

Synthese und zellbiologische Untersuchung intelligenter, katalytisch aktiver Wirkstoffe

Dissertation

zur Erlangung des Grades
des Doktors der Naturwissenschaften
der Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät III
Chemie, Pharmazie, Bio- und Werkstoffwissenschaften
der Universität des Saarlandes

von Diplomchemikerin Susanne Mecklenburg

geboren am 19.05.1980 in Schlema

Saarbrücken
November 2008

Tag des Kolloquiums: 08.04.2009
Dekan: Prof. Dr. U. Müller
Prüfungsvorsitzender: Prof. Dr. R. Bernhardt
Berichterstatter: Jun.-Prof. Dr. C. Jacob
Prof. Dr. A. K. Kiemer

Diese Dissertation wurde in der Zeit von Mai 2006 bis November 2008 unter Anleitung von Jun.-Prof. Dr. Claus Jacob im Arbeitskreis für Bioorganische Chemie, Fachrichtung Pharmazie der Universität des Saarlandes durchgeführt.

DEDICATION

To my Parents and in loving memory of my Grandparents.

I would like to dedicate this book to my Dad, my Mom and my loving sister Maria.

I also want to dedicate my thesis to my husband Santosh, who loved and tirelessly supported me even in the depths of despair, depression or sometimes anger.

Last but certainly not the least, to our group, which not only supported me but also told me to pull up my socks when I felt quitting. They are like my extended family and I value them more than words can ever say.

Finally, God, my savior, gave me strength and is with me at every step.

Aus kleinem Anfang entspringen alle Dinge.

Marcus Tullius Cicero

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	11
1 Einleitung und Zielsetzung	14
1.1 Oxidativer Stress	14
1.2 Antioxidantien und die Nachahmung von Enzymen	16
1.3 Chinonstruktur und Antikrebs-Wirkung	23
I Ergebnisse und Diskussion	26
2 Multifunktionale Moleküle basierend auf Selen und Makrozyklen	29
2.1 Synthese und Reaktionsverhalten	29
2.2 Charakterisierung	33
2.2.1 Massenspektrometrie (LC-MS)	33
2.2.2 ¹ H-NMR-Spektroskopie	34
2.2.3 ¹³ C-NMR-Spektroskopie	35
3 Multifunktionale Moleküle basierend auf Chinon und Chalkogen	37
3.1 Synthese und Reaktionsverhalten	37
3.1.1 Aminoalkylierung	37
3.1.2 Peptidkupplung	40
3.2 Charakterisierung	44
3.2.1 Massenspektrometrie (LC-MS)	44
3.2.2 ¹ H-NMR-Spektroskopie	44

3.2.3	^{13}C -NMR-Spektroskopie	46
3.2.4	2D-NMR-Spektroskopie	47
3.2.4.1	HH-COSY (<u>C</u> orrelation <u>S</u> pectroscopy)	47
3.2.4.2	HC-HSQC (<u>H</u> eteronuclear <u>S</u> ingle <u>Q</u> uantum <u>C</u> oherence)	50
3.2.4.3	HC-HMBC (<u>H</u> eteronuclear <u>M</u> ultiple <u>B</u> ond <u>C</u> orrelation)	51
4	Multifunktionale Moleküle basierend auf Chinon und Cyclen	54
4.1	Synthese und Reaktionsverhalten	54
4.2	Charakterisierung	56
4.2.1	Massenspektrometrie (LC-MS)	56
4.2.2	^1H -NMR-Spektroskopie	56
4.2.3	^{13}C -NMR-Spektroskopie	57
5	Zellbiologische Untersuchungen	58
5.1	Material und Methoden	59
5.1.1	Verbrauchsmaterialien	59
5.1.2	Geräte	59
5.1.3	Zelllinien	60
5.1.4	Kulturmedium und Zusätze	60
5.1.5	Puffer	61
5.1.6	Reagenzien	61
5.1.7	Stimulantien	61
5.1.8	Zellkulturtechniken	62
5.1.8.1	Einfrieren von Zellen	62
5.1.8.2	Auftauen von Zellen	62
5.1.8.3	Kultivierung der Zellen	63
5.1.8.4	Bestimmung der Zellzahl	63
5.1.9	Lösungen der Testsubstanzen	63
5.1.10	Vitalitätsbestimmung (MTT-Assay)	64

5.1.10.1	Prinzip	64
5.1.10.2	Validierung der OS-Induktion	65
5.1.10.3	Durchführung	66
5.1.10.4	Kontrollen/Voruntersuchungen	67
5.1.11	Dichlorofluorescein (DCF)-Assay	68
5.1.11.1	Prinzip	68
5.1.11.2	Induktion von OS	68
5.1.11.3	Durchführung	68
5.1.11.4	Kontrollen/Voruntersuchungen	70
5.1.12	Statistik	70
5.2	Ergebnisse der Vitalitätsbestimmung (MTT-Assay)	72
5.2.1	Antioxidativer Schutz gegen ROS-induzierte Zytotoxizität	72
5.2.1.1	Vergleich mit bekannten Antioxidantien	75
5.2.2	Selektive Zytotoxizität gegenüber H ₂ O ₂ -stimulierten Zellen	79
5.2.3	Zytotoxische Substanzen	87
5.2.4	Verbindungen ohne Wirkung	92
5.3	Ergebnisse des fluorimetrischen Nachweises von ROS (DCF-Assay)	92
5.3.1	Antioxidativ wirkende Substanzen	92
5.3.2	Selektiv zytotoxisch wirkende Substanzen	93
5.4	Vitalitätsbestimmungen an weiteren Krebszelllinien	96
5.4.1	Tumorzelllinien-Screening des NCI	96
5.4.2	Krebszelllinien A549, MCF-7 und HT-29	98
6	Wirkung auf Mikroben: Dermatophyten und Plasmodien	99
6.1	Einfluss auf den Dermatophyten <i>Trichrum rubrum</i>	99
6.1.1	Methode	99
6.1.2	Auswertung der Messungen	100
6.2	Einfluss auf den Malariaerreger <i>Plasmodium falciparum</i>	102

7 Zusammenfassung und Ausblick	104
Kurzfassung	109
Abstract	110
II Präparativer und Spektroskopischer Teil	111
8 Arbeitstechniken und verwendete Geräte	112
8.1 Arbeiten unter Schutzgas	112
8.2 Chromatographie	112
8.3 NMR-Spektroskopie	113
8.4 Massenspektrometrie (LC-MS/MS)	113
8.5 Präparative HPLC	114
9 Verwendete Ausgangsverbindungen	115
9.1 1-Brom-3-(phenylselenyl)propan (1)	115
9.2 3-(Phenylselenyl)propanal (4)	117
9.3 3-(Phenylthio)propan-1-amin (11)	118
9.4 3-(Phenylselenyl)propan-1-amin (12)	118
9.5 3-(Phenyltelluryl)propan-1-amin (13)	119
9.6 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (19)	121
9.7 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)dibutansäure (20)	122
9.8 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (27)	123
9.9 6-(3-Chlor-1,4-naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (28)	123
9.10 1,4,7-Tri(tert-butyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (35)	124
9.11 3-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-ylthio)propansäure (36)	125
10 Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)	126
10.1 AAV 1: Aminoalkylierung	126
10.2 AAV 2: Peptidkupplung	126
10.3 AAV 3: Entschützung von Boc-Gruppen	127

11 Synthesevorschriften	128
11.1 1-(3-(Phenylselenyl)propyl)-1,4,7-triazacyclononan (2)	128
11.2 1,7-Bis(3-(phenylselenyl)propyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (3)	129
11.3 1,4-Bis(3-(phenylselenyl)propyl)piperazin (5)	130
11.4 3,3'-Dimethyl-(3,3'-(piperazin-1,4-diyl)bis(propylamino))bis(1,4-naphtho- chinon)) (9)	131
11.5 3,3'-(Piperazin-1,4-diyl)bis(propylamino)bis(1,4-naphthochinon)) (10) . . .	132
11.6 2-(3-(Phenylthio)propylamino)-1,4-naphthochinon (14)	133
11.7 2-(3-(Phenylselenyl)propylamino)-1,4-naphthochinon (15)	134
11.8 2,5-Bis(3-(phenylselenyl)propylamino)-1,4-benzochinon (17)	135
11.9 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)-N-(3-(phenylthio)propyl)butanamid (21)	136
11.10 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)-N-(3-(phenylselenyl)propyl)butanamid (22)	137
11.11 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)-N-(3-(phenyltelluryl)propyl)butanamid (23)	138
11.12 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)bis(N-(3-(phenylthio)propyl)- butanamid) (24)	139
11.13 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)bis(N-(3-(phenylselenyl)propyl)- butanamid) (25)	140
11.14 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)bis(N-(3-(phenyltelluryl)propyl)- butanamid) (26)	140
11.15 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenylthio)propyl)hexanamid (29)	141
11.16 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenylselenyl)propyl)hexanamid (30)	142
11.17 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenyltelluryl)propyl)hexanamid (31)	143

11.18	6-(3-Chlor-1,4-naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenyltelluryl)propyl)hexanamid (32)	145
11.19	3,3'-(Piperazin-1,4-diyl)bis(propyl)bis(4-(3-methyl-1,4-naphthochinon-2-yl))-butanamid (33)	146
11.20	3,3'-(Piperazin-1,4-diyl)bis(propyl)bis(6-(1,4-naphthochinon-2-ylamino))-hexanamid (34)	147
11.21	4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)-1-(4,7,10-tri-tertbutyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)butan-1-on (37)	148
11.22	6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-1-(4,7,10-tri-tertbutyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)hexan-1-on (38)	149
11.23	3-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-ylthio)-1-(4,7,10-tri-tertbutyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)propan-1-on (39)	150
11.24	4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)-1-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)-butan-1-on (40)	151
11.25	6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-1-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)-hexan-1-on (41)	151
11.26	3-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-ylthio)-1-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)propan-1-on (42)	152
	Literaturverzeichnis	153
	Danksagung	163
	Selbstständigkeitserklärung	165
	Lebenslauf	166
	Liste der Publikationen und Posterpräsentationen	167

Abkürzungsverzeichnis

AAV	<u>A</u> llgemeine <u>A</u> rbeits <u>v</u> orschrift
Äqu.	<u>Ä</u> quivalent
bidest.	<u>b</u> idestilliert
Boc	tert- <u>B</u> utyloxy <u>c</u> arbonyl-(Schutz-)Gruppe
br s	<u>b</u> reites <u>S</u> ingulett
c	Konzentration
C _q	quartäres Kohlenstoffatom
ca.	circa
ClCOOEt	Chlorameisensäureethylester
CDCl ₃	deuteriertes Chloroform
DMSO	Dimethylsulfoxid
COSY	<u>C</u> orrelation <u>S</u> pectroscopy
cyclen	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan
<u>Cys</u>	<u>C</u> ystein
d	<u>D</u> oublett
DC	<u>D</u> ünnschicht <u>c</u> hromatographie
DCF	2',7'-Dichlorofluorescein (oxidierte Form)
DCFH	2',7'-Dichlorofluorescein (reduzierte Form)
DCFH-DA	2',7'-Dichloro(dihydro)fluorescein-Diacetat
dd	<u>D</u> oublett von <u>D</u> oublett
DFO	<u>D</u> eferoxamin, <u>D</u> esferrioxamin
d.h.	das heißt
dt	<u>D</u> oublett von <u>T</u> riplett
d. Th.	<u>d</u> er <u>T</u> heorie
Ebselen	2-Phenyl-1,2-benzisoselenazol-3(2H)-on
ESI	<u>E</u> lectrospray <u>I</u> onization
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
FCS	<u>F</u> etal <u>C</u> alf <u>S</u> erum
ggf.	gegebenenfalls
GPx	Glutathion-Peroxidase
GSH	Glutathion (L- γ -Glutamyl-L-Cysteine-Glycine), reduziertes Glutathion
GSSG	Glutathiondisulfid, oxidiertes Glutathion
h	Stunde, Stunden

HMBC	<u>H</u> eteronuclear <u>M</u> ultiple <u>B</u> ond <u>C</u> orrelation
HO•	Hydroxylradikal
HPLC	<u>H</u> igh <u>P</u> erformance <u>L</u> iquid <u>C</u> hromatography
HSQC	<u>H</u> eteronuclear <u>S</u> ingle <u>Q</u> uantum <u>C</u> oherence
IC ₅₀	50 % inhibitorische Konzentration
${}^n J_{XY}$ [Hz]	Kopplungskonstante über <u>n</u> Bindungen zwischen den Kernen <u>X</u> und <u>Y</u>
konz.	<u>k</u> onzentriert
LC-MS	Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie, <u>L</u> iquid <u>c</u> hromatography- <u>m</u> ass <u>s</u> pectrometry
Lsgm.	Lösungsmittel
m	<u>M</u> ultiplett
mbar	Millibar
min	Minuten
MMC	<u>M</u> itomycin <u>C</u>
MS	<u>M</u> ass <u>S</u> pectrometry
MTT	<u>M</u> ethylthiazolyldiphenyl-tetrazoliumbromid (Thiazolylblau), 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid
m/z	Masse/Ladungs-Verhältnis
NCI	National Cancer Institute (Bethesda, MD, USA)
n.g.	<u>n</u> icht <u>g</u> efunden
NMM	<u>N</u> - <u>M</u> ethylmorpholin
NMR	<u>N</u> uclear <u>M</u> agnetic <u>R</u> esonance (Spectroscopy)
n.z.	<u>n</u> icht <u>z</u> ugeordnet
O ₂ • ⁻	Superoxidradikalanion
ONOO ⁻	Peroxinitrit
OS	<u>O</u> xidativer <u>S</u> tress
PBS	<u>P</u> hosphate <u>B</u> uffer <u>S</u> aline (Phosphatsalzpuffer)
PE	Petrolether (Siedebereich 40-65 °C)
Ph	Phenyl-Gruppe
PMA	<u>P</u> horbol-12- <u>m</u> yristat-13- <u>a</u> ccetat
Prx	Peroxiredoxin
q	<u>Q</u> uartett
quint	<u>Q</u> uintett
relat.	relativ
RMPI 1640	<u>R</u> oswell <u>P</u> ark <u>M</u> emorial <u>I</u> nstitute 1640-Medium
RNS	reaktive Stickstoffspezies, <u>r</u> eactive <u>n</u> itrogen <u>s</u> pecies

ROS	reaktive Sauerstoffspezies, <u>r</u> eactive <u>o</u> xxygen <u>s</u> pecies
RT	<u>R</u> aum <u>t</u> emperatur
s	<u>S</u> ingulett
SD	Standardabweichung
SOD	<u>S</u> uperoxid- <u>D</u> ismutase
t	<u>T</u> riplett
t_R [min]	Retentionszeit
tacn	1,4,7-Triazacyclononan
TFA	Trifluoressigsäure
Trolox	6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure
UV	Ultraviolett
vgl.	vergleiche
z.B.	zum Beispiel
% (v/v)	Volumenprozent (bei Lösungsmittelgemischen)
δ [ppm]	chemische Verschiebung
λ [nm]	Wellenlänge

Kapitel 1

Einleitung und Zielsetzung

1.1 Oxidativer Stress

Oxidativer Stress (OS) und die Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS, engl. reactive oxygen species) werden mit verschiedenen Krankheiten in Zusammenhang gebracht. Dazu zählen neurodegenerative und auto-entzündliche Erkrankungen, wie Apoplexie (Schlaganfall), amyotrophische laterale Sklerose (ALS), Morbus Parkinson und Morbus Alzheimer, Diabetes und Rheumatoide Arthritis[1, 2, 3].

Desweiteren ist OS - durch allmählichen Rückgang der Antioxidans-Verteidigung - eine natürliche Begleiterscheinung beim Altern, und kommt im Gewebe älterer Menschen vor[4]. Aber auch Krebs wird mit oxidativem Stress in Verbindung gebracht. OS muss nicht der Grund für solche Krankheiten sein, aber durch wachsendes Interesse an der Therapie und der Vorbeugung derartiger Krankheiten ist OS in das Blickfeld der aktuellen Forschung gerückt.

Herrschen normale physiologische Bedingungen, dann steht die Produktion und der Abbau von reaktiven Spezies im Gleichgewicht. Ein entstandenes Ungleichgewicht aus Pro- und Antioxidantien versteht man als OS. Im Fall des Sauerstoffs spricht man von reaktiven Sauerstoffspezies[5, 6].

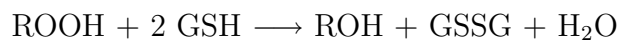
Eine wichtige exogene Quelle ist jedoch UV-, Röntgen-, γ -Strahlung oder radioaktive Strahlung. ROS wird auch durch Luftverschmutzung, Zigarettenrauch, Pestizide, Medikamente und verschiedene Chemikalien verursacht.

Biologisch wichtig sind freie Radikale, wie Superoxidradikalanionen ($O_2^{\bullet-}$), Hydroxylradikale (HO^{\bullet}), Hydroperoxylradikale (HOO^{\bullet}), die organischen Alkoxyradikale (RO^{\bullet}) und Peroxylradikale (ROO^{\bullet}), aber auch nicht-radikalische Verbindungen wie Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Singulett-Sauerstoff (1O_2), Hydroperoxid (ROOH) oder Hypochlorid

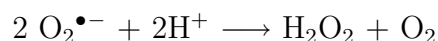
(ClO⁻)[7, 8].

Radikale besitzen ein oder mehrere ungepaarte Elektronen, welches sie zu bevorzugten Reaktionspartnern macht und in Kettenreaktionen reagieren lässt. Vertreter der reaktiven Stickstoffspezies (RNS) sind das Stickstoffmonoxidradikal (NO[•]) und Peroxinitrit (ONOO⁻). Auch erhöhte Konzentrationen an Metallionen assoziiert man mit OS.

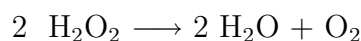
Die Zelle ist dem Angriff von OS nicht schutzlos ausgeliefert, sondern verfügt mit Glutathion (L- γ -Glutamyl-L-Cystein-Glycin, GSH) über ein antioxidatives Abwehrsystem. GSH ist das wichtigste Reduktionsmittel und Antioxidans im menschlichen Organismus. Dieses arbeitet als eine Art intrazellulärer Redoxpuffer, wobei unter Bildung von oxidiertem Glutathion GSSG (Glutathiondisulfid) ROS „neutralisiert“ und die Zelle vor OS geschützt wird:



Darüber hinaus besitzt die Zelle weitere Abwehrmechanismen durch verschiedene katalytisch wirkende Antioxidantien. Dazu gehören das Enzym Superoxid-Dismutase (SOD) mit den Isoformen Cu,Zn-SOD und Mn-SOD. Die Funktion der Superoxiddismutase, die die Dismutation des Superoxidanions zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff zu katalysiert, wurde zum ersten Mal 1969 beschrieben[9].



Durch Katalasen (CAT) wird OS durch Disproportionierung von toxischem Wasserstoffperoxid zu Wasser und Sauerstoff eingeschränkt.



Die selenabhängigen, antioxidativ wirksamen Glutathion-Peroxidasen (GPx) katalysieren die Reduktion von Lipidhydroperoxiden und Wasserstoffperoxid unter Verwendung von Glutathion (GSH) als Reduktionsmittel.

Enzymatischer Oxidationsschutz wird auch durch Peroxiredoxine (Prx) gesichert. Prx reduzieren H₂O₂, Peroxinitrit und eine Vielzahl von organischen Hydroperoxiden unter Verwendung von Thiolen.

1.2 Antioxidantien und die Nachahmung von Enzymen

DNA-Mutationen und deren Verbindung mit der Entstehung von Krebs[10, 11] haben zu Forschungsvorhaben im Bereich von natürlichen und synthetischen Antioxidantien geführt. Im Bereich des Hautschutzes sind Ergebnisse mit reduzierend wirkenden Verbindungen, z.B. Coenzym Q10 und Chelatbildnern wie DFO (Deferoxamin) erzielt worden[12, 13].

Einfache Antioxidantien (Abbildung 1.1) wie Ascorbinsäure (Vitamin C) und α -Tocopherol (Vitamin E), verschiedene Carotinoide, Curcurmin oder Liponsäure sind nur begrenzt aktiv, d.h. sie werden bei anhaltendem OS schnell verbraucht, sodass große, stöchiometrische Mengen erforderlich werden, um eine Wirkung zu erzeugen. Die Gefahr von Nebenwirkungen ist damit erhöht.

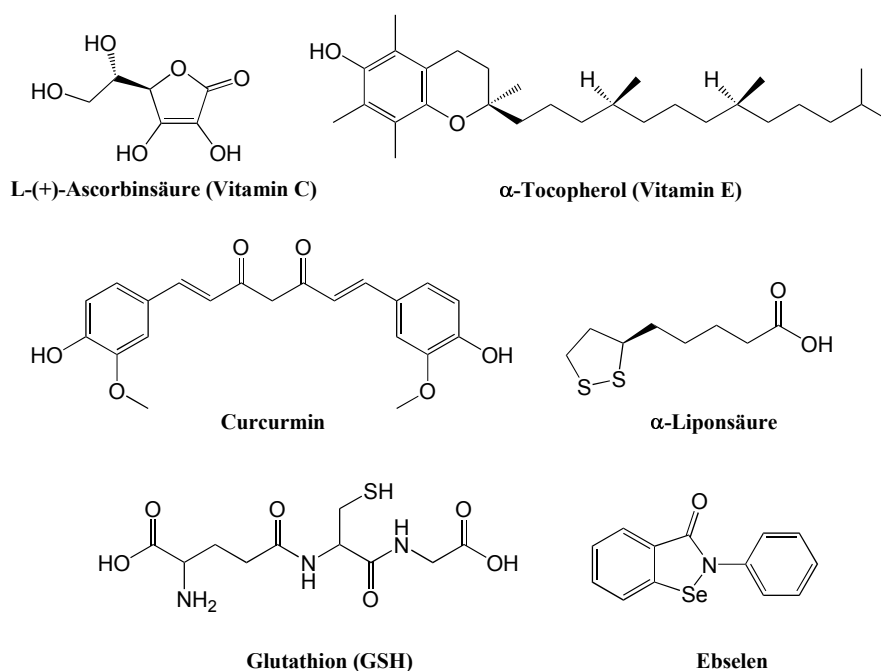


Abbildung 1.1: Antioxidantien: L-(+)-Ascorbinsäure (Vitamin C), α -Tocopherol (Vitamin E), Curcurmin, α -Liponsäure, Glutathion und das Glutathion-Peroxidase (GPx)-Mimetikum Ebselen.

Katalytische Antioxidanten bieten hingegen den Vorteil, dass sie nicht aufgebraucht, sondern regeneriert werden können und sofort erneut zur Verfügung stehen. Derartige Katalysatoren wirken äußerst effektiv. Sie sind mit einer unwahrscheinlichen Schnelligkeit in der Lage, mit oxidativen Stressoren zu reagieren. Die Reduktion von H_2O_2 und Reaktion

von GSH zu GSSG dauert z.B. in Anwesenheit von GPx nur Sekunden, aber Stunden in seiner Abwesenheit[14]. Bei katalytischen Reaktionen entstehen, im Vergleich zu manchen herkömmlichen (einfachen) Antioxidantien, ungefährliche Nebenprodukte.

Einfachen Antioxidantien fehlt es auch an der nötigen Selektivität. Sie vermögen nicht zwischen gesunden und Zellen mit erhöhtem OS zu unterscheiden und sind in allen Zellen aktiv, was dazu führt, dass das normale intrazelluläre Gleichgewicht mit „gesunden“ Konzentrationen an ROS und Metallionen beeinträchtigt wird.

Die meisten synthetisch hergestellten Antioxidantien haben demnach große Nachteile. Es überrascht deshalb nicht, dass in der Entwicklung neuer Antioxidantien gerade das Interesse an der Synthese von katalytisch aktiven Enzym-Mimetika, die körpereigene Enzyme imitieren können, unwahrscheinlich groß ist.

Von allen genannten Enzymen sind selenhaltige GPx-Mimetika von besonderem Interesse. Die antioxidative Wirkung von Selen wird ausschließlich durch Selenoenzyme vermittelt. Alle GPx haben gemeinsam, dass sie Peroxide unter Verbrauch von GSH oder einem anderen Thiol reduzieren können. GPx unterscheiden sich in ihrer Substratspezifität für verschiedene Peroxide. Neben H_2O_2 kann eine große Anzahl von (Alkyl-)Hydroperoxiden (ROOH), einschließlich Fettsäurehydroperoxiden, zu harmlosen Endprodukten umgesetzt werden[15].

Die Bildung von $\text{O}_2^{\bullet-}$ ist durchaus auch ein natürlicher Prozess, der in Mitochondrien stattfindet (Atmungskette). Etwa 1-3 % verbrauchten Sauerstoffs wird zu Superoxidradikalanionen ($\text{O}_2^{\bullet-}$) umgewandelt[16]. Nach deren Reaktion zu H_2O_2 und O_2 durch zink- und kupfer-abhängige Superoxid-Dismutasen (SOD), kann der weitere Abbau durch GPx erfolgen. GPx oxidiert GSH zu dessen Disulfid GSSG. H_2O_2 wird zu H_2O und Lipidperoxide zu entsprechenden Alkoholen reduziert. GPx wirkt damit protektiv gegen Folgeprodukte von ROS und ist somit maßgeblich am Schutz der Lipide und Biomembranen beteiligt[17].

Schwefel und Selen sind sich chemisch gesehen sehr ähnlich. Biochemisch gesehen ist Selen jedoch das katalytisch aktivere Element von beiden. Selenocystein liegt wegen seines niedrigeren pK-Wertes im physiologischen pH-Bereich vorwiegend ionisiert vor, wohingegen Cystein protoniert ist. Das Selenol(at) ist demzufolge ein wirksameres Nukleophil und Selenocystein reaktiver als Cystein[18, 19]. Selen ist als Selenocystein im aktiven Zentrum der Glutathionperoxidasen (GPx) gebunden.

Das Selenol E-SeH (Enzym-Se⁻²H) des Selenocysteins wird aktiviert (oxidiert) indem es mit H_2O_2 oder Hydroperoxiden unter Bildung von H_2O bzw. entsprechender Alko-

hole (ROH) reagiert. Dabei nimmt der Selenocystein-Rest die Oxidationsstufe der unterselenigen Säure E-SeOH (Enzym-Se⁰OH) an. Das oxidierte Enzym wird im Folgenden stufenweise durch zwei GSH-Moleküle reduziert (siehe Abbildung 1.2). Im ersten Schritt wird unter Wasserabspaltung Glutathion über eine kovalente Selenylsulfidbindung an das Enzym gebunden. Mit einem weiteren Molekül GSH wird im zweiten Schritt die Selenylsulfidbindung wieder gespalten und GSSG gebildet. Dadurch wird der Grundzustand des Enzyms wieder hergestellt und der Katalysezyklus kann von neuem beginnen[20, 15, 21].

Peroxinitrit hat stark oxidierende Eigenschaften gegenüber biologischen Molekülen, einschließlich Lipiden, Aminosäuren und Nukleotiden. ONOO⁻ kann von GPx in gleicher Art und Weise zu Nitritonen (NO₂⁻) reduziert werden[22].

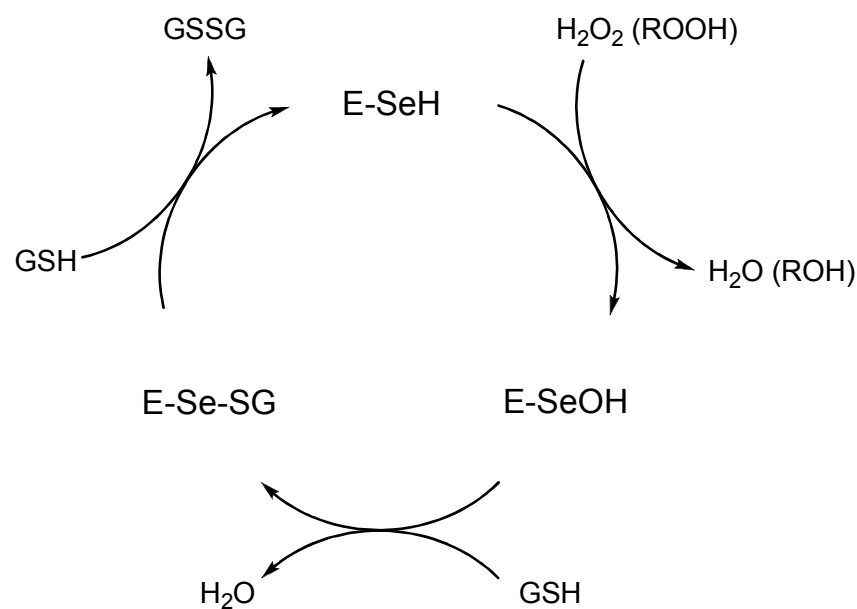


Abbildung 1.2: Reaktionsmechanismus der Glutathion-Peroxidasen (GPx)[15].

Beim enzymatischen Abbau von Peroxiden spielen auch Peroxiredoxine (Prx) eine wichtige physiologische Rolle. Prx besitzen Cystein (Cys-S_PH, peroxidatives Cystein) in ihrem katalytisch aktiven Zentrum. Prx aller Typen katalysieren die Reduktion von Hydroperoxiden unter Bildung einer Sulfensäure (Cys-S_POH).

Auf Grund der Anzahl und Lage der katalytisch wirksamen Cysteine werden 1-Cys-Prx sowie typische und atypische 2-Cys-Prx klassifiziert. Typische und atypische 2-Cys-Prx besitzen je zwei an der Peroxidasereaktion beteiligte Cysteinreste. Kommt es zur Ausbildung einer intermolekularen Disulfidbrücke zwischen Cys-S_POH und einem Thiol eines anderen Cysteins, welches von einer Untereinheit eines anderen Homodimers stammt, spricht man von typischen 2-Cys-Prx. Kommen beide S_P aber aus derselben Untereinheit

und eine intramolekulare Disulfidbrücke wird gebildet, handelt es sich um monomerisch aufgebaute atypische 2-Cys-Prx. Typische 2-Cys-Prx sind die häufiger vorkommenden Peroxiredoxine. Die Reduktion der Disulfidbrücke und die Regenerierung von Cys-S_PH erfolgt bei den 2-Cys-Prx mittels Thioredoxin (Disulfid-Reduktase). Die 1-Cys-Prx enthalten nur ein einziges konserviertes Cystein. Die Regeneration von 1-Cys-Prx ist noch nicht geklärt. Vermutlich reagiert die Sulfensäure mit einem Thiol unter Ausbildung einer Disulfidbindung, gefolgt von der Reduktion mit einem zweiten Molekül Thiol und der Rückbildung des Enzyms[23].

Die Natur ist schon immer ein Vorbild für die Forschung gewesen. Im Fall von Enzymen beeindruckt ihre katalytische Aktivität und die Selektivität für bestimmte Substrate und Reaktionen. Deshalb sollen synthetische hergestellte Antioxidantien GPx imitieren, und wie dieses die Oxidation von reduziertem Glutathion (GSH) zu oxidiertem Glutathiondisulfid (GSSG) bewerkstelligen. Der Katalysezyklus eines Mimetikums ist in Abbildung 1.3[24] verdeutlicht. Dabei sind niedermolekulare Verbindungen, die mit ähnlicher Effizienz wie Enzyme arbeiten, von großem Interesse. Sie sind nicht nur leichter zugänglich, sondern auch weniger empfindlich gegenüber äußeren Einflüssen. Das wohl einzige, sich zur Zeit in klinischen Tests befindliche Seleno-Mimetikum ist Ebselen (2-Phenyl-1,2-benzisoselenazol-3(2H)-on) (siehe Abbildung 1.1). Die Glutathion-Peroxidase-ähnliche Aktivität von Ebselen wurde im Jahr 1984[25] und seine Peroxinitrit-reduzierende Wirkung 1995[26] gezeigt.

Die Glutathion-Peroxidase-ähnliche Wirkung verläuft analog der des Mechanismus der Enzyme in drei Schritten. Im ersten reagiert es mit Hydroperoxid unter Bildung von unterseleniger Säure und dem entsprechenden Alkohol. Danach wird diese durch Thiole (z.B. GSH) in zwei Schritten sequenziell zu Ebselen-Selenol, H₂O und Disulfid (GSSG) reduziert[27, 21]. Die Peroxinitrit-reduzierende Wirkung verläuft über das Selenoxid von Ebselen[26] analog Abbildung 1.3.

Selen- und Tellurverbindungen sind chemisch und metabolisch stabiler als Metallkomplexe, die SOD- oder CAT-Enzyme imitieren sollen. Für diesen Zweck sind keine komplizierten Verbindungen von Nöten, sie sollen sogar chemisch einfach zugänglich sein, aber es ist auch zu beachten, dass OS ein Ereignis aus verschiedenen Stressoren ist. Beim Behandeln nur eines oxidativen Stressors bleibt anderer OS bestehen, welcher die Zelle weiter schädigen kann.

Ebselen hat sich im Kampf gegen ROS und RNS als eine ausgesprochen gute anti-

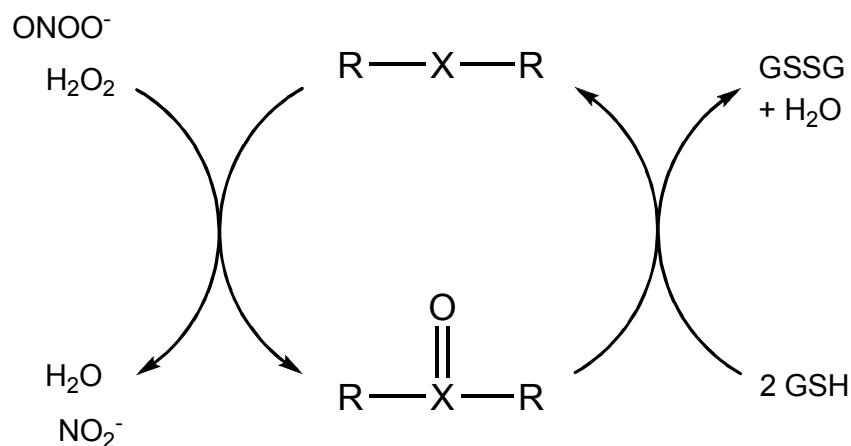


Abbildung 1.3: Katalysezyklus für die Reduktion von H_2O_2 durch chalcogenorganische GPx-Mimetika[24].

oxidative und entzündungshemmende (anti-inflammatorische)[28, 29] Verbindung erwiesen. Dawson et al. haben gezeigt, dass eine hohe Dosis (30 mg/kg) Ebselen zu einer signifikanten Reduzierung (48 % und 53 %) der ischämischen Hirnschädigung bei Ratten führt[30]. In einer placebokontrollierten, doppelblinden Studie bei Schlaganfallpatienten hatten die ebselenbehandelten Patienten nach einem Monat bessere Werte als die Kontrollpatienten[31]. Ebselen hat vielversprechende neuroprotektive Eigenschaften.

Einerseits werden GPx und Ebselen zum Vorbild genommen, andererseits, im Hinblick auf chelatisierende Eigenschaften, wurden in unserer Arbeitsgruppe bifunktionale Moleküle, wie 2,2'-Diselan-1,2-diyldipyridin (**a**), 2,2'-Diselan-1,2-diyldianilin (**b**) und 8,8'-Diselan-1,2-diyldichinolin (**c**) synthetisiert (siehe Abbildung 1.4), sowie in verschiedenen *in vitro*-Assays deren katalytische Aktivität und Redoxverhalten untersucht und Studien zur Metallbindung und Zellkultur angefertigt[32, 33].

Aus Verbindungen **a-c** bietet **b** den besten Schutz vor UVA-Strahlung (Fibroblast Zellkultur), sogar stärker als Ebselen. In elektrochemischen Untersuchungen und mit Hilfe von UV/VIS-Spektroskopie wurde gezeigt, dass **b** relativ stark mit Cu^{2+} (Grenzfall zwischen weicher und harter Lewis-Säure) wechselwirkt. Für eine Bindung von Fe^{3+} (harte Lewis-Säure) sind allerdings härtere Donatoren als Selen oder Stickstoff erforderlich[32]. Es ist unrealistisch, höhere Konzentrationen an Wirkstoff einzusetzen und deshalb naheliegend, die vergleichsweise schwachen Koordinationsstellen in Verbindung **b** durch Liganden mit stärkerer Metallbindung zu ersetzen. Dadurch, so die Idee, könnte auch der Rückgang von labilen Metallionen unter OS gewährleistet werden. Zum Vergleich besitzt der Chelatligand DFO eine ausreichend hohe Affinität zu Fe^{3+} und wird daher verwendet, um

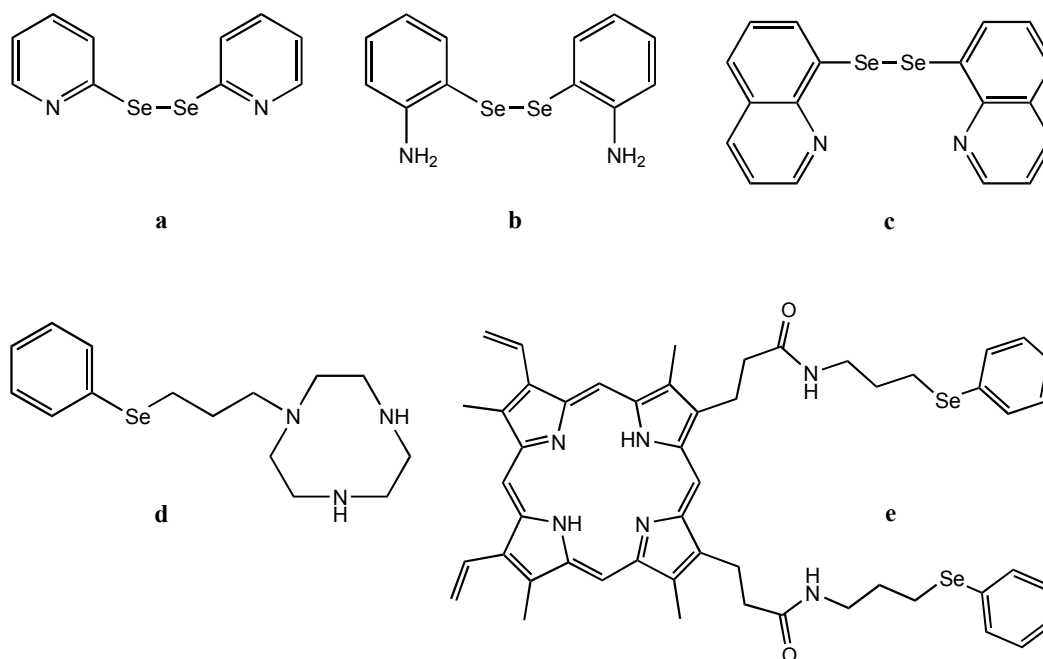


Abbildung 1.4: Multifunktionale Antioxidantien nach Collins **a-d**[32] und Antioxidans **e**[14] basierend auf Protoporphyrin IX.

Krankheiten mit Eisenüberladung bzw. Vergiftungen zu behandeln.

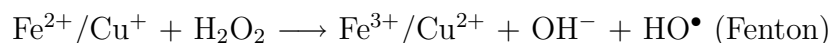
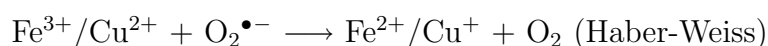
Einen Ausgangspunkt für die vorliegende Arbeit bildet die Synthese der in Abbildung 1.4 gezeigten Verbindung **d**. Sie basiert auf tacn (1,4,7-Triazacyclononan), einem bekannten Komplexbildner für Kupfer und Eisen, der den kleinsten aller Aza-Makrozyklen darstellt. Für katalytische Wirksamkeit (GPx) ist ein Selenatom in Form einer Phenylselenopropyl-Gruppe eingeführt worden. Die bereits von C.A. Collins innerhalb ihrer Dissertation[33] synthetisierte Verbindung zeigt Aktivität gegenüber OS, induziert durch UVA-Strahlung (Fibroblast-Zellen FEK4). Mit eingesetzten Konzentrationen in einer Höhe von 50 μM besitzt sie gleichzeitig eine niedrige Toxizität auf die Zellen selbst[33, 14]. Aus diesem Grund könnte eine mögliche Anwendung im Bereich von Hautschutz gegeben sein, z.B. als Zusatz zu Sonnencreme.

Verbindung **d** zeigt allerdings nur eine mittlere GPx-Aktivität, was dem ersten Anschein nach schlecht ist, aber nicht heißt, dass die Verbindung auch ein schlechtes Antioxidationsmittel ist. Es wurde schon mehrfach gezeigt, dass Verbindungen mit einer außerordentlich hohen Aktivität in Gegenwart von H₂O₂ zytotoxisch wirken können[34]. Im Gegensatz dazu sind Stoffe mit ausreichend, aber nicht allzu hoher GPx-Aktivität oftmals durchaus die besseren Antioxidantien, da sie nicht toxisch sind und die Zelle trotzdem schützen[14].

Das selbe gilt für das Metallbindungsverhalten. Extrem starke Chelatbildner können Metallionen aus Proteinen und Enzymen freisetzen. Die Freisetzung von Eisenionen aus Hämoglobin[35] oder dem Speicherprotein Ferritin[36] ist bekannt. Auch DFO gehört durchaus dazu[37, 38, 39]. Aufgrund von Nebenwirkungen ist der klinische Einsatz von DFO deshalb begrenzt[40, 41]. Eine Kombination aus ausreichend katalytischer Aktivität einerseits und einer guten, aber nicht überdurchschnittlich hohen Affinität Metalle zu binden andererseits, ist womöglich die beste Lösung[42].

Durch das Vereinigen des antioxidativen Redox-Zentrums mit einem Metallfänger kann die Verbindung theoretisch Folgendes leisten: Zunächst die katalytische Reduktion von Peroxiden (H_2O_2 , ROOH) oder Peroxinitrit (ONOO^-). ONOO^- wird zu Nitriten NO_2^- entgiftet. Zweitens, ein stöchiometrisches Aufnehmen von gefährlichen Fe- und Cu-Ionen. Drittens, eine eventuelle katalytische Zerstörung von Superoxid $\text{O}_2^{\bullet-}$ am durch Metallionen-Aufnahme veränderten tacn-Makrozyclus. Damit würde das Molekül auch als SOD-Mimetikum fungieren. Studien mit tacn-Liganden haben bereits gezeigt, dass sie aktive Zentren von Metalloenzymen (Cu,Zn-SOD) imitieren können[43, 44]. Man kann derartige Verbindungen deshalb durchaus als „intelligent“ bezeichnen.

Wasserstoffperoxid ist zwar chemisch gesehen kein Radikal, wird aber wegen seiner Befähigung, hoch reaktive Radikale bilden zu können, zu den ROS gezählt. H_2O_2 ist das Folgeprodukt von $\text{O}_2^{\bullet-}$ und auch Vorläuferverbindung für Hydroxylradikale, welche in der Haber-Weiss-Reaktion[45] und der Fenton-Reaktion[46] gebildet werden[47]:



Beide Reaktionen werden von Metallionen, wie Eisen oder Kupfer katalysiert. Hydroxylradikale reagieren umgehend mit allen Biomolekülen, mit Proteinen und Lipiden, sowie der DNA, und können diese auf vielfältige Art und Weise schädigen. In Folge von Fenton-Reaktionen kann es wiederum zu einer unkontrollierten Freisetzung von redoxaktiven Metallionen kommen, die danach weiteren oxidativen Schaden anrichten können. Ebenso katalysieren labile Metallionen, die aus Proteinen freigesetzt wurden, erneut die Fenton-Reaktion[48]. Es entsteht ein bösartiger Kreislauf aus OS-Bildung und Metallionen-Freisetzung, der nur sehr schwer zu durchbrechen ist. Multifunktionale Antioxidanskatalysatoren sind geradezu optimal um in einen solchen einzugreifen.

Es muss erwähnt werden, dass zeitgleich zu dieser Dissertation in unserer Gruppe auch Moleküle entstanden, die anstatt eines Aza-Makrozyklus einen Porphyrin-Baustein (Protoporphyrin IX) beinhalten (Verbindung **e**, Abbildung 1.4)[14, 49]. Die gezeigte Verbindung dieser Klasse verfügt außerdem gleich über zwei Selen-Funktionen innerhalb eines Moleküls. Die Kombination des Porphyrins mit Selen verleiht dem Molekül aber nicht nur die Eigenschaft als GPx-Mimetikum. Durch Komplexierung von labilen Kupfer- oder Eisen-Ionen bei OS werden sie zu Metalloporphyrinen, die ihrerseits oft katalytische Aktivität haben, z.B. indem sie SOD imitieren. Diese Moleküle haben auch die Möglichkeit, labiles Zn^{2+} zu binden und dann mit $\text{Cu}^{+/2+}$ bzw. $\text{Fe}^{2+/3+}$ auszutauschen, was biologisch sehr interessant wäre (Entgiftung von Cu-, Fe-Ionen).

1.3 Chinonstruktur und Antikrebs-Wirkung

In der Krebstherapie ist eine hohe Effektivität und Selektivität der Wirkstoffe von großer Bedeutung. Die Chinon-Struktur wird mit der Wirkung gegen Krebs, Malaria und Pilzen verbunden[50]. Ihre Toxizität geht darauf zurück, dass sie Elektronen akzeptieren kann. Oxidativer Stress (OS) entsteht, wenn ein Chinon (**g**) zum Semichinon-Radikal (**h**) und evt. weiter zum Hydrochinon (**i**) reduziert wird. Diese Spezies können O_2 unter Rückbildung des Chinons zu Superoxid-Radikalen ($\text{O}_2^{\bullet-}$) reduzieren (Abbildung 1.5). Die Reduktion von O_2 resultiert in zytotoxischen Mengen an H_2O_2 (und GSSG)[50]. Ein bekanntes Beispiel eines solchen Redoxzyklus ist Menadion (2-Methyl-1,4-Naphthochinon), welches ein und/oder zwei Elektronen aus zahlreichen Flavoproteinen aufnehmen kann[51].

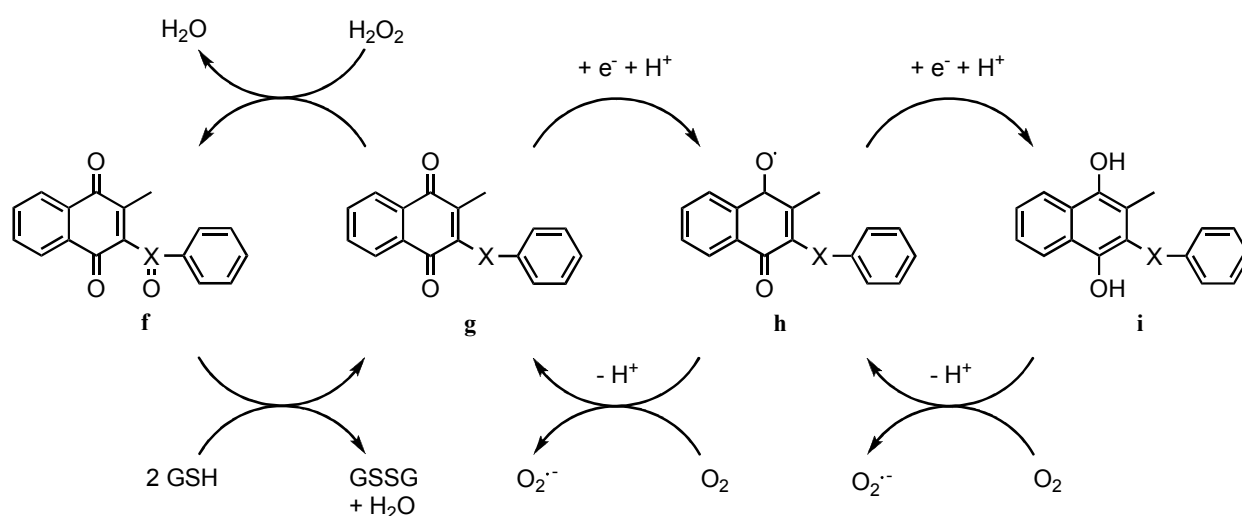


Abbildung 1.5: Katalysezyklus der chinonischen Verbindung **g**[52].

In Kombination mit Chalkogenen (Se, Te) können Chinone eine wichtige Rolle in der Modulation von OS haben. Derartige gestaltete Verbindungen stellen potentielle Kandidaten für die Krebstherapie dar und wirken dabei selektiv. Sie nehmen OS wahr und töten oxidativ gestresste Krebszellen effektiv, wobei keine gesunden Zellen angegriffen und umliegendes Gewebe sogar geschützt werden soll[34]. Es ist entscheidend, dass der Wirkstoff an sich nicht toxisch ist, sondern die Toxizität des „Substrates“ erhöht, wobei durch generieren von Sauerstoff-Radikalen „lediglich“ das bereits vorhandene OS-Niveau erhöht wird (siehe Abbildung 1.6).

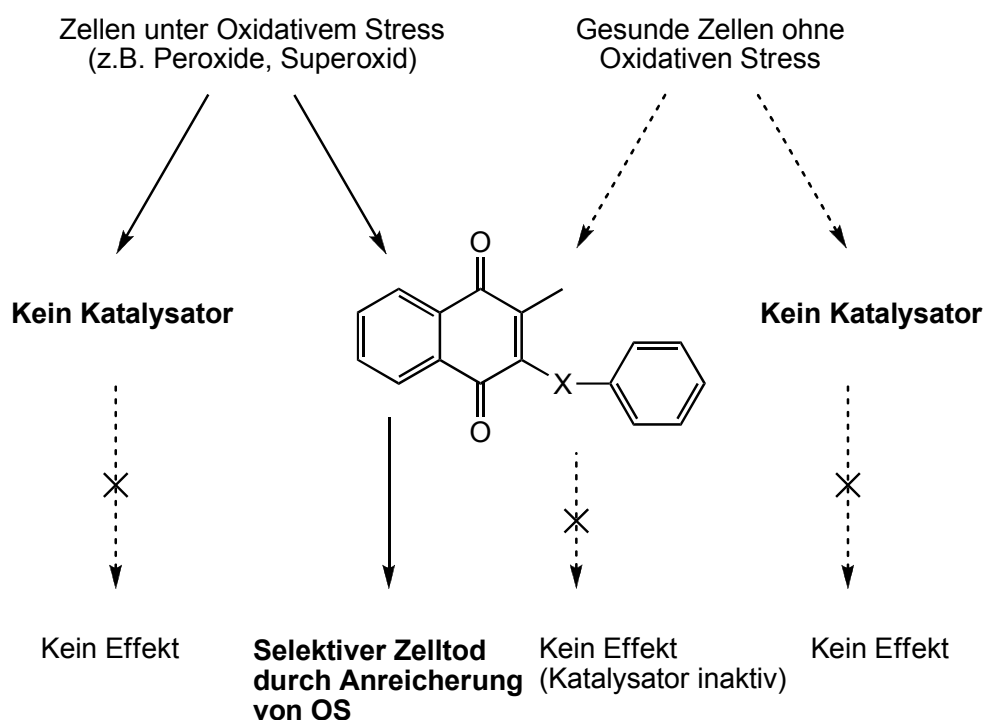


Abbildung 1.6: Hypothese der Wirkung von multifunktionalen Redox-Katalysatoren, welche selektiven Zelltod herbeiführen[34].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das Multi-Stressoren-Ereignis OS ohne einen multifunktionalen Wirkstoff nahezu unmöglich zu bewältigen ist. Unsere Gruppe hat bereits vielversprechende Sensor/Effektor-Moleküle vorgestellt, welche das intrazelluläre Stressniveau erhöhen und damit Zellen abtöten können[52, 34]. Verbindung **g** beispielsweise (Abbildung 1.5) hat sich als stärker zytotoxisch gegenüber oxidativ/ H_2O_2 -gestressten Zellen gezeigt als gegenüber Zellen, in denen normale Redoxverhältnisse vorherrschen.

Durch den Chalkogenbestandteil kann einerseits H_2O_2 (ROS) zu H_2O , und GSH zu GSSG umgesetzt werden, aber mit Hilfe des Chinons werden andererseits auch reaktive

Superoxidradikalanionen $O_2^{\bullet-}$ erzeugt. Diese produzieren wiederum H_2O_2 und fördern zunächst nur die Katalyse von GSH zu GSSG und die damit verbundene Aktivierung der Chalkogen-Einheit des Katalysators, wie in Abbildung 1.5 gezeigt. Kommt es in Folge dessen aber zu einer weiteren Steigerung an Radikalen innerhalb der Zelle, führt dies bis zum Zelltod. Leider ist GSH nicht das einzige Substrat. Cystein-haltige Proteine und Enzyme können den Katalysezyklus stören und den Wirkstoff in seiner Funktion inhibieren.

Das Molekül **g** ist chemisch einfach zugänglich, zeichnet sich aber aufgrund elektronischer Effekte und der Kombination verschiedener Funktionalitäten als höchst aktiver Katalysator aus. Verfolgt man die Leitstruktur weiter, können sich aus einer Selektivität wie dieser in Zukunft optimale Behandlungsmöglichkeiten für oxidativ gestresste Krebszellen ergeben.

Im Gegensatz zu Krebszellen unter OS, sind Zellen von hypoxischen Tumoren jedoch sehr stark reduzierend. Eine sauerstoffabhängige Radikalbildung ist hier nicht möglich.

Ein bifunktionales, zytotoxisches Antibiotikum ist Mitomycin C (MMC). Nach metabolischer Aktivierung von MMC kann Interaktion mit der DNA erfolgen. Der wesentliche Mechanismus ist die enzymatische Reduktion des Chinons zum Semichinon-Radikal und zum Dihydrochinon sowie die Abspaltung einer Methoxygruppe. Es entsteht ein biologisch aktives Alkylanz, was mono- und bifunktional mit der DNA reagieren kann und irreversibel DNA-Seitenstränge verknüpft und Strangbrüche induziert. MMC wird insbesondere von hypoxischen Tumorzellen metabolisiert[53].

Ziel der Arbeit ist die Synthese von multifunktionalen Wirkstoffen, die einfache chalkogenorganische Verbindungen sein sollen, dabei aber multifunktional sind, und gleichzeitig katalytische und metallbindende Eigenschaften für eine antioxidative Wirksamkeit haben.

In Bezug auf Krebstherapeutika sollen Moleküle synthetisiert werden, welche Chinone mit den Chalkogenen Schwefel, Selen und Tellur, möglicherweise auch mit mehr als zwei Zentren, verknüpfen. Diese stellen oxidative Sensor/Effektor-Katalysatoren dar.

Das Ziel besteht aber nicht nur darin, einfache synthetische Zugänge zu derartigen Strukturen zu erarbeiten, sondern vor allem auch in der zellbiologischen Untersuchung der bislang unbekanntem Verbindungen mit potentiell neuartigen Eigenschaften. Auf diesem Wege sollen aus allen entwickelten Substanzen die interessantesten Strukturen gefunden werden.

Teil I

Ergebnisse und Diskussion

Der Abschnitt „Ergebnisse und Diskussion“ ist wie folgt eingeteilt: Die Kapitel 2-4 beinhalten die Synthese und Diskussion der neuen, verschiedenartig zusammengesetzten, multifunktionalen Verbindungen. Die Einteilung erfolgt nach der Art der verwendeten „Bausteine“ für den jeweiligen Molekültyp. Die Moleküle enthalten im Wesentlichen die Chalkogene Schwefel, Selen und Tellur, die Makrozyklen tacyclic bzw. cyclen, und verschiedene Chinone (Naphthochinon, Benzochinon). Zusätzlich werden Modellverbindungen mit Piperazin synthetisiert. In jedem Kapitel wird die Charakterisierung der entsprechenden Substanzklasse beschrieben. Für Chinon-Chalkogen-Verbindungen (Kapitel 3) liegt besonderes Augenmerk auf der zweidimensionalen NMR-Spektroskopie.

Die Kapitel 5 und 6 befassen sich mit dem biologischen Teil dieser Arbeit. Zum einen der Effekte der dargestellten Verbindungen auf Krebszelllinien und zum anderen mit der Wirkung gegen Mikroben (Dermatophyten und Plasmodien).

Im Folgenden ist kurz zusammengefasst, welche Anforderungen an die Synthese gestellt werden, damit die synthetisierten Produkte auch für die zukünftige Anwendung geeignet sind. Daraus ergibt sich gewissermaßen das „Design“ der verschiedenen Verbindungen, zusammen mit den in der Einleitung diskutierten Kriterien.

Zur Synthese aller multifunktional verknüpften Moleküle sollen zuallererst einfache Syntheserouten genutzt werden, nicht nur weil Selen-Chemie oft mit Problemen verbunden ist, sondern auch weil keine Notwendigkeit besteht, kompliziert aufgebaute Moleküle einzusetzen, wenn einfache Strukturen denselben Zweck erfüllen. Die Verbindungen müssen chemisch reaktiv sein, sie müssen aber keine Strukturen erkennen oder binden.

Um biologische Tests durchführen zu können, müssen solche Substanzen einfach und in ausreichend großen Mengen zugänglich sein. Zudem muss gewährleistet sein, dass sie in entsprechend hoher Reinheit isoliert und damit für die Zellkultur tauglich sind. Dies betrifft ebenfalls deren Löslichkeit. Da eine hohe Löslichkeit in Wasser schon von vorn herein (fast) ausgeschlossen ist, sollten die Verbindungen in EtOH löslich, aber zumindest in DMSO gut löslich sein, damit sie sowohl in wässrigen Medium appliziert werden können als auch membrangängig sind.

Für eine gute Membrangängigkeit ist es umso besser, Moleküle mit niedrigen molekularen Massen darzustellen. Dabei geht es natürlich um *verhältnismäßig* niedrige Molmassen, da ein Selenatom allein schon eine Molmasse von 78.96 g/mol aufweist und die Molmassen der Moleküle so sehr zügig ansteigen.

