

Übergangsmetallkomplexe gegen Malaria und Krebs

Chloroquin-basierte Liganden und deren Gold-
Komplexe sowie zytotoxische Platin(II)-dithiocarbamate
und deren Biokonjugate



Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Naturwissenschaften,
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

angefertigt an der Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften
der Bergischen Universität Wuppertal

Von
Svenja Werner
geboren am 15.04.1990 in Schwelm

Wuppertal, im Mai 2018

Die Dissertation kann wie folgt zitiert werden:

urn:nbn:de:hbz:468-20180711-123650-6

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=urn%3Anbn%3Ade%3Ahbz%3A468-20180711-123650-6>]

„Der Beginn aller Wissenschaften ist das Erstaunen, dass die Dinge so sind,
wie sie sind.“

(Aristoteles)

Die vorliegende Arbeit wurde von März 2015 bis Mai 2018 an der Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften der Bergischen Universität Wuppertal unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Fabian Mohr angefertigt.

Eidesstattliche Erklärung

Ich gebe die eidesstattliche Erklärung ab, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt habe. Diese Dissertation hat in gleicher oder ähnlicher Form noch nicht als Arbeit vorgelegen und wurde noch nicht veröffentlicht.

Wuppertal,

Svenja Werner

Danksagung

Mein Dank geht an meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. Fabian Mohr für die Möglichkeit diese Dissertation in seinem Arbeitskreis anzufertigen sowie für die interessante Aufgabenstellung, die freundliche und kompetente Betreuung und die Möglichkeit an zahlreichen spannenden Konferenzen teilzunehmen. Ich habe in dieser Zeit sehr viel gelernt.

Herrn Prof. Dr. Matthias Tacke und Herrn Prof. Dr. Carsten Jenne danke ich für das Erstellen der zweiten und dritten Gutachten.

Bei Frau Ilka Polanz, Frau Simone Bettinger und Herrn Andreas Siebert bedanke ich mich für die Messung der NMR- und Massespektren. Auch möchte ich mich bei Prof. Dr. Christian Lehmann für das Messen einiger Röntgenkristallstrukturen am Max-Planck-Institut für Kohlenforschung in Mülheim an der Ruhr bedanken sowie bei Friedbert Lücker für das Messen der Elementaranalysen.

Zudem danke ich allen Mitgliedern der Arbeitsgruppen Mohr und Jenne für den freundlichen Umgang miteinander sowie die zahlreichen Ratschläge und Hilfestellungen. Ein besonderer Dank geht dabei an Dr. Björn Beele für das Korrekturlesen dieser Arbeit. Ich danke M. Sc. Bruno Bicho, B. Sc. Nils Vogeler, B. Sc. Amina Daca, B. Sc. Deniz Cam und M. Sc. Darya Schmidt für die vielen gemeinsamen Stunden im Labor und im Büro. Stuart Coffey von der University of Michigan-Flint danke ich für seine Hilfe bei der Entwicklung des Hämoxoin-Inhibitions-Assay. Den Studenten Moritz Ottenbruch, Muhammad Usman, Denis Grochla, Dmitri Filippov und Hagen Frie danke ich für die Synthese einiger Ausgangsverbindungen im Rahmen ihrer Vertiefungspraktika. Bei M. Sc. Bianca Wegener und Dr. Christoph Kirsch bedanke ich mich für ihre Hilfe beim Messen der Cyclovoltammogramme. Ebenso danke ich Marion Litz für die Hilfe bei der Beseitigung von bürokratischen Hürden. Auch bei allen Mitgliedern des JCFs Wuppertal-Hagen möchte ich mich für die schönen Stunden während unseren Treffen und den zahlreichen Veranstaltungen bedanken. Sowie bei allen Arbeitskreisen der Chemie an der Universität für die interdisziplinären Ratschläge und das Bereitstellen von diversen Geräten und Chemikalien.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden für ihre Geduld, mit der sie alle meine Launen in dieser Zeit ertragen haben. Insbesondere möchte ich mich bei meinen Eltern Roland und Beate Werner bedanken, die immer an mich geglaubt haben und ohne deren Unterstützung mein Studium und diese Arbeit nicht möglich gewesen wären.

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
bzw.	Beziehungsweise
CCP	Zellpenetrierendes Peptid (cell-penetrating peptide)
^{Cl} Ime	4,5-Dichloro-1,3-dimethylimidazol-2-yliden
CuAAC	Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition
CQ	Chloroquin
CTR1	Kupfertransporter 1 (copper transporter 1)
δ	Chemische Verschiebung
d	Dublett
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DCM	Dichlormethan
dd	Dublett vom Dublett
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMF	Dimethylformamid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (desoxyribonucleic acid)
DPTA	3,7-Diacetyl-1,3,7-triaza-5-phosphabicyclo[3.3.1]nonan
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ER	Östrogenrezeptor (estogene receptor)
ER+	Östrogenrezeptor-positiver Tumor

ESI	Elektrospray Ionisation
FDA	US Food and Drug Administration
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
GLUT1	Glucose transporter
GMP	Guanosinmonophosphat
Hb	Hämoglobin
HEPES	2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure
His	Histidin
HPLC	High-Pressure Liquid Chromatography
HRP II	Histidinreiches Protein II (histidine-rich protein II)
HSA	Human Serum Albumin
HTS	Hochdurchsatz-Screening (High-Throughput-Screening)
Hz	Hertz
IC ₅₀	Inhibitorische Konzentration 50 %
I ⁱ Pr	1,3-Diisopropylimidazol-2-yliden
IR	Infrarotspektroskopie
IRS	Indoor residual spraying
J	Kopplungskonstante
Log K	Assoziations-Konstante
Log P	Verteilungskoeffizient
Met	Methionin
Mio.	Millionen
mL	Milliliter

mM	Millimolar
mmol	Millimol
MRT	Magnetresonanz-Tomographie
Mrd.	Milliarden
MS	Massenspektrometrie
MW	Mikrowelle
m/z	Masse-zu-Ladung-Verhältnis
Naddtc	Natriumdiethyldithiocarbamat
NHC	N-Heterocyclisches Carben
NCI	US National Cancer Institut
NMR	Kernresonanzspektroskopie (nuclear magnetic resonance)
NP-40	Nonidet P-40
NV	Nahrungsvakuole
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung (phosphate buffered saline)
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PTA	1,3,5-Triaza-7-phosphaadamantan
ppm	Parts per million
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species)
s	Singulett
SGLT1	Sodium-coupled glucose transporter
SPPS	Festphasen-Peptidsynthese (solid phase peptide synthesis)
STS	Sodium thiosulfate (Natriumthiosulfat)
t	Triplett

TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
tht	Tetrahydrothiophen
TIPS	Triisopropylsilan
TMS	Trimethylsilyl
TRIS	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan
Trp	Tryptophan
v	Wellenzahl
v. Chr.	Vor Christus
WBB	Wasserstoffbrückenbindung
WHO	World Health Organization
WW	Wechselwirkung
z. B.	Zum Beispiel

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	V
Danksagung	VI
Abkürzungsverzeichnis	VIII
Abbildungsverzeichnis	XV
Tabellenverzeichnis	XVIII
Zusammenfassung	XIX
Abstract	XX
1. Kapitel	1
1.1. Metalle in der Medizin	2
2. Kapitel	6
2.1. Einleitung	7
2.1.1. Malaria	7
2.1.2. Chinolin-basierte Wirkstoffe	10
2.1.3. Wirkmechanismus der Chinolin-basierten Antimalaria-Wirkstoffe	12
2.1.4. Resistenzen gegen Chinolin-basierte Wirkstoffe.....	16
2.1.5. Metallhaltige Derivate von Chloroquin	16
2.1.6. Heterobimetallische Ferroqin-Derivate.....	21
2.2. Zielsetzung	23
2.3. Ergebnisse und Diskussion	25
2.3.1. Synthese der Liganden	25
2.3.2. Synthese der Komplexe	35
2.3.3. Hämozoin-Inhibitions-Assay	45
2.3.4. Assoziations-Konstanten mit Hämatin.....	54
2.3.5. Cyclovoltammetrie.....	57
2.3.6. Distributionskoeffizient	58

2.4. Fazit und Ausblick.....	62
2.5. Experimenteller Teil	66
2.5.1. Allgemeine Angaben.....	66
2.5.2. Synthese der Liganden	68
2.5.3. Synthese der Komplexe	81
2.5.4. Hämoxin-Inhibitions-Assay	90
2.5.5. Bestimmung der Assoziations-Konstanten mit Hämoxin	91
2.5.6. Bestimmung der Distributionskoeffizienten	92
3. Kapitel	93
3.1. Einleitung	94
3.1.1. Krebs	94
3.1.2. Platin in der Krebstherapie.....	96
3.1.3. Wirkmechanismus von Cisplatin	98
3.1.4. Cisplatin Analoga	99
3.1.5. Dithiocarbamate	100
3.1.6. Phosphan-Liganden	103
3.1.7. Biokonjugate.....	104
3.1.8. Vorarbeiten.....	106
3.2. Zielsetzung	108
3.3. Ergebnisse und Diskussion	109
3.3.1. Synthese der Platin(II)-Komplexe.....	109
3.3.2. Distributionskoeffizient	114
3.3.3. Interaktion mit Guanosin und Glutathion.....	115
3.3.4. Bindung an Human Serumalbumin	118
3.3.5. Synthese der Biokonjugate	124
3.4. Fazit und Ausblick.....	135
3.5. Experimenteller Teil	137
3.5.1. Allgemeine Angaben.....	137

3.5.2. Synthese der Platin-Komplexe	137
3.5.3. Bestimmung der Distributionskoeffizienten.....	139
3.5.4. Bestimmung der HSA-Bindungskonstanten.....	139
3.5.5. Synthese der PTA-Platin-Biokonjugate	140
3.5.6. Synthese der PPh ₃ -Platin-Biokonjugate.....	142
4. Literatur	144
5. Tagungsbeiträge	151
6. Anhang	152

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Cisplatin	2
Abbildung 2: Auranofin	3
Abbildung 3: Salvarsan.....	4
Abbildung 4: ausgewählte metallhaltige Medikamente	4
Abbildung 5: Verbreitung der Malaria	7
Abbildung 6: Lebenszyklus von <i>Plasmodium falciparum</i>	8
Abbildung 7: Chinolin-basierte gebräuchliche Medikamente	11
Abbildung 8: Artemisinin und Artesunat	12
Abbildung 9: Nahrungsvakuole	13
Abbildung 10: Fenton-Reaktion	13
Abbildung 11: Hämatin und Hämozoin	14
Abbildung 12: Wechselwirkungen zwischen Hämatin und Chloroquin	14
Abbildung 13: Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Chloroquin	15
Abbildung 14: Transmembranprotein PfCRT	16
Abbildung 15: $[\text{RuCl}_2(\text{CQ})]_2$ und $[\text{RhCl}(\text{COD})\text{CQ}]$	17
Abbildung 16: ausgewählte Metall-CQ-Komplexe	18
Abbildung 17: Ferroquin und Artefenomel.....	19
Abbildung 18; "flip/flop"-Struktur von FQ.....	20
Abbildung 19: Heterobimetallische FQ-Derivate.....	21
Abbildung 20: Synthese der Aminochinoline	26
Abbildung 21: Zuvor hergestellter Gold-Alkynyl-Komplex	26
Abbildung 22: Synthese des Boc-geschützten 4-Aminochinolins.....	27
Abbildung 23: Synthese der Verbindung 5.....	28
Abbildung 24: Synthese des Liganden 6.....	28
Abbildung 25: Synthese der Verbindung 7.....	29
Abbildung 26: Umsetzung der Verbindung 7	30
Abbildung 27: Synthese der Verbindungen 9 und 10	30
Abbildung 28: Synthese der Imidazoliumsalze 11 und 12.....	31
Abbildung 29: Huisgen-Reaktion.....	32
Abbildung 30: Synthese der Chinolin-Azide	33
Abbildung 31: Synthese der Imidazoliumsalze 16 und 17	33
Abbildung 32: Synthese der Verbindung 18.....	34

Abbildung 33: Synthese des Phosphan-Liganden 19	35
Abbildung 34: Synthese der NHC-Goldalkynylkomplexe	36
Abbildung 35: Synthese der Phosphin-Gold-Alkinyne	37
Abbildung 36: Synthese des Komplexes 22	39
Abbildung 37: Übergangszustand bei der „iClick“-Reaktion	39
Abbildung 38: Synthese der Carben-Komplexe 23 -26	40
Abbildung 39: Molekülstruktur der Verbindung 25	42
Abbildung 40: Umsetzung der Verbindungen 16 und 17	42
Abbildung 41: Synthese des Komplexes 27	43
Abbildung 42: Synthese des Komplexes 28	44
Abbildung 43: Synthese des Komplexes 29	45
Abbildung 44: Erstes Testassay	48
Abbildung 45: Detergenz-basiertes Testassay	49
Abbildung 46: Dose-Response-Kurve von CQ	50
Abbildung 47: UV/VIS-Spektrum des Pyridin-Hämatin-Komplexes	51
Abbildung 48: Mikroplatte mit Testassay	52
Abbildung 49: Dose-Response-Kurve von Komplex 20c und Ligand 6	53
Abbildung 50: UV/VIS-Titration von CQ	54
Abbildung 51: UV/VIS-Titration von Komplex 20c und dem freien Liganden	55
Abbildung 52: Angriffsfläche für CQ am Hämazoin-Kristall	56
Abbildung 53: Cyclovoltammogramm von Komplex 20c	57
Abbildung 54: Cyclovoltammogramm von Hämatin	58
Abbildung 55: Hergestellten Liganden	62
Abbildung 56: Hergestellte Komplexe	63
Abbildung 57: Mechanismus der Bildung der zytotoxischen Platinspezies	97
Abbildung 58: Austausch der Cl-Ionen bei Cisplatin	98
Abbildung 59: Wirkmechanismus von Cisplatin	99
Abbildung 60: Cisplatin und seine Analoga	100
Abbildung 61: Glutathion	101
Abbildung 62: rescue agents	102
Abbildung 63: PTA und DPTA	103
Abbildung 64: Platin(II)-Komplexe mit verschiedenen Schwefel-Liganden	106
Abbildung 65: Synthetisierte PTA-Pt(II)-dithiocarbamate	107
Abbildung 66: Darstellung von Dithiocarbamaten	109

Abbildung 67: Resonanzstrukturen der Dithiocarbamate.....	109
Abbildung 68: Synthese des Sarkosin-Dithiocarbamats	110
Abbildung 69: Synthese der Platin(II)-Dithiocarbamat-Komplexe	110
Abbildung 70: ³¹ P-NMR-Spektrum des PPh ₃ -Pt-Dithiocarbamats.....	112
Abbildung 71: Molekülstruktur des PTA-Pt-Komplexes	113
Abbildung 72: Molekülstruktur des PPh ₃ -Pt-Komplexes	114
Abbildung 73: Guanosinmonophosphat	115
Abbildung 74: ¹ H-NMR-Interaktion von Guanosinmonophosphat mit PTA	116
Abbildung 75: ³¹ P-NMR-Interaktion von Guanosinmonophosphat mit PTA	116
Abbildung 76: ¹ H-NMR-Interaktion von Glutathion mit PTA.....	117
Abbildung 77: ¹ H-NMR-Interaktion von Glutathion mit PPh ₃	118
Abbildung 78: HSA-Cisplatin-Addukt	119
Abbildung 79: Interaktion von HSA mit Komplex 30	120
Abbildung 80: Interaktion von HSA mit Komplex 31	121
Abbildung 81: Stern-Volmer-Auftragung	122
Abbildung 82: modifizierte Stern-Volmer-Auftragung.....	123
Abbildung 83: ausgewählte Kupplungsreagenzien.....	125
Abbildung 84: Mechanismus der Peptidkupplung mit HBTU.....	126
Abbildung 85: Synthese der Komplexe 32 und 33.....	127
Abbildung 86: Massespektrum der Verbindung 32	127
Abbildung 87: Wang-Harz und Fmoc-Schutzgruppe	129
Abbildung 88: Peptidkupplung mit komplex 30 und 31	130
Abbildung 89: Synthese der Verbindungen 34 und 35	131
Abbildung 90: Synthese der Verbindung 36.....	132
Abbildung 91: Synthese der Verbindungen 37 und 38	133

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Assoziations-Konstanten ausgewählter Metall-CQ-Derivate	18
Tabelle 2: Distributionskoeffizienten und Assoziationskonstanten von CQ und FQ .	20
Tabelle 3: Optimierung der Reaktionsbedingungen	25
Tabelle 4: Azidbanden der Verbindungen 13 – 15	33
Tabelle 5: ausgewählte ¹³ C-NMR-Signale der NHC-Gold-Alkynyl-Komplexe	36
Tabelle 6: ³¹ P-NMR-Signale der Komplexe 21a und 21b im Vergleich zu den Edukten	37
Tabelle 7: Kristallographische Daten ausgewählter Gold-Azide.....	38
Tabelle 8: Ausgewählte Bindungslängen und Winkel in Komplex 25	41
Tabelle 9: ³¹ P-NMR-Signale der Verbindungen 19, 28 und 29	45
Tabelle 10: Gemessene Extinktionen des Testassays	52
Tabelle 11: Gemessene Assoziations-Konstanten.....	56
Tabelle 12: Ergebnisse des Hämozoin-Testassays	64
Tabelle 13: IC ₅₀ - und Log K-Werte der Verbindungen 20c, 6 und CQ	64
Tabelle 14: Ausgewählte ¹ H-NMR-Signale der Platin(II)-Dithiocarbamate	111
Tabelle 15: IR-Banden der Platin(II)-dithiocarbamate	112
Tabelle 16: Ausgewählte Bindungslängen und Winkel der Platin-Komplexe	113
Tabelle 17: Distributionskoeffizienten der Platin-Komplexe	114
Tabelle 18: Stern-Volmer-Konstanten der Platin-Komplexe	122
Tabelle 19: Bindungskonstanten und Zahl der Bindestellen der Pt-Komplexe	123

Zusammenfassung

Malaria ist bis heute, mit etwa 216 Mio. Fällen und etwa 455.000 Todesfällen im Jahre 2016, eine der verheerendsten Infektionskrankheiten weltweit. Für lange Zeit war Chloroquin (CQ) das erfolgreichste Malariamedikament auf dem Markt. Jedoch ist es heute auf Grund der Ausbildung resistenter Zelllinien weitestgehend unwirksam. Daher steht die Entwicklung neuer Antimalariawirkstoffe seit einigen Jahren wieder im Fokus der Forschung. In den letzten Jahren konnten mehrere Studien zeigen, dass metallhaltige Derivate von CQ Antimalaria-Aktivität in den CQ-sensitiven aber auch in den CQ-resistenten Zelllinien aufweisen. In dieser Arbeit wurden eine Reihe neuer, von Chloroquin abgeleiteter Liganden und deren Gold-Komplexe synthetisiert. Der Wirkmechanismus von CQ basiert auf der Inhibition der Kristallisation von Hämozoïn (Malariapigment), das der Parasit als Entgiftungsmechanismus ausgehend vom giftigen Stoffwechselprodukt Hämatin bildet. Um die Wirksamkeit der synthetisierten Verbindungen zu untersuchen, haben wir deren Fähigkeit zur Inhibition der Hämozoïnbildung in einem spektrophotometrischen Test-Assay untersucht. Außerdem wurden die Assoziations-Konstanten einiger Verbindungen zu Hämatin bestimmt.

Seit der Entdeckung der zytotoxischen Eigenschaften von Cisplatin, spielen Platin-Komplexe in der Krebstherapie eine große Rolle. Die drei bis heute zugelassenen platinhaltigen Medikamente weisen jedoch einige Nachteile auf. So sind sie schlecht wasserlöslich, haben zum Teil starke Nebenwirkungen und es treten immer mehr Resistenzen gegen die Verbindungen auf. In dieser Arbeit wurden zwei neue Platin(II)-Dithiocarbamate mit unterschiedlichen Löslichkeiten synthetisiert und auf ihre Interaktion mit verschiedenen Biomolekülen, wie Glutathion, Guanosin und Human Serumalbumin untersucht. Außerdem, wurden Biokonjugate der Komplexe hergestellt, um eine bessere Zellpermeabilität der Verbindungen zu erreichen.

Abstract

Malaria is still one of the most devastating diseases in the world, with an estimated 216 million cases and 455,000 deaths in 2016. For many years, Chloroquine (CQ) has been the most successful agent for the treatment of malaria, but nowadays many strains of the malaria parasite are resistant against CQ. Recently, several studies have shown that metal containing compounds of antimalarial drugs improved efficacy against both CQ-sensitive and, more remarkably, CQ-resistant *Plasmodium* strains. In this work, we investigated a panel of new silver, gold, platinum and palladium complexes with new ligands based on the CQ-backbone. The mode of action of CQ is the inhibition of hemozoin (malaria pigment) formation from hemin as a detoxification mechanism of the parasite. As a proof of principle, the ability of the compounds to inhibit hemozoin formation was investigated using a spectrophotometric test assay. In addition, the association constants of some of the compounds to hematin were measured.

Since the discovery of the cytotoxic properties of Cisplatin, the interest in platinum containing complexes for cancer treatment has increased immensely. Unfortunately, the three platinum compounds which are available today on the market have negative aspects, including poor water solubility, the occurrence of resistance and strong side effects. In this work, two new platinum(II) dithiocarbamates with different solubilities were synthesized, and their interaction with different biomolecules, such as glutathione, guanosine and human serum albumin, were investigated. In addition, bioconjugates with the complexes were synthesized in order to improve the cell permeability.

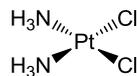
1. Kapitel

Allgemeine Einleitung

1.1. Metalle in der Medizin

Metallionen und Metallkomplexe spielen in biologischen Prozessen und in Lebewesen eine bedeutende Rolle.^[1] So sind sie zum Beispiel verantwortlich für die Festigkeit von Knochen und Zähnen (Ca), für die Aufrechterhaltung des elektrischen Zellpotentials (K, Na) oder dienen als aktives Zentrum in Proteinen und Enzymen, wie Hämoglobin (Fe) oder Cobalamin (Co). Dennoch stellen die Bioanorganik und speziell die medizinische anorganische Chemie eher junge Disziplinen innerhalb der Naturwissenschaften dar.^[2]

Mit der Entdeckung der zytostatischen Aktivität von Cisplatin (Abbildung 1), 1965 durch Barnett Rosenberg, stieg das Interesse an Metallverbindungen für medizinische Anwendungen immens an.^[1] Bis heute ist Cisplatin einer der effektivsten und meistverkauften Wirkstoffe bei der Behandlung vieler Krebsarten und wird entweder alleine oder in Kombination mit anderen Chemotherapeutika, wie Taxol, eingesetzt.



Cisplatin

Abbildung 1: Cisplatin

Der immense Erfolg von Cisplatin und seiner Analoga hat neue Perspektiven in der Krebsforschung aber auch bei der Bekämpfung anderer Erkrankungen eröffnet und zeigt, dass Metallverbindungen in der pharmazeutischen Chemie ein großes Potential besitzen. Dennoch sind die meisten Wirkstoffe auf dem Markt kleine organische Moleküle (small molecules) und bis heute forschen die meisten Pharmaunternehmen fast ausschließlich auf diesem Gebiet, weshalb die meisten potentiellen, metallhaltigen Medikamente im Rahmen akademischer Forschung entdeckt werden.^[2] Dabei wirken viele organische Verbindungen, die in der Medizin eingesetzt werden, nicht nur als rein organische Moleküle sondern werden erst durch Metallionen oder Metalloenzyme aktiviert oder beeinflussen den Metabolismus von Metallionen.

Die medizinische Verwendung von Metallen in der Medizin, vor allem von Gold und anderen Edelmetallen, geht schon auf das Altertum zurück und war in China seit 2500 v. Chr. bekannt.^[3,4] Dem Gold wurde, wegen seiner gelb glänzenden Farbe und seiner Seltenheit, eine mystische Wirkung nachgesagt, weswegen es als Allheilmittel angesehen wurde. Heute ist jedoch bewiesen, dass elementares Gold keinerlei physiologische Wirkung besitzt. Erst durch den Einsatz von Goldverbindungen konnte Gold in der modernen Medizin Anwendung finden. So entdeckte Robert Koch 1890 die antibakterielle Wirkung von $[\text{Au}(\text{CN})_2]^-$ und setzte es gegen Tuberkulose ein.^[5] 1982 wurde Auranofin (Abbildung 2), ein Gold(I)-Komplex mit einem Thioglucose-Liganden und einem Triethylphosphan-Liganden, erstmals zugelassen und wird bis heute gegen rheumatische Arthritis eingesetzt.^[6]

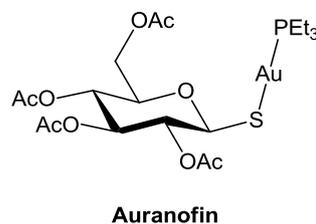


Abbildung 2: Auranofin

Auch das Halbmetall Arsen, das häufig mit seiner Giftigkeit in Verbindung gebracht wird, wurde lange Zeit für medizinische Zwecke eingesetzt. Die Arsenverbindung Arsphenamin (Abbildung 3)^[7] gilt als erstes, auf theoretischen Vorüberlegungen beruhendes, systematisch entwickeltes und spezifisch wirkendes Therapeutikum. Arsphenamin wurde 1909 von dem deutschen Mediziner Paul Ehrlich entdeckt und 1910 von dem Pharmaunternehmen Hoechst unter dem Namen Salvarsan auf den Markt gebracht. Ehrlich führte damals erstmals ein systematisches Screening durch um medizinisch wirksame Substanzen zu identifizieren. Dafür synthetisierte er eine Bibliothek von über 600 arsenhaltigen Verbindungen und untersuchte diese in Tierversuchen auf ihre Wirkung gegen die damals unheilbare und weitverbreitete Syphilis. Salvarsan stellt einen Meilenstein in der medizinischen Forschung dar, da es sich dabei um eines der ersten gezielt antimikrobiell wirkenden Arzneimittel handelt. Seit Mitte des 20. Jahrhunderts wird es allerdings nicht mehr verwendet, da es durch moderne Antibiotika wie Penicillin ersetzt wurde, die wesentlich weniger Nebenwirkungen haben. Obwohl das Salvarsan schon seit langem bekannt ist, wurde seine Struktur erst vor kurzem vollständig aufgeklärt.^[7]



Abbildung 3: Salvarsan

Heute werden als Therapeutika auch Bismutverbindungen gegen Magengeschwüre (z. B. Bismutsubsalicylat, Pepto-Bismol) und Lithiumsalze (z.B. Lithiumcarbonat) gegen Depressionen eingesetzt. Aber auch in der Diagnostik werden Metallverbindungen verwendet. So kommen Gadoliniumkomplexe (z.B. Gadopentetat-Dimeglumin, Magnevist) als Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie (MRT) zum Einsatz und Bariumsalze werden als Röntgenkontrastmittel eingesetzt. Auch radioaktive Nuklide werden in der Medizin als Radiopharmaka sowohl für die Diagnostik als auch für therapeutische Zwecke verwendet. Als bildgebendes Verfahren in der Radiomedizin dient die Positronen-Emissionstomographie (PET), bei der vor allem γ -Strahler, wie ^{99m}Tc , ^{64}Cu , ^{68}Ga und ^{55}Co Verwendung finden (z.B. Technetium(^{99m}Tc)-Sestamibi, Cardiolite). Für therapeutische Zwecke kommen hingegen β -Strahler, wie ^{89}Sr , ^{153}Sm und ^{186}Re zum Einsatz. Darüber hinaus werden Präparate, die Eisen, Kupfer oder Zink enthalten als Nahrungsergänzungsmittel vertrieben.

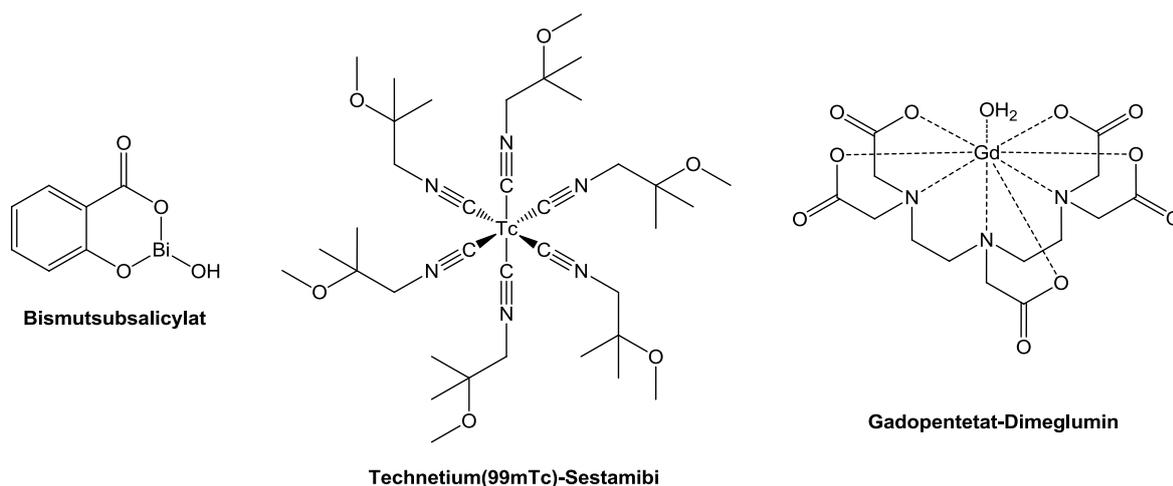


Abbildung 4: ausgewählte metallhaltige Medikamente

Neben den Arzneimitteln die direkt Metalle enthalten, werden auch Liganden in der Medizin eingesetzt, deren Target im menschlichen Körper Metallionen sind, diese können sowohl freie Ionen, als auch proteingebundene Metalle sein. Als ein

prominentes Beispiel ist hier die Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) zu nennen, die als Tetraanion als sechszähliger Ligand eine Vielzahl an Metallkationen koordinieren kann und daher in der Chelat-Therapie bei Schwermetallvergiftungen eingesetzt wird, um die giftigen Metallionen zu binden.^[8]

All diese Beispiele zeigen, dass die anorganische Chemie bereits eine wichtige Rolle in der Medizin spielt und es ist zu erwarten, dass in Zukunft immer mehr Verbindungen als Wirkstoffe auf den Markt kommen die neben den für pharmazeutische Chemie typischen Elementen, wie C, H, O, N und S^[9], noch weitere Elemente, vor allem Metalle, enthalten. Metallkomplexe haben einzigartige physikochemische Eigenschaften, verglichen mit rein organischen Substanzen. Vor allem die strukturelle Diversität, die Möglichkeit von Ligandenaustauschreaktionen sowie Redox- und Katalyseeigenschaften machen diese Verbindungen für medizinische Anwendungen so interessant.^[10] Zudem kann bei der Kombination von Metallen mit einem biologischen aktiven organischen Molekül in Form einer Komplexverbindung häufig ein interessanter synergistischer Effekt beobachtet werden, bei dem die Komplexverbindung um ein Vielfaches aktiver ist als Metall und Ligand zusammen. Doch für die Entwicklung neuer metallhaltiger Arzneimittel ist es wichtig die Koordinationschemie der einzelnen Metalle unter physiologischen Bedingungen sowie den Wirkmechanismus der Substanzen besser zu verstehen. Außerdem ist die Interaktion von vielen Metallen und deren Verbindungen mit Biomolekülen, wie Zellmembranen, Proteinen und DNA, noch weitestgehend unbekannt.^[1]

2. Kapitel

Chloroquin-basierte Liganden und deren Gold-
Komplexe

2.1. Einleitung

2.1.1. Malaria

Malaria ist bis heute eine der verbreitetsten Infektionskrankheiten weltweit mit ca. 216 Mio. Erkrankungen und 445.000 Todesfällen im Jahre 2016.^[11] Dabei kommt Malaria vor allem in den ärmeren Ländern der 3. Welt vor und ist in den tropischen Ländern Afrikas, Südostasiens und Südamerikas die häufigste Erkrankung.^[12,13] Etwa 91 % der durch Malaria bedingten Todesfälle kommen in Afrika vor.^[11] Besonders stark davon betroffen sind Kinder und schwangere Frauen. In Afrika ist jeder fünfte Tod von Kindern auf Malaria zurückzuführen.^[13] Trotz des immensen Aufwands an Forschung und Investitionen, der in die Bekämpfung und Prävention von Malaria geflossen ist, bleibt Malaria eine der verheerendsten humanen Infektionskrankheiten der Welt. Lange Zeit war Malaria auch in weiten Teilen Nordamerikas und Europas zu finden, konnte aber im Laufe der 1950er und 60er Jahre aus diesen Teilen der Erde zurückgedrängt werden.^[14] Nach Schätzungen der WHO leben heute etwa 3.3 Mrd. Menschen weltweit unter dem anhaltenden Risiko sich mit Malaria zu infizieren. In 15 von 91 Ländern, in denen ein dauerhaftes Malariarisiko herrscht (Abbildung 5), kommen 80 % aller Malariafälle vor.

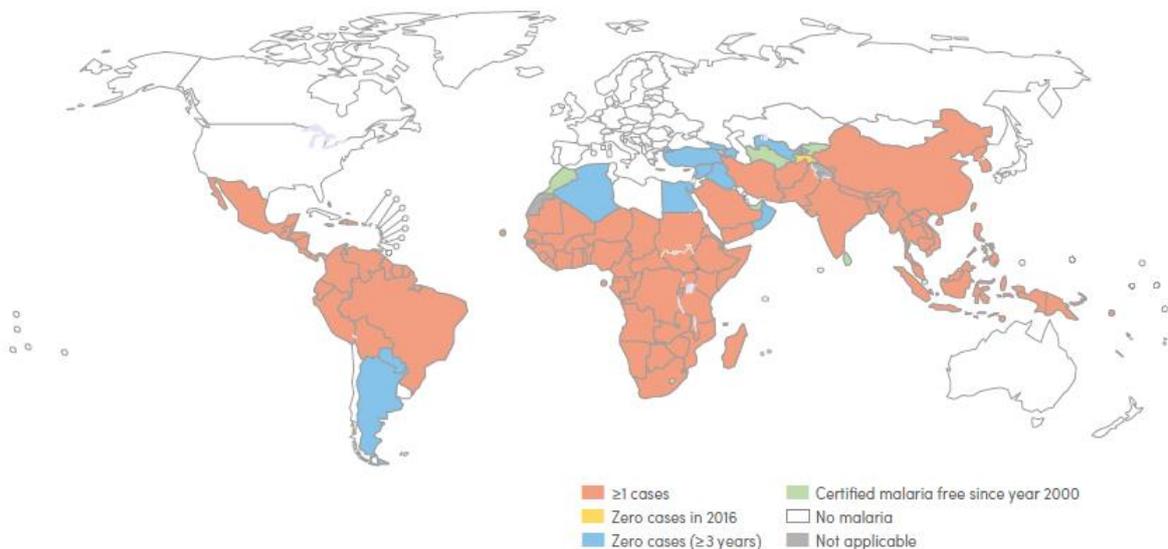


Abbildung 5: Verbreitung der Malaria. Entnommen aus: [11]

Zwischen 2010 und 2016 ist die Zahl der jährlichen Malariafälle zwar um 18 % zurückgegangen, jedoch ist zwischen 2014 und 2016 wieder ein leichter Anstieg der Fallzahlen zu verzeichnen gewesen.^[11] Diese Zahlen machen deutlich, dass die

Bekämpfung von Malaria nach wie vor eine große Herausforderung darstellt. 1955 startete die WHO das „Global Malaria Eradication Program“ zur weltweiten Ausrottung von Malaria. Durch das Programm konnte die Infektion in Europa, Nordamerika, der Karibik und in Teilen von Asien und Südamerika dauerhaft bekämpft werden. Jedoch zeigte die Strategie vor allem in Afrika wenig Wirkung, woraufhin das Programm 1969 für gescheitert erklärt wurde.^[15] Der Grund für den Misserfolg lag in erster Linie an den zunehmenden Resistenzen des Parasiten gegen die massenhaft eingesetzten Insektizide und Medikamente. Dies macht die Entwicklung von Impfstoffen sowie neuen Medikamenten und Insektiziden gegen Malaria bis heute zu einer wichtigen Aufgabe für die Forschung.^[16]

Malaria ist eine parasitäre Infektion und wird durch einzellige Parasiten der Gattung *Plasmodium* hervorgerufen. Die human pathogenen Arten, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. knowlesi*, *P. malariae* und *P. ovale*, werden ausschließlich durch weibliche Stechmücken der Gattung *Anopheles* auf den Menschen übertragen. Dabei ist die *Malaria tropica*, die durch den Erreger *P. falciparum* hervorgerufen wird, die mit Abstand tödlichste Form der Malaria und überwiegt in Afrika. *P. vivax* ist weitaus weniger gefährlich ist jedoch weiter verbreitet als die vier weiteren Arten.^[17] Bei *Plasmodium* handelt es sich um einzellige Parasiten mit einem komplexen Lebenszyklus (Abbildung 6), der einen obligaten Wirtswechsel zwischen Insekten und Wirbeltieren einschließt. Während im Moskito eine geschlechtliche Vermehrung stattfindet, erfolgt im Wirt eine ungeschlechtliche Vermehrung.

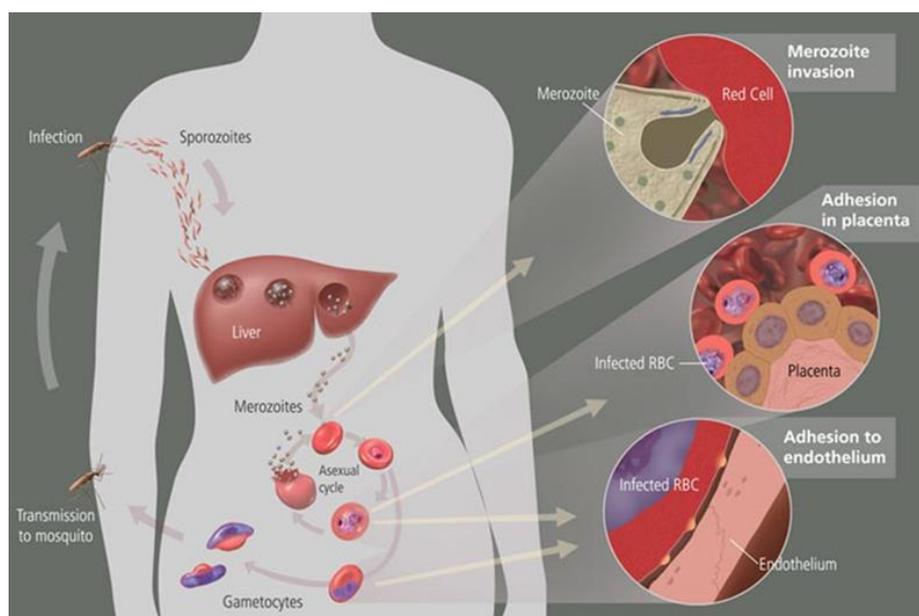


Abbildung 6: Lebenszyklus von *Plasmodium falciparum*. Entnommen aus: [18]

Bei einem Biss einer infizierten weiblichen Anopheles-Mücke werden Sporozoiten, die sich in den Speicheldrüsen des Moskitos befinden, in die Haut des Menschen injiziert. Von dort aus gelangen diese in den Blutstrom und wandern innerhalb weniger Minuten zur Leber, wo sie in die Hepatozyten eindringen. Dort vermehren sich die Sporozoiten und reifen zu Merozoiten heran. Diese Phase der exoerythrozytären Vermehrung in den Leberzellen verläuft dabei komplett symptomlos. Ist die Entwicklung abgeschlossen, platzen die Hepatozyten auf und es werden mehrere tausend Tochterzellen in die Blutlaufbahn frei gesetzt. Die Merozoiten befallen nun die roten Blutzellen, in denen erneut eine Vermehrung stattfindet. Diese Vermehrung dauert bei *P. falciparum* etwa 48 h. Danach platzen die Erythrozyten auf und entlassen wiederum die Tochterzellen in den Blutkreislauf, wo sie neue Blutzellen befallen, in denen sich der Zyklus wiederholt. Einige der Merozoiten reifen im Verlauf mehrerer Zyklen zu Gametozyten, den Geschlechtszellen, heran. Dies werden bei einem erneuten Biss einer Anopheles-Mücke von ihr aufgenommen und können so auf den nächsten Wirt übertragen werden.^[19]

Für alle Symptome, die bei einer Malariaerkrankung zu beobachten sind, ist die erythrozytäre Phase der Vermehrung in den roten Blutzellen verantwortlich. Zum einen kommt es durch den Verlust der Erythrozyten zu einer hämolytischen Anämie. Zudem führt das Aufplatzen der Blutzellen zur Freisetzung von parasitären Stoffwechselprodukten, was wiederum zu einer Immunantwort und damit zu den typischen Symptomen, wie Fieber, Schüttelfrost und Gliederschmerzen führt. Dabei sind die Vermehrungszyklen für das schubhafte Auftreten der Symptome verantwortlich. Bei dem gefährlichsten Erreger *P. falciparum* kommt erschwerend hinzu, dass er in der Lage ist klebrige Proteine an der Oberfläche der infizierten Blutzellen zu exprimieren. Dadurch kann es zur Anheftung der infizierten Blutzellen an die Innenwände der Kapillargefäße (Zytoadhärenz, Abbildung 6) oder an gesunde Blutzellen (Rosetting-Phänomen) kommen. Diese Zellagglomerate können zu Gefäßverschlüssen führen, die zusammen mit der vorhandenen Anämie zu einer Unterversorgung der Organe führen können, was die besondere Gefährlichkeit von *P. falciparum* erklärt.

Zur Bekämpfung von Malaria stehen grundsätzlich drei Methoden zur Verfügung. Zum einen werden Insektizide zur primären Vektorkontrolle (Bekämpfung des Überträgers) eingesetzt. An dieser Stelle ist vor allem das Dichlordiphenyltrichlorethan (DDT) zu nennen, das lange Jahre das meist verwendete Insektizid

weltweit darstellte, bis es in den 1970er Jahren in den westlichen Industrieländern verboten wurde, da es unter dem Verdacht steht krebserregend zu sein. Darüber hinaus hat die massenhafte Verwendung von Insektiziden zu Resistenzen der Insekten gegen die gebräuchlichen Substanzen geführt. Allerdings besteht heutzutage wieder ein erneutes Interesse an Insektiziden zur Innenraumanwendung (indoor residual spraying, IRS) um die Verbreitung von Malaria in den afrikanischen Ländern einzudämmen.

Zum anderen steht die Entwicklung eines Impfstoffes gegen Malaria im Fokus der Forschung, da eine Impfung generell den wirksamsten Schutz vor einer Ansteckung darstellen würde und somit die Malaria in den betroffenen Gebieten entscheidend zurückdrängen könnte. Auf dem Gebiet wurden in jüngster Zeit große Fortschritte erzielt, die auf eine baldige Markteinführung hoffen lassen.^[20] Allerdings wurde bis heute kein wirksamer Impfstoff gegen die Infektion zugelassen.

Die letzte und am weitesten verbreitete Methode stellt die Chemotherapie dar. Dabei ist die Bekämpfung der Malaria auf nur wenige Wirkstoffe beschränkt, die chemisch verwandt sind und entweder zur Gruppe der Chinoline oder zur Gruppe der Antifolate gehören. Ähnlich wie bei den Insektiziden treten auch bei den gängigen Medikamenten gegen Malaria zunehmend Resistenzen auf. Doch die Entwicklung neuer Wirkstoffe ist teuer und aufwendig und so wurden zwischen 1975 und 1999 lediglich vier neue Malariamedikamente auf den Markt gebracht.^[17]

2.1.2. Chinolin-basierte Wirkstoffe

Chinolin-basierte Medikamente sind die am weitesten verbreitete Gruppe der Antimalaria-Wirkstoffe.^[21] Daher soll im Folgenden ausschließlich diese Wirkstoffklasse betrachtet werden. Das älteste Malaria Medikament ist das Chinin (Abbildung 6), ein natürlich in der Chinarinde vorkommendes Alkaloid, das von den europäischen Seefahrern schon im frühen 17. Jahrhundert in unisolierter Form gegen Malaria eingesetzt wurde. 1820 wurde es erstmals aus der Chinarinde extrahiert und blieb bis 1940 das Malariamittel der Wahl. Nach dem zweiten Weltkrieg wurde Chinin durch Chloroquin (CQ, Abbildung 6), das 1934 erstmals durch Hans Andersag bei der I.G. Farbenindustrie in Elberfeld synthetisiert wurde,

abgelöst. CQ hat bei geringerer Toxizität als Chinin eine hohe Wirksamkeit gegen alle Plasmodium-Stämme und ist daher das erfolgreichste Medikament, das gegen Malaria entwickelt wurde. Heute ist CQ jedoch auf Grund der Entstehung von resistenten Stämmen weitestgehend unwirksam. Daraufhin wurden einige strukturverwandte Verbindungen entwickelt um die entstandenen Resistenzen zu umgehen, darunter Amodiaquin, Primaquin und Mefloquin (Abbildung 7).^[22]

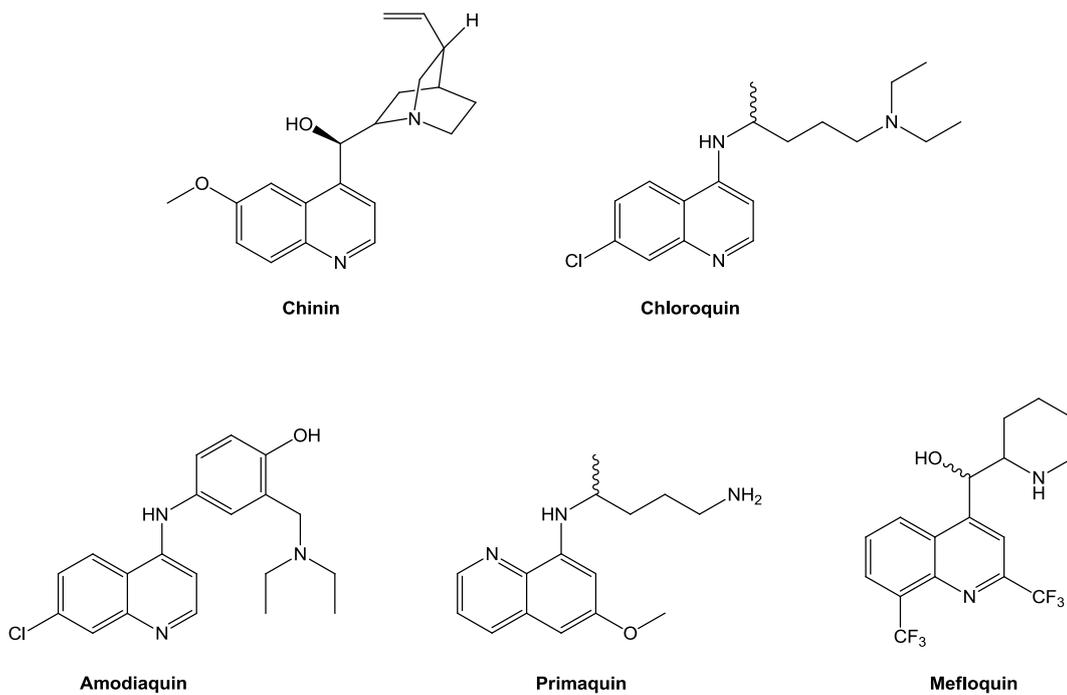


Abbildung 7: Chinolin-basierte gebräuchliche Medikamente

Allerdings werden die obengenannten Derivate, die synthetisiert wurden um CQ zu ersetzen, vor allem wegen ihren Nebenwirkungen, nicht als Monotherapie-Präparate eingesetzt sondern zumeist in Kombination mit Artesunat, einem Derivat von Artemisinin (Abbildung 8), für dessen Entdeckung die chinesische Wissenschaftlerin Tu Youyou 2015 den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin erhalten hat.

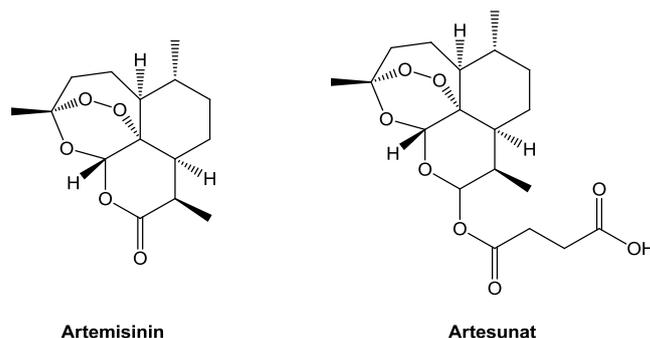


Abbildung 8: Artemisinin und Artesunat

Auch gegen Artemisinin und seine Derivate sind in jüngster Zeit vermehrt Resistenzen in Südostasien aufgetreten. Dies erschwert die Therapie bei Infektionen mit resistenten Erregern zusätzlich. Da Artemisinin nicht zu den Chinolin-basierten Wirkstoffen zählt und daher über einen komplett anderen Wirkmechanismus verfügt, schien es sich hierbei um eine geeignete Alternative zu handeln um bestehende Resistenzen zu umgehen. Allerdings scheinen auch diese Substanzen durch die auftretenden Resistenzen keine wirkliche Alternative für die Chinolin-basierten Medikamente darzustellen.

2.1.3. Wirkmechanismus der Chinolin-basierten Antimalaria-Wirkstoffe

Wenn der Malariaerreger die roten Blutzellen seines Wirts befällt, bildet er im Inneren der Erythrozyten zunächst eine Nahrungsvakuole (NV) mit einem recht sauren pH-Wert von 5.2 – 5.6^[13] aus (Abbildung 9). Dort ernährt sich der Parasit vom Hämoglobin (Hb) seines Wirts, wobei 60 – 80 % des Hbs verzehrt werden. Der Parasit kann dabei nur die Aminosäuren des Hämoglobins verwerten. Als Stoffwechselprodukt bleibt das Häm übrig.

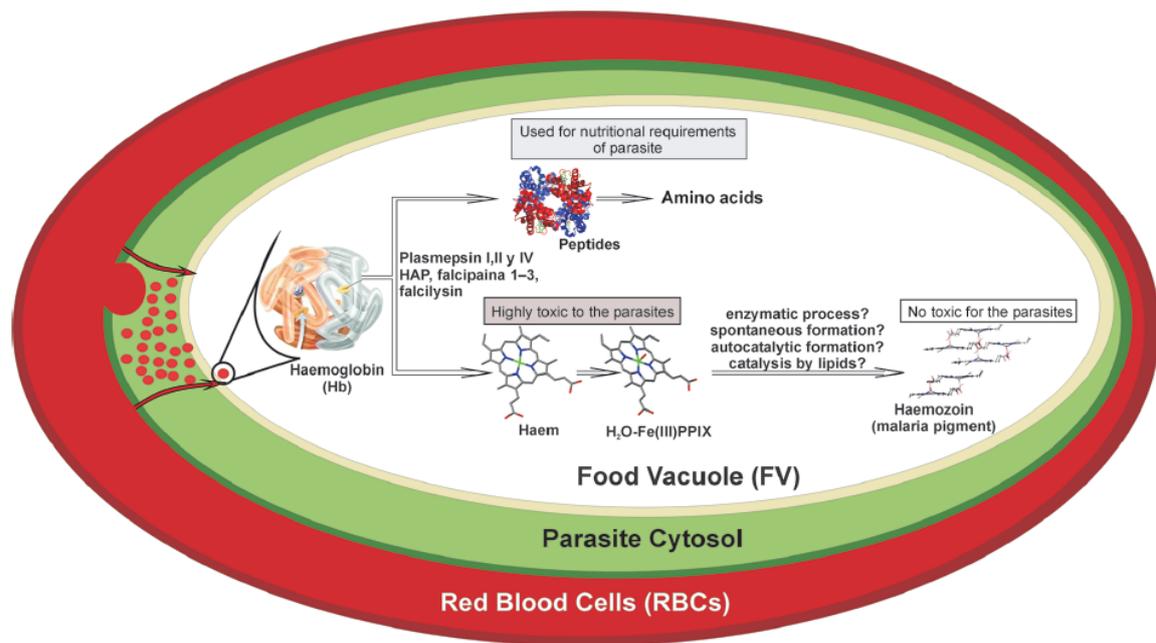


Abbildung 9: Nahrungsvakuole. Entnommen aus: [13]

Im sauren und wässrigen Milieu der Nahrungsvakuole wird das Fe(II)-Ion des Häms zum Fe(III)-Ion oxidiert und axial zur Porphyrin-Ebene koordiniert ein Hydroxid-Ion als Ligand. Das so gebildete Hämatin ist für den Parasiten giftig, da das Eisen auf Grund seiner Redox-Fähigkeit über die Fenton-Reaktion (Abbildung 10) reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS) bilden kann. Dabei wird zunächst das Eisen(III) des Hämatins durch ein Superoxid-Anion zu Eisen(II) reduziert. Diese Reaktion wird auch Haber-Weiss-Reaktion genannt und spielt in biologischen Systemen eine große Rolle. Im zweiten Schritt, der eigentlichen Fenton-Reaktion, wird mit Hilfe des erzeugten Eisen(II) aus Wasserstoffperoxid ein Hydroxid-Ion und ein Hydroxyl-Radikal gebildet.^[23]

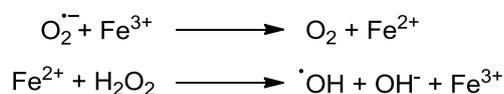


Abbildung 10: Fenton-Reaktion

Das dabei entstehende Hydroxyl-Radikal ist hoch reaktiv und erzeugt im Parasiten oxidativen Stress, der zum Tode des Parasiten führt. Als Entgiftungsmechanismus kristallisiert der Parasit das giftige Hämatin zu einem unlöslichen Polymer, das Hämozin, welches auch als Malaria-Pigment bezeichnet wird.^[24] Dieses Polymer ist chemisch inert und kann somit keinen oxidativen Stress mehr im Parasiten erzeugen.^[25] Das Hämozin besteht aus Hämatin-Dimeren, die über Wasserstoff-

brückenbindungen (WBBs) zwischen zwei Carbonsäuren des Porphyrinrings verbunden sind. Die übrige Carbonsäureeinheit, die nicht an der Dimer-Bildung beteiligt ist, koordiniert axial an die freie Koordinationsstelle des Eisens eines benachbarten Hämatins, sodass Schichten entstehen (Abbildung 11).

