

Synthese neuer azamakrocyclischer Metallkomplexe und Untersuchung ihrer Wechselwirkung mit Biomolekülen

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

an der Fakultät für Chemie und Pharmazie

der Universität Regensburg



vorgelegt von

Roland Reichenbach-Klinke

aus München

2002

Der experimentelle Teil dieser Arbeit entstand in der Zeit von September 1999 bis April 2002 am Institut für Organische Chemie der Universität Regensburg unter Anleitung von Prof. Dr. B. König.

Das Promotionsgesuch wurde eingereicht am: 06. Mai 2002

Das Kolloquium fand statt am: 20. Juni 2002

Prüfungsausschuß: Prof. Dr. H. Krienke (Vorsitzender)

Prof. Dr. B. König (Erstgutachter)

Prof. Dr. J. Sauer (Zweitgutachter)

Prof. Dr. C. Steinem

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. B. König für die Überlassung des interessanten und vielseitigen Themas, die Förderung und das stets mit Anregungen und Diskussionen verbundene Interesse an dieser Arbeit.

Für die gute Zusammenarbeit und Kooperation im Rahmen dieser Arbeit bedanke ich mich bei T. Hirsch, V. Mirsky, Prof. Dr. O. S. Wolfbeis, Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik, Universität Regensburg, Prof. L. de Cola, Instituut voor Moleculaire Chemie, Universität Amsterdam, Prof. Dr. G. Schmeer, Institut für Physikalische Chemie, Universität Regensburg, M. Spörner, Prof. Dr. H. R. Kalbitzer, Institut für Biophysik und physikalische Biochemie, Universität Regensburg.

Den Mitarbeitern der Zentralen Analytik der Fakultät für Chemie und Pharmazie danke ich für die schnelle und gewissenhafte Durchführung der analytischen Messungen. Insbesondere Herrn Dr. T. Burgemeister, Herrn F. Kastner, Frau N. Pustet, Frau A. Schramm und Frau G. Stühler für die Aufnahme der NMR-Spektren, Herrn Dr. K. K. Mayer, Herrn J. Kiermaier und Herrn W. Söllner für die Messung der Massenspektren, Herrn G. Wandinger, Frau S. Stempfhuber und Herrn H. Schüller für die Durchführung der Elementaranalysen und Herrn Dr. M. Zabel für die Röntgenstrukturanalysen.

Allen Mitarbeitern des Lehrstuhls danke ich für das sehr angenehme Arbeitsklima und die gute Zusammenarbeit. Insbesondere möchte ich mich bei meinem Laborkollegen Hans-Christoph Gallmeier für die erfolgreichen Kooperationen, bei Michael Kruppa für seinen Einsatz im Schwerpunktpraktikum, bei Frau Helga Leffler-Schuster für die Durchführung der potentiometrischen pH-Titrationen, bei Dr. Rudolf Vasold für die HPLC-Messungen, bei Doris Kaps und Sabine Sellner für die Durchführung der Kalorimetrischen Titrationen und schließlich bei Michael Subat, Hans-Christoph Gallmeier, Michael Kruppa und Stefan Miltschitzky für das Korrekturlesen dieser Arbeit bedanken.

Für finanzielle Unterstützung gilt mein Dank dem DFG-Graduiertenkolleg „Sensory Photoreceptors in Natural and Artificial Systems“ der Universität Regensburg.

Allen meinen Studienfreunden, insbesondere Michael Büschel, Jens Kürner und Stephan Laib danke ich für ihre Hilfsbereitschaft und anregende Diskussionen.

Meiner Frau Barbara danke ich für das anstrengende Korrekturlesen dieser Arbeit und den Beistand während meiner gesamten Promotionszeit. Für willkommene Ablenkung vom Laboralltag und ruhige Nächte danke ich meiner kleinen Tochter Leonie.

Außerdem möchte ich mich bei meinen Eltern, Geschwistern und Großeltern für ihre Unterstützung bedanken.

Für Leonie

Inhaltsverzeichnis

A	Einleitung	1
1.	Molekulare Erkennung und Katalyse mit Zn(II)-Cyclen.....	2
1.1.	Bindung von Imiden.....	2
1.2.	Esterhydrolyse.....	7
2.	Esterhydrolyse mit Co(III)-Cyclen.....	9
3.	Lanthanid- (und Actinid-)Komplexe von Cyclen.....	10
3.1.	Bindung von Anionen.....	10
3.2.	Hydrolyse von Phosphateestern.....	11
B	Hauptteil	14
1.	Elektronentransfer in einem supramolekularen Aggregat aus zwei biologischen Redoxcofaktoren	14
1.1.	Einführung.....	14
1.1.1.	NAD(P) und FAD/FMN als wichtige Redoxcofaktoren.....	14
1.1.2.	Der Elektronentransfer zwischen 1,4-Dihydronicotinamid und Flavin....	15
1.1.3.	Katalyse des Elektronentransfers in chemischen Modellsystemen.....	17
1.2.	Synthese der NADH-Modellsysteme.....	19
1.2.1.	Versuch der Verknüpfung des 1,4-Dihydronicotinamids und der Zn(II)-Cyclen Bindungsstelle über ein tertiäres Amid.....	19
1.2.2.	Alternative Syntheseroute über eine Alkylierung des Azamacrocycluses.....	22
1.2.3.	Variation des Abstands zwischen Bindungsstelle und Dihydronicotinamid.....	25
1.3.	Potentiometrische Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellverbindungen.....	28
1.4.	Spektroskopische Eigenschaften von Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellen.....	32
1.4.1.	Riboflavintetraacetat.....	32
1.4.2.	NADH-Modellsysteme.....	33
1.5.	Kinetische Untersuchung des Elektronentransfers zwischen den 1,4-Dihydronicotinamiden und Riboflavintetraacetat.....	35

1.5.1. Kinetische Untersuchungen mit einem Dihyronicotinamid ohne Bindungsstelle für Flavin.....	37
1.5.2. Auswertung der Kinetik zwischen Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellen nach Roseveare	40
1.5.3. Auswertung der Reaktion zwischen Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellen unter Berücksichtigung eines Assoziations-Gleichgewichtes	43
1.6. Untersuchung des kinetischen Isotopeneffekts.....	46
1.7. Schlussfolgerungen.....	47
2. Veränderung der Redoxeigenschaften von Flavin durch die Koordination an Zn(II)-Cyclen	49
2.1. Bestimmung der Affinität zwischen 42 und 43 durch NMR-Titration	49
2.2. Cyclovoltammetrische Untersuchung von 42 in Gegenwart von 43	50
3. Molekulare Erkennung von Vitamin B 2 durch polymergebundenes Zn(II)-Cyclen	53
3.1. Synthese von polymergebundenem Zn(II)-Cyclen.....	53
3.2. Bindung von Riboflavin bzw. Riboflavintetraacetat an 45	54
3.3. Quantitative Bestimmung von Riboflavin in einer Vitamintablette.....	56
4. Synthese und Untersuchung eines Thiol-funktionalisierten Zn(II)-Cyclen Komplexes	58
4.1. Synthese und potentiometrische Untersuchung von 48.....	58
4.2. Kapazitive Untersuchungen von 48 auf einer Goldoberfläche.....	60
4.3. Untersuchung der Esterhydrolyseaktivität von 48.....	61
4.4. Schlussfolgerung	63
5. Synthese und Eigenschaften von azamacrocyclischen Zn(II)-Hydroxylamin – Komplexen.....	64
5.1. Einführung.....	64
5.2. Synthese neuer Mono- und Dihydroxylamin-Komplexe basierend auf Zn(II)-Cyclen	65
5.3. Potentiometrische Untersuchung der Komplexe 51 und 55	67
5.4. Untersuchung der Bindungseigenschaften von 51	70
5.4.1. Wechselwirkung mit Kreatinin	70

5.4.2. Wechselwirkung mit verschiedenen Peptiden	72
5.5. Schlussfolgerung	73
6. Wechselwirkung von Kreatinin mit Zn(II)-Cyclen	74
C Zusammenfassung	78
D Experimenteller Teil	80
1. Allgemeines	80
2. Darstellung der Verbindungen.....	81
3. Messmethoden	113
3.1. Potentiometrische Titration.....	113
3.2. Bestimmung der Quantenausbeute.....	113
3.3. Kinetische Untersuchungen mittels UV/VIS-Spektrometrie	113
3.4. NMR-Titration	114
3.5. Cyclovoltammetrie.....	114
3.6. Kalorimetrische Titration	115
3.7. Röntgenstrukturanalyse.....	115
3.7.1. Cokristall aus Zn(II)-Cyclen und Kreatinin.....	115
3.7.2. Kristallstruktur von 51	115
3.8. Kapazitätsmessungen	116
E Abkürzungsverzeichnis	117
F Literaturverzeichnis	119

A Einleitung*

Nichtkovalente Wechselwirkungen sind in biologischen Systemen allgegenwärtig. Sie spielen bei der Erkennung eines Substrats durch ein Enzym oder bei der DNA-Replikation eine fundamentale Rolle. Angeregt durch die Wichtigkeit und die Effizienz der molekularen Erkennung in der Natur beschäftigt sich die Supramolekulare Chemie mit diesen schwachen zwischenmolekularen Wechselwirkungen.^{1,2} Wasserstoffbrückenbindungen, Salzbrücken, hydrophobe Wechselwirkungen und labile, koordinative Metall-Ligand Interaktionen sind typische nichtkovalente Bindungsarten. Alle diese Wechselwirkungen sind reversibel.

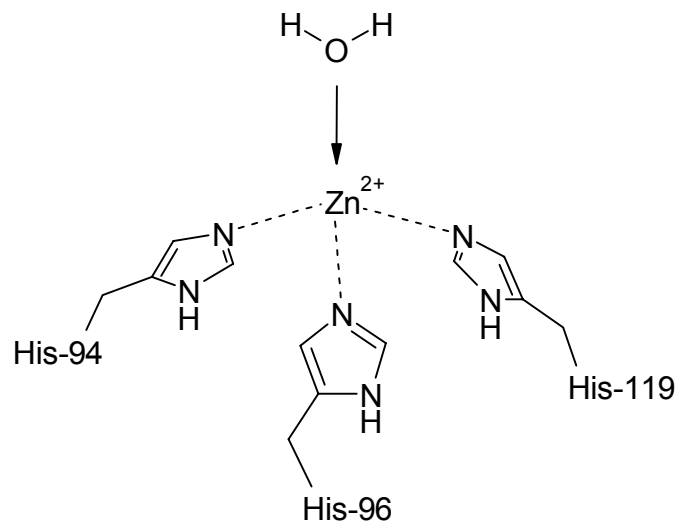


Abbildung 1: Zink-Finger Motiv im Enzym Carboanhydrase

Ein Nachteil der Wasserstoffbrückenbindungen und Salzbrücken ist allerdings die Beschränkung auf unpolare, organische Lösungsmittel. Um in polaren Lösungsmitteln wie DMSO oder gar im wässrigen Medium stabile Überstrukturen zu erhalten, muss eine Vielzahl von Bindungsstellen vorhanden sein. Dies verwirklicht die Natur beispielsweise im DNA-Doppelstrang, der durch eine Vielzahl von Wasserstoffbrücken zusammengehalten wird. In kleineren Rezeptoren lässt sich dieses Konzept aber nicht

* Diese Einleitung wurde bereits im Rahmen eines Übersichtsartikels veröffentlicht: Reichenbach-Klinke, R.; König, B. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2002**, 121-130.

realisieren und wäre überdies synthetisch sehr aufwendig. Reversible, koordinative Metall-Ligand Wechselwirkungen können dagegen sogar in polaren und wässrigen Umgebungen eine hohe Bindungsstärke zeigen. Auch in biologischen Systemen wird dieses Bindungsmotiv genutzt, beispielsweise zur Sauerstofffixierung^{3,4} oder in den sogenannten Zink-Finger Proteinen.^{5,6} In diesen Proteinen wird das Zink fest von den Aminosäureseitenketten des Proteins gebunden. Eine weitere Koordinationsstelle bleibt frei für die Wechselwirkung mit dem Substrat.

Dieses Bindungsmotiv lässt sich aber auch mit Hilfe von kleineren Molekülen verwirklichen, indem man das zentrale Metallatom in einem Azamacrocyclus bindet. Beispielsweise kann der Zn^{2+} -Komplex von 1,5,9-Triazacyclodecan als Modellsystem für das Enzym Carboanhydratase dienen.⁷⁻¹¹ Auch Zn(II)-Porphyrine¹² und vor allem Übergangsmetallkomplexe des Cyclen (Cyclen = 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan) besitzen interessante Anwendungen im Bereich der molekularen Erkennung und Katalyse.

1. Molekulare Erkennung und Katalyse mit Zn(II)-Cyclen

1.1. Bindung von Imiden

Zn(II)-Cyclen **1** besitzt eine leicht verzerrte quadratisch-planare Geometrie, wobei das zentrale Metallatom aus der Ebene, die von den vier Stickstoffatomen gebildet wird, herausragt. Die Koordinationssphäre wird im wässrigen Milieu durch ein axial gebundenes Wassermolekül vervollständigt.

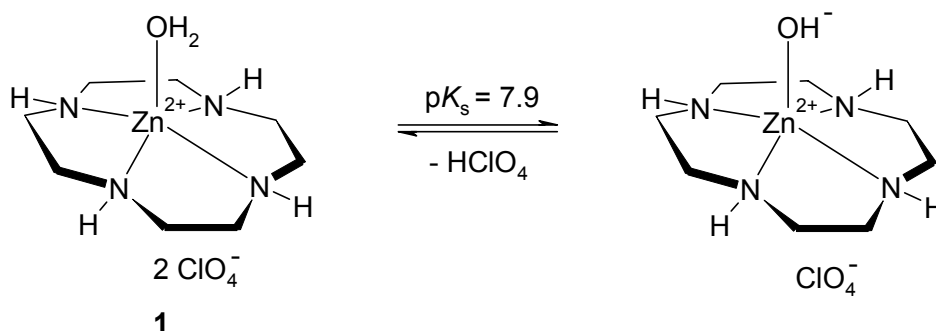


Abbildung 2: Deprotonierung von Zn(II)-Cyclen.

Dieses Wassermolekül besitzt einen pK_s -Wert von 7.9⁷, was deutlich saurer ist als der pK_s von 9.0¹³ für freie, solvatisierte Zn^{2+} -Ionen in wässriger Lösung. Dies verdeutlicht eine charakteristische und für die molekulare Erkennung wichtige Eigenschaft von Zn(II)-Cyclen – die Lewis-Acidität.

