschließender katalytischer Hydrierung vorsah.⁵¹ Die Synthese der 6-Chlor-Zwischenstufe für die Benzo[c]phenanthridin-Klasse **27** wurde von ZUR NIEDEN bereits bei der Darstellung von 6-Chlor-11-(3,4,5trimethoxyphenyl)benzo[c]phenanthridin **105** und dessen 11,12-Dihydro-Analogon **104** erfolgreich durchgeführt.⁵² In Abbildung 2.13 ist der gewählte alternative Zugang zu dem 6unsubstituierten System der 1,9-Phenanthrolinklasse **91** ab der Stufe der 6-Oxo-Form **89** dargestellt. Die Reaktionsbedingungen mussten auf die Klasse der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline angepasst werden, so wurde die Vorschrift von ZUR NIEDEN zur Darstellung der 6-Chlor-Derivate modifiziert, als Hydrierungsvariante wurde eine Methode nach CAILLY gewählt.⁷⁵



Abb. 2.13: Syntheseroute zur Darstellung unsubstituierter 11,12-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline in Anlehnung an ZUR NIEDEN und CAILLY et al.^{75,52}

Detaillierte Informationen zu den Reaktionsbedingungen der einzelnen Zwischenstufen, sowie die verschieden 6- und 11-substituierten synthetisierten Derivate finden sich in den nachfolgenden Kapiteln 2.1.3.2 bis 2.1.3.5.

2.1.3.2 Synthese von 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-onen und 5,6-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-onen

Der Zugang zu Benzo[*c*]phenanthridin-6-onen konnte in der Vergangenheit auf einfache Art und Weise sowohl mit *tert.*-Butylnitrit in DMF als auch im wässrigen sauren Milieu mit NaNO₂ und Phosphinsäure aus den 6-Aminoformen erfolgen.^{50,51,76} Der Austausch der Aminogruppe gegen eine Oxo-Funktion anstelle von Wasserstoff, wie es bei der klassischen Diazotierung zu erwarten gewesen wäre, war hier nicht überraschend, da dieses Phänomen bereits sowohl für 2-Aminopyridin, als auch für 6-Aminophenanthridin beschrieben worden war.^{77–79}

Für die 1-Amino-2,7-naphthyridin-Teilstruktur der 6-Aminopyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline war das gleiche Reaktionsverhalten zur entsprechenden Oxo-Form zu erwarten (Abb. 2.14). Die entstehende Lactam-Struktur liegt mit der korrespondierenden Lactim-Form im tautomeren Gleichgewicht.



Abb. 2.14: Überführung der 6-Amino-Strukturen in die korrespondieren 6-Oxo-Derivate.

Versuche nach der von WOLSCHENDORF beschriebenen Methode mit *tert.*-Butylnitrit in DMF ausgehend von Verbindung **50** führten nach den ursprünglichen Bedingungen zu einer hohen Anzahl an Nebenprodukten (DC-Kontrolle) bei unvollständiger Umsetzung zum Oxo-Derivat,⁵⁰ eine Erniedrigung der Reaktionstemperatur auf 0°C konnte die Bildung der Nebenprodukte zwar verringern, das Verhältnis von Edukt zu Produkt war allerdings geringer als 50% Produkt. Eine säulenchromatographische Aufreinigung des Produktes kam aufgrund zu geringer Unterschiede in den R_f-Werten von Edukt und Produkt an dieser Stelle nicht in Frage.

Stattdessen wurde die Methode von KOCK, modifiziert nach KORNBLUM, auf die Substanzklasse angepasst und erfolgreich für fünf 11,12-Dihydro-Verbindungen und ein vollständig aromatisches Derivat durchgeführt (Abb. 2.15).^{51,76}



Abb. 2.15: Überführung verschieden 11-substituierter 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline in die korrespondierenden 6-Oxo-Derivate nach Κοcκ.⁵¹

Hierbei konnte aufgrund der guten Lösungseigenschaften dieser Substanzklasse in wässrigen sauren Medien (siehe **Abschnitt 4.1.1**) auf die Zugabe konzentrierter Schwefelsäure in Eisessig verzichtet werden und stattdessen mit verdünnter Essigsäure gearbeitet werden.

Die mit dieser Variante synthetisierten und zuvor nicht beschriebenen 6-Oxo-Verbindungen sind in Abb. 2.16 dargestellt.



Abb. 2.16: Im Rahmen dieser Arbeit synthetisierte 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-one 93-97 und das 5,6-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on 98.

Die Ausbeuten liegen mit 64% im guten bis exzellenten Bereich (91%) der Theorie. Testdaten bezüglich der in vitro Zytotoxizität der Verbindungen **93**, **96**, **97** und **98** finden sich in **Abschnitt 5.2**.

2.1.3.3 Versuche zur Synthese von 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-thionen

Ausgehend von den 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-onen **99** war eine Überführung in die entsprechenden Thiolactame nach einer Vorschrift von Kock geplant.⁵¹ Hierbei gelang eine Umsetzung des 11-Phenyl-6-Oxo-Derivats **93** als Modellverbindung nach Kock, sowie TAYLOR und MARTIN mit Phosphorpentasulfid in Pyridin aufgrund der Entstehung vieler Nebenprodukte anstelle des gewünschten Produktes jedoch nicht.^{51,80} Auch die Erniedrigung der Reaktionstemperatur von 115°C (Siedepunkt von Pyridin) nach dem Verdacht auf eine zu heftige Reaktion auf 50°C, sowie Raumtemperatur brachte keinen Erfolg. Der Austausch von P₄S₁₀ gegen die in organischen Lösungsmitteln besser lösliche und im Allgemeinen reaktivere Phosphor-Schwefel-Verbindung *Lawessons's Reagenz* nach einer Vorschrift von CHERKASOV brachte nach fünfstündiger Reaktion in DMPU immerhin eine Umsetzung zur gewünschten Thioverbindung **100** von 33% (LC/MS) (Abb. 2.17).⁸¹ Das von CHERKASOV verwendete toxische Lösungsmittel HMPA wurde hierbei durch das unbedenkliche DMPU substituiert.⁸² Aufgrund der zu ähnlichen R_f-Werte von Edukt und Produkt schlug eine säulenchromatographische Trennung und damit die Aufreinigung allerdings fehl.



Abb. 2.17: Versuche zur Darstellung der Thiolactame aus der 6-Oxo-Form nach Коск und CHERKASOV.^{81,51}

Es wurde im Folgenden davon abgesehen, weitere Bemühungen in die Synthese von 6-Thiono-Verbindungen zu investieren und zur Darstellung 6-unsubstituierter Pyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthroline **91** eine alternative Route über das 6-Chlor-Intermediat **92** etabliert, die bereits in **Abschnitt 2.1.3.1** erläutert wurde. Die Synthese der 6-Chlor-Verbindungen ist im folgenden Kapitel dargestellt.

2.1.3.4 Synthese von 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen und 6-Chlorpyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen

Führt man ein Chloratom in die *ortho*-Position des endozyklischen Stickstoffatoms eines aromatischen Systems ein, so ergeben sich eine Vielzahl an Möglichkeiten für Folgereaktionen im Sinne von nukleophilen aromatischen *ipso*-Substitutionen.⁶² Diese Reaktivität wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht nur über die Dehalogenierung zu den entsprechenden 6-unsubstituierten Derivaten **91** (Abschnitt 2.1.3.5), sondern auch in der Umsetzung mit *O*- oder *N*-nukleophilen Aminoalkyl-Funktionen ausgenutzt (Kapitel 2.1.5).

Die zu den 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-onen **99** *C*-analogen 5,6,-11,12-Tetrahydrobenzo[*c*]phenanthridin-6-one **102** und **103** konnten in vorherigen Arbeiten mit Phosphoroxychlorid zu den 6-Chlor-Verbindungen **104** und **105** umgesetzt werden (Abb. 2.18).⁵²



Abb. 2.18: Synthese von 6-Chlor-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)benzo[c]phenanthridin 105 und korrespondierender 11,12-Dihydro-Verbindung 104 nach ZUR NIEDEN.⁵²

Diese Reaktionsbedingungen ließen sich nicht auf die 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthrolin-6-one **99** übertragen. Unter den Bedingungen von ZUR NIEDEN konnte nach der Reaktion der Modellverbindung **93** mit POCl₃ für 2 Stunden bei 70°C nur das Edukt isoliert werden.⁵² Eine Erhöhung auf die Rückflusstemperatur des Phosphorylchlorids (105°C, GESTIS-Stoffdatenbank)⁶³ brachte bereits eine Umsetzung von mehr als 50% zum gewünschten Produkt **106** (LC/MS-Kontrolle). Da die Löslichkeiten der Edukte **89** in Phosphorylchlorid begrenzt waren und diese eher als Suspension in Reaktion traten, wurden bei weiteren Reaktionen geringe Mengen konzentrierter Salzsäure zur Lösungsvermittlung hinzugefügt bis eine klare Lösung entstanden war und im Anschluss zum Rückfluss erhitzt. Mit dieser Variante (Variante a) gelang eine Umsetzung von bis zu 80% zum gewünschten Produkt, wobei die Reaktionszeit auf zwei Stunden reduziert werden konnte. Eine säulenchromatographische Aufreinigung der 6-Chlor-Verbindungen **92** war hinreichend möglich, da aufgrund der deutlich erniedrigten Polarität der Verbindung durch das nun vorhandene Chlor-Atom die Verbindungen bei wesentlich unpolarerer Fließmittelzusammensetzung (Dichlormethan/Methanol (0-10%)) isolierbar und damit vom Edukt abtrennbar waren (Abb. 2.19).

Wird die Reaktion in der Mikrowelle unter konventionellen Bedingungen (*Conventional Microwave Synthesis* = CMS) in einem geschlossenen Gefäß bei 100°C für 2 Stunden durchgeführt, gelingt eine nahezu vollständige Umsetzung (Variante b). Diese Methode konnte allerdings nur für einige wenige Derivate angewendet werden, da aufgrund der Aggressivität des Phosphoroxychlorids ein hoher Verschleiß an Verbrauchsmaterialien (Verschlüssen, Reaktionsröhrchen) und der Mikrowelle erkennbar waren und aus Sicherheitsgründen von einem weiteren Gebrauch dieser Methode abgesehen wurde. Nichtsdestotrotz waren die Ausbeuten der mit der CMS-Variante erhaltenen 6-Chlor-Derivate ca. doppelt so hoch wie die Ausbeuten aus der konventionellen Synthesevorschrift unter Rückfluss. Die synthetisierten 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline und 6-Chlorpyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline, die verwendeten Synthesevarianten und die dazugehörigen Ausbeuten sind in Abbildung 2.19 gezeigt.



Abb. 2.19: Synthesevarianten zur Darstellung von 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen und 6-Chlorpyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen und synthetisierte Derivate.

In vitro Zytotoxizitätsdaten sind nur exemplarisch von Verbindung **107** verfügbar (**Abschnitt 5.2**), da es aufgrund der sehr schlechten Lösungseigenschaften der 6-Chlor-Derivate nicht sinnvoll erschein, diese als als potentielle Wirkstoffe zu entwickeln.

2.1.3.5 Synthese von 6-unsubstituierten Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen und deren 11,12-Dihydro-Analoga

Für die nukleophile Austauschreaktion des Chlor-Atoms gegen Wasserstoff wurde eine Methode nach CAILLY angewendet, die eine schonende Hydrierung mit Ammoniumformiat unter Pd/C-Katalyse in Methanol beschreibt.⁷⁵ Diese Methode wurde von SÖMMER im Rahmen seiner Diplomarbeit auf die 6-Chlorpyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **92** übertragen, der im Rahmen dieser Thematik den vollständig unsubstituierten Heterozyklus Pyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthrolin **31** synthetisierte.⁸³ Diese Arbeiten sind in **Abschnitt 2.1.3.6** dargestellt. Abbildung 2.20 zeigt die mit der adaptierten Methode nach CAILLY erhaltenen 6-unsubstituierten Verbindungen. Die guten Ausbeuten lagen im Bereich von 60 - 76%.



Abb. 2.20: Methode nach CAILLY zur Hydrierung der 6-Position und synthetisierte Derivate.⁷⁵

Die Entfernung der Aminogruppe in 6-Position gelang somit für die Verbindungen **110** und **111** in vier Stufen ausgehend vom entsprechend substituierten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin mittels Diazotierung und Hydrolyse, sowie dem Umsatz zur 6-Oxo-Form, die weiter zur 6-Chlor-Verbindung derivatisiert und in einem finalen Schritt dehalogeniert wurde. Für Verbindung **112** hat ein fünfter Schritt der Dehydrierung der 11,12-Position vor der Überführung in die Lactamform stattgefunden.

2.1.3.6 Synthese des neuen heterozyklischen Grundkörpers Pyrido[3,4-c]-[1,9]phenanthrolin

Eine Vielzahl *N*-haltiger tetrazyklischer Systeme basierend auf dem Chrysenskelett ist bis heute entdeckt und synthetisiert worden. Einige von ihnen besitzen wichtige pharmakologische Eigenschaften. Hierbei ist vor allem die Klasse der Benzo[*c*]phenanthridine zu nennen, da diese Heterozyklen eine fundamentale Rolle in der Entwicklung neuer Zytostatika spielen (Abb. 2.21).^{19,17,31}



Abb. 2.21: Die Tetrazyklen Chrysen und Benzo[c]phenanthridin.

Überraschenderweise sind nur wenige tetrazyklische Strukturen bekannt, die auf der sterischen Anordnung des Chrysens beruhen und drei Stickstoffatome enthalten, da der totalsynthetische Zugang sehr aufwendig ist, vor allem, weil sie drastische Bedingungen und mitunter hochtoxische Reagenzien erfordern. Literaturbekannte Triazachrysene sind in Abbildung 2.22 dargestellt.^{84–87}



Abb. 2.22: Literaturbekannte Triaza-Heterozyklen mit Chrysen-Grundgerüst.

NUTAITIS *et al.* beschreiben zum Beispiel zur Darstellung von Pyrido[3,4-*c*][1,7]phenanthrolin **117** die Kondensation von 5-Aminochinolin (**118**) mit 5-Bromnicotinaldehyd (**119**) in Benzen 48 h im Rückfluss und anschließender Reduktion der Iminfunktion mit Natriumborhydrid, gefolgt von einer Ringschlussreaktion mit LDA in THF bei -100°C und finaler Oxidation mit MnO₂ in MeOH bei einer Gesamtausbeute von 5% (Abb. 2.23).⁸⁶



Abb. 2.23: Synthese von 117 nach NUTAITIS et al.⁸⁶

Der synthetische Zugang zu Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin 31 gelingt über die in Abschnitt **2.1.3** und Unterkapiteln dargestellte Desaminierungsroute, beginnend mit dem Einsatz von Formaldehyd in der klassischen adaptierten Syntheseroute nach CLEMENT und WEIDE unter Bildung von 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin **122**.⁴⁷ Die Ausbeute konnte durch eine optimierte Isolierung der Verbindung durch Ansäuern der wässrigen Phase und Auswaschen des DMPUs mit Dichlormethan gefolgt von erneutem Ausfällen des Produktes verbessert werden, ist aber mit 29% immer noch der limitierende Schritt dieses Syntheseweges. Die Konversion ins 6-Oxo-Derivat 95 lieferte eine gute Ausbeute von 74%, die Behandlung mit Phosphoroxychlorid eine befriedigende Ausbeute von 43% mit der konventionellen Methode zwei Stunden unter Rückfluss (Variante a aus Abschnitt 2.1.3.4). Das 6-Chlor-Derivat 108 wurde, wie in Abschnitt 2.1.3.5 beschrieben, zu 11,12-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin 111 umgesetzt, ein finaler Dehydrierungsschritt mit Pd/C in DMPU (Abschnitt 2.1.2.2) führte mit guter Ausbeute von 70% der Theorie zur Zielverbindung In Abbildung 2.24 ist die vollständige Syntheseroute zur Darstellung des neuen 31. unsubtituierten heterozyklischen Systems Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (31) abgebildet.



Abb. 2.24: Synthese des neuen Heterozyklus Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (31).

Obwohl die Gesamtausbeute mit 4% als niedrig einzustufen ist, stellt die hier beschriebene Methode dennoch einen einfachen und effizienten Weg zur Darstellung des zuvor unbeschriebenen zyklischen Systems Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (**31**) dar.

Dabei kann bis auf die Chlorierung mit weniger giftigen Reagenzien und milden Bedingungen gearbeitet werden. Die ausbeutelimitierenden Schritte sind der erste Schritt und die Überführung in das 6-Chlor-Derivat **108**. Bei letztgenannter Umsetzung könnte die Ausbeute verdoppelt werden, führte man die Reaktion nach der in **Kapitel 2.1.3.4** beschriebenen Variante b für 2 Stunden in der Mikrowelle bei 100°C durch. Ein weiterer Ansatz wäre die Verlängerung der Reaktionszeit bei der Verwendung von Variante a.

Die Synthese von Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (**31**) war Thema der Diplom-Arbeit von Söммеr, die im Rahmen der hier beschriebenen Thematik durchgeführt wurde.⁸³

Verbindungen **111** und **31** sind auf ihre zytotoxischen Eigenschaften in vitro untersucht worden, die entsprechenden Daten sind **Abschnitt 5.2** zu entnehmen.

2.1.4 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline mit Methoxygruppen im Ringgerüst

Natürliche Benzo[*c*]phenanthridine und eine Vielzahl sich derzeit in der fortgeschritteneren Arzneistoffentwicklung befindlicher synthetischer Weiterentwicklungen dieser tragen Methoxy- oder Methylendioxygruppen im Ringgerüst.^{42,88,43,19} Daher war es ein weiteres Teilziel der Arbeit, eine synthetische Annäherung an diese Strukturen zu verfolgen. Von der Synthese methylendioxy-substituierter Verbindungen wurde in diesem Zusammenhang abgesehen, da sich diese Strukturelemente immer an den Positionen 2 und 3 oder 3 und 4, bzw. 7 und 8, oder 8 und 9 befinden und dies aufgrund der Stickstoff-Atome in den Positionen 3 und 8 synthetisch nicht ohne weiteres zu bewerkstelligen sein könnte. Aus dem gleichen Grunde wäre auch eine *o*-Dimethoxysubstitution nicht durchführbar (Abb. 2.25).



Abb. 2.25: Vorherrschendes Substitutionsmuster der Benzo[c]phenanthridin-Alkaloide 123 und angestrebte Zielstrukturen methoxysubstituierter 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 124.

Um herauszufinden, ob mono- oder mehrfach-methoxysubstituierte 4-Methylpyridin-3carbonitrile überhaupt in der klassischen Eintopf-Reaktion nach CLEMENT und WEIDE reagieren, wurde zunächst nur eine symmetrische Substitution der Ringe A und D in Betracht gezogen.⁴⁷ Hierbei wird üblicherweise der entsprechende Aldehyd mit 2 Äquivalenten des gewünschten methoxysubstituierten Nitrils umgesetzt. Möglichkeiten zur unterschiedlichen Methoxy-Substitution innerhalb des Grundgerüsts wurden für verschiedene 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine von STENZEL realisiert, der relevante Methoxy-*o*-tolunitrile mit einigen Stilbenen reagieren ließ. Abbildung 2.26 zeigt die Synthese eines exemplarisch ausgewählten Derivats eines an den Ringen A und D verschieden substituierten 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phenanthridins **127**.⁶¹



Abb. 2.26: Synthese eines an den Ringen A und D unsymmetrisch substituierten 6-Amino-11,12dihydrobenzo[c]phenanthridins 127 nach STENZEL.⁶¹

2.1.4.1 Versuche zur Darstellung 2,4,7,9-tetramethoxysubstituierter Verbindungen

Um eine 2,4,7,9-Tetramethoxysubstitution des Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-Körpers zu erreichen, wurde 2,6-Dimethoxy-4-methylpyridin-3-carbonitril (**129**) als Edukt benötigt. Diese Verbindung war zwar käuflich zu erwerben, es war allerdings wesentlich kostensparender, diese Nitrilkomponente aus der 2,6-Dichlor-Vorstufe **128** über eine Methoxylierungsreaktion darzustellen. Hierfür wurde analog einer Vorschrift von DAINTER *et al.* verfahren, welche 2,6-Dichlorpyridin mit Natriummethanolat in Methanol mit einer Ausbeute von 71% entsprechend methoxylierten.⁸⁹ Unter den Reaktionsbedingungen von DAINTER (rt, 1 h) wurde ein Gemisch aus mono- und dimethoxy-substituierter Verbindung erhalten.

Die vollständige Umsetzung zum gewünschten 2,6-Dimethoxyderivat **129** konnte durch eine Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 50°C für 2 Stunden und der Verdoppelung von zwei auf vier Moläquivalente Natrium in Methanol realisiert werden (Abb. 2.27).



Abb. 2.27: Synthese von 2,6-Dimethoxy-4-Methylpyridin-3-carbonitril (129) nach DAINTER et al.⁸⁹

Die Ausbeute dieser Reaktion war nach flashchromatographischer Aufreinigung an Kieselgel (Fließmittel: Cyclohexan/Ethylacetat (20%)) mit 77% d. Th. im guten Bereich.

In Abbildung 2.28 ist die Syntheseroute zur Umsetzung von **129** mit einer Aldehydkomponente unter basischer Katalyse (KO^tBu) in DMPU dargestellt. Als Modellaldehydkomponente wurde primär Benzaldehyd (**130**) gewählt, da das Vorhandensein von Substituenten am 11-Rest eventuell die Elektronendichte zur Bildung des tetrazyklischen Systems ungünstig beeinflussen könnte und weil das entsprechende 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin **56**, das im Ringgerüst nicht methoxy-substituiert war, in für die Substanzklasse im Vergleich guten Ausbeuten (55%) erhalten werden konnte. Es konnte jedoch für mehrere verschiedene Reaktionsbedingungen keine Umsetzung zur Zielverbindung **131** beobachtet werden.



Abb. 2.28: Versuch zur Synthese des 2,4,7,9-tetramethoxysubstituierten 11-Phenyl- Derivates 131.

Weder unter den normalen Synthesebedingungen, modifiziert nach STENZEL bei Raumtemperatur für drei Stunden im Stickstoffstrom, noch analog einer Vorschrift von Kock zur Synthese eines im Grundgerüst 2,3,8,9-tetramethoxysubstituierten 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridins für sechs Stunden bei 100°C, sowie eigenen Vorschriften unter drastischen Bedingungen (100°C, 24 h; 200°C, 5h) konnte das gewünschte Produkt **131** nachgewiesen werden.^{51,61}

Dünnschichtchromatographische Untersuchungen ergaben, dass es unter keiner der o.g. Reaktionsbedingungen zur Bildung einer fluoreszierenden Verbindung kam. Da bereits die normalerweise unter den Reaktionsbedingungen entstehende, teilweise isolierbare Zwischenstufe eines Stilbens bläuliche Eigenfluoreszenz zeigte, liegt der Verdacht nahe, dass die Synthese schon an der Bildung des Stilbens **133** scheiterte (Abb. 2.29).



Abb. 2.29: Verhinderter Mechanismus der Bildung von Stilben 133.

LC/MS-Untersuchungen zeigten ebenfalls weder die gewünschten Signale des Produkts, noch einer intermediär auftretenden Stilbenkomponente. Dies wird mit der durch die +M-Effekte der beiden Methoxygruppen deutlich erhöhten Elektronendichte an der Nitrilkomponente in Verbindung gebracht, die die Ausbildung eines Carbanions, dessen Stabilisierung und den darauffolgenden nukleophilen Angriff am Carbonyl-Kohlenstoffatom des Benzaldehyds deutlich erschweren/verhindern dürfte. Sollte sich dennoch intermediär Stilben **133** ausbilden, wäre es höchstwahrscheinlich für den notwendigen Angriff eines zweiten deprotonierten Nitrils **132** am über die Cyanogruppe vermittelten phenylogen Michael-Akzeptor-Kohlenstoff ebenfalls deutlich zu elektronenreich (Abb. 2.29). Auch der Versuch einer direkten Reaktion des 2,6-Dichlor-4-methylpyridin-3-carbonitrils **128** unter den Bedingungen von CLEMENT und WEIDE und geplanter anschließender Methoxylierung schlug fehl, weil bereits nach kurzer Zeit bei Raumtemperatur eine starke Bildung zahlreicher, chromatographisch aufgrund zu niedriger R_f-Wert-Unterschiede nicht abtrennbarer Nebenprodukte zu beobachten war (Abb. 2.30).



Abb. 2.30: Fehlgeschlagener Versuch der Ringschlussreaktion aus der 2,6-Dichlor-Form 134 und geplanter anschließender Methoxylierung zu 131.

Als Grund für das Versagen der Bildung des 2,4,7,9-tetrachlorsubstituierten Derivats **134** wird die zu große Reaktivität der *o*-Chlorpyridin-Positionen angenommen, die denen von Säurehalogeniden ähnelt (Aza-Analoga) und somit mit Nukleophilen jeglicher Art leicht umsetzbar sind.⁶² Bei den stark basischen Bedingungen (KO^tBu) ist eine Zersetzung, eventuell sogar unter Ringöffnung, anzunehmen.

Aufgrund o.g. Beobachtungen wurde von dem Versuch der Synthese weiterer Derivate wie etwa einer 11-unsubstituierten Verbindung durch den Einsatz von Formaldehyd abgesehen und stattdessen die Nitrilkomponente hin zu einem CH-acideren Mono-Methoxynitril variiert (siehe darauffolgender Abschnitt).
2.1.4.2 Versuche zur Darstellung 4,7-dimethoxysubstituierter Derivate

Um den in **Abschnitt 2.1.4.1** genannten stark reduzierenden Effekt einer dimethoxysubstituierten Nitrilkomponente auf die CH-Acidität dieser Spezies zu verringern, sollte die Monomethoxy-Verbindung 2-Methoxy-4-methylpyiridin-3-carbonitril (**136**) eingesetzt werden. Um dieses Nitril zu erhalten, konnte eine zweistufige Synthese ausgehend vom unter **2.1.4.1** bereits erwähnten und käuflich zu erwerbenden 2,6-Dichlornitril **128** über partielle Hydrierung/Dehalogenierung an der 6-Position und anschließender Methoxylierung beschritten werden (Abb. 2.31).



Abb. 2.31: Synthese von 2-Methoxy-4-methylpyridin-3-carbonitril (136) in Anlehnung an KISELEV; DAINTER.^{89,90}

Diesbezogen beschreiben KISELEV *et al.* die katalytische Hydrierung von **128** mit Ammoniumformiat unter Pd/C-Katalyse, die bei dieser Prozedur beim Einsatz eines Überschusses Ammoniumformiat, geringster Mengen Pd (5%) auf Aktivkohle und einer Reaktionszeit von drei Tagen bei Raumtemperatur mit einer Ausbeute von 87% ausschließlich das in 6-Position partiell hydrierte Derivat **135** erhielten.⁹⁰ Eigene Versuche konnten dieses Ergebnis nicht bestätigen. Die Reaktion scheint hierbei sehr empfindlich, aussschließlich von der zugesetzten Menge an Katalysator abhängig und nur bedingt steuerbar zu sein. In Tabelle 2.2 sind die zugesetzten Mengen an Katalysator, sowie die Ergebnisse aufgelistet.

Tabelle2.2: EigeneVersuchezurDarstellungvon2-Chloro-4-methylpyridin-3-carbonitrilinAnlehnung an KISELEV et al.:90

Zugesetzte Menge an Pd(5%)/C (bezogen auf eingesetzte Menge an 128)	Resultat (DC-Kontrolle)
0,1%	Edukt/Produkt-Verhältnis: 9:1
1%	Edukt/Produkt/perhydriertes Nebenprodukt 36 : 1:1:1
>1%	Ausschließlich perhydrierte Vbdg. 36

Tabelle 2.2 ist zu entnehmen dass unter den von KIESELEV angegebenen Reaktionsbedingungen niemals ausschließlich das gewünschte Produkt **135** entstand und bei zunehmender Katalysatormenge bereits die 2,6-hydrierte, vollständig dehalogenierte Form 4-Methylpyridin-3-carbonitril (**36**) mit entstand und ab einer Konzentration von ca. 1% zugesetzter Menge an Pd/C letztere sogar ausschließlich vorlag.

Es konnte dennoch eine säulenchromatographische Aufreinigung mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel Cyclohexan/Ethylacetat (20-40%) aus den vereinigten Ansätzen enthaltend 1% Pd/C durchgeführt werden, die Ausbeute der gewünschten 2-Chlor-Verbindung **135** betrugen hierbei letztendlich aber nur noch 10%. Aus diesem Grunde wurde **135** für weitere Arbeiten käuflich erworben.

Die Methoxylierung von **135** nach DAINTER *et al.* mit Natrium in Methanol gelingt unter den Bedingungen, die bereits schon für die 2,6-Dichlor-Vorstufe **128** unter Abschnitt 2.1.4.1 beschrieben wurde, bei 50°C über zwei Stunden mit einer Ausbeute von 58% d. Th. (Abb. 2.32).^{89,90}



Abb. 2.32: Erfolgreiche Synthese von 2-Methoxy-4-methylpyridin-3-carbonitril (136), modifiziert nach DAINTER et al.⁸⁹

Das gewünschte 4,7-dimethoxysubstituierte Derivat **137** konnte nicht dargestellt werden (Abb. 2.33).



Abb. 2.33: Versuche zur Darstellung 4,7-dimethoxysubstituerter Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline.

Auch in diesem Falle führten weder die normalen Synthesebedingungen, modifiziert nach STENZEL bei Raumtemperatur für drei Stunden im Stickstoffstrom, noch die Vorschrift von KOCK zur Synthese eines im Grundgerüst 2,3,8,9-tetramethoxysubstituierten 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridins für sechs Stunden bei 100°C zum Erfolg.^{51,61}

Entgegengesetzt den Beobachtungen konnte bei diesen Versuchen dünnschichtchromatographisch eine leicht bläulich fluoreszierende Substanz ausgemacht werden. Möglicherweise entsteht eine einfach-methoxylierte Stilbenzwischenstufe analog zu Abbildung 2.29, oder sogar das gewünschte Produkt **137**. Es ließ sich allerdings keine derartige Verbindung isolieren.

Die vorhandenen semizyklischen aza-analogen Esterstrukturen sind als sehr hydrolyseempfindlich zu betrachten. Die analoge Reaktion von 2-Methoxypyridin mit starken Basen zu 2-Pyridon gelingt bereits unter relativ milden Bedingungen, noch leichter erfolgt die Reaktion mit Nal im essigsauren Medium.^{91–93}

Die Cyanofunktion *ortho*-ständig zur Methoxygruppe dürfte durch ihre starken –I- und –M-Effekte die Hydrolysetendenz zudem noch deutlich verstärken. Es ist daher unter den stark basischen polaren Bedingungen wahrscheinlich, dass bereits für das Edukt **136** eine Hydrolyse zur entsprechenden 2-Pyridon-Teilstruktur erfolgt (Abb. 2.34):



Abb. 2.34: Mögliche Hydrolyse der semizyklischen aza-analogen Ester-Partialstruktur.

Dieses Phänomen war gleichwohl auch für das 2,6-dimethoxylierte Pyridinanalogon **129** zu erwarten.

Aufgrund der oben genannten Beobachtungen und im Zusammenhang mit der Tatsache, dass für die Substanzklasse der Benzo[*c*]phenanthridine die Einführung von Methoxygruppen in das Ringgerüst dieser Heterozyklen keine signifikante Verbesserung der zytotoxischen Eigenschaften im *NCI-60 screening* brachte, wurde von einer Weiterverfolgung dieses Teil-projektes abgesehen.⁵¹

Ein vielversprechender Ansatz zur Verbesserung sowohl der zytotoxischen Eigenschaften der Substanzklasse der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline, als auch pharmazeutisch relevanter physikochemischer Parameter stellt die Einführung hydrophiler Seitenketten an das Grundgerüst dar, was im folgenden Unterkapitel besprochen wird.

2.1.5 Verknüpfung aliphatischer Seitenketten an das Grundgerüst der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline

Unter den verschiedenen Klassen von sich derzeit in der Entwicklung befindlichen Topoisomerase-Hemmstoffen zeigen vor allem Topo I-Gifte mit nicht-camptothecinartiger tetrazyklischer Struktur, abgeleitet von den natürlichen Benzo[*c*]phenanthridin-Alkaloiden *Fagaronin* und *Nitidin*, vielversprechende Hemmeigenschaften.¹⁹ Für diese Serie konnte gezeigt werden, dass Aminoalkyl-Seitenketten am Grundgerüst die zytotoxische Aktivität verbesserten, sowie eine gesteigerte Topoisomerase-Affinität hervorriefen.⁹⁴ Zwei Beispiele vielversprechender literaturbekannter Derivate dieser Art sind im **Abschnitt 1.3.2** und in Abbildung 2.35 aufgeführt. Das sich in klinischen Studien befindliche *Topovale* (ARC-111) weist in diesem Zusammenhang eine Dimethylaminoethyl-Seitenkette an der 5-Position auf, während bei der Verbindung 35-k7887 diese Seitenkette über ein Stickstoffatom an die 6-Position verknüpft ist. Beide Stoffe besitzen *in vitro, Topovale* auch *in vivo* (Maus Xenograft-Modell mit menschlichem Tumorgewebe) zytotoxische Eigenschaften im unteren nanomolaren Bereich.^{95,43,19}



Abb. 2.35: Dimethylaminoethyl(amino)-Seitenketten tragende vielversprechende Verbindungen aus der Literatur.^{95,43,19}

Vor diesem Hintergrund war es ein Primärziel dieser Arbeit, am Grundkörper der Pyrido[3,4c][1,9]phenanthroline **31** an den beiden Positionen 5 oder 6 verschiedene hydrophile Seitenketten einzuführen, um das zytotoxische Potential ausgewählter Leitverbindungen aus dieser Substanzklasse zu erhöhen, gegebenenfalls Selektivitäten auf Topoisomerasen zu steigern, bzw. zu erzielen und gleichzeitig durch Ausfällen der Verbindungen als geeignete physiologisch annehmbare Salze die Löslichkeit in wässrigen Medien zu verbessern. Hierfür wurde eine endständige tertiäre Aminfunktion gewählt, die aufgrund ihrer Basizität bei neutralem/physiologischem pH-Wert protoniert vorliegen, und damit die Löslichkeit im wässrigen Medium deutlich verbessert werden sollte (Abb. 2.36):



Abb. 2.36: Schematische Darstellung der Verknüpfung hydrophiler Seitenketten an die 5- oder 6-Position der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 31.

Zudem haben sich bei strukturverwandten Verbindungen aus der Literatur Dimethylaminoalkyl-Seitenketten hinsichtlich der Zytotoxizität als besonders vorteilhaft herausgestellt (Abschnitt 1.33). Durch eine im Raum frei bewegliche Seitenkette mit endständiger Wasserstoffbrückenakzeptor- bzw. Donorfunktion, die ein tertiäres Amin bei pH 7,4 gleichermaßen besitzt, sollte das strukturoptimierte Molekül eine Vielzahl an Optionen gewinnen, um eben über diese Interaktionsmöglichkeiten mit entsprechenden Zielenzymen/Zielstrukturen zu interagieren.⁹⁶ In diesem Kontext war neben der Beschaffenheit der Seitenkette allgemein (Verknüpfung über O- oder N-Atom, sowie Unterschiede an 5- zu 6-Position-verknüpften Verbindungen) auch eine Variation der Kettenlänge und der daraus resultierende Einfluss auf die zytotoxische Wirkung interessant.

Die Auswahl der Verbindungen, die strukturoptimiert werden sollten, richtete sich nach deren Zytotoxizität im *NCI-60 screening* (Abschnitt 5.2). Es wurde je ein Derivat der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline und ein vollständig dehydriertes Derivat für die Strukturoptimierung mittels Anknüpfen hydrophiler Seitenketten ausgewählt. Abbildung 2.37 zeigt die beiden Leitstrukturen 6-Amino-11-(3-chlorphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (**52**) und 6-Amino-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (**78**) und dazugehörige GI_{50/60}-Werte aus dem *NCI-60 screening*.



Abb. 2.37: Ausgewählte Leitverbindungen zur Strukturoptimierung.

Obwohl die 11-(3-Bromphenyl)verbindung **50** mit 2,69 μM einen noch besseren GI_{50/60}-Wert als das oben dargestellte 11-(3-Chlorphenyl)derivat **52** aufweist, wurde von einer Weiterentwicklung dieser abgesehen, da Organobrom-Verbindungen nicht nur generell eine weitestgehend untergeordnete Rolle bei Arzneistoffen spielen, sondern auch toxikologisch eher als bedenklich, umwelttoxikologisch sogar als kritisch betrachtet werden.⁹⁷ Für den als Indikator verwendeten Triphenylmethanfarbstoff Bromphenolblau werden beispielsweise potentiell karzinogene und teratogene Eigenschaften, sowie eine hohe Toxizität gegenüber Wasserorganismen beschrieben.⁹⁸ Die Erklärung und Verwendung des GI_{50/60}-Wertes, sowie Daten hinsichtlich der Zytotoxizität der beschriebenen Verbindungen werden in **Kapitel 5** detailliert diskutiert.

2.1.5.1 Synthese von Derivaten mit Dimethylaminoalkylamino-Seitenketten an der 6-Position

Um hydrophile Seitenketten über die Aminogruppe in 6-Position an das Grundgerüst der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **31** zu verknüpfen, war theoretisch eine direkte Alkylierung der entsprechenden 6-Amino-Derivate denkbar. ZUR NIEDEN beschrieb allerdings für die *C*-analoge Substanzklasse der 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine eine sehr schwache nukleophile Reaktivität der semizyklischen Amidin-Struktur.⁵² In diesem Zusammenhang verliefen Versuche zur Alkylierung eines 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridins mit 3-(*N*,*N*-Dimethylamino)-propan-1-chlorid unter Zusatz von Natriumiodid im Sinne eines Finkelstein-Austausches in Aceton erfolglos.

Dennoch wurde nach Vorschriften von MOHR *et al.* und GENÈS *et al.* in zwei Modellexperimenten versucht, die Amidinstruktur direkt zu alkylieren.^{99,100} Dies ist in Abbildung 2.38 illustriert.



Abb. 2.38: Versuche zur direkten Alkylierung von 78 nach MOHR und GENÈS.^{99,100}

Die Umsetzung von **78** mit 2-(*N*,*N*-Dimethylamino)ethan-1-chlorid und einem Überschuss K_2CO_3 in Aceton lieferte kein Produkt, es konnte ausschließlich Edukt isoliert werden. Die Reaktion mit demselben Halogenalkan und NaH in Anwesenheit von NaI in trockenem DMF ließ geringe Mengen des gewünschten Produktes (5%, LC/MS-Analytik) entstehen. Die für die Reaktion notwendige Deprotonierung der Amidin-Funktion war durch eine deutliche Rotfärbung der Lösung zu erkennen, das entstandene Amidin-Anion schien allerdings, erkennbar an der sehr geringen Umsetzung, nicht ausreichend nukleophil zu sein, um relevante nukleophile Angriffe/Substitutionen durchzuführen. In diesem Sinne konnten die von ZUR NIEDEN für die 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine gemachten Beobachtungen bezüglich der Reaktivität der semizyklischen Amidin-Funktion auch für die 6-Aminopyrido[3,4-*c*][1,9]-phenanthroline bestätigt werden.⁵² Dieser Synthesewege wurde aufgrund der zu geringen Umsetzung/Ausbeute nicht weiter verfolgt.

Stattdessen wurde die in **Abschnitt 2.1.3** bereits vorgestellte Route zur Desaminierung des Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinkerns gewählt. Hier wurde die 6-Amino-Form **88** über die Lactamstruktur **89** in die reaktive 6-Chlor-Spezies **92** überführt. Die besondere Reaktivität dieses Verbindungstyps wurde in **Abschnitt 2.1.3.5** diskutiert und erlaubt die einfache Umsetzung mit Nukleophilen. Demnach konnten zur Darstellung 6-dimethylamino-alkylaminosubstituierter Verbindungen auch die korrespondierenden ω -Aminoformen der einzusetzenden Seitenketten im Sinne einer nukleophilen aromatischen Substitution die 6-Position angreifen.

ZUR NIEDEN konnte für die Substanzklasse der 6-Aminobenzo[c]phenanthridine über diese Syntheseroute Verbindung **141** darstellen, indem sie das entsprechende 6-Chlorbenzo[c]-phenanthridin **105** mit Ethylendiamin unter Rückfluss erhitzte (Abb. 2.39).⁵²



Abb. 2.39: Darstellung eines Benzo[c]phenanthridins mit 6-Aminoethylamino-Substitution nach ZUR NIEDEN.⁵²

In Abbildung 2.40 ist der komplette Syntheseweg zur Darstellung von Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen mit Dimethylaminoalkylamino-Seitenketten an der 6-Position wiedergegeben. Der letzte Schritt gelang hierbei durch leichtes Erhitzen des entsprechenden 6-Chlor-Produkts in dem umzusetzenden Amin glatt und nahezu verlustfrei mit exzellenten Ausbeuten von 89-93%. Verbindung **143** wurde als Modellsubstanz zuerst synthetisiert, um die Syntheseroute zu etablieren. Bei diesem Derivat konnte lediglich eine Ausbeute von 41% verzeichnet werden, was sich aber mit der sehr geringen Menge an eingesetzter 6-Chlorverbindung (17 mg) erklären lässt, da Verluste bei der Aufarbeitung von solch geringen Mengen wesentlich stärker ins Gewicht fallen.



Abb. 2.40: Syntheseroute zur Darstellung 6-dimethylaminoalkylamino-substituierter Pyrido[3,4-c]-[1,9]phenanthroline in Anlehnung an CLEMENT und WEIDE, ZUR NIEDEN und STENZEL.^{47,61,52}

Die über den in Abb. 2.40 beschriebenen Syntheseweg dargestellten Verbindungen zeigt Abbildung 2.41.



Abb. 2.41: Synthetisierte Derivate mit 6-Dimethylaminoalkylamino-Seitenketten.

Die erhaltenen freien Basen konnten durch Einleiten von Chlorwasserstoffgas in trockenem Methylenchlorid als Hydrochloride gefällt werden (Abb. 2.42).



Abb. 2.42: Ausfällen der Seitenketten-Verbindungen als Hydrochlorid-Salze.

Testdaten aus dem *in vitro* Zytotoxizitätstest des NCI (*NCI-60 screening*) für die in diesem Abschnitt behandelten Verbindungen sind in **Abschnitt 5.2** aufgeführt. Experimentell bestimmte Daten zur Löslichkeit, sowie zur Lipophilie ausgesuchter Verbindungen sind den **Abschnitten 4.12** und **4.21** zu entnehmen.

2.1.5.2 Synthese von Derivaten mit Dimethylaminoalkyloxy-Seitenketten an der 6-Position

Das Anfügen einer hydrophilen Seitenkette an den Lactamsauerstoff der ausgewählten Leitstrukturen der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline war nicht nur synthetisch erstrebenswert, weil durch die direkte Alkylierung aus der 6-Oxo-Form der in nur befriedigenden Ausbeuten durchführbare Folgeschritt der Chlorierung der 6-Position (**Abschnitt 2.1.3.4**) und anschließender Umsetzung mit der ω -nukleophilen Dimethylaminoalkyl-Seitenkette wegfiel, sondern auch weil keine Benzo[c]phenanthridin-Verbindungen oder Aza-Analoga in der Literatur beschrieben, bzw. keine Aussagen über mögliche Zytotoxizitäten dieser Verbindungen vorhanden waren.

Mehrere Reaktionsbedingungen wurden zur Darstellung 6-Dimethylaminoalkyloxysubstituierter Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline angewandt. Hierbei führten direkte Alkylierungsmethoden, die den Einsatz starker Basen wie NaH oder K₂CO₃ nach MOHR und GENÈS für eine nukleophile Substitution eines entsprechenden ω -Chloratoms des eingesetzten Seitenkettenreagenzes erforderten, bei Versuchen der Kopplung an die 11,12-Dihydro-Leitstruktur **97** zu einem Gemisch aus gewünschter 11,12-Dihydro-seitenkettentragender Verbindung **147** und 11,12-dehydrierter seitenkettentragender Verbindung **148** (Abb. 2.43).^{99,100}



Abb. 2.43: Einsatz starker Basen bei der Alkylierung der 6-Position nach MOHR und GENÈS führte zu unerwünschter partieller Dehydrierung der 11,12-Position.^{99,100}

Da die Dehydrierung der Verbindung **52** (6-Amino-11-(3-chlorphenyl)-11,12-dihydropyrido-[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin) sich nachteilig auf die Zytotoxizität auswirkte (**Abschnitt 5.2**) und man dies auch für die in diesem Kapitel behandelten Derivate vermuten konnte, wurde nach einer anderen Vorschrift verfahren.

Eine schonende und für beide Leitstrukturen **52** und **78** in guten Ausbeuten anwendbare Methode der 6-*O*-Alkylierung war die Reaktion der entsprechenden ω -Hydroxy-Analoga der anzufügenden Seitenketten mit den 6-Oxo-Verbindungen **89** nach Zusatz von TPP und DIAD unter den Bedingungen einer *Mitsunobu-Reaktion* nach KISELEV *et al.*^{101,102}

Bei dieser Reaktion gelang eine gute Umsetzung zu den gewünschten Zielverbindungen unter Erhalt der beiden gesättigten Kohlenstoffatome in den Positionen 11 und 12 der 11chlorphenylsubstituierten 6-Oxo-Form **97** von Leitverbindung **52**. Abbildung 2.44 zeigt die verwendete Syntheseroute und die dargestellten Derivate. Die Ausbeuten dieser *Mitsunobu-Reaktion* waren mit 45% bis 89% im befriedigenden bis sehr guten Bereich.







Abbildung 2.44: Syntheseroute der Mitsunobu-Reaktion nach KISELEV und in dieser Arbeit erstmalig dargestellte, über den Lactimsauerstoff substituierte Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline.¹⁰¹

Verbindung 151 konnte außer über die Mitsunobu Reaktion ebenfalls über die in Abb. 2.43 bereits beschriebenen Varianten mit Natrimhydrid (+ Nal) in DMF nach GENÈS und mit K₂CO₃ in Aceton nach MOHR mittels 6-O-Alkylierung dargestellt werden.^{99,100}

Ein Vergleich der Methoden und den dazugehörigen Ausbeuten ist in Tabelle 2.3 abgebildet.



 Tabelle 2.3: Verschiedene Methoden zur Darstellung von 151.

Analog zu Abschnitt 2.1.5.1 konnten relevante Strukturen in trockenem Dichlormethan unter HCI-Begasung als Hydrochloride ausgefällt werden.

Eine ausführliche spektroskopische Charakterisierung von 151 ist in Kapitel 3 beschrieben. Testdaten aus dem in vitro Zytotoxizitätstest des NCI (NCI-60 screening) für ausgewählte, in diesem Abschnitt behandelte Verbindungen sind in Kapitel 5.2 aufgeführt. Ebenso liegen experimentell bestimmte Daten zur Löslichkeit, sowie zur Lipophilie mehrerer Derivate vor (Kapitel 4).

Die Verbindung 151 (interner Code: P8-D-60EthNCH32) zeigt herausragende zytotoxische Eigenschaften, weswegen genauere Untersuchungen hinsichtlich des Wirkmechanismus/ der Wirkmechanismen durchgeführt wurden. Die Ergebnisse sind Abschnitt 6 zu entnehmen.

Versuche zur N-Alkylierung an Position 5 2.1.5.3

Neben der Alkylierung eines sich an der 6-Position befindlichen Sauerstoff- oder Stickstoffatoms war vor allem aus pharmakologischer Sicht eine Alkylierung des Stickstoffs an der 5-Position von großem Interesse. Hier zeigen insbesondere aminoalkylierte Lactam-Strukturen in der aktuellen Literatur potente zytotoxische Eigenschaften, sowie eine gesteigerte Aktivität gegenüber der Topoisomerase I.^{95,88,43,19}

Betrachtet man die Alkylierung von Isochinolin-1-on (153), welches bis auf das Stickstoffatom in Position 7 des 2,7-Naphtyridin-1-ons die für die Alkylierung relevante Teilstruktur Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline enthält, führen unterschiedliche Reaktionsder bedingungen und Reagenzien zu verschiedenen N- bzw. O-alkylierten Produkten. Alkylierungen mit starken Basen und die darauffolgenden Reaktionen der Anionen mit Alkylhalogeniden führen ausschließlich zur *N*-Alkylierung.^{103–105} Bei der Umsetzung von **153** mit Natriumhydrid und Benzylbromid konnten BERRY *et al.* ausschließlich das *N*-alkylierte Produkt **154** erhalten (Abb. 2.45). Gleiches galt für 5-lodisochinolin-1-on **155**, welches mit der ebenfalls starken, aber sterisch gehinderten Base LiHMDS (Lithium Hexamethyldisilazan) glatt zu der entsprechenden 2-benzylierten Verbindung **156** reagierte.¹⁰³ Bei der Umsetzung von **153** unter den Bedingungen der *Mitsunobu Reaktion* mit TPP und DEAD konnten FERRER *et al.* hingegen ausschließlich die Entstehung des *O*-benzylierten Produktes **157** beobachten (Abb. 2.45).¹⁰⁵



Abb 2.45: Reaktionsverhalten von Isochinolin-1-on in Alkylierungsreaktionen.^{103,105}

Die *Mitsunobu Reaktion* findet in den allermeisten Fällen regioselektiv am Sauerstoff-Atom statt, da durch die Oxophilie des Triphenylphosphin-Phosphoratoms als Nebenprodukt Triphenylphosphanoxid entstehen kann.¹⁰⁶ Ein Beispiel für eine *N*-Alkylierung über die *Mitsunobu Reaktion* ist bei der Synthese der potenten Topoisomerase I Gifte, den 7-Azaindenoisochinolinen, nach KISELEV *et al.* gegeben.⁹⁰ Abbildung 2.46 zeigt die Verknüpfung einer hydrophilen Seitenkette an den entsprechenden Lactam-Stickstoff.



Abb. 2.46: N-Alkylierung über Mitsunobu Reaktion nach KISELEV.⁹⁰

Die Verknüpfung der Seitenkette konnte hier über das Stickstoffatom realisiert werden, da neben der Carbonylgruppe in o-Position zum Lactamstickstoff auch die zweite im Molekül vorhandene Carbonylfunktion über die Doppelbindung -I- und -M-Effekte auf das Stickstoffatom ausübt und die Bindung zum NH-aciden Proton lockert (semi-vinyloges Imid). In der vorliegenden Arbeit gelang eine Verknüpfung von Dimethylaminoalkyl-Seitenketten an den Stickstoff in 5-Position der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline nicht. Dabei wurden Methoden der Addition der Anionen der 6-Oxoformen 97 und 98 der Leitverbindungen an das Halogenalkan N,N-Dimethylaminoethylchlorid mittels Einsatz unterschiedlicher Basen ausprobiert. Die Ergebnisse und Reaktionsbedingungen sind in Abbildung 2.47 dargestellt. In diesem Zusammenhang entstand bei der Synthese mit 97, NaH und N,N-Dimethylaminoethylchlorid in DMF nach Yong-BAIK CHO et al. nur das 11,12-oxidierte Edukt 86. Eine Alkylierung konnte bei diesen niedrigen Temperaturen nicht erreicht werden. Bei der Umsetzung nach GENÈS mit NaH, NaI und N,N-Dimethylaminoethylchlorid in DMF für 3 Stunden bei 110°C war überraschenderweise eine O-Alkylierung zu beobachten. Es entstanden das 11,12-Dihydro-Derivat 147 und zu 40% (LC/MS) ebenfalls die 11,12dehydrierte Verbindung 148.^{42,74} Bei den Versuchen, 98 und N,N-Dimethylaminoethylchlorid nach MOHR et al. mit Kaliumcarbonat in Aceton, sowie mit NaH, Nal in DMF nach GENÈS et al., umzusetzen, entstand aussschließlich das O-alkylierte Derivat 151. 103,107



ĊH₃







Cl





Abb. 2.47: Versuche zur N-Alkylierung der 5-Position der 6-Oxo-Derivate 97 und 98 der Leitstrukturen.

Die exklusive Alkylierung des Sauerstoffs unter diesen Bedingungen verlief entgegen den Erwartungen und Beobachtungen aus der Literatur und nicht analog der Reaktionen von Isochinolin-1-on. Die Ursache hierfür ist unklar, eine zu starke sterische Hinderung/-Abschirmung des Stickstoff-Atoms ist unwahrscheinlich. GENES gelang in diesem Kontext die Verknüpfung von verschiedenen Seitenketten an die 5-Position mehrerer Benzo[*c*]-phenanthrolin-6-one mit NaH und NaI in DMF.⁴²

Anzunehmen ist, dass durch die zusätzlichen Stickstoffatome an den Positionen 3 und 8 und möglicherweise das Vorhandensein des Substituenten in 11-Position die Elektronendichte des Ringgerüsts soweit beeinflusst wird, dass das Sauerstoffatom für nukleophile Angriffe deutlich bevorzugt wird. Die definitiven Gründe für diesen Sachverhalt bleiben jedoch unklar. Weiterhin wurden Reaktionen von **98** mit *N*,*N*-Dimethylaminoethylchlorid unter Verwendung der sterisch stark abgeschirmten Basen Cäsiumcarbonat unter den Reaktionsbedingungen von MOHR oder NaHMDS in THF nach BERRY durchgeführt, bei denen ausschließlich das Edukt **98** isoliert werden konnte (Abb. 2.48). Bei diesen Versuchen trat keine Rotfärbung der Lösungen nach Zugabe der Basen ein, was dafür sprach, dass die notwendige Deprotonierung der Lactam-Struktur nicht erfolgt war.



98





Abb. 2.48: Versuche der N₅-Alkylierung mit sterisch stark gehinderten Basen.

Mitsunobu-Reaktionen mit den 6-Oxo-Derivaten **97** und **98** der Leitverbindungen führten wie erwartet exklusiv zu den *O*-alkylierten Verbindungen **147** und **151** wie unter **2.1.5.2** beschrieben.¹⁰¹

Der Nachweis der Substitution über das Sauerstoff-Atom in 6-Position geschah NMRspektroskopisch und ist in **Kapitel 3** beispielhaft für Verbindung **151** (P8-D-6OEthNCH32) erläutert.

Da die 6-*O*-alkylierten Verbindungen, vor allem die Substanz **151** (P8-D-6OEthNCH32), im NCI-60 screening sehr gute Ergebnisse hinsichtlich einer *in vitro*-Zytotoxizität (**Abschnitt 5.2**), sowie vorteilhafte physikochemische Eigenschaften (**Kapitel 4**) zeigten, wurde von weiteren Versuchen der Alkylierung des Stickstoffatoms in 5-Position abgesehen.

2.2 Synthetische Arbeiten zur Substanzklasse der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole

Abschnitt 2.1 zeigt die erfolgreiche Darstellung einer Vielzahl unterschiedlich 6- und/oder 11-substituierter Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline. Diese vielversprechende Substanzklasse ist für mehrere Derivate sowohl in ihren zytotoxischen Eigenschaften (Kapitel 5.3) als auch in relevanten physikochemischen Aspekten wie der Löslichkeit in wässrigen Medien, sowie der Lipophilie (Kapitel 4) den *C*-analogen 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridinen **27** überlegen. Setzt man das Konzept des heterozyklischen Grundkörpers als Träger positiver Wirkstoffeigenschaften weiter um, so ergeben sich viele Möglichkeiten, durch den Einsatz verschiedener heterozyklischer *o*-Methylnitrile zu einer Reihe an unterschiedlichen, potentiell aussichtsreichen Heterozyklen zu gelangen. In der Arbeit von STENZEL war bereits der Austausch des zu dem für die unter Abschnitt **2.1** beschriebene Verbindungsklasse **37** benötigten Ausgangsnitrils **36** gegen das isomere Pyridinderivat **38** (3-Methylpyridin-2-carbonitril) beschrieben.⁶¹ Hier zeigten erste Syntheseversuche ein komplexeres Reaktionsverhalten (Abb. 2.49).



Abb. 2.49: Einsatz von 3-Methylpyridin-2-carbonitril führt zu zwei neuen Substanzklassen.

Neben dem nach dem bekannten Schema von CLEMENT und WEIDE gebildeten 6-Amino-11,12dihydropyrido[2,3-c][1,10]phenanthrolin **39** entstand überraschenderweise die neuartige Struktur eines 5-6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazols **40**, das unter geeigneten Bedingungen als Hauptprodukt isoliert werden konnte.^{47,61}

Die Weiterentwicklung dieser beiden Substanzklassen war ein weiteres Teilziel dieser Arbeit. Die folgenden Kapitel befassen sich mit der Verbindungsklasse der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1azacarbazole **33**, die Verbindungsklasse der Pyrido[2,3-*c*][1,10]phenanthroline **32** wird unter **Abschnitt 2.3** diskutiert.

2.2.1 Synthese 6-substituierter 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1azacarbazole

Analog zu den unter **Abschnitt 2.1** beschriebenen Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen war es zunächst das Ziel, durch Variation der Aldehydkomponente in der klassischen Syntheseroute nach CLEMENT und WEIDE eine angemessene Anzahl 6-substituierter 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **40** darzustellen, um Aussagen über einerseits die Anwendbarkeit der Syntheseroute auf diese Substanzklasse und andererseits über ein mögliches zytotoxisches Potential für verschiedene 6-substituierte Derivate und damit für die Substanzklasse im Allgemeinen zu treffen. Erste Struktur-Wirkungs-Beziehungen sollten abgeleitet werden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten in Bachelorarbeiten und weiterführenden Praktika von LÄNGLE und STEINHAUER neun Verbindungen der 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1azacarbazole **40** mit unterschiedlichen Resten in 6-Position erstmalig synthetisiert werden.^{108,109} Hierbei gelang es, durch eine Variation der Reaktionsbedingungen auf eine Stunde bei 0°C, gefolgt von einer weiteren Stunde bei 8°C, die Reinheit der Rohprodukte deutlich zu erhöhen und die Bildung des nebenbei ebenfalls entstehenden, je nach eingesetzter Aldehydkomponente variierenden 6-Amino-11,12-dihydropyrido[2,3-*c*][1,10]-phenanthrolins **39** zurückzudrängen.¹⁰⁹ Ebenso gelang eine vollständige Aufreinigung der Rohprodukte durch die Etablierung einer Aufreinigungsmethode per Flashchromatographie an Kieselgel mit dem Fließmittel Ethylacetat. Abbildung 2.50 zeigt die über die Variation der Aldehydkomponente erstmalig synthetisierten 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **40**, sowie die korrespondierenden Ausbeuten.



Methoxyphenyl-Substituenten (R =):



Halogenphenyl-Substituenten (R =):



163 (11%)

164 (25%)

165 (21%)

Andere Substituenten (R =):



166 (16%) **167** (18%)

Abb. 2.50: Im Rahmen dieser Arbeit erstmals synthetisierte 5,6-Dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1azacarbazole.^{108,109}

Als Ursache für die geringen Ausbeuten, die teilweise unter 20% liegen, ist vor allem die niedrige Temperatur zu nennen. Dies wurde aber in Kauf genommen, da dadurch ein vergleichsweise hoher Reinheitsgrad der gewünschten Azacarbazol-Derivate **40** erzielt werden kann.

Überraschend ist, dass selbst bei Temperaturen um 0°C der Angriff der Enamin-Struktur **168**, dargestellt in Abb. 2.51, am Ringgerüst unter Austritt von Cyanid gelingt.



Abb. 2.51: Die 2-Cyanopyridinstruktur wird selbst bei 0°C nukleophil angegriffen.

Kürzlich machten AL-AZMI *et al.* bei der Umsetzung von verschiedenartig substituierten 6-Cyanopurinen mit einem Überschuss an Dimethylamin ähnliche Beobachtungen. Durch einen endozyklischen Stickstoff in Nachbarschaft zur Cyanogruppe erfolgte auch hier der Angriff des Amins direkt am Ringkohlenstoffatom unter Austritt von Cyanid.¹¹⁰

Auch die von STENZEL zuvor bereits beschriebenen Verbindungen, die einen 4-Methoxyphenyl- **169** (21%), sowie einen 3,4,5-Trimethoxyphenylrest **170** (41%) in 6-Position tragen, konnten erfolgreich nachsynthetisiert und flashchromatographisch aufgereinigt werden und standen somit für *in vitro*-Zytotoxizitätstests am NCI zur Verfügung.⁶¹

Bei mehreren eingesetzten Aldehydkomponenten war eine Synthese, bzw. die Isolierung der resultierenden Produkte nicht möglich, die entsprechenden Derivate sind in Abbildung 2.52 abgebildet.



Abb. 2.52: Nicht isolierbare 5,6-Dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole.

Verbindung **171** zeigte eine sehr begrenzte Löslichkeit in gängigen organischen Lösungsmitteln, so dass eine säulenchromatographische Aufreinigung dieses Stoffs nicht gelang. Bei den Derivaten **172** - **174** konnte nach der Hydrolyse keine Niederschlagsbildung beobachtet werden, ebenso wenig nach Destillation des DMPU. Hierbei wird angenommen, dass die Hydroxylgruppen unter den stark basischen Bedingungen der Synthese deprotoniert wurden und somit eine Isolation aus der wässrigen Phase erheblich erschwert wurde. In Analogie hierzu ist bei den Produkt **175** höchstwahrscheinlich eine basische Esterhydrolyse eingetreten und die resultierende 4-Hydroxy-3-methoxyphenyl-Verbindung gleichauf schwierig isolierbar wie die Hydroxyphenyl-Derivate. In **Abschnitt 2.1.1** wurde bereits über eine Wechselwirkung zwischen den entsprechenden Nitrobenzaldehyden und der Base Kalium-*tert*.-butanolat berichtet, die auch den Versuch, 3-Nitrobenzaldehyd mit Nitrilkomponente **38** umzusetzen, fehlschlagen ließ. Bei Verbindungen **177** und **178** scheiterte ebenfalls die Isolation der Feststoffe.

Die schlechten Isolationsmöglichkeiten der 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **40** beruhen vor allem auf ihrer besonders guten Löslichkeit in DMPU. Aus diesem Grund wurde nach der Hydrolyse in vielen Fällen kein Niederschlag erhalten, die Destillation des DMPU kam aufgrund einer Zersetzung der Produkte bei derartig hohen Temperaturen (247°C, GESTIS-Stoffdatenbank)¹¹¹ ebenfalls nicht in Frage.

2.2.2 Dehydrierung zu 6-substituierten 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolen

Der Zugang zu den vollständig aromatischen 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolen **179** aus den entsprechenden 5,6-Dihydro-Vorstufen **40** war erstrebenswert, vor allem, weil der Erhalt eines vollständig planaren Ringsystems zu einer verbesserte Zytotoxizität gegenüber den korrespondierenden 5,6-Dihydro-Verbindungen, z.B. durch eine bessere Befähigung der Interkalation des oxidierten Derivats in die DNA, bzw. DNA im Komplex mit verschiedenen Enzymen (z.B. Topoisomerasen) führen sollte. Weitere Aspekte der Bevorzugung der vollaromatischen Verbindungen gegenüber den entsprechenden Dihydro-Analoga sind bereits in **Abschnitt 2.1.2** beschrieben.

Es wurden mehrere Methoden angewandt, um eine Dehydrierung der 5,6-Position zu erreichen. Auch bei den in diesem Abschnitt behandelten 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1azacarbazolen **40** musste die Umsetzung vollständig geschehen, da eine anschließende Trennung von 5,6-Dihydro-Form und vollständig oxidierter Verbindung aufgrund zu geringer R_f-Wert Unterschiede nicht möglich war.

Die unter Kapitel 2.1.2 beschriebene Methode des Erhitzens mit Palladium auf Aktivkohle in DMPU im Rückfluss (Variante a) konnte nur sehr bedingt auf die im vorliegenden Abschnitt behandelten Azacarbazolderivate 40 übertragen werden. Es konnte zwar dünnschichtchromatographisch eine sogar teilweise vollständige Oxidation für einige Verbindungen festgestellt werden, allerdings ergaben sich erhebliche Probleme bei der Isolation der Stoffe. Nach der Hydrolyse konnte jeweils kein Feststoff isoliert werden und die Destillation des DMPUs (Siedepunkt 247°C, GESTIS-Stoffdatenbank)¹¹¹ führte zu einer merklichen Zersetzung des Derivates und der Entstehung von Nebenprodukten, die mit üblichen Methoden der Trennung und Aufreinigung nicht zu separieren waren. Dennoch konnte für einige Verbindungen eine Isolierung und teilweise Aufreinigung durch Einleiten von Chlorwasserstoffgas in eine Lösung des entsprechenden Produkts in Dichlormethan und der damit erzielten Ausfällung als Hydrochloride realisiert werden. Ebenso gelang entgegengesetzt den Beobachtungen zur Dehydrierung der 6-Amino1,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline **37** für mehrere andere Derivate die Dehydrierung der 5,6-Position mit DDQ in Dichlormethan für sechs Stunden im Rückfluss (Variante b).¹⁰⁸ Auch hier wurden die Verbindungen im Anschluss aus Dichlormethan mit gasförmiger Salzsäure als Hydrochloride ausgefällt. In Abbildung 2.53 sind die über die beiden beschriebenen Methoden synthetisierten vollständig aromatischen 11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole abgebildet.



Abb. 2.53: Erfolgreich dargestellte 11H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole.

Arbeiten zur Dehydrierung der 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **40** wurden von LÄNGLE im Zuge einer Bachelor-Arbeit und weiterführender Praktika, die im Rahmen dieser Dissertation bearbeitet wurden, durchgeführt.¹⁰⁸

Für Verbindungen **182** und **183** liegen Daten zur Zytotoxizität im *NCI-60 screening* vor. Diese sind in **Abschnitt 5.3** dargelegt.

2.2.3 Synthese von 6-(2,4-Dimethoxyphenyl)-11-methyl-5,6dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol

Um die Funktionalisierungsfähigkeit und das Reaktionsverhalten des Indolstickstoffs der 7-Azaindol-Teilstruktur der 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **40** zu überprüfen, sollte exemplarisch Verbindung **160** methyliert werden. Zugleich sollte damit ein weiteres Indiz dafür gefunden werden, dass die Verbindungen **40** als dimere Strukturen vorliegen und durch intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen die Löslichkeit dieser Strukturen deshalb besonders in wässrigen Medien, aber auch in gängigen organischen Lösungsmitteln sehr schlecht ist. Diese Eigenschaften werden in **Abschnitt 4.1.3** diskutiert. Die Auswahl von Verbindung **160** für die Methylierung geschah aufgrund der Tatsache, dass zu dem Zeitpunkt dieses Derivat die besten Ergebnisse im *NCI-60 screening* (GI_{50/60} = 1.12 μ M) für diese Substanzklasse zeigte. Durch die Methylierung dürften die Wasserstoffbrücken-Donor-Eigenschaften des Stoffes **160** nivelliert werden, was die Löslichkeit dieser Verbindung erhöhen sollte. Abbildung 2.54 zeigt die möglichen Dimere, die für die schlechte Löslichkeit der Azacarbazol-Derivate **40** verantwortlich sein könnten.



Abb. 2.54: Die Methylierung des Indolstickstoffs dürfte die Ausbildung intermolekularer Wasserstoffbrückenbindungen verhindern.

Es wurde eine Methode nach SALAMATINA *et al.* gewählt, die analog zu den dort beschriebenen Phenanthro[9,10-*d*]imidazolen auf Verbindung **160** übertragen wurde.¹¹² Das in der Vorschrift verwendete Solvens DMSO musste aufgrund schlechter Lösungseigenschaften von **160** in diesem Lösungsmittel gegen DMPU ausgetauscht werden, eine Verlängerung der Reaktionszeit von 2 auf 3 Stunden war ebenfalls notwendig. Die Umsetzungen wurden hierbei dünnschichtchromatographisch überprüft. Abbildung 2.55 zeigt die Synthese von 6-(2,4-Dimethoxyphenyl)-11-methyl-5,6-dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol (**184**).



Abb. 2.55: Methylierung von 160 nach SALAMANTINA.¹¹²

Analog zu den 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolen **40** konnte eine Aufreinigung mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Ethylacetat) erfolgen und das Produkt in einer guten Ausbeute von 64% erhalten werden. Die Gesamtausbeute liegt bei 13%. Lösungseigenschaften von **184** sind in **Abschnitt 4.1.3** aufgeführt.

In dieser Reaktion konnte die Nukleophilie des 7-Azaindol-Stickstoffatoms bestätigt werden. Weiterführende Arbeiten beschäftigten sich bereits erfolgreich mit einer Vielzahl an Funktionalisierungen und Derivatisierungen der 11-Position, vor allem mit hydrophilen Seitenketten, sowie löslichkeitsverbessernden Zuckermolekülen.^{113,114}

2.2.4 Synthese des neuen unsubstituierten Heterozyklensystems 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol

Im Zuge der Darstellung eines neuen Heterozyklensystems sollte im Rahmen dieser Arbeit das 6-unsubstituierte und vollständig aromatische Molekül 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol (**33**) synthetisiert werden. Dieser 1,10,11-Triazazyklus war bisweilen literaturunbekannt, einige Forschungsgruppen konnten strukturverwandte, entsprechend hetero- oder carbozyklisch *a*- oder *i*-anellierte Carbazol-Verbindungen herstellen. Diese, sowie die Zielstruktur **33**, sind in Abbildung 2.56 aufgeführt.^{115–117}



Abb. 2.56: Zielstruktur 11H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (33) (oben), sowie literaturbekannte, strukturverwandte annelierte Carbazole oder Azacarbazole (unten).

Um zu **33** zu gelangen, war theoretisch eine zweistufige Synthese über 5,6-Dihydro-11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol (**189**), resultierend aus dem Einsatz von Formaldehyd in der klassischen basischen Kondensationsreaktion mit der Nitrilkomponente **38** und nachfolgender Oxidation zur vollständig aromatischen Zielverbindung **33** nach CLEMENT und WEIDE, respektive STENZEL denkbar (Abb. 2.57).^{47,61}



Abb. 2.57: Angedachte Syntheseroute zur Darstellung des 6-unsubstituierten 11H-Pyrido[3,2-i]-1azacarbazols 33.^{47,61}

Allerdings konnte analog der Vorschrift von Kock für die Synthese von 6-Amino-11,12dihydrobenzo[c]phenanthridin bei dem Einsatz von Paraformaldehyd im ersten Syntheseschritt oberhalb einer Reaktionstemperatur von 40°C nur eine Mischung des gewünschten Zwischenproduktes **189** und dem ebenfalls entstehenden 6-Amino-11,12dihydropyrido[2,3-c][1,10]phenanthrolin **190** ausgemacht werden (Abb. 2.58).^{51,109} Bei Temperaturen unterhalb von 40°C konnte kein Produkt isoliert werden. Weder Umkristallisationsversuche in gängigen Lösungsmitteln, noch Versuche zur säulenchromatographischen Trennung an Kieselgel (Fließmittel: Ethylacetat/Petrolether, verschiedene Verhältnisse) konnten zur Isolation des bei dieser Reaktion nicht als Hauptprodukt entstehenden Zwischenproduktes **189** führen. Auch Ansätze, bei denen die Depolymerisation von Paraformaldehyd und das Einleiten von gasförmigem Formaldehyd im Stickstoffstrom untersucht wurde, führten nicht zur gewünschten Ringschlussreaktion und Isolierung des Zwischenproduktes **189**.¹⁰⁹



Abb. 2.58: Nicht trennbares Produktgemisch beim Einsatz von Paraformaldehyd.¹⁰⁹

Von einem nachfolgenden Versuch der Oxidation zum Erhalt von **33** wurde somit abgesehen. Stattdessen wurde nach einer bereits durch STENZEL für ein polymethoxysubstituiertes 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phenanthridin erfolgreich angewandten Methode zur Abspaltung eines elektronenreichen 11-Restes (analog dem 6-Rest der vorliegenden Azacarbazolklasse **40**) unter Ausbildung einer Doppelbindung in Anlehnung an Li *et al.* verfahren.^{118,61} Abbildung 2.59 zeigt den durch Li beschriebenen Mechanismus, bei dem eine Abspaltung eines Phenylrests an der 11-Position von 6-Amino-2,8-difluor-11-phenyl-11,12-dihydrobenzo[*c*]phenanthridin (**191**) mit Hilfe von Trifluormethansulfonsäure gelang. Dabei kommt es zu einer katalytischen Protonierung des Phenylrestes und nachfolgender Spaltung der σ -Bindung zwischen der 11- und 1'-Position und Eliminierung von Benzen unter Ausbildung einer Doppelbindung in 11,12-Position.¹¹⁸



Abb. 2.59: Eliminierung des 11-Substituenten nach Li et al.¹¹⁸

In Anlehnung an STENZEL wurde für die Eliminierungsreaktion Derivat **170** gewählt, das einen 3,4,5-Trimethoxyphenylrest trägt.⁶¹

Abbildung 2.60 zeigt die angewandte Syntheseroute zur Darstellung des neuen heterozyklischen Grundkörpers 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol **33**. Zur Erhöhung der Ausbeute wurde die Reaktionsdauer von 48 auf 72 Stunden erhöht, des Weiteren war eine anschließende Neutralisierung mit Natronlauge nach der Hydrolyse notwendig, um das Rohprodukt ausfällen zu können.

Die Umsetzung von **170** zu **33** gelang zu 90%, eine Abtrennung des Eduktes und Aufreinigung gelang mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Ethylacetat/Petrolether (50%)).¹⁰⁹ Die Ausbeute der Eliminierung liegt mit 53% im befriedigenden Bereich, die Gesamtausbeute liegt bei 22% der Theorie.



Abb 2.60: Route zur Darstellung des neuen Heterozyklus 11H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol 33.¹⁰⁹

Das neue, zuvor in der Literatur nicht beschriebene anellierte Carbazol-System 11*H*-Pyrido-[3,2-i]-1-azacarbazol **33** konnte somit in einer einfachen und reproduzierbaren zweistufigen Prozedur bestehend aus der modifizierten Eintopf-Reaktion nach CLEMENT und WEIDE und darauffolgender Eliminierung des 6-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-Restes in einer Gesamtausbeute von 22% synthetisiert werden.^{47,118}

Die Synthese von **33** war Thema der Bachelor-Arbeit von STEINHAUER, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurde.¹⁰⁹

2.3 Synthetische Arbeiten zur Substanzklasse der Pyrido-[2,3-c][1,10]phenanthroline

Die Verbindungen der 11,12-Dihydropyrido[2,3-*c*][1,10]phenanthroline **39** entstehen bei der Umsetzung von Nitrilkomponente **38** und einer Aldehydkomponente nach der klassischen Syntheseroute von CLEMENT und WEIDE mit Hilfe von Kalium-*tert*-butanolat in DMPU neben den 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolen **40**, was in Abbildung 2.49 in **Abschnitt 2.2** illustriert ist. Eine Isolierung und Aufreinigung dieser Verbindungsklasse mit konventionellen Methoden schlug allerdings fehl.¹⁰⁹ Hierfür war eine außerordentlich schlechte Löslichkeit der Verbindungen sowohl in gängigen organischen Lösungsmitteln wie auch im wässrigen Medium verantwortlich.

Dabei konnten Verbindungen **39** neben der Azacarbazolklasse **40** je nach eingesetzter Aldehydkomponente zumeist nur als Nebenprodukte erhalten werden, die Temperatur schien hier oberhalb von 40°C keinen größeren Einfluss zu haben.^{108,109} Die minimale Löslichkeit und nahezu vollständige Immobilität der Substanzklasse in organischen Fließmittelgemischen kann analog der Azacarbazole **40**, bei denen wiederum letztendlich eine säulenchromatographische Aufreinigung gelang, auf die Ausbildung dimerer Strukturen von den Molekülen **39** untereinander zurückgeführt werden (Abb. 2.61).



Abb. 2.61: Ausbildung von Dimeren bei den 11,12-Dihydropyrido[2,3-c][1,10]phenanthrolinen 39.

Demnach könnten sogar vier Wasserstoffbrückenbindungen zwischen zwei Molekülen dieser Substanzklasse ausgebildet werden, was die extrem schlechte Löslichkeit erklären könnte. Stoffe mit derart schlechten Lösungseigenschaften sind in Hinblick auf eine Weiterentwicklung als potentielle Arzneistoffe bereits in der präklinischen Entwicklung, z.B. durch Präzipitation der Verbindungen in *in vitro* Testsystemen derart benachteiligt, dass eine Weiterentwicklung bis hin zu klinischen Studien undenkbar ist. Das allgemein anerkannte BCS (*Biopharmaceutical Classification System*) zur Einteilung von Arzneistoffen hinsichtlich ihrer Resorption in den menschlichen Organismus spricht zum Beispiel Verbindungen mit besonders schlechter Löslichkeit ein schlechtes Resorptionsvermögen und somit auch eine niedrige Bioverfügbarkeit zu.¹¹⁹ Da umso größere wirtschaftliche Risiken entstehen, je später ein Arzneistoffkandidat in seiner Entwicklung gestoppt werden muss, wird unter anderem der Löslichkeit als kritischem physikochemischen Parameter bereits sehr früh Aufmerksamkeit geschenkt.¹²⁰ Es wurde daher von einer Weiterentwicklung der Klasse der Pyrido-[2,3-c][1,10]phenanthroline abgesehen.

2.4 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit konnten zusätzlich zu den vier bereits in vorherigen Arbeiten beschriebenen Verbindungen durch Variation der Aldehydkomponente in der beschriebenen Eintopf-Synthese 18 neue 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **43** - **60** synthetisiert werden. Der Prozess ist somit auch in breitem Maße auf die Darstellung dieser Aza-Analoga der 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine anwendbar.

Versuche zur Gewinnung der Verbindungen **63** - **67** über diese Synthesemethode verliefen erfolglos, ebenso wie der direkte Einsatz von 3-Ethoxy-4-hydroxybenzaldehyd und 4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyd, um die entsprechend 11-(hydroxyphenyl)-substituierten Heterozyklen **61** und **62** zu erhalten. In einer zweistufigen Reaktion über das 3-Methoxyphenylderivat **43** und anschließender Demethylierung konnte die 11-(3-Hydroxyphenyl)-Verbindung **70** erhalten werden.

Um zu den vollständig aromatischen Heterozyklen dieser Substanzklasse zu gelangen, wurde eine Oxidationsprozedur im Sinne einer metallkatalysierten Dehydrierung bei hohen Temperaturen entwickelt, die in kurzen Reaktionszeiten und guten Ausbeuten die sechs dehydrierten Verbindungen **75** - **80** lieferte. Unter den Bedingungen dieser Methode kam es für 11-halogenphenyltragende Verbindungen zu einer Abspaltung des entsprechenden Halogenatoms. Die 3-Bromphenyl- und die 3-Chlorphenyl-Verbindungen konnten in diesem Zusammenhang mit Hilfe einer weiteren entwickelten Methode über eine Eliminierungsreaktion mit starker Base in 11,12-Position zu den Pyridophenanthrolinen **83** und **84** dehydriert werden.

Eine vierstufige Strategie zur Desaminierung der 6-Position führte über die 6-Oxo-Verbindungen, von denen die sechs Moleküle **93** - **98** dargestellt wurden, zu entsprechenden 6-Chlor-Derivaten (**106** - **109**), nachdem eine Überführung in die korrespondierenden 6-Thiono-Analoga **90** erfolglos blieb. Die 6-Chlor-Verbindungen dienten wiederum als Edukte für die Hydrierung und Abspaltung des Chlor-Atoms zur Synthese der 6-unsubstituierten Systeme **110** - **112**.

Durch einen letzten Oxidationsschritt für **111** konnte zudem in insgesamt vier Schritten ausgehend von 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (**122**) das gänzlich unsubstituierte Heterozyklenskelett Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (**31**) erstmalig dargestellt werden.

Die Annäherung an natürliche Benzo[c]phenanthridine im Sinne von Methoxygruppen im tetrazyklischen Grundgerüst der Substanzklasse gelang in dieser Arbeit nicht. Weder bei Versuchen zur Darstellung 2,4,7,9-tetramethoxy- (**131**), noch 4,7-dimethoxysubstituierter Verbindungen **137** konnten die gewünschten Produkte isoliert werden.

Zur Verbesserung der Zytotoxizität, sowie zur Erhöhung der Löslichkeit wurden erfolgreich verschiedene Dimethylaminoalkyl-Reste an die 6-Position vielversprechender Leitstrukturen angeknüpft.

Hierbei gelang ausgehend von der 6-Amino-11,12-dihydroform **37** in vier Stufen (fünf, falls eine Oxidation erforderlich war) die Synthese von vier unterschiedlich substituierten

6-Dimethylaminoalkylamino-Verbindungen **143** - **146** über nukleophile aromatische Substitution aus der 6-Chlor-Form **92**. Auch die Darstellung von vier unterschiedlichen 6-Dimethylaminoalkyloxy-Derivaten **147**, **150**, **151** und **152** war über Alkylierungsreaktionen aus der 6-Oxo-Form in drei Syntheseschritten (vier im Falle einer Oxidation) möglich.

Versuche zur Alkylierung der 5-Position aus entsprechenden 6-Oxo-Formen **89** hingegen scheiterten auch beim Einsatz mehrerer Synthesevarianten, bei denen statt einer 5-*N*-Alkylierung stattdessen zumeist eine 6-*O*-Alkylierung erfolgte.

Analog zu den 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen **37** konnte gleichermaßen auch für die Substanzklasse der 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido-[3,2-i]-1-aza-carbazole **40** durch Variation der Aldehydkomponente nach Anpassung der Reaktionsbedingungen und Etablierung einer Aufreinigungsmethode eine Substanzbibliothek von neun erstmalig synthetisierten Verbindungen dieses Verbindungstyps bereitgestellt werden (**159 – 167**).

Der Einsatz mehrerer Aldehyde, vor allem Hydroxybenzaldehyde, führte zu keinen isolierbaren Produkten, weil sich die Separierung von Derivaten dieser Azacarbazolklasse **40** aus dem Lösungsmittel DMPU als zu kompliziert erwies.

Mit Hilfe zweier Methoden konnten vier Verbindungen (**180** - **183**) in 5,6-Position dehydriert und unter anderem über eine Fällung als Hydrochlorid-Salze nahezu vollständig aufgereinigt werden.

Desweiteren konnte beispielhaft durch die Synthese von **184** im Sinne einer Methylierung des 11*H*-Indolstickstoff-Atoms der 7-Azaindol-Teilstruktur dieser Verbindung eine gute Reaktionsfähigkeit und Möglichkeit der vielfachen Funktionalisierung dieser Position der Azacarbazolklasse **40** ausgemacht werden, was in weiterführenden Arbeiten bereits ausgenutzt wurde. Zudem führte die Methylierung der 11-Position zu einer deutlichen Verbesserung der Löslichkeit von **184**, wahrscheinlich durch Verhinderung einer Dimerisierung durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen zwei Azacarbazol-Molekülen (Abb. 2.54).

Über die Abspaltung eines elektronenreichen 6-Restes von **170** über eine Eliminierungsreaktion im stark sauren Medium konnte außerdem der zuvor literaturunbekannte, gänzlich unsubstituierte 1,10,11-Triaza-Heterozyklus 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol **33** erhalten werden.

Die durch den Einsatz der Nitrilkomponente **38** neben den beschriebenen Azacarbazol-Derivaten **40** ebenfalls entstehende Substanzklasse der 11,12-Dihydropyrido[2,3-*c*][1,10]phenanthroline **39** konnte durch ihre außerordentlich schlechten Lösungseigenschaften auch in organischen Lösungsmitteln nicht zugänglich gemacht werden. Auch hier wurde die Ausbildung von Dimeren in Betracht gezogen. Letztendlich wurde von einer Weiterverfolgung der Substanzklasse aufgrund dieses extremen Nachteils im physikochemischen Profil dieses Verbindungstyps **39** abgesehen.

2.5 Ausblick

Die Synthese der 6-Chlorpyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **92** gelang in dieser Arbeit mit der klassischen Methode mit Phosphoroxychlorid unter Rückfluss nur in Ausbeuten um 40%. Gerade in Hinblick auf die gute Funktionalisierbarkeit und damit Bedeutung dieser Zwischenstufe sollten Methoden der Ausbeuteverbesserung in Betracht gezogen werden. Ungefähr doppelt so hohe Ausbeuten resultierten bereits in der Verwendung der Variante b in der Mikrowelle (**Abschnitt 2.1.3.4**). Der Gebrauch säure- und hitzeresistenter Glasgeräte und Verschlussmaterialien dürfte die Anwendung dieser Mikrowellenmethode erneut ermöglichen. Eine Alternative könnte auch der Einsatz von Dichlorphenylphosphinoxid **195** als Ersatz für Phosphoroxychlorid sein (Abb. 2.62).



Abb. 2.62: Struktur von Dichlorphenylphosphinoxid

Die Verwendung dieses Reagenzes ermöglicht aufgrund des lipophilen Phenylrestes eine bessere Löslichkeit der umzusetzenden 6-Oxo-Verbindungen **89**, so dass auf den Einsatz konzentrierter Salzsäure zur Lösung von **89** verzichtet werden könnte. Die Reaktion könnte zudem bei wesentlich höheren Temperaturen ablaufen, da das Dichlorphenylphosphinoxid mit 258°C einen wesentlich höheren Siedepunkt besitzt.¹²¹

Überführung Bei der Anwendung hoher Temperaturen zur von 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-onen **99** in die korrespondierenden 6-Chlorverbindungen bestünde die Gefahr der partiellen Dehydrierung der 11,12-Dihydro-Teilstruktur, was in Vorversuchen mit dem Reagenz bereits gezeigt werden konnte. Für 11,12-dehydrierte Oxo-Derivate, sowie einer Reaktionsdurchführung bei bereits Temperaturen, bei denen die Dehydrierung noch nicht erfolgt, könnte dieses Reagenz für die in Abschnitt 2.1.3.4 beschriebene Variante a der Chlorierungsprozedur eine Alternative zu POCl₃ darstellen.

Die Darstellung von ringmethoxylierten Verbindungen der Substanzklasse der Pyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthroline **31** war durch den Einsatz entsprechend methoxysubstituierter 4-Methylpyridin-3-carbonitrile **129** und **136** nicht realisierbar. Eine andere Möglichkeit könnte die Synthese eines entsprechend 11-substituierten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolins **37** und im Folgenden eine nachträgliche Methoxylierung des Ringsystems sein. Hier könnte eine dreistufige Synthese ausgehend vom zu methoxylierenden Derivat über die Zwischenstufe eines Di-*N*-Oxids nach KOKATLA und anschließender *Boekelheide-Umlagerung* in Anlehnung an BOEKELHEIDE zu entsprechenden hydroxysubstituierten Systemen zum Erfolg führen, die wiederum in einem letzten Schritt, zum Beispiel nach SINGH, zu den Zielverbindungen **198** methyliert würden.^{122–124} Die entsprechende Route ist in Abbildung 2.63 dargestellt.



