

Freie Universität  Berlin

DNA-Spaltung durch Kupfer(II)cyclen-basierte Metallonukleasen: Einfluss von Heteroatomaustausch und Interkalatorsubstitution

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

JAN HORMANN
aus Bückeberg

Berlin 2016

Die vorliegende Dissertation entstand in der Zeit von Oktober 2012 bis Januar 2016 am Institut für Chemie und Biochemie der Freien Universität Berlin in der Arbeitsgruppe und unter der Betreuung von Frau Prof. Dr. Nora Kulak.

1. Gutachter Prof. Dr. Nora Kulak
2. Gutachter Prof. Dr. Biprajit Sarkar

Tag der Disputation: 21.04.2016

Für Ernst Hormann (1947 – 2015)
Danke.

DANKSAGUNGEN

Zu allererst möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. NORA KULAK für die Aufnahme in ihre Arbeitsgruppe, die Themenstellung und die immerwährende Hilfe in akademischen und persönlichen Fragestellungen ganz herzlich bedanken. Ich habe mich in ihrer Arbeitsgruppe sehr wohl und aufgehoben gefühlt.

Herrn Prof. Dr. BIPRAJIT SARKAR möchte ich herzlich für die Übernahme des Zweitgutachtens dieser Arbeit danken.

Diese Doktorarbeit wurde durch zahlreiche Kooperationen bereichert, für die ich mich an dieser Stelle bedanken möchte. MARGARETHE VAN DER MEER und NAINA DEIBEL aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. BIPRAJIT SARKAR danke ich für die zahllosen elektrochemischen Messungen. Frau Dr. STEFANIE WEDEPOHL aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. MARCELO CALDERÓN danke ich für die schnelle und gewissenhafte Durchführung der Zytotoxizitätsmessungen. Der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. VIKTOR BRABEC in Tschechien und CHRISTIAN HECK aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. ILKO BALD danke ich herzlich für die Rasterkraftmikroskopie.

Prof. Dr. DIETER LENTZ sowie Dr. JELENA WIECKO und JULIAN SKLORZ aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. CHRISTIAN MÜLLER danke ich für die Messungen der Röntgenstrukturanalysen. Dem Messservice aus der organischen Chemie danke ich für die Messung der NMR-Spektroskopie.

Ein ganz besonderer Dank gebührt meinen Studierenden YVONNE MOSSOL, NITHIYA NIRMALANANTHAN, KATRIN WARM, NICOLE DOMSKY, MAX HÜLSEY, AHMET AKINCI und JULIEN THOMAS. Besonders MAX HÜLSEY hat im Rahmen seiner Bachelorarbeit zu den Ergebnissen dieser Dissertation beigetragen.

Ich danke der STUDIENSTIFTUNG DES DEUTSCHEN VOLKES für die monetäre und darüber hinaus für die ideelle Unterstützung. Ich habe während der Förderungszeit viele nette Menschen kennengelernt und konnte die eine oder andere Anregung für meine Arbeit mitnehmen.

Meinen Kollegen und Freunden aus der AG KULAK danke ich für die lustige und spannende Zeit. Nicht nur im Labor haben wir es krachen lassen! In gemeinsamen Unternehmungen und in unseren Kaffeepausen haben wir es immer wieder geschafft, über den Tellerrand der Chemie hinauszuschauen und so auch mal die Arbeit für einige Zeit zu vergessen.

Großer Dank gebührt auch meinen Freunden und meiner Familie. Ihr wart immer für mich da und habt mich während meines ganzen Studiums und vor allem während der Dissertation immer wieder aufgebaut und auf andere Gedanken gebracht. Gerade in den letzten doch

schweren Monaten habe ich gemerkt, wie sehr man sich auf Euch verlassen kann. Danke ANN-CHRISTIN, CHRISTINE, CHRISTINA, STEFFI, LENA, TIM, KAI und THOMAS! CHRISTINE, Dir noch ein besonders großes Dankeschön, dass Du diese Arbeit so sorgfältig korrekturgelesen hast.

Bei TIMO möchte ich mich über das Korrekturlesen hinaus für tausend Dinge bedanken. Du warst immer für mich da, hast mich abgelenkt, wenn ich Ablenkung gebraucht habe, und hast mich immer wieder auf Kurs gebracht. Danke!

ZUSAMMENFASSUNG

Krebserkrankungen sind weltweit die zweithäufigste Todesursache. Während sie durch Mutationen der DNA ausgelöst werden, kann die gezielte Veränderung oder Zerstörung von DNA dazu führen, dass die Krebszelle abstirbt. So wurden Krebserkrankungen seit 1978 unter anderem sehr erfolgreich mit DNA-bindenden Medikamenten wie Cisplatin behandelt. Immer häufiger auftretende Resistenzen und Nebenwirkungen altgedienter Krebsmedikamente verlangen die Entwicklung neuer Wirkstoffe. Kandidaten für neue Medikamente gegen Krebs sind künstliche Nucleasen, die reaktive Sauerstoffspezies generieren und DNA oxidativ spalten können.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden zwei Strategien genutzt, um ausgehend vom Kupfer(II)cyclen-Komplex neue effektive Metallonucleasen herzustellen.

Zunächst wurde untersucht, inwiefern der sukzessive Heteroatomaustausch der Cyclenstickstoffatome die Nucleaseaktivität des Komplexes beeinflusst. Es wurden zehn verschiedene makrozyklische Kupfer(II)-Komplexe mit $[N_A X_B]$ -Donorsystem dargestellt, bei denen vom Kupfer(II)cyclen-Komplex ($A = 4; B = 0$) bis hin zum kompletten Sauerstoffanalogon ($X = O; A = 0; B = 4$) und Schwefelanalogon ($X = S; A = 0; B = 4$) alle Komplexe charakterisiert und über Agarose-Gelelektrophorese auf ihre Nucleaseaktivität hin untersucht wurden. Die Untersuchung der Sauerstoffanaloge des Cyclens brachte hervor, dass die Nucleaseaktivität gegenüber dem Kupfer(II)cyclen-Komplex erhöht ist und vom Sauerstoffanteil und der Komplexgeometrie abhängt. Durch elektrochemische Untersuchungen konnte der Grund für dieses Verhalten festgestellt werden: Keiner der Kupfer(II)oxacyclen-Komplexe zeigte eine elektrochemisch reversible Reduktion, vielmehr führt die Reduktion zur Freisetzung von Kupfer(I). Es wird vermutet, dass dieses „freie Kupfer“ zur DNA-Spaltung beiträgt. Im Gegensatz dazu bilden die Schwefelanaloga sowohl stabile Kupfer(II)- als auch Kupfer(I)-Komplexe. Sie können elektrochemisch reversibel reduziert werden und weisen im Vergleich mit der Ausgangsverbindung Kupfer(II)cyclen eine verbesserte DNA-Spaltaktivität auf.

Die DNA-Affinität des Kupfer(II)cyclen-Komplexes und seine photochemische und oxidative DNA-Spaltaktivität konnte zudem durch die Substitution mit der DNA-Targetingfunktion Anthrachinon erhöht werden. Hierbei konnte durch die Untersuchung von Komplexen mit verschiedenen Linkerlängen zwischen Cyclenkomplex und Anthrachinongruppe gezeigt werden, dass die Substitution mit der Targetinggruppe die DNA-Spaltaktivität erhöht, jedoch keine direkte Korrelation zwischen DNA-Affinität und DNA-Spaltaktivität besteht. So führt

die Substitution mit mehreren Anthrachinongruppen zum Beispiel zu einer Erhöhung der DNA-Affinität, jedoch konnte über Rasterkraftmikroskopie gezeigt werden, dass anstatt einer erhöhten DNA-Spaltaktivität die Vernetzung verschiedener DNA-Stränge erreicht wird. Die mit der DNA-Vernetzung einhergehende Veränderung der DNA-Struktur führt zusätzlich dazu, dass einige der mehrfachsubstituierten Anthrachinonkomplexe die DNA-Synthese bereits in nM-Konzentrationen zum Erliegen bringen können. Zytotoxizitätsuntersuchungen konnten die biologische Aktivität dieser Komplexe auch in Krebszellen bestätigen.

ABSTRACT

Cancer is among the two leading causes of death worldwide. While mutations of DNA are causing cancer, wilful modification of the DNA structure and its damage can cause death of cancer cells. In this fashion the DNA alkylating agent cisplatin has been used for the treatment of cancer since 1978. Dose-limiting side effects and the increasing resistance of some cancer types against certain drugs call for the development of novel treatments. Among the candidates of such new drugs are metallonucleases, which generate reactive oxygen species and thus promote the oxidative cleavage of DNA.

In the line of the present thesis two approaches for the development of new artificial nucleases starting from copper(II) cyclen have been employed:

First the effect of the gradual exchange of the macrocyclic heteroatoms on the nuclease activity of the respective complexes was investigated. Ten different copper(II) complexes with $[N_A X_B]$ donor sets were synthesized and characterized, resulting in a series of complexes ranging from copper(II) cyclen ($A = 4; B = 0$) over the all oxygen complex ($X = O; A = 0; B = 4$) to the all sulphur complex ($X = S; A = 0; B = 4$). These complexes were subjected to DNA cleavage experiments under reducing conditions. After incubation the samples were analysed by agarose gel electrophoresis. Opposite to the copper(II) cyclen complex the oxygen containing complexes showed an increasing DNA cleavage activity that is dependent on both the geometry and the oxygen content of the respective complex. The assessment of the complexes by electrochemical measurements revealed that the reduction of the copper(II) complexes to the corresponding copper(I) species is electrochemically irreversible and leads to the release of free copper(I) ions. Complexes with higher oxygen content have a lower affinity to the copper(I) species and are more prone to release copper. Assumedly it is the free copper species that is catalytically active and causes the DNA cleavage. In contrast to the complexes of oxygen-containing ligands the sulphur containing complexes show electrochemically reversible reduction and are more efficient nucleases than the copper(II) cyclen complex.

Secondly the DNA affinity of the copper(II) cyclen complex along with its photochemical and oxidative cleavage activity was improved by substituting it with the DNA targeting function anthraquinone. While the substitution with this targeting group increases the DNA cleavage activity of the copper(II) cyclen complex substantially, the linker length has only impact on DNA affinity, but not on cleavage activity. While substitution of the cyclen moiety with several targeting groups increases DNA affinity, in place of an increase of DNA cleavage activity these

complexes are crosslinking different DNA strands as could be shown by atomic force microscopy. Along with this alteration of the DNA structure the DNA synthesis is inhibited at even nanomolar complex concentrations. Cytotoxicity experiments prove that this activity is retained even in cancer cells.

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	1
1.1 Krebs	1
1.2 DNA als Target für Krebsmedikamente	2
1.3 Nukleasen	4
1.3.1 Hydrolytische DNA-Spaltung	5
1.3.2 Oxidative DNA-Spaltung	6
1.3.3 Photoinduzierte DNA-Spaltung	7
1.4 Kupfer in Biologie und Medizin	8
1.5 Zielsetzung	9
HETEROATOMAUSTAUSCH	11
2.1 Heteroatomaustausch: Kenntnisstand	11
2.2 Heteroatomaustausch: Zielsetzung	14
2.3 Heteroatomaustausch: Oxacyclen-Komplexe	15
2.3.1 Synthese	15
2.3.1.1 [Cu([12]aneN ₄)] (K1) und [Cu([12]aneN ₃ O)] (K2)	16
2.3.1.2 [Cu([12]aneN ₂ O ₂)] (K3)	16
2.3.1.3 [Cu([12]aneNONO)] (K4)	17
2.3.1.4 [Cu([12]aneNO ₃)] (K5)	17
2.3.1.5 [Cu([12]aneO ₄)] (K6)	19
2.3.2 Charakterisierung und Strukturaufklärung	19
2.3.3 Oxacyclen-Komplexe: Komplexstabilität	24
2.3.4 Oxacyclen-Komplexe: DNA-Spaltversuche	26
2.3.5 Oxacyclen-Komplexe: Elektrochemische Untersuchungen	32
2.3.6 Oxacyclen-Komplexe: Zytotoxizität	34
2.4 Heteroatomaustausch: Thiacyclen-Komplexe	36
2.4.1 Synthese	36
2.4.1.1 [Cu([12]aneN ₃ S)] (K7)	36
2.4.1.2 [Cu([12]aneN ₂ S ₂)] (K8)	36
2.4.1.3 [Cu([12]aneNSNS)] (K9)	37
2.4.1.4 [Cu([12]aneNS ₃)] (K10)	37
2.4.1.5 [Cu([12]aneS ₄)] (K11)	38
2.4.1.6 [Cu([12]aneNONS)] (K12)	38
2.4.2 Charakterisierung und Strukturaufklärung	39
2.4.3 Thiacyclen-Komplexe: Komplexstabilität	44
2.4.4 Thiacyclen-Komplexe: DNA-Spaltversuche	45
2.4.5 Thiacyclen-Komplexe: Elektrochemische Untersuchungen	48
2.5 Heteroatomaustausch: Fazit	51
INTERKALATORSUBSTITUTION	53

3.1 Anthrachinon-substituierte DNA Spalter: Kenntnisstand	53
3.2 Anthrachinon-substituierte DNA-Spalter: Zielsetzung	58
3.3 Anthrachinon-substituierte DNA-Spalter: Komplexe ohne Linker	60
3.3.1 Synthese	60
3.3.1.1 Synthese der Komplexe K13 und K14	60
3.3.1.2 Synthese von Komplex K15	62
3.3.1.3 Synthese von Komplex K16	62
3.3.1.4 Synthese von Komplex K17	63
3.3.2 Charakterisierung und Strukturaufklärung	64
3.3.3 Evaluation der DNA-Bindung	69
3.3.3.1 CD-Spektroskopie	71
3.3.3.2 Ethidiumbromidverdrängung	73
3.3.3.3 Thermische DNA-Denaturierung	76
3.3.3.4 Evaluation der DNA-Bindung: Fazit	77
3.3.4 DNA-Spaltversuche	78
3.3.5 Zytotoxizität	82
3.3.6 Konfokale Fluoreszenzmikroskopie	84
3.4 Anthrachinon-substituierte DNA-Spalter: Methylen-verbrückte Komplexe	86
3.4.1 Synthese	87
3.4.1.1 Synthese von Komplex K18	87
3.4.1.2 Synthese des 1,4-substituierten Komplexes K19	87
3.4.1.3 Synthese des 1,7-substituierten Komplexes K20	88
3.4.1.4 Synthese der dreifach substituierten Komplexe K21 und K22	89
3.4.1.5 Synthese von 2-((Dimethylamin)methyl)anthrachinon (50)	90
3.4.2 Charakterisierung und Strukturaufklärung	91
3.4.3 Evaluation der DNA-Bindung	93
3.4.3.1 CD-Spektroskopie	94
3.4.3.2 Ethidiumbromidverdrängung	96
3.4.3.3 Thermische DNA-Denaturierung	98
3.4.3.4 LD-Spektroskopie	99
3.4.3.5 Evaluation der DNA-Bindung: Fazit	102
3.4.4 Biochemische und biophysikalische Komplexevaluation	102
3.4.4.1 DNA-Spaltversuche	103
3.4.4.2 Gel-Retardation	104
3.4.4.3 Statische Lichtstreuung	106
3.4.4.4 Rasterkraftmikroskopie	107
3.4.4.5 Inhibition der DNA-Synthese	110
3.4.4.6 Zytotoxizität	113
3.5 Anthrachinon-substituierte DNA-Spalter: ethylenverbrückte Komplexe	115
3.5.1 Synthese	115
3.5.1.1 Synthese von Komplex K23	115
3.5.1.2 Synthese von Komplex K24	116
3.5.1.3 Synthese von Komplex K25	117
3.5.1.4 Synthese von Komplex K26	117
3.5.1.5 Synthese von K27	118
3.5.1.6 Synthese des dinuklearen Komplexes K28	119
3.5.2 Charakterisierung und Strukturaufklärung	120
3.5.3 Evaluation der DNA-Bindung	126
3.5.3.1 CD-Spektroskopie	126
3.5.3.2 Ethidiumbromidverdrängung	127
3.5.3.3 Thermische DNA-Denaturierung	129
3.5.3.4 Evaluation der DNA-Bindung: Fazit	130
3.5.4 Gel-Retardation	132
3.5.5 DNA-Spaltversuche	132
3.5.6 Zytotoxizität	137

3.6	Fazit	139
	AUSBLICK	143
	EXPERIMENTELLER TEIL	147
5.1	Chemikalien	147
5.1.1	Chemikalien	147
5.1.2	Lösungsmittel	148
5.1.3	Biochemikalien, Puffer und Enzyme	148
5.2	Allgemeine Arbeitstechniken und Messmethoden	148
5.2.1	Allgemeine Arbeitstechniken	148
5.2.2	Kernresonanzspektroskopie	149
5.2.3	Massenspektrometrie	149
5.2.4	Infrarot-Spektroskopie	149
5.2.5	Röntgenstrukturanalyse	149
5.2.6	Elektrochemische Messungen	149
5.2.7	UV/Vis-Spektroskopie	150
5.2.8	CD-Spektroskopie	150
5.2.9	LD-Spektroskopie	150
5.2.10	Ethidiumbromidverdrängung	151
5.2.11	Statische Lichtstreuung	151
5.2.12	Rasterkraftmikroskopie	151
5.2.13	DNA-Spaltversuche	152
5.2.14	Gel-Retardation	153
5.2.15	Polymerase-Kettenreaktion	153
5.2.16	MTT-Assay	154
5.2.17	Konfokale Fluoreszenzmikroskopie	155
5.3	[Cu([12]aneN₄)NO₃]NO₃ (K1)	156
5.4	[Cu([12]aneN₃O)NO₃]NO₃ (K2)	157
5.5	[Cu([12]aneN₂O₂)(NO₃)₂]NO₃ (K3)	158
5.5.1	Tri(ethylenglycol)di(<i>p</i> -toluolsulfonat) (3)	158
5.5.2	<i>N,N'</i> -Bis(<i>p</i> -toluolsulfonyl)ethylendiamin (5)	159
5.5.3	7,10-Ditosyl-1,4-dioxa-7,10-diazacyclododecan (6)	160
5.5.4	1,4-Dioxa-7,10-diazacyclododecan (L3)	161
5.5.5	[Cu([12]aneN ₂ O ₂)(NO ₃) ₂]NO ₃ (K3)	162
5.6	[Cu([12]aneNONO)NO₃]NO₃ (K4)	163
5.6.1	<i>N,N</i> -Bis(2-(2-hydroxyethoxy)ethyl)-4-methylbenzolsulfonamid (10)	163
5.6.2	Synthese von Verbindung 11	164
5.6.3	4,10-Ditosyl-1,7-dioxa-4,10-diazacyclododecan (12)	165
5.6.4	1,7-Dioxa-4,10-diazacyclododecan (L4)	166
5.6.5	[Cu([12]aneNONO)NO ₃]NO ₃ (K4)	167
5.7	1,4,7-Trioxa-10-azacyclododecan (L5)	168
5.7.1	Tetra(ethylenglycol)di(<i>p</i> -toluolsulfonat) (14)	168
5.7.2	Natrium- <i>p</i> -toluolsulfonamid (15)	169
5.7.3	10-Tosyl-1,4,7-trioxa-10-azacyclododecan (16)	170
5.7.4	1,4,7-Trioxa-10-azacyclododecan (L5)	171
5.8	[Cu([12]aneO₄)(NO₃)₂] (K6)	172
5.9	[Cu([12]aneN₃S)NO₃]NO₃ (K7)	173

5.10	[Cu([12]aneN₂S₂)(NO₃)₂]NO₃ (K8)	174
5.10.1	<i>N,N'</i> -(Ethan-1,2-diyl)bis(2-chloracetamid) (18)	174
5.10.2	1,4-Dithia-7,10-diazacyclododecan-6,11-dion (20)	175
5.10.3	1,4-Dithia-7,10-diazacyclododecan (L8)	176
5.10.4	[Cu([12]aneN ₂ S ₂)NO ₃]NO ₃ (K8)	177
5.11	[Cu([12]aneNSNS)NO₃]NO₃ (K9)	178
5.11.1	2,2'-Thiodiacetylchlorid (22)	178
5.11.2	Bis(2-aminoethyl)sulfid (24)	179
5.11.3	1,7-Dithia-4,10-diazacyclododecan-3,11-dion (25)	180
5.11.4	1,7-Dithia-4,10-diazacyclododecan (L9)	181
5.11.5	[Cu([12]aneNSNS)NO ₃]NO ₃ (K9)	182
5.12	[Cu([12]aneNS₃)NO₃]NO₃ (K10)	183
5.12.1	Bis(2-chlorethyl)amin Hydrochlorid (28)	183
5.12.2	<i>N</i> -Boc-bis(2-chlorethyl)amin (29)	184
5.12.3	<i>N</i> -Boc-1,4,7-trithia-10-azacyclododecan (30)	185
5.12.4	1,4,7-Trithia-10-azacyclododecan (L10)	186
5.12.5	[Cu([12]aneNS ₃)NO ₃]NO ₃ (K10)	187
5.13	[Cu([12]aneN₂OS)NO₃]NO₃ (K12)	188
5.13.1	1,5-Bis(tosyloxy)-3-oxapentan (32)	188
5.13.2	Bis[<i>p</i> -tolylsulfonylamino]ethyl)sulfid (33)	189
5.13.3	4,10-Bis(<i>p</i> -tolylsulfonyl)-1-oxa-7-thia-4,10-diazacyclododecan (34)	190
5.13.4	1-Oxa-7-thia-4,10-diazacyclododecan (L12)	191
5.13.5	[Cu([12]aneN ₂ OS)NO ₃]NO ₃ (K12)	192
5.14	Synthese von Komplex K13	193
5.14.1	1-Fluoranthrachinon (36)	193
5.14.2	1-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)anthrachinon (L14)	194
5.14.3	Synthese von Komplex K13	196
5.15	Synthese von Komplex K14	197
5.16	Synthese von Komplex K15	198
5.16.1	1,8-Difluoranthrachinon (38)	198
5.16.2	1-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)-8-fluoranthrachinon (L15)	199
5.16.3	Synthese von Komplex K15	201
5.17	Synthese von Komplex K16	202
5.17.1	8,8'-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,7-diyl)bis(1-fluoranthrachinon) (L16)	202
5.17.2	Synthese von Komplex K16	204
5.18	Synthese von Komplex K17	205
5.18.1	2-Fluoranthrachinon (40)	205
5.18.2	2-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)anthrachinon (L17)	206
5.18.3	Synthese von Komplex K17	208
5.19	Synthese von Komplex K18	209
5.19.1	2-Brommethylantrachinon (42)	209
5.19.2	2-((1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)methyl)anthrachinon (L18)	210
5.19.3	Synthese von Komplex K18	212
5.20	Synthese von Komplex K19	213
5.20.1	1,4,7,10-Tetraazabicyclo[8.2.2]tetradecan-11,12-dion (44)	213
5.20.2	Synthese von Verbindung 45	214
5.20.3	Synthese von Ligand L19	215
5.20.4	Synthese von Komplex K19	216

5.21	Synthese von Komplex K20	217
5.21.1	Di- <i>tert</i> -butyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,7-dicarboxylat (47)	217
5.21.2	Synthese von Verbindung 48	218
5.21.3	Synthese von Ligand L20	219
5.21.4	Synthese von Komplex K20	220
5.22	Synthese von Komplex K21	221
5.22.1	Synthese des Liganden L21	221
5.22.2	Synthese von Komplex K21	223
5.23	Synthese von Komplex K22	224
5.24	2-((Dimethylamino)methyl)anthrachinon (50)	225
5.25	Synthese von Komplex K23	226
5.25.1	2-Brom- <i>N</i> -(anthrachinon-1-yl)acetamid (52)	226
5.25.2	1-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)- <i>N</i> -(anthrachinon-1-yl)acetamid (L23)	227
5.25.3	Synthese von Komplex K23	229
5.26	Synthese von Komplex K24	230
5.26.1	2-Brom- <i>N</i> -(anthrachinon-2-yl)acetamid (53)	230
5.26.2	2-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)- <i>N</i> -(anthrachinon-2-yl)acetamid (L24)	231
5.26.3	Synthese von Komplex K24	233
5.27	Synthese von Komplex K25	234
5.27.1	1-(2-Bromethoxy)anthrachinon (56)	234
5.27.2	1-(2-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)ethoxy)anthrachinon (L25)	235
5.27.3	Synthese von Komplex K25	237
5.28	Synthese von Komplex K26	238
5.28.1	1-((2-Hydroxyethyl)amino)anthrachinon (58)	238
5.28.2	1-((2-Bromomethyl)amino)anthrachinon (59)	239
5.28.3	1-((2-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)ethyl)amino)anthrachinon (L26)	240
5.28.4	Synthese von Komplex K26	242
5.29	Synthese von Kryptand K27	243
5.29.1	1,8-Bis((2-hydroxyethyl)amin)anthrachinon (60)	243
5.29.2	1,8-Bis-((2-bromomethyl)amin)anthrachinon (61)	244
5.29.3	Synthese des Liganden L27	245
5.29.4	Synthese von Kryptand K27	247
5.30	Synthese von Komplex K28	248
5.30.1	1,5-Bis((2-bromomethyl)amin)anthrachinon (64)	248
5.30.2	1,5-Bis((2-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)ethyl)amin)anthrachinon (L28)	249
5.30.3	Synthese von Komplex K28	250
LITERATURVERZEICHNIS		251
ANHANG		257
7.1	Chemikalienverzeichnis	257
7.2	Abbildungsverzeichnis	262
7.3	Schemaverzeichnis	267
7.4	Tabellenverzeichnis	267

7.5	Kristallographischer Anhang	270
7.6	Komplexverzeichnis	279

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	<u>A</u> denin
abs.	<u>a</u> bsolutiert
AFM	<u>a</u> tomic force <u>m</u> icroscopy (Rasterkraftmikroskopie)
AQ	<u>a</u> nthraquinone (Anthrachinon)
a.u.	<u>a</u> rbitrary <u>u</u> nit (willkürliche Einheit)
bzw.	<u>b</u> eziehungs <u>w</u> eise
BNPP	<u>B</u> is(<u>p</u> ara- <u>n</u> itrophenyl) <u>p</u> hosphat
Boc	<u>t</u> ert- <u>B</u> utyloxy <u>c</u> arbonyl
bp	<u>b</u> ase <u>p</u> air (Basenpaare)
Cyclen	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan
C	<u>C</u> ytosin
CAT	<u>c</u> atalase (Katalase)
CCDC	<u>C</u> ambridge <u>C</u> ystallographic <u>D</u> ata <u>C</u> enter
CD	<u>C</u> ircular <u>d</u> ichroismus
C,H,N,S-Analyse	Elementaranalyse
CT	<u>c</u> alf <u>t</u> hymus (Kalbsthymus)
d	<u>D</u> ublett (NMR)
DAPI	4',6- <u>D</u> iamidin-2-phenyl <u>i</u> ndol
DCM	<u>D</u> ichlormethan
DMEM	<u>D</u> ULBECCO's <u>m</u> inimal <u>e</u> ssential <u>m</u> edium
DMF	<u>N,N'</u> - <u>D</u> imethylformamid
DMSO	<u>D</u> imethylsulfoxid
DNA	<u>d</u> eoxyribo <u>n</u> ucleic <u>a</u> cid (Desoxyribonukleinsäure)
ECORI	erste Nuklease aus dem Stamm R von <i>Escherichia coli</i>
ESI	<u>E</u> lektrospray- <u>I</u> onisierung
EB	<u>E</u> thidiumbromid
<i>et. al.</i>	<i>et alii</i> (und andere)
FCS	<u>f</u> etal <u>c</u> alf <u>s</u> erum (Fetales Kälberserum)
G	<u>G</u> uanin
h	<u>h</u> ora (Stunde)
HSAB	<u>h</u> art and <u>s</u> oft <u>a</u> cids and <u>b</u> ases

ICP	<i>inductively coupled plasma</i> (induktiv gekoppeltes Plasma)
IR	<i>infrarot</i>
<i>J</i>	Kopplungskonstante
LD	<i>Lineardichroismus</i>
m	<i>Multiplett</i> (NMR)
max.	<i>maximal</i>
MS	<i>Massenspektrometrie</i>
MTT	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i> (Kernresonanzspektroskopie)
Oxacyclen	1-Oxa-4,7,10-triazacyclododecan
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (Polymerase-Kettenreaktion)
PBS	<i>phosphate buffered saline</i> (Phosphat-gepufferte Salzlösung)
phen	<i>Phenanthrolin</i>
ppm	<i>parts per million</i> (Teile von einer Million)
q	<i>Quartett</i> (NMR)
<i>R_f</i>	Retentionsfaktor
RNA	<i>ribonucleic acid</i> (Ribonukleinsäure)
ROS	<i>reactive oxygen species</i> (reaktive Sauerstoffspezies)
RT	<i>Raumtemperatur</i>
s	<i>Singulett</i> (NMR)
SOD	<i>Superoxiddismutase</i>
T	<i>Thymin</i>
t	<i>Triplett</i>
TACN	1,4,7-Triazacyclononan
TACNOA	TACNorthoamid
Taq	<i>thermus aquaticus</i>
Thiacyclen	1-Thia-4,7,10-triazacyclododecan
THF	<i>Tetrahydrofuran</i>
TRIS	<i>Tris(hydroxymethyl)-aminomethan</i>
Ts	Tosyl
U	<i>Units</i> (Einheiten)
UV	<i>ultraviolett</i>
vgl.	<i>vergleiche</i>
Vis	<i>visible</i> (sichtbar)
vs.	<i>versus</i> (im Vergleich zu)
z. B.	<i>zum Beispiel</i>

KAPITEL 1

EINLEITUNG

1.1 Krebs

Krebs ist ein gängiger Überbegriff für bösartige Tumorerkrankungen, bei denen sich die Eigenschaften von zuvor gesunden Zellen eines Organismus insofern verändern, dass sie unkontrolliert wachsen können und so das umgebende Normalgewebe verdrängen, durchsetzen und zerstören. Ferner erhalten diese malignen Zellen die Fähigkeit, ihren Zellverband zu verlassen, sich in anderen Geweben wieder anzusiedeln und dort ihr destruierendes Wachstum fortzusetzen, ein Phänomen, das als Metastasierung bezeichnet wird.^[1]

Nach Zahlen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) sind Krebserkrankungen nach Herz- und Kreislauferkrankungen die zweithäufigste Todesursache weltweit. So wurden allein im Jahr 2012 14.1 Millionen Krebsneuerkrankungen festgestellt.^[2]

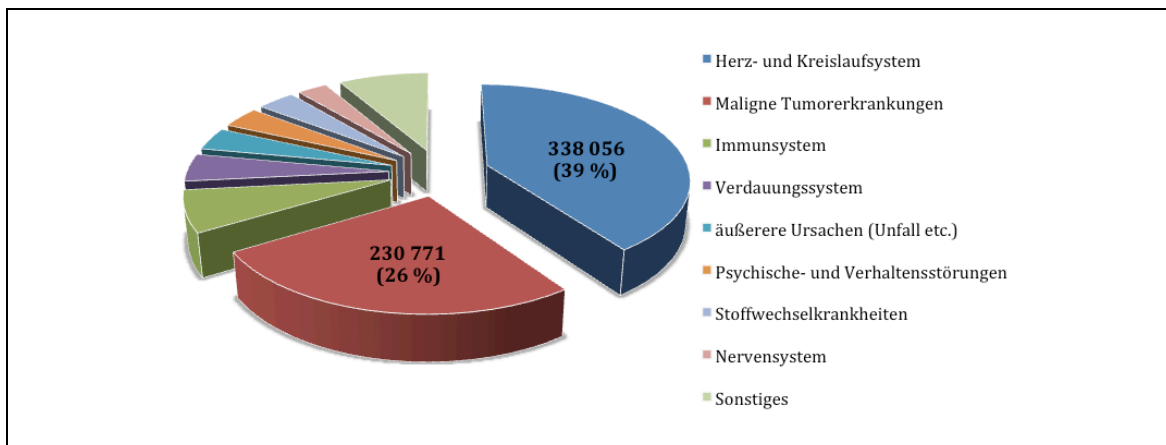


Abbildung 1: Todesursachen in Deutschland (2014).^[3]

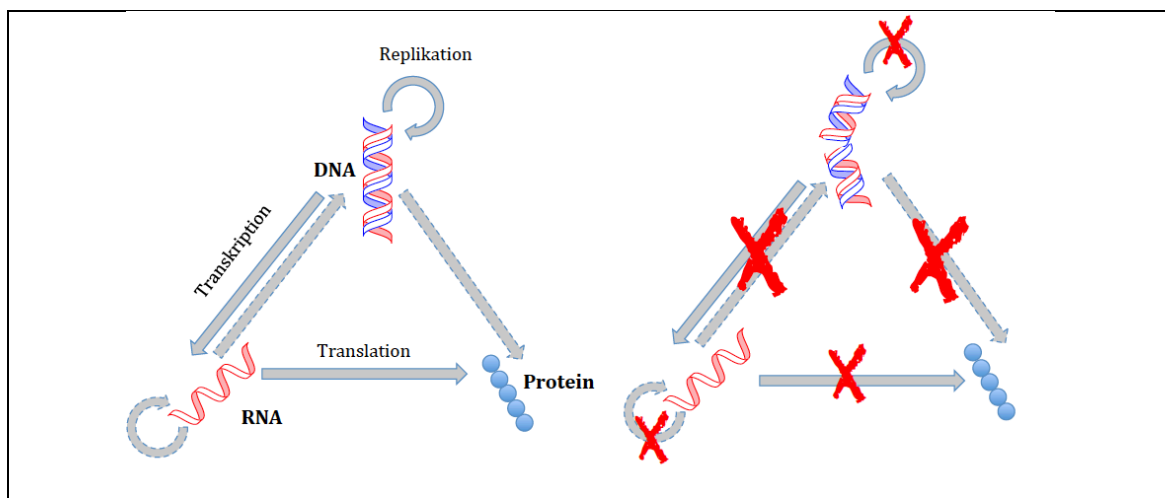
Im Jahr 2014 starben in Deutschland dem statistischen Bundesamt zufolge 230771 Menschen an Krebs (Abbildung 1).^[3] Auch wenn die Sterblichkeit der Krebserkrankungen in den letzten Jahrzehnten immer weiter zurückgegangen ist, so steigt die Zahl der Neuerkrankungen dennoch weiter an. Diese Entwicklung ist vor allem in der demographischen Veränderung der Gesellschaft begründet. Je älter ein Mensch wird, desto höher ist auch sein Risiko, an Krebs zu erkranken.^[2]

Die Behandlung von Krebserkrankungen ruht auf drei Säulen: der chirurgischen Entfernung des Tumorgewebes, der Strahlentherapie und der zytostatischen Chemotherapie. Zytostatika sind eine heterogene Substanzgruppe, die Einfluss auf Protein-, RNA-, und DNA-Synthese nehmen und so die Tumorzellteilung hemmen oder gar zum Absterben der entarteten Zellen führen.^[4] Ein Target vieler Zytostatika ist die DNA.

1.2 DNA als Target für Krebsmedikamente

DNA ist der Träger der Erbinformation. In diesem doppelsträngigen Polymer bestehend aus Phosphatrückgrat mit den angeknüpften Nukleotiden Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin sind alle genetischen Informationen in der Abfolge dieser Nukleotide gespeichert.

Das bereits 1958 durch CRICK aufgestellte zentrale Dogma der Molekularbiologie besagt, dass die genetische Information (mit kleineren Ausnahmen) nur in eine Richtung fließt (Schema 1): Die sequenzielle Information der DNA wird durch die Transkription in RNA übersetzt, die wiederum zum Protein translatiert wird. Eine Übertragung der Aminosäuresequenz des Proteins zurück in die Nukleotidsequenz der DNA ist nicht möglich.^[5]



Schema 1: Links: Zentrales Dogma der Molekularbiologie nach CRICK.^[5] Durchgezogene Pfeile zeigen den normalen Fluss der genetischen Information und gepunktete Pfeile zeigen in Ausnahmefällen stattfindenden Fluss an. Rechts: Wird die DNA zerstört, so kann der genetische Fluss nicht mehr stattfinden.

Die Auswirkungen des Dogmas sind relevant: Jede Änderung, die an der Sequenzabfolge der Basenpaare vorgenommen wird, hat eine direkte Folge auf die Aminosäuresequenz des entsprechenden Proteins, auf seine Funktion und in einigen Fällen auf die gesamte Zelle. Treten zum Beispiel Mutationen in sogenannten Driver-Genen auf, bekommt die betroffene Zelle mitunter einen Wachstumsvorteil und es kommt zur Ausbildung eines Tumors. Andere Mutationen, die zur Tumorbildung führen, sind zum Beispiel solche an Genen, die Zellreparaturmechanismen kodieren.^[6,7]

Gleichzeitig bietet das Dogma der Molekularbiologie die Grundlage dafür, dass DNA-adressierende Zytostatika die effektivsten Medikamente in der Behandlung von Krebs sind. Wird die DNA in ihrer Struktur stark verändert oder gar zerstört, kann die Transkription nicht mehr stattfinden, so dass die Zelle das Wachstum einstellt oder den programmierten Zelltod (Apoptose) einleitet. So haben Chemotherapeutika zu einer signifikanten Erhöhung der Überlebensrate krebserkrankter Patienten beigetragen.^[8]

Ein Beispiel für ein Zytostatikum, das die DNA-Struktur verändert, ist Cisplatin, *cis*-Diammindichloridoplatin(II). Cisplatin ist ein quadratisch-planarer Platinkomplex, der als erste metallhaltige Verbindung seit 1974 in der Behandlung von Krebs eingesetzt wurde und noch heute eines der effektivsten Zytostatika darstellt. Während es bereits für die Behandlung von einer Reihe von Krebsarten eingesetzt wurde, wird es heute vor allem zur Behandlung von Hodenkrebs eingesetzt, wobei es dazu beigetragen hat, dass die Heilungsrate von Hodenkrebs auf 90 % angestiegen ist.^[9] Das primäre Target von Cisplatin ist die DNA. Im hydrolysierten Zustand kann Cisplatin bis zu zwei kovalente Bindungen mit den N-7-Atomen der Guaninbasen oder Adeninbasen eingehen und zur Intrastrand- bzw. Interstrand-Verknüpfung eines DNA-Strangs oder benachbarter DNA-Stränge führen (Abbildung 2A, B).^[10,11]

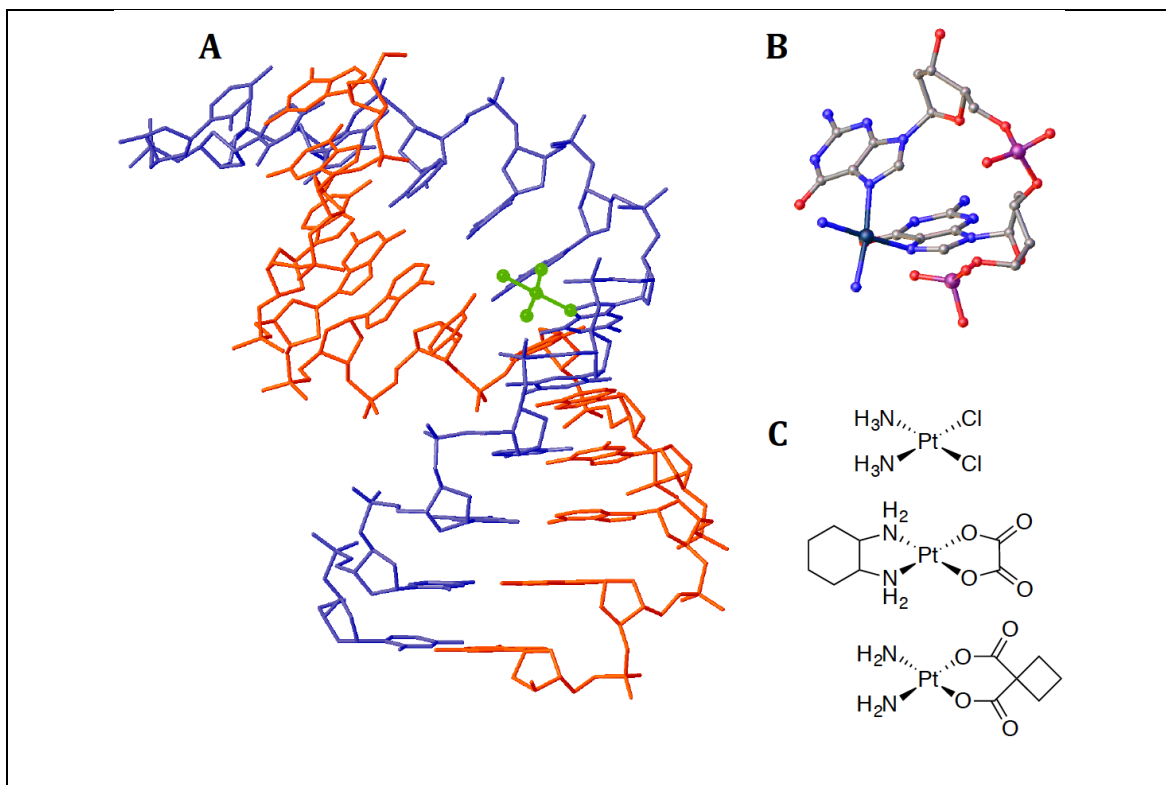


Abbildung 2: **A:** 1,2-Intrastrandverknüpfung ($1,2\text{-}\{\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\}^{2+}\text{-d(GpG)}$) von Cisplatin mit der DNA-Sequenz 5'-CCTCTGGTCTCC-3' (PDB-3LPV).^[11] **B:** Ausschnitt der Koordinationsumgebung von Cisplatin in dem unter **A** beschriebenen Addukt. **C:** Strukturen von Cisplatin (oben), Oxaliplatin (mittig) und Carboplatin (unten).

Diese Verknüpfung von DNA-Strängen führt zu einer derart starken Veränderung der DNA-Struktur, dass die Transkriptionsmaschinerie versagt, die Zellteilung eingestellt wird und die Zelle schlussendlich die Apoptose einleitet. Der große Erfolg von Cisplatin hat zur Etablierung eines Forschungszweigs geführt, der ausgehend von der Cisplatinleitstruktur versucht, neue platinbasierte Zytostatika herzustellen.^[12] So wurden zum Beispiel die klinisch zugelassenen Krebsmedikamente Oxaliplatin und Carboplatin gezielt durch die Weiterentwicklung der Stammverbindung hergestellt (Abbildung 2C). Weiter- und Neuentwicklungen von Zytostatika sind aufgrund von Toxizität und Nebenwirkungen altbewährter Substanzen notwendig. So wirkt Cisplatin nicht nur auf Krebszellen, sondern auf alle sich schnell teilenden Zellen und führt so zu einer Reihe von typischen Nebenwirkungen wie Neurotoxizität, Nephrotoxizität sowie zu gastrointestinalen Symptomen.^[9] Zudem treten bei einigen Tumorarten immer häufiger Resistenzen gegenüber Substanzen wie Cisplatin auf. Eine Erhöhung des Glutathionspiegels führt zum Beispiel zur Inaktivierung von Cisplatin, die Cisplatinkonzentration kann durch einen erhöhten Efflux aus der Zelle gesenkt werden und die Zellreparaturmechanismen, die die Cisplatin-DNA-Addukte aus der DNA schneiden, können hochreguliert werden.^[4,9,13]

Neben den platinhaltigen Verbindungen sind unter den Kandidaten von solch neuen Krebsmedikamenten auch künstliche kupferhaltige Metallonukleasen, die oxidativen Stress auslösen und so die DNA oxidativ spalten.

1.3 Nukleasen

Einer der Schlüssel zum Erfolg von Leben ist die hohe Stabilität der DNA. Sie ist das Ergebnis der negativen Ladung ihres Polyphosphatrückgrats und dessen Abstoßung gegenüber möglichen Nukleophilen.^[14] So beträgt die Halbwertszeit der Spaltung einer Phosphodiesterbindung bei pH 7 und 25 °C schätzungsweise zwischen zehn und hundert Milliarden Jahren. Um diese Bindung zu hydrolysieren, muss ein Katalysator eine 10^{17} -fache Beschleunigung der Reaktion bewerkstelligen.^[15]

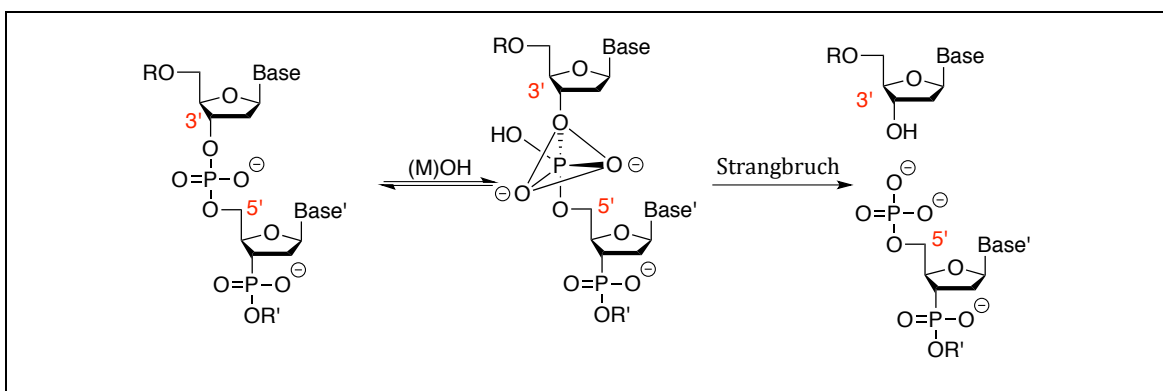
Doch auch die Spaltung von DNA ist von immenser Bedeutung für das Überleben aller Spezies. Bei Replikation und Transkription spaltet die Topoisomerase einen oder beide DNA-Stränge, wodurch die Superspiralisierung aufgehoben und ein Ablesen der DNA ermöglicht wird.^[16] Restriktionsenzyme schützen das Genom vor viraler Fremd-DNA, indem sie diese aus der DNA herauschneiden.^[17] Auch beim programmierten Zelltod, der Apoptose, spielen Restriktionsenzyme eine entscheidende Rolle und sind daran beteiligt, dass irreparabel geschädigte Zellen absterben.^[18]

Die Manipulation der DNA durch den Menschen bleibt hingegen eine große Herausforderung. Bis heute entwickelte künstliche Nukleasen erreichen bei Weitem noch nicht die katalytische Aktivität von Enzymen.^[19] Dabei verspricht die Entwicklung von biomimetischen Nukleasen zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin und der Biotechnologie. Solche künstlichen Nukleasen könnten als Restriktionsagenzien in der molekularen Biologie verwendet und zur DNA-Sequenzierung genutzt werden.^[20] Für medizinische Anwendungen verspricht man sich die Entwicklung einer neuen Art von Chemotherapeutika, die auf oxidativ spaltenden Metallonukleasen beruhen. Indem die künstlichen Metallonukleasen mit Targetfunktionen wie Peptiden, Antikörpern oder Aptameren substituiert werden, sollen sie selektiv Tumorzellen adressieren, während sie gesunde Zellen nicht angreifen.^[21]

Bei den künstlich entwickelten Nukleasen unterscheidet man bezüglich ihres Spaltmechanismus' drei verschiedene Gruppen: hydrolytisch spaltende, oxidativ spaltende und photochemisch spaltende künstliche Nukleasen.

1.3.1 Hydrolytische DNA-Spaltung

Die Entwicklung von hydrolytisch spaltenden Komplexen orientiert sich an den in der Natur vorkommenden Restriktionsenzymen. Somit steht an erster Stelle der Entwicklung von künstlichen Nukleasen die Strukturaufklärung von natürlichen Nukleasen und hieraus die Gewinnung von mechanistischen Details zur DNA-Spaltung. So überrascht es auch nicht, dass die zunächst entwickelten künstlichen Nukleasen hauptsächlich die Metalle Zn(II), Mg(II) und Ca(II) in ihrem katalytisch aktiven Zentrum tragen, eben jene Metalle, die hauptsächlich in den natürlichen Nukleasen vorkommen. Spätere Entwicklungen schlossen dann auch andere Metallzentren wie Lanthanoide und Übergangsmetalle ein.^[20] Beim Mechanismus der hydrolytischen DNA-Spaltung handelt es sich um eine nukleophile Substitutionsreaktion, bei der das Phosphoratom des DNA-Phosphatrückgrats das elektrophile Zentrum darstellt. Als Nukleophil treten Wasser bzw. Hydroxidionen in Erscheinung (Schema 2).



Schema 2: Mechanismus der Enzym-katalysierten hydrolytischen Spaltung nach MANCIN.^[20]

Die Metallionen beeinflussen die DNA-Spaltung auf unterschiedliche Weise (vgl. Abbildung 3). Sie können aufgrund ihrer LEWIS-Azidität den Phosphatester aktivieren, indem sie an das Oxoanion koordinieren (**A**). Eine solche Aktivierung ist in ähnlicher Weise auch für das Nukleophil möglich (**B**). Eine Stabilisierung der Abgangsgruppe würde die nukleophile Substitution ebenfalls begünstigen (**C**). Zusätzlich sind indirekte Mechanismen möglich: Metall-koordinierte Hydroxidionen können als Base fungieren und so die Nukleophilie des Wassers erhöhen (**D**). Metall-koordiniertes Wasser kann als Säure wirken und so die Abgangsgruppe protonieren (**E**).^[15]

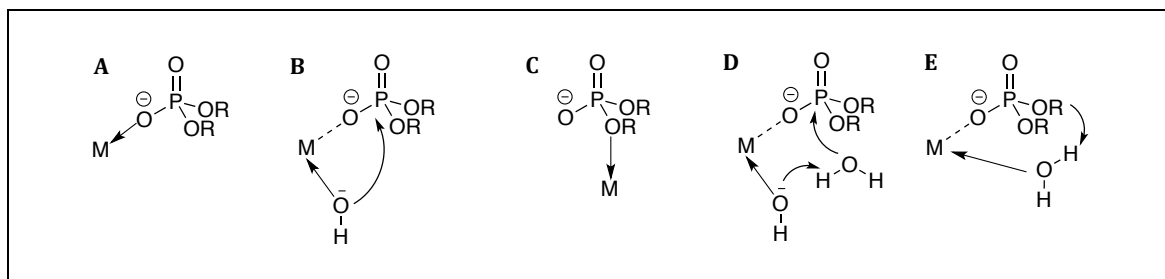


Abbildung 3: Möglichkeiten der Metall-aktivierten Phosphatesterspaltung nach WILLIAMS.^[15]

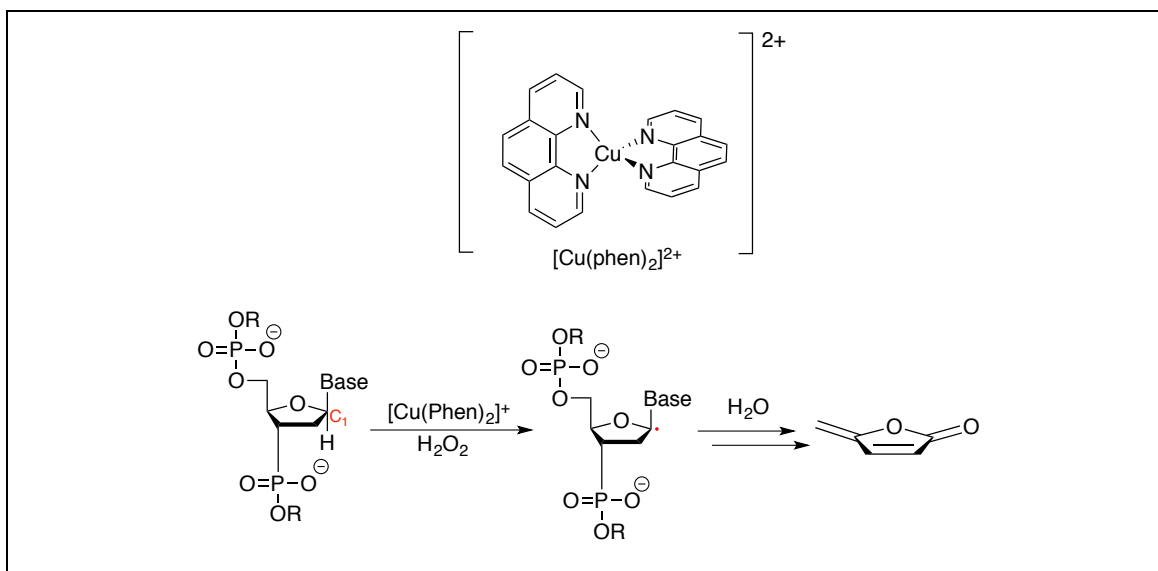
1.3.2 Oxidative DNA-Spaltung

Während die DNA weitgehend resistent gegen die hydrolytische Spaltung ist, wird sie oxidativ leicht gespalten.^[19] Allein die Natur des Metallions entscheidet hierbei, ob oxidativ oder hydrolytisch gespalten wird. Übergangsmetalle wie Zn(II) und Pd(II), die redoxinert sind, spalten in ihren Komplexen gewöhnlich nach dem hydrolytischen Mechanismus. Übergangsmetalle mit bekannter Redoxchemie wie Cu(II) und Fe(III) werden hingegen oft genutzt, um oxidativ spaltende Komplexe zu entwickeln.

Die DNA-Spaltung durch oxidative Mechanismen verläuft vollkommen anders als die hydrolytische DNA-Spaltung. Um die Spaltung einzuleiten, müssen die Komplexe zuvor aktiviert werden. Oft werden Kofaktoren wie L-Ascorbinsäure oder Wasserstoffperoxid hinzugesetzt, um die Metallzentren zu reduzieren. Die oxidative Spaltung erfolgt dann unter Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), die entweder durch die Redoxchemie des Metalls oder auch durch Photoanregung mittels Bestrahlung eines Liganden gebildet werden können (vgl. 1.3.3). Bei solchen Spezies kann es sich unter anderem um Hydroxylradikale $\cdot\text{OH}$, Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2$, Peroxide O_2^{2-} oder Superoxidanionradikale $\text{O}_2^{\cdot-}$ handeln. Es ist wichtig festzustellen, dass bei der oxidativen Spaltung im Kontrast zur hydrolytischen Spaltung die Schädigung der DNA meist nicht durch eine direkte Wechselwirkung des Komplexes mit der DNA hervorgerufen wird. Vielmehr verursachen die ROS die Spaltung, indem sie Wasserstoffatome von der Riboseeinheit abstrahieren oder die DNA-Basen oxidieren und so die DNA schädigen. Nachfolgend kommt es zu einer Fragmentierung, die

dann den Strangbruch zur Folge haben kann.^[22-25]

Ein klassisches Beispiel für den oxidativen Spaltmechanismus ist der von SIGMAN *et al.* entwickelte Kupfer(I)phenanthrolin-Komplex, der als eine der ersten künstlichen oxidativen Nukleasen gilt und aus der entsprechenden Kupfer(II)-Vorläuferspezies generiert wird.^[26] Anders als bei vielen anderen Komplexen dieser Art ist die reaktive Sauerstoffspezies nicht diffusionsfähig, sondern an das Kupferatom gebunden. Heutzutage gelten die Spezies Cu(III)-OH und Cu(I)-OOH als hauptsächlich an der DNA-Spaltung beteiligt und das C₁-Atom der Riboseinheit als Reaktionsort (Schema 3).^[27-29] Als weniger wichtig werden die Reaktionspfade am C₄- oder C₅-Atom der Riboseinheit betrachtet.^[30] Bei der Reaktion wird zunächst das Wasserstoffatom des C₁-Kohlenstoffatoms und anschließend Wasser addiert. Mehrere Fragmentierungen, bei denen sukzessive die Phosphatester eliminiert werden, führen schließlich zur Bildung von 5-Methylen-2-furanon.^[29]



Schema 3: Darstellung des Bis(1,10-phenanthrolin)-kupfer(II)-Komplexes (oben) und des DNA-Spaltmechanismus' des Bis(1,10-phenanthrolin)kupfer(I)-komplexes (unten).

1.3.3 Photoinduzierte DNA-Spaltung

Unter dem Begriff der Photospalter werden Verbindungen zusammengefasst, die im angeregten Zustand eine Reihe von chemischen Reaktionen hervorrufen können, die schlussendlich die DNA-Spaltung bewirken.^[31] Die Anregung wird hierbei über sichtbares oder ultraviolettes Licht herbeigeführt. Auch wenn einige Metallkomplexe bekannt sind, bei denen das Metallatom die Photospaltung bewirkt, sind meistens die organischen Liganden die eigentlichen Photospalter. Hierbei handelt es sich zumeist um Liganden, die ein ausgedehntes π -System besitzen.

Die photoinduzierte DNA-Spaltung fasst hierbei eine Reihe von unterschiedlichen Spaltmechanismen zusammen: Wird etwa ein Wasserstoffatom von der Riboseeinheit durch ein photochemisch angeregtes Radikal abstrahiert kann auch ein direkter Elektronentransfer zwischen Guaninbase und Photospalter vorliegen. Zudem kann der Photospalter über Energietransfer auf Sauerstoff zur Generierung von Singulett-Sauerstoff beitragen oder selbst Addukte mit den DNA-Basen bilden.^[25,31,32]

1.4 Kupfer in Biologie und Medizin

Kupfer ist neben Eisen und Zink das drittwichtigste Spurenelement im menschlichen Körper und kommt ubiquitär in allen Organismen vor. Im menschlichen Organismus ist es notwendig für die Funktion einer Vielzahl von Enzymen. So ist es etwa ein Kofaktor in der Cytochrom-*c*-Oxidase, in der Cu/Zn-Superoxiddismutase, in der Ascorbatoxidase und in der Tyrosinase. Es ist somit am Energiestoffwechsel, der Zellatmung und dem Schutz des Körpers gegen oxidativen Stress beteiligt. Die Kupferatome sind hierbei hauptsächlich an Oxidations- und Reduktionsreaktionen beteiligt, reagieren im katalytischen Zentrum der Enzyme mit molekularem Sauerstoff und produzieren Radikale. Eben wegen der Fähigkeit von Kupfer freie Radikale zu bilden, ist der Kupferhaushalt streng über transkriptionale Kontrolle und selektiven Transport geregelt.^[33,34] So wundert es auch nicht, dass Veränderungen im Kupferspiegel mit Krankheiten assoziiert sind. Eine Mutation im Kupferstoffwechsel der Leber kann zum Beispiel zu einer Anreicherung von Kupfer in der Leber, im Auge und im zentralen Nervensystem führen. Die Folge der als Morbus WILSON bekannten Krankheit sind vor allem Leberschäden und neurologische Störungen, die sich jedoch gut über die Verabreichung von Kupferchelatoren behandeln lassen. Die nun wasserlöslichen Kupferkomplexe können so renal ausgeschieden werden.^[35] Eine weitere mit Störungen in der Kupferhomöostase assoziierte Krankheit ist das mit Kupfermangel einhergehende MENKES-Syndrom, das vor allem zu Entwicklungsstörungen und neurologischen Defiziten führt.^[36] Zudem wird heutzutage die Bedeutung von Kupfer in der CREUTZFELDT-JAKOB-Krankheit und der ALZHEIMER-Krankheit diskutiert.^[37-40]

Kupfer ist das neunundzwanzigste Element im Periodensystem und gehört gemeinsam mit den Edelmetallen Silber und Gold zur elften Gruppe der Übergangsmetalle. Auch wenn die Oxidationsstufen +III und +IV bekannt sind, wird die Chemie des Kupfers hauptsächlich durch die Oxidationsstufen +II und +I bestritten. Hierbei ist die Oxidationsstufe +II in biologischen Systemen am stabilsten. Das Redoxpotential des Cu(I)/Cu(II)-Paares variiert unter physiologischen Bedingungen sehr stark. So kann das Reduktionspotential von verschiedenen Kupfer(I)-Spezies bezüglich molekularem Sauerstoff je nach Ligand,

Ligandengeometrie und pH-Wert beispielsweise Werte zwischen -1.5 bis +1.3 gegen die Standardwasserstoffelektrode (NHE) annehmen.^[41] Kupfer(I) weist HSAB-weichen Charakter auf und wird mit Vorliebe von weichen Liganden, etwa solchen die Schwefel enthalten, koordiniert (**Box 1**). Die stabilsten Koordinationsverbindungen mit Kupfer werden mit den Koordinationszahlen 4, 5 und 6 gebildet.^[34]

Anders als bei den Platin-basierten Krebsmedikamenten gibt es bei der Entwicklung von Kupfer-haltigen Wirkstoffen keine Leitstruktur, die einfach weiterentwickelt werden kann. Aus diesem Grund ist das Gebiet der Kupfer-haltigen Krebsmedikamente weit gefächert und zum Teil unübersichtlich. Zudem gibt es bisher keinen Komplex, der in klinische Studien eingegangen ist. Wie bereits oben erwähnt wurde, ist Kupfer im besonderen dazu geeignet, über seine Redoxchemie mit Sauerstoff zu reagieren und Radikale, sogenannte reaktive Sauerstoffspezies (ROS), zu bilden. Ein Ansatz in der Entwicklung von Kupfer-haltigen Medikamenten ist der Versuch, die Affinität des Medikaments zur DNA zu erhöhen, um die ROS in DNA-Nähe zu generieren. Die ROS wiederum schädigen die DNA und führen dadurch zur zytotoxischen Wirkung der Kupferkomplexe. Es sind viele Beispiele von Kupferkomplexen bekannt, deren Target die DNA ist. Das wohl bekannteste Beispiel ist der von SIGMAN *et al.* entwickelte $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ -Komplex, der dank seines Liganden in die DNA interkalieren kann und über Redoxchemie zu ihrer Schädigung beiträgt (vgl. Kapitel 1.3.2). Die Anwendung von Cu(phen)-basierten Metallkomplexen wird allerdings durch ihre fehlende Stabilität unter physiologischen Bedingungen gehindert.^[34,42-44]

1.5 Zielsetzung

Die Entwicklung von neuen Medikamenten für die Behandlung von Krebserkrankungen ist für die Zukunft der Krebstherapie von großer Bedeutung. Eine Wirkstoffklasse, die immer mehr Beachtung in der Behandlung von Krebs erreicht, sind die künstlichen Metallonukleasen. Im Rahmen dieser Arbeit soll untersucht werden, inwiefern sich kupferhaltige Nukleasen, die auf dem Cyclenliganden basieren, als DNA-Spalter eignen und ob es möglich ist, sie zu effektiveren Nukleasen, die in biologischen Systemen Zytotoxizität auslösen, weiterzuentwickeln.

Im Rahmen dieser auf Grundlagenforschung fokussierten Arbeit soll zunächst der Effekt des Donoratom austauschs auf die Nukleaseaktivität des Cyclenkomplexes untersucht werden (Kapitel 2). In einem zweiten Ansatz soll überprüft werden, inwiefern eine Erhöhung der DNA-Affinität des Kupfer(II)cyclen-Komplexes zu einer Verbesserung der Nukleaseaktivität beiträgt (Kapitel 3). Um abzuschätzen, inwiefern sich die so entwickelten Komplexe als Nukleasen eignen, werden Plasmid-DNA-Spaltversuche mit anschließender Analyse über

Agarose-Gelelektrophorese, elektrochemische Messungen, Zytotoxizitätsmessungen und eine Reihe von Versuchen zur Evaluation der DNA-Bindung zum Einsatz gebracht.

Eine Einführung in das jeweilige Themengebiet ist den Kapiteln vorangestellt. Relevante Methoden werden in kurzen Einschüben in Form von Boxen behandelt. Auf der letzten Seite dieser Arbeit findet sich eine Zusammenstellung aller Komplexe zur besseren Übersicht.

KAPITEL 2

HETEROATOMAUSTAUSCH

2.1 Heteroatomaustausch: Kenntnisstand

Seit der ersten Synthese durch STETTER und MEYER im Jahre 1961 findet das makrozyklische Polyamin 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan, im Folgenden auch als Cyclen und als [12]aneN₄ bezeichnet, weitreichende Anwendung in der bioanorganischen und medizinischen Chemie.^[45-47] Grund hierfür ist seine Fähigkeit, sowohl thermodynamisch als auch kinetisch stabile Komplexe mit Übergangsmetallen und seltenen Erden zu bilden, und die Möglichkeit, das Cyclensystem durch einfache *N*-Funktionalisierung weiterzuentwickeln.^[47,48]

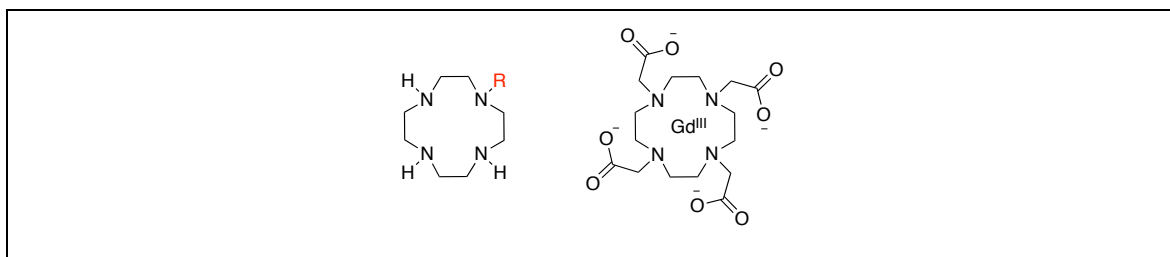


Abbildung 4: Links: Cyclen mit angezeigter Möglichkeit der *N*-Funktionalisierung; Rechts: Dotarem.

Bedeutende Anwendung finden cyclenbasierte Komplexe in der Medizin bei bildgebenden Verfahren und im Bereich der Radiotherapie. So wird zum Beispiel der Gadolinium(III)-Komplex des Cyclenderivats DOTA (1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,4,7,10-tetraessigsäure), der unter dem Markennamen Dotarem vertrieben wird, als Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie (MRT) verwendet (Abbildung 4). Geschuldet ist seine Beliebtheit seiner sehr großen Stabilität ($\log K = 25.2$). Während der DOTA-Komplex des Gadoliniums nicht toxisch ist, löst der Aquakomplex $[\text{Gd}(\text{OH}_2)_9]^{3+}$ nephrogene systemische Fibrose aus.^[49]

Zusätzlich werden Cyclenkomplexe auch in der Herstellung von DNA-Spaltern verwendet. Hierbei wurde bereits eine Vielzahl von hydrolytisch und oxidativ spaltenden Komplexen hergestellt. Für die Entwicklung dieser Nukleasen werden verschiedene Strategien genutzt, die anhand von einigen Beispielen im Folgenden näher beleuchtet werden sollen (Abbildung 5).

Eine dieser Strategien versucht, die Aktivität der cyclenbasierten Metallkomplexe zu erhöhen, indem analog zu den natürlich vorkommenden Nukleasen mehrkernige Systeme genutzt werden. So haben KÖNIG *et al.* zweikernige Zink(II)cyclen-Komplexe hergestellt (Abbildung 5A), die aufgrund ihres amphiphilen Charakters in wässriger Lösung zu Mizellenbildung neigen.^[50] SCHNEIDER *et al.* konzentrierten sich auf die Entwicklung von dreikernigen Kupfer(II)cyclen- und Kupfer(II)oxacyclen-Komplexen, welche die Hydrolyse von Bis-*p*-nitrophenylphosphateestern (BNPP, eine Modellverbindung für DNA) katalysieren (Abbildung 5B). Bisher zeigte jedoch keiner dieser Komplexe große Aktivität bei der Spaltung von Plasmid-DNA.^[51] Effizientere zweikernige DNA-Spalter entwickelten YU *et al.* Sie verbanden zwei Cyclenfunktionen über eine kurze Peptidkette. Die entsprechenden Metallkomplexe spalten Plasmid-DNA ohne Zusatz von Reduktionsmittel, wobei als Erklärung für die erhöhte Spaltaktivität synergistische Effekte der katalytischen Zentren postuliert (Abbildung 5C) wurden. Nach Aussage der Autoren sorgt der Peptidlinker dafür, dass die katalytischen Zentren in optimalem Winkel und Abstand zueinander stehen.^[52]

Ein weiterer Ansatz, um die Aktivität von DNA-Spaltern zu steigern, ist die Erhöhung ihrer DNA-Affinität. Hierfür können zum Beispiel DNA-Interkalatoren durch *N*-Funktionalisierung an das Cyclengerüst angebracht werden. KIMURA und Mitarbeiter konnten zeigen, dass acridinsubstituierte Zink(II)cyclen-Komplexe effektiv an AT-reiche DNA-Regionen binden können.^[53] MORROW verwendete entsprechende acridinsubstituierte Zink(II)oxacyclen-Komplexe, um RNA-Modellverbindungen zu spalten (Abbildung 5D).

Eine Erhöhung der DNA-Affinität lässt sich zusätzlich auch durch Konjugation mit Nukleobasen (Abbildung 5E) oder Peptidnukleinsäuren (PNA) erreichen. So konnten YU und Mitarbeiter von PNA-substituierten Kupfer(II)cyclen-Komplexen zeigen, dass Plasmid-DNA innerhalb von einer zwölfstündigen Inkubation mit den jeweiligen Komplexen (143 μM) vollständig von Form I in Form II überführt werden kann. Über die WATSON-CRICK-Basenpaarung soll es in Zukunft sogar gelingen, dass Nukleasen selektiv DNA-Bereiche erkennen und analog zu natürlich vorkommenden Nukleasen gezielt ausgesuchte Phosphatbindungen spalten.^[54,55]

Auch durch positive Ladungen am Komplex kann die DNA-Affinität erhöht werden. So wurden Metallkomplexe mit einer Imidazoliumfunktion an einem der Cyclenstickstoffatome funktionalisiert (Abbildung 5F). Diese Komplexe zeigten eine gute oxidative sowie hydrolytische DNA-Spaltaktivität. Dies hängt möglicherweise mit elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Phosphatgruppen und der Imidazoliumgruppe zusammen.^[54]

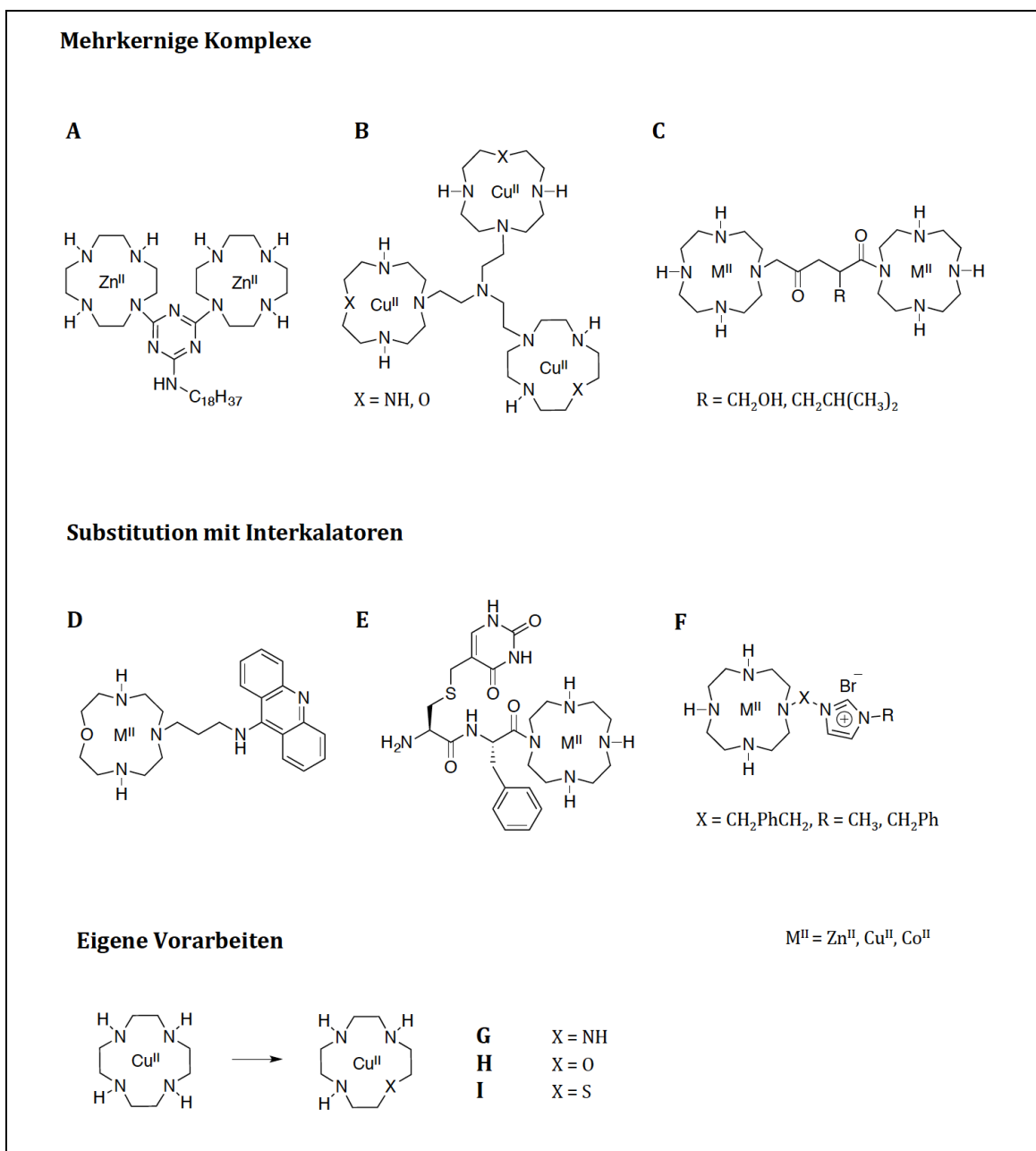


Abbildung 5: Strategien für cyclenbasierte Metallonukleasen.

Die oben vorgestellten cyclenbasierten Metallkomplexe haben gemeinsam, dass es sich bei ihnen um komplexe Strukturen handelt. Die verschiedenen Herangehensweisen konnten zeigen, dass sich die DNA-Affinität und die DNA-Splattaktivität (oxidative oder hydrolytische) durch Modifikationen an der Ligandenperipherie erhöhen lassen. Eine direkte Variation der Ligandensphäre des koordinierten Metalls wurde allerdings bisher nicht untersucht. In ersten Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, dass diese neue Herangehensweise zu einer erheblichen Verbesserung der DNA-Splattaktivität beiträgt: So führte der sukzessive Austausch eines der Stickstoffatome des Cyclens durch ein Sauerstoff- oder Schwefelatome zu einer Verdreifachung (O-Atom) bzw. zu einer Verdopplung (S-Atom) der DNA-Splattaktivität (Abbildung 5G-I).^[56]

Box 1: PEARSONS HSAB-Prinzip

Die Hauptaussage des *hard and soft acids and bases* (HSAB) Prinzips, das 1963 durch PEARSON eingeführt wurde, lässt sich leicht formulieren: harte Säuren koordinieren vorzugsweise harte Basen und weiche Säuren weiche Basen.^[57-59] Bei den Säuren und Basen handelt es sich hierbei um die von LEWIS definierten Elektronenpaarakzeptoren und Elektronenpaardonatoren, die durch die folgenden Eigenschaften charakterisiert sind:

Weiche Basen: Die Elektronenpaardonatoren sind leicht polarisierbar, weisen eine geringe Elektronegativität auf und lassen sich daher leicht oxidieren. Die Valenzelektronen sind nur leicht gebunden.

Harte Basen: Die Elektronenpaardonatoren sind wenig polarisierbar, weisen eine hohe Elektronegativität auf und lassen sich nur schwer oxidieren. Die Valenzelektronen sind stark gebunden.

Weiche Säuren: Die Elektronenpaarakzeptoren besitzen einen großen Atomradius, weisen eine geringe positive Ladung auf und besitzen ungepaarte Elektronen in ihren Valenzschalen (p oder d). Sie sind leicht polarisierbar und besitzen eine geringe Elektronegativität.

Harte Säuren: Die Elektronenpaarakzeptoren besitzen einen kleinen Atomradius, weisen eine hohe positive Ladung auf und besitzen keine ungepaarten Elektronen in ihren Valenzschalen. Sie sind schwer polarisierbar und besitzen eine hohe Elektronegativität.

Eine Auswahl der Klassifizierung in harte und weiche Säuren und Basen nach HOUSECROFT ist in der folgenden Tabelle dargestellt:^[60]

	Liganden (LEWIS-Basen)	Metallzentren (LEWIS-Säuren)
hart	F ⁻ , Cl ⁻ , ROH, R ₂ O, OH ⁻ , NO ₃ ⁻ , NH ₃ , RNH ₂	Li ⁺ , Na ⁺ , Mn ²⁺ , Zn ²⁺ , Fe ³⁺ , Co ³⁺ , Ti ⁴⁺
weich	I ⁻ , H ⁻ , RSH, R ₂ S, R ₃ P	Cu ⁺ , Ag ⁺ , Au ⁺ , Pd ²⁺
<i>borderline</i>	Br ⁻ , ArNH ₂	Fe ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺

Es handelt es sich bei Cu(I) beispielsweise um eine weiche Säure, die bevorzugt von weichen Basen wie Schwefel koordiniert wird.

2.2 Heteroatomaustausch: Zielsetzung

Die vielversprechenden Ergebnisse aus den Vorarbeiten rechtfertigen die Synthese von cyclenbasierten Makrozyklen, bei denen nicht nur ein Stickstoffatom gegen Sauerstoff oder Schwefel ausgetauscht wird, sondern zwei, drei oder alle Stickstoffatome (Abbildung 6).^[56] Aus diesen Makrozyklen sollen zunächst Kupfer(II)-Komplexe für die Untersuchung der oxidativen DNA-Spaltung dargestellt werden. Hierbei wird postuliert, dass in Übereinstimmung mit dem HSAB-Prinzip durch den Austausch von Stickstoff gegen Sauerstoff (härtere LEWIS-Base) die +II-Oxidationsstufe des Kupfers (harte LEWIS-Base) stabilisiert wird und so die Reoxidation von Kupfer(I) durch Sauerstoff unter Bildung der

reaktiven Sauerstoffspezies schneller verläuft. Auf diese Weise würde der Kupfer(II)-Komplex schneller für einen weiteren Katalysezyklus zur Verfügung stehen, was damit auch zur Steigerung der Aktivität führen sollte.

Der Austausch von Stickstoff gegen Schwefel hat den gegenteiligen Effekt: hier wird die Reduktion von Kupfer(II) zu Kupfer(I) begünstigt, da die HSAB-weiche Kupfer(I)-Spezies durch die HSAB-weichen Schwefelatome stabilisiert wird. Eine effektivere Reduktion würde ebenfalls zu einer Erhöhung der Spaltaktivität führen.

Schlussendlich wird untersucht, wie sich ein „Mischkomplex“ verhält. Hierfür sollen der Oxacyclenkomplex [Cu([12]aneNONO)] **K4** und der Thiacyclenkomplex [Cu([12]aneNSNS)] **K9** mit dem Oxathiacyclenkomplex [Cu([12]aneNONS)] **K12** verglichen werden.

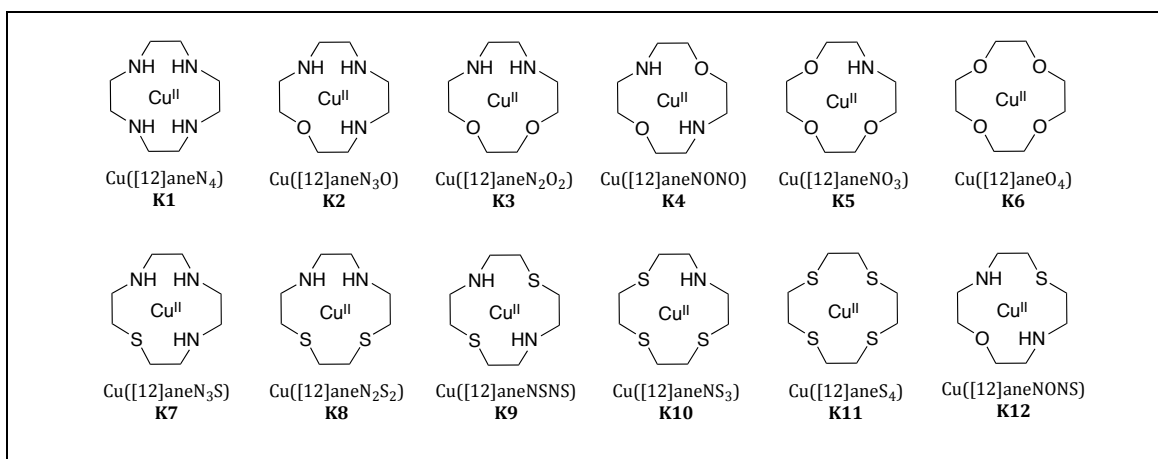


Abbildung 6: Strukturen der geplanten Oxa- und Thiacyclen-Komplexe K1-K12.

2.3 Heteroatomaustausch: Oxacyclen-Komplexe

2.3.1 Synthese

Um den Effekt des Heteroatomaustausches auf die Redoxaktivität und die Nukleaseaktivität des Kupfer(II)cyclen-Komplexes **K1** zu untersuchen, wurden sukzessive die Stickstoffatome des Cyclenliganden gegen Sauerstoff ausgetauscht (Abbildung 6 oben). Hierbei mussten zunächst die Liganden **L3-L5** dargestellt werden, **L1** und **L2** waren bereits im Labor vorhanden. Der Kronether **L6** wurde käuflich erworben.

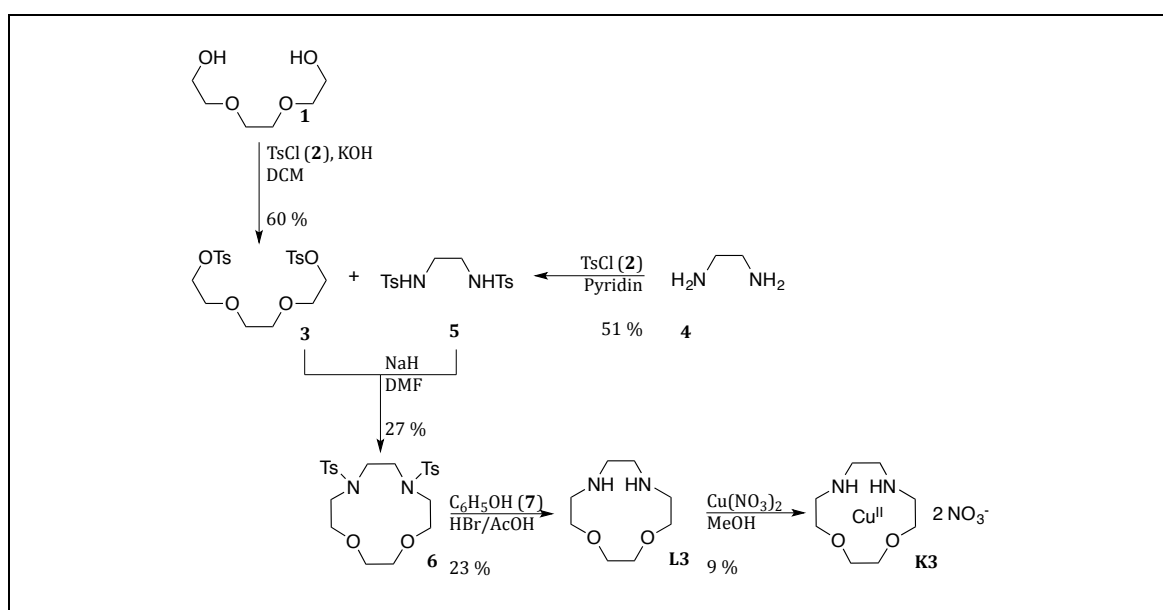
Bei den nachfolgend beschriebenen Synthesen wurde analog zur ursprünglich für den Cyclenliganden entwickelten Tosylschutzgruppenstrategie gearbeitet. Zum einen stabilisiert die Tosylgruppe die Abgangsgruppe, zum anderen verhindert ihre Einführung die Bildung von verzweigten Polymeren. Die Zyklisierungsschritte erfolgten unter Hochverdünnung, ebenfalls um die Polymerbildung zu vermeiden.^[46,47]

2.3.1.1 $[Cu([12]aneN_4)]$ (**K1**) und $[Cu([12]aneN_3O)]$ (**K2**)

Die Synthesevorschrift für die Komplexe **K1** und **K2** wurde bereits im Rahmen der Vorarbeiten beschrieben und publiziert. Sie wird daher an dieser Stelle nicht erneut beschrieben.^[56]

2.3.1.2 $[Cu([12]aneN_2O_2)]$ (**K3**)

Der Ligand **L3**, 1,4-Dioxa-7,10-diazacyclododecan oder $[12]aneN_2O_2$, wurde in einer vierstufigen Synthese ausgehend von Triethylenglycol (**1**) und Ethylendiamin (**4**) synthetisiert (Schema 4).



Schema 4: Synthese von $[Cu([12]aneN_2O_2)]$ (**K3**).

Hierbei wurden die Vorschriften von BOONS und URABE für die Tosylschützung der Edukte mit der Zyklisierungsvorschrift von WELCH kombiniert.^[61-63] Zunächst wurden Triethylenglycol nach einer Vorschrift von BOONS und Ethylendiamin nach einer Vorschrift von URABE tosyliert.^[61,62] Beide Produkte konnten nur in mäßiger Ausbeute erhalten werden. Schließlich wurden die Tosylgruppen unter Verwendung einer Mischung von Bromwasserstoffsäure und Essigsäure reaktiv abgespalten. Dem Reaktionsgemisch wurde hierbei Phenol zugesetzt. Dieses diente zum einen dazu, die Löslichkeit des tosylgeschützten Makrozyklus zu erhöhen, zum anderen sollte es als Bromakzeptor dienen, der die Amine durch das Abfangen von reaktivem Brom vor Bromierung schützt.^[64,65]

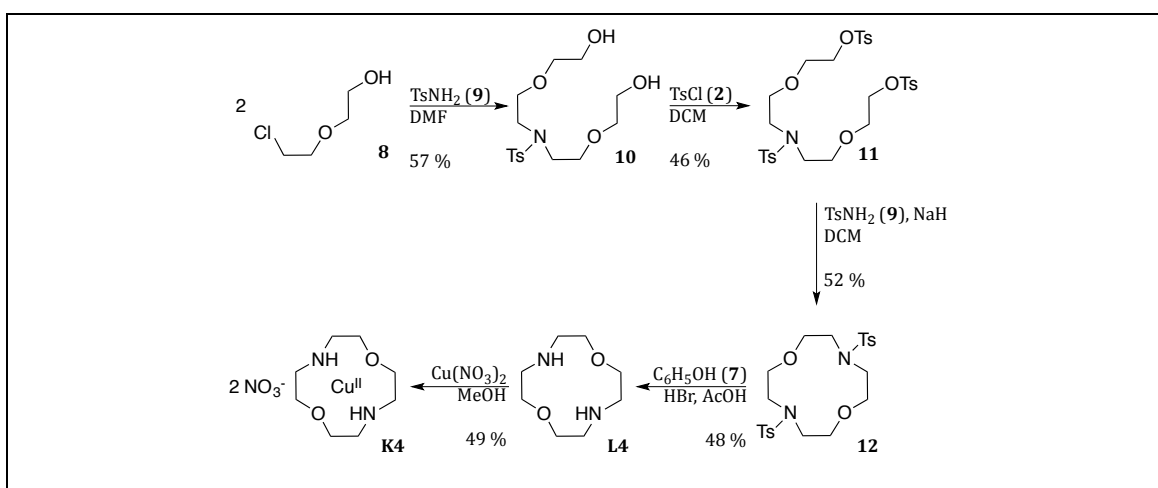
Sowohl der Zyklisierungs- als auch der Entschützungsschritt nach WELCH lieferten nur geringe Ausbeuten für die Produkte **6** und **L3**. Ein Grund hierfür kann die von der Literatur abweichende Aufarbeitung sein. Anders als in der Literatur beschrieben wurde keine Ionenaustauschersäule zur Isolation der freien Base genutzt. Der Ligand wurde stattdessen

durch Extraktion einer auf pH 14 eingestellten wässrigen Lösung des Hydrobromidsalzes erhalten. Aufgrund der einfachen Durchführbarkeit ist diese Aufarbeitung trotz geringerer Ausbeuten der zeitaufwändigen Ionenaustauschersäule vorzuziehen.

Der Komplex **K3** wurde in Analogie zur bereits publizierten Synthese von **K1** und **K2** durch Umsetzung einer methanolischen Lösung von Kupfernitrat mit einer äquimolaren Lösung des Liganden erhalten.^[56] Die Bildung des Komplexes zeigte sich umgehend durch eine Farbänderung der Lösung von farblos nach blau.

2.3.1.3 $[Cu([12]aneNONO)]$ (**K4**)

Der Ligand **L4**, 1,7-Dioxa-4,10-diazacyclododecan oder [12]aneNONO, wurde in einer vierstufigen Synthese nach einer Vorschrift von WELCH synthetisiert (Schema 5).^[63]



Schema 5: Synthese von $[Cu([12]aneNONO)]$ (**K4**).

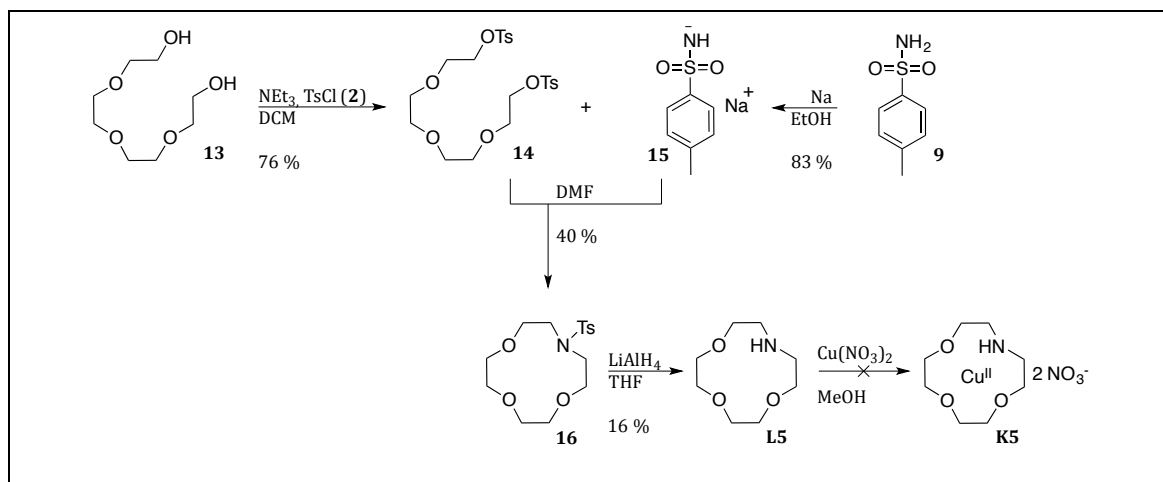
Zunächst wurde der Ether **10** durch Alkylierung von Tosylamid (**9**) mit zwei Äquivalenten 2-(2-Chlorethoxy)ethanol (**8**) erhalten. Nach Tosylschutz der Hydroxyfunktionen wurde die Zyklisierung mit Tosylamid in Dimethylformamid durchgeführt. In der ersten Stufe dieser Synthese wurde *in situ* das Natriumsalz des Tosylamids durch Reaktion mit Natriumhydrid erhalten. Der eigentliche Ringschluss erfolgte dann unter langsamem Zutropfen des tosylgeschützten Ethers. Zyklisierungsschritt und Entschützung wurden analog zur Synthese von **L3** durchgeführt. Die Ausbeute der Entschützung entspricht nur etwa der Hälfte der Literaturausbeute (vgl. Begründung unter 2.3.1.2).

Die Umsetzung einer methanolischen Ligandlösung mit einer äquimolaren Kupfersalzlösung lieferte den Komplex **K4** in mäßiger Ausbeute.

2.3.1.4 $[Cu([12]aneNO_3)]$ (**K5**)

Der Ligand **L5**, 1,4,7-Trioxa-10-azacyclododecan oder [12]aneNO₃, wurde in einer vierstufigen Synthese dargestellt (Schema 6). Zunächst wurde Tetraethylenglycol (**13**) nach

einer Vorschrift von KIM tosyliert.^[66] Die Synthese des Natriumsalzes **15** sowie der Zyklisierungsschritt wurden nach einer Vorschrift von PAPPALARDO durchgeführt.^[67]



Schema 6: Synthese von $[\text{Cu}([12]\text{aneNO}_3)]$ (**K5**).

Anders als bei den Synthesen von **L3** und **L4** wurde das Natriumsalz **15** nicht *in situ* dargestellt, sondern zunächst aus Tosylamid und Natriummethanolat synthetisiert und in guter Ausbeute isoliert. Bei der anschließenden Zyklisierung zum tosylgeschützten Makrozyklus **16** wird nach PAPPALARDO Bis[2-(2-bromethoxy)ethyl]ether verwendet.^[67] Dieser wurde zu einer Lösung des Natriumsalzes **15** in Dimethylformamid langsam unter Hochverdünnungsbedingungen hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde ein weiteres Äquivalent des Natriumsalzes hinzugegeben. Aufgrund der hohen Kosten von Bis[2-(2-bromethoxy)ethyl]ether wurde stattdessen das tosylierte Analogon **14** verwendet und ausgehend von Tetraethylenglykol (**13**) mit guter Ausbeute synthetisiert. Bei ansonsten gleichen Reaktionsbedingungen konnte der tosylgeschützte Makrozyklus **16** in einer Ausbeute von 40 % isoliert werden. Diese übertrifft die Literaturausbeute um 5 %.^[67]

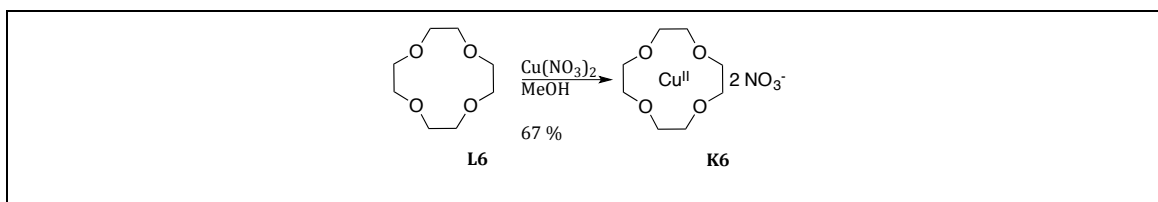
Es konnte gezeigt werden, dass für die Entschützung des Makrozyklus' **16** saure Bedingungen analog zu den Vorschriften von WELCH unter Verwendung von Bromwasserstoffsäure und Essigsäure ungeeignet sind.^[63] Diese Bedingungen führten zur Spaltung der C-N-Bindung und somit zur Zerstörung des Makrozyklus'. Erst die Verwendung von Lithiumaluminiumhydrid nach einer Vorschrift von NEWTON lieferte den freien Makrozyklus **L5** in einer geringen Ausbeute von 16 %.^[68]

Während die Komplexsynthese der Komplexe **K1** bis **K4** und **K6** ohne Probleme gelang, konnte Komplex **K5** trotz großer Bemühungen nicht dargestellt werden. Auch Variation von Lösungsmittel, Metallsalz und Wechsel von Ligand- zu Metallstöchiometrie erlaubten weder die Isolierung noch die massenspektrometrische Detektion des gewünschten Komplexes. Obwohl das Gebiet der N,O-haltigen Makrozyklen ein gut erforschtes Feld ist, konnte nur ein

Beispiel eines Kupferkomplexes mit einem zu **L5** ähnlichen Liganden gefunden werden: 1995 beschrieben BOURSON und Mitarbeiter Cumarin-substituierte [12]aneNO₃ Komplexe mit M_xL_y-Stöchiometrie.^[69] Auch sie beobachteten, dass die Synthese von Komplexen, bei denen M Kupfer ist und eine Stöchiometrie von x = y = 1 vorliegt, nicht erfolgreich war. Die Gründe hierfür sind nicht bekannt.

2.3.1.5 [Cu([12]aneO₄)] (**K6**)

Der Komplex **K6** wurde analog zu den oben beschriebenen Komplexsynthesen dargestellt: Eine methanolische Kupfersalzlösung wurde mit einer Lösung des bezogenen Liganden **L6** umgesetzt. Nach Einengen der Reaktionslösung konnte der Komplex **K6** als hellblauer Feststoff isoliert werden.



Schema 7: Synthese von [Cu([12]aneO₄)] (**K6**).

2.3.2 Charakterisierung und Strukturaufklärung

Die Komplexe **K1**, **K2**, **K3**, **K4** und **K6** wurde über Elementaranalyse, IR- und UV/Vis-Spektroskopie (Abbildung 7; Tabelle 1) sowie Massenspektrometrie charakterisiert (vgl. Experimenteller Teil für IR, ESI-MS und C,H,N-Analyse). Zusätzlich konnten über langsame Diffusion von Diethylether in eine gesättigte methanolische Komplexlösung geeignete Einkristalle für die Strukturaufklärung der bisher nicht beschriebenen Komplexe **K3** und **K4** erhalten und mittels Röntgenstrukturanalyse vermessen werden.

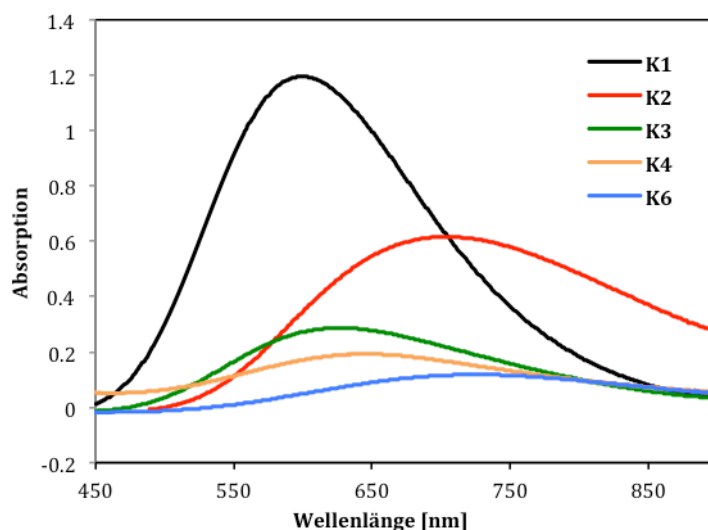


Abbildung 7: UV/Vis-Spektren der Komplexe **K1-K4** und **K6** (5 mM) in 50 mM Tris-HCl-Puffer (pH 7.4).

Tabelle 1: Auflistung der maximalen Absorptionswellenlänge λ_{\max} mit zugehörigen Extinktionskoeffizienten ϵ für die Komplexe **K1-K4** und **K6**.

	λ_{\max} [nm]	ϵ [L mol ⁻¹ cm ⁻¹]
K1	601	236
K2	705	121
K3	620	58
K4	638	40
K6	670	23

Aus Abbildung 7 und Tabelle 1 ist zu entnehmen, dass mit steigender Anzahl von Sauerstoffatomen sowohl λ_{\max} rotverschoben wird, als auch der Extinktionskoeffizient ϵ abnimmt. Während **K1** ein mit den Literaturdaten übereinstimmendes Absorptionsmaximum von ca. 600 nm zeigt, absorbiert **K6** bereits bei 670 nm.^[70] Mit Ausnahme des Komplexes **K2** passt dieser Trend gut für die untersuchten Komplexe. Es ist jedoch nicht klar, warum der Komplex **K2** eine Rotverschiebung außerhalb dieses Trends zeigt. Die kleinen Extinktionskoeffizienten und die Lage der Banden weisen darauf hin, dass es sich bei diesen Absorptionen höchstwahrscheinlich um die LAPORTE-verbotenen d-d-Übergänge handelt. Der sukzessive Austausch von Stickstoffatomen gegen das elektroneivere Sauerstoffatom führt hierbei zu einer energetischen Absenkung der d-d-Übergänge und somit zu einer Absorption bei höherer Wellenlänge.

In Abbildung 8, Abbildung 9 und Abbildung 10 sind die Molekülstrukturen der Komplexe **K1** bis **K4** und **K6** dargestellt, ausgesuchte Bindungslängen und -winkel sind in Tabelle 2 und Tabelle 3 zusammengetragen. Die kristallographischen Daten befinden sich im Anhang.

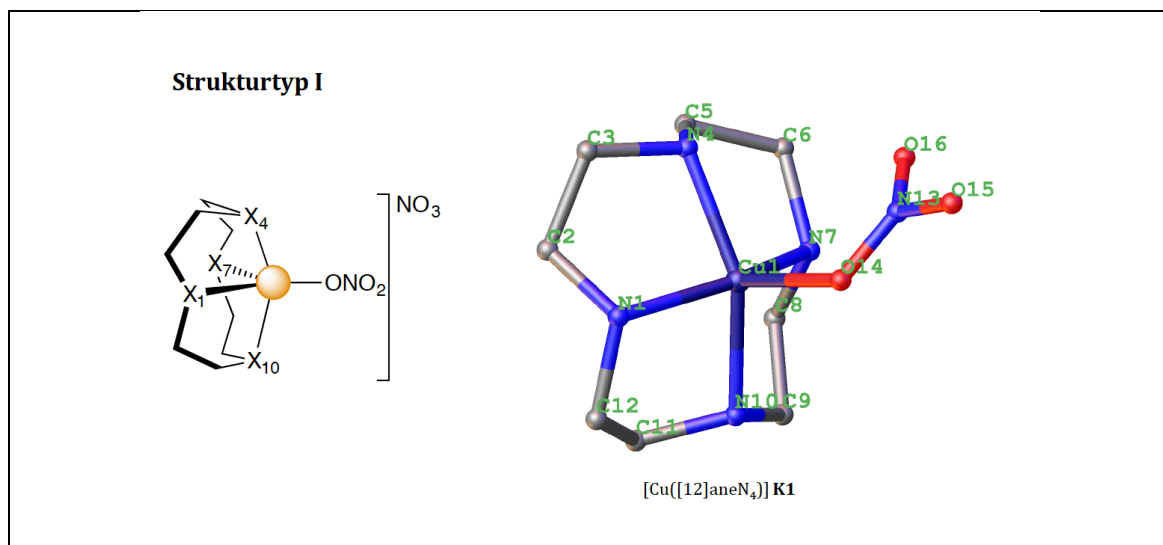


Abbildung 8: Darstellung des Strukturtyps I. Die Molekülstruktur von **K1** wurde dem *Cambridge Crystallographic Data Center* (CCDC) entnommen. Zugunsten der Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

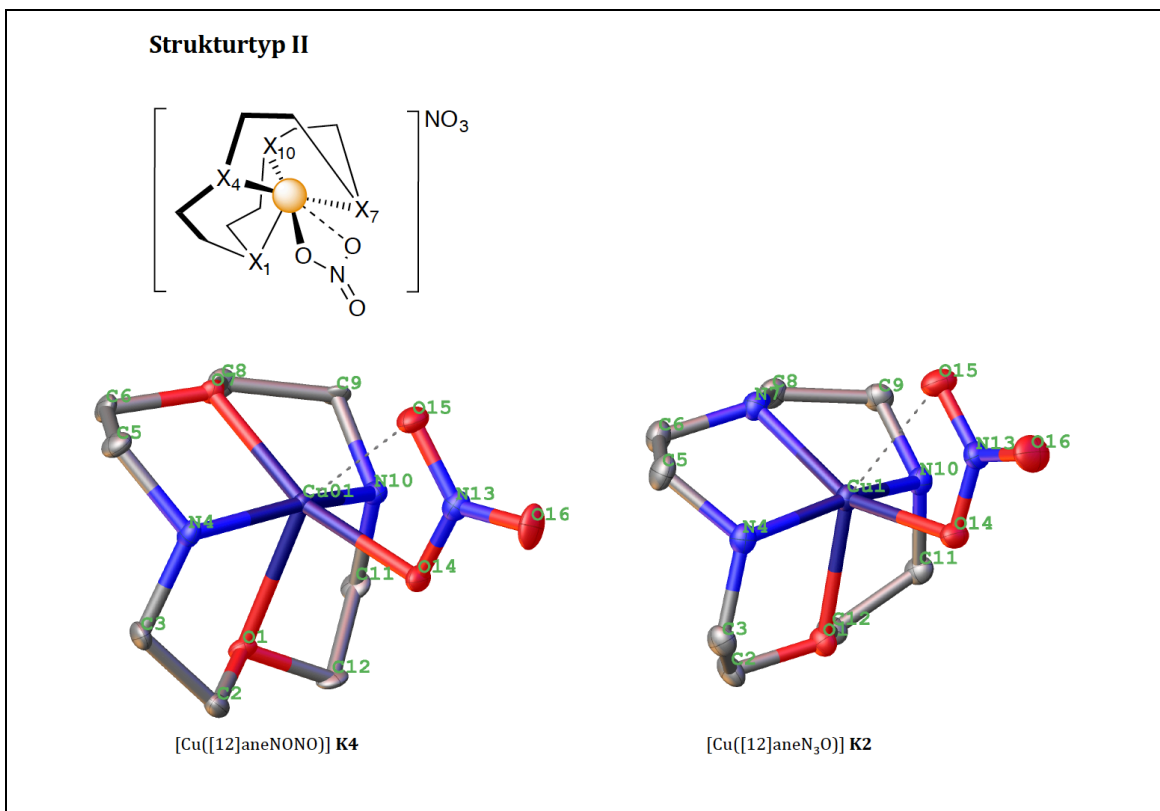


Abbildung 9: Darstellung des Strukturtyps II. Zugunsten der Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

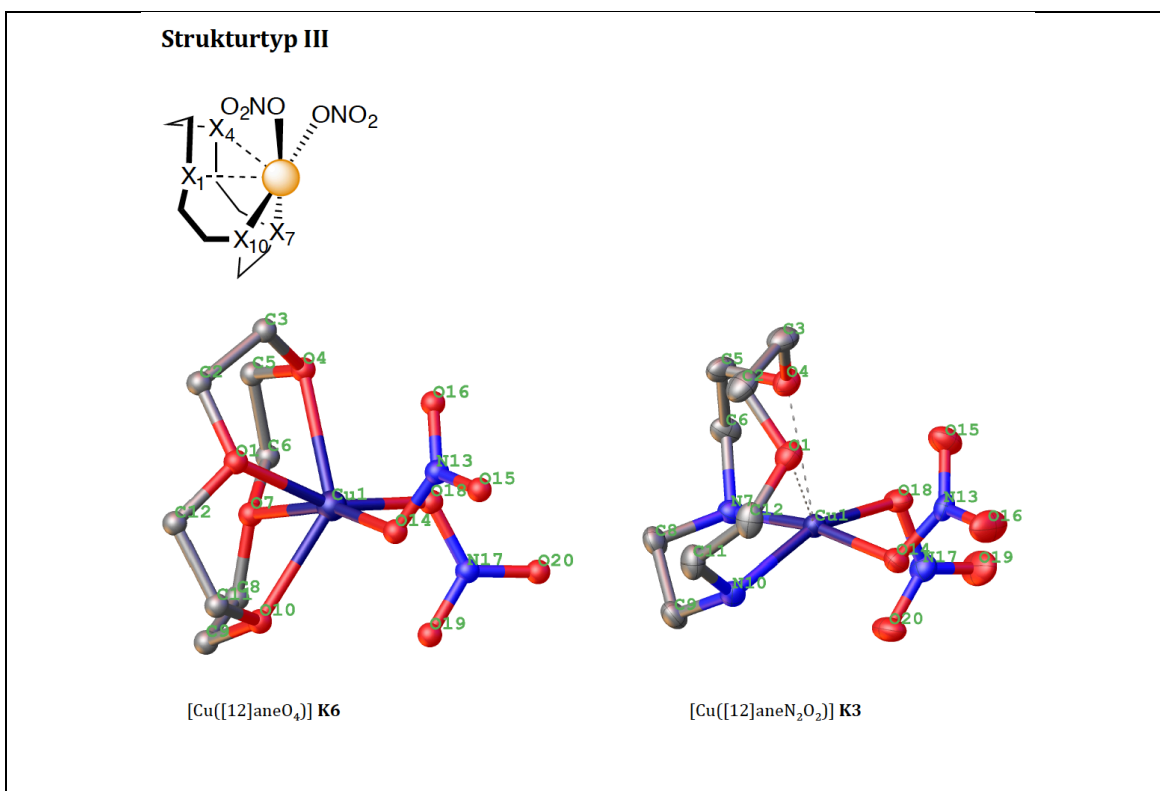


Abbildung 10: Darstellung des Strukturtyps III. Die Molekülstruktur von **K6** wurde dem *Cambridge Crystallographic Data Center* (CCDC) entnommen. Zugunsten der Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

Während der Komplex **K2** bereits im Rahmen der Vorarbeiten vermessen wurde, wurden die Molekülstrukturen der Komplexe **K1** und **K6** aus der Literatur entnommen.^[56,71,72] Ein Vergleich der Komplexe zeigt, dass sie sich drei unterschiedlichen Strukturtypen zuordnen lassen:

[Cu([12]aneN₄)] **K1** bildet hierbei den ersten Strukturtyp. Der Komplex besteht aus [Cu([12]aneN₄)NO₃]⁺-Kationen mit quadratisch-pyramidaler Koordinationsumgebung und Nitratanionen.

[Cu([12]aneN₃O)] **K2** und [Cu([12]aneNONO)] **K4** lassen sich dem zweiten Strukturtyp zuordnen. Auch hier können Nitratanionen und CuLNO₃⁺-Kationen gefunden werden, jedoch zeigt der Nitratoligand eine anisobidentate η_2 -Koordination.