Mit dem Hintergrund, dass Aryl-Selen-Verbindungen gegenüber von Alkyl-Selen-Verbindungen weniger toxisch sind[54], wurden in vorangegangenen Arbeiten Selen- bzw.

Tellur-Atome eingeführt, die meist in direkter Nachbarschaft einer Phenylgruppe standen [14, 24]. Dabei wird die geringere Toxizität mit der höheren Stabilität von Aryl-Selen-Bindungen begründet und erfüllt den Zweck, dass Selen *in vivo* weniger leicht freigesetzt werden kann. Aromatische Derivate von Tellur sind auch stabiler als aliphatische und werden deshalb in der Synthese bevorzugt[55].

Es sollte angemerkt werden, dass zu viel Selen Haarausfall, spröde Nägel, Magen-Darm-Beschwerden bzw. Hautausschlag verursacht oder Nervenprobleme hervorruft[56]. Freies „unkontrolliertes“ Selen (z.B. Selenit) würde schließlich genau das Gegenteil von dem bewirken, was wir anstreben. Auch das in Ebselen vorkommende Selen ist nicht bioverfügbar[57], es erscheint nicht im körpereigenen Selen-Pool. Der Aspekt, dass kein Selen freigesetzt wird, ist daher außerordentlich wichtig und soll für bevorstehende Synthesen beachtet werden. Die Syntheseplanung ist deshalb so angelegt, dass Selen zumindest mit einer Bindung immer an eine Phenylgruppe gebunden bleibt. Das heißt Diaryl-, Arylalkyl-Selenide und Aryl-Selanole sind bevorzugt.

Schwefel-homologe Verbindungen sind durch ihre niedrigere biologische Aktivität von etwas geringerer Bedeutung und sollen hauptsächlich einen Vergleich zu Selen- und Tellurverbindungen darstellen. Dies betrifft deren NMR-Spektroskopie als auch deren biologische Aktivität.

Kapitel 2

Multifunktionale Moleküle basierend auf Selen und Makrozyklen

1-(3-(Phenylselenyl)propyl)-1,4,7-triazacyclononan (**1**) wurde erstmals von C.A. Collins in unserer Arbeitsgruppe dargestellt [33] (siehe Abbildung **2.1**). Ausgehend von 1-Brom-3-(phenylselenyl)propan (**1**) [58] besteht der Syntheseweg aus zwei Stufen. Um Mehrfachsubstitution des Makrozyklus zu vermeiden, wird **1** mit einem stickstoffgeschützten Derivat des Trizyklus, 1,4,7-Triazatricyclo[5.2.1.0^{4,10}]decan (**j**) [59, 60, 61], im Verhältnis 1:1 umgesetzt. Bei Raumtemperatur und CH₃CN als Lösungsmittel findet innerhalb von drei Tagen die Umsetzung zu **k** statt, welches nach Entfernen des Lösungsmittels als ein weißer Feststoff zurückbleibt. Durch Erhitzen von **k** mit HCl für 6 Stunden unter Rückfluss, wird der Zyklus entschützt und ein weißer Feststoff von 1-(3-(Phenylselenyl)propyl)-1,4,7-triazacyclononan als 1-(3-(Phenylselenyl)propyl)-1,4,7-triazacyclononan·3HCl (**1**) erhalten (Ausbeute: 87 %).

2.1 Synthese und Reaktionsverhalten

Im Rahmen dieser Arbeit wurde 1-(3-(Phenylselenyl)propyl)-1,4,7-triazacyclononan (**2**) (als Produkt ohne HCl) auf direktem Syntheseweg durch Umsetzung von **1** mit der zu Collins analogen halogenierten Verbindung, 1-Brom-3-(phenylselenyl)propan (**1**) [58], dargestellt (siehe Abbildung **2.2**).

1 ist ein einfaches Edukt, was unsere „Design-Kriterien“ erfüllt. Wie schon erwähnt, steht Selen aus Stabilitätsgründen in direkter Nachbarschaft zu einem Aromaten. Die Propylgruppe sorgt dafür, dass Selen und Makrozyklus durch eine Propylkette voneinander getrennt werden. Reaktionen anderer Bromide mit einem Überschuss von unsubsti-

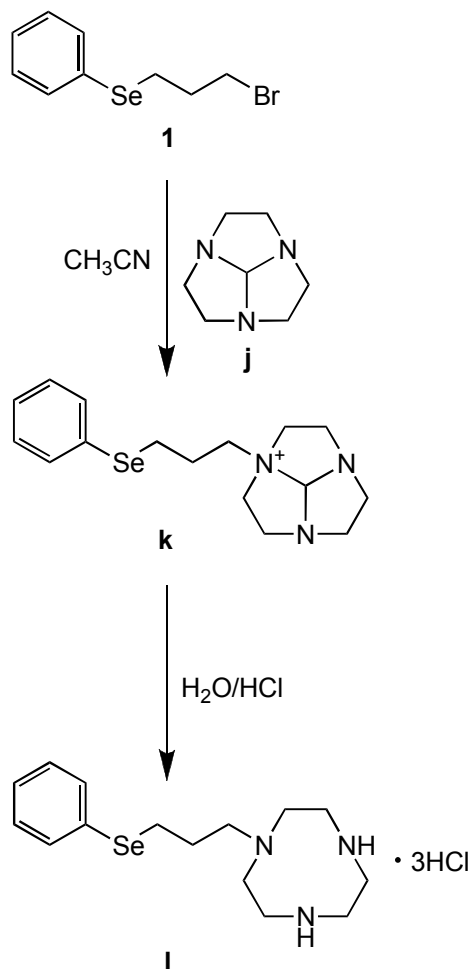


Abbildung 2.1: Syntheseroute von Verbindung **l** nach Collins[33].

tuiertem Cylen sind mit K_2CO_3 und CH_3CN beschrieben worden und führen zu dessen Einfachsubstitution. Diese Methode wurde von uns als die beste Möglichkeit identifiziert um reine Verbindungen - ohne problematische Reinigung - darzustellen[62]. Ausbeuten sind nahezu quantitativ.

1 Äquivalent 1,4,7-Triazacyclononan (tacn) wird mit 0.66 Äquivalenten 1-Brom-3-(phenylselenyl)propan (**1**) in Gegenwart von K_2CO_3 (1 Äquivalent) bei Raumtemperatur in CH_3CN gerührt. Erhitzen ist nicht nötig, jedoch muss darauf geachtet werden, dass das Bromid nicht zu schnell eingetropfelt wird. Durch die Verwendung eines Überschusses von tacn, sowie ausreichend langsame Zugabe von **1** konnte keine Mehrfachsubstitution am tacn-Ring beobachtet werden. Zur Abtrennung des überschüssigen tacn, wird das nach Filtration der Lösung sowie der Entfernung des Lösungsmittels erhaltene Rohprodukt in MeOH bzw. CH_2Cl_2 aufgenommen, und damit das Produkt gelöst. Tacn ist in MeOH bzw. CH_2Cl_2 unlöslich. Die Lösung wird filtriert und erneut eingengt. Wiederholt man diesen Vorgang mit beiden Lösungsmitteln mehrere Male, sollte alles unumgesetzte

tacn entfernt sein. Danach ist keine weitere Reinigung erforderlich. Es wird das monosubstituierte Produkt in einer Ausbeute von 97.5 % (bezogen auf eingesetztes 1-Brom-3-(phenylselenyl)propan (**1**)) erhalten. **2** ist ein hellgelbes, viskoses Öl.

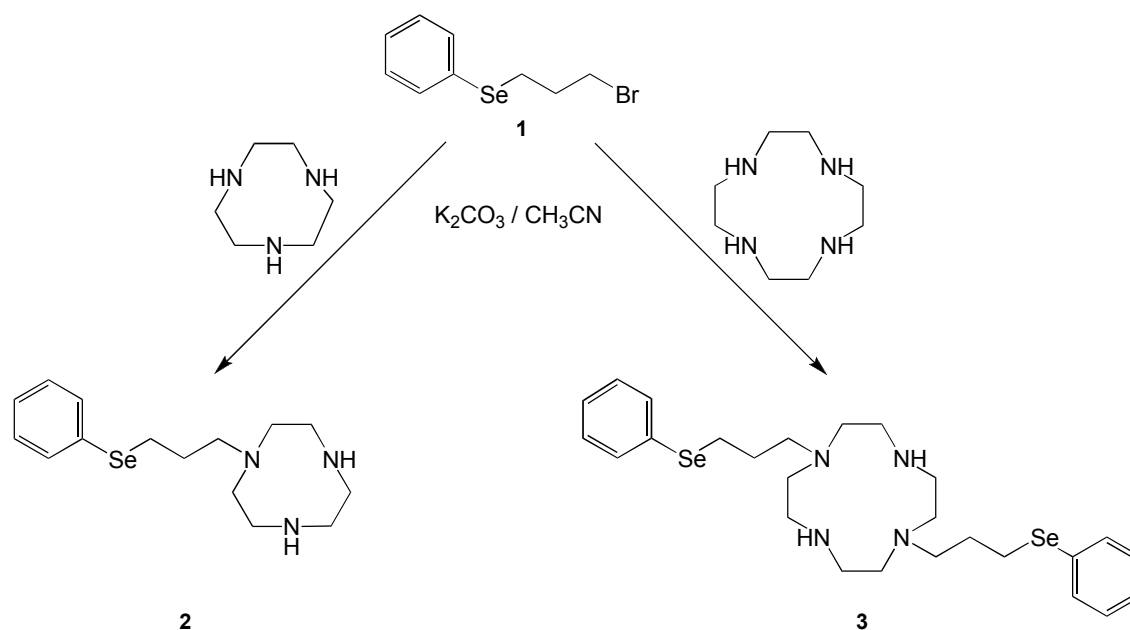


Abbildung 2.2: Synthese der multifunktionalen Verbindungen **2** und **3**.

Mit dem Ziel auch 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (cyclen) gezielt zweifach zu substituieren, wird 1 Äquivalent cyclen mit 0.5 Äquivalenten **1** nach derselben Methode umgesetzt. Dabei findet sowohl eine Mono- als auch eine Disubstitution statt, was eigentlich vermieden werden sollte. Die Trennung des Gemisches aus ein- und zweifach substituiertem Makrozyklus geschieht durch präparative HPLC (siehe Kapitel 11). Dabei konnte die einfach-substituierte Verbindung nicht isoliert werden (siehe Kapitel 11, 11.2). Das bis-substituierte Produkt 1,7-Bis(3-(phenylselenyl)propyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (**3**) wird jedoch mit 29.8 % als ein gelbliches, stark viskoses Öl erhalten.

Da es sich bei präparativer HPLC um eine aufwendige Reinigungs-Methode handelt, die auch nur die Trennung kleiner Substanzmengen zulässt, werden alternative Methoden zur Aufarbeitung bevorzugt. Deshalb wurde geprüft, ob sich noch andere Reaktionen zur Darstellung von **3** eignen, die ggf. eine einfachere Aufarbeitung ermöglichen.

Chaux et al. beschreiben die regioselektive Synthese difunktionalisierter Cyclene über den Weg einer reduktiven Aminierung[63]. Durch reduktive Aminierung lassen sich viele Aldehyde in Amine überführen. Die Reaktionsmechanismus verläuft über ein Iminiumion als Zwischenstufe. Dieses wird in der zweiten Teilreaktion durch ein Reduktionsmittel,

in unserem Fall Natriumtriacetoxyborhydrid ($\text{NaBH}(\text{OAc})_3$), zum Amin reduziert[64, 65].

Das für unseren Zweck dienliche Aldehyd ist dabei 3-(Phenylselenyl)propanal (**4**)[66]. Dessen Verwendung führt theoretisch geradewegs zu gleichermaßen substituierten Makrozyklen wie **3**. Setzt man die Edukte im Verhältnis 1:2 um, sollte man im günstigsten Fall Verbindung **3** erhalten. Leider konnte aber auch mittels reduktiver Aminierung nur eine Substanzmischung aus mono- und bis-substituiertem cyclen erhalten werden. Eine präparative Trennung des Reaktionsgemisches kann auch hier nicht umgangen werden. Die Ausbeute über den Alternativweg der reduktiven Aminierung ist mit 13.0 % nach der HPLC sogar schlechter als bei der ursprünglich gewählten Syntheseroute.

Zum Testen der Reaktion an sich, konnte Piperazin hingegen problemlos zu 1,4-Bis(3-(phenylselenyl)propyl)piperazin (**5**) umgesetzt werden. Die erhaltene Verbindung besitzt keine NH-Funktionen wie die anderen Verbindungen, aber neben Piperazin als zentralem Baustein auch zwei Phenylselenylpropyl-Einheiten. Auch aufgrund dessen kann man diese Verbindung gut an Kieselgel chromatographisch reinigen (Eluent $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5). Die Ausbeute des weißen bis beige Feststoffes beträgt 30.2 %.

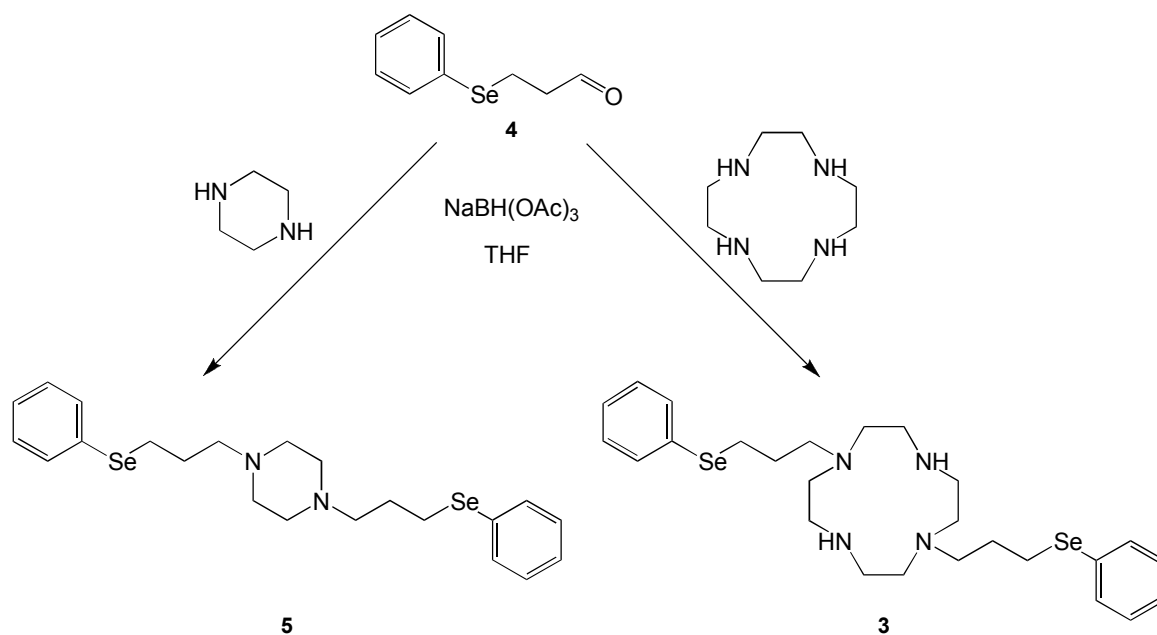


Abbildung 2.3: Modellverbindung **5** und Alternativsynthese von **3**.

Um OS entgegenwirken zu können, sind **2** und **3** zum einen so aufgebaut, dass für die Metallkomplexierung der Makrozyklus bereitsteht, zum anderen ein bzw. zwei Selenatome für katalytische Aktivität sorgen. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, ist diese Kombination vielversprechend, da auf diese Weise ROS als auch freie Metallionen

„unschädlich“ gemacht werden können.

5 hat Piperazin als zentralen Baustein. Die Piperazinverbindung kann hingegen keine Komplexe bilden, bei denen Metallionen in den Ring eingeschlossen werden. Sie kann aber zwei Piperazin-Liganden bereitstellen und so mit Metallionen Komplexe im Verhältnis 2:1 formen. Sie dient in der Hauptsache als Modellverbindung, was aber nicht bedeutet, dass sie per se keine Wirkung hat. **5** enthält zwei Metallbindungsstellen und zwei Selenatome - und damit zwei katalytisch interessante Einheiten um GPx nachzuahmen. Gleiches gilt für **3**, dessen Selenatome gleichzeitig, aber unabhängig voneinander an Katalysezyklen teilnehmen und auf diese Weise das Enzym GPx immitieren können.

2 hat dabei lediglich eine Molmasse von 326.34 g/mol. Vergleicht man dies mit **3**, so ist dessen Molmasse mit 566.54 g/mol schon deutlich größer. Beide sollten damit aber als selenorganische Verbindungen für die Anwendung gut geeignet sein. Alle Verbindungen dieser Substanzklasse, inklusive **5**, lösen sich außerdem gut in EtOH.

Elektrochemische Studien haben bereits gezeigt, dass **2** und **3** Effekte auf elektrochemische Oxidations- und Reduktionsprozesse von Cu^{2+} und Fe^{2+} haben[14]. Die beobachteten Unterschiede sind dabei denen von DFO (Deferoxamin) ähnlich, was schließen lässt, dass **2** und **3** - wie DFO - labile Kupfer- und Eisenionen komplexieren können. Dies erklärt auch die Aktivität und damit verbunden die schützenden Eigenschaften von Verbindung **2** in FEK4-Zellen gegenüber UVA-Strahlung, gemessen im MTT-Assay[14]. Der Schutzeffekt von tacn ist dabei kleiner als der von **2**. Tacn schützt die Zellen nur teilweise (Erhöhung der Vitalität um 15 %), während **2** die Vitalität der Zellen um 39 % erhöht hat. Dies zeigt wiederum, dass die Selengruppe einen wesentlichen Einfluss auf den Schutzeffekt hat, und dass der Makrozyklus nicht allein für das Herabsetzen von OS verantwortlich ist.

Möglicherweise haben Moleküle wie **2** oder **3** aufgrund ihrer Metallbindungsstellen nicht nur die Eigenschaft freie Metallionen zu binden, sondern auch GPx oder in Gegenwart von Kupfer- bzw. Eisenionen sogar SOD nachzuahmen.

2.2 Charakterisierung

2.2.1 Massenspektrometrie (LC-MS)

Anhand von LC-MS-Messungen lässt sich der Reinheitsgrad der synthetisierten Produkte und die damit notwendigerweise verbundene Tauglichkeit für biologische Tests leicht feststellen. Von allen Verbindungen konnten dabei gut interpretierbare Spektren angefertigt werden.

Das LC-MS-Spektrum von **2** zeigt zwei der Verbindung zuzuordnenden Fragmente mit

m/z -Verhältnissen von 257.0 $[\text{PhSeC}_3\text{H}_6\text{NC}_2\text{H}_4\text{NH}+\text{H}]^+$ und 216.0 $[\text{PhSeC}_3\text{H}_6\text{NH}_2+\text{H}]^+$. Nach erfolgter Reinigung zeigt **3** bei einer Retentionszeit $t_R = 7.2$ min den Molekülionenpeak $[\text{M}+\text{H}]^+$ mit $m/z = 569.1$. Für die Modellverbindung **5** wird wie erwartet ein Molekülionenpeak $[\text{M}+\text{H}]^+$ bei einem Wert von $m/z = 842.9$ gefunden. Generell zeigen alle Peaks der Selenverbindungen das für Selen typische Isotopenmuster (^{74}Se , ^{76}Se , ^{77}Se , ^{78}Se , ^{80}Se , ^{82}Se).

2.2.2 ^1H -NMR-Spektroskopie

Neben der LC-gekoppelten Massenspektrometrie ist das wichtigste Mittel für die Charakterisierung der dargestellten Verbindungen die NMR-Spektroskopie. Die Verbindungen dieses Kapitels wurden mittels ^1H -NMR und ^{13}C -NMR spektroskopisch analysiert.

Die mittleren Protonen der Propylkette sind in jedem Fall am weitesten ins Hochfeld verschoben und durch ein deutliches Quintett erkennbar. Für **2** liegt das Signal bei 1.81 ppm, für **3** bei 1.84 ppm (H^6). Als Beispiel ist das ^1H -NMR-Spektrum von **3** abgebildet (siehe Abbildung 2.4).

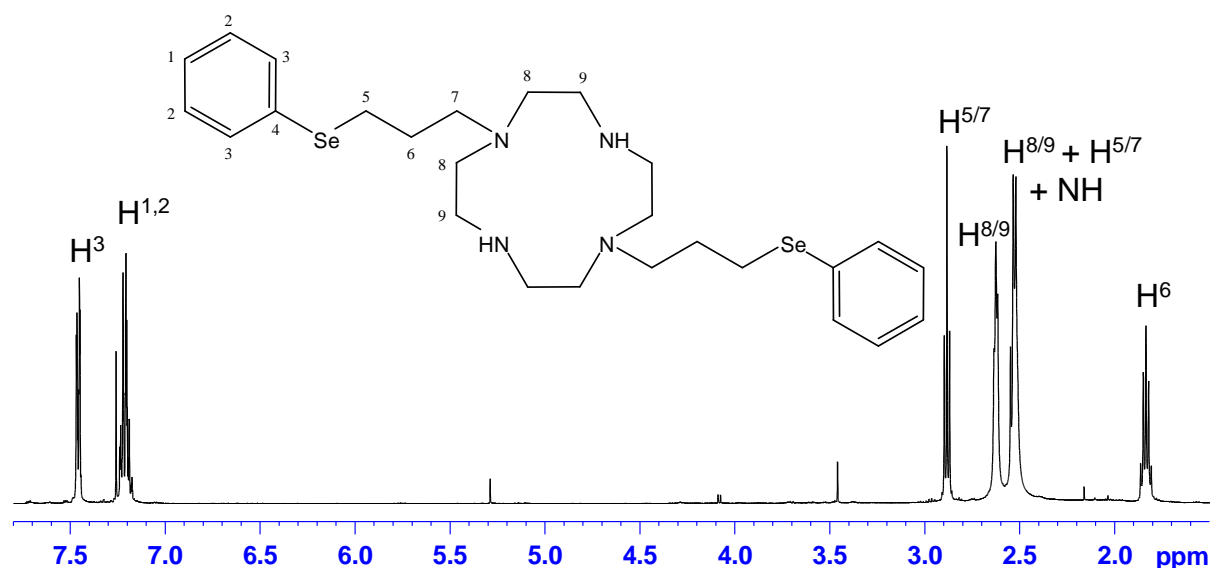


Abbildung 2.4: ^1H -NMR-Spektrum von **3**.

Alle anderen Protonen außer den Phenylischen, geben für **2** ein Multiplett bei 2.88 ppm mit einer Signalhöhe von 18 H. Im Fall von **3** kann man eine weitere Unterscheidung treffen. Bei einer Verschiebung von 2.54 ppm erscheint die Hälfte der Protonen des Cyclen-Ringes (H^8 oder H^9), zusammen mit 4 Protonen der Propylkette (H^5 oder H^7) und der NH-Protonen. Sie geben ein Multiplett von 14 H.

Bei 2.63 ppm (m) befinden sich die anderen 8 Protonen des Ringes (H^8 oder H^9). Ein

Triplett bei 2.88 ppm zeigt die restlichen Protonen (4 H) der Propylkette an (H^5 oder H^7).

Phenylische Protonen sind in ihrer Lage und Aussehen bei allen drei Verbindungen identisch. Weiter tieffeldverschoben, bei ca. 7.5 ppm, erscheinen die dem Selenatom näheren Protonen H^3 . Die jeweils äußeren Protonen ($H^{1,2}$) geben ein Multiplet bei 7.2-7.3 ppm.

Für Modellverbindung **5** werden Signale bei 1.90 ppm, für die mittleren Protonen (H^6) der Propyleinheit gefunden. Deren Nachbarn geben jeweils Triplets bei 2.45 ppm und 2.96 ppm (H^5 und H^7). Die Protonen des Piperazin-Ringes fallen genau mit einem der beiden Triplets (2.45 ppm) zusammen, sodass eine Signalhöhe von 12 H resultiert. Es ergibt sich auch weiterhin ein Triplet mit einer Kopplungskonstante ${}^3J_{HH} = 7.3$ Hz.

2.2.3 ${}^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie

Im Fall von **5** ist eine Zuordnung im Hochfeld des ${}^{13}\text{C}$ -Spektrums vergleichsweise einfach, indem einem der am weitesten hochfeldverschobenen Signale der mittlere Kohlenstoff C^6 , dem anderen der an das Selenatom gebundene Kohlenstoff C^5 , zuzuordnen ist. Das dritte Kohlenstoffatom der Kette (C^7) hat eine Verschiebung von 58.2 ppm. Dieser ist deutlich von den Kohlenstoffen des Piperazin-Ringes (C^8) zu unterscheiden, die bei 53.3 ppm mit einem nahezu doppelt so hohen Signal zu verzeichnen sind (siehe Abbildung **2.5**).

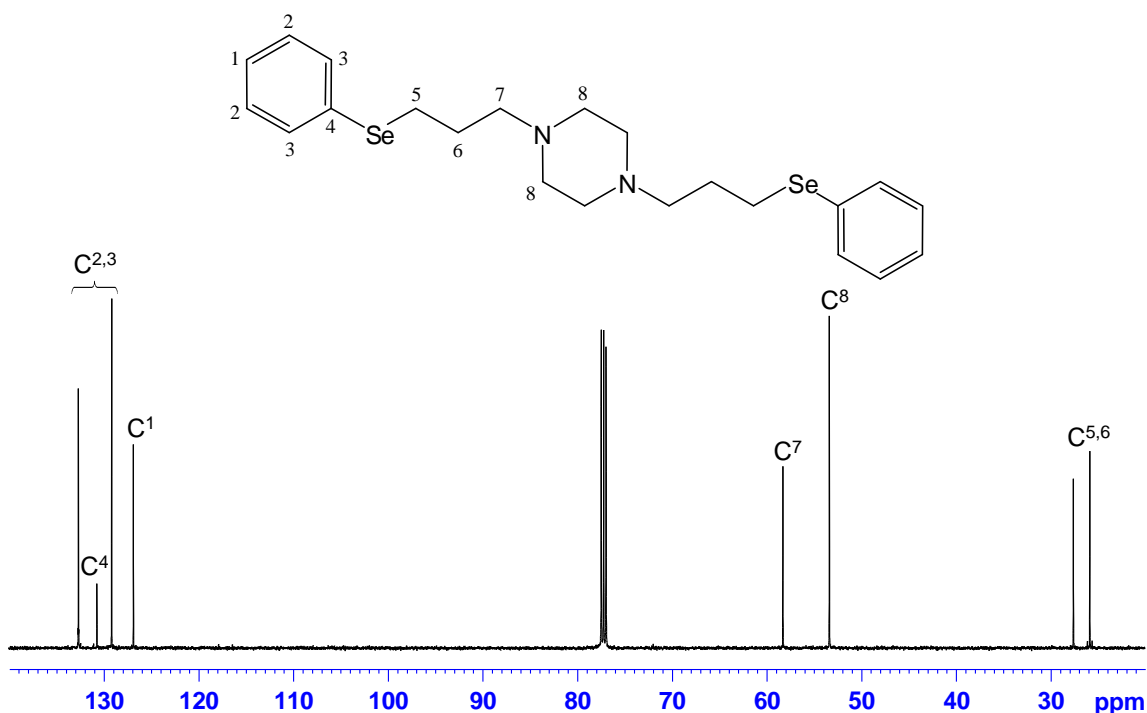


Abbildung 2.5: ${}^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum von **5**.

Bei den Verbindungen **2** und **3** wird die Zuordnung durch den Makrozyklus erschwert.

Es können, in Analogie zu **5**, für **2** die Signale 25.2 ppm, 34.0 ppm und für **3** die Signale 25.8 ppm, 27.4 ppm den C-Atomen C⁵ und C⁶ zugeordnet werden. Alle anderen bleiben ohne eine präzise Zuordnung.

Anhand der Signalhöhen ist es möglich, eine gewisse Zuordnung im phenylischen Bereich zu treffen (**5**, vergleiche Abbildung **2.5**). Das kleinste aller Signale ist der quartäre Kohlenstoff (C⁴) mit einer chemischen Verschiebung von ca. 130 ppm. Das einfach vorkommende Kohlenstoffatom C¹ ist für das nächstgrößere Signal (ca. 127 ppm) verantwortlich. Die zwei verbleibenden Signale gehören zu C^{2,3} und können nicht zugeordnet werden.

Kapitel 3

Multifunktionale Moleküle basierend auf Chinon und Chalkogen

3.1 Synthese und Reaktionsverhalten

Die Synthese von Chinon-Chalkogen-verknüpften Molekülen gelingt im Wesentlichen durch ein Baukasten-Prinzip. Von Seitens der Chalkogen-Einheit (S, Se, Te) wird nur ein Typ an Ausgangsstoff (Amin) verwendet. Dieser reagiert via unterschiedlichen Reaktionstypen und ist damit optimal geeignet, um Chalkogene in eine Vielzahl von Molekülen einzubauen. Auf der anderen Seite kann das Chinon abgeändert werden, was zu einer Reihe chemisch verschiedener bifunktionaler Verbindungen führt.

3.1.1 Aminoalkylierung

Erste bifunktionale Moleküle, welche eine Chinon- (1,4-Naphthochinon) und eine Chalkogen-Funktion in einem Molekül vereinigen, sind durch einfache Aminierungsreaktionen zugänglich. Die Reaktionen verlaufen in Sinne einer Michael-Addition[51, 67, 68].

Um sich mit der Synthese vertraut zu machen, wurde als eine erste Studie eine auch für diese Arbeit durchaus interessant erscheinende, literaturbekannte Verbindung aufgegriffen[51], für die 2 Äquivalente 2-Methyl-1,4-naphthochinon **7** (Menadion) mit 1 Äquivalent 1,4-Bis(3-aminopropyl)piperazin (**6**) in EtOH als Lösungsmittel umgesetzt wird. Als Produkt erhält man die Verbindung 3,3'-Dimethyl-(3,3'-(piperazin-1,4-diyl)bis(propyl-amino))bis(1,4-naphthochinon) (**9**). Wie die Literatur beschreibt, ist die Reinigung dieser Verbindung mit Schwierigkeiten verbunden. Das Produkt konnte demzufolge nach säulen-chromatographischer Reinigung auch nur in einer Ausbeute von 7.4 % erhalten werden.

Für eine Optimierung dieses Synthesetyps wurde deshalb **7** durch 1,4-Naphthochinon

(8) ersetzt (Abbildung 3.1). Nach entsprechend analoger Aufarbeitung zur ersten Reaktion, der säulenchromatographischen Reinigung an Kieselgel und eluieren des Produktes mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5 als Lösungsmittel, erhält man nun 3,3'-(Piperazin-1,4-diyl)bis(propylamino)bis(1,4-naphthochinon) (**10**) als einen leuchtend orangenen Feststoff in einer Ausbeute von 28.9 %. Beide Produkte fallen aus der Reaktionslösung aus, werden abfiltriert und an Kieselgel (Eluent $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5) gesäult.

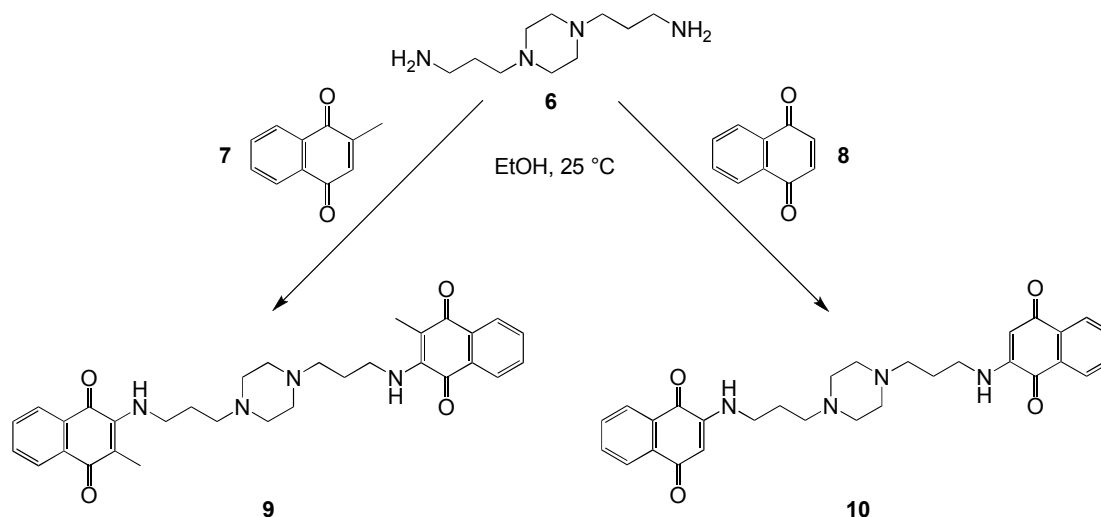


Abbildung 3.1: Synthese von **9**[51] und **10** durch Aminoalkylierung mit 1,4-Bis(3-aminopropyl)piperazin (**6**) an 2-Methyl-1,4-naphthochinon (**7**) bzw. 1,4-Naphthochinon (**8**).

Aufgrund der Kenntnisse aus den vorangegangenen Synthesen, wurde 1,4-Naphthochinon (**8**) jetzt mit geeigneten Aminen zur Reaktion gebracht. Dazu wurden als Amin-Komponenten Verbindungen ausgewählt, welche über eine Aminogruppe verfügen und gleichzeitig ein Chalkogen beinhalten, welches auf diese Art und Weise mit dem Chinon verknüpft werden kann.

Die eingesetzten Edukte 3-(Phenylthio)propan-1-amin (**11**) und 3-(Phenylselenyl)propan-1-amin (**12**) sind literaturbekannte Verbindungen und chemisch einfach zugänglich (siehe Kapitel 9).

1 Äquivalent 1,4-Naphthochinon wird mit 1 Äquivalent des entsprechendenamins, ebenfalls in Ethanol, für drei Tage bei Raumtemperatur und unter Lichtausschluss, an der Luft (in einem geöffneten Kolben), gerührt. Beide Produkte fallen vollständig aus der Reaktionslösung aus, können damit einfach abfiltriert und danach sehr gut an Kieselgel (Eluent CH_2Cl_2) chromatographiert werden. Man erhält 2-(3-(Phenylthio)propylamino)-1,4-naphthochinon (**14**) und 2-(3-(Phenylselenyl)propylamino)-1,4-naphthochinon (**15**) als leuchtend orange Feststoffe in Ausbeuten von 27.3 % (**14**) und 20.3 % (**15**).

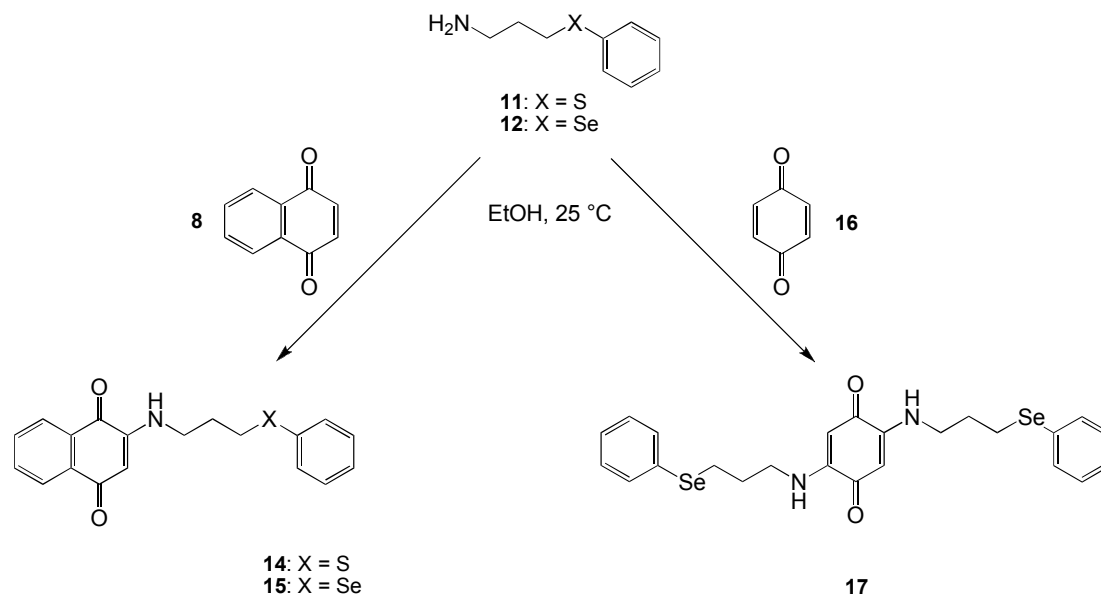


Abbildung 3.2: Darstellung von 2-(3-(Phenylthio)propylamino)-1,4-naphthochinon (**14**) und 2-(3-(Phenylselenyl)propylamino)-1,4-naphthochinon (**15**) und 2,5-Bis(3-(phenylselenyl)propylamino)-1,4-benzochinon (**17**).

Die Umsetzung von 2-Methyl-1,4-naphthochinon (**7**) mit **12** führte wie erwartet zu keinem Ergebnis.

Auch ein Einsetzen des analogen tellurhaltigen Ausgangsstoffes 3-(Phenyltelluryl)propan-1-amin (**13**) führt nicht zum gewünschten Produkt.

Die Reaktion konnte aber auf 1,4-Benzochinon (**16**) erweitert und die disubstituierte Verbindung 2,5-Bis(3-(phenylselenyl)propylamino)-1,4-benzochinon (**17**) als ein roter Feststoff in einer Ausbeute von 34,5 % erhalten werden (Verbindungen **14**, **15**, **17** siehe Abbildung 3.2). Dazu wird **16** mit 2 Äquivalenten **12** zur Reaktion gebracht. Da bei dieser Reaktion nur wenig Feststoff ausfällt und sich bei der DC-Kontrolle herausgestellt hat, dass sich auch Produkt in Lösung befindet, muss daher das komplette Reaktionsgemisch eingengt und säulenchromatographisch gereinigt werden (Eluent CH_2Cl_2).

Alle Produkte sind Feststoffe, die sich in CHCl_3 und CH_2Cl_2 , aber nicht in EtOH lösen. In DMSO sind sie durch Ultraschall gut löslich. Es wurde keine zweifach- (**14**, **15**), dreifach- oder vierfach-Substitution (**17**) beobachtet.

14 und **15** sind Kombinationen aus Naphthochinon und jeweils einem Chalkogen (S oder Se). Molekül **17** besitzt dagegen drei potentielle Redox-Zentren, neben des (Benzo-) Chinons hat es zwei Selenatome, die biologisch aktiv sein können. Inwieweit es ein Vorteil bedeutet zwei Selenatome - anstelle von nur einem - im Molekül zu haben, muss sich

allerdings erst zeigen. Die Methode hat den Nachteil, dass keine Verbindung mit Tellur zugänglich war. Ein Vergleich in der Wirkung der Substanzen kann dadurch nur zwischen der einfach- (**15**) und zweifach-substituierten (**17**) Verbindung bzw. der Schwefel-äquivalenten Verbindung zu **15** (Verbindung **14**) geschehen.

3.1.2 Peptidkupplung

Durch direkte Aminierung an der Chinon-Struktur war es nicht möglich, entsprechende Tellurprodukte zu erhalten. In diesem Kapitel wird deshalb ein Alternativweg für die Synthese von Chinon-Tellur-Verbindungen aufgezeigt, der auch das Einbringen von Tellur in vergleichbare, einfache Moleküle (wie die oben gezeigten) gestattet.

Zur Einführung des Chalkogens (S, Se, Te) in die Verbindungen dienen dazu die auch zuvor verwendeten Amine des S, Se, Te als Bausteine. Sie sind verhältnismäßig leicht und in den benötigten (größeren) Mengen zugänglich und bieten sich deshalb als Ausgangsverbindungen zur Umsetzung in Peptidkupplungsreaktionen optimal an.

Dazu werden am Chinon-Grundkörper Carboxyalkyleinheiten eingeführt. Unter oxidativer Decarboxylierung der Säure, die in Gegenwart von Ammoniumperoxodisulfat durch Silbersalze katalysiert wird, wird 2-Methyl-1,4-naphthochinon (**7**) als auch 2,5-Dimethyl-1,4-benzochinon (**18**) mit einem Überschuss an Glutarsäure umgesetzt[51, 69]. Die Produkte 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (**19**) und 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)dibutansäure (**20**) sind in Abbildung 3.3 dargestellt.

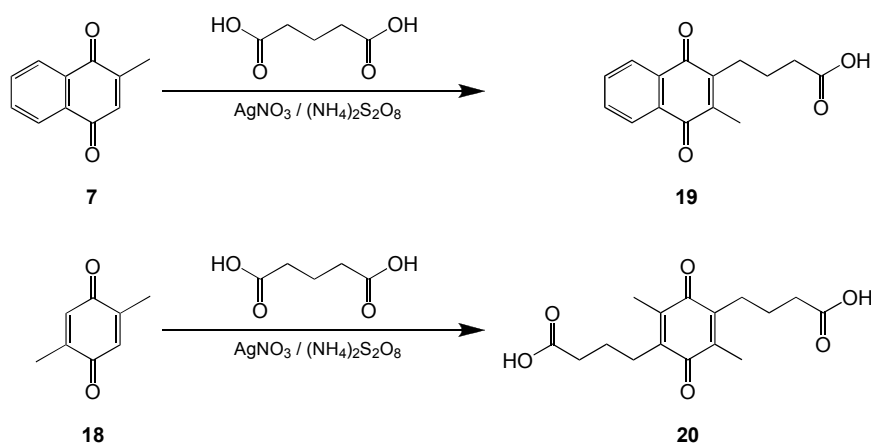


Abbildung 3.3: Darstellung von 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (**19**) und 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)dibutansäure (**20**).

Ausgehend von **19** und **20** gelingt es, die einfach substituierten 1,4-Naphtho- (Verbindungen **21**, **22**, **23**) als auch die chalkogenhaltig disubstituierten 1,4-Benzochinone

(Verbindungen **24**, **25**, **26**) zu synthetisieren (Abbildung 3.4).

Die Reaktionen laufen in Gegenwart von stöchiometrischen Mengen N-Methylmorpholin (NMM) und Chlorameisensäureethylester ab (jeweils 1 Äquivalent).

Die Ansätze werden in den jeweilig für die Produkte erforderlichen stöchiometrischen Verhältnissen der Ausgangsstoffe von 1:1 bzw. 1:2 durchgeführt. Alle Produkte sind in guten Ausbeuten darstellbar. Man erhält nach Säulenchromatographie an Kieselgel, mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98:2 bzw. $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5 als Eluenten, die Substanzen als hellgelbe und braungelbe Feststoffe.

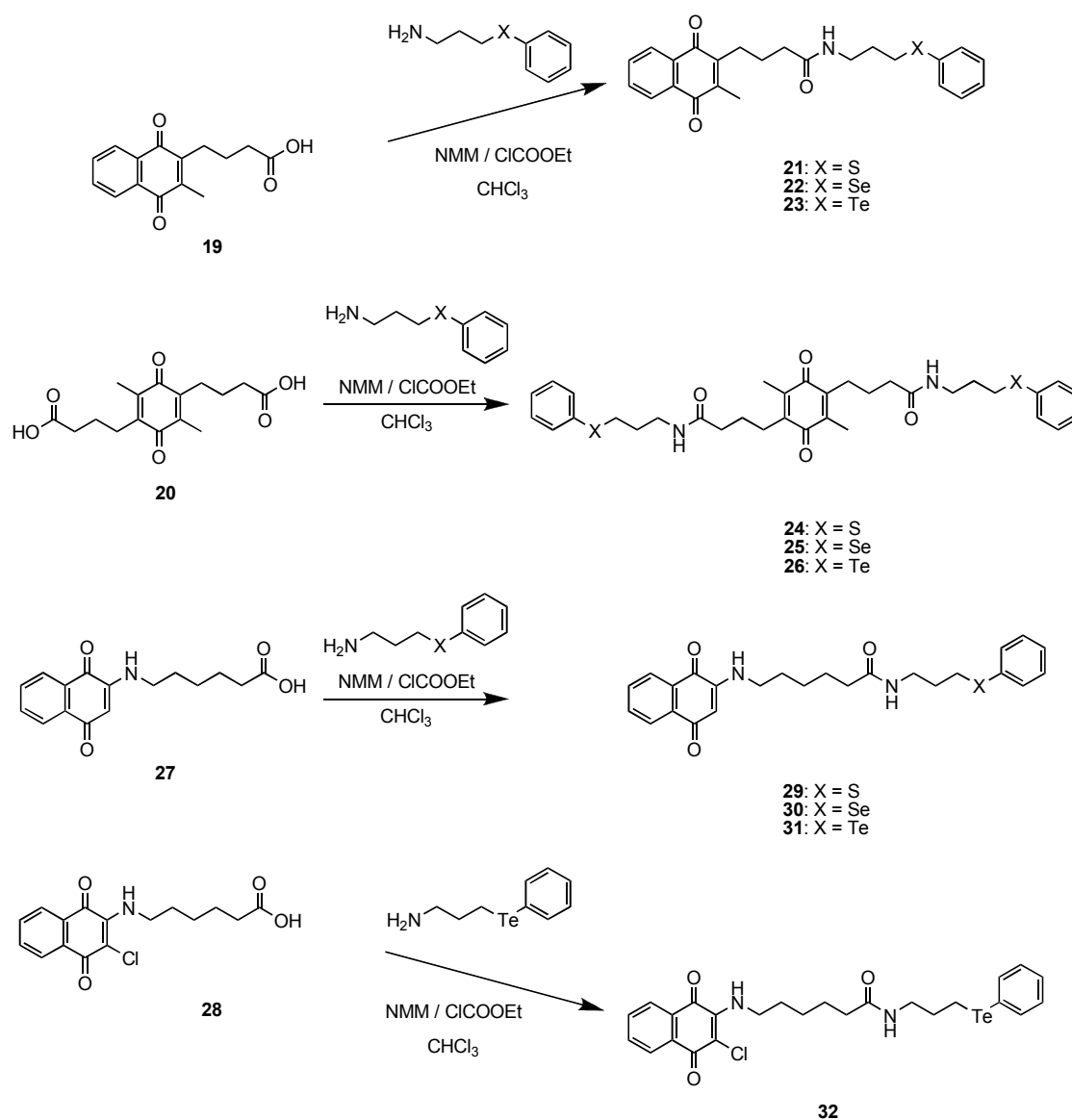


Abbildung 3.4: Übersicht über die Synthese von Verbindungen durch Peptidkupplung.

Um die Methode der Aminoalkylierung (Kapitel 3.1.1) weiter zu nutzen, sind gleicher-

maßen ausgehend von 1,4-Naphthochinon durch Michael-Additions-ähnliche Reaktionen Aminosäure-Derivate, wie **27**, synthetisierbar.

Demnach wird aus 1,4-Naphthochinon (**8**) und 6-Aminohexansäure, das Edukt 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)hexansäure[67] (**27**) dargestellt. Ausgehend von diesem, und 6-(3-Chlor-1,4-Naphthochinon-2-ylamino)hexansäure[67] (**28**), gelang im Rahmen dieser Arbeit ein weiterer Zugang zu schwefel-, selen- als auch zu tellurhaltigen Verbindungen. Zu **28** gelangt man ausgehend von 2,3-Dichlor-1,4-naphthochinon, indem es mit 2 Äquivalenten 6-Aminohexansäure 24 h unter Rückfluss gekocht wird[67]. Das zweite Chloratom des Ausgangstoffes wird dabei nicht substituiert.

Bei derselben Reaktionsführung wie bei den vorherigen Peptidkupplungen werden erhalten: 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenylthio)propyl)hexanamid (**29**), 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenylselenyl)propyl)hexanamid (**30**) und 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenyltelluryl)propyl)hexanamid (**31**) (Abbildung **3.4**). Die Synthese liefert die Produkte in guten Ausbeuten. Die Tellurverbindung lässt sich sogar in einer Ausbeute von 70.6 % erhalten.

Bei äquivalenter Durchführung der Kupplung mit dem Edukt **28** wird das Produkt 6-(3-Chlor-1,4-naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenyltelluryl)propyl)hexanamid (**32**) mit einer Ausbeute von 40.1 % isoliert. Das verbleibende, sich in 3-Position des Chinons befindende Chloratom wurde in dieser Arbeit nicht weitersubstituiert, könnte in Folgearbeiten aber durchaus dazu benutzt werden, um (asymetrische) Moleküle mit drei Redox-Zentren zu bilden.

21-26 sind in CHCl_3 , CH_2Cl_2 und in DMSO löslich. **29**, **30**, **31** und **32** zeigen hingegen auch eine gute Löslichkeit in EtOH, was sich als vorteilhaft für Zellkulturstudien und für die zukünftige Anwendung erweisen kann.

Als Modellverbindungen ohne Chalkogen, aber mit Piperazin als zentrales Element, wurden durch Peptidkupplung zwei neue Verbindungen, **33** und **34**, synthetisiert (siehe Abbildung **3.5**).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass über Peptidkupplungen ein Zugang zu schwefel-, selen- als auch zu tellurfunktionalisierten Verbindungen eröffnet werden konnte. Durch die Wahl unterschiedlicher Säuren gestattet uns die Reaktion das gleichzeitige Verbinden von zwei Chalkogen-Bausteinen mit einer Benzochinon-Einheit. Dies entspricht gewissermaßen dem Fall der Aminierung. Im Gegensatz zu Aminierung ist aber die Peptidkupplung mit Selen als auch mit Tellur möglich. Dies ist umso wichtiger, da mit dieser relativ einfachen und universell anwendbaren Methode auch komplizierte chalkogenhaltige

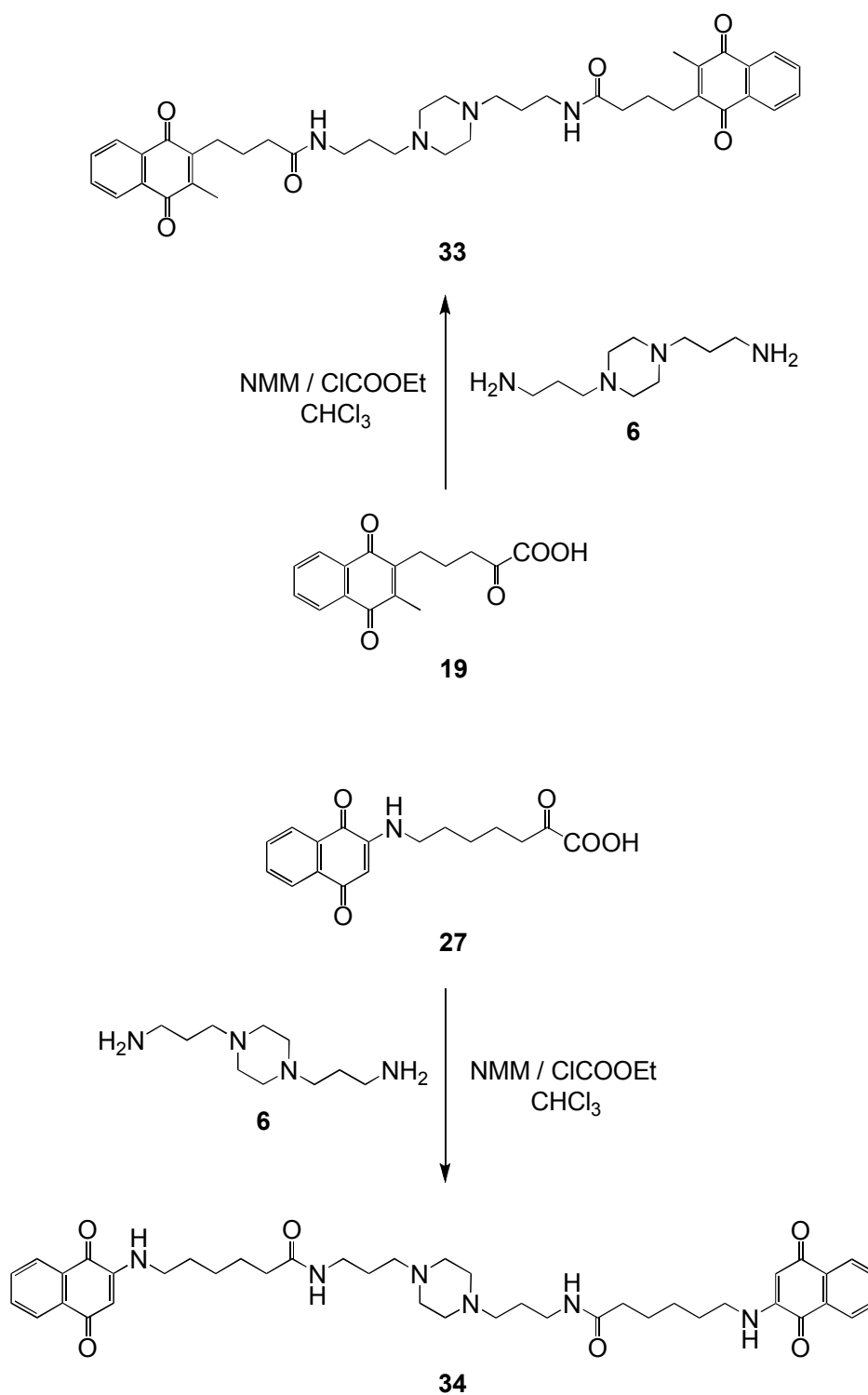


Abbildung 3.5: Synthese der Modellverbindungen **33** und **34** durch Peptidkupplung.

Verbindungen mit zwei, drei und mehr Redox-Zentren zugänglich sind. Eine Alternative wären Multikomponenten-Reaktionen (z.B. Passerini- oder Ugi-Reaktionen). Alles in allem entstehen zwischen Chinon- und Chalkogen-Einheit auch verschiedene Spacer, die bei Peptidkupplung länger als bei Aminierung sind.

3.2 Charakterisierung

3.2.1 Massenspektrometrie (LC-MS)

Für die Schwefelverbindung **14** konnte kein Massenspektrum erhalten werden, da diese Verbindung offensichtlich weder positiv noch negativ ionisiert werden konnte.

Alle anderen synthetisierten Verbindungen werden durch den Molekülionenpeak $[M+H]^+$ mit einer relativen Häufigkeit von 100 % charakterisiert (vgl. Kapitel 11). Selen- und Tellurverbindungen zeigen dabei die entsprechenden Isotopenverteilungen von Selen bzw. Tellur.

3.2.2 ^1H -NMR-Spektroskopie

In allen Fällen liegen die chinoiden Protonen zwischen chemischen Verschiebungen von 7.60 ppm und 8.10 ppm. Im Spektrum von **15** und deren schwefelanaloger Verbindung **14** liegen für die vier unterschiedlichen Protonen vier voneinander getrennte Signalgruppen nebeneinander, die zwei Dublett von Dublett (dd) und zwei Dublett von Triplet (dt) erkennen lassen (siehe 3.2.4). Selbes gilt für die Verbindungsgruppe **29**, **30**, **31**, **32**.

Abbildung **3.6** zeigt den Vergleich der ^1H -NMR-Spektren von **21**, **22** und **23**. In den **21** analogen Verbindungen liegen die Signalsätze von $\text{H}^{5,8}$ bzw. $\text{H}^{6,7}$ sehr dicht beieinander. Das stärker tiefeldverschobene Multiplett ist dabei den Protonen $\text{H}^{5,8}$ zuzuordnen. Das entsprechend andere ist das Protonensignal von $\text{H}^{6,7}$.

Die phenylischen Protonen äußern sich bei Selenverbindungen immer in zwei Multipletts. Das abgebildete Beispiel **22** zeigt ein Multiplett von 3 H bei 7.23 ppm, welches den Protonen $\text{H}^{19,20}$ zuzuordnen gilt. Die verbleibenden zwei Protonen H^{18} geben ein weiteres Multiplett bei 7.48 ppm.

Bei Schwefel- und Tellur-Verbindungen sind immer drei verschiedene Protonengruppen der Phenylgruppe sichtbar. Für Schwefelphenyle liegen sie direkt nebeneinander. Verbindung **21** zeigt stellvertretend drei Multipletts mit Verschiebungen bei 7.14 ppm, 7.24 ppm und 7.31 ppm. Zwei der Multipletts haben Integrale von 2 H (H^{18} , H^{19}). Das am weitesten hochfeldverschobene Multiplett mit dem Integral 1 H ist dem Proton H^{20} zuzuweisen.

Wie bei den zuvor besprochenen Verbindungen wird das Signal der Höhe 1 H bei der chemischen Verschiebung 7.26 ppm dem einfach vorkommenden Proton in **23**, H²⁰, zugeordnet. Tellurverbindung **23** zeigt, dass ein Multiplett (2 H) des Phenyls (H¹⁸) mit den Protonen H^{6,7} des Chinons nahezu zusammenfällt (7.72 ppm und 7.69 ppm). Bei den Verbindungen **31** und **32** kommt es zu einer Überlagerung mit H⁶ (siehe Kapitel 11). Ausgehend von Schwefel über Selen hin zur Tellurverbindung findet eine Tieffeldverschiebung von H¹⁸ statt. H²⁰ wird dabei leicht tieffeldverschoben und H¹⁹ leicht hochfeldverschoben.

Die Zuordnung im Phenylbereich von Verbindungen mit XPh (X = S, Se, Te) kann auch durch Inkrementrechnung bestätigt werden.