Abb. 2.63: Möglichkeit zur Darstellung 2,9-methoxysubstituierter 6-Amino-11,12-dihydropyrido-[3,4-c][1,9]phenanthroline 198.¹²²⁻¹²⁴

In Vorversuchen gelang die Bildung eines Di-*N*-Oxids nach KOKATLA *et al.* ausgehend von Verbindung **78**, das Produkt konnte massenspektrometrisch nachgewiesen werden.¹²³ Durch die relativ große Raumanforderung der Acetylgruppe wird vermutlich die Acetylierung und anschließende Hydrolyse zur Ausbildung einer Hydroxyfunktion nicht an den sterisch ungünstigeren Positionen 4 und 7 erfolgen, sondern an 2 und 9. Dies gilt es experimentell zu klären.

Im Zuge der Einführung weiterer Seitenketten an die 6-Position der Pyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthroline **31** wäre der Zugang zu endständig rigidisierten Aminstrukturen interessant, da zum Beispiel die sich derzeit in der klinischen Entwicklung befindlichen, am NCI entwickelten 5,11-Diketoindenoisochinoline NSC 725776 und NSC 724998 einen terminalen Morpholin- bzw. Imidazolrest aufweisen.^{95,90} Abbildung 2.64 zeigt schematisch den Zugang zu vielversprechenden zu synthetisierenden seitenkettentragenden Verbindungen mit möglicher Variation der Kettenlänge der entsprechenden Alkylkette. Die Synthese entsprechender 6-*O*- oder –*N*-alkylierter Derivate wurde im Detail in den **Kapiteln 2.1.5.1** und **2.1.5.2** besprochen.



Abb. 2.64: Schematische Darstellung der Synthese vielversprechender seitenkettentragender Verbindungen.

In diesem Zusammenhang ist die Anknüpfung vieler weiterer Funktionen denkbar, auch im Sinne von Prodrug-Strukturen (z.B. Carbamate, Esterfunktionen) oder leicht abspaltbarer, stark löslichkeitsverbessernder Strukturen, wie Zuckermolekülen.

Weiterhin erstrebenswert ist auch die Einführung hydrophiler Seitenketten an die 5-*N*-Position, die bisher nicht gelang. Hier könnten Alkylierungsversuche unter Zusatz von AlCl₃, welches als Lewis-Säure eine koordinative Bindung mit dem Sauerstoff-Atom eingeht, zum Erfolg führen.¹⁰⁶

Ebenfalls denkbar ist in diesem Zusammenhang die Totalsynthese über einen anderen Mechanismus, zum Beispiel in Analogie zu RUCHELMAN *et al.*, welcher in Abbildung 2.65 abgebildet ist und über den auch der zu den Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen **31** strukturverwandte vielversprechende Topoisomerase I-Hemmstoff *Topovale* (ARC-111) synthetisiert wurde.¹²⁵ Das dort abgebildete erste Zwischenprodukt **199**, welches aus einer Reduktion und anschließender Alkylierung von 8-Nitrochinolin zugänglich sein dürfte, trägt bereits den Dimethylaminoalkyl-Seitenkettenrest und wird im Anschluss nach Aktivierung des zweiten Intermediats, der 4-Iodnicotinsäure **200**, zum Säurechlorid an letztere angeknüpft. Der zweite Ringschluss zu **202** kann dann über eine metallorganische Kupplungsreaktion erfolgen. Auch der Einsatz bereits methoxy-substituierter Nitrile, um zu Verbindungen mit Methoxygruppen im Ringgerüst zu gelangen, wäre über diesen dreistufigen Reaktionsweg denkbar.^{62,125}


Abb. 2.65: Möglicher Syntheseweg zur Darstellung 5-N-aminoalkylierter Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 202 in Anlehnung an VOLLHARDT und RUCHELMAN.^{62,125}

Das toxikologisch bedenkliche Phosgen aus Reaktionsschritt 2 könnte in dieser Syntheseroute eventuell durch andere Carbonsäureaktivierungsreagenzien wie Thionylchlorid oder Oxalylchlorid ersetzt werden.

Ein Nachteil dieser Methode wird höchstwahrscheinlich sein, dass der 11-Rest (R^1) nicht ohne weiteres auf 8-Nitrochinolin zu übertragen sein dürfte. Denkbar wären hier ebenfalls metallorganische Kupplungsreaktion über ein entsprechendes, der Nitrogruppe metaständiges Halogenatom, die Darstellung derartiger Verbindungen ist in der Literatur allerdings noch nicht beschrieben. Ist R^1 = H sollte die Reaktion analog den Bedingungen von RUCHELMAN durchführbar sein und zu der ebenfalls pharmakologisch hoch interessanten 11unsubstituierten Verbindung führen.¹²⁵

Für die Verbindungsklasse der 11*H*-Pyrido[2,3-*i*]-1-azacarbazole **33** sollten Arbeiten, die das Lösungsverhalten der Substanzklasse in wässrigen Medien verbessern, im Vordergrund stehen. Über eine Funktionalisierung des Indolstickstoffs in 11-Position sind in parallel zur vorliegenden Arbeit durchgeführten Studien bereits einige Untersuchungen durchgeführt worden, die vor allem die Verlinkung von hydrophilen Seitenketten und Zuckermolekülen an diese 11-Position beinhalteten.^{113,114}

Für strukturverwandte Pyridocarbazol-Derivate sind in der Literatur Antitumor-Aktivitäten beschrieben worden, wobei sich in vielen Fällen herausstellte, dass Verbindungen mit hydrophilen Seitenketten am zytotoxischsten waren.^{126–131} Dieser Ansatz sollte intensiver auch für die hier beschriebenen Azacarbazol-Derivate **33** in Betracht gezogen werden.

Für die sehr schlecht lösliche Substanzklasse der Pyrido[2,3-c][1,10]phenanthroline **32** stehen bei gewünschter Weiterentwicklung dieser Verbindungen noch immer Arbeiten zur Isolierung und Aufreinigung im Vordergrund. Dabei sollten praktische Methoden, wie die säulenchromatographische Aufreinigung an modifizierten Kieselgelen (z.B. C₁₈-Umkehrphasen) oder an basischem Aluminiumoxid, sowie chemische, gegebenenfalls reversible Veränderungen von **32**, ähnlich der Methylierung des Beispielderivates **160** der Azacarbazolklasse zur Verhinderung der Ausbildung von Dimeren (**Abschnitt 2.2.3**), durchgeführt werden.

Ferner ist es über die Eintopf-Synthesemethode von CLEMENT und WEIDE theoretisch möglich, über den Einsatz verschiedenster Nitrilkomponenten, die anders substituierte *o*-Methylpyridincarbonitrile darstellen, oder auch weitere Stickstoff- oder andere Heteroatome enthalten können, zu einer großen Anzahl an neuen, literaturunbekannten und möglicherweise pharmakologisch interessanten Heterozyklen zu gelangen. Dieses synthetische Potential abzuschätzen und zu erarbeiten ist zur Zeit die Aufgabe von STEINHAUER, deren Dissertation sich mit diesem Thema beschäftigt.¹³²

3 SPEKTROSKOPIE

3.1 Spektroskopische Charakterisierung von 6-(2-Dimethylaminoethoxy)-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrido[3,4c][1,9]phenanthrolinhydrochlorid (P8-D-6OEthNCH32)

Die in der vorliegenden Arbeit erstmalig beschriebene Verbindung P8-D-6OEthNCH32 (**151**) weist eine herausragende *in vitro*-Zytotoxizität auf. In diesem Abschnitt ist beispielhaft für dieses Derivat eine vollständige NMR-spektroskopische Charakterisierung aufgeführt.



Abb. 3.1: Bezifferung der Ringpositionen der Verbindung P8-D-60EthNCH32·HCl (151).

In Abbildung 3.2 ist das ¹H-NMR-Spektrum des Hydrochlorids, gelöst in DMSO-*d*₆, wiedergegeben. Dabei ist das Signal des protonierten tertiären Amins 5" der Seitenkette klar erkennbar (δ = 11.25 ppm), welches durch einen schnellen H/D-Tausch durch die Zugabe weniger Tropfen D₂O verschwindet. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigt alle erwarteten Signale, die Methylenprotonen an C-2" der Seitenkette sind isochron mit dem Singulett der Methoxygruppe bei 3.82 ppm und werden von diesem überlagert. Im ¹H-¹H-COSY-Spektrum ist ein Spinsystem erkennbar, welches eine Kopplung zu den benachbarten Methylenprotonen an C-1"zeigt. (Abb. 3.3). Dieses Spektrum offenbart ebenso die beiden charakteristische Spinsysteme im aromatischen Bereich der jeweiligen Pyridinprotonen an den Ringpositionen 10, 9 und 7 bei 7.37, 8.74 und 10.06 ppm, sowie der Protonen an den Positionen 1,2 und 4 bei 8.56, 8.95 und 10.64 ppm. Die Protonen 2 und 9 zeigen im ¹H-¹H-COSY-Spektrum teilweise nur schwache Kopplungen, über die Tieffeldverschiebung durch die direkte Nachbarschaft zu den Stickstoffen 3 und 8 können die Signale bei 8,95 und 8,74 aber eindeutig den Protonen 2 und 9 zugeordnet werden.¹³³



Abb. 3.2: ¹H-NMR-Spektrum von P8-D-6OEthNCH32 (151).



Abb. 3.3: ¹*H*-¹*H*-*COSY*- *Spektrum von P8-D-6OEthNCH32 (151).*

Eine Zuordnung der Spinsysteme zu den entsprechenden Ringen gelingt bereits über das ¹H-¹H-COSY-Spektrum, das eine ⁵J-Fernkopplung von H-12 bei 8.28 ppm zu dem Signal des Protons an Position 4 (10.64 ppm) zeigt (Abb. 3.3). Im eindimensionalen ¹H-Spektrum erscheint das Signal des Protons an Position 12 als Singulett. Ein viertes Spinsystem zeigt eine ⁵J-Kopplung der chemisch äquivalenten Protonen 2' und 6' bei 6.88 ppm zu den chemisch äquivalenten Protonen der Methoxygruppen an den Positionen 3' und 5'. In Tabelle 3.1 ist eine vollständige Zuordnung der Protonen aufgeführt. Abbildung 3.4 zeigt das ¹³C-Spektrum der Verbindung in DMSO- d_6 :



Abb. 3.4: ¹³C-NMR-Spektrum und DEPT135-Spektrum (oben) von P8-D-6OEthNCH32 (151).

Insgesamt sind 24 Signale zu beobachten, von denen 13 protonentragende Kohlenstoffatome sind. Im aliphatischen Bereich können die negativen Signale im DEPT-Spektrum leicht den beiden methylenprotonentragenden C-Atomen der aliphatischen Seitenkette zugeordnet werden (C-2" – 54.8 ppm; C-1" – 61.8 ppm). Auch die chemisch äquivalenten Methylgruppen am endständigen tertiären Amin (C-3", C-4" – 42.5 ppm), sowie die chemisch äquivalenten Methoxygruppen an den Positionen 3' und 5' (C-7', C-9' – 56.2 ppm) können über ihre Intensitäten und chemischen Verschiebungen bereits zugeordnet werden. Zwei weitere Signale bei 106.0 ppm und 153.7 ppm zeigen höhere Intensität, so dass hierbei von den chemisch äquivalenten Kohlenstoffatomenpaaren C-2', C-6' und C-3', C-5' ausgegangen werden kann. Durch eine starke Entschirmung der benachbarten Methoxygruppen wird das tieffeldverschobenere Signal bei 153.7 ppm den C-Atomen C-3', C-5' angehören. Das ¹H, ¹³C-HSQC bestätigte diese Annahme durch Identifizierung der C-2', C-6'-C-Atome bei 106.0 ppm (Abb. 3.5). Die Zuordnung der protonentragenden Kohlenstoffatome erfolgte über das ¹H, ¹³C-HMBC einwandrei identifiziert

werden (Abb. 3.6). In der Tabelle 3.1 ist die vollständige Zuordnung der ¹H- und ¹³C-Atome aufgeführt.





Abb. 3.6: 1H, ¹³C-HMBC-Spektrum von P8-D-60EthNCH32 (151).



Tabelle	3.1:	Zusammenfassung	der	NMR-spektroskopischen	Untersuchungen	von	P8-D-6OEth-
NCH32 ('151):	·					

	¹ H	¹³ C-NMR	
Atom	chemische Verschiebung [ppm]	Multiplizität, Intensität und Kopplungskonstanten	chemische Verschiebung [ppm] und Intensität
C-1	8.56	d, 1H, ³ J = 6.3 Hz	123.9
C-2	8.95	d, 1H ³ J = 6.3 Hz	136.5
C-4	10.64	s, 1H	144.3
C-4a	-	-	124.1
C-4b	-	-	143.8
C-6	-	-	159.6
C-6a	-	-	115.3
C-7	10.08	d, 1H, <i>J</i> = 0.7 Hz	148.9
C-9	8.74	d, 1H, ³ J = 6.2 Hz	147.1
C-10	7.37	dd, 1H, ³ J = 6.2 Hz, J = 0.7 Hz	119.1
C-10a	-	-	139.6
C-10b	-	-	117.9
C-11	-	-	126.0
C-12	8.28	s, 1H	126.0
C-12a	-	-	139.0
C-1'	-	-	136.1
C-2', C-6'	6.88	-	106.0 (2C)
C-3', C-5'	-	-	153.7 (2C)
C-4'	-	-	147.2
C-8'	3.82	s, 3H	60.4
C-7', C-9'	3.74	s, 6H	56.2 (2C)
C-1"	5.33	m, 2H	61.8
C-2''	3.82	Überlagert ¹	54.8
C-3", C-4"	2.96	d, 6H, ³ J = 4.8 Hz	42.5 (2C)
N-5"	11,25	m, 1H	-

- quartär; ¹Das Signal der Methylenprotonen an C-2" wird von dem Signal der Methoxygruppe C-8' überlagert.

Mittels ¹H, ¹³C-HMBC-spektroskopischer Untersuchungen gelang ebenso für die 6-Dimethylaminoethyloxy-Seitenkettenverbindungen der Nachweis der Alkylierung an der 6-*O*-Position anstelle des Stickstoffs in 5-Position. Nach Lösung ausreichender Substanzmenge in DMSO- d_6 und 2% DCl (Der Säurezusatz führt zu Tieffeldverschiebungen sowohl der ¹H, als auch der ¹³C-Signale) in D₂O zeigt das HMBC-Spektrum von **151** ausschließlich eine ³*J*- Kopplung (schwach) der Methylenprotonen des C-1"-Atoms (5.36 ppm) zum Kohlenstoffatom an Position 6, dargestellt in Abb. 3.7:



Abb. 3.7: Kopplung von C-1" und C-6' (umkreist) im HMBC-Spektrum in DMSO-d₆ +2% DCl in D_2O .

Demnach liegt eine *O*-Alkylierung vor, da die bei einer theoretischen Alkylierung des Stickstoffatoms an Position 5 die Protonen der α -CH₂-Gruppe zusätzlich zu der ³*J*-Kopplung zu C-Atom 6 auch eine ³*J*-Kopplung zu C-Atom 4b aufweisen müssten (Abb. 3.8):



Abb. 3.8: ³J-Kopplungsmuster der C-1"-Protonen bei O- oder N-Alkylierung.

Weitere Hinweise gibt der Vergleich der chemischen Verschiebungen der ¹H- und ¹³C-Signale an C-1" mit den Signalen strukturverwandter Verbindungen aus der Literatur. Ebenso wurde die chemischen Verschiebungen der zum Ringkohlenstoffatom C-6 analogen Atome betrachtet. Eine Übersicht dieser Recherche ist in Tabelle 3.2 abgebildet:

Verbindung	Methyl-/Methyleng	Methyl-/Methylengruppe (analog C-1")	
verbindung –	δ ¹ H [ppm]	δ ¹³ C [ppm]	$\delta^{13}C [ppm]$
P8-D-6OEthNCH32 (151)	5.33	61.8	159.6
CH ₃	3.88 ¹ 3.86 ²	52.9 ² 52.8 ³	163.5²
N CH ₃ O	3.54 ⁴ 3.56 ¹	37.4 ⁴	162.9 ⁴
	4.21 ⁵	65.8 ⁵	164.1 ⁵
CH3	3.85 ⁶	49.5 ⁶	162.5 ⁶
N O CH ₃	4.11 ⁷	53.6 ⁷	161.0 ⁷
N _{CH3}	3.62 ⁸	37.0 ⁸	162.3 ⁸

Tabelle 3.2: Chemische Verschiebungen strukturverwandter Pyridin/Isochinolin-Derivate:

¹LISTER et al., 2003¹³⁴; ²DENISOV et al., 1984¹³⁵; ³CONTRERAS et al., 1993¹³⁶; ⁴SHIINA et al., 2003¹³⁷; ⁵GOWRISANKAR et al., 2010¹³⁸; ⁶SIEBURTH et al., 1999¹³⁹; ⁷SPASSOV et al., 1985¹⁴⁰; ⁸NAKAO et al. 2009¹⁴¹.

In Tabelle 3.8 wird eine leichte Tieffeldverschiebung der ¹H-Signale der Methylen/-Methylprotonen der *O*-alkylierten Stoffe gegenüber den entsprechenden *N*-alkylierten Verbindungen deutlich. Dieser Effekt ist für die entsprechenden ¹³C-Atome noch wesentlich stärker ausgeprägt. So werden für die *O*-alkylierten Methylen-/Methylkohlenstoffe aus der Literatur chemische Verschiebungen von 52.8 – 65.8 ppm, für die *N*-Alkylanaloga nur Werte von 37.0 – 49.5 ppm erhalten. Die stark tieffeldverschobenen Signale von P8-D-6OEthNCH32, vor allem das ¹³C-Signal der Methylengruppe C-1" (61.8 ppm), sind ein starkes Indiz für eine *O*-Alkylierung. Die ¹³C-Signale der entsprechenden Ringkohlenstoffatome (analog C-6 von P8-D-6OEthNCH32) geben keine hinreichende Auskunft über die Alkylierungszustände, da die Werte zu nah beieinander liegen. (161.0 – 164.1 ppm). Die Daten aus Tabelle 3.8 lassen im Zusammenhang mit den Beobachtungen aus Abb. 3.7 eine klare Aussage zu, dass die Verbindung P8-D-6OEthNC32 *O*-alkyliert vorliegt.

4 PHYSIKOCHEMISCHE CHARAKTERISIERUNG DER HETEROZYKLENSYSTEME

4.1 Bestimmung der Löslichkeit in wässrigen Medien mittels HPLC-Analytik

Die Löslichkeit eines potentiellen pharmazeutischen Wirkstoffes beeinflusst in erheblichem Maße dessen Pharmakokinetik. Eine Schlüsselrolle bei der Löslichkeit von Molekülen, besonders hydrophoben komplexeren heterozyklischen Strukturen, nimmt dabei die Fähigkeit funktioneller Gruppen oder anderer relevanter Teilstrukturen im Molekül zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen ein. Dabei trägt jede dieser Teilstrukturen zur Gesamtlöslichkeit des Moleküls bei und erhöht dessen Hydrophilie.⁷⁰

Verglichen mit der C-analogen Substanzklasse der 6-Aminobenzo[c]phenanthridine, deren Löslichkeit von ZEBOTHSEN untersucht und für 13 Verbindungen (sieben 11,12-Dihydro-Verbindungen und sechs vollaromatische Derivate) im unteren mikromolaren Bereich bei pH 7,0 determiniert wurde, sollte die aza-analoge Heterozyklenklasse der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline durch zwei zusätzliche Stickstoffatome und einer damit verbundenen Möglichkeit zur Ausbildung zweier weiterer Wasserstoffbrückenbindungen eine vor allem im sauren Medium erhöhte Wasserlöslichkeit aufweisen, was mittels HPLC-Analytik untersucht werden sollte.⁵⁶ Ergebnisse zur pH-abhängigen Löslichkeit unterschiedlich 11-substituierter 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **37** sind im Kapitel 4.1.1 beschrieben. Desweiteren wurden die hinsichtlich ihrer Zytotoxizität vielversprechenden 6-O-Seitenketten-Verbindungen der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline auf ihre Löslichkeit bei physiologischem pH untersucht, um die Annahme zu bestätigen, dass die über die Seitenketten eingeführte tertiäre Aminfunktion zu einer deutlichen Verbesserung der Löslichkeit auch bei pH 7,4 führen sollte (Abschnitt 4.1.2). Weiterhin wurden ebenfalls Studien zur pH-abhängigen Löslichkeit der 11H-Pyrido[2,3-i]-1-azacarbazole 40 in wässrigen Medien durchgeführt, diese Ergebnisse sind in Abschnitt 4.1.3 dargestellt.

Details zu den verwendeten Geräten und Methoden sind **Abschnitt 8.2** des **Experimentellen Teils** zu entnehmen.

4.1.1 pH-abhängige Sättigungslöslichkeiten der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse

Zur Bestimmung pH-abhängiger Sättigungslöslichkeiten der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline wurden die entsprechenden freien Basen in 100 mM Phosphatpuffer (pH 2,0; 3,0; 4,0 und 7,4) suspendiert, 45 min lang geschüttelt und im Anschluss zweimal bei 13.000 rpm zentrifugiert. Die erhaltenen Überstände wurden per HPLC untersucht (n = 3 pro pH-Wert), zur Berechnung der Konzentrationen dienten die Flächen der resultierenden Signale und eine zuvor erfolgte 6-Punkt-Kalibrierung der entsprechenden Substanz in 0,1% Trifluoressigsäure (TFA) mit den Konzentrationen 10 μ M, 50 μ M, 100 μ M, 250 μ M, 500 μ M und 1000 μ M. Die Funktionen der Kalibrierungen (R² > 0,99, n = 2 pro Konzentration) waren im Bereich von 10 – 1000 μ M linear. Die Elution der Verbindungen erfolgte mit einer mobilen Phase bestehend aus 0,1% TFA und variierendem Anteil Acetonitril (26 – 50%). Tabelle 4.1 liefert eine Übersicht über alle mit dieser Methode bestimmten pH-abhängigen Sättigungslöslichkeiten von 14 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen **37**.

Tabelle 4.1: Sättigungslöslichkeiten der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 37:



Codo	11 \mathbf{D} act (\mathbf{D}_{-})	Löslichkeit [µM]				
Code	11- Kest (K=)	рН 2,0	рН 3,0	рН 4,0	рН 7,4	
P1	Phenyl-	$(3,63 \pm 0,12) \cdot 10^3$	324,8 ± 4,1	14,4 ± 4,0	0,3 ± 0,1	
P24	3-Methoxyphenyl-	(8,91 ± 0,55)·10 ³	47,2 ± 1,1	15,0 ± 7,2	6,0 ± 0,1	
P9	2,3-Dimethoxyphenyl-	$(2,63 \pm 0,66) \cdot 10^3$	381,6 ± 7,2	13,9 ± 3,1	0,3 ± 0,1	
P10	3,5-Dimethoxyphenyl-	$(4,90 \pm 0,31) \cdot 10^3$	1128 ± 11	39,2 ± 0,3	0,9 ± 0,2	
P8	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	(19,73 ± 2,37)·10 ³	2134 ± 43	205,3 ± 2,7	8,0 ± 2,1	
P7	2,4,6-Trimethoxyphenyl-	(2,95 ± 0,13)·10 ³	422,4 ± 1,0	89,6 ± 6,9	0,2 ± 0,1	
P20	Furyl-	(15,67 ± 0,49)·10 ³	1544 ± 46	98,1 ± 8,9	6,5 ± 0,8	
P13	Thienyl-	(5,55 ± 0,84)·10 ³	480,4 ± 5,5	18,9 ± 0,7	0,3 ± 0,1	
P5	3-Bromphenyl-	$(3,44 \pm 0,58) \cdot 10^3$	339,9 ± 0,9	4,1 ± 0,8	0,5 ± 0,1	
P15	4-Bromphenyl-	$(1,70 \pm 0,20) \cdot 10^3$	348,8 ± 3,5	8,8 ± 2,3	0,1 ± 0,1	
P16	3-Chlorphenyl-	(14,69 ± 1,00)·10 ³	763 ± 38	17,2 ± 4,2	0,8 ± 0,1	
P21	4-Fluorphenyl-	(11,85 ± 2,20)·10 ³	228 ± 12	10,5 ± 1,4	0,6 ± 0,3	
P12	Biphenyl-	$(6,20 \pm 0,01) \cdot 10^3$	123,6 ± 2,9	3,1 ± 0,5	0,1 ± 0,1	
P28	Propyl-	(16,59 ± 0,13)·10 ³	2112 ± 3,6	493 ± 13	15,0 ± 0,9	

Abbildung 4.1 zeigt beispielhaft die graphische Darstellung einer Auswahl an Sättigungslöslichkeiten von sechs dieser in 11-Position unterschiedlich substituierten Verbindungen für die vier verschiedenen pH-Werte:



Abb. 4.1: Vergleich der Sättigungslöslichkeiten von sechs unterschiedlich substituierten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen (Abszisse); 3,4,5...= 3,4,5-Trimethoxyphenyl-.

Tabelle 4.1 und Abb. 4.1 zeigen auf, dass die Löslichkeit der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline stark pH-abhängig ist. Dabei ist die Löslichkeit im deutlich Sauren (pH 2,0) sogar im millimolaren Bereich (3,0 – 19,7 mM), fällt dann aber mit steigendem pH-Wert rapide ab und ist im physiologischen pH-Bereich lediglich nur noch in der unteren mikromolaren Region (0,1 – 15,0 μ M). Entsprechend den Erwartungen wiesen das 11-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-Derivat P8 und das 11-Furyl-Derivat P20 im Vergleich mit den anderen 11-Resten bei pH 7,4 eine bessere Löslichkeit auf. An den Löslichkeiten der 11-Propylverbindung P28 bei den vier pH-Werten wird beispielhaft deutlich, dass der Austausch eines aromatischen 11-Restes gegen einen aliphatischen Rest sich anscheinend positiv auf die Löslichkeit auswirkt. Diese Beobachtung müsste durch die Synthese und Bestimmung der Löslichkeit weiterer 11-aliphatisch substituierter Verbindungen überprüft werden. Am Beispiel des 11-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)Derivates P8 verdeutlicht Abb. 4.2, dass die Löslichkeit mit zunehmendem pH-Wert im Sinne einer Exponentialfunktion abnimmt.



Abb. 4.2: Exponentielle Abnahme der pH-abhängigen Löslichkeit von P8 (6-Amino-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin 46).

Die schlechte Löslichkeit der Verbindungen bei pH 7,4 ist darauf zurückzuführen, dass bei diesen Bedingungen die Moleküle in vollständig deprotonierter Form vorliegen und somit, wie auch von ZEBOTHSEN für die *C*-analogen 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phenanthridine **27** beobachtet, im unteren mikromolaren Bereich liegt.⁵⁶ Die zusätzlichen Stickstoffatome an den Positionen 3 und 8 haben somit keinen nennenswerten positiven Effekt auf die Löslichkeit bei pH 7,4.

4.1.2 Löslichkeiten 6-*O*-aminoalkylierter Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline bei physiologischem pH-Wert

Neben einer möglichen Erhöhung der Zytotoxizität war vor allem eine Verbesserung der Löslichkeit der Substanzklasse bei physiologischem pH-Wert ausschlaggebend, um 6aminoalkylierte Analoga dieser Heterozyklen darzustellen. Zur Analyse der Löslichkeiten wurden die entsprechenden Hydrochloride verschiedener 6-*O*-aminoalkylierter Derivate eingesetzt. Die Pufferstärke musste hierbei auf 2 M Phosphatpuffer erhöht werden, da sich durch den Einsatz der Verbindungen als Hydrochlorid-Salze der pH-Wert unter Verwendung von 100 mM Phosphatpuffer pH 7,4 leicht erniedrigt hatte und somit eine Sättigung der Lösungen nur unter unverhältnismäßig hohem Verbrauch an Substanz gegeben war. Da das Löslichkeitsvermögen der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse im wässrigen Sauren bereits bekannt war (**Abschnitt 4.1.1**) wurden die Verbindungen nur bei pH 7,4 untersucht. Analog zu **Abschnitt 4.1.1** wurden die Substanzen im Puffermedium suspendiert, 45 min lang geschüttelt und im Anschluss zweimal bei 12.000 rpm zentrifugiert. Die erhaltenen Überstände wurden per HPLC untersucht (n = 3), zur Berechnung der Konzentrationen dienten die Flächen der resultierenden Signale und eine zuvor erfolgte 6-Punkt-Kalibrierung der entsprechenden Substanz in 0,1% Trifluoressigsäure (TFA) mit den Konzentrationen 10 μ M, 50 μ M, 100 μ M, 250 μ M, 500 μ M und 1000 μ M. Die Funktionen der Kalibrierungen (R² > 0,99, n = 3 pro Konzentration) waren im Bereich von 10 – 1000 μ M linear. Die Bestimmung der Löslichkeiten, die in diesem **Teilabschnitt 4.1.2** beschrieben ist, erfolgte über eine andere HPLC-Anlage, als unter Abschnitt **4.1.1** oder **4.1.3** beschrieben. Die Elution der Verbindungen wurde mit einer mobilen Phase bestehend aus 0,1% TFA und einem steigenden Acetonitrilgradienten (10 – 70%) realisiert. Details zu den verwendeten Geräten und Methoden sind **Abschnitt 8.2** des **Experimentellen Teils** zu entnehmen.

Tabelle 4.2 zeigt die ermittelten Löslichkeiten für verschiedene 6-*O*-Seitenkettenderivate mit unterschiedlichem 6- und 11-Substitutionsmuster. Um einen direkten Vergleich mit der korrespondierenden 6-Amino-Ausgangsverbindung herstellen zu können, wurden die Löslichkeiten der Verbindungen P16 und P8-D ebenfalls über diese Methode mitbestimmt.



R ²		R ²	N N R ¹ *HCl			
Code	6-Rest (R ¹ =)	11-Rest (R ² =)	Löslichkeit pH 7,4 [µM]			
11,12-Dihydro-Verbindungen						
P16	-NH ₂	3-Chlorphenyl-	9,7 ± 1,7			
P16-6-OEthNCH32	∣ O N ^{CH} 3 CH3	3-Chlorphenyl-	$(5,28 \pm 0,09) \cdot 10^3$			
P16-6-OPropNCH32		3-Chlorphenyl-	$(2,39 \pm 0,07) \cdot 10^3$			
	Oxidierte Ve	erbindungen				
P8-D	-NH ₂	3,4,5- Trimethoxy- phenyl-	2,2 ± 0,2			
P8-D-6-OEthNCH32	 0 N CH ₃ H	3,4,5- Trimethoxy- phenyl-	$(0,87 \pm 0,03) \cdot 10^3$			

Aus den Daten von Tabelle 4.2 wird eine drastische Verbesserung der Löslichkeit im wässrigen physiologischen Medium durch die Einführung von 6-Dimethylaminoalkyloxy-Seitenketten ersichtlich. Dabei steigt die Löslichkeit verglichen mit den entsprechenden 6-Aminoverbindungen nahezu um den Faktor 1000 an und liegt für die Seitenketten-verbindungen im millimolaren Bereich (0,87 – 5,28 mM). Dies ist mit der nun im Molekül vorhandenen teriären Aminfunktion erklärbar, durch die Verbindung stark an Basizität gewonnen hat und bei physiologischem pH vorwiegend im protonierten Zustand vorliegen sollte.

Mit der Software *MarvinSketch* 5.2.4 konnten für die entsprechenden Stickstoffatome der Beispielverbindung P8-D-6-OEthNCH32 folgende pK_s-Werte errechnet werden (Abb. 4.3):



Abb. 4.3: Mit MarvinSketch errechnete pK_s-Werte von P8-D-6OEthNCH32 (151).

Die Ringstickstoffatome an den Positionen 3, 5 und 8 liegen bei pH 7,4 nahezu ausschließlich unprotoniert vor, so dass über die *Henderson-Hasselbalch-Gleichung* lediglich unter Verwendung des pK_s-Wertes des tertiären Amins für den pH-Wert 7,4 ein Verhältnis von protonierter Form zu deprotonierter Form von 15 zu 1 resultiert.¹⁴²

Vom Hydrochlorid-Salz der Verbindung P8-D-6OPropNCH32 **152**, die eine Dimethylaminopropyloxy-Seitenkette in 6-Position aufweist, wurden ebenfalls Untersuchungen zur Löslichkeit durchgeführt, dabei wurde allerdings eine Zersetzung des Produkts im Phosphatpuffer pH 7,4 nach wenigen Tagen zu nicht weiter untersuchten Abbauprodukten beobachtet, so dass hier letztendlich keine Werte erhalten werden konnten.

Da die Verbindung als freie Base hingegen stabil zu sein schien (LC/MS-Kontrolle), wurde sie für Testungen auf Zytotoxizität am NCI als solche verwendet (**Abschnitt 5.2**).

4.1.3 pH-abhängige Sättigungslöslichkeiten der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolklasse

Analog zu Abschnitt 4.1.1 konnten für acht unterschiedlich 6-substituierte 5,6-Dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole 40 über eine HPLC-Methode pH-abhängige Sättigungslöslichkeiten bestimmt werden. In diesem Kontext wurden die entsprechenden freien Basen im 100 mM Phosphatpuffer (pH 2,0; pH 3,0; pH, 4,0 und pH 7,4) suspendiert, 45 min lang geschüttelt und im Anschluss zweimal bei 12.000 rpm zentrifugiert. Die erhaltenen Überstände wurden per HPLC untersucht (n=3 pro pH-Wert), zur Berechnung der Konzentrationen dienten die Flächen der resultierenden Signale und eine zuvor erfolgte 5-Punkt-Kalibrierung der entsprechenden Substanz in 0,1% Trifluoressigsäure (TFA) in einem schlechter Lösungseigenschaften an aufgrund die Substanzklasse angepassten Konzentrationsbereich von 25 μM, 50 μM, 100 μM, 250 μM und 500 μM. Die Funktionen der Kalibrierungen ($R^2 > 0.99$, n=2 pro Konzentration) waren im Bereich von 25 – 500 μ M linear. Die Elution der Verbindungen erfolgte isokratisch mit einer mobilen Phase bestehend aus 0,1% TFA in aqua bidest. und 40% Acetonitril, Details zu den verwendeten Geräten und Methoden sind im Experimentellen Teil (Abschnitt 8) wiedergegeben. Die Tabelle 4.3 liefert eine Übersicht über alle mit dieser Methode bestimmten pH-abhängigen Sättigungslöslichkeiten der Azacarbazolklasse:

Tabelle 4.3: Sättigungslöslichkeiten der 5,6-Dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole 40:



		Löslichkei		it [μM]	
Code	6-Rest (R=)	рН 2,0	рН 3,0	рН 4,0	рН 7,4
A2	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	47,5 ± 0,2	2,6 ± 0,1	$0,4 \pm 0,1$	0,3 ± 0,1
A3	2,4-Dimethoxyphenyl-	116 ± 17	7,1 ± 2,4	1,8 ± 0,5	1,6 ± 0,3
A4	Phenyl-	36,3 ± 0,2	$2,2 \pm 0,1$	0,6 ± 0,1	$1,2 \pm 0,1$
A5	4-Bromphenyl-	12,4 ± 0,4	0,8 ± 0,1	$0,1 \pm 0,1$	0,3 ± 0,1
A6	3-Bromphenyl-	$1,0 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$
A7	3-Chlorphenyl-	0,8 ± 0,1	$0,1 \pm 0,1$	$0,1 \pm 0,1$	0,3 ± 0,1
A8	4-Fluorphenyl-	22,4 ± 0,1	$1,4 \pm 0,1$	0,5 ± 0,1	$1,8 \pm 0,1$
A9	Furyl-	103,2 ± 0,3	7,5 ± 0,3	$1,1 \pm 0,1$	0,8 ± 0,1

Tabelle 4.3 verdeutlicht, dass die Löslichkeit der getesteten 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1azacarbazole **40** in wässrigen Medien im Allgemeinen sehr dürftig ist. In diesem Zusammenhang wurde eine wesentlich schwächere Löslichkeit in sauren Medien als für die unter **Kapitel 4.1.1** erörtere Löslichkeit der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]-phenanthroline **37** gefunden, wobei die Werte bei pH 2,0 maximal mittlere mikromolare Werte erreichen (0,8 – 115,9 μ M) und bereits ab pH 3,0 teilweise nanomolare Dimensionen annehmen (0,1 – 7,1 μ M) und in diesem Bereich stagnieren (pH 7,4: 0,3 – 1,8 μ M). Vergleicht man die unterschiedlichen Derivate hinsichtlich ihrer 6-Reste, wiesen analog zu den 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen **37** die Methoxyphenyl-Derivate A2 und A3, sowie das 6-(Furyl)Derivat A9 die besten Löslichkeiten auf.

Zurückzuführen ist dieses sehr schlechte Löslichkeitsverhalten aller getesteten Azacarbazolderivate trotz Anwesenheit von insgesamt drei Stickstoffatomen im tetrazyklischen Grundgerüst wahrscheinlich auf das Entstehen dimerer Strukturen zwischen zwei Azacarbazol-Derivaten, was in Abbildung 4.4 dargestellt ist:



Abb. 4.4: Dimere könnten die schlechte Löslichkeit der Azacarbazolklasse ausmachen.

Unterstützend für diese Theorie weist die in 11-Position methylierte Verbindung **184** in Vorversuchen eine erheblich bessere Löslichkeit in polaren organischen Lösungsmitteln wie DMSO oder Methanol auf, was auch auf eine bessere Löslichkeit der Verbindung in wässrigen Medien hindeutet. Diese Beobachtungen sollten zum Beispiel durch HPLC-Untersuchungen zur Sättigungslöslichkeit der Verbindung in zukünftigen Arbeiten überprüft werden.

4.2 Bestimmung der Lipophilie durch HPLC-Analytik

Die Resorption und damit die Bioverfügbarkeit eines systemisch zu applizierenden Wirkstoffes im Körper hängt für die meisten Stoffe, abgesehen von der Aufnahme über aktive Transportsysteme, sehr stark von ihrer Lipophilie ab. Die Penetration durch entsprechende Lipidmembranen gelingt dabei umso besser, je lipophiler eine Verbindung ist. Extrem lipophile Verbindungen wiederum sind in den meisten Fällen wasserunlöslich, so dass die Resorption von einer sehr langsamen Lösungsgeschwindigkeit abhängig und dadurch stark eingeschränkt wird.¹⁴³

Um Aussagen über die Lipophilie eines Moleküls treffen zu können, hat sich die experimentelle Bestimmung, wie auch die Berechnung des Oktanol-Wasser Verteilungskoeffizienten, des logP-Wertes (vom engl. *partition coefficient*), etabliert, der das Verhältnis der Konzentration einer Chemikalie in einem Zweiphasensystem aus 1-Octanol und Wasser beschreibt.¹⁴⁴ Liegt eine Substanz in mehreren Formen (z.B. in verschiedenen Protonierungszuständen) vor, existiert für jede Spezies *i* ein eigener P-Wert (Formel 4.1):

$$K_{O/W} = \mathbf{P} = \frac{c_{O}^{s_i}}{c_W^{s_i}} \quad ; \quad \log \mathbf{P} = \log \frac{c_{O}^{s_i}}{c_W^{s_i}}$$

 $c_{O}^{S_{i}}$ = Konzentration der Spezies *i* in Oktanol $c_{W}^{S_{i}}$ = Konzentration der Spezies *i* in Wasser

Formel 4.1: P-Wert und logP-Wert.¹⁴⁴

Alternativ kann neben dem P-Wert auch der D-Wert (bzw. logD-Wert) angegeben werden, der die Summe der P-Werte (logP-Werte) aller Spezies *i* einer Substanz darstellt. Da dieser logD-Wert stark pH-abhängig ist, wird statt dem Verhältnis Octanol/Wasser zumeist ein bestimmter pH-Wert für die wässrige Phase definiert. Um experimentell möglichst physiologische Bedingungen zu simulieren, wird oft der physiologische pH-Wert 7,4 gewählt. Für einen logD-Bereich von 0 bis 6 eignet sich die experimentelle Bestimmung von logD-Werten mittels flüssigchromatographischer Trennverfahren unter Verwendung von HPLC-*reversed phase*-Methoden.^{145,146} Hierbei werden die Retentionszeiten bestimmter Standardsubstanzen mit bekannten logD-Werten zusammen mit dem Analyten bestimmt und die darüber errechneten k'-Werte (Nettoretentionszeit/Totzeit) mit den dazugehörigen logD-Werten korreliert.

Zur Bestimmung der logD-Werte für verschiedene Derivate der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse **31** und der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolklasse **33** wurden zwei HPLC-Verfahren mit unterschiedlichen Standards und Methoden über die Retentionszeiten und entsprechenden Kalibrierkurven der Standards verwendet:

Methode a:

Isokratische Elution mit 20 mM Phosphatpuffer pH 7,4 und Methanol (40/60).

Verwendete Standards und logP-Werte: *p*-Chlortoluol (2,5), Toluol (2,7), Chlorbenzol (2,8), Benzophenon (3,2), Testosteron (3,2), Thymol (3,3), Biphenyl (4,0), Ketoconazol (4,5) und Clotrimazol (6,1). Experimentell bestimmte logP-Werte aus der Literatur.^{147–150}

Methode b:

Gradientenelution modifiziert nach OECD mit wässrigem Ammoniumformiatpuffer pH 7,4 (21,05 mM (95 Vol.%) bis 360 mM (5 Vol.%) und Methanol (5 bis 95 Vol.%).¹⁴⁵

Verwendete Standards und logP-Werte:¹⁴⁵ 4-Acetylpyridin (0,5), Acetanilid (1,0), Acetophenon (1,7), Benzoesäuremethylester (2,1), Benzoesäureethylester (2,6), Benzophenon (3,2), Benzoesäurephenylester (3,6), Diphenylether (4,2), 1,2-Diphenylethan (4,8), Triphenylamin (5,7).

Detaillierte Informationen zu den Geräten und Methoden sind **Abschnitt 8.2** des **Experimentellen Teils** zu entnehmen.

Pro Lauf (n = 3) wurden über die k'-Werte und entsprechenden logD-Werte der Standards erhaltenen Funktionen der Kalibriergeraden die logD-Werte der Substanzen berechnet. Hierbei waren alle Funktionen dieser Korrelationsanalysen (Methode b: $R^2 > 0,952$) im logD-Bereich von 0,0 bis 6,0 linear. Abbildung 4.5 zeigt beispielhaft eine Kalibriergerade unter Verwendung von Methode b:



Abb. 4.5: Beispiel einer Kalibriergerade mit zehn Standards nach Methode b.

Die Standardabweichung der Dreifachbestimmungen der logP-Werte aller bestimmten Substanzen war < 0,01.

Neben den experimentell bestimmten logD-Werten wurden mit Hilfe der Software *ChemDraw Ultra* 12.0 zusätzlich ClogP-Werte berechnet. Dabei beruhen in der Literatur vielfach beschriebene Berechnungen des ClogP-Wertes eines neuen Moleküls auf der Annahme additiven Verhaltens hydrophober Werte einzelner kleinerer Molekülfragmente des Gesamtmoleküls mit bekannten logP-Werten, eventuell unter Einbeziehung verschiedener Korrekturfaktoren.⁷⁰

4.2.1 LogD-Werte der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinklasse

Mit Hilfe der unter **Abschnitt 4.3** beschriebenen HPLC-Methoden konnten für insgesamt 29 Verbindungen der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinklasse (17 6-Amino-11,12-dihydropyrido-[3,4-c][1,9]phenanthroline, vier dehydrierte Analoga, sechs Seitenketten-Verbindungen, sowie ein 6-Oxo-Derivat und eine 6-unsubstituierte Verbindung) logD-Werte ermittelt werden. Tabelle 4.4 gibt eine Übersicht über die experimentell bestimmten logD-Werte, sowie berechneten ClogP-Werte der eingesetzten Verbindungen:

Tabelle 4.4: *logD-Werte, verwendete Varianten und ClogP-Werte der Pyrido*[3,4-c][1,9]phenanthrolinklasse:

6-Amino-11,12-dihy	/dropyrido	[3,4- <i>c</i>][1,9]	phenanthroline:
--------------------	------------	-----------------------	-----------------



Code	11-Rest (R=)	logD ¹	logD ²	ClogP ³
P1	Phenyl-	3,34	-	3,34
P4	H-	-	2,73	1,79
P5	3-Bromphenyl-	4,20	3,79	4,21
P7	2,4,6-Trimethoxyphenyl-	4,78	3,92	2,54
P8	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	2,34	2,96	2,64
Р9	2,3-Dimethoxyphenyl-	3,74	3,58	2,60
P10	3,5-Dimethoxyphenyl-	3,35	3,41	3,35
P12	Biphenyl-	5,78	4,33	5,23
P13	Thienyl-	2,84	-	2,99

Code	11-Rest (R=)	logD ¹	logD ²	ClogP ³
P15	4-Bromphenyl-	4,60	3,90	4,21
P16	3-Chlorphenyl-	4,91	3,71	4,06
P17	2-Bromphenyl-	-	4,13	4,21
P20	Furyl-	2,72	-	2,52
P21	4-Fluorphenyl-	3,58	-	3,49
P24	3-Methoxyphenyl-	3,77	-	3,26
P28	Propyl-	4,65	3,90	3,36
P30	2,3,4-Trimethoxyphenyl-	-	3,52	2,24

Fortsetzung Tabelle 4.4: logD-Werte, verwendete Varianten und clogP-Werte der Pyrido[3,4-c]-[1,9]phenanthrolinklasse:

¹nach Methode a; ²nach Methode b; ³berechnet mit ChemDraw Ultra 12.0; - nicht bestimmt.

6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline:



Code	11-Rest (R=)	logD ¹	logD ²	ClogP ³
P1-D	Phenyl-	-	4,46	3,70
P8-D	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	3,94	3,83	3,00
P9-D	2,3-Dimethoxyphenyl-	3,93	3,97	2,8
P20-D	Furyl-	2,93	-	3,09

¹nach Methode a; ²nach Methode b; ³berechnet mit ChemDraw Ultra 12.0; - nicht bestimmt.

5,6-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-one:



Code	11-Rest (R=)	logD ¹	logD ²	ClogD ³
P8-D-O	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	-	3,33	2,24

¹nach Methode a; ²nach Methode b; ³berechnet mit ChemDraw Ultra 12.0; - nicht bestimmt.

Fortsetzung Tabelle 4.4: logD-Werte, verwendete Varianten und ClogP-Werte der Pyrido[3,4-c]-[1,9]phenanthrolinklasse:

6-unsubstituierte Verbindungen:



Code	11-Rest (R=)	logD ¹	logD ²	ClogP ³
P8-D-H	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	-	4,05	3,07

¹nach Methode a; ²nach Methode b; ³berechnet mit ChemDraw Ultra 12.0; - nicht bestimmt.

N 149	\mathbb{R}^2	R ²	N				
Codo	6 Post (P -)	11 Post (P -)			Clog _B ³		
	$\frac{11 + \text{Rest}(R_2 =)}{(R_2 =)} = \frac{11 + \text{Rest}(R_2 =)}{(R_2 =)} = \frac{11 + 12}{(R_2 =$						
a) عدين المنافعة a) عدين ا							
P16-6-OEthNCH32	о N-CH3 СН3	3-Chlorphenyl-	-	3,60	5,13		
P16-6-OPropNCH32	I CH ₃ O N CH ₃	3-Chlorphenyl-	-	3,54	5,48		
b) Oxidierte Verbidnungen							
P8-D-6-OEthNCH32	I O N CH ₃	3,4,5- Trimethoxy- phenyl-	-	3,70	4,08		
P8D-6-OPropNCH32	I CH3 O N.CH3	3,4,5- Trimethoxy- phenyl-	-	3,60	4,43		

6-*O*-aminoalkylierte Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline und 11,12-Dihydro-Analoga:

¹nach Methode a; ²nach Methode b; ³berechnet mit ChemDraw Ultra 12.0; - nicht bestimmt.

Fortsetzung Tabelle 4.4: logD-Werte, verwendete Varianten und ClogP-Werte der Pyrido[3,4-c]-[1,9]phenanthrolinklasse:



6-*N*-aminoalkylierte 11,12-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline:

¹nach Methode a; ²nach Methode b; ³berechnet mit ChemDraw Ultra 12.0; - nicht bestimmt.

Analog der Ergebnisse von ZEBOTHSEN für verschiedene 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phenanthridine konnte in dieser Arbeit unter Verwendung beider Methoden a und b eine im Verhältnis niedrigere Lipophilie für 11-(mono-/di-/trimethoxyphenyl)substituierte 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline verglichen mit 11-halogenphenyl-substituierten Verbindungen gefunden werden.⁵⁶ Eine verhältnismäßig hohe Lipophilie des 2,4,6-Trimethoxyphenyl-Derivates P7 (a: 4,78; b: 3,92) kann mit einer stark eingeschränkten Torsionsfähigkeit des 11-Restes, wodurch das Molekül sterisch anspruchsvoller wird, erklärt werden. Erwartungsgemäß und ebenfalls in Analogie zu der von ZEBOTHSEN untersuchten Benzo[*c*]phenanthridinklasse führt die volle Aromatizität zu einer leichten Erhöhung der logD-Werte im Vergleich zu den entsprechenden 11,12-Dihydro-Analoga. Das Anknüpfen hydrophiler Dimethylaminoalkyl-Seitenketten sowohl über ein Stickstoffatom, als auch über Sauerstoff in 6-Position hingegen hat einen leicht erniedrigenden Effekt auf die Lipophilie korrespondierender Verbindungen.

In Abbildung 4.6 sind die Methoden a und b zur experimentellen logD-Wert Bestimmung (**Abschnitt 4.3**), sowie die errechneten ClogP-Werte für neun in 11-Position unterschiedlich substituierte 11,12-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **37** und zwei vollaromatische Verbindungen **74** gegenübergestellt.



11-Reste der 6-Aminopyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline und 11,12-Dihydro Analoga

Abb. 4.6: Gegenüberstellung der Methoden und Vergleich mit ClogP; (a),(b) - verwendete Methoden; (ox.) = oxidiert.

Auffallend hierbei ist, dass die erhaltenen LogD-Werte aus Methode b zumeist niedriger sind, als die aus der Methode a gewonnenen Werte. Zurückzuführen ist dieses Verhalten auf die verschiedenen für die Kalibrierung verwendeten Standards und deren logD-Bereiche, die für Methode a von 2.5 - 6.1 und für Methode b von 0.5 - 5.7 definiert sind.

Zur Angleichung der Methoden könnte zum Beispiel die Kalibrierung aus Methode b angepasst und ebenfalls ein Linearitätsbereich von 2.5 - 5.7 gewählt werden, was definitiv auch eine Erhöhung des Korrelationskoeffizienten R² zur Folge hätte (Abbildung 4.5). Es wurde aber bewusst das gesamte logD-Spektrum von 0 – 6 für Methode b gewählt, um möglichst nah an der beschriebenen OECD-Methode unter Verwendung der in der Richtlinie beschriebenen OECD-Standards zu verfahren.¹⁴⁵

Um den herabsetzenden Effekt der zusätzlichen Stickstoffatome an den Positionen 3 und 8 der Triazazyklen der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse auf die Lipophilie zu analysieren, wurden ebenfalls über Methode a logD-Werte *C*-analoger 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phenanthridine bestimmt. Ein direkter Vergleich der beiden Heterozyklensysteme ist durch die Wahl der gleichen Methode und die gleichmäßige Substitution der 11-Position möglich und in Abb. 4.7 wiedergegeben:



Abb. 4.7: Vergleich der logD-Werte von 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridinen und 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen.

Abbildung 4.7 verdeutlicht, dass die logD-Werte durch das Einbringen zweier zusätzlicher Stickstoffatome in das tetrazyklische System deutlich gesunken sind, im Mittel von (logD =) $5,23 \pm 0,80$ um 1,71 auf $3,52 \pm 0,94$. Hiermit wurde für die Aza-Analoga eine entscheidende Reduktion der Lipophilie erreicht, was große Vorteile hinsichtlich einer (oralen) Bioverfügbarkeit bedeuten dürfte. LIPINKSI beschrieb in diesem Zusammenhang in seiner *"rule of five"* eine durch extrem hydrophobes Verhalten (logP \ge 5) hervorgerufene schlechte Bioverfügbarkeit.¹⁵¹ Bei zu lipophilen Verbindungen, die systemisch verfügbar und wirksam werden sollen, ist außerdem die Gefahr zentraler Nebenwirkungen, bzw. die Entstehung toxischer Metaboliten deutlich verstärkt.¹⁴³ Dieses Phänomen dürfte durch die nun erreichte Reduktion in den Hintergrund treten. In diesem Kontext wiesen alle gestesteten Verbindungen der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinklasse mit Ausnahme des pysikochemisch uninteressanten 11-Biphenyl-Derivates P12 einen logD < 5 auf. Die *"rule of five"* zur Abschätzung der oralen Bioverfügbarkeit wird in **Abschnitt 4.4** diskutiert.

4.2.2 LogD-Werte der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole

Um einen ersten Eindruck über die Lipophilie der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolklasse zu erhalten, wurden exemplarisch unter Verwendung der in **Abschnitt 4.3** beschriebenen Methode a (und einem Referenzwert mit Methode b) für acht in 6-Position unterschiedlich substituierte 5,6-Dihydro-11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **40** logD-Werte experimentell bestimmt. Tabelle 4.5 zeigt die erhaltenen Ergebnisse und die zusätzlich errechneten ClogP-Werte. Auffallend ist hierbei eine im Verhältnis zu den für die Pyrido[3,4-*c*][1,9]-phenanthrolinklasse bestimmten logD-Werten durchweg hohe Lipophilie für alle getesteten Azacarbazol-Derivate (4.28 – 6.22). Das 6-Furyl-Derivat A9 und das 6-(3,4,5-Trimethoxy-phenyl)Derivat A2 sind hierbei die einzigen getesteten Verbindungen mit einem logD < 5, während die 6-Halogenphenyl-Verbindungen mit Ausnahme des 6-(4-Fluorphenyl)-Derivates A8 sogar oberhalb von 6 liegen. Der hohe logD-Wert der 6-(2,4-Dimethoxy-phenyl)Verbindung A3 kann durch die Substitution der 2'-Position des Phenylrestes in 6-Position und der damit verbunden sterisch anspruchsvolleren Raumforderung des 6-Restes erklärt werden.

Tabelle 4.5: logD-Werte, verwendete Varianten und ClogP-Werte der 5,6-Dihydro-11H-Pyrido-[3,2-i]-1-azacarbazole:



Code	11-Rest (R=)	logD ¹	logD ²	clogD ³
A2	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	4,32	-	3,35
A3	2,4-Dimethoxyphenyl-	6,08	-	3,66
A4	Phenyl-	5,47	-	4,05
A5	4-Bromphenyl-	6,45	-	4,91
A6	3-Bromphenyl-	6,22	-	4,91
A7	3-Chlorphenyl-	6,04	-	4,76
A8	4-Fluorphenyl-	5,37	4,55	4,19
A9	Furyl-	4,28	-	3,22

¹nach Methode a; ²nach Methode b; ³berechnet mit ChemDraw Ultra 12.0; - nicht bestimmt.

Auffällig ist eine hohe Diskrepanz zwischen den experimentell bestimmten logD-Werten und den komputativ errechneten ClogP-Werten, was in Abb. 4.8 noch einmal verdeutlicht wird.



Abb. 4.8: Vergleich von experimentell bestimmten logD-Werten und errechneten ClogD-Werten der Azacarbazolklasse; (a) - Verwendete Methode.

Die für alle getesteten Verbindungen der Azacarbazolklasse ermittelte hohe Lipophilie kann unter Umständen wie auch bei der Löslichkeit auf die möglicherweise entstehenden stabilen Dimere zwischen zwei Azacarbazol-Molekülen, welche in den **Abschnitten 2.2.3** und **4.1.3** diskutiert werden, zurückgeführt werden. Die dadurch entstehenden, raumbeanspruchenden hydrophoben Strukturen wären in ihrer Permeabilität und damit der Aufnahme in den systemischen Kreislauf stark gehindert. Die Entstehung von Dimeren und den damit verbundenen hohen logD-Werten (Mittelwert: 5,53 ± 0,84) der Verbindungen der Azacarbazolklasse würde auch die große Differenz zu den errechneten ClogP-Werten (Mittelwert: 4,13 ± 0,68) erklären. Dabei beruhen die Berechnungen dieses Wertes auf dem additiven Verhalten der Lipophilie einzelner kleiner Fragmente des Moleküls unter Einbezug verschiedener Korrekturfaktoren, die Enstehung stabiler dimerer Strukturen wird hier nicht berücksichtigt, so dass hier wahrscheinlich fälschlicherweise "zu hydrophile" ClogD-Werte errechnet wurden.⁷⁰

4.3 Abschätzung der oralen Bioverfügbarkeit ausgewählter Verbindungen nach LIPINSKIS "rule of five"

Mit dem Umdenken in der Arzneimittelforschung in Richtung eines rationellen Wirkstoffdesigns wurde das physikochemische Profil eines potentiellen Arnzeistoffkandidaten immer wichtiger. Im Zuge von High-Throughput-Screening-Verfahren (HTS) fallen zum Beispiel Moleküle bereits in entsprechenden Vortests durch, wenn geeignete Software diesen Kandidaten schlechte physikochemische Eigenschaften prophezeit.¹⁵¹ In diesem Zusammenhang definierten LIPINSKI *et al.* 1997 mit ihrer *"rule of five"* eine Faustregel zur Abschätzung der oralen Bioverfügbarkeit einer Substanz, die unter anderem in der frühen Arzneistoffentwicklung Anwendung findet.¹⁵¹ Hierbei ist die orale Bioverfügbarkeit eines Moleküls gegeben, wenn es

- nicht mehr als fünf Wasserstoffbrückendonatoren enthält,
- nicht mehr als zehn Wasserstoffbrückenakzeptoren aufweist,
- ein Molekulargewicht ≤ 500 g/mol besitzt,
- und/oder einen logP-Wert (klassischerweise nach LIPINSKI der ClogP-Wert) ≤ 5 hat.

In Tabelle 4.6 ist die *"rule of five"* auf sechs in dieser Arbeit behandelten Verbindungen mit vielversprechenden zytotoxischen Eigenschaften angewendet worden (**Abschnitt 5.2/5.3**). Dabei wurden jeweils die freien Basen berücksichtigt, in der Annahme, dass die Moleküle in Lösung dissoziiert, bzw. solvatisiert vorliegen:

Verbindung	Code	H-Donatoren ¹	H-Akzeptoren	logD/ClogP ²	MW ³
52	P16	1	4	3,71/4,06	359
78	P8-D	1	7	3,83/3,00	412
147	P16-6OEthNCH32	1	5	3,60/5,13	431
151	P8-D-6-OEthNCH32	1	8	3,70/4,08	485
152	P8-D-6-OPropNCH32	1	8	3,60/4,43	499
161	A3	1	5	6,08/3,66	357

Tabelle 4.6: LIPINSKIS "rule of five" angewendet für sechs vielversprechende Verbindungen:

¹Für Verbindungen 147, 151 und 152 wurde das tertiäre Amin bei pH 7,4 als protoniert angesehen; ²logD – mit Methode b bestimmt; ClogP – berechnet mit ChemDraw Ultra 12.0; ³Molekulargewicht.

Tabelle 4.6 sagt für alle sechs vielversprechenden Derivate eine gute orale Bioverfügbarkeit voraus. Bei den fünf Verbindungen der Pyrido[3,4-*c*][1,9][phenanthrolinklasse überschreitet der ClogP von **147** mit 5,13 den Schwellenwert, der experimentell ermittelte logD-Wert liegt aber deutlich darunter. Bei den seitenkettentragenden Verbindungen dieser Klasse ist das Molekulargewicht limitierender Faktor, aber für alle drei Derivate noch < 500 g/mol. Für das Derivat A3 der Azacarbazolklasse wurde der logD-Schwellenwert von logD \leq 5 überschritten. Verbindungen **52**, **78**, **151** und **152** erfüllen ohne Einschränkungen die *"rule of five".*

4.4 Untersuchungen zur Phototoxizität ausgewählter Verbindungen mittels 3T3-NRU-Phototoxizitätstest

Die Substanzklasse der 6-Aminobenzo[c]phenanthridine 27 wurde aufgrund ihres unvorteilhaften physikochemischen Profils, vor allem aber wegen nachgewiesener stark phototoxischer Eigenschaften, für die Entwicklung potentieller Arzneistoffkandidaten in der Anwendung als Zytostatikum nicht weiter in Betracht gezogen.⁵⁶ Aus diesem Kontext heraus sollte die Erniedrigung der Lipophile der Heterozyklen durch den Austausch einiger Kohlenstoffatome des Ringgerüsts durch Stickstoff auch in Hinblick auf deren Phototoxizität eine Verbesserung bringen. Die Arbeitsgruppe um BLEEKER konnte für verschiedene Aza-Heterozyklen eine durch erniedrigte Lipophilie bedingte verminderte Phototoxizität verglichen mit den entsprechenden Carbozyklen nachweisen.¹⁵² Um vor allem eine übermäßige Anzahl an Tierversuchen zum Nachweis phototoxischer Eigenschaften neuer Substanzen einzudämmen, beschreibt die OECD den in vitro-3T3-NRU-Phototoxizitätstest als evaluierte in vitro Methode zur Abschätzung des phototoxischen Potentials einer Substanz, der sich sowohl für das Vorhersagen phototoxischer Eigenschaften von in vivo systemisch-, als auch *in vivo* topisch applizierten Substanzen an Tieren und Menschen bewährt hat.¹⁵³ Die phototoxische Potenz einer Substanz wird dabei durch die relative Reduktion der Viabilität von Balb/c-3T3-Mäusefibroblastenzellen, welche mit der entsprechenden Substanz inkubiert wurden, nach Bestrahlung einer nicht toxischen Dosis UV-Lichts bezogen auf unbestrahlte Referenzkulturen bestimmt. Zur Auswertung der Daten wird vor allem der sogenannte PIF-Wert (photo irritancy factor) herangezogen, der aus dem Vergleich von aus Konzentrations-Zytotoxizitätskurven ermittelten IC₅₀-Werten der bestrahlten mit den nicht bestrahlten Kulturen resultiert (Formel 4.2):

$$PIF = \frac{IC_{50} \text{ (unbestrahlt)}}{IC_{50} \text{ (bestrahlt)}}$$

Formel 4.2: Berechnung des PIF-Wertes [OECD, 2004].¹⁵³

Ein PIF-Wert < 2 bedeutet in diesem Zusammenhang "keine Phototoxizität", ein PIF-Wert zwischen 2 und 5 sagt eine "mögliche Phototoxizität" voraus und ab einem PIF-Wert von 5 gilt eine Subsstanz als "phototoxisch".¹⁵³ Für die erste Abschätzung der Phototoxizität einer Substanz kann alternativ nur die Wachstumshemmung nach UV-Einstrahlung unter Verwendung einer einzelnen (Höchst-)Konzentration (*One-Dose Assay*) bestimmt werden. Um das phototoxische Potential vielversprechender in dieser Arbeit behandelter Verbindungen erstmalig abschätzen zu können, wurde von der Firma *HAC Biomed GmbH* für vier in dieser Arbeit behandelte Verbindungen und einem 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridin mit in vorherigen Arbeiten nachgewiesener Phototoxizität (BP-D7 = 6-Amino-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)benzo[*c*]phenanthridin) im Sinne eines *One-Dose Assays* der *in vitro*-3T3 NRU-Phototoxizitätstest durchgeführt. Als Testkonzentration wurde 10 μ M (bzw. 5 μ M für A-

12 aufgrund schlechter Lösungseigenschaften) gewählt, um eine ausreichende Löslichkeit aller Verbindungen in PBS-Lösung (*phosphate buffered saline*) zu gewährleisten.

Hierbei wurde ein semikonfluenter Monolayer Balb/c-3T3-Mäusefibroblasten nach einstündiger Präinkubation der Substanzen mit 1,7 mW/cm² UVA-Licht bestrahlt. Als Positivkontrolle wurde Chlorpromazin, als Negativkontrolle PBS-Puffer (+ DMSO) verwendet. Parallelansätze wurden im Dunkeln gehalten. Die Vitalität wurde anschließend als Funktion ihrer Fähigkeit, den Farbstoff Neutralrot aufzunehmen, photometrisch vermessen.

In Tabelle 4.7 sind die für fünf Verbindungen über den 3T3-NRU-Phototoxizitätstest erhaltenen Wachstumshemmungen (Mittelwerte aus Dreifachbestimmungen) nach UV-Einstrahlung bezogen auf Referenzzelllinien ohne Bestrahlung angegeben.

Verbindung	BP-D7 [10 μM]	Ρ8-D [10 μM]	P8-D- 6OEthNCH32 [10 μM]	Ρ16- 6OEthNCH32 [10 μM]	Α-12 [5 μΜ]	Positiv- kontrolle	Negativ- kontrolle
Wachstums- hemmung [%]	53,7 ± 3,9	52,5 ± 5,4	Keine	Keine	Keine	K.A.	Keine
PIF-Wert	N.b.	N.b.	N.b.	N.b.	N.b.	> 14,4	N.b.

Tabelle 4.7: 3T3-NRU-Phototoxizitätstest (OECD)-One dose assay:

K.A. – Keine Angaben; N.b. – nicht bestimmt.

Für die fünf betrachteten Substanzen konnte, wie Tabelle 4.7 darlegt, kein PIF-Wert errechnet werden, was daran liegt, dass der 3T3-NRU-Phototoxizitätstest lediglich in einer Konzentration durchgeführt, und daher keine für die Berechnungen notwendigen IC₅₀-Werte der Substanzen erhalten werden konnten. Die erhaltenen Daten ermöglichen die Aussage, dass die Verbindungen P8-D-6OEthNCH32, P16-6OEthNCH32 und A-12 bis zu einer Konzentration von 10 µM (bzw. 5 µM) im 3T3-NRU-Phototoxizitätstest nicht phototoxisch sind, da keine Wachstumshemmungen nach UV-Bestrahlung verglichen mit unbestrahlten Referenzkulturen auftraten. Im Gegensatz dazu zeigten P8-D (6-Amino-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin 78 und dessen C-Analogon BP-D7 29 Wachstumshemmungen nach UV-Einstrahlung. Für BP-D7 konnte demnach das bereits in vorherigen Studien ermittelte phototoxische Potential bestätigt werden. Im direkten Vergleich der Substanzklassen 27 und 37 führen also in diesem Test die beiden zusätzlichen Stickstoffatome nicht zu einer erwarteten Reduktion der Phototoxizität. Eventuell kann eine Korrelation zwischen Phototoxizität und der semizyklischen Amidin-Struktur gezogen werden, da nur BP-D7 und P8-D von den fünf getesteten Verbindungen dieses Strukturelement aufweisen. Zur genaueren Untersuchung dieser Theorie und weiteren phototoxischen Eigenschaften der Substanzklassen sollten ebenfalls Konzentrations-Zytotoxizitätskurven bestimmt und mit diesen Informationen PIF-Werte ermittelt werden.

4.5 Zusammenfassung und Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit konnte erstmals eine umfassende physikochemische Charakterisierung der neuen Substanzklasse der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 31 erfolgen. Mittels HPLC-Analytik konnte die Löslichkeit von 14 unterschiedlich 11-substituierten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen **37** bestimmt und eine starke pH-Abhängigkeit festgestellt werden. Bei pH 7,4 war die Löslichkeit der Verbindungen jedoch ähnlich der Substanzklasse der 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridine 26 nur im unteren mikromolaren Bereich anzusiedeln. Dieses schlechte Löslichkeitsverhalten bei neutralem pH-Wert ist auf das Vorliegen der vollständig deprotonierten Form des Heterozyklus zurückzuführen, so dass die zusätzlichen Stickstoffatome an den Positionen 3 und 8 keinen positiven Effekt auf die Löslichkeit bei pH 7,4 haben. Diese Beobachtungen stehen denen entgegen, die von STENZEL für ein Beispielderivat (6-Amino-11-(4-Methoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin) dieser Substanzklasse gemacht wurden, in denen er für das Trihydrochlorid von dieser Verbindung eine Löslichkeit von 1,8 ± 0,4 mM beschrieb [STENZEL, 2009].⁶¹ Da STENZEL allerdings das Trihydrochlorid in 100 mM Phosphatpuffer pH 7,4 verwendet hat, ist anzunehmen, dass sich, analog den in dieser Arbeit gemachten Beobachtungen in Abschnitt 4.1.2, nach Suspension der Verbindung im Puffermedium der pH-Wert erniedrigt haben muss und somit fälschlicherweise aufgrund der wesentlich besseren Löslichkeit im Sauren eine zu hohe Löslichkeit der Beispielverbindung bestimmt wurde.

Eine deutliche Verbesserung der Löslichkeit der Substanzklasse konnte hingegen durch die Einführung von hydrophilen Seitenketten mit endständiger tertiärer Aminfunktion erreicht werden. Diese liegt bei neutralem pH vorwiegend protoniert vor und führt zu einer Erhöhung der Löslichkeit in wässrigem 2 M Phosphatpuffer pH 7,4 in den millimolaren Bereich.

Auch für die Substanzklasse der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **32** konnten erste Aussagen zum pH-abhängigen Löslichkeitsverhalten in wässrigen Medien getroffen werden. Für acht verschiedenartig 6-substituierte 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **40** wurde eine wesentlich schlechtere Löslichkeit als bei der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse **37** determiniert, die bei pH 7,4 nur nanomolar bis niedrig mikromolar war. Experimentell bestimmte logD-Werte für acht 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **40** zeigten für diese Verbindungsklasse zusätzlich eine unverhältnismäßig hohe Lipophilie auf. Beide Phänomene, die sehr schlechte Wasserlöslichkeit, sowie die hohe Lipophilie der Azacarbazolklasse **33** könnten mit dem Auftreten dimerer Strukturen zwischen zwei Molekülen dieses Heterozyklus erklärbar sein. Die Methylierung des 11-Indolstickstoffatoms der Beispielverbindung **160** und eine damit verbundene bessere Löslichkeit in polaren organischen Lösungsmitteln unterstützt diese Theorie.

Im Gegenzug offenbarte die experimentelle Bestimmung 29 unterschiedlich 6- und 11substituierter Verbindungen der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse **31** logD-Werte, die in den meisten Fällen deutlich unter 5 lagen und im direkten Vergleich mit ihren *C*-Analoga, den 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridinen **27**, viel hydrophiler waren und somit ein großer Schritt hinsichtlich einer möglichen oralen Bioverfügbarkeit gemacht wurde.

Für fünf in Hinblick auf ihre Zytotoxizität vielversprechende Derivate wurde die *"rule of five"* von LIPINSKI angewendet, die, betrachtet man die experimentell ermittelten logD-Werte, von allen analysierten Verbindungen der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse **31** eingehalten wird. Das Beispielderivat A-12 der Azacarbazolklasse **40** hingegen fällt aufgrund seiner hohen Lipophile durch.¹⁵¹

Nachdem für mehrere 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine **27** starke phototoxische Eigenschaften gefunden wurden, konnten außerdem in einer wichtigen Teilstudie mittels *in vitro* 3T3-NRU-Phototoxizitätstest im Sinne eines *One-Dose Assays* für die gleichen vielversprechenden Derivate erste Aussagen über das phototoxische Potential dieser Substanzen getroffen werden. In diesem Test zeigten die 6-*O*-aminoalkylierten Zielverbindungen der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse, ebenso wie A-12, bei der eingesetzten Testkonzentration keine Phototoxizität.

Zusammenfassend erörtert stellt die Substanzklasse der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **31** aufgrund ihrer vorteilhaften physikochemischen Eigenschaften einen pharmazeutisch interessanten Heterozyklus dar. Das vielversprechendste Profil weisen hierbei die 6-*O*-aminoalkylierten Verbindungen auf, die sowohl eine im Verhältnis hohe Wasserlöslichkeit besitzen, als auch die *"rule of five"* von LIPINSKI zur Abschätzung einer möglichen oralen Bioverfügbarkeit bestehen, so dass die Modifikation der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline durch das Anknüpfen hydrophilen Seitenketten diese hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften zu aussichtsreichen Arzneistoffkandidaten macht. Denkbar ist in diesem Sinne die Gabe der Verbindungen sowohl intravenös, intramuskulär oder intraperitoneal, da eine ausreichende Löslichkeit gegeben ist, als auch oral, weil die dafür erforderlichen Parameter (nach LIPINSKI) erfüllt werden und in Kombination mit der stark verbesserten Löslichkeit dieser Aufnahmeweg ebenfalls ermöglicht sein sollte.¹⁵¹

Die 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **33** können per se noch nicht als potentielle Arzneistoffkandidaten angesehen werden, diese Verbindungen zeichnen sich derzeit noch durch eine sehr schlechte Löslichkeit in wässrigen Medien, sowie eine hohe Lipophilie aus. In weiterführenden Studien gilt es hier, die Entstehung möglicher Dimere zwischen zwei Molekülen der Azacarbazolklasse **33** zu verhindern. Synthetische Möglichkeiten diesbetreffend sind in **Abschnitt 2.5** dargestellt und waren Thema parallel durchgeführter Arbeiten.^{113,114}

5 IN VITRO-TESTUNG AUF ANTITUMORALE AKTIVITÄT

Um Aussagen über das *in vitro* Antitumorpotential der in dieser Arbeit behandelten Substanzklassen treffen zu können, wurden alle synthetisierten, aufgereinigten und in genügender Menge zur Verfügung stehenden Verbindungen am *National Cancer Institute* (NCI, Maryland, USA) im *NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screening* auf zytostatische/zytotoxische Aktivität untersucht. Die folgenden Unterkapitel liefern Informationen über die besagten Einrichtungen und Testsysteme, Testergebnisse für die Substanzklasse der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline **31** sind in **Abschnitt 5.2** und für die 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1azacarbazole **33** in **Abschnitt 5.3** wiedergegeben. In **Abschnitt 5.4** wurden für relevante Strukturen aus diesen beiden Klassen Selektivitäten auf einzelne Krebsarten errechnet.

5.1 Das Developmental Therapeutics Program des National Cancer Institutes (NCI)

Als Teil des *National Institute of Health* (NIH) ist das zur US-amerikanischen Behörde gehörige *National Cancer Institute* (NCI) ein weltweit operierendes und anerkanntes Krebsforschungszentrum mit ausgedehnten Forschungslaboratorien an den Standorten Bethesda, Maryland und Frederick, Maryland.¹⁵⁴ Neben der Hauptaufgabe der Information der Öffentlichkeit über Krebserkrankungen zählt vor allem das 1976 unter dem Motto *"turning molecules into medicine for the public health"* ins Leben gerufene *Developmental Therapeutics Program* (DTP) mit der Mission der Entdeckung und Entwicklung neuer Chemotherapeutika zu den wichtigsten Funktionen dieser Organisation.¹⁵⁵

Das DTP besteht aus einem stufenartig gegliederten *in vitro-* und *in vivo-Screening-*Programm für kleine synthetische Moleküle und Naturstoffe zur Identizifierung und Evaluierung neuer chemischer Leitstrukturen sowie biologischer Wirkmechanismen. Dabei wird das Hauptaugenmerk der Identifizierung der potentiellen Wirkstoffe auf ein im Jahre 1990 entwickeltes und ständig angepasstes *in vitro-Screening* potentieller Zytostatika an 60 humanen Tumorzelllinien gelegt, welches ein *in vivo* P388-Leukämie-Mausmodell als Initialscreening vor allem aus tierschutzrechtlichen Gründen ablöste.¹⁵⁵ Mit einer Datenbank von über 600.000 potentiell antitumoralen Verbindungen, die dem NCI von zahlreichen Forschungseinrichtungen weltweit zur Testung zur Verfügung gestellt wurden, war es unter anderem maßgeblich an der Entdeckung und Weiterentwicklung von ca. 40% der derzeitig auf dem amerikanischen Markt zugelassenen Chemotherapeutika beteiligt.¹⁵⁶ Die Entwicklung eines potentiellen Chemotherapeutikums im Rahmen des DTP ist schematisch in Abb. 5.1 dargestellt:



Abb. 5.1: Schematische Darstellung des Developmental Therapeutics Program (Anti-Cancer Screening Paradigm (Stand 13.08.13)).¹⁵⁷

Um bei gleichzeitiger Erniedrigung des logistischen Aufwands den Screeningdurchsatz zu erhöhen, wird seit Anfang 2007 das *NCI-60 screening* im Sinne eines Vortests zunächst in einer Konzentration (10 μ M) durchgeführt, so dass nur Substanzen mit bereits ersten nachgewiesenen wachstumshemmenden Eigenschaften auf die 60 Tumorzelllinien in die Konzentrations-Zytotoxizitätsbestimmung über fünf Konzentrationen (*"Five-Dose Test"*) gelangen.

Nach Begutachtung der Daten durch sowohl das NCI und nachfolgend einem Expertenkommitee (BEC = biological evaluation commitee), das die Verbindung hinsichtlich ihrer/ihres zytostatischen/zytotoxischen Potenz, strukturellen Neuartigkeit, Wirkmechanismus, Reproduzierbarkeit, sowie der drugability (die Möglichkeit, aus technischer, pharmakologischer, sowie finanzieller Sicht, aus dem entsprechenden Kandidaten einen Arzneistoff zu entwickeln) im Allgemeinen bewertet. Als erste Studie der nun beginnenden in vivo-Phase wird zunächst an Mäusen die maximum tolerated dose (MTD) bestimmt, die der Dosisfindung für den nachfolgenden in vivo hollow fiber assay dient. Bei diesem werden nach einem standardisierten Verfahren Mäuse, welche mit menschlichen Tumorzellen beschichtete Hohlfaserimplantate tragen, intraperitoneal mit der entsprechenden Substanz behandelt.¹⁵⁸ Je nach Datenlage führt das NCI weitere, spezifischere Tumor-Xenograft-Studien durch und ist daraufhin an der Weiterentwicklung bis hin zu klinischen Studien beteiligt. Beispiele für am NCI entwickelte, gescreente und sich derzeit in klinischer Arzneistoffentwicklung befindliche Topoisomerase I-Hemmstoffe sind die 5,11-Diketoindenoisochinoline NSC 725776 und NSC 724998, deren Strukturen in Abschnitt 1.3.2 dargestellt sind.¹⁹

5.1.1 Das NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screening

Im NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screening (NCI-60 screening) werden wachstumshemmende Eigenschaften von Substanzen auf insgesamt 60 humane Tumorzelllinien von neun verschiedenen Krebsarten (Leukämie, Melanom, Lungenkrebsarten, Kolonkarzinom, ZNS-Krebs, Ovarialkarzinom, Brustkrebs, Prostatakrebs und Nierenzellkarzinom) ermittelt. Der Test ist in seiner Komplexizität von 60 Zelllinien und seiner Reproduzierbarkeit einzigartig und ist für die Abschätzung des zytostatischen/zytotoxischen Potentials synthetischer Forschungssubstanzen *in vitro* sehr gut geeignet. Das daraus für eine Substanz resultierende typische und auf jede einzelne Zelllinie spezifische Muster der Wachstumshemmung kann über mathematische Algorithmen mit den Wachstumshemmungsmustern einer großen am NCI verfügbaren Datenbank an Molekülen mit bekannten Targetenzymen/Wirkmechanismen verglichen werden und somit erste Anhaltspunkte über die Wirkweise einer Substanz gewonnen werden (NCI-COMPARE Studien). Die genaue Funktionsweise des COMPARE-Algorithmus und dessen Anwendung auf ausgewählte in dieser Arbeit behandelte Verbindungen ist in **Abschnitt 6.1** dargestellt.

Der Screeningprozess besteht aus zwei Schritten, beginnend mit der Evaluierung des zytotoxischen Potentials einer Substanz auf alle 60 Zelllinien in der Konzentration 10 μ M (*"One-Dose Test"*). Verbindungen, die in diesem Test signifikante Wachstumshemmungen aufweisen, werden im Anschluss in fünf Konzentrationen an den 60 Zelllinien getestet (*"Five-Dose Test"*). Die aus diesem Test erhaltenen Daten ermöglichen die Bestimmung

spezifischer, vergleichbarer Parameter (**Abschnitt 5.1.1.2**), sowie die Anwendbarkeit dieser Parameter im Zuge des NCI-COMPARE-Programms.¹⁵⁹

5.1.1.1 Beschreibung des Testsystems

Die humanen Tumorzellen werden in RPMI-1640 Medium enthaltend 5% fötales Kälberserum, sowie 2mM L-Glutamin kultiviert und in 96-well plates bei Zelldichten von 5000 -40.000 Zellen/well, abhängig von der Verdopplungszeit der entsprechenden Zelllinien, inokuliert. Die Mikrotiterplatten werden 24 Stunden vor der Zugabe der Verbindung bei 37°C, 5% CO₂ und 100% relativer Feuchtigkeit inkubiert. Im Anschluss werden die Zellen auf den Platten (zwei pro Zellinie – eine dient als unbehandelte Referenz) mit Trichloressigsäure (TCA) fixiert. Die entsprechende Testverbindung wird in DMSO/Glycerol (9:1) gelöst und diese Stammlösung mit 50 mg/ml Gentamycin enthaltendem Medium bis auf die maximale Testkonzentration (100 μ M) verdünnt, aus der noch vier weitere Testkonzentrationen durch serielle Verdünnung erhalten und dem Testsystem zugeführt werden. Nach einer Inkubationszeit von 48 Stunden unter den zuvor genannten Bedingungen wird nach Beendigung des Assays durch Zugabe kalter TCA und weiterer Fixierungs- und Waschvorgänge mit Sulforhodamin B Lösung in 1%-Essigsäure für 10 min angefärbt. Ungebundener Farbstoff wird durch Waschen mit Essigsäure entfernt, die Platten luftgetrocknet und gebundenes Sulforhodamin B in den wells mit 10 mM TRIS-Base (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan) gelöst. Die Absorption in den einzelnen wells wird photometrisch bei 515 nm mit einem automatisierten Plattenreaderphotometer gemessen.¹⁵⁹ Über die ermittelte Absorption, welche proportional zum Gesamtproteingehalt und somit zur Anzahl der Tumorzellen ist, kann über den Vergleich mit unbehandelten Referenzkulturen eine quantitative Bestimmung der Reduktion des Tumorzellwachstums erfolgen.¹⁶⁰

5.1.1.2 Dosis-Wirkungs-Beziehungen und Auswertungsparameter

Die Auswertung der aus dem *"Five-dose Assay"* erhaltenen Daten erfolgt mittels Dosis-Wirkungs-Kurven, von denen je eine pro getesteter Zelllinie über die fünf eingesetzten Testkonzentrationen erhalten wird. Man erhält somit Aussagen über sowohl das *in vitro*-Antitumorpotential einer Substanz, als auch über mögliche Selektivitäten dieser gegenüber bestimmten Tumorzelllinien, respektive Tumorarten. Beispielhaft ist in Abbildung 5.2 eine simulierte Dosis-Wirkungskurve mit relevanten dosisabhängigen Parametern wiedergegeben, letztere werden im Anschluss näher erläutert.


Abb. 5.2: Simulierte Dosis-Wirkungskurve einer Beispielzelllinie und daraus abgeleitete relevante Parameter.

Entlogarithmiert und bezogen auf Wachstumsprozente unbehandelter Referenzzellkulturen sind die entsprechenden Parameter wie folgt definiert:¹⁶¹

- GI₅₀ = *"Growth inhibition 50%"* Konzentration an eingesetzter Testsubstanz, die zu einer Abnahme des Zellwachstums um 50% führt.
- TGI = *"Total growth inhibition"* Konzentration an eingesetzter Testsubstanz, die eine vollständige Wachstumshemmung hervorruft.
- LC₅₀ = *"Lethal concentration 50%"* Konzentration an eingesetzter Testsubstanz, die zu einer Abnahme der Tumorzelldichte um 50% führt.

Der TGI-Wert macht hierbei Aussagen über das "zytostatische Potential", während der LC₅₀-Wert als ein Maß für die "Zytotoxizität" der zu untersuchenden Substanz angesehen werden kann. Als wichtigster vergleichbarer Wert hat sich aber der GI₅₀-Wert etabliert. Die Summe aller GI₅₀-Werte gemittelt über alle 60 Tumorzelllinien (GI_{50/NCI-60} - kurz: GI_{50/60}) liefert eine aussagekräftige Kenngröße (als Konzentration), die die allgemeine *in vitro* antitumorale Potenz einer Substanz beschreibt und sich gut mit anderen, im *NCI-60 screening* getesteten Verbindungen vergleichen lässt. Dieser Term ist ebenso auf die TGI (TGI_{/60}) oder die LC₅₀ (LC_{50/60}) anwendbar. Ebenso kann der dekadische Logarithmus des entsprechenden Parameters angegeben werden, der als "*meangraph midpoint"* (MG_MID) bezeichnet wird.

$$GI_{50/60} = \frac{\sum GI_{50}}{60}$$
; $\log GI_{50/60} = MG_MID$ (GI₅₀)

Formel 5.1: GI_{50/60} und meangraph midpoint (MG_MID).

5.2 *In Vitro*-Antitumoraktivität der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse

In diesem Kapitel sind die Testergebnisse aus dem *NCI-60 screening* für verschiedene Derivategruppen der Substanzklasse der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline, die sich in ihrer 6-und/oder 11-Substitution unterscheiden, dargestellt und diskutiert.

Tabelle 5.1 gibt eine Übersicht über alle im *NCI-60 screening* getesteten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **37**. Dargestellt sind sowohl die Ergebnisse des *One-Dose Assay*, als auch, sofern verfügbar, die unter **Abschnitt 5.1.1.2** beschriebenen Parameter GI₅₀, TGI und LC₅₀ bezogen auf alle 60 Zelllinien aus dem *Five-Dose Assay*.