Bei den Komplexen [Cu([12]aneN₂O₂)] **K3** und [Cu([12]aneO₄)] **K6** handelt es sich um neutrale Komplexe, bei denen neben den Makrozyklen zusätzlich beide Nitratanionen in η_1 -Art koordinieren. Sie machen den dritten Strukturtyp aus.

Die Komplexe **K2** und **K4** weisen eine quadratisch-pyramidale Koordinationsumgebung mit zusätzlicher anisobidentater Koordination durch das Sauerstoffatom des Nitratoliganden auf. Der Pyramidenfuß wird hierbei aus drei Heteroatomen des Cyclenderivats sowie einem Sauerstoffatom des Nitratoliganden gebildet. Die Pyramidenspitze stellt das O(1)-Atom des Makrozyklus dar.

SONG und Mitarbeitern zufolge befindet sich das Cu(II)-Ion des Komplexes **K6** in verzerrt oktaedrischer Koordinationsumgebung. Diese führt zu einer Verzerrung der Liganden-C₄-Symmetrie und somit zu einer Verlängerung der Cu(1)-O(4) und Cu(1)-O(10) Bindungslängen gegenüber der Cu(1)-O(7) Bindungslänge von Komplex **K4** (2.387(4) Å und 2.246(6) Å vs. 1.983(5) Å, vgl. Tabelle 2 und Tabelle 3).^[72] Ähnliche Beobachtungen lassen sich für [Cu([12]aneN₂O₂)] **K3** machen: Hier sind die Cu(1)-O(1) und Cu(1)-O(4)-Bindungen gegenüber der Cu(1)-O(7) Bindung von Komplex **K4** beträchtlich verlängert (2.765(2) Å und 2.479(2) Å vs. 1.983(5) Å). Diese Verzerrung führt eher zu einer quadratisch-planaren oder quadratisch-pyramidalen als zu einer oktaedrischen Koordinationsumgebung. Hierzu passt es auch, dass alle restlichen Cu(1)-N/O-Bindungslängen ca. 2 Å lang sind und die Winkel N(7)-Cu(1)-N(10), N(10)-Cu(1)-O(14), O(14)-Cu(1)-O(18) und O(18)-Cu(1)-N(10) annähernd 90° betragen.

Tabelle 2: Ausgesuchte Bindungslängen [Å] und Winkel [°] der Komplexe **K1** und **K2**, X bezeichnet Heteroatome N oder O.

	K1		K2	
Cu(1)-O(14)		2.183(4)		2.0313(16)
Cu(1)-O(15)		–		2.4700(17)
Cu(1)-O(18)		–		–
Cu(1)-X(1)	N(1)	2.019(5)	O(1)	2.2310(15)
Cu(1)-X(4)	N(4)	2.001(6)	N(4)	2.0229(18)
Cu(1)-X(7)	N(7)	2.022(5)	N(7)	1.9843(19)
Cu(1)-X(10)	N(10)	2.023(5)	N(10)	2.0278(18)
C(2)-C(3)		1.503(11)		1.519(3)
O(14)-N(13)		1.251(5)		1.296(2)
O(14)-Cu(1)-O(18)		–		–
O(14)-Cu(1)-O(15)		–		56.72(5)
X(4)-Cu(1)-O(14)	N(4)	104.9(2)	N(4)	95.03(7)
X(7)-Cu(1)-O(14)	N(7)	107.8(2)	N(7)	152.86(6)
X(10)-Cu(1)-O(14)	N(10)	105.9(2)	N(10)	99.72(7)
X(1)-Cu(1)-X(4)	N(1), N(4)	87.1(2)	O(1), N(4)	82.27(6)
X(1)-Cu(1)-X(7)	N(1), N(7)	151.6(2)	O(1), N(7)	110.92(6)
X(1)-Cu(1)-O(14)	N(1)	100.6(2)	O(1)	96.13(6)
X(4)-Cu(1)-X(10)	N(4), N(10)	149.1(2)	N(4), N(10)	159.43(7)
X(7)-Cu(1)-X(10)	N(7), N(10)	84.7(2)	N(7), N(10)	86.57(7)
Koordinationsumgebung	Typ I		Typ II	
Quelle	Murray-Rust ^[71]		Kulak ^[56]	

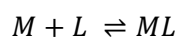
Tabelle 3: Ausgesuchte Bindungslängen [Å] und Winkel [°] der Komplexe **K3**, **K4** und **K6**, X bezeichnet Heteroatome N oder O.

	K3		K4		K6	
Cu(1)-O(14)		1.985(2)		2.023(5)		1.943(4)
Cu(1)-O(15)				2.445(5)		–
Cu(1)-O(18)		2.027(2)		–		1.965(4)
Cu(1)-X(1)	O(1)	2.765(2)	O(1)	2.254(5)	O(1)	2.125(4)
Cu(1)-X(4)	O(4)	2.479(2)	N(4)	2.010(6)	O(4)	2.387(4)
Cu(1)-X(7)	N(7)	2.009(3)	O(7)	1.983(5)	O(7)	2.040(4)
Cu(1)-X(10)	N(10)	2.047(3)	N(10)	1.993(6)	O(10)	2.246(6)
C(2)-C(3)		1.501(5)		1.515(1)		1.504
O(14)-N(13)		1.288(3)		1.308(8)		1.297
O(14)-Cu(1)-O(18)		90.69(9)		–		92.019
O(14)-Cu(1)-O(15)		–		57.35(2)		–
X(4)-Cu(1)-O(14)	O(4)	114.98(8)	N(4)	98.1(2)	O(4)	124.976

X(7)-Cu(1)-O(14)	N(7) 169.69(9)	O(7) 162.14(2)	O(7) 162.069
X(10)-Cu(1)-(O14)	N(10) 90.20(9)	N(10) 95.7(2)	O(10) 87.135
X(1)-Cu(1)-X(4)	O(1), O(4) 63.26(9)	O(1), N(4) 81.7(2)	O(1), O(4) 75.379
X(1)-Cu(1)-X(7)	O(1), N(7) 117.29(9)	O(1), O(7) 105.00(2)	O(1), O(7) 90.189
X(1)-Cu(1)-O(14)	O(1) 70.05(9)	O(1) 92.80(2)	O(1) 88.613
X(4)-Cu(1)-X(10)	O(4), N(10) 114.72(9)	N(4), N(10) 158.4(2)	O(4), O(10) 136.927
X(7)-Cu(1)-X(10)	N(7), N(10) 85.49(1)	O(7), N(10) 85.8(2)	O(7), O(10) 75.126
Koordinationsumgebung	Typ III	Typ II	Typ III
Quelle	Song ^[72]		

2.3.3 Oxacyclen-Komplexe: Komplexstabilität

Eine Aussage über die Stabilität eines Komplexes liefert die Stabilitätskonstante bzw. Komplexbildungskonstante K . Je größer diese ist, desto stabiler ist auch der Komplex. Für Komplexe mit makrozyklischen Liganden lässt sich nach der allgemeingültigen Reaktionsgleichung (Gleichung 1) die Stabilitätskonstante K (Gleichung 2) wie folgt berechnen:



Gleichung 1

$$K = \frac{[ML]}{[M][L]}$$

Gleichung 2

Wegen einer besseren Handhabbarkeit der Größenordnung der Zahlen wird oft der Logarithmus der Stabilitätskonstante $\log K$ angegeben. In Tabelle 4 sind die Stabilitätskonstanten für die Komplexe **K1** bis **K6** aufgelistet.

Tabelle 4: Stabilitätskonstanten der Oxacyclenkomplexe.

Komplex	$\log K$	Methode	T [°C]	Bedingungen	Quelle
K1	23.3	Potentiometrie	25	H ₂ O, 0.1 M NaNO ₃	WAINWRIGHT ^[73]
K2	15.85	Potentiometrie	25	H ₂ O, 0.1 M NaNO ₃	HANCOCK ^[74]
K3	8.7	Potentiometrie	25	H ₂ O, 0.1 M NaNO ₃	HANCOCK ^[74]
K4	7.92	Potentiometrie	25	H ₂ O, 0.01 M Et ₄ NClO ₄	LEHN ^[75]
K5	keine Angabe				
K6	>5	Potentiometrie	25	PC 0.01 M Et ₄ NClO ₄	BUSCHMANN ^[76]
Cu-Tris-System	5.34 – 6.29 ¹	Potentiometrie	25	H ₂ O, 0.1 M KNO ₃	BAL ^[77]

¹ Entnommen aus der Veröffentlichung von BAL *et al.* für den Konzentrationsbereich von [Cu] = 0.0001 M und [Tris] = 0.01 – 0.1 M.^[77]

Ein Vergleich der Stabilitätskonstanten zeigt, dass die Stabilität der Kupfer(II)oxacyclen-Komplexe mit steigender Anzahl an Sauerstoffatomen fällt. Während $[\text{Cu}([\text{12}]\text{aneN}_4)]$ **K1** noch eine hohe Stabilitätskonstante von $\log K = 23.3$ aufweist, wird die Stabilitätskonstante von $[\text{Cu}([\text{12}]\text{aneO}_4)]$ **K6** mit einem Wert von $\log K = >5$ angegeben. Dieser Trend lässt sich gut über das HSAB-Prinzip nachvollziehen. Während es sich bei Kupfer(II) und dem Stickstoffdonor laut PEARSON um einen Grenzfall zwischen hart und weich handelt (*Borderline-Spezies*), ist Sauerstoff eine harte Base.^[58] Je mehr Stickstoffatome durch Sauerstoff ausgetauscht werden, desto ungünstiger ist demnach die Paarung zwischen Makrozyklus und Metallatom. Als Konsequenz nimmt die Komplexstabilität entsprechend ab.

Da die im folgenden beschriebenen DNA-Spaltversuche in mit Tris-Base gepufferten Lösungen durchgeführt wurden, muss darauf hingewiesen werden, dass es sich bei der Tris-Base um einen möglichen kompetierenden Liganden handelt, der außerdem in großem Überschuss bezüglich der Kupferkomplexe vorliegt. Eine Konkurrenz der Liganden um Kupfer muss im Besonderen für die weniger stabilen Komplexe in Betracht gezogen werden. Bei einem pH-Wert von 7.4, bei dem die Spaltversuche durchgeführt wurden, können unterschiedliche Cu-Tris-Spezies vorliegen: Neben den mononuklearen Komplexen $[\text{Cu}(\text{H}_1\text{L})]^+$ und $[\text{Cu}(\text{H}_1\text{L}_2)]^+$ können auch dinukleare Komplexe wie $[\text{Cu}_2(\text{H}_3\text{L}_2)]^+$ und $[\text{Cu}_2(\text{H}_2\text{L}_2)]^{2+}$ gebildet werden.^[77]

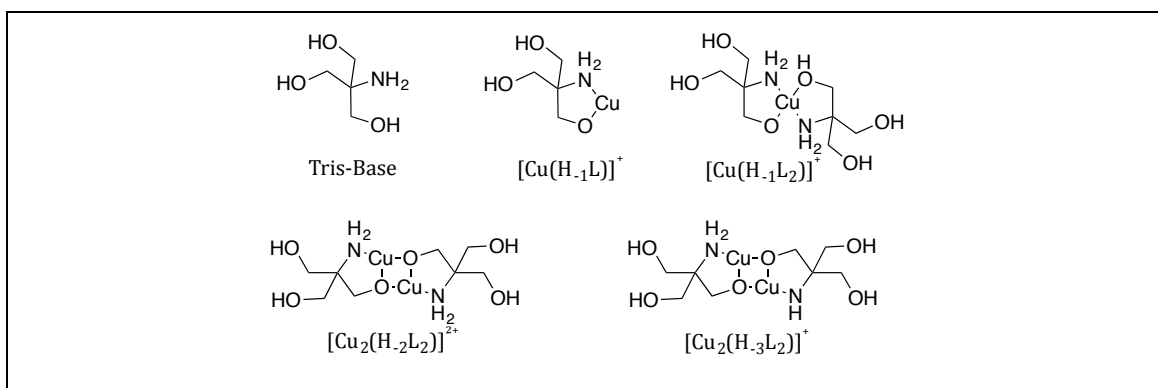


Abbildung 11: Strukturformel von Tris-Base und der bei pH 7.4 möglichen Cu-Tris-Spezies nach BAL, Gegenionen oder Lösungsmittelmoleküle wurden vernachlässigt.^[77]

Da es sehr kompliziert wäre, für die Vielzahl der vorliegenden Kupfer-Tris-Komplexe die Stabilitätskonstanten einzeln zu betrachten und mit denen der Makrozyklen **K1** bis **K4** und **K6** zu vergleichen, wird zum Abschätzen der Stabilität der von BAL *et al.* entwickelte *Competitivity Index* verwendet (vgl. Tabelle 4).^[77] Er liefert eine Art gewichteter Stabilitätskonstante für das gesamte Ensemble der bei einem pH-Wert von 7.4 vorliegenden Kupfer-Tris-Spezies und liegt für eine Kupferkonzentration von $100 \mu\text{M}$ und Tris-Konzentrationen im Bereich von 10 bis 100 mM zwischen 5.34 und 6.29. Da für die

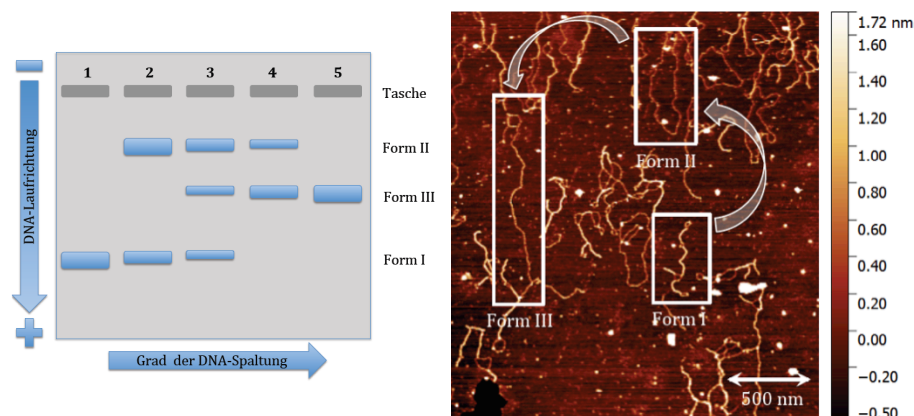
Spaltversuche 40 μM Kupferkomplexe und 50 mM Tris-Base verwendet wurden, kann der *Competitivity Index* für Tris-Komplexe auch hier zum Einsatz kommen.

Da die Stabilitätskonstante von $[\text{Cu}([\text{12}]aneO_4)]$ **K6** mit >5 angegeben wird, müssen die für den Komplex **K6** erhaltenen Ergebnisse kritisch betrachtet und das gleichzeitige Vorhandensein von Kupfer-Tris-Spezies angenommen werden.

2.3.4 Oxacyclen-Komplexe: DNA-Spaltversuche

Box 2: Plasmid-DNA-Spaltung zur Evaluation von DNA-Spaltern

Eine Methode, die Schneidaktivität eines Metallkomplexes bezüglich DNA zu untersuchen, ist die Detektion von Plasmid-DNA-Fragmenten durch Agarose-Gelelektrophorese. Zunächst wird die Plasmid-DNA mit dem zu untersuchenden Metallkomplex inkubiert und anschließend analysiert. Hierfür wird die Inkubationslösung auf ein Agarosegel geladen und eine Spannung angelegt: die negativ geladenen DNA-Formen beginnen, zum Pluspol zu wandern (linker Teil der Abbildung). Schlussendlich können die DNA-Fragmente mit Hilfe von Ethidiumbromid detektiert werden. Dieses fluoresziert ausschließlich, wenn es in der DNA interkaliert vorliegt. Unter UV-Bestrahlung können somit DNA-Fragmente sichtbar gemacht werden.



Nicht geschnittene Plasmid-DNA liegt in der *supercoiled* Form I vor. Wird die DNA durch einen Metallkomplex gespalten (oxidativ oder hydrolytisch), so nimmt die Plasmid-DNA die *nicked*, *relaxed* oder *open circular* Form II an. Ein weiterer Schnitt in räumlicher Nähe zum ersten Strangbruch führt zum Aufreißen der WATSON-CRICK-Basenpaarung, und die DNA geht in die lineare Form III über (rechter Teil der Abbildung). Die Form I der DNA ist kompakt und durchwandert das Gel am schnellsten. Die lineare Form III durchwandert das Gel aufgrund von stärkeren Wechselwirkungen langsamer, während die Form II für die Durchwanderung des Gels am längsten benötigt.

Für die DNA-Spaltversuche wurde pBR322 *supercoiled* Plasmid-DNA unter physiologischen Bedingungen mit den zu untersuchenden Substanzen inkubiert. Die Inkubationen wurden bei 37 °C in Tris-HCl-Puffer (50 mM)^{II} mit einem pH-Wert von 7,4 durchgeführt. Als Reduktionsmittel wurde L-Ascorbinsäure in einer Konzentration von 0,32 mM hinzugesetzt.

^{II} Vgl. auch Diskussion 2.3.3.

L-Ascorbinsäure spielt auch intrazellulär in einer dieser Größenordnung entsprechenden Konzentration eine Rolle als reduzierendes Agens.^[78] Agarose-Gelelektrophorese (1 % Agarose) wurde verwendet, um die Umsetzung der *supercoiled* Plasmid-DNA in die zirkuläre Form II- und die lineare Form III-DNA zu untersuchen. Um die Banden den einzelnen DNA-Formen zuordnen zu können, wurde in die erste Tasche des Gels jeweils eine DNA-Leiter bestehend aus *supercoiled*, zirkulärer und linearer DNA geladen. Um verlässliche Daten mit Standardabweichung zu generieren, wurden alle Experimente mindestens dreimal durchgeführt. Von diesen drei Gelen wird hier jeweils nur ein repräsentatives Gel dargestellt.

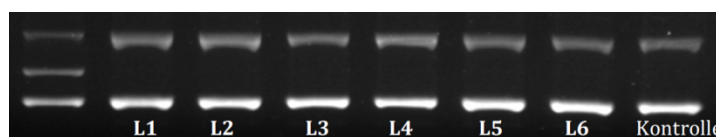


Abbildung 12: Spaltaktivität der Liganden **L1**- **L6** (0.032 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h.

Bevor die Komplexe **K1** bis **K4** und **K6** untereinander verglichen werden konnten, musste zunächst ausgeschlossen werden, dass die Liganden **L1** bis **L6** in metallfreiem Zustand keine oxidative Spaltaktivität aufweisen (Abbildung 12). Nachdem diese „Hintergrundspaltung“ ausgeschlossen werden konnte, wurde die Spaltaktivität der Komplexe bei einer Konzentration von 40 μM untereinander verglichen (Abbildung 13).

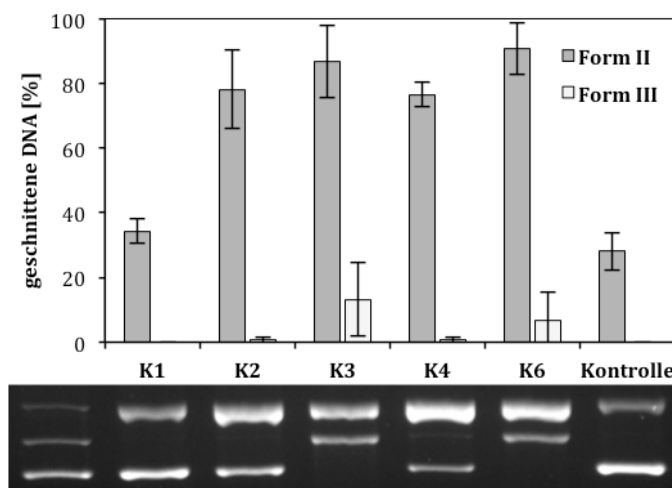


Abbildung 13: Spaltaktivität der Komplexe **K1**, **K2**, **K3**, **K4** und **K6** (0.04 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. Dargestellt ist der Mittelwert aus vier Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen. Untenstehend wird ein repräsentatives Gel gezeigt.

Wie bereits zuvor publiziert, ergibt sich für die oxidative DNA-Spaltung eine Verdreifachung der DNA-Spaltaktivität, wenn nur eines der Stickstoffatome vom Cu(II)Cyclen **K1** zum Cu(II)Oxacyclen-Komplex **K2** ausgetauscht wird.^[56] Wird nun ein weiteres Stickstoffatom

ausgetauscht, steigt die Spaltaktivität weiter an: Der Komplex **K3** ($[\text{Cu}([\text{12}]ane\text{N}_2\text{O}_2)]$) spaltet die DNA vollständig zur Form II und generiert ca. 15 % Form III-DNA. Während der Komplex **K6** ($[\text{Cu}([\text{12}]ane\text{O}_4)]$), bei dem alle Stickstoffatome gegen Sauerstoff ausgetauscht wurden, eine ähnlich hohe Spaltaktivität aufweist, spaltet das Regioisomer **K4** ($[\text{Cu}([\text{12}]ane\text{NONO})]$) wieder in der Größenordnung des Komplexes **K2** ($[\text{Cu}([\text{12}]ane\text{N}_3\text{O})]$). Interessanterweise zeigt sich hier eine Korrelation zwischen Spaltaktivität und Festphasenstrukturtyp: Die aktiven DNA-Spalter **K3** und **K6** gehören beide zum Strukturtyp III, während die mittelmäßigen DNA-Spalter **K2** und **K4** zum Strukturtyp II gehören (vgl. Abbildung 10 und Abbildung 9). Eine vergleichende Untersuchung des Kupfer(II)Tris-Systems (40 μM $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, 50 mM Tris-HCl) mit dem Komplex **K6** unten den oben beschriebenen Bedingungen ergab eine geringere Spaltaktivität für das Kupfer(II)Tris-System (Gel nicht dargestellt). Aufgrund der hohen Aktivität des Komplexes **K6** kann also davon ausgegangen werden, dass tatsächlich der Komplex der aktive DNA-Spalter ist und nicht das Kupfer(II)Tris-System.

Abbildung 14 zeigt die Abhängigkeit der Spaltaktivität von der Komplexkonzentration. Da alle Komplexe außer **K1** *supercoiled* DNA effektiv in lineare DNA überführen können, wurde Form III-DNA für einen Vergleich der Komplexe gewählt. **K1** wurde daher bei diesem Vergleich nicht berücksichtigt, außerdem sind die Gele für die konzentrationsabhängige Spaltung der einzelnen Komplexe nicht dargestellt.

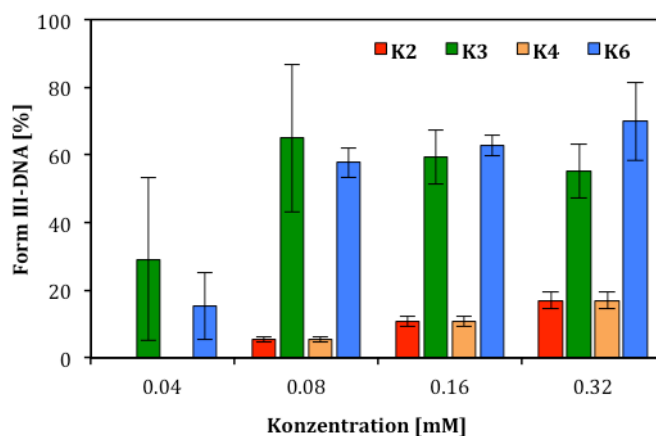


Abbildung 14: Abhängigkeit von Spaltaktivität und Komplexkonzentration der Komplexe **K2-K4** und **K6** bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Experimenten, die Standardabweichung wird als Fehlerbalken angezeigt.

Für die Komplexe **K2** und **K4** ergibt sich eine lineare Abhängigkeit zwischen Komplexkonzentration und DNA-Spaltaktivität. Für die effektiveren DNA-Spalter **K3** und **K6** zeigt sich ab einer Konzentration von 80 μM ein Plateau. Dieses könnte auf den kompletten Verbrauch des Reduktionsmittels zurückzuführen sein, ohne dass die DNA-Spaltung nicht stattfinden kann.

Um den Mechanismus der DNA-Spaltung genauer zu beleuchten, wurden die DNA-Spaltversuche unter Zusatz von Radikalfängern wiederholt. Hierdurch sollte die Abhängigkeit der DNA-Spaltung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) überprüft werden. Wenn diese Spezies an der Spaltung beteiligt sind, wird durch die Anwesenheit der Radikalfänger die DNA-Spaltung verringert. DMSO reduziert hierbei DNA-Spaltung die durch Hydroxylradikale $\cdot\text{OH}$ verursacht wird.^[79] Die Anwesenheit von Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2$ kann durch Verwendung von Natriumazid geklärt werden.^[80] Katalase (CAT)^[81] zeigt wiederum die Anwesenheit von Peroxospezies, Superoxiddismutase (SOD)^[80] die Anwesenheit von Superoxidradikalen $\text{O}_2^{\cdot-}$ an.

In Abbildung 15 ist beispielhaft ein sogenanntes Quenchgel für den Komplex **K3** dargestellt. Ein Vergleich der Spaltung ohne Zusatz von Radikalfänger (w/o) mit den oben genannten Quenchern zeigt, dass DMSO und Katalase (CAT) die Spaltung beträchtlich verringern.

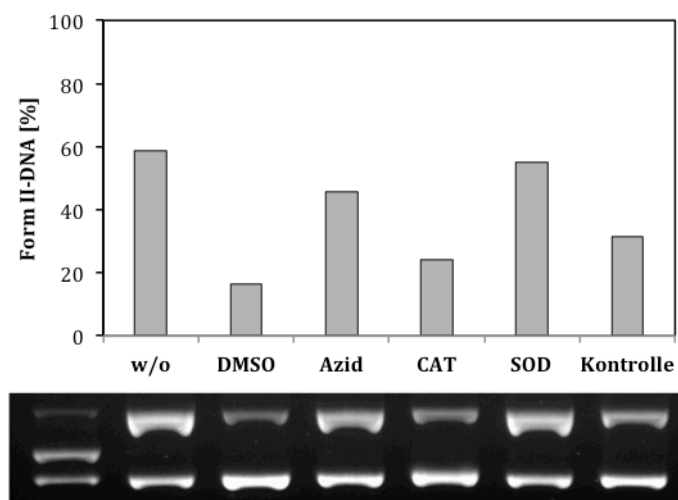


Abbildung 15: Quenchgel für die Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$) durch den Komplex **K3** (0.020 mM). Die Inkubation wurde in Tris-HCl Puffer (50 mM , $\text{pH } 7.4$), PBS (1.25X) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ für zwei Stunden und unter Zusatz von ROS-Fängern durchgeführt.

Tabelle 5 zeigt die Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe **K1** bis **K4** und **K6**: Die DNA-Spaltung durch alle Komplexe wird erheblich durch den Zusatz von DMSO und Katalase inhibiert. Bei der DNA-Spaltung handelt es sich demnach um eine oxidative Spaltung, die durch Hydroxylradikale und Peroxospezies als ROS bewirkt wird. Komplex **K4** zeigt unter Zusatz von SOD eine leichte Steigerung der DNA-Spaltung. Diese kann durch die Generierung von Peroxospezies aus Superoxidradikalen durch die SOD erklärt werden. Ein Spaltexperiment unter gleichzeitigem Zusatz von SOD und Katalase sollte wieder zu einer Verringerung der DNA-Spaltaktivität führen. Dieser Versuch wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt.

Tabelle 5: Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe **K1** bis **K4** und **K6**.

		K1	K2	K3	K4	K6
DMSO	$\cdot\text{OH}$	---	--	---	--	--
NaN_3	$^1\text{O}_2$	-	-	-	k. I.	k. I.
CAT	$\text{O}_2^{\cdot-}$	---	---	--	---	---
SOD	$\text{O}_2^{\cdot-}$	k. I.	k. I.	k. I.	+	k. I.
k. I.		keine Inhibierung		-	geringe Inhibierung	
+		erhöhte Spaltung		--	mittlere Inhibierung	
				---	starke Inhibierung	

Neben den oxidativen Spaltversuchen wurde die DNA-Spaltung auch ohne Zusatz von externen Reduktionsmitteln untersucht, da in der Literatur von XU *et al.* beschriebene hydrolytisch spaltende Kupferkomplexe mit bis(guanidinyethyl)substituierten [12]aneNONO-Liganden bekannt sind.^[82] Auch wenn bei diesen Komplexen die Guanidiniumgruppe maßgeblich an der hydrolytischen Spaltung beteiligt ist, erscheint eine Untersuchung dennoch sinnvoll, zumal XU *et al.* den [Cu([12]aneNONO)]-Komplex **K4** nicht auf hydrolytische Spaltaktivität untersucht hatten.

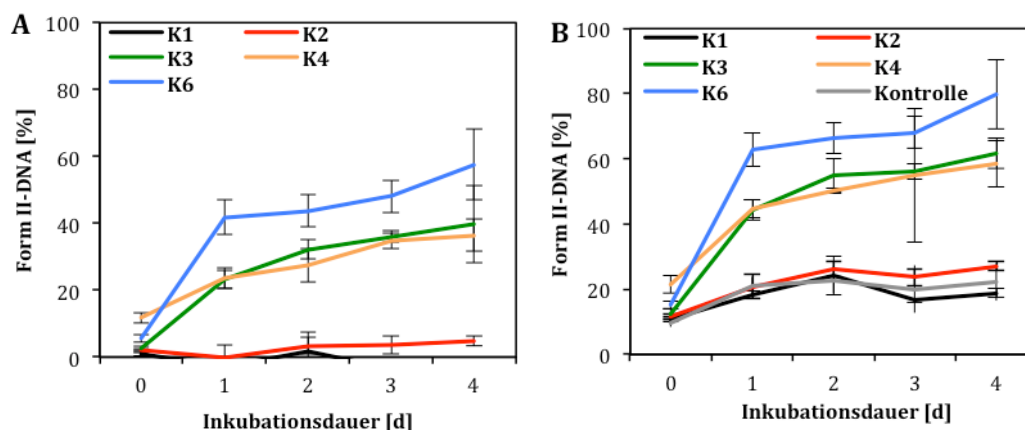


Abbildung 16: Zeitabhängige Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch die Komplexe **K1** bis **K4** und **K6** (0.4 mM) in Tris-HCl Puffer (50 mM , pH 7.4) bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ ohne Zusatz externer Reduktionsmittel. **A:** Mittelwert dreier um die Kontrolle korrigierter Messungen; **B:** Mittelwert der nicht referenzierten Ergebnisse.

Während Komplexe **K1** und **K2** keine DNA-Spaltung zeigen, können Komplexe **K3**, **K4** und **K6** das Plasmid auch ohne externes Reduktionsmittel bis in Form II spalten (vgl. Abbildung 16A). Hierbei wird nach ca. 3 Tagen ein Plateau bei 30 % (**K3** u. **K4**) bzw. 50 % (**K6**) Form II-DNA erreicht. Die Bildung eines Plateaus ist hierbei ein Indiz dafür, dass die Spaltung oxidativer und nicht hydrolytischer Natur ist. Hydrolytische DNA-Spalter wirken katalytisch und führen nicht zu Plateaubildung. Viel eher scheint es wahrscheinlich, dass die Liganden selbst als Reduktionsmittel wirken und während der DNA-Spaltung verbraucht werden, bis kein $\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$ -Katalysezyklus mehr möglich ist und so keine ROS mehr gebildet werden. Um diese

Hypothese zu bestätigen, wurden zwei weitere Versuche durchgeführt: Das BNPP-Assay (Abbildung 17) und ein Religationsexperiment (Abbildung 18).

Bis(4-nitrophenyl)phosphat (BNPP) ist ein aktivierter Ester, der es erlaubt, hydrolytische DNA-Spaltung unter vereinfachten Bedingungen in Form eines UV/Vis-Experiments zu untersuchen. Während das Ausgangsmaterial BNPP eine Absorption bei ca. 230 nm zeigt, absorbiert das Spaltungsprodukt 4-Nitrophenolat (NP) bei ca. 400 nm.^[83] Die Komplexe **K3**, **K4** und **K6** wurden für zwei Tage mit BNPP inkubiert und die Inkubationslösungen schließlich über UV/Vis-Spektroskopie analysiert. Als positive Kontrolle wurde durch Phosphodiesterase I gespaltenes BNPP verwendet. Wie Abbildung 17 zeigt, führt keiner der untersuchten Komplexe zum Auftreten einer Absorption bei 400 nm, so dass hydrolytische DNA-Spaltung durch die Komplexe **K3**, **K4** und **K6** ausgeschlossen werden kann.

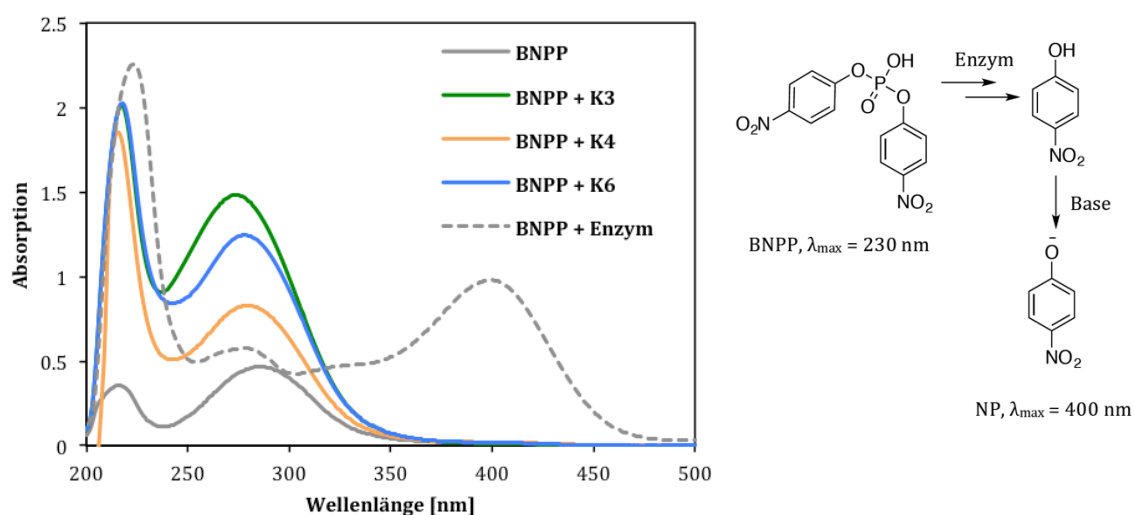


Abbildung 17: Links: Absorptionsspektren von BNPP (0.08 mM) in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4) nach 48-stündiger Inkubation mit den Komplexen **K3**, **K4** und **K6** (0.4 mM) und Phosphodiesterase I (0.05 u); Rechts: Schematische Darstellung der BNPP-Spaltung.

Die hydrolytische DNA-Spaltung konnte zusätzlich durch die Durchführung eines Religationsexperiments mit T4 Ligase ausgeschlossen werden. Die erfolgreiche enzymatische Religation von Form II-DNA zur *supercoiled* Form kann als Beweis des hydrolytischen Spaltmechanismus verwendet werden, da Ligasen oxidativ gesplattene DNA nicht wieder zusammenfügen können.^[20]

Für das Religations-Assay wurde die durch die Komplexe generierte Form II-DNA aus dem Gel extrahiert und anschließend mit T4 Ligase inkubiert und erneut über Agarose-Gelelektrophorese analysiert (Abbildung 18). Da für keinen der untersuchten Komplexe das Wiederauftreten von Form I-DNA nachgewiesen werden konnte, ist der hydrolytische Spaltmechanismus auszuschließen.

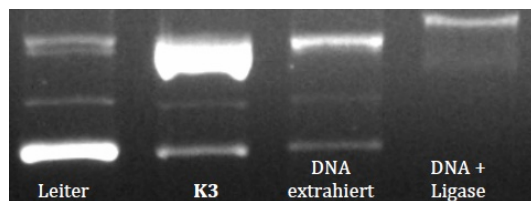


Abbildung 18: Religationsexperiment für **K3**.

2.3.5 Oxacyclen-Komplexe: Elektrochemische Untersuchungen

Wie durch die Quenchversuche nachgewiesen werden konnte, wird die DNA-Spaltung der Oxacyclenkomplexe durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) herbeigeführt.

Die Fähigkeit der makrozyklischen Komplexe, ROS über ihre Redoxchemie zu bilden, ist hierbei direkt von ihrer Fähigkeit abhängig, zwischen Oxidationsstufen zu wechseln ($\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$).^[84]

Um Einblick in die an der DNA-Spaltung beteiligte Redoxchemie zu erhalten, wurden elektrochemische Messung von Dr. NAINA DEIBEL und MAGARETHE VAN DER MEER (AG SARKAR, FU Berlin, Deutschland) durchgeführt (Abbildung 19).

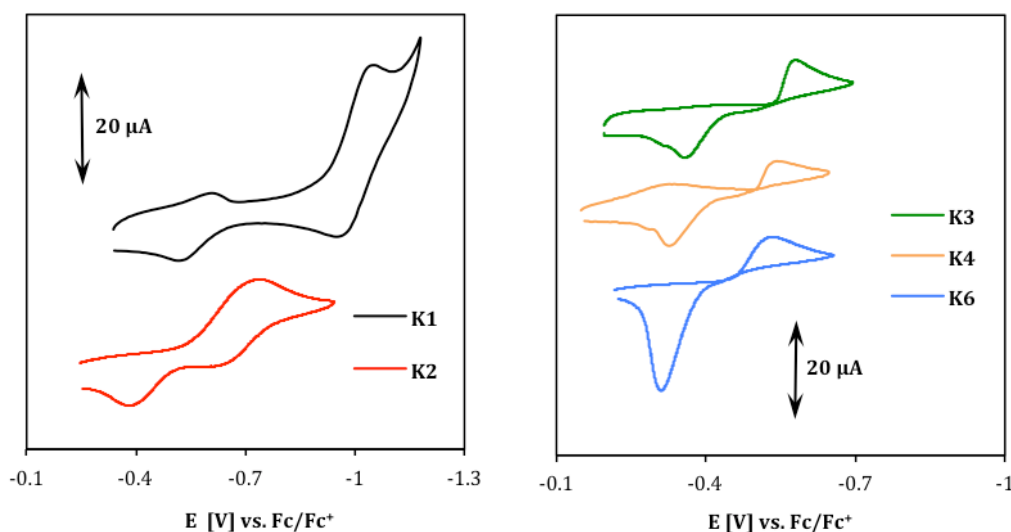


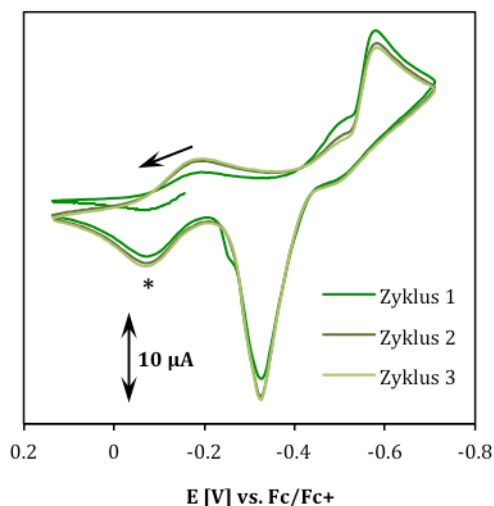
Abbildung 19: Cyclovoltammogramme der Komplexe **K1** und **K2** (links) und **K3**, **K4** und **K6** (rechts) in 0.1 M KCl-Lösung bei 100 mV/s und Raumtemperatur.

Die Cyclovoltammogramme der Komplexe **K1** bis **K4** und **K6** zeigen Einelektronenreduktionswellen, die der irreversiblen Reduktion von $\text{Cu}(\text{II})$ zu $\text{Cu}(\text{I})$ zugeordnet werden können. Die Reduktions- sowie Reoxidationspotentiale sind in Tabelle 6 aufgelistet. Es zeigt sich, dass sich die Komplexe mit steigender Anzahl an Sauerstoffatomen leichter reduzieren lassen. An der Welle für die Reoxidation kann außerdem abgelesen werden, dass mit steigender Anzahl an Sauerstoffatomen die Affinität der Liganden zu Kupfer(I) abnimmt und so Kupfer(I) freigesetzt wird.

Tabelle 6: Reduktions- und Reoxidationspotentiale der Komplexe **K1** bis **K4** und **K6**.

	E_{red} [V]	E_{ox} [V]
K1	-1.00	-0.50
K2	-0.74	-0.38
K3	-0.58	-0.36
K4	-0.54	-0.32
K6	-0.53	-0.32

Um diese Hypothese zu prüfen, wurde das Cyclovoltammogramm des Komplexes **K3** mehrfach gescannt (Abbildung 20) und so gezeigt, dass die Welle bei -0.1 V (*) weiter anwächst. Dieser Effekt ist der Freisetzung von Kupfer(I) geschuldet. Die DNA-Spaltung bzw. die Bildung der ROS wird also womöglich nicht durch den eigentlichen Komplex, sondern durch „freie“ Kupferionen katalysiert. Da die Affinität des Liganden für Kupfer(I) laut dem HSAB-Prinzip von **K1** bis **K6** abnimmt, könnte dieser Effekt auch die Steigerung der DNA-Spaltaktivität mit steigender Anzahl an Sauerstoffatomen erklären.

Abbildung 20: Mehrfache Messung des Voltammogramms von Komplex **K3** in 0.1 M KCl-Lösung bei 50 mV/s.

Dennoch muss an dieser Stelle auf Unterschiede in den Elektronentransferprozessen hingewiesen werden: Während die elektrochemische Reduktion durch einen *outer-sphere* Prozess beschrieben wird, handelt es sich bei der Reduktion von Sauerstoff durch Kupfer(I) um einen *inner-sphere* Prozess. Das bedeutet, dass sich die DNA-Spaltaktivität nicht notwendigerweise mit den Reduktionspotentialen korrelieren lassen muss.^[85] Nichtsdestotrotz kann eine Korrelation zwischen der Anzahl an Sauerstoffatomen, der Spaltaktivität und den Redoxpotentialen beobachtet werden.

Die elektrochemischen Messungen tragen zudem zu einer weiteren Erklärung der Spaltaktivität der Komplexe **K3**, **K4** und **K6** ohne Zusatz eines Reduktionsmittels bei (vgl.

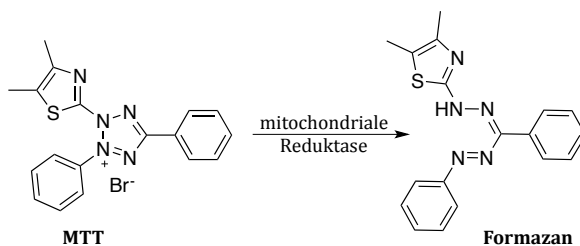
Kapitel 2.3.4): So legen die Reduktionspotentiale ($E^{\text{red}} = -0.58$ bis -0.53 V) die Möglichkeit nahe, dass die Kupfer(II)-Komplexe die DNA direkt – ohne zwischengeschaltete reaktive Sauerstoffspezies – oxidieren können. Hierbei beträgt das Oxidationspotential der Guaninbasen unter physiologischen Bindungen $E^{\text{ox}} = 0.81$ V.^[86]

2.3.6 Oxacyclen-Komplexe: Zytotoxizität

Um zu untersuchen, ob eine Korrelation zwischen DNA-Spaltaktivität und Zytotoxizität besteht, wurde ein MTT-Test durchgeführt (vgl. Box 3).

Box 3: Zytotoxizitätstest

Über den sogenannten MTT-Test kann die Überlebensrate von Zellen festgestellt werden.^[87] Das membranängige und wasserlösliche 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid-Salz (kurz MTT) wird von mitochondrialen Reduktasen lebender Zellen metabolisiert und in lilafarbene Formazankristalle umgewandelt. Diese sind unlöslich und akkumulieren daher in der Zelle.



Nach beendetem Versuch werden die mit MTT behandelten Zellen lysiert, die Formazankristalle durch Zugabe von DMSO gelöst und spektroskopisch durch Messung ihrer Absorption bei 550 nm quantifiziert. Hierbei ist die Menge des Formazans direkt proportional zur Anzahl an lebenden, proliferierenden Zellen.

Der MTT-Test eignet sich besonders gut für die Untersuchung der toxischen Wirkung von Substanzen auf Zellen. So kann durch einen Vergleich mit unbehandelten Krebszellen die Überlebensrate von behandelten Zellen direkt festgestellt und quantifiziert werden.

Hierfür wurden A549-Zellen (Bronchialkarzinom) mit unterschiedlichen Konzentrationen für zwei Tage inkubiert und anschließend ihre Überlebensrate im Vergleich zu unbehandelten Zellen festgestellt. Selbst bei hohen Konzentrationen von 100 μM konnte keine nennenswerte Zytotoxizität festgestellt werden (Abbildung 21).

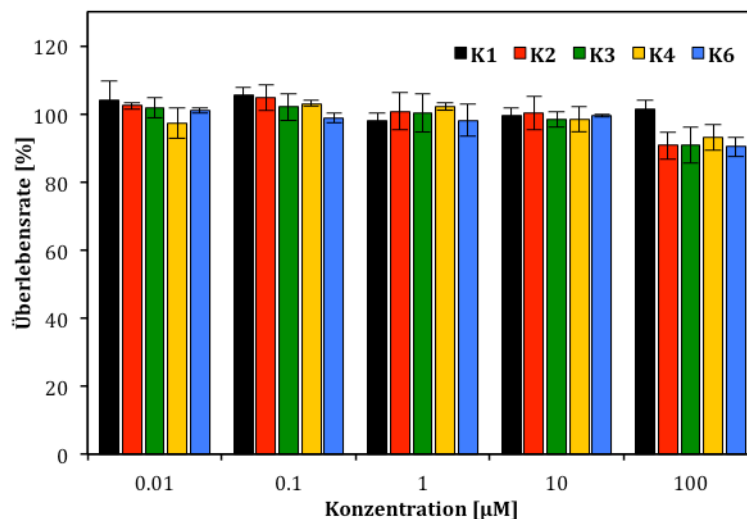


Abbildung 21: Zytotoxische Wirkung der Komplexe **K1** bis **K4** und **K6** auf A549-Zellen bei 48-stündiger Inkubation.

Es bleibt also festzustellen, dass trotz erhöhter Spaltaktivitäten keine zytotoxische Wirkung der Komplexe **K1** bis **K4** und **K6** auf Zellen eines Bronchialkarzinoms vorliegt. Als Ursache für dieses Verhalten könnte eine schlechte Zellinternalisierung oder Deaktivierung der Komplexe durch Reaktion mit dem Zellmedium in Frage kommen. Letzterer Punkt kann für die Komplexe **K1** und **K2** jedoch nach Betrachtung der Stabilitätskonstanten ($\log K = 23.3$ bzw. 15.85 ; vgl. Tabelle 4) ausgeschlossen werden. Für die Komplexe **K3**, **K4** und **K6**, bei denen die Stabilitätskonstante kleiner als 9 ist, erscheint eine Reaktion mit dem Zellmedium und dadurch die Inaktivierung der Komplexe allerdings möglich. Sie könnten beispielsweise durch reduktive Bestandteile des Zellmediums zu den labilen Kupfer(I)-Komplexen reduziert werden.

2.4 Heteroatomaustausch: Thiacyclen-Komplexe

Um den Effekt des Heteroatomaustausches auf die Redoxaktivität und die Nukleaseaktivität des Kupfer(II)cyclen-Komplexes **K1** zu untersuchen, wurden sukzessive die Stickstoffatome des Cyclenliganden gegen zudem Schwefel ausgetauscht (Abbildung 6 unten). Hierbei mussten zunächst die Liganden **L8** bis **L10** und **L12** dargestellt werden, **L7** wurde bereits im Rahmen von Voruntersuchungen dargestellt und war daher bereits im Labor vorhanden. [12]aneS₄ **L10** wurde kommerziell bezogen.

2.4.1 Synthese

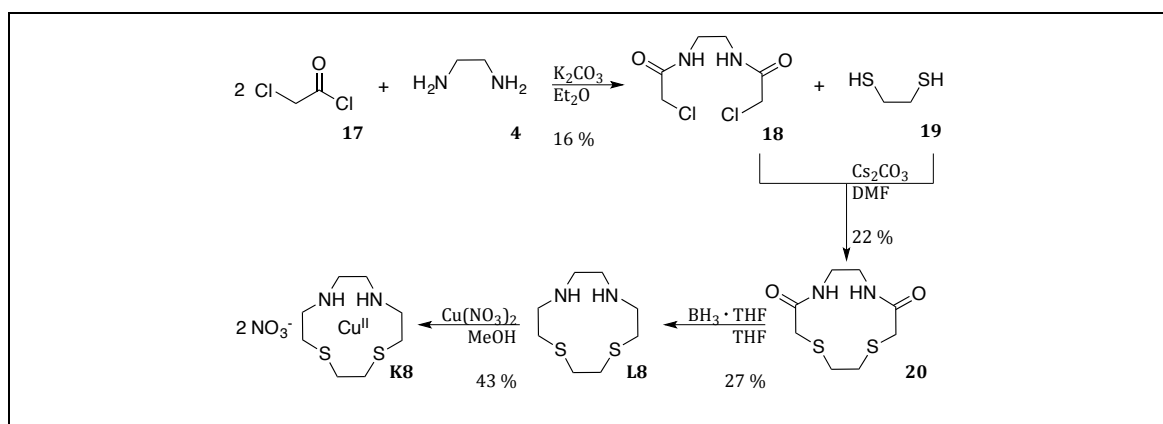
2.4.1.1 [Cu([12]aneN₃S)] (**K7**)

Die Synthesevorschrift für den Komplex **K7** wurde bereits im Rahmen der Vorarbeiten beschrieben und publiziert. Sie wird daher an dieser Stelle nicht erneut aufgeführt.^[56]

2.4.1.2 [Cu([12]aneN₂S₂)] (**K8**)

Der Ligand **L8**, 1,4-Dithia-7,10-diazacyclododecan oder [12]aneN₂S₂, wurde in einer dreistufigen Synthese dargestellt (Schema 8). Hierbei wurde nach einer Synthesevorschrift von SCHRÖDER vorgegangen.^[88]

N,N'-(Ethan-1,2-diyl)bis(2-chloracetamid) (**18**) wurde mit Ethandithiol (**19**) unter Hochverdünnung zum Amid **20** zyklisiert. Anders als bei der Synthese der Oxacyclenderivate wurde bei dieser Synthese nicht von tosylgeschützten Edukten Gebrauch gemacht, sondern Chlorid-substituierte Amide als Ausgangsmaterial verwendet. Dieses Vorgehen erlaubt es, den ungünstigen Entschützungsprozess durch eine einfache Reduktion des Dilactams **20** zu ersetzen.

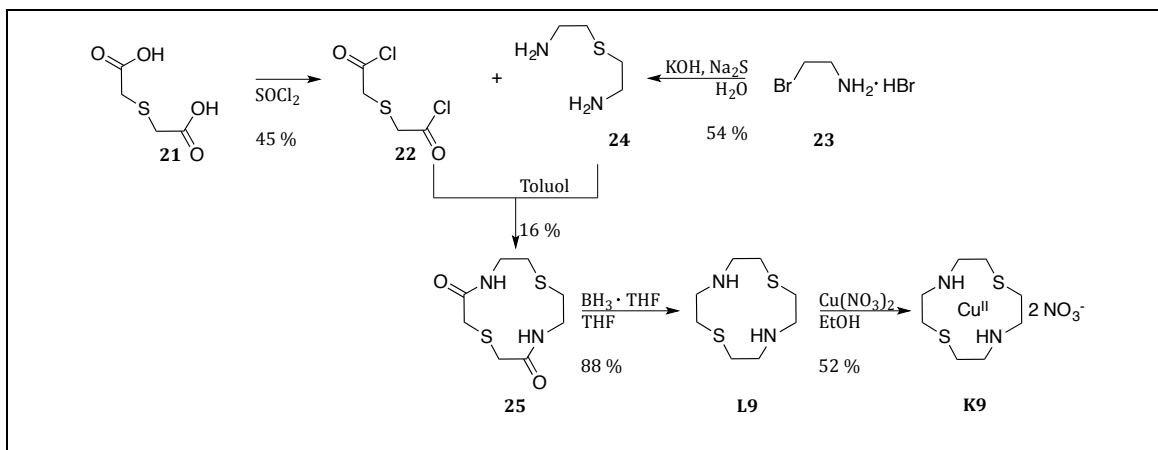


Schema 8: Synthese von [Cu([12]aneN₂S₂)] (**K8**).

Die Umsetzung einer methanolischen Ligandlösung mit einer äquimolaren Kupfersalzlösung lieferte schließlich den Komplex **K8** in mäßiger Ausbeute.

2.4.1.3 $[Cu([12]aneNSNS)]$ (**K9**)

Der Ligand **L9**, 1,7-Dithia-4,10-diazacyclododecan oder [12]aneNSNS, wurde in vier Stufen dargestellt (Schema 9). Die Synthese wurde hierbei analog zu der von PARKER vorgestellten Methode durchgeführt.^[89]



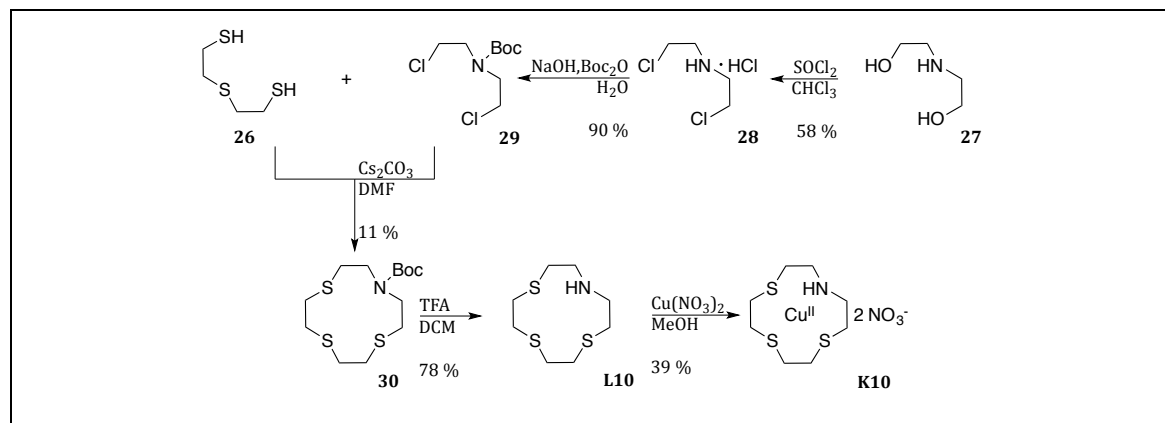
Schema 9: Synthese von $[Cu([12]aneNSNS)]$ (**K9**).

Anders als bei der Synthese der regioisomeren Verbindung [12]aneN₂S₂ **L8**, bei der ein Chlorid-substituiertes Amid als Baustein diente, wurde **L9** durch Zyklisierung eines Carbonsäurechlorids mit einem Amin erhalten. Das Amin wurde hierbei im Überschuss eingesetzt, um den freiwerdenden Chlorwasserstoff als Base abzufangen. Die schlechte Ausbeute ist dem Umstand geschuldet, dass anstelle der nötigen zwei Äquivalente Base zum Abfangen des Chlorwasserstoffs versehentlich nur 1.5 Äquivalente verwendet wurden. Die Reduktion des Lactams lieferte den Liganden **L9** in guter Ausbeute.

Der Komplex **K9** wurde durch Umsetzung einer ethanolischen Ligandlösung mit einer äquimolaren Kupfernitratlösung in Ethanol erhalten.

2.4.1.4 $[Cu([12]aneNS_3)]$ (**K10**)

Die Synthese des Liganden **L10**, 1,4,7-Trithia-10-azacyclododecan oder [12]aneNS₃, wurde analog zu der von SCHRÖDER publizierte Methode durchgeführt (Schema 10).^[88] Hierfür wurde 2,2'-Thiodiethanthiol (**26**) mit dem Dichlorid **29** unter Hochverdünnung und unter Zusatz von Cäsiumcarbonat in DMF zyklisiert. Die gewünschte Verbindung **30** wurde in einer geringen Ausbeute von 11 % erhalten, wobei der Grund für die Diskrepanz gegenüber der Literatursausbeute von 55 % nicht klar ist. Die anschließende Boc-Entschützung wurde ebenfalls analog zu der SCHRÖDER-Vorschrift durchgeführt und lieferte den freien Liganden [12]aneNS₃ **L10** in 78 % Ausbeute. Diese entspricht der Literatursausbeute.

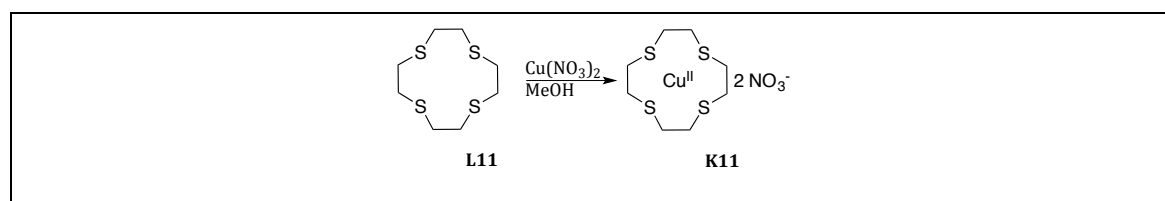


Schema 10: Synthese von [Cu([12]aneNS₃)] (**K10**).

Der Komplex **K10** wurde durch Reaktion einer methanolischen Kupfersalzlösung mit einer methanolischen Ligandlösung in mäßiger Ausbeute erhalten.

2.4.1.5 [Cu([12]aneS₄)] (**K11**)

Der Komplex **K11** sollte ausgehend von dem kommerziell bezogenen zyklischen Thioether **L11** hergestellt werden. Analog zu den anderen Komplexsynthesen wurde hierbei eine methanolische Ligandlösung mit einer methanolischen Kupfersalzlösung umgesetzt. Der ausgefallene hellblaue Feststoff wurde getrocknet und mittels Elementaranalyse und ESI-MS untersucht. Anstelle von Komplex **K11** wurde eine Kupfer(I)-Spezies unbekannter Zusammensetzung erhalten. Ein Blick auf Tabelle 9 verrät, dass die Stabilitätskonstante log*K* des Kupfer(II)-Komplexes **K11** zwischen 3 und 4 liegt, während die des Kupfer(I)-Komplex viel höher ist und ca. 16 beträgt. Es ist daher zu erwarten, dass der Kupfer(II)-Komplex nur schwierig zu synthetisieren ist. Der Kupfer(I)-Komplex hingegen ist thermodynamisch begünstigt. Da alle anderen Komplexe für die DNA-Spaltung als Kupfer(II)-Spezies eingesetzt wurden, wurde darauf verzichtet, den Komplex **K11** zu untersuchen. Weitere Versuche, den Komplex darzustellen, wären daher nicht sinnvoll gewesen.

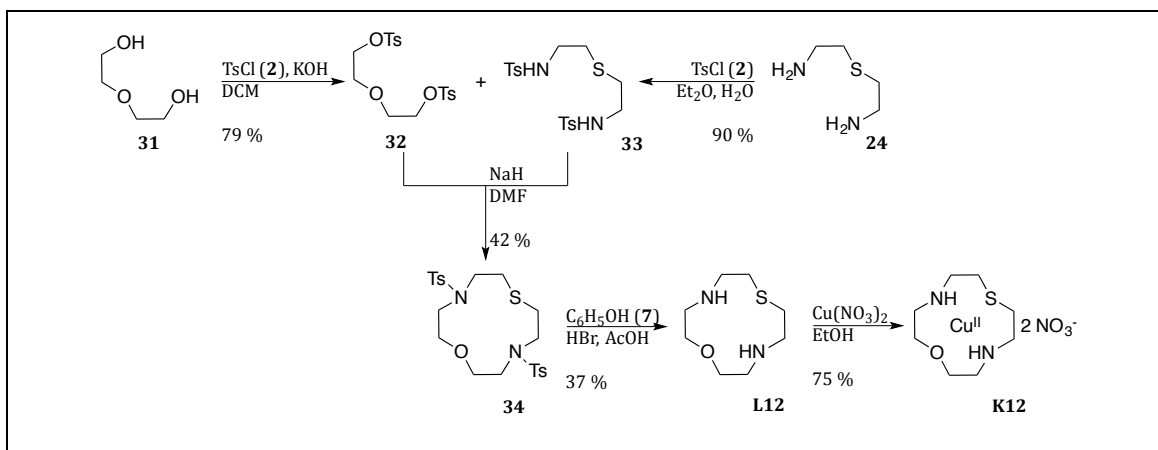


Schema 11: Erfolgreiche Synthese von [Cu([12]aneS₄)] (**K11**).

2.4.1.6 [Cu([12]aneNONS)] (**K12**)

1-Oxa-7-thia-4,10-diazacyclododecan (**L12**), kurz auch [12]aneNONS oder Oxathiacyclen, wurde analog zu einer Vorschrift von HAMBLEY *et al.* synthetisiert.^[90] Hierbei wurde die Synthesevorschrift leicht verändert: Anstatt das isolierte Natriumsalz der Verbindung **33** zu verwenden, wurde das Natriumsalz zunächst *in situ* dargestellt. Dann erfolgte die

Zyklisierung erneut analog zu der Zyklisierung des Oxacyclens **L3** unter Hochverdünnung in DMF. Die Ausbeute in Höhe von 42 % ist nur etwa halb so groß wie die Literaturausbeute, möglicherweise hängen die Ausbeuteverluste mit der direkten Umsetzung des Natriumsalzes von Verbindung **33** zusammen. Die Isolation und Aufreinigung des Natriumsalzes könnte die Ausbeute verbessern. Die Entschützung wurde in einer Mischung aus Eisessig und Bromwasserstoffsäure durchgeführt und lieferte den freien Makrozyklus in einer Ausbeute von 37 %. Die Ausbeute beträgt ungefähr das Doppelte der Literaturausbeute.



Schema 12: Synthese von $[\text{Cu}([\text{12}]\text{aneN}_2\text{OS})]$ (**K12**).

Der Komplex **K12** wurde durch Umsetzung einer ethanolischen Lösung des frisch sublimierten Liganden mit einer äquimolaren ethanolischen Salzlösung in guter Ausbeute erhalten.

2.4.2 Charakterisierung und Strukturaufklärung

Die Komplexe **K7** bis **K10** und **K12** wurden über Elementaranalyse, UV/Vis-Spektroskopie (Abbildung 7; Tabelle 1), sowie Massenspektrometrie charakterisiert (vgl. Experimenteller Teil für ESI-MS und C,H,N-Analyse). Zusätzlich konnten über langsame Diffusion von Diethylether in eine gesättigte methanolische Komplexlösung geeignete Einkristalle für die Strukturaufklärung der bisher nicht beschriebenen Komplexe **K8** und **K12** erhalten und mittels Röntgenstrukturanalyse vermessen werden.

In Abbildung 22 sind die Absorptionsbanden der d-d-Übergänge der Komplexe **K1**, **K7-K10** und **K12** dargestellt. Absorptionsmaxima λ_{max} und zugehörige Extinktionskoeffizienten ϵ sind in Tabelle 7 aufgelistet.

Während sich für die Oxacyclenkomplexe ein klarer Trend mit steigender Anzahl an Heteroatomen zeigt (vgl. Kapitel 2.3.2), ist dieser für den Austausch von Stickstoff gegen Schwefel weniger stark ausgeprägt. Es zeigt sich mit steigender Anzahl an Schwefelatomen eine leichte Rotverschiebung und eine Verdopplung des Extinktionskoeffizienten. Die

stärkere Absorption kann hierbei über Ligand-Metall-*Charge-Transfer* (LMCT)-Beteiligung erklärt werden. Aufgrund seiner gegenüber Sauerstoff ausgedehnteren Orbitale ist Schwefel ein besserer Sigmadonor.^[91]

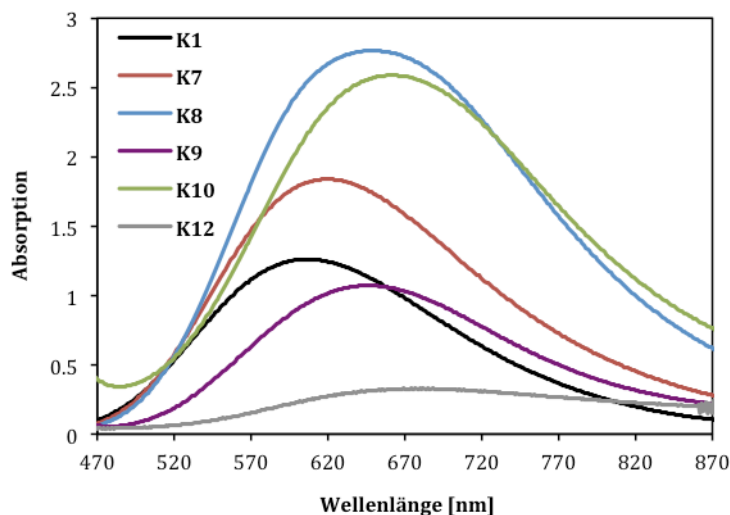


Abbildung 22: UV/Vis-Spektren der Komplexe **K1** und **K7** bis **K10** (5 mM) in 50 mM Tris-HCl-Puffer (pH 7.4).

Eine Ausnahme zu dem oben beschriebenen Phänomen bilden die in *trans*-Position substituierten Komplexe [Cu([12]aneNSNS)] **K9** und [Cu([12]aneNONS)] **K12**. Während der Extinktionskoeffizient für den Komplex **K9** die gleiche Größenordnung wie der Extinktionskoeffizient der Ausgangsverbindung [Cu([12]aneN₄)] **K1** aufweist, ist der Extinktionskoeffizient des Komplexes [Cu([12]aneNONS)] **K12** etwa nur ein Viertel so groß. Die spektroskopischen Eigenschaften des Komplexes **K12** sind also eher durch das Sauerstoffatom als durch das Schwefelatom bestimmt.

Tabelle 7: Auflistung der maximalen Absorptionswellenlänge λ_{max} mit zugehörigen Extinktionskoeffizienten ϵ für die Komplexe **K1**, **K7** bis **K10** und **K12**.

	λ_{max} [nm]	ϵ [L mol ⁻¹ cm ⁻¹]
K1	601	236
K7	619	377
K8	652	575
K9	647	208
K10	659	497
K12	658	58

In Abbildung 23, Abbildung 24 und Abbildung 25 sind die Molekülstrukturen der Komplexe **K7**, **K8** und **K12** dargestellt. Der Komplex **K7** wurde bereits im Rahmen von Vorarbeiten vermessen und publiziert.^[56] Die kristallographischen Daten der Komplexe sind im Anhang zu finden, ausgesuchte Bindungslängen und -winkel sind in Tabelle 8 zusammengestellt. Die

Komplexe **K7** und **K8** zeigen eine verzerrt quadratisch-pyramidale Koordinationsumgebung, während der Komplex **K12** eine stark verzerrte oktaedrische Koordinationsumgebung besitzt. Die äquatoriale Ebene wird hierbei aus den Stickstoffatomen des Makrozyklus und den Sauerstoffatomen der Nitratoliganden gebildet. Die Cu-N/O-Bindungslängen sind mit ca. 2 Å gleich lang. Die beiden Spitzen des verzerrten Oktaeders bestehen aus dem Schwefel- bzw. Sauerstoffatom des Makrozyklus und weisen eine Cu(1)-S(1)-Bindungslänge von 2.5 Å und eine Cu(1)-O(7)-Bindungslänge von 2.4 Å auf. Während die Winkel in der äquatorialen Ebene noch annähernd 90° betragen (86° für S(1)-Cu(1)-N(4) bis 91° für N(4)-Cu(1)-O(14)), weicht der axiale Bindungswinkel stark von den optimalen 180° ab und beträgt nur 154.7° für den S(1)-Cu(1)-O(7)-Winkel.

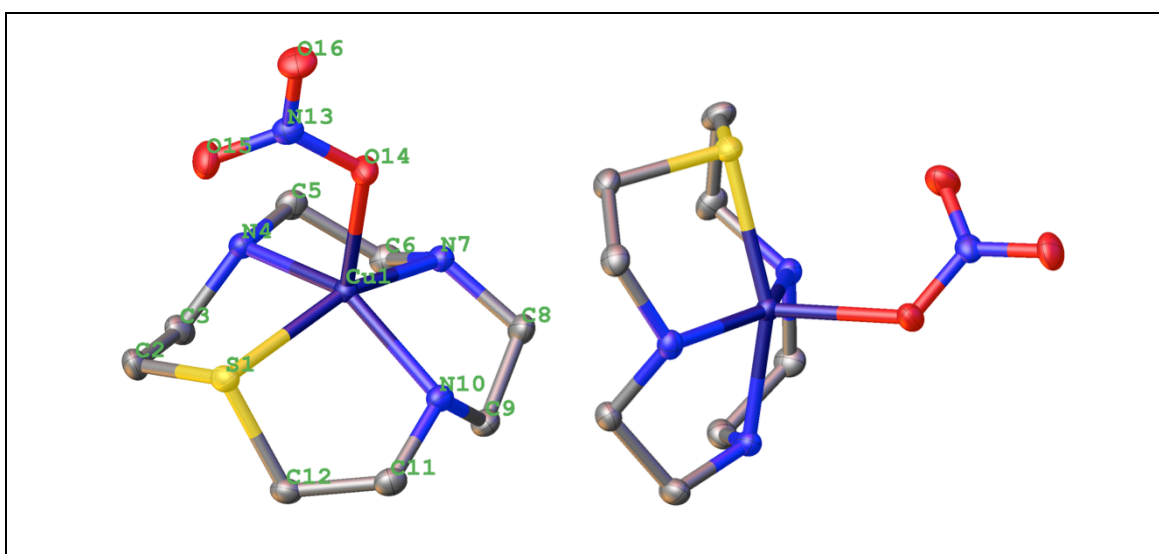


Abbildung 23: Aufsicht und Seitenansicht der Molekülstruktur des Komplexes **K7**.^[56] Zugunsten der Übersichtlichkeit wurden Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

Die Komplexe **K7** und **K8** bestehen jeweils aus CuLNO_3^+ -Kationen und einem nicht koordinierenden Nitratonion. Die Pyramidenbasis besteht aus den makrozyklischen Heteroatomen und die Pyramidenspitze aus einem Sauerstoffatom des Nitratoliganden. Beide Komplexe sind isostrukturell zur $[\text{Cu}([\text{12}] \text{aneN}_4)]$ -Stammverbindung **K1** und lassen sich somit dem Strukturtyp I (vgl. Kapitel 2.3.2) zuordnen. Die Cu-N-Bindungslänge beträgt jeweils ca. 2 Å, die Cu-S-Bindungslängen sind aufgrund des größeren Kovalenzradius von Schwefel mit ca. 2.3 Å gegenüber der Cu-N-Bindung leicht verlängert. Der Nitratoligand koordiniert in η_1 -Art, wobei die Cu(1)-O(14)-Bindung zur Pyramidenspitze 2.1 Å lang ist. Bei dem Komplex $[\text{Cu}([\text{12}] \text{aneNONS})(\text{NO}_3)_2]$ **K12** handelt es sich um einen neutralen Komplex, bei dem beide Nitrationen in η_1 -Art an das Kupferzentrum koordinieren. Der Komplex lässt sich dem Strukturtyp III zuordnen (vgl. Kapitel 2.3.2).

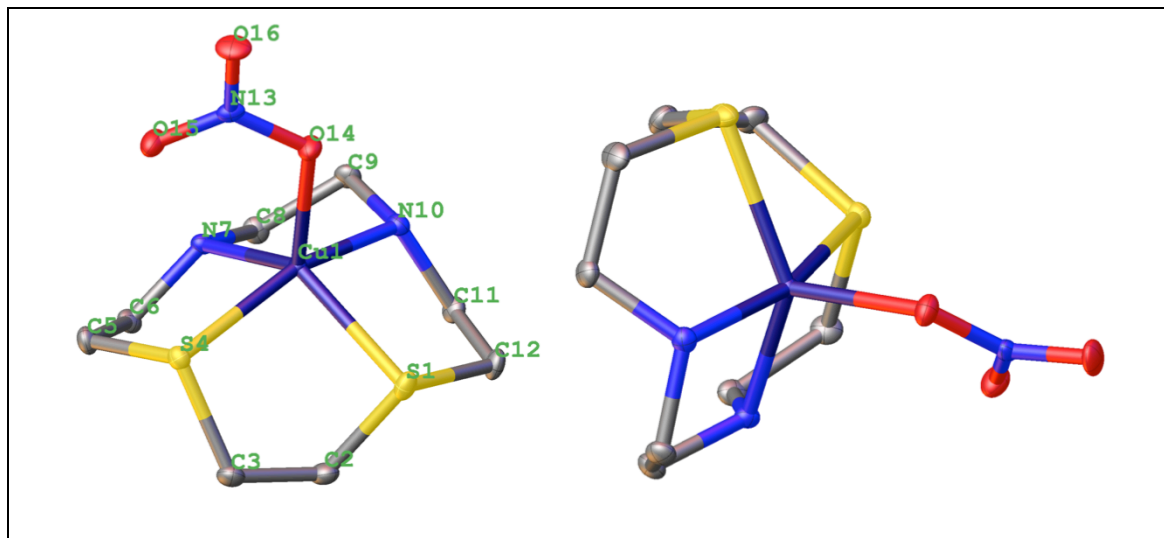


Abbildung 24: Aufsicht und Seitenansicht der Molekülstruktur des Komplexes **K8**. Zugunsten der Übersichtlichkeit wurden Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

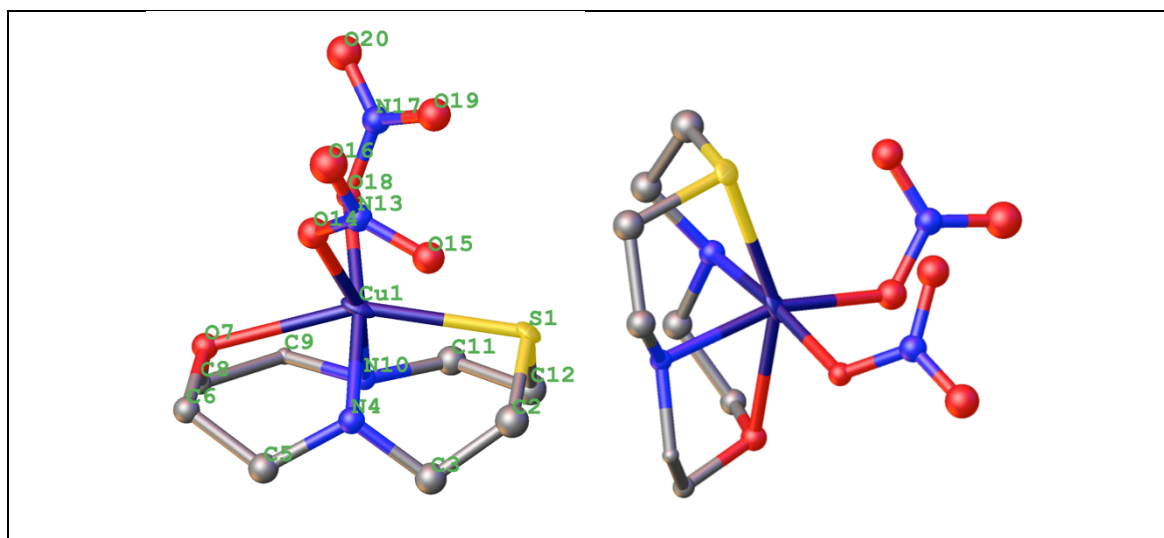


Abbildung 25: Aufsicht und Seitenansicht der Molekülstruktur des Komplexes **K12**. Zugunsten der Übersichtlichkeit wurden Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.ⁱⁱⁱ

ⁱⁱⁱ Aufgrund der geringen Qualität der Röntgenstruktur von **K12** wurde auf eine anisotrope Verfeinerung verzichtet.

Tabelle 8: Ausgesuchte Bindungslängen [Å] und Winkel [°] der Komplexe **K7**, **K8** und **K12**, X bezeichnet Heteroatome N, O oder S.

	K7		K8		K12	
Cu(1)-O(14)		2.1594(14)		2.1053(11)		1.999(18)
Cu(1)-O(18)		-		-		2.002(15)
Cu(1)-X(1)	S(1)	2.3283(14)	S(1)	2.3529(4)	S(1)	2.549(7)
Cu(1)-X(4)	N(4)	2.0184(13)	S(4)	2.3494(4)	N(4)	2.02(2)
Cu(1)-X(7)	N(7)	2.0034(13)	N(7)	2.0245(13)	O(7)	2.405(16)
Cu(1)-X(10)	N(10)	2.0435(13)	N(10)	2.0072(13)	N(10)	2.081(18)
C(2)-C(3)		1.523(2)		1.525(2)		1.50(4)
O(14)-N(13)		1.2850(17)		1.2851(18)		1.26(3)
O(14)-Cu(1)-O(18)		-		-		86.5(7)
X(1)-Cu(1)-O(14)	S(1)	101.60(4)	S(1)	108.18(3)	S(1)	115.1(5)
X(4)-Cu(1)-O(14)	N(4)	104.26(5)	S(4)	101.40(3)	N(4)	91.7(8)
X(7)-Cu(1)-O(14)	N(7)	101.88(5)	N(7)	113.14(5)	O(7)	87.2(7)
X(10)-Cu(1)-O(14)	N(10)	109.20(5)	N(10)	97.38(5)	N(10)	161.7(7)
X(1)-Cu(1)-X(4)	S(1), N(4)	87.05(4)	S(1), S(4)	85.740(15)	S(1), N(4)	86.2(6)
X(1)-Cu(1)-X(7)	S(1), N(7)	156.49(4)	S(1), N(7)	138.65(4)	S(1), O(7)	154.7(4)
X(4)-Cu(1)-X(10)	N(4), N(10)	146.52(5)	S(4), N(10)	161.19(4)	N(4), N(10)	92.2(8)
X(7)-Cu(1)-X(10)	N(7), N(10)	85.82(5)	N(7), N(10)	86.05(5)	O(7), N(10)	75.8(6)
Koordinationsumgebung	quadratisch-pyramidal		quadratisch-pyramidal		verzerrt oktaedrisch	
Quelle	Kulak ^[56]					

2.4.3 Thiacyclen-Komplexe: Komplexstabilität

Die Stabilitätskonstanten $\log K$ der schwefelhaltigen Komplexe **K7** bis **K12** sind zum großen Teil literaturbekannt und in Tabelle 9 aufgelistet.

Tabelle 9: Stabilitätskonstanten der Thiacyclenkomplexe.

Komplex	$\log K$	Methode	T [°C]	Bedingungen	Quelle
K7 (Cu^{II})	17.98	Potentiometrie	25	H ₂ O, 0.2 NaClO ₄	KIMURA ^[92]
K8 (Cu^{II})	13.95	Potentiometrie	20	H ₂ O, 0.2 M Na ₂ SO ₄	ZUBERBÜHLER ^[93]
K8 (Cu^I)	13.14	Potentiometrie	20	2% v/v MeCN, 0.2 M Na ₂ SO ₄	ZUBERBÜHLER ^[93]
K9 (Cu^{II})	11.69	Potentiometrie	20	H ₂ O, 0.2 M Na ₂ SO ₄	ZUBERBÜHLER ^[93]
K9 (Cu^I)	12.33	Potentiometrie	20	2% v/v MeCN, 0.2 M Na ₂ SO ₄	ZUBERBÜHLER ^[93]
K10 (Cu^{II})	7.93	Potentiometrie	25	H ₂ O, 0.1 M NMe ₄ NO ₃	ZACCHERONI ^[56]
K11 (Cu^{II})	3.31 – 4.34	Spektroskopie	25	H ₂ O, 0.01 – 1.0 M KNO ₃	RORABACHER ^[94]
K11 (Cu^I)	15.6	Berechnungen	25	H ₂ O, 0.1 ClO ₄ ⁻	BRADSHAW ^[95]
K12 (Cu^{II})	9.81	Potentiometrie	25	H ₂ O, 0.1 M NMe ₄ NO ₃	ZACCHERONI ^[96]

Die verwendeten Komplexe **K7** bis **K10** und **K12** sind alle um mehrere Größenordnungen stabiler als das konkurrierende Cu-Tris-System (vgl. Kapitel 2.3.3). Es ist somit auszuschließen, dass die DNA-Spaltung durch andere Kupferspezies als die untersuchten katalysiert wird.

Neben den Stabilitätskonstanten der Kupfer(II)-Komplexe sind auch viele Stabilitätskonstanten der Kupfer(I)-Komplexe bekannt. Es zeigt sich, dass mit steigendem Schwefelanteil die Stabilität der Kupfer(II)-Komplexe abnimmt, während die Stabilität der Kupfer(I)-Komplexe steigt. Diese Beobachtung lässt sich gut mit dem HSAB-Prinzip erklären: Mit steigendem Schwefelanteil wird der Ligand HSAB-weicher und komplexiert somit bevorzugt das HSAB-weiche Kupfer(I). Besonders gut lässt sich dieser Trend anhand des [Cu[12]aneS₄]-Komplexes **K11** erkennen. Der Kupfer(II)-Komplex hat einen $\log K$ -Wert zwischen 3 und 4, während der Kupfer(I)-Komplex eine Stabilitätskonstante von 15.6 aufweist. Da ein effektiver Wechsel der Oxidationsstufe für die oxidative DNA-Spaltung von entscheidender Bedeutung ist, ist es notwendig, dass sowohl der Kupfer(II)- als auch der Kupfer(I)-Komplex hinreichend stabil sind. Um einen Wechsel aus thermodynamischen Gesichtspunkten zu ermöglichen, müssen die Stabilitätskonstanten etwa gleich groß sein. Laut Tabelle 9 ist dies besonders für die regioisomeren Komplexe **K8** und **K9** möglich. Für die Komplexe **K7**, **K10** und **K12** kann keine Aussage getroffen werden.

2.4.4 Thiacyclen-Komplexe: DNA-Spaltversuche

Die DNA-Spaltversuche der Thiacyclenkomplexe **K7** bis **K10** wurden analog zu den im Kapitel 2.3.4 beschriebenen Bedingungen durchgeführt: pBR322-Plasmid-DNA wurde unter physiologischen Bedingungen in Tris-HCl-Puffer (50 mM) bei 37 °C mit den zu untersuchenden Komplexen inkubiert.

Zunächst wurde die Spaltaktivität der Thiacyclenkomplexe **K7** bis **K10** mit der Stammverbindung **K1** verglichen (Abbildung 26). Der Austausch eines der Stickstoffatome vom Cu(II)cyclen **K1** zum Cu(II)thiacyclen-Komplex **K7** führt zu einer Verdreifachung der DNA-Spaltaktivität. Wird nun ein weiteres Stickstoffatom ausgetauscht, steigt die Spaltaktivität weiter an: Komplex **K8** $[\text{Cu}([\text{12}]aneN_2S_2)(NO_3)_2]$ spaltet die DNA vollständig in Form II und generiert ca. 15 % Form III-DNA. Während der Komplex **K10** $[\text{Cu}([\text{12}]aneNS_3)(NO_3)_2]$, bei dem ein weiteres der Stickstoffatome gegen Schwefel ausgetauscht wurde, eine ähnlich hohe Spaltaktivität aufweist, spaltet das Regioisomer **K9** $[\text{Cu}([\text{12}]aneNSNS)(NO_3)NO_3]$ noch besser. Hier werden bis zu 30 % Form III-DNA generiert. Im Gegensatz zu den Oxacyclenen ist bei den Thiacyclenkomplexen der *trans*-ständige Komplex $[\text{Cu}([\text{12}]aneNSNS)]$ **K9** aktiver als der *cis*-ständige Komplex $[\text{Cu}([\text{12}]aneN_2S_2)]$ **K8**.

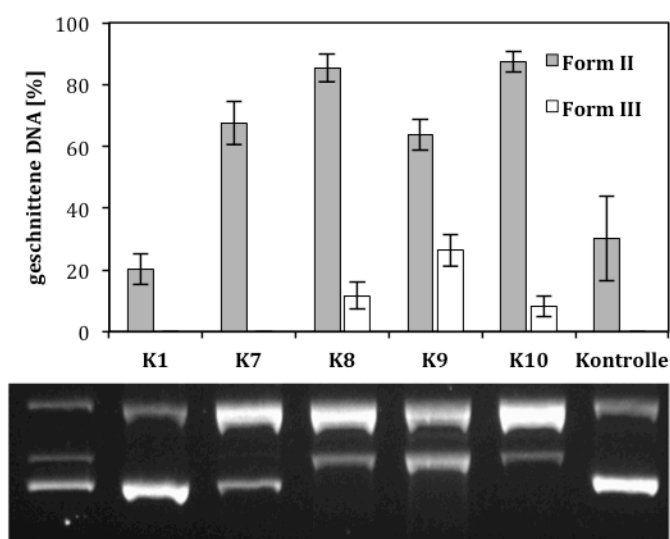


Abbildung 26: Spaltaktivität der Komplexe **K1**, **K7** und **K8** bis **K10** (0.04 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.

Ein Vergleich der in *trans*-Position ausgetauschten Cyclenkomplexe $[\text{Cu}([\text{12}]aneNONO)]$ **K4**, $[\text{Cu}([\text{12}]aneNONS)]$ **K12** und $[\text{Cu}([\text{12}]aneNSNS)]$ **K9** ist in Abbildung 27 dargestellt. Die Reihenfolge der Komplexe wurde hierbei so gewählt, dass der Sauerstoffanteil von links nach rechts fällt. Der Vergleich der Komplexe zeigt, dass mit fallendem Sauerstoffanteil auch die

DNA-Spaltaktivität sinkt: Während **K4** die DNA noch zu fast 80 % in Form III überführt, generiert **K9** nur noch um die 10 %.

Es wird darauf hingewiesen, dass bei einem Vergleich zwischen Abbildung 13, Abbildung 26 und Abbildung 27 Unterschiede in den Spaltaktivitäten der Komplexe auffallen. Ein direkter Vergleich zwischen unterschiedlichen Versuchsreihen ist nicht unproblematisch, da Versuchsbedingungen von Gel zu Gel mitunter stark abweichen können. Vergleichende Betrachtungen können nur innerhalb eines Gels gemacht werden.

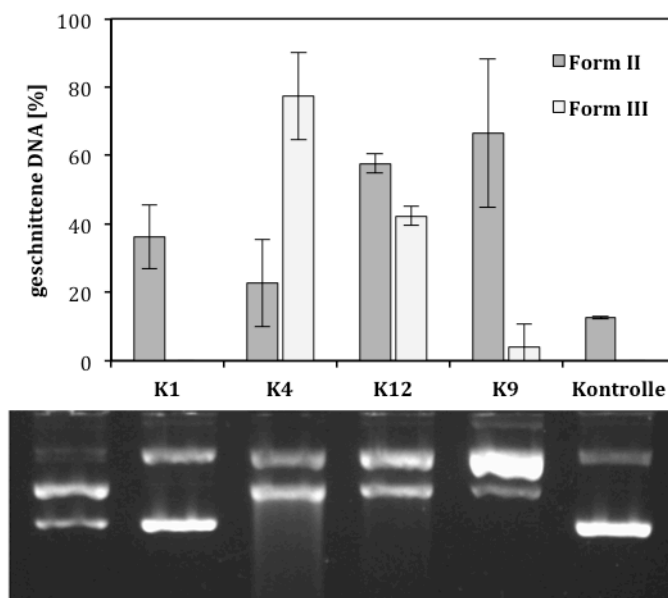


Abbildung 27: Spaltaktivität der Komplexe **K1**, **K4**, **K12** und **K9** (0.04 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.

Um den Mechanismus der DNA-Spaltung zu untersuchen, wurden Spaltversuche unter Zusatz von Radikalfängern durchgeführt. In Abbildung 28 ist das Quenchgel beispielhaft für den Komplex $[\text{Cu}([\text{12}] \text{aneN}_2\text{S}_2)]$ **K8** aufgeführt und in Tabelle 10 die Ergebnisse aller Quenchgele zusammengefasst.

In Übereinstimmung mit den Oxacyclenkomplexen zeigt sich, dass die DNA-Spaltung durch den Zusatz von DMSO und Katalase verringert wird. Bei der DNA-Spaltung handelt es sich demnach um eine oxidative Spaltung, die durch Hydroxylradikale und Peroxospezies als ROS bewirkt wird.

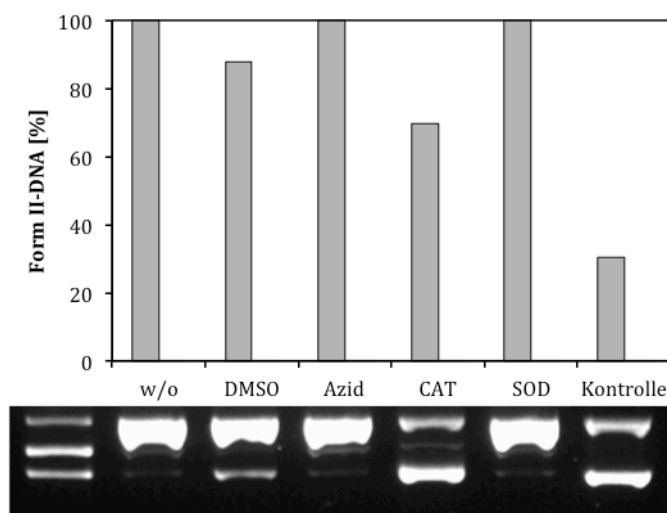


Abbildung 28: Quenichel für die Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch den Komplex **K8** (0.040 mM). Die Inkubation wurde in Tris-HCl Puffer (50 mM , $\text{pH } 7.4$), PBS (1.25X) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37°C für zwei Stunden und unter Zusatz von ROS-Fängern durchgeführt.

Tabelle 10: Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe **K7-K10** und **K12**.

		K7	K8	K9	K10	K12
DMSO	$\cdot\text{OH}$	--	-	-	--	-
NaN_3	$^1\text{O}_2$	-	k.I.	k. I.	k. I.	k. I.
CAT	$\text{O}_2^{\cdot-}$	---	--	--	---	---
SOD	$\text{O}_2^{\cdot-}$	k. I.	k. I.	k.I	+	k. I.
k. I.	keine Inhibierung		-	geringe Inhibierung		
+	erhöhte Spaltung		--	mittlere Inhibierung		
			---	starke Inhibierung		

Abschließend wurden die Komplexe auf ihre Spaltaktivität ohne Zusatz des Reduktionsmittels untersucht. Hierfür wurde die DNA für 24 Stunden unter Zusatz der Komplexe **K1**, **K7** bis **K10** und **K12** ($400 \mu\text{M}$) inkubiert. Die Ergebnisse der Messung sind in Abbildung 29 dargestellt:

Es zeigt sich, dass die Komplexe keine (**K1**, **K7** und **K8**) bzw. nur eine leicht erhöhte Spaltung (**K9**, **K10** und **K12**) ohne Zusatz des Reduktionsmittels katalysieren. Es wird angenommen, dass die Spaltung nicht nach dem hydrolytischen Mechanismus verläuft, sondern analog zu den Oxacyclenkomplexen durch Oxidation des Liganden hervorgerufen wird. Zudem ist eine direkte Oxidation der DNA-Basen durch die Kupfer(II)-Komplexe denkbar.

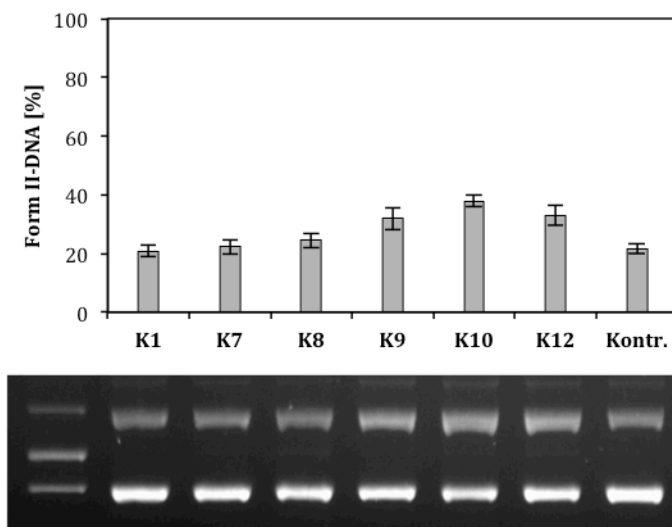


Abbildung 29: Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch die Komplexe **K1**, **K7** bis **K10** und **K12** (0.4 mM) in Tris-HCl Puffer (50 mM , $\text{pH } 7.4$) bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h ohne Zusatz externer Reduktionsmittel. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.

2.4.5 Thiacyclen-Komplexe: Elektrochemische Untersuchungen

Die Cyclovoltammogramme der Komplexe **K7** bis **K10** und **K12** zeigen Einelektronenreduktionswellen, die der Reduktion von Kupfer(II) zu Kupfer(I) zugeordnet werden können. Die Potentiale sind in Tabelle 11 aufgelistet. Im linken Teil der Abbildung 30 ist ein Vergleich der Voltammogramme der Thiacyclenkomplexe gezeigt und im rechten Teil ein Vergleich der in *trans*-Position heteroatomausgetauschten Komplexe $[\text{Cu}([\text{12}] \text{aneNSNS})]$ **K9**, $[\text{Cu}([\text{12}] \text{aneNSNO})]$ **K12** und $[\text{Cu}([\text{12}] \text{aneNONO})]$ **K4** dargestellt.

Anders als bei den Oxacyclenkomplexen ist die Reduktion der Thiacyclenkomplexe **K7** bis **K10** vollständig reversibel; selbst nach wiederholten Redoxzyklen des Komplexes **K8** wurde keine „freie“ Kupferspezies detektiert (Abbildung 31). Hier kann also davon ausgegangen werden, dass die Bildung der ROS ausschließlich durch die makrozyklischen Komplexe selbst und nicht durch andere Spezies katalysiert wird.

Eine gewisse Korrelation zwischen der DNA-Spaltaktivität, der Komplexstabilität und den Redoxpotentialen der Komplexe **K7** bis **K10** kann außerdem ausgemacht werden: Der $[\text{Cu}([\text{12}] \text{aneN}_3\text{S})]$ -Komplex **K7** hat ein Halbstufenpotential $E_{1/2}$ von 600 mV , während das Halbstufenpotential der regioisomeren dithiasubstituierten Komplexe $[\text{Cu}([\text{12}] \text{aneN}_2\text{S}_2)]$ **K8** und $[\text{Cu}([\text{12}] \text{aneNSNS})]$ **K9** nur etwa die Hälfte bzw. ein Drittel des Potentials von **K7** beträgt. Diese Komplexe können somit effektiver zu den entsprechenden Kupfer(I)-Spezies reduziert werden, daher effektiver ROS bilden und sind demnach auch effektivere DNA-Spalter. Die Stabilitätskonstanten ihrer Kupfer(II)- und Kupfer(I)-Komplexe sind annähernd gleich groß (**K8**: $\log K = 13.94 \text{ Cu(II)}$ und 13.14 Cu(I) ; **K9**: $\log K = 11.69 \text{ Cu(II)}$ und 12.33 Cu(I) ; vgl. Tabelle

9) und erlauben somit auch einen Wechsel zwischen den Oxidationsstufen (Cu(II)/Cu(I)), der aufgrund der Instabilität der Kupfer(I)-Spezies für die Oxacyclenkomplexe unmöglich war.

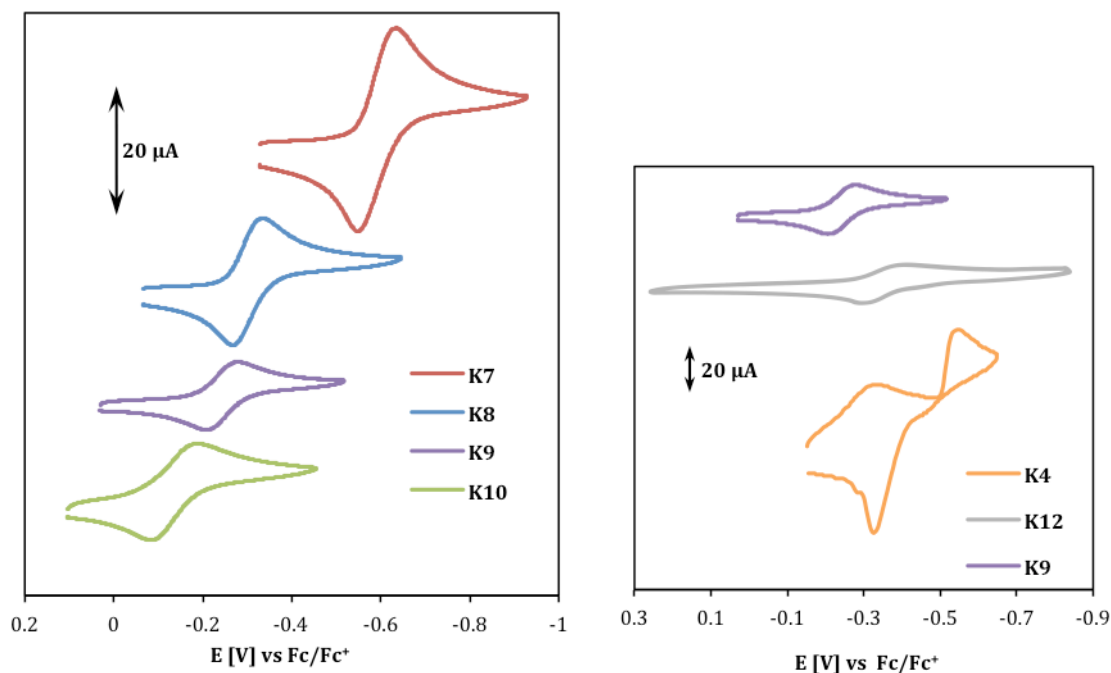


Abbildung 30: Links: Cyclovoltammogramme der Komplexe **K7** bis **K10** in 0.1 M KCl Lösung bei 100 mV/s und Raumtemperatur; Rechts: Cyclovoltammogramme der Komplexe **K4**, **K9** und **K12** in 0.1 M KCl-Lösung bei 100 mV/s.

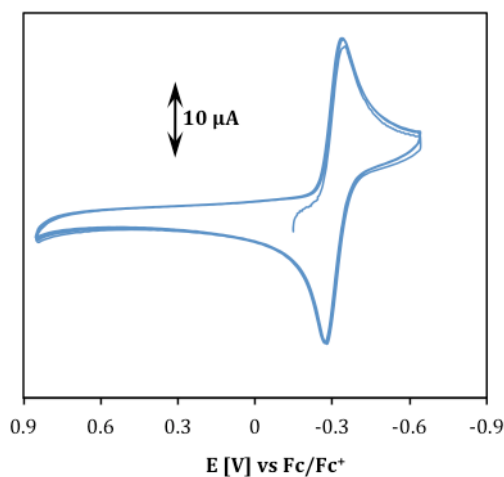


Abbildung 31: Mehrfache Messung des Cyclovoltammogramms des Komplexes **K8** in 0.1 M KCl Lösung bei 100 mV/s und Raumtemperatur.

Das Halbstufenpotential des Komplexes [Cu([12]aneNS₃)] **K10** beträgt -140 mV. Der Komplex ist demnach noch leichter zu reduzieren als die Komplexe **K8** und **K9** und sollte daher eine noch bessere Nuklease sein. Es zeigt sich jedoch, dass die Spaltaktivität trotz niedrigerem Reduktionspotential nicht wie erwartet ansteigt, sondern in der Größenordnung der Komplexe **K8** und **K9** verbleibt. Es ist davon auszugehen, dass der Kupfer(I)-Komplex des Liganden **L10** stabiler als der entsprechende Kupfer(II)-Komplex ($\log K = 7.93$; vgl. Tabelle 9)

ist. Auch wenn keine Stabilitätskonstanten des Kupfer(I)-Komplexes bekannt sind, wird diese These durch den in dieser Arbeit nicht weiter untersuchten Komplex $[\text{Cu}([\text{12}]\text{aneS}_4)]$ **K11** untermauert: Hier zeigt der Kupfer(II)-Komplex eine Stabilitätskonstante $\log K = 3.31$ bis 4.34, während der Kupfer(I)-Komplex mit einer Stabilitätskonstante von 15.6 viel stabiler ist. Für einen solchen Komplex ist die Reoxidation zur Kupfer(II)-Spezies thermodynamisch ungünstig und die Bildung der für die DNA-Spaltung benötigten ROS somit ineffektiv.

Tabelle 11: Potentiale der Komplexe **K7** bis **K10** und **K12**.

	$E_{1/2}$ [V]
K7	-0.60
K8	-0.31
K9	-0.23
K10	-0.14
K12	-0.35

Neben den Thia- und Oxacyclenkomplexen wurde auch der $[\text{Cu}([\text{12}]\text{aneNSNO})]$ -Komplex **K12** elektrochemisch untersucht. Der Komplex zeigt eine komplett reversible Reduktion mit einem Halbstufenpotential von $E_{1/2} = -350$ mV. Wie bereits im Kapitel 2.4.4 diskutiert, liegt die DNA-Spaltaktivität genau zwischen dem *trans*-Thiacyclenkomplex **K9** und dem *trans*-Oxacyclenkomplex **K4**. Aufgrund der reversiblen Reduktion kann davon ausgegangen werden, dass die an der Spaltung beteiligten ROS nicht durch eine „freie“ Kupferspezies, sondern durch den Komplex selbst gebildet werden. Die gegenüber **K9** erhöhte Spaltaktivität (die aufgrund des höheren Halbstufenpotentials nicht vermutet wurde) mag durch eine begünstigte Reoxidation begründet sein: Während das Schwefelatom eher den Kupfer(I)-Komplex stabilisiert, stabilisiert das Sauerstoffatom den Kupfer(II)-Komplex, so dass die optimale Balance zwischen den HSAB-harten und -weichen Eigenschaften des Liganden bezüglich des Kupfer(II)/Kupfer(I)-Systems gefunden wurde.

2.5 Heteroatomaustausch: Fazit

Um den Einfluss des Heteroatomaustauschs auf die DNA-Spaltaktivität [Cu([12]aneN₄)]-analoger Komplexe zu untersuchen, wurde eine Reihe von Oxa- und Thiacyclenkomplexen dargestellt und auf ihre Eigenschaft hin untersucht, DNA zu spalten. Die Synthese von [Cu([12]aneNO₃)] **K5** und [Cu([12]aneS₄)] **K11** war nicht erfolgreich (Abbildung 32).

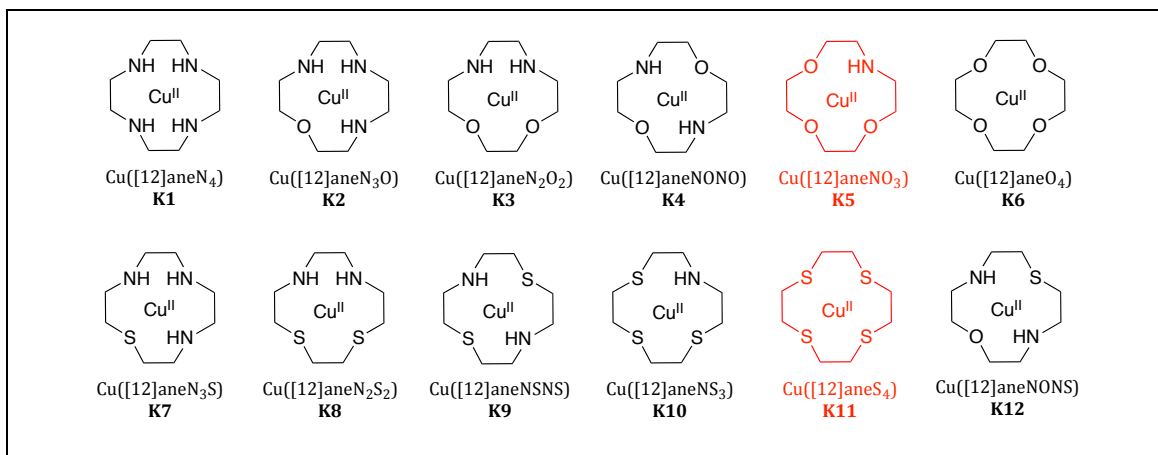


Abbildung 32: Strukturen der synthetisierten Oxa- und Thiacyclen-Komplexe **K1** bis **K12**, rot markiert sind die Komplexe, die im Rahmen dieser Arbeit nicht synthetisiert werden konnten.

Für die Oxacyclenkomplexe **K2** bis **K4** und **K6** konnte gezeigt werden, dass die DNA-Spaltaktivität vom Sauerstoffanteil, der Komplexgeometrie und der Komplexstabilität abhängt. Es wurde konnte nachgewiesen werden, dass die Komplexe **K2** und **K4** und die Komplexe **K3** und **K6** eine ähnliche Koordinationsumgebung und vergleichbare DNA-Spaltaktivität aufweisen. Hierbei waren die Komplexe **K3** und **K6** die besten DNA-Spalter. Quenchversuche haben gezeigt, dass der Mechanismus der DNA-Spaltung über die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) verläuft und somit oxidativer Natur ist. Da die Fähigkeit der makrozyklischen Komplexe, ROS über ihre Redoxchemie zu bilden, direkt von ihrer Fähigkeit abhängig ist zwischen Oxidationsstufen zu wechseln (Cu^{II}/Cu^I), wurde die Elektrochemie der Komplexe näher untersucht. Über cyclovoltammetrische Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Reduktion der Kupfer(II)- zu den Kupfer(I)-Komplexen irreversibel verläuft und aufgrund der Instabilität der Kupfer(I)-Komplexe Kupfer freigesetzt wird. Vermutlich ist nicht der makrozyklische Komplex selbst, sondern die freigesetzte Kupferspezies katalytisch aktiv. Demnach setzten die Komplexe **K3** und **K6** aufgrund ihrer geringen Stabilität am effektivsten Kupfer frei und sind aufgrund der hohen Spaltaktivität von „freiem Kupfer“ die aktivsten DNA-Spalter.

Im Gegensatz zu den Oxacyclenkomplexen bilden die Thiacyclenkomplexe **K7** bis **K10** sowohl stabile Kupfer(II)- als auch Kupfer(I)-Komplexe aus und können elektrochemisch reversibel

reduziert werden. Auch sie spalten die DNA nach dem oxidativen Mechanismus. Die katalytisch aktive Spezies ist hier der Komplex selbst – es kommt nicht zur Freisetzung von unkomplexiertem Kupfer. Die DNA-Spaltaktivität steigt zunächst mit steigendem Schwefelanteil an und hat ihr Maximum bei den regioisomeren Dithiakomplexen **K8** und **K9**. Die Stabilität ihrer Kupfer(II)- und Kupfer(I)-Komplexe ist annähernd gleich groß und erlaubt somit einen effektiven Wechsel zwischen den beiden Oxidationsstufen. Es kann angenommen werden, dass der Kupfer(I)-Komplex **K10** für eine effektive Reoxidation zu stabil ist und daher die DNA-Spaltaktivität geringer ist.

Ein Vergleich der *trans*-ständigen Komplexe [Cu([12]aneNONO)] **K4**, [Cu([12]aneNSNS)] **K9** und [Cu([12]aneNONS)] **K12** zeigt, dass zwar der Oxacyclenkomplex **K4** der effektivste DNA-Spalter ist, jedoch die elektrochemische Reduktion nur für die Komplexe **K9** und **K12** reversibel ist. Hierbei ist der Komplex **K12** ein effektiverer DNA-Spalter als der Komplex **K9**.

KAPITEL 3

INTERKALATORSUBSTITUTION

3.1 Anthrachinon-substituierte DNA Spalter: Kenntnisstand

Anthrachinon (kurz AQ), auch als Anthron bezeichnet, gehört zur Substanzklasse der Chinone, und besteht aus zwei Benzolringen, die in 9,10-Position über zwei Carbonylgruppen miteinander verbunden sind (vgl. Abbildung 33).

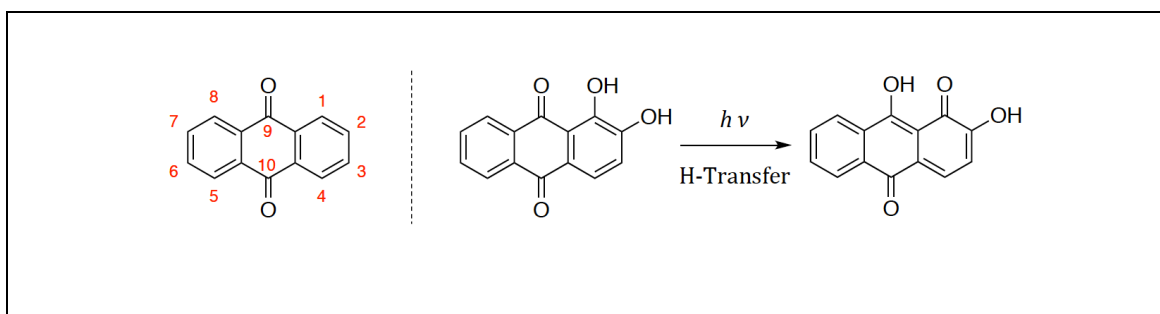


Abbildung 33: Struktur von Anthrachinon (AQ; links) und Protonentransfer im Alizarin (rechts).

