

Synthese fluorierter 1,10-Phenanthrolin-Derivate und Erfassung der biologischen Aktivität ihrer Kupfer(II)-Komplexe

**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

CARSTEN LÜDTKE

aus Prenzlau

2016

Die vorgelegte Arbeit wurde in der Zeit von September 2012 bis Mai 2016 am Institut für Chemie und Biochemie der Freien Universität Berlin unter Anleitung von Frau Prof. Dr. Nora Kulak angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. Nora Kulak

2. Gutachter: Prof. Dr. Dieter Lentz

Disputation am 15.07.2016

Danksagung

Zunächst möchte ich herzlichst Frau Prof. Dr. Nora Kulak für die Möglichkeit der Promotion in ihrer Arbeitsgruppe, die Bearbeitung eines spannenden Arbeitsgebiets und zahlreiche rege Diskussionen in den vergangenen Jahren danken.

Herrn Prof. Dr. Dieter Lentz möchte ich für die Übernahme des Zweitgutachtens und darüber hinaus für die Durchführung von Röntgenbeugungsexperimenten danken.

Bei Manuela Weber und Marija Habicht möchte ich mich ebenfalls für die Durchführung zahlreicher Röntgenbeugungsexperimente bedanken. Zudem danke ich Sebastian Sobottka für die vielen elektrochemischen Messungen und Stefanie Wedepohl für die Durchführung der Zytotoxizitätsstudien.

Den Serviceabteilungen der Organischen Chemie danke ich für die schnelle Durchführung von Elementaranalysen und 2D-NMR-Experimenten.

Ein großer Dank gebührt meinen Studenten Martin Wozniak, Axel Haupt, Patrick Kuhrt, Sophie Janke und Caroline Koppa, die einen Teil zu dieser Dissertation beigetragen haben.

Der DFG und dem Graduiertenkolleg 1582 „Fluor als Schlüsselement“ danke ich für die finanzielle Unterstützung und die dadurch ermöglichte Teilnahme an zahlreichen Workshops und Konferenzen, die meine wissenschaftliche Basis wesentlich erweitert haben.

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Arbeitsgruppe und anderen Personen im Institut bedanken, insbesondere Christian Wende, Chrischani Perrera-Bobusch, Jan Hormann, Darina Heinrich, Juliane Krüger, Felix Brosi, Stefanie Fritz, Martin Wozniak und vielen mehr. Durch euch war der Alltag nicht immer so grau und die zahllosen Stunden im Labor vergingen wie im Flug.

Ein besonderer Dank gebührt zudem Dr. Christian Ehm, der seine Freizeit für das Korrekturlesen dieser Arbeit geopfert hat.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie, meinen Freunden und meiner Freundin Claudia danken, die mich während der Anfertigung dieser Arbeit ertragen haben und auch in Zeiten großer Frustration auf andere Gedanken brachten.

Zusammenfassung

Künstliche Nukleasen stellen ein interessantes Werkzeug für biochemische Anwendungen dar, wobei als Target der Träger der Erbinformationen in den Zellen, die Desoxyribonukleinsäure (DNA), dient. Mithilfe solcher Nukleasen können DNA-Moleküle gespalten werden, was u. a. in der Entwicklung von neuen Chemotherapeutika von Bedeutung ist. Sigman und Mitarbeiter entdeckten bereits Ende der 1970er Jahre die oxidative Spaltung von Nukleinsäuren durch Bis-(1,10-phenanthrolin)kupfer(I) $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$, der ersten Kupfer-basierten künstlichen Nuklease. Seitdem beschäftigten sich zahlreiche Arbeiten mit diesem System, um die Mechanismen der DNA-Spaltung aufzuklären und/oder die Nukleaseaktivität zu verbessern.

Keine dieser Arbeiten beinhaltete jedoch den Einfluss von Fluorierungen des Liganden auf die Bioaktivität, trotz der verbreiteten Anwendung von Fluor- und Trifluormethylsubstituenten zur Verbesserung der pharmakologischen Eigenschaften von bioaktiven Molekülen. Im Rahmen dieser Arbeit wurde nun der Effekt der Einführung von fluorhaltigen Substituenten am phen-Gerüst auf die Nukleaseaktivität und die DNA-Bindungseigenschaften der jeweiligen Kupferkomplexe untersucht.

Zunächst wurden verschiedene fluorhaltige phen-Derivate mithilfe einer modifizierten Skraup-Reaktion dargestellt. Es konnten fünf Liganden der Zusammensetzung 5-X-phen ($X = \text{F}, \text{CF}_3, \text{OCF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5$) und 5,6-Difluorphen synthetisiert werden, wobei vier der Derivate ($X = \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{OCF}_3, \text{SF}_5$) zum ersten Mal dargestellt wurden. Die Liganden konnten mit Kupfer(II)nitrat zu Komplexen mit der Grundstruktur $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2]^{2+}$ ($X = \text{F}, \text{F}_2, \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5$) umgesetzt werden. Die Komplexe zeigten in Gegenwart von Ascorbinsäure als Reduktionsmittel eine hohe Nukleaseaktivität, wenngleich diese für die fluorhaltigen Komplexe geringer als für den unsubstituierten Komplex $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ ausfiel. Zusätzlich wurden DNA-Bindungsstudien mit den Kupfer(II)-Komplexen durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass die DNA-Affinität mit steigender Substituentengröße abnimmt. Die gleichzeitige Abnahme von DNA-Affinität und Nukleaseaktivität der Komplexe weist auf einen engen Zusammenhang zwischen diesen beiden Parametern hin. Die fluorhaltigen Kupfer(II)-Komplexe fungierten interessanterweise, im Gegensatz zu $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$, als selbstaktivierende Nukleasen und zeigten DNA-Spaltaktivität in Abwesenheit von Reduktionsmittel. Dabei konnte ein Zusammenhang zwischen dem Redoxpotential der Kupferkomplexe und deren DNA-Spaltung aufgezeigt werden. So wies der Komplex $[\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2]^{2+}$ gleichzeitig die höchste Nukleaseaktivität und das positivste Redoxpotential der untersuchten Komplexe auf.

Das zweite zu untersuchende System beschäftigte sich mit den Kupfer(II)-Komplexen von 2-Methyl-1,10-phenanthrolin (Mephen) und dessen Derivaten 5(6)-X-2-Mephen ($X = \text{fluorhaltiger Substituent}$).

Zusammenfassung

Die Synthese der Liganden mit unterschiedlichen Substituenten (F, CF₃, SCF₃, SF₅) gelang mittels Doebner-von Miller-Reaktion, einer Modifikation der Skraup-Reaktion. Bis auf SF₅Mephen konnten für alle Mephen-Derivate definierte Komplexe der Zusammensetzung [Cu(XMephen)₂]²⁺ erhalten werden. Diese Kupfer(II)-Komplexe zeigten in Gegenwart von Ascorbinsäure jeweils eine hohe Nukleaseaktivität, wobei auch hier DNA-Affinität und DNA-Spaltaktivität miteinander korrelierten. Sowohl Nukleaseaktivität als auch DNA-Affinität nahmen mit steigender Substituentengröße (H < F < CF₃ < SCF₃) ab. Ohne Reduktionsmittel konnte hier hingegen keine Spaltung von Plasmid-DNA beobachtet werden.

Während die Affinität der Komplexe des [Cu(XMephen)₂]²⁺-Systems für DNA verglichen mit den analogen Komplexen des nicht-methylierten Systems [Cu(Xphen)₂]²⁺ (X = H, F, CF₃, SCF₃) größer oder zumindest gleich groß ist, zeigen die Komplexe der nicht-methylierten Derivate eine höhere Nukleaseaktivität. Beide Komplexsysteme wiesen überdies eine hohe Zytotoxizität für MCF-7-Zellen (Brustkrebszelllinie, IC₅₀ < 10 µM) auf, wobei der genaue Wirkmechanismus in der Zelle noch unklar ist und dessen Aufklärung weitere Untersuchungen erfordert. DNA-Spaltaktivität und Zytotoxizität der Komplexe korrelierten nicht direkt miteinander, ein Zusammenhang zwischen beiden Eigenschaften kann jedoch trotzdem nicht ausgeschlossen werden, da andere Aspekte bisher noch nicht betrachtet wurden (z. B. die Aufnahme und Verteilung der Komplexe in den Zellen).

Abstract

Artificial nucleases are powerful tools for biochemical and medicinal applications. They target one of the most fundamental biomolecules, the DNA, which is carrying the genetic information. Its uniqueness in transferring genetic information makes it fundamental for cancer research, having in mind that modifications in DNA strands can be responsible for the conversion of healthy into cancer cells. Artificial nucleases can initiate apoptosis in cancer cells via cleaving the DNA of the cell. One of the first developed and well understood systems is bis(phenanthroline)copper(I), $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$, reported by Sigman and co-workers in the late 70's of the last century. In the last three decades there was a lot of research to improve and understand this system, but no one has looked into fluorination of the ligand system. This is surprising, since fluorination is a very often used tool for enhancing bioactivity of pharmaceuticals.

Our focus was on studying the influence of fluorine-containing groups located on the phenyl moiety (5-Xphen), especially regarding the bioactivity of the copper-phen system including affinity towards DNA, cleavage activity and cytotoxicity against specific types of cancer cells.

The first topic included the synthesis of phenanthroline derivatives with different fluorine-containing substituents. This was achieved with a modified Skraup reaction under milder conditions. We managed to generate five fluorine-containing derivatives of the form 5-Xphen ($X = \text{F}, \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{OCF}_3, \text{SF}_5$) plus the difluorinated 5,6-diFphen, out of which four have not been synthesized before ($X = \text{CF}_3, \text{OCF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5$). We could obtain copper(II) complexes of the structure $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2]^{2+}$ for all ligands except OCF_3phen . The copper(II) complexes are excellent DNA cleavers in the presence of ascorbic acid as reducing agent and show good binding abilities for DNA. Both cleaving and binding ability decreased with expanding substituent size ($\text{H} < \text{F} < \text{CF}_3 < \text{SCF}_3 < \text{SF}_5$) so that we can conclude a strong relationship between binding ability and cleavage activity. Interestingly the fluorine-containing complexes showed self-activated nuclease activity without any reducing agent in contrast to the unsubstituted $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$. Probably this activity exists due to the more positive redox potentials of fluorinated $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2]^{2+}$ complexes and an easier activation of the copper(II) complex via reduction. Quenching experiments suggest an oxidative cleavage mechanism. The reason for activation of copper(II) is still unclear, possible considerations are reduction through DNA components like bases (e. g. guanine).

The second investigated system are copper(II) complexes of 2-methyl-1,10-phenanthroline (Mephen) and certain fluorine-containing derivatives. This system is interesting because no previous studies with $[\text{Cu}(\text{Mephen})_2]^{+2+}$ have been reported before and it is a kind of structural intermediate of the

Abstract

inactive $[\text{Cu}(2,9\text{-dimethylphen})]^{+2}$ and the highly active $[\text{Cu}(\text{phen}_2)]^{+2}$ system. Moreover, the methyl group makes it attractive due to possible functionalizations at this group. The complexes show high nuclease activity in the presence of ascorbic acid and high binding abilities for DNA. Just like in the $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ system binding ability and cleavage activity decrease with increasing substituent size. In contrast to the former system no hints for self-activated nuclease activity were found.

Both systems, $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2]^{2+}$ and $[\text{Cu}(\text{XMephen})_2]^{2+}$, were found to be highly cytotoxic to MCF-7-cells (breast cancer cells, $\text{IC}_{50} \leq 10 \mu\text{M}$) with little higher toxicity for the methylated analogues. In contrast, nuclease activity of the non-methylated species is higher compared to the methylated ones. No clear correlation between nuclease activity and cytotoxicity was found and the mode of action for toxicity is still unclear. Nevertheless, a relation between nuclease activity and cytotoxicity cannot be excluded due to other aspects (e. g. uptake and distribution of the complexes in cells).

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1. Physiologie der Metalle	1
1.1.1. Metalle und deren Funktion im menschlichen Organismus	1
1.1.2. Metalle in medizinisch relevanten Pharmaka	2
1.2. Biologische Relevanz von fluorierten Molekülen.....	4
1.3. Natürliche und "künstliche" Nukleasen	8
1.3.1. Natürliche Nukleasen	8
1.3.2. Künstliche Nukleasen	9
1.4. $[Cu(1,10\text{-phenanthroline})_2]^+$ /Sigmans System.....	10
1.4.1. Hintergrund und Allgemeines zu Sigmans System	10
1.4.2. Mechanismus der Nuklease-Aktivität/Sauerstoffaktivierung	10
1.4.3. Weiterentwicklung von Sigmans System	12
2. Zielstellung.....	15
3. Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe.....	17
3.1. Synthesestrategien für fluorierte 1,10-Phenanthroline.....	17
3.1.1. Direkte Fluorierung und Perfluoralkylierung von Aromaten	17
3.1.2. Skraup-Reaktion ausgehend von fluorierten Anilin- und Chinolin-Derivaten.....	20
3.2. Ergebnisse.....	22
3.2.1. Ligandensynthese	22
3.2.2. Komplexsynthese	40
3.2.3. Elektrochemische Untersuchung der Kupferkomplexe.....	57
4. Biologische Aktivität der Kupferkomplexe.....	61
4.1. Methoden und Allgemeines.....	61
4.1.1. Charakterisierung der Bindung an CT-DNA	61

Inhaltsverzeichnis

4.1.2. Charakterisierung der Spaltung von Plasmid-DNA.....	65
4.1.3. Bestimmung der Zytotoxizität.....	66
4.2. Evaluation der DNA-Bindung.....	67
4.2.1. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2]^{2+}$ (X = H, F, F ₂ , CF ₃ , SCF ₃ , SF ₅).....	67
4.2.2. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(2\text{-Me-Xphen})_2]^{2+}$ (X = H, F, CF ₃ , SCF ₃ , SF ₅).....	75
4.2.3. Vergleich zwischen methylierten und nicht-methylierten Spezies.....	84
4.3. Nukleaseaktivität der Kupferkomplexe.....	87
4.3.1. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2]^{2+}$ (X = H, F, F ₂ , CF ₃ , SCF ₃ , SF ₅).....	87
4.3.2. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(2\text{-Me-Xphen})_2]^{2+}$ (X = H, F, CF ₃ , SCF ₃ , SF ₅).....	97
4.3.3. Vergleich von fluorierten Cu(phen) ₂ - und Cu(Mephen) ₂ -Derivaten.....	101
4.4. Zytotoxizität der Kupfer(II)-Komplexe.....	103
4.4.1. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2]^{2+}$ (X = H, F, F ₂ , CF ₃ , SCF ₃ , SF ₅).....	103
4.4.2. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(2\text{-Me-Xphen})_2]^{2+}$ (X = H, F, CF ₃ , SCF ₃ , SF ₅).....	104
4.4.3. Vergleich zwischen methylierten und nicht-methylierten Kupfer(II)-Komplexen.....	105
5. Experimenteller Teil.....	107
5.1. Allgemeine Anmerkungen.....	107
5.2. Methoden und Materialien.....	108
5.2.1. Methoden und Geräte.....	108
5.2.2. Chemikalien.....	113
5.3. Allgemeine Synthesevorschriften.....	115
5.3.1. Skraup-Reaktion (Reaktion A).....	115
5.3.2. Doebner-von Miller-Reaktion (Reaktion B).....	115
5.3.3. Reduktion von 8-Nitrochinolinen (Reaktion C).....	115
5.3.4. Reduktion von 2-Methyl-8-nitrochinolinen (Reaktion D).....	116
5.3.5. 5-Fluor-1,10-phenanthrolin (Fphen).....	117
5.3.6. 5,6-Difluor-1,10-phenanthrolin (F ₂ phen).....	121
5.3.7. 5-Trifluormethyl-1,10-phenanthrolin (CF ₃ phen).....	124
5.3.8. 5-(Trifluormethoxy)-1,10-phenanthrolin (OCF ₃ phen).....	129

Inhaltsverzeichnis

5.3.9. 5-(Trifluormethylthio)-1,10-phenanthrolin (SCF ₃ phen)	132
5.3.10. 5-(Pentafluorsulfanyl)-1,10-phenanthrolin (SF ₅ phen)	138
5.3.11. 5-Fluor-2-methyl-1,10-phenanthrolin (5FMephen)	142
5.3.12. 5-Fluor-2,9-dimethyl-1,10-phenanthrolin (Fneo).....	145
5.3.13. 6-Fluor-2-methyl-1,10-phenanthrolin (6FMephen)	146
5.3.14. Funktionalisierte 5-Fluor-2-methyl-1,10-phenanthroline	147
5.3.15. 2-Methyl-6-(trifluormethyl)-1,10-phenanthrolin (CF ₃ Mephen).....	149
5.3.16. 2-Methyl-6-(trifluormethylthio)-1,10-phenanthrolin (SCF ₃ Mephen)	152
5.3.17. 2-Methyl-6-(pentafluorsulfanyl)-1,10-phenanthrolin (SF ₅ Mephen)	153
5.3.18. 5-(Perfluorbutyl)-1,10-phenanthrolin (pFBuphen)	157
5.3.19. Komplexsynthese	166
<i>6. Literaturverzeichnis</i>	<i>179</i>
<i>7. Anhang</i>	<i>i</i>

Abkürzungsverzeichnis

ADEA	Acroleindiethylacetal
Äq.	Äquivalente
Ar	Argon
app	<i>apparent</i>
Asc	Ascorbinsäure
ber.	berechnet
BDE	<i>bond dissociation energy</i>
cat.	Katalase
Cp	Cyclopentadienyl-Anion
CT-DNA	Kalbsthymus-DNA (<i>calf thymus</i>)
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DMSO	Dimethylsulfoxid
dsDNA	<i>double stranded DNA</i>
E^0	Standardpotential
E^0_{ox}	Oxidationspotential
EcoRI	erste Nuklease aus dem Stamm R von <i>Escherichia coli</i>
ESI	Elektrospray-Ionisation
EtBr	Ethidiumbromid
exp.	experimentell
ESI	Elektrospray-Ionisation
exp.	experimentell

Abkürzungsverzeichnis

HSAB	<i>hard and soft acids and bases</i>
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
Me	Methyl
MOPS	3-(<i>N</i> -Morpholino)propansulfonsäure
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (<i>phosphate buffered saline</i>)
phen	1,10-Phenanthrolin
quin	Chinolin
rpm	Umdrehungen pro Minute (<i>rounds per minute</i>)
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
scDNA	<i>supercoiled DNA</i>
ssDNA	<i>single stranded DNA</i>
SOD	Superoxiddismutase
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TDAE	Tetrakis(dimethylamino)ethen
TMAF	Tetramethylammoniumfluorid
TMHI	Trimethylhydraziniumiodid
TMSCF ₃	(Trifluormethyl)trimethylsilan
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
ÜM	Übergangsmetall
vdW	Van-der-Waals

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Idealierte Darstellung des aktiven Zentrums einer Cu/Zn-SOD. ^[212]	1
Abbildung 2: Struktur des Trimers von Arspenamin.	2
Abbildung 3: Platinbasierte Zytostatika (a) Cisplatin, (b) Carboplatin und (c) Oxaliplatin.	3
Abbildung 4: Metabolisierung von Cortisol-Derivaten mit 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (BHSD).	6
Abbildung 5: (a) Metabolit Uracil, (b) Antimetabolit 5-Fluoruracil und die Prodrugs (c) Tegafur, (d) Capecitabin, (e) Gemcitabin und (f) 5-Fluorcytosin (Strukturen ohne Stereozentren abgebildet).	7
Abbildung 6: Anorektika (a) <i>N</i> -Ethylamphetamin, (b) Fenfluramin und (c) Tiflorex und (d) das SF ₅ -Analogon.....	8
Abbildung 7: ALS-Medikament Riluzol	8
Abbildung 8: Struktur von [Cu(phen) ₂] ⁺	10
Abbildung 9: 2-Clip-phen (links) und 3-Clip-phen (rechts).	13
Abbildung 10: phen-basierte Liganden mit erweitertem π -System.	13
Abbildung 11: Selbst-aktivierende Nuklease [{Cu(phen) ₂] ₂ (terph)] ²⁺	14
Abbildung 12: Darzustellende fluorhaltige phen-Derivate.	15
Abbildung 13: Elektrophile Fluorierungsreagenzien.	18
Abbildung 14: Trifluormethylierungsreagenzien (a) <i>Togni reagent II</i> , (b) <i>Umemoto reagents</i> und (c) Hartwigs <i>Trifluoromethylator</i> TM	19
Abbildung 15: Übersicht der synthetisierten fluorhaltigen 2-Mephen-Derivate.	36

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 16: ^1H -NMR-Spektren für 5Fphen (oben) und 6FMephen (unten) in CDCl_3 bei unterschiedlicher Ligandenkonzentration (blau: 0.0625 mM; grün: 0.250 mM, braun: 1.00 mM). 39
- Abbildung 17: ORTEP-Projektionen der asymmetrischen Einheit (links) von $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_3$ und des Molekülkations (rechts) von $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_3$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit rechts ohne Wasserstoffatome und Gegenionen; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit). 42
- Abbildung 18: OLEX²-Darstellung von zwei Molekülkationen $[\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_3]^{2+}$ im Festkörper mit quadratischer Grundfläche des aufgespannten Oktaeders und π - π -Kontakt (thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit). 42
- Abbildung 19: ORTEP-Projektion der asymmetrischen Einheit von $[\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{ONO}_2)]\text{NO}_3 \times \text{MeOH}$ $\{\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{a})\}$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit ohne Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit). 46
- Abbildung 20: ORTEP-Projektion der asymmetrischen Einheit von $[\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{ONO}_2)]\text{NO}_3 \times \text{H}_2\text{O}$ $\{\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{b})\}$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit ohne Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit). 46
- Abbildung 21: ORTEP-Projektion der asymmetrischen Einheit von $[\text{Cu}(\text{Fphen})_2(\text{ONO}_2)]\text{NO}_3 \times \text{H}_2\text{O}$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit ohne Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit). 48
- Abbildung 22: ORTEP-Darstellung des Molekülkations von $[\text{Cu}(\text{Mephen})_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ (links) und des Molekülkations von $[\text{Cu}(\text{5FMephen})_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ (rechts) (aus Gründen der Übersichtlichkeit ohne Darstellung der Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit). 50
- Abbildung 23: Asymmetrische Einheit (mit Wasserstoffatomen und Wasserstoffbrückenbindung) und Molekülstruktur (zu Gunsten der Übersichtlichkeit ohne Wasserstoffatome und Gegenionen) von $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(\text{6FMephen})_2](\text{NO}_3)_2$ (thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit). 51
- Abbildung 24: ORTEP-Abbildung des Molekülkations von $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{6FMephen})(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3) \times \text{H}_2\text{O}$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit ohne Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit). 53
- Abbildung 25: OLEX²-Darstellung der intermolekularen π - π -Wechselwirkungen im Festkörper von $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{6FMephen})(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3) \times \text{H}_2\text{O}$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit Abbildung ohne Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit). 54
- Abbildung 26: Cyclovoltammogramme der Komplexe $\text{Cu}(\text{Xphen})_2$ ($\text{X} = \text{H}, \text{F}, \text{F}_2, \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5$) in einer KCl-Lösung bei Raumtemperatur mit einer Vorschubgeschwindigkeit von $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ gegen Ferrocen ($E_{1/2, \text{Ferrocen}} = 0 \text{ V}$) referenziert. 57

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 27: Sterische Hinderung in $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ -Derivaten (exemplarische planare Anordnung der phen-Liganden, links: unsubstituierte Liganden, rechts: methylierte Liganden).	59
Abbildung 28: Cyclovoltammogramme der Komplexe $\text{Cu}(\text{XMephen})_2$ ($X = \text{H}, 6\text{F}, \text{CF}_3, \text{SCF}_3$) in einer Kaliumchlorid-Lösung bei Raumtemperatur mit einer Vorschubgeschwindigkeit von $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ gegen Ferrocen ($E_{1/2, \text{Ferrocen}} = 0 \text{ V}$) referenziert.	59
Abbildung 29: Neutralrot ($\text{pH} \geq 7.5$).....	62
Abbildung 30: Struktur von EtBr (rot: Phenanthridin-Gerüst).	64
Abbildung 31: Schmelzkurven von DNA- $\text{Cu}(\text{phen})_2$ -Addukten [$250 \mu\text{M}$ CT-DNA, $25 \mu\text{M}$ Kupfer(II)-Komplex, 10 mM Tris-HCl-Puffer ($\text{pH} = 7.4$)]......	68
Abbildung 32: Fluoreszenz von EtBr-CT-DNA-Addukten nach Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen unterschiedlicher Kupferkomplexe $\text{Cu}(\text{Xphen})_2$ ($X = \text{H}, \text{F}, \text{F}_2, \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5$).....	70
Abbildung 33: Zirkulardichroismus der chiralen Komplexe $\text{Cu}(\text{Fphen})_2$ und $\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{phen})_2$ ($10 \mu\text{M}$) in Tris-HCl-Puffer (10 mM , $\text{pH} = 7.4$).	71
Abbildung 34: Zirkulardichroismus für CT-DNA-Addukte (CT-DNA: $50 \mu\text{M}$) mit $\text{Cu}(\text{phen})_2$ und $\text{Cu}(\text{Fphen})_2$ ($10 \mu\text{M}$), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe und Tris-HCl ($\text{pH} = 7.4$, 10 mM) ohne DNA korrigiert.	72
Abbildung 35: Zirkulardichroismus für CT-DNA-Addukte (CT-DNA: $50 \mu\text{M}$) mit $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2$, $\text{Cu}(\text{CF}_3\text{phen})_2$, $\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{phen})_2$ und $\text{Cu}(\text{SF}_5\text{phen})_2$ ($10 \mu\text{M}$), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe und Tris-HCl ($\text{pH} = 7.4$, 10 mM) ohne DNA korrigiert.....	73
Abbildung 36: DNA-Schmelzkurven nach Zugabe von verschiedenen Komplexen [$250 \mu\text{M}$ CT-DNA, $25 \mu\text{M}$ Komplex, 10 mM Tris-HCl-Puffer ($\text{pH} = 7.4$)]......	76
Abbildung 37: Fluoreszenz von EtBr-CT-DNA-Addukten nach Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen unterschiedlicher Kupferkomplexe $\text{Cu}(\text{Mephen})_2$ [10 mM Tris-HCl ($\text{pH} = 7.4$), $5 \mu\text{M}$ EtBr, $20 \mu\text{M}$ Komplex].	78
Abbildung 38: Zirkulardichroismus für CT-DNA-Addukte (CT-DNA: $50 \mu\text{M}$) mit $\text{Cu}(\text{phen})_2$, $\text{Cu}(\text{Mephen})_2$, $\text{Cu}(\text{5FMephen})_2$ und $\text{Cu}(\text{6FMephen})_2$ ($10 \mu\text{M}$), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe ohne DNA in Tris-HCl-Puffer ($\text{pH} = 7.4$, 10 mM) korrigiert.....	80

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 39: Zirkulardichroismus für CT-DNA-Addukte (CT-DNA: 50 μM) mit $\text{Cu}(\text{CF}_3\text{Mephen})_2$ und $\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{Mephen})_2$ (10 μM), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe ohne DNA in Tris-HCl (pH = 7.4, 10 mM) korrigiert. 81
- Abbildung 40: Zirkulardichroismus im Bereich zwischen 240 und 330 nm von verschiedenen Komplex-DNA-Addukten (CT-DNA: 50 μM), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe (10 μM) ohne DNA in Tris-HCl (pH = 7.4, 10 mM) korrigiert. 85
- Abbildung 41: Zirkulardichroismus im Bereich zwischen 200 und 350 nm von verschiedenen Komplex-DNA-Addukten (CT-DNA: 50 μM), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe (10 μM) ohne DNA in Tris-HCl (pH = 7.4, 10 mM) korrigiert. 86
- Abbildung 42: Konzentrationsabhängige ([Komplex] = 0 bis 20 μM) Spaltung von pBR322-Plasmid (0.025 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) nach einstündiger Inkubation (37 °C, 500 rpm) durch unterschiedliche Kupferkomplexe in Gegenwart von Ascorbinsäure (250 μM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.4). 88
- Abbildung 43: DNA-Spaltexperiment (pBR322-Plasmid, 0.025 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) mit verschiedenen Kupferkomplexen (jeweils 5 μM) in Gegenwart von Ascorbinsäure (0.25 mM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.4) nach einstündiger Inkubation (500 rpm, 37 °C), (DNA -/+ : DNA ohne/mit Ascorbinsäure). 89
- Abbildung 44: DNA-Spaltexperiment (pBR322-Plasmid, 0.025 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) mit verschiedenen Kupferkomplexen (jeweils 10 μM) in Gegenwart von Ascorbinsäure (0.25 mM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.4) nach einstündiger Inkubation (500 rpm, 37 °C), (DNA -/+ : DNA ohne/mit Ascorbinsäure). 90
- Abbildung 45: DNA-Spaltexperiment (pBR322-Plasmid, 0.025 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) mit verschiedenen Kupferkomplexen (jeweils 10 μM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.4) nach einstündiger Inkubation (500 rpm, 37 °C). 91
- Abbildung 46: DNA-Spaltaktivität verschiedener Kupferkomplexe (100 μM) in Tris-HCl-gepufferter Lösung (50 mM, pH = 7.4) gegenüber pBR322-Plasmid (0.025 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) nach 60 min Inkubation (500 rpm, 37 °C). 92
- Abbildung 47: DNA-Spaltaktivität verschiedener Kupferkomplexe (100 μM) in MOPS-gepufferter Lösung (50 mM, pH = 7.4) gegenüber pBR322-Plasmid (0.025 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) nach 60 min Inkubation (500 rpm, 37 °C). 93
- Abbildung 48: Quenchexperimente mit verschiedenen Quenchern zur Identifizierung der ROS bei der DNA-Spaltung durch $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2$ und $\text{Cu}(\text{CF}_3\text{phen})_2$ in Abwesenheit eines Reduktionsmittels; Inkubationsbedingungen (60 min, 500 rpm, 37 °C); Spur 1 bis 6: pBR322-Plasmid (0.025 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$), MOPS-Puffer (50 mM, pH = 7.4), PBS (0.125X); Spur 2 bis 6: Kupfer(II)-Komplex K (100 μM); Spur 3 bis 6: Quencher. 95
- Abbildung 49: Konzentrationsabhängige ([Komplex] = 0 bis 20 μM) Spaltung von pBR322-Plasmid (0.025 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) nach einstündiger Inkubation (37 °C, 500 rpm) durch unterschiedliche Kupferkomplexe in Gegenwart von Ascorbinsäure (250 μM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.4). 98

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 50: DNA-Spaltexperiment (pBR322-Plasmid, $0.025 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) mit verschiedenen Kupferkomplexen (jeweils $10 \mu\text{M}$) in Gegenwart von Ascorbinsäure (0.25 mM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM , $\text{pH} = 7.4$) nach einstündiger Inkubation (500 rpm , $37 \text{ }^\circ\text{C}$).....	99
Abbildung 51: DNA-Spaltaktivität verschiedener Kupferkomplexe ($125 \mu\text{M}$) in Tris-HCl-gepufferter Lösung (50 mM , $\text{pH} = 7.4$) gegenüber pBR322-Plasmid ($0.025 \mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) nach 60 min Inkubation (500 rpm , $37 \text{ }^\circ\text{C}$).....	100
Abbildung 52: DNA-Spaltaktivität verschiedener Kupferkomplexe ($10 \mu\text{M}$) in Gegenwart von Ascorbinsäure ($250 \mu\text{M}$) in MOPS- gepufferter Lösung (50 mM , $\text{pH} = 7.4$) gegenüber pBR322-Plasmid ($0.025 \mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) nach 60 min Inkubation (500 rpm , $37 \text{ }^\circ\text{C}$).....	102
Abbildung 53: Konzentrationsabhängige Zytotoxizität verschiedener fluorhaltiger $\text{Cu}(\text{phen})_2$ -Komplexe auf MCF-7-Zellen nach 48-stündiger Inkubation.	103
Abbildung 54: Konzentrationsabhängige Zytotoxizität verschiedener fluorhaltiger $\text{Cu}(\text{Mephen})_2$ -Derivate auf MCF-7-Zellen nach 48-stündiger Inkubation (keine Balken bedeuten eine Zellviabilität von 0 %).	105
Abbildung 55: IC_{50} -Werte für verschiedene Kupfer(II)-Komplexe (Ermittelt aus einem MTT-Assay an MCF-7-Zellen).....	106

Schemataverzeichnis

Schema 1: Möglicher Mechanismus zur Aktivierung von O ₂ durch [Cu(phen) ₂] ⁺	11
Schema 2: Oxidativer Angriff von [Cu(phen) ₂] ⁺ /O ₂ am C1'-Atom der Desoxyribose. ^[89]	12
Schema 3: (a) Säure-katalysierte Generierung von Acrolein aus Glycerin, (b) möglicher Mechanismus der Skraup-Reaktion. ^[146]	21
Schema 5: Darstellung von azoverbrückten Bis(phen)-Derivaten.	22
Schema 4: Frühere Versuche zur Darstellung von 5-Fluor-8-nitrochinolin (2) als Vorstufe für Fphen (L2).	22
Schema 6: Denitrofluorierung von 3 mit TMAF.	23
Schema 7: Synthese von 5,6-Bis(diazonium)-1,10-phenanthrolin-Bis(tetrafluorborat) (L3).	24
Schema 8: Darstellung von 8 und Umsetzung von 8 mit SF ₄	25
Schema 9: Radikalische Perfluorbutylierung von 1,10-Phenanthrolin.	26
Schema 10: Darstellung der 8-Nitrochinolin-Derivate 2 und 12 bis 14 mittels Skraup-Reaktion.	28
Schema 11: Darstellung von 8-Nitro-6-(pentafluorsulfanyl)chinolin (17).	28
Schema 12: Synthesestrategien zur Darstellung SCF ₃ - bzw. SF ₅ -substituierter 8-Nitrochinolin-Derivate.	29
Schema 13: Darstellung von 8-Nitro-5-(trifluormethylthio)chinolin (24).	30
Schema 14: Ullmann-ähnliche Kupplung von <i>n</i> -Perfluorbutyl-1-iodid mit verschiedenen Chinolinen.	31
Schema 15: Darstellung von fluorhaltigen phen-Derivaten mittels Skraup-Reaktion ausgehend von fluorhaltigen 8-Aminochinolin.	32

Schemataverzeichnis

Schema 16: Darstellung der funktionalisierten 2-Methyl-8-nitrochinoline 36-38 via Doebner-von Miller-Reaktion	33
Schema 17: Postulierter Reaktionsmechanismus für die Reaktion von 36 mit Hydrazinhydrat und Pd/C	33
Schema 18: Reduktion der 2-Methyl-8-nitrochinoline 36 und 37 mit Pd/C und Hydraziniumhydroxid	34
Schema 19: Reduktion von 38 mit Pd/C und N ₂ H ₅ OH	35
Schema 20: Durchgeführte und mögliche Synthesepfade zur Darstellung von 2-Me-X-phen-Derivaten (X= H, F, CF ₃ , SCF ₃ , SF ₅) und 5-F-2,9-Me ₂ phen	36
Schema 21: Funktionalisierung von L12	37
Schema 22: Abhängigkeit der Komplex-Zusammensetzung vom verwendeten Kupfer(II)-Salz	43
Schema 23: Reduktion von MTT in lebenden Zellen	66

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Hammett-Parameter (σ) ^a und Lipophilie-Inkrement (π) ^b für verschiedene Substituenten in <i>meta/para</i> -Stellung (<i>m/p</i>) von Benzoesäure ^[44,50,51] und van-der-Waals-Radii der Substituenten.	5
Tabelle 2: Ansätze und Parameter für die Optimierung der Reduktion von 36 (die Konzentration des Eduktes in Lösung für die Ansätze betrug 50 mM bezogen auf das Gesamtvolumen an EtOH).	34
Tabelle 3: Elementaranalysen für [CuL ₃](ClO ₄) ₂ (exp. und ber.).....	41
Tabelle 4: Ausgewählte Bindungslängen und -winkel in der asymmetrischen Einheit von Cu(F ₂ phen) ₃	43
Tabelle 5: Ausgewählte Bindungslängen und -winkel in Cu(F ₂ phen) ₂ (a/b).	44
Tabelle 6: Ausgewählte Bindungslängen und -winkel in CuXMephen (X = 5F, 6F) und Cu(Mephen) ₂	52
Tabelle 7: Ausgewählte Bindungslängen und -winkel in [Cu(phen)(6FMephen)(ONO ₂)](NO ₃) x H ₂ O.	54
Tabelle 8: Dargestellte Komplexe (idealisierte Darstellung ohne nachgewiesene Koordinationsumgebung), die für biologische Untersuchungen genutzt wurden.....	55
Tabelle 9: Dargestellte Komplexe (idealisierte Darstellung ohne nachgewiesene Koordinationsumgebung), die nicht für biologische Untersuchungen genutzt wurden (Grund für die unterbliebene Untersuchung der Bioaktivität siehe Anmerkung).	56
Tabelle 10: Redoxpotential E _{1/2} ausgewählter Kupferkomplexe mit Liganden Xphen (X = F, F ₂ , CF ₃ , SCF ₃ , SF ₅)....	58
Tabelle 11: Redoxpotentiale E _{1/2} ausgewählter Kupferkomplexe mit methylierten Liganden XMephen (X = F, CF ₃ , SCF ₃).	59
Tabelle 12: Schmelzpunkte und Schmelzpunktdifferenz für DNA-Komplex-Addukte.	67
Tabelle 13: Bindungskonstanten und Stern-Volmer-Konstanten für die Bindung von Cu(phen) ₂ -Derivaten an CT-DNA.	69

Tabellenverzeichnis

Tabelle 14: Lokale Maxima und Minima des Zirkulardichroismus von Komplex-DNA-Addukten.....	73
Tabelle 15: Schmelzpunkte und Schmelzpunktänderung für verschiedene DNA-Komplex-Addukte [250 μ M CT-DNA, 25 μ M Komplex, 10 mM Tris-HCl-Puffer (pH = 7.4)]	75
Tabelle 16: Bindungskonstanten und Stern-Volmer-Konstanten für die Bindung von Cu-Mephen-Derivaten an CT-DNA.....	77
Tabelle 17: Lokale Maxima und Minima des Zirkulardichroismus von Komplex-DNA-Addukten mit methylierten Liganden.....	82
Tabelle 18: Assoziationskonstanten für verschiedene Kupfer(II)- Puffer-Addukte und das Kupfer(II)-Phenanthrolin-System.....	93
Tabelle 19: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_3$	i
Tabelle 20: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{a})$	i
Tabelle 21: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{b})$	ii
Tabelle 22: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für $\text{Cu}(\text{Fphen})_2$	ii
Tabelle 23: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für $\text{Cu}(\text{Mephen})$	iii
Tabelle 24: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für $\text{Cu}(\text{5FMephen})_2$	iii
Tabelle 25: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für $\text{Cu}(\text{6FMephen})_2$	iv
Tabelle 26: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für $[\text{Cu}(\text{6FMephen})(\text{phen})(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3) \times \text{H}_2\text{O}$	iv

1. Einleitung

1.1. Physiologie der Metalle

1.1.1. Metalle und deren Funktion im menschlichen Organismus

Metalle sind wichtige Elemente in biologischen Systemen. So zeigt die Elementverteilung im menschlichen Körper Calcium als fünfthäufigstes Element an, mit einem Massenanteil von ca. 1.7 %.^[1] Weitere häufige Metalle sind Kalium (0.18 %), Natrium (0.14 %) und Magnesium (0.04 %).^[1] Darüber hinaus sind Zellfunktionen auf essentielle Spurenelemente angewiesen. Dabei handelt es sich u. a. um Eisen, Zink, Kupfer, Mangan, Chrom und Cobalt.^[2-4]

Metalle übernehmen wichtige Funktionen im Organismus, wie die Ausbildung fester Strukturen (Skelett, Ca^{2+}), Signalübertragungen (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+), die Bildung des Zellpotentials (Na^+ und K^+) und den Sauerstofftransport ($\text{Fe}^{2+/3+}$).^[5] Auch die Vitamingruppe B_{12} , die Cobalamine, enthält ein Übergangsmetall (Co^{3+}).^[6]

Metalle stellen darüber hinaus einen wichtigen Bestandteil in diversen Enzymen dar. So sind Eisen und Mangan als redoxaktive Zentren in Proteinen an diversen Redoxvorgängen in Zellen beteiligt, unter anderem in Katalasen (Abbau von H_2O_2) und Superoxiddismutasen (SOD), die reaktive Sauerstoffspezies (ROS) abbauen und damit den oxidativen Stress in Zellen niedrig halten.^[7,8] Eine

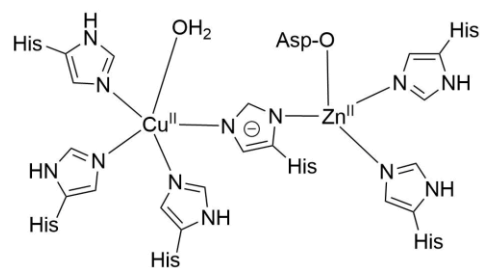


Abbildung 1: Idealisierte Darstellung des aktiven Zentrums einer Cu/Zn-SOD.^[212]

Regulierung des ROS-Levels wird auch den redoxinaktiven Zn^{2+} -Ionen zugeschrieben, wobei es sich hierbei um eine indirekte Regulierung handelt, da die Ursache der Entstehung von ROS blockiert wird. Zn^{2+} -Ionen konkurrieren mit redoxaktiven Metallen wie Kupfer um Bindungsstellen an Enzymen und Proteinen und erhalten so die enzymatische Funktion (Stabilisierung von Thiol-Funktionen).^[2] Sie verhindern zudem die Redoxmetall-initiierte Peroxidation von ungesättigten Fettsäuren der Lipid-Doppelschichten sowie die Bildung von Superoxiden durch Fe/Cu-Enzym-Komplexe, welche zur direkten Oxidation von Proteinen führen können.^[2] Des Weiteren ist Zink an diversen enzymatischen Prozessen beteiligt und in wichtigen Strukturen für die Transkription, den Zinkfinger-Proteinen, enthalten.^[2]

Kupfer hat auf Grund seiner Eigenschaft als redoxaktives Metall ($\text{Cu}^{2+/+}$: $E^0 = +0.15 \text{ V}$) ähnlich wie Eisen ($\text{Fe}^{3+/2+}$: $E^0 = +0.77 \text{ V}$) wichtige Funktionen in vielen enzymatischen Prozessen.^[9] Es ist unter anderem in Cu/Zn-SODs, einer von drei Gruppen von Superoxiddismutasen, enthalten, welche die

Einleitung

Disproportionierung von O_2^- -Radikalen zu H_2O_2 und O_2 katalysieren und im Gegensatz zu Zink oxidativen Stress direkt beseitigen (Abbildung 1).^[8] Kupfer ist zudem in der Atmungskette involviert und wie Eisen Bestandteil der Cytochrom-c Oxidase, welche die Reduktion von O_2 zu H_2O katalysiert.^[10-12] Des Weiteren ist es in Ferroxidasen wie Caeruloplasmin gebunden, welche Fe^{II} zu Fe^{III} oxidieren, wodurch dieses vom Eisen-Transportglycoprotein Transferrin aufgenommen werden kann.^[13,14]

Insbesondere für redoxaktive Metalle gilt, dass sie bei hohen Konzentrationen toxisch sind. Eine zu hohe Akkumulation im Organismus kann durch eine erhöhte Zufuhr der jeweiligen Metalle ursächlich sein. Häufiger sind jedoch fehlerhafte Metabolismen, verursacht beispielsweise durch Gendefekte (z. B. Morbus Wilson und Menkes-Syndrom) oder einen Mangel an anderen Spurenelementen, welche direkt am jeweiligen Metabolismus beteiligt sind.^[3] Ein Beispiel hierfür stellt das Zusammenspiel von Kupfer, Eisen und Zink dar, welche in vielen Prozessen gemeinsam involviert sind.^[4,15]

1.1.2. Metalle in medizinisch relevanten Pharmaka

Eine Vielzahl an Pharmaka beinhaltet Metalle mit unterschiedlichen Funktionen. Dazu gehören Präparate wie Eisen(II)sulfat und Zink(II)gluconat zur Behandlung einer Unterversorgung mit essentiellen Mineralien.^[16,17]

Nicht zu vergessen ist jedoch die toxische und teils kanzerogene Wirkung von Schwermetallen.^[18] Ein erhöhter Zinkspiegel im Organismus führt beispielsweise zu einem Mangel an Kupfer in Folge einer verringerten Kupferresorption.^[19] Seit langem bekannt ist auch

das hohe toxische Potential von Verbindungen mit Quecksilber, Cadmium, Blei und Arsen. Arsen(III)-Verbindungen beziehen ihre Toxizität hierbei aus der Ähnlichkeit zum Zink(II), wodurch es antagonistisch zu diesem wirkt und in Zinkfingerproteinen anstelle des Zinks bindet ohne diese zu aktivieren. Die Affinität zu Schwefelgruppen (Erklärung für die Thiophilie kann das HSAB-Konzept liefern; weiche Base = S^{2-} , weiche Säure = As^{3+}) führt auch zum Targeting von Thiolgruppen in diversen anderen Proteinen. Im Umkehrschluss können die zytotoxischen Eigenschaften von Organometallverbindungen bei einer selektiven Anreicherung in geschädigten, mutierten oder Fremdzellen (z.B. Bakterien) ein pharmakologisches Potential aufweisen.

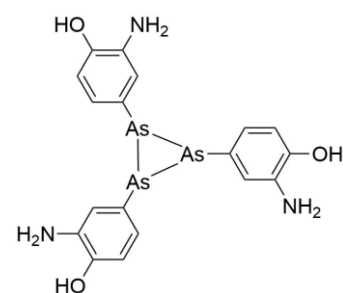


Abbildung 2: Struktur des Trimers von Arsenphenamin.

Einleitung

Das erste metallorganische Pharmakum der Geschichte ist Arsphenamin, welches im Jahr 1907 im Labor von Paul Ehrlich hergestellt wurde (Abbildung 2).^[20] Es handelt sich dabei um das weltweit erste gezielt wirksame Antibiotikum und wurde gegen die Syphilis eingesetzt. Ein von Arsphenamin abgewandeltes Derivat wird noch heute gegen eine Form der Schlafkrankheit, eine bakterielle Infektion hervorgerufen durch Trypanosomen, genutzt (Melarsoprol).^[21] Trotz der hohen Toxizität sind auch weitere Arsen-haltige Verbindungen als Pharmakum auf dem Markt oder in fortgeschrittenen Studien. So wird Arsen(III)oxid bei der Behandlung der Promyelozytenleukämie (APL) verwendet.^[22]

Metall-enhaltende Wirkstoffe werden nicht nur zur Behandlung bakterieller und viraler Erkrankungen angewendet, sondern auch bei Krebserkrankungen, welche für weltweit fast 15 % aller Todesfälle (Stand 2012) verantwortlich sind.^[23] Ein Meilenstein für die Chemotherapie ist die Koordinationsverbindung *cis*-Diammindichloridoplatin(II), besser bekannt als Cisplatin, welches die DNA als Target nutzt (Abbildung 3). Es wird unter anderem bei Krebserkrankungen des urogenitalen Systems – hauptsächlich bei Hodenkrebs (solide oder metastatisch) – erfolgreich verwendet.^[24] Cisplatin wird in den Zellen durch Hydrolyse und dem damit verbundenen Ligandenaustausch (Chlorido- gegen Aqua-Liganden) aktiviert, bindet kovalent an Basen der DNA-Stränge (hauptsächlich an das N7-Atom von Guanin) und führt durch Intra- und Interstrand-Crosslinks zu einer Vernetzung von DNA-Strängen.^[25] In letzter Konsequenz wird der zelleigene Apoptose-Mechanismus eingeleitet.^[26] Cisplatin ist jedoch mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden. Des Weiteren treten Resistenzen bei bestimmten Krebsarten auf. Deshalb wurden weitere Analoga zu Cisplatin entwickelt, die als zweite Generation der Platin(II)-basierten Chemotherapeutika in die Medizin eingegangen sind.^[27] Oxaliplatin und Carboplatin zeigen antikarzinogene Wirkung gegen Cisplatin-resistente Tumore bei gleichzeitig geringeren Nebenwirkungen (Abbildung 3).^[24,28] Mittlerweile wird an einer dritten Generation geforscht, wobei es sich beispielsweise um Platin(IV)-Prodrugs handelt, die interzellulär zur aktiven Platin(II)-Spezies reduziert werden können.^[29–31] Diese sollen durch eine erhöhte Selektivität die Verträglichkeit und Wirksamkeit erhöhen.

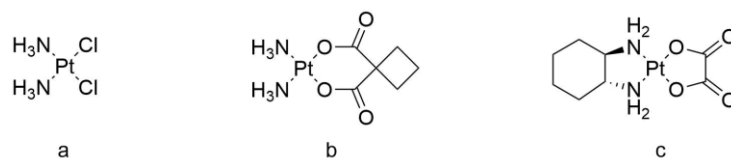


Abbildung 3: Platinbasierte Zytostatika (a) Cisplatin, (b) Carboplatin und (c) Oxaliplatin.

Einleitung

Die starken Nebenwirkungen von Cisplatin führten überdies zur Erforschung von platinfreien Metallkomplexen wie den Metallocendihalogeniden $[\text{Cp}_2\text{VCl}_2]$ und $[\text{Cp}_2\text{TiCl}_2]$, welche zytostatische Aktivität aufweisen. $[\text{Cp}_2\text{TiCl}_2]$ zeigt beispielsweise Aktivität gegen Lungen-, Darm- und Brustkrebs und – im Gegensatz zu Cisplatin – keine Hinweise für Nephrotoxizität (Schädigung der Nieren) und Myelotoxizität (Schädigung des Knochenmarks) nach Verabreichung in Ratten und Mäusen.^[32,33] Diese Komplexe unterliegen hierbei einem anderen Aktivierungsmechanismus. So verläuft die Hydrolyse, verglichen mit Cisplatin, wesentlich schneller und es wird eine höhere Affinität der resultierenden Spezies gegenüber den Sauerstoffatomen der Phosphate der DNA angenommen.^[32,34,35]

Verschiedene Kupfer(I/II)-Verbindungen stellen eine weitere Klasse von ÜM-Verbindungen dar, welche aus vielerlei Hinsicht äußerst interessant für pharmazeutische Anwendungen sind. So zeigen Kupferverbindungen unterschiedliche Redoxpotentiale je nach Wahl der Liganden, unterschiedliche Geometrien abhängig von der Oxidationsstufe des Metallzentrums (von linearer über tetraedrische, quadratisch-planare, sowie trigonal-bipyramidale bis zu oktaedrischer Koordinationsumgebung) und interessante Koordinationsmuster (Koordination über diverse Donoratome). Redoxaktive Kupfer(II)-Komplexe sind beispielsweise in der Lage molekularen Sauerstoff zu aktivieren und so reaktive Sauerstoffspezies (ROS) zu generieren.^[36] In Gegenwart von biologischen Makromolekülen wie RNA, DNA, Proteinen oder Lipidschichten können diese durch das hohe Level an ROS geschädigt werden, wodurch solche Kupferkomplexe prinzipiell zytotoxische Eigenschaften haben.^[37] Durch die Wahl der Liganden kann wiederum die Affinität solcher Kupferkomplexe für die entsprechenden Biomoleküle erhöht werden, wodurch die ROS zu gerichteten Schäden, wie beispielsweise der Spaltung von DNA, führen. Da es sich bei Kupfer im Gegensatz zu Platin um ein endogenes (im Körper natürlich vorkommendes, essentielles) Metall handelt, bieten Kupferkomplexe mögliche Vorteile gegenüber Platin-basierten Chemotherapeutika wie eine geringere Zytotoxizität gegenüber gesunden Zellen.^[38] Gleichzeitig stellt Kupfer selbst ein potentielles Ziel für Pharmaka (insbesondere Chelatoren) dar, da Krebszellen zum Teil individuelle Kupfermetabolismen (z. B. erhöhte Kupfermengen in malignen Zellen) aufweisen.^[38]

1.2. Biologische Relevanz von fluorierten Molekülen

Die Einführung von fluorhaltigen Substituenten in biologisch relevanten Molekülen ist ein stetig steigender Trend in der bioorganischen Chemie und birgt erhebliches Potential für entsprechende Pharmazeutika, Agrochemikalien und ganz allgemein funktionelle Chemikalien.^[39–42] So enthielten

Einleitung

über 25 % Prozent aller neu zugelassenen pharmazeutischen Wirkstoffe fluorhaltige Substituenten (Stand 2013).^[41] Dies ist auf einzigartige Eigenschaften der jeweiligen Substituenten zurückzuführen.

Fluor ist das elektronegativste aller bekannten Elemente mit einem Wert von 3.98 auf der Pauli-Skala.^[43] Zudem weist der Fluorsubstituent mit 1.47 Å den kleinsten van-der-Waals-Radius für Substituenten nach Wasserstoff mit 1.20 Å auf.^[44] Bei der C-F-Bindung handelt es sich um eine äußerst stabile Bindung – mit einer Dissoziationsenergie (BDE) von C-F in Monofluormethan von 452 kJ/mol (BDE_{C-H} Methan: 431 kJ/mol).^[45]

Diese Charakteristika ziehen eine Vielzahl an weiteren Eigenschaften nach sich. So hat eine Fluorierung einen unmittelbaren Effekt auf die elektronischen Verhältnisse im betreffenden Molekül. Durch starke induktive Effekte können in aromatischen Verbindungen beispielsweise elektronenärmere Systeme erschaffen werden, welche die Azidität und Basizität der ursprünglichen Moleküle entscheidend beeinflussen können. Säuren erfahren mitunter eine beträchtliche Erhöhung der Azidität (z.B. Benzoesäuren) und fluorierte Analoga von Basen sind wesentlich schwächere Elektronenpaardonoren (z.B. fluorierte Pyridine).^[46,47] Die Fluorierung eines aromatischen Moleküls führt zudem zu einer größeren Lipophilie des Moleküls (die Monofluorierung von gesättigten Alkylgruppen senkt hingegen die Lipophilie), was die Membranpermeabilität von Wirkstoffen erhöht und in einer gesteigerten Bioverfügbarkeit resultiert.^[47] Eine selektive Fluorierung kann zudem zu einem veränderten Metabolismus des Pharmakons führen, zum Beispiel es selbst oder dessen Metaboliten gegen Hydrolyse oder Oxidation durch Cytochrom P450 stabilisieren.^[48,49]

Tabelle 1: Hammett-Parameter (σ)^a und Lipophilie-Inkrement (π)^b für verschiedene Substituenten in *meta/para*-Stellung (*m/p*) von Benzoessäure^[44,50,51] und van-der-Waals-Radii der Substituenten.

Substituent	σ_m	σ_p	π_p	vdW-Radius
H	0	0	0	
Me	- 0.07	- 0.17	+ 0.56	
^t Bu	- 0.10	-0.20	+ 1.68	
F	+ 0.34	+ 0.06	+ 0.14	≅ vdW (Hydroxygruppe)
CF ₃	+ 0.41	+ 0.53	+ 0.88	≅ vdW (<i>iso</i> -Propylgruppe) ^[45]
OCF ₃	+ 0.38	+ 0.35	+ 1.04	
SCF ₃	+ 0.44	+ 0.48	+ 1.44	
SF ₅	+ 0.61	+ 0.68	+ 1.23	< vdW (<i>tert</i> -Butylgruppe) ^[44]
SF ₄ CF ₃		+ 0.68	+ 2.13	
NO ₂	+ 0.71	+ 0.78	- 0.28	
Cl	+ 0.37	+ 0.23	+ 0.71	

^a Substituentenparameter σ : dient zur Beschreibung der Gesamtheit von mesomerem und induktivem Effekt eines Substituenten (für Substituenten in *m*- oder *p*-Stellung in Benzoessäure), ^b Lipophilie-Inkrement π : ist der Logarithmus des Verteilungskoeffizienten eines Substrats in einem Oktanol-Wasser-Gemisch und beschreibt die Lipophilie des Substrats.

Einleitung

Unterschiedliche Struktur motive können durch fluoridierte Gruppen substituiert werden ohne die Form und Struktur des Substrats zu verändern. Wie oben erwähnt kann Wasserstoff durch Fluor ausgetauscht werden ohne die Sterik sonderlich zu beeinflussen. Ein Nitrosubstituent an einem Aromaten kann wiederum durch eine 1,2-Difluorsubstitution imitiert werden, ohne dass sich die entsprechende elektrostatische Ladungsverteilung verändert.^[44] Die CF_3 -Gruppe hat in etwa die Größe einer Isopropylgruppe und kann somit diese Struktur motive ersetzen.^[45] Ether können durch die entsprechenden fluoridierten Analoga OCF_3 und SCF_3 ausgetauscht werden. Dieser Austausch bewirkt neue Eigenschaften der Substrate. So wird eine erheblich größere Lipophilie in Aromaten durch eine SCF_3 -Gruppe implementiert ($\pi_p = 1.44$). Eine SF_5 -Gruppe erhöht die Lipophilie ($\pi_p = 1.23$), erzeugt ein elektronenärmeres System als die Substitution mit einer CF_3 -Gruppe mit einem Hammett-Parameter σ_p von 0.68 ($\sigma_p(\text{CF}_3) = 0.53$) und erzeugt darüber hinaus Hydrolyse-unempfindlichere Substrate(Tabelle 1).^[52]

Das erste künstlich hergestellte medizinische Mittel mit Fluor ist Fludrocortison, ein Derivat des Cortisols mit erhöhter entzündungshemmender Wirkung. Da Fluor nur in sehr wenigen natürlichen Substanzen vorkommt und diese zumeist eine hohe Toxizität aufweisen (z.B. Natriumfluoracetat), wurde die Fluorsubstitution von Naturstoffen für eine pharmazeutische Nutzung zunächst nicht in Betracht gezogen.^[53] Eine systematische Studie mit halogenierten Cortison-Derivaten zeigte jedoch das größte entzündungshemmende Potential für das fluoridierte Analogon.^[41] Zurückzuführen ist diese Steigerung auf die geringere Aktivität der 11β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase, das fluoridierte Cortisol zum entsprechenden Cortison zu dehydrieren (Abbildung 4). Cortison bindet nicht an die Mineralokortikoidrezeptoren, Fludrocortison und Cortisol haben hingegen eine ähnlich hohe Affinität zu dem Rezeptor.^[54] Weitere Entzündungshemmer, die Fluorsubstituenten aufweisen, sind Triamcinolon sowie Beta- und Dexamethason.

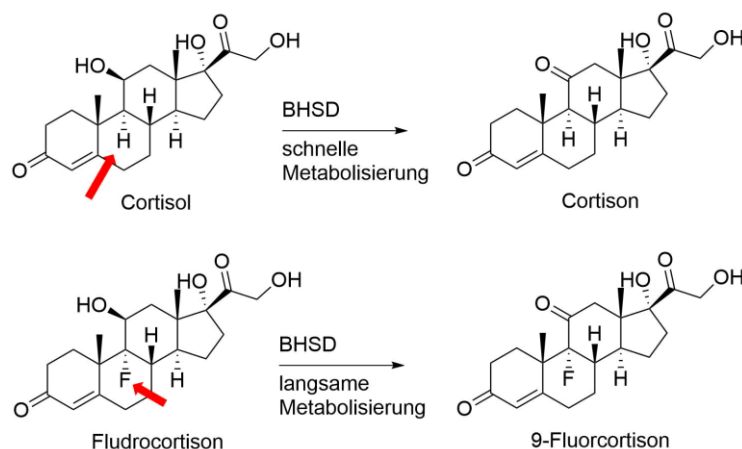


Abbildung 4: Metabolisierung von Cortisol-Derivaten mit 11β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase (BHSD).

Einleitung

Eine andere Klasse von fluorierten Analoga zu natur- bzw. körpereigenen Stoffen sind eine Reihe von Antimetaboliten. Eines der wichtigsten in der Medizingeschichte ist 5-Fluoruracil, welches bei der Therapie vieler Krebsarten als Chemotherapeutikum genutzt wird (Abbildung 5a und b). Durch seine dem Uracil ähnliche Struktur durchläuft es den gleichen Metabolismus im Körper und wird in RNA-Makromoleküle eingebaut.^[48] Eine Hemmung der Proteinbiosynthese ist die Folge. Zudem wird die Thymidylat-Synthase inhibiert, wodurch die Replikation der DNA gehemmt wird.^[41] Weiterentwicklungen sind Tegafur (UFT[®]) und Capecitabin (Xeloda[®]), sogenannte Prodrugs, die im Körper zum aktiven Fluoruracil metabolisiert werden (Abbildung 5c und d).^[55,56] Bei Gemcitabin (Gemzar[®]) handelt es sich um Cytidin, bei dem die Desoxyribose fluoriert vorliegt und welches unter anderem die Ribonukleotid-Reduktase hemmt (Abbildung 5e).^[57]

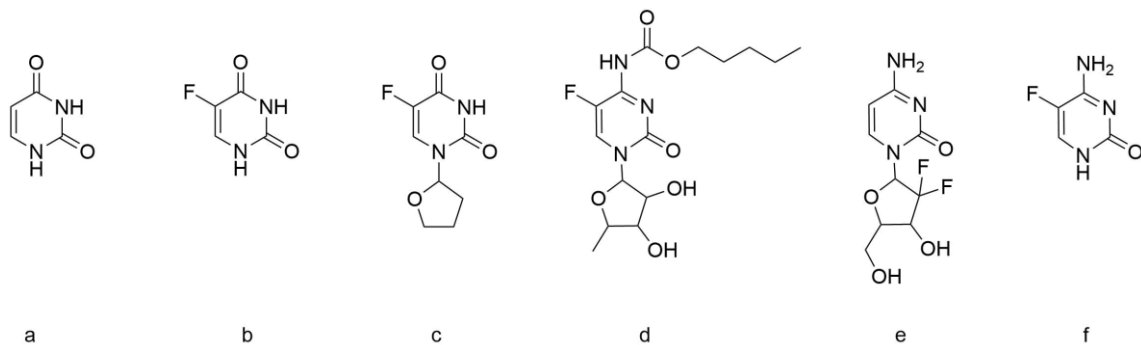


Abbildung 5: (a) Metabolit Uracil, (b) Antimetabolit 5-Fluoruracil und die Prodrugs (c) Tegafur, (d) Capecitabin, (e) Gemcitabin und (f) 5-Fluorcytosin (Strukturen ohne Stereozentren abgebildet).

Das Cytosinderivat 5-Fluorcytosin (Ancotil[®]) wird als Antimykotikum (gegen Pilzkrankungen) genutzt, da Desaminasen von Pilzen dieses zu 5-Fluoruracil metabolisieren, welches wiederum deren RNA-Synthese und DNA-Synthese hemmt (Abbildung 5f).^[58,59]

Den Effekt der Steigerung der biologischen Aktivität eines Pharmakons kann man zudem sehr gut an einer weiteren Klasse von organischen Molekülen erkennen, den Amphetaminen. *N*-Ethylamphetamin wurde bereits zu Beginn des 20. Jahrhunderts als Appetitzügler eingesetzt (Abbildung 6a). Die Weiterentwicklung Fenfluramin weist eine Trifluormethylgruppe am Phenylring auf und wurde bis in die 1990er als Anorektikum (Appetitzügler) eingesetzt (Abbildung 6b).^[60] Durch Substitution der Trifluormethylgruppe durch eine Trifluormethylthiogruppe wurde ein Pharmakon (Tiflorex) erhalten, welches die doppelte Wirksamkeit im Vergleich zum Trifluormethylanalogon besitzt (Abbildung 6c).^[61] Das SF₅-Analogon *N*-Ethyl-1-(3-(pentafluorsulfanyl)phenyl)propan-2-amin

Einleitung

zeigte bei weiteren Untersuchungen im Vergleich mit Fenfluramin eine erhöhte Affinität für bestimmte 5-HT-Rezeptoren (Serotonin-Rezeptoren) (Abbildung 6d).^[62]

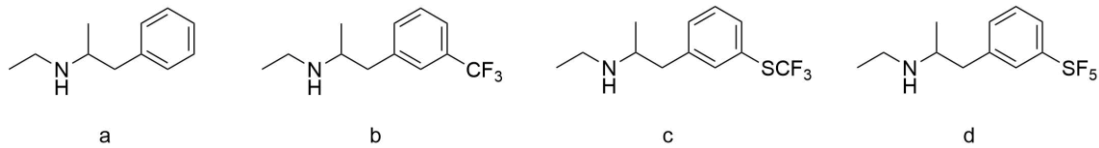


Abbildung 6: Anorektika (a) *N*-Ethylamphetamin, (b) Fenfluramin und (c) Tiflorex und (d) das SF₅-Analogon

Wichtige Agrochemikalien – u. a. Fungizide, Pestizide, Herbizide und Insektizide – enthalten eine Trifluormethoxygruppe. Es gibt jedoch auch bedeutsame Pharmaka mit diesem Substituenten, wie Riluzol (ein Benzothiazol-Derivat), das zur Behandlung von amyotropher Lateralsklerose (ALS) eingesetzt wird (Abbildung 7).^[63]

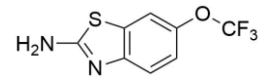


Abbildung 7: ALS-Medikament Riluzol

1.3. Natürliche und "künstliche" Nukleasen

1.3.1. Natürliche Nukleasen

Natürliche Nukleasen sind in Bioorganismen vorkommende Enzyme, welche mit Nukleinsäuren wechselwirken und Strangbrüche initiieren. Dadurch kommt es zum Abbau von RNA (durch Ribonukleasen) und DNA (durch Desoxyribonukleasen). Der Strangbruch wird durch die hydrolytische Spaltung des Phosphorsäureesters im Rückgrat der Nukleinsäuren hervorgerufen. Die Nukleinsäure-Abschnitte können je nach Bedarf durch Enzyme, sogenannte Ligasen, wieder miteinander verknüpft werden.

Unterschieden werden Nukleasen durch den Ort des hydrolytischen Angriffs. Erfolgt dieser an einem der Enden des Stranges, so handelt es sich bei dem Enzym um eine Exonuklease. Produkte dieser Spaltung sind ein verkürzter Nukleinsäurestrang und einzelne Nukleotide oder Dinukleotide. Liegt eine interne Spaltung des Stranges vor, so handelt es sich um eine Endonuklease mit Polynukleotiden als Reaktionsprodukte. Endonukleasen können wiederum in zwei Klassen unterteilt werden – in sequenzspezifische und strukturspezifische Nukleasen (z. B. Flap-Endonuklease FEN-1).^[64]

Nukleasen erfüllen im Organismus sehr vielfältige Aufgaben. So sind sie beispielsweise an der Transkription beteiligt. Die bei der Transkription produzierten prä-tRNA, -mRNA und -rRNA beinhalten die komplette Basensequenz der abgelesenen DNA. Diese besteht aus Introns und Exons, wobei es sich bei Introns um nicht-codierende DNA-Abschnitte handelt, welche deshalb während des Splicings

Einleitung

von Endonukleasen herausgeschnitten werden. Die fertigen mRNA-, tRNA- und rRNA-Abschnitte bestehen dann nur aus Exons, die beispielsweise im Fall der mRNA während der Translation in eine Aminosäuresequenz übersetzt werden.

Weitere Aufgaben sind beispielsweise der Austausch von fehlerhaften Nukleotiden bei der Strangsynthese durch Exonukleasen, die Korrektur eines gabelförmig aufgewölbten Einzelstranges in dsDNA durch Flap-Endonukleasen sowie Exonukleasen oder der Abbau der Nucleinsäuren während des programmierten Zelltods, der Apoptose.^[65–72]

1.3.2. Künstliche Nukleasen

Künstliche Nukleasen sind kleine Moleküle, die wie natürliche Nukleasen zu einer Spaltung von Nucleinsäuren führen. Diese sind häufig den reaktiven Zentren von natürlichen Nukleasen nachempfunden. Unterscheiden kann man zwei Klassen von künstlichen Nukleasen, zum einen jene, die durch die hydrolytische Spaltung des Phosphorsäureesters zur Spaltung des Stranges führen und somit den DNasen und RNasen in natürlichen Organismen ähneln. Die zweite Klasse basiert auf einem radikalischen Spaltmechanismus, wobei der Angriff des Substrates am Zuckermolekül von DNA- oder RNA-Molekülen erfolgt. Der radikalische Mechanismus verursacht eine irreversible Spaltung, womit eine spätere Rekombination der Fragmente durch Enzyme (Ligasen) verhindert wird, und somit zu einem unwiederbringlichen Funktionsverlust der Makromoleküle und im Falle von künstlichen DNasen zum Zelltod führt. Beide Klassen bergen ein großes wissenschaftliches wie pharmakologisches Interesse. So könnten mit speziell konstruierten Nukleasen Gene manipuliert und somit fehlerhafte Gencodes korrigiert werden. Das bietet mögliche Ansätze in der Therapie von schwerwiegenden Krankheiten durch das Auslöchen von vererbten oder erworbenen Gendefekten. Außerdem liefern künstliche Nukleasen Ansätze für neue Chemotherapeutika, welche eine apoptotische Wirkung zeigen. Bei einer selektiven Anreicherung solcher Substrate in Krebszellen könnten eben jene durch Manipulation an der DNA und dem darauffolgenden Einleiten des natürlichen Apoptose-Mechanismus zerstört werden ohne gesunde Zellen zu beeinträchtigen.

1.4. [Cu(1,10-phenanthrolin)₂]⁺/Sigmans System

1.4.1. Hintergrund und Allgemeines zu Sigmans System

Die erste Kupfer-basierte künstliche Nuklease wurde von der Arbeitsgruppe um Sigman entdeckt.^[73] In früheren Untersuchungen wurde eine Inhibierung der DNA-Polymerase I von *E. coli* durch den zweizähligen Liganden 1,10-Phenanthrolin festgestellt. Ursprünglich wurde die Inhibierung der Polymerase-Aktivität auf die Chelatisierung von für die Polymerase-Aktivität notwendigen Zink(II)-Ionen zurückgeführt.^[74] Die Gruppe um Sigman zeigte, dass die Hemmung auf die Anwesenheit von [Cu(phen)₂]⁺ (Abbildung 8) in Abhängigkeit von Sauerstoff und Thiolen (Reduktionsmittel) zurückzuführen ist.^[73,75,76] Eine Spaltung wurde zudem hauptsächlich bei B-DNA beobachtet. A-DNA wurde mit einer geringeren Rate geschnitten, für Z-DNA und ssDNA konnte hingegen keine Spaltung beobachtet werden.^[77-79] Eine Spaltung von DNA-Molekülen ist somit abhängig von der strukturellen Beschaffenheit (Sekundärstruktur) der Makromoleküle.

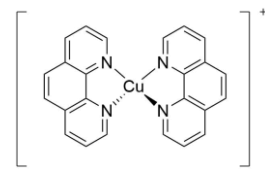


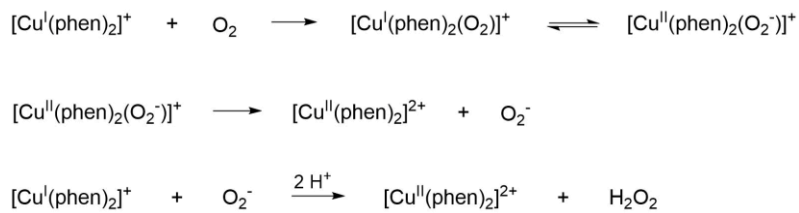
Abbildung 8: Struktur von [Cu(phen)₂]⁺.