Das axial koordinierte Wasser kann aber auch durch andere Lewisbasen ersetzt werden. So kann beispielsweise eine deprotonierte Imid-Funktion durch **1** gebunden werden. Dabei koordiniert der negativ geladene Stickstoff an das Lewis-acide Metallatom. Die Bindung wird außerdem noch durch Wasserstoffbrücken zwischen den NH-Funktionen des Cyclens und den Carbonyl-Sauerstoffen des Imids verstärkt.

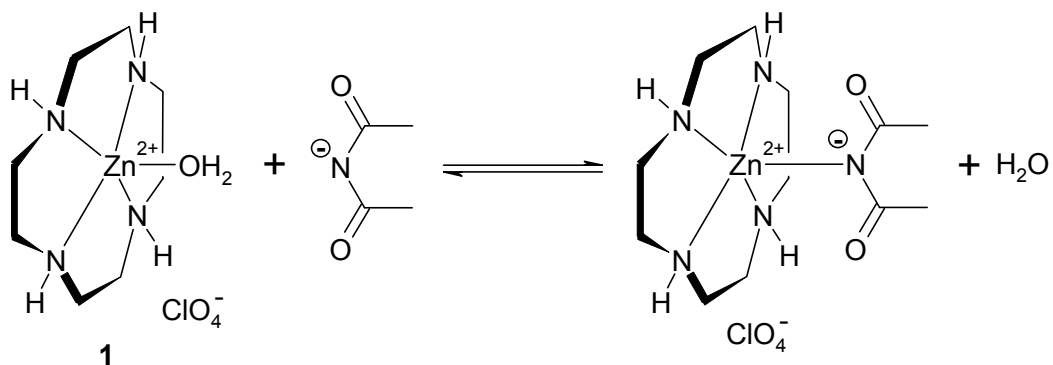


Abbildung 3: Bindung von Imid durch Zn(II)-Cyclen.

Diese Zn(II)-Cyclen - Imid Koordination wurde erstmals von Kimura *et al.* beobachtet.¹⁴ Hierbei wurden durch potentiometrische Titration die Bindungskonstanten von **1** mit einer Reihe von Imiden im wässrigen Medium bestimmt. Die höchsten Affinitäten von $\log K = 5.6$ besitzen das Nucleosid Thymidin (dT), 3'-Azido-3'-deoxythymidin (AZT) und Riboflavin (Vitamin B₂). Die Bindungskonstanten von anderen Imiden wie Uridin ($\log K = 5.2$) und 5-Fluoro-1-(tetrahydro-2-furyl)uracil ($\log K = 4.6$) sind deutlich kleiner. Als allgemeiner Trend lässt sich feststellen, dass die Affinität mit dem pK_s -Wert des Imid-Stickstoffs korreliert. D. h. je leichter das Imid deprotoniert wird, desto stärker ist die Bindung zu **1**.

Die starke Wechselwirkung mit imidischen Nucleosiden wurde auch bei der Reaktion von **1** mit verschiedenen Polynucleotiden ausgenutzt.^{15,16} So lagert sich **1** in Doppelstrang-Polynucleotide ein und unterbricht die komplementäre Basenpaarung zwischen Thymin und Adenin bzw. Uracil und Adenin. Schon ein dreifacher

Überschuss von **1** gegenüber den Uracilbasen reicht aus, um eine vollständige Dissoziation des Doppelstranges bei Raumtemperatur und pH 7.6 zu erreichen.

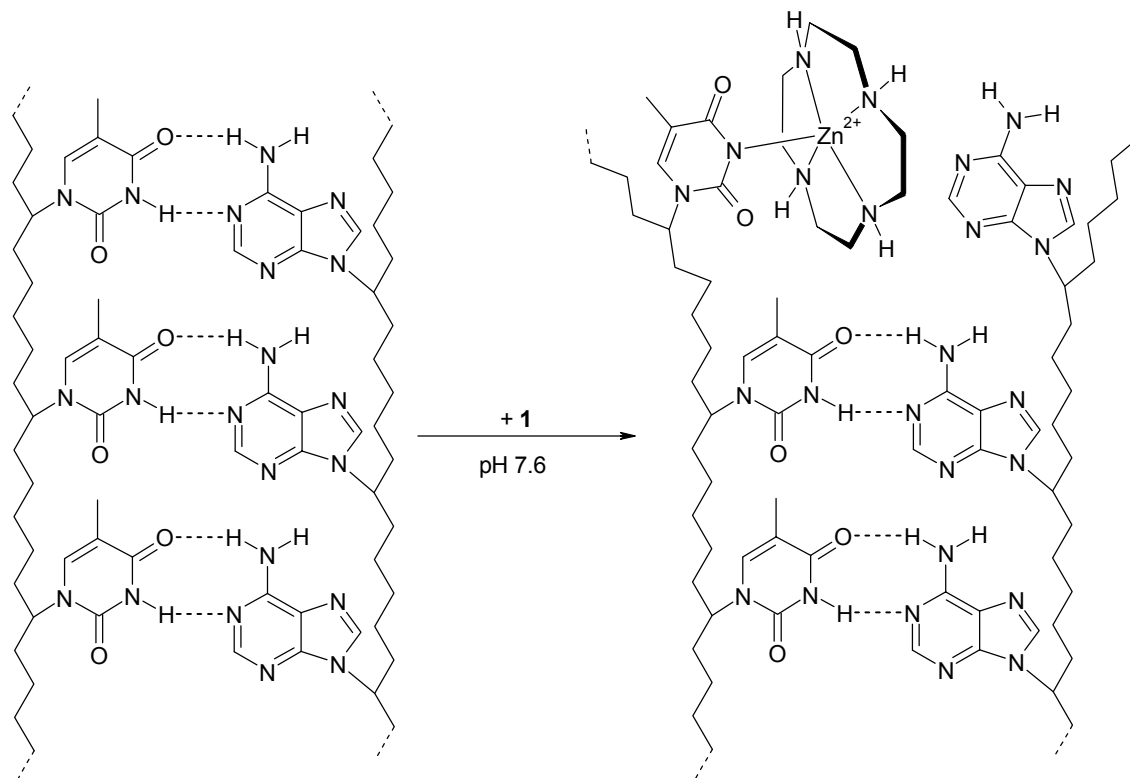


Abbildung 4: Denaturierung eines Polynucleotids durch Zn(II)-Cyclen.

Die selektive Erkennung von Thymidin und Uridin gegenüber den anderen Nucleosiden Adenin, Cytosin und Guanin findet auch Anwendung in Transportexperimenten durch eine lipophile Membran aus Chloroform.¹⁷ Dazu wurde das Cyclen in 1-Position mit langen Alkylketten substituiert, um eine Löslichkeit des entsprechenden Zn^{2+} -Komplexes in Chloroform zu ermöglichen.

Durch eine geeignete Funktionalisierung des Azamacrocyclus kann durch Einbeziehung zusätzlicher π - π Wechselwirkungen auch eine Erhöhung der Affinität von Thymidin an den Zn^{2+} -Komplex erreicht werden. Sowohl der mit 2,4-Dinitrophenyl, als auch der mit Acridin derivatisierte Zn(II)-Cyclen Komplex bindet wesentlich stärker an Thymin als **1**. Die $\log K$ -Werte betragen 6.9¹⁸ und 7.2¹⁹ im Vergleich zu 5.6 beim unsubstituierten Komplex. Auch die Wechselwirkung des Acridinylcyclens **2** mit verschiedenen Oligonucleotiden wurde eingehend untersucht.^{16,20}

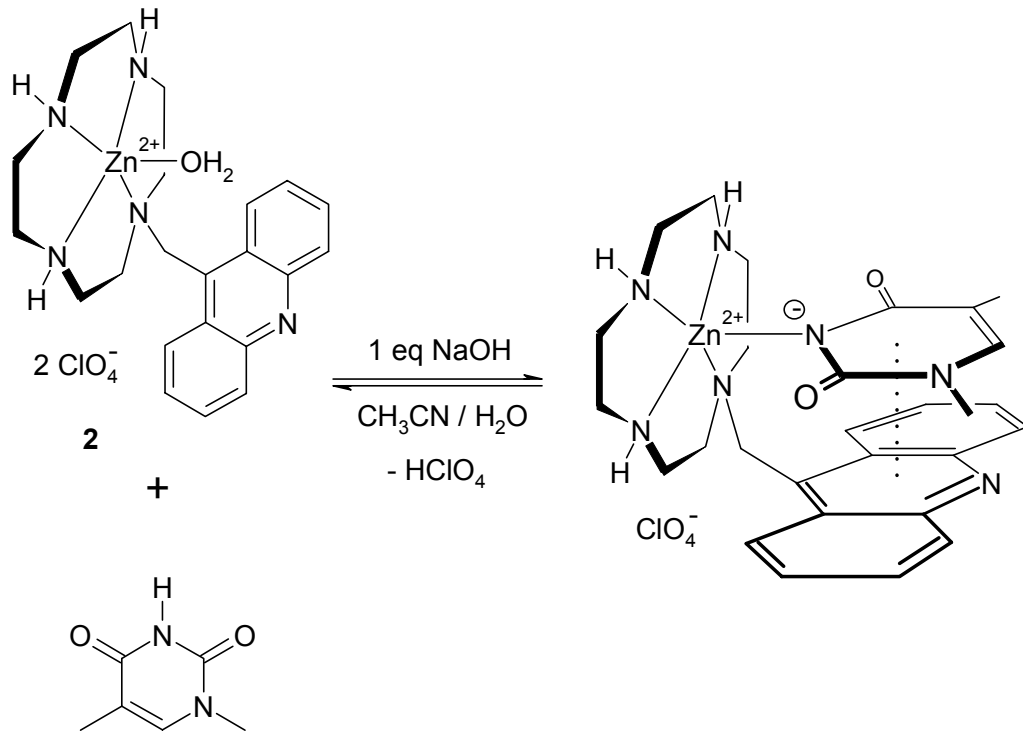


Abbildung 5: Bindung von 1-Methylthymidin an Zn^{2+} -Acridinylcyclen **2**.

Dieses „Zweipunkt“- Bindungsmotiv wurde auf andere aromatische Seitenketten wie Quinolin und Naphthalin erweitert.^{21,22} Dabei wurde Cyclen mit jeweils ein oder zwei gleichen Aromaten funktionalisiert. Die entsprechenden Zn(II) -Komplexe binden selektiv an AT-reiche Regionen von Doppelstrang-DNA, wobei die höchsten Affinitäten mit den zweifach substituierten Komplexen erreicht werden.

Zur Erkennung von Bisimidinen wie beispielsweise Barbitat wurde der Bis(Zn(II) -Cyclen)-Komplex **3** synthetisiert.²³ In diesem Rezeptor sind zwei Zn(II) -Cyclen Einheiten durch ein *para*-Xylen verbunden. Die $\text{p}K_s$ -Werte der beiden axial koordinierten Wassermoleküle betragen 7.2 und 7.9; eines der Zn(II) -Zentren besitzt also eine noch stärkere Lewis-Acidität. Wie erwartet wird Barbitat durch **3** wesentlich besser gebunden als durch **1**. Bei pH 8 wurde ein $\log K$ von 5.8 für die Koordination von Barbitat mit **3** bestimmt, gegenüber einem Wert von 4.2 mit **1**.

Überdies denaturiert **3** Polynucleotide noch effektiver als **1**. Schon bei einem Verhältnis **3** / Uracilbasen = 0.4 wird PolyA-PolyU bei Raumtemperatur und pH 7.6 vollständig gespalten.²⁴

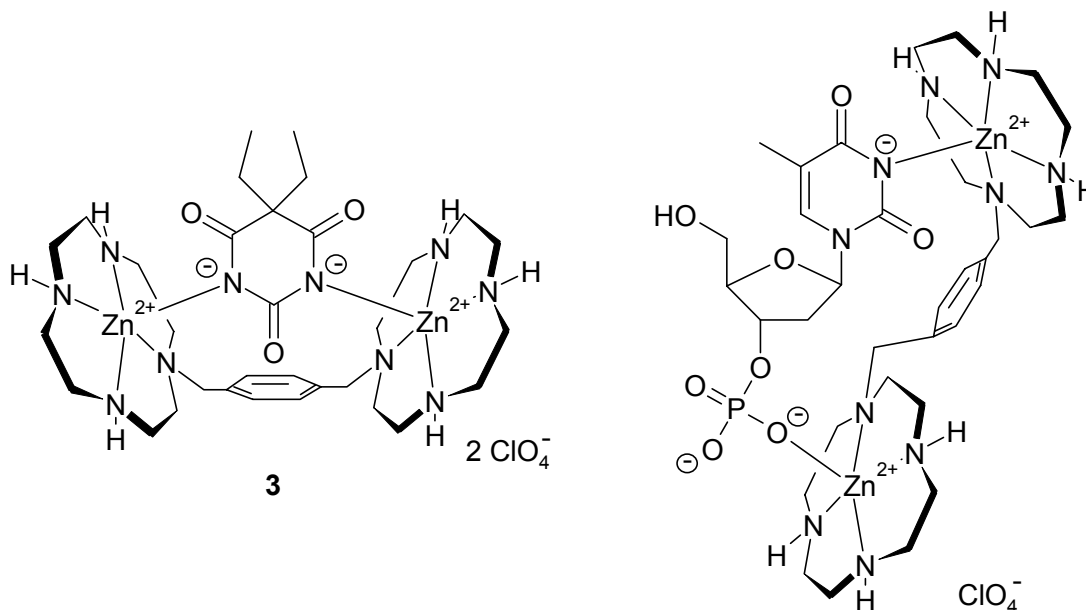


Abbildung 6: Bis(Zn²⁺-Cyclen) **3** als Rezeptor für Barbital und Thymidin-3'-monophosphat.

Ein etwas anderes Bindungsmotiv wird bei der Reaktion von **3** mit Thymidin- und Uridin-Nucleotiden beobachtet.²⁵ Hierbei koordiniert ein Metallzentrum von **3** an das Imid und das andere Zn(II)-Atom an das terminale Phosphatdianion. Auch hier werden hohe Affinitäten in einem Bereich von $\log K = 5.5$ bis 6.4 gemessen.

Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurde auch ein Tris[Zn(II)-Cyclen] synthetisiert.²⁶ In jenem Komplex sind drei Zn(II)-Cyclen Einheiten über zwei *para*-Xylene verbunden. Eine interessante Anwendung des Tris[Zn(II)-Cyclen] ist seine anti-HIV Aktivität.²⁷ Diese wird dadurch erreicht, dass der macrocyclische Zink-Komplex an eine Uracilreiche Sequenz der viralen RNA bindet und somit eine Replikation verhindert.

Außerdem wurde noch ein weiteres C₃-symmetrisches Tris[Zn(II)-Cyclen] dargestellt.²⁸ Hierbei sind die drei Zn(II)-Cyclene durch eine 1,3,5-Trimethylbenzol-Brücke verknüpft. Dieser Komplex ist ein guter Rezeptor für organische Phosphatdianionen.

Die Zn(II)-Cyclen – Imid Koordination wurde auch genutzt, um photoinduzierten Elektronentransfer im wässrigen Medium unter physiologischen Bedingungen zu studieren.²⁹ Dazu wurde Cyclen an einem Stickstoff selektiv mit einem redoxaktiven Phenothiazin derivatisiert. Der resultierende Zn(II)-Komplex bildet dann zusammen mit Riboflavintetraacetat über die koordinative Bindung eine Donor-Akzeptor Diade. Bei Anregung mit Licht wird das Riboflavintetraacetat ein stärkeres Oxidationsmittel und

das Phenothiazin kann ein Elektron auf das Flavin übertragen. Dieser ladungstrennte Zustand wurde mit Hilfe der Transientenspektroskopie nachgewiesen.

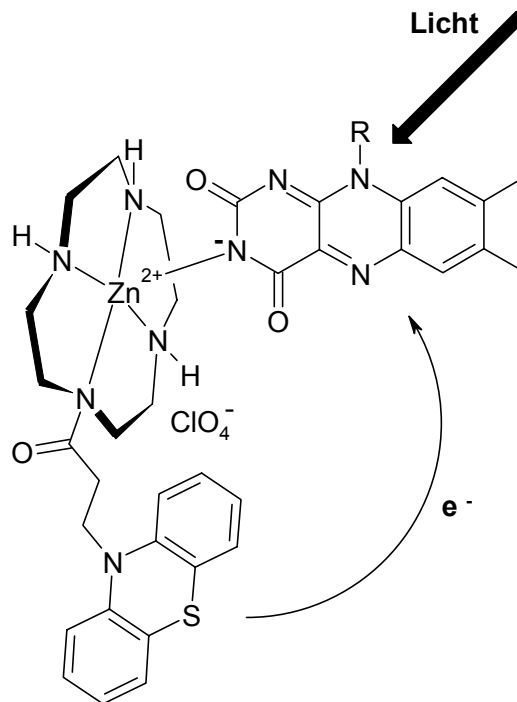


Abbildung 7: Photoinduzierter Elektronentransfer zwischen Riboflavintetraacetat und einem Phenothiazin-substituierten Zn(II)-Cyclen.

1.2. Esterhydrolyse

Eine interessante Anwendung von azamacrocyclischen Metallkomplexen ist die katalytische Spaltung von Esterbindungen. In diesem Zusammenhang wurde von Kimura *et al.* ein Hydroxy-substituiertes Cyclen – 1-(2-Hydroxyethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan – synthetisiert.³⁰ Der entsprechende Zn²⁺-Komplex **4** wurde in der Hydrolyse von 4-Nitrophenylacetat (NA) eingesetzt und die Kinetik der Reaktion wurde eingehend untersucht. Dabei steht **4** im Gleichgewicht mit seinem Monoaqua-Komplex. Das axial koordinierte Wasser besitzt einen pK_s-Wert von 7.6 und aktiviert in der deprotonierten Form die Hydroxylgruppe in der Seitenkette, welche dadurch ein starkes Nucleophil wird und am NA angreift. Im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt wird NA mit einer Geschwindigkeitskonstanten 2.Ordnung von $k_{\text{NA}} = 0.46 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ gespalten. Dies ist etwa zehnmal schneller als die Reaktionsgeschwindigkeit mit einer

Vergleichsverbindung ohne Hydroxylgruppe. In neutralem oder basischem Milieu wird die gebildete Acyl-Zwischenstufe deprotoniert und sofort zum Katalysator **4** und einem Acetat-Anion hydrolysiert.

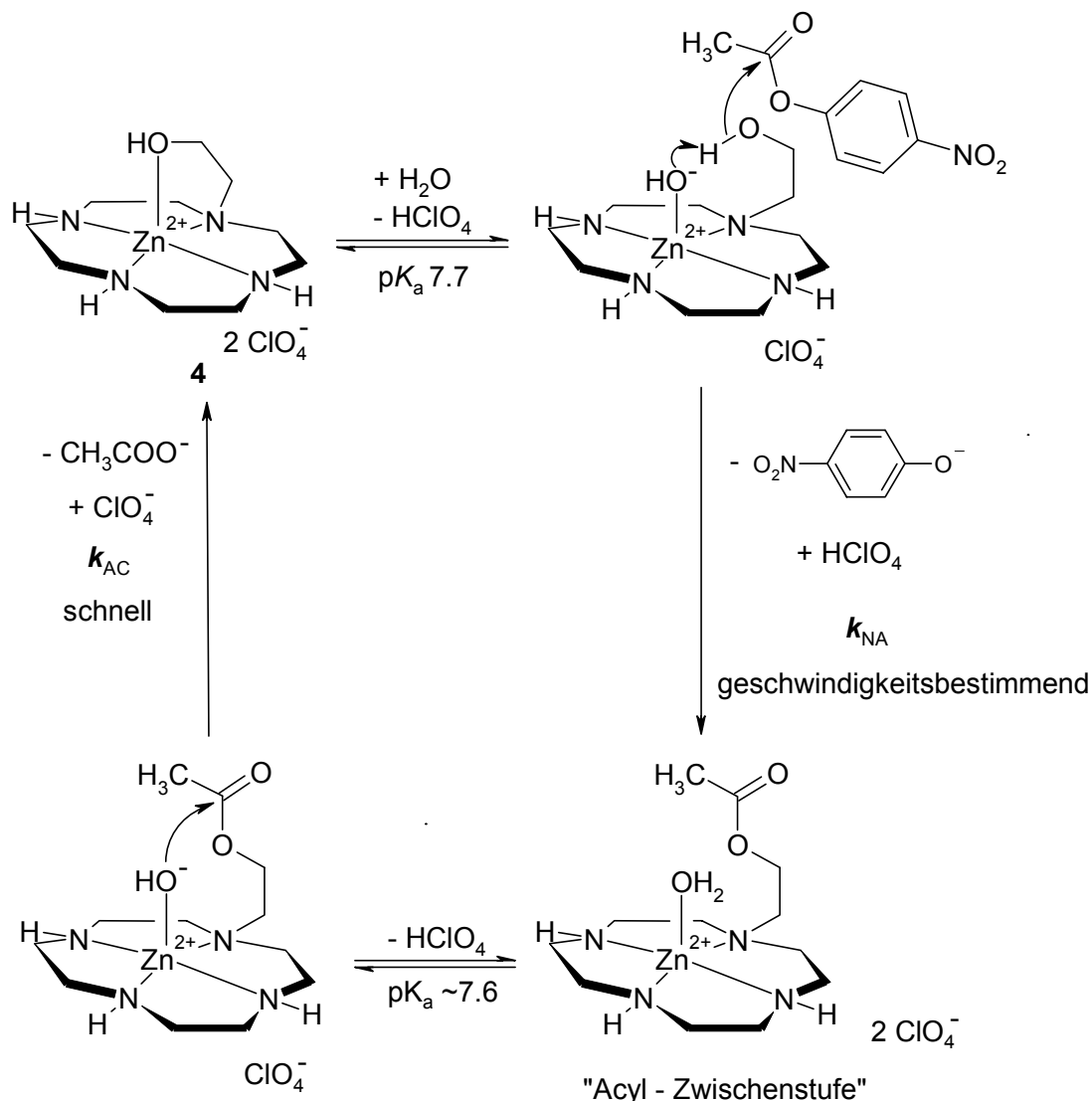


Abbildung 8: Reaktionsmechanismus der Hydrolyse von 4-Nitrophenylacetat katalysiert durch **4**.

Auch Kim *et al.* studierten die katalytische Spaltung von NA mit Cylen-Derivaten.³¹ Sie funktionalisierten den Azamacrocyclus mit einer β -Cyclodextrin – Seitenkette. Bei der Reaktion von NA mit dem derivatisierten Macrocyclus wird nun das aromatische Acetat in der hydrophoben Cyclodextrin-Kavität gebunden und dadurch die hydrolytische Spaltung des Esters beschleunigt.

2. Esterhydrolyse mit Co(III)-Cyclen

Die Spaltung von Phosphoestern durch Co(III)-Cyclen wurde in den letzten Jahren eingehend untersucht.³²⁻³⁸ Im Co(III)-Cyclen **5** besitzt das zentrale Metallatom eine oktaedrische Umgebung, wobei zwei kinetisch labile Wassermoleküle die cis-Koordinationsstellen besetzen. Die pK_s -Werte dieser beiden Wasserliganden betragen 5.6 und 8.0.³⁸ Daher liegt bei neutralem pH überwiegend die einfach deprotonierte Form – der Hydroxo-aqua-Komplex **6** – vor. Dies ist auch die aktive Spezies bei der Hydrolyse von Phosphaten.

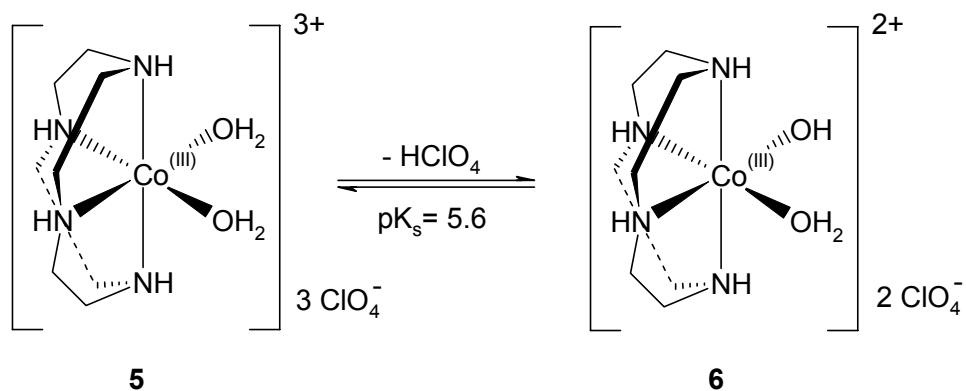


Abbildung 9: Deprotonierung von $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{OH}_2)_2]^{3+}$ **5** zu $[\text{Co}(\text{cyclen})(\text{OH})(\text{OH}_2)]^{2+}$ **6**.

Gibt man nun einen Phosphoester wie beispielsweise 2,4-Dinitrophenylphosphat (DNPP) zu einer wässrigen Lösung von **6**, so wird das kinetisch labile Wassermolekül am Co(III)-Zentrum durch das DNPP ersetzt. Dabei koordiniert dann einer der Phosphat-Sauerstoffe anstelle des H_2O am Co^{3+} . Im nächsten geschwindigkeitsbestimmenden Schritt greift der benachbarte Hydroxy-Ligand am Phosphor an und das DNPP wird zu Orthophosphat und 2,4-Dinitrophenolat gespalten.

Schneider *et al.* synthetisierten den dimeren Komplex **7** mit zwei Co(III)-Zentren, welche durch einen geladenen Spacer getrennt sind.³⁹ Dieser Spacer beschleunigt durch eine starke Bindung an die negativ geladene DNA deren Spaltung durch die Co(III)-Cyclene. Die Inkubation von Plasmid-DNA mit 0.05 mM **7** führt bei 37°C und pH 7.0 innerhalb von zwei Stunden zu einer vollständigen Spaltung der DNA. Dies entspricht einer Steigerung der Hydrolyserate um den Faktor $1.6 \cdot 10^7$.

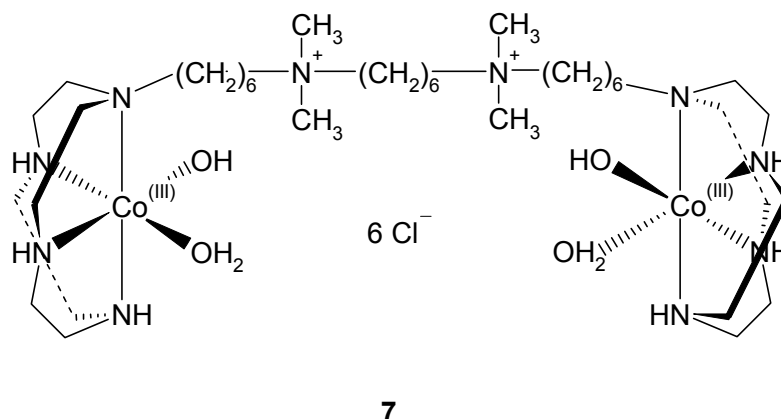


Abbildung 10: Zweikerniger Co(III)-Cyclen Komplex.

3. Lanthanid- (und Actinid-)Komplexe von Cyclen

3.1. Bindung von Anionen

Neben ihrem verbreiteten Einsatz als Kontrastmittel in der Medizin⁴⁰ spielen Cyclene mit Lanthanid-Zentren auch bei der katalytischen Esterhydrolyse und im Bereich der molekularen Erkennung eine wichtige Rolle.

So wurden Cyclenderivate mit chiralen Amid-Seitenketten und Eu^{3+} - bzw. Tb^{3+} -Ionen als Zentralatome zur Erkennung von Anionen genutzt.^{41,42} Im Komplex **8** wird das Lanthanidzentrum durch die vier Stickstoffatome des Azamacrocycluses und drei amidische Sauerstoffatome koordiniert. Die Koordinationssphäre wird außerdem durch zwei Wassermoleküle vervollständigt. Eines oder auch beide dieser kinetisch labilen Wassermoleküle können durch verschiedene Anionen ersetzt werden. Dieser Bindungsvorgang lässt sich komfortabel anhand der Lanthanid-Lumineszenz verfolgen. Eine Substitution der quenchenden Wassermoleküle resultiert in einem Anstieg der Emissionsintensität und der Lebenszeit des angeregten Zustandes.