Tabelle 5.1: Testdaten des NCI für alle getesteten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 37:



		One-Dose A		Five-Dose Assay ³		
Code	NSC-Nr. ¹	11-Rest (R=)	Zellwachstum [%]	GI _{50/60} [μM]	ΤGI _{/60} [μM]	LC _{50/60} [μΜ]
P1	755776	Phenyl-	106,51	-	-	-
P2	754000	4-Isopropylphenyl-	96,34	-	-	-
P3	753999	4-Methoxyphenyl-	101,22	-	-	-
P4	754001	H-	71,75	8,13	41,69	93,33
P5	754006	3-Bromphenyl-	34,12	2,69	11,02	38,90
P7	755777	2,4,6-Trimethoxyphenyl-	80,46	-	-	-
P8	751113	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	91,11	-	-	-
P9	755778	2,3-Dimethoxyphenyl-	103,53	-	-	-
P10	754002	3,5-Dimethoxyphenyl-	108,02	-	-	-
P12	755779	Biphenyl-	71,87	-	-	-
P13	755780	Thienyl-	107,12	-	-	-
P15	755781	4-Bromphenyl-	90,50	-	-	-
P16	755782	3-Chlorphenyl-	33,44	3,80	25,70	74,13
P17	755783	2-Bromphenyl-	102,09	-	-	-
P18	760949	3,4-Dichlorphenyl-	52,87	6,03	22,91	69,18
P20	760942	Furyl-	95,81	-	-	-
P21	760943	4-Fluorphenyl-	101,23	-	-	-
P22	760944	3-Fluorphenyl-	93,72	-	-	-
P24	760945	3-Methoxyphenyl-	91,94	-	-	-

			One-Dose Assay ²	Five	-Dose Ass	ay ³
Code	NSC-Nr. ¹	11-Rest (R=)	Zellwachstum [%]	GI₅₀/₀₀ [μM]	ΤGI _{/60} [μΜ]	LC _{50/60} [μΜ]
P25	768117	3-Hydroxyphenyl-	84,61	-	-	-
P28	763165	<i>n</i> -Propyl-	54,55	4,07	28,18	85,11
P30	754005	2,3,4-Trimethoxyphenyl-	107,07	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 5.1: Testdaten des NCI für alle getesteten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4c][1,9]phenanthroline (37):

¹Durch das NCI vergebener Code; ²Testkonzentration: 10 μM; ³Nur durchgeführt bei signifikanter Wachstumshemmung im One-Dose Assay. – nicht durchgeführt.

Aus Tabelle 5.1 geht hervor, dass nur für eine geringe Anzahl an 6-Amino-11,12dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen **37** signifikante Wachstumshemmungen im *NCI-60 screeening* erzielt werden konnten. Hier zeigten vor allem die 11-(3-Halogenphenyl)-Verbindungen P5 und P16 eine akzeptable Wachstumshemmung auf alle Tumorzelllinien mit GI_{50/60}-Werten im unteren mikromolaren Bereich. Im Zuge erster Struktur-Aktivitätsbeziehungen führte der Austausch des Halogenatoms in die *o*- oder *p*-Position hierbei zu einem kompletten Aktivitätsverlust des entsprechenden Phenanthrolinderivates. Ebenso wenig zeigte die Verbindung mit einem Fluoratom in 3-Position des Phenylrings eine antitumorale Aktivität (P22). Ein 11-(3,4-Dichlorphenyl)-Rest (P18) am 6-Amino-11,12dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-Grundgerüst hingegen führt zu einer wachstumshemmenden Wirkung auf die Tumorzellen.

Der Austausch des sterisch anspruchsvollen (substituierten) Phenylrestes gegen H- oder Propyl- ergibt ebenfalls Verbindungen mit moderaten Antitumorwirkungen im unteren mikromolaren Bereich.

Überraschenderweise zeigt kein einziges 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin **37** mit Mono- oder Polymethoxyphenylsubstitution an Position 11 relevante Wachstumshemmungen auf die Tumorzelllinien des NCI. Diese Beobachtung steht entgegen denen, die in vorherigen Arbeiten für verschiedene 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phenanthridine **27** gemacht wurden.^{51,50,52} Die Aktivitäten solcher Derivate, beispielhaft seien hier das 3-Methoxyphenyl-Derivat BP-18 (GI_{50/60} = 1,82 μ M) und das 3,4,5-Trimethoxyphenyl-Derivat BP-7 (GI_{50/60} = 3,16 μ M) genannt, lagen im unteren mikromolaren Bereich.⁵²

Auch das 3-Hydroxyderivat P25 konnte keine signifikante Wachstumshemmung über alle 60 Tumorzelllinien herbeiführen.

Führt man eine Doppelbindung in die 11,12-Position der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4c][1,9]phenanthroline ein, ergibt sich hinsichtlich wachstumhemmender Eigenschaften im *NCI-60 screening* ein anderes Bild. Eine Übersicht über alle am NCI getesteten 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline **74** liefert Tabelle 5.2: Tabelle 5.2: Testdaten des NCI für alle getesteten 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 74:



			One-Dose Assav ²	Fiv	e-Dose Ase	av^3
Code	NSC-Nr. ¹	11-Rest (R=)	Zellwachstum [%]	GI _{50/60} [μM]	TGI _{/60} [μM]	LC _{50/60} [μM]
P1-D	763166	Phenyl-	69,83	9,55	87,10	> 100,00
P8-D	763168	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	16,76	0,76	7,24	72,44
P9-D	763167	2,3-Dimethoxyphenyl-	98,04	-	-	-
P16-D	768113	3-Chlorphenyl-	53,56	16,22	87,10	> 100,00
P20-D	763169	Furyl-	39,08	1,74	18,20	95,5
P24-D	763170	3-Methoxyphenyl-	55,57	3,71	37,16	97,72
P28-D	765620	<i>n</i> -Propyl-	59,47	7,94	77,62	> 100,00

¹Durch das NCI vergebener Code; ²Testkonzentration: 10 μM; ³Nur durchgeführt bei signifikanter Wachstumshemmung im One-Dose Assay. – nicht durchgeführt.

Wie in Tabelle 5.2 ersichtlich, resultiert aus der Einführung der Doppelbindung für alle dargestellten synthetisierten und getesteten Dehydro-Verbindungen verglichen mit ihren 11,12-Dihydro-Analoga aus Tabelle 5.1 mit Ausnahme des 2,3-Dimethoxyphenyl-Derivates P9-D eine gewisse antitumorale Wirkung, die für das 11-Furylderivat P20 ($GI_{50/60} = 1,82 \mu M$) und das 3,4,5-Trimethoxyderivat (GI_{50/60} = 0,76 μ M) die besten Werte aus dieser Gruppe annimmt. Die nicht vorhandene Zytotoxizität von P9-D könnte im Einklang mit den Beobachtungen von Kock stehen, die für entsprechende 6-Aminobenzo[c]phenanthridine eine Erniedrigung der Zytotoxizität durch die Einführung eines Substituenten in 2-Position des Phenylrings beobachtete.⁵¹ Diesen Sachverhalt begründete Kock mit der Entstehung einer durch sterische Wechselwirkung entstehenden energetisch ungünstigen Spezies. Die Oxidation des 11-(3-Chlorphenyl)Derivates und der 11-Propylverbindung zu P16-D und P28-D zieht eine leichte Verschlechterung der Zytotoxizität nach sich. Ob dies allgemein für 11-(3halogenphenyl)- oder 11-alkylsubstituierte Derivate gilt, sollte durch die Synthese und Testung weiterer Derivate dieser Unterklassen in zukünftigen Arbeiten evaluiert werden. Eine mögliche Erklärung der Verbesserung der wachstumshemmenden Effekte durch Erreichen des vollaromatischen Zustandes des Ringsystems könnte die dadurch erzeugte erhöhte Planarität der Moleküle und eine damit verbundene bessere Befähigung zur Interkalation in die DNA sein.⁷⁰

Über die Ergebnisse des *One-Dose Assays* sind die Wachstumshemmungen der 6-Aminopyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **74** und der entsprechenden 11,12-Dihydro-Analoga **37** auf alle 60 Tumorzelllinien direkt vergleichbar. In Abbildung 5.3 sind die beiden Substanzgruppen gegenüber gestellt:



Abb. 5.3: Vergleich der Wachstumshemmungen von 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinen 74 mit den entsprechenden 11,12-Dihydro-Analoga 37 (One-Dose Assay).

In Abbildung 5.4 werden die erhaltenen Gl_{50/60}-Werte aus dem *Five-Dose Assay* für verschiedene 6-Aminopyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **74** und 11,12-Dihydro-Derivate Verbindungen **37** mit den entsprechenden Werten in gleicher Weise 11-substituierter 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine **28** (und 11,12-Dihydro-Verbindungen **27**), sowie den Gl_{50/60}-Werten der Naturstoffe *Fagaronin* **16** und *Nitidin* **17** verglichen.



Abb. 5.4: GI_{50/60}-Werte verschiedener Substanzklassen und Naturstoffe; ox. = oxidiert.

Beim direkten Vergleich der Verbindunsklassen in Abb. 5.4 kann kein eindeutiger Trend festgestellt werden. Bei drei von fünf verglichenen Derivaten führten entsprechende Verbindungen der Substanzklasse der 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine (und 11,12-Dihydro-Analoga) bei niedrigeren Konzentrationen zu einer 50 prozentigen Wachstumshemmung. Die Verbindungen P5, P8-D und P20-D wiesen im *NCI-60 screening* bessere GI_{50/60}-Werte auf, als die natürlichen Leitstrukturen *Fagaronin* und *Nitidin*. Als eine Verbindung mit guten wachstumshemmenden Eigenschaften konnte P8-D identifiziert werden, das einen GI_{50/60}-Wert von 0,76 µM aufweist. Damit liegt es im Bereich gut wirksamer 6-Aminobenzo[*c*]-phenanthridine, der für diese Substanzklasse maximal erreichte Wert von 0,18 µM (BP-D6) konnte jedoch für nicht-seitenkettentragende Verbindungen nicht unterschritten werden. Folgende Reihenfolge zeigt P8-D und 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine mit einer GI_{50/60} < 1 µM aufsteigend geordnet nach ihrer Wirksamkeit:⁵²

BP-11 < BP-22 < **P8-D** < BP-D3 < BP-D8 < BP-34 < BP-D7 < BP-D6

Für eine Reihe weiterer unterschiedlich 6- und/oder 11-substituierter, nicht seitenkettentragender Verbindungen aus der Klasse der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline wurden ebenfalls Testdaten aus dem *NCI-60 screening* erhalten (Tabelle 5.3):

Tabelle 5.3: Aus dem NCI-60 screening erhaltene Daten weiterer Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline:

R 11	R 11	R 11
N	N	N
N NH O a, b)		N N d)

Code NSC-Nr. ¹			One-Dose Assay ²	Fiv	e-Dose As	say ³
		11-Rest (R=)	Zellwachstum [%]	GI _{50/60} [μΜ]	TGI _{/60} [μM]	LC _{50/60} [μM]
		a) 5,6,1,12-Tetrahydropy	yrido[3,4- <i>c</i>][1,9]phena	anthrolin-6	-one	
P1-0	760947	Phenyl-	97,37	-	-	-
P5-O	760946	3-Bromphenyl-	46,15	8,51	81,28	> 100,00
P16-O	765622	3-Chlorphenyl-	64,76	6,92	61,66	97,72
P24-O	760948	3-Methoxyphenyl-	94,94	-	-	-
		b) 5,6-Dihydropyridd	o[3,4-c][1,9]phenanth	rolin-6-one	9	
P8-D-O	765624	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	- 2,33	1,00	4,47	28,84
		c) 6-Chlor-11,12-dihyd	ropyrido[3,4- <i>c</i>][1,9]ph	nenanthrol	ine	
P16-Cl	765624	3-Chlorphenyl-	8,98	2,57	12,30	38,02
d) 6-unsubstituierte Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline						
P4-H	768114	H-	46,77	3,89	37,15	97,72
P4-D-H	768115	H-	50,86	4,68	60,26	> 100,00
P8-H	768116	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	84,73	-	-	-

¹Durch das NCI vergebener Code; ²Testkonzentration: 10 μM; ³Nur durchgeführt bei signifikanter Wachstumshemmung im One-dose Assay. – nicht durchgeführt. Tabelle 5.3 zeigt ebenfalls eine Wirksamkeit für Verbindungen der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline auf, welche eine Oxo-Funktion in 6-Position aufweisen. In diesem Zusammenhang waren bei allen getesteten 6-Oxo-Verbindungen die korrespondierenden 6-Amino-Derivate (Tabellen 5.1 und 5.2) im *NCI-60 screening* geringfügig potenter.

Das 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin P16-Cl zeichnet sich zwar durch einen besseren GI_{50/60}-Wert als die korrespondierende 6-Oxo-Verbindung P16-O und das 6-Amino-Derivat P16 aus, aufgrund einer sehr schlechten Löslichkeit der Verbindung in wässrigen, bzw. polaren organischen Medien, war eine Weiterentwicklung dieses reaktiven Verbindungstyps allerdings nicht von Interesse.

Die gänzlich unsubstituierten Heterozyklen Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (P4-D-H) und 11,12-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (P4-H) konnten ebenfalls Wachstumshemmungen auf die 60 Tumorzelllinien erzielen, welche im unteren mikromolaren Bereich lagen. Auch hier war eine schlechte Löslichkeit gegeben und möglicherweise limitierender Faktor im Zytotoxizitätsassay des NCI. Die Verbindung P8-H konnte keine signifikanten Wachstumshemmungen in selbigem Assay hervorrufen.

Zuvor gemachte Beobachtungen zur *in vitro* Zytotoxzität der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse können in folgender Abbildung (Abb. 5.5) zusammengefasst werden und folgende Schlüsse hinsichtlich Struktur-Wirkungs-Beziehungen getroffen werden:



Abb. 5.5: Aus den in vitro-Zytotoxizitätsdaten des NCI abgeleitete Struktur-Aktivitäts-Beziehungen.

Unter Berücksichtigung der oben genannten Struktur-Aktivitäts-Beziehungen wurde jeweils eine Verbindung der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline (P16) und ein vollständig ungesättigtes Derivat (P8-D) als Leitstrukturen für die Einführung hydrophiler Seitenketten ausgewählt. Hierbei richtete sich die Auswahl nach den besten GI_{50/60}-Werten, die im *Five-Dose Assay* erreicht worden sind. Die Bevorzugung des 3-Chlorphenylderivates (P16) als Vertreter der 11,12-Dihydro-Verbindungen trotz besserem GI_{50/60}-Wert des 3-Bromphenylderivates (P5) wurde in **Abschnitt 2.1.5** diskutiert.

Im Zuge der Strukturoptimierung der Leitverbindungen P16 und P8-D wurde, wie in **Abschnitt 2.1.5** dargelegt, der tetrazyklische Kern dieser beiden Moleküle mit hydrophilen Seitenketten mit endständiger tertiärer Aminfunktion versehen, mit dem Ziel, neben der Verbesserung der Löslichkeit in neutralem wässrigen Medium die Zytotoxizität dieser Verbindungen weiter zu steigern. Dies konnte in der Literatur bereits an vielen ähnlichen Verbindungen gezeigt werden.^{95,43,19} Die Kopplung von unterschiedlich langen Aminoalkylfragmenten erfolgte entweder über ein 6-*O*- oder ein 6-*N*-Atom. Die Ergebnisse des *NCI-60 screening* der strukturoptimierten Leitverbindungen sind in Tabelle 5.4 wiedergegeben.

Tabelle 5.4: Testdaten 6-N- und 6-O-aminoalkylierter Verbindungen (NCI-60 screening):



¹Durch das NCI vergebener Code; ²Testkonzentration: 10 μM; ³Nur durchgeführt bei signifikanter Wachstumshemmung im One-dose Assay; i.T. – derzeit in Testung. Tabelle 5.4 zeigt, dass die Einführung von Dimethylaminoalkyl-Seitenketten an das tetrazyklische Grundgerüst der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline **31** in allen betrachteten Fällen eine Verbesserung der wachstumshemmenden Eigenschaften verglichen mit den korrespondierenden Leitstrukturen bewirkt. Betrachtet man die Seitenkettenverbindungen ausgehend von der 6-Amino-11,12-dihydro-Leitstruktur P16 (GI_{50/60} = 3,80 µM), so ergibt die Einführung einer Dimethylaminoethylamino-Seitenkette eine leichte Verbesserung der Zytotoxizität (P16-6-NEthNCH32, $GI_{50/60} = 2,45 \mu$ M), während sich der $GI_{50/60}$ -Wert bei Einführung einer Dimethylaminoethyloxy-Seitenkette bereits um fast eine Zehnerpotenz auf GI_{50/60} = 0,45 µM (P16-6-OEthNCH32) verbessert. Die Ankopplung einer Dimethylaminoethyloxy-Seitenkette an die Leitstruktur des vollständig ungesättigten 3,4,5-Trimethoxyphenyl-Derivats P8-D (GI_{50/60} = 0,76 μ M) resultiert in der Verbindung P8-D-6OEthNCH32, welche herausragende wachstumshemmende Eigenschaften besitzt. Die Verbindung weist einen Gl₅₀-Wert über alle 60 Tumorzelllinien im unteren nanomolaren Bereich auf (Gl_{50/60} = 0,049 µM). Das Dimethylaminopropyloxy-Analogon P8-D-60PropNCH32 konnte im One-Dose Assay ebenfalls sehr vielversprechende wachstumshemmende Eigenschaften aufweisen und befindet sich derzeit im Five-Dose Asssay des NCI-60 screening.

Aufgrund des hohen zytotoxischen Potentials von P8-D-6OEthNCH32 wird diese Verbindung im Folgenden detailliert diskutiert. In Abbildung 5.6 sind die Dosis-Wirkungs Kurven von P8-D-6OEthNCH32 für alle 60 Zelllinien dargestellt:



Log₁₀ der Probenkonzentration (molar) Abb. 5.6: Dosis-Wirkungs Kurven von P8-D-6OEthNCH32 auf alle 60 Tumorzelllinien. Abbildung 5.6 zeigt für alle getesteten humanen Tumorzelllinien eine rapide Abnahme des Zellwachstums bei steigender Konzentration, wobei für fünf Zelllinien der Gl₅₀-Wert sogar unterhalb der niedrigsten Testkonzentration von 10 nM liegt. Ebenso sind für nahezu alle Zelllinien ausgeprägte Plateaus in der Nähe der totalen Wachstumshemmung zu beobachten, was auf einen oder mehrere absättigbare(n) potentielle(n) zytostatische(n) Effekt(e) hindeutet. Betrachtet man die vollständige Wachstumshemmung gemittelt über alle 60 Zelllinien von TGI₆₀ = 0,65 μ M und die korrespondierende LC_{50/60} = 30, 2 μ M, welche Aussagen über (zyto)toxische Effekte der Substanz macht, fällt eine Differenz der beiden Werte von fast 2 Zehnerpotenzen auf. Diese große Differenz ist unter allen anderen getesteten Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-Derivaten einzigartig und von wichtiger Bedeutung. In diesem Zusammenhang könnte (unter Annahme ähnlichen pharmakodynamischen Verhaltens *in vivo*) zur Erreichung des (gewünschten) therapeutischen zytostatischen Zytostatischen Wirkbereichs in einer entsprechend großen therapeutischen Breite eine niedrige Konzentration gewählt werden, ohne dass in größerem Maße (unerwünschte) toxische Effekte in diesen Konzentrationsbereichen auftreten dürften.

Das erhaltene Zytotoxizitätsprofil von P8-D-6-OEthNCH32 gibt im Sinne der o.g. Beobachtungen Hinweise darauf, dass die Substanz ein oder mehrere Zielenzyme adressiert, welche von den anderen im *NCI-60 screening* getesteten Verbindungen der Pyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthrolinklasse **31** nicht erreicht werden. Untersuchungen zum Wirkmechanismus, bzw. zu Wirkmechanismen der Verbindung sind **in Kapitel 6** zu finden.

Aufgrund der bemerkenswerten Wirksamkeit von P8-D-6OEthNCH32 lässt sich die Substanz nun mit bekannten Leitstrukturen für relevante Zytostatika, sowie zugelassenen Arzneistoffen und vielversprechenden Forschungssubstanzen vergleichen, deren wachstumshemmende Eigenschaften ebenfalls im standardisierten *NCI-60 screening* bestimmt wurden.¹⁶² Einen solchen Vergleich liefert Tabelle 5.5, in der zusätzlich auch noch die beiden wirksamsten 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine, die im Arbeitskreis synthetisiert wurden, mit aufgeführt sind.

Aus dem Vergleich dieser Daten ist ersichtlich, dass P8-D-6OEthNCH32 im *NCI-60 screening* ungefähr die gleiche Potenz besitzt wie *Camptothecin* **2**, welches als natürliche Leitstruktur mehrerer Topoisomerase I-Hemmstoffe diente.¹⁹ Die zugelassenen Arzneistoffe dieser Klasse *Irinotecan* **3** und *Topotecan* **4**, ebenso die sich in klinischer Prüfung befindlichen nicht-camptothecinartigen Topoisomerase I-Hemmer NSC 725776 **21** und NSC 724998 **22**, zeigen schwächere wachstumshemmende Eigenschaften als P8-D-6OEthNCH32. Dies gilt auch für die zugelassenen Topoisomerase II-Hemmer *Etoposid* **7** und *Teniposid* **8**, lediglich das starke Spindelgift *Podophyllotoxin* **203**, aus dem die zuvorgenannten Topoisomerase II-Hemmstoffe hervorgingen, kann einen niedrigeren GI_{50/60}-Wert (21 nM) als P8-D-6OEthNCH32 aufweisen. Verglichen mit den 6-Aminobenzo[c]phenanthridinen ist P8-D-6OEthNCH32 drei- bis viermal so potent wie BP-D6 **204**, die wirksamte Substanz aller 45 getesteten Verbindungen der 6-Aminobenzo[c]phenanthridinklasse **27**.

Verbindung	NSC-Nr. ¹	GI _{50/60} [μM] ²			
P8-D-6-OEthNCH32 (151)	768118	0,049			
BP-D6 (204)	705878	0,18			
BP-D7 (29)	705880	0,28			
Topoisomerase I-Hemmstoffe					
Camptothecin (2)	94600	0,038			
Irinotecan (3)	728073	0,098			
Topotecan (4)	60669	0,14			
NSC 725776 (21)	725776	0,075			
NSC 724998 (22)	724998	4,31			
Topoisomerase II-Hemmstoffe					
Podophyllotoxin (203) ³	24818	0,021			
Etoposid (7)	141540	0,99			
Teniposid (8)	122819	0,39			

Tabelle 5.5: Die in vitro-Wirksamkeit von P8-D-60EthNCH32 im Vergleich.

¹Durch das NCI vergebener Code; ²Werte aus den entsprechenden Five Dose Assays;¹⁶² ³Podophyllotoxin ist kein Topoisomerase II-Hemmstoff, aber ist hier aufgeführt, da es als Leitstruktur zur Entwicklung von Etoposid und Teniposid diente.



Abb. 5.7 zu Tabelle 5.5: Strukturformeln der in Tabelle 5.5 verglichenen Zytostatika.

5.3 *In Vitro*-Antitumoraktivität der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolklasse

Dieses Kapitel stellt die Testergebnisse aus dem *NCI-60 screening* für alle getesteten Verbindungen aus der Substanzklasse der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole (**33**) dar. Eine Übersicht über alle getesten 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole (**40**) gibt Tabelle 5.6:

Tabelle 5.6: Testdaten des NCI für alle getesteten 5,6-Dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole 40:



	NEC		One-Dose Assay ²	Five- Dose Assay ³		ay ³
Code	Nr. ¹	6-Rest (R=)	Zellwachstum [%]	GI₅₀/₀₀ [μM]	ΤGI _{/60} [μM]	LC _{50/60} [μΜ]
A2	755784	3,4,5-Trimethoxyphenyl-	92,65	-	-	-
A5	760936	4-Bromphenyl-	76,95	-	-	-
A7	760938	3-Chlorphenyl-	89,92	-	-	-
A8	760939	4-Fluorphenyl-	98,21	-	-	-
A9	760940	Furyl-	94,08	-	-	-
A12	765626	2,3,4-Trimethoxyphenyl-	18,56	0,32	47,86	> 100,00
A15	765630	2,4,6-Trimethoxyphenyl-	98,52	-	-	-

¹Durch das NCI vergebener Code; ²Testkonzentration: 10 μM; ³Nur durchgeführt bei signifikanter Wachstumshemmung im One-dose Assay. – nicht durchgeführt.

Bei den 5,6-Dihydro-Derivaten der Azacarbazolklasse **40** konnten lediglich für die Verbindung A12, welche einen 2,3,4-Trimethoxyphenylrest in 6-Position trägt, wachstumshemmende Eigenschaften nachgewiesen werden. Das Derivat besitzt allerdings mit einer $GI_{50/60} = 0,32$ μ M eine im Vergleich relativ hohe Potenz, die sich im Bereich der Potenzen der am besten wirksamsten 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine **27** bewegt [ZUR NIEDEN, 2007]⁵². Im direkten Vergleich der Substanzklassen ist A12 um fast zwei Zehnerpotenzen wirksamer als 6-Amino-11-(2,3,4-trimethoxyphenyl)benzo[*c*]phenanthridin (BP-8, $GI_{50/60} = 21,38$), während P30 aus der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse **31** gar keine inihibierenden Effekte auf das Zellwachstum ausübt (Tabelle 5.1).

Die Tabelle 5.7 legt den Verdacht nahe, dass auch für die hier behandelten Azacarbazolderivate **40** eine Oxidation der 5,6-Position und damit eine vollständige Aromatisierung die Wirksamkeit zu erhöhen scheint:

Tabelle 5.7: Testdaten des NCI für alle getesteten 11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole 179:



			One-Dose Assay ²	Fiv	ve- Dose Ass	ay³
Code	NSC-Nr. ¹	6-Rest (R=)	Zellwachstum [%]	GI₅₀/₀₀ [μM]	ΤGI _{/60} [μM]	LC _{50/60} [μΜ]
A1-D	755785	H-	105,04	-	-	-
A3-D	755786	2,4-Dimethoxyphenyl-	24,07	1,12	60,26	97,72
A12-D	765627	2,3,4-Trimethoxyphenyl-	17,32	0,44	43,65	91,20
A-13-D	765628	3-Methoxyphenyl-	64,44	1,04	13,49	60,26

¹Durch das NCI vergebener Code; ²Teskonzentration: 10 μM; ³Nur durchgeführt bei signifikanter Wachstumshemmung im One-dose Assay. – nicht durchgeführt.

Allerdings kann kein umfassender direkter Vergleich zwischen 5,6-Dihydroform und den vollaromatisierten Analoga gezogen werden, da bis auf ein Beispiel (A12/A12-D) jeweils für nur eine der beiden Formen Testdaten vorliegen. Wie auch schon in **Abschnitt 5.2** bei der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinklasse vermutet, könnte auch in diesem Falle die *in vitro*-Zytotoxizität durch die Oxidation, der dadurch erzeugten erhöhten Planarität der Moleküle und einer damit verbundenen besseren Befähigung zur Interkalation in die DNA, erhöht werden.⁷⁰

A12 und A12-D zeigen neben den besten wachstumshemmenden Eigenschaften auf alle Tumorzelllinien auch die in Hinblick auf eine potentielle Weiterentwicklung der Verbindungen vielversprechendsten Dosis-Wirkungs-Kurven der bisher gestesteten Substanzen der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **33**. In Abbildung 5.8 sind beispielhaft die Dosis-Wirkungs Kurven von A12-D für alle 60 Zelllinien dargestellt.

Ähnlich wie bei der Substanz P8-D-6OEthNCH32 (**Abschnitt 5.2**) wird hier ein Plateau in der Nähe der absoluten Wachstumshemmung erreicht, die Substanzen A12 und A12-D besitzen also eine bemerkenswerte *in vitro* zytostatische Wirkung. Zytotoxische Effekte sind bis zur getesteten Maximalkonzentration von 100 μ M bei nahezu allen Zelllinien nur gering ausgeprägt (A12-D; LC_{50/60} = 91,20 μ M). Verglichen mit dem GI_{50/60}-Wert der wirksamsten Verbindung der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse, P8-D-6OEthNCH32 **151** (GI_{50/60} = 0,049 μ M), sind A12 und A12-D allerdings eine Zehnerpotenz schwächer wirksam.

Für A12 wurden weiterführende Untersuchungen bezüglich des Wirkmechanismus/der Wirkmechanismen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in **Kapitel 6** dargestellt.



Abb. 5.8: Dosis-Wirkungs Kurven von A12-D auf alle 60 Tumorzelllinien.

Eine allgemeine Aussage zu Struktur-Wirkungs-Beziehungen der Azacarbazolklasse 33 lässt sich durch die wenigen getesteten Verbindungen im NCI-60 screening noch nicht treffen. Stark limitierend für alle Verbindungen dieses Typs ist definitiv die sehr schlechte Löslichkeit der Moleküle in wässrigen Medien und damit auch in Puffersystemen des Zytotoxizitätsassays des NCI. Mit den Verbindungen A12, respektive A12-D konnte im Rahmen dieser Arbeit eine Leitstruktur gefunden werden, die in weiterführenden Arbeiten hinsichtlich der pharmazeutisch relevanten physikochemischen Eigenschaften optimiert werden sollte. In parallel durchgeführten Arbeiten wurden bereits umfangreiche Studien, die anderem die Thematik der Anknüpfung hydrophiler Seitenketten, bzw. unter Zuckermoleküle an den Stickstoff in 11-Position an ein im NCI-60 screening zu der Zeit wirksamstes 2,4-dimethoxyphenyl-substituertes Azacarbazolderivat zur Verbesserung der Löslichkeit beinhalteten, durchgeführt.^{113,114} Erste Ergebnisse im NCI-60 screening zeigten hier eine schwächere Wirkung der seitenkettentragenden Verbindungen, verglichen mit dem 11-*N*-unsubstituierten Leitmolekül.¹⁶³ Die erarbeiteten Strategien sind dennoch sehr wertvoll und zum Beispiel im Sinne von pro-drug-Funktionen und der Übertragung dieser auf die neue Leitstruktur A12/A12-D zur primären Verbesserung der Wasserlöslichkeit hochinteressant und sollten in zukünftigen Arbeiten realisiert werden.

5.4 Selektivitäten ausgesuchter Verbindungen

Der über alle 60 Tumorzelllinien gemittelte GI₅₀-Wert (*meangraph midpoint*) ist die wichtigste aus dem *NCI-60 screening* erhaltene Kenngröße. Mit diesem Wert kann die durchschnittliche Zytotoxizität eines Moleküls mit anderen Verbindungen verglichen werden, allerdings berücksichtigt er nicht eventuelle Selektivitäten auf einzelne Zelllinien, beziehungsweise Tumorarten.¹⁶⁴ Aus diesem Grunde wurden für einige in dieser Arbeit besprochene relevante Verbindungen die Selektivitäten für alle neun Krebsarten bestimmt. Dabei wird die Differenz aus dem *meangraph midpoint* (MG_MID) und dem dekadisch logarithmierten Mittelwert der GI₅₀-Werte aller Zelllinien zugehörig zu einer bestimmten Krebsart bestimmt (Formel 4):

 $\Delta = MG_MID (GI_{50}) - MW GI_{50}$

MG_MID (GI50):Mittelwert der logarithmierten GI50-Werte über alle 60 Zelllinien.MW GI50:Mittelwert aus den logarithmierten GI50-Werten der betreffenden
Krebsart.

Formel 5.2: Berechnung von tumorbezogenen Selektivitäten über die im NCI-60 screening erhaltenen GI₅₀-Werte.

Aus Formel 4 ergibt sich eine entsprechend höhere Selektivität auf die betrachtete Krebsart, je positiver diese Differenz ist. Im Gegensatz dazu weist ein negativer Wert daraufhin, dass die zu untersuchende Substanz auf die entsprechende Krebsart unempfindlicher ist, als im Mittel auf alle 60 Zelllinien. Ein Beispielwert von $\Delta = 1$ enspricht einer Selektivität einer untersuchten Substanz von 10 zu 1 auf die entsprechende Tumorart bezogen auf alle anderen Tumorzelllinien.

Aus diesem Kontext heraus wurden für folgende acht in dieser Arbeit behandelten relevanten Strukturen Selektivitätsanalysen durchgeführt: Die beiden über ihre Potenz im *NCI-60 screening* ermittelten Leitstrukturen der Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinklasse **31** P16 und P8-D, die daraus strukturoptimierten Seitenkettenderivate P16-6OEthNCH32, P16-6-NEthNCH32 und die bestwirksamste Verbindung dieses Typs P8-D-6OEthNCH32, der gänzlich unsubstituierte Heterozyklus Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (P4-D-H), sowie die wirksamsten Derivate der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **33** A-12 und A3-D. Tabelle 5.8 zeigt die Ergebnisse dieser Selektivitätsanalysen.

Interner Code	P16	P8-D	P16- 60Eth-	P16- 6NEth-	P8-D- 6OEth-	P4-D-H	A12	A3-D
			NCH32	NCH32	NCH32			
NSC-Nummer ¹	755782	763168	765625	765623	768118	768115	765626	755786
Leukämie	0,39	0,33	0,59	0,23	0,42	-0,08	0,33	0,17
NSCLC ²	-0,10	0,13	0,18	-0,03	0,21	0,20	-0,19	-0,15
Kolonkarzinom	-0,03	-0,19	-0,05	0,02	-0,08	-0,04	0,18	0,25
ZNS-Krebs	-0,08	0,16	-0,03	-0,14	-0,46	0,07	-0,05	0,13
Melanom	0,01	-0,15	-0,24	0,13	-0,19	-0,12	-0,16	0,24
Ovarial- karzinom	-0,11	-0,41	-0,28	-0,27	-0,33	-0,16	-0,03	-0,12
Nierenzell- karzinom	-0,02	0,26	0,11	0,06	0,12	0,30	-0,08	-0,30
Prostatakrebs	-0,06	0,04	0,09	-0,06	-0,05	-0,28	0,05	-0,27
Brustkrebs	-0,05	-0,04	-0,23	-0,02	-0,17	-0,15	0,06	-0,18

Tabelle 5.8: Selektivitäten in dieser Arbeit behandelter relevanter Strukturen:

¹Durch das NCI vergebener Code; ²NSCLC – non small cell lung cancer – Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom.

P16



MeO

MeO









P4-D-H



MeÓ

A12

OMe

òМе

H N H O MeO A3-D



Allen verglichenen Verbindungen gemein ist eine relativ stark ausgeprägte Selektivität für Tumorzelllinien der Krebsart Leukämie, Ausnahme ist hier lediglich die Verbindung P4-D-H. Diese Tumorselektivität wird, betrachtet man die 6-Amino-Leitverbindungen P16 ($\Delta = 0,39$) und P8-D ($\Delta = 0,33$), durch die Einführung einer Dimethylaminoethyloxy-Seitenkette an die 6-Position leicht verstärkt ($\Delta_{P16-6OEthNCH32} = 0,57$; $\Delta_{P8-D-6OEthNCH32} = 0,42$) und liefert die größten Selektivitäten der getesteten Verbindungen. Die pharmazeutisch interessante Verbindung P8-D-6OEthNCH32 konnte mit $\Delta = 0,22$ zudem eine gewisse Selektivität auf Zelllinien des nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms (NSCLC), sowie eine geringe Selektivität für das Nierenzellkarzinom aufweisen ($\Delta = 0,11$). Ähnliche Selektivitäten wurden für P16-6OEthNCH32 erhalten, welches die gleiche Seitenkette in 6-Position, verknüpft an die Leitstruktur P16, trägt. Für die Azacarbazolderivate A12 und A3-D konnten keine Selektivität auf Kolonkarzinomzelllinien ($\Delta_{A-12} = 0,18$; $\Delta_{A3-D} = 0,25$). Für A3-D kommen noch eine leichte Präferenz für ZNS-Krebszellen ($\Delta_{A3-D} = 0,13$) und das maligne Melanom ($\Delta_{A3-D} = 0,24$) hinzu.

Betrachtet man rückblickend die untersuchten Selektivitäten verschiedener 6-Amino-11,12dihydrobenzo[*c*]phenanthridine **27** und 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridine **28** wurden in allen Arbeiten, in denen diese Untersuchungen durchgeführt wurden, Selektivitäten für Leukämie und das Mammakarzinom beschrieben.^{51,50,52} Neben den bei den von WOLSCHENDORF analysierten Verbindungen zusätzlich aufgetretenen Selektivitäten für Prostata- und Nierenzellkarzinomzelllinien, konnte Kock erstmals ein gutes Ansprechen auf Melanomzelllinien beschreiben.^{51,50} ZUR NIEDEN bestätigte größtenteils diese Ergebnisse für die von ihr untersuchten Derivate und deren Selektivitäten.⁵² Im Vergleich zu diesen Ergebnissen zeigen die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Verbindungen ebenfalls ausgeprägte Tumorselektivitäten auf Leukämiezelllinien. In Abbildung 5.10 werden diese neu erhaltenen Leukämie-Selektivitäten mit entsprechenden Differenzwerten der auf diese Tumorart selektivsten Verbindungen der 6-Aminobenzo[*c*]phenanthridinklasse **27** und **28** verglichen.⁵⁰⁻⁵²

In Abb. 5.10 aufgeführte Substanzen der 6-Aminobenzo[c]phenanthridinklasse 27 und 28:

BP-D2 -- 6-Amino-11-(4-methoxyphenyl)benzo[c]phenanthridin

BP-8 -- 6-Amino-11-(2,3,4-trimethoxyphenyl)-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridin

- BP-D9 -- 6-Amino-11-(2-furyl)benzo[c]phenanthridin
- BP-11 -- 6-Amino-11-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridin
- BP-16 -- 6-Amino-11-(4-ethoxyphenyl)-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridin
- BP-20 -- 6-Amino-11-(3-hydroxy-2,4-dimethoxyphenyl)-11,12-dihydrobenzo[c]phenanthridin
- BP-D22 -- 6-Amino-11-(3,5-dimethoxyphenyl) benzo[c]phenanthridin



Abbildung 5.10 Selektivitäten der einzelnen Substanzklassen auf Leukämiezelllinien im Vergleich.

Abbildung 5.10 zeigt, dass bisher keine der Verbindungen, weder aus der Klasse der 6-Aminobenzo[c]phenanthridine **27**, noch von den getesten Derivaten der neuen Heterozyklenklassen eine Differenz \geq 1 erreicht hat. Die größte Selektivität auf Leukämiezellen wird von BP-D22 (Δ = 0,88) realisiert. Das 6-*O*-aminoethylierte Derivat P16-6OEthNCH32 kann eine Selektivität auf diese Zelllinien im Bereich des zweitselektivsten 6-Aminobenzo[c]phenanthridins BP-D9 vorweisen. Die getesteten Azacarbazolderivate A12 und A3-D erscheinen im Vergleich der Substanzklassen weniger selektiv auf die Leukämiezellen.

Eine wie für die Klasse der 6-Aminobenzo[c]phenanthridine beschriebene Präferenz für Mammakarzinomzellen konnte von keiner der in diesem Kapitel genannten Verbindungen erreicht werden. Interessant und erstmalig beschrieben sind die bei den 6-*O*-aminoethylierten Verbindungen P16-6OEthNCH32 und P8-D-6OEthNCH32 auftretenen Selektivitäten für Zelllinien des nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms.

Zu der erfolgten Analyse der aus dem *NCI-60 screening* erhaltenen Daten auf Selektivität gegenüber bestimmten Tumorarten sei, wie auch bereits von WOLSCHENDORF, KOCK und ZUR NIEDEN erwähnt, gesagt, dass diese errechneten Differenzen nur grobe Abschätzungen der Selektivität für eine Tumorart sein können, vor allem, da es keine Untersuchungen oder Definitionen gibt, ab welcher Differenz eine eindeutige Selektivität für eine entsprechende Krebsart auszumachen ist.^{50–52}

Außerdem werden teilweise und je nach Verfügbarkeit unterschiedliche Zelllinien im *NCI-60* screening verwandt, so dass die errechneten Werte nur bedingt vergleichbar sind. Aus den genannten Gründen wurde auf die Berrechnung von Tumorselektivitäten aller im Rahmen dieser Arbeit im *NCI-60 screening* getesteten Verbindungen verzichtet.

5.5 Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das *in vitro* Antitumorpotential der Pyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthrolinklasse **31** umfassend untersucht. Dabei konnten in einem Primärscreening von 38 unterschiedlich 6- und 11-substituierten Verbindungen dieser Heterozyklenklasse im *NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screening* des National Cancer Institutes (NCI, USA) erste Rückschlüsse hinsichtlich Struktur-Aktivitäts-Beziehungen gezogen werden. So führt als wichtigster Aspekt dieser Untersuchungen die Einführung einer Doppelbindung in 11,12-Position zu einer zum Teil deutlich erhöhten wachstumshemmenden Wirkung auf die Tumorzelllinien, bezogen auf die entsprechenden 11,12-Dihydro-Analoga. Für die vollaromatischen Verbindungen konnte ein 3,4,5-Trimethoxyphenylrest in 11-Position die beste zytotoxische Wirkung erzielen, während es für die 11,12-Dihydroformen 11-(3-Halogenphenyl)-substituierte Moleküle waren. Der Austausch der Aminogruppe gegen eine zum N₅-Atom alphaständige Oxofunktion führte in allen vergleichbaren Fällen zu einer geringfügigen Abschwächung der zytotoxischen Aktivität.

Im direkten Vergleich der 6-Aminoformen dieses Heterozyklentyps mit gleichartig 11substituierten 6-Aminobenzo[c]phenanthridinen **28** und 11,12-Dihydro-Analoga **27** konnte keine signifikante Verbesserung hinsichtlich der Zytotoxizität erreicht werden. 15 dieser 38 Substanzen aus dem Primärscreening zeigten eine höhere Aktivität als der Naturstoff *Fagaronin*, fünf von ihnen waren wirksamer als *Nitidin*.

Der gänzlich unsubstituierte Heterozyklus Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin **31** und sein 11,12-Dihydro-Analogon **111** zeigen Aktivitäten im unteren mikromolaren Bereich.

Aus den erhaltenen Informationen des Primärscreenings wurden zwei Leitstrukturen zur weiteren Strukturoptimierung mittels hydrophiler Seitenketten ausgewählt. Im Zuge eines Sekundärscreenings konnten vier dieser strukturoptimierten Moleküle auf ihre Aktivität im *NCI-60 screening* untersucht werden, dabei konnte P8-D-6OEthNCH32 als Molekül mit herausragenden wachstumshemmenden Eigenschaften im unteren nanomolaren Bereich identifiziert werden. Neben einem günstigen Dosis-Wirkungs-Profil weist der Stoff im direkten Vergleich mit natürlichen Leitstrukturen und daraus abgeleiteten zugelassenen Zytostatika der Topoisomerase I- und II-Hemmstoffe, sowie aktueller, sich in der klinischen Arzneistoffentwicklung befindlicher strukturverwandter Topoisomerase I-Hemmer, bis auf wenige Ausnahmen eine höhere Aktivität im *NCI-60 screening* auf und eignet sich damit, auch im Zusammenspiel mit seinen günstigen physikochemischen Eigenschaften, für *in vivo*-Pharmakokinetikstudien und *in vivo*-Wirksamkeitsstudien (Tumor-Xenograft-Studien und andere Modelle).

Des Weiteren konnten erste Rückschlüsse auf das Antitumorpotential der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolklasse **33** gezogen werden. Von den 11 im *NCI-60 screening* getesteten Molekülen der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **179** und 5,6-Dihydroformen **40** demonstrierten lediglich vier Derivate eine antitumorale Wirkung *in vitro*, diese lag aber im beachtlichen Bereich \leq 1 μ M. Die Theorie der besseren Wirksamkeit des vollständig aromatisierten Verbindungstyps **179** kann auch für diese Substanklasse postuliert werden. Als Vertreter der Azacarbazoklasse konnten A12 und A12-D mit guten wachstumshemmenden Eigenschaften in der oberen nanomolaren Region und als mögliche Leitstrukturen für die Strukturoptimierung ausgemacht werden, die zusätzlich ähnlich wie P8-D-60EthNCH32 ein günstiges Dosis-Wirkungs-Profil aufweisen.

Von acht vielversprechenden Verbindungen wurden eventuelle Selektivitäten auf die neun verschiedenen Krebsarten im *NCI-60 screening* untersucht, dabei konnte bis auf eine Ausnahme für alle Derivate eine erkennbare Selektivität für Leukämiezelllinien identifiziert werden. Die für Zelllinien der Tumorart Brustkrebs evaluierte Selektivität der 6-Aminobenzo-[c]phenanthridinklasse **27** konnte für die getesteten Vertreter der neuen Heterozyklenklassen nicht beobachtet werden.

6 UNTERSUCHUNGEN ZUM WIRKMECHANISMUS AUSGEWÄHLTER VERBINDUNGEN

6.1 NCI-COMPARE-Analysen

6.1.1 Beschreibung des COMPARE-Programms

Das *NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screening* des *National Cancer Institutes* (NCI, USA) produziert eine enorme Datenmenge an biologischen Testergebnissen, die in einer großen, ständig wachsenden Datenbank abgelegt wird und auf deren Ergebnisse über die NCI-Homepage ein einfacher Zugang besteht.¹⁶⁵

Eine effektive Analyse dieser Datenvolumina bietet die Anwendung des sogenannten COMPARE-Programms, einem am NCI entwickelten Algorithmus, welcher das für eine untersuchte Substanz (oder auch: *"seed"*) spezifische Muster der Wachstumshemmung auf alle 60 Zelllinien mit den entsprechenden Mustern mehrerer tausend Substanzen aus verschiedenen verfügbaren Datenbanken vergleicht.

Das Ergebnis einer COMPARE-Analyse ist dann eine tabellarische Auflistung der errechneten Ähnlichkeiten, ausgedrückt als ein Pearson'scher Korrelationskoeffzient (PCC), der aus entsprechenden Δ-Werten zweier betrachteter Verbindungen durch Matrixbildung und über einen Algorithmus diagonalisiert gebildet wird.¹⁶⁶ Er kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen, wobei 1 eine totale Übereinstimmung des Wachstumshemmungsmusters bedeuten würde und 0 dementsprechend gar keine Korrelation zur untersuchten "seed"-Substanz. Hintergrund der COMPARE-Analyse ist der Grundgedanke, dass Verbindungen, die sich in ihrem Aktivitätsmuster auf die 60 Tumorzelllinien stark ähneln, der PCC also Werte nahe 1 annimmt, auch den gleichen Wirkmechanismus besitzen. Die Durchführung von COMPARE-Analysen mit Datenbanken, die Substanzen mit bekannten Wirkmechanismen enthalten, kann also demnach zur Identifizierung des in vitro-Wirkmechanismus/der Wirkmechanismen des untersuchten seeds führen. Dabei reagieren dann einzelne Zelllinien, die je nach Enzymausstattung ein entsprechendes Beispiel-Targetenzym vermehrt exprimieren, besonders empfindlich auf die Substanz, während andere Zelllinien, bei denen der entsprechende Signalweg bzw. das Zielenzym nur eine untereordnete Rolle spielt, eine geringe Antwort auf die Substanz zeigen.

Ebenso würde die COMPARE-Analyse zeigen, dass eine untersuchte Verbindung nach keinem der verglichenen Substanzen mit bekannten Wirkmechanismen, also über einen neuen Mechanismus, zytotoxisch auf die Tumorzellen wirkt.

Es liegen keine Daten zur statistischen Validierung des COMPARE-Programms vor, allerdings gibt es eine Vielzahl an Beispielen, in denen vor allem Vergleiche mit Stoffen mit bekannten Wirkmechanismen gezogen wurden und gute Ergebnisse erhalten wurden.¹⁶⁷

Das COMPARE-Programm ermöglicht den Vergleich verschiedener Endpunkte, den GI_{50} -Wert, TGI oder den LC_{50} . In diesem Zusammenhang ist aber lediglich die Verwendung des GI_{50} -Wertes sinnvoll, da hier nahezu für jede Zelllinie Werte vorliegen. Bei der TGI oder dem LC_{50} -Wert müssen vermehrt Werte angenähert werden, da für viele Zelllinien der entsprechende Wert größer als die getestete Höchstkonzentration von 100 μ M ist.

6.1.2 Ergebnisse der COMPARE-Analysen ausgesuchter Verbindungen

Gemäß dem unter **Abschnitt 6.1.1** beschriebenen Prozedere wurden für fünf ausgesuchte in dieser Arbeit behandelte relevante Verbindungen COMPARE-Analysen durchgeführt. Hierbei handelt es sich um die beiden über ihre Potenz im *NCI-60 screening* ermittelten Leitstrukturen der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinklasse **31** P16 und P8-D, die daraus strukturoptimierten Seitenkettenderivate P16-6OEthNCH32 und P8-D-6OEthNCH32, die am besten wirksame Verbindung dieses Typs, sowie A12, das wirksamste Derivat der 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **33**.

Durchgeführt wurde der Algorithmus *"Standard COMPARE"*, als Datenbank wurde SYNTHETIC_COMPOUNDS gewählt, welche über 40.000 synthetische Verbindungen und natürliche Produkte mit bekannter Struktur enthält. Als Minimalkorrelation wurde der Wert 0,2 gewählt, die kleinstmögliche Anzahl an gemeinsamen verglichenen Zelllinien betrug 40 und als minimale Standardabweichung wurde 0,05 angegeben.

In Tabelle 6.1 sind die ersten fünf Ergebnisse für die fünf Substanzen mit Name, NSC-Nummer, Strukturformel, Wirkmechanismus (alles sofern bekannt) und dem erhaltenen Wert der Korrelation wiedergegeben. Dabei war an erster Stelle jeweils die untersuchte *seed*-Verbindung selbst, in der Rangliste sind daher genaugenommen die Verbindungen auf den Rängen 2 bis 6 aufgeführt.



 Tabelle 6.1: Ergebnisse der COMPARE-Analysen für fünf ausgesuchte Verbindungen:

Reihen -folge	P16 P8-D		P16-6OEth- NCH32	P8-D-6OEth- NCH32	A12
	NSC 658301 Korr.: 0,87	NSC 249992 Korr.: 0,81	NSC 243930 Korr.: 0,89	NSC 154318 Korr.: 0,89	NSC 100434 Korr.: 0,80
3	HN CH ₃ H ₃ C NH S OEt	MeO HN HN HN HN HN HN HN HN HN HN HN HN HN	MeO HN CH ₃ SO ₃ H	$\begin{array}{c} \text{MeO} & + & 0\\ \text{HN} & & 0^{\circ} & \text{CH}_{3}\\ \text{HN} & & 0^{\circ} & \text{CH}_{3}\\ \text{HN} & & \text{CH}_{3}\text{SO}_{3}\text{H} \end{array}$	OF NH HN-CH3
	Wirkmechanis- mus unbekannt	m-AMSA Topoisomerase II- Hemmer und DNA-Interkalator	Amsacrin-Derivat (Sulfonamid- Ether), als Methansulfonat	Kernsubstitu- iertes Derivat des Amsacrins, als Methan- sulfonat	4-Hydroxy- phenyl-Derivat von TN 16
	NSC 658300 Korr.: 0,87	NSC 243928 Korr.: 0,80	NSC 628669 Korr.: 0,89	NSC 642279 Korr.: 0,88	NSC 202003 Korr.: 0,79
4	$HN - CH_3$ $H_3C - NH$ $H_3C - NH$ $H_2C - NH$		CH ₉ HN HN HN HN HN HN HN HN HN HN HN HN HN		NC H ₃ C
	Wirkmechanis- mus unbekannt	Amsacrin-Derivat (Sulfonamid- Ether), als Methansulfonat	3-Acetylanilin- Derivat des Etoposids	Benzylamin- Derivat des Etoposids	Wirkmechanis- mus unbekannt
	NSC 133497 Korr.: 0,86	NSC 154948 Korr.: 0,80	NSC 628664 Korr.: 0,88	NSC 156303 Korr.: 0,88	NSC50869 Korr.: 0,78
5	H ₃ C H ₃ C C N C	$\begin{array}{c} H \\ H $	HN H, CO H, CO H, CO H, CO H, CO H, CO	$\begin{array}{c} \text{MeO} \qquad \qquad H \qquad 0 \\ HN \qquad \qquad O \qquad CH_3 \\ \leftarrow \\ \times CH_3 SO_3 H \end{array}$	MeO MeO MeO MeO
	Wirkmechanis- mus unbekannt	SN 11841 Methansulfonat des Amsacrins - Topoisomerase II- Hemmer und DNA-Interkalator	4-Morpholino- anilin-Derivat des Etoposids	SN 11841 Methansulfonat des Amsacrins - Topoisomerase II-Hemmer und DNA-Interkalator	Antimitotisch, Interaktion mit Tubulin ¹⁷⁰

Fortsetzung Tabelle 6.1: Ergebnisse der COMPARE-Analysen für fünf ausgesuchte Verbindungen.

Korr. – Korrelation (PCC).

Da nach einer empirischen Feststellung ab einem PCC > 0,6 eine statistisch signifikante Korrelation vorliegt, zeigen alle aufgeführten Analysen mit einem Minimum von 0,78 und einem Maximalwert von 0,94 exzellente Korrelationen.¹⁷¹

Die Auswertung der COMPARE-Analyse für P16 ergibt kein klares Bild. Die ersten fünf Verbindungen ergeben zwar gute Korrelationen von 0,86 – 0,88, die aufgeführten Strukturen mit unbekanntem Mechanimus der Zytotoxizität unterscheiden sich jedoch stark in ihrer Struktur untereinander und im Vergleich mit P16. Ergänzend zu der aufgeführten Korrelationsanalyse wurden wiederum COMPARE-Analysen mit den ersten drei aufgeführten Verbindungen (NSC 637917, 666524 und 658301) durchgeführt, die ebenfalls diffuse Ergebnisse lieferten. Auch die Verwendung der Datenbank STANDARD_AGENTS, die ausschließlich eine Auwahl an Verbindungen mit bekannten Wirkmechanismen enthält, liefert kein klares Ergebnis und auch nur schwache Korrelationswerte (Maximalkorrelation von 0,46 für ein L-Cystein-Analogon). Diese Beobachtungen deuten daraufhin, dass P16 unspezifisch zytotoxisch wirksam und/oder möglicherweise nach einem unbekannten Wirkmechanismus agiert.

Betrachtet man die COMPARE-Resultate für P8-D werden zunächst zwei weitere Verbindungen aus der Klasse der 6-Aminopyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 74 mit einem PCC von 0,81 aufgeführt. Darauf folgt das Acridin-Derivat m-AMSA (Amsacrin), das als Topoisomerase II-Hemmer und DNA-Interkalator in mehreren Ländern zugelassen und vor allem zur Behandlung der akuten myeloischen und der akuten lymphatischen Leukämie eingesetzt wird.¹⁶⁸ Die in Tabelle 6.1 weiter aufgeführten Ergebnisse der Korrelationsanalyse von P8-D sind ebenso andere Salze oder Derivate des Amsacrins. Ein sehr ähnliches Bild ergibt sich für die 6-O-Dimethylaminoethylierten Verbindungen P16-6OEthNCH32 und P8-D-6OEthNCH32. Nachdem jeweils mit sehr hohen Korrelationen auf dem ersten Rang das entsprechend andere 6-O-Seitenkettenderivat steht, werden bis auf Platz 5 mit an dieser Stelle immer noch sehr guten Korrelationen von 0,88 aussschließlich verschiedene Salze und/oder synthetische Derivate des Amsacrins oder des weltweit zugelassenen Topoisomerase II-Hemmstoffs Etoposid aufgeführt.²⁰ Die Korrelationsanalysen von P8-D, P16-6OEthNCH32 und P8-D-6OEthNCH32 belegen, dass diese Substanzen in vitro sehr ähnliche Zellantworten im NCI-60 zeigen wie potente Topoisomerase II-Hemmer und es liegt somit der Verdacht nahe, dass sie dieser Unterklasse der Zytostatika angehören. Untersuchungen auf Hemmung humaner Topoisomerasen durch die fünf oben genannten Stoffe wurden in Kooperation mit dem Arbeitskreis von Prof. Doris Marko in Wien durchgeführt und sind im Abschnitt 6.2 aufgeführt.

Das durch seine hochpotenten *in vitro* zytotoxischen Eigenschaften im *NCI-60 screening* herausragende Molekül P8-D-6OEthNCH32 weist eine sehr hohe Korrelation (PCC = 0,90) zu dem Topoisomerase II-Hemmer *m*-AMSA (*Amsacrin*) auf. In Abbildung 6.1 wird die Ähnlichkeit der Hemmmuster dieser beiden Substanzen deutlich, indem beispielhaft für drei Tumorarten (Nierenzellkarzinom, Prostata- und Brustkrebs) die Hemmwirkungen auf die einzelnen Tumorzelllinien visualisiert sind.

Dabei sind von links nach rechts aufgeführt: Die zu einer Tumorart gehörige entsprechende Zellinie, die logarithmierten GI₅₀-Werte auf die einzelnen Zellinien (schwarz: P8-D-6OEthNCh32; rot: Amsacrin), sowie die Differenz zum MG_MID über alle 60 Zelllinien (schwarze Linie in der Mitte), wobei Werte nach rechts potenter als im Mittel auf alle 60 Linien heisst und demnach Werte nach links geringere Wachstumhemmung als der Gesamtmittelwert (Schwarze Balken: P8-D-6OEthNCH32; rote Linien: Amsacrin). Auffallend ist für die betrachteten Zelllinien ein nahezu identisches Ansprechverhalten der einzelnen Zelllinien auf die beiden Substanzen. Dabei ist P8-D-6OEthNCh32 im Gesamtmittel auf alle 60 Zelllinien um ca. eine Zehnerpotenz wirksamer als Amsacrin.



Abbildung 6.1: Ausschnitt aus der Visualisierung der COMPARE-Analyse der NCI-60 Daten von P8-D-6OEthNCH32 (schwarz) und Amsacrin (rot).

Um die Aussage des sehr ähnlichen Hemmmusters beider Substanzen zu verifizieren, wurde ebenfalls eine COMPARE-Analyse mit m-AMSA Hydrochlorid (NSC 141549) unter den gleichen oben genannten Bedinungen über die Datenbank SYNTHETIC COMPOUNDS Bei dieser Korrelationsanalyse erscheint P8-D-6OEthNCH32 durchgeführt. nach ausschließlich anderen Derivaten und Salzen des Amsacrins als erste nicht-Amsacrin-artige Verbindung an Position 6 mit derselben Korrelation (PCC = 0,90). Dieses Ergebnis bekräftigt die Theorie, dass sich P8-D-6OEthNCh32 und Amsacrin in ihren in vitro-wachstumshemmenden Eigenschaften und somit möglicherweise auch in ihrem Wirkmechanismus sehr stark ähneln. Intensivere theoretische Betrachtungen, die die genauen Bindemodi von Amsacrin und Etoposid in der Topoisomerase II, sowie mögliche Bindemodi von P8-D-6-OEthNCH32 behandeln, sind in Kapitel 6.3 beschrieben. Ein anderes Bild zeigt sich bei der Betrachtung der Ergebnisse der COMPARE-Analyse für A12 (Tabelle 6.1). Mit Korrelationen von 0,78 - 0,83 (Ränge 1 bis 5) weist dieses Derivat der 5,6-Dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1azacarbazole (40) signifikante Ähnlichkeiten mit strukturverschiedenen antimitotisch wirksamen Verbindungen auf. Die Verbindungen TN 16 (NSC 100445) und NSC 50809 binden dabei an die Colchicin-Bindestelle des Tubulins.^{169,170} Den Strukturen des Colchicins, NSC 50809 und A12 gemein ist ein Trimethoxyphenylrest, der in aktuellen Forschungsarbeiten über potentielle Zytostatika, welche die Colchicin-Bindestelle des Tubulins adressieren sollen, als essentiell angesehen wird.^{172,173} Der 2,3,4-Trimethoxyphenylrest in 6-Position von A12 spielt in diesem Zusammenhang möglicherweise eine entscheidende Rolle. Dass unter den ersten fünf Verbindungen dieser Korrelationsanalyse ausschließlich Antimitotika aufgeführt werden, indiziert auch in diesem Fall, dass eine antimitotische Wirkung und mögliche Interaktion mit Tubulin der Wirkmechanismus dieser Verbindung sein könnte. Das NCI hat nach der Entscheidung des Biological Evaluation Commitee (BEC) gegen weiterführende in vivo-Studien mit der Substanz A12 diese auf eine Liste von möglichen Hemmstoffen der Tubulinpolymerisation mit neuartiger Struktur gesetzt.

In Tabelle 6.2 sind noch einmal die Ergebnisse der durchgeführten COMPARE-Analysen und die daraus abgeleiteten Aussagen über mögliche Wirkmechanismen in einer Übersicht zusammengestellt:

	J
Substanz	Über COMPARE postulierter Wirkmechanismus
P16	Keine genauen Aussagen treffbar, wenig Gemeinsamkeiten der aufgeführten Strukturen, Wirkmechanismen unbekannt
P8-D	Topoisomerase II-Hemmung wahrscheinlich
P16-6OEthNCH32	Topoisomerase II-Hemmung sehr wahrscheinlich
P8-D-6OEthNCH32	Topoisomerase II-Hemmung sehr wahrscheinlich
A-12	Antimitotische Wirkung und Interaktion mit Tubulin wahrscheinlich

Tabelle 6.2: Kurz-Übersicht der erhaltenen COMPARE-Ergebnisse.

6.2 Untersuchungen auf Hemmung humaner Topoisomerasen

In den im vorherigen Abschnitt beschriebenen COMPARE-Analysen zeigten drei der fünf untersuchten Verbindungen ein sehr ähnliches Wachstumshemmungsmuster auf die 60 Tumorzelllinien des *NCI-60 screening* wie potente Topoisomerase II-Hemmstoffe. Um die tatsächliche *in vitro*-Aktivität auf diese Enzymfamilie zu evaluieren, wurden im Arbeitskreis von Frau Prof. Dr. Doris Marko am Institut für Lebensmittelchemie und Toxikologie an der Universität Wien in Kooperationsarbeiten folgende in dieser Arbeit behandelte Verbindungen auf ihre Aktivität gegenüber den humanen Topoisomerasen I und IIa untersucht, für die auch COMPARE-Studien durchgeführt wurden (Abb. 6.2):



Abb. 6.2: Im Arbeitskreis Marko auf Topoisomeraseaktivität untersuchte Verbindungen.

In bereits im Vorfeld durchgeführten Studien fand die Arbeitsgruppe bereits heraus, dass von acht getesteten Verbindungen der strukturverwandten 6-Aminobenzo[c]phenanthridine **28** das vollständig ungesättigte Derivat BP-D7 **29** in der Lage ist, beide Topoisomerasen I und II mit IC₅₀-Werten im unteren mikromolaren Bereich zu hemmen (Abb. 6.3).⁵⁴



Abb. 6.3: BP-D7 (29) vermag die Aktivität humaner Topoisomerasen zu hemmen.⁵⁴

Dabei wies BP-D7 eine signifikant höhere Hemmwirkung gegenüber den beiden Topoisomerase II-Isoformen auf, als auf die Topoisomerase I.

Eine Selektivität gegenüber der α - oder β -Isoform der Topoisomerase II konnte bei diesen Versuchen nicht festgestellt werden.⁵⁴

Zur Bestimmung der Aktivitäten der in dieser Arbeit behandelten Verbindungen wurde zur Untersuchung der Hemmeigenschaften auf die Topoisomerase I der sogenannte Relaxationsassay, sowie zur Bestimmung der Aktivität gegenüber Topoisomerase IIa der Dekatenierungsassay angewandt. Die Methoden und die erhaltenen Ergebnisse zur Hemmung der beiden Enzymformen sind in den folgenden Abschnitten dargestellt.

6.2.1 Beschreibung der Assays und Methoden

6.2.1.1 Hemmung der katalytischen Aktivität der Topoisomerase I (Relaxationsassay)

Mit dem Relaxationsassay lässt sich die Inhibition humaner DNA-Topoisomerase I durch eine Substanz bestimmen. Topo I ist in der Lage, superspiralisiertes Plasmid pUC18 in die relaxierte Form zu überführen. Die resultierenden unterschiedlichen Wanderungseigenschaften der Plasmid-Isoformen in einem Agarosegel bei Anlegen eines elektrischen Feldes geben ein Maß für die Aktivität des Enzyms.¹⁷⁴

Verwendete Geräte und Materialien				
Materialien	Gelkammer, Kämme			
pUC18	250 ng			
Agarosegel	1 % (w/v) in TAE Puffer			
Topoisomerase I	2 U			
Salzmix I (SM I)	100 mM MgCl ₂			
	5 mM DTT			
	5mM EDTA			
	0,3 mg/ml BSA			
Trispuffer	100 mM Tris/HCl, pH = 7,9			
TAE-Puffer	4,84 g/l Tris			
	5,71 % (v/v) Eisessig			
	10 % (v/v) 0,5 M EDTA, pH = 8,0			
	Mit H_2O auf 1 L auffüllen und pH = 8,5 einstellen			
Ladepuffer	25 % (v/v) Glycerol			
	0,125 % (w/v) Bromphenolblau			
	5 % (w/v) Sarkosyl			
Ethidiumbromid-Lösung	1 μg/ml EtBr in H₂O			

Tabelle 6.3: Verwendete Materialien und Geräte des Relaxationsassays:¹⁷⁵

Zusammensetzung der Proben			
	Kontrolle	Substanz	
H ₂ O	20,5 μl	18,5 μl	
SM I	3 μΙ	3 µl	
KCI 1 M	3 μl	3 μΙ	
Tris 100 mM	3 μl	3 μΙ	
рUC18 (0,5 µg/µl)	0,5 μl	0,5 μl	
DMSO/Substanz	-	1 μl	
Торо І	-	1 µl	

Tabelle 6.4: Zusammensetzung der Proben (Relaxationsassay):¹⁷⁵

Die Proben wurden für 40 Minuten bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurde die Inkubation durch Zugabe von 5 μ l des 4 °C kalten Ladepuffers gestoppt. 19 μ l jeder Probe wurden pro Tasche auf das Gel aufgetragen. Die Elektrophorese erfolgte bei 60 Volt für 3 Stunden. Dann wurde das Gel in Ethidiumbromid für 20 Minuten angefärbt und 10 Minuten mit Wasser gewaschen. Die Auswertung erfolgte mittels Fluoreszenzdetektion bei 560 nm.¹⁷⁵

6.2.1.2 Hemmung der katalytischen Aktivität der Topoisomerase IIα (Dekatenierungsassay)

Mit Hilfe des Dekatenierungsassays lässt sich die Inhibtion humaner Topoisomerase II α durch eine Substanz bestimmen. Das Protein ist in der Lage, Kinetoplasten DNA (kDNA), die in Form ineinander verzahnter Minizirkel (sog. Katenate) vorliegt, zu dekatenieren, d.h. in einzelne Minizirkel zu spalten. Diese sind nun im Unterschied zur ursprünglichen kDNA im Stande, im Agarosegel bei Anlegen eines elektrischen Feldes zu wandern. Bei Inhibition der Topo II-Aktivität findet demnach keine bzw, eine verminderte Wanderung der DNA-Plasmide statt, wodurch sich die hemmende Wirkung auf das Enzym durch die Testsubstanz nachweisen lässt.^{176,174} Das Enzym Topoisomerase II α wurde bezogen von der Firma Topogen.¹⁷⁷

Verwendete Geräte und Materialien			
Materialien	Gelkammer, Kämme		
kDNA	200 ng		
Agarosegel	1 % (w/v) in TAE Puffer		
Topoisomerase IIα	0,5 U		
Puffer A	100 mM MgCl ₂		
	5 mM DTT		
	0,3 mg/ml BSA		
	500 mM Tris-HCl, pH = 8,0		
	1,5 M NaCl		
Puffer B	20 mM ATP in H ₂ O		
TAE-Puffer	4,84 g/l Tris		
	5,71 % (v/v) Eisessig		
	10 % (v/v) 0,5 M EDTA, pH = 8,0		
	Mit H ₂ O auf 1 l auffüllen und pH = 8,5 einstellen		
Ladepuffer	25 % (v/v) Glycerol		
	0,125 % (w/v) Bromphenolblau		
	5 % (w/v) Sarkosyl		
Ethidiumbromid Lösung	1 μg/ml EtBr in H₂O		

Tabelle 6.5: Verwendete Materialien und Geräte des Dekatenierungsassays:¹⁷⁵

Tabelle 6.6: Zusammensetzung der Proben (Dekatenierungsassay):¹⁷⁵

Zusammensetzung der Proben			
H ₂ O	13,2 μl		
Puffer A	2 μΙ		
Puffer B	2 μΙ		
kDNA (250 ng/μl)	0,8 μl		
DMSO/Substanz	1 µl		
Τορο ΙΙα (0,5 U)	1 μl		

Die Proben werden für 40 Minuten bei 37 °C inkubiert. Anschließend wird die Inkubation durch Zugabe von 5 μ l des 4 °C kalten Ladepuffers gestoppt. 19 μ l jeder Probe werden pro Tasche auf das Gel aufgetragen. Die Elektrophorese erfolgt bei 60 Volt für 3 Stunden. Dann wird das Gel in Ethidiumbromid für 20 Minuten angefärbt und 10 Minuten mit Wasser gewaschen. Die Detektion erfolgt mittels Fluoreszenzdetektion bei 560 nm.¹⁷⁵

6.2.2 Ergebnisse

Abbildung 6.4 zeigt die Agarose-Gelelektrophorese des Dekatenierungsassays zur Untersuchung der Topoisomerase IIα-Aktivität der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten und getesteten Verbindungen (Testkonzentrationen: 10 μM und 100 μM).



Abb. 6.4: Dekatenierungsassay auf Beeinflussung der Topoisomerase IIα-Aktivität: ¹kDNA = Kinetoplasten-DNA; ²Topoisomerase IIα; ³Testkonzentrationen, Einheit: μmol/L.

In diesem Versuch vermochte ausschließlich die Verbindung P8-D-6OEthNCH32 die Aktivität der Topoisomerase II α potent zu hemmen, so dass es zu keiner Bildung "entzahnter" DNA-Minizirkel kam, ersichtlich an den der Immobilität der Banden in Lanes 4 und 5, verglichen mit Lane 1, die als Referenz ohne Hemmsubstanz mit aufgetragen wurde. Darüber hinaus ist festzustellen, dass bereits bei einer Konzentration von 10 μ M P8-D-6OEthNCH32 eine nahezu vollständige Hemmung der Enzymaktivität eintritt, so dass von einem IC₅₀-Wert von P8-D-6OEthNCH32 auf die Topoisomerase II $\alpha < 10 \ \mu$ M ausgegangen werden kann. Der exakte IC_{50 TOP2 α}-Wert der Substanz wird derzeit im AK Marko in Wien bestimmt.

Alle anderen getesteten Verbindungen zeigen keine Topoisomerase IIα-Aktivität (Abb. 6.4, Lanes 2,3 und 6-11, die angedeutete Bande auf der Höhe der verzahnten DNA in Lane 9 wurde als Messartefakt gewertet.¹⁷⁵ Konzentrationen oberhalb von 100 μM sind hinsichtlich einer möglichen Bedeutung als Topoisomerase-Hemmstoff für die Hemmung des Tumorzellwachstums als unrelevant anzusehen.⁵⁴ Überraschend ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass P8-D auf das Enzym vollständig wirkungslos ist, während die dazu *C*-analoge Verbindung der Benzo[c]phenanthridinklasse BP-D7 als ein potenter Hemmstoff der Topoisomerasen I und II identifiziert werden konnte.⁵⁴

Der einzige Unterschied zwischen den beiden Verbindungen liegt darin, dass die Kohlenstoffatome 3 und 8 bei P8-D gegen Stickstoff ausgetauscht sind. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte eine durch die erniedrigte Lipophilie durch diese zusätzlichen Stickstoffatome verminderte Befähigung der Interkalation in die relevanten DNA-Bereiche des katalytischen Zentrums sein.

Wie in **Abschnitt 6.1.2** beschrieben, wurden von den gleichen in diesem Kapitel auf Topoisomerase-Aktivität getesteten Verbindungen NCI-COMPARE-Studien durchgeführt. Diese Analysen sagten für drei der fünf Verbindungen eine wahrscheinliche bis sehr wahrscheinliche Aktivität gegenüber der Topoisomerase II voraus. Für die nanomolar zytotoxisch wirksame Substanz P8-D-60EthNCH32 konnte diese Annahme bestätigt werden.

Interessanterweise hat P16-6OEthNCH32, das einen 11-(3-Chlorphenyl)-Rest und in 11,12-Position nicht oxidiert vorliegt, keinen Effekt auf das Enzym. Neben dem hier fehlenden Interaktionspotential von Methoxygruppen als Wasserstoffbrückenakzeptoren mit der Topoisomerase II ist wahrscheinlich vor allem eine ungünstige Ausrichtung des 11-Restes zum Grundgerüst durch eine zu hohe Anzahl möglicher Konformationen dafür verantwortlich (**Abschnitt 6.3.1**). Die bemerkenswerte Giftwirkung von P16-6OEthNCH32 (GI_{50/60} = 0,45 μ M) auf die Tumorzelllinien muss in diesem Fall einem anderen Wirkmechanismus unterliegen.

P16, für welches mit Hilfe des COMPARE-Programms kein klares Bild hinsichtlich eines Wirkmechanismus prognostiziert werden konnte, sowie A12, das in der COMPARE-Analyse das Zellwachstumshemmungsmuster eines antimitotisch wirksamen Stoffs aufzeigte, waren in Analogie zu den COMPARE-Studien nicht aktiv gegenüber der Topoisomerase IIα.

Zur Untersuchung der Aktivität gegenüber der Topoisomerase I wurden P16, P8-D, P16-6OEthNCH32, P8-D-6OEthNCH32 und A12 im Relaxationsassay in verschiedenen Konzentrationen (1, 50 und 100 μ M) untersucht. Dabei konnte in hohen Konzentrationsbereichen (50 und 100 μ M) eine schwache Aktivität der Verbindungen P8-D und A-12 festgestellt werden, während P8-D-6OEthNCH32 bereits bei niedrigen Konzentrationen eine potente Aktivität gegenüber der Topoisomerase I aufweist. In Abbildung 6.5 ist der konzentrationsabhängige Effekt von P8-D-6OEthNCH32 auf das Enzym Topoisomerase I dargestellt, als Positivkontrolle für den Assay diente *Camptothecin* in der Konzentration 100 μ M.

Klar ersichtlich ist eine konzentrationsabhängige Hemmung der Topoisomerase I Aktivität durch P8-D-6OEthNCH32, die bei 10 μ M bereits nahezu vollständig ist, verglichen mit Lane 1, welche das überspiralisierte Plasmid ohne Topoisomerase I enthält. Auch auf die Topoisomerase I liegt also der IC₅₀-Wert für P8-D-6OEthNCH32 < 10 μ M. Die Bestimmung des exakten IC₅₀-Wertes steht noch aus und wird zur Zeit im AK Marko in Wien durchgeführt.



Abb. 6.5: Relaxationsassay auf Beeinflussung der Topoisomerase I-Aktivität: ¹superspiralisiertes Plasmid pUC18; ²Topoisomerase I; ³Testkonzentrationen, Einheit: μmol/L.

Bei den bisherigen Untersuchungen auf die Hemmung humaner Topoisomerasen durch in dieser Arbeit behandelte Verbindungen konnten P8-D-6OEthNCH32 als gleichermaßen potenter Topoisomerase I- und Topoisomerase II α -Inhibitor identifiziert werden. Die Aktivität gegenüber der β -Isoform der Topoisomerase II wird zur Zeit im AK Marko evaluiert. Tabelle 6.7 vergleicht die Aktivität von P8-D-6OEthNCH32 mit Topoisomerase I- und/oder Topoisomerase II-Hemmstoffen, wobei aufgrund fehlender IC₅₀-Werte der Verbindung die Daten semiquantitativ dargestellt sind (+++ = IC₅₀ < 10 μ M; ++ = 10 - 50 μ M; + = 50 - 100 μ M):

•		-
Substanz	Hemmung der Topo I-Aktivität	Hemmung der Topo IIα-Aktivität
P8-D-6OEthNCH32 ¹	+++	+++
BP-D7 ²	+	++
Etoposid ³	n.b.	+
Camptothecin ¹	+	n.b.

Tabelle 6.7: Die Topoisomerase-Aktivität von P8-D-60EthNCH32 im Vergleich:

Daten entnommen aus: ¹JAROLIM, MARKO, **2014**¹⁷⁵; MARKO et al.⁵⁴; UTSUGI et al, 1996¹⁷⁸; n.b. = nicht bestimmt.

Tabelle 6.7 macht deutlich, dass P8-D-6OEthNCH32 im Vergleich mit dem topoisomeraseaktiven BP-D7 und den bekannten Topoisomerase I- und II-Giften *Camptothecin* und *Etoposid* die stärkste Aktivität aufweist.

Der folgende **Abschnitt 6.3** beschäftigt sich mit weiterführenden theoretischen Betrachtungen zur Hemmung humaner Topoisomerasen Typ II durch P8-D-6OEthNCH32, sowie *Docking*-Studien der Substanz in Kristallstrukturen humaner Topoisomerasen.

6.3 Theoretische Betrachtungen zur Hemmung humaner Topoisomerasen durch P8-D-6OEthNCH32

6.3.1 Mögliche Bindung von P8-D-6OEthNCH32 in der Topoisomerase II anhand der Bindemodi strukturverwandter Topoisomerase II-Hemmstoffe

Das in **Abschnitt 6.1** beschriebene und für fünf relevante in dieser Arbeit behandelte Verbindungen durchgeführte COMPARE-Programm des *National Cancer Institute* (Maryland, USA) offenbarte ein sehr ähnliches Muster der Wachstumshemmung der 6-*O*-aminoethylierten Verbindung P8-D-6OEthNCH32 und den Topoisomerase II-Hemmstoffen *Amsacrin* und *Etoposid* auf die 60 Tumorzelllinien des *NCI-60 screening* (**Abschnitt 6.1.2**). Im Zusammenhang mit der nachgewiesenen potenten Hemmung der Topoisomerase II-Aktivität *in vitro* und der herausragenden *in vitro*-Antitumoraktivität von P8-D-6OEthNCH32 war es von großem Interesse, die Strukturen, sowie Wirkmechanismen und Bindemodi der beiden Arzneistoffe in der Topoisomerase II genauer zu betrachten, sowie Ähnlichkeiten und Unterschiede zu P8-D-6OEthNCH32 zu evaluieren.



Abb. 6.6: Strukturformeln von P8-D-60EthNCH32, Amsacrin und Etoposid.

Das Acridin-Derivat *Amsacrin* (*m*-AMSA) ist in mehreren Ländern als antineoplastisch wirksames Agens zur Behandlung maligner Erkrankungen des blutbildenden Systems, vor allem der akuten lymphatischen und der akuten myeloischen Leukämie, zugelassen.^{18,179} Obwohl es ursprünglich als DNA-Interkalator entwickelt wurde, war es das erste Molekül, bei dem eine Aktivität gegenüber humaner Topoisomerase II *in vitro* festgestellt werden konnte.¹⁸⁰ Dabei fungiert es als Topoisomerase II-Gift, indem es sich aufgrund seiner

günstigen Struktur in den Komplex aus Topoisomerase II und dem von dem Enzym gerade zur Entdrillung bearbeiteten Abschnitt der DNA einlagern kann und dadurch die DNA-Ligation verhindert.^{18,180} Amsacrin kann in eine Kopfgruppe, die für die Giftwirkung auf die Enzymkomponente verwantwortlich ist und in einen DNA-interkalierenden Molekülpart unterteilt werden (Abb. 6.7). Dabei ist schon länger bekannt, dass es durch den Austausch der Methoxygruppe meta-ständig zum Sulfonamid in die ortho-Position zu einem kompletten Verlust der Topoisomerase II-Giftwirkung kommt, während die interkalierenden Eigenschaften durch diesen Positionswechsel zunehmen.^{180,181} Neuere Untersuchungen belegen, dass der Verlust der Topoisomerase II-Hemmeigenschaften nicht durch das Verlorengehen einer Ligand-Protein-Wechselwirkung zustande kommt, sondern vielmehr sterische Gründe hat. Dabei hat die Gruppe um KETRON et al. durch Energieminimierungsuntersuchungen und Testungen mehrerer Amsacrin-Derivate herausgefunden, dass die Methoxygruppe meta-ständig zur Sulfonamidfunktion die Kopfgruppe in eine enge Auswahl möglicher, zum interkalierenden Teil des Moleküls nahezu senkrecht stehender Konformationen zwingt und damit die Topoisomerase II-Giftwirkung erzielt wird.¹⁶⁸ Abbildung 6.7 zeigt die Energieminimierungsmodelle von *m*-AMSA (Topoisomerase II aktiv) und o-AMSA (Topoisomerase II inaktiv).



Abbildung 6.7: Unterteilung der Amsacrin-Derivate und Energieminimierungsstudien. Rechter Teil entnommen aus der Arbeit von KETRON et al.¹⁶⁸
Um die räumliche Anordnung von P8-D-6OEthNCH32 klären und eventuelle Analogien zu *Amsacrin* ziehen zu können wurde unter Zuhilfenahme der Software *Maestro 9.6* der Firma Schrödinger[®] eine Konformationsanalyse (*conformational space analysis*) von P8-D-6OEthNCH32 durchgeführt. Dabei berechnet die Software ähnlich den Studien von KETRON *et al.* mögliche Konformationen unter Berücksichtigung der energetisch günstigsten Zustände des Moleküls.¹⁶⁸ In Abbildung 6.8 ist die Konformationsanalyse von P8-D-6OEthNCH32 wiedergegeben:



Abb. 6.8: Mit Maestro 9.6 (Schrödinger®) errechnete Konformationen von P8-D-6OEthNCH32.

Abbildung 6.8 macht deutlich, dass der 11-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-Rest durch die Anordnung des tetrazyklischen Grundgerüstes, vor allem aufgrund der räumlichen Nähe der Protonen an den Kohlenstoffatomen 10 und 12 zum 11-Phenylkern in eine nahezu orthogonale Position zum Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-Grundgerüst gezwungen wird. In diesem Zusammenhang wird die Bedeutung der Oxidation der 11,12-Position deutlich, da die Entfernung des aliphatischen Charakters von C-11 durch die vollständige Aromatisierung des Systems neben der Entfernung des Stereozentrums an C-11 die Auswahl an möglichen Konformationen des 11-Restes deutlich minimiert. In Analogie zu den Untersuchungen von KETRON *et al.* würde demnach der 11-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-Rest von P8-D-6OEthNCH32, der die Kopfgruppe des Moleküls darstellte, in einer idealen Geometrie zur Erzeugung einer Topoisomerase II-Giftwirkung zu dem Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-Grundgerüst stehen, welches den DNA-Interkalationspart darstellen würde.¹⁶⁸ Vergleicht man die Ergebnisse der Hemmeigenschaften auf die Topoisomerase II und die des NCI-60 screenings der Verbindungen P8-D (keine Topoisomerase II-Hemmung; GI_{50/60}= 0,76 μ M), das eine Aminogruppe in 6-Position trägt, und P8-D-6OEthNCH32 (potente Topoisomerase II-Hemmung; $GI_{50/60} = 0,049 \mu M$), eine N,N-Dimethylaminoethyloxy-Seitenkette an der 6-Position aufweisend, liegt der Verdacht nahe, dass diese Seitenkette zusätzlich zu der Beschaffenheit und Geometrie des 11-Restes, die bei P8-D und P8-D-6OEthNCH32 identisch ist und daher nicht allein für die außerordentlich Zytoxizität von P8-D-6OEthNCH32 verwantwortlich sein kann, eine große Rolle spielt. Abb. 6.8 zeigt ein hohes Maß an Flexibilität für die Seitenkette durch eine hohe Anzahl an möglichen Konformationen. Neben der besseren Löslichkeit der Verbindung in wässrigen Medien kann für die drastische Verstärkung der Zytotoxizität auch die von NAGARAJAN et al. für deren beschriebene aminoalkyl-seitenkettentragende 5,11-Diketoindenoisochinoline aufgestellte Theorie postuliert werden. Diese besagt, dass diese Verbindungen durch eine durch Protonierung hervorgerufene positive Ladung an der endständigen Aminfunktion eine erhöhte Affinität zur DNA über elektrostatische Anziehungskräfte zu den negativ geladenen Phosphodiesterbrücken des DNA-Rückgrats besitzen.¹⁶⁴

Neben dieser Interaktion mit der DNA könnte die Seitenkette von P8-D-6OEthNCH32 auch eine, beziehungsweise mehrere relevante Aminosäuren der Topoisomerase II in der Bindetasche über Wasserstoffbrückenbindungen erreichen. Zur Untersuchung solcher etwaiger Interaktionen wurde der mittels Röntgenstrukturanalyse kürzlich aufgeklärte Bindemodus von *Etoposid* in humaner Topoisomerase IIß, kokristallsiert mit DNA, näher betrachtet.¹⁸² In Abbildung 6.9 ist dargestellt, wie die Giftwirkung von *Etoposid* auf den Komplex aus Topoisomerase IIß und DNA erzielt wird:



Abbildung 6.9: Etoposid in der Kristallstruktur der Topoisomerase II β im Komplex mit DNA. Abbildungen entnommen aus einer Arbeit von WU et al.¹⁸²

Demnach liegen zwei Etoposid-Moleküle in den beiden Bindetaschen des spaltbaren Komplexes (*cleavage complex*) aus dem dimeren Protein und der DNA. Dabei interkaliert der tetrazyklische Teil des Aglykons komplett zwischen zwei DNA-Basen, während sich der 4-Hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl-Rest (Kopfgruppe des Etoposids) zwischen den beiden gebrochenen DNA-Rückgratsfragmenten und der Topoisomerase II befindet und dadurch die Ligation der beiden Einzelstränge verhindert. Betrachtet man den rechten Teil von Abb. 6.9 wird deutlich, dass der glykosidische Rest in einen großen Raum hineinragt, der viele Optionen der Interaktion bietet.¹⁸² Überträgt man diese Informationen auf P8-D-6OEthNCH32 entspräche der 3,4,5-Trimethoxyphenylrest der Kopfgruppe, der sich wie bei Etoposid in den katalytischen Teil der Bindetasche ausrichtete, und der Pyrido[3,4-c]-[1,9]phenanthrolinkern dem DNA-Interkalationsteil. Die Seitenkette hätte durch ihre hohe Beweglichkeit eine Vielzahl an Möglichkeiten zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken mit der Topoisomerase II. Eventuell adressiert die Seitenkette von P8-D-6OEthNCH32 ebenfalls die Aminosäure Glutamin (Q778) der Topoisomerase IIB, was bei Etoposid durch den glykosidischen Teil erreicht wird (Abb. 6.9 rechts). Interessanterweise ist genau diese Aminosäure bei der a-Isoform der Topoisomerase II durch Methionin (M762) ersetzt und stellt einen der wenigen Unterschiede der beiden Isoformen dar.¹⁸² Es könnte daher also theoretisch möglich sein, dass P8-D-6OEthNCH32 eine isoformspezifische Topoisomerase II-Aktivität besitzt. Eine potentere Hemmung der a-Isoform wäre hierbei von enormem Vorteil, da die Hemmung der β-Variante durch unspezifische Topoisomerase II-Hemmer wie *Etoposid* oder Anthracyclin-Derivaten in den Zusammenhang mit der Entstehung sekundärer Malignien, sowie kardiotoxischen Eigenschaften gebracht wurde.^{18,20} Der Effekt von P8-D-6OEthNCH32 auf die Topoisomerase IIB-Isoform wird derzeit im Arbeitskreis Marko am Institut für Lebensmittelchemie und Toxikologie in Wien untersucht.¹⁷⁵

Ebenso gut könnte die Dimethylaminoethyloxy-Seitenkette auch einige andere sich in der Nähe befindliche Aminosäuren erreichen oder wie bereits oben beschrieben mit dem negativ geladenen Rückgrat der DNA interagieren.¹⁶⁴

Das in dieser Arbeit angewandte Konzept der Einführung hydrophiler Aminoalkyl-Seitenketten an ein starres Grundgerüst wurde bereits auch für *Etoposid* verwirklicht. Die Verbindung TOP-53, die anstelle des glykosidischen Teils eine Aminoalkyl-Seitenkette in 4-Position trägt, besitzt nahezu doppelt so gute Topoisomerase II-Hemmeigenschaften wie *Etoposid* im Dekatenierungsassay und kann auch *in vivo* einige Vorteile gegenüber dem zugelassenen Arzneistoff aufweisen. In diesem Zusammenhang zeigte das Derivat in *in vivo* Xenograft-Studien an Mäusen ein besseres Ansprechverhalten gegenüber menschlichen Tumorzellen des Nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms (NSCLC), sowie eine gegenüber *Etoposid* längere Persistenz in den Lungen der Tiere.^{183,178} Abbildung 6.10 gibt noch einmal eine Zusammenfassung der in diesem Abschnitt über Analogieprinzipien der Topoisomerase II-Hemmstoffe *Amsacrin* und *Etoposid* erhaltenen und auf P8-D-6-OEthNCH32 übertragenen Informationen:



Abb. 6.10: Übersicht über postulierte Ausrichtung und mögliche Interaktionen von P8-D-60EthNCH32 im aktiven Zentrum der Topoisomerase II.