1.4.2. Mechanismus der Nuklease-Aktivität/Sauerstoffaktivierung

Es gibt zwei mögliche Pfade der DNA-Bindung für Cu(phen)⁺ - entweder bindet die Kupfer(II)-Spezies zuerst an die DNA und wird anschließend im gebundenen Zustand reduziert oder die Kupfer(II)-Spezies wird zunächst zur Kupfer(I)-Spezies reduziert und bindet danach an die DNA. Sowohl [Cu(phen)₂]²⁺ als auch [Cu(phen)₂]⁺ binden reversibel an dsDNA, jedoch erfolgt die Reduktion des Kupfer(II)-DNA-Adduktes sehr langsam.^[80] Somit ist die Bindung von [Cu(phen)₂]⁺ an die DNA ausschlaggebend für die Initialisierung der DNA-Spaltung. Folglich ist der erste Schritt die Reduktion der Kupfer(II)-Spezies durch externe Reduktionsmittel wie Thiole. Die aktivierte Form bindet die DNA in einem nichtkovalenten Modus, entweder in der kleinen Furche oder Interkalation.^[81] Verschiedene Untersuchungen zeigten, dass eine Wechselwirkung durch partielle Interkalation eines phen-Liganden und die Bindung in der kleinen Furche des anderen Liganden angenommen werden kann.^[82,83] Eine vollständige Interkalation ist aus sterischen Gründen – das Kupfer(I)-Zentrum hat eine tetraedrische Koordinationsumgebung – nicht möglich.^[77] Neueste theoretische Berechnungen (DFT- und *molecular docking*-Studien) zeigen jedoch, dass der präferierte Modus der DNA-Bindung weder über die große Furche noch über Interkalation zwischen die Nucleobasen läuft, sondern die Bindung in der kleinen Furche am Wahrscheinlichsten ist.^[84]

Einleitung

Die Aktivierung von Sauerstoff zur Generierung von reaktiven Sauerstoffspezies wird durch $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ initialisiert (Schema 1). Der erste Schritt besteht aus einer reversiblen Reduktion von O_2 durch die Kupfer(I)-Spezies. Das resultierende Superoxid O_2^- wird durch ein weiteres Molekül $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ zum Peroxid-Anion – in wässriger Lösung zu H_2O_2 protoniert – reduziert. Hinweise auf diese Reaktionskaskade liefern die Ergebnisse mehrerer Arbeitsgruppen.^[78,85,86] So wird die Nukleaseaktivität von $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ durch H_2O_2 erhöht. Mit Wasserstoffperoxid ist zudem eine Spaltung von DNA ohne externen Sauerstoff möglich.^[73,78] Die Nukleaseaktivität der aktivierten Cu-phen-Spezies kann zudem mit einer externen Superoxid-Quelle beobachtet werden.^[85]



Schema 1: Möglicher Mechanismus zur Aktivierung von O_2 durch $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$.

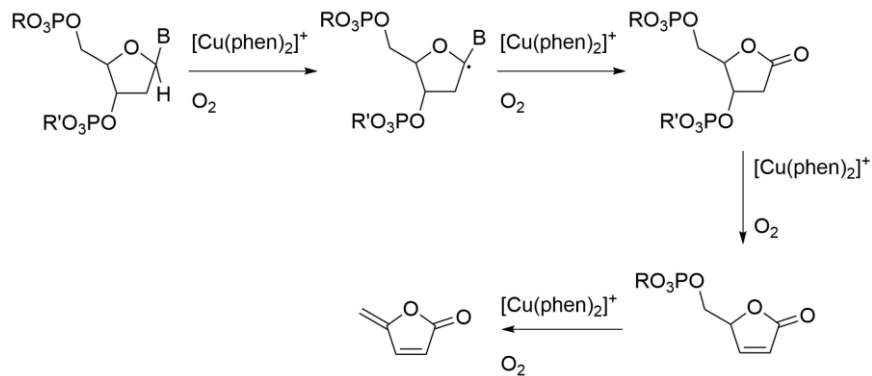
Die genaue aktive Spezies, die für die Spaltung verantwortlich ist, ist bisher nicht bekannt. Relativ unwahrscheinlich sind jedoch frei diffundierbare Hydroxylradikale, da entsprechende Quenchversuche negativ ausfielen.^[87] Ursächlich hierfür könnte jedoch auch die relative Nähe des ROS-generierenden Substrats zum DNA-Rückgrat sein. Durch den kurzen Weg von möglichen Hydroxylradikalen zur Ribose könnte eine Quenchwirkung durch ROS-Fänger verhindert werden. Möglich ist hierbei ein als „encaged“-bezeichnetes Hydroxylradikal, welches durch Reaktion der Kupfer(I)-Spezies mit Wasserstoffperoxid entsteht (*encaged species* $\{\text{Cu}^{\text{II}}\text{-OH} + \text{OH}\}$) und nicht frei diffundieren kann.^[77] Verschiedene andere Vorschläge für Spaltungs-initiiierende Substrate werden in der Literatur ebenfalls als plausibel angesehen:



Mit der Aufklärung des genauen Spaltmechanismus' haben sich viele Arbeitsgruppen beschäftigt. Postuliert wurde ursprünglich eine H-Abstraktion am C1'-Atom der Desoxyribose. Andere Arbeiten zeigten Hinweise für einen Angriff am C4'- und C5'-Atom.^[88] Mittlerweile wird angenommen, dass der Hauptpfad des radikalischen Abbaus der DNA am C1'-Atom initiiert wird, aber andere Routen ebenso stattfinden.^[89] Zunächst findet hierbei eine Abstraktion eines Wasserstoffatoms statt, womit ein

Einleitung

Desoxyribose radikal vorliegt. Unter Dissoziation der Base wird das C1'-Atom zum Keton oxidiert und nach einer weiteren Reaktionskaskade 5-Methylenfuranon gebildet (Schema 2).



Schema 2: Oxidativer Angriff von $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+/\text{O}_2$ am C1'-Atom der Desoxyribose.^[89]

1.4.3. Weiterentwicklung von Sigmans System

Es gab bisher viele Ansatzpunkte zur Optimierung von Sigmans System. Eine mögliche Verbesserung liegt in der Stabilisierung des Kupferkomplexes, da die zwei phen-Liganden unterschiedliche Assoziationskonstanten zum Kupfer(II)-Zentrum aufweisen. Während der erste phen-Ligand eine hohe Assoziationskonstante zum Kupfer(II)-Zentrum mit $\log K_1 = 8.8$ aufweist, ist diese für den zweiten Liganden mit $\log K_2 = 6.5$ wesentlich niedriger.^[90] Für Kupfer(I) wurden ähnlich Werte erhalten: $\log K_1 = 10.0$ und $\log K_2 = 5.8$.^[91] Somit kann es bei geringen Konzentrationen des Komplexes zu einer Dissoziation kommen, so dass ein Teil als $[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$ vorliegt, der in Gegenwart von O_2 oder H_2O_2 eine geringere Nuklease-Aktivität zeigt als $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$. Einen Lösungsansatz für diese Problematik bieten die sogenannten Clip-phen-Liganden, bei denen zwei phen-Liganden über einen Linker verknüpft werden (Abbildung 9). Der Linker bietet zudem weitere Modifikationsmöglichkeiten um Selektivität, DNA-Spaltung und Cytotoxizität zu erhöhen. Die Kupfer(I)komplexe dieser Liganden zeigen gegenüber $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ eine wesentlich höhere Nukleaseaktivität.^[92–96]

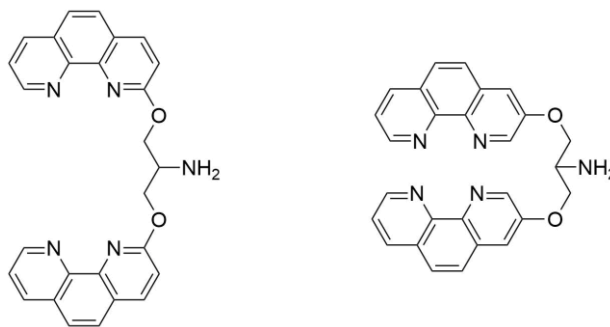


Abbildung 9: 2-Clip-phen (links) und 3-Clip-phen (rechts).

Ein anderer Ansatz ist die Vergrößerung des π -Systems der Liganden, um die Affinität der entsprechenden Kupferkomplexe zur DNA zu erhöhen. Liganden mit solchen erweiterten π -Systemen sind Pyrazino[2,3-f][1,10]phenanthrolin (auch Dipyrido[3,2-*d*:2',3'-*f*]quinoxalin, dpq) und Dipyrido[3,2-*a*:2',3'-*c*]phenazin (dppz) (Abbildung 10). Kupferkomplexe mit diesen Liganden zeigten sowohl höhere DNA-Bindungskonstanten als auch höhere Nukleaseaktivitäten gegenüber Plasmid-DNA $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{dpq})]^{2+}$, $[\text{Cu}(\text{dpq})_2(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ und $[\text{Cu}(\text{dppz})_2(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$.^[97–101]

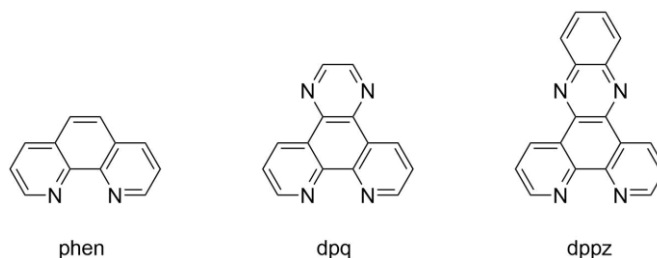


Abbildung 10: phen-basierte Liganden mit erweitertem π -System.

Eine weitere Möglichkeit der Verbesserung von Sigmans Nuklease ist die Synthese von mehrkernigen Komplexen. Eine Verknüpfung von zwei Einheiten $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ über ein Terephthalat (terph) erzeugt den zweikernigen Komplex $[\{\text{Cu}(\text{phen})_2\}_2(\text{terph})](\text{terph})$, wobei es sich um eine selbst-aktivierende Nuklease handelt (Abbildung 11).^[102] Diese kann somit scDNA in Abwesenheit von externen Reduktions- bzw. Oxidationsmitteln entwinden.

Einleitung

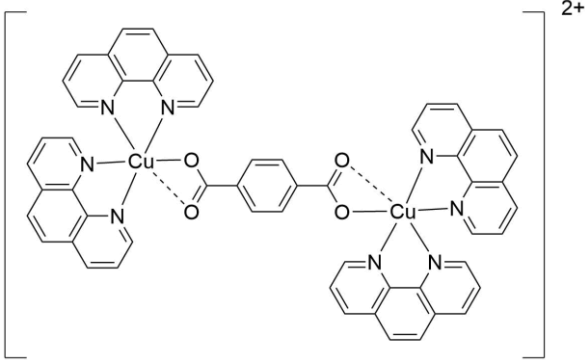


Abbildung 11: Selbst-aktivierende Nuklease $[\{Cu(phen)_2\}_2(terph)]^{2+}$.

2. Zielstellung

Fluorierte bioaktive Moleküle und Komplexe stellen ein interessantes Gebiet in der pharmazeutischen Chemie dar, da diese häufig ein verändertes Wirkspektrum und eine erhöhte Bioaktivität zeigen. Jedoch sind keine Arbeiten bekannt, in denen der Einfluss einer Substitution mit fluorhaltigen Substituenten für $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{+2+}$, einer äußerst effektiven künstlichen Nuklease mit dem zweizähligen Liganden 1,10-Phenanthrolin (**L1**), auf deren Bindungsaffinität bzgl. DNA bzw. deren Nukleaseaktivität untersucht wurde.

Der erste Teil der Arbeit bestand somit aus der Synthese von in Position 5 substituierten 1,10-Phenanthrolinen. Diese Position an der Benzoleinheit des Phengerüsts sollte eine geringe Wechselwirkung des Substituenten mit der DNA gewährleisten. In der Literatur beschriebene Derivate sind 5-Fluor-, 5,6-Difluor- und 5-Trifluormethyl-1,10-phenanthrolin (**L2-L4**), wobei das trifluormethylierte Derivat **L4** nur einer theoretischen Betrachtung und Berechnung unterzogen wurde.^[103–107] Zudem sind weitere Derivate mit fluorhaltigen Substituenten bekannt, welche die Substituenten jedoch am Pyridinring tragen (z. B. 2,9-Bis(trifluormethyl)-1,10-phenanthrolin) oder mehrere Funktionalisierungen an unterschiedlichen Positionen des Phenanthrolins aufweisen.^[108–112] Auf Grund der oftmals beobachteten Steigerung der biologischen Aktivität organischer Moleküle nach Substitution mit fluorhaltigen Gruppen sollten in Position 5 bzw. 5 und 6 funktionalisierte 1,10-Phenanthrolin-Derivate dargestellt werden (Abbildung 12). Um weitere Funktionalisierungen am Liganden zu ermöglichen, sollten zudem jeweils die methylierten Spezies 2-Methylphen mit den jeweiligen Fluorsubstituenten dargestellt werden.

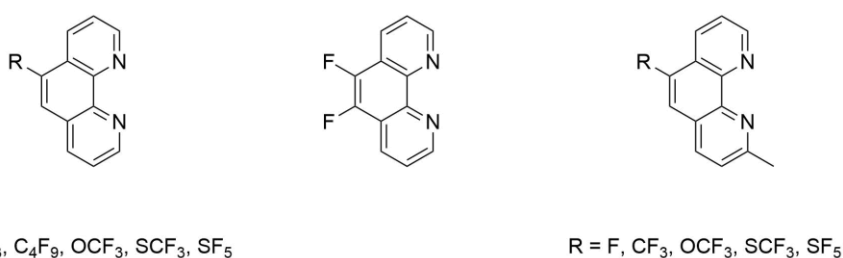


Abbildung 12: Darzustellende fluorhaltige phen-Derivate.

Anschließend sollte die Komplexierung mit Kupfer(II)-Salzen erfolgen. Die Aufklärung der Struktur der Komplexe und Einblicke in deren elektrochemisches Verhalten sollten hierbei ebenfalls realisiert werden.

Zielstellung

Der zweite Teil der Arbeit umfasste die biochemische Evaluation der Komplexe. Dazu zählte die Erfassung der Wechselwirkung mit DNA-Makromolekülen. Verschiedene Methoden sollten hierbei angewendet werden, wie UV-vis-Spektroskopie (DNA-Schmelzkurven und UV-vis-Titrationsen), Fluoreszenz-Spektroskopie (EtBr-Verdrängung) und Zirkulardichroismus. Durch eine Interpretation aller spektroskopischen Experimente sollte der Bindungsmodus aufgeklärt werden.

Zur biochemischen Evaluation zählte ebenso die Erfassung der Spaltaktivität der Komplexe gegenüber superverdrillter Plasmid-DNA (scDNA). Es sollten entsprechende Experimente mittels Agarose-Gelelektrophorese durchgeführt werden, die der Auftrennung der einzelnen DNA-Formen nach den entsprechenden Spaltexperimenten dient. Es sollte eine Korrelation zwischen der Art des Substituenten und der Spaltaktivität der Komplexe hergestellt werden. Dafür sollten auch die Ergebnisse der DNA-Bindungsexperimente mit Bindungsstärke und Bindungsmodus herangezogen werden.

Die Motivation für die Untersuchung des Einflusses von fluorierten Substituenten auf Sigmans System lag nicht nur in der Erfassung von dessen Nuklease-Aktivität. Durch eine erwartete höhere Membranpermeabilität durch fluorhaltige Substituenten sollte auch die Zytotoxizität der Komplexe steigen. In diesem Sinne sollten zusätzlich Zytotoxizitätstests an Krebszelllinien durchgeführt werden.

3. Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe

3.1. Synthesestrategien für fluorierte 1,10-Phenanthroline

Fluorierungen von organischen Molekülen stellen ein großes Gebiet der organischen und metallorganischen Synthesechemie dar. Während industrielle Prozesse für Fluorierungen zumeist unter Verwendung von extrem reaktivem elementarem Fluor (F_2) oder Fluorwasserstoff durchgeführt werden, ist die Synthese spezieller organischer Moleküle auf sanftere und selektivere Fluorierungsmethoden angewiesen. Über Jahrzehnte wurden daher verschiedene Strategien zur Darstellung von fluorierten Molekülen und zur C-F-Bindungsknüpfungen entwickelt, unter anderem Fluorierung mit elektrophilen oder nukleophilen Fluorquellen. Im Folgenden werden verbreitete Syntheserouten und Möglichkeiten zur Darstellung von fluorierten Aromaten vorgestellt.

3.1.1. Direkte Fluorierung und Perfluoralkylierung von Aromaten

Nukleophile Fluorierung

Eine der ältesten bekannten Syntheserouten zur Darstellung einfach fluoriertes Aromaten stellt die Balz-Schiemann-Reaktion dar. Dabei wird ein Amino-funktionalisierter Aromat durch Umsetzung mit einem Nitrit in das entsprechende Diazoniumsalz überführt. Durch anschließende kontrollierte Zersetzung kann in Gegenwart einer Fluoridquelle wie einem Tetrafluorborat-Anion der fluorierte Aromat erhalten werden. Andere Syntheserouten der nukleophilen Fluorierung verlaufen über sogenannte Halogen-Austausch-Reaktionen (HALEX). So können Halogenaromaten, welche mit Chlor-, Brom- oder Iodsubstituenten funktionalisiert sind, mit Alkalifluoriden wie KF oder CsF zu den entsprechenden Fluoraromaten umgesetzt werden. Jedoch hängt die Nukleophilie des Fluorids stark vom Lösemittel ab, so dass diese in protischen Lösemitteln nur einen Bruchteil der Nukleophilie in aprotischen Lösemitteln beträgt – die geringere Nukleophilie resultiert aus der starken Solvatisierung der starken Base Fluorid in protischen Lösemitteln. Allerdings ist die Löslichkeit in aprotischen Lösemitteln sehr gering, so dass auch hier die Reaktivität stark herabgesetzt ist. Durch Einsatz von Kronenethern als Phasentransferkatalysatoren kann die Löslichkeit erhöht werden, so dass die Reaktivität um ein Vielfaches angehoben wird. Einen weiteren Entwicklungsschritt stellt die Verwendung von "nackten" Fluoriden dar. Hierbei werden wasserfreie Ammoniumfluoride wie Tetramethyl- (TMAF) und Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) verwendet, wobei für wasserfreies TBAF jedoch eine aufwendige Synthese notwendig ist, da einfaches Trocknen aufgrund einer Hofmann-Eliminierung (Umwandlung quartärer Amine in Alkene) nicht möglich ist.^[113]

Tetraalkylammoniumfluoride weisen gegenüber Alkalifluoriden eine höhere Löslichkeit in aprotischen Lösemitteln auf – die Löslichkeit kann hierbei über die Reste am Ammoniumkation gesteuert werden – und besitzen so ein großes synthetisches Potential.

Elektrophile Fluorierung

Das einfachste Reagenz für eine elektrophile Fluorierung ist molekulares Fluor. Aufgrund seiner hoher Reaktivität und damit einhergehender geringer Selektivität und Handhabung ist es jedoch nur für wenige Anwendungen geeignet. Durch Verdünnung mit beispielsweise N_2 (zumeist N_2/F_2 90/10) und einem geringen Zustrom zur Reaktionsapparatur kann jedoch die Reaktivität von Fluor so heruntergeregelt werden, dass gezielte Umsetzungen möglich sind. Ebenso kann die Verwendung von Säuren als Lösemittel die gerichtete Reaktivität und Selektivität verbessern.^[114] Ein stabileres und ungefährlicheres Substrat stellt Xenondifluorid dar, mit dem Trimethylsilylaromaten zu den entsprechenden Fluoraromaten umgesetzt werden können.^[115,116] Eine weitere Klasse für die elektrophile Fluorierung sind die sogenannten N-F-Verbindungen wie F-TEDA- BF_4 (*Selectfluor*®), ein Derivat des Heterozyklus Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO). Weitere Verbindungen dieser Substanzklasse sind N-Fluor-o-benzoldisulfonimid (NFOBS oder NFTh) und N-Fluordi(benzolsulfonimid) (NFSI) (Abbildung 13). Diese Verbindungen zeichnen sich dadurch aus, dass sie stabil, fest, wenig flüchtig und nicht explosiv sind. Solche elektrophilen N-F-Verbindungen finden zudem Verwendung in Silber- und Palladium-katalysierten Fluorierungen aromatischer Moleküle.^[117]

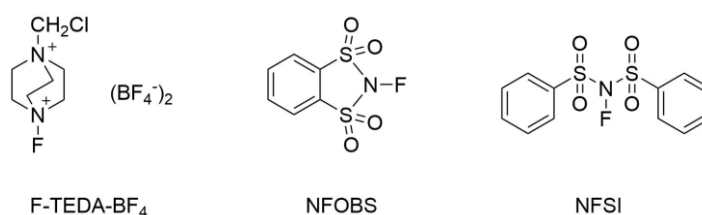


Abbildung 13: Elektrophile Fluorierungsreagenzien.

Perfluoralkylierung

Trifluormethylierungen und Perfluoralkylierungen können sowohl durch radikalische Substitutionen als auch durch nukleophile bzw. elektrophile Substitutionen realisiert werden. Radikalische Substitutionen sind leicht durchführbar, besitzen aber meist keine hohe Selektivität. Als Substrate dienen z.B. Perfluoralkylhalogenide oder Perfluoralkylcarbonsäureanhydride, aus denen die Perfluoralkylradikale generiert werden.^[118,119] Eine radikalische Trifluormethylierung kann mit dem

Langlois-Reagenz $\text{CF}_3\text{SO}_2\text{Na}$ erreicht werden, mit dem eine große Bandbreite an Aromaten umgesetzt werden kann.^[120] Ein Trifluormethylierungsreagenz nukleophiler Natur ist beispielsweise das Ruppert-Prakash-Reagenz (Trifluormethyl)trimethylsilan (TMSCF_3), bei dem mit Hilfe einer Fluoridquelle wie KF in Gegenwart von Kupfer(I) die Trifluormethylierung von Halogenaromaten initiiert wird.^[121] Für die elektrophile Trifluormethylierung stehen mehrere Substrate zur Verfügung wie Umemotos Reagenzien und Tognis hypervalente Iodverbindungen (Abbildung 14a und b).^[122–124] Mit diesen können ausgehend von aromatischen Alkoholen zudem Trifluormethylether dargestellt werden.^[125] Eine weitere Möglichkeit der Trifluormethylierung ist die photoredoxinduzierte Reaktion mit Trifluormethylsulfonylchlorid und einem Photokatalysator, bei der eine C-H-Funktionalisierung an einem Aromaten erreicht wird. Mit dieser Reaktion kann ein sehr breites Spektrum an aromatischen Verbindungen trifluormethyliert werden.^[126] Andere Varianten sind Übergangsmetall-katalysierte Kupplungsreaktionen. So sind Kupfer-, Silber- und Palladium-katalysierte Trifluormethylierungen und Perfluoralkylierungen von Aromaten mit verschiedenen Fluorierungsmitteln bekannt.^[117,127–130] Darüber hinaus wurden Kupfer-katalysierte Perfluoralkylierungen in Form von Ullmann-ähnlichen Kreuzkupplungen beschrieben. Mit einem breiten Anwendungsspektrum verwendbare Perfluoralkylierungs- und Trifluormethylierungsreagenzien sind Hartwigs Kupfer(I)-Verbindungen, welche durch 1,10-Phenanthrolin stabilisiert werden.^[131] Eine Variante ohne organischen Liganden ist die Verwendung von Perfluoralkylzink-Verbindungen in Gegenwart von katalytischen Mengen an Kupfer(I)-iodid.^[132] Weitere Methoden sind die Einführung eines Trifluormethyl- oder eines Difluormethylsubstituenten durch eine HF-katalysierte Reaktion von Arylcarbonsäuren oder Arylaldehyden mit Schwefeltetrafluorid.^[133,134]

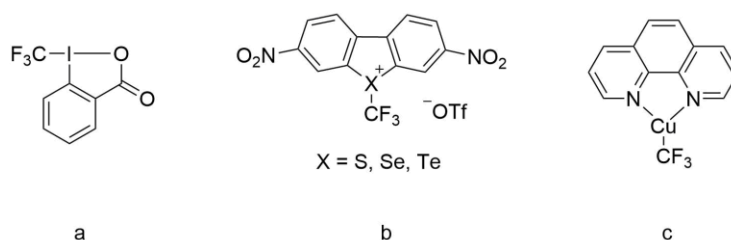


Abbildung 14: Trifluormethylierungsreagenzien (a) *Togni reagent II*, (b) *Umemoto reagents* und (c) *Hartwigs Trifluoromethylator*TM

Schwefelhaltige Substituenten

Perfluoralkylthioether können ausgehend von Arylthiolen, Arylthiolaten oder Bisaryldisulfiden dargestellt werden. Bisaryldisulfide liefern durch Umsetzung mit Trifluormethyltrimethylsilan und einer katalytischen Menge von TBAF die entsprechenden Aryl(trifluormethylthio)ether.^[135] Durch Reaktion von Arylthiolen mit Tognis Reagenz führt die Trifluormethylierung des Thiols zur Bildung des

Thioethers.^[136] Darüber hinaus sind viele Reaktionen bekannt, bei denen Arylthioether direkt durch Reaktion der Aromaten mit F_3CSCl dargestellt werden.^[137] Eine weitere Möglichkeit ist die Variante von Yagupol'skii, bei der Arylhalogenide in einer Ullmann-ähnlichen Reaktion mit $CuSCF_3$ umgesetzt werden.^[138] Eine Variante hiervon ist die Umsetzung von Bis(perfluoralkyl)disulfiden mit Arylhalogeniden in Gegenwart von Kupfer.^[139] $CuSCF_3$ kann auch durch andere Systeme wie $AgSCF_3/KI$ oder $Hg(SCF_3)_2/KI$ ersetzt werden, wodurch teils bessere Ausbeuten in der Trifluormethylthiolierung erzielt werden können. Metallkatalysierte Trifluormethylthiolierungen von nicht-aktivierten oder elektronenreichen Aromaten können durch Palladium-katalysierte Reaktionen realisiert werden. Eine günstigere Alternative hierzu stellen Nickel-katalysierte Reaktionen dar.^[140] Eine neue Variante ist die Sandmeyer-Trifluormethylthiolierung, bei der in einer Ein-Topf-Reaktion Diazoniumsalze zu den entsprechenden Thiocyaniden umgesetzt werden, welche durch Reaktion mit dem Ruppert-Prakash-Reagenz die entsprechenden $ArSCF_3$ -Verbindungen liefern.^[141]

Die erste Darstellung von Pentafluorsulfanyl-substituierten Aromaten gelang durch Reaktion von Bisaryldisulfiden mit AgF_2 .^[142] Diese Reaktion erfordert jedoch das labile Silber(II)fluorid und liefert nur geringe Ausbeuten. Eine Weiterentwicklung ist die Umsetzung der Disulfide mit einem F_2/N_2 -Gemisch, wodurch wesentlich bessere Ausbeuten erzielt werden und der Einsatz von Silber(II)fluorid vermieden wird.^[52] Der Austausch des hochreaktiven Fluorgases durch weniger anspruchsvolle Substrate gelingt durch eine neue Methode, bei der Disulfide zunächst mit Cl_2 und einem Alkalifluorid (CsF oder KF) zu den entsprechenden ClF_4S -substituierten Aromaten umgesetzt werden. Dann erfolgt der Halogenaustausch, für den Zink(II)-fluorid genutzt werden kann.^[143] Bei dieser Variante kann auf hochreaktive oder instabile Reaktanden wie AgF_2 oder F_2 verzichtet werden, wobei zudem hohe Ausbeuten erzielt werden.

3.1.2. Skraup-Reaktion ausgehend von fluorierten Anilin- und Chinolin-Derivaten

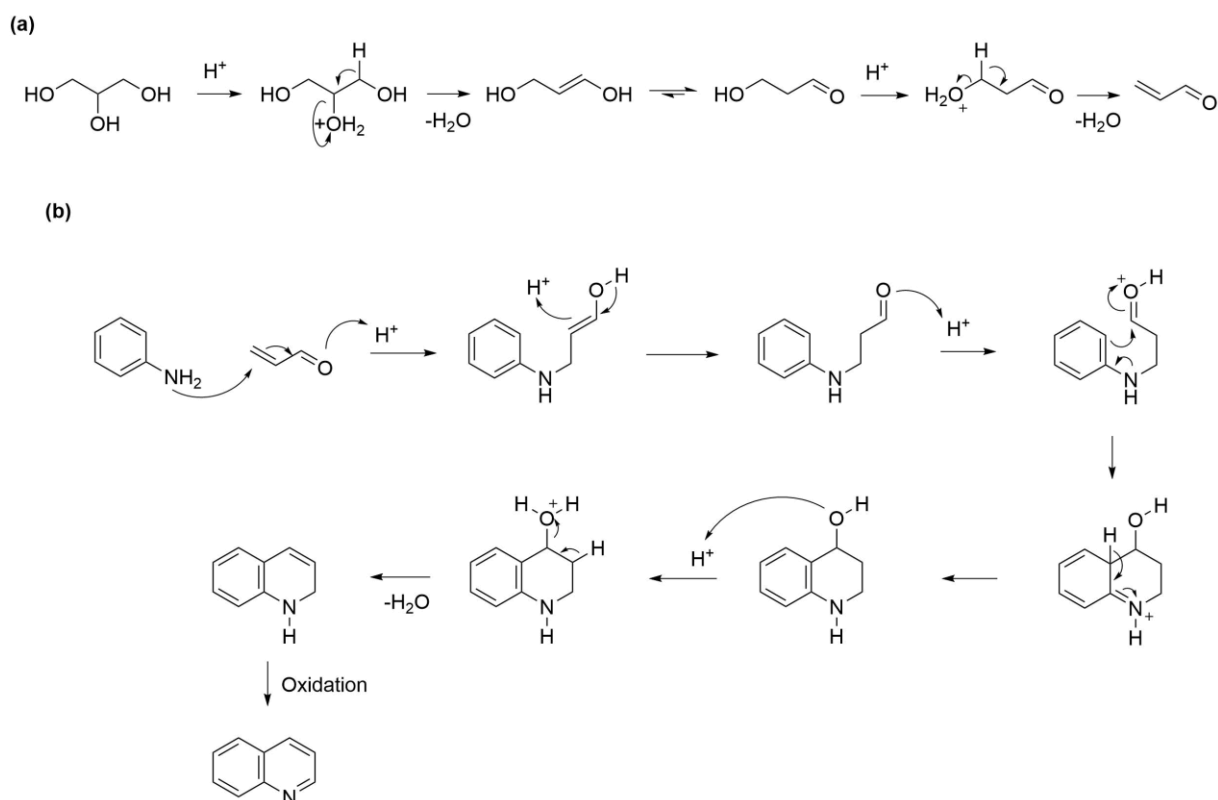
Eine vielversprechende Alternative zur selektiven direkten Einführung von fluorierten Substituenten in 1,10-Phenanthrolin ist der Aufbau des phen-Gerüsts ausgehend von fluorierten Synthone. Diese Methode hat den Vorteil, dass die Problematik der selektiven Fluorierung entfällt. Zudem sind diverse fluorierte Aromaten, die als Ausgangsspezies dienen können, kommerziell erwerblich. Somit könnte ein ausgearbeiteter Synthesepfad für unterschiedliche Synthone durchaus zur Darstellung diverser fluorierte phen-Derivate dienen.

Die übliche Route zur Darstellung von Phenanthrolinen ist die Skraup-Reaktion, die für die Synthese von Chinolin, welches gleichzeitig eine Vorstufe für Phenanthroline darstellt, entwickelt wurde.^[144,145]

Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe

Als Startmaterial dient hierbei Anilin und deren Derivate. Als C3-Baustein zur Ringweiterung dient Acrolein, welches *in situ* durch Dehydratisierung von Glycerin erhalten wird (Schema 3a). Acrolein selbst würde zur Polymerisation neigen, weshalb es direkt in der Reaktionslösung generiert wird.^[145]

Der Reaktionsmechanismus verläuft wahrscheinlich über einen säurekatalysierten nukleophilen Angriff am endständigen C-Atom des Acroleins.^[146] Das geformte Konjugat durchläuft eine Reihe von Umlagerungen, wodurch der zweite Ring aufgebaut wird. Durch eine Dehydratisierung wird 1,2-Dihydrochinolin gebildet, welches durch ein geeignetes Oxidationsmittel wie Nitrobenzol oder Arsen(V)oxid zu Chinolin dehydriert wird (Schema 3b).



Schema 3: (a) Säure-katalysierte Generierung von Acrolein aus Glycerin, (b) möglicher Mechanismus der Skraup-Reaktion.^[146]

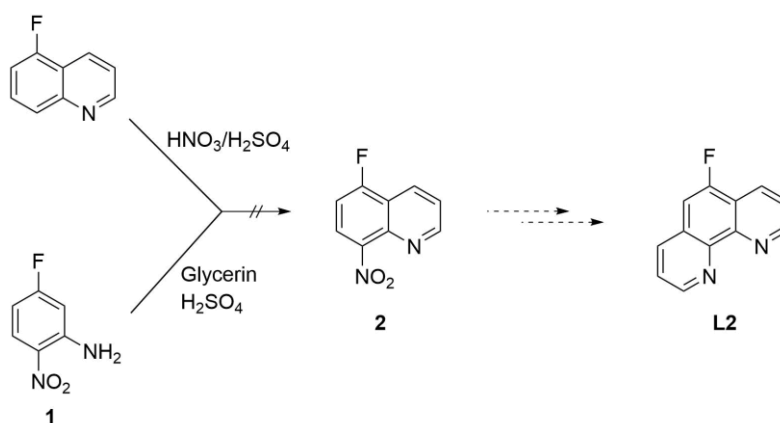
Führt man die Skraup-Reaktion mit 8-Aminochinolin durch, so gelangt man zu den entsprechenden 1,10-Phenanthrolinen. Durch Substituenten am C3-Baustein können mit der Doebner-von Miller-Reaktion funktionalisierte Chinolin- und Phenanthrolin-Derivate dargestellt werden. Setzt man Crotonaldehyd mit Anilin um, so gelangt man beispielsweise zu 2-Methylchinolin.^[147]

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Ligandensynthese

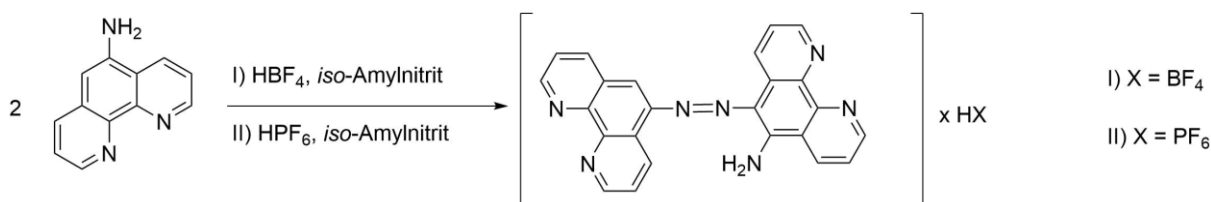
3.2.1.1. Versuche zur Darstellung von 5-Fluor-1,10-phenanthrolin (Fphen)

Während der Masterarbeit wurde versucht **Fphen (L2)** über eine literaturbekannte Syntheseroute darzustellen.^[103] Dafür wurde die Nitrierung von 5-Fluorchinolin mit Nitriersäure durchgeführt, wobei jedoch kein 5-Fluor-8-nitrochinolin isoliert werden konnte (Schema 4). Zudem zeigte sich, dass die Durchführung einer Skraup-Reaktion ausgehend von 5-Fluor-2-nitroanilin (**1**) mit einem großen Überschuss an Glycerin in Schwefelsäure unter extremen Bedingungen (160 °C, 9 h) ebenfalls nur zu einer geringen Umsetzung des Eduktes **1** führte und zudem die Isolierung des Produktes **2** durch einen sehr großen Anteil an polymerisiertem Acrolein erschwert wurde.



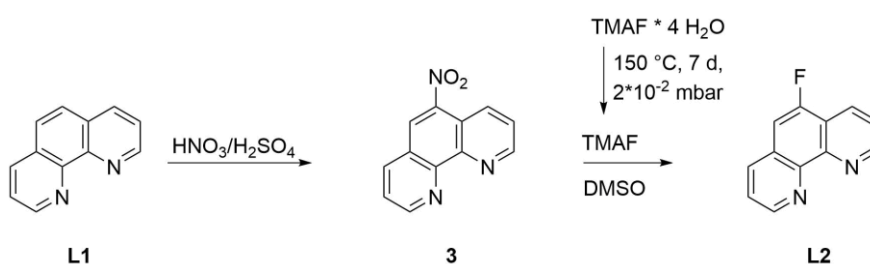
Schema 4: Frühere Versuche zur Darstellung von 5-Fluor-8-nitrochinolin (**2**) als Vorstufe für Fphen (**L2**).

Die Durchführung der Balz-Schiemann-Reaktion mit 5-Aminophen und Tetrafluorborsäure führte ebenfalls nicht zur Darstellung von **Fphen (L2)**, vielmehr konnte ein azogekoppeltes Bis(phen)-Derivat erhalten werden (Schema 5).^[148] Der Austausch des BF_4^- -Anions gegen Hexafluorphosphat brachte keine veränderte Reaktivität und so konnte nur das Hexafluorphosphatsalz des azogekoppelten Bisphen-Derivates erhalten werden (Schema 5).



Schema 5: Darstellung von azoverbrückten Bis(phen)-Derivaten.

Wie eingangs erwähnt ist eine weitere Möglichkeit der Fluorierung aromatischer Systeme die nukleophile Substitution, beispielsweise mit Hilfe einer HALEX-Reaktion (*halogen exchange*-Reaktion) an Arylhalogeniden oder in abgewandelter Form mit der Denitrofluorierung an Nitroaromaten. Dafür wurde zunächst 1,10-Phenanthrolin (**L1**) mit Nitriersäure zu 5-Nitro-1,10-phenanthrolin (**3**) umgesetzt. Als Fluoridquelle für die Folgereaktion diente wasserhaltiges TMAF, welches durch Erhitzen bei 150 °C im Hochvakuum über 7 Tage getrocknet wurde (die Morphologie von TMAF änderte sich von kristallin zu farblosem Pulver) (Schema 6). Durch die Umsetzung konnte **Fphen** (**L2**) mit einer Ausbeute von 25 % erhalten werden, wobei die Aufreinigung mittels *reverse phase*-HPLC auf mit perfluorierten Alkylgruppen funktionalisiertem Silica erfolgte. Diese Variante der Darstellung von **L2** ist jedoch sehr zeitaufwendig und materialintensiv.

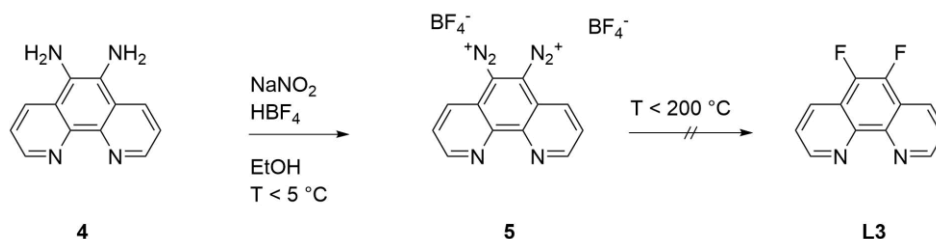


Schema 6: Denitrofluorierung von **3** mit TMAF.

Eine alternative Syntheseroute ist später unter "Skraup-Reaktion zur Darstellung fluorierter phen-Derivate" zusammengefasst.

3.2.1.2. Versuche zur Darstellung von 5,6-Difluor-1,10-phenanthrolin (**F₂phen**)

Frühere Versuche der Darstellung von **F₂phen** (**L3**) via Balz-Schiemann-Reaktion ausgehend von 5,6-Diamino-1,10-phenanthrolin (**4**) schlugen fehl.^[148] Es konnte lediglich das entsprechende Bis(5,6-diazonium)-1,10-phenanthrolin-Bis(tetrafluorborat) (**5**) isoliert werden, welches sich durch eine besondere thermische Stabilität (keine Zersetzung bis 200 °C) auszeichnet (Schema 7). Vielmehr konnte das Diazoniumsalz **5** durch Sublimation aufgereinigt werden.



Schema 7: Synthese von 5,6-Bis(diazonium)-1,10-phenanthrolin-Bis(tetrafluorborat) (L3).

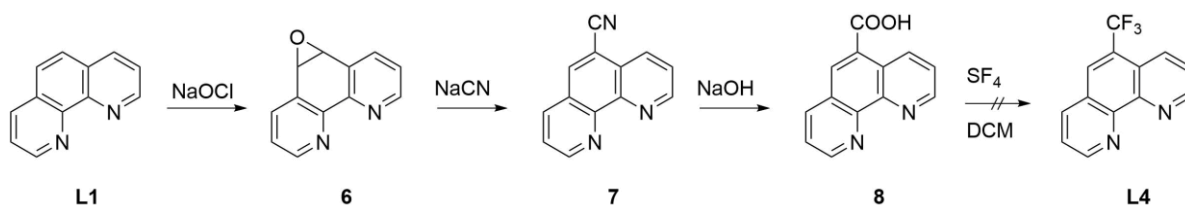
Unter "Skraup-Reaktion zur Darstellung fluoriertes phen-Derivate" ist eine erfolgreiche Syntheseroute für **L3** zusammengefasst.

3.2.1.3. Versuche zur Darstellung von 5-Trifluormethyl-1,10-phenanthrolin (**CF₃phen**)

Die meisten Routen zur Generierung von trifluormethylierten Arylspezies benötigen den Einsatz von Übergangsmetallen als Katalysator. Übergangsmetalle wie Ruthenium oder Kupfer können jedoch von *ortho*-Phenanthrolin komplexiert werden, wodurch deren katalytische Aktivität gehemmt oder die Isolierung der organischen Liganden erschwert wird. So dient dieser Ligand unter anderem zur Stabilisierung von instabilen Oxidationsstufen von Übergangsmetallen oder der Feintuning der elektronischen Eigenschaften von eben jenen Katalysatoren wie Hartwigs „TrifluoromethylatorTM“, bei dem Kupfer(I) stabilisiert wird, oder dem Photoredoxkatalysator $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$.^[126,131] Ähnlich verhält es sich mit Substitutionsreaktionen an Grignard- oder Lithiumverbindungen des Phenanthrolins. Aufgrund seiner chelatisierenden Eigenschaften koordiniert **phen (L1)** Organometall-Verbindungen des Magnesiums und Lithiums und wird in Titrations von solchen Organometall-Verbindungen genutzt.^[149] Dieses Koordinationsverhalten von **phen** erschwert die Darstellung und Verwendung von Grignard-Verbindungen des Phenanthrolins.

Obwohl kupferkatalysierte Perfluoralkylierungen von Phenanthrolin literaturbekannt sind, konnte beispielsweise nach der Umsetzung von 5-Brom-1,10-phenanthrolin mit Perfluorooctyl-1-iodid in Gegenwart von Kupfer in einer Ullmann-ähnlichen asymmetrischen Kupplung kein perfluoralkyliertes phen-Derivat erhalten werden.^[112,150] Auch die Umsetzung des bromierten Phenanthrolins mit Hartwigs Reagenz führte nicht zur Generierung von **CF₃phen (L4)**. Für die direkte Trifluormethylierung von 1,10-Phenanthrolin (**L1**) wurden demnach nur übergangsmetallfreie Syntheserouten verwendet. Ein alternativer Synthesepfad verläuft über eine radikalische Trifluormethylierung unter Verwendung des Langlois-Reagenz NaSO_2CF_3 in DMSO.^[151] Jedoch konnte bei einer Umsetzung von **L1** mit Natriumtrifluormethylsulfonat in DMSO kein **CF₃phen** isoliert werden.

Eine andere Möglichkeit der Einführung einer Trifluormethylgruppe an einem Aromaten stellt die Umsetzung einer Carbonsäure mit Schwefeltetrafluorid dar. Zunächst wurde 5-Carboxy-1,10-phenanthrolin (**8**) ausgehend von 1,10-Phenanthrolin (**L1**) dargestellt. **L1** wurde hierzu mit Natriumhypochlorit zu 5,6-Dihydro-5,6-epoxy-1,10-phenanthrolin (**6**) oxidiert, welches folgend mit Natriumcyanid zu 5-Cyanophenanthrolin (**7**) umgesetzt wurde.^[152] Das Cyanid **7** konnte dann mit Natronlauge zur entsprechenden Carbonsäure **8** hydrolysiert werden (Schema 8).^[153] Die Carbonsäure **8** wurde mit SF₄ in DCM in mehreren Versuchen bei unterschiedlichen Temperaturen (-78 bis +40 °C) und Reaktionszeiten (eine Minute bis mehrere Stunden) umgesetzt. Trotz einer beobachteten Farbänderung (klar zu gelblich) konnte kein **CF₃phen** bei der NMR-spektroskopischen Analyse der Reaktionslösung detektiert werden. Ursache für die fehlende Umsetzung könnte die geringe Löslichkeit der Carbonsäure **8** in DCM sein. Fluorwasserstoff kann bei der Fluorierung von Carbonsäuren mit SF₄ als Katalysator dienen.^[133] Allerdings ist anzunehmen, dass geringe Mengen HF – resultierend aus der Hydrolyse von SF₄ durch einen geringen Anteil an Restfeuchte im DCM – während der Umsetzung generiert wurden und so zumindest ein geringer Anteil an **CF₃phen** hätte entstehen müssen. Somit sollte der zukünftige Fokus für eine erfolgreiche Umsetzung in der Erhöhung der Löslichkeit von **8** liegen.



Schema 8: Darstellung von **8** und Umsetzung von **8** mit SF₄.

Auch für die Synthese von **CF₃phen** (**L4**) ist die Skraup-Reaktion eine mögliche Alternative und wird später in einem eigenen Kapitel beschrieben.

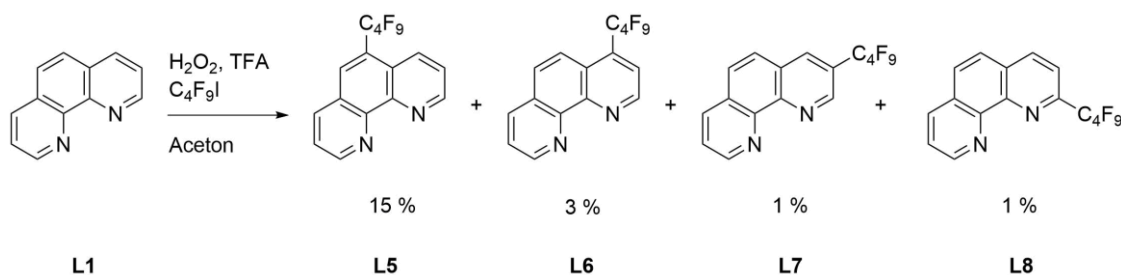
3.2.1.4. Versuche zur Darstellung perfluoralkylierter phen-Derivate

Prinzipiell werden Perfluoralkylgruppen ähnlich gehandhabt wie ihr kleinster Vertreter, die Trifluormethylgruppe. Normalerweise werden diese wie CF₃-Gruppen durch ÜM-katalysierte Substitutionen in organische Substrate eingeführt, wie dies beispielsweise bei der Verwendung von Perfluoralkylzink-Substraten der Fall ist.^[132] Wie bereits zuvor für **CF₃phen** beschrieben, wurde auf

die ÜM-katalysierte Substitution für die Derivatisierung von Phenanthrolinen verzichtet, da in ersten Versuchen während der Masterarbeit mit solchen Substitutionsreaktionen kein perfluoralkyliertes phen-Derivat isoliert und nachgewiesen werden konnte. Dies bedeutet jedoch nicht, dass eine Perfluoralkylierung – beispielsweise in einer kupferkatalysierten Ullmann-ähnlichen asymmetrischen Kupplung – nicht realisiert werden kann. Vielmehr lag der Fokus auf ÜM-freien Syntheserouten.

Eine andere Möglichkeit ist die Generierung von Perfluoralkylradikalen und deren Verwendung in radikalischen Substitutionen. Solche Perfluoralkylradikale können ausgehend von Perfluoralkylsulfonaten oder Perfluoralkyliodiden generiert werden.

In einer Ein-Topf-Reaktion können die Radikale *in situ* generiert und mit dem organischen Substrat direkt umgesetzt werden. Bereits in der Masterarbeit konnten 5-Perfluorbutyl- (**pFBuphen**), 5-Perfluorpropyl- und 5-Perfluoroctyl-1,10-phenanthrolin nach einer Umsetzung von **L1** mit H₂O₂, TFA und dem entsprechenden Perfluoralkyliodid in Aceton detektiert werden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte zudem die Regioselektivität der radikalischen Perfluorbutylierung quantifiziert werden. Das Hauptprodukt ist demnach das in Position 5 substituierte phen-Derivat **pFBuphen (L5)**. Mit einem geringen Anteil fallen zudem alle anderen einfach substituierten phen-Derivate (4-, 3- und 2-Perfluorbutylphen **L6-L8**) an (Schema 9). Eine Mehrfachsubstitution wird hingegen nicht beobachtet. Eine Erklärung für die Regioselektivität könnte die geringe Reaktivität von protonierten Pyridin-Spezies gegenüber Perfluoralkylradikalen geben.^[119]



Schema 9: Radikalische Perfluorbutylierung von 1,10-Phenanthrolin.

Die Isolierung der einzelnen Regioisomere konnte leicht durch Säulenchromatographie realisiert werden. Je kleiner die relative Nähe des Substituenten am Heteroatom war, desto kürzer war die Elutionszeit. Dies könnte durch den starken elektronenziehenden Effekt des Perfluorbutylsubstituenten erklärt werden, der die Basizität des Stickstoffs im **phen**-Derivat verringert. Durch eine Verringerung der Basizität wird die Wechselwirkung mit dem Silicagel verringert, was wiederum die

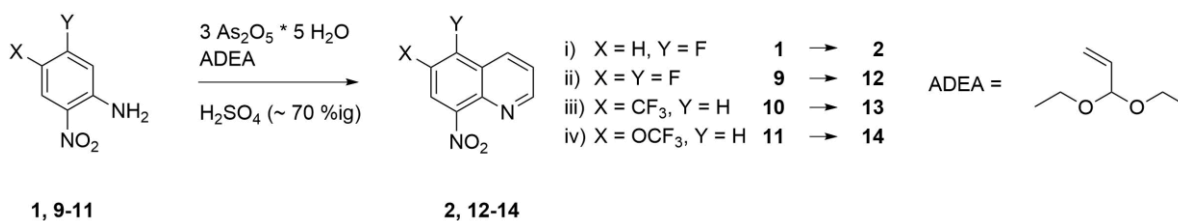
Elutionszeit des Moleküls verkürzt. Für **L8** könnte zusätzlich eine sterische Abschirmung des basischen Stickstoffs zu einer Verringerung der Wechselwirkung mit der stationären Phase führen.

3.2.1.5. Skraup-Reaktion zur Darstellung fluorhaltiger phen-Derivate

Erste Versuche der Darstellung von Chinolin- und Phenanthrolin-Derivaten mittels Skraup-Reaktion unter Verwendung eines hohen Überschusses von Glycerin und hohen Reaktionstemperaturen bei einer langen Reaktionszeit führten zur Bildung einer großen Menge eines schwarzen Teers, vermutlich ein Acroleinpolymer aus der unkontrollierten Polymerisation von *in situ*-gebildetem Acrolein. Dadurch bestanden mechanische Hindernisse bezüglich der Durchmischung der Reaktionslösung und somit eine geminderte Reaktionsrate. Zudem konnte die resultierende Suspension nicht vernünftig aufgearbeitet werden. Eine ultraschall- und temperaturunterstützte Extraktion der Reaktionsprodukte mit organischen Lösemitteln schlug fehl. Zudem ist die Stabilität der einzelnen Substituenten unter den harschen Reaktionsbedingungen nicht gegeben. So wurde in der Literatur die Hydrolyse der CF₃-Gruppe bei der Skraup-Reaktion mit 8-Amino-5-(trifluormethyl)chinolin beschrieben.^[154] Eine Möglichkeit der Verringerung von Reaktionstemperatur und -zeit durch Verwendung von Acroleinderivaten wurde von Lee und Chang für die Synthese von 5-Fluor-8-nitrochinolin angewendet.^[155] Dabei wurde statt Glycerin Acroleindiethylacetal verwendet und als Oxidationsmittel wurde Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat genutzt. Die Temperatur konnte gegenüber der ursprünglichen Methode von 160 auf 120 °C und die Reaktionszeit von mehreren auf 2 bis 3 Stunden gesenkt werden.

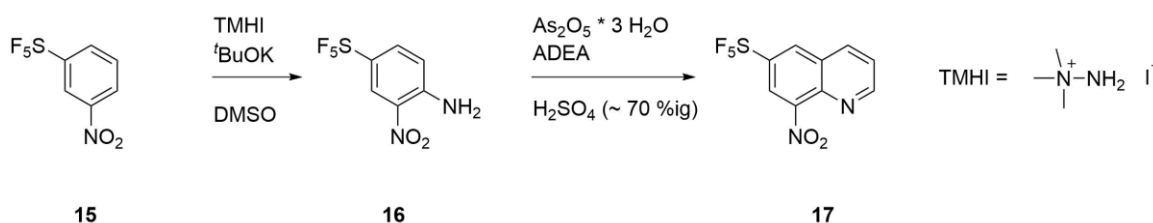
Als Edukte wurden – neben 5-Fluor-2-nitroanilin (**1**) – 2-Nitro-4-(trifluormethyl)anilin (**10**), 2-Nitro-4-(trifluormethoxy)anilin (**11**) und 4,5-Difluor-2-nitroanilin (**9**) genutzt um die verschiedenen fluorhaltigen 8-Nitrochinolin-Derivate **2** und **12** bis **14** darzustellen (Schema 10). Diese dienen als Precursor für die Darstellung der Phenanthrolin-Derivate **L2** bis **L5**. Durch die sanfteren Reaktionsbedingungen wurde im Gegensatz zur Skraup-Reaktion mit Glycerin keine Hydrolyse der CF₃-Gruppe beobachtet. Um optimale Ausbeuten zu erzielen, war das exakte Einhalten der Säurekonzentration und der eingesetzten Äquivalente von Reduktionsmittel und Acroleindiethylacetal eminent wichtig. So wurden beispielsweise bei zu großen Mengen an Oxidationsmittel dramatische Einbußen bei der Ausbeute verzeichnet.

Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe/Ergebnisse



Schema 10: Darstellung der 8-Nitrochinolin-Derivate **2** und **12** bis **14** mittels Skraup-Reaktion.

Das SF₅-substituierte 2-Nitroanilin **16** konnte ausgehend von 3-(Pentafluorsulfanyl)nitrobenzol (**15**) durch Aminierung nach einer Methode von Beier mit Trimethylhydraziniumiodid (TMHI) und der Base Kalium-*tert*-butanolat in DMSO erhalten werden.^[156] Dieses wiederum konnte nach der oben beschriebenen Prozedur zum 8-Nitrochinolin-Derivat **17** umgesetzt werden (Schema 11).



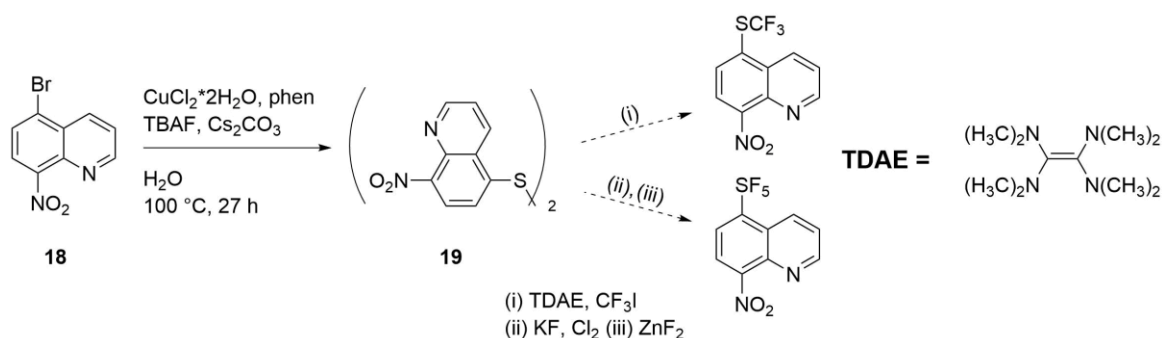
Schema 11: Darstellung von 8-Nitro-6-(pentafluorsulfanyl)chinolin (**17**).

Alle 8-Nitrochinolin-Derivate (**2**, **12-14**, **17**) konnten in akzeptablen bis guten Ausbeuten für die Skraup-Reaktion (19 % bis 41 %) erhalten werden.

3.2.1.6. Darstellung weiterer 8-Nitrochinolin-Derivate als Precursor für die phen-Synthese

Die ersten Versuche der Darstellung von schwefelhaltigen Vorstufen sollten ausgehend von Bis(5-chinoly)disulfid-Derivaten erfolgen (Schema 12). Die Darstellung von 1,2-Bis(8-nitrochinolin-5-yl)disulfid (**19**) sollte durch die Umsetzung von Schwefel mit 5-Brom-8-nitrochinolin (**18**) in Gegenwart von Tetrabutylammoniumfluorid, Kupfer(II)chlorid, *o*-Phenanthrolin und Cäsiumcarbonat als Base realisiert werden.^[157] Es konnte ein gelber Feststoff isoliert werden. Das ¹H-NMR-Spektrum wies Signale auf, welche dem Disulfid **19** zugeordnet werden könnten. Die Signale im Spektrum wiesen verglichen mit dem Edukt **18** eine andere Verschiebung auf. Das Aufspaltungsmuster der Peaks wies zudem auf das gewünschte Substitutionsmuster am Chinolingerüst von **19** hin. Massenspektrometrie mittels Elektrospray-Ionisation (ESI) konnte nicht zur Identifizierung dienen, da

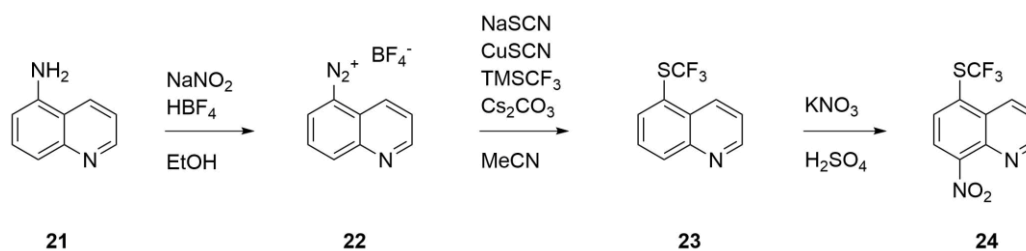
eine Protonierung des Moleküls scheinbar nicht leicht zu realisieren war oder das protonierte Molekül auf Grund seiner hohen Masse nicht detektiert werden konnte. Mittels Elektronenstoßionisation konnte der Molekülpeak mit sehr geringer Intensität detektiert werden. Das Zerfallsmuster des Substrats und derer Fragmente konnte anhand des Massenspektrums jedoch nicht aufgeklärt werden. Die Elementaranalyse ergab einen zu hohen Schwefelanteil, welcher aus der Umsetzung mit elementarem Schwefel und einer ungenügenden Aufarbeitung resultieren könnte. Da das Reaktionsprodukt jedoch eine sehr geringe Löslichkeit in gängigen Lösemitteln aufwies, konnte keine genügende Aufreinigung realisiert werden. Durch die geringe Löslichkeit des Disulfids **19** war zudem eine weitere Umsetzung nicht erfolgsversprechend.



Schema 12: Synthesestrategien zur Darstellung SCF₃- bzw. SF₅-substituierter 8-Nitrochinolin-Derivate.

Der Precursor für das SCF₃-funktionalisierte Phenanthrolin wurde über eine mehrstufige Synthese dargestellt. Zunächst wurde 5-Aminochinolin (**21**) durch Reduktion von 5-Nitrochinolin (**20**) erhalten. Dieses wurde in einer Sandmeyer-ähnlichen Reaktion in Anlehnung an die Methode von Goossen zum Thioether 5-(Trifluormethylthio)chinolin (**23**) umgesetzt.^[141] Dabei wird das Aminofunktionalisierte Chinolin zum Diazoniumtetrafluorborat (**22**) umgesetzt und dieses *in situ* durch Reaktion mit CuSCN zum Thiocyanid umfunktioniert, welches wiederum mit dem Ruppert-Prakash-Reagenz zu **23** reagiert. Diese Reaktion zeichnet sich durch luftstabile Edukte, ihre hohe Regioselektivität und hohe Ausbeuten aus. Der letzte Schritt ist die Nitrierung von **23**, welche durch die Reaktion mit Kaliumnitrat in H₂SO₄ gelang (Schema 13). Auch diese Reaktion verlief mit hoher Regioselektivität und sehr hohen Ausbeuten von **24**.

Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe/Ergebnisse

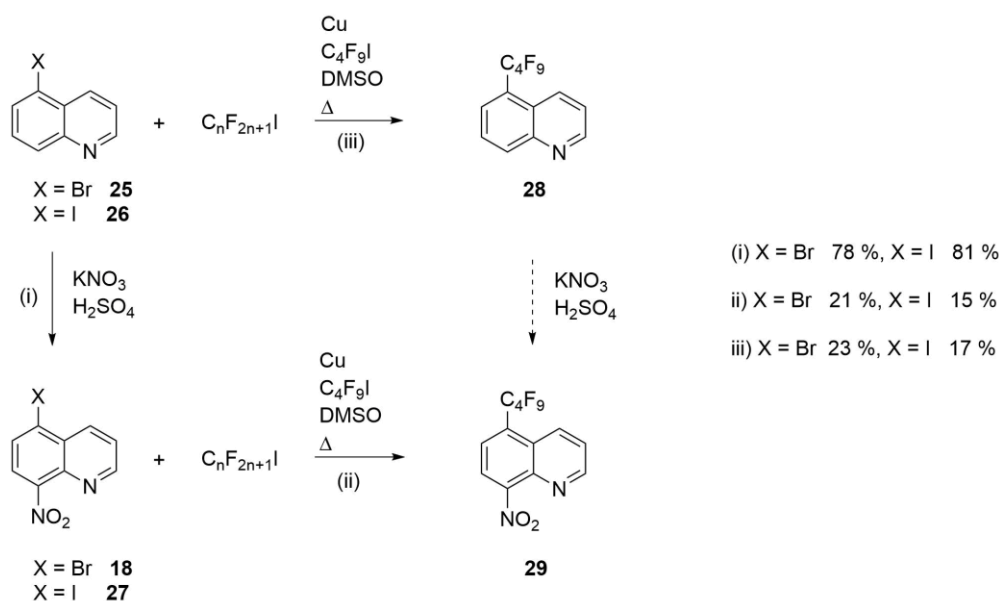


Schema 13: Darstellung von 8-Nitro-5-(trifluormethylthio)chinolin (24).

Die Diazotierung von 5-Amino-8-nitrochinolin gelang nicht, so dass die Nitrierung des Chinolins nach obiger Syntheseroute im letzten Schritt eingeführt werden musste. Das Ausbleiben der Reaktion ist hierbei überraschend, da die Diazotierung von Referenzverbindungen wie *p*-Nitroanilin oder 1-Amino-4-nitronaphtalen bekannt ist.^[158,159]

Die Darstellung von perfluorbutylierten Chinolinen gelang durch eine Kupfer-katalysierte Kupplungsreaktion von Perfluorbutyliodid mit halogenierten Chinolin-Derivaten (Schema 14). Diese Ullmann-ähnliche Kupplungsreaktion hat gegenüber radikalischen Substitutionen den Vorteil der regioselektiven Funktionalisierung von Chinolin-Derivaten. Zunächst wurde die Reaktivität verschiedener Chinolinhalogenide (Bromide und Iodide) getestet und der Einfluss von einer weiteren Funktionalität in Form einer vorhandenen oder nicht vorhandenen Nitrogruppe (Derivate **18**, **25** bis **27**) auf die Kupplungsreaktion untersucht. Ohne Isolierung der perfluorbutylierten Spezies **28** und **29** wurde die Ausbeute NMR-spektroskopisch (¹⁹F-NMR) mit Hilfe eines internen Standards (Monofluorbenzol) bestimmt, welcher nach Beendigung der Reaktion zur Reaktionslösung hinzugegeben wurde.

Die Bromide **25** und **18** zeigten Umsetzungen mit höheren Ausbeuten als die entsprechenden Iodide **26** und **27**. Zudem verlief die Reaktion mit den Bromiden selektiver. Im Gegensatz dazu wurden für die Reaktionen mit den Iodiden mehrere Reaktionsprodukte detektiert. Eine erhöhte Reaktivität der Iodide könnte eine Erklärung für die minderelektivere Reaktion sein.



Schema 14: Ullmann-ähnliche Kupplung von *n*-Perfluorbutyl-1-iodid mit verschiedenen Chinolinen.

Anschließend wurde die optimale Syntheseroute (i und ii) zur Darstellung von 5-*n*-Perfluorbutyl-8-nitrochinolin (**29**) genutzt. Die Aufreinigung von **29** erfolgte säulenchromatographisch mit anschließender Sublimation.

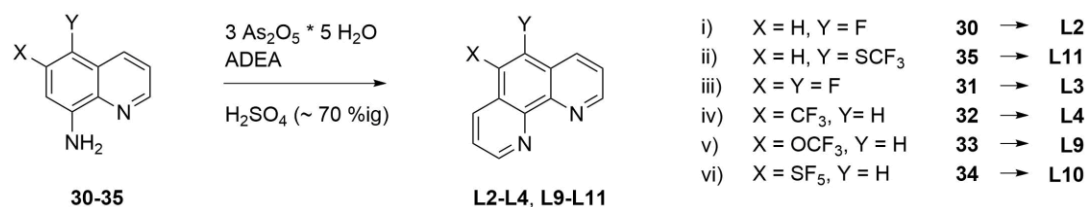
3.2.1.7. Darstellung der phen-Derivate ausgehend von Chinolin-Precursoren

Die funktionalisierten 8-Nitrochinoline mussten im nächsten Schritt zu den entsprechenden 8-Aminochinolinen reduziert werden. Eine vielversprechende Variante liefern Lee und Chang mit der Umsetzung der Nitrochinoline mit Zinn(II)chlorid in Salzsäure.^[155] So konnte die Reduktion diverser 8-Nitrochinolin-Derivate mit hohen Ausbeuten (63 bis 92 %) durchgeführt werden. Ein Vorteil dieser Methode ist die einfache Aufarbeitung (Extraktion der basisch eingestellten Reaktionslösung), bei der auf Säulenchromatographie oder ähnliches verzichtet werden konnte.

Einzig für 8-Nitro-5-(perfluorbutyl)chinolin (**29**) konnte die Reaktion nicht angewendet werden, da das Nitrochinolin **29** eine zu geringe Löslichkeit in Salzsäure aufwies und sehr geringe Ausbeuten bei gleichzeitig sehr hohem Bedarf an Lösemittel anfielen. Auf alternative Versuche zur Reduktion wurde verzichtet, da mit der radikalischen Perfluorbutylierung von 1,10-Phenanthrolin eine zeit- und ressourcensparende Alternative zur Verfügung stand.

Ausgehend von den funktionalisierten 8-Aminochinolinen konnten mittels einer weiteren Skraup-Reaktion die fluorierten phen-Derivate dargestellt werden. Die Reaktion konnte analog der

Darstellung der 8-Nitrochinoline durchgeführt werden, wobei eine etwas größere Menge an Acroleindiethylacetal verwendet wurde und für die Isolierung der Produkte leichte Modifikationen nötig waren (Schema 15). So wurde bei der säulenchromatographischen Aufarbeitung ein polarer Eluent genutzt, dem zusätzlich Isopropylamin beigefügt wurde um das Silicagel zu deaktivieren. Die Ausbeute (25 bis 41 %) lagen in einem ähnlichen Rahmen wie für die Skraup-Reaktion zur Darstellung der Nitrochinoline. Insgesamt konnten fünf verschiedene 5-X-phen-Derivate (X = F, CF₃, OCF₃, SCF₃, SF₅) und das difluorierte **F₂phen** mit dieser Methode dargestellt werden (Schema 15). Diese konnten durch Sublimation in hoher Reinheit erhalten und durch NMR-Spektroskopie (¹H-, ¹⁹F-, ¹³C-NMR), Massenspektrometrie (ESI-MS) und Elementaranalyse (CHNS-Analyse) charakterisiert werden.



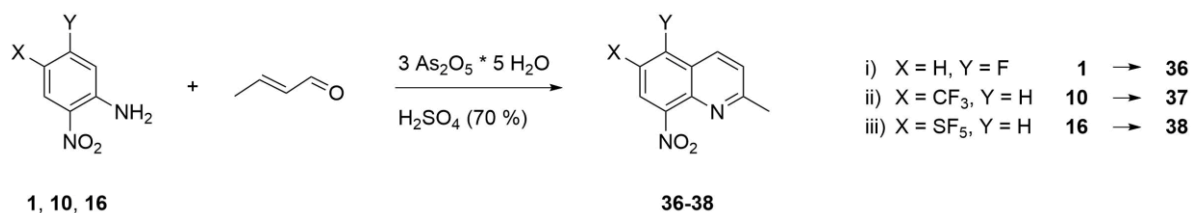
Schema 15: Darstellung von fluorhaltigen phen-Derivaten mittels Skraup-Reaktion ausgehend von fluorhaltigen 8-Aminochinolin

3.2.1.8. Doebner-von Miller-Reaktion für die Darstellung methylierter Chinolin-Derivate

Für eine weitere Funktionalisierung der Phenanthroline kann beim Aufbau des Ringgerüsts statt dem C3-Baustein ein substituiertes Acrolein-Derivat eingesetzt werden. So kann bei der Umsetzung von einem in β -Position funktionalisiertem α - β -ungesättigtem Aldehyd mit 2-Nitroanilin ein in Position 2 funktionalisiertes 8-Nitrochinolin erhalten werden.

Zur Darstellung von fluorhaltigen 2-Methyl-phen-Derivaten, mit einer Methylgruppe in direkter Nachbarschaft zum Stickstoffatom, wurden zunächst die 2-Methyl-8-nitro-X-chinoline (X = F, CF₃, SF₅) **36** bis **38** dargestellt. Dies gelang jeweils durch Umsetzung des funktionalisierten 2-Nitroanilin-Derivats (**1**, **10** und **16**) mit Crotonaldehyd in Schwefelsäure in Gegenwart des Reduktionsmittels Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat (Schema 16). Die Reaktion konnte analog der Skraup-Reaktion zur Darstellung von 8-Nitrochinolin-Derivaten durchgeführt werden.

Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe/Ergebnisse

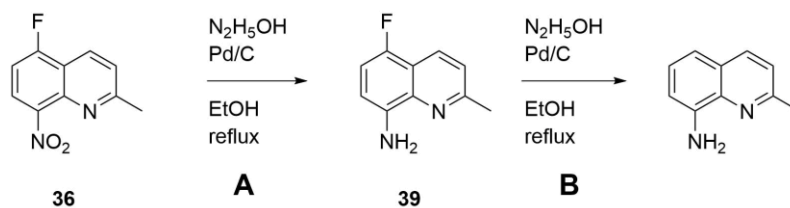


Schema 16: Darstellung der funktionalisierten 2-Methyl-8-nitrochinoline 36-38 via Doebner-von Miller-Reaktion.

3.2.1.9. Reduktion von 2-Methyl-8-nitrochinolin-Derivaten

Erste Versuche zur Reduktion der oben genannten Spezies wurden in Anlehnung an die Reduktion von 8-Nitrochinolin-Derivaten mit Zinn(II)dichlorid in Salzsäure durchgeführt. Bei diesen Umsetzungen konnten jedoch nur geringe Ausbeuten der Amine erzielt werden (bis 25 % im Vergleich zu bis zu 92 % der nicht-methylierten Chinoline). Da es sich hierbei wahrscheinlich um eine Reduktion mit SET-Mechanismus (*single electron transfer*) handelt, kann der elektronenschiebende Effekt der Methylgruppe ursächlich für die geringe Effizienz der Reaktion sein – durch die höhere Elektronendichte des aromatischen Systems wird eine Elektronenübertragung vom Elektronendonator Zinn(II) auf die Nitrogruppe erschwert.

Eine andere Möglichkeit ist die Palladium-katalysierte Reduktion mit einem Wasserstoffdonor wie Hydrazinhydrat (Schema 17, **Reaktion A**). Ein Problem dieser Methode ist eine anschließende Weiterreaktion des umzusetzenden Substrats, die Hydrodefluorierung, die bei bestimmten Bedingungen direkt nach der Reduktion der Nitrofunktion abläuft (Schema 17, **Reaktion B**). Erkennbar ist die nacheinander ablaufende Reaktion daran, dass keine hydrodefluorierten 8-Nitrochinoline beobachtet wurden.