Während Halogene und Nitrat mit **8** und dem entsprechenden Tb^{3+} -Komplex keine signifikante Wechselwirkung eingehen, wurde mit Carbonat, Hydrogencarbonat, Posphat, Lactat, Citrat, Acetat und Malonat eine Bindung gemessen. Hierbei ist die Affinität zu Citrat und Malonat mit einer Bindungskonstanten von $K \geq 40\,000\text{ M}^{-1}$ am stärksten. Alle erwähnten Anionen außer Phosphat bilden ternäre Chelatkomplexe mit

einer 1:1 Stöchiometrie, wobei beide Wassermoleküle am Lanthanidzentrum ersetzt werden.

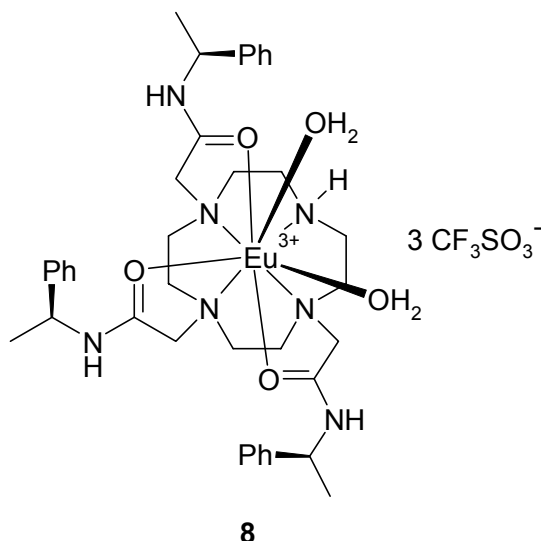


Abbildung 11: Chiraler Eu(III)-Cyclen Komplex zur Anionenerkennung.

3.2. Hydrolyse von Phosphatestern

Cyclene mit Seltenen Erden als Zentralatom besitzen oft auch hydrolytische Aktivität. So untersuchten Morrow *et al.* die Spaltung von RNA mit Hilfe von Lanthanid(III)-Verbindungen des Tetraamidcyclens 1,4,7,10-Tetrakis-(carbamoylmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan.^{43,44} Während der La³⁺-Komplex zur schnellen Hydrolyse der RNA führt, zeigt das entsprechende Eu³⁺-Cyclenderivat keine Aktivität. Die Ursache dieses unterschiedlichen Verhaltens lässt sich anhand der Koordinationsgeometrie begründen: Das La³⁺-Ion kann insgesamt zehn Liganden koordinieren, das Eu(III) hingegen nur neun. Dabei sind jeweils vier Koordinationsstellen von den Stickstoffatomen des Macrocyclus und von den Sauerstoffatomen der amidischen Carbonylgruppen besetzt. Während der La(III)-Komplex nun noch zwei Positionen frei hat für zusätzliche Wechselwirkungen, weist das Eu(III)-Zentrum nur noch eine freie Koordinationsstelle auf, was für eine katalytische Aktivität nicht ausreichend ist. Ersetzt man dagegen im Cyclenliganden eine Amidgruppe durch einen nicht-koordinierenden 4-Nitrobenzylrest, so wird wieder eine Hydrolyse der RNA beobachtet.⁴⁵

Das oben erwähnte Tetraamidcyclen wurde auch als Th(IV)-Komplex in der Spaltung von Phosphatdiestern eingesetzt.⁴⁶ Dabei wurde eine 40-mal höhere Aktivität gemessen als bei dem entsprechenden La³⁺-Komplex. Dies lässt sich durch die größere Lewis-Acidität des Th⁴⁺-Zentrums erklären.

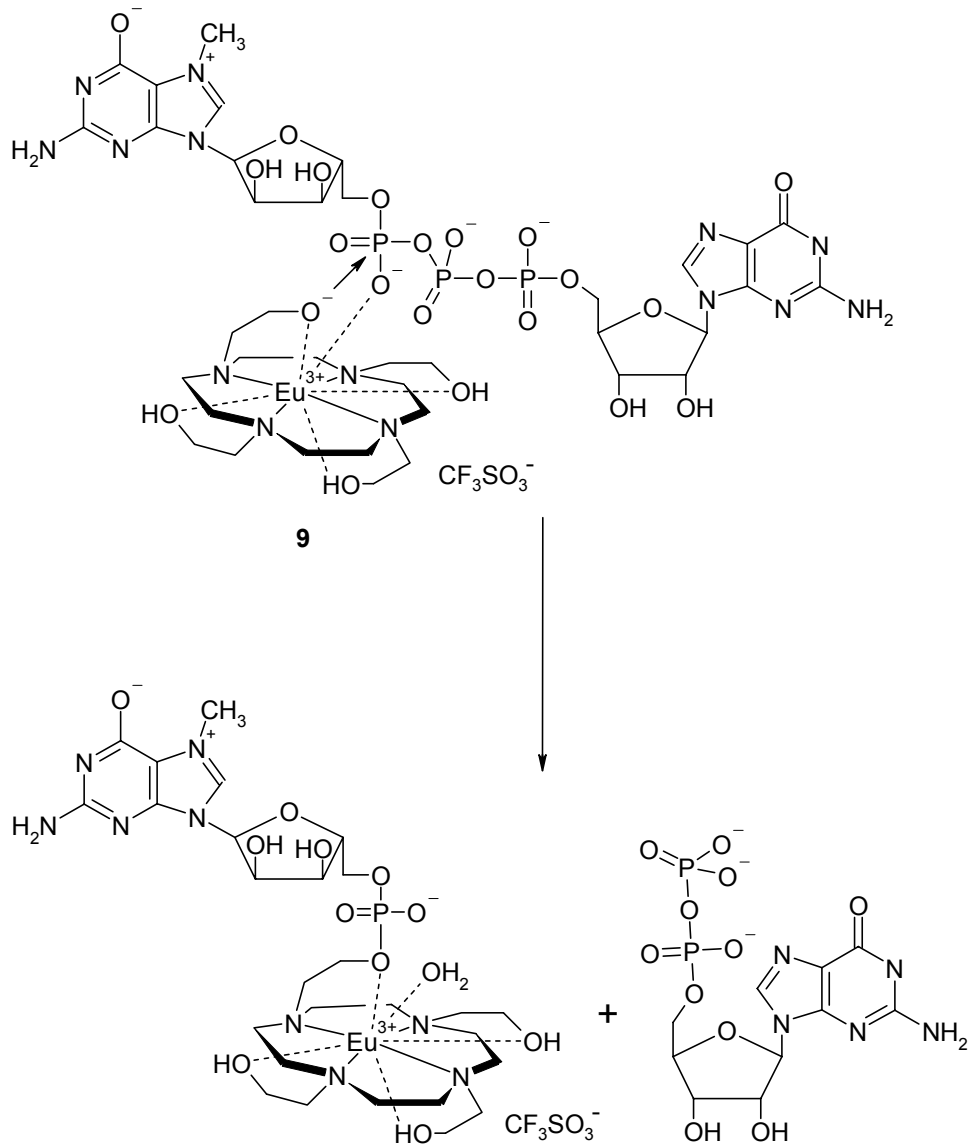


Abbildung 12: Spaltung von m⁷GpppG durch 9.

Ein anderer Eu³⁺-Komplex 9 mit 1,4,7,10-Tetrakis-(2-hydroxyethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan als Ligand führt ebenfalls zur Spaltung von Phosphatdiestern.⁴⁷⁻⁴⁹ Dies wurde am Beispiel der RNA-Modellsubstanz m⁷GpppG gezeigt. Verbindung 9 koordiniert an den Triphosphatester von m⁷GpppG mit einer Affinität von 5.9·10³ M⁻¹.⁵⁰

Nun kann eine der Hydroxylgruppen im Cyclenliganden, welche einen pK_s -Wert von 7.4 besitzt, am Phosphor angreifen und der Phosphatester wird in einer nukleophilen Substitutionsreaktion gespalten. Der Eu^{3+} -Komplex **9** wurde auch zur sequenz-spezifischen Hydrolyse von Oligoribonucleotiden eingesetzt.⁵¹ Dazu wurde **9** über einen Isothiocyanat-Linker kovalent mit einem Oligonucleotid funktionalisiert.

B Hauptteil

1. Elektronentransfer in einem supramolekularen Aggregat aus zwei biologischen Redoxcofaktoren *

1.1. Einführung

1.1.1. NAD(P) und FAD/FMN als wichtige Redoxcofaktoren

Die Pyridin-Nucleotide NAD (Nicotinamid-adenin-dinucleotid) und NADP (Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat) sowie die Flavine FAD (Flavin-adenin-dinucleotid) und FMN (Flavin-mononucleotid) sind wichtige Redoxcofaktoren in biologischen Systemen.

Das NAD überträgt Reduktionsäquivalente von katabolen Stoffwechselwegen zur Atmungskette und dient dabei dem Energiestoffwechsel. Dagegen ist reduziertes NADP das wichtigste Reduktionsmittel bei Biosynthesen. Bei allen diesen Redoxreaktionen geht der Nicotinamid-Teil durch Aufnahme eines Hydrid-Äquivalents in ein 1-substituiertes 1,4-Dihydropyridin über. Hierbei handelt es sich stets um einen Zwei-Elektronen-Schritt, ein radikalisches Zwischenprodukt entsteht nicht. Reduzierte Pyridin-Nucleotide NAD(P)H sind mit einem Redoxpotential von -0.32 V vs. NHE ($\text{NADH} + \text{H}^+ / \text{NAD}^+$) die stärksten Reduktionsmittel, die lebenden Organismen zur Verfügung stehen.⁵²

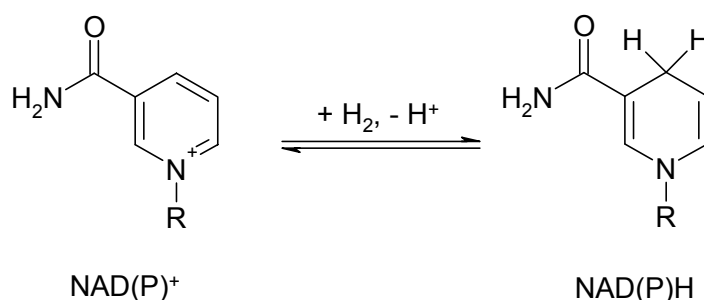


Abbildung 13: Reduktion von NAD(P)^+ zu NAD(P)H

* Die Ergebnisse dieses Projekts werden veröffentlicht: Reichenbach-Klinke, R.; Kruppa, M.; König, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, zur Publikation angenommen.

Die Flavin-Coenzyme FAD und FMN spielen im Organismus als prosthetische Gruppe zahlreicher Flavoenzyme (Dehydrogenasen, Oxidasen, Reductasen) eine wichtige Rolle.⁵³ Aber auch als freie, nicht-proteingebundene Redoxcofaktoren finden sie Einsatz als Elektronentransfermediatoren, beispielsweise im Eisenmetabolismus⁵⁴ oder bei der Aktivierung der Ribonucleotid-Reductase.^{55,56} FAD und FMN besitzen als redoxaktive Gruppe das Flavin (7,8-Dimethylisoalloxazin), ein dreikerniges Ringsystem, das bei der Reduktion maximal zwei Elektronen und zwei Protonen aufnehmen kann. Im Gegensatz zu den Pyridin-Nucleotiden existiert bei den Flavinen eine radikalische Zwischenstufe, was zu einer größeren Flexibilität bei den Redoxprozessen führt und auch Ein-Elektronen-Schritte möglich macht.

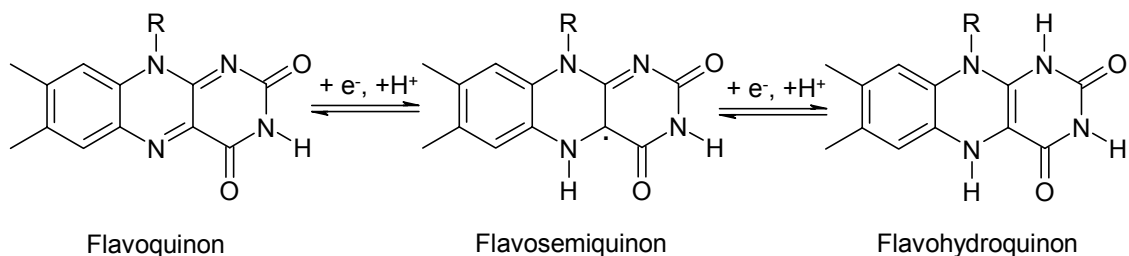


Abbildung 14: Das Flavin-Redoxsystem

1.1.2. Der Elektronentransfer zwischen 1,4-Dihydronicotinamid und Flavin

Im Organismus fungieren Flavine oft als Mediatoren zwischen einer Zwei-Elektronen-Reduktion und einem Ein-Elektronen-Prozess.⁵⁷ Sie empfangen zwei Elektronen von NAD(P)H und leiten ein Elektron weiter an einen metallischen Akzeptor im Protein, wie Häm oder Molybdenzentren. Da die Redoxreaktion zwischen 1,4-Dihydronicotinamid und oxidiertem Flavin (Flavoquinon) unter physiologischen Bedingungen langsam ist, wird dieser Prozess durch Enzyme – die sogenannten NAD(P)H:Flavin Oxidoreduktasen oder kurz Flavinreduktasen⁵⁸⁻⁶³ - katalysiert.

Wegen seiner Wichtigkeit im Organismus wurde und wird dieser Redoxprozess intensiv untersucht. Dabei ist in der Literatur umstritten, ob es sich um die Übertragung eines Hydrid-Ions in einem einzigen Schritt, den sequentiellen Transfer von einem Elektron und einem Wasserstoffatom oder um die Übertragung von zwei Elektronen und einem Proton in drei separaten Schritten handelt. Powell und Bruce⁶⁴ geben einen Überblick

über die einschlägigen Arbeiten und untersuchen die Reaktion von Flavin mit mehreren 1,4-Dihydronicotinamiden. Dabei kommen sie zu der Schlussfolgerung, dass ein Hydrid-Transfer stattfindet. Diese Beobachtung wird durch quantenchemische Berechnungen^{65,66} und durch Studien im Enzym Phthalatdioxygenase Reduktase unterstützt.⁶⁷ Dagegen konnten Miller und Carlson⁶⁸ bei der Reduktion von Quinonen durch NADH auch die Übertragung eines Wasserstoffatoms mit anschließendem Elektronentransfer nicht ausschließen. Tanaka *et al.*^{69,70} wiederum favorisieren die sequentielle Übertragung von Elektronen und einem Proton. Bunting⁷¹ schließlich spricht sich für eine Überlagerung aller drei Mechanismen aus.