Die endgültige Klärung des Bindemodus von P8-D-6OEthNCH32 in der Topoisomerase II α /II β kann letztendlich nur mittels Röntgenstrukturanalyse erfolgen, die z.B. analog den Bedingungen von Wu *et al.* durch Kokristallisation eines großen Teils der Topoisomerase II mit DNA und P8-D-6OEthNCH32 durchgeführt werden könnte.¹⁸²

Um den oben genannten theoretischen Bindemodus von P8-D-6OEthNCH32 in der Topoisomerase II zu überprüfen und um weitere Informationen über diesen zu erhalten, wurden *Docking*-Studien des Moleküls in der von WU *et al.* beschriebenen Kristallstruktur aus Topoisomerase II im Komplex mit DNA durchgeführt.¹⁸² Da P8-D-6OEthNCH32 auch die Aktivität der Topoisomerase I in hohem Maße inhibiert, wurden ebenfalls *Docking*-Studien in einer Kristallstruktur dieses Enzyms im Komplex mit DNA unternommen. Diese Studien sind im folgenden Abschnitt (**6.3.2**) dargestellt.

6.3.2 Docking-Studien von P8-D-6OEthNCH32 in Kristallstrukturen humaner Topoisomerasen I und II

Da für die Verbindung P8-D-6OEthNCH32 beachtliche Hemmeigenschaften gegenüber den humanen Topoisomerasen I und II in vitro nachgewiesen werden konnten, war eine computergestützte Betrachtung der Bindemodi in den jeweiligen Kristallstrukturen der Enzyme über Docking-Studien erstrebenswert. Verwendet wurde die Software Maestro 9.6 der Firma Schrödinger[®] und die über die RSCB Protein Databank (PDB) bezogenen Kristallstrukturen 1SC7 (humane DNA Topoisomerase I (70 kDa) im Komplex mit einer kovalenten 22 Basenpaar-DNA-Duplex und dem Indenoisochinolin MJ-II-38)¹⁸⁴ und 3QX3 (humane Topoisomerase IIB im Komplex mit DNA und Etoposid)¹⁸². Die Enzyme wurden über die Funktion Prepwiz für das Docking optimiert. P8-D-6OEthNCh32 wurde als Ligand über folgende Funktionen optimiert: Minimization: Etablierung des globalen Energieminimuns der Substanz; LigPrep: Ermittlung der Enantiomere, Tautomere, Protonierungszustände bei physiologischem pH; Confgen: Evaluierung der möglichen Konformationen des Moleküls. Als Docking-Funktion wurde *Glide Ligand Docking* mit *standard precision* (SP Modus) gewählt.^{185,186} Da die Abbildung der gesamten durchgeführten Analysen den Rahmen dieser Arbeit sprengen würde, sind im Folgenden jeweils nur die über den docking score bestimmten, vielversprechendsten Bindemodi von P8-D-6OEthNCH32 dargestellt. Der docking score ist hierbei eine mathematische Annäherung, der die Stärke nicht kovalenter Interaktionen des Liganden mit der Zielstruktur als Zahlenwert ausdrückt.¹⁸⁷ Je negativer dieser Wert ist, desto intensiver sind diese Interaktionen. Abbildung 6.11 zeigt P8-D-6-OEthNCH32, gedockt in das aktive Zentrum der Topoisomerase IIB mit einem dazugehörigen docking score von -8,63. Dabei interkaliert die Verbindung wie erwartet mit dem tetrazyklischen Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolinkern zwischen zwei DNA-Basen, allerdings ist die Ausrichtung der 6- und 11-Reste anders als die erwartete und im vorherigen Abschnitt postulierte Art und Weise. Anstelle des 3,4,5-Trimethoxyphenylrests, wie es über Analogieschlüsse zu Etoposid zu erwarten gewesen wäre, liegt die Dimethylaminoethyloxy-Seitenkette zwischen dem transient gebrochenen DNA-Strang, während der 3,4,5-Trimethoxyphenylrest in einen großen Raum hineinragt, der, wie Wu et al. berichteten, beim Etoposid von dem glykosidischen Teil des Moleküls eingenommen wird.¹⁸² Tatsächlich zeigt dieser errechnete Bindemodus von P8-D-6OEthNCh32 eine Wasserstoffbrückenbindung des protonierten endständigen tertiären Amins zu einem Phosphat-Anion eines DNA-Nukleotids, was eine plausible Erklärung für die deutlich verstärkte Zytotoxizität von P8-D-6OEthNCH32 durch die Einführung der hydrophilen Seitenkette mit endständiger positiver Ladung sein könnte.¹⁶⁴ In Abbildung 6.12 ist der beschriebene Bindemodus von P8-D-6OEthNCH32 und dessen Interaktionen mit der Umgebung zweidimensional in der Aufsicht als sogenanntes "ligand interaction diagram" wiedergegeben. Hier wird deutlich, dass in diesem theoretischen Bindemodus die Seitenkette genau in der entstandenen Lücke des Strangbruchs liegt und von beiden Seiten von den negativ geladenen Phosphatresten der entsprechenden Nukleotide angezogen wird (dT, D:9 und dC, C:8).



Abb. 6.11: Mit Maestro 9.6 errechneter Bindemodus von P8-D-6OEthNCH32 in der Topoisomerase II6: türkis - P8-D-6OEthNCH32, rot – DNA-Doppelhelix; PDB-Code: 3QX3.



Abb. 6.12: "Ligand interaction diagram" von P8-D-60EthNCH32 in der Topoisomerase IIB.

Betrachtet man den Bindemodus von P8-D-6OEthNCH32 in der Topoisomerase I im Komplex mit DNA (Abbildung 6.13), zeigt sich, dass das Molekül für die Interaktion mit diesem Komplex eine sehr vorteilhafte Struktur besitzt. Der *docking score* (-10,83) deutet hierbei ebenfalls auf starke Interaktionen der Verbindung mit den Zielstrukturen hin.



Abb. 6.13: Mit Maestro 9.6 errechneter Bindemodus von P8-D-6OEthNCH32 in der Topoisomerase I: türkis - P8-D-6OEthNCH32; rot, orange – DNA-Doppelhelix; PDB-Code: 1SC7.

Der im Gegensatz zur Topoisomerase II hier sehr enge Bereich zwischen den DNA-Basen wird komplett vom Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinkörper eingenommen. Dazu sind zwei Wasserstoffbrückenbindungen vom Ligand zur Topoisomerase I ersichtlich, wobei die erste eine Interaktion des protonierten tertiären Amins mit der Carboxylgruppe der Asparaginsäure A533 darstellt und die zweite aus einer Wechselwirkung des Ringstickstoffatoms an Position 8 mit Asparagin A722 besteht. Die geringe Entfernung des Stickstoffs an Position 3 zum Arginin 533 (2,9 A°) lässt eventuell auch hier eine Wasserstoffbrückenbindung zu.¹⁸⁸ Somit spielen die exakten Positionen der Stickstoffatome im Ring möglicherweise eine entscheidende Rolle für die Wirkung gegenüber der Topoisomerase I. Diesbezüglich wären weiterführende Dockingstudien mit Derivaten mit veränderten Positionen der Ringstickstoffatome und dem daraus resultierenden Einfluss auf die Ligand-Protein-Bindung von Interesse. Der 11-Rest scheint vor allem hinsichtlich seiner Geometrie (ausführlich diskutiert in **Abschnitt 6.3.1**) auch für eine Hemmung der Topoisomerase I günstig beschaffen zu sein. Dies wird in Abbildung 6.14 deutlich, in der die Proteinoberfläche zusätzlich dargestellt ist:



Abb. 6.14: Oberfläche der Topoisomerase I mit dem Ligand P8-D-6OEthNCH32 in der Bindetasche; PDB-Code: 1SC7.

Durch die orthogonale Ausrichtung des 3,4,5-Trimethoxyphenylrestes zum Tetrazyklus scheint dieser den Liganden regelrecht in der Bindetasche zu "verankern". Ebenso werden Möglichkeiten zur Strukturoptimierung erkennbar, um eventuell die Selektivität der Substanz auf die Topoisomerase I zu erhöhen. Hier könnte zum Beispiel über eine Verlängerung der Alkylreste an den Positionen 3 und 5 des 11-Phenylrests nachgedacht werden, z.B. im Sinne eines Austauschs von 2,4-Dimethoxy- gegen 2,4-Diethoxy- oder der Einführung sterisch noch anspruchsvollerer Reste, um die erkennbaren Räume ober- und unterhalb der Kopfgruppe auszufüllen und möglicherweise zusätzliche Wechselwirkungen mit dem Enzym zu erwirken. Auch die Seitenkette scheint in Hinblick auf die Einnahme des kleinen Raums der Topoisomerase I außerhalb der DNA eine optimale Konfiguration zu besitzen und stellt durch die ausgebildete Wasserstoffbrückenbindung eine gute Bindung zum Enzym sicher.

Abbildung 6.15 zeigt das *"ligand interaction diagram"* von P8-D-6OEthNCH32 und dessen Interaktionen mit der Topoisomerase I im Komplex mit DNA in der Übersicht.



Abb. 6.15: Ligand interaction diagram von P8-D-6OEthNCH32 in der Topoisomerase I.

P8-D-60EthNCH32 zeigt bereits in vitro-Wachstumshemmungen im unteren nanomolaren Bereich, so dass nicht unbedingt über eine weitere Optimierung der Potenz dieser Substanz nachgedacht werden muss. Dennoch wären Strukturabwandlungen denkbar, um eine Selektivität gegenüber nur einer der beiden Topoisomerasen zu erzielen. Lukrativ scheint neben dem beschriebenen Austausch der 3'- und 5'-Methoxygruppen gegen raumfüllendere Reste eine Hydroxygruppe in 4'-Position zu sein, so dass die Kopfgruppe der des Etoposids entspräche. Die Synthese eines 4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenylsubstituierten Derivates der Substanzklasse war bisher nicht möglich (siehe Abschnitt 2.1.1), aber eine nachträgliche selektive Demethylierung, zum Beispiel mit Hilfe von BCl₃ oder AlCl₃ könnte in diesem Zusammenhang zum Erfolg führen.^{189,190} Interessant wären auch weiterführende Dockingexperimente von durch Variation in Kettenlänge und Beschaffenheit der Seitenkette in 6-Position angepassten Derivaten, gefolgt von der Synthese und Testung dieser Verbindungen. Weiterführend könnten auch induced-fit-docking-Studien von P8-D-6OEthNCH32 in den Kristallstrukturen der Topoisomerasen durchgeführt werden,¹⁹¹ bei denen der Ligand und das entsprechende Enzym nicht mehr als statisch angesehen werden, sondern eventuelle durch den Ligand hervorgerufene Konformationsänderungen des Enzyms mit berücksichtigt werden.¹⁹²

6.4 Zusammenfassung

In diesem Abschnitt konnten auf mehreren Ebenen relevante Informationen über Wirkmechanismen der in dieser Arbeit behandelten Strukturen vor allem über die sich durch ihre herausragende *in vitro*-Zytotoxizität auszeichnende Verbindung P8-D-6OEthNCH32 gewonnen werden.

Für fünf in dieser Arbeit erstmalig beschriebene hinsichtlich ihrer *in vitro*-Zytotoxizität relevante Verbindungen wurden NCI-COMPARE-Analysen durchgeführt. Dabei konnte festgestellt werden, dass mit guten Korrelationen um 90% eine hohe Ähnlichkeit der Wachstumshemmungsmuster der strukturoptimierten 6-Dimethylaminoethyloxy-Seitenkettenverbindungen P8-D-6OEthNCH32 und P16-6OEthNCh32 zu den Mustern der bekannten Topoisomerase-Gifte *Amsacrin* und *Etoposid* besteht. Die Untersuchungen legten die Vermutung nahe, dass eine Hemmung dieses Enzyms den hauptsächlichen Wirkmechanismus der beschriebenen Substanzen *in vitro* auf die Tumorzellen darstellt. Auch für Verbindung P8-D war laut COMPARE-Analyse eine Topoisomerase II-Hemmung wahrscheinlich. Die 6-(2,3,4-Trimethoxyphenyl)-Verbindung A12 der Azacarbazolklasse konnte über die COMPARE-Studien der Klasse der Antimitotika zugeordnet werden. Das Zellantwortmuster für P16 entsprach keinem Muster von Substanzen mit bekanntem Wirkmechanismus, was auf unspezifische und/oder unbekannte Wirkmechanismen hindeutet.

Die gleichen fünf Derivate wurden in Kooperationsarbeiten im Arbeitskreis Marko am Institut für Lebensmittelchemie und Toxikologie in Wien auf ihre in vitro-Aktivitäten gegenüber den humanen Topoisomerasen I und IIa untersucht. Dabei konnte P8-D-6OEthNCh32 als potentes Gift gegenüber beiden Enzymklassen identifiziert werden. Die jeweiligen IC₅₀-Werte liegen für beide Proteine näherungsweise < 10 µM und damit signifikant niedriger als für den zugelassenen Arzneistoff *Etoposid* (IC_{50} : 96 μ M)¹⁷⁸ aus der Klasse der Topoisomerase II-Gifte und das Leitmolekül der Topoisomerase I-Gifte *Camptothecin.*¹⁷⁵ Die genauen IC₅₀-Werte sowie die Hemmeigenschaften von P8-D-6OEthNCH32 auf die β-Isoform der Topoisomerase II sind Gegenstand derzeitiger Untersuchungen im Arbeitskreis von Prof. Marko in Wien. Die vier anderen getesteten Verbindungen waren gegenüber der Topoisomerase II vollständig inaktiv (bis 100 µM); P8-D und A12 zeigten schwache Aktivität gegenüber der Topoisomerase I bei hohen Konzentrationen (50-100 µM). Die Inaktivität von P8-D, welches das direkte Aza-Analogon zu BP-D7 ist, für das in vorherigen Studien gewisse Aktivität gegenüber beiden Topoisomerasen I und II gefunden wurde, war in diesem Zusammenhang überraschend und möglicherweise durch eine durch die zusätzlichen Stickstoffatome im Ringgerüst erniedrigte Lipophilie und einer damit verbundenen verminderten Befähigung der Interkalation in die relevanten Zielbereiche verbunden.

Aufgrund des sehr ähnlichen Ansprechverhaltens der Tumorzelllinien auf die hinsichtlich ihrer wachstumshemmenden Eigenschaften vielversprechendste Verbindung P8-D-6OEthNCH32 und den Topoisomerase II-Giften Amsacrin und Etoposid wurden theoretische Betrachtungen der jeweiligen Bindemodi dieser Arzneistoffe unternommen und Analogieschlüsse zu P8-D-6OEthNCH32 gezogen. Demnach scheint der 11-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-Rest (Kopfgruppe) durch seine orthogonale Ausrichtung zum tetrazyklischen Grundgerüst analog Amsacrin in einer optimalen Geometrie zur Erzielung einer Giftwirkung auf die Topoisomerase II zu stehen. Über den Bindemodus von Etoposid konnte eine theoretische Orientierung von P8-D-6OEthNCH32 in der Bindetasche dieses Enzyms postuliert werden. Dabei kann neben der geometrischen Ausrichtung des 11-Restes der hydrophilen 6-Dimethylaminoethyloxy-Seitenkette eine große Bedeutung zur Giftwirkung auf den Topoisomerase/DNA-Komplex beigemessen werden. Eine hohe Affinität des positiv geladenen endständigen Stickstoffatoms zum negativ geladenen DNA-Phosphodiester-Skelett ist hier wahrscheinlich. Auch eine Interaktion mit relevanten Aminosäuren der Topoisomerase II kann postuliert werden und eventuell in einer unterschiedlichen Selektivität der Verbindung gegenüber den beiden Topoisomerase II-Isoformen resultieren. In *docking*-Studien von P8-D-6OEthNCH32 in Kristallstrukturen humaner Topoisomerasen erwies sich die Substanz als ein vielversprechender Ligand in beiden Enzymen. In diesem Zusammenhang war der Bindemodus in der Topoisomerase II unterschiedlich zu dem von

Etoposid; Die Interaktion des Moleküls mit dem durch den DNA-Bruch hervorgerufenen Raum erfolgte nicht über die Kopfgruppe sondern über die hydrophile Seitenkette. *Docking*-Ergebnisse des Stoffes in der Topoisomerase I identifizierten P8-D-6OEthNCH32 als sehr gut geeigneten Liganden zur Interaktion mit dem DNA/Topo I-Komplex. Die durchgeführten *Docking*-Analysen konnten demnach die Testergebnisse auf *in vitro*-Topoisomerasehemmung bekräftigen, beziehungsweise erklären und lieferten gleichzeitig Optionen zur Strukturoptimierung und gegebenenfalls Möglichkeiten zur Erzielung einer eventuellen Selektivität gegenüber der Topoisomerase I.

7 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Die folgenschwere Diagnose einer malignen Tumorerkrankung ist nach wie vor die beängstigendste für den Menschen. Nicht nur die Schwere der Krankheit und die weltweit eskalierende Zunahme an Tumorneuerkrankungen, sondern vor allem die neben einer mangelhaften Umsetzung von Präventionsmaßnahmen unzureichenden Therapieoptionen zur Behandlung von Krebs geben großen Anlass zur Sorge und untermauern sofortigen Handlungsbedarf.

Einen Grundpfeiler der bestehenden Möglichkeiten stellt die medikamentöse Therapie mit Zytostatika dar. In diesem Zusammenhang sind Arzneistoffe mit allgemein zytotoxischen Eigenschaften, sogenannte *klassische Zytostatika*, trotz vieler neuer Therapieansätze immer noch Mittel der ersten Wahl, obwohl sie erhebliche Nebenwirkungen auf gesunde Körperzellen aufweisen und eine breite Entwicklung von Resistenzen gegenüber diesen Therapeutika beobachtet werden konnte. Die Kombination von mehreren Arnzeistoffen unterschiedlicher Klassen von Zytostatika im Sinne einer Polychemotherapie wirkt diesen Resistenzen weitestgehend entgegen und steigert die Effektivität der Behandlung dadurch, dass mehrere Zielstrukturen in der Tumorzelle adressiert werden und diese schneller und wirkungsvoller vernichtet wird. Unter den klassischen Zytostatika haben sich Hemmstoffe der humanen Topoisomerasen I und II als äußerst wichtige Therapeutika etabliert und sind Bestandteil nahezu jeden Therapieschemas, welches auf die vollständige Heilung des Patienten abzielt.

Aus der Klasse der Topoisomerase I-Hemstoffe werden derzeit die von dem natürlichen Alkaloid *Camptothecin* strukturell abgewandelten halbsynthetischen Verbindungen *Irinotecan* und *Topotecan* eingesetzt, aus der Klasse der Topoisomerase II-Hemmer sind vor allem *Etoposid* und *Teniposid* klinisch relevant. Trotz guten antitumoralen Aktivitäten begrenzen Resistenzentwicklungen den Einsatz dieser Stoffe, so kann es zu schweren dosislimitierenden Nebenwirkungen, wie einer Knochenmarksuppression oder kardiotoxischen Nebenwirkungen kommen, auch die Induktion sekundärer Krebserkrankungen hervorgerufen durch die Behandlung mit diesen Arzneien ist mehrfach belegt. Es ist daher offensichtlich, dass die Entwicklung von potenten Topoisomerase-Hemstoffen mit neuartiger Struktur ein Primärziel in der Forschung an neuen Zytostatika darstellt.

In der vorliegenden Abeit sollten potentielle Arzneistoffkandidaten mit herausragenden zytotoxischen Eigenschaften *in vitro* entwickelt werden, deren physikochemisches Profil, gerade in Hinblick auf die Aspekte Wasserlöslichkeit und (orale) Bioverfügbarkeit, die Weiterentwicklung in *in vivo*-Bioverfügbarkeits- und Wirksamkeitsstudien nicht behindern sollte und letztendlich eine mögliche Anwendung als Arzneistoffe in der Krebstherapie erlauben dürfte.

Für dieses Vorhaben standen drei tetrazyklische Verbindungsklassen mit neuartiger Struktur zur Verfügung, die als Weiterentwicklungen aus über 15 Jahren Forschung an der Klasse der 6-Aminobenzo[c]phenanthridine im Arbeitskreis CLEMENT am Pharmazeutischen Institut der Universität Kiel hervorgingen. Hierbei handelte es sich um Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-Derivate **31**, Pyrido[2,3-c][1,10]phenanthroline **32** und 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **33**.

Aus diesen drei heterozyklischen Grundgerüsten erwiesen sich die Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **31** als vielversprechendste Substanzklasse. Über die 1995 von CLEMENT und WEIDE etablierte Eintopf-Synthese zur Darstellung von 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phenanthridinen **27** gelang durch Variation der Aldehydkomponente die Synthese einer Datenbank von 18 in 11-Position unteschiedlich substituierten 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen **37**. Durch die Entwicklung von auf die Substanzklasse adaptierten Oxidationsprozeduren konnte zudem der Zugang zu acht Derivaten der vollständig ungesättigten Systeme **74** realisiert werden. Auch eine leichte Funktionalisierbarkeit der 6-Position wurde durch den Austausch der Aminogruppe gegen eine Oxo-Funktion, ein Chlor-Atom oder ein Wasserstoff-Atom für mehrere Derivate aufgezeigt. In diesem Zusammenhang konnte in einer fünfstufigen Syntheseroute ebenfalls der gänzlich unsubstituierte, zuvor nicht literaturbekannte Heterozyklenkern Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (**31**) synthetisiert werden, der sich in eine Gruppe von bisher nur wenigen in der Literatur beschriebenen Triaza-Chrysen-Grundgerüsten einreiht.

Im Vergleich zu den *C*-analogen 6-Amino-11,12-dihydrobenzo[*c*]phenanthridinen **27** wiesen die 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **37** durch das Vorhandensein zweier zusätzlicher Stickstoffatome im Ringgerüst eine deutlich reduzierte Lipophilie auf, die in den betrachteten Fällen signifikant unter logP = 5 lag. Damit konnte ein großer Schritt in Hinblick auf eine mögliche orale Bioverfügbarkeit gemacht werden. Die Löslichkeit der 6-Amino-Derivate **37** bei physiologischem pH-Wert konnte allerdings durch die zusätzlichen Stickstoffatome nicht erhöht werden und lag mit Werten in der unteren mikromolaren Region im Bereich der Verbindungen **27**.

Die zweite Heterozyklenklasse, die 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **33**, waren ebenfalls über die effiziente Synthese nach CLEMENT und WEIDE zugänglich. Hier konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit nach Erniedriegung der Reaktionstemperatur und Etablierung einer Aufreinigungsmethode neun verschiedenartig 6-substituierte 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **40** dargestellt, sowie in einer nachfolgenden Reaktion vier dehydrierte Analoga **179** synthetisiert werden. Auch für diese Substanzklasse konnte in einer zweistufigen Reaktion der gänzlich unsubstituierte zuvor literaturunbekannte Heterozyklus 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol **(33)** hervorgebracht werden.

Das physikochemische Profil der Verbindungen **40** erwies sich allerdings für eine Weiterentwicklung als potentielle Arzneistoffkandidaten als stark nachteilig, so wurden logP-Werte größer 5, teilweise auch oberhalb von 6 gefunden und auch die Löslichkeiten in physiologischem Medium waren mit Werten größtenteils kleiner 1 µM stark begrenzt.

Die Ausbildung von Dimeren durch Wasserstoffbrückenbindungen über die in diesem Kontext ungünstigen Positionen der Stickstoffatome ist eine wahrscheinliche Ursache für diese Phänomene, die deutlich besser lösliche N-11 methylierte Substanz **184** dieses Verbindungstyps unterstützt diese Theorie.

Die dritte Substanzklasse der Pyrido[2,3-c][1,10]phenanthroline **32** konnte durch ihre außerordentlich schlechten Lösungseigenschaften auch in organischen Lösungsmitteln im Rahmen dieser Arbeit nicht zugänglich gemacht werden. Auch hier wurde die Ausbildung von Dimeren in Betracht gezogen. Letztendlich wurde von einer Weiterverfolgung der Substanzklasse aufgrund dieses extremen Nachteils im physikochemischen Profil abgesehen. Dennoch konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass die Eintopf-Synthese nach CLEMENT und WEIDE ein großes Potential zur Darstellung einer Vielzahl unterschiedlich substituierter Heterozyklen besitzt. Daher sollten in zukünftigen Arbeiten durch Variation der Reaktanden, vor allem der Nitrilkomponente, neue, bisher nicht synthetisch zugängliche Verbindungsklassen synthetisiert werden.

Im Sinne eines primären Zytotoxizitätsscreenings wurde ein Großteil aller synthetisierten Verbindungen der Substanzklassen **31** und **33** im *NCI-60 screening* auf *in vitro*-antitumorale Aktivität untersucht. Für die Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **31** konnten über die erhaltenen Informationen Struktur-Wirkungs-Beziehungen abgeleitet werden. So war ein entscheidender Faktor zur Erzielung, respektive Erhöhung der Zytotoxizität die Dehydrierung der 11,12-Position, weiterhin waren Derivate mit Aminogruppe in 6-Position den korrespondierenden Molekülen mit 6-Oxo-Funktion im Vergleich leicht überlegen. Für die Substanzklasse **31** konnten mit GI_{50/60}-Werten im *NCI-60 screening* teilweise kleiner 1 μ M die Leitstrukturen P16 **(52)** und P8-D **(78)** identifiziert werden, für die 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **33** erwies sich A12 **(161)** als zytotoxischstes Derivat mit einem vielversprechenden Dosis-Wirkungs-Profil.

In einem zweiten Abschnitt der vorliegenden Arbeit konnten die als Leitstrukturen identifizierten Verbindungen P16 **(52)** und P8-D **(78)** mittels Verlinkung hydrophiler Seitenketten hinsichtlich ihrer Löslichkeit in wässrigen Medien und ihrer Zytotoxizität strukturoptimiert werden. Dabei wurden erfolgreich mehrere Moleküle mit in der Kettenlänge variierenden Dimethylaminoalkylamino- und Dimethylaminoalkyloxy-Seitenketten in 6-Position synthetisiert. Die bei physiologischem pH-Wert größtenteils protoniert vorliegende endständige tertiäre Aminfunktion führte in diesem Zusammenhang zu einem Anstieg der Löslichkeit der entsprechend getesteten Seitenkettenderivate um den Faktor 1000 in den millimolaren und damit pharmazeutisch relevanten Bereich.

In einem Sekundärscreening der strukturoptimierten seitenkettentragenden Verbindungen im *NCI-60 screening* konnte die Verbindung P8-D-6OEthNCH32 (**151**) herausragende *in vitro*-antitumorale Eigenschaften im unteren nanomolaren Bereich aufweisen.

Neben einem günstigen Dosis-Wirkungs-Profil weist die Substanz im direkten Vergleich mit natürlichen Leitstrukturen und daraus abgeleiteten zugelassenen Zytostatika der Topoisomerase I- und II-Hemmstoffe, sowie aktueller, sich in der klinischen Arzneistoffentwicklung befindlicher strukturverwandter Topoisomerase I-Hemmer, bis auf wenige Ausnahmen eine höhere Aktivität im *NCI-60 screening* auf und eignet sich damit, auch im Zusammenspiel mit seinen günstigen physikochemischen Eigenschaften, für *in vivo*-Pharmakokinetikstudien und *in vivo*-Wirksamkeitsstudien (Tumor-Xenograft-Studien und andere Modelle).

Um Informationen hinsichtlich des Wirkmechanismus von P8-D-6OEthNCH32 (**151**) zu erhalten wurden mehrere Untersuchungen durchgeführt. In NCI-COMPARE-Studien zeigte das spezifische Zellantwortmuster der Substanz mit sehr hohen Korrelationswerten eine starke Ähnlichkeit zu den entsprechenden Mustern der Topoisomerase II-Hemmstoffe *Amsacrin* und verschiedenen Derivaten des *Etoposids*. Theoretische Betrachtungen einer möglichen Bindung der Substanz in der Topoisomerase II in Analogie zu den Bindemodi von *Amsacrin* und *Etoposid* zeigten ein Zusammenspiel aus günstiger Geometrie des **11-**(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-Restes zum tetrazyklischen Grundgerüst für die Erzielung einer Giftwirkung auf die Topoisomerase II, sowie erhöhte Affinität und Toxizität gegenüber dem negativ geladenen DNA-Ribosephosphat-Rückgrat und/oder den Topoisomerasen durch die endständige positive Ladung der basischen Seitenkette. *Docking*-Studien an Kristall-strukturen der humanen Topoisomerasen I und II konnten diese Interaktionen bestätigen, die Substanz als vielversprechenden Liganden in beiden Enzymen identifizieren und gleichzeitig Optionen zur Strukturoptimierung und gegebenenfalls Möglichkeiten zur Erzielung einer eventuellen Selektivität gegenüber der Topoisomerase I aufzeigen.

Letztendlich konnte in Kooperationsarbeiten mit dem Arbeitskreis um Prof. Marko in Wien eine gleichermaßen potente Hemmung beider Topoisomerasen I und II α *in vitro* durch die Substanz P8-D-6OEthNCH32 (**151**) bestätigt werden. Die IC₅₀-Werte für beide Enzyme liegen hierbei unterhalb von 10 μ M und demonstrieren eine signifikant stärkere Hemmung der Topoisomerase II Aktivität als der Arzneistoff *Etoposid* und eine potentere Aktivitätsinhibition der Topoisomerase I als das natürliche Leitmolekül *Camptothecin*.

Um die endgültigen Bindemodi von **151** zu klären, wären Röntgenstrukturanalysen durch Kokristallisation mit der entsprechenden Topoisomerase und einem großen, die Bindetasche enthaltenden Teil humaner DNA, von Interesse.

P8-D-6OEthNCH32 (**151**) ist durch hochpotente *in vitro* antitumorale Eigenschaften, vermittelt über eine Giftwirkung auf die Topoisomerasen I und II, sowie einer Wasserlöslichkeit, die per se neben der Applikation als Infusion auch eine perorale Gabe erlauben dürfte, prädestiniert für die Weiterentwicklung als potentieller Arzneistoff in der Krebstherapie. Diesbezüglich wären zunächst Studien zur Dosisfindung in Mäusen ähnlich oder orientierend an der Bestimmung der *"maximum tolerated dose"* des *in vivo*-Prozederes des NCI von Interesse, bei denen gleichzeitig erste pharmakokinetische Parameter bestimmt werden könnten. Darüberhinaus ist der Nachweis der Wirksamkeit von Zytostatika auf

relevante menschliche Tumorzellimplantate (Xenografts) in Mäusen oder anderen Tieren für einen Fortschritt in der Entwicklung als Arzneistoff essentiell. Interessant wäre dahingehend zum Beispiel die Wirkung von P8-D-6OEthNCH32 (**151**) auf Bronchialkarzinome, da ein Aminoalkyl-Seitenketten-Derivat (TOP-53) des *Etoposid*s längere Persistenz und bessere Wirksamkeit in der Lunge aufweisen konnte. Durch die unterschiedliche Struktur von P8-D-6OEthNCH32 ist auch ein Ansprechen von gegenüber den zugelassenen Topoisomerase-Hemmstoffen bereits resistenten Tumoren wahrscheinlich und für eine *in vivo*-Testung im direkten Vergleich mit den bestehenden Arzneistoffen lukrativ.

Eine gute Stabilität der Verbindung in physiologischem Phosphatpuffer pH 7,4 über 2 Wochen konnte exemplarisch gezeigt werden. Dennoch sollten ausführliche Studien zur Stabilität des Stoffes in wässrigen Medien bei relevanten physiologischen pH-Werten über einen längeren Zeitraum durchgeführt werden. Gleichauf müsste der Metabolismus der Substanz aufgeklärt werden, nicht zuletzt, weil zum Beispiel durch oxidative N-Demethylierungsprozesse die Entstehung von ebenfalls zytotoxischen Metaboliten wahrscheinlich ist. In Anbetracht der Tatsache, dass derzeit nahezu jedes Therapieschema zur kurativen Behandlung maligner Tumorerkrankungen mindestens einen Topoisomerase-Hemmstoff enthält, erscheint eine Weiterentwicklung von P8-D-6OEthNCH32 als sehr sinnvoll. Dass die Substanz unselektiv beide Topoisomerasen I und II in ihrer Funktion hindert, kann dabei durchaus positiv bewertet werden, da durch das Adressieren mehrerer Zielenzyme eine effektivere Vernichtung der Tumorzelle erreicht werden kann. Zu starke toxische Nebenwirkungen bei einer polychemotherapeutischen Behandlung könnten in diesem Zusammenhang durch eine eventuell geringere Anzahl an notwendigen weiteren Zytostatika möglicherweise ebenfalls vermieden werden.

8 EXPERIMENTELLER TEIL

8.1 Synthesen

8.1.1 Geräte und Materialien

NMR-Spektroskopie

Kernresonanzspektrometer Bruker Avance III, 300, Bruker Topspin 2.1 Software

¹ H-NMR:	Messfrequenz = 300.13 MHz
¹³ C-NMR:	Messfrequenz = 75.47 MHz
¹⁵ N-NMR:	Messfrequenz = 30.42 MHz
¹⁹ F-NMR:	Messfrequenz = 282.03 MHz

Interner Standard: Tetramethylsilan (TMS). Sind keine internen Standards angegeben, wurden die chemischen Verschiebungen auf die verwendeten Lösungsmittelsignale bezogen. ¹⁵N-NMR-Spektren: Die Auswertung erfolgte bezogen auf den externen Standard Nitromethan in DMSO- d_6 (δ /ppm = 0).

¹⁹F-NMR-Spektren: Die Auswertung erfolgte bezogen auf den externen Standard Fluortrichlormethan (CFCl₃) in DMSO- d_6 .

Zur Charakterisierung der Signale wurden folgende Abkürzungen verwendet:

s = Singulett, d = Dublett, dd = Dublett eines Dubletts, dddd = Dublett eines Dubletts eines Dublett eines Dubletts, t = Triplett, q = Quartett, sx = Sextett, m = Multiplett, br = verbreitertes Signal, J = Kopplungskonstante in Hz.

Die Auswertung der Signale erfolgte entsprechend den Regeln für Spektren 1. Ordnung.

Massenspektrometrie (LC/MS)

Bruker Esquire[~]LC, Elektrosprayionisierung (ESI) unter Verwendung einer Agilent Zorbax Eclipse XDB-C8-Säule, 125 x 4,6 mm; 5 μm.

Elution: Eluent A: 10% Acetonitril, 90% 0,1%ige Essigsäure; Eluent B: 95% Acetonitril, 5% 0,1%ige Essigsäure.

Gradient: 0 – 5 min (0 – 60% B), 5 – 10 min (60 – 100% B), 10 – 12 min (100% B), 12 – 13 min (100 – 0% B, 13-15 min (0% B).

Flussrate: 1 ml/min.

Hochauflösende Massenspektrometrie

LTQ Velos Orbitrap, ESI (+), Institut für Experimentelle Medizin am UK-SH, Kiel; Bruker Daltonics Apex II 7 Tesla, ESI (+), Institut für Analytische Chemie der Universität Leipzig; Bruker Daltonics Apex III FT-ICR, ESI (+), Institut für Physikalische Chemie der Christian-Albrechts-Universität, Kiel.

Elementaranalyse

CHNS-Analysator, HEKAtech GmbH, Institut für Anorganische Chemie der Christian-Albrechts-Universität, Kiel.

Schmelzpunkte

Schmelzpunktapparatur Stuart Scientific SMP3, die Angabe der Schmelzpunkte erfolgte unkorrigiert.

Dünnschichtchromatographie

DC-Fertigplatten: Polygram SIL G/UV₂₅₄ 0.2 mm Kieselgel der Firma Macherey-Nagel, Düren. Detektion erfolgte durch UV-Licht der Wellenlänge 254 nm (Fluoreszenzlöschung) und/oder der Wellenlänge 356 nm (Eigenfluoreszenz).

Präparative Chromatographie

Die säulenchromatographische Aufreinigung der Rohprodukte erfolgte über Kieselgel G60, 0,063-0,2 mm (Macherey-Nagel, Düren).

Die Flashchromatographie wurde an der Anlage CombiFlash[®] Rf 200i (Teledyne Isco) unter Verwendung von PF-30SIHO-JP/12G- oder PF-30SIHO-JP/40G-Säulen (0,03 mm) durchgeführt.

Chemikalien

Alle Chemikalien wurden von den Firmen Accela, Acros, Alfa-Aesar/Lancaster, Fluka, Sigma-Aldrich, Merck und VWR kommerziell bezogen und ohne Aufreinigung verwendet.

Außer DMPU und DMF wurden alle Lösungsmittel vor der Verwendung frisch destilliert. Die Reaktionen wurden in ofengetrockneten Glasgeräten durchgeführt. Sofern luft- oder feuchtigkeitsempfindliche Substanzen verwendet wurden, wurden die Apparaturen mit Stickstoff gespült.

8.1.2 Synthesevorschriften und synthetisierte Verbindungen

8.1.2.1 Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 37 in Anlehnung an STENZEL, 2009 und WEIDE, 1995:^{61,48}

Eine Lösung aus 4-Methylpyridin-3-carbonitril (**36**) (500 mg, 4.2 mmol) und 2.1 mmol des entsprechenden Aldehyds **26** in 10 mL DMPU wird unter Stickstoffatmosphäre zu einer Lösung bestehend aus 600 mg (5.35 mmol) KO^tBu in 5 mL DMPU getropft. Nach einer Reaktionszeit von 1 – 3 Stunden (DC-Kontrolle) wird das Reaktionsgemisch auf 80 mL Eiswasser hydrolysiert. Entsteht hierbei nach 10 min kein Niederschlag wird die wässrige Lösung mit konzentrierter Salzsäure auf pH 2 gebracht, 5 min gerührt und im Anschluss mit konzentrierter wässriger Ammoniaklösung auf pH 9 gebracht. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt und das Filtrat anschließend mit Methylenchlorid extrahiert (3 x 50 mL). Nach der Vereinigung der organischen Phasen wird über Natriumsulfat getrocknet, am Rotationsverdampfer eingeengt und anschließend das DMPU im Hochvakuum destillativ entfernt. Der hierbei entstehende Rückstand wird gewonnen und mit dem erhaltenen Niederschlag aus der Hydrolyse vereinigt. Die Aufreinigung der vereinigten Rohprodukte geschieht entweder mittels Umkristallisation aus Methanol/Dichlormethan oder flashchromatographisch an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (5-20%)). Der erhaltene Feststoff wird 24 h im Ölpumpenvakuum getrocknet.

8.1.2.2 Synthetisierte 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 37:

6-Amino-11-phenyl-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (56)



$C_{21}H_{16}N_4$ (324.38)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von Benzaldehyd (223 mg, 2.1 mmol)

Reaktionsdauer: 3 h

Ausbeute: 373 mg (55%, umkristallisiert aus MeOH/CH₂Cl₂) eines gelben Feststoffs

Schmelzpunkt: 279°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.15 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.5 Hz), 3.54 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.3 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.6 Hz), 4.86 (d, 1H, H-11, ³J_{H-11/H-12b} = 7.3 Hz), 7.09 (m, 5H, Ar-H), 7.18 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 7.45 (br s, 2H, -NH₂), 7,55 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.0 Hz), 8.39 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.54 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 9.36 (s, 1H, Ar-H), 9.57 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 35.2 (C-12), 35.9 (C-11), 112.8, 114.1, 115.7, 123.3, 126.3, 127.1 (2C), 128.4 (2C), 129.9, 139.3, 143.0, 144.1, 145.7, 145.9, 147.7, 149.1, 149.6, 157.1.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3330, 3170, 3060, 2902, 1652, 1612, 1599, 1449, 1045.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 325 ([M+H]⁺, 100%), 163 ([M+2H]⁺⁺, 35%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 325.14476, m/z gefunden für [M+H]⁺: 325.14465. 6-Amino-11-(3-methoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (43)



C₂₂H₁₈N₄O (354.40)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 3-Methoxybenzaldehyd (286 mg, 2.1 mmol)Reaktionsdauer:2.5 hAusbeute:312 mg (42%, umkristallisiert aus MeOH/CH2Cl2) eines blassgelben
FeststoffsSchmelzpunkt:259°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.15 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.4 Hz), 3.52 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.4 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.7 Hz), 3.58 (s, 3H, OCH₃), 4.82 (d, 1H, H-11, ³J = 7.6 Hz), 6.46-6.53 (m, 1H, Ar-H, ³J = 7.8 Hz, ⁴J = 0.9 Hz), 6.55-6.60 (m, 1H, Ar-H), 6.61-6.68 (m, 1H, Ar-H, ³J = 8.1 Hz, ⁴J = 0.8 Hz), 7.01 (m, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz), 7.19 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 7.45 (br s, 2H, -NH₂), 7,56 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.40 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.55 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 9.35 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 35.1 (C-12), 35.9 (C-11), 54.7 (OCH₃), 111.1, 112.7, 113.5, 114.1, 115.7, 119.3, 123.3, 129.4, 129.9, 139.3, 144.2, 144.6, 145.7, 145.9, 147.7, 149.1, 149.6, 157.1, 159.1.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3326, 3170, 3082, 2930, 1651, 1598, 1454, 1061, 821.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 355 ([M+H]⁺, 100%), 178 ([M+2H]⁺⁺, 16%), 129 (13%), 124 ([M-3-Methoxy-benzen+2H]⁺⁺, 4%).

<u>Elementaranalyse (C₂₂H₁₈N₄O):</u>				
Berechnet:	C 74.56	H 5.12	N 15.81,	
gefunden:	C 74.04	H 4.78	N 15.75.	

6-Amino-11-(2,3-dimethoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (44)



$C_{23}H_{20}N_4O_2$ (384.43)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 2,3-Dimethoxybenzaldehyd (349 mg, 2.1 mmol)Reaktionsdauer:2 hAusbeute:492 mg (61%, umkrist. aus MeOH/CH2Cl2) eines gelben FeststoffsSchmelzpunkt:268°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.05 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.4 Hz), 3.54 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.4 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 8.1 Hz), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 4.02 (s, 3H, OCH₃), 5.10 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.9 Hz), 5.87 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 1.3 Hz), 6.58 (t, 1H, Ar-H, ³J = 8.0 Hz), 6.78 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 8.2 Hz, ⁴J = 1.3 Hz), 7.16 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 7.38 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 7.43 (br s, 2H, -NH₂), 8.39 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.54 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 9.37 (s, 1H, Ar-H), 9.56 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 34.9 (C-12), 35.2 (C-11), 55.6 (OCH₃), 60.6 (OCH₃), 111.9, 113.1, 114.6, 119.1, 119.2, 124.0, 126.8, 131.9, 134.5, 137.2, 138.1, 141.5, 142.8, 144.0, 145.2, 147.7, 152.5, 156.6, 158.3.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3415, 3306, 3148, 2929, 1648, 1601, 1453, 1075, 1005.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 385 ([M+H]⁺, 100%), 247 ([M-2,3-Dimethoxybenzen+H]⁺, 8%), 193 ([M+2H]⁺⁺, 57%), 185 (8%), 124 ([M-2,3-Dimethoxybenzen+2H]⁺⁺, 14%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 385.16589, m/z gefunden für [M+H]⁺: 385.16565. 6-Amino-11-(3, 5-dimethoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (45)



$C_{23}H_{20}N_4O_2$ (384.43)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 3,5-Dimethoxybenzaldehyd (349 mg, 2.1 mmol)Reaktionsdauer:2 hAusbeute:557 mg (69%, umkrist. aus MeOH/CH2Cl2) eines hellgelben FeststoffsSchmelzpunkt:258°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.14 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.3 Hz), 3.50 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.2 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.6 Hz), 3.56 (s, 6H, 2 x OCH₃), 4.77 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.3 Hz), 6.11 (m, 2H, H-2', H-6', ⁴J = 2.2 Hz), 6.23 (m, 1H, H-4', ⁴J = 2.2 Hz), 7.20 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 7.46 (br s, 2H, -NH₂), 7.57 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.41 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.56 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 9.35 (s, 1H, Ar-H), 9.58 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 35.0 (C-12), 36.1 (C-11), 54.8 (2C, 2 x OCH₃), 97.3, 105.6 (2C, C-2', C-6'), 112.7, 114.1, 115.7, 123.3, 130.0, 139.3, 144.3, 145.4, 145.6, 145.9, 147.7, 149.1, 156.9, 157.1, 160.3 (2C, C-3', C-5').

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3325, 3168, 2969, 2828, 1650, 1595, 1452, 1318, 1067.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 385 ([M+H]⁺, 100%), 247 ([M-3,5-Dimethoxybenzen+H]⁺, 2%), 193 ([M+2H]⁺⁺, 73%).

<u>Elementaranalyse (C₂₃H₂₀N₄O₂):</u>				
Berechnet:	C 71.86	H 5.24	N 14.57,	
gefunden:	C 71.34	H 5.22	N 14.43.	

6-Amino-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (46)



$C_{24}H_{22}N_4O_3$ (414.46)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 3,4,5-Trimethoxybenzaldehyd (412 mg, 2.1 mmol)Reaktionsdauer:3 hAusbeute:244 mg (28%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH (5-20%))eines gelben FeststoffsSchmelzpunkt:219°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.13 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b}= 16.5 Hz), 3.48 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.51 (br s, 4H, OCH₃, H-12b), 4.78 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b}= 7.0 Hz), 6.30 (s, 2H, H-2', H-6'), 7.22 (d, 1H, Ar-H, ³J= 4.8 Hz), 7.44 (br s, 2H, -NH₂), 7.65 (d, 1H, Ar-H, ³J= 5.9 Hz), 8.42 (d, 1H, Ar-H, ³J= 4.8 Hz), 8.57 (d, 1H, Ar-H, ³J= 5.8 Hz), 9.35 (s, 1H, Ar-H), 9.57 (s, 1H, Ar-H). Das Signal von Proton 12b wird von den Signalen der Methoxygruppen bei 3.51 ppm überlagert.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 35.2 (C-12), 36.3 (C-11), 55.5 (2C, 2 x OCH₃), 59.8 (OCH₃), 104.4 (2C, C-2'-C-6'), 112.7, 114.4, 115.8, 123.4, 130.0, 136.0, 138.8, 139.3, 144.4, 145.6, 145.8, 147.8, 149.0, 149.7, 152.5 (2C, C-3', C-5'), 157.1.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3300, 3122, 3006, 2932, 1670, 1612, 1600, 1463, 1124.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 415 ([M+H]⁺, 100%), 247 ([M-3,4,5-Trimethoxybenzen+H]⁺, 4%), 208 ([M+2H]⁺⁺, 7%), 124 ([M-3,4,5-Trimethoxybenzen+2H]⁺⁺, 16%).

<u>Elementaranalyse (C₂₄H₂₂N₄O₃):</u>				
Berechnet:	C 69.55	H 5.35	N 13.52,	
gefunden:	C 69.18	H 4.93	N 13.49.	

6-Amino-11-(2,3,4-trimethoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (47)



$C_{24}H_{22}N_4O_3$ (414.46)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 2,3,4-Trimethoxybenzaldehyd (412 mg, 2.1 mmol)Reaktionsdauer:3 hAusbeute:547 mg (63%, umkrist. aus MeOH/CH2Cl2) eines gelben FeststoffsSchmelzpunkt:262°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆ + 1% DCl in D₂O):

 δ /ppm = 3.47 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 15.6 Hz), 3.59 (s, 3H, OCH₃), 3.74 (s, 4H, OCH₃, H-12b), 4.00 (s, 3H, OCH₃), 5.18 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 6.5 Hz), 6.10 (d, 1H, Ar-H, ³J = 8.7 Hz), 6.34 (d, 1H, Ar-H, ³J = 8.8 Hz), 7.82 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.7 Hz), 8.02 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.69 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.7 Hz), 8.88 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 9.40 (s, 1H, Ar-H), 10.21 (s, 1H, Ar-H). Das Signal von Proton 12b wird von dem Signal der Methoxygruppe bei 3.74 ppm überlagert.

13 C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6 + 1% DCl in D₂O):

δ/ppm = 29.4 (C-11), 34.9 (C-12), 55.5 (OCH₃), 60.3 (OCH₃), 61.2 (OCH₃), 107.4, 113.2, 114.7, 119.4, 121.8, 126.2, 127.0, 131.9, 137.0, 137.9, 141.4, 141.7, 142.9, 143.9, 147.5, 150.1, 152.6, 156.9, 158.3.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3329, 3169, 2929, 1661, 1610, 1599, 1491, 1458, 1412, 1287, 1094.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 415 ([M+H]⁺, 100%), 247 ([M-2,3,4-Trimethoxybenzen+H]⁺, 9%), 208 ([M+2H]⁺⁺, 92%), 124 ([M-2,3,4-Trimethoxybenzen+2H]⁺⁺, 8%).

HRMS (ESI):

m/z berechnet für [M+H]⁺: 415.1765, m/z gefunden für [M+H]⁺: 415.1749. 6-Amino-11-(2,4,6-trimethoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (48)



$C_{24}H_{22}N_4O_3$ (414.46)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 2,4,6-Trimethoxybenzaldehyd (412 mg, 2.1 mmol) Reaktionsdauer: 2 h

Ausbeute: 547 mg (63%, umkristallisiert aus MeOH/CH₂Cl₂) eines gelben Feststoffs

Schmelzpunkt: 265°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 2.84 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 17.0 Hz), 3.43 (br s, 6H, 2 x OCH₃), 3.53 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 17.0 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 10.2 Hz), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 5.25 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 10.2 Hz), 6.15 (s, 2H, H-3', H-5'), 7.17 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 7.26 (br s, 2H, -NH₂), 7.52 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.44 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.51 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 9.44 (s, 1H, Ar-H), 9.53 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 24.9 (C-11), 33.5 (C-12), 55.1 (3C, 2 x OCH₃, OCH₃), 91.1 (2C), 112.2, 112.6, 114.3, 119.4, 124.7, 132.4, 136.4, 137.3, 141.2, 143.1, 143.6, 148.1, 157.5, 158.0, 158.7, 159.9 (2C).

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3115, 3060, 2839, 1655, 1600, 1541, 1413, 1203, 1115.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 415 ([M+H]⁺, 100%) 247 ([M-2,4,6-Trimethoxybenzen+H]⁺, 6%), 208 ([M+2H]⁺⁺, 74%).

<u>Elementaranalyse (C₂₄H₂₂N₄O₃ · 3 HCl · 1 H₂O)</u> :				
Berechnet:	C 53.20	H 5.02	N 10.34,	
gefunden:	C 53.25	H 5.06	N 10.50.	

6-Amino-11-(fur-2-yl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (57)



$C_{19}H_{14}N_4O$ (314.34)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von Furfural (202 mg, 2.1 mmol)
 Reaktionsdauer: 2 h
 Ausbeute: 441 mg (67%, umkristallisiert aus MeOH/CH₂Cl₂) eines bräunlichweißen Feststoffs
 Schmelzpunkt: 267°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.36 (m, 2H, H-12a, H-12b), 4.92 (m, 1H, ${}^{3}J$ = 4.0 Hz), 5.60 (m, 1H, ${}^{3}J$ = 3,2 Hz, ${}^{4}J$ = 1.9 Hz, ${}^{4}J$ = 0,9 Hz), 6.12 (m, 1H, ${}^{3}J$ = 1.8 Hz), 7.34 (d, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 4.9 Hz), 7.39 (m, 1H, ${}^{3}J$ = 1.8 Hz, ${}^{4}J$ = 0.8 Hz), 7.45 (br s, 2H,-NH₂), 7.78 (d, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 5.9 Hz), 8.44 (d, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 4.9 Hz), 8.62 (d, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 5.9 Hz), 9.29 (s, 1H, Ar-H), 9.57 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 30.6 (C-12), 31.9 (C-11), 106.4, 110.6, 112.9, 113.0, 116.4, 123.5, 123.6, 139.8, 142.4, 145.0, 146.1, 146.4, 148.2, 149.5, 150.1, 156.1, 157.7.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3325, 3164, 2893, 1649, 1599, 1508, 1456, 1047, 822.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 315 ([M+H]⁺, 50%), 218 (100%), 158 ([M+2H]⁺⁺, 35%).

HRMS (ESI):

m/z berechnet für [M+H]⁺: 315.12404, m/z gefunden für [M+H]⁺: 315. 12372.

6-Amino-11-(thien-2-yl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (58)



$C_{19}H_{14}N_4S$ (330.41)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von Thiophen-2-carbaldehyd (236 mg, 2.1 mmol)Reaktionsdauer:2 hAusbeute:374 mg (54%, umkristallisiert aus MeOH/CH2Cl2) eines rötlich-gelben
FeststoffsSchmelzpunkt:269°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.27 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.2 Hz), 3.51 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.0 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 6.9 Hz), 5.16 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 6.9 Hz), 6.68-6.80 (m, 2H, ³J = 5.2 Hz, ⁴J = 1.3 Hz), 7.11 (dd, 1H, ³J = 5.2 Hz, ⁴J = 1.3 Hz), 7.30 (d, 1H, Ar-H, = 4.9 Hz), 7.45 (br s, 2H, -NH₂), 7.78 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.44 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.62 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 9.29 (s, 1H, Ar-H), 9.58 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 31.1 (C-11), 35.8 (C-12), 112.7, 115.6, 119.3, 124.8, 125.3, 126.7, 126.9, 131.4, 138.1, 139.0, 142.3, 142.6, 144.6, 145.1, 146.7, 155.3, 158.4.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3325, 3167, 3070, 2971, 1650, 1598, 1541, 1454, 1043, 825.

MS (ESI):

m/z = 331 ([M+H]⁺, 100%), 218 (79%), 166 ([M+2H]⁺⁺, 43%), 124 ([M-Thiophen+2H]⁺⁺, 14%).

<u>HRMS (ESI):</u>

m/z berechnet für [M+H]⁺: 331.10119, m/z gefunden für [M+H]⁺: 331.10078. 6-Amino-11-(2-bromphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (49)



$C_{21}H_{15}BrN_4$ (403.27)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 2-Brombenzaldehyd (389 mg, 2.1 mmol)
 Reaktionsdauer: 3 h
 Ausbeute: 506 mg (60%, umkristallisiert aus MeOH/CH₂Cl₂) eines bräunlich gelben Feststoffs
 Schmelzpunkt: 312°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, $D_2O + 10\%$ DCl in D_2O):

 δ /ppm = 3.46 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.8 Hz), 3.73 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 17.0 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 8.3 Hz), 5.25 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 8.3 Hz), 6.45 (m, 1H, Ar-H, ³J = 8.1 Hz, ⁴J = 1.6 Hz) 6.76 (m, 1H, Ar-H, ³J = 8.1 Hz, ⁴J = 1.2 Hz), 6.93 (m, 1H, Ar-H, ³J = 8.1 Hz, ⁴J = 1.6 Hz), 7.53 (m, 1H, Ar-H, ³J = 8.1 Hz, ⁴J = 1.2 Hz), 7.71 (d, 1H, Ar-H, ³J = 7.0 Hz), 7.79 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.0 Hz), 8.61 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.0 Hz), 8.65 (d, 1H, Ar-H, ³J = 7.0 Hz), 9.39 (s, 1H, Ar-H), 9.98 (s, 1H, Ar-H).

 13 C-NMR (75 MHz, D₂O + DMSO- d_6 + 10% DCl in D₂O):

δ/ppm = 35.9 (C-12), 37.0 (C-11), 117.6, 119.4, 123.3, 124.8, 129.4, 129.6, 130.1, 130.4, 131.9, 135.7, 138.5, 139.2, 141.9, 142.5, 144.5, 145.8, 147.3, 157.6, 159.0.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3338, 3173, 3065, 2970, 1661, 1611, 1600, 1543, 1463, 1379.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 405 ([M+H]⁺, ⁸¹Br, 47%), 403 ([M+H]⁺, ⁷⁹Br, 48%), 203 ([M+2H]⁺⁺, ⁸¹Br, 100%), 202 ([M+2H]⁺⁺, ⁷⁹Br, 87%), 124 ([M-2-Brombenzen+2H]⁺⁺, 6%).

<u>Elementaranalyse (C₂₁H₁₅BrN₄):</u>				
Berechnet:	C 62.54	H 3.75	N 13.89,	
gefunden:	C 62.22	H 3.79	N 13.86.	

6-Amino-11-(3-bromphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (50)



$C_{21}H_{15}BrN_4$ (403.27)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 3-Brombenzaldehyd (389 mg, 2.1 mmol)Reaktionsdauer:3 hAusbeute:161 mg (19%, umkrist. aus MeOH/CH2Cl2) eines gelben FeststoffsSchmelzpunkt:268°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.15 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.3 Hz), 3.53 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.2 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.4 Hz), 4.89 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.4 Hz), 6.87 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 7.7 Hz), 7.05 (t, 1H, Ar-H, ³J = 7.7 Hz), 7.20 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.8 Hz), 7.27 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 7.7 Hz), 7.29 (s, 1H, Ar-H), 7.49 (br s, 2H, -NH₂), 7.56 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.41 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.0 Hz), 8.56 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.8 Hz), 9.37 (s, 1H, Ar-H), 9.59 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 35.0 (C-12), 35.5 (C-11), 112.7, 113.4, 115.5, 121.7, 123.3, 126.1, 129.3, 129.8, 130.0, 130.5, 139.2, 143.8, 145.7, 145.8, 146.1, 147.9, 149.1, 149.8, 157.3.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3325, 3169, 3052, 2969, 1650, 1599, 1457, 1041, 818.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 405 ([M+H]⁺, ⁸¹Br, 70%), 403 ([M+H]⁺, ⁷⁹Br, 71%), 203 ([M+2H]⁺⁺, ⁸¹Br, 94%), 202 ([M+2H]⁺⁺, ⁷⁹Br, 100%), 163 (4%), 157 (10%).

<u>Elementaranalyse (C₂₁H₁₅N₄Br)</u> :				
Berechnet:	C 62.54	H 3.75	N 13.89,	
gefunden:	C 61.85	H 3.81	N 13.39.	

6-Amino-11-(4-bromphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (51)



$C_{21}H_{15}BrN_4$ (403.27)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 4-Brombenzaldehyd (389 mg, 2.1 mmol)Reaktionsdauer:3 hAusbeute:313 mg (37%, umkrist. aus MeOH/CH2Cl2) eines hellgelben FeststoffsSchmelzpunkt:278°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.12 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.5 Hz), 3.52 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.2 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.5 Hz), 4.86 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.3 Hz), 6.94 (m, 2H, H-2'-H-6', ³J = 8.4 Hz), 7.18 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 4.9 Hz), 7.31 (m, 2H, H-3'-H-5', ³J = 8.4 Hz), 7.48 (br s, 2H, -NH₂), 7.53 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 6.0 Hz), 8.40 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 4.9 Hz), 8.54 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 5.9 Hz), 9.36 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 35.0 (C-12), 35.3 (C-11), 112.7, 113.6, 115.5, 119.5, 123.3, 129.4 (2C), 129.8, 131.2 (2C), 139.2, 142.3, 143.8, 145.8, 146.0, 147.8, 149.1, 149.7, 157.2.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3327, 3171, 2899, 1649, 1600, 1543, 1456, 1012, 818.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 405 ([M+H]⁺, ⁸¹Br, 64%), 403 ([M+H]⁺, ⁷⁹Br, 63%), 203 ([M+2H]⁺⁺, ⁸¹Br, 100%), 202 ([M+2H]⁺⁺, ⁷⁹Br, 95%), 193 (5%), 124 ([M-4-Brombenzen+2H]⁺⁺, 10%).

 Elementaranalyse (C₂₁H₁₅N₄Br):

 Berechnet:
 C 62.54
 H 3.75
 N 13.89,

 gefunden:
 C 62.47
 H 3.99
 N 14.17.

6-Amino-11-(3-chlorphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (52)



C₂₁H₁₅ClN₄ (358.82)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 3-Chlorbenzaldehyd (295 mg, 2.1 mmol)

Reaktionsdauer: 2.5 h

Ausbeute: 241 mg (32%, umkristallisiert aus MeOH/CH₂Cl₂) eines blassgelben Feststoffs

Schmelzpunkt: 307°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.16 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.4 Hz), 3.53 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.4 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.4 Hz), 4.90 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.3 Hz), 6.80-6.90 (m, 1H, Ar-H), 7.07-7.16 (m, 3H, Ar-H), 7.20 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 4.9 Hz), 7.51 (br s, 2H, -NH₂), 7.56 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 6.0 Hz), 8.41 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 4.9 Hz), 8.56 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 5.9 Hz), 9.36 (s, 1H, Ar-H), 9.59 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 35.4 (C-12), 36.0 (C-11), 113.2, 113.9, 116.0, 123.8, 126.2, 127.0, 127.6, 130.3, 130.7, 133.5, 139.7, 144.3, 146.1, 146.3, 146.6, 148.4, 149.6, 150.3, 157.8.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3305, 3121, 2970, 2811, 1666, 1598, 1459, 1375, 820.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 361 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 35%), 359 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 100%), 181 ([M+2H]⁺⁺, ³⁷Cl, 17%), 180 ([M+2H]⁺⁺, ³⁵Cl, 46%), 124 ([M-3-Chlorbenzen+2H]⁺⁺, 7%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺, ³⁵Cl: 359.10580, m/z gefunden für [M+H]⁺, ³⁵Cl: 359.10526. 6-Amino-11-(3,4-dichlorphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (53)



$C_{21}H_{14}Cl_2N_4$ (393.27)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 3,4-Dichlorbenzaldehyd (368 mg, 2.1 mmol)

Reaktionsdauer: 2.5 h

Ausbeute: 116 mg (14%, umkristallisiert aus MeOH/CH₂Cl₂) eines blassgelben Feststoffs

Schmelzpunkt: 309°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.16 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.4 Hz), 3.52 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.4 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.4 Hz), 4.92 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.3 Hz), 6.79 (dd, 1H, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 2.2 Hz), 7.20 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 7.32 (d, 1H, Ar-H, ³J = 8.4 Hz), 7.38 (d, 1H, Ar-H, ⁴J = 2.1 Hz), 7.52 (br s, 2H, -NH₂), 7.56 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.41 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.8 Hz), 8.56 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.8 Hz), 9.36 (s, 1H, Ar-H), 9.58 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 34.8 (C-12), 35.0 (C-11), 112.7, 113.0, 115.5, 123.3, 127.3, 129.1, 129.3, 129.7, 130.5, 130.9, 139.2, 143.6, 144.2, 145.8, 146.1, 148.0, 149.1, 149.8, 157.3.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3327, 3177, 1650, 1612, 1543, 1456, 1375, 821.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 395 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 54%), 393 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 61%), 194 ([M+2H]⁺⁺, ³⁵Cl, 100%), 180, 124 ([M-3,4-Dichlorbenzen+2H]⁺⁺, 7%).

<u>Elementaran</u>	alyse (C ₂₁ H ₁₄	Cl₂N₄ · 1.5 H₂O	<u>)</u> :
Berechnet:	C 60.01	H 4.08	N 13.33,
gefunden:	C 60.02	H 3.47	N 13.29.

6-Amino-11-(3-fluorphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (54)



C₂₁H₁₅FN₄ (342.37)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 3-Fluorbenzaldehyd (261 mg, 2.1 mmol)

Reaktionsdauer: 3 h

Ausbeute: 201 mg (28%, umkristallisiert aus MeOH/CH₂Cl₂) eines blassgelben Feststoffs

Schmelzpunkt: 303°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆ + 1% DCl (36%) in D₂O):

 δ /ppm = 3.62 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 17.0 Hz), 3.83 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 17.1 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.5 Hz), 4.90 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.4 Hz), 6.85 (d, 1H, H-6', ³J = 7.9 Hz), 6.90-7.02 (m, 2H, H-2', H-4'), 7.17 (m, 1H, H-5', ³J = 8.1 Hz), 8.02 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.10 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.9 Hz), 8.71 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 6.8 Hz), 8.89 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 5.9 Hz), 9.39 (s, 1H, Ar-H), 10.22 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆ + 1% DCl (36%) in D₂O):

δ/ppm = 35.0 (C-11), 35.7 (C-12), 113.3, 114.0 (C-4'), 114.4 (C-2'), 114.4, 119.9, 123.4 (C-6'), 126.9, 130.8 (C-5'), 131.9, 137.5, 137.9, 141.7, 143.3, 144.1, 144.4 (C-1'), 147.8, 155.4, 158.7, 162.4 (C-3').

¹⁹F-NMR (282 MHz, DMSO- d_6 + 1% DCl (36%) in D₂O): δ/ppm = -112.04

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3328, 3165, 1651, 1611, 1598, 1454, 1283, 1061, 1042, 819.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 343 ([M+H]⁺, 83%), 172 ([M+2H]⁺⁺, 100%), 124 ([M-4-Fluorbenzen+2H]⁺⁺, 5%).

6-Amino-11-(4-fluorphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (55)



$C_{21}H_{15}FN_4$ (342.37)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 4-Fluorbenzaldehyd (261 mg, 2.1 mmol)Reaktionsdauer:3 hAusbeute:215 mg (30%, umkristallisiert aus MeOH/CH2Cl2) eines blassgelben
FeststoffsSchmelzpunkt:286°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆ + 1% Essigsäure-*d*₄):

 δ /ppm = 3.50 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.7 Hz), 3.76 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.9 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.5 Hz), 5.09 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.3 Hz), 6.87-6.97 (m, 2H, Ar-H, AA'-Teil, ⁴J_{HF} = 8.8 Hz), 7.02-7.13 (m, 2H, Ar-H, XX'-Teil, ³J_{HF} = 8.9 Hz), 7.84 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 5.8 Hz), 7.96 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 6.6 Hz), 8.66 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.6 Hz), 8.77 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.8 Hz), 9.39 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 34.6 (C-11), 35.7 (C-12), 113.0, 114.7, 115.1, 115.4, 118.7, 126.2, 129.0, 120.1, 131.4, 137.4, 138.7, 140.1, 142.2, 143.0, 145.1, 154.4, 158.1, 159.4, 162.7.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3333, 3164, 3061, 2888, 1655, 1598, 1508, 1456, 826.

MS (ESI):

m/z = 343 ([M+H]⁺, 51%), 172 ([M+2H]⁺⁺, 100%), 124 ([M-4-Fluorbenzen+2H]⁺⁺, 10%).

<u>Elementaranalyse (C₂₁H₁₅N₄F)</u> :				
Berechnet:	C 73.67	H 4.42	N 16.36,	
gefunden:	C 74.03	H 4.69	N 16.69.	

6-Amino-11-(p-biphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (59)



C₂₇H₂₀N₄ (400.47)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von 4-Phenylbenzaldehyd (383 mg, 2.1 mmol)

Reaktionsdauer: 2.5 h

Ausbeute:235 mg (28%, umkristallisiert aus MeOH/CH2Cl2) eines gelbenFeststoffs

Schmelzpunkt: 265°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.21 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.3 Hz), 3.57 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.3 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.5 Hz), 4.91 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.4 Hz), 7.08 (m, 2H, Ar-H, ³J = 8.2 Hz), 7.21 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 4.9 Hz) 7.25-7.48 (m, 5H, Ar-H; br s, 2H, -NH₂), 7.51 (m, 2H, Ar-H, , ³J = 8.1 Hz), 7.59 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 5.9 Hz), 8.41 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 4.9 Hz), 8.56 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 5.9 Hz), 9.39 (s, 1H, Ar-H), 9.58 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆ + 1% Essigsäure-*d*₄):

δ/ppm = 34.7, (C-11), 35.8 (C-12), 113.2, 114.9, 120.0, 126.4 (2C), 127.0 (2C), 127.4, 127.8 (2C), 128.8 (2C), 131.8, 131.9, 137.1, 137.6, 138.9, 139.4, 140.5, 141.5, 143.2, 143.8, 147.3, 156.7, 158.3.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3327, 3029, 2970, 2898, 1652, 1598, 1455, 1044. 821.

MS (ESI):

m/z = 401 ([M+H]⁺, 59%), 201 ([M+2H]⁺⁺, 100%), 124 (([M-*p*-Phenylbenzen+2H]⁺⁺, 8%).

<u>HRMS (ESI):</u>

m/z berechnet für [M+H]⁺: 401.17606, m/z gefunden für [M+H]⁺: 401.17587.
6-Amino-11-propyl-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (60)



C₁₈H₁₈N₄ (290.36)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von Butyraldehyd (151 mg, 2.1 mmol)

Reaktionsdauer:

Ausbeute: 128 mg (21%, umkristallisiert aus MeOH/CH $_2$ Cl $_2$) eines gelben Feststoffs

Schmelzpunkt: 231°C unter Zersetzung

3 h

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 0.78 (t, 3H, -CH₃, ³J = 6.9 Hz), 1.12-1.48 (m, 4H, -CH₂-CH₂-), 2.92-3.14 (m, 2H, H-12), 3.42-3.56 (m, 1H, H-11), 7.30 (br s, 2H, -NH₂), 7.34 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 4.9 Hz), 7.75 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.46 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.64 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 9.27 (s, 1H, Ar-H), 9.56 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 13.9 (-CH₃), 19.9 (-CH₂-), 29.9 (C-11), 30.8 (C-12), 35.3 (-CH₂-), 112.5, 115.5, 117.1, 123.5, 129.6, 138.9, 144.5, 144.9, 145.7, 147.5, 149.2, 149.5, 156.6.

<u>IR (ATR):</u> cm⁻¹ = 3325, 3164, 3045, 2953, 2930, 2870, 1651, 1598, 1455, 1043, 821.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 291 ([M+H]⁺, 59%), 146 ([M+2H]⁺⁺, 25%), 124 ([M-Propan+2H]⁺⁺, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 291.16041

m/z gefunden für [M+H]⁺: 291.16046.

6-Amino -11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (122)



$C_{15}H_{12}N_4$ (248.28)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzung von Paraformaldehyd (63 mg, 2.1 mmol)Reaktionsdauer:3 hAusbeute:150 mg (29%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH
(5-20%)) eines gelben FeststoffsSchmelzpunkt:>310°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.01 (m, 4H, CH₂-CH₂), 7.29 (br s, 2H, NH₂), 7.33 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 7.77 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.8 Hz), 8.45 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.64 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 9.27 (s, 1H, Ar-H), 9.55 (s, 1H, Ar-H).

 $\frac{{}^{13}\text{C-NMR} (75 \text{ MHz, DMSO-} d_6 + \text{DCl (36\%) in } \text{D}_2\text{O}):}{\delta/\text{ppm}} = 20.9 \text{ (C-11), } 28.8 \text{ (C-12), } 116.9, 120.1, 123.9, 128.8, 129.0, 138.2, 139.3, 142.4, 144.0, 145.5, 147.7, 156.8, 162.2.}$

<u>IR (ATR):</u> cm⁻¹ = 3306, 3136, 1670, 1612, 1568, 1462.

<u>MS (ESI):</u> m/z = 249 ([M+H]⁺, 92%), 125 ([M+2H]⁺⁺, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 249.11346 m/z gefunden für [M+H]⁺: 249.11319.





C₂₁H₁₆N₄O (340.13)

Modifizierte Synthesevorschrift in Anlehnung an ZIMMERMANN et al.:⁶⁸

100 mg (0.28 mmol) 6-Amino-11-(3-methoxyphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (**43**) werden in 10 mL wässriger Bromwasserstoffsäure (40-65%) und 5 mL Eisessig gelöst. Die Lösung wird 5 Stunden auf 120°C erhitzt. Nach dem Erkalten des Gemischs wird die Lösung durch Zugabe von konzentrierter Ammoniaklösung neutralisiert. Der hierbei entstehende Niederschlag wird abfiltriert, im Ölpumpenvakuum getrocknet und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (5-20%)) aufgereinigt. Der resultierende Feststoff wird 24 h im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute:76 mg (80%) eines hellgelben FeststoffsSchmelzpunkt:296°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.13 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.2 Hz), 3.51 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.2 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.6 Hz), 4.76 (d, 1H, H-11, ³J_{H-11/H-12b} = 7.5 Hz), 6.26 (m, 1H, Ar-H, ⁴J = 2.0 Hz), 6.42-6.48 (m, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 2.0 Hz, ⁵J = 0.9 Hz), 6.49-6.55 (m, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz), 6.94 (t, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz), 7.19 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 7.44 (br s, 2H, -NH₂), 7.54 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.0 Hz), 8.39 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.55 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 9.09 (s, 1H, Ar-OH), 9.36 (s, 1H, Ar-H), 9.57 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 35.2 (C-12), 35.9 (C-11), 112.8, 113.3, 114.0, 114.2, 115.8, 117.9, 123.3, 129.3, 129.9, 139.4, 144.3, 144.5, 145.7, 145.9, 147.7, 149.0, 149.6, 157.0, 157.1.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3158, 3069, 1654, 1597, 1422, 1045, 927, 801, 785.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 341 ([M+H]⁺, 84%), 171 ([M+2H]⁺⁺, 100%), 124 ([M-3-Hydroxybenzen+2H]⁺⁺, 16%).

8.1.2.3 Allgemeine Vorschrift zur Dehydrierung der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 37 zu 6-Aminopyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinen 74, modifiziert, in Anlehnung an BEUGELMANS *et al.*, 1985:⁷¹

200 mg des entsprechenden 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolins **37** werden in 5 - 10 mL DMPU gelöst und Palladium (10%) auf Aktivkohle (30 Gewichtsprozent) wird hinzugefügt. Die Suspension wird 10 - 30 min im Stickstoffstrom zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wird der Katalysator abfiltriert und mit 50 mL Dichlormethan nachgewaschen. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingeengt und die verbleibende Lösung auf 80 mL Eiswasser gegeben, enstehender Niederschlag wird abfiltriert. Entsteht kein Niederschlag wird mit konzentrierter Salzsäure auf pH 2 eingestellt und das DMPU mit 3 x 50 mL Dichlormethan aus der wässrigen Phase extrahiert. Im Anschluss wird die wässrige Phase mit konzentrierter Ammoniaklösung auf pH 9 gebracht und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Die Aufreinigung des Rohproduktes geschieht mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (10%). Der erhaltene Feststoff wird 24 h im Ölpumpenvakuum getrocknet.

8.1.2.4 Synthetisierte 6-Aminopyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 74:

6-Amino-11-phenylpyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (75)



C₂₁H₁₄N₄ (322.36)

Nach 8.1.2.3 durch	Umsetzung v	on 56				
Reaktionsdauer:	10 min					
Ausbeute:	178 mg	(89%,	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH	
	(5-20%)) eines gelben Feststoffs					
Schmelzpunkt:	221°C unter Zersetzung					

¹H-NMR (300 MHz, $D_2O + 2\%$ DCl in D_2O):

 δ /ppm = 7.05-7.11 (m, 2H, Ar-H), 7.29-7.51 (m, 5H, Ar-H), 8.02 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.6 Hz), 8.21 (d, 1H, Ar-H, ³J = 7.0 Hz), 8.53 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.6 Hz), 9.55 (s, 1H, Ar-H), 9.84 (s, 1H, Ar-H).

13 C-NMR (75 MHz, D₂O + 2% DCl in D₂O):

δ/ppm = 113.7, 114.5, 123.1, 123.2 (2C), 124.4, 128.2 (3C), 129.8 (2C), 135.0, 136.5, 139.2, 141.4, 142.0, 143.1, 143.8, 148.8, 159.2, 156.8.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3360, 3300, 3049, 1675, 1605, 1560, 1462, 1053, 860.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 323 ([M+H]⁺, 100%), 162 ([M+2H]⁺⁺, 32%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 323.12911, m/z gefunden für [M+H]⁺: 323.12891.

6-Amino-11-(3-methoxyphenyl)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (76)



C₂₂H₁₆N₄O (352.39)

Nach 8.1.2.3 durch U	Jmsetzu	ing vo	on 43			
Reaktionsdauer:	10 mir	า				
Ausbeute:	116	mg	(58%,	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH
	(5-20%)) eines gelben Feststoffs					
Schmelzpunkt:	260°C unter Zersetzung					

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.79 (s, 3H, OCH₃), 6.96-7.03 (m, 1H, Ar-H, ³*J* = 7.5 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz), 7.04-7-07 (m, 1H, Ar-H), 7.08-7.15 (m, 1H, Ar-H; d, 1H, Ar-H, ³*J* = 5.9 Hz), 7.45 (m, 1H, Ar-H, ³*J* = 7.9 Hz), 7.52 (s, 1H, Ar-H, H-12), 7.78-7.94 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 5.9 Hz; br s, 2H, -NH₂), 8.38 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 5.9 Hz), 8.67 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 6.0 Hz), 9.68 (br s, 1H, Ar-H), 10.33 (br s, 1H, Ar-H).

$\frac{1^{3}\text{C-NMR}}{(75 \text{ MHz}, \text{ DMSO-}d_{6} + 2\% \text{ DCl in } \text{D}_{2}\text{O})}$

δ/ppm = 55.4, 113.5, 113.6, 115.0, 115.1, 120.5, 121.9, 122.7, 123.4, 124.4, 130.9, 135.2, 137.7, 141.1, 141.9, 142.5, 143.1, 143.4, 148.1, 149.2, 157.3, 160.0.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3358, 3272, 3047, 1673, 1606, 1559, 1462, 786.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 353 ([M+H]⁺, 100%), 177 ([M+2H]⁺⁺, 12%), 169 (17%).

<u>Elementaranalyse (C₂₂H₁₆N₄O)</u> :							
Berechnet:	C 74.89	H 4.58	N 15.90,				
gefunden:	C 74.33	H 4.66	N 15.57.				

6-Amino -11-(2,3-dimethoxyphenyl)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (77)



C₂₃H₁₈N₄O₂ (382.41)

Nach 8.1.2.3 durch L	Jmsetzi	ung v	on 44			
Reaktionsdauer:	10 mi	in				
Ausbeute:	144	mg	(72%,	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH
	(5-20%)) eines gelben Feststoffs					
Schmelzpunkt:	231°C unter Zersetzung					

¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

 δ /ppm = 3.35 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 7.04 (m, 1H, Ar-H, *J* = 4.6 Hz), 7.36 (m, 2H, Ar-H, *J* = 4.6 Hz), 7.53 (dd, 1H-Ar-H, ³*J* = 6.7 Hz, ⁴*J* = 0.6 Hz), 7.89 (s, 1H, Ar-H, H-12), 8.53 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 6.5 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz), 8.69 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 6.7 Hz, ⁴*J* = 0.6 Hz), 8.93 (dd, 1H-Ar-H, ³*J* = 6.5 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz), 10.21 (m, 1H, Ar-H), 10.23 (m, 1H, Ar-H).

$\frac{1^{3}\text{C-NMR}}{(75 \text{ MHz}, \text{DMSO-}d_{6} + 2\% \text{ DCl in } D_{2}\text{O})}$

δ/ppm = 56.0 (OCH₃), 60.1 (OCH₃), 114.2, 114.4, 114.6, 120.0, 120.8, 123.0, 123.6, 124.2, 125.6, 126.2, 129.0, 134.9, 135.0, 140.6 (2C), 142.1, 142.8, 144.8 (2C), 144.9, 148.1, 153.0, 157.1.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3328, 3163, 2952, 1641, 1606, 1553, 1407, 1267, 1050.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 383 ([M+H]⁺, 100%), 184 (19%), 169 (14%); 163 (13%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 383.15024, m/z gefunden für [M+H]⁺: 383.14987. 6-Amino -11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (78)



C₂₄H₂₀N₄O₃ (412.44)

Nach 8.1.2.3 durch U	msetz	ung v	on 46			
Reaktionsdauer:	10 min					
Ausbeute:	149	mg	(75% <i>,</i>	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH
	(10%)) eines gelben Feststoffs					
Schmelzpunkt:	246°C unter Zersetzung					

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.73 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.79 (s, 3H, -CH₃), 6.79 (s, 2H, H-2', H6'), 7.18 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.0 Hz), 7.58 (s, 1H, Ar-H, H-12), 7.78-7.93 (d, 1H, Ar-H; br s, 2H, -NH₂) 8.46 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.0 Hz), 8.67 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.1 Hz), 9.68 (br s, 1H, Ar-H), 10.33 (br s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 56.1 (2C, 2 x OCH₃), 60.3 (OCH₃), 106.0 (2C; C-2', C-6'), 113.2, 113.8, 118.6, 119.8, 122.4, 123.6, 136.2, 137.4, 138.1, 138.3, 142.3, 145.6, 145.9, 147.2, 148.7, 149.4, 153.4 (2C, C-3', C-5'), 156.3.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3330, 3196, 2832, 1644, 1580, 1502, 1462, 1420.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 413 ([M+H]⁺, 91%), 207 ([M+2H]⁺⁺, 100%).

<u>Elementaranalyse (C₂₄H₂₀N₄O₃):</u>							
Berechnet:	C 69.89	H 4.89	N 13.58,				
gefunden:	C 69.99	H 5.43	N 13.75.				

6-Amino -11-(fur-2-yl)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (79)



C₁₉H₁₂N₄O (312.32)

Nach 8.1.2.3 durch	Umsetzung v	on 57					
Reaktionsdauer:	15 min						
Ausbeute:	126 mg	(63%,	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH		
	(5-20%)) e	(5-20%)) eines ockergelben Feststoffs					
Schmelzpunkt:	248°C unter Zersetzung						

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆ + 2% DCl in D₂O):

 δ /ppm = 6.96 (m, ${}^{3}J$ = 1.9 Hz), 7.12 (dd, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, ${}^{4}J$ = 0.7 Hz), 7.27 (dd, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 3.4 Hz, ${}^{4}J$ = 0.8 Hz), 8.03 (m, 1H, ${}^{3}J$ = 1.8 Hz, ${}^{4}J$ = 0.8 Hz), 8.13 (s, 1H, Ar-H, H-12), 8.54 (dd, 1H, ${}^{3}J$ = 6.7 Hz, ${}^{4}J$ = 0.8 Hz), 8.88 (dd, 1H, ${}^{3}J$ = 6.8 Hz, ${}^{4}J$ = 0.6 Hz), 8.97 (dd, 1H, ${}^{3}J$ = 6.5 Hz, ${}^{4}J$ = 0.8 Hz), 10.11 (m, 1H, Ar-H), 10.31 (m, 1H, Ar-H).

13 C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

δ/ppm = 111.7, 112.5, 113.1, 114.4, 120.9, 121.6, 123.6, 124.5, 135.1, 135.3, 138.8, 141.2, 142.1, 142.3, 143.8, 145.3, 149.1, 151.4, 157.2.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3359, 3278, 3049, 2822, 1674, 1610, 1559, 1408, 863.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 313 ([M+H]⁺, 100%), 157 ([M+2H]⁺⁺, 8%), 143 (6%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 313.10838, m/z gefunden für [M+H]⁺: 313.10803.

6-Amino -11-propylpyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (80)



C₁₈H₁₆N₄ (288.35)

Nach 8.1.2.3 durch Umsetzung von 60Reaktionsdauer:15 minAusbeute:154 mg (77%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH
(10%)) eines ockergelben FeststoffsSchmelzpunkt:242°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

 δ /ppm = 1.04 (t, 3H, -CH₃, ³*J* = 7.2 Hz), 1.70-1.85 (m, 2H, H₃C-<u>CH₂</u>-CH₂-), 3.43 (t, 2H, H₃C-CH₂-<u>CH₂</u>-), 7.88 (s, 1H, H-12), 8.37 (d, 1H, Ar-H, , ³*J* = 6.4 Hz), 8.81 (d, 1H, Ar-H, , ³*J* = 6.4 Hz), 8.91 (d, 1H, Ar-H, , ³*J* = 7.0 Hz), 9.04 (d, 1H, Ar-H, , ³*J* = 7.0 Hz), 10.08 (s, 1H, Ar-H), 10.29 (s, 1H, Ar-H).

 13 C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

 δ /ppm = 13.7 (-CH₃), 22.3 (H₃C-<u>CH₂</u>-CH₂-), 39.1 (H₃C-CH₂-<u>CH₂</u>-), 114.4, 114.6, 122.0, 122.7, 123.0, 123.5, 134.8, 139.0, 141.0, 142.6, 142.8, 143.2, 149.1, 150.4, 156.7.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3313, 3050, 2957, 1667, 1608, 1556, 1405, 825.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 289 ([M+H]⁺, 100%), 130 (3%).

<u>Elementaranalyse (C₁₈H₁₆N₄ · 0.5 H₂O)</u> :						
Berechnet:	C 72.71	H 5.76	N 18.84,			
gefunden:	C 72.73	H 5.40	N 18.22.			