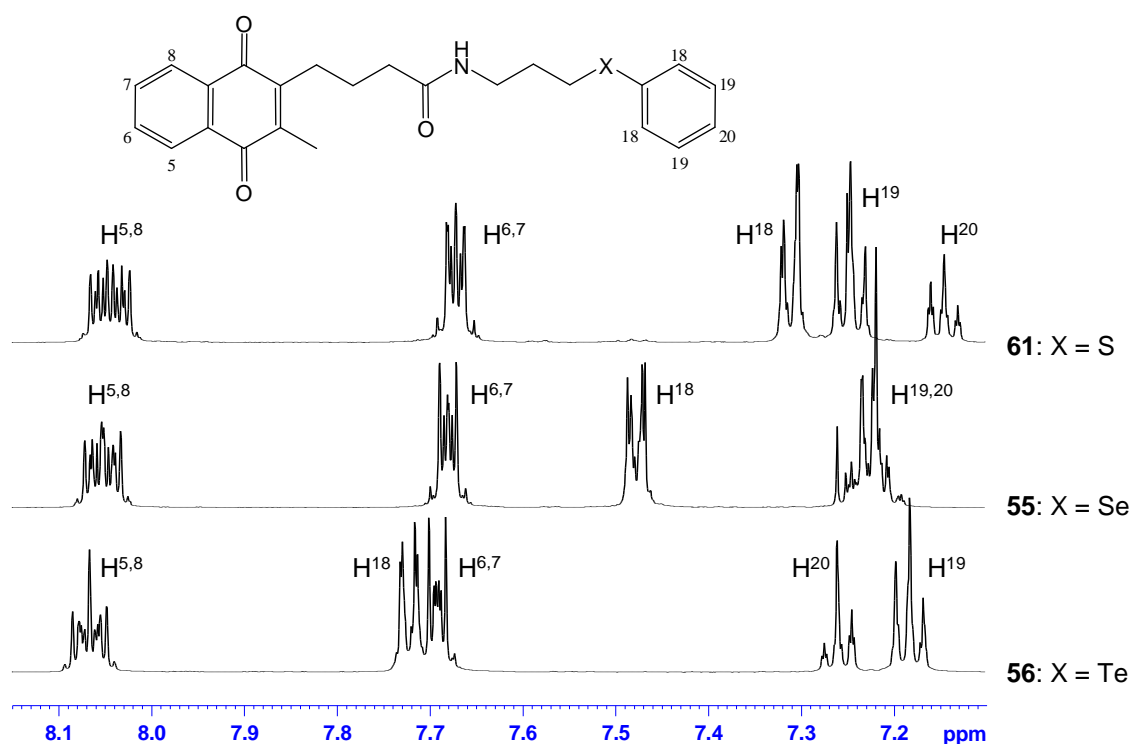


Abbildung 3.6: Ausschnitte aus den ¹H-NMR-Spektren von **21**, **22** und **23**.

In analoger Weise treten die phenylischen Einheiten der benzochinonfunktionalisierten Moleküle **17**, **24**, **25** und **26** in deren ¹H-NMR-Spektren auf (siehe Kapitel 11).

Die Zuordnung innerhalb der Spacer ist bei den kleineren Molekülen wie **15** noch relativ leicht zu treffen. Gegenüber der NH-gebundenen CH₂-Gruppe (H¹⁰) ist die am Selen gebundene CH₂-Gruppe (H¹²) weiter hochfeldverschoben. Außerdem zeigt die selengebundene Gruppe nur ein Triplet (2.97 ppm), wohingegen H¹⁰ durch die Nachbarschaft mit NH in ein Quartett (3.31 ppm) aufspaltet. Die „mittlere“ CH₂-Gruppe der Propylkette (H¹¹) kann anhand ihrer Lage und Aufspaltung zugeordnet werden. Sie zeigt ein Quintett bei einer chemischen Verschiebung von 2.01 ppm. Die zu **15** äquivalenten Verbindungen (**14**, **17**) zeigen dieselben Verhältnisse.

In ^1H -Spektren der als Modellverbindungen gedachten Piperazin-Chinone **9** und **10** ist die am Piperazin-Baustein direkt gebundene CH_2 -Gruppe mit der an Selen gebundenen Gruppe vergleichbar. Es resultieren Verschiebungswerte der Triplets von 2.52 ppm (**9**) und 2.65 ppm (**10**). Die chemische Umgebung von H^{10} bleibt gleich (3.68 ppm, 3.29 ppm).

Verbindungen **21-23** besitzen 6 verschiedene CH_2 -Gruppen innerhalb der Propyleinheiten. Zwei „mittlere“ CH_2 -Gruppen erzeugen jeweils ein Quintett zwischen 1.8 ppm und 2.0 ppm. Dabei ist ohne 2D-Methoden nicht ersichtlich welche CH_2 -Gruppe aus welcher Propylkette stammt. In allen Verbindungen kann die am tieffeldverschobenste CH_2 -Gruppe wieder der NH-CH_2 -Gruppe zugeordnet werden (Quartett). Es verbleiben drei Triplets ohne Zuordnung. Anhand der Tellurverbindung **23** wurde durch verschiedene COSY-Experimente die exakte Zuordnung getroffen (siehe 3.2.4).

Ein ähnliches Zuordnungsproblem zeigen Verbindungen der Reihe **29-32**. Durch den längeren Spacer und das Vorhandensein von zwei NH -Funktionen ist die Zuordnung erschwert. Durch Vergleiche mit anderen Verbindungen können aber alle „mittleren“ CH_2 -Gruppen eine Zuordnung finden. Das „mittlerste“ CH_2 der Pentylkette ist gegenüber dem der Propylkette deutlich tieffeldverschobener (beide 2 H). Die anderen zwei „mittleren“ CH_2 der Pentylkette geben ein Multiplett, das allein schon durch seine Integralthöhe mit 4 H von allen anderen unterscheidbar ist. Viele Verbindungen haben gezeigt, dass eine Verschiebung um einen Wert von 3.0 ppm der dem Chalkogen benachbarten CH_2 -Gruppe zugeordnet werden kann. Die Triplettstruktur an dieser Stelle kann eine solche Zuordnung bestätigen. Die beiden NH-CH_2 -Einheiten können nicht ohne Korrelationsspektroskopie unterschieden werden. 2D-Messungen wurden für **30** und **31** angestellt und bestätigen die Zuordnungen in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren (siehe 3.2.4).

3.2.3 $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektroskopie

Alle Verbindungen die auf 1,4-Naphthochinon zurückzuführen sind, zeigen im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum ein Signal bei ca. 101 ppm, welches dem in 3-Position befindlichen Kohlenstoff gehört (C^3). Für Verbindung **17**, die 1,4-Benzochinon als Chinonbaustein beinhaltet, wird ein ebensolches Signal bei 93.2 ppm erhalten. Desweiteren ist in solchen Verbindungen ein Signal für das quartäre C-Atom - an welchem die Seitenkette eingeführt worden ist - erkennlich (C^2). Dessen Verschiebung liegt aufgrund der NH -Substitution bei einem Wert von ca. 148 ppm, d.h. abseits anderer Signale. Dies betrifft die Verbindungen **30**, **31**, **29**, **14** und **15**. Bei **17** ist das Signal leicht verschoben und liegt aufgrund der Benzochinon-Einheit bei 151.1 ppm. In allen methylsubstituierten Chinonen ist die Trennung von C^2 und C^3 schwierig.

Tellurhaltige Moleküle geben ein Signal für den quartären Kohlenstoff des Phenylrin-

ges bei 111.6 ppm (**23**, **26**, **31**, **32**). Außerdem verschiebt Tellur das Signal der an es gebundenen CH₂-Gruppe weit in Richtung Hochfeld, so dass dies deutlich im Spektrum erkennbar wird. Die Verbindungen **31**, **32**, **23** und **26** haben Signale bei einem Wert von 5.1-5.2 ppm.

Für alle Verbindungen gilt, dass die Kohlenstoffverschiebungen der Carboxylfunktionen weit im Tieffeld bei Verschiebungen von 182 ppm und 183 ppm liegen. Bei Verbindungen, die durch Peptidkupplung erzeugt worden sind, tritt ein zusätzliches Signal bei ca. 172 ppm auf.

Alle anderen chinoiden C-Atome liegen dicht beieinander. Durch ihre verschiedenen Signalintensitäten lassen sich Zuordnungen für Signalgruppen angeben, einzelne Signale können aber nicht detailliert identifiziert werden. Wie die Kohlenstoffe der Spacerketten sind diese nur anhand von Korrelationen zuzuordnen. Für Zuordnungen der einzelnen Verbindungen siehe Kapitel 11.

3.2.4 2D-NMR-Spektroskopie

Die Verbindungen dieses Kapitels eignen sich gut, um neben der üblichen ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie auch zweidimensionale Methoden wie HH-COSY (Correlation Spectroscopy), HC-HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence), HC-HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) anzuwenden. Die Kombination verschiedener 2D-Experimente ist dabei unentbehrlich. Im Folgenden werden anhand einiger Beispiele die gewonnenen Aussagen erläutert.

3.2.4.1 HH-COSY (Correlation Spectroscopy)

Das einfachste aller 2D-Verfahren ist die HH-COSY-Spektroskopie (Korrelation von Protonen). Mit Hilfe dessen können die Nachbarschaftsverhältnisse der Protonen z.B. innerhalb des Chinons aufgeklärt werden. Ein Beispiel eines HH-COSY-Spektrums der Naphthochinon-Einheit ist in Abbildung **3.7** dargestellt. Es ist ein Ausschnitt des Spektrums von **15**. Jedes Proton des Chinons (H⁵⁻⁸) zeigt im ¹H-NMR-Spektrum eine charakteristische Aufspaltung. Zwei Protonen sind etwas stärker tieffeldverschoben und lassen jeweils ein Dublett von Dublett (dd) erkennen, die zwei anderen Protonen sind als Dublett von Triplet (dt) sichtbar. Aufgrund der Kopplungen ist naheliegend, dass die Signale mit den Kopplungsmustern dt den Protonen H⁶ und H⁷ zugeordnet gehören.

Die nicht auf der Diagonale liegenden Kreuzsignale zeigen Kopplungen zwischen den in direkter Nachbarschaft stehenden Protonen an (³J-Kopplungen). Es ist erkennbar, dass

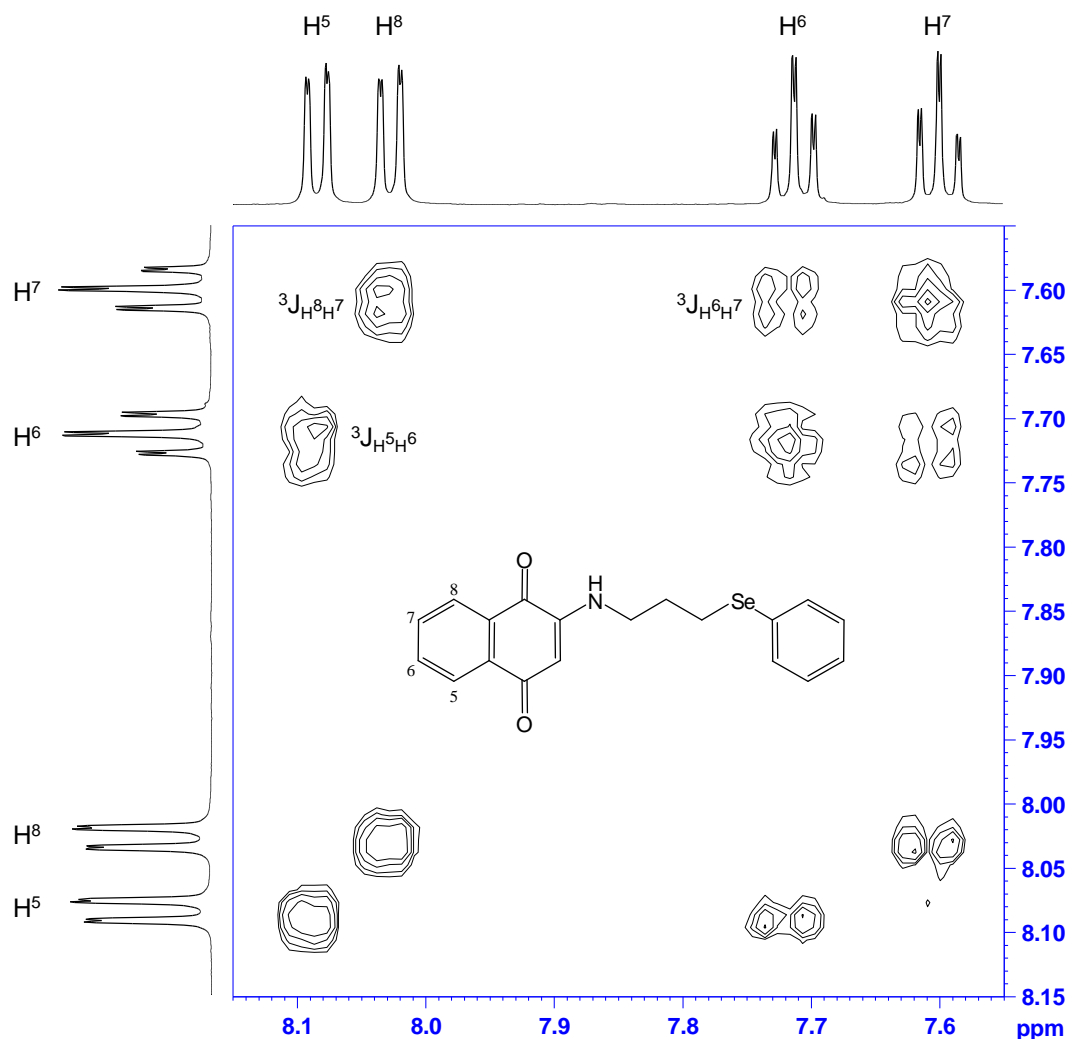


Abbildung 3.7: Ausschnitt aus dem HH-COSY-Spektrum von 15.

die Protonen H⁵ bzw. H⁸ mit H⁶ bzw. H⁷ koppeln und umgekehrt. Das mit der chemischen Verschiebung von 8.10 ppm am weitesten tieffeldverschobene Proton H⁵ ist der Nachbar des Protons bei 7.72 ppm, H⁶. Das entsprechend andere zusammengehörende Paar an Protonen gibt ein zweites Kreuzsignal aus 8.03 ppm und 7.61 ppm (H⁸ koppelt mit H⁷). Ein drittes Kreuzsignal zwischen 7.72 ppm und 7.61 ppm vervollständigt das Spektrum, was bedeutet, dass H⁶ und H⁷ nebeneinander angeordnet sind.

Mittels HH-COSY-Spektroskopie kann demnach die Reihenfolge der CH-Gruppen mit CH⁵-CH⁶-CH⁷-CH⁸ festgelegt werden, aber nicht deren genaue Anordnung innerhalb des Ringes. Die Signale könnten genau spiegelverkehrt vergeben werden, sodass H⁵ dem Signal von H⁸ und H⁶ dem Signal von H⁷ und umgekehrt zugeordnet werden würde. Abbildung 3.7 zeigt die tatsächliche Anordnung, die durch HC-HMBC (HC-Korrelation über mehrere

Bindungen) getroffen worden ist.

Die gemeinsame, sich einander ergänzende Auswertung aller 2D-Spektren macht selbst in den langkettig substituierten Molekülen wie **30** oder **31** eine vollständige Aufklärung möglich.

Das HH-COSY-Spektrum von **31** zeigt (Abbildung 3.8), dass selbst die zwei verschiedenen NH-Gruppen ihre Zuordnung bekommen. H^9 und H^{16} koppeln mit ihren Nachbarn H^{10} bzw. H^{17} in 3J -Kopplungen.

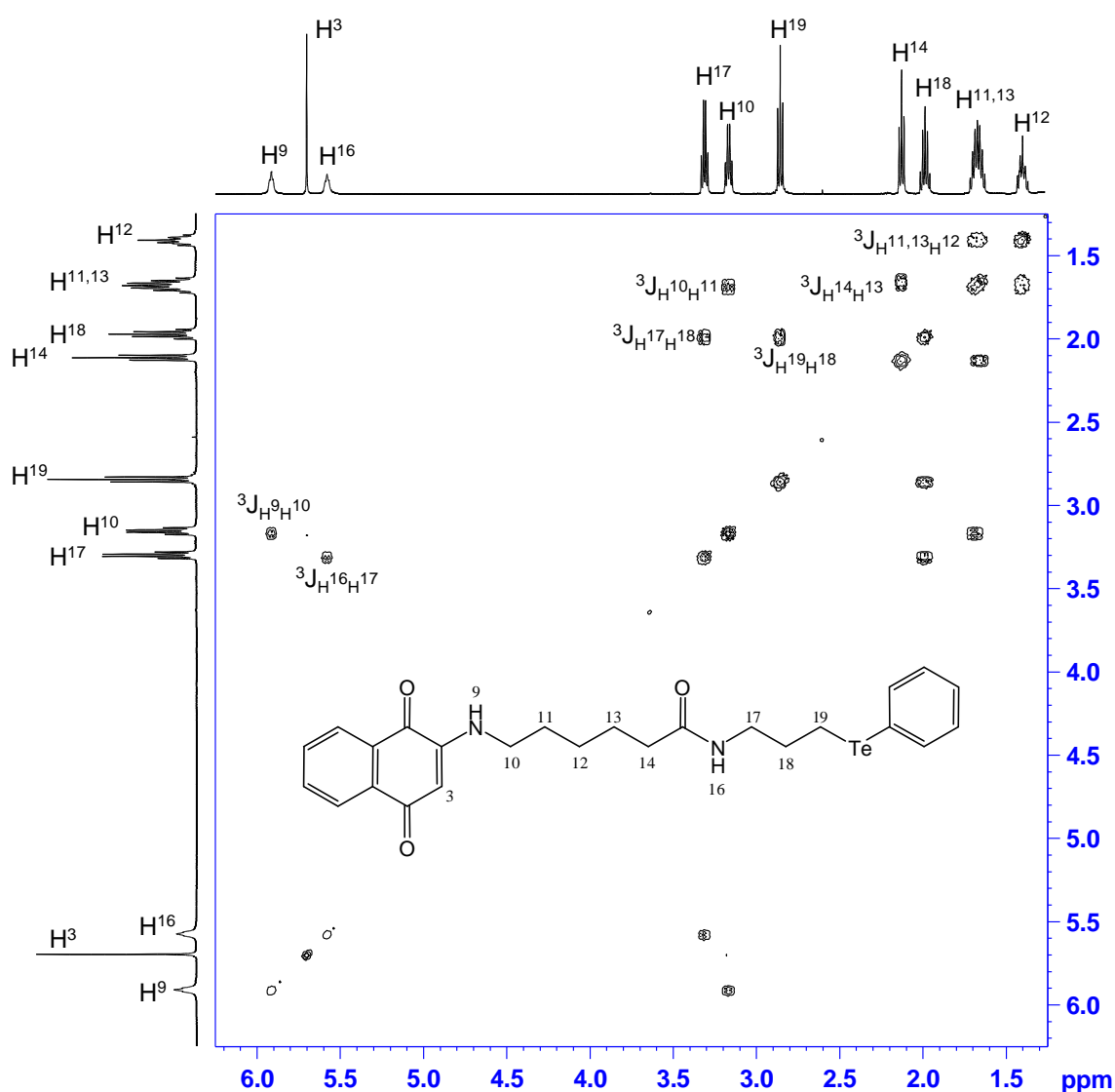


Abbildung 3.8: Ausschnitt aus dem HH-COSY-Spektrum von **31** mit Zuordnung der Signale.

Die „mittleren“ Wasserstoffe $H^{11,12,13}$ und H^{18} sind am weitesten hochfeldverschoben und typisch für ihre chemische Umgebung als Multipletts zu finden. $H^{17,19}$ (3.31 ppm, 2.86 ppm) zeigen Kreuzsignale mit H^{18} (1.99 ppm). Das gleiche gilt für H^{12} (1.40 ppm),

welches mit $H^{11,13}$ (1.67 ppm) koppelt. H^{10} und H^{14} (3.17 ppm, 2.13 ppm) koppeln beide in das Multiplett bestehend aus $H^{11,13}$.

3.2.4.2 HC-HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence)

Um die Zusammenhänge zwischen Kohlenstoffen und direkt gebundenen Protonen zu erkennen, bedient man sich einer einfachen HC-Korrelation wie der HC-HSQC-Spektroskopie (direkte HC-Kopplung). HC-HSQC-Spektren sind einfach zu interpretieren und erweisen sich bei detaillierten Signalzuordnungen der hier synthetisierten Moleküle als sehr nützlich. Jede HC-Kopplung über eine Bindung ergibt ein Korrelationssignal. Hat man aber keine Kenntnisse über die Zuordnung in entweder Protonen- oder ^{13}C -Spektrum, z.B. aus anderen COSY-Spektren, können durch sie, analog zur HH-COSY-Spektroskopie, die Moleküle nicht allein aufklärt werden.

Beispielhaft ist in folgender Abbildung (Abbildung 3.9) ein Ausschnitt des HC-HSQC-Spektrums von **23** gezeigt.

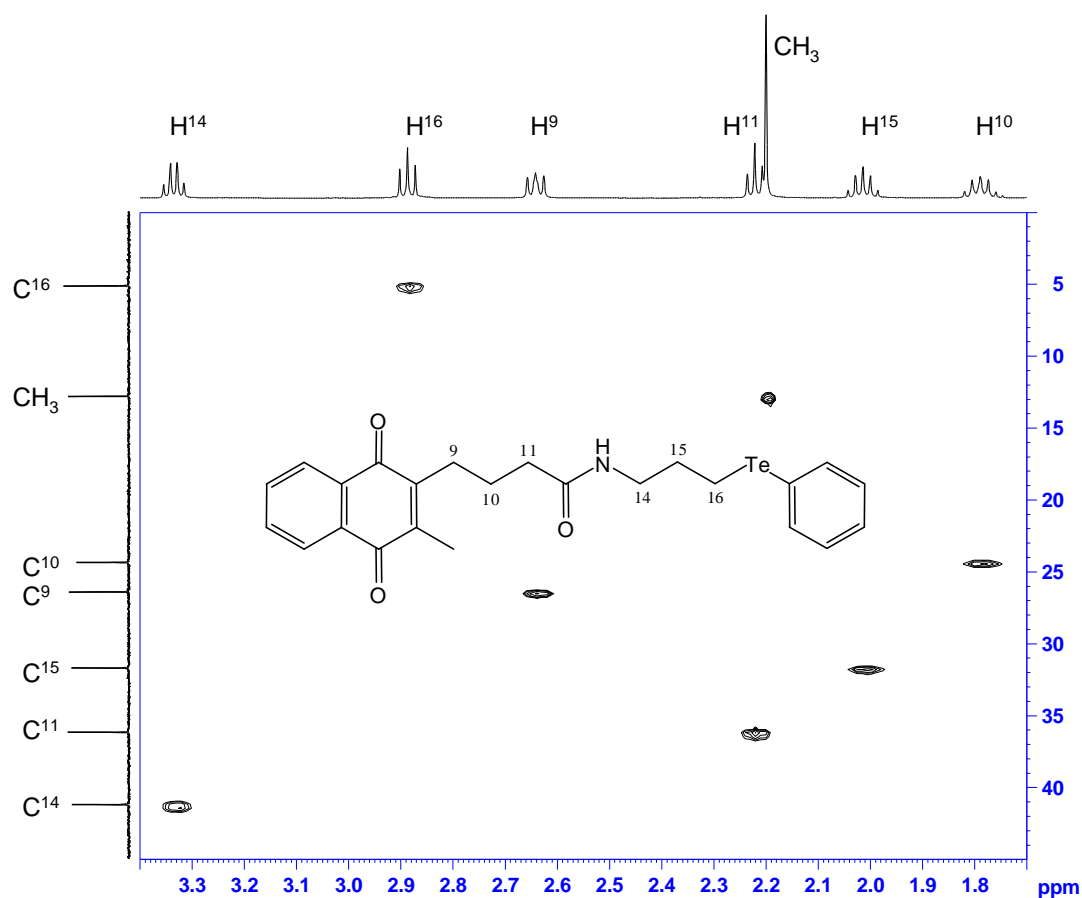


Abbildung 3.9: Ausschnitt aus dem HC-HSQC-Spektrum von **23**.

Im ^{13}C -NMR-Spektrum von **23** geht die CH_3 -Gruppe nicht als ein höheres Signal hervor und ist deshalb schwer zuzuordnen. Das Kreuzsignal des Korrelationsspektrums zeigt die eindeutige Zuordnung der Gruppe zum ^{13}C -Signal bei 12.9 ppm. Die Zuordnung der anderen Signale ist nicht direkt aus diesem Spektrum ersichtlich und vorweggenommen worden. Unabhängig davon, welche Zuordnungen schon hinter den einzelnen Protonen stehen, ist deutlich erkennbar an welchen Kohlenstoffsignal sie gebunden sind.

3.2.4.3 HC-HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)

HC-HSQC-Spektren geben zwar jeden einzelnen HC-Zusammenhang wieder, aber erst durch HC-HMBC-Experimente (HC-Korrelation über mehrere Bindungen, long range-Kopplungen) kann eine entgültige Signalzuordnung erfolgen. Abbildung 3.10 zeigt einen Ausschnitt aus dem HC-HMBC-Spektrum von **30**.

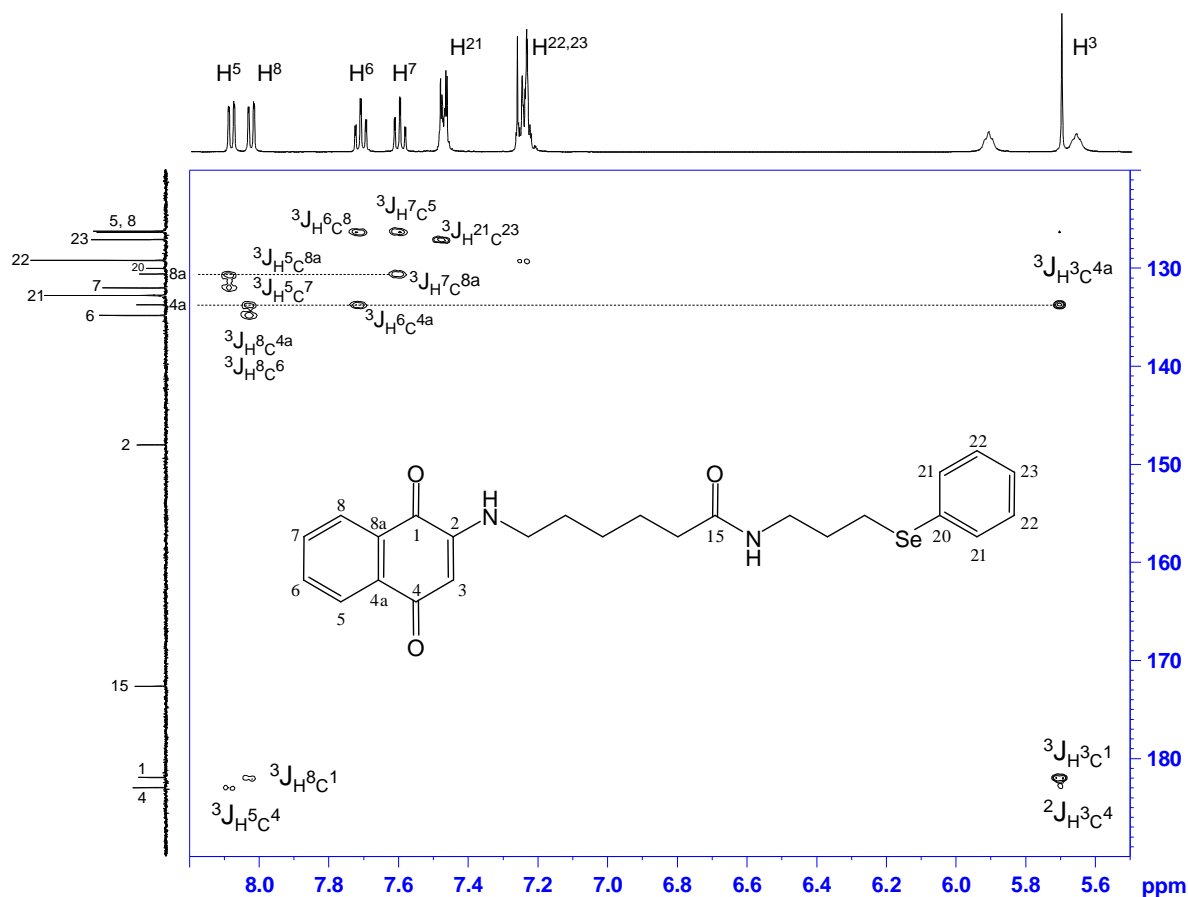


Abbildung 3.10: Ausschnitt aus dem HC-HMBC-Spektrum von **30** mit Zuordnung der Signale.

Aus dem ^1H -NMR-Spektrum von **30** ist bekannt, dass bei einer ^1H -Verschiebung von 5.70 ppm das sich in 3-Position des Chinons befindliche Proton H^3 in einem Singulett äußert. Durch eine $^3J_{\text{HC}}$ -Kopplung dessen mit dem quartären Kohlenstoff C^{4a} , kann die-

sem im HMBC-Spektrum ein Wert von 133.8 ppm zugeordnet werden. C^{4a} wiederum koppelt mit den Protonen H⁶ (7.71 ppm) und H⁸ (8.03 ppm), sodass es damit den Schlüssel zur Aufklärung der Chinonstruktur liefert.

Ausgehend von H³ lassen sich auch die Carbonylkohlenstoffe C¹ und C⁴ bei 182.0 ppm (C¹), 183.0 ppm (C⁴) bestätigen, die seinerseits die Bestätigung von H⁵ und H⁸ sind. C⁵ (126.3 ppm) zeigt ein Signal der ³J-Kopplung mit H⁷ und umgekehrt H⁵ mit C⁷ (132.1 ppm). Gleiches gilt für das Paar 8/6. C^{8a} (130.6 ppm) zeigt Kopplungen zu H⁵ sowie H⁷.

Aus dem HMBC-Spektrum sind demnach die Verschiebungen für alle Kohlenstoffe des Chinons direkt zugänglich.

H²¹ hat im ¹H-NMR eine Verschiebung von 7.47 ppm (2 H). Damit ist es möglich C²³ bei 127.2 ppm von C²¹ (132.8 ppm) und C²² (129.3 ppm) zu unterscheiden. C²³ besitzt auch eine geringere Signalintensität als die anderen beiden Kohlenstoffe. Eindeutige Zusage für C²¹ gibt an dieser Stelle das entsprechende HC-HSQC-Spektrum, bei welchem ein Kreuzsignal zwischen 7.47 ppm (H²¹) und 132.8 ppm (C²¹) zu sehen ist.

Ausgehend von C² (148.1 ppm) und C¹⁵ (172.7 ppm) kann aus dem HC-HMBC-Spektrum die Seitenkette von **30** aufgeklärt werden. C¹⁵ zeigt an, dass es sich bei dem Triplet bei 2.15 ppm um H¹⁴ und dem Multiplett bei 3.35 ppm um H¹⁷ handelt. C² zeigt an, dass das Quartett bei 3.17 ppm H¹⁰ zugeordnet werden muss (im Ausschnitt nicht abgebildet).

Im Gegensatz zu den einfachen 2D-Methoden (HH-COSY, HC-HSQC) geben HC-HMBC-Spektren sehr viele Informationen. Abbildung **3.11** zeigt dies am Beispiel von Verbindung **23**. Es sind drei deutlich voneinander getrennte Bereiche mit unterschiedlichen Korrelationssignalen zu erkennen.

In dem mit I gekennzeichneten Bereich findet man alle Kopplungen innerhalb der Propylketten. Über ²J_{HC}- und ³J_{HC}-Kopplungen gibt jede CH₂-Gruppe exakt zwei Korrelationssignale zu C-Atomen.

Der mit II bezeichnete Bereich enthält die Korrelationssignale des Chinons und der Phenylgruppe. Die ¹H-Verschiebungen von H⁵ und H⁸ fallen in diesem speziellen Fall nahezu zusammen. Wie schon beschrieben, korrelieren sie mit den entsprechenden Kohlenstoffatomen, die zwar für H⁶ und H⁷ noch getrennte ¹³C-Signale geben (133.5 ppm, 133.6 ppm), aber nicht mehr eindeutig zugeordnet werden können. Die Signale C^{5,8} fallen bei 126.4 ppm genau zusammen. Die Phenylgruppe kann durch ¹J- und ³J-Kopplungen eindeutig bestimmt werden. Kopplungen über eine oder drei Bindungen sind in HC-HMBC-Spektren stärker als solche über zwei Bindungen. Teilweise fallen ²J-Kopplungen

auch ganz weg.

Interessant für die Aufklärung des Moleküls ist Bereich III. Dieser stellt den Zusammenhang zwischen Tieffeld des ^{13}C -NMR-Spektrums mit dem Hochfeld des ^1H -Spektrums her, also den Übergang der Chinonstruktur auf den Substituenten. Hier ist erkennbar, dass der Carbonylkohlenstoff C^1 (185.1 ppm) die Zuordnung von H^9 (2.64 ppm) ermöglicht und C^{12} (172.3 ppm) gleichzeitig mit H^{10} (1.79 ppm), H^{11} (2.22 ppm) als auch mit H^{14} (3.33 ppm) korreliert.

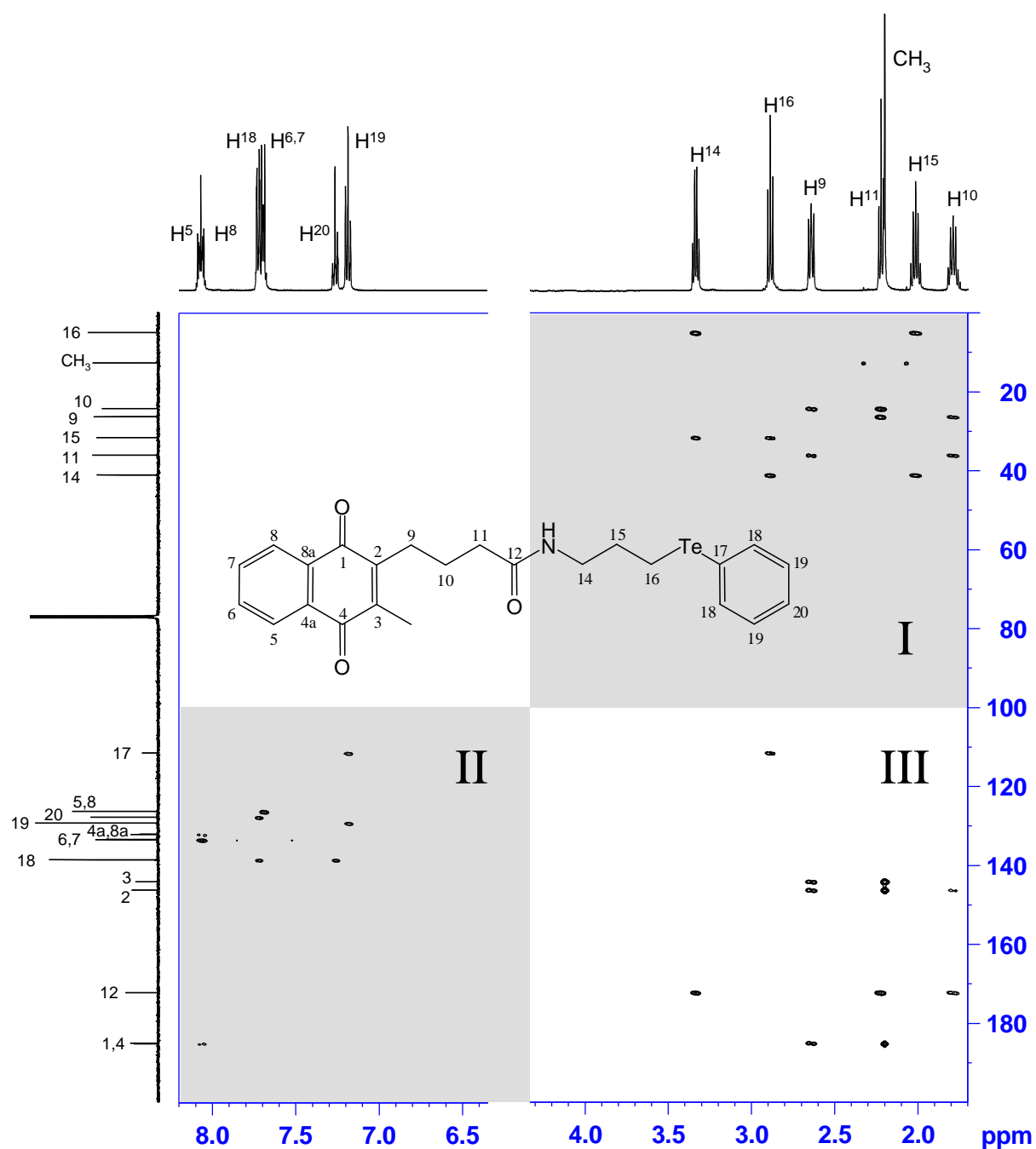


Abbildung 3.11: HC-HMBC-Spektrum von **23**.

Kapitel 4

Multifunktionale Moleküle basierend auf Chinon und Cyclen

Das vorherige Kapitel hat die optimale Verwendung säurefunktionalisierter Chinone als Ausgangsstoffe zur Verknüpfung mit Aminen gezeigt. Weil auch Kombinationen aus Makrozyklen und Chinonen vielversprechende Eigenschaften haben können, sollte es möglich sein, cyclen und seine Derivate in ebensolchen Peptidkupplungsreaktionen zu verwenden.

4.1 Synthese und Reaktionsverhalten

Anstelle von cyclen, wird mit 1,4,7-Tri(tert-butyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (**35**)[70] gearbeitet, um Mehrfachsubstitutionen am Ringsystem von Anfang an auszuschließen. 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (**19**) und 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (**27**) sind als Edukte bereits im Kapitel 3 eingeführt worden.

Aus ihnen erhält man nun mit **35** unter den bereits besprochenen Reaktionsbedingungen für Peptidkupplungsreaktionen zunächst die Boc-geschützten Verbindungen **37** sowie **38** (siehe Abbildung 4.1) (Boc = tert-Butyloxycarbonyl-(Schutz-)Gruppe).

Als ein weiterer Chinon-Baustein wird an dieser Stelle 3-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-ylthio)propansäure (**36**)[71, 72] eingeführt. Das Edukt ist bereits eine Kombination aus Naphthochinon und einem Schwefelatom, d.h. besitzt zwei Redoxzentren, kann aber trotzdem durch die COOH-Gruppe noch weiter modifiziert werden. Beim Umsetzen von **36** wird **39** als Produkt erhalten (Abbildung 4.1).

Alle drei Boc-geschützten Verbindungen (**37**, **38**, **39**) werden an Kieselgel mit dem Elu-

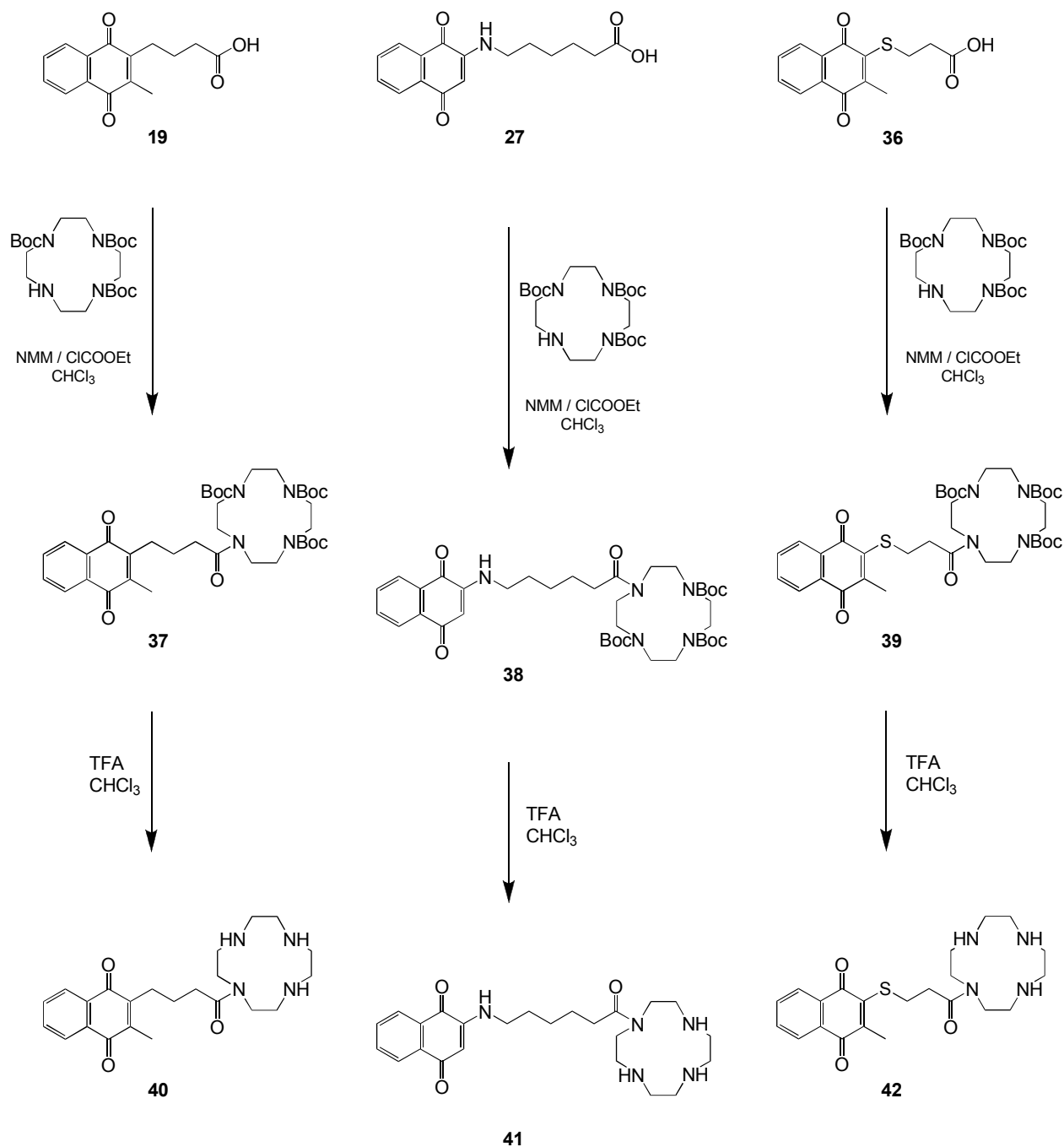


Abbildung 4.1: Übersicht über die Synthese der Verbindungen 37-39 und 40-42.

enten $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ in Verhältnissen von 98:2 bzw. 99:1 chromatographiert und in guten Ausbeuten erhalten. Die Entschützung dieser Boc-Cyclene erfolgt mit Trifluoressigsäure (TFA) (siehe Abbildung 4.1). Alle Endprodukte (**40**, **41**, **42**) sind gelbe bis orange, stark viskose Öle in ausgesprochen hohen Ausbeuten.

Sie können durch Chromatographie an Kieselgel im Laufmittel $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 80:20 gereinigt werden. Dieses Reinigungsverfahren hat einen großen Vorteil gegenüber der Aufarbeitung der Verbindungen aus Kapitel 2, bei denen mitunter aufwendige Reinigungsmethoden (präparative HPLC) erforderlich sind.

Rodukt **42** ist eine Kombination aus drei verschiedenen Redoxzentren: Ein Naphthochinon ist direkt an einen Schwefel gebunden und wird zusätzlich mit cyclen gekoppelt. In dieser Verbindung sind drei wichtige funktionelle Gruppen vereinigt, was einen deutlichen Fortschritt gegenüber den bislang verwendeten bi-funktionalen Verbindungen darstellt.

4.2 Charakterisierung

4.2.1 Massenspektrometrie (LC-MS)

Nach säulenchromatographischer Reinigung aller Zwischen- und Endprodukte konnte für jede Verbindung ein LC-MS-Spektrum mit dem Molekülionenpeak $[\text{M}+\text{H}]^+$ erhalten werden (vgl. Kapitel 11).

4.2.2 ^1H -NMR-Spektroskopie

Bei Boc-geschützten Verbindungen findet man im hohen Feld (ca. 1.5 ppm) die CH_3 -Gruppen der *tert*-Butoxycarbonyl (Boc)-Gruppe als Multiplett mit 27 H.

Bei allen Verbindungen sind die Spacerketten und die chinonischen Protonen eindeutig erkennbar. **37**, **40** zeigen drei verschiedene Signale von jeweils 2 H, wobei die „mittleren“ CH_2 -Gruppen tieffeldverschoben sind. **42**, **42** zeigen entsprechend zwei CH_2 -Gruppen. Für die Verbindungen **38** und **41** sind die „mittleren“ CH_2 -Gruppen bei Verschiebungen von 1.70 ppm (**38**) und 1.48, 1.68, 1.74 ppm (**41**) zuzuordnen. Die dem Carbonylkohlenstoff benachbarten Gruppen und die NH-benachbarten Gruppen sind analog der im vorherigen Kapitel besprochenen Verbindungen zu finden.

Alle Verbindungen besitzen im Bereich zwischen 3.0 ppm bis maximal 3.8 ppm ein Multiplett der Cyclenprotonen von 16 H.

4.2.3 ^{13}C -NMR-Spektroskopie

Für die geschützten Verbindungen werden Verschiebungen der quartären Kohlenstoffe der Boc-Gruppen bei 80 ppm erhalten. Chinone und Makrozyklen wurden wie vorher beschrieben ausgewertet.

Alle Verbindungen wurden mittels eindimensionalen NMR-Spektren charakterisiert. Detaillierte Angaben sind in Kapitel 11 zu finden. Die gemessenen Spektren stehen im Einklang mit den Spektren, die in den anderen Kapiteln (Kapitel 2, 3) erhalten worden sind.

Kapitel 5

Zellbiologische Untersuchungen

Als Teil dieser Arbeit wird die Wirkung der synthetisierten Verbindungen auf Zellen der humanen Krebszelllinien HL-60 (Leukämie) und SK-Mel-5 (Melanom) untersucht.

Mit Hilfe des MTT (Methylthiazolyldiphenyl-tetrazoliumbromid)-Zytotoxizitätsassays ist eine einfache Bewertung der Zytotoxizität von Substanzen möglich. Neben der Wirkung der Verbindungen an sich, soll die Wirkung der Verbindungen bei erhöhtem OS untersucht werden, da wie in der Einleitung bereits besprochen, eine Wechselwirkung zwischen OS und den Redox-Verbindungen zu erwarten ist. Dies geschieht durch gleichzeitige Applikation von toxischen Dosen an H_2O_2 im Vitalitätsassay (MTT-Assay). Dadurch sind Aussagen über die Selektivität der Verbindungen möglich, z.B. ob sie bevorzugt zytotoxisch auf Zellen mit erhöhtem OS wirken, oder aber ob sie ggf. über eine schützende Wirkung vor OS verfügen. So wurde bereits gezeigt, dass Verbindung **2** FEK4-Zellen gegen UVA-Strahlung schützt[14]. Zwar ist in der Therapie eine antioxidative Schutzwirkung gegenüber Krebszellen nicht erwünscht, dennoch soll die Untersuchung an Krebszellen als Modell für „gesunde“ Zellen dienen und Moleküle mit dieser Wirkung indentifizieren.

Der MTT-Assay ist eine schnelle und empfindliche Methode, um in kurzer Zeit möglichst viele der synthetisierten Verbindungen zu untersuchen. Insgesamt wurden 16 Verbindungen auf Vitalität der zwei Krebszelllinien getestet.

Anhand der Ergebnisse aus dem MTT-Assay wurden Verbindungen ausgesucht, für welche zusätzlich das intrazelluläre ROS-Level durch den Dichlorofluorescein (DCF)-Assay bestimmt wurde.

Alle Zellkulturstudien wurden am Institut für Pharmazeutische Biologie von Prof. Dr. A. K. Kiemer (Universität des Saarlandes) unter der Anleitung von Dr. Britta Diesel durchgeführt.

5.1 Material und Methoden

5.1.1 Verbrauchsmaterialien

Einmal-Spritzen	Braun
Eppendorf-Gefäße 1.5 mL, 2 mL	Greiner Bio-One
Falcongefäße	Greiner Bio One
Kanülen	Neolus
Kryogefäße 2 mL	Corning
Pasteurpipetten	FischerBrand
Pipetten 5 mL, 10 mL, 25 mL	Greiner Bio-One
Pipettenspitzen	Greiner Bio-One
Präzisions-Dispenser-Tips 2.5 mL, 5 mL (für Stepper)	Brand
Spriztenfilter	Sarstedt
Sterilfilter	TPP
Zellkulturflaschen 25 cm ²	TPP
Zellkulturflaschen 75 cm ² , 175 cm ²	Greiner Bio-One
Zellkulturplatten 96-Well	Greiner Bio-One

5.1.2 Geräte

Absorptionsreader	Sunrise Absorption Reader, Tecan (Österreich)
Autoklav	Autoklavi Spa, Fedegari (Italien)
Brutschrank	Steri-Cycle CO ₂ Incubator Hepa Class 100, Thermo
Cryobox	Nalgene Cryo 1 °C Freezing Container
digitale Mehrkanalpipette	Finnipette, Thermo
elektrische Pipettierhilfe	Accu-jet pro, Brand
Feinwaage	Mettler AE 50
Floureszenzreader	WALLAC VICTOR ² 1420 Multilable Counter
Mikroskop	Axiovert 40 CFL, Zeiss
Zählkammer	Blutzählkammer nach Neubauer, improved, doppelte Teilung, depth 0.100 mm, 0.0025 mm ²
pH-Meter	HI 8314, Hanna
Pipetten	Pipettman, Gilson
Stepper	Handy-Step, Brand
sterile Werkbank	Biowizard Kojair, Axon
Vortexer	Vortex Genie 2, Scientific Industries
Wasserbad	Haake W13, Thermo

Zentrifuge Sigma 4-10, B.Braun
-80 °C Kühltruhe C660, New Brunswick scientific

5.1.3 Zelllinien

Alle Zellkulturarbeiten wurden in Sterilbänken durchgeführt. Es wurden ausschließlich sterile Medien, Lösungen und sterile Arbeitsmaterialien verwendet. Alle nicht sterilen Glas- und Plastikartikel wurden vor ihrer Verwendung sterilisiert. Puffer und H₂O bidest. wurden autoklaviert bzw. sterilfiltriert. Die Zellen der humanen Krebszelllinien HL-60 (Leukämie-Zelllinie, zur Verfügung gestellt von Dr. M. Sauter, Institut für Virologie, Prof. Dr. N. Müller-Lantsch, Universitätsklinikum des Saarlandes/Homburg) und SK-Mel-5 (Melanom-Zelllinie, zur Verfügung gestellt von Prof. Dr. A. K. Kiemer, Institut für Pharmazeutische Biologie, Universität des Saarlandes) wurden unter sterilen Bedingungen bei 37 °C und 5 % CO₂ in wasserdampfgesättigter Atmosphäre kultiviert. Beide Zelllinien werden in RPMI 1640-Medium kultiviert. HL-60 Zellen wachsen nicht-adhären in Suspensionskulturen. Die Zellen der Zelllinie SK-Mel-5 wachsen adhären.

5.1.4 Kulturmedium und Zusätze

Alle Zellkulturreagenzien wurden von PAA (Pasching, Österreich) bezogen:

RPMI 1640-Medium (ohne L-Glutamin)

FCS gold (Fetal Calf Serum gold)

Penicillin/Streptomycin (100x)

L-Glutamin (200 mM)

Trypsin/EDTA (1x)

Arbeitsmedium

Das Flüssigmedium RPMI 1640 wird mit 10 % FCS gold und 1 % Penicillin/Streptomycin versetzt und danach bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt. Das Medium wird im Wasserbad auf 37 °C gebracht und die benötigte Menge unmittelbar vor Gebrauch mit L-Glutamin (Endkonzentration 2 mM) versetzt. FCS gold, Penicillin/Streptomycin und L-Glutamin wurden bei -20 °C aliquotiert aufbewahrt. Die Kultivierung und alle Versuche werden in Arbeitsmedium durchgeführt, nachfolgend „Medium“ genannt. Dies gilt ebenfalls für die Herstellung der Farbstofflösungen.

5.1.5 Puffer

PBS-Puffer

8.0 g NaCl

0.2 g KCl

1.44 g Na₂HPO₄

0.24 g KH₂PO₄

in H₂O bidest. lösen und nach einstellen des pH-Wertes auf pH = 7.4 auf 1 L auffüllen, danach autoklavieren.

5.1.6 Reagenzien

MTT: Methylthiazolyldiphenyl-tetrazoliumbromid (Thiazolylblau), ≥ 97.5 % (HPLC), Zellkultur getestet, Sigma.

MTT-Stammlösung (5 mg/mL): 50 mg MTT werden in 10 mL PBS-Puffer gelöst und sterilfiltriert (0.2 μm Spritzenfilter). Die Lösung kann lichtgeschützt bei 4 °C bis zu zwei Wochen gelagert werden.

MTT-Gebrauchslösung (0.5 mg/mL): Frisch hergestellte Verdünnung der Stammlösung mit Medium 1:10.

DCFH-DA: 2',7'-Dichloro(dihydro)fluorescein-Diacetat, Invitrogen (USA).

DCFH-DA-Stammlösung: Eine 20 mM Lösung in DMSO wird in Aliquots lichtgeschützt bei -20 °C aufbewahrt.

DCFH-DA-Gebrauchslösungen: 10 μL Stammlösung in 10 mL PBS ergibt eine Konzentration von 20 μM DCFH-DA. Es werden Gebrauchslösungen von 20 μM und 40 μM verwendet.

5.1.7 Stimulantien

H₂O₂: Wasserstoffperoxid, 35 %, Acros.

H₂O₂-Stammlösungen: Lösungen entsprechender Konzentrationen (100 mM, 500 mM) werden durch Verdünnen mit H₂O bidest. hergestellt. Sie ergeben Endkonzentrationen für den MTT-Assay von 5 mM (HL-60) und 1 mM (SK-Mel-5), wenn sie 1:100 eingesetzt werden.

Zur Stimulation im Dichlorofluorescein (DCF)-Assay werden Lösungen von 400 μM und 600 μM hergestellt, die im Assay in einer Endkonzentrationen von 200 μM resultieren.

Alle H_2O_2 -Lösungen werden nach wenigen Tagen aus 35 %igem H_2O_2 frisch vorbereitet, dunkel und bei 4 °C aufbewahrt (Zersetzung des H_2O_2).

PMA: Phorbol-12-myristat-13-acetat, 99 % HPLC, Calbiochem.

PMA-Stammlösung: Lösungen von 1 mg/mL PMA in DMSO werden in Aliquots zu 10 μL bis zur Verwendung bei -20 °C gelagert.

PMA-Gebrauchslösung: 3 μL Stammlösung auf 16 mL PBS ergeben eine Lösung mit 300 nM. Es resultiert auf der Wellplatte eine Endkonzentration von 100 nM im Dichlorofluorescein (DCF)-Assay.

5.1.8 Zellkulturtechniken

5.1.8.1 Einfrieren von Zellen

Die Lagerung der Zellen erfolgt in der Gasphase von flüssigem Stickstoff (-196 °C). Die Zellen wurden in Zellkulturmedium in einer Zelldichte von 3×10^5 Zellen/mL (HL-60) und etwa 5×10^5 Zellen/mL (SK-Mel-5) unter Zusatz von DMSO in einer Endkonzentration von 5 %, welches die Ruptur der Zellen verhindert, eingefroren.

Dazu werden die Zellen zentrifugiert (5 min, 1800 min^{-1}) und der Überstand abgenommen. Das Zellpelett wird schnell in Einfriermedium suspendiert und die Zellsuspension so schnell als möglich in vorbereitete Kryoröhrchen gefüllt, verschlossen und zunächst für einige Tage in einer Cryobox bei -80 °C aufbewahrt, da der Einfrierprozess langsam ablaufen sollte. Zur weiteren Lagerung werden die Kryoröhrchen dann einen Tank mit flüssigem Stickstoff überführt.

5.1.8.2 Auftauen von Zellen

Zum Auftauen werden die Zellen für wenige Minuten im Wasserbad auf 37 °C erwärmt und unmittelbar in 10 mL des angewärmten Kulturmediums verdünnt, um Zellschäden durch DMSO im Einfriermedium zu verhindern. Die Zellsuspension wird danach sofort für 5 Minuten bei 1400 min^{-1} zentrifugiert, das Zellpelett in 5 mL Medium resuspendiert, in eine 25 cm^2 Zellkulturflasche überführt und im Brutschrank inkubiert.

5.1.8.3 Kultivierung der Zellen

Die Suspensionszelllinie HL-60 wird in 75 cm² Zellkulturflaschen mit einer Zelldichte von 3×10^5 Zellen/mL bis 1×10^6 Zellen/mL kultiviert. Alle zwei bis drei Tage wird zum alten Medium frisches Zellkulturmedium zugegeben. Nach längerer Kultivierung der Zellen wird die Zellsuspension zur Entfernung von verbrauchtem Medium, toter Zellen als auch ausgetretenem Zellinhalt zentrifugiert (5 min, 1800 min^{-1}). Das Zellpelett wird in frischem Medium resuspendiert und in neuen Zellkulturflaschen ausgesät.

Im Fall der adhärennten Zelllinie SK-Mel-5 wird alle zwei bis drei Tage das alte Zellkulturmedium komplett abgesaugt und mit der entsprechenden Menge neuen Mediums ersetzt. Nach der Anzucht wird in Zellkulturflaschen von 75 cm² und 175 cm² kultiviert. Sind die Zellen konfluent gewachsen, wird eine Subkultivierung (Passagierung) durchgeführt (1:2 oder 1:3). Dazu werden die Zellen mit PBS gewaschen und für wenige Minuten (ca. 5 Minuten) mit Trypsin/EDTA (2 mL auf 75 cm² Zellkulturflasche) bei 37 °C inkubiert. Das Ablösen (Trypsinieren) wird durch Zugabe von FCS-haltigen Medium abgestoppt. Die Zellen werden direkt neu ausgesät oder analog zu HL-60 zentrifugiert, das Zellpelett resuspendiert und die Zellen in neuem Medium ausgesät. Beide Zelllinien müssen alle 2-3 Tage passagiert werden, wobei sich die Zellen maximal für 20 Passagen in Kultur befinden.