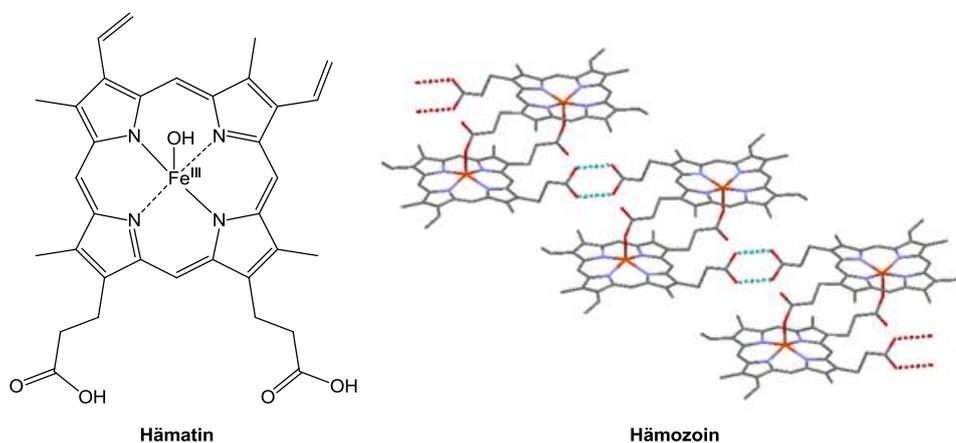


Abbildung 11: Hämatin und Hämозoin

Die Chinolin-basierten Wirkstoffe wirken über eine Inhibition der Hämозoin-Kristallisation, indem sie Komplexe mit dem Hämatin bilden. So verbleibt das Hämatin in Lösung und kann weiterhin im Parasiten ROS erzeugen, was zum Tode des Parasiten führt. Die Wechselwirkungen (WWs) zwischen Chloroquin und Hämatin sind bereits intensiv untersucht worden und somit weitestgehend bekannt.^[24] In Abbildung 12 sind die auftretenden Wechselwirkungen dargestellt:

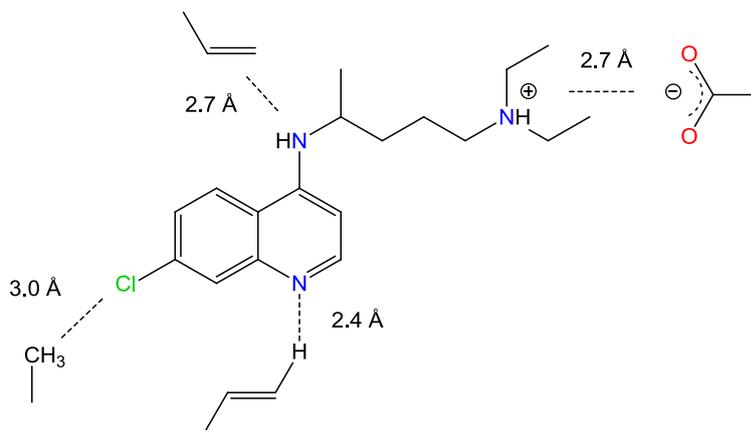


Abbildung 12: Wechselwirkungen zwischen Hämatin und Chloroquin

Die 4-Aminogruppe am Chinolinring und das Stickstoffatom im Heterozyklus wechselwirken jeweils mit einer Vinylgruppe des Porphyrins und der Chlorid-Substituent interagiert mit einer Methylgruppe des Hämtingerüsts. Die positiv

geladene, terminale Aminogruppe bildet mit der geladenen Carbonsäure am Porphyrinring ionische Wechselwirkungen aus.

Neben den Wechselwirkungen von CQ mit Hämatin sind auch die Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Chloroquin sehr gut untersucht. So konnten einige für die Wirkung essentielle Struktur motive gefunden werden, die in Abbildung 13 dargestellt sind:

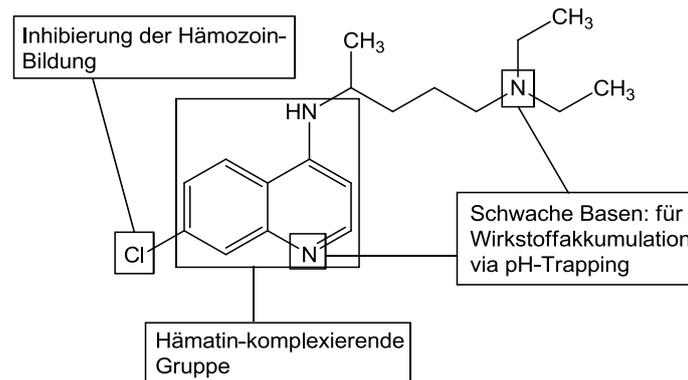


Abbildung 13: Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Chloroquin

Für die Herleitung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen wurden systematisch Derivate von CQ synthetisiert und auf ihre Antimalaria-Aktivität untersucht.^[26] Diese Untersuchungen zeigten, dass das Chinolin-Grundgerüst durch coplanare π - π -Wechselwirkungen mit dem Porphyrinringen für die Komplexbildung verantwortlich ist. Es konnte gezeigt werden, dass nur Verbindungen, die starke WWs mit Hämatin eingehen können und Assoziations-Konstanten ($\log K$) im Bereich von 4.0 - 5.5 aufweisen, antiplasmodiale Wirkung besitzen. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass der Chlorid-Substituent in Position 7 essentiell für die Inhibierung der Hämozoin-Bildung ist. Verbindungen, bei denen das Cl-Atom durch ein Wasserstoffatom substituiert wurde, sind zwar ebenfalls in der Lage Komplexe mit Hämatin auszubilden, jedoch können sie die Bildung von Hämozoin in Test-Assays nicht inhibieren. Dabei konnte noch nicht geklärt werden, ob dieser Effekt des Cl-Substituenten dabei auf sterische oder elektronische Effekte zurückzuführen ist oder ob eine Mischung aus beiden Effekten vorliegt. Während das Chinolingrundgerüst und der Substituent in Position 7 für die Erhaltung der Wirksamkeit nach Möglichkeit nicht verändert werden dürfen, sind Änderungen in der Seitenkette durchaus möglich, ohne dabei an Aktivität einzubüßen. Allerdings sollten in der Seitenkette mehrere Amino-Gruppen enthalten sein, die als schwache Basen fungieren können. Die Basizität der Verbindungen sorgt für eine

Akkumulation des Wirkstoffs im Inneren der Nahrungsvakuole über pH-Trapping. Dieser Prozess beruht darauf, dass nur die freie Base durch die Membran der NV diffundieren kann. In der NV wird die freie Base dann auf Grund des recht niedrigen pH-Werts protoniert, so dass eine geladene Spezies entsteht, was zu weiterem Influx der Verbindung führt, bis die Konzentration der freien Base auf beiden Seiten der Membran ausgeglichen ist.

2.1.4. Resistenzen gegen Chinolin-basierte Wirkstoffe

Wie zuvor bereits beschrieben treten gegen CQ und seine Derivate zunehmend Resistenzen auf. Diese sind auf eine Mutation des Transmembranproteins PfCRT (*P. falciparum* Chloroquine Resistant Transporter), das in der Membran der NV lokalisiert ist (Abbildung 14). Die Mutation führt dazu, dass CQ durch den Transporter aktiv aus der Nahrungsvakuole ausgeschleust wird^[27].

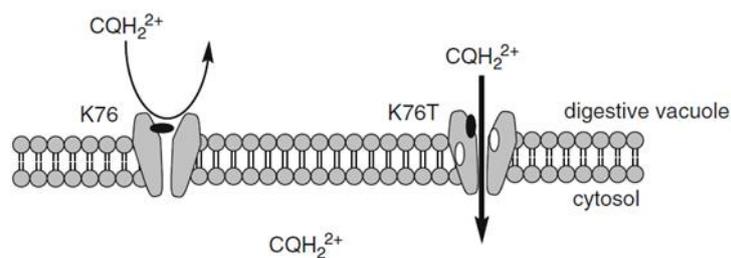


Abbildung 14: Transmembranprotein PfCRT. Entnommen aus: [27]

Dieser Erhöhte Efflux von Chloroquin aus der NV führt dazu, dass die für eine Wirkung erforderliche Konzentration in der Nahrungsvakuole nicht mehr erreicht wird.

2.1.5. Metallhaltige Derivate von Chloroquin

Inspiziert von dem immensen Erfolg von Cisplatin wurden auch metallhaltige Verbindungen auf ihre Wirkung gegen Malaria untersucht. Erst Versuche hierzu gehen auf Wasi et al. zurück, die 1987 32 Komplexe von Amodiaquin und Primaquin mit unterschiedlichen Metallen wie z. B. Fe(III), Cu(II), Co(II), Ni(II), Rh(III), Pd(II), Au(III), Ag(I) und Pt(II) synthetisierten.^[28] Die Ergebnisse waren jedoch enttäuschend, da die Metallverbindungen keine Steigerung der Wirksamkeit im Vergleich zu den Mutterwirkstoffen aufwiesen.^[29] Einige Jahre später, 1996,

berichteten Sánchez-Delgado und Mitarbeiter über die ersten Metall-Chloroquin-Derivate $[\text{RuCl}_2(\text{CQ})]_2$ und $[\text{RhCl}(\text{COD})\text{CQ}]$ (Abbildung 15).^[30]

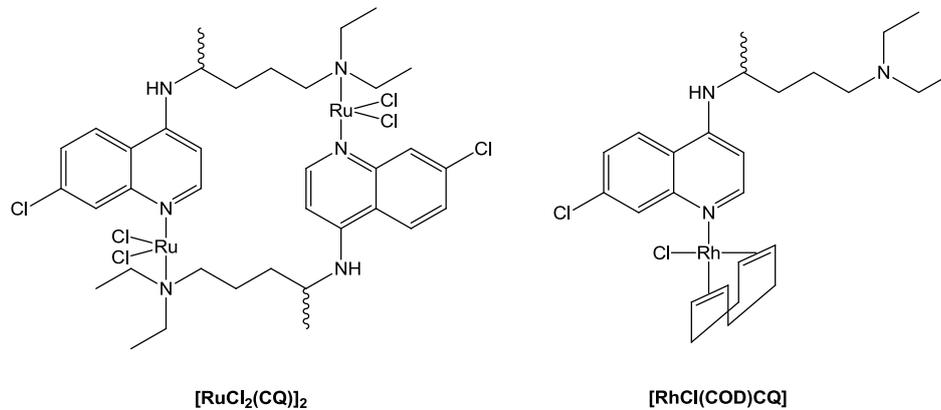


Abbildung 15: $[\text{RuCl}_2(\text{CQ})]_2$ und $[\text{RhCl}(\text{COD})\text{CQ}]$

Der Komplex $[\text{RuCl}_2(\text{CQ})]_2$ weist *in vitro* eine 4.5-fach höhere Aktivität im Vergleich zu CQ auf. Die Koordination des Metalls konnte dabei nicht nur die Wirksamkeit steigern, sondern auch Resistenzen gegen CQ umgehen. So zeigen die beiden oben gezeigten Verbindungen ähnliche Aktivitäten in CQ-sensitiven wie auch in CQ-resistenten Zelllinien.

In Folge dessen wurde eine Vielzahl an Metallkomplexen mit CQ als Ligand synthetisiert. Einige ausgewählte Komplexe sind in Abbildung 16 dargestellt.^[31,18]

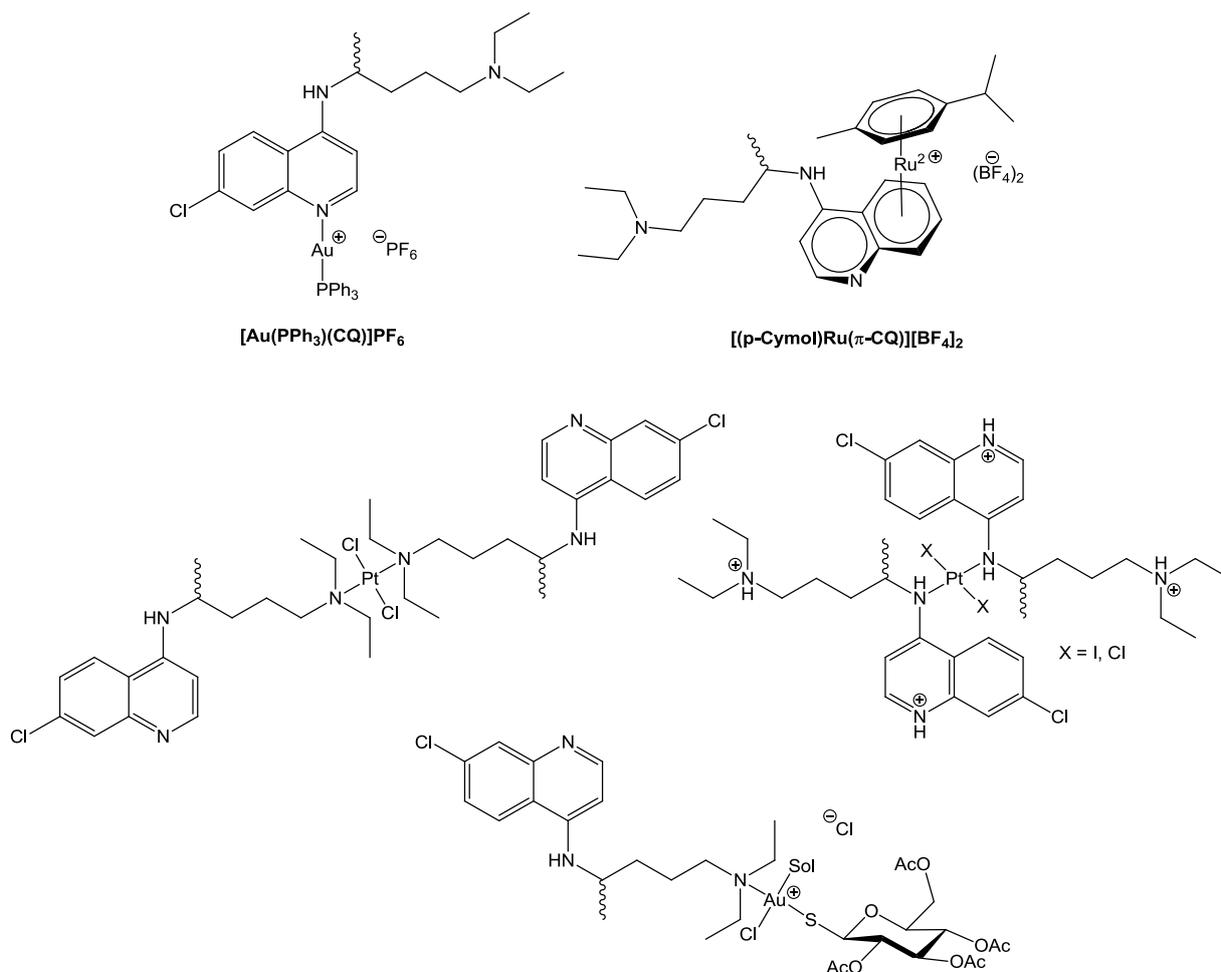


Abbildung 16: ausgewählte Metall-CQ-Komplexe

Alle oben gezeigten Komplexe zeigen *in vitro* eine höhere Antimalaria-Aktivität als CQ. Zudem ist auch hier keine Kreuzresistenz zu CQ zu beobachten, obwohl auch für die Komplexe angenommen wird, dass sie ebenfalls die Bildung von Hämозoin inhibieren und somit über denselben Wirkmechanismus verfügen wie CQ. Es konnte gezeigt werden, dass die Metallderivate, ebenso wie CQ, Komplexe mit Hämatin bilden. Dabei sind die Assoziations-Konstanten der Verbindungen, trotz der höheren *in vitro*-Wirksamkeit etwas kleiner als die von CQ. Einige Werte sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Assoziations-Konstanten ausgewählter Metall-CQ-Derivate

Verbindung	Log K (pH 4.97) ^[13]
CQ	5.52
$[\text{RuCl}_2(\text{CQ})]_2$	4.81
$[(p\text{-Cymol})\text{Ru}(\pi\text{-CQ})][\text{BF}_4]_2$	4.71
$[\text{Au}(\text{PPh}_3)(\text{CQ})]\text{PF}_6$	7.69

Die einzige Ausnahme stellt der Gold-Komplex $[\text{Au}(\text{PPh}_3)(\text{CQ})]\text{PF}_6$ dar, dessen Assoziations-Konstanze deutlich größer ist als die von CQ. Zudem ist die Verbindung äußerst wirksam in den CQ-resistenten Zelllinien FcB1 und FcB2. Dort weist sie eine 5- bis 10-fach höhere Wirksamkeit auf.

Die zurzeit vielversprechendste Verbindung ist Ferroquin (FQ), ein Chloroquin-Derivat mit einer Ferrocen-Einheit in der Seitenkette (Abbildung 17). Die Verbindung wurde 1997 von Biot et al. an der Universität Lille entwickelt^[32] und befindet sich aktuell in Phase 2 klinischer Studien als Kombinationspräparat mit dem Trioxolan Artefenomel.^[33,34]

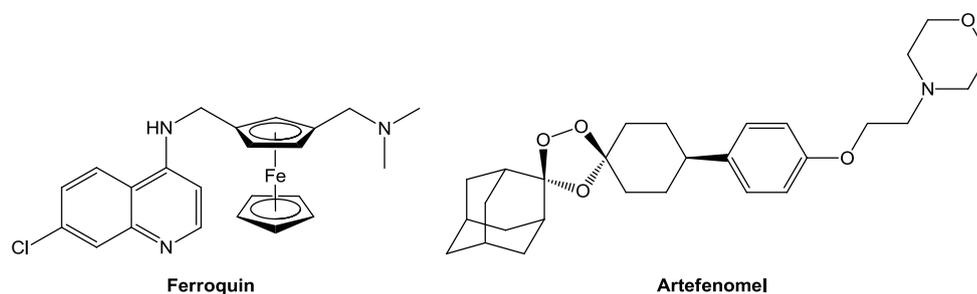


Abbildung 17: Ferroquin und Artefenomel

Ferroquin zeigt *in vitro* in verschiedenen *P. falciparum* Zelllinien eine deutlich erhöhte Aktivität gegenüber CQ. Dabei ist die Wirksamkeit in CQ-sensitiven Zelllinien um ein 5-faches erhöht und in den CQ-resistenten Zelllinien sogar bis zu 30-fach erhöht,^[35] bei einer im Vergleich zu CQ niedrigeren Toxizität. Auch FQ inhibiert die Bildung von Hämозoin. Dabei ist die gesteigerte Wirksamkeit vermutlich auf unterschiedliche Faktoren zurückzuführen. Zum einen ist FQ deutlich lipophiler als CQ (Tabelle 2), was eine erhöhte Zellmembran-Permeabilität zur Folge hat. Dieser Effekt wird noch verstärkt durch die Fähigkeit von FQ eine starke intermolekulare Wasserstoffbrückenbindung zwischen der terminalen Amino-Funktion und der Amino-Gruppe an der 4-Position des Chinolingerüsts auszubilden. (Abbildung 18).^[36]

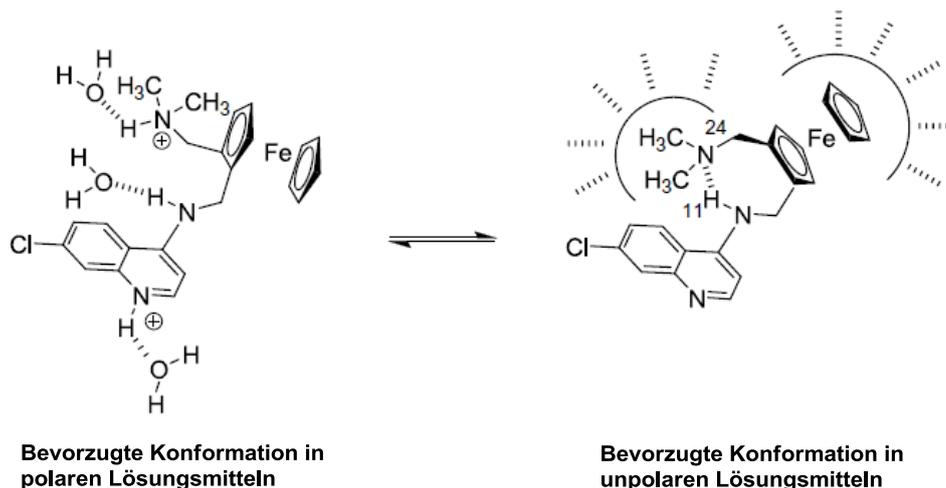


Abbildung 18; „flip/flop“-Struktur von FQ. Entnommen aus: [36]

Diese sogenannte „flip/flop“-Struktur erleichtert den Übergang von einer hydrophilen Umgebung, wie dem Cytosol, in die lipophile Zellmembran. Hinzu kommt, dass Ferroquin deutlich basischer ist als CQ und sich somit stärker in der Nahrungsvakuole des Parasiten akkumuliert. Ferroquin weist, wie die meisten anderen metallhaltigen CQ-Derivate, eine niedrigere Assoziations-Konstante auf als die rein organische Verbindung (Tabelle 2).

Tabelle 2: Distributionskoeffizienten und Assoziationskonstanten von CQ und FQ

Verbindung	Log D (pH 7.4) ^[27]	Log K (pH 7.5) ^[37]
CQ	0.85	5.52
FQ	2.95	4.95

Dass FQ dennoch so viel wirksamer ist liegt allem Anschein nach an der Ferrocenyl-Einheit, die bekannt für ihre einzigartigen lipophilen und elektronischen Eigenschaften ist. So konnte die Einführung eines Ferrocenyl-Rests schon in dem Krebsmedikament Ferrocifen zu einer gesteigerten Wirksamkeit gegenüber der Ursprungsverbindung Tamoxifen führen. Darüber hinaus kann das Eisen(II)-Ion der Ferrocenyl-Einheit bei den oxidierenden Bedingungen in der NV zusätzlich eine Fenton-Reaktion katalysieren, was zu zusätzlichem oxidativen Stress im Parasiten führt. So konnte gezeigt werden, dass FQ unter den Bedingungen, die im Parasiten vorherrschen signifikante Mengen Hydroxyl-Radikale produzieren kann.^[38] Allerdings sind diese Ergebnisse auch umstritten. Für das FQ-Analog mit Ruthenium, Ruthenoquin, wurden ähnliche Ergebnisse wie für FQ erzielt, was wiederum darauf

hindeutet, dass die Eigenschaften von FQ nur auf die gesteigerte Lipophilie zurückzuführen sind.^[39,40]

Auch die Tatsache, dass FQ keinerlei Kreuzresistenzen zu CQ besitzt lässt sich durch den Ferrocenyl-Rest erklären. So haben Untersuchungen gezeigt, dass Ferroquin eine deutlich niedrigere Affinität zu dem Transmembranprotein PfCRT aufweist^[41], das für die Ausbildung der Resistenzen verantwortlich ist. Vermutlich passen die Metallverbindungen nicht in die Bindetasche des Proteins, was auch erklärt warum alle hier gezeigten Metall-CQ-Derivate die CQ-Resistenzen überwinden konnten.

2.1.6. Heterobimetallische Ferroqin-Derivate

Motiviert durch die vielversprechenden Ergebnisse von Ferroquin wurden unzählige Ferrocen-haltige Derivate synthetisiert. Ein interessanter Ansatz ist hierbei die Synthese von heterobimetallischen Komplexen, bei denen zwei unterschiedliche Metalle mit dem biologischen Target interagieren können, wodurch additive oder, im Idealfall, synergistische Effekte die Wirkung verstärken können. Um diese Theorie zu überprüfen, wurden eine Reihe Rhodium- und Gold-basierte heterobimetallische Derivate von FQ synthetisiert,^[42] von denen einige in Abbildung 18 dargestellt sind.

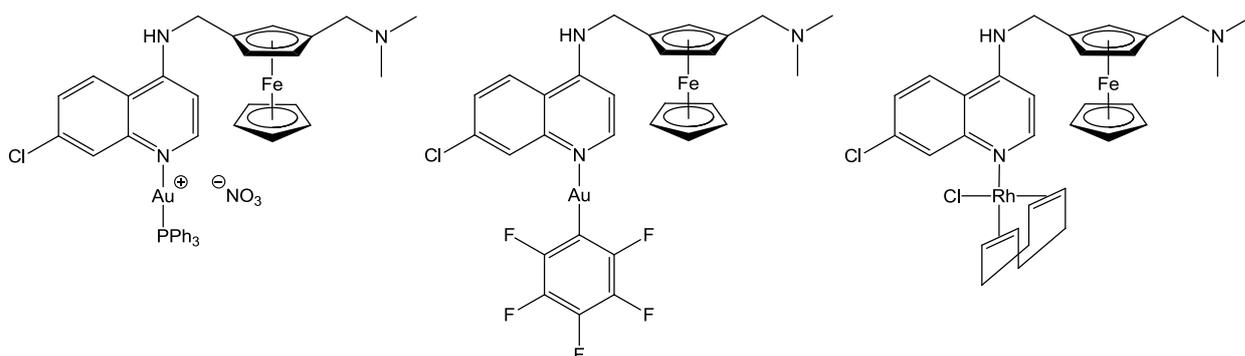


Abbildung 19: Heterobimetallische FQ-Derivate

Bei Untersuchungen der *in vitro* Aktivität konnte festgestellt werden, dass diese Komplexe zwar wirksamer als CQ in den CQ-resistenten Zelllinien sind, jedoch ist die Aktivität im Vergleich zu Ferroquin minimal schwächer ausgeprägt, so kann festgehalten werden, dass die Koordination des zweiten Metalls in den gezeigten Komplexen zu keiner additiven oder synergistischen Aktivitätssteigerung führt.

Diese Ergebnisse können jedoch nicht verallgemeinert werden, da synergistische Effekte in anderen heterobimetallischen Systemen nicht auszuschließen sind.

2.2. Zielsetzung

Wie in der Einleitung bereits beschrieben, besitzen einige Metall-Komplexe ein großes Potential als Wirkstoffe gegen Malaria eingesetzt zu werden. Bei Betrachtung der Vorarbeiten scheinen besonders Gold- und Ruthenium-Komplexe besonders gute Wirksamkeiten zu zeigen. Da in der Arbeitsgruppe schon seit längerer Zeit Gold-Komplexe synthetisiert und auf ihre biologische Aktivität untersucht werden, sollten auch in dieser Arbeit in erster Linie Gold-Verbindungen hergestellt werden und auf Ihre Aktivität gegen Malaria-Erreger untersucht werden.

Ziel dieser Arbeit war es zunächst neue, von CQ abgeleitete Liganden zu synthetisieren. Das Metall sollte dabei nicht, wie in den meisten bereits hergestellten Komplexen, über das Stickstoffatom im Chinolingerüst gebunden werden, sondern über die Seitenkette, ähnlich wie bei Ferroquin. Hierdurch sollte eine bessere Wirksamkeit erhalten werden als in den bereits bekannten Komplexen, da aus den Struktur-Wirkungs-Beziehungen bekannt ist, dass das Chinolingerüst, wie bereits beschrieben, möglichst unverändert bleiben soll. Um solche Komplexe zu erhalten, musste das 7-Chlorchinolin so derivatisiert werden, dass in der Seitenkette funktionelle Gruppen vorhanden sind, die eine Koordination von Gold ermöglichen. Hierbei sollte jeweils vom 4,7-Dichlorchinolin ausgegangen werden. Damit die Komplexe auch für biologische Zwecke eingesetzt werden können müssen die hergestellten Verbindungen unter physiologischen Bedingungen stabil, also unempfindlich gegenüber Wasser und Sauerstoff sein. Um dies zu gewährleisten sollten möglichst stabile Gold-Komplexe synthetisiert werden.

Unsere Arbeitsgruppe hat bereits langjährige Erfahrung mit der Synthese von Carben-Gold-Komplexen. Diese Verbindungen haben sich sehr häufig als besonders stabil erwiesen, weshalb Carbene genauso wie die ebenfalls sehr stabilen Phosphane als Liganden in Frage kamen. Ebenso können terminale Alkine mit Gold sehr stabile Gold-Alkynyl-Komplexe bilden, weshalb ebenfalls eine terminale Alkin-Gruppe in die Seitenkette des Chinolingerüsts eingeführt werden sollte.

Die hergestellten Liganden sollten dann in einem nächsten Schritt vor allem an Gold koordiniert werden. Die hergestellten Komplexe sollten mittels NMR-Spektroskopie und, wenn möglich, mittels Kristallstrukturanalyse charakterisiert werden. Zudem sollte Ihre Fähigkeit die Bildung von Hämoxoin zu inhibieren in einem photometrischen Testassay untersucht werden. Weiterhin sollten die Assoziationskonstanten einiger Komplexe mit Hämatin bestimmt werden.

2.3. Ergebnisse und Diskussion

2.3.1. Synthese der Liganden

Bei der Synthese der Chinolin-basierten Liganden wurde jeweils vom 4,7-Dichlorchinolin ausgegangen. Da in der Seitenkette mehrere Stickstoffatome enthalten sein sollten, um das pH-Trapping zu gewährleisten, wurde zunächst das literaturbekannte *N*-(7-Chlorchinolin-4-yl)ethan-1,2-diamin synthetisiert (Abbildung 20). Hierfür wurde nach einer Vorschrift von Antinarelli et al. gearbeitet.^[43] Das 4,7-Dichlorchinolin wurde mit Ethylendiamin ohne Lösemittel für sechs Stunden auf 110 °C erhitzt. Hierbei wird selektiv, in einer Buchwald-Hartwig-artigen Reaktion, der Chlorid-Rest in Position vier am elektronenarmen Heterozyklus substituiert. Diese Methode lieferte zwar gute Ausbeuten von bis zu 90 %, jedoch wurde eine relativ lange Reaktionszeit von 6 h benötigt. Daher wurde eine weitere Syntheseroute in der Mikrowelle durchgeführt. Hierbei wurde das 4,7-Dichlorchinolin mit Ethylendiamin für 30 min auf 165 °C erhitzt.^[44] Diese Reaktion lieferte allerdings nur eine geringe Ausbeute von 22 %, so dass die Reaktionsbedingungen in der Mikrowelle optimiert wurden. Die Ergebnisse der Optimierung sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Optimierung der Reaktionsbedingungen

Temperatur	Reaktionszeit	Ausbeute
165 °C	30 min	22 %
175 °C	30 min	78 %
175 °C	20 min	46 %
185 °C	20 min	46 %

Eine Erhöhung der Temperatur auf 175 °C konnte die Ausbeute deutlich auf knapp 80 % steigern. Eine weitere Temperaturerhöhung führte zum Teil zur Zersetzung des Produkts und somit zu einer Abnahme der Ausbeute. Auch der Versuch die Reaktionszeit weiter zu verkürzen führte zu deutlichen geringeren Ausbeuten. Nach dem die Reaktionsbedingungen optimiert wurden, wurde die Reaktion auch mit 1,3-Diaminopropan und 1,4-Diaminobutan durchgeführt, um die Kettenlänge der 4-Aminochinoline zu variieren (Abbildung 20).

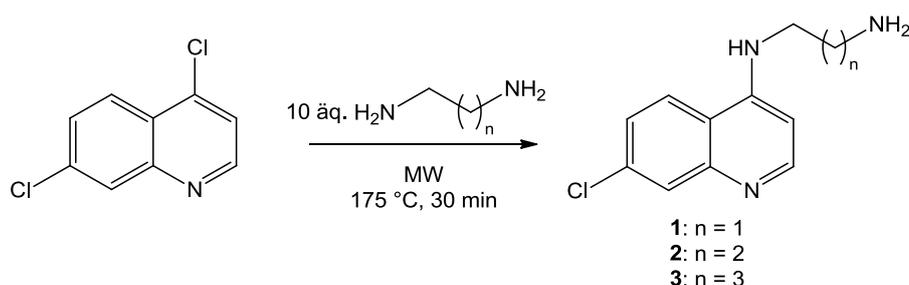


Abbildung 20: Synthese der Aminochinoline

In einem weiteren Schritt sollten die hergestellten 4-Aminochinoline **1 - 3** mit Propargylbromid umgesetzt werden, um eine Alkin-Funktion in die Seitenkette einzuführen, so dass die Verbindung als Ligand für Alkynyl-Komplexe verwendet werden kann. In unserer Arbeitsgruppe wurden bereits ein 7-Chlorchinolin-basierter Gold-Alkynyl-Komplex synthetisiert und auf seine Aktivität gegen Malaria untersucht (Abbildung 21).^[45]

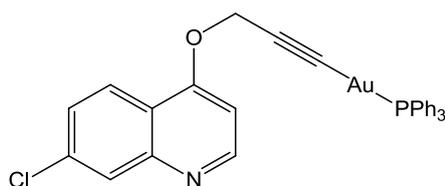


Abbildung 21: Zuvor hergestellter Gold-Alkynyl-Komplex

Allerdings war *in vitro* nur eine geringe Aktivität gegen verschiedene Malariaerreger zu beobachten. Diese fehlende Aktivität ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass in der Seitenkette keine basischen Stickstoffatome enthalten sind und somit keine Akkumulation in der Nahrungsvakuole stattfinden kann. Daher schien eine Alkin-Gruppe an der terminalen Aminogruppe der Verbindungen **1 - 3** vielversprechender. Die Verbindungen wurden bereits in der Literatur beschrieben, so dass hier die dort beschriebene Vorschrift verwendet wurde.^[43] Hierbei wurde zunächst Verbindung **1** mit je zwei Äquivalenten Propargylbromid und Kaliumcarbonat umgesetzt. Dabei konnte die Literaturvorschrift nicht reproduziert werden. Anhand der NMR-Spektren war zu erkennen, dass ein Produktgemisch vorlag. Dieses sollte laut Literatur säulenchromatographisch aufgereinigt werden. Jedoch konnte hierbei nur sehr wenig Produkt erhalten werden. Eine LC-MS-Messung konnte zeigen, dass hauptsächlich die zweifach propargylierte Verbindung vorlag, sowie Edukt. Auch die Verwendung von nur einem Äquivalent Propargylbromid lieferte keine besseren Resultate. Da die Nucleophilie des Stickstoffatoms durch die Alkylierung

zunimmt, war es nicht weiter verwunderlich, dass die zweifach propargylierte Spezies das Hauptprodukt der Reaktion war. Daher wurde nach einer effizienteren Syntheseroute gesucht. Um die Regioselektivität der Reaktion zu verbessern, sollte eine Schutzgruppe eingeführt werden. Eine sehr weit verbreitete Schutzgruppe für primäre Amine ist die *tert*-Butyloxycarbonyl-Gruppe (Boc).^[46] Für die Einführung der Boc-Schutzgruppe wurde die Verbindung **1** mit Boc-Anhydrid und Triethylamin als Base in Ethanol umgesetzt (Abbildung 22).

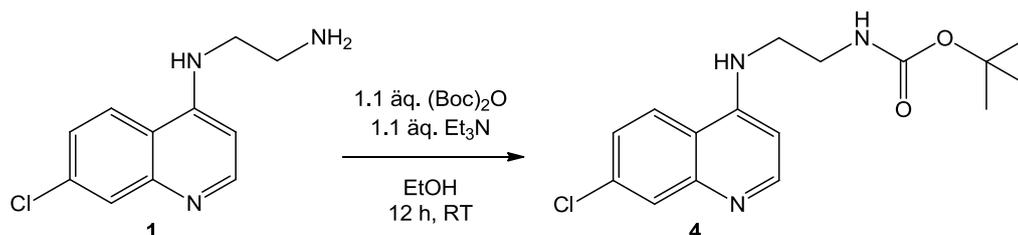


Abbildung 22: Synthese des Boc-geschützten 4-Aminochinolins

Bei dieser Reaktion entstehen nur *tert*-Butanol und Kohlenstoffdioxid als Nebenprodukte. Da die beiden Substanzen, sowie das Triethylamin leicht flüchtig sind, konnte das Produkt nach dem Entfernen des Lösemittels ohne weitere Aufreinigung für den nächsten Syntheseschritt eingesetzt werden. Nun sollte erneut versucht werden einen Propargylrest einzuführen. Da die Boc-Schutzgruppe nun am terminalen Stickstoffatom der Seitenkette gebunden ist, kann an dieser Stelle nur noch einmal alkyliert werden. Die Umsetzung von Verbindung **4** mit je zwei Äquivalenten Propargylbromid und Kaliumcarbonat in Ethanol zeigte jedoch auch nach 24 h Erhitzen unter Rückfluss keinerlei Umsatz. Stattdessen konnte nur Edukt isoliert werden. Vermutlich schirmt die Boc-Schutzgruppe das Stickstoffatom sterisch ab, so dass keine Reaktion stattfinden kann. Daher wurde die Substanz **4** in einer weiteren Reaktion mit Propargylbromid und Natriumhydrid in DMF umgesetzt. Durch die Verwendung der stärkeren Base sollte bei diesem Ansatz eine Umsetzung erzielt werden. Allerdings wurde auch hier wieder eine unselektive Propargylierung beobachtet. Zusammen mit der starken Base reagierte nun auch das Stickstoffatom in Position vier am Chinolin mit dem Propargylbromid. Dieses ist normalerweise, da es direkt am elektronenarmen Heterozyklus gebunden ist, nicht elektrophil genug um mit dem Propargylbromid zu reagieren.

Da die oben beschriebenen Versuche zu keinem Ergebnis führten, wurde daraufhin ein anderer Ansatz gewählt. Zunächst wurde nach Literaturvorschrift das

N-(7-Chlorochinolin-4-yl)-*N,N'*-dimethylethan-1,2-diamin hergestellt.^[47] Hierfür wurde das 4,7-Dichlorchinolin mit Phenol und *N,N'*-Dimethylethylendiamin in der Mikrowelle umgesetzt (Abbildung 23).

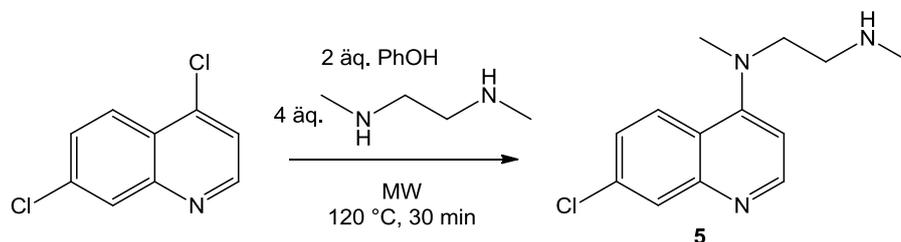


Abbildung 23: Synthese der Verbindung 5

Diese Reaktion konnte sehr gut reproduziert werden und es konnten hohe Ausbeuten von 91 % erzielt werden. Auch diese Reaktion konnte wieder, so wie die zuvor in der Mikrowelle durchgeführten Reaktionen ohne Lösemittel durchgeführt werden. Dies ist besonders im Hinblick auf „Green Chemistry“ besonders charmant, da so Lösemittelabfälle vermieden werden können. Durch die beiden Methylgruppen an den Stickstoffatomen in der Seitenkette, bleibt nur noch eine Position am terminalen N-Atom zur Alkylierung übrig. Somit sollte eine Propargylierung ohne Nebenprodukte ablaufen. Die Verbindung **5** wurde daher mit Propargylbromid und Kaliumcarbonat umgesetzt (Abbildung 24). Dieses Mal konnte die Propargylierung erfolgreich durchgeführt werden und es konnten gute Ausbeuten von 69 % erzielt werden.

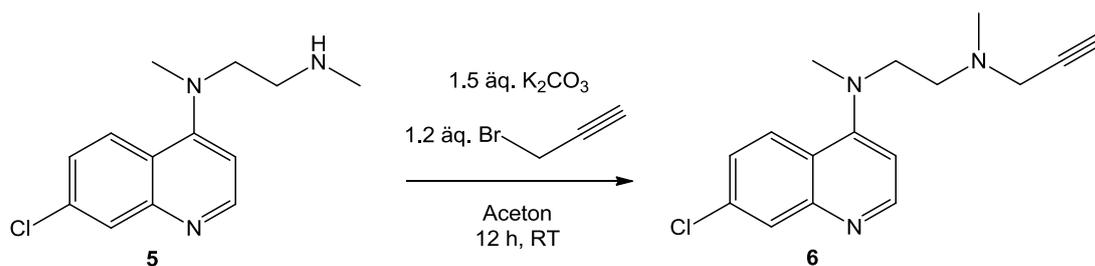


Abbildung 24: Synthese des Liganden 6

Im ¹H-NMR-Spektrum der Verbindung wurde ersichtlich, dass die Verbindung sauber hergestellt wurde. Zu den Signalen der Verbindung **5**, die mit den in der Literatur beschriebenen sehr gut übereinstimmen, kamen die charakteristischen Signale der Propargylgruppe hinzu. Bei 2.26 ppm tritt ein Triplett für das terminale Wasserstoffatom des Alkins auf. Dieses Signal koppelt mit einer für ⁴J-Kopplungen typischen, kleinen Kopplungskonstante von 2.4 Hz mit der CH₂-Gruppe des

Propargyl-Rests, für die ein Dublett bei 3.36 ppm zu beobachten ist. Somit konnte ein neuer Ligand für die Synthese von Alkynyl-Komplexen erfolgreich synthetisiert werden.

Unser Arbeitskreis beschäftigt sich seit langem mit der Synthese von Carben und deren Komplexen, insbesondere mit *N*-Heterocyclischen-Carbenen(NHC)-Komplexen, die 1968 erstmals von Wanzlick und Öfele beschrieben wurden.^[48,49,49] Diese Liganden-Klasse ist isoelektronisch zu den Phosphan-Liganden. Beide sind gute σ -Donoren, jedoch sind die Phosphane bessere π -Akzeptoren. Im Vergleich zu den Metall-Phosphan-Komplexen sind die Carben-Komplexe häufig stabiler, lassen sich leichter derivatisieren und sind unempfindlich gegenüber Luft und Wasser. Die besondere Stabilität ist dabei auf zwei Effekte zurückzuführen. Die Stickstoffatome im Heterozyklus wirken zum einen durch ihre Elektronegativität elektronenziehend (-I-Effekt) und stabilisieren so die negative Ladung am Carbenkohlenstoffatom, zum anderen können sie durch ihr freies Elektronenpaar mesomeriestabilisierend wirken (+M-Effekt). Durch diese besondere Stabilisierung der Carbene im Imidazol-Ring, gelang es Arduengo 1991 sogar das freie *N*-heterocyclische Carben, mit sperrigen Adamantyl-Substituenten, zu isolieren.^[50] Seitdem stieg das Interesse an NHC-Liganden für die unterschiedlichsten Anwendungen immens an, neben der Verwendung als Liganden für Katalysatoren, wird auch eine Verwendung für medizinische Zwecke immer wieder in Betracht gezogen.^[51,52] Dabei wurde bereits eine Vielzahl an Metall-NHC-Komplexen synthetisiert und auf ihre biologische Aktivität untersucht, da sie durch ihre besondere Stabilität unter physiologischen Bedingungen als Wirkstoffe prädestiniert sind. Aus diesen Gründen sollten auch in dieser Arbeit Chinolin-basierte NHC-Liganden synthetisiert werden. Hierfür wurde zunächst 2-Chlor-*N*-(2-(7-Chlorchinolin-4-ylamino)ethyl)acetamid **7** nach einer Vorschrift von Devi et al. synthetisiert.^[53] Dabei wurde die Verbindung **1** mit Chloroacetylchlorid und Triethylamin als Base umgesetzt (Abbildung 25).

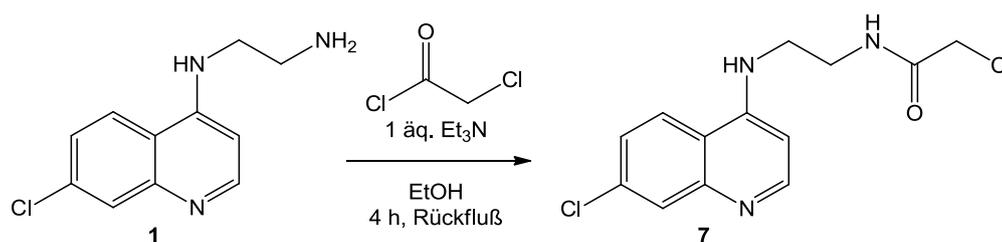


Abbildung 25: Synthese der Verbindung **7**

Bei der Reaktion konnten gute Ausbeuten von 79 % erzielt werden. In einem nächsten Schritt sollte die Verbindung **7** mit 1-Methylimidazol zu dem entsprechenden Imidazoliumsalz umgesetzt werden.

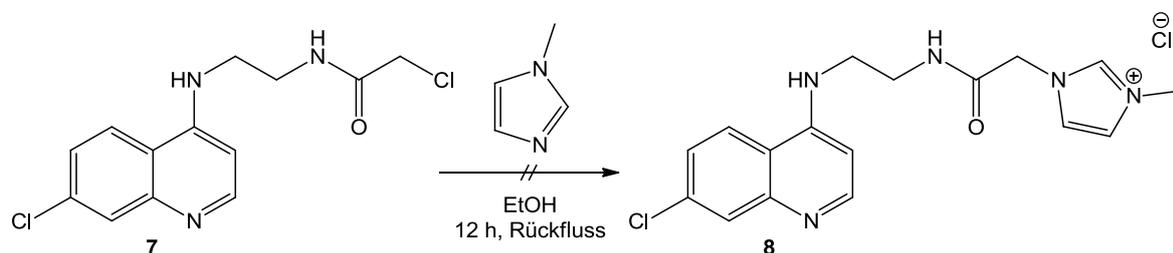


Abbildung 26: Umsetzung der Verbindung **7**

Auch nach 12 h Erhitzen unter Rückfluss konnte bei der Reaktion kein Umsatz beobachtet werden. Vermutlich stellt das Chlorid eine zu schlechte Abgangsgruppe dar, so dass die Reaktion nicht ablaufen konnte. Die Verbindung **7** wurde daher mit Natriumiodid in Aceton umgesetzt. Bei der Finkelstein-Reaktion sollte der Chlorid-Substituent durch ein Iodatom substituiert werden. Triebkraft der Reaktion ist hier das Ausfallen des in Aceton unlöslichen Natriumchlorids. Allerdings konnte hierbei kein sauberes Produkt isoliert werden. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum war im aromatischen Bereich eine Vielzahl von Signalen zu beobachten, was zu dem Schluss führt, dass es zu Nebenreaktionen gekommen sein muss. Vermutlich wurde auch der Chlor-Rest in Position 7 am Chinolinring substituiert. Zudem könnte das Iodatom eine so gute Abgangsgruppe darstellen, dass das Produkt bereits mit sich selbst reagiert hat und die Aminofunktionen der Seitenkette quarternisiert wurden. Daher wurde für die Synthese der Imidazoliumsalze ein neuer Ansatz gewählt. Hierbei wurde zunächst das 4,7-Dichlorchinolin mit Imidazol oder Benzimidazol nach einer Vorschrift von Gall et al. umgesetzt.^[54]

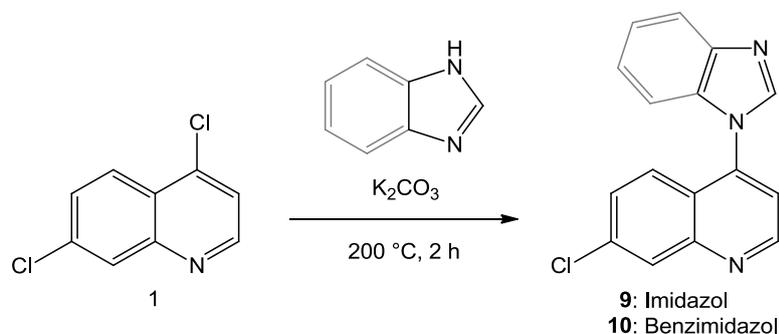


Abbildung 27: Synthese der Verbindungen **9** und **10**

Die Umsetzung erfolgte dabei mit Kaliumcarbonat als Base bei 200 °C ohne Lösemittel, wobei gute Ausbeuten von etwa 70 % erhalten werden konnten. Die Reaktion mit Benzimidazol konnte ebenfalls, wie schon die Synthese von Verbindung **5**, mit Phenol in der Mikrowelle durchgeführt werden. Diese Methode erwies sich bei der Herstellung von Verbindung **10** als Methode der Wahl, da in diesem Fall deutlich saubere Produkte erhalten werden konnten. Für die Synthese von Verbindung **9** stellt die Syntheseroute in der Mikrowelle keine Alternative dar, da in diesem Fall kein Umsatz beobachtet werden konnte. Um aus den Verbindungen **9** und **10** die entsprechenden Imidazolium- bzw. Benzimidazoliumsalze herzustellen, sollte das iminische Stickstoffatom im Imidazoliumring alkyliert werden (Abbildung 28). Hierfür wurde zunächst die Verbindung **9** mit Methyljodid in Toluol unter Rückfluss für 12 h erhitzt. Dabei konnte eine unselektive Alkylierung beobachtet werden, da auch das Stickstoffatom in im Chinolinring alkyliert wurde. Die Reaktion sollte daher erneut bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Da das Edukt jedoch nur in heißem Toluol löslich ist, wurde stattdessen THF als Lösemittel verwendet. Durch die niedrigere Temperatur musste die Reaktionszeit deutlich auf 48 h erhöht werden, um einen vollständigen Umsatz zu erhalten.

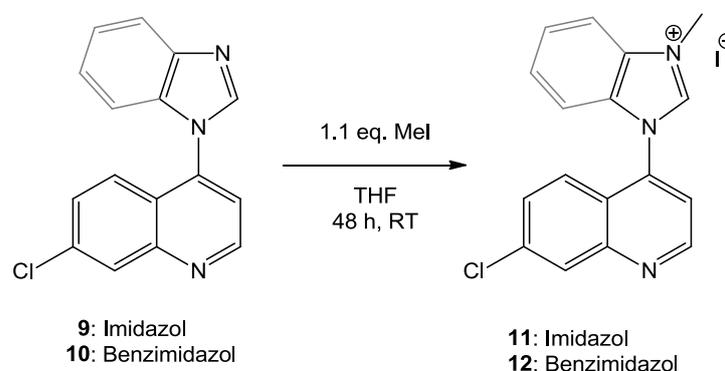


Abbildung 28: Synthese der Imidazoliumsalze **11** und **12**

Nachdem die Verbindung **11** mit einer guten Ausbeute von 83 % hergestellt werden konnte, wurde die Verbindung **12** nach der gleichen Methode synthetisiert. Der Erfolg der Synthese konnte jeweils im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum anhand eines Singulets bei 4.05 bzw. 4.25 ppm für die eingeführte Methylgruppe belegt werden. Außerdem ist das Signal für die CH-Einheit im Imidazolring zwischen den beiden Stickstoffatomen bei 9.75 bzw. 10.21 ppm, verglichen mit den Ausgangsverbindungen, jeweils deutlich ins tiefe Feld verschoben worden.

Ein weiterer NHC-Ligand sollte über eine 1,3-dipolare Cycloaddition synthetisiert werden. Der Mechanismus dieser Reaktion wurde 1963 von dem deutschen Chemiker Rolf Huisgen aufgeklärt und wird daher auch als Huisgen-Reaktion bezeichnet.^[55] Dabei reagiert ein 1,3-Dipol, wie beispielsweise ein Azid, mit einem Mehrfachbindungssystem, dem Dipolarophil, unter Ausbildung eines 5-Rings. Die Reaktion verläuft dabei nicht regioselektiv. So entstehen beispielsweise bei der Reaktion von organischen Aziden mit terminalen Alkinen sowohl 1,4- als auch 1,5-substituierte Triazole (Abbildung 29).

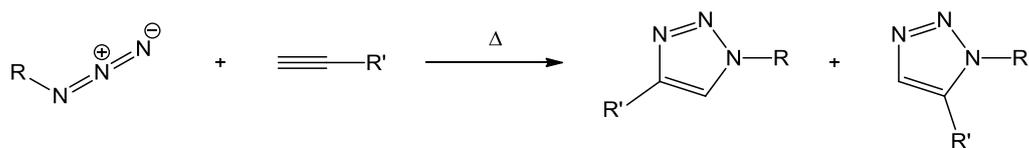


Abbildung 29: Huisgen-Reaktion

Wird die Reaktion hingegen Cu(I)-katalysiert durchgeführt, wird ausschließlich das 1,4-substituierte Triazol gebildet. Diese katalysierte Variante wird auch als CuAAC (copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition) bezeichnet und stellt einen prominenten Vertreter der „Click“-Chemie dar. Das Konzept der „Click“-Chemie wurde 2001 von Sharpless begründet und beschreibt die schnelle und zielgerichtete Synthese von Molekülen, die möglichst selektiv und möglichst ohne Nebenprodukte hergestellt werden sollen.^[56] Neben der CuAAC werden auch Diels-Alder-Reaktionen, Aldol-Reaktionen sowie nucleophile Substitutionen oder Additionsreaktionen zur „Click“-Chemie gezählt.

Im Arbeitskreis lagen bereits propargylierte Imidazoliumsalze vor. Um diese in einer „Click“-Reaktion mit dem Chinolingerüst umsetzen zu können musste zunächst eine Azid-Gruppe in die Seitenkette der 4-Aminochinoline eingeführt werden. Hierfür wurde das Diazotransferreagenz Imidazol-1-sulfonylazid Hydrochlorid verwendet.^[57] Dieses reagiert mit den primären Aminen **1** – **3** unter Cu(II)-Katalyse zu den entsprechenden Aziden (Abbildung 30).

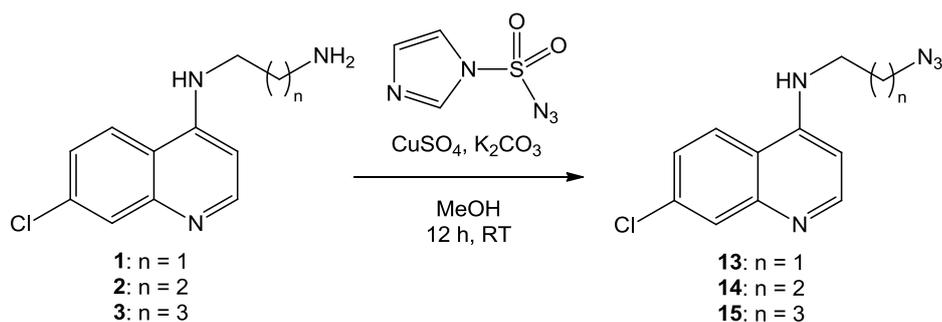


Abbildung 30: Synthese der Chinolin-Azide

Die Chinolin-Azide **13** – **15** konnten in sehr guten Ausbeuten von etwa 90 % erhalten werden. Die NMR-Spektren unterscheiden sich kaum von denen der entsprechenden Edukte. Lediglich das Signal für die terminale NH₂-Gruppe der Seitenkette ist ¹H-NMR-Spektrum nicht mehr zu finden. Der Erfolg der Synthese lässt sich eindeutig anhand der IR-Spektren belegen. Bei allen drei Verbindungen lässt sich im IR-Spektrum eine intensive Bande bei etwa 2100 Wellenzahlen für die Azid-Valenzschwingung erkennen (Tabelle 4).

Tabelle 4: Azidbanden der Verbindungen 13 – 15

Verbindung	ν (N ₃ -Valenzschwingung) [cm ⁻¹]
13	2130
14	2092
15	2088

Die hergestellte Verbindung **13** wurde in einem weiteren Schritt mit den im Arbeitskreis vorliegenden propargylierten Imidazoliumsalzen in einer CuAAC umgesetzt (Abbildung 31).