8.1.2.5 Allgemeine Vorschrift zur Dehydrierung 11-halogenphenylsubstituierter 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 81 oder 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6one 85, modifiziert, basierend auf Yong-BAIK CHO *et al.*, 2006:⁷⁴

100 mg des entsprechenden 11-halogenphenyl-substituierten 6-Amino-11,12-dihydropyrido-[3,4-*c*][1,9]phenanthrolins **81** oder 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolins **85** werden in 5 mL trockenem DMF gelöst und die Lösung auf 0°C abgekühlt. 100 mg (100 Massenprozent) NaH (60% als Mineralölsuspension) werden über eine halbe Stunde lang bei 0°C portionsweise hinzugegeben, wobei eine Dunkelrotfärbung der Lösung zu beobachten ist. Anschließend wird die Reaktionsmischung 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktionszeit wird das DMF am Rotationsverdampfer auf ca. 1 mL eingeengt und nach dem Abkühlen mit 50 mL Eiswasser versetzt. Der entstehende Niederschlag wird abfiltriert, im Ölpumpenvakuum getrocknet und mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (10%)) aufgereinigt. Der erhaltene Feststoff wird 24 h im Ölpumpenvakuum getrocknet. 8.1.2.6 Synthetisierte 11-halogenphenylsubstituierte 6-Aminopyrido[3,4-*c*]-[1,9]phenanthroline und 5,6-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-one:

6-Amino -11-(3-chlorphenyl)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (83)



C₂₁H₁₃N₄Cl (356.81)

Reaktionsdauer:	1. 30 min, 0°C; 2. 24 h, Raumtemperatur					
Ausbeute:	71	mg	(71%,	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH
	(10%)) eines gelben Feststoffs					
Schmelzpunkt:	279°C unter Zersetzung					

¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

 δ /ppm = 7.45 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.6 Hz), 7.49-7.54 (m, 1H, Ar-H), 7.59-7.66 (m, 1H, Ar-H), 7.66-7.75 (m, 2H, Ar-H), 8.50 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.4 Hz), 8.66 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.6 Hz), 8.93 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.4 Hz), 10.18 (s, 1H, Ar-H), 10.22 (s, 1H, Ar-H).

 $\frac{1^{3}\text{C-NMR}}{(75 \text{ MHz}, \text{ DMSO-}d_{6} + 2\% \text{ DCl in } \text{D}_{2}\text{O})}$

δ/ppm = 113.6, 114.9, 121.3, 123.0, 123.6, 124.4, 127.3, 128.0, 129.2, 131.4, 134.2, 135.3, 140.0, 140.8, 141.8, 142.7, 142.8, 144.7, 146.4, 148.7, 157.3. IR (ATR): cm⁻¹ = 3275, 3048, 2922, 1606, 1595, 1461, 1367. 1160, 1053, 785.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 359 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 34%), 357 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 82%), 179 ([M+2H]⁺⁺, ³⁵Cl, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 357.0902, m/z gefunden für [M+H]⁺: 357.0889.

6-Amino -11-(3-bromphenyl) pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (84)



C₂₁H₁₃N₄Br (401.26)

Reaktionsdauer:	1. 30 min, 0°C; 2. 24 h, Raumtemperatur					
Ausbeute:	67 mg	(67% <i>,</i>	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH	
	(10%)) eines ockergelben Feststoffs					
Schmelzpunkt:	259°C unter Zersetzung					

¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

δ/ppm = 7.37-7.52 (m, 3H, Ar-H), 7.61 (d, 1H, Ar-H), 7.65-7.75 (m, 2H, Ar-H), 8.36 (d, 1H, Ar-H), 8.44 (d, 1H, Ar-H), 8.68 (d, 1H, Ar-H), 9.96 (s, 1H, Ar-H), 10.16 (s, 1H, Ar-H).

13 C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

δ/ppm = 114.4, 115.8, 123.6, 124.0, 124.3, 124.7, 125.3, 125.7, 128.6, 131.7, 133.0, 133.5, 136.4, 137.6, 142.4, 143.7, 144.2, 144.6, 147.8, 150.8, 158.2.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3275, 3048, 2922, 1607, 1560, 1461, 1367, 1053, 783.

<u>MS (ESI):</u>

 $m/z = 403 ([M+H]^+, {}^{81}Br, 70\%), 401 ([M+H]^+, {}^{79}Br, 72\%), 202 ([M+2H]^{++}, {}^{81}Br, 100\%), 201 ([M+2H]^{++}, {}^{79}Br, 72\%).$

HRMS (ESI):

m/z berechnet für [M+H]⁺: 401.0396, m/z gefunden für [M+H]⁺: 401.0388.

11-(3-Chlorphenyl)-5,6-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on (86)



C₂₁H₁₂CIN₃O (357.79)

Ausbeute:59 mg (59%, Rohprodukt) eines gelben FeststoffsSchmelzpunkt:299°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 6.83 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 7.34 (s, 1H, Ar-H), 7.37-7.44 (m, 1H, Ar-H), 7.51-7.64 (m, 3H, Ar-H), 7.76 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.5 Hz), 8.29 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.60 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.5 Hz), 9.51 (s, 1H, Ar-H), 10.25 (s, 1H, Ar-H), 12.47 (br s, 1H, RCO<u>NH</u>R).

¹³C-NMR (75 MHz DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 118.5, 119.7, 120.6, 120.7, 121.3, 127.4, 127.7, 127.8, 128.1, 130.8, 133.6, 136.1, 139.8, 140.9, 144.8, 145.0, 145.3, 147.6, 149.1, 150.9, 160.9.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 360 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 35%), 358 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 100%), 180 ([M+2H]⁺⁺, ³⁵Cl, 61%).

Das Produkt entstand als Nebenprodukt beim Versuch einer Alkylierung des N5-Atoms nach YONG-BAIK CHO *et al.*, 2006⁷⁴ und wurde nicht weiter aufgereinigt.

8.1.2.7 Allgemeine Vorschrift zur Darstellung von 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-onen 99 und 5,6-Dihydropyrido-[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin 6-onen 98, modifiziert in Anlehnung an Коск *et al.*, 2003⁵¹ und Кокмвьим, 1944⁷⁶:

3 N Schwefelsäure (5 mL) wird auf 0°C abgekühlt und langsam portionsweise nacheinander NaNO₂ (250 mg, 3.6 mmol, 3-facher Überschuss) und auf 4°C vorgekühlte Phosphinsäure (1 mL, 1.2 mmol, 50 Gewichtsprozent in H₂O) dazugegeben. Eine zweite Lösung bestehend aus 300 mg des entsprechenden 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolins **37** oder 6-Aminopyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolins **74** in 5 mL Eisessig und 2 mL Wasser wird langsam zu der ersten Lösung getropft. Nach Zugabe einer Spatelspitze Kupfer(II)sulfat wird das Lösungsgemisch eine Stunde bei 0°C gerührt und im Anschluss 24 Stunden im Kühlschrank bei 4-7°C gelagert. Danach wird die Lösung filtriert und das Filtrat mit konzentrierter Ammoniaklösung auf pH 9 eingestellt, bis eine tiefblaue Färbung entsteht. Das hierbei entstehende Präzipitat wird abgesaugt, mit Wasser gewaschen (3 x 50 mL) und im Vakuum getrocknet. Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (5-20%)). Der erhaltene Feststoff wird 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

8.1.2.8 Synthetisierte 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-one 99 und 5,6-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin 6-one 98:

11-Phenyl-5,6,11,12-tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on (93)



C₂₁H₁₅N₃O (325.36)

Ausbeute:193 mg (64%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH
(5-20%)) eines hellgelben FeststoffsSchmelzpunkt:275°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.14 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.1 Hz), 3.52 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.1 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.6 Hz), 4.75 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.5 Hz), 7.00-7.18 (m, 5H, Ar-H), 7.23 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 7.48 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.8 Hz), 8.44 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.67 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.7 Hz), 9.20 (s, 1H, Ar-H), 9.39 (s, 1H, Ar-H), 12.15 (br s, 1H, RCO<u>NH</u>R).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 35.1 (C-11), 35.3 (C-12), 111.1, 116.4, 120.5, 123.7, 124.4, 126.6, 127.1 (2C), 128.5 (2C), 136.6, 141.2, 141.9, 144.3, 144.5, 150.1, 150.6, 151.5, 161.8.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3153, 3025, 2907, 1649, 1619, 1595, 1488, 1409.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 326 ([M+H]⁺, 100%), 164 ([M+2H]⁺⁺, 9%).

<u>Elementaranalyse (C₂₁H₁₅N₃O · 0.3 H₂O)</u> :						
Berechnet:	C 76.25	H 4.75	N 12.70,			
gefunden:	C 76.36	H 4.61	N 12.62.			

11-(3-Methoxyphenyl)-5,6,11,12-tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on (94)



C₂₂H₁₇N₃O₂ (355.39)

Ausbeute:211 mg (70%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH
(5-20%)) eines hellgelben FeststoffsSchmelzpunkt:288°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl (36%) in D₂O):

 δ /ppm = 3.54 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.1 Hz), 3.64 (s, 3H, OCH₃), 3.74 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.2 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.4 Hz), 4.99 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.4 Hz), 6.58-6.64 (m, 1H, Ar-H, ³J = 7.8 Hz, ⁴J = 0.9 Hz), 6.68-6.74 (m, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 0.7 Hz), 6.74-6.78 (m, 1H, Ar-H), 7.05 (t, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz), 7.93 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.7 Hz), 7.97 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.4 Hz), 8.80-8.90 (m, 2H, Ar-H), 9.50 (s, 1H, Ar-H), 9.54 (s, 1H, Ar-H).

13 C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl (36%) in D₂O):

δ/ppm = 34.6 (C-11), 35.9 (C-12), 54.9 (OCH₃), 112.0, 112.3, 113.6, 119.2, 119.8, 122.2, 126.3, 126.4, 129.8, 138.6, 139.0, 141.5, 143.2, 143.6, 144.7, 146.2, 154.8, 159.3, 160.3.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3148, 2956, 1649, 1620, 1596, 1489, 1245, 1034, 834.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 356 ([M+H]⁺, 60%), 248 ([M-3-Methoxybenzen+H]⁺, 4%), 179 ([M+2H]⁺⁺, 100%), 125 ([M-3-Methoxybenzen+2H]⁺⁺, 50%).

<u>Elementaranalyse (C₂₂H₁₇N₃O₂):</u>							
Berechnet:	C 74.35	H 4.75	N 11.82,				
gefunden:	C 74.03	H 4.83	N 11.84.				

11-(3-Bromphenyl)-5,6,11,12-tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on (96)



C₂₁H₁₄BrN₃O (404.26)

Ausbeute:244 mg (81%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH
(5-20%)) eines blassgelben FeststoffsSchmelzpunkt:278°C unter Zersetzung

Aufgrund der sehr begrenzten Löslichkeit der Verbindung **96** sowohl in organischen, als auch in wässrigen sauren deuterierten Lösungsmitteln konnte keine NMR-spektroskopische Untersuchung vorgenommen werden.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3150, 3047, 2944, 1654, 1617, 1597, 1419, 1071, 1039, 831.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 406 ([M+H]⁺, ⁸¹Br, 100%), 404 ([M+H]⁺, ⁷⁹Br, 94%), 385 (7%), 341 (8%), 297 (3%), 204 ([M+2H]⁺⁺, ⁸¹Br, 4%), 203 ([M+2H]⁺⁺, ⁷⁹Br, 3%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 404.0393, m/z gefunden für [M+H]⁺: 404.0385. 11-(3-Chlorphenyl)-5,6,11,12-tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on (97)



C₂₁H₁₄CIN₃O (359.81)

Ausbeute:277 mg (91%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH
(5-20%)) eines blassgelben FeststoffsSchmelzpunkt:261°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.17 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.3 Hz), 3.52 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.2 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.4 Hz), 4.81 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.3 Hz), 6.84-6.94 (m, 1H, Ar-H), 7.08-7.20 (m, 2H, Ar-H), 7.22-7.30 (m, 2H, Ar-H), 7.50 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 5.6 Hz), 8.46 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 4.9 Hz), 8.70 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.6 Hz), 9.20 (s, 1H, Ar-H), 9.40 (s, 1H, Ar-H), 12.20 (br s, 1H, RCO<u>NH</u>R).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 34.7 (C-11), 35.0 (C-12), 110.3, 116.3, 120.5, 123.6, 124.2, 125.7, 126.8, 127.3, 130.3, 133.1, 136.9, 141.7, 143.8, 144.0, 144.6, 150.2, 150.7, 151.6, 161.8.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3146, 2947, 1651, 1617, 1595, 1418, 1038, 828.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 362 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 34%), 360 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 100%), 124 ([M-3-Chlorbenzen+2H]⁺⁺, 3%).

<u>Elementaranalyse (C₂₁H₁₄ClN₃O)</u> :							
Berechnet:	C 70.10	H 3.92	N 11.68,				
gefunden:	C 69.92	H 3.92	N 11.71.				

5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on (95)



C₁₅H₁₁N₃O (249.27)

Ausbeute:222 mg (74%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH
(5-20%)) eines blassgelben FeststoffsSchmelzpunkt:261°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6 + 5% DCl (36%) in D₂O):

 δ /ppm = 3.01 (t, 2H, ³*J* = 7.6 Hz, H-12), 3.23 (t, 2H, ³*J* = 7.6 Hz, H-11), 8.02 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 5.9 Hz), 8.28 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 6.8 Hz), 8.71 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 5.9 Hz), 8.74 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 6.9 Hz), 9.23 (s, 1H, Ar-H), 9.39 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆ + 5% DCl (36%) in D₂O):

δ/ppm = 15.6 (C-11), 24.0 (C-12), 109.4, 118.2, 119.1, 123.5, 123.8, 133.4, 135.1, 137.0, 138.5, 139.7, 144.7, 156.7, 157.1.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3013, 1643, 1619, 1586, 1556, 1422, 1288.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 250 ([M+H]⁺, 100%), 125 ([M+2H]⁺⁺, 53%).

HRMS (ESI):

m/z berechnet für [M+H]⁺: 250.09749, m/z gefunden für [M+H]⁺: 250.09747. 11-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-5,6-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-on (98)



C₂₄H₁₉N₃O₄ (413.43)

Ausbeute:243 mg (81%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH
(5-20%)) eines blassgelben FeststoffsSchmelzpunkt:270°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.74 (br s, 6H, 2 x OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 6.78 (s, 2H, Ar-H, H-2', H-6'), 7.00 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 7.67 (s, 1H, Ar-H), 7.86 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.5 Hz), 8.51 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.68 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.5 Hz), 9.46 (s, 1H, Ar-H), 10.18 (s, 1H, Ar-H), 12.49 (br s, 1H, RCO<u>NH</u>R).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 56.1 (OCH₃), 60.3 (2C, 2 x OCH₃), 106.2 (2C), 111.3, 116.8, 119.5, 120.1, 121.0, 123.6, 135.7, 136.7, 137.0, 137.6, 140.4, 142.0, 145.6, 147.5, 150.1, 150.2, 153.4 (2C), 160.9.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3159, 3106, 3054, 3006, 2938, 1666, 1651, 1593, 1349, 1237, 1119.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 414 ([M+H]⁺, 100%), 208 ([M+2H]⁺⁺, 42%).

<u>Elementaran</u>	alyse (C ₂₄ H ₁₉	<u>N₃O₄ · 0.3 H₂O)</u>	:
Berechnet:	C 68.82	H 4.72	N 10.03,
gefunden:	C 68.67	H 4.35	N 9.99.

8.1.2.9 Allgemeine Vorschriften zur Darstellung der 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 92 und 6-Chlorpyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 109:

a) Methode unter konventionellen Reaktionsbedingungen, modifiziert, in Anlehnung an ZUR NIEDEN, 2007:⁵²

Zu einer Lösung aus 100 mg des entsprechenden 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-c][1,9]-99 5,6-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-6-ons phenanthrolin-6-ons oder 98 suspendiert in 5 mL Phosphoroxychlorid werden vorsichtig wenige Tropfen konzentrierter Salzsäure unter Rühren hinzugefügt bis eine klare Lösung entsteht. Nachdem 2 Stunden zum Rückfluss erhitzt wurde, wird vorsichtig auf 50 mL Eiswasser hydrolysiert, dabei eventuell entstehender Niederschlag wird langsam gelöst. Anschließend wird die Lösung mit konzentrierter wässriger Ammoniaklösung vorsichtig auf pH 9 gebracht, wobei die Temperatur nicht über 10°C steigen darf (Kühlung mit Eiswasser). Das gebildetete Präzipitat wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen (2 x 50 mL) und im Vakuum getrocknet. Die Aufreinigung des Rohproduktes gelingt flashchromatographisch an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (0-10%)). Der erhaltene Feststoff wird 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

b) Methode unter Verwendung einer Mikrowelle (CMS):

In einem für die Mikrowelle geeigneten Reaktionsgefäß werden zu einer Lösung aus 100 mg des entsprechenden 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-ons **99** oder 5,6-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-ons **98** suspendiert in 5 mL Phosphoroxychlorid vorsichtig wenige Tropfen konzentrierte Salzsäure unter Rühren hinzugefügt bis eine klare Lösung entsteht. Das Gefäß wird mit einem geeigneten Verschluss versiegelt und die Reaktion 2 Stunden bei 100°C im "closed vessel mode" in der Mikrowelle durchgeführt. Die Aufarbeitung und Aufreinigung der Substanzen erfolgt analog zu Methode a.

8.1.2.10 Synthetisierte 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 92 und 6-Chlorpyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 109:

6-Chlor-11-phenyl-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (106)



C21H14CIN3 (343.81)

Vorschrift:	8.1.2.9 a und 8.1.2.9 b					
Ausbeute:	a: 22 mg (42%, Flashchromatographie, Kieselgel, $CH_2Cl_2/MeOH$					
	(0-10%)) eines weißen Feststoffs					
	b: 76 mg (72%, Flashchromatographie, Kieselgel, $CH_2Cl_2/MeOH$					
	(0-10%)) eines gräulich weißen Feststoffs					
Schmelzpunkt:	270°C unter Zersetzung					

¹H-NMR (300 MHz, DMSO- $d_6 + 5\%$ DCl (36%) in D₂O):

 δ /ppm = 3.66 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 17.1 Hz), 3.91 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 17.2 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.8 Hz), 5.41 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.7 Hz), 7.00-7.24 (m, 5H, Ar-H), 8.03 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.8 Hz), 8.07 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.86 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.92 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.7 Hz), 9.43 (s, 1H, Ar-H), 9.78 (s, 1H, Ar-H).

 $\frac{^{13}$ C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆ + 5% DCl (36%) in D₂O): δ/ppm = 35.5 (C-12), 35.7 (C-11), 117.1, 121.5, 126.9, 127.3 (2C), 128.0, 128.9 (2C), 131.7, 137.4, 139.9, 140.7, 142.0, 143.4, 148.4, 151.0, 151.4, 155.4, 172.0.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3047, 2945, 2923, 1603, 1544, 1317,1259, 1047, 950, 828.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 346 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 37%), 344 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 100%), 133 (2%).

<u>Elementaran</u>	alyse (C ₂₁ H ₁₄	<u>CIN₃ · 0.3 H₂O)</u>	:
Berechnet:	C 72.23	H 4.21	N 12.03,
gefunden:	C 72.28	H 4.35	N 11.64.

6-Chlor-11-(3-chlorphenyl)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (107)



C21H13Cl2N3 (378.25)

Vorschrift:	8.1.2.9 a un	d 8.1.2.9	∋b				
Ausbeute:	a: 43 mg	(41%,	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH		
	(0-10%)) eines weißen Feststoffs						
	b: 82 mg	(78% <i>,</i>	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH		
	(0-10%)) eines weißen Feststoffs						
Schmelzpunkt:	206°C unter	Zersetz	ung				

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

 δ /ppm = 3.14 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.5 Hz), 3.57 (dd, 1H, H-12b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.5 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.7 Hz), 4.80 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.7 Hz), 6.63-6.69 (m, 1H, Ar-H), 6.92-7.02 (m, 3H, Ar-H), 7.03-7.08 (m, 1H, Ar-H), 7.51 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 6.0 Hz), 8.45 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 8.67 (d, 1H, Ar-H, , ³J = 6.0 Hz), 9.50 (s, 1H, Ar-H), 9.67 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):

δ/ppm = 35.5 (C-12), 37.7 (C-11), 115.6, 121.7, 123.6, 124.6, 125.5, 127.2, 127.5, 127.9, 130.5, 135.0, 140.1, 142.9, 143.2, 147.1, 147.4, 149.0, 151.1, 151.9, 152.4.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3045, 1603, 1546, 1323, 1048, 951, 832, 783.

MS (ESI):

m/z = 380 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 63%), 378 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 378.0559, m/z gefunden für [M+H]⁺: 378.0547.

6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (108)



C₁₅H₁₀ClN₃ (267.71)

Vorschrift:8.1.2.9 aAusbeute:46 mg (43%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH
(0-10%)) eines grauweißen FeststoffsSchmelzpunkt:227°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

 δ /ppm = 3.10 (t, 2H, H-12, ³J = 7.8 Hz), 3.29 (m, 2H, H-11), 7.21 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 5.0 Hz, ⁵J = 0.8 Hz), 7.78 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 6.0 Hz, ⁵J = 1.0 Hz), 8.56 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.0 Hz), 8.84 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.0 Hz), 9.47 (s, 1H, Ar-H), 9.73 (d, 1H, Ar-H, ⁵J = 1.0 Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):

δ/ppm = 21.4 (C-11), 26.4 (C-12), 115.3, 121.1, 122.4, 123.7, 128.9, 139.9, 145.6, 146.8, 147.2, 148.3, 150.5, 150.9, 152.1.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 2851, 1614, 1592, 1562, 1418, 1392, 1071.

<u>MS (ESI):</u> m/z = 268 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 100 %), 270 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 31 %).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 268.06360, m/z gefunden für [M+H]⁺: 268.06383. 6-Chlor-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (109)



C₂₄H₁₈ClN₃O₃ (431.87)

Vorschrift:	8.1.2	2.9 a				
Ausbeute:	38	mg	(36%,	Flashchromatographie,	Kieselgel,	$CH_2Cl_2/MeOH$
	(0-10	0%)) e	ines grau	uen Feststoffs		
Schmelzpunkt:	258°	'C unt	er Zerset	zung		

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

 δ /ppm = 3.84 (s, 6H, 2 x OCH₃), 4.00 (s, 3H, OCH₃), 6.67 (s, 2H, Ar-H), 7.41-7.45 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 6.2 Hz, ⁵J = 0.9 Hz), 7.74 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 5.6 Hz, ⁵J = 0.9 Hz), 7.89 (s, 1H, Ar-H), 8.61 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.2 Hz), 8.85 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.5 Hz), 9.87 (d, 1H, Ar-H, ⁵J = 0.9 Hz), 10.59 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):

δ/ppm = 56.5 (2C, 2 x OCH₃), 61.4 (OCH₃), 106.0 (2C), 119.0, 119.3, 119.7, 121.0, 124.7, 129.4, 136.3, 137.3, 138.6, 139.3, 142.1, 144.0, 147.0, 148.5, 150.6, 151.8, 152.0, 154.3 (2C).

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3051, 2936, 1588, 1577, 1549, 1503, 1455, 1412, 1348, 1235, 1123, 833.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 434 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 30%), 432 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u>

m/z berechnet für [M+H]⁺: 432.1109, m/z gefunden für [M+H]⁺: 432.1102.

8.1.2.11 Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der 6-unsubstituierten 11,12-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 91 und Pyrido[3,4-c]-[1,9]phenanthroline 112 in Anlehnung an CAILLY *et al.*, 2007:⁷⁵

100 mg des entsprechenden 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolins **91** oder 6-Chlorpyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolins **112** werden in 200 mL Methanol gelöst und nacheinander Ammoniumformiat (200 mg, 3.17 mmol) und Palladium (10%) auf Aktivkohle (50 mg) hinzugefügt. Die Lösung wird eine Stunde lang zum Rückfluss erhitzt. Nach Beendigung der Reaktionszeit wird der Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der erhaltene Feststoff im Vakuum getrocknet. Die Aufreinigung des Rohproduktes wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (5-20%)) realisiert. Das Produkt wird 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

8.1.2.12 Synthetisierte 6-unsubstituierte 11,12-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline 91 und Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline:

11-Phenyl-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (110)



C₂₁H₁₅N₃ (309.36)

Im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert durch Söммеr, 2012⁸³ Ausbeute: 68 mg (76%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH (5-20%)) eines weißen Feststoffs Schmelzpunkt: 181°C Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

 δ /ppm = 3.23 (d, 1H, H12a, ${}^{2}J_{H-12a/12b}$ = 16,3 Hz), 3.63 (dd, 1H, H-12b, ${}^{2}J_{H-12b/12a}$ = 16,3 Hz, ${}^{3}J_{H-12b/H-11}$ = 7,7 Hz), 4.95 (d, 1H, ${}^{3}J_{H-11/H12b}$ = 7,7 Hz), 6.95 (dd, 2H, H-2',H-6', ${}^{3}J$ = 7,5 Hz, ${}^{4}J$ = 2,5 Hz) 7.06 (d, 1H, H-1, 3J = 5,1 Hz) 7.14 (m, 3H, H-3',H-4', H-5') 7.64 (d, 1H, H-10, ${}^{3}J$ = 6,0) 8.51 (d, 1H, H-2, ${}^{3}J$ = 5,1 Hz) 8.66 (d, 1H, H-9, ${}^{3}J$ =6,0) 9.41 (s, 1H, H-7) 9.47 (s, 1H, H-6) 9.67 (s, 1H, H-4).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):

δ/ppm = 35.5 (C-12), 38.1 (C-11), 115.7, 123.4 (2C), 127.2, 127.3 (2C), 128.9 (2C), 137.7, 128.5, 129.1, 130.0, 143.5, 147.0, 147.8 (2C), 150.6, 152.5, 153.3.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3059, 2889, 1611, 1599, 1555, 1430, 1415, 1372, 1034.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 310 ([M+H]+, 100 %).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 310.1339, m/z gefunden für [M+H]⁺: 310.1316.

11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (112)



C₂₄H₁₉N₃O₃ (397.43)

Ausbeute:63 mg (68%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH2Cl2/MeOH
(5-20%)) eines weißen FeststoffsSchmelzpunkt:249°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

 δ /ppm = 3.84 (s, 6H, 2 x OCH₃), 4.01 (s, 3H, OCH₃), 6.68 (s, 2H, Ar-H), 7.33-7.38 (m, 1H, Ar-H, ³J = 6.2 Hz, ⁵J = 0.9 Hz), 7.77 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 5.6 Hz, ⁴J = 0.9 Hz), 7.90 (s, 1H, Ar-H), 8.56 (d, 1H, Ar-H, ³J = 6.2 Hz), 8.87 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.6 Hz), 9.51 (d, 1H, Ar-H, J = 0.9 Hz), 9.63 (d, 1H, Ar-H, J = 0.8 Hz), 10.76 (s, 1H, Ar-H).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):

δ/ppm = 56.5 (2C, 2 x OCH₃), 61.4 (OCH₃), 106.1 (2C), 119.2, 119.3, 119.8, 122.9, 129.0, 136.2, 137.0, 137.7, 142.5, 145.1, 146.6, 147.8, 148.1, 150.5, 150.7, 153.0, 153.1, 154.2 (2C).

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3045, 2938, 1610, 1577, 1417, 1345, 1117, 1005, 830.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 398 ([M+H]⁺, 100%), 200 ([M+2H]⁺⁺, 46%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 398.1499, m/z gefunden für [M+H]⁺: 398.1482.

11,12-Dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (111)



C₁₅H₁₁N₃ (233.27)

Im Rahmen dieser A	Arbeit	synthe	etisiert d	urch Sömmer, 2012 ⁸³		
Ausbeute:	53	mg	(60%,	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH
	(5-2	0%)) e	eines we	ißen Feststoffs		
Schmelzpunkt:	235	°C unt	er Zerse	tzung		

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃):

 δ /ppm = 3.09 (t, 2H, H-12a,b, ³*J* = 7.4 Hz), 3.31 (t, 2H, H-11a,b, ³*J* = 7.4 Hz), 7.22 (d, 1H, H-1, ³*J* = 4.9 Hz), 7.80 (d, 1H, H-10, ³*J* = 6.1 Hz), 8.58 (d, 1H, H-10, ³*J* = 4.9 Hz), 8.78 (d, 1H, H-9, ³*J* = 6.1 Hz), 9.37 (s, 1H, H-6), 9.41 (s, 1H, H-7), 9.58 (s, 1H, H-4).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃):

δ/ppm = 21.6 (C-11), 26.9 (C-12), 115.4 (C-10), 122.5 (C-1), 123.0 (C-6a), 123.9 (C-10b), 130.0 (C-4a), 137.4 (C-10a), 145.7 (C-12a), 147.3 (C-4), 147.5 (2C, C-4b, C-9), 150.2 (C-2) 151.5 (C-6) 153.4 (C-7).

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3051, 3013, 1613, 1598, 1570, 1493, 1039.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 234 ([M+H]⁺, 100%).

HRMS (ESI):

m/z berechnet für [M+H]⁺: 234.10257, m/z gefunden für [M+H]⁺: 234.10271.

Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin (31)



C₁₅H₉N₃ (231.25)

Im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert durch Söммеr, 2012⁸³ Synthesevorschrift:

50 mg (0.21 mmol) 11,12-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (**111**) wurden nach Vorschrift 8.1.2.5 dehydriert.

Ausbeute:	35	mg	(70%,	Flashchromatographie,	Kieselgel,	CH ₂ Cl ₂ /MeOH
	(10%	%)) eir	ies weiß	en Feststoffs		
Schmelzpunkt:	235	°C unt	er Zerse	tzung		

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d₆*, Trifluoressigsäure-*d*₁ (5:1)):

 δ /ppm = δ = 8.62 (d, 1H, H-12, ³J= 9.1 Hz), 8.76 (d, 1H, H-1, ³J= 6.4 Hz), 9.22 (d, 1H, H-9, ³J= 6.3 Hz), 9.24 (d, 1H, H-10, ³J= 6.3 Hz), 9.53 (d, 1H, H-11, ³J= 9.1 Hz), 9.84 (d, 1H, H-2, ³J= 6.4 Hz), 10.09, 10.11, 10.75 (3 × s, 3H, H-6, H-7, H-4).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, Trifluoressigsäure-*d*₁(5:1)):

δ/ppm = 119.4 (C-10), 121.5 (C-10b), 122.5 (C-6a), 125.6 (C-1), 126.1 (C-4a), 127.5 (C-12), 132.2 (C-11), 136.3 (C-2), 138.8 (C-10a), 141.8 (C-12a), 143.8 (C-9), 144.2 (C-4b), 144.5 (C-4), 150.9 (C-7), 155.5 (C-6).

¹⁵N-NMR (30 MHz, DMSO- d_6 , Trifluoressigsäure- d_1 (5:1) + 0.2% Nitromethan (externer Standard in DMSO- d_6): δ/ppm = -79.9 (N-5), -128.1 (N-8), -177.3 (N-3).

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 2962, 1615, 1599, 1571, 1398, 1259, 1070.

MS (ESI):

m/z = 232 ([M+H]⁺, 100 %).

<u>Elementaranalyse (C₁₅H₉N₃ · 1.5 H₂O)</u> :							
Berechnet:	C 69.76	H 4.68	N 16.27,				
gefunden:	C 69.29	H 4.20	N 15.92.				

8.1.2.13 Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der 11,12-Dihydropyrido[3,4c][1,9]phenanthroline 142 und Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 146 mit Dimethylaminoalkylamino-Seitenkette in 6-Position:

100 mg des entsprechenden 6-Chlor-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolins **92** oder 6-Chlorpyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolins **112** werden in 5 mL (4.72 g, 53.5 mmol, \approx 200-facher Überschuss) des entsprechenden ω -Dimethylaminoalkylamins gelöst und eine Stunde lang bei 50°C erhitzt. Das überschüssige Amin wird nach Beendigung der Reaktionszeit im Hochvakuum weitesgehend abdestilliert und das verbleibende Öl mit 10 mL Wasser versetzt. Der erhaltene Rückstand wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt kann flashchromatographisch an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/-Methanol (10-30%)) aufgereinigt werden und wird anschließend 24 Stunden im Ölpumpen-vakuum getrocknet.

8.1.2.14 Synthesevorschrift zum Ausfällen der 6-(2-Dimethylaminoalkylamino)-seitenkettentragenden Verbindungen 142 als Hydrochlorid-Salze (optional):

Das aufgereinigte und getrocknete Produkt nach **8.1.2.13** wird in 100 mL frisch destilliertem Dichlormethan gelöst und für maximal 5 min mit HCl(g) begast (mindestens bis zur Entstehung eines persistierenden Niederschlags). Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der erhaltene Feststoff 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

8.1.2.15 Synthetisierte 6-(2-dimethylaminoethylamino)-11,12-dihydropyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 142 und 6-(2-dimethylaminoethylamino)pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 146:

11-(3-Chlorphenyl)-6-(2-dimethylaminoethylamino)-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinhydrochlorid (144)



$C_{25}H_{25}Cl_2N_5$ (466.41)

Ausbeute:

111 mg (90%, gefällt als Hydrochlorid nach flashchromatographischer Aufreinigung, Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH (10-30%)) eines grünlich gelben Feststoffs 185°C

Schmelzpunkt:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d₆*):

 δ /ppm = 2.90 (m, 6H, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 3.53 (q, 2H, H-2'), 3.60 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 17.4 Hz), 3.80 (dd, 1H, H-12-b, ²J_{H-12b/H-12a} = 17.4 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.8 Hz), 4.17 (m, 2H, H-1'), 5.20 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.7 Hz), 6.80-6.88 (m, 1H, H-6''), 7.09-7.17(m, 1H, H-5''), 7.17-7.23 (m, 1H, H-4''), 7.30 (m, 1H, H-2''), 7.94 (d, 1H, H-1, ³J = 5.7 Hz), 8.06 (d, 1H, H-10, ³J = 6.7 Hz), 8.72 (d, 1H, H-9, ³J = 6.7 Hz), 8.80 (d, 1H, H-3, ³J = 5.7 Hz), 9.61 (m, 1H, R<u>NH</u>R), 9.73 (s, 1H, H-4), 10.25 (s, 1H, H-7), 11.01 (m, 1H, R<u>HN</u>(CH₃)₂).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d₆*):

δ/ppm = 34.8 (C-11), 35.5 (C-12), 36.0 (C-1'), 42.2, 42.3 (2C, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 54.5 (C-2'), 114.1 (2C), 119.1, 125.6, 126.4, 127.1, 127.3, 130.5, 132.2, 133.3, 139.1, 142.5, 142.7, 144.1, 144.3, 147.5, 154.7, 156.0.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3368, 3224, 3016, 2584, 1637, 1585, 1551, 1454, 1349, 823, 793.

<u>MS (ESI):</u>

 $m/z = 432 ([M+H]^+, {}^{37}Cl, 35\%), 430 ([M+H]^+, {}^{35}Cl, 100\%), 385 ([M-C_2H_7N+H]^+, {}^{35}Cl, 25\%), 361 ([M-C_4H9N+H]^+, {}^{37}Cl, 24\%), 359 ([M-C_4H_9N+H]^+, {}^{35}Cl, 71\%), 193 ([M-C_2H_7N+2H]^{++}, {}^{35}Cl, 20\%), 137 (6\%).$

HRMS (ESI):

m/z berechnet für [M+H]⁺: 431.1633, m/z gefunden für [M+H]⁺: 431.1622.

11-(3-Chlorphenyl)-6-(3-dimethylaminopropylamino)-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phen-anthrolin (145)



C₂₆H₂₆CIN₅ (443.97)

Ausbeute:

Schmelzpunkt:

104 mg (89%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH (10-30%)) eines ockergelben Feststoffs 179°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 1.92 (m, 2H, H-2'), 2.19 (s, 6H, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 2.41 (t, 2H, H-3'), 3.16 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.4 Hz), 3.53 (dd, 1H, H-12-b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.4 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.4 Hz), 3.71 (m, 2H, H-1'), 4.89 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.4 Hz), 6.83 (m, 1H, H-6''), 7.07-7.17 (m, 3H, H-2'', H-4'', H-5''), 7.20 (d, 1H, H-1, ³J = 4.9 Hz), 7.56 (d, 1H, H-10, ³J = 5.9 Hz), 8.20 (m, 1H, R<u>NH</u>R), 8.42 (d, 1H, H-2, ³J = 4.9 Hz), 8.56 (d, 1H, H-9, ³J = 459 Hz), 9.41 (s, 1H, H-4), 9.56 (s, 1H, H-7).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 25.5 (C-2'), 34.9 (C-12), 35.5 (C-11), 39.5 (C-3'), 45.2 (2C, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 57.2 (C-1'), 112.6, 113.3, 115.6, 123.2, 125.7, 126.5, 127.1, 130.1, 130.2, 132.9, 139.1, 143.8, 145.6, 145.7, 145.8, 147.8, 148.0, 149.8, 155.0.

Das Signal von C-3' bei 39.5 ppm ist nur im 13 C-DEPT-Spektrum sichtbar, da es vom DMSO- d_6 Signal überlagert wird.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3383, 2971, 2693, 1634, 1600, 1553, 1468, 1006, 989, 824.

MS (ESI):

 $m/z = 446 ([M+H]^+, {}^{37}Cl, 24\%), 444 ([M+H]^+, {}^{35}Cl, 60\%), 361 ([M-C_4H_9N+H]^+, {}^{37}Cl, 21\%), 359 ([M-C_4H_9N+H]^+, {}^{35}Cl, 39\%), 223 ([M+2H]^{++}, {}^{35}Cl, 100\%).$

6-(2-Dimethylaminoethylamino)-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (146)



C₂₈H₂₉N₅O₃ (483.56) Ausbeute:

Schmelzpunkt:

52 mg (93%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH (10-30%)) eines gelben Feststoffs 220°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 2.30 (s, 6H, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 2.72 (t, 2H, H-2'), 3.73 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.91 (q, 2H, H-1'), 6.77 (s, 1H, H-2'', H-6''), 7.16 (d, 1H, H-10, ³J = 6.0 Hz), 7.57 (s, 1H, H-12), 7.82 (d, 1H, H-1, ³J = 5.7 Hz), 8.39 (t, 1H, R<u>NH</u>R), 8.44 (d, 1H, H-9, ³J = 6.0 Hz), 8.67 (d, 1H, H-2, ³J = 5.6 Hz), 9.64 (s, 1H, H-7), 10.32 (s, 1H, H-4).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 39.1 (C-1'), 45.4 (2C, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 56.1 (2C, 2 x OCH₃), 57.7 (C-2'), 60.3 (OCH₃), 106.0 (2C), 112.8, 114.3, 118.8, 119.8, 122.4, 123.9, 136.2, 137.4, 138.0, 138.2, 142.3, 145.5, 145.6, 147.1, 147.7, 149.4, 153.4 (2C), 153.9.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3286, 3000, 2939, 1608, 1566, 1409, 1344, 1230, 1124, 828.

<u>MS (ESI):</u>

 $m/z = 484 ([M+H]^+, 100\%), 413 ([M-C_4H_9N+H]^+, 19\%), 243 ([M+2H]^{++}, 21\%), 220 (13\%).$

HRMS (ESI):

m/z berechnet für [M+H]⁺: 484.2343, m/z gefunden für [M+H]⁺: 484.2328.

6-(2-Dimethylaminoethylamino)-11-phenyl-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (143)



C₂₅H₂₅N₅ (395.50) Ausbeute: Schnelzpunkt:

8 mg (41%, Rohprodukt) eines gelben Feststoffs 232 °C
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d₆*):

 δ /ppm = 2.28 (s, 6H, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 2.66 (m, 2H, H-2'), 3.15 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 16.4 Hz), 3.54 (dd, 1H, H-12-b, ²J_{H-12b/H-12a} = 16.5 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.4 Hz), 3.80 (mc, 2H, H-1'), 4.85 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.4 Hz), 6.92-7.17 (m, 5H, Ar-H), 7.19 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.7 Hz), 7.55 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.9 Hz), 8.04 (m, 1H, R<u>NH</u>R), 8.40 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.8 Hz), 8.54 (d, 1H, Ar-H, ³J = 5.8 Hz), 9.41 (s, 1H, Ar-H), 9.57 (s, 1H, Ar-H).

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 396 ([M+H]⁺, 100%), 414 ([M-C₄H₉N+H]⁺, 77%), 248 ([M-C₄H₉N-Benzen+H]⁺⁺, 5%), 176 (43%), 137 (10%).

8.1.2.16 Allgemeine Vorschrift zur Darstellung der 11,12-Dihyropyrido[3,4c][1,9]phenanthroline 149 und Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline 151, 152 mit Dimethylaminoalkyloxy-Seitenkette in 6-Position:

a) Variante nach KISELEV et al., 2011 (Mitsunobu Reaktion): ¹⁰¹

Das entsprechende 5,6,11,12-Tetrahydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-on **99** oder 5,6-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-on **98** (300 mg) wird mit Triphenylphosphin (3 eq.) in 10 – 50 mL frisch getrocknetem THF gelöst. Anschließend werden nacheinander 3 Moläquivalente des entsprechenden ω -Dimethylaminoalkylalkohols und DIAD (3 eq.) hinzugetropft. Die Suspension wird unter Ausschluss von Wasser 72 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich nach und nach eine klare Lösung ergibt. Nach Beendigung der Reaktion wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der erhaltene Feststoff im Vakuum getrocknet. Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgt per Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (10-30%)) und das resultierende Produkt wird im Anschluss 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

b) Variante nach GENÈS et al., 2011, modifiziert: ⁹⁵

100 mg des zu derivatisierenden 5,6-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin-6-ons **98** werden bei 0°C mit 1.5 Moläquivalenten Nal und dem der einzuführenden Seitenkette entsprechenden ω -Dimethylaminoalkylchlorid hydrochlorid (1.1 eq.) in 20 mL trockenem DMF gelöst und anschließend mit Natriumhydrid (60% als Mineralölsuspension, 3 eq.) portionsweise 5 min lang versetzt. Die Mischung wird 45 min lang gerührt während die Temperatur auf Raumtemperatur ansteigt. Das Reaktionsgefäß wird dann in ein auf 65°C vorgeheiztes Ölbad überführt und 3 Stunden bei 110°C erhitzt. Nachdem die Edukte umgesetzt worden sind (DC-Kontrolle), wird auf Raumtemperatur gekühlt und die Reaktion durch Zugabe weniger Tropfen Wasser gequencht.

Nach dem Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wird das zurückbleibende Öl auf 50 mL Eiswasser hydrolysiert, der dabei entstehende Niederschlag wird abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Die Aufarbeitung gelingt durch Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Dichlormethan/Methanol (10-30%)), der entstehende Feststoff wird 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

8.1.2.17 Synthesevorschrift zum Ausfällen der 6-(2-Dimethylaminoalkyloxy)seitenkettentragenden Verbindungen 149 als Hydrochlorid-Salze (optional):

Das aufgereinigte und getrocknete Produkt nach **8.1.2.16** wird in 100 mL frisch destilliertem Dichlormethan gelöst und für maximal 5 min mit HCl(g) begast (mindestens bis zur Entstehung eines persistierenden Niederschlags). Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der erhaltene Feststoff 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

8.1.2.18 Synthetisierte 6-(2-dimethylaminoethoxy)-11,12-dihydropyrido[3,4c][1,9]phenanthroline 149 und 6-(2-dimethylaminoethoxy)-pyrido-[3,4-c][1,9]phenanthroline 151, 152:

11-(3-Chlorphenyl)-6-(2-dimethylaminoethoxy)-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phen-anthrolinhydrochlorid (147)



C₂₅H₂₄Cl₂N₄O (467.39)

Ausbeute:	177 mg (45%, als Hydrochlorid gefällt nach flashchromato-
	graphischer Aufreinigung, Kieselgel, CH ₂ Cl ₂ /MeOH (10-30%))
	eines gelben Feststoffs
Schmelzpunkt:	188°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 2.93 (t, 6H, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 3.62 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 17.2 Hz), 3.75 (q, 2H, H-2', ³J = 5.1 Hz), 3.84 (dd, 1H, H-12-b, ²J_{H-12b/H-12a} = 17.3 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 7.9 Hz), 5.15 (m, 2H, H-1'), 5.32 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b} = 7.8 Hz), 6.80-6.86 (m, 1H, H-6", ³J = 7.7 Hz), 7.14 (m, 1H, H-5", ³J = 7.8 Hz), 7.18-7.23 (m, 1H, H-4", ³J = 7.8 Hz), 7.30 (m, 1H, H-2"), 7.94 (d, 1H, H-1, ³J = 5.7 Hz), 8.05 (d, 1H, H-10, ³J = 6.4 Hz), 8.80 (d, 1H, H-2, ³J = 5.7 Hz), 8.85 (d, 1H, H-9, ³J = 6.3 Hz), 9.60 (s, 1H, H-4), 10.09 (s, 1H-H-7), 11.21 (m, 1H, R<u>HN(CH₃)₂).</u>

¹³C-NMR (75 MHz DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 35.0 (C-12), 35.2 (C-11), 42.3, 42.4 (2C, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 54.7 (C-2'), 61.4 (C-1'), 114.8, 117.6, 120.8, 125.7, 126.4, 127.1, 127.3, 130.5, 131.8, 133.4, 138.5, 140.9, 142.9, 134.3, 143.7, 145.5, 148.4, 160.0.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3364, 2970, 2468, 1632, 1592, 1561, 1465, 1425, 1342, 829.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 433 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 18%), 431 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 44%), 362 ([M-C₄H₉N+H]⁺, ³⁷Cl, 35%), 360 ([M-C₄H₁₀N'+H]⁺, ³⁵Cl, 100%), 343 (3%), 248 ([M-3-Chlorbenzen+H]⁺, 6%).

HRMS (ESI):

m/z berechnet für [M+H]⁺: 431.1633, m/z gefunden für [M+H]⁺: 431.1613. 11-(3-Chlorphenyl)-6-(3-dimethylaminopropoxy)-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phen-anthrolinhydrochlorid (150)



C₂₆H₂₆Cl₂N₄O (481.42)

Ausbeute:

355 mg (89%, als Hydrochlorid gefällt nach flashchromatographischer Aufreinigung, Kieselgel, $CH_2Cl_2/MeOH$ (10-30%)) eines gelben Feststoffs 224°C

Schmelzpunkt:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 2.42 (m, 2H, H-2'), 2.82 (d, 6H, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 3.43 (m, 2H, H-3'), 3.64 (d, 1H, H-12a, ²J_{H-12a/H-12b} = 17.4 Hz), 3.85 (dd, 1H, H-12-b, ²J_{H-12b/H-12a} = 17.4 Hz, ³J_{H-12b/H-11} = 8.0 Hz), 4.89 (m, 1H, H-1'), 5.32 (d, 1H, H-11, ³J_{H11/H12-b}= 7.9 Hz), 6.80-6.86 (m, 1H, H-6", ³J = 7.7 Hz), 7.13 (t, 1H, H-5", ³J = 7.8 Hz), 7.17-7.43 (m, 1H, H-4", ³J = 7.8 Hz), 7.32 (m, 1H, H-2"), 7.98 (d, 1H, H-1, ³J = 5.7 Hz), 8.05 (d, 1H, H-10, ³J = 6.3 Hz), 8.83 (d, 1H, H-2, ³J = 5.7 Hz), 8.85 (d, 1H, H-9, ³J = 6.3 Hz), 9.58 (s, 1H, H-4), 9.81 (s, 1H-H-7), 11.21 (m, 1H, R<u>HN</u>(CH₃)₂).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 23.4 (C-2'), 35.0 (C-11), 35.2 (C-12), 41.9 (2C, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 53.8 (C-3'), 64.6 (C-1'), 114.9, 117.8, 120.5, 125.7, 126.6, 127.1, 127.3, 130.5, 132.1, 133.4, 137.9, 141.0, 142.3, 143.4, 143.7, 145.4, 147.5, 154.4, 160.5.

<u>MS (ESI):</u>

 $m/z = 447 ([M+H]^+, {}^{37}Cl, 20\%), 445 ([M+H]^+, {}^{35}Cl, 44\%), 362 ([M-C_4H_9N+H]^+, {}^{37}Cl, 36\%), 360 ([M-C_4H_9N+H]^+, {}^{35}Cl, 100\%), 224 ([M+2H]^{++}, {}^{37}Cl, 21\%), 223 ([M+2H]^{++}, {}^{35}Cl, 21\%).$

Das Produkt hat sich nach einer Woche Lagerung bei Raumtemperatur an der Luft zersetzt. (HPLC-Kontrolle).

6-(2-Dimethylaminoethoxy)-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolinhydrochlorid (151)



C₂₈H₂₉ClN₄O₄ (521.01)

Ausbeute:

274 mg (72%, gefällt als Hydrochlorid nach flashchromatographischer Aufreinigung, Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH (10-30%)) eines gelben Feststoffs 206°C

Schmelzpunkt:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 2.96 (d, 6H, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 3.74 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.81 (s, 5H, OCH₃, H-2'), 5.33 (m, 2H, H-1'), 6.88 (s, 2H, H-2'', H-6''), 7.37 (dd, 1H, H-10, ³J = 6.2 Hz, ⁴J = 0.8 Hz), 8.28 (s, 1H, H-12), 8.56 (d, 1H, H-1, ³J = 6.3 Hz), 8.74 (d, 1H, H-9, ³J = 6.2 Hz), 8.95 (d, 1H, H-2, ³J = 6.3 Hz), 10.08 (d, 1H, H-7, J = 0.7 Hz), 10.64 (s, 1H, H-4), 11.25 (m, 1H, R<u>HN</u>(CH₃)₂).

Das Signal der Methylenprotonen an C-2' wird durch das Singulett der Methoxygruppe bei 3.81 überlagert.

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 42.5 (2C, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 54.8 (C-2'), 56.2 (2C, 2 x OCH₃), 60.4 (OCH₃), 61.8 (C-1'), 106.0 (2C), 115.3, 118.0, 119.2, 124.0, 124.1, 126.0, 136.1, 136.5, 138.2, 139.0, 139.6, 143.8, 144.3, 147.1, 148.9, 153.7 (2C), 159.6.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3399, 2946, 2467, 1639, 1606, 1578, 1453, 1412, 1338, 1111, 988.

<u>MS (ESI):</u>

 $m/z = 485 ([M+H]^+, 41\%), 414 ([M-C_4H_9N+H]^+, 100\%), 243 ([M+2H]^{++}, 44\%).$

<u>Elementaranalyse (C₂₈H₂₈N₄O₄ · 3 HCl)</u> :			
Berechnet:	C 56.62	H 5.26	Ν

Berechnet:	C 56.62	H 5.26	N 9.43,
gefunden:	C 56.20	H 5.52	N 9.40.

6-(3-Dimethylaminopropoxy)-11-(3,4,5-trimethoxyphenyl)pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin (152)



C₂₉H₃₀N₄O₄ (498.57)

Ausbeute:

Schmelzpunkt:

163 mg (55%, Flashchromatographie, Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH (10-30%)) eines gelben Feststoffs
172°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆ + 1% DCl (36%) in D₂O): δ/ppm = 2.46 (m, 2H, H-2'), 2.83 (s, 6H, RHN(<u>CH</u>₃)₂), 3.49 (m, 2H, H-3'), 3.72 (s, 6H, 2 x OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 5.07 (t, 2H, H-1'), 6.90 (s, 2H, H-2'', H-6''), 7.71 (dd, 1H, H-10, ³*J* = 6.6 Hz), 8.37 (s, 1H, H-12), 8.66 (d, 1H, H-1, ³*J* = 6.5 Hz), 8.83 (d, 1H, H-9, ³*J* = 6.6 Hz), 8.96 (d, 1H, H-2, ³*J* = 6.4 Hz), 10.10 (s, 1H, H-7, *J* = 0.7 Hz), 10.64 (s, 1H, H-4).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆ + 1% DCl (36%) in D₂O):

δ/ppm = 23.3 (C-2'), 42.2 (2C, RHN(<u>CH₃</u>)₂), 53.9 (C-3'), 56.5 (2C, 2 x OCH₃), 60.7 (OCH₃), 66.0 (C-1'), 106.4 (2C), 116.9, 117.6, 122.6, 124.2, 125.0, 126.6, 135.5, 135.7, 138.7, 139.5, 140.6, 143.4, 144.1, 144.5, 146.4, 148.1, 154.1 (2C), 160.4.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3363, 2936, 2834, 1610, 1566, 1407, 1343, 1230, 1126, 1112, 830.

MS (ESI):

m/z = 499 ([M+H]⁺, 51%), 414 ([M-C₅H₁₁N+H]⁺, 100%), 250 ([M+2H]⁺⁺, 73%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 499.2345, m/z gefunden für [M+H]⁺: 499.2326.

8.1.2.19 Allgemeine Vorschriften zur Darstellung unterschiedlich substituierter Nitrile:

2,6-Dimethoxy-4-methylpyridin-3-carbonitril (129)



$C_9H_{10}N_2O_2$ (178.19)

Modifizierte Synthesevorschrift in Anlehnung an DAINTER et al.:⁶⁷

374 mg (2.00 mmol) 2,6-Dichlor-4-methylpyridin-3-carbonitril (**128**) werden in 10 mL trockenem Methanol gelöst und langsam zu einer Lösung aus 200 mg (8.7 mmol) Natrium in 5 mL trockenem Methanol getropft. Die Lösung wird 2 Stunden bei 50°C gerührt. Nach Beendigung der Reaktionszeit wird auf 100 mL Eiswasser hydrolysiert und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan/Ethylacetat (20%)).

Ausbeute:	275 mg (77%) eines weißen Feststoffs
Schmelzpunkt:	107°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ/ppm = 2.26 (d, 3H, Ar-<u>CH₃</u>, ⁴J = 0.7 Hz), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 3.97 (s, 3H, OCH₃), 6.48 (d, 1H, H-5, ⁴J = 0.7 Hz).

<u>MS (ESI):</u> m/z = 179 ([M+H]⁺, 100%), 164 (36%), 147 (9%).

Die analytischen Daten entsprechen den Angaben in der Literatur [Sакамото *et al.*, 2003].¹⁹³

2-Chlor-4-methylpyridin-3-carbonitril (135)



C7H5CIN2 (152.58)

Modifizierte Synthesevorschrift in Anlehnung an KISELEV et al.:90

200 mg (1.07 mmol) 2,6-Dichlor-4-methylpyridin-3-carbonitril (**128**) werden in 20 mL Methanol gelöst und 1,35 g (21.4 mmol, 20 eq.) Ammoniumformiat, sowie 2 mg (1 Gewichtsprozent) Palladium (5%) auf Aktivkohle hinzugegeben. Die Suspension wird 5 Stunden lang bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wird das Filtrat auf 50 mL Wasser gegossen und mit Dichlormethan (3 x 50 mL) extrahiert. Die wässrige Phase wird mit 3 x 25 mL CH_2Cl_2 extrahiert, die vereinigten organischen Phasen erneut mit Wasser (3 x 25 mL) gewaschen, letztere mit Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeengt. Der Rückstand wird mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan/Ethylacetat (20-40%)) aufgereinigt und 24 h im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute:	17 mg (10%) eines weißen Feststoffs
Schmelzpunkt:	109°C

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ/ppm = 2.60 (d, 3H, Ar-<u>CH₃</u>, ⁴J = 0.7 Hz), 7.23 (dd, 1H, H-5, ³J = 5.2 Hz, ⁴J = 0.7 Hz), 8.43 (d, 1H, H-6, ³J = 5.2 Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): δ/ppm = 20.9 (CH₃), 111.7, 114.0, 123.7, 151.8, 153.4, 154.9.

<u>MS (ESI):</u> m/z = 153 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 100%), 155 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 39%).

Die analytischen Daten entsprechen den Angaben in der Literatur [KISELEV et al., 2012].⁹⁰

2-Methoxy-4-methylpyridin-3-carbonitril (136)



C₈H₈N₂O (148.16)

Modifizierte Synthesevorschrift in Anlehnung an DAINTER et al.:⁶⁷

500 mg (3.3 mmol) 2-Chlor-4-methylpyridin-3-carbonitril (**135**) werden in 10 mL trockenem Methanol gelöst und langsam zu einer Lösung aus 100 mg (4.35 mmol) Natrium in 5 mL trockenem Methanol getropft. Die Lösung wird 2 Stunden bei 50°C gerührt. Nach Beendigung der Reaktionszeit wird auf 100 mL Eiswasser hydrolysiert und der entstandene Niederschlag abfiltriert. Die Aufreinigung des Rohprodukts erfolgt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Cyclohexan/Ethylacetat (20%)).

Ausbeute:	285 mg (58%) eines weißen Feststoffs
Schmelzpunkt:	298°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ/ppm = 2.51 (d, 3H, Ar-<u>CH₃</u>, ⁴J = 0.5 Hz), 4.04 (s, 3H, OCH₃), 6.84 (dd, 1H, H-5, ³J = 5.3 Hz, ⁴J = 0.6 Hz), 8.18 (d, 1H, H-6, ³J = 5.3 Hz).

<u>MS (ESI):</u> m/z = 149 ([M+H]⁺, 100%).

Die analytischen Daten entsprechen den Angaben der Literatur von VICTORY et al., 1993.¹⁹⁴

8.1.2.20 Allgemeine Vorschrift zur Darstellung 6-substituierter 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole 40 nach LÄNGLE, STEINHAUER, 2011, 2010 und STENZEL:^{61,163,108,109}

650 mg (5.8 mmol) KO^tBu werden im Stickstoffstrom mit 5-10 mL DMPU versetzt und anschließend unter Rühren mit Hilfe eines Eisbades auf eine Temperatur von 0°C gebracht. Im Anschluss wird vorsichtig eine Lösung von 2.1 mmol des entsprechenden Aldehydes und 500 mg (4.2 mmol) 3-Methylpyridin-2-carbonitril (**38**) in 5-10 mL DMPU dazugetropft und eine Stunde bei 0°C und anschließend eine Stunde bei 8°C gerührt. Nach Beendigung der Reaktionszeit wird in 250 mL Wasser hydrolysiert und für zwei weitere Stunden gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt und für 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet. Die Aufreinigung des Rohproduktes erfolgte säulenchromatographisch an Kieselgel mit dem Fließmittel Ethylacetat. Der erhaltene Feststoff wird erneut 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

8.1.2.21 Synthetisierte 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole 40:

6-(3-Methoxyphenyl)-5,6-dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol (159)



C₂₁H₁₇N₃O (327.38)

Nach 8.1.2.20 durch Umsetzung von 3-Methoxybenzaldehyd (286 mg, 2.1 mmol)Im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert durch LÄNGLE, STEINHAUER, 2011.Ausbeute:91 mg (13%) eines weißen FeststoffsSchmelzpunkt:220°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

 δ /ppm = 3.35 (dd, 1H, H-5a, ²J_{H5a/H5b} = 16.2 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.4 Hz), 3.55 (dd, 1H, H-5b, ²J_{H5a/H6} = 16.2 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.4 Hz), 3.67 (s, 3H, OCH₃), 4.66 (t, 1H, H-6, ³J = 7.4 Hz), 6.82 (m, 3H, Ar-H), 7.10 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 8.0 Hz, ³J = 4.9 Hz), 7.19 (t, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz), 7.46 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.6 Hz, ³J = 5.3 Hz), 7.52 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 7.97 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 8.32 (dd, 1H, ³J = 4.9 Hz, ³J = 1.5 Hz), 8.57 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 5.3 Hz, ⁴J = 1.5 Hz).

13 C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

δ/ppm = 36.4 (C-5), 36.7 (C-6), 54.9 (OCH₃), 112.0, 113.6, 116.3, 118.8, 119.2, 119.6, 123.4, 129.7, 130.1, 130.8, 132.6, 139.1, 143.2 (2C), 144.0, 144.8, 147.6, 159.4.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3070, 1635, 1585, 1425, 1268, 1045, 788, 774.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 328 ([M+H]⁺, 100%).

6-(2,4-Dimethoxyphenyl)-5,6-dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (160)



C₂₂H₁₉N₃O₂ (357.41)

Nach 8.1.2.20 durch Um	setzung von 2,4-Dimethoxybenzaldehyd (349 mg, 2.1 mmol)
Im Rahmen dieser Arbei	t synthetisiert durch Längle, Steinhauer, 2011. ¹⁶³
Ausbeute:	152 mg (20%) eines weißen Feststoffs
Schmelzpunkt:	245°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.15 (dd, 1H, H-5a, ²J_{H5a/H5b} = 16.0 Hz, ³J_{H5a/H6} = 6.9 Hz), 3.38 (dd, 1H, H-5b, ²J_{H5a/H6} = 16.0 Hz, ³J_{H5a/H6} = 6.9 Hz), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃), 4.80 (t, 1H, H-6, ³J = 6.9 Hz), 6.56 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 2.4 Hz), 6.56 (d, 1H, Ar-H, ³J = 8.4 Hz), 6.61 (d, 1H, Ar-H, ⁴J = 2.4 Hz), 6.94 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ³J = 4.7 Hz), 7.18 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.5 Hz, ³J = 4.9 Hz), 7.34 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 1.6 Hz), 7.59 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.5 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 8.20 (dd, 1H, ³J = 4.7 Hz, ⁴J = 1.6 Hz), 8.45 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 12.25 (br s, 1H, NH).

 $\frac{13}{C-NMR}$ (75 MHz, DMSO- d_6):

δ/ppm = 29.3 (C-6), 35.6 (C-5), 55.0 (OCH₃), 55.6 (OCH₃), 98.6, 104.5, 115.3, 115.6, 118.8, 122.2, 123.1, 127.3, 128.4, 130.9, 134.1, 135.9, 143.5, 146.8, 147.1, 149.5, 157.3, 159.2.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 2935, 2833, 1610, 1580, 1505, 1434, 1285, 1206, 1155, 1041, 785, 774.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 358 ([M+H]⁺, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 358.1550, m/z gefunden für [M+H]⁺: 358.1553. 6-(2,3,4-Trimethoxyphenyl)-5,6-dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (161)



$C_{23}H_{21}N_3O_3$ (387.43)

Nach 8.1.2.20 durch Umsetzung von 2,3,4-Trimethoxybenzaldehyd (412 mg, 2.1 mmol)Im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert durch Längle, Steinhauer, 2011.Ausbeute:152 mg (20%) eines weißen FeststoffsSchmelzpunkt:229°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.14 (dd, 1H, H-5a, ²J_{H5a/H5b} = 15.9 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.4 Hz), 3.40 (dd, 1H, H-5b, ²J_{H5a/H6} = 15.9 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.4 Hz), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.79 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 4.78 (t, 1H, H-6, ³J = 7.4 Hz), 6.47 (d, 1H, Ar-H, ³J = 8.7 Hz), 6.59 (d, 1H, Ar-H, ³J = 8.7 Hz), 6.93 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 4.7 Hz), 7.20 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.5 Hz, ³J = 4.9 Hz), 7.28 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 1.6 Hz), 7.62 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 1.6 Hz), 8.20 (dd, 1H, ³J = 4.7 Hz, ⁴J = 1.6 Hz), 8.46 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 12.27 (br s, 1H, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 30.1 (C-6), 36.5 (C-5), 55.7 (OCH₃), 60.3 (OCH₃), 61.1 (OCH₃), 107.8 (C-5), 115.3, 115.6, 118.3, 122.2, 122.4, 127.2, 128.7, 130.7, 130.4, 135.6, 141.7, 134.6, 147.0, 147.1, 149.6, 150.8, 152.0.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 2967, 2935, 1582, 1574, 1493, 1463, 1435, 1416, 1285, 1095, 791.

<u>MS (ESI):</u> m/z = 388 ([M+H]⁺, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 388.1656, m/z gefunden für [M+H]⁺: 388.1652. 6-(2,4,6-Trimethoxyphenyl)-5,6-dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (162)



$C_{23}H_{21}N_3O_3$ (387.43)

Nach 8.1.2.1 durch Umsetzu	ng von 2,4,6-Trimethoxybenzaldehyd (412 mg, 2.1 mmol)
Im Rahmen dieser Arbeit syn	thetisiert durch Längle, Steinhauer, 2011. ¹⁶³
Ausbeute:	184 mg (23%) eines weißen Feststoffs
Schmelzpunkt:	232°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆ + 2% DCl in D₂O):

 δ /ppm = 3.37 (dd, 1H, H-5a, ²J_{H5a/H5b} = 16.2 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.4 Hz), 3.55 (br s, 7H, 2 x OCH₃, H-5b), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 5.19 (t, 1H, H-6, ³J = 7.4 Hz), 6.27 (s, 2H, Ar-H), 7.11 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 8.0 Hz, ³J = 5.0 Hz), 7.36 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 7.53 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.6 Hz, ³J = 5.5 Hz), 8.01 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 6.9 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 8.30 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 5.0 Hz, ⁴J = 1.4 Hz), 8.55 (dd, 1H, ³J = 5.6 Hz, ⁴J = 1.2 Hz).

Das Signal des Protons 5b wird von dem breiten Singulett der Methoxygruppen bei 3.55 ppm überlagert.

Aufgrund der Unlöslichkeit genügender Mengen der Verbindung in gängigen deuterierten Lösungsmitteln gelang die Aufnahme von ¹³C-NMR-Spektren nicht.

<u>IR (ATR):</u> cm⁻¹ = 2937, 2836, 1604, 1574, 1449, 1418, 1200, 1118, 1036, 785, 768.

<u>MS (ESI):</u> m/z = 388 ([M+H]⁺, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 388.1656, m/z gefunden für [M+H]⁺: 388.1652. 6-(3-Chlorphenyl)-5,6-dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (163)



$C_{20}H_{14}CIN_3$ (331.80)

Nach 8.1.2.20 durch Umsetzung von 3-Chlorbenzaldehyd (295 mg, 2.1 mmol		
Im Rahmen dieser Arbeit syn	thetisiert durch Längle, Steinhauer, 2011. ¹⁶³	
Ausbeute:	182 mg (26%) eines weißen Feststoffs	
Schmelzpunkt:	254°C unter Zersetzung	

¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

 δ /ppm = 3.42 (dd, 1H, H-5a, ²J_{H5a/H5b} = 16.6 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.3 Hz), 3.66 (dd, 1H, H-5b, ²J_{H5a/H6} = 16.6 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.3 Hz), 4.86 (t, 1H, H-6, ³J = 7.3 Hz), 7.13-7.18 (m, 1H, Ar-H), 7.24-7-30 (m, 3H, Ar-H), 7.39-7.36 (m, 1H, Ar-H), 7.70 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.7 Hz, ³J = 5.8 Hz), 7.75 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 8.27 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.7 Hz, ⁴J = 1.3 Hz), 8.46 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 5.2 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 8.67 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 5.7 Hz, ⁴J = 1.4 Hz).

13 C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

δ/ppm = 35.9 (C-5), 36.0 (C-6), 117.3, 119.8, 121.3, 124.8, 126.4, 127.4, 127.6, 128.1, 130.8, 132.9, 133.4, 134.1, 139.8, 141.0, 142.9 (2C), 145.1, 145.5.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3053, 2968, 2779, 1574, 1477, 1433, 1286, 787, 772.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 334 ([M+H]⁺, ³⁷Cl, 36%), 332 ([M+H]⁺, ³⁵Cl, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 332.0949 m/z gefunden für [M+H]⁺: 323.0946.

6-(4-Fluorphenyl)-5,6-dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (164)



C₂₀H₁₄FN₃ (315.34)

Nach 8.1.2.20 durch Umsetz	ung von 4-Fluorbenzaldehyd (261 mg, 2.1 mmol)	
Im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert durch LÄNGLE, STEINHAUER, 2011. ¹⁶³		
Ausbeute:	152 mg (20%) eines weißen Feststoffs	
Schmelzpunkt:	251°C unter Zersetzung	

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.20 (dd, 1H, H-5a, ²J_{H5a/H5b} = 16.0 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.4 Hz), 3.44 (dd, 1H, H-5b, ²J_{H5a/H6} = 16.0 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.4 Hz), 4.59 (t, 1H, H-6, ³J = 7.4 Hz), 6.93 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ³J = 4.7 Hz), 7.04-7.14 (m, 2H, Ar-H), 7.21 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.5 Hz, ³J = 4.9 Hz), 7.23-7.30 (m, 3H, Ar-H), 7.64 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.5 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 8.20 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 4.6 Hz, ⁴J = 1.6 Hz), 8.46 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz), 12.31 (br s, 1H, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 36.3 (C-6), 37.2 (C-5), 115.2 (2C), 115.7, 118.2, 122.3, 127.1, 129.2 (2C), 129.3, 130.5, 133.7, 135.7, 140.1, 140.2, 143.8, 147.1, 147.2, 149.7.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3047, 2970, 2777, 1574, 1506, 1434, 1285, 1220, 829, 770.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 316 ([M+H]⁺, 100%).

HRMS (ESI):

m/z berechnet für [M+H]⁺: 316.1245 m/z gefunden für [M+H]⁺: 316.1242. 6-(4-Bromphenyl)-5,6-dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (165)



C₂₀H₁₄BrN₃ (376.25)

Nach 8.1.2.20 durch Umsetzung von 4-Brombenzaldehyd (389 mg, 2.1 mmol)		
Im Rahmen dieser Arbe	it synthetisiert durch Längle, Steinhauer, 2011. ¹⁶³	
Ausbeute:	165 mg (21%) eines weißen Feststoffs	
Schmelzpunkt:	232°C unter Zersetzung	

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.18 (dd, 1H, H-5a, ²J_{H5a/H5b} = 16.0 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.2 Hz), 3.46 (dd, 1H, H-5b, ²J_{H5a/H6} = 16.0 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.2 Hz), 4.57 (t, 1H, H-6, ³J = 7.2 Hz), 6.94 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ³J = 4.7 Hz), 7.27-7.13 (m, 3H, Ar-H), 7.32 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 7.41-7.48 (m, 2H, Ar-H), 7.63 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.6 Hz, ⁴J = 1.6 Hz), 8.21 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ⁴J = 1.5 Hz), 8.46 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz, ⁴J = 1.6 Hz), 12.34 (br s, 1H, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 36.2 (C-6), 36.8 (C-5), 114.6, 115.6, 118.2, 119.5, 122.2, 127.0, 129.6 (2C), 130.2, 131.2 (2C), 133.7, 135.6, 143.4, 143.7, 146.9, 147.1, 149.6.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3047, 2966, 2779, 1575, 1488, 1435, 1287, 1011, 822, 784, 768.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 376 ([M+H]⁺, ⁷⁹Br, 97%), 378 ([M+H]⁺, ⁸¹Br, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 376.0444 m/z gefunden für [M+H]⁺: 376.0442. 6-Phenyl-5,6-dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (166)



C₂₀H₁₅N₃ (297.35)

Nach 8.1.2.20 durch Umsetz	ung von Benzaldehyd (223 mg, 2.1 mmol)
Im Rahmen dieser Arbeit syn	thetisiert durch Längle, Steinhauer, 2011. ¹⁶³
Ausbeute:	100 mg (16%) eines weißen Feststoffs
Schmelzpunkt:	240°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

 δ /ppm = 3.46 (dd, 1H, H-5a, ${}^{2}J_{H5a/H5b}$ = 16.2 Hz, ${}^{3}J_{H5a/H6}$ = 7.5 Hz), 3.69 (dd, 1H, H-5b, ${}^{2}J_{H5a/H6}$ = 16.2 Hz, ${}^{3}J_{H5a/H6}$ = 7.5 Hz), 4.81 (t, 1H, H-6, ${}^{3}J$ = 7.5 Hz), 7.21 (dd, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 8.1 Hz, ${}^{3}J$ = 5.0 Hz), 7.28-7.40 (m, 5H, Ar-H), 7.60 (dd, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 8.1 Hz, ${}^{4}J$ = 1.5 Hz), 7.65 (dd, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 7.7 Hz, ${}^{3}J$ = 5.5 Hz), 8.20 (dd, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 7.7 Hz, ${}^{4}J$ = 1.4 Hz), 8.44 (dd, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 5.0 Hz, ${}^{4}J$ = 1.5 Hz), 8.69 (dd, 1H, Ar-H, ${}^{3}J$ = 5.5 Hz, ${}^{4}J$ = 1.4 Hz).

 13 C-NMR (75 MHz, DMSO- d_6 + 2% DCl in D₂O):

δ/ppm = 36.3 (C-5), 36.5 (C-6), 117.5, 120.7, 122.9, 125.2, 127.7, 127.9 (2C), 128.1, 129.2 (2C), 134.3, 134.9, 139.6, 140.7, 142.1, 142.5, 143.7, 144.6.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3044, 2987, 2847, 2777, 1573, 1433, 1284, 764.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 298 ([M+H]⁺, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 298.1339 m/z gefunden für [M+H]⁺: 298.1337. 6-Furyl-5,6-dihydro-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (167)



C₁₈H₁₃N₃O (287.32)

Nach 8.1.2.20 durch Umsetzu	ung von Furfural (202 mg, 2.1 mmol)
Im Rahmen dieser Arbeit syn	thetisiert durch Längle, Steinhauer, 2011. ¹⁶³
Ausbeute:	110 mg (18%) eines weißen Feststoffs
Schmelzpunkt:	222°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.36-3.45 (m, 2H, H-5), 4.66 (t, 1H, H-6, ³*J* = 6.6 Hz), 5.97 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 3.2 Hz, ⁴*J* = 0.8 Hz), 6.30 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 3.2 Hz, ³*J* = 1.9 Hz), 7.03 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 7.9 Hz, ³*J* = 4.7 Hz), 7.22 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 7.5 Hz, ³*J* = 4.9 Hz), 7.52 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 1.9 Hz, ⁴*J* = 0.9 Hz), 7.60 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 7.9 Hz, ⁴*J* = 1.7 Hz), 7.69-7.74 (m, 1H, Ar-H), 8.24 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 4.7 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz), 8.45 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 4.9 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz), 12.31 (br s, 1H, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 30.2 (C-6), 33.3 (C-5), 105.5, 110.2, 113.0, 115.8, 118.4, 122.2, 126.9, 130.4, 133.3, 135.7, 141.8, 143.8, 146.7, 147.0, 149.4, 156.0.

<u>IR (ATR):</u>

cm⁻¹ = 3051, 2970, 2779, 1576, 1437, 1284, 1146, 919, 767, 738.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 288 ([M+H]⁺, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 288.1131

m/z gefunden für [M+H]⁺: 288.1124.

8.1.2.22 Allgemeine Vorschriften zur Dehydrierung der 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole 40 zu 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolen 179:

a) Variante a, in Analogie zu Vorschrift 8.1.2.3 in Anlehnung an BEUGELMANS *et al.*, 1985 und LÄNGLE, STEINHAUER, 2011: ^{71,163}

Eine Suspension aus 0.21 mmol 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol **40** und Palladium (10%) auf Aktivkohle (50 Gewichtsprozent) wird für 2 Stunden im Stickstoffstrom zum Rückfluss erhitzt. Nach Beendigung der Reaktionszeit wurde der Katalysator abfiltriert und mit 20 mL Dichlormethan nachgewaschen. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingeengt und die verbleibende Lösung auf 80 mL Eiswasser gegeben. Der erhaltene Feststoff wird abfiltriert und 24 h im Ölpumpenvakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde im Anschluss in 20 mL Dichlormethan gelöst und für maximal 5 min mit HCl(g) begast (mindestens bis zur Entstehung eines persistierenden Niederschlags). Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der erhaltene Feststoff 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

b) Variante b, nach LÄNGLE, 2010, in Anlehnung an WEIDE, 1995 und CLEMENT und WEIDE, 2005: ^{108, 48,47}

Zu einer Lösung aus 0.5 mmol eines 6-substituierten 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazols **40** in 80 mL Dichlormethan wird langsam eine Lösung aus 150 mg (0.66 mmol) DDQ **73** in 50 mL Dichlormethan getropft. Nach vollständiger Zugabe wird der Reaktionsansatz 6 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Das erkaltete Reaktionsgemisch wird im Anschluss in 300 mL einer gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung hydrolysiert, die organische Phase abgetrennt und die wässrige Phase zweimal mit je 80 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Der so erhaltene Rückstand wurde in einem Gemisch aus 150 mL Dichlormethan und 20 mL Methanol gelöst und das Dichlormethan vorsichtig am Rotationsverdampfer entfernt. Die daraus entstandene Suspension wurde filtriert und der gewonnene Feststoff erneut in 80 mL frisch destilliertem Dichlormethan gelöst und für maximal 5 min mit HCl(g) begast (mindestens bis zur Entstehung eines persistierenden Niederschlags). Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der erhaltene Feststoff 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet.

8.1.2.23 Synthetisierte und teilweise aufgereinigte 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole 179:

6-Phenyl-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (180)



C₂₀H₁₃N₃ · x HCl (295.34 + x 36.46)

Vorschrift: 8.1.2.22 a

Im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert durch LÄNGLE, STEINHAUER, 2011.¹⁶³

Rohausbeute: 19 mg (13%) eines gelbgrünen Feststoffs. Eine vollständige Aufreinigung und Isolierung des Produktes gelang nicht.

6-(4-Methoxyphenyl)-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (181)



C₂₁H₁₅N₃O · x HCl (325.36 + x 36.46)

Vorschrift: 8.1.2.22 bIm Rahmen dieser Arbeit synthetisiert durch LÄNGLE, STEINHAUER, 2011.Ausbeute:38 mg (5%) eines ockergelben FeststoffsSchmelzpunkt:187°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, Methanol-*d*₄):

 δ /ppm = 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.14 (d, 1H, Ar-H, ³J = 8.0 Hz), 7.60 (m, 3H, Ar-H), 7.97 (s, 1H, Ar-H), 8.08 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.8 Hz, ³J = 5.0 Hz), 8.40 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.8 Hz), 8.67 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.8 Hz), 9.14 (d, 1H, Ar-H, ³J = 8.1 Hz), 9.23 (d, 1H, Ar-H, ³J = 4.6 Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, Methanol-d₄):

δ/ppm = 56.1 (OCH₃), 115.5, 115.9 (2C), 118.1, 122.2, 122.3, 123.9, 124.1, 129.5, 130.8, 131.2, 131.4 (2C), 139.9, 140.1, 141.1, 145.1, 146.0, 146.8, 162.3.

MS (ESI):

m/z = 326 ([M+H]⁺, 100%), 164 ([M+2H]⁺, 12%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 326.1288, m/z gefunden für [M+H]⁺: 326.1285.

6-(2,4-Dimethoxyphenyl)-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (182)



C₂₂H₁₇N₃O₂ · x HCl (397.07 + x36.46)

Vorschrift: 8.1.2.22 bIm Rahmen dieser Arbeit synthetisiert durch LÄNGLE, STEINHAUER, 2011.163Ausbeute:93 mg (11%) eines ockergelben FeststoffsSchmelzpunkt:275°C unter Zersetzung

¹H-NMR (300 MHz, Methanol-d₄):

 δ /ppm = 3.63 (s, 3H, OCH₃), 3.96 (s, 3H, OCH₃), 6.82 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 8.0 Hz), 7.60 (m, 3H, Ar-H), 7.97 (s, 1H, Ar-H), 8.08 (dd, 1H, Ar-H, ³*J* = 7.8 Hz, ³*J* = 5.0 Hz), 8.40 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 4.8 Hz), 8.67 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 4.8 Hz), 9.14 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 8.1 Hz), 9.23 (d, 1H, Ar-H, ³*J* = 4.6 Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, Methanol-*d*₄):

δ/ppm = 56.1 (OCH₃), 56.2 (OCH₃), 100.0, 100.7, 118.2, 120.2, 122.6, 123.3, 123.8, 124.8, 129.7, 130.8, 131.1, 132.6, 138.0, 139.6, 140.0, 144.8, 146.0, 146.4, 159.4, 164.1.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 398 ([M+H]⁺, 100%), 179 ([M+2H]⁺, 12%).

HRMS (ESI):

m/z berechnet für [M+H]⁺: 356.1394, m/z gefunden für [M+H]⁺: 356.1390.

6-(2,3,4-Trimethoxyphenyl)-11H-pyrido[3,2-i]-1-azacarbazol (183)



C₂₃H₁₉N₃O₃ · x HCl (385.42 + x 36.46)

Vorschrift: 8.1.2.22 a Im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert durch LÄNGLE, STEINHAUER, 2011.¹⁶³ Rohausbeute: 24% eines grünlich gelben Feststoffs

Eine Isolierung des Produktes konnte teilweise erreicht werden, eine endgültige Aufreinigung schlug allerdings fehl, so dass auch keine NMR-spektroskopische Charakterisierung erfolgen konnte.

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 386.1499, m/z gefunden für [M+H]⁺: 386.1496. 8.1.2.24 Synthese von 6-(2,4-Dimethoxyphenyl)-11-methyl-5,6-dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol (184) nach Längle, Steinhauer, 2011,¹⁶³ in Anlehnung an Salamatina *et al.*, 2011:¹¹²



$C_{23}H_{21}N_3O_2$ (371.43)

Zu einer Lösung bestehend aus 50 mg (0.14 mmol) 6-(2,4-Dimethoxyphenyl)-5,6-dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol (**160**) und 8 mg (0.15 mmol) Kaliumhydroxid in 1 mL DMPU werden 8,7 µL (20 mg, 0.14 mmol) Methyliodid bei Raumtemperatur zugetropft. Die Reaktionslösung wird für drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 7 mL Wasser hydrolysiert. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt und für 24 h im Ölpumpenvakuum getrocket. Die Aufreinigung des Rohproduktes gelingt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Ethylacetat).

Im Rahmen dieser Arbeit synthetisiert durch LÄNGLE, STEINHAUER, 2011.Ausbeute:33 mg (64%) eines gelben Feststoffs

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 3.18 (dd, 1H, H-5a, ²J_{H5a/H5b} = 15.4 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.1 Hz), 3.32 (dd, 1H, H-5b, ²J_{H5a/H6} = 15.4 Hz, ³J_{H5a/H6} = 7.1 Hz), 3.74 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 4.47 (s, 3H, NCH₃), 4.87 (t, 1H, H-6, ³J = 7.1 Hz), 6.24 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 8.4 Hz, ⁴J = 2.4 Hz), 6.52 (d, 1H, Ar-H, ⁴J = 2.4 Hz), 6.73 (d, 1H, Ar-H, ³J = 8.4 Hz), 6.90 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.9 Hz, ³J = 4.7 Hz), 7.02 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 7.5 Hz, ³J = 4.9 Hz), 7.36 (dd, 1H, ³J = 7.9 Hz, ³J = 1.6 Hz), 7.40 (m, 1H, Ar-H), 8.33 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 4.7 Hz, ⁴J = 1.6 Hz), 8.47 (dd, 1H, Ar-H, ³J = 4.9 Hz, ⁴J = 1.7 Hz).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 30.2 (C-6), 31.5 (NCH₃), 37.1 (C-5), 55.4 (OCH₃), 55.6 (OCH₃), 98.7, 104.0, 115.7, 116.7, 118.5, 121.5, 123.5, 128.3, 129.4, 132.2, 134.4, 135.8, 143.7, 147.0, 149.4, 149.9, 157.9, 159.7.

<u>MS (ESI):</u> m/z = 372 ([M+H]⁺, 100%).

8.1.2.25 Synthese von 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol (33) nach Steinhauer, 2010, ¹⁰⁹ in Anlehnung an Li *et al.*, 2006:¹¹⁸



C₁₄H₉N₃ (219.24)

Eine Suspension aus 117 mg (0.30 mmol) 6-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-5,6-dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol (**170**, STENZEL, 2009⁶¹) in 1 mL Chloroform und 2 mL Trifluormethansulfonsäure werden unter Stickstoffatmosphäre 72 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Im Anschluss wird auf 10 g Eiswasser hydrolysiert und erneut 24 Stunden gerührt. Nach Neutralisation mit 1,5 M Natriumhydroxid-Lösung wird weitere zwei Stunden gerührt. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt und 24 Stunden im Ölpumpenvakuum getrocknet. Die Aufreinigung erfolgt mittels Flashchromatographie an Kieselgel (Fließmittel: Ethylacetat/Petrolether 1:1).

Im Rahmen dieser Arbeit syn	nthetisiert durch Steinhauer, 2010. ¹⁰⁹
Ausbeute:	35 mg (53%) eines weißen Feststoffs
Schmelzpunkt:	216°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆):

 δ /ppm = 7.33 (dd, 1H, H-2, ³*J* = 7.8 Hz, ³*J* = 4.5 Hz), 7.53 (dd, 1H, H-8, ³*J* = 8.3 Hz, ³*J* = 4.3 Hz), 7.64, 8.18 (d, 2H, H-10, H-11), 8.32 (dd, 1H, H-9, ³*J* = 8.3 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz), 8.46 (dd, 1H, H-1, ³*J* = 7.8 Hz, ⁴*J* = 1.5 Hz), 8.82 (d, 1H, H-3, ³*J* = 3.81 Hz), 9.13 (dd, 1H, H-7, ³*J* = 4.3 Hz, ⁴*J* = 1.6 Hz), 11.99 (s, 1H, NH).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆):

δ/ppm = 115.9, 116.7, 118.9, 119.4, 120.2, 121.0, 127.4, 128.5, 135.1, 136.4, 137.6, 146.3, 149.1, 151.3.

IR (ATR):

cm⁻¹ = 3062, 3031, 2939, 2849, 1587, 1576, 1522, 1370, 1282, 820, 785, 765.

<u>MS (ESI):</u>

m/z = 220 ([M+H]⁺, 100%).

<u>HRMS (ESI):</u> m/z berechnet für [M+H]⁺: 220.0869, m/z gefunden für [M+H]⁺: 220.0865.

8.2 HPLC-Analytik

8.2.1 Löslichkeit

8.2.1.1 Materialien und Geräte

Acetonitril, Methanol, konzentrierte Salzsäure (Fa. J.T. Baker, Griesheim), Dikaliumhydrogenphosphat (Fa. Roth, Karlsruhe), Kaliumdihydrogenphosphat, Kaliumhydroxid, Phosphorsäure, Trifluoressigsäure (Fa. Merck, Darmstadt).

Die Suspendierung der Proben erfolgte mit einem Kleinschüttler Vortex Genie 2 der Firma Scientific Industries, Inc. Die Ansätze wurden mit einem Vibrationsmischer IKA-Vibrax VXR (Fa. Jahnke & Kunkel, Staufen) geschüttelt. Für die Messung der pH-Werte wurde ein Microprozessor pH-Meter pH 537 der Wissenschaftlich-Technische Werkstätten (Weilheim) mit der Elektrode Blue Line 16 p-H der Firma Schott (Mainz) verwendet. Die Zentrifugation erfolgte mit Hilfe einer Hettich Mikroliter Zentrifuge (Fa. Hettich, Tuttlingen).

8.2.1.2 HPLC-Analytik zur Bestimmung pH-abhängiger Sättigungslöslichkeiten (Abschnitt 4.1.1 und 4.1.3)

Die Analytik erfolgte unter Verwendung eines Waters Alliance HPLC-Systems mit einem Waters e2695 XC Trennmodul, Waters 2998 Photodiodenarraydetektor, Säulenofen und der Software *Empower* 2.

Temperatur:	25°C
Stationäre Phase:	LiChrospher [®] 60 RP-select B (125 x 4 mm, 5 μ m), Vorsäule: Phenomenex C18 (4 x 4 mm)
Mobile Phase:	Eluent A: 0,1% Trifluoressigsäure in aqua bidest. Eluent B: Acetonitril
Flussrate:	1 ml/min
Injektionsvolumen:	10 μL

Elution der 6-Amino-11,12-dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthroline **37 (Abschnitt 4.1.1)**:

Gradientenelution mit variierendem Anteil Acetonitril: 26 - 50% (0 - 8 min), 50 - 26% (8 - 9.5 min), 26% (9.5 - 12 min). Eine Elution erfolgte innerhalb von 12 min.