5.1.8.4 Bestimmung der Zellzahl

Das Bestimmen der Zellzahl erfolgte lichtmikroskopisch in einer Neubauer-Zählkammer. Ein leicht angefeuchtetes Deckglas wird auf die Kammer geschoben, sodass die sogenannten Newton-Ringe zu sehen sind und die Kammer folglich eine geforderte Tiefe von 0.100 mm besitzt. Nach gutem Suspendieren der Zellen wird die Zellsuspension an den Kammerrand pipettiert und diese durch herrschende Kapillarkräfte zwischen Zählkammer und Deckglas gesogen. Unter dem Mikroskop sind 9 große Quadrate mit einer Kantenlänge von jeweils 1 mm sichtbar. Die Zellen der 4 Eckquadrante werden ausgezählt (inklusive der Zellen auf der jeweils oberen und linken Begrenzungslinie). Die ermittelte Zellzahl wird durch 4 geteilt und die Zahl für ein Quadrat (Volumen 1 μL) mit 10^4 multipliziert, um die Anzahl der Zellen pro Mililiter zu erhalten.

5.1.9 Lösungen der Testsubstanzen

Die zu testenden, synthetisierten Verbindungen sind entweder nur in Ethanol oder aber nur in DMSO löslich. Es werden deshalb Stammlösungen in Konzentrationen von 1.25 bis 50 mM (d.h. 1.25 mM, 2.5 mM, 6.25 mM, 12.5 mM, 25 mM, 37.5 mM und 50 mM)

in EtOH bzw. DMSO angefertigt. Die Verbindungen sind für Konzentrationen dieser Größenordnung in ausreichenden Mengen vorhanden.

Durch Pipettieren von beispielsweise 4 μL Testlösung auf 1 mL Medium oder Zellsuspension wird eine 1:250 Verdünnung erreicht. Die erhaltene Endkonzentrationen der Verbindungen betragen somit 5 bis 200 μM , bei einer Endkonzentration an EtOH bzw. DMSO von 0.4 %. Die EtOH-/DMSO-Konzentration ist damit in allen Versuchen mit 0.4 % konstant und für die Zellen nicht toxisch.

Das Mischen von Medium/Zellsuspension mit Testlösung findet außerhalb der Well-Platte (in sterilen Eppendorf-Gefäßen) statt. Zum einen werden dadurch Pipettierfehler vermieden. Zum Anderen müssten bei einer Füllmenge von 100 μL /Well 0.4 μL Stammlösung in jedes Well pipettiert und vermischt werden, was fast unmöglich ist. Eine Stammlösungsreihe mit niedrigeren Konzentrationen ist ebenfalls nicht sinnvoll, da sich sonst der Anteil an EtOH/DMSO, der auf die Zellen einwirkt, erhöhen würde. Durch Mischen in Eppendorf-Gefäßen ist eine gute Vermischung gewährleistet. Diese wird bei Zellsuspensionen (HL-60) durch einfaches Schütteln und bei Gabe der Substanzen ins Medium (SK-Mel-5) mittels Vortexer garantiert.

Ein Ausfallen der getesteten Substanzen im Medium wird nicht beobachtet.

5.1.10 Vitalitätsbestimmung (MTT-Assay)

5.1.10.1 Prinzip

Der MTT-Assay ist ein Zell-Färbetest und dient zur Bestimmung der Zellvitalität. Er wurde erstmals von Mosmann[73] und von Green et al.[74] beschrieben. Das gelb aussehende, wasserlösliche Tetrazoliumsalz Methylthiazolyldiphenyl-tetrazoliumbromid (MTT, Thiazolylblau) wird nur von lebenden, metabolisch aktiven Zellen aufgrund von mitochondrialen Dehydrogenasen zu violetter 1-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenylformazan reduziert (Abbildung 5.1). Die gebildeten Formazankristalle sind wasserunlöslich und werden unter Lyse der Zellen mit DMSO freigesetzt und gelöst. Die Absorption der violetten bis blauen Lösungen ist ein Maß für die mitochondriale Atmungsaktivität und damit Maß für die vorhandene Menge vitaler Zellen. Die Messung erfolgt photometrisch bei 550 nm. Als Vergleichswellenlänge dient 690 nm, bei der das Formazan nicht absorbiert. Alle Überlebensraten werden in Prozent im Vergleich zu einer Kontrolle, die unstimulierte bzw. stimulierte Zellen enthält, bestimmt.

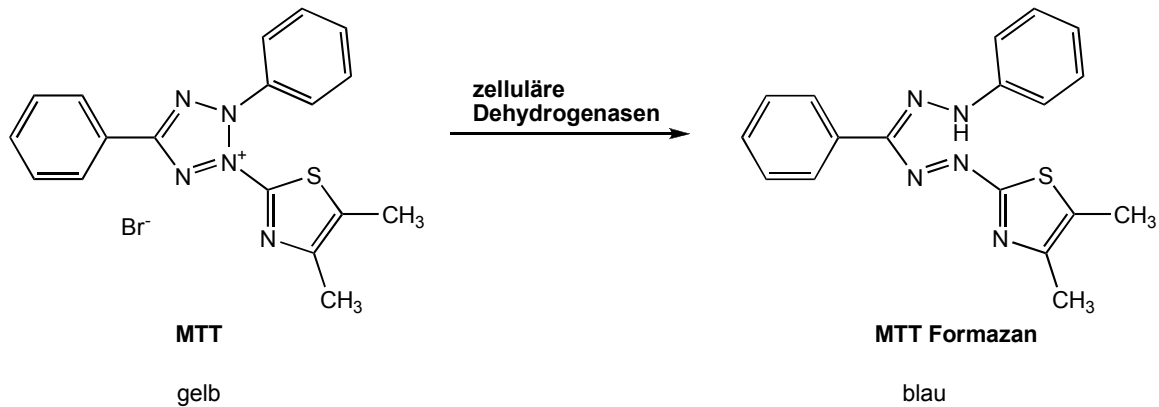


Abbildung 5.1: MTT wird durch zelluläre Dehydrogenasen zum Formazan reduziert (schematisch).

5.1.10.2 Validierung der OS-Induktion

Oxidativer Stress ist in *in vitro*-Zellsystemen meist in derartig geringen Mengen vorhanden, dass verringernde Effekte durch Antioxidantien kaum messbar sind. Deshalb ist es notwendig, zusätzlichen OS zu erzeugen. Zur Induktion von oxidativen Stress wurde H_2O_2 ausgewählt. Mittels H_2O_2 wurde auch der von Ebselen erbrachte Schutz vor reaktiven Sauerstoffspezies und DNA-Schäden in Leukämiezellen HL-60 nachgewiesen[75]. Zur Verwendung des Tests musste dieser jedoch neu für die Leukämiezelllinie HL-60 und die Melanomzelllinie SK-Mel-5 etabliert werden.

In Konzentrationen von 5 mM (HL-60) und 1 mM (SK-Mel-5) wirkt H_2O_2 zytotoxisch und führt zu einer deutlichen Erniedrigung der Vitalität der Zellen. Die mit H_2O_2 behandelten Zellen zeigen nach 24 Stunden noch eine durchschnittliche Vitalität von 42 % (Durchschnitt beider Zelllinien, EtOH- als auch DMSO-behandelt) verglichen mit den unbehandelten Kontrollen (siehe Abbildung 5.2). Konzentrationen von 5 mM (HL-60) und 1 mM (SK-Mel-5) werden demnach für eine gleichzeitige Behandlung der Zellen mit Verbindung ausgewählt um antioxidative und zytotoxische Wirkungen der Substanzen studieren zu können.

Die synthetisierten Verbindungen sind nicht in Wasser oder in Zellkulturmedium löslich, deshalb muss mit einem organischen Lösungsmittel gearbeitet werden. Gleichzeitig muss jedoch berücksichtigt werden, dass der Anteil des Lösungsmittels EtOH bzw. DMSO, welcher mit den Zellen in Kontakt kommt, nicht zu hoch ist (0.4 %).

Auf jeder 96-Well-Platte werden Kontrollen mit völlig unbehandelten Zellen (Kontrolle) als auch Zellen mit 0.4 % Lösungsmittel (Kontrolle + 0.4 % Lsgm.) eingeplant. Der Vergleich zeigt, dass ein Anteil von 0.4 % EtOH oder DMSO den Zellen nicht schadet. Es

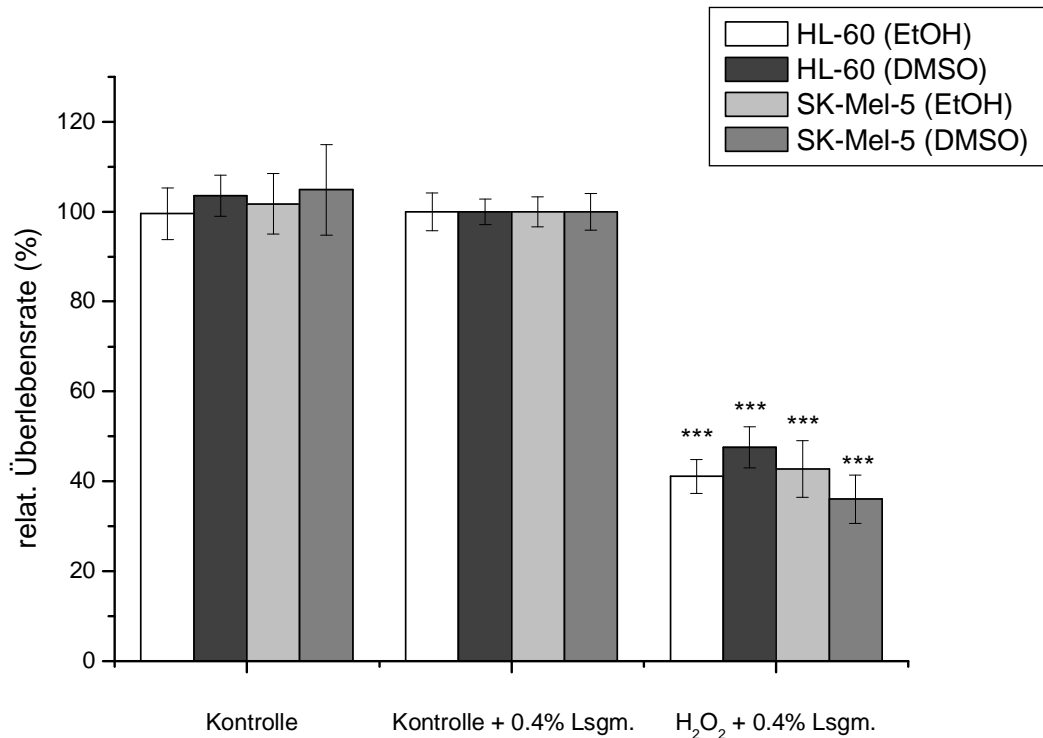


Abbildung 5.2: Einfluss von H_2O_2 (+ 0.4 % Lsgm.) auf die Vitalität von HL-60 und SK-Mel-5 Zellen. Die Zellen werden mit 5 mM (HL-60) und 1 mM H_2O_2 (SK-Mel-5) für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt. Die Kontrolle mit 0.4 % Lösungsmittel (Kontrolle + 0.4 % Lsgm.) wurde auf 100 % vital gesetzt. Mittelwerte \pm SD von drei unabhängigen Versuchen. *** $P < 0.001$ gegenüber Kontrolle.

gibt keine signifikanten Unterschiede in der Vitalität der Zellen im MTT-Assay (Abbildung 5.2).

Für den Bezug aller Vitalitäten der Experimente werden ausschließlich Kontrollen mit Lösungsmittelanteil verwendet. Die Kontrolle mit 0.4 % Lösungsmittel (Kontrolle + 0.4 % Lsgm.) wird auf 100 % vital gesetzt. Zum direkten Vergleich der Überlebensraten unstimulierter und stimulierter Zellen in Abhängigkeit der Substanzkonzentration werden in einem zweiten Diagramm Vergleichszellen, die mit H_2O_2 inklusive 0.4 % Lösungsmittel (H_2O_2 + 0.4 % Lsgm.) behandelt worden sind, auf 100 % vital gesetzt.

5.1.10.3 Durchführung

HL-60 Zellsuspensionen einer Zelldichte von 9×10^5 Zellen/mL Medium werden direkt mit verschiedenen Konzentrationen der Testsubstanzen, ohne oder in Gegenwart von H_2O_2 , versetzt und je 100 μ L der so behandelten Suspension wird in die Vertiefungen einer 96-Well-Platte pipettiert (9×10^4 Zellen/Well). Danach wird inkubiert. Es wurden folgende

Konzentrationen verwendet: Substanzen in μM : 5, 10, 25, 50, 100, 200 und 5 mM H_2O_2 .

Bei allen Assays werden die jeweils äußeren Reihen einer Platte nicht belegt (Randeffekt).

Der Test wird mikroskopisch verfolgt. Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden werden optisch sichtbare Veränderungen notiert.

In jedes Well der behandelten HL-60 Zellen werden jeweils 10 μL einer MTT-Stocklösung (5 mg/mL) pipettiert um eine Endkonzentration an MTT von 0.5 mg/mL zu erhalten. Die Platten werden für zwei Stunden im Dunklen weiterinkubiert. Ab der Verwendung von MTT wird im Dunklen gearbeitet, wobei die Platten mit Aluminiumfolie umwickelt werden (MTT ist lichtempfindlich). Die Zellen werden durch Zugabe von 200 μL DMSO lysiert und das gebildete Formazan gelöst. Es wird vorsichtig auf dem Vortexer gemischt, damit ein vollständiges Auflösen der Zellen und Kristalle gewährleistet ist. Die Platte wird sofort im Multiwellplate-Reader (Fa. Tecan) ausgelesen.

SK-Mel-5 Zellen werden am ersten Tag (nachmittags) mit einer Zelldichte von 4×10^5 Zellen/mL Zellkulturmedium mittels Stepper (100 μL) ausgesät, was einer Zellzahl von 4×10^4 Zellen/Well entspricht. Am Morgen des zweiten Tages sind sie nahezu 100 % konfluent und werden behandelt. Dazu wird das komplette Medium abgenommen (abpipettieren, nicht absaugen) und die Zellen mit Medium (100 μL /Well), welches die Testsubstanzen in verschiedenen Konzentrationen ohne/mit H_2O_2 enthält, für 24 Stunden inkubiert. Folgende Konzentrationen wurden verwendet: Substanzen in μM : 5, 10, 25, 50, 100, 200 und 1 mM H_2O_2 .

Das gesamte Medium wird erneut abpipettiert, die Zellen mit 150 μL /Well frisch bereiteter MTT-Gebrauchslösung einer Konzentration von 0.5 mg/mL (vgl. Endkonzentration im Protokoll der HL-60 Zellen) versehen und zwei Stunden im Dunklen inkubiert. Aus jedem Well werden 100 μL abpipettiert (50 μL verbleiben). Danach erfolgt die Lyse der Zellen mit 200 μL DMSO/Well und sofortiges Messen der Platte.

5.1.10.4 Kontrollen/Voruntersuchungen

Kontrollansätze ohne Substanzen (und ohne Lösungsmittel) und Kontrollen mit den verwendeten Lösungsmitteln werden bei allen Versuchen stets mitgeführt.

In der Literatur werden Wechselwirkungen zwischen Naturstoffen/Antioxidantien und MTT im zellfreien System beobachtet[76].

In Vortests des Assays wurde deshalb ausgeschlossen, dass Medium (RPMI 1640), die Substanzen (in Medium) bzw. H_2O_2 (in Medium) mit MTT ohne der Gegenwart von

Zellen eine Blaufärbung ergeben.

Außerdem werden im Test mit SK-Mel-5 Zellen die Substanzen und ggf. zugefügtes H_2O_2 abgenommen bevor MTT zugegeben wird. In der HL-60 Zelllinie ist die nicht möglich (Suspensionszellen).

5.1.11 Dichlorofluorescein (DCF)-Assay

5.1.11.1 Prinzip

Der DCF-Assay ist ein photometrischer Assay, der auf dem relativen Fluoreszenzanstieg des in den Zellen oxidierten Farbstoffes DCFH-DA (2',7'-Dichloro(dihydro)fluorescein-Diacetat) basiert. Zur Detektion von H_2O_2 in einem zellfreien System in Gegenwart von Peroxidase ist die Methode erstmals durch Keston und Brand erwähnt worden[77]. Zur Messung intrazellulärer ROS ist der DCF-Assay erstmals von Bass et al. angewandt worden[78].

Der nicht fluoreszierende Farbstoff DCFH-DA wird durch intrazelluläre Esterasen zu DCFH (2',7'-Dichlorofluorescein) deacetyliert. Der stärker polare Farbstoff DCFH kann nicht aus der Zelle diffundieren und verbleibt im Zellplasma. Durch Vorhandensein von ROS wird DCFH zu fluoreszierendem Dichlorofluorescein (DCF) oxidiert (Abbildung 5.3). Der Fluoreszenzfarbstoff DCF wird angeregt und die emittierte Fluoreszenz gemessen[79].

5.1.11.2 Induktion von OS

Für die Induktion von OS im DCF-Assay sind nur kleine Dosen an H_2O_2 nötig. Weitaus niedrigere Mengen als in der Vitalitätsbestimmung (MTT-Assay) führen zur Erhöhung von ROS und zur Messbarkeit von OS. Verwendet wird daher eine Endkonzentration von $200 \mu\text{M}$ H_2O_2 .

Durch Ersetzen von H_2O_2 durch PMA (Phorbol-12-myristat-13-acetat) wird keine extrem hohe Dosis an OS, die unter physiologischen Bedingungen nicht vorkommt, von extern zugeführt, sondern vielmehr werden die Zellen durch PMA angeregt, selbst OS zu produzieren (endogener Stress). HL-60 Zellen können leicht mit einer Endkonzentration von 100 nM PMA stimuliert werden.

5.1.11.3 Durchführung

Die Zellen werden analog der des MTT-Assays ausgesät und zunächst nur mit den synthetisierten Testsubstanzen behandelt. Es wird 30 min inkubiert. Verwendete Konzentrationen: Substanzen in μM : 5, 10, 25, 50, 100, 200.

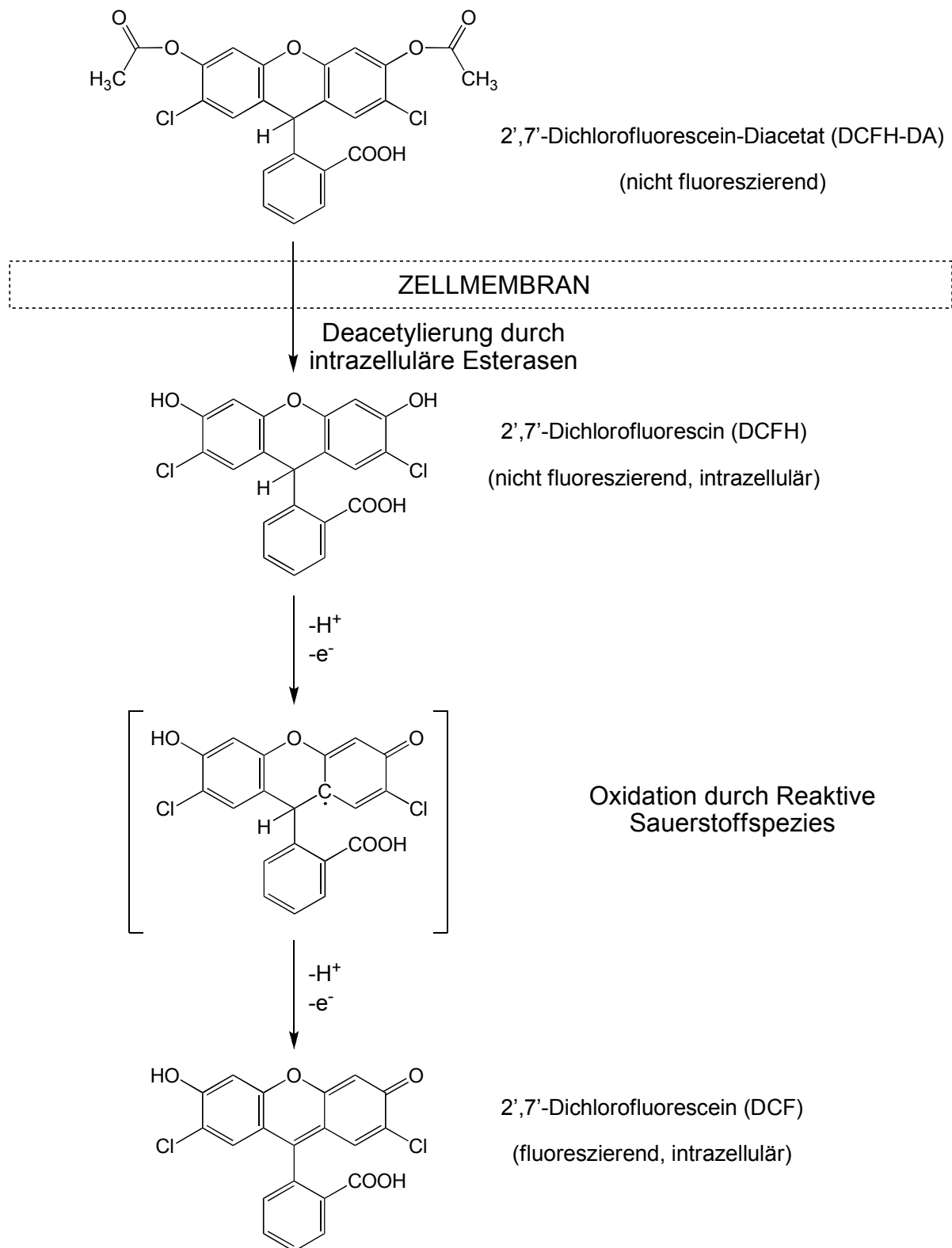


Abbildung 5.3: Reaktion von reduziertem und acetyliertem 2',7'-Dichlorofluorescein-Diacetat (DCFH-DA) zur fluoreszierenden Form Dichlorofluorescein (DCF) innerhalb der Zelle[79].

Zu den HL-60 Zellen wird danach unter Lichtausschluss 100 μL einer Farbstofflösung (40 μM) zupipettiert, sodass eine Endkonzentration an DCFH-DA von 20 μM vorliegt. Wegen der Lichtempfindlichkeit des Farbstoffes werden alle Arbeiten im Dunklen ausgeführt. Nach erneuter Inkubation für 30 min werden die Zellen durch Zugabe von 200 μM (Endkonzentration) H_2O_2 stimuliert (100 μL einer 600 μM H_2O_2 -Lösung in PBS pipettieren).

Alternativ wird zur Stimulation der Zellen PMA verwendet. Durch Pipettieren von 100 μL /Well einer 300 nM Lösung (in PBS) werden Konzentrationen von 100 nM erreicht. Nach Zugabe der Stimulantien werden die Fluoreszenzintensitäten sofort (0 min) und zu den Zeitpunkten 10 min, 20 min und 30 min gemessen. Die Messungen werden an einem Fluoreszenzreader (WALLAC VICTOR²) bei einer Temperatur von 37 °C ausgeführt. Der Farbstoff wird bei 485 nm angeregt und die Fluoreszenz bei einer Wellenlänge von 535 nm gemessen (Lampenstärke: 35519).

Bei SK-Mel-5 Zellen wird nach der Inkubation mit den Verbindungen auf zweierlei Wegen weitergearbeitet. Ersterer erfolgt analog zu HL-60.

Alternativ wird nach Behandeln mit Substanz das komplette Medium erneut abgenommen. Vor dem Aufbringen von DCFH-DA wird nun ein zusätzlicher Waschschriff mit PBS (100 μL PBS/Well) eingefügt. Danach werden die Zellen für 30 min mit 100 μL /Well 20 μM Farbstofflösung inkubiert. Wie bei HL-60 werden die Zellen mit 200 μM H_2O_2 versetzt (100 μL einer 400 μM H_2O_2 -Lösung) und die Messung sofort gestartet.

5.1.11.4 Kontrollen/Voruntersuchungen

Vor Beginn des Assays wurde ausgeschlossen, dass der Farbstoff DCFH-DA ohne Zellen und im Beisein von Zellen fluoreszierend ist. Desweiteren wurde zunächst geklärt, dass die eingesetzten Substanzen, Medium, PBS ohne den zugesetzten Farbstoff nicht fluoreszieren (ohne und in Gegenwart von Zellen). Gleiches gilt nach Farbstoffzugabe.

Für die Stressoren H_2O_2 und PMA wurde in Ab- bzw. Anwesenheit der Substanzen gezeigt (in Medium), dass sie ohne Farbstoff (ohne und in Gegenwart von Zellen) nicht fluoreszieren, genauso mit Farbstoff im zellfreien System nicht fluoreszieren. Erst wenn Zellen, H_2O_2 und Farbstoff zusammenkommen, tritt Fluoreszenz auf.

5.1.12 Statistik

Alle Experimente wurden mindestens dreimal unabhängig voneinander durchgeführt und aus den Einzelwerten Mittelwerte \pm Standardabweichungen (SD) errechnet. Signifikanzen

wurden mittels dem ungepaarten, zweiseitigen Students T-Test (Microsoft Excel) berechnet, wobei Unterschiede von *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 als signifikant angesehen werden.

5.2 Ergebnisse zur Vitalitätsbestimmung (MTT-Assay)

5.2.1 Antioxidativer Schutz gegen ROS-induzierte Zytotoxizität

Die Aktivität aller getesteten Verbindungen wird in einem Konzentrationsbereich von 5 bis 200 μM , ohne und bei gemeinsamer Inkubation mit H_2O_2 , mit Hilfe des MTT-Assays gemessen. Mit der Zelllinie HL-60 wurde im Fall von zwei Verbindungen eine Schutzwirkung bei Einwirkung von H_2O_2 gefunden.

Die Behandlung von HL-60 Zellen mit Verbindung **2** und **30** zeigen einen deutlichen Anstieg der Vitalitäten gegenüber nicht Testsubstanz-behandelten Zellen (0 μM).

Die Vitalität von unstimulierten Zellen steigt bei **2** zwischen 25 μM und 150 μM . Es kommt zu einer Erhöhung bis 24 % (50 μM), bei 25 μM und 150 μM noch um 12-13 % und bei 100 μM um 18 % bezogen auf die H_2O_2 -freie Kontrolle. Eine Inkubation mit H_2O_2 in Gegenwart von **2** führt zur Aufhebung des zytotoxischen Effektes von H_2O_2 bei Konzentrationen von 5-50 μM Substanz. Dabei steigen die Werte bei 10 μM um 18 %, bei 25 μM um 39 % und bei 50 μM sogar um 46 % (siehe Abbildung 5.4).

Verbindung **30** zeigt eine sogar stärkere Wirkung im selben Konzentrationsbereich. Ohne H_2O_2 steigt die Vitalität der Zellen zwischen 50 μM bis 200 μM um 78 %. Bei kleineren Konzentrationen sind noch Erhöhungen 13 %, 21 % und 53 % erkennbar. Bei gemeinsamer Inkubation mit H_2O_2 steigt die Überlebensrate ebenfalls stark an. Im Bereich von 25-150 μM um ca. 75 %. Bei 5, 10 und 200 μM sind ebenfalls noch sehr starke Erhöhungen (um 59 %, 52 %, 29 %) zu verzeichnen. Alle Werte unterscheiden sich signifikant von denen der Kontrollen (siehe Abbildung 5.5).

Die größten Anstiege gegenüber der Kontrollen sind bei **2** mit 24 % (ohne H_2O_2 , 50 μM) und mit 46 % (mit H_2O_2 , 50 μM) zu verzeichnen. Die durch H_2O_2 induzierte Zytotoxizität wird durch Verbindung **2** und **30** wieder aufgehoben. Bei **30** steigt die Vitalität um maximal 81 % (ohne H_2O_2 , 100 μM) und 81 % (mit H_2O_2 , 50 μM).

Auffallend ist, dass beide Verbindungen bei niedrigen Konzentrationen (5-50 μM für **2** bzw. 5-25 μM für **30**) eine stärkere „antioxidative“ Wirkung gegenüber den mit H_2O_2 stimulierten als den unstimulierten Zellen zeigen. Die Unterschiede sind signifikant und betragen in Prozent ausgedrückt durchschnittlich 22 % (**2**) und bis 31 % (**30**, 10 μM), setzt man beide Kontrollen (unbehandelte und H_2O_2 -behandelte Kontrolle) auf 100 %

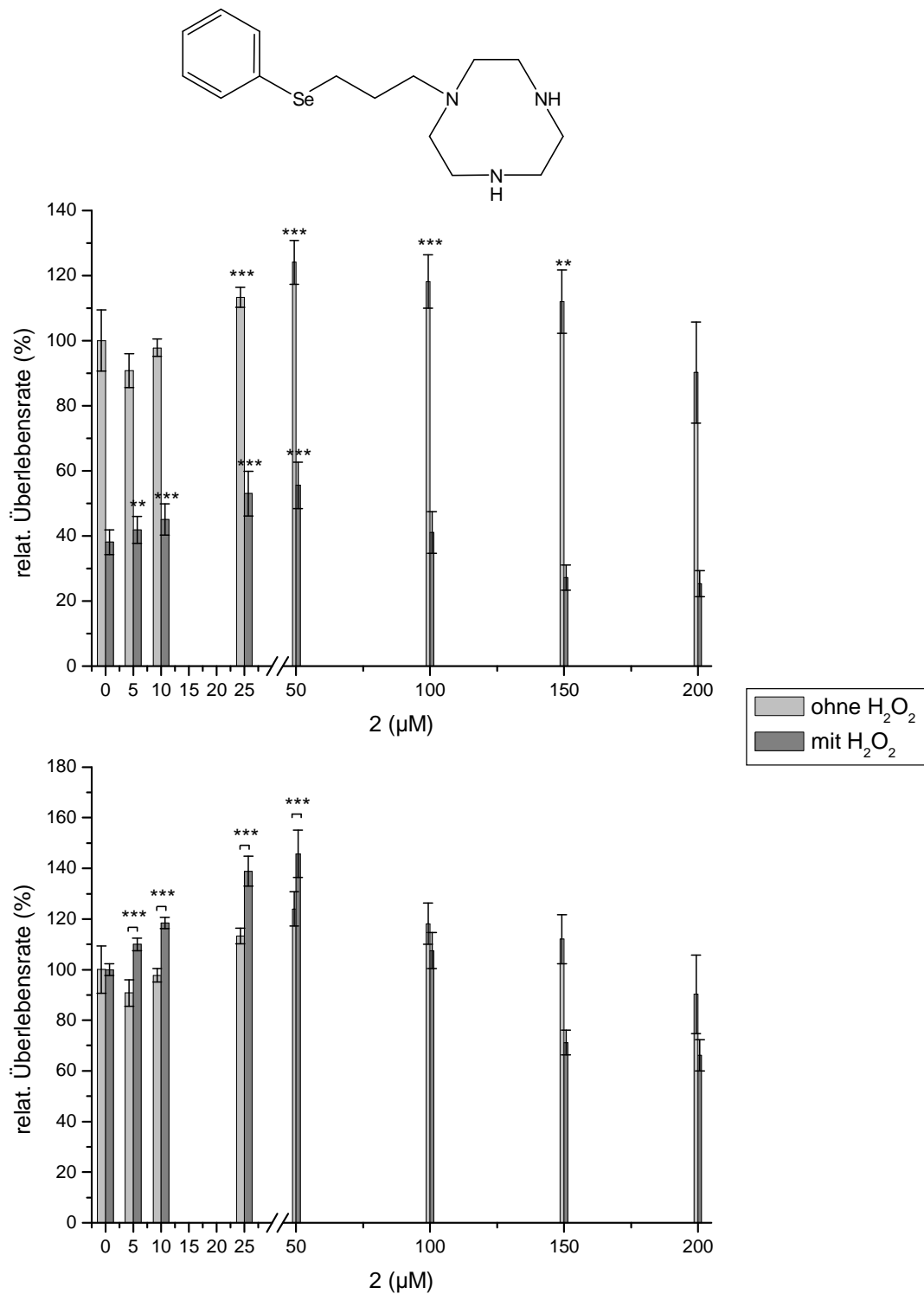


Abbildung 5.4: Einfluss von Verbindung 2 (in 0.4 % EtOH) auf die Überlebensrate von HL-60 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 5 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte ±SD von drei unabhängigen Versuchen. **P < 0.01, ***P < 0.001 gegenüber Kontrolle.

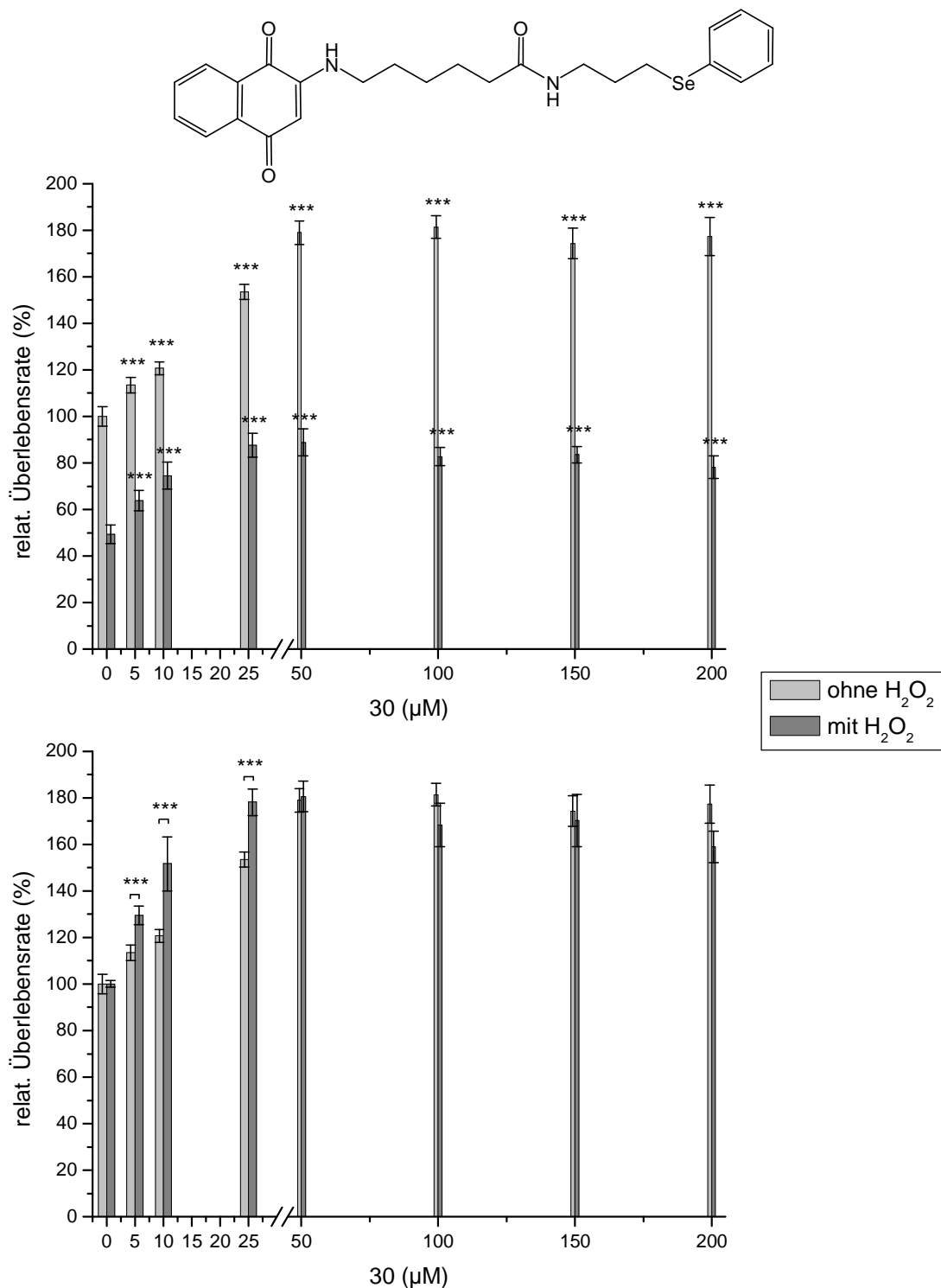


Abbildung 5.5: Einfluss von Verbindung 30 (in 0.4 % DMSO) auf die Überlebensrate von HL-60 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 5 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. nbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte ±SD von drei unabhängigen Versuchen. ***P < 0.001 gegenüber Kontrolle.

vital. Dies bestätigt eine gewisse Selektivität in diesem Konzentrationsbereich, bei der die Substanzen durch OS (H_2O_2) gestresste HL-60 Krebszellen sogar besser schützen (Abbildungen **5.4** und **5.5**). An dieser Stelle muss betont werden, dass es sich um ein Modell mit Krebszelllinien handelt und es therapeutisch nicht sinnvoll ist, einen Tumor mit den Verbindungen zu behandeln. Vielmehr sollen „gesunde“ Zellen geschützt werden. In vielen Fällen ist die Verwendung von gesunden Zellen aber schwierig, da diese Zellen aus gesundem Gewebe isoliert werden müssen und keine Zelllinien verwendet werden können.

Neben Selen kommt in **30** auch eine chinoide Struktur vor. Es wurde bereits die Freisetzung von Radikalen durch Chinone und deren Anwendung in der Krebstherapie diskutiert. Offensichtlich ist aber in **30** das Selenatom die reaktivere Gruppe von beiden und wirkt gegenüber des Chinons bevorzugt, sodass diese Verbindung H_2O_2 abbauen kann. Chinone können demnach nicht nur Bestandteil von Krebstherapeutika sein, sondern auch antioxidative Eigenschaften ermöglichen. Es ist nicht auszuschließen, dass solche Verbindungen durch Erzeugung von mildem OS Zellen zur Proliferation anregen.

Ergebnisse des MTT-Assays von **2** und **30** unter Verwendung der Zelllinie SK-Mel-5 sind im nächsten Kapitel beschrieben (Kapitel 5.2.2).

5.2.1.1 Vergleich mit bekannten Antioxidantien

Um die gefundenen antioxidativen Eigenschaften mit denen bekannter Antioxidantien zu vergleichen, wurde die selenhaltige Verbindung Ebselen (2-Phenyl-1,2-benzisoselenazol-3(2H)-on, Acros, 99 %) und das Vitamin E-Derivat Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure, Biomol International) untersucht (Abbildungen **5.6** und **5.7**).

In Gegenwart von H_2O_2 konnte für beide Substanzen ein gutes antioxidatives Verhalten, vor allem im Bereich von 100 bis 200 μM , gefunden werden. Ohne H_2O_2 jedoch, ist keine Zunahme der Zellvitalität (Ebselen) oder nur eine geringe Zunahme (Trolox) sichtbar.

Das Ergebnis bestätigt die Selektivität gegenüber OS-gestressten HL-60 Zellen, wie sie auch bei den Verbindungen **2** und **30** vorkommt.

Der Vergleich mit **2** und **30** zeigt, dass die beiden synthetisierten Verbindungen dieser Arbeit eine gute Schutzfunktion haben.

2 ist in kleineren Konzentrationen als das zum Vergleich herangezogene Antioxidans Ebselen wirksam. Die Wirkung ist mit der von Trolox vergleichbar, wobei mit Konzentrationen von 25 μM bzw. 50 μM etwas höhere Werte als bei Trolox erzielt wurden.

30 zeigt gegenüber Ebselen und Trolox eine stärker ausgeprägte Wirkung, dieses im

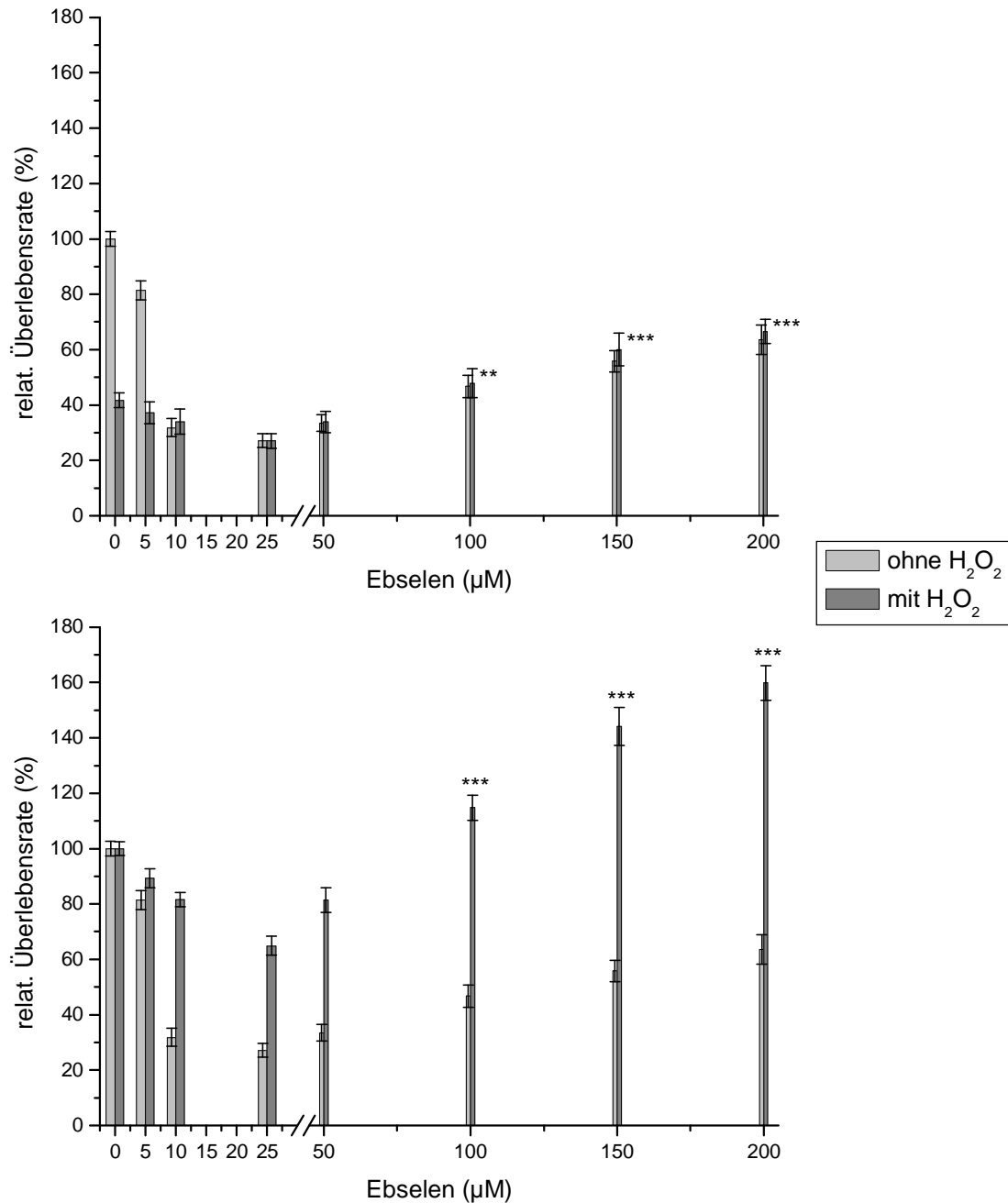
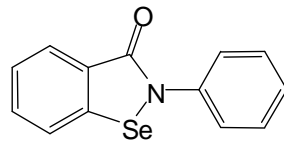


Abbildung 5.6: Einfluss von Ebselen (in 0.4 % DMSO) auf die Überlebensrate von HL-60 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 5 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte \pm SD von drei unabhängigen Versuchen. *** $P < 0.001$ gegenüber Kontrolle.

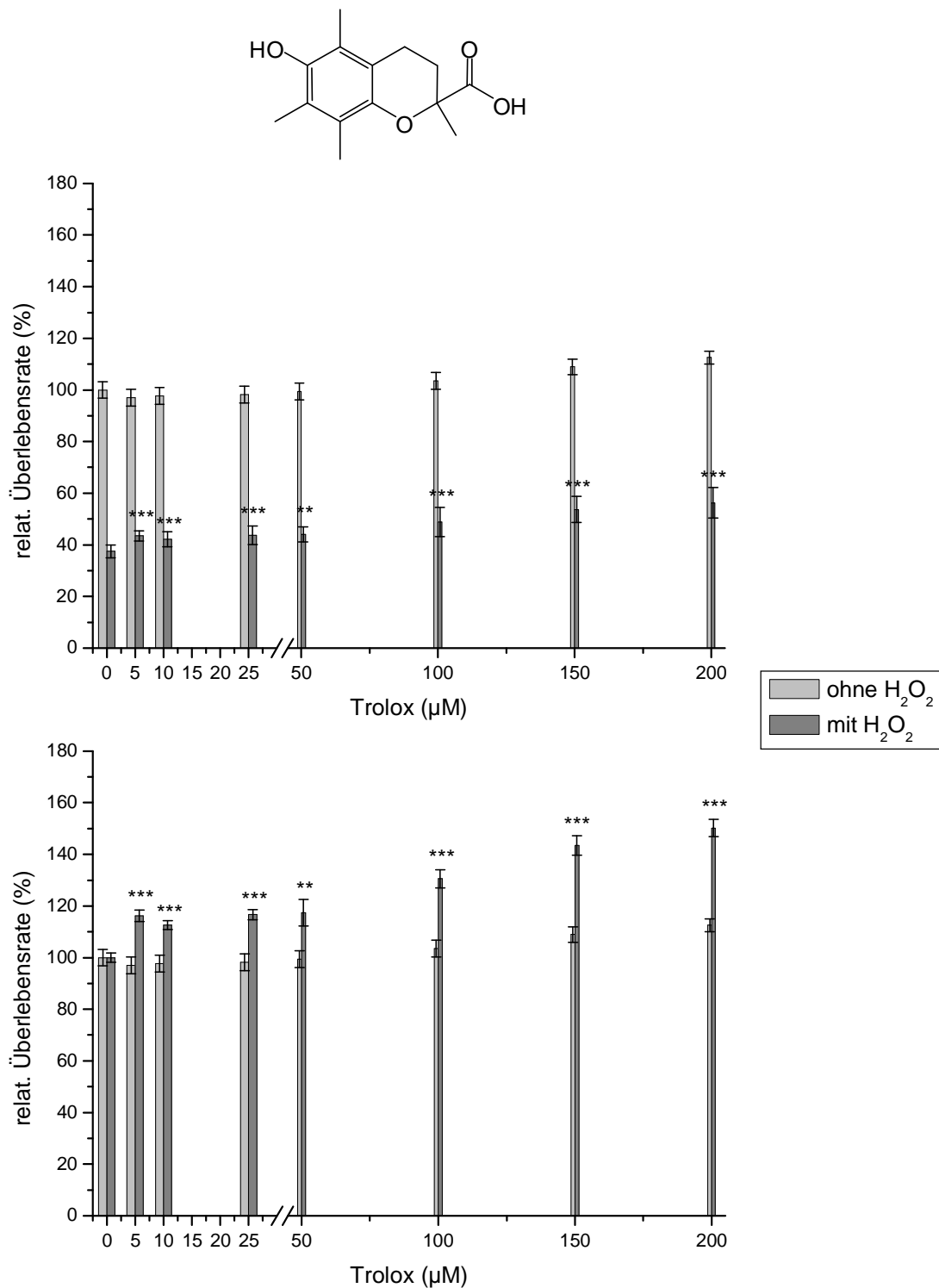


Abbildung 5.7: Einfluss von Trolox (in 0.4 % DMSO) auf die Überlebensrate von HL-60 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 5 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte ±SD von drei unabhängigen Versuchen. **P < 0.01, ***P < 0.001 gegenüber Kontrolle.

kompletten Konzentrationsbereich, wohingegen vor allem Ebselen nur von 100 bis 200 μM eine gute Wirkung hat. Verbindung **30** erreicht deutlich höhere Überlebensraten als Trolox.

Beide Verbindungen bieten im Gegensatz zu Ebselen und Trolox auch ohne Beisein von H_2O_2 einen stärkeren antioxidativen Schutz.

5.2.2 Selektive Zytotoxizität gegenüber H_2O_2 -stimulierten Zellen

In diesem Abschnitt werden Substanzen diskutiert, bei denen eine erhöhte Selektivität gegenüber Zellen mit höherem OS besteht. Der Effekt, dass die Lebensfähigkeit der Zellen SK-Mel-5 bei gemeinsamer Inkubation von Verbindungen und H_2O_2 stärker als bei Inkubation ohne H_2O_2 herabgesetzt wird, ist am deutlichsten bei den Substanzen **5**, **42** und **2** zu beobachten.

In allen Messungen mit SK-Mel-5 sind die Verbindungen zytotoxischer Natur, das betrifft die Messungen ohne aber auch mit H_2O_2 . **5** setzt die Lebensfähigkeit der Zellen bis auf 17 % (200 μM) herunter. Ebenso bei den gleichzeitig stimulierten Zellen. Im Bereich von 100-200 μM leben im Durchschnitt nur noch 28 % im Vergleich zur unstimulierten Kontrolle. Hingegen schädigen Konzentrationen von 5 μM und 10 μM Substanz die Zellen fast gar nicht (Abbildung **5.8**).

42 verhält sich ähnlich (Abbildung **5.9**). Bei Konzentrationen von 25 μM und höher sind die Überlebensraten im Beisein von H_2O_2 62 %. Ohne H_2O_2 sinkt sie bis auf 13 %.

Abbildung **5.8** zeigt für **5** außerdem, dass die Überlebensraten bei gemeinsamer Inkubation mit H_2O_2 um 27 % (25 μM) und 40 % (50 μM) geringer als bei unstimulierten substanzbehandelten SK-Mel-5 sind. Verbindung **42** zeigt gleiches Verhalten bei niedrigen Konzentrationen (5-50 μM). Stärkste Unterschiede sind bei 10 μM und bei 25 μM **42** zu finden. Sie betragen 52 % und 59 % in Bezug zur Kontrolle (siehe Abbildung **5.9**).

Mit 40 % (**5**, 50 μM) und 59 % (**42**, 25 μM) geringeren Überlebensraten als der Assay ohne Stimulation der Zellen gezeigt hat, ist eine eindeutige Selektivität der Verbindungen gegenüber oxidativ gestressten Zellen bewiesen. Unstimulierte Zellen werden deutlich weniger angegriffen, was eine gute Voraussetzung für die Behandlung von Tumorzellen bieten könnte. Die Werte sind signifikant unterschiedlich. Wirksamste Konzentrationen sind 25 μM (**42**) und 50 μM (**5**) in der Zelllinie SK-Mel-5. Bei hohen Konzentrationen (> 100 μM für **5**, > 50 μM für **42**) kehrt sich dieser Effekt allerdings um.

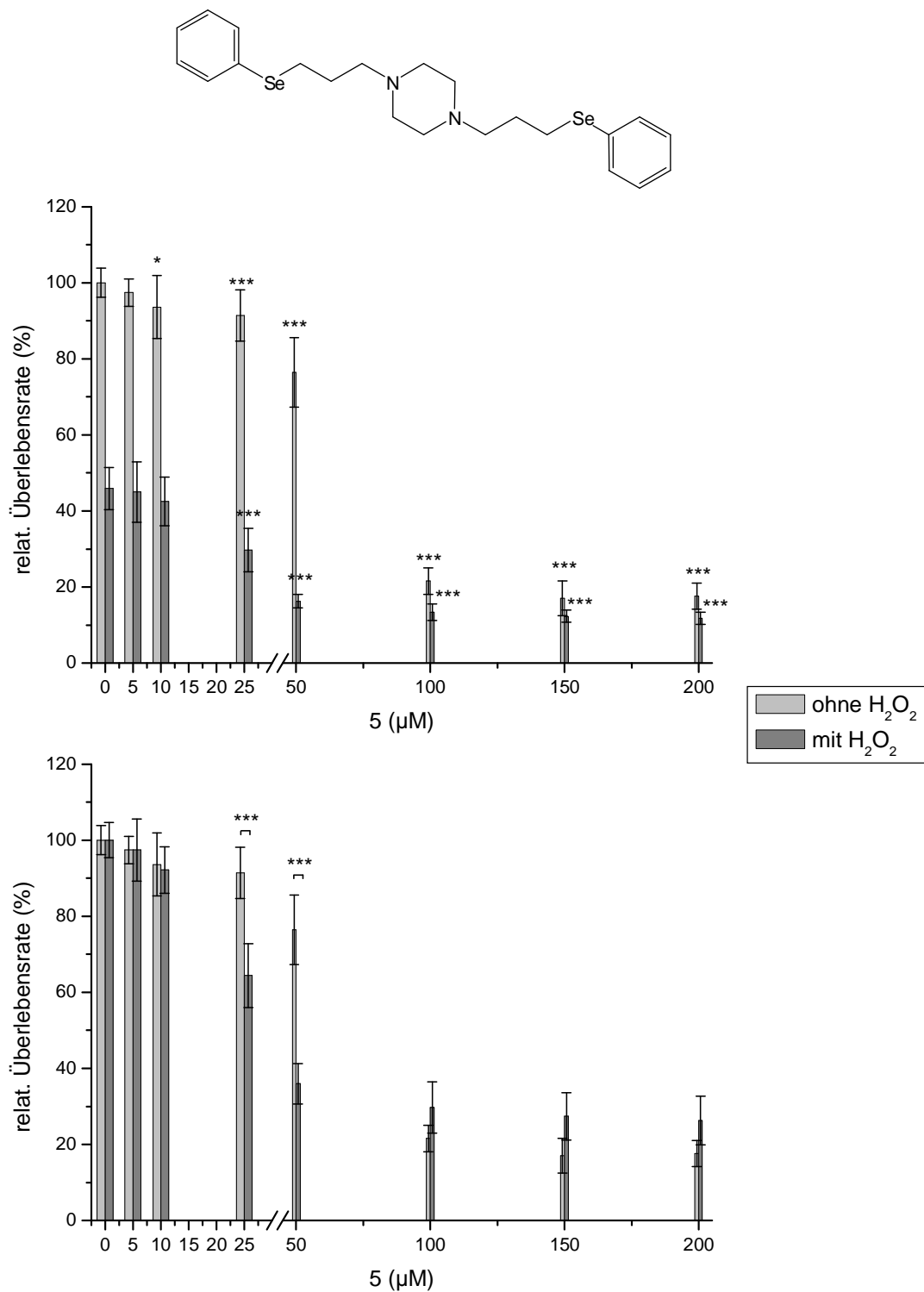


Abbildung 5.8: Einfluss von Verbindung 5 (in 0.4 % EtOH) auf die Überlebensrate von SK-Mel-5 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 1 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte ±SD von drei unabhängigen Versuchen. *P < 0.05, ***P < 0.001 gegenüber Kontrolle.

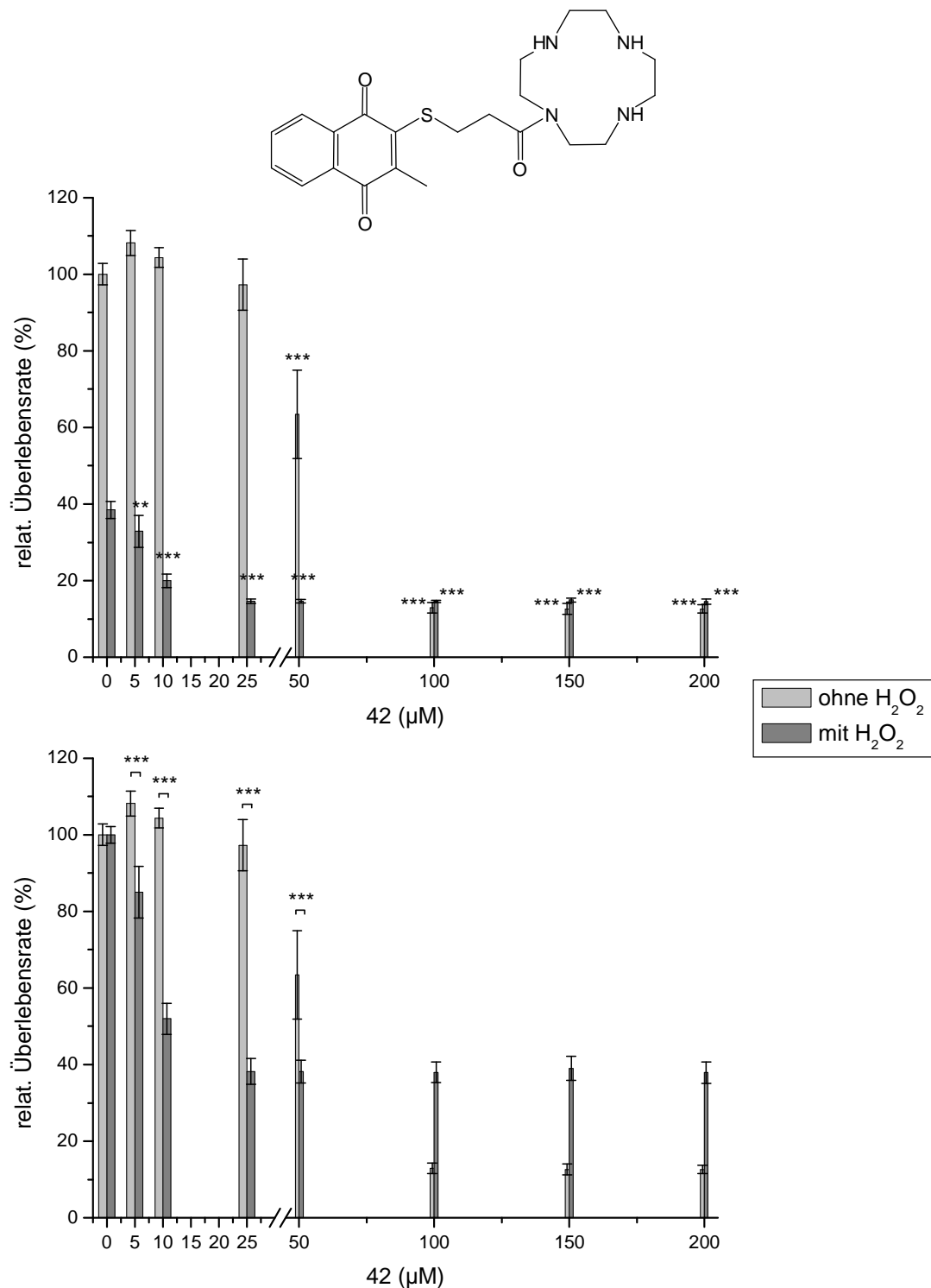


Abbildung 5.9: Einfluss von Verbindung 42 (in 0.4 % EtOH) auf die Überlebensrate von SK-Mel-5 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 1 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte ±SD von drei unabhängigen Versuchen. **P < 0.01, ***P < 0.001 gegenüber Kontrolle.