Anthrachinon wurde erstmals 1836 von AUGUSTE LAURENT durch Oxidation von Anthracen mittels Salpetersäure hergestellt. Heute wird es in industriellem Maßstab entweder über die Oxidation von Anthracen oder über eine FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung von Benzol und Phthalsäureanhydrid unter Aluminiumchlorid-Katalyse hergestellt. Anthrachinon stellt die Ausgangschemikalie für eine Vielzahl von Verbindungen dar. So erlauben die Carbonylgruppen die einfache Derivatisierung über nukleophile aromatische Substitution in den 1-, 4-, 5- und 8-Positionen des aromatischen Systems.^[97] Das Einsatzgebiet von Anthrachinonderivaten erstreckt sich von der Herstellung von Farben und Pigmenten über die Verwendung als Photokatalysator bis hin zum Einsatz als Fluoreszenzfarbstoff in der Biologie und als Chemotherapeutikum in der Medizin. Zudem wird die Anthrachinongruppe auch genutzt, um künstliche Nukleasen herzustellen. Die Anwendungen von Anthrachinonen als Photokatalysatoren und als Fluoreszenzfarbstoffe sind für diese Arbeit nicht weiter relevant. Deshalb wird im Folgenden lediglich auf die optischen Eigenschaften der Anthrachinongruppe, auf Anthrachinon-basierte Chemotherapeutika und auf Anthrachinon-basierte Nukleasen eingegangen.

Während Anthrachinonfarbstoffe in der Industrie neben den Azofarbstoffen nur die zweitwichtigste Gruppe organischer Farbstoffe sind, liegt die Anthrachinongruppe im Bereich der Natur allen roten Farbstoffen zugrunde.^[98] Anthrachinon selbst weist eine gelbliche Farbe auf, die dem $n-\pi^*$ -Übergang zuzuordnen ist. Die Derivatisierung des Anthrachinongerüsts mit funktionellen Gruppen hat einen sehr starken Einfluss auf Absorption und Emission von Anthrachinonderivaten. So kann die Veränderung der Absorptionseigenschaften maßgeblich über die Änderung der elektronischen Eigenschaften und zusätzlich über Änderungen in der Sterik und über Wasserstoffbrückenbindungen erfolgen. Zum Beispiel weist Alizarin (1,2-Dihydroxyanthrachinon) eine rote Farbe auf, die dem Wasserstofftransfer bei Lichtanregung geschuldet ist (Abbildung 33).^[99] Die Einführung von Elektronendonoren führt zu einer Rotverschiebung, während die Einführung von Elektronenakzeptoren eine Blauverschiebung zur Folge hat.^[100]

Seit seiner Einführung in den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts ist Doxorubicin zu einem häufig verwendeten Chemotherapeutikum geworden. Zur Klasse der Anthracyclinantibiotika gehörig besteht es aus einem planaren Anthrachinongerüst (rot in der Struktur des Doxorubicins hervorgehoben), das über eine glycosidische Bindung mit einer Zuckerfunktion, dem Daunosamin (grün in der Struktur des Doxorubicins hervorgehoben), verbunden ist.^[101] Während heutzutage die meisten Anthracyclinantibiotika synthetisch hergestellt werden, handelt es sich bei ihnen ursprünglich um eine Reihe von natürlichen Rotpigmenten, die hauptsächlich aus der Bakterienfamilie *Streptomycetales* isoliert wurden.^[102] Neben Doxorubicin sind weitere wichtige Vertreter der Anthracycline Daunorubicin, Epirubicin als ein Isomer von Doxorubicin, und Idarubicin (Abbildung 34).

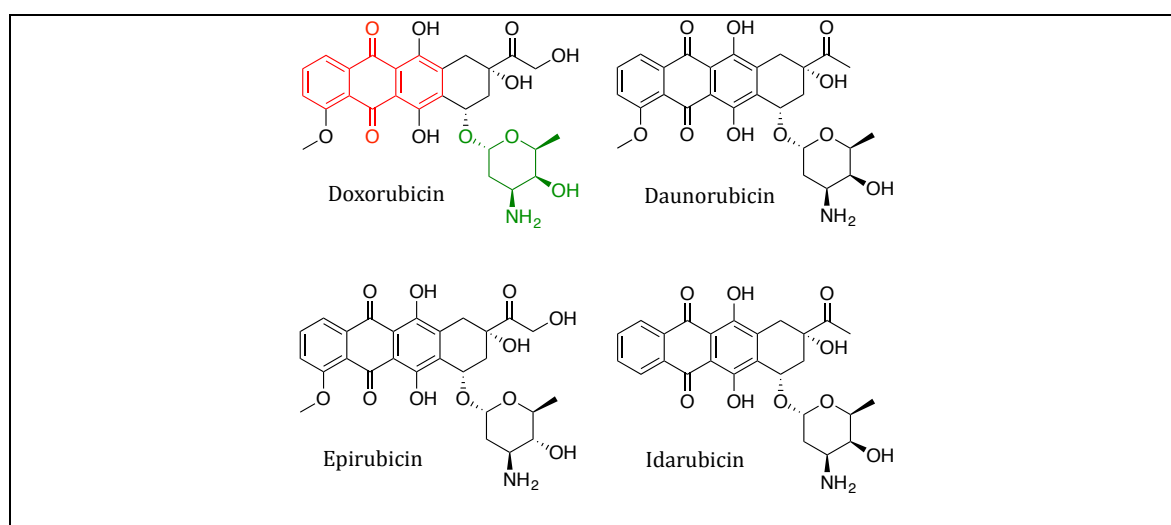


Abbildung 34: Anthracyclinantibiotika.

Doxorubicin wird für die Behandlung zahlreicher Krebsarten wie Leukämie und Malignome von Blase, Brust, Magen, Lunge, Eierstock und Schilddrüse verwendet.^[101] Es wird vermutet,

dass die Wirksamkeit von Doxorubicin und der meisten anderen Anthracycline zum großen Teil eine Folge ihrer Fähigkeit ist, DNA zu binden. Die planare Anthrachinongruppe interkaliert zwischen die Basen der DNA, während die Daunosaminfunktion zusätzlich an ihre kleine Furche bindet (vgl. Abbildung 35).^[103]

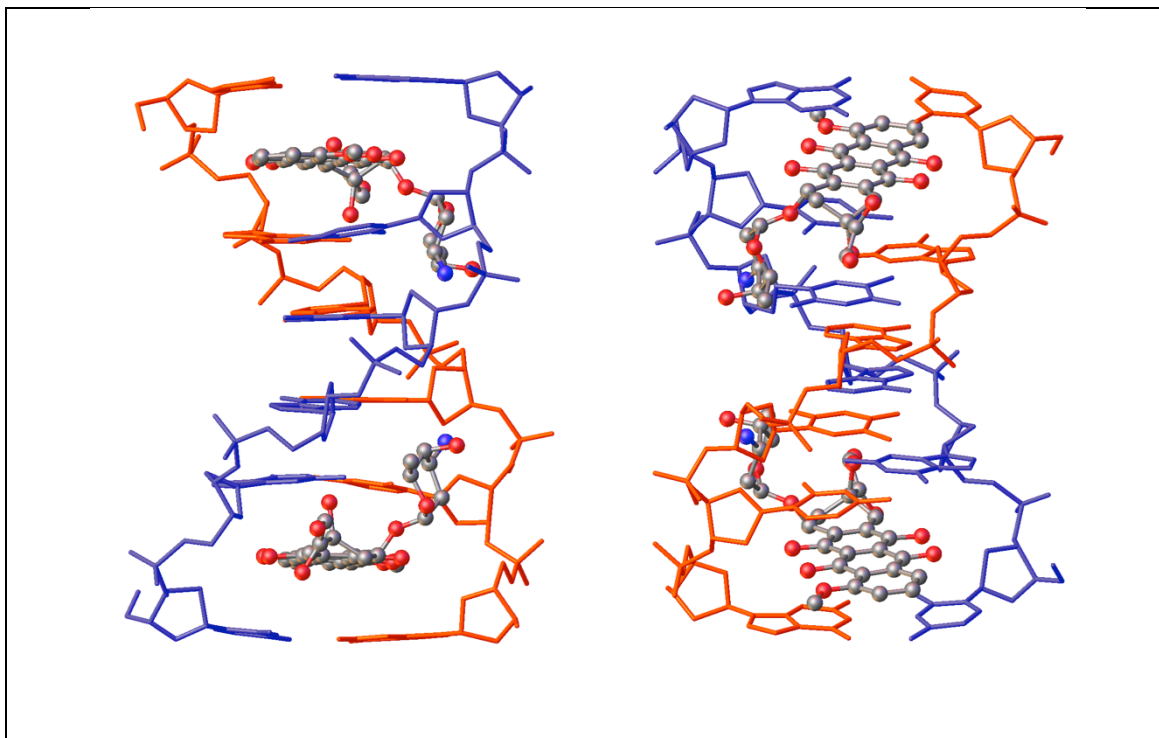


Abbildung 35: Verschiedene Ansichten von DNA (CGATCG) mit interkaliertem Doxorubicin (PDB-1D12).^[103]

Grund für die Toxizität ist jedoch nicht die DNA-Bindung selbst, sondern die daraus resultierende Hemmung einiger an der DNA-Replikation beteiligter Enzyme. So wird zum Beispiel die Topoisomerase II, welche die Entwindung der doppelsträngigen DNA katalysiert, durch die Bildung eines ternären DNA-Interkalator-Enzym-Komplexes inhibiert. Hierdurch kommt es im weiteren Verlauf der Replikation zur irreversiblen Schädigung der DNA. Ein weiterer Faktor, der zur Zytotoxizität von Anthrachinonderivaten wie den Anthracyclinen beiträgt, ist ihre Fähigkeit, freie Radikale zu generieren und somit oxidativen Stress auszulösen (vgl. Kapitel 1.3).^[104]

Wie bereits eingangs erwähnt wurde, können DNA-affine Gruppen, wie zum Beispiel DNA-Interkalatoren, dafür verwendet werden, die DNA-Affinität einer künstlichen Nuklease zu erhöhen. Studien von HAMBLEY und KIMURA *et al.* konnten zeigen, dass Kupfer(II)cyclam- und Zink(II)cyclen-Komplexe mit Anthrachinon als DNA-affiner Gruppe in der Lage sind, DNA mit hoher Affinität zu binden.^[105,106] HAMBLEY und Mitarbeiter untersuchten hierbei den Einfluss der Linkerlänge und der Position der Linkergruppe (1- bzw. 2-Position) am Anthrachinon auf die DNA-Affinität. Es zeigte sich, dass die Cyclamgruppe die Interkalation des Anthrachinons nicht behindert, jedoch längere Linker zu einer höheren DNA-Affinität führen. In ihrer

Untersuchung hatte die Linkerposition nur geringen Einfluss auf die DNA-Affinität (Abbildung 5A).^[105] KIMURA und Mitarbeiter konnten zeigen, dass ein mit Methylanthrachinon verlinkter Zink(II)cyclen-Komplex selektiv Guanin-reiche Regionen doppelsträngiger DNA binden kann (Abbildung 5B). Der mit Methylacridin verlinkte Zink(II)cyclen-Komplex zeigt hingegen eine Affinität für Thyminbasen. Sie schlossen, dass bei dem Anthrachinon-substituierten Komplex die Anthrachinongruppe die DNA-Targetfunktion ist, während beim Acridin-verlinkten Komplex die Zink(II)cyclen-Gruppe für die DNA-Affinität ausschlaggebend ist.^[106-108] Eine Evaluation der Spaltaktivität der von HAMBLEY und KIMURA hergestellten Komplexe wurde bisher jedoch noch nicht durchgeführt.^[105,108]

Weitere Anwendung finden Anthrachinone auch in der Entwicklung von künstlichen Nukleasen. So konnte zum Beispiel die Gruppe um ZAGOTTO zeigen, dass sich die DNA-Spaltaktivität von Zink(II)-*cis-cis*-triamincyclohexan-Komplexen mit angebundener Anthrachinongruppe als DNA-Targetfunktion um einen Faktor von 15 gegenüber dem nicht Anthrachinon-substituierten Komplex steigern lässt. Hierbei sind die Komplexe umso aktiver, je länger die Linkergruppe zwischen dem Zink(II)-Komplex und der Anthrachinongruppe ist (Abbildung 5C).^[109]

Die Gruppe um LU hat die Anthrachinongruppe in analoger Weise für die Entwicklung einer Reihe von metallfreien DNA-Spaltern genutzt: Sie untersuchten, ob sich die Spaltaktivität von Triazacyclononan (TACN)-basierten Nukleasen durch die Anbringung von Anthrachinonfunktionen weiter verstärken lässt (Abbildung 5D-F).^[110-112] Zunächst wurde ein metallfreier Spalter entwickelt, bei dem die TACN-Funktion als DNA-spaltende Gruppe und Anthrachinon als DNA-Targetfunktion fungierte. Über Alkyllinker in den 1- und 8-Positionen von Anthrachinon wurde die TACN-Einheit mit der Targetgruppe verbunden. Diese Nuklease kann unter Verwendung eines C₆-Linkers (n = 3) die DNA-Spaltung um einen Faktor von 82 gegenüber dem nicht substituierten TACN erhöhen (Abbildung 5D).^[110]

Eine Weiterentwicklung dieses Komplexes wurde 2012 vorgestellt: Mit der Anbringung von zwei TACNorthoamid (TACNOA)-Gruppen in den 1,8-Positionen von Anthrachinon konnte gegenüber dem nicht funktionalisierten TACNOA eine Erhöhung der DNA-Spaltaktivität um einen Faktor von 50 bewirkt werden (Abbildung 5E).^[111] Eine weitere von der Arbeitsgruppe entwickelte metallfreie Nuklease mit Anthrachinon als DNA-Targetfunktion und TACN als eigentlichem Spalter konnte sogar eine 234-fache Steigerung der DNA-Spaltaktivität gegenüber der TACN-Stammverbindung bewirken. Hierbei wurde die TACN-Einheit zusätzlich mit einer Aminoethyl- und Hydroxoethyl-Funktion substituiert (Abbildung 5F).^[112] In allen drei Fällen argumentieren die Autoren, dass es sich bei dem Spaltmechanismus um eine nicht genauer untersuchte hydrolytische DNA-Spaltung handelt.^[110-112]

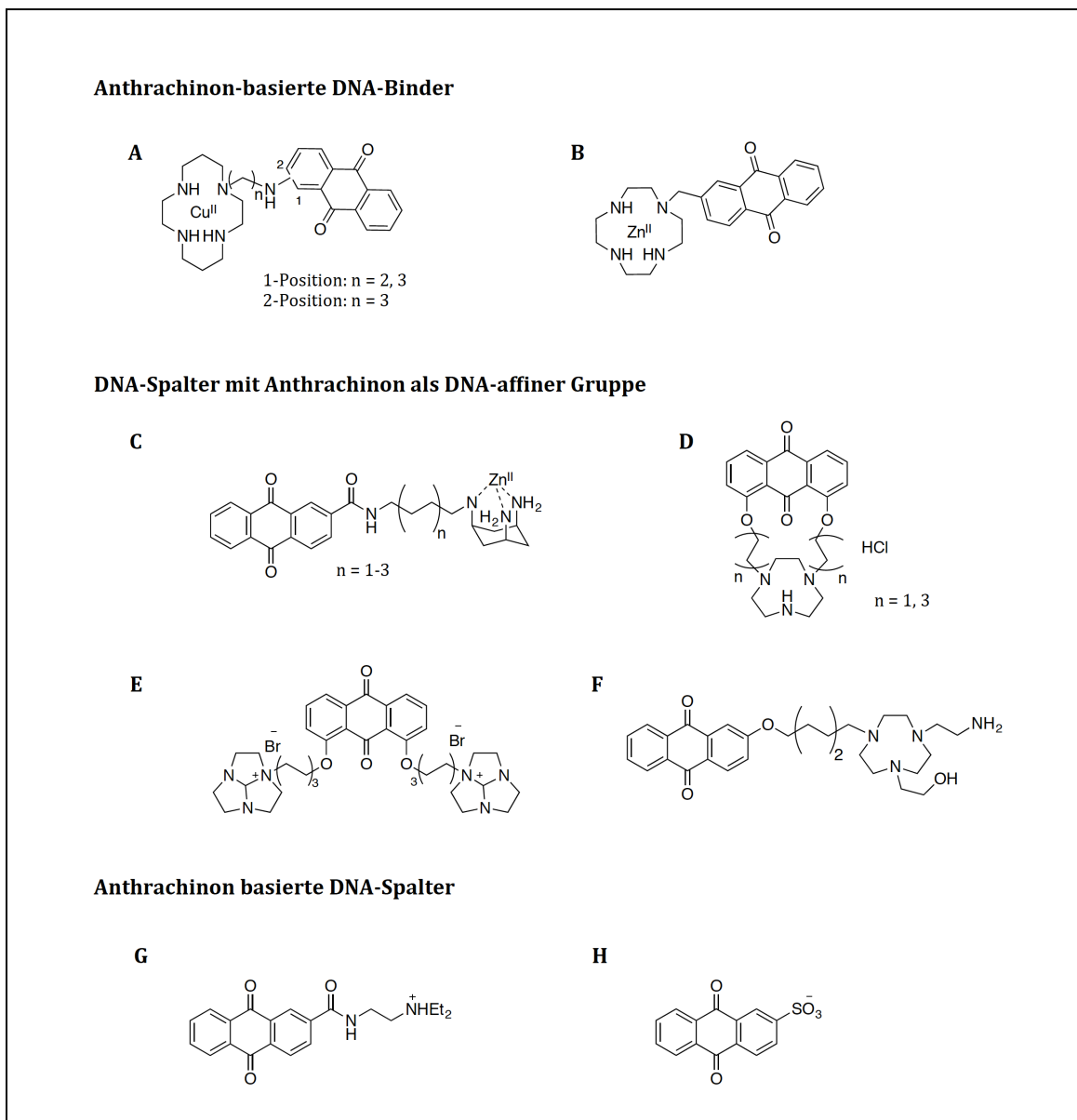


Abbildung 36: Strategien für Anthrachinon-basierte DNA-Binder und -Spalter.

Zusätzlich zu den oben beschriebenen Fällen, bei denen die DNA-Spaltung durch einen von der Anthrachinongruppe unabhängigen Spalter katalysiert wurde, gibt es eine Reihe von Verbindungen, in denen die Anthrachinongruppe genutzt wird, um die DNA-Spaltung auf photochemischem Wege zu katalysieren.^[31] Hierbei kann die Anthrachinongruppe die DNA-Spaltung über unterschiedliche Mechanismen katalysieren. So kann die von SCHUSTER *et al.* entwickelte kationische Anthrachinonverbindung **G** im angeregten Zustand Wasserstoffatome der Riboseeinheit abstrahieren oder bei geringeren Konzentrationen die DNA über Elektronenübertragung von einer Guaninbase auf die AQ-Gruppe schädigen (Abbildung 5G).^[113] Außerdem kann Anthrachinon die DNA auch auf indirektem Wege schädigen: So führt die anionische Anthrachinonverbindung **H** trotz Ermangelung von DNA-Affinität (elektrostatische Abstoßung) zur DNA-Spaltung. In angeregtem Zustand überführt

sie Chloridionen des Puffers über photoinduzierten *Charge Transfer* in reaktive Chlorradikale, die daraufhin weitere Radikale aktivieren oder selbst H-Atome der Riboseeinheit abstrahieren (Abbildung 5H).^[114] Eine ähnliche Aktivierung ist auch für molekularen Sauerstoff möglich: Angeregte Anthrachinone übertragen ihre Energie auf Sauerstoff und generieren so Singulett-Sauerstoff als spaltende Spezies.^[115,116]

3.2 Anthrachinon-substituierte DNA-Spalter: Zielsetzung

Durch das Anbringen der Anthrachinongruppe an den Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** soll dessen Affinität zu DNA erhöht werden. Hierbei soll der Effekt von verschiedenen Linkerlängen auf DNA-Affinität und DNA-Spaltaktivität evaluiert werden.

Zunächst soll Anthrachinon direkt über *N*-Funktionalisierung an das Cyclensystem gebunden werden (Abbildung 37). Es wird angenommen, dass die direkte Verlinkung mit einer erheblichen Veränderung der DNA-Spaltaktivität einhergeht, da die Anthrachinongruppe und das Kupfer(II)-Zentrum in elektronische Wechselwirkung miteinander treten können. Die direkte Substitution soll sowohl in 1-Position als auch in 2-Position erfolgen (**K13** vs. **K17**). Zusätzlich soll untersucht werden, welchen Einfluss die Zweifachsubstitution (**K14**) und die Anbringung eines Fluorsubstituenten (**K15** und **K16**) am Anthrachinon haben. Hierbei wird erwartet, dass der Fluorsubstituent aufgrund seiner hohen Elektronegativität die elektronischen Eigenschaften der Anthrachinongruppe verändert und so die Redoxchemie des Kupferzentrums beeinflusst wird.

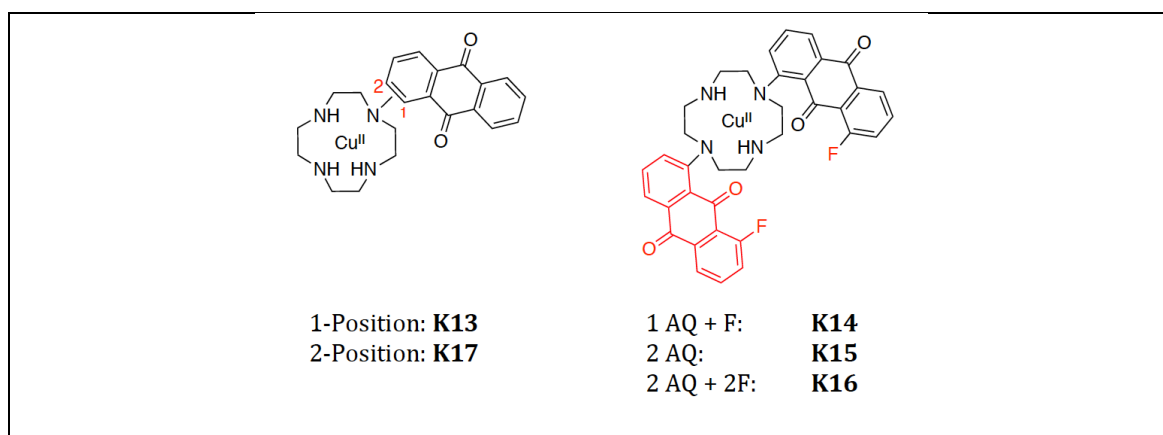


Abbildung 37: Strukturen der zu synthetisierenden Komplexe **K13** bis **K17**.

Im nächsten Schritt soll untersucht werden inwiefern eine Methyleneinheit als Linker zwischen der Anthrachinongruppe und dem Cyclenliganden zu einer Veränderung der Eigenschaften des Komplexes führt. Hierbei wird zunächst der bereits durch KIMURA synthetisierte mit 2-Methylantrachinon substituierte Kupfer(II)cyclen-Komplex **K18** hergestellt und auf seine Aktivität hin untersucht, DNA zu spalten.^[108] Eine zweite

Untersuchung soll den Einfluss der Mehrfachsubstitution auf die DNA-Affinität und die DNA-Spaltaktivität aufklären (Abbildung 38). Es wird postuliert, dass die DNA-Affinität mit steigender Anzahl an Anthrachinongruppen erhöht werden kann und dadurch ebenfalls die DNA-Spaltaktivität ansteigt. Da KIMURA und Mitarbeiter eine Abhängigkeit zwischen der Art des Metallatoms und der DNA-Affinität feststellen konnten, sollte der dreifach Anthrachinon-substituierte Komplex sowohl als Kupfer(II)- als auch als Zink(II)-Komplex dargestellt werden.^[108] Zusätzlich erlaubt es die Untersuchung des redoxinierten Zink(II)-Komplexes eine Aussage darüber zu treffen, ob die Redoxchemie des Kupfer(II)-Komplexes eine Auswirkung auf die Aktivität der Nuklease hat.

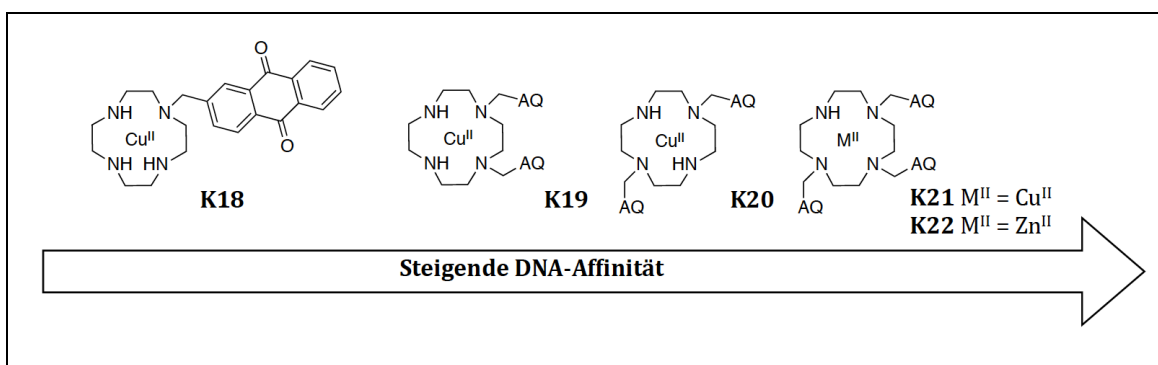


Abbildung 38: Zu synthetisierende Komplexe **K18** bis **K22** und ihre erwartete DNA-Affinität.

Eine weitere Verlängerung der Linkergruppe soll auch die Untersuchung einer Amidverbrückung (1- vs. 2-Position; **K23** vs. **K24**) und verschiedener Heteroatome im Linker einschließen (O, NH; **K25** vs. **K26**). Wie eingangs erwähnt, haben Substituenten erheblichen Einfluss auf die elektronischen und optischen Eigenschaften von Anthrachinonen.^[100] Anhand der Verwendung des Ethylenaminlinkers soll außerdem die DNA-Affinität und DNA-Spaltaktivität des entsprechenden Kryptanden **K27** und des dinuklearen Komplexes **K28** evaluiert werden.

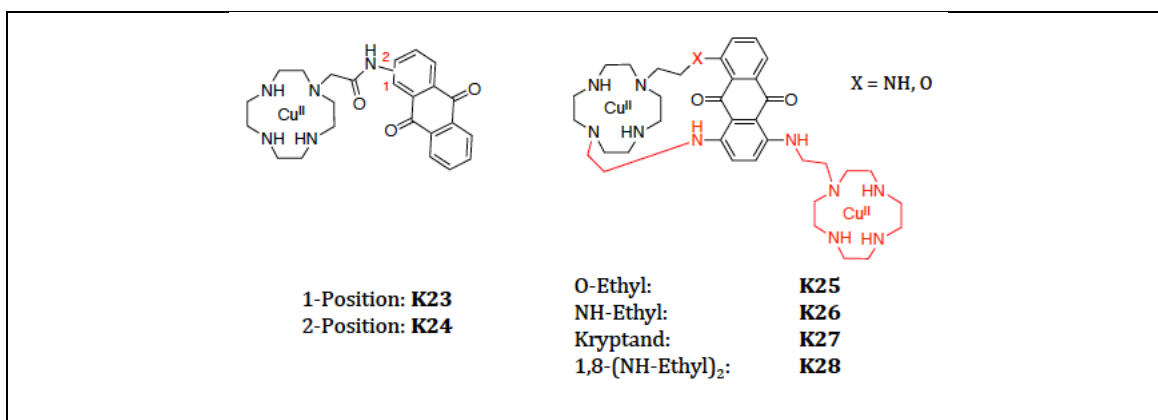


Abbildung 39: Strukturen der zu synthetisierenden Komplexe **K23** bis **K28**.

3.3 Anthrachinon-substituierte DNA-Spalter: Komplexe ohne Linker

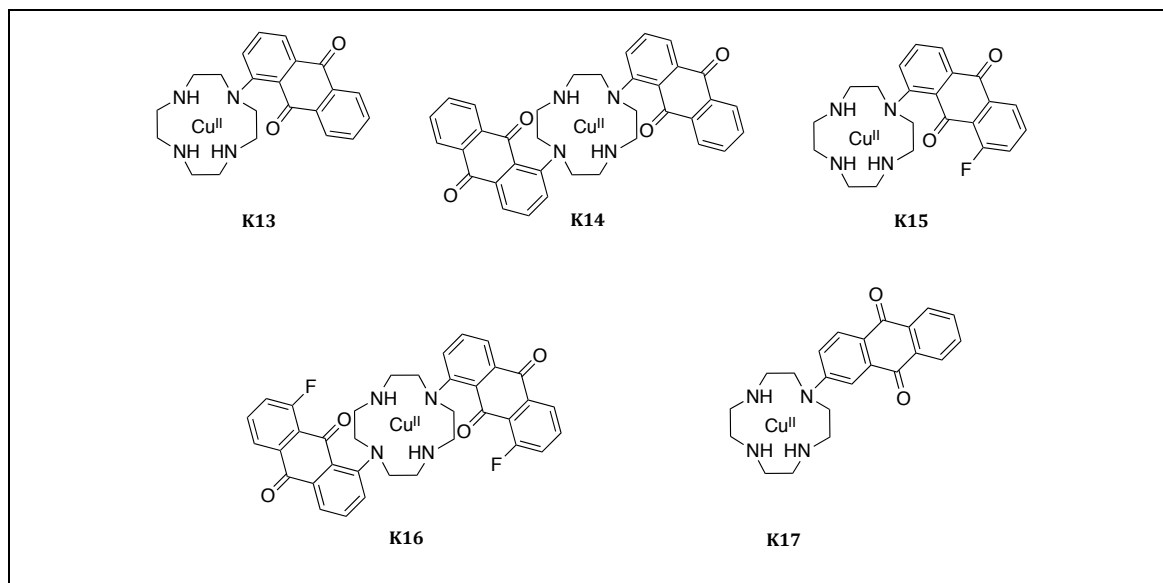


Abbildung 40: Strukturen der geplanten Anthrachinon-substituierten Komplexen **K13** bis **K17**.

3.3.1 Synthese

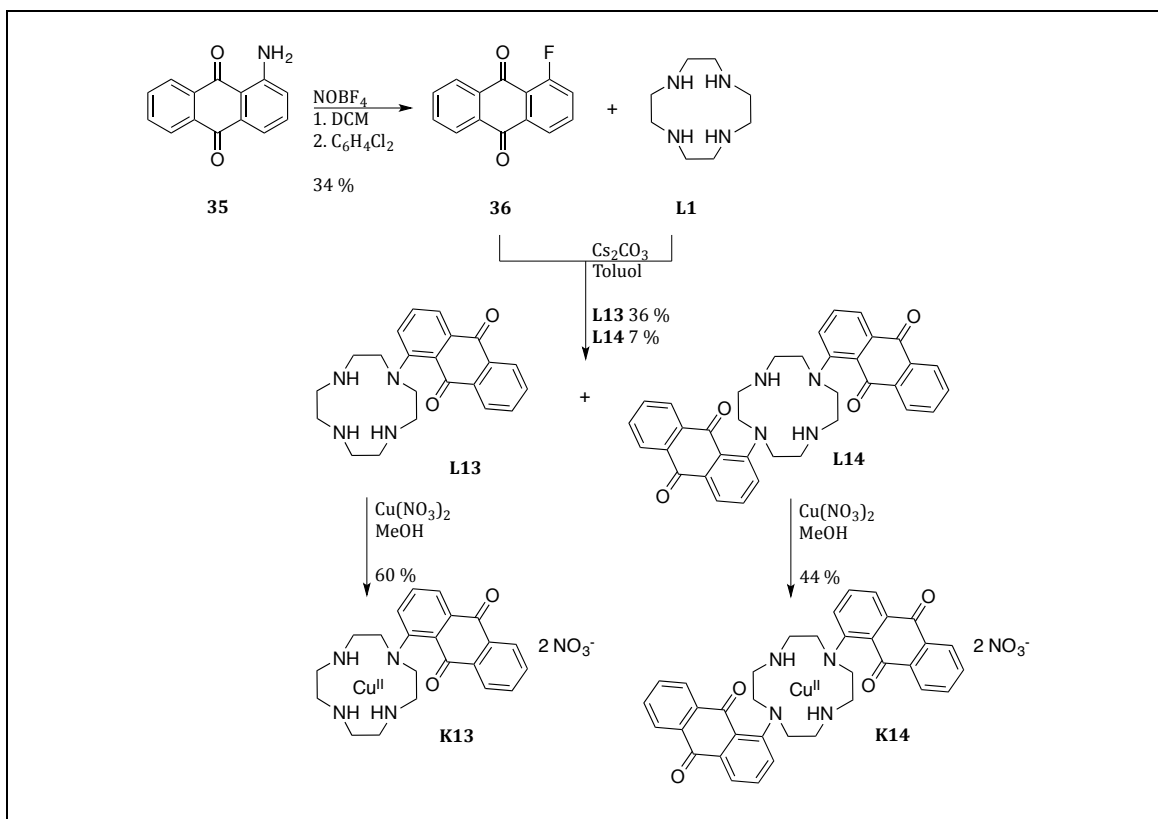
Die Anthrachinon-substituierten Cyclenderivate **K13** bis **K17** wurden aus den entsprechenden Fluoranthrachinonen durch Umsetzung mit Cyclen und unter Zusatz von Cäsiumcarbonat synthetisiert. Bereits Anfang der 1990er Jahre konnten ECHEGOYEN *et al.* zeigen, dass sich in 1-Position fluorierte Anthrachinonderivate bestens für die nukleophile aromatische Substitutionsreaktion (S_NAr) eignen und viel höhere Ausbeuten als die entsprechenden chlorierten Derivate liefern.^[117] Diese der S_N2 -Reaktion entgegengestellte und in der Reihe von $F > Cl \approx Br > I$ fallende Reaktivität wird häufig bei halogenierten Aromaten angetroffen, die mit elektronenziehenden Gruppen (wie zum Beispiel die Carbonylgruppen des Anthrachinons) substituiert sind, und als *element effect* bezeichnet. Eine von zahlreichen Erklärungsversuchen für dieses Phänomen ist die starke Polarisierung der C-F-Bindung, die wiederum zu einer Erhöhung der Nucleophilie des Kohlenstoffatoms führt.^[118]

Die Umsetzungen mit dem Makrozyklus wurden in Anlehnung an eine Vorschrift von SZYMAŃSKA *et al.* durchgeführt.^[119] Abweichend von der Literaturvorschrift wurde bei leicht erhöhten Temperaturen und veränderter Stöchiometrie gearbeitet.

3.3.1.1 Synthese der Komplexe **K13** und **K14**

1-Fluoranthrachinon (**36**) wurde aus kommerziell bezogenem 1-Aminoanthrachinon (**35**) durch Umsetzung mit einem 1.4-fachen Überschuss an Nitrosyltetrafluoridoborat in mäßiger Ausbeute synthetisiert. Hierbei wurde nach der von MILNER *et al.* vorgeschlagenen

Alternative zur klassischen BALZ-SCHIEMANN-Reaktion in Dichlormethan das Diazoniumtetrafluoridoboratsalz synthetisiert (Schema 13).^[120]



Schema 13: Synthese der Komplexe **K13** und **K14**.

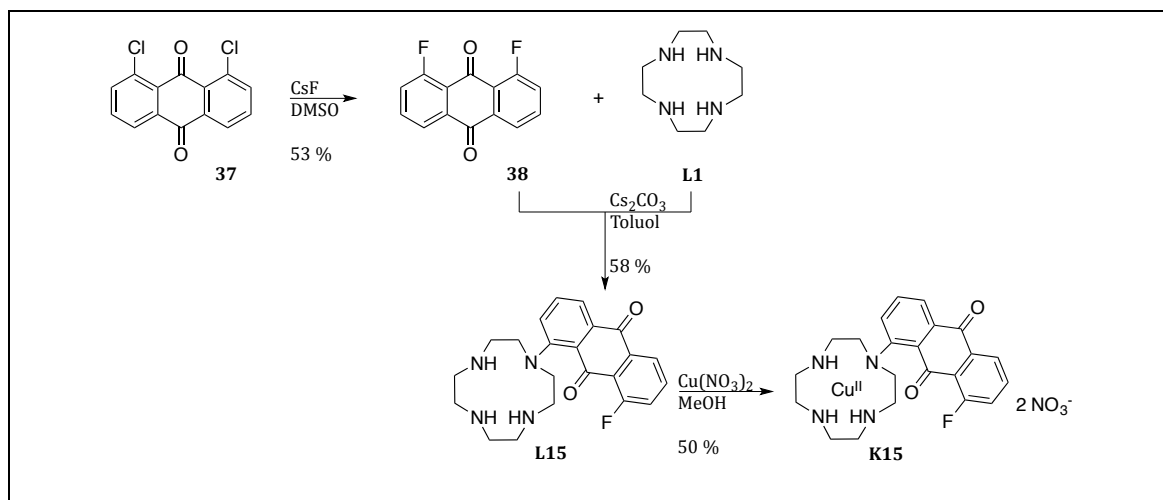
Dieses konnte ohne Isolierung in einer Eintopfsynthese durch thermische Zersetzung in 1,2-Dichlorbenzol zum gewünschten 1-Fluoranthrachinon (**36**) umgesetzt werden. Hierfür wurde 1,2-Dichlorbenzol zum Reaktionsgemisch gegeben und zum Rückfluss erhitzt, wobei Dichlormethan langsam abdestilliert und so die Reaktionstemperatur behutsam erhöht wurde. Der Vorteil dieser Vorgehensweise gegenüber der klassischen BALZ-SCHIEMANN-Reaktion liegt darin, dass der explosionsgefährliche Schritt der Isolation des Diazoniumsalzes und seine Trocknung umgangen werden kann.^[120] Reines 1-Fluoranthrachinon konnte durch Sublimation des Rohproduktes in 34%iger Ausbeute erhalten werden. Für die Synthese des substituierten Makrozyklus' wurde ein vierfacher Überschuss an frisch sublimiertem Cyclen mit frisch sublimiertem 1-Fluoranthrachinon in Toluol unter Zusatz von Cäsiumcarbonat bei 40 °C für dreieinhalb Tage umgesetzt. Neben dem großen Cyclenüberschuss sollte die geringe Reaktionstemperatur dafür sorgen, dass hauptsächlich das einfach substituierte Derivat **L13** entsteht. Trotz dieser Vorsichtsmaßnahmen wurde auch das in 1,7-Stellung disubstituierte Derivat **L14** zusätzlich in 7%iger Ausbeute erhalten. Beide Derivate konnten über Säulenchromatographie voneinander getrennt werden. Die Umsetzung mit Kupfer(II)nitrat

zu den entsprechenden Kupferkomplexen **K13** und **K14** gelang in beiden Fällen in mäßigen Ausbeuten.

3.3.1.2 Synthese von Komplex **K15**

Die Synthese von 1-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)-8-fluoranthrachinon (**L15**) wurde analog zur zuvor beschriebenen Synthese von **L13** durchgeführt. Lediglich die Reaktionszeit wurde von 84 auf 40 Stunden verringert, so dass neben dem einfach substituierten Produkt **L15** keine weiteren Produkte entstehen konnten (Schema 14). Für die Synthese von **L15** musste zunächst 1,8-Difluoranthrachinon (**38**) über eine Halogenaustauschreaktion mittels Cäsiumfluorid ausgehend von 1,8-Dichloranthrachinon (**37**) synthetisiert werden. Bei dieser Synthese ist es eminent wichtig, dass trockene Lösungsmittel und zuvor getrocknete Ausgangskemikalien verwendet werden, da sich ansonsten Hydroxyl-substituierte Anthrachinone bilden können.

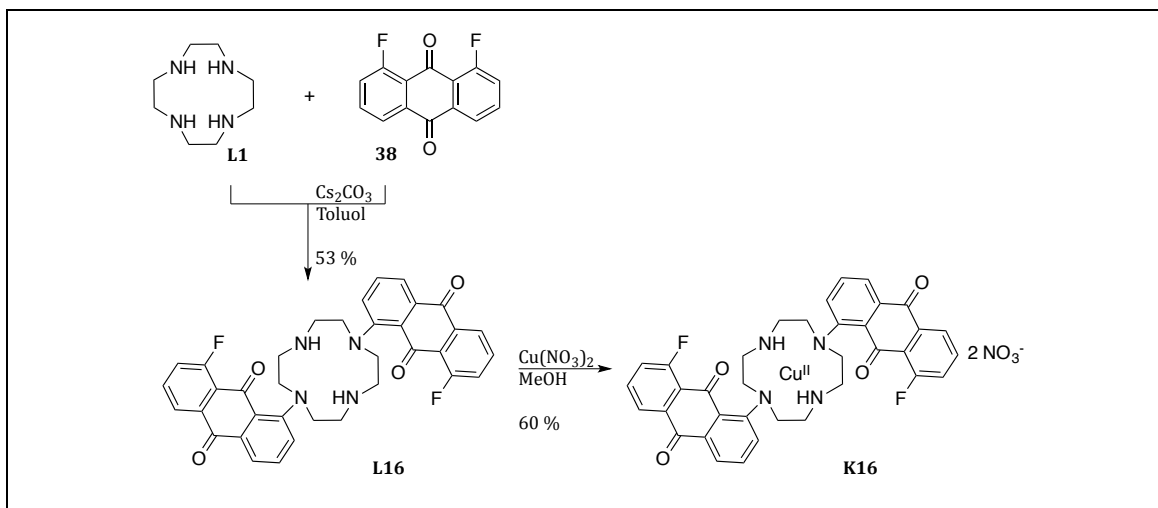
Der Kupferkomplex **K15** konnte durch Umsetzung des Liganden mit Kupfernitrat in Methanol in mäßiger Ausbeute erhalten werden.



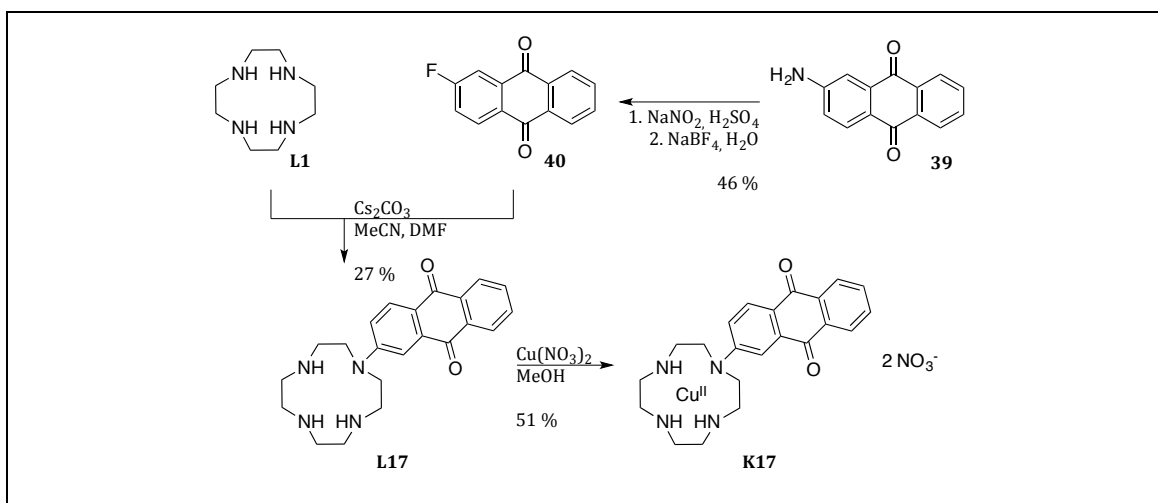
Schema 14: Synthese von Komplex **K15**.

3.3.1.3 Synthese von Komplex **K16**

Um das zweifach substituierte Cyclen **L16** zu synthetisieren, wurde ein zweifacher Überschuss des Anthrachinonderivats **38** verwendet und die Reaktionstemperatur auf 60 °C im Vergleich der zuvor verwendeten 40 °C erhöht. Hier war die erhöhte Temperatur unkritisch, da die Mehrfachsubstitution gewünscht wurde. Nach 45-stündiger Reaktionszeit konnte der Anthrachinon-substituierte Makrozyklus **L16** in 53 %iger Ausbeute isoliert und nach säulenchromatographischer Aufreinigung durch Umsetzung mit Kupfernitrat zum Komplex **K16** umgesetzt werden (Schema 15).

Schema 15: Synthese von Komplex **K16**.3.3.1.4 Synthese von Komplex **K17**

2-Fluoranthrachinon (**40**) konnte über die klassische BALZ-SCHIEHMANN-Reaktion aus 2-Aminoanthrachinon (**39**) und Natriumnitrit in Anlehnung an eine Vorschrift von RAPPOPORT erhalten werden (Schema 16).^[121]

Schema 16: Synthese von Komplex **K17**.

Zunächst wurde das Diazoniumsulfatsalz hergestellt. Dieses wurde durch die Zugabe von Natriumtetrafluoridoborat in das Tetrafluoridoboratsalz überführt, isoliert und thermisch zur gewünschten Verbindung **40** umgesetzt.^[121] Für die anschließende Substitutionsreaktion an das Cyclen wurde anders als bei den Synthesen von **K13** bis **K16** kein Toluol, sondern ein Acetonitril-DMF-Gemisch verwendet und bei 80°C unter Zusatz von Cäsiumcarbonat gearbeitet. Es konnte bereits gezeigt werden, dass für unreaktive Edukte, wie das in 2-Position fluorierte Anthrachinon, polarere Lösungsmittel bessere Ausbeuten erzielen. Der Ligand **L17** konnte nach 14-stündiger Reaktion in 27%iger Ausbeute ohne weitere Nebenprodukte isoliert werden.

3.3.2 Charakterisierung und Strukturaufklärung

Die zuvor nicht literaturbekannten Komplexe **K13** bis **K17** wurden über Elementaranalyse, Massenspektrometrie (vgl. Experimenteller Teil für ESI-MS und C,H,N-Analyse) und UV/Vis-Spektroskopie (Abbildung 41; Tabelle 12) charakterisiert. Von allen Komplexen konnten zusätzlich Einkristalle für die Röntgenstrukturanalyse über Diffusion von Diethylether in eine gesättigte Komplexlösung erhalten werden.

Im linken Teil der Abbildung 41 sind die Ausschnitte aus den UV-Spektren und im rechten Teil die Vis-Spektren dargestellt. Die Absorptionsmaxima λ_{max} der n- π^* - und der d-d-Übergänge sind in Tabelle 12 aufgelistet.

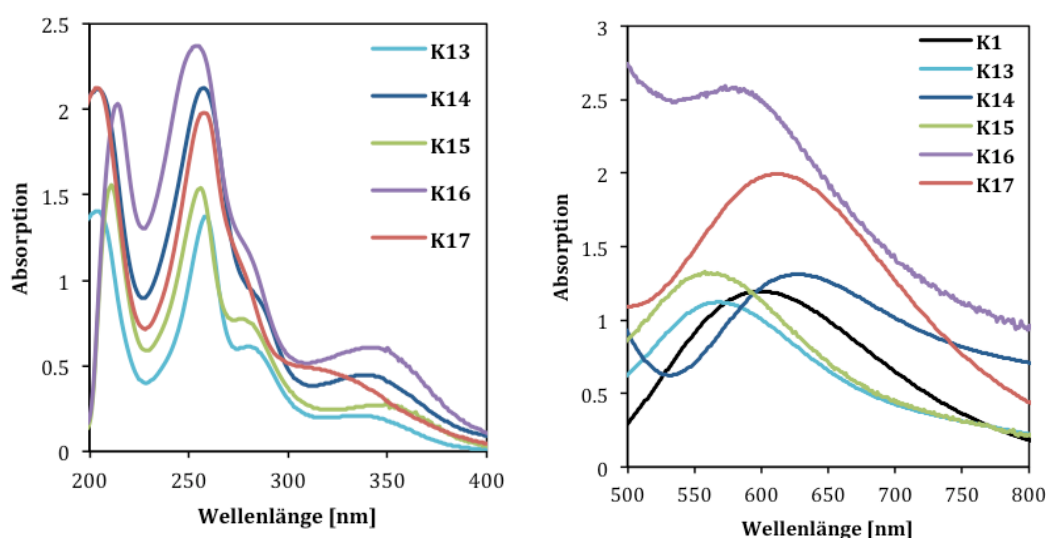


Abbildung 41: Links: Ausschnitt der UV-Spektren der Komplexe **K13** bis **K17** (40 μ M) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4). Rechts: Ausschnitt der Vis-Spektren der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** (5 mM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4).

Es zeigt sich, dass die Anthrachinonsubstitution auch einen Einfluss auf die d-d-Übergänge des Kupferzentrums hat. Die Substitution mit Anthrachinongruppen führt für die Komplexe **K13**, **K15** und **K16** zu einer leichten Blauverschiebung, während die Absorptionsmaxima der Komplexe **K14** und **K17** leicht rotverschoben sind. Des Weiteren lässt sich eine Erhöhung der Extinktionskoeffizienten für die Komplexe **K16** und **K17** feststellen.

Auch wenn kein konsistenter Trend beobachtet werden kann, bleibt festzustellen, dass die Anthrachinonsubstitution einen Einfluss auf die d-d-Übergänge und somit auch auf die elektronischen Eigenschaften der Kupferkomplexe hat.

Im UV-Bereich der Spektren sind die π - π^* - (ca. 210 und 270 nm) und n- π^* -Übergänge (> 300 nm) der Liganden zu finden. Hier zeigt sich, dass die Lage der Absorptionsbanden der unterschiedlichen Komplexe durch die Fluorsubstitution (**K13** und **K15**) und die Mehrfachsubstitution (**K13** und **K14**; **K15** und **K16**) kaum beeinflusst werden. Wie zu

erwarten, bewirkt die Mehrfachsubstitution mit Anthrachinongruppen eine Verdoppelung der Extinktionskoeffizienten. Der $n\text{-}\pi^*$ -Übergang des in 2-Position substituierten Komplexes **K17** ist im Vergleich zu den übrigen in 1-Position substituierten Komplexen blauverschoben, da die *Charge-Transfer*-Stabilisierung ($O \rightarrow N$) für in 2-Position substituierte Anthrachinone aus sterischen Gründen nicht möglich ist.^[100]

Tabelle 12: Auflistung der Absorptionswellenlängen λ_{max} für die $n\text{-}\pi^*$ - und d-d-Übergänge mit zugehörigen Extinktionskoeffizienten ϵ für die Komplexe **K1** und **K13** bis **K17**.

	λ_{max} [nm] und (ϵ [L mol ⁻¹ cm ⁻¹])
K1	601 (236)
K13	336 (5436), 569 nm (224)
K14	339 (10774), 626 (266)
K15	350 (6095), 558 nm (268)
K16	342 (15234), 573 (515)
K17	319 (11494), 611 (406)

In Abbildung 42 bis Abbildung 46 sind die Molekülstrukturen der Komplexe **K13** bis **K17** dargestellt. Die kristallographischen Daten der Komplexe sind im Anhang zu finden. Ausgesuchte Bindungslängen und -winkel sind in Tabelle 13 bis Tabelle 15 zusammengetragen.

Analog zum Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** zeigen die Komplexe **K13** und **K15** eine quadratisch-pyramidale Koordinationsumgebung. Die Pyramidenbasis wird hierbei wie bei Komplex **K1** aus den makrozyklischen Stickstoffatomen gebildet, die Pyramidenspitze jedoch nicht aus einem Nitration, sondern aus einem der Carbonylsauerstoffatome der Anthrachinongruppe.

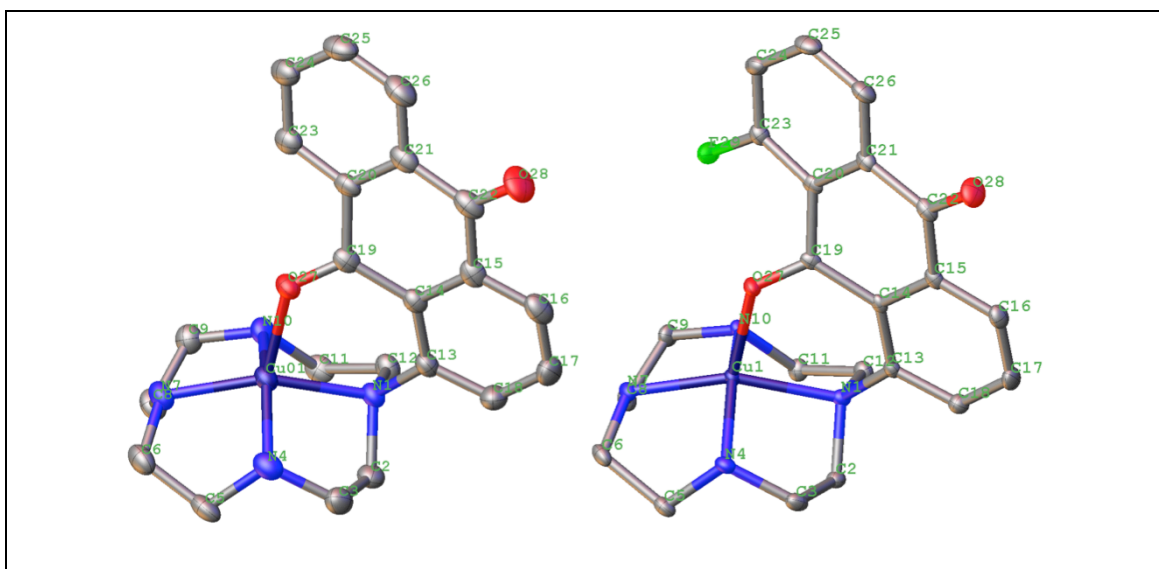


Abbildung 42: Vergleich der Aufsicht der Komplexe **K13** und **K15**. Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

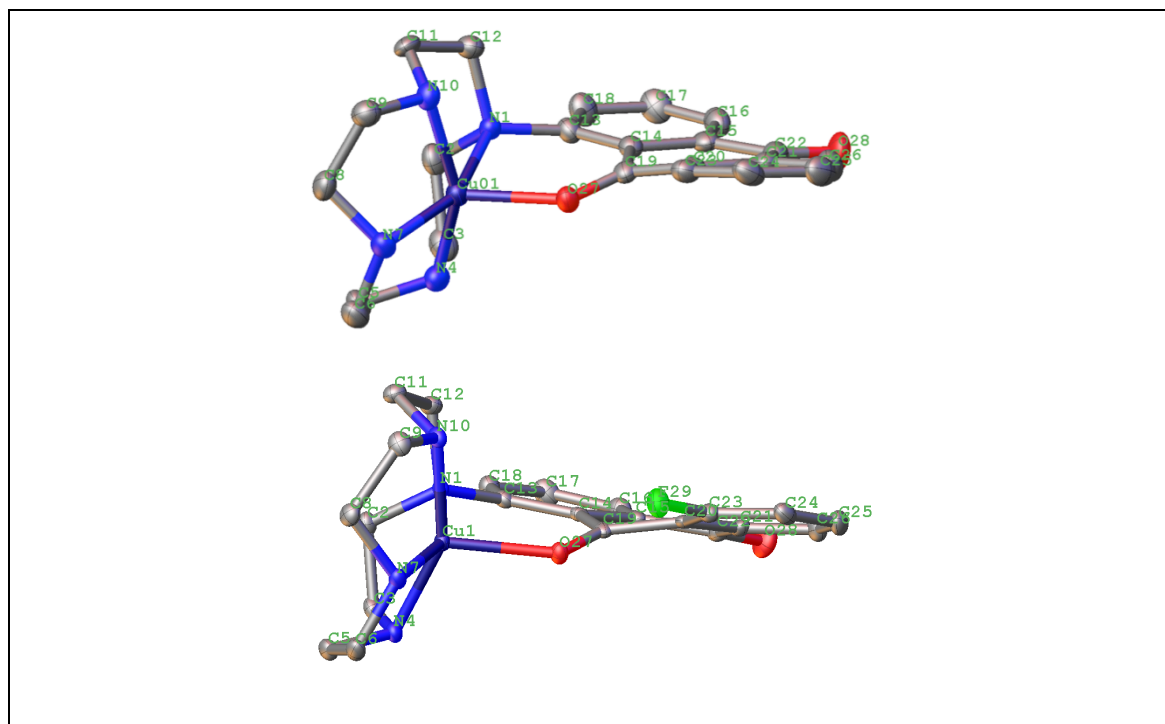


Abbildung 43: Vergleich der Seitenansicht der Komplexe **K13** und **K15**. Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

Neben der strukturellen Ähnlichkeit zum Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** sind die Komplexe **K13** und **K15** auch isostrukturell zueinander. Das Fluoratom von Komplex **K15** bewirkt nur kleinere strukturelle Änderungen (vgl. Tabelle 13).

Tabelle 13: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] der Verbindungen **K13** und **K15**.

	K13	K15		K13	K15
Cu(1)-N(1)	2.049(3)	2.0563(19)	O(27)-Cu(1)-N(1)	91.19(13)	91.17(7)
Cu(1)-N(4)	2.021(4)	2.013(2)	O(27)-Cu(1)-N(4)	110.95(14)	108.96(8)
Cu(1)-N(7)	1.988(4)	1.9871(19)	O(27)-Cu(1)-N(7)	112.79(15)	113.43(8)
Cu(1)-N(10)	2.028(4)	2.012(2)	O(27)-Cu(1)-N(10)	96.80(13)	98.43(7)
Cu(1)-O(27)	2.070(3)	2.0731(16)	N(1)-Cu(1)-N(4)	87.49(15)	87.54(8)
C(2)-C(3)	1.512(7)	1.515(4)	N(4)-Cu(1)-N(7)	87.36(15)	87.37(8)
O(27)-C(19)	1.231(5)	1.235(3)	N(7)-Cu(1)-N(10)	86.45(15)	86.40(8)
N(1)-C(13)	1.475(5)	1.473(3)	N(10)-Cu(1)-N(1)	86.95(14)	86.83(8)
C(14)-C(15)	1.422(6)	1.416(3)	N(1)-Cu(1)-N(7)	155.72(14)	155.19(8)
C(14)-C(19)	1.487(6)	1.491(3)	N(4)-Cu(1)-N(10)	151.80(15)	152.13(9)
C(19)-O(27)	1.231(5)	1.235(3)	Cu(1)-N(1)-C(13)	120.10(3)	120.27(15)
C(22)-O(28)	1.230(6)	1.226(3)	O(27)-Cu(1)-N(1)-C(13)	15.161	13.740
N(1):N(4):N(7):N(10)-Cu(1)	0.459	0.460			

Während die Cyclenbasis der Komplexe **K13** und **K15** gegenüber dem Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** nicht verzerrt erscheint, ist die Anthrachinongruppe gegenüber 1-Aminoanthrachinon stark verzerrt. So weichen die einzelnen Kohlenstoffatome von **K13** um -0.195 bis 0.302 \AA (durchschnittlich 0.118 \AA) und die von **K15** um -0.349 bis 0.227 \AA

(durchschnittlich 0.140 \AA) von der mittleren Aromatenebene ab. Die Anthrachinongruppe ist somit nicht mehr planar (vgl. Abbildung 44 und Tabelle 13). 1-Aminoanthrachinon hingegen ist vollständig planar, die Nichtwasserstoffatome weisen eine mittlere Abweichung von 0.007 \AA von der Aromatenebene auf.^[122]

Die Strukturen der zweifach substituierten Komplexe **K14** und **K16** sind anders als ihre monosubstituierten Äquivalente **K13** und **K15** nicht isostrukturell zueinander (vgl. Abbildung 44, Abbildung 45 und Tabelle 14). Der nicht fluoriierte Komplex **K14** zeigt im Festkörper eine quadratisch-pyramidale Koordinationsumgebung. Bindungslängen und -winkel zeigen starke Ähnlichkeit mit dem einfach substituierten Komplex **K13**. Der Komplex **K16** zeigt eine verzerrt trigonal-prismatische Koordinationsumgebung. Jeweils ein Carbonylsauerstoffatom der Anthrachinongruppe koordiniert an das Kupferzentrum (2.288 \AA). Die anderen vier Bindungen werden durch die makrozyklischen Stickstoffatome beigesteuert (2.136 und 2.001 \AA).

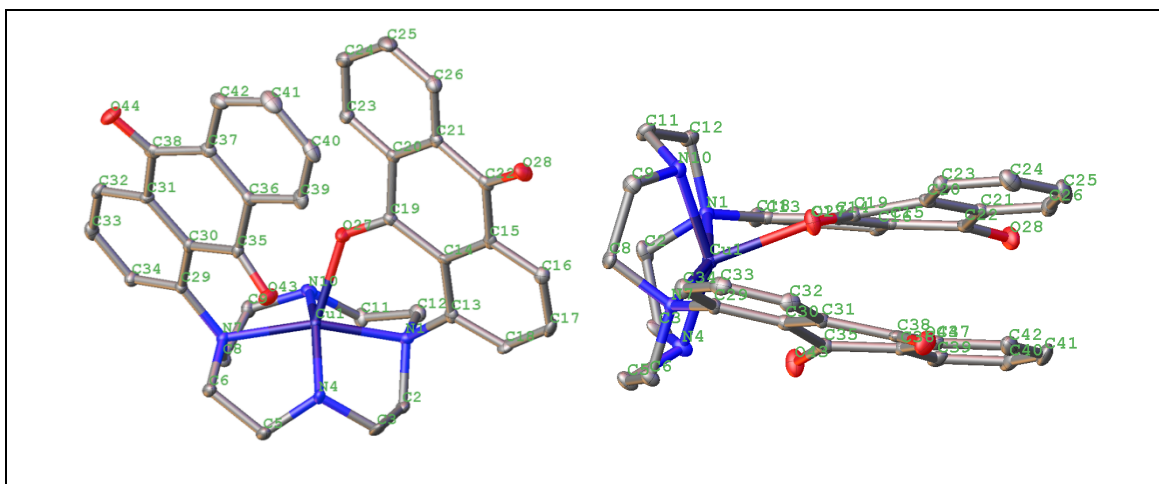


Abbildung 44: Aufsicht und Seitenansicht von Komplex **K14**. Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind die Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

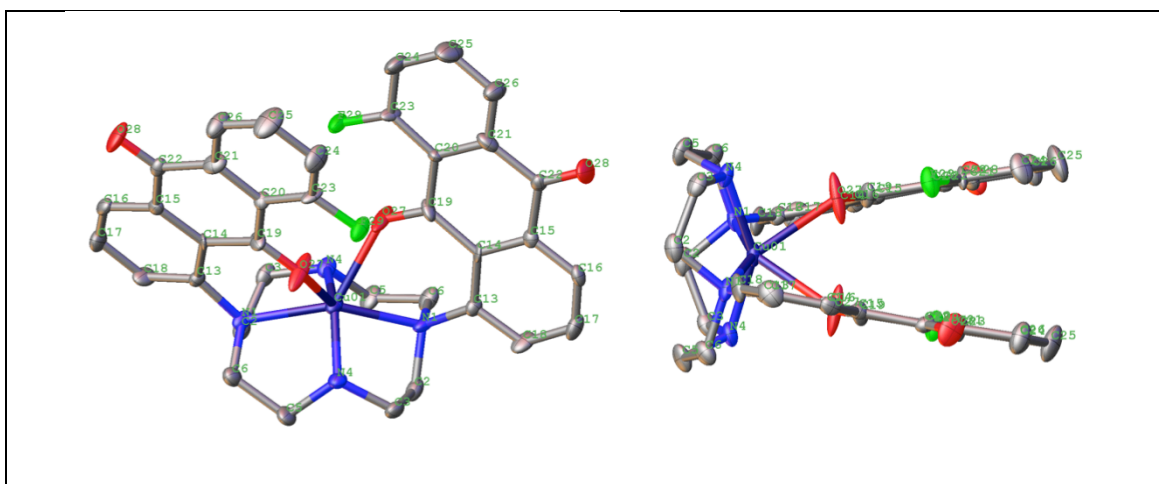


Abbildung 45: Aufsicht und Seitenansicht von Komplex **K16**. Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind die Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

Tabelle 14: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] der Komplexe **K14** und **K16**.

	K14	K16		K14	K16
Cu(1)-N(1)	2.063(3)	2.136(4)	O(27)-Cu(1)-O(48,27')	63.722(12)	73.5(3)
Cu(1)-N(4,10')	2.001(3)	2.001(4)	O(27)-Cu(1)-N(1)	85.27(10)	77.07(15)
Cu(1)-N(7,1')	2.065(3)	2.136(4)	O(27)-Cu(1)-N(4)	124.45(10)	128.16(17)
Cu(1)-N(10,4')	2.036(3)	2.001(4)	O(27)-Cu(1)-N(7,1')	115.79(10)	128.25(15)
Cu(1)-O(27)	2.129(2)	2.288(4)	O(27)-Cu(1)-N(10,4')	87.04(10)	80.80(18)
Cu(1)-O(43,27')	2.666(3)	2.288(4)	N(1)-Cu(1)-N(4)	86.55(12)	85.32(17)
C(2)-C(3)	1.517(5)	1.497(8)	N(4)-Cu(1)-N(7)	87.24(12)	86.59(17)
O(27)-C(19)	1.227(4)	1.220(6)	N(7)-Cu(1)-N(10)	86.46(12)	85.32(17)
N(1)-C(13)	1.458(4)	1.462(7)	N(10)-Cu(1)-N(1)	87.15(12)	86.59(15)
C(14)-C(15)	1.413(5)	1.396(7)	N(1)-Cu(1)-N(7)	157.59(8)	151.4(2)
C(14)-C(19)	1.488(4)	1.483(8)	N(4)-Cu(1)-N(10)	147.14(9)	146.8(3)
C(22)-O(28)	1.222(4)	1.209(6)	Cu(1)-N(1)-C(13)	119.4(2)	124.6(3)
N(1):N(4):N(7):N(10)-Cu(1)	0.486	0.550	O(27)-Cu(1)-N(1)-C(13)	26.479	25.802

Die Anthrachinongruppe des Komplexes **K14** ist ähnlich wie die des einfach substituierten Komplexes **K13** stark verzerrt. Die Nichtwasserstoffatome der Anthrachinongruppe weichen von -0.162 bis 0.216 \AA (durchschnittlich 0.147 \AA) von der mittleren Aromatenebene ab. Der Komplex **K16** zeigt hingegen mit einer Abweichung von -0.030 bis 0.050 \AA (durchschnittlich 0.023 \AA) nur eine leichte Verzerrung.

Der in 2-Position der AQ-Gruppe substituierte Komplex **K17** weist einen quadratisch-pyramidalen Koordinationspolyeder mit koordinierendem Nitratoliganden auf. Analog zu den Komplexen **K13** und **K15** ist auch der Komplex **K17** isostrukturell zum Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** (vgl. Abbildung 46 und Tabelle 15).

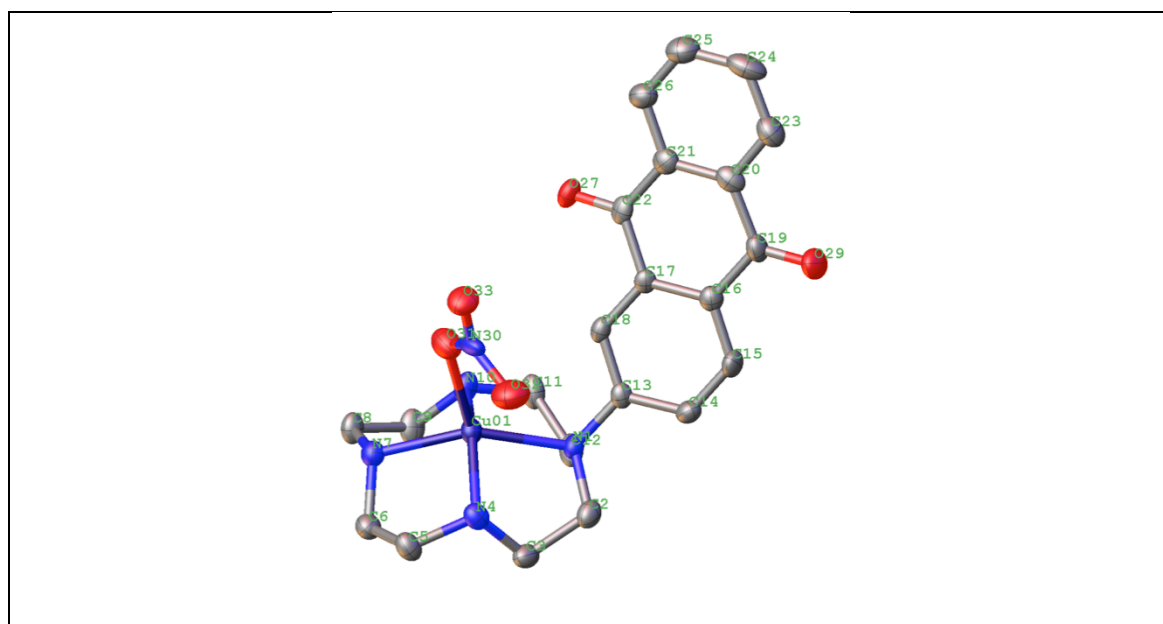


Abbildung 46: Aufsicht von Komplex **K17**. Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

Die in 2-Position substituierte Anthrachinongruppe des Komplexes **K17** ist planar und zeigt mit einer Abweichung von -0.138 bis 0.158 Å (durchschnittlich 0.065 Å) kaum eine Verzerrung gegenüber freiem 2-Aminoanthrachinon, bei dem die Nichtwasserstoffatome eine durchschnittliche Abweichung von 0.022 Å von der mittleren Aromatenebene aufweisen.^[123]

Tabelle 15: Ausgesuchte Bindungslängen [Å] und Winkel [°] von Komplex **K17**.

	K17		K17	
Cu(1)-N(1)	2.084(16)	O(30)-Cu(1)-N(1)	115.3(6)	
Cu(1)-N(4)	2.045(17)	O(30)-Cu(1)-N(4)	99.2(7)	
Cu(1)-N(7)	2.030(17)	O(30)-Cu(1)-N(7)	91.7(7)	
Cu(1)-N(10)	1.963(18)	O(30)-Cu(1)-N(10)	112.0(6)	
Cu(1)-O(30)	2.204(15)	N(1)-Cu(1)-N(4)	86.8(6)	
C(2)-C(3)	1.56(3)	N(4)-Cu(1)-N(7)	84.1(7)	
O(27)-C(22)	1.25(2)	N(7)-Cu(1)-N(10)	87.8(7)	
N(1)-C(13)	1.44(2)	N(10)-Cu(1)-N(1)	86.3(7)	
C(17)-C(18)	1.40(3)	N(1)-Cu(1)-N(7)	152.6(7)	
C(17)-C(22)	1.48(3)	N(4)-Cu(1)-N(10)	148.0(7)	
C(19)-O(28)	1.22(2)	Cu(1)-N(1)-C(13)	119.5(13)	
N(1):N(4):N(7):N(10)-Cu(1)	0.521			

3.3.3 Evaluation der DNA-Bindung

Die Effektivität einer Metallonuklease wird maßgeblich durch ihre Fähigkeit bestimmt, an DNA zu binden. Hierbei kann die DNA-Metallkomplexinteraktion in drei Kategorien unterteilt werden: elektrostatische Wechselwirkung (Abbildung 47A), Furchenbindung (Abbildung 47B) und Interkalation (Abbildung 47C).^[124-126]

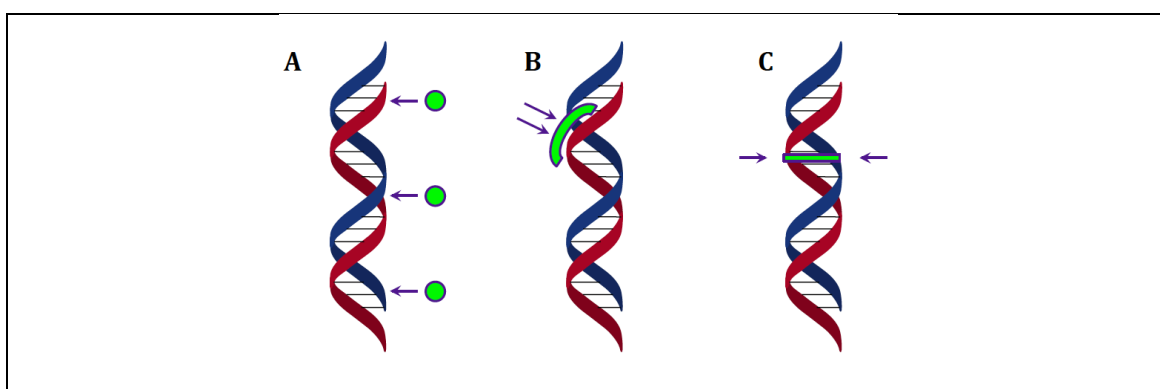


Abbildung 47: Kategorien der Wechselwirkung eines DNA-Binders mit DNA nach He.^[126]

Metallkomplexe können DNA über elektrostatische Wechselwirkung binden. Diese sind hauptsächlich auf die Wechselwirkung des negativ geladenen Phosphatrückgrats mit der positiven Ladung des Metallkomplexes zurückzuführen. Sie bewirken nur eine geringe bzw. keine Änderung der DNA-Konformation.

Auch Furchenbindung führt zu wenig drastischen Änderungen der DNA-Konformation. Sie lässt sich am besten durch das altbewährte Schlüssel-Schloss-Prinzip erklären. Furchenbinder sind in der Regel sichelförmige Moleküle, die an die kleine Furche der DNA binden.^[124]

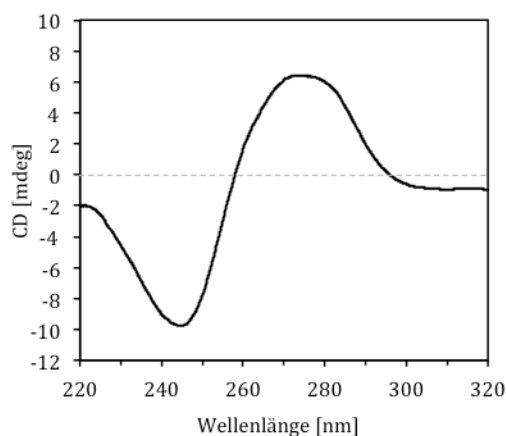
Interkalation involviert die Insertion eines planaren Moleküls zwischen die DNA-Basen. Sie führt zu einer Verlängerung der DNA und einer Verringerung ihrer Helixdrehung. In Analogie zur Enzym-Substrat-Interaktion kann eine solche Bindung auch als *induced fit* angesehen werden. Bindungskonstanten für die interkalative Bindung rangieren in einem Bereich von 10^5 bis 10^{11} M^{-1} .^[127]

Um zwischen den drei Formen der DNA-Bindung zu unterscheiden, wurde der Einfluss der Komplexe **K13** bis **K17** auf das CD-Spektrum von CT-DNA und auf die Schmelztemperatur von CT-DNA hin untersucht. Weiteren Aufschluss über den Bindungsmodus der Komplexe zur DNA sollte das Ethidiumbromidverdrängungsassay liefern.

3.3.3.1 CD-Spektroskopie

Box 4: CD-Spektroskopie

Circulardichroismus (CD)-Spektroskopie ist eine optische Methode, mit der man die unterschiedliche Absorption einer chiralen Substanz von rechts bzw. links circular polarisiertem Licht messen kann. Im besonderen Maße wird diese Methode auch für die Untersuchung von Biomolekülen verwendet. So wird sie zum Beispiel extensiv für die Strukturaufklärung von Proteinen genutzt, da mit ihr Informationen über die Sekundärstruktur von Polypeptiden gewonnen werden können. Ein weiteres Anwendungsgebiet ist die Untersuchung von Nukleinsäuren. Hier hat sich die CD-Spektroskopie etabliert, da die Methode günstig ist und schnell vergleichende Untersuchungen von Oligonukleotiden unter verschiedensten Bedingungen erlaubt.^[128]



CD-spektroskopische Untersuchungen an Kalbsthymus-DNA (CT-DNA) eignen sich besonders gut, um Änderungen in der DNA-Morphologie zu untersuchen, wie sie zum Beispiel durch die Wechselwirkung von DNA mit DNA-Bindern hervorgerufen werden. In wässrigen Lösungen liegt CT-DNA in der B-DNA-Form vor und weist ein charakteristisches CD-Spektrum mit einer positiven Bande bei 275 nm, die durch die Basenstapelung, und einer negativen Bande bei 245 nm, die durch die rechtshändige Helizität verursacht wird auf (vgl. Bild).^[129] Beide Banden reagieren besonders sensibel auf Änderungen der DNA-Morphologie.^[130] Während elektrostatische Wechselwirkungen zwischen Verbindungen und CT-DNA keine Änderungen des CD-Spektrums hervorrufen (zumindest nicht in den hier untersuchten mikromolaren Konzentrationen), bewirkt Furchenbindung eine leichte und Interkalation eine starke Änderung des CD-Spektrums. Für den letztgenannten Fall wird in der Literatur sowohl eine Erhöhung als auch eine Erniedrigung der Bandenintensität als Nachweis für die Interkalation kontrovers diskutiert. So argumentieren PALANIANDAVAR *et al.*, dass die Erhöhungen der Bandenintensität für die Interkalation spricht, während BAI *et al.* vom Gegenteil ausgehen.^[130,131]

In Abbildung 48 sind die CD-Spektren von CT-DNA unter Titration mit den Komplexen **K1** und **K13** bis **K17** dargestellt.

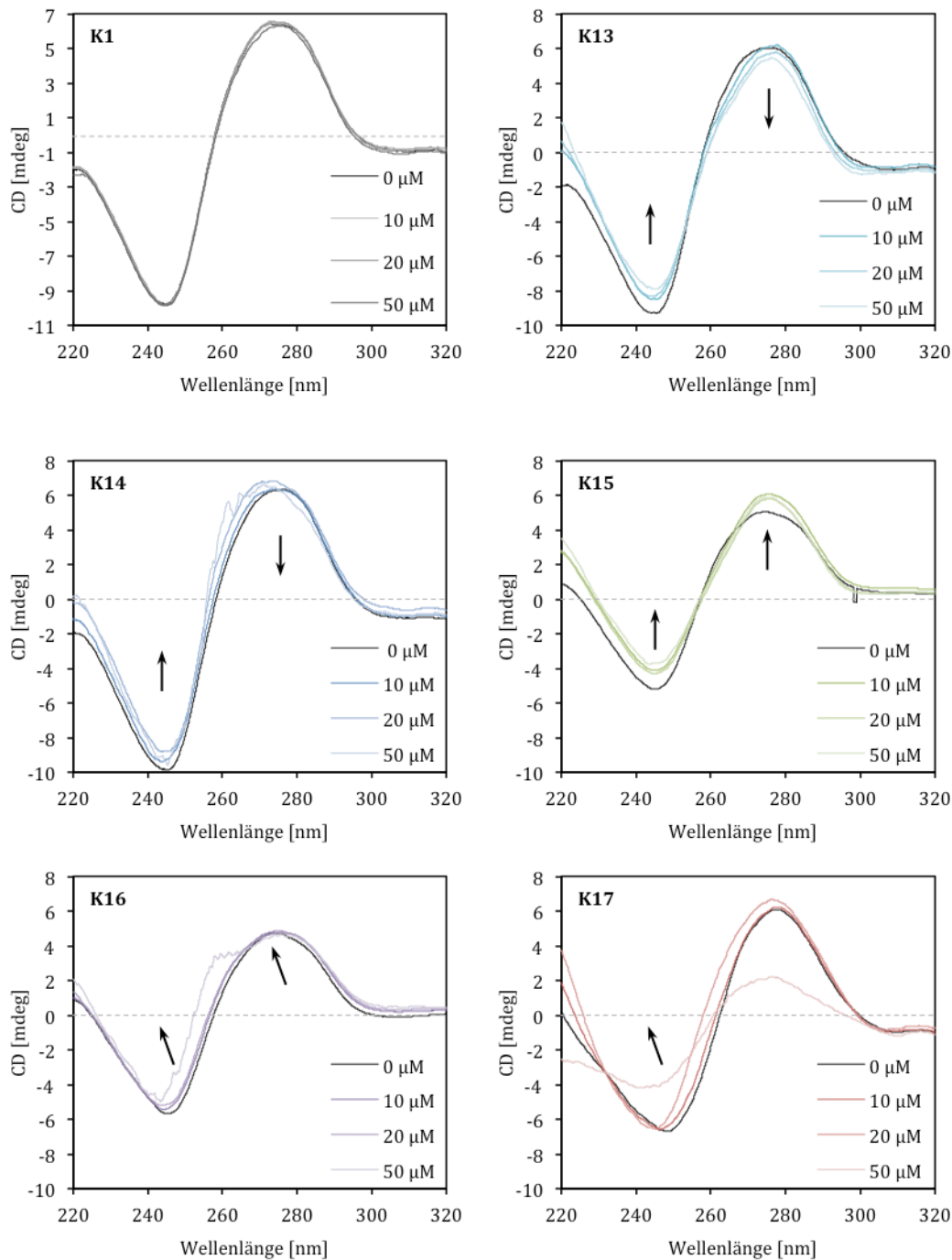


Abbildung 48: CD-Spektren von CT-DNA (100 µM) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) mit unterschiedlichen Konzentrationen der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17**.

Der Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** bewirkt auch in hohen Konzentrationen keine Änderung des CD-Spektrums von CT-DNA. Die Wechselwirkung zwischen Komplex und DNA ist rein elektrostatischer Natur. Wie zu erwarten vermag der Komplex die DNA weder über Furchenbindung noch über Interkalation zu binden.

Auch die zweifach substituierten Komplexe **K14** und **K16** bewirken nur eine schwache Änderung des CD-Spektrums. Erst bei einer Konzentration von 50 μM zeigt sich eine Abnahme der negativen Bande. Für den Komplex **K16** kann außerdem eine hypsochrome Bandenverschiebung beobachtet werden.

Für die einfach substituierten Komplexe **K13**, **K15** und **K17** zeigt sich bereits bei der Zugabe einer Konzentration von 10 μM eine klare Abnahme der negativen Bande und somit eine Abnahme der Helizität. Während für die Komplexe **K13** und **K17** mit steigender Komplexkonzentration eine Abnahme der positiven Bande beobachtet werden kann, ist für den Komplex **K15** der gegenteilige Effekt zu beobachten. Für den Komplex **K17** ist die Veränderung des CD-Spektrums am stärksten ausgeprägt: Er verändert die DNA-Konformation am stärksten. Für die Komplexe **K13**, **K15** und **K17** kann eine interkalative DNA-Bindung angenommen werden.

3.3.3.2 Ethidiumbromidverdrängung

Weiterer Aufschluss über die Fähigkeit der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17**, DNA zu binden, sollte mit Hilfe des Ethidiumbromidverdrängungsassays gewonnen werden. Hierbei wird die Abhängigkeit der Fluoreszenz des Ethidiumbromid (EB)-DNA-Systems von der Konzentration des kompetitiven Inhibitors (des Metallkomplexes) untersucht (Abbildung 49). Ethidiumbromid selbst weist in wässriger Lösung nur eine schwache Fluoreszenz auf (vgl. graue Linie in Abbildung 49), während in die DNA interkaliertes Ethidiumbromid (vgl. schwarze Linie Abbildung 49) aufgrund der hydrophoben Umgebung stark fluoresziert. Wird das Ethidiumbromid durch Interkalation eines kompetitiven Inhibitors aus der DNA verdrängt, nimmt die Fluoreszenz erneut ab. Dieser Prozess kann gut über die STERN-VOLMER-Gleichung (Gleichung 3) beschrieben werden:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV}[Q].$$

Gleichung 3

Die STERN-VOLMER-Konstante K_{SV} kann aus der Auftragung des Quotienten der ursprünglichen Fluoreszenzintensität I_0 mit der Fluoreszenzintensität unter Anwesenheit des Quenchers I gegen die Konzentration des Quenchers $[Q]$ erhalten werden und gibt Aufschluss über die Interkalationsfähigkeit des zu untersuchenden Komplexes Q .

Die Bindungskonstante des Komplexes bezüglich DNA, K_{APP} , kann auch über Gleichung 4 berechnet werden:

$$K_{EB}[EB] = K_{APP}[Q].$$

Gleichung 4

Hierbei ist K_{EB} die Bindungskonstante von Ethidiumbromid an DNA (10^7 M^{-1}), $[EB]$ die Konzentration von Ethidiumbromid ($5 \mu\text{M}$) und $[Q]$ die Komplexkonzentration, bei der die Hälfte der Fluoreszenzintensität gequenchet wurde. $[Q]$ kann hierbei über Gleichung 3 berechnet werden.

Die K_{SV} - und K_{APP} -Werte der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** sind in Tabelle 16 zusammengetragen. Es ergibt sich folgende Reihenfolge der DNA-Bindungskonstanten: **K16** < **K1** < **K14** << **K15** < **K13** << **K17**. In guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen aus der CD-Spektroskopie zeigt sich, dass die einfach substituierten Komplexe **K13**, **K15** und **K17** die DNA am besten binden. Die Zweifachsubstitution führt zu einer Verschlechterung der DNA-Bindung, der Komplex **K16** bindet die DNA sogar schlechter als der Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1**. Grund hierfür kann der erhöhte sterische Anspruch sein, der durch die zweite Anthrachinongruppe verursacht wird. Erneut ist **K17** der mit Abstand effektivste DNA-Binder.

Tabelle 16: Auflistung der STERN-VOLMER-Konstante K_{SV} und der Bindungskonstante K_{APP} der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** bezüglich CT-DNA.

	$K_{SV} [\text{M}^{-1}]$	$K_{APP} [\text{M}^{-1}]$
K1	4.32×10^4	2.16×10^6
K13	3.41×10^5	1.71×10^7
K14	5.11×10^4	2.56×10^6
K15	3.27×10^5	1.64×10^7
K16	4.02×10^4	2.01×10^6
K17	1.67×10^6	8.35×10^7
EtBr	-	1.00×10^7

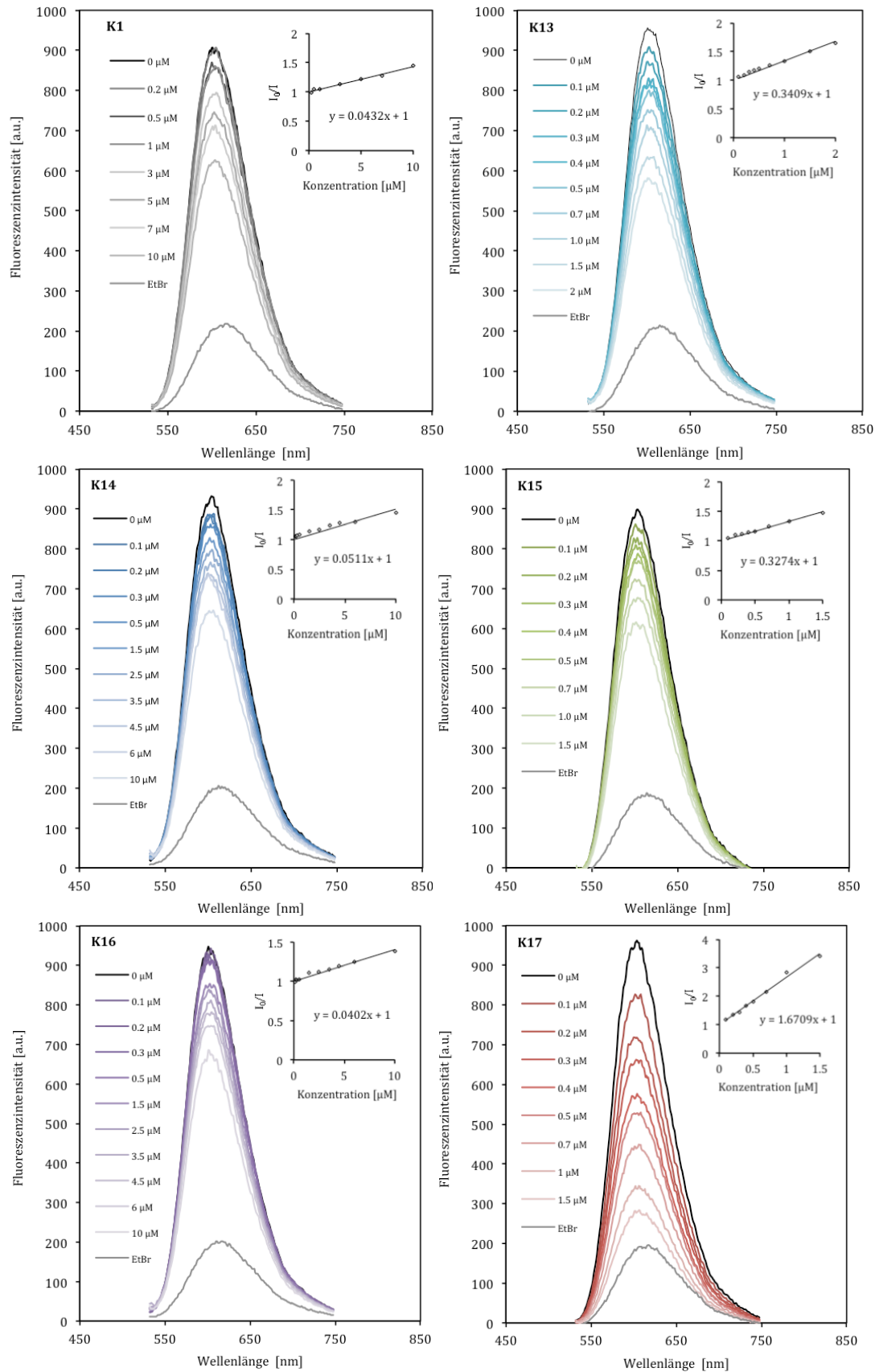


Abbildung 49: Ethidiumbromidverdrängung des EB-CT-DNA-Systems (20 μM CT-DNA; 5 μM EB) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) unter Zugabe der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17**.

3.3.3.3 Thermische DNA-Denaturierung

Die Interkalation einer Verbindung in die DNA-Doppelhelix verstärkt die Basenstapelung, erhöht die Helixstabilität und führt somit auch zu einer Erhöhung der DNA-Schmelztemperatur T_m , bei der die Hälfte der doppelsträngigen DNA in einzelsträngige DNA übergegangen ist. Der Extinktionskoeffizient bei 260 nm der doppelhelikalen DNA-Form ist hierbei kleiner als der von einzelsträngiger DNA. Somit kann die temperaturabhängige Umwandlung der doppelsträngigen in die einzelsträngige DNA über die Änderung der Absorption bei 260 nm beobachtet werden.^[126,132]

In Abbildung 50 sind die normierten Schmelzkurven von CT-DNA unter Anwesenheit der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** dargestellt. In Tabelle 17 sind Schmelztemperaturen T_m und die Änderungen der Schmelztemperaturen ΔT_m aufgelistet.

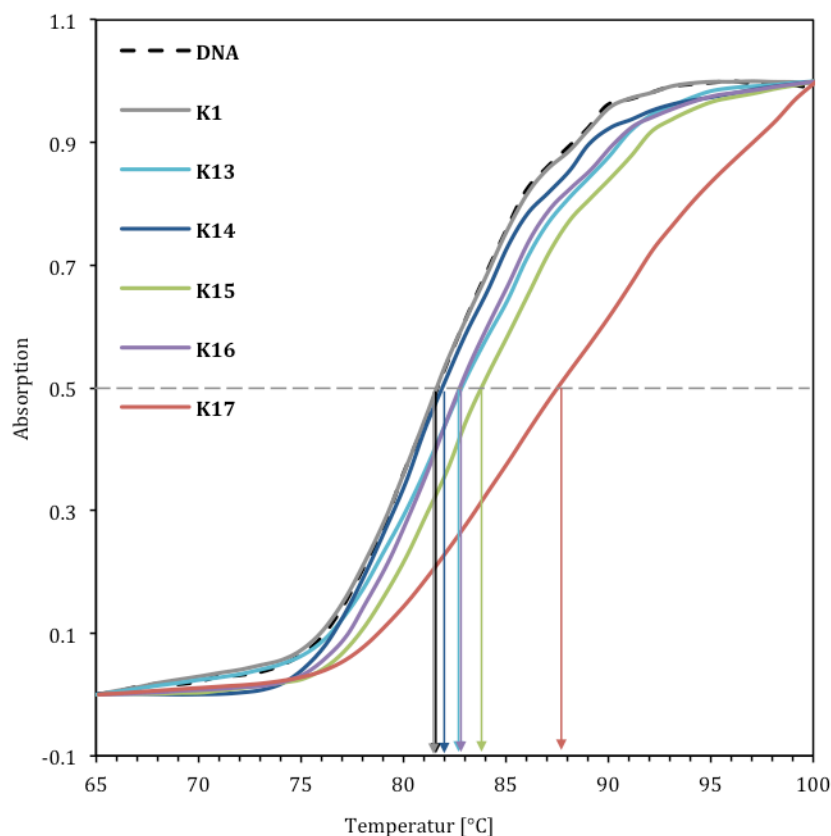


Abbildung 50: Temperaturabhängige Absorption von CT-DNA (100 μM) bei 260 nm in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) unter Zugabe der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** (2.5 μM).

Aus dem Vergleich der ΔT_m -Werte ergibt sich folgende Reihenfolge für die Komplexe **K1** und **K13** bis **K17**: **K1** < **K14** < **K13** = **K16** < **K15** << **K17**. Erneut zeigt sich, dass der in 2-Position substituierte Komplex **K17** die DNA am stärksten bindet, während der Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** nicht fähig ist, die DNA-Schmelztemperatur zu erhöhen, und somit nicht zwischen die Basen interkalieren kann. Die in 1-Position substituierten Komplexe **K13** und

K15 erhöhen die Schmelztemperatur leicht. Auch der Komplex **K16** führt zu einer leichten Stabilisierung der DNA. Interessanterweise erhöht auch der sterisch gehinderte Komplex **K16** die DNA-Stabilität, während der nicht fluoridierte Komplex **K14** kaum besser als der Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** ist.

Tabelle 17: Unterschiede in der Schmelztemperatur von CT-DNA bei Wechselwirkung mit den Komplexen **K1** und **K13** bis **K17**.

	T_m [°C]	ΔT_m
DNA	81.5	0
K1	81.5	0
K13	83	1.5
K14	82	0.5
K15	84	2.5
K16	83	1.5
K17	88	7.5

3.3.3.4 Evaluation der DNA-Bindung: Fazit

Der Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** kann DNA nicht binden. In keinem der Experimente konnte eine andere als elektrostatische Wechselwirkung zwischen Komplex und DNA ausgemacht werden.

Für die Komplexe **K13**, **K15** und **K17** kann eindeutig eine erhöhte DNA-Affinität festgestellt werden. Hierbei ist der Komplex **K17**, bei dem der Cyclenkomplex in 2-Position mit der Anthrachinongruppe verbunden ist, mit Abstand der beste DNA-Binder: Er bewirkt eine starke Änderung des CD-Spektrums von CT-DNA, verdrängt Ethidiumbromid effektiv aus der DNA und kann den Schmelzpunkt der DNA um fast 8 °C erhöhen. Ein Vergleich der Festkörperstrukturen der isostrukturellen Komplexe **K13** und **K15** mit dem Komplex **K17** zeigt womöglich den Grund für die bessere DNA-Bindung auf (vgl. Abbildung 42 und Abbildung 46): Während die Anthrachinongruppe des Komplexes **K17** exponiert steht, koordinieren die Carbonylgruppen der Komplexe **K13** und **K15** an das Kupferzentrum. Diese zusätzliche bindende Wechselwirkung schränkt die Flexibilität der Anthrachinongruppe von **K13** und **K15** ein und verringert die DNA-Bindungsfähigkeit. Der Komplex **K17** ist ohne Zweifel ein DNA-Interkalator, die Komplexe **K13** und **K15** zeigen leicht erhöhte DNA-Affinität, so dass sie am ehesten als Furchenbinder klassifiziert werden können.

Die in 1,7-Position mit zwei Anthrachinongruppen direkt substituierten Cyclenkomplexe **K14** und **K16** binden DNA viel schlechter als ihre einfach substituierten Gegenstücke. Ursächlich für die schlechtere DNA-Bindung ist höchstwahrscheinlich die sterische Hinderung, die durch die zweite Anthrachinongruppe bedingt wird. Eine Änderung des CD-Spektrums von CT-DNA kann erst ab einer Komplexkonzentration von 50 μ M erreicht werden. Beide Komplexe

binden CT-DNA viel schlechter als Ethidiumbromid und vermögen es auch nicht, den Schmelzpunkt von CT-DNA zu erhöhen und somit eine Stabilisierung der DNA zu bewirken. Eine interkalative Wechselwirkung erscheint mit Hinsicht auf die durchgeführten Versuche unwahrscheinlich. Womöglich können die Komplexe **K14** und **K16** über Furchenbindung mit DNA wechselwirken.

3.3.4 DNA-Spaltversuche

Für die DNA-Spaltversuche wurde *supercoiled* pBR322-Plasmid-DNA unter annähernd physiologischen Bedingungen mit den zu untersuchenden Komplexen inkubiert.

Zunächst wurde die DNA-Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** unter oxidativen Bedingungen mit L-Ascorbinsäure als Reduktionsmittel für das Metallzentrum untersucht (vgl. Abbildung 51).

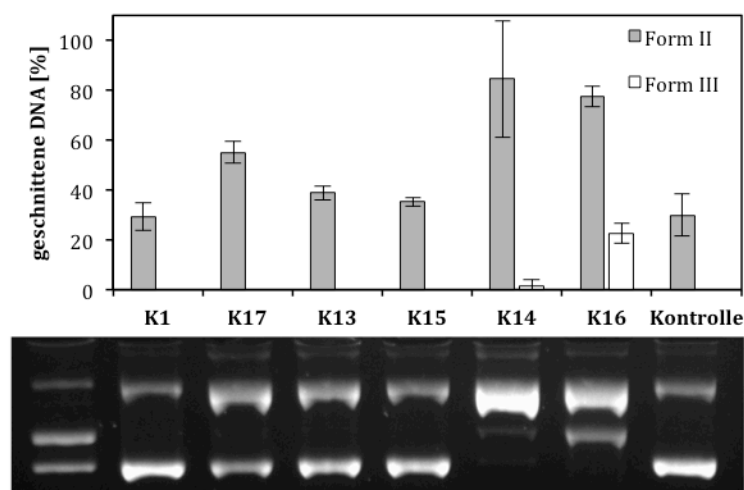


Abbildung 51: Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** (0.04 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.

Der in Abbildung 51 gezeigte Vergleich der Komplexe macht deutlich, dass die Substitution mit Anthrachinon einen erheblichen Einfluss auf die DNA-Spaltaktivität hat: Während der Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** noch keine nennenswerte Erhöhung der DNA-Spaltaktivität gegenüber der Kontrolle bewirkt (vgl. Kapitel 2), führt die einfache Anbringung des Kupfer(II)cyclen-Komplexes in der 1-Position des Anthrachinons zu einem Anstieg der Form II-DNA auf 40 % für die Komplexe **K13** und **K15**. Hierbei zeigt sich kein Unterschied zwischen dem Komplex **K13** und dem fluorierten Komplex **K15**. Für den Komplex **K17**, bei dem die Substitution der Anthrachinongruppe in 2-Position durchgeführt wurde, kann eine Verdoppelung der DNA-Spaltaktivität gegenüber dem Komplex **K1** beobachtet werden. Die

zweifach substituierten Komplexe **K14** und **K16** sind im Vergleich zu den Komplexen, die nur eine Anthrachinongruppe tragen, die besten DNA-Spalter. Während der nicht fluoridierte Komplex **K14** die *supercoiled* DNA zu 80 % in Form II überführt, katalysiert der fluoridierte Komplex **K16** zusätzlich die Bildung von linearer DNA.

Der in Abbildung 14 dargestellte Zusammenhang zwischen Komplexkonzentration und Spaltaktivität, der beispielhaft für den Komplex **K17** durchgeführt wurde, zeigt eine lineare Abhängigkeit. Erst bei höheren Komplexkonzentrationen (0.16 und 0.32 mM) kommt es zur Bildung eines Plateaus, das auf den Verbrauch des Reduktionsmittels zurückzuführen ist.

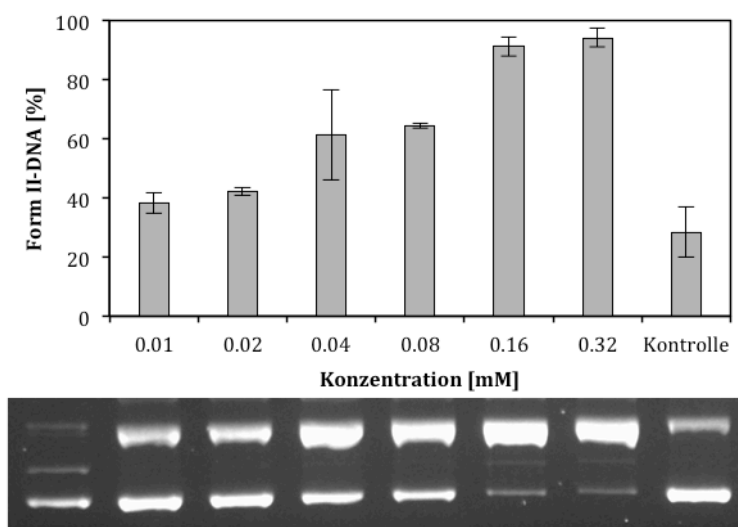


Abbildung 52: Abhängigkeit von Spaltaktivität und Komplexkonzentration des Komplexes **K17** bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.02 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Experimenten, die Standardabweichung wird als Fehlerbalken angezeigt.

Die Beobachtung der Plateaubildung für die Untersuchung der konzentrationsabhängigen Spaltung deutet auf einen oxidativen Spaltmechanismus hin (vgl. Kapitel 2). Um den Mechanismus der DNA-Spaltung genauer zu beleuchten, wurden Spaltexperimente unter Zusatz von Radikalfängern durchgeführt. In Abbildung 53 ist beispielhaft das Quenchgels für den Komplex **K17** dargestellt. Tabelle 5 zeigt die Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe **K13** bis **K17**: Analog zu den Ergebnissen aus der Untersuchung des Einflusses von Heteroatomaustausch auf die DNA-Spaltung wird die Spaltung durch die vorliegenden Komplexe erheblich durch den Zusatz von DMSO und Katalase inhibiert. Außerdem zeigt sich eine mittelstarke Inhibierung durch den Zusatz von Natriumazid. Bei der DNA-Spaltung handelt es sich demnach um eine oxidative Spaltung, die durch Hydroxylradikale und Peroxospezies sowie zum Teil durch Singulett-Sauerstoff als ROS bewirkt wird.

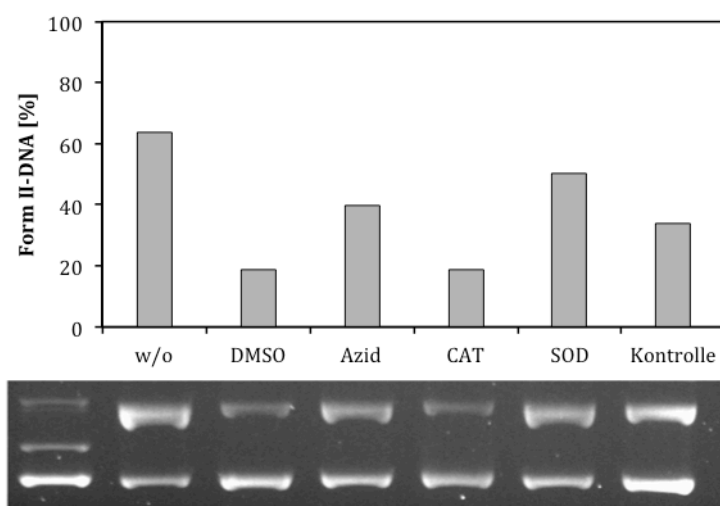


Abbildung 53: Quenchgel für die Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch den Komplex **K17** (0.040 mM). Die Inkubation wurde in Tris-HCl Puffer (50 mM , $\text{pH } 7.4$), PBS (1.25X) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ für zwei Stunden und unter Zusatz von ROS-Fängern durchgeführt.

Tabelle 18: Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe **K13** bis **K17**.

		K17	K13	K15	K14	K16
DMSO	$\cdot\text{OH}$	---	---	---	---	--
NaN_3	$^1\text{O}_2$	--	--	--	--	--
CAT	$\text{O}_2^{\cdot-}$	---	---	---	---	---
SOD	$\text{O}_2^{\cdot-}$	k. I.	k. I.	k. I.	k. I.	k. I.
k. I.	keine Inhibierung		-	geringe Inhibierung		
+	erhöhte Spaltung		--	mittlere Inhibierung		
			---	starke Inhibierung		

Neben den oxidativen DNA-Spaltversuchen wurde die DNA-Spaltung auch ohne den Zusatz eines Reduktionsmittels untersucht. Hierfür wurde die Komplexkonzentration verzehnfacht und die Inkubationszeit von 2 auf 24 Stunden erhöht (vgl. Abbildung 29). Für die Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** bezüglich DNA ohne den Zusatz eines Reduktionsmittels ergibt sich folgende Reihenfolge: **K1** \ll **K13** \approx **K15** $<$ **K17** $<$ **K14** $<$ **K16**. Die Wiederholung der DNA-Spaltversuche unter Zusatz von Radikalfängern ergab keinen Rückgang der DNA-Spaltung, so dass die Spaltung durch freie ROS ausgeschlossen werden kann (Gele sind nicht dargestellt). Ein hydrolytischer Spaltmechanismus scheint jedoch dennoch fraglich, da in einem Religationsexperiment keine Religation von geschnittener DNA beobachtet werden konnte. Möglicherweise wird die DNA-Spaltung photolytisch oder über gebundene reaktive Sauerstoffspezies bewirkt.

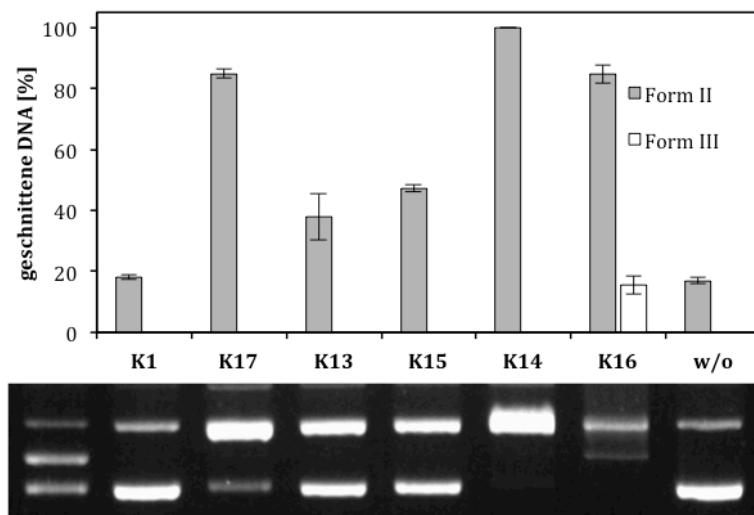


Abbildung 54: Hydrolytische Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch die Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** (0.4 mM) in Tris-HCl Puffer (50 mM , $\text{pH } 7.4$) bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h ohne Zusatz externer Reduktionsmittel. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.

Die Anthrachinongruppe ist ein bekannter DNA-Photospalter (vgl. Kapitel 3.1).^[31] Für die photolytische DNA-Spaltung wurden die Inkubationslösungen unter Zusatz der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** für 30 Minuten in Britton-Robinson-Puffer ($\text{pH } 7.4$) bei Raumtemperatur bestrahlt. Hierbei wurde bei den Wellenlängen 256 nm (Abbildung 55) und 365 nm (Abbildung 56) gearbeitet.

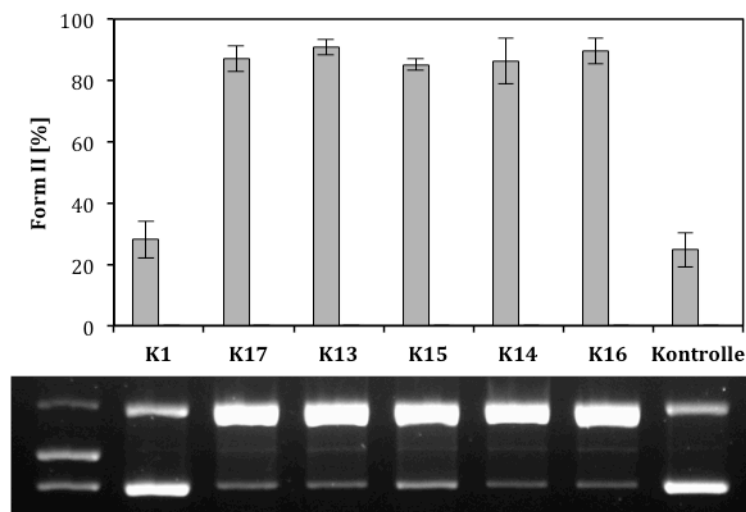


Abbildung 55: Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** (0.02 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) unter Bestrahlung (256 nm , 6 W) in Britton-Robinson-Puffer (10 mM , $\text{pH } 7.4$) bei Raumtemperatur für 30 min . Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.

Während bei 365 nm keine gespaltene DNA detektiert werden kann, spalten die Komplexe **K13** bis **K17** das pBR322-Plasmid bei Bestrahlung mit 256 nm zu circa 90% in die Form II.

Hierbei können keine nennenswerten Unterschiede zwischen den Spaltaktivitäten der verschiedenen Komplexe festgestellt werden.

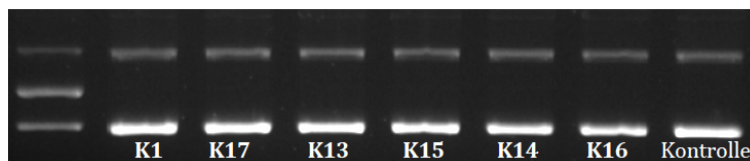


Abbildung 56: Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K13** bis **K17** (0.02 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$) unter Bestrahlung (365 nm, 6 W) in Britton-Robinson-Puffer (10 mM, pH 7.4) bei Raumtemperatur für 30 min.