Schema 17: Postulierter Reaktionsmechanismus für die Reaktion von 36 mit Hydrazinhydrat und Pd/C.

Am Beispiel der Reduktion von 5-Fluor-2-methyl-8-nitrochinolin (**36**) wurden die Reaktionsbedingungen bzgl. Katalysatorladung, Menge der Wasserstoffquelle und der Reaktionstemperatur variiert, um die optimalen Konditionen für eine solche Reaktion zu bestimmen,

bei der die Reaktion nach der Reduktion des fluorierten Nitrochinolins **36** (**Reaktion A**) stoppt und keine anschließende Hydrodefluorierung von **39** (**Reaktion B**) abläuft.

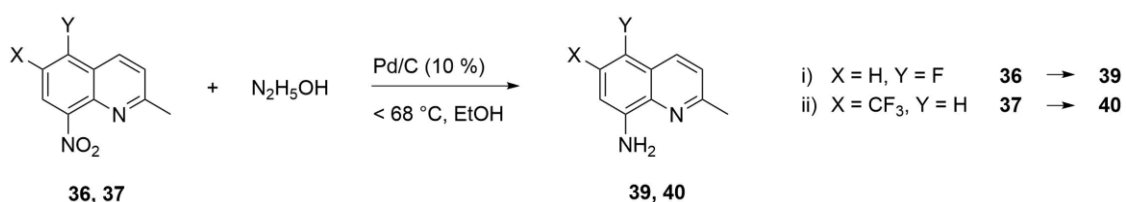
Tabelle 2: Ansätze und Parameter für die Optimierung der Reduktion von 36 (die Konzentration des Eduktes in Lösung für die Ansätze betrug 50 mM bezogen auf das Gesamtvolumen an EtOH).

Reaktion	Edukt	Pd (als Pd/C)	T [°C]	N ₂ H ₅ OH	Ausbeute (Fquin) ^a	Ausbeute (HDFquin) ^b
1	1 Äq.	0.05 Äq.	78	15 Äq.	53 %	37 %
2	1 Äq.	0.05 Äq.	78	5 Äq.	0 %	0 %
3	1 Äq.	0.05 Äq.	65	15 Äq.	67 %	15 %
4	1 Äq.	0.01 Äq.	78	15 Äq.	77 %	5 %
5	1 Äq.	0.01 Äq.	65	15 Äq.	83 %	0 %

^aFquin: 8-Amino-5-fluor-2-methylchinolin (**39**); ^bHDFquin: 8-Amino-2-methylchinolin.

Reaktion B kann durch Senken von Reaktionstemperatur und Katalysatorladung inhibiert werden. Die Konzentration des Hydraziniumhydroxids spielt dabei für das Produktverhältnis keine entscheidende Rolle, jedoch läuft **Reaktion A** bei einer zu geringen Konzentration der Wasserstoffquelle ebenfalls nicht ab (Tabelle 2).

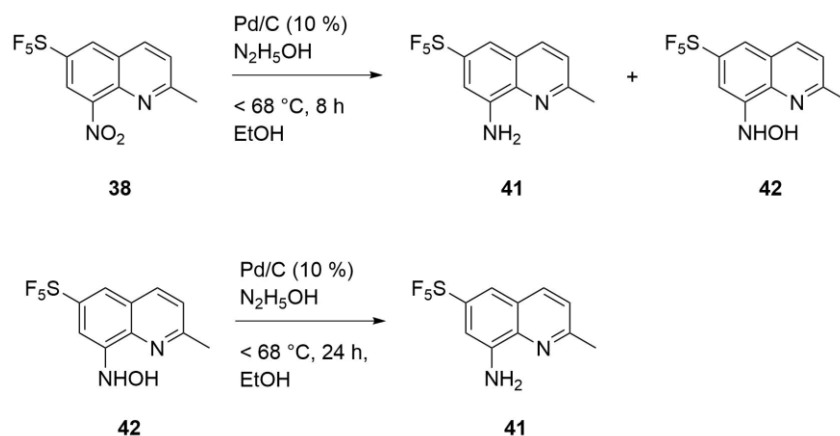
Die optimalen Reaktionsbedingungen waren demnach Reaktionstemperaturen von 65 °C, eine Katalysatorladung von 1 % und eine Konzentration an Hydrazinhydrat von mindestens 750 mM (bezogen auf das Gesamtvolumen an EtOH). Mit diesen Bedingungen konnten zwei 8-Amino-2-methylchinolin-Derivate (**39**, **40**) dargestellt werden (Schema 18).



Schema 18: Reduktion der 2-Methyl-8-nitrochinoline 36 und 37 mit Pd/C und Hydraziniumhydroxid.

Bei der Umsetzung von 2-Methyl-8-nitro-6-(pentafluorsulfanyl)chinolin (**38**) wurden zwei Produkte erhalten. Neben dem Aminochinolin **41** konnte ein weiteres Produkt, das Hydroxylamin **42**, isoliert werden (Schema 19). Es handelt sich dabei um eine Zwischenstufe der Reduktion von **38** zum

Amin **41**. Das Hydroxylamin **42** konnte jedoch mittels einer weiteren Reduktion mit Pd/C und Hydraziniumhydroxid nahezu quantitativ in das entsprechende Amin **41** überführt werden.

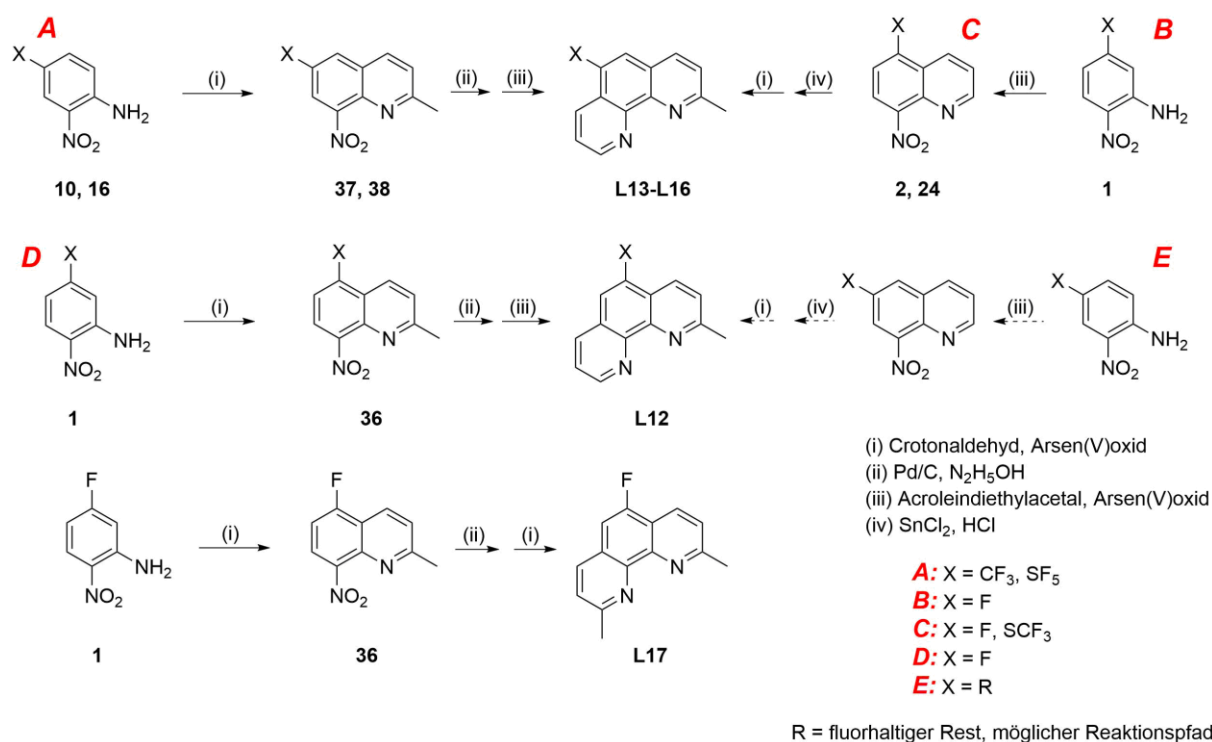


Schema 19: Reduktion von **38** mit Pd/C und N₂H₅OH.

3.2.1.10. Skraup-Reaktion mit 8-Amino-2-methylchinolin-Derivaten und Doebner-von Miller-Reaktion mit 8-Aminochinolin-Derivaten

Die Wahl der Reaktionen zum Aufbau des phen-Gerüsts kann je nach gewünschtem Substitutionsmuster variiert werden. Beispielsweise können 2-Me-6-X-phen-Derivate (X = fluorhaltiger Substituent) sowohl ausgehend von 2-Nitro-4-X-anilin als auch von 2-Nitro-5-X-anilin dargestellt werden. Das Gleiche gilt für 2-Me-5-X-phen-Derivate. Nutzt man zweimal die Doebner-von Miller-Reaktion so gelangt man zu 2,9-difunktionalisierten phen-Derivaten (5-F-neocuproin). So können beispielsweise Neocuproin-Derivate dargestellt werden. In Schema 20 sind die dargestellten Verbindungen und die Syntheserouten, sowohl durchgeführte (→) als auch allgemein mögliche (→), zusammengefasst.

Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe/Ergebnisse



Schema 20: Durchgeführte und mögliche Synthesepfade zur Darstellung von 2-Me-X-phen-Derivaten (X= H, F, CF₃, SCF₃, SF₅) und 5-F-2,9-Me₂phen.

Es wurden insgesamt fünf verschiedene fluorhaltige 2-Me-X-phen-Derivate (X = F, CF₃, SCF₃, SF₅) (**L12** bis **L16**) durch die Kombination von Skraup-Reaktion und Doebner-von Miller-Reaktion dargestellt und durch NMR-Spektroskopie (¹H-, ¹⁹F-, ¹³C-NMR), Massenspektrometrie (MS-ESI) und Elementaranalyse (CHNS-Analyse) charakterisiert werden. Zudem konnte das Neocuproin-Derivat 5-F-2,9-Me₂phen (**L17**) dargestellt und NMR-spektroskopisch charakterisiert werden (Abbildung 15).

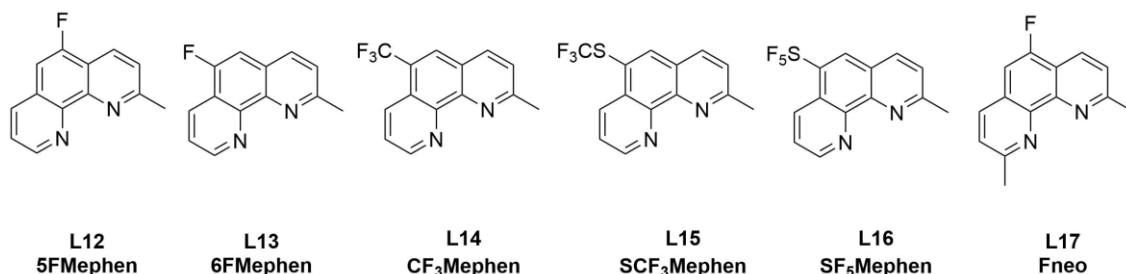


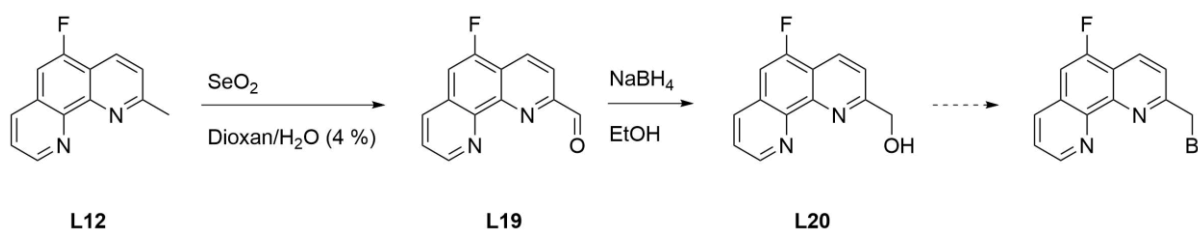
Abbildung 15: Übersicht der synthetisierten fluorhaltigen 2-Mephen-Derivate.

3.2.1.11. Darstellung von unsubstituiertem 2-Methyl-1,10-phenanthrolin (Mephen)

Mephen (L18) kann sowohl durch Skraup-Reaktion ausgehend von 8-Amino-2-methylchinolin als auch durch Doebner-von Miller-Reaktion ausgehend von 8-Aminochinolin mit Crotonaldehyd dargestellt werden. Bessere Ausbeuten können jedoch durch die direkte Methylierung von 1,10-Phenanthrolin (**L1**) mit Methyllithium und anschließender Oxidation mit Braunstein (MnO_2) erzielt werden. Dafür wurde *o*-Phenanthrolin mit Methyllithium in trockenem Toluol umgesetzt und anschließend in wässrigem Medium mit Braunstein versetzt.^[160] Die Aufreinigung erfolgte durch Umkristallisierung des Rohproduktes aus einem *n*-Hexan/DCM-Gemisch. Beim Gebrauch eines geringen Überschusses des Methylierungssubstrats wurde keine Mehrfachsubstitution beobachtet.

3.2.1.12. Weitere Funktionalisierung von 5FMephen

Für die weitere Funktionalisierung von fluorierten phen-Derivaten mit bspw. Peptiden, unter anderem für das aktive Targeting von Biomolekülen, ist die Umwandlung der Methylgruppe in geeignetere funktionale Gruppen für Kupplungsreaktionen nötig. Am Beispiel von **5FMephen (L12)** wurden Transformationen der Methylgruppe getestet (Schema 21). Durch Reaktion mit Selendioxid konnte die Methylgruppe selektiv oxidiert werden, so dass der entsprechende Aldehyd **FCHOphen (L19)** erhalten wird.^[161] Eine weitere Transformation wurde durch die Reduktion des Aldehyds **L19** zum Alkohol **FOHphen (L20)** durch Umsetzung mit Natriumborhydrid erreicht.^[161] **L20** könnte mittels Veresterung an das Carbonsäureende von Peptiden gekoppelt werden. Solche Alkohole könnten zudem in die entsprechenden halogenierten Spezies überführt werden, die Verwendung in Kreuzkupplungen finden.



Schema 21: Funktionalisierung von L12.

3.2.1.13. Konzentrationsabhängiger NMR-Shift für 1,10-Phenanthroline

Vergleiche von ^1H -NMR-Spektren der gleichen fluorierten phen-Spezies mit verschiedenen Konzentrationen zeigten eine unterschiedliche Verschiebung für die Protonen gleicher Position (Referenzierung auf das Lösemittelsignal von CDCl_3). Diese konzentrationsabhängige Verschiebung konnte auch schon für Chinoline beobachtet werden.^[162] Diese resultierten vermutlich aus einer intermolekularen Wechselwirkung der Chinoline untereinander. Hier konnten selbst "cross over" für Signale identischer Protonen aufgezeigt werden, so dass NMR-spektroskopische Experimente für die Charakterisierung solcher Substanzen unter Berücksichtigung der Konzentration vorgenommen werden sollten. Aus diesem Grund wurden für zwei Substrate konzentrationsabhängige ^1H -NMR-spektroskopische Untersuchungen durchgeführt, um solche Variationen in den Verschiebungen der Protonensignale von 1,10-Phenanthrolinen qualitativ abzubilden. Als Substrate wurden **5Fphen** und **6FMephen** ausgewählt, zum einen auf Grund der quantitativ hohen verfügbaren Menge der Liganden als auch als Beispiel für eine methylierte und eine nicht-methylierte Spezies. Der untersuchte Bereich der Substratkonzentration lag zwischen 0.0625 und 1.0000 mM.

Für alle Substanzen konnte in dem untersuchten Bereich kein "cross over" von äquivalenten Protonensignalen detektiert werden. Jedoch wurden signifikante Verschiebungen aller Signale beobachtet. Mit steigender Konzentration der Substrate erfuhren die Protonensignale einen Shift ins Hochfeld um 0.25 ppm bis zu 0.35 ppm für **Fphen**. Die Methylgruppe in **6FMephen** hat keinen großen Einfluss auf das Ausmaß des Signalshifts, welcher für den gleichen Konzentrationsbereich zwischen 0.22 und 0.31 ppm liegt.

Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe/Ergebnisse

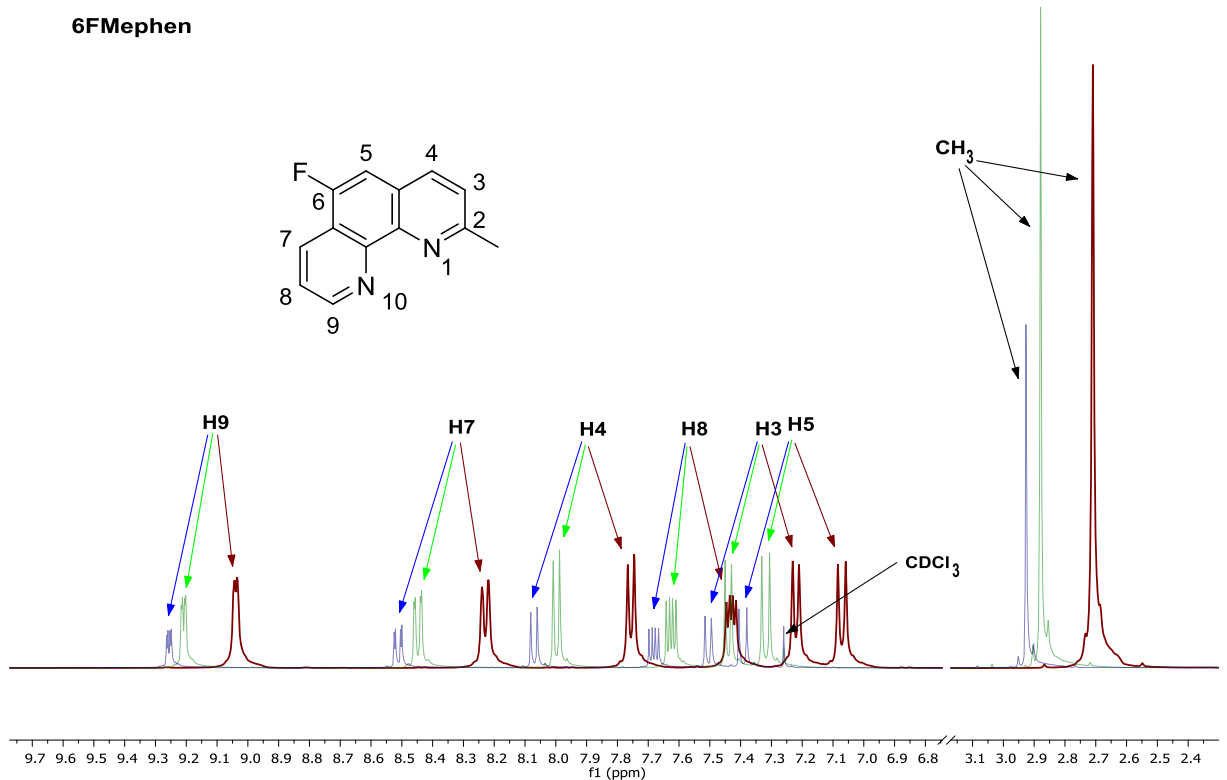
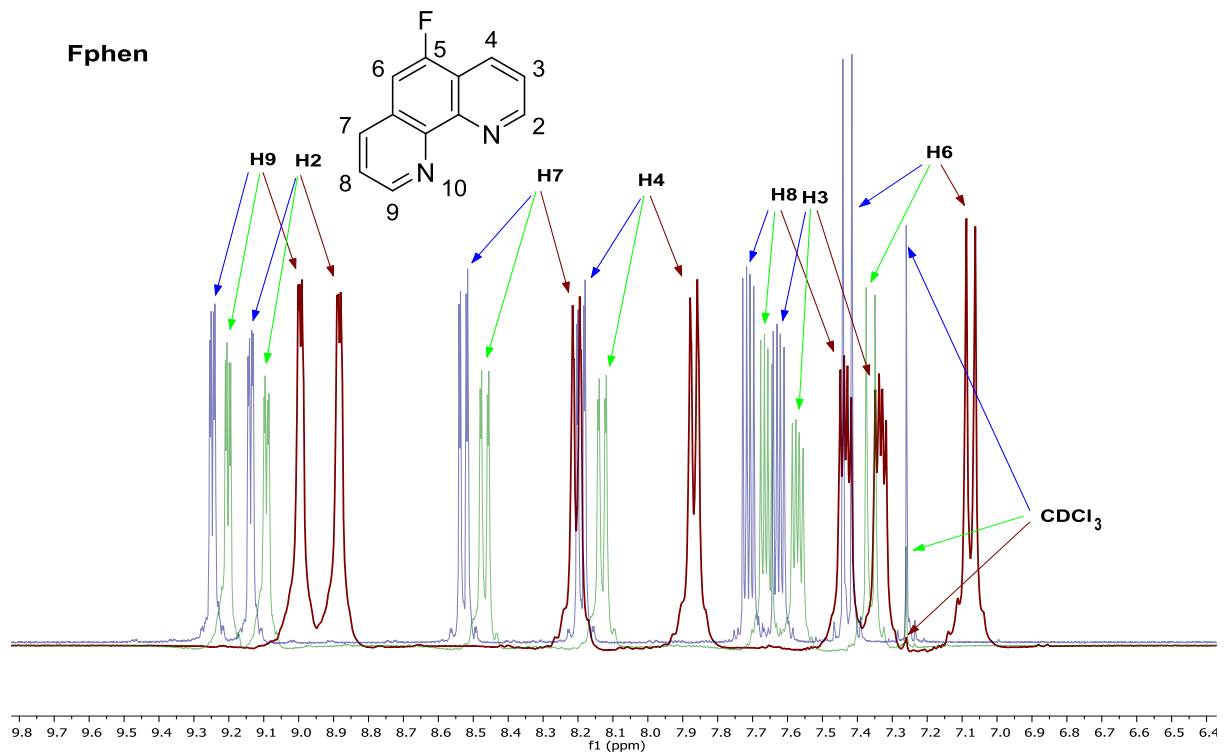


Abbildung 16: ¹H-NMR-Spektren für 5Fphen (oben) und 6FMephen (unten) in CDCl₃ bei unterschiedlicher Ligandenkonzentration (blau: 0.0625 mM; grün: 0.250 mM, braun: 1.00 mM).

3.2.2. Komplexsynthese

3.2.2.1. Versuche zur Komplexierung von 8-Amino-X-chinolin-Derivaten (X = F, CF₃)

Ähnlich wie das *o*-Phenanthrolingerüst besitzen 8-Aminochinoline einen für Chelatliganden geeigneten Aufbau mit zwei benachbarten Elektronenpaardonoren auf. Zudem handelt es sich um planare Liganden, welche sich zur Interaktion mit DNA mittels Interkalation oder Furchenbindung eignen und somit auch potentielle Nukleasen darstellen. Hierzu sollten Kupferkomplexe der Form [Cu(8-NH₂-Xquin)₂(NO₃)](NO₃) (X = F, CF₃) dargestellt werden. Bisher sind lediglich wenige Publikationen über Komplexe des Typs [Cu(8-NH₂-quin)₂]²⁺ bekannt, wobei fluorhaltige 8-Aminochinoline noch gar nicht betrachtet wurden.^[163,164]

Bei der Umsetzung der 8-Aminochinoline mit verschiedenen Kupfer(II)-Salzen in unterschiedlichen Lösemitteln (Wasser/Methanol, Methanol, Acetonitril) konnte jeweils eine sofort einsetzende Farbänderung der Lösung von blass-gelb zu einem sehr dunklen Farbton beobachtet werden. Durch Versetzen der Reaktionslösung mit *n*-Hexan bzw. Diethylether konnte nach Filtration der Reaktionslösung ein grauer (X = F) bzw. dunkler Feststoff erhalten werden. Massenspektrometrische Untersuchungen (ESI⁺) gaben keine Hinweise auf Komplexe mit der Struktur [CuL₂]²⁺. Es konnte lediglich der Molekülpeak [L+H]⁺ für die umgesetzten Liganden identifiziert werden. Eine Vermutung ist die Ausbildung eines stark vernetzten Netzwerks, denkbar ist eine Kettenstruktur oder dreidimensionale Arrangements von Liganden und Kupfer(II)ionen. Solche Netzwerke würden die geringe Löslichkeit in gängigen Lösemitteln erklären. Eine andere Möglichkeit könnte eine thermische Instabilität der Komplexe sein.^[164]

Die Umsetzung wurde auch unter Einwirkungen von verschiedenen Basen durchgeführt, mit denen eine Deprotonierung der Aminofunktion forciert (Kalium-*tert*-butanolat und Natriumhydroxid) und die Lewisbasizität der Liganden erhöht werden sollte. Hierbei wurden jedoch keine abweichenden Beobachtungen gegenüber der Umsetzung ohne Base gemacht.

3.2.2.2. [Cu(5-Fphen)₃](ClO₄)₂ und [Cu(5,6-F₂phen)₂](ClO₄)₂ (Cu(Fphen)₃ und Cu(F₂phen)₃)

In einem ersten Versuch sollten die Kupfer(II)-Komplexe der Zusammensetzung [CuL₂]X₂ (L = phen-Derivat, X = beliebiges Anion) durch die Umsetzung von Kupfer(II)perchlorat mit den Liganden **Fphen** und **F₂phen** in Methanol erhalten werden. Nach der Umsetzung konnte jeweils ein grüner Feststoff isoliert werden und Untersuchungen mittels ESI-MS ließen auf die Bildung einer Cu-phen-Spezies schließen. Allerdings konnten die jeweiligen Elementaranalysen nicht mit den berechneten Werten einer [CuL₂](ClO₄)₂-Spezies (L = **Fphen**, **F₂phen**) in Übereinstimmung gebracht werden. In früheren

Arbeiten wurden für Kupfer-phen-Komplexe mit Perchlorat-Anionen typische oktaedrische Strukturen der Zusammensetzung $[\text{CuL}_3](\text{ClO}_4)_2$ beschrieben.^[165] Hierbei wird das Metallzentrum im Komplexkation von sechs Donoratomen der phen-Liganden koordiniert. Für solch eine Zusammensetzung der Komplexe stimmte auch die Elementaranalyse überein (Tabelle 3).

Tabelle 3: Elementaranalysen für $[\text{CuL}_3](\text{ClO}_4)_2$ (exp. und ber.).

Komplex	N (% , ber.)	C (% , ber.)	H (% , ber.)
$[\text{Cu}(\text{Fphen})_3](\text{ClO}_4)_2$	9.797 (9.81)	50.50 (50.45)	2.592 (2.47)
$[\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_3](\text{ClO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	9.118 (9.05)	46.56 (46.54)	2.156 (2.17)

Interessant hierbei ist, dass die Umsetzung im Verhältnis Ligand:Kupfer 2:1 erfolgte und dies trotzdem zur Bildung des oben beschriebenen Komplexes führte. Versuche mit einem kleineren Verhältnis von Ligand zu Kupfersalz bis zu einer äquimolaren Umsetzung führten ebenfalls zur Darstellung von $[\text{CuL}_3](\text{ClO}_4)_2$ (L = **Fphen**, **F₂phen**) (**Cu(Fphen)₃** und **Cu(F₂phen)₃**). Ein Grund hierfür könnte die geringe Neigung zur Koordination von Perchlorat-Anionen sein, die als schwach koordinierende Anionen gelten und somit eine Absättigung der Koordinationssphäre von Kupfer(II) mit phen-Liganden initiieren.

Molekülstruktur im Festkörper von **Cu(F₂phen)₃**

Durch langsames Verdunsten einer methanolischen Lösung des Komplexes **Cu(F₂phen)₃** konnten grüne Einkristalle erhalten werden, deren Molekülstruktur mittels Röntgenbeugung untersucht wurde. **Cu(F₂phen)₃** kristallisiert in der triklinen Raumgruppe C2/c mit einem halben Molekül als asymmetrische Einheit und vier Molekülen in der Einheitszelle. Die Festkörperstruktur weist eine zweizählige Drehachse auf, welche durch das Kupferatom und ein **F₂phen**-Molekül verläuft. Das zentrale Kupfer(II)-Ion ist oktaedrisch von sechs Stickstoffatomen dreier **F₂phen**-Liganden umgeben, wobei die Bindungslänge von Kupfer zu den jeweiligen Donoratomen in der quadratischen Ebene annähernd den gleichen Betrag aufweist (Abbildung 17). Die Bindungslängen für $\text{Cu-N}_{\text{Ebene}}$ liegen zwischen 2.03 und 2.05 Å. Die Struktur weist eine Jahn-Teller-Verzerrung auf, wobei die Bindung zu den axialen Stickstoffatomen länger ist ($\text{Cu-N}_{\text{axial}}$: 2.31 Å). Die oktaedrische Anordnung um das Metallzentrum ist verzerrt. So weisen die *cis*-ständigen Stickstoffatome für die Winkel $\text{N}_{\text{cis}}\text{-Cu-N}_{\text{cis}}$ Werte zwischen 76.7 bis 96.5 ° und die *trans*-ständigen für die Winkel $\text{N}_{\text{trans}}\text{-Cu-N}_{\text{trans}}$ Werte von 169.2 bis 172.0 ° auf und weichen leicht von den optimalen Werten für Oktaeder (90 und 180 °) ab.

Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe/Ergebnisse

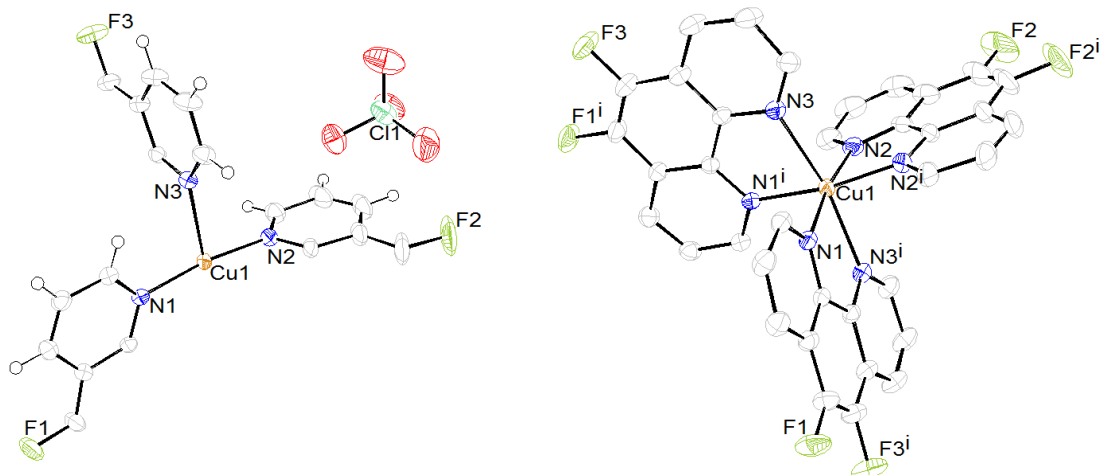


Abbildung 17: ORTEP-Projektionen der asymmetrischen Einheit (links) von $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_3$ und des Molekülkations (rechts) von $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_3$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit rechts ohne Wasserstoffatome und Gegenionen; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

Die Moleküle stehen im Festkörper durch intermolekulare π - π -Wechselwirkungen in Verbindung. Dabei sind die Kontakte jeweils unter den C6-Ebenen ausgebildet, wobei die Centroide dieser Ebenen eine Distanz von 3.84 Å und einen Shift von 1.61 Å aufweisen. Ähnliche π - π -Wechselwirkungen werden in allen hier vorgestellten Festkörperstrukturen beobachtet, aber nicht näher betrachtet. Die C6-Ringe sind in der vorliegenden Struktur in entgegengesetzte Richtungen orientiert (Abbildung 18).

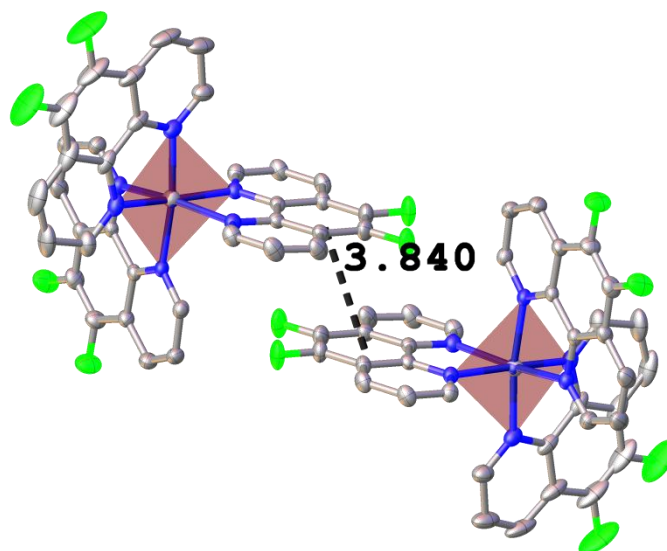


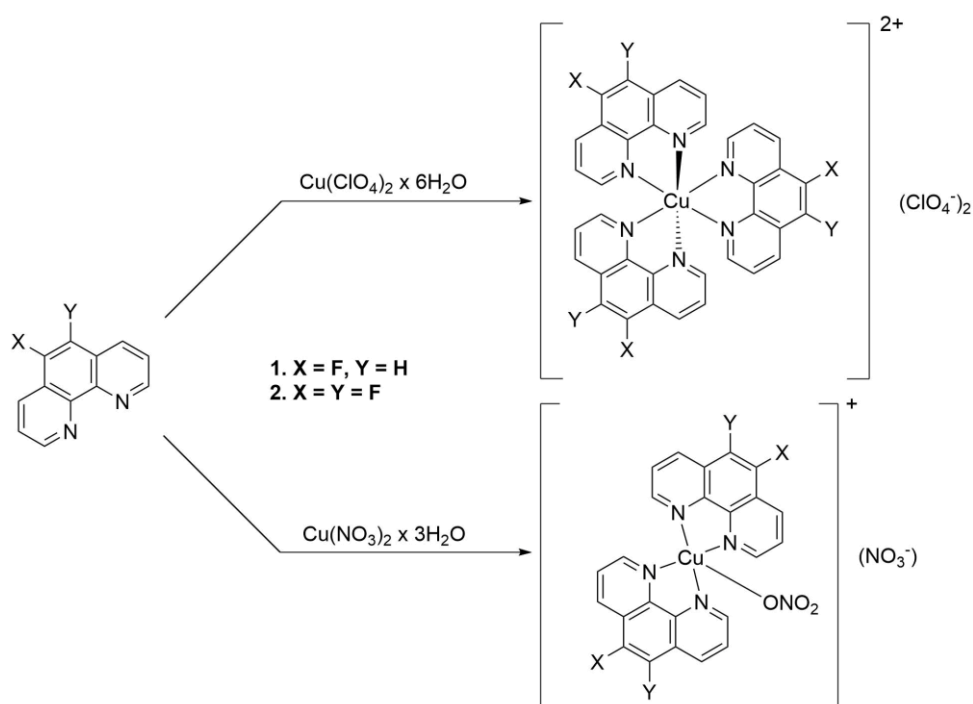
Abbildung 18: OLEX²-Darstellung von zwei Molekülkationen $[\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_3]^{2+}$ im Festkörper mit quadratischer Grundfläche des aufgespannten Oktaeders und π - π -Kontakt (thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

Tabelle 4: Ausgewählte Bindungslängen und -winkel in der asymmetrischen Einheit von $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_3$.

Bindungslänge (Å)		Bindungswinkel (°)	
Cu - N1	2.0470(19)	N1 - Cu - N2	171.87(7)
Cu - N2	2.027(2)	N1 - Cu - N3	95.72(7)
Cu - N3	2.316(2)	N2 - Cu - N3	91.69(8)

3.2.2.3. $[\text{Cu}(\text{Fphen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ und $[\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$

Durch die Substitution des schwach koordinierenden Perchlorat-Anions durch ein stärker koordinierendes wie Nitrat sollte die Bildung von $[\text{CuL}_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ -Komplexen mit zwei koordinierenden phen-Derivaten bewerkstelligt werden. Durch Umsetzung der Liganden **Fphen** und **F₂phen** in refluxierendem Methanol mit Kupfer(II)nitrat-Trihydrat und anschließendem Abkühlen der Reaktionslösung konnte jeweils ein kristalliner blauer Feststoff erhalten werden. Elementaranalyse und ESI-MS bestätigten die Bildung von $[\text{CuL}_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ -Spezies' (L = **Fphen**, **F₂phen**) (Schema 22).



Schema 22: Abhängigkeit der Komplex-Zusammensetzung vom verwendeten Kupfer(II)-Salz.

Molekülstruktur im Festkörper von [Cu(F₂phen)₂(NO₃)](NO₃) (Cu(F₂phen)₂)

Zur abschließenden Strukturaufklärung und -sicherung im Festkörper konnten Röntgenbeugungsexperimente an Einkristallen von [Cu(F₂phen)₂(ONO₂)](NO₃) in verschiedenen Lösemitteln beitragen. Zunächst wurden Einkristalle als blaue lange Nadeln durch Refluxieren des Feststoffs in Methanol und anschließender Etherdiffusion erhalten {Cu(F₂phen)₂(a)}. Da die biologische Evaluation der Komplexe in wässrigem Medium erfolgt, wurde die Prozedur der Einkristallzüchtung ein weiteres Mal mit einem Methanol-Wasser-Gemisch durchgeführt, um Einblicke in die Festkörperstruktur bei Anwesenheit von Wasser zu erhalten {Cu(F₂phen)₂(b)}.

Tabelle 5: Ausgewählte Bindungslängen und -winkel in Cu(F₂phen)₂(a/b).

<i>Bindungslängen (Å)</i>			
Cu(F ₂ phen) ₂ (a)		Cu(F ₂ phen) ₂ (b)	
Cu - N1	1.9922(16)	Cu - N1	1.9959(17)
Cu - N2	2.0004(16)	Cu - N2	2.0347(17)
Cu - N3	2.0215(16)	Cu - N3	2.0058(17)
Cu - N4	2.2116(16)	Cu - N4	2.2213(17)
Cu - O1	2.0188(14)	Cu - O1	2.6286(15)
Cu - O2	2.6269(14)	Cu - O7	2.0111(15)
<i>Bindungswinkel (°)</i>			
Cu(F ₂ phen) ₂ (a)		Cu(F ₂ phen) ₂ (b)	
N1 - Cu - N2	82.94(7)	N1 - Cu - N2	82.29(7)
N1 - Cu - N3	170.10(7)	N1 - Cu - N3	173.33(7)
N1 - Cu - N4	110.57(6)	N1 - Cu - N4	107.36(7)
N1 - Cu - O2	86.06(6)	N1 - Cu - O1	82.41(6)
N1 - Cu - O1	90.76(6)	N1 - Cu - O7	89.06(6)
N2 - Cu - N3	97.54(7)	N2 - Cu - N3	96.08(7)
N2 - Cu - N4	102.46(6)	N2 - Cu - N4	103.26(6)
N2 - Cu - O2	111.25(6)	N2 - Cu - O1	82.25(6)
N2 - Cu - O1	164.50(6)	N2 - Cu - O7	162.20(6)
N3 - Cu - N4	79.05(6)	N3 - Cu - N4	79.30(7)
N3 - Cu - O2	84.56(6)	N3 - Cu - O1	90.97(6)
N3 - Cu - O1	86.27(6)	N3 - Cu - O7	90.73(6)
N4 - Cu - O2	144.11(5)	N4 - Cu - O1	169.21(6)
N4 - Cu - O1	93.01(6)	N4 - Cu - O7	94.15(6)
O2 - Cu - O1	53.97(5)	O1 - Cu - O7	81.21(6)

In beiden Strukturen ist das Kupfer(II)-Zentrum oktaedrisch umgeben, wobei jeweils vier Stickstoffatome der phen-Liganden – drei äquatoriale und eine axiale Position des Koordinationspolyeders – und zwei Sauerstoffatome an das Metallzentrum binden. In den meisten $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ -Spezies liegt hingegen eine trigonal-bipyramidale Struktur vor.^[166–169] Im Fall von **Cu(F₂phen)₂(a)** wird ein Nitrato-Ligand über zwei Sauerstoffe koordiniert. Somit handelt es sich formal um $[\text{Cu}(\kappa^2\text{-O},\text{O}'\text{-O}_2\text{NO})(\kappa^2\text{-N},\text{N-5,6-F}_2\text{phen})_2](\text{NO}_3) \times \text{MeOH}$. Die oktaedrische Struktur um das Metallzentrum ist stark verzerrt (Abbildung 19). So ist der Winkel O1-Cu-O2 (κ^2 -Bindung mit O₂NO-Ligand) mit ca. 54° extrem klein, da der Nitrato-Ligand nur eine geringe Flexibilität aufweist. Die Koordination eines weiteren Nitrato-Liganden oder eines Lösemittelmoleküls könnte womöglich aufgrund sterischer Ansprüche der Liganden gehindert werden (siehe vergleichend hierzu Abbildung 20: Molekülstruktur von **Cu(F₂phen)₂(b)**). Bei der Struktur kann eine Jahn-Teller-Verzerrung beobachtet werden, welche typisch für Kupfer(II)-Komplexe ist. Die Bindungslängen für die Koordination des Kupfer(II)-Zentrums zu den in der axialen Ebene liegenden Donoratomen N1, N2, N3 und O1 sind annähernd äquivalent mit 1.99 bis 2.02 Å und im gleichen Rahmen wie in der oktaedrischen Struktur von **Cu(F₂phen)₃** (siehe 3.2.2.2.). Die Bindung Cu1-N4 ist mit ca. 2.21 Å etwas verlängert. Die längste Bindung zum Metallzentrum wird für Cu-O2 mit 2.63 Å beobachtet.

Die oktaedrische Umgebung des Kupferzentrums in der Molekülstruktur von **Cu(F₂phen)₂(b)** ist weniger stark als in **Cu(F₂phen)₂(a)** verzerrt. Durch den geringen sterischen Anspruch des Aqua-Liganden kann die sechste Position im Oktaeder von jenem Liganden besetzt werden. Der Aqua-Ligand besetzt die Koordinationsstelle in der quadratischen Ebene, der Nitrato-Ligand bindet im Gegensatz zur Koordination in **Cu(F₂phen)₂(a)** monodentat und besetzt eine axiale Position des Koordinationspolyeders um das Kupferzentrum. Somit ist der Winkel O1-Cu-O7 mit 81.2° wesentlich größer als für **Cu(F₂phen)₂(a)** und näher an den 90° für (ideale symmetrische) Oktaederstrukturen. Bei den Bindungslängen wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt. So sind die Bindungslängen zwischen den Donoratomen der Liganden und dem Kupfer(II)-Zentrum in der äquatorialen Ebene mit 2.00 bis 2.04 Å in der gleichen Größenordnung wie in **Cu(F₂phen)₂(a)**. Auch die Bindungen zu den axialen Liganden sind wie in **Cu(F₂phen)₂(a)** verlängert, wobei die Bindung Cu1-O1 mit ca. 2.63 Å wesentlich länger ist als die Bindung Cu1-N4 mit ca. 2.22 Å (Tabelle 5). Der Aqua-Ligand in der äquatorialen Ebene verknüpft über Wasserstoffbrücken zudem den Nitrato-Liganden mit dem Nitrat-Anion, welches selbst über Wasserstoffbrücken ein weiteres Wassermolekül koordiniert (Abbildung 20).

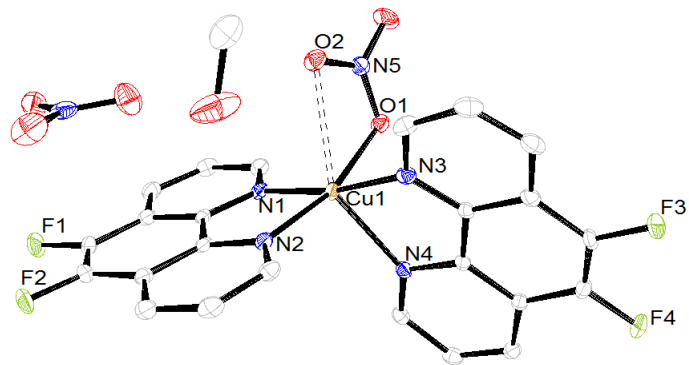


Abbildung 19: ORTEP-Projektion der asymmetrischen Einheit von $[\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{ONO}_2)]\text{NO}_3 \times \text{MeOH}$ $\{\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{a})\}$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit ohne Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

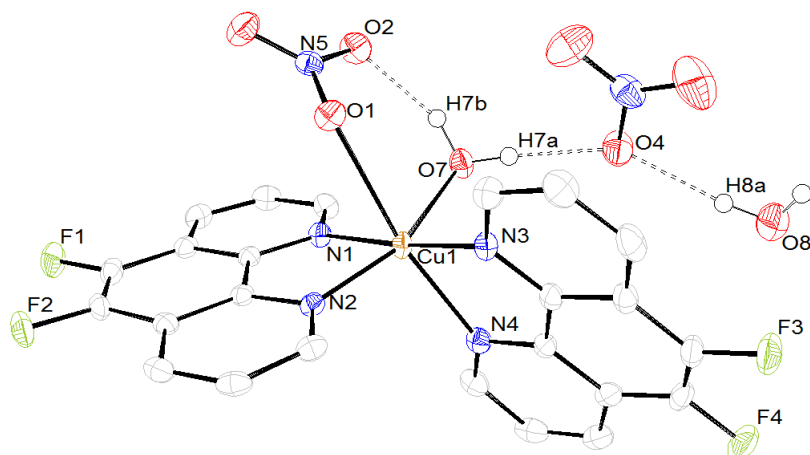


Abbildung 20: ORTEP-Projektion der asymmetrischen Einheit von $[\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{ONO}_2)]\text{NO}_3 \times \text{H}_2\text{O}$ $\{\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2(\text{b})\}$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit ohne Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

Molekülstruktur von $[\text{Cu}(\text{Fphen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$

Für $\text{Cu}(\text{Fphen})_2$ konnte keine ausreichende Güte der Einkristalle erzielt werden, so dass die Qualität der Molekülstruktur sehr niedrig ist und insbesondere die Fehlordnungen nicht vollständig gelöst werden konnten. Da hier jedoch ein neues Bindungsmotiv sichtbar wurde, wird die Struktur hier in groben Eckpunkten erläutert ohne näher auf Bindungslängen und -winkel einzugehen.

In **Cu(Fphen)₂** sind asymmetrische phen-Liganden vorhanden, wodurch insgesamt eine geringere Symmetrie im Festkörper als in **Cu(F₂phen)₂** erwartet wird. Zudem können aufgrund der Asymmetrie auch andere Packungseffekte auftreten. Aus diesen Gründen war die Festkörperstruktur dieses Komplexes von Interesse. Einkristalle wurden durch Etherdiffusion einer methanolischen Lösung von **Cu(Fphen)₂** als blaue Plättchen erhalten.

Im Gegensatz zu den oktaedrischen Umgebungen des Zentralteilchens in **Cu(F₂phen)₃**, **Cu(F₂phen)₂(a)** und **Cu(F₂phen)₂(b)** ist das Zentralatom in **Cu(Fphen)₂** verzerrt trigonal bipyramidal von fünf Donoratomen umgeben, jeweils zwei Stickstoffatome der beiden Phenanthrolin-Liganden und ein Sauerstoffatom eines Nitrato-Liganden (Abbildung 21). Zudem gibt es einen weiteren Kontakt zu einem zweiten Sauerstoffatom des Nitrato-Liganden (Cu1-O2_{ber.}: ca. 2.7 Å, Summe der van der Waals-Radii: 2.92 Å).^[170] Somit kann auch von einer Zwischenform zwischen verzerrt oktaedrisch und verzerrt trigonal-bipyramidal gesprochen werden, auch wenn verzerrt trigonal-bipyramidal aufgrund des großen Abstandes des zentralen Kupferatoms zum Sauerstoffatom O2 die bessere Beschreibung der Koordinationsumgebung liefert. Die trigonale Ebene wird durch O1, N1 und N3 aufgespannt, N2 und N4 besetzen die axialen Positionen. Der Winkel N3-Cu-O1 ist mit knapp 90° sehr klein und die Winkel N1-Cu-N3 und N1-Cu-O1 mit jeweils über 130° stark aufgeweitet. Da es sich um einen asymmetrischen Liganden handelt, dessen Orientierung zum Zentralatom relativ frei wählbar ist (keine Einschränkung durch sterische Aspekte des Fluorsubstituenten), gibt es vier verschiedene Möglichkeiten der Anordnung der Liganden zum Kupferatom. Dies führt zu einer Fehlordnung des Fluoratoms F2a: durch Spiegelung des Liganden kann der Fluorsubstituent auch am benachbarten Kohlenstoffatom (formal Position 6 des Phenanthrolin-Liganden in Abbildung 21) lokalisiert werden.

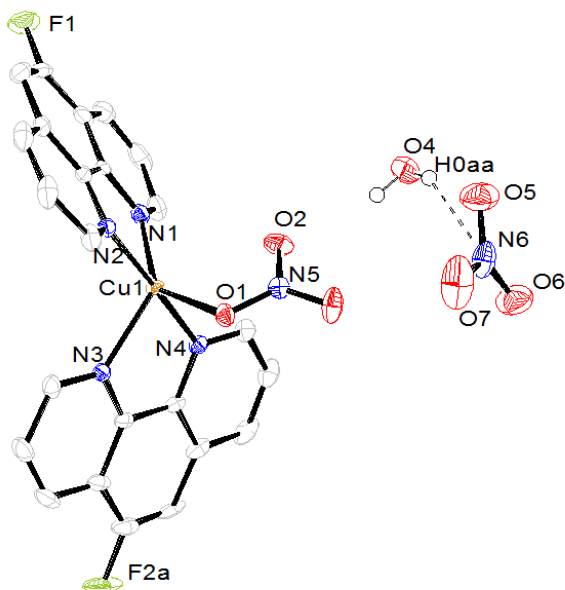


Abbildung 21: ORTEP-Projektion der asymmetrischen Einheit von $[\text{Cu}(\text{Fphen})_2(\text{ONO}_2)]\text{NO}_3 \times \text{H}_2\text{O}$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit ohne Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

3.2.2.4. $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ($\text{X} = \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5, n\text{-C}_4\text{F}_9$)

Die Synthese erfolgte zunächst analog der Komplexierung für **Fphen** und **F₂phen** mit den Liganden **CF₃phen**, **SCF₃phen**, **SF₅phen** und **pFBuphen** und der Kupfer(II)quelle $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \times 3\text{H}_2\text{O}$ in refluxierendem Methanol. Allerdings stellte sich die Isolierung der Komplexe als größere Schwierigkeit dar. Im Gegensatz zu **Cu(Fphen)₂** konnte durch einfaches Abkühlen kein Feststoff isoliert werden. Auch das Einengen der Komplexlösungen führte nicht zu einem Ausfallen der Komplexe. Ein Einengen bis zur Trockne resultierte in der Isolierung eines Öls. So konnten jedoch keine sauberen Komplexe erhalten werden.

Eine weitere Möglichkeit zum Ausfällen besteht darin, die Komplexlösung mit apolaren, organischen Lösemitteln zu mischen und so die Löslichkeit der Komplexe in der Lösung zu verringern. Jedoch brachte auch die Etherdiffusion oder das Versetzen der methanolischen Lösung mit *n*-Hexan keinen Erfolg.

Alle Komplexe konnten jedoch durch folgende Methode isoliert werden:

1. ca. 0.2 bis 0.5 mM Komplexlösung (in MeOH oder EtOH) mit 2 bis 3 Tropfen Wasser versetzen
2. die resultierende Lösung mit mindestens der dreifachen Menge THF versetzen
3. diese Lösung bei -25 °C für 5 Tage lagern.

Nach einer solchen Behandlung konnte jeweils ein Feststoff isoliert werden. Für eine Maximierung der Ausbeute musste der Feststoff kalt filtriert und schnell mit sehr viel Hexan oder Diethylether gewaschen werden, so dass das komplette Methanol ausgeschwemmt wurde. Reste von MeOH hingegen führten zu einer Lösung des Feststoffs, resultierend in der Generierung eines Öls.

Einige der Komplexe konnten dann individuell weiter aufgearbeitet werden. **Cu(SCF₃phen)₂** wurde in Ethanol und **Cu(SF₃phen)₂** in *iso*-Propanol aufgenommen, jeweils mit wenigen Tropfen Wasser versetzt und anschließend durch Etherdiffusion gefällt. So konnten kristalline Feststoffe erhalten werden, deren genaue Komposition durch Elementaranalysen bestimmt wurde.

Wasser wurde jeweils in geringem Anteil hinzugegeben, um einen weiteren kleinen Liganden zur Koordination bereit zu stellen und die Anordnung der Moleküle und die Kristallisation zu verbessern (beispielsweise durch Wasserstoffbrücken zwischen Wassermolekülen und dem Nitrate-Liganden oder dem Nitrat anion, siehe Molekülstruktur von **Cu(F₂phen)₂(b)**).

3.2.2.5. **[Cu(2-Me-X-phen)₂(NO₃)](NO₃) (X = H, F, CF₃, SCF₃)**

Kupfer(II)-Komplexe der methylierten Liganden konnten durch Zugabe einer methanolischen Lösung des Liganden zu einer methanolischen Lösung von Kupfer(II)nitrat-Trihydrat und anschließendem Refluxieren für 30 min dargestellt werden. Anschließend wurden die Komplexe durch Ausfällen in der Kälte (-25 °C, 48 h) erhalten.

Röntgenbeugungsexperimente an Einkristallen von $[Cu(\text{Mephen})_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$,
 $[Cu(\text{5FMephen})_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ und $[Cu(\text{H}_2\text{O})(\text{6FMephen})_2](\text{NO}_3)_2$

Einkristalle von $\text{Cu}(\text{Mephen})_2$ wurden durch langsames Abkühlen einer heiß gesättigten methanolischen Komplexlösung als grüne hexagonale Plättchen erhalten. Einkristalle von $[Cu(\text{5FMephen})_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ wurden durch Etherdiffusion in eine konzentrierte methanolische Lösung (versetzt mit einigen Tropfen Wasser) des Komplexes $\text{Cu}(\text{5FMephen})_2$ erhalten. Einkristalle von $[Cu(\text{H}_2\text{O})(\text{6FMephen})_2](\text{NO}_3)_2$ wurden wie für $[Cu(\text{5FMephen})_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ durch Etherdiffusion mit einer konzentrierten methanolisch-wässrigen Lösung des Komplexes erhalten.

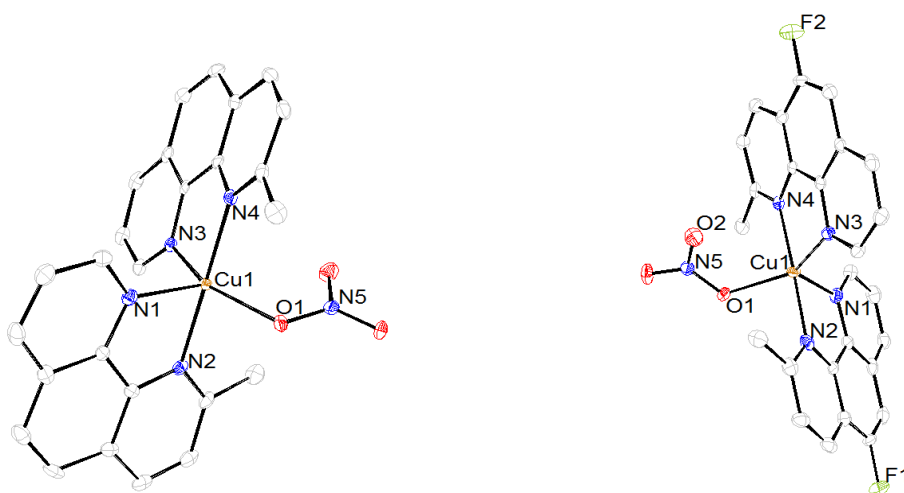


Abbildung 22: ORTEP-Darstellung des Molekülkations von $[Cu(\text{Mephen})_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ (links) und des Molekülkations von $[Cu(\text{5FMephen})_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ (rechts) (aus Gründen der Übersichtlichkeit ohne Darstellung der Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

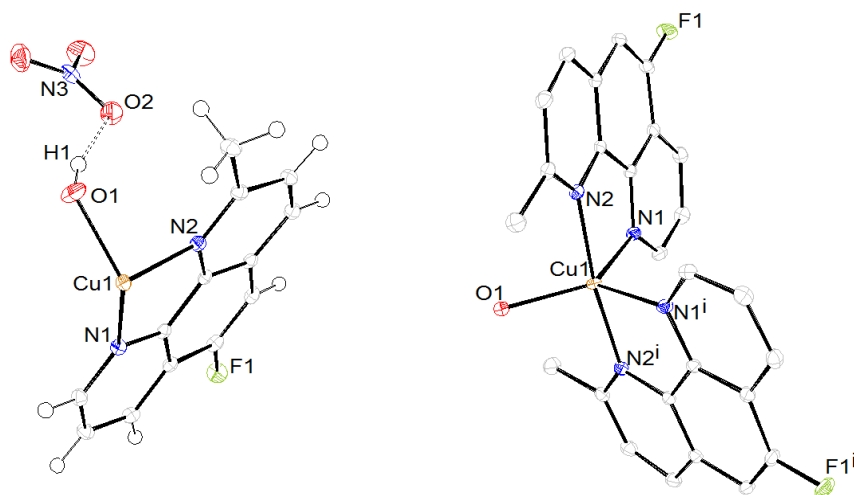


Abbildung 23: Asymmetrische Einheit (mit Wasserstoffatomen und Wasserstoffbrückenbindung) und Molekülstruktur (zu Gunsten der Übersichtlichkeit ohne Wasserstoffatome und Gegenionen) von $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})(6\text{FMephen})_2](\text{NO}_3)_2$ (thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

Die Fluorierung und die Position der Fluorierung am Mephen-Liganden haben keine Auswirkung auf die Koordinationsumgebung des Kupferzentrums. In allen drei Derivaten wird die Umgebung durch eine trigonal-bipyramidale Anordnung beschrieben. Die trigonale Ebene wird jeweils durch je ein N-Atom der beiden phen-Liganden und ein Sauerstoffatom eines weiteren Liganden (Nitrato- oder Aqua-Ligand) aufgespannt. Die axialen Positionen werden jeweils von dem Stickstoffatom der **Mephen**-Liganden, welches sich in direkter Nachbarschaft zur Methylgruppe befindet, besetzt. Die Molekülstruktur im Festkörper ist somit mit dem Bindungsmotiv in $[\text{Cu}(\text{Fphen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ vergleichbar.

Die größte Aufweitung der trigonalen Grundfläche wird bei **Cu(Mephen)₂** – der Winkel N3-Cu-O1 weicht mit ca. 146° um 26° von der Idealen ab – beobachtet. Diese Aufweitung ist für die fluorierten Varianten mit jeweils unter 15° wesentlich geringer, womit eine Fluorierung des Liganden die Verzerrung verringert. Die axialen Liganden stehen in allen Derivaten nahezu orthogonal zur trigonalen Grundfläche ($80^\circ \leq \varphi \leq 100^\circ$) und sind zueinander annähernd linear ($172^\circ \leq \varphi \leq 180^\circ$). Die Bindungslänge zwischen Kupferzentrum und axialen Bindungspartnern ist für alle Derivate mit 2.02 bis 2.03 Å äquivalent. Die Bindungslängen in der trigonalen Ebene zwischen dem Zentralatom und dessen Bindungspartnern variiert leicht und sind etwas kürzer für die Cu-O-Bindung (ca. 1.99 bis 2.04 Å) verglichen mit der Cu-N1-Bindung (ca. 2.09 bis 2.15 Å).

Tabelle 6: Ausgewählte Bindungslängen und -winkel in CuXMephen (X = 5F, 6F) und Cu(Mephen)₂.

Bindungslängen (Å)					
[Cu(Mephen) ₂ (ONO ₂)](NO ₃)		[Cu(5FMephen) ₂ (ONO ₂)](NO ₃)		[Cu(H ₂ O)(6FMephen) ₂](NO ₃) ₂	
Cu - N1	2.1500(16)	Cu - N1	2.103(2)	Cu - N1	2.0899(12)
Cu - N2	2.0186(16)	Cu - N2	2.020(2)	Cu - N2	2.0207(12)
Cu - N3	2.0256(16)	Cu - N3	2.042(2)	Cu - N1'	2.0898(12)
Cu - N4	2.0281(16)	Cu - N4	2.030(2)	Cu - N2'	2.0207(12)
Cu - O1	2.0087(14)	Cu - O1	2.0430(17)	Cu - O1	1.9903(17)
Bindungswinkel (°)					
[Cu(Mephen) ₂ (ONO ₂)](NO ₃)		[Cu(5FMephen) ₂ (ONO ₂)](NO ₃)		[Cu(H ₂ O)(6FMephen) ₂](NO ₃) ₂	
N1 - Cu - N2	80.51(6)	N1 - Cu - N2	81.10(9)	N1 - Cu - N2	81.50(5)
N1 - Cu - N3	106.77(6)	N1 - Cu - N3	117.70(8)	N1 - Cu - N1'	110.56(7)
N1 - Cu - N4	100.36(6)	N1 - Cu - N4	100.27(9)	N1 - Cu - N2'	94.47(5)
N1 - Cu - O1	106.81(6)	N1 - Cu - O1	108.30(8)	N1 - Cu - O1	124.72(3)
N2 - Cu - N3	95.94(6)	N2 - Cu - N3	98.46(8)	N2 - Cu - N1'	94.47(5)
N2 - Cu - N4	178.29(6)	N2 - Cu - N4	178.22(8)	N2 - Cu - N2'	172.96(7)
N2 - Cu - O1	86.33(6)	N2 - Cu - O1	86.82(8)	N2 - Cu - O1	93.52(3)
N3 - Cu - N4	82.41(6)	N3 - Cu - N4	81.94(8)	N1' - Cu - N2'	81.50(5)
N3 - Cu - O1	146.26(6)	N3 - Cu - O1	133.98(8)	N1' - Cu - O1	124.72(3)
N4 - Cu - O1	94.80(6)	N4 - Cu - O1	91.65(7)	N2' - Cu - O1	93.52(3)

3.2.2.6. Versuche zur Darstellung von *mixed-ligand*-Komplexe

Die Aktivität der Kupfer-Phenanthrolin-Komplexe ist abhängig vom sterischen Anspruch der Liganden (Auswirkung auf die Affinität zum Zielmolekül (dsDNA)) und dem Redoxpotential des Kupferzentrums (wichtig für die Aktivierung von O₂). Dabei kommt es auf feine Nuancen in der Wahl der Substituenten an. Somit war ein Ziel die Darstellung von Komplexen der Zusammensetzung [Cu(phen)L]²⁺ mit L als fluorhaltigem phen-Derivat. Damit sollte ein Feintuning des Redoxpotentials des Komplexes ermöglicht und der sterische Anspruch der Liganden möglichst gering gehalten werden. Dafür wurden verschiedene Synthesestrategien angewendet. Im ersten Fall wurden die Liganden und Kupfernitrat in äquimolaren Mengen umgesetzt. Die zweite Variante bestand darin [Cu(phen)(NO₃)₂] als Precursor, synthetisiert durch Umsetzung von Kupfernitrat mit einer äquimolaren Menge von 1,10-Phenanthrolin in Methanol, einzusetzen und diesen Komplex dann mit dem jeweiligen funktionalisierten Liganden umzusetzen. Dabei wurden die Lösemittel, Reaktionstemperatur und -zeit variiert. Erhalten wurde jeweils ein Gemisch aus einer Vielzahl von

Komplexen, die eine unterschiedliche Zusammensetzung aufwiesen. Darauf wurde aus den Resultaten von ESI-Massenspektren und Elementaranalysen geschlossen. Ein Grund für dieses Produktgemisch könnte im geringen Unterschied in der Bindungsaffinität der einzelnen Liganden zum Kupfer(II)-Zentrum liegen. Dies würde dann zu einem freien Austausch der Liganden in Lösung führen. Ungeachtet dessen wurden Röntgenstrukturanalysen von geeigneten Einkristallen aus den Reaktionslösungen durchgeführt. Zumeist handelte es sich hierbei um $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ -Spezies mit zwei unsubstituierten Phenanthrolin-Liganden.

Die Molekülstruktur eines *mixed-ligand*-Komplexes im Festkörper konnte darüber hinaus bestimmt werden. $[\text{Cu}(\text{phen})(\mathbf{6FMephen})(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ weist eine trigonal-bipyramidale Koordinationssphäre für das Zentralatom auf, wobei ein phen-Ligand und ein **6FMephen** über die Stickstoffatome und ein Nitrato-Ligand über Sauerstoff koordiniert ist (Abbildung 24). Das Nitrat-Gegenion liegt fehlgeordnet vor. Die Bindungslängen zum Zentralatom weisen keine großen Differenzen auf, obgleich die axialen Bindungen etwas kürzer (1.99 und 2.00 Å) sind als die Bindungen in der trigonalen Ebene (2.05, 2.09 und 2.10 Å). Diese asymmetrische Chelatisierung des Metallzentrums wurde von Deeth und Gerloch beschrieben, die dies auf die d^9 -Konfiguration von Kupfer(II) und dem nur einfach besetzten d_{z^2} -Orbital zurückführen.^[171] Ähnliche Strukturen wurden schon für andere hier beschriebene Komplexe beobachtet. Auch hier kommt es zur Ausbildung von π - π -Wechselwirkungen zwischen den planaren Kompartimenten. Hervorzuheben ist, dass die π - π -Kontakte lediglich zwischen gleichartigen Liganden ausgebildet sind, sprich zwischen Phenanthrolin und Phenanthrolin und zwischen **6FMephen** und **6FMephen** (Abbildung 25).

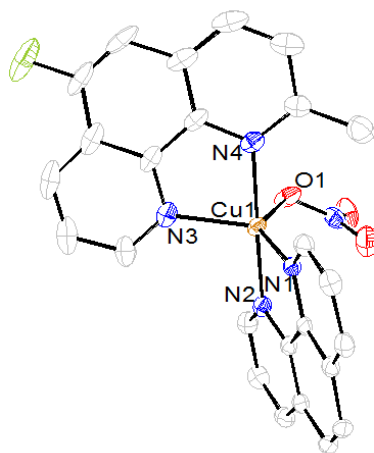


Abbildung 24: ORTEP-Abbildung des Molekülkations von $[\text{Cu}(\text{phen})(\mathbf{6FMephen})(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3) \times \text{H}_2\text{O}$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit ohne Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

Tabelle 7: Ausgewählte Bindungslängen und -winkel in $[\text{Cu}(\text{phen})(6\text{FMephen})(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3) \times \text{H}_2\text{O}$.

Bindungslängen (Å) / Bindungswinkel (°)			
Cu - N1	2.054(2)	N1 - Cu - O1	137.08(8)
Cu - N2	1.986(2)	N2 - Cu - N3	98.50(9)
Cu - N3	2.087(2)	N2 - Cu - N4	177.76(9)
Cu - N4	2.003(2)	N2 - Cu - O1	88.63(8)
Cu - O1	2.0955(19)	N3 - Cu - N4	81.86(9)
N1 - Cu - N2	82.00(8)	N3 - Cu - O1	102.66(8)
N1 - Cu - N3	120.10(8)	N4 - Cu - O1	89.14(8)
N1 - Cu - N4	99.75(9)		

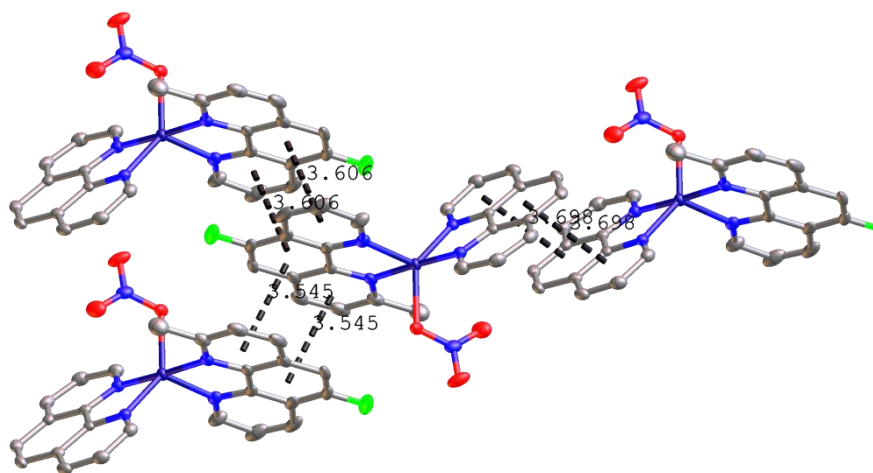
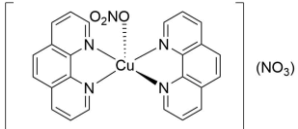
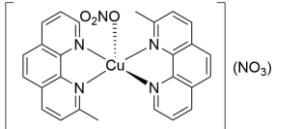
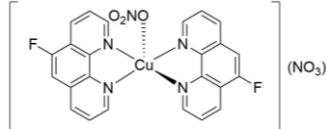
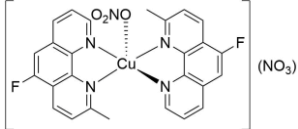
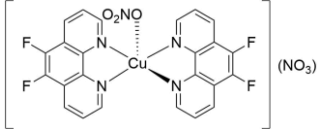
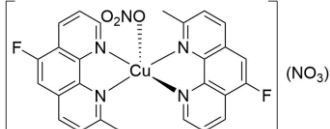
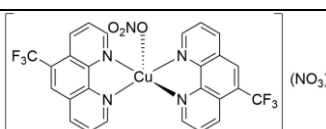
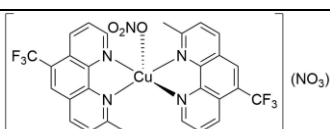
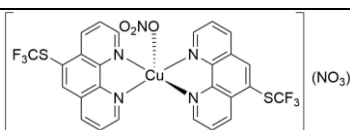
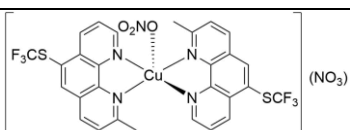
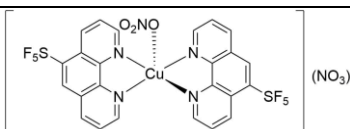


Abbildung 25: OLEX²-Darstellung der intermolekularen π - π -Wechselwirkungen im Festkörper von $[\text{Cu}(\text{phen})(6\text{FMephen})(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3) \times \text{H}_2\text{O}$ (aus Gründen der Übersichtlichkeit Abbildung ohne Wasserstoffatome; thermische Ellipsoide mit 50 % Aufenthaltswahrscheinlichkeit).

3.2.2.7. Übersicht über alle dargestellten Komplexe

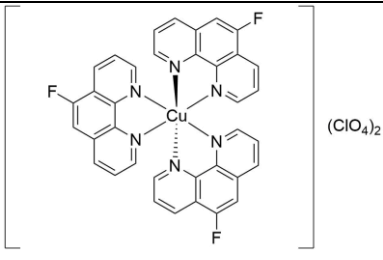
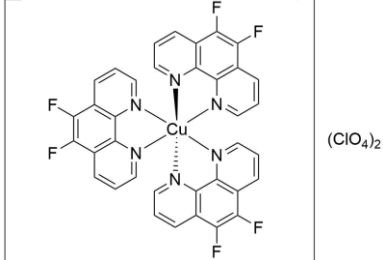
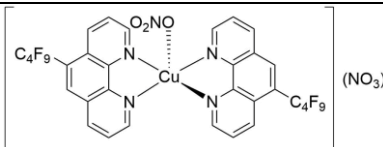
Es konnten sechs fluorhaltige Kupfer(II)komplexe des Typs $[\text{Cu}(\text{L1})_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ ($\text{L1} = \mathbf{Xphen}$ mit $\mathbf{X} = \text{F}, \text{F}_2, \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5, \text{pFBu}$) und vier fluorhaltige Kupfer(II)komplexe des Typs $[\text{Cu}(\text{L2})_2(\text{ONO}_2)](\text{NO}_3)$ ($\text{L2} = \mathbf{XMephen}$ mit $\mathbf{X} = \text{F}, \text{CF}_3, \text{SCF}_3$) dargestellt, isoliert und charakterisiert werden. Zudem wurden jeweils die unsubstituierten (nicht-fluorierten) Analoga dargestellt. Darüber hinaus konnten Komplexe der Zusammensetzung $[\text{Cu}(\text{L3})_3](\text{ClO}_4)_2$ ($\text{L3} = \mathbf{Xphen}$ mit $\mathbf{X} = \text{F}, \text{F}_2$) erhalten werden. In den folgenden Tabellen sind alle charakterisierten Komplexe aufgelistet – zum einen die Komplexe, die für DNA-Bindungs- und Spaltstudien genutzt wurden und zum anderen die restlichen Komplexe. Der *mixed-ligand*-Komplex ist hier nicht aufgeführt, da hier lediglich eine Festkörperstruktur erhalten wurde, die zur Charakterisierung genutzt wurde.