Detektionswellenlänge: 265 nm

Elution der 5,6-Dihydro-11*H*-pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole **40 (Abschnitt 4.1.3)**:

Isokratische Elution mit 40% Acetonitril. Die Elution erfolgte innerhalb von 8 min.

Detektionswellenlänge: 220 nm

Probenaufbereitung und Kalibrierung siehe Abschnitte 4.1.1 und 4.1.3.

8.2.1.3 HPLC-Analytik zur Bestimmung der Löslichkeiten in Abschnitt 4.1.2

Die Analytik erfolgte unter Verwendung eines Merck-Hitachi HPLC-Anlage mit L6200A Pumpensysten, AS-2000 Autsosampler, L4000 UV-Detektor (Merck-Hitachi) und der Software *ClarityLite* 2.5.6.99 (Fa. DataApex).

Temperatur:	25°C
Stationäre Phase:	Merck RP Select B C18 (4,6 x 150 mm, 3,5 μ M), Vorsäule: Phenomenex C18 (4 x 3 mm)
Mobile Phase:	Eluent A: 0,1% Trifluoressigsäure in aqua bidest. Eluent B: Acetonitril
Flussrate:	0,8 ml/min
Injektionsvolumen:	5 μL

Elution der untersuchten Verbindungen 52, 78, 147, 150, 151 (Abschnitt 4.1.2):

Gradientenelution mit variierendem Anteil Acetonitril: 10 - 70% (0 - 12 min), 70 - 10% (12 - 13 min), 10% (13 - 20 min). Eine Elution erfolgte innerhalb von 20 min.

Detektionswellenlänge: 230 nm

Probenaufbereitung und Kalibrierung siehe Abschnitt 4.1.2.

8.2.2 Lipophilie

8.2.2.1 Materialien und Geräte

Ammoniumformiat, Kaliumdihydrogenphosphat, Kaliumhydroxid, Phosphorsäure (Fa. Merck, Darmstadt), Ammoniak (25%), Methanol (J.T. Baker, Griesheim), Dikaliumhydrogenphosphat (Fa. Roth, Karlsruhe). Die verwendeten Standards 4-Chlortoluol, Toluol, Chlorbenzol, Benzophenon, Testosteron, Thymol, Biphenyl, Ketoconazol, Clotrimazol, 4-Acetylpyridin, Acetanilid, Acetophenon, Benzoesäuremethylester, Benzoesäureethylester, Diphenylether, 1,2-Diphenylethan und Triphenylamin wurden von den Firmen Alfa-Aesar, Fluka, Merck, Roth und Sigma-Aldrich bezogen.

Die Suspendierung der Proben erfolgte mit einem Kleinschüttler Vortex Genie 2 der Firma Scientific Industries, Inc. Für die Messung der pH-Werte wurde ein Microprozessor pH-Meter pH 537 der Wissenschaftlich-Technische Werkstätten (Weilheim) mit der Elektrode Blue Line 16 pH der Firma Schott (Mainz) verwendet.

8.2.2.2 Methode a zur Bestimmung von logD-Werten per HPLC-Analytik (Abschnitt 4.2)

Die Analytik erfolgte unter Verwendung eines Waters Alliance HPLC-Systems mit einem Waters e2695 XC Trennmodul, Waters 2998 Photodiodenarraydetektor, Säulenofen und der Software *Empower* 2.

Temperatur:	25°C
Stationäre Phase:	LiChrospher [®] 100 RP-8 (125 x 4 mm, 5µm), Vorsäule: Phenomenex C18 (4 x 4 mm)
Mobile Phase:	Eluent A: 20 mM Phosphatpuffer pH 7,4 (40%) Eluent B: Methanol (60%)
Flussrate:	1 ml/min
Injektionsvolumen:	10 μL
Die Elution der untersuchter	verbindungen erfolgte isokratisch innerhalb von 30 min.
Detektionswellenlänge:	220 nm

Die Untersuchungslösungen bestanden aus 100 μ M Lösungen der entpsrechenden Verbindung in der mobilen Phase. Die logD-Werte wurden über eine externe Kalibriergerade, erhalten durch die Analyse von neun verschiedenen Standards, jeweils in der Konzentration 100 μ M für den logP-Bereich von 2,5-6,1, berechnet. Details zur Kalibrierung und Auswertung siehe **Abschnitt 4.2**.

8.2.2.3 Methode b zur Bestimmt von logD-Werten per HPLC-Analytik (Abschnitt 4.2)

Die Analytik erfolgte unter Verwendung eines Merck-Hitachi HPLC-Anlage mit L6200A Pumpensysten, AS-2000 Autsosampler, L4000 UV-Detektor (Merck-Hitachi) und der Software *ClarityLite* 2.5.6.99 (Fa. DataApex).

Temperatur:	30°C
Stationäre Phase:	Waters Xterra MS C8 (4,6 x 50 mm, 3,5 μm), Vorsäule: Phenomenex C18 (4 x 3 mm)
Mobile Phase:	Eluent A: 95 Vol-% wässriger Ammoniumformiatpuffer (21,05 mM) pH 7,4, 5 Vol-% Methanol Eluent B: 5 Vol-% wässriger Ammoniumformiatpuffer (360 mM) pH 7,4, 95 Vol-% Methanol.
Flussrate:	0,6 ml/min
Injektionsvolumen:	5 μL

Elution der untersuchten Verbindungen:

Gradientenelution: 100% A – 100% B (0 – 40 min), 100% B – 100% A (40 – 42 min), 100% A (42 – 60 min). Eine Elution erfolgte innerhalb von 60 min.

Detektionswellenlänge: 220 nm

Die Untersuchungslösungen bestanden aus der entsprechenden Verbindung und den 10 internen Standards mit log P-Werten im Bereich von 0,5 - 5,7 (2 mg/ml) in Methanol. Details zur Kalibrierung und Auswertung siehe **Abschnitt 4.2**.

9 LITERATURVERZEICHNIS

- Ärztezeitung Online: Größte Furcht vor Krebs und Demenz 2013. http://www.aerztezeitung.de/medizin/krankheiten/krebs/article/850962/dak-umfrage-groesstefurcht-krebs-demenz.html (entnommen: 04.02.14).
- STEWART, BW, WILD, CP. World Cancer Report 2014: World Health Organization WHO, iARC, 2014.
- JEMAL A, BRAY F, CENTER MM, FERLAY J, WARD E, FORMAN D. Global cancer statistics. A Cancer Journal for Clinicians 2011;61:69–90.
- KAATSCH P.
 Krebs in Deutschland 2009/2010, 2013.
 http://www.krebsdaten.de (entnommen: 14.01.14).
- MUTSCHLER E, GEISSLINGER G, KROEMER HK, RUTH P, SCHÄFER-KORTING M. Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie, 9. Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlags-Gesellschaft, 2008.
- HERDEGEN T, LUIPPOLD GR. Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie, 1.Aufl. Stuttgart: *Thieme*, 2008.
- FORTH W, HENSCHLER D, RUMMEL W. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 8.Aufl. München [u.a.]: Urban & Fischer, 2001.
- 8. Deutsche Krebsgesellschaft. Aktuelle Leitlinien der Krebstherapie, **2013**. http://www.krebsgesellschaft.de/wub_llevidenzbasiert,78264.html (entnommen: 15.12.13).
- GOLDIE JH, COLDMAN AJ.
 A mathematic model for relating the drug sensitivity of tumors to their spont. mutation rate. Cancer Treatment Reports 1979;63:1727–1733.
- ARORA A.
 Role of Tyrosine Kinase Inhibitors in Cancer Therapy.
 Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 2005;315:971–979.
- 11. DAZ. Neue Arzneimittel 2013: Beiheft. Deutsche Apotheker Zeitung **2014**;61.
- SCHULTZ RM. Advances in targeted cancer therapy,
 63. Aufl. Basel, Boston: *Birkhäuser*, 2005.
- FOJO T. Commentary: Novel Therapies for Cancer: Why Dirty Might Be Better. The Oncologist 2008;13:277–283.
- Zeit Online. Der hohe Preis des Überlebens, 2013. http://www.zeit.de/2013/15/pharmaindustrie-entwicklungslaender-medikamente-patente (entnommen: 29.12.13)

- MATEI D, EMERSON RE, SCHILDER J, MENNING N, BALDRIDGE LA, JOHNSON CS. Imatinib mesylate in combination with docetaxel for the treatment of patients with advanced, platinum-resistant ovarian cancer and primary peritoneal carcinomatosis. *Cancer* 2008;113:723–732
- 16. YANADA M.

High Complete Remission Rate and Promising Outcome by Combination of Imatinib and Chemotherapy for Newly Diagnosed BCR-ABL-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia: A Phase II Study by the Japan Adult Leukemia Study Group. *Journal of Clinical Oncology* **2006**;24:460–466.

17. POMMIER Y.

DNA topoisomerase I inhibitors: chemistry, biology, and interfacial inhibition. *Chemical Reviews* **2009**;109:2894–2902.

18. DEWEESE JE, OSHEROFF N.

The DNA cleavage reaction of topoisomerase II: wolf in sheep's clothing. *Nucleic Acids Research* **2009**;37:738–748.

19. POMMIER Y.

Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond. *Nature Reviews: Cancer* **2006**;6:789–802.

- 20. NITISS JL. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. *Nature Reviews: Cancer* **2009**;9:338–350.
- 21. HSIANG YH, WU HY, LIU LF.

Proliferation-dependent regulation of DNA topoisomerase II in cultured human cells. *Cancer Research* **1988**;48:3230–3235.

- AZAROVA AM, LYU YL, LIN C, TSAI Y, LAU JY, WANG JC.
 Roles of DNA topoisomerase II isozymes in chemotherapy and secondary malignancies. Proceedings of the National Academy of Sciences 2007;104:11014–11019.
- PROBST. Beschreibung und Darstellungsweise einiger bei der Analyse des Chelidonium majus neu aufgefundenen Stoffe.
 Annalen der Pharmazie 1839;29:113–131.
- 24. HELLWICH K.
 Chemische Nomenklatur: Die systematische Benennung organisch-chemischer Verbindungen,
 2. Aufl. Eschborn: *Govi-Verl.*, 2002.
- 25. SIMÁNEK V, DVORÁK Z, KUBÁN V, KLEJDUS B, VICAR J, ULRICHOVÁ J. Quaternary Benzo[c]phenanthridines Sanguinarine and Chelerythrine: a Review of Investigations from Chemical and Biological Studies. *Heterocycles* 2006;68:2403.
- FLEURY F, SUKHANOVA A, IANOUL A, DEVY J, KUDELINA I, DUVAL O. Molecular determinants of site-specific inhibition of human DNA topoisomerase I by *fagaronine* and ethoxidine. Relation to DNA binding. *Journal of Biological Chemistry* 2000;275:3501–3509.
- CHANG Y, HSIEH P, CHANG F, WU R, LIAW C, LEE K. Two new protopines argemexicaines A and B and the anti-HIV alkaloid 6-acetonyldihydrochelerythrine from formosan Argemone mexicana. *Planta Medica* 2003;69:148–152.

 SEDO A, VLAICOV K, BARTAK P, VESPALEC R, JAROSLAV, SIMANEK V. Quaternary benzo[c]phenanthridine alkaloids as inhibitors of aminopeptidase N and dipeptidyl peptidase IV.

Phytotherapy Research **2002**;16:84–87.

Journal of Heterocyclic Chemistry 1981;18:223–232.

- 29. PHILLIPS SD, CASTLE RN. A review of the chemistry of the antitumor benzo[c]phenanthridine alkaloids nitidine and fagaronine and of the related antitumor alkaloid coralyne.
- SUCHOMELOVÁ J, BOCHORÁKOVÁ H, PAULOVÁ H, MUSIL P, TÁBORSKÁ E.
 HPLC quantification of seven quaternary benzo[c]phenanthridine alkaloids in six species of the family Papaveraceae.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2007;44:283–287.

- SIMEON S, RIOS JL, VILLAR A.
 Pharmacological activities of benzophenanthridine and phenanthrene alkaloids. *Pharmazie* 1989;44:593–597.
- CHEN J, WANG J, LIN L, HE L, WU Y, ZHANG L. Inhibition of STAT3 Signaling Pathway by *Nitidine* Chloride Suppressed the Angiogenesis and Growth of Human Gastric Cancer. *Molecular Cancer Therapeutics* 2012;11:277–287.
- MESSMER WM, TIN-WA M, FONG HH, BEVELLE C, FARNSWORTH NR, ABRAHAM DJ. Fagaronine, a new tumor inhibitor isolated from Fagara zanthoxyloides Lam. (Rutaceae). Journal of Pharmaceutical Sciences 1972;61:1858–1859.
- WANG LK, JOHNSON RK, HECHT SM. Inhibition of topoisomerase I function by nitidine and fagaronine. *Chemical Research in Toxicology* 1993;6:813–818.
- 35. LARSEN AK, GRONDARD L, COUPRIE J, DESOIZE B, COMOE L, JARDILLIER JC. The antileukemic alkaloid *fagaronine* is an inhibitor of DNA topoisomerases I and II. *Biochemical Pharmacology* **1993**;46:1403–1412.
- PEZZUTO JM, ANTOSIAK SK, MESSMER WM, SLAYTOR MB, HONIG GR. Interaction of the antileukemic alkaloid, 2-hydroxy-3,8,9-trimethoxy-5-methylbenzo[c]phenanthridine (*fagaronine*), with nucleic acids. *Chemico-Biological Interactions* 1983;43:323–339.
- DOUROS J, SUFFNESS M. New natural products under development at the National Cancer Institute. Recent Results. *Cancer Research* 1981;76:153–175.
- GILLESPIE JP, AMOROS LG, STERMITZ FR. Synthesis of *fagaronine*. An anticancer benzophenanthridine alkaloid. *Journal of Organic Chemistry* 1974;39:3239–3241.
- CUSHMAN M, CHENG L. Total synthesis of *nitidine* chloride. Journal of Organic Chemistry **1978**;43:286–288.
- BLANCHOT M, CANDITO DA, LARNAUD F, LAUTENS M. Formal Synthesis of *Nitidine* and NK109 via Palladium-Catalyzed Domino Direct Arylation/ N -Arylation of Aryl Triflates. *Organic Letters* 2011;13:1486–1489.

41. PREM M.

Synthesis and Antitumor Evaluation of Analogs of *Nitidine* Chloride and *Fagaronine* Chloride. *Dissertation* Purdue, **1984**.

- GENÈS C, LENGLET G, DEPAUW S, NHILI R, PRADO S, DAVID-CORDONNIER M. Synthesis and biological evaluation of *N*-substituted benzo[*c*]phenanthrolines and benzo[*c*]phenanthrolinones as antiproliferative agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**;46:2117–2131.
- LI T, HOUGHTON PJ, DESAI SD, DAROUI P, LIU AA, HARS ES. Characterization of ARC-111 as a novel topoisomerase I-targeting anticancer drug. *Cancer Research* 2003;63:8400–8407.
- POMMIER Y, CUSHMAN M.
 The indenoisoquinoline noncamptothecin topoisomerase I inhibitors: update and perspectives. *Molecular Cancer Ther*apeutics **2009**;8:1008–1014.
- ONDA T, TOYODA E, MIYAZAKI O, SENO C, KAGAYA S, OKAMOTO K. NK314, a novel topoisomerase II inhibitor, induces rapid DNA double-strand breaks and exhibits superior antitumor effects against tumors resistant to other topoisomerase II inhibitors. *Cancer Letters* 2008;259:99–110.
- 46. BARTHELMES HU, NIEDERBERGER E, ROTH T, SCHULTE K, TANG W. C., BOEGE, F. FIEBIG, H-H., EISENBRAND G. Lycobetaine acts as selective topoisom. IIb poison and inhibits growth of human tumour cells. *British Journal of Cancer* **2001**;85:1585–1591.
- 47. CLEMENT B, WEIDE M, WOLSCHENDORF U, KOCK I.
 A two-step synthesis of cytostatically active benzo[c]phenanthridine derivatives.
 Angewandte Chemie International Edition(Engl.) 2005;44:635–638.
- WEIDE M.
 Synthese und Testung von Hemmstoffen der flavinhaltigen Monooxygenase.
 Dissertation Kiel, 1995.
- KOCK I, HEBER D, WEIDE M, WOLSCHENDORF U, CLEMENT B. Synthesis and biological evaluation of 11-substituted 6-aminobenzo[c]phenanthridine derivatives, a new class of antitumor agents. Journal of Medicinal Chemistry 2005;48:2772–2777.
- 50. WOLSCHENDORF U. Synthese und Testung substituierter Benzo[c]phenanthridine als potentielle Zytostatika. *Dissertation* Kiel, **2000**.
- 51. Коск І.

Synthese und Testung von Benzo[c]phenanthridin-Derivaten als potenzielle Zytostatika. *Dissertation* Kiel, **2003**.

52. ZUR NIEDEN D.

Benzo[c]phenanthridine: Neue Derivate, zytostatische Wirksamkeit und Verbesserung der Wasserlöslichkeit. *Dissertation* Kiel, **2007**.

53. KOCK I, CLEMENT B.

A New Synthetic Approach to the Benzo[c]phenanthridine Ring System. *Synthesis* **2005**:1052–1054.

54. MARKO ET AL.

Benzo[c]phenanthridine als Hemmstoffe humaner Topoisomerasen I und II. *Unveröffentlichte Arbeiten* **2003**.

55. KLOSE S.

Untersuchungen zum Wirkmechanismus von 6-Amino-11,12-dihydro-1-(3',5'-di¬methoxy-4'hydroxyphenyl)benzo[c]phenanthridiniumchlorid (BP11) als potentielles Zytostatikum. *Dissertation* Kiel, **2011**.

56. ZEBOTHSEN I.

Charakterisierung, Metabolismus und Interaktionspotential zytostatisch wirksamer 6-Aminobenzo[c]phenanthridine. *Dissertation* Kiel, **2005**.

57. CLEMENT B.

Unveröffentlichte Ergebnisse zur Phototoxizität ausgewählter 6-Aminobenzo[c]phenanthridine: Auftragsstudien durchgeführt von der Firma Curacyte GmbH, München.

- OFFERMANNS H.
 Azalogie-Prinzip: hin und zurück.
 Nachrichten der Chemie 2011;59:1152–1153.
- BLEEKER EAJ, PIETERS BJ, WIEGMAN S, KRAAK MHS.
 Comparative (Photoenhanced) Toxicity of Homocyclic and Heterocyclic PACs. Polycyclic Aromatic Compounds 2002;22:601–610.
- 60. WIEGMAN S, VAN VLAARDINGEN PL, BLEEKER EA, VOOGT P DE, KRAAK MH. Phototoxicity of azaarene isomers to the marine flagellate *Dunaliella tertiolecta*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2001**;20:1544–1550.
- 61. STENZEL L.

Synthese neuer Benzo[c]phenanthridin-Derivate und deren Stickstoff-Analoga als potentielle Zytostatika.

Dissertation Kiel, 2009.

- 62. K. PETER C: VOLLHARDT.Organische Chemie.1. Aufl. Weinheim: VCH, 1990.
- 63. *Gestis-Stoffdatenbank*. Eintrag POCl3. http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/000000.xml?f=templates\$fn=default.htm\$3.0 (entnommen: 29.11.13).
- 64. P.G.M. WUTS TG.Greene's Protective Groups in Organic Synthesis,4.Aufl. Hoboken, New Jersey: *Wiley*, **2007**.
- IRELAND RE, WALBA DM, ANDERSEN R. Demethylation of Methyl Aryl Ethers: 4-Ethoxy-3-Hydroxybenzaldehyde. Organic Syntheses. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc, 2003.
- MCOMIE JFW, WEST DE, HIATT JE, WIBERG KB.
 3,3-Dihydroxybiphenyl. Organic Syntheses.
 Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc, 2003.
- SCHNEIDER MSC. Hydroxy-substituted Phenyltetralins: compounds with affinity to estrogen and androgen receptors. Archiv der Pharmazie 1990:17–21.
- 68. ZIMMERMAN DM, CANTRELL BE, SWARTZENDRUBER JK, JONES ND, MENDELSOHN LG, LEANDER JD. Synthesis and analgesic properties of N-substituted trans-4a-aryldecahydroisoquinolines. Journal of Medicinal Chemistry **1988**;31:555–560.

- 69. INGBERMAN AK. Functionality of Phenols by Bromination. *Analytical Chemistry* **1958**;30:1003–1004.
- 70. FOYE WO, LEMKE TL, WILLIAMS DA.
 Foye's principles of medicinal chemistry.
 Philadelphia: *Lippincott Williams & Wilkins*, **2008**.
- BEUGELMANS R, CHASTANET J, GINSBURG H, QUINTERO-CORTES L, ROUSSI G. Studies in SRN1 series. Part 14. Direct synthesis of benzo[c]phenanthridines and benzo[c]phenanthridones via SRN1 reactions. Journal of Organic Chemistry 1985;50:4933–4938.
- 72. WU G, HUANG M, RICHARDS M, POIRIER M, WEN X, DRAPER R. Novel ZnX 2 -ModulatedPd/C and Pt/C Catalysts for Chemoselective Hydrogenationand Hydrogen. of Halogen-Substituted Nitroarenes, Alkenes, Benzyl Ethers, and Aromatic Ketones. Synthesis 2003;2003:1657–1660.
- 73. BAUMEISTER P, STUDER N, ROESSLER F. Handbook of Heterogeneous Catalysis,2. Aufl. New York: *Wiley*, **1997**.
- YONG-BAIK CHO.
 Pyridine derivatives, methods of their preparations, and pharmaceutical compositions containing the same.
 WO2006/112666, 2006.
- 75. CAILLY T, FABIS F, LEGAY R, OULYADI H, RAULT S. The synthesis of three new heterocycles: the pyrido[4,3 or 3,4 or 2,3-c]-1,5-naphthyridines. *Tetrahedron* 2006;63:71–76.
- 76. KORNBLUM N.
 Replacement of the aromatic primary amino group by hydrogen, Bd. 2. Organic Reactions 1944:262–340.
- 77. ENGEL A.

Organische Diazoniumverbindungen, Organische Stickstoffverbindungen I, Bd. E16a, 4.Aufl.: Houben-Weyl. Stuttgart, New York: *Georg Thieme Verlag*, **1990**.

78. THEOBALD RS, SCHOFIELD K.

The chemistry of phenanthridine and its derivatives. *Chemical Reviews (Washington, DC, U. S.)* **1950**;46:171–89.

- 79. KEENE B, TISSINGTON P. Recent developemts in phenanthridine chemistry. *Advanced Heterocyclic Chemistry* **1971**:315–413.
- TAYLOR EC, MARTIN AE.
 A New Synthesis of Phenanthridine.
 Journal of the American Chemical Society 1952;74:6295.
- CHERKASOV R, KUTYREV G, PUDOVIK A. Organothiophosphorus reagents in organic synthesis. *Tetrahedron* 1985;41:2567–2624.
- BECK AK, SEEBACH D.
 N,N '-Dimethylpropyleneurea. Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2001.

83. SÖMMER P.

Synthese von Pyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin und 11,12-Dihydropyrido[3,4-*c*][1,9]phenanthrolin. *Diplomarbeit* Kiel, **2012**.

84. Berg SS.

The search for new trypanocides. Part VIII. Coupling of m-amidinobenzenediazonium chloride with 3,8-diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridinium chloride. *Journal of the Chemical Society* **1963**:3635.

- MORTIER J, CASTANET A, BELAUD-ROTUREAU M.
 Procede de preparation de composes chimiques d'interèt par substitution nucleophile aromatique de derives d'acides carboxyliques aromatiques.
 WO 2011101599 A1, **2012.**
- 86. NUTAITIS CF, SMITH K.
 Preparation of novel quino[3,4-c]-, quino[4,3-c], quino[5,6-c]-, quino[6,5-c]-, and quino[7,8-c][2,7]naphthyridine.
 Organic Preparations and Procedures International 2007;39:611–615.
- 87. SLIWA W, SZULC Z. The Synthesis of New Triazapolyphenes. Journal für Praktische Chemie 1977;319:362–368.
- KURTZBERG LS, ROTH S, KRUMBHOLZ R, CRAWFORD J, BORMANN C, DUNHAM S. Genz-644282, a novel non-camptothecin topoisomerase I inhibitor for cancer treatment. *Clinical Cancer Research* 2011;17:2777–2787.
- DAINTER RS, JACKSON T, OMAR AHH, SUSCHITZKY H, WAKEFIELD BJ, HUGHES N. Transformations of trichloromethyl groups during reactions of 3-trichloromethylpyridines with methoxide. Journal of the Chemical Society 1989:283–7.
- KISELEV E, AGAMA K, POMMIER Y, CUSHMAN M. Azaindenoisoquinolines as Topoisomerase I Inhibitors and Potential Anticancer Agents: A Systematic Study of Structure–Activity Relationships. Journal of Medicinal Chemistry 2012;55:1682–1697.
- 91. Hwu JR, Wong FF, Huang J, Tsay S.
 Sodium Bis(trimethylsilyl)amide and Lithium Diisopropylamide in Deprotection of Alkyl Aryl Ethers: α-Effect of Silicon.
 Journal of Organic Chemistry 1997;62:4097–4104.
- 92. SHIAO M, KU W, RU HWU J. Demethylation of Methoxypyridines with Sodium Trimethylsilanethiolate. *Heterocycles* **1993**;36:323.
- 93. ULBRICHT TLV. Sodium iodide in acetic acid as a mild dealkylating agent. Journal of the Chemical Society **1961**:3345.
- JANIN YL, CROISY A, RIOU JF, BISAGNI E.
 Synthesis and evaluation of new 6-amino- substituted benzo[c]phenanthridine derivatives. Journal of Medicinal Chemistry 1993;36:3686–3692.
- 95. GENÈS C, LENGLET G, DEPAUW S, NHILI R, PRADO S, DAVID-CORDONNIER M. Synthesis and biological evaluation of *N*-substituted benzo[*c*]phenanthrolines and benzo[*c*]phenanthrolinones as antiproliferative agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2011**;46:2117–2131.
- SOUSA SF, FERNANDES PA, RAMOS MJ.
 Protein-ligand docking: current status and future challenges.
 Proteins 2006;65:15–26.
- IOFFE D, KAMPF A.
 Bromine, Organic Compounds. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*.
 Hoboken, NJ, USA: *John Wiley & Sons, Inc*, **2000**.
- 98. *Sicherheitsdatenblatt Bromphenol Blau*, Santa Cruz Biotechnology, **2008**. http://www.scbio.de/datasheet-24971-bromophenol-blue.html (entnommen: 30.11.13).
- 99. MOHR F, MENDÍA A, LAGUNA M.

Platinum(II) Alkynyl Complexes Containing *N*- and *S*-Propargylated Ligands: Synthesis, Structures and Formation of PtII/AgI Coordination Compounds. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2007**;2007:3115–3123.

- 100.GENÈS C, MICHEL S, TILLEQUIN F, PORÉE F.
 Synthesis of *N*-substituted benzo[*c*][1,7]- and benzo[*c*][1,8] phenanthrolin-(5*H*)-6-ones through a Pd-mediated Suzuki–Miyaura heteroaryl-aryl coupling reaction.
 Tetrahedron 2009;65:10009–10015.
- 101. KISELEV E, DEGUIRE S, MORRELL A, AGAMA K, DEXHEIMER TS, POMMIER Y.
 7-azaindenoisoquinolines as topoisomerase I inhibitors and potential anticancer agents. Journal of Medicinal Chemistry 2011;54:6106–6116.

102. MITSUNOBU O.

The Use of Diethyl Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products.

Synthesis 1981;1981:1–28.

- 103.BERRY JM, WATSON CY, WHISH WJD, THREADGILL MD.
 5-Nitrofuran-2-ylmethyl group as a potential bioreductively activated pro-drug system. Journal of the Chemical Society 1997:1147–1156.
- 104. DEADY LW, FINLAYSON WL, POTTS CH.

Alkylation of salts of pyridinols, quinolinols and isoquinolinols. *Australian Journal of Chemistry* **1977**;30:1349.

105. FERRER S, NAUGHTON DP, PARVEEN I, THREADGILL MD.

N- and *O*-Alkylation of isoquinolin-1-ones in the Mitsunobu reaction: development of potential drug delivery systems.

Journal of the Chemical Society **2002**:335–340.

106.BRÜCKNER R.

Reaktionsmechanismen: Organische Reaktionen, Stereochemie, moderne Synthesemethoden. München, Heidelberg: *Elsevier, Spektrum, Akademischer Verlag*, **2004**.

107. Mohr F, Mendía A, Laguna M.

Platinum(II) Alkynyl Complexes Containing *N*- and *S*-Propargylated Ligands: Synthesis, Structures and Formation of PtII/Agl Coordination Compounds. *European Journal of Inorganic Chemistry* **2007**;2007:3115–3123.

108.LÄNGLE D.

Synthese neuer 10-substituierter 7-Azaindolo[3,2-*h*]chinoline, *Bachelor-Thesis* Kiel, **2010**.

109.STEINHAUER T.

Synthese von 7-Azaindolo[3,2-*h*]chinolin und Chino [7,8-*f*]-1,7-naphthyridin. *Bachelor-Thesis* Kiel, **2010**.

110.AL-AZMI A, KUMARI KA.

Unexpected Behavior of 6-Cyanopurines Towards Secondary Amines. *ChemInform* **2013**;44.

111. Gestis-Stoffdatenbank. Eintrag DMPU.

http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/000000.xml?f=templates\$fn=default.htm\$3.0 (entnommen: 17.12.13)

112. SALAMATINA GV, ALEKSANDROV AA, EL'CHANINOV MM.

1-Methyl-2-(1'-methyl-2'-pyrrolyl)-1*H*-phenanthro[9,10-*d*]-imidazole. Synthesis and electrophilic substitution reactions.

Russian Journal of General Chemistry **2011**;81:1720–1725.

113.LÄNGLE D.

Synthese von leicht modifizierbaren 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazolen mit potentiellen antitumoralen Eigenschaften.

Master-Thesis Kiel, 2012.

114.STEINHAUER T.

Synthese und Funktionalisierung neuer 11*H*-Pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazol-Derivate als potentielle Zytostatika.

Master-Thesis Kiel, 2012.

115. FERLIN MG, GIA O, DALLA VIA L.

Synthesis and Antiproliferative Activity of Some Ellipticine-Like 11*H*-Pyrido[*a*]carbazole Derivatives.

ChemMedChem **2011**;6:1872–1883.

- 116.GAZENGEL J, LANCELOT J, RAULT S, ROBBA M. Synthesis of 6,11-dihydro-5*H*-pyrimidino[4,5-*a*]carbazoles and 11*H*-pyrimidino[4,5-*a*]carbazoles. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **1989**;37:1500–1503.
- 117. KACZMAREK Ł, BALICKI R, NANTKA-NAMIRSKI P, PECZYŃSKA-CZOCH W, MORDARSKI M. Cancerostatics, VI. Synthesis and Antineoplastic Properties of Some Benzo-iso-α-carbolines. *Archive der Pharmazie und Pharmazeutisch- Medizinischen Chemie* **1988**;321:463–467.
- 118.LI A, KINDELIN PJ, KLUMPP DA.

Charge Migration in Dicationic Electrophiles and Its Application to the Synthesis of Aza-polycyclic Aromatic Compounds.

Organic Letters 2006;8:1233–1236.

119. AMIDON GL, LENNERNÄS H, SHAH VP, CRISON JR.

A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research* **1995**;12:413–420.

120.LIPPER E.

E pluribus product. *Modern Drug Discovery* **1999**:55–60.

121. Sicherheitsdatenblatt Dichlorphenylphosphinoxid, 2013.

http://www.merckmillipore.com/is-bin/INTERSHOP.enfinity/WFS/Merck-DE-Site/de_DE/-/EUR/ViewPDFPrint.pdf?RenderPageType=ProductDetail&CatalogCategoryID=9HCb.s1LdHwAAA EWouEfVhTI&ProductUUID=WTeb.s1OBfkAAAEYtt8K0D2v&PortalCatalogUUID=t02b.s1LX0MAA AEWc9UfVhTI (entnommen 02.12.13).

122.BOEKELHEIDE V, LEHN WL.

The Rearrangement of Substituted Pyridine *N*-Oxides with Acetic Anhydride 1.2. *Journal of Organic Chemistry* **1961**;26:428–430.

- 123.KOKATLA HP, THOMSON PF, BAE S, DODDI VR, LAKSHMAN MK. Reduction of Amine *N*-Oxides by Diboron Reagents. *Journal of Organic Chemistry* **2011**;76:7842–7848.
- 124.SINGH B, CAVALLUZZO C, MAEYER M DE, DEBYSER Z, PARMAR V, VAN DER EYCKEN E. Microwave-Assisted Silver(I)-Mediated Selective *O*-Alkylation of Aromatic Imidate Systems. *Synthesis* **2009**;2009:2725–2728.
- 125. RUCHELMAN AL, SINGH SK, RAY A, WU XH, YANG J, LI T.
 5H-Dibenzo[c,h]1,6-naphthyridin-6-ones: novel topoisomerase I-targeting anticancer agents with potent cytotoxic activity.
 Bioorganic and Medicinal Chemistry 2003;11:2061–2073.
- 126.Fossé P, René B, CHARRA M, PAOLETTI C, SAUCIER JM. Stimulation of topoisomerase II-mediated DNA cleavage by ellipticine derivatives: structureactivity relationship. *Molecular Pharmacology* **1992**;42:590–595.
- 127.GARBETT NC, GRAVES DE. Extending nature's leads: the anticancer agent ellipticine. *Current Medicinal Chemistry: Anti-Cancer Agents* **2004**;4:149–172.
- 128.GUILLONNEAU C, PIERRÉA, CHARTON Y, GUILBAUD N, KRAUS-BERTHIER L, LÉONCE S. Synthesis of 9-O-substituted derivatives of 9-hydroxy-5, 6-dimethyl-6H-pyrido[4,3-b]carbazole-1carboxylic acid (2-(dimethylamino)ethyl)amide and their 10- and 11-methyl analogues with improved antitumor activity. Journal of Medicinal Chemistry **1999**;42:2191–2203.
- 129.LE MÉE S, CHAMINADE F, DELAPORTE C, MARKOVITS J, SAUCIER J, JACQUEMIN-SABLON A. Cellular Resistance to the Antitumor DNA Topoisomerase II Inhibitor S16020-2: Importance of the *N*-[2(Dimethylamino)ethyl]carbamoyl Side Chain. *Molecular Pharmacology* 2000;58:709–718.
- 130.LEMSTER T, PINDUR U, LENGLET G, DEPAUW S, DASSI C, DAVID-CORDONNIER M. Photochemical electrocyclisation of 3-vinylindoles to pyrido[2,3-*a*]-, pyrido[4,3-*a*]- and thieno[2,3-a]-carbazoles: Design, synthesis, DNA binding and antitumor cell cytotoxicity. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2009**;44:3235–3252.
- 131. MOINET-HEDIN V, TABKA T, POULAIN L, GODARD T, LECHEVREL M, SATURNINO C.
 Biological properties of 5,11-dimethyl-6H-pyrido[3,2-b]carbazoles: a new class of potent antitumour drugs.
 Anticancer Drug Design 2000;15:109–118.
- 132.STEINHAUER T. Dissertation in Vorbereitung Kiel, vorauss. 2016.
- 133.PRETSCH E.

Spektroskopische Daten zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen, 4. Aufl. Berlin [u.a.]: *Springer*, **2001**.

134. LISTER T, PRAGER RH, TSACONAS M, WILKINSON KL.

On the Thermally Induced Rearrangement of 2-Alkoxypyridines to N-alkylpyridones. *Australian Journal of Chemistry* **2003**;56:913.

135. DENISOV AY, MAMATYUK VI, SHKURKO OP.

Proton-coupled 13C NMR spectra of 2- and 3-substituted pyridines. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **1984**;20:1000–1007.

- 136.CONTRERAS RH, BIEKOFSKY RR, DE KOWALEWSKI, DORA G., ORENDT AM, FACELLI JC. Effects of electronic resonance interaction on methoxy group NMR parameters: theoretical and experimental study of substituted 2-methoxypyridines. *Journal of Physical Chemistry* **1993**;97:91–93.
- 137.Shiina I, Kawakita Y.

A new method for the synthesis of carboxamides and peptides using 1,1'-carbonyldioxydi[2(1*H*)pyridone] (CDOP) in the absence of basic promoters. *Tetrahedron Letters* **2003**;44:1951–1955.

- 138.GOWRISANKAR S, SERGEEV AG, ANBARASAN P, SPANNENBERG A, NEUMANN H, BELLER M. A General and Efficient Catalyst for Palladium-Catalyzed C–O Coupling Reactions of Aryl Halides with Primary Alcohols. *Journal of the American Chemical Society* 2010;132:11592–11598.
- 139.SIEBURTH SM, LIN C, RUCANDO D.

Selective Intermolecular Photo-[4 + 4]-cycloaddition with 2-Pyridone Mixtures. 2. Preparation of $(1\alpha, 2\beta, 5\beta, 6\alpha)$ -3-Butyl- 9-methoxy-3,7-diazatricyclo[4.2.2.2 2,5]dodeca-9,11-diene-4,8-dione. *Journal of Organic Chemistry* **1999**;64:950–953.

140.Spassov SL, Atanassova IA, Haimova MA.

Carbon-13 and proton NMR spectra of 1(2*H*)-isoquinolinone, 1(2*H*)-phthalazinone, 4(3*H*)quinazolinone and their substituted derivatives. *Magnetic Resonance in Chemistry* **1985**;23:795–799.

141. NAKAO Y, IDEI H, KANYIVA KS, HIYAMA T.

Direct Alkenylation and Alkylation of Pyridone Derivatives by Ni/AlMe 3 Catalysis. *Journal of the American Chemical Society* **2009**;131:15996–15997.

142.Roth H, Blaschke G.

Pharmazeutische Analytik, 1. Aufl. Stuttgart: *Deutscher Apotheker Verlag*, **1989**.

143.ВÖHM H, KLEBE G, KUBINYI H. Wirkstoffdesign: Der Weg zum Arzneimittel. Heidelberg [u.a.]: Spektrum Akademischer Verlag, **2002**.

144.SANGSTER J.

Octanol-water partition coefficients: Fundamentals and physical chemistry. Chichester [u.a.]: *Wiley*, **1997**.

145.OECD Guideline. Partition Coefficient (n-Octanol/Water), Estimation by Liquid Chromatography OPPTS 830.7570, **1996**.

146.Krass JD, Jastorff B, Genieser H.

Determination of Lipophilicity by Gradient Elution High-Performance Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry* **1997**;69:2575–2581.

147.BENHAIM D, GRUSHKA E.

Effect of n-octanol in the mobile phase on lipophilicity determination by reversed-phase highperformance liquid chromatography on a modified silica column. *Journal of Chromatography A* **2008**;1209:111–119.

148. REINER GN, LABUCKAS DO, GARCÍA DA.

Lipophilicity of some GABAergic phenols and related compounds determined by HPLC and partition coefficients in different systems. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2009**;49:686–691.

- 149. WICZLING P, KAWCZAK P, NASAL A, KALISZAN R. Simultaneous determination of pKa and lipophilicity by gradient RP HPLC. *Analytical Chemistry* **2006**;78:239–249.
- 150. WICZLING P, WASZCZUK-JANKOWSKA M, MARKUSZEWSKI MJ, KALISZAN R. The application of gradient reversed-phase high-performance liquid chromatography to the pK(a) and log k(w) determination of polyprotic analytes. Journal of Chromatography A **2008**;1214:109–114.
- 151.LIPINSKI CA, LOMBARDO F, DOMINY BW, FEENEY PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**;46:3–26.
- 152.BLEEKER EAJ, PIETERS BJ, WIEGMAN S, KRAAK MHS. Comparative (Photoenhanced) Toxicity of Homocyclic and Heterocyclic PACs. *Polycyclic Aromatic Compounds* **2002**;22:601–610.
- 153.OECD Guideline. OECD Guideline 432 for Testing of Chemicals: In vitro 3T3 NRU phototoxicity test **2004**.
- 154.NCI. *Mission statement* **2013**. http://www.cancer.gov/aboutnci/overview/mission (entnommen: 03.01.14)
- 155. MONGA M, SAUSVILLE EA.

Developmental Therapeutics Program at the NCI: molecular target and drug discovery process. *Leukemia* **2002**;16:520–526.

156.SAUSVILLE EA, FEIGAL E.

Evolving approaches to cancer drug discovery and development at the National Cancer Institute, USA.

Annals of Oncology 1999;10:1287–1291.

- 157.NCl. *Anti-Cancer Screening Paradigm* **2013**. http://dtp.cancer.gov/screening.html (entnommen: 10.01.14).
- 158.NCI. *Hollow Fiber Assay* **2014**. http://dtp.cancer.gov/branches/btb/hfa.html (entnommen: 11.01.14).
- 159.NCI. *NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screen* **2014**. http://dtp.cancer.gov/branches/btb/ivclsp.html (entnommen: 28.12.13).
- 160.SKEHAN P, STORENG R, SCUDIERO D, MONKS A, MCMAHON J, VISTICA D. New Colorimetric Cytotoxicity Assay for Anticancer-Drug Screening. *JNCI Journal of the National Cancer Institute* **1990**;82:1107–1112.
- 161.BOYD and PAULL.

Some Practical Considerations and Applications of the National Cancer Institute *In Vitro* Anticancer Drug Discovery Screen. *Drug Development Research* **1995**:91–109.

- 162.NCI. Cancer Screening Data, **2012**. http://dtp.nci.nih.gov/dtpstandard/cancerscreeningdata/index.jsp (entnommen: Januar 2014).
- 163. LÄNGLE D, STEINHAUER T.

Mitarbeiterpraktikum zum Modul chem2004G und Vertiefungsmodul Organische Chemie chem3005B, **2011**.

272| Literaturverzeichnis

164.NAGARAJAN M, MORRELL A, FORT BC, MECKLEY MR, ANTONY S, KOHLHAGEN G. Synthesis and Anticancer Activity of Simplified Indenoisoquinoline Topoisomerase I Inhibitors Lacking Substituents on the Aromatic Rings. Journal of Medicinal Chemistry 2004;47:5651–5661.

165. PAULL KD, LIN CM, MALSPEIS L, HAMEL E.

Identification of Novel Antimitotic Agents Acting at the Tubulin Level by Computer-assisted Evaluation of Differential Cytotoxicity Data. *Cancer Research* **1992**;52:3892–3900.

166. WEINSTEIN JN.

An Information-Intensive Approach to the Molecular Pharmacology of Cancer. *Science* **1997**;275:343–349.

- 167.NCI. *COMPARE-Algorithm* **2014**. http://dtp.cancer.gov/docs/compare/compare_methodology.html (entnommen: 12.01.14).
- 168.KETRON AC, DENNY WA, GRAVES DE, OSHEROFF N. Amsacrine as a Topoisomerase II Poison: Importance of Drug–DNA Interactions. Biochemistry 2012;51:1730–1739.
- 169. ROACH MC, LUDUENA RF.

The effect of TN-16 on the alkylation of tubulin. Biochemical and Biophysical Research Community **1985**;129:200–205.

- 170.ROACH MC, TRCKA PP, JURD L, LUDUENA RF. The effects of 6-benzyl-1,3-benzodioxole derivatives on the alkylation of tubulin. *Molecular Pharmacology* **1987**;32:432–436.
- 171. PAULL KD, SHOEMAKER R, HODES L, MONKS A, SCUDIERO D, RUBINSTEIN L. Display and Analysis of patterns of Differential Activity of Drugs Against Human Tumor Cell Lines: Development of Mean Graph and COMPARE Algorithm. Journal of the National Cancer Institute **1988**:1088–1092.
- 172.KAMAL A, REDDY NVS, NAYAK VL, REDDY VS, PRASAD B, NIMBARTE VD. Synthesis and Biological Evaluation of Benzo[b]furans as Inhibitors of Tubulin Polymerization and Inducers of Apoptosis. ChemMedChem 2014;9:117–128.
- 173.KAMAL A, VISWANATH A, RAMAIAH MJ, MURTY JNSRC, SULTANA F, RAMAKRISHNA G. Synthesis of tetrazole–isoxazoline hybrids as a new class of tubulin polymerization inhibitors. *Medicinal Chemistry Communications* **2012**;3:1386.

174.NITISS JL, SOANS E, ROGOJINA A, SETH A, MISHINA M. Topoisomerase Assays. In: Enna S, Williams M, Barret JF, Ferkany JW, Kenakin T, Porsolt RD, eds. Current Protocols in Pharmacology. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc, **2001**.

175.JAROLIM K, MARKO D, MEIER, C, CLEMENT B. Unveröffentlichte Ergebnisse **2014**.

176.Fritz, J.

Untersuchungen zur Beeinflussung humaner Topoisomerasen und der DNA-Integrität durch Polyphenole aus Beerenfrüchten. *Dissertation* Karlsruhe/Kaiserslautern, **2008**.

177.*Firma Topogen*, Florida, USA. Topoisomerase II alpha – Bezugsquelle, **2014**. http://www.topogen.com/topoisomerase-enzymes/human-topoisomerase-ii.html (entnommen: 12.01.14)

- 178.UTSUGI T, SHIBATA J, SUGIMOTO Y, AOYAGI K, WIERZBA K, KOBUNAI T. Antitumor activity of a novel podophyllotoxin derivative (TOP-53) against lung cancer and lung metastatic cancer. *Cancer Research* **1996**;56:2809–2814.
- 179.JEHN U, HEINEMANN V.

New drugs in the treatment of acute and chronic leukemia with some emphasis on m-AMSA. *Anticancer Research* **1991**;11:705–711.

180. NELSON EM, TEWEY KM, LIU LF.

Mechanism of antitumor drug action: poisoning of mammalian DNA topoisomerase II on DNA by 4'-(9-acridinylamino)-methanesulfon-m-anisidide. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* **1984**;81:1361–1365.

- 181. WADKINS RM, GRAVES DE.
 Interactions of anilinoacridines with nucleic acids: effects of substituent modifications on DNAbinding properties.
 Biochemistry 1991;30:4277–4283.
- 182.WU C, LI T, FARH L, LIN L, LIN T, YU Y. Structural Basis of Type II Topoisomerase Inhibition by the Anticancer Drug Etoposide. *Science* **2011**;333:459–462.
- 183.ByL, JO ANN WILSON, CLINE SD, UTSUGI T, KOBUNAI T, YAMADA Y, OSHEROFF N. DNA Topoisomerase II as the Target for the Drug TOP-53: Mechanistic Basis for Drug Action. *Biochemistry* 2001;40:712–718.
- 184.STAKER BL, FEESE MD, CUSHMAN M, POMMIER Y, ZEMBOWER D, STEWART L. Structures of Three Classes of Anticancer Agents Bound to the Human Topoisomerase I–DNA Covalent Complex. Journal of Medicinal Chemistry 2005;48:2336–2345.
- 185. FRIESNER RA, BANKS JL, MURPHY RB, HALGREN TA, KLICIC JJ, MAINZ DT. Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. *Journal of Medicinal Chemistry* **2004**;47:1739–1749.
- 186. FRIESNER RA, MURPHY RB, REPASKY MP, FRYE LL, GREENWOOD JR, HALGREN TA. Extra precision glide: docking and scoring incorporating a model of hydrophobic enclosure for protein-ligand complexes. ' *Journal of Medicinal Chemistry* 2006;49:6177–6196.
- 187.JAIN AN.

Scoring functions for protein-ligand docking. *Current Protein and Peptide Science* **2006**;7:407–420.

188.Jeffrey GA.

An introduction to hydrogen bonding, in: Topics in physical chemistry. New York: *Oxford University Press*, **1997**.

189. CARVALHO CF, SARGENT MV.

Boron trichloride as a selective demethylating agent for hindered ethers. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* **1984**:227.

190. YUAN HJ, CHENG YY, QIAN S, XIAO X, WUY.

A new shortcut synthesis route for (±)raphidecursinol. *Chinese Chemical Letters* **2010**;21:127–130.

- 191.SHERMAN W, DAY T, JACOBSON MP, FRIESNER RA, FARID R. Novel Procedure for Modeling Ligand/Receptor Induced Fit Effects. *Journal of Medicinal Chemistry* **2006**;49:534–553.
- 192.KOSHLAND DE.

Application of a Theory of Enzyme Specificity to Protein Synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1958**;44:98–104.

- 193.SAKAMOTO M, SANO T, FUJITA S, ANDO M, YAMAGUCHI K, MINO T. Regioselective Photocycloaddition of Pyridine Derivatives to Electron-Rich Alkenes. *Journal of Organic Chemistry* **2003**;68:1447–1450.
- 194.J. VICTORY P, VICTORY P, I. BORRELL J, VIDAL-FERRAN A. A Simple Synthesise pluribus of 2-Methoxypyridine-3-carbonitriles. *Heterocycles* **1993**;36:769.

10 ANHANG

Der Anhang enthält die Original-Testdaten aus dem *NCI-60 DTP Human Tumor Cell Line Screening* des *National Cancer Institute* (Maryland, USA) aller in dieser Arbeit behandelter Verbindungen, für die ein *Five-Dose Assay* durchgeführt wurde. Gezeigt sind interne Bezeichnung und vom NCI vergebene NSC-Nummer, Testnummer und Testdatum, und die für die einzelnen Zelllinien und getesteten Konzentrationen aufgelisteten gemessenen Absorptionen und daraus ermittelten Wachstumsprozente, sowie die berechneten Gl₅₀-, TGI-, und LC₅₀-Werte der einzelnen Zelllinien.

Für folgende Verbindungen sind diese Testdaten nacheinander aufgeführt:

Verbindungen der Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolin-Klasse 31:

P4 (NSC 754001) P5 (NSC 754006) P16 (NSC 755782) P18 (NSC 760949) P28 (NSC 763165) P1-D (NSC 763166) P8-D (NSC 763168) P16-D (NSC 768113) P20-D (NSC 763169) P24-D (NSC 763170) P28-D (NSC 765620) P5-O (NSC 765946) P16-O (NSC 765622) P8-D-O (NSC 765624) P16-Cl (NSC 765621) P4-H (NSC 768114) P4-D-H (NSC 768115) P16-6NEthNCH32 (NSC 765623) P166OEthNCH32 (NSC 765625) P8-D-6OEthNCH32 (NSC 768118)

Verbindungen der 11H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazolklasse 33:

A12 (NSC 765626) A3-D (NSC 755786) A12-D (NSC 765627) A13-D (NSC 765628)

P4 (NSC 754001)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite De Vitro	evelop Testir	men ng R	tal T esult	hera s	peutio	s Progran	n	
NSC : D - 754	001 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	009NS21				Test 1	ype : 08	Units : M	lolar
Report Date :	January	/ 15, 201	4		Tes	t Date	: Septe	mber 20,	2010			QNS		MC :	
COMI : ICN-4	(94999))			Stai	n Rea	gent : S	RB Dual-	Pass F	Related		SSPL	: U38J		
	_					Lo	og10 Con	centration	_						
Panel/Cell Line Zero Ctrl -8.0 -7.0 -6.0 -5.0 -4.0 GI50 TGI LC50 Leukemia CCRF-CFM 0.516 2.072 1.992 2.017 2.050 0.942 0.385 95 96 99 27 -25 4.81E-6 3.30E-5 > 1.00E-4															
CURF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.516 0.484 0.198 0.470 0.857 0.387	2.072 1.829 1.411 1.774 2.485 2.215	1.992 1.745 1.365 1.760 2.444 2.158	2.017 1.771 1.381 1.710 2.430 2.182	2.050 1.685 1.354 1.520 2.431 2.032	0.942 0.682 0.647 0.598 1.683 0.802	0.385 0.325 0.276 0.397 0.761 0.288	95 94 96 99 98 97	96 96 95 97 98	99 89 95 81 97 90	27 15 37 10 51 23	-25 -33 6 -16 -11 -26	4.81E-6 3.36E-6 5.99E-6 2.70E-6 1.03E-5 3.93E-6	3.30E-5 2.03E-5 > 1.00E-4 2.44E-5 6.59E-5 2.94E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC EKVX HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H226 NCI-H228 NCI-H322M NCI-H460 NCI-H522	g Cancer 0.309 0.648 0.393 1.107 0.634 0.610 0.858 0.213 0.656	1.349 1.562 1.000 1.482 1.384 1.634 1.568 1.696 1.350	1.297 1.564 0.993 1.432 1.340 1.598 1.520 1.764 1.351	1.334 1.557 1.010 1.416 1.287 1.607 1.514 1.802 1.293	1.319 1.673 1.181 1.782 1.268 1.776 1.562 1.635 1.230	0.766 1.355 0.787 1.752 0.749 1.366 1.177 0.526 0.888	0.237 0.606 0.300 1.064 0.552 0.491 0.613 0.111 0.270	95 100 99 87 94 96 93 105 100	99 99 102 82 87 97 92 107 92	97 112 130 180 85 114 99 96 83	44 77 65 172 15 74 45 21 33	-23 -7 -24 -13 -20 -29 -48 -59	7.69E-6 2.12E-5 1.47E-5 3.16E-6 1.80E-5 8.05E-6 4.11E-6 4.59E-6	4.50E-5 8.35E-5 5.39E-5 9.50E-5 3.49E-5 6.17E-5 4.08E-5 2.02E-5 2.30E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 8.02E-5
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.253 0.591 0.212 0.219 0.232 0.316 0.241	0.760 1.676 1.430 1.337 1.174 1.456 1.429	0.801 1.689 1.447 1.232 1.191 1.454 1.432	0.873 1.740 1.486 1.219 1.201 1.527 1.466	0.944 1.805 1.427 1.104 1.119 1.599 1.685	0.359 1.160 0.476 0.365 0.616 0.974 0.832	0.174 0.389 0.138 0.147 0.183 0.278 0.210	108 101 91 102 100 100	122 106 105 89 103 106 103	136 112 100 79 94 113 122	21 52 22 13 41 58 50	-31 -34 -35 -33 -21 -12 -13	5.60E-6 1.07E-5 4.34E-6 2.76E-6 6.71E-6 1.29E-5 9.92E-6	2.52E-5 4.02E-5 2.41E-5 1.92E-5 4.56E-5 6.69E-5 6.19E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.561 0.710 0.549 0.458 0.632 0.244	1.661 1.990 1.540 1.271 1.063 0.989	1.713 1.825 1.508 1.239 1.002 0.960	1.802 2.024 1.499 1.299 1.015 0.949	2.041 2.042 1.424 1.564 0.958 1.087	1.161 1.448 0.774 1.311 0.919 0.613	0.356 0.538 0.119 0.403 0.066 0.247	105 87 97 96 86 96	113 103 96 103 89 95	135 104 88 136 76 113	55 58 23 105 67 49	-37 -24 -78 -12 -90	1.12E-5 1.24E-5 3.84E-6 2.94E-5 1.28E-5 9.80E-6	3.96E-5 5.06E-5 1.68E-5 7.88E-5 2.67E-5 > 1.00E-4	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 5.24E-5 > 1.00E-4 5.57E-5 > 1.00E-4</pre>
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.253 0.617 0.390 0.338 0.669 0.610 0.631 0.560 0.639	1.745 1.078 1.302 1.198 1.013 1.392 2.686 1.085 1.797	1.705 1.316 1.194 1.000 1.413 2.719 1.714	1.865 1.447 1.232 1.056 1.462 2.685 1.901	1.869 1.475 1.404 1.098 1.882 2.765 2.452	0.732 1.271 0.863 0.734 1.298 1.462	0.090 0.112 0.194 0.163 0.439 0.574 0.078	97 102 100 96 103 102 93	108 116 104 113 109 100	108 119 124 125 163 104 157	32 97 61 19 88 40	-65 -71 -43 -76 -28 -9 -88	5.82E-6 1.89E-5 1.28E-5 5.07E-6 2.12E-5 7.06E-6 1.65E-5	2.15E-5 3.76E-5 3.87E-5 1.58E-5 5.73E-5 6.57E-5 3.17E-5	7.06E-5 7.46E-5 > 1.00E-4 5.34E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 6.10E-5
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.441 0.437 0.458 0.446 0.447 0.479 0.553	1.047 1.268 0.931 1.121 1.495 1.421 1.192	1.322 0.904 1.116 1.505 1.445 1.182	1.329 0.931 1.184 1.515 1.420 1.207	1.350 1.097 1.613 1.586 1.394 1.281	0.727 0.690 1.397 0.851 1.144 0.761	0.357 0.453 0.450 0.396 0.504 0.467	106 94 99 101 103 98	107 100 109 102 100 102	110 135 173 109 97 114	35 49 141 39 71 33	-18 -1 1 -12 3 -16	6.29E-6 9.71E-6 4.44E-5 6.86E-6 2.01E-5 6.11E-6	4.51E-5 9.51E-5 > 1.00E-4 5.89E-5 > 1.00E-4 4.74E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.730 1.340 0.317 0.545 0.614 0.581 0.523 0.598	2.101 2.114 1.094 1.776 1.250 1.654 1.052 1.301	2.112 2.002 1.078 1.784 1.227 1.578 1.075 1.233	2.105 1.958 1.101 1.839 1.234 1.570 1.027 1.296	2.272 2.062 0.877 1.470 1.212 1.605 0.818 1.249	1.318 1.511 0.460 0.783 0.880 1.000 0.611 0.906	0.341 0.224 0.256 0.390 0.254 0.425 0.252 0.490	101 85 98 101 96 93 104 90	100 80 101 105 98 92 95 99	113 93 72 75 94 95 56 93	43 22 18 19 42 39 17 44	-53 -83 -19 -28 -59 -27 -52 -18	7.91E-6 4.05E-6 2.57E-6 2.82E-6 6.98E-6 6.40E-6 1.40E-6 7.48E-6	2.79E-5 1.62E-5 3.07E-5 2.54E-5 2.61E-5 3.91E-5 1.75E-5 5.10E-5	9.24E-5 4.83E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 8.19E-5 > 1.00E-4 9.38E-5 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.522 0.309	1.389 1.161	1.353 1.135	1.429 1.112	1.702 1.024	1.231 0.639	0.541 0.287	96 97	105 94	136 84	82 39	2 -7	2.50E-5 5.62E-6	> 1.00E-4 6.94E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC/ HS 578T T-47D MDA-MB-468	0.363 C 0.654 0.796 0.647 0.569	1.614 1.140 1.371 1.219 1.484	1.536 1.166 1.350 1.230 1.414	1.564 1.236 1.375 1.300 1.467	1.716 1.758 1.281 1.502 1.480	0.919 1.355 0.966 1.017 1.042	0.395 0.348 0.486 0.565 0.282	94 105 96 102 92	96 120 101 114 98	108 227 84 150 100	44 144 30 65 52	3 -47 -39 -13 -51	8.17E-6 3.11E-5 4.23E-6 1.55E-5 1.04E-5	1.00E-4 5.68E-5 2.70E-5 6.84E-5 3.21E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 9.88E-5

P5 (NSC 754006)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite D Vitro	evelop Testir	men ng R	ital T esult	hera s	peuti	cs Prograr	n	
NSC : D - 754	006 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	009NS21				Test	Туре : 08	Units : N	1olar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: Septe	mber 20,	2010			QNS	:	MC :	
COMI : ICN-9	(95004))			Sta	n Rea	gent : S	RB Dual-	Pass F	Related		SSPI	_ : U38J		
						Lo	og10 Cor	ncentration							
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	Optica -6.0	Densiti -5.0	es -4.0	-8.0	P -7.0	ercent G -6.0	rowth -5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.516 0.484 0.198 0.470 0.857 0.387	1.911 1.629 1.255 1.501 2.520 1.908	1.848 1.556 1.250 1.493 2.382 1.850	1.809 1.644 1.206 1.532 2.421 1.812	1.584 1.656 0.715 1.377 2.228 1.284	0.498 0.277 0.219 0.465 1.025 0.326	0.355 0.214 0.119 0.213 0.578 0.197	96 94 100 99 92 96	93 101 95 103 94 94	77 102 49 88 82 59	-4 -43 2 -1 10 -16	-31 -56 -40 -55 -33 -49	2.15E-6 2.29E-6 9.45E-7 2.67E-6 2.81E-6 1.32E-6	9.02E-6 5.07E-6 1.11E-5 9.73E-6 1.73E-5 6.13E-6	> 1.00E-4 3.59E-5 > 1.00E-4 8.15E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC EKVX HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H226 NCI-H227 NCI-H322M NCI-H460 NCI-H522	Cancer 0.309 0.648 0.393 1.107 0.634 0.610 0.858 0.213 0.656	1.337 1.505 1.027 1.409 1.353 1.595 1.458 1.510 1.397	1.269 1.491 1.037 1.367 1.283 1.543 1.505 1.576 1.366	1.247 1.502 1.018 1.375 1.265 1.557 1.481 1.556 1.365	1.274 1.366 0.993 1.461 1.193 1.618 1.514 1.331 1.238	0.451 0.811 0.524 1.178 0.772 0.816 1.052 0.166 0.350	0.027 0.036 -0.002 0.328 0.216 0.111 0.055 0.019 0.012	93 98 102 86 90 95 108 105 96	91 100 99 89 88 96 104 104 96	94 84 95 117 78 102 109 86 79	14 19 21 24 19 21 32 -22 -47	-91 -94 -100 -70 -66 -82 -94 -91 -98	3.53E-6 3.32E-6 4.01E-6 5.22E-6 2.97E-6 4.39E-6 5.90E-6 2.16E-6 1.69E-6	1.35E-5 1.47E-5 1.48E-5 1.78E-5 1.68E-5 1.60E-5 1.81E-5 6.25E-6 4.24E-6	4.05E-5 4.06E-5 3.85E-5 6.07E-5 6.50E-5 4.90E-5 4.50E-5 2.54E-5 1.16E-5
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.253 0.591 0.212 0.219 0.232 0.316 0.241	0.717 2.201 1.482 1.201 1.173 1.263 1.304	0.753 2.161 1.393 1.164 1.177 1.268 1.326	0.747 2.081 1.483 1.136 1.196 1.270 1.294	0.740 2.161 1.436 1.009 1.055 1.144 1.237	0.138 1.091 0.247 0.263 0.159 0.375 0.435	-0.011 -0.001 0.005 0.006 0.008 0.007 0.010	108 98 93 96 100 101 102	106 93 100 93 102 101 99	105 98 96 80 87 87 94	-46 31 3 4 -32 6 18	-100 -100 -98 -97 -97 -98 -96	2.32E-6 5.19E-6 3.13E-6 2.52E-6 2.06E-6 2.89E-6 3.80E-6	4.98E-6 1.73E-5 1.06E-5 1.11E-5 5.42E-6 1.15E-5 1.45E-5	1.20E-5 4.15E-5 3.35E-5 3.42E-5 1.92E-5 3.47E-5 3.96E-5
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.561 0.710 0.549 0.458 0.632 0.244	1.519 1.975 1.452 1.255 1.067 0.972	1.467 1.851 1.459 1.231 0.965 0.936	1.477 1.913 1.377 1.258 0.970 0.924	1.391 1.749 1.352 1.266 0.941 0.907	0.734 0.591 0.378 0.637 0.435 0.325	0.037 0.130 0.037 0.004 0.071 -0.003	95 90 101 97 77 95	96 95 92 100 78 93	87 82 89 101 71 91	18 -17 -31 22 -31 11	-93 -82 -93 -99 -89 -100	3.42E-6 2.11E-6 2.11E-6 4.47E-6 1.61E-6 3.26E-6	1.45E-5 6.76E-6 5.50E-6 1.53E-5 4.96E-6 1.26E-5	4.08E-5 3.24E-5 2.00E-5 3.94E-5 2.12E-5 3.55E-5
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.253 0.617 0.390 0.338 0.669 0.610 0.631 0.560 0.639	1.621 1.057 1.326 1.295 0.951 1.392 2.738 1.058 1.717	1.611 1.031 1.306 1.238 0.967 1.403 2.686 1.043 1.654	1.571 1.032 1.311 1.212 0.973 1.375 2.582 1.028 1.689	1.566 0.983 1.362 0.636 0.918 1.381 2.193 1.019 1.615	0.485 0.751 0.244 0.159 0.474 0.857 0.556 0.723 0.682	0.053 0.145 0.002 0.021 0.037 0.008 -0.003 0.003 0.012	99 94 98 94 106 101 97 97 94	96 94 98 91 108 98 93 94 97	96 83 104 31 88 98 74 92 91	17 30 -37 -53 -29 32 -12 33 4	-79 -76 -94 -95 -99 -100 -100 -98	3.82E-6 4.24E-6 2.41E-6 4.86E-7 2.11E-6 5.30E-6 1.91E-6 5.12E-6 2.94E-6	1.50E-5 1.92E-5 5.43E-6 2.35E-6 5.64E-6 1.75E-5 7.26E-6 1.77E-5 1.09E-5	4.97E-5 5.65E-5 1.59E-5 9.22E-6 2.08E-5 4.22E-5 2.70E-5 4.22E-5 3.38E-5
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.441 0.437 0.458 0.446 0.447 0.479 0.553	1.019 1.098 0.880 1.068 1.494 1.429 1.256	1.107 1.133 0.874 1.029 1.505 1.409 1.240	1.150 1.111 0.837 1.037 1.469 1.417 1.225	1.140 1.134 0.891 1.006 1.437 1.359 1.288	0.618 0.292 0.482 0.524 0.636 0.349 0.400	0.228 -0.001 0.235 -0.002 0.253 0.318 -0.006	115 105 99 94 101 98 98	123 102 90 95 98 99 96	121 105 103 90 95 93 105	31 -33 6 13 18 -27 -28	-48 -100 -49 -100 -44 -34 -100	6.10E-6 2.51E-6 3.49E-6 3.28E-6 3.82E-6 2.27E-6 2.58E-6	2.44E-5 5.75E-6 1.27E-5 1.29E-5 1.96E-5 5.94E-6 6.17E-6	 > 1.00E-4 1.78E-5 > 1.00E-4 3.59E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 2.03E-5
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.730 1.340 0.317 0.545 0.614 0.581 0.523 0.598	2.168 1.941 1.099 1.752 1.183 1.570 1.056 1.287	2.132 1.880 1.098 1.785 1.121 1.547 1.036 1.225	2.097 1.797 1.069 1.830 1.128 1.551 1.035 1.213	2.073 1.553 0.990 1.482 1.040 1.469 1.053 1.063	0.782 0.675 0.382 0.479 0.510 0.701 0.573 0.656	0.013 -0.010 -0.017 0.153 0.045 0.229 0.002 0.161	97 90 100 103 89 98 96 91	95 76 96 106 90 98 96 89	93 35 86 78 75 90 99 67	4 -50 8 -12 -17 12 9 8	-98 -100 -72 -93 -61 -100 -73	3.04E-6 4.36E-7 2.91E-6 2.03E-6 1.86E-6 3.25E-6 3.53E-6 1.97E-6	1.08E-5 2.61E-6 1.19E-5 7.33E-6 6.53E-6 1.47E-5 1.22E-5 1.22E-5 1.27E-5	3.36E-5 1.02E-5 3.45E-5 4.29E-5 2.73E-5 7.13E-5 3.50E-5 5.21E-5
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.522 0.309	1.475 0.920	1.447 0.942	1.451 0.909	1.410 0.825	0.789 0.193	0.549	97 104	97 98	93 84	28 -38	3 -100	4.59E-6 1.91E-6	> 1.00E-4 4.91E-6	> 1.00E-4 1.58E-5
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC HS 578T T-47D MDA-MB-468	0.363 C 0.654 0.796 0.647 0.569	1.551 1.203 1.302 1.176 1.462	1.476 1.236 1.302 1.184 1.386	1.494 1.230 1.289 1.166 1.383	1.401 1.233 1.158 1.190 1.073	0.505 0.692 0.671 0.748 0.462	0.056 0.153 0.399 0.029 0.079	94 106 100 101 91	95 105 97 98 91	87 105 71 103 56	12 7 -16 19 -19	-85 -77 -50 -96 -86	3.13E-6 3.65E-6 1.76E-6 4.26E-6 1.22E-6	1.33E-5 1.21E-5 6.60E-6 1.46E-5 5.62E-6	4.37E-5 4.79E-5 > 1.00E-4 4.00E-5 2.90E-5

P16 (NSC 755782)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite De Vitro	evelop Testir	men ng R	tal T esult	hera s	peutic	s Progra	m	
NSC : D - 755	NSC : D - 755782 / 1 Experiment ID : 1102NS11 Test Type : 08 Units : Molar														
Report Date :	January	/ 15, 201	4		Tes	t Date	: Febru	ary 28, 2	011			QNS :		MC :	
COMI : ICN-1	7 (1007)	69)			Stai	n Rea	gent : S	RB Dual-	Pass F	Related		SSPL	: U38J		
Log10 Concentration Time Mean Optical Densities Percent Growth Panel/Cell Line Zero Ctrl -8.0 -7.0 -6.0 -5.0 -4.0 -8.0 -7.0 -6.0 -5.0 -4.0 Gl50 TGI LC50															
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.477 0.713 0.185 0.528 0.873 0.433	2.223 2.307 1.386 1.634 2.789 2.078	2.144 2.247 1.406 1.626 2.211 2.091	2.076 2.272 1.414 1.656 1.716 2.064	2.055 2.450 1.199 1.657 1.410 1.770	0.574 0.573 0.331 0.597 1.193 0.598	0.462 0.331 0.185 0.311 0.521 0.308	95 96 102 99 70 101	92 98 102 102 44 99	90 109 84 102 28 81	6 -20 12 6 17 10	-3 -54 -41 -40 -29	2.99E-6 2.87E-6 2.99E-6 3.49E-6 5.86E-8 2.75E-6	4.35E-5 7.04E-6 9.51E-5 1.35E-5 1.96E-5 1.81E-5	<pre>> 1.00E-4 7.85E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4</pre>
Non-Small Cell Lung A549/ATCC EKVX HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H226 NCI-H227 NCI-H322M NCI-H460 NCI-H522	g Cancer 0.361 0.721 0.406 1.099 0.719 0.589 0.696 0.244 0.615	1.591 2.067 1.236 1.766 1.763 2.044 1.754 2.665 1.486	1.612 1.924 1.241 1.717 1.716 1.985 1.691 2.707 1.398	1.572 2.015 1.240 1.777 1.719 1.979 1.678 2.684 1.434	1.478 2.224 1.364 1.823 1.721 2.067 1.824 2.654 1.430	0.588 1.339 0.496 1.459 0.857 1.050 1.051 0.398 0.381	0.338 0.892 0.149 1.177 0.260 0.559 0.399 0.133 0.183	102 89 101 93 96 96 94 102 90	98 96 101 102 96 93 101 94	91 112 115 109 96 102 107 100 94	18 46 11 54 13 32 34 6 -38	-7 13 -63 12 -64 -5 -43 -45 -70	3.67E-6 8.66E-6 4.22E-6 1.24E-5 3.59E-6 5.95E-6 3.40E-6 2.14E-6	5.49E-5 > 1.00E-4 1.40E-5 > 1.00E-4 1.48E-5 7.24E-5 2.75E-5 1.33E-5 5.13E-6	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 6.61E-5 > 1.00E-4 6.60E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 2.34E-5</pre>
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.310 0.669 0.265 0.281 0.223 0.303 0.196	1.411 2.538 2.049 2.056 1.403 1.860 1.175	1.399 2.535 2.008 2.014 1.397 1.850 1.174	1.415 2.449 1.991 1.995 1.387 1.823 1.155	1.544 2.508 1.849 1.914 1.390 1.798 1.210	0.325 1.434 0.527 0.579 0.314 0.609 0.365	0.075 0.206 0.057 0.215 0.037 0.076 0.123	99 100 98 98 99 99 100	100 95 97 97 99 98 98	112 98 89 92 99 96 104	1 41 15 17 8 20 17	-76 -69 -78 -23 -83 -75 -38	3.64E-6 6.96E-6 3.34E-6 3.62E-6 3.43E-6 4.00E-6 4.17E-6	1.04E-5 2.35E-5 1.44E-5 2.61E-5 1.21E-5 1.61E-5 2.07E-5	4.63E-5 6.68E-5 4.95E-5 > 1.00E-4 4.30E-5 5.43E-5 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.341 0.720 0.674 0.475 0.695 0.315	1.402 2.326 2.149 1.498 1.521 1.336	1.389 2.136 2.136 1.455 1.550 1.301	1.360 2.167 2.147 1.471 1.476 1.285	1.412 2.141 2.088 1.531 1.559 1.277	0.612 0.999 0.587 0.792 1.112 0.432	0.330 0.487 0.201 0.524 0.664 0.113	99 88 99 96 104 97	96 90 100 97 95 95	101 88 96 103 105 94	26 17 -13 31 50 11	-3 -32 -70 5 -5 -64	4.73E-6 3.48E-6 2.64E-6 5.45E-6 1.02E-5 3.42E-6	7.72E-5 2.23E-5 7.61E-6 > 1.00E-4 8.27E-5 1.42E-5	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 4.44E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 6.48E-5</pre>
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.301 0.733 0.384 0.411 0.838 0.526 0.608 0.719 0.764	2.312 1.780 1.376 1.854 1.500 1.557 2.265 1.455 2.388	2.180 1.691 1.332 1.827 1.484 1.561 2.252 1.414 2.378	2.232 1.702 1.350 1.782 1.486 1.579 2.255 1.427 2.204	2.151 1.647 1.443 1.501 1.577 1.615 2.177 1.405 2.288	0.812 1.139 0.396 0.206 0.557 0.950 0.606 0.956 0.886	0.123 0.423 0.110 0.196 0.392 0.019 0.444 0.165	93 91 96 98 97 100 99 94 99	96 93 97 95 98 102 99 96 89	92 87 107 76 112 106 95 93 94	25 39 -50 -34 41 32 8	-59 -42 -71 -52 -80 -25 -97 -38 -78	4.27E-6 5.87E-6 3.45E-6 1.60E-6 2.66E-6 7.29E-6 2.95E-6 5.09E-6 3.22E-6	2.00E-5 3.01E-5 1.04E-5 4.00E-6 5.87E-6 4.15E-5 9.92E-6 2.86E-5 1.22E-5	7.80E-5 > 1.00E-4 5.06E-5 2.26E-5 > 1.00E-4 3.27E-5 > 1.00E-4 4.67E-5
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES	0.410 0.366 0.500 0.441 0.538	1.541 1.621 1.374 1.796 2.006	1.558 1.664 1.378 1.809 2.031	1.585 1.637 1.387 1.775 1.966	1.638 1.614 1.507 1.722 1.965	0.863 0.388 0.901 0.767 0.589	0.278 0.186 0.448 0.422 0.526	101 103 100 101 102	104 101 101 98 97	109 99 115 95 97	40 2 46 24 3	-32 -49 -10 -4 -2	7.15E-6 3.21E-6 8.73E-6 4.28E-6 3.19E-6	3.58E-5 1.08E-5 6.54E-5 6.99E-5 3.95E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	1.171 0.316 0.840 0.611 0.442 0.706 0.720	2.531 1.417 2.369 1.098 1.659 1.210 1.803	2.367 1.481 2.320 1.083 1.629 1.168 1.646	2.461 1.431 2.393 1.098 1.595 1.209 1.621	2.327 1.405 2.404 1.054 1.634 1.285 1.610	1.155 0.590 1.424 0.382 0.709 0.880 0.977	0.543 0.250 0.860 0.047 0.398 0.539 0.569	88 106 97 97 98 92 86	95 101 102 100 95 100 83	85 99 102 91 98 115 82	-1 25 38 -37 22 35 24	-54 -21 -92 -10 -24 -21	2.54E-6 4.57E-6 6.54E-6 2.08E-6 4.27E-6 6.42E-6 3.55E-6	9.64E-6 3.48E-5 > 1.00E-4 5.11E-6 4.87E-5 3.92E-5 3.40E-5	8.52E-5 > 1.00E-4 1.09E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.599 0.376	2.122 1.623	2.218 1.644	2.159 1.654	2.079 1.650	0.967 0.624	0.686 0.352	106 102	102 102	97 102	24 20	6 -7	4.43E-6 4.30E-6	> 1.00E-4 5.66E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.229 C 0.500 0.731 0.667 0.703 0.580	1.133 1.095 1.689 1.403 1.832 1.405	1.111 1.098 1.676 1.406 1.752 1.363	1.115 1.097 1.652 1.375 1.877 1.338	1.203 1.125 1.642 1.408 1.772 1.276	0.464 0.704 0.943 0.845 1.074 0.386	0.225 0.289 0.799 0.266 0.651 0.207	98 100 99 100 93 95	98 100 96 96 104 92	108 105 95 101 95 84	26 34 22 24 33 -34	-2 -42 7 -60 -7 -64	5.08E-6 5.99E-6 4.15E-6 4.59E-6 5.27E-6 1.96E-6	8.65E-5 2.81E-5 > 1.00E-4 1.93E-5 6.53E-5 5.19E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 7.57E-5 > 1.00E-4 3.42E-5

P18 (NSC 760949)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite Do Vitro	evelop Testir	omen ng R	ital T esult	hera s	peutio	s Progran	n	
NSC : D - 760)949 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	109NS17				Test	Гуре : 08	Units : M	1olar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: Septe	mber 06,	2011			QNS		MC :	
COMI : ICN-2	3 (1078	38)			Stai	in Rea	gent : S	RB Dual-	-Pass I	Related	I	SSPL	: U38J		
						Lo	og10 Cor	ncentration	_						
Panel/Cell Line	Zero	Ctrl	- <mark>8.0</mark>	Mean -7.0	-6.0	-5.0	es -4.0	-8.0	Р -7.0	ercent G -6.0	-5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
CCRF-CEM HL-60(TB) MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.498 0.758 0.679 1.007 0.200	1.672 2.281 2.105 2.324 0.695	1.658 2.201 2.127 2.327 0.682	1.596 2.159 2.092 2.333 0.680	1.498 1.879 2.115 2.027 0.665	0.813 0.853 0.993 1.405 0.256	0.235 0.373 0.339 0.750 0.168	99 95 102 100 97	94 92 99 101 97	85 74 101 77 94	27 6 22 30 11	-53 -51 -50 -26 -16	4.01E-6 2.24E-6 4.40E-6 3.81E-6 3.40E-6	2.17E-5 1.28E-5 2.02E-5 3.48E-5 2.59E-5	9.22E-5 9.69E-5 9.98E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC EKVX HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H226 NCI-H227 NCI-H322M NCI-H460 NCI-H522	g Cancer 0.312 0.572 0.435 1.026 0.679 0.483 0.868 0.205 0.735	1.611 1.596 1.104 1.505 1.646 1.316 1.790 1.823 1.774	1.596 1.578 1.089 1.488 1.586 1.310 1.716 1.819 1.724	1.568 1.633 1.097 1.475 1.608 1.309 1.655 1.890 1.725	1.345 1.509 1.097 1.441 1.609 1.274 1.717 1.620 1.719	0.707 1.016 0.751 1.276 1.192 0.959 1.392 0.703 1.057	0.092 0.201 0.183 0.298 0.362 0.080 0.080 0.080 0.043 0.303	99 98 96 94 99 92 100 95	97 104 99 94 96 99 85 104 95	80 91 99 87 96 95 92 87 95	30 43 47 52 53 57 57 31 31	-71 -65 -58 -71 -47 -83 -91 -79 -59	3.99E-6 7.28E-6 8.83E-6 1.04E-5 1.07E-5 1.12E-5 1.11E-5 4.58E-6 5.03E-6	2.00E-5 2.52E-5 2.81E-5 2.65E-5 3.40E-5 2.55E-5 2.42E-5 1.91E-5 2.21E-5	6.24E-5 7.29E-5 8.39E-5 6.75E-5 > 1.00E-4 5.78E-5 5.29E-5 5.44E-5 7.98E-5
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.334 0.389 0.140 0.350 0.227 0.420 0.247	1.268 1.293 1.172 1.810 1.402 1.876 1.651	1.268 1.286 1.104 1.794 1.407 1.949 1.636	1.316 1.278 1.174 1.770 1.426 1.859 1.651	1.445 1.215 1.105 1.682 1.366 1.835 1.617	0.932 0.798 0.481 0.692 0.641 0.902 0.817	0.064 0.050 0.154 0.136 0.067 0.063 0.038	100 99 93 99 100 105 99	105 98 100 97 102 99 100	119 91 93 91 97 97 98	64 45 33 23 35 33 41	-81 -87 -61 -71 -85 -85	1.25E-5 7.86E-6 5.24E-6 4.05E-6 5.76E-6 5.45E-6 6.84E-6	2.76E-5 2.19E-5 > 1.00E-4 1.89E-5 2.15E-5 1.91E-5 2.11E-5	6.11E-5 5.24E-5 > 1.00E-4 7.36E-5 6.38E-5 5.05E-5 5.28E-5
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.451 0.583 0.670 0.458 0.748 0.298	1.410 2.076 1.954 1.659 1.615 1.523	1.444 2.000 1.905 1.640 1.561 1.490	1.382 2.055 2.026 1.581 1.471 1.480	1.326 1.878 1.989 1.549 1.445 1.315	0.911 1.076 1.259 0.979 1.079 0.723	0.075 0.174 0.162 0.121 0.463 0.042	104 95 96 98 94 97	97 99 106 93 83 96	91 87 103 91 80 83	48 33 46 43 38 35	-83 -70 -76 -74 -38 -86	8.96E-6 4.82E-6 8.47E-6 7.24E-6 5.25E-6 4.82E-6	2.32E-5 2.09E-5 2.38E-5 2.35E-5 3.17E-5 1.94E-5	5.56E-5 6.37E-5 6.13E-5 6.27E-5 > 1.00E-4 5.04E-5
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.194 0.531 0.361 0.516 0.869 0.441 0.295 0.653 0.689	1.317 1.099 1.355 2.280 1.704 1.360 2.246 1.416 2.023	1.299 1.123 1.319 2.300 1.702 1.364 2.200 1.395 1.974	1.289 1.133 1.318 2.253 1.684 1.356 2.106 1.392 2.003	1.235 1.125 1.427 2.155 1.766 1.263 1.843 1.351 1.927	0.637 0.856 0.866 0.564 1.073 0.915 0.882 1.024 1.373	0.084 0.238 0.226 0.189 0.259 0.111 0.090 0.122 0.158	98 104 96 101 100 98 97 96	98 106 98 98 100 93 97 99	93 104 107 93 107 89 79 91 93	39 57 3 24 52 30 49 51	-57 -55 -37 -63 -70 -75 -70 -81 -77	6.34E-6 1.16E-5 1.02E-5 2.99E-6 4.91E-6 1.03E-5 3.94E-6 9.26E-6 1.02E-5	2.57E-5 3.23E-5 3.77E-5 1.10E-5 1.81E-5 2.56E-5 2.00E-5 2.36E-5 2.51E-5	8.47E-5 8.99E-5 > 1.00E-4 6.26E-5 6.11E-5 6.36E-5 6.35E-5 5.73E-5 6.15E-5
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.456 0.552 0.420 0.527 0.376 0.451 0.356	1.568 1.520 1.009 1.451 1.535 1.595 0.883	1.551 1.543 0.999 1.417 1.568 1.634 0.888	1.631 1.540 0.977 1.407 1.598 1.567 0.900	1.659 1.585 0.935 1.480 1.418 1.480 0.964	1.077 0.969 0.635 1.194 0.783 0.729 0.632	0.141 0.083 0.204 0.115 0.184 0.245 0.034	98 102 98 96 103 103 101	106 102 95 95 105 97 103	108 107 87 103 90 90 115	56 43 36 72 35 24 52	-69 -85 -52 -78 -51 -46 -91	1.11E-5 7.78E-6 5.42E-6 1.40E-5 5.35E-6 4.05E-6 1.04E-5	2.80E-5 2.17E-5 2.59E-5 3.02E-5 2.55E-5 2.22E-5 2.33E-5	7.02E-5 5.33E-5 9.60E-5 9.69E-5 9.69E-5 > 1.00E-4 5.20E-5
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.457 1.040 0.403 0.595 0.550 0.449 0.708 0.540	1.861 1.566 2.026 1.064 1.596 1.531 1.470	1.834 1.426 1.622 1.953 1.045 1.515 1.504 1.389	1.771 1.484 1.659 2.111 1.019 1.543 1.464 1.365	1.614 1.289 1.635 1.977 0.937 1.567 1.480 1.332	0.968 0.816 0.907 1.076 0.548 0.921 1.130 0.609	0.212 0.049 0.052 0.235 0.060 0.210 0.138 0.125	98 73 99 95 96 93 97 91	94 84 102 106 91 95 92 89	82 47 100 97 75 97 94 85	36 -22 41 34 41 51 7	-54 -95 -87 -61 -89 -53 -81 -77	5.06E-6 8.45E-7 7.00E-6 2.15E-6 2.15E-6 6.96E-6 1.02E-5 2.83E-6	2.53E-5 4.86E-6 2.09E-5 2.27E-5 9.86E-6 2.72E-5 2.45E-5 1.22E-5	9.09E-5 2.43E-5 5.13E-5 7.72E-5 3.62E-5 9.22E-5 5.87E-5 4.80E-5
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.483 0.333	1.238 1.240	1.212 1.308	1.205 1.278	1.114 1.249	0.714 0.830	0.203 0.039	96 108	96 104	83 101	31 55	-58 -88	4.29E-6 1.08E-5	2.21E-5 2.41E-5	8.11E-5 5.40E-5
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.250 C 0.637 0.814 0.679 0.525 0.608	1.352 1.644 1.597 1.586 1.110 1.196	1.295 1.634 1.599 1.545 1.070 1.160	1.298 1.691 1.581 1.581 1.063 1.154	1.202 1.763 1.493 1.546 1.084 1.088	0.499 1.277 1.039 1.055 0.832 0.502	0.082 0.436 0.482 0.399 0.238 0.135	95 99 100 95 93 94	95 105 98 99 92 93	86 112 87 96 96 82	23 64 29 41 52 -18	-67 -32 -41 -41 -55 -78	3.72E-6 1.39E-5 4.30E-6 6.96E-6 1.05E-5 2.08E-6	1.79E-5 4.66E-5 2.59E-5 3.17E-5 3.08E-5 6.66E-6	6.43E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 9.03E-5 3.46E-5