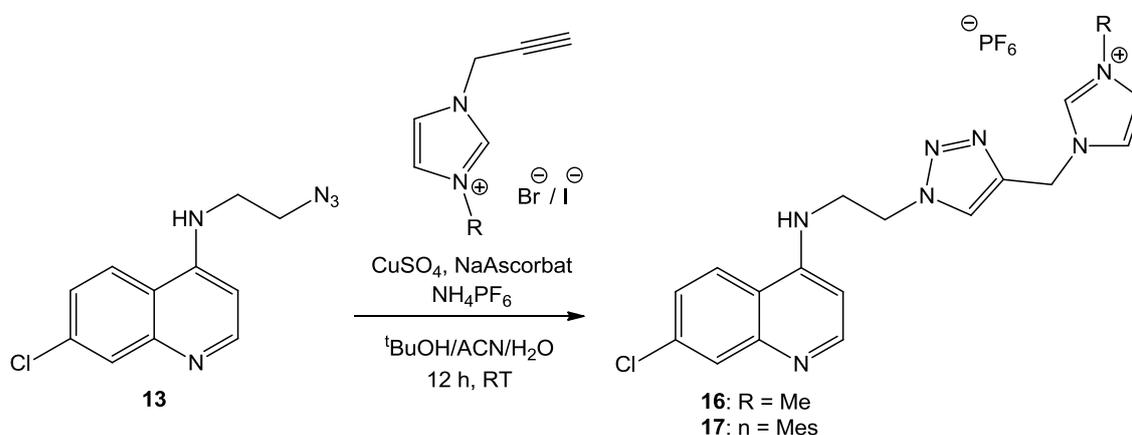


Abbildung 31: Synthese der Imidazoliumsalze 16 und 17

Die propargylierten Imidazoliumsalze wurden dabei als Bromide oder Iodide eingesetzt. Somit sollten auch die Produkte als Bromid- bzw. Iodidsalze isoliert werden. Dies war jedoch nicht möglich, da die Produkte bei der wässrigen Aufarbeitung nicht in die organische Phase übergangen, sondern in der wässrigen Phase verblieben. Daher wurde der wässrigen Phase Kaliumhexafluorophosphat zugesetzt, so dass die Produkte als PF_6 -Salz ausgefällt werden konnten. Dass die beiden Produkte tatsächlich als PF_6 -Salze erhalten wurden, lässt sich an den ^{31}P -NMR-Spektren der Verbindungen erkennen, die beide bei -144.2 ppm ein Septett für das Hexafluorophosphat-Anion aufweisen. Weiterhin kann in den IR-Spektren der Verbindungen keine Bande mehr bei ca. 2000 Wellenzahlen für das Azid gefunden werden, was für einen vollständigen Umsatz spricht. Zudem lässt sich bei 8.21 bzw. 8.31 ppm ein Signal für die CH-Gruppe im Triazol-Ring erkennen.

Zuletzt sollte als Ligand noch ein Phosphan-Ligand synthetisiert werden. Hierfür wurde zunächst Propargyl(diphenyl)phosphan nach einer Vorschrift von Detz et al. hergestellt.^[58] Das propargylierte Phosphan wurde anschließend, wie zuvor die propargylierten Imidazoliumsalze, mit dem Chinolin-Azid **13** in einer CuAAC umgesetzt (Abbildung 32).

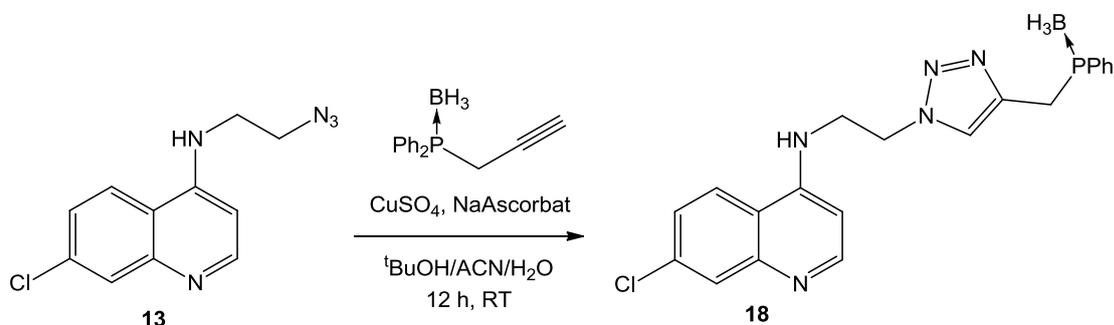


Abbildung 32: Synthese der Verbindung 18

Auch hier konnte die Umsetzung an Hand der IR-Spektren verfolgt werden. Im Spektrum des Produkts war wieder keine Azidbande mehr zu erkennen gewesen. Im ^{31}P -NMR-Spektrum konnte ein Signal bei 16.3 ppm zu beobachten. Dieses ist im Vergleich zum Edukt, das ein Signal bei 18.6 ppm aufweist, leicht verschoben. Dabei ist das Signal zu einem Dublett aufgespalten, durch die Kopplung zwischen Phosphor und Bor. Die Kopplungskonstante beträgt hierbei 54.6 Hz. Um die Verbindung **18** als Ligand verwenden zu können musste die Boran-Schutzgruppe zuerst abgespalten werden. Die Abspaltung der Schutzgruppe erfolgte mit 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octan (DABCO) bei 80 °C (Abbildung 33).

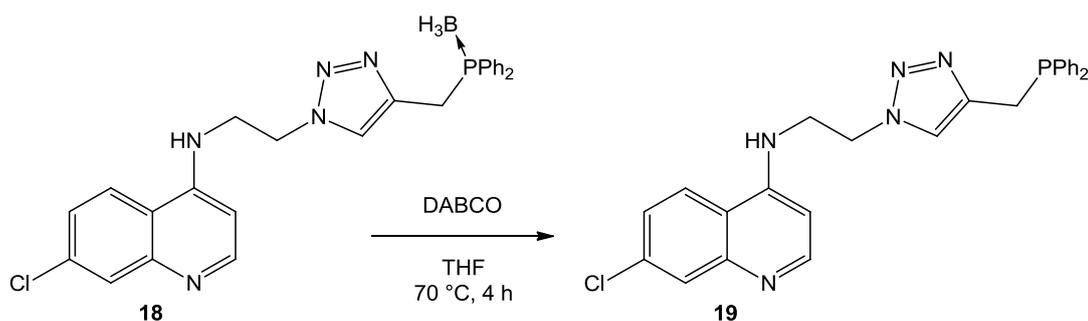


Abbildung 33: Synthese des Phosphan-Liganden 19

Dass die Schutzgruppe am Phosphan entfernt wurde, lässt sich am ^{31}P -NMR-Spektrum der Verbindung deutlich erkennen. Das Signal ist nun bei -15.1 ppm zu finden, deutlich verschoben im Vergleich zum Edukt. Zudem ist nun statt eines Dubletts ein scharfes Singulett zu erkennen, da keine Kopplung mehr zum Bor vorhanden ist. Um das DABCO nach der Reaktion aus dem Reaktionsgemisch abzutrennen, wurde über Kieselgel filtriert. Hierbei musste Ethylacetat als Laufmittel verwendet werden. Das Produkt lief mit Ethylacetat als mobile Phase zwar nur sehr langsam, allerdings erfolgte mit anderen Lösemitteln wie zum Beispiel DCM keine Trennung. Die entsprechenden Phosphan-Liganden sollten auch mit der C3- und C4-Kette hergestellt werden. Allerdings konnte das DABCO im Falle der Produkte mit längeren Seitenketten nicht mehr abgetrennt werden, da in diesen Fällen die Produkte nicht mehr von der Säule eluierten.

2.3.2. Synthese der Komplexe

In einem weiteren Schritt sollten die synthetisierten Liganden an Metalle koordiniert werden. Hierfür sollten zunächst mit dem Alkin **6** Alkynylkomplexe hergestellt werden. Dazu wurde das terminale Alkin zunächst mit Natriummethanolat deprotoniert, so dass im Anschluss eine Ligandenaustauschreaktion mit einem Gold-Chlorido-Komplex stattfinden konnte. Zunächst wurde die Reaktion mit NHC-Goldchloriden durchgeführt (Abbildung 34).

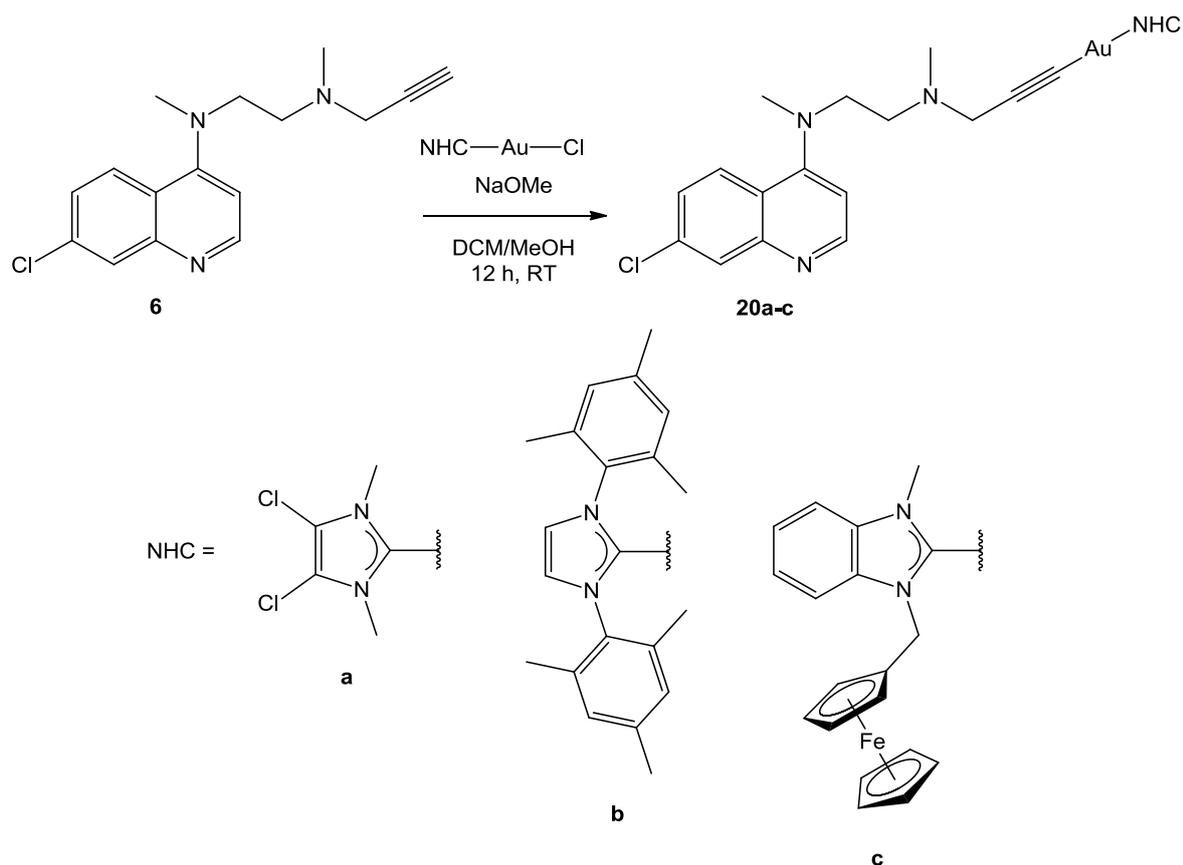


Abbildung 34: Synthese der NHC-Goldalkynylkomplexe

In den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Verbindungen **20a** – **c** sind sowohl die Signale des Alkynylliganden, als auch die Signale der NHC-Liganden zu erkennen. Um sicherzustellen, dass eine Ligandenaustauschreaktion stattgefunden hat und nicht nur ein Gemisch der Edukte vorliegt, können die Signale des Carben-Kohlenstoffatoms der NHC-Liganden in den $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektren betrachtet werden. Diese verschieben sich deutlich wenn der Chlorid-Ligand des Edukts gegen den Alkynyl-Liganden ausgetauscht wird (Tabelle 5).

Tabelle 5: ausgewählte $^{13}\text{C-NMR}$ -Signale der NHC-Gold-Alkynyl-Komplexe

$^{13}\text{C-NMR}$ (Carben-C)	a	b	c
$\delta(\text{NHC-Au-Cl})$ [ppm]	172.0	173.5	178.3
$\delta(\text{NHC-Au-Alkynyl})$ [ppm]	188.0	189.5	194.1

In der Tabelle ist zu erkennen, dass die $^{13}\text{C-NMR}$ -Signale der Carben-Kohlenstoffatome durch den Ligandenaustausch in allen drei Fällen deutlich ins tiefere Feld verschoben werden, verglichen mit den entsprechenden Signalen der Edukte. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die gewünschten Produkte

gebildet worden sind. Die oben beschriebene Reaktion wurde ebenfalls mit Phosphan-Goldchloriden durchgeführt (Abbildung 35).

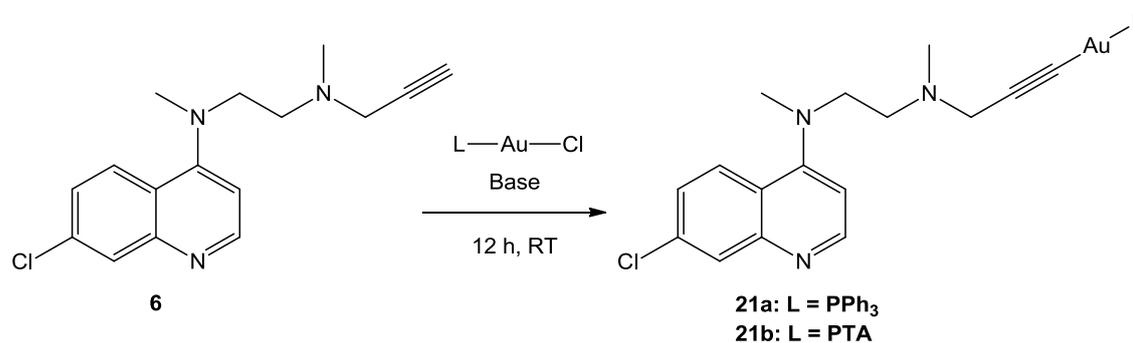


Abbildung 35: Synthese der Phosphan-Gold-Alkinyne

Im Falle von Komplex **21a** mit PPh₃ als Liganden konnten die gleichen Bedingungen verwendet werden, wie bei der Synthese der NHC-Gold-Alkinyne. Die Reaktion wurde mit Natriummethanolat als Base in einem 1:1 Gemisch aus DCM und Methanol durchgeführt. Im Falle des Komplexes **21b** mit dem PTA-Liganden konnte unter dieser Bedingung kein Umsatz beobachtet werden. Der Grund hierfür ist vermutlich die schlechte Löslichkeit des PTA-Goldchlorids. Da der Komplex so gut wie unlöslich in den gängigen Lösemitteln ist, konnte hier kein Umsatz erzielt werden. Da bereits einige Phosphan-Gold-Azide mit Natriumhexamethyldisilazid (NaHMDS) als Base in THF hergestellt werden konnten,^[59] wurde die Reaktion erneut unter diesen Bedingungen durchgeführt. Hierbei konnte das gewünschte Produkt erhalten werden. Auch hier sind in den NMR-Spektren wieder die Signale beider Liganden zu erkennen. Um sicherzustellen, dass auch hier eine Ligandenaustauschreaktion stattgefunden hat, können die ³¹P-NMR-Spektren der Verbindungen betrachtet werden. Diese zeigen jeweils ein Signal, das im Vergleich zu der Phosphan-haltigen Ausgangsverbindung deutlich verschoben wurde (Tabelle 6).

Tabelle 6: ³¹P-NMR-Signale der Komplexe 21a und 21b im Vergleich zu den Edukten

³¹ P-NMR	21a	21b
δ(Phosphan-Au-Cl) [ppm]	33.2	-52.2
δ(Phosphan-Au-Alkynyl) [ppm]	42.2	-49.8

Auch hier lässt sich wieder eine deutliche Verschiebung der Signale beobachten, wenn man Produkte und Edukte vergleicht. Daher kann auch hier davon ausgegangen werden, dass die gewünschten Produkte gebildet worden sind.

Zudem lässt sich mit dem Alkin **6** und einem Metall-Azid ein Metallkomplex durch eine Click-Reaktion darstellen. Diese 1,3-dipolare Cycloaddition zwischen einem organischen Alkin und einem anorganischen Azid wurde von Schatzschneider und Mitarbeitern auch als „iClick“-Reaktion (inorganic Click reaction) bezeichnet.^[60] Da sich unsere Arbeitsgruppe intensiv mit NHC-Gold-Aziden beschäftigt, war es naheliegend den Liganden **6** mit einem mit einem solchen Komplex umzusetzen. Allerdings konnten wir bereits in vorherigen Arbeiten zeigen, dass die NHC-Goldazide lediglich mit Isothiocyanaten in einer 1,3-dipolaren Cycloaddition reagieren.^[61] Dagegen sind in der Literatur mehrere Beispiele für Click-Reaktionen zwischen Phosphan-Gold-Aziden und Alkinen bekannt.^[62] Diese unterschiedliche Reaktivität der NHC- und Phosphan-Gold-Azide scheint zunächst sehr ungewöhnlich, da die NHC- und Phosphan-Liganden isoelektronisch sind und sich daher auch in ihrer Reaktivität nicht großartig unterscheiden sollten. Evangelio et al. fanden 2012 heraus, dass ein Metall-Azid Click-Reaktionen eingehen kann, wenn die Metall-Azid-Bindung möglichst lang ist und die beiden N-N-Bindungen im Azid eine möglichst ähnliche Länge besitzen.^[63] Im Folgenden sollen die kristallographischen Daten von PPh₃-Gold-Azid mit zwei unterschiedlichen NHC-Gold-Aziden verglichen werden (Tabelle 7). Die NHC-Goldazide tragen dabei das 1,3-diisopropylimidazol-2-yliden (IⁱPr) und das 4,5-dichloro-1,3-dimethylimidazol-2-yliden (CⁱMe) als Liganden.

Tabelle 7: Kristallographische Daten ausgewählter Gold-Azide

Verbindung	d (Au-N ¹) [Å]	d(N ¹ -N ²) [Å]	d (N ² -N ³) [Å]	Differenz [Å]
PPh ₃ -Au-N ₃	2.052	1.181	1.167	0.014
C ⁱ Me-Au-N ₃	2.020	1.178	1.157	0.021
I ⁱ Pr-Au-N ₃	2.032	1.198	1.144	0.054

Das Triphenylphosphin-Gold-Azid hat im Vergleich zu den beiden NHC-Gold-Aziden die längste Metall-Azid-Bindung. Dagegen ist der Unterschied zwischen den beiden N-N-Bindungen des Azids hier an kleinsten. Dies macht deutlich, dass sich das PPh₃-Gold-Azid am besten für eine Click-Reaktion eignet und daher auch

für die Reaktion mit dem Alkin **6** verwendet werden sollte. Dabei lässt sich das Triphenylphosphin-Gold-Azid nicht einfach, wie die NHC-Gold-Azide, aus dem entsprechenden Goldchlorid mit TMS-Azid darstellen. Stattdessen muss ausgehend vom $\text{PPh}_3\text{-Au-Cl}$ mit Silbernitrat zunächst das $\text{PPh}_3\text{-Goldnitrat}$ hergestellt werden.^[64] Dieses kann dann mit Natriumazid zum $\text{PPh}_3\text{-Au-N}_3$ weiter reagieren.^[65] Das hergestellte $\text{PPh}_3\text{-Au-N}_3$ konnte dann mit dem Alkin **6** umgesetzt werden (Abbildung 36).

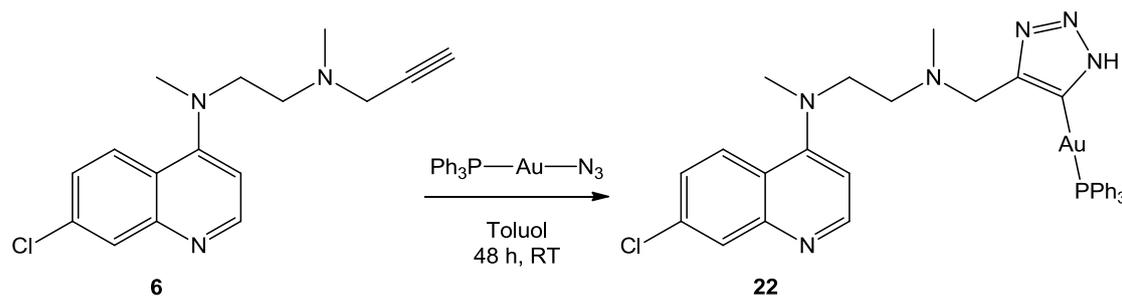


Abbildung 36: Synthese des Komplexes 22

Bei der „iClick“-Reaktion ist dabei keine Cu(I) -Katalyse notwendig, da das am Azid gebundene Metall hier für die Regioselektivität sorgt. Weiterhin ist der Triazolring im Produkt nicht über ein Stickstoffatom an das Metall gebunden, sondern es kommt zu einer Umlagerung, sodass das Triazol C-gebunden ist. Dies kommt durch die Anlagerung des Dipolarophils an das Goldatom zustande. Anschließend bildet sich ein dreigliedriger Heterozyklus als Übergangszustand aus (Abbildung 37).^[66]

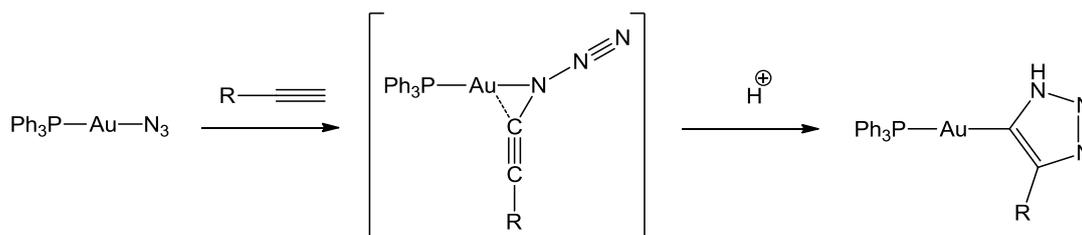


Abbildung 37: Übergangszustand bei der „iClick“-Reaktion

Bei der Ausbildung des Triazols kommt es dann zu einem 1,5-Shift der Metallbindung. Dass das Produkt tatsächlich C-gebunden ist, lässt sich im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum an einem breiten Signal für die NH-Gruppe im Triazol erkennen, das sehr stark ins tiefe Feld verschoben ist und bei 14.15 ppm zu finden ist. Die starke Verbreiterung des Signals kommt durch die auftretende 1,3-Tautomerie der NH-Einheit zustande. Weiterhin ist im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum der Verbindung ein ebenfalls stark tieffeldverschobenes Signal für das C-Atom im Triazol, das an das Goldatom

gebunden ist, bei 161.4 ppm vorhanden. Dieses quarternäre Kohlenstoffatom weißt eine so geringe Intensität auf, dass es nur mit Hilfe eines HMBC-Spektrums identifiziert werden konnte. Weiterhin weißt die Verbindung im ^{31}P -NMR-Spektrum ein Signal bei 43.4 ppm auf, das deutlich zu dem Signal des Edukts, das bei einer chemischen Verschiebung von 31.0 ppm liegt, verschoben ist. Weiterhin ist die intensive Azid-Bande des PPh_3 -Goldazids bei 2047 Wellenzahlen im IR-Spektrum des Produkts nicht mehr zu finden.

Als nächstes sollten die hergestellten Imidazoliumsalze **11** und **12** über die so genannte Silberoxid-Route in die entsprechenden Gold-Carbenkomplexe überführt werden (Abbildung 38).

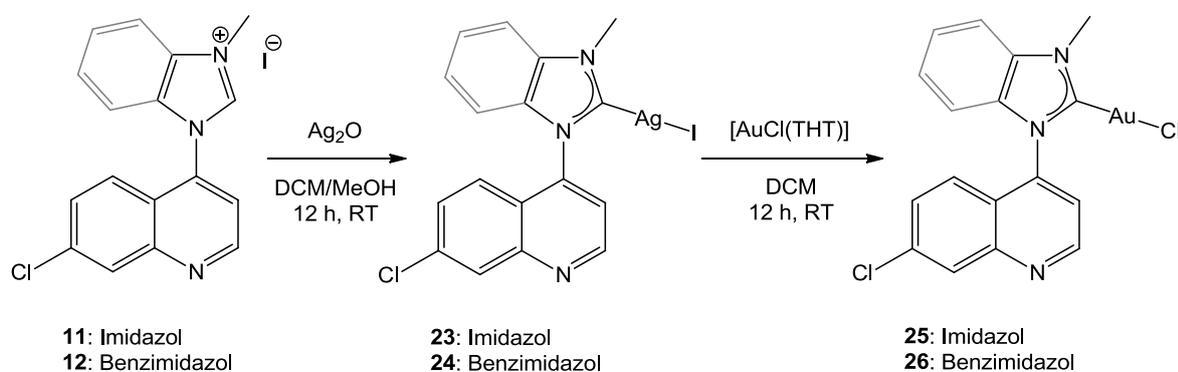


Abbildung 38: Synthese der Carben-Komplexe 23 -26

Bei der Silberoxid-Route wird zunächst das Imidazoliumsalz am Carben-Kohlenstoffatom deprotoniert. Dabei entsteht *in situ* das freie Carben, das dann sofort mit den Silber(I)-Ionen in der Lösung zum Silbercarben weiter reagiert. Hierbei dient das Silberoxid nicht nur als Silberquelle sondern auch als Base. Die Silbercarbene fielen als beige Feststoffe aus den Reaktionsgemischen aus und konnten durch Filtration abgetrennt werden. Da beide Verbindungen so gut wie unlöslich in den gängigen Lösemitteln waren, wurden die Silbercarbene ohne weitere Charakterisierung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt. Silbercarbene eignen sich besonders gut für Transmetallierungsreaktionen. Hierbei wird der jeweilige Ligand vom Silber auf ein anderes Metall übertragen. Bei der hier durchgeführten Transmetallierung wurden die Silbercarbene **23** und **24** mit Goldchlorid umgesetzt. Während der Reaktion gingen die unlöslichen Silbercarbene langsam in Lösung, da die gebildeten Goldcarbene **25** und **26** wesentlich besser in Dichlormethan löslich sind. Das als Nebenprodukt anfallende unlösliche Silberiodid könnte nach der Reaktion einfach abgetrennt werden. Dass

sich die gewünschten Produkte gebildet haben, lässt sich in den NMR-Spektren erkennen. In den ^1H -NMR-Spektren der beiden Produkte ist jeweils das Signal für die CH-Gruppe im Imidazolring zwischen den beiden Stickstoffatomen bei 9.75 bzw. 10.21 ppm verschwunden. Dass dieses charakteristische, stark tieffeldverschobene Signal in den Spektren der Produkte nicht mehr auftaucht, zeigt, dass die Imidazoliumsalze deprotoniert worden sind. Zusätzlich lässt sich in den ^{13}C -NMR-Spektren ein charakteristisches Signal für das Carben-Kohlenstoffatom erkennen. Dieses liegt bei 173.1 bzw. 179.8 ppm stark ins Tieffeld verschoben, da es durch seine Lage im aromatischen Heterocyclus zwischen zwei elektronegativen Stickstoffatomen und durch die Koordination an das Goldatom stark entschirmt ist. Allerdings sind in den NMR-Spektren der Verbindung **26** noch weitere Signale vorhanden, die nicht zum Produkt gehören. Vermutlich stammen diese Signale von Zersetzungsprodukten, da sich die Verbindung in Lösung als sehr instabil erwies. Dies wurde durch eine violette Färbung der Lösung sichtbar, die durch die Bildung von kolloidalem Gold hervorgerufen wurde. Damit scheint der Benzimidazol-Ligand das Gold(I) wesentlich schlechter zu stabilisieren, als der entsprechende Imidazol-Ligand. Auch Versuche den Komplex mit Hilfe von Säulenchromatographie aufzureinigen scheiterten, da sich das Produkt hierbei noch schneller zersetzte. Daher konnten nicht alle Signale der Verbindung zugeordnet werden, da sie von anderen Signalen überlagert wurden. Von dem Komplex **25** konnten Einkristalle erhalten werden, die für eine Röntgenstrukturanalyse geeignet waren. Einige ausgewählte Bindungslängen und Bindungswinkel der Verbindung sind in Tabelle 8 dargestellt:

Tabelle 8: Ausgewählte Bindungslängen und Winkel in Komplex 25

Ausgewählte Bindungslängen:

Au-C	1.980(8) Å
Au-Cl	2.291(2) Å
Ausgewählte Winkel:	
C-Au-Cl	178.0(2)°

Wie der Tabelle zu entnehmen ist, ist das Gold(I) nahezu linear von den beiden Liganden koordiniert mit einem C-Au-Cl-Winkel von 178°. In vergleichbaren NHC-Goldchloriden konnten ähnliche Bindungswinkel zwischen 177° und 180° am Goldatom beobachtet werden.^[67,68] Auch die Bindungsabstände am Gold liegen

in den gleichen Größenordnungen, wie bei den vergleichbaren Komplexen. Hier konnten Gold-Kohlenstoff-Bindungslängen zwischen 1.96 und 1.99 Å und Gold-Chlor-Bindungslängen zwischen 2.28 und 2.29 Å beobachtet werden. In Abbildung 39 ist die Molekülstruktur der Verbindung dargestellt:

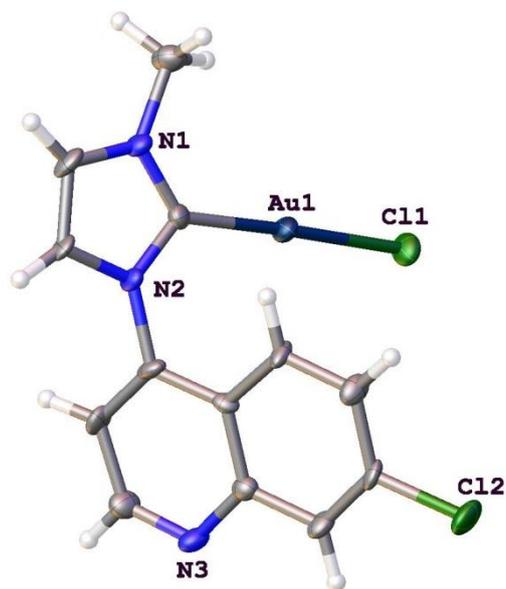


Abbildung 39: Molekülstruktur der Verbindung 25. Thermische Ellipsoide sind mit einer Wahrscheinlichkeit von 50 % gezeigt.

Über die oben beschriebene Synthese-Route sollten auch die Carbenkomplexe mit den Liganden **16** und **17** hergestellt werden. Da die beiden Imidazoliumsalze als PF_6 -Salze vorlagen, sollten hier die Bis-Carbenkomplexe erhalten werden (Abbildung 40).

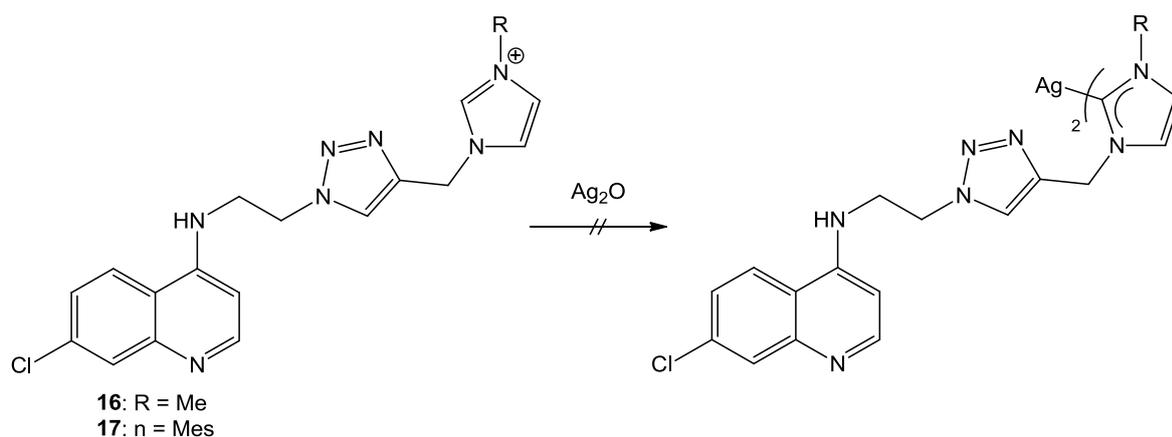


Abbildung 40: Umsetzung der Verbindungen 16 und 17

Allerdings konnte hierbei keine Umsetzung der Imidazoliumsalze beobachtet werden, da nach der Reaktion das Signal des Protons am Carben-Kohlenstoffatom bei 9.07 bzw. 9.45 ppm noch vorhanden war, so dass keine

Deprotonierung stattgefunden haben kann. Auch die Verwendung von Natriumhydroxid als stärkere Base und Silberchlorid als Silberquelle^[69] führte nicht zu den gewünschten Produkten. Dies liegt vermutlich daran, dass die gebildeten Silbercarbene sehr instabil sind. Warsink et al. haben bereits ähnliche Triazolyl-Imidazoliumsalze synthetisiert und konnten die entsprechenden Silbercarbene ebenfalls nicht isolieren.^[70] Daher sollte eine alternative Syntheseroute verwendet werden. Hierbei wurde zunächst das 1-Methyl-3-propargylimidazoliumbromid mit $[\text{AuCl}(\text{tht})]$ und $\text{NBu}_4(\text{acac})$ zum entsprechenden Gold-Carbenkomplex umgesetzt.^[71] Der Propargyl-funktionalisierte Goldkomplex wurde dann anschließend mit dem Chinolin-Azid **13** in einer CuAAC umgesetzt (Abbildung 41).

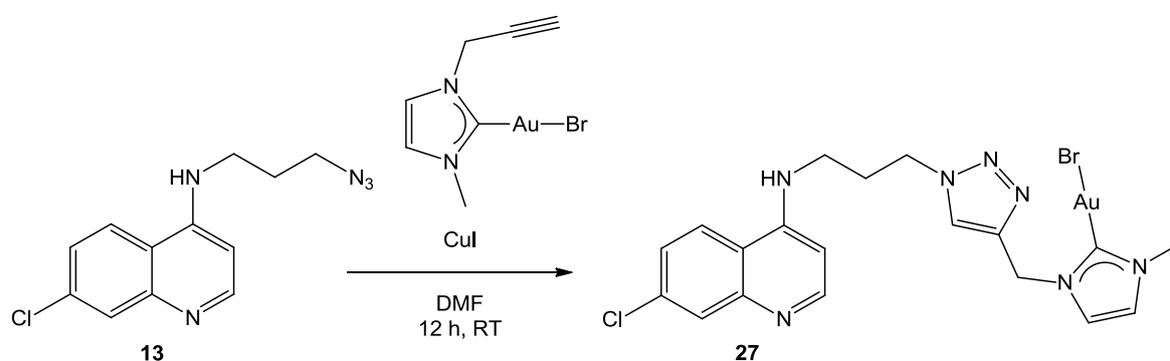


Abbildung 41: Synthese des Komplexes 27

Da Gold(I)-Verbindungen leicht reduziert werden können, konnte in diesem Fall kein Gemisch aus Kupfer(II)sulfat und Natriumascorbat als Katalysator verwendet werden. Dabei wird die katalytisch aktive Cu(I)-Spezies durch das Ascorbat in situ gebildet. Da das Ascorbat auch in der Lage ist das Gold(I) zu Gold(0) zu reduzieren wurde stattdessen Kupfer(I)iodid als Katalysator verwendet. Da Kupfer in der Oxidationstufe +1 jedoch zur Autooxidation neigt, musste hier eine entsprechend größere Menge des Kupfersalzes verwendet werden, da davon auszugehen ist, dass ein Teil des Kupfers während der Reaktion oxidiert wird. Das Produkt fiel im Verlauf der Reaktion aus der DMF-Lösung aus und konnte durch Filtration isoliert werden. Da das Produkt vollständig unlöslich war, konnten keine NMR-Spektren der Verbindung aufgenommen werden. So konnte das Produkt lediglich mittels IR-Spektroskopie und Elementaranalyse charakterisiert werden. Im IR-Spektrum war die Azid-Bande des Azids **13** nicht mehr zu erkennen, was für eine Umsetzung spricht. Auch die Ergebnisse der Elementaranalyse stimmen mit den berechneten Werten größten Teils überein. Die vorhandenen, leichten Abweichungen können dabei von Resten des ebenfalls schwer löslichen

Kupfer(I)iodids stammen. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Synthese erfolgreich war. Da die Verbindung jedoch gänzlich unlöslich war, wurde die entsprechenden Verbindungen nicht mit der C2- und C4-Kette nicht mehr hergestellt, da eine gewisse Löslichkeit für die anschließend durchgeführten biologischen Tests notwendig ist.

Nun sollte auch der hergestellte Phosphan-Ligand **19** koordiniert werden. Hierfür wurde der Ligand mit Metallkomplexen umgesetzt, die leicht austauschbare Liganden enthielten. Zunächst wurde der Ligand mit $[\text{AuCl}(\text{tth})]$ umgesetzt um das entsprechende Phosphan-Goldchlorid zu erhalten (Abbildung 28).

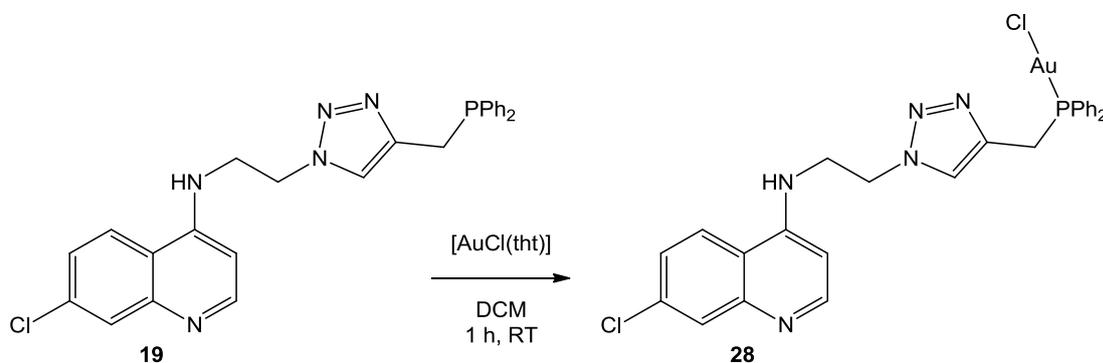


Abbildung 42: Synthese des Komplexes 28

Durch die Koordination des Metalls am Phosphan ändern sich die Signale in den ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren kaum. Dennoch wird der Erfolg der Synthese im ^{31}P -NMR-Spektrum ersichtlich. Hier ist ein Signal bei einer chemischen Verschiebung von 32.6 ppm zu erkennen. Diese Verschiebung unterscheidet sich stark von der des freien Phosphan-Liganden **19**, der im ^{31}P -NMR-Spektrum eine chemische Verschiebung von -15.1 ppm aufweist. Mit dem Phosphan-Liganden **19** wurde ebenfalls der entsprechende Platin-Komplex hergestellt. Hierfür wurde der freie Ligand mit $[\text{PtCl}_2(\text{COD})]$ umgesetzt (Abbildung 43).

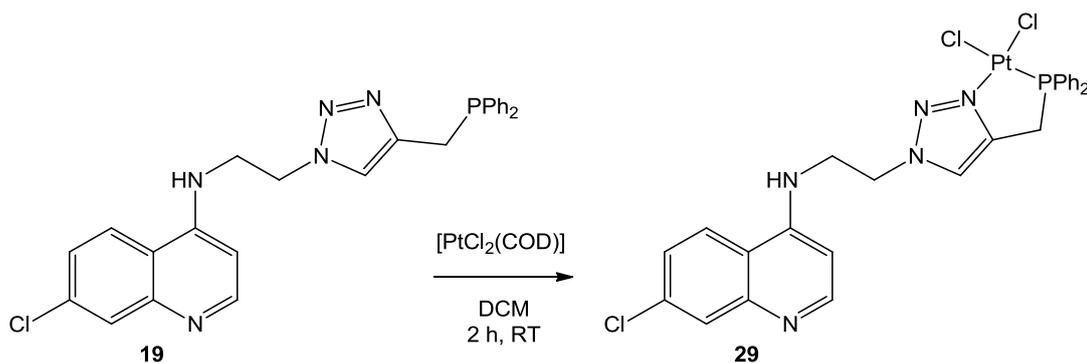


Abbildung 43: Synthese des Komplexes 29

Im Gegensatz zu der Verbindung **28** ist das Metall hier zweifach koordiniert. Da Platin in der Oxidationsstufe +2 eine Koordinationszahl von vier ausweist, kann es neben den beiden Chloridliganden und dem Phosphanliganden noch von einem weiteren Liganden koordiniert werden. Da das Stickstoffatom in Position drei des Triazolrings über ein freies Elektronenpaar verfügt kann es an die freie Koordinationsstelle des Platins koordinieren. Somit koordiniert der Ligand **29** hier als zweizähniger Chelatligand. Auch hier lässt sich der Erfolg der Synthese wieder nur über das ^{31}P -NMR-Spektrum der Verbindung beurteilen. Hier ist ein Signal bei 26.9 ppm zu beobachten, das sich wieder stark von dem Signal des freien Liganden unterscheidet, wodurch davon ausgegangen werden kann, dass eine Koordination stattgefunden hat. Leider konnten im Spektrum die Platinsatelliten für die Kopplung von Phosphor zu Platin nicht beobachtet werden, da die Intensität der Signale zu gering war. Die chemischen Verschiebungen im ^{31}P -NMR-Spektrum der Komplexe **28** und **29**, sowie die des freien Liganden sind noch einmal in Tabelle 9 zusammengefasst.

Tabelle 9: ^{31}P -NMR-Signale der Verbindungen 19, 28 und 29

Verbindung	δ (^{31}P -NMR) [ppm]
19	-15.1
28	32.6
29	26.9

2.3.3. Hämoxoin-Inhibitions-Assay

Um die Wirksamkeit der hergestellten Komplexe gegen Malaria einschätzen zu können, sollten die Verbindungen zunächst auf ihre Fähigkeit die Hämozoin-Bildung zu inhibieren untersucht werden. Hierfür stehen verschiedene Testassays zur Verfügung. Allerdings haben die meisten von ihnen Nachteile. So besteht die Möglichkeit die Bildung von Hämozoin mittels Infrarotspektroskopie zu detektieren.^[72] Allerdings ist bei diesem Assay keine Quantifizierung möglich. Monti et al. beschrieben ein Test-Assay, das auf die unterschiedliche Löslichkeit von Hämatin und Hämozoin beruht.^[73] Dieses Assay erwies sich jedoch als nicht praktikabel, da mehrere Zentrifugations- und Transferschritte nötig sind. Ein weiteres Hochdurchsatz-Screening (High-Throughput-Screening, HTS), das bei der Firma Roche verwendet wird, arbeitet mit teurem ³H-angereichertem Hämatin.^[74] Neben dem hohen Kostenfaktor für das isotoopenmarkierte Hämatin wird hierfür zusätzlich eine spezielle Ausrüstung benötigt. Außerdem unterliegt das Arbeiten mit radioaktiven Isotopen strengen Auflagen.

Ein sehr einfaches und kostengünstiges Test-Assay wurde dagegen von Egan et al. beschrieben.^[75] Dabei wird nicht kristallisiertes Hämatin mittels der sogenannten Pyridin-Ferrihemochrom-Methode quantitativ detektiert. Hierbei wird zunächst durch Zugabe von 12.9 M Acetat-Puffer zu einer wässrigen Hämatin-Lösung die Bildung von Hämozoin katalysiert.^[76] In Anwesenheit eines Inhibitors kann die Kristallisation nicht vollständig ablaufen und es verbleibt freies Hämatin in Lösung. Dieses kann nach einstündiger Inkubation bei 60 °C mittels Pyridin sichtbar gemacht werden, da Pyridin als axialer Ligand an das Hämatin koordinieren kann und so einen intensiv rot gefärbten Komplex bildet. Dieser stark gefärbte Komplex kann anschließend mittels UV/VIS-Spektroskopie bei 405 nm quantifiziert werden. Dabei fanden die Autoren heraus, dass sowohl pures Pyridin, sowie basische Pyridin-Lösungen in wässrigem Medium in der Lage sind das kristalline Hämoxoin zu zersetzen und ebenfalls den rot gefärbten Pyridin-Hämatin-Komplex zu bilden. Daher sollten in dem Assay nur wässrige Lösungen eingesetzt werden die maximal 5 – 10 % Pyridin enthalten und bei einem neutralen bis schwach basischen pH-Wert (7.5) gepuffert sind.

Zunächst sollte versucht werden dieses Test-Assay mit CQ als Positivprobe und DMSO als Blindprobe zu reproduzieren. Hierbei wurde nicht, wie bei den Beschriebenen HTS in Mikroplatten gearbeitet, sondern mit etwas größeren Volumina in 2-mL-Eppendorf-Röhrchen. Zum Bestimmen der Extinktion wurde der

Inhalt der Eppendorf-Röhrchen nach dem Assay in Küvetten überführt. Der Versuch dieses Test-Assay zu reproduzieren scheiterte. Dies lag vor allem an der sehr hohen Konzentration des Acetat-Puffers, der bei Raumtemperatur bereits auskristallisierte und vor der Verwendung in einem 50 °C warmen Wasserbad in Lösung gebracht werden musste. Aber auch nachdem der Puffer wieder vollständig gelöst war, gestaltete sich die Anwendung sehr schwierig, da der Puffer beim Pipettieren in der Pipettenspitze direkt wieder auskristallisierte. Um dieses Problem zu umgehen wurde in einem zweiten Versuch nach einer Vorschrift von Wirth et al. gearbeitet.^[77] Hier wurde ein 9.7 M Acetat-Puffer (pH 4.8) verwendet. Die niedrigere Acetat-Konzentration führte zu einer verlängerten Inkubationszeit von zwei Stunden allerdings ließ sich der verdünnte Puffer wesentlich besser handhaben. Jedoch traten auch bei diesem Assay Probleme auf. Nach beendeter Inkubationszeit konnte zwar in den Blindproben ein dunkler Feststoff erkannt werden, der auf eine Bildung von Hämозoin schließen lässt, jedoch löste sich diese bei Zugabe von gepufferter Pyridin-Lösung (pH 7.5) wieder vollständig auf. Es bildete sich auch dort der rote Pyridin-Hämätin-Komplex, sodass keinerlei unterschied zwischen der Blindprobe (DMSO) und der Positivprobe (CQ) zu erkennen war. Zunächst wurde vermutet, dass die Inkubationszeit zu kurz war, um eine vollständige Kristallisation zu gewährleisten. Aber auch eine Inkubation der Proben über Nacht lieferte keine besseren Ergebnisse. Um die beschriebenen Probleme in einem weiteren Versuch zu umgehen wurden die Proben nach erfolgter Inkubation zentrifugiert und aus dem Überstand wurde ein definiertes Volumen entnommen und in ein weiteres Eppendorf-Röhrchen überführt. Erst dann erfolgte die Zugabe der Pyridin-Lösung. Bei diesem Versuch konnte erstmals ein Farbunterschied zwischen Blind- und Positivprobe erkannt werden (Abbildung 44).

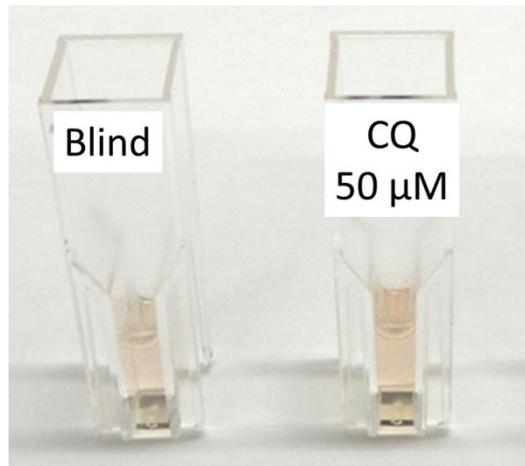


Abbildung 44: Erstes Testassay

Wie in der Abbildung zu erkennen ist, zeigt die Blindprobe auch hier eine leichte Rotfärbung. Dies ist darauf zurückzuführen dass sich das gebildete Hämozoin auch nach der Zentrifugation sehr leicht aufwirbeln lässt was ein Überführen der Überstands ohne Feststoffanteile erschwert. Diese Tatsache macht das Assay sehr fehleranfällig und schwer reproduzierbar.

In der Literatur werden unterschiedliche Möglichkeiten beschrieben wie der Parasit *in vivo* das Malaria Pigment bildet. Hierbei werden drei Möglichkeiten diskutiert:

1. Die Biokristallisation von Hämozoin erfolgt autokatalysiert. So konnten Studien zeigen, dass der Hämozoin-Kristall an der Oberfläche von prä-existenten Hämozoin-Partikeln wächst.^[78]
2. Die Bildung von Hämozoin wird durch Enzyme vermittelt, die in der NV des Parasiten vorkommen. Vor allem das Histidinreiche Protein II (histidine-rich protein II, HRP II) soll hierbei eine Rolle spielen.^[79]
3. Die Biokristallisation wird von Lipiden katalysiert. Dabei wächst der Hämozoin-Kristall an der Oberfläche von Membranlipiden oder nanosphärischen Lipidtröpfchen die im inneren der NV vorkommen.^[80]

In letzter Zeit haben sich die Hinweise immer mehr verdichtet, dass Lipide tatsächlich an der Bildung des Malaria-Pigments beteiligt sind. Daher entwickelten Wight und Mitarbeiter 2010 ein Test-Assay, bei dem die Bildung von Hämozoin an der Oberfläche von Lipiden imitiert wird.^[81] Dabei verwendeten sie verschiedene Detergenzien, um die Lipide in der NV nachzuahmen.

In einem weiteren Versuch wurde überprüft ob dieses Test-Assay bessere Ergebnisse liefert als die zuvor durchgeführten. Hierbei wurde nach einer Vorschrift von Sandlin et al. gearbeitet^[82], wobei Nonidet P-40 (NP-40) als Detergens verwendet wurde. Da NP-40 verhältnismäßig teuer ist und da es von einigen großen Chemikalien-Händlern aus dem Programm genommen wurde, wurde hier das strukturell sehr ähnliche Triton-X 100 verwendet. Es konnte allerdings gezeigt werden, dass in dem verwendeten Assay NP-40 wesentlich wirksamer ist als Triton-X 100.^[81] Um in dem hier durchgeführten Assay dennoch eine vollständige Kristallisation des Hämозoins zu gewährleisten musste die Inkubationszeit von 4 -6 h deutlich auf 12 h erhöht werden. Auch hier wurde wieder Acetat-Puffer verwendet, um die Kristallisation des Hämätins zu katalysieren. Allerdings war wegen der Verwendung des Detergens eine wesentlich geringere Konzentration (2 M, pH 4.9) ausreichend. Auch bei diesem Assay wurde das freie Hämätin anschließend mit der Pyridin-Ferrihemochrom-Methode bei 405 nm quantifiziert. Hierbei konnten wesentlich bessere Ergebnisse erzielt werden, als bei den vorherigen. Erste Versuche mit Blind- und Positivprobe sowie mit zwei synthetisierten Komplexen zeigten einen deutlichen Unterschied zwischen Blind- und Positivprobe ohne zusätzliches Zentrifugieren und Überführen des Überstands (Abbildung 45).

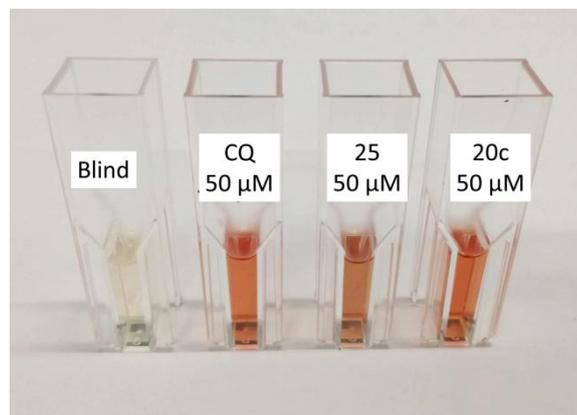


Abbildung 45: Detergenz-basiertes Testassay

Da sich dieses Assay am besten reproduzieren ließ, wurde es verwendet um die hergestellte Substanzbibliothek zu screenen. Hierfür wurde zunächst der IC_{50} -Wert für CQ mit dem Test-Assay bestimmt, wobei jeweils die Extinktion in einem Konzentrationsbereich von 0 bis 100 μ M gemessen wurde. Um einen möglichst genauen Wert zu erhalten wurde die Messung dreimal durchgeführt und der Mittelwert der Extinktionen gegen die Konzentration aufgetragen (Abbildung 46).

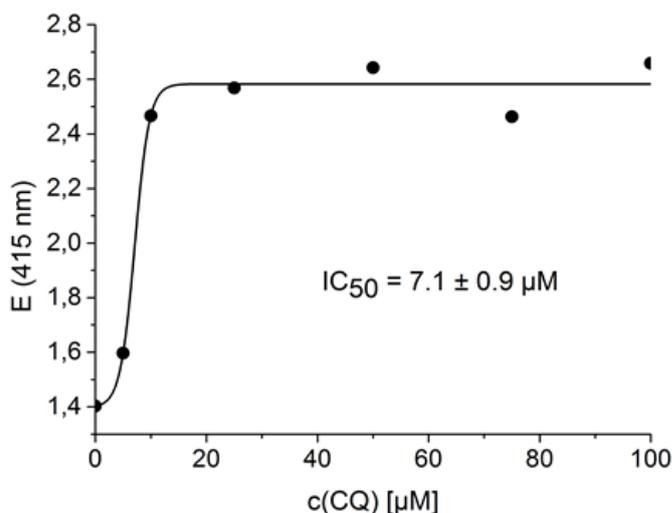


Abbildung 46: Dose-Response-Kurve von CQ

Es wurde für CQ ein IC₅₀-Wert von 7,1 µM erhalten. Dieser lässt sich zwar nicht mit Literaturwerten vergleichen, da ein anderes Detergens und eine längere Inkubationszeit verwendet wurden, jedoch wurde der IC₅₀-Wert im Arbeitskreis mehrmals von unterschiedlichen Personen bestimmt. Die erhaltenen Werte zeigten dabei eine gute Übereinstimmung, sodass festgehalten werden kann, dass das Test-Assay unter diesen Bedingungen reproduzierbare Ergebnisse liefert.

Nun sollten alle hergestellten Verbindungen auf ihre Wirksamkeit getestet werden. Hierfür wurde das Assay in einer 96-Well Mikroplatte durchgeführt, die im Anschluss mit Hilfe eines Mikroplatten-Photometers ausgelesen wurde. Da das verwendete Mikroplatten-Photometer nicht bei 405 nm, sondern nur bei 415 nm messen konnte, sollte zunächst untersucht werden ob der rote Pyridin-Hämatin-Komplex bei dieser Wellenlänge ausreichend stark absorbiert. Hierfür wurde das UV/VIS-Spektrum der Komplexes aufgenommen (Abbildung 47).

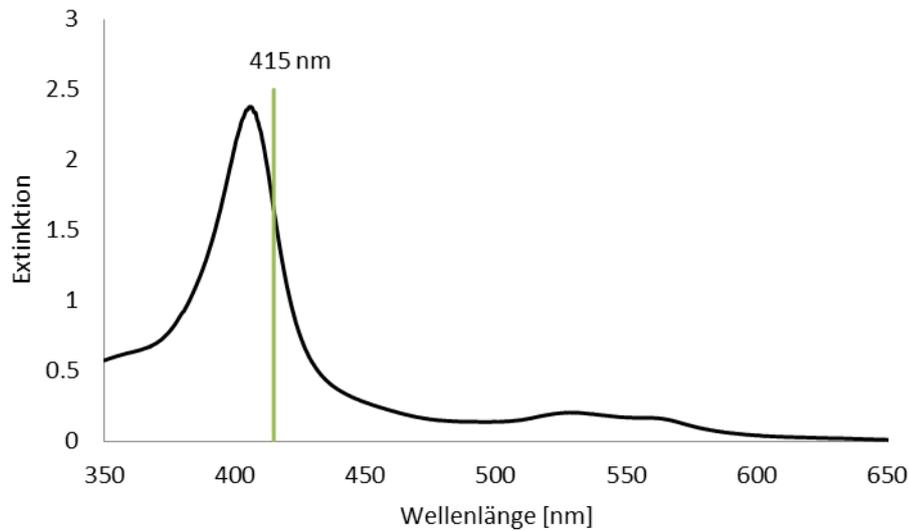


Abbildung 47: UV/VIS-Spektrum des Pyridin-Hämatin-Komplexes

Im Spektrum ist zu erkennen, dass der Komplex auch bei 415 nm ausreichend stark absorbiert (grüne Linie). Das Absorptionsmaximum liegt zwar bei einer etwas kürzeren Wellenlänge von 405 nm, allerdings kann der Komplex auch bei 415 nm noch quantifiziert werden.