Tabelle 8: Dargestellte Komplexe (idealisierte Darstellung ohne nachgewiesene Koordinationsumgebung), die für biologische Untersuchungen genutzt wurden.

Name	Struktur	Name	Struktur
Cu(phen)₂		Cu(Mephen)₂	
Cu(Fphen)₂		Cu(5FMephen)₂	
Cu(F₂phen)₂		Cu(6FMephen)₂	
Cu(CF₃phen)₂		Cu(CF₃Mephen)₂	
Cu(SCF₃phen)₂		Cu(SCF₃Mephen)₂	
Cu(SF₅phen)₂			

Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe/Ergebnisse

Tabelle 9: Dargestellte Komplexe (idealisierte Darstellung ohne nachgewiesene Koordinationsumgebung), die nicht für biologische Untersuchungen genutzt wurden (Grund für die unterbliebene Untersuchung der Bioaktivität siehe Anmerkung).

Name	Struktur	Anmerkung
Cu(Fphen)₃		<ul style="list-style-type: none"> • Ligand/Kupfer-Verhältnis = 3/1 • DNA-Bindungsstudien und DNA-Spaltversuche nur mit Komplexen der Zusammensetzung Ligand/Kupfer = 2/1 • Geringe Wasserlöslichkeit
Cu(F₂phen)₃		<ul style="list-style-type: none"> • Ligand/Kupfer-Verhältnis = 3/1 • DNA-Bindungsstudien und DNA-Spaltversuche nur mit Komplexen der Zusammensetzung Ligand/Kupfer = 2/1 • Geringe Wasserlöslichkeit
Cu(pFBuphen)₂		<ul style="list-style-type: none"> • Geringe Wasserlöslichkeit auch bei Beimengung von MeCN zur Löslichkeitserhöhung

3.2.3. Elektrochemische Untersuchung der Kupferkomplexe

Da die Generierung von ROS wie zu Beginn beschrieben einem Redoxprozess in Form eines $\text{Cu}^{+/2+}$ -Zyklus zugrunde liegt, ist die Bestimmung der Redoxpotentiale der einzelnen Komplexe, sowie der Reversibilität des Redoxprozesses von grundlegender Bedeutung für die Evaluation der Bioaktivität der hier dargestellten Kupfer(II)-Komplexe.

Die hier gezeigten Cyclovoltammogramme (Abbildung 26) zeigen für alle Komplexe quasi-reversible Redoxvorgänge mit auffällig höheren Stromspitzen für **$\text{Cu}(\text{CF}_3\text{phen})_2$** und **$\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{phen})_2$** während der Reoxidation des Komplexes zur Kupfer(II)-Spezies, die auf eine Adsorption des Komplexes an der Elektrode hinweisen. Die Cyclovoltammogramme zeigen zudem eine Verschiebung des Redoxpotentials vom unsubstituierten **$\text{Cu}(\text{phen})_2$** (-0.32 V) über das einfach fluoriierte **$\text{Cu}(\text{Fphen})_2$** (-0.23 V) zum zweifach fluoriierten **$\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2$** (-0.11 V) zu höheren Redoxpotentialen von über 200 mV. Interessanterweise scheint die Erhöhung des Redoxpotentials durch die Fluorsubstitution additiv zu sein, so dass das Potential des Komplexes um ca. 100 mV pro Fluorsubstitution des Liganden positiver ist. Eine Mehrfachfluorierung führt somit zu einer erhöhten Stabilisierung der Kupfer(I)-gegenüber der Kupfer(II)-Spezies. Allgemein kann man argumentieren, dass durch die Fluorierung die Elektronendichte im phen-Liganden und die Basizität der Stickstoffatome sinkt und somit auch die Elektronendichte am Kupferzentrum sinkt. Die geringe Elektronendichte führt wiederum zur Stabilisierung der Oxidationsstufe +I von Kupfer und allgemein zu einer leichteren Reduktion der entsprechenden Kupfer(II)-Spezies.

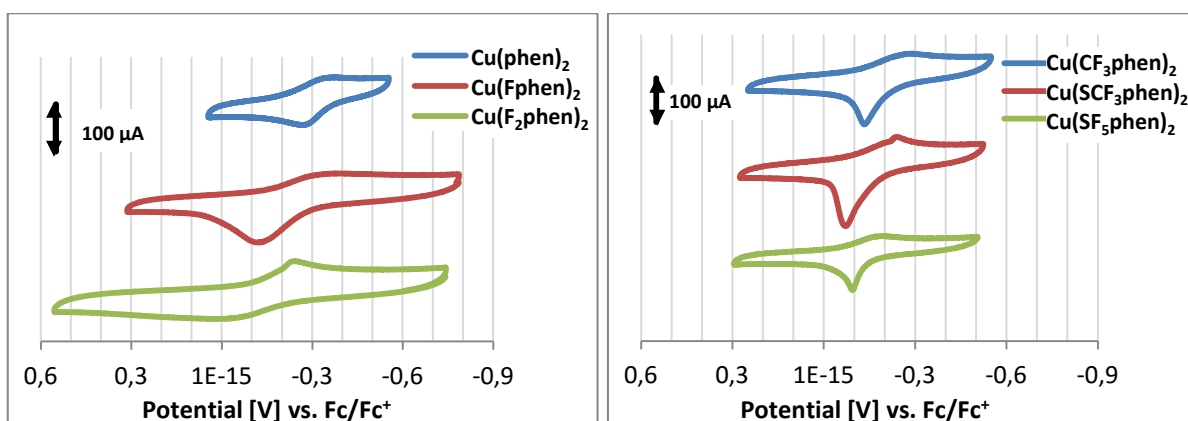


Abbildung 26: Cyclovoltammogramme der Komplexe $\text{Cu}(\text{Xphen})_2$ ($\text{X} = \text{H}, \text{F}, \text{F}_2, \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5$) in einer KCl-Lösung bei Raumtemperatur mit einer Vorschubgeschwindigkeit von $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ gegen Ferrocen ($E_{1/2, \text{Ferrocen}} = 0 \text{ V}$) referenziert.

Die größeren Substituenten CF_3 , SCF_3 und SF_5 führen entsprechend ihrer induktiven Effekte (stark elektronenziehende Liganden, positive Hammett-Parameter, siehe Tabelle 1) ebenfalls zu einer Erhöhung der Redoxpotentiale der entsprechenden Kupferkomplexe. Die Werte liegen zwischen den

Redoxpotentialen von **Cu(Fphen)₂** und **Cu(F₂phen)₂**. Überraschend ist hierbei, dass kein Substituent eine solch starke Erhöhung des Redoxpotentials nach sich zieht wie die zweifache Fluorierung des Liganden in **F₂phen**. Interessant wäre, ob auch die Einführung eines zweiten Substituenten wie der SCF₃-Gruppe in **SCF₃phen** zu einer additiven Erhöhung des Redoxpotentials des jeweiligen Kupferkomplexes führen würde. So könnte das Gleichgewicht zwischen Kupfer(II)- und Kupfer(I)-Komplex noch weiter Richtung Kupfer(I)-Komplex verschoben werden.

Tabelle 10: Redoxpotential $E_{1/2}$ ausgewählter Kupferkomplexe mit Liganden Xphen (X = F, F₂, CF₃, SCF₃, SF₅).

Komplex	$E_{1/2}$ (V)
Cu(phen)₂	-0.32
Cu(Fphen)₂	-0.23
Cu(F₂phen)₂	-0.11
Cu(CF₃phen)₂	-0.21
Cu(SCF₃phen)₂	-0.16
Cu(SF₅phen)₂	-0.14

Die Komplexe mit methyliertem Liganden **Cu(Mephen)₂**, **Cu(5FMephen)₂**, **Cu(6FMephen)₂**, **Cu(CF₃Mephen)₂** und **Cu(SCF₃Mephen)₂** wurden ebenfalls auf ihr Redoxpotential untersucht. Das Redoxpotential lag für alle methylierten Derivate bei höheren Werten als für die nicht-methylierten Analoga, was mit dem sterischen Anspruch der Methylgruppen in direkter Nachbarschaft zum Donoratom der Liganden erklärt werden kann. Kupfer(II)-Verbindungen haben eine oktaedrische Koordinationsumgebung (bzw. quadratisch-planar oder trigonal-bipyramidal), während Kupfer(I)-Verbindungen eine tetraedische Koordinationsumgebung aufweisen. Die Methylgruppen des einen phen-Liganden überlappen mit den Wasserstoffatomen des anderen phen-Liganden (Position in direkter Nachbarschaft der Donoratome), wodurch es zu einer sterischen Hinderung von Methylgruppe und Wasserstoffatom kommt (Abbildung 27, beispielhaft an einer quadratisch-planaren Struktur, ähnliches gilt für trigonal-bipyramidale und oktaedrische Strukturen). Solch eine Annäherung wird in einer tetraedischen Umgebung umgangen. Dies ist auch der Grund für die Stabilisierung der Oxidationsstufe +I des Kupferzentrums im Kupfer-Neocuproin-Komplex [Cu(neocuproin)₂]⁺. Bei den nicht-methylierten Derivaten wie [Cu(phen)₂]²⁺ ist die sterische Hinderung wesentlich geringer und die Oxidationstufe +II wird präferiert. Dementsprechend sind die Redoxpotentiale der Kupferkomplexe mit einer Substitution der phen-Liganden in Position 2 bzw. 2 und 9 höher als die der unsubstituierten Analoga.

Darstellung und Charakterisierung der Liganden und Komplexe/Ergebnisse

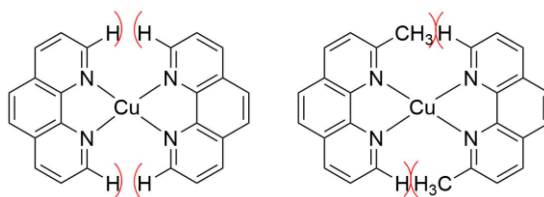


Abbildung 27: Sterische Hinderung in $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ -Derivaten (exemplarische planare Anordnung der phen-Liganden, links: unsubstituierte Liganden, rechts: methylierte Liganden).

Innerhalb der Gruppe der Kupferkomplexe mit methylierten Liganden kann ein ähnlicher Trend wie in der Gruppe der Komplexe $\text{Cu}(\text{Xphen})_2$ ($\text{X} = \text{H}, \text{F}, \text{CF}_3, \text{SCF}_3$) beobachtet werden, wenn auch die Erhöhung des Redoxpotentials mit fluorierten Substituenten (größerer -I-Effekt) nicht so stark ausgeprägt ist (elektronisch betrachtet heben sich die Effekte der Methyl- und Fluor-Substituenten auf). Auch hier handelt es sich um einen quasi-reversiblen Redoxprozess.

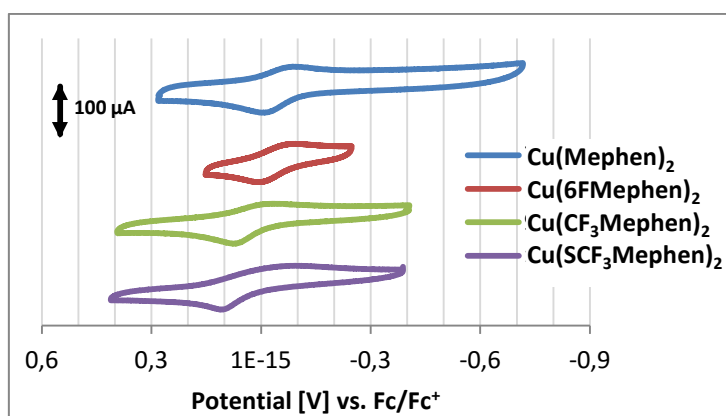


Abbildung 28: Cyclovoltammogramme der Komplexe $\text{Cu}(\text{XMephen})_2$ ($\text{X} = \text{H}, 6\text{F}, \text{CF}_3, \text{SCF}_3$) in einer Kaliumchlorid-Lösung bei Raumtemperatur mit einer Vorschubgeschwindigkeit von $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ gegen Ferrocen ($E_{1/2, \text{Ferrocen}} = 0 \text{ V}$) referenziert.

Tabelle 11: Redoxpotentiale $E_{1/2}$ ausgewählter Kupferkomplexe mit methylierten Liganden XMephen ($\text{X} = \text{F}, \text{CF}_3, \text{SCF}_3$).

Komplex	$E_{1/2}$
$\text{Cu}(\text{Mephen})_2$	- 0.05
$\text{Cu}(5\text{FMephen})_2$	+ 0.01
$\text{Cu}(6\text{FMephen})_2$	- 0.04
$\text{Cu}(\text{CF}_3\text{Mephen})_2$	+ 0.01
$\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{Mephen})_2$	+ 0.01

4. Biologische Aktivität der Kupferkomplexe

4.1. Methoden und Allgemeines

4.1.1. Charakterisierung der Bindung an CT-DNA

Für die Analyse der Wechselwirkung zwischen Metallkomplexen und größeren Biomolekülen stehen diverse Methoden zur Verfügung. Im Folgenden werden die Grundlagen solcher Methoden vorgestellt, mit denen die Wechselwirkung mit CT-DNA untersucht und charakterisiert werden kann. Hierbei können sowohl Erkenntnisse zur Änderung der Sekundärstruktur der DNA (CD-Spektroskopie) als auch zum Bindungsmodus (z.B. Interkalation: DNA-Schmelzpunkt-Bestimmung und Ethidiumbromid-Verdrängung) gewonnen werden.

4.1.1.1. Zirkularer Dichroismus

Chirale Moleküle, beispielsweise Enantiomere oder helikale Makromoleküle wie DNA (axiale Chiralität), können durch Zirkulardichroismus unterschieden werden. Ausgenutzt wird hierbei, dass ein spezifisches Enantiomer ein unterschiedliches Absorptionsverhalten für links- und rechtszirkulierendes Licht (A_L und A_R) zeigt. Für achirale Moleküle oder Racemate gilt hingegen: $A_L - A_R = \Delta A = 0$. Der Zirkulardichroismus ist wie folgt nach dem Lambert-Beer'schem Gesetz definiert:

$$\Delta A = (\epsilon_L - \epsilon_R) * d * c = \Delta \epsilon * d * c$$

mit ϵ als molaren Extinktionskoeffizienten, d als Schichtdicke der Küvette und c , der Konzentration der Lösung in der Küvette.

Chirale Biomoleküle wie CT-DNA oder Proteine eignen sich besonders für Bindungsstudien mittels Zirkulardichroismus. CT-DNA liegt meistens in einer bestimmten Konfiguration, der B-Form, vor. Dabei handelt es sich um eine rechtshändige Doppelhelix mit einem Durchmesser von ca. 23.7 Å und einer Länge von ca. 35.4 Å pro Windung. Die Basenpaare stehen bei dieser Form orthogonal zur Helixachse.^[172] Diese Form der DNA weist ein spezifisches CD-Spektrum auf, wobei zwei charakteristische Banden unterschieden werden. Eine negative Bande bei ungefähr 240 nm, welche die Helizität widerspiegelt, und eine positive Bande bei ca. 270 nm, welche aus der Basenstapelung resultiert.^[173]

Wird auf Grund von veränderten Bedingungen (z.B. Wassergehalt, Salzkonzentration, Bindung an kleine Moleküle) die Konfiguration der DNA geändert, so verändert sich auch das CD-Spektrum signifikant. In DNA-Filmschichten kann bei einer geringen Luftfeuchte ($\leq 75\%$ relative Luftfeuchte) die DNA in eine A-Form übergehen, welche beispielsweise bei RNA-RNA-Duplexen und RNA-DNA-Hybriden beobachtet wird.^[172,174,175] Sie weist eine kompaktere Struktur als B-DNA auf, wobei der Durchmesser der Doppelhelix mit 25.5 \AA fast 2 \AA größer und die Länge mit 25.3 \AA mehr als 10 \AA pro Windung kürzer ist.^[172] Die Basenpaare sind hier nicht mehr orthogonal zur Helixachse angeordnet. Das CD-Spektrum zwischen 200 und 320 nm weist deutliche Unterschiede gegenüber dem Spektrum der B-Form auf, so ist die positive Bande mit einer größeren Elliptizität zu kürzeren Wellenlängen verschoben (Blaushift, ca. 280 nm \rightarrow ca. 265 nm), die negative Bande bei 240 nm annähernd gequencht und eine weitere negative Bande bei niedrigerer Wellenlänge vorhanden (ca. 210 nm).^[174,176] Die dritte Form – der nach gängigen Meinungen biologisch aktiven DNA-Doppelhelix-Formen – ist Z-DNA, welche beispielsweise bei sehr hohen Salzkonzentrationen vorliegt.^[177,178] Diese ist im Gegensatz zur A- und B-Form linkshändig mit einer, wie in der B-Form beobachteten, orthogonalen Anordnung der Basenpaare bezüglich der Helixachse.^[172] Das CD-Spektrum der Z-DNA weist gravierende Unterschiede zu den Spektren der anderen Formen auf. Vielmehr liegt hier eine Inversion der Banden vor (negativer Cotton-Effekt) mit einer positiven Bande bei ungefähr 275 nm und einer negativen Bande bei höherer Wellenlänge (ca. 295 nm).^[176]

Betrachtet man den Farbstoff Neutralrot (NR, Abbildung 29), der im NRU-Test (*neutral red uptake*) zur Untersuchung der Zellviabilität Verwendung findet, bei der Interaktion mit CT-DNA, so kann man solche Konformationsänderungen der DNA beobachten.^[179] Im leicht sauren Medium bei $\text{pH} = 6$ mit einem Verhältnis CT-DNA/NR = R = 10

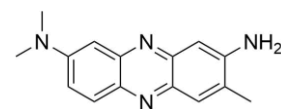


Abbildung 29: Neutralrot
($\text{pH} \geq 7.5$).

zeigt sich im CD-Spektrum eine minimale Steigerung des Betrags der Elliptizität für die negative und die positive Bande, was für eine Beibehaltung der absoluten DNA-Konformation spricht. Als Bindungsmodus kommen hierfür Furchenbindung und Interkalation in Frage. Erhöht man die Konzentration von Neutralrot bis $R = 0.4$ bei konstantem pH-Wert, so nimmt die Intensität der negativen als auch der positiven Bande ab und eine neue positive und negative Bande bei 263 respektive 287 nm formen sich. Das Binden von positiv geladenen Neutralrot-Molekülen ($\text{pH} = 6$) an die CT-DNA scheint somit einen Konformationswechsel von der rechtshändigen B-Form zur linkshändigen Z-Form zur Folge zu haben. Bei neutralem pH-Wert ($\text{pH} = 7.2$) hingegen ist eine Konformationsänderung von der B-Form in die C-Form – eine weitere nicht-physiologische Form der DNA – zu beobachten, welche sich durch eine erhöhte Helizität (stärkere Windung, größere Intensität

der negativen Bande) und eine schwächere Wechselwirkung zwischen den gestapelten Basen (Interkalation der NR-Moleküle, Abnahme der Intensität der positiven Bande) kennzeichnet.

Konformationsänderungen an CT-DNA werden auch durch Cu-Phenanthrolin-Systeme hervorgerufen. Während Kupfer(II)-Komplexe mit den methylierten Phenanthrolin-Derivaten 5-Methylphen und 4-Methylphen nur kleine Änderungen des CD-Spektrums hervorrufen (zusätzliche positive Bande bei 265 nm, Bindung der Komplexe an der asymmetrischen Oberfläche der Doppelhelix), tritt bei dem Kupfer(II)-Komplex mit 5,6-Dimethylphen eine Konformationsänderung von der B- in die Z-Form der DNA auf, gekennzeichnet durch die Inversion des CD-Spektrums.^[173]

4.1.1.2. DNA-Schmelztemperatur

Doppelsträngige DNA (dsDNA) besitzt eine, abhängig von der Beschaffenheit des Makromoleküls, spezifische Schmelztemperatur.^[180] Hierbei spielen unter anderem die Sequenz und die Länge der Primärstruktur eine wichtige Rolle.^[181–183] Bei der DNA-Schmelztemperatur handelt es sich nicht um einen Schmelzpunkt im klassischen physikalischen Sinn. Vielmehr versteht man hierunter die Denaturierung des Moleküls, also die Spaltung des Doppelstranges in dessen Einzelstränge. Die Schmelztemperatur gibt dann die Temperatur an, bei der 50 % der DNA denaturiert vorliegt.^[172] Ausgenutzt wird hierbei die unterschiedliche Absorption von ultraviolettem Licht von Doppel- und Einzelstrang-DNA (Hyperchromie bei Denaturierung). Zur Auswertung wird die Absorption in Temperaturabhängigkeit bei 260 nm gemessen, da bei dieser Wellenlänge die Differenz der Absorption am größten ist.

Wenn kleine Moleküle mit dsDNA wechselwirken, können sie diese entweder stabilisieren oder destabilisieren.^[184] Eine Destabilisierung führt zu einer Erniedrigung der Schmelzpunktes, wie es zum Beispiel bei Wechselwirkung mit Prolin oder Betain der Fall ist.^[185,186] Kupfer(II)-Ionen führen ebenso zu einer Abnahme des Schmelzpunktes von dsDNA, da diese an den Basen der DNA binden und somit die Ausbildung von stabilisierenden Wasserstoffbrücken zwischen den Basen verhindern.^[187,188] Die Doppelhelix kann jedoch auch durch Kationen stabilisiert werden, wenn diese eine höhere Affinität für das Phosphat des DNA-Rückgrats aufweisen. So erhöhen beispielsweise größere Konzentrationen von K^+ - oder Mg^{2+} -Ionen die Schmelztemperatur von dsDNA, da hierdurch die elektrostatische Abstoßung der negativen Ladungen im Phosphatrückgrat der DNA verringert wird.^[189,190] Nicht-kovalent bindende Moleküle (Interkalatoren und Furchenbinder) können ebenso zu einer Stabilisierung der Doppelhelix und somit zu einer Erhöhung der Schmelztemperatur führen.^[191] Es

sind jedoch auch Beispiele bekannt, in denen kleine Moleküle die DNA partiell destabilisieren, wenn sie eine hohe Affinität für andere DNA-Strukturen wie Hairpins oder Einzelstrang-DNA zeigen.^[192,193]

4.1.1.3. Ethidiumbromid-Verdrängung

Ethidiumbromid (EtBr) ist ein organisches Molekül, welches ein planares Phenanthridin-Gerüst aufweist (Abbildung 30). Es ist in der Lage zwischen die Nucleobasen der DNA zu interkalieren und wird daher unter anderem zum Anfärben von Agarosegelen verwendet (siehe auch Agarose-Gelelektrophorese).^[194,195]

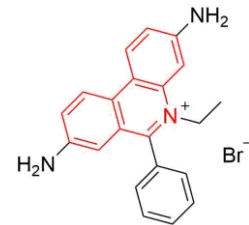


Abbildung 30: Struktur von EtBr (rot: Phenanthridin-Gerüst).

Diese Eigenschaft kann genutzt werden, um die Bindung von Metallkomplexen an DNA zu charakterisieren. Besitzen die zu untersuchenden Metallkomplexe planare oder teilweise planare Liganden und sind in der Lage zwischen die Nucleobasen der DNA zu interkalieren, so konkurrieren diese mit dem Ethidiumbromid um die freien Stellen in der DNA. Ethidiumbromid zeigt hierbei im gebundenen Zustand (Interkalation in die DNA) eine erhöhte Emission im Fluoreszenzspektrum gegenüber dem ungebundenen Zustand (freies Ethidiumbromid).^[196] Im freien Zustand wird die Fluoreszenz von Ethidiumbromid hingegen durch Wassermoleküle gequenchet.

Besteht nun eine Konkurrenz zwischen Metallkomplex und Ethidiumbromid bezüglich der Interkalation in die DNA, so geht bei Zugabe des Komplexes ein Teil des EtBr vom gebundenen in den freien Zustand über und die Fluoreszenz wird gequenchet. Die beobachtete Hypochromie steht dabei in einem linearen Verhältnis zur verdrängten Menge an EtBr.^[197] Durch diesen Zusammenhang kann die Stärke der Bindung des Metallkomplexes an DNA quantifiziert werden. Umso stärker die Bindung des Komplexes an die DNA ist, desto größer ist die zu beobachtende Hypochromie.

Als mathematische Grundlage dient hierbei die Stern-Volmer-Gleichung, die für die Fluoreszenzlöschung angewendet werden kann. Mit ihr kann wie folgt die Stern-Volmer-Konstante bestimmt werden:

$$I_0/I - 1 = K_{SV} * [Q]$$

I_0 ist die Fluoreszenz des vollständig gebundenen EtBr und I die Fluoreszenz des teilweise gebundenen EtBr. $[Q]$ ist die Konzentration des Fluoreszenz-Quenchers – im vorliegenden Fall die Konzentration des Metallkomplexes – und K_{SV} die Stern-Volmer-Konstante, welche somit ein Maß für die Stärke der Bindung des Metallkomplexes an die DNA ist.

Mithilfe von K_{SV} kann die Bindungskonstante K_{app} (*apparent binding constant*) bestimmt werden. Hierfür dient als Maß die Konzentration des Quenchers, die eine Fluoreszenzlöschung von 50% hervorruft, also:

$$I_0/I = 2 \quad \rightarrow \quad [Q]_{50\%} = 1/K_{SV}$$

$$[EtBr] * K_{EtBr} = [Q] * K_{app}$$

K_{EtBr} ist die Bindungskonstante von EtBr an DNA und bekannt.^[198]

K_{app} kann nun für die Quantifizierung der Bindungsstärke des Komplexes an die DNA herangezogen werden. Größere Werte zeigen üblicherweise eine größere Fähigkeit zur Interkalation der betreffenden Substanzen zwischen Nukleobasen an. Jedoch gibt es Beispiele in der Literatur, bei denen die Verdrängung des Ethidiumbromids durch andere Mechanismen begründet wird. Als Beispiel hierfür dient $[Cu(5,6\text{-dimethylphen})_2]^{2+}$, welches nicht durch Interkalation an die DNA bindet, jedoch zur vollständigen Verdrängung von Ethidiumbromid führt.^[173] Hervorgerufen wird dies durch eine Konformationsänderung der DNA von der B- in die Z-Form (weitere Erläuterungen siehe Zirkulardichroismus) und der damit einhergehenden Hemmung der Interkalation von Ethidiumbromid. Trotz dessen ist es auch in diesem Fall ein Maß für die Affinität des Komplexes zum DNA-Doppelstrang.

4.1.2. Charakterisierung der Spaltung von Plasmid-DNA

4.1.2.1. Agarose-Gelelektrophorese

Bei der Agarose-Gelelektrophorese handelt es sich um eine Standardmethode, die es ermöglicht verschiedene Formen von RNA und DNA nach ihrer Form und Größe zu trennen. Dadurch können Aussagen über die Quantität der einzelnen, in einer Probe nach einem Spaltexperiment vorliegenden Formen getroffen werden.

Im vorliegenden Fall wird Plasmid-DNA (pBR322) verwendet, die ursprünglich in einer superspiralisierten Form (*supercoiled* DNA, Form 1) vorliegt. Diese kann durch Einwirken von bestimmten Molekülen (Metallkomplexe, DNA-Scheren) durch Bindungsbruch im DNA-Rückgrat entwunden werden. Ein einfacher Bindungsbruch führt zur Bildung der offenkettigen Form von DNA (*open circular*, Form 2). Wird das DNA-Rückgrat in relativer Nähe zueinander zweimal geschnitten, bildet sich die lineare Form der DNA (Form 3). Durch mehrere Bindungsbrüche kann die DNA auch in fragmentierter Form vorliegen.

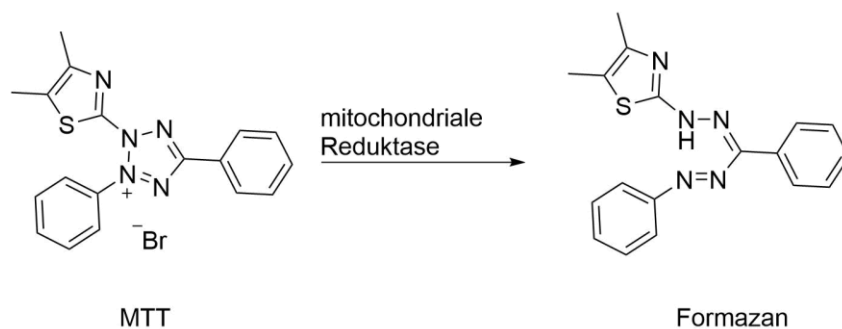
Nach einem Spaltexperiment werden die Proben in ein Agarose-Gel eingebracht. Dieses besteht aus einem vernetzten Polymer, welches Poren unterschiedlicher Größe aufweist. Legt man eine äußere Spannung an, so wandern die DNA-Formen – aufgrund des negativ geladenen Phosphatrückgrats und der daraus resultierenden elektrostatischen Wechselwirkung – ihrer Gestalt entsprechend unterschiedlich schnell durch das Gel.^[199] Die *supercoiled*-Form weist hierbei die kompakteste Gestalt auf und wandert am schnellsten durch das Gel, gefolgt von der linearen Form. Die größte Retention weist die *open circular*-Form auf.

Die Visualisierung der DNA erfolgt mit Hilfe der Fluoreszenz von Ethidiumbromid, welches zuvor in das Gel eingebracht wird. Bindet der klassische Interkalator EtBr an DNA, so steigt dessen Fluoreszenz-Emission um ein Vielfaches. Die Proportionalität zwischen DNA-Menge und Emissionsintensität kann genutzt werden und über photographische Aufnahmen zur Quantifizierung der DNA-Formen genutzt werden.^[197] Hierbei muss jedoch beachtet werden, dass Ethidiumbromid schlechter an DNA in der *supercoiled*-Form bindet, weshalb bei den Berechnungen ein Korrekturfaktor von 1.22 mit einbezogen wird.^[200]

4.1.3. Bestimmung der Zytotoxizität

4.1.3.1. MTT-Assay

Der MTT-Test wird genutzt, um die Überlebensrate von Zellen zu visualisieren und zu evaluieren.^[201] Er basiert dabei auf der in lebenden Zellen stattfindenden Metabolisierung des gelben, wasserlöslichen 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid-Salzes (MTT) zu wasserunlöslichem, lilafarbenem Formazan. Die Anzahl lebender Zellen kann so photometrisch bestimmt werden. Neben einer NADH/NADPH-abhängigen Reduktion sind hierbei eine Reihe weiterer Reduktionsmechanismen in den Zellen involviert.^[202]



Schema 23: Reduktion von MTT in lebenden Zellen.

4.2. Evaluation der DNA-Bindung

4.2.1. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2]^{2+}$ ($\text{X} = \text{H}, \text{F}, \text{F}_2, \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5$)

4.2.1.1. DNA-Schmelzkurven

Für die Standardexperimente betrug das Verhältnis CT-DNA zu Komplex 10:1 und es wurden zwei verschiedene Puffersysteme verwendet, um einen Einfluss des Puffers auszuschließen – Tris kann aufgrund der hohen Bindungskonstante zu Kupfer(II) mit dem zweiten phen-Liganden um die Bindungsstelle am Kupfer konkurrieren.^[203] Eine Auswahl an Substraten in MOPS-Puffer (pH = 7.4, 10 mM) wies – verglichen mit denselben Substraten in Tris-HCl-Puffer (pH = 7.4, 10 mM) – geringere Schmelztemperaturen auf, wobei die absoluten Werte für die Schmelzpunkterhöhung im gleichen Rahmen lagen. Daraufhin wurden die Experimente für alle Substrate in Tris-HCl-Puffer durchgeführt (Abbildung 31).

Tabelle 12: Schmelzpunkte und Schmelzpunktdifferenz für DNA-Komplex-Addukte.

Substrat	T_m	ΔT_m
ctDNA	$73.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$	-
DNA-Cu(phen) ₂	$85.7 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$	$12.7 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$
DNA-Cu(Fphen) ₂	$80.7 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$	$7.7 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$
DNA-Cu(F ₂ phen) ₂	$78.1 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$	$5.1 \pm 0.3 \text{ }^\circ\text{C}$
DNA-Cu(CF ₃ phen) ₂	$75.7 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$	$2.7 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$
DNA-Cu(SCF ₃ phen) ₂	$74.3 \pm 0.3 \text{ }^\circ\text{C}$	$1.3 \pm 0.4 \text{ }^\circ\text{C}$
DNA-Cu(SF ₅ phen) ₂	$74.8 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$	$1.8 \pm 0.3 \text{ }^\circ\text{C}$

Alle hier untersuchten Kupferkomplexe zeigten eine Erhöhung und damit Stabilisierung der Doppelhelix (Tabelle 12). Somit kann zunächst auch ausgeschlossen werden, dass freie Kupfer(II)-Ionen vorliegen, da diese zu einer Schmelzpunkt-Erniedrigung führen würden.^[187] Es konnten jedoch sehr unterschiedliche Grade der Stabilisierung festgestellt werden. Die größte Schmelztemperatur wurde für CT-DNA nach Inkubation mit **Cu(phen)₂** ($\Delta T_m = +12.7 \text{ }^\circ\text{C}$) gefolgt von **Cu(Fphen)₂** ($\Delta T_m = +7.7 \text{ }^\circ\text{C}$) gemessen. Ein weiterer Fluorsubstituent in Position 6 am Liganden des Kupferkomplexes führte zu einer geringeren Erhöhung der Schmelztemperatur der DNA und somit zu einer geringeren Stabilisierung der Doppelhelix verglichen mit **Cu(Fphen)₂**. Eine Möglichkeit für die geringere Schmelztemperatur könnte eine geringere Affinität des Kupferkomplexes für dsDNA sein. Eine Erklärung für die geringere Affinität könnte wiederum der sterische Anspruch der Fluorsubstituenten sein, welche einen größeren Raumanspruch als Wasserstoffatome aufweisen

(1.47 Å vs. 1.20 Å) – geringere Affinitäten wurden auch für 5-CH₃-phen und 5-NO₂-phen beobachtet.^[44,173] Diese These wird durch die Beobachtung gestützt, dass größere Substituenten zu einer wesentlich geringeren Stabilisierung der DNA-Doppelhelix führen als **Cu(Fphen)₂** und **Cu(F₂phen)₂**. Gemäß des sterischen Anspruchs der Substituenten in den Komplexen wurde eine DNA-Schmelzpunkterhöhung in folgender Abfolge aufgezeigt:

T_m-Erhöhung: **Cu(phen)₂** > **Cu(Fphen)₂** > **Cu(F₂phen)₂** > **Cu(CF₃phen)₂** > **Cu(SF₅phen)₂** > **Cu(SCF₃phen)₂**

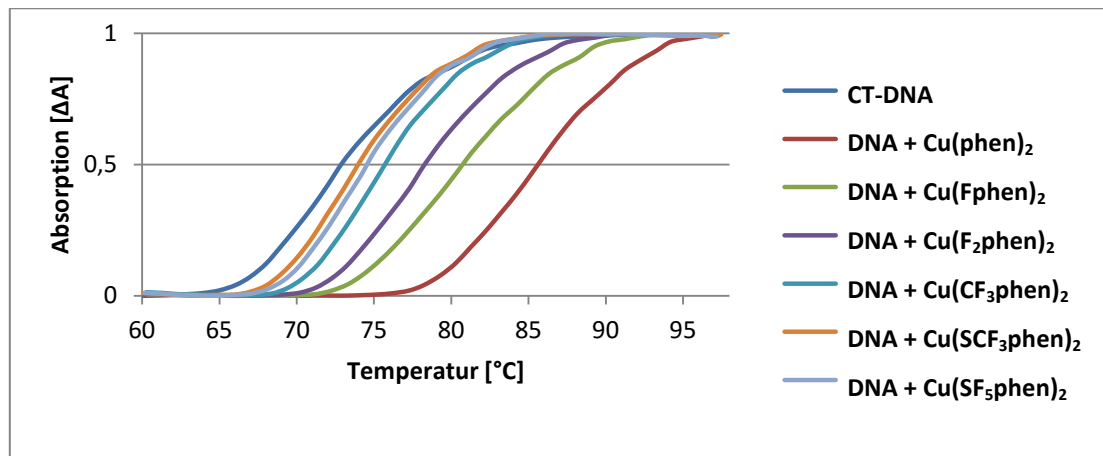


Abbildung 31: Schmelzkurven von DNA-Cu(phen)₂-Addukten [250 μM CT-DNA, 25 μM Kupfer(II)-Komplex, 10 mM Tris-HCl-Puffer (pH = 7.4)].

Dieser Annahme folgend ist die Wechselwirkung von **Cu(CF₃phen)₂**, **Cu(SF₅phen)₂** und **Cu(SCF₃phen)₂** mit CT-DNA sehr gering (+ 1.3 bis 2.7 °C). Jedoch lassen die Ergebnisse keinen absoluten Schluss über die Stärke der Wechselwirkung zu, da auch starke Wechselwirkungen durch weitere Effekte zu einer geringeren Stabilisierung der Doppelhelix von CT-DNA führen können. So kann selbst eine Destabilisierung der Doppelhelix durch kleine Moleküle hervorgerufen werden, indem diese mit ssDNA wechselwirken und so die Denaturierung von dsDNA induzieren. Dieses Szenario ist jedoch für die vorliegenden Komplexe unwahrscheinlich, da keine signifikanten strukturellen Unterschiede zwischen den Komplexen bestehen. Die fluorierten Derivate sollten somit bzgl. dem Bindungsmodus ein ähnliches Verhalten zeigen wie die unsubstituierte Spezies **Cu(phen)₂**, welche über Furchenbindung an die DNA bindet (siehe 1.4.2. Mechanismus der Nuklease-Aktivität/Sauerstoffaktivierung). Folglich ist eine geringere Bindungsaffinität auf Grund der steigenden Substituentengröße wahrscheinlich.

4.2.1.2. Ethidiumbromid-Verdrängung

Zunächst wurde das Fluoreszenz-Spektrum einer mit Tris-HCl (10 mM, pH = 7.4) gepufferten EtBr-Lösung (5 μ M) aufgenommen. Es wurde CT-DNA (20 μ M) hinzugegeben und abermals die Fluoreszenz gemessen. Anschließend wurden die zu untersuchenden Komplexe hinzutitriert und jeweils ein neues Fluoreszenz-Spektrum aufgenommen (Abbildung 32). Aus der Hypochromie des Maximums konnten die Stern-Volmer-Konstante K_{SV} , die Bindungskonstante K_{app} und die Konzentration $[Q]_{50\%}$, bei der 50 % der Fluoreszenz gequenchet werden, für jeden Komplex bestimmt werden. Folgend sind diese Werte in Tabelle 13 aufgelistet.

Tabelle 13: Bindungskonstanten und Stern-Volmer-Konstanten für die Bindung von Cu(phen)₂-Derivaten an CT-DNA.

Komplex	$K_{SV} (M^{-1})$	$[Q]_{50\%} (\mu M)$	$K_{app} (M^{-1})$
Cu(phen)₂	2.57×10^4	38.9	1.28×10^6
Cu(Fphen)₂	1.73×10^4	57.7	8.66×10^5
Cu(F₂phen)₂	6.68×10^3	150	3.34×10^5
Cu(CF₃phen)₂	7.59×10^3	132	3.79×10^5
Cu(SCF₃phen)₂	1.03×10^4	97.3	5.14×10^5
Cu(SF₅phen)₂	8.89×10^3	112	4.45×10^5

Das größte Vermögen, EtBr aus der DNA-Doppelhelix zu verdrängen, besitzt das underivatisierte **Cu(phen)₂**. Nach Substitution eines Wasserstoffatoms durch ein Fluoratom beträgt die Bindungskonstante K_{app} für den entsprechenden Komplex **Cu(Fphen)₂** weniger als 70 % des Wertes für den unsubstituierten Komplex. Weit geringere Bindungskonstanten weisen die Komplexe mit größeren Substituenten auf, wobei K_{app} für die schwefelhaltigen Komplexe **Cu(SCF₃phen)₂** und **Cu(SF₅phen)₂** minimal größer ist als für die schwefelfreien **Cu(F₂phen)₂** und **Cu(CF₃phen)₂**. Überraschend ist die geringe Bindungsstärke für das difluorierte Derivat **Cu(F₂phen)₂**, welches bei den DNA-Schmelzexperimenten noch eine der größten Stabilisierungen für die DNA-Doppelhelix hervorrief. Es zeigt sich folgende Tendenz die Stärke der EtBr-Verdrängung für die einzelnen Kupfer(II)-Komplexe:



Betrachtet man den Einfluss der größeren Substituenten (CF₃, SCF₃, SF₅ sowie das difluorierte Derivat) auf die Stärke der Ethidiumbromid-Verdrängung durch die jeweiligen Komplexe, so scheint diese mit der – durch die Substituenten – induzierten Lipophilie zu korrelieren (siehe Tabelle 1). Die Unterschiede der Bindungsstärke der Komplexe könnte auch aus den unterschiedlichen Bedingungen der Experimente resultieren. Während bei den DNA-Schmelzexperimente ein thermodynamisches Gleichgewicht hergestellt wird, ist beim EtBr-Assay die Adduktbildung eher kinetisch kontrolliert.

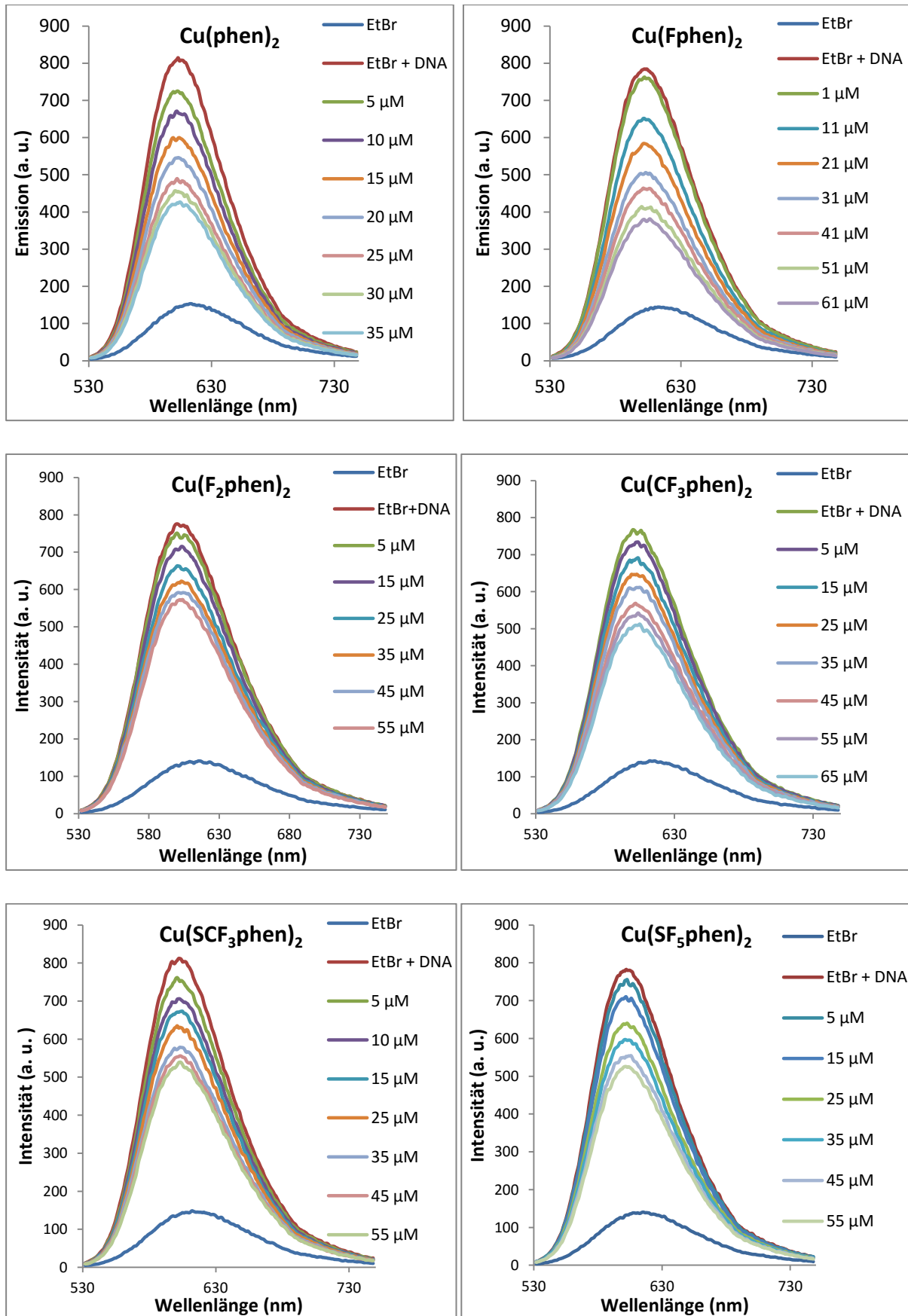


Abbildung 32: Fluoreszenz von EtBr-CT-DNA-Addukten nach Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen unterschiedlicher Kupferkomplexe Cu(Xphen)₂ (X = H, F, F₂, CF₃, SCF₃, SF₅).

4.2.1.3. Zirkulardichroismus

Kupfer(II)-Komplexe asymmetrischer phen-Derivate (z.B. **Cu(Fphen)₂** und **Cu(SCF₃phen)₂**) zeigen einen ausgeprägten Zirkulardichroismus zwischen 200 und 300 nm. Die Ursache hierfür ist unklar, da laut Molekülstrukturanalyse am Festkörper ein Enantiomeregemisch des Komplexes in Form eines Racemates vorliegt (siehe Anhang, Raumgruppen P₂₁/c, P₂₁/n und C₂/c). Um die Wechselwirkungen mit CT-DNA zu studieren, wurden deshalb Hintergrundmessungen mit den Komplexen und der Pufferlösung durchgeführt, um den Zirkulardichroismus der Komplexe in den späteren Experimenten mit CT-DNA zu maskieren. Für vergleichbare Bedingungen bei den Messungen wurden auch die Kupferkomplexe der symmetrischen Phenanthroline (**Cu(F₂phen)₂** und **Cu(phen)₂**), die keinen eigenen Zirkulardichroismus aufweisen, in die Hintergrundmessungen integriert. Beispielhaft ist folgend der Zirkulardichroismus der Komplexe **Cu(Fphen)₂** und **Cu(SCF₃phen)₂** abgebildet (Abbildung 33).

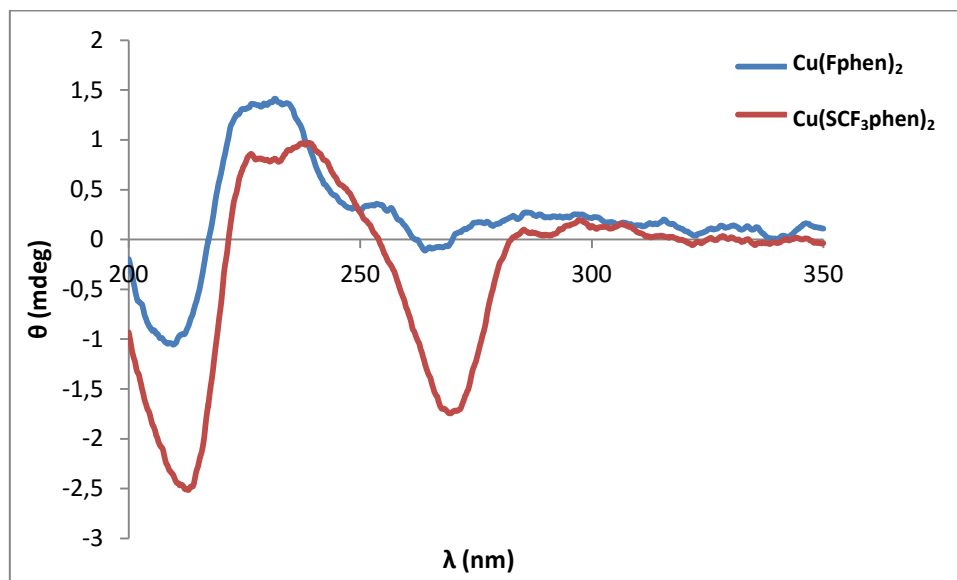


Abbildung 33: Zirkulardichroismus der chiralen Komplexe **Cu(Fphen)₂** und **Cu(SCF₃phen)₂** (10 μM) in Tris-HCl-Puffer (10 mM, pH = 7.4).

Die verschiedenen Substituenten führen zu sehr unterschiedlich ausgeprägten Wechselwirkungen der Komplexe mit CT-DNA, so dass auf unterschiedliche Konformationsänderungen der CT-DNA geschlossen werden kann. Die Komplexe können in zwei Klassen eingeteilt werden. **Cu(phen)₂** und **Cu(Fphen)₂** rufen sehr ähnliche Veränderungen im Zirkulardichroismus der DNA hervor (Abbildung 34). Ein bedeutender Effekt ist die starke Hyperchromie für das positive Signal bei ca. 280 nm, welches in Zusammenhang mit der Basenstapelung steht. Diese beträgt für beide Derivate annähernd 10 Milligrad für die Elliptizität (Erhöhung um ≈ 200 %). Zudem weist das Signal eine

Rotverschiebung von ca. 2.5 nm auf. Für beide Derivate ist zudem eine Schulter bei ca. 300 nm zu beobachten. Für die negative Bande, repräsentativ für die Helizität, ist nur eine geringe Abweichung vom Normspektrum der CT-DNA auszumachen. Hier kommt es zu einer minimalen Hypochromie und einer Rotverschiebung des Minimums von ca. 3 nm. Beide Komplexe scheinen somit einen ganz ähnlichen Bindungsmodus zu CT-DNA aufzuweisen.

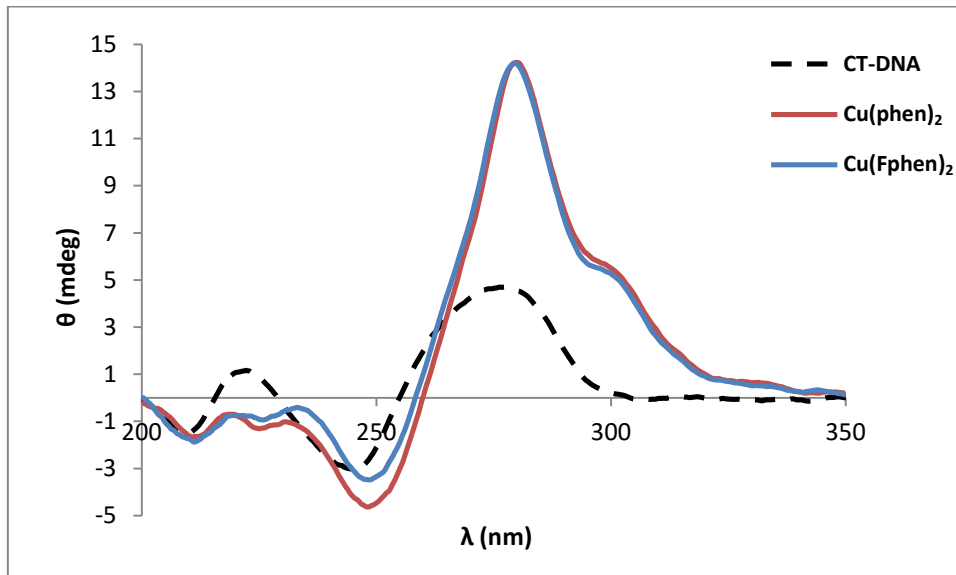


Abbildung 34: Zirkulardichroismus für CT-DNA-Addukte (CT-DNA: 50 μM) mit $\text{Cu}(\text{phen})_2$ und $\text{Cu}(\text{Fphen})_2$ (10 μM), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe und Tris-HCl (pH = 7.4, 10 mM) ohne DNA korrigiert.

Die anderen Komplexe können einer zweiten Gruppe zugeordnet werden, bei der die Komplexe geringere Effekte auf den Zirkulardichroismus ausüben als $\text{Cu}(\text{phen})_2$ und $\text{Cu}(\text{Fphen})_2$ (Abbildung 35). Diese zeigen eine schwache Hypochromie für die positive Bande bei 280 nm ($\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2$, $\text{Cu}(\text{SF}_5\text{phen})_2$ und $\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{phen})_2$) oder zeigen gar keinen Effekt auf das Signal ($\text{Cu}(\text{CF}_3\text{phen})_2$). Die Helizität wird nur durch einen der Komplexe signifikant beeinflusst (Minimum bei ca. 245 nm). $\text{Cu}(\text{SF}_5\text{phen})_2$ hat einen minimalen hyperchromen Shift zur Folge. Zusammen mit dem hypochromen Shift durch $\text{Cu}(\text{SF}_5\text{phen})_2$ für die positive Bande bei ca. 280 nm könnte dies als Entwindung der Doppelhelix – oder allgemein der Übergang in eine ungeordnetere Struktur – interpretiert werden (Aufhebung der Basenstapelung und der Helizität). Für $\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{phen})_2$ könnte man eine Konformationsänderung vermuten, bei der die B-Form der DNA in die kompaktere C-Form überführt wird. Beim typischen CD-Spektrum einer DNA in C-Form wird das positive Signal bei ca. 280 nm gequench und die negative Bande für die Helizität bleibt unverändert.^[175,204] Bei dieser Konformation sind die Basen nicht mehr parallel zueinander angeordnet, sondern gegeneinander verwinkelt.

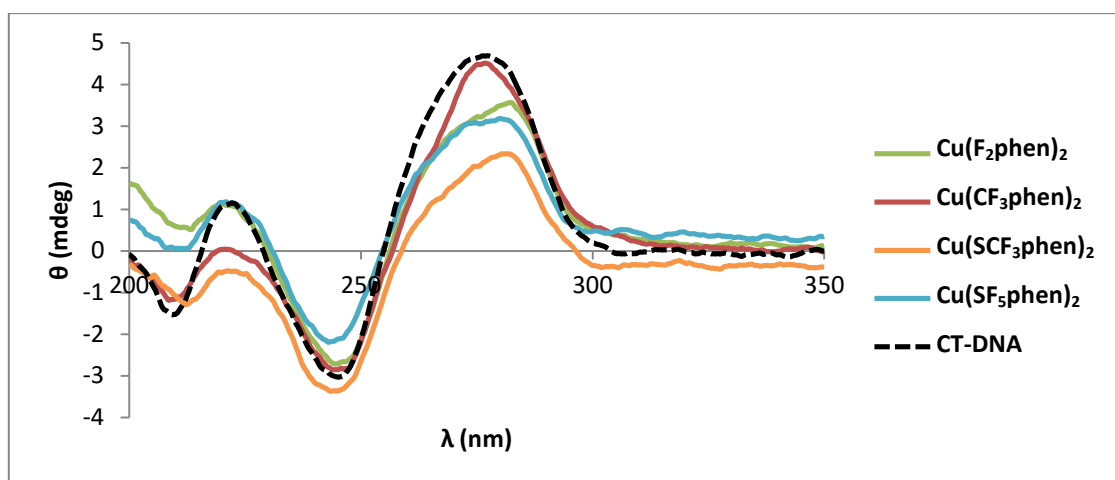


Abbildung 35: Zirkulardichroismus für CT-DNA-Addukte (CT-DNA: 50 μM) mit $\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2$, $\text{Cu}(\text{CF}_3\text{phen})_2$, $\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{phen})_2$ und $\text{Cu}(\text{SF}_5\text{phen})_2$ (10 μM), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe und Tris-HCl (pH = 7.4, 10 mM) ohne DNA korrigiert.

Tabelle 14: Lokale Maxima und Minima des Zirkulardichroismus von Komplex-DNA-Addukten.

	$\lambda_{\theta_{\max}}$ (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	θ_{\max} (mdeg)	$\Delta\theta$ (mdeg)	$\lambda_{\theta_{\min}}$ (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	θ_{\min} (mdeg)	$\Delta\theta$ (mdeg)
DNA	277.2	-	4.6906	-	245.1	-	-3.03421	-
$\text{Cu}(\text{phen})_2$-DNA	279.8	+ 2.6	14.2385	+ 9.55	248.1	+ 3.0	-4.6422	- 1.61
$\text{Cu}(\text{Fphen})_2$-DNA	279.5	+ 2.3	14.2071	+ 9.52	248.4	+ 3.3	-3.48335	- 0.45
$\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2$ -DNA	282.3	+ 2.8	3.56416	- 1.13	244.7	- 0.4	-2.71302	+ 0.32
$\text{Cu}(\text{CF}_3\text{phen})_2$ -DNA	276.9	- 0.3	4.51124	- 0.18	244.9	- 0.2	-2.8521	+ 0.18
$\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{phen})_2$ -DNA	281.6	+ 4.4	2.33854	- 2.35	243.6	- 1.5	-3.37304	- 0.34
$\text{Cu}(\text{SF}_5\text{phen})_2$-DNA	280.1	+ 2.9	3.17892	- 1.51	243.0	- 2.1	-2.19671	+ 0.84

Alle hier gezeigten CD-Graphen zeigten einen positiven Cotton-Effekt, induzieren somit keine Konformationsänderung der DNA in die Z-Form, wie dies beispielsweise bei $[\text{Cu}(5,6\text{-Me}_2\text{phen})_2]^{2+}$ der Fall ist.^[173] Die geringsten Änderungen des CD der CT-DNA wurden für **$\text{Cu}(\text{CF}_3\text{phen})_2$** beobachtet, welches weder Helizität noch Basenstapelung der CT-DNA beeinflusste und somit keinen Einfluss auf die Konformation der Doppelhelix hat. **$\text{Cu}(\text{phen})_2$** und **$\text{Cu}(\text{Fphen})_2$** scheinen ähnliche Bindungsmodi zur DNA aufzuweisen, da sie ähnliche Änderungen des Zirkulardichroismus der DNA hervorriefen. Hierbei ist eine starke Hyperchromie der positiven Bande bei ca. 280 nm zu beobachten, was für eine starke Wechselwirkung der Komplexe mit dem DNA-Doppelstrang spricht. Denkbar ist hier eine Stärkung der Basenstapelung durch Packungseffekte, hervorgerufen durch die Bindung des Komplexes mittels Furchenbindung. Komplexe mit großen Substituenten weisen dagegen einen

anderen Bindungsmodus auf. Hier kann im CD-Spektrum ein Übergang der CT-DNA von der B-Form in eine kompaktere Struktur, der C-Form, vermutet werden. Dies kann beispielsweise durch elektrostatische Wechselwirkungen des Komplexes mit dem Phosphatrückgrat der DNA hervorgerufen werden. Am ehesten ist dieser Effekt für **Cu(SCF₃phen)₂** zu beobachten.

4.2.1.4. Fazit für die Evaluation der DNA-Bindung

Cu(phen)₂ und **Cu(Fphen)₂** weisen von den untersuchten Komplexen die stärkste Affinität für dsDNA auf. Sie induzieren die höchste Stabilisierung der DNA-Doppelhelix, wie aus den DNA-Schmelzkurven hervorgeht. Zudem weisen sie die höchsten Bindungskonstanten K_{app} auf, wie aus den EtBr-Verdrängungs-Experimenten hervorgeht. Ebenso scheint der Bindungsmodus ähnlich zu sein, da die Zirkulardichroismen der Komplex-DNA-Addukte verglichen mit dem Zirkulardichroismus der DNA die gleichen Veränderungen hervorruft. Allerdings scheint die Affinität für dsDNA des unsubstituierten Substrats **Cu(phen)₂** höher zu sein als für das fluorierte Derivat **Cu(Fphen)₂**. Eine Erklärung hierfür könnte der größere Raumanpruch des Fluorsubstituenten sein. Eine Arbeit von Mahadevan und Palaniandavar zeigte die verringerte CT-DNA-Affinität von Kupfer-Phenanthrolin-Komplexen, welche in Position 5 des Liganden substituiert wurden.^[173] Mit dem größeren Raumanpruch der Substituenten kann auch die geringere Bindungsstärke der anderen Komplexe erklärt werden, da diese sperrige Substituenten wie Trifluormethyl- oder Pentafluorsulfanylgruppen aufweisen. Diese Substitutionen haben auch einen anderen Bindungsmodus der Komplexe zur DNA zur Folge wie aus den CD-Experimenten ersichtlich wird. Überraschend ist hingegen das Verhalten des Derivats **Cu(F₂phen)₂**, welches eine relativ starke Stabilisierung der DNA-Doppelhelix bewirkt, jedoch die geringste Bindungskonstante K_{app} aller Komplexe aufweist. Zudem zeigten die CD-Experimente ein ähnliches Verhalten wie die Komplexe mit sperrigen Substituenten wie **Cu(SF₃phen)₂**. Hieraus wird ersichtlich, dass zur Charakterisierung der Bindung von Kupfer-Phenanthrolin-Komplexen an Biomakromoleküle verschiedene Experimente zu einem differenzierteren Bild des Bindungsmodus und der Bindungsstärke führen und minimale Unterschiede wie die Fluorsubstitution starke Unterschiede in der Wechselwirkung der Komplexe mit beispielsweise dsDNA hervorrufen können.

4.2.2. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(2\text{-Me-Xphen})_2]^{2+}$ ($\text{X} = \text{H, F, CF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5$)

4.2.2.1. DNA-Schmelzkurven

Der Einfluss fluorierter Substituenten in **Cu(Mephen)₂**-Komplexen auf die Stabilisierung der DNA-Doppelhelix wurde unter anderem mittels DNA-Schmelzkurven untersucht. Die Experimente wurden analog den Experimenten für die nicht-methylierten Cu-phen-Derivate durchgeführt. Die experimentellen Werte für die Schmelzpunktänderung von CT-DNA, hervorgerufen durch die Komplexe **Cu(Mephen)₂**, **Cu(5FMephen)₂**, **Cu(6FMephen)₂**, **Cu(CF₃Mephen)₂** und **Cu(SCF₃Mephen)₂**, sind in Tabelle 15 zusammengefasst.

Tabelle 15: Schmelzpunkte und Schmelzpunktänderung für verschiedene DNA-Komplex-Addukte [250 μM CT-DNA, 25 μM Komplex, 10 mM Tris-HCl-Puffer (pH = 7.4)] .

Substrat	T_m ($^{\circ}\text{C}$)	ΔT_m ($^{\circ}\text{C}$)
DNA	73.0 ± 0.1	-
DNA-Cu(Mephen) ₂	85.7 ± 0.2	12.7 ± 0.3
DNA-Cu(5FMephen) ₂	82.5 ± 0.2	9.5 ± 0.3
DNA-Cu(6FMephen) ₂	82.6 ± 0.1	9.6 ± 0.3
DNA-Cu(CF ₃ Mephen) ₂	76.0 ± 0.0	3.0 ± 0.1
DNA-Cu(SCF ₃ Mephen) ₂	75.0 ± 0.1	2.0 ± 0.2

Während das unsubstituierte **Cu(Mephen)₂** eine sehr starke Stabilisierung des Doppelstrangs hervorruft (+ 12.7 $^{\circ}\text{C}$), welcher im Bereich für **Cu(phen)₂** (12.7 $^{\circ}\text{C}$) liegt, sind die fluorierten Derivate weniger stabilisierend. Dabei ist die Position der Fluorierung nicht entscheidend, **Cu(5FMephen)₂** und **Cu(6FMephen)₂** weisen eine ähnliche Schmelzpunkterhöhung für CT-DNA auf. Dies könnte auf einen ähnlichen Bindungsmodus für die beiden Komplexe hinweisen. Prinzipiell sollte die Position der Fluorsubstitution an der Benzoleinheit des Liganden auch keine entscheidene Rolle spielen. Für größere Liganden wurde nur eine marginale Erhöhung beobachtet, wobei die DNA in Gegenwart von **Cu(CF₃Mephen)₂** einen etwas größeren Schmelzpunkt (+ 3.0 \pm 0.1 $^{\circ}\text{C}$) aufwies als in Gegenwart von **Cu(SCF₃Mephen)₂** (+ 2.0 \pm 0.2 $^{\circ}\text{C}$). Damit folgt der Trend der Stabilisierung der Doppelhelix dem gleichen Trend wie für die nicht-methylierten Derivate, mit zunehmender Substituentengröße sinkt

der Schmelzpunkt der DNA-Komplex-Addukte. Es ergibt sich die folgende Reihenfolge für die Schmelzpunkterhöhung von CT-DNA:



Es interagieren alle Komplexe mit der DNA, da signifikante Änderungen der Denaturierungstemperatur bei Zugabe jedes einzelnen Komplexes beobachtet werden. Es kann jedoch prinzipiell nicht auf einen bestimmten Bindungsmodus geschlossen werden. Vorstellbar ist eine Furchenbindung wie für die nicht-methylierten Komplexe, da die Werte sich in dem selben Bereich befinden und dieser Bindungsmodus für die nicht-methylierten Komplexe angenommen wird (siehe 4.2.1.1., Tabelle 12).

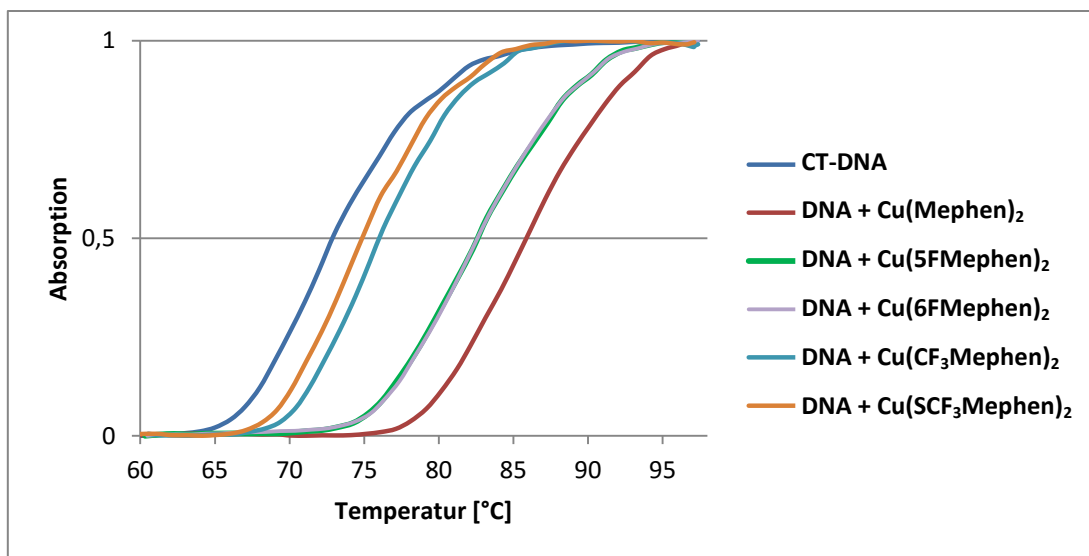


Abbildung 36: DNA-Schmelzkurven nach Zugabe von verschiedenen Komplexen [250 μM CT-DNA, 25 μM Komplex, 10 mM Tris-HCl-Puffer (pH = 7.4)].

4.2.2.2. Ethidiumbromid-Verdrängung

Die Experimente wurden analog den Experimenten für die Ethidiumbromid-Verdrängung für die nicht-methylierten Derivate **Cu(Xphen)₂** (**X = fluorhaltiger Substituent**) durchgeführt. Die Daten für die einzelnen Komplexe sind in Tabelle 16 zusammengefasst.

Tabelle 16: Bindungskonstanten und Stern-Volmer-Konstanten für die Bindung von Cu-Mephen-Derivaten an CT-DNA.

Komplex	$K_{SV} (M^{-1})$	$[Q]_{50\%} (\mu M)$	$K_{app} (M^{-1})$
Cu(Mephen)₂	6.14×10^4	16.3	3.07×10^6
Cu(5FMephen)₂	2.43×10^4	41.2	1.21×10^6
Cu(6FMephen)₂	2.56×10^4	39.0	1.28×10^6
Cu(CF₃Mephen)₂	9.76×10^3	102	4.88×10^5
Cu(SCF₃Mephen)₂	8.97×10^3	112	4.48×10^5

Auch hier weist die nicht-fluorierte Spezies **Cu(Mephen)₂** mit $K_{app} = 3 \times 10^6 M^{-1}$ die größte Bindungskonstante auf. Diese ist im Vergleich mit den nicht-methylierten Kupferkomplexen jedoch dreimal so hoch. Dies ist ein erstes Indiz auf einen anderen Bindungsmodus als bei den nicht-methylierten Spezies. Theoretisch hätte die Substitution mit einer Methylgruppe aufgrund des vergrößerten Raumanpruchs dieser die Bindungsaffinität zur dsDNA verringern müssen, jedoch ist das Gegenteil der Fall. Die beiden einfach fluorierten Kupferkomplexe **Cu(5FMephen)₂** und **Cu(6FMephen)₂** besitzen eine wesentlich geringere Bindungskonstante als **Cu(Mephen)₂**, sind jedoch untereinander verglichen annähernd gleich groß. Wie schon bei den DNA-Schmelzkurven scheint die Position der Fluorierung an der Benzoleinheit keinen Einfluß auf die Bindungsaffinität des Komplexes zur DNA zu haben. Interessant ist zudem, dass größere Substituenten die Affinität des Komplexes für dsDNA deutlich verringern, wobei das Derivat mit Trifluormethylthiogruppe nur eine unwesentlich kleinere Bindungskonstante aufweist als jenes mit Trifluormethylgruppe. Letztendlich ergibt sich folgender Trend für die Bindungskonstanten K_{app} , welcher mit der Größe der Substituenten zu korrelieren scheint:



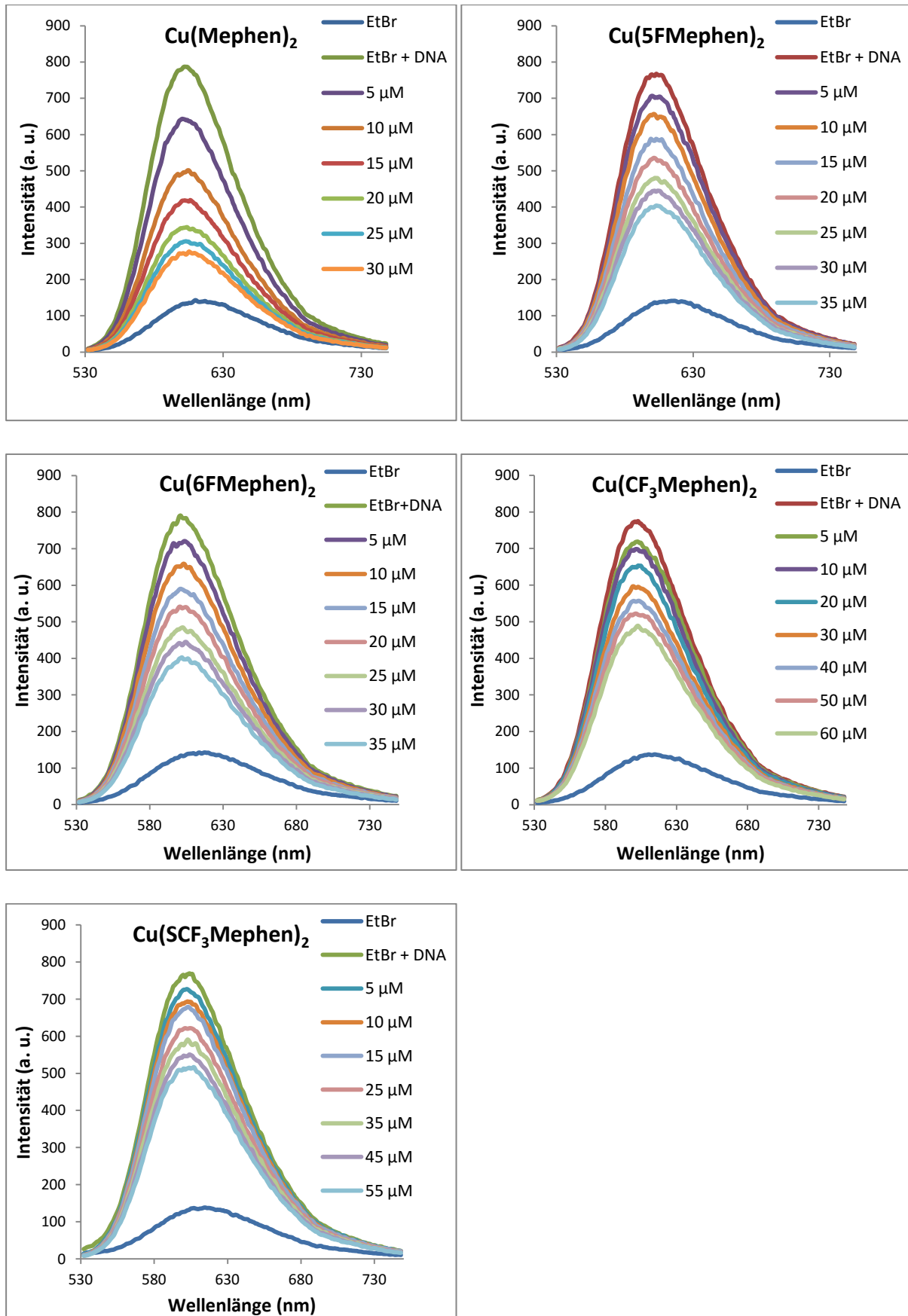


Abbildung 37: Fluoreszenz von EtBr-CT-DNA-Addukten nach Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen unterschiedlicher Kupferkomplexe Cu(Mephen)₂ [10 mM Tris-HCl (pH = 7.4), 5 μM EtBr, 20 μM DNA].