P28 (NSC 763165)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite De Vitro	evelop Testii	men ng R	tal T esult	hera s	peutic	s Progran	n	
NSC : D - 763	3165 / 1				Exp	erimer	nt ID : 12	201NS03	3			Test T	ype : 08	Units : N	lolar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: Janua	ry 30, 20	12			QNS :		MC :	
COMI : ICN-24	4 (1135:	32)			Sta	n Rea	gent : Sl	RB Dual	-Pass F	Related		SSPL	: U38J		
	-				0.1	Lo	og10 Con	centration							
Panel/Cell Line Zero Ctrl -8.0 -7.0 -6.0 -5.0 -4.0 -6.0 -5.0 -4.0 GI50 TGI LC50 Leukemia CCPE CEM 0.717 2.327 2.310 1.709 0.723 0.471 09 101 63 4 24 1.67E 1.29E 5 > 1.00E 4												LC50			
Ceukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.717 1.075 0.249 0.817 1.563 0.526	2.287 1.760 1.235 1.763 2.885 1.234	2.278 1.815 1.305 1.973 2.870 1.346	2.310 1.899 1.344 2.087 2.857 1.241	1.709 1.044 0.576 1.748 2.752 0.719	0.783 0.907 0.372 0.781 1.977 0.535	0.471 0.668 0.230 0.603 1.016 0.368	99 108 107 122 99 116	101 120 111 134 98 101	63 -3 33 98 90 27	4 -16 12 -4 31 1	-34 -38 -8 -26 -35 -30	1.67E-6 3.72E-7 6.08E-7 2.96E-6 4.79E-6 4.92E-7	1.28E-5 9.47E-7 4.17E-5 9.06E-6 2.96E-5 1.09E-5	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC EKVX HOP-62 HOP-92	g Cancer 0.414 0.716 0.402 1.168	1.963 1.640 0.914 1.625	1.940 1.614 0.911	2.051 1.865 1.035	1.529 1.802 1.022	0.885 1.423 0.794	0.356 0.594 0.270	99 97 99	106 124 124	72 118 121	30 76 77	-14 -17 -33	3.38E-6 1.92E-5 1.75E-5	4.84E-5 6.57E-5 5.00E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
NCI-H226 NCI-H23 NCI-H460 NCI-H522	0.792 0.640 0.271 0.831	1.800 1.702 2.317 1.587	1.793 1.625 2.370 1.599	1.954 1.747 2.485 1.584	2.214 1.722 2.156 1.304	1.340 1.093 0.581 0.848	0.705 0.455 0.151 0.184	99 93 103 102	115 104 108 100	141 102 92 63	54 43 15 2	-11 -29 -44 -78	1.16E-5 7.51E-6 3.53E-6 1.61E-6	6.79E-5 3.94E-5 1.80E-5 1.06E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 4.49E-5
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.297 0.475 0.222 0.359 0.242 0.405 0.279	1.126 1.584 2.200 1.929 1.061 1.784 1.492	1.194 1.554 1.985 1.925 1.098 1.861 1.534	1.260 1.656 2.239 2.055 1.107 1.985 1.786	1.374 1.576 1.329 1.100 0.425 1.213 1.141	0.629 0.911 0.485 0.530 0.363 0.955 0.801	0.215 0.253 0.230 0.292 0.148 0.227 0.225	108 97 89 100 104 106 103	116 106 102 108 106 115 124	130 99 56 47 22 59 71	40 39 13 11 15 40 43	-28 -47 -19 -39 -44 -20	7.74E-6 6.63E-6 9.00E-7 4.65E-7 2.88E-6 5.62E-6	3.89E-5 2.86E-5 > 1.00E-4 2.32E-5 1.89E-5 2.98E-5 4.87E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75	0.474 0.862 0.704 0.682 0.598	1.331 2.427 1.923 1.925 1.178	1.434 2.246 1.954 1.875 1.073	1.543 2.477 2.105 2.148 1.067	1.178 1.958 1.540 2.232 1.029	0.767 1.252 0.940 1.679 0.720	0.281 0.596 0.139 0.602 0.153	112 88 102 96 82	125 103 115 118 81	82 70 69 125 74	34 25 19 80 21	-41 -31 -80 -12 -74	4.67E-6 2.78E-6 2.38E-6 2.13E-5 2.85E-6	2.85E-5 2.80E-5 1.56E-5 7.45E-5 1.66E-5	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 4.96E-5 > 1.00E-4 5.54E-5</pre>
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.298 0.573 0.367 0.489 0.898 0.498 0.628 0.671 0.964	1.881 0.944 1.696 2.023 1.717 1.370 2.597 1.354 2.352	1.878 0.966 1.518 2.009 1.774 1.398 2.596 1.311 2.266	1.953 1.168 1.705 2.040 2.007 1.518 2.711 1.512 2.692	1.362 1.260 1.111 0.837 1.545 1.359 1.515 1.306 2.411	0.673 0.936 0.609 0.545 1.065 0.862 0.345 1.104 1.785	0.100 0.294 0.102 0.084 0.300 0.318 0.014 0.488 0.342	100 106 87 99 107 103 100 94 94	105 161 101 135 117 106 123 124	67 185 23 79 99 45 93 104	24 98 18 4 20 42 -45 63 59	-66 -49 -72 -83 -67 -36 -98 -27 -65	2.48E-6 2.12E-5 1.44E-6 4.48E-7 3.12E-6 7.16E-6 8.28E-7 1.41E-5 1.19E-5	1.83E-5 4.65E-5 1.59E-5 1.10E-5 1.71E-5 3.14E-5 3.16E-6 5.00E-5 3.01E-5	6.57E-5 > 1.00E-4 5.60E-5 4.17E-5 6.44E-5 > 1.00E-4 1.24E-5 > 1.00E-4 7.62E-5
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.639 0.464 0.510 0.483 0.430 0.409 0.607	2.133 1.433 0.955 1.374 1.527 1.284 1.342	2.251 1.563 0.953 1.392 1.511 1.275 1.341	2.614 1.700 0.972 1.752 1.545 1.279 1.451	2.340 0.887 1.034 1.886 1.353 1.032 1.395	1.334 0.770 0.816 1.269 0.589 0.507 0.727	0.641 0.359 0.459 0.453 0.284 0.312 0.497	108 113 99 102 98 99 100	132 128 104 142 102 99 115	114 44 118 158 84 71 107	47 32 69 88 14 11 16	-23 -10 -6 -34 -24 -18	8.87E-6 8.40E-7 1.72E-5 2.54E-5 3.09E-6 2.25E-6 4.26E-6	> 1.00E-4 3.82E-5 7.44E-5 8.57E-5 1.99E-5 2.08E-5 2.98E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.678 1.188 0.420 0.764 0.527 0.549 0.667 0.786	2.351 1.994 1.538 2.358 1.014 1.869 1.318 1.460	2.235 1.853 1.585 2.302 1.015 1.786 1.316 1.386	2.724 2.080 1.650 2.410 1.106 1.790 1.407 1.822	2.158 2.115 1.455 2.368 1.230 1.793 1.556 2.139	1.420 1.435 0.741 1.316 0.682 0.980 1.045 1.196	0.228 0.322 0.384 0.675 0.135 0.468 0.424 0.492	93 83 104 96 100 94 100 89	122 111 110 103 119 94 114 154	88 115 93 101 144 94 136 201	44 31 29 35 32 33 58 61	-66 -73 -9 -12 -74 -15 -37 -37	7.45E-6 5.89E-6 4.64E-6 5.84E-6 6.89E-6 5.23E-6 1.21E-5 1.29E-5	2.52E-5 1.98E-5 5.86E-5 5.59E-5 1.99E-5 4.87E-5 4.87E-5 4.11E-5 4.16E-5	7.11E-5 6.01E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 5.89E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145 Proof Course	0.746 0.269	2.048 0.956	2.064 1.079	2.259 1.147	1.982 1.092	1.330 0.407	0.610 0.195	101 118	116 128	95 120	45 20	-18 -28	7.89E-6 5.01E-6	5.13E-5 2.64E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4
MDA-MB-231/ATC0 MDA-MB-231/ATC0 HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.304 C 0.517 0.883 0.804 0.821 0.595	1.633 1.299 1.601 1.675 1.819 1.146	1.561 1.298 1.569 1.475 1.813 1.146	1.553 1.544 1.629 1.655 1.943 1.235	0.692 1.531 1.614 1.418 1.969 1.214	0.518 1.132 1.081 1.011 1.377 0.831	0.267 0.365 0.636 0.208 0.663 0.083	95 100 96 77 99 100	94 131 104 98 112 116	29 130 102 70 115 112	16 79 28 24 56 43	-12 -29 -28 -74 -19 -86	4.77E-7 1.84E-5 4.98E-6 2.74E-6 1.19E-5 7.90E-6	3.68E-5 5.34E-5 3.13E-5 1.75E-5 5.54E-5 2.15E-5	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 5.66E-5 > 1.00E-4 5.25E-5</pre>

P1-D (NSC 763166)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite D Vitro	evelop Testi	omer ng R	ital T esult	hera s	peut	ics Progran	n	
NSC : D - 763	3166 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	201NS03	3			Test	Туре : 08	Units : N	Molar
Report Date :	January	/ 15, 20 ⁻	14		Tes	t Date	: Janua	ary 30, 20	12			QNS	8 :	MC :	
COMI : ICN-1	1-D (11:	3533)			Sta	in Rea	gent : S	SRB Dual	-Pass I	Related	1	SSP	'L : U38J		
Log10 Concentration															
Time Mean Optical Densities Percent Growth Panel/Cell Line Zero Ctrl -8.0 -7.0 -6.0 -5.0 -4.0 -8.0 -7.0 -6.0 -5.0 -4.0 GI50 TGI LC50												LC50			
CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.717 1.075 0.249 0.817 1.563 0.526	1.885 1.891 1.209 1.869 2.464 1.104	1.934 1.820 1.308 1.912 2.431 1.072	1.927 1.773 1.194 1.742 2.381 0.973	1.384 1.569 0.919 0.814 2.041 0.661	0.755 0.793 0.797 0.531 1.523 0.454	0.998 1.213 0.912 0.550 1.835 0.493	104 91 110 104 96 95	104 86 98 88 91 77	57 61 70 53 23	3 -26 57 -35 -3 -14	24 17 69 -33 30 -6	1.35E-6 1.32E-6 > 1.00E-4 2.69E-7 1.14E-6 3.21E-7	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 9.90E-7 4.25E-6 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lun A549/ATCC EKVX HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H460 NCI-H522	g Cancer 0.414 0.716 0.402 1.168 0.792 0.640 0.271 0.831	1.872 1.808 0.923 1.480 1.780 1.616 2.117 1.605	1.829 1.760 0.897 1.463 1.668 1.586 2.208 1.579	1.716 1.753 0.908 1.513 1.589 1.606 2.072 1.602	1.062 1.867 0.826 1.378 1.418 1.601 0.638 1.400	0.553 1.856 0.426 1.208 0.723 1.128 0.355 1.136	0.930 1.734 0.578 1.283 0.974 1.348 0.471 1.213	97 96 95 94 89 97 105 97	89 95 97 110 81 99 98 100	44 105 81 67 63 98 20 74	10 104 5 13 -9 50 5 39	35 93 34 37 18 72 11 49	7.51E-7 > 1.00E-4 2.56E-6 1.53E-6 1.53E-6 > 1.00E-4 4.09E-7 4.89E-6	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.297 0.475 0.222 0.359 0.242 0.405 0.279	1.176 1.675 2.002 1.926 1.115 1.757 1.408	1.188 1.656 2.070 1.908 1.068 1.721 1.496	1.172 1.715 1.807 1.836 1.107 1.679 1.624	0.656 1.615 1.441 1.441 0.937 1.313 1.295	0.939 1.402 0.931 0.914 0.600 1.026 1.017	0.590 1.315 1.055 1.205 0.753 1.127 1.082	101 98 104 99 95 97 108	100 103 89 94 99 94 119	41 95 68 69 80 67 90	73 77 40 35 41 46 65	33 70 47 54 59 53 71	 > 1.00E-4 4.42E-6 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75	0.474 0.862 0.704 0.682 0.598	1.337 2.572 1.856 1.885 1.190	1.319 2.487 1.884 1.866 1.117	1.388 2.476 1.837 1.927 1.109	1.135 2.134 1.699 1.887 0.928	0.741 1.083 1.274 1.286 0.696	0.773 1.819 1.358 1.516 0.674	98 95 102 98 88	106 94 98 104 86	77 74 86 100 56	31 13 50 50 16	35 56 57 69 13	3.82E-6 - - 1.00E-4 1.40E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.298 0.573 0.367 0.489 0.898 0.498 0.628 0.671 0.964	1.886 0.922 1.631 2.137 1.670 1.360 2.619 1.378 2.408	1.971 0.926 1.576 2.140 1.690 1.405 2.549 1.411 2.451	1.909 0.952 1.494 2.163 1.747 1.479 2.521 1.425 2.452	1.188 0.986 1.324 2.166 1.842 1.400 1.944 1.478 2.458	0.505 0.759 0.864 1.846 1.568 1.221 1.492 1.297 1.694	0.975 0.846 1.190 2.016 1.622 1.268 1.833 1.415 1.993	105 101 96 100 103 105 96 105 103	101 109 89 102 110 114 95 107 103	56 118 76 102 122 105 66 114 103	13 53 39 82 87 84 43 89 51	43 78 93 94 89 61 105 71	1.38E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.639 0.464 0.510 0.483 0.430 0.409 0.607	1.959 1.431 0.944 1.349 1.587 1.209 1.329	2.035 1.448 0.940 1.480 1.543 1.211 1.328	2.129 1.575 0.985 1.431 1.556 1.166 1.325	2.034 1.389 0.967 1.575 1.132 1.025 1.228	1.694 1.111 0.827 1.246 0.698 0.777 0.760	1.540 1.055 0.857 1.378 0.862 0.916 0.909	106 102 99 115 96 100 100	113 115 109 110 97 95 99	106 96 105 126 61 77 86	80 67 73 88 23 46 21	68 61 80 103 37 63 42	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 1.02E-6 3.59E-6	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.678 1.188 0.420 0.764 0.527 0.549 0.667 0.786	2.346 2.018 1.552 2.337 1.018 1.928 1.298 1.519	2.422 1.911 1.517 2.308 0.998 1.726 1.263 1.415	2.282 1.855 1.476 2.315 0.977 1.720 1.248 1.445	2.149 1.692 0.862 1.510 0.993 1.391 1.132 1.241	0.977 1.462 0.429 1.222 0.765 0.795 0.949 0.768	1.638 1.669 0.686 1.465 0.847 1.189 1.088 1.050	105 87 97 98 96 85 94 86	96 80 93 99 92 85 92 90	88 61 39 47 95 61 74 62	18 33 1 29 48 18 45 -2	58 58 24 45 65 46 67 36	6.27E-7 8.91E-7 1.80E-6 1.54E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.746 0.269	1.833 0.919	1.796 0.977	1.846 0.969	1.574 0.751	1.349 0.278	1.407 0.416	97 109	101 108	76 74	55 1	61 23	> 1.00E-4 2.15E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.304 C 0.517 0.883 0.804 0.821 0.595	1.582 1.264 1.615 1.659 1.815 1.146	1.570 1.254 1.632 1.631 1.755 1.104	1.531 1.301 1.637 1.492 1.742 1.120	0.763 1.333 1.429 1.382 1.729 1.161	0.621 1.202 1.288 1.100 1.047 0.952	0.727 1.092 1.261 1.270 1.168 0.769	99 99 102 97 94 92	96 105 103 80 93 95	36 109 75 68 91 103	25 92 55 35 23 65	33 77 52 54 35 32	5.83E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 - 4.00E-6 2.78E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

P8-D (NSC 763168)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite De Vitro	evelop Testir	men ng Re	tal T esult	hera s	peutio	s Prograr	n	
NSC : D - 763	3168 / 1				Exp	erimer	nt ID:1	201NS03	5			Test 1	Гуре : 08	Units : N	lolar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: Janua	iry 30, 20	12			QNS	:	MC :	
COMI : ICN-2	-D (113	536)			Sta	n Rea	gent : S	RB Dual-	Pass F	Related		SSPL	: U38J		
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	Optica -6.0	Lo Densiti -5.0	og10 Con es -4.0	centration -8.0	Pe -7.0	ercent G -6.0	rowth -5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.717 1.075 0.249 0.817 1.563 0.526	1.910 1.788 1.101 1.836 2.433 1.181	1.972 1.894 1.150 2.008 2.480 1.223	1.869 1.832 0.941 1.977 2.371 0.957	0.724 0.879 0.694 0.567 1.764 0.548	0.587 0.743 0.295 0.568 1.025 0.481	0.514 0.652 0.243 0.493 0.965 0.401	105 115 106 117 105 106	97 106 81 114 93 66	1 -18 52 -31 23 3	-18 -31 5 -31 -34 -9	-28 -39 -3 -40 -38 -24	3.05E-7 2.83E-7 1.12E-6 2.77E-7 4.11E-7 1.79E-7	1.07E-6 7.13E-7 4.70E-5 6.13E-7 2.52E-6 1.91E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC EKVX HOP-62 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H460 NCI-H4522	g Cancer 0.414 0.716 0.402 0.792 0.640 0.271 0.831	1.912 1.781 0.907 1.732 1.669 2.214 1.584	1.859 1.746 0.872 1.718 1.597 2.227 1.548	1.562 1.687 0.842 1.651 1.517 1.880 1.455	0.695 1.542 0.451 0.775 1.011 0.504 1.183	0.238 1.176 0.258 0.620 0.446 0.235 0.858	0.315 0.984 0.256 0.604 0.365 0.194 0.227	96 97 93 98 93 101 95	77 91 87 91 85 83 83	19 77 10 -2 36 12 47	-43 43 -36 -22 -30 -13 4	-24 25 -36 -24 -43 -28 -73	2.88E-7 6.33E-6 3.01E-7 2.77E-7 5.19E-7 2.91E-7 8.10E-7	2.02E-6 > 1.00E-4 1.63E-6 9.48E-7 3.49E-6 2.98E-6 1.11E-5	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 5.04E-5
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.297 0.475 0.222 0.359 0.242 0.405 0.279	1.096 1.945 1.867 1.902 1.060 1.757 1.408	1.166 1.925 1.692 1.857 1.076 1.813 1.404	1.148 1.788 1.716 1.756 1.074 1.660 1.339	0.696 1.460 0.893 1.197 0.624 1.255 0.991	0.150 0.494 0.393 0.349 0.204 0.298 0.463	0.031 0.106 0.137 0.268 0.145 0.191 0.289	109 99 89 97 102 104 100	106 89 91 90 102 93 94	50 67 41 54 47 63 63	-50 1 10 -3 -16 -27 16	-90 -78 -38 -25 -40 -53 1	9.97E-7 1.81E-6 6.54E-7 1.19E-6 8.70E-7 1.39E-6 1.90E-6	3.17E-6 1.04E-5 1.63E-5 8.89E-6 5.60E-6 5.05E-6 > 1.00E-4	1.02E-5 4.46E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 7.72E-5 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75	0.474 0.862 0.704 0.682 0.598	1.365 2.607 1.873 1.901 1.188	1.402 2.423 1.944 1.865 1.123	1.332 2.255 1.883 1.779 1.048	0.959 1.194 1.153 1.224 0.581	0.459 0.825 0.498 1.038 0.504	0.401 0.833 0.309 0.813 0.386	104 89 106 97 89	96 80 101 90 76	54 19 38 44 -3	-3 -4 -29 29 -16	-16 -3 -56 11 -36	1.19E-6 3.09E-7 6.51E-7 7.55E-7 2.15E-7	8.81E-6 6.54E-6 3.69E-6 > 1.00E-4 9.18E-7	> 1.00E-4 > 1.00E-4 5.89E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.298 0.573 0.367 0.489 0.898 0.498 0.628 0.671 0.964	1.849 0.937 1.411 2.112 1.669 1.411 2.537 1.381 2.309	1.826 0.939 1.308 1.998 1.714 1.371 2.535 1.363 2.335	1.553 0.935 1.377 1.066 1.666 1.303 2.282 1.301 2.111	0.546 0.792 0.718 1.556 1.709 1.135 1.548 1.138 1.389	0.106 0.589 0.311 0.745 0.970 0.623 0.079 0.728 0.797	0.161 0.207 0.083 0.401 0.327 0.243 0.027 0.287 0.230	99 101 90 93 106 96 100 97 102	81 99 36 100 88 87 89 85	16 60 34 66 105 70 48 66 32	-65 4 -15 16 9 14 -87 8 -17	-46 -64 -78 -18 -64 -51 -96 -57 -76	2.99E-7 1.52E-6 5.50E-7 3.77E-6 2.25E-6 8.97E-7 1.87E-6 4.53E-7	1.58E-6 1.15E-5 4.87E-6 2.92E-5 1.34E-5 1.62E-5 2.27E-6 1.32E-5 4.42E-6	6.26E-5 3.61E-5 > 1.00E-4 6.50E-5 9.55E-5 5.30E-6 7.73E-5 3.59E-5
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.639 0.464 0.510 0.483 0.430 0.409 0.607	1.998 1.443 0.999 1.425 1.550 1.291 1.264	2.091 1.533 0.994 1.414 1.534 1.267 1.300	1.918 1.507 0.948 1.397 1.478 1.202 1.261	1.543 1.301 0.870 1.248 0.945 0.884 0.750	0.911 0.586 0.751 0.720 0.454 0.476 0.391	0.448 0.326 0.505 0.459 0.358 0.329 0.300	107 109 99 99 99 97 105	94 107 90 97 94 90 100	67 86 74 81 46 54 22	20 12 49 25 2 8 -36	-30 -30 -5 -17 -20 -51	2.26E-6 3.06E-6 9.37E-6 3.61E-6 8.24E-7 1.21E-6 4.33E-7	2.51E-5 1.97E-5 9.52E-5 6.80E-5 1.30E-5 1.89E-5 2.39E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 9.15E-5
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.678 1.188 0.420 0.764 0.527 0.549 0.667 0.786	2.195 1.993 1.551 2.332 1.030 1.837 1.284 1.578	1.927 1.832 1.520 2.231 1.040 1.705 1.297 1.482	2.039 1.753 1.465 2.056 1.014 1.593 1.253 1.395	0.877 1.442 0.467 0.991 0.837 0.760 0.946 0.907	0.494 0.537 0.293 0.792 0.408 0.573 0.461 0.612	0.441 0.451 0.303 0.691 0.143 0.464 0.370 0.480	82 97 94 102 90 102 88	90 70 92 82 97 81 95 77	13 31 4 14 62 16 45 15	-27 -55 -30 2 -23 2 -31 -22	-35 -62 -28 -10 -73 -16 -45 -39	3.30E-7 3.32E-7 3.02E-7 3.00E-7 1.37E-6 3.02E-7 7.98E-7 2.73E-7	2.12E-6 2.32E-6 1.32E-6 1.43E-5 5.38E-6 1.27E-5 3.92E-6 2.56E-6	<pre>> 1.00E-4 8.79E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 3.49E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4</pre>
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.746 0.269	1.456 1.413	1.420 1.409	1.350 1.404	1.110 0.505	0.952 0.208	0.737 0.210	95 100	85 99	51 21	29 -23	-1 -22	1.13E-6 4.23E-7	9.12E-5 2.98E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.304 C 0.517 0.883 0.804 0.821 0.595	1.651 1.249 1.597 1.515 1.687 1.146	1.600 1.248 1.536 1.391 1.658 1.121	1.373 1.195 1.514 1.400 1.598 1.040	0.778 1.039 1.159 1.161 1.051 0.910	0.573 0.669 0.887 0.679 0.838 0.302	0.167 0.448 0.842 0.142 0.597 0.105	96 100 91 83 97 95	79 93 88 84 90 81	35 71 39 50 26 57	20 21 -16 2 -49	-45 -13 -5 -82 -27 -82	4.62E-7 2.63E-6 5.90E-7 1.01E-6 4.24E-7 1.17E-6	2.02E-5 4.06E-5 1.28E-5 5.80E-6 1.16E-5 3.44E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 3.28E-5 > 1.00E-4 1.05E-5

P16-D (NSC 768113)

		Natio	onal	Cano	er Ir	nstitu In-	ite De Vitro	evelop Testir	omer ng R	ital T esult	hera s	peuti	cs Progran	n	
NSC : D - 768113 / 1 Experiment ID : 1303NS37 Test Type : 08 Units : Molar															
Report Date : January 15, 2014 Test Date : March 11, 2013 QNS : MC :															
COMI : ICN-17-D (122394) Stain Reagent : SRB Dual-Pass Related SSPL : U38J															
						Lo	og10 Cor	ncentration	_						
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	-6.0	-5.0	es -4.0	-8.0	P -7.0	ercent C -6.0	-5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
CURF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.402 1.031 0.366 1.017 1.220 0.675	1.422 3.054 2.301 2.848 2.892 2.657	1.420 3.007 2.414 2.810 2.890 2.408	1.401 3.083 2.337 2.795 2.930 2.454	1.402 3.230 2.384 2.809 2.859 2.468	0.748 2.032 1.264 0.780 2.299 0.763	0.319 0.846 0.792 0.526 1.278 0.393	100 98 106 98 100 87	98 101 102 97 102 90	98 109 104 98 98 90	34 49 -23 65 4	-21 -18 22 -48 3 -42	5.61E-6 9.80E-6 8.67E-6 2.48E-6 1.73E-5 2.95E-6	4.17E-5 5.41E-5 > 1.00E-4 6.42E-6 > 1.00E-4 1.25E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H322M NCI-H460 NCI-H4522	g Cancer 0.376 0.394 1.075 0.853 0.800 0.220 1.032	1.845 1.064 2.643 2.320 1.610 2.037 2.166	1.803 1.064 2.540 2.208 1.582 2.115 1.990	1.845 1.083 2.560 2.211 1.591 2.137 1.951	1.785 1.121 2.468 2.306 1.678 2.050 2.075	0.940 0.905 1.945 1.931 1.581 0.652 1.393	0.545 0.525 0.993 1.475 1.342 0.345 1.162	97 100 93 92 97 104 85	100 103 95 93 98 106 81	96 108 89 99 108 101 92	38 76 55 73 96 24 32	12 19 -8 42 67 7 11	6.29E-6 2.90E-5 1.22E-5 5.68E-5 > 1.00E-4 4.56E-6 4.99E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 7.57E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.616 1.089 0.235 0.325 0.259 0.498 0.357	2.053 3.046 1.926 2.311 1.421 2.307 2.317	2.080 3.039 1.904 2.273 1.464 2.257 2.266	2.137 3.067 1.993 2.326 1.438 2.211 2.308	2.093 3.174 1.951 2.318 1.401 2.313 2.399	0.656 2.799 1.232 1.435 0.751 1.744 1.622	0.955 2.351 0.620 0.973 0.447 1.061 1.151	102 100 99 98 104 97 97	106 101 104 101 101 95 100	103 107 101 100 98 100 104	3 87 59 56 42 69 65	24 64 23 33 16 31 41	3.37E-6 > 1.00E-4 1.77E-5 1.79E-5 7.29E-6 3.16E-5 4.03E-5	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75	0.551 1.121 0.846 1.249 0.760	1.717 2.647 2.636 2.392 1.485	1.715 2.559 2.600 2.342 1.405	1.738 2.539 2.660 2.309 1.446	1.736 2.638 2.428 2.389 1.402	1.394 1.868 1.844 2.280 1.119	0.806 1.077 1.277 1.781 0.744	100 94 98 96 89	102 93 101 93 95	102 99 88 100 89	72 49 56 90 49	22 -4 24 47 -2	2.77E-5 9.52E-6 1.52E-5 8.32E-5 9.70E-6	 > 1.00E-4 8.43E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 9.10E-5 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-257	0.807 0.449 0.563 0.493 1.002 0.860 0.834	1.539 1.664 1.978 1.486 3.352 1.803 2.453	1.514 1.596 1.935 1.438 3.326 1.784 2.440	1.498 1.625 1.971 1.498 3.326 1.752 2.463	1.632 1.755 1.838 1.540 3.314 1.817 2.316	1.352 1.330 0.863 1.122 2.604 1.622 1.696	1.024 0.920 1.119 0.862 1.493 1.283 1.138	97 94 95 99 98 99	94 97 99 101 99 95 101	113 107 90 105 98 102 92	74 72 21 63 68 81 53	30 39 39 37 21 45 19	3.51E-5 4.64E-5 3.82E-6 3.23E-5 2.42E-5 7.20E-5 1.24E-5	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-4 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.563 0.478 0.716 0.545 0.550 0.625 0.579	1.552 1.425 1.304 1.568 1.964 1.868 1.213	1.495 1.443 1.309 1.532 1.977 1.888 1.198	1.621 1.487 1.298 1.528 1.980 1.864 1.219	1.589 1.550 1.311 1.601 1.864 1.888 1.214	1.149 1.307 1.313 1.415 1.403 1.314 0.902	0.735 0.756 0.688 1.426 0.922 0.952 0.667	94 102 101 96 101 102 98	107 106 99 96 101 100 101	104 113 101 103 93 102 100	59 87 101 85 60 55 51	17 29 -4 86 26 26 14	1.66E-5 4.41E-5 3.08E-5 > 1.00E-4 2.01E-5 1.54E-5 1.06E-5	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 9.17E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.659 1.311 0.374 0.823 0.796 0.735 0.846 0.543	2.442 1.993 1.671 2.624 1.424 2.347 1.576 1.579	2.346 1.894 1.739 2.623 1.389 2.292 1.483 1.504	2.369 1.953 1.660 2.650 1.441 2.332 1.478 1.491	2.227 1.891 1.704 2.606 1.352 2.251 1.583 1.556	1.830 1.526 0.912 1.499 1.088 1.665 1.313 0.951	1.054 1.258 0.507 0.825 0.843 0.927 1.031 0.576	95 85 105 100 94 97 87 93	96 94 99 101 103 99 87 92	88 85 103 99 88 94 101 98	66 32 41 38 46 58 64 39	22 -4 10 7 12 25 3	2.29E-5 4.52E-6 7.24E-6 6.27E-6 8.25E-6 1.47E-5 2.30E-5 6.58E-6	 > 1.00E-4 7.70E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145 Breast Cancor	0.470 0.404	1.315 1.356	1.293 1.413	1.271 1.399	1.210 1.472	1.006 1.032	0.654 0.406	97 106	95 104	88 112	63 66	22	2.10E-5 1.75E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4
MCF7 MDA-MB-231/ATC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.170 C 0.651 1.254 0.991 0.577 0.802	1.096 1.355 2.107 2.086 1.441 1.665	0.994 1.435 2.042 2.157 1.375 1.637	1.076 1.348 2.036 2.105 1.455 1.675	1.090 1.323 2.103 2.138 1.345 1.547	0.468 1.213 1.701 1.662 1.276 1.251	0.373 1.017 1.322 1.190 0.715 1.142	89 111 92 106 92 97	98 99 92 102 102 101	99 95 99 105 89 86	32 80 52 61 81 52	22 52 18 16 39	5.42E-6 > 1.00E-4 1.13E-5 1.82E-5 2.99E-5 1.43E-5	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4</pre>	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

P20-D (NSC 763169)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite De Vitro	evelop Testii	men ng Ro	tal T esult	hera s	peutio	s Progra	n	
NSC : D - 763	169 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	201NS03	5			Test	Гуре : 08	Units : N	<i>l</i> lolar
Report Date :	January	15, 201	4		Tes	t Date	: Janua	nry 30, 20	12			QNS	:	MC :	
COMI : ICN-1	9-D (113	3537)			Stai	n Rea	gent : S	RB Dual	Pass F	Related		SSPL	: U38J		
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mean -7.0	Optical	Lo Densiti -5.0	og10 Cor es -4.0	centration -8.0	-7.0	ercent G -6.0	rowth -5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.717 1.075 0.249 0.817 1.563 0.526	1.933 1.875 1.215 1.791 2.368 1.141	2.049 1.886 1.182 1.886 2.358 1.072	2.033 2.012 1.275 1.881 2.246 1.060	1.265 1.329 0.941 0.763 1.879 0.620	0.552 0.646 0.432 0.531 0.978 0.376	0.597 0.668 0.429 0.542 1.094 0.352	109 101 97 110 99 89	108 117 106 109 85 87	45 32 72 -7 39 15	-23 -40 19 -35 -37 -29	-17 -38 19 -34 -30 -33	8.35E-7 6.12E-7 2.57E-6 3.25E-7 5.80E-7 3.27E-7	4.58E-6 2.77E-6 > 1.00E-4 8.76E-7 3.25E-6 2.22E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC EKVX HOP-62 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H460 NCI-H4522	Cancer 0.414 0.716 0.402 0.792 0.640 0.271 0.831	1.870 1.782 0.903 1.749 1.690 2.173 1.487	1.862 1.821 0.889 1.676 1.615 2.215 1.403	1.881 1.937 0.939 1.746 1.701 2.260 1.417	1.167 2.133 0.941 1.594 1.673 0.666 1.236	0.338 1.320 0.293 0.696 0.705 0.272 0.582	0.349 1.177 0.118 0.362 0.782 0.220 0.478	99 104 97 92 93 102 87	101 114 107 100 101 105 89	52 133 108 84 98 21 62	-18 57 -27 -12 6 -30	-16 43 -71 -54 14 -19 -42	1.06E-6 3.12E-5 2.67E-6 2.25E-6 3.35E-6 4.48E-7 1.34E-6	5.45E-6 > 1.00E-4 6.29E-6 7.46E-6 > 1.00E-4 1.01E-5 4.71E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 3.34E-5 7.91E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.297 0.475 0.222 0.359 0.242 0.405 0.279	1.123 1.882 1.977 1.943 1.028 1.868 1.426	1.148 1.800 1.982 1.907 1.069 1.818 1.435	1.160 2.047 1.846 1.851 1.087 1.813 1.716	0.987 1.697 1.050 0.968 0.701 1.011 1.229	0.375 0.910 0.295 0.326 0.189 0.501 0.398	0.418 0.813 0.289 0.303 0.158 0.479 0.460	103 94 100 98 105 97 101	104 112 93 94 108 96 125	83 87 47 38 58 41 83	9 31 4 -9 -22 7 10	15 24 -16 -35 5 16	2.83E-6 4.56E-6 8.66E-7 6.20E-7 1.27E-6 6.97E-7 2.84E-6	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 6.38E-6 5.34E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4</pre>	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75	0.474 0.862 0.704 0.682 0.598	1.330 2.583 1.957 1.821 1.181	1.321 2.388 1.940 1.780 1.129	1.442 2.585 2.000 1.991 1.128	1.074 2.562 1.694 2.176 0.952	0.502 0.802 0.548 0.864 0.602	0.350 0.747 0.458 0.774 0.341	99 89 99 96 91	113 100 103 115 91	70 99 79 131 61	3 -7 -22 16 1	-26 -13 -35 8 -43	1.99E-6 2.89E-6 1.93E-6 5.06E-6 1.50E-6	1.29E-5 8.58E-6 6.04E-6 > 1.00E-4 1.03E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.298 0.573 0.367 0.489 0.898 0.498 0.628 0.671 0.964	1.921 0.941 1.492 2.084 1.668 1.381 2.499 1.344 2.318	1.945 0.939 1.508 2.048 1.676 1.428 2.437 1.332 2.344	1.985 0.967 1.332 2.260 1.748 1.551 2.470 1.475 2.535	0.872 1.019 0.865 1.908 1.655 1.338 1.572 1.465 2.234	0.192 0.658 0.463 0.752 1.181 0.617 0.809 0.659 0.938	0.246 0.538 0.482 0.780 0.970 0.652 0.761 0.754 0.932	101 99 101 98 101 105 97 98 102	104 107 86 111 110 119 98 119 116	35 121 44 89 98 95 50 118 94	-36 23 9 16 37 13 10 -2 -3	-17 -6 10 18 9 17 7 12 -3	6.12E-7 5.31E-6 7.28E-7 3.45E-6 6.08E-6 3.57E-6 1.03E-6 3.70E-6 2.84E-6	3.14E-6 6.13E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 9.38E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.639 0.464 0.510 0.483 0.430 0.409 0.607	2.035 1.441 0.967 1.423 1.423 1.280 1.251	2.104 1.479 0.942 1.467 1.469 1.305 1.255	2.298 1.685 1.016 1.643 1.458 1.315 1.294	1.884 1.295 0.918 1.657 0.955 1.104 0.915	0.871 0.738 0.675 0.792 0.353 0.528 0.497	0.726 0.281 0.367 0.779 0.363 0.441 0.314	105 104 95 105 105 103 101	119 125 111 123 104 104 107	89 85 89 125 53 80 48	17 28 36 33 -18 14 -18	6 -39 -28 31 -16 4 -48	3.47E-6 4.12E-6 6.51E-6 1.10E-6 2.81E-6 9.16E-7	 > 1.00E-4 2.60E-5 3.65E-5 > 1.00E-4 5.57E-6 > 1.00E-4 5.30E-6 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.678 1.188 0.420 0.764 0.527 0.549 0.667 0.786	2.315 1.947 1.536 2.341 1.046 1.792 1.252 1.502	2.316 1.893 1.557 2.369 0.993 1.791 1.234 1.415	2.324 2.048 1.424 2.420 1.013 1.726 1.207 1.636	1.651 1.709 0.661 1.317 0.958 1.114 1.056 1.253	0.648 0.928 0.371 0.724 0.538 0.569 0.652 0.685	0.515 0.745 0.304 0.571 0.453 0.521 0.617 0.669	100 93 102 102 90 100 97 88	101 113 90 105 94 95 92 119	59 69 22 35 83 45 66 65	-4 -22 -12 -5 2 -2 -13	-24 -37 -28 -25 -14 -5 -7 -15	1.40E-6 1.60E-6 3.84E-7 6.11E-7 2.56E-6 8.07E-7 1.74E-6 1.57E-6	8.52E-6 5.73E-6 4.43E-6 7.41E-6 1.33E-5 1.72E-5 9.27E-6 6.85E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145 Proset Concer	0.746 0.269	1.440 0.984	1.434 1.011	1.470 1.054	1.227 0.675	0.852 0.208	0.599 0.201	99 104	104 110	69 57	15 -23	-20 -25	2.28E-6 1.22E-6	2.73E-5 5.16E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4
MCF7 MDA-MB-231/ATC/ HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.304 C 0.517 0.883 0.804 0.821 0.595	1.597 1.176 1.611 1.625 1.685 1.125	1.492 1.209 1.573 1.605 1.653 1.091	1.529 1.319 1.631 1.559 1.694 1.139	0.827 1.461 1.527 1.308 1.665 1.008	0.460 0.591 0.952 0.475 0.794 0.327	0.419 0.675 0.807 0.242 0.747 0.315	92 105 95 97 96 94	95 122 103 92 101 103	40 143 88 61 98 78	12 11 9 -41 -3 -45	9 24 -9 -70 -9 -47	6.67E-7 5.09E-6 3.06E-6 1.29E-6 2.96E-6 1.69E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 3.32E-5 3.98E-6 9.26E-6 4.30E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 2.05E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4

P24-D (NSC 763170)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite De Vitro	evelop Testir	men ng R	ital T esult	hera s	peutio	s Progra	m		
NSC : D - 763	3170 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	201NS03	}			Test	Гуре : 08		Units : N	<i>l</i> lolar
Report Date :	January	/ 15, 20 ⁻	14		Tes	t Date	: Janua	ary 30, 20	12			QNS	:		MC :	
COMI : ICN-2	Sta	in Rea	-Pass I	Related	I	SSPL	: U38J									
Log10 Concentration Time Mean Optical Densities Percent Growth Panel/Cell Line Zero Ctrl -8.0 -7.0 -6.0 -5.0 -4.0 -7.0 -6.0 -5.0 -4.0 Gl50 TGI LC50																
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.717 1.075 0.249 0.817 1.563 0.526	1.788 2.039 1.509 1.877 2.076 1.221	1.963 2.149 1.455 1.930 2.083 1.149	1.821 2.129 1.470 1.896 2.040 1.190	1.739 1.998 1.428 1.687 1.875 1.056	0.580 0.665 0.541 0.530 1.049 0.472	0.674 0.706 0.590 0.541 1.008 0.446	116 111 96 105 101 90	103 109 97 102 93 96	95 96 94 82 61 76	-19 -38 23 -35 -33 -10	-6 -34 27 -34 -36 -15	2.49E-6 2.19E-6 4.15E-6 1.88E-6 1.30E-6 2.01E-6	>	6.81E-6 5.19E-6 1.00E-4 5.01E-6 4.46E-6 7.59E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lun A549/ATCC EKVX HOP-62 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H460 NCI-H460 NCI-H522	g Cancer 0.414 0.716 0.402 0.792 0.640 0.271 0.831	1.939 1.799 0.896 1.779 1.689 2.304 1.500	1.872 1.812 0.862 1.714 1.628 2.376 1.491	1.920 1.768 0.839 1.699 1.634 2.420 1.476	1.571 1.740 0.904 1.571 1.680 1.692 1.574	0.504 1.344 0.381 0.707 0.869 0.322 0.832	0.502 1.124 0.097 0.368 0.861 0.209 0.595	96 101 93 93 94 104 99	99 97 88 92 95 106 96	76 95 102 79 99 70 111	6 58 -5 -11 22 3	6 38 -76 -54 21 -23 -28	2.34E-6 2.48E-5 3.04E-6 2.10E-6 4.32E-6 1.97E-6 3.55E-6	> > >	1.00E-4 1.00E-4 8.93E-6 7.59E-6 1.00E-4 1.26E-5 1.01E-5	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 4.29E-5 8.27E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.297 0.475 0.222 0.359 0.242 0.405 0.279	1.113 1.767 2.035 1.980 1.080 1.928 1.456	1.161 1.776 2.034 1.902 1.140 1.913 1.409	1.070 1.800 1.834 1.973 1.092 1.866 1.446	1.061 1.884 1.841 1.859 0.999 1.719 1.454	0.392 1.115 0.541 0.661 0.357 0.709 0.696	0.628 0.929 0.549 0.670 0.427 0.692 0.687	106 101 100 95 107 99 96	95 103 89 100 101 96 99	94 109 89 93 90 86 100	12 50 18 19 14 20 35	41 35 18 19 22 19 35	3.41E-6 9.82E-6 3.53E-6 3.36E-6 3.35E-6 3.52E-6 5.94E-6	~ ~ ~ ~ ~ ~ ~	1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4	 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75	0.474 0.862 0.704 0.682 0.598	1.386 2.584 1.902 1.946 1.195	1.350 2.427 1.938 1.855 1.125	1.331 2.451 1.894 1.851 1.131	1.314 2.459 1.922 1.953 1.088	0.626 1.072 1.107 1.029 0.611	0.342 0.815 0.601 0.832 0.255	96 91 103 93 88	94 92 99 92 89	92 93 102 101 82	17 12 34 27 2	-28 -6 -15 12 -57	3.61E-6 3.39E-6 5.75E-6 4.91E-6 2.52E-6	>	2.36E-5 4.88E-5 4.98E-5 1.00E-4 1.09E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 7.52E-5
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.298 0.573 0.367 0.489 0.898 0.498 0.628 0.671 0.964	1.884 1.012 1.582 2.239 1.604 1.410 2.518 1.327 2.319	1.828 1.008 1.568 2.229 1.652 1.420 2.493 1.302 2.245	1.840 1.011 1.432 2.159 1.658 1.446 2.481 1.301 2.264	1.620 1.121 1.564 1.843 1.804 1.415 2.513 1.328 2.243	0.355 0.736 0.594 0.974 0.962 0.766 1.004 0.844 1.036	0.391 0.567 0.677 1.034 0.847 0.638 0.924 0.747 0.885	96 99 99 107 101 99 96 95	97 100 88 95 108 104 98 96 96	83 125 98 77 128 101 100 100 94	4 37 19 28 9 29 20 26 5	6 -1 25 31 -6 15 16 12 -8	2.62E-6 7.11E-6 4.05E-6 3.55E-6 4.53E-6 5.13E-6 4.19E-6 4.78E-6 3.15E-6	~ ~ ~ ~ ~ ~	1.00E-4 9.34E-5 1.00E-4 1.00E-4 4.08E-5 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 2.47E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.639 0.464 0.510 0.483 0.430 0.409 0.607	2.082 1.548 0.990 1.396 1.745 1.281 1.262	2.193 1.628 1.006 1.380 1.828 1.290 1.271	2.198 1.496 1.008 1.437 1.806 1.279 1.260	2.144 1.632 1.006 1.479 1.603 1.216 1.284	1.103 0.841 0.715 0.969 0.618 0.654 0.545	0.893 0.249 0.329 0.873 0.388 0.383 0.387	108 107 103 98 106 101 101	108 95 104 105 105 100 100	104 108 103 109 89 93 103	32 35 43 53 14 28 -10	18 -46 -36 43 -10 -6 -36	5.65E-6 6.19E-6 7.56E-6 2.03E-5 3.34E-6 4.57E-6 2.95E-6	>	1.00E-4 2.68E-5 3.51E-5 1.00E-4 3.90E-5 6.50E-5 8.12E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.678 1.188 0.420 0.764 0.527 0.549 0.667 0.786	2.471 2.001 1.528 2.369 1.013 1.877 1.286 1.550	2.363 1.908 1.542 2.309 1.029 1.761 1.258 1.413	2.200 1.876 1.554 2.292 1.003 1.791 1.273 1.434	2.326 1.754 1.340 2.072 1.009 1.664 1.258 1.448	0.774 1.126 0.457 0.821 0.556 0.679 0.739 0.725	0.655 0.895 0.357 0.757 0.402 0.736 0.617 0.767	94 89 101 96 103 91 95 82	85 85 102 95 98 94 98 85	92 70 83 81 99 84 95 87	5 -5 3 4 6 10 12 -8	-3 -25 -15 -1 -24 14 -7 -2	3.05E-6 1.83E-6 2.59E-6 3.36E-6 2.87E-6 3.48E-6 2.44E-6	>	4.09E-5 8.51E-6 1.51E-5 6.22E-5 1.58E-5 1.00E-4 4.06E-5 8.26E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.746 0.269	1.541 1.026	1.499 1.023	1.499 1.053	1.436 0.913	0.957 0.253	0.683 0.199	95 100	95 104	87 85	27 -6	-8 -26	4.08E-6 2.43E-6		5.74E-5 8.60E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.304 C 0.517 0.883 0.804 0.821 0.595	1.643 1.222 1.657 1.618 1.792 1.094	1.613 1.213 1.611 1.553 1.707 1.041	1.590 1.117 1.635 1.458 1.698 1.050	1.245 1.082 1.592 1.499 1.790 1.052	0.562 0.826 1.069 0.973 0.864 0.637	0.345 0.780 0.689 0.463 0.753 0.588	98 99 94 92 91 89	96 85 97 80 90 91	70 80 92 85 100 91	19 44 24 21 4 8	3 -22 -42 -8 -1	2.49E-6 6.73E-6 4.13E-6 3.53E-6 3.33E-6 3.16E-6	> >	1.00E-4 1.00E-4 3.33E-5 2.13E-5 2.22E-5 7.54E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

P28-D (NSC 765620)

		Natio	onal	Cano	er Ir	nstitu In-	ite D ∙Vitro	evelop Testir	men ng R	ital T esult	hera s	peuti	cs Prograr	n	
NSC : D - 765	620 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	207NS08	3			Test	Туре : 08	Units :	Molar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: July 1	6, 2012				QNS):	MC :	
COMI : ICN-2	4-D(118	814)			Stai	n Rea	gent : S	RB Dual-	Pass I	Related		SSP	L : U38J		
						Lo	og10 Cor	ncentration	_			-		-	
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	-6.0	-5.0	es -4.0	-8.0	P -7.0	ercent G -6.0	-5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.627 0.895 0.240 0.664 1.272 0.221	2.694 2.531 1.904 2.084 2.921 0.552	2.681 2.426 1.842 2.058 2.837 0.545	2.715 2.180 1.896 2.017 2.737 0.518	1.646 1.742 1.512 1.229 2.325 0.281	0.951 1.754 1.114 0.559 1.991 0.218	0.732 1.150 0.811 0.490 1.653 0.222	99 94 96 98 95 98	101 79 100 95 89 90	49 52 76 40 64 18	16 53 53 -16 44 -1	5 16 34 -26 23	9.68E-7 1.17E-5 1.37E-5 6.54E-7 4.83E-6 3.58E-7	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 5.19E-6 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62	Cancer 0.400 0.410	1.678 1.302	1.677 1.331	1.783 1.391	1.241 1.247	0.919	0.629	100 103	108 110	66 94	41 56	18 35	4.23E-6 1.83E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4
HOP-92 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H322M NCI-H460	1.410 0.904 0.821 0.815 0.264	1.947 2.460 2.265 1.722 2.433	2.369 2.181 1.658 2.467	2.648 2.276 1.672 2.333	2.240 2.125 1.371 1.780	1.404 1.490 0.954 0.803	0.930 1.241 0.853 0.553	94 94 93 102	112 101 95 95	86 90 61 70	32 46 15 25	2 29 4 13	4.65E-6 8.25E-6 1.76E-6 2.76E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.380 1.199 0.187 0.160 0.303 0.409 0.247	1.710 3.234 1.868 2.058 1.562 2.115 2.003	1.780 3.249 1.899 1.930 1.553 2.040 2.000	1.859 3.275 1.665 1.726 1.641 2.109 2.290	1.774 3.037 1.040 0.544 1.287 1.574 1.579	1.331 2.720 0.575 0.335 0.828 1.048 0.935	0.941 2.092 0.334 0.268 0.619 0.790 0.564	105 101 102 93 99 96 100	111 102 88 82 106 100 116	105 90 51 20 78 68 76	71 75 23 9 42 37 39	42 44 9 6 25 22 18	5.40E-5 6.33E-5 1.07E-6 3.33E-7 5.90E-6 3.91E-6 5.07E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.562 0.493 0.824 1.227 0.496	1.878 2.510 2.258 2.367 2.073	1.940 2.465 2.241 2.187 1.996	2.069 2.575 2.661 2.283 2.144	1.418 1.539 2.441 2.111 1.647	1.004 0.422 1.908 2.047 1.269	0.889 0.399 1.426 1.894 0.985	105 98 99 84 95	114 103 128 93 105	65 52 113 78 73	34 -14 76 72 49	25 -19 42 59 31	3.01E-6 1.07E-6 5.77E-5 > 1.00E-4 9.07E-6	 > 1.00E-4 6.06E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.715 0.563 0.445 0.376 1.033 0.539 0.676 0.900 1.049	3.100 1.134 1.710 1.672 1.958 1.495 2.989 2.215 2.843	3.113 1.141 1.675 1.639 1.943 1.527 2.946 2.227 2.852	3.061 1.156 1.376 1.885 1.741 1.635 2.993 2.605 3.026	2.344 1.153 1.310 1.422 1.739 1.369 2.021 2.592 2.763	1.782 1.016 1.129 1.150 1.795 1.306 1.703 2.192 2.345	1.246 0.827 1.101 0.876 1.630 1.152 1.156 1.753 1.878	101 101 97 98 103 98 101 100	98 104 74 116 77 115 100 130 110	68 103 68 81 76 87 58 129 96	45 79 54 60 82 80 44 98 72	22 46 52 39 65 64 21 65 46	5.99E-6 7.64E-5 > 1.00E-4 2.88E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 3.92E-6 > 1.00E-4 7.14E-5	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.638 0.485 0.769 0.434 0.417 0.748 0.592	1.813 1.561 1.644 1.478 1.671 2.319 1.326	1.945 1.571 1.698 1.494 1.748 2.261 1.335	1.913 1.693 1.758 2.003 1.611 2.234 1.306	1.493 1.530 1.478 1.845 1.062 1.813 1.063	1.017 1.168 1.494 1.415 0.652 1.407 1.090	0.777 0.793 1.257 1.032 0.538 1.200 0.897	111 101 106 102 106 96 101	108 112 113 150 95 95 97	73 97 81 135 51 68 64	32 63 83 94 19 42 68	12 29 56 57 10 29 41	3.64E-6 2.43E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 1.11E-6 4.87E-6 4.75E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.838 1.396 0.259 1.099 0.885 0.958 0.779 0.680	2.830 2.059 1.742 2.804 1.287 2.799 1.377 2.061	2.904 1.990 1.733 2.679 1.261 2.762 1.332 1.926	2.975 2.168 1.218 2.505 1.338 2.697 1.250 2.085	2.246 1.762 0.676 1.888 1.026 1.864 1.205 1.791	1.916 1.431 0.541 1.200 0.710 1.754 1.111 1.302	1.662 1.328 0.479 1.039 0.670 1.450 0.999 0.856	104 90 93 94 98 92 90	107 117 65 82 113 94 79 102	71 55 28 46 35 49 71 80	54 5 19 6 -20 43 55 45	41 -5 15 -6 -24 27 37 13	2.11E-5 1.27E-6 2.52E-7 7.88E-7 6.41E-7 9.60E-7 1.96E-5 7.23E-6	 > 1.00E-4 3.31E-5 > 1.00E-4 3.29E-5 4.35E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145 Broact Cancor	0.518 0.389	1.935 1.551	1.958 1.634	2.066 1.421	1.559 1.020	1.379 0.925	1.190 0.657	102 107	109 89	73 54	61 46	47 23	6.38E-5 3.36E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4
MCF7 MDA-MB-231/ATC/ HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.424 C 0.677 0.912 0.746 0.684 0.767	2.407 1.358 2.006 1.841 1.591 1.647	2.297 1.420 2.000 1.787 1.588 1.562	2.248 1.619 2.105 1.821 1.701 1.764	2.098 1.590 1.841 1.575 1.664 1.129	1.183 1.350 1.542 0.880 1.339 0.732	0.826 0.985 1.294 0.789 0.939 0.700	94 109 99 95 100 90	92 138 109 98 112 113	84 134 85 76 108 41	38 99 58 12 72 -5	20 45 35 4 28 -9	5.57E-6 8.11E-5 2.15E-5 2.54E-6 3.18E-5 7.52E-7	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 7.94E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

P5-O (NSC 760946)

		Natio	onal (Cano	er Ir	ıstitu In-	ite Do Vitro	evelop Testii	omen ng R	ital T esult	hera s	peuti	cs Program		
NSC : D - 760)946 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	109NS17	7			Test	Туре : 08	Units : N	Nolar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: Septe	mber 06,	2011			QNS	:	MC :	
COMI : ICN-9	-0 (1078	835)			Stai	n Rea	gent : S	RB Dual	-Pass F	Related	I	SSP	L : U38J		
Log10 Concentration															
Panel/Cell Line	Zero	Ctrl	-8.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	-8.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
CCRF-CEM HL-60(TB) MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.498 0.758 0.679 1.007 0.200	1.709 2.300 2.111 2.410 0.714	1.563 2.219 2.183 2.349 0.708	1.573 2.170 2.227 2.265 0.732	1.600 2.170 2.228 2.274 0.662	0.860 1.031 1.039 1.811 0.241	0.746 0.782 0.931 1.612 0.198	88 95 105 96 99	89 92 108 90 104	91 92 108 90 90	30 18 25 57 8	20 2 18 43 -1	4.69E-6 > 3.65E-6 > 5.02E-6 > 3.27E-5 > 3.07E-6	 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 7.32E-5 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC EKVX HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H226 NCI-H227 NCI-H322M NCI-H322M NCI-H460 NCI-H522	Cancer 0.312 0.572 0.435 1.026 0.679 0.483 0.868 0.205 0.735	1.579 1.595 1.091 1.482 1.559 1.332 1.749 1.791 1.774	1.541 1.528 1.070 1.448 1.504 1.264 1.741 1.885 1.701	1.509 1.479 1.072 1.411 1.505 1.254 1.704 1.820 1.694	1.497 1.474 1.105 1.366 1.510 1.236 1.725 1.784 1.708	0.799 1.242 0.714 1.282 0.993 1.059 1.642 0.490 0.816	0.519 1.052 0.300 0.989 0.903 0.735 1.388 0.324 0.699	97 93 97 93 94 92 99 106 93	94 89 97 85 94 91 95 102 92	94 88 102 75 94 89 97 100 94	38 65 43 56 36 68 88 18 8	16 47 -31 -4 25 30 59 8 -5	6.16E-6 6.82E-5 7.49E-6 1.27E-5 5.71E-6 2.93E-5 > 1.00E-4 4.05E-6 3.22E-6	 1.00E-4 1.00E-4 3.78E-5 8.69E-5 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 4.10E-5 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.334 0.389 0.140 0.350 0.227 0.420 0.247	1.169 1.337 1.095 1.786 1.363 1.868 1.621	1.224 1.295 1.136 1.759 1.445 1.903 1.570	1.207 1.251 1.119 1.779 1.403 1.934 1.561	1.251 1.305 1.190 1.801 1.462 1.813 1.509	0.561 1.059 0.474 0.794 0.364 0.851 0.641	0.509 0.655 0.299 0.614 0.291 0.666 0.554	106 95 104 98 107 102 96	104 91 102 100 104 105 96	110 97 110 101 109 96 92	27 71 35 31 12 30 29	21 28 17 18 6 17 22	5.28E-6 3.05E-5 5.35E-6 4.05E-6 4.96E-6 4.59E-6	 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.451 0.583 0.670 0.458 0.748 0.298	1.374 2.077 1.966 1.725 1.559 1.419	1.389 1.963 1.932 1.665 1.451 1.358	1.452 1.905 1.904 1.596 1.408 1.368	1.426 1.894 1.871 1.544 1.441 1.357	1.029 1.145 1.317 1.116 0.899 0.706	0.568 0.759 0.797 0.772 0.686 0.358	102 92 97 95 87 95	108 88 95 90 81 95	106 88 93 86 85 94	63 38 50 52 19 36	13 12 10 25 -8 5	1.79E-5 > 5.66E-6 > 9.94E-6 > 1.17E-5 > 3.39E-6 5.83E-6 >	 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 4.92E-5 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.194 0.531 0.361 0.516 0.869 0.441 0.295 0.653 0.689	1.258 1.101 1.354 2.163 1.656 1.296 2.232 1.392 2.176	1.215 1.090 1.311 2.118 1.666 1.253 2.150 1.326 2.062	1.225 1.105 1.412 2.049 1.691 1.226 2.152 1.331 2.036	1.203 1.082 1.405 1.805 1.744 1.207 2.070 1.321 1.963	0.602 0.768 0.637 0.465 0.982 0.804 0.611 1.068 1.111	0.367 0.534 0.584 0.474 0.733 0.531 0.420 0.762 0.840	96 98 96 97 101 95 96 91 92	97 101 106 93 105 92 96 92 91	95 97 105 78 111 90 92 90 86	38 42 28 -10 14 42 16 56 28	16 1 22 -8 -16 10 6 15 10	6.20E-6 > 7.04E-6 > 2.09E-6 4.28E-6 6.91E-6 > 3.57E-6 > 1.41E-5 > 4.19E-6 >	 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 7.72E-6 3.00E-5 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.456 0.552 0.420 0.527 0.376 0.451 0.356	1.482 1.494 0.937 1.390 1.601 1.581 0.889	1.593 1.568 0.927 1.359 1.603 1.557 0.902	1.528 1.534 0.906 1.377 1.531 1.500 0.918	1.585 1.563 0.879 1.388 1.517 1.474 0.916	0.983 0.726 0.781 1.128 1.078 0.682 0.606	0.619 0.529 0.533 0.886 0.525 0.572 0.307	111 108 98 96 100 98 102	104 104 94 98 94 93 105	110 107 89 100 93 91 105	51 18 70 70 57 20 47	16 -4 22 42 12 11 -14	1.09E-5 4.41E-6 2.59E-5 5.00E-5 1.45E-5 3.79E-6 8.82E-6	 1.00E-4 6.54E-5 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 5.90E-5 	 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.457 1.040 0.403 0.595 0.550 0.449 0.708 0.540	1.727 1.581 1.603 1.984 1.086 1.662 1.498 1.420	1.665 1.375 1.645 1.854 1.017 1.596 1.486 1.350	1.674 1.336 1.647 1.839 1.021 1.560 1.495 1.306	1.676 1.335 1.642 1.875 0.980 1.563 1.516 1.230	1.129 1.061 1.174 1.168 0.666 1.085 1.342 1.025	0.720 1.030 0.862 1.033 0.452 0.711 1.038 0.817	95 62 104 91 87 95 98 92	96 55 104 90 88 92 100 87	96 55 103 92 80 92 102 78	53 4 64 41 22 52 80 55	21 -1 38 32 -18 22 42 31	1.23E-5 1.23E-6 3.53E-5 6.72E-6 3.28E-6 1.20E-5 6.08E-5 1.64E-5	 1.00E-4 6.33E-5 1.00E-4 1.00E-4 3.52E-5 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.483 0.333	1.256 1.214	1.200 1.255	1.184 1.261	1.211 1.260	0.963 1.040	0.645 0.518	93 105	91 105	94 105	62 80	21 21	1.96E-5 > 3.24E-5 >	1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC0 HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.250 C 0.637 0.814 0.679 0.525 0.608	1.295 1.587 1.621 1.528 1.019 1.176	1.256 1.613 1.561 1.556 0.992 1.108	1.206 1.545 1.507 1.587 1.041 1.086	1.191 1.608 1.516 1.560 0.974 1.065	0.486 1.184 1.136 1.118 0.690 0.554	0.330 0.932 0.852 0.848 0.567 0.567	96 103 93 103 94 88	92 96 86 107 105 84	90 102 87 104 91 80	23 58 40 52 33 -9	8 31 5 20 9 -7	3.92E-6 > 1.92E-5 > 6.09E-6 > 1.13E-5 > 5.13E-6 > 2.19E-6	 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 1.00E-4 7.94E-6 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

P16-O (NSC 765622)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite D Vitro	evelop Testii	men ng R	tal T esult	hera s	peutic	s Progra	m	
NSC : D - 765	622 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	207NS08				Test T	ype : 08	Units :	Molar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: July 1	6, 2012				QNS :		MC :	
COMI : ICN-1	7-0 (118	8816)			Stai	n Rea	gent : S	RB Dual	Pass F	Related		SSPL	: U38J		
	_					Lo	og10 Cor	ncentration	_						
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	Optica -6.0	Densiti -5.0	es -4.0	-8.0	-7.0	ercent G -6.0	rowth -5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.627 0.895 0.240 0.664 1.272 0.221	2.741 2.487 1.862 2.138 3.014 0.625	2.681 2.427 1.743 2.112 2.977 0.574	2.704 2.430 1.794 2.095 3.001 0.589	2.624 2.533 1.579 2.234 2.874 0.579	1.423 0.827 0.440 0.961 1.994 0.244	0.739 0.736 0.353 0.643 1.338 0.217	97 96 93 98 98 87	98 96 97 99 91	94 103 83 107 92 89	38 -8 12 20 41 6	5 -18 7 -3 4 -2	6.06E-6 3.01E-6 2.90E-6 4.51E-6 6.77E-6 2.92E-6	 > 1.00E-4 8.53E-6 > 1.00E-4 7.32E-5 > 1.00E-4 5.74E-5 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H322M NCI-H322M	g Cancer 0.400 0.410 1.410 0.904 0.821 0.815 0.264	1.683 1.305 1.934 2.459 2.281 1.653 2.589	1.763 1.313 1.898 2.386 2.223 1.622 2.710	1.656 1.270 1.855 2.398 2.170 1.582 2.726	1.631 1.310 1.792 2.419 2.196 1.663 2.567	0.793 0.827 1.608 2.116 1.599 1.474 0.692	0.492 0.521 1.274 1.087 0.793 0.991 0.305	106 101 93 95 96 96 105	98 96 85 96 92 91 106	96 101 73 97 94 101 99	31 47 38 78 53 79 18	7 -10 -12 -3 21 2	5.05E-6 8.65E-6 4.48E-6 2.64E-5 1.14E-5 3.14E-5 4.06E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 6.26E-5 > 1.00E-4 8.69E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.380 1.199 0.187 0.160 0.303 0.409 0.247	1.640 3.298 1.764 2.222 1.414 2.017 1.980	1.667 3.238 1.768 2.081 1.469 2.009 1.975	1.593 3.293 1.703 2.153 1.448 1.955 1.983	1.652 3.305 1.788 1.907 1.475 1.963 1.858	0.619 2.901 0.604 0.748 0.400 0.916 0.801	0.079 1.013 0.225 0.403 0.272 0.598 0.651	102 97 100 93 105 99 100	96 100 96 97 103 96 100	101 100 102 85 105 97 93	19 81 26 28 9 31 32	-79 -16 2 12 -10 12 23	4.18E-6 2.10E-5 4.86E-6 4.14E-6 3.74E-6 5.20E-6 5.06E-6	1.56E-5 6.91E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 2.85E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4	5.04E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.562 0.493 0.824 1.227 0.496	1.873 2.567 2.212 2.199 2.030	1.808 2.513 2.104 2.048 2.024	1.805 2.546 2.085 2.042 1.958	1.833 2.378 2.070 2.036 1.860	1.279 1.438 1.523 1.587 1.072	0.784 0.560 1.191 1.201 0.538	95 97 92 84 100	95 99 91 84 95	97 91 90 83 89	55 46 50 37 38	17 3 26 -2 3	1.33E-5 7.98E-6 1.03E-5 5.24E-6 5.72E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 8.83E-5 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.715 0.563 0.445 0.376 1.033 0.539 0.676 0.900 1.049	3.155 1.078 1.756 1.646 1.814 1.402 2.940 2.165 2.822	3.042 1.069 1.701 1.614 1.820 1.426 2.873 2.130 2.845	3.088 0.993 1.676 1.613 1.787 1.350 2.899 2.169 2.782	3.112 1.051 1.710 1.145 1.796 1.299 2.726 2.061 2.646	1.866 0.709 0.792 0.267 1.056 0.964 1.165 1.751 1.525	0.795 0.573 0.693 0.316 0.833 0.712 0.153 1.354 0.684	95 98 96 97 101 103 97 97 101	97 83 94 97 97 94 98 100 98	98 95 96 61 98 88 91 92 90	47 28 26 -29 3 49 22 67 27	3 2 -16 -19 20 -77 36 -35	8.80E-6 4.61E-6 1.31E-6 3.19E-6 9.54E-6 3.87E-6 3.55E-5 4.30E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 4.73E-6 1.35E-5 > 1.00E-4 1.65E-5 > 1.00E-4 2.72E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 5.28E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.638 0.485 0.769 0.434 0.417 0.748 0.592	1.761 1.481 1.600 1.483 1.624 2.266 1.321	1.772 1.511 1.557 1.411 1.653 2.249 1.272	1.792 1.538 1.563 1.465 1.604 2.250 1.287	1.839 1.544 1.499 1.397 1.596 2.279 1.311	1.047 0.542 1.257 1.293 1.043 1.224 1.048	0.622 0.348 0.882 0.801 0.500 0.830 0.533	101 103 95 93 102 99 93	103 106 96 98 98 99 95	107 106 88 92 98 101 99	36 6 59 82 52 31 63	-3 -28 14 35 7 5 -10	6.41E-6 3.63E-6 1.56E-5 4.79E-5 1.10E-5 5.39E-6 1.49E-5	8.62E-5 1.47E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 7.27E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.838 1.396 0.259 1.099 0.885 0.958 0.779 0.680	2.905 2.074 1.817 3.049 1.327 2.869 1.333 2.037	2.870 1.999 1.832 2.994 1.297 2.727 1.294 1.831	2.824 1.844 1.809 2.997 1.324 2.732 1.279 1.703	2.788 1.681 1.741 2.927 1.260 2.663 1.314 1.736	2.002 1.207 1.144 1.886 0.889 1.943 1.089 1.355	0.988 0.815 0.580 1.005 0.626 1.041 0.619 0.655	98 89 101 97 93 93 93 85	96 66 99 97 99 93 90 75	94 42 95 94 85 89 97 78	56 -14 57 40 1 52 56 50	7 -42 21 -9 -29 4 -21 -4	1.34E-5 4.66E-7 1.54E-5 6.59E-6 2.60E-6 1.08E-5 1.20E-5 9.78E-6	 > 1.00E-4 5.71E-6 > 1.00E-4 6.68E-5 1.06E-5 > 1.00E-4 5.38E-5 8.51E-5 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145 Breast Cancer	0.518 0.389	2.306 1.471	2.168 1.545	2.146 1.449	1.995 1.460	1.209 1.093	0.525 0.390	92 107	91 98	83 99	39 65	2	5.51E-6 1.70E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4
MCF7 MDA-MB-231/ATC/ HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.424 C 0.677 0.912 0.746 0.684 0.767	2.424 1.404 2.230 1.929 1.671 1.589	2.205 1.361 2.168 1.882 1.634 1.515	2.239 1.340 2.163 1.862 1.619 1.516	2.067 1.300 1.953 1.785 1.523 1.451	0.876 0.894 1.447 1.261 1.170 0.725	0.604 0.563 0.987 0.848 0.810 0.449	89 94 95 96 96 91	91 95 94 95 91	82 86 79 88 85 83	23 30 41 43 49 -5	9 -17 6 9 13 -41	3.46E-6 4.36E-6 5.67E-6 7.13E-6 9.51E-6 2.37E-6	<pre>> 1.00E-4</pre>	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

P8-D-O (NSC 765624)

	National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program In-Vitro Testing Results														
NSC : D - 765	624 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	207NS08	3			Test T	ype : 08	Units : N	lolar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: July 1	16, 2012				QNS :		MC :	
COMI : ICN-2	-D-O (1	18828)			Sta	in Rea	gent : S	SRB Dual-	-Pass F	Related		SSPL	: U38J		
Panel/Coll Line	Time	Ctrl	0.0	Mear	Optica	Lo I Densiti	og10 Cor es	ncentration	P	ercent G	rowth	4.0	CIE0	Tel	1.050
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.627 0.895 0.240 0.664 1.272 0.221	2.656 2.765 1.952 2.292 2.878 0.589	2.597 2.631 1.906 2.177 2.808 0.532	2.538 2.507 1.912 2.114 2.810 0.500	1.003 0.805 1.231 0.630 2.224 0.249	0.480 0.547 0.244 0.435 0.900 0.173	0.514 0.599 0.267 0.498 0.935 0.188	97 93 97 93 96 84	94 86 98 89 96 76	-0.0 19 -10 58 -5 59 7	-24 -39 -34 -29 -22	-4.0 -18 -33 2 -25 -27 -15	3.84E-7 2.38E-7 1.37E-6 2.60E-7 1.27E-6 2.38E-7	2.76E-6 7.86E-7 > 1.00E-4 8.82E-7 4.67E-6 1.79E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H223 NCI-H322M NCI-H460	g Cancer 0.400 0.410 1.410 0.904 0.821 0.815 0.264	1.847 1.316 1.868 2.386 2.346 1.664 2.319	1.807 1.325 1.818 2.285 2.268 1.569 2.396	1.652 1.296 1.813 2.225 2.260 1.563 2.291	0.687 0.959 1.572 1.737 1.999 1.581 0.533	0.099 0.094 1.032 0.305 0.537 0.695 0.083	0.110 0.001 0.345 0.252 0.210 0.523 0.053	97 101 89 93 95 89 104	87 98 88 99 94 88 99	20 61 35 56 77 90 13	-75 -77 -27 -66 -35 -15 -69	-73 -100 -76 -72 -74 -36 -80	3.53E-7 1.19E-6 5.26E-7 1.12E-6 1.75E-6 2.42E-6 3.70E-7	1.62E-6 2.75E-6 3.70E-6 2.88E-6 4.90E-6 7.23E-6 1.45E-6	5.43E-6 6.36E-6 2.99E-5 7.37E-6 2.43E-5 > 1.00E-4 5.93E-6
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.380 1.199 0.187 0.160 0.303 0.409 0.247	1.720 3.296 1.715 1.788 1.552 2.057 1.966	1.742 3.263 1.725 1.711 1.528 2.091 1.920	1.707 3.248 1.789 1.711 1.604 2.044 1.850	0.768 2.962 0.962 1.137 1.100 1.785 1.092	0.383 0.700 0.091 0.194 0.239 0.396 0.265	0.537 0.630 0.048 0.243 0.297 0.485 0.310	102 98 101 95 98 102 97	99 98 105 95 104 99 93	29 84 51 60 64 83 49	-42 -52 -21 -3 1	12 -47 -74 5 -2 5 4	5.00E-7 1.87E-6 1.02E-6 1.49E-6 1.45E-6 2.43E-6 9.55E-7	 > 1.00E-4 4.66E-6 3.13E-6 > 1.00E-4 5.64E-6 > 1.00E-4 	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 9.65E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.562 0.493 0.824 1.227 0.496	1.855 2.092 2.177 2.260 2.043	1.798 2.243 2.043 2.029 2.030	1.814 2.025 1.997 1.938 1.966	1.398 1.089 1.625 1.722 1.167	0.412 0.055 0.645 0.731 0.175	0.235 0.027 0.310 0.272 0.089	96 109 90 78 99	97 96 87 69 95	65 37 59 48 43	-27 -89 -22 -40 -65	-58 -95 -62 -78 -82	1.45E-6 6.06E-7 1.30E-6 7.94E-7 7.43E-7	5.10E-6 1.97E-6 5.39E-6 3.48E-6 2.52E-6	5.50E-5 4.91E-6 4.96E-5 1.80E-5 7.31E-6
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.715 0.563 0.445 0.376 1.033 0.539 0.676 0.900 1.049	3.168 1.031 1.793 1.504 1.906 1.437 2.924 1.754 2.882	3.101 1.009 1.753 1.447 1.857 1.464 2.901 1.703 2.837	2.995 0.993 1.776 1.433 1.898 1.411 2.823 1.701 2.760	1.891 0.773 1.352 1.193 1.998 1.143 1.697 1.347 2.053	0.267 0.250 0.291 0.228 0.663 0.273 0.053 0.625 0.429	0.194 0.256 0.049 0.142 0.109 0.073 0.440 0.168	97 95 97 95 94 103 99 94 98	93 99 94 99 97 96 94 93	48 45 67 72 111 67 45 52 55	-63 -56 -35 -39 -36 -49 -92 -31 -59	-73 -78 -43 -87 -86 -80 -89 -51 -84	9.00E-7 7.73E-7 1.48E-6 1.58E-6 2.59E-6 1.41E-6 8.10E-7 1.07E-6 1.10E-6	2.71E-6 2.79E-6 4.57E-6 4.44E-6 5.69E-6 3.77E-6 2.14E-6 4.28E-6 3.03E-6	7.67E-6 8.78E-6 > 1.00E-4 1.66E-5 1.91E-5 1.05E-5 4.93E-6 8.78E-5 8.32E-6
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.638 0.485 0.769 0.434 0.417 0.748 0.592	1.928 1.557 1.571 1.339 1.772 2.345 1.369	1.954 1.583 1.615 1.310 1.717 2.333 1.348	1.855 1.643 1.561 1.343 1.724 2.271 1.335	1.353 1.345 1.376 1.111 1.111 2.149 1.050	0.515 0.277 0.640 0.392 0.302 0.945 0.259	0.284 0.196 0.432 0.375 0.203 0.575 0.018	102 102 105 97 96 99 97	94 108 99 100 96 95 96	55 80 76 75 51 88 59	-19 -43 -17 -10 -28 12 -56	-56 -60 -44 -14 -51 -23 -97	1.18E-6 1.76E-6 1.90E-6 1.97E-6 1.04E-6 3.16E-6 1.20E-6	5.52E-6 4.48E-6 6.59E-6 7.68E-6 4.47E-6 2.22E-5 3.25E-6	7.03E-5 2.64E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 8.70E-5 > 1.00E-4 8.83E-6
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.838 1.396 0.259 1.099 0.885 0.958 0.779 0.680	2.855 2.048 1.562 2.842 1.241 2.815 1.370 1.943	2.827 1.965 1.604 2.752 1.249 2.734 1.317 1.795	2.801 1.887 1.547 2.698 1.220 2.671 1.315 1.725	2.071 1.672 0.630 1.590 1.080 1.643 1.140 1.103	0.126 0.340 0.049 0.615 0.302 0.611 0.325 0.135	0.033 0.164 0.024 0.473 0.072 0.505 0.114 0.091	99 87 103 95 102 96 91 88	97 75 99 92 94 92 91 83	61 42 28 28 55 37 61 33	-85 -76 -81 -44 -66 -36 -58 -80	-96 -88 -91 -57 -92 -47 -85 -87	1.19E-6 5.82E-7 4.94E-7 4.53E-7 1.09E-6 5.79E-7 1.24E-6 4.62E-7	2.62E-6 2.28E-6 2.45E-6 2.45E-6 2.84E-6 3.19E-6 3.25E-6 1.97E-6	5.76E-6 6.06E-6 5.19E-6 2.88E-5 7.38E-6 > 1.00E-4 8.52E-6 5.42E-6
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.518 0.389	2.003 1.487	1.951 1.542	1.918 1.491	1.434 1.181	0.428 0.187	0.519 0.112	97 105	94 100	62 72	-17 -52	-71	1.41E-6 1.51E-6	3.81E-6	> 1.00E-4 9.63E-6
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.424 C 0.677 0.912 0.746 0.684 0.767	2.269 1.367 1.939 2.006 1.661 1.631	2.148 1.383 1.847 1.973 1.607 1.572	2.092 1.326 1.909 1.990 1.519 1.531	0.810 1.247 1.593 1.646 1.263 1.313	0.404 0.464 0.824 0.387 0.622 0.374	0.188 0.364 0.698 0.061 0.341 0.249	93 102 91 97 94 93	90 94 97 99 85 88	21 83 66 71 59 63	-5 -31 -10 -48 -9 -51	-56 -46 -24 -92 -50 -68	3.82E-7 1.93E-6 1.64E-6 1.51E-6 1.37E-6 1.30E-6	6.55E-6 5.30E-6 7.46E-6 3.96E-6 7.35E-6 3.57E-6	7.74E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 1.10E-5 9.92E-5 9.75E-6

P16-CI (NSC 765621)

		Natio	onal (Cano	er Ir	nstitu In-	ite Do Vitro	evelop Testii	men ng R	tal T esult	hera s	peutic	s Progra	m	
NSC : D - 765	621/1				Exp	erimer	nt ID : 1	207NS08	3			Test T	ype : 08	Units : N	lolar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: July 1	6, 2012				QNS :		MC :	
COMI : ICN-1	7-CI (11	8815)			Sta	in Rea	gent : S	RB Dual	-Pass F	Related	l	SSPL	: U38J		
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	Optica	Lo I Densiti -5.0	og10 Cor es -4.0	ncentration -8.0	-7.0	ercent G -6.0	irowth -5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.627 0.895 0.240 0.664 1.272 0.221	2.686 2.421 1.874 2.229 2.944 0.621	2.678 2.389 1.817 2.153 2.878 0.601	2.685 2.312 1.848 2.177 2.903 0.605	2.486 2.367 1.362 2.259 2.771 0.596	0.698 0.632 0.281 0.783 0.777 0.237	0.754 0.643 0.267 0.751 0.837 0.232	100 98 96 95 96 95	100 93 98 97 98 96	90 96 69 102 90 94	3 -29 3 8 -39 4	6 -28 2 6 -34 3	2.91E-6 2.34E-6 1.91E-6 3.55E-6 2.03E-6 3.07E-6	 > 1.00E-4 5.84E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 4.98E-6 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H322M NCI-H322M	g Cancer 0.400 0.410 1.410 0.904 0.821 0.815 0.264	1.669 1.307 1.903 2.447 2.292 1.700 2.323	1.647 1.319 1.854 2.389 2.162 1.627 2.388	1.620 1.290 1.842 2.363 2.165 1.665 2.446	1.584 1.294 1.813 2.309 2.231 1.671 2.435	0.285 0.242 1.150 1.285 0.978 0.138 0.099	0.107 0.039 0.903 1.205 0.893 0.088 0.118	98 101 90 96 91 92 103	96 98 88 95 91 96 106	93 98 82 91 96 97 105	-29 -41 -18 25 11 -83 -63	-73 -91 -36 19 5 -89 -55	2.26E-6 2.23E-6 2.08E-6 4.15E-6 3.45E-6 1.82E-6 2.14E-6	5.80E-6 5.08E-6 6.55E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 3.45E-6 4.24E-6	2.99E-5 1.52E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 6.54E-6 8.40E-6
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.380 1.199 0.187 0.160 0.303 0.409 0.247	1.682 3.246 1.834 2.096 1.479 2.160 1.976	1.705 3.239 1.808 1.971 1.458 2.096 1.933	1.681 3.234 1.776 1.993 1.419 2.077 1.921	1.760 3.209 1.810 1.812 1.478 2.184 1.903	1.082 0.494 0.050 0.268 0.137 0.107 0.270	0.052 0.112 0.042 0.222 0.148 0.085 0.195	102 100 98 94 98 96 97	100 99 96 95 95 95 97	106 98 99 85 100 101 96	54 -59 -73 6 -55 -74 1	-86 -91 -78 3 -51 -79 -21	1.07E-5 2.03E-6 1.92E-6 2.77E-6 2.10E-6 1.96E-6 3.05E-6	2.42E-5 4.22E-6 3.75E-6 > 1.00E-4 4.42E-6 3.79E-6 1.15E-5	5.50E-5 8.79E-6 > 1.00E-4 9.31E-6 7.30E-6 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.562 0.493 0.824 1.227 0.496	1.842 2.510 2.201 2.146 2.059	1.796 2.497 2.106 1.989 1.962	1.776 2.469 2.034 1.998 1.969	1.884 2.354 2.041 2.065 1.910	0.407 0.258 0.684 1.145 0.091	0.259 0.122 0.078 0.513 0.094	96 99 93 83 94	95 98 88 84 94	103 92 88 91 90	-28 -48 -17 -7 -82	-54 -75 -91 -58 -81	2.55E-6 2.00E-6 2.31E-6 2.63E-6 1.72E-6	6.16E-6 4.56E-6 6.89E-6 8.54E-6 3.35E-6	7.05E-5 1.21E-5 2.81E-5 6.92E-5 6.54E-6
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.715 0.563 0.445 0.376 1.033 0.539 0.676 0.900 1.049	3.096 1.108 1.707 1.630 1.817 1.421 2.962 2.200 2.848	3.030 1.122 1.691 1.596 1.816 1.443 2.889 2.158 2.814	3.021 1.057 1.679 1.529 1.768 1.412 2.988 2.124 2.844	2.977 1.130 1.717 1.472 1.847 1.408 2.383 2.136 2.732	0.869 0.801 0.380 0.183 0.623 0.036 0.417 0.908 0.752	0.843 0.713 0.423 0.242 0.464 0.022 0.336 0.153 0.488	97 103 99 97 100 102 97 97 98	97 91 98 92 94 99 101 94 100	95 104 101 87 104 99 75 95 95	6 44 -15 -51 -93 -38 1 -28	5 -5 -36 -55 -96 -50 -83 -53	3.22E-6 7.84E-6 2.76E-6 1.86E-6 2.37E-6 1.65E-6 3.00E-6 2.28E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 7.47E-6 4.27E-6 5.29E-6 3.26E-6 4.58E-6 1.02E-5 5.85E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 4.68E-5 5.95E-6 9.44E-5 4.03E-5 7.27E-5
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.638 0.485 0.769 0.434 0.417 0.748 0.592	1.773 1.500 1.574 1.469 1.577 2.340 1.350	1.810 1.557 1.584 1.429 1.630 2.310 1.319	1.781 1.529 1.597 1.447 1.610 2.291 1.288	1.777 1.632 1.531 1.352 1.588 2.295 1.260	0.478 0.087 1.013 0.797 0.462 0.898 0.796	0.395 0.037 0.828 0.637 0.392 0.787 0.406	103 106 101 96 105 98 96	101 103 103 98 103 97 92	100 113 95 89 101 97 88	-25 -82 30 35 4 9 27	-38 -92 7 20 -6 2 -32	2.52E-6 2.10E-6 4.95E-6 5.26E-6 3.35E-6 3.45E-6 4.19E-6	6.31E-6 3.79E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 2.44E-5 > 1.00E-4 2.88E-5	 > 1.00E-4 6.85E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.838 1.396 0.259 1.099 0.885 0.958 0.779 0.680	2.831 2.014 1.743 2.845 1.301 2.796 1.333 2.029	2.772 1.873 1.744 2.715 1.276 2.685 1.285 1.907	2.754 1.849 1.738 2.750 1.301 2.688 1.299 1.879	2.820 1.920 1.600 2.689 1.274 2.589 1.338 1.907	1.080 1.353 0.499 0.941 0.178 1.164 0.731 0.099	0.672 0.075 0.257 0.585 0.124 1.088 0.331 0.113	97 77 100 93 94 94 91 91	96 73 100 95 100 94 94 89	99 85 90 91 94 89 101 91	12 -3 16 -14 -80 11 -6 -85	-20 -95 -1 -47 -86 7 -58 -83	3.68E-6 2.48E-6 3.50E-6 2.45E-6 1.78E-6 3.16E-6 2.99E-6 1.71E-6	2.39E-5 9.22E-6 9.00E-5 7.30E-6 3.46E-6 > 1.00E-4 8.76E-6 3.28E-6	> 1.00E-4 3.25E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 6.73E-6 > 1.00E-4 7.14E-5 6.30E-6
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.518 0.389	2.035 1.475	1.946 1.522	1.990 1.532	1.897 1.586	0.082 0.011	0.102 0.012	94 104	97 105	91 110	-84 -97	-80 -97	1.71E-6 1.95E-6	3.30E-6 3.40E-6	6.37E-6 5.92E-6
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC0 HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.424 C 0.677 0.912 0.746 0.684 0.767	2.339 1.309 2.003 1.868 1.599 1.639	2.178 1.309 1.938 1.744 1.534 1.526	2.088 1.276 1.927 1.819 1.566 1.544	2.140 1.302 1.885 1.829 1.558 1.515	0.127 0.320 0.800 0.841 0.458 0.068	0.103 0.248 0.761 0.709 0.301 0.106	92 100 94 93 87	87 95 93 96 96 89	90 99 89 97 96 86	-70 -53 -12 8 -33 -91	-76 -63 -17 -5 -56 -86	1.77E-6 2.10E-6 2.43E-6 3.37E-6 2.26E-6 1.59E-6	3.64E-6 4.49E-6 7.57E-6 4.24E-5 5.53E-6 3.05E-6	7.49E-6 9.58E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 5.47E-5 5.85E-6

P4-H (NSC 768114)