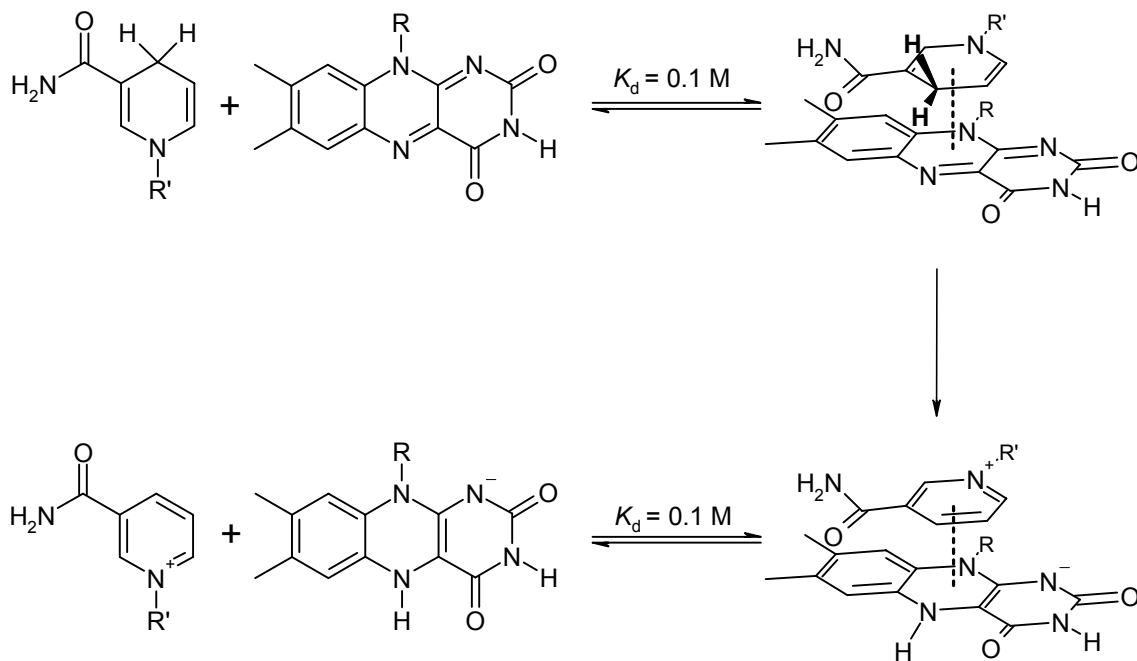


Abbildung 15: Mechanismus der Flavin-Nicotinamid Redoxreaktion.⁷²

Allgemein anerkannt ist dagegen die Bildung von Charge-Transfer Komplexen während der Flavin-Nicotinamid Redoxreaktion.^{61,67,72-76} Dabei treten sowohl CT-Wechselwirkungen zwischen 1,4-Dihydronicotinamid und Flaviquinon, als auch zwischen Flavohydroquinon und NAD(P)^+ auf. Diese CT-Komplexe entstehen durch Interaktionen zwischen dem mittleren Ring des Isoalloxazins und dem Pyridinsystem des Nicotinamids. Sie zeichnen sich durch schwache Absorptionen im Bereich von 500-700 nm aus. So wurde für den CT-Komplex zwischen FMNH_2 und 3-Carbamoyl-1-

methyl-pyridinium-chlorid ein λ_{max} von 527 nm mit einem Extinktionskoeffizient von $\epsilon_{527} = 830 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ gemessen.⁷⁶ Der entsprechende CT-Übergang zwischen 1-Methyl-1,4-dihydronicotinamid und FMN besitzt ein Absorptionsmaximum bei 575 nm ($\epsilon_{575} = 650 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$).⁷²

1.1.3. Katalyse des Elektronentransfers in chemischen Modellsystemen

Zum besseren Verständnis des Elektronentransferprozesses zwischen Flavohydroquinon und 1,4-Dihydronicotinamid bemüht sich die Chemie, unter Verwendung von nichtkovalenten Wechselwirkungen einfache Coenzym-Modellsysteme zu konstruieren. So wurde von Shinkai *et al.* durch Annelierung eines Pyridinring an das Isoalloxazin-Grundgerüst ein Flavinderivat synthetisiert, welches ähnlich wie ein Bipyridin über zwei Stickstoffdonoren an Metalle binden kann.^{77,78} Bei der Reaktion dieses Flavins mit dem NADH-Analogen 1-Benzyl-1,4-dihydronicotinamid (BNAH) in Acetonitril findet nur in Gegenwart von Metallkationen wie beispielsweise Mg^{2+} oder Zn^{2+} eine Elektronenübertragung statt. Die Wirkung der Metalle besteht hierbei darin, dass das Flavohydroquinon durch eine Flavin-Metall Charge-Transfer Wechselwirkung stabilisiert wird.

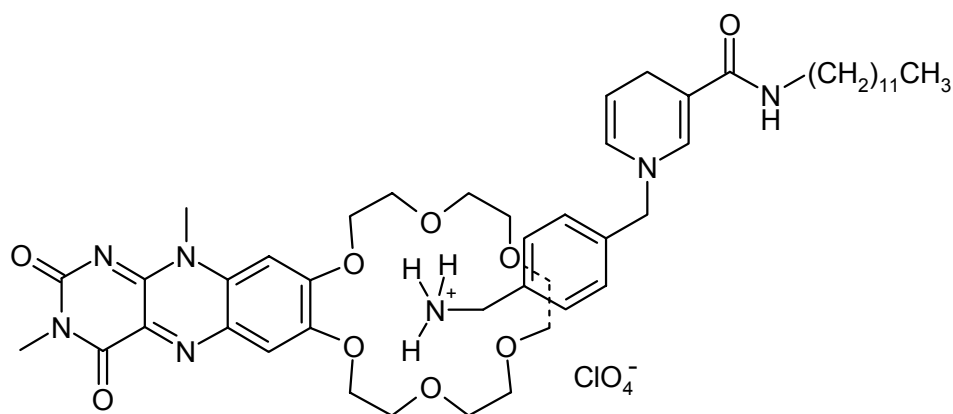


Abbildung 16: Supramolekularer Komplex zwischen einem Kronenether-Flavin und N^3 -Dodecyl-1-(*p*-ammoniomethyl)benzyl)-1,4-dihydronicotinamid.

Aus derselben Arbeitsgruppe stammt ein Flavin, welches mit einem Kronenether als Bindungsstelle funktionalisiert wurde.⁷⁹ Dieses Flavinderivat wurde dann zur Reaktion

mit einem 1,4-Dihydrionicotinamid, das zusätzlich eine Ammoniumgruppe aufweist und dadurch an den Kronenether des Flavins binden kann, gebracht. Dabei wurde eine deutliche Beschleunigung (29-fach) des Elektronentransfers in Methanol/Wasser = 90:10 gemessen. Außerdem gehorcht die Redoxreaktion einer Michaelis-Menten Kinetik, was die Ähnlichkeit zu einem Enzymsystem zeigt.

Die Oxidation von Dihydrionicotinamiden wird auch durch das semisynthetische Enzym Flavopapain katalysiert.⁸⁰ In diesem System wurde das hydrolytisch wirkende Enzym Papain über einen Thioether kovalent an 10-Methylisoalloxazin gebunden. Ein weiteres interessantes Flavoprotein-Modellsystem ist Flavocyclodextrin.⁸¹ Bei der Reaktion mit hydrophoben NADH-Modellsystemen wie 1-Hexyl-1,4-dihydrionicotinamid wurde in Wasser bei pH 7.4 eine Beschleunigung des Elektronentransfers gemessen. Hydrophobe *N*-Alkyl-1,4-dihydrionicotinamide wurden auch durch α -helicale Polypeptide, welche mit Flavinen funktionalisiert wurden, katalytisch oxidiert.⁸² Außerdem wurde bei der Oxidation von BNAH durch ein Flavin, welches kovalent mit einem Mangan(III)-Porphyrin verknüpft wurde, eine Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit beobachtet.⁸³

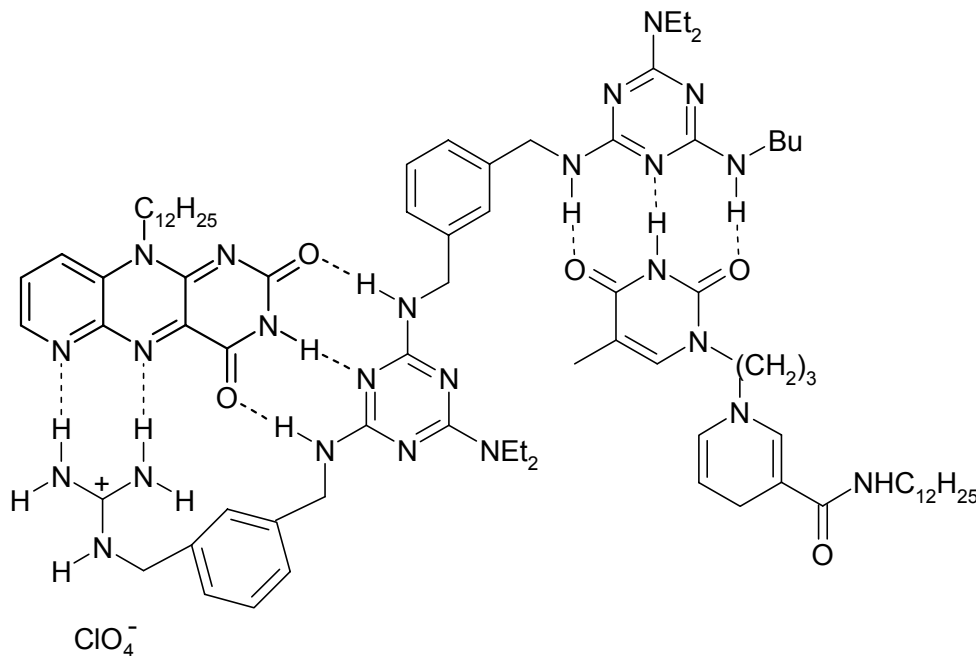


Abbildung 17: Ternäres supramolekulares Aggregat aus 6-Azaflavin, Bismelamin und *N*-(3-thyminepropyl)-1,4-dihydrionicotinamid.

Mit Hilfe von Wasserstoffbrückenbindungen konstruierten Yano *et al.* ein ternäres Aggregat, in dem ein 6-Azaflavin und ein Dihyronicotinamid über einen Bismelamin-Linker in räumliche Nähe zueinander gebracht werden.⁸⁴ Um eine Bindung zu erreichen, wurde das Dihyronicotinamid mit einem Thyminrest derivatisiert. In diesem System wurde in Chloroform eine etwa 20-fache Beschleunigung des Elektronentransfers erreicht.

Bei den oben beschriebenen Modellsystemen fällt auf, dass zum Aufbau der Enzym-Mimetika nur relativ schwache nichtkovalente Bindungen wie beispielsweise Wasserstoffbrückenbindungen oder hydrophobe Wechselwirkungen genutzt werden. Dadurch wird im reinen wässrigen Medium meist keine ausreichend starke Affinität erreicht. Im folgenden soll daher basierend auf der Zn(II)-Cyclen – Imid Koordination ein supramolekulares Aggregat, welches unter physiologischen Bedingungen den Elektronentransfer zwischen Flavoquinon und 1,4-Dihydro-nicotinamid katalysiert, aufgebaut werden. Dabei soll das Dihyronicotinamid kovalent mit der Zn(II)-Cyclen Bindungsstelle funktionalisiert werden. Für die Koordination kann dann jedes beliebige imidische Flavinderivat genutzt werden. Aufgrund seiner günstigen Photostabilität^{85,86} eignet sich allerdings Riboflavintetraacetat besonders gut für die Untersuchung des Elektronentransfers.

1.2. Synthese der NADH-Modellsysteme

1.2.1. Versuch der Verknüpfung des 1,4-Dihyronicotinamids und der Zn(II)-Cyclen Bindungsstelle über ein tertiäres Amid

Zur kovalenten Verbindung der beiden Teilstrukturen bietet sich eine Strategie basierend auf Peptidkupplungsmethoden⁸⁷ an. Der erste Schritt besteht dabei in einer Blockierung von drei der vier sekundären Amine des Cyclens durch Einführung von *tert*-Butoxycarbonyl-Schutzgruppen nach einer literaturbekannten Methode.⁸⁸ Anschließend wird 1,4,7-Tris-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10** in einer DCC-Kupplung mit Nicotinsäure umgesetzt. Die Umsetzung verläuft glatt und das gewünschte Produkt **11** wird in einer Ausbeute von 88% erhalten. Im folgenden

wird durch Reaktion mit Methyljodid das Pyridiniumsalz **12** in 90% Ausbeute dargestellt.

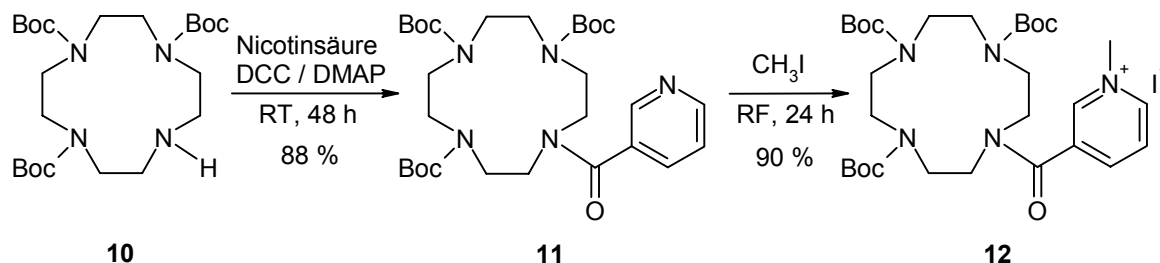


Abbildung 18: Synthese des Pyridiniums **12**.

Die Entschützung des Azamacrocyclus geschieht durch Umsetzung mit 33%-iger Bromwasserstoffsäure in Eisessig. Diese Methode hat sich hier als günstig erwiesen, da die Isolierung und Reinigung komfortabel ist. Schon während der Reaktion beginnt das Produkt auszufallen. Die Präzipitation wird dann nach Reaktionsende durch Zugabe von Diethylether vervollständigt. Anschliessend wird der Niederschlag abgesaugt und gründlich mit Ether gewaschen. Eine weitere Reinigung ist nicht notwendig und das Produkt wird als Hydrobromid in einer hohen Ausbeute (90 %) isoliert. Nach der Freisetzung der Amine wird der Macrocyclus mit $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ zur Reaktion gebracht und der Zn^{2+} -Komplex mit einer Ausbeute von 64 % gebildet.