Die Wiederholung der Spaltversuche bei 256 nm unter Zusatz von Radikalfängern ergab keine Verringerung der DNA-Spaltung. Singulett-Sauerstoff oder andere ROS sind demnach nicht an dem Spaltmechanismus beteiligt (die Quenchergele sind nicht dargestellt). Die DNA-Spaltung wird wahrscheinlich durch direkte Wasserstoffabstraktion von den Riboseeinheiten des Zucker-Phosphatrückgrats durch die angeregte Anthrachinongruppe bewirkt.^[31] Eine durch Elektronentransfer von den Guaninbasen auf die Anthrachinongruppe bedingte DNA-Spaltung kann für die Komplexe **K13** bis **K16** mangels Interkalation ausgeschlossen werden. Ein solcher Mechanismus kann nur für den in 2-Position substituierten Komplex **K17**, für den eine interkalative Wechselwirkung mit DNA nachgewiesen wurde, angenommen werden (vgl. Kapitel 3.3.3.4).

Die DNA-Schädigung über Elektronentransfer von den Guaninbasen auf die Anthrachinongruppe des Komplexes **K17** wäre auch bei Bestrahlung mit 365 nm möglich. Eine solche Schädigung der DNA ist nicht direkt über Agarose-Gelelektrophorese detektierbar, da sie nicht zum Strangbruch führt. Erst durch Behandlung der geschädigten DNA mit Piperidin oder Anilin kommt es zum Strangbruch.^[31] Dieser Versuch wurde jedoch aus zeitlichen Gründen nicht mehr durchgeführt.

3.3.5 Zytotoxizität

Um zu untersuchen, ob eine Korrelation zwischen DNA-Spaltaktivität und Zytotoxizität besteht, wurde das MTT-Assay von STEFANIE WEDEPOHL (AG CALDERÓN, Freie Universität Berlin) durchgeführt. Hierfür wurden A549-Zellen (Bronchialkarzinom) mit steigenden Konzentrationen der Komplexe **K13** bis **K16** für zwei Tage inkubiert und anschließend ihre Überlebensrate festgestellt (Abbildung 57).

Wie Abbildung 57 zeigt, weisen die monosubstituierten Komplexe **K13** und **K15** bei den untersuchten Konzentrationen keine Zytotoxizität auf.^{IV} Die zweifach substituierten

^{IV} Erst ab einer Überlebensrate von unter 80 % wird von einer zytotoxisch wirkenden Verbindung gesprochen.

Komplexe **K14** und **K16** hingegen zeigen zytotoxische Wirkung auf die Bronchialkarzinomzellen. Hierbei führt der Komplex **K14** bereits ab einer Konzentration von 10 μM zum Absterben von 90 % der Zellen während der Komplex **K16** bei dieser Konzentration noch nicht aktiv ist. Die Ergebnisse des MTT-Assays stimmen gut mit den Ergebnissen der DNA-Spaltversuche überein: Auch bei der Untersuchung der pBR322-DNA-Spaltung sind die Komplexe **K14** und **K16** die weitaus effektivsten DNA-Spalter.

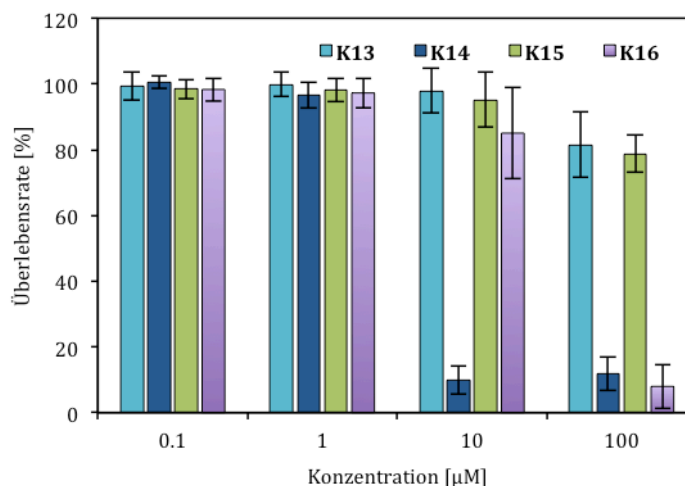


Abbildung 57: Zytotoxische Wirkung der Komplexe **K13** bis **K16** auf A549-Zellen nach 48-stündiger Inkubation.

Ein interessantes Ergebnis ergab sich auch für die Untersuchung der zytotoxischen Wirkung der Komplexe **K13** bis **K17** unter Bestrahlung. In einem erneuten MTT-Assay wurden die A549-Zellen mit den Komplexen **K13** bis **K17** inkubiert und zu Beginn der Inkubation einmalig für dreißig Minuten mit 365 nm außerhalb des Inkubators bestrahlt. In Abbildung 58 ist die zytotoxische Wirkung der Komplexe **K13** und **K17** auf A549-Zellen mit und ohne Bestrahlung dargestellt (die Ergebnisse der Bestrahlungstests der Komplexe **K14** bis **K16** werden nicht gezeigt). Während sich für die Komplexe **K13** bis **K16** keine Änderung der zytotoxischen Wirkung auf die Bronchialkarzinomzellen im Vergleich zum unbestrahlten Fall ergab, zeigte der Komplex **K17** unter Bestrahlung stark erhöhte Zytotoxizität. Ohne Bestrahlung zeigen die Komplexe **K13** und **K17** bis zu einer Konzentration von 100 μM keine Zytotoxizität. Während sich dieses Verhalten auch unter Bestrahlung für den Komplex **K13** nicht ändert, zeigt der Komplex **K17** unter Bestrahlung bereits bei einer Konzentration von 10 μM einen Rückgang der Zellüberlebensrate auf 40 %. Bei einer Konzentration von 100 μM sind alle Zellen abgestorben.

Ursache für die unterschiedliche Wirkung der Komplexe **K13** und **K17** kann die unterschiedliche Art der DNA-Bindung sein. Während für den Komplex **K17** ohne Zweifel eine interkalative Wechselwirkung mit DNA festgestellt werden konnte, liegt für den

Komplex **K13** eher Furchenbindung vor (vgl. Kapitel 3.3.3.4). Nur für den Komplex **K17** besteht demnach die Möglichkeit, die DNA-Schädigung über Elektronentransfer von angeregten Guaninbasen auf die Anthrachinongruppe auszulösen und zytotoxisch zu wirken.

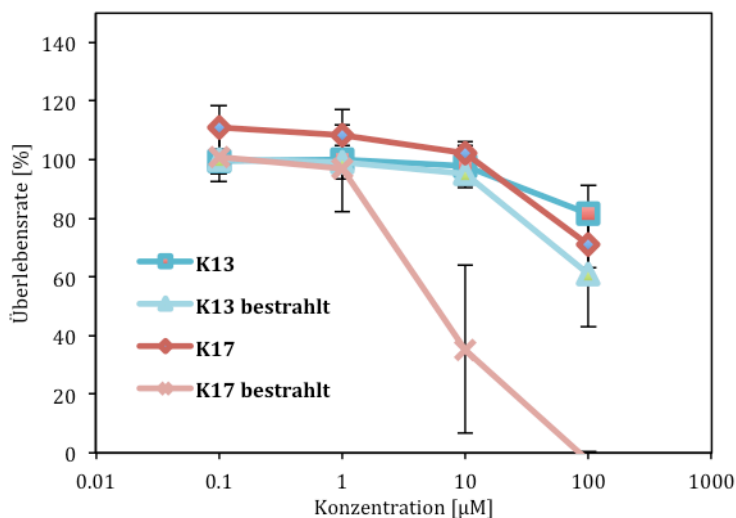


Abbildung 58: Zytotoxische Wirkung der Komplexe **K13** und **K17** auf A549-Zellen nach 48-stündiger Inkubation mit und ohne 30-minütiger Bestrahlung bei 365 nm.

3.3.6 Konfokale Fluoreszenzmikroskopie

Mit Ausnahme von Komplex **K17**, der eine geringe Fluoreszenz aufweist, zeigen alle in dieser Arbeit untersuchten Komplexe keine Fluoreszenz, obwohl die Liganden allein zum Teil stark fluoreszieren. Die Fluoreszenz der Anthrachinongruppe wird nach der Komplexierung des Kupferatoms über Energietransfer nach dem DEXTER-Mechanismus gequencht.^[133] Für die in 1-Position substituierten Komplexe ist dieser Energietransfer durch die zusätzliche Koordination der Carbonylgruppe des Anthrachinons effizienter als für den in 2-Position substituierten Komplex **K17**, bei dem eine solche Koordination nicht vorliegt und so Restfluoreszenz erhalten bleibt (vgl. Molekülstrukturen Kapitel 3.3.2). Aus diesem Grund war es nur für den Komplex **K17** möglich, mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie die Zellinternalisierung zu untersuchen. Die Untersuchungen wurden ebenfalls durch STEFANIE WEDEPOHL (AG CALDERÓN, Freie Universität Berlin) durchgeführt. Die A549-Zellen wurden für vier Stunden mit dem Komplex **K17** inkubiert, anschließend fixiert und der Zellkern mit DAPI angefärbt. Wie Abbildung 59 klar zeigt, wird der Komplex **K17** in die A549-Zellen aufgenommen. Der Komplex ist nicht im Zellkern zu finden, sondern hauptsächlich im Zytoplasma lokalisiert.

Die zytotoxische Wirkung des Komplexes geht also höchstwahrscheinlich nicht auf eine Wechselwirkung mit der Zellkern-DNA zurück. Neben einer Vielzahl von möglichen

Wirkungsweisen könnte der Komplex **K17** aufgrund von Wechselwirkungen mit der Mitochondrien-DNA zytotoxisch sein. Genaueren Aufschluss über den Wirkmechanismus von Komplex **K17** könnte eine Untersuchung des Kupfergehaltes einzelner Zellkompartimente über ICP-MS geben.

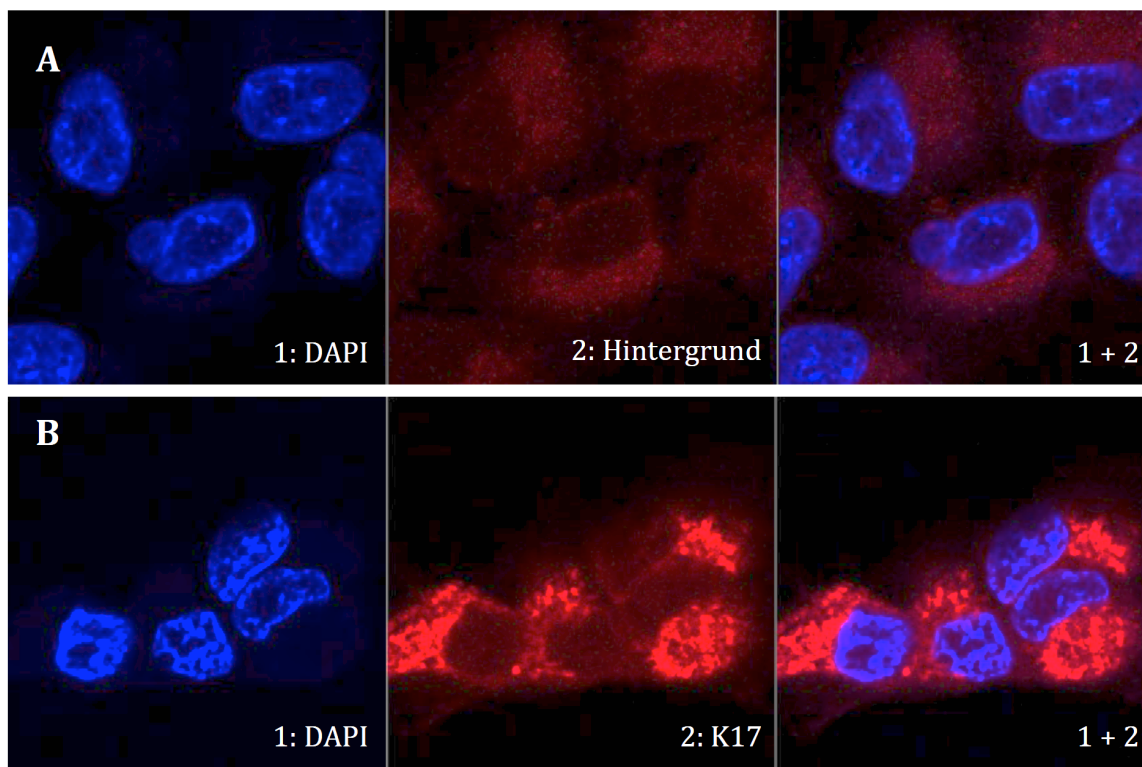


Abbildung 59: Untersuchung der Zellinternalisierung von Komplex **K17** (10 μ M; Inkubation für 4 h) in A549-Zellen mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie. **A:** 1) DAPI ($\lambda_{\text{ex}} = 405$, $\lambda_{\text{em}} = 420-500$ nm); 2) Hintergrundfluoreszenz; 3) Überlagerung von 1) und 2). **B:** 1) DAPI ($\lambda_{\text{ex}} = 405$, $\lambda_{\text{em}} = 420-500$ nm); 2) Eigenfluoreszenz von **K17** ($\lambda_{\text{ex}} = 543$, $\lambda_{\text{em}} = > 560$ nm); 3) Überlagerung von 1) und 2).

3.4 Anthrachinon-substituierte DNA-Spalter: Methylen-verbrückte Komplexe

Um den Effekt der Interkalatorsubstitution von Cyclen auf DNA-Affinität und DNA-Spaltaktivität zu untersuchen, wurde Cyclen mit in 2-Position methyliertem Anthrachinon substituiert. Bereits in Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, dass der zunächst von KIMURA dargestellte Kupfer(II)-Komplex des einfach Anthrachinon-substituierten Cyclens **K18** ein effektiver DNA-Spalter ist.^[108,134] Die vorliegende Untersuchung hatte zum Ziel, den Einfluss von Mehrfachsubstitution auf DNA-Affinität und Spaltaktivität zu beleuchten. Aus diesem Grund wurden die mit zwei Anthrachinongruppen substituierten regioisomeren Verbindungen **K19** und **K20** synthetisiert, bei denen die Anthrachinonfunktion in 1,4- bzw. 1,7-Position angebracht wurde. Außerdem wurde das trisubstituierte Cyclen **L21** und sein entsprechender Kupfer(II)- (**K21**) und Zink(II)-Komplex (**K22**) dargestellt. Die Verbindung 2-((Dimethylamin)methyl)anthrachinon (**50**) wurde untersucht, um herauszufinden, ob auch eine stark vereinfachte Verbindung ähnliche Aktivität wie die Komplexe aufweisen kann.

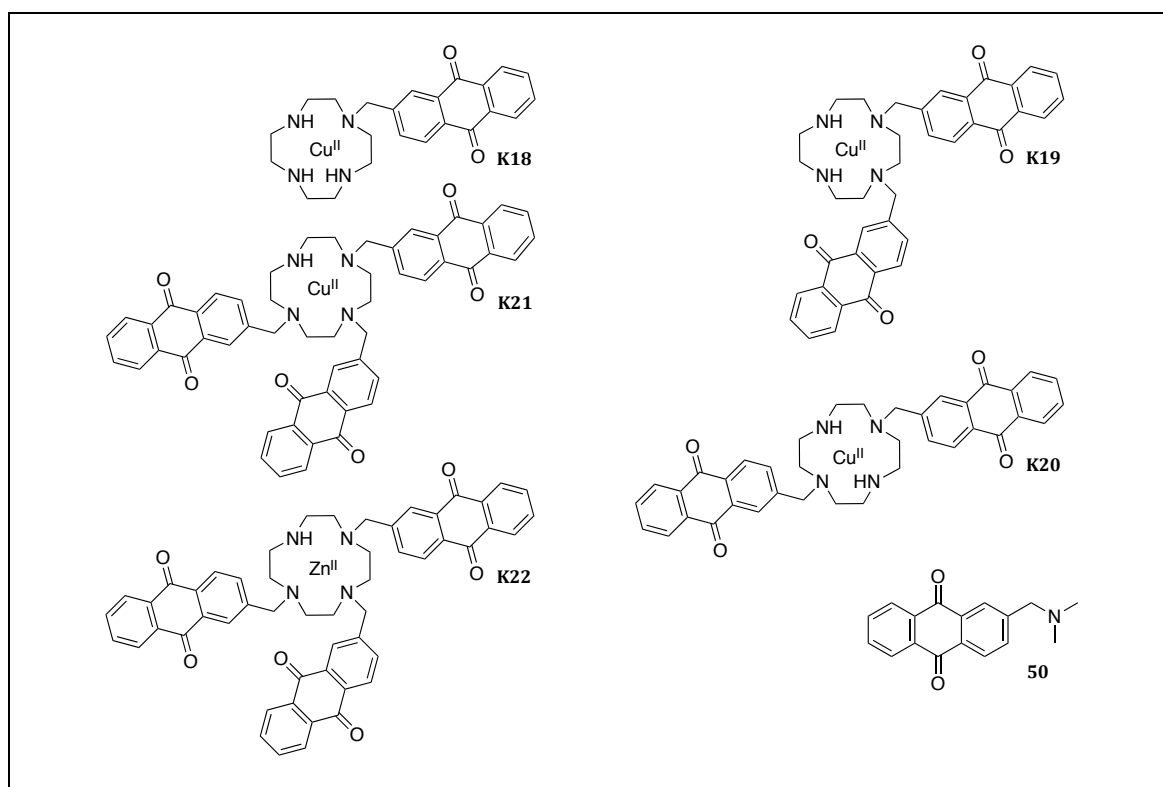
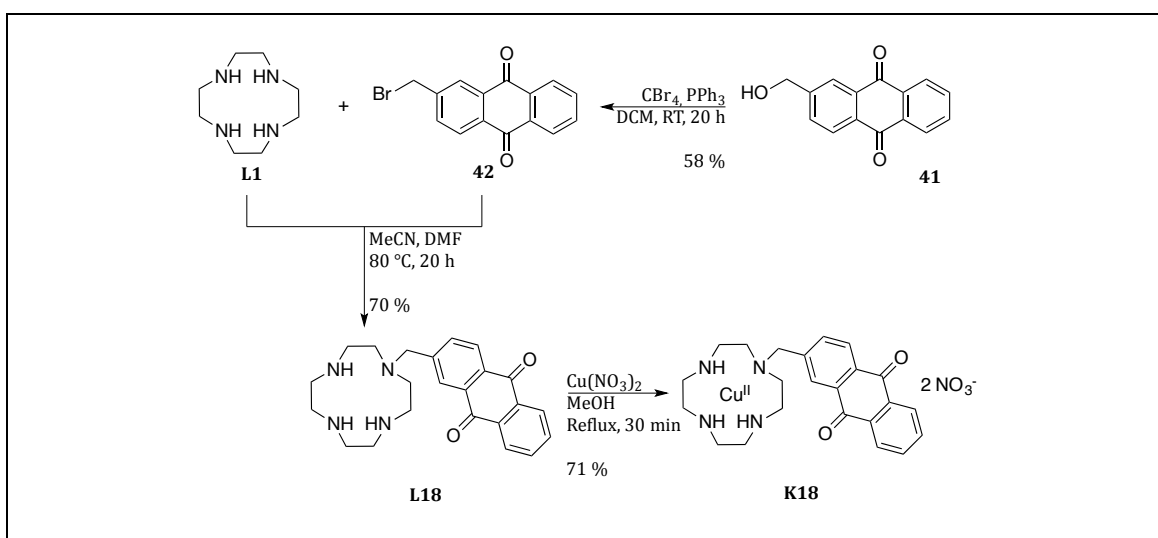


Abbildung 60: Übersicht über die Komplexe **K18** bis **K22**, sowie der Referenzverbindung **50**.

3.4.1 Synthese

3.4.1.1 Synthese von Komplex **K18**

Der Ligand **L18** ist bereits literaturbekannt und wurde analog zu der Vorschrift von KIMURA *et al.* synthetisiert (Schema 17).^[108,135] Zunächst wurde in einer APPEL-Reaktion aus 2-(Hydroxymethyl)anthrachinon (**41**) 2-(Brommethyl)anthrachinon (**42**) dargestellt. Dieses wurde mit einem vierfachen Überschuss von Cyclen umgesetzt. Der Überschuss gewährleistet hierbei, dass in der Reaktion keine höher substituierten Cyclene entstehen. Durch Reaktion mit Kupfernitrat konnte schließlich der gewünschte Kupfer(II)-Komplex **K18** dargestellt werden.

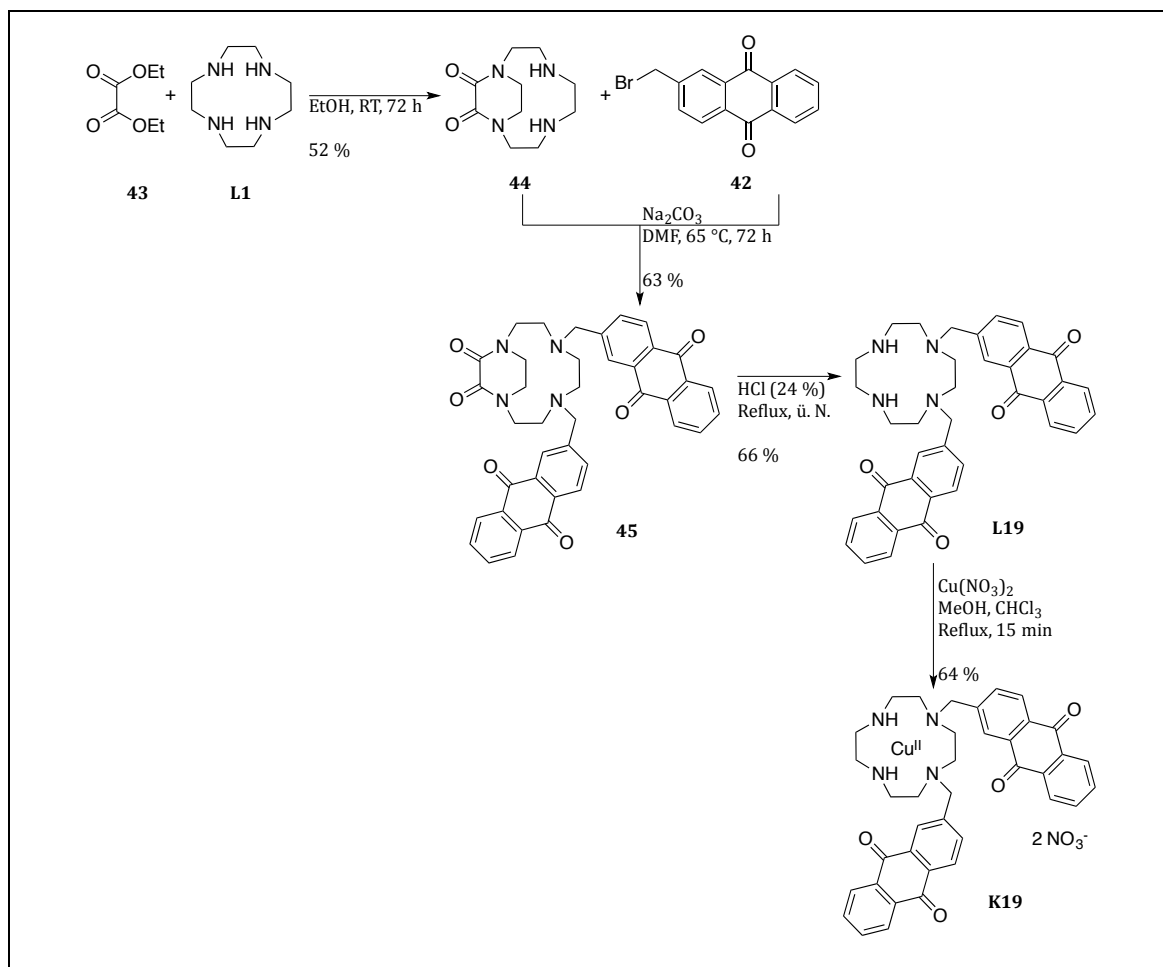
Schema 17: Synthese von **K18**.3.4.1.2 Synthese des 1,4-substituierten Komplexes **K19**

Bei der Synthese des in 1,4-Position disubstituierten Cyclens wurde unter Anwendung von Schutzgruppenstrategie gearbeitet. Die 1,4-Schützung erlaubt es selektiv, die gewünschte Verbindung **L19** zu synthetisieren, ohne dass bei der S_N2 -Reaktion das schwer abtrennbare Regioisomer **L20** entsteht (Schema 18).

Der Ligand **L1** wurde unter Verwendung einer Vorschrift von HANDEL *et al.* zum 1,4,7,10-Tetraazabicyclo[8.2.2]tetradecan-11,12-dion (**44**) umgesetzt.^[136] Durch Umsetzung mit 2-(Brommethyl)anthrachinon (**42**) in Dimethylformamid konnte so das noch geschützte disubstituierte Cyclen **45** in guter Ausbeute erhalten werden. Die Schutzgruppe wurde unter sauren Bedingungen entfernt.

Die Komplexsynthese wurde, anders als bei den anderen Komplexen, aufgrund der Unlöslichkeit des Liganden nicht in Methanol, sondern in einer Methanol-Chloroform-

Mischung durchgeführt. Der Komplex wurde durch Umsetzung der Ligandlösung mit einer methanolischen Kupfernitratlösung in mäßiger Ausbeute erhalten.

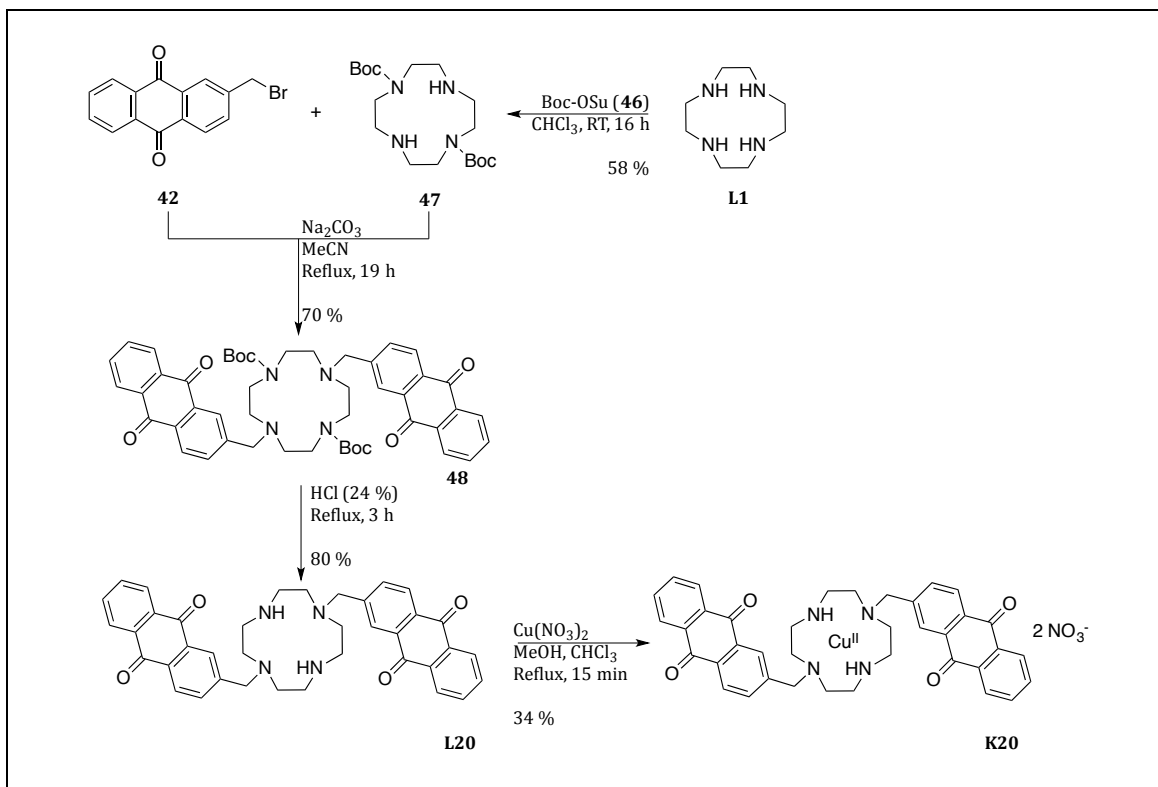


Schema 18: Synthese von **K19**.

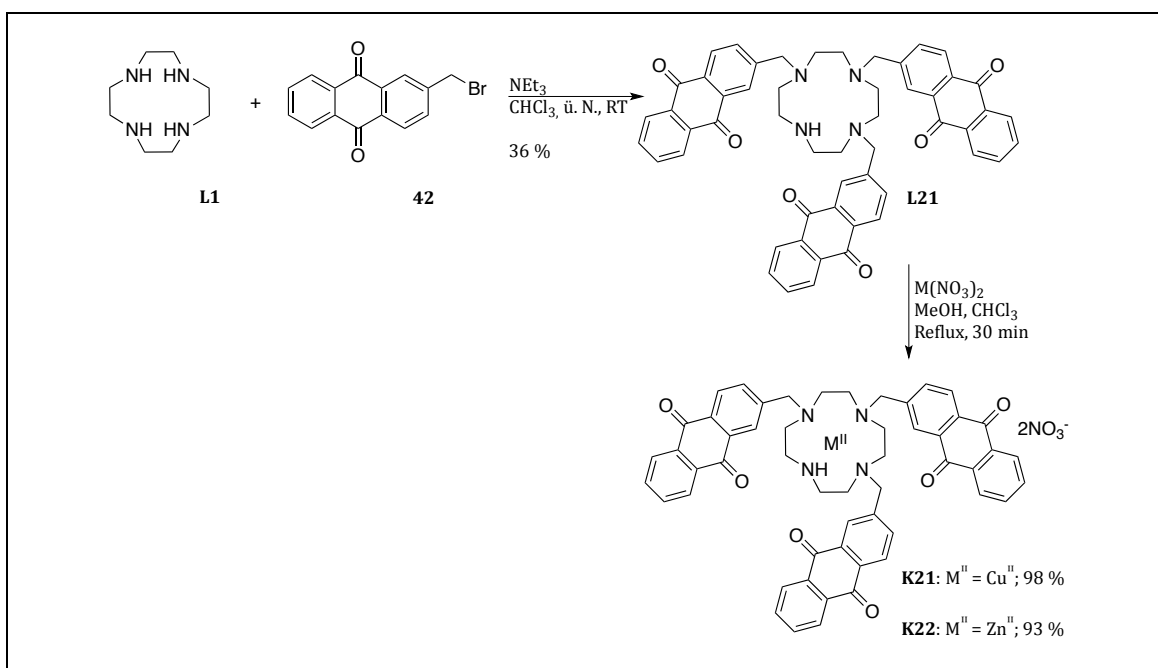
3.4.1.3 Synthese des 1,7-substituierten Komplexes **K20**

Für die Synthese des Liganden **L20** wurde zunächst das in 1,7-Stellung di-geschützte Cyclenderivat **47** in einer Synthese nach MIRANDA-OLVERA *et al.* synthetisiert.^[137] Dieses konnte in einer Ausbeute von 58 % erhalten werden und wurde in der nachfolgenden Synthese mit zwei Äquivalenten des Interkalators und Natriumcarbonat für 19 Stunden in Acetonitril zum Rückfluss erhitzt. Der so erhaltene geschützte Ligand wurde mit Salzsäure zum gewünschten Liganden **L20** umgesetzt (Schema 19).

Die Komplexsynthese wurde analog zur Synthese von Komplex **K19** durchgeführt und der Komplex **K20** in einer Ausbeute von 34 % erhalten.

Schema 19: Synthese von **K20**.3.4.1.4 Synthese der dreifach substituierten Komplexe **K21** und **K22**

Das literaturunbekannte Tri(anthrachinonmethyl)cyclen **L21** wurde in Analogie zu einer Veröffentlichung von WONG *et al.* für die Dreifachsubstitution von Cyclen synthetisiert.^[138]

Schema 20: Synthese der Komplexe **K21** und **K22**.

Hierbei konnte der Makrozyklus **L21** durch Umsetzung von Cyclen (**L1**) mit drei Äquivalenten des Interkalators **42** und Triethylamin in Chloroform in 36 % Ausbeute isoliert werden (Schema 20). Die Selektivität für den dreifach substituierten Liganden führen WONG *et al.* hierbei auf die Protonierung der freien Aminogruppe zurück, die daraufhin über Wasserstoffbrückenbindung mit dem gegenüberliegenden Stickstoffatom wechselwirkt und somit nicht für eine weitere Substitution zur Verfügung steht (Abbildung 61). So konnte durch WONG *et al.* gezeigt werden, dass nicht einmal beim Einsatz von vier Äquivalenten der vierfach substituierte Ligand entsteht.^[138]

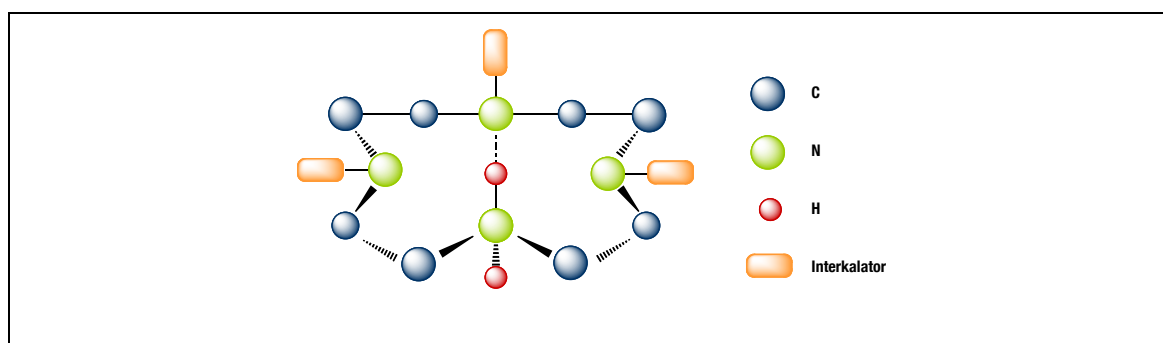


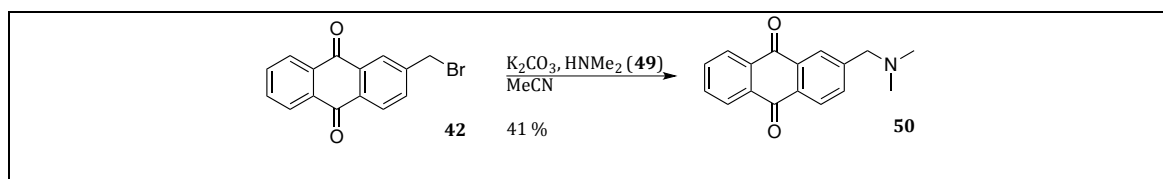
Abbildung 61: Selektivität der Trialkylierung von Cyclen nach Wong.^[138]

Aus dem Liganden **L21** wurde zunächst der Kupfer(II)-Komplex **K21** in 98 % Ausbeute synthetisiert. Hierbei wurde analog zu den Synthesen von **K19** und **K20** vorgegangen, jedoch ein Überschuss des Metallsalzes verwendet. Dieser Überschuss gewährleistet, dass kein freier Ligand zurückbleibt.

Um zu untersuchen, inwiefern die Redoxaktivität des Kupfers ($\text{Cu}^{\text{II}}/\text{Cu}^{\text{I}}$) Einfluss auf seine Eigenschaft als DNA-Spalter und DNA-Binder hat, wurde zusätzlich ein redoxinertter Komplex gleicher Ladung synthetisiert. Hierfür wurde der Zink(II)-Komplex **K22** dargestellt. Auch dieser konnte durch Umsetzung des Liganden mit einem Überschuss an Metallsalz in sehr guter Ausbeute dargestellt werden.

3.4.1.5 Synthese von 2-((Dimethylamin)methyl)anthrachinon (**50**)

Als Referenzverbindung wurde aus 2-Brommethylanthrachinon (**42**) und Dimethylamin (**49**) über eine $\text{S}_{\text{N}}2$ -Reaktion die literaturbekannte Verbindung **50** in einer der Vorschrift entsprechenden Ausbeute synthetisiert.^[139]



Schema 21: Synthese von 2-((Dimethylamin)methyl)anthrachinon (**50**).

3.4.2 Charakterisierung und Strukturaufklärung

Die Komplexe **K18** bis **K22** wurden über ESI-Massenspektrometrie, Elementaranalyse und UV/Vis-Spektroskopie charakterisiert. Die Ergebnisse von Elementaranalyse und Massenspektrometrie sind im Experimentellen Teil dargestellt. Zusätzlich konnten über langsame Diffusion von Diethylether in eine gesättigte methanolische Komplexlösung geeignete Einkristalle für die Strukturaufklärung des Komplexes **K18** erhalten und mittels Röntgenstrukturanalyse vermessen werden. Obwohl der Komplex **K18** bereits an anderer Stelle beschrieben wurde, wird hier erstmals seine Molekülstruktur diskutiert.^[108]

Die Ergebnisse der UV/Vis-Spektroskopie sind in Abbildung 62 und Tabelle 19 dargestellt.

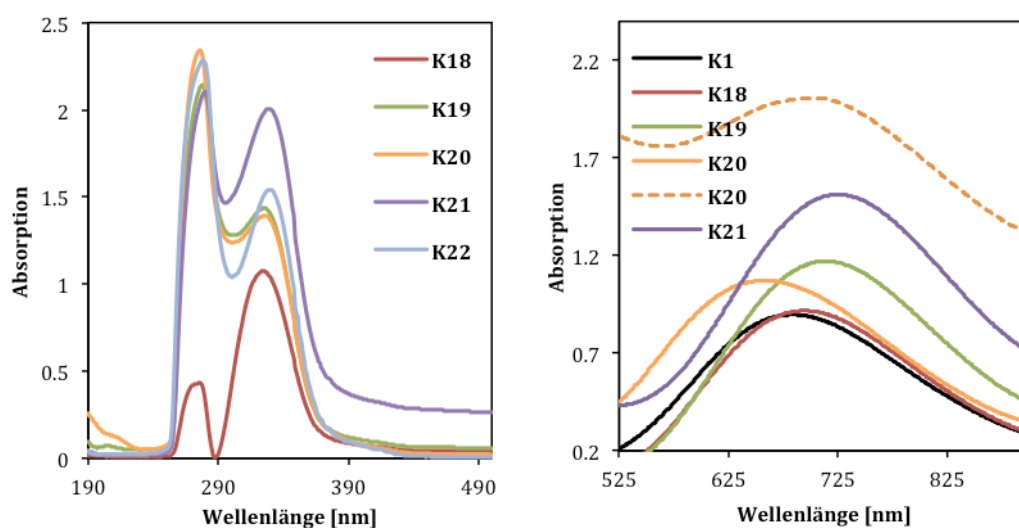


Abbildung 62: Links: Ausschnitt der UV-Spektren der Komplexe **K18**, **K19**, **K20**, **K21** und **K22** (78 μM) in 1X PBS-Puffer und 90 % DMSO. Rechts: Ausschnitt der Vis-Spektren der Komplexe **K1**, **K18**, **K19**, **K20^V** und **K21** (2.5 mM) in 1X PBS-Puffer und 90 % DMSO.

Im rechten Teil der Abbildung 62 sind die d-d-Übergänge der jeweiligen Komplexe dargestellt. Es zeigt sich, dass sich λ_{max} mit steigender Anzahl an Anthrachinonsubstituenten in den roten Teil des Spektrums verschiebt. Der Extinktionskoeffizient ϵ steigt ebenfalls mit steigender Substituentenanzahl (Tabelle 19).

^V Im Falle des in 1,7-Position substituierten Komplexes **K20** traten bei der Messung Probleme auf: Sobald PBS-Puffer zu der DMSO-Lösung des Komplexes gegeben wurde, kam es zur Präzipitation des Komplexes. Daher wurde dieser Komplex einmal ohne PBS-Puffer und einmal mit einem geringen Anteil an PBS-Puffer gemessen. Die Messung in PBS-Puffer zeigt den im Vergleich zu den anderen Komplexen erwarteten λ_{max} -Wert an, während hier der Extinktionskoeffizient ϵ aufgrund des sich bildenden Präzipitats zu hoch ist. Die Messung ohne Puffer zeigt den zu erwartenden Extinktionskoeffizient ϵ an, hier ist der λ_{max} -Wert jedoch aufgrund der unterschiedlichen Bedingungen nicht für Vergleiche mit den anderen Komplexen zu verwenden.

Im linken Teil der Abbildung 62 ist ein Vergleich der UV-Absorptionen der Anthrachinon-substituierten Komplexe **K19** bis **K22** dargestellt. Hier können die Absorptionen den π - π^* - und n - π^* -Übergängen des Anthrachinonliganden zugeordnet werden.^[100] Trotz steigender Anzahl an Anthrachinongruppen verschiebt sich die Lage der Absorptionen kaum, während der Extinktionskoeffizient der n - π^* -Übergänge mit steigender Substituentenzahl wie zu erwarten ansteigt (Tabelle 19).

Tabelle 19: Auflistung der Absorptionswellenlängen λ_{max} für die n - π^* - und d - d -Übergänge mit zugehörigen Extinktionskoeffizienten ϵ für die Komplexe **K1** und **K18-K22**.

	λ_{max} [nm] und (ϵ [L mol ⁻¹ cm ⁻¹])
K1	601 (236)
K18	325 (9332); 693 (385)
K19	325 (16332), 712 (452)
K20	329 (16117), 702 (407)
K21	331 (19542), 713 (625)
K22	329 (21562)

In Abbildung 8 ist die Molekülstruktur von Komplex **K18** dargestellt. Tabelle 20 zeigt ausgesuchte Bindungslängen und Bindungswinkel. Kristallographische Details sind im Anhang zu finden (Tabelle 36).

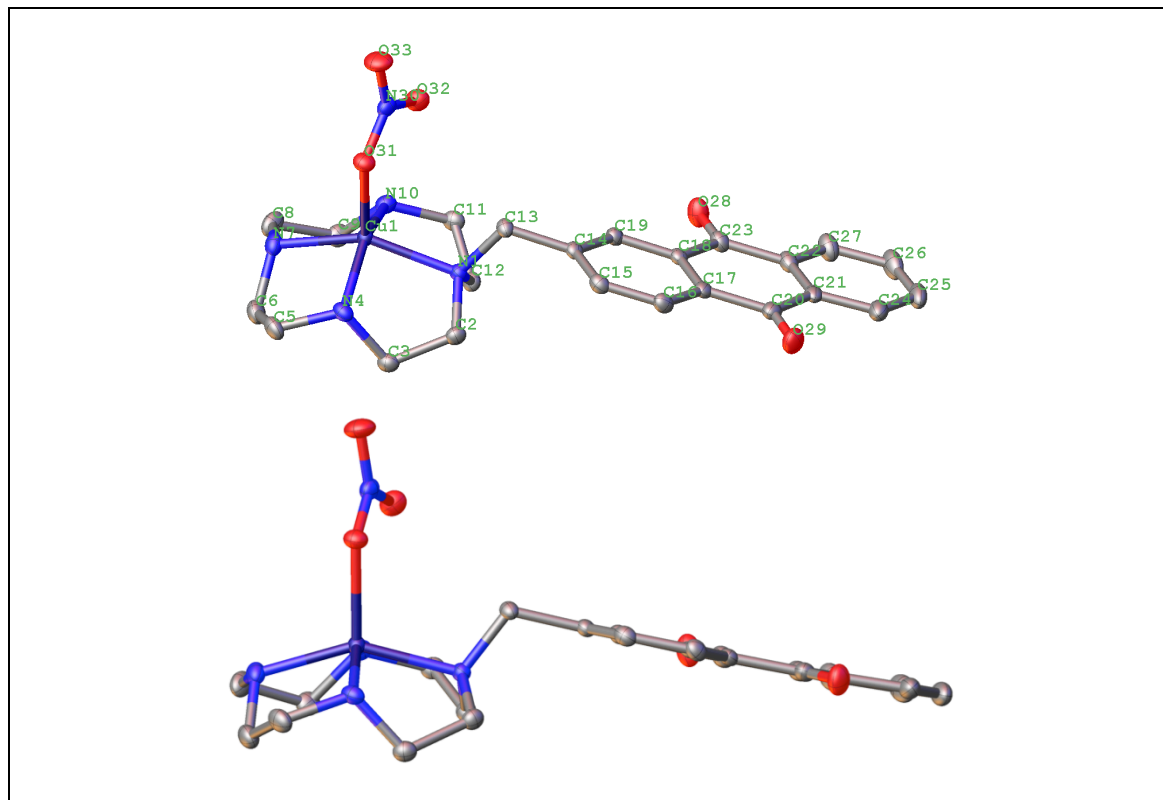


Abbildung 63: Auf- und Seitenansicht der Molekülstruktur von Komplex **K18**. Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

Der Komplex **K18** besteht aus $[\text{CuL}(\text{NO}_3)]^+$ -Kationen mit quadratisch-pyramidaler Koordinationsumgebung und ist isostrukturell zum Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1**. Das Kupferatom befindet sich hierbei leicht über der Heteroatomebene in einer Höhe von 0.539 Å. In einem Winkel von 114.885° (N1-C13-C14) ist die Anthrachinongruppe an das N1-Atom angebracht.

Die Bindungslängen und -winkel der Anthrachinongruppe sind in guter Übereinstimmung mit der von KASHINO *et al.* gemessenen Struktur von 2-Methylantrachinon und werden daher an dieser Stelle nicht weiter beschrieben. Außerdem ist die Anthrachinongruppe des Komplexes **K18** planar und zeigt mit einer Abweichung von -0.04 bis 0.04 Å (durchschnittlich 0.024 Å) keine Verzerrung gegenüber freiem 2-Methylantrachinon, bei dem die Nichtwasserstoffatome ebenfalls eine durchschnittliche Abweichung von 0.022 Å von der aromatischen Ringebene aufweisen.^[140]

Tabelle 20: Ausgesuchte Bindungslängen [Å] und Winkel [°] von Komplex **K18**.

	Bindungslänge		Winkel
Cu(1)-N(1)	2.0748(13)	O(31)-Cu(1)-N(1)	104.07(5)
Cu(1)-N(4)	2.0148(14)	O(31)-Cu(1)-N(4)	98.05(5)
Cu(1)-N(7)	2.0252(14)	O(31)-Cu(1)-N(7)	106.35(5)
Cu(1)-N(10)	2.0022(14)	O(31)-Cu(1)-N(10)	112.89(5)
Cu(1)-O(31)	2.1637(12)	N(1)-Cu(1)-N(4)	85.55(5)
C(2)-C(3)	1.511(2)	N(4)-Cu(1)-N(7)	86.30(6)
O(31)-N(30)	1.2783(18)	N(7)-Cu(1)-N(10)	85.08(6)
N(1)-C(13)	1.497(2)	N(10)-Cu(1)-N(1)	86.88(5)
C(13)-C(14)	1.513(2)	N(1)-Cu(1)-N(7)	149.31(6)
C(14)-C(15)	1.397(2)	N(4)-Cu(1)-N(10)	149.06(6)
C(18)-C(23)	1.484(2)	N(1)-C(13)-C(14)	114.85(13)
C(23)-O(28)	1.224(2)	C(13)-C(14)-C(15)	120.18(15)
N(1):N(4):N(7):N(10)-Cu(1)	0.539	C(18):C(23):C(20):C(21)	1.187

3.4.3 Evaluation der DNA-Bindung

Um zwischen den oben diskutierten Arten der DNA-Bindung zu unterscheiden (elektrostatische Bindung, Furchenbindung und Interkalation), wurde der Einfluss der Verbindung **50** und der Komplexe **K18** bis **K22** auf die DNA-Schmelztemperatur und das CD-Spektrum von CT-DNA untersucht. Außerdem wurde das bereits oben erwähnte Ethidiumbromidverdrängungsassay durchgeführt.

Da sich die Evaluation der DNA-Bindung für die Komplexe **K19**, **K20** und **K21** auf Grund von DNA-Präzipitation als schwierig herausstellte (vgl. auch Diskussionen im Verlauf), wurde für diese Komplexe zusätzlich der Einfluss auf das LD-Spektrum von CT-DNA untersucht. Diese

Untersuchungen wurden von der Gruppe um Prof. BRABEC (*Academy of Sciences of the Czech Republic*, Brno, Tschechien) durchgeführt.

3.4.3.1 CD-Spektroskopie

Um festzustellen, ob die methylenverbrückten Komplexe Änderungen der B-DNA-Helix hervorrufen können, wurden CD-Spektren von CT-DNA unter Zusatz von steigenden Konzentrationen der Verbindung **50** und der Komplexe **K18** bis **K22** gemessen (Abbildung 65).

Da einige der untersuchten Komplexe unter Zuhilfenahme von DMSO gelöst werden mussten, wurde auch den CT-DNA-Lösungen 10 % DMSO hinzugesetzt. Die DMSO-Konzentration in den DNA-Lösungen ist im Vergleich zum DMSO-Anteil in den zutitrierten Komplexlösungen um einen Faktor von mindestens 100 erhöht. Diese Vorgehensweise erlaubt es, durch den DMSO-Anteil ausgelöste Messartefakte auszuschließen. Zudem wird die Vergleichbarkeit unter den CD-Titrationsen der verschiedenen Komplexe gewährleistet. Da ab einer Wellenlänge von 240 nm die Eigenabsorption von DMSO einsetzt und das eigentliche Spektrum überlagert, wurde bei den hier betrachteten Messungen im Bereich zwischen 240 und 320 nm und nicht wie üblich bis zu einer Wellenlänge von 220 nm gemessen. Die relevanten Absorptionen der DNA sind auch in diesem Messbereich gut zu erkennen.

Im Vergleich zu den Komplexen **K13** bis **K16**, die keine Linkergruppe tragen und nur kleinere Änderungen des CD-Spektrums von CT-DNA bewirken, zeigen die methylenverbrückten Komplexe **K18** bis **K22** einen größeren Einfluss auf die CD-Spektren von CT-DNA. So führen zum Beispiel schon geringe Konzentrationen des Komplexes **K18** zu einer signifikanten Erhöhung der Absorption für die Basenstapelung, ohne dass die Helizität (vgl. Absorption bei 245 nm) maßgeblich beeinflusst wird. Die Referenzverbindung **50**, die den aromatischen Teil der Verbindung **K18** ausmacht (Abbildung 64), hat einen ähnlichen Effekt auf das CD-Spektrum von CT-DNA, jedoch werden höhere Konzentrationen benötigt, um diesen Effekt zu erreichen. Der Grund hierfür liegt vermutlich in der durch die positive Ladung bedingten höheren DNA-Affinität von Komplex **K18**.

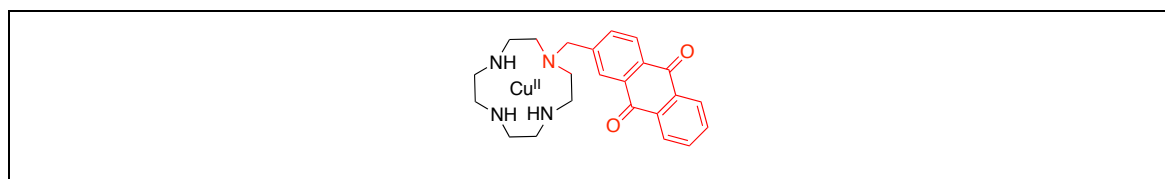


Abbildung 64: Verdeutlichung der strukturellen Gemeinsamkeiten von Komplex **K18** (gesamter Komplex) und der Referenzverbindung **50** (in rot dargestellt).

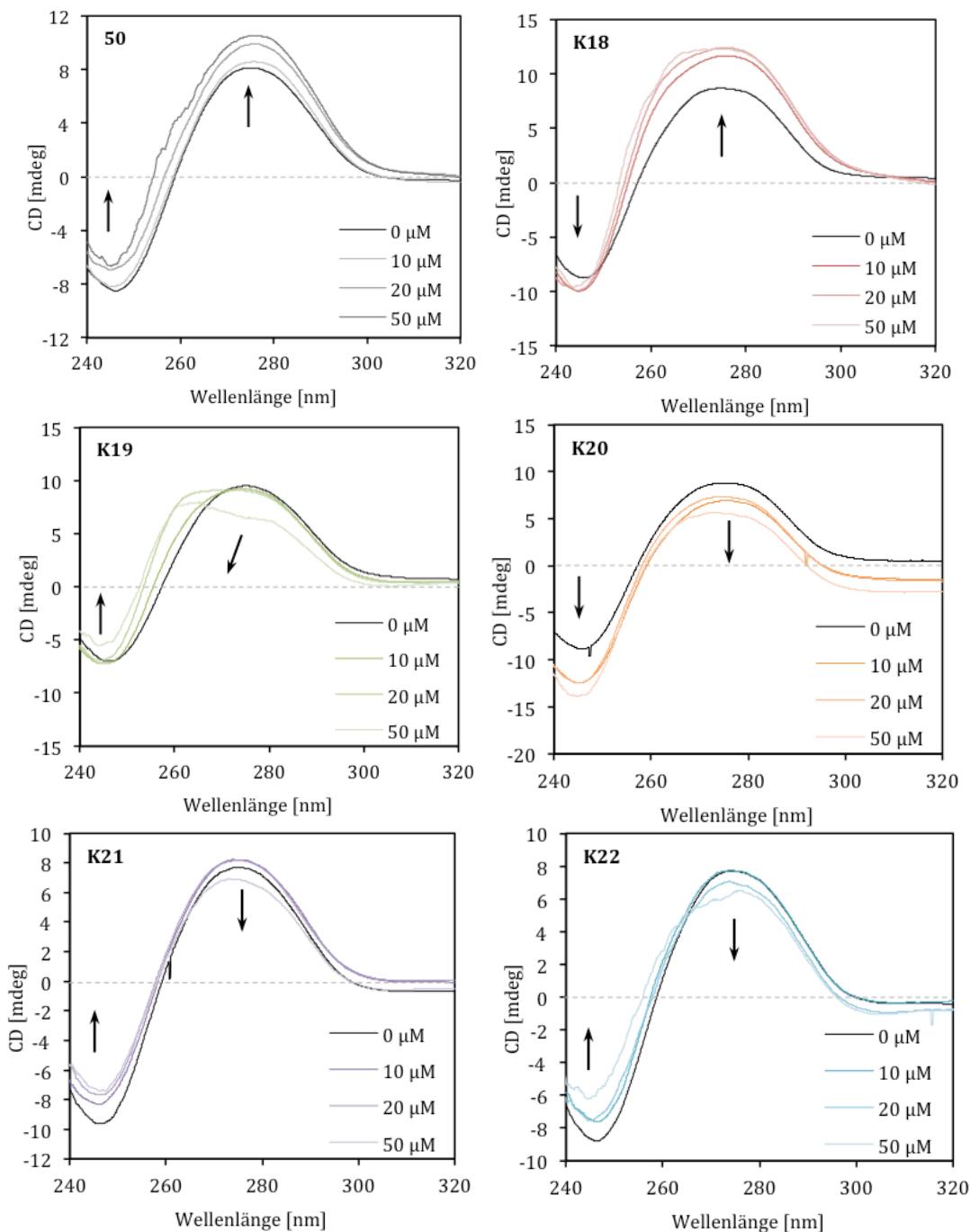


Abbildung 65: CD-Spektren von CT-DNA (100 μM) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) und DMSO (10 %) mit unterschiedlichen Konzentrationen der Verbindung **50** und der Komplexe **K18** bis **K22**.

Die Komplexe **K19** bis **K22** bewirken keine so starke Änderung im CD-Spektrum der CT-DNA. Im Fall der dreifach Anthrachinon-substituierten Cyclenkomplexe **K21** und **K22** nimmt die Intensität der Absorptionen für die Basenstapelung und die DNA-Helizität sogar gleichermaßen ab. Der gleichartige Intensitätsverlust beider Banden ist hierbei womöglich ein Zeichen für die Verringerung der DNA-Konzentration, wie sie durch Fällung bei DNA-Aggregation oder DNA-Kondensation eintritt.

3.4.3.2 Ethidiumbromidverdrängung

Das Ethidiumbromidverdrängungsassay erlaubt es, die DNA-Bindung eines Komplexes in Bezug zum Interkalator Ethidiumbromid zu bestimmen (vgl. Kapitel 3.3.3.2). Die Auswertung des Ethidiumbromidverdrängungsassays ist in Tabelle 21 gezeigt. In Abbildung 66 ist eine Übersicht über die Messungen zusammengestellt.

Tabelle 21: Auflistung der STERN-VOLMER-Konstante K_{SV} und der Bindungskonstante K_{APP} der Verbindung **50** und **K18** bis **K22** bezüglich CT-DNA.

	$K_{SV} [M^{-1}]$	$K_{APP} [M^{-1}]$
50	7.00×10^3	3.50×10^5
K18	9.40×10^5	4.70×10^7
K19	4.57×10^5	2.28×10^7
K20	1.01×10^5	5.05×10^6
K21	1.57×10^5	7.85×10^6
K22	8.48×10^4	4.24×10^6
EtBr	-	1.00×10^7

Bei der Auswertung des Assays muss berücksichtigt werden, dass es durch die Zugabe der Komplexe **K20**, **K21** und **K22** zur Präzipitation der CT-DNA kam. Die hieraus bedingte Abnahme der DNA-Konzentration schlägt sich auch in der Auswertung der Ergebnisse nach STERN-VOLMER nieder. Hier eignet sich die Auswertung über lineare Regression nicht, um die Gesamtheit der Daten widerzuspiegeln (vgl. Abbildung 66). Dennoch wurden die Bindungskonstanten berechnet, um zumindest annäherungsweise Informationen über die Fähigkeit der Komplexe zu erhalten, Ethidiumbromid aus der DNA zu verdrängen. Die realen Bindungskonstanten der Komplexe **K20**, **K21** und **K22** sind wahrscheinlich größer.

Es ergibt sich die folgende Reihenfolge der DNA-Bindungskonstanten: Verbindung **50** \ll **K22** $<$ **K21** $<$ **K20** $<$ **K19** $<$ **K18**. Die Komplexe **K18** und **K19** zeigen Bindungskonstanten in der Größenordnung des klassischen DNA-Interkalators Ethidiumbromid. Für sie ist eine interkalative Wechselwirkung mit DNA also sehr wahrscheinlich. Die Bindungskonstanten der Komplexe **K20**, **K21** und **K22** sind aus den oben genannten Gründen niedriger. Hier ist ebenfalls eine interkalative Wechselwirkung wahrscheinlich, welche jedoch noch durch weitere Messmethoden verifiziert werden sollte. Während die Ergebnisse der Komplexe **K18** bis **K22** in guter Übereinstimmung mit den CD-spektroskopischen Untersuchungen sind, lässt sich die geringe Bindungskonstante der Verbindung **50** schlecht mit den von ihr ausgelösten starken Veränderung des CD-Spektrums von CT-DNA in Übereinstimmung bringen. Obwohl Verbindung **50** in die DNA zu interkalieren scheint, kann es Ethidiumbromid nur schlecht aus der DNA verdrängen. Dieses Verhalten ist womöglich der fehlenden Ladung und somit der verringerten DNA-Affinität geschuldet.

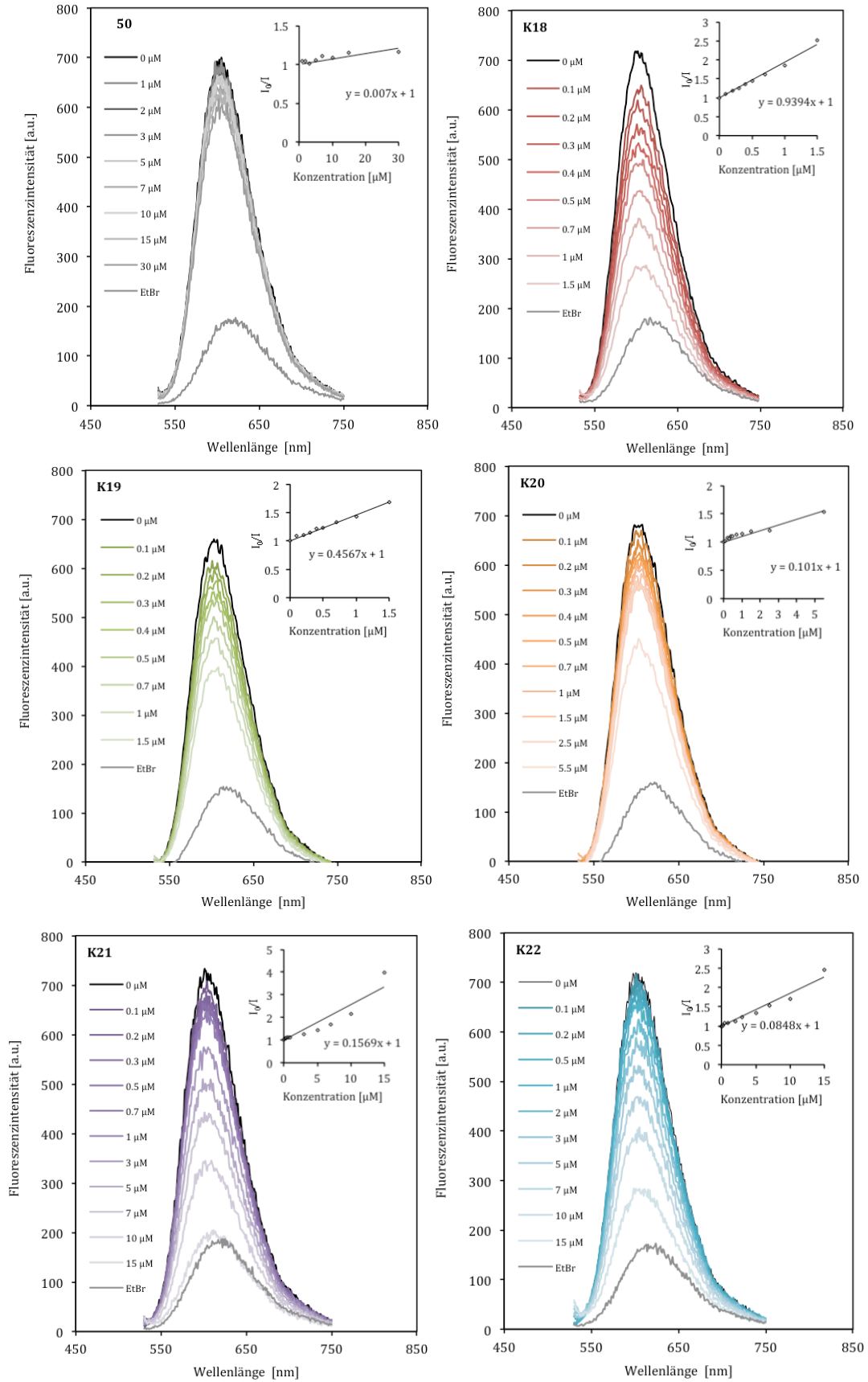


Abbildung 66: Ethidiumbromidverdrängung des EB-CT-DNA-Systems (20 μM CT-DNA; 5 μM EB) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) unter Zugabe der Verbindung **50** und der Komplexe **K18** bis **K22**.

3.4.3.3 Thermische DNA-Denaturierung

In Abbildung 67 sind die normierten Schmelzkurven von CT-DNA unter Anwesenheit der Verbindung **50** und der Komplexe **K18** bis **K22** dargestellt. In Tabelle 22 sind Schmelztemperaturen T_m und die Änderungen der Schmelztemperaturen ΔT_m aufgelistet.

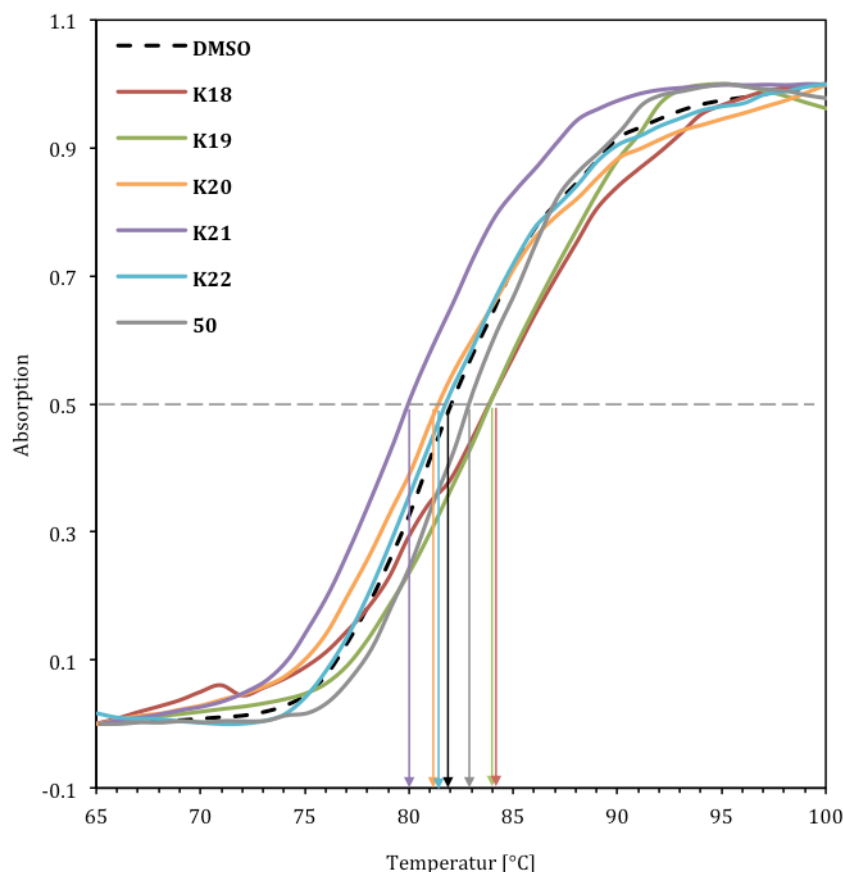


Abbildung 67: CT-DNA-Schmelzkurven (100 μM) bei 260 nm in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) unter Zugabe von DMSO, der Verbindung **50** und der Komplexe **K18** bis **K22**.

Da die zu untersuchenden Komplexe **K20** bis **K22** nicht wasserlöslich sind, wurden die Schmelzkurven unter Zusatz von DMSO gemessen. Interessanterweise ergab sich nur für die Verbindung **50** und die Komplexe **K18** und **K19** eine Erhöhung der DNA-Schmelztemperatur und somit eine Stabilisierung der DNA. Für die Komplexe **K20**, **K21** und **K22** nahm die Schmelztemperatur wider Erwarten ab.

Aus dem Vergleich der ΔT_m -Werte ergibt sich folgende Reihenfolge für die Verbindung **50** und die Komplexe **K18** bis **K22**: **K21** < **K20** = **K22** < **50** < **K19** = **K18**. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Komplexe **K18** bis **K22** die DNA unter den vorliegenden Bedingungen weniger stark stabilisieren als die zuvor untersuchten Komplexe ohne Linker (vgl. Kapitel 3.3.3.3). An dieser Stelle muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass die Eigenschaften von DNA (zum Beispiel die Schmelztemperatur) sehr sensibel auf

Umgebungsveränderungen (Salzkonzentration, Lösungsmittel etc.) reagieren. Ein direkter Vergleich zu den Komplexen ohne Linker kann aufgrund des erforderlichen Zusatzes von DMSO also nicht durchgeführt werden.

Tabelle 22: Unterschiede in der Schmelztemperatur von CT-DNA bei Wechselwirkung mit der Verbindung **50** und den Komplexen **K18** bis **K22**.

	T_m [°C]	ΔT_m
DNA + DMSO	82	0
K18	84	2
K19	84	2
K20	81.5	-0.5
K21	80	-2
K22	81.5	-0.5
50	83	1

Es ist bekannt, dass die Schmelztemperatur von DNA T_m konzentrationsabhängig ist.^[141-143] Die Verringerung der DNA-Schmelztemperatur durch die Komplexe **K20**, **K21** und **K22** kann demnach durch eine Abnahme der DNA-Konzentration erklärt werden. Eine solche Abnahme der Konzentration kann auch hier durch die von DNA-Aggregation oder DNA-Kondensation ausgelöste DNA-Präzipitation bewirkt werden. Somit liefern die Experimente wertvolle Hinweise auf die Fähigkeit der Komplexe **K20**, **K21** und **K22** die Vernetzung von DNA-Strängen auszulösen.

3.4.3.4 LD-Spektroskopie

Da über die zuvor durchgeführten Messungen mittels CT-DNA-Schmelzkurven, CD-Spektroskopie von CT-DNA und Ethidiumbromidverdrängungsassay keine eindeutige Aussage über die Art der DNA-Bindung der Komplexe **K19**, **K20** und **K21** getroffen werden konnte, wurde LD-Spektroskopie als weitere Methode zu Rate gezogen. Die Bindung der Komplexe **K18**, **K19**, **K20** und **K21** an CT-DNA wurde über LD-Spektroskopie durch die Arbeitsgruppe von Prof. BRABEC (*Academy of Sciences of the Czech Republic*, Brno, Tschechien) untersucht. Die erhaltenen Spektren sind in Abbildung 68 dargestellt.

Lineardichroismus (LD)-Spektroskopie kann analog zur CD-Spektroskopie in besonderem Maße für die Untersuchung von Biomolekülen verwendet werden (vgl. **Box 5**).

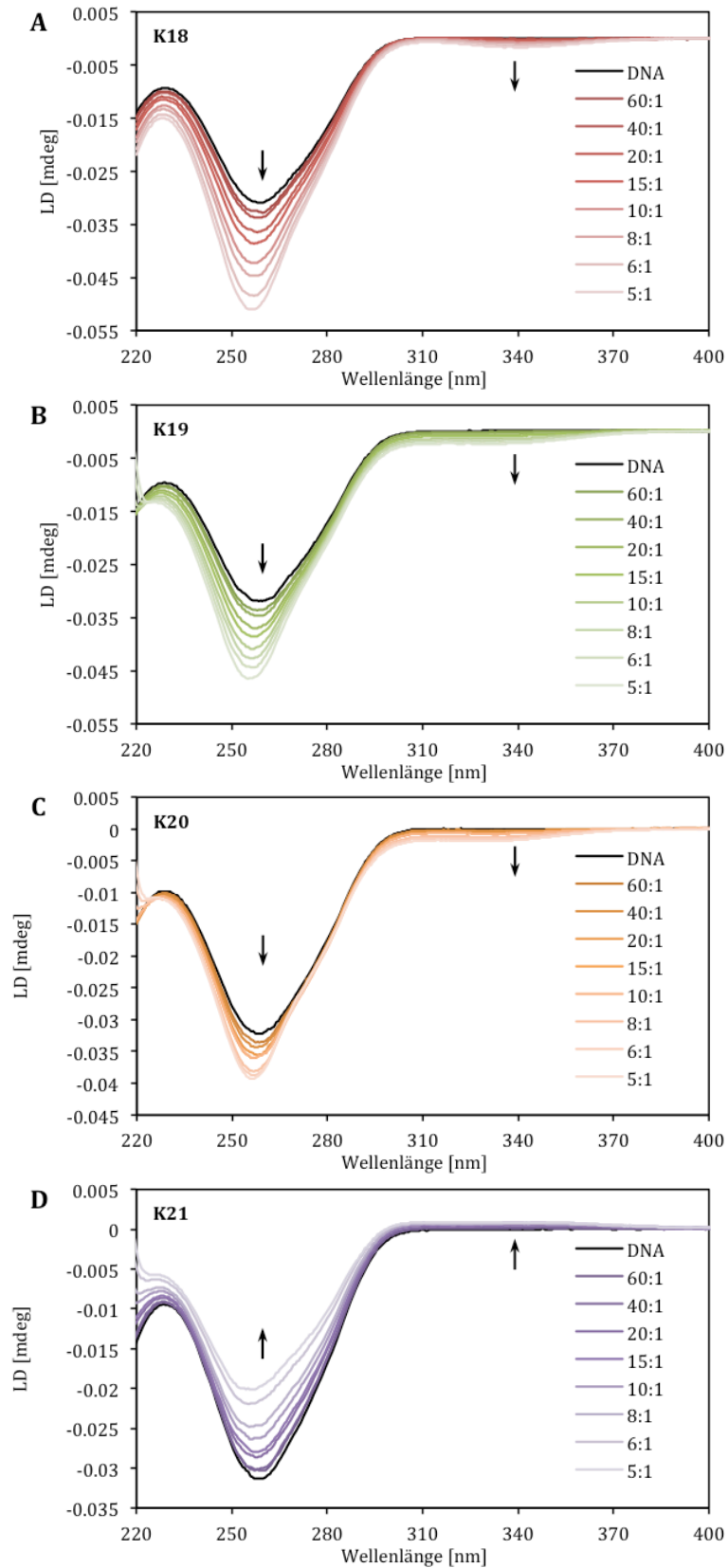
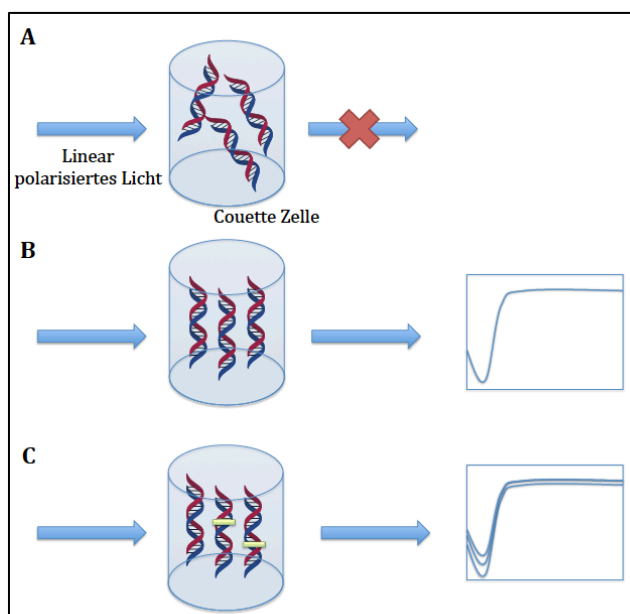


Abbildung 68: LD-Spektren von freier CT-DNA (200 μ M) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) und unter Zusatz der Komplexe **K18** (A), **K19** (B), **K20** (C) und **K21** (D) in verschiedenen Konzentrationen. Das Verhältnis zwischen DNA und Komplex ist jeweils in der Abbildung angegeben.

Box 5: LD-Spektroskopie

Lineardichroismus (LD)-Spektroskopie ist eine optische Methode, mit der die Differenz in der Absorption von linear polarisiertem und rechtwinklig polarisiertem Licht einer ausgerichteten Probe gemessen wird. Aufgrund der linearen Natur von DNA eignet sich diese Methode besonders gut für die Untersuchung der DNA-Bindung.

Für die Messung muss die gelöste DNA zunächst ausgerichtet werden: In der Messzelle, der sogenannten Couette-Zelle, wird eine laminare Strömung hergestellt, die dafür sorgt, dass alle DNA-Moleküle parallel zueinander vorliegen. Bei der eigentlichen Messung absorbieren nur ausgerichtete Moleküle das polarisierte Licht (B), während kleine und nicht linear ausgerichtete Moleküle keine Absorption zeigen (A).^[144]



Die Basenpaare der B-DNA sind im rechten Winkel zur Helixachse ausgerichtet. Hierbei entspricht die Helixachse gleichzeitig der Orientierungsachse der Couette-Zelle. Die π - π^* -Übergänge der DNA-Basen ergeben daher ein negatives Signal im Bereich von 220 bis 320 nm. Sind Moleküle an DNA gebunden (interkalativ oder über Furchenbindung), sind auch sie ausgerichtet und verursachen eine Absorption im LD-Spektrum (C). Nicht gebundene Moleküle oder solche, die in nicht definierter Weise an die DNA koordinieren (z.B. durch elektrostatische Bindung), absorbieren hingegen nicht. Zusätzlich zum Signal für die π - π^* -Übergänge der DNA-Basen können bei DNA-Bindung auch noch komplexspezifische Absorptionen, sogenannte induzierte Banden auftreten.^[145]

Die LD-Spektren von CT-DNA unter Titration mit dem Komplex **K18** und den regioisomeren Komplexen **K19** und **K20** sind in Abbildung 68A/B/C dargestellt. Zusätzlich zu den Absorptionen der π - π^* -Übergänge der DNA-Basen im Bereich von 220 bis 300 nm sind negativ induzierte Absorptionen im Bereich von 300 bis 375 nm zu erkennen. Beide Absorptionsbanden steigen mit zunehmender Komplexkonzentration an. Dieses Ergebnis stimmt mit der koplanaren Anordnung von DNA-Basen und Anthrachinongruppen überein wie es bei einer interkalativen Bindung zu erwarten ist.

Interessanterweise unterscheidet sich das LD-Spektrum von CT-DNA unter Zugabe des Komplexes **K21** von den Spektren der Komplexe **K18**, **K19** und **K20** (Abbildung 68D). Die aus den π - π^* -Übergängen resultierende Absorption der DNA-Basen nimmt signifikant bei Komplexzugabe ab. Dieses Ergebnis kann laut einer Publikation von RODGER *et al.* durch eine Verkürzung des DNA-Stranges verursacht werden, wie sie bei DNA-Biegung, Verknäueln oder Aggregation auftritt.^[145] Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Ergebnissen aus den vorangegangenen Untersuchungen durch CD-Spektroskopie: Auch hier nahm die Bandenintensität mit steigender Komplexkonzentration ab.

3.4.3.5 Evaluation der DNA-Bindung: Fazit

Für den einfach substituierten Komplex **K18** und den *cis*-substituierten Komplex **K19** können ohne Zweifel interkalative Wechselwirkungen mit DNA festgestellt werden. Beide Komplexe bewirken eine erhebliche Änderung des CD-Spektrums von CT-DNA. Sie können interkaliertes Ethidiumbromid effektiv aus der DNA verdrängen und führen zu einer Erhöhung ihrer Schmelztemperatur. Die Referenzverbindung 2-((Dimethylamin)methyl)anthrachinon (**50**), die den DNA-affinen Teil der untersuchten Verbindungen in vereinfachter Form darstellt, bindet DNA ebenfalls interkalativ. Die verminderte Effektivität bei der Verdrängung von Ethidiumbromid aus der DNA kann hierbei durch das Fehlen einer positiven Ladung und der daraus bedingten geringeren DNA-Affinität erklärt werden.

Die Art der Wechselwirkung des *trans*-substituierten Komplexes **K20** und der dreifach substituierten Komplexe **K21** und **K22** mit DNA war schwieriger festzustellen, da die Zugabe dieser Verbindungen zu CT-DNA DNA-Präzipitation zur Folge hatte. Dieses erschwerte die Auswertung der CD-Spektren der DNA, des Ethidiumbromidverdrängungsassays und der DNA-Schmelzkurven. Erst durch die zusätzliche Untersuchung der DNA-Wechselwirkung mittels LD-Spektroskopie konnte auch für die Komplexe **K20** und **K21** ohne Zweifel eine interkalative Wechselwirkung mit DNA festgestellt werden.

3.4.4 Biochemische und biophysikalische Komplexevaluation

Neben der Untersuchung der DNA-Spaltaktivität wurde bei der biochemischen Evaluation der Komplexe **K18** bis **K22** und der Verbindung **50** der Fokus auf die Fähigkeit der Komplexe **K20** bis **K22** gelegt, DNA-Präzipitation zu bewirken. Die These, dass die zuvor genannten Komplexe die Fähigkeit besitzen, DNA-Stränge untereinander zu vernetzen, sollte hierbei kritisch geprüft werden. Das Gel-Retardations-Assay und die Untersuchung von statischer Lichtstreuung einer DNA-Lösung unter Komplexzugabe sollte zunächst Aufschluss über die zur Aggregation benötigten Konzentrationen liefern. Um ein Bild der Prozesse auf

molekularer Ebene zu erhalten, wurde Rasterkraftmikroskopie eingesetzt. Schlussendlich wurde getestet, inwiefern die Komplexe Einfluss auf die DNA-Synthese nehmen können.

3.4.4.1 DNA-Spaltversuche

Die oxidative DNA-Spaltaktivität der Komplexe **K18** bis **K21** bezüglich pBR322-Plasmid-DNA wurde unter simulierten physiologischen Bedingungen (pH 7.4, 37 °C) und unter Zusatz von L-Ascorbinsäure untersucht. Es wurde angenommen, dass die mehrfache Interkalatorsubstitution durch die gesteigerte DNA-Affinität auch zu einer entsprechenden Erhöhung der DNA-Spaltaktivität führt.

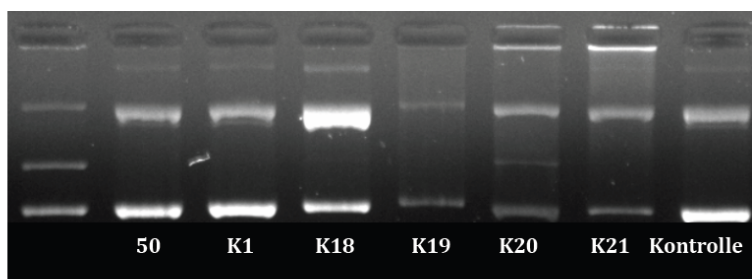


Abbildung 69: Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K18** bis **K21** (0.02 mM; 3 % DMSO) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in PBS-Puffer (1X, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h.

Wie erwartet zeigen die Referenzverbindung **50** und der Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** keine DNA-Spaltaktivität (Abbildung 69). Nur für den durch KIMURA *et al.* beschriebenen Komplex **K18** kann eine erhöhte Spaltaktivität detektiert werden.^[108] Für die mehrfachsubstituierten Komplexe **K19**, **K20** und **K21** kann – anders als erwartet – keine weitere Erhöhung der Spaltaktivität nachgewiesen werden, da ein Großteil der DNA in den Geltaschen verbleibt. Somit kann keine Aussage über die Spaltaktivität der Komplexe getroffen werden.

Eine analoge Beobachtung kann für die photolytische DNA-Spaltung gemacht werden (Abbildung 70). Nach der Inkubation der DNA mit den Komplexen unter Bestrahlung verbleibt ein Großteil der DNA in der Geltasche und kann somit nicht untersucht werden. Nur für den Komplex **K18** kann mit Sicherheit von einer Erhöhung der DNA-Spaltaktivität gesprochen werden.

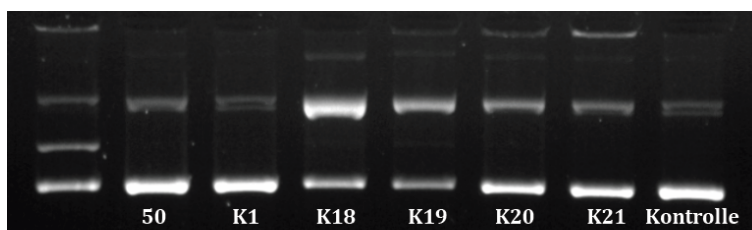


Abbildung 70: Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K18** bis **K21** (0.02 mM, 3 % DMSO) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) unter Bestrahlung (365 nm, 6 W) in PBS-Puffer (1X, pH 7.4) bei Raumtemperatur für 60 min.

Nachdem zahlreiche Wiederholungen der Spaltexperimente unter vielfach veränderten Bedingungen und Versuche fehlschlagen, die Lösungen nach der Inkubation zur Abtrennung der Metallkomplexe zu dialysieren, wurde von der Untersuchung der DNA-Spaltaktivität Abstand genommen und vielmehr die Wechselwirkung der Komplexe mit DNA genauer untersucht.

3.4.4.2 Gel-Retardation

Um die Auswirkung der Komplexe **K18** bis **K22** auf die Wanderungsgeschwindigkeit von pBR322-Plasmid-DNA zu untersuchen, wurde ein Gel-Retardations-Assay durchgeführt. Die DNA wurde für 30 Minuten mit dem zu untersuchenden Komplex inkubiert und anschließend über Agarose-Gelelektrophorese analysiert.

Während der Komplex **K18** keinen Einfluss auf die Wanderungsgeschwindigkeit der DNA hat (Abbildung 71), beeinflussen die anderen Komplexe und auch der Ligand **L21** die Wanderung der DNA durch das Agarosegel (Abbildung 13 und Abbildung 73).

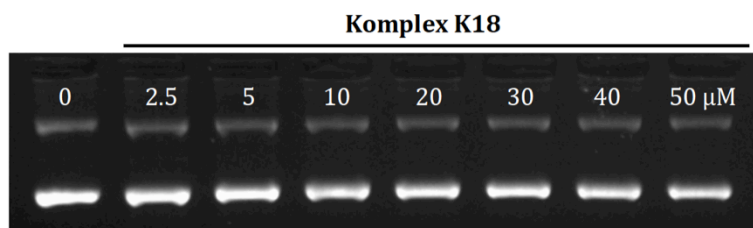


Abbildung 71: Retardationsgel von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) nach 30-minütiger Inkubation mit dem Komplex **K18** in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C. Zwecks Vergleichbarkeit wurde die DMSO-Konzentration der einzelnen Inkubationslösungen jeweils auf 0.1 % eingestellt.

Nach der Inkubation mit **K20** bis **K22** und mit dem Liganden **L21** ist festzustellen, dass die DNA nicht mehr durch das Agarosegel wandert, sondern vielmehr in der Tasche zurückbleibt. Ursache für dieses Phänomen ist wahrscheinlich die Interkalation der Anthrachinongruppen in verschiedene Plasmid-DNA-Moleküle und die daraus resultierende Aggregation der DNA. Vernetzte DNA-Moleküle sind zu groß, um durch das engmaschige Agarosegel zu wandern und verbleiben in den Taschen. Hierbei ist die Konzentration des Komplexes von entscheidender Bedeutung: je höher die Komplexkonzentration, desto mehr DNA wird vernetzt, präzipitiert und bleibt in der Tasche zurück.

Neben der Konzentration des jeweiligen Vernetzers ist auch die Art des Komplexes entscheidend. So zeigt sich, dass der 1,7-disubstituierte Kupfer(II)-Komplex **K20** und der 1,4,7-trisubstituierte Kupfer(II)-Komplex **K21** bereits ab einer Konzentration von $5 \mu\text{M}$ die DNA-Wanderung stören, während für den Zinkkomplex **K22** erst ab einer Konzentration von $20 \mu\text{M}$ eine Retardation zu beobachten ist. Für den nicht komplexierten Liganden **L21** kann

die Retardation sogar erst ab 50 μM beobachtet werden. Es ist wahrscheinlich, dass die positive Komplexladung die DNA-Affinität durch elektrostatische Wechselwirkung mit dem negativ geladenen Phosphatrückgrat erhöht und somit auch zu der erhöhten Vernetzungsaktivität der Kupfer(II)- und Zink(II)-Komplexe führt.

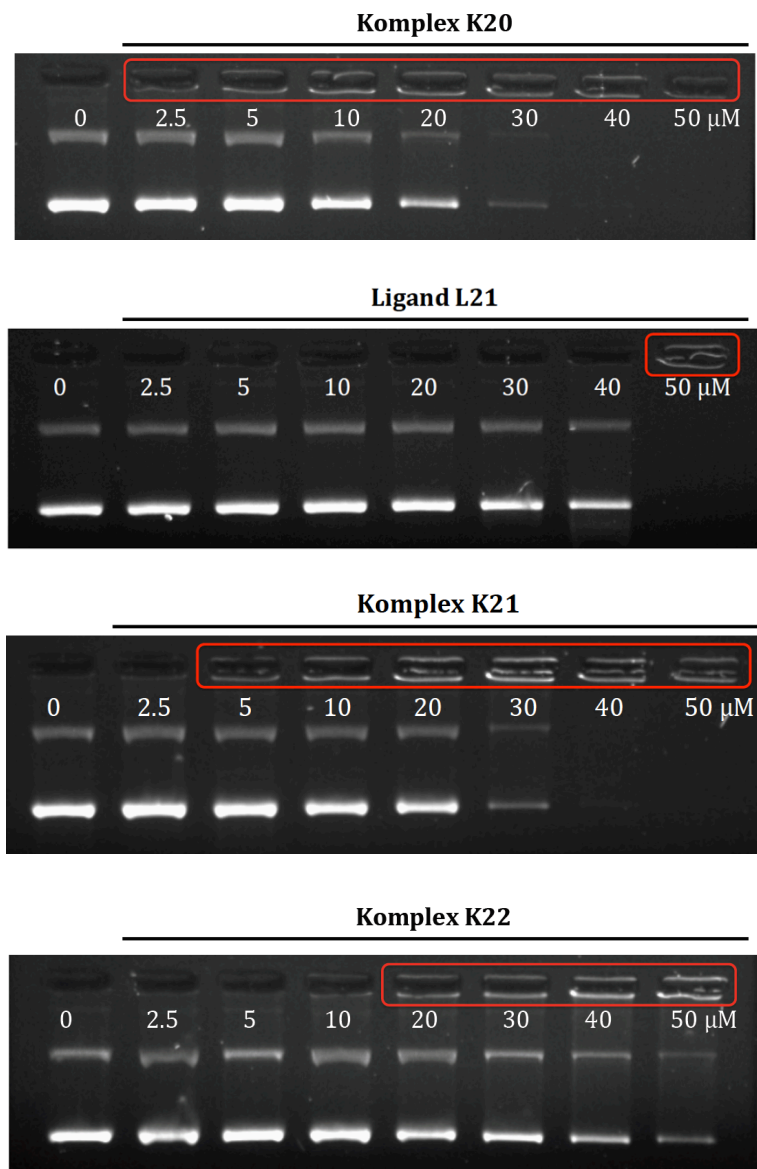


Abbildung 72: Retardationsgele von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$) nach 30-minütiger Inkubation mit den Komplexen **K20-K22** und dem Liganden **L21** in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C. Zwecks Vergleichbarkeit wurde die DMSO-Konzentration der einzelnen Inkubationslösungen jeweils auf 5 % eingestellt.

Der *cis*-substituierte Komplex **K19** weist eine besondere Eigenschaft auf: Zwar nimmt die DNA-Konzentration im Gel mit steigender Komplexkonzentration analog zu den Komplexen **K20** bis **K22** ab, jedoch kann keine vernetzte DNA in der Tasche detektiert werden. Ab einer Komplexkonzentration von 40 μM ist keine DNA mehr auf dem Gel erkennbar.

Komplex **K19** führt wahrscheinlich zu einer Kondensation der DNA. Diese wird dabei so eng gepackt, dass eine Interkalation des Ethidiumbromids unmöglich ist und die Detektion über die Ethidiumbromidfluoreszenz fehlschlägt. Eine solche Kondensation ist auch in der Literatur nicht unbekannt: So haben RAMOS und Mitarbeiter zeigen können, dass Spermin-gebundene λ -DNA enggepackte Kondensate bildet, in die Ethidiumbromid nicht interkalieren kann.^[146]

Der Unterschied der regioisomeren Komplexe **K19** und **K20** kann über die Position ihrer Anthrachinongruppen erklärt werden. Während es dem Komplex **K20** aufgrund der *trans*-Stellung der Anthrachinonsubstituenten möglich ist, eine intermolekulare Vernetzung unterschiedlicher Plasmide zu bewirken, ist diese aus sterischen Gründen für den *cis*-substituierten Komplex **K19** nicht möglich. Hier ist nur die intramolekulare Bindung der DNA wahrscheinlich.

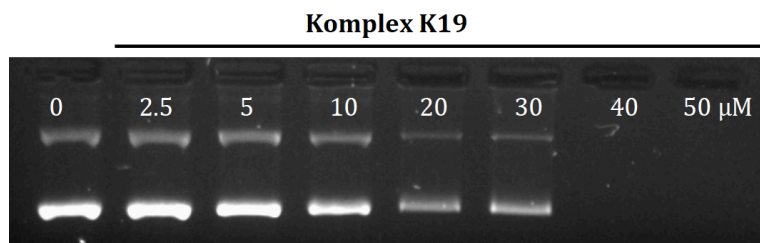


Abbildung 73: Retardationsgel von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) nach 30-minütiger Inkubation mit dem Komplex **K19** in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C. Zwecks Vergleichbarkeit wurde die DMSO-Konzentration der einzelnen Inkubationslösungen jeweils auf 0.1 % eingestellt.

3.4.4.3 Statische Lichtstreuung

Im Rahmen einer Kooperation mit der Gruppe von Prof. BRABEC (*Academy of Sciences of the Czech Republic*, Brno, Tschechien) wurde die Fähigkeit der Komplexe **K19**, **K20** und **K21** DNA zu aggregieren bzw. zu kondensieren über statische Lichtstreuung bestimmt. Hierbei wurde die Intensität der Streustrahlung einer DNA-Lösung im 90°-Winkel zur einfallenden Lichtquelle nach der Methode von THOMAS gemessen.^[147] Bei Abwesenheit oder geringer Konzentration von DNA-Aggregaten ist die Intensität der Streustrahlung gering. Wird die DNA durch Zugabe eines DNA-Binders kondensiert bzw. aggregiert, steigt die Intensität der Streustrahlung bis zu einem bestimmten Punkt an, um dann bei noch höheren Konzentrationen des DNA-Binders erneut abzufallen. Die Konzentration, bei der die Hälfte der DNA kondensiert bzw. aggregiert, wird als EC_{50} -Wert bezeichnet und erlaubt einen Vergleich verschiedener Komplexe.

Die EC_{50} -Werte der Komplexe **K18**, **K19**, **K20** und **K21** sind in Tabelle 23 zusammengetragen. Während die regioisomeren Komplexe **K19** und **K20** bei einer vergleichbaren Konzentration von 0.85 bzw. 0.78 μM die Hälfte der DNA ausgefällt haben, werden dafür 1.2 μM des dreifach

substituierten Komplexes **K21** benötigt. Das im Vergleich zu den Komplexen **K19** und **K20** schlechtere Ergebnis des Komplexes **K21** kann möglicherweise auf die schlechte Löslichkeit von Komplex **K21** zurückgeführt werden. Im Falle des einfach substituierten Komplexes **K18** kann kein Anstieg der Streustrahlung bis zu einer Konzentration von 30 μM erreicht werden. Er vermag es nicht, die DNA zu kondensieren bzw. zu aggregieren.

Tabelle 23: EC_{50} -Werte der Komplexe **K19** bis **K21**.

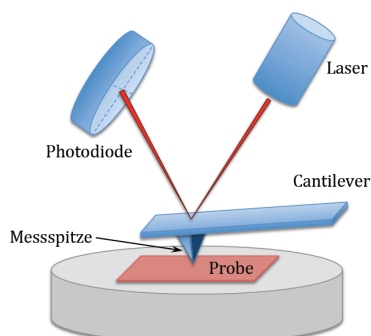
	EC_{50} [μM]
K18	> 30
K19	0.85 ± 0.08
K20	0.78 ± 0.07
K21	1.2 ± 0.1

3.4.4.4 Rasterkraftmikroskopie

Im Rahmen der Kooperation mit der Gruppe von Prof. BRABEC (*Academy of Sciences of the Czech Republic*, Brno, Tschechien) wurde Rasterkraftmikroskopie verwendet, um die Auswirkung der Komplexe auf die DNA-Morphologie auf molekularem Level zu untersuchen (**Box 6**).

Box 6: Rasterkraftmikroskopie

Rasterkraftmikroskopie (zu Englisch *atomic force microscopy*, AFM) ist ein Verfahren, mit dem die Topographie einer Probe bis in den Nanometerbereich vermessen werden kann. Seitdem sie 1986 erstmals eingesetzt wurde, ist sie heutzutage sehr weit verbreitet und wird routinemäßig in der Untersuchung von Oberflächen, in der Materialwissenschaft und auch in der Biochemie zur Vermessung von Biomolekülen eingesetzt. So können zum Beispiel einzelne DNA-Stränge mithilfe des Rasterkraftmikroskops sichtbar gemacht werden.^[148]



Die auf einer möglichst glatten Oberfläche (ein Siliciumeinkristall oder Mica-Substrat) befindliche Probe wird während der Messung mit einer Messspitze, die im Idealfall nur einige Atome umfasst, rasterförmig abgefahren. Die Probentopologie verursacht eine Auslenkung des Cantilevers. Die Auslenkung führt zu einer Änderung des Reflektionswinkels eines Laserstrahls, die durch eine Photodiode detektiert und in ein hochauflösendes Bild der Oberflächentopologie umgerechnet wird.^[149]

Die linearisierte pSP73-Plasmid-DNA wurde hierfür mit den Komplexen **K19**, **K20** und **K21** inkubiert, auf ein Mica-Substrat geladen und anschließend unter dem Rastkraftmikroskop untersucht. Abbildung 74, Abbildung 75 und Abbildung 76 zeigen, dass die untersuchten Komplexe alle zur Bildung von DNA-Aggregaten führen.

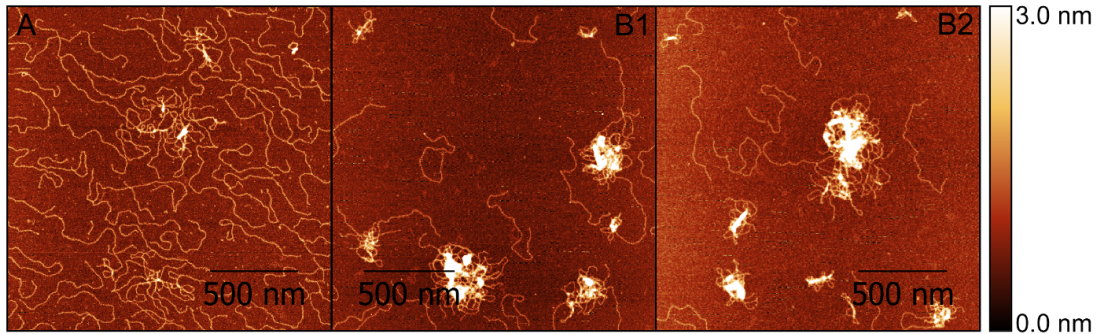


Abbildung 74: Ausgesuchte AFM-Bilder von linearisierter pSP73-Plasmid-DNA unter Zusatz von 1.56 μM (A) und 3.125 μM (B1 u. B2) **K19**.

Es zeigt sich, dass sich für den *cis*-substituierten Komplex **K19** bereits ab einer Konzentration von 1.56 μM kleine DNA-Aggregate bilden (Abbildung 74A), die bei 3.125 μM Konzentration kompakter und größer werden (Abbildung 74B1/B2).

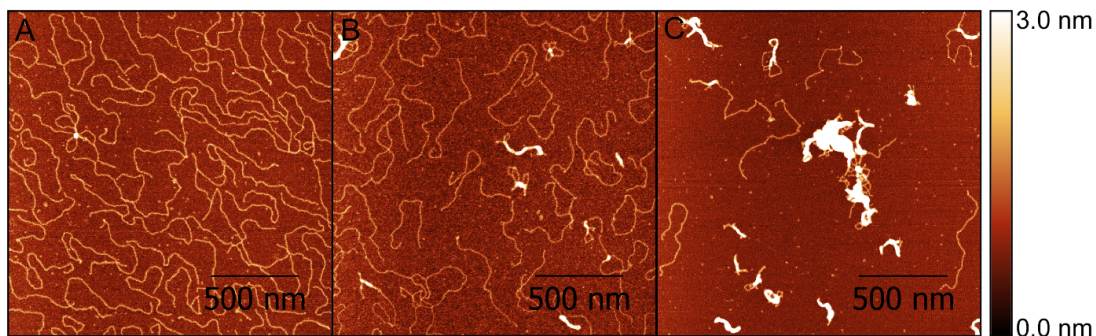


Abbildung 75: Ausgesuchte AFM-Bilder von linearisierter pSP73-Plasmid-DNA unter Zusatz von 1.56 μM (A), 3.125 μM (B) und 6.25 μM **K20**.

Der *trans*-substituierte Komplex **K20** führt ebenfalls zur Aggregatbildung, jedoch liegt bei 1.56 μM Konzentration der Großteil der DNA noch einzelsträngig vor (Abbildung 75A). Erst bei einer Konzentration von 6.25 μM entstehen DNA-Aggregate, die mit denen durch Komplex **K19** gebildeten vergleichbar sind (Abbildung 75C).

Bei der Inkubation der DNA mit 3.125 μM des dreifach substituierten Komplexes **K21** werden noch keine beziehungsweise nur sehr kleine DNA-Aggregate gebildet. Erst bei einer Komplexkonzentration von 12.5 μM liegt hier die DNA hauptsächlich in aggregierter Form vor.

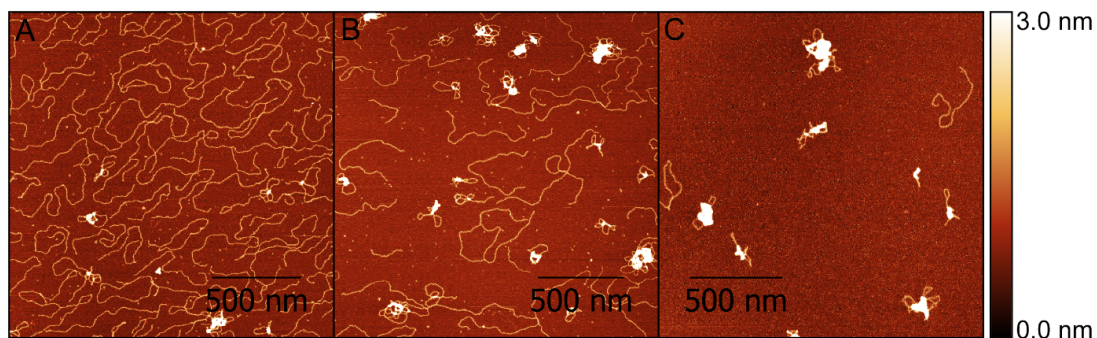


Abbildung 76: Ausgesuchte AFM-Bilder von linearisierter pSP73-Plasmid-DNA unter Zusatz von 3.125 μM (A), 6.25 μM (B) und 12.5 μM (C) **K21**.

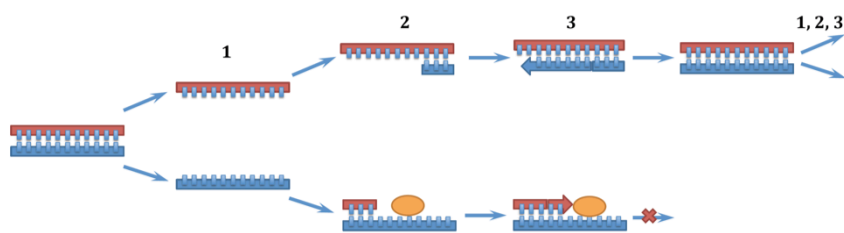
Den Komplexen **K19**, **K20** und **K21** ist gemeinsam, dass bei Komplexkonzentrationen oberhalb von 12.5 μM keine DNA-Moleküle oder DNA-Aggregate mehr detektiert werden können (Ergebnis nicht in dieser Arbeit dargestellt). Möglicherweise haften die kompakten DNA-Aggregate schlecht auf dem Mica-Substrat. Eine weitere Erklärung für diese Beobachtung kann die Bildung von größeren DNA-Aggregaten sein, die statistisch auf dem Mica-Substrat verteilt sind und somit methodisch bedingt schlecht detektiert werden können.

Bei der Interpretation der Befunde aus der Rasterkraftmikroskopie ist es wichtig zu bedenken, dass auf den erhaltenen Bildern jeweils nur ein kleiner Ausschnitt des Gesamtbildes gezeigt werden kann. Auch ist zu bedenken, dass in der hier untersuchten geringen Bandbreite von Konzentrationen (1.56 bis 12.5 μM) Aussagen über die Effektivität der Aggregatbildung nur eingeschränkt getroffen werden können. Erschwerend kommt hinzu, dass die Komplexe **K20** und **K21** kaum in Wasser löslich sind und so nicht ausgeschlossen werden kann, dass die realen Konzentrationen in den Proben geringer als die formal angegebenen Konzentrationen sind. Zusammenfassend kann nur qualitativ festgestellt werden, dass die Inkubation von DNA mit den Komplexen **K19**, **K20** und **K21** jeweils zur DNA-Aggregation führt.

3.4.4.5 Inhibition der DNA-Synthese

Box 7: Die Polymerase-Kettenreaktion als DNA-Replikationsmodell

Als Polymerase-Kettenreaktion (engl. *polymerase chain reaction*, kurz: PCR) wird die *in vitro* durch eine DNA-Polymerase katalysierte Vervielfältigung eines DNA-Abschnitts bezeichnet. Der Abschnitt kann hierbei durch die Wahl geeigneter Primer genau bestimmt werden. Zunächst durch KHORANA und Mitarbeiter beschrieben, fand die Methode erst durch die von MULLIS eingeführte Verwendung einer aus *Thermus aquaticus* isolierten thermostabilen Polymerase breite Anwendung.^[150,151] Für die Verbesserungen und die Etablierung der PCR als zentrale Methode in der molekularen Biologie erhielt MULLIS 1993 den Nobelpreis.



Die Polymerase-Kettenreaktion wird in die folgenden Schritte unterteilt: thermische Denaturierung der doppelsträngigen DNA (1), Primerbindung (2) und anschließende Verlängerung des Primers durch die DNA-Polymerase (3).^[151] Durch Wiederholung der Zyklen wird die ursprüngliche DNA-Menge in jedem Zyklus verdoppelt.

Die PCR kann als ein Modell der *in vivo* ablaufenden DNA-Replikation angesehen werden und ermöglicht aufgrund ihrer einfachen Handhabung, den Einfluss eines DNA-Binders auf die Transkriptionsmaschinerie *in vitro* zu untersuchen. So kann die Replikation eines DNA-Fragments über PCR durch Bindung eines Komplexes gehemmt oder gar zum Erliegen gebracht werden. Die Analyse der PCR-Inkubationslösung über Agarosegelelektrophorese erlaubt im Anschluss an die Polymerase-Kettenreaktion eine Aussage über die Effektivität eines DNA-Binders: Je weniger DNA vorliegt, desto effektiver wird die PCR inhibiert.

Um den Effekt der Bindung der Komplexe auf die DNA-Struktur zu untersuchen, wurde die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) unter Zusatz der Komplexe **K18** bis **K22** durchgeführt. Ein 279 bp großes Fragment des pBR322-Plasmids wurde über die PCR unter Anwesenheit der zu untersuchenden Komplexe und Vergleichsverbindungen vervielfältigt. Von GLASER und Mitarbeitern konnte zuvor gezeigt werden, dass eine Änderung der DNA-Topologie, wie sie bei der Bindung einiger Komplexe an die DNA geschieht, dazu führt, dass die DNA nicht mehr über Polymerasen repliziert werden kann (**Box 7**).^[152]

Zunächst wurde untersucht, welchen Einfluss Kupfer(II)nitrat und die Referenzverbindung 2-((Dimethylamin)methyl)anthrachinon (**50**) auf die DNA-Synthese durch die *Taq*-Polymerase haben (Abbildung 77).

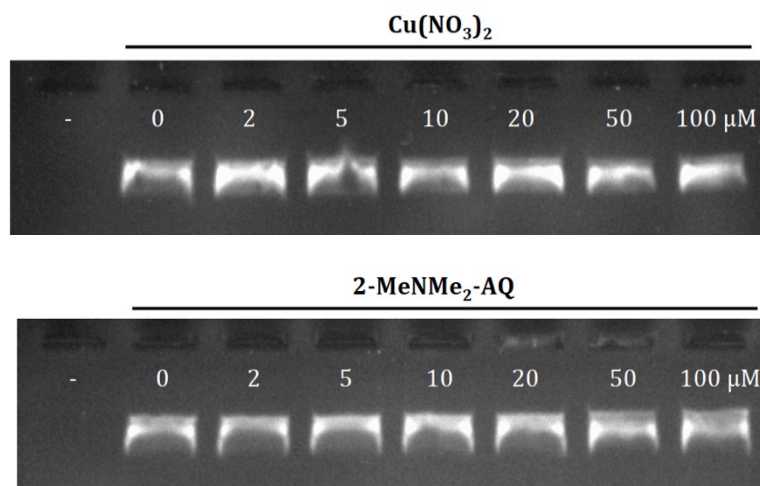


Abbildung 77: Effekt von Kupfernitrat (oben) und 2-((Dimethylamin)methyl)anthrachinon (**50**; unten) auf die PCR.

Bei Konzentrationen von bis zu 100 μM beeinflussen weder das Kupfersalz noch der DNA-Interkalator **50** die DNA-Synthese. Obwohl eine Abhängigkeit der DNA-Synthese von der Kupferkonzentration aufgrund von kompetitiver Hemmung durch Cu^{2+} gegenüber dem von der *Taq*-Polymerase benötigten Kofaktor Mg^{2+} in der Literatur bekannt ist, scheinen geringe Konzentrationen des Kupfers keine Auswirkung zu haben.^[153] Artefakte aufgrund freier Kupferionen können demnach für die folgenden Versuche ausgeschlossen werden.