Verbindung **2** hat gegenüber HL-60 Zellen antioxidative Wirkung gezeigt (Kapitel 5.2.1). Bei Verwendung von SK-Mel-5 im MTT-Assay verhält sie sich aber wie **5** oder **42** (siehe Abbildung 5.10). Im Bereich von 5-50 μM sind alle Vitalitäten der gemeinsamen Inkubation mit H_2O_2 signifikant geringer als ohne H_2O_2 (13 % bis 28 % kleiner in Bezug auf die Kontrolle). Die zweite Verbindung, die antioxidative Wirkung zeigte (**30**, Kapitel 5.2.1), hat auf SK-Mel-5 einen geringeren Effekt. Bei einer Konzentration von 200 μM sind gegenüber unbehandelten Kontrollzellen nur noch 67 % Zellen vital, doch im Beisein von H_2O_2 wurde keine weitere Wirkung gefunden (nicht abgebildet).

An **2** wird deutlich, dass Substanzen, abhängig von ihrer Konzentration und von der Zelllinie, eine sehr unterschiedliche Wirkung haben können. Der Effekt in einem Zelltyp kann nicht geradewegs auf andere übertragen werden. Gegenüber HL-60 hat **2** Schutzfunktion vor OS (OS induziert durch H_2O_2), wirkt jedoch grundlegend anders in SK-Mel-5, wo es zytotoxisch, dabei sogar selektiv zytotoxisch gegenüber Zellen mit erhöhtem OS, ist. **2** gehört deshalb wohl zu den interessantesten Verbindungen, die in dieser Arbeit beschrieben werden. Es ist sowohl ein mögliches Antioxidans als auch ein potentieller Antikrebs-Wirkstoff. Selen spielt dabei eine wesentliche Rolle: Die Ergebnisse verdeutlichen, dass ein Selenzentrum benötigt wird, damit die Substanz reaktive Spezies wie H_2O_2 reduzieren kann oder aber zytotoxisch wirkt.

5 war aus synthetischer Sicht lediglich als Modellverbindung gedacht. Zusammen mit **42** und **2** ist aber auch diese Substanz ein Kandidat für die Krebsforschung geworden. Der Einfluss aller drei Verbindungen auf SK-Mel-5 Zellen ist vergleichbar. Diese Verbindungen zeigen Selektivität für Zellen, in denen zusätzlich OS induziert worden ist. Gegenüber ungestressten Zellen sind sie hingegen weniger zytotoxisch.

Alle Verbindungen mit einer erhöhten Selektivität auf stimulierte Zellen, zeigen dieses Phänomen nur in der Zelllinie SK-Mel-5. In der Zelllinie HL-60 zeigen **5** und **42** nur Zytotoxizität gegenüber unbehandelten Zellen. Die Überlebensraten sinken dabei bei 200 μM bis auf 33 % (**5**) und 42 % (**42**) (nicht abgebildet), aber mit H_2O_2 behandelte Zellen werden nicht angegriffen. Die selektive Wirkungsweise von **42** könnte auf die Chinongruppierung zurückgeführt werden, da diese in der Lage ist zusätzlichen OS zu produzieren. Die Wirkung des Schwefelatoms in solchen Verbindungen ist gewöhnlich gering, wie verwandte Studien bereits gezeigt haben. Dennoch gibt es einen Unterschied zu Verbindungen wie **14** oder **29**, denn in **42** befindet sich das Schwefelatom in direkter Nachbarschaft des Chins, damit ist die Reaktivität durchaus eine andere. Die Wirkung von **5** ist noch nicht geklärt. Vermutlich wirkt die Verbindung einfach nur zytotoxisch - eine Eigenschaft, die

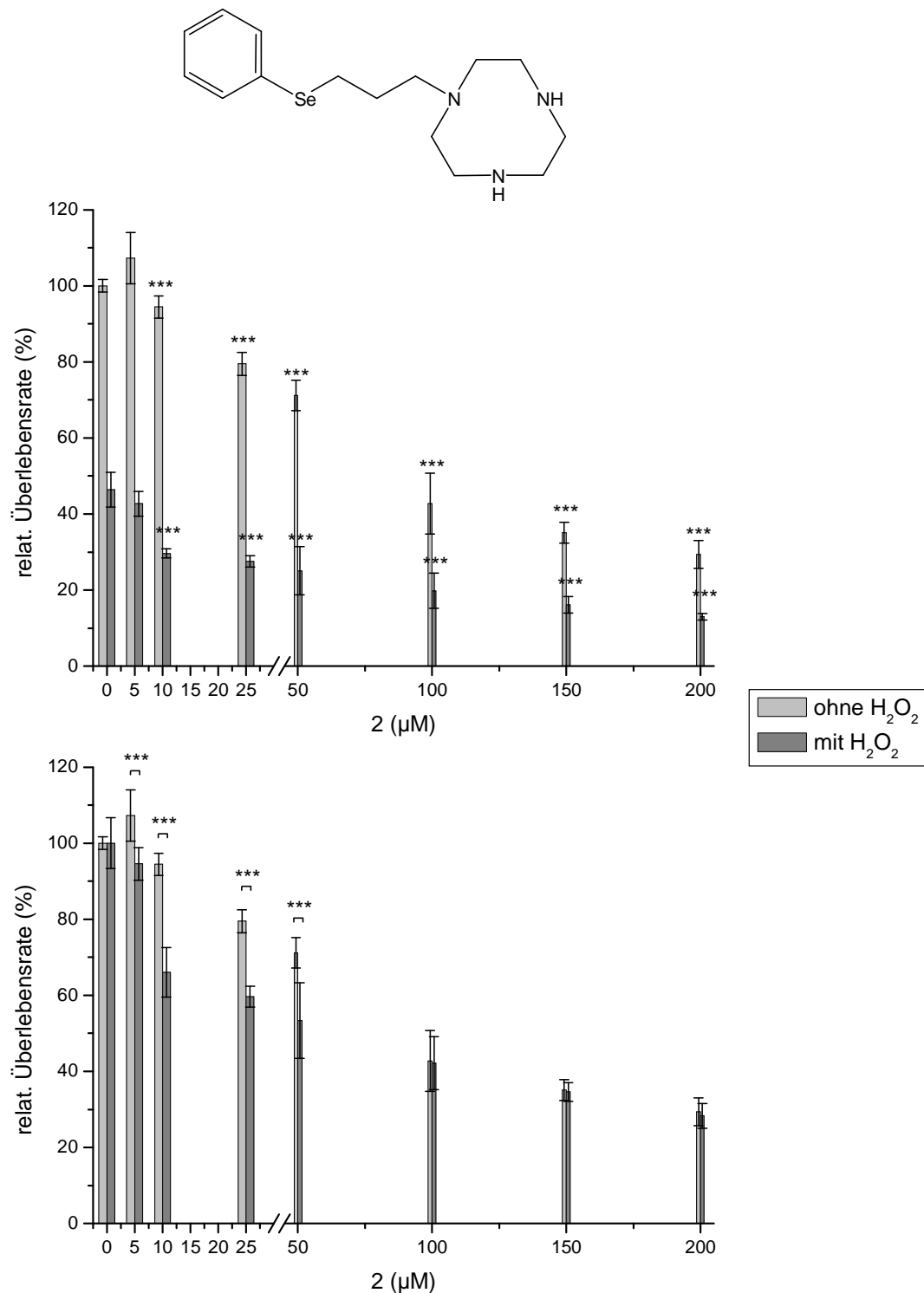


Abbildung 5.10: Einfluss von Verbindung 2 (in 0.4 % EtOH) auf die Überlebensrate von SK-Mel-5 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 1 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte \pm SD von drei unabhängigen Versuchen. ***P < 0.001 gegenüber Kontrolle.

nicht notwendigerweise auf die Erzeugung von OS zurückzuführen ist.

Der Einfluss von Verbindung **22** auf Zellen der Linie SK-Mel-5 ist mit dem auf HL-60 Zellen vergleichbar (siehe Abbildungen **5.11** und **5.12**). Vitalitäten sinken in der Melanomzelllinie bis auf wenige Prozent. Im Fall von HL-60 ist der Effekt etwas weniger ausgeprägt, aber auch eine Reduzierung bis auf 68 % (mit H_2O_2) und 47 % (ohne H_2O_2) zu beobachten. Die Verbindung wirkt stark zytotoxisch.

Interessanterweise gibt es aber jeweils eine Konzentration, bei der die Vitalität ohne Einwirkung von OS durch H_2O_2 signifikant größer ist als in Gegenwart von H_2O_2 : Bei 25 μM von **22** sind die Unterschiede signifikant groß (Unterschied HL-60: 15 % (Abbildung **5.11**), Unterschied SK-Mel-5: 33 % (Abbildung **5.12**)), jedoch nur bei dieser Konzentration, was eine gewisse Einschränkung bedeutet. Für ein gutes Krebstherapeutikum sollte der Effekt stärker ausgeprägt sein, jedoch muss man entgegengesetzen, dass beide Zelllinien dasselbe Ergebnis zeigen, was auf einen vielseitigeren Einsatz hindeuten könnte. Dazu müsste die Wirkung von **22** zunächst an weiteren Zelllinien getestet werden. Das Ergebnis ergibt sich dadurch, daß die relat. Überlebensraten für H_2O_2 -gestresste Zellen früher abfallen als für die Zellen ohne H_2O_2 . Die Zytotoxizität der mit H_2O_2 behandelten Zellen ist zu gering, um eine stärker ausgebildete, selektive Zytotoxizität gegenüber H_2O_2 -stimulierten Zellen zu erhalten - bzw. ist die Zytotoxizität H_2O_2 -unbehandelter Zellen bei höheren Konzentrationen zu massiv. Ansonsten ist **22** eine zytotoxische Verbindung, stärker noch für SK-Mel-5 als HL-60.

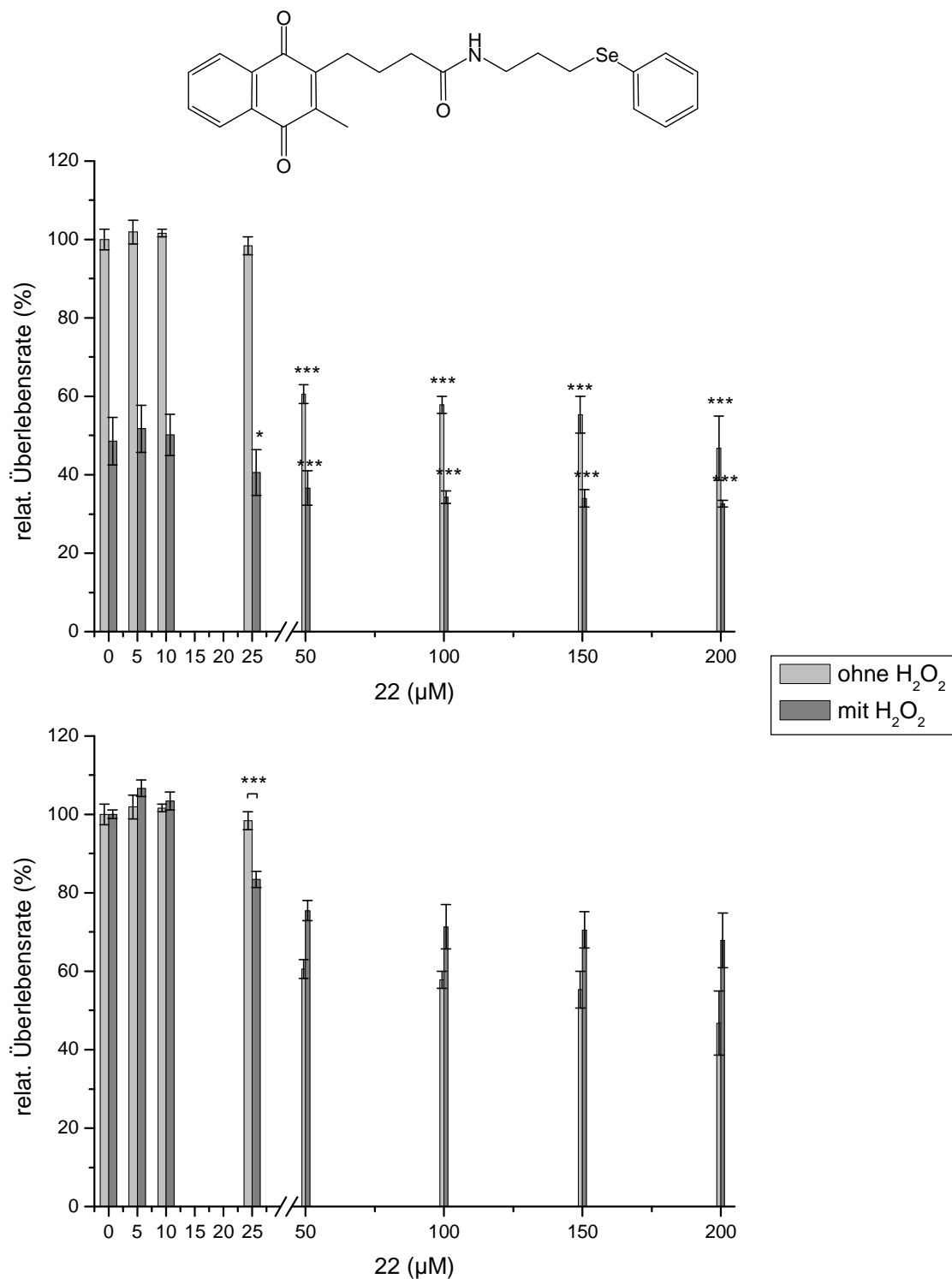


Abbildung 5.11: Einfluss von Verbindung 22 (in 0.4 % DMSO) auf die Überlebensrate von HL-60 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 5 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte ±SD von drei unabhängigen Versuchen. *P < 0.05, ***P < 0.001 gegenüber Kontrolle.

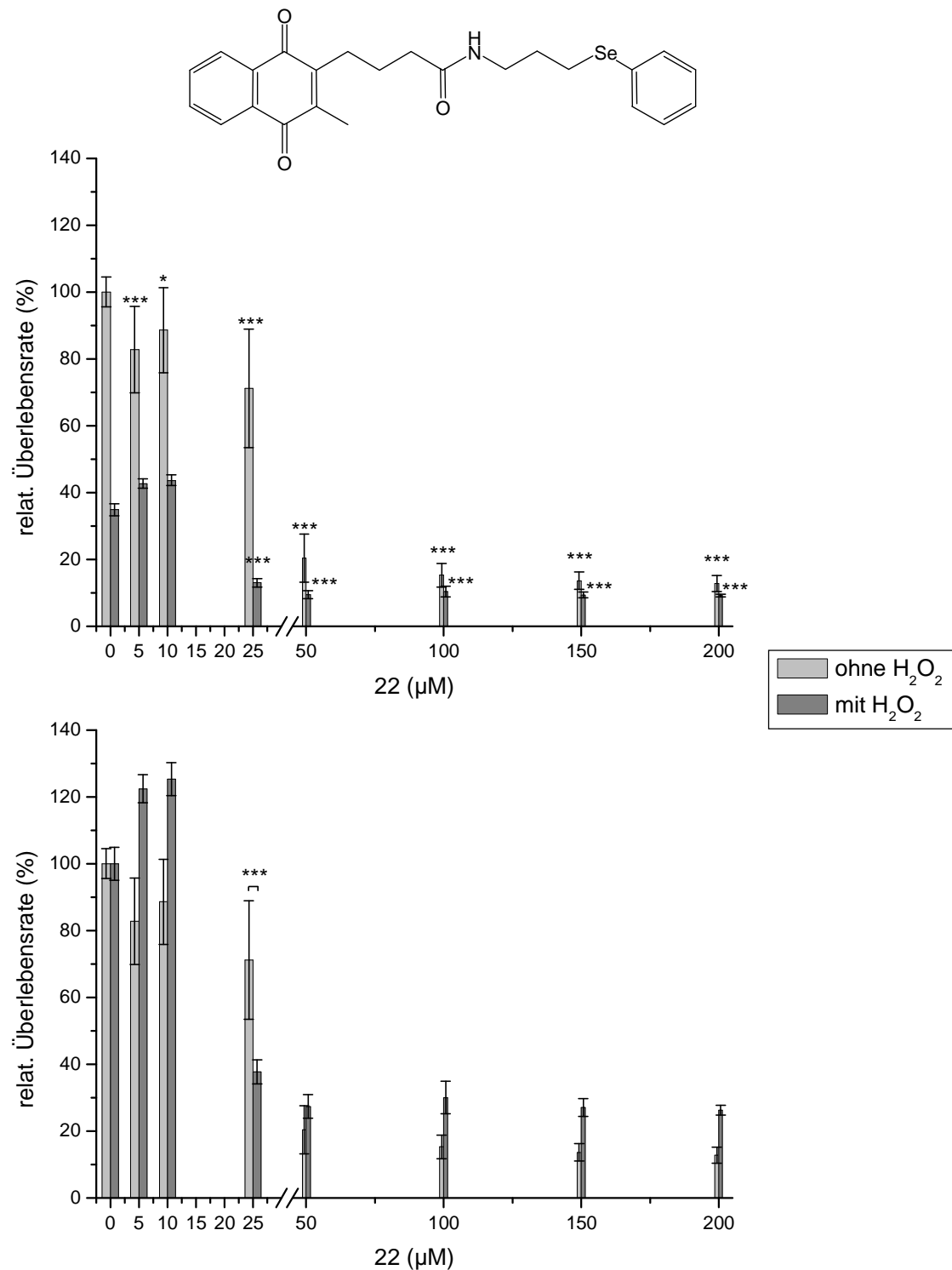


Abbildung 5.12: Einfluss von Verbindung 22 (in 0.4 % DMSO) auf die Überlebensrate von SK-Mel-5 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 1 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte ±SD von drei unabhängigen Versuchen. *P < 0.05, ***P < 0.001 gegenüber Kontrolle.

5.2.3 Zytotoxische Substanzen

Generell lässt sich feststellen, dass die getesteten Tellurverbindungen stark zytotoxisch wirkende Substanzen sind, zumindest in den von uns verwendeten Zelllinien HL-60 und SK-Mel-5. Dazu gehören die Verbindungen **23**, **26**, **31** und **32**.

Die Unterschiede der Toxizität zwischen den genannten Verbindungen sind dabei nur gering. Die Verbindungen wirken schon in kleinen Konzentrationen stark zytotoxisch auf beide Zelllinien. Allgemein ist zu erkennen, dass die Verbindungen stärker zytotoxisch gegenüber SK-Mel-5 als gegenüber HL-60 Zellen wirken. Stellvertretend für die Tellurverbindungen sind die Ergebnisse von Verbindung **31** abgebildet (Abbildungen **5.13** und **5.14**). In beiden Zelllinien sind die Überlebensraten gegenüber den Kontrollen stark herabgesetzt. Die Verbindungen wirken dabei nicht selektiv auf H₂O₂-gestresste Krebszellen. Im Gegenteil, die nicht zusätzlich mit H₂O₂ gestressten, „normalen“ Zellen werden sogar stärker abgetötet, setzt man beide Kontrollen auf 100 % vital. Dieses Phänomen ist sehr schwierig zu erklären. Es ist möglich, dass H₂O₂ die Zellproliferation anregt, aber dies ist ohne weitere Untersuchungen nur Spekulation. Wird die relat. Überlebensrate der H₂O₂-stimulierten Kontrolle nicht auf 100 % vital gesetzt und alle Werte gegenüber der völlig unbehandelten Kontrolle (100 %) verglichen, dann sind die Überlebensraten der meisten Substanzkonzentrationen nahezu gleich (vergleiche jeweils ohne/mit H₂O₂ in jeweils oberen Diagrammen). Dies deutet darauf hin, dass das Phänomen in Wirklichkeit nur minimal ist und „normale“ (nicht gestresste) Krebszellen nicht wesentlich stärker betroffen sind. Alle Balken führen zu einer nahezu gleichen relat. Überlebensrate.

Interessant ist auch, dass bei allen diesen Verbindungen SK-Mel-5 Zellen stärker betroffen sind als HL-60 Zellen. Dies ist deshalb positiv zu bewerten, weil es uns Hinweise auf eine gewisse Zelllinien-spezifische Selektivität und damit die bessere Therapie von manchen Krebsarten gibt.

Neben den Tellurverbindungen erweist sich auch Verbindung **3** als stark zytotoxisch in beiden Zelllinien (siehe Abbildungen **5.15** und **5.16**). Dies steht im Gegensatz zur chemisch ähnlichen Verbindung **2**, die einerseits eine ROS-reduzierende Wirkung und andererseits eine zytotoxische, aber selektive Wirkung aufweist (Kapitel 5.2.1 und 5.2.2).

Die Tellurverbindungen wurden in vergleichsweise hohen Konzentrationen (5 bis 200 μ M) verwendet. Das Verhalten bei niedrigeren Konzentrationen ($< 1 \mu$ M) muss separat untersucht werden. Im nanomolaren Bereich können sich erneut Verbindungen mit potentiellen Eigenschaften, einer Selektivität gegenüber stressinduzierten Zellen, herausstellen.

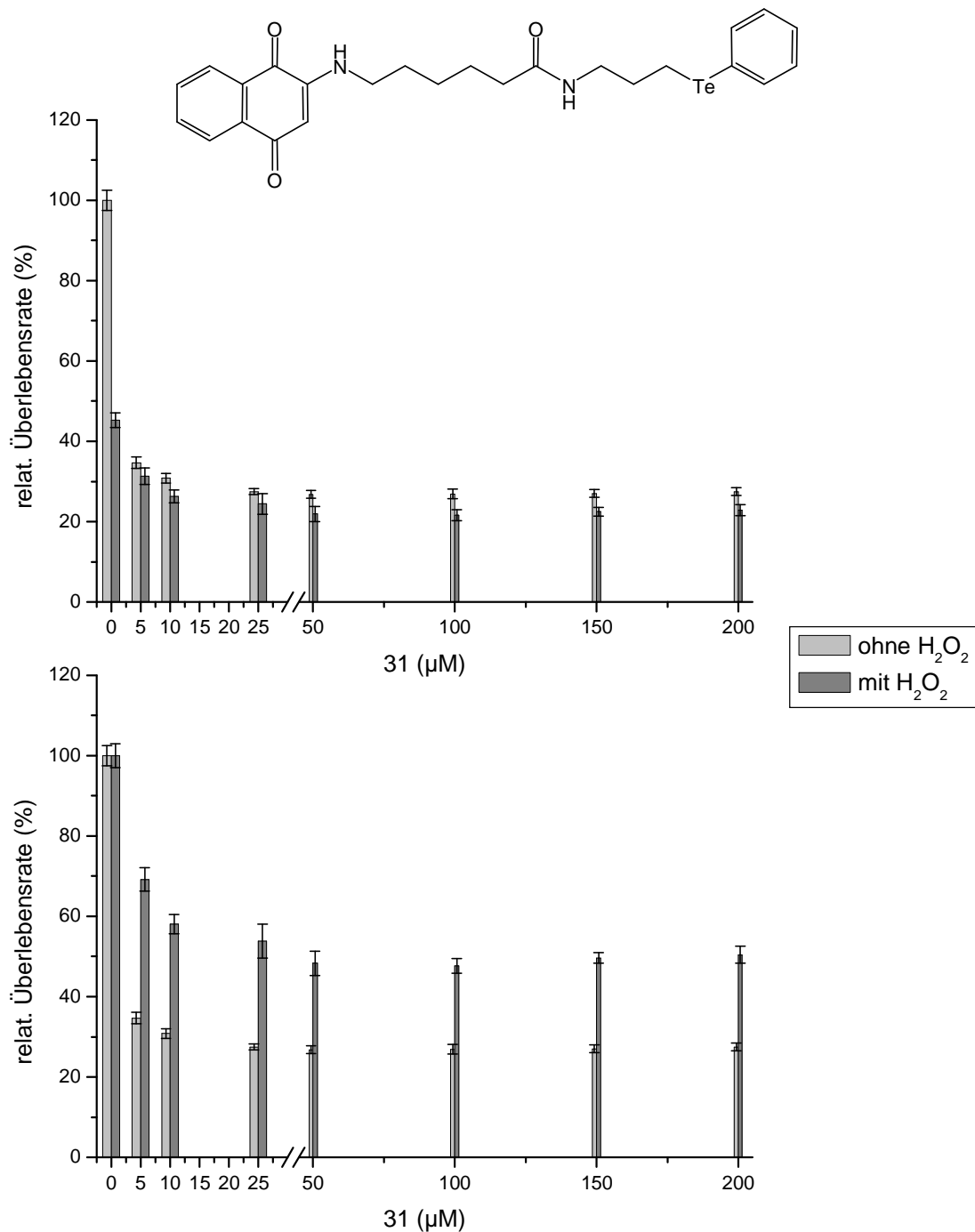


Abbildung 5.13: Einfluss von Verbindung **31** (in 0.4 % DMSO) auf die Überlebensrate von HL-60 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 5 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte \pm SD von drei unabhängigen Versuchen. Alle Überlebensraten signifikant unterschiedlich ($P < 0.001$) gegenüber Kontrolle.

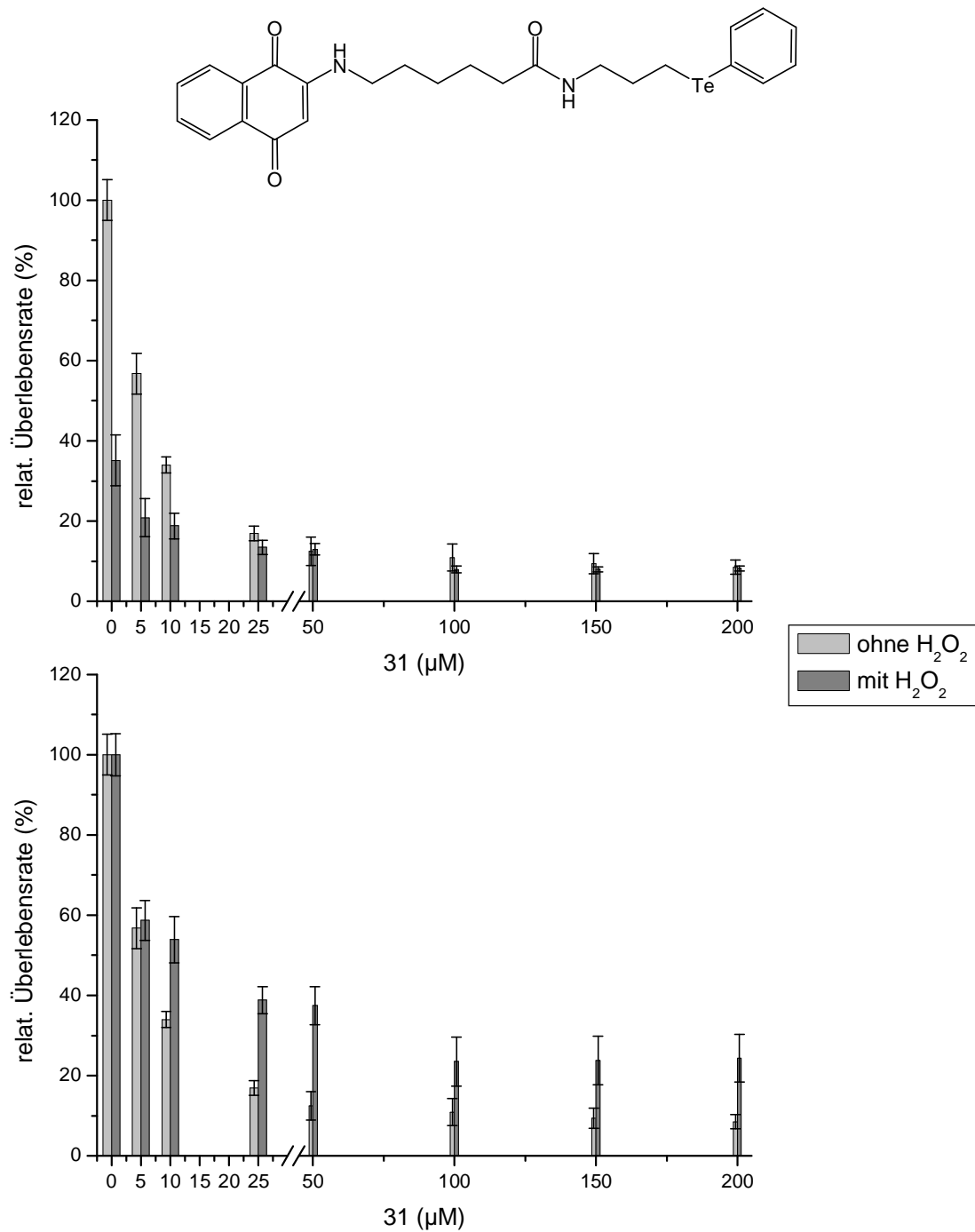


Abbildung 5.14: Einfluss von Verbindung **31** (in 0.4 % DMSO) auf die Überlebensrate von SK-Mel-5 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 1 mM H₂O₂ für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H₂O₂ behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte \pm SD von drei unabhängigen Versuchen. Alle Überlebensraten signifikant unterschiedlich ($P < 0.001$) gegenüber Kontrolle.

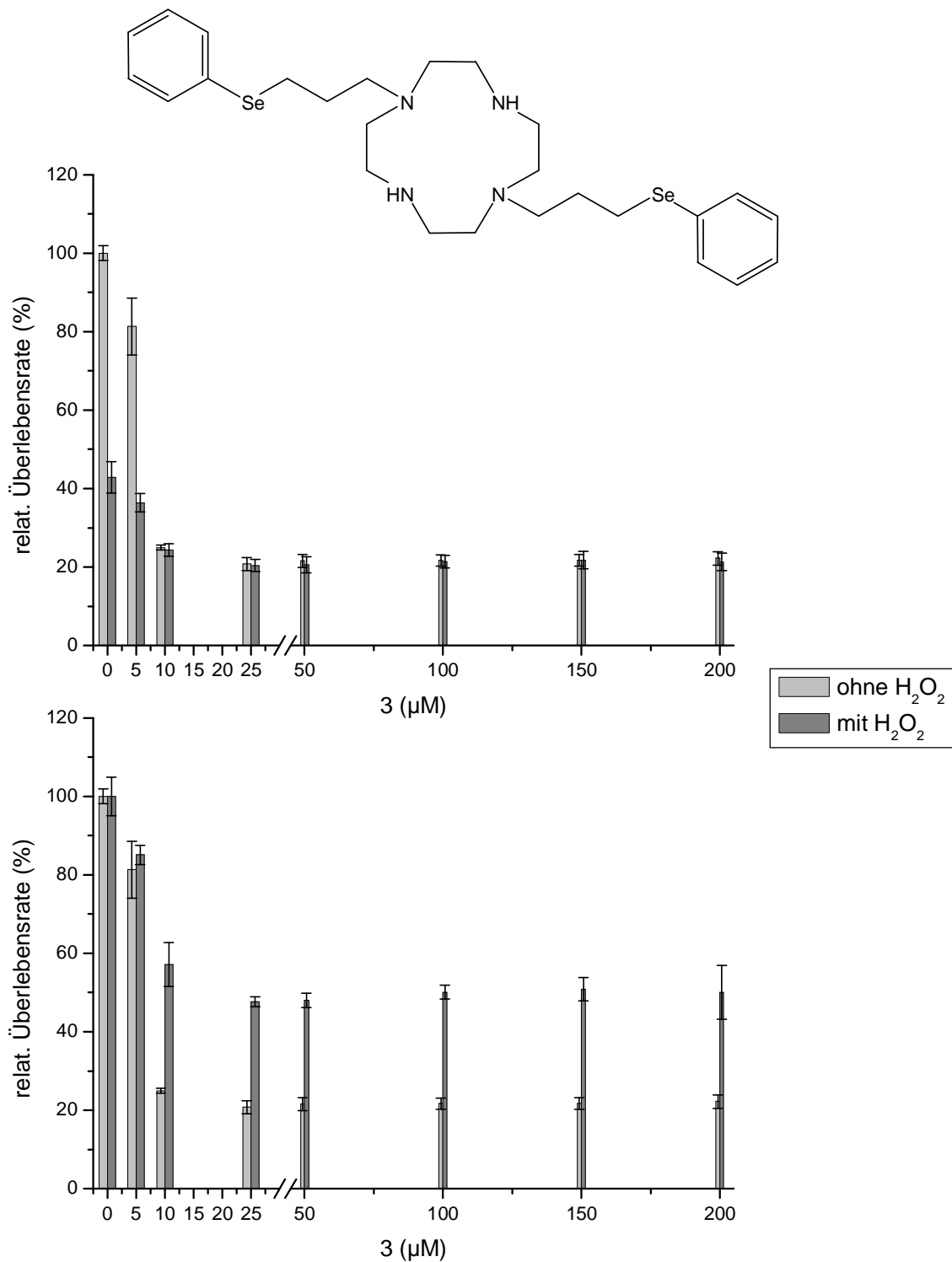


Abbildung 5.15: Einfluss von Verbindung 3 (in 0.4 % EtOH) auf die Überlebensrate von HL-60 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 5 mM H_2O_2 für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H_2O_2 behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte \pm SD von drei unabhängigen Versuchen. Alle Überlebensraten signifikant unterschiedlich ($P < 0.001$) gegenüber Kontrolle.

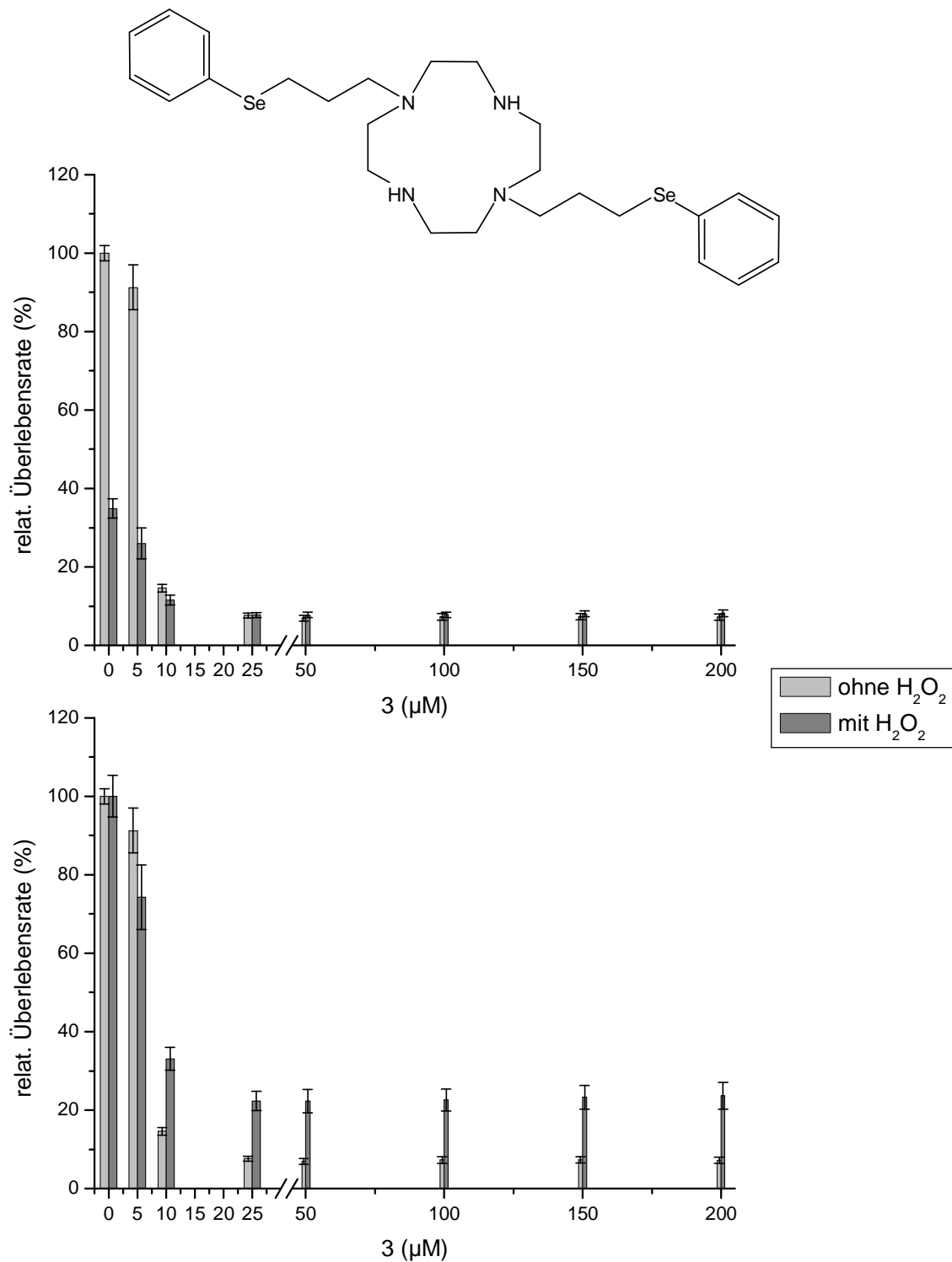


Abbildung 5.16: Einfluss von Verbindung 3 (in 0.4 % EtOH) auf die Überlebensrate von SK-Mel-5 Zellen. Die Zellen wurden in Abwesenheit und in Gegenwart von 1 mM H_2O_2 für 24 h inkubiert und die Überlebensrate mittels MTT-Assay bestimmt, ausgedrückt in Prozent. Unbehandelte Kontrollen wurden auf 100 % vital gesetzt (oben). Die unbehandelte und die ausschließlich mit H_2O_2 behandelte Kontrolle wurden als 100 % gesetzt (unten). Mittelwerte $\pm\text{SD}$ von drei unabhängigen Versuchen. Alle Überlebensraten signifikant unterschiedlich ($P < 0.001$) gegenüber Kontrolle. 5 μM 3/ohne H_2O_2 $P < 0.01$.

5.2.4 Verbindungen ohne Wirkung

Verbindungen, die Schwefel und Chinone kombinieren (**14**, **29**) oder nur Chinone enthalten (**41**), sind in den verwendeten Konzentrationen wirkungslos gegenüber HL-60 Zellen und SK-Mel-5 Zellen. Diese Verbindungen sind weder zytotoxisch an sich, auch ist die Bildung freier Radikale mit Hilfe des Chinons und folglich der Erhöhung der ROS in der Zelle offensichtlich eingeschränkt. Es bestätigt auch, dass das Schwefelatom in diesen Verbindungen nicht reaktiv genug ist, um katalytisch wirksam zu sein. Die Selen-Chinon-Verbindungen **15**, **17** und **25** haben ebenfalls keine Wirkung in den Zelllinien HL-60 und SK-Mel-5.

Generell gilt: Schwefel-Verbindungen können reaktiv sein. Es gibt eine gewisse strukturabhängige Aktivität. Selen-Verbindungen sind zumeist reaktiv. Tellur-Verbindungen sind stark toxisch, zumindest in den in dieser Arbeit verwendeten Konzentrationen von $\geq 5 \mu\text{M}$.

Verbindungen **9**, **10** und **34** wurden nicht getestet. Da Analogie zu anderen getesteten Verbindungen besteht, wurden auch die Schwefelverbindungen **21**, **24** und die bifunktionale Verbindung **40** nicht betrachtet.

5.3 Ergebnisse des fluorimetrischen Nachweises von ROS (DCF-Assay)

An ausgesuchten Verbindungen dieser Arbeit, die durch Bestimmung der Vitalität als sehr interessant empfundenen worden, wurden Messungen zum Nachweis von intrazellulärem OS durchgeführt.

5.3.1 Antioxidativ wirkende Substanzen

Fluorimetrische Untersuchungen, basierend auf der Umsetzung des Farbstoffes DCFH-DA in den fluoreszierenden Farbstoff DCF durch ROS sollen zeigen, ob die Verbindungen **2** und **30** tatsächlich den durch Stimulation erzeugten OS in HL-60 Zellen herabsetzen können und damit antioxidative Wirksamkeit besitzen. Nachdem die Zellen mit Testsubstanz versetzt und mit DCFH-DA beladen wurden, wird OS induziert. Zur Stimulation dient H_2O_2 in einer Endkonzentration von $200 \mu\text{M}$ und PMA (Phorbol-12-myristat-13-acetat) mit 200 nM .

Abbildung 5.17 zeigt die Ergebnisse der Behandlung von HL-60 Zellen mit den Substanzen **2** und **30**. Die gemessenen Fluoreszenzintensitäten sind gegenüber der stimulierten Kontrolle (0 μM Substanz) dargestellt, die auf 100 % relative Fluoreszenz gesetzt worden ist. Es sind stellvertretend Messungen nach 30 Minuten abgebildet.

Das Verhalten von beiden Verbindungen ist sehr ähnlich und lässt deutlich erkennen, dass sie antioxidative Wirksamkeit besitzen indem sie OS, induziert durch H_2O_2 als auch durch PMA, herabsetzen. Vergleicht man relative Erniedrigung der Fluoreszenz der unterschiedlichen Induktionsarten, so ist der Unterschied zwischen diesen gering.

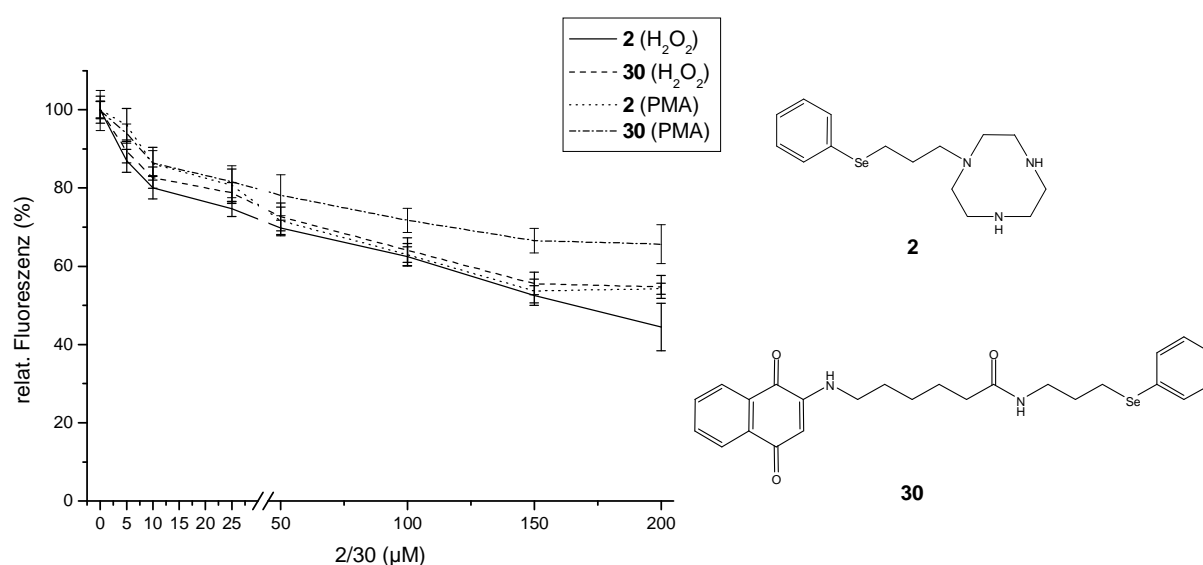


Abbildung 5.17: Einfluss der Verbindungen **2** (in 0.4 % EtOH) und **30** (in 0.4 % DMSO) auf ROS in HL-60 Zellen, gemessen durch Dichlorofluorescein (DCF)-Fluoreszenz-Assay. Induktion von OS mittels H_2O_2 (200 μM) bzw. PMA (20 nM). Fluoreszenzintensitäten als Prozent der stimulierten Kontrolle nach 30 min. Mittelwerte \pm SD von drei unabhängigen Versuchen. Mit Ausnahme der Werte bei Konzentrationen von 5 μM durch PMA-Induktion erzeugten OS sind alle relativen Fluoreszenzen signifikant unterschiedlich ($P < 0.001$) gegenüber stimulierter Kontrolle (100 %).

5.3.2 Selektiv zytotoxisch wirkende Substanzen

Um die Frage zu beantworten, ob die gefundene Zytotoxizität von **2**, **5** und **42** (alle in SK-Mel-5) mit ROS im Zusammenhang steht, wurden DCF-Assays mit SK-Mel-5 Zellen durchgeführt.

Zunächst wurde der Assay in Anlehnung an die in der Zelllinie HL-60 verwendete

Methode durchgeführt. Nach Vorbereitung der Zellen und Inkubation mit Testsubstanzen erfolgt die Zugabe von Farbstoff, gefolgt von der Zugabe des Stimulanten H_2O_2 .

Eine Anregung von PMA war an dieser Stelle nicht möglich, da sich SK-Mel-5 Zellen durch PMA nur wenig oxidativ stressen lassen, d.h. es kann nicht genügend OS erzeugt werden, um diesen anschließend im DCF-Assay zu messen. Deshalb ist es auch nicht möglich, die eventuelle Erhöhung von OS durch ausschließliche Verbindungszugabe zu messen. Zur Untersuchung der Substanzen wird also zunächst auf die Stimulation mit H_2O_2 zurückgegriffen.

Um Wechselwirkungen der Substanzen außerhalb der Zellen auszuschließen, wird ein weiterer DCF-Assay durchgeführt.

Aufgrund dessen, dass SK-Mel-5 eine adhärente Zelllinie ist, kann in diesen Versuchen nach dem Behandeln der Zellen mit Testsubstanz das Medium inklusive Substanz abpipettiert werden und die Zellen mit PBS gewaschen werden. Damit werden die Zellen nur mit Substanz beladen, und nur OS gemessen, der im Zellinneren gebildet worden ist. Extrazelluläre Effekte der Verbindungen werden so ausgeschlossen. Es wird wie vorher verfahren, mit DCFH-DA inkubiert und nach Zugabe von H_2O_2 die Fluoreszenz bestimmt.

In der folgenden Abbildung (5.18) sind die Effekte der Substanzen **2** und **42** auf ROS ohne und mit Waschschrift dargestellt. Als erstes Ergebnis ist sichtbar, dass beide Verbindungen den durch H_2O_2 induzierten OS herabsetzen. Beide Substanzen sind demnach zytotoxisch auf SK-Mel-5 Zellen, aber nicht auf grund der Tatsache, dass sie OS produzieren.

Es ist möglich, dass in Verbindung **42** das Chinon nicht in der Lage ist Radikale zu bilden, welche zum Zelltod führen. Hingegen scheint das Schwefelatom eine höhere Aktivität zu haben als gedacht. Für **2** bestätigt es die Ergebnisse aus den Untersuchungen an HL-60 Zellen: Die Gegenwart eines reaktiven Selenzentrums verursacht eine antioxidative Wirkung. Dennoch ist **2** gegenüber SK-Mel-5 zytotoxisch, wie im MTT-Assay bewiesen werden konnte.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Verbindungen **2** und **42** zwar wie ein Antioxidans die ROS beeinflussen, aber dennoch zytotoxisch sind. ROS-Produktion erklärt deshalb nicht ihre Toxizität. Hingegen ist es durchaus möglich, dass solche Verbindungen ROS verbrauchen, z.B. um redox-empfindliche Proteine und Enzyme zu oxidieren. Eine derartige Reaktion würde ebenfalls zu einer meßbaren Erniedrigung führen.

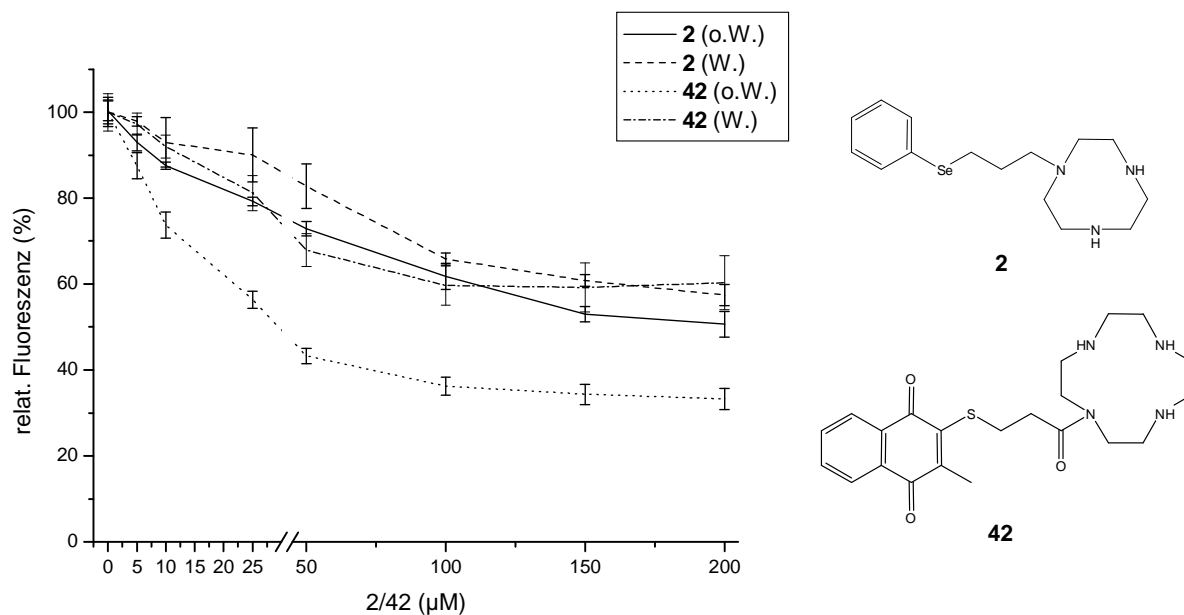


Abbildung 5.18: Einfluss der Verbindungen **2** (in 0.4 % EtOH) und **42** (in 0.4 % EtOH) auf ROS in SK-Mel-5 Zellen, gemessen durch Dichlorofluorescein (DCF)-Fluoreszenz-Assay. Induktion von OS mittels H_2O_2 (200 μM), ohne Waschen (o.W.) und mit Entfernen überschüssiger Substanzen und Waschen der Zellen (W.). Fluoreszenzintensitäten als Prozent der stimulierten Kontrolle nach 30 min. Mittelwerte $\pm SD$ von drei unabhängigen Versuchen. Alle Werte von **2/42** (o.W.) signifikant gegenüber stimulierter Kontrolle (100 %). **2** (W.) – 25 μM : $P < 0.01$, $c \geq 50 \mu M$: $P < 0.001$. **42** (W.) – 10 μM : $P < 0.01$, $c \geq 25 \mu M$: $P < 0.001$.

Für Verbindung **5** wurde keine Erniedrigung, auch keine Erhöhung der Fluoreszenzen gefunden (nicht abgebildet). Dies deutet darauf hin, dass **5** ausschließlich zytotoxische Wirkung hat, aber demnach keinen Einfluss auf das ROS-Level. **2**, **5** und **42** sind für die Anwendung als zytotoxischer Antikrebs-Wirkstoff gut geeignet.

Die Resultate zeigen außerdem, dass nach Abnehmen des Mediums und Waschen der Zellen die gemessenen Fluoreszenzen größer sind als ohne dieses. Das heißt, dass Substanz die sich außerhalb der Zellen befindet in die Messung eingeht und damit ROS zusätzlich erniedrigt hat. Dies gilt insbesondere für **42**. Bei **2** sind lediglich kleinere Erniedrigungen gegenüber den Zellen nach Entfernen des Mediums messbar.

Um genaue Aussagen über das intrazelluläre ROS-Level zu erhalten, sollte man deshalb, sofern dies möglich ist, alle überschüssige Substanz vor Inkubation mit Farbstoff abtrennen und dann erst OS induzieren. Im Fall von HL-60 (siehe Kapitel 5.2.1) kann die Methode des Abpipettierens nicht verwendet werden, da es sich um Suspensionszellen handelt. Auch ein Ausdifferenzieren mit PMA hat gezeigt, dass die Zellen nur wenig am Plattenboden anhaften und durch Abpipettieren eine erhebliche Anzahl an Zellen verloren geht.

5.4 Vitalitätsbestimmungen an weiteren Krebszelllinien

5.4.1 Tumorzelllinien-Screening des NCI

Für einige der synthetisierten Verbindungen wurden Tests vom National Cancer Institute (Bethesda, MD, USA) durchgeführt. Es wurde die Wachstumshemmung für einen großen Bereich von Tumoren untersucht. Die Substanzen wurden an 60 menschlichen Tumorzelllinien getestet. Dazu gehören Zelllinien aus den Bereichen: Lungen-, Darm-, Eierstock-, Nieren-, Prostata- und Brustkrebs, sowie Leukämie, Melanom und Tumoren des Zentralen Nervensystems. Die Verbindungen wurden in einer Konzentration von 10 μM getestet.

Für jede Zelllinie wird die relative Sterberate bestimmt. Es wird ein Mittelwert aus allen Sterberaten berechnet (Mean). Die Ergebnisse werden in Form eines Balkendiagramms zusammengestellt, in dem die relativen Sterberaten der einzelnen Zelllinien gegenüber des Mittelwertes Mean dargestellt sind. Balken nach rechts kennzeichnen Zelllinien, die eine stärkere Wirkung als der Mittelwert hatten. Balken nach links bedeuten eine geringere Wirkung als der Durchschnitt.

Die Verbindungen **2**, **5**, **42**, **30** und **31** wurden untersucht. **2**, **5**, **42** und **30** haben in vielen Zelllinien keinen deutlichen Effekt gezeigt.

Für **31** wurde ein Mittelwert (Mean) von -24.03 % errechnet. Bei der getesteten Konzentration von 10 μM ist eine selektive Wachstumshemmung verschiedener Zelllinien sichtbar (siehe Abbildung **5.19**). So auch gegenüber der Zelllinie SK-Mel-5, bei welcher mit -92.89 % die stärkste Hemmung aller getesteten Zelllinien auftritt (7.11 % Überleben). Es konnte damit erneut bestätigt werden, dass im Fall von Tellurverbindungen stark zytotoxische Effekte auftreten.

Durch derartig komplexe, aber auch äußerst aufwendige Zelltests lassen sich viele Informationen gewinnen. Interessante Substanzen können somit optimal eingeschätzt und miteinander, als auch mit bekannten Krebstherapeutika, verglichen werden. Jede Substanz erhält ihr eigenes charakteristisches Profil. Ziel ist es, dass die Verbindungen im Durchschnitt vernünftig toxisch sind. Außerdem sollen sie eine bestimmte Selektivität haben und nur toxisch für bestimmte Tumorzellen bzw. für verschiedene Klassen an Krebszellen sein, worüber der Screen von NCI einen guten Überblick gibt. **31** hat z.B. eine Toxizität auf verschiedene Lungen-, Darm- und Nierenkrebsarten, wirkt aber nicht gegen Leukämiezellen.

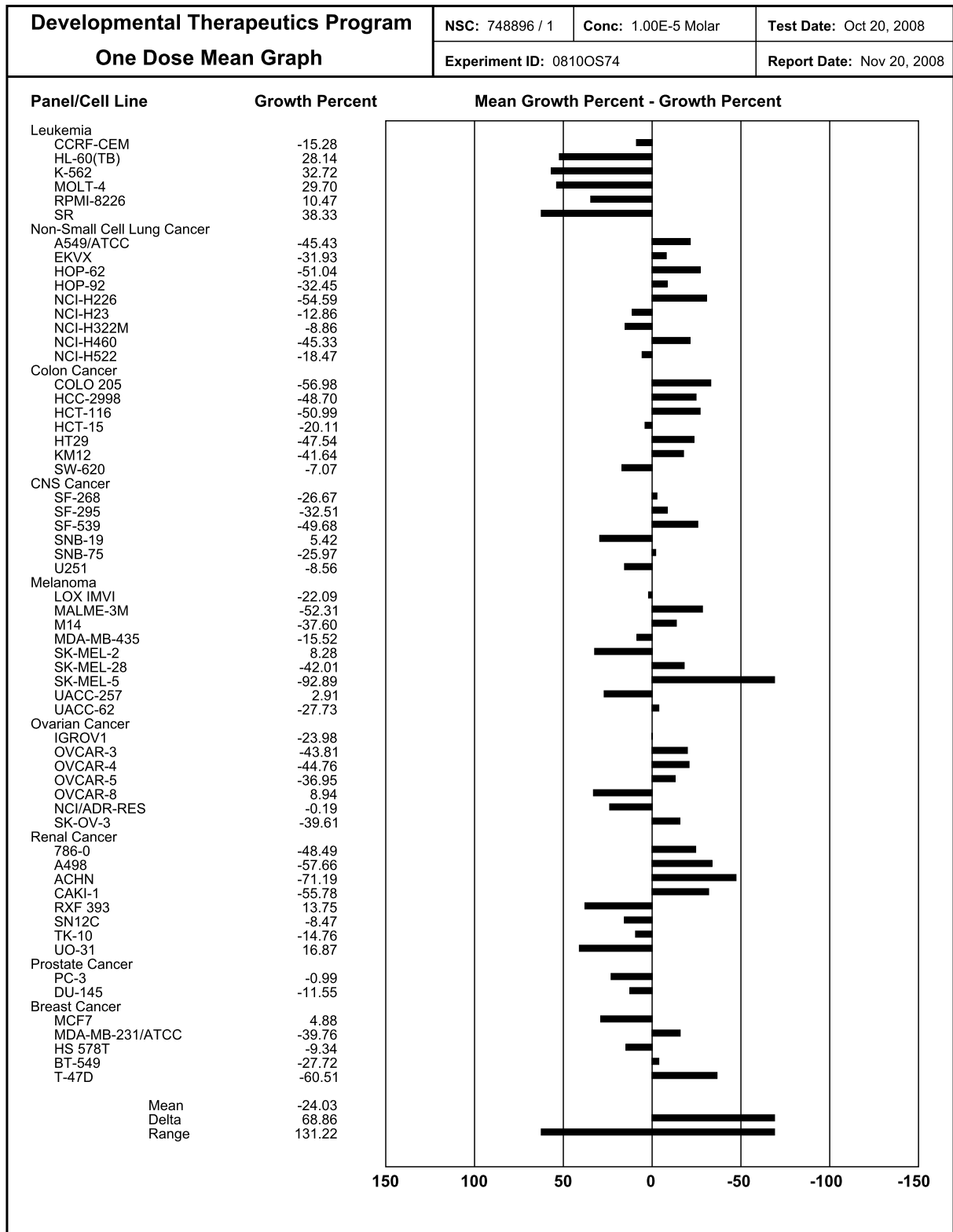


Abbildung 5.19: Ergebnisse des Tumorzelllinien-Screens von 31.