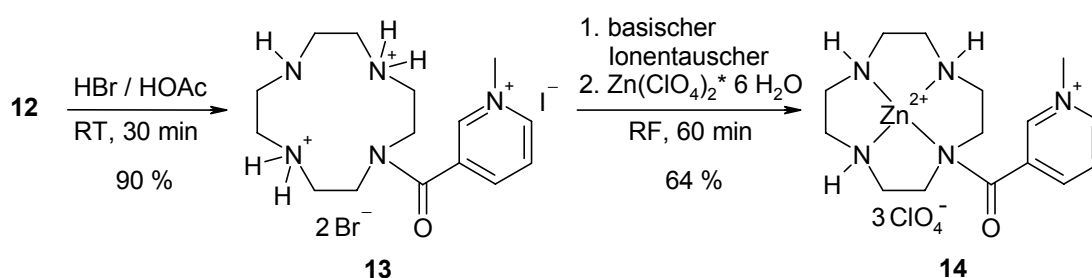


Abbildung 19: Synthese des macrocyclischen Zn(II)-Komplexes **14**.

Der letzte Schritt der Reaktionssequenz ist die Reduktion des Pyridiniumsalzes **14** zum 1,4-Dihydropyridin. Hierfür ist Natriumdithionit das Reduktionsmittel der Wahl, da selektiv das 1,4-Dihydropyridin entsteht ohne Bildung des 1,2- oder 1,6-Isomers.⁸⁹ Diese Selektivität lässt sich anhand des Reaktionsmechanismus begründen: Pyridiniumverbindungen mit elektronenziehenden Substituenten in 3- oder 5-Stellung

bilden im basischen Milieu mit Dithionit ein Sulfinat-Addukt (s. Abb. 20). Diese Zwischenstufe wurde auch isoliert und charakterisiert.⁹⁰ Im neutralen oder sauren Medium zerfällt das Sulfinat und es bildet sich ein Sulfoxylat-Ion (HSO_2^-), welches als eigentlich aktive Reduktionsspezies postuliert wird.⁹¹

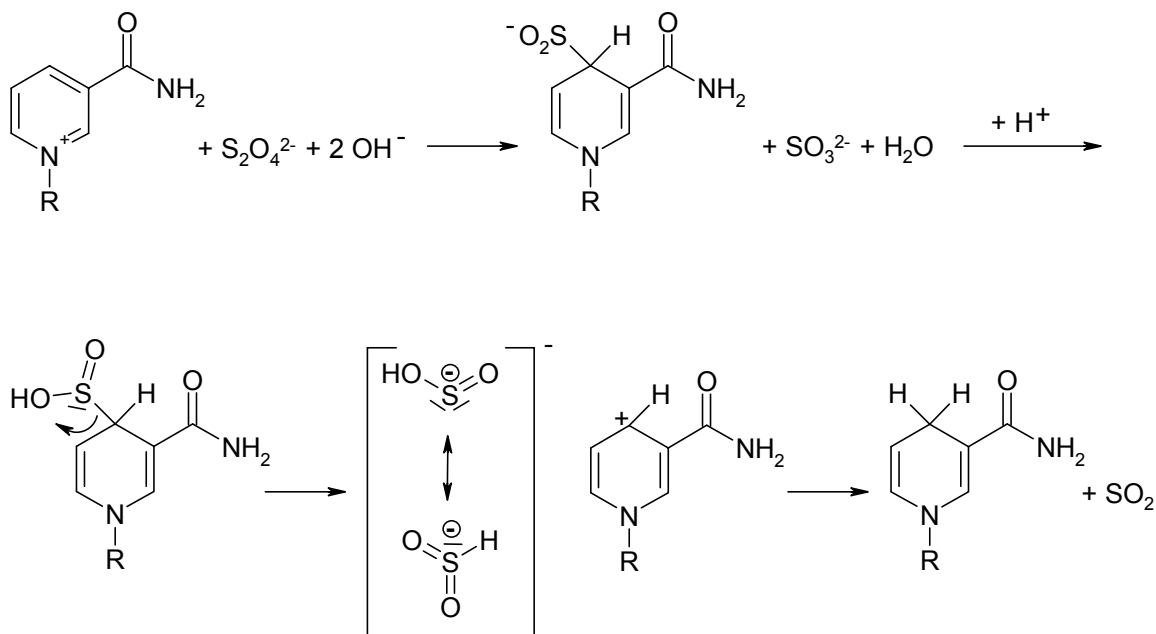


Abbildung 20: Mechanismus der Reduktion von 3-Carbamoyl-1-alkyl-pyridiniumsalzen mit Natriumdithionit.

Bei der Umsetzung von **14** mit $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ unter Zusatz von Na_2CO_3 als Base konnte das gewünschte 1,4-Dihydropyridin nicht isoliert werden. Stattdessen enthielt das NMR-Spektrum nach der Aufarbeitung des Produktgemisches reines Zn(II)-Cyclen als Hauptbestandteil. Dies lässt darauf schließen, dass unter den stark basischen Reaktionsbedingungen die tertiäre Amidbindung in **14** hydrolysiert wurde. Die Spaltung einer tertiären Amidbindung am Cyclenring wurde auch unter ähnlichen, ebenfalls basischen Konditionen, von Alsfasser *et al.* beobachtet.⁹² Hier wurden bei der Umsetzung eines funktionalisierten Cyclenliganden mit $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ in Methanol unter Zusatz von Natriummethanolat nur Spaltungsprodukte isoliert. Außerdem stellten die Autoren fest, dass bereits im schwach basischen Milieu bei $\text{pH} > 7$ eine Hydrolyse von Cu(II)-Cyclen Komplexen, welche ebenfalls über ein tertiäres Amid derivatisiert waren, stattfindet.

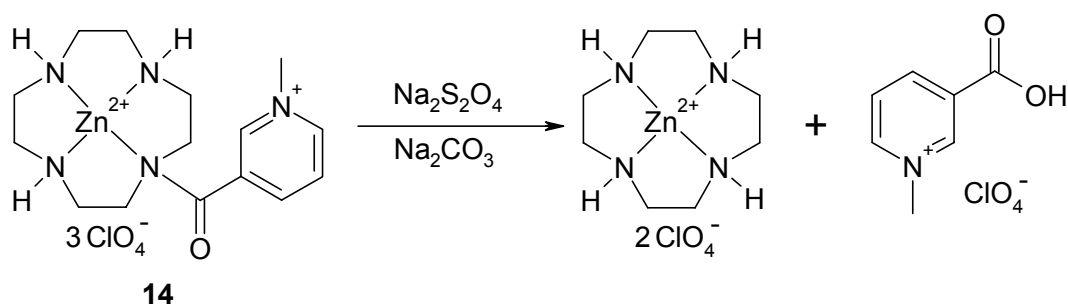


Abbildung 21: Spaltung von **14** bei der Reduktion mit Natriumdithionit

Nun stellt sich die Frage, ob es Alternativen gibt, die zum gewünschten 1,4-Dihydropyridin führen. Wie oben anhand des Reaktionsmechanismus dargelegt wurde, sind für die selektive Reduktion von **14** zum 1,4-Dihydronicotinamid mit Natriumdithionit basische Bedingungen unerlässlich. Andere Reduktionsmittel wie beispielsweise Hydride sind dabei keine akzeptable Alternative, da hier Isomergemische unterschiedlicher Dihydropyridine entstehen, die nur schwer zu trennen sind.^{89,93} Auch eine Änderung in der Reihenfolge der Syntheseschritte würde zu keiner Lösung des Problems führen, da man davon ausgehen muss, dass das Produkt sowieso bei einem $\text{pH} > 7$ hydrolysiert. Dies würde die anschließenden kinetischen und spektroskopischen Untersuchung verfälschen. Außerdem ist das Dihydropyridin sehr sauerstoffempfindlich und selbst unter Argonatmosphäre nur begrenzt haltbar. Die Syntheseroute muss also vollkommen geändert werden, wobei eine Derivatisierung des Cyclens über eine tertiäre Amidbindung vermieden werden muss.

1.2.2. Alternative Syntheseroute über eine Alkylierung des Azamacrocycluses

Eine andere Möglichkeit Cyclen zu funktionalisieren ist die *N*-Alkylierung eines der sekundären Stickstoffatome. Die Verknüpfung mit dem Pyridinring muss allerdings, um ein Nicotinamid zu erhalten, auf jeden Fall über eine Peptidbindung geschehen. Als kürzeste Verbindung zwischen Azamacrocyclus und Nicotinamid kommt somit nur ein Ethylrest in Frage.

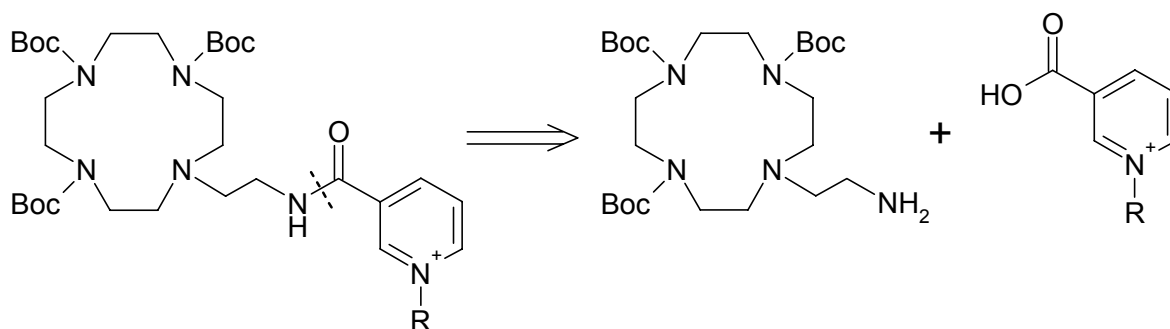


Abbildung 22: Retrosynthese des Zielmoleküls.

Die retrosynthetische Analyse des Zielmoleküls führt zu dem Schluss, dass es sinnvoll ist, in einer konvergenten Strategie die beiden Teilstrukturen getrennt aufzubauen und anschließend in einer Peptidkopplung zu verbinden.

Zunächst soll nun das Cyclen mit einem Aminoethylrest derivatisiert werden. Dazu wurde zuerst versucht, 1,4,7-Tris-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10** direkt mit *N*-geschütztem 2-Bromethylamin unter Zusatz von K_2CO_3 als Base zu substituieren. Bei dieser Reaktion konnte selbst nach tagelangem Erhitzen nur ein mäßiger Umsatz beobachtet werden. Auch die Umsetzung von **10** mit 2-Bromethanol führte nicht zum Erfolg. Dagegen wurde schon bei moderaten Temperaturen ($50^\circ C$) mit Bromacetonitril das gewünschte Alkylierungsprodukt **15** in quantitativer Ausbeute erhalten.

Die Reduktion des Nitrils **15** zum Amin wurde zunächst mit Hilfe von Lithiumaluminiumhydrid durchgeführt. Dabei wurden allerdings nach säulenchromatographischer Aufreinigung über Kieselgel nur schlechte Ausbeuten (30 - 40 %) erzielt. Außerdem konnte im Massenspektrum ein hoher Anteil an **10** nachgewiesen werden. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass es unter den Reaktionsbedingungen auch zu einer Spaltung des tertiärenamins kommt. Daher wurde die Reduktion nun unter mildereren Bedingungen mit Wasserstoff und Raney-Nickel durchgeführt. Hier wurden hohe Ausbeuten von 91 % und so gute Reinheiten erzielt, dass eine chromatographische Aufreinigung überflüssig wird.

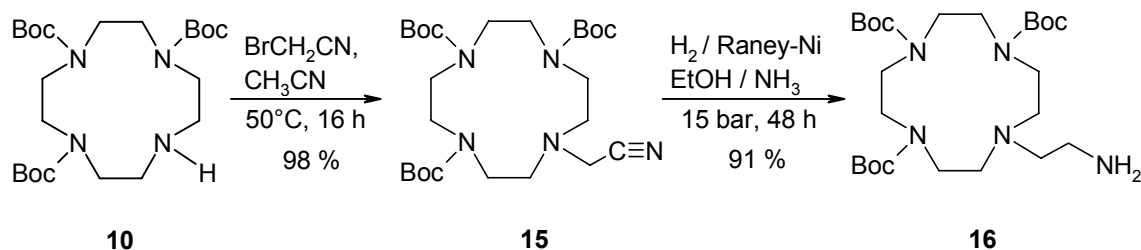


Abbildung 23: Synthese des Amins **16**.

Die Kupplung des Amins **16** mit der *N*-benzylierten Nicotinsäure **17**, welche durch Umsetzung von Nicotinsäure mit Benzylbromid erhalten wurde, wurde mit Hilfe einer Aktivester-Methode unter Verwendung von HOBt durchgeführt. Als Carbodiimid wurde EDC genutzt, da es nach der Reaktion durch saures, wässriges Ausschütteln leicht zu entfernen ist.

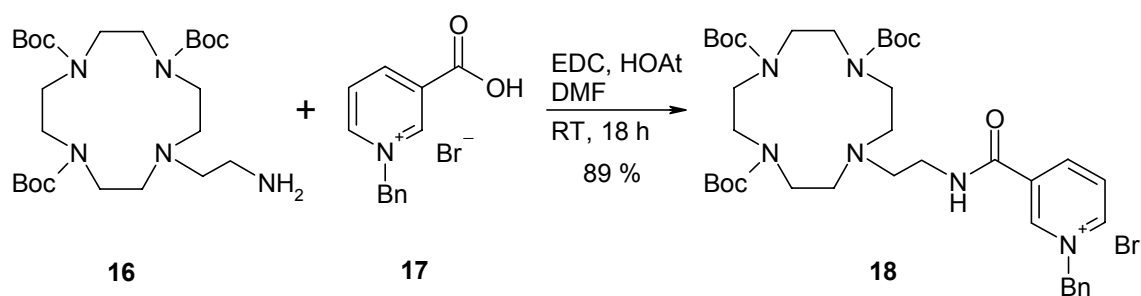


Abbildung 24: Peptidkupplung zwischen **16** und **17**.