4.2.2.3. Zirkulardichroismus

Die Experimente wurden wie in **4.2.1.** für die nicht-methylierten Derivate durchgeführt. Als Hintergrund wurde der Zirkulardichroismus der Komplexe ohne DNA in Tris-HCl-Puffer gemessen und herausgerechnet. Zum Vergleich wurde der Zirkulardichroismus von CT-DNA unter Einwirkung von **Cu(phen)₂** mit aufgeführt (Abbildung 38).

Auch die methylierten Derivate und deren Einfluss auf die Sekundärstruktur von dsDNA können in zwei Gruppen eingeteilt werden. So weisen das unsubstituierte **Cu(Mephen)₂** und die einfach fluorierten Analoga **Cu(5FMephen)₂** und **Cu(6FMephen)₂** einen ausgeprägten hyperchromen Shift des positiven Signals von CT-DNA bei ca. 280 nm auf. Dieser ist für die fluorierten Analoga in einem ähnlichen Bereich wie im Falle der fluorierten Derivate des nicht-methylierten **Cu(phen)₂**. **Cu(Mephen)₂** bewirkt hingegen einen weit stärkeren hyperchromen Shift. Die drei Derivate weisen wie das nicht-methylierte Derivat eine Schulter bei ca. 305 nm auf und die positiven sowie negativen Banden (bei ca. 250 bzw. 280 nm) sind rotverschoben. Die Substrate weisen zudem einen mehr oder weniger ausgeprägten hyperchromen Shift der negativen Bande bei ca. 250 nm auf. All die Charakteristika lassen darauf schließen, dass es sich für **Cu(Mephen)₂** und dessen fluorierte Analoga **Cu(5FMephen)₂** und **Cu(6FMephen)₂** um einen ähnlichen Bindungsmodus bei deren Bindung an CT-DNA handelt. Die Stärke der Bindung scheint hier in der folgenden Reihenfolge **Cu(Mephen)₂ >> Cu(6FMephen)₂ > Cu(5FMephen)₂ ≈ Cu(phen)₂** abzunehmen, wenn man beispielsweise den hyperchromen Shift der Bande bei 280 nm als Gradmesser betrachtet. Jedoch sind solche Abschätzungen mit Vorsicht zu handhaben und sollten – wie zuvor hier beschrieben – durch geeignete Methoden wie Schmelzpunktbestimmung oder der Ethidiumbromid-Verdrängung verifiziert werden.

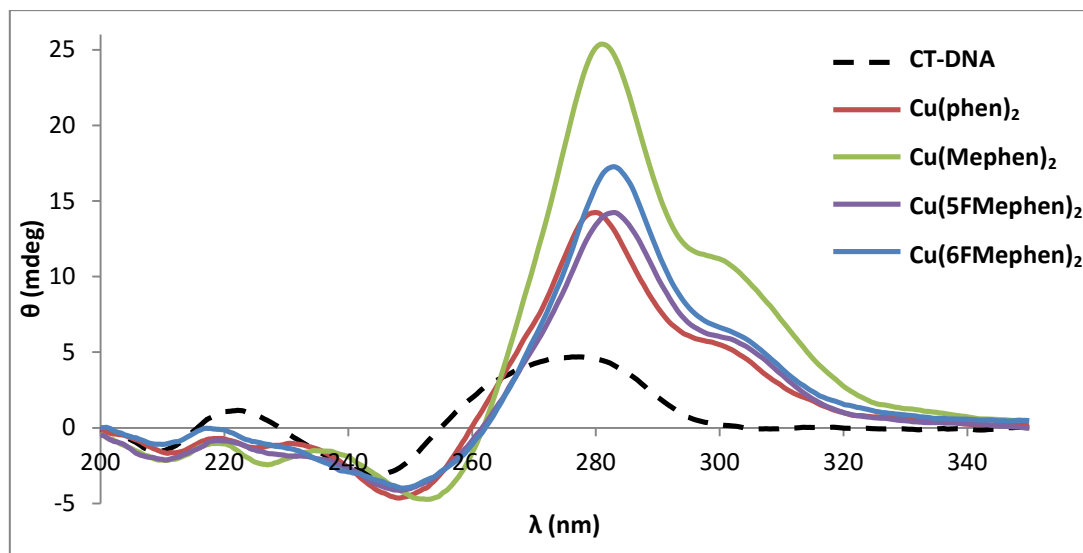


Abbildung 38: Zirkulardichroismus für CT-DNA-Addukte (CT-DNA: 50 μM) mit $\text{Cu}(\text{phen})_2$, $\text{Cu}(\text{Mephen})_2$, $\text{Cu}(\text{5FMephen})_2$ und $\text{Cu}(\text{6FMephen})_2$ (10 μM), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe ohne DNA in Tris-HCl-Puffer (pH = 7.4, 10 mM) korrigiert.

Die zweite Gruppe umfasst die Derivate $\text{Cu}(\text{CF}_3\text{Mephen})_2$ und $\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{Mephen})_2$, welche jeweils größere Substituenten aufweisen. Diese bewirken nur geringe Änderungen des CD-Spektrums von CT-DNA (Abbildung 39). Zu verzeichnen sind hier ein leichter Rotshift des positiven und negativen Signals (250 nm bzw. 280 nm). Die positive Bande bei 220 nm wird gequencht und es gibt einen hypochromen Shift der negativen Bande bei 250 nm. Somit nimmt zwar die Stabilität der rechtsgängigen Helizität zu, die Stapelwechselwirkung zwischen den Basen wird hingegen nicht beeinflusst (keine Änderung der Elliptizität der positiven Bande bei 280 nm). Dieses Verhalten spricht zumindest gegen eine Interkalation der Komplexe als Bindungsmodus, da sich eine solche Wechselwirkung auch durch eine Intensitätsveränderung der positiven Bande bei 280 nm widerspiegeln würde. Der hyperchrome Shift der negativen Bande bei ca. 250 nm spricht eher für eine Wechselwirkung bzw. Bindung zwischen den Komplexen und der DNA, jedoch ist es schwierig, Schlussfolgerungen auf den genauen Bindungsmodus zu ziehen. Es wird sich jedoch bei beiden Komplexen, $\text{Cu}(\text{CF}_3\text{Mephen})_2$ und $\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{Mephen})_2$, um einen ähnlichen Bindungsmodus handeln, da beide Komplexe eine ähnliche Struktur aufweisen und zu sehr ähnlichen Veränderungen der CD-Spektrums der CT-DNA führen.

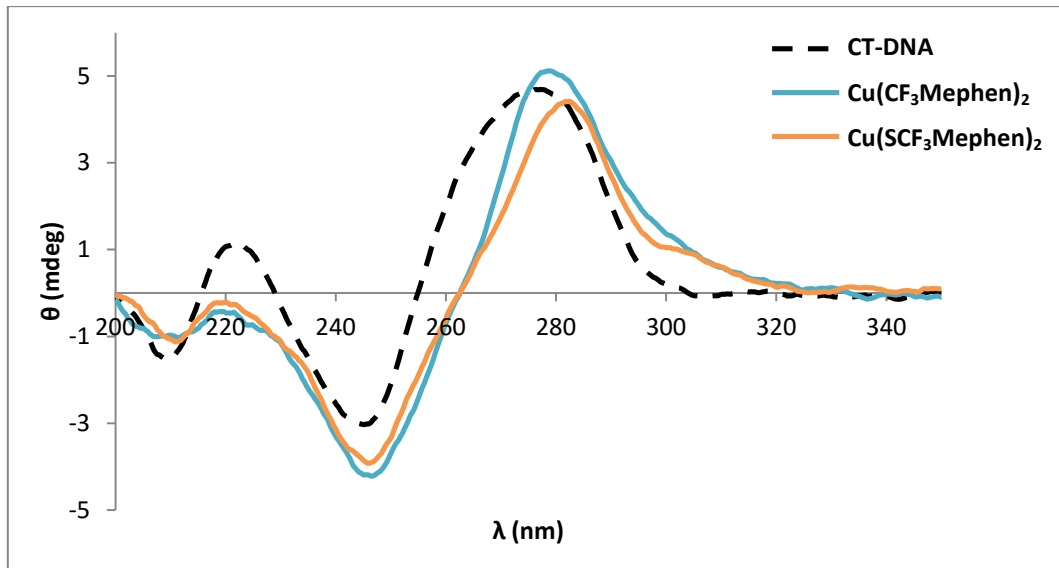


Abbildung 39: Zirkulardichroismus für CT-DNA-Addukte (CT-DNA: 50 μM) mit $\text{Cu}(\text{CF}_3\text{Mephen})_2$ und $\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{Mephen})_2$ (10 μM), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe ohne DNA in Tris-HCl (pH = 7.4, 10 mM) korrigiert.

Insgesamt betrachtet rufen Komplexe, welche einfach fluoriert sind oder gar keinen Fluorsubstituenten tragen ($\text{Cu}(\text{Mephen})_2$), grundverschiedene Konformationsänderungen der CT-DNA hervor als Komplexe mit größeren Substituenten wie $\text{Cu}(\text{CF}_3\text{Mephen})_2$ und $\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{Mephen})_2$. Somit scheint auch für die methylierten Komplexe zu gelten, dass die Größe der fluorhaltigen Substituenten zu einem unterschiedlichen Bindungsmodus oder zumindest zu einer differenzierbaren Konformationsänderung (Veränderung der Helizität/Basenstapelung) in der Sekundärstruktur der CT-DNA führt. Während Komplexe mit Liganden, die nur kleine Substituenten wie Wasserstoff- oder Fluoratome aufweisen, einen Einfluss auf die Basenstapelung haben, so kann man bei den anderen Komplexen nur Veränderungen in der Helizität des Doppelstranges ausmachen. Man könnte spekulieren, dass $\text{Cu}(\text{Mephen})_2$ und $\text{Cu}(\text{FMephen})_2$ aufgrund ihrer kompakteren Struktur ohne sperrige Substituenten besser an die DNA binden können, beispielsweise durch Furchenbindung. Komplexe mit sperrigen Substituenten haben hingegen einen sehr geringen Einfluss auf die Konformation, was für eine rein elektrostatische Wechselwirkung zwischen Komplex und Doppelhelix sprechen könnte. Dies könnte auch die Stabilisierung der Helizität ohne Veränderung bei der Basenstapelung erklären (Hyperchromie bei 240 nm, keine Änderung der Elliptizität bei 280 nm).

Tabelle 17: Lokale Maxima und Minima des Zirkulardichroismus von Komplex-DNA-Addukten mit methylierten Liganden.

	$\lambda_{\phi_{\max}}$ (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	ϕ_{\max} (mdeg)	$\Delta\phi$ (mdeg)	$\lambda_{\phi_{\min}}$ (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	ϕ_{\min} (mdeg)	$\Delta\phi$ (mdeg)
DNA	277.2	-	4.6906	-	245.1	-	- 3.03421	-
Cu(phen)₂-DNA	279.8	+ 2.6	14.2385	+ 9.55	248.1	+ 3.0	- 4.6422	- 1.61
Cu(Mephen)₂-DNA	281.0	+ 3.8	25.3813	+ 20.69	252.8	+ 7.7	- 4.7348	- 1.70
Cu(5FMephen)₂-DNA	283.0	+ 5.8	14.2315	+ 9.54	248.3	+ 3.2	- 4.14056	- 1.11
Cu(6FMephen)₂-DNA	282.9	+ 5.7	17.2541	+ 12.56	248.8	+ 3.7	- 3.97822	- 0.94
Cu(CF₃Mephen)₂-DNA	278.6	+ 1.4	5.11812	+ 0.43	246.5	+ 1.4	- 4.21727	- 1.18
Cu(SCF₃Mephen)₂-DNA	282.4	+ 5.2	4.41951	- 0.27	245.9	+ 0.8	- 3.92626	- 0.89

4.2.2.4. Fazit für die Evaluation der DNA-Bindung

Die stärkste Wechselwirkung zwischen Komplex und DNA konnte für das unfluorierte **Cu(Mephen)₂** aufgezeigt werden. Dieses weist für die untersuchten Kupfer-Mephen-Komplexe sowohl die höchste Stabilisierung der DNA-Doppelhelix in den DNA-Schmelzexperimenten als auch die höchste Bindungskonstante K_{app} bei der Ethidiumbromid-Verdrängung auf. Zudem bewirkt es die stärksten Veränderungen (größte Hyperchromie der positiven Bande bei 280 nm für die untersuchten Komplexe) im Zirkulardichroismus der CT-DNA. Einen ähnlichen Bindungsmodus wie **Cu(Mephen)₂**, mit jedoch geringerer Bindungsstärke, weisen die einfach fluorierten Analoga **Cu(5FMephen)₂** und **Cu(6FMephen)₂** auf. Diese haben eine geringere Stabilisierung der DNA-Doppelhelix zur Folge und deren Bindungskonstante K_{app} ist geringer als die der unfluorierten Spezies. Sie rufen die selben qualitativen Änderungen wie **Cu(Mephen)₂** im CD-Spektrum von CT-DNA hervor, jedoch mit unterschiedlichen Absolutwerten für beispielsweise den hyperchromen Shift der Bande bei ca. 280 nm, ein Indiz für den gleichen Bindungsmodus bei geringerer Affinität. Die Position der Fluorsubstitution am Liganden scheint hingegen keine Rolle bei der Stärke der Wechselwirkung zwischen Komplex und DNA zu spielen. So weisen die Derivate **Cu(5FMephen)₂** und **Cu(6FMephen)₂** in allen Experimenten (DNA-Schmelztemperatur, EtBr-Verdrängung und CD-Spektroskopie) die – sowohl quantitativ als auch qualitativ – gleichen Charakteristika auf.

Komplexe, die Liganden mit größeren Substituenten wie CF₃- und SCF₃-Gruppen (**Cu(CF₃Mephen)₂** und **Cu(SCF₃Mephen)₂**) tragen, haben eine erheblich geringere Affinität zur Doppelstrang-DNA. So bewirken sie zwar wie die anderen Komplexe eine Stabilisierung der DNA-Doppelhelix, deren Effekt fällt jedoch weit geringer aus als der für **Cu(Mephen)₂** und **Cu(FMephen)₂** (Erhöhung der DNA-

Schmelztemperatur um ≤ 3 °C vs. ≥ 9 °C). Auch die entsprechenden Bindungskonstanten K_{app} sind wesentlich geringer (weniger als 50 % des Wertes der Bindungskonstanten für beide **Cu(FMephen)₂**-Derivate). Aus den entsprechenden CD-Experimenten wird ersichtlich, dass die geringere Affinität von **Cu(CF₃Mephen)₂** und **Cu(SCF₃Mephen)₂** mit einem anderen Bindungsmodus der Komplexe an CT-DNA einhergeht. So konnten nur geringe Änderungen des Zirkulardichroismus der CT-DNA registriert werden. Diese geringen Veränderungen des Zirkulardichroismus sprechen für eine schwache Wechselwirkung zwischen Komplex und Doppelhelix, was auch durch vorherige Experimente (z. B. geringe Erhöhung von T_m der DNA) untermauert werden kann. Ein möglicher Bindungsmodus könnte hier eine elektrostatische Wechselwirkung zwischen den Komplexkationen und dem Phosphatrückgrat der DNA sein. Allgemein besteht ein starker Zusammenhang zwischen Bindungsstärke bzw. -modus und der entsprechenden Größe der Substituenten an den Liganden. Je größer die Substituenten sind, desto schwächer ist die Wechselwirkung zwischen Komplex und DNA, so dass sich folgende Reihenfolge von starker Wechselwirkung zu schwacher Wechselwirkung bzgl. der Affinität zur dsDNA aufstellen lässt:



4.2.3. Vergleich zwischen methylierten und nicht-methylierten Spezies

Es zeigen sich deutliche Parallelen zwischen der Bindungsstärke der Komplexe zur DNA und dem Substitutionsgrad der entsprechenden Liganden. So weisen sowohl bei den methylierten als auch bei nicht-methylierten Komplexen diejenigen Substrate ohne Fluorfunktionalisierung die größte Affinität für CT-DNA auf. Die methylierte Spezies **Cu(Mephen)₂** scheint hierbei gegenüber der nicht-methylierten Spezies **Cu(phen)₂** eine höhere Affinität zu besitzen, wie aus den EtBr-Verdrängungsexperimenten hervorgeht. Ähnliches wird für die einfach fluorierten Spezies beobachtet. Auch hier weisen die methylierten Spezies **Cu(5FMephen)₂** und **Cu(6FMephen)₂** eine höhere Affinität auf als deren Analogon **Cu(Fphen)₂**, wobei diese sowohl zu einer stärkeren Stabilisierung der DNA-Doppelhelix führen (DNA-Schmelzexperimente) als auch eine größere Bindungskonstante K_{app} besitzen (EtBr-Verdrängung). Dieser deutliche Unterschied zwischen methylierten Spezies und deren nicht-methylierten Analoga konnte für die Komplexe mit größeren Substituenten (**Cu(CF₃phen)₂**/**Cu(CF₃Mephen)₂** bzw. **Cu(SCF₃phen)₂**/**Cu(SCF₃Mephen)₂**) nicht gezeigt werden.

Betrachtet man den Bindungsmodus der Komplexe an CT-DNA, so zeigen die nicht-fluorierten und die einfach fluorierten Spezies ähnliche Charakteristika im Zirkulardichroismus von CT-DNA. Auffällig ist hier der starke hyperchrome Shift der positiven Bande bei 280 nm, der jedoch für **Cu(Mephen)₂** deutlich stärker ausgeprägt ist. Die Fluorierung hat bei **Cu(Mephen)₂** eine wesentlich schwächere Hyperchromie zur Folge als die Fluorierung bei **Cu(phen)₂**. Die Fluorsubstitution hat somit bei der methylierten Spezies einen stärkeren Einfluss auf Veränderungen der Sekundärstruktur von CT-DNA als bei der nicht-methylierten. Dies könnte ein Hinweis auf verschiedene Bindungsmodi von **Cu(Mephen)₂** und **Cu(phen)₂** sein. Desweiteren zeigen die methylierten Spezies **Cu(Mephen)₂**, **Cu(5FMephen)₂** und **Cu(6FMephen)₂** einen größeren Rotshift als **Cu(phen)₂** und **Cu(Fphen)₂**.

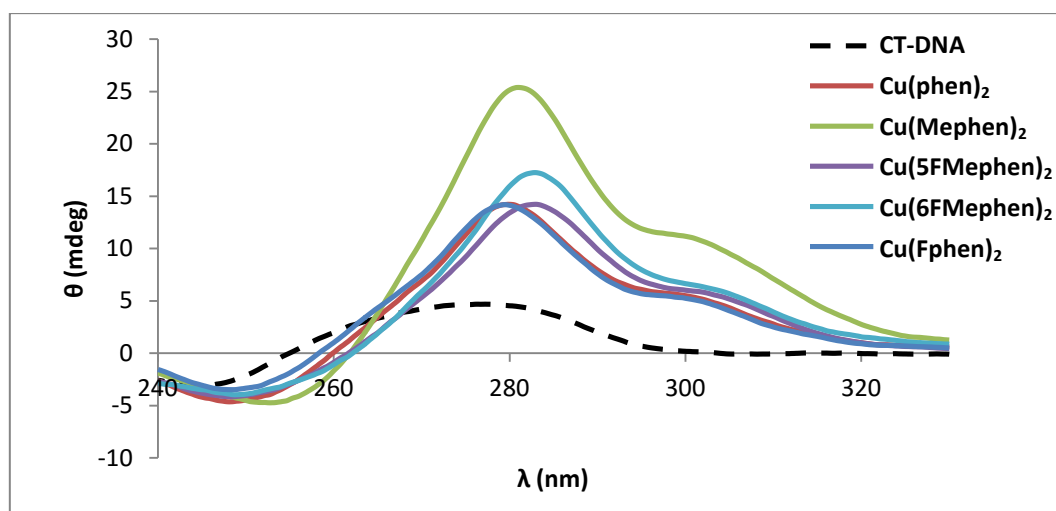


Abbildung 40: Zirkulardichroismus im Bereich zwischen 240 und 330 nm von verschiedenen Komplex-DNA-Addukten (CT-DNA: 50 μM), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe (10 μM) ohne DNA in Tris-HCl (pH = 7.4, 10 mM) korrigiert.

Auch bei den Komplexen mit größeren Substituenten können Unterschiede im Zirkulardichroismus der CT-DNA zwischen methylierten und nicht-methylierten Komplexen beobachtet werden. Die gravierendste Änderung des Zirkulardichroismus wird für **Cu(SCF₃phen)₂** beobachtet, wobei ein Konformationswechsel der CT-DNA von der B-Form in die C-Form vermutet werden kann. Die methylierte Variante **Cu(SCF₃Mephen)₂** hingegen zeigt zwar einen hyperchromen Shift der negativen Bande bei ca. 245 nm, jedoch bleibt die Intensität der positiven Bande gleich, womit es sich wohl weiterhin um eine B-Form der DNA-Konformation handelt. Für die trifluormethylierten Derivate **Cu(CF₃phen)₂** und **Cu(CF₃Mephen)₂** können ebenso Unterschiede im CD festgestellt werden. Während die nicht-methylierte Variante **Cu(CF₃phen)₂** nahezu keinen Effekt auf den CD der CT-DNA ausübt, ist für das methylierte Analogon **Cu(CF₃Mephen)₂** ein hyperchromer Shift der negativen Bande bei ca. 245 nm zu beobachten. Somit beeinflusst das methylierte Derivat die Helizität der DNA, während das nicht-methylierte keinen Einfluss auf die Sekundärstruktur der DNA hat.

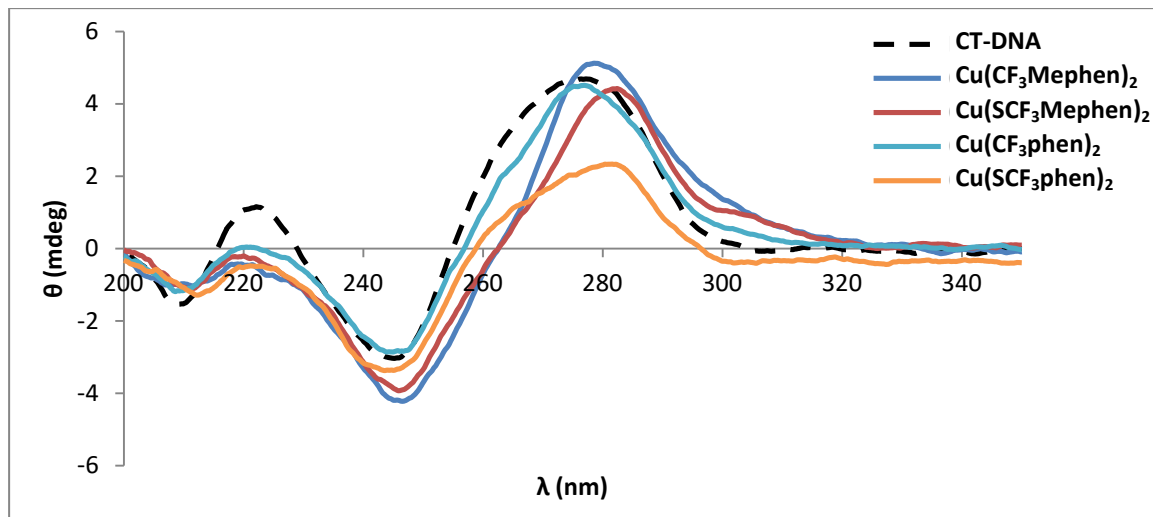


Abbildung 41: Zirkulardichroismus im Bereich zwischen 200 und 350 nm von verschiedenen Komplex-DNA-Addukten (CT-DNA: 50 μM), Spektren wurden gegen den Zirkulardichroismus der Komplexe (10 μM) ohne DNA in Tris-HCl (pH = 7.4, 10 mM) korrigiert.

Es zeigt sich somit, dass die methylierten gegenüber den nicht-methylierten Komplexen teilweise andere Veränderungen in der Konformation der Sekundärstruktur von CT-DNA hervorrufen, was auf unterschiedliche Bindungsmodi zurückzuführen sein könnte. Zudem weisen die methylierten Komplexe zum Teil größere Bindungsaffinitäten für dsDNA auf. Dieser Effekt wird jedoch bei größeren Substituenten an den Liganden nahezu aufgehoben.

4.3. Nukleaseaktivität der Kupferkomplexe

4.3.1. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2]^{2+}$ ($\text{X} = \text{H}, \text{F}, \text{F}_2, \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5$)

Spaltung von Plasmid-DNA mit Ascorbinsäure/konzentrationsabhängig

Aus früheren Experimenten ist bekannt, dass $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$ in Gegenwart von Reduktionsmitteln (Thiole, Ascorbinsäure) doppelsträngige Polynukleotide spalten kann.^[78,81] Das Reduktionsmittel generiert hierbei die aktive Kupfer(I)-Spezies, welche ihrerseits als Reduktionsmittel Sauerstoff aktiviert. Die so generierten reaktiven Sauerstoffspezies induzieren die Spaltung der DNA.

Zunächst wurden die Komplexe einzeln auf ihre Nukleaseaktivität in Gegenwart von Ascorbinsäure (250 μM) als Reduktionsmittel untersucht. Dafür wurde die Spaltung der scDNA (pBR322) bei unterschiedlichen Konzentrationen der einzelnen Kupfer(II)-Komplexe (0 bis 20 μM) gemessen. Als Referenz diente scDNA ohne/mit Ascorbinsäure (DNA-/+).

Alle Komplexe bewirkten bereits bei geringen Konzentrationen ($\leq 5 \mu\text{M}$) in Anwesenheit von Ascorbinsäure einen deutlichen Anstieg des Anteils an offenkettiger DNA (Form 2) und besitzen somit Nukleaseaktivität (Abbildung 42). Zudem konnte eine konzentrationsabhängige Spaltung beobachtet werden. Mit steigender Komplexkonzentration erhöhte sich der Anteil von entspiralisierter und/oder linearisierter DNA – bereits bei 10 μM Komplexkonzentration konnte für alle sechs untersuchten Derivate linearisierte DNA nachgewiesen werden. Dies war auch die zu erwartende Beobachtung, da mit Erhöhung der Konzentration an Kupfer(II)-Spezies die Konzentration an reaktiven Sauerstoffspezies steigt und somit die Rate für die oxidative Spaltung vergrößert wird. Darauf hat auch die Substitution mit unterschiedlichen fluorhaltigen Substituenten keinen Einfluss.

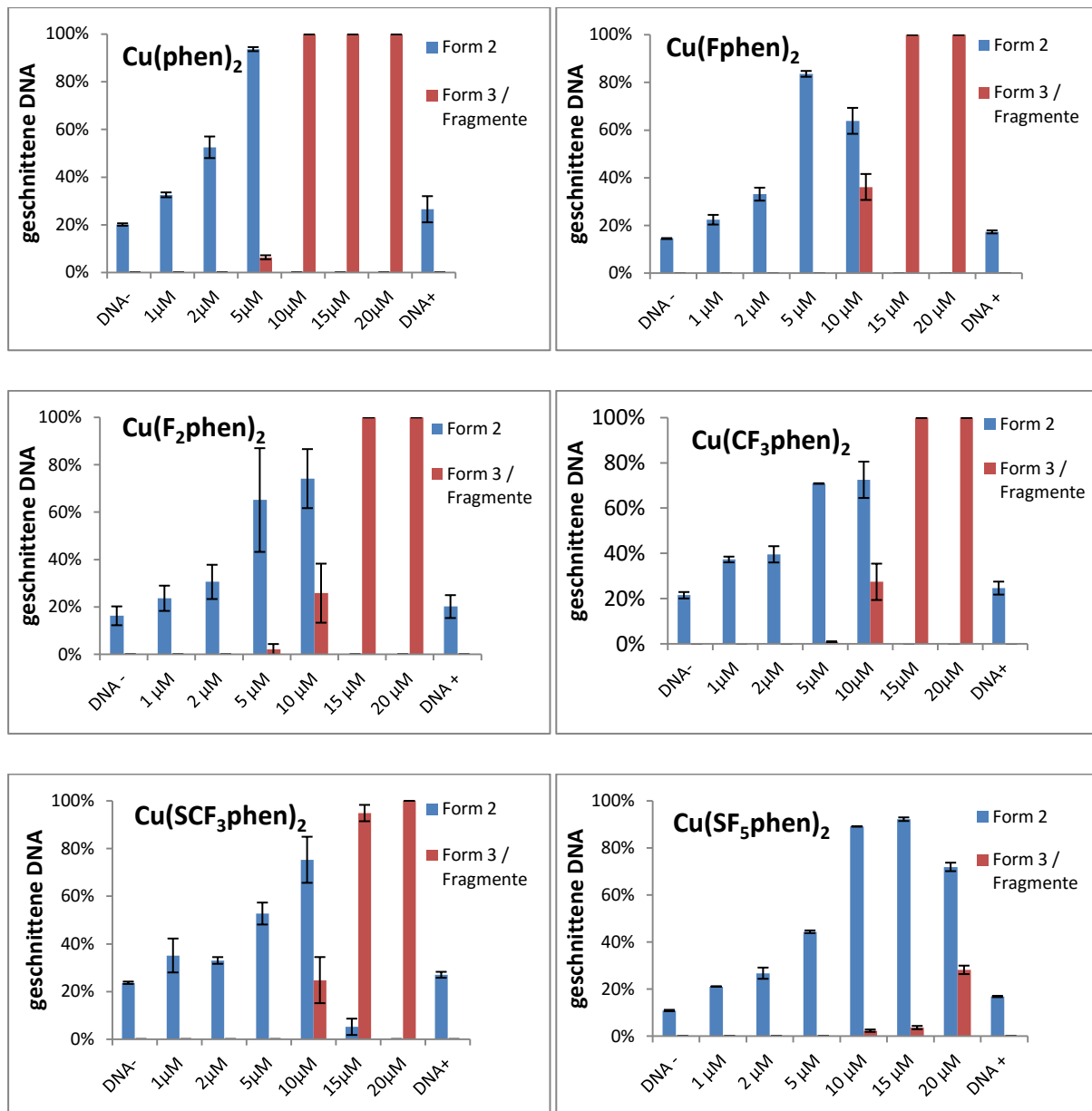


Abbildung 42: Konzentrationsabhängige ([Komplex] = 0 bis 20 µM) Spaltung von pBR322-Plasmid (0.025 µg·µL⁻¹) nach einstündiger Inkubation (37 °C, 500 rpm) durch unterschiedliche Kupferkomplexe in Gegenwart von Ascorbinsäure (250 µM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.4).

Spaltung von Plasmid-DNA mit Ascorbinsäure/Substrat-abhängig

Da alle Komplexe das gleiche konzentrationsabhängige Nuklease-Verhalten zeigten, sollten die einzelnen Derivate und deren Nuklease-Aktivität untereinander verglichen werden. Dafür wurden DNA-Spaltexperimente bei einer konstanten Komplexkonzentration (5 µM bzw. 10 µM) in Gegenwart von Ascorbinsäure (250 µM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM) durchgeführt. Die einzelnen Proben wurden bei diesem Experiment für eine Stunde inkubiert (37 °C, 500 rpm).

Zunächst wurde die Nukleaseaktivität der Komplexe bei $[\text{Cu}^{2+}] = 5 \mu\text{M}$ untersucht (Abbildung 43). Die größte Spaltung der scDNA wurde unter Einwirkung des Komplexes mit dem underivatisierten phen-Liganden, $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$, beobachtet. **$\text{Cu}(\text{Fphen})_2$** zeigte eine ebenfalls sehr hohe spaltungsinduzierende Aktivität, welche jedoch etwas geringer als die von **$\text{Cu}(\text{phen})_2$** war. Für beide Spezies lag die DNA zu mehr als 60 % in der offenkettigen Form vor. Bei den Proben unter Anwesenheit der restlichen vier Komplexe wurde eine signifikant geringere Spaltrate beobachtet, wobei keine eindeutige Tendenz für eine Reihenfolge der Aktivität ersichtlich wurde.

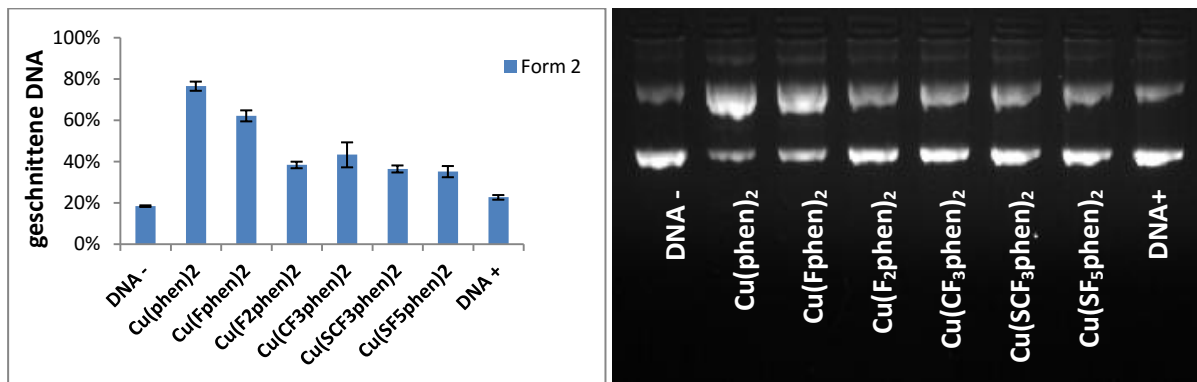


Abbildung 43: DNA-Spaltexperiment (pBR322-Plasmid, $0.025 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) mit verschiedenen Kupferkomplexen (jeweils $5 \mu\text{M}$) in Gegenwart von Ascorbinsäure (0.25 mM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM , $\text{pH} = 7.4$) nach einstündiger Inkubation (500 rpm , $37 \text{ }^\circ\text{C}$), (DNA -/+ : DNA ohne/mit Ascorbinsäure).

Aus diesem Grund wurden die Versuche bei einer höheren Komplexkonzentration wiederholt (Abbildung 44). Bei einer Komplexkonzentration von $10 \mu\text{M}$ konnte für die Komplexe **$\text{Cu}(\text{phen})_2$** und **$\text{Cu}(\text{Fphen})_2$** keine superverdrillte DNA (Form 1) detektiert werden. Für **$\text{Cu}(\text{phen})_2$** lag die DNA durchschnittlich sogar zu 30 % in linearisierter Form (Form 3) vor. Das difluorierte Derivat **$\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2$** und das trifluormethylierte Derivat **$\text{Cu}(\text{CF}_3\text{phen})_2$** überführten die Plasmid-DNA zu 80 % in die offenkettige bzw. linearisierte Form und weisen somit eine sehr ähnliche Spaltaktivität auf. Die beiden schwefelhaltigen Derivate zeigen die geringste Nukleaseaktivität in Gegenwart von Ascorbinsäure, bewirkten bei $10 \mu\text{M}$ Komplexkonzentration jedoch immer noch die Transformation der Plasmid-DNA zu über 60 % in die offenkettige Form 2.

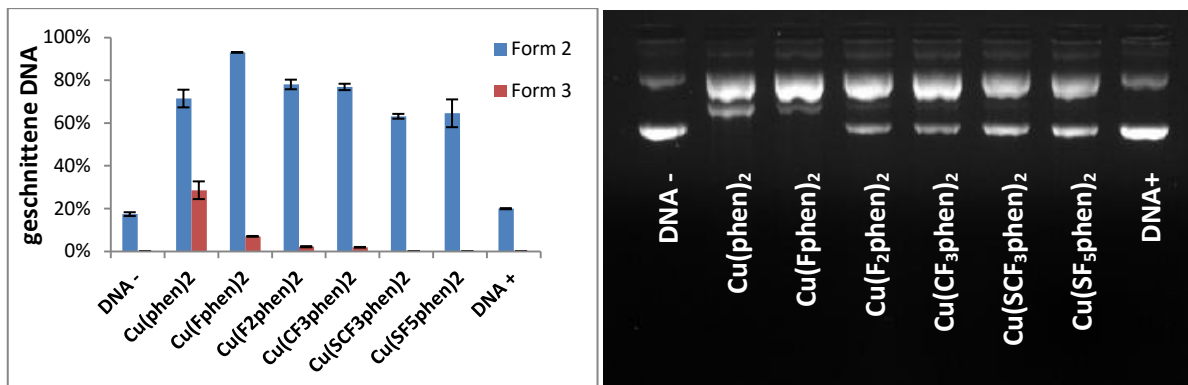


Abbildung 44: DNA-Spaltexperiment (pBR322-Plasmid, $0,025 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) mit verschiedenen Kupferkomplexen (jeweils $10 \mu\text{M}$) in Gegenwart von Ascorbinsäure ($0,25 \text{ mM}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM , $\text{pH} = 7,4$) nach einstündiger Inkubation (500 rpm , $37 \text{ }^\circ\text{C}$), (DNA -/+ : DNA ohne/mit Ascorbinsäure).

Die größere Spaltaktivität der Komplexe **Cu(phen)₂** und **Cu(Fphen)₂** kann mit deren höherer Affinität für dsDNA erklärt werden. Die Koordination des Kupferkomplexes führt hierbei zur Produktion von ROS in nächster Nähe zum Ribose-Rückgrat der DNA und zur Induktion einer oxidativen Spaltung des DNA-Stranges. Eine höhere Affinität zum DNA-Strang resultiert damit in einer höheren Spaltrate. Die Derivate mit einer deutlich geringeren Affinität für dsDNA wie **Cu(CF₃phen)₂**, **Cu(F₂phen)₂** und die schwefelhaltigen Komplexe weisen folglich eine deutlich geringere Nukleaseaktivität auf. Das Redoxpotential der Kupferkomplexe scheint hier nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. Zudem werden bei der Spaltung in Gegenwart von Ascorbinsäure die aktiven Kupfer(I)-Spezies durch das Reduktionsmittel generiert. Eine Fluorierung der Liganden führt zu einer Erhöhung der Redoxpotentiale und somit zu einer Stabilisierung der Oxidationsstufe I des Kupferzentrums (siehe 3.2.3. Elektrochemische Untersuchung der Kupferkomplexe). Dies führt zu einer erschwerten Reoxidation von Kupfer(I) und somit einer geminderten Rate für die Sauerstoffaktivierung. Dies würde eine geminderte Nukleaseaktivität der Kupferkomplexe mit dem höchsten Redoxpotential nach sich ziehen, was jedoch im vorliegenden Fall experimentell nicht bestätigt werden konnte (mittlere Nukleaseaktivität für **Cu(F₂phen)₂** bei gleichzeitig höchstem Redoxpotential). Dieser Fakt spricht ebenfalls für eine DNA-Affinitäts-abhängige Nukleaseaktivität der Kupferkomplexe.

Spaltung von Plasmid-DNA ohne Reduktionsmittel/Substrat-abhängig

Verglichen mit der Referenzsubstanz **Cu(phen)₂** waren die Potentiale der fluorhaltigen Komplexe positiver, was eine Stabilisierung der entsprechenden Kupfer(I)-Spezies bedeutet (siehe 3.2.3. Elektrochemische Untersuchung der Kupferkomplexe). Nun sollte die Nuklease-Aktivität der Komplexe in Abwesenheit von externen Reduktionsmitteln untersucht werden, um herauszufinden,

ob einer der Komplexe eine selbstaktivierende Nuklease ist, welche die aktive Spezies (Kupfer(I)-Komplex) in Lösung ohne zusätzliche Reduktanden selbst generiert. Wird diese durch Sauerstoff zur Kupfer(II)-Spezies reoxidiert und der molekulare Sauerstoff somit aktiviert, so werden ROS gebildet, welche eine Spaltung von scDNA induzieren.

Zunächst wurden die Kupferkomplexe in geringer Konzentration in Tris-HCl mit pBR322 inkubiert (Abbildung 45). Keiner der Kupferkomplexe zeigte unter diesen Bedingungen Nuklease-Aktivität. Somit ist bei solch niedrigen Konzentrationen ein externes Reduktionsmittel essentiell um eine DNA-Spaltung zu initiieren (siehe Spaltung mit Ascorbinsäure).

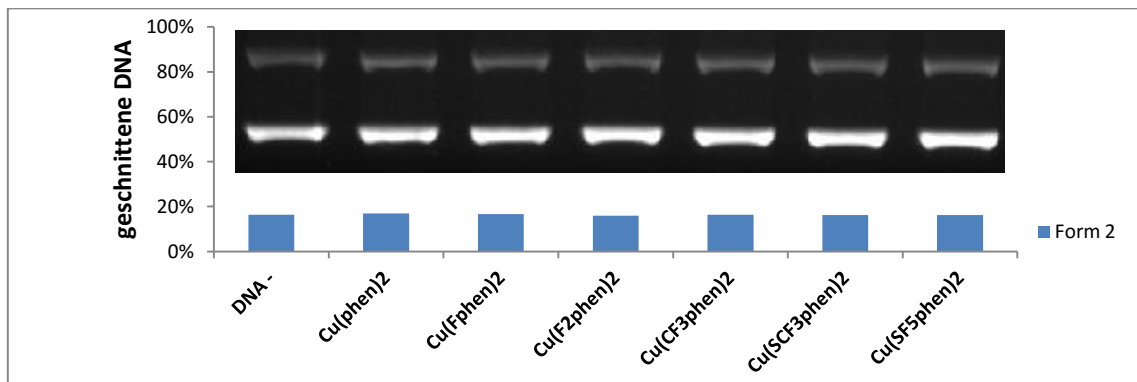


Abbildung 45: DNA-Spaltexperiment (pBR322-Plasmid, $0,025 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) mit verschiedenen Kupferkomplexen (jeweils $10 \mu\text{M}$) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.4) nach einstündiger Inkubation (500 rpm, 37°C).

Erhöht man jedoch die Konzentration der Kupferkomplexe, so kann man nach einer Stunde Inkubation mit Plasmid-DNA für alle untersuchten Derivate eine Spaltung bzw. eine Erhöhung des Anteils an Form 2 für DNA beobachten (Abbildung 46). Dabei kann hier ein anderer Trend als bei der Spaltung mit Ascorbinsäure beobachtet werden.

Die größte Spaltaktivität wird für die difluorierte Spezies **Cu(F₂phen)₂**, gefolgt von **Cu(Fphen)₂** detektiert. Hier liegen 97 % (**Cu(F₂phen)₂**) bzw. 91 % (**Cu(Fphen)₂**) der Plasmid-DNA in Form 2 oder Form 3 vor. Dies sind 31 und 25 Prozentpunkte mehr als für die nichtfluorierte Referenzsubstanz **Cu(phen)₂**. Eine höhere Spaltung wird ebenso nach Inkubation mit **Cu(CF₃phen)₂** und **Cu(SF₅phen)₂** beobachtet. Einzig **Cu(SCF₃phen)₂** zeigt eine etwas geringere Spaltaktivität in Abwesenheit eines externen Reduktionsmittels auf. Somit weisen vier fluorierte Derivate eine höhere Nuklease-Aktivität als die nicht-fluorierte Referenzspezies auf.

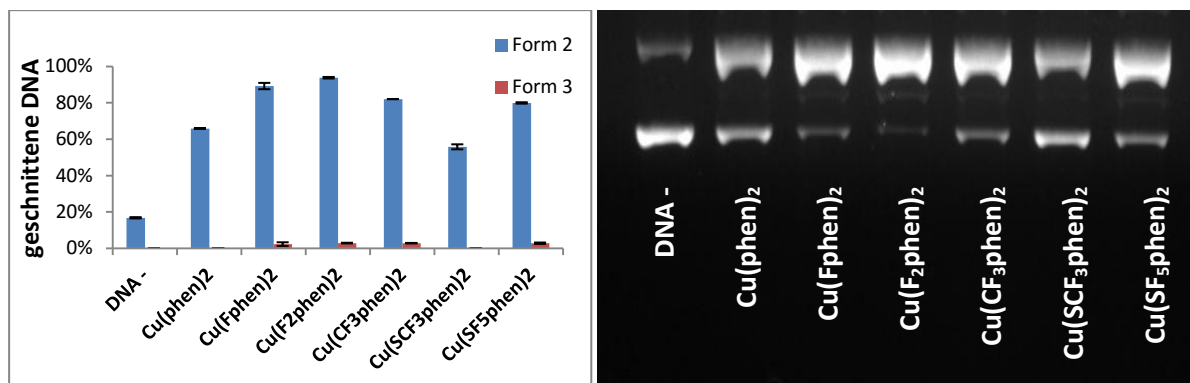


Abbildung 46: DNA-Spaltaktivität verschiedener Kupferkomplexe (100 μ M) in Tris-HCl-gepufferter Lösung (50 mM, pH = 7.4) gegenüber pBR322-Plasmid (0.025 μ g* μ L⁻¹) nach 60 min Inkubation (500 rpm, 37 °C).

Schien bei der Spaltung von Plasmid-DNA in Anwesenheit von Ascorbinsäure die Affinität zur DNA eine entscheidende Rolle für die Aktivität der Komplexe zu spielen, so wird dieser Aspekt bei der Spaltung ohne Ascorbinsäure durch andere Effekte aufgewogen. Eine wichtige Rolle könnte, wie eingangs beschrieben, das Redoxpotential der einzelnen Kupfer(II)-Spezies spielen. Wie erwartet verringern elektronenziehende Liganden die Elektronendichte am Kupferzentrum (positive Redoxpotentiale) und begünstigen somit die Bildung der Kupfer(I)-Spezies. Die etwas geringere Aktivität von **Cu(CF₃phen)₂** und **Cu(SF₅phen)₂** kann aus der geringeren Affinität zu dsDNA resultieren. Bei diesen beiden Derivaten ist die Gewichtung bezüglich sterischer Faktoren größer als für die mono- bzw. die difluorierte Spezies. Daraus folgt, dass das unerwartet positive Redoxpotential von **Cu(F₂phen)₂** kombiniert mit einer relativ großen DNA-Affinität verantwortlich ist für die größte Nuklease-Aktivität im Vergleich zu den anderen hier vorgestellten Kupfer(II)-Komplexen, wenn kein externes Reduktionsmittel vorliegt. **Cu(Fphen)₂** weist eine minimal geringere Spaltaktivität auf, wobei dieses ein niedrigeres Redoxpotential als **Cu(F₂phen)₂** aufweist (-0.23 V vs. -0.11 V), jedoch eine höhere DNA-Affinität. Im Umkehrschluss deutet dieses Redoxpotential-abhängige Ausmaß der Nuklease-Aktivität (Spaltaktivität: **Cu(F₂phen)₂** > **Cu(Fphen)₂** > **Cu(phen)₂**) auf einen oxidativen Mechanismus hin, welcher zu Beginn postuliert wurde.

Nicht unbeachtet soll hier die geringe Komplexbildungskonstante für den zweiten Phenanthrolinliganden bleiben (Tabelle 18). Problematisch ist dies insofern, dass der Tris-Puffer eine relativ hohe Affinität zu Kupfer(II) aufweist und in hohem Überschuss (50 mM vs. 0.10 mM [Komplex]) eingesetzt wird.^[203] So ist nicht auszuschließen, dass Komplexe der Zusammensetzung [CuL(Tris)]²⁺ vorliegen, welche ebenso die Nuklease-Aktivität hervorrufen könnten. Um dies auszuschließen, wurden die Spaltversuche unter Abwesenheit eines Reduktionsmittels mit einem anderen Puffer,

3-(*N*-Morpholino)propan-sulfonsäure (MOPS), durchgeführt (Abbildung 47). Dieser zeichnet sich im Gegensatz zu Tris dadurch aus, dass er nicht an Kupfer(II) bindet.^[205]

Tabelle 18: Assoziationskonstanten für verschiedene Kupfer(II)- Puffer-Addukte und das Kupfer(II)-Phenanthrolin-System

Komplex	Reaktion	Assoziationskonstante (log K)
$[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$	$\text{Cu}^{2+} + \text{phen} \rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{phen})]^{2+}$	8.8 ^[90]
$\text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$	$[\text{Cu}(\text{phen})]^{2+} + \text{phen} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{phen})_2]^{2+}$	6.5 ^[90]
$[\text{Cu}(\text{Tris})]^{2+}$	$\text{Cu}^{2+} + \text{Tris} \rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{Tris})]^{2+}$	5.34 bis 6.29 ^[203]
$[\text{Cu}(\text{MOPS})]^{2+}$	$\text{Cu}^{2+} + \text{MOPS} \rightleftharpoons [\text{Cu}(\text{MOPS})]^{2+}$	keine Koordination beobachtet ^[205]

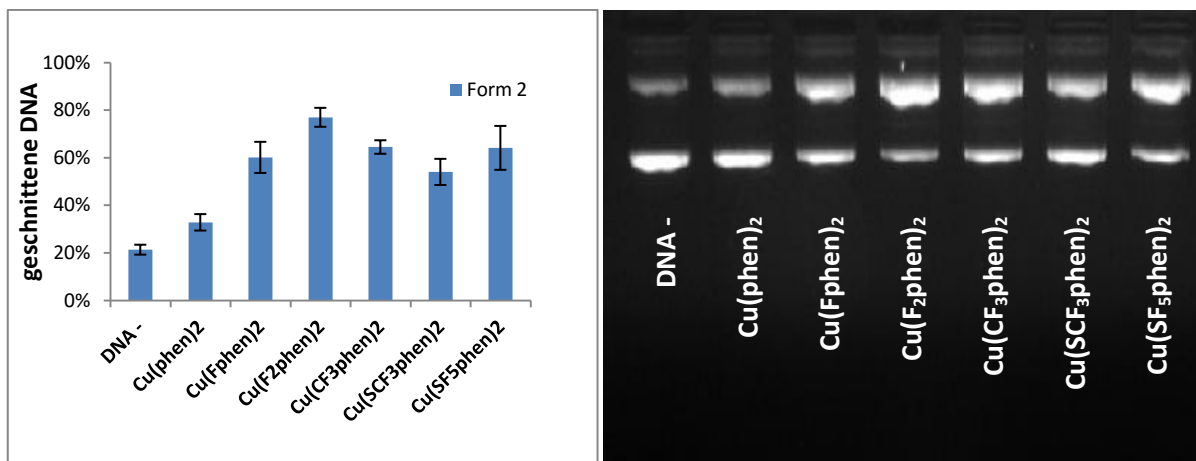


Abbildung 47: DNA-Spaltaktivität verschiedener Kupferkomplexe (100 μM) in MOPS-gepufferter Lösung (50 mM, pH = 7.4) gegenüber pBR322-Plasmid (0.025 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) nach 60 min Inkubation (500 rpm, 37 °C).

Es zeigt sich eine ähnliche Tendenz wie bei den Spaltexperimenten in Gegenwart von Tris-HCl-Puffer, wobei sich jedoch einige deutliche Unterschiede zeigen:

- I) die Nukleaseaktivität von **Cu(phen)₂** ist nahezu vollständig gequencht
- II) die Nukleaseaktivität der restlichen Komplexe ist geringer als in den Tris-Spaltexperimenten.

Somit ist festzuhalten, dass Tris durchaus zur Spaltaktivität der Kupferkomplexe in Abwesenheit eines Reduktionsmittels beiträgt. Dies ist aufgrund dessen Affinität zu Kupfer(II) nicht überraschend. Für die Nukleaseaktivität der Komplexe ist Tris jedoch nicht essentiell, insbesondere nicht als die den Redoxprozess initiiierende Komponente. In Gegenwart des nicht-kordinierenden MOPS-Puffers zeigen die fluorierten Kupfer-phen-Komplexe Nukleaseaktivität und scheinen zudem selbst-aktivierend zu sein. Auch in diesen Experimenten hat **Cu(F₂phen)₂** die höchste und **Cu(SCF₃phen)₂** die

geringste Aktivität für die fluorhaltigen Derivate, wobei die gleiche Argumentation über die Redoxpotential-abhängige Spaltung wie in den vorangegangenen Experimenten mit Tris schlüssig ist.

Quenchversuche zur Identifizierung möglicher spaltungsinduzierender ROS

Zur Klärung des grundlegenden Mechanismus' der Plasmid-Spaltung können Quenchversuche durchgeführt werden, wodurch an der Spaltung beteiligte ROS identifiziert werden. Dafür werden übliche ROS-Fänger/Quencher eingesetzt, welche verschiedene Arten von reaktiven Sauerstoffspezies abfangen. Somit wird entweder die Reaktionskaskade – involviert sind des Öfteren mehrere Arten von ROS – zur Generierung der aktiven Spaltungs-induzierenden Spezies unterbrochen oder direkt die entsprechende Spezies gequenchet.

Im folgenden Versuch wurden als Quencher folgende Spezies genutzt:

- i) DMSO: Hydroxylradikale^[206]
- ii) Natriumazid: Singulett-Sauerstoff^[206]
- iii) Superoxiddismutase: Superoxidanion (katalysiert Disproportionierung zu H₂O₂ und O₂)^[206]
- iv) Katalase: Wasserstoffperoxid (Produkte sind O₂ und H₂O)^[78]

Die Proben wurden für 60 min inkubiert (500 rpm, 37 °C), wobei Proben mit pBR322-DNA ohne Komplex und mit Komplex als Referenzen dienten.

Aus den Experimenten wird ersichtlich, dass sowohl DMSO als auch Natriumazid keine Inhibierung der DNA-Spaltung hervorrufen, was die Beteiligung von freien Hydroxylradikalen und Singulett-Sauerstoff an der DNA-Spaltung unwahrscheinlich macht (Abbildung 48). Katalase hingegen führte zu einer vollständigen Quenchung der Spaltung. Somit ist es wahrscheinlich, dass Wasserstoffperoxid eine der an der Spaltung beteiligten reaktiven Sauerstoffspezies ist. Zudem konnte bei Zugabe von Superoxiddismutase eine Inhibierung der Spaltung beobachtet werden (höherer Anteil an Form 1, Abbildung 48). Besonders ist, dass in geringem Maß auch der Anteil linearer DNA (Form 3) ansteigt. Erklärt werden kann dies durch die Disproportionierung von Superoxiden, bei der als Produkt unter anderem Wasserstoffperoxid anfällt. Dies scheint die oxidative Spaltung bei der offenkettigen Form der DNA zu katalysieren, während die Spaltung von *supercoiled*-DNA inhibiert wird. Betrachtet man den angenommenen Mechanismus für die

Generierung von ROS unter Anwesenheit eines Reduktionsmittels (Schema 1), so erscheint derselbe Mechanismus auch plausibel für die Reaktionskaskade ohne Reduktionsmittel zu sein. Im Folgenden wird eine Möglichkeit dieses Prozesses ohne Reduktionsmittel dargelegt:

In dem Reaktionsgemisch liegt durch nicht geklärte Redoxprozesse neben dem Kupfer(II)-Komplex auch Kupfer(I) vor, jedoch in weitaus geringerer Konzentration. Je höher hierbei das Redoxpotential des Komplexes ist, umso höher ist auch die Konzentration an aktiver Kupfer(I)-Spezies. Diese Kupfer(I)-Spezies aktiviert molekularen Sauerstoff, wodurch Superoxid generiert wird. Die geringe Konzentration an Kupfer(I) führt zu einer geringeren Rate für die Reduktion von Superoxid zum Peroxid. In Anwesenheit von SOD wird die Disproportionierung von Superoxid katalysiert, wodurch auch Wasserstoffperoxid generiert wird. Jedoch werden zwei Äquivalente Superoxid zur Generierung eines Äquivalents Wasserstoffperoxid benötigt. Somit steht für die Degenerierung des DNA-Stranges nur die Hälfte an H_2O_2 zur Verfügung und die Spaltrate sinkt entsprechend ab. Als Resultat sieht man die Inhibierung der Spaltung durch Katalase und eine teilweise Inhibierung durch Superoxiddismutase. Beispielhaft sind folgend die Quenchgele und die graphische Auswertung dieser für $Cu(F_2phen)_2$ und $Cu(CF_3phen)_2$ abgebildet (Abbildung 48).

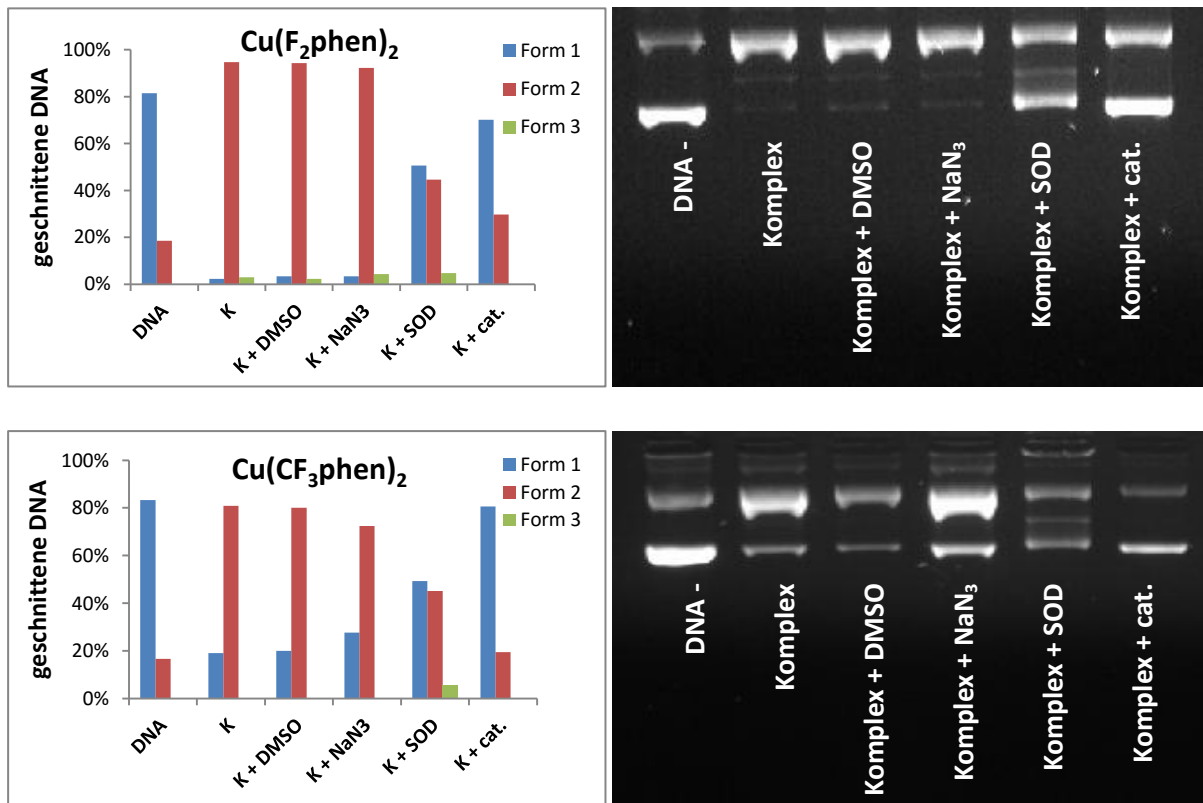


Abbildung 48: Quenchexperimente mit verschiedenen Quenchern zur Identifizierung der ROS bei der DNA-Spaltung durch $Cu(F_2phen)_2$ und $Cu(CF_3phen)_2$ in Abwesenheit eines Reduktionsmittels; Inkubationsbedingungen (60 min, 500 rpm, 37 °C); Spur 1 bis 6: pBR322-Plasmid ($0.025 \mu g \cdot \mu L^{-1}$), MOPS-Puffer (50 mM, pH = 7.4), PBS ($0.125X$); Spur 2 bis 6: Kupfer(II)-Komplex K ($100 \mu M$); Spur 3 bis 6: Quencher.

Die Identifizierung beteiligter ROS zeigt, dass es sich bei der Spaltung in Abwesenheit von Reduktionsmitteln ebenfalls um einen oxidativen Spaltmechanismus handelt. Allerdings ist die Frage offen, durch welche Mechanismen die Generierung der ROS induziert wird, welche Spezies als Reduktand für die Reduktion der Kupfer(II)-Spezies dient. Deutlich hingegen wird, dass eine Fluorierung der Liganden zu einer Verstärkung der Nukleaseaktivität der Komplexe führt, indem dadurch deren Redoxpotentiale angehoben werden, was wiederum zu einer Stabilisierung der Oxidationsstufe 1 des Kupferzentrums führt oder im Umkehrschluss die Reduktion der Kupfer(II)-Komplexe erleichtert. Als Reduktanden können verschiedene Spezies dienen. So hat die DNA-Base Guanin ein relativ niedriges Redoxpotential (0.81 V, Guanosin: 1.02 V, beides gegen Normalwasserstoffelektrode), welches jedoch theoretisch immer noch zu hoch ist um als Reduktionsmittel für die untersuchten Komplexe zu dienen ($E^0(\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2) \approx 0.29 \text{ V}$, berechnet gegen Normalwasserstoffelektrode).^[207] Letztendlich kann diese Frage nicht abschließend geklärt werden und bedarf weiterer Untersuchungen und Nachforschungen.

4.3.2. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(2\text{-Me-Xphen})_2]^{2+}$ (X = H, F, CF_3 , SCF_3 , SF_5)

Spaltung von Plasmid-DNA mit Ascorbinsäure/konzentrationsabhängig

Zunächst wurde die DNA-Spaltung der einzelnen methylierten Spezies **Cu(Mephen)₂**, **Cu(5FMephen)₂**, **Cu(6FMephen)₂**, **Cu(CF₃Mephen)₂** und **Cu(SCF₃Mephen)₂** untersucht. Dafür wurden die einzelnen Substrate in unterschiedlichen Konzentrationen (0 bis 20 μM) in Tris-HCl-Puffer (pH = 7.4) mit pBR322-DNA für eine Stunde (37 °C, 500 rpm) inkubiert.

Bei der anschließenden Analyse mittels Agarose-Gelelektrophorese konnte eine konzentrationsabhängige Spaltung der Plasmid-DNA beobachtet werden. Bereits bei geringen Konzentrationen (< 10 μM) konnte für alle Derivate ein deutlicher Anstieg an offenkettiger DNA beobachtet werden (Abbildung 49). Mit zunehmender Konzentration des Komplexes nahm auch der Anteil der geschnittenen DNA zu.

Die gleiche Beobachtung konnte bereits für die nicht-methylierten Derivate in **4.3.1.** gezeigt werden. Auch in diesem Fall kann man annehmen, dass die größere Konzentration an Kupferspezies zu einer größeren Konzentration an reaktiven Sauerstoffspezies führt, welche eine höhere Spaltrate zur Folge haben.

Auffallend ist der deutlich höhere Anteil an geschnittener DNA für **Cu(5FMephen)₂** (Form 2 und 3). Bei diesem Experiment kann jedoch, verglichen mit den Experimentalreihen für die anderen Komplexe, ein größerer Anteil an offenkettiger DNA für die Referenz beobachtet werden (Inkubation der DNA ohne Kupfer-Komplex mit bzw. ohne Ascorbinsäure, Abbildung 49). Hieraus wird ersichtlich, dass die Daten nicht miteinander verglichen werden können, da die Spaltaktivität teilweise von anderen Parametern als den Inkubationsbedingungen abhängig ist. Dazu gehören:

- I) Charge der DNA (unterschiedlicher Anteil an offenkettiger DNA)
- II) Ascorbinsäure-Stammlösung, welche jeden Tag neu zubereitet wird

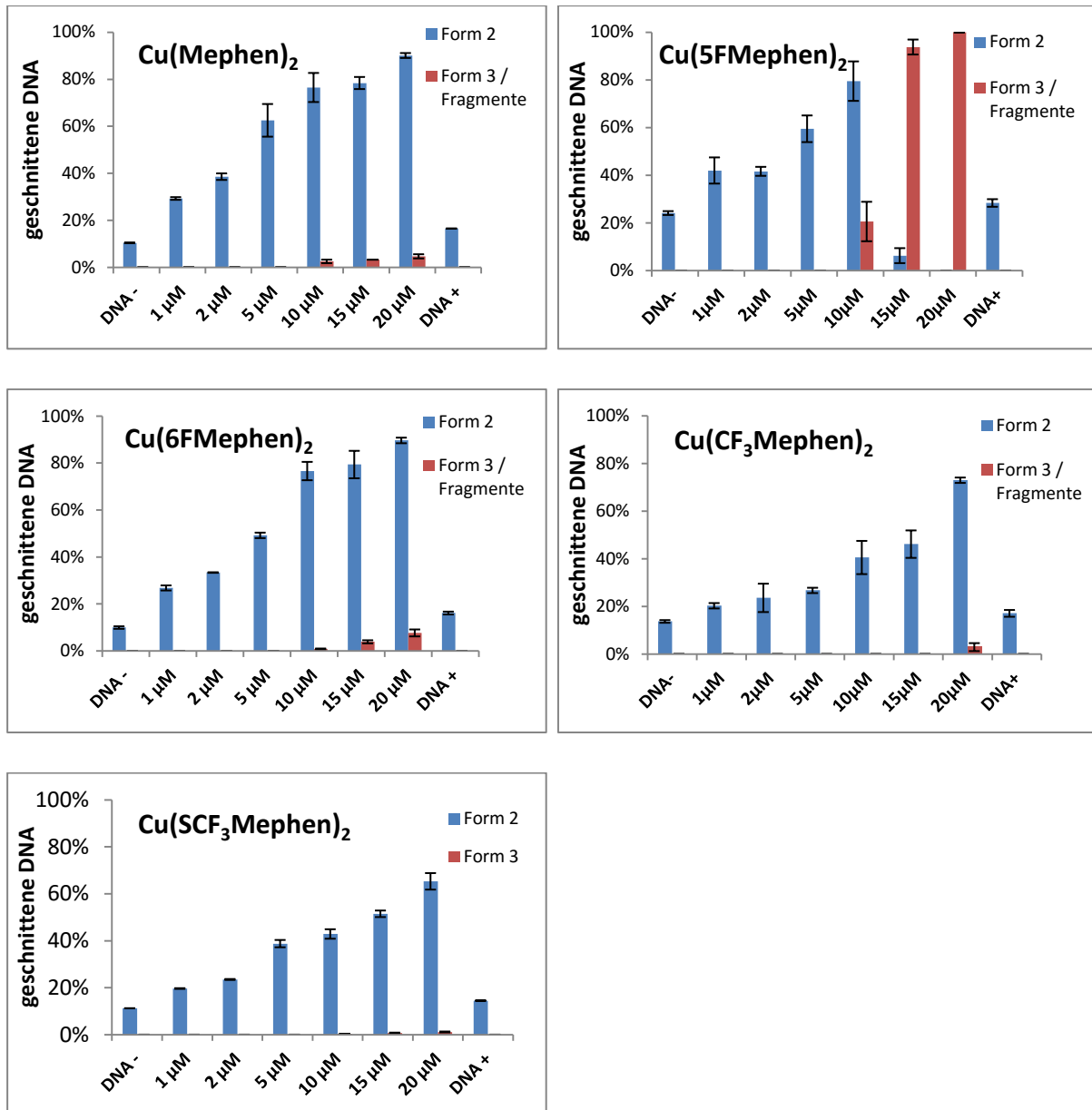


Abbildung 49: Konzentrationsabhängige ([Komplex] = 0 bis 20 µM) Spaltung von pBR322-Plasmid (0.025 µg*µL⁻¹) nach einstündiger Inkubation (37 °C, 500 rpm) durch unterschiedliche Kupferkomplexe in Gegenwart von Ascorbinsäure (250 µM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.4).

Spaltung von Plasmid-DNA mit Ascorbinsäure/Substrat-abhängig

In Analogie zu den nicht-methylierten Phenanthrolin-Kupfer-Komplexen wurden auch für die methylierten Phenanthrolin-Kupfer-Komplexe Vergleichsgele angefertigt, um die Nuklease-Aktivität der einzelnen Derivate untereinander zu vergleichen. Die experimentellen Grundlagen wurden mit einer bestimmten Komplexkonzentration (10 µM), gleicher Inkubationszeit (1h), dem gleichen Puffersystem (Tris-HCl, 50 mM, pH = 7.4) und der Anwesenheit von Ascorbinsäure (250 µM) als

Reduktionsmittel beibehalten. Verglichen wurden **Cu(Mephen)₂**, **Cu(5FMephen)₂**, **Cu(6FMephen)₂**, **Cu(CF₃Mephen)₂** und **Cu(SCF₃Mephen)₂**.

Die höchste Spaltaktivität zeigte die nicht-fluorierte Spezies **Cu(Mephen)₂**, bei der unter den oben genannten Bedingungen keine superverdrillte DNA (Form 1) detektiert werden konnte. 82 % der DNA lag in der offenkettigen Form (Form 2) vor und 18 % in der linearen Form (Form 3). Nach Inkubation mit **Cu(5FMephen)₂** und **Cu(6FMephen)₂** lag die DNA zu mehr als 95 % in Form 2 und 3 vor. Dabei konnten keine signifikanten Unterschiede in der Nuklease-Aktivität der beiden Substrate festgestellt werden. Die Position des Fluorsubstituenten an der Benzoleinheit scheint somit keinen Einfluss auf die Spaltaktivität zu haben. Eine etwas geringere Spaltrate wurde für das trifluormethylierte Derivat **Cu(CF₃Mephen)₂** verzeichnet (89 % der DNA in Form 2 und 3), gefolgt von **Cu(SCF₃Mephen)₂** (63 % Form 2 bzw. 3).

Erkennbar ist die Abnahme der Spaltaktivität mit zunehmender Substituentengröße, welche folgend aufgelistet ist (Abbildung 50):



Ein Grund hierfür könnte die abnehmende Affinität zu Plasmid-DNA sein, wodurch die generierten reaktiven Sauerstoffspezies keine Oxidation der Ribose der DNA initiieren können und somit keine Spaltung des Stranges eintritt. Die Verringerung der DNA-Affinität konnte bereits in den DNA-Bindungs-Experimenten gezeigt werden. Die gleiche Tendenz der abnehmenden Nuklease-Aktivität bei zunehmender Substituentengröße wurde schon in 4.3.1. für die nicht-methylierten Derivate beobachtet, wobei dort ebenfalls die Sterik des Liganden als Ursache für die verringerte Spaltung vermutet wurde.