Als bekannter DNA-Binder wurde Cisplatin als Positivkontrolle gewählt. Hiermit sollte gezeigt werden, dass die PCR tatsächlich durch eine Änderung der DNA-Topologie gestört wird. Das Ergebnis des Versuchs ist in Abbildung 78 dargestellt: Ab einer Konzentration von 100 μM kommt die PCR zum Erliegen, was durch die ausbleibende DNA-Bande auf dem Agarosegel erkannt werden kann. Dieses Ergebnis stimmt überein mit den von GLASER *et al.* erarbeiteten Ergebnissen und beweist, dass die Methode zur Untersuchung geeignet ist, inwiefern ein Komplex die DNA-Synthese beeinflusst.^[152]

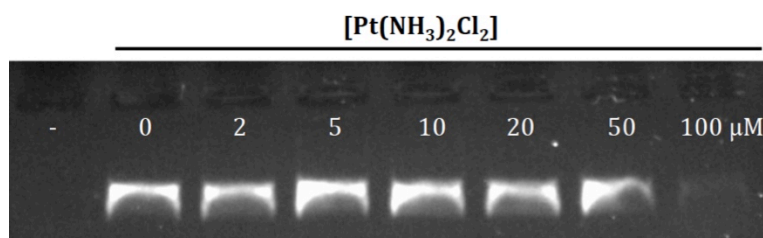


Abbildung 78: Effekt von Cisplatin auf die PCR.

Als Nächstes wurden die Anthrachinonkomplexe **K18** bis **K22** untersucht. Für den einfach Anthrachinon-substituierten Komplex **K18** zeigt sich, dass bereits ab einer Konzentration von 3 μM die PCR zum Erliegen kommt (Abbildung 79). Da für den einfach substituierten Komplex keine Vernetzung verschiedener DNA-Stränge möglich erscheint, ist davon

auszugehen, dass der nicht in die DNA interkalierte Cyclen-Rest die DNA-Oberfläche besetzt und so sterische Hinderung gegenüber der DNA-Polymerase ausübt.

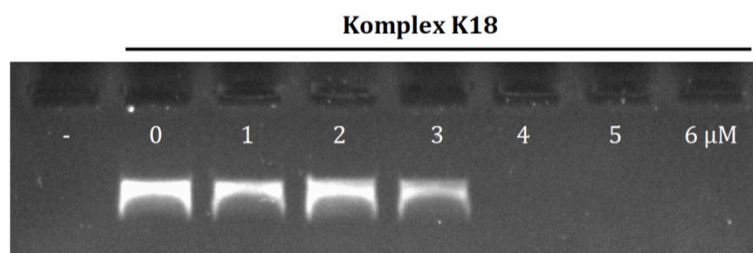


Abbildung 79: Effekt des Komplexes **K18** auf die PCR.

Der Einfluss der regioisomeren Komplexe **K19** und **K20** auf die DNA-Synthese ist in Abbildung 80 gezeigt.

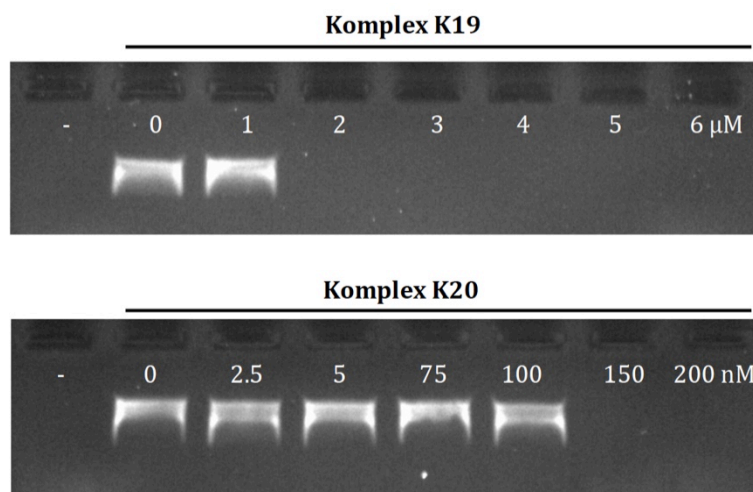


Abbildung 80: Effekt der regioisomeren Komplexe **K19** (oben) und **K20** (unten) auf die PCR.

Zwischen den beiden Komplexen zeigt sich ein großer Unterschied: Der in *cis*-Position substituierte Komplex **K19** bringt die DNA-Synthese ab einer Konzentration von 1 μM zum Erliegen und ist somit nur wenig effektiver als der einfach substituierte Komplex **K18**. Der in *trans*-Position substituierte Komplex **K20** ist um eine Größenordnung effektiver und bringt die DNA-Synthese bereits ab einer Konzentration von 100 nM zum Erliegen. Während der Komplex **K19** aufgrund der räumlichen Nähe der beiden Anthrachinongruppen (1,4-Substitution) wahrscheinlich nur einen DNA-Strang binden kann (intramolekulare Bindung), sollte es dem Komplex **K20** (1,7-Substitution) auch möglich sein, verschiedene DNA-Stränge zu vernetzen (intermolekulare Bindung).

Abbildung 81 zeigt den Einfluss des dreifach substituierten Liganden **L21** und seiner entsprechenden Kupfer- und Zinkkomplexe **K21** und **K22**.

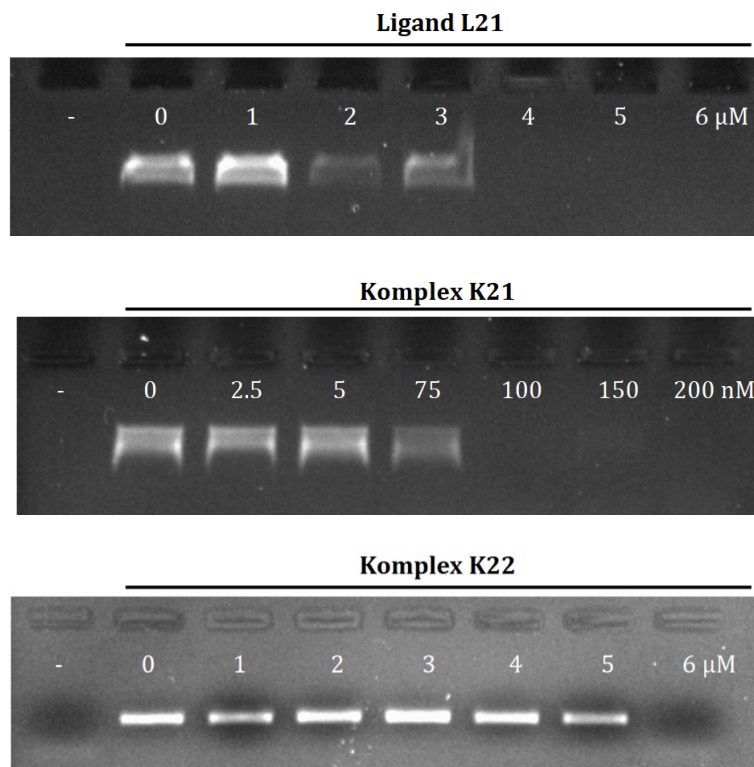


Abbildung 81: Effekt des Liganden **L21** (oben) und der Komplexe **K21** (Mitte) und **K22** (unten) auf die PCR.

Wie zu erwarten ist der Ligand **L21** ohne Metallzentrum aufgrund der fehlenden elektrostatischen Wechselwirkung der weniger aktive Inhibitor der DNA-Synthese. Dennoch reicht eine Konzentration von 3 μM aus, um diese zu stoppen. Der Ligand **L21** ist somit genauso aktiv wie der Kupferkomplex **K18**. Der entsprechende Kupferkomplex inhibiert die DNA-Synthese ab einer Konzentration von 75 nM komplett und ist somit sogar noch aktiver als der in 1,7-Position substituierte Komplex **K20**. Die weitere Steigerung der Aktivität lässt sich hierbei auf die dritte Anthrachinongruppe zurückführen. Der Zinkkomplex **K22** ist weniger aktiv als der Kupferkomplex und sogar weniger aktiv als der freie Ligand. Vom Komplex **K22** werden 5 μM benötigt, um die DNA-Synthese durch die *Taq*-Polymerase zu inhibieren. Ein Grund für dieses Verhalten könnten Löslichkeitsprobleme sein.

Für die untersuchten Verbindungen ergibt sich zusammenfassend folgende Reihenfolge abfallender Aktivität für die Behinderung der DNA-Synthese: **K21** > **K20** >> **K19** > **L21** \approx **K18** > **K22** >> Cisplatin >> $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \approx$ Verbindung **50**.

3.4.4.6 Zytotoxizität

Um zu untersuchen, ob die Inhibition der DNA-Synthese auch Einfluss auf die Viabilität von Zellen hat, wurde die Zytotoxizität der Komplexe **K18** bis **K22** und des Liganden **L21** untersucht und mit der von Cisplatin verglichen. Hierfür wurden A549-Zellen (Bronchialkarzinom) mit steigenden Konzentrationen der Komplexe **K18** bis **K22** und mit

Cisplatin für zwei Tage inkubiert und anschließend ihre Überlebensrate über den MTT-Assay festgestellt (Abbildung 21).

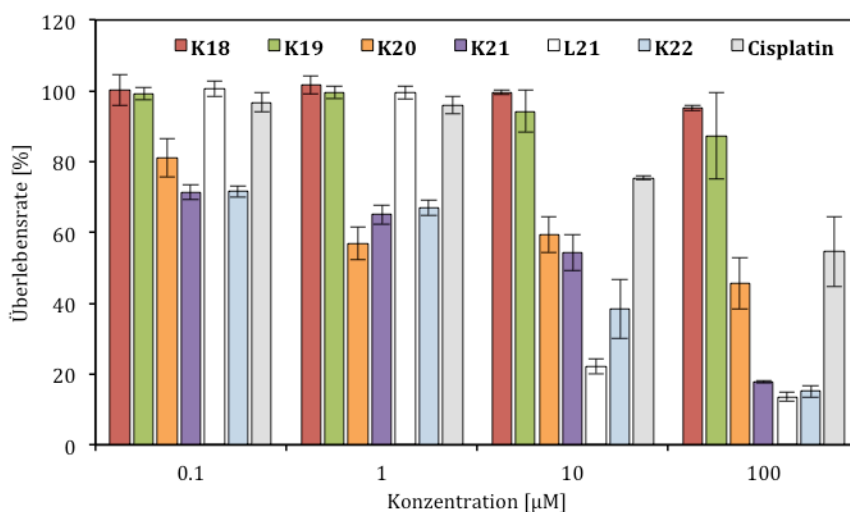
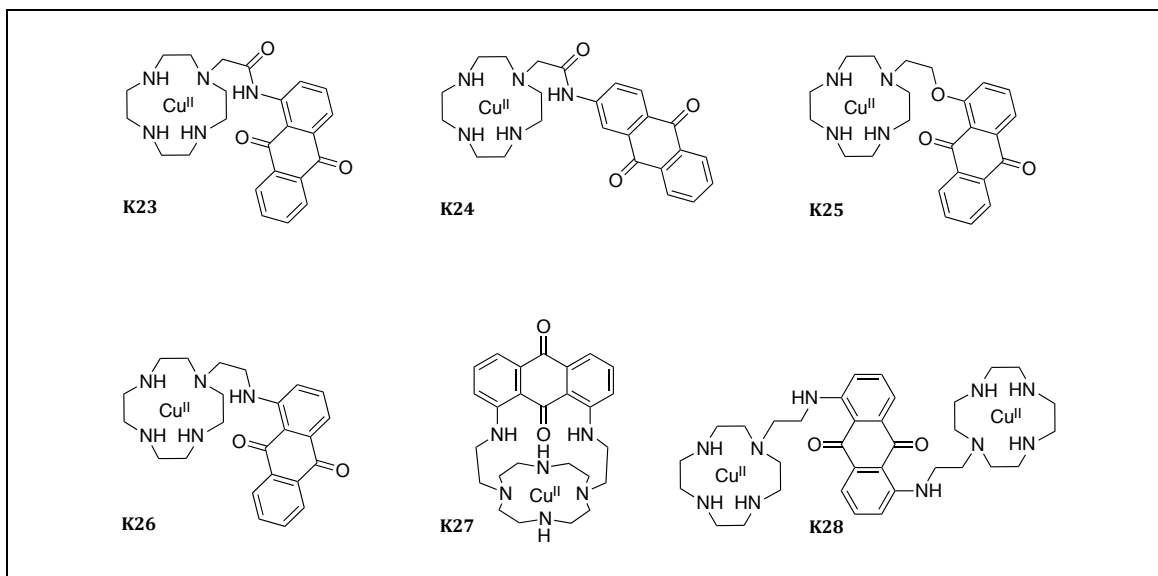


Abbildung 82: Zytotoxische Wirkung der Komplexe **K18** bis **K22**, des Liganden **L21** und Cisplatin auf A549-Zellen bei 48-stündiger Inkubation.

In guter Übereinstimmung mit den zuvor erlangten Ergebnissen stellte sich heraus, dass die Komplexe **K20**, **K21** und **K22** sowie der Ligand **L21** toxisch auf A549-Zellen wirken. Hierbei sind der Ligand **L21** und die dreifach substituierten Komplexe **K21** und **K22** bei einer Konzentration von 100 μM etwa doppelt so zytotoxisch wie der zweifach substituierte Komplex **K20** (20 % Viabilität für **K21**, **K22** und **L21** vs. 50 % Viabilität für **K20**). Bei 100 μM Konzentration erhöht sich die zytotoxische Aktivität sogar um den Faktor drei gegenüber dem bekannten Krebsmedikament Cisplatin (20 % Viabilität gegenüber 60 % Viabilität für Cisplatin). Die hier gemessene Zytotoxizität von Cisplatin erscheint jedoch etwas zu gering. In einer unter vergleichbaren Bedingungen geführten Untersuchung durch *BATISTA et al.* ergab sich ein IC_{50} -Wert von $11.84 \pm 8.68 \mu\text{M}$ für Cisplatin bezüglich A549-Zellen.^[154]

Die Komplexe **K18** und **K19** zeigen wie erwartet in dem untersuchten Konzentrationsbereich von 0.1 bis 100 μM keine Zytotoxizität.

3.5 Anthrachinon-substituierte DNA-Spalter: ethylenverbrückte Komplexe

Abbildung 83: Strukturen der ethylenverbrückten Anthrachinon-substituierten Komplexe **K23** bis **K28**.

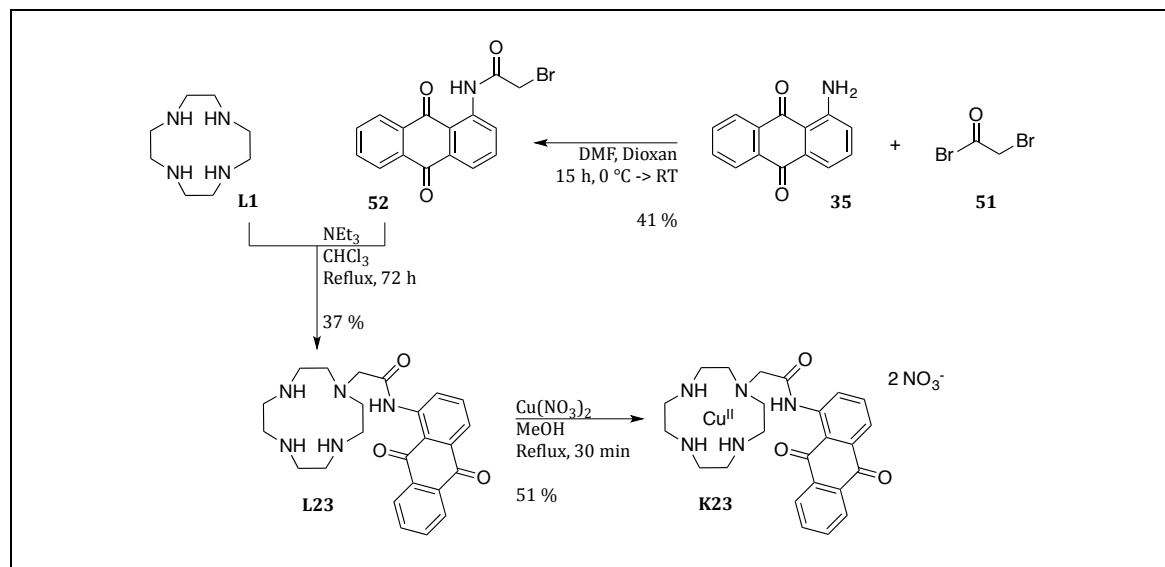
3.5.1 Synthese

Die Liganden **L23** bis **L26** wurden in analoger Weise über eine S_N2 -Reaktion dargestellt: Ein vierfacher Überschuss an Cyclen wurde mit dem entsprechenden Bromid in Chloroform mit Triethylamin als Base zur Reaktion gebracht. Der Kryptand **L27** wurde durch Umsetzung des entsprechenden Dibromids in Acetonitril unter Verwendung von Natriumcarbonat als Base synthetisiert. Der Fortschritt der Reaktionen wurde jeweils über Dünnschichtchromatographie verfolgt. Die Reaktionen wurden beendet sobald das Bromid verbraucht war. Im Folgenden werden die Reaktionen näher beschrieben.

3.5.1.1 Synthese von Komplex **K23**

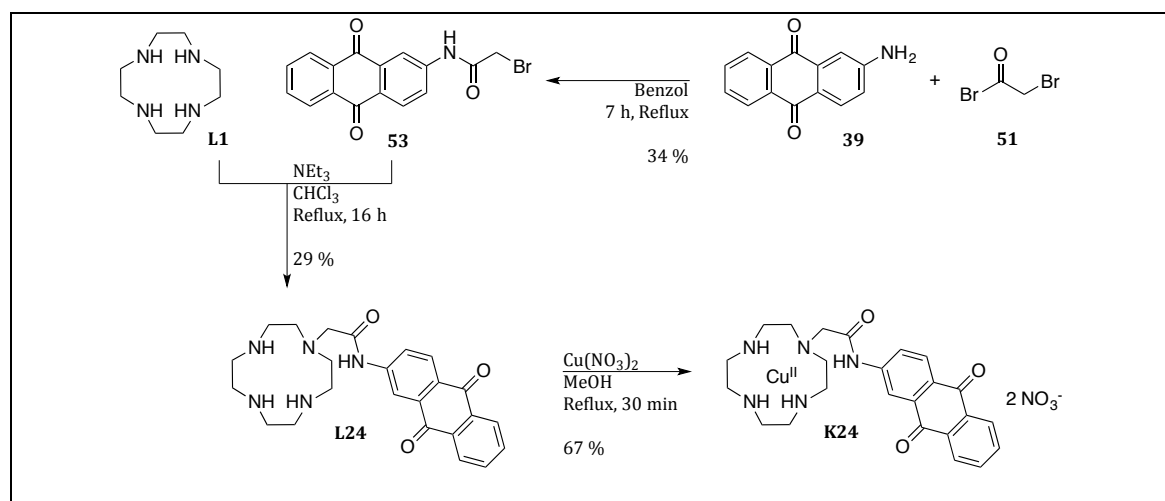
Die Synthese des Komplexes **K23** ist in Schema 22 dargestellt. Nach einer Vorschrift von YADAV wurde zunächst aus 1-Aminoanthrachinon (**35**) durch Umsetzung mit Bromacetylbromid (**51**) in einem Dioxan-DMF-Gemisch bei 0 °C das Amid **52** in mäßiger Ausbeute dargestellt.^[155] Der Ligand **23** konnte durch Umsetzung des Amids **52** mit einem vierfachen Überschuss an Cyclen gewonnen werden. Hierfür wurden die beiden Edukte unter Zusatz von Triethylamin in Chloroform für drei Tage zum Rückfluss erhitzt, wobei das Amid **L23** gewonnen und anschließend durch Säulenchromatographie an Kieselgel als einziges Produkt aus dem Reaktionsgemisch in 37 %iger Ausbeute isoliert werden konnte.

Der Kupferkomplex **K23** konnte durch Umsetzung des Liganden mit Kupfernitrat in Methanol in mäßiger Ausbeute erhalten werden.

Schema 22: Synthese von Komplex **K23**.

3.5.1.2 Synthese von Komplex **K24**

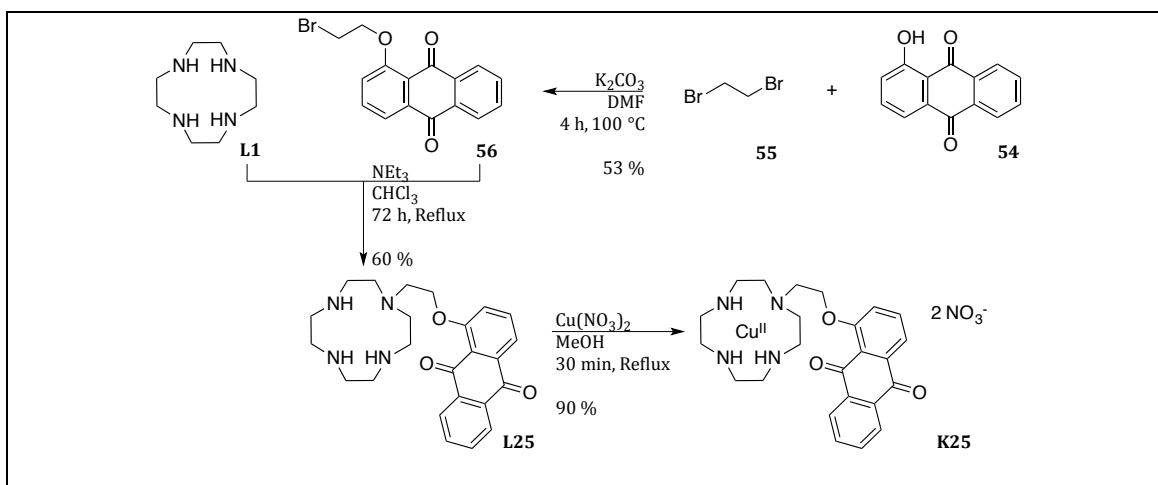
Die Synthese des Komplexes **K24** ist in Schema 23 dargestellt.

Schema 23: Synthese von Komplex **K24**.

Zunächst wurde aus 2-Aminoanthrachinon (**39**) und Bromoacetyl bromid (**51**) das Amid **53** synthetisiert. Hierbei wurde nach einer Vorschrift von GOLOVENKO *et al.* gearbeitet.^[156] Der Ligand **L24** und der Komplex **K24** wurden in analoger Weise zu der oben beschriebenen Synthese von **L23** und **K24** synthetisiert, jedoch wurde die Reaktionszeit der Substitutionsreaktion auf 16 Stunden reduziert. Die verkürzte Reaktionszeit führte hierbei zu einer geringeren Ausbeute.

3.5.1.3 Synthese von Komplex **K25**

Schema 24 zeigt die Synthese von Komplex **K25**.

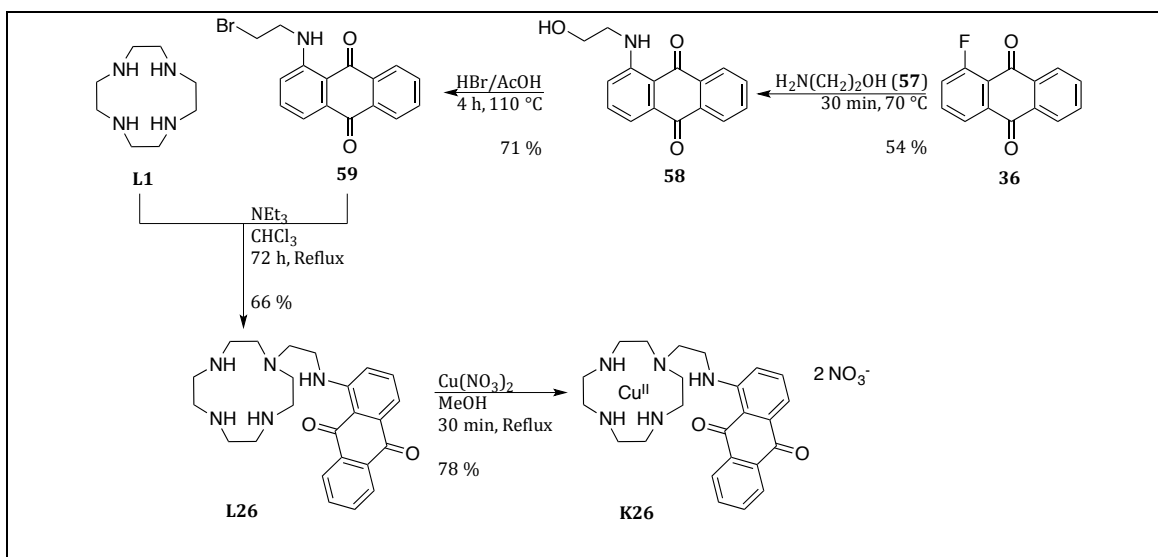


Schema 24: Synthese von Komplex **K25**.

Der Ligand **L25** wurde in einer zweistufigen Synthese ausgehend von 1-Hydroxyanthrachinon (**54**) synthetisiert. Zunächst wurde das Anthrachinonderivat **54** innerhalb von vier Tagen mit 1,2-Dibrommethan (**55**) in DMF zum Bromid **56** umgesetzt.^[157] Dieses wurde erneut analog zur Synthese von **L23** mit einem Cyclenüberschuss in mäßiger Ausbeute zum Liganden **L25** umgesetzt. Der Kupferkomplex **K25** konnte in guter Ausbeute durch Umsetzung mit dem Liganden **L25** erhalten werden.

3.5.1.4 Synthese von Komplex **K26**

Der Komplex **K26** wurde in drei Stufen ausgehend von 1-Fluoranthrachinon synthetisiert. Eine Übersicht über die Synthese bietet Schema 25.



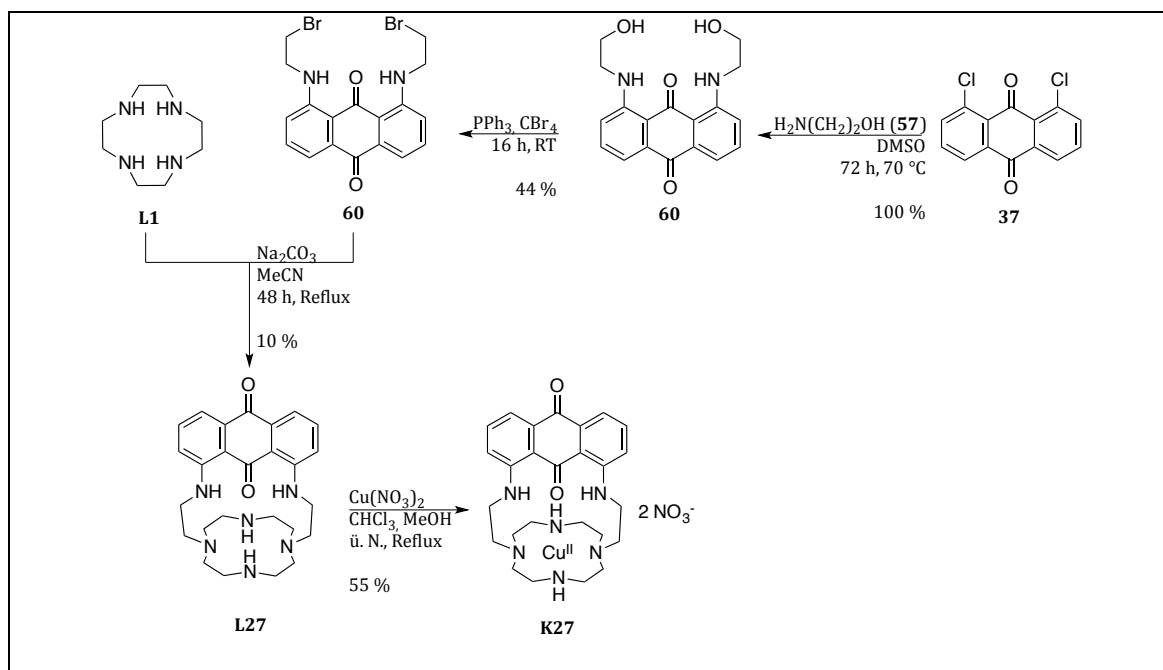
Schema 25: Synthese von Komplex **K26**.

In Anlehnung an eine Vorschrift von SCHNEIDER wurde 1-Fluoranthrachinon (**36**) zum Bromid **59** umgesetzt: Durch Reaktion von 1-Fluoranthrachinon (**36**) mit Ethanolamin (**57**) wurde zunächst der Alkohol **58** hergestellt.^[158] Dieser wurde anschließend im geschlossenen Reaktionsgefäß unter Druck in einem Bromwasserstoff/Eisessig-Gemisch zum Bromid **59** umgesetzt. In analoger Weise zur oben beschriebenen Synthese von Verbindung **L25** wurde das Bromid **59** mit einem Cylenüberschuss in 66 % Ausbeute zum gewünschten Liganden **L26** umgesetzt.

Der Ligand **L26** wurde schließlich in guter Ausbeute mit Kupfernitrat zum gewünschten Kupferkomplex **K26** umgesetzt.

3.5.1.5 Synthese von **K27**

Die Synthese des Kryptanden **K27** ist in Schema 26 übersichtlich dargestellt.



Schema 26: Synthese von Komplex **K27**.

Das Diol **60** konnte in quantitativer Ausbeute aus 1,8-Dichloranthrachinon gewonnen werden. Hierbei wurde anders als bei der Synthese von Verbindung **58** nicht in Ethanolamin selbst, sondern in DMSO mit einem 10-fachen Überschuss an Ethanolamin gearbeitet. Da das unreaktivere 1,8-Dichloranthrachinon anstelle eines Difluorids verwendet wurde, musste die Reaktionszeit außerdem auf drei Tage erhöht werden.

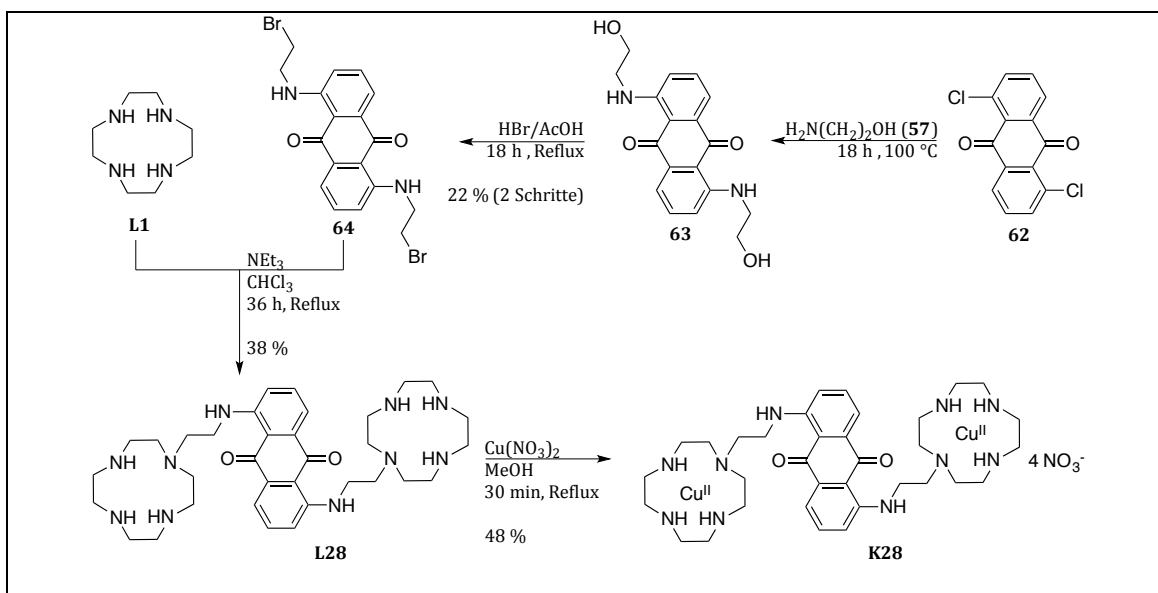
Der Versuch, das Dibromid **60** durch Reaktion des Diols mit Bromwasserstoff in Eisessig zu generieren, schlug fehl. Erst die Umsetzung des Diols mit Triphenylphosphin und Tetrabrommethan in einer APPEL-Reaktion lieferte das gewünschte Produkt **60** in mäßiger Ausbeute.

Die in analoger Weise zu den Synthesen von **L23** bis **L26** in Chloroform mit Triethylamin durchgeführte Synthese des Kryptanden **L27** war nicht erfolgreich. Erst durch Verwendung von Acetonitril und Natriumcarbonat als Base konnte **L27** in schlechter Ausbeute erhalten werden. Möglicherweise könnte durch Reaktion in einem Lösungsmittel wie DMF, das einen noch höheren Siedepunkt hat, die Ausbeute erhöht werden.

Der Komplex **K27** wurde durch Reaktion des Liganden mit Kupfernitrat hergestellt. Hierbei musste die Reaktionszeit von dreißig Minuten (im Vergleich zu den übrigen ethylenverbrückten Komplexen) auf zwölf Stunden erhöht werden.

3.5.1.6 Synthese des dinuklearen Komplexes **K28**

Der Komplex **K28** wurde ausgehend von 1,5-Dichloranthrachinon (**62**) in einer vierstufigen Synthese dargestellt (Schema 27).



Schema 27: Synthese von Komplex **K28**.

Zunächst wurde 1,5-Dichloranthrachinon (**62**) in und mit Ethanolamin (**57**) bei $100\text{ }^\circ\text{C}$ zum Diol **63** umgesetzt. Die Verbindung **63** wurde getrocknet und ohne weitere Aufarbeitung und Analytik weiter zum Dibromid **64** reagiert. Hierbei musste das Dibromid nicht über eine APPEL-Reaktion synthetisiert werden. Es konnte in einer Lösung von Bromwasserstoffsäure in Eisessig bromiert werden. Die Ausbeute über die beiden Reaktionsschritte betrug 22%. Die Synthese des Liganden **L28** konnte in analoger Weise zu den Synthesen der Liganden **L23** bis **L26** durchgeführt werden: Das Dibromid wurde mit einem Überschuss Cyclen in Chloroform mit Triethylamin als Base zur Reaktion gebracht. Der Ligand **L28** konnte in 38% Ausbeute isoliert werden.

Der Ligand **L28** wurde schließlich in mäßiger Ausbeute mit zwei Äquivalenten Kupfernitrat zum gewünschten Kupferkomplex **K28** umgesetzt.

3.5.2 Charakterisierung und Strukturaufklärung

Die zuvor in der Literatur unbekanntenen Komplexe **K23** bis **K28** wurden über Elementaranalyse, Massenspektrometrie (vgl. Experimenteller Teil für ESI-MS und C,H,N-Analyse) und UV/Vis-Spektroskopie (Abbildung 84; Tabelle 24) charakterisiert. Von den Komplexen **K24**, **K25** und **K27** konnten zusätzlich Einkristalle für die Röntgenstrukturanalyse über Diffusion von Diethylether in eine gesättigte Komplexlösung erhalten werden.

Im linken Teil der Abbildung 84 sind die Ausschnitte aus den UV-Spektren und im rechten Teil die Vis-Spektren dargestellt. Die Absorptionsmaxima der n- π^* - und der d-d-Übergänge sind in Tabelle 24 aufgelistet.

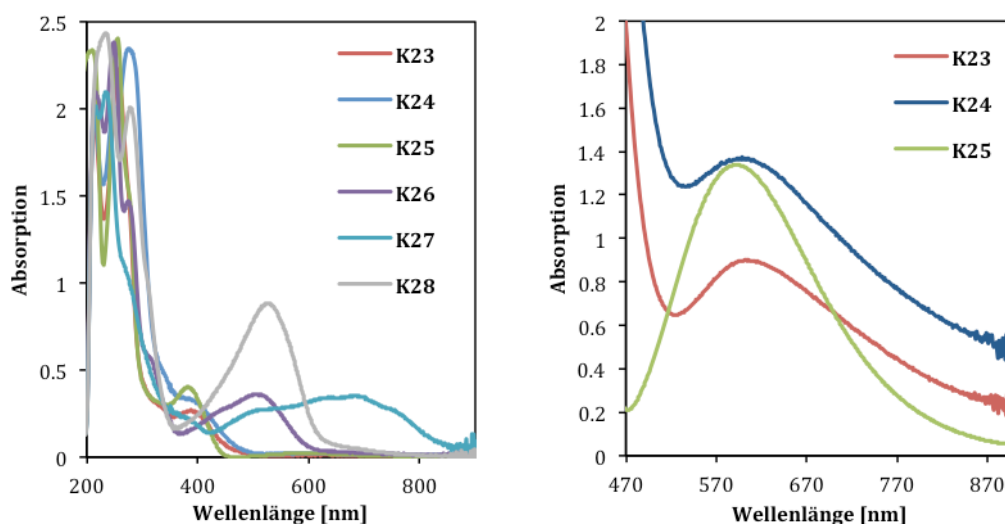


Abbildung 84: Links: Ausschnitt der UV/Vis-Spektren der Komplexe **K23** bis **K27** (78 μ M) in Tris-HCl-Puffer (pH 7.4). Rechts: Ausschnitt der Vis-Spektren der Komplexe **K23** bis **K25** (5 mM) in Tris-HCl-Puffer (pH 7.4).

Anders als bei den zuvor beschriebenen Anthrachinonkomplexen zeigt sich bei den Komplexen **K23**, **K24** und **K25** kein Einfluss der Anthrachinongruppe auf das Absorptionsmaximum der d-d-Übergänge. Die Absorption erscheint gegenüber der Absorption des freien Kupfer(II)cyclen-Komplexes **K1** ($\lambda_{max} = 601$ nm) nicht oder nur sehr gering verschoben. Es ist zu vermuten, dass die längere Linkergruppe eine Wechselwirkung zwischen Metallzentrum und Anthrachinongruppe erschwert. Die d-d-Übergänge der Komplexe **K26**, **K27** und **K28** können wegen Überlagerung mit dem n- π^* -Übergang nicht beschrieben werden.

Tabelle 24: Auflistung der Absorptionswellenlängen λ_{max} für die n- π^* - und d-d-Übergänge mit zugehörigen Extinktionskoeffizienten ϵ für die Komplexe **K23** bis **K28**.

	λ_{max} [nm] und (ϵ [L mol ⁻¹ cm ⁻¹])
K23	388 (3192), 602 (179)
K24	388 (3807), 598 (275)
K25	384 (4828), 592 (270)
K26	513 (4056)
K27	686 (4598)
K28	529 nm (9398)

In Übereinstimmung mit den Beobachtungen von DIAZ führen die sekundären Aminogruppen der Verbindung **K26**, **K27** und **K28** zu einer starken Verschiebung der n- π^* -Übergänge in den langwelligen Bereich des elektromagnetischen Spektrums.^[100]

In Abbildung 85, Abbildung 86 und Abbildung 87 sind die Molekülstrukturen der Komplexe **K24**, **K25** und **K27** dargestellt. Die kristallographischen Daten der Komplexe sind im Anhang zu finden (Tabelle 37, Tabelle 38, Tabelle 39). Ausgesuchte Bindungslängen und -winkel sind in Tabelle 25, Tabelle 26 und Tabelle 27 zusammengetragen.

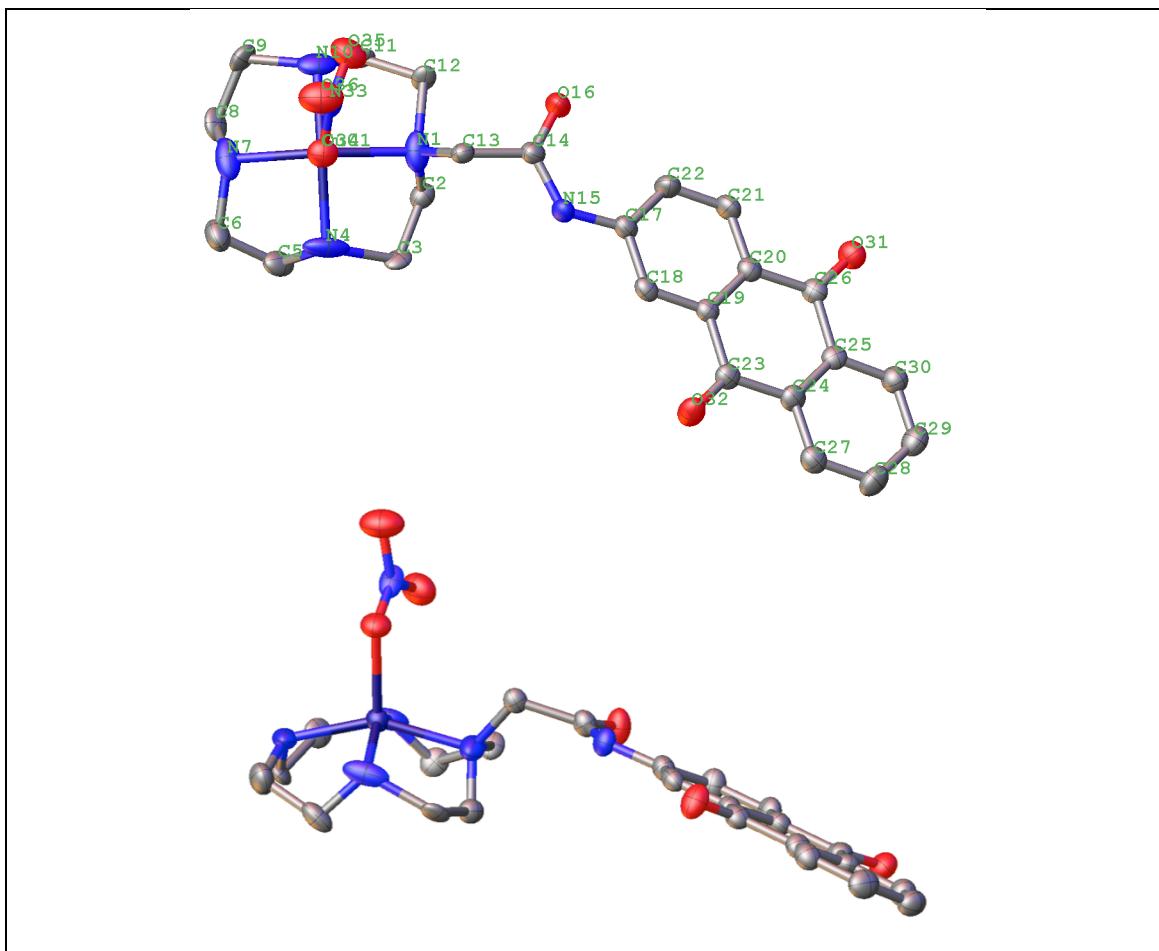


Abbildung 85: Auf- und Seitenansicht der Molekülstruktur von Komplex **K24**. Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

Der Komplex **K24** ist einfach positiv geladen und besitzt quadratisch-pyramidale Koordinationsumgebung, wobei ein Nitratoligand die Pyramidenspitze bildet. Das zweite Nitrat anion koordiniert nicht. Die Cyclenfunktion ist hierbei isostrukturell zum Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1**. Das Kupferatom befindet sich leicht über der Heteroatomebene in einer Höhe von 0.534 Å. In einem Winkel von 112.770° (N1-C13-C14) ist die Anthrachinongruppe an das N1-Atom angebracht. Aufgrund der planaren Amidfunktion weist der Komplex **K24** große strukturelle Ähnlichkeit zum methylenverbrückten Komplex **K18** auf. Die beiden Komplexe unterscheiden sich lediglich in der Länge der unflexiblen Linkergruppe: Der Linker von Komplex **K25** ist um die zwei Atome (C14-N15) der planaren Amidgruppe verlängert.

Die Bindungslängen und -winkel der Anthrachinongruppe sind in guter Übereinstimmung mit der von JANCZAK gemessenen Struktur von 2-Aminoanthrachinon und werden daher an dieser Stelle nicht weiter beschrieben. Außerdem ist die Anthrachinongruppe des Komplexes **K24** planar und zeigt mit einer Abweichung von -0.01 bis 0.03 Å (durchschnittlich 0.016 Å) von der mittleren Aromatenebene keine Verzerrung gegenüber freiem 2-Aminoanthrachinon, bei dem die Nichtwasserstoffatome sogar eine durchschnittliche Abweichung von 0.022 Å von der aromatischen Ringebebene aufweisen.^[123]

Tabelle 25: Ausgesuchte Bindungslängen [Å] und Winkel [°] von Komplex **K24**.

	Bindungslänge		Winkel
Cu(1)-N(1)	2.049(4)	O(34)-Cu(1)-N(1)	104.58(15)
Cu(1)-N(4)	1.994(4)	O(34)-Cu(1)-N(4)	99.62(17)
Cu(1)-N(7)	1.996(4)	O(34)-Cu(1)-N(7)	103.91(17)
Cu(1)-N(10)	1.989(4)	O(34)-Cu(1)-N(10)	113.46(18)
Cu(1)-O(34)	2.151(3)	N(1)-Cu(1)-N(4)	85.4(2)
C(2)-C(3)	1.53(2)	N(4)-Cu(1)-N(7)	86.6(2)
O(34)-N(33)	1.173(5)	N(7)-Cu(1)-N(10)	85.5(2)
N(1)-C(13)	1.479(6)	N(10)-Cu(1)-N(1)	86.3(2)
C(13)-C(14)	1.518(6)	N(1)-Cu(1)-N(7)	151.31(18)
C(14)-N(15)	1.356(6)	N(4)-Cu(1)-N(10)	146.9(2)
C(14)-O(16)	1.216(5)	N(1)-C(13)-C(14)	112.8(4)
C(17)-C(18)	1.390(6)	C(13)-C(14)-O(16)	121.7(4)
C(19)-C(23)	1.486(6)	C(13)-C(14)-N(15)	114.1(4)
C(23)-O(32)	1.221(5)	O(16)-C(14)-N(15)	124.2(4)
N(1):N(4):N(7):N(10)-Cu(1)	0.534	C(19):C(20):C(26):C(25)	-1.045

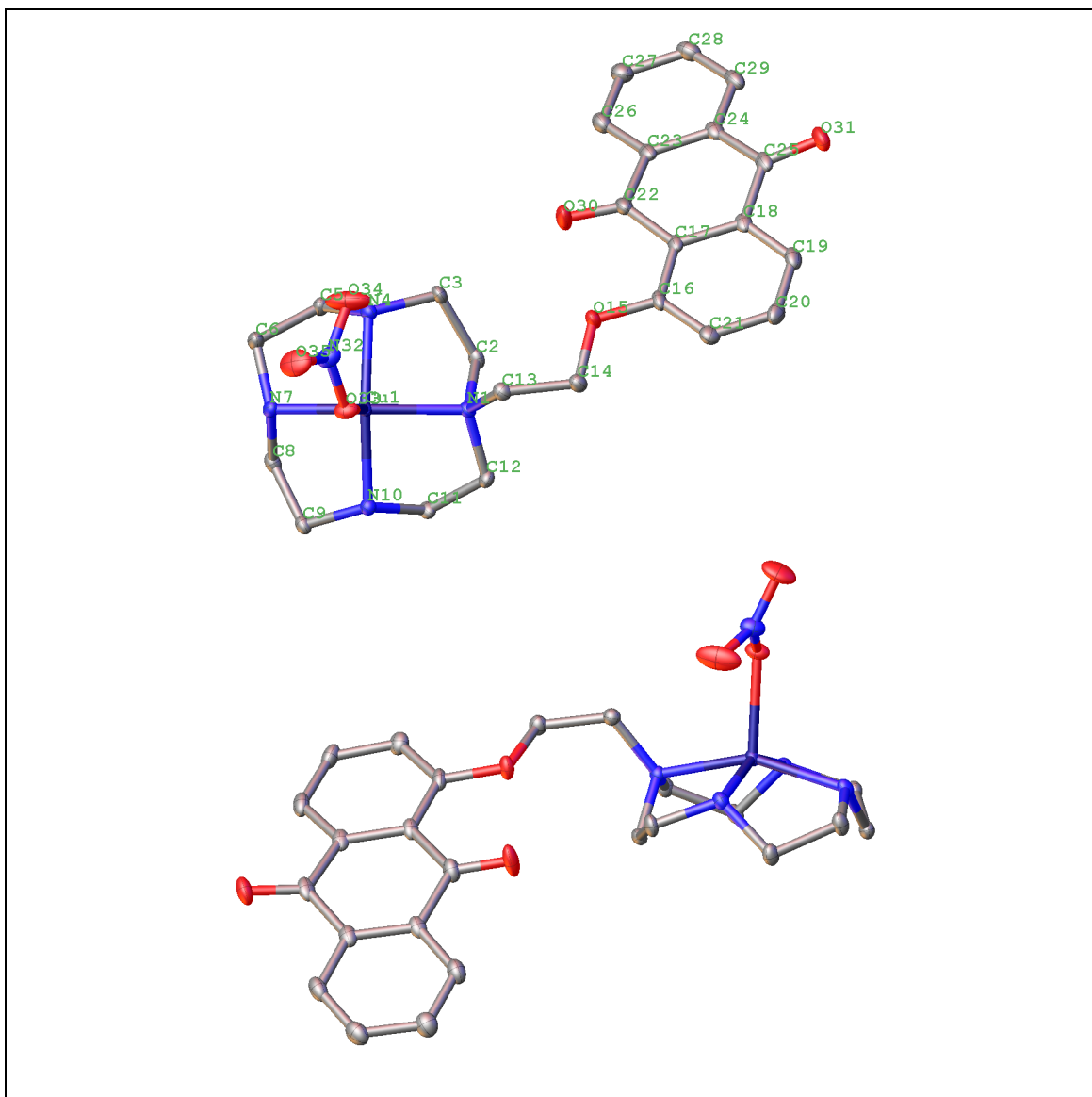


Abbildung 86: Auf- und Seitenansicht der Molekülstrukturen von Komplex **K25**. Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen, kristallisiertes Lösungsmittel und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

Der Komplex **K25** ist analog zum Komplex **K24** positiv geladen und weist quadratisch-pyramidale Koordinationsumgebung auf, wobei ein Nitratoligand die Pyramidenspitze bildet. Erneut ist die Kupfer(II)cyclen-Funktion isostrukturell zum Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1**. Das Kupferatom befindet sich 0.495 \AA über der Heteroatomebene. Über eine Ethoxybrücke schließt sich die Anthrachinongruppe an den Cyclenkomplex an. Der Torsionswinkel beträgt circa 76° . Während die Cyclenbasis von Komplex **K25** gegenüber dem Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** nicht verzerrt erscheint, ist die Anthrachinongruppe gegenüber 1-Aminoanthrachinon stark verzerrt (die Molekülstruktur von 1-Hydroxyanthrachinon ist nicht bekannt). So weichen die einzelnen Kohlenstoffatome von **K25** um -0.146 bis 0.193 \AA (durchschnittlich 0.105 \AA) von der Aromatenebene ab. Die Anthrachinongruppe ist somit nicht vollständig planar. 1-Aminoanthrachinon hingegen ist vollständig planar, die

Nichtwasserstoffatome weisen eine mittlere Abweichung von 0.007 Å von der Ringebene auf.^[122]

Tabelle 26: Ausgesuchte Bindungslängen [Å] und –winkel [°] von Komplex **K25**.

	Bindungslänge		Winkel
Cu(1)-N(1)	2.0506(19)	O(33)-Cu(1)-N(1)	105.09(7)
Cu(1)-N(4)	2.0102(19)	O(33)-Cu(1)-N(4)	106.35(7)
Cu(1)-N(7)	2.0195(19)	O(33)-Cu(1)-N(7)	101.78(7)
Cu(1)-N(10)	2.0067(18)	O(33)-Cu(1)-N(10)	103.49(7)
Cu(1)-O(33)	2.1601(16)	N(1)-Cu(1)-N(4)	87.01(8)
C(2)-C(3)	1.517(3)	N(4)-Cu(1)-N(7)	86.29(8)
O(33)-N(32)	1.276(3)	N(7)-Cu(1)-N(10)	86.41(8)
N(1)-C(13)	1.486(3)	N(10)-Cu(1)-N(1)	86.55(7)
C(13)-C(14)	1.519(3)	N(1)-Cu(1)-N(7)	153.11(8)
C(14)-O(15)	1.446(3)	N(4)-Cu(1)-N(10)	150.13(8)
O(15)-C(16)	1.366(3)	N(1)-C(13)-C(14)	117.69(19)
C(16)-C(21)	1.394(3)	C(13)-C(14)-O(15)	108.37(19)
C(17)-C(22)	1.488(3)	O(15)-C(16)-C(17)	118.0(2)
C(22)-O(30)	1.218(3)	N(1):C(13):C(14):O(15)	76.419
N(1):N(4):N(7):N(10)-Cu(1)	0.495	C(17):C(22):C(23):C(24)	-8.849

Der Kryptand **K27** besteht aus zweifach positiv geladenen Kationen mit quadratisch-pyramidaler Koordinationsumgebung und zwei nicht koordinierenden Nitratationen. Das Kupferion ist analog zum Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** quadratisch-pyramidal koordiniert. Dabei zeigt die Koordinationsumgebung des Kupferions eine starke Verzerrung. Die Spitze der quadratischen Pyramide wird nicht, wie beim Komplex **K1**, von einem Nitratation, sondern von einem der sekundären Aminstickstoffatome des Linkers besetzt (Abbildung 87). Die Anthrachinonfunktion ist in 1,8-Position mit zwei Aminoethylenbrücken an den N1 und N7 Atomen des Cyclenrings verankert. Auch sie ist stark verzerrt. Die Nichtwasserstoffatome zeigen Abweichungen zwischen -0.264 bis 0.380 Å (durchschnittlich 0.187 Å) von der mittleren Aromatenebene auf. Innerhalb der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Anthrachinon-substituierten Komplexe weist die Anthrachinongruppe des Komplexes **K27** die größte Verzerrung auf.

Tabelle 27: Ausgesuchte Bindungslängen [Å] und Winkel [°] von Komplex **K27**.

	Bindungslänge		Winkel
Cu(1)-N(1)	2.0658(3)	N(15)-Cu(1)-N(1)	81.399(3)
Cu(1)-N(4)	2.0020(2)	N(15)-Cu(1)-N(4)	107.596(4)
Cu(1)-N(7)	2.0654(2)	N(15)-Cu(1)-N(7)	123.822(4)
Cu(1)-N(10)	2.0205(2)	N(15)-Cu(1)-N(10)	103.348(3)
Cu(1)-N(15)	2.3205(3)	N(1)-Cu(1)-N(4)	85.564(5)
C(2)-C(3)	1.51445(16)	N(4)-Cu(1)-N(7)	87.085(4)

N(1)-C(13)	1.4767(2)	N(7)-Cu(1)-N(10)	86.272(4)
N(7)-C(16)	1.49108(16)	N(10)-Cu(1)-N(1)	86.636(3)
C(13)-C(14)	1.52954(16)	N(1)-Cu(1)-N(7)	154.760(4)
C(16)-C(17)	1.52530(17)	N(4)-Cu(1)-N(10)	146.489(4)
C(14)-N(15)	1.4816(2)	N(1)-C(13)-C(14)	110.743(4)
C(17)-N(18)	1.45855(17)	N(7)-C(16)-C(17)	117.997(8)
N(15)-C(19)	1.41017(19)	C(13)-C(14)-N(15)	112.299(6)
N(18)-C(32)	1.36392(17)	C(16)-C(17)-C(18)	110.349(8)
C(19)-C(20)	1.40675(19)	Cu(1)-N(15)-C(19)	114.223(6)
C(24)-C(28)	1.4899(2)	N(1):C(13):C(14):N(15)	-50.575
C(28)-O(33)	1.23515(19)	N(7):C(16):C(17):N(18)	169.493
N(1):N(4):N(7):N(10)-Cu(1)	0.516	C(25):C(26):C(27):C(28)	14.505

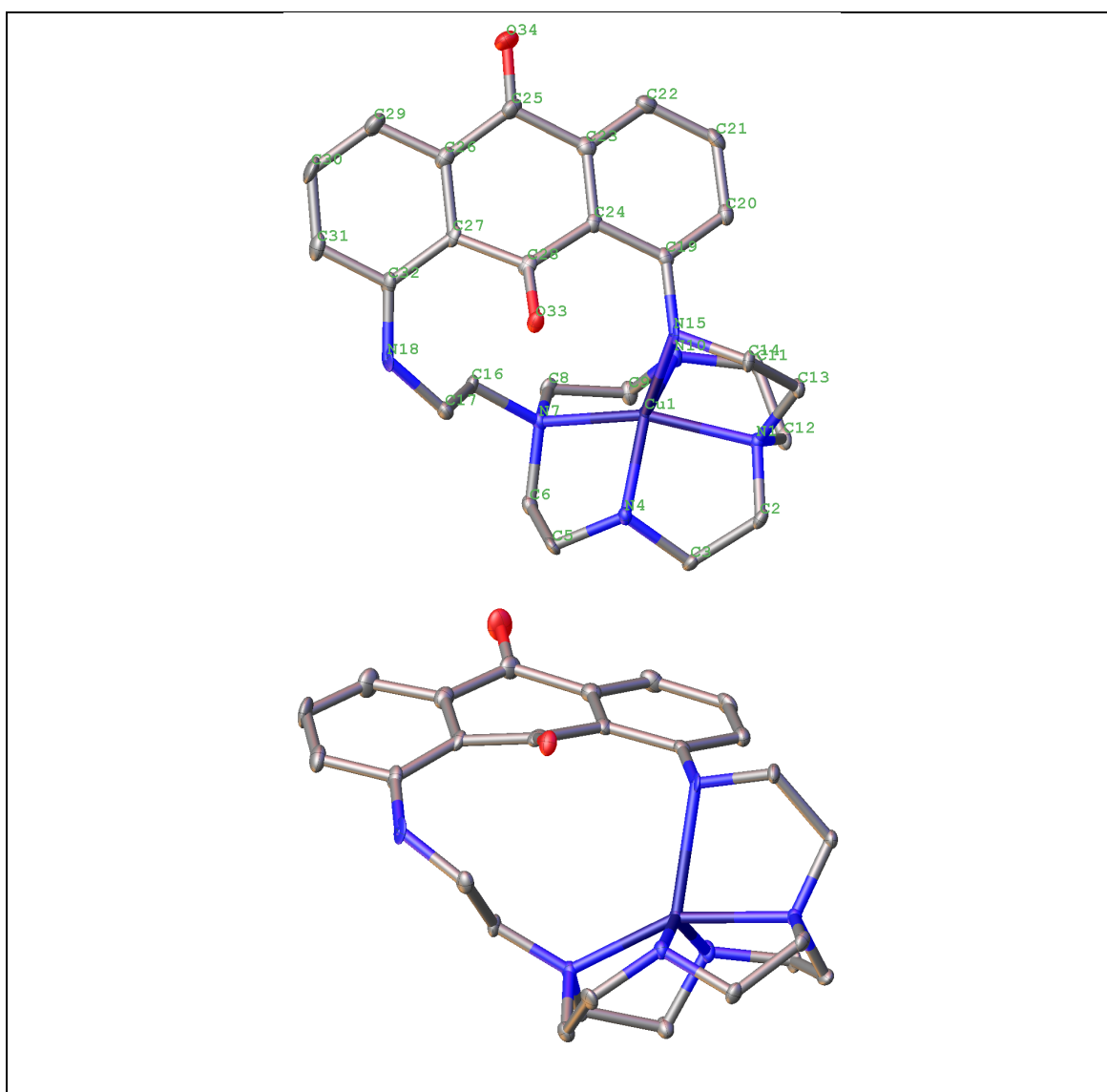


Abbildung 87: Auf- und Seitenansicht der Molekülstruktur von Komplex **K27**. Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.

3.5.3 Evaluation der DNA-Bindung

Um festzustellen, ob die Komplexe an DNA über Interkalation, Furchenbindung oder über elektrostatische Wechselwirkung binden, wurde geprüft, welchen Einfluss die Komplexe **K23** bis **K28** auf die CD-Spektren und die Schmelztemperatur von CT-DNA ausüben. Außerdem wurde die Fähigkeit der Komplexe untersucht, interkaliertes Ethidiumbromid aus der DNA zu verdrängen.

3.5.3.1 CD-Spektroskopie

Bereits die Zugabe von geringen Mengen (10 μM) der Komplexe **K23** bis **K28** zu einer Lösung von CT-DNA führt zu einer starken Veränderung der CD-Spektren (Abbildung 88). Eine solche starke Änderung konnte bei den Komplexen ohne Linker (**K13** bis **K17**; vgl. Kapitel 3.3.3.1) und den methylenverbrückten Komplexen (**K18** bis **K23**; vgl. Kapitel 3.4.3.1) kaum oder erst bei Zugabe hoher Komplexkonzentrationen (50 μM) erreicht werden. Eine elektrostatische Wechselwirkung der CT-DNA mit den Komplexen **K23** bis **K28** kann aufgrund der starken Änderungen in den CD-Spektren ausgeschlossen werden, da elektrostatische Wechselwirkungen kaum eine Veränderung der CD-Spektren hervorrufen (vgl. Wechselwirkung des Komplexes **K1** mit CT-DNA).

Die Zugabe der Komplexe zur CT-DNA-Lösung führt für alle untersuchten Komplexe zu einer Zunahme der negativen Absorption bei 245 nm. Dieser Intensitätsänderung kann mit einer Veränderung der DNA-Helix erklärt werden. Während diese Veränderung für die Komplexe **K24** und **K25** weniger stark ausgeprägt ist, führen die Komplexe **K26**, **K27** und **K28**, also jene Komplexe mit Stickstoffatomen in der Linkergruppe, zu einer sehr starken Abnahme der Bandenintensität. Für die Komplexe **K27** und **K28** wird die Struktur der B-DNA so stark gestört, dass das charakteristische CD-Spektrum nicht mehr zu erkennen ist.

Alle Komplexe mit Ausnahme des Komplexes **K24** bewirken bei der Zugabe zur CT-DNA-Lösung eine Abnahme der Absorption bei 275 nm, die der Stapelung der DNA-Basen zugeordnet werden kann. Die regioisomeren, Amid-verbrückten Komplexe **K23** und **K24** scheinen demnach auf unterschiedliche Weise mit der DNA wechselzuwirken.

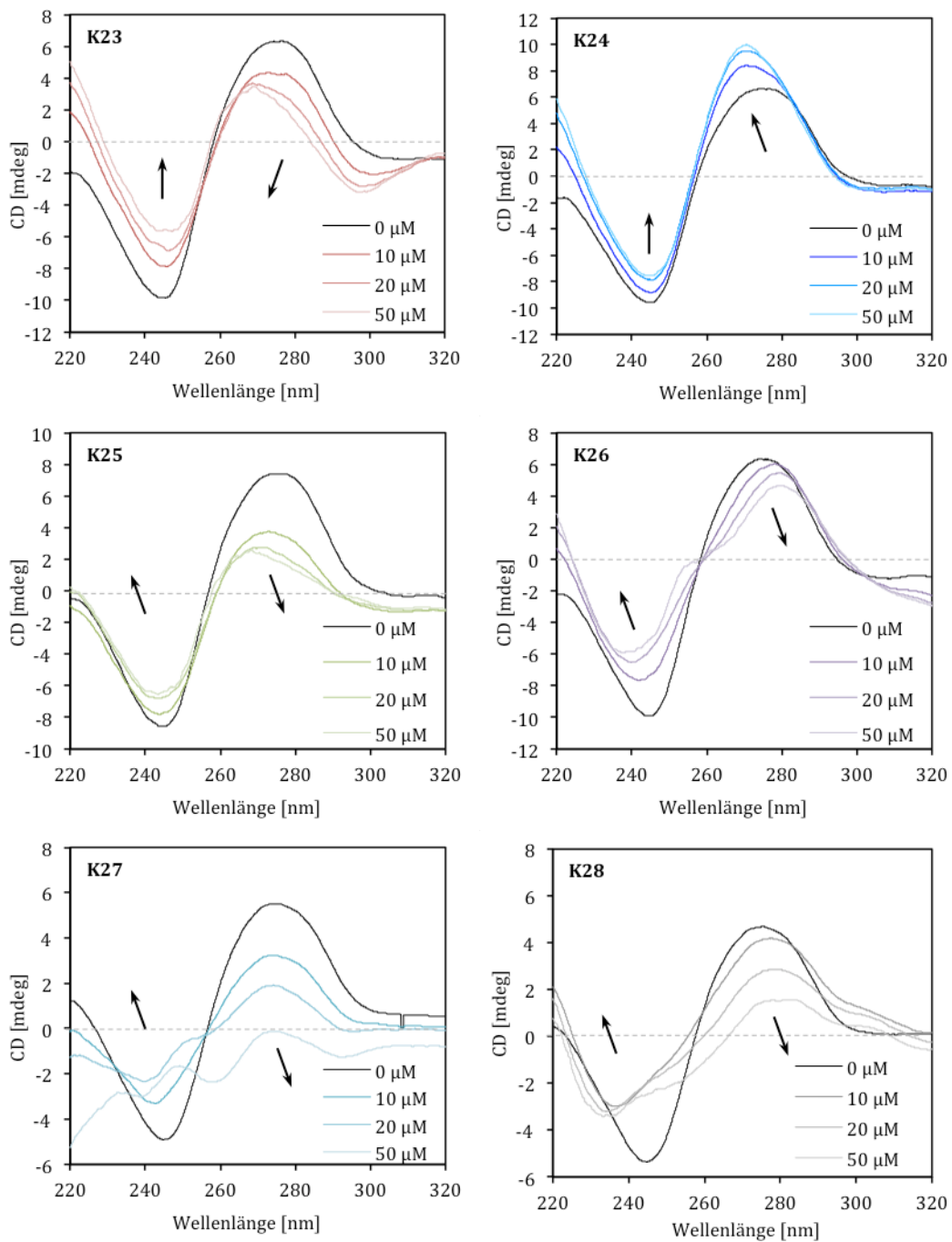


Abbildung 88: CD-Spektren von CT-DNA (100 µM) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) mit unterschiedlichen Konzentrationen der Komplexe **K23** bis **K28**.

3.5.3.2 Ethidiumbromidverdrängung

Die über das Ethidiumbromidverdrängungsassay berechneten DNA-Bindungskonstanten K_{SV} und K_{APP} sind in Tabelle 28 zusammengetragen. Einen Überblick über die durchgeführten Fluoreszenztitrations liefert die Abbildung 89.

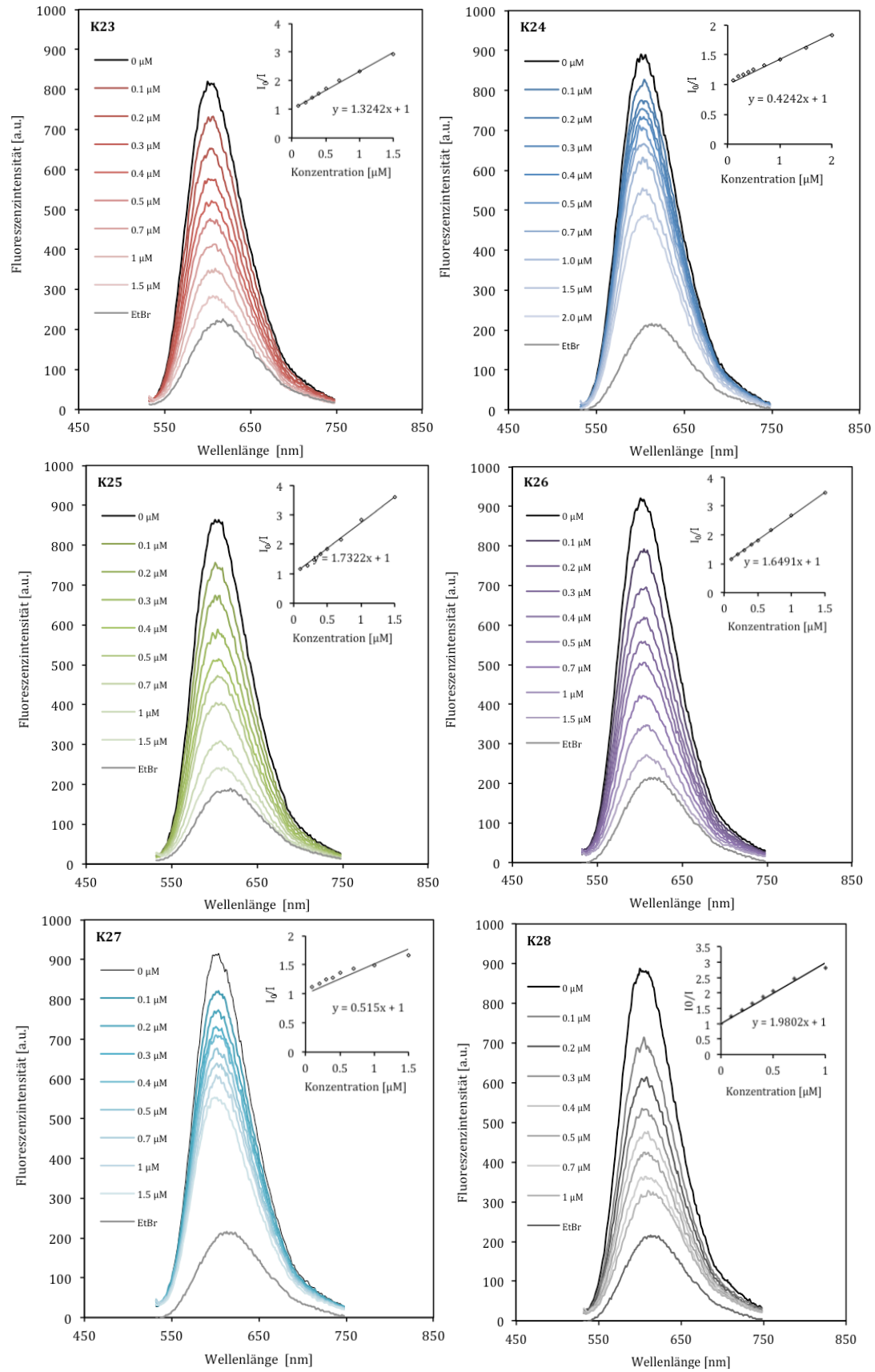


Abbildung 89: Ethidiumbromidverdrängung des EB-CT-DNA-Systems (20 μM CT-DNA; 5 μM EB) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) unter Zugabe der Komplexe **K23** bis **K28**.

Tabelle 28: Auflistung der STERN-VOLMER-Konstante K_{SV} und der Bindungskonstante K_{APP} der Komplexe **K23** bis **K28** bezüglich CT-DNA.

	$K_{SV} [M^{-1}]$	$K_{APP} [M^{-1}]$
K23	1.32×10^6	6.62×10^7
K24	4.24×10^5	2.12×10^7
K25	1.73×10^6	8.66×10^7
K26	1.65×10^6	8.25×10^7
K27	5.15×10^5	2.58×10^7
K28	1.98×10^6	9.90×10^7
Et-Br	-	1.00×10^7

Die Komplexe **K23** bis **K28** zeigen eine gegenüber Ethidiumbromid erhöhte DNA-Affinität. Es ergibt sich die nachkommende Reihenfolge für die Stärke der DNA-Bindung: **K28** > **K25** > **K26** > **K23** > **K27** > **K24**.

Der dinukleare Komplex **K28** kann somit interkaliertes Ethidiumbromid am effektivsten aus der DNA verdrängen. Der ethoxyverbrückte Komplex **K25** und der aminoethylenverbrückte Komplex **K26** zeigen ähnlich starke DNA-Affinität. Alle drei Komplexe können demnach effektiv an die DNA binden und stellen unter den in dieser Arbeit untersuchten Komplexen die stärksten DNA-Binder dar.

Die aufgrund der Amidfunktion starreren Komplexe **K23** und **K24** binden die DNA hingegen weniger stark. Interessanterweise ist der in 2-Position substituierte Komplex **K24** ein schlechterer DNA-Binder als der in 1-Position verbrückte Komplex **K23**. Der Komplex **K23** bindet die DNA ebenso schlecht wie der stark sterisch gehinderte Kryptand **K27**.

Es bleibt festzustellen, dass die Flexibilität der Linkergruppe einen starken Einfluss auf die Fähigkeit der Komplexe hat, interkaliertes Ethidiumbromid aus der DNA zu verdrängen. Die weniger flexiblen Komplexe **K23**, **K27** und **K24** sind daher schlechtere DNA-Binder.

3.5.3.3 Thermische DNA-Denaturierung

In Abbildung 90 sind die normierten Schmelzkurven von CT-DNA unter Anwesenheit der Komplexe **K23** bis **K28** dargestellt. In Tabelle 29 sind Schmelztemperaturen T_m und die Änderungen der Schmelztemperaturen ΔT_m aufgelistet.

Der mittlere Schmelzpunkt von CT-DNA T_m wird durch die Zugabe eines jeden der Komplexe **K23** bis **K28** erhöht. Alle Komplexe können somit an die CT-DNA binden und tragen zu ihrer Stabilisierung bei. Aus dem Vergleich der ΔT_m -Werte ergibt sich folgende Reihenfolge für die Stabilisierung der DNA: **K28** = **K25** > **K23** > **K26** > **K27** > **K24**. In guter Übereinstimmung mit den oben diskutierten Ergebnissen ist erneut **K28** der stärkste DNA-Binder, während **K24** die DNA am schlechtesten bindet.

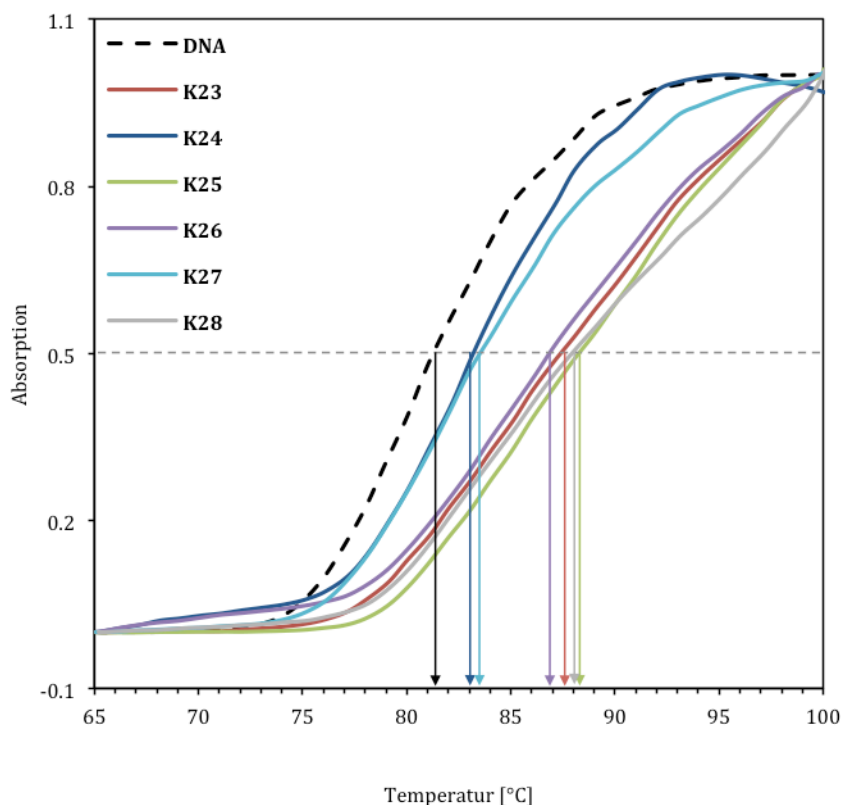


Abbildung 90: CT-DNA-Schmelzkurven (100 µM) bei 260 nm in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) unter Zugabe der Komplexe **K23** bis **K28**.

Tabelle 29: Unterschiede in der Schmelztemperatur von CT-DNA bei Wechselwirkung mit den Komplexen **K23** bis **K28**.

	T_m [°C]	ΔT_m
DNA	81.5	0
K23	87.5	6
K24	83	1.5
K25	88.5	7
K26	87	5.5
K27	83.5	2
K28	88	7

3.5.3.4 Evaluation der DNA-Bindung: Fazit

Für die Komplexe **K25**, **K26** und **K23** kann ohne Zweifel eine interkalative Wechselwirkung mit DNA angenommen werden. Die drei Komplexe bewirken einen bedeutenden Anstieg der Schmelztemperatur T_m von CT-DNA und führen zusätzlich zu einer starken Änderung des CD-Spektrums. Außerdem können sie interkaliertes Ethidiumbromid aus der DNA verdrängen.

Auch für den in 2-Position amidverbrückten Komplex **K24** erscheint die interkalative DNA-Bindung wahrscheinlicher als die Furchenbindung. **K24** bindet die DNA ebenso stark wie der methylenverbrückte Komplex **K18**, allerdings schwächer als seine regioisomere Verbindung

K23. Während die Flexibilität des Linkers aufgrund der starren Amidbindung für die Komplexe **K23** und **K24** in gleicher Form eingeschränkt ist, ist die Diskrepanz zwischen den Komplexen wahrscheinlich eher durch die sterische Hinderung des in 2-Position substituierten Komplexes **K24** begründet.

Die Kryptand **K27** und der Komplex **K28** weisen beide zwei Substituenten an der Anthrachinongruppe auf und sollten aufgrund von sterischer Hinderung schlechtere DNA-Binder als die Komplexe **K25** und **K26** sein. Während sich der Komplex **K27** den Erwartungen gemäß verhält und seine DNA-Affinität geringer ist, weist der Komplex **K28** die höchste DNA-Affinität im Vergleich zu den anderen in dieser Arbeit untersuchten Komplexen auf. Möglicherweise wird die durch die weitere Cyclengruppe ausgelöste sterische Hinderung durch die positive Ladung eines weiteren Kupferatoms getilgt. Eine bessere Erklärung ist die durch Furchenbindung und elektrostatische Wechselwirkung ausgelöste DNA-Kondensation. In einem solchen Fall würde die DNA so dicht gepackt werden, dass kein Platz für die Interkalation von Ethidiumbromid zwischen die DNA-Basen verbleibt, sodass Ethidiumbromid wieder in die Lösung gedrängt wird und somit die Fluoreszenz abnimmt. Diese Erklärung ist im Einklang mit der starken Veränderung des CD-Spektrums von CT-DNA, welches die charakteristischen Absorptionen von B-DNA nicht mehr erkennen lässt.

In der Tat konnten ähnliche Effekte von GUO *et al.* für einen tetranuklearen Nickel(II)-Komplex beobachtet werden. Analog zum Komplex **K28** führte dieser beim Ethidiumbromidverdrängungsassay zu einer starken Abnahme der Fluoreszenz. Auch bei der Untersuchung von CT-DNA mittels CD-Spektroskopie kam es zu einer starken Abnahme der Bandenintensitäten. GUO *et al.* schließen hieraus, dass der Komplex zur DNA-Kondensation führt und schlägt eine Anwendung in der Gentherapie vor, bei der Kondensierungszentren die DNA vor dem Angriff von Nukleasen schützen sollen.^[159]

3.5.4 Gel-Retardation

Nachdem bereits bei der Evaluation der DNA-Bindung (Kapitel 3.5.3) der Verdacht aufkam, dass der dinukleare Komplex **K28** DNA-Kondensation auslöst, wurde über das Gel-Retardations-Assay untersucht, welche Konzentration für eine vollständige DNA-Kondensation benötigt wird. pBR322-Plasmid-DNA wurde mit steigenden Komplexkonzentrationen für 30 Minuten inkubiert und die Inkubationslösung anschließend über Agarose-Gelelektrophorese analysiert (Abbildung 91).

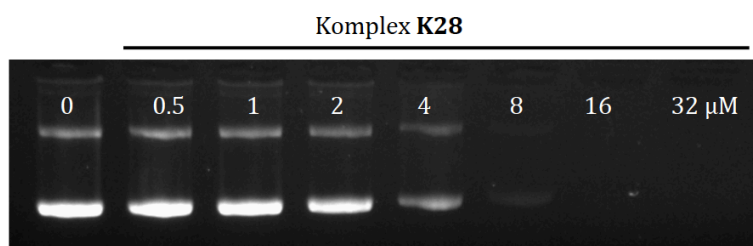


Abbildung 91: Retardationsgel von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) nach 30-minütiger Inkubation mit dem Komplex **K28** in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C.

Wie aus Abbildung 91 ersichtlich ist, führen schon Konzentrationen oberhalb von 4 μM zur DNA-Kondensation. Die Interkalation von Ethidiumbromid wird bei Konzentrationen oberhalb von 4 μM verhindert, sodass die DNA nicht über die Ethidiumbromid-Fluoreszenz sichtbar gemacht werden kann.

Da für die DNA-Spaltversuche Komplexkonzentrationen von mindestens 20 μM benötigt werden, ist eine Untersuchung der Spaltaktivität von **K28** nicht möglich. Zudem sind DNA-Kondensate aufgrund ihrer dichten Packung weitgehend vor Nukleasen geschützt, sodass die DNA-Spaltaktivität des Komplexes **K28** sicherlich fraglich ist.^[160]

3.5.5 DNA-Spaltversuche

Die DNA-Spaltaktivität der übrigen Komplexe **K23** bis **K27** wurde unter simulierten physiologischen Bedingungen (pH 7.4, 37 °C) an pBR322-Plasmid-DNA getestet.

Zunächst wurde die oxidative DNA-Spaltaktivität unter Zusatz des Reduktionsmittels L-Ascorbinsäure im Vergleich mit dem Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** bestimmt (Abbildung 92). Keiner der Komplexe führt zur Bildung der linearen Form III-DNA. Nach zweistündiger Inkubation des Kryptanden **K27** mit DNA konnten 70 % Form II-DNA detektiert werden. Der in 1-Position amidverbrückte Komplex **K23** spaltet das Plasmid zu 40 % in die Form II-DNA und ist damit weniger aktiv als Komplex **K27**. Während der in 2-Position amidverbrückte Komplex **K24** die DNA zu 35 % in Form II spalten kann, katalysieren der ethoxyverbrückte

Komplex **K25** und der aminoethylenverbrückte Komplex **K26** ebenso wie der Kupfer(II)cyclen-Komplex **K1** die DNA-Spaltung nicht.

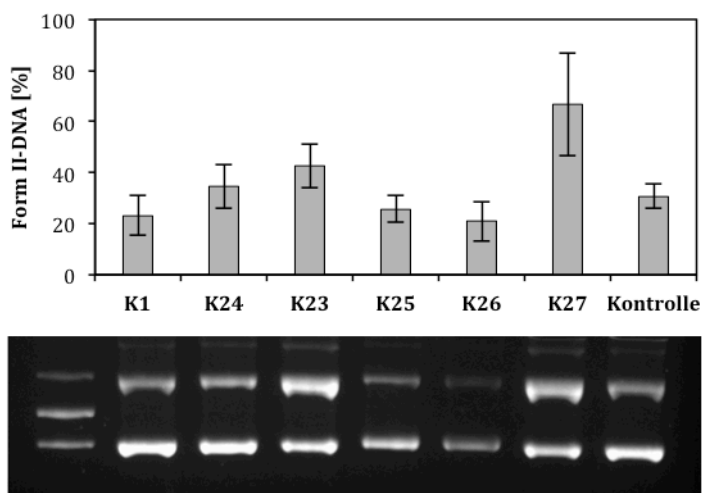


Abbildung 92: Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K23** bis **K27** (0.04 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.

Interessanterweise weist der Komplex mit der geringsten DNA-Affinität, der Kryptand **K27**, im Vergleich die beste DNA-Spaltaktivität auf. Um dem Spaltmechanismus der aktiven Spalter weiter auf den Grund zu gehen, wurden die Spaltversuche der Komplexe **K23**, **K24** und **K27** unter Zusatz von Radikalfängern wiederholt (vgl. Abbildung 93 und Tabelle 30).

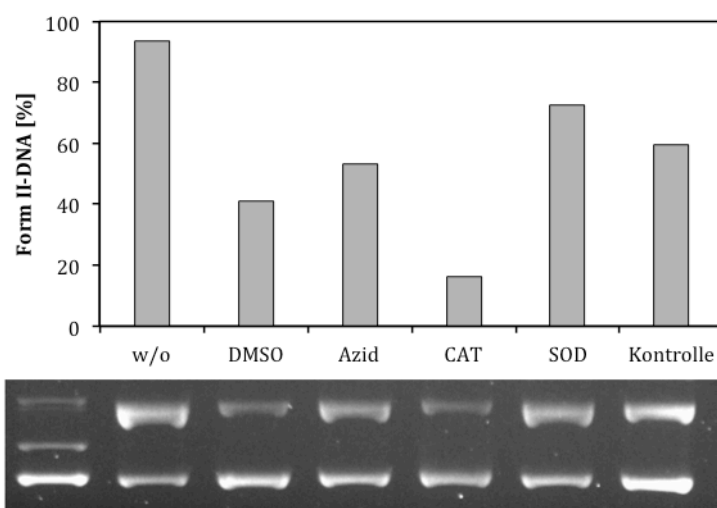


Abbildung 93: Quencher gel für die Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch den Komplex **K27** (0.040 mM). Die Inkubation wurde in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4), PBS (1.25X) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für zwei Stunden und unter Zusatz von ROS-Fängern durchgeführt.

Tabelle 30: Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe **K23**, **K24** und **K27**.

		K23	K24	K27
DMSO	$\cdot\text{OH}$	---	---	--
NaN_3	$^1\text{O}_2$	-	-	-
CAT	O_2^{2-}	---	---	---
SOD	$\text{O}_2^{\cdot-}$	k. I.	k.I	k. I.
k. I.	keine Inhibierung	-	geringe Inhibierung	
+	erhöhte Spaltung	--	mittlere Inhibierung	
		---	starke Inhibierung	

In Abbildung 93 ist beispielhaft das Quenchgel für den Komplex **K27** dargestellt, Tabelle 30 zeigt die Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe **K23**, **K24** und **K27**: Analog zu den Ergebnissen aus der Untersuchung des Heteroatomaustauschs und der Untersuchung der Anthrachinonkomplexe ohne Linkergruppe wird die DNA-Spaltung aller Komplexe erheblich durch den Zusatz von DMSO und Katalase inhibiert. Außerdem zeigt sich eine schwache Inhibierung durch den Zusatz von Natriumazid. Bei der DNA-Spaltung handelt es sich demnach um eine oxidative Spaltung, die durch Hydroxylradikale und Peroxospezies sowie zum Teil durch Singulett-Sauerstoff als ROS bewirkt wird.

Die Untersuchung der Spaltaktivität ohne den Zusatz eines Reduktionsmittels ist in Abbildung 94 dargestellt.

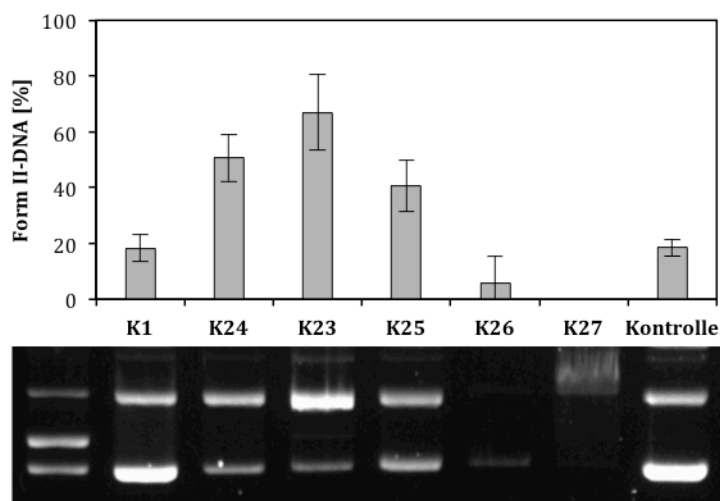


Abbildung 94: Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g} \mu\text{L}^{-1}$) durch die Komplexe **K1** und **K23** bis **K27** (0.2 mM) in Tris-HCl Puffer (50 mM , $\text{pH } 7.4$) bei $37 \text{ }^\circ\text{C}$ für 24 h ohne Zusatz externer Reduktionsmittel. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.

Die Komplexe **K23**, **K24** und **K25** können die DNA-Spaltung auch ohne den Zusatz externer Reduktionsmittel bei 24-stündiger Inkubation und $200 \mu\text{M}$ Komplexkonzentration katalysieren. Es ist jedoch fraglich, ob diese Spaltung dem hydrolytischen Spaltmechanismus

zuzuordnen ist. Wahrscheinlicher fungiert der Ligand selbst als Reduktionsmittel für das Kupferzentrum (vgl. auch Kapitel 3.3.4).

Die Komplexe **K26** und **K27** führen bei dieser erhöhten Konzentration zum Verschwinden (**K26**) bzw. zum Verschmieren (**K27**) der DNA-Bande auf dem Agarosegel. Interessanterweise handelt es sich bei den Komplexen **K26** und **K27** analog zum dinuklearen Komplex **K28** um Komplexe, die Aminogruppen in ihren Linkergruppen tragen. In der Literatur sind viele polyaminische DNA-Kondensatoren bekannt: Nur zwei Beispiele sind die natürlich vorkommenden DNA-Kondensatoren Spermin (*N,N'*-Bis(3-aminopropyl)-1,4-butandiamin) und Spermidin (*N*-(3-Aminopropyl)butan-1,4-diamin).^[160] Möglicherweise können die Komplexe **K26** und **K27** bei erhöhter Konzentration aufgrund ihrer Ladung und dem aminischen Charakter ihres Linkers analog zum Komplex **K28** DNA-Kondensation auslösen.

Für die Untersuchung der photolytischen DNA-Spaltung wurden die Komplexe **K1** und **K23** bis **K27** (0.02 mM) für 30 Minuten (256 nm, 6 W) bzw. 60 Minuten (365 nm, 6 W) in Britton-Robinson-Puffer (10 mM, pH 7.4) bei Raumtemperatur bestrahlt. Hierbei wurde bei den Wellenlängen 256 nm (Abbildung 95) und 365 nm (Abbildung 96) gearbeitet.

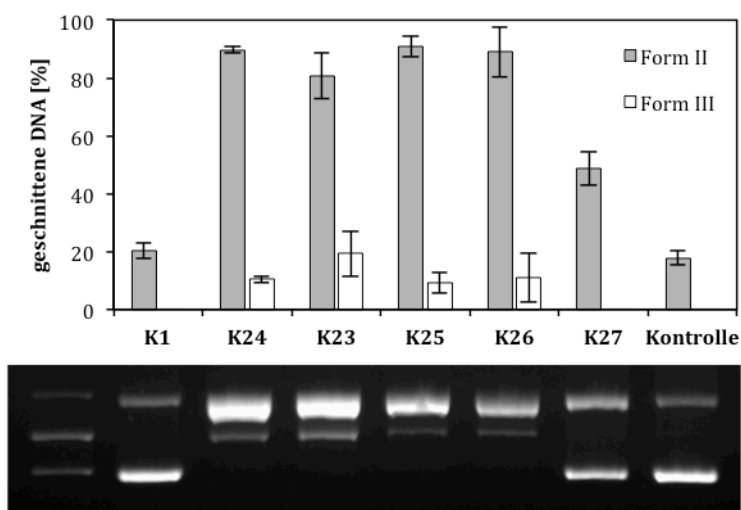


Abbildung 95: Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K23** bis **K27** (0.02 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) unter Bestrahlung (256 nm, 6 W) in Britton-Robinson-Puffer (10 mM, pH 7.4) bei Raumtemperatur für 30 min. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.

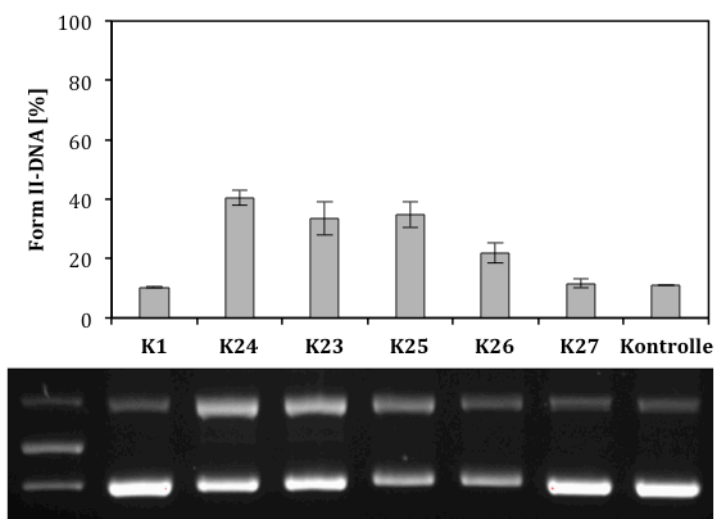


Abbildung 96: Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K23** bis **K27** (0.02 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) unter Bestrahlung (365 nm, 6 W) in Britton-Robinson-Puffer (10 mM, pH 7.4) bei Raumtemperatur für 60 min. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.

Es kann sowohl bei Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge von 256 nm als auch mit 365 nm Spaltaktivität nachgewiesen werden. Die DNA wird photolytisch bei Bestrahlung mit 256 nm komplett durch die Komplexe **K23** bis **K26** in Form II gespalten. Zusätzlich treten 10 bis 20 % Form III-DNA auf. **K27** vermag das *supercoiled* Plasmid zu 50 % in die Form II zu überführen.

Anders als die Komplexe **K13** bis **K17**, die unter Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 365 nm keine Spaltung katalysieren, können die Komplexe **K23**, **K24** und **K25** bei Bestrahlung mit 365 nm etwa 40 % Form II-DNA generieren. Der aminverbrückte Komplex **K26** vermag es nur noch 25 % Form II-DNA zu generieren, während der Kryptand **K27** unter Bestrahlung mit 365 nm keine DNA-Spaltung katalysiert.

Da die Anthrachinongruppe die photolytische Spaltung katalysiert, müssen für die Interpretation der Spaltung die elektronischen Eigenschaften der Komplexe betrachtet werden. Hierbei ist die Betrachtung des $n-\pi^*$ -Übergangs für die Spaltung interessant. Die Komplexe **K23**, **K24** und **K25** zeigen eine maximale Absorption λ_{max} um 385 nm. Die Absorption des $n-\pi^*$ -Übergangs des Komplexes **K26** ist weiter rotverschoben, er absorbiert bei 513 nm. Dieser Effekt wird durch die Substitution des Anthrachinons mit einem weiteren Aminlinker verstärkt: Der Komplex **K27** absorbiert bei 686 nm (vgl. Tabelle 24). Die Absorption λ_{max} des $n-\pi^*$ -Übergangs der Komplexe **K23** bis **K25** liegt nah an der Emission der Strahlungsquelle, sodass die Komplexe effektiv angeregt werden können. **K26** und **K27** absorbieren jenseits der Wellenlänge der bereitgestellten Strahlung und können demnach weniger effektiv angeregt werden.

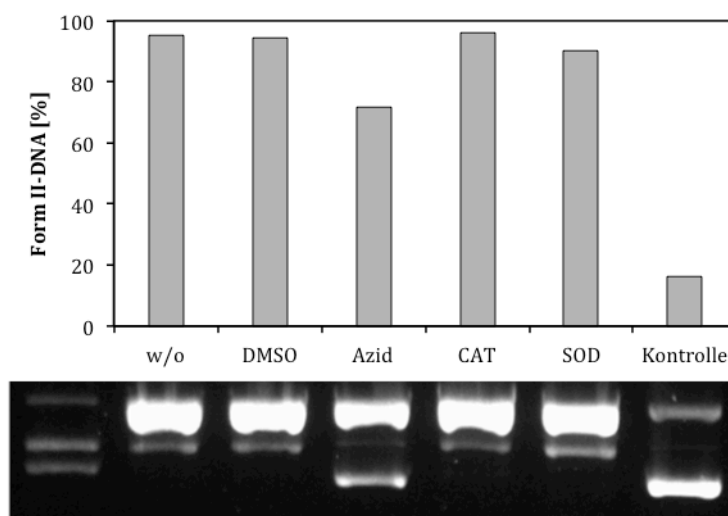


Abbildung 97: Quenichel für die Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch den Komplex **K23** (0.020 mM). Die Inkubation wurde in Britton-Robinson-Puffer (10 mM , $\text{pH } 7.4$) und PBS (1.25X) bei Raumtemperatur unter 30-minütiger Bestrahlung (256 nm , 6 W) und unter Zusatz von ROS-Fängern durchgeführt.

Um den Mechanismus der photolytischen DNA-Spaltung zu evaluieren, wurden die Spaltversuche bei 256 nm unter Zusatz von Radikalfängern wiederholt (Abbildung 97 zeigt beispielhaft das Quenichel für **K23**). Bei allen Komplexen zeigt sich eine erhebliche Verringerung der DNA-Spaltaktivität unter Zusatz von Natriumazid. Die Komplexe **K23** bis **K27** weisen demnach einen von den Komplexen **K13** bis **K17** abweichenden Spaltmechanismus auf. Während die Komplexe **K13** bis **K17** in angeregter Form selbst Wasserstoffatome von den Riboseeinheiten abstrahieren, generieren die Komplexe **K23** bis **K27** Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2$, der die DNA-Spaltung verursacht.

3.5.6 Zytotoxizität

Um zu untersuchen, ob eine Korrelation zwischen DNA-Spaltaktivität und Zytotoxizität besteht, wurde erneut das MTT-Assay an A549-Zellen durchgeführt. Abbildung 98 zeigt die Auswirkung steigender Konzentrationen der Komplexe **K25** bis **K28** auf die Viabilität von A549-Zellen. Es zeigt sich, dass nur der Kryptand **K27** Einfluss auf die Zellviabilität nimmt, die Komplexe **K25**, **K26** und **K28** sind in dem hier untersuchten Konzentrationsbereich nicht zytotoxisch. Dieses Ergebnis lässt sich gut mit den DNA-Spaltversuchen korrelieren: Unter oxidativen Spaltbedingungen zeigte nur der Komplex **K27** erhöhte Spaltaktivität. Die Komplexe **K25** und **K26** konnten die DNA nur unter Bestrahlung spalten. Der Komplex **K28** schützt aufgrund seiner Fähigkeit, DNA zu kondensieren, sogar eher vor DNA-Spaltung. Zudem steht die Zellgängigkeit dieses Komplexes aufgrund seiner hohen Ladung ($+4$) in Frage.

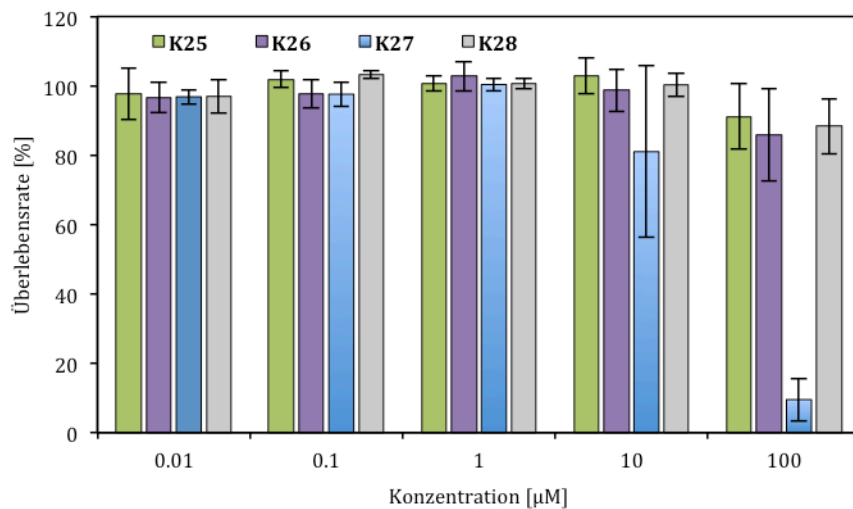


Abbildung 98: Zytotoxische Wirkung der Komplexe **K25** bis **K28** auf A549-Zellen nach 48-stündiger Inkubation.

In Abbildung 99 ist die Auswirkung der amidverbrückten Komplexe **K23** und **K24** auf die Viabilität von A549-Zellen dargestellt. Hierbei wurde zusätzlich die Auswirkung von Bestrahlung getestet.

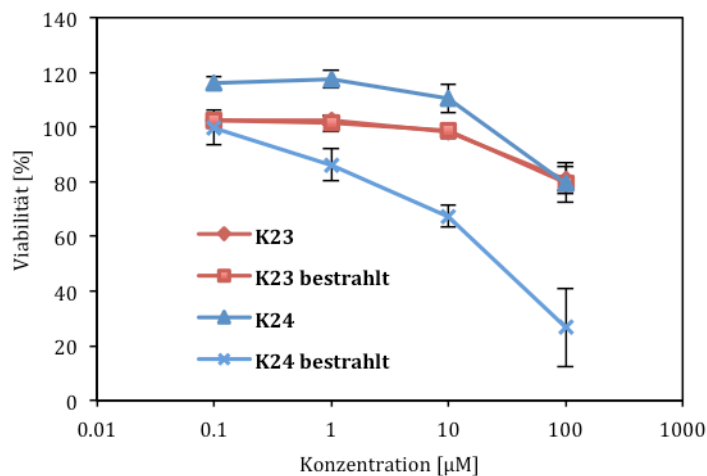


Abbildung 99: Zytotoxische Wirkung der Komplexe **K23** und **K24** auf A549-Zellen nach 48-stündiger Inkubation mit und ohne 30-minütiger Bestrahlung bei 365 nm.^{VI}

Ohne Bestrahlung ist keiner der Komplexe zytotoxisch. Während die Zellen bei Bestrahlung ohne Komplexzugabe und bei Zugabe von Komplex **K23** keine erhöhte Sterblichkeit aufweisen, beweist der Komplex **K24** unter zusätzlicher 30-minütiger Bestrahlung erhöhte Zytotoxizität. Bei 100 µM Komplexkonzentration wird die Zellviabilität von 80 % (ohne Bestrahlung) auf 25 % (unter Bestrahlung) herabgesetzt.

^{VI} Es ist zu beachten, dass die Graphen für die Messwerte des Komplexes **K23** und des bestrahlten Komplexes **K23** übereinander liegen.

Analog zum Komplex **K17** kann eine photosensibilisierende Eigenschaft für den Komplex **K24** attestiert werden. Hierbei wirkt der Komplex **K17** jedoch bereits ab einer Konzentration von 10 μM zytotoxisch, während 100 μM von Komplex **K24** benötigt werden, um die gleiche Wirkung zu erzielen. Die in 1-Position substituierten zu den Komplexen **K17** und **K24** regioisomeren Anthrachinonkomplexe **K13** und **K23** besitzen keine photosensibilisierende Wirkung (vgl. auch Kapitel 3.3.5).

3.6 Fazit

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die zuvor in der Literatur unbekanntenen Anthrachinon-substituierten Cyclenkomplexe **K13** bis **K28** synthetisiert und auf ihre Fähigkeit hin untersucht, DNA zu binden und zu spalten. Hierbei wurde das Ziel verfolgt, die mäßige Spaltaktivität des Kupfer(II)cyclen-Komplexes **K1** durch das Anbringen der DNA-Targetfunktion Anthrachinon zu erhöhen.

Die DNA-Spaltaktivität wurde unter oxidativen Bedingungen unter Zusatz des Reduktionsmittels L-Ascorbinsäure, unter Abwesenheit eines Reduktionsmittels und unter photochemischen Bedingungen evaluiert. Zusätzlich wurde experimentell bestimmt, inwiefern DNA-Affinität und DNA-Spaltaktivität der Komplexe in Zusammenhang mit ihrer zytotoxischen Wirkung auf A549-Zellen stehen.

In der Reihe der Komplexe **K13** bis **K17** konnte der in 2-Position direkt verlinkte Komplex **K17** als DNA-Interkalator ausgemacht werden. Die übrigen Komplexe weisen eine weit kleinere DNA-Affinität auf und binden DNA eher über Furchenbindung.

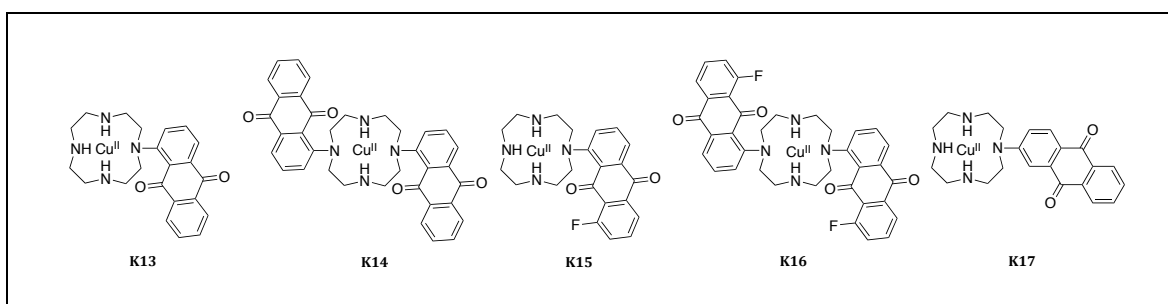


Abbildung 100: Überblick über die Komplexe **K13** bis **K17**.

Durch die Evaluation der oxidativen DNA-Spaltaktivität konnte der fluorierte und zweifach substituierte Komplex **K16** als effektivster DNA-Spalter ausgemacht werden. Die zusätzliche Fluorsubstitution verbessert die DNA-Spaltaktivität von Komplex **K16** gegenüber dem Komplex **K14**, der keine Fluorsubstitution aufweist. Außerdem zeigte sich, dass der in 2-Position substituierte Komplex **K17** ein aktiverer DNA-Spalter als der in 1-Position substituierte Komplex **K13** ist. Für die DNA-Spaltung ohne Zusatz eines Reduktionsmittels

ergab sich die gleiche Abfolge: Auch hier war der Komplex **K16** der aktivste DNA-Spalter. Die Untersuchung des Mechanismus' zeigte, dass die DNA-Spaltung nicht hydrolytischer, sondern oxidativer Natur ist. Aus Ermangelung eines Reduktionsmittels dient vermutlich der Ligand selbst als eben solches und leitet die oxidative Spaltkaskade durch Reduktion des Kupferzentrums ein.

Keiner der Komplexe **K13** bis **K17** weist photolytische Spaltaktivität unter Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 365 nm auf. Unter Bestrahlung mit 256 nm weisen die Komplexe vergleichbare Spaltaktivitäten auf und abstrahieren wahrscheinlich im angeregten Zustand Wasserstoffatome der Riboseeinheit. Der Komplex **K17** kann zusätzlich als Elektronenakzeptor der Guaninbasen fungieren.

Die Ergebnisse der DNA-Spaltung lassen sich gut mit den Ergebnissen aus dem Zytotoxizitäts-Assay in Einklang bringen: Während die Komplexe **K13** und **K15** nicht zytotoxisch sind, weisen die Komplexe **K14** und **K16** die größte zytotoxische Wirkung auf. Der Komplex **K17** weist eine photosensibilisierende Eigenschaft auf: Während er nativ nur geringe Zytotoxizität zeigt, kann er unter Bestrahlung bereits ab 10 μM Konzentration den Zelltod einleiten.

In der Reihe der Komplexe **K18** bis **K22** sollte der Einfluss der Mehrfachsubstitution auf DNA-Affinität und -Spaltaktivität untersucht werden.

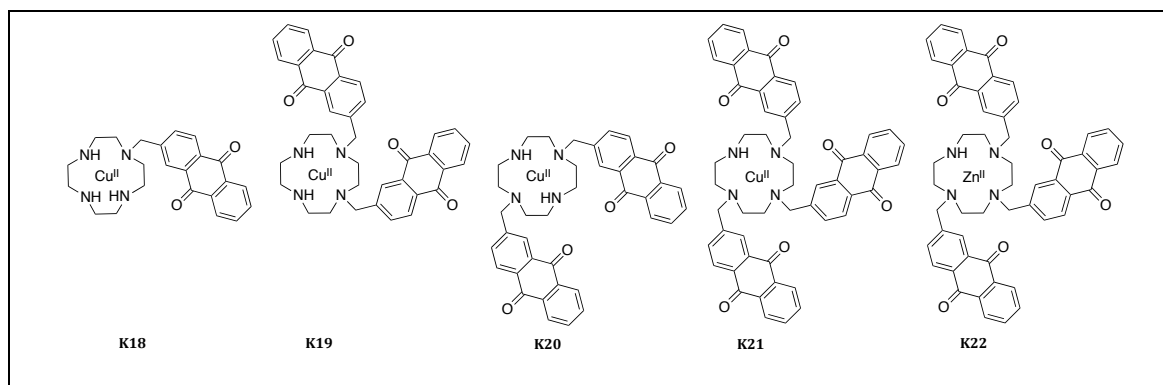


Abbildung 101: Übersicht über die Komplexe **K18** bis **K22**.

Die Theorie, dass die Mehrfachsubstitution aufgrund von erhöhter DNA-Affinität des Komplexes auch zu erhöhter DNA-Spaltaktivität führt, bestätigte sich hierbei nicht. Eine erhöhte DNA-Spaltaktivität konnte nur für den durch KIMURA *et al.*^[108] beschriebenen Komplex **K18** gefunden werden. Die Untersuchung der Wechselwirkung der Komplexe **K18** bis **K21** mit DNA ergab, dass alle Komplexe die DNA mittels Interkalation binden. Tatsächlich weisen die Komplexe **K19** bis **K22** eine gegenüber **K18** erhöhte DNA-Affinität auf. Diese äußert sich in der Fähigkeit der Komplexe, DNA zu aggregieren. Mittels AFM-Messungen konnte die Vernetzung verschiedener DNA-Stränge durch die Komplexe auf molekularer Ebene sichtbar gemacht werden. Die biochemische Evaluation der Komplexe **K18** bis **K22**

ergab, dass der in 1,7-Position *trans*-substituierte Komplex **K20** und der in 1,4,7-Position dreifach substituierte Komplex **K21** effektive Inhibitoren der DNA-Synthese sind. Bereits nanomolare Konzentrationen reichen aus, um die DNA-Synthese zum Erliegen zu bringen. So zeigte sich auch im Zytotoxizitätsassay, dass der Kupferkomplex **K21**, der entsprechende Zinkkomplex **K22** und der Ligand **L21** stark zytotoxisch wirken.