	National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program In-Vitro Testing Results														
NSC : D - 768	3114 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	303NS40)			Test T	уре : 08	Units : N	Nolar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: March	n 18, 2013	3			QNS :		MC :	
COMI : ICN-4-	-H (1223	395)			Stai	in Rea	gent : S	RB Dual-	-Pass F	Related	I	SSPL	: U38J		
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	n Optical -6.0	Lo I Densiti -5.0	og10 Cor es -4.0	ncentration -8.0	P -7.0	ercent G -6.0	Fowth	-4.0	GI50	TGI	LC50
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.860 1.045 0.239 0.957 0.795 0.720	3.065 3.018 1.944 2.964 2.513 2.822	3.111 3.037 2.064 2.947 2.498 2.769	3.107 3.135 1.961 3.103 2.451 2.647	3.179 3.139 2.193 2.913 2.439 2.247	0.876 1.593 1.026 0.906 1.295 0.649	0.585 0.902 0.348 0.786 0.582 0.499	102 101 107 99 99 97	102 106 101 107 96 92	105 106 115 97 96 73	1 28 46 -5 29 -10	-32 -14 6 -18 -27 -31	3.37E-6 5.20E-6 8.79E-6 2.89E-6 4.86E-6 1.88E-6	1.05E-5 4.67E-5 ≻ 1.00E-4 8.86E-6 3.32E-5 7.59E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H22M NCI-H460 NCI-H460 NCI-H522	Cancer 0.641 0.558 1.176 1.219 0.699 0.440 1.167	2.288 1.676 2.531 3.117 1.827 3.357 2.418	2.204 1.680 2.296 3.091 1.651 3.376 2.368	2.224 1.751 2.364 3.121 1.714 3.395 2.360	2.005 1.647 2.100 3.079 1.638 3.307 2.259	0.644 0.857 0.758 1.837 0.998 0.615 1.586	0.529 0.551 1.022 1.134 0.627 0.320 0.924	95 100 83 99 84 101 96	96 107 88 100 90 101 95	83 97 68 98 83 98 87	27 -36 33 26 6 33	-17 -13 -7 -10 -27 -21	2.49E-6 4.69E-6 1.50E-6 5.41E-6 3.85E-6 3.33E-6 4.93E-6	1.02E-5 9.02E-5 4.54E-6 6.65E-5 5.25E-5 1.51E-5 4.13E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.526 0.894 0.207 0.301 0.407 0.434 0.292	2.150 2.890 1.775 2.299 2.125 2.441 2.259	2.260 2.983 1.785 2.167 2.133 2.476 2.204	2.215 2.962 1.810 2.201 2.104 2.557 2.237	2.036 2.900 1.447 1.983 1.664 2.424 2.213	0.735 1.950 0.241 0.547 1.029 0.795 0.689	0.321 0.843 0.265 0.353 0.424 0.418 0.344	107 105 101 93 100 102 97	104 104 102 95 99 106 99	93 100 79 84 73 99 98	13 53 2 12 36 18 20	-39 -6 4 3 1 -4 3	3.44E-6 1.12E-5 2.39E-6 2.99E-6 4.23E-6 4.03E-6 4.12E-6	1.77E-5 7.99E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 6.69E-5 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.648 0.762 0.813 0.947 0.876 0.507	2.055 2.866 2.498 2.615 1.641 1.855	2.087 2.807 2.523 2.516 1.500 1.775	2.125 2.765 2.388 2.525 1.488 1.743	2.016 2.519 2.000 2.663 1.306 1.696	0.919 1.126 0.788 1.578 0.806 1.015	0.524 0.920 0.487 1.079 0.352 0.504	102 97 101 94 82 94	105 95 93 95 80 92	97 83 70 103 56 88	19 17 -3 38 -8 38	-19 8 -40 8 -60 -1	4.03E-6 3.21E-6 1.89E-6 6.50E-6 1.25E-6 5.70E-6	3.16E-5 > 1.00E-4 9.06E-6 > 1.00E-4 7.50E-6 9.65E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 6.45E-5 > 1.00E-4
Melanoma MALME-3M MDA-MB-435 SK-MEL-28 SK-MEL-28 UACC-257 UACC-257	0.758 0.557 0.686 0.612 0.692 1.029 0.782	1.663 2.172 2.817 1.583 2.923 2.205 2.571	1.534 2.202 2.814 1.605 2.715 2.057 2.568	1.600 2.250 2.801 1.536 2.795 2.069 2.526	1.685 2.296 2.664 1.535 2.700 2.153 2.585	1.186 1.271 1.564 0.873 0.812 1.618 1.202	0.574 0.476 0.261 0.517 0.636 0.961 0.382	86 102 100 102 91 87 100	93 105 99 95 94 88 97	102 108 93 95 90 96 101	47 44 41 27 5 50 23	-24 -15 -62 -16 -8 -7 -51	8.91E-6 8.11E-6 6.75E-6 4.58E-6 2.97E-6 1.00E-5 4.53E-6	4.58E-5 5.66E-5 2.51E-5 4.29E-5 2.49E-5 7.63E-5 2.06E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 7.66E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 9.63E-5
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.849 0.533 0.741 0.447 0.613 0.703 0.812	2.338 1.470 1.314 1.351 2.646 2.451 1.568	2.247 1.541 1.319 1.281 2.591 2.543 1.574	2.383 1.581 1.249 1.235 2.091 2.567 1.615	2.332 1.437 1.261 1.314 2.257 2.422 1.488	0.977 0.683 1.058 0.814 1.057 1.285 1.004	0.805 0.407 0.728 0.482 0.694 0.779 0.793	94 108 101 92 97 105 101	103 112 89 87 73 107 106	100 96 91 96 81 98 89	9 16 55 41 22 33 25	-5 -24 -2 4 4 4 -2	3.51E-6 3.78E-6 1.24E-5 6.75E-6 3.33E-6 5.54E-6 4.12E-6	4.17E-5 2.53E-5 9.29E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 8.20E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.872 1.633 0.340 0.640 0.960 0.684 0.938 0.736	2.813 2.485 1.695 2.614 1.503 2.603 1.779 2.211	2.861 2.373 1.728 2.541 1.383 2.567 1.806 1.968	2.851 2.385 1.644 2.476 1.434 2.512 1.752 2.117	2.530 2.179 1.440 2.055 1.277 2.373 1.619 1.995	0.967 1.071 0.401 1.050 0.542 1.052 1.290 0.476	0.758 0.850 0.358 0.647 0.475 0.713 0.861 0.730	102 87 102 96 78 98 103 84	102 88 96 93 87 95 97 94	85 64 81 72 58 88 81 85	5 -34 5 21 -44 19 42 -35	-13 -48 1 -51 -8 -1	2.75E-6 1.39E-6 2.55E-6 2.67E-6 1.21E-6 3.56E-6 6.20E-6 1.96E-6	1.87E-5 4.47E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 3.74E-6 > 1.00E-4 6.86E-5 5.10E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 8.29E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.570 0.456	1.729 1.622	1.617 1.721	1.646 1.803	1.526 1.696	1.017 0.727	0.639 0.409	90 109	93 116	82 106	39 23	6 -10	5.48E-6 4.77E-6	> 1.00E-4 4.90E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MDA-MB-231/ATC/ HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.300 C 0.766 1.168 1.203 0.726 0.600	1.631 1.640 2.274 2.326 1.722 1.221	1.541 1.623 2.216 2.328 1.670 1.130	1.468 1.609 2.172 2.406 1.666 1.138	1.410 1.804 1.987 2.106 1.646 1.068	0.295 1.319 1.142 1.336 0.967 0.664	0.318 0.777 0.973 0.895 0.671 0.225	93 98 95 100 95 85	88 96 91 107 94 87	83 119 74 80 92 75	-2 63 -2 12 24 10	1 -17 -26 -8 -63	2.47E-6 1.64E-5 2.07E-6 2.78E-6 4.18E-6 2.45E-6	> 1.00E-4 9.35E-6 2.07E-5 5.78E-5 1.38E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 6.72E-5

P4-D-H (NSC 768115)

	National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program In-Vitro Testing Results														
NSC : D - 768	115 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	303NS40)			Test T	ype : 08	Units :	Molar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: March	1 18, 201	3			QNS :		MC :	
COMI : ICN-4	-D-H (12	22396)			Stai	n Rea	gent : S	RB Dual	-Pass F	Related		SSPL	: U38J		
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	Optical -6.0	Lo Densiti -5.0	og10 Cor es -4.0	ncentration -8.0	-7.0	ercent G -6.0	rowth -5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.860 1.045 0.239 0.957 0.795 0.720	3.069 2.884 1.724 2.918 2.362 2.680	3.109 2.726 1.646 2.977 2.474 2.421	2.906 2.826 1.651 2.902 2.374 2.516	2.949 3.016 1.686 2.819 2.354 2.153	1.629 2.024 0.872 0.885 1.619 0.672	0.903 1.150 0.642 0.814 1.039 0.568	102 91 95 103 107 87	93 97 95 99 101 92	95 107 97 95 99 73	35 53 43 -8 53 -7	2 6 27 -15 16 -21	5.57E-6 1.17E-5 7.33E-6 2.74E-6 1.17E-5 1.95E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 8.43E-6 > 1.00E-4 8.23E-6 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62 NCI-H226 NCI-H223 NCI-H22M NCI-H460 NCI-H460 NCI-H522	Cancer 0.641 0.558 1.176 1.219 0.699 0.440 1.167	2.164 1.749 2.494 3.114 1.864 3.268 2.314	2.206 1.691 2.380 3.012 1.789 3.321 2.205	2.168 1.734 2.254 2.975 1.724 3.311 2.177	1.552 1.605 2.057 2.956 1.687 2.893 2.074	0.603 0.847 1.117 1.764 1.125 0.590 1.338	0.634 0.577 0.741 1.418 0.902 0.382 1.194	103 95 91 95 94 102 90	100 99 82 93 88 102 88	60 88 67 92 85 87 79	-6 24 -5 29 37 5 15	-1 2 -37 11 17 -13 2	1.41E-6 3.94E-6 1.71E-6 4.59E-6 5.26E-6 2.83E-6 2.84E-6	8.12E-6 > 1.00E-4 8.51E-6 > 1.00E-4 1.94E-5 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.526 0.894 0.207 0.301 0.407 0.434 0.292	2.056 2.786 1.696 2.293 1.879 2.330 2.132	1.978 2.795 1.761 2.282 1.877 2.246 2.133	2.022 2.802 1.667 2.301 1.730 2.255 2.078	1.805 2.818 1.478 1.970 1.511 2.312 1.991	0.761 1.987 0.325 0.821 1.012 1.177 0.785	0.420 1.327 0.159 0.512 0.597 0.598 0.504	95 100 104 99 100 96 100	98 101 98 100 90 96 97	84 102 85 84 75 99 92	15 58 26 41 39 27	-20 23 -23 11 13 9 11	3.10E-6 1.67E-5 2.86E-6 3.85E-6 5.46E-6 6.59E-6 4.42E-6	2.70E-5 > 1.00E-4 1.80E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.648 0.762 0.813 0.947 0.876 0.507	2.054 2.905 2.566 2.637 1.588 1.784	1.974 2.732 2.590 2.467 1.494 1.729	1.992 2.696 2.490 2.451 1.519 1.715	1.973 2.447 2.290 2.353 1.402 1.658	1.129 1.259 1.210 1.586 0.726 0.992	0.687 0.958 0.762 1.375 0.758 0.767	94 92 101 90 87 96	96 90 96 89 90 95	94 79 84 83 74 90	34 23 23 38 -17 38	3 9 -6 25 -13 20	5.46E-6 3.28E-6 3.59E-6 5.38E-6 1.83E-6 5.88E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 6.07E-5 > 1.00E-4 6.48E-6 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.758 0.557 0.686 0.612 0.692 1.029 0.782	1.650 2.196 2.744 1.463 2.876 2.053 2.657	1.581 2.119 2.771 1.462 2.787 2.041 2.536	1.491 2.180 2.726 1.454 2.689 2.045 2.518	1.603 2.209 2.512 1.431 2.623 2.107 2.186	0.972 1.352 1.664 1.083 1.060 1.435 1.065	0.696 0.822 1.186 0.799 0.472 1.048 0.740	92 95 101 100 96 99 94	82 99 99 99 91 99 93	95 101 89 96 88 105 75	24 48 48 55 17 40 15	-8 16 24 22 -32 2 -5	4.28E-6 9.35E-6 8.70E-6 1.45E-5 3.44E-6 6.94E-6 2.61E-6	5.56E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 2.22E-5 > 1.00E-4 5.44E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.849 0.533 0.741 0.447 0.613 0.703 0.812	2.389 1.466 1.272 1.315 2.547 2.337 1.576	2.439 1.489 1.288 1.334 2.573 2.299 1.507	2.384 1.541 1.268 1.347 2.570 2.340 1.572	2.256 1.459 1.204 1.347 2.276 2.287 1.492	1.201 0.936 1.047 0.901 1.294 1.290 0.984	0.883 0.553 0.840 0.692 0.857 0.979 0.771	103 102 103 102 101 98 91	100 108 99 104 101 100 99	91 99 87 104 86 97 89	23 43 58 52 35 36 22	2 19 28 13 17 -5	4.01E-6 7.55E-6 1.56E-5 1.24E-5 5.12E-6 5.88E-6 3.85E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 6.52E-5 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.872 1.633 0.340 0.640 0.960 0.684 0.938 0.736	2.841 2.589 1.732 2.706 1.457 2.603 1.713 2.206	2.736 2.386 1.792 2.582 1.435 2.570 1.624 2.041	2.697 2.403 1.783 2.492 1.362 2.534 1.575 2.018	2.701 2.149 1.442 2.129 1.312 2.263 1.414 1.858	1.374 1.487 0.428 0.854 0.753 1.267 1.088 0.852	0.871 1.198 0.449 0.743 0.560 0.875 0.949 0.571	95 79 104 94 95 98 88 89	93 81 104 90 81 96 82 87	93 54 79 72 71 82 61 76	25 -9 10 -22 30 19 8	-27 8 5 -42 10 1 -22	4.33E-6 1.16E-6 2.51E-6 2.28E-6 1.68E-6 4.19E-6 1.86E-6 2.43E-6	9.90E-5 7.20E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 5.84E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 1.82E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.570 0.456	1.649 1.633	1.668 1.662	1.630 1.631	1.565 1.498	1.153 0.866	0.913 0.494	102 102	98 100	92 89	54 35	32 3	1.52E-5 5.21E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MCF7 HS -MB-231/ATC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.300 C 0.766 1.168 1.203 0.726 0.600	1.527 1.655 2.257 2.366 1.717 1.199	1.423 1.711 2.240 2.323 1.669 1.142	1.396 1.749 2.161 2.332 1.622 1.084	1.355 1.716 2.162 2.155 1.615 1.011	0.432 1.480 1.320 1.508 1.211 0.786	0.295 1.175 1.120 1.233 0.838 0.628	91 106 98 96 95 90	89 111 91 97 90 81	86 107 91 82 90 69	11 80 14 26 49 31	-2 46 -4 3 11 5	3.01E-6 7.63E-5 3.42E-6 3.74E-6 9.39E-6 3.12E-6	7.34E-5 > 1.00E-4 5.89E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

P16-6-NEthNCH32 (NSC 765623)

	National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program In-Vitro Testing Results														
NSC : D - 765	5623 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	207NS08	3			Test	Type : 08	Units : N	lolar
Report Date :	January	/ 15, 20 ⁻	14		Tes	t Date	: July 1	6, 2012				QNS	:	MC :	
COMI : ICN-1	7-6-DAE	ED-HCI (118819	9)	Sta	in Rea	gent : S	RB Dual-	Pass I	Related	I	SSPL	. : U38J		
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	Optica -6.0	Lo I Densiti -5.0	og10 Co ies -4.0	ncentration -8.0	P -7.0	ercent G -6.0	rowth -5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.627 0.895 0.240 0.664 1.272 0.221	2.704 2.554 1.922 2.325 2.857 0.610	2.683 2.724 2.004 2.464 2.829 0.602	2.519 2.633 1.990 2.571 2.747 0.567	2.372 2.296 1.567 1.683 2.540 0.373	0.534 0.299 0.127 0.440 0.699 0.181	0.162 0.209 0.063 0.181 0.444 0.147	99 110 105 108 98 98	91 105 104 115 93 89	84 84 79 61 80 39	-15 -67 -47 -34 -45 -18	-74 -77 -74 -73 -65 -34	2.21E-6 1.69E-6 1.69E-6 1.32E-6 1.74E-6 6.02E-7	7.08E-6 3.62E-6 4.22E-6 4.42E-6 4.36E-6 4.82E-6	3.91E-5 7.76E-6 1.26E-5 2.61E-5 1.76E-5 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lun A549/ATCC HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H223 NCI-H322M NCI-H322M	g Cancer 0.400 0.410 1.410 0.904 0.821 0.815 0.264	1.817 1.337 1.900 2.413 2.349 1.746 2.476	1.803 1.364 1.805 2.404 2.333 1.651 2.561	1.783 1.381 1.800 2.467 2.346 1.781 2.518	1.343 1.362 1.780 2.364 2.295 1.637 1.611	0.147 0.468 1.474 0.792 1.448 0.942 0.075	0.073 0.022 0.189 0.371 0.131 0.019 0.053	99 103 81 99 99 90 104	98 105 79 104 100 104 102	67 103 75 97 96 88 61	-63 6 13 -12 41 14 -72	-82 -95 -87 -59 -84 -98 -80	1.34E-6 3.52E-6 2.55E-6 2.68E-6 6.88E-6 3.26E-6 1.21E-6	3.25E-6 1.15E-5 1.35E-5 7.69E-6 2.13E-5 1.33E-5 2.88E-6	7.89E-6 3.60E-5 4.29E-5 6.40E-5 5.34E-5 3.73E-5 6.85E-6
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.380 1.199 0.187 0.160 0.303 0.409 0.247	1.656 3.281 1.745 1.814 1.552 2.145 2.036	1.732 3.267 1.903 1.745 1.604 2.207 1.981	1.735 3.275 1.832 1.707 1.580 2.282 1.985	1.666 3.209 1.552 1.342 1.242 2.130 1.675	0.047 1.632 0.111 0.205 0.192 0.582 0.197	0.040 0.161 0.053 0.059 0.063 0.057 0.039	106 99 110 96 104 104 97	106 100 106 94 102 108 97	101 97 88 71 75 99 80	-88 21 -41 3 -37 10 -20	-89 -87 -72 -63 -79 -86 -84	1.86E-6 4.12E-6 1.96E-6 2.05E-6 1.68E-6 3.56E-6 1.98E-6	3.42E-6 1.56E-5 4.80E-6 1.10E-5 4.69E-6 1.27E-5 6.28E-6	6.31E-6 4.56E-5 1.98E-5 6.26E-5 2.04E-5 4.20E-5 2.92E-5
CNS Cancer SF-268 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.562 0.493 0.824 1.227 0.496	1.943 2.184 2.258 2.227 2.066	1.951 2.141 2.126 1.980 2.012	2.009 2.170 2.114 1.933 1.977	1.933 2.131 2.095 1.981 1.857	0.664 0.044 1.243 1.745 0.100	0.090 0.034 0.032 0.096 0.028	101 97 91 75 97	105 99 90 71 94	99 97 89 75 87	7 -91 29 52 -80	-84 -93 -96 -92 -94	3.44E-6 1.77E-6 4.46E-6 1.03E-5 1.66E-6	1.20E-5 3.27E-6 1.71E-5 2.29E-5 3.31E-6	4.24E-5 6.04E-6 4.28E-5 5.09E-5 6.62E-6
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.715 0.563 0.445 0.376 1.033 0.539 0.676 0.900 1.049	3.148 1.047 1.884 1.652 1.901 1.412 3.015 1.765 2.937	3.126 1.069 1.907 1.588 1.976 1.417 3.021 1.724 2.921	3.202 1.071 1.919 1.547 2.016 1.383 3.021 1.672 2.938	3.024 1.028 1.923 1.507 2.048 1.393 2.885 1.646 2.827	0.126 0.081 0.139 0.077 0.401 0.023 0.008 0.131 0.152	0.112 0.074 0.082 0.034 0.054 0.004 0.005 0.040 0.039	99 104 102 95 109 101 100 95 99	102 105 102 92 113 97 100 89 100	95 96 103 89 117 98 94 86 94	-82 -86 -69 -80 -61 -96 -99 -86 -86	-84 -87 -91 -95 -99 -99 -96 -96	1.79E-6 1.79E-6 2.03E-6 1.70E-6 2.38E-6 1.77E-6 1.77E-6 1.62E-6 1.62E-6 1.76E-6	3.43E-6 3.37E-6 3.36E-6 4.53E-6 3.08E-6 3.08E-6 3.18E-6 3.34E-6	6.57E-6 6.36E-6 7.77E-6 8.65E-6 5.80E-6 5.59E-6 6.21E-6 6.34E-6
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.638 0.485 0.769 0.434 0.417 0.748 0.592	1.769 1.585 1.522 1.327 1.746 2.330 1.350	1.912 1.695 1.544 1.290 1.753 2.387 1.322	1.936 1.715 1.492 1.264 1.676 2.443 1.375	1.727 1.670 1.462 1.333 1.481 2.304 1.338	0.764 0.384 0.906 0.915 0.562 1.330 0.859	0.054 0.029 0.055 0.028 0.049 0.180 0.015	113 110 103 96 100 104 96	115 112 96 93 95 107 103	96 108 92 101 80 98 98	11 -21 18 54 11 37 35	-92 -94 -93 -94 -88 -76 -97	3.50E-6 2.81E-6 3.71E-6 1.06E-5 2.72E-6 6.10E-6 5.83E-6	1.28E-5 6.89E-6 1.46E-5 2.32E-5 1.29E-5 2.12E-5 1.84E-5	3.94E-5 2.50E-5 4.11E-5 5.06E-5 4.11E-5 5.89E-5 4.39E-5
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.838 1.396 0.259 1.099 0.885 0.958 0.779 0.680	2.854 2.096 1.534 2.981 1.249 2.950 1.328 2.044	2.895 1.918 1.518 2.890 1.248 2.774 1.313 1.934	2.955 1.890 1.499 2.789 1.278 2.867 1.363 1.929	2.730 1.773 1.386 2.768 1.230 2.678 1.331 1.758	0.394 1.329 0.137 1.441 0.454 1.191 0.613 0.467	0.120 0.042 0.029 0.053 0.096 0.092 0.027 0.015	102 75 99 95 100 91 97 92	105 71 97 90 108 96 106 92	94 54 88 95 86 101 79	-53 -5 -47 18 -49 12 -21 -31	-86 -97 -89 -95 -89 -90 -97 -98	1.99E-6 1.17E-6 1.92E-6 3.54E-6 2.05E-6 3.07E-6 2.60E-6 1.83E-6	4.36E-6 8.28E-6 4.49E-6 1.45E-5 4.58E-6 1.30E-5 6.69E-6 5.20E-6	9.54E-6 3.09E-5 1.17E-5 3.99E-5 1.08E-5 4.02E-5 2.40E-5 1.91E-5
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.518 0.389	1.952 1.532	1.934 1.600	1.874 1.663	1.747 1.503	0.586 0.369	0.030 0.013	99 106	95 111	86 97	5 -5	-94 -97	2.76E-6 2.90E-6	1.12E-5 8.91E-6	3.57E-5 3.09E-5
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.424 C 0.677 0.912 0.746 0.684 0.767	2.358 1.467 2.086 2.010 1.641 1.664	2.124 1.461 2.061 2.021 1.680 1.599	2.151 1.450 2.040 2.065 1.664 1.618	1.929 1.320 1.985 1.937 1.591 1.550	0.141 0.326 0.960 1.431 0.334 0.290	0.145 0.052 0.565 0.057 0.221 0.120	88 99 98 101 104 93	89 98 96 104 102 95	78 81 91 94 95 87	-67 -52 4 54 -51 -62	-66 -92 -38 -92 -68 -84	1.56E-6 1.72E-6 2.98E-6 1.07E-5 2.03E-6 1.77E-6	3.45E-6 4.08E-6 1.25E-5 2.34E-5 4.46E-6 3.83E-6	7.66E-6 9.69E-6 > 1.00E-4 5.14E-5 9.81E-6 8.29E-6

P16-60EthNCH32 (NSC 765625)

	National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program In-Vitro Testing Results														
NSC : D - 765	625 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	207NS08	}			Test 1	Гуре : 08	Units : M	olar
Report Date :	January	/ 15, 201	4		Tes	t Date	: July 1	6, 2012				QNS		MC :	
COMI : ICN-1	7-6-0Et	hNCH32	2-HCI (1	18829) Stai	in Rea	gent : S	SRB Dual	Pass F	₹elated		SSPL	. : U38J		
						Lo	og10 Cor	ncentration							
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	-6.0	Densiti -5.0	es -4.0	-8.0	-7.0	ercent G -6.0	-5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.627 0.895 0.240 0.664 1.272 0.221	2.509 2.590 1.843 2.205 2.823 0.569	2.435 2.428 1.826 2.175 2.686 0.509	2.005 1.768 1.561 0.976 2.598 0.306	0.590 0.666 0.407 0.475 1.262 0.225	0.459 0.310 0.186 0.436 0.642 0.174	0.168 0.184 0.050 0.145 0.368 0.119	96 90 99 98 91 83	73 51 82 20 86 24	-6 -26 10 -28 -1 1	-27 -65 -23 -34 -50 -21	-73 -79 -79 -78 -71 -46	1.96E-7 1.04E-7 2.82E-7 4.14E-8 2.58E-7 3.63E-8	8.40E-7 4.66E-7 2.07E-6 2.60E-7 9.79E-7 1.11E-6	3.15E-5 4.10E-6 3.04E-5 2.27E-5 1.05E-5 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H322M NCI-H322M	Cancer 0.400 0.410 1.410 0.904 0.821 0.815 0.264	1.795 1.320 1.845 2.359 2.367 1.649 2.323	1.713 1.314 1.812 2.298 2.225 1.560 2.385	0.994 1.239 1.812 2.234 2.156 1.543 0.926	0.297 0.474 1.579 1.107 1.208 1.464 0.287	0.186 0.255 1.102 0.522 0.385 0.674 0.113	0.057 0.014 0.154 0.223 0.102 0.042 0.046	94 99 92 96 91 89 103	43 91 92 91 86 87 32	-26 7 39 14 25 78 1	-54 -38 -22 -42 -53 -17 -57	-86 -97 -89 -75 -88 -95 -83	7.17E-8 3.08E-7 6.19E-7 3.42E-7 3.91E-7 1.96E-6 5.59E-8	4.20E-7 1.43E-6 4.37E-6 1.77E-6 2.09E-6 6.57E-6 1.04E-6	7.48E-6 1.61E-5 2.62E-5 1.71E-5 9.11E-6 2.64E-5 7.53E-6
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.380 1.199 0.187 0.160 0.303 0.409 0.247	1.709 3.277 1.765 1.685 1.536 2.140 1.971	1.735 3.241 1.804 1.669 1.565 2.067 1.969	1.513 3.149 1.557 1.331 1.493 1.834 1.463	0.998 2.748 0.644 0.287 0.602 1.021 0.746	0.103 0.107 0.034 0.150 0.217 0.460 0.214	0.034 0.130 0.008 0.011 0.030 0.058 0.047	102 98 102 99 102 96 100	85 94 87 77 97 82 71	47 75 29 8 24 35 29	-73 -91 -82 -7 -28 3 -14	-91 -89 -96 -93 -90 -86 -81	8.13E-7 1.41E-6 4.33E-7 2.46E-7 4.40E-7 4.87E-7 3.12E-7	2.45E-6 2.82E-6 1.83E-6 3.62E-6 2.89E-6 1.08E-5 4.80E-6	6.43E-6 5.65E-6 3.16E-6 3.16E-5 2.24E-5 3.95E-5 3.46E-5
CNS Cancer SF-268 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.562 0.493 0.824 1.227 0.496	1.825 2.282 2.257 2.215 2.033	1.767 2.168 2.180 1.976 1.948	1.759 2.200 2.092 2.033 1.792	0.843 0.941 1.077 1.866 0.502	0.458 0.066 0.785 1.024 0.262	0.127 0.003 0.082 0.024 0.028	95 94 95 76 94	95 95 88 82 84	22 25 18 65	-19 -87 -5 -17 -47	-77 -99 -90 -98 -94	4.14E-7 4.42E-7 3.49E-7 1.52E-6 2.56E-7	3.51E-6 1.68E-6 6.15E-6 6.25E-6 1.02E-6	3.43E-5 4.70E-6 3.39E-5 2.57E-5 1.15E-5
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.715 0.563 0.445 0.376 1.033 0.539 0.676 0.900 1.049	3.186 1.020 1.819 1.507 1.907 1.440 2.877 2.055 2.872	3.079 1.008 1.743 1.479 1.891 1.463 2.789 2.005 2.880	2.636 0.987 1.691 1.401 1.398 2.601 1.919 2.780	1.289 0.755 0.802 0.879 1.839 1.196 1.504 1.435 2.011	0.130 0.068 0.074 0.405 0.201 0.021 0.070 0.300	0.067 0.096 0.041 0.016 0.096 0.003 0.023 0.052 0.059	96 97 94 98 98 103 96 96 100	78 93 91 99 95 87 88 95	23 42 26 44 92 73 38 46 53	-82 -88 -85 -80 -61 -63 -97 -92 -71	-91 -83 -91 -96 -91 -99 -97 -94 -94	3.23E-7 6.92E-7 4.25E-7 7.60E-7 1.89E-6 1.48E-6 5.64E-7 8.15E-7 1.05E-6	1.66E-6 2.10E-6 1.71E-6 2.27E-6 4.00E-6 3.45E-6 1.90E-6 2.16E-6 2.66E-6	4.97E-6 5.10E-6 4.85E-6 5.72E-6 8.49E-6 8.05E-6 4.95E-6 4.95E-6 6.72E-6
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.638 0.485 0.769 0.434 0.417 0.748 0.592	1.835 1.495 1.609 1.353 1.659 2.357 1.379	1.799 1.524 1.601 1.403 1.682 2.350 1.370	1.606 1.532 1.641 1.108 1.499 2.312 1.379	1.191 0.970 1.307 0.973 0.670 1.655 0.821	0.443 0.359 0.717 0.290 0.259 0.709 0.536	0.083 0.041 0.106 0.006 0.051 0.110 0.025	97 103 99 105 102 100 99	81 104 104 73 87 97 100	46 48 64 59 20 56 29	-31 -26 -7 -33 -38 -5 -9	-87 -92 -86 -99 -88 -85 -96	7.75E-7 9.21E-7 1.58E-6 1.24E-6 3.60E-7 1.27E-6 5.06E-7	4.00E-6 4.46E-6 8.02E-6 4.34E-6 2.23E-6 8.21E-6 5.68E-6	2.21E-5 2.32E-5 3.50E-5 1.80E-5 1.75E-5 3.62E-5 2.95E-5
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.838 1.396 0.259 1.099 0.885 0.958 0.779 0.680	2.736 2.063 1.508 2.845 1.168 2.900 1.341 1.953	2.730 1.969 1.528 2.776 1.144 2.797 1.282 1.787	2.658 1.903 1.206 2.429 1.198 2.627 1.259 1.625	0.597 1.647 0.248 1.146 1.010 0.900 1.002 0.942	0.172 0.250 0.116 0.660 0.175 0.710 0.402 0.059	0.059 0.181 -0.006 0.041 0.069 0.088 0.042 0.057	100 86 102 96 92 95 89 87	96 76 76 111 86 85 74	-29 38 -4 3 44 -6 40 21	-79 -82 -55 -40 -80 -26 -48 -91	-93 -87 -100 -96 -92 -91 -95 -92	2.33E-7 4.75E-7 2.10E-7 2.27E-7 8.12E-7 2.46E-7 5.93E-7 2.83E-7	5.88E-7 2.06E-6 8.80E-7 1.16E-6 2.26E-6 8.58E-7 2.82E-6 1.53E-6	2.62E-6 5.39E-6 7.89E-6 1.51E-5 5.71E-6 2.35E-5 1.08E-5 4.27E-6
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.518 0.389	1.991 1.527	1.966 1.568	1.914 1.147	1.143 0.413	0.334 0.306	0.025 0.016	98 104	95 67	42 2	-36 -21	-95 -96	7.16E-7 1.81E-7	3.50E-6 1.22E-6	1.74E-5 2.42E-5
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC0 HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.424 C 0.677 0.912 0.746 0.684 0.767	2.316 1.422 1.937 2.000 1.620 1.621	2.178 1.459 1.931 1.918 1.585 1.548	1.621 1.420 1.933 2.003 1.510 1.551	0.682 1.225 1.680 1.572 0.995 0.951	0.349 0.452 0.930 0.529 0.670 0.328	0.061 0.051 0.401 0.019 0.125 0.104	93 105 99 93 96 91	63 100 100 100 88 92	14 73 75 66 33 22	-18 -33 2 -29 -2 -57	-86 -92 -56 -97 -82 -87	1.85E-7 1.66E-6 2.19E-6 1.47E-6 4.95E-7 3.94E-7	2.72E-6 4.88E-6 1.07E-5 4.93E-6 8.75E-6 1.88E-6	2.98E-5 1.91E-5 7.85E-5 2.02E-5 4.00E-5 8.08E-6

P8-D-6OEthNCH32 (NSC 768118)

	Natio	onal Canc	er Insti Ir	ute De -Vitro	evelop Testir	men ng Re	tal T esult	hera s	peuti	cs Progran	n	
NSC : D - 768118 /	1		Experim	ent ID : 1	303NS40				Test	Type : 08	Units : N	lolar
Report Date : Janua	ary 15, 201	4	Test Dat	e : March	n 18, 2013	3			QNS	:	MC :	
COMI : ICN-2-D-6-C	DEthNCH3	2-HCI (12240) Stain Re	agent : S	RB Dual-	Pass F	Related		SSP	L : U38J		
Time Papel/Cell Line Zero	e Ctrl	Mean -8.0 -7.0	Optical Dens	Log10 Cor sities -4.0	ncentration	P/ -7 0	ercent G	rowth	-4.0	GI50	TGI	1.050
Leukemia CCRF-CEM 0.860 HL-60(TB) 1.045 K-562 0.239 MOLT-4 0.957 RPMI-8226 0.795 SR 0.720	3.073 3.012 1.836 2.925 5 2.274 2.775	2.663 0.802 2.493 0.992 1.500 0.563 1.624 0.755 2.191 0.764 1.606 0.750	0.684 0.56 0.895 0.84 0.322 0.29 0.747 0.60 0.496 0.48 0.723 0.60	9 0.312 3 0.404 7 0.159 6 0.584 1 0.403 7 0.396	81 74 79 34 94 43	-7 -5 20 -21 -4 1	-21 -14 5 -22 -38	-34 -19 4 -37 -39 -16	-64 -61 -33 -39 -49 -45	2.27E-8 2.00E-8 3.12E-8 < 1.00E-8 2.83E-8 < 1.00E-8	8.37E-8 8.62E-8 1.25E-5 4.13E-8 9.13E-8 1.02E-6	3.47E-5 5.37E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung Cance A549/ATCC 0.641 HOP-62 0.558 NCI-H226 1.176 NCI-H22 1.219 NCI-H322M 0.699 NCI-H460 0.440 NCI-H522 1.167	er 2.208 3 1.593 5 2.559 9 3.062 9 1.753 0 3.328 7 2.283	1.4050.7011.3730.7682.2241.1312.8661.8601.6831.4171.4640.6732.1201.421	0.331 0.42 0.437 0.46 0.525 0.61 1.079 0.87 0.642 0.64 0.391 0.37 0.695 0.57	6 0.213 0 0.132 5 0.396 8 0.639 8 0.260 9 0.137 9 0.333	49 79 76 89 93 35 85	4 20 -4 35 68 8 23	-48 -22 -55 -11 -8 -11 -40	-34 -18 -48 -28 -7 -14 -50	-67 -76 -66 -48 -63 -69 -71	 1.00E-8 3.10E-8 2.11E-8 5.26E-8 1.72E-7 1.00E-8 3.67E-8 	1.18E-7 3.04E-7 8.94E-8 5.65E-7 7.80E-7 2.61E-7 2.29E-7	3.11E-5 3.56E-5 - 1.00E-4 5.88E-5 4.53E-5 9.14E-6
Colon Cancer COLO 205 0.526 HCC-2998 0.894 HCT-116 0.207 HCT-15 0.301 HT29 0.407 KM12 0.434 SW-620 0.292	6 2.120 4 2.766 7 1.749 1 2.434 7 1.905 4 2.334 2 2.212	1.6261.2832.4711.9141.4300.8351.9940.7851.8331.0432.0131.0721.7281.041	0.343 0.22 0.423 0.34 0.187 0.23 0.446 0.50 0.419 0.43 0.532 0.48 0.443 0.41	9 0.070 7 0.257 6 0.182 1 0.276 7 0.235 7 0.216 3 0.174	69 84 79 95 83 75	47 54 41 23 42 34 39	-35 -53 -10 7 1 5 8	-57 -61 2 9 2 3 6	-87 -71 -12 -8 -42 -50 -40	7.64E-8 1.10E-7 5.75E-8 3.30E-8 7.19E-8 4.66E-8 4.93E-8	3.78E-7 3.22E-7 3.39E-5 1.11E-5 1.13E-5 1.36E-5	5.00E-6 9.43E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 9.90E-5 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 0.648 SF-295 0.762 SF-539 0.813 SNB-19 0.947 SNB-75 0.876 U251 0.507	3 2.073 2 2.925 3 2.540 7 2.504 6 1.651 7 1.813	1.8710.9332.5950.9702.5671.6892.3091.4361.5471.1891.6020.594	0.580 0.49 0.716 0.68 0.536 0.50 1.099 0.96 0.590 0.42 0.343 0.39	8 0.074 7 0.296 7 0.190 1 0.553 5 0.026 7 0.064	86 85 102 87 87 84	20 10 51 31 40 7	-11 -6 -34 10 -33 -32	-23 -10 -38 1 -51 -22	-89 -61 -77 -42 -97 -87	3.50E-8 2.90E-8 1.02E-7 4.66E-8 6.17E-8 2.74E-8	4.51E-7 4.09E-7 3.96E-7 1.05E-5 3.57E-7 1.48E-7	2.57E-5 6.05E-5 2.07E-5 > 1.00E-4 8.34E-6 2.69E-5
Melanoma MALME-3M 0.758 M14 0.557 MDA-MB-435 0.686 SK-MEL-28 0.612 SK-MEL-5 0.692 UACC-257 1.029 UACC-62 0.782	3 1.604 7 2.311 6 2.758 2 1.572 2 3.034 9 2.059 2 2.514	$\begin{array}{ccccc} 1.481 & 1.044 \\ 2.168 & 1.139 \\ 2.601 & 2.175 \\ 1.523 & 1.166 \\ 2.656 & 1.482 \\ 1.998 & 1.561 \\ 2.234 & 1.475 \end{array}$	0.468 0.22 0.500 0.38 0.331 0.26 0.376 0.25 0.114 0.08 0.900 0.59 0.373 0.17	0 0.245 6 0.247 6 0.139 4 0.044 3 0.042 9 0.380 9 0.053	85 92 95 84 94 84	34 33 72 58 34 52 40	-38 -10 -52 -39 -84 -13 -52	-71 -31 -58 -88 -42 -77	-68 -56 -93 -93 -94 -63 -93	4.86E-8 5.16E-8 1.50E-7 1.20E-7 4.74E-8 1.06E-7 5.91E-8	2.95E-7 5.79E-7 3.81E-7 3.97E-7 1.94E-7 6.37E-7 2.71E-7	2.28E-6 5.92E-5 9.68E-7 3.75E-6 5.17E-7 2.42E-5 9.43E-7
Ovarian Cancer IGROV1 0.849 OVCAR-3 0.533 OVCAR-4 0.741 OVCAR-5 0.447 OVCAR-8 0.613 NCI/ADR-RES 0.703 SK-OV-3 0.812	2.381 3 1.466 1.258 7 1.491 3 2.521 3 2.382 2 1.555	2.0891.6771.4681.0471.2451.281.3601.0002.2671.2892.2911.7941.4871.028	0.968 0.91 0.343 0.45 0.495 0.56 0.492 0.53 0.505 0.64 0.914 0.69 0.666 0.68	5 0.520 2 0.194 2 0.317 8 0.379 1 0.336 4 0.413 0 0.374	81 100 97 87 87 95 91	54 55 75 53 35 65 29	8 -36 -33 4 -18 13 -18	4 -15 -24 9 1 -1	-39 -64 -57 -15 -45 -41 -54	1.22E-7 1.14E-7 1.70E-7 1.15E-7 5.19E-8 1.93E-7 4.58E-8	1.26E-5 4.05E-7 4.93E-7 2.30E-5 8.08E-6 4.15E-7	 > 1.00E-4 5.23E-5 6.02E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 7.83E-5
Renal Cancer 786-0 0.872 A498 1.633 ACHN 0.340 CAKI-1 0.640 RXF 393 0.960 SN12C 0.694 TK-10 0.938 UO-31 0.736	2 2.965 3 2.563 0 1.763 0 2.616 0 1.524 4 2.638 3 1.784 5 2.228	2.812 0.862 2.259 1.969 1.399 0.534 2.210 0.827 1.497 1.278 2.294 0.848 1.612 1.295 1.902 0.906	0.527 0.67 0.287 0.25 0.238 0.24 0.499 0.57 0.485 0.31 0.657 0.64 0.486 0.83 0.154 0.48	1 0.150 4 0.298 5 0.334 3 0.554 6 0.135 3 0.441 8 0.507 4 0.260	93 67 74 79 95 82 80 78	-1 36 14 9 56 8 42 11	-40 -82 -30 -22 -49 -4 -48 -79	-23 -84 -28 -11 -67 -6 -11 -34	-83 -82 -2 -14 -86 -36 -46 -65	2.85E-8 3.59E-8 2.52E-8 2.63E-8 1.15E-7 2.74E-8 6.17E-8 2.64E-8	9.72E-8 2.02E-7 2.05E-7 1.99E-7 3.41E-7 4.74E-7 2.93E-7 1.34E-7	2.82E-5 5.33E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 1.07E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 0.570 DU-145 0.456	0 1.691 6 1.650	1.583 1.293 1.223 0.457	0.675 0.65 0.372 0.31	5 0.297 2 0.059	90 64	65	9 -19	8 -32	-48 -87	1.83E-7 1.67E-8	1.37E-5 1.01E-7	> 1.00E-4 2.14E-5
Breast Cancer MCF7 0.300 MDA-MB-231/ATCC 0.766 HS 578T 1.168 BT-549 1.203 T-47D 0.726 MDA-MB-468 0.600	1.539 1.646 2.386 2.446 1.698 1.275	0.823 0.490 1.618 1.502 2.292 2.033 2.358 2.144 1.580 0.953 1.165 0.714	0.237 0.31 0.776 0.80 1.325 1.13 1.064 0.71 0.682 0.69 0.421 0.41	9 0.127 4 0.157 9 0.697 9 0.200 0 0.291 7 0.209	42 97 92 93 88 84	15 84 71 76 23 17	-21 13 -12 -6 -30	1 -3 -40 -5 -31	-58 -80 -40 -83 -60 -65	< 1.00E-8 2.55E-7 2.30E-7 1.97E-7 3.86E-8 3.19E-8	1.13E-5 6.86E-6 7.37E-7 6.22E-7 2.29E-7	7.42E-5 4.44E-5 > 1.00E-4 1.68E-5 6.58E-5 3.65E-5

A12 (NSC 765626)

	National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program In-Vitro Testing Results NSC : D - 765626 / 1 Experiment ID : 1207NS08 Test Type : 08 Units : Molar														
NSC : D - 765	626 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	207NS08	}			Test	Гуре : 08	Units : N	Aolar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: July 1	6, 2012				QNS	:	MC :	
COMI : AIC-12	2 (11883	30)			Stai	n Rea	gent : S	RB Dual	-Pass F	Related		SSPL	: U38J		
	T 're e				Cation	Lo	og10 Cor	ncentration							
Panel/Cell Line	Zero	Ctrl	-8.0	-7.0	-6.0	-5.0	es -4.0	-8.0	-7.0	-6.0	-5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.627 0.895 0.240 0.664 1.272 0.221	2.513 2.603 1.782 2.211 2.806 0.588	2.476 2.701 1.803 2.321 2.717 0.580	2.047 2.037 0.669 2.270 2.504 0.342	0.784 0.823 0.353 0.861 1.441 0.248	0.732 0.688 0.310 0.803 1.112 0.216	0.813 0.729 0.351 0.871 1.324 0.239	98 106 101 107 94 98	75 67 28 104 80 33	8 -8 7 13 11 7	6 -23 5 9 -13 -2	10 -19 7 13 3 5	2.39E-7 1.68E-7 4.99E-8 3.90E-7 2.74E-7 5.44E-8	> 1.00E-4 7.80E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H322M NCI-H322M	Cancer 0.400 0.410 1.410 0.904 0.821 0.815 0.264	1.657 1.291 1.808 2.363 2.269 1.578 2.436	1.614 1.285 1.755 2.369 2.217 1.625 2.457	1.276 1.137 1.629 2.278 2.123 1.573 2.193	0.647 0.696 1.560 1.804 1.235 1.101 0.429	0.581 0.654 1.471 1.537 0.995 1.080 0.305	0.508 0.388 1.409 1.149 1.120 0.963 0.339	97 99 87 100 96 106 101	70 82 55 94 90 99 89	20 32 38 62 29 37 8	14 28 15 43 12 35 2	9 -5 17 21 19 3	2.47E-7 4.45E-7 4.34E-6 4.47E-7 6.27E-7 3.00E-7	 > 1.00E-4 6.83E-5 9.84E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.380 1.199 0.187 0.160 0.303 0.409 0.247	1.674 3.231 1.749 1.620 1.568 2.075 2.013	1.735 3.231 1.809 1.475 1.599 2.208 1.985	1.532 3.087 1.552 1.027 1.270 1.403 1.280	0.183 1.105 0.381 0.380 0.336 0.772 0.672	0.073 1.146 0.264 0.325 0.307 0.639 0.663	0.218 1.119 0.409 0.376 0.304 0.706 0.579	105 100 104 90 102 108 98	89 93 87 59 76 60 58	-52 -8 12 15 3 22 24	-81 -4 5 11 14 24	-43 -7 14 15 18 19	1.89E-7 2.67E-7 3.15E-7 1.63E-7 2.28E-7 1.80E-7 1.80E-7 1.76E-7	4.29E-7 8.35E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.562 0.493 0.824 1.227 0.496	1.845 2.223 2.227 2.200 1.941	1.898 2.172 2.119 1.985 1.846	1.769 1.773 1.956 1.871 1.699	1.115 0.482 1.335 1.530 0.645	0.872 0.568 1.344 1.603 0.546	0.815 0.515 1.150 1.057 0.473	104 97 92 78 93	94 74 81 66 83	43 -2 36 31 10	24 4 37 39 3	20 1 23 -14 -5	7.31E-7 2.06E-7 4.93E-7 2.89E-7 2.86E-7	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 5.44E-5 2.63E-5 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-2 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.715 0.563 0.445 0.376 1.033 0.539 0.676 0.900 1.049	3.091 1.024 1.836 1.486 1.943 1.399 2.897 1.979 2.892	3.026 1.049 1.816 1.377 1.990 1.402 2.887 1.924 2.821	2.945 0.765 1.430 0.193 1.651 1.034 2.119 1.680 2.318	1.764 0.758 0.623 0.172 1.376 0.850 0.990 1.623 1.707	1.161 0.831 0.664 0.211 1.272 0.945 0.467 1.585 1.365	1.400 0.690 0.730 0.247 1.054 0.710 0.758 1.518 1.518	97 105 99 105 100 100 95 96	94 44 71 -49 68 58 65 72 69	44 42 13 -54 38 36 14 67 36	19 58 -44 26 47 -31 63 17	29 27 20 -34 20 4 57 25	7.63E-7 2.28E-7 1.94E-8 3.91E-7 2.25E-7 1.97E-7 > 1.00E-4 3.70E-7	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 4.45E-8 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.638 0.485 0.769 0.434 0.417 0.748 0.592	1.809 1.565 1.580 1.321 1.635 2.303 1.337	1.909 1.634 1.554 1.285 1.604 2.234 1.326	1.733 1.434 1.415 1.220 1.539 1.888 1.195	0.855 0.403 1.099 0.752 0.670 0.779 0.654	0.694 0.413 1.015 0.729 0.599 0.883 0.597	0.667 0.273 0.701 0.752 0.474 0.851 0.549	109 106 97 96 97 96 98	94 88 80 89 92 73 81	18 -17 41 36 21 2 8	5 -15 30 33 15 9 1	2 -44 -9 36 5 7 -7	3.80E-7 2.30E-7 5.75E-7 5.40E-7 3.89E-7 2.12E-7 2.66E-7	 > 1.00E-4 6.90E-7 5.93E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 1.19E-5 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.838 1.396 0.259 1.099 0.885 0.958 0.779 0.680	2.753 2.121 1.407 2.790 1.258 2.865 1.440 1.944	2.791 2.025 1.411 2.677 1.221 2.727 1.387 1.882	2.743 1.718 1.163 2.443 1.031 2.650 1.375 1.749	1.514 1.277 0.664 1.692 0.660 1.478 1.145 1.173	0.965 1.286 0.459 1.288 1.000 1.124 1.088 0.927	1.202 1.279 0.600 1.463 0.516 1.354 0.914 1.045	102 87 100 93 90 93 92 95	99 44 79 79 39 89 90 85	35 -9 35 35 -25 27 55 39	7 -8 17 11 31 9 47 20	19 -8 30 21 -42 21 20 29	5.90E-7 7.39E-8 4.58E-7 4.60E-7 6.10E-8 4.27E-7 4.09E-6 5.74E-7	 > 1.00E-4 6.90E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.518 0.389	1.964 1.528	1.880 1.626	1.610 1.502	0.643 0.517	0.552 0.451	0.625 0.423	94 109	76 98	9 11	2 5	7 3	2.41E-7 3.56E-7	> 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4
MCF7 MDA-MB-231/ATC0 HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.424 C 0.677 0.912 0.746 0.684 0.767	2.340 1.400 1.987 1.858 1.615 1.626	2.206 1.361 1.965 1.861 1.621 1.559	1.075 1.288 1.775 1.819 1.504 1.027	0.725 0.694 1.339 1.163 1.308 0.852	0.602 0.737 1.304 0.987 0.872 0.729	0.659 0.672 1.061 1.141 1.092 0.787	93 95 98 100 101 92	34 84 80 96 88 30	16 2 40 37 67 10	9 8 36 22 20 -5	12 -1 14 36 44 2	5.35E-8 2.63E-7 5.57E-7 6.13E-7 2.31E-6 4.80E-8	> 1.00E-4 8.27E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

A3-D (NSC 755786)

	National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program In-Vitro Testing Results														
NSC : D - 755	786 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	102NS11				Test	Туре : 08	Units : N	Molar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: Febru	ıary 28, 2	011			QNS	:	MC :	
COMI : AIC-3	(100773	3)			Sta	in Rea	gent : S	RB Dual	-Pass F	Related		SSPL	_ : U38J		
Log10 Concentration															
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0	Optica -6.0	I Densiti -5.0	es -4.0	-8.0	-7.0	ercent G -6.0	-5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.477 0.713 0.185 0.528 0.873 0.433	2.227 2.463 1.554 1.706 2.970 2.345	2.102 2.381 1.549 1.844 2.898 2.401	2.149 2.386 1.643 1.793 2.919 2.401	1.248 0.812 0.554 1.127 2.437 1.041	0.577 0.581 0.380 0.785 1.263 0.993	0.701 0.698 0.316 0.817 1.266 0.936	93 95 100 112 97 103	96 96 107 107 98 103	44 6 27 51 75 32	6 -19 14 22 19 29	13 -2 10 25 19 26	7.67E-7 3.21E-7 5.13E-7 1.07E-6 2.75E-6 5.55E-7	<pre>> 1.00E-4 1.71E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4</pre>	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC EKVX HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H226 NCI-H228 NCI-H322M NCI-H460 NCI-H522	g Cancer 0.361 0.721 0.406 1.099 0.719 0.589 0.696 0.244 0.615	1.733 1.487 1.258 1.781 1.794 1.936 1.747 2.263 1.556	1.711 1.412 1.240 1.679 1.708 1.865 1.698 2.309 1.491	1.684 1.402 1.221 1.721 1.713 1.854 1.646 2.263 1.485	1.109 1.183 0.832 1.559 1.439 1.361 1.610 0.748 0.670	0.606 0.992 0.636 1.308 0.827 0.934 1.224 0.351 0.596	0.588 0.864 0.337 1.196 0.754 0.795 1.191 0.336 0.719	98 90 98 85 92 95 95 102 93	96 89 91 92 94 90 100 93	55 60 50 67 57 87 25 6	18 35 27 31 10 26 50 5 -3	17 19 -17 14 3 15 47 5 11	1.33E-6 2.59E-6 9.98E-7 2.97E-6 1.99E-6 1.70E-6 1.15E-5 4.64E-7 3.09E-7	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 4.10E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4</pre>	 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.310 0.669 0.265 0.281 0.223 0.303 0.196	1.512 2.180 1.865 2.088 1.533 1.861 1.203	1.564 2.211 1.804 2.027 1.559 1.869 1.184	1.549 2.059 1.761 2.007 1.540 1.808 1.194	0.861 1.641 0.690 0.898 0.660 0.778 0.372	0.312 0.804 0.525 0.631 0.294 0.577 0.376	0.332 0.816 0.345 0.601 0.234 0.430 0.326	104 102 96 97 102 101 98	103 92 93 96 100 97 99	46 64 27 34 33 30 17	9 16 19 5 18 18	2 10 5 18 1 8 13	8.47E-7 1.81E-6 4.46E-7 5.52E-7 5.65E-7 5.06E-7 4.00E-7	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-295 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.341 0.720 0.674 0.475 0.695 0.315	1.380 1.133 2.145 1.530 1.295 1.375	1.344 1.138 2.132 1.489 1.231 1.377	1.306 1.077 2.136 1.449 1.241 1.367	0.936 0.575 1.351 1.025 0.988 0.805	0.629 0.430 0.858 0.809 0.882 0.556	0.602 0.308 0.778 0.613 0.572 0.456	97 101 99 96 89 100	93 87 99 92 91 99	57 -20 46 52 49 46	28 -40 12 32 31 23	25 -57 7 13 -18 13	1.76E-6 2.20E-7 8.42E-7 1.27E-6 9.36E-7 8.48E-7	<pre>> 1.00E-4 6.47E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 4.33E-5 > 1.00E-4</pre>	> 1.00E-4 3.71E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.301 0.733 0.384 0.411 0.838 0.526 0.608 0.719 0.764	2.123 1.784 1.373 1.380 1.710 1.490 2.279 1.504 2.412	1.982 1.682 1.357 1.360 1.698 1.496 2.202 1.462 2.339	2.031 1.582 1.342 1.315 1.718 1.466 2.118 1.461 2.254	1.113 1.141 0.694 0.243 1.244 1.110 0.803 0.858 1.312	0.991 1.086 0.586 0.225 1.097 0.952 0.730 1.119 1.275	0.877 1.101 0.474 0.288 0.933 0.821 0.685 1.140 1.061	92 90 98 99 101 95 95 96	95 81 97 93 101 98 90 94 90	45 39 31 -41 47 61 12 18 33	38 34 20 -45 30 44 7 51 31	32 35 9 -30 11 31 5 54 18	7.80E-7 5.41E-7 5.19E-7 2.10E-7 8.65E-7 4.44E-6 3.26E-7 5.09E-7	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES	0.410 0.366 0.500 0.441 0.538	1.631 1.603 1.365 1.841 1.871	1.616 1.649 1.374 1.856 1.902	1.583 1.557 1.327 1.810 1.797	1.087 0.607 1.163 1.471 0.768	0.859 0.242 0.897 0.831 0.585	0.799 0.217 0.797 0.702 0.586	99 104 101 101 102	96 96 98 94	55 19 77 74 17	37 -34 46 28 4	32 -41 34 19 4	1.95E-6 4.01E-7 7.37E-6 3.28E-6 3.76E-7	 > 1.00E-4 2.31E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	1.171 0.316 0.840 0.611 0.442 0.706 0.720	2.560 1.500 1.810 1.174 1.603 1.415 1.795	2.444 1.529 1.749 1.172 1.653 1.378 1.635	2.365 1.455 1.773 1.161 1.598 1.408 1.633	2.031 0.906 1.101 0.766 1.171 1.353 1.312	1.468 0.788 0.930 0.509 0.899 1.180 1.097	1.583 0.619 0.741 0.396 0.744 1.094 1.030	92 102 94 100 104 95 85	86 96 98 100 99 85	62 50 27 28 63 91 55	21 40 9 -17 39 67 35	30 26 -12 -35 26 55 29	1.97E-6 9.93E-7 4.64E-7 4.79E-7 3.51E-6 > 1.00E-4 1.78E-6	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 2.75E-5 4.19E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4</pre>	 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.599 0.376	2.120 1.642	2.157 1.656	2.086 1.640	1.539 1.190	1.006 0.593	0.937 0.473	102 101	98 100	62 64	27 17	22 8	2.17E-6 2.01E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC0 HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.229 C 0.500 0.731 0.667 0.703 0.580	0.979 1.109 1.817 1.385 1.963 1.420	1.055 1.124 1.769 1.381 1.852 1.417	0.988 1.137 1.818 1.359 1.894 1.374	0.452 0.979 1.277 1.167 1.387 0.600	0.408 0.716 1.049 0.891 1.332 0.566	0.325 0.650 0.901 0.864 1.251 0.497	110 102 96 100 91 100	101 105 100 96 95 94	30 79 50 70 54 2	24 35 29 31 50 -2	13 25 16 27 44 -14	5.20E-7 4.59E-6 1.03E-6 3.24E-6 9.64E-6 3.04E-7	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 3.14E-6</pre>	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

A12-D (NSC 765627)

	National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program In-Vitro Testing Results														
NSC : D - 765	627 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	207NS08	3			Test T	уре : 08	Units : I	Vlolar
Report Date :	January	/ 15, 201	4		Tes	t Date	: July 1	6, 2012				QNS :		MC :	
COMI : AIC-12	2-D-HCI	(11883	1)		Stai	in Rea	gent : S	RB Dual	-Pass F	Related		SSPL	: U38J		
	Time		~ ~	Mear	1 Optica	Lo I Densiti	og10 Cor	ncentration	P	ercent G	rowth		0150		
Panel/Cell Line Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	∠ero 0.627 0.895 0.240 0.664 1.272 0.221	2.730 2.424 1.878 2.163 2.878 0.570	-8.0 2.701 2.217 1.760 2.170 2.837 0.567	-7.0 2.534 2.144 1.033 2.115 2.809 0.440	-6.0 0.885 0.762 0.356 0.826 1.653 0.245	-5.0 0.840 0.605 0.323 0.750 1.399 0.234	-4.0 0.851 0.637 0.321 0.815 1.283 0.232	-8.0 99 86 93 100 97 99	91 82 48 97 96 63	-6.0 12 -15 7 11 24 7	-5.0 10 -32 5 6 8 4	-4.0 11 -29 5 10 1 3	3.30E-7 2.13E-7 9.19E-8 3.50E-7 4.31E-7 1.70E-7	 > 1.00E-4 7.02E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H23 NCI-H322M NCI-H322M NCI-H460	Cancer 0.400 0.410 1.410 0.904 0.821 0.815 0.264	1.747 1.269 1.913 2.454 2.272 1.647 2.392	1.728 1.252 1.843 2.388 2.230 1.610 2.471	1.621 1.273 1.751 2.338 2.078 1.569 2.445	0.683 0.606 1.608 1.752 1.260 1.136 0.410	0.657 0.659 1.519 1.660 1.087 1.088 0.387	0.551 0.390 1.361 1.406 1.080 1.022 0.366	99 98 96 97 96 104	91 101 68 92 87 91 102	21 23 39 55 30 39 7	19 29 22 49 18 33 6	11 -5 -4 32 18 25 5	3.83E-7 4.47E-7 6.22E-6 4.46E-7 6.02E-7 3.54E-7	 > 1.00E-4 7.12E-5 7.24E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.380 1.199 0.187 0.160 0.303 0.409 0.247	1.644 3.179 1.956 1.944 1.482 2.084 1.967	1.686 3.115 1.907 1.843 1.514 2.055 1.915	1.557 3.135 1.734 1.571 1.501 1.712 1.663	0.120 1.295 0.365 0.485 0.388 0.757 0.638	0.061 1.268 0.280 0.466 0.353 0.563 0.655	0.041 1.079 0.159 0.406 0.278 0.440 0.611	103 97 94 103 98 97	93 98 87 79 102 78 82	-68 5 10 18 7 21 23	-84 3 5 17 4 9 24	-89 -10 -15 14 -8 2 21	1.85E-7 3.26E-7 3.05E-7 3.00E-7 3.52E-7 3.07E-7 3.49E-7	3.77E-7 1.81E-5 1.82E-5 > 1.00E-4 2.17E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4	7.69E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.562 0.493 0.824 1.227 0.496	1.934 2.394 2.142 2.357 2.014	1.902 2.211 2.029 2.188 1.947	1.773 2.231 1.975 2.128 1.867	1.102 0.638 1.413 1.693 0.690	0.956 0.661 1.343 1.568 0.701	0.772 0.602 1.175 1.007 0.574	98 90 91 85 96	88 91 87 80 90	39 8 45 41 13	29 9 39 30 14	15 6 27 -18 5	6.05E-7 3.12E-7 7.50E-7 5.93E-7 3.31E-7	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4</pre>	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.715 0.563 0.445 0.376 1.033 0.539 0.676 0.900 1.049	3.036 1.101 1.859 1.613 1.840 1.481 2.986 2.173 2.711	2.960 1.065 1.807 1.545 1.822 1.489 2.952 2.141 2.722	2.881 0.873 1.620 0.469 1.712 1.278 2.688 1.878 2.531	1.686 0.796 0.647 0.241 1.269 0.905 0.784 1.520 1.710	1.481 0.762 0.739 0.302 1.285 0.932 0.512 1.528 1.567	1.351 0.584 0.701 0.282 1.113 0.650 0.324 1.418 1.355	97 93 96 94 98 101 99 97 101	93 58 83 84 78 87 77 89	42 43 14 -36 29 39 5 49 40	33 37 -20 31 42 -24 49 31	27 4 18 -25 10 12 -52 41 18	6.94E-7 3.38E-7 3.02E-7 3.25E-8 4.18E-7 5.21E-7 2.82E-7 8.96E-7 6.20E-7	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 1.49E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 1.45E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 8.38E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.638 0.485 0.769 0.434 0.417 0.748 0.592	1.824 1.605 1.651 1.469 1.652 2.297 1.293	1.820 1.602 1.697 1.403 1.611 2.258 1.240	1.736 1.507 1.610 1.452 1.603 2.054 1.239	0.795 0.425 1.124 0.933 0.635 0.833 0.713	0.753 0.408 1.114 0.919 0.662 0.919 0.739	0.567 0.330 0.763 0.866 0.569 0.882 0.529	100 100 105 94 97 97 92	93 91 95 98 96 84 92	13 -12 40 48 18 5 17	10 -16 39 47 20 11 21	-11 -32 -1 42 12 9 -11	3.44E-7 2.50E-7 6.64E-7 9.21E-7 3.86E-7 2.72E-7 3.66E-7	2.91E-5 7.58E-7 9.52E-5 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 4.60E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.838 1.396 0.259 1.099 0.885 0.958 0.779 0.680	2.809 2.048 1.593 2.937 1.306 2.783 1.400 2.009	2.801 1.981 1.595 2.799 1.289 2.722 1.326 1.826	2.727 1.821 1.517 2.788 1.170 2.671 1.322 1.746	1.573 1.288 0.835 1.964 0.816 1.530 1.134 1.299	1.422 1.227 0.710 1.748 1.031 1.405 1.150 1.087	0.862 1.095 0.599 1.397 0.834 1.345 0.899 0.805	100 90 100 92 96 97 88 86	96 65 94 92 68 94 87 80	37 -8 43 47 -8 31 57 47	30 -12 34 35 24 60 31	1 -22 25 16 -6 21 19 9	6.06E-7 1.62E-7 7.36E-7 8.59E-7 1.72E-7 5.03E-7 1.73E-5 7.89E-7	 > 1.00E-4 7.83E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.518 0.389	2.027 1.570	1.990 1.604	1.832 1.559	0.792 0.469	0.764 0.407	0.710 0.382	98 103	87 99	18 7	16 1	13 -2	3.45E-7 3.40E-7	> 1.00E-4 2.83E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MDA-MB-231/ATC0 HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.424 C 0.677 0.912 0.746 0.684 0.767	2.401 1.313 2.010 1.847 1.614 1.656	2.230 1.360 1.950 1.754 1.537 1.553	1.484 1.282 1.895 1.827 1.452 1.235	0.831 0.619 1.379 1.003 1.365 0.849	0.731 0.652 1.328 1.073 1.350 0.834	0.617 0.671 1.159 0.951 1.121 0.714	91 107 95 91 92 88	54 95 90 98 83 53	21 -9 43 23 73 9	16 -4 38 30 72 7	10 -1 23 19 47 -7	1.28E-7 2.72E-7 6.93E-7 4.40E-7 7.53E-5 1.15E-7	> 1.00E-4 8.27E-7 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 3.31E-5	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

A13-D (NSC 765628)

	National Cancer Institute Developmental Therapeutics Program In-Vitro Testing Results														
NSC : D - 765	628 / 1				Exp	erimer	nt ID : 1	207NS08	3			Test	t Type : 08	Units :	Molar
Report Date :	January	/ 15, 201	14		Tes	t Date	: July 1	6, 2012				QNS	S :	MC :	
COMI : AIC-1	3-D (118	3880)			Stai	in Rea	gent : S	RB Dual-	-Pass F	Related	I	SSF	PL : U38J		
Panel/Cell Line	Time Zero	Ctrl	-8.0	Mear -7.0) Optical -6.0	Lo Densiti -5.0	og10 Cor es -4.0	ncentration -8.0	P -7.0	ercent G -6.0	irowth -5.0	-4.0	GI50	TGI	LC50
Leukemia CCRF-CEM HL-60(TB) K-562 MOLT-4 RPMI-8226 SR	0.627 0.895 0.240 0.664 1.272 0.221	2.694 2.531 1.904 2.084 2.921 0.552	2.683 2.778 1.928 2.198 2.872 0.577	2.560 2.719 1.996 2.334 2.780 0.604	2.489 2.650 1.754 2.099 2.626 0.568	1.016 0.876 0.394 0.834 1.585 0.260	1.272 1.042 0.397 0.943 1.812 0.280	99 115 101 108 97 108	93 111 106 118 91 116	90 107 91 101 82 105	19 -2 9 12 19 12	31 9 20 33 18	3.65E-6 3.34E-6 3.17E-6 3.74E-6 3.23E-6 3.88E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Non-Small Cell Lung A549/ATCC HOP-62 HOP-92 NCI-H226 NCI-H223 NCI-H322M NCI-H322M	Cancer 0.400 0.410 1.410 0.904 0.821 0.815 0.264	1.678 1.302 1.947 2.460 2.265 1.722 2.433	1.662 1.342 1.860 2.476 2.247 1.695 2.391	1.603 1.333 1.799 2.501 2.231 1.807 2.477	1.585 1.321 1.718 2.359 2.113 1.694 2.382	0.682 0.807 1.571 1.765 1.257 1.493 0.530	0.777 0.762 1.627 1.810 1.377 1.410 0.557	99 104 84 101 99 97 98	94 103 72 103 98 109 102	93 102 57 94 89 97 98	22 45 30 55 30 75 12	29 39 40 58 38 66 13	4.02E-6 8.03E-6 > 1.00E-4 4.63E-6 > 1.00E-4 3.61E-6	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Colon Cancer COLO 205 HCC-2998 HCT-116 HCT-15 HT29 KM12 SW-620	0.380 1.199 0.187 0.160 0.303 0.409 0.247	1.710 3.234 1.868 2.058 1.562 2.115 2.003	1.797 3.239 2.004 1.910 1.594 2.119 1.954	1.796 3.293 1.918 1.898 1.602 2.197 1.943	1.770 3.170 1.865 1.774 1.485 2.062 1.851	0.450 2.483 0.417 0.528 0.377 0.924 0.611	0.601 2.479 0.510 0.580 0.361 0.783 0.622	107 100 108 92 102 100 97	106 103 103 92 103 105 97	104 97 100 85 94 97 91	5 63 14 19 6 30 21	17 63 19 22 5 22 21	3.54E-6 > 1.00E-4 3.79E-6 3.41E-6 3.15E-6 5.04E-6 3.85E-6	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
CNS Cancer SF-268 SF-539 SNB-19 SNB-75 U251	0.562 0.493 0.824 1.227 0.496	1.878 2.510 2.258 2.367 2.073	1.870 2.409 2.070 2.129 1.952	1.977 2.315 2.048 2.025 1.918	1.940 2.280 2.015 1.993 1.880	1.305 1.217 1.594 1.643 0.840	1.363 1.691 1.776 1.720 1.057	99 95 87 79 92	108 90 85 70 90	105 89 83 67 88	56 36 54 36 22	61 59 66 43 36	> 1.00E-4 > 1.00E-4 3.62E-6 3.73E-6	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Melanoma LOX IMVI MALME-3M M14 MDA-MB-435 SK-MEL-2 SK-MEL-28 SK-MEL-28 SK-MEL-5 UACC-257 UACC-62	0.715 0.563 0.445 0.376 1.033 0.539 0.676 0.900 1.049	3.100 1.134 1.710 1.672 1.958 1.495 2.989 2.215 2.843	3.090 1.094 1.768 1.659 2.035 1.430 2.959 2.160 2.835	3.118 1.152 1.788 1.622 1.997 1.429 3.013 2.147 2.765	2.992 1.174 1.906 1.351 2.018 1.422 2.822 2.146 2.583	1.643 0.800 0.707 0.294 0.958 0.995 0.781 1.926 1.590	1.750 0.804 1.040 0.358 1.098 0.984 1.296 1.913 1.734	100 93 105 99 108 93 99 96 100	101 103 106 96 104 93 101 95 96	95 107 115 75 106 92 93 95 86	39 41 -22 -7 48 5 78 30	43 42 47 -5 7 47 27 77 38	6.36E-6 7.41E-6 4.91E-6 3.13E-6 8.86E-6 3.05E-6 > 1.00E-4 4.38E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 5.96E-6 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4</pre>
Ovarian Cancer IGROV1 OVCAR-3 OVCAR-4 OVCAR-5 OVCAR-8 NCI/ADR-RES SK-OV-3	0.638 0.485 0.769 0.434 0.417 0.748 0.592	1.813 1.561 1.644 1.478 1.671 2.319 1.326	1.786 1.685 1.571 1.424 1.668 2.337 1.343	1.869 1.675 1.522 1.376 1.626 2.362 1.385	1.738 1.607 1.458 1.400 1.635 2.255 1.382	1.008 0.696 1.185 1.158 1.046 1.065 1.033	1.006 0.837 1.146 1.257 1.017 1.309 1.027	98 111 92 95 100 101 102	105 111 86 90 96 103 108	94 104 79 93 97 96 108	31 20 48 69 50 20 60	31 33 43 79 48 36 59	5.03E-6 4.37E-6 8.33E-6 > 1.00E-4 1.17E-5 4.04E-6 > 1.00E-4	 > 1.00E-4 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4
Renal Cancer 786-0 A498 ACHN CAKI-1 RXF 393 SN12C TK-10 UO-31	0.838 1.396 0.259 1.099 0.885 0.958 0.779 0.680	2.830 2.059 1.742 2.804 1.287 2.799 1.377 2.061	2.863 1.918 1.679 2.691 1.296 2.704 1.354 1.945	2.933 1.886 1.664 2.602 1.344 2.675 1.392 1.956	2.832 1.863 1.596 2.493 1.302 2.564 1.443 1.826	2.004 1.375 1.005 1.613 1.020 1.657 1.193 1.257	2.261 1.804 1.023 1.882 1.027 1.920 1.274 1.522	102 79 96 93 102 95 96 92	105 74 95 88 114 93 103 92	100 70 90 82 104 87 111 83	59 -2 50 30 33 38 69 42	71 62 52 46 35 52 83 61	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 4.12E-6 5.82E-6 > 1.00E-4 	 > 1.00E-4 	<pre>> 1.00E-4 > 1.00E-4</pre>
Prostate Cancer PC-3 DU-145	0.518 0.389	1.935 1.551	1.937 1.638	1.806 1.676	1.758 1.617	1.059 1.198	1.007 1.064	100 107	91 111	88 106	38 70	35 58	5.76E-6 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4	> 1.00E-4 > 1.00E-4
Breast Cancer MCF7 MDA-MB-231/ATC HS 578T BT-549 T-47D MDA-MB-468	0.424 C 0.677 0.912 0.746 0.684 0.767	2.407 1.358 2.006 1.841 1.591 1.647	2.179 1.319 1.952 1.816 1.563 1.586	2.182 1.386 1.903 1.868 1.566 1.583	2.105 1.239 1.888 1.813 1.545 1.476	0.740 0.864 1.415 1.342 1.000 0.662	0.839 0.918 1.450 1.507 1.122 0.763	88 94 95 98 97 93	89 104 91 103 97 93	85 82 89 97 95 80	16 27 46 54 35 -14	21 35 49 69 48 -1	3.20E-6 3.89E-6 8.06E-6 > 1.00E-4 5.59E-6 2.11E-6	 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 7.15E-6 	> 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4 > 1.00E-4

Erklärung zu §8 Abs. 1 der Promotionsordnung

Der Inhalt dieser Abhandlung wurde, abgesehen von der Beratung durch meinen Betreuer, selbstständig von mir erarbeitet und in dieser Form zusammengestellt. Die Arbeit hat an keiner anderen Stelle im Rahmen eines Prüfungsverfahrens vorgelegen.

Die Arbeit ist unter Einhaltung der Regeln guter wissenschaftlicher Praxis der Deutschen Forschungsgemeinschaft entstanden.

Kiel, im März 2014 Christopher Meier
Danksagung

Zu allererst möchte ich mich sehr herzlich bei Herrn Prof. Dr. Bernd Clement für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis, die Überlassung der hochinteressanten Aufgabenstellung sowie Freiheiten in der Forschung bei gleichzeitig uneingeschränkter Kommunikationsbereitschaft und Förderung bedanken.

Herrn Prof. Dr. Christian Peifer möchte ich herzlich für die Einführung in die *Molecular Modelling*-Arbeiten, die gemeinsame Durchführung der *Docking*-Studien vor allem mit ihm, aber auch mit seinen Doktoranden, und seiner steten Hilfsbereitschaft auf diesem Fachgebiet danken.

Frau Prof. Dr. Doris Marko danke ich herzlich für die in Kooperations- und Auftragsarbeiten durchgeführten *in vitro*-Testungen der Verbindungen auf Hemmung humaner Topoisomerasen. Katharina Jarolim aus dem Arbeitskreis Marko danke ich herzlich für die praktische Durchführung dieser Arbeiten und eine sehr nette und unkomplizierte Kommunikation.

Bei Herrn Dr. Ulrich Girreser möchte ich mich vor allem für seine durchweg hilfsbereite, freundliche und überaus humorvolle Art und Untersützung bei vielen Fragestellungen sowie einer exzellenten Hilfsbereitschaft bei spektroskopischen und analytischen Problemen bedanken. Desweiteren danke ich ihm für das zügige und kritische Korrekturlesen meiner Arbeit.

Prof. Dr. Dieter Heber danke ich vor allem für viele anregende Gesprächsrunden und seine Hilfsbereitschaft, gerade bei Fragestellungen rund um die Themen Nomenklatur und Synthese sowie dem sehr genauen Korrekturlesen dieser Arbeit.

Ein großes und herzliches Dankeschön gilt meiner Kollegin und guten Freundin Tamara Steinhauer, die seit dem Beginn meiner Promotion an dem Thema, vor allem im Bereich der Azacarbazole, mitgearbeitet hat. Sowohl die praktische Zusammenarbeit, als auch die Kommunikation, sei es auf fachlicher aber auch nicht fachlicher Ebene, gelang in einer produktiven und inspirierenden Art und Weise wie man sie nur selten findet. Ebenso danke ich ihr für das sehr schnelle und äußerst aufmerksame Korrekturlesen meiner Arbeit.

Im gleichen Atemzug möchte ich mich ebenso herzlich bei Daniel Längle bedanken, zu dem über die Dauer dieser Promotion ebenfalls eine Freundschaft weit über das kollegiale Level hinaus entstanden ist. Neben seiner exzellenten Arbeit, vorrangig im Zusammenhang mit der Azacarbazolklasse, möchte ich ihm vor allem für eine unvergessliche Zeit fernab des Labors, bei der nicht selten die Nacht zum Tag gemacht wurde, danken. Philip Sömmer danke ich für eine produktive und erfrischende Laboratmosphäre und dessen erfolgreiche Mitarbeit an dem Thema bei der Anfertigung seiner Diplom-Arbeit. Ebenso danke ich Herrn Arda Esici, der ebenfalls seine Diplom-Arbeit auf diesem Themengebiet anfertigte. Auch Joscha, meinen Hiwis Arda, Carsten, Folknand, Juliane und Nathalie, sowie den Wahlpflichtfächlern Clara und Franzi danke ich für deren Unterstützung.

Lukas möchte ich für seine stete Kommunikationsbereitschaft und Präsenz bei synthetischen Fragestellungen und nicht zuletzt für die gemeinsame Zusammenarbeit bei unkonventionelldesignten Studien in Lübeck im Rahmen meiner Mitarbeit an einem diese Arbeit nicht betreffenden Nebenprojekt danken. Julia, Swetlana und Laura danke ich ebenfalls für die gute Zusammenarbeit in diesem Projekt.

Für viele gemeinsame Stunden und eine stets heitere Atmosphäre bei der Betreuung des 2. und 8. Semesters möchte ich mich bei meinen Kollegen Daniel, Eugen, Heyka, Janis, Joe, Laura, Martin, Nadine, Nasser, Nina, Rebecca, Swetlana, Tamara und Uli bedanken.

Für eine sehr erheiternde Atmosphäre danke ich meinem kurzzeitigen Bürokollegen Stefan, dem ich an dieser Stelle auch für anregende Diskussionen im Zusammenhang mit "der Analytik" danken möchte. Merle danke ich für eine kurze gemeinsame Zeit im Ratsbüro.

Weit über die Arbeit hinaus sind vor allem Bo-Dizz, Charminbär, Felix, Franzine, Helene, Ina, Janis, Joe, Joscha, Jürke, Julia, der König, Länglengeorge, Laura, Lena, Lukas, Melli, Rhorbert, Sdibbo, Sgabel, Shady, Sömmergeorge und Tamaris dafür verantwortlich, dass diese Phase meines Lebens zu einer unvergesslichen und verrückten Zeit wurde, wofür ich mich von Herzen bei euch bedanken möchte.

Auch bei allen nicht namentlich erwähnten Kolleginnen und Kollegen möchte ich mich für das gute Arbeitsklima und die nette Zusammenarbeit bedanken.

Bei Andrea möchte ich mich für eine schöne gemeinsame Zeit bedanken.

Dr. Thomas Meyer danke ich für eine nicht von der Hand zu weisende Seelenverwandtschaft, nicht zuletzt durch die geteilte Leidenschaft für Spanien sowie für seine Unterstützung. Empieza por alli, es lo que digo yo.

Mein allergrößter Dank gilt meinen wunderbaren Eltern und Geschwistern, die mir durch ihre uneingeschränkte Liebe und Unterstützung diesen Weg ermöglicht und ihn niemals hinterfragt haben. Danke!

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Christopher Meier
Geburtsdatum	19. Juni 1984
Geburtsort	Henstedt-Ulzburg
Staatsangehörigkeit	Deutsch
Schulausbildung	
1990 bis 1994	Grundschule Niendorfer Straße, Norderstedt
1994 bis 2003	Coppernicus Gymnasium, Norderstedt
Juni 2003	allgemeine Hochschulreife
Hochschulausbildung	
Okt. 2004 bis Oktober 2008	Studium der Pharmazie an der Universität Hamburg
Nov. 2008 bis April 2009	Pharmaziepraktikum in der Hubertus Apotheke,
	Norderstedt
Mai 2009 bis Oktober 2009	Pharmaziepraktikum an der Pharmazeutischen Fakultät
	der Universität von Santiago de Compostela, Spanien
Dez. 2009	Erteilung der Approbation als Apotheker
Berufliche Tätigkeit, Promotion und Weiterbildung	
Jan. 2010 bis März 2010	Apotheker in der Kronen-Apotheke,
	Glücksburg a. d. Ostsee
seit April 2010	wissenschaftlicher Mitarbeiter am pharmazeutischen
	Institut der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel und
	Anfertigung der vorliegenden Dissertation unter Leitung
	von Prof. Dr. B. Clement
vorauss. Juni 2014	Fachapotheker für pharmazeutische Analytik

Maligne Tumorerkrankungen zählen weltweit zu den häufigsten Todesursachen. Dabei sind neben einer mangelhaften Umsetzung von Präventionsmaßnahmen vor allem unzureichende Therapieoptionen dafür verantwortlich, dass ein dramatischer Anstieg an Krebsneuerkrankungen und damit verbundenen Todesfällen zu verzeichnen ist. Einen Grundpfeiler der Behandlungsmöglichkeiten stellt die Chemotherapie dar. Auf diesem Gebiet haben sich vor allem Kombinationen aus mehreren sogenannten klassischen zytotoxischen Arzneistoffen im Sinne einer Polychemotherapie für die Erstlinienbehandlung der meisten Krebserkrankungen bewährt. Unter diesen stellen Topoisomerase-Hemmstoffe eine vielversprechende Substanzklasse dar, die sehr gute antitumorale Eigenschaften aufweist und daher in nahezu jedem Therapieschema zur kurativen Behandlung maligner Tumoren eingesetzt wird. Nichtsdestotrotz verursacht der Einsatz dieser Therapeutika teilweise schwerwiegende Nebenwirkungen, außerdem sind mittlerweile eine Vielzahl unterschiedlicher Resistenzmechanismen beschrieben. Die Entwicklung neuer Topoisomerase-Hemmstoffe mit neuartiger Struktur ist daher unabdingbar.

Für natürliche Benzo[c]phenanthridin-Alkaloide wie *Fagaronin* und *Nitidin* konnten in der Vergangenheit vielversprechende antitumorale und Topoisomerase-inhibierende Eigenschaften *in vitro* und *in vivo* gefunden werden, ungünstige physikochemische Eigenschaften verhinderten allerdings den Einsatz dieser Stoffe als Zytostatika am Menschen. Dennoch wird derzeit gezielt an verschiedenartig modifizierten Verbindungen geforscht, die sich von den natürlichen Leitstrukturen ableiten.

Aus diesem Kontext heraus wurden in dieser Arbeit zwei auf dem Benzo[c]phenanthridin-Gerüst basierende Heterozyklen intensiv untersucht. Mit Hilfe der effizienten Eintopf-Synthese nach CLEMENT und WEIDE, ursprünglich eingesetzt um den Benzo[c]phenanthridin-Tetrazyklus darzustellen, konnte eine Vielzahl unterschiedlich substituierter aza-analoger Pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline und strukturähnlicher 11H-Pyrido[3,2-i]-1-azacarbazole synthetisiert und physikochemisch charaktierisiert werden. Auch die beiden gänzlich unsubstituierten zuvor nicht literaturbekannten Grundkörper dieser Stoffklassen konnten im Rahmen dieser Arbeit dargestellt werden. Über ein primäres Zytotoxizitätsscreening am National Cancer Institute (NCI, Maryland, USA) konnten zwei Leitstrukturen der Pyrido[3,4c][1,9]phenanthrolinklasse identifiziert werden, die im Anschluss weiter strukturoptimiert wurden. Die Einführung hydrophiler Aminoalkyl-Seitenketten an den Tetrazyklus führte in diesem Zusammenhang zu einer signifikanten Erhöhung der Wasserlöslichkeit in pharmazeutisch relevante Bereiche. In einem zweiten Zytotoxizitätsscreening der seitenkettentragenden Verbindungen am NCI erwies sich die Verbindung P8-D-6OEthNCH32 als hochpotent und konnte in darauffolgenden Kooperationsarbeiten als starkes Topoisomerase I- und II-Gift identifiziert werden. Durch sowohl eine stärkere Zytotoxizität, als auch potentere Gitwirkung auf Topoisomerase-Enzyme als die der zugelassenen Topoisomerase-Hemmstoffe Etoposid und Derivate des Camptothecins ist P8-D-6-OEthNCH32 daher im Zusammenspiel mit der guten Wasserlöslichkeit, die auch eine orale Gabe des Stoffes erlauben würde, prädestiniert für die Erprobung in in vivo-Xenograft-Wirksamkeitsstudien und einer anschließenden eventuellen Weiterentwicklung zur Anwendung als Arzneistoff.

Cancer, a generic term for a large group of malignant tumor diseases, is one of the leading causes of death worldwide. Besides an inadequate implementation of prevention strategies to avoid malignant tumor diseases, insufficient therapeutic options are responsible for an alarming increase of global cancer incidence and cancer deaths. Anticancer drugs are among the most effective possibilities to treat the disease, especially classic cytotoxic drugs combined in terms of a polychemotherapeutic treatment represent frontline therapy for most of the cancer diseases. Within the range of approved cytostatics, topoisomerase inhibitors arose as promising and highly effective antitumoral agents that are used in almost every therapeutic regimen that targets the complete remission of the tumor and cure of the patient. Nevertheless, current medicines of this class are associated with serious side effects and are particularly vulnerable for the development of resistance mechanisms of the tumor cells against them, revealing a great demand of structurally different compounds that target the topoisomerase enzymes.

Naturally occurring quarternary benzo[c]phenanthridine alkaloids (QBA's) like *Fagaronine* and *Nitidine* were found to possess potent antitumor and topoisomerase inhibitory activities in *vitro* and *in vivo* but a pharmaceutical use was prevented by their dissatisfactory physic-chemical profile. However, current research set focus on the development of differently modified benzo[c]phenanthridines as potent antitumoral topoisomerase inhibitors.

With this background two novel heterocyclic systems based on the benzo[c]phenanthridine skeleton were investigated in this work. Using the easy-access synthesis of CLEMENT and WEIDE developed to construct the benzo[c]phenanthridine core a multitude of differently substituted aza-analogous pyrido[3,4-c][1,9]phenanthrolines and structurally related pyrido[3,2-*i*]-1-azacarbazole derivatives was synthesized and physicochemically characterized (HPLC-analytics regarding pH dependent water solubility and lipophilicity) including the two previously undescribed totally unsubstituted heterocycles of these compound classes. Two lead structures of the pyrido[3,4-c][1,9]phenanthroline series with remarkable antitumor activities could be identified by cytotoxicity screening at the NCI (National Cancer Institute, USA) and were further structurally optimized. Linking hydrophilic aminoalkyl side chains to the tetracyclic core, water solubilty of corresponding molecules increased significantly, allowing an application of these structures in the medicinal sector. A second cytotoxicity screening of side-chain linked structures at the NCI identified compound P8-D-6OEthNCH32 as outstanding cytotoxic agent, which was later found to be a potent type I and IIa topoisomerase inhibitor. In addition to a water solubility in the micromolar region (allowing both i.v. and an oral administration), its cytotoxicity as well as topoisomerase inhibitory activity was superior to corresponding acitivites of approved topoisomerase poisons like Etoposide or Camptothecin derivatives predestining P8-D-6OEthNCH32 to show efficacy in in vivo tumor Xenograft studies and a possible further clinical development.