Verbindung **31** ist für einen Test an 60 Zelllinien ausgewählt worden, der fünf Konzentrationen der Verbindung umfassen wird.

5.4.2 Krebszelllinien A549, MCF-7 und HT-29

An den Krebszelllinien A549 (humane Lungenkarzinom-Zelllinie), MCF-7 (humane Brustkrebs-Zelllinie) und HT-29 (humane Kolonkarzinom-Zelllinie) wurden von der Arbeitsgruppe von Prof. F. Batteux (Universität Paris) MTT-Assays mit mehreren der synthetisierten Verbindungen durchgeführt. Als Vergleich sind die Zelllinien HUVEC (Endothelzelllinien der menschlichen Nabelschnur) und NIH-3T3 (Maus-Fibroblasten) als „gesunde“ Zellen herangezogen worden.

Bei diesen Versuchen haben sich die Selen-Chinon-Kombinationsverbindungen **15** und **17** als äußerst vielversprechend erwiesen. Sie zeigen bei Konzentrationen von 5 μM eine gewisse Selektivität gegenüber allen getesteten Krebszellen. **10** wirkt weder auf Krebszellen, noch auf HUVEC oder NIH-3T3 zytotoxisch. Auch dieses ist ein sehr interessantes Ergebnis, da die Verbindung in diesen Tests überhaupt nicht wirksam zu sein scheint.

Kapitel 6

Wirkung auf Mikroben: Dermatophyten und Plasmodien

6.1 Einfluss auf den Dermatophyten *Trichrum rubrum*

Nicht nur in Hinblick auf die Bindung von freien Metallionen zur Einschränkung von ROS, sondern auch der antimykotischen (gegen Pilze wirkenden) Eigenschaften haben Verbindungen mit Makrozyklen therapeutische Relevanz. Tests zur antimykotischen Wirkung von **2** und **3** gegen einen Typen von Hautpilz, dem Dermatophyten *Trichrum rubrum*, konnten in der Haut- und Poliklinik des Universitätsklinikums in Homburg/Saar (Prof. Dr. W. Tilgen) durchgeführt werden. Alle in diesem Kapitel diskutierten Daten wurden freundlicherweise von Frau A. Stark zur Verfügung gestellt, die die Tests durchgeführt hat.

6.1.1 Methode

Die Methode beruht auf Abstandsmessungen zwischen Dermatophyten-Kolonien und Blättchen, auf die die Substanz aufgetragen wird.

Wie folgt werden Aktidionplatten vorbereitet: 32.5 g Agar werden mit H₂O dest. auf 500 mL aufgefüllt und autoklaviert. Der Agar wird auf etwas mehr als handwarm abgekühlt. Danach werden 2 mL Streptomycin, 0.1 mL Penicillin und 2.5 mL Cycloheximid zugegeben (0.45 g Cycloheximid in 1.5 mL Aceton lösen und mit H₂O dest. auf 7.5 mL auffüllen). Aus 500 mL Agar werden ca. 20 Platten gegossen und bei 4 °C gelagert.

Anhand einer Schablone, die eine „geachtelte“ Platte sowie einen äußeren und einen inneren Ring zeigt, werden die Agarplatten auf den Schnittpunkten des äußeren Ringes

mit *Trichum rubrum* beimpft. Dazu werden mit einer Impfnadel kleinere Mengen des Dermatophyten auf die Agaroberfläche gebracht. Die Dermatophyten werden im Brutschrank bei 21 °C bis zu einem Durchmesser von ca. 1 cm gezüchtet (Dauer ca. 10 Tage).

Danach werden sterile Zellulose-Blättchen auf die acht Schnittpunkte des inneren Ringes der Schablone gelegt. Pro Platte wird ein Wirkstoff der gewünschten Konzentration (in DMSO) zugegeben (10 µL Wirkstoff/Blättchen), sodass sich daraus eine 8-fach Bestimmung ergibt.

Am Tag 0, d.h. dem Tag der Zugabe des Wirkstoffes, wird der Durchmesser des Dermatophyten notiert (Ausmessen mit Lineal). An den Tagen 0, 2, 4, 6, 8, 10 wird der Abstand des Dermatophyten zum Blättchen gemessen. Als Kontrolle dienen jeweils eine Platte mit DMSO und Placebo (Blättchen ohne alles).

6.1.2 Auswertung der Messungen

Abbildung 6.1 zeigt das Verhalten der Verbindungen **2** und **3** an vier Beispielen.

Gegenüber Dermatophyten von Patient 1 wirkt **2** bei einer Konzentration von 100 µM stark hemmend. Nach 10 Tagen beträgt der Abstand zwischen Dermatophyt und Blättchen mit Substanz immernoch 84 % des ursprünglichen Abstandes (100 %). In Konzentrationen 10 µM, 1 mM und 10 mM zeigten **2** keine Wirkung. Auch **3** (10 µM, 100 µM, 1 mM) hatte keine Wirkung bei diesem Patienten.

3 wirkte auf Dermatophyten von Patient 2 bis zum achten Tag und von Patient 3 sogar länger hemmend. Das Ergebnis dieser Patienten ist miteinander vergleichbar. In beiden Fällen wirkt eine Konzentration von 10 mM.

An Pilzkolonien des Patienten 4 zeigen beide Verbindungen eine Wirkung. Wie aus dem Vergleich der ersten drei Versuche bereits hervorgeht, hemmt **2** in einer kleineren Konzentration stärker (länger) als **3**. Verbindung **3** zeigt ähnliches Verhalten wie bei Patient 2 bzw. Patient 3. Die Wirkung tritt auch bei derselben Konzentration ein, wie bei den beiden anderen Patienten (10 mM). Durch **2** hat sich der Abstand bis zum zweiten Tag um 40 % verringert, verändert sich danach aber nicht mehr wesentlich und bleibt bis zum 10. Tag bei 60 %. Es kann bedingt mit Patient 1 verglichen werden, jedoch ist dort die Konzentration von **2** um ein 10-faches geringer. Eine Konzentration von 100 µM ist an den Dermatophyten von Patient 4 wirkungslos, wohingegen eine höhere Konzentration an **2** seltsamerweise die Kolonien von 1 nicht hemmt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass **2** und **3** eine gewisse antimykotische Wirkung zeigen. Sie hemmen das Wachstum von Dermatophyten in mehreren Fällen deutlich. Je-

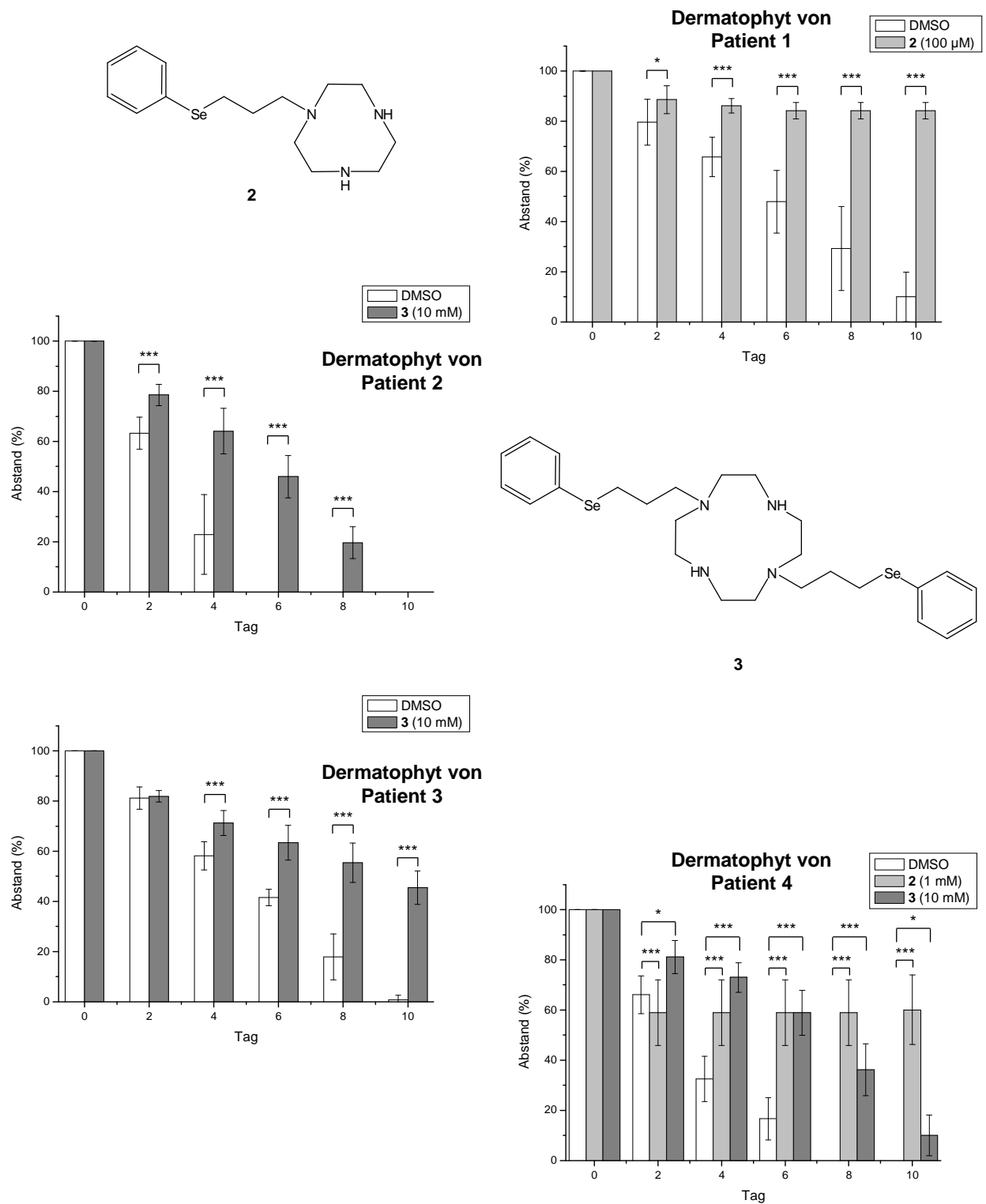


Abbildung 6.1: Einfluss der Verbindungen 2 und 3 auf das Wachstum von Dermatophyten von verschiedenen Patienten. Die Abstände zwischen Dermatophyt und Blättchen am Tag 0 wurden auf 100 % gesetzt. Signifikanzen wurden mit dem ungepaarten, zweiseitigen Students T-Test ermittelt. Mittelwerte \pm SD von acht Einzelbestimmungen. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ gegenüber DMSO-Kontrolle des jeweiligen Tages.

doch hat sich herausgestellt, dass die Wirkung der Substanzen stark patientenabhängig ist. Der verwendete Dermatophyt *Trichum rubrum* stammt für jedes Experiment von einem anderen Patienten. Trotzdem konnte an mehreren unabhängig voneinander stattfindenden Experimenten die fungizide Wirkung der Verbindungen nachgewiesen werden, wenn auch bei relativ hohen Konzentrationen an Wirkstoff. Die Messdaten der verschiedenen Experimente sind dabei mit Absicht nicht vereinigt worden, auch wenn die wirkende Konzentration dieselbe gewesen ist. Jedes Experiment bestand dabei aus 8 Einzelwerten.

Die wirksamen Konzentrationen sind für die Verbindungen und einzelnen Patienten unterschiedlich. Für **3** hat sich eine Konzentration von 10 mM bewährt. **2** zeigt bei niedrigeren Konzentrationen (100 μ M, 1 mM) eine stärker hemmende Wirkung als **3**. Inwiefern aber nun eine Verbindung, beide oder gar keine, eine fungizide Wirkung zeigt, scheint letztendlich vom Dermatophyten des individuellen Patienten abhängig zu sein. Dies erschwert die Reproduzierbarkeit und die Planung derartiger Versuche erheblich.

Der Aspekt, dass für jede Durchführung Dermatophyten eines anderen Patienten verwendet wurden, hat aber auch durchaus etwas Positives. Es zeigt, dass die gleiche Behandlung derselben Art von Dermatophyten (*Trichum rubrum*) bei unterschiedlichen Patienten nicht gleich wirksam sein muss. Dabei soll die Forschung dahin gehen, dass möglichst vielen Patienten geholfen wird, d.h. die getesteten Verbindungen sollen das Wachstum von Dermatophyten immer hemmen, nach Möglichkeit ohne Ausnahme.

Ein möglicher Wirkungsmechanismus von **2** und **3** ist dabei die Komplexierung von wichtigen Metallionen (z.B. Zink-, Eisen- oder Kupfer-Ionen), die im fungalen Stoffwechsel von den Pilzen benötigt werden[80]. Aufgrund der gefundenen Konzentrationsunterschiede liegt es nahe, dass **2** essentielle Metallionen besser komplexieren kann als die Cyclenverbindung **3**. Allerdings haben in keinem der Versuche tacn und cyclen Wirkungen gezeigt, was vermuten lässt, dass auch das (katalytische) Selenatom eine wichtige Rolle spielt.

6.2 Einfluss auf den Malariaerreger *Plasmodium falciparum*

Eine Reihe der synthetisierten Verbindungen wurde in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. K. Becker (Biochemie der Ernährung des Menschen, Justus-Liebig-Universität Giessen) auf ihre Toxizität gegen den Einzeller *Plasmodium falciparum* getestet, dem Erreger der *Malaria tropica* (tropische Malaria).

Dabei konnte für die Substanzen **22** und **23** eine hohe Toxizität gefunden werden. Die

IC₅₀-Werte (50 % inhibitorische Konzentration) liegen bei 101.85 mg/mL (225.1 nmol/L, **22**) und 108.6 mg/mL (215.9 nmol/L, **23**).

Bei allen anderen getesteten Verbindungen sind die Werte größer als 1000 ng/mL (Verbindungen **2**, **5**, **10**, **15**, **17**, **25**, **26**, **30**, **31**, **42**). Die hohe Wirkung von **22** und **23** könnte damit erklärt werden, dass die Verbindungen OS produzieren und dieses für Plasmodien problematisch ist[81, 82].

Interessanterweise handelt es sich bei **22** und **23** um äquivalente Verbindungen, welche sich nur im enthaltenen Chalkogen (Selen in **22** bzw. Tellur in **23**) unterscheiden, sonst aber vollkommen identisch sind. Die Verbindungen sind aktiv, im Gegensatz zu den sehr ähnlich gebauten, ebenfalls getesteten Verbindungen **30** und **31**. Auch die ähnlichen Selenverbindungen **15** und **17** zeigten keine Wirkung.

Obwohl sich **22** und **23** aber im Chalkogen unterscheiden, ist deren Wirkung die gleiche. Die Tellurverbindung geht nicht als stärker toxisch hervor. Genaueres muss in Folgestudien untersucht werden.

Kapitel 7

Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Synthese von multifunktionellen Molekülen, die als Antioxidantien bzw. als Antikrebs-Therapeutika Einsatz finden können.

Es konnten Moleküle dargestellt werden, die einen Aza-Makrozyklus mit einem Selenzentrum verbinden (siehe Kapitel 2). Die einfach funktionalisierte tacn- (**2**) und die gleichartig zweifach funktionalisierte cyclen-Verbindung (**3**) stellen dabei potentielle Leitstrukturen dar (Abbildung 7.1).

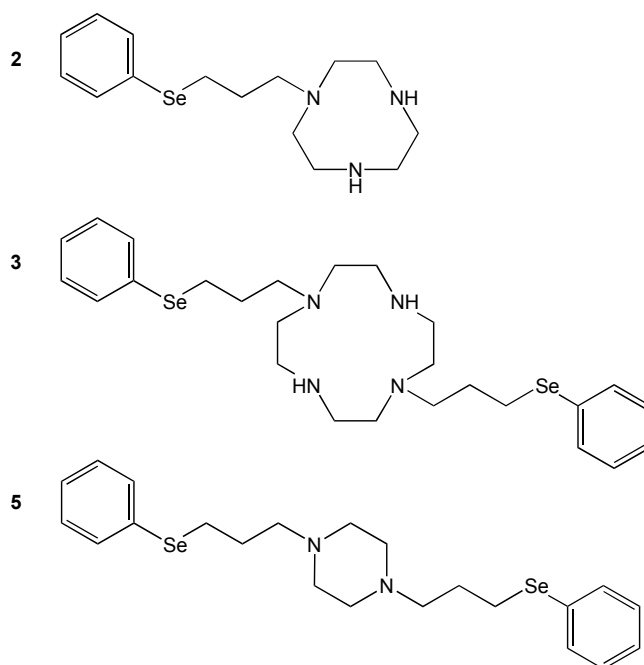


Abbildung 7.1: Multifunktionale Moleküle **2**, **3** und **5**.

Die Substanzklasse lässt neben ihrer katalytischen Aktivität durch Selen (GPx-Mimetikum), eine Komplexierung von Metallionen zu. Aus der Eigenschaft, Metallionen zu

binden, ist nicht nur ein einfacher Schutz gegenüber schädlichen Metallionen, sondern anschließend auch eine mögliche Wirksamkeit als SOD-Mimetikum denkbar. Ausgehend von Piperazin konnte die zu **3** äquivalente Verbindung (**5**) erhalten werden.

Durch Aminoalkylierung und über Peptidkupplungsreaktionen war es weiterhin möglich, eine ganze Reihe von multifunktionalen Verbindungen zum ersten Mal zu synthetisieren (Abbildung 7.2). Diese Substanzen basieren auf einem Chinon und Chalkogenen (siehe Kapitel 3). Sie zeichnen sich durch unterschiedliche Spacer zwischen den Baueinheiten aus. Naphthochinon konnte weiterhin durch Benzochinon ersetzt und damit Strukturen mit jeweils zwei Chalkogenen zugänglich gemacht werden. Solche di- und trifunktionale Moleküle waren vorher mit der „klassischen“ Methode der nukleophilen Substitution am Chinon nicht zugänglich.

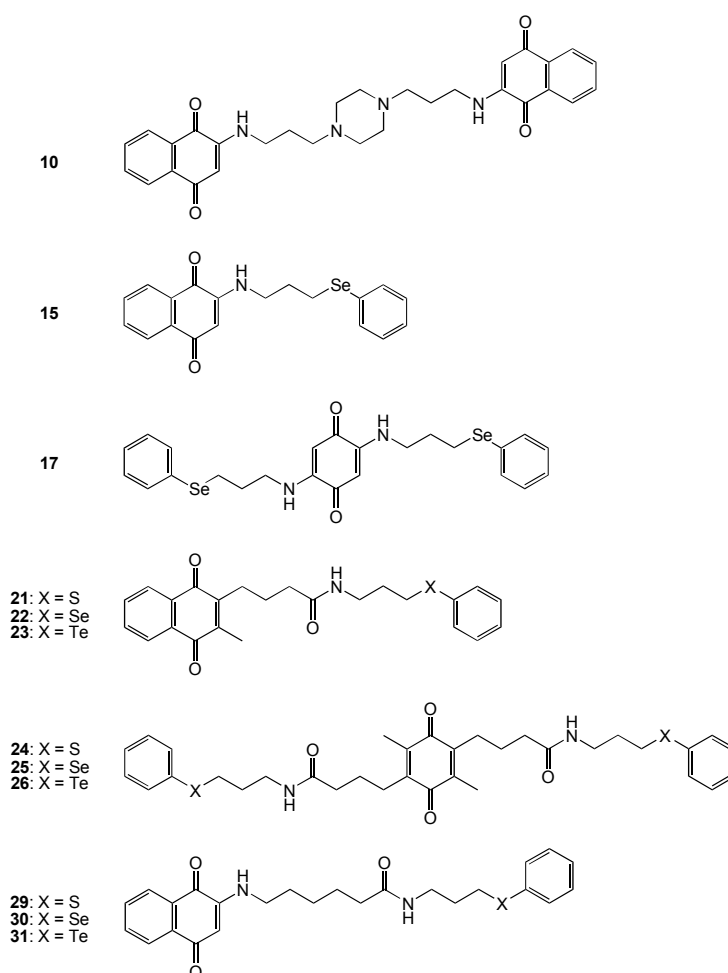


Abbildung 7.2: Auswahl an Verbindungen: Chinon-Piperazin-Verbindung **10** und Chinon-Chalkogen-verknüpfte Verbindungen (**10-17**: Aminoalkylierung, **21-31**: Peptidkupplungsreaktion).

Als eine dritte Klasse an Verbindungen wurden Substanzen hergestellt, die Cyclen mit Naphthochinon kombinieren (Kapitel 4). Zusätzlich enthält **42** ein Schwefelatom und geht damit als eine Verbindung mit drei verschiedenen Redox-Zentren, d.h. Chinon, Schwefel und Makrozyklus, hervor (Abbildung 7.3).

Peptidkupplungsreaktionen sind das Mittel der Wahl um einfache, aber multifunktio-
nell aufgebaute Verbindungen mit zwei oder drei Redox-Zentren zugänglich zu machen.

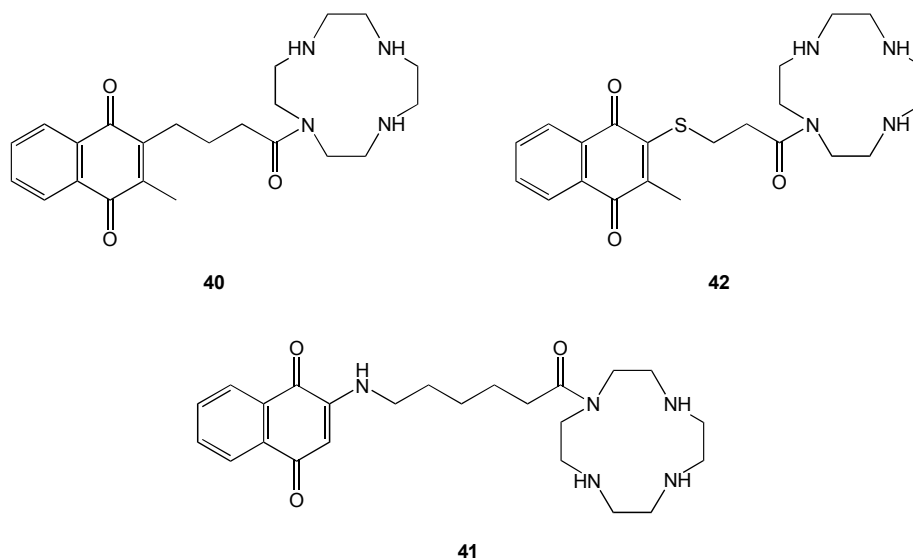


Abbildung 7.3: Chemische Strukturen der Moleküle **40**, **41** und **42**.

Zur Charakterisierung und für den Nachweis der Reinheit der Verbindungen wurden LC-MS und insbesondere NMR-Spektroskopie eingesetzt. Die NMR-Spektroskopie stellt die beweiskräftigste analytische Methode zur Charakterisierung der im Rahmen dieser Arbeit synthetisierten Produkte dar. Zur Zuordnung der Signale in ^1H -NMR und ^{13}C -NMR-Spektren fanden an Verbindungen, die auf Chinon und Chalkogen basieren (Kapitel 3), 2D-Korrelationsexperimente Anwendung. Bewährt hat sich eine Kombination aus verschiedenen zweidimensionalen Experimenten (HH-COSY, HC-HSQC, HC-HMBC).

Kapitel 5 untersucht anschließend die Wirkung der synthetisierten Verbindungen auf humane Krebszelllinien HL-60 (Leukämie) und SK-Mel-5 (Melanom). Der MTT-Vitalitätsassay und der Dichlorofluorescein (DCF)-Assay sind einfache Mittel, um generelle erste Aussagen zum Schutzeffekt oder über die Zytotoxizität von Substanzen zu machen. Zusammenfassend muss man aber sagen, dass eine Vorhersage der Wirkung lediglich anhand der Struktur der Moleküle begrenzt ist.

Es wurden zwei Selenverbindungen mit antioxidativen Effekten gefunden. Insgesamt

ist die Wirkung der Selenverbindungen aber recht unterschiedlich. In allen Verbindungen ist die direkte Nachbarschaft des Selenatoms gleich aufgebaut, trotzdem reichten die Effekte in MTT-Assay von keiner Wirkung bis zytotoxisch, sogar zytoprotektive Effekte wurden gefunden. Tellur ist stärker redoxaktiv und resultiert immer in stark zytotoxischen Effekten. Als vielversprechendste Verbindungen haben sich **2**, **30**, **42** und **5** bewährt.

2 ist ein tumorspezifischer Wirkstoff, der je nach Zelllinie eine möglicherweise antioxidative Wirkung (HL-60 Zellen) bzw. eine spezifische Zytotoxizität (SK-Mel-5 Zellen) gegenüber stark unter OS stehenden Krebszellen gezeigt hat. **30** zeigt ebenfalls antioxidative Wirkung in der Leukämie-Zelllinie HL-60. Beide Verbindungen setzen im DCF-Assay mit Hilfe von Selen als Redoxzentrum das ROS-Level der HL-60 Zellen deutlich herab.

Da eine zytoprotektive Wirkung an einer Krebszelllinie nicht therapeutisch sinnvoll ist, sondern nur als Modell gedient hat um potentielle Moleküle zu finden, sollen anknüpfend an diese Arbeit die Assays auf Zelllinien „gesunder“ Zellen (z.B. Hautzellen) erweitert werden. **2** und **30** lassen sogar selektiv auf erhöhten OS wirkenden, zellschützenden Effekt, erwarten.

Durch ihre Spezifität auf stressinduzierte SK-Mel-5 Zellen sind **2**, **42** und **5** potentielle Tumorstoffe. Neben den selenhaltigen Molekülen (**2**, **5**) wirkt die trifunktionale Schwefel-Verbindung **42** zytotoxisch, sogar selektiv auf Krebszellen in denen OS durch H_2O_2 induziert worden ist. Durch den direkt an Menadion gebundenen Schwefel verfügt die Verbindung **42** scheinbar über ein weitaus reaktiveres Schwefelatom als es bei den anderen Schwefelverbindungen (Phenyl-Propyl-Umgebung) der Fall ist und wird mit einem Selen-Redoxzentrum vergleichbar. Der in **42** enthaltene Schwefel könnte als ein GPx-ähnliches Molekül zur Verfügung stehen und mit ROS (z.B. H_2O_2) das Sulfoxid dieser Verbindung (R-S(=O)-R') bilden. Dieses kann Thiole oxidieren. Für weitere Synthesen ist es sinnvoll Chalkogene direkt am Chinon einzuführen.

Im DCF-Assay mit SK-Mel-5 Zellen wurde gezeigt, dass keine der zytotoxischen Verbindungen (**2**, **42**, **5**) prooxidativ wirkt. Dennoch sind sie aber selektive, effiziente Wirkstoffe gegenüber diesen Krebszellen.

Um zu untermauern, dass die Verbindungen das intrazelluläre Stressniveau der Zellen nicht erhöht, kann in Folgeprojekten ein MTT-Assay in Gegenwart von Antioxidantien, wie Ascorbinsäure, Trolox oder N-Acetylcystein aufgebaut werden. Wird der antioxidative Effekt dieser Verbindungen nicht aufgehoben, dann wird durch die neuen synthetisierten Verbindungen kein ROS produziert.

Anhand eines Zelllinien-Screens vom National Cancer Institute (Bethesda, MD, USA) konnte ebenfalls bestätigt werden, dass Tellurverbindungen stark aktive Substanzen sind.

31 ($10 \mu\text{M}$) hemmt das Zellwachstum der 60 getesteten Zelllinien durchschnittlich um 24.03 %. Dabei zeigt die Verbindung eine gewisse Selektivität gegenüber verschiedenen Lungen-, Darm- und Nierenkrebsarten. Auch die Zelllinie SK-Mel-5 wurde in deren Studien stark gehemmt. Es handelt sich sogar um die am stärksten beeinträchtigte Zelllinie (92.89 % Hemmung).

In Arbeiten der Arbeitsgruppe von Prof. F. Batteux (Universität Paris) haben **15** und **17** eine selektive Zytotoxizität gegenüber den Krebszelllinien A549 (humane Lungenkarzinom-Zelllinie), MCF-7 (humane Brustkrebs-Zelllinie) und HT-29 (humane Kolonkarzinom-Zelllinie), verglichen mit „gesunden“ Zellen (HUVEC (Endothelzelllinien der menschlichen Nabelschnur) und NIH-3T3 (Maus-Fibroblasten)) gezeigt.

In zukünftigen Arbeiten soll nun die Antitumor-Aktivität in verschiedenen Tumorzelllinien und die intrazelluläre Produktion von ROS durch diese Substanzen in denselben Tumorzelllinien untersucht werden. Desweiteren wird das Antitumor-Potential ausgewählter Verbindungen im *in vivo*-Mausmodell untersucht.

Ebenfalls im Hinblick auf Redox-Prozesse und der Bindung von essentiell wichtigen Metallionen im Stoffwechsel von Hautpilzen, konnte das Wachstum von Dermatophyten (*Trichum rubrum*) gehemmt werden (Klinik für Dermatologie, Prof. Dr. W. Tilgen, Universitätsklinikum des Saarlandes/Homburg). In mehreren voneinander unabhängigen Experimenten wurde dabei die antimykotische Wirkung von **2** und **3** nachgewiesen (Kapitel 6, Abschnitt 6.1). Allerdings waren diese Effekte nur bei relativ hohen Stoffkonzentrationen ($100 \mu\text{M}$ und höher) und nicht bei allen Dermatophyten (Dermatophyten von verschiedenen Patienten) zu beobachten. Auch in diesem Bereich sind weitere Studien notwendig, um den Wirkungsmechanismus zu erforschen und gegebenenfalls die ersten Leitstrukturen zu optimieren.

In der Zusammenarbeit mit Prof. Dr. K. Becker (Biochemie der Ernährung des Menschen, Justus-Liebig-Universität Giessen) wurden von verschiedenen Verbindungen erste Studien zur Wirkung gegenüber Plasmodien angefertigt. **22** und **23** sind dabei als vielversprechende Verbindungen gegen *Plasmodium falciparum* - Malaria-Erreger - hervorgegangen.

Ihre Wirkung ist möglicherweise in der Freisetzung von ROS begründet, wogegen Plasmodien empfindlich sind. Nach weiterer Aufklärung könnten **22** und **23** als Malaria-Mittel in Frage kommen (Kapitel 6, Abschnitt 6.2).

Kurzfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Erforschung neuartiger Wirkstoffe, gegen Krankheiten bei denen oxidativer Stress (OS) auftritt. Dazu gehören Krankheiten wie Parkinson, Alzheimer oder Rheumatoide Arthritis. Auch Krebs wird mit dem Überwiegen von Pro- gegenüber Antioxidantien in Zusammenhang gebracht.

Im Kampf gegen Oxidantien spielen Katalysatoren, die natürliche Enzyme nachahmen können, eine wichtige Rolle. Da nicht nur Superoxidanionen und Wasserstoffperoxid, sondern auch labile Metallionen OS verursachen, sollen multifunktional gebaute Moleküle, die katalytische mit metallbindenden Eigenschaften vereinen, OS als Multi-Stressoren-Ereignis optimal bekämpfen.

Ein weiterer Schwerpunkt liegt auf Krebswirkstoffen. Von besonderem Interesse sind effektive und vor allem selektive katalytische Wirkstoffe, mit Glutathion-Peroxidase-ähnlicher Aktivität. Die „intelligenten“ Katalysatoren sollen auf oxidativ gestresste Krebszellen angepasst sein, aber nicht zytotoxisch auf Zellen mit normalen Redoxverhältnissen wirken.

Eine Reihe von multifunktional gebauten Wirkstoffen, auf Basis von Chalkogen- und Chinon-Redoxzentren sowie Makrozyklen, wurde synthetisiert und in Zellkulturstudien untersucht. Zu den vielversprechendsten Strukturen gehören zwei Verbindungen, welche einen Schutz vor dem mit OS assoziierten Zelltod vermitteln. Mehrere Verbindungen konnten gefunden werden, die Krebszellen mit erhöhten intrazellulären Konzentrationen an oxidativen Stressoren selektiv töten.

Abstract

The thesis covers the development of new active agents against illnesses which are associated with oxidative stress (OS). Parkinson's disease, Alzheimer's disease or Rheumatoid Arthritis do belong to it. Cancer is as well associated with the overbalance of pro- against antioxidants.

Catalysts which mimic natural enzymes play an important role in modern drug development. Not only superoxide anions and hydrogen peroxide but also labile metal ions can cause OS. Multifunctional molecules, which combine catalytic and metal binding properties should treat OS as multi-stressor event in an optimal way.

Another focal point are drugs for cancer therapy. Of special interest are effective and above all selective catalytic agents with glutathione peroxidase-like activity. The „intelligent“ catalysts should distinguish between cancer cells under OS and cells under normal redox conditions.

A range of multifunctional built drugs has been synthesized containing chalcogen and quinone redox centers as well as macrocycles, and explored in cell culture studies. To the most promising structures belong two compounds, which protect cells from cell death caused by OS. Several compounds are able to kill cancer cells selectively, that are more oxidatively stressed.

Teil II

Präparativer und Spektroskopischer Teil

Kapitel 8

Arbeitstechniken und verwendete Geräte

8.1 Arbeiten unter Schutzgas

Reaktionen unter Schutzgas wurden mittels Schlenkrohrtechnik in einer Inertgasatmosphäre (Argon 4.6) unter Ausschluss von Feuchtigkeit und Luft durchgeführt. Alle Apparaturen wurden vor ihrer Verwendung sekuriert, indem sie mindestens drei Mal evakuiert (Ölpumpenvakuum 1 mbar) und anschließend mit Argon kompensiert wurden.

Alle verwendeten Lösungsmittel wurden nach Standardmethoden in Inertgasatmosphäre getrocknet und vor ihrem Einsatz frisch destilliert. Acetonitril und Chloroform wurden mit Calciumhydrid zum Rückfluss erhitzt und abdestilliert.

8.2 Chromatographie

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel 60 (Korngröße 50-200 μm , Macherey-Nagel) verwendet.

Die Säulen hatten in der Regel eine Dimension von 2.5 cm (Säulendurchmesser) \times 25-30 cm (Höhe der Kieselgelsäule). Das jeweils verwendete Laufmittel bzw. Laufmittelgemisch ist im Syntheseteil (Kapitel 9 und 11) angegeben.

Analytische Dünnschichtchromatogramme (DC) wurden mit kieselgelbeschichteten Aluminiumfolien der Fa. Merck, Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicke 0.20 mm, angefertigt. Das verwendete Laufmittel ist zusammen mit dem R_f -Wert der entsprechenden Verbindung aufgeführt. Die Detektion der Substanzen auf der DC-Folie erfolgte durch UV-Licht bei $\lambda = 254 \text{ nm}$.

8.3 NMR-Spektroskopie

NMR-Spektren wurden an Geräten der Fa. Bruker (Rheinstetten), Typ DRX 500 und Avance 500, aufgenommen. Die Spektrometer verfügen über einen 5 mm BBI- (DRX 500) bzw. einen 5 mm BBO-Probenkopf (Avance 500), jeweils mit Z-Gradient. Die Aufnahmen der Spektren erfolgten bei einer Messfrequenz von 500 MHz (^1H -NMR) und 125 MHz (^{13}C -NMR) bei Raumtemperatur (298 K) und im Lösungsmittel CDCl_3 bzw. CD_3OD .

Die chemischen Verschiebungen δ sind in ppm, mit einer Genauigkeit von zwei Nachkommastellen für Protonen und einer Nachkommastelle für ^{13}C -Kerne angegeben. Liegen die chemischen Verschiebungen zu nah beieinander (unterscheiden sie sich in der ersten Nachkommastelle der ^{13}C -Verschiebung nicht mehr) ist eine weitere Nachkommastelle angegeben. Kopplungskonstanten sind in Hz angegeben.

Als Referenzen dienen die Signale der Lösungsmittel bei 7.26 ppm (CDCl_3 , ^1H -NMR) bzw. 77.16 ppm (CDCl_3 , ^{13}C -NMR) sowie 3.31 ppm (CD_3OD , ^1H -NMR) bzw. 49.00 ppm (CD_3OD , ^{13}C -NMR)[83].

Zur Zuordnung der NMR-Signale sind die Moleküle mit Ziffern versehen, die die ^{13}C -Kerne sowie die jeweils daran gebundenen Protonen bezeichnen.

Für die Spektrenauswertung wurden die Programme XWinNMR und TopSpin (beide Bruker) benutzt.

8.4 Massenspektrometrie (LC-MS/MS)

Die Analysen wurden mit einem TSQ Quantum Massenspektrometer mit ESI-Quelle und Triple-Quadrupol (Thermo Finnigan, San Jose, CA) aufgenommen. Die Massendetektion fand bei einer Sprühspannung von 4.2 kV, Sheath-Gasdruck von 4.0×10^5 Pa (Stickstoff) und Auxiliary-Gasdruck von 1.0×10^5 Pa, einer Kapillar-Temperatur von 400 °C, einer Kapillar-Spannung von 35 V und einer Source-CID von 10 V statt.

Von allen Proben wurde ein Volumen von 10 μL mit einem Autosampler (Surveyor, Thermo Finnigan) eingespritzt. Als stationäre Phase diente eine Säule RP C18 NUCLEODUR 100-3 (12 \times 53 mm) (Macherey-Nagel GmbH, Düren, Germany).

Das Lösungsmittel bestand aus 0.1 % $\text{HCOOH}/\text{H}_2\text{O}$ (A) und 0.1 % HCOOH/MeOH (B) (v/v).

HPLC-Methode: Flussrate 400 $\mu\text{L}/\text{min}$. B hat einen Startwert von 5 %, der innerhalb von 13 min bis auf 100 % erhöht, dann 1 min bei 100 % gehalten und innerhalb von 1 min wieder auf 5 % verringert wird.

Die Ionisation des Analyten erfolgte im positiven Elektrospray, indem TFA (in CH_3CN

und H₂O) zugegeben wurde. Zur negativen Ionisation wurden Ameisensäure (in MeOH und H₂O) oder keine Zusätze verwendet.

Alle beschriebenen Verbindungen sind HPLC-rein. Es sind die Peaks mit Retentionszeiten t_R , Masse/Ladungs-Verhältnissen (m/z) und ihren relativen Häufigkeiten (rel. abundance, %) angegeben.

Bei den meisten Verbindungen wird nur das Molekülion/der Molekülionenpeak (normalerweise Ion höchster Masse) beobachtet. Alle Peaks der Selen- und Tellur-Verbindungen zeigen dabei das entsprechende Isotopenmuster von Selen bzw. Tellur.

Zur Auswertung wurde die Software Xcalibur verwendet.

8.5 Präparative HPLC

Die HPLC-Trennungen wurden an einem Gerät Agilent 1200 (Agilent Technologies, Inc. Headquarters, Santa Clara, CA, USA) durchgeführt. Das Gerät ist mit einem automatischen Fraktionssammler ausgestattet.

Alle Proben wurden manuell eingespritzt. Als stationäre Phase wurde eine Säule RP C18 NUCLEODUR 100-5 (250×3 mm) (Macherey-Nagel GmbH, Düren, Germany) eingesetzt.

Die Lösungsmittel setzten sich aus 0.1 % HCOOH in H₂O (A) und 0.1 % HCOOH in MeOH (B) zusammen. Bei einer Flussrate von 5 mL/min wurde für die Trennung ein Gradient verwendet, welcher bei 25 % B in A startet. In 35 min wird das Verhältnis auf 100 % B erhöht und für 5 min beibehalten.

Zur Steuerung und zur Auswertung diente die Software ChemStation. Die Fraktionen wurden time-based aufgefangen.

Kapitel 9

Verwendete Ausgangsverbindungen

Die für die Synthesen benötigten Edukte sind entweder im Handel erhältlich oder wurden nach den folgenden Literaturzitaten synthetisiert.

Häufig stellen sich Synthesen schon publizierter Edukte trotzdem als kompliziert heraus. Deshalb sind in vielen Fällen, vorwiegend bei der Synthese der Chalkogenverbindungen, verschiedene Vorschriften miteinander kombiniert worden und im Folgenden genauer beschrieben. Zum Teil werden sogar bessere Ausbeuten als die Literatur angibt erzielt. Die Produkte wurden selbstverständlich in ihrer reinen Form erhalten. Alle als wichtig empfundenen experimentellen Details sind angegeben und mit den entsprechenden Quellen versehen.

9.1 1-Brom-3-(phenylselenyl)propan (1)

In einer Argonatmosphäre werden 2.00 g (6.41 mmol, 1 Äqu.) Diphenyldiselenid in 50 mL trockenem THF gelöst und 1.18 g (51.33 mmol, 8 Äqu.) Natrium zugegeben. Dazu wird das Natrium in sehr kleine Stücke geschnitten. Die gelbe Reaktionslösung wird danach solange im Ultraschallbad behandelt, bis sie farblos ist und sich ein weißer Feststoff von Natriumphenylselenid gebildet hat. Es werden, ebenfalls unter Schutzgas, 19.88 g (98.47 mmol, 10.0 mL, 15.4 Äqu.) 1,3-Dibrompropan in 25 mL trockenem THF gelöst. In diese Lösung wird nun langsam, und möglichst unter Schutzgas, die Mischung von Natriumphenylselenid gegeben. Dabei wird, ohne noch vorhandenes Natrium zuzugeben, der gesamte weiße Feststoff (Natriumphenylselenid) vollständig überführt. Danach wird über Nacht bei RT gerührt. Ist im DC einer entnommenen Probe noch Diphenyldiselenid nachweisbar, wird für eine vollständige Umsetzung die Reaktion noch 2 h zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionslösung wird am Rotationsverdampfer bis auf 50 mL eingengt, dann wird 200 mL Et₂O

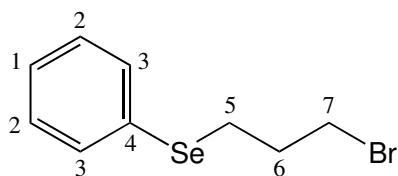
zugegeben, filtriert und erneut eingengt. Es darf *nicht* wässrig aufgearbeitet werden. Das erhaltene gelbe Öl wird bei 1 mbar im Wasserbad auf 55 °C erhitzt, um überschüssiges 1,3-Dibrompropan zu entfernen (ca. 3 h). Dieses Vorgehen hat sich gut bewährt, da die große Menge an nicht umgesetztem, überschüssigem 1,3-Dibrompropan durch einmalige Säulenchromatographie auf keinen Fall entfernt werden kann. Sollten danach immer noch Reste von 1,3-Dibrompropan oder andere Verunreinigungen (nicht umgesetztes Ph₂Se₂) vorhanden sein, muss anschließend noch säulenchromatographisch an Kieselgel (Eluent PE) gereinigt werden. Man erhält 2.37 g (8.52 mmol, 66.5 % d. Th.) eines schwach gelben, viskosen Öles.

C₉H₁₁BrSe (M = 278.05 g/mol)

DC: R_f = 0.34 (PE).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.21 (quint, 2 H, H⁶, ³J_{HH} = 6.6), 3.08 (t, 2 H, H⁵ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 6.9), 3.53 (t, 2 H, H⁵ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 6.3), 7.29 (m, 3 H, H^{1,2}), 7.53 (m, 2 H, H³).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 25.9, 32.8, 33.1 (C^{5,6,7}, n.z.), 127.3 (C¹), 129.3, 133.0 (C^{2,3}, n.z.), 129.6 (C⁴).



Unter Einbeziehung verschiedener Vorschriften wurde diese eigene, relativ einfache Vorschrift für die Synthese von 1-Brom-3-(phenylselenyl)propan (**1**) ausgearbeitet, die gute Ergebnisse liefert. Relevante Methoden für das Erzeugen von Natriumphenyelselenid mit Natrium beinhalten z.B. die Verwendung von Ultraschall[84] oder das Kochen unter Rückfluss[85].

Alternativ kann Natriumphenyelselenid auch mit NaBH₄ erzeugt werden[86, 87]. Baldwin et al.[86] beschreiben die äquivalente Iodverbindung auf diesem Wege.

Eine Vorschrift für **1** beschreiben als Einzige Middleton und Simpkins[58]. Diese führt über 3-(Phenyelselenyl)propan-1-ol, wurde aber als zu aufwendig und vor allem als zu teuer befunden, und deshalb nicht weiter verfolgt.

Von Middleton und Simpkins[58] werden außerdem ausschließlich ¹H-NMR-Daten, ohne Zuordnung der Signale, angegeben.

9.2 3-(Phenylselenyl)propanal (4)

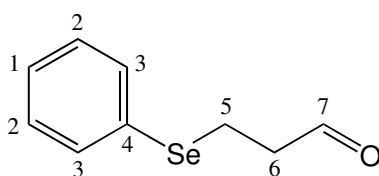
2.00 g (6.41 mmol, 1 Äqu.) Diphenyldiselenid werden in 50 mL EtOH gelöst und spatel-spitzenweise unter leichter Eiskühlung 588.0 mg (15.5 mmol, 2.4 Äqu.) NaBH₄ zugegeben. Nach Zugabe der gesamten Menge NaBH₄ ist die Lösung farblos bis schwach gelb gefärbt. Es wird 0.5 h bei RT gerührt. Danach wird auf 0 °C abgekühlt und 0.95 g (15.9 mmol, 1 mL) Essigsäure (99.5-99.8 %) sowie 0.84 g (14.97 mmol, 1 mL, 2.34 Äqu.) Acrolein eingetro-pft. Es wird noch 15 min weitergekühlt, dann das Eisbad entfernt und erneute 4.5 h bei RT gerührt. Unter vermindertem Druck wird das Lösungsmittel entfernt und der erhalte-ne Rückstand wird in Et₂O aufgenommen und filtriert. Der Filtrerrückstand wird gut mit Et₂O waschen. Nach erneutem Entfernen des Lösungsmittels bleibt ein gelbes Öl zurück, welches säulenchromatographisch von restlichem Ph₂Se₂ an Kieselgel (Eluent PE/EtOAc 9:1) gereinigt wird. Man erhält 2.63 g (12.4 mmol, 96.4 % d. Th.) einer schwach gelben Flüssigkeit.

C₉H₁₀OSe (M = 213.14 g/mol)

DC: R_f = 0.28 (PE/EtOAc 9:1).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.87 (dt, 2 H, H⁶, ³J_{HH} = 7.0, 0.9), 3.10 (t, 2 H, H⁵, ³J_{HH} = 7.0), 7.28 (m, 3 H, H^{1,2}), 7.51 (m, 2 H, H³), 9.73 (s, 1 H, H⁷).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 19.1 (C⁶), 44.4 (C⁵), 127.6 (C¹), 129.2 (C⁴), 129.4, 133.4 (C^{2,3}, n.z.), 200.8 (C⁷).



Die Reaktion muss nicht zwingend unter Schutzgas stattfinden, deshalb muss kein getrocknetes EtOH verwendet werden.

Die Verbindung ist schon bekannt[88] und entsprechend dem Syntheseweg von Miyashita und Yoshikoshi[66] dargestellt worden. Daten zur Spektroskopie gibt Harusawa et al.[88] an, dessen Angaben mit den erhaltenen Werten gut übereinstimmen. ¹³C-NMR-Daten wurden dort nicht angegeben.

Eine wässrige Aufarbeitung, wie sie in der Literaturstelle von Miyashita und Yoshikoshi[66] beschrieben ist, wurde vermieden.

9.3 3-(Phenylthio)propan-1-amin (11)

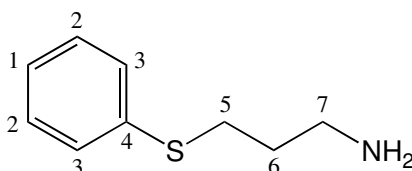
2.15 g (19.51 mmol, 2 mL, 1 Äqu.) Thiophenol werden zusammen mit 2.03 g (50.74 mmol, 2.0 Äqu.) Natriumhydroxid in 250 mL EtOH gelöst. Nach 15 min werden portionsweise 5.55 g (25.37 mmol, 2.3 Äqu.) 3-Brompropylamin Hydrobromid zugegeben und anschließend über Nacht bei RT gerührt. Am nächsten Tag wird filtriert und die ethanolische Lösung 10× mit 50 mL CH₂Cl₂ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na₂SO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Auf eine säulenchromatographische Reinigung kann verzichtet werden. Man erhält 3.22 g (19.26 mmol, 98.7 % d. Th.) einer schwach gelben Flüssigkeit.

C₉H₁₃NS (M = 167.27 g/mol)

DC: R_f = 0.20 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.27 (s, 2 H, NH₂), 1.75 (quint, 2 H, H⁶, ³J_{HH} = 7.0), 2.78 (t, 2 H, H⁵ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.0), 2.95 (t, 2 H, H⁵ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.0), 7.14 (m, 1 H, H¹), 7.25 (m, 2 H, H² oder H³, n.z.), 7.30 (m, 2 H, H² oder H³, n.z.).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 31.0, 32.8, 41.0 (C^{5,6,7}, n.z.), 125.8 (C¹), 128.7, 129.0 (C^{2,3}, n.z.), 136.6 (C⁴).



Die Verbindung ist von Nicolaou et al.[89, 90] beschrieben worden. Die Synthese erfolgte aber in Anlehnung an Vorschriften für ähnliche Produkte, angegeben von Katritzky et al.[91] und Pathak et al.[92], als auch in Anlehnung an die Darstellungen von 3-(Phenylselenyl)propan-1-amin (**11**) und 3-(Phenyltelluryl)propan-1-amin (**13**).

9.4 3-(Phenylselenenyl)propan-1-amin (12)

5.00 g (16.02 mmol, 1 Äqu.) Diphenyldiselenid werden zusammen mit 3.20 g (80.00 mmol, 5.0 Äqu.) Natriumhydroxid in 250 mL EtOH gelöst. Durch spatelspitzenweises Zusetzen von 1.60 g (42.29 mmol, 2.6 Äqu.) NaBH₄ (gegebenenfalls leichte Eiskühlung anwenden) entfärbt sich die gelbe Lösung völlig bzw. ist nur noch schwach gelb gefärbt. Danach wer-

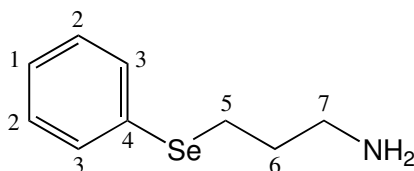
den allmählich 7.00 g (31.98 mmol, 2.0 Äqu.) 3-Brompropylamin Hydrobromid zugegeben. Nach dem Rühren bei RT wird am nächsten Tag der ausgefallene weiße Feststoff (NaBr) abfiltriert, mit EtOH gewaschen, und die erhaltene ethanolische Phase mit 200 mL H₂O und 200 mL CH₂Cl₂ versetzt. Die Phasen werden getrennt und die ethanolisch-wässrige Phase 10× mit 50 mL CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Die vereinigten Phasen des CH₂Cl₂ werden gründlich über Na₂SO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingeeengt. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 9:1) chromatographiert. Man erhält 6.48 g (30.26 mmol, 94.4 % d. Th.) einer schwach gelben Flüssigkeit.

C₉H₁₃NSe (M = 214.17 g/mol)

DC: R_f = 0.24 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.28 (br s, 2 H, NH₂), 1.85 (quint, 2 H, H⁶, ³J_{HH} = 6.9), 2.81 (t, 2 H, H⁵ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 6.9), 2.97 (t, 2 H, H⁵ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 6.9), 7.27 (m, 3 H, H^{1,2}), 7.51 (m, 2 H, H³).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 25.2, 34.0, 42.0 (C^{5,6,7}, n.z.), 126.9 (C¹), 129.1, 132.7 (C^{2,3}, n.z.), 130.4 (C⁴).



Das Produkt ist bekannt[93, 94], konnte aber anhand der beschriebenen Methoden nicht (rein) erhalten werden.

Wird zu Beginn die gelbe Lösung von Ph₂Se₂ nicht vollständig entfärbt, muss noch etwas mehr NaBH₄ (bis 3.0-3.5 Äqu.) dazugegeben werden, sodass ein guter Umsatz von Ph₂Se₂ gewährleistet ist.

Die spektroskopischen Angaben aus den beiden Literaturen[93, 94] sind in guter Übereinstimmung mit den erhaltenen Werten. Die Ausbeute liegt um einiges höher als in beiden Quellen, welche 45 %[94] und 55 %[93] d. Th. erhalten.

9.5 3-(Phenyltelluryl)propan-1-amin (13)

3.09 g (7.55 mmol, 1 Äqu.) Diphenylditellurid werden zusammen mit 1.50 g (37.50 mmol, 5.0 Äqu.) Natriumhydroxid in 250 mL EtOH gelöst. Sollte nicht alles Ph₂Te₂ in Lösung

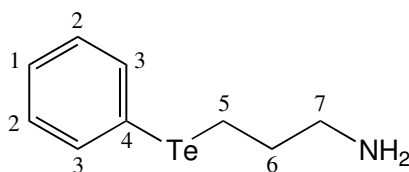
gehen, mehr EtOH zugeben (50 mL). Danach beginnt man 0.86 g (22.73 mmol, 3.0 Äqu.) NaBH₄ portionsweise zuzugeben, bis eine rötliche, fast farblose Lösung entsteht (gegebenfalls leichte Eiskühlung anwenden). Dann wird sofort in Portionen 3.30 g (15.07 mmol, 2.0 Äqu.) 3-Brompropylamin Hydrobromid zugegeben. Die Reaktion entfärbt sich schnell komplett, trübt sich und wird leicht gelb. Es wird 2 h zum Rückfluss erhitzt und dann über Nacht bei RT gerührt. Man erhält eine gelbe Lösung mit einem weißen Feststoff (NaBr), welcher zunächst abfiltriert und mit EtOH gewaschen wird. Die ethanolische Phase wird eingengt und der Rückstand in 200 mL H₂O und 200 mL CH₂Cl₂ aufgenommen. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase 10× mit 50 mL CH₂Cl₂ ausgeschüttelt. Die vereinigten Phasen des CH₂Cl₂ werden gründlich über Na₂SO₄ getrocknet und unter vermindertem Druck eingengt. Es wurde ein gelbbraunes Öl erhalten, welches gegebenenfalls an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 9:1) chromatographiert wurde (DC-Kontrolle machen). Man erhält 3.51 g (13.36 mmol, 88.5 % d. Th.) eines schwach braunen Öles.

C₉H₁₃N₁Te (M = 262.81 g/mol)

DC: R_f = 0.14 (CH₂Cl₂/MeOH 9:1).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.28 (br s, 2 H, NH₂), 1.93 (m, 2 H, H⁶), 2.74 (m, 2 H, H⁵ oder H⁷, n.z.), 2.91 (m, 2 H, H⁵ oder H⁷, n.z.), 7.19 (m, 2 H, H²), 7.26 (m, 1 H, H¹), 7.72 (m, 2 H, H³).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 5.4 , 35.4, 43.8 (C^{5,6,7}), 112.2 (C⁴), 127.5 (C¹), 129.1, 138.3 (C^{2,3}).



3-(Phenyltelluryl)propan-1-amin (**13**) ist gleichermaßen in den bei 3-(Phenylselenyl)propan-1-amin (**12**) erwähnten Literaturen[93, 94] beschrieben.

Die Verbindung wurde analog zu **12** dargestellt. Es wurde eine höhere Ausbeute, als die Literatur angibt, erzielt.

9.6 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (19)

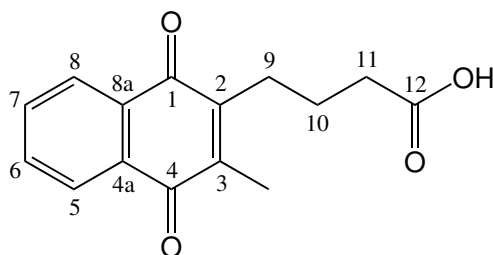
¹ 2.49 g (14.55 mmol, 1.0 Äqu.) 2-Methyl-1,4-naphthochinon (**7**) und 5.77 g (43.64 mmol, 3.0 Äqu.) Glutarsäure werden in 100 mL 30 %igem wässrigem CH₃CN gegeben und auf 65 °C erhitzt. Nachdem sich beim Erhitzen alle Feststoffe gelöst haben, wird 823.9 mg (4.85 mmol, 0.3 Äqu.) Silbernitrat zugegeben und danach eine Lösung von 4.32 g (18.92 mmol, 1.3 Äqu.) Ammoniumperoxodisulfat in 50 mL 30 %igem wässrigem CH₃CN über 2 h hinweg eingetropft. Die Reaktion wird noch eine weitere Stunde bei 65 °C belassen. Nach dem Abkühlen und anschließendem Rühren bei RT über Nacht, werden am nächsten Tag 300 mL CH₂Cl₂ und 200 mL H₂O zugegeben, sowie unter Zusatz von NaCl (Aussalzen) die Phasen getrennt. Die wässrige Phase wird zusätzlich noch 3× mit 50 mL CH₂Cl₂ ausgeschüttelt, danach ist diese nicht mehr gelb gefärbt. Die vereinigten organischen Phasen werden 5× mit 100 mL H₂O gewaschen und danach gründlich über Na₂SO₄ getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck, wird ein gelbbraunes Öl erhalten, welches an Kieselgel (CH₂Cl₂/MeOH 95:5) chromatographiert wird. Man erhält 1.53 g (5.92 mmol, 40.7 % d. Th.) eines hellgelben bis gelben Feststoffes.