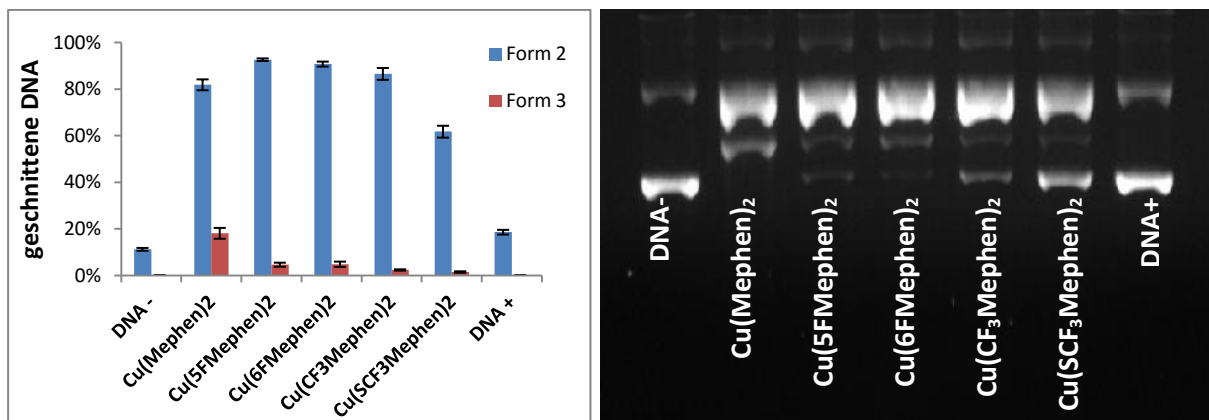


Abbildung 50: DNA-Spaltexperiment (pBR322-Plasmid, 0.025 µg*ml⁻¹) mit verschiedenen Kupferkomplexen (jeweils 10 µM) in Gegenwart von Ascorbinsäure (0.25 mM) in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.4) nach einstündiger Inkubation (500 rpm, 37 °C).

Spaltung von Plasmid-DNA ohne Reduktionsmittel/Substrat-abhängig

Wie in 4.3.1. sollte auch für die Komplexe mit methylierten phen-Derivaten eine mögliche Nuklease-Aktivität in Abwesenheit eines externen Reduktionsmittels untersucht werden. Ähnlich wie zuvor beschrieben wurden die Komplexe (hier jedoch 125 μM) in Tris-HCl (50 mM, pH = 7.4) mit pBR322-DNA für 80 min inkubiert. Um einen Vergleich zu den nicht-methylierten Derivaten zu schaffen, wurde bei den Versuchen zusätzlich **Cu(phen)₂** mit getestet.

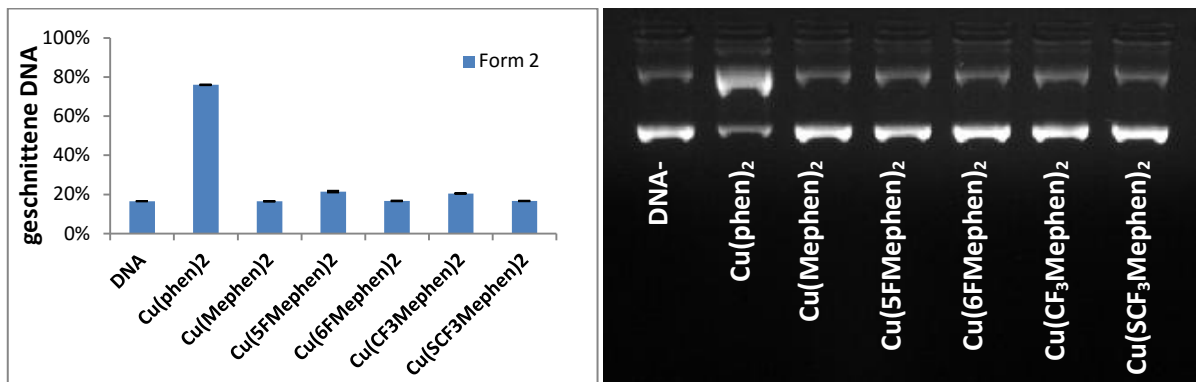


Abbildung 51: DNA-Spaltaktivität verschiedener Kupferkomplexe (125 μM) in Tris-HCl-gepufferter Lösung (50 mM, pH = 7.4) gegenüber pBR322-Plasmid (0.025 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) nach 60 min Inkubation (500 rpm, 37 °C).

Während für das nicht-methylierte Derivat **Cu(phen)₂** die Plasmid-DNA nach Inkubation zu 80 % in der entwundenen Form 2 vorlag, konnte bei den methylierten Derivaten keine signifikante Spaltung beobachtet werden (Abbildung 51). Um zu klären, ob diese Inaktivität der Komplexe gegenüber scDNA an der relativ geringen Konzentration liegt, wurde diese auf 312.5 μM erhöht. Jedoch konnte auch bei dieser Konzentration keine signifikante Spaltung der DNA detektiert werden. Es konnte lediglich eine minimale Erhöhung von Form 2 für die fluorierten Derivate aufgezeigt werden (zwei bis drei Prozentpunkte).

Für die nicht-methylierten Derivate konnte ein Einfluss des Puffers auf die Nukleaseaktivität der Komplexe aufgezeigt werden. Aus diesem Grund wurde auch hier die Spaltaktivität der Komplexe in Abwesenheit eines Reduktionsmittels mit einem anderen Puffersystem getestet. Hierfür wurde der koordinierende Tris-Puffer durch den nicht-koordinierenden MOPS-Puffer ausgetauscht. Diese Substitution des Puffersystems zeigte jedoch keine Auswirkung auf die Komplex-induzierte Spaltung von scDNA. Auch hier konnte keine Aktivität der Kupferkomplexe nachgewiesen werden.

Ursächlich für die Inaktivität dieses Systems könnte eine Stabilisierung der Kupfer(II)-Spezies durch die elektronenschiebende Wirkung der Methylgruppe (+I-Effekt) in Nachbarschaft zum Donor-Stickstoffatom sein. Dadurch kann die aktive Kupfer(I)-Spezies nicht gebildet werden, wodurch auch molekularer Sauerstoff nicht aktiviert wird und keine ROS gebildet werden. Der minimale Effekt für die fluorierten Derivate kann wie in **4.3.1.** auf eine Reduktion der Elektronendichte zurückgeführt werden, die jedoch aufgrund des +I-Effektes der Methylgruppe nicht die gleiche Erhöhung der Spaltaktivität gegenüber DNA mit sich bringt. Dagegen spricht das höhere Redoxpotential der Komplexe, welches auf eine einfachere Reduktion der Kupfer(II)-Spezies hindeutet. Das hohe Redoxpotential kann, wie in **3.2.3.** beschrieben, auf die Hinderung der planaren Anordnung der Mephen-Liganden zurückgeführt werden. Hierdurch wird die tetraedrische Koordinationsumgebung des Kupferzentrums favorisiert, welche Kupfer(I)-Systeme ausbilden. Das wiederum ist ein weiterer Hinweis dafür, dass unterschiedliche Bindungs- und Spaltmechanismen für nicht-methylierte und methylierte Spezies vorliegen, die dazu führen, dass es sich bei den fluorhaltigen **Cu(phen)₂**-Komplexen um selbstaktivierende Nukleasen handelt und bei dem **Cu(Mephen)₂**-System nur um Reduktionsmittel-abhängige Nukleasen. Um den zugrundeliegenden Mechanismus zu klären, müssen zusätzliche Experimente durchgeführt werden, welche Einblicke in die Aktivierung von Sauerstoff in Gegenwart von DNA für die **Cu(Mephen)₂**-Derivate liefern. Besonders interessant wäre hier die Zusammensetzung der aktiven Spezies. So gibt es die Möglichkeit eines 1:1-Komplexes (Ligand:Kupfer-Verhältnis), wodurch freie Koordinationsstellen für Sauerstoff vorhanden wären. Dieser hätte ein weitaus geringeres Redoxpotential (die Abhängigkeit von einem Reduktionsmittel würde steigen) als der entsprechende 2:1-Komplex, da keine sterischen Einflüsse das Redoxpotential anheben würden. Das würde die Inaktivität der Komplexe in Abwesenheit externer Reduktionsmittel erklären.

4.3.3. Vergleich von fluorierten Cu(phen)₂- und Cu(Mephen)₂-Derivaten

Um die beiden Systeme, mit und ohne Methylgruppe, zu vergleichen, wurden Spaltversuche mit beiden Systemen in einem DNA-Spaltexperiment kombiniert. Dabei wurde die Spaltaktivität in Gegenwart eines Reduktionsmittels untersucht. Die jeweiligen Komplexe ohne Methylgruppe wiesen dabei eine höhere Spaltaktivität auf als deren Analoga mit Methylgruppe (Abbildung 52). Dieser Trend ist dabei unabhängig von den jeweils betrachteten fluorhaltigen Substituenten.

Biologische Aktivität der Kupferkomplexe /Nukleaseaktivität der Kupferkomplexe

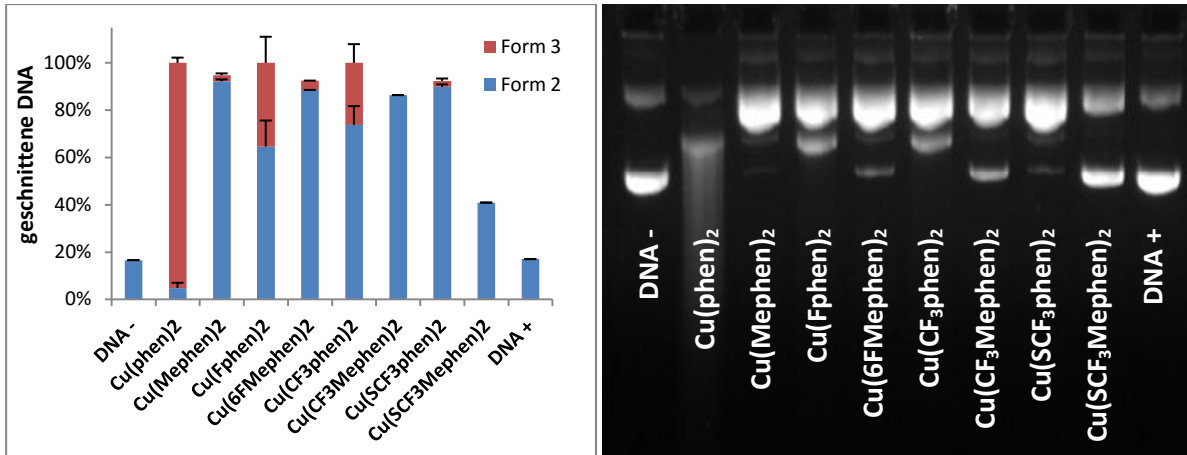


Abbildung 52: DNA-Spaltaktivität verschiedener Kupferkomplexe (10 μ M) in Gegenwart von Ascorbinsäure (250 μ M) in MOPS- gepufferter Lösung (50 mM, pH = 7.4) gegenüber pBR322-Plasmid (0.025 μ g* μ L⁻¹) nach 60 min Inkubation (500 rpm, 37 °C).

4.4. Zytotoxizität der Kupfer(II)-Komplexe

4.4.1. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(\text{Xphen})_2]^{2+}$ ($\text{X} = \text{H}, \text{F}, \text{F}_2, \text{CF}_3, \text{SCF}_3, \text{SF}_5$)

Um den Einfluss der Substitution mit fluorhaltigen Substituenten auf die Zytotoxizität zu untersuchen, wurden MTT-Assays an MCF-7-Zellen (Brustkrebszelllinie) durchgeführt. Abbildung 53 zeigt die Zellviabilität nach Inkubation mit ansteigenden Konzentrationen der Komplexe **Cu(phen)₂**, **Cu(Fphen)₂**, **Cu(F₂phen)₂**, **Cu(CF₃phen)₂**, **Cu(SCF₃phen)₂** und **Cu(SF₅phen)₂**. Es zeigt sich, dass eine Monofluorierung die Zytotoxizität senkt. Die Einführung eines weiteren Fluorsubstituenten führt zu einer weiteren Verringerung der Zytotoxizität des Komplexes, so dass bei einer Komplexkonzentration von 5 μM von **Cu(F₂phen)₂** eine durchschnittliche Überlebensrate von $92 \pm 4\%$ vorliegt. Bei der selben Konzentration liegt die Zellviabilität für **Cu(Fphen)₂** bei $45 \pm 20\%$ und für **Cu(phen)₂** bei nahezu 0%. Interessanterweise liegt die Zytotoxizität der Komplexe mit CF₃⁻, SCF₃⁻ und SF₅-Gruppe auf einem ähnlichen Niveau wie für das unsubstituierte Derivat **Cu(phen)₂**. Diese zeigen höhere Lipophilie-Inkrementen (Tabelle 1) als der Fluorsubstituent, was zu einer Erhöhung der Membranpermeabilität führen könnte. Ob dies allerdings verantwortlich für die verhältnismäßig hohe Zytotoxizität verglichen mit **Cu(Fphen)₂** und **Cu(F₂phen)₂** ist, konnte bisher nicht belegt werden. Es zeigt sich zudem keine Korrelation zwischen Nuklease-Aktivität oder Bindungsaffinität der Komplexe und deren Zytotoxizität. Allerdings weisen alle untersuchten Komplexe mit IC₅₀-Werten unter 10 μM eine sehr hohe Zytotoxizität auf, wobei die Fluorierung eine signifikante aber keine herausragende Änderung der Zytotoxizität hervorruft (siehe 4.4.3., Abbildung 55).

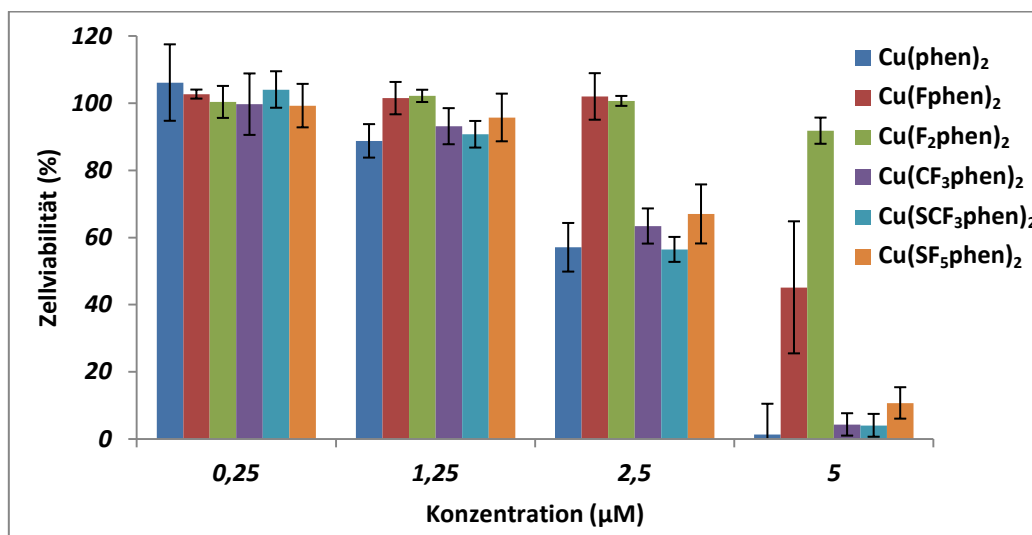


Abbildung 53: Konzentrationsabhängige Zytotoxizität verschiedener fluorhaltiger Cu(phen)₂-Komplexe auf MCF-7-Zellen nach 48-stündiger Inkubation.

Für eine detailliertere Sicht auf die Vorgänge im Zellmedium und damit auch auf die möglichen Abläufe, welche verantwortlich für die Zytotoxizität sind, ist zudem die Komplexstabilität von Interesse. Wie in 1.4.3. bereits erwähnt, handelt es sich bei dem $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{+2+}$ -System um ein relativ labiles System, bei dem der zweite phen-Ligand durch stark koordinierende Liganden ausgetauscht werden kann. Im Zytoplasma sowie im Nukleoplasma liegen beispielsweise Proteine (Aminosäuren) vor, die starke Bindungen mit Kupfer eingehen können und so zu einer Deaktivierung der Komplexe führen können. Ein Hinweis hierfür liefert auch die Tatsache, dass freies Kupfer(II) (Koordinationsumgebung von Cu^{2+} in den Zellen ist unbekannt) in einer Konzentration bis zu $100 \mu\text{M}$ (20 % DMSO hinzugefügt) nur eine geringe Zytotoxizität (Zellviabilität: $61 \pm 4 \%$) für MCF-7-Zellen aufweist (eigene Messung). Zeigen die Komplexe **$\text{Cu}(\text{Fphen})_2$** und **$\text{Cu}(\text{F}_2\text{phen})_2$** geringere Komplexbildungskonstanten als die mit „Bioliganden“ gebildeten Komplexe, so könnte dies eine Erklärung für die geringere Zytotoxizität dieser Komplexe sein.

4.4.2. Kupfer(II)-Komplexe des Typs $[\text{Cu}(2\text{-Me-Xphen})_2]^{2+}$ (X = H, F, CF_3 , SCF_3 , SF_5)

Kupferkomplexe der fluorierten **Mephen**-Derivate zeigen eine hohe Zytotoxizität auf MCF-7-Zellen (Abbildung 54). Bereits bei einer Komplexkonzentration von $2.5 \mu\text{M}$ liegt die Zellviabilität nach 48-stündiger Inkubation für jeden einzelnen Komplex unter 40 %. Bei einer Komplexkonzentration von $5 \mu\text{M}$ liegt die Überlebensrate bei 0 %. Untereinander verglichen weist der underivatisierte Komplex **$\text{Cu}(\text{Mephen})_2$** die höchste Zytotoxizität mit einem IC_{50} -Wert von unter $1.25 \mu\text{M}$ auf. Bei einer Konzentration von $2.5 \mu\text{M}$ beträgt die Überlebensrate für **$\text{Cu}(\text{Mephen})_2$** 0 %, während nach der Inkubation mit den anderen Komplexen die Zellviabilität 15 bis 30 % beträgt. Die fluorierten Derivate zeigen unter einander verglichen ähnliche Werte, hier zeigt **$\text{Cu}(\text{5FMephen})_2$** noch die höchste Zytotoxizität, wobei jedoch im Rahmen der Messfehler keine signifikanten Unterschiede zwischen den Komplexen vorliegen. Auch für die methylierten Komplexe kann kein direkter Zusammenhang zwischen Nukleaseaktivität und Zytotoxizität hergestellt werden. Zwar zeigt der Komplex **$\text{Cu}(\text{Mephen})_2$** die höchste Spaltaktivität wie auch die höchste Zytotoxizität, jedoch kann aufgrund der großen Fehler kein Trend für die fluorierten Spezies aufgezeigt werden.

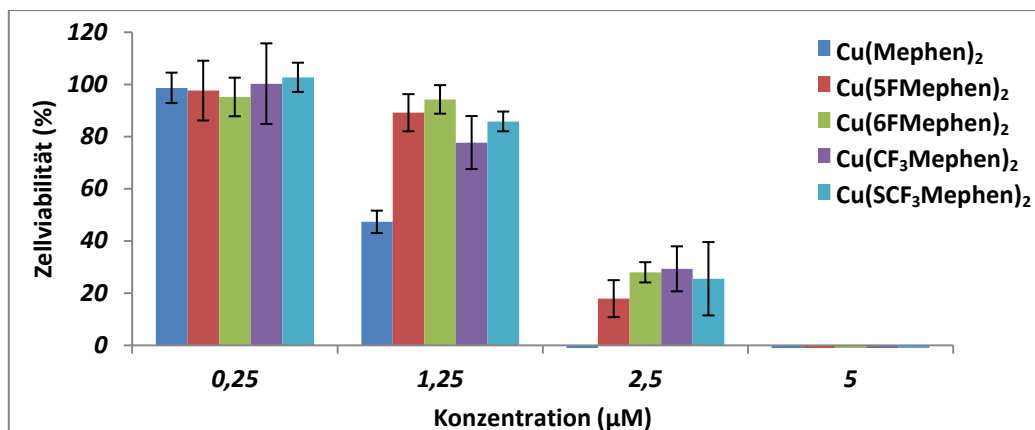


Abbildung 54: Konzentrationsabhängige Zytotoxizität verschiedener fluorhaltiger Cu(Mephen)₂-Derivate auf MCF-7-Zellen nach 48-stündiger Inkubation (keine Balken bedeuten eine Zellviabilität von 0 %).

4.4.3. Vergleich zwischen methylierten und nicht-methylierten Kupfer(II)-Komplexen

Abschließend wird die Zytotoxizität der methylierten Komplexe **Cu(Mephen)₂**, **Cu(6FMephen)₂**, **Cu(CF₃Mephen)₂** und **Cu(SCF₃Mephen)₂** mit der Zytotoxizität der nicht-methylierten Analoga verglichen. Hier zeigen die methylierten Derivate eine höhere Zytotoxizität gegenüber MCF-7-Zellen als die nicht-methylierten Derivate. Auch hier kann kein Zusammenhang zwischen Nuklease-Aktivität ohne Zytotoxizität hergestellt werden. Die methylierten Derivate zeigen eine geringere DNA-Spaltaktivität, weisen aber eine größere Zytotoxizität auf (Abbildung 55). Eine Ursache für dieses Verhalten konnte bisher abschließend nicht geklärt werden. Eine Möglichkeit könnte eine gesteigerte Membrangängigkeit der methylierten Derivate aufgrund der erhöhten Lipophilie der Komplexe (Methylgruppen sollten die Lipophilie erhöhen) sein. Die erhöhte Komplexkonzentration in den Zellen würde so zu einer erhöhten Zytotoxizität führen. Hierfür ist jedoch notwendig, die Konzentration der Komplexe in den jeweiligen Zellen zu bestimmen. Dies könnte durch Experimente realisiert werden, bei denen der Kupfergehalt der Zellen bestimmt und indirekt auf die Komplexkonzentration geschlossen wird (Gesamtkupfergehalt abzüglich des natürlichen Kupfergehalts). So könnte auch die Verteilung des Komplexes in den einzelnen Zellkompartimenten bestimmt werden. Desweiteren könnte man mithilfe des Comet-Assays die DNA-Schädigung im Zellkern visualisieren und somit die Nukleaseaktivität der Komplexe mit der Zytotoxizität korrelieren.^[208]

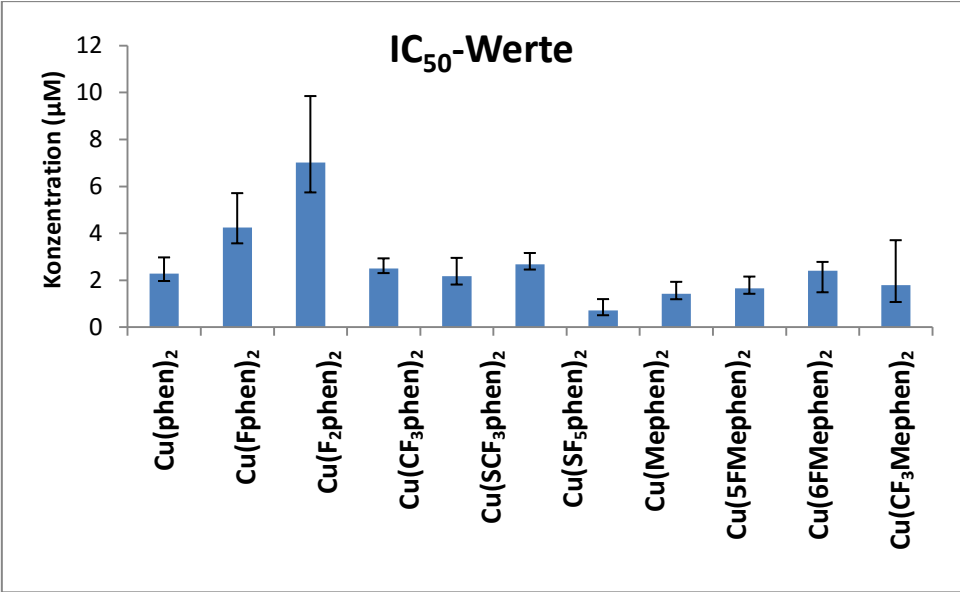


Abbildung 55: IC₅₀-Werte für verschiedene Kupfer(II)-Komplexe (Ermittelt aus einem MTT-Assay an MCF-7-Zellen).

5. Experimenteller Teil

5.1. Allgemeine Anmerkungen

Charakterisierung

Zwischenprodukte (Anilin- und Chinolin-Derivate) wurden mittels ^1H - und ^{19}F -NMR-Spektroskopie charakterisiert. Für fluorhaltige 1,10-Phenanthroline wurden zusätzlich ^{13}C -NMR-Spektroskopie, ESI-Massenspektrometrie und elementaranalytische Untersuchungen genutzt. Die Charakterisierung der Komplexe erfolgte durch ESI-Massenspektrometrie und Elementaranalyse.

Synthese

Alle Reaktionen wurden unter Luftatmosphäre durchgeführt. Davon abweichende Bedingungen (Luftausschluss, Arbeit unter trockenen Bedingungen, Argonatmosphäre etc.) sind gesondert bei der jeweiligen Umsetzung aufgeführt.

Für Standardumsetzungen (Skraup-Reaktion, Doebner-von Miller-Reaktion, Reduktion von 8-Nitrochinolin- und 2-Methyl-8-nitrochinolin-Derivaten) wurden etablierte Syntheserouten genutzt, die unter **5.3.1.** bis **5.3.4.** aufgeführt sind. Die Ansätze mit eventuell abweichenden Bedingungen sind bei der Darstellung/Charakterisierung der einzelnen Derivate aufgelistet.

Die Synthesen der Liganden wurden in Gruppen zusammengefasst. Als Gruppenname dient jeweils das 1,10-Phenanthrolin-Derivat, für welches die einzelnen Moleküle Zwischenstufen darstellen (unabhängig davon, ob diese Zwischenstufen zu einer erfolgreichen Darstellung des Phenanthrolin-Derivates geführt haben oder nicht).

5.2. Methoden und Materialien

5.2.1. Methoden und Geräte

Kernresonanz-Spektroskopie

Eindimensionale NMR-spektroskopische Untersuchungen wurden an einem Jeol JNM-ECS 400 FT-NMR-Spektrometer (400 MHz) durchgeführt. Zweidimensionale NMR-Spektren (COSY, DEPT, HMQC und HMBC) wurden an einem Bruker AVANCE III 700 (700 MHz) aufgenommen. Die Spektren wurden, falls vorhanden, auf die Lösemittelsignale referenziert. Sofern andere interne Standards als deuterierte Lösemittel verwendet wurden (z. B. Monofluorbenzol in ^{19}F -NMR-Experimenten), ist dies an der betreffenden Stelle direkt vermerkt. Als externe Standards wurden Tetramethylsilan (^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren), Trichlorfluormethan (^{19}F -NMR-Spektren) und Phosphorsäure (^{31}P -NMR-Spektren) verwendet. Als Abkürzungen für die Multiplizität dienen: s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett, quin = Quintett. Bearbeitet wurden die Spektren mit der MestrelabResearch-Software MestReNova 10.0.

Elementaranalyse

Elementaranalytische Untersuchungen wurden durch das technische Personal mit Hilfe eines Elementar Vario EL (Elementar Analysensysteme GmbH, zwei Säulen für schwefelfreie und drei Säulen für schwefelhaltige Proben) durchgeführt.

Massenspektrometrie

ESI-Massenspektren wurden an einem Agilent 6210 ESI-ToF-Massenspektrometer aufgenommen. Die Flussrate betrug $4\ \mu\text{L}/\text{min}$ und die Sprayspannung 4 kV. Das Desolvatisierungsgas wurde auf 1 bar gesetzt und die anderen Parameter für die maximale Abundanz des jeweiligen Molekülpeaks $[\text{M} + \text{H}]^+$ oder $[\text{Cu} + 2\text{M}]^{+2+}$ eingestellt. Die Probenpräparation erfolgte durch Lösen und Verdünnen der Probe in Methanol oder Acetonitril.

CD-Spektroskopie

CD-Spektren wurden an einem Jasco J-810 Spektropolarimeter unter kontinuierlichem Stickstoffstrom bei Raumtemperatur aufgenommen. Der Messbereich lag zwischen 200 und 350 nm

Experimenteller Teil

und die Messgeschwindigkeit betrug 100 nm/min. Jede Messung wurde zweimal wiederholt und der Mittelwert aller Messung verwendet.

Röntgenbeugungsexperimente an Einkristallen

Röntgenbeugungsexperimente wurden durch Prof. Dr. Dieter Lentz, Marija Habicht und Manuela Weber (beide AG Müller, FU Berlin) an einem Bruker APEX-II CCD Diffraktometer durchgeführt. Die Strukturlösung erfolgte mit direkten Methoden oder der Patterson-Methode (ShelXS) und die Verfeinerung mit dem *full-matrix least-square*-Verfahren (ShelXL).^[209] Lösung und Verfeinerung der Strukturen wurden mit dem Programm OLEX² vorgenommen.^[210]

Cyclovoltammetrie

Elektrochemische Messungen wurden von Sebastian Sobottka (AG Sarkar, FU Berlin) in Wasser (Millipore)/Acetonitril ($\text{H}_2\text{O} \leq 0.01\%$, puriss., Sigma Aldrich, vor Gebrauch über Calciumhydrid destilliert) mit Kaliumchlorid als Leitsalz und unter N_2 -Atmosphäre (Stickstoff 5.0) bei Raumtemperatur durchgeführt. Es wurde eine Dreielektrodenkonfiguration (Arbeitselektrode: *Glassy Carbon*; Gegenelektrode: Platindraht; Quasireferenzelektrode: Silberdraht) und ein PAR VersaStat 4-Potentiostat (Ametek) mit der Software VersaStudio verwendet. Als interne Standards wurden 1,4-Benzochinon und Ferrocen genutzt. Referenziert wurden die Messungen gegen das Redoxpaar Ferrocenium/Ferrocen. Als Vorschubgeschwindigkeiten wurden 25, 50, 100, 250 und $500 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ gewählt.

DNA-Denaturierung

Die Schmelzkurven wurden mit einem Agilent UV-vis-Spektrophotometer Cary100 in Küvetten der Firma Hellma Analytics (10 mm) aufgenommen. Für alle Experimente betrug das Verhältnis CT-DNA zu Komplex 10:1 (250 μM zu 25 μM) in Tris-HCl (10 mM, pH = 7.4). Die Temperaturerhöhung im Heizblock wurde auf $1^\circ\text{C}/\text{min}$ eingestellt. Der Temperaturbereich lag zwischen 50°C und 97°C . Die Absorption wurde alle 30 s gemessen.

Die Konzentration der CT-DNA-Stammlösung wurde mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes ($E = \epsilon \cdot c \cdot d$) bestimmt. Die Stammlösung wurde hierfür verdünnt (so dass die Absorption im

Experimenteller Teil

Gültigkeitsbereich des Gesetzes zwischen 0 und 1 liegt) und die Absorption bei 260 nm gemessen. Die Konzentration der CT-DNA wurde mit Hilfe des Extinktionskoeffizienten für CT-DNA ($\epsilon = 6600 \text{ M}^{-1}$) bestimmt.^[211]

Die Kurven wurden mit Microsoft Excel 2010 erstellt und normiert, so dass dem Absorptionsmaximum der Wert 1 und dem Absorptionsminimum der Wert 0 zugeordnet wurde. Anschließend wurde die Temperatur für $A = 0.5$ graphisch ermittelt. Die Experimente wurden jeweils als Duplikate durchgeführt.

Ethidiumbromid-Verdrängung

Die Fluoreszenz-Messungen wurden an einem Cary Eclipse Spektrophotometer (Varian) durchgeführt. Die Anregungswellenlänge betrug 518 nm und der Scanbereich lag zwischen 530 und 750 nm (Scanrate 120 nm/min, Datenintervall 1 nm). In Küvetten der Firma Hellma Analytics (10 mm) wurde zunächst ein Spektrum von EtBr (5 μM) in Tris-HCl-Puffer (10 μM) ohne und mit CT-DNA (25 μM) aufgenommen. Anschließend wurde der zu untersuchende Komplex so hinzutitriert, dass das Volumen der hinzugegebenen Komplex-Lösung einen bestimmten Schwellenwert (15 μL) nicht überschritt und sich das Gesamtvolumen der Lösung von 1 mL somit nicht signifikant änderte. Die Spannung des Photomultipliers wurde auf 900 V eingestellt, so dass das Emissionsmaximum des EtBr-DNA-Addukts zwischen 700 und 1000 a.u. lag. Für die Berechnungen wurde jeweils das Emissionsmaximum jeder Messung verwendet.

Agarose-Gelelektrophorese

Die Komplexe wurden im Allgemeinen in Tris-HCl-Puffer (50 mM, pH = 7.4) oder MOPS-Puffer (50 mM, pH = 7.4) in Ab- oder Anwesenheit eines Reduktionsmittels (Ascorbinsäure, 250 μM) mit 0.2 μg Plasmid-DNA (pBR322) in Eppendorfgefäßen (aufgefüllt mit Millipore-Wasser zu einem Gesamtvolumen von 8 μL pro Probe) für eine Stunde mit 500 rpm bei 37 °C inkubiert. Anschließend wurde jede Probe mit 1.5 μL eines Ladepuffers bestehend aus Bromphenolblau (3.7 mM) und Saccharose (1.2 mM) in Wasser versetzt. Die Proben wurden in die Taschen des Gels gegeben und in einer Gelelektrophoresekammer (Carl Roth) in TBE-Puffer (0.5X) bei einer Spannung von 40 V (Spannungsgerät: Consort EV243) für 2 h aufgetrennt. Spezifische Angaben zu den einzelnen Experimenten mit eventuell abweichenden Bedingungen werden unter den jeweiligen Abbildungen angegeben.

Experimenteller Teil

Agarose wurde wie geliefert in TBE-Puffer (0.5X) gelöst (1 %iges Gel). Die Agarose-Suspension wurde in der Mikrowelle erwärmt bis eine klare Lösung vorlag und mit EtBr-Lösung (0.6 μL , 1 %ige Lösung) zur Detektion der DNA-Fragmente versetzt.

Bei Quenchversuchen wurde analog der oben beschriebenen Methode vorgegangen. Allerdings wurde vor der Inkubation der jeweilige Radikalfänger hinzugegeben (DMSO: 200 mM, NaN_3 : 10 mM, SOD: 313 $\text{u}\cdot\text{mL}^{-1}$, Katalase (cat.): 2.5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). Die Katalase wurde für 30 min in PBS-Lösung (1X) vorinkubiert, so dass die anderen Proben zur Vergleichbarkeit ebenfalls mit PBS-Lösung versetzt wurden (Gesamtkonzentration pro Probe: 0.125X).

Die Analyse der Gele erfolgte mit einem GelDoc von Bio-Rad und einem UV-Tray von Bio-Rad. Als Software wurde Image Lab 5.0 genutzt. Die photometrische Auswertung erfolgte unter Ausnutzung der Fluoreszenz des an die DNA gebundenen Ethidiumbromids. Diese ist proportional zur Menge an DNA. Für die *supercoiled*-Form der DNA (Form 1) wurde ein Korrekturfaktor von 1.22 hinzugezogen, da Ethidiumbromid schwächer an diese Form der DNA bindet als für die offenkettige und linearisierte Form.^[200]

Alle Experimente wurden mindestens als Duplikat, idealerweise als Triplikat, durchgeführt. Ausnahmen hiervon waren Quenchexperimente, welche in einzelner Ausführung durchgeführt wurden.

MTT-Assay

Die MTT-Assays wurden von Dr. Stefanie Wedepohl (AG Calderón, Freie Universität Berlin) durchgeführt.

MCF-7-Zellen (DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH) wurden in RPMI-Medium ohne Phenolrot ("Roswell Park Memorial Institute" Life Technologies) mit 10 % FBS ("fetal bovine serum" Biochrom AG), 1 % Penicillin/Streptomycin (Life Technologies) und 1 % MEM nicht-essentielle Aminosäuren ("minimal essentielles Medium" PAA) bei 37 °C und 5 % CO_2 gehalten.

Für das MTT-Assay wurden 10^5 Zellen/mL in einer 96-Well-Platte zu je 100 μL /Well ausgesät und über Nacht inkubiert. Am nächsten Tag wurde das Kulturmedium durch jeweils 50 μL /Well frisches Medium und 50 μL /Well Komplexlösung ersetzt und das neue Medium für 48 h bei 37 °C und 5 % CO_2 inkubiert. Anschließend wurde das überstehende Medium verworfen und durch 100 μL /Well frisches Medium und 10 μL /Well MTT (Sigma Aldrich, 5 mg/mL Stammlösung in PBS) ersetzt und für weitere

Experimenteller Teil

4 h bei 37 °C inkubiert. Danach wurde das Medium verworfen und die ungelösten Formazankristalle durch Zugabe von 100 µL/Well Isopropanol mit 0.04 M HCl gelöst. Die Absorption wurde in einem Tecan Infinite M200 Pro Mikroplatten-Leser ausgelesen.

Jeder Komplex wurde als Duplikat pro Assay angefertigt und jedes Assay dreimal unabhängig voneinander zur Fehlerbestimmung wiederholt. Die relative Viabilität wurde bestimmt durch Division der durchschnittlichen Absorption durch die durchschnittliche Absorption unbehandelter Zellen. IC₅₀-Werte wurden mittels Fitting einer nicht-linearen Dosis-Antwort-Kurve mit der GraphPad Prism Software bestimmt.

5.2.2. Chemikalien

Lösemittel

Aceton (Bestand), Acetonitril (*HPLC*-grade, VWR), Chloroform (VWR), Dichlormethan (Fisher Scientific), Diethylether (VWR), Dimethylsulfoxid (99.7 %, Extra dry, über Molekularsieb, Acros Organics), Dimethylsulfoxid (*HPLC*-grade, Fisher Scientific), 1,4-Dioxan (Grüssing), Ethanol (Bestand), Ethylacetat (Bestand), Hexafluorphosphorsäure (Acros Organics), *n*-Hexan (Bestand), Isopropanol (Bestand), Isopropylamin (Merck), Methanol (*HPLC*-grade, Fisher Scientific), Petrolether (Bestand), 1-Propanol (Merck), Salzsäure (32 %, Bestand), Schwefelsäure (96 %, Fisher Scientific), Tetrafluorborsäure (50 %, Bestand), Tetrahydrofuran (Bestand), Toluol (Bestand), Triethylamin (Acros Organics), Wasser (destilliert, Bestand)

d-Chloroform (≥ 99.8 Atom% D, Euriso-Top), *d*₆-DMSO (99.96 % Atom% D, Sigma-Aldrich)

Chemikalien

Ammoniumchlorid (Roth), Acroleindiethylacetal (Sigma Aldrich), Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat (Merck), Aktivkohle (Bestand), Bis(1,10-phenanthrolin)kupfer(II)nitrat (synthetisiert von Christian Wende, AG Kulak), gesättigte NaCl-Lösung (Bestand), 5-Bromchinolin (Sigma Aldrich), Cäsiumcarbonat (Chempur), Celite (Sigma Aldrich), Crotonaldehyd (Bestand), 4,5-Difluor-2-nitroanilin (Sigma Aldrich), 5,6-Dihydro-5,6-epoxy-1,10-phenanthrolin (Sigma Aldrich), Fluorbenzol (Bestand), 5-Fluor-2-nitroanilin (Alfa Aesar), Hydraziniumhydroxid (Merck), Kaliumcarbonat (Roth), Kaliumcyanid (Bestand), Kaliumiodid (Bestand), Kaliumnitrat (Bestand), Kalium-*tert*-butanolat (Acros Organics), Kieselgel 60 (VWR), Kupfer(II)nitrat-Trihydrat (Merck), Kupfer(II)perchlorat-Hexahydrat (Acros Organics), Kupfer (Pulver, Bestand), Kupferthiocyanat (Sigma Aldrich), Mangan(IV)oxid (80 - 85 % Riedel-de Haën), Methyllithium (1.6 M in Diethylether, Acros Organics), 2-Methyl-1,10-phenanthrolin^[160] (**Mephen**, Bestand), Natriumborhydrid (Bestand), Natriumhydroxid (Fisher Scientific), Natriumnitrit (Bestand), Natriumsulfat (Roth), Natriumthiocyanat (Merck), 5-Nitrochinolin (Sigma Aldrich), Palladium/Aktivkohle (10 % Pd, Merck), 3-(Pentafluorsulfanyl)anilin (Fluorochem), *n*-Perfluorbutyl-1-iodid (Acros Organics), 1,10-Phenanthrolin (Alfa Aesar), Selendioxid (Merck), Tetrabutylammoniumfluorid-Hydrat (Sigma Aldrich), Tetramethylammoniumfluorid-Tetrahydrat (Sigma Aldrich), Trifluoressigsäure (≥ 99.9 %, Roth), 3-(Trifluormethyl)anilin (Sigma Aldrich), 2-Nitro-4-(trifluormethoxy)anilin (Maybridge), 2-Nitro-4-(trifluormethyl)anilin (Alfa Aesar),

Experimenteller Teil

(Trifluormethyl)trimethylsilan (Fluorochem), Trimethylhydraziniumiodid (Sigma Aldrich), Wasserstoffperoxid (30 %, Fisher Scientific), Zinn(II)chlorid-Dihydrat (Bestand)

Biochemikalien

Agarose (Lonza), Ascorbinsäure (≥ 99.9998 %, Fluka), Bromphenolblau (Bestand), CT-DNA (Typ 1, Fasern, Sigma-Aldrich), Ethidiumbromid (1 %ige Lösung, Fisher Scientific), Katalase (Rinderleber, 2000-5000 units*mg⁻¹), MOPS (Fisher Scientific), Natriumazid (99 %, *extra pure*, Acros Organics), Plasmid-DNA pBR322 (Roth), Saccharose (Bestand), Superoxiddismutase (Rindererythrozyten, ≥ 3000 units*mg⁻¹, Sigma-Aldrich), TBE (10X, Life Technologies), Tris Base (Fisher Scientific), Wasser (Millipore, Bestand)

5.3. Allgemeine Synthesevorschriften

5.3.1. Skraup-Reaktion (Reaktion A)

In einem Gemisch aus Schwefelsäure (96 %) und Wasser (Verhältnis 5:3) wurden ein 2-Nitroanilin-Derivat (1.0 Äq.) und Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat (0.2 bis 0.3 Äq.) gelöst und auf 80 °C unter Rühren erwärmt. Bei konstanter Temperatur wurde Acroleindiethylacetal (1.5 bis 3.0 Äq.) mittels Spritzenpumpe über eine Dauer von drei Stunden hinzugetropft. Nach erfolgter Zugabe wurde das Gemisch für weitere 90 min bei 120 °C kräftig gerührt, abgekühlt und auf 100 mL Eiswasser gegeben. Das resultierende Gemisch wurde mit wässrigem Ammoniak auf einen annähernd neutralen pH-Wert gestellt (pH ≈ 6 - 7) und anschließend mit DCM extrahiert (3x 100 mL). Die organische Phase wurde am Rotationsverdampfer eingengt und säulenchromatographisch aufgereinigt.

5.3.2. Doebner-von Miller-Reaktion (Reaktion B)

In einem Gemisch aus Schwefelsäure (96 %) und Wasser (Verhältnis 5:3) wurden ein 2-Nitroanilin-Derivat (1.0 Äq.) und Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat (0.2 bis 0.3 Äq.) gelöst und auf 70 °C erwärmt. Bei konstanter Temperatur wurde Crotonaldehyd mittels Spritzenpumpe über eine Dauer von drei Stunden hinzugetropft. Nach erfolgter Zugabe wurde das Gemisch für weitere 120 min bei 120 °C kräftig gerührt, abgekühlt und auf 150 mL Eiswasser gegeben. Die Aufbereitung der Reaktionslösung erfolgte wie in der Skraup-Reaktion in **5.3.1.**

5.3.3. Reduktion von 8-Nitrochinolinen (Reaktion C)

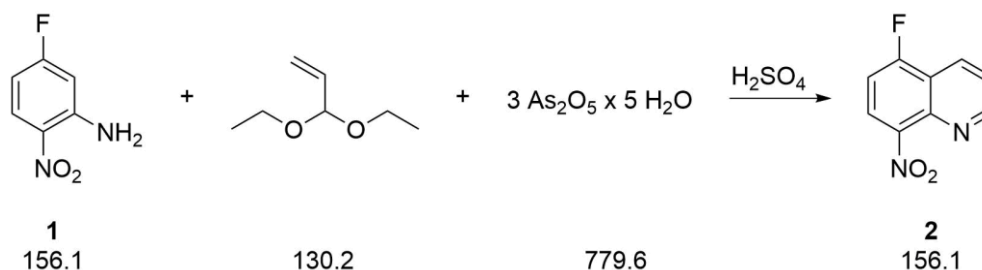
Eine Lösung von Zinn(II)chlorid-Dihydrat in HCl (32 %, 45 mL) wurde 15 min im Eis/Wasserbad auf unter 5 °C abgekühlt. Unter fortwährender Kühlung wurde zu dieser Lösung eine Lösung von 5-Fluor-8-nitrochinolin in HCl (32 %, 18 mL) über einen Zeitraum von 20 min hinzugetropft. Das resultierende gelbe Gemisch wurde für eine weitere Stunde bei unter 5 °C gerührt, anschließend auf Raumtemperatur erwärmt und für weitere 3 h gerührt. Zur Emulsion wurde Wasser (200 mL) hinzugegeben bis der Feststoff annähernd vollständig gelöst war. Die orangefarbene Lösung wurde unter kräftigem Rühren mit Natronlauge (10 M) auf einen pH-Wert von 14 eingestellt, anschließend filtriert und der Feststoff mit viel Wasser gewaschen. Der resultierende Feststoff wurde in DCM aufgenommen und mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde am Rotationsverdampfer eingengt und am Hochvakuum für einige Stunden getrocknet.

5.3.4. Reduktion von 2-Methyl-8-nitrochinolinen (Reaktion D)

Das 2-Methyl-8-nitrochinolin-Derivat wurde in Ethanol (200 mL) gelöst und für 10 min gerührt. Anschließend wurde Palladium auf Aktivkohle hinzugegeben und abermals 10 min gerührt. Nun wurde Hydrazinhydrat in Ethanol (1:5) über eine Stunde hinzugetropft. Die Lösung wurde auf 65 °C erwärmt und bei konstanter Temperatur 5 h gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und filtriert. Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Feststoff am Hochvakuum getrocknet.

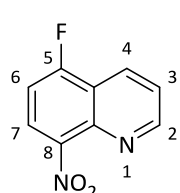
5.3.5. 5-Fluor-1,10-phenanthrolin (Fphen)

5.3.5.1. 5-Fluor-8-nitrochinolin



5-Fluor-2-nitroanilin	10.0 g	64 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	12.5 g	16 mmol	0.25 Äq.
Acroleindiethylacetal	12.7 mL	83 mmol	1.3 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	15 mL / 9 mL		

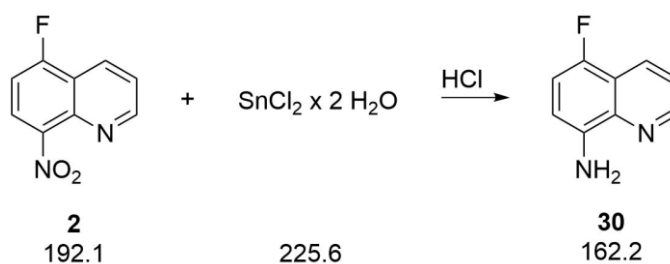
Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A. Die Aufarbeitung erfolgte säulenchromatographisch mit einem Laufmittelgemisch Ethylacetat/Hexan 1:3 auf Kieselgel. **2** wurde als blassgelber Feststoff (2.3 g, 12.0 mmol, 19 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 9.15 (dd, J = 4.2, 1.7 Hz, H-2), 8.53 (dd, J = 8.5, 1.7 Hz, H-4), 8.13 (dd, J = 8.5, 5.2 Hz, H-7), 7.64 (dd, J = 8.6, 4.2 Hz, H-3), 7.30 (dd, J = 8.6, 8.6 Hz, H-6) ppm.

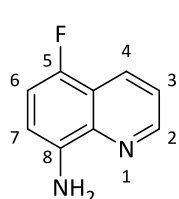
¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -112.30 (dd, J = 8.6, 5.2 Hz) ppm.

5.3.5.2. 8-Amino-5-fluorchinolin



5-Fluor-8-nitrochinolin	2.3 g	12 mmol	1 Äq.
Zinn(II)-chlorid-Dihydrat	10.8 g	48 mmol	4 Äq.
HCl (32 %)	45 mL / 18 mL		

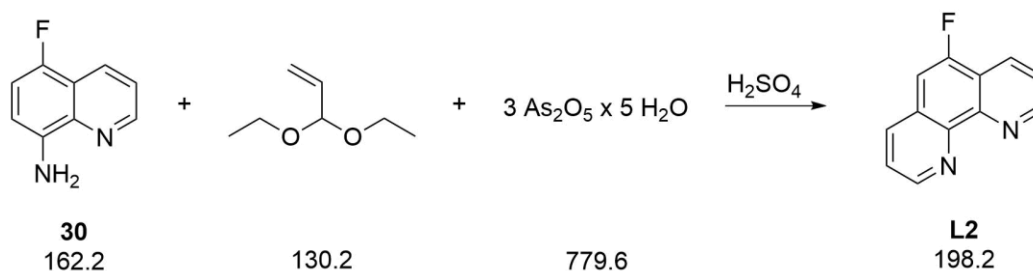
Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion C. **30** wurde als farbloser Feststoff in guter Ausbeute (1.5 g, 9.2 mmol, 77%) erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 8.79 (dd, J = 4.2, 1.6 Hz, H-2), 8.32 (dd, J = 8.4, 1.6 Hz, H-4), 7.40 (dd, J = 8.4, 4.2 Hz, H-3), 7.02 (dd, J = 9.8, 8.4 Hz, H-6), 6.78 (dd, J = 8.3, 4.9 Hz, H-7), 4.84 (s, NH₂) ppm.

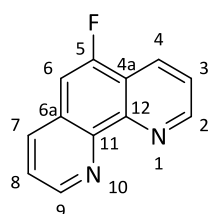
$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -137.27 (dd, J = 9.8, 4.9 Hz) ppm.

5.3.5.3. 5-Fluor-1,10-phenanthrolin (Fphen)



30	0.70 g	4.3 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	0.84 g	1.1 mmol	0.25 Äq.
Acroleindiethylacetal	1.8 mL	11.8 mmol	2.7 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Isopropylamin (20:1) auf Kieselgel. Anschließend wurde der Feststoff sublimiert (110 °C/1*10⁻² mbar). **L2** wurde als farbloser Feststoff in guter Ausbeute (270 mg, 1.4 mmol, 33 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, 0.06 mM, Chloroform-*d*): δ = 9.25 (dd, *J* = 4.3, 1.7 Hz, H-2), 9.14 (dd, *J* = 4.3, 1.7 Hz, H-9), 8.53 (dd, *J* = 8.2, 1.7 Hz, H-4), 8.19 (dd, *J* = 8.1, 1.7 Hz, H-7), 7.71 (dd, *J* = 8.3, 4.4 Hz, H-3), 7.63 (dd, *J* = 8.1, 4.3 Hz, H-8), 7.43 (d, *J* = 10.2 Hz, H-6) ppm.

¹⁹F NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -123.48 (d, *J* = 10.2 Hz) ppm.

¹³C {¹H} NMR (176 MHz, Chloroform-*d*): δ = 154.86 (d, *J* = 256.2 Hz, C-5), 150.46 (s, C-2), 148.76 (d, *J* = 2.2 Hz, C-9), 146.05 (d, *J* = 4.9 Hz, C-12), 143.04 (s, C-11), 134.80 (d, *J* = 5.6 Hz, C-7), 128.71 (d, *J* = 4.9 Hz, C-4), 127.25 (d, *J* = 10.8 Hz, C-6a), 122.80 (s, C-8), 122.41 (s, C-3), 120.48 (d, *J* = 19.5 Hz, C-4a), 106.86 (d, *J* = 20.5 Hz, C-6) ppm.

MS (ESI⁺, *m/z*): [M + H]⁺: 199.0689 (ber.: 199.0666), [M + Na]⁺: 221.0492 (ber.: 221.0485).

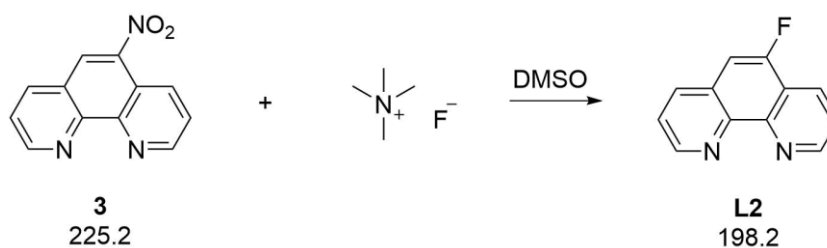
CHNS-Analyse (berechnet): C: 72.59 % (72.72 %)

N: 14.16 % (14.13 %)

H: 3.74 % (3.56 %)

Experimenteller Teil

von 5-Nitro-1,10-phenanthrolin ausgehend

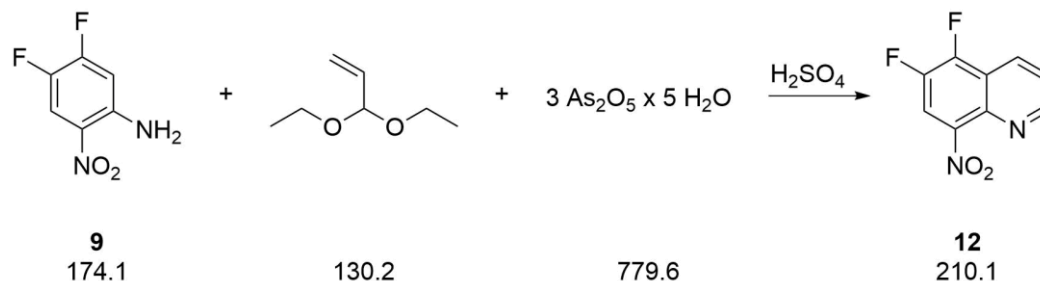


3	0.45 g	2.0 mmol	1.0 Äq.
Tetramethylammoniumfluorid-Tetrahydrat	0.50 g	3.0 mmol	1.5 Äq.
DMSO			

Zunächst wurde Tetramethylammoniumfluorid-Tetrahydrat vorgelegt und im Hochvakuum bei 150 °C für sieben Tage getrocknet. Unter Argon-Atmosphäre wurden 5 mL trockenes DMSO hinzugegeben und die Suspension für 20 Minuten gerührt. Anschließend wurde im Ar-Gegenstrom **3** hinzugegeben und das Gemisch für sechs Stunden bei 80 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde mit Wasser (10 mL) gequenchet, mit Ethylacetat extrahiert (3x 20 mL) und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Die Lösung wurde am Rotationsverdampfer eingengt und mittels rp-HPLC aufgereinigt. In der ersten Fraktion wurde das Produkt isoliert, zur Trockne eingengt und als farbloser Feststoff mit einer Ausbeute von 12.5 % (50 mg, 0.25 mmol) erhalten (Charakterisierung siehe vorherige Seite).

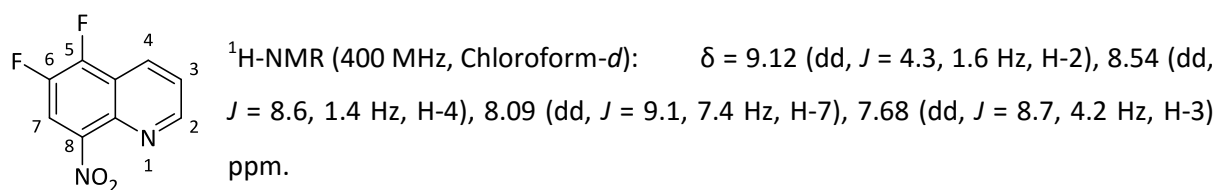
5.3.6. 5,6-Difluor-1,10-phenanthrolin (F₂phen)

5.3.6.1. 5,6-Difluor-8-nitrochinolin



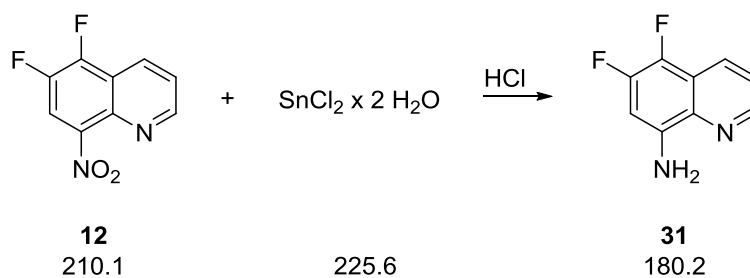
9	5.0 g	28.7 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	4.5 g	5.8 mmol	0.2 Äq.
Acroleindiethylacetal	6.2 mL	40.7 mmol	1.4 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	15 mL / 9 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A in Schwefelsäure/Wasser (15 mL/9 mL). Die Aufarbeitung erfolgte mittels Sublimation (70 °C/2*10⁻² mbar). **12** wurde als gelber Feststoff in guter Ausbeute (2.0 g, 9.5 mmol, 33 %) erhalten.



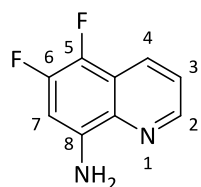
¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -136.56 (dd, *J* = 18.9, 9.3 Hz, F-6), -138.07 (dd, *J* = 19.0, 7.4 Hz, F-5) ppm.

5.3.6.2. 8-Amino-5,6-difluorchinolin



12	1.3 g	6.2 mmol	1.0 Äq.
Zinn(II)-chlorid-Dihydrat	5.6 g	24.8 mmol	4.0 Äq.
HCl (32 %)	30 mL / 12 mL		

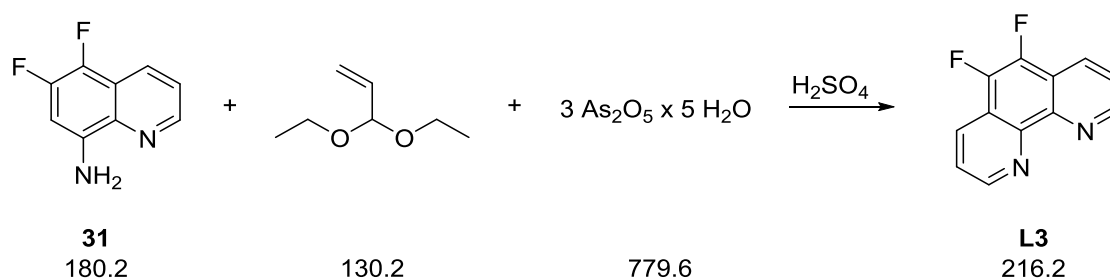
Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion C. **31** wurde in mäßiger Ausbeute (700 mg, 3.9 mmol, 63 %) als farbloser Feststoff erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 8.74 (dd, J = 4.2, 1.6 Hz, H-2), 8.34 (dd, J = 8.5, 1.5 Hz, H-4), 7.47 (dd, J = 8.5, 4.2 Hz, H-3), 6.72 (dd, J = 12.1, 7.2 Hz, H-7), 5.10 (s, NH₂) ppm.

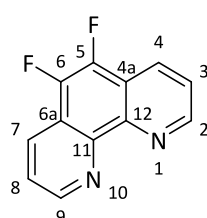
$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -138.30 (m, F-5), -164.37 (dd, J = 20.5, 7.0 Hz, F-6) ppm.

5.3.6.3. 5,6-Difluor-1,10-phenanthrolin (**F₂phen**)



31	0.70 g	3.9 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	0.66 g	0.85 mmol	0.22 Äq.
Acroleindiethylacetal	1.4 mL	9.2 mmol	2.4 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A. Die Aufreinigung erfolgte säulenchromatographisch mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Isopropylamin (20:1) auf Kieselgel. Anschließend wurde der Feststoff sublimiert (100 °C/3·10⁻² mbar). **F₂phen** wurde als farbloser Feststoff in guter Ausbeute (350 mg, 1.6 mmol, 41 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 9.18 (d, 2H, *J* = 4.3 Hz, H-2 und H-9), 8.51 (dt, 2H, *J* = 8.3, 1.6 Hz, H-4 und H-7), 7.71 (dd, 2H, *J* = 8.3, 4.3 Hz, H-3 und H-8) ppm.

¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = - 150.65 (s, 2F) ppm.

¹³C {¹H}-NMR (101 MHz, Chloroform-*d*): δ = 149.65 (s, 2C, C-2 und C-9), 142.48 (s, 2C, C-11 und C-12), 140.34 (dd, 2C, *J* = 257.0 13.5 Hz, C-5 und C-6), 128.28 (s, 2C, C-4 und C-7), 122.82 (s, 2C, C-3 und C-8), 120.35 (dd, 2C, *J* = 11.2, 6.8 Hz, C-4a und C-6a) ppm.

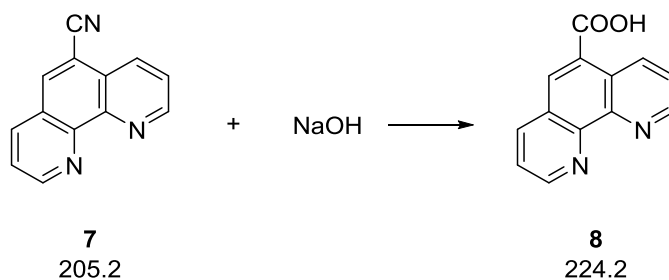
MS (ESI⁺, *m/z*): [M + H]⁺: 217.059 (ber.: 217.057), [M + Na]⁺: 239.042 (ber.: 239.039), [2M + Na]⁺: 455.093 (ber.: 455.089).

CHNS-Analyse (berechnet): C: 67.02 % (66.67 %)

N: 12.98 % (12.96 %)

H: 2.90 % (2.80 %)

5.3.7.2. 5-Carboxy-1,10-phenanthrolin

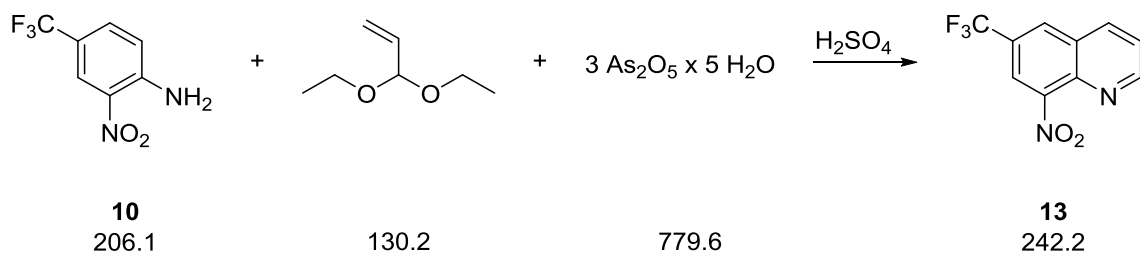


7	0.2 g	0.97 mmol	1.0 Äq.
NaOH	12 g	300 mmol	309 Äq.
Wasser _{dest.}	50 mL		

Das Cyanid **7** wurde in Natronlauge (6 M) gelöst und über Nacht refluxiert. Die Lösung wurde mit DCM gewaschen (3x 30 mL). Durch Versetzen mit HCl (32 %) wurde der pH-Wert der Lösung auf 6 eingestellt und so die freie Carbonsäure ausgefällt. **8** wurde als blass-rosafarbener Feststoff in sehr guter Ausbeute (200 mg, 0.89 mmol, 92 %) erhalten.

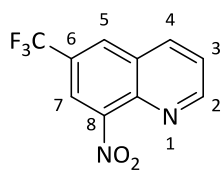
MS (ESI⁺, m/z): [M + H]⁺: 225.0667 (ber.: 225.0659).

5.3.7.3. 8-Nitro-6-(trifluormethyl)chinolin



10	5.0 g	24 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	4.7 g	6.0 mmol	0.25 Äq.
Acroleindiethylacetal	6.1 mL	40 mmol	1.6 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	15 mL / 9 mL		

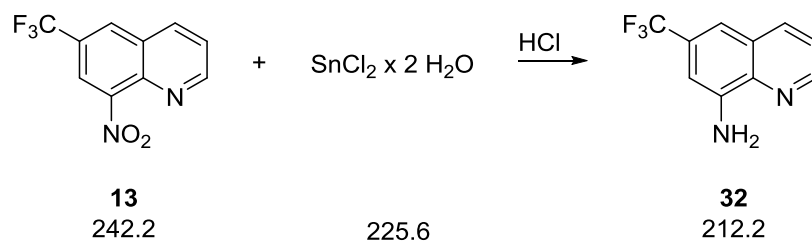
Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Hexan/Ethylacetat (5:1) auf Kieselgel. Das Chinolin **13** wurde in guter Ausbeute (2.4 g, 9.9 mmol, 41 %) als gelber Feststoff erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 9.19 (dd, J = 4.2, 1.5 Hz, H-2), 8.40 (dd, J = 8.4, 1.6 Hz, H-4), 8.37 (s, H-7), 8.21 (d, J = 1.8 Hz, H-5), 7.71 (dd, J = 8.4, 4.2 Hz, H-3) ppm.

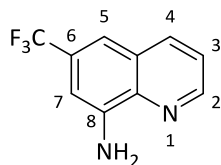
¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -62.29 (s, CF₃) ppm.

5.3.7.4. 8-Amino-6-(trifluormethyl)chinolin



13	2.3 g	9.5 mmol	1.0 Äq.
Zinn(II)-chlorid-Dihydrat	9.0 g	40 mmol	4.2 Äq.
HCl (32 %)	45 mL / 18 mL		

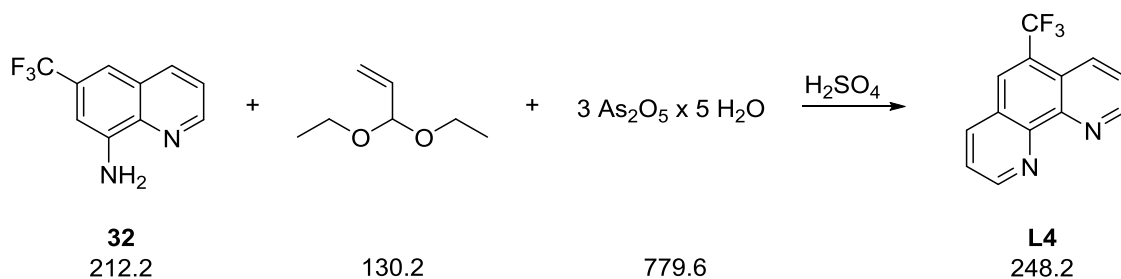
Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion C. Das Chinolin **32** wurde als farbloser Feststoff in sehr guter Ausbeute (1.85 g, 8.7 mmol, 92 %) erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 8.86 (dd, J = 4.2, 1.6 Hz, H-2), 8.19 (dd, J = 8.3, 1.4 Hz, H-4), 7.50 (dd, J = 8.3, 4.2 Hz, H-3), 7.44 (s, H-5/7), 7.05 (d, J = 1.8 Hz, H-7/5), 5.37 (s, 2H, NH_2) ppm.

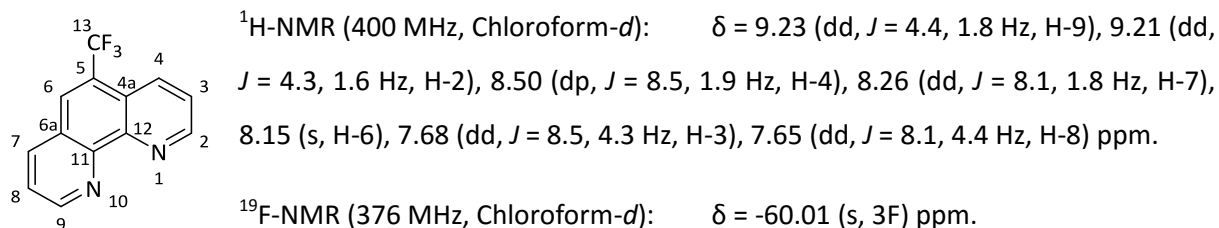
$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -62.75 (s, CF_3) ppm.

5.3.7.5. 5-(Trifluormethyl)-1,10-phenanthrolin (CF_3phen)



32	1.6 g	7.5 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	1.3 g	1.7 mmol	0.23 Äq.
Acroleindiethylacetal	2.8 mL	18 mmol	2.4 Äq.
H_2SO_4 / H_2O	10 mL / 6 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Isopropylamin (20:1) auf Kieselgel. Anschließend wurde der Feststoff sublimiert ($90 \text{ }^\circ\text{C}/2 \cdot 10^{-2}$ mbar). Das Phenanthrolin CF_3phen (**L4**) wurde als farbloser Feststoff in guter Ausbeute (650 mg, 2.6 mmol, 35 %) erhalten.



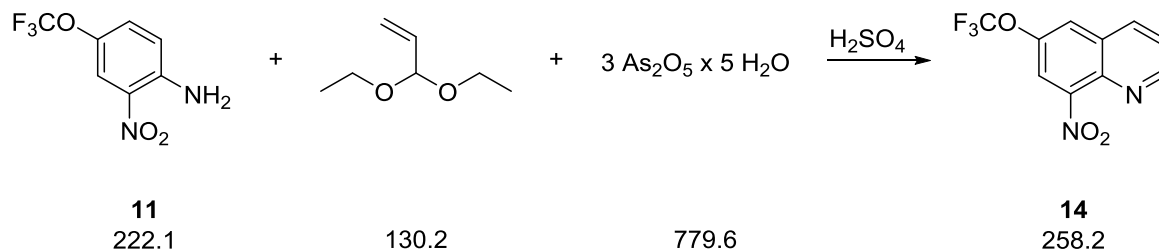
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (101 MHz, Chloroform-*d*): δ = 152.55 (s, C-9), 150.99 (s, C-2), 147.31 (s, C-11), 146.41 (s, C-12), 137.20 (s, C-7), 132.96 (q, J = 2.5 Hz, C-4), 126.36 (q, J = 6.0 Hz, C-6), 126.09 (s, C-6a), 124.05 (m, C-4a), 123.87 (s, C-8), 123.77 (q, J = 273.8 Hz, C-13), 123.59 (s, C-3) ppm.

MS (ESI $^+$, *m/z*): [M + H] $^+$: 249.064 (ber.: 249.063), [M + Na] $^+$: 271.046 (ber.: 271.045),
 [2M + Na] $^+$: 519.102 (ber.: 519.101).

CHNS-Analyse (berechnet): C: 62.88 % (62.91 %)
 N: 11.22 % (11.29 %)
 H: 2.83 % (2.84 %)

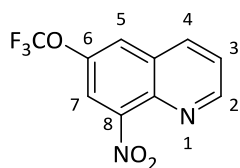
5.3.8. 5-(Trifluormethoxy)-1,10-phenanthrolin (OCF₃phen)

5.3.8.1. 8-Nitro-6-(trifluormethoxy)chinolin



11	5.0 g	22.5 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	4.3 g	5.5 mmol	0.24 Äq.
Acroleindiethylacetal	5.2 mL	34 mmol	1.5 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	14 mL / 8.4 mL		

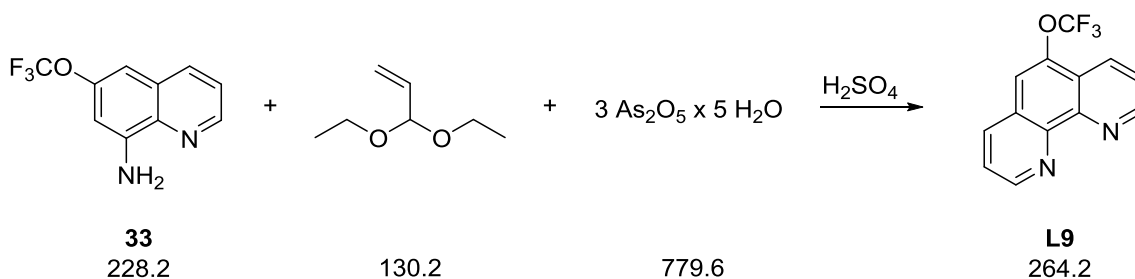
Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Hexan/Ethylacetat (3:1) auf Kieselgel. Das Chinolin **14** wurde als gelber Feststoff in guter Ausbeute (2.3 g, 8.8 mmol, 39 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 9.09 (dd, *J* = 4.2, 1.7 Hz, H-2), 8.29 (dd, *J* = 8.4, 1.7 Hz, H-4), 7.92 (d, *J* = 2.5 Hz, H-7), 7.88 (dd, *J* = 2.4, 1.2 Hz, H-5), 7.64 (dd, *J* = 8.4, 4.2 Hz, H-3) ppm.

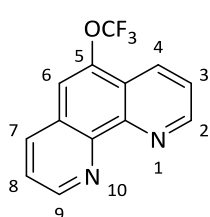
¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -57.99 (s, CF₃) ppm.