Mit der Reihe der Komplexe **K23** bis **K28** wurde neben dem Einfluss des um ein Atom verlängerten Linkers auch der Einfluss verschiedener Substituenten (Amid, O, NH), die Position der Substituenten (1- vs. 2-Position) und die Mehrfachsubstitution mit dem Metallkomplex untersucht.

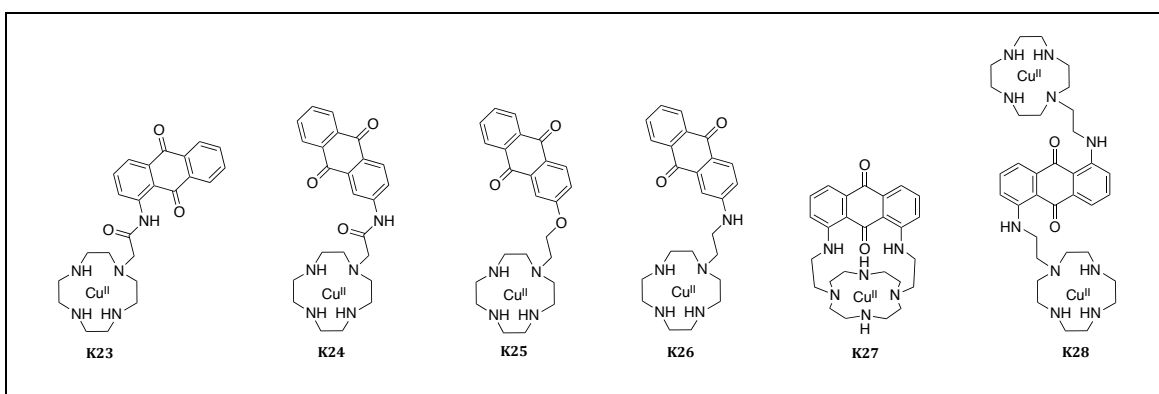


Abbildung 102: Übersicht über die Komplexe **K23** bis **K28**.

Während die Komplexe **K23** bis **K27** eine hohe Bindungskonstante zur DNA aufweisen und sie interkalativ binden, wurde für den dinuklearen Komplex **K28** eine derart hohe DNA-Bindungskonstante bestimmt, dass es sich bei dem Komplex um einen DNA-Kondensator handeln muss. In einem Gel-Retardations-Assay konnte diese Annahme weiter bestätigt werden.

Unter oxidativen Spaltbedingungen ist der Kryptand **K27** der effektivste DNA-Spalter, unter Ermangelung eines Reduktionsmittels und unter Bestrahlung ist der in 2-Position amidverbrückte Komplex **K24** am effektivsten. Bei der Untersuchung der Zytotoxizität war dann auch der Komplex **K27** zytotoxisch. Der Komplex **K24** konnte analog zu Komplex **K17** als ein – wenn auch wenig effektiver – Photosensibilisator wirken.

Unter Betrachtung der Anthrachinon-substituierten Komplexe **K13** bis **K28** können einige allgemeingültige Aussagen getroffen werden:

- Die Substitution des Kupfer(II)cyclen-Komplexes **K1** mit Anthrachinon erhöht seine DNA-Spaltaktivität.
- Je länger und flexibler die Linkergruppe ist, desto größer ist auch die DNA-Affinität.

- DNA-Affinität und oxidative DNA-Spaltaktivität hängen jedoch nicht notwendigerweise zusammen.
- In 2-Position substituierte Anthrachinonkomplexe sind im Vergleich mit den in 1-Position substituierten Komplexen die besseren DNA-Spalter.
- Die Mehrfachsubstitution mit 2-Methylenanthrachinon führt nicht zu einer Steigerung der DNA-Spaltaktivität, sondern zu Kondensations- und Aggregationsphänomenen.

KAPITEL 4

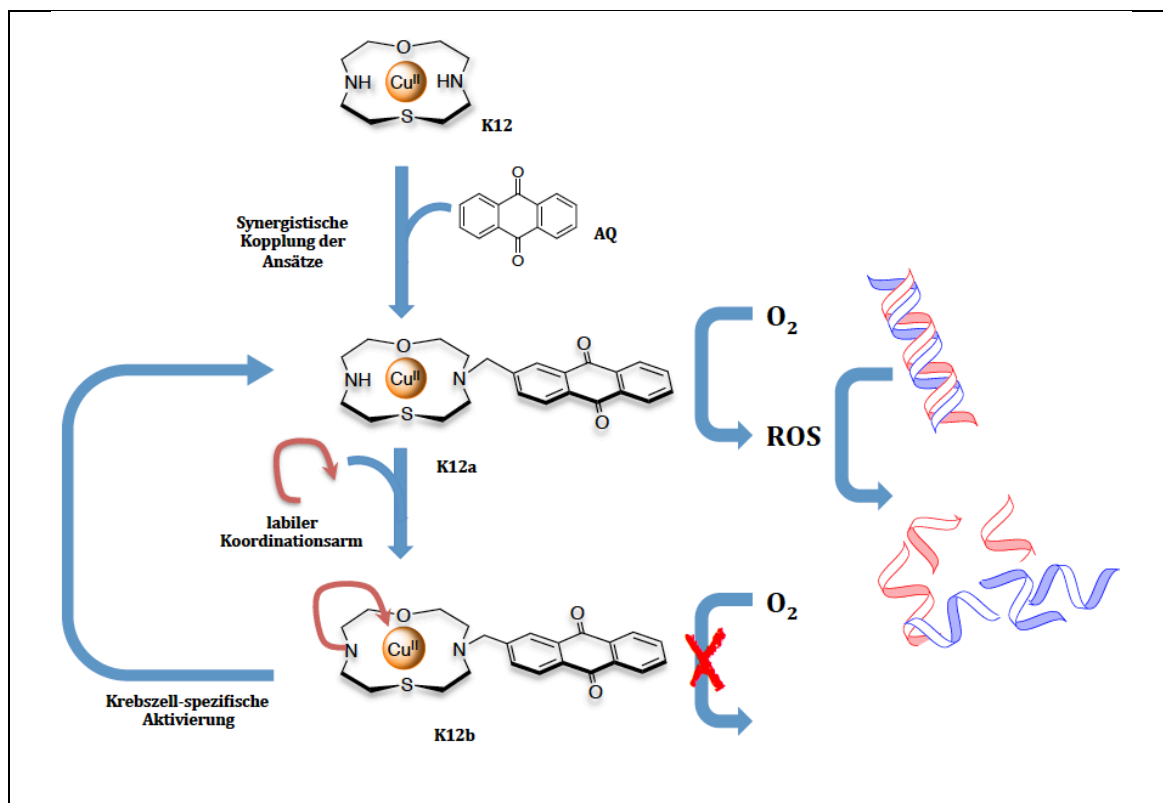
AUSBLICK

Im Rahmen dieser Dissertation konnte gezeigt werden, dass sich die Aktivität von Kupfer(II)cyclen-basierten Nukleasen gezielt über den Austausch der Stickstoffdonoratome verbessern lässt. Dies gelang im besonderen Maße durch den Austausch der Cyclendonatoratome gegen Schwefel. Als Basis für eine neue künstliche Nuklease mit verbesserter DNA-Spaltaktivität sollten die Dithiacyclenkomplexe [Cu([12]aneN₂S₂)] **K8** und [Cu([12]aneNSNS)] **K9** und der Oxathiacyclenkomplex [Cu([12]aneNONS)] **K12** verwendet und weiterentwickelt werden. Ihre hohe Komplexstabilität verhindert, dass toxisches Kupfer freigesetzt wird.

Zudem konnte gezeigt werden, dass sich die DNA-Affinität und die DNA-Spaltaktivität des Kupfer(II)cyclen-Komplexes **K1** erheblich durch die Substitution mit der DNA-Targetinggruppe Anthrachinon erhöhen lässt. Der nächste logische Schritt in der Entwicklung einer noch effektiveren künstlichen Nuklease wäre somit die Zusammenführung beider Ansätze. So können die Komplexe **K8**, **K9** und **K12** durch *N*-Substitution leicht mit dem DNA-Interkalator Anthrachinon substituiert werden. Mögliche Weiterentwicklungen der in dieser Arbeit untersuchten Metallonukleasen sind beispielhaft am Komplex **K12** (Schema 28) dargestellt.

Um zu gewährleisten, dass die hier dargestellten Komplexe nur in Krebszellen aktiv werden, müssen aus den aktiven Nukleasen sogenannte Prodrugs hergestellt werden, die selektiv und ausschließlich in Krebszellen wirksam werden. Im Fall der Cyclen-basierten Komplexe gelingt dies am einfachsten, indem die Koordinationssphäre des Kupferatoms abgesättigt wird, so dass kein Sauerstoff koordiniert werden kann und die ROS-Generierung verhindert wird. Ein Koordinationsarm mit einem weiteren koordinierenden Schwefelatom könnte über *N*-Substitution an das Cyclengerüst angebracht werden. Der Koordinationsarm müsste hierbei selektiv innerhalb des Tumorgewebes abgespalten werden, ohne dass er in nicht entarteten Gewebe gespalten wird. So würde die Nuklease nur in kranken Zellen aktiv werden. Realisiert werden könnte dies zum Beispiel durch die Verwendung einer kurzen Peptidsequenz, die über eine krebszellspezifische Peptidase gespalten wird, oder über die

Verwendung einer säurelabilen Gruppe wie einer acetalischen oder hydrazonischen Bindung, die sich den verringerten pH-Wert von Tumorgewebe zu Nutze macht.^[161-163]



Schema 28: Mögliche Weiterentwicklungen der Cyclen-basierten Nucleasen anhand des Komplexes **K12**.

Während die Untersuchung des Heteroatomaustauschs weitgehend abgeschlossen ist, sollten einige zusätzliche Untersuchungen der Anthrachinon-substituierten Komplexe durchgeführt werden. So sollten elektrochemische Messungen zeigen, ob die Substitution der Kupferkomplexe Einfluss auf ihre elektronischen Eigenschaften hat. Diese Untersuchungen wären besonders interessant für die Komplexe, bei denen die Anthrachinongruppe direkt an den Cyclenliganden gebunden ist.

Die photochemische Spaltaktivität der Komplexe sollte zudem unter Bestrahlung mit Licht höherer Wellenlängen untersucht werden. Diese war aus experimentellen Gründen im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich. Für eine Anwendung in der photodynamischen Therapie werden Photosensibilisatoren benötigt, die oberhalb von 600 nm absorbieren, da unterhalb dieses Schwellenwerts auch Biomoleküle angeregt werden können und so ungewollte Schädigungen hervorgerufen werden.^[32] Da die Komplexe **K26** bis **K28** ein Absorptionsmaximum am Rande dieses Schwellenwerts aufweisen und weit oberhalb der hier verwendeten kurzwelligen Strahlung von 365 nm absorbieren, erscheint diese Untersuchung sinnvoll.

Theoretische Methoden wie *Molecular Modeling* können genaueren Aufschluss über die Wechselwirkung der Komplexe **K18** bis **K21** mit DNA liefern. So könnte die These, dass die Komplexe **K20** und **K21** in verschiedene DNA-Stränge interkalieren theoretisch untermauert werden.

Um Aufschluss über den Wirkmechanismus der zytotoxisch wirkenden Komplexe *in vitro* zu erhalten, können mit den Komplexen inkubierte Zellen lysiert und anschließend ihre Zellkompartimente mittels ICP-MS auf ihren Kupferanteil im Vergleich zu nicht behandelten Zellen untersucht werden. So kann abschließend geklärt werden, wo die Komplexe akkumulieren, und Rückschlüsse auf den Wirkmechanismus getroffen werden.

Zu guter Letzt müssen die Komplexe, die sich in dieser Arbeit als besonders wirksam/zytotoxisch erwiesen haben, zunächst in anderen *in vitro*-Krebszellexperimenten und anschließend im Tiermodell ihre Wirksamkeit bestätigen und zeigen, ob sie sich als Wirkstoff für die Krebstherapie auch beim Menschen eignen könnten.

KAPITEL 5

EXPERIMENTELLER TEIL

5.1 Chemikalien

5.1.1 Chemikalien

Verwendete Chemikalien in Reihenfolge des experimentellen Teils: [12]aneN₄ (**L1**; Chemikalienspende der IC Discovery GmbH, sublimiert vor Verwendung), Kupfer(II)nitrat Trihydrat (Merck; 99 %), [12]aneN₃O (**L2**; Bestand), Triethylenglycol (**1**; Grüssing; 99 %), Tosylchlorid (**2**; Chempur; + 98 %), Kaliumhydroxid (Fisher Scientific; 86.4 %), Ethylendiamin (**4**; Acros Organics; 99 %), Natriumhydrid (Acros; 60 % auf Mineralöl), Phenol (**7**; Carl Roth; pur), HBr/AcOH (Merck; 32 % HBr), 2-(2-Chlorethoxy)ethanol (**8**; Aldrich; 99 %), Tosylamid (**9**, Acros Organics; 99 %), Kaliumcarbonat (Carl Roth; >99 %), Triethylamin (Acros Organics; 99 %), Dimethylaminopyridin (Merck; 100 %), Tetraethylenglycol (**13**; Alfa Aesar; 99 %), Natrium (Aldrich; 99 %), Lithiumaluminiumhydrid (Merck; 100 %), [12]aneN₃S (**L7**; Bestand), Chloracetylchlorid (**17**; Acros Organics; 98 %), Ethandithiol (**19**; Alfa Aesar; 98 %), Cäsiumcarbonat (Chempur; 99 %), Boran-Tetrahydrofuran-Komplex (Sigma Aldrich; 1 M); Thioglycolsäure (**21**; Alfa Aesar; 98 %), Thionylchlorid (Merck; 100 %), 2-Bromethylamin Hydrobromid (**23**; Aldrich; 100 %), Natriumsulfid Nonahydrat (Acros Organics; 98 %), Natriumhydroxid (Merck; 99 %), Diethanolamin (**27**; Merck; 100 %), Di-*tert*-butyldicarbonat (Fluorochem), 2,2'-Thiodiethanthiol (**26**; Acros, 100 %), Trifluoressigsäure (Carl Roth; >99 %), Diethylenglycol (**31**; Bestand), 1-Aminoanthrachinon (**35**; Alfa Aesar; 90 %); 1,8-Dichloranthrachinon (**37**; Aldrich; 97 %), 2-Aminoanthrachinon (**39**; Alfa Aesar; 90 %), 2-(Hydroxymethyl)anthrachinon (**41**; Aldrich; 97 %); Tetrabrommethan (Aldrich; 99 %); Triphenylphosphan (Aldrich; 99 %), Oxalsäurediethylester (**43**; Acros Organics; 100 %); *N*-(*tert*-Butoxycarbonyloxy)succinimid (**46**; Aldrich; ≥ 98 %); Zink(II)nitrat Hexahydrat (Aldrich; 98 %), Dimethylamin (**49**; Aldrich; 40 % in H₂O); Bromacetylbromid (**51**; Aldrich; ≥ 98 %), 1-Hydroxyanthrachinon (**54**; Aldrich; 99 %),

1,2-Dibromethan (**55**; Fluka, 100 %), Ethanolamin (**57**; Merck; 99 %) 1,5-Dichloranthrachinon (**62**; Alfa Aesar; 96 %).

5.1.2 Lösungsmittel

Schwefelsäure (Bestand; 96 %), Salzsäure (Bestand; 24 %), Methanol (Fisher Scientific; >99 %), DCM (Fisher Scientific; >99 %), DMF absolut (Acros Organics, 99.8 %), Pyridin (Acros Organics), Tetrahydrofuran (Bestand), Diethylether (VWR Chemicals; 100 %), Chloroform (VWR Chemicals; 99 % mit 0.6 % EtOH), Acetonitril (Fisher Scientific; 99.99 %), Isopropylamin (Merck; 99 %), DMSO (Fisher Scientific; HPLC *grade*), Dioxan (Grüssing; 99.5 %), Benzol (Aldrich; *anhydrous* 99.8 %).

Für Reaktionen unter Schutzgas wurden folgende Lösungsmittel aus dem Solventsystem verwendet oder über geeigneten Trocknungsmitteln getrocknet und dann destilliert: Acetonitril, Dichlormethan, Chloroform, Ethanol und Toluol.

5.1.3 Biochemikalien, Puffer und Enzyme

Agarose (Lonza), L-Ascorbinsäure (Fluka; TraceSelect ≥ 99.999 %), CT-DNA (Sigma-Aldrich), DMSO (Fisher Scientific; HPLC *grade*), EcoRI-HF RE-Mix (New England BioLabs), Ethidiumbromid-Lösung (Fisher Scientific; 1 %), HCl (Carl Roth; 25 %), Katalase (Sigma Aldrich; Rinderleber; 2000 – 5000 U/mg), Ladepuffer (Bestand), TA Ligase (New England BioLabs), Natriumazid (Acros Organics; 99 % *extra pure*), pBR322-Plasmid-DNA (Carl Roth), PBS-Puffer (Fisher Scientific; 10 X), SOD (in 10X PBS; 5000 U/mL), TBE-Puffer (Thermo Fisher Scientific), Tris-Base (Fisher Scientific).

5.2 Allgemeine Arbeitstechniken und Messmethoden

5.2.1 Allgemeine Arbeitstechniken

Alle Synthesen wurden, wenn es nicht anders angegeben wurde, unter Luft durchgeführt. Bei Reaktionen unter Schutzgas wurde unter einer Argonatmosphäre gearbeitet. Alle verwendeten Glasgeräte wurden hierbei vor der Benutzung für mindestens zwei Stunden im Trockenschrank bei 110 °C gelagert oder wurden vor dem Gebrauch dreifach im Hochvakuum evakuiert, mit einer Heißluftpistole ausgeheizt und dann mit Inertgas befüllt.

Literaturbekannte Substanzen wurden mindestens mittels ^1H -NMR Spektroskopie und neue Substanzen zusätzlich über ESI-MS und ^{13}C -NMR Spektroskopie analysiert. Von Liganden wurden falls möglich zusätzlich Elementaranalysen gemessen. Komplexe konnten aufgrund des paramagnetischen Kupfer(II)ions nicht mittels NMR-Spektroskopie beschrieben werden.

Sie wurden über Elementaranalyse, UV/Vis-Spektroskopie, ESI-MS und teilweise über IR-Spektroskopie und Röntgenstrukturanalyse charakterisiert.

5.2.2 Kernresonanzspektroskopie

Die ^1H - und ^{13}C -Messungen wurden an einem JEOL JNM-LA 400 FT-NMR-Spektrometer (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz), an einem Bruker AVANCE500 NMR-Spektrometer (^1H : 500 MHz; ^{13}C : 125 MHz) oder an einem BRUKER AVANCE700 NMR-Spektrometer (^1H : 700 MHz; ^{13}C : 175 MHz) durchgeführt.

Die Angaben der chemischen Verschiebung erfolgen nach der δ -Konvention in ppm. Für die NMR-Messungen wurden folgende deuterierte Lösungsmittel verwendet: Aceton- d_6 , DMSO- d_6 , CDCl_3 , CD_2Cl_2 , D_2O und Methanol- d_4 . Als Referenzsignal werden die jeweiligen Lösungsmittel verwendet (^1H -NMR: Aceton- d_6 = 2.05 ppm, DMSO- d_6 = 2.50 ppm, CDCl_3 = 7.26 ppm, CD_2Cl_2 = 5.32 ppm, D_2O = 4.79 ppm u. Methanol- d_4 = 4.87 ppm; ^{13}C -NMR: Aceton- d_6 = 29.84 ppm, DMSO- d_6 = 39.52 ppm, CDCl_3 = 77.16 ppm, CD_2Cl_2 = 54.00 ppm u. Methanol- d_4 = 49.00 ppm). Die Signalform wird wie folgt beschrieben: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, sept = Septett, m = Multiplett und br = breites Singulett.

5.2.3 Massenspektrometrie

ESI-Massenspektren wurden mit einem Agilent 6210 ESI-TOF, AGILENT TECHNOLOGIES, Santa Clara, CA, USA, gemessen. Die Flussrate betrug 4 $\mu\text{L}/\text{min}$, die Sprayspannung 4 kV. Das Desolvatisierungsgas wurde auf 15 psi (1 bar) gesetzt. Alle anderen Parameter wurden für eine maximale Abundanz des jeweiligen $[\text{M}+\text{H}]^+$ optimiert.

5.2.4 Infrarot-Spektroskopie

Die IR-Spektren wurden an einem Nicolet Smart DuraSarap IR-Spektrometer durch direkte Messung der festen Probe gemessen. Die Signale werden wie folgt beschrieben: s (stark), m (medium) und w (schwach).

5.2.5 Röntgenstrukturanalyse

Röntgenstrukturanalysen wurden an einem Bruker-AXS SMART CCD gemessen, die Strukturen anschließend über direkte Methoden gelöst und im *full-matrix least-squares* Verfahren (SHELX-97) verfeinert. Für die Auswertung wurde das Programm OLEX2 verwendet.^[164]

5.2.6 Elektrochemische Messungen

Zyklovoltammetrische Messungen wurden von DR. NAINA DEIBEL und MARGARETHE VAN DER

MEER (AG SARKAR, FU Berlin) in 0.1 M KCl-Lösungen (Millipore gefiltert) mit einer Dreielektrodenkonfiguration (Glaskohlenstoff als Arbeitselektrode, Platin als Gegenelektrode und Silberdraht als Pseudoreferenz) und einem PAR VersaSTAT 4 Potentiostat durchgeführt. Das Ferrocen/Ferrocenium (Fc/Fc^+)-Paar wurde als interne Referenz verwendet.

5.2.7 UV/Vis-Spektroskopie

Die Absorptionsspektren wurden an einem Varian Cary 100 Biospektrometer in Küvetten der Firma Hellma (1 cm) durchgeführt. Absorptionsspektren wurden in wässrigen Tris-HCl- oder PBS-gepufferten DMSO-Lösungen in einem Bereich zwischen 190 und 900 nm gescannt und der Background (50 mM Tris-HCl oder 1X PBS) automatisch abgezogen. Extinktionskoeffizienten wurden über einen linearen Fit aus der Auftragung von Absorption gegen Konzentration nach dem LAMBERT-BEER-Gesetz aus der Steigung bestimmt. Hierfür wurden mindestens fünf Messpunkte verwendet.

DNA-Schmelzkurven wurden über die Messung der Absorptionsänderung einer gepufferten (Tris-HCl, 50 mM, pH 7.4) CT-DNA-Lösung (100 μM) bei 260 nm als Funktion der Temperatur bestimmt. Die Kurven wurden in 1 $^{\circ}\text{C}$ -Schritten bei einer Geschwindigkeit von 0.5 $^{\circ}\text{C}$ pro Minute unter Anwesenheit der verschiedenen Komplexe (2.5 μM) gemessen. Zu Beginn einer jeden Messung wurde die Absorption der jeweiligen Lösung auf 0 eingestellt. Um verschiedene Schmelzkurven miteinander vergleichen zu können, wurden die Absorptionen normalisiert.

5.2.8 CD-Spektroskopie

Die CD-Spektren wurden an einem Jasco J-810 Spektropolarimeter unter ständigem Stickstoffstrom bei 25 $^{\circ}\text{C}$ in Fluoreszenzküvetten der Firma Hellma (1 cm) gemessen. Zu einer Lösung von CT-DNA (100 μM) in Tris-HCl (10 mM) wurden wässrige Lösungen (oder DMSO-Lösungen) der zu untersuchenden Komplexe (10, 20 und 50 μM) titriert und das CD-Spektrum in einem Bereich 220 von bis 320 nm (240 nm für DMSO-haltige Proben) bei einer Messgeschwindigkeit von 100 nm pro Minute gemessen. Der Background (alle Komponenten außer Komplex und CT-DNA) wurde hierbei automatisch abgezogen. Das Datenpunktintervall betrug 0.1 nm. Es wurden jeweils drei Messungen durchgeführt und der Durchschnitt dieser Messungen verwendet.

5.2.9 LD-Spektroskopie

Die LD-Spektren wurden an einem Jasco J-720 Spektropolarimeter in Couette-Zellen (1 mm) in Kooperation mit der Gruppe von Prof. BRABEC (*Academy of Sciences of the Czech Republic*,

Brno, Tschechien) gemessen. Zu einer Lösung von CT-DNA (200 μM) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) wurden die zu untersuchenden Komplexe in den gewünschten Konzentrationen titriert und bei 25 °C gemessen.

5.2.10 Ethidiumbromidverdrängung

Die Fluoreszenzemission von in CT-DNA interkaliertem Ethidiumbromid (EB) wurde an einem Cary Eclipse Fluoreszenz-Spektrophotometer (Varian) bei Raumtemperatur gemessen.

Zu einer Lösung von CT-DNA (20 μM), EB (5 μM) und Tris-HCl (10 mM, pH 7.4) in Fluoreszenzküvetten der Firma Hellma (1 cm) wurden steigende Konzentrationen des zu untersuchenden Komplexes titriert. Nach jeder Zugabe wurde das Fluoreszenzspektrum in einem Bereich zwischen 530 nm und 750 nm aufgenommen. Als Anregungswellenlänge wurde 518 nm verwendet. Die Spannung des Photomultipliers wurde zwischen 900 bis 980 V eingestellt, sodass die Emission des CT-DNA-EB-Systems zwischen 800 bzw. 1000 a.u. betrug.

5.2.11 Statische Lichtstreuung

Die Lichtstreuungsmessungen wurden von der Gruppe um Prof. BRABEC (*Academy of Sciences of the Czech Republic*, Brno, Tschechien) nach den durch THOMAS publizierten Bedingungen durchgeführt: Eine Lösung von CT-DNA (1.5 μM) in Kakodylat-Puffer (10 mM, pH 7.2) wurde mit dem zu untersuchenden Komplex in der gewünschten Konzentration versetzt, die Lösung durch Pipettieren gemischt und in Fluoreszenzküvetten der Firma Hellma (1 cm) für fünf Minuten inkubiert.^[147] Hierbei wurden alle Lösungen vor der Verwendung durch 0.2 μm -Filter filtriert, um Artefakte durch Staubpartikel zu vermeiden. Die Messung wurde an einem Cary Eclipse Fluoreszenz-Spektrophotometer (Varian) durchgeführt. Anregungs- und Emissionswellenlänge wurden hierbei auf 305 nm, die Anregungs- und Emissionsspaltweite auf 5 nm eingestellt und als Integrationszeit 5 Sekunden verwendet. Wie bei Fluoreszenzmessungen üblich wurde im 90 °-Winkel zum einfallenden Lichtstrahl gemessen.

5.2.12 Rasterkraftmikroskopie

Die Rasterkraftmikroskopie wurde von der Gruppe um Prof. BRABEC (*Academy of Sciences of the Czech Republic*, Brno, Tschechien) durchgeführt. Die linearisierte pSP73-Plasmid-DNA (2464 bp) wurde mit Hilfe von *Nde* I Restriktionsendonuklease-Verdauung gewonnen und über das Wizard SV Gelreinigungssystem (Promega) aufgereinigt. Die zu untersuchenden Kupferkomplexe wurden in Millipore-Wasser gelöst, mit DNA (20 ng), HEPES-Puffer (4 mM, pH 7.4), KCl (5 mM) und MgCl_2 (5 mM) versetzt und für fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Das Volumen der Inkubationslösung betrug hierbei 10 μL . 4 μL der Inkubationslösung wurden auf ein frisch gespaltenes Micaplättchen (SPI, West Chester, PA)

geladen und für zwei Minuten inkubiert. Das Micaplättchen wurde mit 1 mL Millipore-Wasser gespült und mit Hilfe von Druckluft getrocknet. Das Rasterkraftbild wurde schließlich an einem Bruker MultiMode 8 Rasterkraftmikroskop (Santa Barbara, USA) im ScanAsyst Modus unter Luft mit ScanAsyst-Air Cantileverspitzen (Camarillo, USA) aufgenommen.

5.2.13 DNA-Spaltversuche

Die Spaltaktivität der Komplexe bezüglich Plasmid-DNA (pBR322) wurde mittels Gelelektrophorese untersucht. Alle Versuche wurden als Triplikat durchgeführt (mit Ausnahme der Quenchexperimente und des Religationsassays). In einem typischen Experiment wurde Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) mit Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und mit unterschiedlichen Konzentrationen des zu untersuchenden Komplexes vermischt, gegebenenfalls unter Zusatz von L-Ascorbinsäure (0.32 mM). Mit deionisiertem Wasser (Millipore gefiltert) wurde auf ein Gesamtvolumen von 8 μL aufgefüllt und dann bei 37 °C für zwei Stunden inkubiert (oder für die jeweils angegebene Zeit und Temperatur). Nach der Inkubation wurden die Lösungen entweder bei -196 °C (flüssiger Stickstoff) bis zur späteren Verwendung gelagert oder direkt analysiert.

Zur Inkubationslösung wurden 1.5 μL Ladepuffer (bestehend aus 3.7 mM Bromphenolblau und 1.2 M Saccharose in deionisiertem Wasser) gegeben und das Gemisch anschließend auf das Agarose-Gel (1 % in 0.5X TBE-Puffer) mit Ethidiumbromid ($1.0 \mu\text{g mL}^{-1}$) geladen. Die DNA-Fragmente wurden über Gelelektrophorese (Carl Roth; Spannungsgerät: Consort EV243) bei 40 V in TBE-Puffer (0.5X) für zwei Stunden aufgetrennt. Anschließend wurden die mit Ethidiumbromid gefärbten Gele über das Dokumentationssystem Geldoc (Bio-Rad) ausgewertet. Die Intensität der Banden wurde jeweils auf die Referenz-DNA bezogen. Die Intensität der *supercoiled*-Plasmid-DNA (Form I) des pBR322-Plasmids wurde mit einem Korrekturfaktor von 1.22 multipliziert, um der geringeren Fähigkeit, Ethidiumbromid einzulagern, Rechnung zu tragen.^[165] DNA-Fragmente, die kleiner als Form III waren, wurden gemeinsam mit Form III erfasst.

Um sicherzugehen, dass die Banden den einzelnen DNA-Formen richtig zugeordnet wurden, wurde eine DNA-Leiter verwendet: 250 μL pBR322-Plasmid-DNA ($0.1 \mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) wurde unter Verwendung von der EcoRI Nuklease linearisiert, über Gelelektrophorese aufgereinigt und über ein GenElute™ Extraktionskit aus dem Gel extrahiert. Die extrahierte DNA wurde auf 250 μL verdünnt und mit weiteren 250 μL nicht linearisierter pBR322-Plasmid-DNA ($0.025 \mu\text{g mL}^{-1}$) vermischt. 2 μL dieser Lösung wurden jeweils in die erste Tasche jedes Agarosegels geladen.

Bei Spaltexperimenten mit Radikalfängern wurde analog zu der oben beschriebenen Vorschrift gearbeitet. Dem Ansatz wurde hierbei jedoch vor der Inkubation der jeweilige Radikalfänger (DMSO 200 mM, NaN_3 10 mM, Katalase 2.5 mg mL⁻¹, SOD 313 U mL⁻¹) hinzugesetzt. Außerdem wurde den Inkubationslösungen zusätzlich 1.25X PBS-Puffer hinzugesetzt, da die Enzyme in entsprechend gepufferten Lösungen vorlagen.

Für die Bestrahlungsversuche wurde eine handelsübliche Dünnschichtchromatographie-Lampe (256 nm und 365 nm je 6 W) in einem Abstand von 10 cm für eine gegebene Zeit auf die in einem Eppendorfgefäß befindliche Probe gerichtet. Anstelle von Tris-Puffer wurde Britton-Robinson-Puffer (10 mM, pH 7.4) verwendet, auf ein Reduktionsmittel wurde verzichtet.

5.2.14 Gel-Retardation

pBR322-Plasmid-DNA (0.025 µg µL⁻¹) wurde in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) unter Zusatz des zu untersuchenden Komplexes (2.5 – 50 µM) für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Das Gesamtvolumen der Inkubationslösung betrug 8 µL. Um in jeder Inkubationslösung vergleichbare Bedingungen herzustellen, wurde die DMSO-Konzentration auf 5 % eingestellt.

Anschließend wurden die Inkubationslösungen über Agarose-Gelelektrophorese (1 %, 40 V, 2 h) analysiert. Hierfür wurden 1.5 µL des Ladepuffers zu der Inkubationslösung gegeben und das Gemisch auf das EB-gefärbte Agarosegel geladen und aufgetrennt. Schlussendlich wurden die Gele mit dem Gel Doc EZ System von BioRad gescannt.

Um sicherzustellen, dass verlässliche Ergebnisse gewonnen wurden, wurde jeder Versuch mindestens zweimal durchgeführt.

5.2.15 Polymerase-Kettenreaktion

Ein 279 bp-Stück des pBR322-Plasmids wurde unter Zuhilfenahme der Oligonukleotid-Primer GCTGATGAGCTTTACCGCAGCTGCCTCGC und CGCATCTGTGCGGTATTTACACCGC vervielfältigt. Ungefähr 1 ng der Plasmid-DNA wurde hierfür mit 0.1 µM der beiden Primer und dem Qiagen Taq PCR Master Mix Kit (2.5 U Taq DNA Polymerase; 1X Qiagen PCR Puffer; 200 µM dNTP) inkubiert. Außerdem wurden die zu untersuchenden Metallkomplexe in unterschiedlichen Konzentrationen hinzugesetzt (0.025 µM bis 100 µM). Das Gesamtvolumen der Inkubationslösungen betrug 25 µL. Um bei jeder Reaktion identische Reaktionsbedingungen zu gewährleisten, wurden der Inkubationslösung jeweils 1X PBS-Puffer und 1 % DMSO hinzugesetzt, da einige der zu untersuchenden Komplexe nur in PBS-Puffer oder DMSO löslich waren.

PCR Programm.

Schritt	Zeit	Temperatur
anfängliche Denaturierung	3 min	94 °C
25 x Denaturierung	45 sec	94 °C
Anlagerung	45 sec	68 °C
Verlängerung	60 sec	72 °C
finale Verlängerung	10 min	72 °C
Kühlen	∞	4 °C

Nach 25 PCR-Zyklen (vgl. Tabelle) wurde die Inkubationslösung über Agarose-Gelelektrophorese (1 %, 40 V, 30 min) analysiert. Hierfür wurden 2 µL der Inkubationslösung mit 6 µL Millipore-Wasser und 2 µL Ladepuffer versetzt und auf das EB-gefärbte Gel geladen. Schlussendlich wurden die Gele mit dem Gel Doc EZ System von BioRad gescannt.

Um sicherzustellen, dass verlässliche Ergebnisse gewonnen wurden, wurde jeder Versuch mindestens dreimal durchgeführt.

5.2.16 MTT-Assay

Das MTT-Assay wurde von Frau DR. WEDEPOHL (AG CALDERÓN, FU Berlin, Deutschland) wie folgt durchgeführt:

Zell-Kultivierung

A549-Zellen (Bronchialkarzinom) wurden in DMEM-Nährmedium (*Dulbecco's minimal essential medium*, Life Technologies) mit GlutaMAX, 10 % FCS (*fetal calf serum*, Biochrom AG) und 1 % Penizillin/Streptomycin (Life Technologies) bei 37 °C und 5 % CO₂ gehalten.

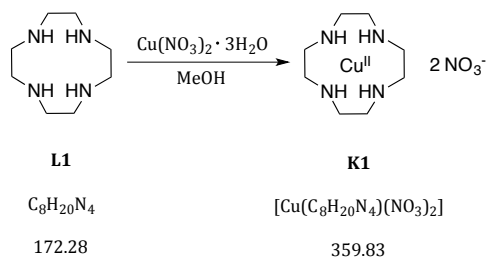
MTT-Assay

10⁵ Zellen/mL wurden in 96-Well-Platten ausgesät und über Nacht bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Am nächsten Tag wurde das Medium durch 50 µL frisches Medium ausgetauscht und 50 µL der verdünnten Komplexlösungen hinzugegeben. Die Versuche wurden jeweils in dreifacher Ausfertigung durchgeführt. Bei Versuchen unter Bestrahlung wurde die 96-Well-Platte einmalig zu Anfang der Inkubation bei 365 nm ohne Deckel außerhalb des Brutschranks für 30 Minuten bestrahlt und anschließend die Inkubation weitergeführt. Nach 48-stündiger Inkubation wurden die Zellen dreimal mit je 200 µL PBS pro Well gewaschen und anschließend 10 µL einer 5 mg/mL-haltigen MTT-Lösung und 90 µL frisches Medium hinzugegeben. Es wurde für vier Stunden bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert, die überstehende Lösung abdekantiert und nicht gelöste Formazankristalle durch Zugabe von 100 µL 0.04 M HCl in Isopropanol pro Well gelöst. Schließlich wurde die Absorption bei 570 nm über einen Mikroplattenleser (Tecan Infinite M200 Pro) bestimmt. Jedes MTT-Assay wurde dreifach

wiederholt. Die relative Zellviabilität wurde durch Division der durchschnittlichen Absorption durch den Absorptionswert von unbehandelten Zellen erhalten. Es wurde der Durchschnitt aus drei Messungen gegen die verwendete Komplexkonzentration geplottet und die Standardabweichung als Fehlerbalken verwendet.

5.2.17 Konfokale Fluoreszenzmikroskopie

Die konfokale Fluoreszenzmikroskopie wurde von Frau DR. WEDEPOHL (AG CALDERÓN, FU Berlin, Deutschland) wie folgt durchgeführt: Je 1 ml einer Lösung mit 5000 A549-Zellen wurde auf Deckgläschen in 24-Well-Platten ausgesät und über Nacht in DMEM (*Dulbecco's minimal essential medium*, Life Technologies), 10 % FCS (*fetal calf serum*, Biochrom AG) und 1 % Penizillin/Streptomycin (Life Technologies) bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Am nächsten Tag wurde der zu untersuchende Komplex (10 µM) in 1 mL frischem Medium hinzugegeben, für vier Stunden inkubiert und die Zellen anschließend dreimal mit 1X PBS gewaschen und 20 Minuten bei 37 °C mit neutral gepuffertem Formalin (10 %) fixiert. Es wurde drei weitere Male mit PBS gewaschen, dann die Zellen mit DAPI (2.5 µg/mL) in PBS für 30 Minuten bei Raumtemperatur angefärbt und anschließend erneut gewaschen. Die Deckgläschen wurden mit Wasser benetzt und mit Hilfe des Eindeckmittels (ProTaq Mount Fluor) auf dem Objektträger eingebettet. Nachdem über Nacht getrocknet wurde, wurden die Bilder mit dem konfokalen Mikroskop (Leica SP8) aufgenommen.

5.3 [Cu([12]aneN₄)NO₃]NO₃ (**K1**)

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (L1)	0.103 g (0.6 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.145 g (0.6 mmol)
Methanol	3 mL

Durchführung

Der Ligand **L1** wurde in 1 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes hinzugegeben und für weitere 10 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf -19 °C abgekühlt, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Der Komplex **K1** wurde in Form von dunkelblauen Kristallen erhalten.

Ausbeute: 0.131 g (0.36 mmol, 61 %)

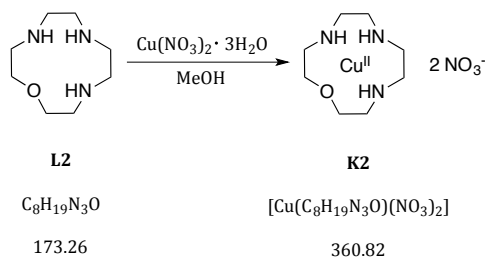
C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	26.70	26.78
H [%]	5.60	5.65
N [%]	23.36	23.31
max. Abweichung [%]		0.08

ESI-MS: m/z: 234.0908, berechnet $[\text{M} - \text{H}^+ - 2 \text{NO}_3^-]^+$ 234.0900.

UV/Vis (50 mM pH 7.4 Tris-HCl): 600 nm ($\epsilon = 275 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

IR (fest): $\nu = 3232$ (m, ν NH), 2928 und 2881 (w, ν CH₂), 1425 (m, δ CH₂), 1300 (s, ν NO₃⁻), 1078 (m), 981 (m), 812 (m) cm⁻¹.

5.4 [Cu([12]aneN₃O)NO₃]NO₃ (**K2**)

1-Oxa-4,7,10-triazacyclododecan (L2)	0.104 g (0.6 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.145 g (0.6 mmol)
Methanol	3 mL

Durchführung

Der Ligand **L2** wurde in 1 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes hinzugegeben und für weitere 10 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf -19 °C abgekühlt, die himmelblauen Blättchen abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0.144 g (0.40 mmol, 63 %)

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	26.64	26.63
H [%]	5.34	5.31
N [%]	19.42	19.41
max. Abweichung [%]		0.03

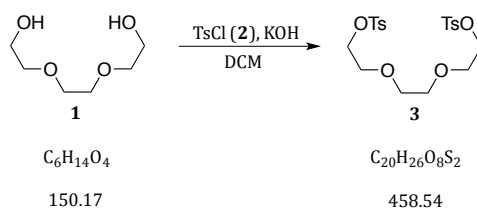
ESI-MS: m/z: 235.0745, berechnet $[\text{M} - \text{H}^+ - 2 \text{NO}_3^-]^+$ 235.0748.

UV/Vis (50 mM pH 7.4 Tris-HCl): λ_{max} (ϵ) = 711 nm ($\epsilon = 180 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

IR (fest): $\nu = 3209$ and 3156 (w, ν NH), 2940 and 2892 (w, ν CH₂), 1746 (vw, δ NH), 1483 (m, δ CH₂), 1316 und 1278 (s, ν NO₃⁻), 1002 (s), 865 (m), 824 (m) cm⁻¹.

5.5 [Cu([12]aneN₂O₂)(NO₃)₂]₂NO₃ (**K3**)

5.5.1 Tri(ethylenglycol)di(*p*-toluolsulfonat) (**3**)

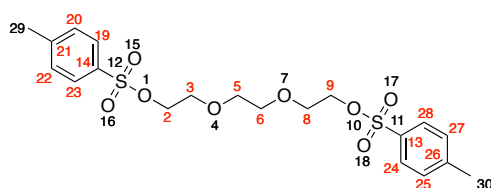


Triethylenglycol (1)	6.0 mL (44.7 mmol)
Tosylchlorid (2)	17.16 g (90.0 mmol)
Kaliumhydroxid	20.14 g (359.0 mmol)
DCM	160 mL

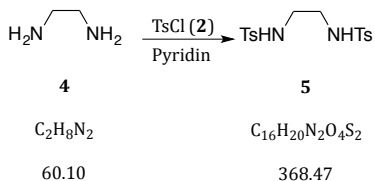
Durchführung

Zu einer 0 °C kalten Lösung aus Tosylchlorid (**2**) und Triethylenglycol (**1**) in DCM wurde gepulvertes Kaliumhydroxid so hinzugegeben, dass die Temperatur 10 °C nicht überstieg. Nach vollständiger Zugabe wurde für weitere drei Stunden bei 0 °C gerührt, dann 90 mL Wasser zum Reaktionsgemisch gegeben und die wässrige Phase dreimal mit 50 mL DCM extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der tosylgeschützte Ether **3** wurde als weißer Feststoff erhalten.

Ausbeute: 12.36 g (27.0 mmol, 60 %; Lit.: 99 %^[61])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.81–7.75 (m, 4 H, Ar-H^{19,23,24,28}), 7.35–7.32 (m, 4 H, Ar-H^{20,22,25,27}), 4.13 (ddd, *J* = 5.6, 3.6 u. 0.7 Hz, 4 H, CH₂^{2,9}), 3.64 (ddd, *J* = 5.6, 3.6 u. 0.7 Hz, 4 H, CH₂^{3,8}), 3.52 (s, 4 H, CH₂^{5,6}), 2.44 (s, 6 H, CH₃^{29,30}) ppm.

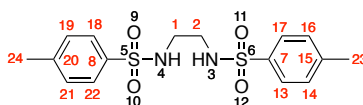
5.5.2 *N,N'*-Bis(*p*-toluolsulfonyl)ethyldiamin (**5**)

Ethyldiamin (4)	3.1 mL (46.4 mmol)
Tosylchlorid (2)	17.58 g (92.2 mmol)
Pyridin	225 mL

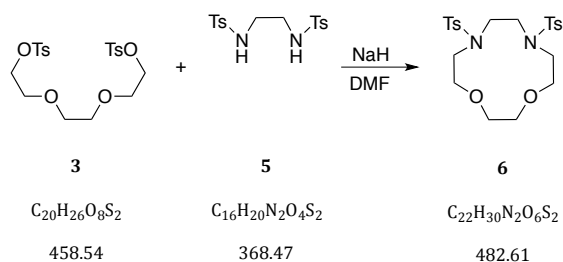
Durchführung

Unter Argon wurde Tosylchlorid (**2**) in 225 mL Pyridin gelöst. Die Lösung wurde auf 0 °C gekühlt und Ethyldiamin (**4**) innerhalb von 45 Minuten hinzugegossen. Die nunmehr gelbe Lösung wurde bei Raumtemperatur für weitere 16 Stunden gerührt und dann unter kräftigem Rühren zu 700 mL Wasser gegeben. Der weiße Feststoff wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 8.7 g (23.6 mmol, 51 %; Lit.: 100 %^[165])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.75–7.68 (m, 4 H, Ar-H^{13,17,18,22}), 7.33–7.27 (m, 4 H, Ar-H^{14,16,19,21}), 5.09 (br, 2 H, NH^{3,4}), 3.07–3.03 (m, 4 H, CH₂^{1,2}), 2.42 (s, 6 H, CH₃^{23,24}) ppm.

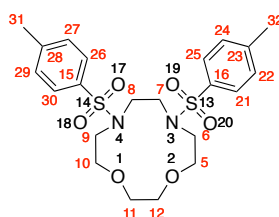
5.5.3 7,10-Ditosyl-1,4-dioxa-7,10-diazacyclododecan (**6**)

<i>N,N'</i> -Bis(<i>p</i> -toluolsulfonyl)ethylendiamin (5)	8.70 g (23.6 mmol)
Tri(ethylenglycol)di(<i>p</i> -toluolsulfonat) (3)	10.92 g (23.8 mmol)
Natriumhydrid (60 % auf Paraffin)	1.96 g (49.0 mmol)
DMF	290 mL

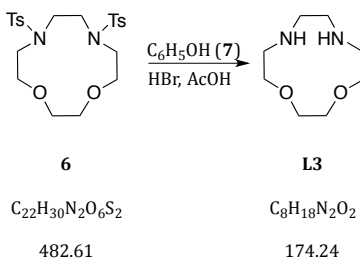
Durchführung

N,N'-Bis(*p*-toluolsulfonyl)ethylendiamin (**5**) wurde unter Argon in 125 mL abs. DMF gelöst und unter Rühren eine Lösung von Natriumhydrid in 40 mL DMF über eine Transferkanüle hinzugegeben. Die nunmehr weiße Suspension wurde auf 100 °C erhitzt und eine Lösung von Tri(ethylenglycol)di(*p*-toluolsulfonat) (**3**) in 125 mL abs. DMF unter Verwendung einer Spritzenpumpe innerhalb von vier Stunden hinzugetropft. Es wurde für weitere drei Stunden bei der gleichen Temperatur gerührt, dann das Reaktionsgemisch im Vakuum auf die Hälfte eingengt und schließlich unter starkem Rühren langsam zu 250 mL Eiswasser gegeben. Der ausgefallene weiße Feststoff wurde abfiltriert, im Vakuum getrocknet und aus Toluol umkristallisiert. Der tosylgeschützte Makrozyklus **6** wurde in Form eines weißen Feststoffs erhalten.

Ausbeute: 3.05 g (6.3 mmol, 27 %)



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.74 (d, 4 H, *J* = 8.3 Hz, Ar-H^{21,25,26,30}), 7.33 (d, 4 H, *J* = 8.3 Hz, Ar-H^{22,24,27,29}), 3.68–3.63 (m, 4 H, CH₂^{7,8}), 3.52 (s, 8 H, CH₂^{5,10,11,12}), 3.31–3.26 (m, 4 H, CH₂^{6,9}), 2.43 (s, 6 H, CH₃^{31,32}) ppm.

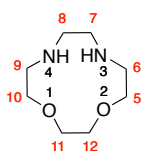
5.5.4 1,4-Dioxa-7,10-diazacyclododecan (**L3**)

7,10-Ditosyl-1,4-dioxa-7,10-diazacyclododecan (6)	3.05 g (6.3 mmol)
Phenol (7)	1.19 g (12.7 mmol)
Bromwasserstoff in Eisessig (32 %)	150 m

Durchführung

Verbindung **12** und Phenol wurden in Bromwasserstoff/Eisessig gelöst und für 69 Stunden bei 80 °C gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Um Rückstände der Säure zu entfernen, wurde das zurückbleibende Öl mehrfach in Ethanol aufgenommen und dieses im Vakuum entfernt. Der zurückbleibende Feststoff wurde in 50 mL Wasser aufgenommen und zweifach mit 50 mL DCM gewaschen. Daraufhin wurde der pH-Wert der zurückbleibenden Lösung auf 14 eingestellt und das Produkt mit fünfmal 50 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Ligand **L3** wurde als farbloses Öl erhalten.

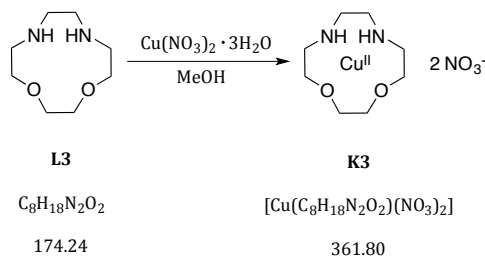
Ausbeute: 0.25 g (1.4 mmol, 23 %)



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 3.71–3.67 (m, 4 H, CH₂^{5,10}), 3.64 (d, 4 H, *J* = 1 Hz, CH₂^{11,12}), 3.06 (d, 4 H, *J* = 1 Hz, CH₂^{7,8}), 3.02–2.95 (m, 4 H, CH₂^{6,9}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): 69.56 (C^{5,10}), 68.98 (C^{11,12}), 46.48 (C^{7,8}), 45.51 (C^{6,9}) ppm.

ESI-MS *m/z*: 175.1456, berechnet [C₈H₁₇NO₃ + H]⁺ 175.1441.

5.5.5 [Cu([12]aneN₂O₂)(NO₃)₂NO₃ (**K3**)

1,4-Dioxa-7,10-diazacyclododecan (L3)	0.204 g (1.2 mmol)
Kupfernitratttrihydrat	0.282 g (1.2 mmol)
Methanol	10 mL

Durchführung

Der Ligand **L3** wurde in 5 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes hinzugegeben und für weitere 50 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand aus Acetonitril umkristallisiert. Der Komplex **K3** wurde in Form von blauen Kristallen isoliert.

Ausbeute: 0.37 g (0.1 mmol, 9 %)

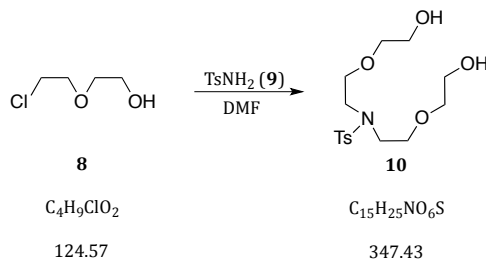
C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	27.05	26.56
H [%]	5.183	5.010
N [%]	15.67	15.49
max. Abweichung [%]		0.49

ESI-MS: m/z: 299.0537, berechnet [M - NO₃]⁺ 299.0542.

UV/Vis (50 mM pH 7.4 Tris-HCl): λ_{max} (ε) = 620 nm (58 L mol⁻¹ cm⁻¹).

IR (fest): ν = 3215 a. 3181 (w, ν NH), 2921 (w, ν CH₂), 1749 (vw, δ NH), 1479 (vw, δ CH₂), 1281 (s, ν NO₃⁻), 1085 (m), 1012 (s), 858 (m) cm⁻¹.

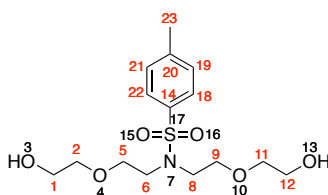
5.6 [Cu([12]aneNONO)NO₃]NO₃ (**K4**)5.6.1 *N,N*-Bis(2-(2-hydroxyethoxy)ethyl)-4-methylbenzolsulfonamid (**10**)

Tosylamid (9)	10.57 g (61.7 mmol)
2-(2-Chlorethoxy)ethanol (8)	17.00 mL (115.7 mmol)
Kaliumcarbonat	43.3 g (313.2 mmol)
DMF	150 mL

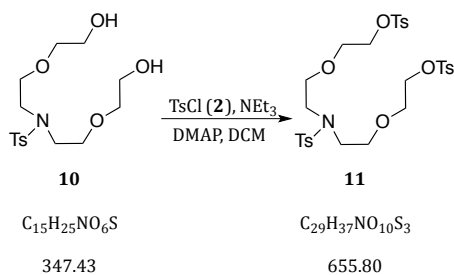
Durchführung

Eine Mischung aus Tosylamid (**9**), 2-(2-Chlorethoxy)ethanol (**8**) und Kaliumcarbonat in DMF wurde für vier Tage unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der Feststoff abfiltriert und mit DCM gewaschen. Die Waschphase wurde mit dem Filtrat vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das zurückbleibende hellgelbe, viskose Öl wurde über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Ethylacetat) aufgereinigt.

Ausbeute: 12.19 g (35.1 mmol, 57 %; Lit.: 77 %^[61])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.68 (d, 2 H, *J* = 7.8 Hz, Ar-H^{18,22}), 7.29 (d, 2 H, *J* = 7.8 Hz, Ar-H^{19,21}), 3.70–3.65 (m, 8 H, CH₂^{5,6,8,9}), 3.55–3.51 (m, 4 H, CH₂^{1,12}), 3.36–3.32 (m, 4 H, CH₂^{2,11}), 3.09 (s, 2 H, OH^{3,13}), 2.41 (s, 3 H, Ar-CH₃²³) ppm.

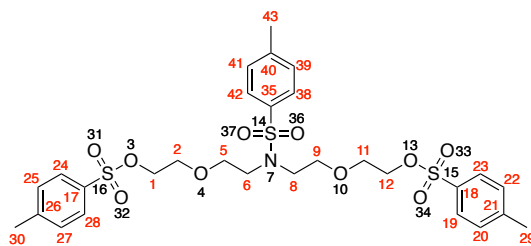
5.6.2 Synthese von Verbindung **11**

Verbindung 10	12.19 g (35.1 mmol)
Tosylchlorid (2)	20.20 g (105.6 mmol)
Triethylamin	30.00 mL (215.1 mmol)
Dimethylaminopyridin	0.05 g (0.4 mmol)
DCM	560 mL

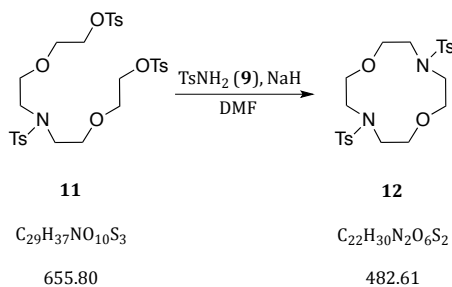
Durchführung

Dimethylaminopyridin, Triethylamin und *N,N*-Bis(2-(2-hydroxyethoxy)ethyl)-4-methylbenzolsulfonamid (**10**) wurden in 350 mL frisch destilliertem DCM gelöst und die Lösung auf 0 °C gekühlt. Innerhalb von 90 Minuten wurde eine Lösung von Tosylchlorid (**2**) in 210 mL DCM hinzugegeben. Die nunmehr orange Lösung wurde für weitere zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, mit zweimal 250 mL Natriumhydrogen-carbonatlösung gewaschen und die wässrige Phase mit dreimal 150 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: DCM; R_f 0.2) aufgereinigt. Verbindung **11** konnte als ein gelbes, viskoses Öl erhalten werden.

Ausbeute: 10.56 g (16.1 mmol, 46 %; Lit.: 75 %^[62])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.80–7.72 (m, 4 H, Ar-H), 7.67–7.62 (m, 2 H, Ar-H), 7.37–7.27 (m, 6 H, Ar-H), 4.10–4.05 (m, 4 H, CH₂^{5,9}), 3.62–3.47 (m, 8 H, CH₂^{1,2,11,12}), 3.38–3.25 (m, 4 H, CH₂^{6,8}), 2.42 (s, 6 H, Ar-CH₃^{29,30}), 2.40 (s, 3 H, Ar-CH₃⁴³) ppm.

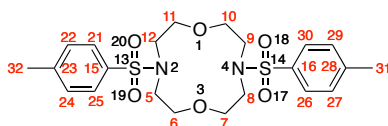
5.6.3 4,10-Ditosyl-1,7-dioxa-4,10-diazacyclododecan (**12**)

Verbindung 11	10.56 g (16.1 mmol)
Tosylamid (9)	2.77 g (16.2 mmol)
Natriumhydrid (60 % auf Paraffin)	1.46 g (35.4 mmol)
Dimethylaminopyridin	0.05 g (0.4 mmol)
DMF	700 mL

Durchführung

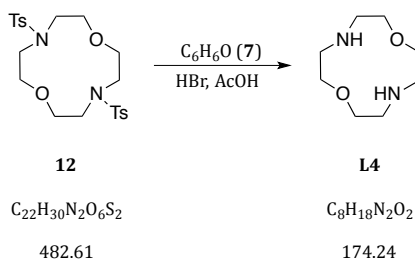
Tosylamid (**9**) wurde unter Argon in 650 mL DMF gelöst und Natriumhydrid in einer Portion hinzugegeben. Es wurde für zweieinhalb Stunden bei 80 °C gerührt und dann eine Lösung von Verbindung **11** in 50 mL DMF innerhalb von sechs Stunden hinzuge tropft. Nach vollständiger Zugabe wurde für weitere 24 Stunden bei 80 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde bis auf die Hälfte im Vakuum entfernt und der zurückbleibende Reaktionsansatz zu 300 mL gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gegeben und dreimal mit 150 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der zurückbleibende Feststoff über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: DCM/MeOH; 100/5; R_f 0.9) aufgereinigt. Das Produkt **12** konnte als weißer, kristalliner Feststoff isoliert werden.

Ausbeute: 4.02 g (8.3 mmol, 52 %; Lit.: 50 %)^[63]



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.73–7.66 (m, 4 H, Ar-H^{21,25,26,30}), 7.38–7.30 (m, 4 H, Ar-H^{22,24,27,29}), 3.80–3.72 (m, 8 H, CH₂^{6,7,10,11}), 3.28–3.19 (m, 8 H, CH₂^{5,8,9,12}), 2.42 (s, 6 H, Ar-CH₃^{31,32}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): 143.62 (Ar-C^{23,28}), 135.48 (Ar-C^{15,16}), 129.90 (Ar-C^{21,25,26,30}), 127.54 (Ar-C^{21,25,26,30}), 70.28 (C^{6,7,10,11}), 51.03 (C^{5,8,9,12}), 21.66 (C^{31,32}) ppm.

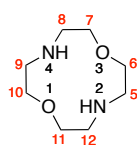
5.6.4 1,7-Dioxa-4,10-diazacyclododecan (**L4**)

4,10-Ditosyl-1,7-dioxa-4,10-diazacyclododecan (12)	0.92 g (1.9 mmol)
Phenol (7)	1.09 g (11.56 mmol)
Bromwasserstoff in Eisessig (32 %)	60 mL

Durchführung

Verbindung **12** und Phenol (**7**) wurden in Bromwasserstoff/Eisessig gelöst und für 72 Stunden bei 80 °C gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Um Rückstände der Säure zu entfernen, wurde das zurückbleibende Öl mehrfach in Ethanol aufgenommen und dieses im Vakuum entfernt. Der zurückbleibende Feststoff wurde in 50 mL Wasser aufgenommen und zweifach mit 50 mL DCM gewaschen. Daraufhin wurde der pH-Wert der zurückbleibenden Lösung auf 14 eingestellt und das Produkt mit fünfmal 50 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Ligand **L4** wurde als weißer Feststoff erhalten.

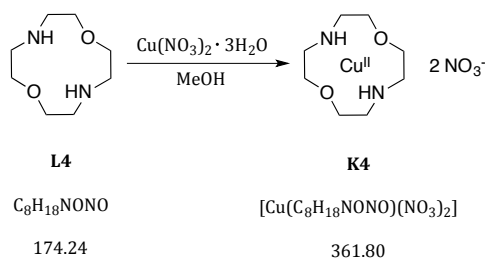
Ausbeute: 0.16 g (0.92 mmol; 48 %; Lit.: 100 %^[63])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 3.62–3.58 (m, 8 H, CH₂^{6,7,10,11}), 2.89–2.68 (CH₂^{5,8,9,12}), 2.29 (br, 2 H, NH^{2,4}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 67.18 (C^{6,7,10,11}), 46.57 (C^{5,8,9,12}) ppm.

ESI-MS m/z: 175.1440, berechnet [C₈H₁₈N₂O₂ + H]⁺ 175.1441.

5.6.5 [Cu([12]aneNONO)NO₃]₂NO₃ (**K4**)

1,7-Dioxa-4,10-diazacyclododecan (L4)	0.150 g (0.86 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.207 g (0.86 mmol)
Methanol	20 mL

Durchführung

Der Ligand **L4** wurde in 10 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes hinzugegeben und für weitere 10 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf 3 mL eingengt, abgekühlt und die ausgefallenen himmelblauen Plättchen abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0.152 g (0.42 mmol, 49 %)

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	26.58	26.58
H [%]	5.136	5.010
N [%]	15.39	15.49
max. Abweichung [%]		0.12

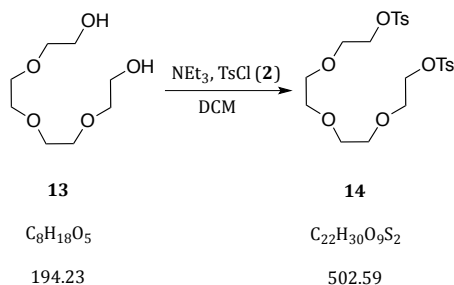
ESI-MS: m/z: 299.0537, berechnet [M - NO₃]⁺ 299.0542.

UV/Vis (50 mM pH 7.4 Tris-HCl): λ_{max} (ε) = 638 nm (40 L mol⁻¹ cm⁻¹).

IR (fest): ν = 3164 (w, ν NH), 2945 a. 2894 (w, ν CH₂), 1748 (vw, δ NH), 1499 a. 1448 (vw, δ CH₂), 1364 a. 1326 (s, ν NO₃), 1056 (m), 1015 (s), 853 (m) cm⁻¹.

5.7 1,4,7-Trioxa-10-azacyclododecan (**L5**)

5.7.1 Tetra(ethylenglycol)di(*p*-toluolsulfonat) (**14**)

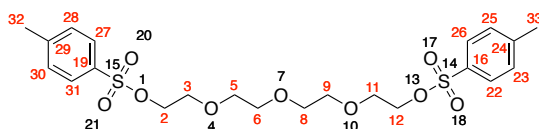


Tosylchlorid (2)	39.8 g (208 mmol)
Tetraethylenglycol (13)	20.0 g (103 mmol)
Triethylamin	36 mL (258 mmol)
DCM	100 mL

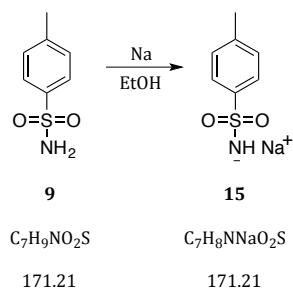
Durchführung

Einer 0 °C kalten Lösung von Tetraethylenglycol (**13**) in 100 mL DCM wurde innerhalb von 20 Minuten tropfenweise Triethylamin hinzugesetzt. Es wurde für weitere 10 Minuten gerührt und Tosylchlorid (**2**) portionsweise innerhalb von 30 Minuten hinzugegeben. Nachdem die Lösung für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde die Reaktion durch Zugabe von 200 mL Wasser beendet. Die Phasen wurden getrennt, die organische Phase mit 200 mL Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt **14** wurde als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 39.4 g (78.4 mmol, 76 %; Lit.: 90 %^[63])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.78 (d, 4 H, *J* = 8.3 Hz, Ar-H^{22,26,27,31}), 7.33 (d, 4 H, *J* = 8.2 Hz, Ar-H^{23,25,28,30}), 4.16-4.12 (m, 4 H, CH₂^{2,12}), 3.68-3.65 (m, 4 H, CH₂^{3,11}), 3.55 (s, 8 H, CH₂^{5,6,8,9}), 2.43 (s, 6 H, CH₃^{32,33}) ppm.

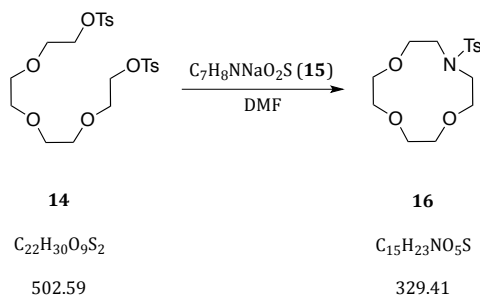
5.7.2 Natrium-*p*-toluolsulfonamid (**15**)

<i>p</i> -Toluolsulfonamid (9)	41.0 g (240 mmol)
Natrium	5.5 g (249 mmol)
abs. Ethanol	250 mL

Durchführung

Zu einer frisch hergestellten Lösung von Natriumethanolat in 250 mL Ethanol wurde unter Inertgas *p*-Toluolsulfonamid (**9**) hinzugegeben und unter Rühren für zwei Stunden refluxiert. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der weiße Feststoff abfiltriert, mit Ethanol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das weiße Produkt wurde ohne Analytik in der Folgereaktion eingesetzt.

Ausbeute: 38.4 g (200 mmol, 83 %; Lit.: > 90 %^[66])

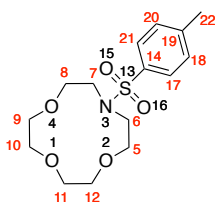
5.7.3 10-Tosyl-1,4,7-trioxa-10-azacyclododecan (**16**)

Tetraethylglykol-di(<i>p</i> -toluolsulfonat) (14)	20.00 g (39.8 mmol)
Natrium- <i>p</i> -toluolsulfonamid (15)	15.37 g (79.6 mmol)
abs. Dimethylformamid	880 mL

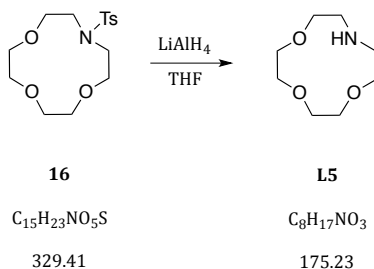
Durchführung

Unter Argon wurden 7.68 g des Natriumsalzes **15** bei 80 °C in 800 mL DMF gelöst und unter Rühren eine Lösung von Verbindung **14** in 80 mL DMF innerhalb von einer Stunde mit Hilfe einer Spritzenpumpe zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wurden erneut 7.68 g des Salzes **15** hinzugegeben und dann für weitere vier Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wurde vollständig im Vakuum entfernt und der zurückbleibende wachsartige Feststoff über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Hexan/ EtOAc; 1/1; R_f 0.25) aufgereinigt. Die Verbindung **16** wurde als kristalliner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 5.30 g (16.1 mmol, 40 %; Lit.: 35 %^[67])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.75–7.64 (m, 2 H, Ar-H^{17,21}), 7.33–7.26 (m, 2 H, Ar-H^{18,20}), 3.81 (td, 4 H, $J = 5.3$ u. 1.1 Hz, CH₂^{5,8}), 3.68–3.59 (m, 8 H, CH₂^{9,10,11,12}), 3.31 (td, 4 H, $J = 5.3$ u. 1.1 Hz, CH₂^{6,7}), 2.41 (s, 3 H, CH₃²²) ppm.

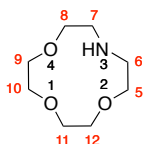
5.7.4 1,4,7-Trioxa-10-azacyclododecan (**L5**)

10-Tosyl-1,4,7-trioxa-10-azacyclododecan (16)	3.00 g (9.1 mmol)
Lithiumaluminiumhydrid	2.25 g (59.3 mmol)
Tetrahydrofuran	150 mL

Durchführung

Lithiumaluminiumhydrid wurde unter Rühren vorsichtig und portionsweise zu einer Lösung des tosylierten Makrozyklus **16** in THF gegeben. Es wurde unter Argon für 25 Stunden zum Rückfluss erhitzt, dann auf Raumtemperatur gekühlt und der Überschuss des Hydrids durch vorsichtige Zugabe von Wasser zerstört. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit 150 mL Chloroform gewaschen, die organischen Phasen vereinigt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Durch Sublimation des zurückbleibenden Feststoffes konnte das Produkt **L5** in Form von farblosen Nadeln erhalten werden.

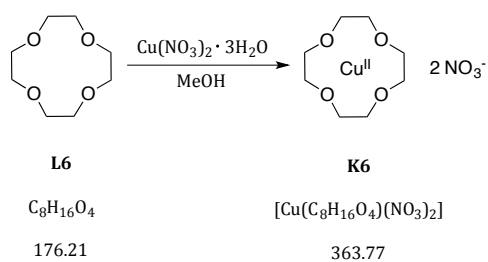
Ausbeute: 0.25 g (1.4 mmol, 16 %; Lit.: 42 %^[67])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 3.65 (ddd, 4 H, $J = 5.9, 3.1$ u. 1.0 Hz, CH₂^{5,8}), 3.63–3.50 (m, 8 H, CH₂^{9,10,11,12}), 2.74 (s, 1 H, NH³), 2.70 (ddd, 4 H, $J = 5.9, 3.1$ u. 1.0 Hz, CH₂^{6,7}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): 71.06 (C^{5,8}), 69.74 (C^{9,12} o. 10,11), 69.03 (C^{9,12} o. 10,11), 48.08 (C^{6,7}) ppm.

ESI-MS m/z: 176.1289, berechnet [C₈H₁₇NO₃ + H]⁺ 176.1281.

5.8 [Cu([12]aneO₄)(NO₃)₂] (**K6**)

1,4,7,10-Tetraoxacyclododecan (L6)	0.250 g (1.4 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.343 g (1.4 mmol)
Methanol	20 mL

Durchführung

Der Ligand **L6** wurde in 10 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes hinzugegeben und für weitere 10 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf 3 mL eingeeengt, abgekühlt und die ausgefallenen hellblauen Kristalle abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0.345 g (1 mmol, 67 %)

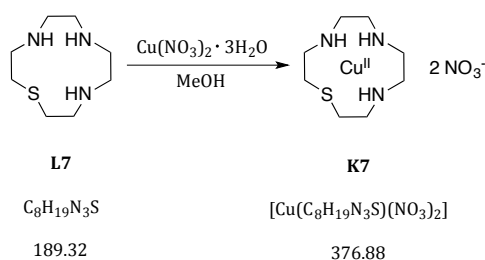
C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	26.27	26.41
H [%]	4.610	4.430
N [%]	7.792	7.700
max. Abweichung [%]		0.18

ESI-MS: m/z: 301.0232, berechnet [M - NO₃]⁺ 301.0223.

UV/Vis (50 mM pH 7.4 Tris-HCl): λ_{max} (ε) = 670 nm (23 L mol⁻¹ cm⁻¹).

IR (fest): ν = 2969 (w, ν CH₂), 1479 (vw, δ CH₂), 1282 (s, ν NO₃⁻), 1127 (m), 1071 (s), 1009 (m), 929 (m), 896 (m), 807 (m) cm⁻¹.

5.9 [Cu([12]aneN₃S)NO₃]₂NO₃ (**K7**)

1-Thia-4,7,10-triazacyclododecan (L7)	185.3 mg (1.0 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	241.0 mg (1.0 mmol)
Methanol	10 mL

Durchführung

[12]aneN₃S (**L7**) wurde in 5 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 5 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 10 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, die ausgefallenen dunkelblauen Nadeln abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

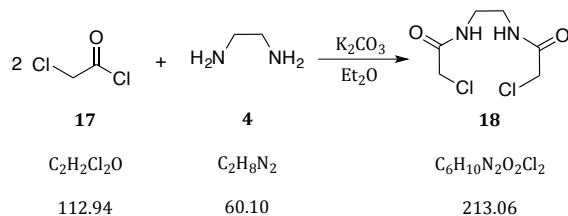
Ausbeute: 269.0 mg (0.7 mmol) 74 %

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet ([Cu(C ₈ H ₁₉ N ₃ S)(NO ₃) ₂] · 0.1 H ₂ O)
C [%]	25.36	25.37
H [%]	5.13	5.11
N [%]	18.45	18.49
S [%]	8.44	8.47
max. Abweichung [%]		0.04

ESI-MS m/z: 287.0311, berechnet [Cu(C₈H₁₉N₃S) + Cl]⁺ 287.0284

UV/Vis (50 mM pH 7.4 Tris-HCl): λ_{max} (ε) = 620 nm (364 L mol⁻¹ cm⁻¹).

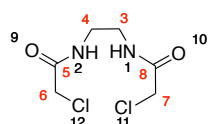
5.10 [Cu([12]aneN₂S₂)(NO₃)₂]₂NO₃ (**K8**)5.10.1 *N,N'*-(Ethan-1,2-diyl)bis(2-chloroacetamid) (**18**)

Ethylendiamin (4)	13.4 mL (0.2 mol)
Chloroacetylchlorid (17)	32.0 mL (0.4 mol)
Kaliumcarbonat	55.28 g (0.4 mol)
Diethylether	300 mL

Durchführung

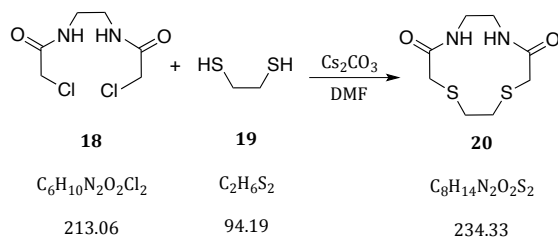
Kaliumcarbonat und Ethylendiamin (**4**) wurden gemeinsam in Diethylether gelöst und auf 0 °C gekühlt. Innerhalb von zweieinhalb Stunden wurde eine Lösung von Chloroacetylchlorid (**17**) in 500 mL Ether hinzugegeben und nach vollständiger Zugabe für weitere 18.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Produkt **18** wurde durch Filtration als weißer Feststoff erhalten.

Ausbeute: 7.00 g (33 mmol, 16 %; Lit.: 45 %^[68])



¹H-NMR (DMSO-d₆, 500 MHz): 8.28 (br, 2 H, NH^{1,2}), 4.04 (s, 4 H, CH₂^{6,7}) 3.19 – 3.14 (m, 4 H, CH₂^{3,4}) ppm.

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 126 MHz): 166.23 (C^{5,8}), 42.65 (C^{6,7}), 38.55 (C^{3,4}) ppm.

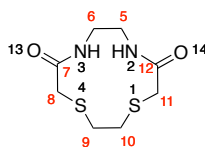
5.10.2 1,4-Dithia-7,10-diazacyclododecan-6,11-dion (**20**)

Ethandithiol (19)	11.66 g (55 mmol)
<i>N,N'</i> -(Ethan-1,2-diyl)bis(2-chloroacetamid) (18)	5.16 g (55 mmol)
Cäsiumcarbonat	26.75 g (82 mmol)
abs. Dimethylformamid	600 mL

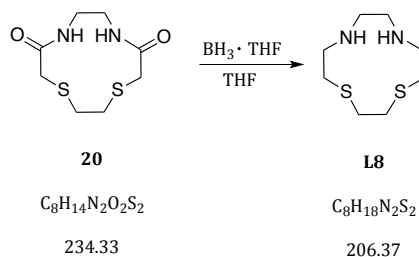
Durchführung

Unter Argon wurde das Amid **18** gemeinsam mit Cäsiumcarbonat in DMF suspendiert und auf 55 °C erhitzt. Innerhalb von 10 Stunden wurde das Dithiol **19** hinzuge tropft und nach vollständiger Zugabe für weitere 28 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der zurückbleibende weiße Feststoff wurde mit 300 mL Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 2.800 g (11.9 mmol, 22 %; Lit.:30 %^[88])



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): 7.98 (br, 2 H, NH^{2,3}), 3.29 (m, 4 H, CH₂^{5,6}) 3.06 (m, 8 H, CH₂^{8,9,10,11}) ppm.

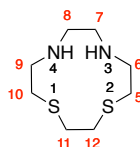
5.10.3 1,4-Dithia-7,10-diazacyclododecan (**L8**)

1,4-Dithia-7,10-diazacyclododecan-6,11-dion (**20**) 2.16 g (9 mmol)
 Boran-Tetrahydrofuran-Komplex (1 M) 30 mL (30 mmol)

Durchführung

1,4-Dithia-7,10-diazacyclododecan-6,11-dion (**20**) wurde unter Argon in Boran-Tetrahydrofuran-Komplexlösung suspendiert und 17.5 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 30 mL Methanol gequench und dann das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde wiederholt in 40 mL Methanol aufgenommen und das Lösungsmittel erneut im Vakuum entfernt bevor er in 60 mL 3 M Salzsäure aufgenommen und für weitere drei Stunden refluxiert wurde. Die Reaktionslösung wurde zweimal mit je 50 mL DCM gewaschen, der pH-Wert der Lösung durch Zugabe von 30 mL 10 M Natronlauge auf 14 eingestellt und dann je viermal mit 40 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das so erhaltene Öl wurde über Kugelrohrfendestillation gereinigt und der Ligand **L8** als weißer Feststoff erhalten.

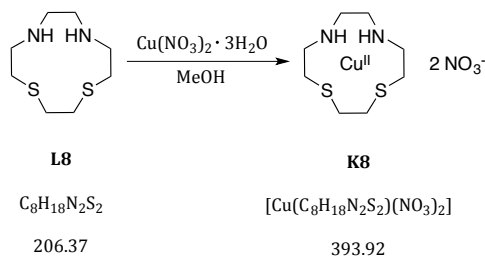
Ausbeute: 0.160 g (0.8 mmol, 27 %; Lit.: 30 %^[166])



¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 2.86–2.83 (m, 4 H, CH₂^{6,9}), 2.82 (s, 4 H, CH₂^{11,12}), 2.75 (s, 4 H, CH₂^{7,8}) 2.72–2.66 (m, 4 H, CH₂^{5,10}), 2.04 (br, 2 H, NH^{3,4}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): 47.74 (C^{7,8}), 47.63 (C^{6,9}), 32.77 (C^{11,12}), 31.86 (C^{5,10}) ppm.

ESI-MS m/z: 207.1072, berechnet [M + H]⁺ 207.0984.

5.10.4 [Cu([12]aneN₂S₂)NO₃]₂NO₃ (**K8**)

1,4-Dithia-7,10-diazacyclododecan (L8)	152.0 mg (0.7 mmol)
Kupfer(II)-nitrat Trihydrat	174.0 mg (0.7 mmol)
Methanol	7 mL

Durchführung

[12]aneN₂S₂ (**L8**) wurde in 3.5 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 3.5 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 10 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf -18 °C gekühlt, der ausgefallene dunkelblaue Feststoff abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

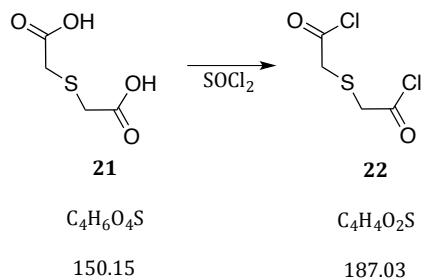
Ausbeute: 122.0 mg (0.3 mmol, 43 %)

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet ([Cu(C ₈ H ₁₈ N ₂ S ₂)(NO ₃) ₂] · 0.25 CH ₃ OH)
C [%]	24.31	24.65
H [%]	4.61	4.76
N [%]	13.60	13.94
S [%]	16.29	15.95
max. Abweichung [%]		0.34

ESI-MS m/z: 303.9925, berechnet [M - 2NO₃ + Cl]⁺ 303.9896.

UV/Vis (50 mM pH 7.4 Tris-HCl): λ_{max} (ε) = 650 nm (575 L mol⁻¹ cm⁻¹).

5.11 [Cu([12]aneNSNS)NO₃]₃NO₃ (**K9**)5.11.1 2,2'-Thiodiacetylchlorid (**22**)

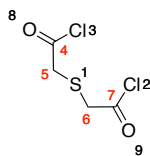
Thioglykolsäure **21** 50.0 g (333 mmol)

Thionylchlorid 100 mL

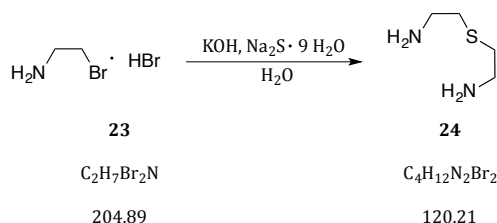
Durchführung

Thioglykolsäure **21** wurde in Thionylchlorid suspendiert und DMF hinzugegeben. Es wurde bei 45 °C für 3.5 Stunden gerührt und der Großteil an Thionylchlorid im Vakuum entfernt. Das Produkt **22** wurde über Vakuumdestillation (75 °C, 1.1 · 10⁻¹ mbar) aufgereinigt und als gelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 28.21 g (151 mmol, 45 %; Lit.: 52 %^[167])



¹H-NMR: (CDCl₃, 400 MHz): 3.89 (s, 4 H, CH₂^{5,6}) ppm.

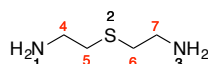
5.11.2 Bis(2-aminoethyl)sulfid (**24**)

2-Bromethylamin Hydrobromid (23)	90.0 g (0.44 mol)
Natriumsulfid Nonahydrat	52.9 g (0.22 mol)
Natriumhydroxid	17.6 g (0.44 mol)

Durchführung

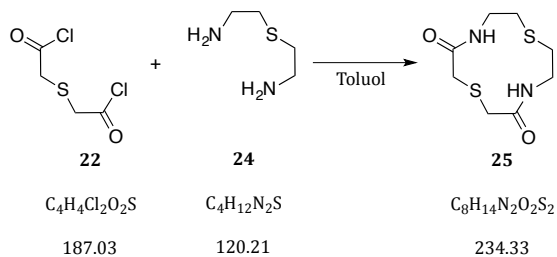
Zu einer Lösung von Natriumsulfid in 900 mL Wasser wurde eine Lösung von Natriumhydroxid in 90 mL Wasser zügig hinzuge tropft. Nach vollständiger Zugabe wurde eine Lösung von Verbindung **23** in 90 mL Wasser über 30 Minuten tropfenweise hinzugefügt. Es wurde für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und das Lösungsmittel der nunmehr hellgelben Lösung zum großen Teil im Vakuum entfernt. Der pH-Wert der zurückbleibenden Lösung wurde durch Zugabe von Kaliumhydroxid auf 14 eingestellt und anschließend mit viermal 100 mL Chloroform extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das zurückbleibende gelbe Öl über Vakuumdestillation ($5.2 \cdot 10^{-2}$ mbar, 52 °C) aufgereinigt. Das Produkt **25** wurde nach der Vakuumdestillation als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 14.3 g (0.12 mmol, 54 %; Lit.: 60 %^[88])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 2.54 (t, 4 H, $J = 6.4$ Hz, CH₂^{4,7}), 2.28 (t, 4 H, $J = 6.4$ Hz, CH₂^{5,6}), 2.73–1.00 (s, 4 H, NH^{1,3}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 100 MHz): 40.74 (C^{4,7}), 35.38 (C^{5,6}) ppm.

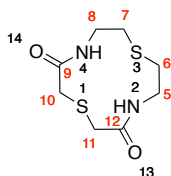
5.11.3 1,7-Dithia-4,10-diazacyclododecan-3,11-dion (**25**)

2,2'-Thiodiacetylchlorid (22)	7.75 g (50 mmol)
2,2'-Thiodiethanolamin (24)	10.08 g (83.8 mmol)
abs. Toluol	750 mL

Durchführung

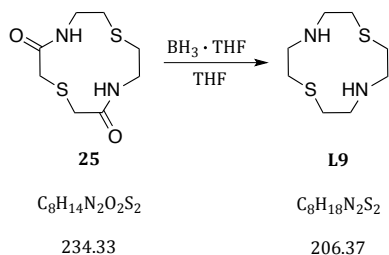
Absoluiertes Toluol wurde unter Argon auf -5 °C gekühlt und über eine Spritzenpumpe innerhalb von 10 Stunden die Verbindungen **22** und **24** simultan hinzugesetzt. Der Feststoff wurde abfiltriert und der Filterkuchen mit warmem Chloroform gewaschen. Die organischen Phasen wurden vereinigt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand über Sublimation aufgereinigt. Das Produkt **25** wurde als weißes Pulver erhalten.

Ausbeute: 1.50 g (6.4 mmol, 13 %; Lit.: 76 %^[168])



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz): 7.95 (s, 2 H, NH^{2,4}), 3.29–3.20 (m, 8 H, CH₂^{5,8,10,11}), 2.73–2.62 (m, 4 H, CH₂^{6,7}) ppm.

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz): 168.36 (C^{3,12}), 36.78 (C^{5,8}), 36.29 (C^{6,7}), 29.97 (C^{10,11}).

5.11.4 1,7-Dithia-4,10-diazacyclododecan (**L9**)

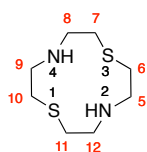
1,7-Dithia-4,10-diazacyclododecan-3,11-dion (**25**) 1.156 g (4.8 mmol)

Boran-Tetrahydrofuran-Komplex (1 M) 20 mL (20 mmol)

Durchführung

1,7-Dithia-4,10-diazacyclododecan-3,11-dion (**25**) wurde unter Argon in 20 mL Boran-Tetrahydrofuran-Komplexlösung suspendiert und für drei Stunden zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von Methanol gequenchet und dann das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 50 mL 3 M Salzsäure aufgenommen und für weitere zwei Stunden refluxiert. Die Reaktionslösung wurde zweimal mit je 50 mL Chloroform gewaschen, der pH-Wert der Lösung durch Zugabe von 30 mL 10 M Natronlauge auf 14 eingestellt und dann viermal mit je 40 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Ligand **L9** wurde in Form eines weißgelblichen Pulvers isoliert.

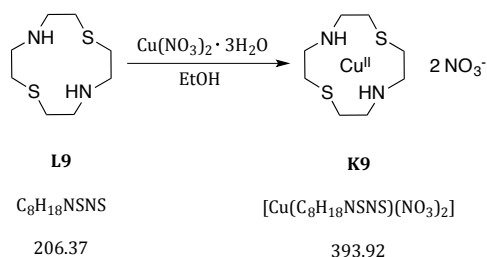
Ausbeute: 0.8590 g (4.2 mmol, 88 %; Lit.: 94 %^[89])



¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 2.75 (m, 16 H, CH₂⁵⁻¹²) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): 46.79 (C^{5,8,9,12}), 32.74 (C^{6,7,10,11}) ppm.

ESI-MS m/z: 207.0997, berechnet [C₈H₁₈N₂S₂ + H]⁺ 207.0984.

5.11.5 [Cu([12]aneNSNS)NO₃]₂NO₃ (**K9**)

1,7-Dithia-4,10-diazacyclododecan (L9)	95.0 mg (0.46 mmol)
Kupfer(II)-nitrat Trihydrat	111.2 mg (0.46 mmol)
Ethanol	3 mL

Durchführung

[12]aneNSNS (**L9**) wurde in 1.5 mL Ethanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 1.5 mL Ethanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, die ausgefallenen dunkelgrünen Nadeln abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

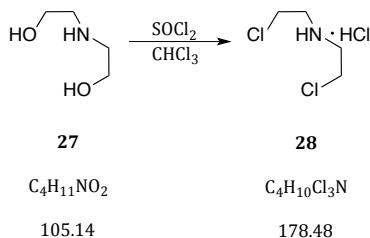
Ausbeute: 94.0 mg (0.24 mmol, 52 %)

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	24.50	24.39
H [%]	4.647	4.61
N [%]	14.28	14.22
S [%]	16.40	16.28
max. Abweichung [%]		0.12

ESI-MS m/z: 303.9919, berechnet [M - 2NO₃ + Cl]⁺ 303.9896.

UV/Vis (50 mM pH 7.4 Tris-HCl): λ_{max} (ε) = 651 nm (214 L mol⁻¹ cm⁻¹).

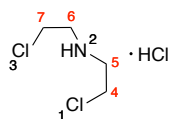
5.12 [Cu([12]aneNS₃)NO₃]NO₃ (**K10**)5.12.1 Bis(2-chlorethyl)amin Hydrochlorid (**28**)

Diethanolamin (27)	22.20 g (0.211 mol)
Thionylchlorid	60 mL (0.827 mol)
Chloroform	200 mL

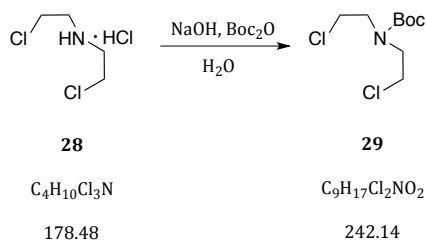
Durchführung

Diethanolamin (**27**) wurde in 200 mL Chloroform gelöst und im Eisbad auf 0 °C gekühlt. Zu dem Reaktionsgemisch wurde Thionylchlorid innerhalb von zwei Stunden zugetropft und nach vollständiger Zugabe für drei weitere Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in 200 mL 10 %iger Natriumcarbonatlösung aufgenommen und viermal mit je 200 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das zurückbleibende Öl über Vakuumdestillation (115 °C, $2.5 \cdot 10^{-2}$ mbar) aufgereinigt. Das Produkt **28** wurde als hellgelbes Öl erhalten.

Ausbeute: 21.97 g (0.123 mol, 58 %)



¹H-NMR (CHCl₃, 400 MHz): 4.67 (s, 2 H, NH²), 3.84–3.72 (m, 4 H, CH₂^{4,7}), 3.49–3.35 (m, 4 H, CH₂^{5,6}) ppm.

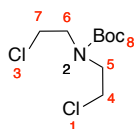
5.12.2 N-Boc-bis(2-chlorethyl)amin (**29**)

Bis(2-chlorethyl)amin Hydrochlorid (28)	16.65 g (93 mmol)
Natriumhydroxid	14.90 g (373 mmol)
Boc-Anhydrid	22.40 g (103 mmol)

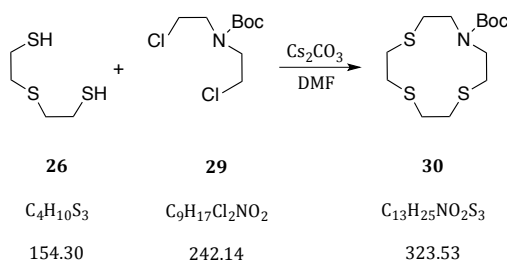
Durchführung

Natriumhydroxid wurde in 250 mL Wasser gelöst und das Hydrochlorid **28** hinzugegeben. Innerhalb von 45 Minuten wurde Boc-Anhydrid portionsweise hinzugegeben und nach vollständiger Zugabe für weitere sechseinhalb Stunden gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde viermal mit je 200 mL Ethylacetat extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und der Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Produkt **29** wurde als farbloses Öl erhalten.

Ausbeute: 20.23 g (84 mmol, 90 %; Lit.: 93 %^[89])



¹H-NMR (CHCl₃, 400 MHz): 3.60–3.50 (m, 8 H, CH₂⁴⁻⁷), 1.42 (s, 9 H, CH₃⁸) ppm.

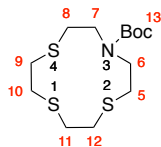
5.12.3 *N*-Boc-1,4,7-trithia-10-azacyclododecan (**30**)

<i>N</i> -Boc-bis(2-chlorethyl)amin (29)	22.23 g (84 mmol)
2,2'-Thiodiethanthiol (26)	11.70 g (90 mmol)
Cäsiumcarbonat	41.70 (128 mmol)
abs. DMF	1750 mL

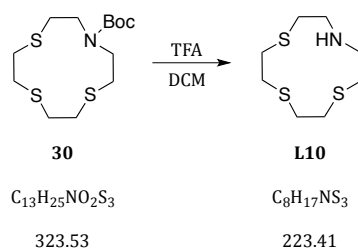
Durchführung

Unter Argon wurde Cäsiumcarbonat in 1250 mL absolutem DMF suspendiert und auf 65 °C erhitzt. Simultan wurden Lösungen von Verbindung **26** und **29** in jeweils 250 mL absolutem DMF innerhalb von insgesamt 22 Stunden hinzugegeben und nach vollständiger Zugabe für weitere 24 Stunden bei der gleichen Temperatur gerührt. Nachdem das Lösungsmittel vollständig im Vakuum entfernt wurde, wurde der Rückstand in einer Mischung aus 150 mL Chloroform und 150 mL Wasser aufgenommen, die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase dreimal mit je 150 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Ligroin/Ethylacetat; 20/1; R_f 0.3) aufgereinigt. Das Produkt **30** konnte als weißer Feststoff isoliert werden.

Ausbeute: 3.00 g (9 mmol, 11 %; Lit.: 55 %^[88])



1H -NMR: ($CHCl_3$, 400 MHz): 3.45 (br, 4 H, $CH_2^{6,7}$), 2.79 (s, 8 H, CH_2^{9-12}), 2.78–2.73 (m, 4 H, $CH_2^{5,8}$), 1.45 (s, 9 H, CH_3^{13}) ppm.

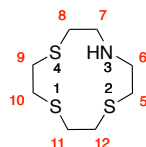
5.12.4 1,4,7-Trithia-10-azacyclododecan (**L10**)

<i>N</i> -Boc-1,4,7-trithia-10-azacyclododecan (30)	1.00 g (3 mmol)
DCM	60 mL
Trifluoressigsäure	10 mL

Durchführung

Der Boc-geschützte Makrozyklus **30** wurde in DCM gelöst und Trifluoressigsäure hinzugegeben. Es wurde für 30 Minuten gerührt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 100 mL Wasser aufgenommen und zweimal mit je 50 mL Chloroform gewaschen. Durch Zugabe von 30 mL 10 M Natronlauge wurde der pH-Wert auf 14 eingestellt und viermal mit je 50 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Makrozyklus **L10** als weißer Feststoff erhalten.

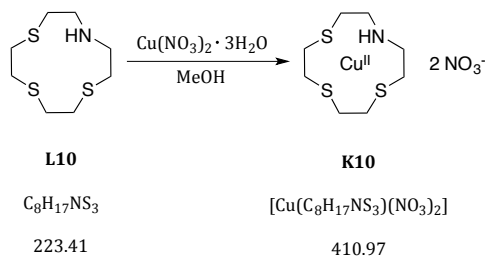
Ausbeute: 0.540 g (2.42 mmol, 78 %; Lit.: 76 %^[88])



¹H-NMR (CHCl₃, 500 MHz): 2.92–2.82 (m, 12 H, CH₂^{5,8,9,10,11,12}), 2.75–2.70 (m, 4 H, CH₂^{6,7}), 2.26 (br, 1 H, NH³) ppm.

¹³C-NMR (CHCl₃, 126 MHz): 49.98 (C^{6,7}), 32.42 (C^{9,12} o. 10,11), 32.37 (C^{9,12} o. 10,11), 31.38 (C^{5,8}) ppm.

ESI-MS m/z: 224.0579, berechnet [C₈H₁₇NS₃ + H]⁺ 224.0596.

5.12.5 [Cu([12]aneNS₃)NO₃]₂NO₃ (**K10**)

1,4,7-Trithia-10-azacyclododecan (L10)	110.3 mg (0.5 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	119.3 mg (0.5 mmol)
Acetonitril	6 mL

Durchführung

Der Ligand **L10** wurde in 5 mL Acetonitril gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 1 mL Acetonitril hinzugegeben und für weitere 10 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf -18 °C gekühlt, das ausgefallene dunkelgrüne Pulver abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

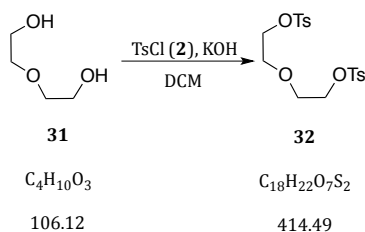
Ausbeute: 80.0 mg (0.2 mmol) 39 %

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	23.44	23.38
H [%]	4.15	4.17
N [%]	10.24	10.22
S [%]	23.40	23.40
max. Abweichung [%]		0.06

ESI-MS: m/z: 285.9928, berechnet [Cu(I)[12]aneNS₃]⁺ 285.9819.

UV/Vis (50 mM pH 7.4 Tris-HCl): λ_{max} (ϵ) = 659 nm (497 L mol⁻¹ cm⁻¹).

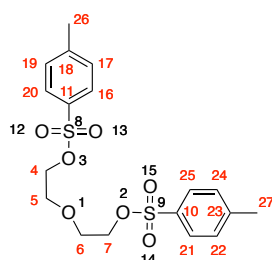
5.13 [Cu([12]aneN₂OS)NO₃]NO₃ (**K12**)5.13.1 1,5-Bis(tosyloxy)-3-oxapentan (**32**)

Diethylenglykol (31)	31.9 g (300 mmol)
Tosylchlorid (2)	114.4 g (600 mmol)
Kaliumhydroxid	135.0 g (2.4 mol)
DCM	600 mL

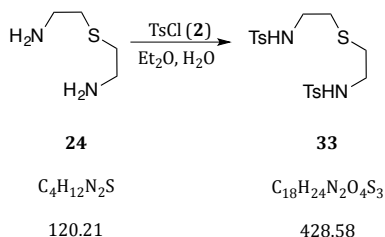
Durchführung

Zu einer 0 °C kalten Lösung aus Diethylenglykol (**31**) und Tosylchlorid (**2**) in 300 mL DCM wurde Kaliumhydroxid so hinzugegeben, dass die Temperatur 5 °C nicht überstieg. Nach kompletter Zugabe der Base wurde für weitere drei Stunden bei 0 °C gerührt, dann weitere 300 mL DCM und 360 mL Wasser zu der getrübbten Lösung gegeben. Die Phasen wurden getrennt, die wässrige Phase mit zweimal 150 mL DCM extrahiert und die vereinigten organischen Phasen zunächst mit 100 mL Wasser gewaschen und schließlich über Natriumsulfat getrocknet. Nachdem das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde, wurde Verbindung **32** als weißer Feststoff erhalten.

Ausbeute: 98.8 g (238 mmol) 79 %



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.81–7.74 (m, 4 H, Ar-H^{16,20,21,25}), 7.37–7.32 (m, 4 H, Ar-H^{17,19,22,24}), 4.13–4.04 (m, 4 H, Ar-H^{4,7}), 3.65–3.56 (m, 4 H, Ar-H^{5,6}), 2.45 (s, 6 H, Ar-H^{26,27}) ppm.

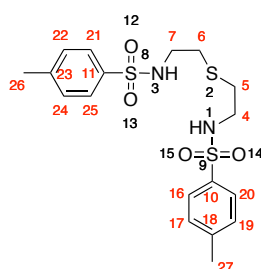
5.13.2 Bis[*p*-tolylsulfonylamino]ethylsulfid (**33**)

Bis(2-aminoethyl)sulfid (24)	17.5 g (146 mmol)
Tosylchlorid (2)	40.2 g (319 mmol)
Natriumhydroxid	12.8 g (320 mmol)
Diethylether	190 mL

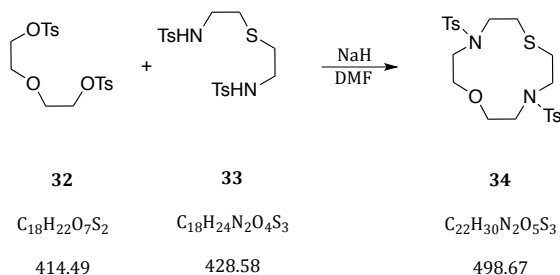
Durchführung

Zu einer Lösung von Verbindung **24** und Natriumhydroxid in 90 mL Wasser wurde bei 5 °C eine Lösung von Tosylchlorid (**2**) in Diethylether so hinzugegeben, dass die Temperatur des Reaktionsgemisches zwischen 5 und 10 °C verblieb. Es wurde für eine Stunde bei 10 °C, anschließend weitere drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Phasen wurden durch Zugabe von 7 %iger Salzsäure getrennt, die wässrige Phase mit dreimal 50 mL DCM extrahiert und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und das zurückbleibende rote, viskose Öl im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 56.4 g (132 mmol, 90 %; Lit.: 76 – 93 %^[88])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.76–7.70 (m, 4 H, Ar-H^{16,20,21,25}), 7.33–7.27 (m, 4 H, Ar-H^{17,19,22,24}), 5.28 (t, 2 H, *J* = 6.1 Hz, NH^{1,3}), 3.05 (q, 4 H, *J* = 6.4 Hz, Ar-H^{4,7}), 2.53 (t, 4 H, *J* = 6.5 Hz, Ar-H^{5,6}), 2.42 (s, 6 H, CH₃^{26,27}) ppm.

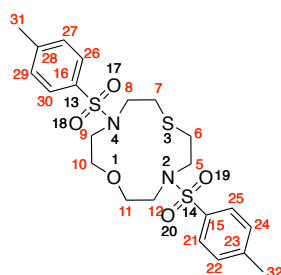
5.13.3 4,10-Bis(*p*-tolylsulfonyl)-1-oxa-7-thia-4,10-diazacyclododecan (**34**)

1,5-Bis(tosyloxy)-3-oxapentan (22)	16.86 g (41 mmol)
Bis[<i>p</i> -tolylsulfonylamino]ethyl]sulfid (33)	14.53 g (34 mmol)
Natriumhydrid (60 %)	3.06 g (75 mmol)
DMF	300 mL

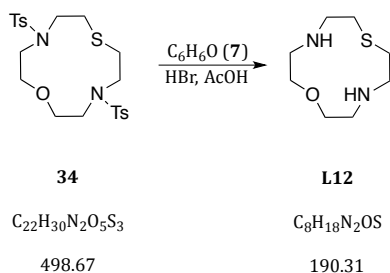
Durchführung

Zu einer Lösung von Bis[*p*-tolylsulfonylamino]ethyl]sulfid (**33**) in 50 mL abs. DMF wurde mit Hilfe einer Transferkanüle eine Suspension von NaH in 250 mL abs. DMF unter Argon hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für 45 Minuten bei 100 °C gerührt, bevor 1,5-Bis(tosyloxy)-3-oxapentan (**22**) in 35 mL DMF innerhalb von 5 Stunden zugetropft wurde. Nachdem für weitere 20 Stunden bei 100 °C gerührt wurde, wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das zurückbleibende Öl zu 500 mL Wasser gegeben. Der dabei ausfallende weiße Feststoff wurde abfiltriert, im Vakuum getrocknet und anschließend aus Aceton umkristallisiert. Die Verbindung **34** wurde als weißer, kristalliner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 7.139 g (14.3 mmol, 42 %; Lit.: 92 %^[169])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 7.73–7.54 (m, 4 H, Ar-H^{21,25,26,30}), 7.41–7.22 (m, 4 H, Ar-H^{22,24,27,29}), 3.66–3.51 (m, 4 H, CH₂^{10,11}), 3.37–3.28 (m, 4 H, CH₂^{9,12}), 3.30–3.22 (m, 4 H, CH₂^{5,8}), 2.79–2.68 (m, 4 H, CH₂^{6,7}), 2.41 (s, 6 H, Ar-H^{31,32}) ppm.

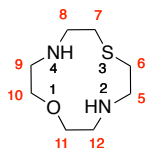
5.13.4 1-Oxa-7-thia-4,10-diazacyclododecan (**L12**)

Verbindung 34	7.20 g (84 mmol)
Phenol (7)	7.90 g (84 mmol)
HBr in Eisessig (32 %)	250 mL

Durchführung

Phenol und der tosylierte Makrozyklus **34** wurden gemeinsam in HBr/AcOH gelöst und bei 80 °C für 40 Stunden gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand in 250 mL Ethanol aufgenommen und Ethanol erneut im Vakuum entfernt, um etwaige Rückstände von Bromwasserstoffsäure zu entfernen. Der Rückstand wurde in 200 mL Wasser aufgenommen und zweimal mit je 200 mL Chloroform gewaschen. Der pH-Wert der wässrigen Phase wurde durch Zugabe von Kaliumhydroxidplättchen auf 14 gestellt und dann mit viermal 200 mL Chloroform extrahiert. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand über Sublimation (80 °C, 10⁻¹ mbar) aufgereinigt. Der Ligand **L12** wurde als weißer, kristalliner Feststoff erhalten.

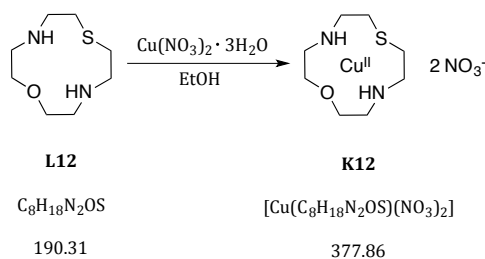
Ausbeute: 996.2 mg (5.2 mmol, 37 %; Lit.: 20 %^[90])



¹H-NMR (CD₂Cl₂, 400 MHz): 3.62–3.53 (m, 4 H, CH₂^{10,11}), 2.81–2.76 (m, 4 H, CH₂^{9,12}), 2.76–2.71 (m, 4 H, CH₂^{5,8}), 2.70–2.65 (m, 4 H, CH₂^{6,7}), 2.37 (s, 2 H, NH^{2,4}) ppm.

¹³C-NMR (CD₂Cl₂, 101 MHz): 67.49 (C^{10,11}), 47.88 (C^{9,12}), 46.40 (C^{5,8}), 33.72 (C^{6,7}) ppm.

ESI-MS m/z: 191.1426, berechnet [M + H]⁺ 191.1213.

5.13.5 [Cu([12]aneN₂OS)NO₃]₂NO₃ (**K12**)

1-Oxa-7-thia-4,10-diazacyclododecan (L12)	163.6 mg (0.9 mmol)
Kupfer(II)-nitrat Trihydrat	208.0 mg (0.9 mmol)
Ethanol	6 mL

Durchführung

Frisch sublimiertes [12]aneN₂OS wurde in 3 mL Ethanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 3 mL Ethanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Komplex **K12** wurde als hellblauer, kristalliner Feststoff erhalten.

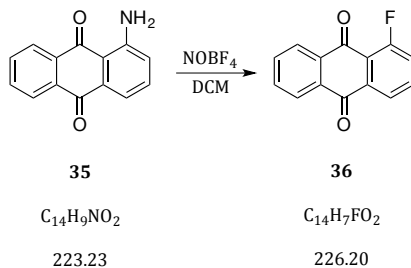
Ausbeute: 240.0 mg (0.6 mmol, 75 %)

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	25.525	25.43
H [%]	4.6205	4.80
N [%]	14.63	14.83
S [%]	8.648	8.48
max. Abweichung [%]		0.2

ESI-MS m/z: 252.0390, berechnet [Cu(C₈H₁₈N₂OS) – H]⁺ 252.0363.

UV/Vis (50 mM pH 7.4 Tris-HCl): λ_{max} (ε) = 658 nm (58 L mol⁻¹ cm⁻¹).

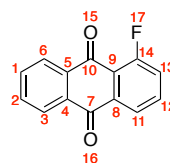
5.14 Synthese von Komplex **K13**5.14.1 1-Fluoranthrachinon (**36**)

1-Aminoanthrachinon (35)	0.713 g (3.2 mmol)
Nitrosyltetrafluoridoborat	0.540 g (4.6 mmol)
DCM	100 mL
1,2-Dichlorbenzol	100 mL

Durchführung

Nitrosyltetrafluoridoborat wurde in 100 mL DCM suspendiert und auf 0 °C gekühlt. Es wurde 1-Aminoanthrachinon (**35**) hinzugegeben und zunächst eine weitere Stunde bei 0 °C gerührt und anschließend für eine Stunde zum Rückfluss erhitzt. Es wurden 100 mL Dichlorbenzol hinzugegeben, das DCM in der Hitze abgedampft und anschließend filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand über Sublimation (130 °C, 10⁻² mbar) aufgereinigt. Das Sublimat wurde ein weiteres Mal über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Hexan/EtOAc, 4/1; *R_f* 0.43) aufgereinigt und die Verbindung **36** als hellgelbes Pulver erhalten.

Ausbeute: 0.251 g (1.1 mmol, 34 %; Lit.: 90 %^[120])

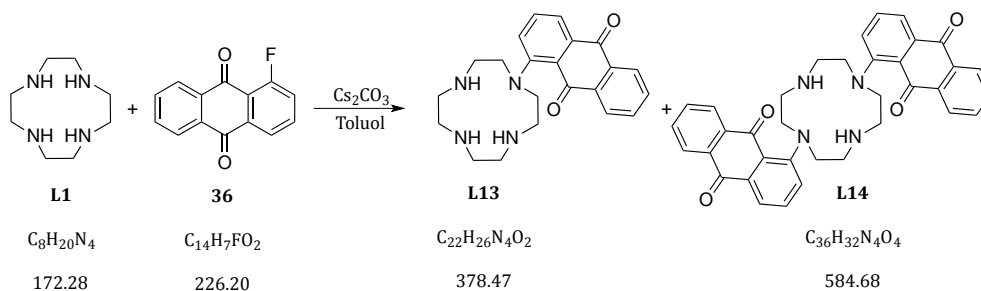


¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 8.28 (m, 2 H, Ar-H^{3,6}), 8.17 (m, 1 H, Ar-H¹¹), 7.86–7.73 (m, 3 H, Ar-H^{1,2,12}), 7.49 (m, 1 H, Ar-H¹³) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 182.39 (d, *J_{F,C}* = 3.6 Hz, Ar-C¹⁰), 181.42 (Ar-C⁷), 161.69 (d, *J_{F,C}* = 257.7 Hz, Ar-C¹³), 135.58 (d, *J_{F,C}* = 10.0 Hz, Ar-C¹²), 135.24 (Ar-C⁵), 134.68 (Ar-C¹), 134.20 (Ar-C²), 134.08 (Ar-C⁸), 132.64 (Ar-C⁴), 127.40 (Ar-C³), 127.20 (Ar-C⁶), 123.77 (d, *J_{F,C}* = 3.5 Hz, Ar-C¹¹), 123.24 (d, *J_{F,C}* = 22.4 Hz, Ar-C¹³), 121.29 (d, *J_{F,C}* = 4.1 Hz, Ar-C⁹) ppm.