C₁₅H₁₄O₄ (M = 258.27 g/mol)

DC: R_f = 0.33 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.83 (m, 2 H, H¹⁰), 2.21 (s, 3 H, CH₃), 2.47 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 2.71 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹, n.z., ³J_{HH} = 8.2), 7.69 (m, 2 H, H^{6,7}), 8.07 (m, 2 H, H^{5,8}).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.8 (CH₃), 23.6, 26.4, 33.8 (C^{9,10,11}, n.z.), 126.41, 126.47, 133.6 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 132.2, 132.3, 144.1, 146.2 (C^{2,3,4a,8a}, n.z.), 178.8 (C¹²), 184.7, 185.3 (C^{1,4}, n.z.).



¹Synthese nach Salmon-Chemin et al.[51].

9.7 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)-dibutansäure (20)

1.50 g (10.02 mmol, 1.0 Äqu.) 2,5-Dimethyl-1,4-benzochinon (**18**) und 14.53 g (110.0 mmol, 10.0 Äqu.) Glutarsäure wurden wie unter 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (**19**, Abschnitt 9.6) beschrieben umgesetzt und aufgearbeitet. Dazu wurden außerdem 1.25 g (7.36 mmol, 0.74 Äqu.) Silbernitrat und 6.53 g (28.62 mmol, 2.9 Äqu.) Ammoniumperoxodisulfat verwendet. Man erhält nach säulenchromatographischer Reinigung (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 95:5) 679.0 mg (2.20 mmol, 22.0 % d. Th.) eines orangen Feststoffes.

C₁₆**H**₂₀**O**₆ (M = 308.33 g/mol)

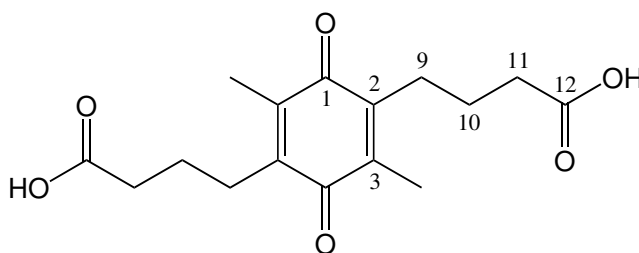
DC: R_f = 0.11 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.05 (m, 4 H, H¹⁰), 2.08 (s, 6 H, CH₃), 2.35 (m, 4 H, H⁹ oder H¹¹, n.z.), 2.66 (m, 4 H, H⁹ oder H¹¹, n.z.).

¹H-NMR (CD₃OD): δ = 0.18 (m, 4 H, H¹⁰), 0.49 (s, 6 H, CH₃), 0.79 (m, 4 H, (m, 4 H, H⁹ oder H¹¹, n.z.), 1.00 (m, 4 H, (m, 4 H, H⁹ oder H¹¹, n.z.).

¹³C-NMR (CD₃OD): δ = 12.2 (CH₃), 24.9, 26.8, 34.6 (C^{9,10,11}, n.z.), 142.1, 142.7 (C^{2,3}, n.z.), 177.0 (C¹²), 188.5 (C¹).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 6.5 min, 308.94 (100) [M+H]⁺.



Es handelt sich formal um eine in der Literatur bislang unbekannte Verbindung. Die Synthese wurde anhand von Salmon-Chemin et al.[51], siehe 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (**19**), durchgeführt.

Aufgrund der schlechteren Löslichkeit wurde ein ¹³C-NMR nur in CD₃OD erhalten.

9.8 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (27)

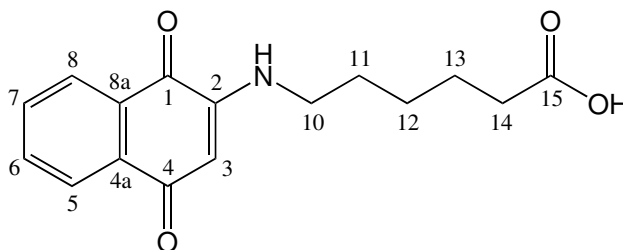
² 3.16 g (20.00 mmol, 2.0 Äqu.) 1,4-Naphthochinon (**8**) werden in 150 mL EtOH suspendiert und auf 60 °C erhitzt (damit gelöst). Es werden 1.31 g (10.00 mmol, 1.0 Äqu.) 6-Aminohexansäure, gelöst in 20 mL H₂O, eingetropf. Das Heizbad wird nach 30 min entfernt und danach über Nacht bei RT gerührt. Am nächsten Tag wird der ausgefallene orangefarbene Feststoff abgesaugt und mit wenig EtOH gewaschen. Auf eine säulenchromatographische Reinigung kann verzichtet werden. Man erhält 2.30 g (8.00 mmol, 80.0 % d. Th.) eines leuchtend orangefarbenen Feststoffes.

C₁₆H₁₇NO₄ (M = 287.31 g/mol)

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.48 (m, 2 H, H¹²), 1.72 (m, 4 H, H^{11,13}), 2.39 (t, 2 H, H¹⁴), ³J_{HH} = 7.3), 3.20 (m, 2 H, H¹⁰), 5.74 (s, 1 H, H³), 5.91 (br s, 1 H, NH), 7.61 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 7.72 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.7, ⁴J_{HH} = 1.3), 8.04 (dd, 1 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0), 8.10 (dd, 1 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 24.4, 26.6, 28.1, 33.6, 42.5 (C^{10,11,12,13,14}, n.z.), 101.3 (C³), 126.38, 126.44, 132.1, 134.9 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 130.7, 133.8 (C^{4a,8a}, n.z.), 148.1 (C²), 177.5 (C¹⁵), 182.1, 183.2 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 6.0 min, 288.02 (100) [M+H]⁺.



9.9 6-(3-Chlor-1,4-naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (28)

³ 2.27 g (10.00 mmol, 1.0 Äqu.) 2,3-Dichlor-1,4-naphthochinon werden in 150 mL EtOH suspendiert und bei RT eine Lösung von 2.62 g (20.00 mmol, 2.0 Äqu.) 6-Aminohexansäure

²Synthese nach Bittner et al.[67], jedoch wird dort kein ¹³C-NMR angegeben.

³Synthese nach Bittner et al.[67], jedoch wird dort kein ¹³C-NMR angegeben.

in 20 mL H₂O zugetropft. Danach wird über 24 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Reaktionsmischung am nächsten Tag gründlich mit Na₂SO₄ getrocknet und alle Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂) chromatographiert. Man erhält 1.36 g (4.23 mmol, 42.3 % d. Th.) eines orangeroten Feststoffes.

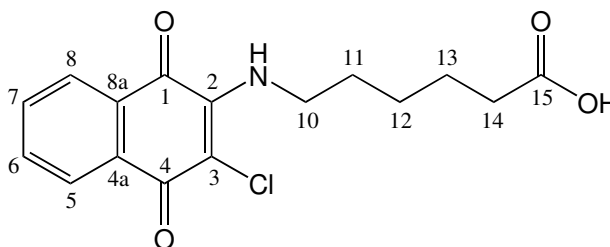
C₁₆H₁₆ClNO₄ (M = 321.76 g/mol)

DC: R_f = 0.31 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.47 (m, 2 H, H¹²), 1.71 (sextett, 4 H, H^{11,13}), 2.39 (t, 2 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 7.3), 3.85 (q, 2 H, H¹⁰, ³J_{HH} = 6.9), 6.01 (br s, 1 H, NH), 7.61 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 7.71 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 8.02 (dd, 1 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.9, ⁴J_{HH} = 1.0), 8.14 (dd, 1 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.9, ⁴J_{HH} = 1.0).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 24.4, 26.2, 30.9, 33.8, 44.8 (C^{10,11,12,13,14}, n.z.), (C³, n.g.), 126.96, 127.0, 132.6, 135.1 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 129.9, 132.9, 144.3 (C^{2,4a,8a}, n.z.), 177.0 (C¹⁵), 178.9, 180.7 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 6.1 min, 323.01 (100) [M+2H]⁺.



9.10 1,4,7-Tri(tert-butyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (35)

Es sind viele Literaturvorschriften für 1,4,7-Tri(tert-butyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (**35**) bekannt, die sich kaum unterscheiden. Die Synthese erfolgt anhand der Literatur[70, 95, 96].

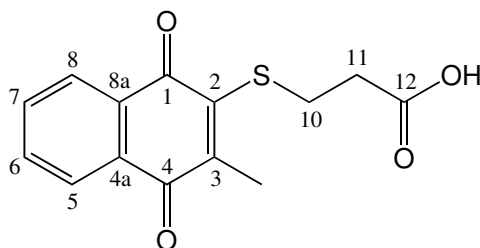
9.11 3-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-ylthio)propan- säure (36)

Die Synthese erfolgte nach Literaturvorschrift von Chen et al.[71]. Tandon et al.[72] geben keine genaue Synthesevorschrift an.

$C_{14}H_{12}O_4S$ (M = 276.31 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 2.35 (s, 3 H, CH_3), 2.76 (t, 2 H, H^{10} oder H^{11} , $^3J_{HH} = 7.3$), 3.43 (t, 2 H, H^{10} oder H^{11} , $^3J_{HH} = 7.3$), 7.05 (m, 2 H, $H^{6,7}$), 8.08 (m, 2 H, $H^{5,8}$).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ = 15.5 (CH_3), 29.0, 35.5, 133.0, 132.1 ($C^{2,3,4a,8a}$), 126.8, 127.0, 133.6, 133.9 ($C^{5,6,7,8}$), 176.4 (C^{12}), 181.4, 182.3 ($C^{1,4}$, n.z.).



Kapitel 10

Allgemeine Arbeitsvorschriften (AAV)

10.1 AAV 1: Aminoalkylierung

¹ Das entsprechende Amin wird in 10 mL EtOH gelöst und tropfenweise zu einer Lösung des Chinons in 10 mL EtOH gegeben. Die Reaktionsmischung wird drei Tage bei RT und unter Lichtausschluss, an der Luft gerührt. Der ausgefallene Feststoff wird abfiltriert und gründlich mit EtOH gewaschen, anschließend säulenchromatographisch gereinigt. Fällt das Produkt nicht aus der Reaktionslösung aus, wird das Lösungsmittel in Vakuum entfernt und der erhaltene Rückstand ebenfalls an Kieselgel chromatographiert.

10.2 AAV 2: Peptidkupplung

² Das säurefunktionalisierte Chinon wird in 3 mL trocknes CHCl_3 gegeben und auf 0°C gekühlt. Danach wird N-Methylmorpholin (in 3 mL trockenem CHCl_3) und nach 15 min Chlorameisensäureethylester (in 3 mL trockenem CHCl_3) zugegeben. Nach weiteren 30 min gibt man das entsprechende Amin, ebenfalls in 3 mL trockenem CHCl_3 gelöst, zu. Danach wird die Reaktion noch 1 h im Eisbad belassen und anschließend über Nacht bei RT gerührt. Am nächsten Tag wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt.

¹AAV 1 wurde anhand von Salmon-Chemin et al.[51] erarbeitet.

²AAV 2 wurde anhand von Braga et al.[97] erarbeitet.

10.3 AAV 3: Entschützung von Boc-Gruppen

Das Boc-geschützte Edukt wird in trockenem CHCl_3 gelöst (10 mL) und bei 0°C mit einem deutlichen Überschuss an Trifluoressigsäure (7-8 mL) versetzt. Nach dem Rühren bei RT für eine Nacht wird eingeeengt und das erhaltene Rohprodukt an SiO_2 säulenchromatographisch getrennt. Dazu dienen kurze Säulen mit einer Kieselgelhöhe von ca. 10 cm und einem Durchmesser von 2.5 cm.

Kapitel 11

Synthesevorschriften

11.1 1-(3-(Phenylselenenyl)propyl)-1,4,7-triazacyclononan (2)

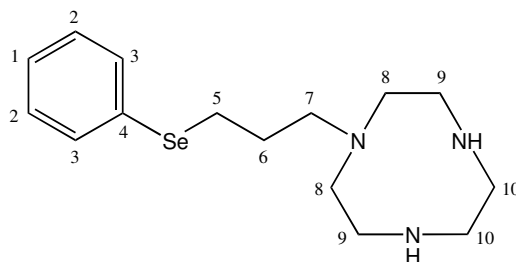
In einer Argonatmosphäre werden 137.1 mg (1.06 mmol, 1 Äqu.) 1,4,7-Triazacyclononan (tacn) und 138.2 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) K_2CO_3 in 30 mL trockenem CH_3CN vorgelegt. Danach wird bei RT und innerhalb von 1.5 h 183.6 mg (0.66 mmol, 0.66 Äqu.) 1-Brom-3-(phenylselenenyl)propan (1), gelöst in 20 mL trockenem CH_3CN , eingetropft und anschließend über Nacht bei RT gerührt, danach filtriert. Das Lösungsmittel wird unter verminderten Druck entfernt und der erhaltene Rückstand mehrfach in MeOH als auch in CH_2Cl_2 aufgenommen, die Lösung jeweils filtriert und wieder eingeeengt. Man erhält 210.1 mg (0.64 mmol, 97.5 % d. Th.) eines hellgelben, viskosen Öles.

$C_{15}H_{25}N_3Se$ (M = 326.34 g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 1.81 (quint, 2 H, H^6 , $^3J_{HH} = 6.9$), 2.88 (m, 18 H, $H^{5,7,8,9,10}$, NH), 7.20 (m, 3 H, $H^{1,2}$), 7.45 (m, 2 H, H^3).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ = 25.2, 34.0 ($C^{5,6}$, n.z.), 42.1, 48.9, 49.2, 57.8 ($C^{7,8,9,10}$, n.z.), 126.9 (C^1), 129.1 (C^2 oder C^3 , n.z.), 130.4 (C^4), 132.7 (C^2 oder C^3 , n.z.).

LC-MS: t_R , m/z (%) = 5.7 min, 257.0 (100) $[PhSeC_3H_6NC_2H_4NH+H]^+$, 216.0 (45) $[PhSeC_3H_6NH_2+H]^+$.



11.2 1,7-Bis(3-(phenylselenenyl)propyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (3)

Methode 1

In einer Argonatmosphäre werden 172.3 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (cyclen) und 138.2 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) K_2CO_3 in 30 mL trockenem CH_3CN vorgelegt. Danach wird bei RT und innerhalb von 1.5 h 139.0 mg (0.50 mmol, 0.5 Äqu.) 1-Brom-3-(phenylselenenyl)propan (**1**), gelöst in 20 mL trockenem CH_3CN , eingetropft und anschließend über Nacht bei RT gerührt, danach filtriert. Das Lösungsmittel wird unter verminderten Druck entfernt und das erhaltene Rohprodukt durch präparative HPLC getrennt ($t_R = 20-24$ min). Nachdem die Lösungsmittel aus der HPLC, H_2O und MeOH, unter vermindertem Druck entfernt wurden, wird der erhaltene weiße Feststoff in 30 mL CH_2Cl_2 aufgenommen, mit 10 mL konz. NH_3 -Lösung und danach reichlich mit H_2O (5×20 mL) gewaschen bis der pH-Wert der CH_2Cl_2 -Lösung neutral ist. Die Behandlung mit NH_3 ist notwendig, da bei der HPLC-Methode $HCOOH$ zugegeben worden ist. Einfaches Trocknen im Vakuum reicht zu dessen Entfernung nicht aus, da Salzbildung vorliegt ($R_2NH_2^+HOO^-$). Die CH_2Cl_2 -Phase wird mit Na_2SO_4 getrocknet und eingeeengt. Man erhält 42.2 mg (0.074 mmol, 29.8 % d. Th.) eines gelblichen, stark viskosen Öles.

Methode 2

In einer Argonatmosphäre werden 172.3 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan (cyclen) in 25 mL trockenem THF gelöst. Es werden innerhalb von 10 min und RT, 426.3 mg (2.00 mmol, 2 Äqu.) 3-(Phenylselenenyl)propanal (**4**), gelöst in 18 mL THF, eingetropft. Nach weiteren 15 min werden 593.4 mg (2.80 mmol, 2.8 Äqu.) Natriumtriacetoxyborhydrid zugegeben und das Reaktionsgemisch dann über Nacht bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wird entfernt und das Rohprodukt wie in Methode 1 durch präparative HPLC getrennt. Man erhält 73.7 mg (0.13 mmol, 13.0 % d. Th.) eines gelblichen, stark

viskosen Öles.¹

$C_{26}H_{40}N_4Se_2$ ($M = 566.54$ g/mol)

1H -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 1.84$ (quint, 4 H, H^6 , $^3J_{HH} = 6.9$), 2.54 (m, 14 H, H^8 oder H^9 , H^5 oder H^7 , n.z., NH), 2.63 (t, 8 H, H^8 oder H^9 , n.z., $^3J_{HH} = 4.7$), 2.88 (t, 4 H, H^5 oder H^7 , n.z., $^3J_{HH} = 6.9$), 7.22 (m, 6 H, $H^{1,2}$), 7.46 (m, 4 H, H^3).

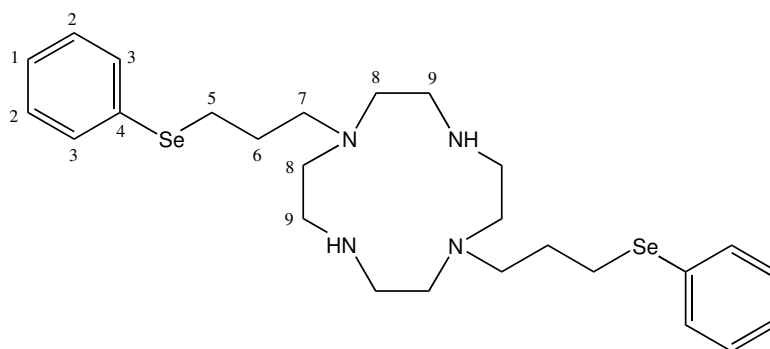
^{13}C -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 25.8, 27.4$ ($C^{5,6}$, n.z.), 45.6, 52.2, 54.7 ($C^{7,8,9}$, n.z.), 126.7 (C^1), 129.1 (C^2 oder C^3 , n.z.), 130.6 (C^4), 132.6 (C^2 oder C^3 , n.z.).

LC-MS: t_R , m/z (%) = 7.2 min, 569.1 (100) $[M+H]^+$.

NMR-Daten als Salz mit HCOOH:

1H -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 1.83$ (quint, 4 H, H^6 , $^3J_{HH} = 7.0$), 2.70 (t, 4 H, H^5 oder H^7 , n.z., $^3J_{HH} = 7.0$), 2.75 (t, 8 H, H^8 oder H^9 , n.z., $^3J_{HH} = 5.0$), 2.89 (t, 4 H, H^5 oder H^7 , n.z., $^3J_{HH} = 6.9$), 2.97 (t, 8 H, H^8 oder H^9 , n.z., $^3J_{HH} = 5.0$), 7.27 (m, 6 H, $H^{1,2}$), 7.33 (br s, 2 H, NH_2^+) 7.49 (m, 4 H, H^3), 8.35 (s, HCOOH).

^{13}C -NMR ($CDCl_3$): $\delta = 25.3, 25.6$ ($C^{5,6}$, n.z.), 44.9, 49.9, 54.1 ($C^{7,8,9}$, n.z.), 127.2 (C^1), 129.3 (C^2 oder C^3 , n.z.), 129.9 (C^4), 132.9 (C^2 oder C^3 , n.z.), 166.9 (HCOOH).



11.3 1,4-Bis(3-(phenylselenenyl)propyl)piperazin (5)

In einer Argonatmosphäre werden 62.7 mg (0.73 mmol, 1 Äqu.) Piperazin in 25 mL trockenem THF gelöst. Es werden innerhalb von 10 min und RT, 310.3 mg (1.46 mmol, 2 Äqu.) 3-(Phenylselenenyl)propanal (4), gelöst in 18 mL THF, eingetropft. Nach weiteren

¹Die Rohprodukte beider Methoden bestehen aus ein- und zweifach substituiertem cyclen. Durch präparative HPLC gelingt zwar eine Trennung beider Produkte, jedoch kann die einfach-substituierte Verbindung durch Behandlung mit NH_3 -Lösung nicht isoliert werden.

15 min werden 308.5 mg (1.46 mmol, 2 Äqu.) Natriumtriacetoxyborhydrid zugegeben und das Reaktionsgemisch dann über Nacht bei RT gerührt. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 95:5) chromatographiert. Man erhält 106.9 mg (0.22 mmol, 30.2 % d. Th.) eines beigen Feststoffes.

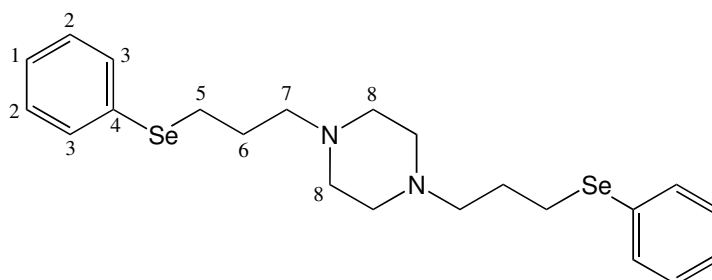
C₂₂H₃₀N₂Se₂ (M = 480.41 g/mol)

DC: R_f = 0.25 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.90 (quint, 4 H, H⁶, ³J_{HH} = 7.3), 2.45 (t, 12 H, H⁵ oder H⁷, n.z., H⁸, ³J_{HH} = 7.3), 2.96 (t, 4 H, H⁵ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 7.27 (m, 6 H, H^{1,2}), 7.52 (m, 4 H, H³).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 25.8, 27.6 (C^{5,6}), 53.3 (C⁸), 58.2 (C⁷), 126.8 (C¹), 129.1, 132.6 (C^{2,3}, n.z.) 130.7 (C⁴).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 7.4 min, 842.9 (100) [M+H]⁺.



11.4 3,3'-Dimethyl-(3,3'-(piperazin-1,4-diyl)bis(propylamino))bis(1,4-naphthochinon) (9)

² 400.6 mg (2.00 mmol, 1 Äqu.) 1,4-Bis(3-aminopropyl)piperazin (**6**) werden nach AAV 1 mit 688.7 mg (4.00 mmol, 2 Äqu.) 2-Methyl-1,4-naphthochinon (**7**) umgesetzt und aufgearbeitet. Das Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 95:5) chromatographiert. Man erhält 80.1 mg (0.15 mmol, 7.4 % d. Th.) eines dunkelvioletten Feststoffes.

C₃₂H₃₆N₄O₄ (M = 540.65 g/mol)

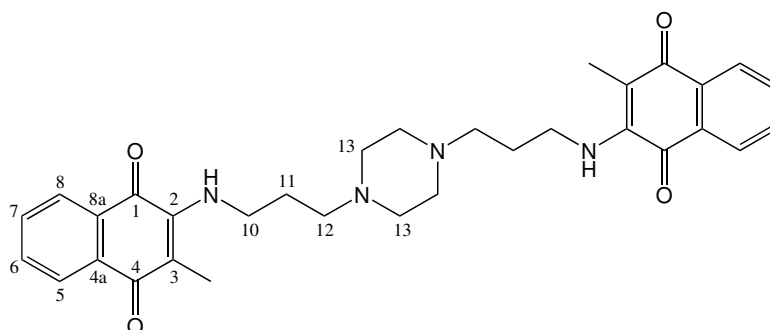
DC: R_f = 0.40 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

²Die Verbindung ist literaturbekannt. Salmon et al. beschreiben die Synthese in gleicher Weise, haben aber durch präparative DC gereinigt[51].

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1.81$ (quint, 4 H, H¹¹, $^3J_{HH} = 6.3$), 2.23 (s, 6 H, CH₃), 2.52 (t, 4 H, H¹², $^3J_{HH} = 6.3$), 2.57 (br s, 8 H, H¹³), 3.68 (q, 4 H, H¹⁰, $^3J_{HH} = 6.0$), 6.55 (br s, 2 H, NH), 7.45 (dt, 4 H, H⁶ oder H⁷, n.z., $^3J_{HH} = 7.6$, $^4J_{HH} = 1.3$), 7.65 (dt, 4 H, H⁶ oder H⁷, n.z., $^3J_{HH} = 7.6$, $^4J_{HH} = 1.3$), 7.98 (dd, 4 H, H⁵ oder H⁸, n.z., $^3J_{HH} = 7.6$, $^4J_{HH} = 1.0$), 8.07 (dd, 4 H, H⁵ oder H⁸, n.z., $^3J_{HH} = 7.6$, $^4J_{HH} = 1.0$).

¹³C-NMR (CDCl₃): $\delta = 11.5$ (CH₃), 27.1, 45.2, 56.7 (C^{10,11,12}, n.z.), 53.3 (C¹³), 112.0 (C³), 130.6, 133.7, (C^{4a,8a}, n.z.), 146.9 (C²), 126.0, 126.2, 131.8, 134.3 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 182.7, 183.6 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R , m/z (%) = 7.3 min, 541.3 (100) [M+H]⁺.



11.5 3,3'-(Piperazin-1,4-diyl)bis(propylamino)bis(1,4-naphthochinon) (10)

400.6 mg (2.00 mmol, 1 Äqu.) 1,4-Bis(3-aminopropyl)piperazin (**6**) werden nach AAV 1 mit 316.3 mg (4.00 mmol, 2 Äqu.) 1,4-Naphthochinon (**8**) umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 95:5) chromatographiert. Man erhält 296.6 mg (0.58 mmol, 28.9 % d. Th.) eines leuchtend orangen Feststoffes.

C₃₀**H**₃₂**N**₄**O**₄ (M = 512.60 g/mol)

DC: $R_f = 0.18$ (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H-NMR (CDCl₃): $\delta = 1.89$ (quint, 4 H, H¹¹, $^3J_{HH} = 6.0$), 2.65 (t, 4 H, H¹², $^3J_{HH} = 6.0$), 2.67 (br s, 8 H, H¹³), 3.29 (q, 4 H, H¹⁰, $^3J_{HH} = 5.7$), 5.71 (s, 2 H, H³), (br s, 2 H, NH, n.g.), 7.59 (dt, 4 H, H⁶ oder H⁵, n.z., $^3J_{HH} = 7.6$, $^4J_{HH} = 1.3$), 7.71 (dt, 4 H, H⁶ oder H⁵, n.z., $^3J_{HH} = 7.6$, $^4J_{HH} = 1.3$), 8.05 (dd, 4 H, H⁵ oder H⁸, n.z., $^3J_{HH} = 7.6$, $^4J_{HH} = 1.0$),

8.10 (dd, 4 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0).

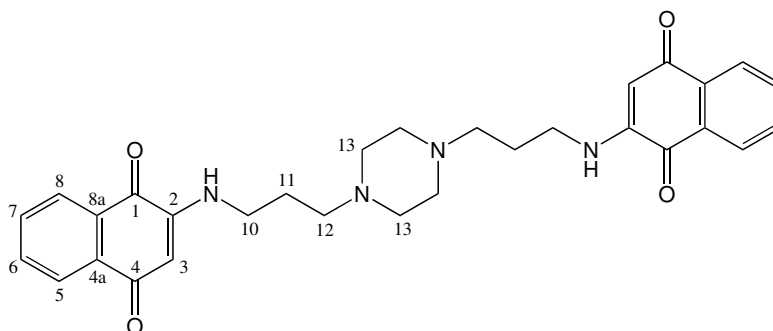
¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 24.1, 43.1, 57.4 (C^{10,11,12}, n.z.), 53.3 (C¹³), 100.5 (C³), 126.25, 126.32, 131.9, 134.7 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 130.9, 134.0 (C^{4a,8a}, n.z.), 148.9 (C²), 182.1, 183.0 (C^{1,4}, n.z.).

NMR-Daten unter Einbeziehung von COSY-Spektroskopie:

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.89 (quint, 4 H, H¹¹, ³J_{HH} = 6.0), 2.65 (t, 4 H, H¹², ³J_{HH} = 6.0), 2.67 (br s, 8 H, H¹³), 3.29 (q, 4 H, H¹⁰, ³J_{HH} = 5.7), 5.71 (s, 2 H, H³), (br s, 2 H, NH, n.g.), 7.59 (dt, 4 H, H⁷, ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 7.71 (dt, 4 H, H⁶, ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 8.05 (dd, 4 H, H⁸, ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0), 8.10 (dd, 4 H, H⁵, ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 24.1 (C¹¹), 43.1 (C¹⁰), 53.3 (C¹³), 57.4 (C¹²), 100.5 (C³), 126.25 (C⁵), 126.32 (C⁸), 130.9 (C^{8a}), 131.9 (C⁷), 134.0 (C^{4a}), 134.7 (C⁶), 148.9 (C²), 182.1 (C¹), 183.0 (C⁴).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 6.2 min, 513.2 (100) [M+H]⁺.



11.6 2-(3-(Phenylthio)propylamino)-1,4-naphthoquinon (14)

167.3 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 3-(Phenylthio)propan-1-amin (**11**) werden nach AAV 1 mit 158.2 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 1,4-Naphthochinon (**8**) umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂) chromatographiert. Man erhält 88.4 mg (0.27 mmol, 27.3 % d. Th.) eines leuchtend orangen Feststoffes.

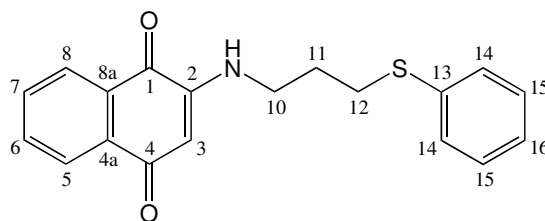
C₁₉H₁₇NO₂S (M = 323.41 g/mol)

DC: R_f = 0.25 (CH₂Cl₂).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 2.00$ (quint, 2 H, H^{11} , $^3J_{\text{HH}} = 6.9$), 3.01 (t, 2 H, H^{12} , $^3J_{\text{HH}} = 6.9$), 3.34 (q, 2 H, H^{10} , $^3J_{\text{HH}} = 6.6$), 5.73 (s, 1 H, H^3), 5.93 (br s, 1 H, NH), 7.20 (m, 1 H, H^{16}), 7.30 (m, 2 H, H^{15}), 7.37 (m, 2 H, H^{14}), 7.61 (dt, 2 H, H^6 oder H^7 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$), 7.73 (dt, 2 H, H^6 oder H^7 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$), 8.04 (dd, 2 H, H^5 oder H^8 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$), 8.10 (dd, 2 H, H^5 oder H^8 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 27.6$, 31.6 , 41.3 ($\text{C}^{10,11,12}$, n.z.), 101.3 (C^3), 126.37 , 126.43 , 126.7 , 132.2 , 134.9 ($\text{C}^{5,6,7,8,16}$, n.z.), 129.3 , 130.1 ($\text{C}^{14,15}$, n.z.), 130.7 , 133.8 , 135.5 , ($\text{C}^{4a,8a,13}$, n.z.), 148.0 (C^2), 182.0 , 183.1 ($\text{C}^{1,4}$, n.z.).

LC-MS: t_R , m/z (%) = nicht ionisierbar.



11.7 2-(3-(Phenylselenenyl)propylamino)-1,4-naphthochinon (15)

428.3 mg (2.00 mmol, 1 Äqu.) 3-(Phenylselenenyl)propan-1-amin (**12**) werden nach AAV 1 mit 316.3 mg (2.00 mmol, 1 Äqu.) 1,4-Naphthochinon (**8**) umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH_2Cl_2) chromatographiert. Man erhält 150.3 mg (0.41 mmol, 20.3 % d. Th.) eines leuchtend orangen Feststoffes.

$\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_2\text{Se}$ ($M = 370.30$ g/mol)

DC: $R_f = 0.25$ (CH_2Cl_2).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 2.01$ (quint, 2 H, H^{11} , $^3J_{\text{HH}} = 6.9$), 2.97 (t, 2 H, H^{12} , $^3J_{\text{HH}} = 6.9$), 3.31 (q, 2 H, H^{10} , $^3J_{\text{HH}} = 6.3$), 5.72 (s, 1 H, H^3), 5.89 (br s, 1 H, NH), 7.26 (m, 3 H, $\text{H}^{15,16}$), 7.52 (m, 2 H, H^{14}), 7.61 (dt, 2 H, H^6 oder H^7 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$), 7.72 (dt, 2 H, H^6 oder H^7 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$), 8.03 (dd, 2 H, H^5 oder H^8 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$), 8.10 (dd, 2 H, H^5 oder H^8 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 25.0$, 28.5 , 42.2 ($\text{C}^{10,11,12}$, n.z.), 101.2 (C^3), 126.3 , 126.4 , 127.5 ,

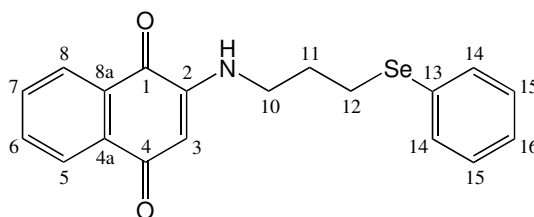
132.1, 134.9 (C^{5,6,7,8,16}, n.z.), 129.4, 133.3 (C^{14,15}, n.z.), 129.5, 130.6, 133.8 (C^{4a,8a,13}, n.z.), 147.9 (C², n.z.), 182.0, 183.0 (C^{1,4}, n.z.).

NMR-Daten unter Einbeziehung von COSY-Spektroskopie:

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.01 (quint, 2 H, H¹¹, ³J_{HH} = 6.9), 2.97 (t, 2 H, H¹², ³J_{HH} = 6.9), 3.31 (q, 2 H, H¹⁰, ³J_{HH} = 6.3), 5.72 (s, 1 H, H³), 5.89 (br s, 1 H, NH), 7.26 (m, 3 H, H^{15,16}), 7.52 (m, 2 H, H¹⁴), 7.61 (dt, 2 H, H⁷, ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 7.72 (dt, 2 H, H⁶, ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 8.03 (dd, 2 H, H⁸, ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0), 8.10 (dd, 2 H, H⁵, ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 25.0 (C¹²), 28.5 (C¹¹), 42.2 (C¹⁰), 101.2 (C³), 126.3 (C⁵), 126.4 (C⁸), 127.5 (C¹⁶), 129.4 (C¹⁵), 129.5 (C¹³), 130.6 (C^{8a}), 132.1 (C⁷), 133.3 (C¹⁴), 133.8 (C^{4a}), 134.9 (C⁶), 147.9 (C²), 182.0 (C¹), 183.0 (C⁴).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 11.7 min, 372.1 (100) [M+H]⁺.



11.8 2,5-Bis(3-(phenylselenenyl)propylamino)-1,4-benzoquinon (17)

1.67 g (3.14 mmol, 3.14 Äqu.) 3-(Phenylselenenyl)propan-1-amin (**12**) werden nach AAV 1 mit 108.1 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 1,4-Benzochinon (**16**) umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂) chromatographiert. Man erhält 183.8 mg (0.35 mmol, 34.5 % d. Th.) eines roten Feststoffes.

C₂₄H₂₆N₂O₂Se₂ (M = 532.40 g/mol)

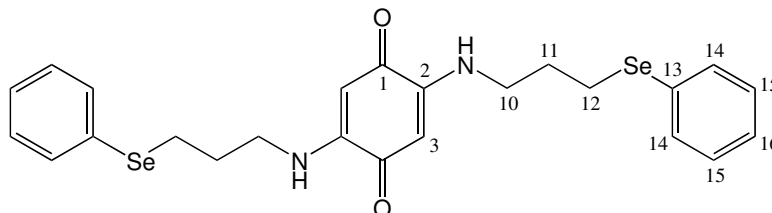
DC: R_f = 0.21 (CH₂Cl₂).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.01 (quint, 4 H, H¹¹, ³J_{HH} = 6.9), 2.93 (t, 4 H, H¹², ³J_{HH} = 6.9), 3.28 (q, 4 H, H¹⁰, ³J_{HH} = 6.6), 5.29 (s, 2 H, H³), 6.54 (br s, 2 H, NH), 7.27 (m, 6 H, H^{15,16}), 7.51 (m, 4 H, H¹⁴).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 24.9, 28.6, 42.2 (C^{10,11,12}, n.z.), 93.2 (C³), 127.5 (C¹⁶), 129.39

(C¹³), 151.1 (C²), 129.43, 133.3 (C^{14,15}, n.z.), 178.4 (C¹).

LC-MS: t_R , m/z (%) = 12.9 min, 535.0 (100) [M+H]⁺.



11.9 4-(3-Methyl-1,4-naphthoquinon-2-yl)-N-(3-phenylthio)propylbutanamid (21)

129.2 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) 4-(3-Methyl-1,4-naphthoquinon-2-yl)butansäure (**19**) werden mit 63.6 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) 3-(Phenylthio)propan-1-amin (**11**) nach AAV 2, in Gegenwart von 50.6 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) N-Methylmorpholin und 54.3 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 98:2) chromatographiert. Man erhält 49.9 mg (0.12 mmol, 24.5 % d. Th.) eines hellgelben Feststoffes.

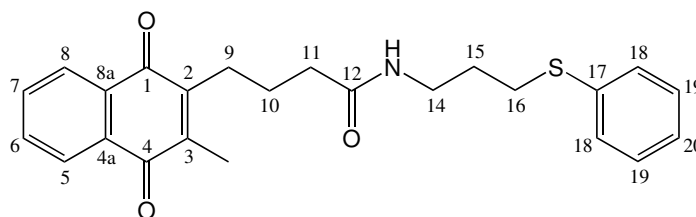
C₂₄H₂₅NO₃S (M = 407.53 g/mol)

DC: R_f = 0.28 (CH₂Cl₂/MeOH 98:2).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.79 (quint, 2 H, H¹⁰ oder H¹⁵, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 1.86 (quint, 2 H, H¹⁰ oder H¹⁵, n.z., ³J_{HH} = 6.9), 2.19 (s, 3 H, CH₃), 2.24 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 6.9), 2.64 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 2.93 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 6.9), 3.39 (q, 2 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 6.6), 5.95 (br s, 1 H, NH), 7.14 (m, 1 H, H²⁰), 7.24 (m, 2 H, H¹⁹), 7.31 (m, 2 H, H¹⁸), 7.67 (m, 2 H, H^{6,7}), 8.04 (m, 2 H, H^{5,8}).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.8 (CH₃), 24.4, 26.5, 29.1, 31.4, 36.2, 38.6 (C^{9,10,11,14,15,16}, n.z.), 126.3, 126.4, 129.1, 129.5, 133.5, 133.6 (C^{5,6,7,8,18,19,20}, n.z.), 132.2, 132.3, 136.2, 144.2, 146.4 (C^{2,3,4a,8a,17}, n.z.), 172.4 (C¹²), 185.1, 185.3 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R , m/z (%) = 9.8 min, 408.0 (100) [M+H]⁺.



11.10 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)-N-(3-(phenylselenenyl)propyl)butanamid (22)

258.3 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (**19**) werden mit 214.2 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 3-(Phenylselenenyl)propan-1-amin (**12**) nach AAV 2, in Gegenwart von 101.2 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) N-Methylmorpholin und 108.5 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5) chromatographiert. Man erhält 323.4 mg (0.71 mmol, 71.2 % d. Th.) eines gelbbraunen Feststoffes.

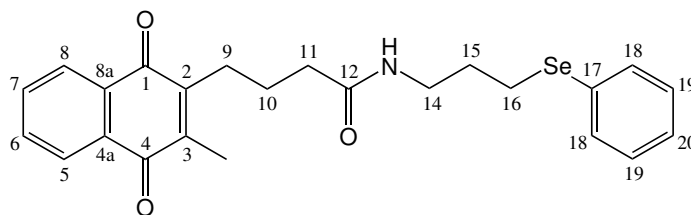
$\text{C}_{24}\text{H}_{25}\text{NO}_3\text{Se}$ ($M = 454.42$ g/mol)

DC: $R_f = 0.65$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.79$ (quint, 2 H, H^{10} oder H^{15} , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.9$), 1.92 (quint, 2 H, H^{10} oder H^{15} , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.3$), 2.19 (s, 3 H, CH_3), 2.24 (t, 2 H, H^9 oder H^{11} oder H^{16} , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.3$), 2.64 (t, 2 H, H^9 oder H^{11} oder H^{16} , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.9$), 2.93 (t, 2 H, H^9 oder H^{11} oder H^{16} , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.3$), 3.37 (q, 2 H, H^{14} , $^3J_{\text{HH}} = 6.6$), 5.93 (br s, 1 H, NH), 7.23 (m, 3 H, $\text{H}^{19,20}$), 7.48 (m, 2 H, H^{18}), 7.68 (m, 2 H, $\text{H}^{6,7}$), 8.05 (m, 2 H, $\text{H}^{5,8}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 12.9$ (CH_3), 24.4, 25.2, 26.5, 30.1, 36.2, 39.4 ($\text{C}^{9,10,11,14,15,16}$, n.z.), 126.4, 127.1, 129.2, 132.9, 133.5, 133.6 ($\text{C}^{5,6,7,8,18,19,20}$, n.z.), 130.1, 132.2, 132.3, 144.2, 146.4 ($\text{C}^{2,3,4a,8a,17}$, n.z.), 172.4 (C^{12}), 185.1, 185.2 ($\text{C}^{1,4}$, n.z.).

LC-MS: t_R , m/z (%) = 9.9 min, 456.0 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$.



11.11 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)-N-(3-(phenyltelluryl)propyl)butanamid (23)

258.3 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (19) werden mit 262.8 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 3-(Phenyltelluryl)propan-1-amin (13) nach AAV 2, in Gegenwart von 101.2 mg (1 mmol, 1 Äqu.) N-Methylmorpholin und 108.5 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 95:5) chromatographiert. Man erhält 201.8 mg (0.40 mmol, 40.1 % d. Th.) eines gelbbraunen Feststoffes.

C₂₄H₂₅NO₃Te (M = 503.06 g/mol)

DC: R_f = 0.51 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.79 (quint, 2 H, H¹⁰ oder H¹⁵, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 2.01 (quint, 2 H, H¹⁰ oder H¹⁵, n.z., ³J_{HH} = 6.9), 2.20 (s, 3 H, CH₃), 2.22 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 6.9), 2.64 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 2.89 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.6), 3.33 (q, 2 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 6.6), 5.79 (br s, 1 H, NH), 7.18 (m, 2 H, H¹⁹), 7.26 (m, 1 H, H²⁰), 7.69 (m, 2 H, H^{6,7}), 7.72 (m, 2 H, H¹⁸), 8.07 (m, 2 H, H^{5,8}).

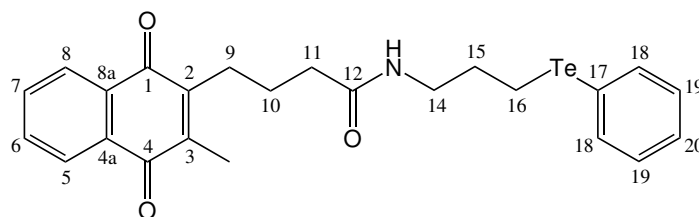
¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 5.2 (C¹⁶), 24.4, 26.5, 31.8, 36.2, 41.3 (C^{9,10,11,14,15}, n.z.), 12.9 (CH₃), 111.6 (C¹⁷), 132.2, 132.3, 144.2, 146.4 (C^{2,3,4a,8a}, n.z.), 126.4, 127.9, 129.4, 133.5, 133.6, 138.7 (C^{5,6,7,8,18,19,20}, n.z.), 172.3 (C¹²), 185.1, 185.3 (C^{1,4}, n.z.).

NMR-Daten unter Einbeziehung von COSY-Spektroskopie:

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.79 (quint, 2 H, H¹⁰, ³J_{HH} = 7.9), 2.01 (quint, 2 H, H¹⁵, ³J_{HH} = 6.9), 2.20 (s, 3 H, CH₃), 2.22 (t, 2 H, H¹¹, ³J_{HH} = 6.9), 2.64 (t, 2 H, H⁹, ³J_{HH} = 7.9), 2.89 (t, 2 H, H¹⁶, ³J_{HH} = 7.6), 3.33 (q, 2 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 6.6), 5.79 (br s, 1 H, NH), 7.18 (m, 2 H, H¹⁹), 7.26 (m, 1 H, H²⁰), 7.69 (m, 2 H, H^{6,7}, davon H⁶ im Tieffeld und H⁷ im Hochfeld des Signals), 7.72 (m, 2 H, H¹⁸), 8.07 (m, 2 H, H^{5,8}, davon H⁵ im Tieffeld und H⁸ im Hochfeld des Signals).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 5.2 (C¹⁶), 12.9 (CH₃), 24.4 (C¹⁰), 26.5 (C⁹), 31.8 (C¹⁵), 36.2 (C¹¹), 41.3 (C¹⁴), 111.6 (C¹⁷), 126.4 (C^{5,8}), 127.9 (C²⁰), 129.4 (C¹⁹), 132.2 (C^{8a}), 132.3 (C^{4a}), 133.5, 133.6 (C^{6,7}, n.z.), 138.7 (C¹⁸), 144.2 (C³), 146.4 (C²), 172.3 (C¹²), 185.1 (C¹), 185.3 (C⁴).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 10.3 min, 506.0 (100) [M+H]⁺.



11.12 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzoquinon-2,5-diyl)-bis(N-(3-(phenylthio)propyl)butanamid) (24)

308.3 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzoquinon-2,5-diyl)dibutansäure (**20**) werden mit 167.3 mg (1.00 mmol, 2 Äqu.) 3-(Phenylthio)propan-1-amin (**11**) nach AAV 2, in Gegenwart von 101.2 mg (1.00 mmol, 2 Äqu.) N-Methylmorpholin und 108.5 mg (1.00 mmol, 2 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 98:2) chromatographiert. Man erhält 142.1 mg (0.23 mmol, 46.8 % d. Th.) eines hellgelben Feststoffes.

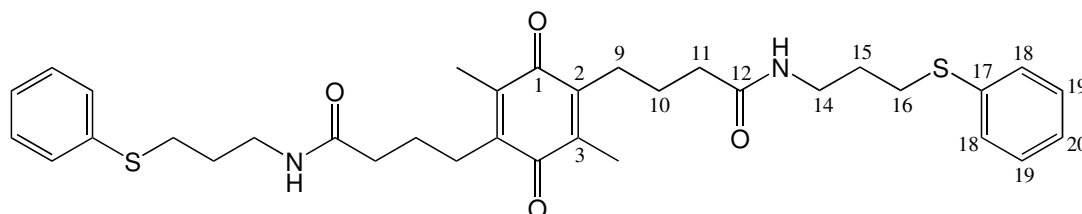
C₃₄**H**₄₂**N**₂**O**₄**S**₂ (M = 606.84 g/mol)

DC: R_f = 0.19 (CH₂Cl₂/MeOH 98:2).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.71 (quint, 4 H, H¹⁰ oder H¹⁵, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 1.85 (quint, 4 H, H¹⁰ oder H¹⁵, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 2.00 (s, 6 H, CH₃), 2.19 (t, 4 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 2.47 (t, 4 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 2.94 (t, 4 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 3.38 (q, 4 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 6.6), 5.86 (br s, 2 H, NH), 7.16 (m, 2 H, H²⁰), 7.26 (m, 4 H, H¹⁹), 7.32 (m, 4 H, H¹⁸).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.3 (CH₃), 24.9, 26.1, 29.1, 31.4, 36.3, 38.6 (C^{9,10,11,14,15,16}, n.z.), 126.3 (C²⁰), 129.1, 129.5 (C^{18,19}, n.z.), 136.2, 141.1, 143.7 (C^{2,3,17}, n.z.), 172.4 (C¹²), 187.7 (C¹).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 10.0 min, 607.2 (100) [M+H]⁺.



11.13 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)-bis(N-(3-(phenylselenyl)propyl)butanamid) (25)

102.8 mg (0.33 mmol, 1 Äqu.) 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)dibutansäure (20) werden mit 142.7 mg (0.66 mmol, 2 Äqu.) 3-(Phenylselenyl)propan-1-amin (12) nach AAV 2, in Gegenwart von 67.5 mg (0.66 mmol, 2 Äqu.) N-Methylmorpholin und 72.3 mg (0.66 mmol, 2 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 98:2) chromatographiert. Man erhält 109.2 mg (0.16 mmol, 47.2 % d. Th.) eines hellgelben Feststoffes.

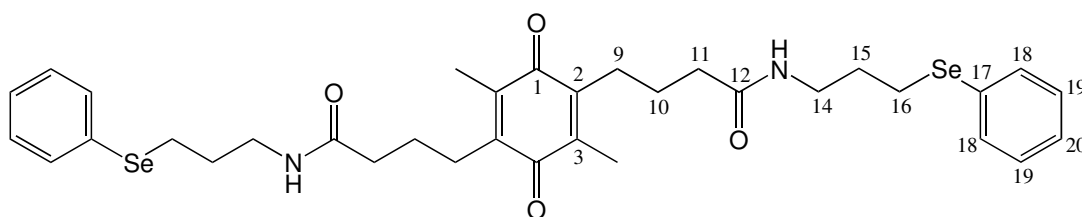
C₃₄H₄₂N₂O₄Se₂ (M = 700.63 g/mol)

DC: R_f = 0.24 (CH₂Cl₂/MeOH 98:2).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.71 (quint, 4 H, H¹⁰ oder H¹⁵, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 1.91 (quint, 4 H, H¹⁰ oder H¹⁵, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 2.02 (s, 6 H, CH₃), 2.18 (t, 4 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 2.48 (t, 4 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 2.92 (t, 4 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 3.36 (q, 4 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 6.6), 5.84 (br s, 2 H, NH), 7.25 (m, 6 H, H^{19,20}), 7.48 (m, 4 H, H¹⁸).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.3 (CH₃), 24.5, 25.2, 26.1, 30.1, 36.2, 39.4 (C^{9,10,11,14,15,16}, n.z.), 127.2 (C²⁰), 129.3, 132.9 (C^{18,19}, n.z.), 130.1, 141.1, 143.7 (C^{2,3,17}, n.z.), 172.4 (C¹²), 187.7 (C¹).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 10.5 min, 703.1 (100) [M+H]⁺.



11.14 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)-bis(N-(3-(phenyltelluryl)propyl)butanamid) (26)

205.6 mg (0.66 mmol, 1 Äqu.) 4,4'-(3,6-Dimethyl-1,4-benzochinon-2,5-diyl)dibutansäure (20) werden mit 350.4 mg (1.32 mmol, 2 Äqu.) 3-(Phenyltelluryl)propan-1-amin (13) nach AAV 2, in Gegenwart von 134.9 mg (1.32 mmol, 2 Äqu.) N-Methylmorpholin und

144.7 mg (1.32 mmol, 2 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 98:2) chromatographiert. Man erhält 298.6 mg (0.37 mmol, 56.1 % d. Th.) eines gelbbraunen Feststoffes.

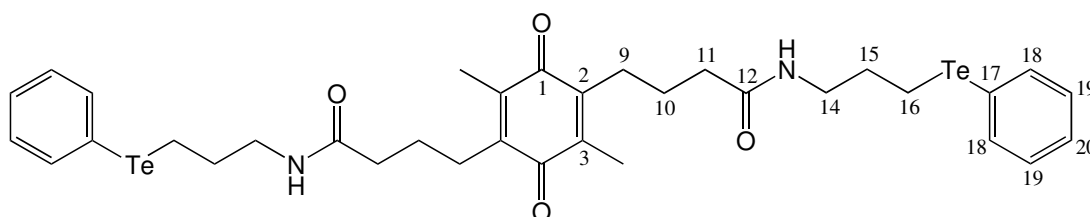
C₃₄H₄₂N₂O₄Te₂ (M = 797.91 g/mol)

DC: R_f = 0.40 (CH₂Cl₂/MeOH 98:2).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.69 (quint, 4 H, H¹⁰ oder H¹⁵, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 1.99 (quint, 4 H, H¹⁰ oder H¹⁵, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 2.00 (s, 6 H, CH₃), 2.15 (t, 4 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 2.46 (t, 4 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 2.86 (t, 4 H, H⁹ oder H¹¹ oder H¹⁶, n.z., ³J_{HH} = 7.6), 3.31 (q, 4 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 6.3), 5.71 (br s, 2 H, NH), 7.18 (m, 4 H, H¹⁹). 7.26 (m, 2 H, H²⁰). 7.71 (m, 4 H, H¹⁸).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 5.2 (C¹⁶), 24.5, 26.1, 31.8, 36.2, 41.3 (C^{9,10,11,14,15}, n.z.), 12.3 (CH₃), 111.6 (C¹⁷), 141.1, 143.7 (C^{2,3}, n.z.), 127.9 (C²⁰), 129.4, 138.7 (C^{18,19}, n.z.), 172.4 (C¹²), 187.2 (C¹).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 11.0 min, 801.7 (100) [M+H]⁺.



11.15 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenylthio)propyl)hexanamid (**29**)

95.8 mg (0.33 mmol, 1 Äqu.) 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (**27**) werden mit 55.8 mg (0.33 mmol, 1 Äqu.) 3-(Phenylthio)propan-1-amin (**11**) nach AAV 2, in Gegenwart von 33.7 mg (0.33 mmol, 1 Äqu.) N-Methylmorpholin und 36.2 mg (0.33 mmol, 1 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CHCl₃) chromatographiert. Man erhält 74.8 mg (0.17 mmol, 51.4 % d. Th.) eines roten Feststoffes.

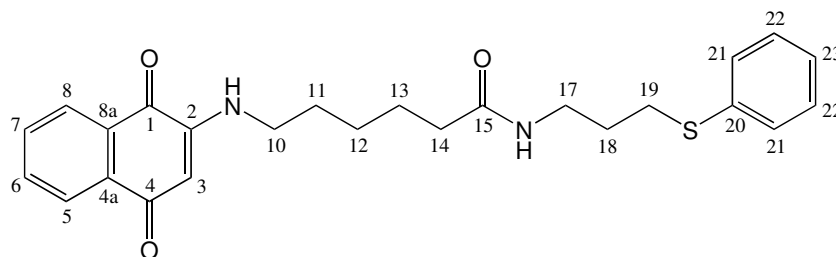
C₂₅H₂₈N₂O₃S (M = 436.57 g/mol)

DC: R_f = 0.23 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.41 (m, 2 H, H¹²), 1.68 (m, 4 H, H^{11,13}), 1.85 (quint, 2 H, H¹⁸, ³J_{HH} = 6.9), 2.16 (t, 2 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 7.6), 2.94 (t, 2 H, H¹⁹, ³J_{HH} = 6.9), 3.16 (m, 2 H, H¹⁰ oder H¹⁷, n.z.), 3.38 (m, 2 H, H¹⁰ oder H¹⁷, n.z.), 5.70 (s, 1 H, H³), 5.72 (br s, 1 H, NH), 5.90 (br s, 1 H, NH), 7.17 (m, 1 H, H²³), 7.26 (m, 2 H, H²¹ oder H²², n.z.), 7.31 (m, 2 H, H²¹ oder H²², n.z.), 7.59 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0), 7.71 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0), 8.02 (m, 1 H, H⁵ oder H⁸, n.z.), 8.08 (m, 1 H, H⁵ oder H⁸, n.z.).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 25.3, 26.8, 28.1, 29.1, 31.4, 36.5, 38.6, 42.4 (C^{10,11,12,13,14,17,18,19}, n.z.), 100.9 (C³), 126.3, 126.4, 129.1, 129.4, 132.1, 134.9 (C^{5,6,7,8,21,22,23}, n.z.), 130.6, 133.8, 136.2 (C^{4a,8a,20}, n.z.), 148.1 (C²), 172.7 (C¹⁵), 182.0, 183.0 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 11.7 min, 437.1 (100) [M+H]⁺.



11.16 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenylselenyl)propyl)hexanamid (30)

278.3 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (**27**) werden mit 214.2 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) 3-(Phenylselenyl)propan-1-amin (**12**) nach AAV 2, in Gegenwart von 101.2 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) N-Methylmorpholin und 108.5 mg (1.00 mmol, 1 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂) chromatographiert. Man erhält 124.9 mg (0.26 mmol, 25.8 % d. Th.) eines orangeroten Feststoffes.

C₂₅H₂₈N₂O₃Se (M = 483.46 g/mol)

DC: R_f = 0.50 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.41 (m, 2 H, H¹²), 1.68 (m, 4 H, H^{11,13}), 1.90 (quint, 2 H, H¹⁸, ³J_{HH} = 6.9), 2.15 (t, 2 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 7.3), 2.90 (t, 2 H, H¹⁹, ³J_{HH} = 7.3), 3.17 (q, 2 H, H¹⁰ oder H¹⁷, n.z., ³J_{HH} = 6.3), 3.35 (m, 2 H, H¹⁰ oder H¹⁷, n.z.), 5.63 (br s, 1 H,

NH), 5.70 (s, 1 H, H³), 5.90 (br s, 1 H, NH), 7.24 (m, 3 H, H^{22,23}), 7.47 (m, 2 H, H²¹), 7.60 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 7.71 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 8.03 (dd, 1 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.9, ⁴J_{HH} = 1.0), 8.08 (dd, 1 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.9, ⁴J_{HH} = 1.0).