Alle hergestellten Verbindungen wurden bei zwei verschiedenen Konzentrationen getestet. Bei 5 μM und bei 10 μM . Zwischen diesen beiden Konzentrationen liegt der IC_{50} -Wert von CQ so können bei 10 μM Substanzen identifiziert werden, die genauso wirksam sind wie CQ und bei 5 μM Verbindungen, die etwas wirksamer sind als CQ. Abbildung 48 zeigt die Mikroplatte nach Zugabe der Pyridinlösung. Dabei sind die rotgefärbten Vertiefungen „Hits“.

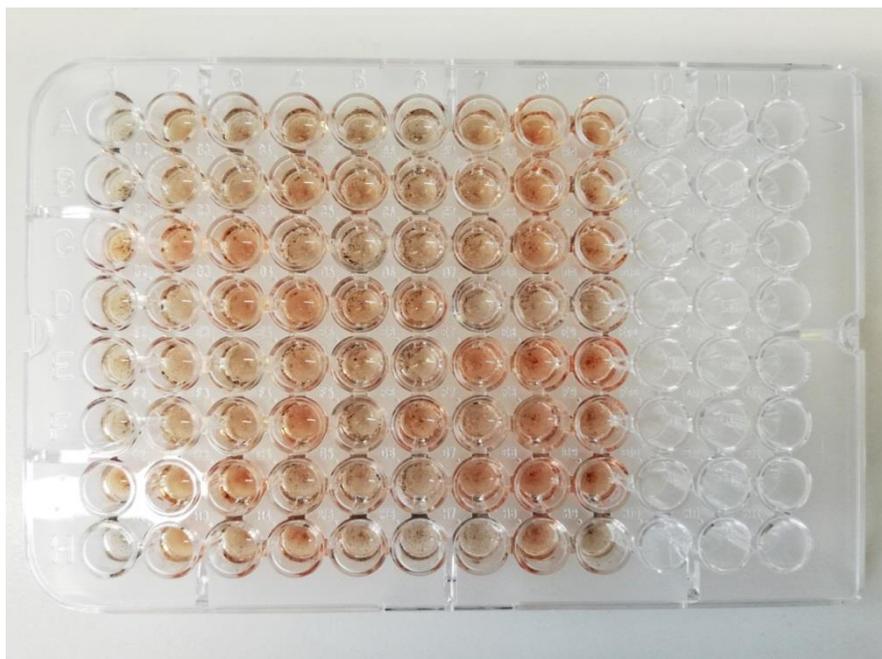


Abbildung 48: Mikroplatte mit Testassay

Das Testassay konnte zeigen, dass einige der hergestellten Komplexe mindestens so wirksam sind wie CQ. Als Hits werden Vertiefungen angesehen die mindestens eine Extinktion von 1.6 haben, da eine Extinktion von 1.6 genau in der Mitte zwischen dem Blindwert und der höchsten gemessenen Extinktion liegt. Die gemessenen Extinktionen sind in Tabelle 10 dargestellt:

Tabelle 10: Gemessene Extinktionen des Testassays

Verbindung	E (5 μM)	E (10 μM)
Blind		0.876
CQ	1.169	1.880
20a	0.812	1.666
20b	1.063	1.321
20c	1.736	1.943
21a	1.320	1.520
21b	0.884	1.218
22	1.176	1.479
25	0.890	2.169
26	1.240	1.444
28	1.077	2.286
29	1.648	1.978

An den Werten ist abzulesen, dass die Verbindungen **20a**, **20c**, **25**, **28** und **29** bei einer Konzentration von 10 μM die Hämозoinbildung inhibieren können. Die Verbindungen **20c** und **29** sind sogar bei einer Konzentration von 5 μM schon wirksam, womit sie eine höhere Aktivität zeigen als Chloroquin.

Da sich die Verbindung **20c** bei dem durchgeführten Screening die wirksamste Verbindung erwies, scheint sie besonders viel versprechend zu sein. Außerdem ist die Verbindung sowohl als Feststoff als auch in Lösung besonders stabil. So kann die Lösung über mehrere Wochen bei Raumtemperatur gelagert werden ohne sie dabei vor Licht schützen zu müssen. Die ist besonders bemerkenswert, da Gold(I)-Verbindungen oft bekannt dafür sind, besonders in Lösung, lichtempfindlich zu sein, auf Grund ihrer Neigung zur Photoreduktion. Dies äußert sich durch eine dunkelviolette Färbung der Lösung. Die violette Farbe kommt dabei durch kolloidales Gold zustande. Die Farbe des elementaren Golds verschiebt sich hier von goldglänzend zu violett, was auf die Plasmonenresonanz zurückzuführen ist. Bei der Verbindung **20c** kann eine solche Verfärbung auch nach mehreren Wochen nicht festgestellt werden. Diese besondere Stabilität macht die Verbindung für den Einsatz in biologischen Systemen interessant. Daher wurde für die Verbindung, wie zuvor für CQ, eine Dose-Response-Kurve erstellt. Zum Vergleich wurde auch die Kurven des freien Liganden **6** erstellt, um den Einfluss des Metalls auf die Wirksamkeit zu untersuchen (Abbildung 49).

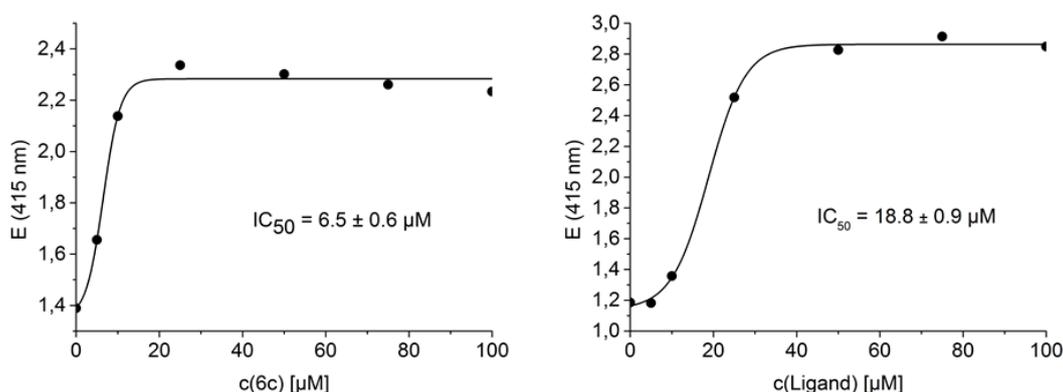


Abbildung 49: Dose-Response-Kurve von Komplex **20c** und Ligand **6**

Der Komplex **20c** ist mit einem IC₅₀-Wert von 6,5 μM etwas wirksamer als CQ. Dagegen ist die Wirkung des freien Liganden **6** etwa um den Faktor 3 schwächer. Diese Ergebnisse zeigen, dass das Einführen des Metalls die Fähigkeit die Hämозoin-Bildung zu inhibieren deutlich verbessern kann.

2.3.4. Assoziations-Konstanten mit Hämatin

Um zu untersuchen, ob der beobachtete Effekt bei der Wirksamkeit auf die Bildung von besonders stabilen Wirkstoff-Hämatin-Komplexen zurückzuführen ist oder ob noch andere Effekte einen Einfluss haben, wurden die Assoziations-Konstanten zwischen Hämatin und dem Komplex **20c** bestimmt.

Hierfür wurde eine UV/VIS-Titration durchgeführt. Dabei ist die Untersuchung von Hämatin in wässriger Lösung problematisch, da es dazu neigt Aggregate zu bilden. Damit das Hämatin in monomerer Form vorliegt, muss in wässriger Lösung mit einem DMSO-Anteil von 40 % gearbeitet werden.^[83] Die Lösung wurde bei einem pH-Wert von 7.4 gepuffert und die Abnahme der Soret-Bande bei Zugabe von Wirkstoff-Aliquoten beobachtet. Um die Reproduzierbarkeit der Methode zu überprüfen wurde die Titration zunächst mit CQ als Referenzsubstanz durchgeführt (Abbildung 50).

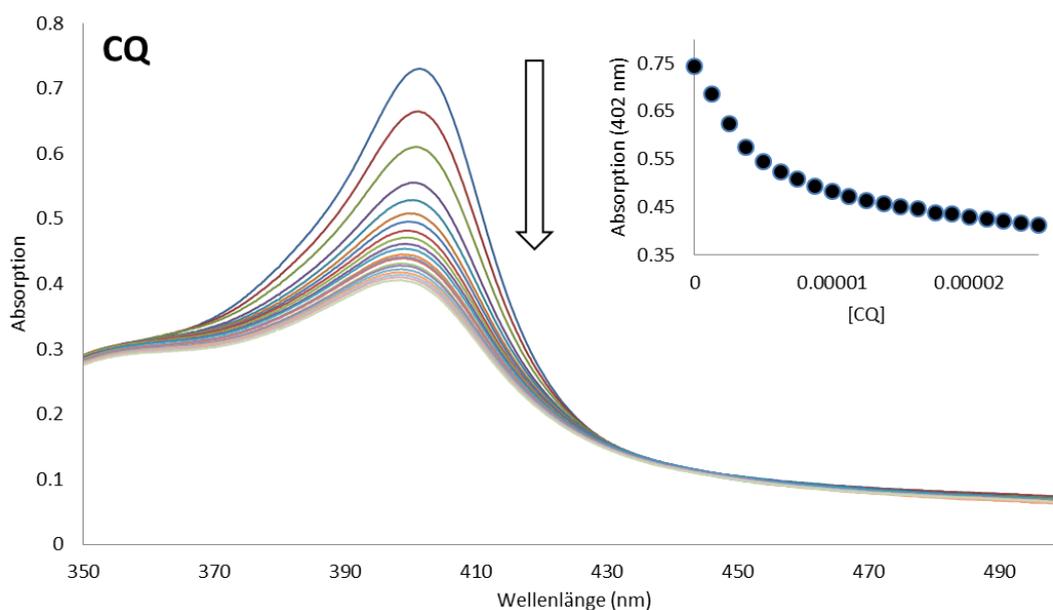


Abbildung 50: UV/VIS-Titration von CQ

Bei Betrachtung der überlagerten UV/VIS-Spektren fällt auf, dass die intensive Soret-Bande bei 402 nm mit zunehmender CQ-Konzentration deutlich abnimmt. Wird die Extinktion am Absorptionsmaximum gegen die CQ-Konzentration aufgetragen wird die in Abbildung 50 dargestellte Kurve erhalten. Mit Hilfe der folgenden Gleichung:

$$A = \frac{A_0 + A_\infty K[c]}{1 + K[c]} \quad (1)$$

unter der Annahme einer 1:1 Komplexierung, konnte die Assoziations-Konstante K mittels Nonlinear Least Squares Fitting erhalten werden. Dabei ist A_0 die Absorption von Hämatin vor der Zugabe von Wirkstoff und A_∞ ist die Absorption des Hämatin-Wirkstoff-Komplexes. Im Fall von CQ konnte ein Log K -Wert von 5.29 erhalten werden. Dieser stimmt sehr gut mit dem in der Literatur beschriebenen Wert von 5.30 überein^[84], sodass gesagt werden kann, dass die beschriebene Methode reproduziert werden konnte. Daraufhin wurden auch die Log K -Werte von Komplex **20c** und dem freien Liganden **6** bestimmt (Abbildung 51).

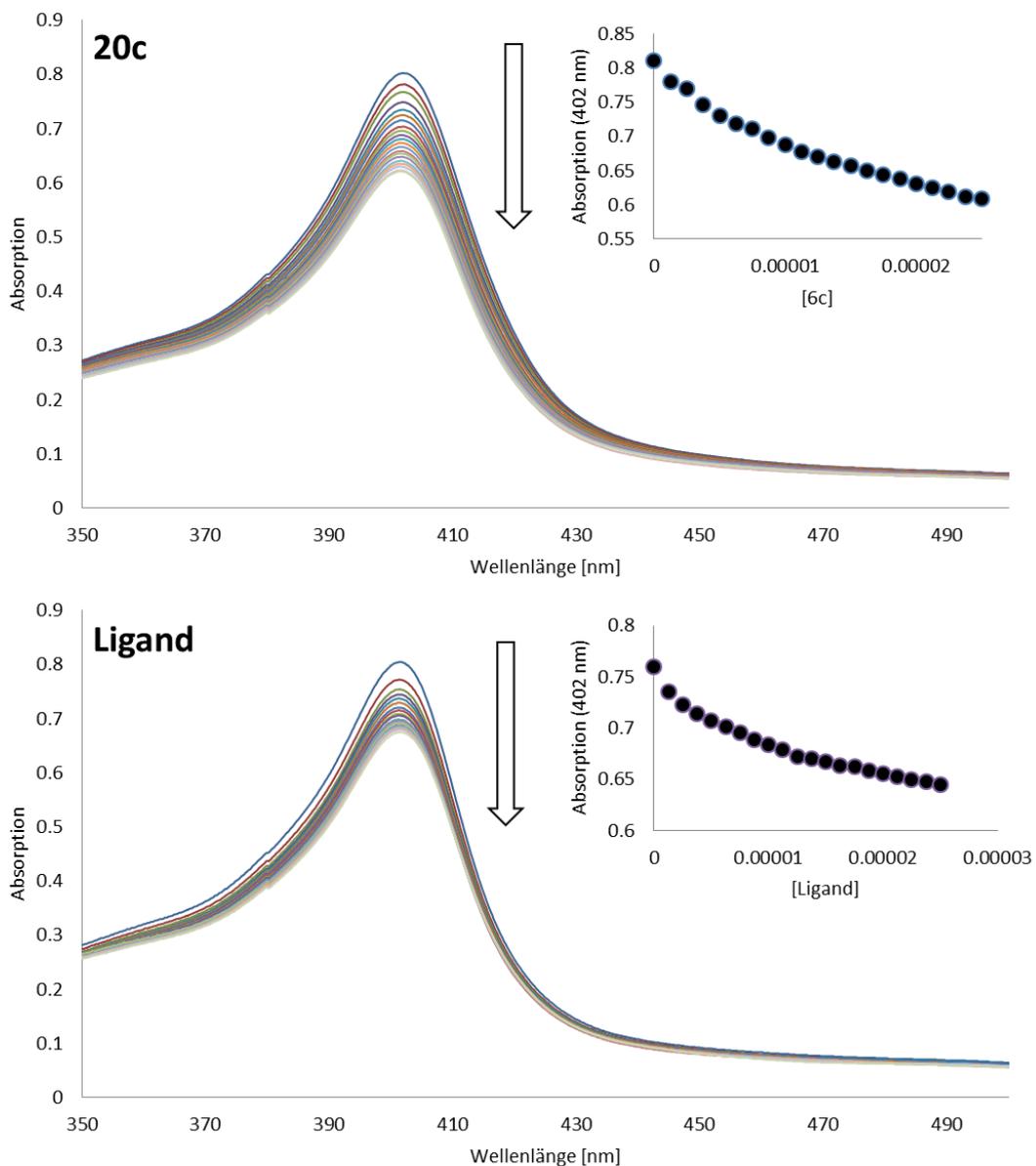


Abbildung 51: UV/VIS-Titration von Komplex 20c und dem freien Liganden

An Hand der UV/VIS-Spektren ist sofort zu erkennen, dass die Abnahme der Soret-Bande weniger stark ausgeprägt ist als bei CQ. Diese Beobachtung spiegelt sich auch in den Log K-Werten wieder, die in Tabelle 11 zusammengefasst sind:

Tabelle 11: Gemessene Assoziations-Konstanten

Verbindung	Log K
CQ	5.29 ± 0.02
Komplex 20c	4.61 ± 0.03
Ligand 6	4.92 ± 0.04

Der Komplex **20c** hat dabei mit 4.61 eine deutlich kleinere Assoziations-Konstante als die beiden anderen Verbindungen, obwohl der Komplex im Hämoxoin-Inhibitions-Assay am wirksamsten war. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass hier noch weitere Faktoren eine Rolle spielen müssen und dass die Wirksamkeit nicht nur von der Stabilität des gebildeten Komplexes abhängig ist.

Diese Ergebnisse decken sich gut mit den Beobachtungen von Buller et al.^[85] Sie konnten zeigen, dass CQ und seine Derivate an der am schnellsten wachsenden Kristallseite (in Abbildung 52 grün dargestellt) andocken und so die Anlagerung von weiteren Hämatin-Molekülen verhindern.

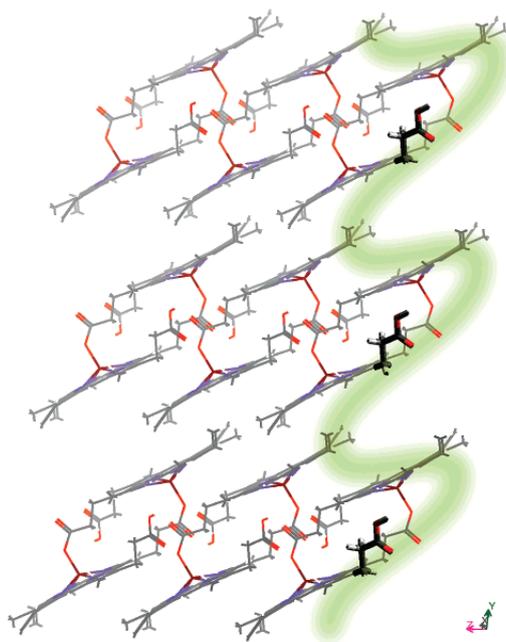


Abbildung 52: Angriffsfäche für CQ am Hämoxoin-Kristall. Entnommen aus: [85]

Dies könnte eine Erklärung sein, warum der Komplex **20c** trotz der schwächeren Bindung besonders wirksam ist. Der sperrige Ferrocenyl-Rest in der Seitenkette des Komplexes könnte dabei den Hämoxoin-Kristall zusätzlich sterisch abschirmen und so das Wachstum des Kristalls besonders gut inhibieren.

2.3.5. Cyclovoltammetrie

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, ist bereits mehrfach diskutiert worden, ob die Ferrocen-Einheit im FQ durch seine Redox-Eigenschaften in der Lage ist zusätzlichen oxidativen Stress im Parasiten auszulösen. Da auch Komplex **20c** einen Ferrocen-Rest enthält, ist hier naheliegend, dass auch dieser Komplex in der Lage sein könnte mit Hämatin Redox-Reaktionen einzugehen. Um diese Vermutung zu überprüfen wurde ein Cyclovoltammogramm (Abbildung 53) von dem Komplex gemessen.

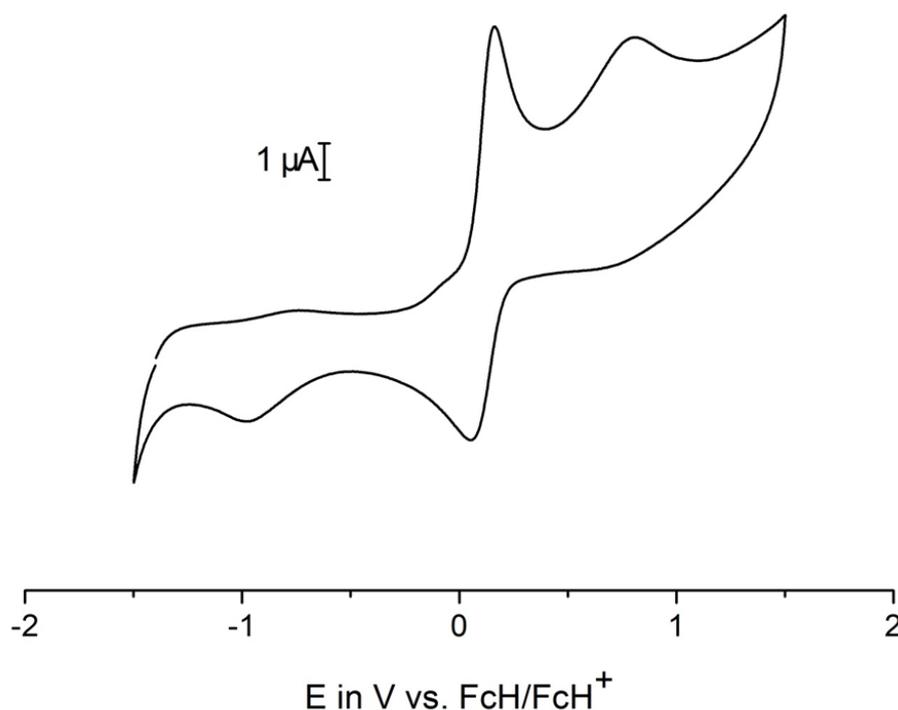


Abbildung 53: Cyclovoltammogramm von Komplex 20c in ACN/[NBu₄][PF₆] (0.1 M), RT, $v = 0.2 \text{ Vs}^{-1}$

Im Cyclovoltammogramm der Verbindung sind zwei reversible Redox-Prozesse zu beobachten. Ein Oxidationspeak ist bei 0.16 V zu erkennen. Hierbei handelt es sich um die Oxidation des Eisen(II) im Ferrocenyl-Rest zu Eisen(III). Ein weiterer Oxidationspeak tritt bei 0.80 V auf und ist auf die Oxidation des Gold(I) zum

Gold(III) zurückzuführen. Vergleicht man die erhaltenen Werte mit Literaturdaten für Ferroquin, das ein Oxidationspeak bei 0.18 V ausweist^[42], so wird deutlich, dass die beiden Verbindungen ein sehr ähnliches Redox-Verhalten aufweisen. Um den Wert dennoch besser einordnen zu können wurde zum Vergleich ein Cyclovoltammogramm von Hämatin aufgenommen (Abbildung 54).

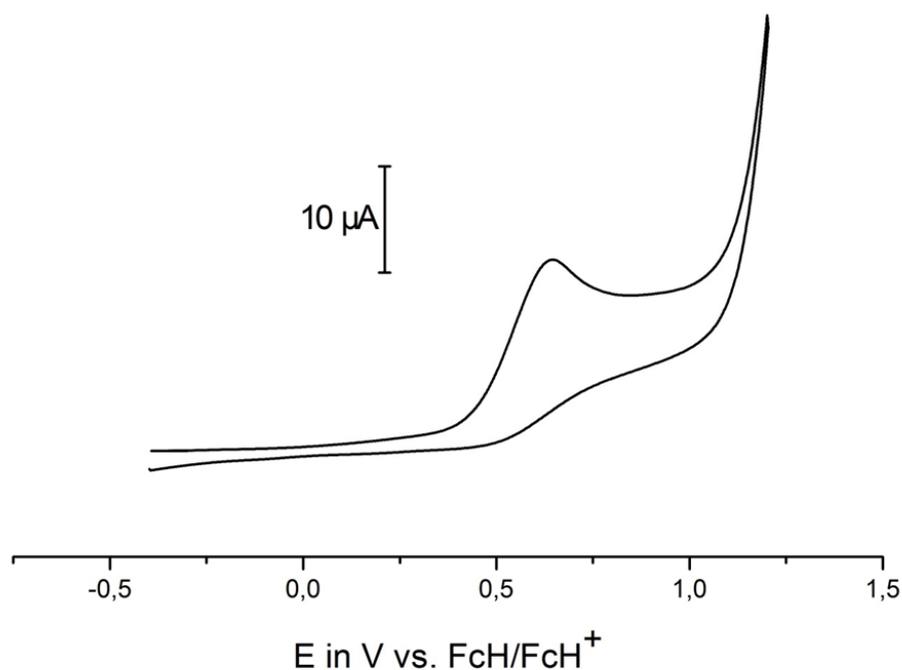


Abbildung 54: Cyclovoltammogramm von Hämatin in DMSO/[NBu₄][PF₆] (0.1 M), RT, $v = 0.2 \text{ Vs}^{-1}$

Das Cyclovoltammogramm von Hämatin weist einen Oxidationspeak bei 0.64 V auf. Diese deutliche Potentialdifferenz zwischen Hämatin und dem Komplex **20c** deutet darauf hin, dass eine Redox-Reaktion zwischen beiden Reaktionspartnern sehr wahrscheinlich ablaufen kann. Somit kann an dieser Stelle nicht ausgeschlossen werden, dass der Komplex **20c** in der Lage ist im Parasiten zusätzlichen oxidativen Stress durch Redox-Reaktionen zu verursachen.

2.3.6. Distributionskoeffizient

Die Pharmakokinetik einer Substanz trägt entscheidend dazu bei, ob eine wirksame Verbindung sich auch tatsächlich als möglicher Wirkstoff eignet. Dabei umfasst sie alle Prozesse, die der Arzneistoff im menschlichen Körper durchläuft.

Dazu gehören die Aufnahme (Absorption), die Verteilung im Körper (Distribution), der biochemische Abbau (Metabolisierung) sowie die Ausscheidung (Exkretion) (ADME). Besonders wichtige Eigenschaften in diesem Zusammenhang stellen die Löslichkeit und die Permeabilität einer Substanz dar. Während die Löslichkeit in Wasser eine wichtige Eigenschaft für den Transport im Körper ist, da das Cytosol und das Blutplasma zum größten Teil aus Wasser bestehen, ist für eine gute Zellgängigkeit eine gewisse Lipophilie notwendig, da nur lipophile Verbindungen in die unpolare Phospholipid-Doppelschicht eindringen können. Entscheidend ist also ein ausgewogenes Verhältnis zwischen Lipophilie und Hydrophilie eines potentiellen Wirkstoffs. Eine wichtige Kenngröße um dieses Verhältnis abschätzen zu können ist der Verteilungskoeffizient $\log P$. Hierbei wird bestimmt, wie sich eine Verbindung in einem 2-Phasen-System aus Wasser und n-Octanol verteilt. Der $\log P$ ist wie folgt definiert:

$$\log P = \log \left(\frac{[c]_{\text{Octanol}}}{[c]_{\text{Wasser}}} \right) \quad (2)$$

Dabei wird n-Octanol verwendet, da es annähernd die gleiche Polarität wie das Innere der Phospholipid-Doppelschicht besitzt. Als wässrige Phase dient isotonische Kochsalz-Lösung. Bei Verbindungen, die basische oder saure Gruppen in ihrer Struktur aufweisen wird anstelle des $\log P$ der Distributionskoeffizient $\log D_{\text{pH}}$ bestimmt. Da diese Verbindungen in protonierter oder deprotonierter Form vorliegen können, ist der Distributionskoeffizient abhängig vom pH-Wert der wässrigen Phase. Daher muss hierbei die wässrige Phase bei einem bestimmten pH-Wert gepuffert werden.

Für die Bestimmung von Distributionskoeffizienten stehen grundsätzlich verschiedene Methoden zur Verfügung. Dabei kann der $\log D$ -Wert entweder experimentell bestimmt werden oder mit Hilfe von *in silico* Methoden (z. B. ProLogD) berechnet werden.^[86] Die *in silico* Methoden liefern dabei gute Ergebnisse für kleine, organische Moleküle, jedoch versagen die Modelle bei der Berechnung der $\log D$ -Werte für metallhaltige Verbindungen. Für die experimentelle Bestimmung der Distributionskoeffizienten können reversed phase HPLC oder die „Shake-Flask“-Methode genutzt werden. In dieser Arbeit sollte die letztere Methode verwendet werden. Hierbei wird das Gleichgewicht durch Schütteln des 2-Phasen-Systems hergestellt. Anschließend wird die Konzentration der Verbindung in der n-Octanol- und in der wässrigen Phase mittels UV/VIS-

Spektroskopie bestimmt. Als wässrige Phase wurde hier phosphatgepufferte Salzlösung (phosphate buffered saline, PBS) mit einem physiologischen pH-Wert von 7.4 verwendet.

Die Konzentration einer Verbindung lässt sich mit Hilfe von UV/VIS-Spektroskopie über das Lambert-Beersche Gesetz bestimmen:

$$E_{\lambda} = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \cdot d \quad (3)$$

Dabei ist E_{λ} die Extinktion am Absorptionsmaximum, ε_{λ} der molare Extinktionskoeffizient am Absorptionsmaximum, c die Konzentration der Verbindung und d die Schichtdicke. Da die Schichtdicke der verwendeten Küvetten 1 cm beträgt, entfällt der Term d in der obigen Gleichung. Umformen der Gleichung 3 und einsetzen in Gleichung 2 liefert folgende Beziehung:

$$\text{Log } D_{7.4} = \text{Log} \left(\frac{E_{\lambda_{\text{Octanol}}} \cdot \varepsilon_{\lambda_{\text{Wasser}}}}{E_{\lambda_{\text{Wasser}}} \cdot \varepsilon_{\lambda_{\text{Octanol}}}} \right) \quad (4)$$

Der molare Extinktionskoeffizient ist dabei leicht abhängig vom Lösemittel. Allerdings ist dieser Effekt zu vernachlässigen wenn das jeweilige Lösemittel auch in der Referenzküvette verwendet wird, so dass sich ε_{λ} heraus kürzt. Somit kann der $\text{Log } D_{7.4}$ -Wert einfach, ohne vorherige Kalibrierung bestimmt werden kann:

$$\text{Log } D_{7.4} = \text{Log} \left(\frac{E_{\lambda_{\text{Octanol}}}}{E_{\lambda_{\text{Wasser}}}} \right) \quad (5)$$

Nach der oben beschriebenen Methode konnte für die Verbindung **20c** ein $\text{Log } D_{7.4}$ -Wert von 2.14 erhalten werden. Damit ist die Verbindung deutlich lipophiler als CQ ($\text{Log } D_{7.4} = 0.85$) und etwas hydrophiler als FQ ($\text{Log } D_{7.4} = 2.95$).

Um die Werte des Verteilungskoeffizienten bzw. des Distributionskoeffizienten besser einordnen zu können, kann Lipinskis „Rule of Five“ herangezogen werden.^[87] Demnach hat eine Verbindung gute pharmakokinetische Eigenschaften, wenn sie folgende Bedingungen erfüllt:

- < 5 Donoren von Wasserstoffbrückenbindungen (OH- oder NH-Gruppen)
- < 10 Akzeptoren von Wasserstoffbrückenbindungen (z. B. Sauerstoff- oder Stickstoffatome)
- Molekülmasse < 500 g/mol
- $\text{Log } P < 5$

Laut Lipinski sollte der Log P-Wert demnach kleiner als 5 sein. Für den idealen Log D_{7,4}-Wert gilt noch eine kleinere Spanne von 1 bis 3.^[88] Demzufolge liegt der synthetisierte Komplex **20c** mit einem Distributionskoeffizient von 2.14 genau im idealen Bereich.

2.4. Fazit und Ausblick

In dieser Arbeit ist es gelungen sechs neue Liganden zu synthetisieren, die auf Chloroquin basieren (Abbildung 55). Dabei kann bei allen Liganden das Metall über die Seitenkette koordiniert werden und nicht über das Stickstoffatom im Heteroaromaten.

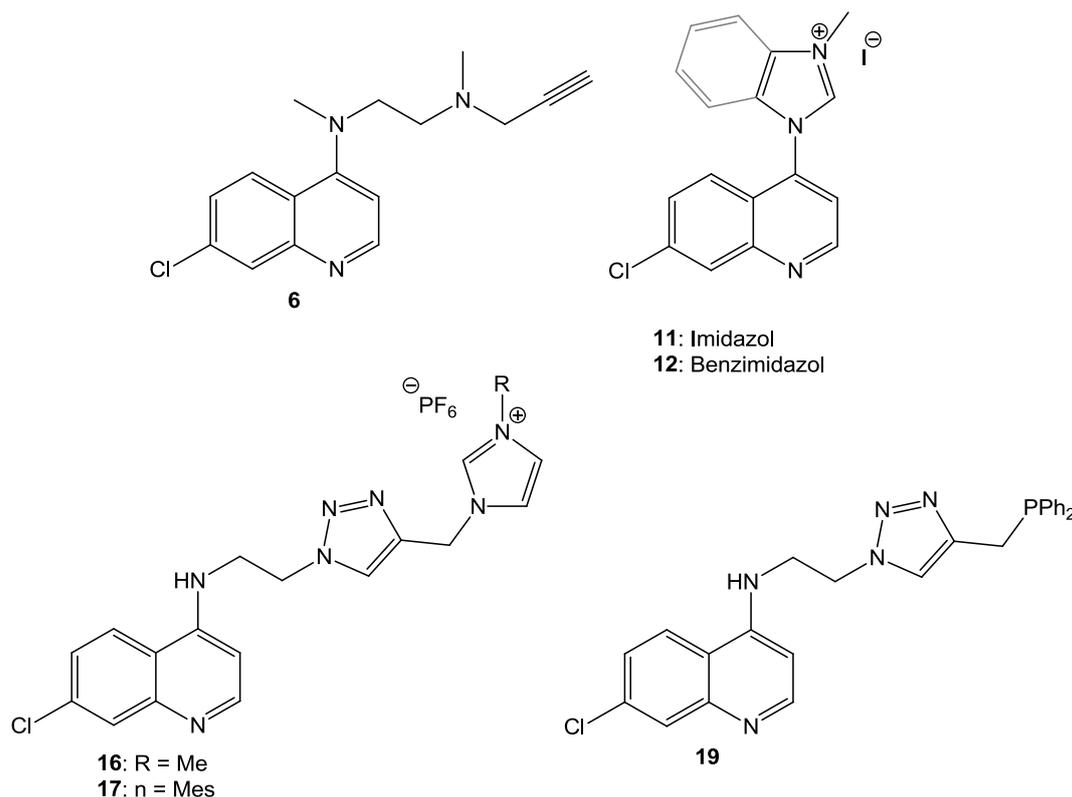


Abbildung 55: Hergestellten Liganden

Die hergestellten Liganden konnten alle, bis auf die Liganden **16** und **17**, erfolgreich an Gold koordiniert werden. Dabei konnten Carben-, Alkynyl- und Phosphan-Komplexe erhalten werden. Im Falle der Liganden **11** und **12** konnten neben den Goldcarbenkomplexen auch die entsprechenden Silberverbindungen erhalten werden. Zusätzlich konnte der Ligand **19**, neben Gold, auch an Platin koordiniert werden. In Abbildung 56 ist eine Übersicht über die hergestellten Komplexverbindungen dargestellt:

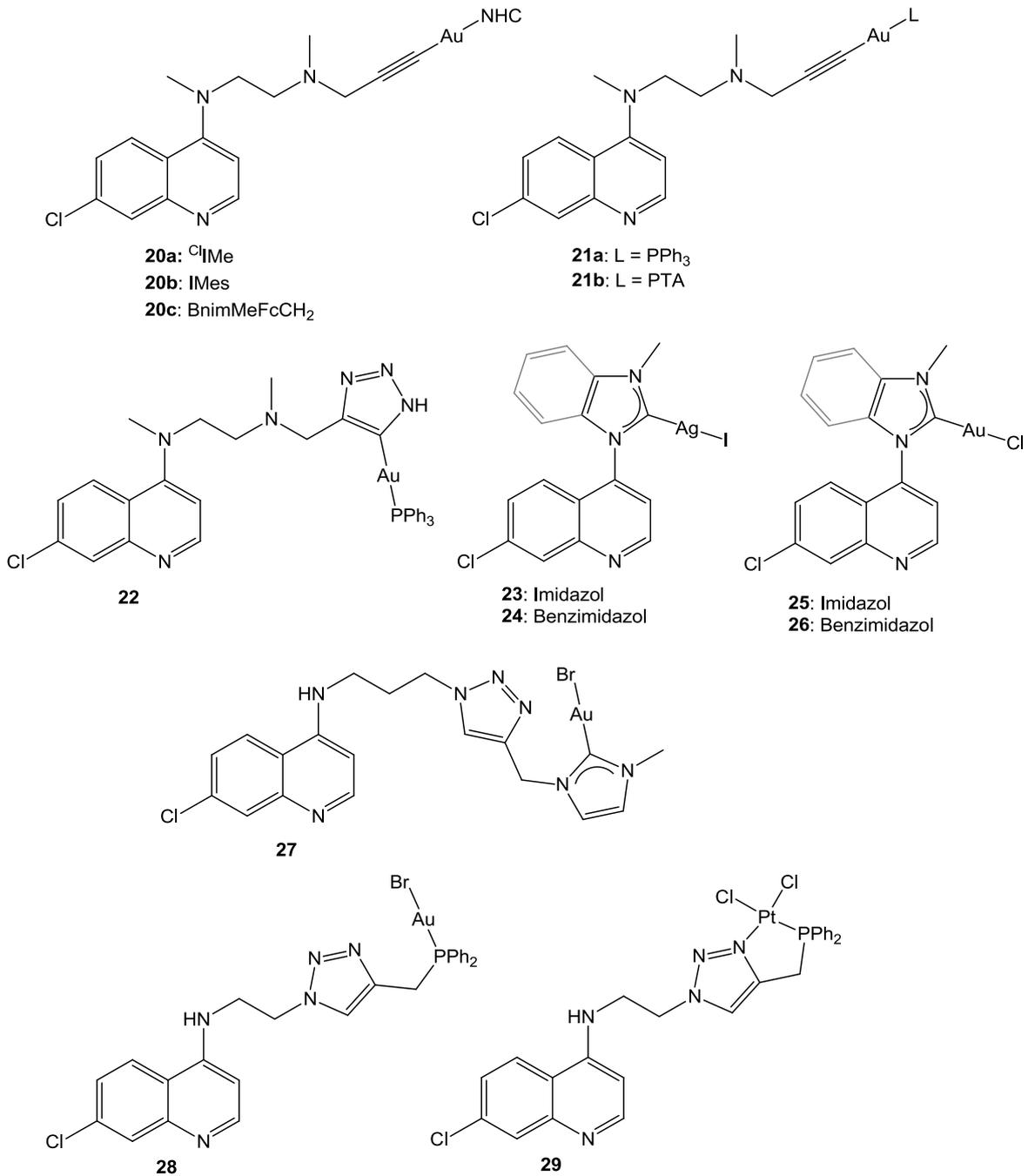


Abbildung 56: Hergestellte Komplexe

Alle hergestellten Komplexe sind unempfindlich gegenüber Luft und Feuchtigkeit und eignen sich daher für weitere biologische Untersuchungen. Lediglich die Verbindung **26** zeigt in Lösung eine sehr schnelle Reduktion zu Gold(0). Die Komplexe **23**, **24** und **27** konnten wegen ihrer schlechten Löslichkeit in den gängigen Lösemitteln nicht für weitere Untersuchungen verwendet werden. Alle anderen Komplexe wurden auf Ihre Fähigkeit die Hämoxoin-Bildung zu inhibieren untersucht. Dabei erwies sich die Hälfte der getesteten Verbindungen als ebenso

wirksam wie CQ. Ebenso zeigte sich, dass die Komplexe **20c** und **29** bei niedrigeren Konzentrationen wirksam sind als CQ (Tabelle 12).

Tabelle 12: Ergebnisse des Hämozoïn-Testassays

Verbindung	Aktivität (5 μM)	Aktivität (10 μM)
CQ	-	+
20a	-	+
20b	-	-
20c	+	+
21a	-	-
21b	-	-
22	-	-
25	-	+
26	-	-
28	-	+
29	+	+

Da der Komplex **20c** im Screening am wirksamsten war, wurde der IC_{50} -Wert der Verbindung im Vergleich zu CQ und dem freien Liganden bestimmt. Dabei ist der IC_{50} -Wert der Verbindung etwas kleiner als der von CQ und deutlich kleiner als der des freien Liganden, was zeigt, dass die Koordination eines Metalls die Wirksamkeit der Verbindung deutlich erhöht. Zusätzlich wurden die Assoziationskonstanten der Verbindungen mit Hämatin bestimmt. Hier zeigt der Komplex **20c** jedoch eine deutlich schwächere Bindung an Hämatin als die beiden anderen Substanzen, was die Vermutung nahe legt, dass die Wirksamkeit der Verbindung **20c** nicht ausschließlich auf eine starke Bindung an das Target zurückzuführen ist. Die Ergebnisse der biologischen Tests sind in Tabelle 13 zusammengefasst:

Tabelle 13: IC_{50} - und Log K-Werte der Verbindungen 20c, 6 und CQ

Verbindung	IC_{50} [μM]	Log K
CQ	7.1 ± 0.9	5.29 ± 0.02
20c	6.5 ± 0.6	4.61 ± 0.03
Ligand	18.8 ± 0.9	4.92 ± 0.04

Um zu überprüfen ob die Wirksamkeit der Verbindung **20c** tatsächlich noch auf andere Faktoren zurückzuführen ist, wurden Cyclovoltamogramme von dem Komplex sowie von Hämatin aufgenommen. Aus den CVs lässt sich erkennen, dass die beiden Substanzen in der Lage sind Redox-Reaktionen miteinander einzugehen. Dies könnte eine Erklärung für die besonders gute Wirksamkeit der Verbindung sein. Auch der Log D_{7,4}-Wert der Verbindung von 2.14 macht die Substanz für einen interessanten, potentiellen Wirkstoff.

In Zukunft sollen die hergestellten Verbindungen, die sich im durchgeführten Testassay als wirksam erwiesen, auch *in vitro* an Malariaparasiten getestet werden. Hier wäre es interessant zu überprüfen, ob sich die vielversprechenden Ergebnisse, die im Falle der Verbindung **20c** erhalten wurden, auch in den Parasiten bestätigen. Zudem wäre es interessant die hergestellten Liganden an weitere Metalle zu koordinieren und zu untersuchen, welchen Einfluss unterschiedliche Metalle auf die Wirksamkeit der Verbindungen haben. Im Falle des Liganden **19** konnte schon gezeigt werden, dass die Koordination der Verbindung an Platin zu einer wirksameren Substanz im Hämazoin-Inhibitions-Assay führt, als die Koordination an Gold.

2.5. Experimenteller Teil

2.5.1. Allgemeine Angaben

Soweit nichts anderes angegeben wurde, erfolgten alle Synthesen unter atmosphärischen Bedingungen. Bei Synthesen unter inerten Bedingungen wurden handelsübliche Schlenk-Gefäße verwendet mit Stickstoff als Inertgas. Reaktionen in der Mikrowelle wurden in einer Anton Paar Monowave 300 Labormikrowelle durchgeführt. Alle verwendeten Lösemittel hatten mindestens HPLC-Qualität und wurden ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Alle anderen Reagenzien wurden, solange nichts anderes angegeben ist, käuflich erworben oder stammten aus Beständen des Arbeitskreises.

NMR-Spektroskopie

Alle NMR-Messungen erfolgten an einem Bruker Avance 400 (^1H 400.13 MHz, ^{13}C 100.61 MHz, ^{31}P 161.98 MHz) oder an einem BrukerAvance III 600 (^1H 600.13 MHz, ^{13}C 150.90 MHz, ^{31}P 242.94 MHz). Die chemischen Verschiebungen (δ) werden in ppm auf das jeweilige Lösungsmittel als Standard, relativ zu $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ bzw. H_3PO_4 , angegeben.

Die Multiplizität der Signale wird durch die Bezeichnung s (Singulett), d (Dublett), dd (Dublett von Dubletts), t (Triplet), q (Quartett), quin. (Quintett), sep. (Septett) und m (Multipllett) angegeben. Die Zuordnung der einzelnen Signale erfolgt mit Hilfe von 2D-Experimenten (^1H - ^1H -COSY, ^1H - ^{13}C -HSQC, ^1H - ^{13}C -HMBC). Die Kopplungskonstanten (J) werden in Hertz (Hz) angegeben. Die Nummerierung in den Abbildungen der Moleküle dient der anschaulichen Zuordnung der Wasserstoff- und Kohlenstoffatome und entspricht nicht in allen Fällen der IUPAC-Nomenklatur.

Kristallographie

Die Röntgenbeugungsanalyse wurde bei 150 K mit einem Oxford Diffraction Gemini E Ultra Diffraktometer [Mo-K α -Strahlung ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$)], ausgestattet mit

einem EOS CCD Flächendetektor und einem Vier-Kreis-Kappa-Goniometer, durchgeführt. Datenintegration, Skalierung und empirische Absorptionkorrektur wurden mit dem Programm CrysAlis Pro^[89] vorgenommen. Die Strukturlösung erfolgte mit Patterson oder direkten Methoden und wurde nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate gegen F^2 verfeinert. Alle Atome außer den Wasserstoffatomen wurden anisotrop verfeinert. Die Wasserstoffatomlagen wurden aus der Geometrie der Umgebung berechnet und bei jedem Verfeinerungszyklus neu angepasst. Alle Berechnungen wurden mit dem Programm Olex2^[90] ausgeführt.

Infrarotspektroskopie

Die Infrarotspektren wurden an einem Nicolet iS5 FT-IR-Spektrometer mit einer iD7 Diamant-ATR-Einheit von Thermo Scientific aufgenommen. Die Wellenzahlen sind in cm^{-1} angegeben.

UV/VIS-Spektroskopie

Die UV/VIS-Spektren wurden an einem PerkinElmer Lambda EZ 210 UV/VIS-Spektrometer aufgenommen.

Cyclovoltammetrie

Zur Durchführung der elektrochemischen Messungen (CV und SWV) in einem Drei-Elektroden-Aufbau wurde ein Metrohm Autolab/PGSTAT 101 Potentiostat verwendet. Als Arbeitselektrode diente eine kunststoffummantelte Platin-Scheibenelektrode ($\text{Ø} = 1.0 \text{ mm}$). Zum Einsatz als Quasireferenzelektrode kam ein Silberdraht und als Hilfselektrode ein Platinblech.

2.5.2. Synthese der Liganden

Allgemeine Synthese der Aminochinoline

Methode A

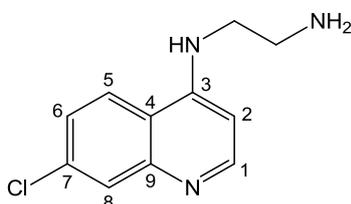
1g (5.05 mmol, 1 äq.) 4,7-Dichlorchinolin und 50.5 mmol (10 äq.) des entsprechenden Diamins wurden unter Rühren langsam erhitzt bis sich der Feststoff vollständig gelöst hatte. Anschließend wurde die hellgelbe Lösung für sechs Stunden bei 110 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde das Reaktionsgemisch mit Dichlormethan verdünnt und mit 1 M NaOH extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und mit NaSO₄ getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels konnte das gewünschte Produkt als hellgelber Feststoff erhalten werden.

Methode B

2 g (10.10 mmol, 1 äq.) 4,7-Dichlorchinolin und 6.8 mL (0.10 mol, 10 äq.) Ethylendiamin wurden in ein 20 mL Mikrowellen-Reaktionsgefäß gegeben. Das Gefäß wurde fest verschlossen und in der Mikrowelle 30 Min. lang auf 175 °C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 1 M NaOH verdünnt und mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen sowie mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösemittels konnte das gewünschte Produkt als hellgelber Feststoff erhalten werden.

Synthese von *N*-(7-Chlorchinolin-4-yl)ethan-1,2-diamin (**1**)

1g (5.05 mmol, 1 äq.) 4,7-Dichlorchinolin und 3.4 mL (50.5 mmol, 10 äq.) Ethylendiamin lieferten nach Methode A 1 g (4.51 mmol, 90 %) eines hellgelben Feststoffes. Nach Methode B lieferten 2 g (10.10 mmol, 1 äq.) 4,7-Dichlorchinolin und 6.8 mL (0.10 mol, 10 äq.) Ethylendiamin 1.74 g (7.85 mmol, 78 %) eines hellgelben Feststoffes.

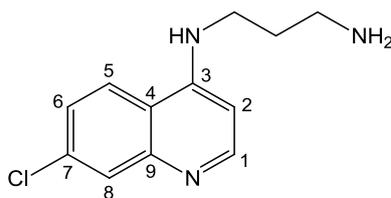


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.28 (s, 2 H, NH_2); 3.13 (dd, $J = 5.1, 6.6$ Hz, 2 H, CH_2NH_2); 3.33 (dd, $J = 5.1, 11.4$ Hz, 2 H, NHCH_2); 5.82 (s, 1H, NHCH_2); 6.41 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, H2); 7.36 (dd, $J = 2.2, 8.9$ Hz, 1 H, H6); 7.74 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H5); 7.96 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, H8); 8.54 (d, $J = 5.3$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 40.2 (CH_2NH_2); 44.7 (NHCH_2); 99.2 (C2); 117.4 (C4); 121.2 (C5); 125.2 (C6); 128.8 (C8); 134.8 (C7); 149.2 (C9); 149.9 (C3); 152.1 (C1).

Synthese von *N*-(7-Chlorchinolin-4-yl)propan-1,3-diamin (2)

Nach Methode B lieferten 2 g (10.10 mmol, 1 äq.) 4,7-Dichlorchinolin und 8.40 mL (101 mmol, 10 äq.) 1,3-Diaminopropan 1.93 g (8.19 mmol, 80 %) eines gelben Feststoffes.

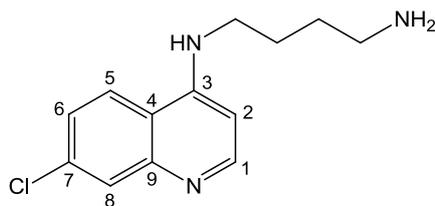


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.73 (quin, $J = 6.7$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2.67 (t, $J = 6.6$ Hz, 2 H, CH_2NH_2); 3.31 (t, $J = 6.9$ Hz, 2 H, NHCH_2); 6.46 (d, $J = 5.5$ Hz, 1 H, H2); 7.41 (dd, $J = 2.2, 9.0$ Hz, 1 H, H6); 7.50 (s, 1H, NH); 7.78 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, H8); 8.21 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H5); 8.37 (d, $J = 5.5$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 31.3 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 39.6 (CH_2NH_2); 40.7 (NHCH_2); 98.7 (C2); 117.6 (C4); 124.1 (C6); 124.2 (C5); 127.4 (C8); 133.6 (C7); 149.0 (C9); 150.4 (C3); 152.0 (C1).

Synthese von *N*-(7-Chlorchinolin-4-yl)butan-1,4-diamin (3)

Nach Methode B lieferten 2 g (10.10 mmol, 1 äq.) 4,7-Dichlorchinolin und 10.1 mL (101 mmol, 10 äq.) 1,4-Diaminobutan 2.18 g (8.73 mmol, 87 %) eines gelben Feststoffes.

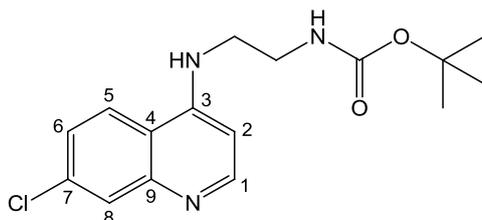


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.47 (m, 2 H, NHCH_2CH_2); 1.68 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$); 2.60 (t, $J = 6.7$ Hz, 2 H, CH_2NH_2); 3.25 (t, $J = 7.1$ Hz, 2 H, NHCH_2); 6.45 (d, $J = 5.5$ Hz, 1 H, H2); 7.37 (s, 1 H, NH); 7.43 (dd, $J = 2.2, 9.0$ Hz, 1H, H6); 7.78 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, H8); 8.28 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H5); 8.38 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 25.3 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$); 30.5 (NHCH_2CH_2); 41.2 (CH_2NH_2); 42.3 (NHCH_2); 98.6 (C2); 117.5 (C4); 123.9 (C6); 124.1 (C5); 127.4 (C8); 133.3 (C7); 149.1 (C9); 150.1 (C3); 151.9 (C1).

Synthese von Verbindung 4

200 mg (1.13 mmol, 1 äq.) Aminochinolin (**1**) wurden in Ethanol gelöst und mit 0.27 mL (1.24 mmol, 1.1 äq.) $(\text{Boc})_2\text{O}$ und 0.21 mL (1.24 mmol, 1.1 äq.) Triethylamin versetzt. Das resultierende Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach entfernen des Lösemittels wurde 362 mg (1.13 mmol, quantitativ) eines hellgelben Feststoffs erhalten.

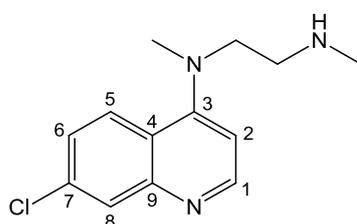


$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.48 (s, 9 H, *t*-Butyl); 3.35 – 3.36 (m, 2 H, CH_2NHCO); 3.58 – 3.59 (m, 2 H, NHCH_2CH_2); 5.47 (s, 1 H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_2$); 6.28 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, H2); 6.65 (s, 1 H, NHCO); 7.33 (dd, $J = 1.8, 8.9$ Hz, 1 H, H6); 7.80 (d, $J = 8.9$ Hz, 1 H, H5); 7.93 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, H8); 8.48 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 28.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 39.4 (NHCH_2CH_2); 46.0 (CH_2NHCO); 80.4 (CMe_3); 98.2 (C2); 117.3 (C4); 121.9 (C5); 125.2 (C6); 128.3 (C8); 134.8 (C7); 149.0 (C9); 150.2 (C3); 151.8 (C1); 158.3 (CO).

Synthese von *N*-(7-chlorchinolin-4-yl)-*N,N'*-dimethylethane-1,2-diamin (**5**)

In einem Mikrowellengefäß wurden 1,00 g (5.05 mmol, 1 äq.) 4,7-Dichlorchinolin, 950 mg (10.1 mmol, 2 äq.) Phenol und 2.2 ml (20.2 mmol, 4 äq.) *N,N'*-Dimethylethylendiamin vermischt und in der Mikrowelle 30 min auf 120 °C erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend mit 25 ml 10 %iger KOH-Lösung verdünnt und dreimal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und anschließen mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Vakuum wurden 1.15g (4.60 mmol, 91 %) eines orangenen Öls erhalten.



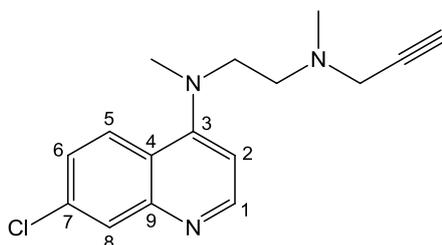
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.44 (s, 3 H, Me); 2.91 (t, *J* = 6.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂N); 2.98 (s, 3 H, Me); 3.39 (t, *J* = 6.5 Hz, 2 H, NCH₂CH₂N); 6.81 (d, *J* = 5.1 Hz, 1 H, H₂); 7.39 (dd, *J* = 2.2, 9.0 Hz, 1 H, H₆); 8.00 (d, *J* = 2.2 Hz, 1 H, H₈); 8.09 (d, *J* = 9.0 Hz, 1 H, H₅); 8.63 (d, *J* = 5.1 Hz, 1 H, H₁).

¹³C-NMR (151 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 36.6 (Me); 41.0 (Me); 49.2 (NCH₂CH₂N); 55.6 (NCH₂CH₂N); 108.8 (C₂); 122.0 (C₄); 125.7 (C₅/C₆); 125.7 (C₅/C₆); 128.8 (C₈); 134.8 (C₇); 150.5 (C₉); 151.5 (C₃); 157.4 (C₁).

Synthese von Verbindung **6**

1.2 g (4.80 mmol, 1 äq.) **5** wurden in Aceton gelöst und mit 1.00 g (7.21 mmol, 1.5 äq.) Kaliumcarbonat und 0.63 mL (5.78 mmol, 1.2 äq.) Propargylbromid versetzt. Die resultierende Suspension wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das überschüssige Kaliumcarbonat abfiltriert und das Lösemittel aus dem Filtrat entfernt. Der Rückstand wurde in DCM aufgenommen und jeweils zweimal mit Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung extrahiert. Die organische Phase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde

säulenchromatographisch aufgereinigt (DCM/MeOH 95:5) und es konnten 950 mg (3.30 mmol, 69 %) eines gelben Öls erhalten werden.