¹⁹F-NMR (CDCl₃, 400 MHz): -110.83 (dd, *J_{F,H}* = 11.0 u. 4.5 Hz, F¹⁷) ppm.

ESI-MS *m/z*: 227.0503, berechnet [M + H]⁺ 227.0508.

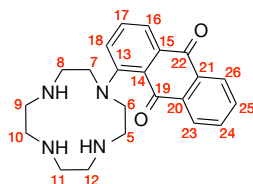
5.14.2 1-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)anthrachinon (**L14**)

Tetraazacyclododecan (L1)	2.240 g (12.6 mmol)
1-Fluoranthrachinon (36)	0.678 g (3.0 mmol)
Cäsiumcarbonat	4.205 g (14.7 mmol)
abs. Toluol	450 mL

Durchführung

Frisch sublimiertes Cyclen wurde gemeinsam mit Cäsiumcarbonat unter Argon in 300 mL Toluol gelöst bzw. suspendiert und auf 40 °C erhitzt. Innerhalb von 2.5 Stunden wurde eine Lösung von 1-Fluoranthrachinon (**36**) in 150 mL Toluol hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde die nunmehr rote Lösung weitere 3.5 Tage bei 40 °C gerührt. Es wurde filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 600 mL 0.4 M Salzsäure aufgenommen. Es wurde dreimal mit je 200 mL DCM gewaschen und dann der pH-Wert der wässrigen Phase durch Zugabe von Natriumhydroxid auf 14 eingestellt. Nachdem die wässrige Phase nun dreimal mit 200 mL DCM extrahiert wurde, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet wurden und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde, wurden die Produkte **L13** u. **L14** nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: DCM/MeOH/*i*-PrNH₂; 25/1/1; *R_f***L13**: 0.25 u. **L14** 0.4) als rote Feststoffe erhalten.

Ausbeute: 0.403 g **L13** (1.1 mmol, 36 %)



¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 8.21–8.18 (m, 2 H, Ar-H^{23,26}), 8.07 (dd, 1 H, *J* = 7.5 u. 1.3 Hz, Ar-H¹⁶), 7.77 (dd, 1 H, *J* = 8.1 u. 1.3 Hz, Ar-H¹⁸), 7.75–7.70 (m, 2 H, Ar-H^{24,25}), 7.65 (dd, 1 H, *J* = 8.1 u. 7.6 Hz, Ar-H¹⁷), 3.40–3.36 (m, 4 H, CH₂^{6,7}), 2.88–2.85 (m, 4 H, CH₂^{5,8}), 2.71–2.88 (m, 8 H, CH₂⁹⁻¹²) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 183.64 (Ar-C¹⁹ o. ²²), 183.57 (Ar-C¹⁹ o. ²²), 153.59 (Ar-C¹³), 136.01 (Ar-C²⁰ o. ²¹), 135.49 (Ar-C²⁰ o. ²¹), 134.24 (Ar-C²⁴ o. ²⁵), 134.21 (Ar-C²⁴ o. ²⁵), 133.40 (Ar-C¹⁷), 132.65 (Ar-C¹⁵), 127.27 (Ar-C²³ o. ²⁶), 126.68 (Ar-C²³ o. ²⁶), 123.59 (Ar-C¹⁶), 120.28 (Ar-C¹⁸), 53.26 (C^{6,7}), 47.89 (C⁹⁻¹²), 46.66 (C⁹⁻¹²), 46.01 (C^{5,8}) ppm.

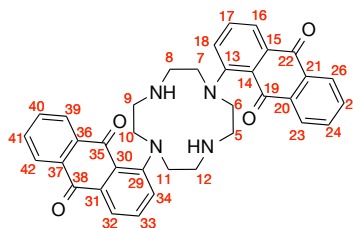
C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	69.785	69.82
H [%]	7.258	6.92
N [%]	14.795	14.8
max. Abweichung [%]		0.33

ESI-MS m/z: 379.2147, berechnet [M + H]⁺ 379.2134.

Ausbeute: 0.1 g **L14** (0.2 mmol, 7 %)

Habitus: roter Feststoff



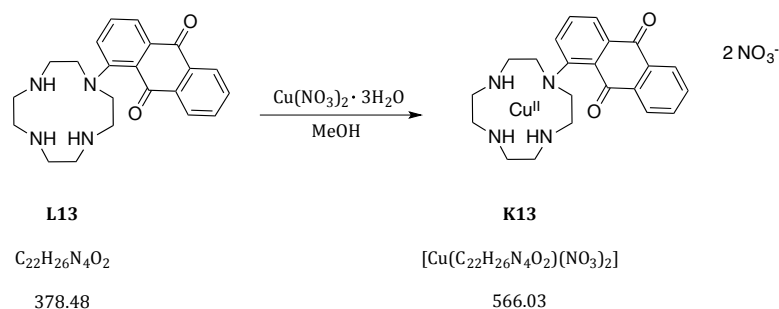
¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 8.23–8.20 (m, 2 H, Ar-H^{26,42}), 8.12–8.09 (m, 2 H, Ar-H^{23,39}), 8.06–8.03 (m, 2 H, Ar-H^{16,32}), 7.94–7.88 (m, 2 H, Ar-H^{18,34}), 7.76–7.70 (m, 4 H, Ar-H^{24,25,40,31}), 7.61–7.58 (m, 2 H, Ar-H^{17,33}), 3.48–3.45 (m, 8 H, CH₂^{6,7,10,11}), 2.76 (br, 8 H, CH₂^{5,8,9,12}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 183.77 (Ar-C^{19,35} o. ^{22,38}), 183.21 (Ar-C^{19,35} o. ^{22,38}), 153.68 (Ar-C^{13,29}), 135.98 (Ar-C^{20,36} o. ^{21,37}), 135.52 (Ar-C^{20,36} o. ^{21,37}), 134.22 (Ar-C^{17,33}), 134.08 (Ar-C^{24,40} o. ^{25,41}), 133.98 (Ar-C^{24,40} o. ^{25,41}), 133.62 (Ar-C^{18,34}), 132.66 (Ar-C^{15,31}), 127.24 (Ar-C^{23,39}), 126.70 (Ar-C^{26,42}), 122.82 (Ar-C^{16,32}), 118.44 (Ar-C^{14,30}), 53.19 (C^{6,7,10,11}), 47.56 (C^{5,8,9,12}) ppm.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
		(C ₃₆ H ₃₂ N ₄ O ₄ • 0.05 CH ₂ Cl ₂ • 0.25 <i>i</i> -PrNH ₂)
C [%]	73.43	73.22
H [%]	5.985	5.74
N [%]	9.662	9.86
max. Abweichung [%]		0.25

ESI-MS m/z: 585.2505, berechnet [M + H]⁺ 585.2496.

5.14.3 Synthese von Komplex **K13**

1-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)anthrachinon (L13)	0.146 g (0.4 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.940 g (0.4 mmol)
Methanol	8 mL

Durchführung

Der Ligand **L13** wurde in 4 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 4 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf $-19\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt, der ausgefallene schwarze kristalline Feststoff abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

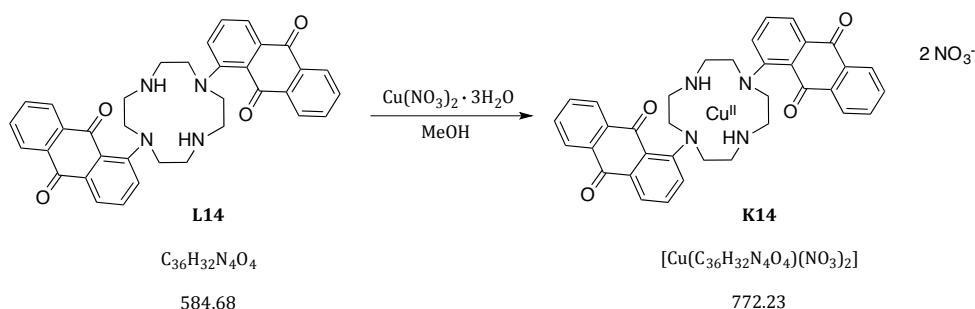
Ausbeute: 137.7 mg (0.23 mmol, 60 %)

ESI-MS: m/z: 440.1474, berechnet $[\text{Cu}(\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2) - \text{H}]^+$ 440.1279.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
		$[(\text{Cu}(\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2)(\text{NO}_3)_2) \cdot 1 \text{CH}_3\text{OH}]$
C [%]	46.335	46.19
H [%]	4.994	5.06
N [%]	14.03	14.05
max. Abweichung [%]		0.14

UV/Vis (50 mM Tris-HCl, pH 7.4): λ_{max} (ϵ) = 569 nm (224 L mol⁻¹ cm⁻¹);
336 nm (5436 L mol⁻¹ cm⁻¹).

5.15 Synthese von Komplex **K14**

1,1'-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,7-diyl)bis(anthrachinon) 30.6 mg (0.05 mmol)

Kupfer(II)nitrat Trihydrat 14.0 mg (0.06 mmol)

Methanol 7 mL

Durchführung

Der Ligand **L14** wurde in 6 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 1 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf $-19\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt, die tannengrünen Nadeln abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 17.0 mg (0.02 mmol, 44 %)

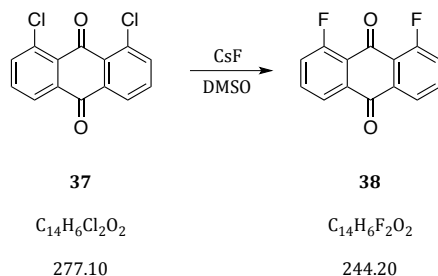
C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet
		$[\text{Cu}(\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_4)(\text{NO}_3)_2] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
C [%]	53.425	53.5
H [%]	4.176	4.49
N [%]	10.11	10.4
max. Abweichung [%]		0.31

ESI-MS: m/z 646.1795, berechnet $[\text{Cu}(\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_4) - \text{H}]^+$ 646.1647.

UV/Vis (50 mM Tris-HCl, pH 7.4): λ_{max} (ϵ) = 626 nm (266 L mol⁻¹ cm⁻¹);

339 nm (10774 L mol⁻¹ cm⁻¹).

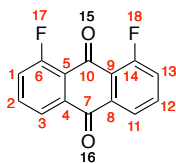
5.16 Synthese von Komplex **K15**5.16.1 1,8-Difluoranthrachinon (**38**)

1,8-Dichloranthrachinon (37)	2.00 g (7 mmol)
Cäsiumfluorid	4.00 g (26 mmol)
DMSO	10 mL

Durchführung

1,8-Dichloranthrachinon (**37**, bei 60 °C im HV für 8 Stunden getrocknet) wurde unter Argon zu einer Suspension von Cäsiumfluorid (bei 155 °C für 8 Stunden im HV getrocknet) in 10 mL abs. DMSO gegeben und das Reaktionsgemisch für 16 Stunden bei 135 °C gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde die Reaktionsmischung auf 200 mL Wasser gegeben, der Feststoff abfiltriert und mit viermal 200 mL Wasser und anschließend mit 20 mL Methanol gewaschen. Es wurde im Vakuum getrocknet und das Rohprodukt über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: DCM/Hexan; 1/1; R_f 0.3) aufgereinigt. Die Verbindung **38** wurde als oranger Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.905 g (3.7 mmol, 53 %; Lit.: 60 %^[117])

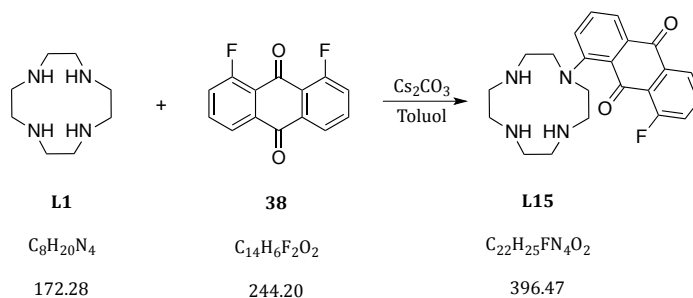


¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 8.12 (dd, 2 H, $J = 7.7$ u. 1.2 Hz, Ar-H^{3,11}), 7.75 (dt, 2 H, $J = 8.0$ u. 4.5 Hz, Ar-H^{2,12}), 7.50 (ddd, 2 H, $J = 10.8$, 8.2 u. 1.2 Hz, Ar-H^{1,13}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 181.56 (Ar-C¹⁰), 179.48 (Ar-C⁷), 161.58 (d, $J_{FC} = 269.6$ Hz, Ar-C^{6,14}), 135.38 (d, $J_{FC} = 9.8$ Hz, Ar-C^{2,12}), 134.56 (Ar-C^{4,8}), 123.56 (d, $J_{FC} = 21.9$ Hz, Ar-C^{1,13}), 123.55 (d, $J_{FC} = 3.8$ Hz, Ar-C^{3,11}), 122.18 (d, $J_{FC} = 21.9$ Hz, Ar-C^{5,9}) ppm.

¹⁹F-NMR (CDCl₃, 400 MHz): -111.32 (td, $J_{FH} = 10.9$ u. 4.6 Hz, F^{17,18}) ppm.

ESI-MS m/z: 267.0243, berechnet [M + Na]⁺ 267.0234.

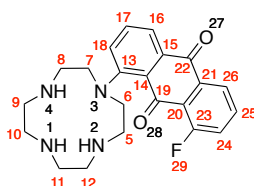
5.16.2 1-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)-8-fluoranthrachinon (**L15**)

1,8-Difluoranthrachinon (38)	0.488 g (2.0 mmol)
Cyclen (L1)	2.75 g (16 mmol)
Cäsiumcarbonat	6.26 g (13 mmol)
Toluol	300 mL

Durchführung

Innerhalb von acht Stunden wurde eine Lösung von 1,8-Difluoranthrachinon (**38**) in 60 mL abs. Toluol unter Argon zu einer Suspension aus Cyclen und Cäsiumcarbonat in 240 mL abs. Toluol bei 40 °C hinzugetropft. Die nunmehr rote Lösung wurde für weitere 40 Stunden bei 40 °C gerührt, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das Rohprodukt wurde über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Toluol/Methanol/*i*-Pr-NH₂; 100/5/5; *R_f* 0.2) aufgereinigt und der Ligand **L15** als ziegelroter kristalliner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.463 g (1.2 mmol, 58 %)



¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 8.01 (dd, 1 H, *J* = 7.7 u. 1.1 Hz, Ar-H²⁶), 7.97 (dd, 1 H, *J* = 7.5 u. 1.2 Hz, Ar-H¹⁶), 7.80 (dd, 1 H, *J* = 8.2 u. 1.2 Hz, Ar-H¹⁸), 7.65 (dt, 1 H, *J* = 8.0 u. 4.6 Hz, Ar-H²⁵), 7.61 (dd, 1 H, *J* = 7.5 u. 1.2 Hz, Ar-H¹⁷), 7.41 (ddd, 1 H, *J* = 10.5, 8.2 u. 1.2 Hz, Ar-H²⁴), 3.41–3.38 (m, 4 H, CH₂^{6,7}), 2.84–2.81 (m, 4 H, CH₂⁹⁻¹²), 2.69–2.67 (m, 4 H, CH₂^{5,8}), 2.65–2.63 (m, 4 H, CH₂⁹⁻¹²) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 182.64 (Ar-C¹⁹), 182.59 (Ar-C²²), 160.62 (d, *J_{FC}* = 265.2 Hz, Ar-C²³), 153.12 (Ar-C¹³), 134.78 (d, *J_{FC}* = 10.0 Hz Ar-C²⁰), 134.35 (d, *J_{FC}* = 9.0 Hz, Ar-C²⁵), 133.99 (Ar-C¹⁶), 133.88 (Ar-C¹⁷), 129.45 (Ar-C^{14,15}), 123.83 (d, *J_{FC}* = 5.5 Hz, Ar-C²¹), 122.98

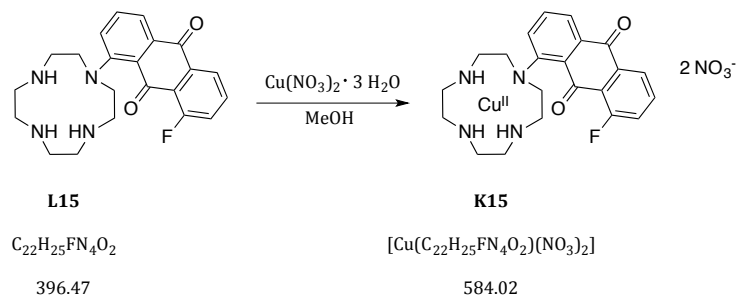
(Ar-C²⁶), 122.74 (d, $J_{F,C} = 22.02$ Hz, Ar-C²⁴), 122.61 (Ar-C¹⁶), 53.51 (C^{6,7}), 47.65 (C⁹⁻¹²), 46.61 (C^{5,8}), 45.79 (C⁹⁻¹²) ppm.

¹⁹F-NMR (CDCl₃, 400 MHz): -114.24 (dd, $J_{F,H} = 10.8$ u. 5.1 Hz, F²⁹) ppm.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	66.82	66.65
H [%]	6.656	6.360
N [%]	14.00	14.13
max. Abweichung [%]		0.3

ESI-MS m/z: 397.2239, berechnet [M + H]⁺ 397.2040.

5.16.3 Synthese von Komplex **K15**

Verbindung L15	196.7 mg (0.5 mmol)
Kupfer(II)-nitrat Trihydrat	181.2 mg (0.75 mmol)
Methanol	5 mL

Durchführung

Der Ligand **L15** wurde in 4 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 1 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Feststoff wurde abfiltriert, aus Methanol umkristallisiert und der Komplex **K15** nach Filtration als schwarzer Feststoff erhalten.

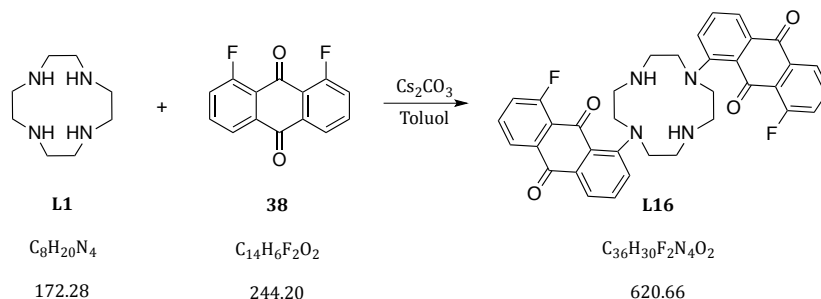
Ausbeute: 146.0 mg (0.25 mmol, 50 %)

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet
		$[\text{Cu}(\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{FN}_4\text{O}_2)(\text{NO}_3)_2] \cdot 0.5 \text{CH}_3\text{OH}$
C [%]	45.42	45.05
H [%]	4.939	4.54
N [%]	14.09	14.01
max. Abweichung [%]		0.4

ESI-MS: m/z 458.1226, berechnet $[\text{Cu}(\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_4) - \text{H}]^+$ 458.1185.

UV/Vis (50 mM Tris-HCl, pH 7.4): λ_{max} (ϵ) = 558 nm (268 L mol⁻¹ cm⁻¹);
350 nm (6095 L mol⁻¹ cm⁻¹).

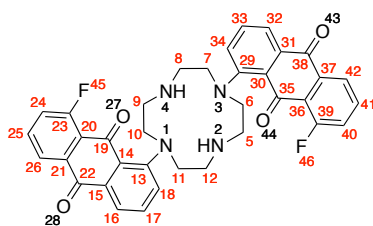
5.17 Synthese von Komplex **K16**5.17.1 8,8'-(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,7-diyl)bis(1-fluoranthrachinon) (**L16**)

1,8-Difluoranthrachinon (38)	0.366 g (1.5 mmol)
Cyclen (L1)	0.130 g (0.75 mmol)
Cäsiumcarbonat	2.00 g (6 mmol)
Toluol	20 mL

Durchführung

Eine Suspension aus Cäsiumcarbonat, Cyclen (**L1**) und 1,8-Difluoranthrachinon (**38**) in Toluol wurde bei 60 °C für 45 Stunden bei 60 °C gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde die Lösung filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Toluol/Methanol/*i*-Pr-NH₂; 100/5/5; *R_f* 0.4) aufgereinigt. Der Ligand **L16** wurde als ziegelroter, kristalliner Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.246 g (0.4 mmol, 53 %)



¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 8.03 (dd, 2 H, *J* = 7.7 u. 1.1 Hz, Ar-H^{26,42}), 7.96 (dd, 2 H, *J* = 7.5 u. 1.0 Hz, Ar-H^{16,32}), 7.87–7.84 (m, 2 H, Ar-H^{18,34}), 7.66 (td, 2 H, *J* = 8.0 u. 4.5 Hz, Ar-H^{25,41}), 7.57 (m, 2 H, Ar-H^{17,33}), 7.41 (ddd, 2 H, *J* = 10.7, 8.2 u. 1.2 Hz, Ar-H^{24,40}), 3.46 (t, 8 H, *J* = 5.1 Hz, CH₂^{6,7,10,11}), 2.75 (t, 8 H, *J* = 5.1 Hz, CH₂^{5,8,9,12}) ppm.

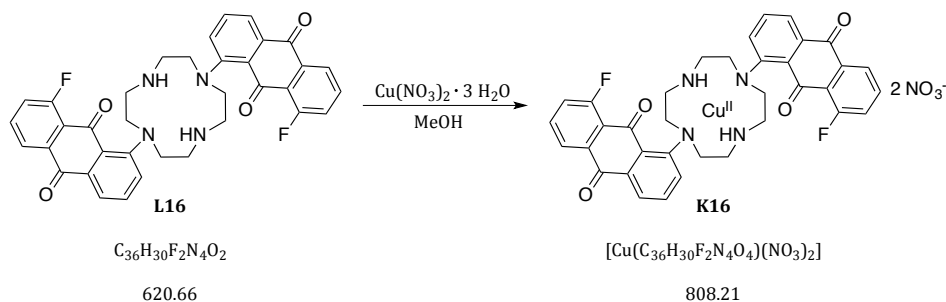
¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 182.75 (Ar-C^{19,35}), 182.34 (Ar-C^{22,38}), 160.71 (d, *J_{FC}* = 265.8 Hz, Ar-C^{23,39}), 152.88 (Ar-C^{13,29}), 134.82 (d, *J_{FC}* = 13.8 Hz, Ar-C^{20,36}), 134.38 (d, *J_{FC}* = 9.2 Hz, Ar-C^{25,41}), 133.88 (Ar-C^{16,32}), 133.83 (Ar-C^{17,33}), 128.47 (Ar-C^{14,15,30,31}), 123.73 (d, *J_{FC}* = 5.4 Hz, Ar-C^{21,37}), 123.02 (Ar-C^{26,42}), 122.80 (d, *J_{FC}* = 22.1 Hz, Ar-C^{24,40}), 122.28 (Ar-C^{16,32}), 53.31 (C^{6,7,10,11}), 47.29 (C^{5,8,9,12}) ppm.

^{19}F -NMR (CDCl_3 , 400 MHz): -113.99 (dd, $J_{\text{F,H}} = 10.2$ u. 3.9 Hz, F^{45,46}) ppm.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet ($\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_4 \cdot 0.05 \text{CH}_2\text{Cl}_2$)
C [%]	69.22	68.9
H [%]	5.156	5.43
N [%]	7.783	8.12
max. Abweichung [%]		0.33

ESI-MS m/z: 621.2293, berechnet $[\text{M} + \text{H}]^+$ 621.2313.

5.17.2 Synthese von Komplex **K16**

Verbindung L16	250.0 mg (0.4 mmol)
Kupfer(II)-nitrat Trihydrat	148.0 mg (0.6 mmol)
Methanol	10 mL
Chloroform	8 mL

Durchführung

Der Ligand **L16** wurde in einer Mischung aus 8 mL Methanol und 8 mL Chloroform gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 2 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Der schwarze Feststoff wurde durch Zugabe von Ether ausgefällt, abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

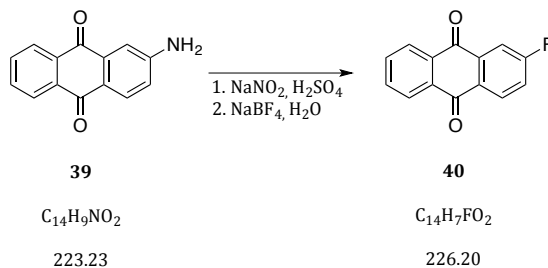
Ausbeute: 193.0 mg (0.24 mmol, 60 %)

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet
		$[(\text{Cu}(\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_4)(\text{NO}_3)_2) \cdot 4.5 \text{H}_2\text{O}]$
C [%]	48.81	48.62
H [%]	4.273	4.42
N [%]	9.34	9.45
max. Abweichung [%]		0.19

ESI-MS: m/z 682.1427, berechnet $[\text{Cu}(\text{C}_{36}\text{H}_{30}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_4) - \text{H}]^+$ 682.1458.

UV/Vis (50 mM Tris-HCl, pH 7.4): λ_{max} (ϵ) = 573 nm (515 L mol⁻¹ cm⁻¹);
342 nm (15234 L mol⁻¹ cm⁻¹).

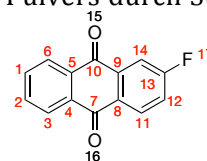
5.18 Synthese von Komplex **K17**5.18.1 2-Fluoranthrachinon (**40**)

2-Aminoanthrachinon (39)	17.40 g (70 mmol)
Natriumnitrit	5.81 g (84 mmol)
Natriumtetrafluoridoborat	10.52 g (96 mmol)
96 %ige Schwefelsäure	240 mL

Durchführung

2-Aminoanthrachinon (**39**) und Natriumnitrit wurden in 240 mL säure gelöst und für drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Es wurden nacheinander 1 kg Eis und eine Lösung von Natriumtetrafluoridoborat zu dem Reaktionsgemisch gegeben und für eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Das ausgefallene Diazoniumsalz wurde mit Hilfe einer Fritte abfiltriert, mit 500 mL eiskaltem Wasser und je 100 mL Methanol und Diethylether gewaschen und schließlich an Luft getrocknet. Das Diazoniumsalz wurde in 400 mL Toluol suspendiert und unter Rückfluss für vier Stunden zu 2-Fluoranthrachinon (**40**) zersetzt. Die so erhaltene Lösung wurde über Kieselgelfiltration aufgereinigt, wobei das Kieselgel mehrmals mit Toluol gespült wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und reines 2-Fluoranthrachinon in Form eines gelben Pulvers durch Sublimation ($130\text{ }^\circ\text{C}$, 4×10^{-2} mbar) erhalten.

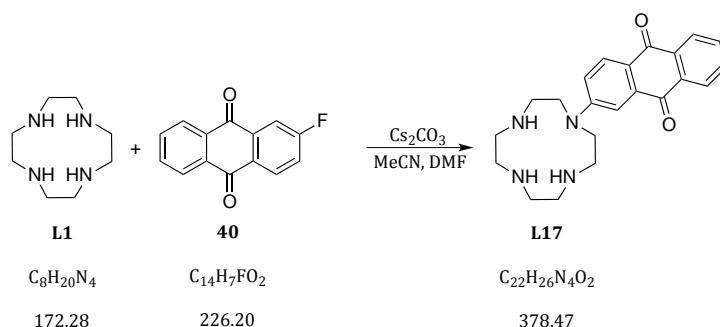
Ausbeute: 7.32 g (32.4 mmol, 46 %; Lit.: 43 %^[121])



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 700 MHz): 8.30 (dd, 1 H, $J = 8.6$ u. 5.3 Hz, Ar-H¹¹), 8.27–8.23 (m, 2 H, Ar-H^{3,6}), 7.88 (dd, 1 H, $J = 8.7$ u. 2.7 Hz, Ar-H¹⁴), 7.80–7.73 (m, 2 H, Ar-H^{1,2}), 7.42 (ddd, 1 H, $J = 8.6$, 7.8 u. 2.7 Hz, Ar-H¹²) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 176 MHz): 182.08 (Ar-C⁷), 181.81 (Ar-C¹⁰), 166.43 (d, $J_{\text{F,C}} = 257.6$ Hz, Ar-C¹³), 136.27 (d, $J_{\text{F,C}} = 8$ Hz, Ar-C⁹), 134.36 (d, $J_{\text{F,C}} = 52.3$ Hz, Ar-C^{1,2}), 133.42 (d, $J_{\text{F,C}} = 18.3$ Hz, Ar-C⁸), 130.66 (d, $J_{\text{F,C}} = 8.8$ Hz, Ar-C¹¹), 130.18 (Ar-C^{4,5}), 127.42, 127.28 (Ar-C^{3,6}), 121.50 (d, $J_{\text{F,C}} = 22.5$ Hz, Ar-C¹²), 113.80 (d, $J_{\text{F,C}} = 23.4$ Hz, Ar-C¹⁴) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): -101.46 – -101.53 (m, F¹⁷) ppm.

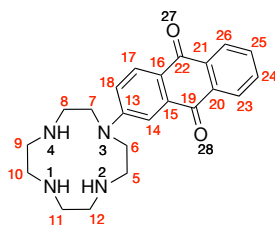
5.18.2 2-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)anthrachinon (**L17**)

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (L1)	2.55 g (14.8 mmol)
2-Fluoranthrachinon (40)	0.80 g (3.5 mmol)
Cäsiumcarbonat	4.80 g (14.7 mmol)
Acetonitril	250 mL
DMF	20 mL

Durchführung

Frisch sublimiertes Cyclen wurde gemeinsam mit Cäsiumcarbonat unter Argon in 220 mL Acetonitril gelöst bzw. suspendiert und auf 80 °C erhitzt. Innerhalb von 4 Stunden wurde eine Lösung von Fluoranthrachinon in einer Mischung aus 30 mL Acetonitril und 20 mL DMF hinzugegeben. Nach beendeter Zugabe wurde die nunmehr rote Lösung weitere 14 Stunden gerührt. Daraufhin wurde das Reaktionsgemisch filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 200 mL 0.2 M Salzsäure aufgenommen. Es wurde dreimal mit je 100 mL DCM gewaschen und dann der pH-Wert durch Zugabe von 10 M Natriumhydroxidlösung auf 14 eingestellt. Es wurde mit dreimal 150 mL DCM extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Ligand **L17** wurde nach Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: DCM/MeOH/*i*-PrNH₂; 8/1/1; *R_f* 0.47) als roter Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.353 g (0.9 mmol, 27 %)



¹H-NMR (MeOD, 700 MHz): 8.09 (dd, 1 H, *J* = 7.6 u. 1.4 Hz, Ar-H^{23 o. 26}), 8.04 (dd, 1 H, *J* = 7.6 u. 1.4 Hz, Ar-H^{23 o. 26}), 7.85 (d, 1 H, *J* = 8.8 Hz, Ar-H¹⁷), 7.78 (td, 1 H, *J* = 7.4 u. 1.4 Hz, Ar-H^{24 o. 25}), 7.74 (td, 1 H, *J* = 7.4 u. 1.4 Hz, Ar-H^{24 o. 25}), 7.23 (d, 1 H, *J* = 2.8 Hz, Ar-H¹⁴), 7.01 (dd, 1 H,

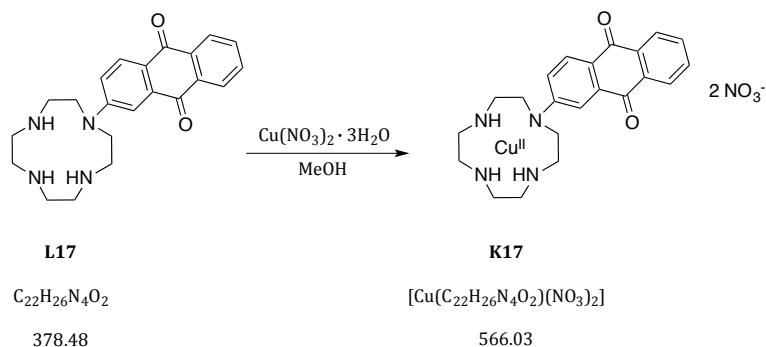
$J = 8.9$ u. 2.8 Hz, Ar-H¹⁸), 3.76–3.72 (m, 4 H, CH₂^{6,7}), 3.17–3.13 (m, 4 H, CH₂^{5,8}), 2.93–2.82 (m, 8 H, CH₂^{9,10,11,12}) ppm.

¹³C-NMR (MeOD, 176 MHz): 184.56 (Ar-C¹⁹), 182.59 (Ar-C²²), 153.23 (Ar-C¹³), 135.87 (Ar-C¹⁵), 135.34 (Ar-C²⁴ o. ²⁵), 135.11 (Ar-C¹⁶), 134.63 (Ar-C²⁰), 134.59 (Ar-C²⁴ o. ²⁵), 130.59 (Ar-C¹⁷), 127.81 (Ar-C²³ o. ²⁶), 127.64 (Ar-C²³ o. ²⁶), 123.93 (Ar-C²¹), 118.40 (Ar-C¹⁸), 110.00 (Ar-C¹⁴), 52.40 (C^{6,7}), 50.36 (C^{9,12} o. ^{10,11}), 48.26 (C^{5,8}), 46.51 (C^{9,12} o. ^{10,11}) ppm.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet (C ₂₂ H ₂₆ N ₄ O ₂ • 0.75 CH ₂ Cl ₂ • 0.4 C ₃ H ₉ N)
C [%]	61.75	61.75
H [%]	6.869	6.730
N [%]	13.06	13.23
max. Abweichung [%]		0.23

ESI-MS m/z: 379.2585, berechnet [M + H]⁺ 379.2134.

5.18.3 Synthese von Komplex **K17**

Verbindung L17	71.1 mg (0.2 mmol)
Kupfer(II)-nitrat Trihydrat	45.4 mg (0.2 mmol)
Methanol	6 mL

Durchführung

Der Ligand **L17** wurde in 5 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 1 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Der petrolblaue Komplex **K17** wurde im Gefrierschrank auskristallisiert, abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

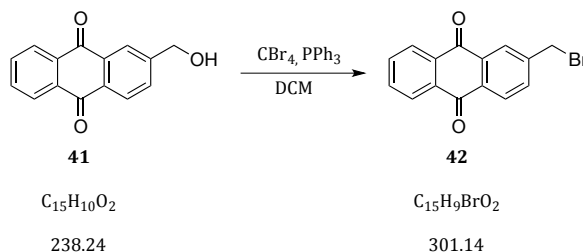
Ausbeute: 55.0 mg (0.1 mmol, 51 %)

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet $([\text{Cu}(\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2)(\text{NO}_3)_2] \cdot 0.35 \text{ CH}_3\text{OH})$
C [%]	46.74	46.5
H [%]	4.654	4.78
N [%]	14.335	14.56
max. Abweichung [%]		0.24

ESI-MS: m/z: 440.1337, berechnet $[\text{Cu}(\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2) - \text{H}]^+$ 440.1279.

UV/Vis (50 mM Tris-HCl, pH 7.4): λ_{max} (ϵ) = 611 nm (406 L mol⁻¹ cm⁻¹);
 319 nm (11494 L mol⁻¹ cm⁻¹).

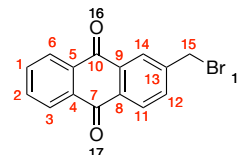
5.19 Synthese von Komplex **K18**5.19.1 2-Brommethylantrachinon (**42**)

2-Hydroxymethylantrachinon (41)	1.00 g (4.2 mmol)
Tetrabrommethan	2.09 g (6.3 mmol)
Triphenylphosphan	1.32 g (5.0 mmol)
DCM	70 mL

Durchführung

2-Hydroxymethylantrachinon (**41**) wurde in 70 mL DCM suspendiert und nacheinander Tetrabrommethan und Triphenylphosphan hinzugegeben. Es wurde für 19.5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, anschließend 70 mL gesättigte NaHCO_3 -Lsg. hinzugegeben und für weitere 30 Minuten gerührt. Die Phasen wurden getrennt, die organische Phase mit je dreimal 100 mL ges. NaHCO_3 -Lsg. und Brine gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand über Säulenchromatographie an Kieselgel aufgereinigt. Das Bromid **42** wurde als hellgelber Feststoff erhalten.

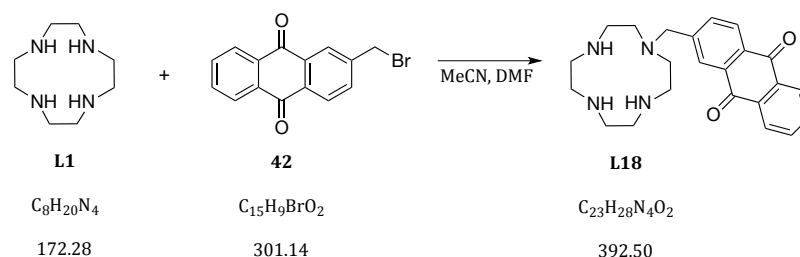
Ausbeute: 0.735 g (2.4 mmol, 58 %; Lit.: 62 %^[136])



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 8.35–8.28 (m, 4 H, Ar-H^{3,6,11,14}), 7.85–7.78 (m, 3 H, Ar-H^{1,2,12}), 4.60 (s, 2 H, CH_2^{15}) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz): 182.84 (Ar-C¹⁰), 182.69 (Ar-C⁷), 144.34 (Ar-C¹³), 134.69 (Ar-C¹²), 134.45 (Ar-C^{1 o. 2}), 134.39 (Ar-C^{1 o. 2}), 134.01 (Ar-C⁹), 133.58 (Ar-C^{4 o. 5}), 133.57 (Ar-C^{4 o. 5}), 133.28 (Ar-C⁸), 128.22 (Ar-C¹⁴), 127.70 (Ar-C¹¹), 127.47 (Ar-C^{3 o. 6}), 127.46 (Ar-C^{3 o. 6}), 31.61 (C¹⁵).

ESI-MS m/z: 322.9679, berechnet $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 322.9684.

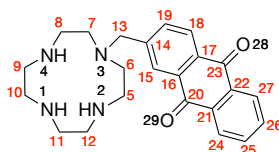
5.19.2 2-((1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)methyl)anthrachinon (**L18**)

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (L1)	312.2 g (1.8 mmol)
2-Bromomethylantrachinon (42)	128.8 g (0.4 mmol)
abs. Acetonitril	40 mL
abs. DMF	20 mL

Durchführung

Innerhalb von vier Stunden wurde eine Lösung von 2-Bromomethylantrachinon (**42**) in DMF unter Argon zu einer 80 °C warmen Lösung aus Cyclen (**L1**) in Acetonitril hinzugegeben. Nach vollständiger Zugabe wurde für weitere 19.5 Stunden bei 80 °C gerührt, anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 50 mL 0.4 M Salzsäure aufgenommen. Es wurde mit je dreimal 100 mL DCM gewaschen, der pH-Wert der wässrigen Phase durch Zugabe von Kaliumhydroxid auf 14 eingestellt und mit je dreimal 50 mL DCM extrahiert. Anschließend wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Ligand **L18** wurde als hellgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.110 g (0.3 mmol, 70 %)



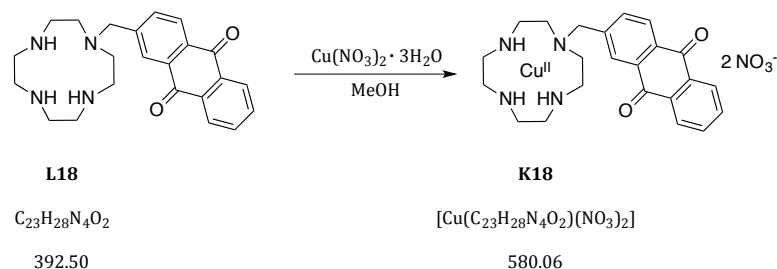
¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 8.26–8.18 (m, 4 H, Ar-H^{15,18,24,27}), 7.75–7.70 (m, 3 H, Ar-H^{19,25,26}), 3.74 (s, 2 H, CH₂¹³), 2.82–2.77 (m, 4 H, CH₂^{9,12 o. 10,11}), 2.68–2.64 (m, 4 H, CH₂^{5,8}), 2.62–2.59 (m, 4 H, CH₂^{6,7}), 2.57–2.53 (m, 4 H, CH₂^{9,12 o. 10,11}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 183.23 (Ar-C²⁰), 182.84 (Ar-C²³), 146.65 (Ar-C¹⁴), 134.51 (Ar-C¹⁹), 134.06 (Ar-C^{25 o. 26}), 133.98 (Ar-C^{25 o. 26}), 133.55 (Ar-C¹⁷), 133.50 (Ar-C^{21,22}), 132.62 (Ar-C¹⁶), 127.67 (Ar-C¹⁵), 127.39 (Ar-C¹⁸), 127.15 (Ar-C^{24 o. 27}), 127.12 (Ar-C^{24 o. 27}), 59.31 (C¹³), 51.87 (C^{6,7}), 47.58 (C^{9,12 o. 10,11}), 46.43 (C^{9,12 o. 10,11}), 45.58 (C^{5,8}) ppm.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet (C ₂₃ H ₂₈ N ₄ O ₂ · 0.5 H ₂ O)
C [%]	68.38	68.61
H [%]	6.984	7.04
N [%]	14.20	13.83
max. Abweichung [%]		0.4

ESI-MS m/z: 393.2899, berechnet [M + H]⁺ 393.2291.

5.19.3 Synthese von Komplex **K18**

Verbindung L18	0.075 g (0.2 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.070 g (0.29 mmol)
Methanol	7 mL

Durchführung

Der Ligand **L18** wurde in 5 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Nachdem sich der Ligand vollständig gelöst hat, wurde eine Lösung des Metallsalzes in 2 mL Methanol hinzugegeben. Die nunmehr dunkelblaue Lösung wurde für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der blaukristalline Komplex **K18** abfiltriert im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 82.4 mg (0.14 mmol, 71 %)

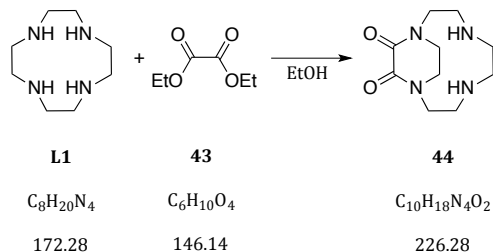
C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet $[(Cu(C_{23}H_{28}N_4O_2)(NO_3)_2) \cdot 2.0 H_2O]$
C [%]	44.78	44.84
H [%]	5.163	5.24
N [%]	13.93	13.64
max. Abweichung [%]		0.29

ESI-MS: m/z: 454.1506, berechnet $[Cu(C_{23}H_{28}N_4O_2) - H]^+$ 454.1436.

IR (fest) $\tilde{\nu}$ = 3212 (w, ν NH), 2938 u. 2887 (w, ν CH₂), 1675 (s, ν CO), 1590 (vw, δ CH₂), 1322 u. 1298 (vs, ν NO₃⁻), 742 (m) cm⁻¹.

UV/Vis (1X PBS, pH 7.4; 90 % DMSO): λ_{max} (ϵ) = 693 nm (385 L mol⁻¹ cm⁻¹);
 319 nm (9332 L mol⁻¹ cm⁻¹).

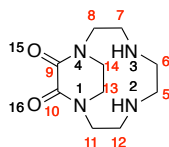
5.20 Synthese von Komplex **K19**5.20.1 1,4,7,10-Tetraazabicyclo[8.2.2]tetradecan-11,12-dion (**44**)

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (L1)	1.00 g (5.8 mmol)
Oxalsäurediethylester (43)	0.79 μ L (5.8 mmol)
abs. Ethanol	20 mL

Durchführung

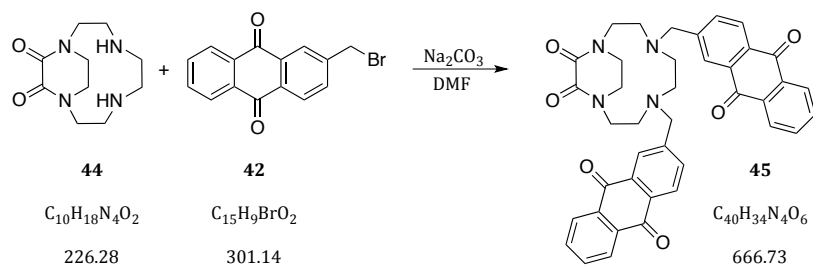
Zu einer unter Inertgas gerührten Lösung von Cyclen (**L1**) in 20 mL abs. Ethanol wurde Oxalsäurediethylester (**43**) hinzugegeben. Es wurde für drei Tage bei Raumtemperatur gerührt und dann das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der so erhaltene Feststoff wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Chloroform/*i*-PrNH₂, 5/1; *R_f* 0.4) aufgereinigt und das Produkt **44** als weißer Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.67 g (3.0 mmol, 52 %; Lit.: 96 %^[139])



¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 4.41 (ddd, 2 H, *J* = 13.9, 10.7 u. 4.2 Hz, CH₂^{8,11}), 3.59–3.47 (m, 4 H, CH₂^{13,14}), 3.00 (ddd, 2 H, *J* = 13.0, 4.1 u. 3.5 Hz, CH₂^{7,12}), 2.89 (ddd, 2 H, *J* = 13.9, 4.0 u. 3.5 Hz, CH₂^{8,11'}), 2.72–2.60 (m, 4 H, CH₂^{5,6}), 2.58–2.52 (m, 2 H, CH₂^{7,12'}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 156 MHz): 161.36 (C^{9,10}), 49.39 (C^{5,6,8,11}), 46.31 (C^{7,12}), 44.46 (C^{13,14}) ppm.

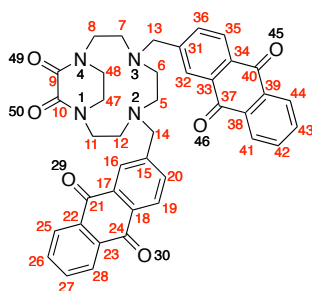
5.20.2 Synthese von Verbindung **45**

1,4,7,10-Tetraazabicyclo[8.2.2]tetradecan-11,12-dion (44)	0.359 g (1.6 mmol)
2-Bromomethylanthrachinon (42)	1.056 g (3.5 mmol)
Natriumcarbonat	0.920 g (8.6 mmol)
abs. DMF	60 mL

Durchführung

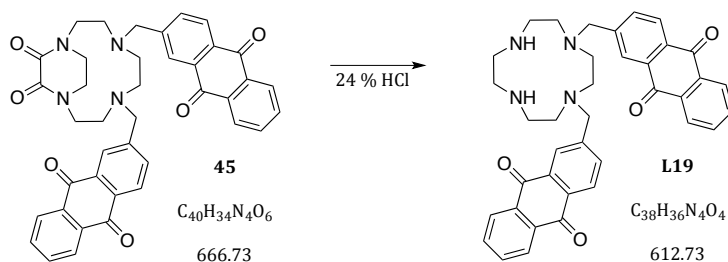
Unter Argon wurden Verbindung **42** und **44** gemeinsam mit Natriumcarbonat in trockenem DMF vorgelegt und für drei Tage bei 65 °C gerührt. Das Lösungsmittel der hellgelben Suspension wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand an Kieselgel adsorbiert. Es wurde über Säulenchromatographie an Kieselgel (CHCl₃/*i*-PrNH₂; 10/1; *R_f* 0.6) aufgereinigt und das Produkt als leicht gelber, sich nach und nach grünlich färbender Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.664 g (1.0 mmol, 63 %)



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.15–8.08 (m, 4 H, Ar-H^{25,28,41,44}), 8.06 (d, 2 H, *J* = 7.9 Hz, Ar-H^{19,35}), 7.97 (br, 2 H, Ar-H^{16,32}), 7.76–7.67 (m, 4 H, Ar-H^{26,27,42,43}), 7.54 (d, 2 H, *J* = 7.5 Hz, Ar-H^{20,36}), 4.28–4.16 (m, 4 H, NCH₂Ar u. CH₂NCO), 3.77 (dt, 2 H, *J* = 9.4, 4.7 u. 1 Hz, CH₂NCO), 3.65–3.64 (m, 4 H, NCH₂Ar u. CH₂NCO), 2.99 (ddd, 2 H, *J* = 14.0, 10.3, 3.3 u. 1 Hz, CH₂NCO), 2.83–2.70 (m, 2 H, CH₂N), 2.69–2.57 (m, 2 H, CH₂N), 2.47–2.30 (m, 4 H, CH₂N) ppm.

ESI-MS *m/z*: 689.2421, berechnet [M + H]⁺ 689.2376.

5.20.3 Synthese von Ligand **L19**

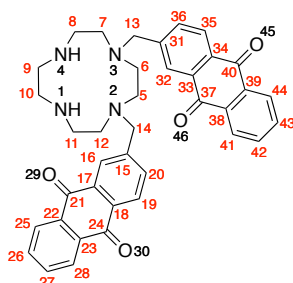
Verbindung **45** 0.505 g (0.8 mmol)

24 % HCl 20 mL

Durchführung

Verbindung **45** wurde für 16 Stunden in Salzsäure zum Rückfluss erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand in 300 mL Wasser aufgenommen und der pH-Wert der Lösung durch Zugabe von Kaliumhydroxidplättchen auf 14 eingestellt. Es wurde dreimal mit 50 mL Chloroform extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Ligand **L19** wurde als goldgelber Feststoff erhalten.

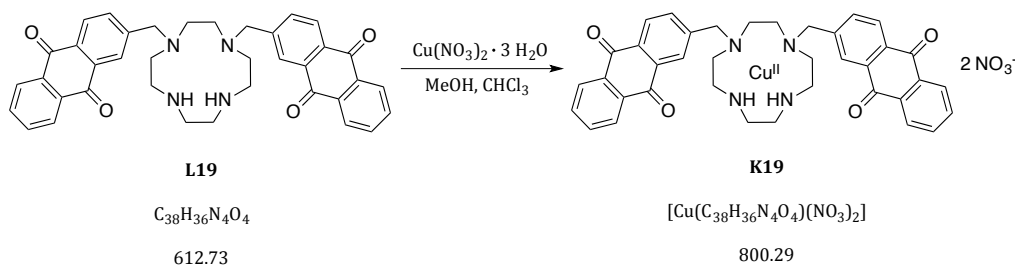
Ausbeute: 0.309 g (0.5 mmol, 66 %)



¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 8.01 (ddd, 4 H, $J = 8.8, 4.2$ u. 2.7 Hz, Ar-H^{25,28,41,44}), 7.95 (d, 2 H, $J = 1.9$ Hz, Ar-H^{16,32}), 7.90 (d, 2 H, $J = 7.9$ Hz, Ar-H^{19,35}), 7.59 (dd, 2 H, $J = 7.9$ u. 1.9 Hz, Ar-H^{20,36}), 7.61–7.51 (m, 4 H, Ar-H^{26,27,42,43}), 3.43 (s, 4 H, CH₂^{13,30}), 2.73 (s, 4 H, CH₂^{9,10}), 2.71–2.69 (m, 4 H, CH₂^{8,11}), 2.51 (s, 4 H, CH₂^{5,6}), 2.48–2.44 (m, 4 H, CH₂^{7,12}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 125 MHz): 182.69 (Ar-C^{21,37}), 182.28 (Ar-C^{24,40}), 146.11 (Ar-C^{15,31}), 134.30 (Ar-C^{20,36}), 133.75 (Ar-C^{26,42} o. ^{27,43}), 133.69 (Ar-C^{26,42} o. ^{27,43}), 133.18 (Ar-C^{22,38} o. ^{23,39}), 133.16 (Ar-C^{22,38} o. ^{23,39}), 132.94 (Ar-C^{18,34}), 132.02 (Ar-C^{17,33}), 127.23 (Ar-C^{19,35}), 127.08 (Ar-H^{16,32}), 126.86 (Ar-C^{25,41} o. ^{26,44}), 126.81 (Ar-C^{25,41} o. ^{26,44}), 57.85 (C^{13,14}), 52.62 (C^{7,12}), 50.70 (C^{5,6}), 46.88 (C^{9,10}), 45.00 (C^{8,11}) ppm.

ESI-MS m/z : 613.3143, berechnet $[M + H]^+$ 613.2815.

5.20.4 Synthese von Komplex **K19**

Verbindung **L19** 310.1 mg (0.50 mmol)

Kupfer(II)nitrat Trihydrat 183.0 mg (0.76 mmol)

Methanol 10 mL

Chloroform 5 mL

Durchführung

Der Ligand **L19** wurde in einer Mischung aus 5 mL Methanol und 5 mL Chloroform gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Nachdem sich der Ligand vollständig gelöst hat, wurde eine Lösung des Metallsalzes in 5 mL Methanol hinzugegeben. Die nunmehr blaue Lösung wurde für weitere 15 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der hellblaue Komplex **K19** abfiltriert, mit Methanol gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 258 mg (0.32 mmol, 64 %)

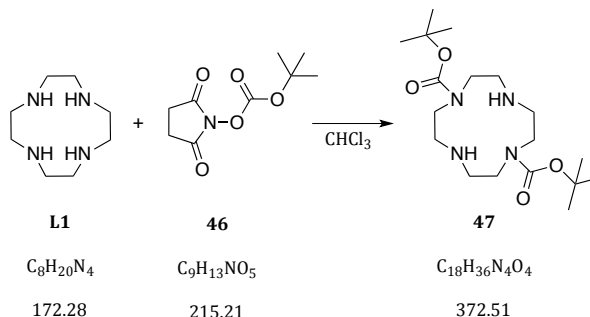
C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
		$[(\text{Cu}(\text{C}_{38}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4)(\text{NO}_3)_2) \cdot 1 \text{H}_2\text{O}]$
C [%]	55.85	55.78
H [%]	4.578	4.68
N [%]	9.97	10.27
max. Abweichung [%]		0.3

ESI-MS: m/z: 674.2139, berechnet $[\text{Cu}(\text{C}_{38}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4) - \text{H}]^+$ 674.1960.

IR (fest) $\tilde{\nu}$ = 3178 (w, ν NH), 2955 u. 2888 (w, ν CH₂), 1675 (s, ν CO), 1591 (vw, δ CH₂), 1289 (vs, ν NO₃⁻), 928 (m), 699 (m) cm⁻¹.

UV/Vis (1X PBS, pH 7.4; 90 % DMSO): λ_{max} (ϵ) = 712 nm (452 L mol⁻¹ cm⁻¹);
325 nm (16332 L mol⁻¹ cm⁻¹).

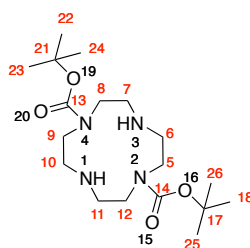
5.21 Synthese von Komplex **K20**5.21.1 Di-*tert*-butyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,7-dicarboxylat (**47**)

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (L1)	1.005 g (5.8 mmol)
<i>N</i> -(<i>tert</i> -Butoxycarbonyloxy)succinimid (46)	2.512 g (11.7 mmol)
Chloroform	50 mL

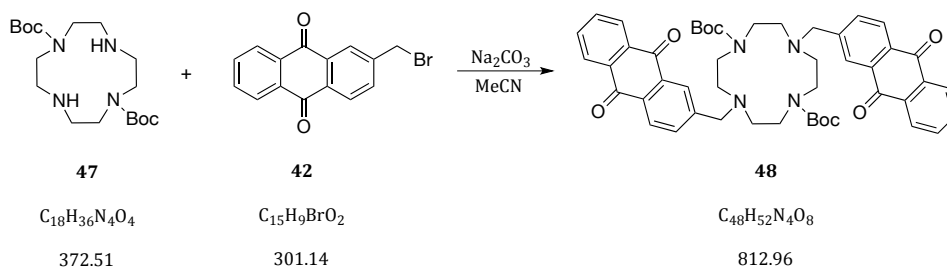
Durchführung

Unter Argon wurden Boc-OSu **46** und Cyclen (**L1**) in Chloroform gelöst und für 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand in 50 mL Natronlauge (3 M) aufgenommen. Es wurde dreimal mit je 50 mL Chloroform extrahiert, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der so erhaltene weiße Feststoff **47** wurde für weitere zwei Tage im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 1.257 g (3.4 mmol, 58 %; Lit.: 100 %^[137])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 3.39–3.21 (m, 8 H, CH₂^{5,8,9,12}), 2.89–2.70 (m, 8 H, CH₂^{6,7,10,11}), 1.40 (s, 18 H, CH₃^{22,23,24,25,26,18}) ppm.

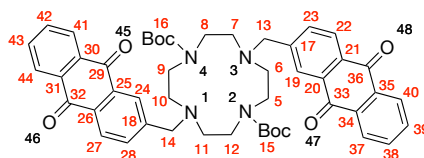
5.21.2 Synthese von Verbindung **48**

Verbindung (47)	0.368 g (1 mmol)
2-Bromomethylanthrachinon (42)	0.549 g (1.8 mmol)
Natriumcarbonat	0.482 g (4.5 mmol)
abs. Acetonitril	30 mL
abs. DMF	15 mL

Durchführung

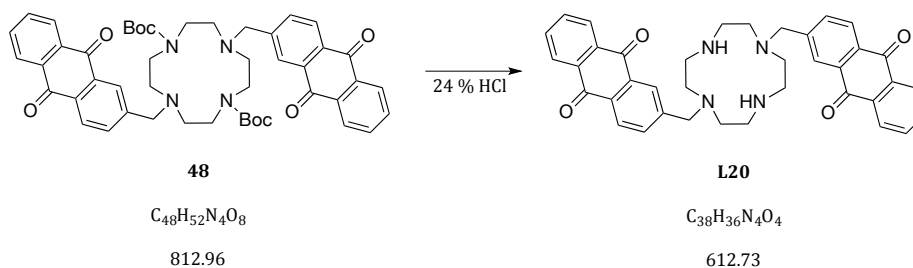
Unter Argon wurde das geschützte Cyclen **47** und Natriumcarbonat in 30 mL Acetonitril gelöst und für 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Daraufhin wurde eine Lösung von Verbindung **42** in 15 mL DMF hinzugegeben und das Reaktionsgemisch für 19 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Die Ansatz wurde filtriert, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand über Säulenchromatographie an Kieselgel (Chloroform; R_f 0.13) aufgereinigt. Die Verbindung **48** wurde als oranger Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.575 g (0.7 mmol, 70 %)



1H -NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 8.35–8.20 (m, 8 H, Ar-H^{19,22,24,27,37,40,41,44}), 7.83–7.75 (m, 6 H, Ar-H^{23,28,38,39,42,43}), 3.79 (s, 4 H, Ar-H^{13,14}), 3.56–3.32 (m, 8 H, CH₂^{5,8,9,12}), 2.78–2.64 (m, 8 H, CH₂^{6,7,10,11}), 1.21 (s, 18 H, CH₃^{15,16}) ppm.

ESI-MS m/z: 813.3907, berechnet $[M + H]^+$ 813.3863.

5.21.3 Synthese von Ligand **L20**Verbindung (**48**)

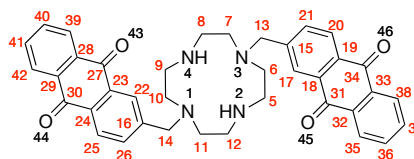
0.563 g (0.7 mmol)

Salzsäure (24 %)

10 mL

Durchführung

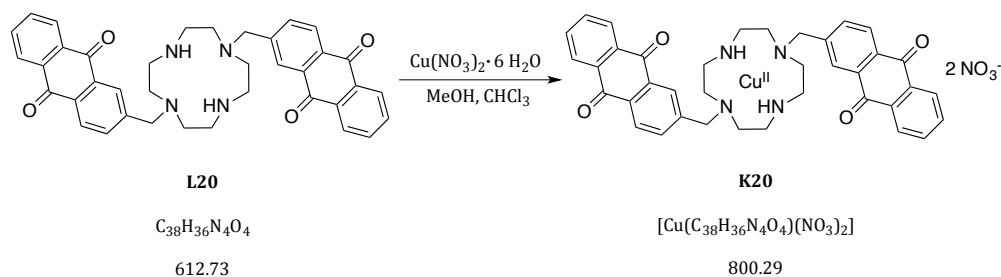
Verbindung **48** wurde für drei Stunden in Salzsäure zum Rückfluss erhitzt und nach beendeter Reaktionszeit das Reaktionsgemisch mit Wasser auf 200 mL verdünnt. Der pH-Wert der Lösung wurde durch Zugabe von Kaliumhydroxidplättchen auf 14 eingestellt und dreimal mit je 100 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Ligand **L20** als gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.342 g (0.6 mmol, 80 %)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 700 MHz): 8.35 (s, 2 H, Ar-H^{17,22}), 8.25–8.21 (m, 4 H, Ar-H^{35,37,41,42}), 8.17 (dd, 2 H, $J = 7.2$ u. 1.9 Hz, Ar-H^{20,25}), 7.79 (dd, 2 H, $J = 8.1$ u. 1.8 Hz, Ar-H^{35,39}), 7.78–7.71 (m, 4 H, Ar-H^{21,26,36,40}), 4.12 (s, 4 H, $\text{CH}_2^{13,14}$), 2.96 (, 8 H, $\text{CH}_2^{6,7,10,11}$), 2.89–2.87 (m, 8 H, $\text{CH}_2^{5,8,9,12}$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 176 MHz): 183.26 (Ar-C^{27,31}), 182.73 (Ar-C^{30,34}), 146.47 (Ar-C^{15,16}), 134.38 (Ar-C^{36,40} o. 37,41), 134.37 (Ar-C^{36,40} o. 37,41), 134.20 (Ar-C^{35,39} o. 38,42), 133.77 (q), 133.58 (q), 133.44 (q), 132.80 (q), 127.91 (Ar-C^{35,39} o. 38,42), 127.35 (Ar-C^{21,26}), 127.26 (Ar-C^{20,25}), 127.16 (Ar-C^{17,22}), 61.14 (C^{13,14}), 52.44 (C^{6,7,10,11}), 47.97 (C^{5,8,9,12}) ppm.

ESI-MS m/z: 613.2826, berechnet $[\text{M} + \text{H}]^+$ 613.2815.

5.21.4 Synthese von Komplex **K20**

Verbindung L20	152.4 mg (0.25 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	90 mg (0.37 mmol)
Methanol	5 mL
Chloroform	2.5 mL

Durchführung

Der Ligand **L20** wurde in einer Mischung aus 2.5 mL Methanol und 2.5 mL Chloroform gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Nachdem sich der Ligand vollständig gelöst hat, wurde eine Lösung des Metallsalzes in 2.5 mL Methanol hinzugegeben. Die nunmehr blaue Lösung wurde für weitere 15 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der hellblaue Komplex **K20** abfiltriert, mit Methanol und Wasser gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 67.3 mg (0.08 mmol, 34 %)

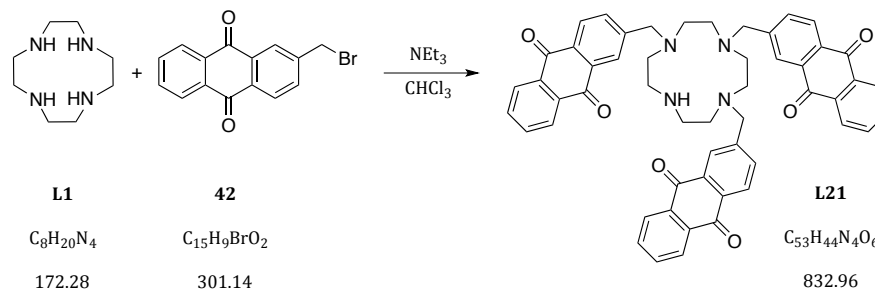
C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet $[(Cu(C_{38}H_{36}N_4O_4)(NO_3)_2) \cdot 1 H_2O]$
C [%]	55.48	55.78
H [%]	4.578	4.68
N [%]	10.35	10.27
max. Abweichung [%]		0.3

ESI-MS: m/z: 674.1897, berechnet $[Cu(C_{38}H_{36}N_4O_4) - H]^+$ 674.1949.

IR (fest) $\tilde{\nu} = 3198$ (w, ν NH), 2934 (vw, ν CH₂), 1675 (s, ν CO), 1590 (m, δ CH₂), 1289 (vs, ν NO₃), 930 (m), 592 (s) cm⁻¹.

UV/Vis (1X PBS, pH 7.4; 90 % DMSO): λ_{max} (ϵ) = 702 nm (823 L mol⁻¹ cm⁻¹);
 329 nm (16117 L mol⁻¹ cm⁻¹).

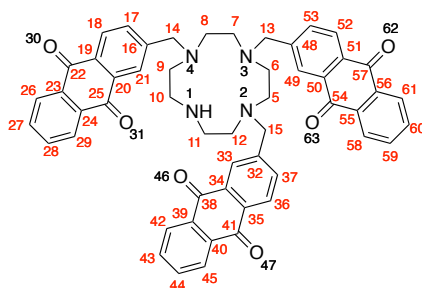
5.22 Synthese von Komplex **K21**5.22.1 Synthese des Liganden **L21**

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (L1)	383.0 mg (2.2 mmol)
2-Bromomethylantrachinon (42)	2.350 g (7.8 mmol)
Triethylamin	2 mL
Chloroform	110 mL

Durchführung

Unter Argon wurde 2-Bromomethylantrachinon (**42**) in 70 mL absolutiertem Chloroform gelöst und innerhalb von 70 Minuten zu einer Lösung von Cyclen (**L1**) und Triethylamin in 40 mL abs. Chloroform hinzugegeben. Nach vollständiger Zugabe wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt, daraufhin das Reaktionsgemisch mit dreimal 50 mL Wasser gewaschen, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Chloroform/NEt₃; 100/1; *R_f* 0.05) aufgereinigt und so der Ligand **L21** als oranger Feststoff erhalten.

Ausbeute: 673.0 mg (0.8 mmol, 36 %)



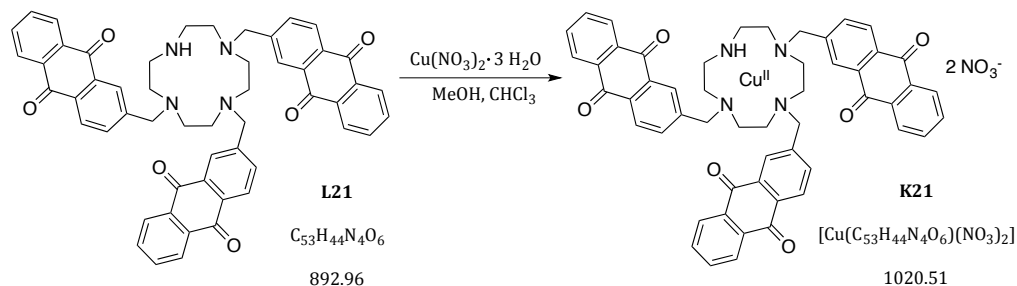
¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 8.20–8.17 (m, 4 H, Ar-H^{21,33,49,52}), 8.15–8.09 (m, 6 H, Ar-H^{27,29,42,44,58,60}), 7.88–7.81 (m, 4 H, Ar-H^{17,18,36,37}), 7.72 (d, 1 H, *J* = 7.3 Hz, Ar-H⁵³), 7.70–7.63 (m, 6 H, Ar-H^{26,28,43,45,59,61}), 3.67 (s, 4 H, CH₂^{14,15}), 3.33 (s, 2 H, CH₂¹³), 2.82 (s, 4 H, CH₂^{10,11}), 2.70 (s, 4 H, CH₂^{5,8/6,7}), 2.64 (s, 4 H, CH₂^{9,12}), 2.54 (s, 4 H, CH₂^{5,8/6,7}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 183.17(C^{25,38}), 182.92(C⁵⁴), 182.70(C^{22,41}), 182.46(C⁵⁷), 146.47(C⁴⁸), 146.11 (C^{16,32}), 135.00 (Ar-C), 134.08 (Ar-C), 133.96 (Ar-C), 133.94 (Ar-C), 133.82 (Ar-C), 133.55 (*q*, Ar-C), 133.52 (*q*, Ar-C), 133.51 (*q*, Ar-C), 133.46 (*q*, Ar-C), 133.34 (*q*, Ar-C), 133.05 (*q*, Ar-C), 132.44 (*q*, Ar-C), 132.09 (*q*, Ar-C), 127.74 (Ar-C), 127.50 (Ar-C), 127.38 (Ar-C), 127.23 (Ar-C), 127.11 (Ar-C), 127.10 (Ar-C), 126.74 (C⁴⁹), 59.68 (C^{14,15}), 57.05 (C¹³), 52.59 (C^{5,8/6,7}), 52.21 (C^{5,8/6,7}), 50.13 (C^{9,12}), 46.92 (C^{10,11}) ppm.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet (C ₅₃ H ₄₄ N ₄ O ₆ · 1 CHCl ₃ · 2.5 CH ₃ OH)
C [%]	65.98	65.73
H [%]	5.61	5.37
N [%]	5.47	5.43
max. Abweichung [%]		0.25

ESI-MS m/z: 833.3310, berechnet [M + H]⁺ 833.3334.

5.22.2 Synthese von Komplex **K21**

Ligand L21	219.3 mg (0.2 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	75.1 mg (0.3 mmol)
Methanol	4 mL
Chloroform	2 mL

Durchführung

Der Ligand **21** wurde in einer Mischung aus 2 mL Methanol und 2 mL Chloroform gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Nachdem sich der Ligand vollständig gelöst hat, wurde eine Lösung des Metallsalzes in 2 mL Methanol hinzugegeben. Die nunmehr blaue Lösung wurde für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der hellblaue Komplex **K21** abfiltriert, mit Methanol gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 206 mg (0.2 mmol, 98 %)

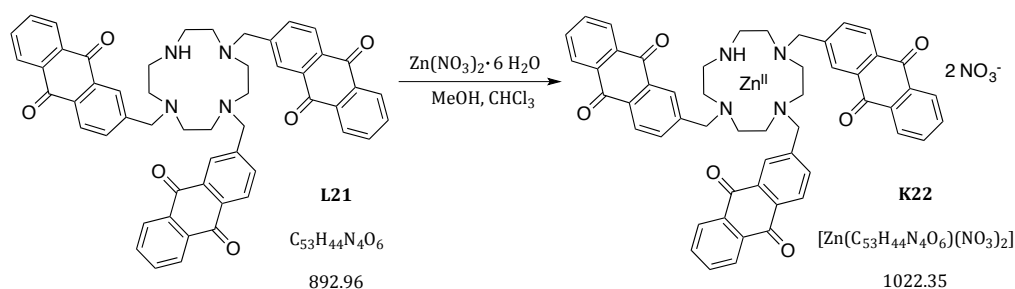
C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	62.32	62.38
H [%]	4.309	4.35
N [%]	8.314	8.24
max. Abweichung [%]		0.08

ESI-MS: m/z: 930.2267, berechnet $[\text{Cu}(\text{C}_{53}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_6) - \text{H}]^+$ 930.2245.

IR (fest) $\tilde{\nu}$ = 3208 (w, ν NH), 2935 u. 2887 (w, ν CH₂), 1672 (s, ν CO), 1589 (m, δ CH₂), 1324 u. 1287 (vs, ν NO₃⁻), 930 (m), 710 (s), 695 (s) cm⁻¹.

UV/Vis (1X PBS, pH 7.4; 90 % DMSO): λ_{max} (ϵ) = 713 nm (625 L mol⁻¹ cm⁻¹);
331 nm (19542 L mol⁻¹ cm⁻¹).

5.23 Synthese von Komplex **K22**

Verbindung L21	106.3 mg (0.1 mmol)
Zink(II)nitrat Hexahydrat	53.3 mg (0.18 mmol)
Methanol	2 mL
Chloroform	1 mL

Durchführung

Der Ligand **21** wurde in einer Mischung aus 1 mL Methanol und 1 mL Chloroform gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Nachdem sich der Ligand vollständig gelöst hat, wurde eine Lösung des Metallsalzes in 1 mL Methanol hinzugegeben. Die Lösung wurde für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der beige Komplex **K22** abzentrifugiert, mit Methanol gewaschen und anschließend im Vakuum getrocknet.

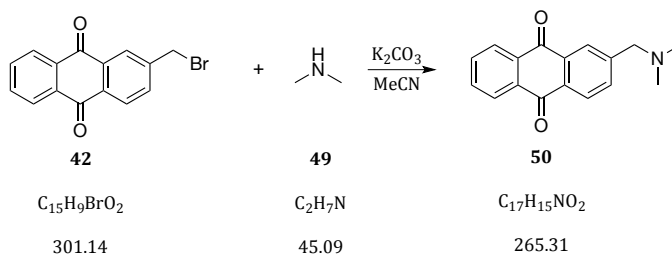
Ausbeute: 107.1 mg (0.1 mmol, 93 %)

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
		$[\text{Zn}(\text{C}_{53}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_6)(\text{NO}_3)_2] \cdot 3.5 \text{ CH}_3\text{OH}$
C [%]	60.16	59.82
H [%]	5.11	5.15
N [%]	7.021	7.41
max. Abweichung [%]		0.39

ESI-MS: m/z: 931.2326, berechnet $[\text{Zn}(\text{C}_{53}\text{H}_{44}\text{N}_4\text{O}_6) + \text{Cl}]^+$ 931.2241.

UV/Vis (1X PBS, pH 7.4; 90 % DMSO): λ_{max} (ϵ) = 329 nm (21562 L mol⁻¹ cm⁻¹).

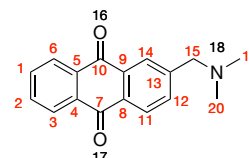
5.24 2-((Dimethylamino)methyl)anthrachinon (**50**)

2-Bromanthrachinon (42)	302.3 mg (1 mmol)
Dimethylamin (49)	505 μL (3 mmol)
Kaliumcarbonat	274.3 mg (2 mmol)
Acetonitril	50 mL

Durchführung

Zu einer Lösung von Dimethylamin (**49**) in 50 mL Acetonitril wurden nacheinander Kaliumcarbonat und Verbindung **42** hinzugegeben und für 72 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Chloroform/ NEt_3 ; 100/5; R_f 0.17) aufgereinigt. Die Verbindung **50** wurde als grünelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 112.4 mg (0.4 mmol, 41 %; Lit.: 40 %^[155])



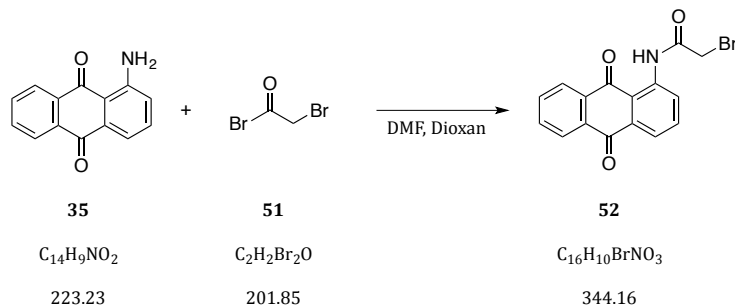
$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 700 MHz): 8.32–8.27 (m, 2 H, Ar- $\text{H}^{3,6}$), 8.27 (d, 1 H, $J = 8.0$ Hz, Ar- H^{11}), 8.22 (s, 1 H, Ar- H^{14}), 7.80–7.78 (m, 3 H, Ar- $\text{H}^{1,2,12}$), 3.59 (s, 2 H, CH_2^{15}), 2.29 (s, 6 H, $\text{CH}_3^{19,20}$) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 176 MHz): 183.43 (Ar- $\text{C}^{7,10}$), 183.17 (Ar- $\text{C}^{7,10}$), 146.44 (Ar- C^{13}), 134.70 (Ar-C), 134.21 (Ar-C), 134.15 (Ar-C), 133.75 (Ar-C), 133.73 (Ar-C), 133.61 (Ar-C), 132.70 (Ar-C), 63.97 (C^{15}), 45.65 ($\text{C}^{19,20}$) ppm.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet ($\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_2 \cdot 0.15 \text{CHCl}_3$)
C [%]	72.95	72.73
H [%]	5.52	5.39
N [%]	4.68	4.95
max. Abweichung [%]		0.27

ESI-MS m/z : 266.1234, berechnet [$\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{NO}_2 + \text{H}$]⁺ 266.1176.

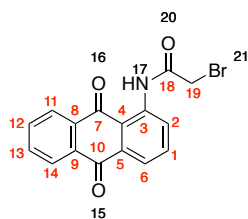
5.25 Synthese von Komplex **K23**5.25.1 2-Brom-*N*-(anthrachinon-1-yl)acetamid (**52**)

1-Aminanthrachinon (35)	7.808 g (35 mmol)
Bromoacetyl bromid (51)	3.65 mL (42 mmol)
DMF	40 mL
Dioxan	20 mL

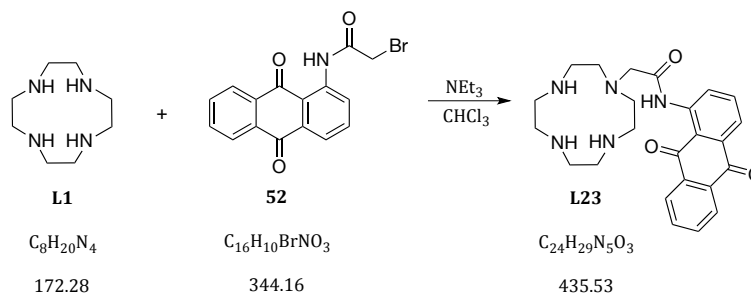
Durchführung

Zu einer 0 °C kalten Lösung von 1-Aminoanthrachinon (**35**) in 20 mL DMF und 20 mL Dioxan wurde unter Argon innerhalb von zwei Stunden Bromoacetyl bromid (**51**) hinzugegeben. Zu der roten Suspension wurden weitere 20 mL DMF hinzugegeben und für 13 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf 200 mL Wasser gegeben, der Feststoff abfiltriert und mit dreimal 150 mL Wasser gewaschen. Es wurde im Vakuum getrocknet und anschließend aus einer Toluol/Aceton-Mischung umkristallisiert. Die Verbindung **52** wurde als oranger Feststoff erhalten.

Ausbeute: 5.200 g (14.5 mmol, 41 %; Lit.: 95 %^[156])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 9.10 (ddd, 1 H, *J* = 8.5, 1.1, 0.5 Hz, Ar-H⁶), 8.39–8.24 (m, 2 H, Ar-H^{11,14}), 8.31 (ddd, 1 H, *J* = 7.6, 1.2, 0.6 Hz, Ar-H²), 7.85–7.78 (m, 3 H, Ar-H^{1,12,13}), 4.11 (s, 2 H, CH₂¹⁹) ppm.

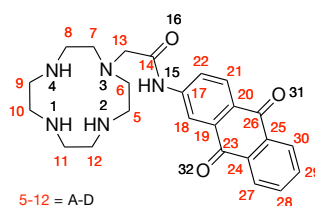
5.25.2 1-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)-N-(anthrachinon-1-yl)acetamid (**L23**)

Tetraazacyclododecan (L1)	2.546 g (14.8 mmol)
2-Brom-N-(anthrachinon-1-yl)acetamid (52)	1.234 g (3.5 mmol)
Triethylamin	0.7 mL (5 mmol)
Chloroform	100 mL

Durchführung

Cyclen (**L1**) und das Anthrachinonderivat **52** wurden in Chloroform gelöst und anschließend mit Triethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für ungefähr drei Tage zum Rückfluss erhitzt und dann auf Raumtemperatur gekühlt. Es wurde mit dreimal 100 mL 1 M Natronlauge und anschließend dreimal mit 100 mL Wasser gewaschen, die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der zurückbleibende Feststoff wurde über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: DCM/MeOH/*i*-PrNH₂; 20/1/1; *R_f* 0.5) aufgereinigt und der Ligand **L23** als gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.571 g (1.3 mmol, 37 %)



¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 12.81 (s, 1 H, N-H¹⁵), 9.14 (dd, 1 H, *J* = 8.5 u. 1.2 Hz, Ar-H²⁰), 8.32–8.27 (m, 1 H, Ar-H²⁷), 8.26–8.24 (m, 1 H, Ar-H³⁰), 8.05 (dd, 1 H, *J* = 7.6 u. 1.2 Hz, Ar-H¹⁸), 7.77 (m, 2 H, Ar-H^{28 u. 29}), 7.74 (dd, 1 H, *J* = 8.5 u. 7.6 Hz, Ar-H¹⁹), 3.41 (s, 2 H, CH₂¹³), 2.89–2.86 (m, 4 H, CH₂^D), 2.82–2.79 (m, 4 H, CH₂^C), 2.75–2.71 (m, 4 H, CH₂^B), 2.68–2.64 (m, 4 H, CH₂^A) ppm.

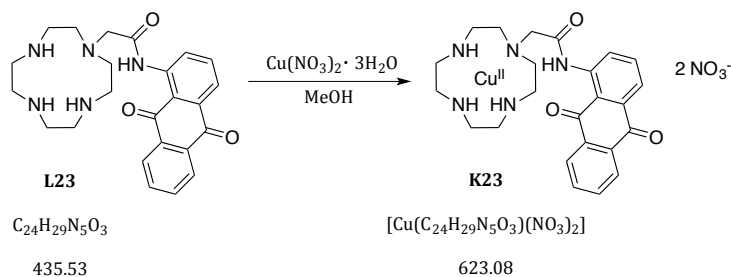
¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 186.73 (q), 182.84(q), 171.49 (q), 141.60 (q), 135.73 (Ar-C¹⁹), 134.34 (Ar-C^{28 u. 29}), 134.23 (q), 134.13 (q), 132.95 (q), 127.41 (Ar-C²⁷), 127.13(Ar-C³⁰),

126.67 (Ar-C²⁰), 122.84 (Ar-C¹⁸), 118.27 (q), 62.64 (C¹³), 52.89 (B), 47.04 (A), 45.58 (D), 45.33 (C) ppm.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
		(C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₃ · 0.65 CH ₃ OH)
C [%]	65.135	64.88
H [%]	6.799	6.98
N [%]	15.11	15.35
max. Abweichung [%]		0.26

ESI-MS m/z: 436.2731, berechnet [M + H]⁺ 436.2349.

5.25.3 Synthese von Komplex **K23**

Ligand 23	0.220 g (0.50 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.124 g (0.51 mmol)
Methanol	10 mL

Durchführung

Der Ligand **23** wurde in 5 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 5 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten refluxiert. Die Lösung wurde auf -20 °C gekühlt, der tannengrüne Komplex **K23** durch Zugabe von Diethylether ausgefällt und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 159.8 mg (0.26 mmol, 51 %)

C,H,N,S-Analyse

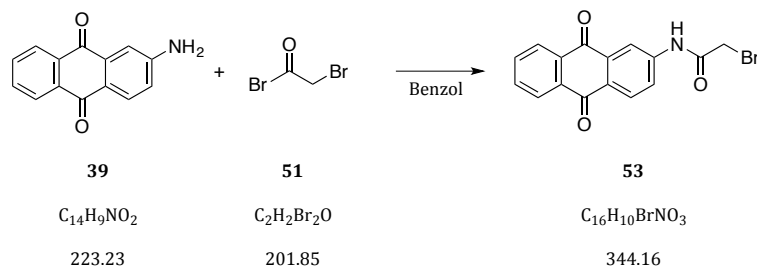
	gefunden	berechnet
		$[\text{Cu}(\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_3)(\text{NO}_3)_2] \cdot 0.5 \text{CH}_3\text{OH}$
C [%]	46.25	46.04
H [%]	4.937	4.89
N [%]	15.11	15.34
max. Abweichung [%]		0.23

ESI-MS m/z: 497.1557, berechnet $[\text{Cu}(\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{O}_3) - \text{H}]^+$ 497.1494.

UV/Vis (50 mM Tris-HCl, pH 7.4): λ_{max} (ϵ) = 602 nm (179 L mol⁻¹ cm⁻¹);
388 nm (3192 L mol⁻¹ cm⁻¹).

5.26 Synthese von Komplex **K24**

5.26.1 2-Brom-*N*-(anthrachinon-2-yl)acetamid (**53**)

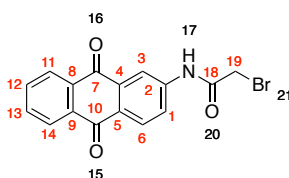


2-(Amino)anthrachinon (39)	4.23 g (90 %, 17.0 mmol)
Bromacetylbromid (51)	2.2 mL (25.0 mmol)
Benzol	250 mL

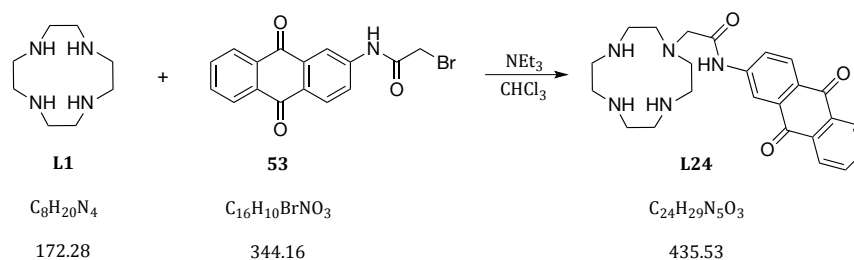
Durchführung

Zu einer unter Inertgas gerührten Suspension von Verbindung **39** in 250 mL Benzol wurde Verbindung **51** über ein Septum hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde für sieben Stunden zum Rückfluss erhitzt und dann das Produkt durch Eisbadkühlung ausgefällt. Der braungelbe Feststoff wurde abfiltriert, aus 500 mL Toluol umkristallisiert und im Hochvakuum bei 100 °C getrocknet.

Ausbeute: 2.00 g (5.8 mmol, 34 %; Lit.: 60 %^[157])



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): 11.01 (s, 1 H, NH¹⁷), 8.37 (dd, *J* = 2.3 u. 1.2 Hz, 1 H, Ar-H³), 8.16–8.09 (m, 3 H, Ar-H^{1/6,12,13}), 8.03–7.98 (m, 1 H, Ar-H^{1/6}), 7.92–7.84 (m, 2 H, Ar-H^{12,13}), 4.12 (s, 2 H, CH₂¹⁹) ppm.

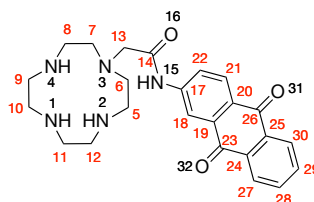
5.26.2 2-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)-N-(anthrachinon-2-yl)acetamid (**L24**)

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (L1)	1.067 g (12.0 mmol)
2-Brom-N-(anthrachinon-2-yl)acetamid (53)	1.100 g (3.2 mmol)
Triethylamin	0.55 mL (4 mmol)
Chloroform	80 mL

Durchführung

Cyclen (**L1**) und das Anthrachinonderivat **53** wurden in Chloroform gelöst und anschließend mit Triethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 16 Stunden zum Rückfluss erhitzt, daraufhin filtriert und das Filtrat mit zunächst je viermal 50 mL 1 M Natronlage und anschließend mit je zweimal 100 mL Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das zurückbleibende Öl in Ethanol gelöst. Es wurden einige Tropfen Salzsäure (30 %) zu der Lösung gegeben und das daraufhin ausgefallene Hydrochloridsalz abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Nach vollständiger Trocknung wurde das Salz in 200 mL Wasser gelöst und der pH-Wert der Lösung durch Zugabe von 50 mL 10 M Natronlauge basisch eingestellt. Die Lösung wurde dreimal mit je 100 mL DCM extrahiert, die organischen Phasen wurden vereinigt, über Natriumsulfat getrocknet und schließlich das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Der Ligand **L24** wurde als roter Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.405 g (0.9 mmol, 29 %)



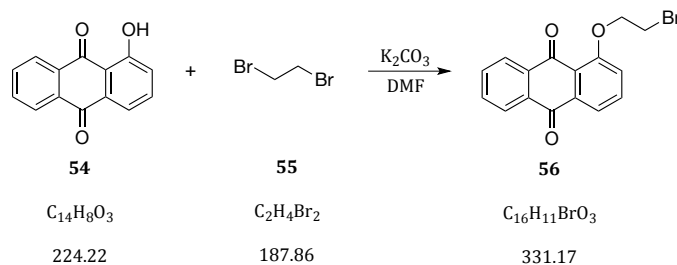
¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 11.11 (br, 1 H, N-H¹⁵), 8.67 (dd, 1 H, *J* = 8.6 u. 2.2 Hz, Ar-H¹¹), 8.39 (d, 1 H, *J* = 2.2 Hz, Ar-H^{3,6}), 8.28 (m, 3 H, Ar-H¹⁴), 7.80–7.70 (m, 2 H, Ar-H¹⁴), 3.34 (s, 2 H, CH₂¹³), 2.97 (br, 4 H, CH₂^{5,8}), 2.80–2.65 (m, 8 H, CH₂⁹⁻¹²), 2.23 (br, 4 H,) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 183.64, 182.11, 171.50, 144.39, 134.52, 134.25, 133.93, 133.74, 133.67, 129.36, 128.72, 127.34, 127.07, 123.94, 117.71, 60.34, 53.91, 48.12, 47.74, 46.45 ppm.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	66.24	66.19
H [%]	6.776	6.71
N [%]	16.08	16.08
max. Abweichung [%]		0.06

ESI-MS m/z: 436.2915, berechnet [M + H]⁺ 436.2349.

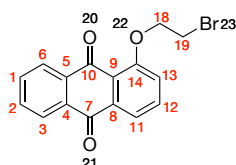
5.27 Synthese von Komplex **K25**5.27.1 1-(2-Bromethoxy)anthrachinon (**56**)

1-Hydroxyanthrachinon (54)	2.05 g (9.1 mmol)
1,2-Dibromethan (55)	4 mL (46.4 mmol)
Kaliumcarbonat	4.06 g (29.4 mmol)
DMF	40 mL

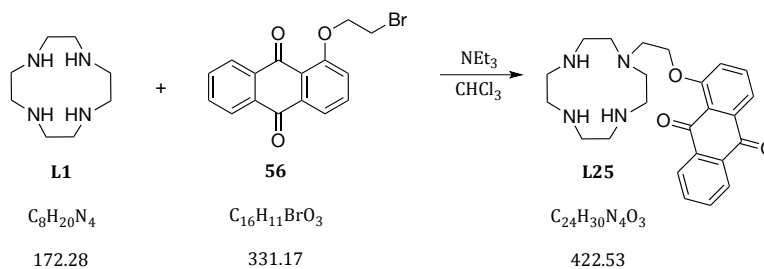
Durchführung

Unter Argon wurden 1-Hydroxyanthrachinon (**54**), Kaliumcarbonat und 1,2-Dibromethan (**55**) in 40 mL DMF gelöst und bei 100 °C für vier Stunden gerührt. Es wurde filtriert und anschließend das Lösungsmittel des Filtrats im Vakuum entfernt. Der zurückbleibende Feststoff wurde über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Chloroform; R_f 0.38) aufgereinigt und das Produkt als gelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 1.600 g (4.8 mmol, 53 %; Lit.: 70 %^[158])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.26–8.19 (m, 2 H, Ar-H^{3,6}), 8.03–7.94 (m, 1 H, Ar-H¹¹), 7.79–7.66 (m, 3 H, Ar-H^{1,2,12}), 7.32 (dd, 1 H, $J = 8.4$ u. 1.1 Hz, Ar-H¹³), 4.45 (m, 2 H, CH₂¹⁸), 3.79 (dd, 2 H, $J = 7.1$ u. 6.0 Hz, CH₂¹⁹) ppm.

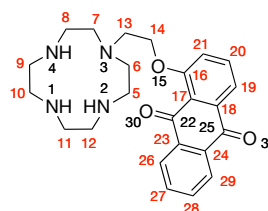
5.27.2 1-(2-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)ethoxy)anthrachinon (**L25**)

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (L1)	1.402 g (8.1 mmol)
1-(2-Bromomethoxy)anthrachinon (56)	0.664 g (2.0 mmol)
Triethylamin	0.35 mL (2.5 mmol)
Chloroform	60 mL

Durchführung

Cyclen und das Anthrachinonderivat **56** wurden in Chloroform gelöst und anschließend mit Triethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für drei Tage zum Rückfluss erhitzt, daraufhin das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das zurückbleibende Öl in 0.4 M Salzsäure aufgenommen. Es wurde viermal mit je 50 mL DCM gewaschen, der pH-Wert der wässrigen Phase mit Kaliumhydroxid auf 14 eingestellt und dann mit viermal 50 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der zurückbleibende Feststoff über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Chloroform/MeOH/*i*-PrNH₂; 20/1/1; *R_f* 0.25) aufgereinigt. Der Ligand **L25** wurde als hellgelber Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.500 g (1.2 mmol, 60 %)



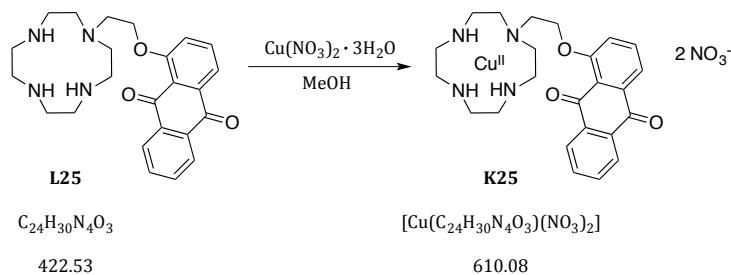
¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 8.24 (dd, 1 H, *J* = 7.7 u. 1.3 Hz, Ar-H²⁶), 8.20 (dd, 1 H, *J* = 7.7 u. 1.4 Hz, Ar-H²⁹), 7.93 (dd, 1 H, *J* = 7.6 u. 1.1 Hz, Ar-H¹⁹), 7.74 (td, 1 H, *J* = 7.5 u. 1.4 Hz, Ar-H²⁸), 7.70 (td, 1 H, *J* = 7.4 u. 1.4 Hz, Ar-H²⁷), 7.68–7.65 (m, 1H, Ar-H²⁰), 7.36 (dd, 1 H, *J* = 8.4, u. 1.1 Hz, Ar-H²¹), 4.26 (t, 2 H, *J* = 6.4, CH₂¹⁴), 3.08 (t, 2 H, *J* = 6.4, CH₂¹³), 2.75–2.67 (m, 12 H, CH₂^{5,8,9,10,11,12}), 2.55–2.53 (m, 4 H, CH₂^{6,7}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 175 MHz): 183.63 (Ar-C²⁵), 182.19 (Ar-C²²), 159.76 (Ar-C¹⁶), 135.76 (Ar-C¹⁷), 135.21 (Ar-C²⁴), 134.96 (Ar-C²⁰), 134.28 (Ar-C²⁸), 133.21 (Ar-C²⁷), 132.59 (Ar-C²³), 127.29 (Ar-C²⁶), 126.64 (Ar-C²⁹), 121.94 (Ar-C¹⁸), 120.03 (Ar-C¹⁹), 119.77 (Ar-C²¹), 67.97 (CH₂¹⁴), 53.40 (CH₂¹³), 52.33 (CH₂^{9,12}), 47.08 (CH₂^{6,7}), 46.16 (CH₂^{10,11}), 45.32 (CH₂^{5,8}) ppm.

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet
		(C ₂₄ H ₃₀ N ₄ O ₃ • 0.05 MeOH • 0.15 CH ₂ Cl ₂)
C [%]	67.025	66.53
H [%]	6.5985	7.04
N [%]	12.355	12.81
max. Abweichung [%]		0.49

ESI-MS m/z: 423.2564, berechnet [M + H]⁺ 423.2396.

5.27.3 Synthese von Komplex **K25**

Ligand L25	0.213 g (0.50 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.124 g (0.51 mmol)
Methanol	10 mL

Durchführung

Der Ligand **L25** wurde in 5 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 5 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der dunkelblaue Komplex **K25** auskristallisiert, abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

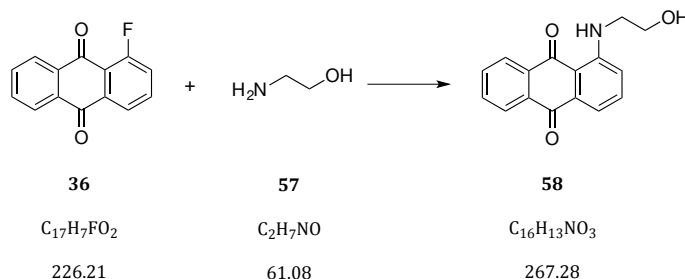
Ausbeute: 273.2 mg (0.45 mmol) 90 %

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet ([Cu(C ₂₄ H ₃₀ N ₄ O ₃)(NO ₃) ₂] · 0.5 CH ₃ OH)
C [%]	47.34	47.99
H [%]	5.2705	5.15
N [%]	13.35	13.42
max. Abweichung [%]		0.34

ESI-MS m/z: 484.1707, berechnet [Cu(C₂₄H₃₀N₄O₃) - H]⁺ 484.1541.

UV/Vis (50 mM Tris-HCl, pH 7.4): λ_{max} (ϵ) = 592 nm (270 L mol⁻¹ cm⁻¹);
384 nm (4828 L mol⁻¹ cm⁻¹).

5.28 Synthese von Komplex **K26**5.28.1 1-((2-Hydroxyethyl)amino)anthrachinon (**58**)1-Fluoranthrachinon (**36**)

0.988 g (4.4 mmol)

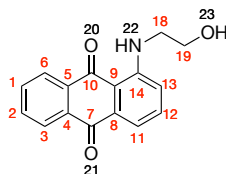
Ethanolamin (**57**)

4 mL (66.7 mmol)

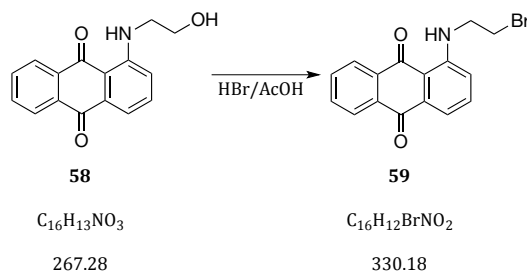
Durchführung

Eine Lösung aus Fluoranthrachinon (**36**) in Ethanolamin (**57**) wurde für 30 Minuten bei 70 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Eis gegeben, der ausfallende Feststoff abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Es wurde über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Toluol/Ethylacetat; 4/1; R_f 0.2) aufgereinigt und das Produkt **58** als roter Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.650 g (2.4 mmol, 54 %; Lit.: 100 %^[158])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 8.27–8.18 (m, 2 H, Ar-H^{3,6}), 7.79–7.66 (m, 2 H, Ar-H^{1,2}), 7.59 (dd, 1 H, $J = 7.4$ u. 1.1 Hz, Ar-H¹¹), 7.55–7.49 (m, 1 H, Ar-H¹²), 7.10 (dd, 1 H, $J = 8.5$ u. 1.1 Hz, Ar-H¹³), 3.98 (t, 2 H, $J = 5.4$ Hz, CH₂¹⁹), 3.55 (t, 2 H, $J = 5.4$ Hz, CH₂¹⁸) ppm.

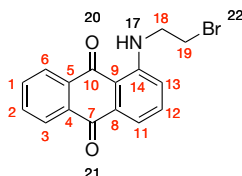
5.28.2 1-((2-Bromomethyl)amino)anthrachinon (**59**)

1-((2-Hydroxyethyl)amino)anthrachinon (**58**) 0.635 g (2.4 mmol)
 HBr in Eisessig (33 %) 15 mL

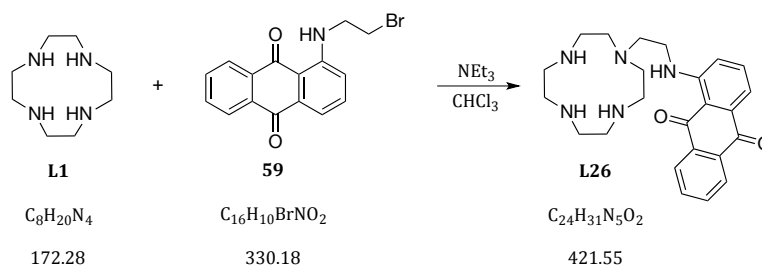
Durchführung

Verbindung **58** wurde in HBr/AcOH-Lösung suspendiert und für vier Stunden bei 110 °C gerührt. Im Anschluss wurde die Reaktionslösung auf 100 g Eis gegeben, mit Ammoniaklösung (25 %) basisch gestellt und mit dreimal 100 mL Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der Rückstand über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Toluol/THF; 1/1) aufgereinigt. Das Produkt **59** wurde als roter Feststoff erhalten.

Ausbeute: 0.548 g (1.7 mmol, 71 %; Lit.: 90 %^[158])



¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): 9.99 (br, 1 H, NH¹⁷), 8.31–8.21 (m, 2 H, Ar-H^{3,6}), 7.80–7.68 (m, 2 H, Ar-H^{1,2}), 7.65 (dd, 1 H, *J* = 7.4 u. 1.1 Hz, Ar-H¹¹), 7.60–7.54 (m, 1 H, Ar-H¹²), 7.05 (d, 1 H, *J* = 6.4 Hz, CH₂¹³), 3.81 (q, 2 H, *J* = 5.4 Hz, CH₂¹⁸), 3.69–3.55 (m, 2 H, CH₂¹⁹) ppm.

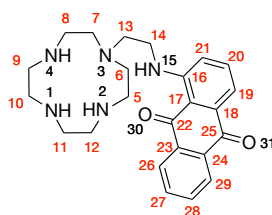
5.28.3 1-((2-(1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-yl)ethyl)amino)anthrachinon (**L26**)

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (L1)	0.827 g (6.4 mmol)
1-((2-Bromomethyl)amin)anthrachinon (59)	0.406 g (1.2 mmol)
Triethylamin	0.25 mL (1.8 mmol)
Chloroform	40 mL

Durchführung

Cyclen und das Anthrachinonderivat **59** wurden in Chloroform gelöst und anschließend mit Triethylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für drei Tage zum Rückfluss erhitzt, daraufhin das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das zurückbleibende Öl in 0.4 M Salzsäure aufgenommen. Es wurde viermal mit je 50 mL DCM gewaschen, der pH-Wert der wässrigen Phase mit Kaliumhydroxid auf 14 eingestellt und dann mit viermal 50 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt und der zurückbleibende Feststoff über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Chloroform/MeOH/*i*-PrNH₂; 20/1/1; *R_f* 0.51) aufgereinigt. Der Ligand **L26** konnte in Form eines roten Feststoffs isoliert werden.

Ausbeute 0.322 g (0.8 mmol, 66 %)



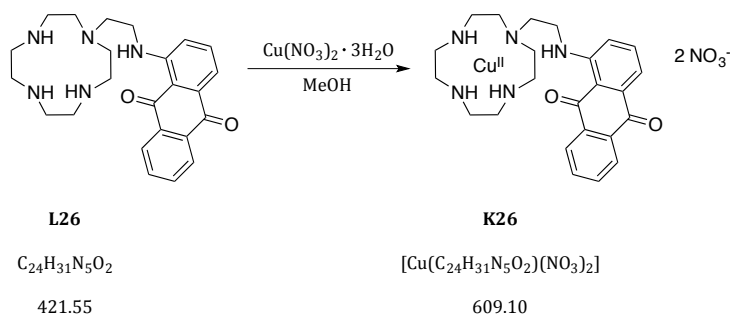
¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 9.83 (t, 1 H, *J* = 5.2 Hz, N-H¹⁵), 8.24 (dd, 1 H, *J* = 7.7 u. 1.3 Hz, Ar-H²⁹), 8.19 (dd, 1 H, *J* = 7.7 u. 1.3 Hz, Ar-H²⁶), 7.71 (td, 1 H, *J* = 7.5 u. 1.4 Hz, Ar-H^{27 o. 28}), 7.65 (td, 1 H, *J* = 7.5 u. 1.3 Hz, Ar-H^{27 o. 28}), 7.54 (dd, 1H, *J* = 7.4 u. 1.1 Hz, Ar-H²¹), 7.49 (dd, 1 H, *J* = 8.6, u. 7.3 Hz, Ar-H²⁰), 7.03 (dd, 1 H, *J* = 8.6, u. 1.1 Hz, Ar-H¹⁹), 3.45 (dt, 2 H, *J* = 6.4 u. 5.1 Hz, CH₂¹⁴), 2.80 (t, 2 H, *J* = 6.5, CH₂¹³), 2.78–2.74 (m, 4 H, CH₂^{10,11}), 2.69–2.66 (m, 4 H, CH₂^{5,8}), 2.65–2.61 (m, 4 H, CH₂^{6,7}), 2.58–2.54 (m, 4 H, CH₂^{9,12}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 184.77 (Ar-C²⁵), 183.90 (Ar-C²²), 151.59 (Ar-C¹⁶), 135.31 (Ar-C²⁰), 135.13 (Ar-C¹⁷), 134.74 (Ar-C²⁴), 133.98 (Ar-C^{25 o. 29}), 133.11 (Ar-C²³), 132.89 (Ar-C^{25 o. 29}), 126.74 (Ar-C^{26 o. 29}), 126.72 (Ar-C^{26 o. 29}), 118.01 (Ar-C¹⁹), 115.74 (Ar-C²¹), 113.19 (Ar-C¹⁸), 53.83 (CH₂¹³), 52.14 (CH₂^{6,7}), 47.06 (CH₂^{9,12}), 45.09 (CH₂^{10,11}), 45.35 (CH₂^{5,8}), 40.83 (CH₂¹⁴) ppm.

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet (C ₂₄ H ₃₁ N ₅ O ₂ · 0.2 MeOH · 0.15 CH ₂ Cl ₂)
C [%]	66.745	66.37
H [%]	6.9645	7.34
N [%]	15.445	15.89
max. Abweichung [%]		0.45

ESI-MS m/z: 422.3030, berechnet [M + H]⁺ 422.2556.

5.28.4 Synthese von Komplex **K26**

Ligand L26	0.213 g (0.50 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.123 g (0.51 mmol)
Methanol	10 mL

Durchführung

Der Ligand **L25** wurde in 5 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 5 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der purpurfarbene Komplex **K25** abfiltriert, mit eisgekühltem Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet.

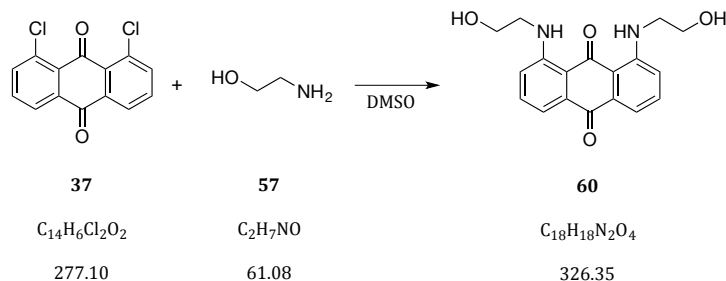
Ausbeute: 237.2 mg (0.39 mmol, 78 %)

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
C [%]	47.365	47.33
H [%]	5.232	5.13
N [%]	16.095	16.10
max. Abweichung [%]		0.1

ESI-MS m/z: 483.1910, berechnet $[Cu(C_{24}H_{30}N_5O_2) - H]^+$ 483.1701.

UV/Vis (50 mM Tris-HCl, pH 7.4): λ_{max} (ϵ) = 513 nm (4056 L mol⁻¹ cm⁻¹).

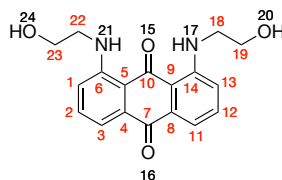
5.29 Synthese von Kryptand **K27**5.29.1 1,8-Bis((2-hydroxyethyl)amin)anthrachinon (**60**)

1,8-Dichloranthrachinon (37)	5.56 g (20 mmol)
Ethanolamin (57)	18 mL (300 mmol)
DMSO (abs.)	100 mL

Durchführung

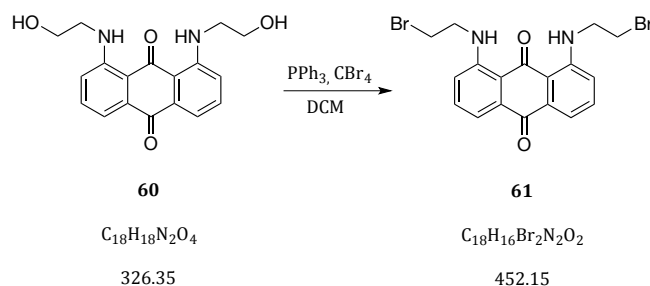
Unter Argon wurden Ethanolamin (**57**) und 1,8-Dichloranthrachinon (**37**) in DMSO gelöst und bei 70 °C für drei Tage gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde zu 1.5 L Wasser gegeben und der ausgefallene metallisch glänzende Feststoff abfiltriert, mit Wasser gewaschen, im Vakuum getrocknet und ohne weitere Aufreinigung weiterverwendet.