Aufgrund seiner Ladung ist es nicht möglich, das Kupplungsprodukt **18** mittels Säulenchromatographie an Kieselgel zu reinigen. Die Trennung gelingt nur mit Hilfe von präparativer HPLC über eine Umkehrphase. Dabei stellte sich heraus, dass die hauptsächliche Verunreinigung aus HOBt besteht. Daher wurde bei der Kupplung stattdessen HOAt verwendet, welches aufgrund seines Pyridinrings durch saures Ausschütteln entfernt werden kann. Eine optimale Aufreinigung kann dann nach dem nächsten Reaktionsschritt – der Abspaltung der Boc-Schutzgruppen – erreicht werden.

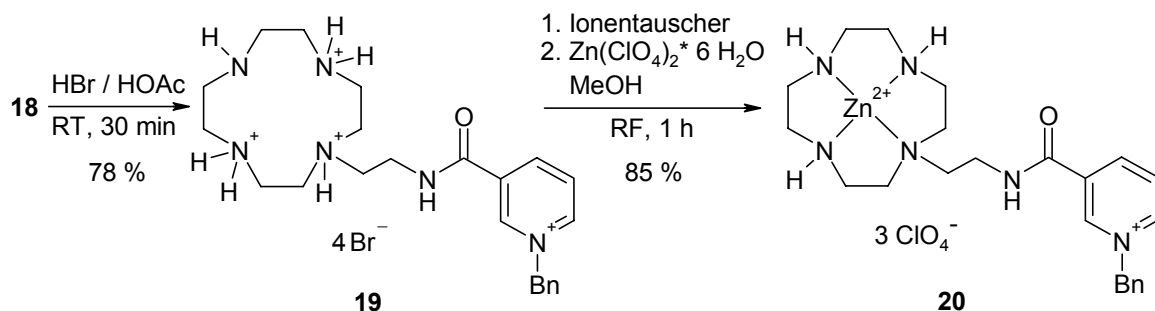


Abbildung 25: Synthese des Zink(II)-Komplexes 20.

Die Entfernung der Schutzgruppen am Cyclenring gelingt in guter Ausbeute (78 %) durch Umsetzung mit HBr in Eisessig. Anschließend werden die Amine durch Eluieren über einen stark basischen Ionentauscher freigesetzt und durch Erhitzen mit $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$ wird der Zn(II)-Komplex 20 gebildet.

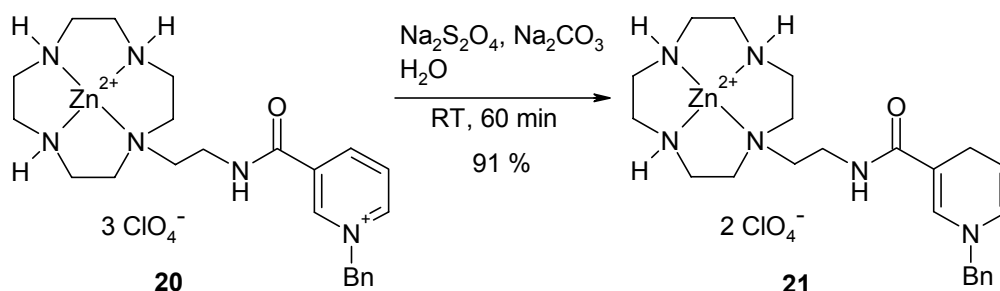


Abbildung 26: Reduktion von 20 zum Dihydropyridin.

Der letzte Schritt der Reaktionssequenz ist die Reduktion des Pyridiniumperchloratsalzes 20 zum 1,4-Dihydrionicotinamid 21 mit Natriumdithionit. Die Reaktion verläuft diesmal glatt und gelingt in einer Ausbeute von 91 %. Das Produkt ist extrem sauerstoffempfindlich und selbst unter Argonatmosphäre im Gefrierfach nur wenige Tage stabil. Daher ist es auch nicht möglich, von Verbindung 21 ein Massenspektrum oder eine Elementaranalyse zu erhalten.

1.2.3. Variation des Abstands zwischen Bindungsstelle und Dihydrionicotinamid

Da eine effiziente Elektronenübertragung zwischen 1,4-Dihydrionicotinamid und Riboflavintetraacetat angestrebt wird, soll nun durch die Variation der Spacerlänge

zwischen der Zn(II)-Cyclen Bindungsstelle und dem Dihydropyridin eine für den Redoxvorgang optimale Geometrie erreicht werden. Dabei besitzt Verbindung **21** die kürzeste, synthetisch mögliche Spacerlänge. Ausgehend davon soll nun der Abstand zwischen Dihydronicotinamid und Bindungsstelle systematisch vergrößert werden.

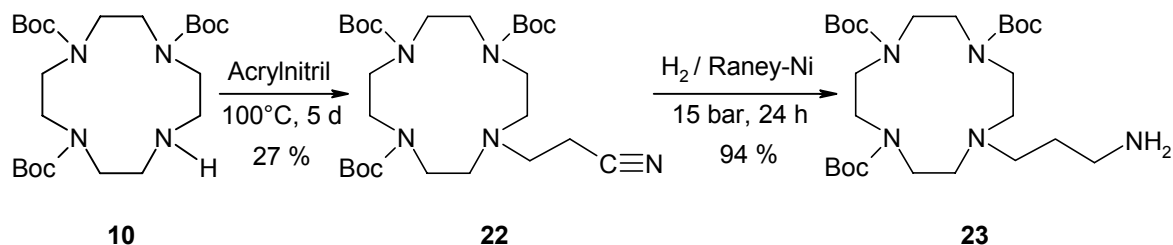


Abbildung 27: Synthese des Amins **23**.

Der erste Schritt ist dabei die Verlängerung um eine Methylengruppe. Dies kann unter weitgehender Beibehaltung der obigen Synthesestrategie durch die Darstellung eines Cyclenderivats geschehen, welches anstelle eines Aminoethyl- einen Aminopropylrest aufweist. Dazu wird **10** mehrere Tage lang mit einem großen Überschuss an Acrylnitril erhitzt. Trotz der langen Reaktionszeit wird nur ein Umsatz von 46 % und eine absolute Ausbeute von 27 % erzielt. Allerdings beträgt die umsatzkorrigierte Ausbeute immerhin 60 %. Anschließend wird das Nitril **22** durch Wasserstoff mit Raney-Nickel als Katalysator reduziert. Die nachfolgenden Reaktionsschritte verlaufen dann entsprechend der Synthese von Verbindung **21**.

Die nächste Verbindung soll nun ausgehend vom Amin **16** durch Einführung eines Glycins im Spacer verlängert werden. Dazu wird **16** mit Fmoc-Glycin in einer Aktivester-Kupplung unter Verwendung von HOBt und EDC umgesetzt. Das Peptid **28** wird dabei in einer Ausbeute von 63 % gebildet. Problematisch ist bei dieser Reaktion, dass selbst bei den milden Kupplungsbedingungen die Fmoc-Schutzgruppe teilweise abgespalten wird. Daher wird die Umsetzung bei 0°C und bei einer möglichst kurzen Reaktionszeit durchgeführt. Anschließend wird mit Piperidin als Base die Fmoc-Schutzgruppe entfernt und das freie Amin **29** in einer Ausbeute von 86 % isoliert. Danach wird wieder mit 1-Benzyl-3-carboxy-pyridinium-bromid **17** umgesetzt und die Synthesesequenz analog wie oben beschrieben bis zum Dihydronicotinamid **33** fortgeführt.

Die Verbindung mit dem längsten Abstand zwischen Bindungsstelle und Dihyronicotinamid wird analog zu **33** synthetisiert. Der einzige Unterschied ist, dass im ersten Reaktionsschritt nicht Fmoc-Glycin sondern Fmoc- β -Alanin verwendet wird. Insgesamt stehen nun vier NADH-Modellverbindungen zur Verfügung, wobei der Abstand zwischen der Bindungsstelle für das Flavin und dem redoxaktiven 1,4-Dihyronicotinamid systematisch variiert wurde.

1.3. Potentiometrische Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Riboflavin-tetraacetat und den NADH-Modellverbindungen

Zur Untersuchung von Gleichgewichten und Bindungseigenschaften in wässriger Lösung ist die potentiometrische pH-Titration⁹⁴ die Methode der Wahl. Für die Titrationen wurden aus apparativen Gründen statt den luftempfindlichen, instabilen Dihydropyridinen die entsprechenden Pyridinium-Verbindungen genutzt. Dies sollte aber die Bindungseigenschaften nicht beeinflussen, da die Zn(II)-Cyclen Erkennungsstelle von diesem strukturellen Unterschied nicht betroffen ist.

Zuerst wurden an der NADH-Modellverbindung mit dem kürzesten Spacer exemplarisch die pK_s -Werte und die Komplexbildungseigenschaften des freien Liganden untersucht. Dabei bewegen sich die $\log K$ -Werte der macrocyclischen Stickstoffatome in der gleichen Größenordnung, wie sie für einen ähnlichen Liganden, welcher anstatt des Amids ein primäres Amin besitzt, von Koike *et al.*⁹⁵ bestimmt wurden. Als pK_s -Werte wurden hier 2.2, 9.4 und 11.8 gemessen. Die Zuordnung der Protonierungen am Azamacrocyclus geschieht in *Abb. 30* willkürlich. Da sekundäre Amine in der Regel basischer sind als tertiäre, erscheint es allerdings sinnvoll, dass das tertiäre Amin den kleinsten, unter den gegebenen Bedingungen nicht mehr messbaren $\log K$ -Wert besitzt. Wie auch für das unsubstituierte Cyclen bekannt ist, besitzen immer zwei im Ring gegenüberliegende, sekundäre Stickstoffatome ähnlich hohe pK_s -Werte.⁹⁶ Außerdem wurde durch die Potentiometrie festgestellt, dass das Zn^{2+} -Ion mit einer hohen Affinität irreversibel durch den Macrocyclus gebunden wird.

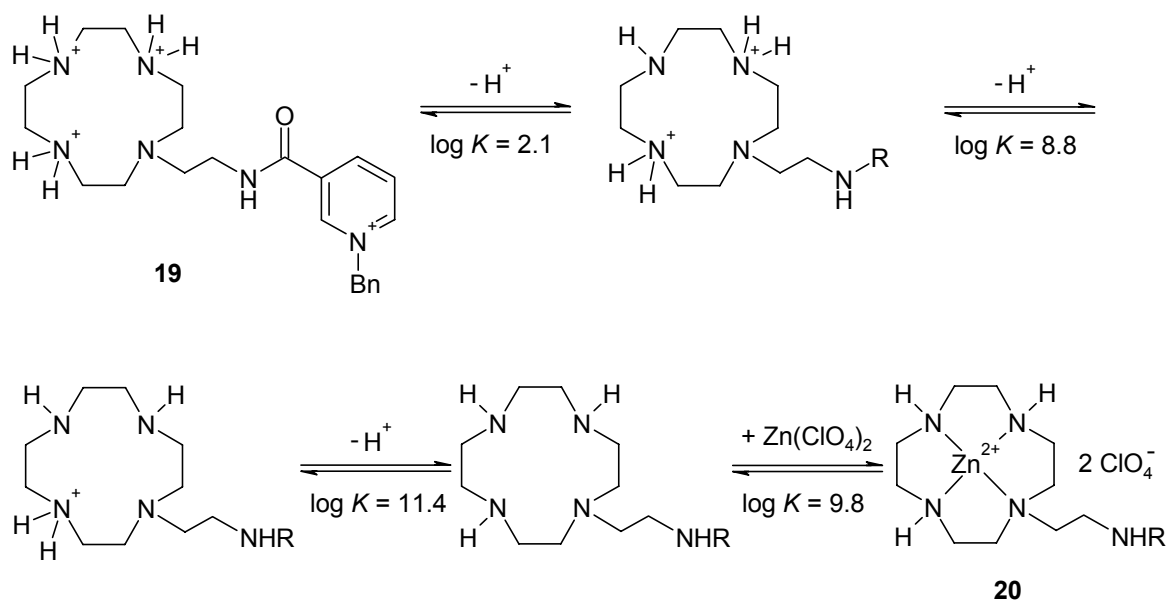


Abbildung 30: Metall-Komplexierung und pK_s -Werte des freien Liganden **19**.

Der pK_s -Wert von 8.2 des zinkgebundenen Wassermoleküls in **20** verdeutlicht die Lewis-Acidität des Komplexes (s. Abb. 31). Das deprotonierte Riboflavintetraacetat bindet nun mit einer Affinität von $\log K = 6.3$ an den Zn(II)-Komplex. Auch die anderen NADH-Modellverbindungen besitzen eine ähnlich hohe Affinität zu Flavin ($\log K = 6.2$ für Komplex **32** und **38**, $\log K = 6.3$ für **26**). Die Wechselwirkung von **20** zu Riboflavintetraacetat ist somit deutlich stärker als die Bindung zwischen Zn(II)-Cyclen und Riboflavin mit einer Bindungskonstanten von $\log K = 5.6$ (vgl. A.1.1.). Dies lässt sich mit zusätzlichen π - π Wechselwirkungen zwischen dem Pyridinring des NADH-Modells und dem Isoalloxazinsystem erklären.

Interessant ist auch ein Vergleich mit Komplex **14**, in welchem das Pyridinium-Ion über ein tertiäres Amid mit Zn(II)-Cyclen verknüpft ist. Hier wurde für die Wechselwirkung mit Riboflavintetraacetat nur eine Affinität von $\log K = 5.5$ gemessen. Eine Erklärung für diesen Befund könnte sein, dass das Pyridinium in **14** zu starr mit dem Azamacrocyclen verbunden ist, um eine π - π Wechselwirkung mit dem Flavin einzugehen. Die Acidität des axial gebundenen Wassermoleküls liegt dagegen bei **14** ($\log K = 8.0$) in der gleichen Größenordnung wie bei Verbindung **20**.