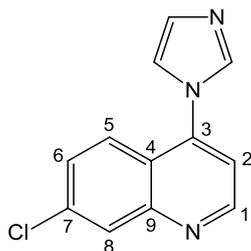


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.26 (t, $J = 2.4$ Hz, 2 H, Propargyl-CH); 2.34 (s, 3 H, Me); 2.82 (t, $J = 6.7$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3.02 (s, 3 H, Me); 3.36 (d, $J = 2.4$ Hz, 2 H, Propargyl- CH_2); 3.40 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 6.81 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, H2); 7.40 (dd, $J = 2.2, 9.0$ Hz, 1 H, H6); 8.02 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, H8); 8.07 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H, H5); 8.65 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 40.8 (Me); 42.2 (Me); 45.9 (Propargyl- CH_2); 52.9 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 54.3 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 73.4 (Propargyl-CH); 78.2 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$); 108.5 (C2); 121.7 (C4); 125.5 (C5/C6); 125.7 (C5/C6); 128.7 (C8); 134.7 (C7); 150.4 (C9); 151.4 (C3); 157.2 (C1).

Synthese von 7-Chlor-4-(1H-imidazol-1-yl)chinolin (9)

In einem Glas-Schraubdeckelgefäß wurden 500 mg (2.52 mmol, 1 äq.) 4,7-Dichlorchinolin und 175 mg (2.52 mmol, 1 äq.) Imidazol sowie 350 mg (2.52 mmol, 1 äq.) Kaliumcarbonat vermischt und ohne Lösemittel für 2 h auf 200 °C erhitzt. Der braune Rückstand wurde in DCM aufgenommen und zweimal mit Wasser extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Entfernen des Lösemittels konnten 400 mg (1.74 mmol, 69 %) eines orange-braunen Feststoffes erhalten werden.

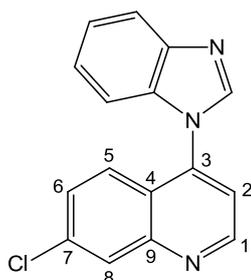


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.35 (s, 1 H, NCHN); 7.38 (m, 2 H, H2/NHC=CHN); 7.60 (dd, $J = 2.1, 9.0$ Hz, 1 H, H6); 7.80 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H5); 7.87 (s, 1 H, NHC=CHN); 8.25 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, H8); 9.03 (d, $J = 4.6$, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 116.9 (C2); 120.8 (NCHN); 122.0 (C4); 123.8 (C5); 129.1 (C6/C8); 129.2 (C6/C8); 130.8 (NHC=CHN); 136.8 (C7); 137.6 (NHC=CHN); 141.9 (C9); 150.1 (C3); 151.6 (C1).

Synthese von 4-(1*H*-Benzimidazol-1-yl)-7-chlorochinolin (10)

In einem Mikrowellengefäß wurden 1.00 g (5.05 mmol, 1 äq.) 4,7-Dichlorchinolin mit 1.19 g (10.1 mmol, 2 äq.) Benzimidazol und 950 mg (10.1 mmol, 2 äq.) Phenol vermischt und in der Mikrowelle bei 120 °C 30 min lang erhitzt. Das hellbraune Reaktionsgemisch wurde in 10%ige KOH-Lösung gegeben. Die wässrige Phase wurde im Anschluss zweimal mit Dichlormethan extrahiert. Nach Trocknen der vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat und Entfernen des Lösemittels wurden 1.24 g eines orangenen Öls als Rohprodukt erhalten. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch aufgereinigt (Hexan/EtOAc 80:20 → EtOAc100 %) und es konnten 800 mg (2.87 mmol, 57 %) eines hellgelben Feststoffs erhalten werden.

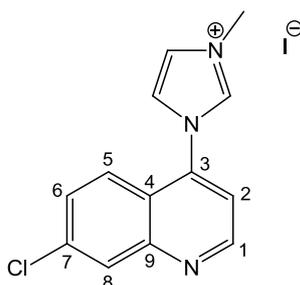


$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 7.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1 H, Benzim); 7.32 – 7.35 (m, 1 H, Benzim); 7.40 – 7.42 (m, 1 H, Benzim); 7.50 (d, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H2); 7.53 (dd, $J = 2.1, 9.0$ Hz, 1 H, H6); 7.62 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H5); 7.96 (d, $J = 8.2$ Hz, 1 H, Benzim); 8.18 (s, 1 H, NCHN); 8.29 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, H8); 9.11 (d, $J = 4.5$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 110.6 (Benzim.); 118.2 (C2); 121.0 (Benzim.); 122.5 (C4); 123.5 (Benzim.); 124.2 (C5); 124.4 (Benzim.); 129.1 (C6/8); 129.3 (C6/8); 134.5 (Benzim.); 136.9 (C7); 140.9 (Benzim.); 142.6 (NCHN); 143.7 (C9); 150.3 (C3); 151.8 (C1).

Synthese von 1-(7-Chlorchinolin-4-yl)-3-methyl-1H-imidazoliumiodid (11)

150 mg (0.65 mmol, 1 äq.) des 7-Chlor-4-(1H-imidazol-1-yl)chinolins (**9**) wurden in THF gelöst und mit 0.05 mL (0.79 mmol, 1.2 äq.) Methyljodid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Der bei der Reaktion ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und mit THF und Ethanol gewaschen. Es wurden 200 mg (0.54 mmol, 83 %) eines gelb-orangen Feststoffs erhalten.

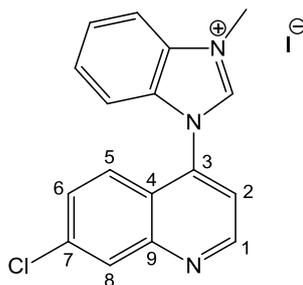


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 4.05 (s, 3 H, Me); 7.83 (dd, $J = 2.1, 9.0$ Hz, 1 H, H₆); 7.94 (d, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H₂); 7.96 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H₅); 8.11 (t, $J = 1.7$ Hz, 1 H, NHC=CHN); 8.26 (t, $J = 1.7$ Hz, 1 H, NHC=CHN); 8.31 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H, H₈); 9.22 (d, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H₁); 9.75 (s, 1 H, NCHN).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 36.6 (Me); 119.0 (C₂); 120.9 (C₄); 123.7 (NHC=CHN); 124.5 (NHC=CHN); 124.6 (C₅); 128.1 (C₈); 129.3 (C₆); 135.8 (C₇); 138.4 (NCHN); 139.2 (C₉); 149.0 (C₃); 152.4 (C₁).

Synthese von 1-(7-Chlorchinolin-4-yl)-3-methyl-1H-benzimidazoliumiodid (12)

500 mg (1.79 mmol, 1 äq.) des 4-(1H-Benzimidazol-1-yl)-7-chlorchinolins (**10**) wurden in THF gelöst und mit 0.12 mL (1.97 mmol, 1.1 äq.) Methyljodid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Der bei der Reaktion ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und mit THF und Ethanol gewaschen. Es wurden 200 mg (0.54 mmol, 83 %) eines gelb-orangen Feststoffs erhalten.

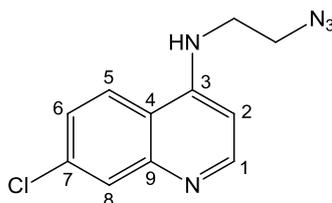


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 4.25 (s, 1 H, Me); 7.54 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, Benzim); 7.66 – 7.70 (m, 1 H, Benzim); 7.77 - 7.85 (m, 3 H, Benzim/H5/H6); 8.03 (d, J = 4.6 Hz, 1 H, H2); 8.22 (d, J = 8.4 Hz, 1 H, Benzim); 8.39 (d, J = 1.9 Hz, 1 H, H8); 9.29 (d, J = 4.6 Hz, 1 H, H1); 10.21 (s, 1 H, NCHN).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 33.9 (Me); 113.4 (Benzim.); 114.1 (C2); 120.5 (Benzim.); 121.7 (C4); 124.4 (C5); 124.8 (Benzim.); 127.2 (C6/C8); 127.7 (C6/C8); 128.4 (Benzim.); 129.3 (Benzim.); 131.9 (C7); 136.0 (Benzim.); 137.5 (NCHN); 144.1 (C9); 149.4 (C3); 152.8 (C1).

Synthese von *N*-(2-Azidoethyl)-7-chlorchinolin-4-amin (13)

Zu einer Lösung von 700 mg (3.16 mmol, 1 äq.) *N*-(7-Chlorchinolin-4-yl)ethan-1,2-diamin, 875 mg (6.32 mmol, 2 äq.) K_2CO_3 und 8 mg (1 mol%) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ in 20 mL Methanol wurden 795 mg (3.79 mmol, 1.2 äq.) Imidazol-1-sulfonylazid Hydrochlorid gegeben. Nachdem das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt wurde, wurde das überschüssige Kaliumcarbonat abfiltriert und das Filtrat mit DCM und Wasser extrahiert. Die organische Phase wurde mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Nach entfernen des Lösemittels konnten 690 mg (2.79 mmol, 88 %) eines blaugelben Feststoffs erhalten werden.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 3.56 (dd, J = 5.6, 11.3 Hz, 2 H, NHCH_2); 3.71 (t, J = 5.7 Hz, 2 H, CH_2N_3); 5.37 (s, 1 H, NHCH_2); 6.46 (d, J = 5.3 Hz, 1 H, H2); 7.40 (dd,

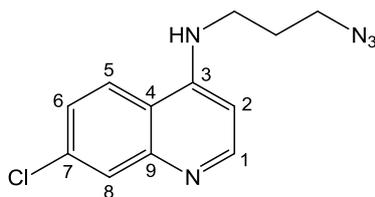
$J = 2.2, 8.9 \text{ Hz, 1 H, H6}$; $7.73 \text{ (d, } J = 9.0 \text{ Hz, 1 H, H5)}$; $7.99 \text{ (d, } J = 2.1 \text{ Hz, 1 H, H8)}$; $8.58 \text{ (d, } J = 5.3 \text{ Hz, 1 H, H1)}$.

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = $42.2 \text{ (NHCH}_2\text{)}$; $49.9 \text{ (CH}_2\text{N}_3\text{)}$; 99.2 (C2) ; 117.3 (C4) ; 121.0 (C5) ; 125.7 (C6) ; 128.9 (C8) ; 135.1 (C7) ; 149.1 (C3/9) ; 149.2 (C3/9) ; 152.0 (C1) .

IR(ATR): ν [cm^{-1}] = $2130 \text{ (s, N}_3\text{-Valenzschw.)}$

Synthese von **N-(3-Azidopropyl)-7-chlorchinolin-4-amin (14)**

Zu 500 mg ($2.12 \text{ mmol, 1.0 \text{ \u00c4q.}}$) N^1 -(7-Chlorchinolin-4-yl)propan-1,3-diamin (**2**) wurden 586 mg ($4.24 \text{ mmol, 2.0 \text{ \u00c4q.}}$) Kaliumcarbonat und 5 mg (1 mol\%) Kupfer(II)sulfat Pentahydrat vorgelegt, ehe die Mischung unter R\u00fchren in Methanol gel\u00f6st wurde und 489 mg ($2.33 \text{ mmol, 1.1 \text{ \u00c4q.}}$) Imidazol-1-sulfonylazid Hydrochlorid hinzugef\u00fcgt wurden. Der Ansatz wurde f\u00fcr 20 h ger\u00fchrt und im Anschluss daran filtriert. Nach Entfernen des L\u00f6sungsmittels wurde der verbliebene R\u00fcckstand in Dichlormethan gel\u00f6st und zweimal mit Wasser extrahiert. Die organische Phase wurde mit ges. Natriumchlorid-L\u00f6sung gewaschen und \u00fcber Natriumsulfat getrocknet, sodass nach dem Abdestillieren des L\u00f6sungsmittels 398 mg ($1.52 \text{ mmol, 72 \%$) eines orangegelben Feststoffs erhalten wurden.



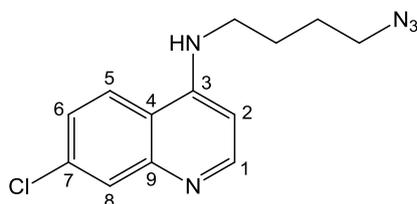
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = $1.93 \text{ (quin, } J = 6.8 \text{ Hz, 2 H, CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{)}$; $3.34 \text{ (dd, } J = 6.7, 12.4 \text{ Hz, 2 H, NHCH}_2\text{)}$; $3.50 \text{ (t, } J = 6.7 \text{ Hz, 2 H, CH}_2\text{NH}_2\text{)}$; $6.49 \text{ (d, } J = 5.5 \text{ Hz, 1 H, H2)}$; $7.32 \text{ (t, } J = 5.2 \text{ Hz, 1 H,)}$; $7.45 \text{ (dd, } J = 2.3, 9.0 \text{ Hz, 1 H, H6)}$; $7.79 \text{ (d, } J = 2.2 \text{ Hz, 1 H, H8)}$; $8.27 \text{ (d, } J = 9.0 \text{ Hz, 1 H, H5)}$; $8.41 \text{ (d, } J = 5.4 \text{ Hz, 1 H, H1)}$.

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = $27.1 \text{ (CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{)}$; $39.6 \text{ (CH}_2\text{N}_3\text{)}$; $48.5 \text{ (NHCH}_2\text{)}$; 98.6 (C2) ; 117.5 (C4) ; 124.0 (C5/C6) ; 124.1 (C5/C6) ; 127.5 (C8) ; 133.3 (C7) ; 149.0 (C9) ; 150.0 (C3) ; 151.9 (C1) .

IR(ATR): ν [cm^{-1}] = $2092 \text{ (s, N}_3\text{-Valenzschw.)}$

Synthese von *N*-(4-Azidobutyl)-7-chlorchinolin-4-amin (**15**)

500 mg (2.01 mmol, 1.0 äq.) *N*¹-(7-Chlorchinolin-4-yl)butan-1,4-diamin (**3**), 563 mg (4.07 mmol, 2.0 äq.) Kaliumcarbonat und 5 mg (1 mol%) Kupfer(II)sulfat Pentahydrat wurden unter Rühren in Methanol gelöst. Zu der Lösung wurden 461 mg (2.20 mmol, 1.1 äq.) Imidazol-1-sulfonylazid Hydrochlorid gegeben und der Ansatz für 20 h gerührt. Nach anschließender Filtration wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen. Die Lösung wurde zweimal mit Wasser extrahiert und die vereinigte organische Phase danach ges. Natriumchlorid-Lösung gewaschen, sowie über Natriumsulfat getrocknet. Nach erneutem Abdestillieren des Lösungsmittels konnte eine Ausbeute von 538 mg (1.95 mmol, 97 %) eines gelben Feststoffs bestimmt werden.



¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 1.62 – 1.76 (m, 4 H, CH₂CH₂CH₂CH₂); 3.29 (dd, *J* = 6.4, 12.2 Hz, 2 H, CH₂N₃); 3.40 (t, *J* = 6.5 Hz, 2 H, NHCH₂); 6.48 (d, *J* = 5.4 Hz, 1 H, H₂); 7.31 (t, *J* = 5.2 Hz, 1 H,); 7.44 (dd, *J* = 2.2, 9.0 Hz, 1 H, H₆); 7.78 (d, *J* = 2.2 Hz, 1 H, H₈); 8.28 (d, *J* = 9.0 Hz, 1 H, H₅); 8.40 (d, *J* = 5.4 Hz, 1 H, H₁).

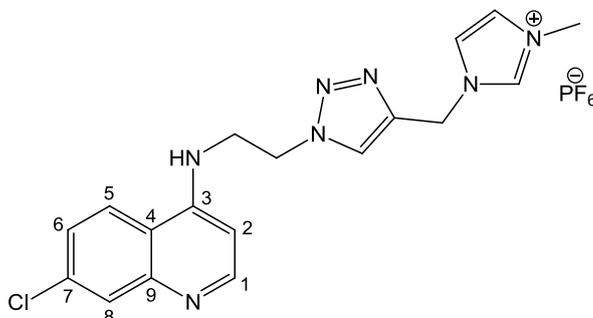
¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ [ppm] = 25.0 (CH₂); 25.9 (CH₂); 41.8 (CH₂N₃); 50.4 (NHCH₂); 98.6 (C₂); 117.4 (C₄); 123.9 (C₆); 124.0 (C₅); 127.5 (C₈); 133.3 (C₇); 149.1 (C₉); 150.0 (C₃); 151.9 (C₁).

IR(ATR): ν [cm⁻¹] = 2088 (s, N₃-Valenzschw.)

Synthese von Verbindung **16**

200 mg (0.81 mmol, 1 äq.) Chinolinazid **13** und 200 mg (0.81 mmol, 1 äq.) 1-Methyl-3-propargylimidazoliumiodid wurden in einem Gemisch aus *tert*-Butanol, Acetonitril und Wasser (2:1:1) gelöst. Zu der Mischung wurden 10 mg (5 mol%) Kupfer(II)sulfat Pentahydrat und 16 mg (10 mol%) Natriumascorbat gegeben. Das resultierende Reaktionsgemisch wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittelgemisch bei reduziertem Druck entfernt und

der Rückstand in Wasser aufgenommen. Zu der Lösung wurden 160 mg (0.97 mmol, 1.2 äq.) Ammoniumhexafluorophosphat gegeben und der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Es wurden 356 mg (0.69 mmol, 85 %) eines blassgelben Feststoffs erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 3.80 (dd, $J = 5.6, 11.7$ Hz, 2 H, NHCH_2); 3.85 (s, 3 H, Me); 4.68 (t, $J = 5.9$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-Triaz}$); 5.47 (s, 2 H, $\text{Triaz-CH}_2\text{-Im}$); 6.45 (d, $J = 5.3$ Hz, 1 H, H2); 7.42 (t, $J = 5.8$ Hz, 1 H, NH); 7.47 (dd, $J = 2.0, 9.0$ Hz, 1 H, H6); 7.61 (t, $J = 1.7$ Hz, 1 H, CH=CH-Im); 7.66 (t, $J = 1.7$ Hz, 1 H, CH=CH-Im); 7.82 (s, 1 H, H8); 8.12 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H5); 8.21 (s, 1 H, CH-Triaz); 8.35 (s, 1 H, H1); 9.07 (s, 1 H, NCHN).

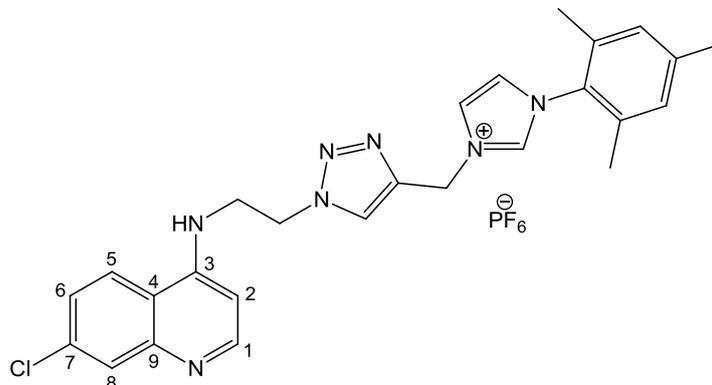
$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 36.0 (Me); 42.4 (NHCH_2); 43.6 ($\text{Triaz-CH}_2\text{-Im}$); 48.4 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-Triaz}$); 98.6 (C2); 117.4 (C4); 122.3 (CH=CH-Im); 123.9 (CH=CH-Im); 123.9 (C5); 124.5 (C6); 125.3 (CH-Triaz); 127.6 (C8); 133.8 (C7); 136.5 (NCHN); 140.4 (*ipso-C-Triaz*); 149.8 (C3); 151.9 (C9); 151.9 (C1).

$^{31}\text{P-NMR}$ (243 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = -144.2 (sep, $J_{\text{P-F}} = 711.4$ Hz, PF_6)

Synthese von Verbindung 17

200 mg (0.81 mmol, 1 äq.) Chinolinazid **13** und 250 mg (0.81 mmol, 1 äq.) 1-Mesithyl-3-propargylimidazoliumbromid wurden in einem Gemisch aus tert-Butanol, Acetonitril und Wasser (2:1:1) gelöst. Zu der Mischung wurden 10 mg (5 mol%) Kupfer(II)sulfat Pentahydrat und 16 mg (10 mol%) Natriumascorbat gegeben. Das resultierende Reaktionsgemisch wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittelgemisch bei reduziertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Zu der Lösung wurden 160 mg (0.97 mmol, 1.2 äq.) Ammoniumhexafluorophosphat gegeben und der

ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Es wurden 445 mg (0.72 mmol, 89 %) eines blaugelben Feststoffs erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 1.97 (s, 6 H, *o*-Me); 2.34 (s, 3 H, *p*-Me); 4.07 (dd, $J = 5.7, 11.2$ Hz, 2 H, NHCH_2); 4.77 (t, $J = 5.7$ Hz, 2 H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-Triaz}$); 5.60 (s, 2 H, $\text{Triaz-CH}_2\text{-Im}$); 6.88 (d, $J = 7.1$ Hz, 1 H, H2); 7.15 (s, 2 H, *m*-H); 7.77 (dd, $J = 2.1, 9.1$ Hz, 1 H, H6); 7.91 (m, 2 H, CH=CH-Im); 7.93 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, H8); 8.32 (s, 1 H, CH-Triaz); 8.36 (d, $J = 9.2$ Hz, 1 H, H5); 8.56 (d, $J = 7.0$ Hz, 1 H, H1); 9.20 (t, $J = 5.7$ Hz, 1 H, NHCH_2); 9.45 (t, $J = 1.5$ Hz, 1 H, NCHN).

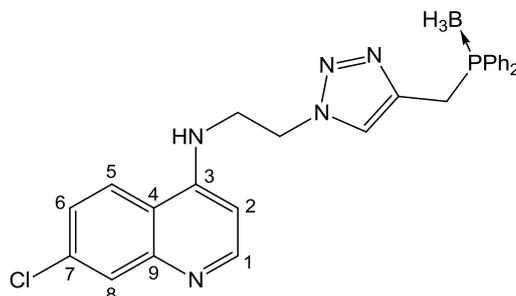
$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 16.8 (*o*-Me); 20.6 (*p*-Me); 42.9 (NHCH_2); 44.2 ($\text{Triaz-CH}_2\text{-Im}$); 47.9 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-Triaz}$); 98.8 (C2); 115.6 (C4); 119.8 (C8); 123.1 (CH=CH-Im); 124.2 (CH=CH-Im); 125.2 (CH-Triaz); 125.4 (C5); 127.1 (C6); 129.3 (*m*-C); 131.1 (*o*-C-Ph); 134.3 (*ipso*-C-Ph); 137.6 (NCHN); 138.1 (C7); 139.0 (C9); 140.1 (*p*-C-Ph); 140.4 (*ipso*-C-Triaz); 143.8 (C1); 155.4 (C3).

$^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = -144.2 (sep, $J_{\text{P-F}} = 711.3$ Hz, PF_6)

Synthese von Verbindung 18

160 mg (0.63 mmol, 1 äq.) Chinolinazid **13** und 150 mg (0.63 mmol, 1 äq.) Propargyl(diphenyl)phosphan-Borankomplex wurden in einem Gemisch aus tert-Butanol, Acetonitril und Wasser (2:1:1) gelöst. Zu der Mischung wurden 8 mg (5 mol%) Kupfer(II)sulfat Pentahydrat und 12 mg (10 mol%) Natriumascorbat gegeben. Das resultierende Reaktionsgemisch wurde 12 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser verdünnt und zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter

NaCl-Lösung extrahiert und über Natriumsulfat getrocknet. Entfernen des Lösemittels lieferten 300 mg (0.62 mmol, 98 %) eines weißen Feststoffs.

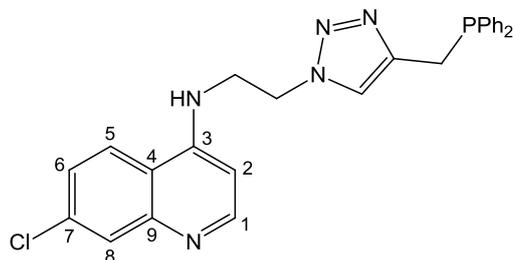


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 0.88 – 1.90 (m, 3 H, BH_3); 3.74 – 3.79 (m, 4 H, Triaz- CH_2 - $\text{PPh}_2/\text{CH}_2\text{CH}_2$ -Triaz); 4.64 (dd, $J = 4.8, 6.2$ Hz, 2 H, NHCH_2); 5.70 (s, 1 H, NH); 6.38 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, H2); 7.34 – 7.43 (m, 7 H, Ph/H6); 7.55 (d, $J = 1.9$ Hz, 1 H, H8); 7.65 – 7.70 (m, 4 H, Ph); 7.97 (d, $J = 2.1$ Hz, H5); 8.54 (d, $J = 5.3$ Hz, 1 H, H1).

$^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 16.3 (br d, $J_{\text{P-B}} = 54.6$ Hz).

Synthese von Verbindung 19

200 mg (0.41 mmol) des Phosphans **18** wurden in THF gelöst und mit 55 mg (0.49 mmol, 1.2 äq.) DABCO versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 4 h bei 70 °C unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen. Filtrieren über Kieselgel und Entfernen des Lösemittels lieferten 100 mg (0.21 mg, 52 %) eines weißen Feststoffs.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 3.48 (s, 2 H, Triaz- CH_2 - PPh_2); 3.70 (dd, $J = 5.6, 11.4$ Hz, 2 H, NHCH_2); 4.56 (t, $J = 6.2$ Hz, 2 H, CH_2CH_2 -Triaz); 6.49 (d, $J = 5.5$ Hz, 1 H, H2); 7.30 – 7.31 (m, 4 H, Ph); 7.38 – 7.50 (m, 7 H, H6/Ph); 7.64 (s, 1 H, CH-Triaz); 7.82 (d, $J = 2.1$ Hz, 1 H, H8); 8.15 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H, H5); 8.39 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 23.9 (d, $J_{\text{C-P}} = 13.9$ Hz, Triaz- CH_2 - PPh_2); 42.4 (NHCH_2); 47.7 (CH_2CH_2 -Triaz); 98.8 (C2); 117.4 (C4); 123.0 (CH-Triaz); 123.9 (C5);

124.4 (C6); 127.4 (C8); 128.4 (d, $J_{C-P} = 6.4$ Hz, Ph); 130.6 (d, $J_{C-P} = 9.2$ Hz, Ph); 132.4 (d, $J_{C-P} = 18.7$ Hz, Ph); 133.6 (C7); 138.0 (*ipso*-C-Triaz); 142.7 (d, $J_{C-P} = 10.3$ Hz, Ph); 148.8 (C3); 149.8 (C9); 151.7 (C1).

^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = - 15.1

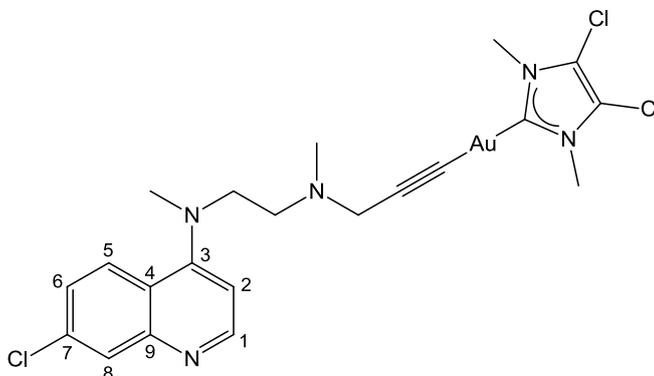
2.5.3. Synthese der Komplexe

Allgemeine Synthese der Komplexe 20a – c

30 mg (0.10 mmol, 1 äq.) des Liganden **6** wurden in Methanol gelöst und mit 10 mg (0.15 mmol, 1.5 äq.) Natriummethanolat versetzt. Die Mischung wurde für 10 min gerührt bevor eine Lösung von einem Äquivalent (0.10 mmol) des jeweiligen Carben-Gold-Chlorids in Dichlormethan zugegeben wurde. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand in DCM aufgenommen. Das bei der Reaktion gebildete Natriumchlorid wurde abfiltriert und das Filtrat auf wenige mL eingengt. Das Produkt konnte im Anschluss mit Hexan ausgefällt und abfiltriert werden.

Synthese von Komplex 20a

Aus 42 mg (0.10 mmol, 1 äq.) 4,5-Dichlor-1,3-dimethyl-2-yliden-goldchlorid konnten 45 mg (0.07 mmol, 70 %) eines gelben Feststoffs erhalten werden.



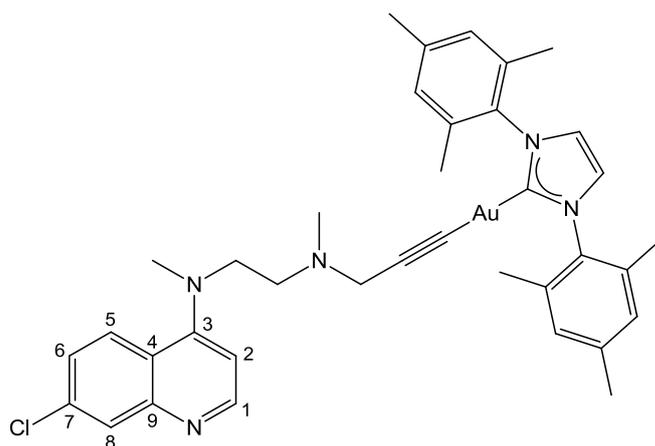
^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.43 (s, 3 H, Me-Seitenkette); 2.98 (t, $J = 7.2$ Hz, 2 H, CH_2 -Seitenkette); 3.05 (s, 2 H, Me-Seitenkette); 3.45 (t, $J = 7.2$ Hz, 2 H, CH_2 -Seitenkette); 3.59 (s, 2 H, CH_2 -Propargyl); 3.83 (s, 6 H, Me-Carben); 6.84 (d,

$J = 5.2$ Hz, 1 H, H2); 7.50 (dd, $J = 2.2, 9.0$ Hz, 1 H, H6); 7.99 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, H8); 8.15 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H, H5); 8.64 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, H1).

^{13}C -NMR (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 36.6 (Me-Carben); 40.9 (Me-Seitenkette); 42.5 (Me-Seitenkette); 46.9 (CH_2 -Propargyl); 52.7 (CH_2 -Seitenkette); 54.4 (CH_2 -Seitenkette); 98.0 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$); 108.1 (C2); 117.4 (ClC=C(Cl)); 120.9 ($\text{C}\equiv\text{C}$ -Au); 121.6 (C4); 125.6 (C5/C6); 126.2 (C5/C6); 128.4 (C8); 134.6 (C7); 150.3 (C9); 151.3 (C3); 157.3 (C1); 188.0 (Carben-C).

Synthese von Komplex 20b

Aus 56 mg (0.10 mmol, 1 äq.) 1,3-Dimesityl-2*H*-imidazol-2-yliden-goldchlorid konnten 65 mg (0.08 mmol, 80 %) eines gelben Feststoffs erhalten werden.

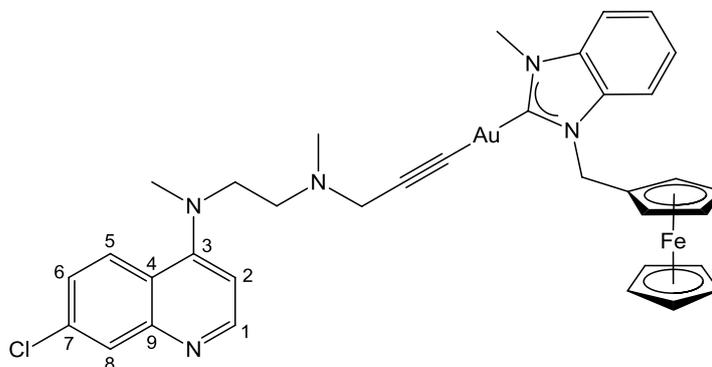


^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.13 (s, 12 H, *o*-Me); 2.28 (s, 3 H, NMe); 2.31 (s, 6 H, *p*-Me); 2.82 (m, 2 H, CH_2 -Seitenkette); 2.96 (s, 3 H, NMe); 3.33 (m, 2 H, CH_2 -Seitenkette); 3.37 (s, 2 H, CH_2 -Propargyl); 6.78 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, H2); 6.98 (s, 4 H, *m*-H); 7.06 (s, 2 H, Imidazol); 7.39 (dd, $J = 2.2, 9.0$ Hz, 1 H, H6); 8.00 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, H8); 8.03 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H5); 8.61 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, H1).

^{13}C -NMR (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 17.8 (*o*-Me); 21.1 (*p*-Me); 40.6 (NMe); 42.6 (NMe); 47.4 (CH_2 -Propargyl); 53.0 (CH_2 -Seitenkette); 54.6 (CH_2 -Seitenkette); 97.2 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$); 108.0 (C2); 119.2 (C4); 121.6 ($\text{C}\equiv\text{C}$ -Au); 122.2 (HC=CH-Imidazol); 125.5 (C5/C6); 126.2 (C5/C6); 129.4 (*m*-Ph); 134.8 (C7); 134.8 (*o*-Ph); 139.4 (*p*-Ph); 149.2 (C9); 150.4 (C3); 151.4 (C1); 189.5 (Carben-C).

Synthese von Komplex 20c

Aus 60 mg (0.10 mmol, 1 äq.) 1-(Ferrocenylmethyl)-3-methyl-2*H*-benzimidazol-2-yliden-goldchlorid konnten 65 mg (0.08 mmol, 80 %) eines gelben Feststoffs erhalten werden.



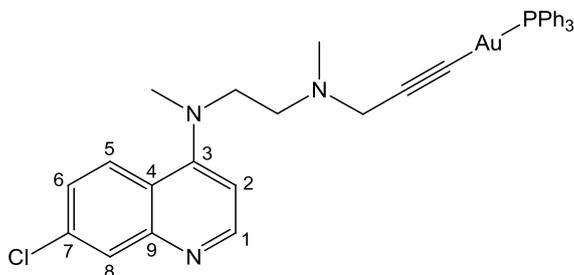
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.48 (s, 3 H, CH_2 -Seitenkette); 3.04 (t, $J = 7.3$ Hz, 2 H, Me-Seitenkette); 3.07 (s, 3 H; Me-Seitenkette); 3.48 (t, $J = 7.3$ Hz, 2 H, CH_2 -Seitenkette); 3.65 (s, 2 H, CH_2 -Propargyl); 4.04 (s, 3 H, Me-Carben); 4.12 (t, $J = 1.8$ Hz, 2 H, Fc); 4.23 (s, 5 H, Fc); 4.51 (t, $J = 1.8$ Hz, 2 H, Fc); 5.48 (s, 2 H, NCH_2Fc); 6.86 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, H2); 7.39 – 7.41 (m, 3 H, Benzimidazol); 7.49 – 7.52 (m, 1 H, Benzimidazol); 7.54 (dd, $J = 2.2, 9.1$ Hz, 1 H, H6); 8.01 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, H8); 8.19 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H, H5); 8.66 (d, $J = 5.3$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 34.8 (Me-Carben); 40.8 (Me-Seitenkette); 42.7 (Me-Seitenkette); 47.3 (CH_2 -Propargyl); 53.0 (CH_2 -Seitenkette); 54.7 (CH_2 -Seitenkette); 68.6 (Fc); 69.0 (Fc); 69.4 (Fc); 81.8 (NCH_2Fc); 98.5 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$); 108.1 (C2); 111.1 (Benzimidazol); 111.3 (Benzimidazol); 121.7 (C4) 122.5 ($\text{C}\equiv\text{C-Au}$); 124.1 (Benzimidazol); 124.2 (Benzimidazol); 125.6 (C5/C6); 126.3 (C5/C6); 132.9 (Benzimidazol); 133.1 (Benzimidazol); 134.6 (C7); 150.5 (C9); 151.5 (C3); 157.4 (C1); 194.1 (Carben-C).

Synthese von Komplex 21a

30 mg (0.10 mmol, 1 äq.) des Liganden **6** wurden in Methanol gelöst und mit 10 mg (0.15 mmol, 1.5 äq.) Natriummethanolat versetzt. Die Mischung wurde für 10 min gerührt, bevor eine Lösung von 50 mg (0.10 mmol, 1 äq.) $[\text{AuCl}(\text{PPh}_3)]$ in Dichlormethan zugegeben wurde. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei

Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösemittel entfernt und der Rückstand in DCM aufgenommen. Das bei der Reaktion gebildete Natriumchlorid wurde abfiltriert und das Filtrat auf wenige mL eingengt. Bei Zugabe von Diethylether fiel ein gelb-brauner Feststoff aus. Filtrieren und Trocknen lieferten 55 mg (0.07 mmol, 74 %) des gewünschten Produkts.



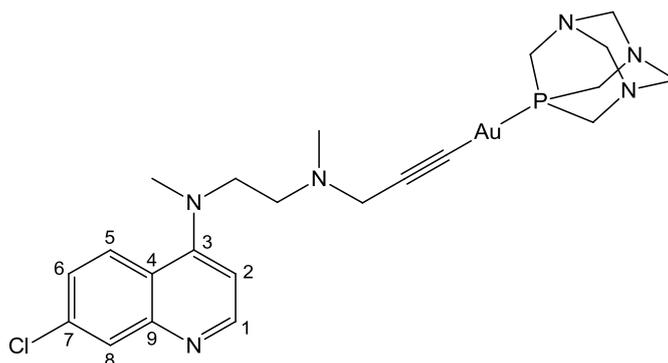
$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.47 (s, 3 H, Me); 3.01 (m, 2 H, CH_2 -Seitenkette); 3.08 (s, 3 H, Me); 3.49 (m, 2 H, CH_2 -Seitenkette); 3.61 (s, 2 H, CH_2 -Propargyl); 6.85 (d, $J = 5.3$ Hz, 1 H, H2); 7.48 - 7.58 (m, 16 H, Ph/H6); 8.02 (d, $J = 1.7$ Hz, 1 H, H8); 8.17 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H5); 8.65 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 Hz, CDCl_3): δ [ppm] = 40.8 (Me); 42.4 (Me); 47.0 (CH_2 -Propargyl); 52.9 (CH_2 -Seitenkette); 54.6 (CH_2 -Seitenkette); 97.1 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$); 108.1 (C2); 121.7 (C4); 125.6 (C5/C6); 126.1 (C5/C6); 128.5 (C8); 128.9 8 (d, $J_{\text{C-P}} = 66.9$ Hz, PPh_3); 129.1 (d, $J_{\text{C-P}} = 11.3$ Hz, PPh_3); 131.5 (d, $J_{\text{C-P}} = 2.1$ Hz, PPh_3); 134.3 (d, $J_{\text{C-P}} = 13.8$ Hz, PPh_3); 134.6 (C7); 150.4 (C9); 151.4 (C3); 157.4 (C1).

$^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 42.2.

Synthese von Komplex 21b

In einen Schlenkkolben wurden 75 mg (0.26 mmol, 1 äq.) des Liganden **6** in trockenem THF gelöst. Unter Stickstoffatmosphäre wurden 0.14 ml (0.28 mmol, 1.1 äq.) einer 2 M NaHMDS-Lösung in THF zugetropft. Die Mischung wurde für 10 min gerührt. Anschließend wurden 100 mg (0.26 mmol, 1 äq.) $[\text{AuCl}(\text{PTA})]$ zugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt. Nach entfernen des Lösemittels wurde der Rückstand in einem Gemisch aus DCM und MeOH (95:5) aufgenommen und über Kieselgel filtriert. Nach entfernen des Lösemittels wurden 80 mg (0.13 mmol, 49 %) eines blassgelben Feststoffs erhalten.



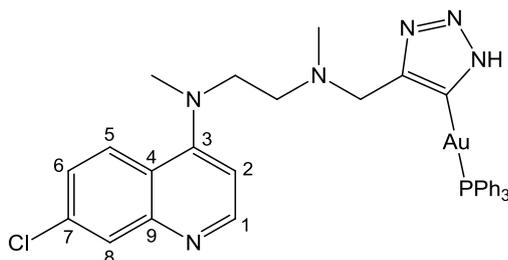
$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 2.37 (s, 3 H, Me); 2.90 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3.04 (s, 3 H, Me); 3.42 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3.48 (s, 2 H, CH_2 -Propargyl); 4,24 (s, 6 H, PTA); 4,54 (dd, $J = 13.3, 37.4$ Hz, 6 H, PTA), 6.83 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, H2); 7,48 (dd, $J = 2.2, 9.0$ Hz, 1 H, H6); 8.02 (d, $J = 2.2$ Hz, 1 H, H8); 8.12 (d, $J = 9.0$, 1 H, H5); 8.65 (d, $J = 5.2$ Hz, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 40.8 (Me); 42.5 (Me); 46.8 (CH_2 -Propargyl); 52.4 (d, $J_{\text{C-P}} = 20.2$ Hz, NCH_2N); 52.7 (CH_2 -Seitenkette); 54.6 (CH_2 -Seitenkette); 73.3 (d, $J_{\text{C-P}} = 7.5$ Hz, PCH_2N); 96.5 ($\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$); 108.2 (C2); 121.6 ($\text{C}\equiv\text{C-Au}$); 121.7 (C4); 125.6 (C5/C6); 126.1 (C5/C6); 128.5 (C8); 134.5 (C7); 150.4 (C9); 151.4 (C3); 157.3 (C1).

$^{31}\text{P-NMR}$ (243 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = - 49.8.

Synthese von Komplex 22

75 mg (0.26 mmol, 1 äq.) des Liganden **6** und 130 mg (0.26 mmol, 1 äq.) $[\text{AuN}_3(\text{PPh}_3)]$ wurden in Toluol gelöst und für 72 h vor Licht geschützt gerührt. Der ausgefallene hellgelbe Feststoff wurde abgesaugt, mit Toluol sowie Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet. Es wurden 60 mg (0.08 mmol, 31 %) eines hellgelben Feststoffs erhalten.



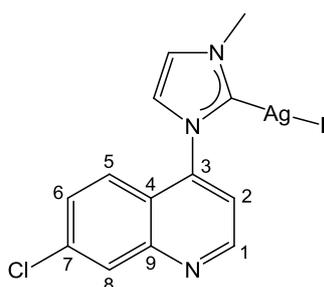
$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 2.29 (s, 3 H, Me); 2.76 (t, $J = 6.9$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2.78 (s, 3 H, Me); 3.29 (t, $J = 6.8$ Hz, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3.73 (s, 2 H, $\text{NCH}_2\text{-Triaz}$); 6.70 (d, $J = 5.2$ Hz, 1 H, H2); 7.34 (dd, $J = 2.1, 9.0$ Hz, 1 H, H6); 7.51 – 7.57 (m, 15 H, PPh_3); 7.87 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H, H8); 7.96 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H5); 8.47 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H, H1); 14.15 (s, 1 H, NH-Triaz).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 40.0 (Me); 42.8 (Me); 53.2 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 54.2 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 54.3 (NCH_2Triaz); 107.9 (C2); 120.8 (C4); 124.6 (C5); 126.4 (C6); 128.1 (C8); 129.4 (d, $J_{\text{C-P}} = 10.9$ Hz, PPh_3); 129.5 (d, $J_{\text{C-P}} = 66$ Hz, PPh_3); 131.7 (br, PPh_3); 133.1 (C7); 133.7 (d, $J_{\text{C-P}} = 13.9$ Hz, PPh_3); 148.8 (Traizol); 149.9 (C9); 151.3 (C3); 156.3 (C1); 161.0 (Au-C).

$^{31}\text{P-NMR}$ (243 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 43.4.

Synthese von Komplex 23

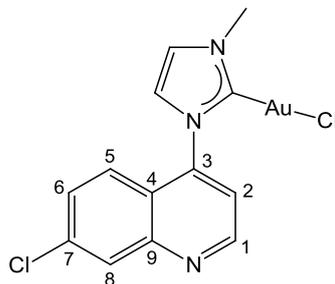
175 mg (0.47 mmol, 1 äq.) des Imidazoliumsalzes **11** wurden in DCM gelöst und mit 55 mg (0.24 mmol, 0.5 äq.) Silber(I)oxid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde vor Licht geschützt und über Nacht gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und getrocknet. Es wurden 210 mg (0.44 mmol, 93 %) eines beige-gelben Feststoffs erhalten. Das Produkt wurde ohne weitere Charakterisierung für die Herstellung des entsprechenden Goldcarbens eingesetzt.



Synthese von Komplex 25

100 mg (0.21 mmol, 1 äq.) des Silbercarbens **23** wurden in DCM suspendiert und mit 70 mg (0.21 mmol, 1 äq.) $[\text{AuCl}(\text{tht})]$ versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend über Celite filtriert. Das

Filtrat wurde auf wenige mL eingengt und das Produkt mit Hexan gefällt. Filtrieren und Trocknen lieferten 60 mg (0.13 mmol, 62 %) eines gelben Feststoffs.

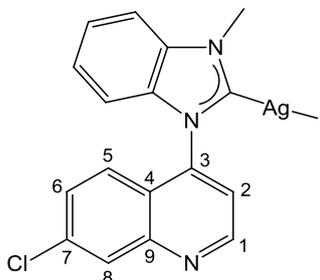


$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 4.00 (s, 3 H, Me); 7.26 (d, $J = 1.9$ Hz, 1 H, $\text{NHC}=\text{CHN}$); 7.32 (d, $J = 1.9$ Hz, 1 H, $\text{NHC}=\text{CHN}$); 7.57 (d, $J = 1.2$ Hz, 2 H, H5/H6); 7.62 (d, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H2); 8.25 (t, $J = 1.2$ Hz, 1 H, H8); 9.06 (d, $J = 4.6$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 38.7 (Me); 119.3 (C2); 122.3 (C4); 122.8 (C5/C6); 123.4 (C5/C6); 129.2 ($\text{NHC}=\text{CHN}$); 129.4 ($\text{NHC}=\text{CHN}$); 137.0 (C7); 143.0 (C9); 149.9 (C3); 151.6 (C1); 173.1 (Carben-C).

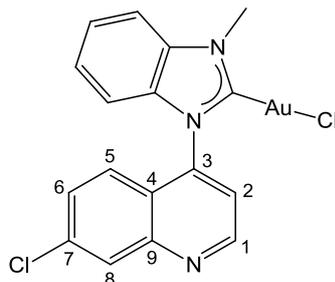
Synthese von Komplex 24

100 mg (0.24 mmol, 1 äq.) des Imidazoliumsalzes **12** wurden in DCM gelöst und mit 30 mg (0.12 mmol, 0.5 äq.) Silber(I)oxid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde vor Licht geschützt und über Nacht gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und getrocknet. Es wurden 105 mg (0.20 mmol, 83 %) eines beige-gelben Feststoffs erhalten. Das Produkt wurde ohne weitere Charakterisierung für die Herstellung des entsprechenden Goldcarbens eingesetzt.



Synthese von Komplex 26

50 mg (0.95 mmol, 1 äq.) des Sibercarbans **24** wurden in DCM suspendiert und mit 30 mg (0.95 mmol, 1 äq.) [AuCl(tht)] versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und anschließend über Celite filtriert. Das Filtrat wurde auf wenige mL eingeeengt und das Produkt mit Hexan gefällt. Filtrieren und Trocknen lieferten 28 mg (0.53 mmol, 56 %) eines gelb-orangen Feststoffs.



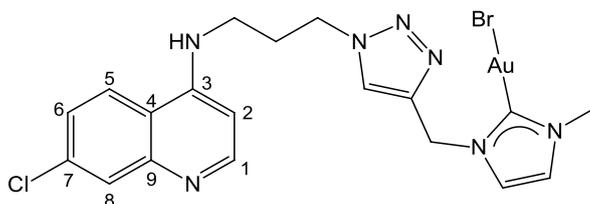
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 4.27 (s, 3 H, Me); 7.67 (d, $J = 2.9$ Hz, 1 H, H2); 9.19 (d, $J = 4.5$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 38.2 (Me); 120.6 (C2); 150.3 (C1); 179.8 (Carben-C).

Alle weiteren Signale können nicht genau zugeordnet werden, da sie von anderen Signalen überlagert werden.

Synthese von Komplex 27

20 mg (0.05 mmol, 1 äq.) (1-Methyl-3-propargyl-1*H*-imidazol-2(3*H*)-yliden)-goldbromid und 13 mg (0.05 mmol, 1 äq.) Chinolinazid **14** wurden in DMF gelöst und mit 4 mg (40 mol%) CuI versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur, vor Licht geschützt gerührt. Der ausgefallene Feststoff wurde abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Es wurden 32 mg (0.05 mmol, quantitativ) eines beige-gelben Feststoffs erhalten.

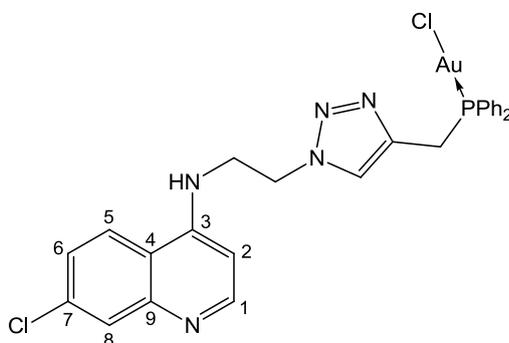


Elementaranalyse [%]: Berechnet für $C_{19}H_{20}AuBrClN_7$: C, 34.64; H, 3.05; N, 14.88.

Gefunden: C, 29.25; H, 3.05; N, 12.12.

Synthese von Komplex 28

50 mg (0.11 mmol, 1 äq.) des Phosphans **19** wurden in DCM suspendiert und mit 35 mg (0.11 mmol, 1 äq.) $[AuCl(tht)]$ versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht, vor Licht geschützt gerührt. Anschließend wurde die klare Lösung auf wenige mL eingeeengt und das Produkt mit Hexan gefällt. Nach Filtrieren und Trocknen wurden 65 mg (0.10 mmol, 90 %) eines weißen Feststoffs erhalten.



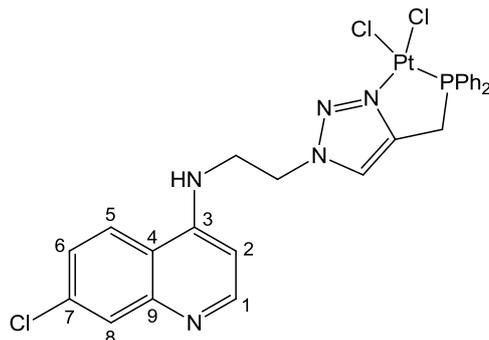
1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 3.84 – 4.85 (m, 2 H, NCH_2CH_2N); 3.96 (d, $J = 11.3$ Hz, Triaz- CH_2 - PPh_2); 4.68 – 4.70 (m, 2 H, NCH_2CH_2N); 6.05 (s, 1 H, NH); 6.39 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H, H2); 7.37 – 7.42 (m, 5 H, $PPh_2/H6$); 7.46 – 7.50 (m, 2 H, PPh_2); 7.61 – 7.66 (m, 5 H, PPh_2/CH -Triaz); 7.91 (d, $J = 9.0$ Hz, 1 H, H5); 7.96 (d, $J = 2.0$ Hz, 1 H, H8); 8.56 (d, $J = 5.3$ Hz, 1 H, H1).

^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 26.6 (d, $J_{C-P} = 37.3$ Hz, Triaz- CH_2 - PPh_2); 42.9 (NCH_2CH_2N); 48.8 (NCH_2CH_2N); 98.8 (C2); 117.3 (C4); 124.0 (d, $J_{C-P} = 5.9$ Hz, CH-Triaz); 126.0 (C5/C6); 127.8 (C5/C6); 128.4 (C8); 129.3 (d, $J_{C-P} = 11.8$ Hz, PPh_2); 132.4 (d, $J_{C-P} = 2.5$ Hz, PPh_2); 133.2 (d, $J_{C-P} = 5.9$ Hz, PPh_2); 135.3 (C7); 140.3 (*ipso*-C-Triaz); 149.0 (C3); 149.1 (C9); 151.8 (C1).

^{31}P -NMR (162 MHz, $CDCl_3$): δ [ppm] = 32.6

Synthese von Komplex 29

25 mg (0.053 mmol, 1 äq.) des Phosphans **19** wurden in DCM suspendiert und mit 20 mg (0.053 mmol, 1 äq.) $[\text{PtCl}_2(\text{COD})]$ versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht, vor Licht geschützt gerührt. Anschließend wurde die klare Lösung auf wenige mL eingeeengt und das Produkt mit Hexan gefällt. Nach Filtrieren und Trocknen wurden 35 mg (0.047 mmol, 89 %) eines weißen Feststoffs erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 3.81 - 3.82 (m, 2 H, Triaz- CH_2 - PPh_2); 4.16 - 4.20 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 4.78 - 4.81 (m, 2 H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 5.42 - 5.59 (m, 1 H, NH); 6.55 (d, $J = 5.6$ Hz, 1 H, H2); 7.17 - 7.21 (m, 4 H, PPh_2); 7.35 - 7.41 (m, 6 H, PPh_2); 7.47 (dd, $J = 2.0, 9.0$ Hz, 1 H, H6); 7.84 - 7.89 (m, 2 H, H8/ CH-Triaz); 8.25 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H, H5); 8.40 (d, $J = 5.6$ Hz, 1 H, H1).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 27.4 ($\text{Triaz-CH}_2\text{-PPh}_2$); 42.4 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 50.7 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 98.8 (C2); 116.7 (C4); 124.8 (CH-Triaz); 125.2 (C5/C6); 127.6 (C5/C6); 128.3 (C8); 128.4 (d, $J_{\text{C-P}} = 11.6$ Hz, PPh_2); 130.6 (d, $J_{\text{C-P}} = 9.2$ Hz, PPh_3); 133.3 (d, $J_{\text{C-P}} = 10.5$ Hz, PPh_3); 135.1 (C7); 137.7 (*ipso-C-Triaz*); 143.3 (C3); 144.5 (C9); 151.9 (C1).

$^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 26.9.

2.5.4. Hämoxoin-Inhibitions-Assay

Herstellung des Acetat-Puffers (2.0 M, pH 4.9):

In einen 100-ml-Messkolben wurden 4.74 ml Eisessig und 15.93 g Natriumacetat Trihydrat gegeben. Es wurde mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Mit Hilfe von NaOH oder HCl wurde der pH-Wert auf 4.9 eingestellt.

Herstellung der Hämatin-Stammlösung (230 μM):

16.3 mg Hämin vom Schwein wurden in 1 ml DMSO gelöst und für eine Minute im Ultraschallbad behandelt. Anschließend wurde die Lösung durch einen 0.45 μm Membranfilter filtriert. Die resultierende Hämin-Stammlösung (25 mM) konnte mehrere Wochen im Kühlschrank gelagert werden. Von dieser Hämin-Stammlösung wurden 184 μl mit Acetat-Puffer auf 20 ml aufgefüllt. Die resultierende braune-Suspension musste täglich frisch zubereitet werden.

Herstellung des HEPES-Puffers (200 mM, pH 7.4):

In einen 50-ml-Messkolben wurden 2.38 g 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure (HEPES) gegeben. Es wurde mit destilliertem Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Der pH-Wert der Lösung wurde mit HCl oder NaOH auf 7.4 eingestellt.