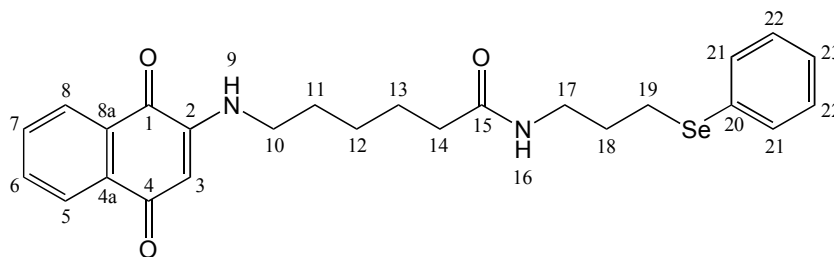
¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 25.20, 25.27, 26.8, 28.1, 30.1, 36.5, 39.4, 42.5 (C^{10,11,12,13,14,17,18,19}, n.z.), 100.8 (C³), 126.3, 126.4, 127.2, 132.1, 134.9 (C^{5,8,6,7,23}, n.z.), 129.3, 132.8 (C^{21,22}, n.z.), 130.1, 130.6, 133.8 (C^{4a,8a,20}, n.z.), 148.1 (C²), 172.7 (C¹⁵), 182.0, 183.0 (C^{1,4}, n.z.).

NMR-Daten unter Einbeziehung von COSY-Spektroskopie:

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.41 (m, 2 H, H¹²), 1.68 (m, 4 H, H^{11,13}), 1.90 (quint, 2 H, H¹⁸, ³J_{HH} = 6.9), 2.15 (t, 2 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 7.3), 2.90 (t, 2 H, H¹⁹, ³J_{HH} = 7.3), 3.17 (q, 2 H, H¹⁰, ³J_{HH} = 6.3), 3.35 (m, 2 H, H¹⁷), 5.63 (br s, 1 H, NH, H¹⁶), 5.70 (s, 1 H, H³), 5.90 (br s, 1 H, NH, H⁹), 7.24 (m, 3 H, H^{22,23}), 7.47 (m, 2 H, H²¹), 7.60 (dt, 1 H, H⁷, ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 7.71 (dt, 1 H, H⁶, ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 8.03 (dd, 1 H, H⁸, ³J_{HH} = 7.9, ⁴J_{HH} = 1.0), 8.08 (dd, 1 H, H⁵, ³J_{HH} = 7.9, ⁴J_{HH} = 1.0).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 25.20 (C¹⁹), 25.27 (C¹³), 26.8 (C¹²), 28.1 (C¹¹), 30.1 (C¹⁸), 36.5 (C¹⁴), 39.4 (C¹⁷), 42.5 (C¹⁰), 100.8 (C³), 126.3 (C⁵), 126.4 (C⁸), 127.2 (C²³), 129.3 (C²²), 130.1 (C²⁰), 130.6 (C^{8a}), 132.1 (C⁷), 132.8 (C²¹), 133.8 (C^{4a}), 134.9 (C⁶), 148.1 (C²), 172.7 (C¹⁵), 182.0 (C¹), 183.0 (C⁴).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 8.8 min, 484.9 (100) [M+H]⁺.



11.17 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenyltelluryl)propyl)hexanamid (31)

191.5 mg (0.67 mmol, 1 Äqu.) 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (**27**) werden mit 175.0 mg (0.67 mmol, 1 Äqu.) 3-(Phenyltelluryl)propan-1-amin (**13**) nach AAV 2, in Gegenwart von 67.4 mg (0.67 mmol, 1 Äqu.) N-Methylmorpholin und 72.3 mg (0.67 mmol,

1 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH_2Cl_2) chromatographiert. Man erhält 250.3 mg (0.47 mmol, 70.6 % d. Th.) eines orangefarbenen Feststoffes.

$\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3\text{Te}$ (M = 532.10 g/mol)

DC: $R_f = 0.36$ ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95:5).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.40$ (m, 2 H, H^{12}), 1.67 (m, 4 H, $\text{H}^{11,13}$), 1.99 (m, 2 H, H^{18}), 2.13 (t, 2 H, H^{14} , $^3J_{\text{HH}} = 7.6$), 2.86 (t, 2 H, H^{19} , $^3J_{\text{HH}} = 7.6$), 3.17 (m, 2 H, H^{10} oder H^{17} , n.z.), 3.31 (m, 2 H, H^{10} oder H^{17} , n.z.), 5.55 (br s, 1 H, NH), 5.70 (s, 1 H, H^3), 5.90 (br s, 1 H, NH), 7.19 (m, 2 H, H^{22}), 7.27 (m, 1 H, H^{23}), 7.60 (dt, 1 H, H^6 oder H^7 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$), 7.71 (m, 3 H, H^6 oder H^7 , H^{21}), 8.03 (dd, 1 H, H^5 oder H^8 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$), 8.08 (dd, 1 H, H^5 oder H^8 , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$).

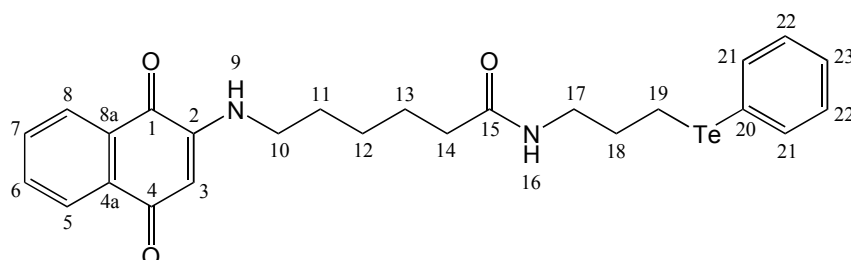
$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 5.1$ (C^{19}), 25.3, 26.8, 28.1, 31.7, 36.5, 41.2, 42.5 ($\text{C}^{10,11,12,13,14,17,18}$, n.z.), 100.9 (C^3), 111.6 (C^{20}), 126.3, 126.4, 127.9, 132.1, 134.9 ($\text{C}^{5,8,6,7,23}$, n.z.), 129.4, 138.6 ($\text{C}^{21,22}$, n.z.), 130.6, 133.8 ($\text{C}^{4a,8a}$, n.z.), 148.1 (C^2), 172.7 (C^{15}), 182.0, 183.0 ($\text{C}^{1,4}$, n.z.).

NMR-Daten unter Einbeziehung von COSY-Spektroskopie:

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.40$ (m, 2 H, H^{12}), 1.67 (m, 4 H, $\text{H}^{11,13}$), 1.99 (m, 2 H, H^{18}), 2.13 (t, 2 H, H^{14} , $^3J_{\text{HH}} = 7.6$), 2.86 (t, 2 H, H^{19} , $^3J_{\text{HH}} = 7.6$), 3.17 (m, 2 H, H^{10}), 3.31 (m, 2 H, H^{17}), 5.55 (br s, 1 H, NH, H^{16}), 5.70 (s, 1 H, H^3), 5.90 (br s, 1 H, NH, H^9), 7.19 (m, 2 H, H^{22}), 7.27 (m, 1 H, H^{23}), 7.60 (dt, 1 H, H^7 , $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$), 7.71 (m, 3 H, $\text{H}^{6,21}$), 8.03 (dd, 1 H, H^8 , $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$), 8.08 (dd, 1 H, H^5 , $^3J_{\text{HH}} = 7.6$, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 5.1$ (C^{19}), 25.3 (C^{13}), 26.8 (C^{12}), 28.1 (C^{11}), 31.7 (C^{18}), 36.5 (C^{14}), 41.2 (C^{17}), 42.5 (C^{10}), 100.9 (C^3), 111.6 (C^{20}), 126.3 (C^5), 126.4 (C^8), 127.9 (C^{23}), 129.4 (C^{22}), 130.6 (C^{8a}), 132.1 (C^7), 133.8 (C^{4a}), 134.9 (C^6), 138.6 (C^{21}), 148.1 (C^2), 172.7 (C^{15}), 182.0 (C^1), 183.0 (C^4).

LC-MS: t_R , m/z (%) = 12.4 min, 535.2 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$.



11.18 6-(3-Chlor-1,4-naphthochinon-2-ylamino)-N-(3-(phenyltelluryl)propyl)hexanamid (32)

219.0 mg (0.68 mmol, 1 Äqu.) 6-(3-Chlor-1,4-naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (**28**) werden mit 178.7 mg (0.68 mmol, 1 Äqu.) 3-(Phenyltelluryl)propan-1-amin (**13**) nach AAV 2, in Gegenwart von 68.8 mg (0.68 mmol, 1 Äqu.) N-Methylmorpholin und 73.8 mg (0.68 mmol, 1 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂) chromatographiert. Man erhält 154.6 mg (0.27 mmol, 40.1 % d. Th.) eines orangefarbenen Feststoffes.

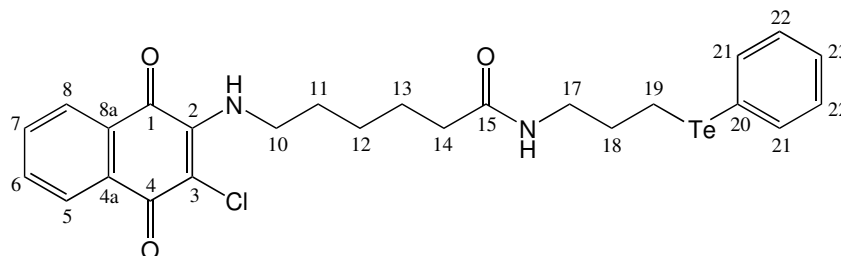
C₂₅H₂₇ClN₂O₃Te (M = 566.55 g/mol)

DC: R_f = 0.38 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.41 (m, 2 H, H¹²), 1.68 (m, 4 H, H^{11,13}), 2.00 (quint, 2 H, H¹⁸), ³J_{HH} = 6.9), 2.13 (t, 2 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 7.3), 2.86 (t, 2 H, H¹⁹, ³J_{HH} = 7.3), 3.31 (m, 2 H, H¹⁰ oder H¹⁷, n.z.), 3.82 (q, 2 H, H¹⁰ oder H¹⁷, n.z., ³J_{HH} = 6.9), 5.49 (br s, 1 H, NH), 6.07 (br s, 1 H, NH), 7.19 (m, 2 H, H²²), 7.28 (m, 1 H, H²³), 7.61 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 7.71 (m, 3 H, H⁶ oder H⁷, H²¹), 8.01 (dd, 1 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 8.13 (dd, 1 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 5.2 (C¹⁹), 25.3, 26.4, 30.9, 31.8, 36.5, 41.2, 44.8 (C^{10,11,12,13,14,17,18}, n.z.), (C³, n.g.), 111.7 (C²⁰), 127.0, 127.9, 129.4, 132.5, 135.1, 138.7 (C^{5,6,7,8,21,22,23}, n.z.), 129.9, 132.9 (C^{4a,8a}, n.z.), (C², n.g.), 172.7 (C¹⁵), 180.6 (C^{1,4}).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 13.1 min, 569.2 (70) [M+H]⁺.



11.19 3,3'-(Piperazin-1,4-diyl)bis(propyl)bis(4-(3-methyl-1,4-naphthochinon-2-yl))butanamid (33)

³ 258.3 mg (1.00 mmol, 2 Äqu.) 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (**19**) werden mit 100.2 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) 1,4-Bis(3-aminopropyl)piperazin (**6**) nach AAV 2, in Gegenwart von 101.2 mg (1.00 mmol, 2 Äqu.) N-Methylmorpholin und 108.5 mg (1.00 mmol, 2 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 8:2) chromatographiert. Man erhält 145.2 mg (0.21 mmol, 21.3 % d. Th.) eines hellbraunen Feststoffes.

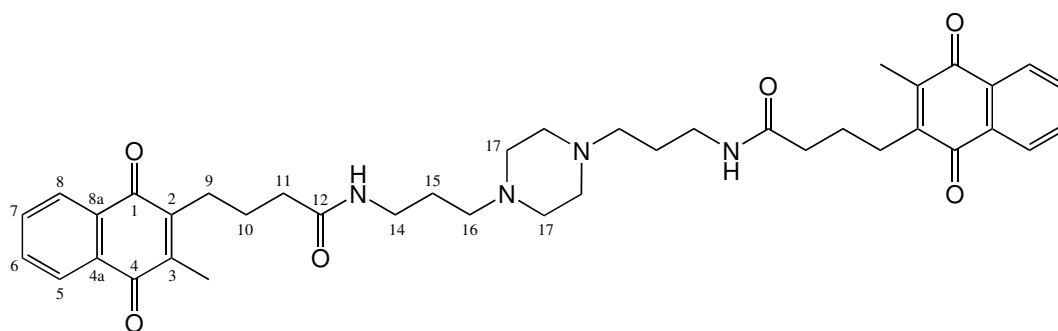
C₄₀H₄₈N₄O₆ (M = 680.83 g/mol)

DC: R_f = 0.79 (CH₂Cl₂/MeOH 8:2).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.79 (m, 8 H, H^{10,15}), 2.18 (s, 6 H, CH₃), 2.27 (t, 4 H, H¹¹, ³J_{HH} = 7.3), 2.64 (m, 8 H, H^{9,16}), 2.81 (m, 8 H, H¹⁷), 3.32 (q, 4 H, H¹⁴), ³J_{HH} = 7.3), 6.97 (br s, 2 H, NH), 7.66 (m, 4 H, H^{6,7}), 9.02 (m, 4 H, H^{5,8}).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.9 (CH₃), 24.5, 25.2, 26.5, 36.3, 37.9, 51.9, 55.8 (C^{9,10,11,14,15,16,17}, n.z.), 126.3, 126.4, 133.5, 133.6 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 132.1, 132.2 (C^{4a,8a}, n.z.), 144.1, 146.4 (C^{2,3}, n.z.), 172.6 (C¹²), 184.9, 185.2 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 5.7 min, 681.3 (100) [M+H]⁺.



³Die Verbindung ist literaturbekannt, aber durch eine andere Peptidkupplungsreaktion dargestellt worden[51].

11.20 3,3'-(Piperazin-1,4-diyl)bis(propyl)bis(6-(1,4-naphthochinon-2-ylamino))hexanamid (34)

287.3 mg (1.00 mmol, 2 Äqu.) 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (**27**) werden mit 100.2 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) 1,4-Bis(3-aminopropyl)piperazin (**6**) nach AAV 2, in Gegenwart von 101.2 mg (1.00 mmol, 2 Äqu.) N-Methylmorpholin und 108.5 mg (1.00 mmol, 2 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 8:2) chromatographiert. Man erhält 136.1 mg (0.18 mmol, 18.4 % d. Th.) eines dunkelroten Feststoffes.

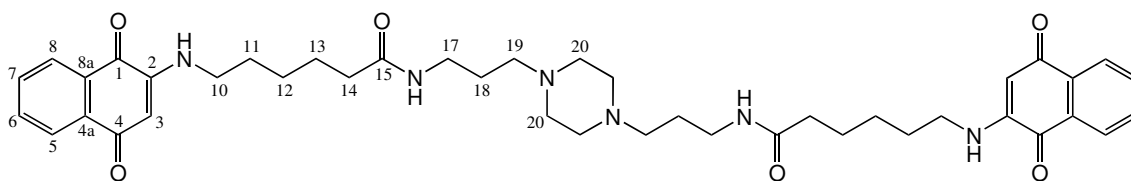
C₄₂H₅₄N₆O₆ (M = 738.91 g/mol)

DC: R_f = 0.67 (CH₂Cl₂/MeOH 8:2).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.89 (m, 4 H, H¹²), 1.23 (t, 4 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 6.9), 1.43 (m, 4 H, H¹⁸), 1.71 (m, 8 H, H^{11,13}), 2.19 (t, 4 H, H¹⁹, ³J_{HH} = 7.3), 2.57 (m, 8 H, H²⁰), 3.19 (q, 4 H, H¹⁰ oder H¹⁷, n.z., ³J_{HH} = 6.6), 3.33 (q, 4 H, H¹⁰ oder H¹⁷, n.z., ³J_{HH} = 6.3), 5.70 (s, 2 H, H³), 5.94 (br s, 2 H, NH, n.z.), 6.81 (br s, 2 H, NH, n.z.), 7.60 (dt, 2 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 7.72 (dt, 2 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 8.02 (dd, 2 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0), 8.08 (dd, 2 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 25.4, 26.8, 28.1, 36.6, 38.4, 42.5, 52.5, 56.4 (C^{10,11,12,13,14,17,18,19,20}, n.z.), 100.9 (C³), 126.3, 126.4, 132.1, 134.9 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 130.7, 133.8 (C^{4a,8a}, n.z.), 148.1 (C²), 172.8 (C¹⁵), 182.0, 183.1 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 6.1 min, 739.4 (100) [M+H]⁺.



11.21 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)-1-(4,7,10-tri-tertbutyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)butan-1-on (37)

129.2 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)butansäure (**19**) werden mit 236.3 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) 1,4,7-Tri(tert-butyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (**35**) nach AAV 2, in Gegenwart von 50.6 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) N-Methylmorpholin und 54.3 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 98:2) chromatographiert. Man erhält 295.5 mg (0.41 mmol, 82.9 % d. Th.) eines gelben, stark viskosen Öles.

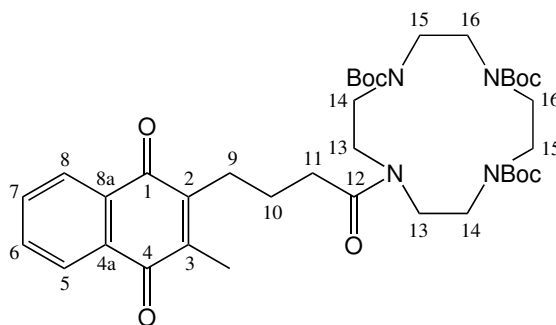
C₃₈**H**₅₆**N**₄**O**₉ (M = 712.87 g/mol)

DC: R_f = 0.31 (CH₂Cl₂/MeOH 98:2).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.45 (m, 27 H, CH₃^{Boc}), 1.79 (m, 2 H, H¹⁰), 2.22 (s, 3 H, CH₃), 2.43 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹, n.z., ³J_{HH} = 6.9), 2.66 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹, n.z., ³J_{HH} = 7.9), 3.30–3.60 (m, 16 H, H^{13,14,15,16}), 7.67 (m, 2 H, H^{6,7}), 8.05 (m, 2 H, H^{5,8}).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 12.8 (CH₃), 24.2, 26.8 (zwei aus C^{9,10,11}, n.z.), 28.58, 28.63 (C⁹ oder C¹⁰ oder C¹¹, n.z., CH₃^{Boc}), 49.8, 50.4, 51.6 (C^{13,14,15,16}, n.z.), 80.3, 80.47, 80.52 (C_q^{Boc}), 126.34, 126.37, 133.4 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 132.3, 143.9, 143.8 (C^{2,3,4a,8a}, n.z.), 155.6 (C=O^{Boc}), (C¹², n.g.), 184.7, 185.4 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 11.9 min, 713.4 (100) [M+H]⁺.



11.22 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-1-(4,7,10-tri-tertbutyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)hexan-1-on (38)

242.2 mg (0.84 mmol, 1 Äqu.) 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)hexansäure (**27**) werden mit 398.4 mg (0.84 mmol, 1 Äqu.) 1,4,7-Tri(tert-butyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (**35**) nach AAV 2, in Gegenwart von 85.3 mg (0.84 mmol, 1 Äqu.) N-Methylmorpholin und 91.5 mg (0.84 mmol, 1 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 99:1) chromatographiert. Man erhält 290.1 mg (0.39 mmol, 46.4 % d. Th.) eines orangefelben, amorphen Feststoffes.

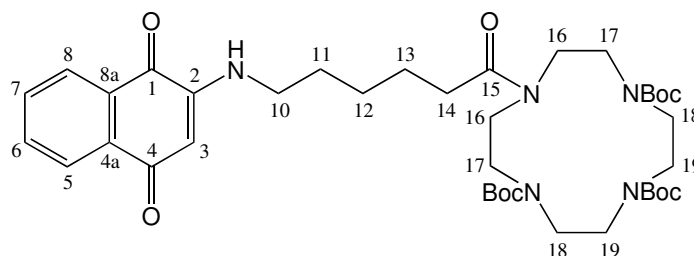
C₃₉**H**₅₉**N**₅**O**₉ (M = 741.91 g/mol)

DC: R_f = 0.40 (CH₂Cl₂/MeOH 95:5).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 1.45 (m, 27 H, CH₃^{Boc}), 1.70 (m, 6 H, H^{11,12,13}), 2.32 (t, 2 H, H¹⁴, ³J_{HH} = 7.3), 3.19 (m, 2 H, H¹⁰), 3.22–3.70 (m, 16 H, H^{16,17,18,19}), 5.71 (s, 1 H, H³), 5.94 (br s, 1 H, NH), 7.60 (dt, 2 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 7.71 (dt, 2 H, H⁶ oder H⁷, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.3), 8.03 (dd, 2 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0), 8.09 (dd, 2 H, H⁵ oder H⁸, n.z., ³J_{HH} = 7.6, ⁴J_{HH} = 1.0).

¹³C-NMR (CDCl₃): δ = 24.9, 27.0, 28.3 (C^{11,12,13}, n.z.), 28.61, 28.63 (CH₃^{Boc}), 33.2 (C¹⁴), 42.4 (C¹⁰), 49.8, 50.4, 51.6 (C^{16,17,18,19}, n.z.), 80.3, 80.4, 80.5 (C_q^{Boc}), 100.9 (C³), 126.3, 126.4, 132.0, 134.8 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 130.7, 133.8 (C^{4a,8a}, n.z.), 148.1 (C²), 155.6 (C=O^{Boc}), (C¹⁵, n.g.), 182.0, 183.0 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 11.0 min, 742.4 (100) [M+H]⁺.



11.23 3-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-ylthio)-1-(4,7,10-tri-tertbutyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)propan-1-on (39)

138.2 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) 3-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-ylthio)propansäure (36) werden mit 236.3 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) 1,4,7-Tri(tert-butyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (35) nach AAV 2, in Gegenwart von 50.6 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) N-Methylmorpholin und 54.3 mg (0.50 mmol, 1 Äqu.) Chlorameisensäureethylester, umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 98:2) chromatographiert. Man erhält 247.5 mg (0.34 mmol, 67.7 % d. Th.) eines orangegelben, stark viskosen Öles.

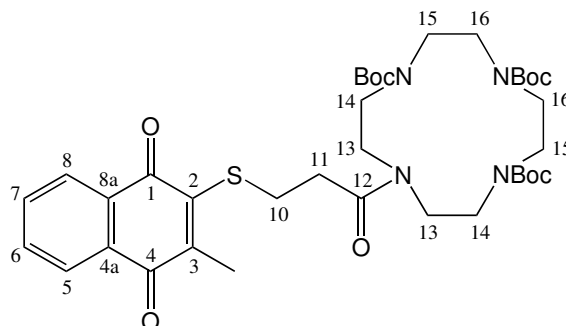
$\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_9\text{S}$ (M = 730.91 g/mol)

DC: $R_f = 0.40$ ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 98:2).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 1.49$ (m, 27 H, CH_3^{Boc}), 2.29 (s, 3 H, CH_3), 2.78 (t, 2 H, H^{10} oder H^{11} , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 6.9$), 3.25–3.55 (m, 18 H, H^{10} oder H^{11} , n.z., $\text{H}^{13,14,15,16}$, H^{10} oder H^{11} als deutliches t bei 3.41 ppm mit $^3J_{\text{HH}} = 6.9$), 7.67 (m, 2 H, $\text{H}^{6,7}$), 8.04 (m, 2 H, $\text{H}^{5,8}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 15.2$ (CH_3), 28.60, 28.62, 28.65 (C^{10} oder C^{11} , n.z., CH_3^{Boc}), 30.0, 30.5 (C^{10} oder C^{11} , n.z.), 49.9, 50.9, 51.6 ($\text{C}^{13,14,15,16}$, n.z.), 80.3, 80.5, 80.6 (C_q^{Boc}), 126.6, 126.9, 133.4, 133.7 ($\text{C}^{5,6,7,8}$, n.z.), 132.2, 133.1, 147.4 ($\text{C}^{2,3,4a,8a}$, n.z.), 155.5 ($\text{C}=\text{O}^{\text{Boc}}$), 167.9 (C^{12}), 181.3, 182.2 ($\text{C}^{1,4}$, n.z.).

LC-MS: t_R , m/z (%) = 11.9 min, 731.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$.



11.24 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)-1-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)butan-1-on (40)

402.2 mg (0.56 mmol) 4-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-yl)-1-(4,7,10-tri-tertbutyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)butan-1-on (**37**) werden nach AAV 3 mit Trifluoressigsäure umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 80:20) chromatographiert. Man erhält 221.3 mg (0.54 mmol, 95.8 % d. Th.) eines gelben, stark viskosen Öles.

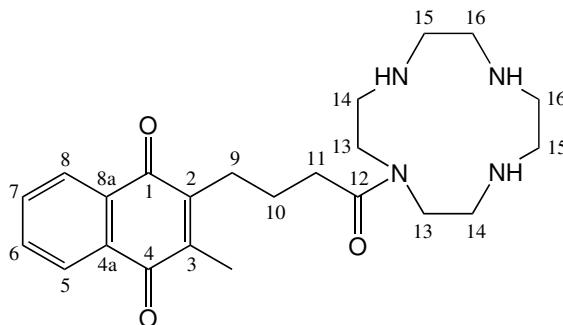
C₂₃**H**₃₂**N**₄**O**₃ (M = 412.53 g/mol)

DC: R_f = nicht angebbbar.

¹H-NMR (CD₃OD): δ = 1.83 (quint, 2 H, C¹⁰), 2.24 (s, 3 H, CH₃), 2.61 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹, n.z., ³J_{HH} = 7.3), 2.74 (t, 2 H, H⁹ oder H¹¹, n.z., ³J_{HH} = 7.6), (br s, 3 H, NH, n.g.) 3.25 (m, 16 H, H^{13,14,15,16}), 7.79 (m, 2 H, H^{6,7}), 8.08 (m, 2 H, H^{5,8}).

¹³C-NMR (CD₃OD): δ = 12.7 (CH₃), 24.8, 27.3, 34.5 (C^{9,10,11}, n.z.), 47.4 (C^{13,14,15,16}), 127.06, 127.11, 133.5, 134.6 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 145.1, 147.8 (C^{2,3,4a,8a}, n.z.), 177.3 (C¹²), 186.1, 186.4 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R, m/z (%) = 3.8 min, 413.1 (100) [M+H]⁺.



11.25 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-1-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)hexan-1-on (41)

101.4 mg (0.14 mmol) 6-(1,4-Naphthochinon-2-ylamino)-1-(4,7,10-tri-tertbutyloxy-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)hexan-1-on (**38**) werden nach AAV 3 mit Trifluoressigsäure umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 80:20)

chromatographiert. Man erhält 56.6 mg (0.13 mmol, 93.4 % d. Th.) eines dunkelorange, stark viskosen Öles.

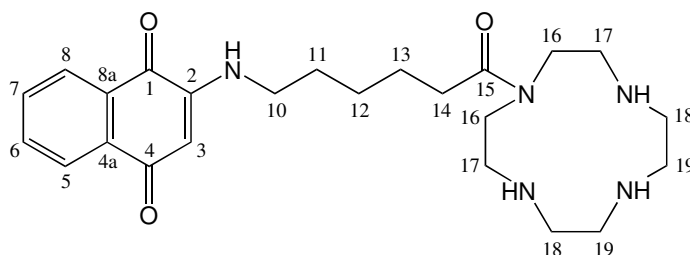
$C_{24}H_{35}N_5O_3$ (M = 441.57 g/mol)

DC: R_f = nicht angebbbar.

1H -NMR (CD₃OD): δ = 1.48 (m, 2 H, H¹²), 1.68 (m, 2 H, H¹¹ oder H¹³, n.z.), 1.74 (m, 2 H, H¹¹ oder H¹³, n.z.), 2.50 (t, 2 H, H¹⁴, $^3J_{HH}$ = 7.6), 3.07–3.25 (m, 18 H, H^{10,16,17,18,19}, H¹⁰ als deutliches t bei 3.28 ppm mit 2 H, $^3J_{HH}$ = 6.9), 5.71 (s, 1 H, H³), (br s, 1 H, NH, n.g.), 7.69 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., $^3J_{HH}$ = 7.6, $^4J_{HH}$ = 1.3), 7.79 (dt, 1 H, H⁶ oder H⁷, n.z., $^3J_{HH}$ = 7.6, $^4J_{HH}$ = 1.3), 8.04 (m, 2 H, H^{5,8}).

^{13}C -NMR (CD₃OD): δ = 25.5, 27.6, 28.8, 34.7 (C^{11,12,13,14}, n.z.), 43.2 (C¹⁰), 47.3, 49.9, 58.3 (C^{16,17,18,19}, n.z.), 100.0 (C³), 126.8, 127.3, 133.3, 135.8 (C^{5,6,7,8}, n.z.), 132.1, 135.0 (C^{4a,8a}, n.z.), 150.7 (C²), 177.8 (C¹⁵), 182.5, 184.7 (C^{1,4}, n.z.).

LC-MS: t_R , m/z (%) = 4.2 min, 442.2 (100) [M+H]⁺.



11.26 3-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-ylthio)-1-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)propan-1-on (42)

247.5 mg (0.34 mmol) 3-(3-Methyl-1,4-naphthochinon-2-ylthio)-1-(4,7,10-tri-tertbutyloxy-carbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-yl)propan-1-on (**39**) werden nach AAV 3 mit Trifluoressigsäure umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt wird an Kieselgel (Eluent CH₂Cl₂/MeOH 80:20) chromatographiert. Man erhält 143.0 mg (0.33 mmol, 97.7 % d. Th.) eines gelbbraunen, stark viskosen Öles.

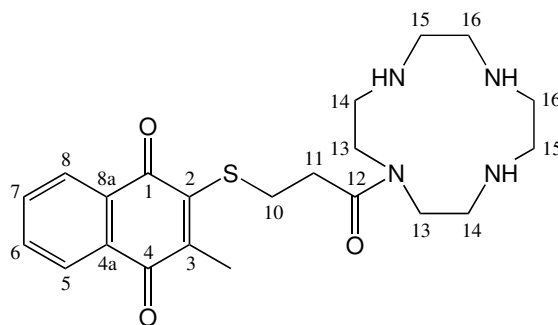
$C_{22}H_{30}N_4O_3S$ (M = 430.56 g/mol)

DC: R_f = nicht angebbbar.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD): $\delta = 2.34$ (s, 3 H, CH_3), 2.95 (t, 2 H, H^{10} oder H^{11} , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 6.9$), 3.25 (m, 16 H, $\text{H}^{13,14,15,16}$), (br s, 3 H, NH, n.g.) 3.40 (t, 2 H, H^{10} oder H^{11} , n.z., $^3J_{\text{HH}} = 6.9$), 7.67 (m, 2 H, $\text{H}^{6,7}$), 8.04 (m, 2 H, $\text{H}^{5,8}$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CD_3OD): $\delta = 15.4$ (CH_3), 30.7, 36.3 (C^{10} oder C^{11} , n.z.), 47.3 ($\text{C}^{13,14,15,16}$), 127.3, 127.7, 134.6, 134.9 ($\text{C}^{5,6,7,8}$, n.z.), 129.9, 132.3, 148.0 ($\text{C}^{2,3,4a,8a}$, n.z.), 175.8 (C^{12}), 182.7, 183.3 ($\text{C}^{1,4}$, n.z.).

LC-MS: t_R , m/z (%) = 3.9 min, 431.1 (100) $[\text{M}+\text{H}]^+$.



Literaturverzeichnis

- [1] T. Grune, O. Ullrich, Oxidative Schäden bei neurodegenerativen Erkrankungen, *Pharmazeutische Zeitung* **2001**, *48*, 10–15.
- [2] P. Dandona, K. Thusu, S. Cook, B. Snyder, J. Makowski, D. Armstrong, T. Nicotera, Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus, *Lancet* **1996**, *347*(8999), 444–445.
- [3] P. G. Winyard, C. J. Moody, C. Jacob, Oxidative activation of antioxidant defence, *Trends Biochem. Sci.* **2005**, *30*(8), 453–461.
- [4] T. Finkel, N. J. Holbrook, Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing, *Nature* **2000**, *408*(6809), 239–247.
- [5] H. Sies, Biochemistry of Oxidative Stress, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*(12), 1058–1071.
- [6] H. Sies, Oxidative stress: oxidants and antioxidants, *Exp. Physiol.* **1997**, *82*(2), 291–295.
- [7] W. A. Pryor, Oxy-Radicals and Related Species: Their Formation, Lifetimes, and Reactions, *Annu. Rev. Physiol.* **1986**, *48*, 657–667.
- [8] P. Brenneisen, H. Sies, K. Scharffetter-Kochanek, Ultraviolet-B Irradiation and Matrix Metalloproteinases: From Induction via Signaling to Initial Events, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2002**, *973*, 31–43.
- [9] J. M. McCord, I. Fridovich, Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte cuprein (hemocuprein), *J. Biol. Chem.* **1969**, *244*(22), 6049–6055.
- [10] K. R. Loeb, L. A. Loeb, Significance of multiple mutations in cancer, *Carcinogenesis* **2002**, *21*(3), 379–385.
- [11] A. L. Jackson, L. A. Loeb, The Mutation Rate and Cancer, *Genetics* **1998**, *148*(4), 1483–1490.

- [12] C. W. Shults, Coenzyme Q10 in Neurodegenerative Diseases, *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*(19), 1917–1921.
- [13] M. Kitazawa, K. Iwasaki, Reduction of ultraviolet light-induced oxidative stress by amino acid-based iron chelators, *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, *1473*(2-3), 400–408.
- [14] S. Mecklenburg, C. A. Collins, M. Döring, T. Burkholz, M. Abbas, F. H. Fry, C. Pourzand, C. Jacob, The Design of Multifunctional Antioxidants Against the Damaging Ingredients of Oxidative Stress, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon* **2008**, *183*(4), 863–888.
- [15] L. Flohé, K.-D. Aumann, P. Steinert, Role of Selenium in the Enzymatic Reduction of Hydroperoxides, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon* **1998**, *136*(1), 25–42.
- [16] B. Halliwell, Free radicals, antioxidants, and human disease: Curiosity, cause, or consequence?, *Lancet* **1994**, *344*(8924), 721–724.
- [17] F. Ursini, A. Bindoli, The role of selenium peroxidases in the protection against oxidative damage of membranes, *Chem. Phys. Lipids* **1987**, *44*(2-4), 255–276.
- [18] T. C. Stadtman, Selenium Biochemistry, *Annu. Rev. Biochem.* **1990**, *59*, 111–127.
- [19] R. F. Burk, K. E. Hill, Orphan selenoproteins, *Bioessays* **1999**, *21*(3), 231–237.
- [20] F. Ursini, M. Maiorino, R. Brigelius-Flohé, K. D. Aumann, A. Roveri, D. Schomburg, L. Flohé, Diversity of Glutathione Peroxidases, *Methods Enzymol.* **1995**, *252*, 38–53.
- [21] H. Sies, Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic, *Free Radic. Biol. Med.* **1993**, *14*(3), 313–323.
- [22] H. Sies, V. S. Sharov, L.-O. Klotz, K. Briviba, Glutathione Peroxidase Protects against Peroxynitrite-mediated Oxidations, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*(44), 27812–27817.
- [23] Z. A. Wood, E. Schröder, J. R. Harris, L. B. Poole, Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins, *Trends Biochem. Sci.* **2003**, *28*(1), 32–40.
- [24] G. I. Giles, F. H. Fry, K. M. Tasker, A. L. Holme, C. Peers, K. N. Green, L.-O. Klotz, H. Sies, C. Jacob, Evaluation of sulfur, selenium and tellurium catalysts with antioxidant potential, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*(23), 4317–4322.

- [25] A. Müller, E. Cadenas, P. Graf, H. Sies, A Novel Biologically Active Seleno-organic Compound-1. Glutathione Peroxidase-Like Activity in vitro and Antioxidant Capacity of PZ-51 (Ebselen), *Biochem. Pharmacol.* **1984**, *33*(20), 3235–3239.
- [26] H. Masumoto, H. Sies, The Reaction of Ebselen with Peroxynitrite, *Chem. Res. Toxicol.* **1996**, *9*(1), 262–267.
- [27] M. Maiorino, A. Roveri, M. Coassin, F. Ursini, Kinetic mechanism and substrate specificity of glutathione peroxidase activity of ebselen (PZ51), *Biochem. Pharmacol.* **1988**, *37*(11), 2267–2271.
- [28] M. J. Parnham, S. Leyck, E. Graf, E. J. Dowling, D. R. Blake, The pharmacology of ebselen, *Agents Actions* **1991**, *32*(1-2), 4–9.
- [29] T. Schewe, Molecular actions of Ebselen-an antiinflammatory antioxidant, *Gen. Pharmacol.* **1995**, *26*(6), 1153–1169.
- [30] D. A. Dawson, H. Masayasu, D. I. Graham, I. M. Macrae, The neuroprotective efficacy of ebselen (a glutathione peroxidase mimic) on brain damage induced by transient focal cerebral ischaemia in the rat, *Neurosci. Lett.* **1995**, *185*(1), 65–69.
- [31] T. Yamaguchi, K. Sano, K. Takakura, I. Saito, Y. Shinohara, T. Asano, H. Yasuhara, Ebselen in Acute Ischemic Stroke, *Stroke* **1998**, *29*(1), 12–17.
- [32] C. A. Collins, F. H. Fry, A. L. Holme, A. Yiakouvaki, A. Al-Qenaei, C. Pourzand, C. Jacob, Towards multifunctional antioxidants: synthesis, electrochemistry, in vitro and cell culture evaluation of compounds with ligand/catalytic properties, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*(8), 1541–1546.
- [33] C. A. Collins, Dissertation, University of Exeter, **2006**.
- [34] F. H. Fry, A. L. Holme, N. M. Giles, G. I. Giles, C. Collins, K. Holt, S. Pariagh, T. Gelbrich, M. B. Hursthouse, N. J. Gutowski, C. Jacob, Multifunctional redox catalysts as selective enhancers of oxidative stress, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*(14), 2579–2587.
- [35] J. M. C. Gutteridge, Iron promoters of the Fenton reaction and lipid peroxidation can be released from haemoglobin by peroxides, *FEBS Lett.* **1986**, *201*(1), 291–295.
- [36] T. Paul, Effect of a Prolonged Superoxide Flux on Transferrin and Ferritin, *Arch. Biochem. Biophys.* **2000**, *382*(2), 253–261.

- [37] T. D. Y. Chung, K. N. Raymond, Lactoferrin: the role of conformational changes in its iron binding and release, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*(15), 6765–6768.
- [38] S. A. Kretchmar Nguyen, A. Craig, K. N. Raymond, Transferrin: the role of conformational changes in iron removal by chelators, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*(15), 6758–6764.
- [39] S. A. Kretchmar, K. N. Raymond, Biphasic kinetics and temperature dependence of iron removal from transferrin by 3,4-LICAMS, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*(20), 6212–6218.
- [40] B. Halliwell, Protection against tissue damage in vivo by desferrioxamine: What is its mechanism of action?, *Free Radic. Biol. Med.* **1989**, *7*(6), 645–651.
- [41] R. J. Bergeron, J. Wiegand, J. B. Dionis, M. Egli-Karmakka, J. Frei, A. Huxley-Tencer, H. H. Peter, Evaluation of desferrithiocin and its synthetic analogs as orally effective iron chelators, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*(7), 2072–2078.
- [42] Z. D. Liu, R. C. Hider, Design of iron chelators with therapeutic application, *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *232*(1-2), 151–171.
- [43] Q.-X. Li, Q.-H. Luo, Y.-Z. Li, M.-C. Shen, A study on the mimics of Cu-Zn superoxide dismutase with high activity and stability: two copper(II) complexes of 1,4,7-triazacyclononane with benzimidazole groups, *Dalton Trans.* **2004**, (15), 2329–2335.
- [44] X. Liang, P. J. Sadler, Cyclam complexes and their applications in medicine, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*(4), 246–266.
- [45] J. M. C. Gutteridge, Superoxide dismutase inhibits the superoxide-driven Fenton reaction at two different levels: Implications for a wider protective role, *FEBS Lett.* **1985**, *185*(1), 19–23.
- [46] C. C. Winterbourne, Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction, *Toxicol. Lett.* **1995**, *82-83*, 969–974.
- [47] E. R. Stadtman, Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences, *Free Radic. Biol. Med.* **1990**, *9*(4), 315–325.
- [48] M. Miller, G. R. Buettner, S. D. Aust, Transition metals as catalysts of autoxidation reactions, *Free Radic. Biol. Med.* **1990**, *8*(1), 95–108.

- [49] M. Döring, Diplomarbeit, Universität des Saarlandes, **2007**.
- [50] P. J. O'Brien, Molecular mechanisms of quinone cytotoxicity, *Chem. Biol. Interact.* **1991**, *80*(1), 1–41.
- [51] L. Salmon-Chemin, E. Buisine, V. Yardley, S. Kohler, M.-A. Debreu, V. Landry, C. Sergheraert, S. L. Croft, R. L. Krauth-Siegel, E. Davioud-Charvet, 2- and 3-substituted 1,4-Naphthoquinone Derivatives as Subversive Substrates of Trypanothione Reductase and Lipoamide Dehydrogenase from *Trypanosoma cruzi*: Synthesis and Correlation between Redox Cycling Activities and in Vitro Cytotoxicity, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*(4), 548–565.
- [52] G. I. Giles, N. M. Giles, C. A. Collins, K. Holt, F. H. Fry, P. A. S. Lowden, N. J. Gutowski, C. Jacob, Electrochemical, in vitro and cell culture analysis of integrated redox catalysts: implications for cancer therapy, *Chem. Commun.* **2003**, (16), 2030–2031.
- [53] F. H. Fry, C. Jacob, Sensor/Effector drug design with potential relevance to cancer, **2006**.
- [54] C. Jacob, G. E. Arteel, T. Kanda, L. Engman, H. Sies, Water-soluble organotellurium compounds: Catalytic protection against peroxyxynitrite and release of zinc from metallothionein, *Chem. Res. Toxicol.* **2000**, *13*(1), 3–9.
- [55] N. Petragani, J. V. Comasseto, Synthetic Applications of Tellurium Reagents, *Synthesis* **1986**, (1), 1–30.
- [56] S. B. Goldhaber, Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **2003**, *38*(2), 232–242.
- [57] A. Wendel, M. Fausel, H. Safayhi, G. Tiegs, R. Otter, A novel biologically active seleno-organic compound-II : Activity of PZ 51 in relation to Glutathione Peroxidase, *Biochem. Pharmacol.* **1985**, *33*(20), 3241–3245.
- [58] D. S. Middleton, N. S. Simpkins, M. J. Begley, N. K. Terrett, Synthesis of spiroethers using radical cyclisations, *Tetrahedron* **1990**, *46*(2), 545–564.
- [59] T. J. Atkins, Tricyclic Trisaminomethanes, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*(20), 6364–6365.
- [60] T. J. Atkins, Bicyclic and Tricyclic Trisaminomethanes, *United States Patent* 4085106, **1978**.

- [61] T. J. Atkins, Tricyclic Trisaminomethanes, *United States Patent* 4130715, **1978**.
- [62] R. Hettich, H.-J. Schneider, Cobalt(III) Polyamine Complexes as Catalysts for the Hydrolysis of Phosphate Esters and of DNA. A Measurable 10 Million-Fold Rate Increase, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*(24), 5638–5647.
- [63] F. Chaux, F. Denat, E. Espinosa, R. Guilard, An easy route towards regioselectively difunctionalized cyclens and new cryptands, *Chem. Commun.* **2006**, (48), 5054–5056.
- [64] A. F. Abdel-Magid, C. A. Maryanoff, K. G. Carson, Reductive Amination of Aldehydes and Ketones by using sodium triacetoxyborohydride, *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*(39), 5595–5598.
- [65] A. F. Abdel-Magid, K. G. Carson, B. D. Harris, C. A. Maryanoff, R. D. Shah, Reductive Amination of Aldehydes and Ketones with Sodium Triacetoxyborohydride. Studies on Direct and Indirect Reductive Amination Procedures, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*(11), 3849–3862.
- [66] M. Miyashita, A. Yoshikoshi, Facile and Highly Efficient Conjugate Addition of Benzeneselenol to α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds, *Synthesis* **1980**, (8), 664–666.
- [67] S. Bittner, S. Gorohovsky, O. Paz-Tal, J. Y. Becker, Synthesis, electrochemical and spectral properties of some ω -N-quinonyl amino acids, *Amino Acids* **2002**, *22*(1), 71–93.
- [68] H.-J. Kallmayer, K.-H. Seyfang, Chinon-Amin-Reaktionen, 4. Mitt. 2,3,4-Trihydrobenzo[f]chinoxalin-6-one, *Arch. Pharm.* **1980**, *313*(7), 603–611.
- [69] J. M. Anderson, J. K. Kochi, Silver(I)-Catalyzed Oxidative Decarboxylation of Acids by Peroxydisulfate. The Role of Silver(II), *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*(6), 1651–1659.
- [70] E. Kimura, S. Aoki, T. Koike, M. Shiro, A Tris(ZnII-1,4,7,10-tetraazacyclododecane) Complex as a New Receptor for Phosphate Dianions in Aqueous Solution, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*(13), 3068–3076.
- [71] C. Chen, Y.-Z. Liu, K.-S. Shia, H.-Y. Tseng, Synthesis and Anticancer Evaluation of Vitamin K3 Analogues, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*(19), 2729–2732.
- [72] V. K. Tandon, R. V. Singh, D. B. Yadav, Synthesis and evaluation of novel 1,4-naphthoquinone derivatives as antiviral, antifungal and anticancer agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*(11), 2901–2904.

- [73] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Methods* **1983**, *65*(1-2), 55–63.
- [74] L. M. Green, J. L. Reade, C. F. Ware, Rapid Colormetric Assay for Cell Viability: Application to the Quantitation of Cytotoxic and Growth Inhibitory Lymphokines, *J. Immunol. Methods* **1984**, *70*(2), 257–268.
- [75] J. Li, J.-J. Chen, F. Zhang, C. Zhang, Ebselen protection against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity and DNA damage in HL-60 cells, *Acta Pharmacol. Sin.* **2000**, *21*(5), 455–459.
- [76] R. Bruggisser, K. von Daeniken, G. Jundt, W. Schaffner, H. Tullberg-Reinert, Interference of Plant Extracts, Phytoestrogens and Antioxidants with the MTT Tetrazolium Assay, *Planta Med.* **2002**, *68*(5), 445–448.
- [77] A. S. Keston, R. Brandt, The fluorometric analysis of ultramicro quantities of hydrogen peroxide, *Anal. Biochem.* **1965**, *11*(1), 1–5.
- [78] D. A. Bass, J. W. Parce, L. R. Dechatelet, P. Szejda, M. C. Seeds, M. Thomas, Flow cytometric studies of oxidative product formation by neutrophils: a graded response to membrane stimulation, *J. Immunol.* **1983**, *130*(4), 1910–1917.
- [79] C. P. LeBel, H. Ischiropoulos, S. C. Bondy, Evaluation of the probe 2',7'-dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress, *Chem. Res. Toxicol.* **1992**, *5*(2), 227–231.
- [80] B. Havsteen, Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency, *Biochem. Pharmacol.* **1983**, *32*(7), 1141–1148.
- [81] N. S. Postma, E. C. Mommers, W. M. C. Eling, J. Zuidema, Oxidative stress in malaria; implications for prevention and therapy, *Pharm. World Sci.* **1996**, *18*(4), 121–129.
- [82] K. Becker, L. Tilley, J. L. Vennerstrom, D. Roberts, S. Rogerson, H. Ginsburg, Oxidative stress in malaria parasite-infected erythrocytes: host-parasite interactions, *Int. J. Parasitol.* **2004**, *34*(2), 163–189.
- [83] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities, *J. Org. Chem.* **1997**, *62*(21), 7512–7515.
- [84] S. V. Ley, I. A. O'Neil, C. M. R. Low, Ultrasonic Formation and Reactions of Sodium Phenylselenide, *Tetrahedron* **1986**, *42*(19), 5363–5368.

- [85] J. A. Krogh, Method of Producing Selenoethers from Selenoalcohols or their Salts, and Carbonates, *United States Patent* 4601860, **1986**.
- [86] J. E. Baldwin, R. M. Adlington, J. Robertson, Carbocyclic ring expansion reactions via radical chain processes, *Tetrahedron* **1989**, *45*(4), 909–922.
- [87] K. B. Sharpless, R. F. Lauer, A Mild Procedure for the Conversion of Epoxides to Allylic Alcohols. The First Organoselenium Reagent, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*(8), 2697–2699.
- [88] S. Harusawa, S. Tomii, C. Takehisa, H. Ohishi, R. Yoneda, T. Kurihara, [3,3]Sigmatropic Ring Expansion of Cyclic Thionocarbonates. VII. On the Formation of 8-Membered Thionocarbonates as the Intermediates, *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*(9), 2279–2282.
- [89] K. C. Nicolaou, R. Hughes, J. A. Pfefferkorn, S. Barluenga, Optimization and Mechanistic Studies of Psammaphin A Type Antibacterial Agents Active against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*(19), 4296–4310.
- [90] K. C. Nicolaou, R. Hughes, J. A. Pfefferkorn, S. Barluenga, A. J. Roecker, Combinatorial Synthesis through Disulfide Exchange: Discovery of Potent Psammaphin A Type Antibacterial Agents Active against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*(19), 4280–4295.
- [91] A. R. Katritzky, Y.-J. Xu, H.-Y. He, S. Mehta, Syntheses of 1,4-Benzothiazepines and 1,4-Benzoxazepines via Cyclizations of 1-[2-Arylthio(oxy)ethyl]-5-benzotriazolyl-2-pyrrolidinones and 3-Benzotriazolyl-2-[2-arylthio(oxy)ethyl]-1-isoindolinones, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*(16), 5590–5594.
- [92] U. Pathak, S. K. Raza, A. S. Kulkarni, R. Vijayaraghvan, P. Kumar, D. K. Jaiswal, Novel S-Substituted Aminoalkylamino Ethanethiols as Potential Antidotes against Sulfur Mustard Toxicity, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*(15), 3817–3822.
- [93] A. Khanna, A. Bala, B. L. Khandelwal, Synthesis and multinuclear NMR-Studies of 3-aminopropyl(aryl)chalcogenides, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{EAr}$ (E=Se, Te), and their complexes with Pt(II) and Pd(II), *J. Organomet. Chem.* **1995**, *494*(1-2), 199–204.
- [94] S. V. Amosova, N. A. Makhaeva, A. V. Martynov, V. A. Potapov, B. R. Steele, I. D. Kostas, Terminal Organylchalcogenoethyl- and -propylamines and Their Schiff Base Derivatives, *Synthesis* **2005**, (10), 1641–1648.

- [95] M. Woods, G. E. Kiefer, S. Bott, A. Castillo-Muzquiz, C. Eshelbrenner, L. Michaudet, K. McMillan, S. D. K. Mudigunda, D. Ogrin, G. Tircsó, S. Zhang, P. Zhao, A. D. Sherry, Synthesis, Relaxometric and Photophysical Properties of a New pH-Responsive MRI Contrast Agent: The Effect of other Ligating Groups on Dissociation of a p-Nitrophenolic Pendant Arm, *J. Am. Org. Chem.* **2004**, *126*(30), 9248–9256.
- [96] A. C. Benniston, P. Gunning, R. D. Peacock, Synthesis and Binding Properties of Hybrid Cyclophane-Azamacrocyclic Receptors, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*(1), 115–123.
- [97] A. L. Braga, D. S. Lüdtke, M. W. Paixão, E. E. Alberto, H. A. Stefani, L. Juliano, Straightforward Synthesis of Non-Natural Selenium Containing Amino Acid Derivatives and Peptides, *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, (20), 4260–4264.

Danksagung

Da eine solche Arbeit nicht ohne die Hilfe Anderer entstehen kann, möchte ich an dieser Stelle die Gelegenheit nutzen, um ihnen meinen Dank auszusprechen.

Ich danke meinem Doktorvater Herrn Jun.-Prof. Claus Jacob für die Möglichkeit, diese interessante Themenstellung in seinem Arbeitskreis bearbeiten zu können, insbesondere für die Verwirklichung vieler eigener Ideen, die stets gewährte Unterstützung und zahlreiche anregende Diskussionen. Hiermit möchte ich mich für die Ermöglichung meines Promotionsstudiums in Saarbrücken sehr herzlich bedanken.

Frau Prof. Alexandra K. Kiemer danke ich für die sehr gute Zusammenarbeit und die Übernahme des Zweitgutachtens. Ich möchte mich bedanken, dass ich Zellkultur-Methoden erlernen und meine Arbeit in ihrem Labor anfertigen durfte, die einen großen Teil zu dieser Dissertation beigetragen hat.

Ich bedanke ich mich ganz herzlich bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Kiemer für die freundliche Aufnahme in die Gruppe und die ständige Hilfsbereitschaft.

Bei Dr. Britta Diesel möchte ich mich besonders bedanken, nicht nur für die Einführung in das Arbeiten der Zellkultur, sondern auch für die Betreuung während dieser Zeit, die konstruktiven Vorschläge und vielen guten Ideen.

Frau Dr. M. Sauter (Institut für Virologie, Prof. Dr. N. Müller-Lantzsch, Universitätsklinikum des Saarlandes/Homburg) danke ich für die freundlicherweise zur Verfügung gestellten, ersten HL-60 Zellen.

Den Arbeitsgruppen von Prof. F. Batteux (Universität Paris), Prof. Dr. W. Tilgen (Klinik für Dermatologie, Universitätsklinikum des Saarlandes/Homburg) und Prof. Dr. K. Becker (Biochemie der Ernährung des Menschen, Justus-Liebig-Universität Giessen) sowie dem National Cancer Institute (USA) danke ich dem Interesse an unseren Verbindungen.

Ein großes Dankeschön an Frau Alexandra Stark (Klinik für Dermatologie, Universitätsklinikum des Saarlandes/Homburg) für die geduldige Durchführung der Experimente an Dermatophyten und vor allem das freundschaftliche Verhältnis während unserer Zusammenarbeit.

Den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Hartmann danke ich für ihre unkomplizierte

Hilfe. So auch Dr. Stefan Böttcher für die zur Verfügungsstellung und Hilfe bei der Produkttrennung durch präparative HPLC. Ebenso möchte ich mich bei Dr. Stefan Böttcher und Dr. Muhammad Abbas für die zahlreichen LC-MS-Messungen bedanken. Für die Aufnahme der NMR-Spektren, insbesondere der zweidimensionalen Spektren, danke ich Dr. Josef Zapp.

Mein Dank gilt der gesamten Arbeitsgruppe Jacob für die gute Zusammenarbeit. Ebenso unseren Forschungspraktikanten für die Unterstützung bei der Synthese.

Allen Korrekturgelesern dieser Arbeit danke ich für deren gründliche Fehlersuche und die guten Verbesserungsvorschläge.

Ich danke meinen Freunden für die Unterstützung während der vergangenen Jahre, Verwandten und Bekannten und allen, die immer an mich geglaubt haben.

Nicht zuletzt, sondern von ganzem Herzen, gilt mein Dank meinen lieben Eltern und meiner lieben Schwester, die mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen. Ich danke euch für die Kraft und die liebevolle Unterstützung, die mich all die Jahre durch mein Studium begleitet haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem lieben Mann Santosh und dessen Familie für die ständige Ermutigung, vor allem in der Endphase dieser Arbeit.

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus Quellen oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form in einem Verfahren zur Erlangung eines akademischen Grades vorgelegt.

Susanne Mecklenburg

Lebenslauf

Susanne Mecklenburg

Persönliche Daten

Geburtsdatum 19.05.1980
Geburtsort Schlema
Staatsangehörigkeit deutsch
Familienstand verheiratet

Ausbildung

seit 05/2006 Promotion zum Thema: „Synthese und zellbiologische Untersuchung intelligenter, katalytisch aktiver Wirkstoffe“
(Universität des Saarlandes, Bioorganische Chemie, Jun.-Prof. Dr. C. Jacob)

12/2003–12/2004 Wissenschaftliche Mitarbeiterin, Technische Universität Chemnitz
(Anorganische Chemie, Prof. Dr. H. Lang)

11/2003 Abschluss des Chemiestudiums mit der Diplomarbeit zum Thema:
„Peripherfunktionalisierte Carbosilan- und Carbosiloxan-Dendrimere“
(Anorganische Chemie, Prof. Dr. H. Lang)

10/1998–11/2003 Diplom-Studium im Fach Chemie an der Technischen Universität Chemnitz

8/1992–7/1998 Besuch des J.-G.-Herder-Gymnasiums in Schneeberg
Abschluss: Abitur

Liste der Publikationen und Posterpräsentationen

Publikationen

1. S. Mecklenburg, C. A. Collins, M. Döring, T. Burkholz, M. Abbas, F. H. Fry, C. Pourzand, C. Jacob, The Design of Multifunctional Antioxidants Against the Damaging Ingredients of Oxidative Stress, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon* **2008**, *183*(4), 863-888.

Nicht direkt diese Arbeit betreffende Publikationen

1. U. Münchberg, A. Anwar, S. Mecklenburg, C. Jacob, Polysulfides as biologically active ingredients of garlic, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*(10), 1505-1518.
2. C. Jacob, S. Mecklenburg und U. Münchberg, Intelligente Wirkstoffe zwischen Küche und Klinik, *Saarländisches Ärzteblatt* **2007**, *60*(7), 13-18.
3. C. Jacob, S. Mecklenburg und U. Münchberg, Intelligente Wirkstoffe zwischen Küche und Klinik, *Magazin Forschung* **2006**, (2), 9-14.

Posterpräsentationen

1. 7th International Conference and Workshop on Biological Barriers and Nanomedicine–Advanced Drug Delivery and Predictive non vivo Testing Technologies, 20.–29.02.2008, Saarbrücken, Germany.
Titel: „Design of multifunctional antioxidants against the damaging ingredients of Oxidative Stress“
2. EUROBIC9–9th European Biological Inorganic Chemistry Conference, 02.–06.09.2008, Wroclaw, Poland.
Titel: „Selenium, Tellurium and Transition Metals as Chemical Ingredients of Intelligent Antioxidants“