Ausbeute: 6.78 g (20 mmol, 100 %)



¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): 9.66 (t, 2 H, *J* = 5.4 Hz, N-H^{17,18}), 7.54 (dd, 2 H, *J* = 8.5 u. 7.4 Hz, Ar-H^{2,12}), 7.36 (dd, 2 H, *J* = 7.4 u. 1.1 Hz, Ar-H^{3,11}), 7.20 (dd, 2 H, *J* = 8.7 u. 1.1 Hz, Ar-H^{1,13}), 3.82 (t, 2 H, *J* = 5.1 Hz, NH^{17,21}), 3.68 (q, 4 H, *J* = 5.2 Hz, CH₂^{18,22}), 3.39⁷ (t, 4 H, CH₂^{19,23}) ppm.

⁷ Das Signal wird teilweise vom Lösungsmittelpeak überlagert, sodass eine genaue Auswertung nicht möglich ist.

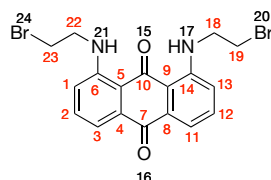
5.29.2 1,8-Bis-((2-bromomethyl)amin)anthrachinon (**61**)

1,8-Bis-((2-hydroxyethyl)amin)anthrachinon (60)	6.78 g (21 mmol)
Tetrabrommethan	14.17 (43 mmol)
Triphenylphosphin	11.21 (43 mmol)
DCM	200 mL

Durchführung

Das Diol **60** wurde gemeinsam mit Tetrabrommethan in DCM gelöst und portionsweise Triphenylphosphin hinzugegeben. Nach vollständiger Zugabe wurde bei Raumtemperatur für 16 Stunden gerührt, anschließend das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Chloroform; R_f 0.83) aufgereinigt. Die Verbindung **61** wurde in Form eines braunen, metallisch glänzenden Feststoffs isoliert.

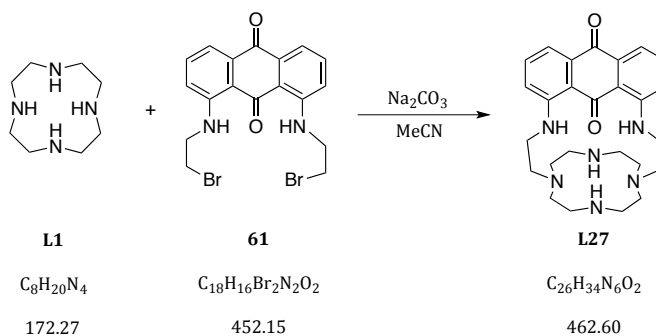
Ausbeute: 4.189 g (9.2 mmol, 44 %)



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 9.88 (t, 2 H, $J = 5.9$ Hz, N-H^{17,18}), 7.59 (dd, 2 H, $J = 7.4$ u. 1.2 Hz, Ar-H^{2,12}), 7.53–7.47 (m, 2 H, Ar-H^{3,11}), 7.01 (dd, 2 H, $J = 8.5$ u. 1.2 Hz, Ar-H^{1,13}), 3.78 (q, 4 H, $J = 6.5$ Hz CH₂^{18,22}), 3.75–3.65 (m, 4 H, CH₂^{19,23}) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 101 MHz): 189.37 (C⁷), 184.34 (C¹⁰), 150.48 (C^{6,14}), 134.71 (C^{2,12}), 134.63 (C^{4,8}), 117.34 (C^{1,13}), 116.00 (C^{3,11}), 115.13 (C^{5,9}), 44.73 (C^{18,22}), 30.30 (C^{19,23}).

ESI-MS m/z : 472.9641, berechnet $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 472.9476.

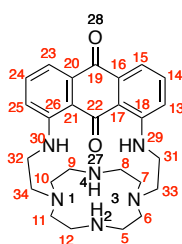
5.29.3 Synthese des Liganden **L27**

1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (L1)	360.8 mg (2 mmol)
1,8-Bis((2-bromomethyl)amin)anthracinon (61)	898.1 mg (2 mmol)
Natriumcarbonat	647 mg (6 mmol)
abs. Acetonitril	20 mL

Durchführung

Unter Argon wurden die Edukte **L1** und **61** gemeinsam mit Natriumcarbonat in Acetonitril gelöst und für zwei Tage zum Rückfluss erhitzt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Chloroform/*i*PrNH₂; 100/2; *R_f* 0.25) aufgereinigt. Der Ligand **L27** wurde in Form eines schwarzen bis purpurfarbenen Feststoffs erhalten.

Ausbeute: 93.2 mg (0.2 mmol, 10 %)



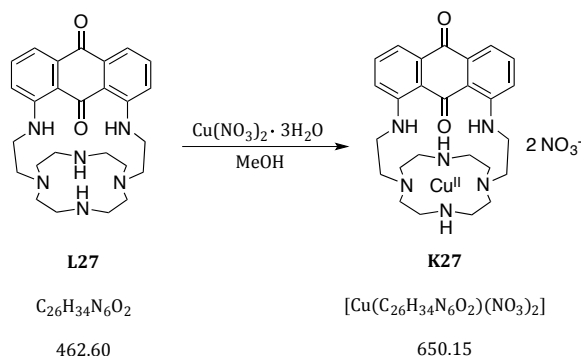
¹H-NMR (CDCl₃, 700 MHz): 10.30 (t, 2 H, *J* = 4.6 Hz, N-H^{29,30}), 7.49 (dd, 2 H, *J* = 7.3 u. 1.1 Hz, Ar-H^{15,23}), 7.45–7.42 (m, 2 H, Ar-H^{14,24}), 6.95 (dd, 2 H, *J* = 8.5 u. 1.1 Hz, Ar-H^{13,25}), 3.42 (dt, 4 H, *J* = 6.6 u. 4.8 Hz, CH₂^{31,32}), 2.93–2.86 (m, 4 H, CH₂^{5,8,9,12}), 2.81–2.74 (m, 8 H, CH₂^{5'-12'}), 2.74–2.21 (m, 4 H, C^{33,34}), 2.58–2.53 (m, 4 H, CH₂^{6,7,10,11}) ppm.

¹³C-NMR (CDCl₃, 176 MHz): 188.39 (Ar-C¹⁹), 184.94 (Ar-C²²), 150.86 (Ar-C^{26,18}), 134.43 (Ar-C^{16,20}), 134.14 (Ar-C^{14,24}), 117.66 (Ar-C^{15,23}), 114.60 (Ar-C^{13,25}), 114.46 (Ar-C^{17,21}), 54.90 (C^{33,34}), 50.47 (C^{6,7,10,11}), 45.23 (C^{5,8,9,12}), 38.70 (C^{31,32}) ppm.

C,H,N,S-Analyse

	gefunden	berechnet (C ₂₆ H ₃₄ N ₆ O ₂ • 0.45 CH ₂ Cl ₂)
C [%]	63.63	63.43
H [%]	7.313	7.02
N [%]	16.48	16.78
max. Abweichung [%]		0.3

ESI-MS m/z: 463.2865, berechnet [M + H]⁺ 463.2821.

5.29.4 Synthese von Kryptand **K27**

Ligand L27	0.093 g (0.20 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.072 g (0.30 mmol)
Chloroform	10 mL
Methanol	15 mL

Durchführung

Der Ligand **L27** wurde in 10 mL Chloroform gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 15 mL Methanol hinzugegeben und über Nacht zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der rote Komplex **K27** abfiltriert, mit eisgekühltem Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 70.0 mg (0.11 mmol, 55 %)

C,H,N-Analyse

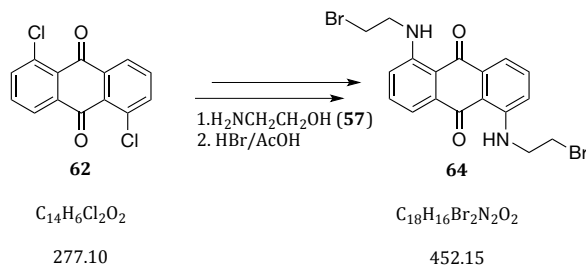
	gefunden	berechnet
		$[(\text{Cu}(\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_2)(\text{NO}_3)_2) \cdot 1.5 \text{CH}_3\text{OH} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}]$
C [%]	44.83	44.99
H [%]	5.636	6.04
N [%]	14.98	15.26
max. Abweichung [%]		0.4

ESI-MS m/z: 524.1957, berechnet $[\text{Cu}(\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{N}_6\text{O}_2) - \text{H}]^+$ 524.1966.

UV/Vis (50 mM Tris-HCl, pH 7.4): λ_{max} (ϵ) = 686 nm (4598 L mol⁻¹ cm⁻¹).

5.30 Synthese von Komplex **K28**

5.30.1 1,5-Bis((2-bromomethyl)amin)anthrachinon (**64**)

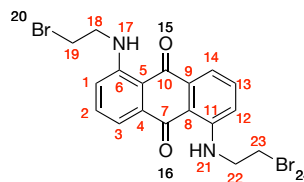


1,5-Dichloranthrachinon (62)	2.88 g (10.4 mmol)
Ethanolamin (57)	40 mL
HBr/ Eisessig (32 %)	80 mL

Durchführung

1,5-Dichloranthrachinon (**62**) wurde in 40 mL Ethanolamin (**57**) vorgelegt und für 18 Stunden bei 100 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde zu 100 mL eisgekühltem Wasser gegeben, der ausgefallene Feststoff abfiltriert und zunächst mit Wasser und dann mit wenig Methanol gewaschen. Nachdem der Feststoff im Vakuum getrocknet wurde, wurde dieser in HBr/Eisessig-Lösung aufgenommen und für 18 Stunden zum Rückfluss erhitzt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser auf 300 mL verdünnt, der pH-Wert der Lösung mit Ammoniaklösung (22 %) basisch gestellt und anschließend dreimal 200 mL DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der zurückbleibende Feststoff über Säulenchromatographie an Kieselgel (Eluent: Toluol; R_f 0.52) aufgereinigt. Das Produkt **65** wurde als dunkelroter Feststoff erhalten.

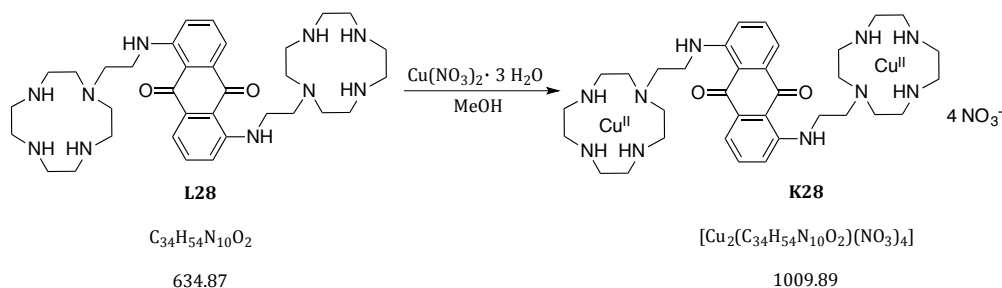
Ausbeute: 1.048 g (2.3 mmol; 22 %)



$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 9.96 (t, 2 H, $J = 5.9$ Hz, N-H^{17,21}), 7.63 (dd, 1 H, $J = 7.5$ u. 1.1 Hz, Ar-H^{3,14}), 7.56 (ddd, 2 H, $J = 8.2, 7.5$ u. 0.7 Hz, 1H, Ar-H^{2,13}), 7.00–6.97 (m, 2 H, Ar-H^{1,14}), 3.79 (q, 4 H, $J = 6.5$ Hz, CH_2 ^{18,22}), 3.60 (t, 4 H, $J = 6.7$ Hz, CH_2 ^{19,22}) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 101 MHz): 185.72 (Ar-C^{7,10}), 150.70 (Ar-C^{6,11}), 136.44 (Ar-C^{4,9}), 135.62 (Ar-C^{2,13}), 116.19 (Ar-C^{1,12}), 115.97 (Ar-C^{3,14}), 113.75 (Ar-C^{5,8}), 44.61 ($\text{C}^{18,22}$), 30.18 ($\text{C}^{19,23}$) ppm.

ESI-MS m/z : 922.9064, berechnet $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 922.9055.

5.30.3 Synthese von Komplex **K28**

Ligand L28	0.211 g (0.33 mmol)
Kupfer(II)nitrat Trihydrat	0.238 g (0.98 mmol)
Methanol	10 mL

Durchführung

Der Ligand **L28** wurde in 5 mL Methanol gelöst und zum Rückfluss erhitzt. Es wurde eine Lösung des Metallsalzes in 5 mL Methanol hinzugegeben und für weitere 30 Minuten zum refluxiert. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gekühlt, der schwarze Komplex **K28** abfiltriert, mit eisgekühltem Methanol und Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 160.0 mg (0.16 mmol, 48 %)

C,H,N-Analyse

	gefunden	berechnet
		für $[\text{Cu}_2(\text{C}_{34}\text{H}_{54}\text{N}_{10}\text{O}_2)(\text{NO}_3)_4] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
C [%]	39.36	39.04
H [%]	5.503	5.59
N [%]	18.41	18.75
max. Abweichung		0.34 [%]

ESI-MS m/z: 379.1493, berechnet $[\text{Cu}_2(\text{C}_{34}\text{H}_{54}\text{N}_{10}\text{O}_2) - 2\text{H}]^{2+}$ 379.1439.

UV/Vis (50 mM Tris-HCl, pH 7.4): λ_{max} (ϵ) = 529 nm (9398 L mol⁻¹ cm⁻¹).

KAPITEL 6

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. K. Müller-Hermelink, T. Papadopoulos, in *Die Onkologie* (Eds.: W. Hiddemann, C.R. Bartram), Springer Medizin Verlag, Heidelberg, **2010**, pp. 17–42.
- [2] D. Forman, J. Ferlay, B. W. Stewart, C. P. Wild, in *World Cancer Report 2014* (Eds.: B.W. Stewart, C.P. Wild), Lyon, **2014**, pp. 77–180.
- [3] Statistisches Bundesamt, Ed., *Fachserie 12, Gesundheit, Reihe 4; Todesursachen in Deutschland*, Wiesbaden, **2015**.
- [4] J. Schütte, J. Barth, in *Die Onkologie* (Eds.: W. Hiddemann, C.R. Bartram), Springer Medizin Verlag, Heidelberg, **2010**, pp. 401–436.
- [5] F. Crick, *Nature* **1970**, *227*, 561–563.
- [6] C. J. Lord, A. Ashworth, *Nature* **2012**, *481*, 287–294.
- [7] C. R. Bartram, in *Die Onkologie* (Eds.: W. Hiddemann, C.R. Bartram), Springer Medizin Verlag, Heidelberg, **2010**, pp. 67–127.
- [8] L. H. Hurley, *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 188–200.
- [9] D. Wang, S. J. Lippard, *Nat Rev Drug Discov* **2005**, *4*, 307–320.
- [10] E. R. Jamieson, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2467–2498.
- [11] R. C. Todd, S. J. Lippard, *J. Inorg. Biochem.* **2010**, *104*, 902–908.
- [12] A. V. Klein, T. W. Hambley, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4911–4920.
- [13] Y. Jung, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 1387–1407.
- [14] F. H. Westheimer, *Science* **1987**, *235*, 1173–1178.
- [15] N. H. Williams, B. Takasaki, M. Wall, J. Chin, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 485–493.
- [16] J. C. Wang, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2002**, *3*, 430–440.
- [17] H. W. Boyer, *Annu. Rev. Microbiol.* **1971**, *25*, 153–176.
- [18] K. Samejima, W. C. Earnshaw, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2005**, *6*, 677–688.
- [19] F. Mancin, P. Scrimin, P. Tecilla, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5545–5559.
- [20] F. Mancin, P. Scrimin, P. Tecilla, U. Tonellato, *Chem. Commun.* **2005**, 2540–2548.
- [21] N. Graf, S. J. Lippard, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2012**, 993–1004.
- [22] W. Knapp Pogożelski, T. D. Tullius, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1089–1108.
- [23] C. J. Burrows, J. G. Muller, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1109–1152.
- [24] S. Steenken, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 503–520.
- [25] S. Gowda K R, B. B. Mathew, C. N. Sudhamani, H. S. Bhojya Naik, *Biomed. Biotechnol.* **2014**, *2*, 1–9.
- [26] D. S. Sigman, D. R. Graham, V. D'Aurora, A. M. Stern, *J. Biol. Chem.* **1979**, *254*, 12269–12272.
- [27] C. Wende, C. Lüdtke, N. Kulak, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2014**, 2597–2612.
- [28] O. Zelenko, J. Gallagher, D. S. Sigman, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2776–2778.

- [29] T. Oyoshi, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6313–6314.
- [30] M. Pitié, G. Pratviel, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1018–1059.
- [31] B. Armitage, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1171–1200.
- [32] M. A. Marques Capella, L. S. Capella, *J. Biomed. Sci.* **2003**, *10*, 361–366.
- [33] F. Tisato, C. Marzano, M. Porchia, M. Pellei, C. Santini, *Med. Res. Rev.* **2010**, *30*, 708–749.
- [34] P. Szymański, T. Frączek, M. Markowicz, E. Mikiciuk-Olasik, *Biometals* **2012**, *25*, 1089–1112.
- [35] M. L. Schilsky, *Curr. Gastroenterol. Rep.* **2001**, *3*, 54–59.
- [36] I. Bertini, A. Rosato, *Cell. Mol. Life Sci.* **2008**, *65*, 89–91.
- [37] Y. Luo, J. Zhang, N. Liu, Y. Luo, B. Zhao, *Sci. China Life Sci.* **2011**, *54*, 527–534.
- [38] E. Leclerc, H. Serban, S. B. Prusiner, D. R. Burton, R. A. Williamson, *Arch. Virol.* **2006**, *151*, 2103–2109.
- [39] E. V. Stelmashook, N. K. Isaev, E. E. Genrikhs, G. A. Amelkina, L. G. Khaspekov, V. G. Skrebitsky, S. N. Illarioshkin, *Biochemistry Moscow* **2014**, *79*, 391–396.
- [40] G. Perry, M. A. Taddeo, R. B. Petersen, R. J. Castellani, P. L. R. Harris, S. L. Siedlak, A. D. Cash, Q. Liu, A. Nunomura, C. S. Atwood, et al., *Biometals* **2003**, *16*, 77–81.
- [41] N. Kitajima, Y. Moro-oka, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 737–757.
- [42] R. F. Brissos, A. Caubet, P. Gamez, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2015**, *2015*, 1–13.
- [43] B. J. Pages, D. L. Ang, E. P. Wright, J. R. Aldrich-Wright, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 3505–3526.
- [44] C. Santini, M. Pellei, V. Gandin, M. Porchia, F. Tisato, C. Marzano, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 815–862.
- [45] H. Stetter, K.-H. Mayer, *Chem. Ber.* **1961**, *94*, 1410–1416.
- [46] J. E. Richman, T. J. Atkins, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 2268–2270.
- [47] M. Suchý, R. H. E. Hudson, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, *2008*, 4847–4865.
- [48] T. Joshi, B. Graham, L. Spiccia, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 2366–2379.
- [49] J. C. Dabrowiak, in *Metals in Medicine*, John Wiley & Sons, New York, **2009**, pp. 266–270.
- [50] B. Gruber, E. Kataev, J. Aschenbrenner, S. Stadlbauer, B. König, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 20704–20707.
- [51] A. Bencini, E. Berni, A. Bianchi, C. Giorgi, B. Valtancoli, D. Kumar Chand, H.-J. Schneider, *Dalton Trans.* **2003**, 793–800.
- [52] Y.-G. Fang, J. Zhang, S.-Y. Chen, N. Jiang, H.-H. Lin, Y. Zhang, X.-Q. Yu, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 696–701.
- [53] E. Kikuta, M. Murata, N. Katsube, T. Koike, E. Kimura, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5426–5436.
- [54] Q.-L. Li, J. Huang, Q. Wang, N. Jiang, C.-Q. Xia, H.-H. Lin, J. Wu, X.-Q. Yu, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4151–4157.
- [55] Y. Zhang, Y. Huang, J. Zhang, D.-W. Zhang, J.-L. Liu, Q. Liu, H.-H. Lin, X.-Q. Yu, *Sci. China Chem.* **2011**, *54*, 129–136.
- [56] J. Hormann, C. Perera, N. Deibel, D. Lentz, B. Sarkar, N. Kulak, *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 4357–4360.
- [57] R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 7684–7690.
- [58] R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3533–3539.
- [59] R. G. Pearson, *Coord. Chem. Rev.* **1990**, *100*, 403–425.
- [60] C. E. Housecroft, A. G. Sharpe, in *Anorganische Chemie*, Pearson Education, München, **2006**,

- pp. 202–204.
- [61] F. Friscourt, C. J. Fahrni, G.-J. Boons, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 18809–18815.
- [62] Y. Fukudome, H. Naito, T. Hata, H. Urabe, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1820–1821.
- [63] L. Börjesson, C. J. Welch, *Acta Chem. Scand.* **1991**, *45*, 621–626.
- [64] H. R. Snyder, R. E. Heckert, *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 2006–2009.
- [65] D. I. Weisblat, B. J. Magerlein, D. R. Myers, *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 3630–3632.
- [66] A. H. Jadhav, H. Kim, *Chem. Eur. J.* **2012**, 264–274.
- [67] F. Bottino, M. Di Gracia, P. Finocchiaro, F. R. Fronczek, A. Mamo, S. Pappalardo, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 3521–3529.
- [68] M. R. Johnson, N. F. Jones, I. O. Sutherland, R. F. Newton, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1985**, *1*, 1637–1643.
- [69] F. Z. Badaoui, J. Bourson, *Anal. Chim. Acta* **1995**, *302*, 341–354.
- [70] M. C. Styka, R. C. Smierciak, E. L. Blinn, R. E. DeSimone, J. V. Passariello, *Inorg. Chem.* **1978**, *17*, 82–86.
- [71] R. Clay, P. Murray-Rust, J. Murray-Rust, *Acta Cryst.* **1979**, *B35*, 1894–1895.
- [72] R. D. Rogers, Y. Song, *J. Coord. Chem.* **1995**, *34*, 149–157.
- [73] R. D. Hancock, S. M. Dobson, A. Evers, P. W. Wade, M. P. Ngwenya, J. C. A. Boeyens, K. P. Wainwright, *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 2788–2794.
- [74] V. J. Thöm, M. S. Shaikjee, R. D. Hancock, *Inorg. Chem.* **1986**, *25*, 2992–3000.
- [75] F. Arnaud-Neu, M. Sanchez, R. Yahya, M.-J. Schwing-Weill, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 456–464.
- [76] H.-J. Buschmann, *Thermochimica Acta* **1989**, *137*, 331–335.
- [77] J. Nagaj, K. Stokowa-Sołtys, E. Kurowska, T. Frączyk, M. Jeżowska-Bojczuk, W. Bał, *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 13927–13933.
- [78] M. Kashiba-Iwatsuki, M. Yamaguchi, M. Inoue, *FEBS Lett.* **1996**, *389*, 149–152.
- [79] E. L. Hegg, J. N. Burstyn, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 7474–7481.
- [80] A. Sreedhara, J. D. Freed, J. A. Cowan, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8814–8824.
- [81] Y. Jin, J. A. Cowan, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8408–8415.
- [82] X. Sheng, X.-M. Lu, Y.-T. Chen, G.-Y. Lu, J.-J. Zhang, Y. Shao, F. Liu, Q. Xu, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 9703–9712.
- [83] M. J. Belousoff, M. B. Duriska, B. Graham, S. R. Batten, B. Moubaraki, K. S. Murray, L. Spiccia, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 3746–3755.
- [84] J. C. Joyner, J. Reichfield, J. A. Cowan, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 15613–15626.
- [85] J. Schnödt, M. Sieger, B. Sarkar, J. Fiedler, J. S. Manzur, C.-Y. Su, W. Kaim, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2011**, *637*, 930–934.
- [86] H. Xie, D. Yang, A. Heller, Z. Gao, *Biophys. J.* **2007**, *92*, L70–L72.
- [87] T. Mosmann, *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55–63.
- [88] M. W. Glenny, L. G. A. van de Water, J. M. Vere, A. J. Blake, C. Wilson, W. L. Driessen, J. Reedijk, M. Schröder, *Polyhedron* **2006**, *25*, 599–612.
- [89] A. H. Alberts, J.-M. Lehn, D. Parker, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1985**, 2311–2317.
- [90] S. Afshar, S. T. Marcus, L. R. Gahan, T. W. Hambley, *Aust. J. Chem.* **1999**, *52*, 1–6.
- [91] K. B. Yatsimirskii, V. V. Pavlishchuk, *J. Coord. Chem.* **1996**, *37*, 341–348.
- [92] M. Kodama, T. Koike, N. Hoshiga, R. Machida, E. Kimura, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1984**,

- 673–678.
- [93] K. P. Balakrishnan, T. A. Kaden, L. Siegfried, A. D. Zuberbühler, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 1060–1069.
- [94] I. R. Young, L. A. Ochrymowycz, D. B. Rorabacher, *Inorg. Chem.* **1986**, *25*, 2576–2582.
- [95] R. M. Izatt, J. S. Bradshaw, S. A. Nielsen, J. D. Lamb, J. J. Christensen, *Chem. Rev.* **1985**, *85*, 271–339.
- [96] M. C. Aragoni, M. Arca, A. Bencini, A. J. Blake, C. Caltagirone, A. Decortes, F. Demartin, F. A. Devillanova, E. Faggi, L. S. Dolci, et al., *Dalton Trans.* **2005**, 2994–3004.
- [97] E. E. Langdon-Jones, S. J. A. Pope, *Coord. Chem. Rev.* **2014**, *269*, 32–53.
- [98] P. F. Gordon, P. Gregory, in *Organic Chemistry in Colour*, Berlin Heidelberg, **1987**, pp. 163–198.
- [99] C. Miliani, A. Romani, G. Favaro, *J. Phys. Org. Chem.* **2000**, *13*, 141–150.
- [100] A. N. Diaz, *J. Photochem. Photobiol. A* **1990**, *53*, 141–167.
- [101] P. Mohan, N. Rapoport, *Mol. Pharmaceutics* **2010**, *7*, 1959–1973.
- [102] H. Laatsch, S. Fotso, in *Anthracycline Chemistry and Biology I*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2008**, pp. 3–74.
- [103] C. A. Frederick, L. D. Williams, G. Ughetto, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, A. Rich, A. H. J. Wang, *Biochemistry* **1990**, *29*, 2538–2549.
- [104] G. L. Beretta, F. Zunino, in *Anthracycline Chemistry and Biology I*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2007**, pp. 1–19.
- [105] L. T. Ellis, D. F. Perkins, P. Turner, T. W. Hambley, *Dalton Trans.* **2003**, 2728–2736.
- [106] S. Aoki, E. Kimura, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 769–788.
- [107] E. Kimura, T. Ikeda, M. Shionoya, *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69*, 2187–2195.
- [108] E. Kikuta, R. Matsubara, N. Katsube, T. Koike, E. Kimura, *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *82*, 239–249.
- [109] E. Boseggia, M. Gatos, L. Lucatello, F. Mancin, S. Moro, M. Palumbo, C. Sissi, P. Tecilla, U. Tonellato, G. Zagotto, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4543–4549.
- [110] W. Xu, X. Yang, L. Yang, Z.-L. Jia, L. Wei, F. Liu, G.-Y. Lu, *New J. Chem.* **2010**, *34*, 2654–2661.
- [111] L. Wei, Y. Shao, M. Zhou, H.-W. Hu, G.-Y. Lu, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8484–8492.
- [112] M. Fang, L. Wei, Z. Lin, G.-Y. Lu, *Chin. J. Chem.* **2014**, *32*, 142–150.
- [113] B. Armitage, C. Yu, C. Devadoss, G. B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 9847–9859.
- [114] I. Loeff, J. Rabani, A. Treinin, H. Linschitz, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8933–8942.
- [115] S. C. Núñez Montoya, L. R. Comini, M. Sarmiento, C. Becerra, I. Albasa, G. A. Argüello, J. L. Cabrera, *J. Photochem. Photobiol. B* **2005**, *78*, 77–83.
- [116] K. Kawai, Y. Osakada, E. Matsutani, T. Majima, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 10195–10199.
- [117] L. Echegoyen, Y. Hafez, R. C. Lawson, J. de Mendoza, T. Torres, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 2009–2012.
- [118] N. A. Senger, B. Bo, Q. Cheng, J. R. Keeffe, S. Gronert, W. Wu, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 9535–9540.
- [119] T. Ossowski, D. Zarzeczańska, L. Zalewski, P. Niedziałkowski, R. Majewski, A. Szymańska, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 1735–1738.
- [120] D. J. Milner, *Synth. Commun.* **1992**, *22*, 73–82.
- [121] E. Rochlin, Z. Rappoport, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 216–226.
- [122] D. Milić, Z. Džolić, M. Cametti, B. Prugovečki, M. Žinić, *J. Mol. Struct.* **2009**, *920*, 178–182.

- [123] J. Janczak, *Acta Cryst.* **1995**, C51, 1381–1382.
- [124] R. Palchadhuri, P. J. Hergenrother, *Curr. Opin. Biotech.* **2007**, 18, 497–503.
- [125] L. S. Lerman, *J. Mol. Biol.* **1961**, 3, 18–IN14.
- [126] Y. Cao, X.-W. He, *Spectrochim. Acta Mol. Biomol. Spectrosc.* **1998**, 54, 883–892.
- [127] J. B. Chaires, *Biopolymers* **1997**, 44, 201–215.
- [128] Y.-M. Chang, C. K. M. Chen, M.-H. Hou, *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, 13, 3394–3413.
- [129] V. I. Ivanov, L. E. Minchenkova, A. K. Schyolkina, A. I. Poletayev, *Biopolymers* **1973**, 12, 89–110.
- [130] P. Uma Maheswari, M. Palaniandavar, *J. Inorg. Biochem.* **2004**, 98, 219–230.
- [131] C. Tong, G. Xiang, Y. Bai, *J. Agric. Food Chem.* **2010**, 58, 5257–5262.
- [132] L. Han, Y. Zhou, X. Huang, M. Xiao, L. Zhou, J. Zhou, A. Wang, J. Shen, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2014**, 123, 497–502.
- [133] L. Fabbri, M. Licchelli, P. Pallavicini, A. Perotti, A. Taglietti, D. Sacchi, *Chem. Eur. J.* **1996**, 2, 75–82.
- [134] J. Hormann, *Masterarbeit (Entwicklung und Biochemische Evaluation von Cyclen-basierten Metallonucleasen)*, Freie Universität Berlin, **2012**.
- [135] J. H. R. Tucker, M. Shionoya, T. Koike, E. Kimura, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, 68, 2465–2469.
- [136] F. Bellouard, F. Chuburu, N. Kervarec, L. Toupet, S. Triki, Y. Le Mest, H. Handel, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1999**, 1, 3499–3505.
- [137] L. M. De León-Rodríguez, Z. Kovacs, A. C. Esqueda-Oliva, A. D. Miranda-Olvera, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 6937–6940.
- [138] C. Li, W.-T. Wong, *Tetrahedron* **2004**, 60, 5595–5601.
- [139] Y. Hou, P. Wan, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2008**, 7, 588–596.
- [140] R. Kingsford-Adaboh, S. Kashino, *Acta Cryst. C* **1995**, 2094–2096.
- [141] R. B. Inman, D. O. Jordan, *Biochim. Biophys. Acta* **1960**, 42, 421–426.
- [142] F. H. Martin, O. C. Uhlenbeck, P. Doty, *J. Mol. Biol.* **1971**, 57, 201–215.
- [143] N. I. Korolev, A. P. Vlasov, I. A. Kuznetsov, *Biopolymers* **1994**, 34, 1275–1290.
- [144] S. Betanzos-Lara, N. P. Chmel, M. T. Zimmerman, L. R. Barrón-Sosa, C. Garino, L. Salassa, A. Rodger, J. L. Brumaghim, I. Gracia-Mora, N. Barba-Behrens, *Dalton Trans.* **2015**, 44, 3673–3685.
- [145] M. J. Hannon, V. Moreno, M. J. Prieto, E. Moldrheim, E. Sletten, I. Meistermann, C. J. Isaac, K. J. Sanders, A. Rodger, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 879–884.
- [146] M. S. Rocha, A. G. Cavalcante, R. Silva, E. B. Ramos, *J. Phys. Chem. B* **2014**, 118, 4832–4839.
- [147] V. Vijayanathan, T. Thomas, A. Shirahata, T. J. Thomas, *Biochemistry* **2001**, 40, 13644–13651.
- [148] F. Zhao, J. Xu, S. Liu, *Thin Solid Films* **2008**, 516, 7555–7559.
- [149] P. J. Walla, *Modern Biophysical Chemistry: Detection and Analysis of Biomolecules*, **2009**.
- [150] K. Kleppe, E. Ohtsuka, R. Klepper, I. Molineux, H. G. Khorana, *J. Mol. Biol.* **1970**, 56, 341–361.
- [151] R. K. Saiki, D. H. Gelfand, S. Stoffel, S. J. Scharf, R. Higuchi, G. T. Horn, K. B. Mullis, H. A. Erlich, *Science* **1988**, 239, 487–491.
- [152] T. Jany, A. Moreth, C. Gruschka, A. Sischka, A. Spiering, M. Dieding, Y. Wang, S. H. Samo, A. Stammler, H. Bögge, et al., *Inorg. Chem.* **2015**, 54, 2679–2690.
- [153] M. Arribas, A. de Vicente, A. Arias, E. Lázaro, *Int. J. Astrobiology* **2005**, 4, 115–123.

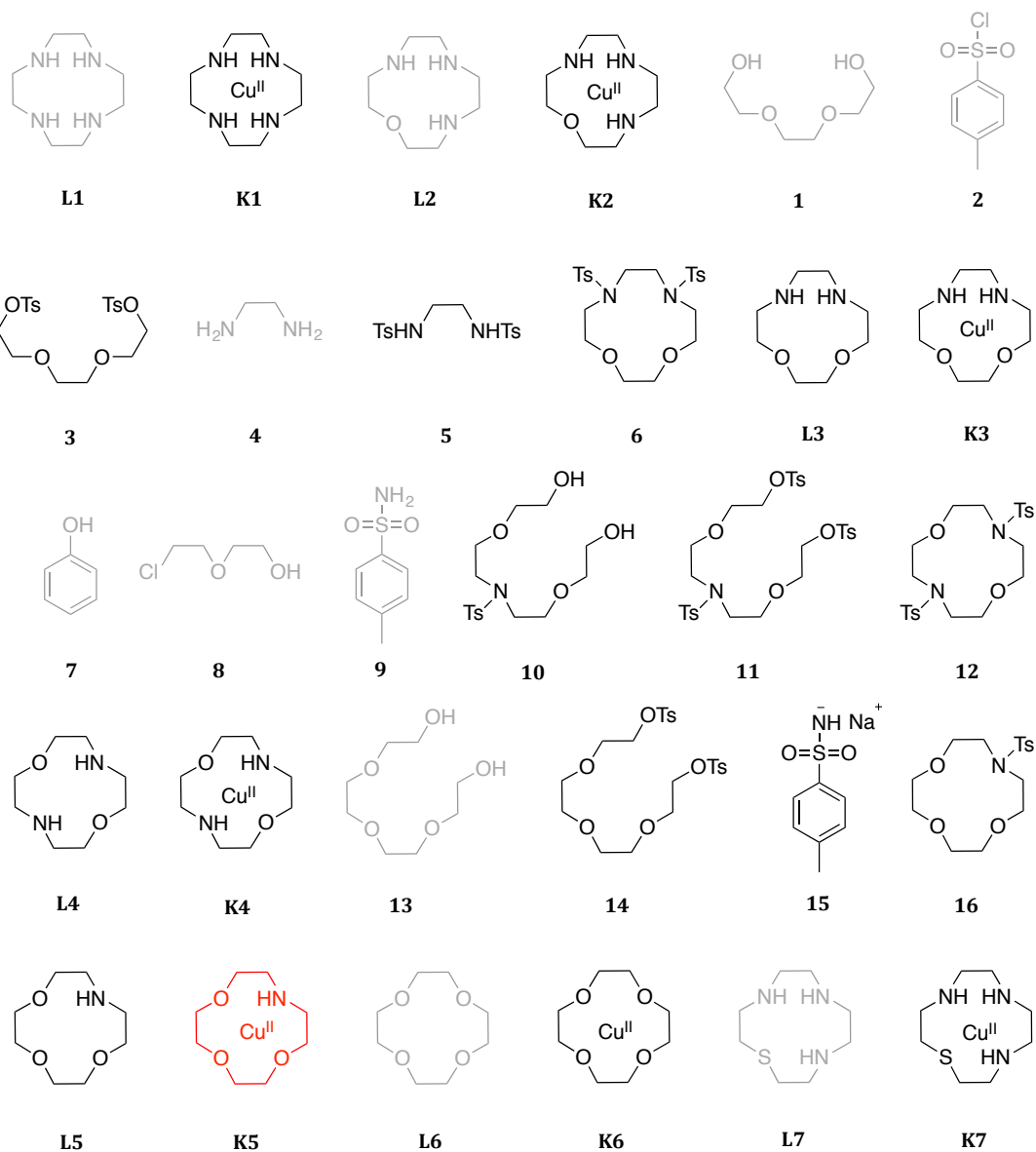
-
- [154] R. S. Correa, K. M. de Oliveira, F. G. Delolo, A. Alvarez, R. Mocelo, A. M. Plutin, M. R. Cominetti, E. E. Castellano, A. A. Batista, *J. Inorg. Biochem.* **2015**, *150*, 63–71.
- [155] J. R. Etukala, J. S. Yadav, *Heteroatom Chemistry* **2008**, *19*, 221–227.
- [156] L. A. Litvinova, S. A. Lyakhov, S. A. Andronati, N. A. Zhukova, O. G. Yasinskaya, B. N. Galkin, T. O. Filippova, N. Y. Golovenko, *Pharm. Chem. J.* **1998**, *32*, 367–640.
- [157] T. Imaoka, N. Inoue, K. Yamamoto, *Chem. Commun. (Camb.)* **2012**, *48*, 7235–7237.
- [158] T. Ossowski, H. Schneider, *Chem. Ber.* **1990**, *123*, 1673–1677.
- [159] X. Dong, X. Wang, M. Lin, H. Sun, X. Yang, Z. Guo, *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 2541–2549.
- [160] V. A. Bloomfield, *Biopolymers* **1997**, *44*, 269–282.
- [161] J. R. Griffiths, *Br. J. Cancer* **1991**, *64*, 425–427.
- [162] L. E. Gerweck, K. Seetharaman, *Cancer Res.* **1996**, *56*, 1994–1198.
- [163] I. F. Tannock, D. Rotin, *Cancer Res.* **1989**, *49*, 4373–4384.
- [164] O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Puschmann, *J. Appl. Cryst.* **2009**, *42*, 339–341.
- [165] R. P. Hertzberg, P. B. Dervan, *Biochemistry* **1984**, *23*, 3934–3945.
- [166] F. Terzi, C. Zanardi, B. Zanfognini, L. Pigani, R. Seeber, J. Lukkari, T. Ääritalo, J. Kankare, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 4868–4874.
- [167] X. Zhang, D. Huang, Y.-S. Chen, R. H. Holm, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 11017–11029.
- [168] L. R. Gahan, V. A. Grillo, T. W. Hambley, G. R. Hanson, C. J. Hawkins, E. M. Proudfoot, B. Moubaraki, K. S. Murray, D. Wang, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1039–1044.
- [169] P. Hoffmann, A. Steinhoff, R. Mattes, *Z. Naturforsch.* **1987**, *42b*, 867–873.

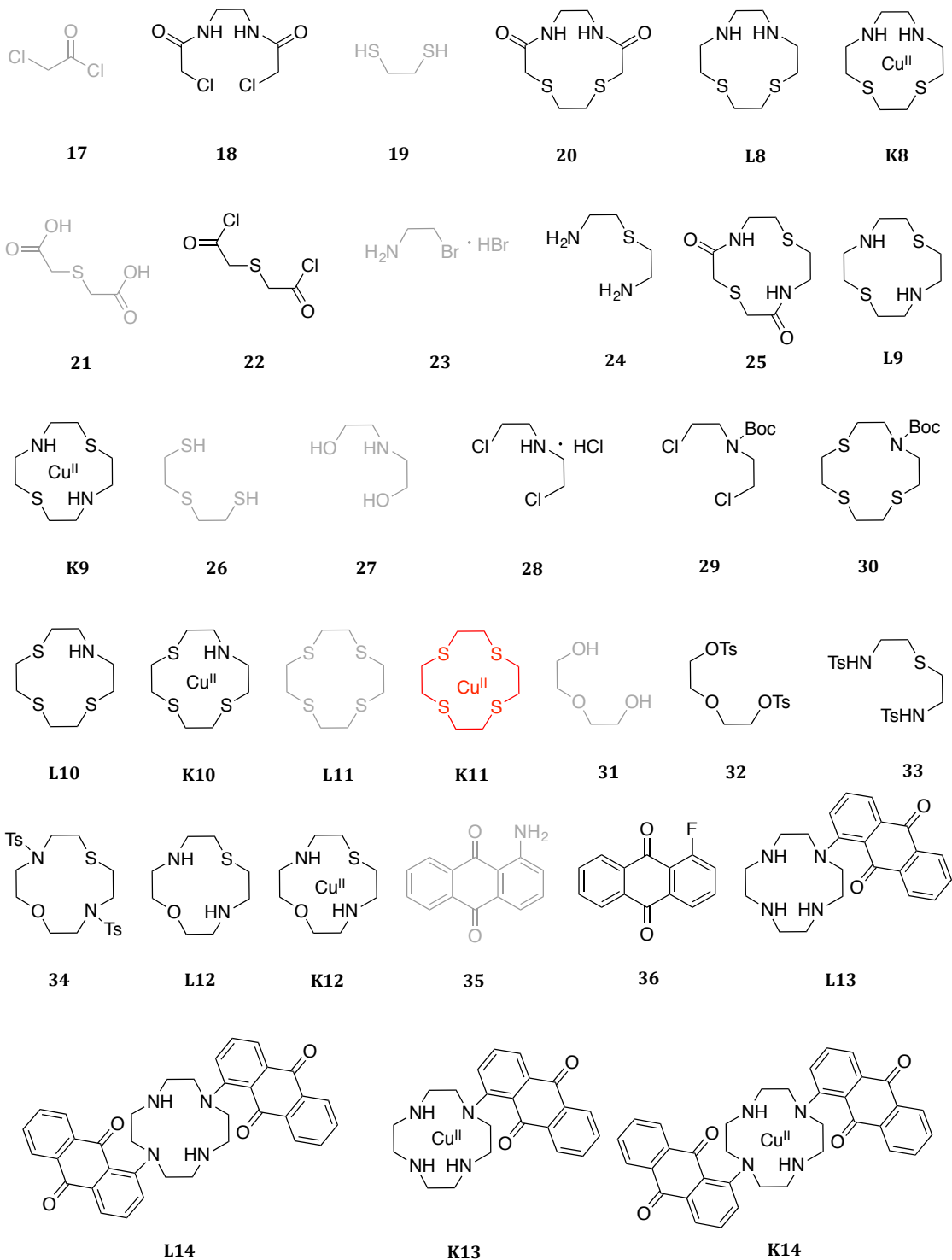
KAPITEL 7

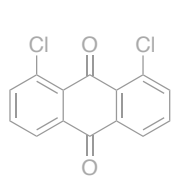
ANHANG

7.1 Chemikalienverzeichnis

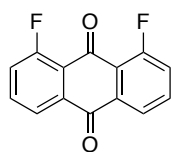
Die in schwarz gekennzeichneten Chemikalien wurden synthetisiert, die Synthese der rot gekennzeichneten Chemikalien schlug fehl und grau dargestellte Substanzen wurden entweder kommerziell bezogen oder gehören zum Bestand der Arbeitsgruppe.



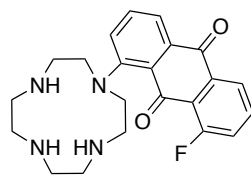




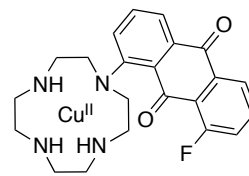
37



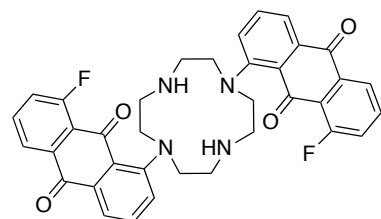
38



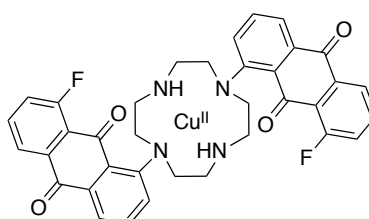
L15



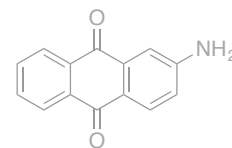
K15



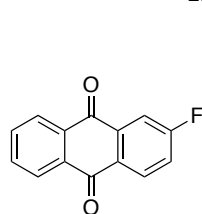
L16



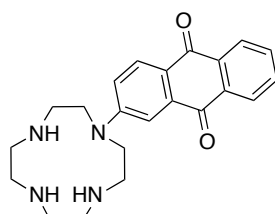
K16



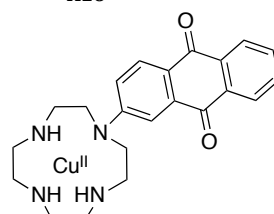
39



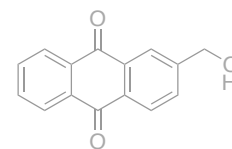
40



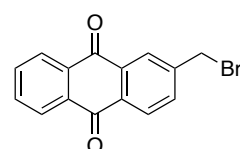
L17



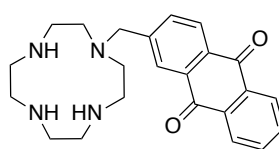
K17



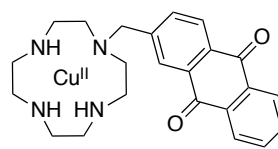
41



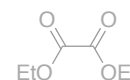
42



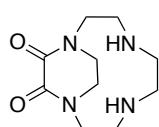
L18



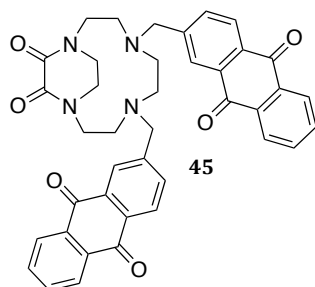
K18



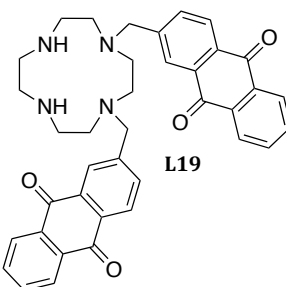
43



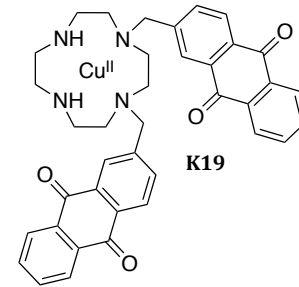
44



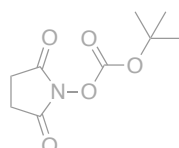
45



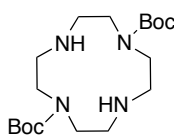
L19



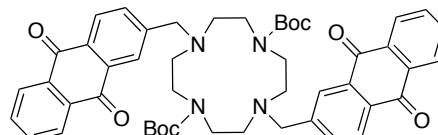
K19



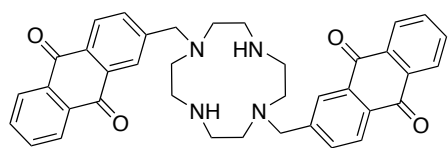
46



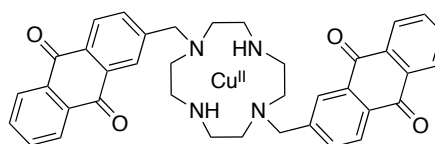
47



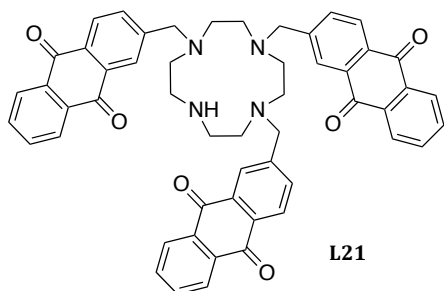
48



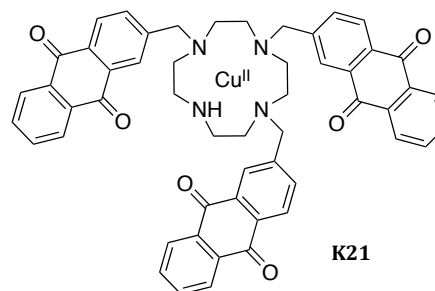
L20



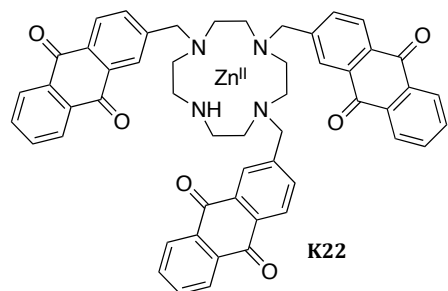
K20



L21



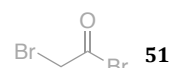
K21



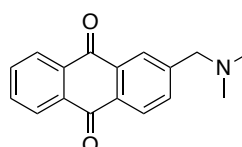
K22



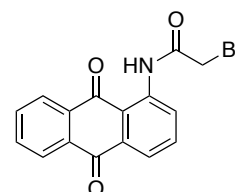
49



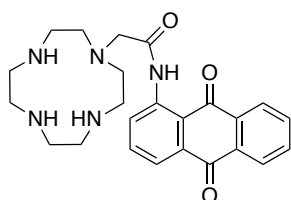
51



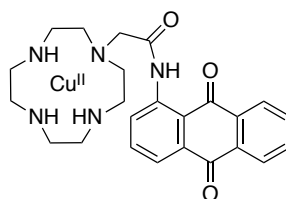
50



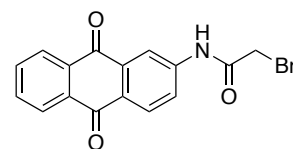
52



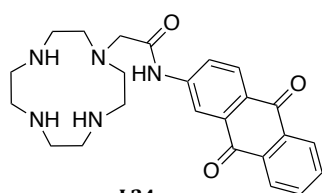
L23



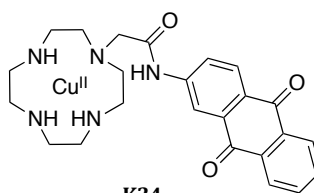
K23



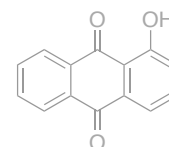
53



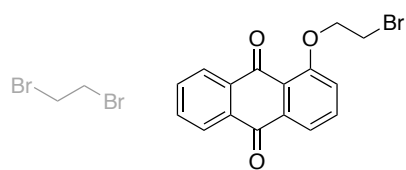
L24



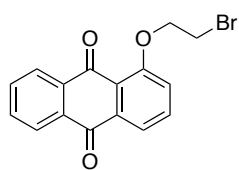
K24



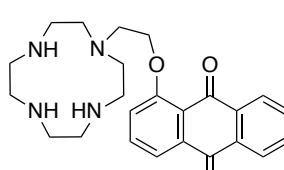
54



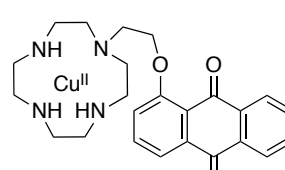
55



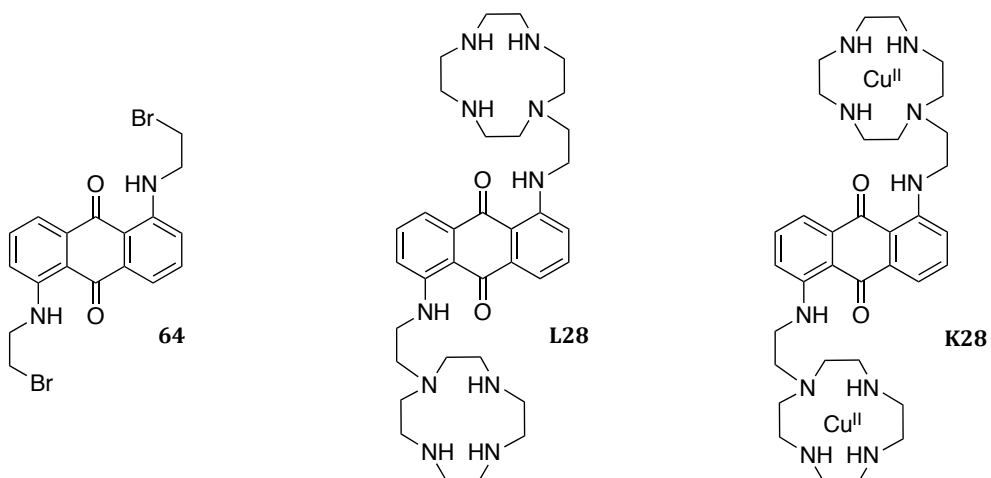
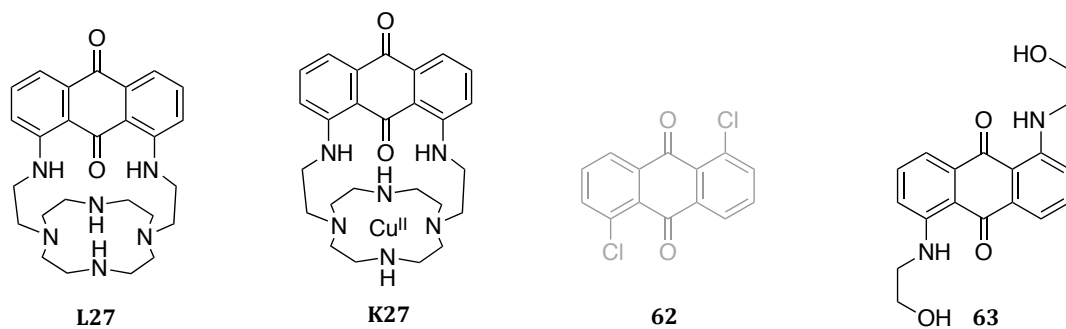
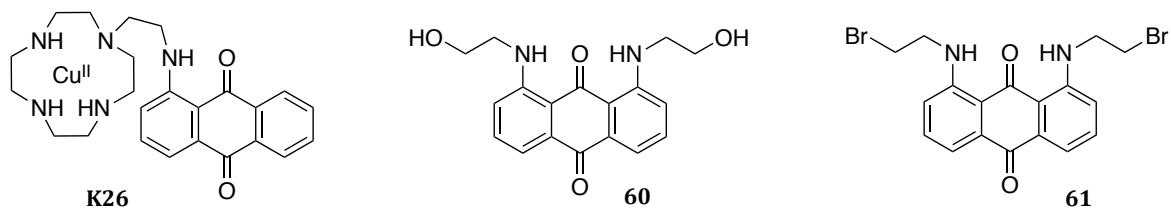
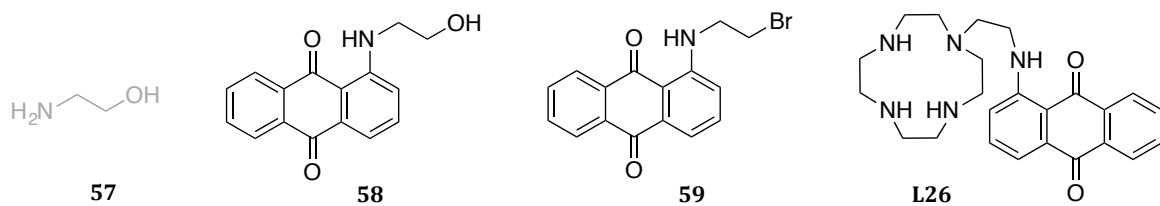
56



L25



K25



7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Todesursachen in Deutschland (2014). ^[3]	1
Abbildung 2: A: 1,2-Intrastrandverknüpfung (1,2- $\{\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\}^{2+}$ -d(GpG)) von Cisplatin mit der DNA-Sequenz 5'-CCTCTGGTCTCC-3' (PDB-3LPV). ^[11] B: Ausschnitt der Koordinationsumgebung von Cisplatin in dem unter A beschriebenen Addukt. C: Strukturen von Cisplatin (oben), Oxaliplatin (mittig) und Carboplatin (unten).	3
Abbildung 3: Möglichkeiten der Metall-aktivierten Phosphatesterspaltung nach WILLIAMS. ^[15]	6
Abbildung 4: Links: Cyclen mit angezeigter Möglichkeit der N-Funktionalisierung; Rechts: Dotarem.	11
Abbildung 5: Strategien für cyclenbasierte Metallonukleasen.	13
Abbildung 6: Strukturen der geplanten Oxa- und Thiacyclen-Komplexe K1-K12.	15
Abbildung 7: UV/Vis-Spektren der Komplexe K1-K4 und K6 (5 mM) in 50 mM Tris-HCl-Puffer (pH 7.4).	19
Abbildung 8: Darstellung des Strukturtyps I. Die Molekülstruktur von K1 wurde dem Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) entnommen. Zugunsten der Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	20
Abbildung 9: Darstellung des Strukturtyps II. Zugunsten der Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	21
Abbildung 10: Darstellung des Strukturtyps III. Die Molekülstruktur von K6 wurde dem Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) entnommen. Zugunsten der Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	21
Abbildung 11: Strukturformel von Tris-Base und der bei pH 7.4 möglichen Cu-Tris-Spezies nach BAL, Gegenionen oder Lösungsmittelmoleküle wurden vernachlässigt. ^[77]	25
Abbildung 12: Spaltaktivität der Liganden L1-L6 (0.032 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h.	27
Abbildung 13: Spaltaktivität der Komplexe K1, K2, K3, K4 und K6 (0.04 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. Dargestellt ist der Mittelwert aus vier Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen. Untenstehend wird ein repräsentatives Gel gezeigt.	27
Abbildung 14: Abhängigkeit von Spaltaktivität und Komplexkonzentration der Komplexe K2-K4 und K6 bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Experimenten, die Standardabweichung wird als Fehlerbalken angezeigt.	28
Abbildung 15: Quenchgels für die Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch den Komplex K3 (0.020 mM). Die Inkubation wurde in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4), PBS (1.25X) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für zwei Stunden und unter Zusatz von ROS-Fängern durchgeführt.	29
Abbildung 16: Zeitabhängige Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch die Komplexe K1 bis K4 und K6 (0.4 mM) in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C ohne Zusatz externer Reduktionsmittel. A: Mittelwert dreier um die Kontrolle korrigierter Messungen; B: Mittelwert der nicht referenzierten Ergebnisse.	30
Abbildung 17: Links: Absorptionsspektren von BNPP (0.08 mM) in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4) nach 48-stündiger Inkubation mit den Komplexen K3, K4 und K6 (0.4 mM) und Phosphodiesterase I (0.05 u); Rechts: Schematische Darstellung der BNPP-Spaltung.	31
Abbildung 18: Religationsexperiment für K3 .	32
Abbildung 19: Cyclovoltammogramme der Komplexe K1 und K2 (links) und K3, K4 und K6 (rechts) in 0.1 M KCl-Lösung bei 100 mV/s und Raumtemperatur.	32
Abbildung 20: Mehrfache Messung des Voltammogramms von Komplex K3 in 0.1 M KCl-Lösung bei 50 mV/s.	33

Abbildung 21: Zytotoxische Wirkung der Komplexe K1 bis K4 und K6 auf A549-Zellen bei 48-stündiger Inkubation.	35
Abbildung 22: UV/Vis-Spektren der Komplexe K1 und K7 bis K10 (5 mM) in 50 mM Tris-HCl-Puffer (pH 7.4).	40
Abbildung 23: Aufsicht und Seitenansicht der Molekülstruktur des Komplexes K7 . ^[56] Zugunsten der Übersichtlichkeit wurden Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	41
Abbildung 24: Aufsicht und Seitenansicht der Molekülstruktur des Komplexes K8 . Zugunsten der Übersichtlichkeit wurden Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	42
Abbildung 25: Aufsicht und Seitenansicht der Molekülstruktur des Komplexes K12 . Zugunsten der Übersichtlichkeit wurden Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	42
Abbildung 26: Spaltaktivität der Komplexe K1 , K7 und K8 bis K10 (0.04 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 µg µL ⁻¹) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.	45
Abbildung 27: Spaltaktivität der Komplexe K1 , K4 , K12 und K9 (0.04 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 µg µL ⁻¹) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.	46
Abbildung 28: Quenchgel für die Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 µg µL ⁻¹) durch den Komplex K8 (0.040 mM). Die Inkubation wurde in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4), PBS (1.25X) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für zwei Stunden und unter Zusatz von ROS-Fängern durchgeführt.	47
Abbildung 29: Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 µg µL ⁻¹) durch die Komplexe K1 , K7 bis K10 und K12 (0.4 mM) in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C für 24 h ohne Zusatz externer Reduktionsmittel. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.	48
Abbildung 30: Links: Cyclovoltammogramme der Komplexe K7 bis K10 in 0.1 M KCl Lösung bei 100 mV/s und Raumtemperatur; Rechts: Cylovoltammogramme der Komplexe K4 , K9 und K12 in 0.1 M KCl-Lösung bei 100 mV/s.	49
Abbildung 31: Mehrfache Messung des Cyclovoltammogramms des Komplexes K8 in 0.1 M KCl Lösung bei 100 mV/s und Raumtemperatur.	49
Abbildung 32: Strukturen der synthetisierten Oxa- und Thiacyclen-Komplexe K1 bis K12 , rot markiert sind die Komplexe, die im Rahmen dieser Arbeit nicht synthetisiert werden konnten.	51
Abbildung 33: Struktur von Anthrachinon (AQ; links) und Protonentransfer im Alizarin (rechts).	53
Abbildung 34: Anthracyclinantibiotika.	54
Abbildung 35: Verschiedene Ansichten von DNA (CGATCG) mit interkaliertem Doxorubicin (PDB-1D12). ^[103]	55
Abbildung 36: Strategien für Anthrachinon-basierte DNA-Binder und -Spalter.	57
Abbildung 37: Strukturen der zu synthetisierenden Komplexe K13 bis K17 .	58
Abbildung 38: Zu synthetisierende Komplexe K18 bis K22 und ihre erwartete DNA-Affinität.	59
Abbildung 39: Strukturen der zu synthetisierenden Komplexe K23 bis K28 .	59
Abbildung 40: Strukturen der geplanten Anthrachinon-substituierten Komplexen K13 bis K17 .	60
Abbildung 41: Links: Ausschnitt der UV-Spektren der Komplexe K13 bis K17 (40 µM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4). Rechts: Ausschnitt der Vis-Spektren der Komplexe K1 und K13 bis K17 (5 mM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4).	64
Abbildung 42: Vergleich der Aufsicht der Komplexe K13 und K15 . Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	65

Abbildung 43: Vergleich der Seitenansicht der Komplexe K13 und K15 . Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	66
Abbildung 44: Aufsicht und Seitenansicht von Komplex K14 . Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind die Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	67
Abbildung 45: Aufsicht und Seitenansicht von Komplex K16 . Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind die Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	67
Abbildung 46: Aufsicht von Komplex K17 . Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	68
Abbildung 47: Kategorien der Wechselwirkung eines DNA-Binders mit DNA nach HE. ^[126]	69
Abbildung 48: CD-Spektren von CT-DNA (100 μM) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) mit unterschiedlichen Konzentrationen der Komplexe K1 und K13 bis K17 .	72
Abbildung 49: Ethidiumbromidverdrängung des EB-CT-DNA-Systems (20 μM CT-DNA; 5 μM EB) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) unter Zugabe der Komplexe K1 und K13 bis K17 .	75
Abbildung 50: Temperaturabhängige Absorption von CT-DNA (100 μM) bei 260 nm in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) unter Zugabe der Komplexe K1 und K13 bis K17 (2.5 μM).	76
Abbildung 51: Spaltaktivität der Komplexe K1 und K13 bis K17 (0.04 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.	78
Abbildung 52: Abhängigkeit von Spaltaktivität und Komplexkonzentration des Komplexes K17 bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.02 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Experimenten, die Standardabweichung wird als Fehlerbalken angezeigt.	79
Abbildung 53: Quenchgel für die Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch den Komplex K17 (0.040 mM). Die Inkubation wurde in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4), PBS (1.25X) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für zwei Stunden und unter Zusatz von ROS-Fängern durchgeführt.	80
Abbildung 54: Hydrolytische Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch die Komplexe K1 und K13 bis K17 (0.4 mM) in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C für 24 h ohne Zusatz externer Reduktionsmittel. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.	81
Abbildung 55: Spaltaktivität der Komplexe K1 und K13 bis K17 (0.02 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) unter Bestrahlung (256 nm, 6 W) in Britton-Robinson-Puffer (10 mM, pH 7.4) bei Raumtemperatur für 30 min. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.	81
Abbildung 56: Spaltaktivität der Komplexe K1 und K13 bis K17 (0.02 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) unter Bestrahlung (365 nm, 6 W) in Britton-Robinson-Puffer (10 mM, pH 7.4) bei Raumtemperatur für 30 min.	82
Abbildung 57: Zytotoxische Wirkung der Komplexe K13 bis K16 auf A549-Zellen nach 48-stündiger Inkubation.	83
Abbildung 58: Zytotoxische Wirkung der Komplexe K13 und K17 auf A549-Zellen nach 48-stündiger Inkubation mit und ohne 30-minütiger Bestrahlung bei 365 nm.	84
Abbildung 59: Untersuchung der Zellinternalisierung von Komplex K17 (10 μM ; Inkubation für 4 h) in A549-Zellen mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie. A: 1) DAPI ($\lambda_{\text{ex}} = 405$, $\lambda_{\text{em}} = 420\text{-}500$ nm); 2) Hintergrundfluoreszenz; 3) Überlagerung von 1) und 2). B: 1) DAPI ($\lambda_{\text{ex}} = 405$, $\lambda_{\text{em}} = 420\text{-}500$ nm); 2) Eigenfluoreszenz von K17 ($\lambda_{\text{ex}} = 543$, $\lambda_{\text{em}} = > 560$ nm); 3) Überlagerung von 1) und 2).	85
Abbildung 60: Übersicht über die Komplexe K18 bis K22 , sowie der Referenzverbindung 50 .	86
Abbildung 61: Selektivität der Trialkylierung von Cyclen nach WONG. ^[138]	90

- Abbildung 62: Links: Ausschnitt der UV-Spektren der Komplexe **K18**, **K19**, **K20**, **K21** und **K22** (78 μM) in 1X PBS-Puffer und 90 % DMSO. Rechts: Ausschnitt der Vis-Spektren der Komplexe **K1**, **K18**, **K19**, **K20** und **K21** (2.5 mM) in 1X PBS-Puffer und 90 % DMSO. _____ 91
- Abbildung 63: Auf- und Seitenansicht der Molekülstruktur von Komplex **K18**. Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt. _____ 92
- Abbildung 64: Verdeutlichung der strukturellen Gemeinsamkeiten von Komplex **K18** (gesamter Komplex) und der Referenzverbindung **50** (in rot dargestellt). _____ 94
- Abbildung 65: CD-Spektren von CT-DNA (100 μM) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) und DMSO (10 %) mit unterschiedlichen Konzentrationen der Verbindung **50** und der Komplexe **K18** bis **K22**. _____ 95
- Abbildung 66: Ethidiumbromidverdrängung des EB-CT-DNA-Systems (20 μM CT-DNA; 5 μM EB) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) unter Zugabe der Verbindung **50** und der Komplexe **K18** bis **K22**. _____ 97
- Abbildung 67: CT-DNA-Schmelzkurven (100 μM) bei 260 nm in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) unter Zugabe von DMSO, der Verbindung **50** und der Komplexe **K18** bis **K22**. _____ 98
- Abbildung 68: LD-Spektren von freier CT-DNA (200 μM) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) und unter Zusatz der Komplexe **K18** (A), **K19** (B), **K20** (C) und **K21** (D) in verschiedenen Konzentrationen. Das Verhältnis zwischen DNA und Komplex ist jeweils in der Abbildung angegeben. _____ 100
- Abbildung 69: Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K18** bis **K21** (0.02 mM; 3 % DMSO) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in PBS-Puffer (1X, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. _____ 103
- Abbildung 70: Spaltaktivität der Komplexe **K1** und **K18** bis **K21** (0.02 mM, 3 % DMSO) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) unter Bestrahlung (365 nm, 6 W) in PBS-Puffer (1X, pH 7.4) bei Raumtemperatur für 60 min. _____ 103
- Abbildung 71: Retardationsgel von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) nach 30-minütiger Inkubation mit dem Komplex **K18** in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C. Zwecks Vergleichbarkeit wurde die DMSO-Konzentration der einzelnen Inkubationslösungen jeweils auf 0.1 % eingestellt. _____ 104
- Abbildung 72: Retardationsgele von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) nach 30-minütiger Inkubation mit den Komplexen **K20**-**K22** und dem Liganden **L21** in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C. Zwecks Vergleichbarkeit wurde die DMSO-Konzentration der einzelnen Inkubationslösungen jeweils auf 5 % eingestellt. _____ 105
- Abbildung 73: Retardationsgel von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) nach 30-minütiger Inkubation mit dem Komplex **K19** in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C. Zwecks Vergleichbarkeit wurde die DMSO-Konzentration der einzelnen Inkubationslösungen jeweils auf 0.1 % eingestellt. _____ 106
- Abbildung 74: Ausgesuchte AFM-Bilder von linearisierter pSP73-Plasmid-DNA unter Zusatz von 1.56 μM (A) und 3.125 μM (B1 u. B2) **K19**. _____ 108
- Abbildung 75: Ausgesuchte AFM-Bilder von linearisierter pSP73-Plasmid-DNA unter Zusatz von 1.56 μM (A), 3.125 μM (B) und 6.25 μM **K20**. _____ 108
- Abbildung 76: Ausgesuchte AFM-Bilder von linearisierter pSP73-Plasmid-DNA unter Zusatz von 3.125 μM (A), 6.25 μM (B) und 12.5 μM (C) **K21**. _____ 109
- Abbildung 77: Effekt von Kupfernitrat (oben) und 2-((Dimethylamin)methyl)anthrachinon (**50**; unten) auf die PCR. _____ 111
- Abbildung 78: Effekt von Cisplatin auf die PCR. _____ 111
- Abbildung 79: Effekt des Komplexes **K18** auf die PCR. _____ 112
- Abbildung 80: Effekt der regioisomeren Komplexe **K19** (oben) und **K20** (unten) auf die PCR. _____ 112
- Abbildung 81: Effekt des Liganden **L21** (oben) und der Komplexe **K21** (Mitte) und **K22** (unten) auf die PCR. _____ 113
- Abbildung 82: Zytotoxische Wirkung der Komplexe **K18** bis **K22**, des Liganden **L21** und Cisplatin auf A549-Zellen bei 48-stündiger Inkubation. _____ 114

Abbildung 83: Strukturen der ethylenverbrückten Anthrachinon-substituierten Komplexe K23 bis K28 .	115
Abbildung 84: Links: Ausschnitt der UV/Vis-Spektren der Komplexe K23 bis K27 (78 μM) in Tris-HCl-Puffer (pH 7.4). Rechts: Ausschnitt der Vis-Spektren der Komplexe K23 bis K25 (5 mM) in Tris-HCl-Puffer (pH 7.4).	120
Abbildung 85: Auf- und Seitenansicht der Molekülstruktur von Komplex K24 . Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	121
Abbildung 86: Auf- und Seitenansicht der Molekülstrukturen von Komplex K25 . Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen, kristallisiertes Lösungsmittel und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	123
Abbildung 87: Auf- und Seitenansicht der Molekülstruktur von Komplex K27 . Zugunsten der besseren Übersichtlichkeit sind Gegenionen und Wasserstoffatome nicht dargestellt.	125
Abbildung 88: CD-Spektren von CT-DNA (100 μM) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) mit unterschiedlichen Konzentrationen der Komplexe K23 bis K28 .	127
Abbildung 89: Ethidiumbromidverdrängung des EB-CT-DNA-Systems (20 μM CT-DNA; 5 μM EB) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH 7.4) unter Zugabe der Komplexe K23 bis K28 .	128
Abbildung 90: CT-DNA-Schmelzkurven (100 μM) bei 260 nm in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) unter Zugabe der Komplexe K23 bis K28 .	130
Abbildung 91: Retardationsgel von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) nach 30-minütiger Inkubation mit dem Komplex K28 in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C.	132
Abbildung 92: Spaltaktivität der Komplexe K1 und K23 bis K27 (0.04 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH 7.4) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für 2 h. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.	133
Abbildung 93: Quenichel für die Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch den Komplex K27 (0.040 mM). Die Inkubation wurde in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4), PBS (1.25X) und L-Ascorbinsäure (0.32 mM) bei 37 °C für zwei Stunden und unter Zusatz von ROS-Fängern durchgeführt.	133
Abbildung 94: Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch die Komplexe K1 und K23 bis K27 (0.2 mM) in Tris-HCl Puffer (50 mM, pH 7.4) bei 37 °C für 24 h ohne Zusatz externer Reduktionsmittel. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.	134
Abbildung 95: Spaltaktivität der Komplexe K1 und K23 bis K27 (0.02 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) unter Bestrahlung (256 nm, 6 W) in Britton-Robinson-Puffer (10 mM, pH 7.4) bei Raumtemperatur für 30 min. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.	135
Abbildung 96: Spaltaktivität der Komplexe K1 und K23 bis K27 (0.02 mM) bezüglich pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) unter Bestrahlung (365 nm, 6 W) in Britton-Robinson-Puffer (10 mM, pH 7.4) bei Raumtemperatur für 60 min. Dargestellt ist der Mittelwert aus drei Messungen, die Standardabweichung ist als Fehlerbalken aufgetragen.	136
Abbildung 97: Quenichel für die Spaltung von pBR322-Plasmid-DNA (0.025 $\mu\text{g } \mu\text{L}^{-1}$) durch den Komplex K23 (0.020 mM). Die Inkubation wurde in Britton-Robinson-Puffer (10 mM, pH 7.4) und PBS (1.25X) bei Raumtemperatur unter 30-minütiger Bestrahlung (256 nm, 6 W) und unter Zusatz von ROS-Fängern durchgeführt.	137
Abbildung 98: Zytotoxische Wirkung der Komplexe K25 bis K28 auf A549-Zellen nach 48-stündiger Inkubation.	138
Abbildung 99: Zytotoxische Wirkung der Komplexe K23 und K24 auf A549-Zellen nach 48-stündiger Inkubation mit und ohne 30-minütiger Bestrahlung bei 365 nm.	138
Abbildung 100: Überblick über die Komplexe K13 bis K17 .	139
Abbildung 101: Übersicht über die Komplexe K18 bis K22 .	140

Abbildung 102: Übersicht über die Komplexe K23 bis K28 .	141
--	-----

7.3 Schemaverzeichnis

Schema 1: Links: Zentrales Dogma der Molekularbiologie nach CRICK. ^[5] Durchgezogene Pfeile zeigen den normalen Fluss der genetischen Information und gepunktete Pfeile zeigen in Ausnahmefällen stattfindenden Fluss an. Rechts: Wird die DNA zerstört, so kann der genetische Fluss nicht mehr stattfinden.	2
Schema 2: Mechanismus der Enzym-katalysierten hydrolytischen Spaltung nach MANCIN. ^[20]	5
Schema 3: Darstellung des Bis(1,10-phenanthrolin)-kupfer(II)-Komplexes (oben) und des DNA-Spaltmechanismus' des Bis(1,10-phenanthrolin)kupfer(I)-komplexes (unten).	7
Schema 4: Synthese von [Cu([12]aneN ₂ O ₂)] (K3).	16
Schema 5: Synthese von [Cu([12]aneNONO)] (K4).	17
Schema 6: Synthese von [Cu([12]aneNO ₃)] (K5).	18
Schema 7: Synthese von [Cu([12]aneO ₄)] (K6).	19
Schema 8: Synthese von [Cu([12]aneN ₂ S ₂)] (K8).	36
Schema 9: Synthese von [Cu([12]aneNSNS)] (K9).	37
Schema 10: Synthese von [Cu([12]aneNS ₃)] (K10).	38
Schema 11: Erfolgreiche Synthese von [Cu([12]aneS ₄)] (K11).	38
Schema 12: Synthese von [Cu([12]aneN ₂ OS)] (K12).	39
Schema 13: Synthese der Komplexe K13 und K14 .	61
Schema 14: Synthese von Komplex K15 .	62
Schema 15: Synthese von Komplex K16 .	63
Schema 16: Synthese von Komplex K17 .	63
Schema 17: Synthese von K18 .	87
Schema 18: Synthese von K19 .	88
Schema 19: Synthese von K20 .	89
Schema 20: Synthese der Komplexe K21 und K22 .	89
Schema 21: Synthese von 2-((Dimethylamin)methyl)anthrachinon (50).	90
Schema 22: Synthese von Komplex K23 .	116
Schema 23: Synthese von Komplex K24 .	116
Schema 24: Synthese von Komplex K25 .	117
Schema 25: Synthese von Komplex K26 .	117
Schema 26: Synthese von Komplex K27 .	118
Schema 27: Synthese von Komplex K28 .	119
Schema 28: Mögliche Weiterentwicklungen der Cyclen-basierten Nukleasen anhand des Komplexes K12 .	144

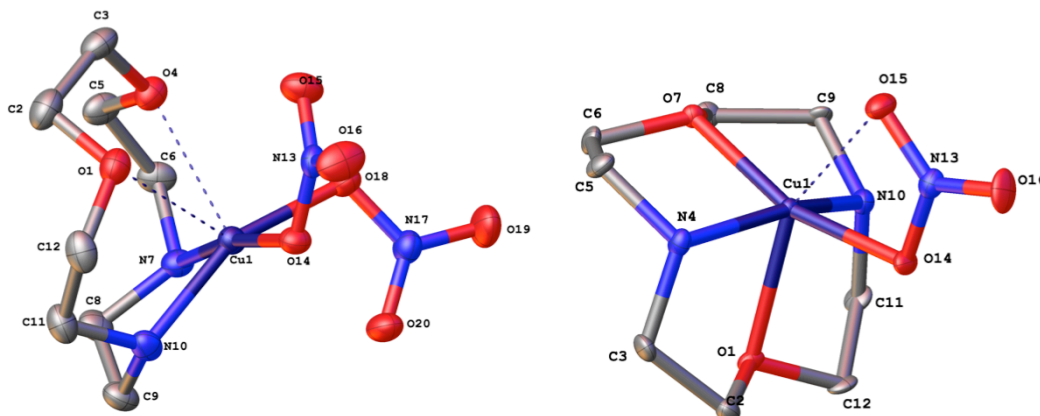
7.4 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auflistung der maximalen Absorptionswellenlänge λ_{\max} mit zugehörigen Extinktionskoeffizienten ϵ für die Komplexe K1-K4 und K6 .	20
---	----

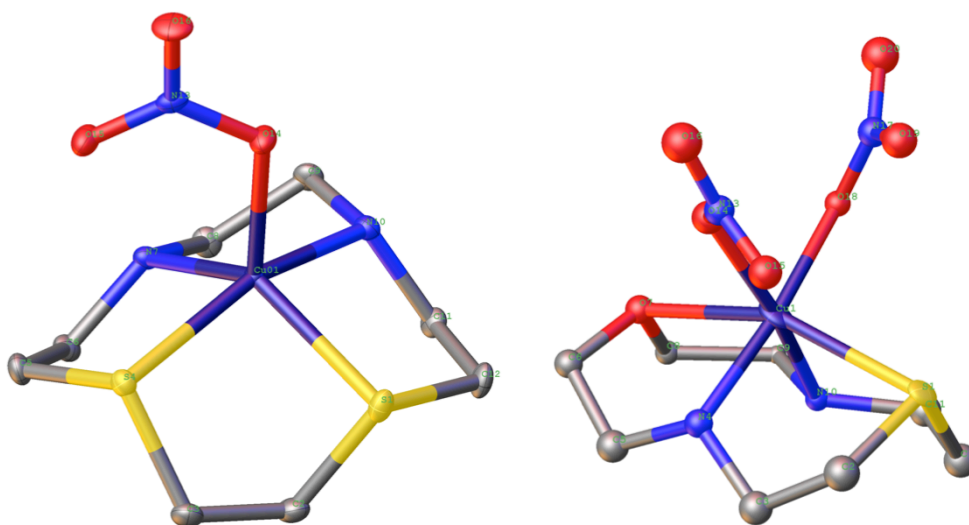
Tabelle 2: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] der Komplexe K1 und K2 , X bezeichnet Heteroatome N oder O. _____	23
Tabelle 3: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] der Komplexe K3 , K4 und K6 , X bezeichnet Heteroatome N oder O. _____	23
Tabelle 4: Stabilitätskonstanten der Oxacyclenkomplexe. _____	24
Tabelle 5: Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe K1 bis K4 und K6 . _____	30
Tabelle 6: Reduktions- und Reoxidationspotentiale der Komplexe K1 bis K4 und K6 . _____	33
Tabelle 7: Auflistung der maximalen Absorptionswellenlänge λ_{max} mit zugehörigen Extinktionskoeffizienten ϵ für die Komplexe K1 , K7 bis K10 und K12 . _____	40
Tabelle 8: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] der Komplexe K7 , K8 und K12 , X bezeichnet Heteroatome N, O oder S. _____	43
Tabelle 9: Stabilitätskonstanten der Thiacyclenkomplexe. _____	44
Tabelle 10: Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe K7-K10 und K12 . _____	47
Tabelle 11: Potentiale der Komplexe K7 bis K10 und K12 . _____	50
Tabelle 12: Auflistung der Absorptionswellenlängen λ_{max} für die n- π^* - und d-d-Übergänge mit zugehörigen Extinktionskoeffizienten ϵ für die Komplexe K1 und K13 bis K17 . _____	65
Tabelle 13: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] der Verbindungen K13 und K15 . _____	66
Tabelle 14: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] der Komplexe K14 und K16 . _____	68
Tabelle 15: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] von Komplex K17 . _____	69
Tabelle 16: Auflistung der STERN-VOLMER-Konstante K_{SV} und der Bindungskonstante K_{APP} der Komplexe K1 und K13 bis K17 bezüglich CT-DNA. _____	74
Tabelle 17: Unterschiede in der Schmelztemperatur von CT-DNA bei Wechselwirkung mit den Komplexen K1 und K13 bis K17 . _____	77
Tabelle 18: Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe K13 bis K17 . _____	80
Tabelle 19: Auflistung der Absorptionswellenlängen λ_{max} für die n- π^* - und d-d-Übergänge mit zugehörigen Extinktionskoeffizienten ϵ für die Komplexe K1 und K18-K22 . _____	92
Tabelle 20: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] von Komplex K18 . _____	93
Tabelle 21: Auflistung der STERN-VOLMER-Konstante K_{SV} und der Bindungskonstante K_{APP} der Verbindung 50 und K18 bis K22 bezüglich CT-DNA. _____	96
Tabelle 22: Unterschiede in der Schmelztemperatur von CT-DNA bei Wechselwirkung mit der Verbindung 50 und den Komplexen K18 bis K22 . _____	99
Tabelle 23: EC_{50} -Werte der Komplexe K19 bis K21 . _____	107
Tabelle 24: Auflistung der Absorptionswellenlängen λ_{max} für die n- π^* - und d-d-Übergänge mit zugehörigen Extinktionskoeffizienten ϵ für die Komplexe K23 bis K28 . _____	121
Tabelle 25: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] von Komplex K24 . _____	122
Tabelle 26: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und -winkel [$^\circ$] von Komplex K25 . _____	124
Tabelle 27: Ausgesuchte Bindungslängen [\AA] und Winkel [$^\circ$] von Komplex K27 . _____	124
Tabelle 28: Auflistung der STERN-VOLMER-Konstante K_{SV} und der Bindungskonstante K_{APP} der Komplexe K23 bis K28 bezüglich CT-DNA. _____	129
Tabelle 29: Unterschiede in der Schmelztemperatur von CT-DNA bei Wechselwirkung mit den Komplexen K23 bis K28 . _____	130
Tabelle 30: Zusammenfassung der Quenchversuche für die Komplexe K23 , K24 und K27 . _____	134
Tabelle 31: Kristallographische Daten für die Komplexe K3 und K4 . _____	270
Tabelle 32: Kristallographische Daten für die Komplexe K8 und K12 . _____	271

Tabelle 33: Kristallographische Daten für die Komplexe K13 und K15 .	272
Tabelle 34: Kristallographische Daten für die Komplexe K14 und K16 .	273
Tabelle 35: Kristallographische Daten für den Komplex K17 .	274
Tabelle 36: Kristallographische Daten für den Komplex K18 .	275
Tabelle 37: Kristallographische Daten für den Komplex K24 .	276
Tabelle 38: Kristallographische Daten für den Komplex K25 .	277
Tabelle 39: Kristallographische Daten für den Komplex K27 .	278

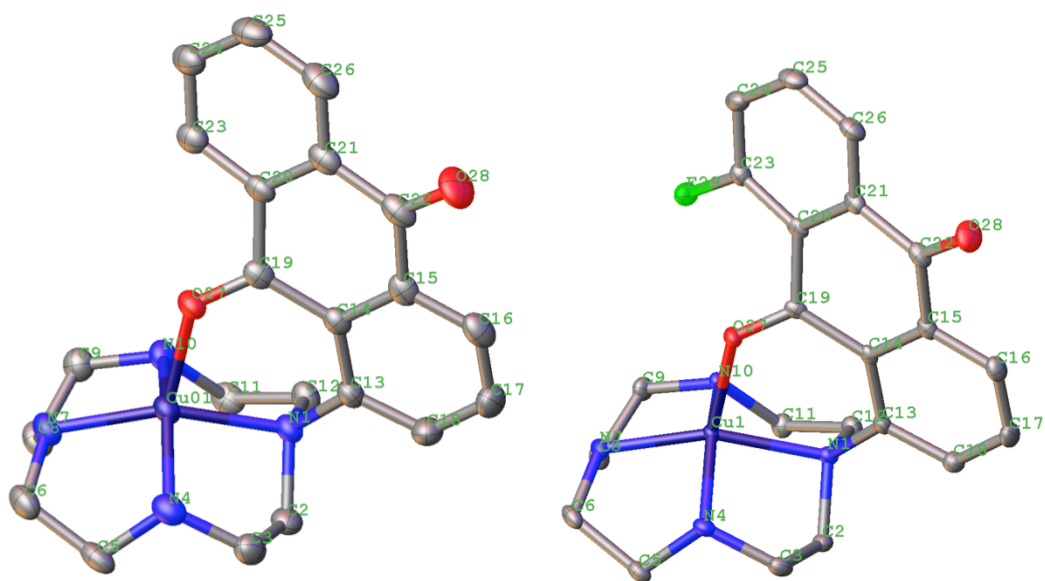
7.5 Kristallographischer Anhang

Tabelle 31: Kristallographische Daten für die Komplexe **K3** und **K4**.

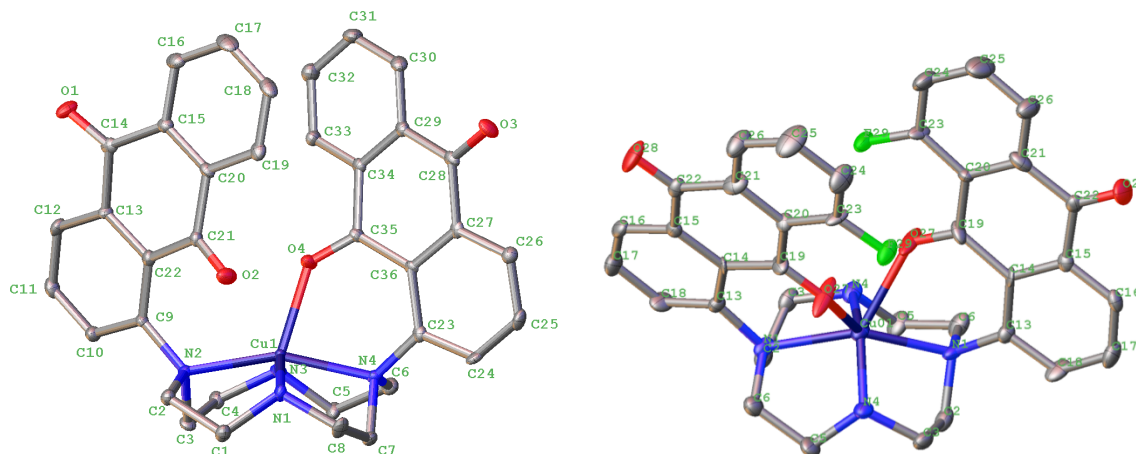
	K3	K4
Name	Cu([12]aneN ₂ O ₂)	Cu([12]aneNONO)
Summenformel	C ₈ H ₁₈ CuN ₄ O ₈	C ₈ H ₁₈ CuN ₄ O ₈
M [g mol ⁻¹]	361.80	361.80
Habitus	dunkelblaue Nadeln	hellblaue Prismen
Kristallsystem	monoklin	orthorhombisch
Raumgruppe	P2 ₁ /c	Pca2 ₁
a [Å]	7.665(3)	15.637(4)
b [Å]	13.662(5)	11.872(3)
c [Å]	13.392(4)	14.502(4)
β [°]	102.110(7)	90
Zellvolumen [Å ³]	1371.2(8)	2692.2(11)
Z	4	8
berechnete Dichte [g cm ⁻³]	1.753	1.785
Temperatur [K]	145.15	100.15
2θ range [°]	2.15–26.41	3.43–61.05
F(000)	747.8	1496.0
μ [mm ⁻¹]	1.640	1.671
Anzahl Reflektionen	16307	17286
Totale Reflektionen	2813 (R _{int} = 0.0406)	7792 (R _{int} = 0.0414)
R ₁ / wR ₂ [I > 2σ(I)]	0.0339 / 0.0748	0.0547 / 0.1204
R ₁ / wR ₂ [alle Daten]	0.0510 / 0.0823	0.0809 / 0.1332
goodness of fit	1.110	0.984

Tabelle 32: Kristallographische Daten für die Komplexe **K8** und **K12**.

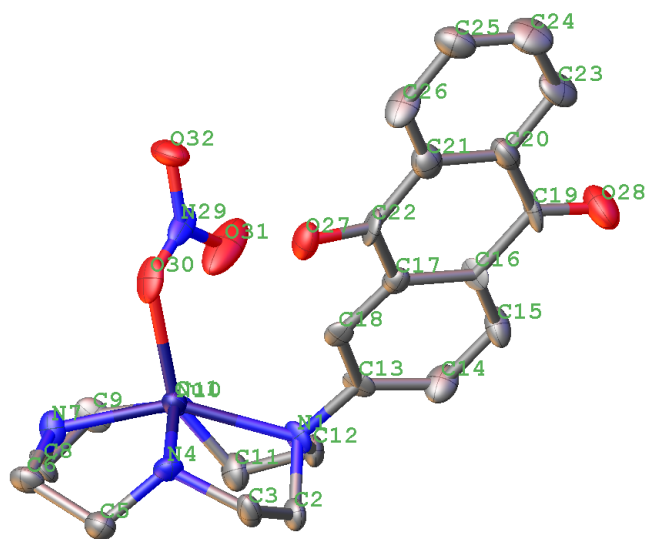
	K8	K12
Name	Cu([12]aneN2S2)	Cu([12]aneNONS)
Summenformel	C ₈ H ₁₈ CuN ₄ O ₆ S ₂	C ₈ H ₁₈ CuN ₄ O ₇ S
M [g mol ⁻¹]	393.92	377.86
Habitus	dunkelblaue Nadeln	hellblaue Prismen
Kristallsystem	monoklin	triklin
Raumgruppe	P2 ₁ /n	P1
a [Å]	9.1896(2)	7.1818(9)
b [Å]	12.3669(3)	7.8168(11)
c [Å]	12.9821(3)	14.427(2)
α; β; γ [°]	90; 100.1510(7); 90	87.302(7); 76.819(6); 62.758(5)
Zellvolumen [Å ³]	1452.28(6)	699.56(17)
Z	4	2
berechnete Dichte [g cm ⁻³]	1.802	1.794
Temperatur [K]	99.93	100.01
θ range [°]	4.584–56.636	5.814–54.552
F(000)	812.0	390.0
μ [mm ⁻¹]	1.824	1.750
Anzahl Reflektionen	11688	15075
Totale Reflektionen	3568 (R _{int} = 0.0184)	6015 (R _{int} = 0.0423)
R ₁ / wR ₂ [alle Daten]	0.0244 / 0.0714	0.1237 / 0.3098
R ₁ / wR ₂ [I > 2σ(I)]	0.0223 / 0.0714	0.1184 / 0.3069
goodness of fit	1.180	1.189

Tabelle 33: Kristallographische Daten für die Komplexe **K13** und **K15**.

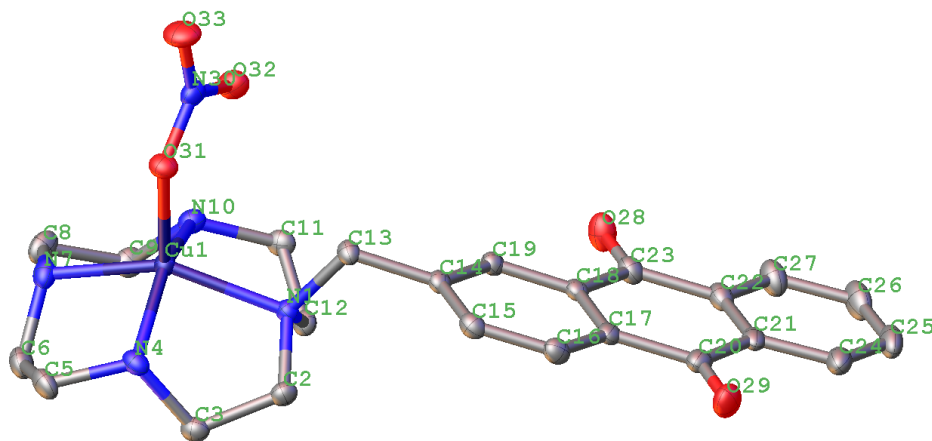
	K13	K15
Summenformel	C ₂₃ H ₃₀ CuN ₆ O ₉	C ₂₃ H ₂₉ CuFN ₆ O ₉
M [g mol ⁻¹]	598.07	616.07
Habitus	schwarze Nadeln	schwarze Nadeln
Kristallsystem	monoklin	monoklin
Raumgruppe	P2 ₁ /c	P2 ₁ /c
a [Å]	9.057(6)	8.9958(7)
b [Å]	12.560(8)	12.6444(10)
c [Å]	22.644(14)	22.4169(19)
α [°]	90	90
β [°]	93.344(18)	93.839(3)
γ [°]	90	90
Zellvolumen [Å ³]	2572(3)	2544.1(4)
Z	4	4
berechnete Dichte [g cm ⁻³]	1.545	1.6083
Temperatur [K]	99.83	100.0
2θ range [°]	4.848–52.796	4.54–52.9
F(000)	1244.0	1278.1
μ [mm ⁻¹]	0.914	0.931
Anzahl Reflektionen	29844	33143
Totale Reflektionen	5249 (R _{int} = 0.1557)	5225
R ₁ / wR ₂ [I > 2σ(I)]	0.0613 / 0.1536	0.0344 / 0.1109
R ₁ / wR ₂ [alle Daten]	0.1185 / 0.1865	0.0491 / 0.1274
goodness of fit	1.026	0.977

Tabelle 34: Kristallographische Daten für die Komplexe **K14** und **K16**.

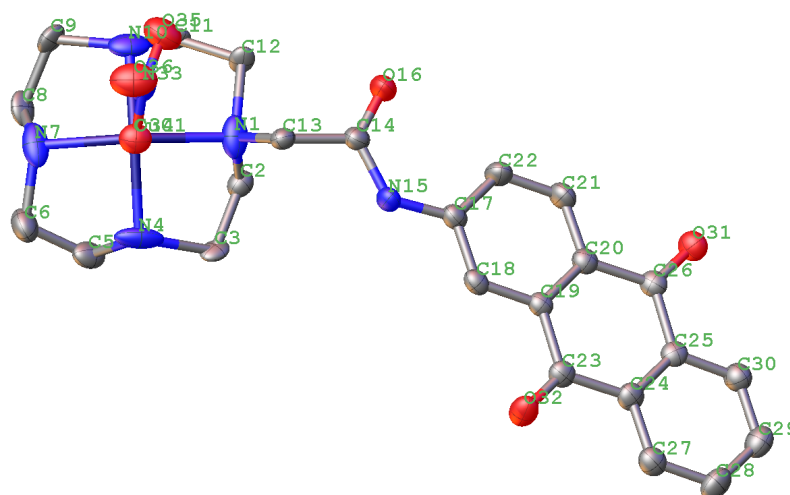
	K14	K16
Summenformel	C ₃₆ H ₄₀ CuN ₆ O ₁₄	C ₃₆ H ₃₀ CuF ₂ N ₄ O ₄
M [g mol ⁻¹]	844.30	808.20
Habitus	schwarze Nadeln	schwarze Nadeln
Kristallsystem	monoklin	monoklin
Raumgruppe	Cc	C2/c
a [Å]	15.0624(7)	14.6789(18)
b [Å]	14.6562(7)	14.4358(18)
c [Å]	17.2006(7)	18.717(2)
α [°]	90	90
β [°]	111.3280(14)	110.781(4)
γ [°]	90	90
Zellvolumen [Å ³]	3537.1(3)	3708.2(8)
Z	4	4
berechnete Dichte [g cm ⁻³]	1.5853	1.448
Temperatur [K]	173.15	104.43
2θ range [°]	5.08–52.84	5.206–40.246
F(000)	1758.3	1660.0
μ [mm ⁻¹]	0.700	0.664
Anzahl Reflexionen	20572	5942
Totale Reflexionen	6677 (R _{int} = 0.0300)	1740 (R _{int} = 0.0461)
R ₁ / wR ₂ [I > 2σ(I)]	0.0365 / 0.0884	0.0478 / 0.1253
R ₁ / wR ₂ [alle Daten]	0.0400 / 0.0903	0.0618 / 0.1303
goodness of fit	1.059	1.108

Tabelle 35: Kristallographische Daten für den Komplex **K17**.

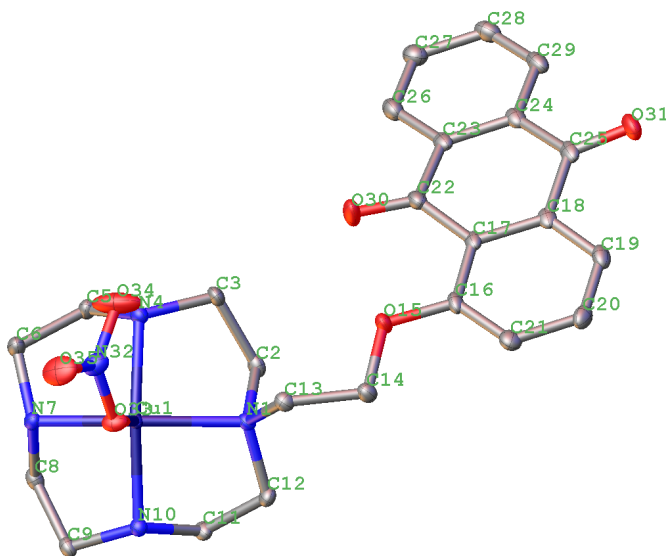
K17	
Summenformel	C ₂₂ H ₂₆ CuN ₆ O ₈
M [g mol ⁻¹]	565.52
Habitus	blaue Nadeln
Kristallsystem	monoklin
Raumgruppe	Cc
a [Å]	26.497
b [Å]	7.597
c [Å]	25.989
α [°]	90
β [°]	117.12
γ [°]	90
Zellvolumen [Å ³]	4656.3
Z	8
berechnete Dichte [g cm ⁻³]	1.613
Temperatur [K]	413.15
2θ range [°]	3.454–50.17
F(000)	2340.0
μ [mm ⁻¹]	1.001
Anzahl Reflexionen	19375
Totale Reflexionen	7191 (R _{int} = 0.0458)
R ₁ / wR ₂ [I > 2σ(I)]	0.0550 / 0.1344
R ₁ / wR ₂ [alle Daten]	0.0921 / 0.1711
goodness of fit	0.898

Tabelle 36: Kristallographische Daten für den Komplex **K18**.

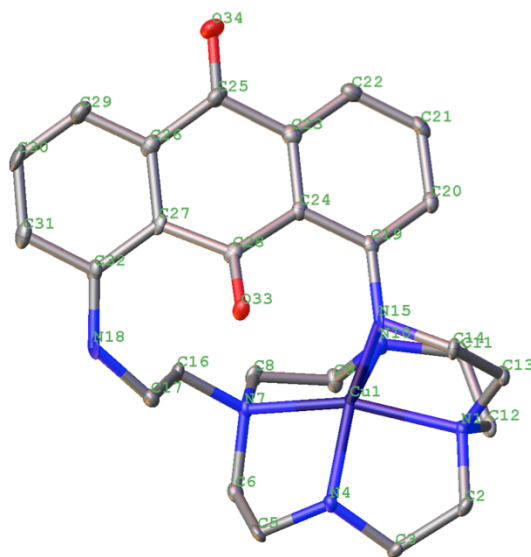
K18	
Summenformel	C ₂₃ H ₂₈ CuN ₆ O ₈
M [g mol ⁻¹]	580.05
Habitus	hellblaue Plättchen
Kristallsystem	triklin
Raumgruppe	P ₁
a [Å]	10.6533(11)
b [Å]	10.7743(11)
c [Å]	12.9755(13)
α [°]	91.367(5)
β [°]	109.066(4)
γ [°]	98.645(5)
Zellvolumen [Å ³]	1387.4(3)
Z	2
berechnete Dichte [g cm ⁻³]	1.3884
Temperatur [K]	100.06
2θ range [°]	4.88–52.9
F(000)	603.0
μ [mm ⁻¹]	0.842
Anzahl Reflektionen	31525
Totale Reflektionen	5700 (R _{int} = 0.0343)
R ₁ / wR ₂ [I > 2σ(I)]	0.0280 / 0.00667
R ₁ / wR ₂ [alle Daten]	0.0333 / 0.0690
goodness of fit	1.082

Tabelle 37: Kristallographische Daten für den Komplex **K24**.

K24	
Summenformel	C ₂₄ H ₂₉ CuN ₇ O ₉
M [g mol ⁻¹]	623.08
Habitus	grüne Nadeln
Kristallsystem	triklin
Raumgruppe	P ₁
a [Å]	8.214(2)
b [Å]	10.641(3)
c [Å]	16.086(5)
α [°]	95.202(6)
β [°]	94.600(6)
γ [°]	111.560(6)
Zellvolumen [Å ³]	1292.5(7)
Z	2
Dichte [g cm ⁻³]	1.601
Temperatur [K]	293(2)
2θ range [°]	2.562–50.278
F(000)	646.0
μ [mm ⁻¹]	0.914
Anzahl Reflektionen	14180
Totale Reflektionen	4588 (R _{int} = 0.0542)
R ₁ / wR ₂ [I > 2σ(I)]	0.0535 / 0.1230
R ₁ / wR ₂ [alle Daten]	0.0856 / 0.1405
goodness of fit	1.077

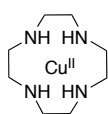
Tabelle 38: Kristallographische Daten für den Komplex **K25**.

K25	
Summenformel	C ₂₅ H ₃₄ CuN ₆ O ₁₀
M [g mol ⁻¹]	642.13
Habitus	schwarze Kristalle
Kristallsystem	monoklin
Raumgruppe	P2 ₁ /c
a [Å]	16.2866(5)
b [Å]	11.4324(3)
c [Å]	15.0032(4)
α [°]	90
β [°]	106.2330(11)
γ [°]	90
Zellvolumen [Å ³]	2682.15(13)
Z	4
Dichte [g cm ⁻³]	1.5901
Temperatur [K]	99.77
2θ range [°]	4.42–52.82
F(000)	1342.0
μ [mm ⁻¹]	0.885
Anzahl Reflektionen	49309
Totale Reflektionen	5504 (R _{int} = 0.0807)
R ₁ / wR ₂ [I > 2σ(I)]	0.0362 / 0.0810
R ₁ / wR ₂ [alle Daten]	0.0534 / 0.0879
goodness of fit	1.056

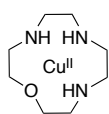
Tabelle 39: Kristallographische Daten für den Komplex **K27**.

K27	
Summenformel	C ₂₆ H ₃₃ CuN ₈ O ₈
M [g mol ⁻¹]	649.15
Habitus	rote Nadeln
Kristallsystem	monoklin
Raumgruppe	P2 ₁ /c
a [Å]	9.1039(12)
b [Å]	13.811(2)
c [Å]	21.841(3)
α [°]	90
β [°]	97.182(5)
γ [°]	90
Zellvolumen [Å ³]	2724.6(7)
Z	4
Dichte [g cm ⁻³]	1.5824
Temperatur [K]	173.15
2θ range [°]	4.5–52.82
F(000)	1354.0
μ [mm ⁻¹]	0.869
Anzahl Reflektionen	37718
Totale Reflektionen	5590 (R _{int} = 0.0882)
R ₁ / wR ₂ [I > 2σ(I)]	0.0518 / 0.1195
R ₁ / wR ₂ [alle Daten]	0.0716 / 0.1297
goodness of fit	1.090

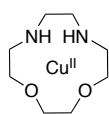
7.6 Komplexverzeichnis



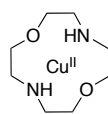
K1



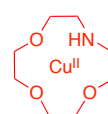
K2



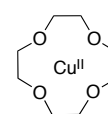
K3



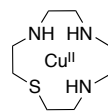
K4



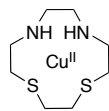
K5



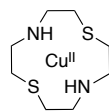
K6



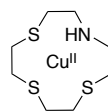
K7



K8



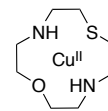
K9



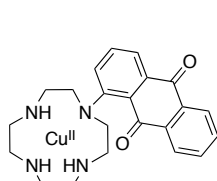
K10



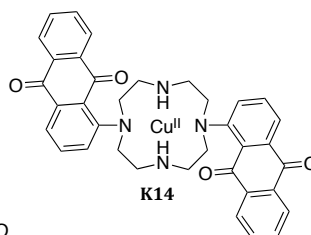
K11



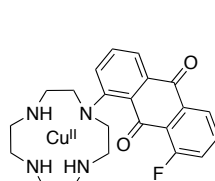
K12



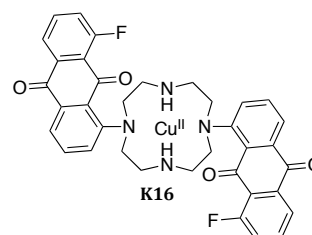
K13



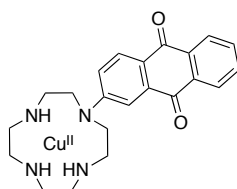
K14



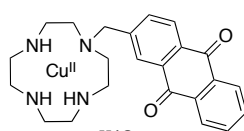
K15



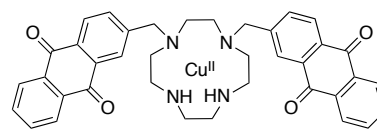
K16



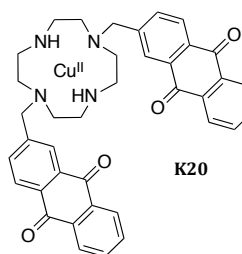
K17



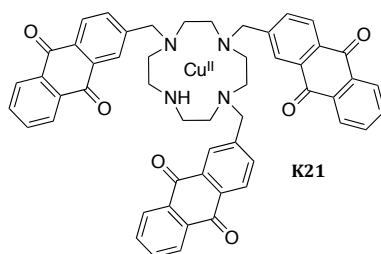
K18



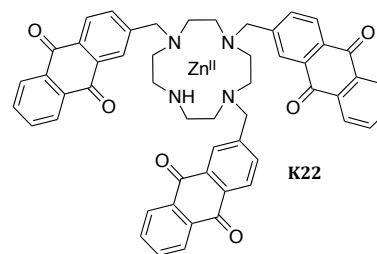
K19



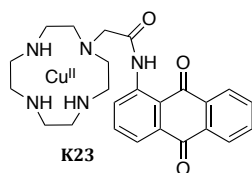
K20



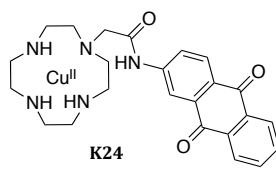
K21



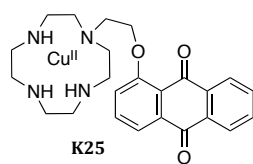
K22



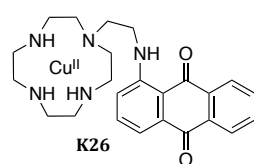
K23



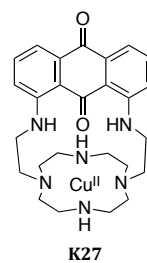
K24



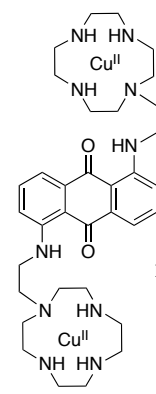
K25



K26



K27



K28