Durchführung des Hämoxoin-Inhibitions-Assays:

Das Test-Assay wurde in 96-Well Mikroplatten durchgeführt. In jede Vertiefung wurden 40 μl Wasser, 10 μl Triton-X-Lösung (350 μM , Endkonzentration 30.5 μM), 14 μl Aceton und 50 μl der Hämatin-Lösung (230 μM , Endkonzentration 100 μM) gegeben. Anschließend wurde 1 μl der in DMSO gelösten Testsubstanz zugegeben. Als negativ Kontrolle wurde 1 μl DMSO und als positiv Kontrolle 1 μl CQ-Lösung zugegeben. Die Mikroplatte wurde 12 h im Trockenschrank bei 37 $^{\circ}\text{C}$ inkubiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden in jede Vertiefung 30 μl Aceton und 16 μl Pyridinlösung (50 % Pyridin, 20 % Aceton in 200 mM HEPES-Puffer) gegeben. Anschließend wurde die Mikroplatte bei 415 nm mit einem Bio-Rad Microplate Reader Model 680 ausgelesen.

2.5.5. Bestimmung der Assoziations-Konstanten mit Hämatin

Eine Hämin-Stammlösung wurde hergestellt, indem 3.5 mg Hämin vom Schwein in 10 mL DMSO gelöst wurden. Die resultierende Lösung konnte mehrere Wochen im Kühlschrank gelagert werden. Für die Herstellung der Hämatin-Stammlösung (40% v/v DMSO, pH 7.5) wurden 140 μL von der Hämin-Stammlösung mit 3.86 mL DMSO, 1 mL TRIS-Puffer (Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, 0.2 M, pH 7.5) und 5 mL destilliertem Wasser verdünnt. Diese Lösung musste täglich frisch hergestellt werden. Von der Hämatin-Stammlösung wurden 2 mL in eine Küvette überführt.

Als Referenzlösung wurden 2 mL einer Lösung aus 4 ml DMSO, 1 mL TRIS-Puffer und 5 ml destilliertem Wasser verwendet. Für die UV/VIS-Titration wurden 5 μ L Aliquote der Testsubstanz (0.5 mM in DMSO) zugegeben. Dabei wurde jeweils auch in die Referenzküvette titriert, um die Absorption der Testsubstanz zu korrigieren. Die Bindungskonstanten wurden durch non-linear least squares fitting mit Origin9 nach folgender Formel bestimmt: $A = (A_0 + A_{\infty}K[c]) / (1 + K[c])$. Es wurden jeweils drei unabhängige Experimente durchgeführt.

2.5.6. Bestimmung der Distributionskoeffizienten

Herstellung des PBS-Puffers:

Für die Herstellung von 1 L PBS-Puffer wurden folgende Salze in einen 1-L-Messkolben eingewogen:

- 8,0 g Natriumchlorid (137 mM)
- 0,2 g Kaliumchlorid (2.7 mM)
- 1,42 g Dinatriumhydrogenphosphat (10 mM)
- 0,27 g Kaliumdihydrogenphosphat (2 mM)

Die Salze wurden zunächst in ca. 900 mL destilliertem Wasser gelöst. Der pH-Wert wurde mit HCl oder NaOH auf 7.4 eingestellt. Anschließend wurde mit destilliertem Wasser auf 1 L aufgefüllt.

Shake-Flask-Methode:

Die verwendeten Lösungsmittel n-Octanol und der PBS-Puffer wurden vorher mit dem jeweils anderen Lösemittel für 24 h gesättigt. Etwa 1 mg der Testsubstanz wurde in 5 mL PBS-Puffer oder n-Octanol gelöst (je nach Löslichkeit). Anschließend wurden ebenfalls 5 mL des anderen Solvens zugegeben. Das resultierende 2-Phasen-System wurde 30 min bei 300 rpm geschüttelt, um das Gleichgewicht einzustellen. Die Proben wurden zentrifugiert (1,500 g, 10 min) und anschließend wurde die Extinktion der beiden Phasen bei 280 nm bestimmt. Als Referenz wurde das jeweilige Lösemittel verwendet. Der Log $D_{7.4}$ -Wert wurde nach folgender Formel bestimmt: $\text{Log } D_{7.4} = \text{Log}(E_{\text{Octanol}}/E_{\text{Wasser}})$.

3. Kapitel

Zytotoxische Platin(II)-dithiocarbamate und
deren Biokonjugate

3.1. Einleitung

3.1.1. Krebs

Als Krebs wird im Allgemeinen ein unkontrolliertes Zellwachstum bezeichnet. Die dabei gebildeten Geschwüre bzw. Wucherungen werden auch als maligne (bösartige) Tumore bezeichnet. Grund für dieses unkontrollierte Zellwachstum sind Mutationen, durch die bestimmte regulatorische Prozesse im Zellzyklus gestört werden, wodurch die Homöostase, also das Gleichgewicht, zwischen der Vermehrung von Zellen, der Zellproliferation, und dem Zelltod, der Apoptose, gestört wird.^[91] Die Folgen des Tumorwachstums können dabei sehr vielfältig sein. So kommt es zum einen zu lokalen Auswirkungen, die das umliegende Gewebe betreffen, zum anderen zu systemischen Auswirkungen, die den ganzen Organismus betreffen. Zu den lokalen Auswirkungen gehört das Verdrängen von gesundem Gewebe oder das Einwachsen in Nachbargewebe. Die Folge können Durchblutungsstörungen sein, die zu einer Nekrose, dem Absterben des Gewebes, führen. Zu den systemischen Auswirkungen gehören unter anderen die Bildung Metastasen, bei denen es sich um Tochtergeschwüre handelt, die vom Primärtumor abwandern und sich über die Blut- und Lymphgefäße im gesamten Körper verteilen und so lebenswichtige Organe befallen und schädigen können. Metastasen sind der häufigste Grund für den Tod von Krebspatienten.^[91] Zu den unmittelbaren Todesursachen zählen Gefäßverschlüsse, sogenannte Embolien, und die Tumorkachexie, eine Auszehrung und Abmagerung des Patienten. Die Entstehung von Krebs hat mehrere Ursachen. Zum einen steigt mit zunehmendem Alter das Risiko für Krebserkrankungen, da die Wahrscheinlichkeit, dass eine bösartige Mutation entsteht mit den Jahren zunimmt. Aber auch Umwelteinflüsse, wie die Exposition mit kanzerogenen Stoffen spielen eine Rolle. Genau so kann eine ungesunde Lebensweise, wie falsche Ernährung, übermäßiger Alkoholkonsum oder Tabakkonsum das Krebsrisiko erhöhen. Bei bestimmten Krebsarten kann zudem eine familiäre Häufung der Erkrankungen beobachtet werden, sodass hier von einer genetischen Veranlagung ausgegangen werden kann. Obwohl prinzipiell alle Organe des menschlichen Körpers von Krebs befallen werden können, kommen einige Krebsarten wesentlich häufiger vor als andere. So sind

besonders Zellen, die sich schnell teilen, wie Keimdrüsen- oder Schleimhautzellen, anfällig für eine Krebserkrankung. So wurden 2012 bei Männern am häufigsten Lungen- (16.7 %), Prostata- (15.0 %) und Darmkrebs diagnostiziert. Während bei Frauen Brust- (25.2 %), Darm- (9.2%) und Lungenkrebs (8.7%) die drei am häufigsten diagnostizierten Krebsarten waren.^[92]

Für die Behandlung von Krebs gibt es grundsätzlich verschiedene Ansätze. Zum einen kommt ein chirurgischer Eingriff, die Resektion, zum Einsatz, bei der der Tumor und die umliegenden Lymphknoten operativ entfernt werden. Eine weitere Behandlungsmethode stellt die Strahlentherapie dar. Hierbei wird der Tumor lokal mit hochenergetischer Strahlung, meist Gammastrahlung, Röntgenstrahlung oder Elektronenstrahlung, bestrahlt, wodurch das bestrahlte Gewebe zerstört wird. Mittlerweile kommen aber auch Neutronen- und Protonenstrahlung zum Einsatz. Eine weitere wichtige Möglichkeit zur Behandlung ist die Gabe von Medikamenten. Hier ist vor allem die „Chemotherapie“ zu nennen, bei der dem Patienten Zytostatika verabreicht werden. Bei den Zytostatikern handelt es sich um Zellgifte, also zytotoxische Verbindungen, deren Wirkmechanismus in den Vorgang der Zellproliferation eingreift. Da sich Krebszellen wesentlich schneller vermehren als gesunde Zellen wirkt das Zytostatikum stärker auf die Krebszellen. Weil sich gesunde Zellen jedoch auch teilen, wenn auch viel langsamer, werden diese während der Chemotherapie ebenfalls geschädigt, was der Grund für die starken Nebenwirkungen einer Chemotherapie ist. Meistens werden zwei oder auch alle drei Behandlungsmethoden miteinander kombiniert um möglichst alle Krebszellen abzutöten. Dabei bezeichnet man die Gabe eines Zytostatikums nach der operativen Entfernung des Tumors als adjuvante Therapie. Hierbei sollen eventuell entstandene Mikrometastasen, falls der Krebs schon gestreut hat, abgetötet werden, und so das Risiko eines Rückfalls minimiert werden. Eine neoadjuvante Therapie beschreibt dagegen die Behandlung mit Zytostatikern vor einem operativen Eingriff um den Tumor zu verkleinern und so eine Operation zu erleichtern. Außerdem werden bei einer Chemotherapie häufig mehrere Wirkstoffe gleichzeitig gegeben um ein möglichst breites Wirkungsspektrum zu erzielen.

Mit 8.2 Mio. Todesfällen im Jahr 2012 ist Krebs eine der weltweit häufigsten Todesursachen. Im selben Jahr wurden 14 Mio. Neuerkrankungen gezählt und die

WHO geht davon aus, dass diese Zahl in den nächsten zwei Jahrzehnten auf 22 Mio. ansteigen wird.^[92] In Deutschland gab es 2013 insgesamt 223,093 Neuerkrankungen. Damit hat sich die absolute Zahl der Neuerkrankungen seit den 1970er Jahren in Deutschland fast verdoppelt. Ein erheblicher Grund hierfür, wenn auch nicht der einzige, ist die Alterung der Gesellschaft durch den demographischen Wandel. Die Zahl der Todesfälle ist dagegen nur leicht angestiegen und ist bei Frauen seit den 1990er Jahren sogar rückläufig. Dieser Rückgang der Krebssterblichkeit ist auf die verbesserten Behandlungsmethoden und eine immer bessere Früherkennung zurückzuführen. Die relative 5-Jahres-Überlebensrate lag 2013 bei 66 % für Frauen und bei 61 % für Männer. Dennoch starben im gleichen Jahr gut 223,000 Menschen in Deutschland an Krebs. Damit ist Krebs in der Bundesrepublik die zweithäufigste Todesursache nach den kardiovaskulären Erkrankungen. Es wird davon ausgegangen, dass in Deutschland insgesamt etwa 4 Millionen Menschen mit einer Krebsdiagnose leben.^[93]

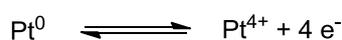
Angesichts dieser Zahlen und den starken Nebenwirkungen die eine Chemotherapie mit sich bringt wird deutlich, dass weiterhin ein großer Bedarf an neuen potenten aber dennoch gut verträglichen Zytostatika in der Onkologie besteht.

3.1.2. Platin in der Krebstherapie

Die zytostatische Wirkung von Cisplatin wurde 1965 zufällig von Barnett Rosenberg an der Michigan State University entdeckt, als dieser die Wirkung eines elektrischen Felds auf das Bakterium *Escherichia coli* untersuchen wollte. Da die Feldlinien zwischen zwei Polen stark dem Spindelapparat ähneln, der sich bei der Mitose bildet, vermutete Rosenberg einen Zusammenhang. Tatsächlich stellte er dabei fest, dass es zu einer Inhibition der Zellteilung kam. Genauere Untersuchungen zeigten jedoch, dass dieser Effekt nicht, wie zunächst angenommen, auf das elektrische Feld zurückzuführen war sondern auf den Platin(II)-Komplex $\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$, der später als Cisplatin bekannt wurde und der sich durch Elektrolysevorgänge an den vermeidlich inerten Platin-Elektroden gebildet hatte. Rosenberg erkannte zunächst, dass ppm-Mengen an elementarem Platin der Platinelektroden zu Platin(IV) (Pt^{4+}) oxidiert wurden. Zusammen mit den Chlorid-

und Ammonium-Ionen aus der Ammoniumchlorid-Nährlösung bildete sich das sehr stabile Ammoniumhexachloroplatinat(IV) aus, das in einer photokatalytischen Reaktion, mit Hilfe von Sonnenlicht, zu dem *cis*-Diammintetrachloroplatin(IV) umgewandelt wurde^[94] (Abbildung 57). Im reduktiven Milieu der Bakterienkultur wurde der Platin(IV)-Komplex zu dem als Cisplatin bekannten Komplex *cis*-Diammindichloroplatin(II) reduziert. Des Weiteren stellte sich schnell heraus, dass die *cis*-Verbindung um ein Vielfaches aktiver ist, als das entsprechende *trans*-Isomer.

Elektrodenprozess:



Bildung von $[\text{PtCl}_6]^{2-}$ (Chlorid-Ionen aus Nährlösung):



Bildung von $(\text{NH}_4)_2[\text{PtCl}_6]$ (Ammonium-Ionen aus Nährlösung):



Photoreaktion:



Abbildung 57: Mechanismus der Bildung der zytotoxischen Platinspezies während Rosenbergs Experiment

Bereits 1845 wurde Cisplatin erstmals von dem italienischen Chemiker Michele Peyrone synthetisiert und war zunächst unter dem Namen Peyrone's Chlorid oder Peyrone's Salz bekannt. Fast 50 Jahre später 1893 gelang es dem Schweizer Chemiker Alfred Werner die Struktur des Komplexes aufzuklären.^[95] Er legte damit eine entscheidende Grundlage für die Komplexchemie, wofür er 1913 den Nobelpreis für Chemie erhielt. In den Jahren nach Rosenbergs Entdeckung übernahmen das NCI (US National Cancer Institut) und die FDA (US Food and Drug Administration) die Weiterentwicklung des Zytostatikums. Bereits 1971 wurden die ersten Patienten mit Cisplatin behandelt und 1978 kam es schließlich zur Markteinführung, was eine bemerkenswert kurze Entwicklungszeit für ein modernes Medikament darstellt. Cisplatin gehört bis heute zu den drei am häufigsten verwendeten Krebsmedikamenten^[96] und etwa jedes zweite Therapieschema, das

bei Tumorerkrankungen angewendet wird, enthält eine Platinverbindung.^[94] Insbesondere beim Hodenkarzinom, für das es vorher keine wirksame Therapie gab, kann mit Cisplatin eine sehr hohe Heilungswahrscheinlichkeit von über 90 % erzielt werden.^[96]

3.1.3. Wirkmechanismus von Cisplatin

Das Target für die Platin-Verbindung stellt die DNA dar. Das Cisplatin gelangt in seiner ungeladenen Form ins Innere der Zelle. Da die Chlorid-Konzentration im extrazellulären Raum mit ca. 100 mM relativ groß ist, bleiben zunächst beide Chlorido-Liganden gebunden. Im Inneren der Zelle ist die Konzentration der Chlorid-Ionen wesentlich niedriger, wodurch das erste Chlorid-Ion relativ schnell durch ein Wassermolekül ausgetauscht wird und das zweite Chlorid etwas langsamer (Abbildung 58).

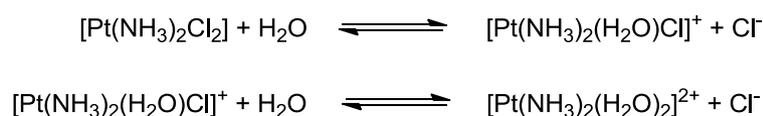


Abbildung 58: Austausch der Cl-Ionen bei Cisplatin

Durch die positive Ladung des resultierenden Komplexes wird dieser in der Zelle akkumuliert. Letztendlich gelangen die Platin-Kationen in den Zellkern, wo es zu einer Reaktion mit der DNA kommt. Da die Platin-Kationen eine ausgeprägte Elektrophilie besitzen, reagieren sie mit der nukleophilsten Stelle der DNA. Diese ist vor allem das N⁷-Atom von Guanin und in weniger ausgeprägter Form das von Adenin. Dadurch kommt es zu einer Quervernetzung zweier benachbarter Guanin-Basen. Dabei können sowohl zwei Guanine des gleichen DNA-Strangs (intrastrand) quervernetzt werden als auch zwei der Purin-Basen aus benachbarten Strängen (interstrand) (Abbildung 59). Hauptsächlich kommt es zur Intrastrand-Quervernetzung, wozu natürlich nur das *cis*-Isomer in der Lage ist, was verdeutlicht warum die *cis*-Verbindung das deutlich aktivere Isomer ist.

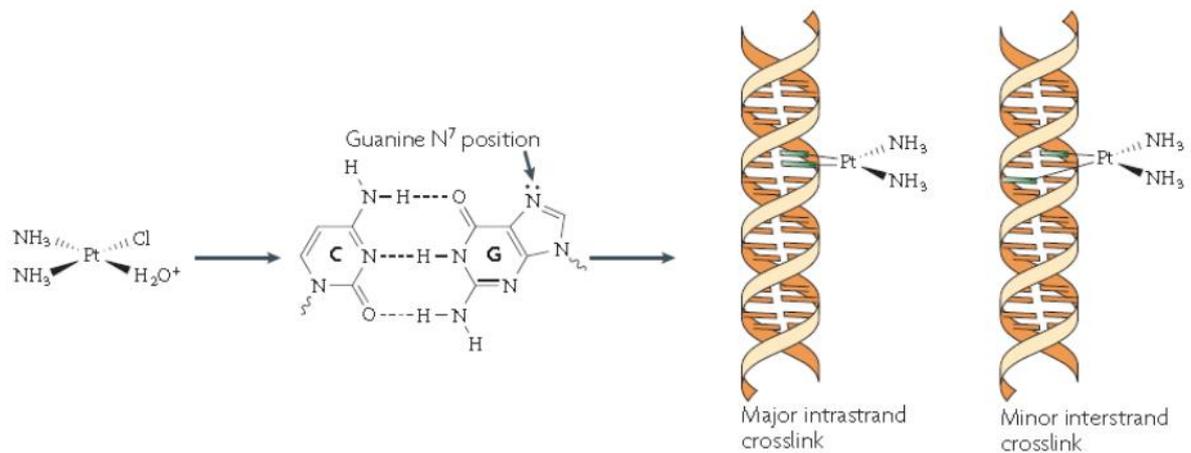


Abbildung 59: Wirkmechanismus von Cisplatin. Entnommen aus: [97]

Die so entstandenen Platin-DNA-Addukte sind äußerst stabil und behindern bestimmte Zellprozesse, wie die Replikation und Transkription. Diese Vorgänge sind besonders wichtig während der G2-Phase des Zellzyklus, kurz vor der Zellteilung. Können diese Prozesse nicht ablaufen, greifen bestimmte Kontrollmechanismen und die Zelle leitet schließlich die Apoptose ein. Da sich Krebszellen wesentlich häufiger teilen als gesunde Körperzellen, durchlaufen sie auch öfter die G2-Phase, bei der die Platin-Addukte zur Apoptose führen. Daher wirkt Cisplatin stärker auf Krebszellen als auf gesunde Zellen. Weil sich aber auch diese ab und zu teilen, kommt es dennoch zu starken Nebenwirkungen.

3.1.4. Cisplatin Analoga

Nach der Entdeckung von Cisplatin wurden tausende neue Metall-Komplexe synthetisiert und auf ihre zytotoxische Aktivität untersucht.^[98] Dennoch sind neben Cisplatin heute nur die zwei Platin-Analoga, Carboplatin und Oxaliplatin, weltweit auf dem Markt verfügbar. Darüber hinaus sind die Derivate Nedaplatin in Japan, Heptaplatin in Südkorea und Lobaplatin in China als Krebsmedikamente zugelassen (Abbildung 60).

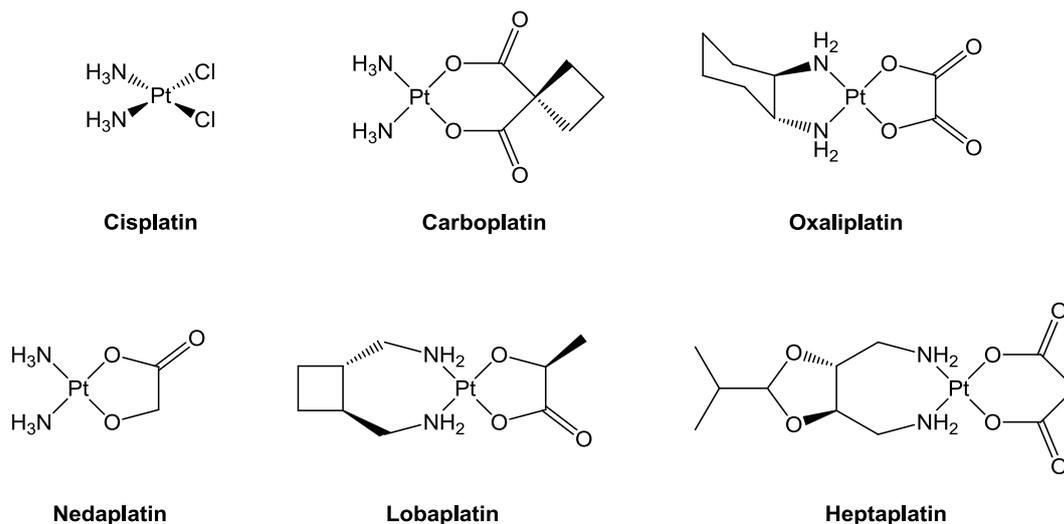


Abbildung 60: Cisplatin und seine Analoga

Grund für die Entwicklung dieser Analoga war es die starken Nebenwirkungen von Cisplatin zu umgehen. Diese Bemühungen führten zum Carboplatin, bei dem die beiden Chlorid-Ionen durch einen 1,1-Cyclobutandicarboxylato-Liganden ausgetauscht wurden. Dieser wird wesentlich langsamer durch Wasser ausgetauscht, wodurch sichergestellt werden soll, dass die aktive Spezies erst am Wirkort gebildet wird und dass es so nicht zu Reaktionen mit Proteinen im Cytoplasma kommt. Das Oxaliplatin wurde eingeführt, da diese Verbindung, anders als Cisplatin und Carboplatin, auch gegen Darmkrebs wirksam ist. Dennoch bleiben auch bei dieser zweiten Generation an Platin-Verbindungen einige Probleme ungelöst. Dazu zählen vor allem die ausgeprägte Nephrotoxizität sowie die zunehmenden Resistenzen gegen die Platin-Komplexe. Dabei handelt es sich entweder um intrinsische Resistenzen oder um Resistenzen, die im Verlauf von mehreren Behandlungszyklen erworben worden sind. Zudem sind die Verbindungen schlecht wasserlöslich, was eine geringe Bioverfügbarkeit zur Folge hat.

3.1.5. Dithiocarbamate

Eine wesentliche Eigenschaft des Platins, ist die hohe Affinität des, nach dem HSAB-Konzepts, weichen Pt(II)-Ions zum ebenfalls weichen Schwefel. Daraus resultieren zwei wichtige Eigenschaften des Cisplatins. Zum einen die Nephrotoxizität, die vermutlich durch die Bindung von Platin an schwefelhaltige, also Cystein- und Methionin-reiche, Nierenenzyme begründet ist. Zum anderen

weisen Tumorzellen, die Resistenzen gegen platinhaltige Krebsmedikamente aufweisen, eine erhöhte Konzentration an Glutathion auf. Glutathion (Abbildung 61) ist ein Tripeptid, das aus den Aminosäuren Glutaminsäure, Cystein und Glycin gebildet wird. Es ist in fast allen Zellen in hoher Konzentration enthalten und gehört zu den wichtigsten Antioxidantien im Körper.

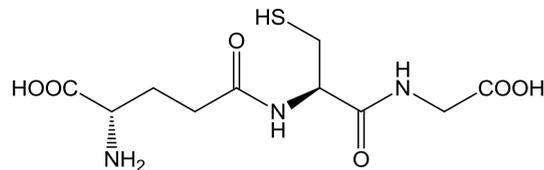


Abbildung 61: Glutathion

Das Glutathion ist, wie andere thiolhaltige Moleküle, in der Lage Platinkomplexe in der Zelle abzufangen. Die starke, irreversible Bindung des Platins an intrazelluläre Thiolat-Liganden wird als Hauptgrund für die Entstehung von Resistenzen angesehen.

Diese starken Wechselwirkungen zwischen schwefelhaltigen Biomolekülen und Platinkomplexen haben zu der Entwicklung von sogenannten *rescue agents* oder *protective agents* geführt. Diese nukleophilen Schwefelverbindungen können ergänzend zu einer Platin-Therapie verabreicht werden und sollen die Nebenwirkungen vermindern ohne dabei die zytotoxische Aktivität der Platin-Verbindungen zu vermindern. Mittlerweile wurden einige potentielle *rescue agents* identifiziert, die vielversprechende Ergebnisse in Studien geliefert haben (Abbildung 62).^[99] Da die Forschung auf diesem Gebiet noch relativ am Anfang steht, wird jedoch keine der Verbindungen bis jetzt standardmäßig in der Krebstherapie eingesetzt.

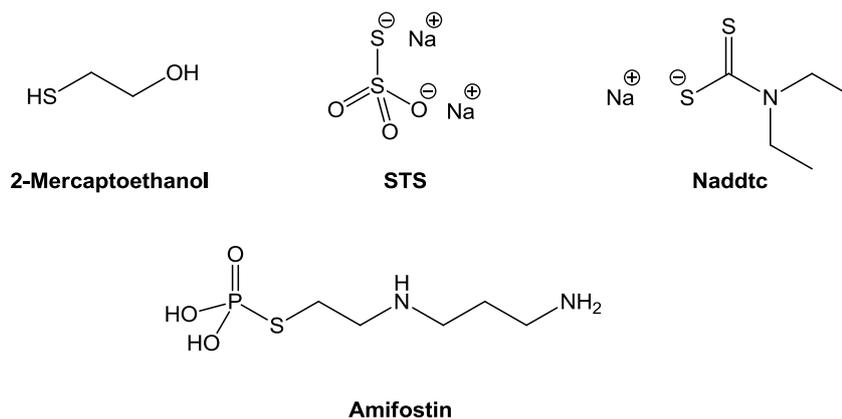


Abbildung 62: rescue agents

Erste Arbeiten auf diesem Gebiet gehen auf Aull et al. zurück, der 1977 feststellen konnten, dass sowohl Cisplatin als auch das trans-Isomer an die Thiolgruppen des Enzyms Thymidylat-Synthase binden^[100]. Die Zugabe von 2-Mercaptoethanol konnte der Ausbildung dieser Wechselwirkungen vorbeugen sie jedoch nicht rückgängig machen. Auch Natriumthiosulfat (sodium thiosulfate, STS) ist in der Lage vor Nephrotoxizität zu schützen, wenn es zwischen 1 h vor und 0.5 h nach der Cisplatin-Injektion verabreicht wird. STS ist zwar nicht in der Lage das proteingebundene Cisplatin freizusetzen, jedoch konnte es in Modellversuchen die Platin-Methionin-Bindung aufbrechen. Eine mögliche Erklärung für die nierenschützenden Eigenschaften ist die Tatsache, dass sich STS in den Nieren akkumuliert, wo es rasch mit Cisplatin reagiert und so den Wirkstoff lokal deaktiviert. Das bisher einzige zugelassene *rescue agent* ist Amifostin, das ursprünglich vom amerikanischen Militär als Radioprotektor entwickelt und 1995 zugelassen wurde. Mittlerweile ist bekannt das Amifostin nicht nur vor schädlicher Strahlung sondern auch vor unerwünschten Nebenwirkungen bei eine Cisplatin-Therapie schützen kann. Dabei ist Amifostin nur die Vorstufe (Prodrug) des eigentlichen Wirkstoffs 2-((Aminopropyl)amino)ethanthiol, der durch membranständige alkalische Phosphatasen der Endothelzellen freigesetzt wird. Da Tumorzellen im Gegensatz zu gesunden Zellen einen leicht sauren pH-Wert und dadurch weniger alkalische Phosphatasen auf der Zelloberfläche aufweisen, kann die Aktivierung der zellschützenden Substanz selektiv in den gesunden Zellen erfolgen. Als besonders vielversprechendes *rescue agent* hat sich auch das Natriumdiethyldithiocarbamat (Naddtc) erwiesen, da es als eines der wenigen *rescue agents* in der Lage ist nicht nur die Bildung von Protein-Platin-Addukten zu verhindern sondern auch das bereits gebundenes Platin von den Thiol-Gruppen

der Proteine zu entfernen. Dabei bleiben die Platin-DNA-Addukte intakt, womit die Antitumor-Aktivität erhalten bleibt. Dennoch findet Naddtc in der Klinik noch keine Anwendung, vor allem wegen der Neurotoxizität des freien Dithiocarbamats. Daher scheint es naheliegend Dithiocarbamate direkt als Liganden in Platin-Komplexen für die Krebstherapie einzusetzen. Diese Komplexe sind durch den Chelateffekt so stabil, dass eine Freisetzung des Dithiocarbamats nicht zu erwarten ist.

3.1.6. Phosphan-Liganden

Phosphan-Liganden stellen eine wichtige Ligandenklasse in der Koordinationschemie dar. Durch Einsatz verschiedener Phosphan-Liganden lassen sich die physiko-chemischen Eigenschaften von Komplexverbindungen hinsichtlich der Löslichkeit variieren. Zudem können die sterischen und elektronischen Eigenschaften des Liganden maßgeblich die Reaktivität des Metallzentrums beeinflussen. Phosphane sind sowohl σ -Donoren, als auch π -Akzeptoren, wodurch sie äußerst stabile Komplexe bilden.

Das 1,3,5-Triaza-7-phosphaadamantan (PTA) ist ein einzähniger Phosphan-Ligand und zeichnet sich besonders durch seine gute Wasserlöslichkeit sowie durch seine Stabilität gegenüber Oxidation und Hydroxylierung aus.^[101] PTA wurde erstmals 1974 beschrieben und sollte ursprünglich zur Herstellung von feuerfesten Beschichtungen für Textilien dienen.^[102] Mittlerweile ist PTA als Ligand weit verbreitet in der Koordinationschemie. So wurden Komplexe mit nahezu allen Übergangsmetallen der Gruppen 6 - 12 beschrieben.^[103,104,105] Neben PTA werden auch Derivate von PTA, zum Beispiel das 3,7-Diacetyl-1,3,7-triaza-5-phosphabicyclo-[3.3.1]nonan (DPTA), als Ligand in der Koordinationschemie eingesetzt (Abbildung 63).

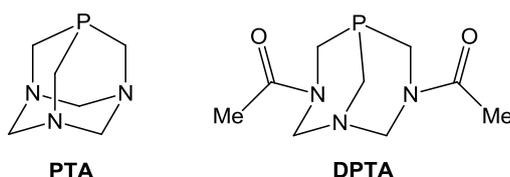


Abbildung 63: PTA und DPTA

PTA und DPTA werden vor allem benutzt um die Wasserlöslichkeit von Komplexen zu erhöhen, somit können auch Platin-Komplexe für die Krebstherapie wasserlöslicher gemacht werden, wodurch die Bioverfügbarkeit und die Konzentration der Verbindung im Zytoplasma erhöht werden können.

Im Gegensatz zu PTA und DPTA ist der Ligand Triphenylphosphin (PPh_3) ein sehr lipophiler Ligand. Triphenylphosphin ist der bekannteste und meist verwendete Vertreter der Phosphanliganden. Auch er zeichnet sich durch seine besonders hohe Stabilität gegenüber Oxidation und Hydroxylierung aus, was eine wichtige Eigenschaft für eine Anwendung in biologischen Systemen darstellt.

3.1.7. Biokonjugate

Lange Zeit wurde vermutet, dass platinhaltigen Medikamente ausschließlich über passive Diffusion durch die Zellmembran ins Innere der Zelle gelangen. Mittlerweile deuten Studien darauf hin, dass vor allem Kupfertransporter, wie der Influxtransporter CTR1, maßgeblich an der Aufnahme von Cisplatin in die Zelle beteiligt sind.^[106,107] Cisplatin resistente Zellen weisen eine deutlich erniedrigte CTR1-Expression auf als Cisplatin sensitive Zellen, was zu dem Schluss führt, dass auch hier ein wesentlicher Grund für die Entstehung von Resistenzen vorliegt.

Biokonjugate stellen eine effektive Methode dar Wirkstoffe, wie in einem „Trojanischen Pferd“, gezielt in die Zelle zu transportieren. Für körpereigene Moleküle gibt es eine ganze Reihe aktiver Transportwege. Durch die Bindung eines Wirkstoffs an ein solches Transportvehikel wie Proteine, Zucker oder andere im Körper natürlicherweise vorkommende Biomoleküle, kann die Substanz so aktiv über Transportproteine, die in der Membran sitzen, in die Zelle geschleust werden. Dieser Vorgang ist wesentlich schneller als die passive Diffusion durch die Phospholipid Doppelschicht, wodurch deutlich höhere Konzentrationen des Wirkstoffs im intrazellulären Plasma erreicht werden können. Dadurch reichen deutlich geringere Dosen der Platinkomponente aus um die gleiche Wirkung zu erzielen.

Weiterhin können Biokonjugate eingesetzt werden um die Selektivität der Wirkstoffe gegenüber Krebszellen zu erhöhen und gesunde Zellen somit zu

verschonen. Im Folgenden sollen drei Methoden dargestellt werden, mit denen Krebszellen selektiv adressiert werden können:

- Peptid-Konjugate

Das Interesse an Peptid-Konjugaten und speziell an Metall-Peptid-Konjugaten ist in den letzten Jahren immens gestiegen.^[108] Diese Verbindungen stellen eine wirkungsvolle Methode dar Wirkstoffe gezielt in Zellen freizusetzen. Hierfür wird der Wirkstoff an ein sogenanntes Zellpenetrierendes Peptid (cellpenetrating peptides, CPPs) gebunden. Diese können Zellmembranen unselektiv durchdringen.^[109,110] Um einen Wirkstoff gezielt in Krebszellen zu schleusen, werden dagegen zellpenetrierende Zielfindungs-Peptide (cellpenetrating homing peptides, CPHPs) verwendet. Die CPHP-Wirkstoff-Konjugate binden selektiv an Rezeptoren auf der Oberfläche von Tumorzellen. Durch die Bindung wird direkt im Anschluss eine rezeptorvermittelte Endozytose eingeleitet, wodurch der Rezeptor mit dem gebundenen Konjugat durch Einstülpung der Zellmembran in die Zelle aufgenommen wird. Die gebildeten Vesikel, auch Lysosome, werden im Inneren der Zelle von Enzymen abgebaut, wodurch das am CPHP gebundene Wirkstoff freigesetzt wird. Ein Beispiel für eine Tumor-CPHP ist Asparagin-Glycin-Arginine, das selektiv an eine Aminopeptidase bindet, die auf Tumor-Blutgefäßen überexprimiert ist.^[111]

- Zucker-Konjugate

Untersuchungen an Krebszellen konnten zeigen, dass die schnell wachsenden Tumorzellen einen gesteigerten Energiebedarf aufweisen und die benötigte Energie größten Teils durch eine gesteigerte Zuckerverbrennung decken. Diese Beobachtung wird auch als Warburg-Effekt bezeichnet.^[112] Um ihren hohen Zuckerbedarf zu decken, sind bei vielen Tumorzellen die Glukosetransporter GLUT1 (glucose transporter) und SGLT1 (sodium-coupled glucose transporter) auf ihrer Zelloberfläche überexprimiert.^[113] Durch den gesteigerten Glukosetransport in den Krebszellen, können Wirkstoffe durch Konjugation mit Glukosemolekülen in den Krebszellen akkumuliert werden.

- Östrogen-Konjugate

Viele Brustkrebszellen weisen eine gesteigerte Expression des Östrogenrezeptors (ER, estrogen receptor) auf ihrer Zelloberfläche und Kernhülle auf. Diese Tumore werden auch als ER-positiv (ER+) bezeichnet. In diesem Gewebe können sich Östrogene oder auch Östrogen-Wirkstoff-Konjugate akkumulieren. Wie bei den CPHP findet bei der Bindung von Östrogen an dem ER eine rezeptorvermittelte Endozytose statt, wodurch das Hormon-Konjugat in die Zelle aufgenommen wird und der Wirkstoff freigesetzt wird.^[114] Auch diese Form der Biokonjugation stellt eine vielversprechende Methode dar um Wirkstoffe gezielt in die Tumorzelle zu transportieren. So sind in den vergangenen Jahren schon eine Vielzahl an Metall-Steroid-Konjugaten synthetisiert worden.^[115]

3.1.8. Vorarbeiten

Im Arbeitskreis werden seit einiger Zeit systematisch Platin(II)-Komplexe mit wasserlöslichen Phosphan-Liganden und verschiedenen schwefelhaltigen Liganden untersucht. Es wurde lange davon ausgegangen, dass nur cis-konfigurierte Platin-Komplexe zytostatische Aktivität aufweisen. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass trans-konfigurierte Platin(II)-Komplexe mit Thionaten^[116,117] (a) und Thiocarbamateestern^[118] (b) als Liganden in Nieren-, Lungen- und Ovarialkarzinom-Zelllinien biologisch aktiv sind. Allerdings sind diese Komplexe trotz der polaren Phosphan-Liganden schlecht wasserlöslich.

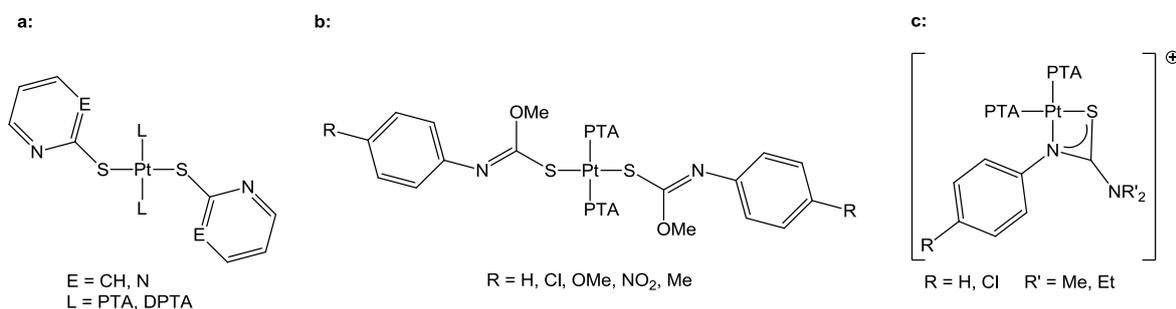


Abbildung 64: Platin(II)-Komplexe mit verschiedenen Schwefel-Liganden

Um dennoch eine bessere Wasserlöslichkeit zu erzielen, wurden kationische cis-Platin(II)-Komplexe mit chelatisierenden Thiocarbamaten (c) als Liganden synthetisiert.^[119] Diese Komplexe sind als Chlorid-Salze gut in Wasser löslich. Jedoch

konnten die Verbindungen nur als Hexafluorophosphat-Salze sauber isoliert werden, welche wiederum nicht mehr in Wasser löslich sind. In Folge dessen wurde eine Reihe PTA-Pt(II)-dithiocarbamate (Abbildung 65) synthetisiert die eine sehr gute Wasserlöslichkeit aufweisen.^[120]

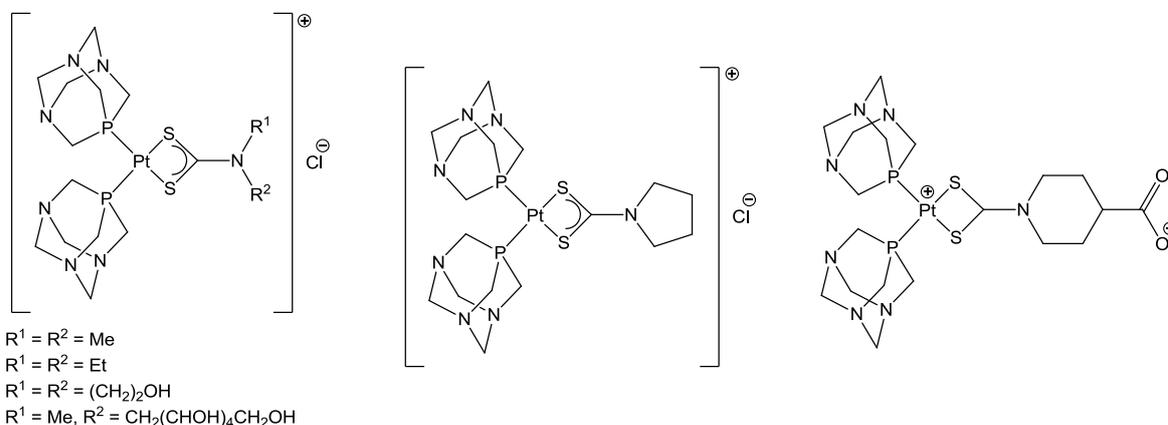


Abbildung 65: Synthetisierte PTA-Pt(II)-dithiocarbamate

Dabei zeigten *in vitro* einige der Verbindungen in den Neuroblastom-Zelllinien UKF-NB-3 und IMR-32 sowie in der kolorektal Karzinom-Zelllinie SW480 zytotoxische Aktivität in niedrigen picomolaren Konzentrationen. Allerdings konnte bei *in vivo*-Experimenten keine Anti-Tumoraktivität beobachtet werden, was zu dem Schluss führt, dass die synthetisierten Verbindung auf Grund der guten Wasserlöslichkeit zu hydrophil sein müssen, um durch die Phospholipid-Doppelschicht ins Zellinnere zu gelangen.

3.2. Zielsetzung

Da die bereits synthetisierten PTA-Platin(II)-dithiocarbamate *in vivo* keinerlei Wirkung zeigten, was vermutlich auf die schlechte Zellgängigkeit zurückzuführen ist, sollten Biokonjugate von Platin(II)-dithiocarbamaten synthetisiert werden. Hierfür sollte zunächst der PTA-Platin-Komplex mit Sarkosindithiocarbamat hergestellt werden. Die Carbonsäure-Funktionalität des Sarkosins sollte dann für die Funktionalisierung der Komplexe verwendet werden. Mit Hilfe von Peptidkupplungen zwischen der Carbonsäure und einem primären Amin sollten Konjugate mit Aminosäuren, Steroiden und Zuckern hergestellt werden.

Um die Löslichkeit der Verbindungen zu optimieren sollten zusätzlich die Phosphan-Liganden variiert werden. Um die Auswirkung der einzelnen Phosphanliganden auf die Lipophilität zu untersuchen sollten anschließend die Verteilungskoeffizienten bestimmt werden. Außerdem sollte die Interaktion der hergestellten Komplexverbindungen mit unterschiedlichen Biomolekülen, wie Glutathion, DNA-Basen und Humanserumalbumin untersucht werden.

3.3. Ergebnisse und Diskussion

3.3.1. Synthese der Platin(II)-Komplexe

Für die Synthese der Platin-Komplexe sollte zunächst das Sarkosin-Dithiocarbamat synthetisiert werden. Dithiocarbamate sind einfache anionische Liganden mit der allgemeinen Zusammensetzung $R_2CNS_2^-$ sie können einfach durch Umsetzung von sekundären Aminen mit Kohlenstoffdisulfid und einer Base hergestellt werden (Abbildung 66).

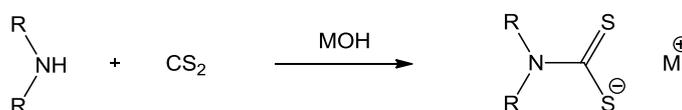


Abbildung 66: Darstellung von Dithiocarbamaten

Dithiocarbamate eignen sich als anionische Liganden und können eine Reihe an Metallen koordinieren. Dithiocarbamate können je nach Anzahl der freien Koordinationsstellen am Metall als einzähnige oder als zweizähnige Liganden gebunden sein. Da mehrere Resonanzstrukturen der Dithiocarbamate existieren, können beide Schwefelatome eine negative Ladung tragen (Abbildung 67).

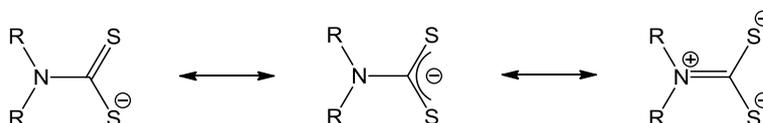


Abbildung 67: Resonanzstrukturen der Dithiocarbamate

Durch die partielle Doppelbindung zwischen dem Kohlenstoff- und dem Stickstoffatom des Dithiocarbamats ist die Rotation um diese Bindung eingeschränkt.

Für das hier hergestellte Dithiocarbamat wurde *N*-Methylglycin, auch Sarkosin genannt, als sekundäres Amin verwendet. Sarkosin ist eine von Glycin abgeleitete, nichtproteinogene Aminosäure und ein Intermediat im Glycin-Stoffwechsel. Es ist im menschlichen Körper vor allem in den Muskeln aber auch in anderen Organen zu finden. Darüber hinaus kommt es im Blutplasma in Konzentrationen von 0.06 - 2.67 μM vor.^[121] Die Synthese des Dithiocarbamats erfolgte wie oben bereits

beschrieben durch Umsetzung des Sarkosins mit Kohlenstoffdisulfid und Natriumhydroxid nach einer Vorschrift von Zhang et al. (Abbildung 68).^[122]

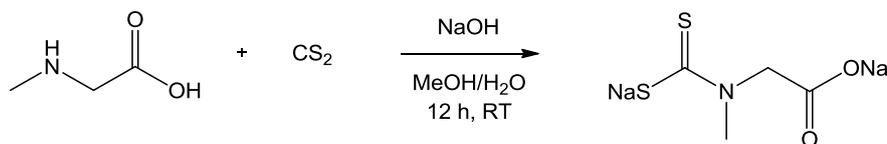


Abbildung 68: Synthese des Sarkosin-Dithiocarbamats

Das Dinatriumsalz des Dithiocarbamats konnte sauber und in nahezu quantitativen Ausbeuten erhalten werden. Charakteristisch für das gebildete Dithiocarbamat ist des ¹³C-NMR-Signal des Kohlenstoffatoms zwischen den Schwefelatomen und dem Stickstoffatom stark tieffeldverschoben bei einer chemischen Verschiebung von 212.9 ppm.

In einem weiteren Schritt wurde das hergestellte Dithiocarbamat mit Dichlorbis-(1,3,5-triaza-7-phosphaadamantan)platin(II) bzw. Dichlorbis(triphenylphosphine)-platin(II) zu den entsprechenden Platin(II)-Dithiocarbamat-Komplexen in einer Ligandenaustausch-Reaktion umgesetzt (Abbildung 69).

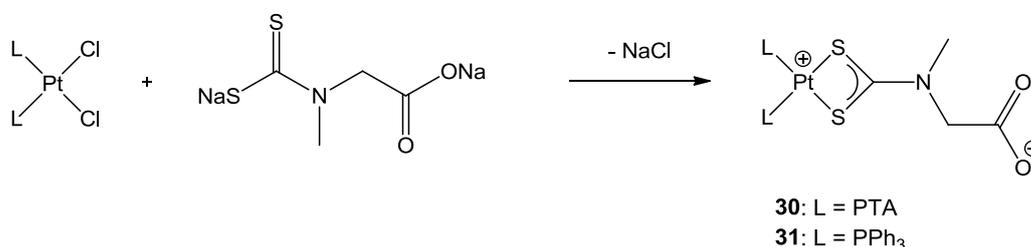


Abbildung 69: Synthese der Platin(II)-Dithiocarbamat-Komplexe

Die Synthese erfolgte dabei im Falle des PTA-Komplexes **30** in Methanol, wohingegen bei der Herstellung des PPh₃-Komplexes **31** in einem Gemisch aus Methanol und Dichlormethan gearbeitet werden musste, um das Dichlorbis-(triphenylphosphine)-platin(II) in Lösung zu bringen. Das bei der Reaktion anfallende Natriumchlorid ließ sich im Falle des PPh₃-Komplexes einfach, durch Filtration abtrennen, da der gebildete Komplex im Gegensatz zu NaCl gut in Dichlormethan löslich ist. Im Falle des PTA-Komplexes war eine Abtrennung des Nebenprodukts leider nicht möglich, da sich der Komplex nur in sehr polaren Lösemitteln wie Wasser oder Methanol löst, in denen auch das Natriumchlorid löslich ist, wodurch eine Filtration nicht möglich war. Allerdings stellt das

Natriumchlorid als Nebenprodukt für eine mögliche medizinische Anwendung kein Problem dar, da es natürlicherweise im Körper vorkommt und da wasserlösliche Wirkstoffe ohnehin in isotonischen NaCl-Lösungen injiziert werden.

In den ^1H -NMR-Spektren der Verbindungen waren neben den Signalen für die jeweiligen Phosphanliganden auch zwei Singulets für die Methylgruppe und die CH_2 -Gruppe des Dithiocarbamats vorhanden (Tabelle 14).

Tabelle 14: Ausgewählte ^1H -NMR-Signale der Platin(II)-Dithiocarbamate

Verbindung	δ (NMe) [ppm]	δ (NCH₂COO)
PTA-Komplex 30	3.28	4.00
PPh₃-Komplex 31	3.26	4.17

Auch im ^{13}C -NMR-Spektrum lassen sich die Signale des Dithiocarbamats beobachten. Hier ist wieder das stark tieffeldverschobene Signal des Kohlenstoffatoms der Dithiocarbamat-Einheit zu nennen. Dieses befindet sich im Falle des PTA-Komplexes bei 200.2 ppm und im ^{13}C -NMR-Spektrum des PPh₃-Komplexes bei 199.1 ppm. Besonders gut lässt sich der Erfolg der Synthese anhand der ^{31}P -NMR-Spektren belegen. Hier ist im Falle des PTA-Komplexen nur ein einziges Signal für das Phosphoratom der PTA-Liganden bei -64.4 ppm zu erkennen. Dieses Signal ist stark verbreitert wegen der eingeschränkten Rotation um die C-N-Bindung des Dithiocarbamats. Da das verwendete Dithiocarbamat am Stickstoffatom unsymmetrisch substituiert ist, sind die beiden Phosphan-Liganden im NMR-Spektrum unterscheidbar. Allerdings ist die chemische Verschiebung der beiden Phosphor-Signale sehr ähnlich, so dass sich die beiden Signale überlagern und nur ein breites Signal zu erkennen ist. Die Koordination der PTA-Liganden an das Platinatom wird zu dem durch die auftretenden Platinsatelliten deutlich. Diese kommen durch eine Kopplung zwischen den Phosphoratomen und dem Platinatom zustande. Da das ^{195}Pt -Isotop den gleichen Kernspin besitzt wie das Reinelement Phosphor ($I = \frac{1}{2}$), kann hier eine Kopplungskonstante von 2934 Hz beobachtet werden. Betrachtet man hingegen das ^{31}P -NMR-Spektrum des entsprechenden PPh₃-Komplexes, so sind hier die Signale der beiden unterschiedlichen Phosphan-Liganden sehr gut aufgelöst. Es lassen sich zwei Dubletts bei 15.2 und 16.3 ppm beobachten. Die Kopplungskonstante für die Kopplung der beiden Phosphoratome untereinander beträgt dabei 22.5 Hz. Auch

hier weißt jedes Signal wieder Platinsatelliten auf, die jeweils auch zu einem Dublett aufspalten. Die beiden Phosphorsignale weisen dabei Kopplungskonstanten von 3231 und 3270 Hz für die Platin-Phosphor-Kopplung auf (Abbildung 70).

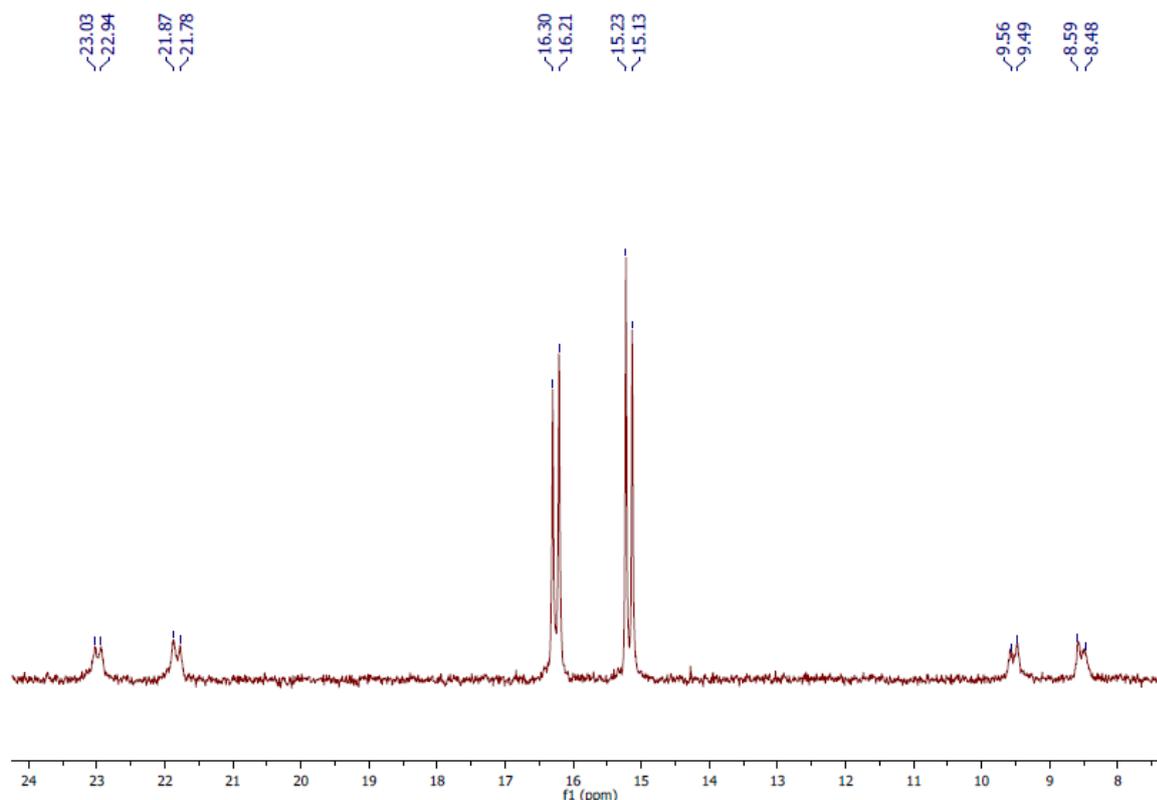


Abbildung 70: ^{31}P -NMR-Spektrum des PPh_3 -Pt-Dithiocarbamats

Die IR-Spektren der Verbindungen weisen bei etwa 1550 cm^{-1} eine Bande für die Imin-Valenzschwingung auf, was noch einmal zeigt, dass die C-N-Bindung durch die Delokalisierung des freien Elektronenpaares im Dithiocarbamat einen partiellen Doppelbindungscharakter besitzt. Weiterhin ist bei etwa 1600 Wellenzahlen die Valenzschwingung des Carboxylats zu erkennen (Tabelle 15).

Tabelle 15: IR-Banden der Platin(II)-dithiocarbamate

Verbindung	C=N	COO ⁻
PTA-Komplex 30	1544	1616
PPh_3 -Komplex 31	1550	1633

Zudem ist es gelungen von den beiden synthetisierten Komplexen Einkristalle zu erhalten, die mittels Einkristallstrukturanalyse untersucht werden konnten. Wie

erwartet ist das Platinatom von dem zweizähligen Dithiocarbamat- und den beiden einzähligen Phosphan-Liganden verzerrt quadratisch-planar umgeben, mit einem P-Pt-P-Winkel von etwa 100° und einem S-Pt-S-Winkel von etwa 75° (Tabelle 16). Ähnliche Bindungswinkel konnten auch in vergleichbaren Platin(II)-dithiocarbamatkomplexen beobachtet werden.^[123,124] Auch die Bindungslängen am Platin sind vergleichbar mit den Abständen, die in der Literatur beschrieben sind. Hier wurden Platin-Schwefel-Abstände zwischen 2.31 und 2.35 Å und Platin-Phosphor-Abstände zwischen 2.27 und 2.28 Å beobachtet.