5.3.8.3. 5-(Trifluormethoxy)-1,10-phenanthrolin (OCF₃phen)



33	1.3 g	5.7 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	1.2 g	1.5 mmol	0.26 Äq.
Acroleindiethylacetal	2.2 mL	19.8 mmol	3.5 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Isopropylamin (20:1) auf Kieselgel. Anschließend wurde der Feststoff sublimiert (90 °C/7*10⁻² mbar). **OCF₃phen** wurde in guter Ausbeute (660 mg, 2.5 mmol, 44 %) als farbloser Feststoff erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 9.25 (dd, *J* = 4.3, 1.7 Hz, H-9), 9.18 (dd, *J* = 4.3, 1.7 Hz, H-2), 8.54 (dd, *J* = 8.3, 1.7 Hz, H-4), 8.23 (dd, *J* = 8.1, 1.7 Hz, H-7), 7.72 (dd, *J* = 8.3, 4.3 Hz, H-3), 7.65 (s, H-6), 7.65 (dd, *J* = 8.2, 4.3 Hz, H-8) ppm.

¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -57.50 (s, CF₃) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (101 MHz, Chloroform-*d*): δ = 151.45 (s, C-9), 150.81 (s, C-2), 136.20 (s, C-7), 130.52 (s, C-4), 127.48 (s, C-6), 123.80 (s, C-8/C-3), 123.59 (s, C-3/8), 115.08 (q, *J* = 1.7 Hz, C-5) ppm. Tertiäre C-Atome (C-11, C-12, C-4a und C-6a, sowie C-13) wurden aufgrund der geringen Signalintensität nicht detektiert.

MS (ESI+, *m/z*): [M + H]⁺: 265.060 (ber.: 265.058), [M + Na]⁺: 287.040 (ber.: 287.040), [2M + Na]⁺: 551.092 (ber.: 551.091).

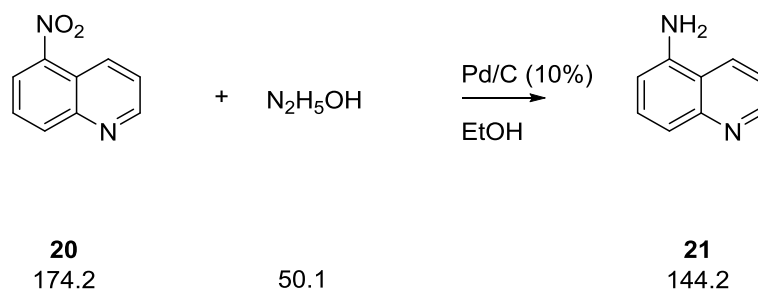
CHNS-Analyse (berechnet): C: 59.17 % (59.10 %)

N: 10.27 % (10.60 %)

H: 3.00 % (2.67 %)

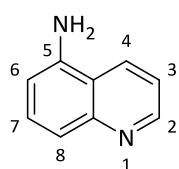
5.3.9. 5-(Trifluormethylthio)-1,10-phenanthrolin (SCF₃phen)

5.3.9.1. 5-Aminochinolin



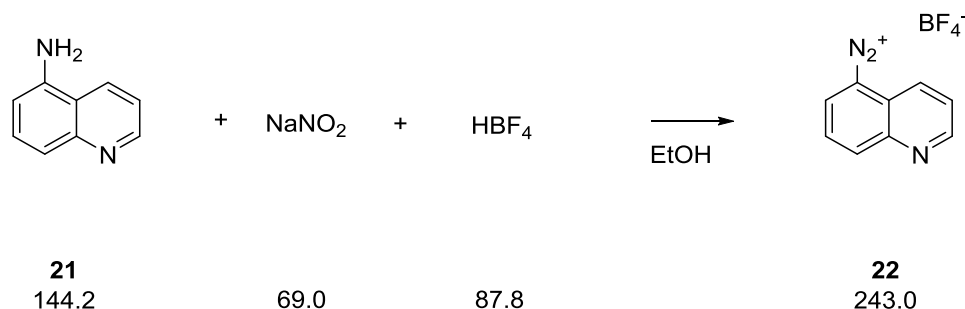
20	2.05 g	11.8 mmol	1.0 Äq.
Pd/C (10 %)	0.64 g	0.6 mmol	0.05 Äq.
Hydraziniumhydroxid	2.9 mL	57.5 mmol	4.9 Äq.
Ethanol			

Das Chinolin **20** wurde mit Palladium auf Aktivkohle in 90 mL Ethanol vorgelegt. Der Suspension wurde unter Rückfluß über 60 min Hydraziniumhydroxid in Ethanol (50 mL) hinzugegeben und für weitere 16 h bei konstanter Temperatur gerührt. Die Suspension wurde heiß filtriert und das Filtrat am Rotationsverdampfer eingeeengt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Petrolether (3:1) auf Kieselgel. Das Chinolin **21** wurde als farbloser Feststoff in guter Ausbeute (1.02 g, 7.1 mmol, 60 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 8.87 (m, H-2), 8.16 (m, H-4), 7.56 (m, H-8), 7.49 (m, H-7), 7.29 (m, H-3), 6.80 (m, H-6), 4.29 (s, NH₂) ppm.

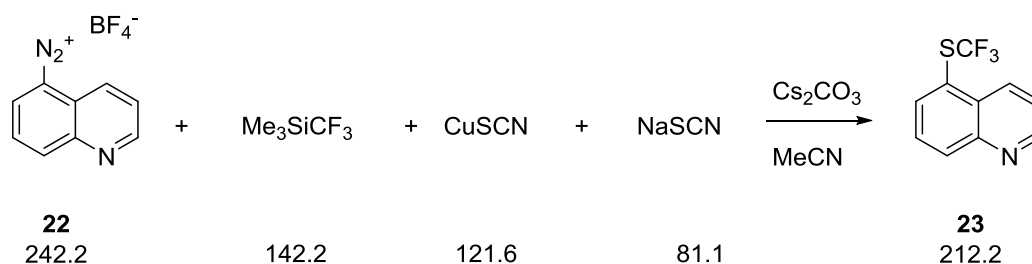
5.3.9.2. 5-(Diazonium)chinolinyltetrafluorborat



21	1.4 g	9.7 mmol	1.0 Äq.
Isoamylnitrit	4.1 mL	30.4 mmol	3.1 Äq.
Tetrafluorborsäure	3.1 mL	24.7 mmol	2.5 Äq.
Ethanol			

Zu einer gekühlte Lösung (<5 °C) von **21** in Ethanol (90 mL) wurden HBF₄ und Isoamylnitrit getropft. Nach dreistündigem Rühren im Eis-Wasserbad (<5 °C) wurde die Lösung mit Diethylether (20 mL) versetzt und über Nacht bei -20 °C gelagert. Die Suspension wurde filtriert und der rote Feststoff mit einem Gemisch von Ethanol/Diethylether (40 mL, 1/10) gewaschen. Das Chinolin **22** wurde für 24 h an der Luft getrocknet (Ausbeute: 2.26 g, 9.3 mmol, 93 %) und ohne weitere Aufarbeitung für die Folgereaktion verwendet.

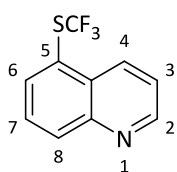
5.3.9.3. 5-(Trifluormethylthio)chinolin



Tetrafluorborat 22	1.0 g	4.1 mmol	1.0 Äq.
Kupferthiocyanat	0.25 g	2.1 mmol	0.5 Äq.
Natriumthiocyanat	0.5 g	6.1 mmol	1.5 Äq.
(Trifluormethyl)trimethylsilan	1.3 mL	9.5 mmol	2.3 Äq.
Cäsiumcarbonat	2.7 g	8.3 mmol	2.0 Äq.
Acetonitril			

Die Reaktion wurde mit Schlenktechnik unter Argonatmosphäre mit trockenem Lösemittel durchgeführt.

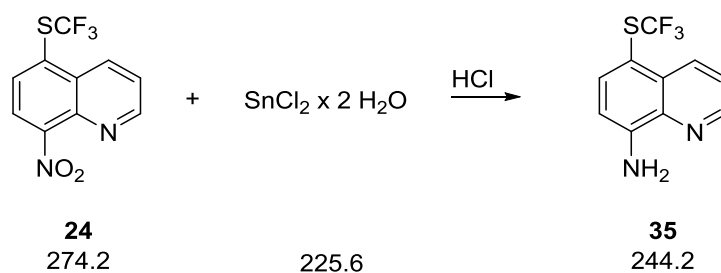
CuSCN, NaSCN und Cs₂CO₃ wurden in Acetonitril (16 mL) vorgelegt und diese Mischung für 10 min gerührt. Eine Lösung aus **22** in Acetonitril (16 mL) wurde tropfenweise zu der entstandenen Suspension hinzugegeben. Die resultierende Lösung wurde tropfenweise mit Me₃SiCF₃ versetzt und für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde über ca. 10 g Celite filtriert und das Celite mit Diethylether (3x 10 mL) gespült. Das Filtrat wurde mit Wasser und Brine-Lösung gewaschen und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Die säulenchromatographische Auftrennung erfolgte mit Diethylether als Laufmittel auf Kieselgel (Fraktion 1). Das Chinolin **23** wurde als farbloser Feststoff in guter Ausbeute (0.57 g, 2.5 mmol, 61 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 8.66 (dd, J = 4.2, 1.7 Hz, H-2), 8.43 (d, J = 8.6 Hz, H-4), 7.97 (d, J = 8.5 Hz, H-8), 7.65 (d, J = 7.3 Hz, H-6), 7.35 (dd, J = 8.5, 7.2 Hz, H-7), 7.14 (dd, J = 8.6, 4.2 Hz, H-3) ppm.

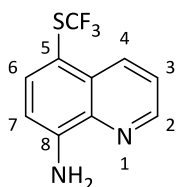
¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -42.44 ppm.

5.3.9.5. 8-Amino-5-(trifluormethylthio)chinolin



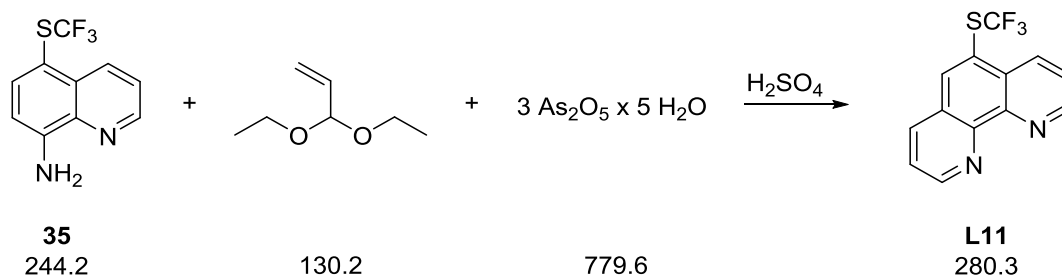
24	0.53 g	1.9 mmol	1.0 Äq.
Zinn(II)-chlorid-Dihydrat	2.2 g	9.8 mmol	5.2 Äq.
HCl (32 %)	16 mL / 12 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion C. Das Chinolin **35** wurde als blassgelber Feststoff in sehr guter Ausbeute (0.42 g, 1.7 mmol, 89 %) erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 8.80 (dd, J = 4.2, 1.5 Hz, H-2), 8.76 (d, J = 8.6 Hz, H-4), 7.80 (d, J = 8.0 Hz, H-6/7), 7.55 (dd, J = 8.6, 4.2 Hz, H-3), 6.90 (d, J = 8.0 Hz, H-7/6), 5.52 (s, NH_2) ppm.

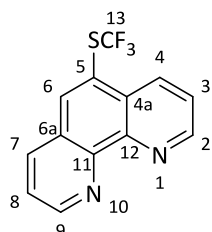
$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -43.93 ppm.

5.3.9.6. 5-(Trifluormethylthio)-1,10-phenanthrolin (SCF₃phen)


35	0.42 g	1.7 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	0.31 g	0.4 mmol	0.24 Äq.
Acroleindiethylacetal	0.65 mL	4.3 mmol	2.4 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A in Schwefelsäure/Wasser (5 mL/3 mL). Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Isopropylamin (19:1) auf Kieselgel mit anschließender Sublimation (105 °C/3*10⁻² mbar).

SCF₃phen (L11) wurde als farbloser Feststoff in guter Ausbeute (0.21 g, 0.75 mmol, 44 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 9.15 (dd, *J* = 4.3, 1.7 Hz, H-9), 9.13 (dd, *J* = 4.3, 1.7 Hz, H-2), 8.76 (dd, *J* = 8.4, 1.5 Hz, H-4), 8.21 (s, H-6), 8.15 (dd, *J* = 8.1, 1.7 Hz, H-7), 7.64 (dd, *J* = 8.4, 4.3 Hz, H-3), 7.56 (dd, *J* = 8.1, 4.4 Hz, H-8) ppm.

¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -41.82 (s, CF₃) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (176 MHz, Chloroform-*d*): δ = 152.28 (s, C-9), 150.84 (s, C-2), 147.20 (s, C-11), 146.56 (s, C-12), 139.21 (s, C-6), 136.42 (s, C-7), 134.53 (s, C-4), 129.76 (s, C-4a), 129.21 (q, *J* = 309.9 Hz, C-13), 127.52 (s, C-6a), 123.68 (s, C-8/C-3), 123.67 (s, C-3/8), 120.43 (q, *J* = 1.8 Hz, C-5) ppm.

MS (ESI+, *m/z*): [M + H]⁺: 281.034 (ber.: 281.035), [2M + Na]⁺: 583.042 (ber.: 583.046).

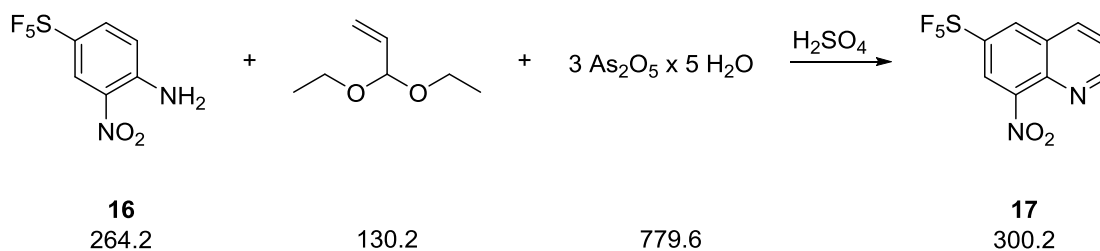
CHNS-Analyse: C: 55.57 % (55.71 %)

N: 10.00 % (10.00 %)

S: 11.61 % (11.44 %)

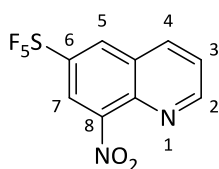
H: 2.41 % (2.52 %)

5.3.10.2. 8-Nitro-6-(pentafluorsulfanyl)chinolin



16	1.1 g	4.2 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	0.84 g	1.1 mmol	0.26 Äq.
Acroleindiethylacetal	1.3 mL	8.5 mmol	2.1 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	10 mL / 6 mL		

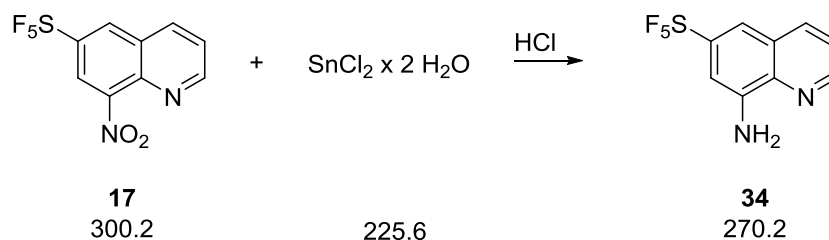
Die Umsetzung erfolgte ähnlich zu Reaktion A in Schwefelsäure/Wasser (10 mL/6 mL). Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Hexan/Ethylacetat (3:2) auf Kieselgel. Das Chinolin **17** wurde als gelber Feststoff (0.48 g, 1.6 mmol, 38 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 9.20 (dd, J = 4.2, 1.7 Hz, H-2), 8.49 (d, J = 2.3 Hz, H-5/7), 8.42 (dd, J = 8.4, 1.6 Hz, H-4), 8.37 (d, J = 2.4 Hz, H-7/5), 7.72 (dd, J = 8.4, 4.2 Hz, H-3) ppm.

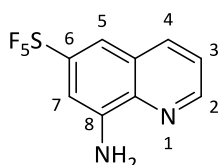
¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = 82.06 (quin, $J_{\text{F-F}}$ = 151.1 Hz, 1F, *axiales* F), 63.97 (d, $J_{\text{F-F}}$ = 151.1 Hz, 4F, *basale* F) ppm.

5.3.10.3. 8-Amino-6-(pentafluorsulfanyl)chinolin



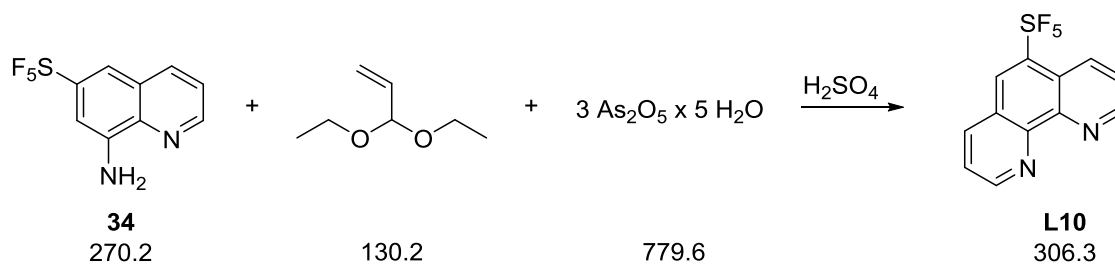
17	0.48 g	1.6 mmol	1.0 Äq.
Zinn(II)-chlorid-Dihydrat	1.44 g	6.4 mmol	4.0 Äq.
HCl (32 %)	7.5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion C. Das Chinolin **34** wurde in sehr guter Ausbeute (383 mg, 1.41 mmol, 88 %) als farbloser Feststoff erhalten



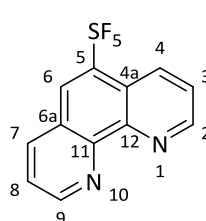
¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 8.85 (dd, J = 3.9, 2.0 Hz, H-2), 8.14 (dd, J = 8.7, 1.6 Hz, H-4), 7.55 (dd, J = 4.3, 2.1 Hz, H-5/H-7), 7.48 (m, H-3), 7.21 (dd, J = 4.4, 2.2 Hz, H-5/H-7), 5.21 (s, NH₂) ppm.

¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = 85.10 (quin, 1F, J_{F-F} = 150.6 Hz, *axiales* F), 63.14 (d, 4F, J_{F-F} = 150.2 Hz, *basale* F) ppm.

5.3.10.4. 5-(Pentafluorsulfanyl)-1,10-phenanthrolin (**SF₅phen**)

34	0.36 g	1.3 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	0.23 g	0.3 mmol	0.23 Äq.
Acroleindiethylacetal	0.6 mL	3.9 mmol	3.0 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Isopropylamin (20:1) auf Kieselgel. Anschließend wurde der Feststoff sublimiert (95 °C/2.5*10⁻² mbar). **SF₅phen (L10)** wurde als farbloser Feststoff (100 mg, 0.33 mmol, 25 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, 0.06 mM, Chloroform-*d*): δ = 9.24 (dd, *J* = 4.3, 1.8 Hz, H-9), 9.18 (dd, *J* = 4.2, 1.4 Hz, H-2), 8.79 (d, *J* = 8.1 Hz, H-4), 8.38 (s, H-6), 8.30 (dd, *J* = 8.3, 1.6 Hz, H-7), 7.71 (dd, *J* = 8.9, 4.2 Hz, H-3), 7.68 (dd, *J* = 8.0, 4.4 Hz, H-8) ppm.

¹⁹F NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = 85.78 (quin, *J* = 147.4 Hz, *axiales* F), 70.29 (d, *J* = 149.4 Hz, 4F, *basale* F) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (101 MHz, Chloroform-*d*): δ = 153.22 (s, C-9), 150.61 (s, C-2), 149.59 (m, C-5), 147.00 (s, C-11), 146.25 (s, C-12), 137.53 (s, C-7), 134.36 (m, C-4), 129.16 (m, C-6), 125.37 (s, C-6a), 124.19 (s, C-8), 123.85 (s, C-3), 123.80 (s, C-4a) ppm.

MS (ESI⁺, *m/z*): [M + H]⁺: 307.030 (ber.: 307.032), [M + Na]⁺: 329.011 (ber.: 329.014).

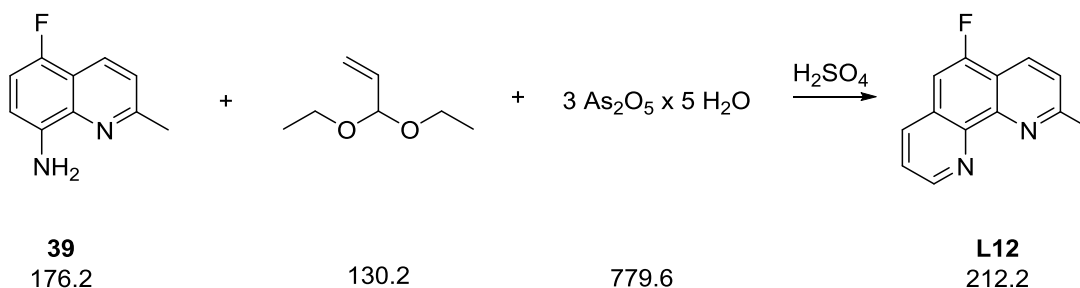
CHNS-Analyse (berechnet): C: 46.82 % (47.06 %)

N: 9.01 % (9.15 %)

H: 2.70 % (2.30 %)

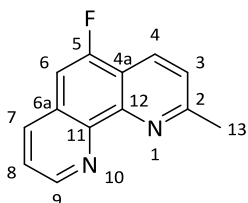
S: 9.98 % (10.47 %)

5.3.11.3. 5-Fluor-2-methyl-1,10-phenanthrolin (5FMephen)



39	1.0 g	5.7 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	1.2 g	1.5 mmol	0.26 Äq.
Acroleindiethylacetal	2.3 mL	15 mmol	2.6 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte ähnlich zu Reaktion A. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Isopropylamin (20:1) auf Kieselgel. Anschließend wurde der Feststoff sublimiert (100 °C/2.5*10⁻² mbar). **5FMephen (L12)** wurde als farbloser Feststoff in guter Ausbeute (400 mg, 1.9 mmol, 33 %) erhalten.



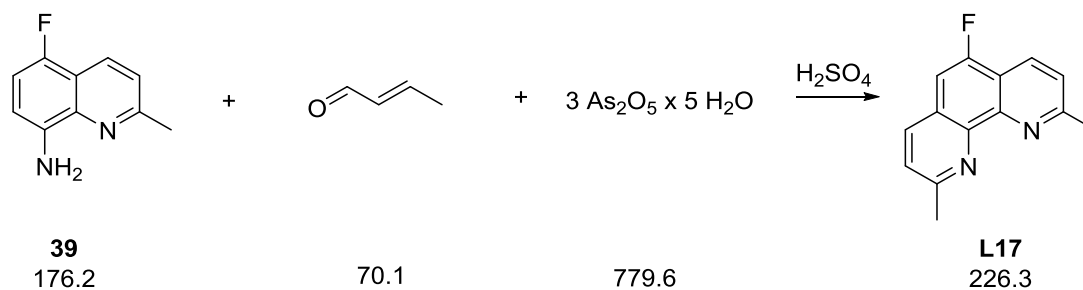
¹H-NMR (400 MHz, 0.2 mM, Chloroform-*d*): δ = 9.03 (dd, J = 4.4, 1.7 Hz, H-9), 8.25 (d, J = 8.4 Hz, H-4), 8.01 (dd, J = 8.1, 1.7 Hz, H-7), 7.46 (dd, J = 8.1, 4.4 Hz, H-8), 7.44 (d, J = 8.4 Hz, H-3), 7.19 (d, J = 10.2 Hz, H-6) ppm.

¹⁹F-NMR (376 MHz, 0.2 mM, Chloroform-*d*): δ = -123.55 (d, J = 10.2 Hz) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (101 MHz, Chloroform-*d*): δ = 160.29 (s, C-2), 155.52 (d, J = 255.8 Hz, C-5), 149.03 (s, C-9), 146.05 (d, J = 5.1 Hz, C-12), 143.14 (s, C-11), 135.11 (d, J = 6.0 Hz, C-7), 129.13 (d, J = 4.8 Hz, C-4), 127.76 (d, J = 10.9 Hz, C-6a), 123.33 (d, J = 1.9 Hz, C-3), 122.79 (s, C-8), 118.80 (d, J = 19.5 Hz, C-4a), 106.15 (d, J = 20.4 Hz, C-6), 25.51 (s, C-13) ppm.

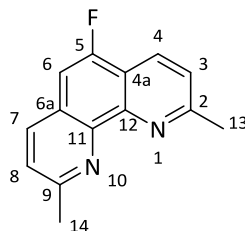
MS (ESI+, *m/z*): $[\text{M} + \text{H}]^+$: 213.084 (ber.: 213.082), $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 235.064 (ber.: 235.066).

CHNS-Analyse: C: 73.65 % (73.57 %)
 N: 13.06 % (13.20 %)
 H: 3.88 % (4.27 %)

5.3.12. 5-Fluor-2,9-dimethyl-1,10-phenanthrolin (**Fneo**)

39	0.95 g	5.4 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	1.1 g	1.4 mmol	0.26 Äq.
Crotonaldehyd	1.3 mL	16 mmol	2.9 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion B. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Isopropylamin (20:1) auf Kieselgel. Das Neocuproin-Derivat **Fneo** (**L17**) wurde als farbloser Feststoff in akzeptabler Ausbeute (336 mg, 1.5 mmol, 28 %) erhalten.

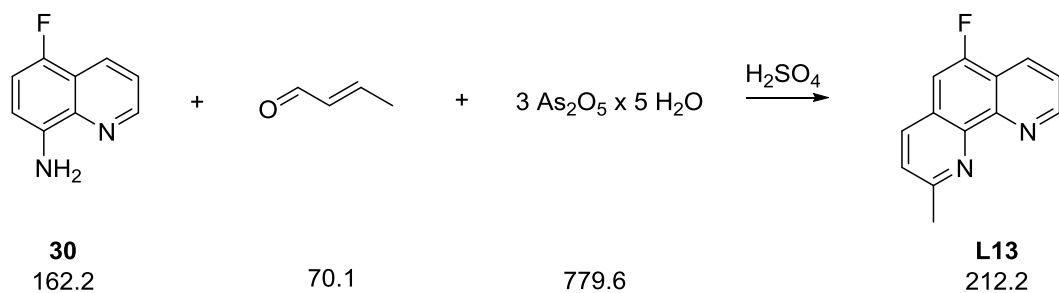


¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = 8.36$ (d, $J = 8.4$ Hz, H-4), 8.01 (d, $J = 8.2$ Hz, H-7), 7.52 (d, $J = 8.4$ Hz, H-3), 7.44 (d, $J = 8.2$ Hz, H-8), 7.28 (d, $J = 10.1$ Hz, H-6), 2.93 (s, H-13, CH₃), 2.89 (s, H-14, CH₃) ppm.

¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = -125.24$ (d, $J = 10.1$ Hz) ppm.

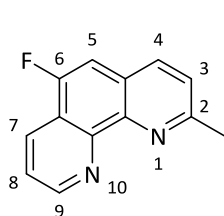
¹³C{¹H}-NMR (101 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = 160.62$ (s, C-9), 158.61 (d, $J = 2.6$ Hz, C-2), 155.44 (d, $J = 254.0$ Hz, C-5), 146.09 (d, $J = 4.9$ Hz, C-12), 142.92 (d, $J = 1.3$ Hz, C-11), 135.83 (d, $J = 5.6$ Hz, C-7), 129.66 (d, $J = 5.0$ Hz, C-4), 126.12 (d, $J = 10.8$ Hz, C-6a), 124.05 (d, $J = 0.7$ Hz, C-8), 123.59 (d, $J = 2.1$ Hz, C-3), 119.27 (d, $J = 19.4$ Hz, C=4a), 106.62 (d, $J = 20.3$ Hz, C-6), 26.08 (s, C-13), 25.85 (s, C-14) ppm.

5.3.13. 6-Fluor-2-methyl-1,10-phenanthrolin (6FMephen)



30	0.7 g	4.3 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	0.7 g	0.9 mmol	0.21 Äq.
Crotonaldehyd	0.7 mL	8.5 mmol	2.0 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion B. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Isopropylamin (20:1) auf Kieselgel. **6FMephen (L13)** wurde als farblosr Feststoff in guter Ausbeute (350 mg, 1.65 mmol, 38 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 9.26 (dd, J = 4.4, 1.7 Hz, H-9), 8.51 (dd, J = 8.2, 1.7 Hz, H-7), 8.07 (d, J = 8.2 Hz, H-4), 7.68 (dd, J = 8.2, 4.4 Hz, H-8), 7.51 (d, J = 8.2 Hz, H-3), 7.39 (d, J = 10.2 Hz, H-5), 2.93 (s, CH₃) ppm.

¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -125.25 (d, J = 10.2 Hz) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (101 MHz, Chloroform-*d*): δ = 158.32 (d, J = 2.6 Hz, C-2), 154.63 (d, J = 254.5 Hz, C-6), 150.76 (s, C-9), 146.11 (d, J = 4.8 Hz, C-11), 142.85 (d, J = 1.3 Hz, C-12), 135.35 (d, J = 5.6 Hz, C-7), 129.06 (d, J = 5.1 Hz, C-4), 125.49 (d, J = 10.6 Hz, C-4a), 123.80 (s, C-3), 122.43 (d, J = 2.2 Hz, C-8), 120.85 (d, J = 19.4 Hz, C-6a), 107.15 (d, J = 20.2 Hz, C-5), 25.32 (s, C-13, CH₃) ppm.

MS (ESI+, m/z): [M + H]⁺: 213.079 (ber.: 213.082), [M + Na]⁺: 235.061 (ber.: 235.066).

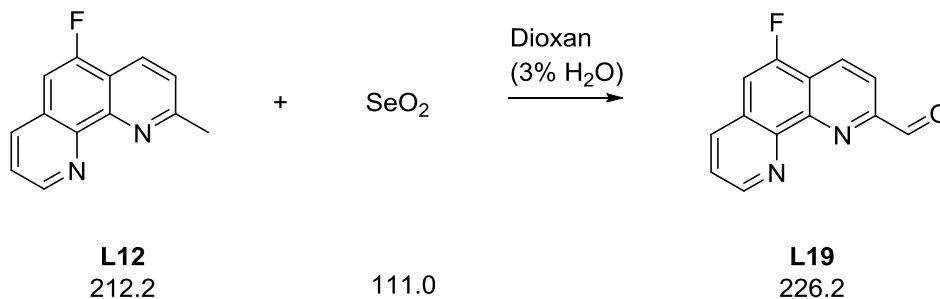
CHNS-Analyse: C: 73.79 % (73.57 %)

N: 12.96 % (13.20 %)

H: 3.92 % (4.27 %)

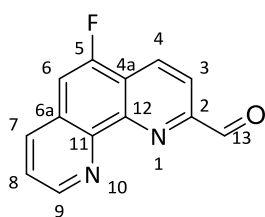
5.3.14. Funktionalisierte 5-Fluor-2-methyl-1,10-phenanthroline

5.3.14.1. 5-Fluor-1,10-phenanthrolyl-2-carbaldehyd



5FMephen (L12)	300 mg	1.4 mmol	1.0 Äq.
Selendioxid	375 mg	3.4 mmol	2.4 Äq.
Dioxan	19.2 mL		
H ₂ O	0.8 mL		

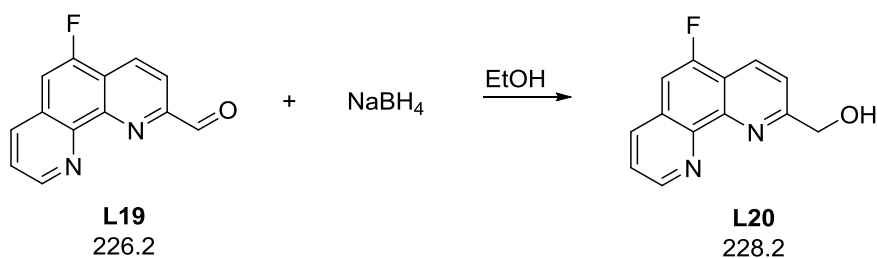
L12 wurde in einem Dioxan/Wasser-Gemisch gelöst. Selendioxid wurde hinzugegeben und das Gemisch für drei Stunden refluxiert. Anschließend wurde die Reaktionslösung zweimal heiß über Celite filtriert. Nach dem Abkühlen des Filtrats wurde der bei Raumtemperatur ausgefällte Feststoff abfiltriert und an Luft getrocknet. Der Aldehyd **L19** wurde als farbloser Feststoff in sehr guter Ausbeute (300 mg, 1.3 mmol, 93 %) erhalten.



¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10.25 (s, H-13), 9.10 (d, *J* = 4.1 Hz, H-9), 8.69 (d, *J* = 8.2 Hz, H-4), 8.47 (d, *J* = 8.0 Hz, H-7), 8.22 (d, *J* = 8.4 Hz, H-3), 7.95 (d, *J* = 10.7 Hz, H-6), 7.82 (m, H-8) ppm.

¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-*d*₆): δ = -123.11 (d, *J* = 10.7 Hz) ppm.

5.3.14.2. 5-Fluor-1,10-phenanthrolyl-2-methanol



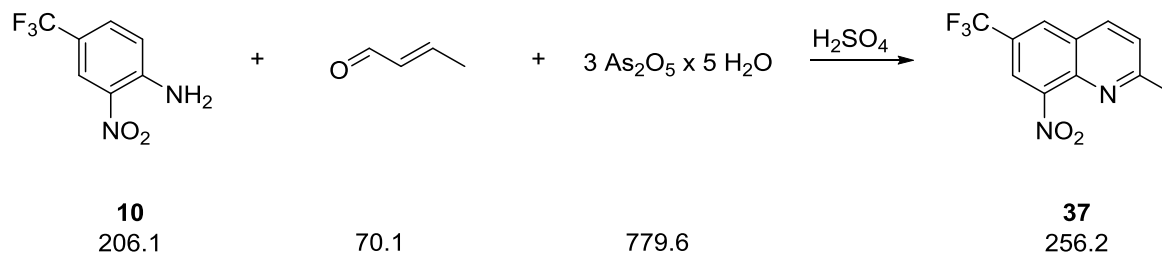
L19	300 mg	1.3 mmol	1.0 Äq.
Natriumborhydrid	30 mg	0.8 mmol	0.6 Äq.
Ethanol	30 mL		

Der Aldehyd **L19** wird zusammen mit Natriumborhydrid in Ethanol für 2.5 Stunden refluxiert. Die schwarze Suspension wird heiß filtriert und das orangefarbene Filtrat am Rotationsverdampfer eingengt. Das resultierende braune Öl wird mit Wasser versetzt und aufgekocht. Der entstandene gelbe Feststoff wird abfiltriert und an Luft getrocknet. Der Alkohol **L20** wird als gelbbrauner Feststoff in guter Ausbeute (150 mg, 0.7 mmol, 53 %) erhalten.

MS (ESI+, m/z): [M + H]⁺: 229.0802 (ber.: 229.0772), [M + Na]⁺: 251.0618 (ber.: 251.0591).

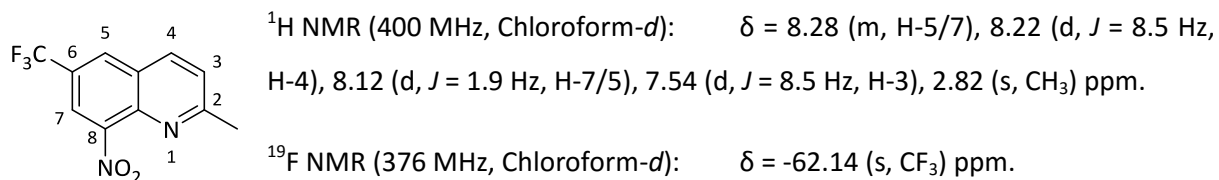
5.3.15. 2-Methyl-6-(trifluormethyl)-1,10-phenanthrolin (CF₃Mephen)

5.3.15.1. 2-Methyl-8-nitro-6-(trifluormethyl)chinolin

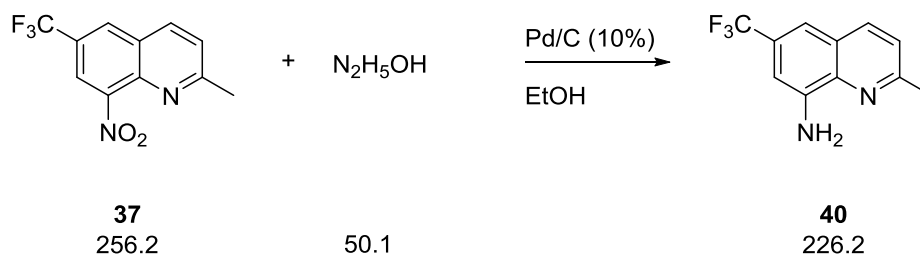


10	20 g	97 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	19 g	24 mmol	0.25 Äq.
Crotonaldehyd	16 mL	194 mmol	2.0 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	45 mL / 28 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion B. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Hexan/Ethylacetat (3:1) auf Kieselgel. Das Chinolin **37** wurde als gelber Feststoff (4.7 g, 18 mmol, 19 %) erhalten.

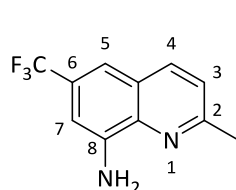


5.3.15.2. 8-Amino-2-methyl-6-(trifluormethyl)chinolin



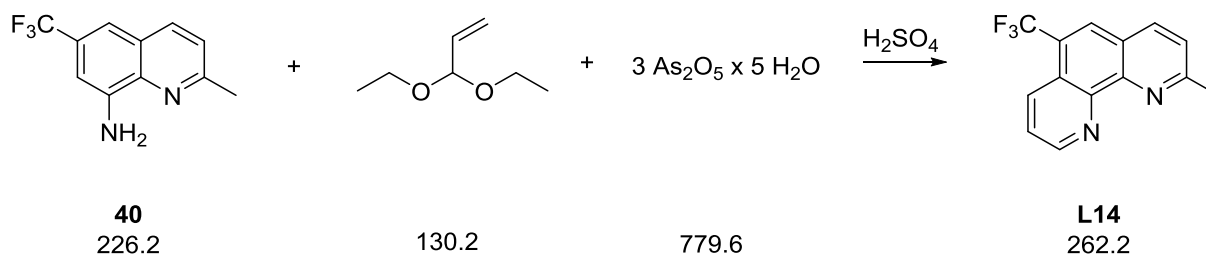
37	4.7 g	18 mmol	1.0 Äq.
Pd/C (10 %)	0.25 g	0.2 mmol	0.01 Äq.
Hydraziniumhydroxid	19 mL	391 mmol	22 Äq.
Ethanol	200 mL/60 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion D. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Hexan/Ethylacetat (2:1) auf Kieselgel. Das Chinolin wurde in sehr guter Ausbeute (3.65 g, 16 mmol, 89 %) als farbloser Feststoff erhalten.



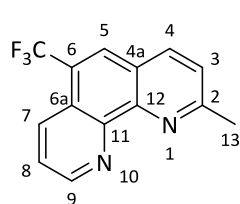
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 8.01 (d, *J* = 8.4 Hz, H-4), 7.38 (s, H-5/7), 7.33 (d, *J* = 8.4 Hz, H-3), 7.01 (d, *J* = 1.8 Hz, H-7/5), 5.15 (s, 2H), 2.74 (s, CH₃) ppm.

¹⁹F NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -62.56 (s, CF₃) ppm.

5.3.15.3. 2-Methyl-6-(trifluormethyl)-1,10-phenanthrolin (CF₃Mephen)

40	1.0 g	4.4 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	0.7 g	0.9 mmol	0.20 Äq.
Acroleindiethylacetal	1.2 mL	7.9 mmol	1.8 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	10 mL / 6 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/*iso*-Propylamin (10:1) auf Kieselgel. Anschließend wurde der Feststoff sublimiert (95 °C/3.5*10⁻² mbar). **CF₃Mephen (L14)** wurde als farbloser Feststoff (550 mg, 2.1 mmol, 48 %) erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 9.29 (d, *J* = 4.2 Hz, H-9), 8.56 (d, *J* = 8.3 Hz, H-7), 8.19 (d, *J* = 8.3 Hz, H-4), 8.17 (s, H-5), 7.72 (dd, *J* = 8.4, 4.3 Hz, H-8), 7.58 (d, *J* = 8.2 Hz, H-3), 2.96 (s, CH₃) ppm.

¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = -59.84 (s, CF₃) ppm.

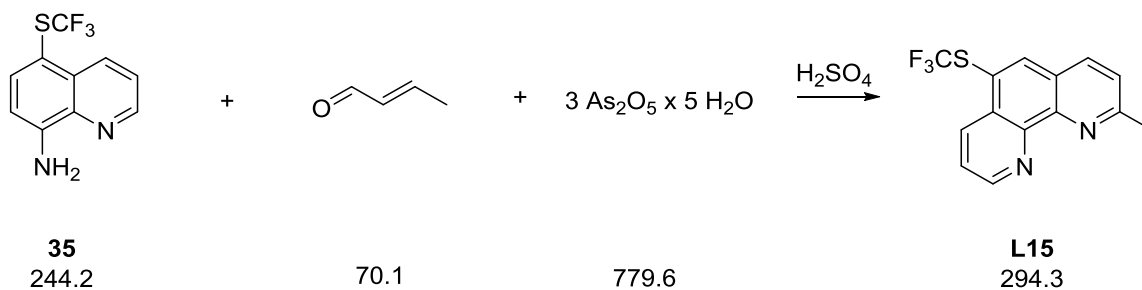
¹³C{¹H}-NMR (101 MHz, Chloroform-*d*): δ = 162.49 (s, C-2), 150.64 (s, C-9), 146.32 (s, C-11/12), 145.50 (s, C-12/11), 137.47 (s, C-4/7), 133.56 (s, C-7/4), 126.51 (q, *J* = 5.9 Hz, C-5), 124.88 (s, C-8/3), 124.31 (s, C-6a), 124.28 (s, C-4a), 123.88 (q, *J* = 273.2 Hz, CF₃), 123.49 (C-3/8), 26.01 (s, C-13, CH₃) ppm.

MS (ESI+, *m/z*): [M + H]⁺: 263.0820 (ber.: 263.0791), [M + Na]⁺: 285.0637 (ber.: 285.0610).

CHNS-Analyse: C: 63.82 % (64.12 %)

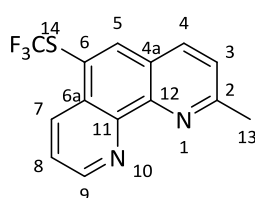
N: 10.41 % (10.68 %)

H: 3.64 % (3.46 %)

5.3.16. 2-Methyl-6-(trifluormethylthio)-1,10-phenanthrolin ($\text{SCF}_3\text{Mephen}$)

35	330 mg	1.35 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	250 mg	0.32 mmol	0.24 Äq.
Crotonaldehyd	0.31 mL	3.8 mmol	2.8 Äq.
$\text{H}_2\text{SO}_4 / \text{H}_2\text{O}$	5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion B. Die säulenchromatographische Aufreinigung wurde mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/Isopropylamin (20:1) auf Kieselgel realisiert. **SCF₃Mephen (L15)** wurde als farbloser Feststoff in guter Ausbeute (80 mg, 0.27 mmol, 31 %) basierend auf einem Umsatz von 210 mg (64 %) von **35** erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = 9.20$ (dd, $J = 4.3, 1.7$ Hz, H-9), 8.83 (dd, $J = 8.4, 1.4$ Hz, H-7), 8.24 (s, H-5), 8.09 (d, $J = 8.2$ Hz, H-4), 7.67 (dd, $J = 8.4, 4.3$ Hz, H-8), 7.50 (d, $J = 8.2$ Hz, H-3), 2.91 (s, CH_3) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = -41.95$ (s, CF_3) ppm.

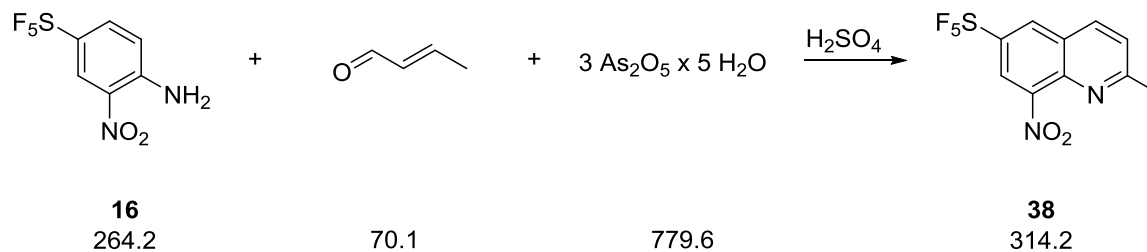
$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = 162.11$ (s, C-2), 150.84 (s, C-9), 146.84 (s, C-11/12), 146.36 (s, C-12/11), 139.29 (s, C-5), 136.61 (s, C-4/7), 134.60 (s, C-7/4), 129.99 (C-6a), 129.32 (q, $J = 310.8$ Hz, CF_3), 125.72 (C-4a), 124.41 (s, C-8/3), 123.45 (C-3/8), 119.36 (q, $J = 1.9$ Hz, C-6), 26.05 (s, C-13, CH_3) ppm.

MS (ESI+, m/z): $[\text{M} + \text{H}]^+$: 295.0473 (ber.: 295.0511), $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 317.0287 (ber.: 317.0331).

CHNS-Analyse: C: 57.01 % (57.14 %)
 N: 9.29 % (9.52 %)
 H: 3.34 % (3.08 %)
 S: 11.20 % (10.89 %)

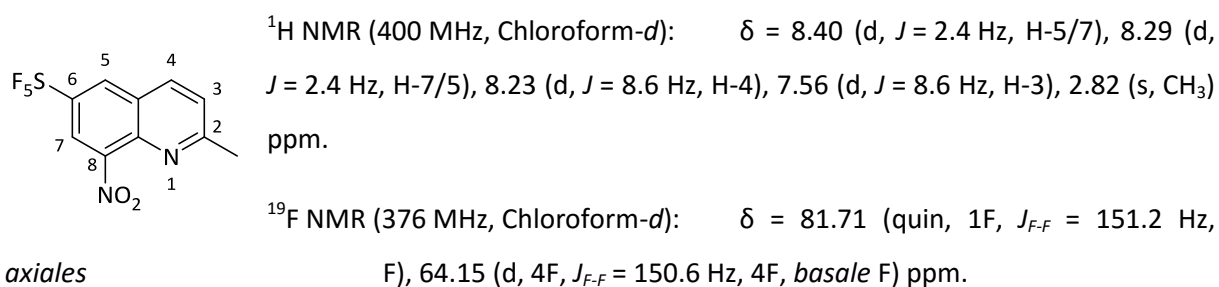
5.3.17. 2-Methyl-6-(pentafluorsulfanyl)-1,10-phenanthrolin (SF₅Mephen)

5.3.17.1. 2-Methyl-8-nitro-6-(pentafluorsulfanyl)chinolin

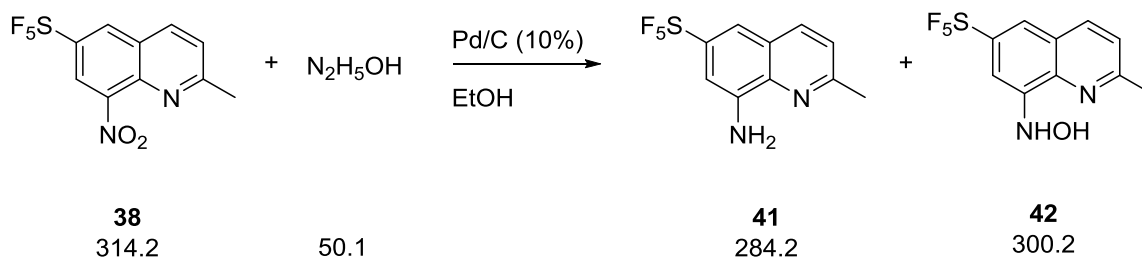


16	4.0 g	15 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	3.1 g	4.0 mmol	0.27 Äq.
Crotonaldehyd	3.3 mL	40 mmol	2.7 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	30 mL / 18 mL		

Die Umsetzung wurde in Analogie zu Reaktion B durchgeführt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Hexan/Ethylacetat (3:1) auf Kieselgel. Das Chinolin **38** wurde als gelber Feststoff (1.12 g, 3.6 mmol, 24 %) erhalten.



5.3.17.2. 8-Amino-2-methyl-6-(pentafluorsulfanyl)chinolin/8-(Hydroxylamino)-6-(pentafluorsulfanyl)chinolin

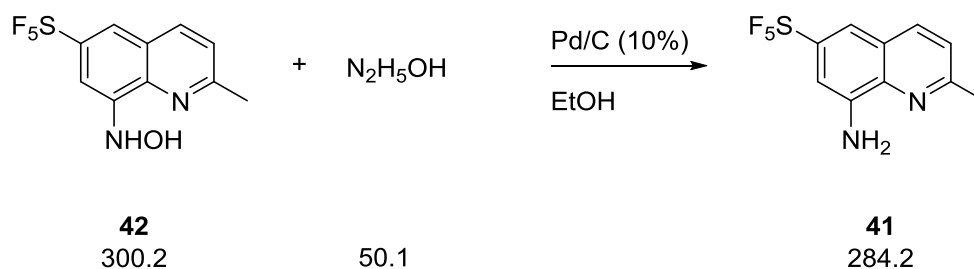


38	1.1 g	3.5 mmol	1.0 Äq.
Pd/C (10 %)	0.06 g	0.06 mmol	0.02 Äq.
Hydraziniumhydroxid	5 mL	103 mmol	29 Äq.
Ethanol			

Die Umsetzung wurde in Analogie zu Reaktion D ausgeführt. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Hexan/Ethylacetat (2:1) auf Kieselgel. Fraktion 1 enthielt das Amin und Fraktion 2 das Hydroxylamin. Das Hydroxylamin **42** wurde in einer Folgereaktion zum Amin **41** umgesetzt.

Amin **41**: farbloser Feststoff Ausbeute: 340 mg (1.20 mmol, 34 %)

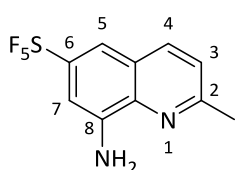
Hydroxylamin **42**: leicht gelblicher Feststoff Ausbeute: 530 mg (1.76 mmol, 50 %)



Hydroxylamin 42	0.53 g	1.8 mmol	1.0 Äq.
Pd/C (10 %)	0.06 g	0.06 mmol	0.03 Äq.
Hydraziniumhydroxid	5 mL	103 mmol	59 Äq.
Ethanol	50 mL/15 mL		

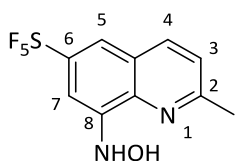
Experimenteller Teil

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion D. Der Reaktionsfortschritt wurde mit Dünnschichtchromatographie überprüft. Nach 24 h war die Reaktion vollständig. Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit einem Eluentengemisch von Hexan/Ethylacetat (2:1) auf Kieselgel. Das Amin **41** wurde in sehr guter Ausbeute (472 mg, 1.66 mmol, 94 %) als farbloser Feststoff erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 7.90 (d, J = 8.4 Hz, H-4), 7.47 (d, J = 2.2 Hz, H-5/7), 7.26 (d, J = 8.4 Hz, H-3), 7.16 (d, J = 2.3 Hz, H-7/5), 5.18 (s, NH₂) ppm.

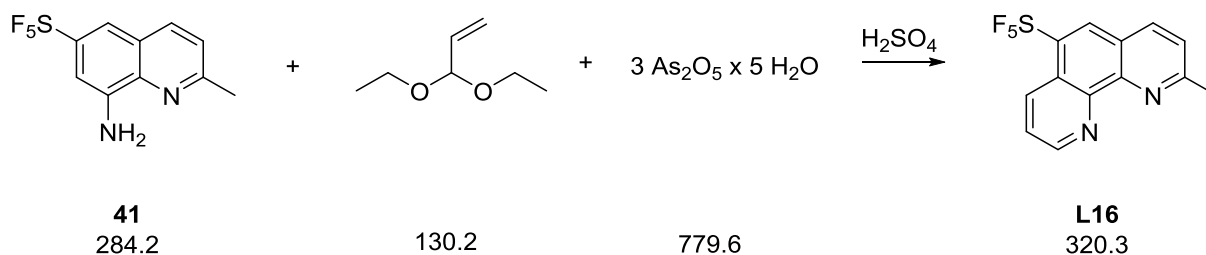
$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = 85.79 (quin, 1F, $J_{\text{F-F}}$ = 149.9 Hz, *axiales* F), 63.40 (d, 4F, $J_{\text{F-F}}$ = 149.6 Hz, *basale* F) ppm.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 8.65 (s, 1H), 8.08 (d, J = 7.8 Hz, H-4), 7.72 (m, 2H), 7.39 (d, J = 7.9 Hz, H-3), 5.44 (s, NH) ppm.

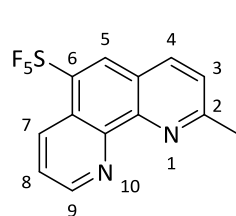
$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = 84.89 (m, 1F, *axiales* F), 63.38 (d, 4F, $J_{\text{F-F}}$ = 150.1 Hz, *basale* F) ppm.

5.3.17.3. 2-Methyl-6-(pentafluorsulfanyl)-1,10-phenanthrolin (SF₅Mephen)



Aminochinolin 41	0.47 g	1.5 mmol	1.0 Äq.
Tris(arsen(V)oxid)-Pentahydrat	0.32 g	0.4 mmol	0.27 Äq.
Acroleindiethylacetal	0.65 mL	4.3 mmol	2.9 Äq.
H ₂ SO ₄ / H ₂ O	5 mL / 3 mL		

Die Umsetzung erfolgte in Analogie zu Reaktion A. Die säulenchromatographische Aufreinigung wurde mit einem Eluentengemisch von Ethylacetat/*iso*-Propylamin (20:1) auf Kieselgel durchgeführt. Anschließend wurde der Feststoff sublimiert (105 °C/2*10⁻² mbar). Der Ligand **SF₅Mephen (L16)** wurde in guter Ausbeute (170 mg, 0.53 mmol, 32 %) als farbloser Feststoff erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 9.24 (dd, *J* = 4.2, 1.3 Hz, H-9), 8.84 (d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 8.39 (s, H-5), 8.21 (d, *J* = 8.2 Hz, H-4), 7.72 (dd, *J* = 8.8, 4.2 Hz, H-8), 7.60 (d, *J* = 8.2 Hz, H-3), 2.97 (s, 3H, CH₃) ppm.

¹⁹F-NMR (376 MHz, Chloroform-*d*): δ = 86.31 (quin, 1F, *J*_{F-F} = 149.3 Hz, *axiales* F), 70.49 (d, 4F, *J*_{F-F} = 149.3 Hz, *basale* F) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (101 MHz, Chloroform-*d*): δ = 163.19 (s, C-2), 150.60 (s, C-9), 146.62 (C-11/C-12), 145.94 (C-12/C-11), 137.64 (s, C-4), 134.51 – 134.24 (m, C-7), 129.15 (m, C-5), 125.01 (s, C-8), 123.98 – 123.89 (m, C-4a), 123.62 (s, C-3), 123.51 – 123.46 (m, C-6a), 26.26 (s, C-13) ppm.

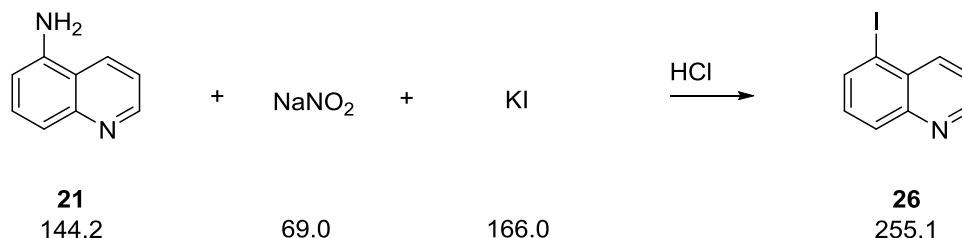
MS (ESI⁺, *m/z*): [M + H]⁺: 321.0515 (ber.: 321.0479).

CHNS-Analyse (berechnet):

C: 48.97 % (48.75 %)
N: 8.43 % (8.75 %)
H: 3.22 % (2.83 %)
S: 9.67 % (10.01 %)

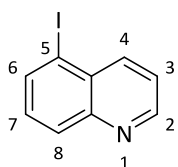
5.3.18. 5-(Perfluorbutyl)-1,10-phenanthrolin (pFBuphen)

5.3.18.1. 5-Iodchinolin



21	0.5 g	3.5 mmol	1.0 Äq.
Natriumnitrit	0.34 g	5.0 mmol	1.4 Äq.
Kaliumiodid	1.2 g	7.2 mmol	2.1 Äq.
Salzsäure (3M)	10 mL		
Wasser			

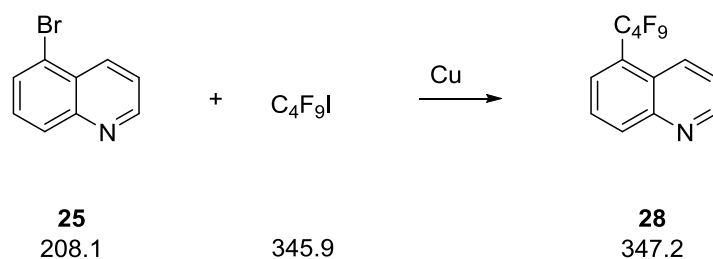
Eine wässrige Lösung (2.3 mL) von Natriumnitrit wurde über einen Zeitraum von 10 min zu einer kalten Lösung (0 °C) von **21** in Salzsäure getropft. Anschließend wurde Kaliumiodid in Wasser (2.3 mL) tropfenweise hinzugegeben und zur Unterdrückung der Schaumbildung Aceton hinzugefügt. Das Gemisch wurde mit einer gesättigten Natriumthiosulfat-Lösung versetzt und mit Ethylacetat (3x 20 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde am Rotationsverdampfer eingengt und säulenchromatographisch auf Kieselgel mit einem Gradienten aus Hexan/Ethylacetat (8/1 bis 4/1) aufgetrennt. Das Chinolin **26** wurde in akzeptabler Ausbeute (400 mg, 1.57 mmol, 45 %) als farbloser Feststoff erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, Chloroform-*d*): δ = 8.89 (dd, J = 4.2, 1.6 Hz, H-2), 8.40 (dd, J = 8.5, 1.2 Hz, H-4), 8.13 (m, H-6 und H-8), 7.49 (dd, J = 8.6, 4.2 Hz, H-3), 7.44 (dd, J = 8.2, 7.3 Hz, H-7) ppm.

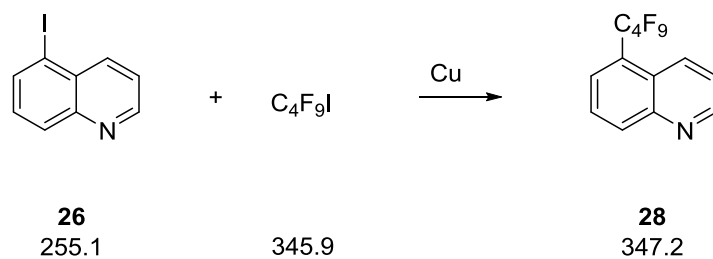
5.3.18.2. 5-(Perfluorbutyl)chinolin

von 5-Bromchinolin ausgehend



5-Bromchinolin (25)	202 mg	1.0 mmol	1.0 Äq.
<i>n</i> -Perfluorbutyliodid	1.025 g	3.0 mmol	3.0 Äq.
Kupfer	379 mg	6.0 mmol	6.0 Äq.
DMSO			

von 5-Iodchinolin ausgehend

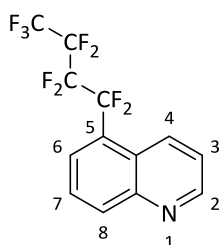


5-Iodchinolin (26)	254 mg	1.0 mmol	1.0 Äq.
<i>n</i> -Perfluorbutyliodid	1.025 g	3.0 mmol	3.0 Äq.
Kupfer	378 mg	6.0 mmol	6.0 Äq.
DMSO			

Experimenteller Teil

5-Xchinolin (X = Br **25**, I **26**) wurde mit feinem Kupferpulver unter Argon in trockenem DMSO (10 mL) vorgelegt und auf 50 °C erwärmt. Bei konstanter Temperatur wurde *n*-Perfluorbutyliodid (0.5 mL) mittels Spritzenpumpe langsam hinzugegeben, wobei der Kanülenausgang sich unter dem Lösungsspiegel befand. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch für 17 h bei 130 °C gerührt und danach abgekühlt. Der interne Standard Monofluorbenzol (100 µL, 1.06 mmol) wurde hinzugegeben und die Suspension filtriert. Die Ausbeute wurde *in situ* bestimmt und auf eine weitere Aufarbeitung verzichtet.

NMR-Ausbeute: 23 % (ausgehend vom Bromid **25**), 17 % (ausgehend vom Iodid **26**)

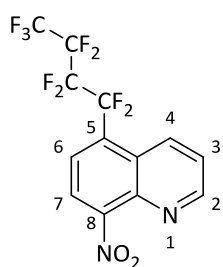


^{19}F -NMR (376 MHz, d₆.DMSO): $\delta = -80.25$ (m, 3F, CF₃), -103.64 (m, 2F, CF₂), -112.94 (m, F-Benzol), -120.92 (m, 2F, CF₂), -125.13 (m, 2F, CF₂) ppm.

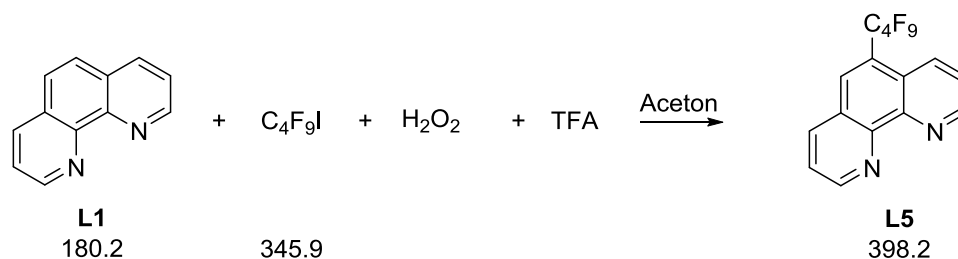
Experimenteller Teil

5-X-8-nitrochinolin (X = Br **18**, I **27**) wurde mit feinem Kupferpulver unter Argon in trockenem DMSO vorgelegt und auf 50 °C erwärmt. Bei konstanter Temperatur wurde *n*-Perfluorbutyliodid (0.5 mL) mittels Spritzenpumpe langsam hinzugegeben, wobei der Kanülenausgang sich unter dem Lösungsspiegel befand. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch für 17 h bei 130 °C gerührt und danach abgekühlt. Der interne Standard Monofluorbenzol (100 µL, 1.06 mmol) wurde hinzugegeben und die Suspension filtriert. Die Ausbeute wurde *in situ* bestimmt und auf eine weitere Aufarbeitung verzichtet.

Ausbeute: 21 % (ausgehend vom Bromid **18**), 15 % (ausgehend vom Iodid **27**)



^{19}F -NMR (376 MHz, d6-DMSO): $\delta = -80.36$ (m, 3F, CF_3), -104.25 (m, 2F, CF_2), -112.95 (m, F-Benzol), -120.82 (m, 2F, CF_2), -125.13 (m, 2F, CF_2) ppm.

5.3.18.6. 5(4,3,2)-*n*-Perfluorbutyl-1,10-phenanthrolin (pFBuphen)

1,10-Phenanthrolin (L1)	2.5 g	13.9 mmol	3.0 Äq.
<i>n</i> -Perfluorbutyl-1-iodid	0.8 mL	4.7 mmol	1.0 Äq.
Trifluoressigsäure (99 %)	2.1 mL	27.3 mmol	5.8 Äq.
Wasserstoffperoxid (30 %)	1.4 mL	15.1 mmol	3.2 Äq.
Aceton	20 mL		

Zu einem Gemisch von **L1** und *n*-Perfluorbutyl-1-iodid in Aceton wurde H₂O₂ gegeben. Anschließend wurde TFA vorsichtig hinzugegeben. Das Gemisch wurde für 12 h refluxiert und mit Wasser versetzt (20 mL). Die Reaktionslösung wurde mit Diethylether extrahiert (3x 30 mL) und die organische Phase mit Wasser (4x 20 mL) und gesättigter NaCl-Lösung (2x 20 mL) gewaschen. Das Gemisch wurde säulenchromatographisch auf Kieselgel mit einem Eluentengemisch Hexan/Ethylacetat/Isopropylamin (10/5/1) aufgetrennt.

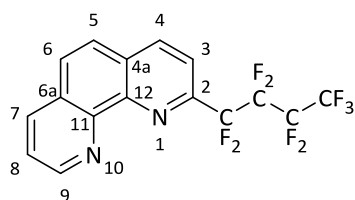
2-*n*-Perfluorbutyl-1,10-phenanthrolin: farbloser Feststoff (Fraktion 1, 20 mg, 0.05 mmol, 1 %)

3-*n*-Perfluorbutyl-1,10-phenanthrolin: farbloser Feststoff (Fraktion 2, 26 mg, 0.06 mmol, 1 %)

4-*n*-Perfluorbutyl-1,10-phenanthrolin: farbloser Feststoff (Fraktion 3, 52 mg, 0.13 mmol, 3 %)

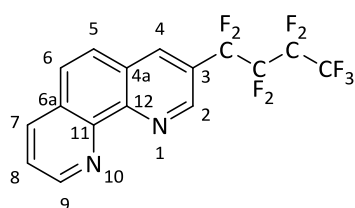
5-*n*-Perfluorbutyl-1,10-phenanthrolin: farbloser Feststoff (Fraktion 4, 276 mg, 0.69 mmol, 15 %)

Experimenteller Teil



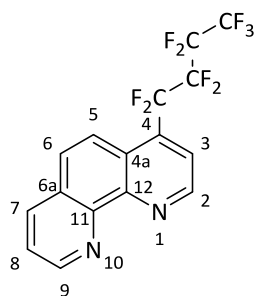
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = 9.31$ (dd, $J = 4.4, 1.7$ Hz, H-9), 8.45 (d, $J = 8.4$ Hz, H-4), 8.29 (dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, H-7), 7.99 (d, $J = 8.3$ Hz, H-3), 7.94 (d, $J = 8.8$ Hz, H-5/6), 7.87 (d, $J = 8.8$ Hz, H-6/5), 7.70 (dd, $J = 8.1, 4.4$ Hz, H-8) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = -80.75$ (tt, $J = 9.6, 2.2$ Hz, CF_3), -113.02 (t, $J = 13.3$ Hz, CF_2), -121.69 (m, CF_2), -125.37 (m, CF_2) ppm.



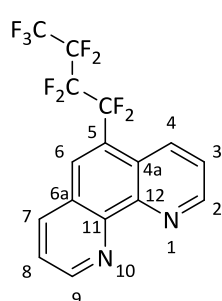
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = 9.29$ (s, H-2), 9.22 (dd, $J = 4.3, 1.7$ Hz, H-9), 8.48 (s, H-4), 8.29 (dd, $J = 8.1, 1.6$ Hz, H-7), 7.90 (d, $J = 8.9$ Hz, H-5/6), 7.86 (d, $J = 8.8$ Hz, H-6/5), 7.70 (dd, $J = 8.1, 4.3$ Hz, H-8) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = -80.87$ (tt, $J = 9.7, 2.7$ Hz, CF_3), -110.87 (t, $J = 12.8$ Hz, CF_2), -122.33 (m, CF_2), -125.36 (m, CF_2) ppm.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = 9.30$ (d, $J = 4.6$ Hz, H-2), 9.19 (dd, $J = 4.2, 1.4$ Hz, H-9), 8.23 (dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, H-7), 8.10 (d, $J = 9.4$ Hz, H-5/6), 7.87 (d, $J = 9.4$ Hz, H-6/5), 7.83 (d, $J = 4.6$ Hz, H-3), 7.65 (dd, $J = 8.1, 4.3$ Hz, H-8) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = -80.81$ (m, CF_3), -106.22 (m, CF_2), -121.00 (m, CF_2), -125.49 (m, CF_2) ppm.

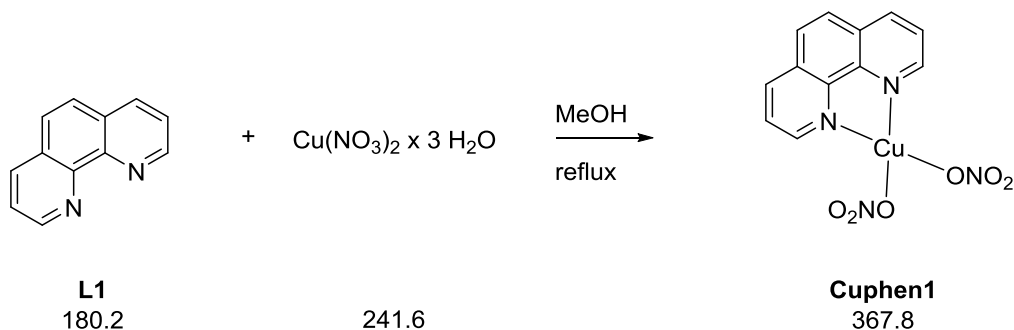


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = 9.11$ (dd, $J = 4.4, 1.7$ Hz, H-2/9), 9.07 (dd, $J = 4.2, 1.5$ Hz, H-9/2), 8.40 (m, 2H), 8.14 (dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, H-7/4), 7.98 (s, H-6), 7.52 (dd, $J = 8.2, 4.3$ Hz, H-3/8), 7.51 (dd, $J = 8.2, 4.3$ Hz, H-8/3) ppm.

$^{19}\text{F-NMR}$ (376 MHz, Chloroform-*d*): $\delta = -81.09$ (tt, $J = 9.9, 2.6$ Hz, CF_3), -105.13 (t, $J = 14.4$ Hz, CF_2), -121.07 (m, CF_2), -125.76 (m, CF_2) ppm.

5.3.19. Komplexsynthese

5.3.19.1. Cu(phen)(NO₃)₂ (Cuphen1)



1,10-Phenanthrolin (L1)	180 mg	1.0 mmol	1.0 Äq.
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	241 mg	1.0 mmol	1.0 Äq.
Methanol			

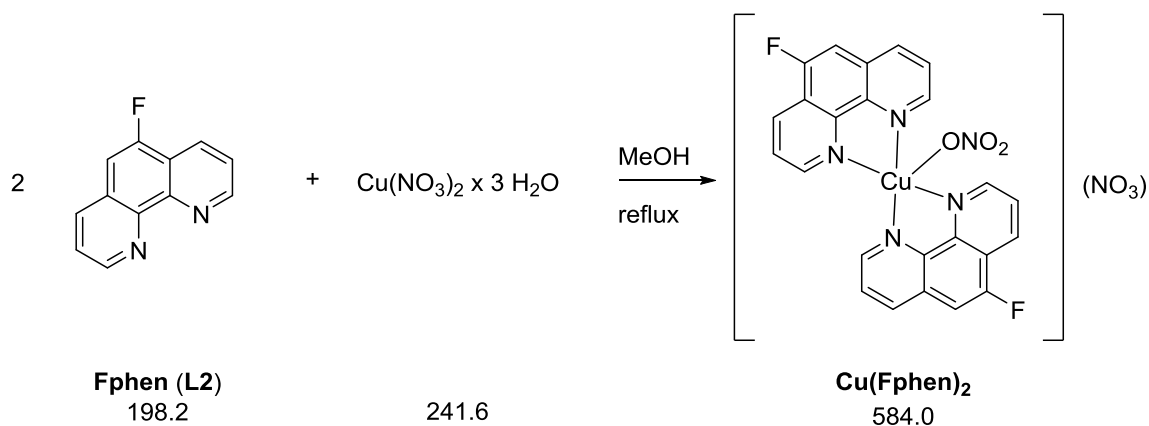
1,10-Phenanthrolin und Kupfer(II)nitrat wurden jeweils in Methanol (5 mL) vorgelegt. Die Kupfer(II)nitrat-Lösung wurde tropfenweise in die 1,10-Phenanthrolin-Lösung gegeben und 60 min unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen der Lösung wurde der blaue Feststoff abfiltriert, im Hochvakuum getrocknet und in sehr guter Ausbeute von 87 % (320 mg, 0.87 mmol) erhalten.