Tabelle 16: Ausgewählte Bindungslängen und Winkel der Platin-Komplexe

Verbindung	PTA-Komplex	PPh ₃ -Komplex
Abstand Pt-P(1) [Å]	2.2536(15)	2.2830(12)
Abstand Pt-P(2) [Å]	2.2514(16)	2.2851(11)
Abstand Pt-S(1) [Å]	2.3608(15)	2.3568(12)
Abstand Pt-S(2) [Å]	2.3591(16)	2.3362(12)
Winkel P(1)-Pt-P(2) [°]	100.39(6)	98.58(4)
Winkel S(1)-Pt-S(2) [°]	74.59(5)	74.90(4)

Aus der Tabelle kann man zudem entnehmen, dass sich die Koordinationsgeometrie und die Bindungslängen am Platinatom nicht signifikant ändern, wenn die Phosphan-Liganden ausgetauscht werden. In Abbildung 71 und Abbildung 72 sind die Molekülstrukturen der Komplexe dargestellt.

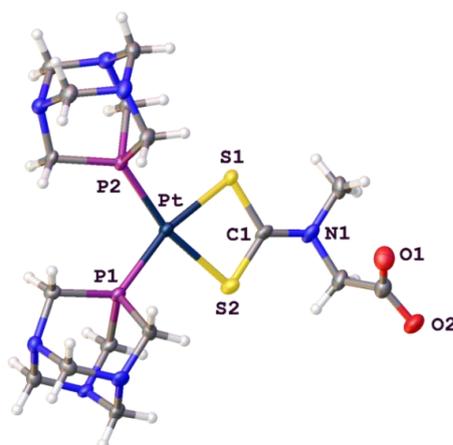


Abbildung 71: Molekülstruktur des PTA-Pt-Komplexes. Thermische Ellipsoide sind mit einer Wahrscheinlichkeit von 50 % gezeigt.

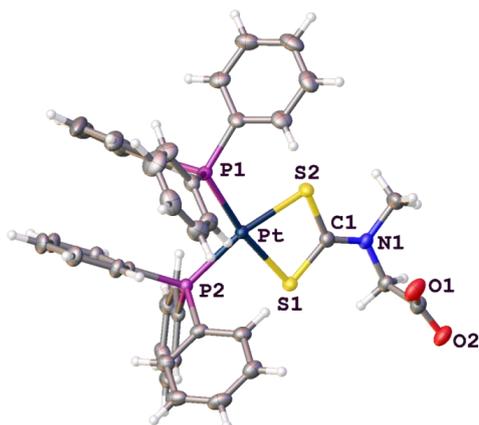


Abbildung 72: Molekülstruktur des PPh₃-Pt-Komplexes. Thermische Ellipsoide sind mit einer Wahrscheinlichkeit von 50 % gezeigt.

Nach beendeter Verfeinerung der Strukturen konnte im Fall von Komplex **30** eine hohe Restelektronendichte in der Nähe des Metalls beobachtet werden.

3.3.2. Distributionskoeffizient

Wie in Kapitel 2 bereits beschrieben, ist der Distributionskoeffizient eine wichtige Kenngröße für potentielle Wirkstoffe. Da die zuvor synthetisierten Verbindungen zwar eine sehr gute Wasserlöslichkeit aufwiesen aber *in vivo* keinerlei Aktivität zeigten, scheint es sehr wahrscheinlich, dass die Verbindungen zu hydrophil sind und aus diesem Grund eine schlechte Zellpermeabilität aufweisen. Auch der hier synthetisierte PTA-Platin-Komplex **30** weist eine sehr hohe Wasserlöslichkeit von ca. 500 g/L auf, während der entsprechende PPh₃-Komplex **31** komplett unlöslich in Wasser ist. Nach derselben Methode, wie zuvor beschrieben, sollten nun auch für die beiden synthetisierten Platin-Komplexe die Log D_{7.4}-Werte bestimmt werden. Dabei konnten folgende Werte bestimmt werden (Tabelle 17):

Tabelle 17: Distributionskoeffizienten der Platin-Komplexe

Verbindung	Log D _{7.4}
PTA-Pt-Komplex 30	-1.55
PPh ₃ -Pt-komplex 31	2.24

Der Tabelle ist zu entnehmen, dass sich der Wert für den PTA-Komplex weit außerhalb des idealen Bereichs ($1 < \text{Log } D_{7.4} < 3$) befindet, während sich der

Distributionskoeffizient des PPh_3 -Komplexes genau im Intervall befindet. Damit ist es wahrscheinlich, dass der synthetisierte Komplex **31** sich besser als potenzielles Krebsmedikament eignet, als die zuvor synthetisierten Verbindungen, da er eine bessere Zellgängigkeit besitzen sollte.

3.3.3. Interaktion mit Guanosin und Glutathion

Die beiden hergestellten Platin(II)-dithiocarbamate wurden auf ihre Reaktivität mit unterschiedlichen Biomolekülen untersucht. Wie bereits in der Einleitung beschrieben, wirken Cisplatin und seine Analoga über die Quervernetzung zweier benachbarter Guanin-Basen. Um zu überprüfen, ob die hergestellten Platin-Komplexe ebenfalls in der Lage sind an Guanin zu binden, wurde die Interaktion der Komplexe mit dem Nucleotid Guanosinmonophosphat (GMP, Abbildung 73) NMR-spektroskopisch untersucht.

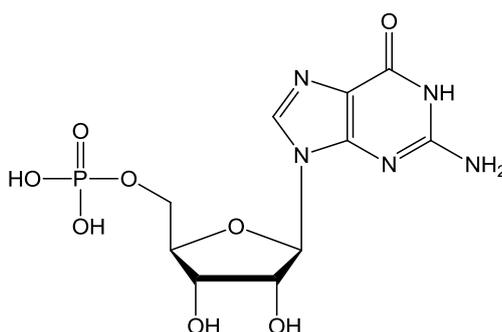


Abbildung 73: Guanosinmonophosphat

Hierfür wurden zunächst die NMR-Spektren des reinen Nucleotids in D_2O aufgenommen. Anschließend wurde der PTA-Platin-Komplex in einem 1:1-Verhältnis zugegeben und die Mischung wurde direkt nach der Zugabe, nach einer Stunde und nach zwölf Stunden gemessen. Im ^1H -NMR-Spektrum ist dabei direkt nach der Zugabe nur eine minimale Verschiebung des Signals bei 8.2 ppm zu beobachten. Welches der CH-Gruppe in Position acht, direkt neben dem N^7 -Atom im Guanin zuzuordnen ist. Da auch Cisplatin an das N^7 -Atom bindet ist es also wahrscheinlich, dass auch der PTA-Pt-Komplex an dieser Stelle bindet, da an der benachbarten CH-Gruppe eine Verschiebung zu erkennen ist. Zudem ist nach 12 h eine deutliche Verbreiterung der Signale zu erkennen, was zusätzlich für eine Interaktion der beiden Moleküle spricht.

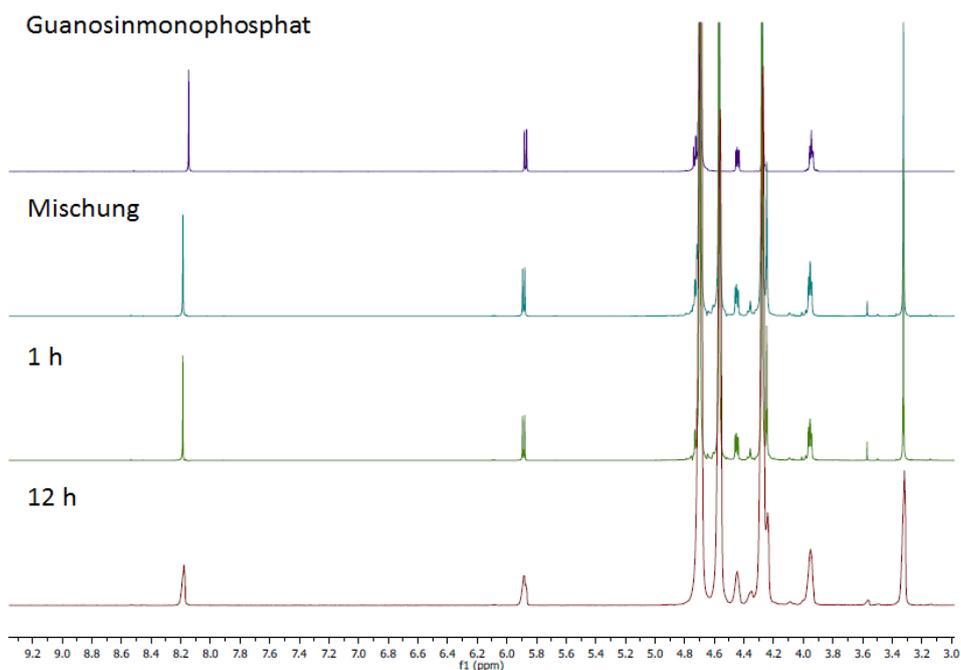


Abbildung 74: $^1\text{H-NMR}$ -Interaktion von Guanosinmonophosphat mit dem PTA-Komplex

Deutlicher wird die Interaktion bei Betrachtung des $^{31}\text{P-NMR}$ -Spektrums (Abbildung 75). Hier ist ebenfalls eine Verschiebung des Signals für die Phosphatgruppe zu beobachten. Diese ist zwar ebenfalls nicht sehr stark ausgeprägt, jedoch ist der Phosphatrest des Guanins auch recht weit von der N^7 -Bindestelle entfernt, so dass eine starke Verschiebung nicht zu erwarten war.

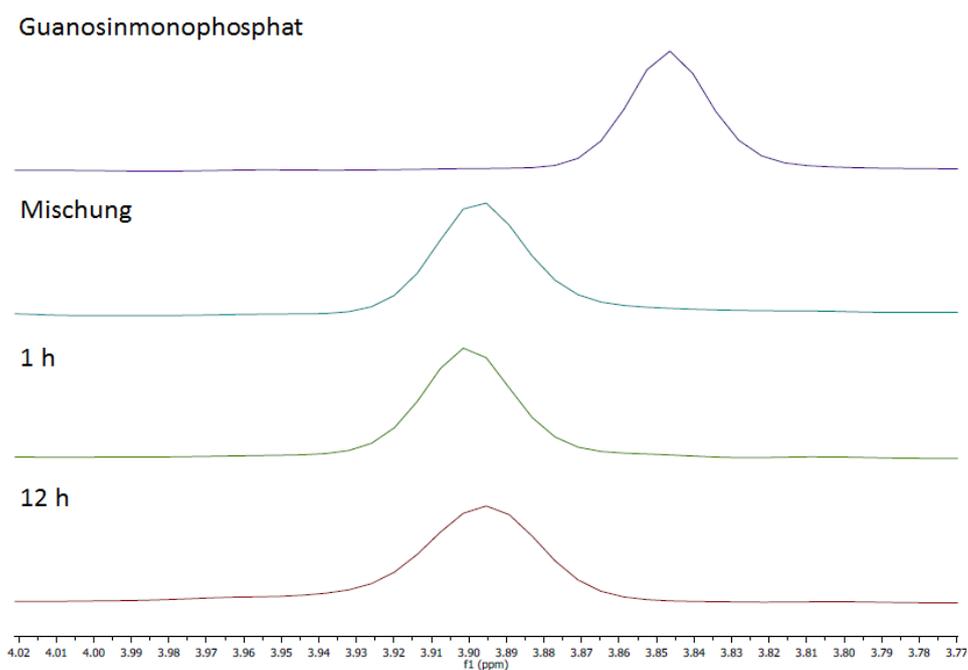


Abbildung 75: $^{31}\text{P-NMR}$ -Interaktion von Guanosinmonophosphat mit dem PTA-Komplex

Somit kann von einer Interaktion des PTA-Platin-Komplexes ausgegangen werden, die für eine Wirksamkeit erforderlich ist. Eine Interaktion mit Glutathion und dem Platin-Komplex ist dagegen nicht wünschenswert, da eine solche Interaktion für die bestehenden Resistenzen verantwortlich gemacht wird. Um zu überprüfen, ob der PTA-Platin-Komplex an die Thiolgruppe des Glutathions bindet, wurde auch die Interaktion des Komplexes mit Glutathion mittels NMR-Spektroskopie untersucht. Dabei wurde wie zuvor beschrieben vorgegangen. Im ^1H -NMR-Spektrum ist zu erkennen, dass sich nach Zugabe des Pt-Komplexes das Signal bei ca. 2.9 ppm für die CH_2 -Gruppe neben dem Thiol nicht verschiebt (Abbildung 76). Da dieses Signal bei einer Bindung des Platinatoms an das Schwefelatom der Thiolgruppe deutlich verschoben werden sollte, kann davon ausgegangen werden, dass keine Bindung stattfindet. Zudem ist in diesem Spektrum auch nach zwölf Stunden keine Verbreiterung der Peaks zu erkennen, wie zuvor bei Guanosin, was dafür spricht, dass die Verbindungen, auch wenn sie nebeneinander vorliegen, sehr stabil sind.

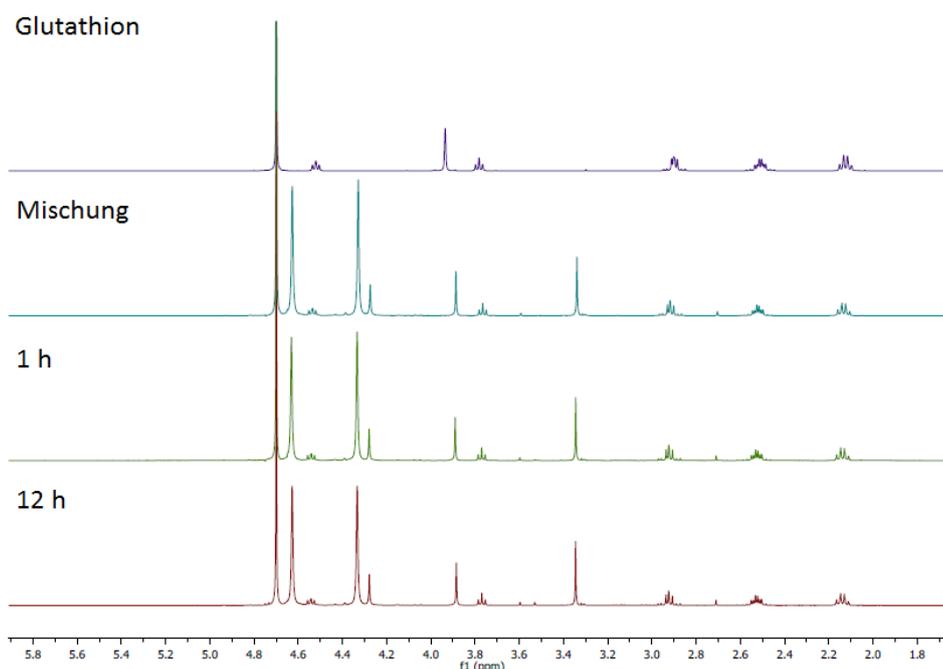


Abbildung 76: ^1H -NMR-Interaktion von Glutathion mit dem PTA-Komplex

Die oben beschriebenen Interaktionsstudien wurden ebenfalls mit dem PPh_3 -Platin-Komplex durchgeführt. Da dieser im Gegensatz zu dem entsprechenden PTA-Komplex nicht wasserlöslich ist, sollten die Messungen hierbei mit deuteriertem

DMSO durchgeführt werden. Allerdings war hier nur eine Messung mit Glutathion möglich (Abbildung 77), da sich des Guanosinmonophosphat nicht in DMSO löste.

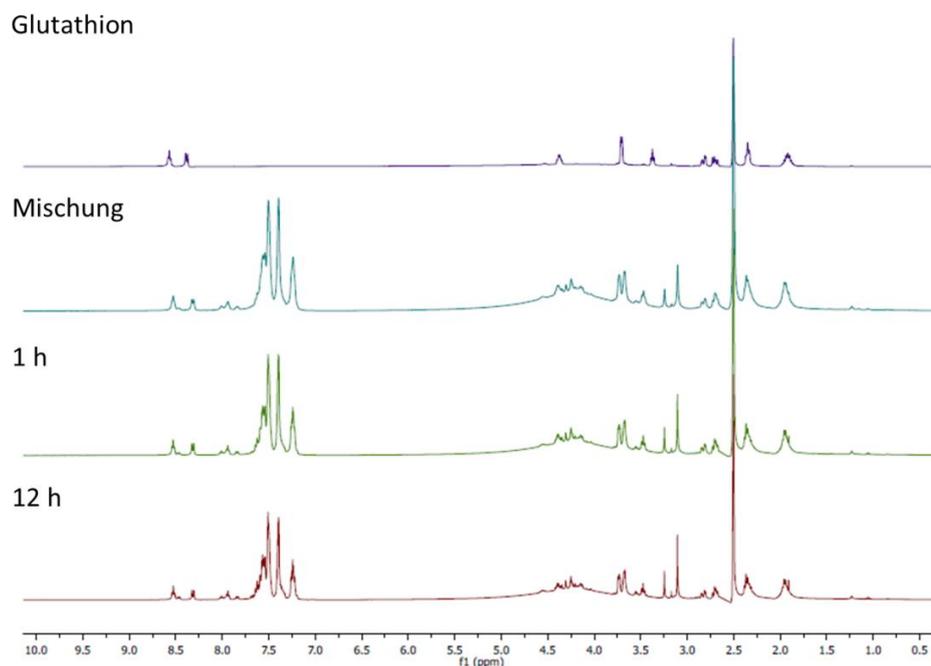


Abbildung 77: ^1H -NMR-Interaktion von Glutathion mit dem PPh_3 -Komplex

Auch hier kann man wieder feststellen, dass sich die Signale des Glutathions nicht signifikant verschieben, wenn der PPh_3 -Komplex zugegeben wird. Somit kann festgehalten werden, dass die beiden hergestellten Komplexe vermutlich keine stark ausgeprägte Affinität zu Thiol-Gruppen besitzen.

Außerdem kann man an diesen Messungen sehen, dass die beiden synthetisierten Komplexe **30** und **31** über einen längeren Zeitraum in Lösung stabil sind, da sich jeweils auch die Signale der Komplexe auch nach 12 h nicht verändert haben.

3.3.4. Bindung an Human Serumalbumin

Human Serumalbumin (HSA) ist ein wasserlösliches Protein mit einer Molmasse von etwa 66.5 kD, das im Blutplasma des Menschen vorkommt. Es besteht aus einer einzelnen Kette mit 585 Aminosäuren. Das Protein setzt sich aus drei Domänen zusammen (I, II und III), die jeweils in zwei Subdomänen (A und B) unterteilt sind. HSA ist mit 35 – 50 mg/mL, neben den Globulinen, das am häufigsten vorkommende Protein im Blutplasma. HSA ist für die Aufrechterhaltung des

osmotischen Drucks verantwortlich und trägt zur Pufferkapazität des Bluts bei. Außerdem ist es für den Transport von hydrophoben Verbindungen, wie Fettsäuren, Bilirubin, Vitaminen und Hormonen, im Blut verantwortlich. Diese Stoffe könnten ohne die Bindung an HSA nicht im Blutplasma transportiert werden. So ist bekannt, dass auch viele Arzneistoffe reversibel an HSA binden, womit das Albumin als Transporter für hydrophobe Wirkstoffe dient.^[125] Damit erhöht HSA die Löslichkeit der Verbindungen im Plasma und sorgt für die Freisetzung des Wirkstoffs in den Zellen. Allerdings wird durch die Bindung an HSA auch die Konzentration des freien Pharmakophors herabgesetzt, welches für die Wirksamkeit verantwortlich ist. Somit trägt die Interaktion eines Wirkstoffs mit HSA entscheidend zu dessen Verteilung im Körper und dessen Effektivität bei.^[126]

Auch Cisplatin bindet an HSA und andere Plasmaproteine. So sind einen Tag nach einer Cisplatin-Injektion 65 – 98 % des Platins an Plasmaproteine, hauptsächlich HSA, gebunden.^[127] Kristallstrukturanalysen eines HSA-Cisplatin-Addukts haben gezeigt, dass bis zu fünf Cisplatin-Moleküle an das Protein binden können.^[128] Dabei erfolgt die Bindung über die Aminosäuren Histidin (His) und Methionin (Met). Abbildung 78 zeigt die Bindung von Cisplatin an His105 (IA), His288 (IIA), Met298 (Schleife zwischen zwei Domänen), Met329 (IIB) und Met548 (IIIB).

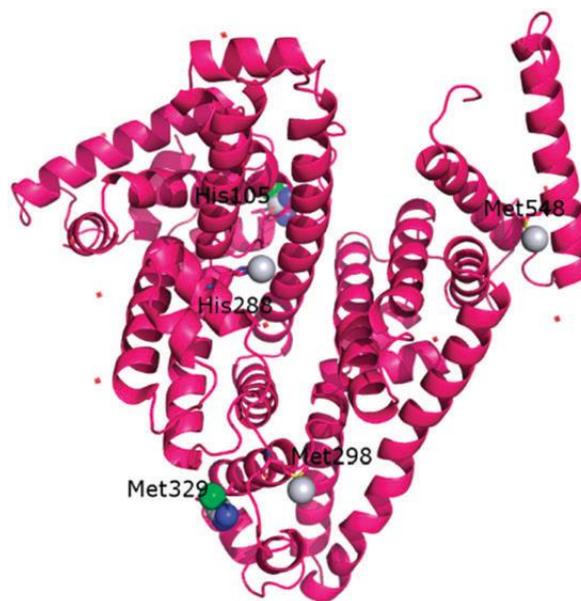


Abbildung 78: HSA-Cisplatin-Addukt^[128]

Um die Bindungskonstante zwischen HSA und einem Wirkstoff zu bestimmen wurden unterschiedliche Methoden beschrieben: Fluoreszenz-Spektroskopie,

Gelpermeationschromatographie oder Ultrafiltration. Dabei ist die Fluoreszenzspektroskopie wegen ihrer Sensitivität und ihrer Genauigkeit sowie ihrer einfachen Handhabung die am häufigsten verwendete Methode, die auch in dieser Arbeit verwendet wurde.^[125] Dabei wird die Auslöschung der intrinsischen Tryptophan-Fluoreszenz durch Bindung eines Liganden beobachtet. Die Fluoreszenz des Albumins ist auf die drei fluoreszierenden Aminosäuren Tryptophan, Tyrosin und Phenylalanin zurückzuführen. Allerdings wird bei der hier verwendeten Anregungswellenlänge von 295 nm nur die Fluoreszenz des einzigen Tryptophan-Rests (Trp212) in der IIA Subdomäne angeregt. Durch Bindung eines Liganden kommt es zu einer Abnahme der Fluoreszenz bedingt durch eine Veränderung der Umgebung des Emitters.^[129]

Um die Bindung der synthetisierten Platin-Komplexe an HSA zu untersuchen, wurde die Fluoreszenz einer 1.85 M HSA-Lösung in PBS (pH 7.4) in Anwesenheit von unterschiedlichen Konzentrationen (0 – 30 μM) des Platin-Komplexes beobachtet. Vor Durchführung des Experiments wurde sichergestellt, dass die untersuchten Komplexe bei der verwendeten Anregungswellenlänge von 295 nm nicht selbst fluoreszieren. In Abbildung 79 sind die Fluoreszenzspektren von HSA mit zunehmender Konzentration des PTA-Pt-Komplexes dargestellt.

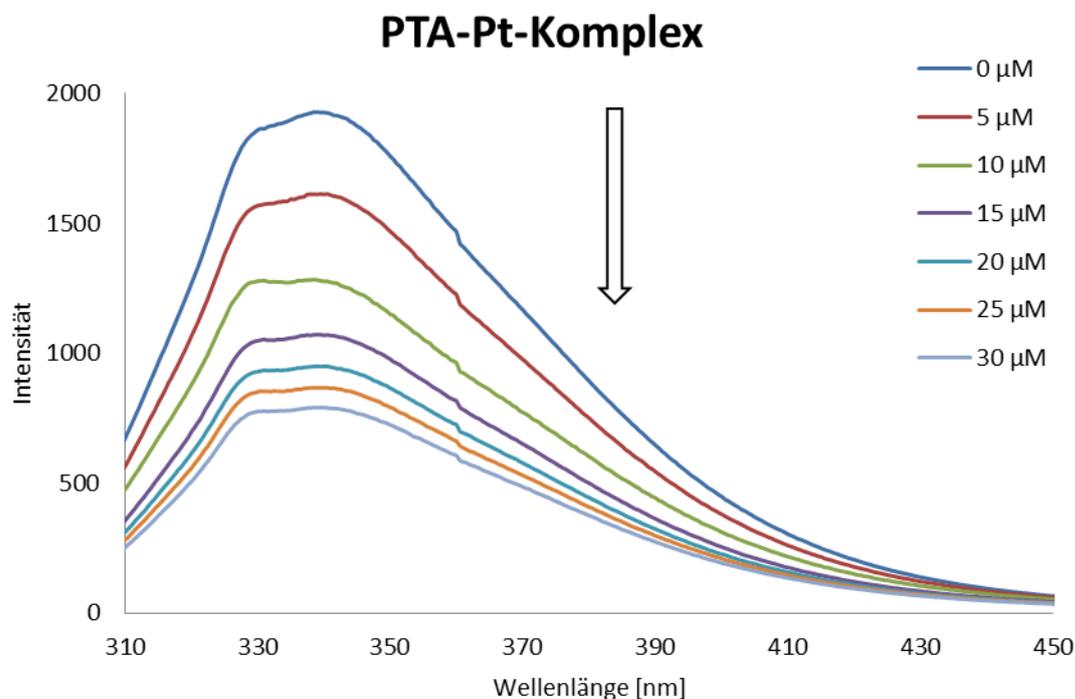


Abbildung 79: Interaktion von HSA mit Komplex 30

In der Abbildung ist deutlich zu erkennen, dass die Intensität der Fluoreszenz bei Zugabe des Platin-Komplexes abnimmt. Die Messung wurde unter denselben Bedingungen auch mit dem $\text{PPh}_3\text{-Pt}$ -Komplex durchgeführt (Abbildung 80).

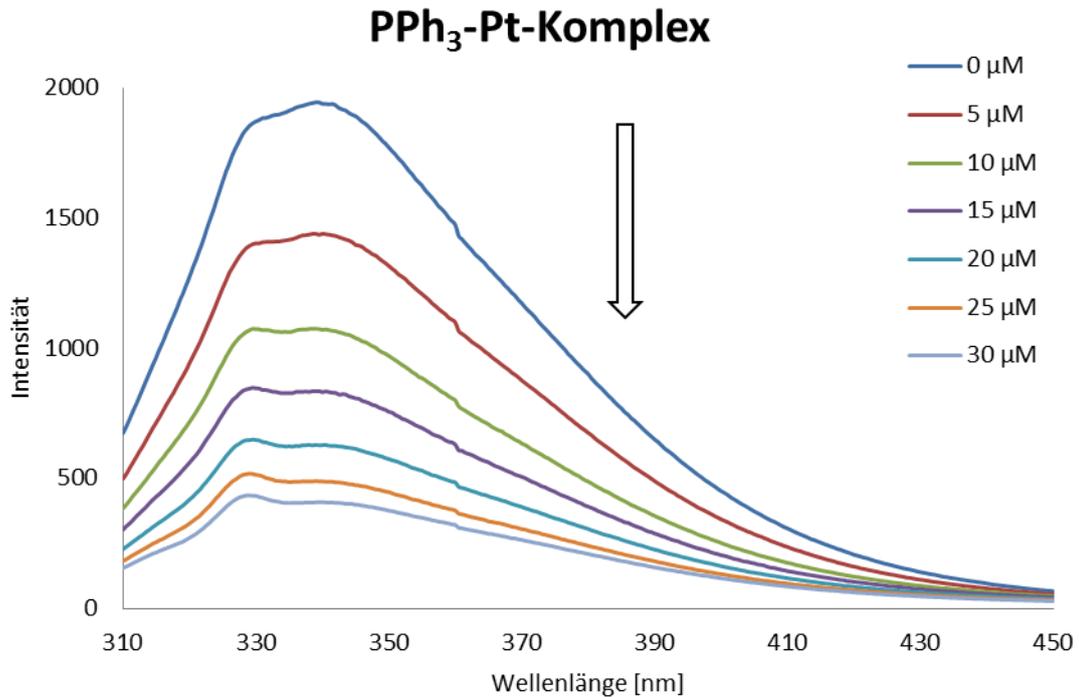


Abbildung 80: Interaktion von HSA mit Komplex 31

Beim Vergleich der beiden Abbildungen fällt auf, dass die Intensität der Fluoreszenz bei Zugabe des $\text{PPh}_3\text{-Pt}$ -Komplexes deutlich stärker abnimmt als bei Zugabe des entsprechenden PTA-Komplexes.

Um aus der Fluoreszenz-Auslöschung die Bindungskonstanten der Platin-Komplexe zu HSA zu bestimmen, kann die Stern-Volmer-Gleichung verwendet werden:^[130]

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q] \quad (6)$$

Wobei F_0 die Intensität der Fluoreszenz in Abwesenheit des Quenchers, F die Intensität der Fluoreszenz in Anwesenheit des Quenchers, K_{SV} die Stern-Volmer-Konstante und $[Q]$ die Konzentration des Quenchers ist. Durch Auftragung von F_0/F gegen $[Q]$ (Abbildung 81) kann aus der Steigung des Graphen die Stern-Volmer-Konstante K_{SV} abgelesen werden.

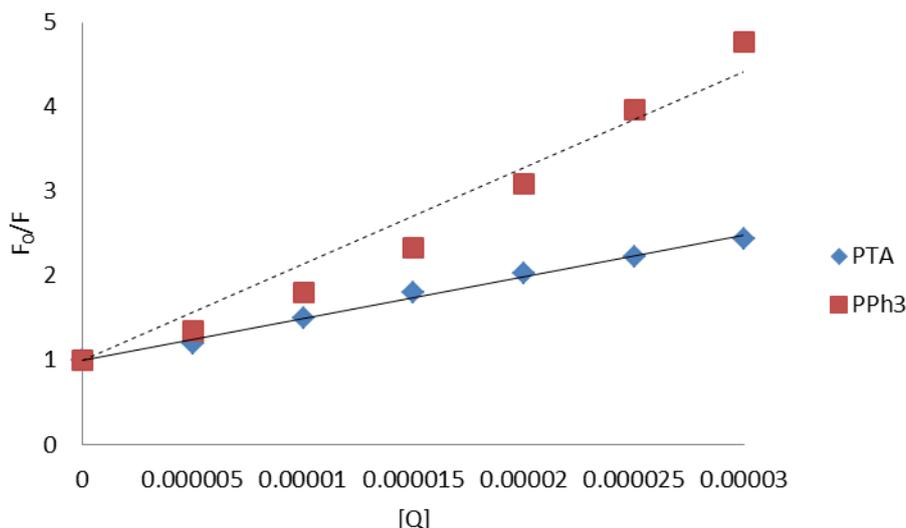


Abbildung 81: Stern-Volmer-Auftragung

Aus der Auftragung lässt sich erkennen, dass im Falle des PTA-Pt-Komplexes ein linearer Zusammenhang besteht, während für den entsprechenden PPh₃-Komplex eine deutliche Abweichung vom linearen Kurvenverlauf festzustellen ist. Durch lineare Regression lässt sich die Stern-Volmer-Konstante bestimmen, die im Falle einer statischen Fluoreszenz-Löschung gleich der Bindungskonstante K_b ist. In Tabelle 18 sind die Stern-Volmer-Konstanten K_{sv} der beiden Platin-Komplexe angegeben.

Tabelle 18: Stern-Volmer-Konstanten der Platin-Komplexe

Verbindung	K_{sv} [M^{-1}]
PTA-Pt-Komplex	4.94×10^4
PPh₃-Pt-Komplex	1.14×10^5

Die berechneten Bindungskonstanten liegen beide im typischen Bereich für die Bindung einer Substanz an HSA (gewöhnlich zwischen 10^4 und $10^6 M^{-1}$).^[126] Wie bereits in den überlagerten Fluoreszenz-Spektren zu erkennen war, bindet der PPh₃-Komplex deutlich stärker an HSA als der PTA-Komplex. Was nicht ungewöhnlich erscheint, da der Komplex wesentlich lipophiler ist, verfügt er vermutlich über eine höhere Affinität zu der hydrophoben Bindetasche des HSA.

Da im Falle des PPh₃-Komplexes eine deutliche Abweichung von der linearen Regression zu erkennen ist, kann in diesem Falle davon ausgegangen werden,

dass der Komplex an mehreren Bindestellen des HSA andockt. In solchen Fällen kann die modifizierte Stern-Volmer-Gleichung angewendet werden:^[131]

$$\text{Log} \frac{F_0 - F}{F} = \text{Log} K_b + n \text{Log}[Q] \quad (7)$$

Wobei n die Anzahl der Bindestellen ist. Durch eine doppelt logarithmische Auftragung von $(F_0 - F)/F$ gegen $[Q]$ erhält man die Anzahl der Bindestellen als Steigung und den $\text{Log} K_b$ als y-Achsenabschnitt (Abbildung 82).

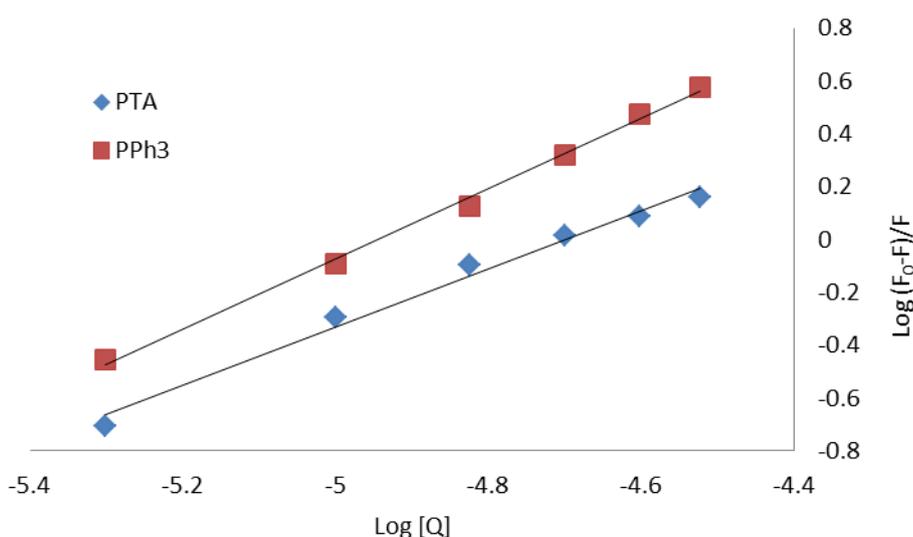


Abbildung 82: modifizierte Stern-Volmer-Auftragung

In der Auftragung ist zu erkennen, dass nun auch bei den Werten für den PPh₃-Komplex ein linearer Zusammenhang besteht. In Tabelle 19 sind die berechneten Werte für die Bindungskonstante und die Zahl der Bindestellen zusammengefasst.

Tabelle 19: Bindungskonstanten und Zahl der Bindestellen der Pt-Komplexe

Verbindung	K_b [M^{-1}]	n
PTA-Pt-Komplex 30	1.52×10^5	1.10
PPh ₃ -Pt-Komplex 31	3.92×10^6	1.33

Die hier bestimmten Bindungskonstanten sind in beiden Fällen deutlich größer als die zuvor berechneten Stern-Volmer-Konstanten. Daraus lässt sich schließen, dass es sich hier eher um eine dynamische Fluoreszenz-Löschung handelt, da bei einem statischen Mechanismus die Stern-Volmer-Konstante und die Bindungs-

konstante gleich groß sein müssten. Wie schon aus dem Stern-Volmer-Plot zu erkennen gewesen ist, bindet der Triphenylphosphin-Komplex an mehrere Bindestellen des HSA. Während der PTA-Komplex an durchschnittlich 1.10 Stellen bindet sind es beim PPh_3 -Komplex 1.33 Bindestellen. Die deutlich höhere Bindekonstante K_b des PPh_3 -Komplexes kann also nicht nur durch die höhere Lipophilie der Verbindung erklärt werden sondern auch durch die Bindung an mehrere Bindestellen. Generell ist festzuhalten, dass durch die starke Bindung des Komplexes **31** die Löslichkeit der Verbindung in wässrigen Medien erhöht werden kann. So kann auch der sehr lipophile Komplex im Blut zu den Zellen transportiert werden. Was für einen potenziellen Einsatz der Verbindung als Krebsmedikament von Vorteil ist. Weitere Untersuchungen *in vivo* müssen an dieser Stelle zeigen, ob die Bindung an HSA nicht so stark ist, dass der Komplex in den Zellen nicht wieder frei gesetzt werden kann.

3.3.5. Synthese der Biokonjugate

Um das Problem der schlechten Zellpermeabilität zu umgehen und um selektiv Krebszellen zu adressieren, wurden mit den hergestellten Platin-Komplexen Biokonjugate synthetisiert. Hierfür sollte an der Carbonsäurefunktion der Dithiocarbamate eine Peptidkupplung durchgeführt werden, um den Komplex an unterschiedliche Biomoleküle zu binden. In der Natur sind Peptidbindungen eine häufig auftretende Struktur, da sie unter physiologischen Bedingungen äußerst stabil sind. Bei der Proteinbiosynthese werden Peptidbindungen in den Ribosomen enzymatisch mit Hilfe der Peptidyltransferase geknüpft. Bei der Synthese im Labor muss die Carbonsäure zunächst aktiviert werden, damit diese mit dem Amin reagieren kann. Hierbei muss die Hydroxyl-Gruppe, die eine schlechte Abgangsgruppe darstellt, in eine bessere Abgangsgruppe umgewandelt werden. Eine weitverbreitete Methode zur Aktivierung von Carbonsäuren ist die Umwandlung der Säure in ein Säurechlorid. Hierfür werden starke Chlorierungsmittel wie Thionylchlorid verwendet. Diese Methode stellt jedoch eine eher drastische Methode dar, bei der es zu einer Chlorierung des Platins kommen kann und somit zur Zerstörung des Komplexes. Aus der Peptidchemie sind jedoch mehrere Methoden bekannt, bei denen die Carbonsäure mit einem Kupplungsreagenz unter besonders milden Bedingungen in einen Aktivester

überführt wird, der dann mit dem Amin zum gewünschten Produkt weiter reagiert.^[132] Die Knüpfung der Peptidbindung erfolgt durch nukleophilen Angriff der Aminofunktion am aktivierten Carboxyl-Kohlenstoffatom. Die Aktivierung erfolgt dabei durch die stark elektronenziehenden Gruppen des Aktivesters. Traditionell wurden in der Peptidchemie Diimide, wie das Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) verwendet. Allerdings haben die Carbodiimide einige Nachteile, wie zum Beispiel die nur moderate Aktivierung und die schwierige Entfernung der bei der Reaktion als Nebenprodukte anfallenden Harnstoffe. Heutzutage wurden die Carbodiimide größtenteils durch moderne Kupplungsreagenzien, wie Phosphoniumsalze (BOP und pyBOP) oder Uroniumsalze (HBTU, TBTU und HATU) ersetzt (Abbildung 83).^[133]

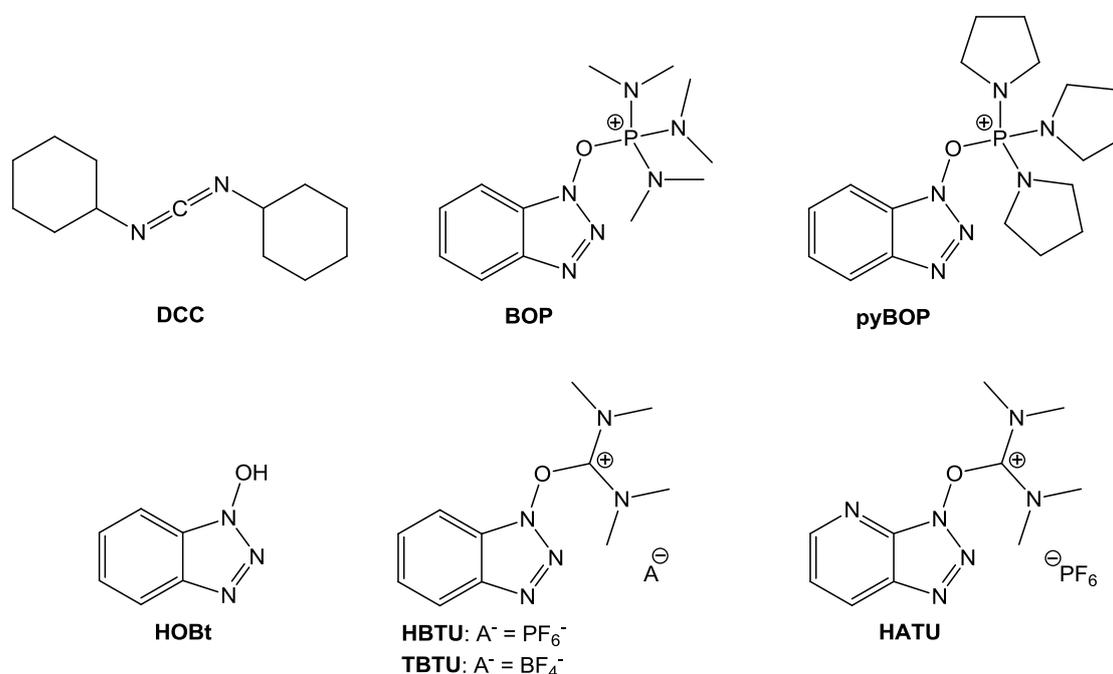


Abbildung 83: ausgewählte Kupplungsreagenzien

Da die Aktivierung bei metallhaltigen Carbonsäure-Derivaten häufig sehr langsam abläuft, wurde für die hier durch geführten Peptidkupplungen eine Kombination aus HBTU und HOBt verwendet.^[96] Die Carbonsäure wird hierbei von dem Uroniumsalz voraktiviert. Durch die Zugabe von HOBt kann die Bildung des Aktivesters im Anschluss beschleunigt werden. Eine schnelle Bildung des Aktivesters und eine reibungslos ablaufende Bildung der Peptidbindung minimiert außerdem das Risiko einer Racemisierung der Aminosäuren. Der in Abbildung 84 dargestellte Mechanismus der Peptidkupplung mit HBTU macht deutlich, dass die Zugabe von

HOBt den zweiten Schritt (b) deutlich schneller ablaufen lässt, da durch eine erhöhte Konzentration des Edukts das Gleichgewicht auf die Seite der Produkte verschieben kann.

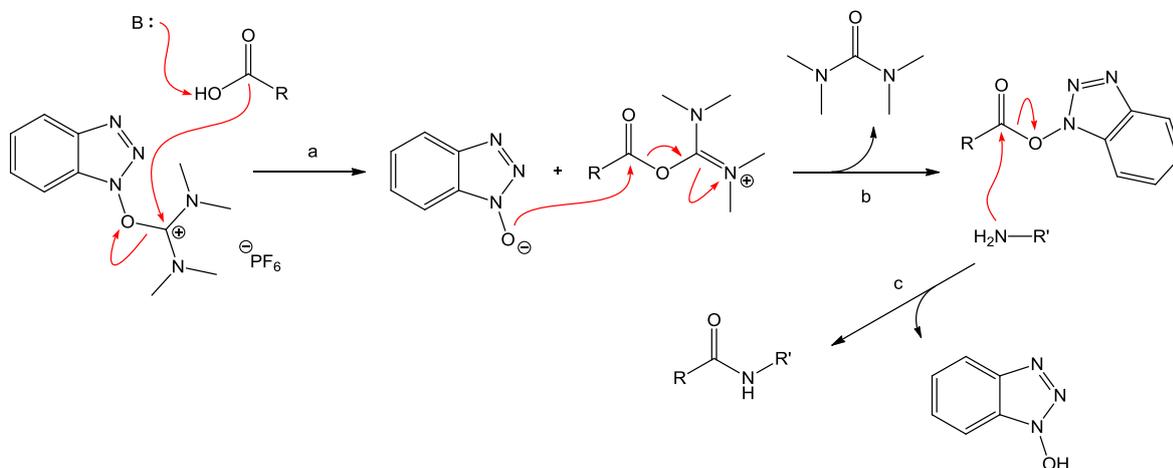
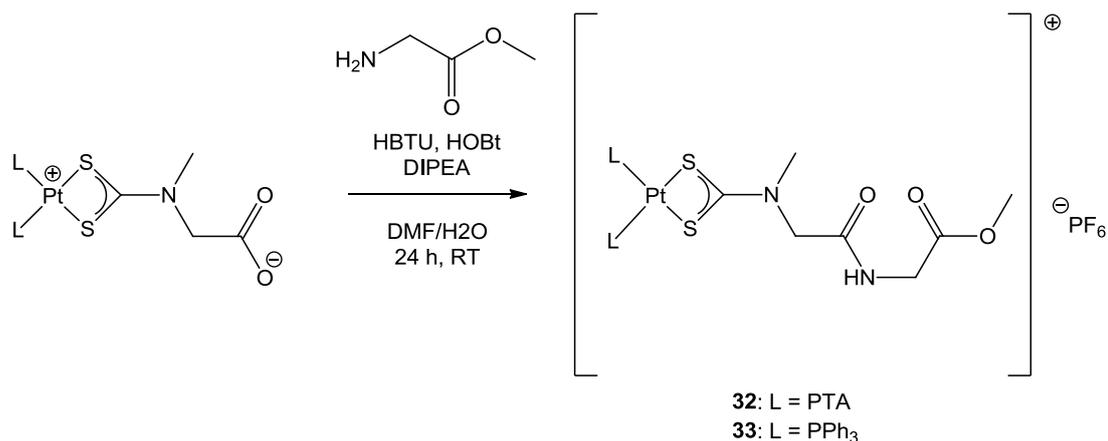
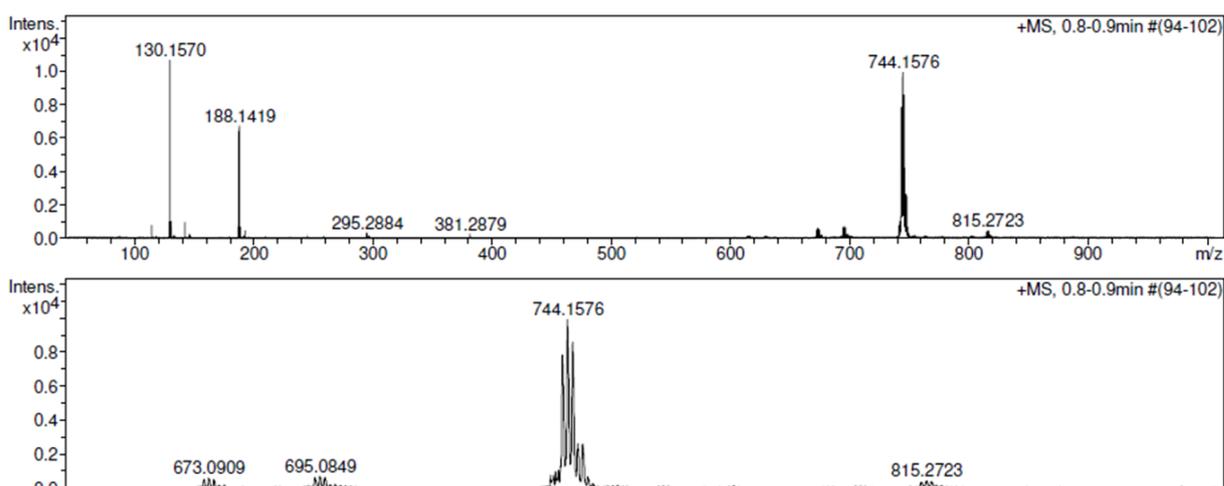


Abbildung 84: Mechanismus der Peptidkupplung mit HBTU

Zunächst sollten die Komplexe **30** und **31** beispielhaft mit einer einzelnen Aminosäure gekuppelt werden, um festzustellen, ob sich die Komplexe generell für Peptidkupplungen eignen. Hierfür wurde Glycin, die einfachste und einzige nicht chirale proteinogene Aminosäure, verwendet. Damit keine Nebenreaktionen auftreten können, musste die Carbonsäure-Funktion des Glycins zunächst als Methylester geschützt werden, da ansonsten Glycin-Glycin-Kupplungen stattfinden könnten. Die Komplexe wurden zunächst in DMF gelöst, das sich der PTA-Komplex **30** jedoch nicht in DMF löste, mussten einige Tropfen Wasser hinzugegeben werden, bis eine klare Lösung entstanden ist. Um die Komplexe zu aktivieren wurden HBTU und HOBt sowie DIPEA als Base hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 5 min zur Aktivierung gerührt, bevor der Glycin-methylester zugegeben wurde (Abbildung 85).

Abbildung 85: Synthese der Komplexe **32** und **33**

Da der Komplex **32** nur mäßig in DMSO löslich war, konnten keine aussagekräftigen ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren erhalten werden. Lediglich eine ³¹P-NMR-Spektren konnte erhalten werden. Hier ist ein breites Signal bei -64.3 ppm für die Phosphan-Liganden zu beobachten. Auch hier können die unterschiedlichen Phosphane nicht gut aufgelöst werden, weshalb nur ein breites Signal zu sehen ist. Außerdem sind wegen der geringen Intensität keine Platin-Satelliten zu erkennen. Weiterhin ist bei -144.2 ppm ein Septett zu beobachten, was zeigt, dass nun ein kationischer Komplex mit Hexafluorophosphat als Gegenion vorliegt. Außerdem konnte ein Massenspektrum der Verbindung erhalten werden. Hierbei ist ein Peak bei 744.16 m/z zu beobachten. Dies entspricht exakt der Masse des Komplexes, der als Kation sehr gut im Massenspektrometer detektiert werden kann (Abbildung 86).

Abbildung 86: Massenspektrum der Verbindung **32**

Weiterhin ist im Massespektrum zu erkennen, dass nur noch Spuren des Edukts bei einem Masse-zu-Ladungsverhältnis von 673.09 zu erkennen sind, was für eine nahezu vollständige Umsetzung spricht. Die weiteren Peaks im Spektrum können Fragmenten des Produkts zugeordnet werden, die sich jedoch vermutlich erst bei der Ionisierung gebildet haben und somit nicht im Produkt enthalten sind. Während der gebildete Komplex **32** nur schlecht löslich ist, ist der hergestellte Komplex **33** sehr gut löslich in organischen Lösemitteln. Somit konnten auswertbare ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektrum des PPh_3 -Komplexes erhalten werden. Im ^1H -NMR-Spektrum sind neben der CH_2 - und der Methylgruppe, die schon im Edukt enthalten waren, auch die CH_2 - und die Methylgruppe des Glycinmethylesters bei 4.39 und 3.70 ppm vorhanden. Zudem ist bei 7.10 ppm ein Signal für das Proton der NH-Gruppe der gebildeten Peptidbindung zu erkennen. Auch hier ist, wie zuvor bei Verbindung **32** im ^{31}P -NMR-Spektrum ein Signal bei -144.3 ppm für das PF_6^- -Anion vorhanden, was zeigt, dass auch hier eine kationische Verbindung mit Hexafluorophosphat als Gegenion entstanden ist. Zudem sind bei 14.8 und 15.4 ppm wieder zwei Dubletts für die beiden nicht äquivalenten PPh_3 -Liganden vorhanden, die das gleiche Kopplungsmuster aufweisen, wie die Ausgangsverbindung **31**.

Da somit gezeigt werden konnte, dass die Komplexe **30** und **31** in der Lage sind Peptidkupplungen mit Aminosäuren einzugehen, sollte nun versucht werden die beiden Komplexe in einer Festphasensynthese an eine Peptidkette zu binden. Um eine längere Peptidkette zu synthetisieren wird heutzutage die Festphasen-Peptidsynthese (solid phase peptide synthesis, SPPS) verwendet. Sie wurde in den 1960er Jahren von dem amerikanischen Chemiker Bruce Merrifield entwickelt, wofür er 1984 den Chemie Nobelpreis erhielt.^[134] Bei der Festphasensynthese wird das Peptid auf der festen Phase, dem Harz, immobilisiert. Das Harz besteht meistens aus Polystyrol (PS), an dessen Oberfläche das Peptid über einen Linker gebunden ist. Ein häufig verwendeter Linker ist beispielsweise der *p*-Alkoxybenzylalkohol-Linker. Da dieser Linker 1973 von Wang entwickelt wurde, wird eine Polystyrolharz mit diesem Linker an der Oberfläche auch als Wang-Harz bezeichnet (Abbildung 87).^[135]

Eine weitere Alternative wäre die Verwendung eines anderen Harzes, bei dem die Abspaltung nicht unter stark sauren Bedingungen stattfindet. Zum Beispiel könnte der Sieber-Amid-Linker verwendet werden, der sich schon unter schwach sauren Bedingungen, mit 1%iger TFA spalten lässt. Darüber hinaus könnten auch basisch spaltbare Linker verwendet werden. Diese sind jedoch nicht kompatibel mit der Fmoc-Schutzgruppe. Auch die Verwendung von photochemisch-spaltbaren Linkern wäre an dieser Stelle denkbar.

Da Krebszellen aufgrund ihrer erhöhten Teilungsrate einen besonders hohen Energiebedarf haben, werden Zucker besonders gut in Krebszellen hinein transportiert. Aus diesem Grund sollten die Komplexe ebenso an ein Zuckerderivat gekuppelt werden. Hierbei sollte Glucosamin verwendet werden. Um Nebenreaktionen zu vermeiden, mussten die OH-Gruppen des Zuckers mit Acetat-Gruppen geschützt werden. Daher wurde hier das Tetraacetylglucosamin für die Peptidkupplung verwendet (Abbildung 89).