CHNS-Analyse (berechnet): C: 39.27 % (39.19 %)

N: 15.21 % (15.23 %)

H: 2.44 % (2.19 %)

5.3.19.2. $[\text{Cu}(\text{5-F-phen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ($\text{Cu}(\text{Fphen})_2$)



Fphen (L2)	198 mg	1.0 mmol	2.0 Äq.
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	120 mg	0.5 mmol	1.0 Äq.
Methanol			

Fphen und Kupfer(II)nitrat wurden jeweils in Methanol (5 mL) vorgelegt. Die Kupfer(II)nitrat-Lösung wurde tropfenweise in die **Fphen**-Lösung gegeben und 60 min unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen der Lösung wurde der türkise Feststoff abfiltriert, mit kaltem MeOH gewaschen und im HV getrocknet. Der Komplex **Cu(Fphen)₂** wurde als türkiser Feststoff mit einer Ausbeute von 74 % (215 mg, 0.37 mmol) erhalten.

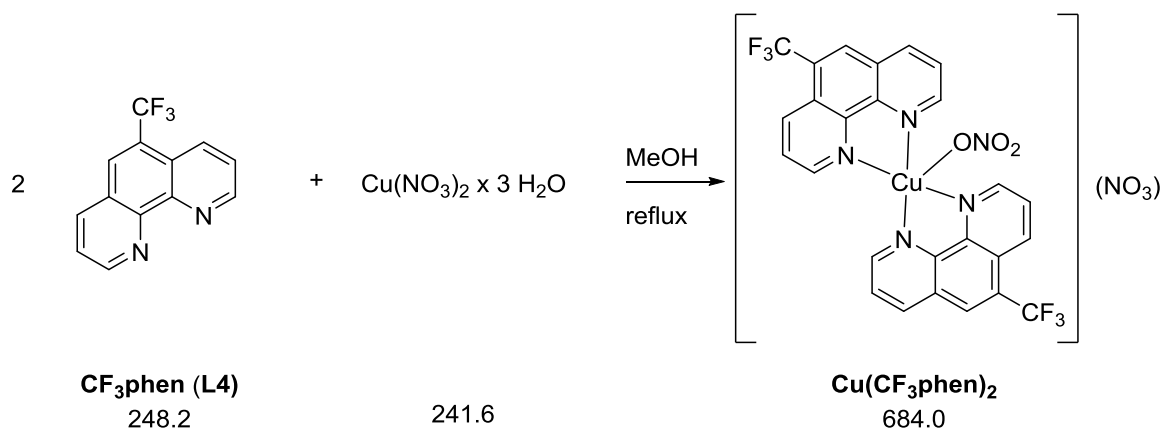
CHNS-Analyse (berechnet): C: 49.21 % (49.36 %)

N: 14.17 % (14.39 %)

H: 2.47 % (2.42 %)

MS (ESI⁺, m/z): [L + H]⁺: 199.069 (ber.: 199.067), [CuL₂]⁺: 459.050 (ber.: 459.048)

5.3.19.4. $[\text{Cu}(\text{5-CF}_3\text{-phen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ($\text{Cu}(\text{CF}_3\text{phen})_2$)



CF₃phen (L4)	248 mg	1.0 mmol	2.0 Äq.
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	120 mg	0.5 mmol	1.0 Äq.
Methanol			

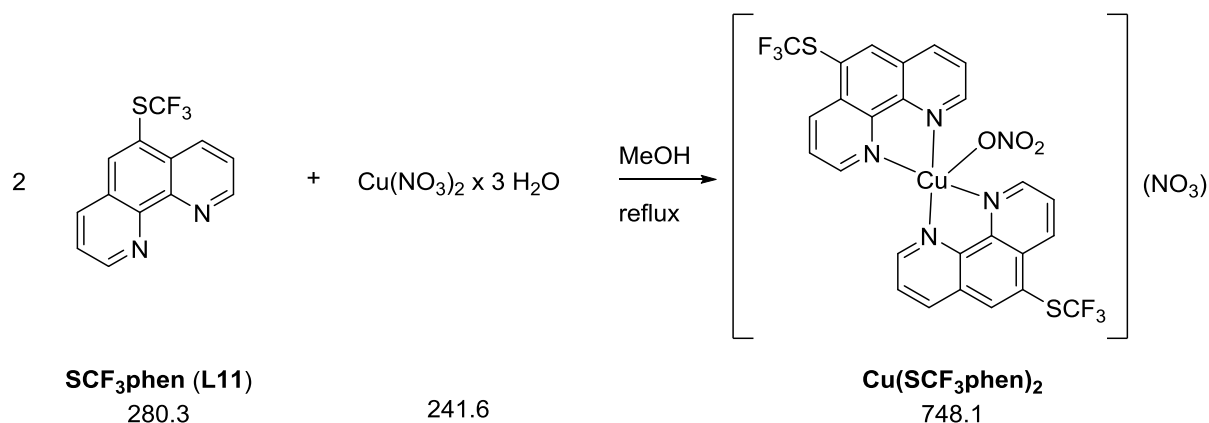
CF₃phen und Kupfer(II)nitrat wurden jeweils in Methanol (1 mL) vorgelegt. Die Kupfer(II)nitrat-Lösung wurde tropfenweise in die **CF₃phen**-Lösung gegeben und 20 min unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen wurde die Lösung am Rotationsverdampfer eingengt, der Rückstand mit wenigen Tropfen Wasser versetzt und in THF aufgenommen (5 mL). Die resultierende Lösung wurde für 2 Tage bei -25 °C gelagert. Der gefällte Feststoff wurde schnell filtriert und mit viel kaltem Hexan (<-20 °C) gewaschen und im HV getrocknet. Der Komplex **Cu(CF₃phen)₂** wurde als blauer Feststoff mit einer Ausbeute von 38 % (150 mg, 0.19 mmol) erhalten.

CHNS-Analyse (x 1.5 H₂O x 1 THF, berechnet): C: 46.13 % (46.01 %)

N: 10.94 % (10.73 %)

H: 3.15 % (3.22 %)

MS (ESI⁺, m/z): $[\text{L} + \text{Na}]^+$: 271.042 (ber.: 271.045), $[\text{CuL}_2]^+$: 559.036 (ber.: 559.041).

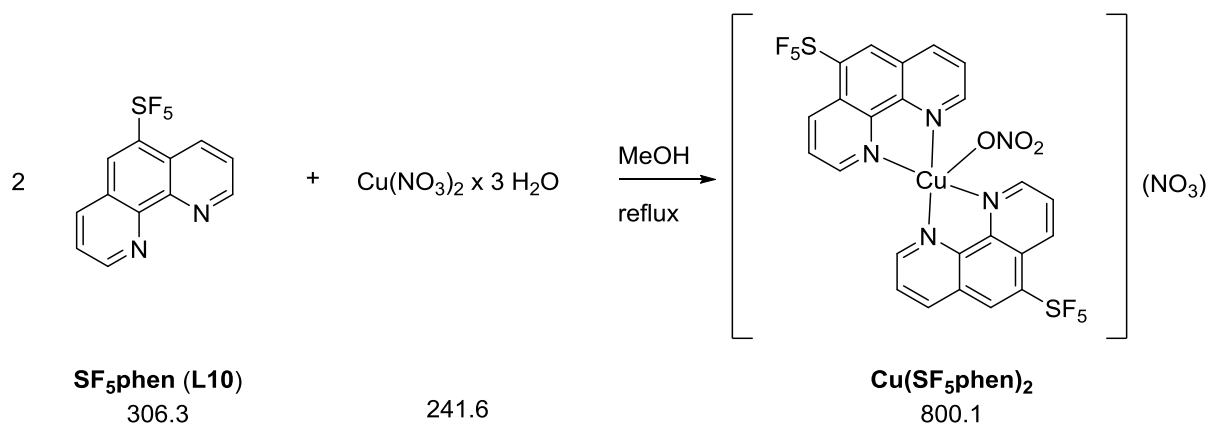
5.3.19.5. $[\text{Cu}(\text{5-SCF}_3\text{-phen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ($\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{phen})_2$)

SCF₃phen (L11)	100 mg	0.36 mmol	2.1 Äq.
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	41 mg	0.17 mmol	1.0 Äq.
Methanol			

SCF₃phen und Kupfer(II)nitrat wurden jeweils in Methanol (1 mL) vorgelegt. Die Kupfer(II)nitrat-Lösung wurde tropfenweise in die **SCF₃phen**-Lösung gegeben und 20 min unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen wurde die Lösung am Rotationsverdampfer eingedunstet, der Rückstand mit wenigen Tropfen Wasser versetzt und in THF aufgenommen (5 mL). Die resultierende Lösung wurde für 2 Tage bei -25 °C gelagert. Der gefällte Feststoff wurde schnell filtriert und mit viel kaltem Hexan (<-20 °C) gewaschen und im HV getrocknet. Der Feststoff wurde in Ethanol (1 mL) aufgenommen und mit wenigen Tropfen Wasser versetzt. Der Komplex **Cu(SCF₃phen)₂** wurde anschließend durch Ether-Diffusion gefällt und als blauer Feststoff mit einer Ausbeute von 34 % (45 mg, 0.058 mmol) erhalten.

CHNS-Analyse (x 0.5 EtOH, berechnet):	C: 41.79 % (42.06 %)
	N: 11.22 % (10.90 %)
	S: 8.61 % (8.32 %)
	H: 2.54 % (2.22 %)

MS (ESI⁺, m/z): [L + H]⁺: 281.0428 (ber.: 281.00335), [L + Na]⁺: 303.0177 (ber.: 303.0174), [2L + Na]⁺: 583.0454 (ber.: 583.0456), [CuL₂]⁺: 622.9852 (ber.: 622.9855).

5.3.19.6. $[\text{Cu}(\text{SF}_5\text{-phen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ($\text{Cu}(\text{SF}_5\text{phen})_2$)

SF₅phen (L10)	58 mg	0.19 mmol	2.1 Äq.
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	22 mg	0.09 mmol	1.0 Äq.
Methanol			

SF₅phen und Kupfer(II)nitrat wurden jeweils in Methanol (0.5 mL) vorgelegt. Die Kupfer(II)nitrat-Lösung wurde tropfenweise in die **SF₅phen**-Lösung gegeben und 20 min unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen wurde die Lösung am Rotationsverdampfer eingeeengt, der Rückstand mit wenigen Tropfen Wasser versetzt und in THF aufgenommen (5 mL). Die resultierende Lösung wurde für 2 Tage bei -25 °C gelagert. Der gefällte Feststoff wurde schnell filtriert und mit viel kaltem Hexan (<-20 °C) gewaschen und getrocknet. Der Feststoff wurde in *n*-Propanol (1 mL) aufgenommen und anschließend durch Ether-Diffusion gefällt. Der Komplex **Cu(SF₅phen)₂** wurde als blauer Feststoff mit einer Ausbeute von 27 % (20 mg, 0.024 mmol) erhalten.

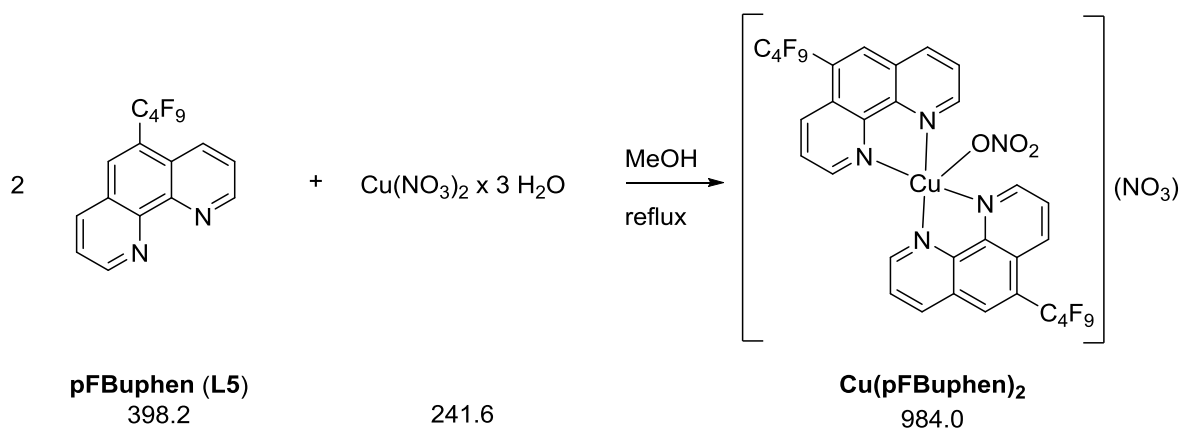
CHNS-Analyse (x MeOH, berechnet): C: 36.05 % (36.09 %)

N: 10.43 % (10.10 %)

S: 7.99 % (7.71 %)

H: 2.55 % (2.18 %)

MS (ESI⁺, m/z): [L + H]⁺: 307.0323 (ber.: 307.0298), [L + Na]⁺: 329.0133 (ber. 329.0142), [CuL₂]⁺: 674.9734 (ber.: 674.9796).

5.3.19.7. $[\text{Cu}(\text{5-}n\text{-C}_4\text{F}_9\text{-phen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ($\text{Cu}(\text{pFBuphen})_2$)

pFBuphen (L5)	100 mg	0,25 mmol	2.1 Äq.
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	29 mg	0.12 mmol	1.0 Äq.
Methanol			

pFBuphen und Kupfer(II)nitrat wurden jeweils in Methanol (3 mL) vorgelegt. Die Kupfer(II)nitrat-Lösung wurde tropfenweise in die **pFBuphen**-Lösung gegeben und 20 min unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen wurde die Lösung am Rotationsverdampfer eingengt, der Rückstand mit wenigen Tropfen Wasser versetzt und in THF aufgenommen (5 mL). Die resultierende Lösung wurde für 2 Tage bei $-25\text{ }^\circ\text{C}$ gelagert. Der gefällte Feststoff wurde schnell filtriert und mit viel kaltem Hexan ($<-20\text{ }^\circ\text{C}$) gewaschen. Der Feststoff wurde in *iso*-Propanol (mit wenigen Tropfen Wasser versetzt) gelöst und durch Etherdiffusion gefällt. Der Feststoff wurde filtriert und im Hochvakuum getrocknet. Der Komplex **Cu(pFBuphen)₂** wurde als blauer Feststoff mit einer Ausbeute von 67 % (90 mg, 0.08 mmol) erhalten.

CHNS-Analyse (x 1.5 H₂O x 1.5 *iso*-PrOH, berechnet):

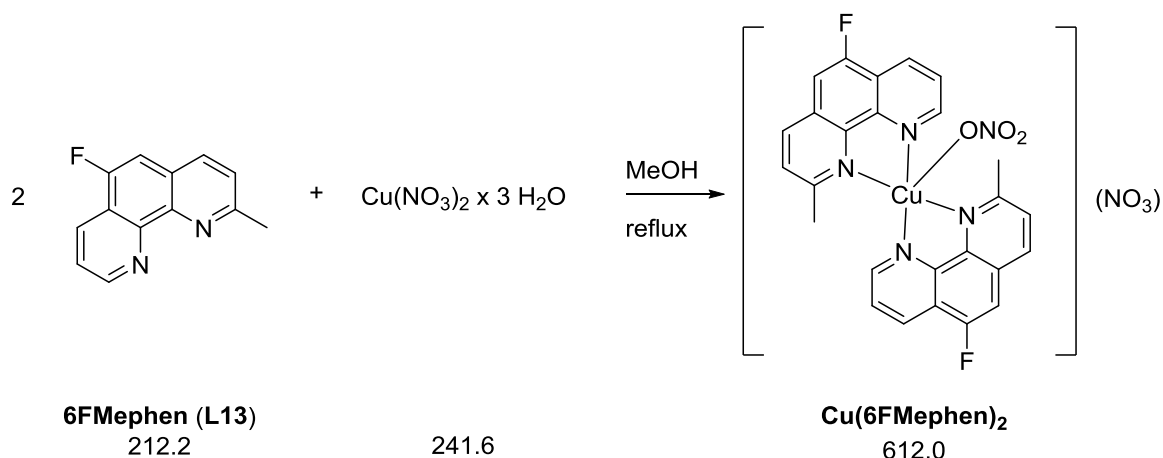
C: 39.76 % (39.81 %)

N: 7.85 % (7.63 %)

H: 2.68 % (2.65 %)

MS (ESI⁺, m/z): [L + H]⁺: 399.0489 (ber.: 399.0538), [L + Na]⁺: 421.0310 (ber.: 421.0538), [2L + Na]⁺: 819.0739 (ber.: 819.0823), [CuL₂]⁺: 859.0128 (ber.: 859.0222).

5.3.19.9. $[\text{Cu}(\text{6-F-2-Me-phen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ($\text{Cu}(\text{6FMephen})_2$)



6FMephen	318 mg	1.5 mmol	2.0 Äq.
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	180 mg	0.75 mmol	1.0 Äq.
Methanol			

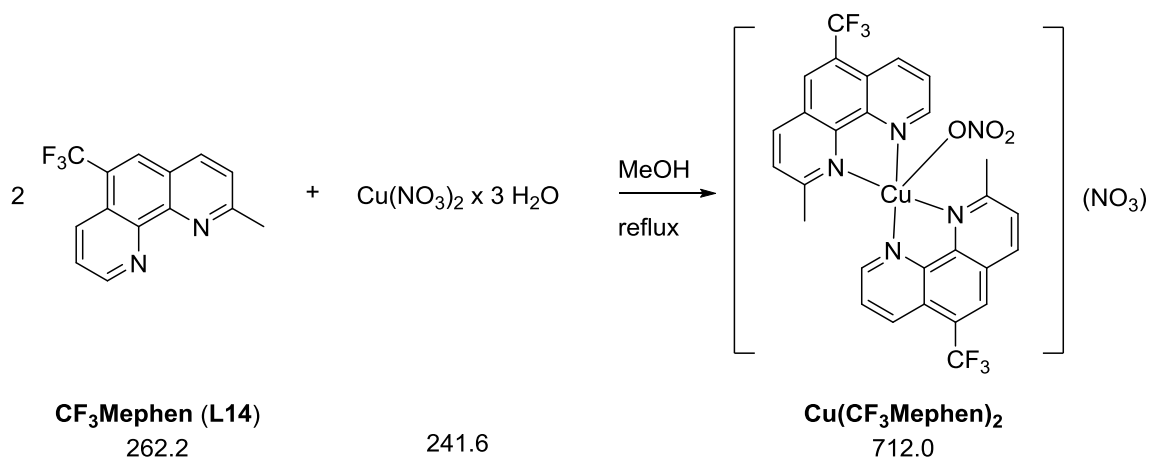
6FMephen und Kupfer(II)nitrat wurden jeweils in Methanol (10 mL) vorgelegt. Die Kupfer(II)nitrat-Lösung wurde tropfenweise in die **6FMephen**-Lösung mit Wasser (1 mL) gegeben und 60 min unter Rückfluss gerührt. Nach Abkühlen der Lösung wurde durch Ether-Diffusion ein grüner kristalliner Feststoff erhalten und dieser im HV getrocknet. Der Komplex $\text{Cu}(\text{6FMephen})_2$ wurde als grüner Feststoff mit einer Ausbeute von 72 % (360 mg, 0.54 mmol) erhalten.

MS (ESI⁺, m/z): $[\text{L} + \text{H}]^+$: 213.0792 (ber.: 213.0823), $[\text{L} + \text{Na}]^+$: 235.0608 (ber.: 235.0642), $[\text{CuL}_2]^+$: 487.0739 (ber.: 487.0796).

CHNS-Analyse (x MeOH x H₂O, berechnet): C: 49.13 % (48.98 %)

N: 12.70 % (12.69 %)

H: 3.54 % (3.65 %)

5.3.19.9. $[\text{Cu}(\text{2-Me-6-CF}_3\text{-phen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ($\text{Cu}(\text{CF}_3\text{Mephen})_2$)

CF₃Mephen (L14)	106 mg	0.40 mmol	2.1 Äq.
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	45 mg	0.19 mmol	1.0 Äq.
Ethanol			

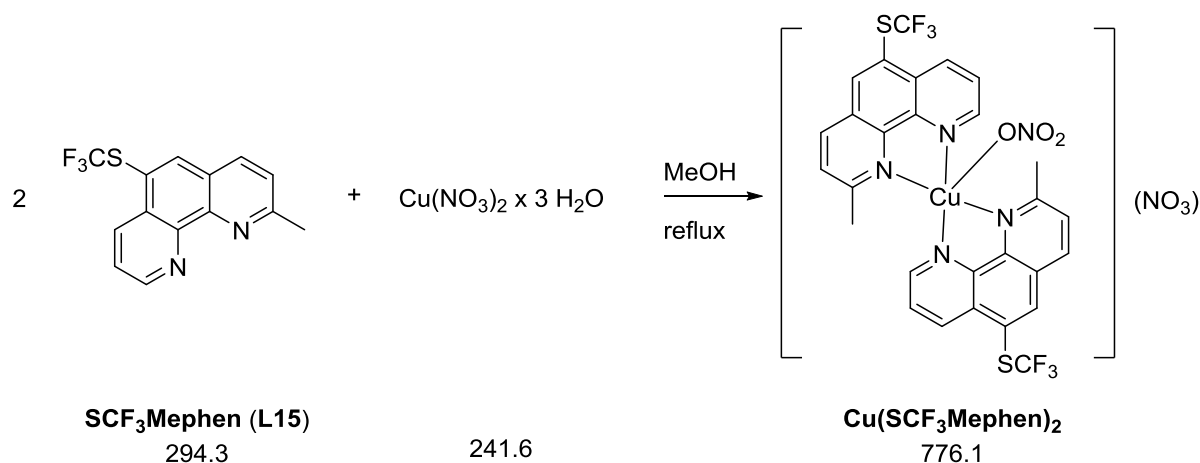
CF₃Mephen und Kupfer(II)nitrat wurden jeweils in Ethanol (4 mL) vorgelegt. Die Kupfer(II)nitrat-Lösung wurde tropfenweise in die **CF₃Mephen**-Lösung mit Wasser (1 mL) gegeben und 60 min bei Raumtemperatur gerührt. Das Gemisch wurde für zwei Tage bei -25°C gelagert. Das Gemisch wurde filtriert und der Feststoff am Hochvakuum getrocknet. Der Komplex **Cu(CF₃Mephen)₂** wurde als grüner Feststoff mit einer Ausbeute von 47 % (63 mg, 0.09 mmol) erhalten.

MS (ESI⁺, m/z): [L + H]⁺: 263.0820 (ber.: 263.0791), [L + Na]⁺: 285.0637 (ber.: 285.0610),
 [CuL₂]⁺: 587.0764 (ber.: 587.0732).

CHNS-Analyse (berechnet): C: 47.24 % (47.23 %)

N: 11.75 % (11.80 %)

H: 2.70 % (2.55 %)

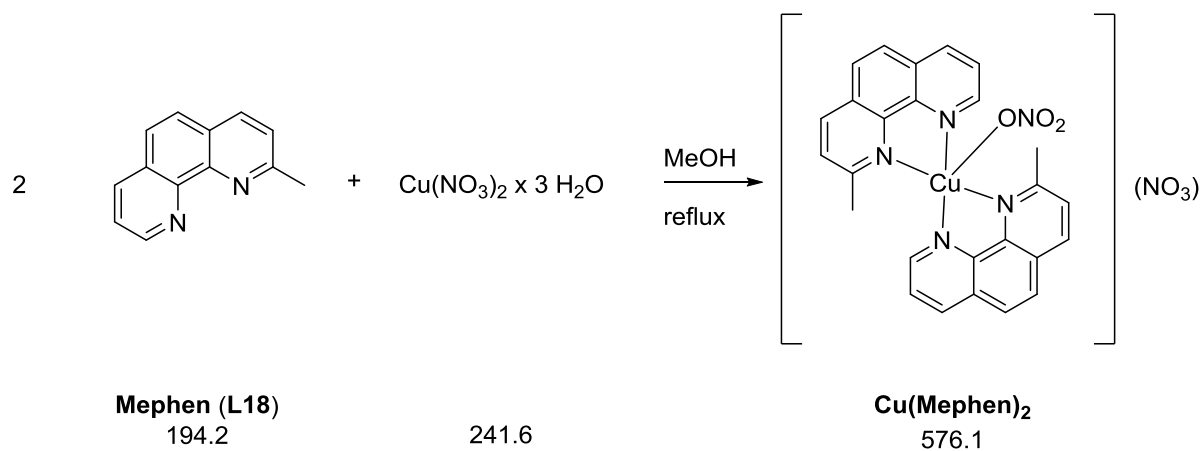
5.3.19.10. $[\text{Cu}(\text{2-Me-6-SCF}_3\text{-phen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ($\text{Cu}(\text{SCF}_3\text{Mephen})_2$)

SCF₃Mephen (L15)	80 mg	0.27 mmol	2.1 Äq.
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	31 mg	0.13 mmol	1.0 Äq.
Ethanol			

SCF₃Mephen und Kupfer(II)nitrat wurden jeweils in Ethanol (1 mL) vorgelegt. Die Kupfer(II)nitrat-Lösung wurde tropfenweise in die **SCF₃Mephen**-Lösung mit Wasser (3 Tropfen) gegeben und 60 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde zwei Tage bei -25 °C gelagert und anschließend filtriert. Der Feststoff wurde in wenig Methanol aufgenommen, mit einem Tropfen Wasser versetzt und durch Etherdiffusion erneut gefällt. Der Feststoff wurde im Hochvakuum getrocknet. Der Komplex wurde als grüner Feststoff mit einer Ausbeute von 62 % (65 mg, 0.08 mmol) erhalten.

MS (ESI⁺, m/z): [L + H]⁺: 295.0473 (ber.: 295.0511), [L + Na]⁺: 317.0287 (ber.: 317.0331), [CuL₂]⁺: 651.0099 (ber.: 651.0168).

CHNS-Analyse (x MeOH, berechnet): C: 43.27 % (43.10 %)
 N: 10.22 % (10.40 %)
 H: 2.89 % (2.74 %)
 S: 8.28 % (7.93 %)

5.3.19.11. $[\text{Cu}(\text{2-Me-phen})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ ($\text{Cu}(\text{Mephen})_2$)

Mephen (L18)	195 mg	1.00 mmol	2.0 Äq.
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	120 mg	0.49 mmol	1.0 Äq.
Methanol			

Mephen und Kupfer(II)nitrat wurden jeweils in Methanol (1 mL) vorgelegt. Die Kupfer(II)nitrat-Lösung wurde tropfenweise in die **Mephen**-Lösung mit Wasser (3 Tropfen) gegeben und 60 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionslösung wurde zwei Tage bei $-25\text{ }^\circ\text{C}$ gelagert und anschließend filtriert. Der Feststoff wurde in wenig Methanol aufgenommen, mit einem Tropfen Wasser versetzt und durch Etherdiffusion erneut gefällt. Der Feststoff wurde im Hochvakuum getrocknet. Der Komplex wurde als grüner Feststoff mit einer Ausbeute von 82 % (230 mg, 0.40 mmol) erhalten.

MS (ESI⁺, m/z): $[\text{L} + \text{H}]^+$: 195.0891 (ber.: 195.0917), $[\text{CuL}_2]^+$: 451.0931 (ber.: 451.0984).

CHNS-Analyse (berechnet): C: 54.31 % (54.21 %)

N: 14.53 % (14.59 %)

H: 3.50 % (3.47 %)

6. Literaturverzeichnis

- [1] W. Kaim, B. Schwederski, *Bioanorganische Chemie*, Vieweg+Teubner Verlag, Wiesbaden, **2005**.
- [2] H. Tapiero, K. D. Tew, *Biomed. Pharmacother.* **2003**, *57*, 399–411.
- [3] H. Tapiero, D. M. Townsend, K. D. Tew, *Biomed. Pharmacother.* **2003**, *57*, 386–398.
- [4] C. G. Fraga, *Mol. Aspects Med.* **2005**, *26*, 235–244.
- [5] M. Peacock, *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **2010**, *5*, S23–S30.
- [6] C. Brink, D. C. Hodgkin, J. Lindsey, J. Pickworth, J. H. Robertson, J. G. White, *Nature* **1954**, *174*, 1169–1171.
- [7] N. A. Law, M. T. Caudle, V. L. Pecoraro, *Adv. Inorg. Chem.* **1998**, *46*, 305–440.
- [8] I. A. Abreu, D. E. Cabelli, *Biochim. Biophys. Acta - Proteins Proteomics* **2010**, *1804*, 263–274.
- [9] E. Riedel, *Anorganische Chemie*, Walter De Gruyter, Berlin, New York, **2004**.
- [10] W. W. Wainio, C. Vander Wende, N. F. Shimp, *J. Biol. Chem.* **1959**, *234*, 2433–2436.
- [11] L. Powers, W. E. Blumberg, B. Chance, C. H. Barlow, J. S. Leigh, J. Smith, T. Yonetani, S. Vik, J. Peisach, *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **1979**, *546*, 520–538.
- [12] J. A. García-Horsman, B. Barquera, J. Rumbley, J. Ma, R. B. Gennis, *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 5587–5600.
- [13] N. E. Hellman, J. D. Gitlin, *Annu. Rev. Nutr.* **2002**, *22*, 439–458.
- [14] G. Vashchenko, R. MacGillivray, *Nutrients* **2013**, *5*, 2289–2313.
- [15] M. E. Helsel, K. J. Franz, *Dalt. Trans.* **2015**, *44*, 8760–8770.
- [16] M. Alleyne, M. K. Horne, J. L. Miller, *Am. J. Med.* **2008**, *121*, 943–948.
- [17] H. Yanagisawa, *Japan Med. Assoc. J.* **2004**, *47*, 359–364.

Literaturverzeichnis

- [18] P. B. Tchounwou, C. G. Yedjou, A. K. Patlolla, D. J. Sutton, *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology*, Springer Basel, Basel, **2012**.
- [19] I. Bertini, H. B. Gray, S. J. Lippard, J. S. Valentine, in *Bioinorg. Chem.*, Mill Valley, CA, **1994**, pp. 505–583.
- [20] K. Williams, *JRSM* **2009**, *102*, 343–348.
- [21] K. D. Mjos, C. Orvig, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 4540–4563.
- [22] S.-J. Chen, G.-B. Zhou, X.-W. Zhang, J.-H. Mao, H. de The, Z. Chen, *Blood* **2011**, *117*, 6425–6437.
- [23] C. P. Stewart, B. W., Wild, *World Cancer Report 2014*, **2014**.
- [24] M. Galanski, B. K. Keppler, *Pharm. Unserer Zeit* **2006**, *35*, 118–123.
- [25] M.-H. Baik, R. A. Friesner, S. J. Lippard, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 14082–14092.
- [26] Z. H. Siddik, *Oncogene* **2003**, *22*, 7265–7279.
- [27] O. Rixe, W. Ortuzar, M. Alvarez, R. Parker, E. Reed, K. Paull, T. Fojo, *Biochem. Pharmacol.* **1996**, *52*, 1855–65.
- [28] S. R. McWhinney, R. M. Goldberg, H. L. McLeod, *Mol. Cancer Ther.* **2009**, *8*, 10–16.
- [29] Y. Shi, S. Liu, D. J. Kerwood, J. Goodisman, J. C. Dabrowiak, *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *107*, 6–14.
- [30] E. Wexselblatt, D. Gibson, *J. Inorg. Biochem.* **2012**, *117*, 220–229.
- [31] X. Han, J. Sun, Y. Wang, Z. He, *Med. Res. Rev.* **2015**, *35*, 1268–1299.
- [32] E. Meléndez, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **2002**, *42*, 309–315.
- [33] P. Köpf-Maier, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1994**, *47*, 1–16.
- [34] J. H. Toney, T. J. Marks, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 947–953.
- [35] M. S. Murthy, L. N. Rao, L. Y. Kuo, J. H. Toney, T. J. Marks, *Inorg. Chim. Acta* **1988**, *152*, 117–124.

- [36] N. Kitajima, Y. Moro-oka, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 737–757.
- [37] I. Iakovidis, I. Delimaris, S. M. Piperakis, *Mol. Biol. Int.* **2011**, *2011*, 594529.
- [38] D. Denoyer, S. Masaldan, S. La Fontaine, M. a Cater, *Metallomics* **2015**, *7*, 1459–1476.
- [39] G. Theodoridis, in *Adv. Fluor. Sci.*, **2006**, pp. 121–175.
- [40] T. Okazoe, *Proc. Japan Acad. Ser. B* **2009**, *85*, 276–289.
- [41] J. Wang, M. Sánchez-Roselló, J. L. Aceña, C. del Pozo, A. E. Sorochinsky, S. Fustero, V. A. Soloshonok, H. Liu, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 2432–2506.
- [42] T. Fujiwara, D. O’Hagan, *J. Fluor. Chem.* **2014**, *167*, 16–29.
- [43] L. Pauling, *J. Am. Chem. Soc.* **1932**, *54*, 3570–3582.
- [44] P. Kirsch, *Modern Fluoroorganic Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2013**.
- [45] I. Ojima, *Fluorine in Medicinal Chemistry and Chemical Biology*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2009**.
- [46] M. Schlosser, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 1538–1556.
- [47] B. E. Smart, *J. Fluor. Chem.* **2001**, *109*, 3–11.
- [48] B. K. Park, N. R. Kitteringham, P. M. O’Neill, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2001**, *41*, 443–470.
- [49] S. Purser, P. R. Moore, S. Swallow, V. Gouverneur, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 320–330.
- [50] L. P. Hammett, *J. Am. Chem. Soc.* **1937**, *59*, 96–103.
- [51] W. A. Sheppard, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 3072–3076.
- [52] R. D. Bowden, P. J. Comina, M. P. Greenhall, B. M. Kariuki, A. Loveday, D. Philp, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3399–3408.
- [53] A. T. Proudfoot, S. M. Bradberry, J. A. Vale, *Toxicol. Rev.* **2006**, *25*, 213–219.

Literaturverzeichnis

- [54] W. Oelkers, S. Buchen, S. Diederich, J. Krain, S. Muhme, M. Schöneshöfer, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **1994**, *78*, 928–932.
- [55] Y. M. El Sayed, W. Sadée, *Cancer Res.* **1983**, *43*, 4039–44.
- [56] B. Reigner, K. Blesch, E. Weidekamm, *Clin. Pharmacokinet.* **2001**, *40*, 85–104.
- [57] N. M. F. S. A. Cerqueira, P. A. Fernandes, M. J. Ramos, *Chem. Eur. J.* **2007**, *13*, 8507–8515.
- [58] A. R. Waldorf, A. Polak, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1983**, *23*, 79–85.
- [59] R. B. Diasio, J. E. Bennett, C. E. Myers, *Biochem. Pharmacol.* **1978**, *27*, 703–707.
- [60] L. E. Vivero, P. O. Anderson, R. F. Clark, *J. Emerg. Med.* **1998**, *16*, 197–205.
- [61] J. F. Giudicelli, C. Richer, A. Berdeaux, N. Guessous, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1976**, *10*, 325–330.
- [62] J. T. Welch, D. S. Lim, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 6659–6666.
- [63] F. Leroux, P. Jeschke, M. Schlosser, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 827–856.
- [64] D. J. Hosfield, C. D. Mol, B. Shen, J. A. Tainer, *Cell* **1998**, *95*, 135–146.
- [65] T. M. Marti, O. Fleck, *Cell. Mol. Life Sci.* **2004**, *61*, 336–354.
- [66] J. R. Williams, J. B. Little, W. U. Shipley, *Nature* **1974**, *252*, 754–755.
- [67] M. J. Arends, R. G. Morris, A. H. Wyllie, *Am. J. Pathol.* **1990**, *136*, 593–608.
- [68] B. Zhivotovsky, D. Wade, P. Nicotera, S. Orrenius, *Int. Arch. Allergy Immunol.* **1994**, *105*, 333–338.
- [69] J. J. Harrington, M. R. Lieber, *EMBO J.* **1994**, *13*, 1235–46.
- [70] C. D. Bortner, N. B. E. Oldenburg, J. A. Cidlowski, *Trends Cell Biol.* **1995**, *5*, 21–26.
- [71] S. Nagata, *Exp. Cell Res.* **2000**, *256*, 12–18.
- [72] R. R. Iyer, A. Pluciennik, V. Burdett, P. L. Modrich, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 302–323.

Literaturverzeichnis

- [73] D. S. Sigman, D. R. Graham, V. D'Aurora, A. M. Stern, *J. Biol. Chem.* **1979**, *254*, 12269–72.
- [74] J. P. Slater, A. S. Mildvan, L. A. Loeb, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1971**, *44*, 37–43.
- [75] V. D'Aurora, A. M. Stern, D. S. Sigman, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1978**, *80*, 1025–1032.
- [76] V. D'Aurora, A. M. Stern, D. S. Sigman, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1977**, *78*, 170–176.
- [77] M. Pitié, C. Boldron, G. Pratviel, in *Adv. Inorg. Chem.*, **2006**, pp. 77–130.
- [78] L. E. Marshall, D. R. Graham, K. A. Reich, D. S. Sigman, *Biochemistry* **1981**, *20*, 244–250.
- [79] L. E. Pope, D. S. Sigman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1984**, *81*, 3–7.
- [80] S. Goldstein, G. Czapski, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2244–2250.
- [81] M. Kuwabara, C. Yoon, T. Goyne, T. Thederahn, D. S. Sigman, *Biochemistry* **1986**, *25*, 7401–7408.
- [82] J. C. Stockert, *J. Theor. Biol.* **1989**, *137*, 107–111.
- [83] J. M. Veal, R. L. Rill, *Biochemistry* **1991**, *30*, 1132–1140.
- [84] A. Robertazzi, A. V. Vargiu, A. Magistrato, P. Ruggerone, P. Carloni, P. de Hoog, J. Reedijk, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 10881–10890.
- [85] B. G. Que, K. M. Downey, A. G. So, *Biochemistry* **1980**, *19*, 5987–5991.
- [86] D. R. Graham, L. E. Marshall, K. A. Reich, D. S. Sigman, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5419–5421.
- [87] J. M. C. Gutteridge, B. Halliwell, *Biochem. Pharmacol.* **1982**, *31*, 2801–2805.
- [88] T. Oyoshi, H. Sugiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 6313–6314.
- [89] B. C. Bales, M. Pitié, B. Meunier, M. M. Greenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9062–9063.
- [90] B. R. James, R. J. P. Williams, *J. Chem. Soc.* **1961**, 2007.
- [91] H. L. Hodges, M. A. De Araujo, *Inorg. Chem.* **1982**, *21*, 3236–3239.

- [92] M. Pitié, B. Donnadiou, B. Meunier, *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 3486–3489.
- [93] M. Pitié, B. Meunier, *Bioconjug. Chem.* **1998**, *9*, 604–611.
- [94] M. Pitié, B. Sudres, B. Meunier, *Chem. Commun.* **1998**, 2597–2598.
- [95] M. Pitie, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 4856–4864.
- [96] A. Laurent, M. Wright, A. Laayoun, B. Meunier, L. Tissot, M. Pitie, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2007**, *26*, 927–930.
- [97] B. K. Santra, P. A. . Reddy, G. Neelakanta, S. Mahadevan, M. Nethaji, A. R. Chakravarty, *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *89*, 191–196.
- [98] A. M. Thomas, M. Nethaji, S. Mahadevan, A. R. Chakravarty, *J. Inorg. Biochem.* **2003**, *94*, 171–178.
- [99] Z. Molphy, C. Slator, C. Chatgililoglu, A. Kellett, *Front. Chem.* **2015**, *3*, 28.
- [100] M. S. A. Begum, S. Saha, A. Hussain, A. R. Chakravarty, *Indian J. Chem.* **2009**, *48A*, 9–14.
- [101] T. Gupta, S. Dhar, M. Nethaji, A. R. Chakravarty, *Dalt. Trans.* **2004**, 1896.
- [102] A. Kellett, M. O'Connor, M. McCann, M. McNamara, P. Lynch, G. Rosair, V. McKee, B. Creaven, M. Walsh, S. McClean, et al., *Dalt. Trans.* **2011**, *40*, 1024–1027.
- [103] K. Saeki, H. Kawai, Y. Kawazoe, A. Hakura, *Biol. Pharm. Bull.* **1997**, *20*, 646–50.
- [104] M. D. Esrafil, F. Mohammadian-Sabet, *Chem. Phys. Lett.* **2016**, *650*, 52–56.
- [105] G. F. Smith, W. M. Banick Jr., *Talanta* **1959**, *2*, 348–354.
- [106] J. H. H. Meurs, W. Eilenberg, *Tetrahedron* **1991**, *47*, 705–714.
- [107] L. Zhao, R. Zhang, S. Gong, X. Li, C. Yang, *Adv. Mater. Res.* **2012**, *554-556*, 1700–1704.
- [108] E. Okada, N. Tsukushi, *Synthesis* **2000**, *2000*, 499–501.
- [109] C.-L. Zhu, Y.-Q. Zhang, Y.-A. Yuan, H. Xu, *Synlett* **2014**, *26*, 345–349.

- [110] T. Nishida, H. Ida, Y. Kuninobu, M. Kanai, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 3387.
- [111] A. Y. Kovalevsky, M. Gembicky, P. Coppens, *Inorg. Chem.* **2004**, *43*, 8282–8289.
- [112] H. Sun, U. K. Tottempudi, J. D. Mottishaw, P. N. Basa, A. Putta, A. G. Sykes, *Cryst. Growth Des.* **2012**, *12*, 5655–5662.
- [113] H. Sun, S. G. DiMagno, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2050–2051.
- [114] R. D. Chambers, J. Hutchinson, G. Sandford, *J. Fluor. Chem.* **1999**, *100*, 63–73.
- [115] M. A. Tius, *Tetrahedron* **1995**, *51*, 6605–6634.
- [116] C. A. Ramsden, R. G. Smith, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 6842–6843.
- [117] T. Furuya, A. S. Kamlet, T. Ritter, *Nature* **2011**, *473*, 470–477.
- [118] S. Zhong, A. Hafner, C. Hussal, M. Nieger, S. Bräse, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 6255–6258.
- [119] A. Bravo, H.-R. Bjørsvik, F. Fontana, L. Liguori, A. Mele, F. Minisci, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 7128–7136.
- [120] Y. Ji, T. Brueckl, R. D. Baxter, Y. Fujiwara, I. B. Seiple, S. Su, D. G. Blackmond, P. S. Baran, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **2011**, *108*, 14411–14415.
- [121] G. K. S. Prakash, A. K. Yudin, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 757–786.
- [122] P. Eisenberger, I. Kieltsch, R. Koller, K. Stanek, A. Togni, *Org. Synth.* **2011**, *88*, 168.
- [123] T. Umemoto, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1757–1778.
- [124] M. S. Wiehn, E. V. Vinogradova, A. Togni, *J. Fluor. Chem.* **2010**, *131*, 951–957.
- [125] F. R. Leroux, B. Manteau, J.-P. Vors, S. Pazenok, *Beilstein J. Org. Chem.* **2008**, *4*, DOI 10.3762/bjoc.4.13.
- [126] D. Nagib, D. W. C. MacMillan, *Nature* **2011**, *480*, 224–228.
- [127] E. J. Cho, T. D. Senecal, T. Kinzel, Y. Zhang, D. Watson, S. L. Buchwald, *Science* **2010**, *328*, 1679–1681.

Literaturverzeichnis

- [128] X. Wang, L. Truesdale, J.-Q. Yu, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3648–3649.
- [129] Y. Ye, S. H. Lee, M. S. Sanford, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 5464–5467.
- [130] J. Xu, D.-F. Luo, B. Xiao, Z.-J. Liu, T.-J. Gong, Y. Fu, L. Liu, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4300.
- [131] H. Morimoto, T. Tsubogo, N. D. Litvinas, J. F. Hartwig, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3793–3798.
- [132] K. Aikawa, Y. Nakamura, Y. Yokota, W. Toya, K. Mikami, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 96–100.
- [133] W. R. Hasek, W. C. Smith, V. A. Engelhardt, *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 543–551.
- [134] T. E. Nickson, *J. Fluor. Chem.* **1991**, *55*, 173–177.
- [135] T. Billard, B. R. Langlois, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 6865–6868.
- [136] I. Kieltsch, P. Eisenberger, A. Togni, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 754–757.
- [137] V. N. Boiko, *Beilstein J. Org. Chem.* **2010**, *6*, 880–921.
- [138] L. M. Yagupolskii, N. V. Kondratenko, V. P. Sambur, *Synthesis* **1975**, *1975*, 721–723.
- [139] N. Kondratenko, A. Kolomeytsev, V. Popov, L. Yagupolskii, *Synthesis* **1985**, *1985*, 667–669.
- [140] C.-P. Zhang, D. a Vicic, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 183–5.
- [141] G. Danoun, B. Bayarmagnai, M. F. Gruenberg, L. J. Goossen, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 1312.
- [142] W. A. Sheppard, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 3064–3072.
- [143] T. Umemoto, L. M. Garrick, N. Saito, *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, *8*, 461–471.
- [144] Z. H. Skraup, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1880**, *13*, 2086–2087.
- [145] C. F. H. Allen, *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, **1958**.
- [146] J. J. Li, *Name Reactions*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2009**.

- [147] O. Doebner, W. v. Miller, *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1881**, *14*, 2812–2817.
- [148] C. Lüdtke, *Masterarbeit (Synthese Fluorierter Phenanthrolin-Derivate)*, Freie Universität Berlin **2012**.
- [149] S. C. Watson, J. F. Eastham, *J. Organomet. Chem.* **1967**, *9*, 165–168.
- [150] H. Sun, A. Putta, J. P. Kloster, U. K. Tottempudi, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 12085.
- [151] B. R. Langlois, E. Laurent, N. Roidot, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7525–7528.
- [152] Y. Shen, B. P. Sullivan, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 6235–6236.
- [153] B. Higgins, B. A. DeGraff, J. N. Demas, *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 6662–6669.
- [154] R. Belcher, M. Stacey, A. Sykes, J. C. Tatlow, *J. Chem. Soc.* **1954**, 3846–3851.
- [155] J. K. Lee, S. J. Chang, *Korean J. Med. Chem.* **1994**, *4*, 92–100.
- [156] T. Pastýříková, G. Iakobson, N. Vida, R. Pohl, P. Beier, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 2123–2126.
- [157] Z. Li, F. Ke, H. Deng, H. Xu, H. Xiang, X. Zhou, *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 2943.
- [158] E. B. Starkey, *Org. Synth.* **1939**, *19*, 40.
- [159] D. M. Murphy, R. J. Cullen, D. R. Jayasundara, E. M. Scanlan, P. E. Colavita, *RSC Adv.* **2012**, *2*, 6527.
- [160] P. M. Olsen, C. Ruiz, D. Lussier, B. K. Le, N. Angel, M. Smith, C. (Brian) Hwang, R. Khatib, J. Jenkins, K. Adams, et al., *J. Inorg. Biochem.* **2014**, *141*, 121–131.
- [161] C. J. Chandler, L. W. Deady, J. A. Reiss, *J. Heterocycl. Chem.* **1981**, *18*, 599–601.
- [162] A. Mitra, P. J. Seaton, R. Ali Assarpour, T. Williamson, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 15489–15498.
- [163] J. C. Fanning, L. T. Taylor, *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1965**, *27*, 2217–2223.
- [164] A. M. Donia, H. A. El-Boraey, *J. Therm. Anal.* **1997**, *48*, 1325–1336.
- [165] S. Ramakrishnan, M. Palaniandavar, *Dalt. Trans.* **2008**, *5*, 3866.

- [166] K. J. Catalan, S. Jackson, J. D. Zubkowski, D. L. Perry, E. J. Valente, L. A. Feliu, A. Polanco, *Polyhedron* **1995**, *14*, 2165–2171.
- [167] M. Boutebdja, A. Lehleh, A. Beghidja, Z. Setifi, H. Merazig, *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2014**, *70*, m185–m186.
- [168] L. Lu, S. Qin, P. Yang, M. Zhu, *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online* **2004**, *60*, m574–m576.
- [169] O. P. Anderson, *Inorg. Chem.* **1975**, *14*, 730–734.
- [170] A. Bondi, *J. Phys. Chem.* **1964**, *68*, 441–451.
- [171] R. J. Deeth, M. Gerloch, *Inorg. Chem.* **1984**, *23*, 3853–3861.
- [172] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biochemistry. 5th Edition.*, **2006**.
- [173] S. Mahadevan, M. Palaniandavar, *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 3927–3934.
- [174] V. I. Ivanov, L. E. Minchenkova, A. K. Schyolkina, A. I. Poletayev, *Biopolymers* **1973**, *12*, 89–110.
- [175] M. J. B. Tunis-Schneider, M. F. Maestre, *J. Mol. Biol.* **1970**, *52*, 521–541.
- [176] J. Kypr, I. Kejnovska, D. Renciuik, M. Vorlickova, *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, 1713–1725.
- [177] S. Tran-Dinh, J. Taboury, J. M. Neumann, T. Huynh-Dinh, B. Genissel, B. Langlois d'Estaintot, J. Igolen, *Biochemistry* **1984**, *23*, 1362–71.
- [178] A. Rich, A. Nordheim, A. H. J. Wang, *Annu. Rev. Biochem.* **1984**, *53*, 791–846.
- [179] X. Jiang, L. Shang, Z. Wang, S. Dong, *Biophys. Chem.* **2005**, *118*, 42–50.
- [180] R. M. Wartell, A. S. Benight, *Phys. Rep.* **1985**, *126*, 67–107.
- [181] K. J. Breslauer, R. Frank, H. Blocker, L. a Marky, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1986**, *83*, 3746–3750.
- [182] M. Mandel, J. Marmur, *Methods Enzymol.* **1967**, *12*, 195–206.
- [183] R. D. Blake, *Biopolymers* **1987**, *26*, 1063–74.

- [184] S. A. Shaikh, B. Jayaram, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 2240–2244.
- [185] C. S. . Rajendrakumar, T. Suryanarayana, A. R. Reddy, *FEBS Lett.* **1997**, *410*, 201–205.
- [186] W. Rees, T. D. Yager, J. Korte, P. H. Von Hippel, *Biochemistry* **1993**, *32*, 137–144.
- [187] W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, Springer New York, New York, NY, **1984**.
- [188] C. Zimmer, G. Luck, H. Fritzsche, H. Triebel, *Biopolymers* **1971**, *10*, 441–463.
- [189] J. Marmur, P. Doty, *J. Mol. Biol.* **1962**, *5*, 109–118.
- [190] C. Schildkraut, S. Lifson, *Biopolymers* **1965**, *3*, 195–208.
- [191] F. Zunino, R. Gambetta, A. Di Marco, A. Zaccara, *Biochim. Biophys. Acta - Nucleic Acids Protein Synth.* **1972**, *277*, 489–498.
- [192] A. Slama-Schwok, *Nucleic Acids Res.* **1997**, *25*, 2574–2581.
- [193] J. Kapuscinski, Z. Darzynkiewicz, *Nucleic Acids Res.* **1983**, *11*, 7555–7568.
- [194] C. Aaij, P. Borst, *Biochim. Biophys. Acta - Nucleic Acids Protein Synth.* **1972**, *269*, 192–200.
- [195] P. Borst, *IUBMB Life (International Union Biochem. Mol. Biol. Life)* **2005**, *57*, 745–747.
- [196] J.-B. Le Pecq, C. Paoletti, *J. Mol. Biol.* **1967**, *27*, 87–106.
- [197] J.-B. Le Pecq, C. Paoletti, *Anal. Biochem.* **1966**, *17*, 100–107.
- [198] A. R. Morgan, J. S. Lee, D. E. Pulleyblank, N. L. Murray, D. H. Evans, *Nucleic Acids Res.* **1979**, *7*, 547–565.
- [199] O. J. Lumpkin, P. Déjardin, B. H. Zimm, *Biopolymers* **1985**, *24*, 1573–1593.
- [200] R. P. Hertzberg, P. B. Dervan, *Biochemistry* **1984**, *23*, 3934–3945.
- [201] T. Mosmann, *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*, 55–63.
- [202] M. V. Berridge, P. M. Herst, A. S. Tan, in *Biotechnol. Annu. Rev.*, **2005**, pp. 127–152.

- [203] J. Nagaj, K. Stokowa-Softys, E. Kurowska, T. Frączyk, M. Jeżowska-Bojczuk, W. Bal, *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 13927–13933.
- [204] A. Chan, R. Kilkuskie, S. Hanlon, *Biochemistry* **1979**, *18*, 84–91.
- [205] H. E. Mash, Y.-P. Chin, L. Sigg, R. Hari, H. Xue, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 671–677.
- [206] A. Sreedhara, J. D. Freed, J. A. Cowan, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 8814–8824.
- [207] H. Xie, D. Yang, A. Heller, Z. Gao, *Biophys. J.* **2007**, *92*, L70–L72.
- [208] R. R. Tice, E. Agurell, D. Anderson, B. Burlinson, A. Hartmann, H. Kobayashi, Y. Miyamae, E. Rojas, J.-C. Ryu, Y. F. Sasaki, *Environ. Mol. Mutagen.* **2000**, *35*, 206–221.
- [209] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.* **2008**, *64*, 112–122.
- [210] O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Puschmann, *J. Appl. Crystallogr.* **2009**, *42*, 339–341.
- [211] M. E. Reichmann, S. A. Rice, C. A. Thomas, P. Doty, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 3047–3053.
- [212] I. Szilágyi, I. Labádi, K. Hernadi, I. Pálinkó, I. Fekete, L. Korecz, A. Rockenbauer, T. Kiss, *New J. Chem.* **2005**, *29*, 740.

7. Anhang

Kristallographischer Anhang

[Cu(F₂phen)₃](ClO₄)₂ (Cu(F₂phen)₃)

Tabelle 19: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für Cu(F₂phen)₃

<i>Parameter Cu(F₂phen)₃</i>			
Empirische Formel	C ₁₈ H ₉ Cl Cu _{0.5} F ₃ N ₃ O ₄	ρ_{calc} [g cm ⁻³]	1.801
Molmasse (Formelgewicht)	455.50	μ (MoK α) [mm ⁻¹]	0.71073
Temperatur [K]	143.15	F ₍₀₀₀₎	1828
Kristallsystem	monoklin	Crystal size [mm ³]	0.8 x 0.08 x 0.06
Raumgruppe	C2/c	2 θ range	3.314 – 30.123
a [Å]	9.636(3)	Index range	-10 ≤ h ≤ 13, -34 ≤ k ≤ 34, -20 ≤ l ≤ 15
b [Å]	24.546(8)	Collected / unique reflections	20773 / 4828
c [Å]	14.207(4)	Data / restraints / parameters	4828 / 0 / 267
α [°]	90	Goodness-of-fit on F ²	1.038
β [°]	91.413(7)	R indices [I ≥ 2 σ (I)]	R ₁ = 0.0513, wR ₂ = 0.1222
γ [°]	90	R indices [all data]	R ₁ = 0.0734, wR ₂ = 0.1378
V [Å ³]	3359.4(18)	Largest diff. peak / hole [e Å ⁻³]	0.94 / -0.29
Z	8		

[Cu(F₂phen)₂(O₂NO)(NO₃)₂ x MeOH (Cu(F₂phen)₂(a))

Tabelle 20: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für Cu(F₂phen)₂(a)

<i>Parameter Cu(F₂phen)₂(a)</i>			
Empirische Formel	C ₂₅ H ₁₆ Cu F ₄ N ₆ O ₇	ρ_{calc} [g cm ⁻³]	1.716
Molmasse (Formelgewicht)	651.98	μ (MoK α) [mm ⁻¹]	0.71073
Temperatur [K]	100.0	F ₍₀₀₀₎	1316.0
Kristallsystem	monoklin	Crystal size [mm ³]	0.32 x 0.28 x 0.18
Raumgruppe	P2 ₁ /n	2 θ range [°]	4.412 – 50.796
a [Å]	7.4038(6)	Index range	-8 ≤ h ≤ 8, -31 ≤ k ≤ 31, -16 ≤ l ≤ 16
b [Å]	25.928(2)	Collected / unique reflections	31885 / 4633
c [Å]	13.6069(12)	Data / restraints / parameters	4633 / 0 / 391
α [°]	90	Goodness-of-fit on F ²	1.066
β [°]	104.900(3)	R indices [I ≥ 2 σ (I)]	R ₁ = 0.0283, wR ₂ = 0.0667
γ [°]	90	R indices [all data]	R ₁ = 0.0331, wR ₂ = 0.0687
V [Å ³]	2524.2(4)	Largest diff. peak / hole [e Å ⁻³]	0.43 / -0.37
Z	4		

[Cu(F₂phen)₂(OH₂)(ONO₂)](NO₃) x H₂O x MeOH (Cu(F₂phen)₂(b))Tabelle 21: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für Cu(F₂phen)₂(b)

<i>Parameter</i>	<i>Cu(F₂phen)₂(b)</i>	
Empirische Formel	C ₂₄ H ₁₆ Cu F ₄ N ₆ O ₈	ρ_{calc} [g cm ⁻³] 1.773
Molmasse (Formelgewicht)	655.97	μ (MoK α) [mm ⁻¹] 0.71073
Temperatur [K]	98.99	F ₍₀₀₀₎ 2648.0
Kristallsystem	monoklin	Crystal size [mm ³] 0.59 x 0.4 x 0.15
Raumgruppe	C2/c	2 θ range [°] 5.048 – 52.908
a [Å]	18.4434(9)	Index range -23 ≤ h ≤ 23, -32 ≤ k ≤ 32, -17 ≤ l ≤ 17
b [Å]	25.7091(12)	Collected / unique reflections 51110 / 5060
c [Å]	13.6944(7)	Data / restraints / parameters 5060 / 0 / 393
α [°]	90	Goodness-of-fit on F ² 1.042
β [°]	130.7897(12)	R indices [I ≥ 2 σ (I)] R ₁ = 0.0322, wR ₂ = 0.0796
γ [°]	90	R indices [all data] R ₁ = 0.0375, wR ₂ = 0.0823
V [Å ³]	4916.2(4)	Largest diff. peak / hole [e Å ⁻³] 0.66 / -0.39
Z	8	

[Cu(Fphen)₂(ONO₂)](NO₃) x H₂O (Cu(Fphen)₂)Tabelle 22: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für Cu(Fphen)₂

<i>Parameter</i>	<i>Cu(Fphen)₂</i>	
Empirische Formel	C ₂₄ H ₁₆ Cu F ₂ N ₆ O ₇	ρ_{calc} [g cm ⁻³] 1.741
Molmasse (Formelgewicht)	601.97	μ (MoK α) [mm ⁻¹] 0.71073
Temperatur [K]	100.00	F ₍₀₀₀₎ 1220.0
Kristallsystem	monoklin	Crystal size [mm ³] 0.39 x 0.38 x 0.05
Raumgruppe	P2 ₁ /n	2 θ range [°] 4.408 – 52.918
a [Å]	11.0091(8)	Index range -13 ≤ h ≤ 13, -21 ≤ k ≤ 21, -15 ≤ l ≤ 15
b [Å]	17.1480(12)	Collected / unique reflections 24200 / 4720
c [Å]	12.2141(8)	Data / restraints / parameters 4720 / 0 / 378
α [°]	90	Goodness-of-fit on F ² 1.064
β [°]	95.066(2)	R indices [I ≥ 2 σ (I)] R ₁ = 0.0432, wR ₂ = 0.0950
γ [°]	90	R indices [all data] R ₁ = 0.0553, wR ₂ = 0.1000
V [Å ³]	2296.8(3)	Largest diff. peak / hole [e Å ⁻³] 0.92 / -0.57
Z	4	

[Cu(Mephen)₂(ONO₂)](NO₃) (Cu(Mephen)₂)

Tabelle 23: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für Cu(Mephen)

<i>Parameter</i>	<i>Cu(Mephen)₂</i>	
Empirische Formel	C ₂₆ H ₂₀ Cu N ₆ O ₆	ρ_{calc} [g cm ⁻³] 1.613
Molmasse (Formelgewicht)	576.02	μ (MoK α) [mm ⁻¹] 0.71073
Temperatur [K]	130.75	F ₍₀₀₀₎ 1180.0
Kristallsystem	monoklin	Crystal size [mm ³] 0.32 x 0.32 x 0.1
Raumgruppe	P2 ₁ /n	2 θ range [°] 4.63 – 52.824
a [Å]	12.5357(8)	Index range -14 ≤ h ≤ 15, -14 ≤ k ≤ 14, -20 ≤ l ≤ 20
b [Å]	11.8540(10)	Collected / unique reflections 41360 / 4879
c [Å]	16.3795(15)	Data / restraints / parameters 4879 / 0 / 355
α [°]	90	Goodness-of-fit on F ² 1.046
β [°]	102.939(3)	R indices [I ≥ 2 σ (I)] R ₁ = 0.0315, wR ₂ = 0.0700
γ [°]	90	R indices [all data] R ₁ = 0.0442, wR ₂ = 0.0746
V [Å ³]	2372.2(3)	Largest diff. peak / hole [e Å ⁻³] 0.34 / -0.31
Z	4	

[Cu(5FMephen)₂(ONO₂)](NO₃) (Cu(5FMephen)₂)Tabelle 24: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für Cu(5FMephen)₂

<i>Parameter</i>	<i>Cu(5FMephen)₂</i>	
Empirische Formel	C ₂₆ H ₁₈ Cu F ₂ N ₆ O ₆	ρ_{calc} [g cm ⁻³] 1.733
Molmasse (Formelgewicht)	612.00	μ (MoK α) [mm ⁻¹] 0.71073
Temperatur [K]	159.78	F ₍₀₀₀₎ 1244.0
Kristallsystem	monoklin	Crystal size [mm ³] 0.39 x 0.16 x 0.04
Raumgruppe	P2 ₁ /c	2 θ range [°] 4.868 – 52.848
a [Å]	10.3240(8)	Index range -12 ≤ h ≤ 12, -38 ≤ k ≤ 38, -9 ≤ l ≤ 9
b [Å]	30.788(2)	Collected / unique reflections 42444 / 4813
c [Å]	7.6405(5)	Data / restraints / parameters 4813 / 0 / 372
α [°]	90	Goodness-of-fit on F ² 1.070
β [°]	105.026(3)	R indices [I ≥ 2 σ (I)] R ₁ = 0.0381, wR ₂ = 0.0755
γ [°]	90	R indices [all data] R ₁ = 0.0580, wR ₂ = 0.0829
V [Å ³]	2345.6(3)	Largest diff. peak / hole [e Å ⁻³] 0.50 / -0.48
Z	4	

[Cu(6FMephen)₂(OH₂)](NO₃)₂ (Cu(6FMephen)₂)Tabelle 25: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für Cu(6FMephen)₂

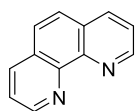
<i>Parameter</i>	<i>Cu(6FMephen)₂</i>		
Empirische Formel	C ₂₆ H ₂₀ Cu F ₂ N ₆ O ₇	ρ_{calc} [g cm ⁻³]	1.754
Molmasse (Formelgewicht)	630.02	μ (MoK α) [mm ⁻¹]	0.71073
Temperatur [K]	110.89	F ₍₀₀₀₎	1284.0
Kristallsystem	monoklin	Crystal size [mm ³]	0.58 x 0.27 x 0.23
Raumgruppe	C2/c	2 θ range [°]	4.636 – 52.838
a [Å]	13.3729(11)	Index range	-16 ≤ h ≤ 16, -12 ≤ k ≤ 12, -22 ≤ l ≤ 20
b [Å]	10.1543(8)	Collected / unique reflections	36582 / 2457
c [Å]	17.6609(13)	Data / restraints / parameters	2457 / 0 / 197
α [°]	90	Goodness-of-fit on F ²	1.104
β [°]	95.745(3)	R indices [$I \geq 2\sigma(I)$]	R ₁ = 0.0215, wR ₂ = 0.0570
γ [°]	90	R indices [all data]	R ₁ = 0.0221, wR ₂ = 0.0573
V [Å ³]	2386.2(3)	Largest diff. peak / hole [e Å ⁻³]	0.32 / -0.41
Z	4		

Cu(6FMephen)(phen)(ONO₂)](NO₃) x H₂OTabelle 26: Kristalldaten und Strukturverfeinerung für [Cu(6FMephen)(phen)(ONO₂)](NO₃) x H₂O

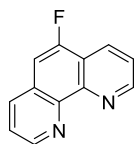
<i>Parameter</i>	<i>[Cu(6FMephen)(phen)(ONO₂)](NO₃) x H₂O</i>		
Empirische Formel	C ₂₅ H ₁₉ Cu F N ₆ O ₇	ρ_{calc} [g cm ⁻³]	1.682
Molmasse (Formelgewicht)	598.00	μ (MoK α) [mm ⁻¹]	0.71073
Temperatur [K]	100.01	F ₍₀₀₀₎	610.0
Kristallsystem	triklin	Crystal size [mm ³]	0.58 x 0.14 x 0.04
Raumgruppe	P-1	2 θ range [°]	4.472 – 52.784
a [Å]	7.5358(4)	Index range	-9 ≤ h ≤ 9, -12 ≤ k ≤ 12, -20 ≤ l ≤ 20
b [Å]	10.3138(5)	Collected / unique reflections	29254 / 4837
c [Å]	16.4711(7)	Data / restraints / parameters	4837 / 0 / 390
α [°]	76.277(2)	Goodness-of-fit on F ²	1.030
β [°]	82.618(2)	R indices [$I \geq 2\sigma(I)$]	R ₁ = 0.0393, wR ₂ = 0.0960
γ [°]	71.976(2)	R indices [all data]	R ₁ = 0.0529, wR ₂ = 0.1023
V [Å ³]	1180.50(10)	Largest diff. peak / hole [e Å ⁻³]	0.90 / -0.38
Z	2		

Substanzverzeichnis

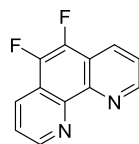
Phenanthroline/Liganden (L1 bis L20)



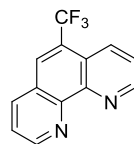
phen (L1)



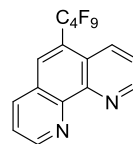
Fphen (L2)



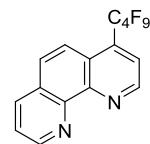
F₂phen (L3)



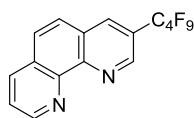
CF₃phen (L4)



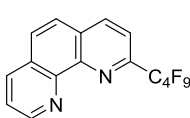
pFBuphen (L5)



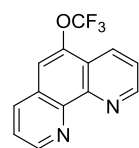
L6



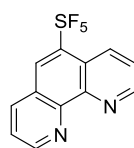
L7



L8



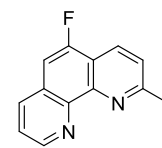
OCF₃phen (L9)



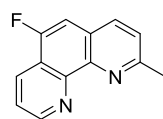
SF₅phen (L10)



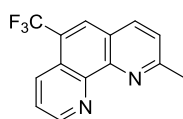
SCF₃phen (L11)



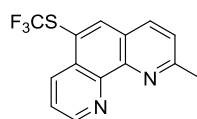
5FMephen (L12)



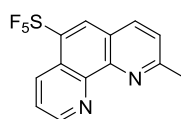
6FMephen (L13)



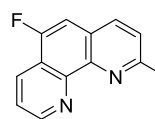
CF₃Mephen (L14)



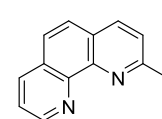
SCF₃Mephen (L15)



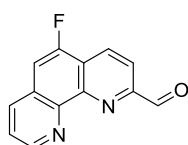
SF₅Mephen (L16)



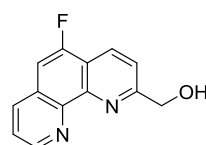
5Fneo (L17)



Mephen (L18)

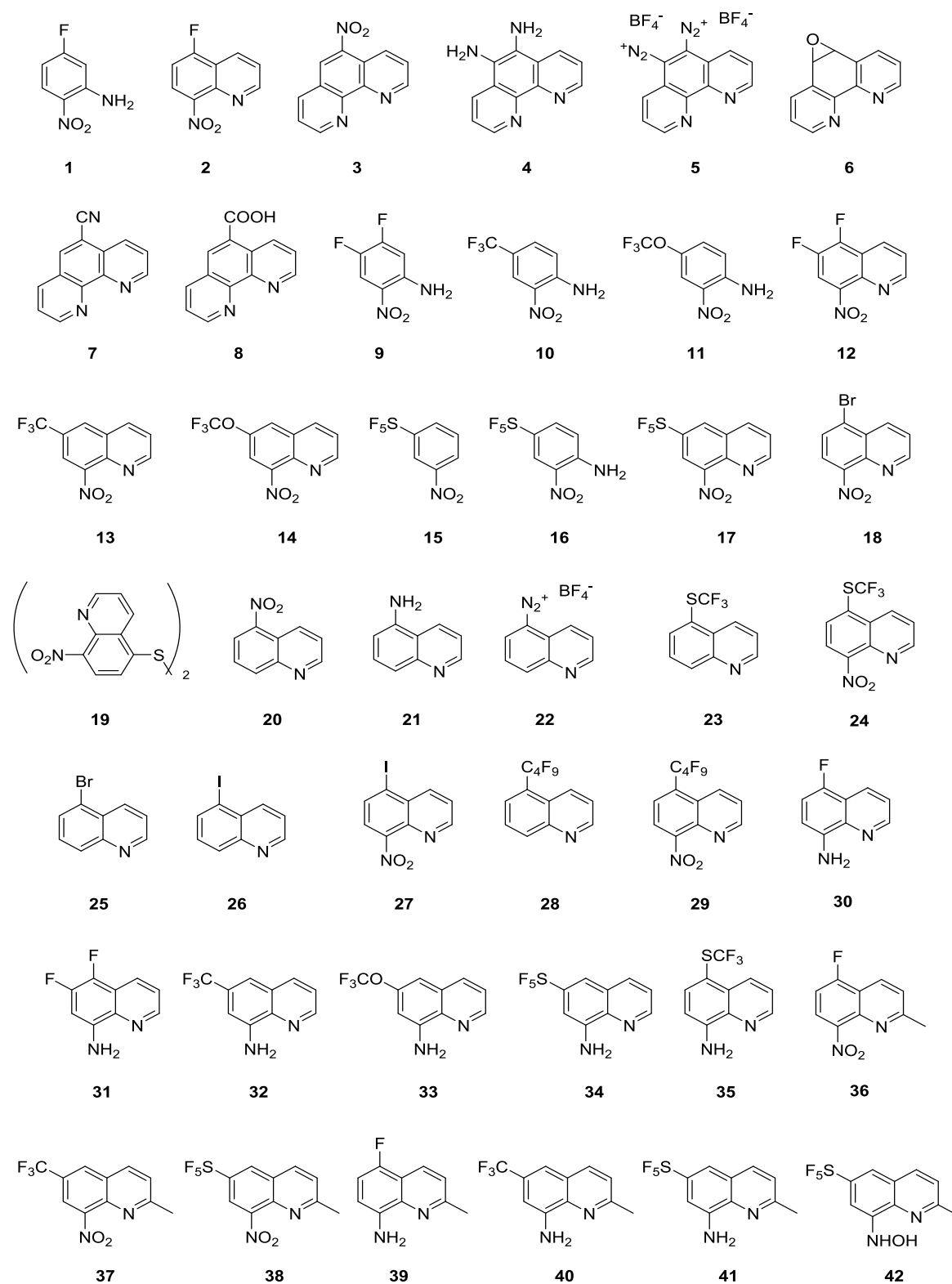


FCHOphen (L19)



FCOHphen (L20)

Vorstufen und Edukte (1 bis 42)



Komplexe