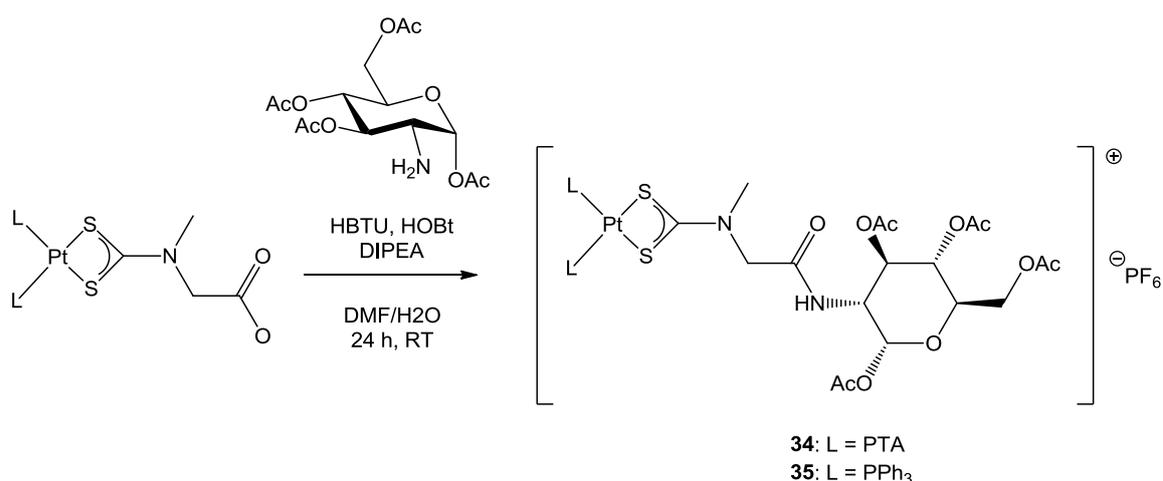


Abbildung 89: Synthese der Verbindungen **34** und **35**

Auch bei dieser Reaktion ließ sich von der Verbindung **34** wieder nur ein ³¹P-NMR-Spektrum und ein Massespektrum erhalten. Im ³¹P-NMR-Spektrum sind wieder zwei Signale zu erkennen. Es ist wieder ein Septett bei -144.2 ppm für das Hexafluorophosphat-Anion zu erkennen. Zudem tritt bei -61.1 ppm ein breites Signal für die PTA-Liganden auf. Im Massespektrum ist bei einem Masse-zu-Ladungsverhältnis von 1003.15 ein Peak für das Produkt vorhanden und bei 960.15 ein Peak für das Produkt, bei dem eine Acetyl-Gruppe abgespalten wurde. Somit kann davon ausgegangen werden, dass sich das Produkt gebildet hat. Jedoch ist

bei 673.08 noch ein Peak für das Edukt vorhanden, sodass davon ausgegangen werden muss, dass die Umsetzung nicht vollständig abgelaufen ist. Die Verbindung **35** konnte dagegen sauber erhalten werden. Im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Verbindung sind zwischen 1.96 und 2.10 ppm vier Singletts für die Acetat-Gruppen des Zuckers vorhanden. Weiterhin sind zwischen 3.66 und 6.20 ppm die Signale des Zucker-Gerüsts zu erkennen. Für die Methylgruppe des Dithiocarbamats tritt ein Signal bei 3.14 ppm auf und für die PPh_3 -Liganden ist ein Multiplett zwischen 7.30 und 7.46 ppm zu beobachten. Dadurch, dass der Zucker mit den vier sperrigen Acetat-Resten an das Dithiocarbamat gebunden ist, ist die Rotation im Molekül stark eingeschränkt, sodass für die CH_2 -Gruppe des Dithiocarbamats zwei Dubletts bei 4.21 und 4.39 ppm vorhanden sind. Die Kopplungskonstanten von ca. 16.5 Hz sind dabei typisch für eine geminale H-H-Kopplung. Im $^{31}\text{P-NMR}$ -Spektrum ist wieder ein Septett bei -144.3 ppm für das Anion zu erkennen, sowie zwei Dubletts bei 15.1 und 15.3 ppm für die beiden chemisch nicht äquivalenten Phosphanliganden. Auch hier sind wieder die Kopplungen der Phosphoratome zum Platin als Platinsatelliten zu beobachten.

Zuletzt sollten die beiden Komplexe **30** und **31** noch an ein Östrogen-Derivat gekuppelt werden, um so die Platin-Komplexe selektiv in (ER+)-Brustkrebszellen transportieren zu können. Hierfür musste zunächst eine NH_2 -Gruppe in das kommerziell erhältliche Ethinylestradiol eingeführt werden. Hierfür wurde das Ethinylestradiol in einer CuAAC mit 2-Azidoethanamin umgesetzt (Abbildung 90). Hierbei wurde nach einer Vorschrift von Chauhan et al. gearbeitet.^[136]

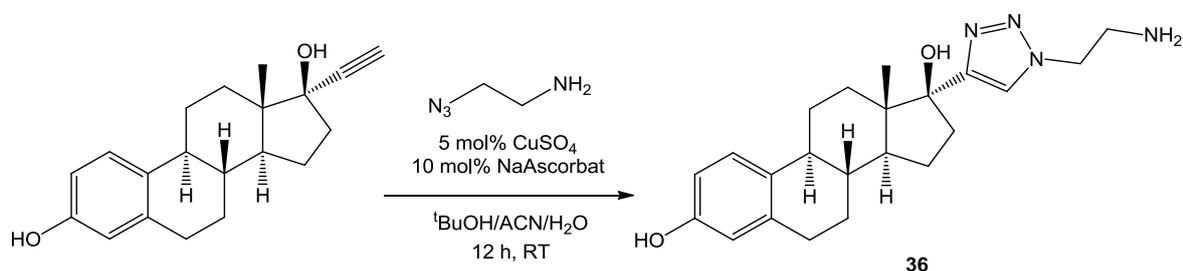
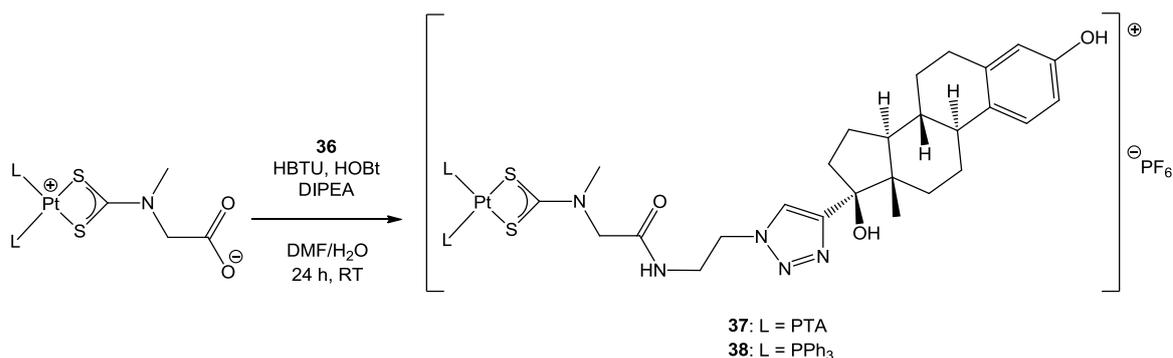


Abbildung 90: Synthese der Verbindung **36**

Das Produkt konnte erfolgreich erhalten werden. Die Signale in den NMR-Spektren der Verbindung stimmten mit den in der Literatur beschriebenen Signalen überein, so dass die Verbindung mit den Komplexen **30** und **31** umgesetzt werden konnte (Abbildung 91).

Abbildung 91: Synthese der Verbindungen **37** und **38**

Die Verbindung **37** war dabei so schlecht löslich, dass keine NMR-Spektren aufgenommen werden konnten. Lediglich im Massenspektrum konnte ein Peak für den Komplex bei einem Masse-zu-Ladungsverhältnis von 1037.39 detektiert werden, was der Masse des positiv geladenen Komplexes entspricht. Jedoch waren im Massenspektrum noch größere Mengen des Ausgangskomplexes vorhanden, so dass davon ausgegangen werden muss, dass die Umsetzung nicht vollständig war. Vermutlich muss die Reaktionszeit verlängert werden oder es muss ein größerer Überschuss des Estradiol-Derivats **36** verwendet werden. Generell ist bei den Kupplungen mit dem PTA-Komplex **30** eine schlechtere Umsetzung zu beobachten als bei den entsprechenden Reaktionen mit dem PPh₃-Komplex **31**. Dies liegt vermutlich daran, dass dem Reaktionsgemisch bei den Reaktionen mit dem PTA-Komplex immer einige Tropfen Wasser zugefügt werden müssen, um den Komplex vollständig zu lösen. Dies führt vermutlich zu einer Zersetzung des Kupplungsreagenzes HBTU, das zur Hydrolyse neigt. Jedoch konnte in allen Fällen das Produkt der Kupplungsreaktion in den Massenspektren beobachtet werden, was zeigt, dass das Kupplungsreagenz lange genug stabil ist um die Edukte wenigstens zum Teil umzusetzen. An dieser Stelle könnte noch überprüft werden, ob ein vollständiger Umsatz erhalten werden kann, wenn nach der Hälfte der Reaktionszeit erneut HBTU zugesetzt wird, um bereits hydrolysiertes Kupplungsreagenz zu ersetzen. Um die Löslichkeit der Verbindungen in organischen Lösemitteln zu verbessern könnte außerdem das Hexafluorophosphat-Anion gegen Tetraphenylborat ausgetauscht werden, um so ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren der Verbindungen erhalten zu können. Obwohl die vorherigen Kupplungen des PPh₃-Komplexes **31** sehr gut funktioniert haben, konnte die Verbindung **38** leider nicht erhalten werden. Im Massenspektrum der konnte der Molekülpeak des kationischen Komplexes nicht detektiert werden. Auch in den

NMR-Spektren konnte die Verbindung aufgrund ihrer schlechten Löslichkeit nicht nachgewiesen werden. Hierbei konnte nicht eindeutig geklärt werden, warum die Verbindung als einziges Kupplungsprodukt nicht erhalten werden konnte. An dieser Stelle könnte noch untersucht werden, ob eine Verlängerung der Reaktionszeit oder die Verwendung eines anderen Kupplungsreagenzes, doch noch zum gewünschten Produkt führen können.

3.4. Fazit und Ausblick

In dieser Arbeit konnten die beiden Phosphan-Platin(II)-Dithiocarbamat-Komplexe **30** und **31** erfolgreich hergestellt und charakterisiert werden. Zusätzlich konnten von den beiden Komplexen Molekülstrukturen erhalten werden, womit die quadratisch-planare Struktur der beiden Pt(II)-Komplexe eindeutig belegt werden konnte. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass der PTA-Komplex **30** mit Guanosin-Monophosphat interagiert, weshalb eine zytotoxische Aktivität des Komplexes *in vitro* wahrscheinlich ist. Die Interaktion des Komplexes **31** mit dem Nucleotid konnte leider nicht untersucht werden, da die beiden Verbindungen zu unterschiedliche Löslichkeiten besitzen. Jedoch konnte die Interaktion von beiden Komplexen **30** und **31** mit Glutathion untersucht werden. Es konnte festgestellt werden, dass beide Komplexe, trotz der hohen Affinität von Platin(II) zu Schwefel, nicht an die Thiol-Gruppe des Glutathions binden. Daher ist es wahrscheinlich, dass die beiden Komplexe auch im menschlichen Körper keinerlei Bindung zu Glutathion eingehen und somit die bestehenden Resistenzen gegen die bisher verwendeten platinhaltigen Krebsmedikamente überwinden können. Zudem wurde die Bindung des PTA- und des PPh₃-Komplexes an Humanes Serumalbumin untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass beide Komplexe an HSA binden. Der PPh₃-Komplex bindet dabei wesentlich stärker an HSA als der entsprechende PTA-Komplex. Daher kann davon ausgegangen werden, dass der Komplex trotz seiner ausgeprägten Lipophilie ($\text{Log } D_{7.4} = 2.24$) im wässrigen Blutplasma transportiert werden kann. Der Komplex **30** weist zwar eine sehr hohe Wasserlöslichkeit von ca. 500 g/L auf und somit eine gute Bioverfügbarkeit, hat aber wegen seiner extrem schwach ausgeprägten Lipophilie ($\text{Log } D_{7.4} = -1.55$) eine sehr schlechte Zellgängigkeit, was schon *in vivo* an strukturell sehr ähnlichen PTA-Pt-Dithiocarbamaten gezeigt werden konnte. Mit dem Ziel diese schlechte Zellpermeabilität zu verbessern, wurden verschiedene Biokonjugate der Komplexe **30** und **31** synthetisiert. Hierbei konnten die Komplexe erfolgreich an eine Aminosäure und ein Zuckerderivat gebunden werden. Der Komplex **30** konnte zu dem auch an ein Östrogenderivat gekuppelt werden. Leider sind die Komplexe nicht kompatibel mit den Standardbedingungen der SPPS, sodass keine Biokonjugate mit einer längeren Peptidkette erhalten werden konnten. Hierbei müsste, statt dem Wang-Linker, ein Linker verwendet werden, der sich unter

milderen Bedingungen spalten lässt. Alternativ könnte das Peptid auch zuerst vom Harz abgespalten werden und anschließend mit dem Komplex gekuppelt werden. Allerdings wären hier zwei zusätzliche Reaktionsschritte für das Schützen und Entschützen der freien Carbonsäure des Peptids notwendig. Weiterer Optimierungsbedarf besteht bei der Synthese der PTA-Pt-Biokonjugate in Lösung, da hier häufig noch Edukt im Produkt enthalten war. Dies liegt vermutlich an der Instabilität der Kupplungsreagenzes in Gegenwart von Wasser. Hier könnte überprüft werden ob mit anderen Kupplungsreagenzien bessere Ergebnisse erzielt werden können. Zudem wäre es denkbar im Verlauf der Reaktion erneut Kupplungsreagenz zuzufügen, um bereits zersetztes HBTU zu ersetzen.

Die in dieser Arbeit synthetisierten Platin-Komplexe und deren Biokonjugate sollen in Zukunft auf ihre *in vitro* Aktivität gegen verschiedene Cisplatin-sensitive und – resistente Zelllinien untersucht werden. Auch *in vivo* Studien wären denkbar, wenn die *in vitro* Zelltests vielversprechende Ergebnisse liefern.

3.5. Experimenteller Teil

3.5.1. Allgemeine Angaben

Allgemeine Angaben

Solange nichts anderes beschrieben wurde, gelten die Angaben aus Kapitel 2.

Kristallographie

Die Röntgenbeugungsanalyse wurde bei 100 K mit einem Enraf-Nonius Kappa CCD-System [Drehanode mit Mo-K α -Strahlung ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$)] durchgeführt. Datenintegration, Skalierung und empirische Absorptionkorrektur wurden mit dem Programm SADABS vorgenommen. Die Strukturlösung erfolgte mit Patterson oder direkten Methoden (SHELXT^[137]) und wurde nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate gegen F^2 verfeinert (SHELXL^[137]). Alle Atome außer den Wasserstoffatomen wurden anisotrop verfeinert. Die Wasserstoffatomlagen wurden aus der Geometrie der Umgebung berechnet und bei jedem Verfeinerungszyklus neu angepasst. Alle Berechnungen wurden mit dem Programm Olex2^[90] ausgeführt.

Fluoreszenz-Spektroskopie

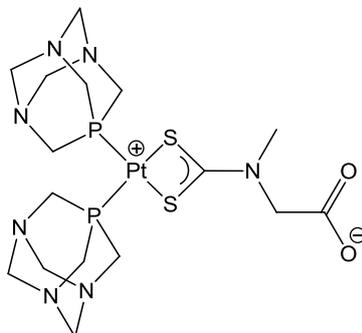
Die Fluoreszenz-Spektren wurden an einem Jasco Spectrofluorometer FP-8300 aufgenommen. Es wurde eine Bandbreite von 5 nm bei Anregung und Emission verwendet.

3.5.2. Synthese der Platin-Komplexe

Synthese von *cis*-[Pt(PTA)₂(S₂CN(CH₃)CH₂COO)]

Zu einer Suspension aus 100.0 mg *cis*-[PtCl₂(PTA)₂] (0.17 mmol, 1 äq.) in 5 ml Methanol wurden 40 mg (0.17 mmol, 1 äq.) des Sarkosindithiocarbamats gegeben, wobei die zunächst weiße Suspension fast vollständig aufklart. Das

Reaktionsgemisch wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend über Celite filtriert. Entfernen des Lösemittels im Vakuum lieferten 110 mg (0.16 mmol, 94 %) des gewünschten Produkts.



¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 3.28 (s, 3H, Me); 4.00 (s, 2H, CH₂COO⁻); 4.30 (s, 12H, PCH₂N); 4.44 (d, J = 13.0 Hz, 6 H, NCH₂N); 4.59 (d, J = 12.8 Hz, 6 H, NCH₂N).

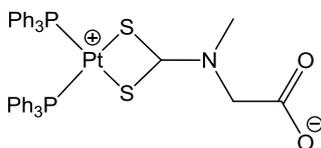
¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 38.2 (s, NCH₃); 50.6 (d, J_{C-P} = 19.9 Hz, PCH₂N); 55.7 (CH₂COO⁻); 71.3 (d, J_{C-P} = 8.1 Hz, NCH₂N); 165.8 (C=O); 200.2 (S₂CN).

³¹P-NMR (162 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = -64.4 (br, J_{P-Pt} = 2933.9 Hz).

IR (ATR): ν [cm⁻¹] = 1544 (C=N); 1616 (COOH).

Synthese von cis-[Pt(PPh₃)₂(S₂CN(CH₃)CH₂COO)]

Zu einer Lösung aus 150 mg cis-[PtCl₂(PPh₃)₂] (0.19 mmol, 1 äq.) in 10 ml DCM wurden 43 mg (0.19 mmol, 1 äq.) des Sarkosindithiocarbamats in 5 ml Methanol gegeben. Die blassgelbe Lösung wurde eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und das Lösemittel anschließend am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in DCM aufgenommen. Die Suspension wurde über Celite filtriert um das Nebenprodukt NaCl abzutrennen und das Filtrat wurde auf wenige ml eingeeengt. Durch Zugabe von Diethylether konnte das Produkt anschließend als blassgelber Feststoff ausgefällt werden. Filtrieren und waschen mit Ether lieferten 130 mg (0.15 mmol, 79 %) des gewünschten Produkts.



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 3.26 (s, 3H, Me); 4.17 (s, 2H, CH_2COO^-); 7.28 (m, 12H, PPh_3); 7.40 (m, 18 H, PPh_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 38.1 (NCH_3); 54.7 (CH_2COO^-); 127.7 (d, $J_{\text{C-P}} = 58.5$ Hz, ipso- PPh_3); 127.9 (d, $J_{\text{C-P}} = 57.5$ Hz, ipso- PPh_3); 128.5 (d, $J_{\text{C-P}} = 4.8$ Hz, meta- PPh_3); 128.6 (d, $J_{\text{C-P}} = 4.9$ Hz, meta- PPh_3); 131.6 (d, $J_{\text{C-P}} = 2.4$ Hz, para- PPh_3); 131.6 (d, $J_{\text{C-P}} = 2.4$ Hz, para- PPh_3); 134.1 (d, $J_{\text{C-P}} = 11.3$ Hz, ortho- PPh_3); 134.3 (d, $J_{\text{C-P}} = 11.0$ Hz, ortho- PPh_3); 167.4 (C=O); 199.1 (S_2CN).

$^{31}\text{P-NMR}$ (243 MHz, DMSO-d_6): δ [ppm] = 15.2 (d, $J_{\text{P-P}} = 22.4$ Hz, $J_{\text{P-Pt}} = 3231$ Hz, PPh_3); 16.3 (d, $J_{\text{P-P}} = 22.5$ Hz, $J_{\text{P-Pt}} = 3270$ Hz, PPh_3).

IR (ATR): ν [cm^{-1}] = 1550 (C=N); 1633 (COOH).

3.5.3. Bestimmung der Distributionskoeffizienten

Die Bestimmung der Distributionskoeffizienten erfolgte nach der gleichen Methode wie zuvor in Kapitel 2.5.6. beschrieben. Allerdings wurden im Falle der Platin-Komplexe die Extinktionen bei 245 nm bestimmt.

3.5.4. Bestimmung der HSA-Bindungskonstanten

HSA wurde käuflich erworben (Sigma-Aldrich #A3782). Eine 2 μM HSA-Stammlösung wurde hergestellt, indem 6.7 mg HSA in 50 mL PBS-Puffer (Herstellung siehe Kapitel 2.5.6.) gelöst wurden. Die Lösung wurde eine Stunde stehengelassen, um das vollständige Auflösen zu gewährleisten. Anschließend wurde die HSA-Konzentration mittels UV/VIS-Spektroskopie überprüft. Dabei wurde der molare Absorptionskoeffizient bei 280 nm ($36850 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) verwendet. Die HSA-Stammlösung wurde innerhalb weniger Stunden nach der Herstellung verwendet.

Von der HSA-Stammlösung wurden für jede Messung 2 mL in eine Küvette (1 cm) gefüllt. Die Konzentration der Testsubstanzen wurde in einem Bereich von 0 - 30 μM variiert. Hierfür wurden 2.5 μL Aliquote einer 4 mM Stammlösung der Pt-Komplexe in DMSO in die HSA-Lösung titriert. Die Proben wurden bei einer Wellenlänge von

295 nm angeregt und die Emissionsspektren wurden in einem Wellenlängenbereich von 310 – 450 nm aufgenommen. Die Proben wurden 5 min nach jeder Zugabe der Pt-Komplexe stehen gelassen, bevor die Emissionsspektren aufgenommen wurden, um die Einstellung des Gleichgewichts zu gewährleisten.

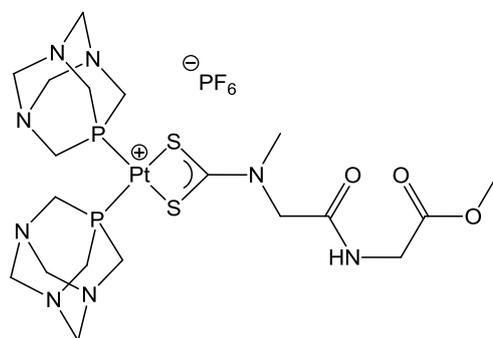
3.5.5. Synthese der PTA-Platin-Biokonjugate

Allgemeine Synthesevorschrift

Für die Synthese der PTA-Platin-Biokonjugate wurden 50 mg (0.063 mmol, 1 äq.) des PTA-Komplexes **30** in 0.5 mL DMF suspendiert. Anschließend wurden einige Tropfen Wasser zugegeben, bis eine klare Lösung entstand. Zu der Mischung wurden 35 mg (0.095 mmol, 1.5 äq.) HBTU und 10 mg (0.063 mmol, 1 äq.) HOBt sowie 12 μ L (0.07 mmol, 1.1 äq.) DIPEA gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 10 min gerührt, bevor 1.2 Äquivalente (0.076 mmol) des primären Amins zugegeben wurden. Die Reaktion wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Reaktionsgemisch mit EtOH verdünnt und der ausgefallene Feststoff abfiltriert und mit Ethanol und Diethylether gewaschen.

Synthese der Verbindung 32

Mit 10 mg (0.076 mmol, 1.2 äq.) Glycinmethylester Hydrochlorid wurden 48 mg (0.054 mmol, 86 %) eines hellgelben Feststoffs erhalten.

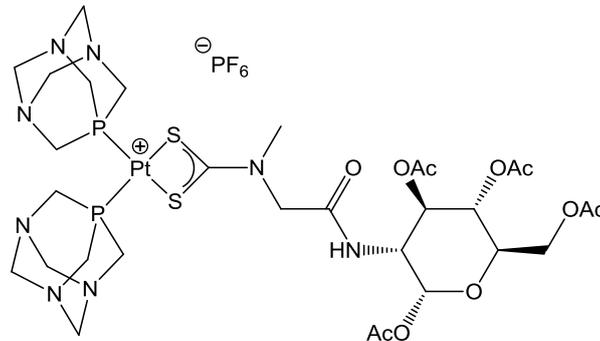


^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = -64.3 (br, PTA); 144.2 (sep, $J_{\text{P-F}}$ = 711.1 Hz, PF_6).

ESI-MS: m/z = 744.16 [M] $^+$

Synthese der Verbindung 34

Mit 30 mg (0.076 mmol, 1.2 äq.) Glukosamin Hydrochlorid wurden 60 mg (0.053 mmol, 82 %) eines hellgelben Feststoffs erhalten.

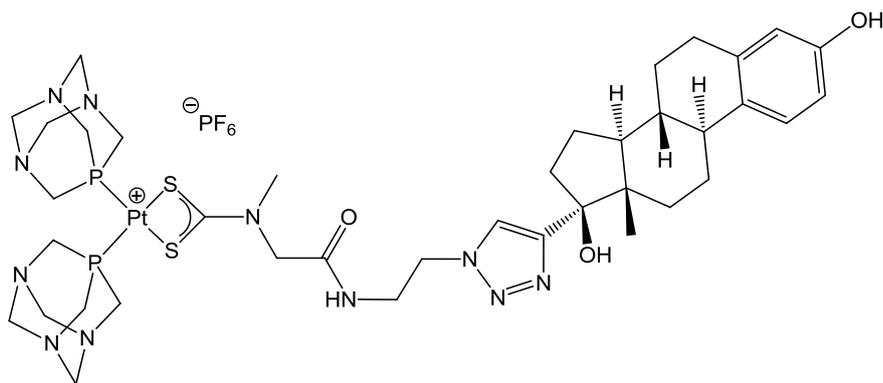


^{31}P -NMR (243 MHz, DMSO- d_6): δ [ppm] = -144.2 (sep, $J_{\text{P-F}} = 711.1$ Hz, PF_6^-); -63.1 (br, $J_{\text{P-Pt}} = 2892$ Hz, PTA).

ESI-MS: $m/z = 1003.15$ [M] $^+$; 960,15 [M-Ac] $^+$.

Synthese der Verbindung 37

Mit 29 mg (0.076 mmol, 1.2 äq.) von Verbindung **36** wurden 59 mg (0.050 mmol, 79 %) eines hellgelben Feststoffs erhalten.



ESI-MS: $m/z = 1037.39$ [M] $^+$

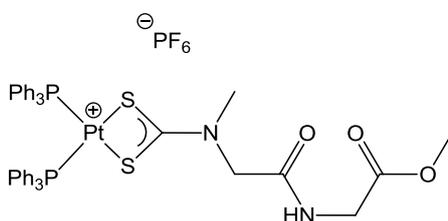
3.5.6. Synthese der PPh₃-Platin-Biokonjugate

Allgemeine Synthesevorschrift

Für die Synthese der PTA-Platin-Biokonjugate wurden 30 mg (0.034 mmol, 1 äq.) des PPh₃-Komplexes **31** in 0.5 mL DMF gelöst. Zu der Lösung wurden 20 mg (0.051 mmol, 1.5 äq.) HBTU und 5 mg (0.034 mmol, 1 äq.) HOBt sowie 7 µL (0.037 mmol, 1.1 äq.) DIPEA gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 10 min gerührt, bevor 1.2 Äquivalente (0.041 mmol) des primären Amins zugegeben wurden. Die Reaktion wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktionszeit wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser verdünnt und der ausgefallene Feststoff abfiltriert und mit Wasser und Diethylether gewaschen.

Synthese der Verbindung 33

Mit 5 mg (0.041 mmol, 1.2 äq.) Glycinmethylester Hydrochlorid wurden 36 mg (0.033 mmol, 97 %) eines hellgelben Feststoffs erhalten.



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 3.19 (s, 3H, NMe); 3.70 (s, 3 H, OMe); 4.01 (d, *J* = 5.7 Hz, 2 H, NHCH₂C=O); 4.39 (s, 2H, NCH₂C=O); 7.10 (t, *J* = 5.5 Hz, 1 H, NH); 7.30 - 7.32 (m, 12H, PPh₃); 7.35 - 7.44 (m, 18 H, PPh₃).

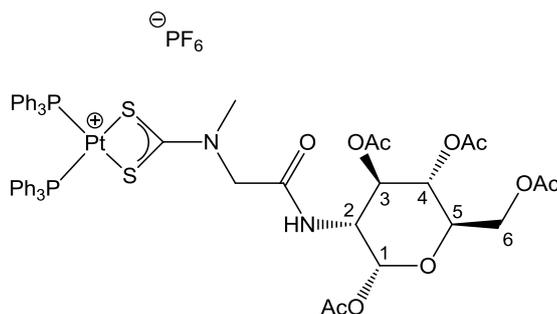
¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 37.7 (NMe); 52.1 (OMe); 41.4 (NHCH₂C=O); 52.7 (NCH₂C=O); 127.4 (d, *J*_{C-P} = 58.0 Hz, ipso-PPh₃); 127.6 (d, *J*_{C-P} = 57.9 Hz, ipso-PPh₃); 128.7 (d, *J*_{C-P} = 5.9 Hz, meta-PPh₃); 128.8 (d, *J*_{C-P} = 6.0 Hz, meta-PPh₃); 131.8 (d, *J*_{C-P} = 2.5 Hz, para-PPh₃); 131.9 (d, *J*_{C-P} = 2.6 Hz, para-PPh₃); 134.1 (d, *J*_{C-P} = 11.0 Hz, ortho-PPh₃); 134.3 (d, *J*_{C-P} = 11.0 Hz, ortho-PPh₃); 165.3 (O=CNH); 169.4 (O=COMe); 204.7 (S₂CN).

³¹P-NMR (162 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = -144.3 (hep, *J*_{P-F} = 713 Hz, PF₆); 14.8 (d, *J*_{P-P} = 22.4 Hz, *J*_{P-Pt} = 3280 Hz, PPh₃); 15.4 (d, *J*_{P-P} = 22.2 Hz, *J*_{P-Pt} = 3278 Hz, PPh₃).

ESI-MS: $m/z = 954.23 [M]^+$

Synthese der Verbindung 35

Mit 16 mg (0.041 mmol, 1.2 äq.) Glucosamin Hydrochlorid wurden 44 mg (0.033 mmol, 97 %) eines hellgelben Feststoffs erhalten.



$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.96 (s, 3 H, OAc); 2.01 (s, 3 H, OAc); 2.02 (s, 3 H, OAc); 2.10 (s, 3 H, OAc); 3.14 (s, 3 H, NMe); 3.66 (dd, $J = 8.8$ Hz, 17.3 Hz, 1 H, H2); 3.89 (ddd, $J = 2.1, 4.4, 10.2$ Hz, 1 H, H5); 4.10 (dd, $J = 2.0, 12.3$ Hz, 1 H, H6); 4.21 (d, $J = 16.5$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{C}=\text{O}$); 4.30 (dd, $J = 4.5, 12.4$ Hz, 1 H, H6); 4.39 (d, $J = 16.4$ Hz, 1 H, $\text{NCH}_2\text{C}=\text{O}$); 5.08 (t, $J = 9.6$ Hz, 1 H, H4); 5.67 (t, $J = 9.7$ Hz, 1 H, H3); 6.20 (d, $J = 8.7$ Hz, 1 H, H1); 6.91 (d, $J = 6.8$ Hz, 1 H, NH); 7.30 – 7.46 (m, 30 H, PPh_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (151 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 20.6 (OAc- CH_3); 20.6 (OAc- CH_3); 20.7 (OAc- CH_3); 20.8 (OAc- CH_3); 37.6 (NMe); 52.4 ($\text{NCH}_2\text{C}=\text{O}$); 55.3 (C2); 61.7 (C6); 68.5 (C4); 71.1 (C3); 72.4 (C5); 91.0 (C1); 127.5 (d, $J_{\text{C-P}} = 56.2$ Hz, PPh_3); 127.6 (d, $J_{\text{C-P}} = 56.4$ Hz, PPh_3); 128.7 (d, $J_{\text{C-P}} = 9.3$ Hz, PPh_3); 128.8 (d, $J_{\text{C-P}} = 9.1$ Hz, PPh_3); 131.8 (d, $J_{\text{C-P}} = 2.3$ Hz, PPh_3); 131.8 (d, $J_{\text{C-P}} = 2.4$ Hz, PPh_3); 134.1 (d, $J_{\text{C-P}} = 10.6$ Hz, PPh_3); 134.3 (d, $J_{\text{C-P}} = 10.6$ Hz, PPh_3); 165.5 ($\text{NCH}_2\text{C}=\text{O}$); 169.0 (OAc- $\text{C}=\text{O}$); 169.5 (OAc- $\text{C}=\text{O}$); 170.5 (OAc- $\text{C}=\text{O}$); 170.7 (OAc- $\text{C}=\text{O}$); 199.0 (S_2CN).

$^{31}\text{P-NMR}$ (243 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = -144.3 (hep, $J_{\text{P-F}} = 713$ Hz, PF_6); 15.1 (d, $J_{\text{P-P}} = 22.5$ Hz, $J_{\text{P-Pt}} = 3283$ Hz, PPh_3); 15.3 (d, $J_{\text{P-P}} = 22.3$ Hz, $J_{\text{P-Pt}} = 3286$ Hz, PPh_3).

ESI-MS: $m/z = 1213.26 [M]^+$

4. Literatur

- [1] Z. Guo, P. J. Sadler, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1610.
- [2] K. D. Mjos, C. Orvig, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 4540.
- [3] Z. Huaizhi, N. Yuantao, *Gold Bull.* **2001**, *34*, 24.
- [4] W. F. Kean, L. Hart, W. W. Buchanan, *Rheumatology* **1997**, *36*, 560.
- [5] R. Koch, *Br. Med. J.* **1890**, *2*, 1193.
- [6] C. Roder, M. J. Thomson, *Drugs R&D* **2015**, *15*, 13.
- [7] N. C. Lloyd, H. W. Morgan, B. K. Nicholson, R. S. Ronimus, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 941.
- [8] N. Farrell, *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *232*, 1.
- [9] B. R. Smith, C. M. Eastman, J. T. Njardarson, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 9764.
- [10] G. Gasser, N. Metzler-Nolte, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2012**, *16*, 84.
- [11] World Health Organization, *World malaria report 2017*, Geneva, **2017**.
- [12] J. Sachs, P. Malaney, *Nature* **2002**, *415*, 680.
- [13] M. Navarro, W. Castro, C. Biot, *Organometallics* **2012**, *31*, 5715.
- [14] E. L. Flannery, A. K. Chatterjee, E. A. Winzeler, *Nat. Rev. Microbiol.* **2013**, *11*, 849.
- [15] M. Tanner, D. de Savigny, *Bull. W. H. O.* **2008**, *86*, 82.
- [16] J. N. Burrows, van Huijsduijnen, Rob Hooft, J. J. Möhrle, C. Oeuvray, Wells, Timothy N C, *Malar. J.* **2013**, *12*, 187.
- [17] T. Storr, *Ligand design in medicinal inorganic chemistry*, Wiley-VCH, **2014**.
- [18] C. Biot, W. Castro, C. Y. Botté, M. Navarro, *Dalton Trans.* **2012**, *41*, 6335.
- [19] A. Stich, K. Fischer, M. Lanzer, *Biol. Unserer Zeit* **2000**, *30*, 194.
- [20] B. Mordmüller, G. Surat, H. Lagler, S. Chakravarty, A. S. Ishizuka, A. Lalremruata, M. Gmeiner, J. J. Campo, M. Esen, A. J. Ruben et al., *Nature* **2017**, *542*, 445.
- [21] T. N. C. Wells, R. H. van Huijsduijnen, W. C. van Voorhis, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2015**, *14*, 424.
- [22] T. N. C. Wells, P. L. Alonso, W. E. Gutteridge, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2009**, *8*, 879.
- [23] B. Halliwell, J. M.C. Gutteridge in *Methods in Enzymol.*, Elsevier, **1990**, S. 1–85.
- [24] T. J. Egan, *TARGETS* **2003**, *2*, 115.

- [25] L. M. Coronado, C. T. Nadovich, C. Spadafora, *Biochim. Biophys. Acta* **2014**, 1840, 2032.
- [26] T. J. Egan, R. Hunter, C. H. Kaschula, H. M. Marques, A. Mispion, J. Walden, *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 283.
- [27] C. Biot, D. Dive in *Topics in Organometallic Chemistry* (Hrsg.: G. Jaouen, N. Metzler-Nolte), Springer, **2010**, S. 155–193.
- [28] N. Wasi, H. B. Singh, A. Gajanana, A. N. Raichowdhary, *Inorg. Chim. Acta* **1987**, 135, 133.
- [29] R. Sánchez-Delgado, A. Anzellotti, L. Suarez in *Metal Ions in Biological Systems* (Hrsg.: A. Sigel, H. Sigel), CRC Press, **2004**.
- [30] R. A. Sánchez-Delgado, M. Navarro, H. Pérez, J. A. Urbina, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 1095.
- [31] P. F. Salas, C. Herrmann, C. Orvig, *Chem. Rev.* **2013**, 113, 3450.
- [32] C. Biot, G. Glorian, L. A. Maciejewski, J. S. Brocard, *J. Med. Chem.* **1997**, 40, 3715.
- [33] zu finden unter <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02497612>.
- [34] D. C. Martyn, A. P. Ramirez, M. J. Beattie, J. F. Cortese, V. Patel, M. A. Rush, K. A. Woerpel, J. Clardy, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 6521.
- [35] W. Castro, M. Navarro, *Av. Quim.* **2012**, 7, 135.
- [36] C. Biot, N. Chavain, F. Dubar, B. Pradines, X. Trivelli, J. Brocard, I. Forfar, D. Dive, *J. Organomet. Chem.* **2009**, 694, 845.
- [37] C. Biot, D. Taramelli, I. Forfar-Bares, L. A. Maciejewski, M. Boyce, G. Nowogrocki, J. S. Brocard, N. Basilico, P. Olliaro, T. J. Egan, *Mol. pharmaceutics* **2005**, 2, 185.
- [38] N. Chavain, H. Vezin, D. Dive, N. Touati, J.-F. Paul, E. Buisine, C. Biot, *Mol. pharmaceutics* **2008**, 5, 710.
- [39] M. A. L. Blackie, P. Beagley, S. L. Croft, H. Kendrick, J. R. Moss, K. Chibale, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 6510.
- [40] W. A. Wani, E. Jameel, U. Baig, S. Mumtazuddin, L. T. Hun, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 101, 534.
- [41] W. Daher, C. Biot, T. Fandeur, H. Jouin, L. Pelinski, E. Viscogliosi, L. Fraisse, B. Pradines, J. Brocard, J. Khalife et al., *Malar. J.* **2006**, 5, 11.
- [42] M. A.L. Blackie, P. Beagley, K. Chibale, C. Clarkson, J. R. Moss, P. J. Smith, *J. Organomet. Chem.* **2003**, 688, 144.

- [43] L. Antinarelli, A. M. Carmo, F. R. Pavan, C. Q. F. Leite, A. D. Da Silva, E. S. Coimbra, D. B. Salunke, *Org. Med. Chem. Lett.* **2012**, 2, 16.
- [44] P. F. Salas, C. Herrmann, J. F. Cawthray, C. Nimphius, A. Kenkel, J. Chen, C. de Kock, P. J. Smith, B. O. Patrick, M. J. Adam, *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 1596.
- [45] E. Schuh, S. M. Valiahdi, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, P. Chiba, F. Mohr, *Dalton Trans.* **2009**, 10841.
- [46] P. J. Kocieński, *Protecting groups*, Thieme, Stuttgart, **2005**.
- [47] M. Staderini, N. Cabezas, M. L. Bolognesi, J. C. Menéndez, *Tetrahedron* **2013**, 69, 1024.
- [48] H.-W. Wanzlick, H.-J. Schönherr, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1968**, 7, 141.
- [49] K. Öfele, *J. Organomet. Chem.* **1968**, 12, 42.
- [50] A. J. Arduengo, R. L. Harlow, M. Kline, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 361.
- [51] K. M. Hindi, M. J. Panzner, C. A. Tessier, C. L. Cannon, W. J. Youngs, *Chem. Rev.* **2009**, 109, 3859.
- [52] W. Walther, O. Dada, C. O'Beirne, I. Ott, G. Sánchez-Sanz, C. Schmidt, C. Werner, X. Zhu, M. Tacke, *Letf. Drug Des. Discovery* **2016**, 14, 125.
- [53] K. Devi, Y. Asmat, S. Jain, S. Sharma, J. Dwivedi, *J. Chem.* **2013**, 2013, 1.
- [54] E. Gall, S. Sengmany, C. Gosmini, J. Perichon, P. Retailleau, *Letf. Org. Chem.* **2008**, 5, 120.
- [55] R. Huisgen, *Angew. Chem.* **1963**, 75, 604.
- [56] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, 40, 2004.
- [57] E. D. Goddard-Borger, R. V. Stick, *Org. Lett.* **2007**, 9, 3797.
- [58] R. J. Detz, S. A. Heras, R. de Gelder, P. W. N. M. van Leeuwen, H. Hiemstra, J. N. H. Reek, J. H. van Maarseveen, *Org. Lett.* **2006**, 8, 3227.
- [59] R. A. Stockland, M. C. Kohler, I. A. Guzei, M. E. Kastner, J. A. Bawiec, D. C. Labaree, R. B. Hochberg, *Organometallics* **2006**, 25, 2475.
- [60] L. Henry, C. Schneider, B. Mützel, P. V. Simpson, C. Nagel, K. Fucke, U. Schatzschneider, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 15692.
- [61] E. Schuh, S. Werner, D. Otte, U. Monkowius, F. Mohr, *Organometallics* **2016**, 35, 3448.
- [62] T. J. Robilotto, N. Deligonul, J. B. Updegraff, T. G. Gray, *Inorg. Chem.* **2013**, 52, 9659.
- [63] E. Evangelio, N. P. Rath, L. M. Mirica, *Dalton Trans.* **2012**, 41, 8010.

- [64] L. Malatesta, L. Naldini, G. Simonetta, F. Cariati, *Coord. Chem. Rev.* **1966**, *1*, 255.
- [65] G. Beuter, J. Strähle, *J. Organomet. Chem.* **1989**, *372*, 67.
- [66] W. F. Gabrielli, S. D. Nogai, J. M. McKenzie, S. Cronje, H. G. Raubenheimer, *New J. Chem.* **2009**, *33*, 2208.
- [67] L. Paloque, C. Hemmert, A. Valentin, H. Gornitzka, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *94*, 22.
- [68] E. Schuh, C. Pflüger, A. Citta, A. Folda, M. P. Rigobello, A. Bindoli, A. Casini, F. Mohr, *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 5518.
- [69] R. W. Winkel, G. G. Dubinina, K. A. Abboud, K. S. Schanze, *Dalton Trans.* **2014**, *43*, 17712.
- [70] S. Warsink, R. M. Drost, M. Lutz, A. L. Spek, C. J. Elsevier, *Organometallics* **2010**, *29*, 3109.
- [71] A. Johnson, M. C. Gimeno, *Organometallics* **2017**, *36*, 1278.
- [72] T. J. Egan, D. C. Ross, P. A. Adams, *FEBS Lett.* **1994**, *352*, 54.
- [73] S. Parapini, N. Basilico, E. Pasini, T. J. Egan, P. Olliaro, D. Taramelli, D. Monti, *Exp. Parasitol.* **2000**, *96*, 249.
- [74] Y. Kurosawa, A. Dorn, M. Kitsuji-Shirane, H. Shimada, T. Satoh, H. Matile, W. Hofheinz, R. Masciadri, M. Kansy, R. G. Ridley, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, *44*, 2638.
- [75] K. K. Ncokazi, T. J. Egan, *Anal. Biochem.* **2005**, *338*, 306.
- [76] T. J. Egan, W. W. Mavuso, K. K. Ncokazi, *Biochemistry* **2001**, *40*, 204.
- [77] M. A. Rush, M. L. Baniecki, R. Mazitschek, J. F. Cortese, R. Wiegand, J. Clardy, D. F. Wirth, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, *53*, 2564.
- [78] M. M. Chen, L. Shi, D. J. Sullivan, *Mol. Biochem. Parasitol.* **2001**, *113*, 1.
- [79] D. J. Sullivan, I. Y. Gluzman, D. E. Goldberg, *Science* **1996**, *271*, 219.
- [80] J. M. Pisciotta, I. Coppens, A. K. Tripathi, P. F. Scholl, J. Shuman, S. Bajad, V. Shulaev, D. J. Sullivan, *Biochem. J.* **2007**, *402*, 197.
- [81] M. Carter, V. Phelan, R. Sandlin, B. Bachmann, D. Wright, *Comb. Chem. High Throughput Screening* **2010**, *13*, 285.
- [82] R. D. Sandlin, M. D. Carter, P. J. Lee, J. M. Auschwitz, S. E. Leed, J. D. Johnson, D. W. Wright, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2011**, *55*, 3363.
- [83] T. J. Egan, W. W. Mavuso, D. C. Ross, H. M. Marques, *J. Inorg. Biochem.* **1997**, *68*, 137.

- [84] T. S. Macedo, W. Villarreal, C. C. Couto, D. R. M. Moreira, M. Navarro, M. Machado, M. Prudêncio, A. A. Batista, M. B. P. Soares, *Metallomics* **2017**, *9*, 1548.
- [85] R. Buller, M. L. Peterson, Ö. Almarsson, L. Leiserowitz, *Cryst. Growth Des.* **2002**, *2*, 553.
- [86] E. Kerns, *Drug Discovery Today* **2003**, *8*, 316.
- [87] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2001**, *46*, 3.
- [88] E. H. Kerns, L. Di in *Drug-like properties. Concepts, structure design and methods : from ADME to toxicity optimization* (Hrsg.: E. H. Kerns, L. Di), Academic Press, **2008**, S. 43–47.
- [89] Oxford Diffraction Ltd., *CrysAlis Pro 171.33.42*, **2009**.
- [90] O. V. Dolomanov, L. J. Bourhis, R. J. Gildea, J. A. K. Howard, H. Puschmann, *J. Appl. Crystallogr.* **2009**, *42*, 339.
- [91] H. Kiaris, *Understanding carcinogenesis. An introduction to the molecular basis of cancer*, Wiley-VCH, **2006**.
- [92] B. W. Stewart, C. P. Wild, *World Cancer Report 2014*, International Agency for Research on Cancer/World Health Organization, Lyon, **2014**.
- [93] B. Barnes (Hrsg.) *Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016*, Robert Koch-Institut, Berlin, **2016**.
- [94] M. Galanski, B. K. Keppler, *Pharm. Unserer Zeit* **2006**, *35*, 118.
- [95] A. Werner, *Z. Anorg. Chem.* **1893**, *3*, 267.
- [96] N. Metzler-Nolte, U. Schatzschneider, *Bioinorganic chemistry. A practical course*, Walter de Gruyter, **2009**.
- [97] L. Kelland, *Nat. Rev. Cancer* **2007**, *7*, 573.
- [98] T. Lazarević, A. Rilak, Ž. D. Bugarčić, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *142*, 8.
- [99] B. Lippert (Hrsg.) *Cisplatin. Chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug*, Verlag Helvetica Chimica Acta; Wiley-VCH, Zürich, **1999**.
- [100] J. L. Aull, A. C. Rice, L. A. Tebbetts, *Biochemistry* **1977**, *16*, 672.
- [101] J. Braddock-Wilking, S. Acharya, N. P. Rath, *Polyhedron* **2014**, *79*, 16.
- [102] D. J. Daigle, A. B. Pepperman, *J. Chem. Eng. Data* **1975**, *20*, 448.
- [103] A. D. Phillips, L. Gonsalvi, A. Romerosa, F. Vizza, M. Peruzzini, *Coord. Chem. Rev.* **2004**, *248*, 955.

- [104] J. Bravo, S. Bolaño, L. Gonsalvi, M. Peruzzini, *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 555.
- [105] A. Guerriero, M. Peruzzini, L. Gonsalvi, *Coord. Chem. Rev.* **2018**, *355*, 328.
- [106] S. B. Howell, R. Safaei, C. A. Larson, M. J. Sailor, *Mol. Pharmacol.* **2010**, *77*, 887.
- [107] D. Kilari, E. Guancial, E. S. Kim, *World journal of clinical oncology* **2016**, *7*, 106.
- [108] B. Albada, N. Metzler-Nolte, *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 11797.
- [109] G. Guidotti, L. Brambilla, D. Rossi, *Trends Pharmacol. Sci.* **2017**, *38*, 406.
- [110] K. K.-W. Lo (Hrsg.) *Inorganic and organometallic transition metal complexes with biological molecules and living cells*, Academic Press, **2017**.
- [111] N. Svensen, Walton, Jeffrey G A, M. Bradley, *Trends Pharmacol. Sci.* **2012**, *33*, 186.
- [112] O. Warburg, *J. Gen. Physiol.* **1927**, *8*, 519.
- [113] V. Ganapathy, M. Thangaraju, P. D. Prasad, *Pharmacol. Ther.* **2009**, *121*, 29.
- [114] K.-L. Dao, R. N. Hanson, *Bioconjugate Chem.* **2012**, *23*, 2139.
- [115] F. Le Bideau, S. Dagorne, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 7793.
- [116] S. Miranda, E. Vergara, F. Mohr, D. de Vos, E. Cerrada, A. Mendía, M. Laguna, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 5641.
- [117] E. Guerrero, S. Miranda, S. Lüttenberg, N. Fröhlich, J.-M. Koenen, F. Mohr, E. Cerrada, M. Laguna, A. Mendía, *Inorg. Chem.* **2013**, *52*, 6635.
- [118] D. Dolfen, K. Schottler, S.-M. Valiahdi, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, Tiekink, Edward R T, F. Mohr, *J. Inorg. Biochem.* **2008**, *102*, 2067.
- [119] P. Bippus, M. Skocic, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, F. Mohr, *J. Inorg. Biochem.* **2011**, *105*, 462.
- [120] S. Werner, *Masterarbeit*, Bergische Universität Wuppertal, Wuppertal, **2015**.
- [121] R. H. Allen, S. P. Stabler, J. Lindenbaum, *Metabolism* **1993**, *42*, 1448.
- [122] T. Zhang, M. Li, Y. Gong, N. Xi, Y. Zheng, Q. Zhao, Y. Chen, B. Liu, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2016**, *21*, 807.
- [123] E. R. Knight, N. H. Leung, Y. H. Lin, A. R. Cowley, D. J. Watkin, A. L. Thompson, G. Hogarth, J. D. E. T. Wilton-Ely, *Dalton Trans.* **2009**, 3688.
- [124] S. Poirier, P. Guionneau, D. Luneau, C. Reber, *Can. J. Chem.* **2014**, *92*, 958.
- [125] D. E. Epps, T. J. Raub, V. Caiolfa, A. Chiari, M. Zamai, *J. Pharm. Pharmacol.* **1999**, *51*, 41.
- [126] R. E. Olson, D. D. Christ in *Annual Reports in Medicinal Chemistry* (Hrsg.: J. A. Bristol, D. W. Robertson), Academic Press, San Diego, **1996**, S. 327–336.

- [127] M. Sooriyaarachchi, A. Narendran, J. Gailer, *Metallomics* **2011**, 3, 49.
- [128] G. Ferraro, L. Massai, L. Messori, A. Merlino, *Chem. Commun.* **2015**, 51, 9436.
- [129] F. Ragone, H. H. M. Saavedra, P. F. García, E. Wolcan, G. A. Argüello, G. T. Ruiz, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2017**, 22, 99.
- [130] O. Stern, M. Volmer, *Phys. Z.* **1919**, 20, 183.
- [131] E. Maltas, *J. Food Drug Anal.* **2014**, 22, 549.
- [132] Y. S. Klausner, M. Bodansky, *Synthesis* **1972**, 1972, 453.
- [133] C. A.G.N. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, 61, 10827.
- [134] R. B. Merrifield, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149.
- [135] S.-S. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 1328.
- [136] K. Chauhan, A. Arun, S. Singh, M. Manohar, K. Chuttani, R. Konwar, A. Dwivedi, R. Soni, A. K. Singh, A. K. Mishra, *Bioconjugate Chem.* **2016**, 27, 961.
- [137] G. M. Sheldrick, *Acta Crystallogr., Sect. C: Struct. Chem.* **2015**, 71, 3.

5. Tagungsbeiträge

- 14. Koordinationschemie-Treffen, Heidelberg, 11.03. – 13.03.2018
Vortrag: „Neue Malariawirkstoffe: Chloroquin-basierte Goldkomplexe“
(Vortragspreis)
- Metals and Water 2017, 2. International conference on water soluble Metal complexes, Jaca (Huesca), Spanien, 13.06. – 15.06.2017
Vortrag: „Platinum(II)- and palladium(II)-dithiocarbamates with water-soluble phosphine ligands“ (Vortragspreis)
- 26. International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry, Smolenice, Slowakei, 04.06. – 09.06.2017
Vortrag: „Towards new organometallic antimalarial drugs“
- 13. Koordinationschemie-Treffen, Potsdam, 05.03. – 07.03.2017
Poster: „Towards new organometallic antimalarial drugs“
- 15. Ferrocene Colloquium, Mainz, 19.02 – 21.02.2017
Poster: „Towards new organometallic antimalarial drugs“
- 12. Koordinationschemie-Treffen, Kiel, 28.02. – 01.03.2016
Poster: „Platinum(II)- and palladium(II)-dithiocarbamates with water-soluble phosphine ligands“
- 25. International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry, Smolenice, Slowakei, 31.05. – 05.06.2015
Vortrag: „Platinum(II)- and palladium(II)-dithiocarbamates with water-soluble phosphine ligands“

6. Anhang

Kristallographische Daten von Komplex 20c

Summenformel	$C_{13}H_{10}AuCl_2N_3$
Molekulargewicht [g/mol]	476.11
Temperatur [K]	150.0
Kristallsystem	monoklin
Raumgruppe	$P2_1/c$
Kristallgröße [mm ³]	$0.08 \times 0.05 \times 0.04$
a [Å]	9.7262(3)
b [Å]	10.6519(5)
c [Å]	14.3815(8)
α [°]	90
β [°]	103.147(5)
γ [°]	90
Volumen [Å ³]	1450.92(13)
Z	4
ρ_{calc} [g/cm ³]	2.180
Absorptionskoeffizient μ [mm ⁻¹]	10.496
F(000)	888.0
2θ [°]	4.3 - 58.648
beobachtete Reflexe	6451
unabhängige Reflexe	3341 [$R_{\text{int}} = 0.0418$, $R_{\text{sigma}} = 0.0606$]
Daten/Restraints/Parameter	3341/6/173
GoF	0.903
R-Wert [$ I \geq 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0448$, $wR_2 = 0.1190$
R-Wert [alle Daten]	$R_1 = 0.0625$, $wR_2 = 0.1361$
Restelektronendichte [eÅ ⁻³]	3.87/-3.63

Kristallographische Daten von Komplex 30

Summenformel	$C_{16}H_{33}N_7O_4P_2PtS_2$
Molekulargewicht [g/mol]	708.64
Temperatur [K]	100
Kristallsystem	monoklin
Raumgruppe	$P2_1/c$
Kristallgröße [mm ³]	0.10 x 0.09 x 0.04
a [Å]	12.5247(14)
b [Å]	20.2090(15)
c [Å]	19.010(2)
α [°]	90
β [°]	102.292(9)
γ [°]	90
Volumen [Å ³]	4701.3(9)
Z	8
ρ_{calc} [g/cm ³]	2.002
Absorptionskoeffizient μ [mm ⁻¹]	6.323
F(000)	2800
2Θ [°]	2.614 - 32.996
beobachtete Reflexe	96957
unabhängige Reflexe	17682
Daten/Restraints/Parameter	17682 / 0 / 591
GoF	1.026
R-Wert [$I \geq 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0594, wR_2 = 0.1396$
R-Wert [alle Daten]	$R_1 = 0.0987, wR_2 = 0.1614$
Restelektronendichte [eÅ ⁻³]	2.7/-7.2

Kristallographische Daten von Komplex 31

Summenformel	$C_{40}H_{35}NO_2P_2PtS_2$
Molekulargewicht [g/mol]	882.84
Temperatur [K]	100
Kristallsystem	monoklin
Raumgruppe	C2/c
Kristallgröße [mm ³]	0.065 x 0.039 x 0.012
a [Å]	50.371(6)
b [Å]	16.654(2)
c [Å]	29.957(4)
α [°]	90
β [°]	122.121(2)
γ [°]	90
Volumen [Å ³]	21284(4)
Z	24
ρ _{calc} [g/cm ³]	1.653
Absorptionskoeffizient μ [mm ⁻¹]	4.200
F(000)	10512
2θ [°]	1.605 - 31.093
beobachtete Reflexe	313942
unabhängige Reflexe	34059
Daten/Restraints/Parameter	34059/0/1333
GoF	1.035
R-Wert [$I \geq 2\sigma(I)$]	$R_1 = 0.0417, wR_2 = 0.0807$
R-Wert [alle Daten]	$R_1 = 0.0879, wR_2 = 0.0961$
Restelektronendichte [eÅ ⁻³]	3.2/-1.7