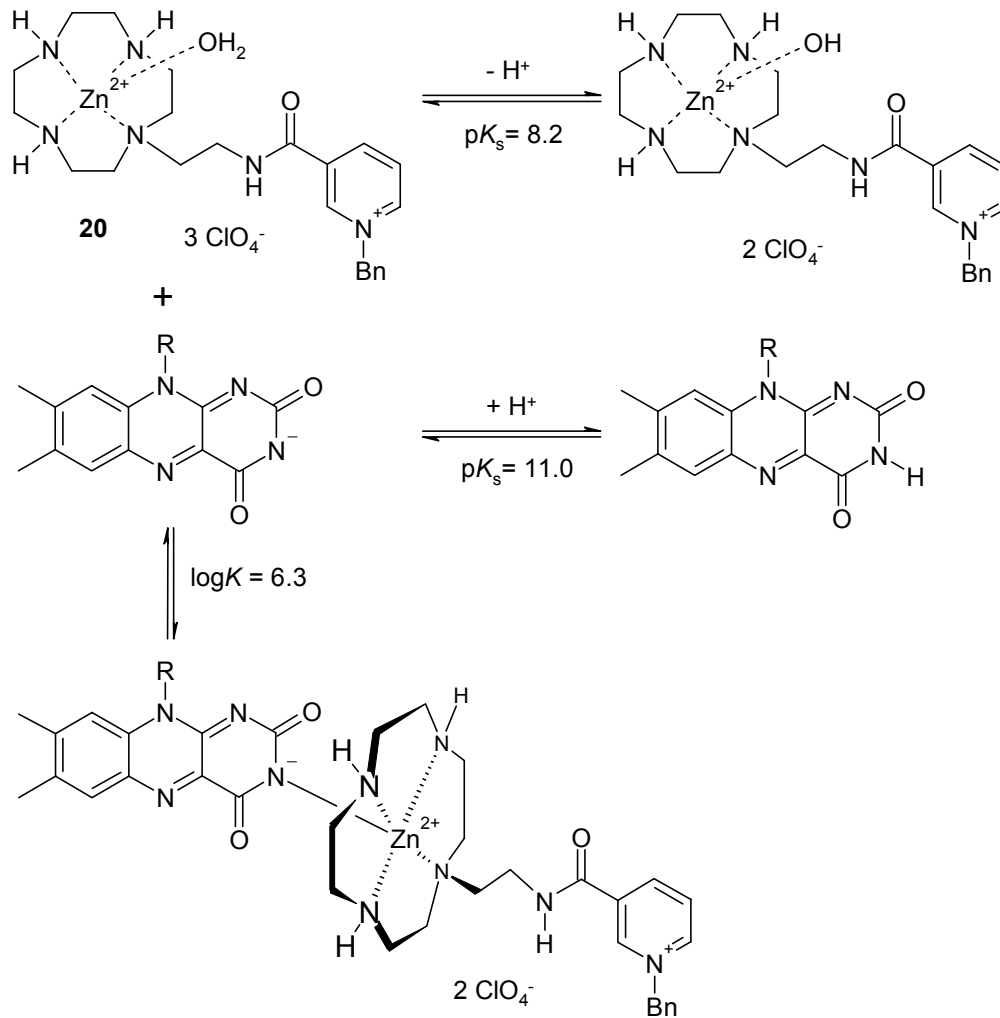


Abbildung 31: Bindung zwischen **20** und Riboflavintetraacetat.

Aus dem Spezies-Verteilungsdiagramm (*Abb. 33*) lässt sich die Aggregatbildung zwischen Riboflavintetraacetat und **20** bei verschiedenen pH-Werten ablesen. So beträgt der Anteil an Aggregat beim physiologisch relevanten pH von 7.4 bereits etwa 60 %, bezogen auf die Gesamtkonzentration von **20**. Im schwach basischen Milieu (pH = 9) ist dann schon das gesamte Flavin an **20** gebunden.

Alles in allem lässt sich aus den potentiometrischen Messungen schlussfolgern, dass sogar im wässrigen Medium bei physiologischem pH eine starke Wechselwirkung zwischen Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellverbindungen besteht und somit ein effizienter Elektronentransfer zwischen den beiden Redoxcofaktoren möglich sein sollte.

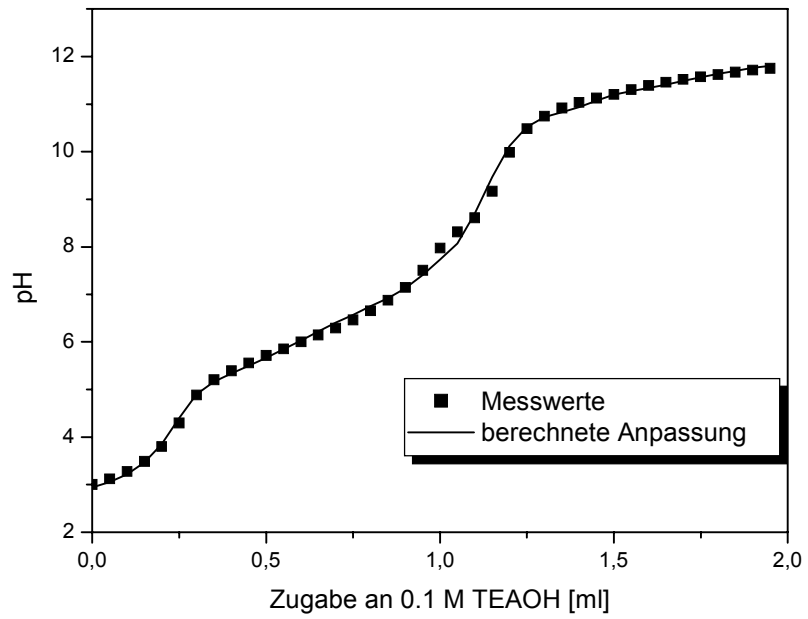


Abbildung 32: Potentiometrische pH-Titration von **20** und Riboflavintetraacetat mit 0.1 M Tetraethylammonium-hydroxid (TEAOH) als Base.

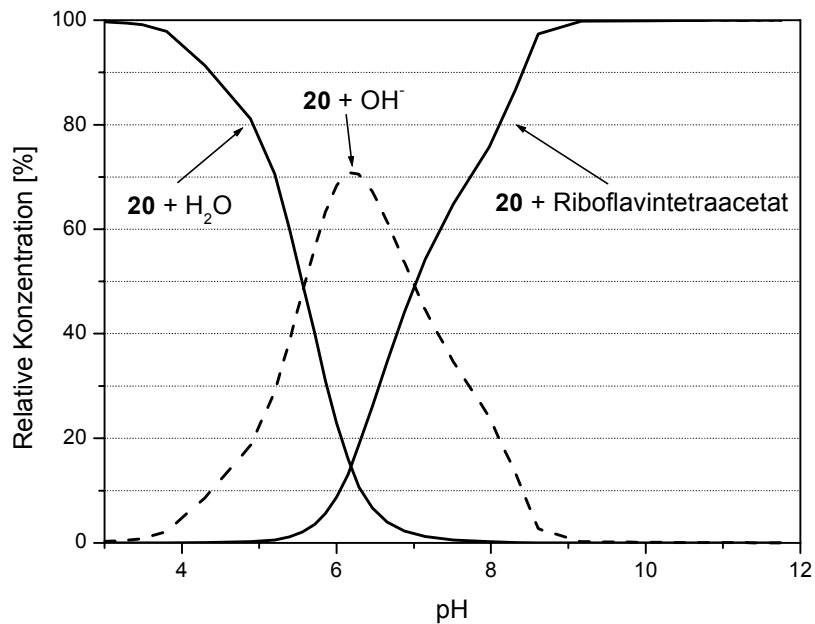


Abbildung 33: Spezies-Verteilung im System **20** – Riboflavintetraacetat.

1.4. Spektroskopische Eigenschaften von Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellen

1.4.1. Riboflavintetraacetat

Das UV/VIS-Spektrum von Riboflavintetraacetat (*s. Abb. 34*) unterscheidet sich signifikant von der Absorption der reduzierten Flavohydroquinon-Form. Während das Flavoquinon einen charakteristischen Peak im sichtbaren Bereich bei 456 nm aufweist, absorbiert die reduzierte Form dort nur unwesentlich. Auch die Absorption bei 384 nm wird nach der Reduktion deutlich schwächer. Entsprechend ändert sich auch das Emissionsverhalten. Die oxidierte Form weist eine intensive Fluoreszenz bei 524 nm auf (*s. Abb. 35*). Das Flavohydroquinon dagegen zeigt keine Emission. Diese Befunde befinden sich im Einklang mit den spektroskopischen Eigenschaften ähnlicher Flavine.^{53,97}

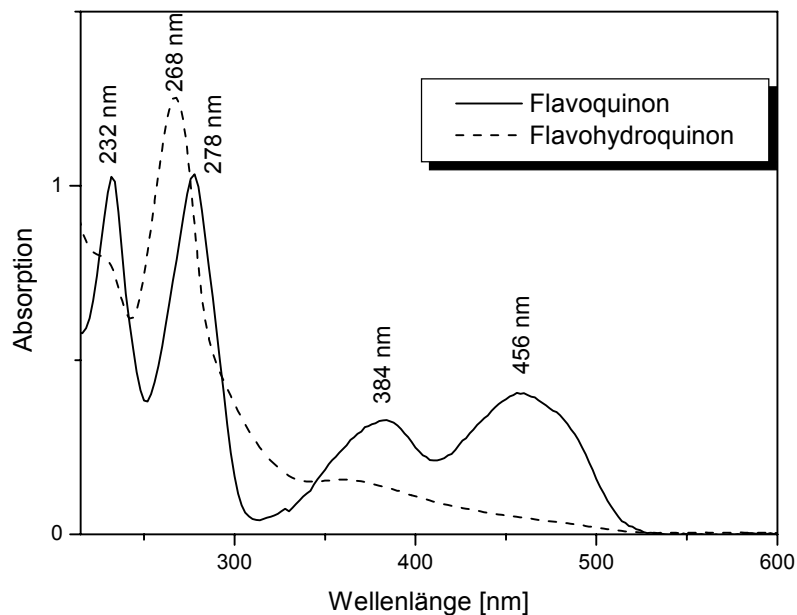


Abbildung 34: UV/VIS-Spektren von Riboflavintetraacetat und des entsprechenden Flavohydroquinons in H₂O ($c = 5 \cdot 10^{-5}$ mol/l). Das Flavohydroquinon wurde durch Bestrahlung mit sichtbarem Licht in Gegenwart von NEt₃ erzeugt.

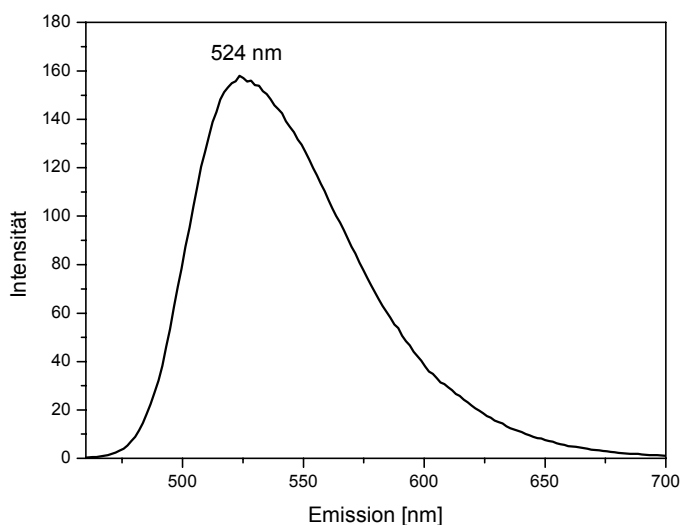


Abbildung 35: Emissionsspektrum von Riboflavintetraacetat in H₂O ($c = 10^{-5}$ mol/l). Anregung bei 450 nm.

1.4.2. NADH-Modellsysteme

Die NADH-Modellverbindungen besitzen ebenfalls je nach Redoxzustand ein unterschiedliches Absorptionsverhalten. So weisen die 1,4-Dihyronicotinamide einen langwelligen Peak im Bereich zwischen 350 und 360 nm auf (s. *Tab.1 und Abb. 36*), während das entsprechende Pyridinium bei etwa 260 nm absorbiert.

1,4-Dihyronicotinamid	Absorption [nm]	Emission [nm]
21	356	472
27	357	462
33	359	463
39	357	461

Tabelle 1: Absorptions- und Emissionseigenschaften der NADH-Modellverbindungen in H₂O. Emissionsanregung bei 360 nm.

Überdies besitzen die Dihyronicotinamide charakteristische Emissionseigenschaften (s. *Tab.1 und Abb. 37*). Die Pyridiniumverbindungen fluoreszieren dagegen nicht. Zusätzlich wurden die Quantenausbeuten von zwei der NADH-Modellverbindungen

bestimmt. Für Dihyronicotinamid **21** wurde $\Phi = 0.050$ und für **33** $\Phi = 0.061$ erhalten. Diese Werte liegen etwas höher als die Quantenausbeute von Dihydro-diphosphopyridin-Nucleotid ($\Phi = 0.02$).⁹⁸

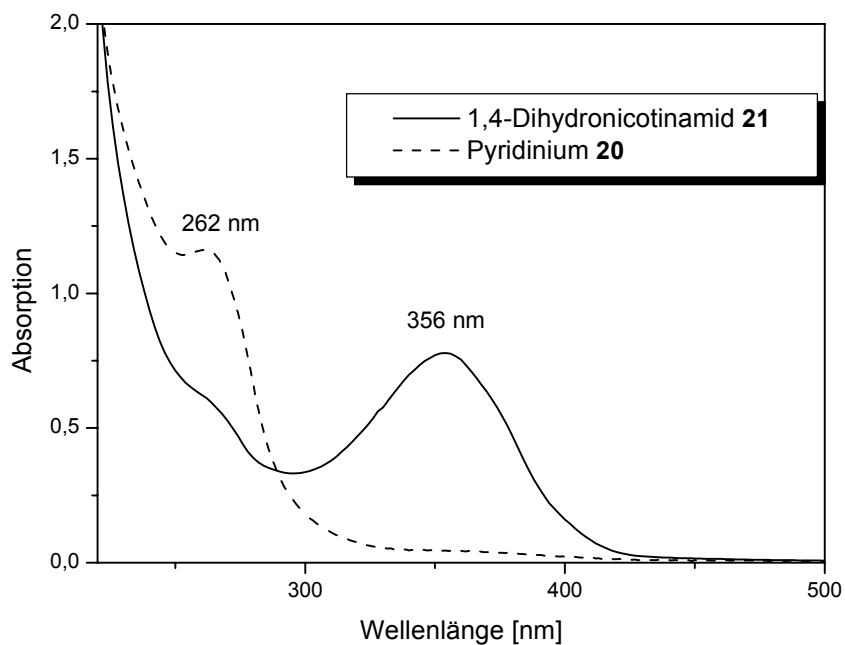


Abbildung 36: UV/VIS-Spektren von **20** und **21** in H₂O ($c = 10^{-4}$ mol/l).

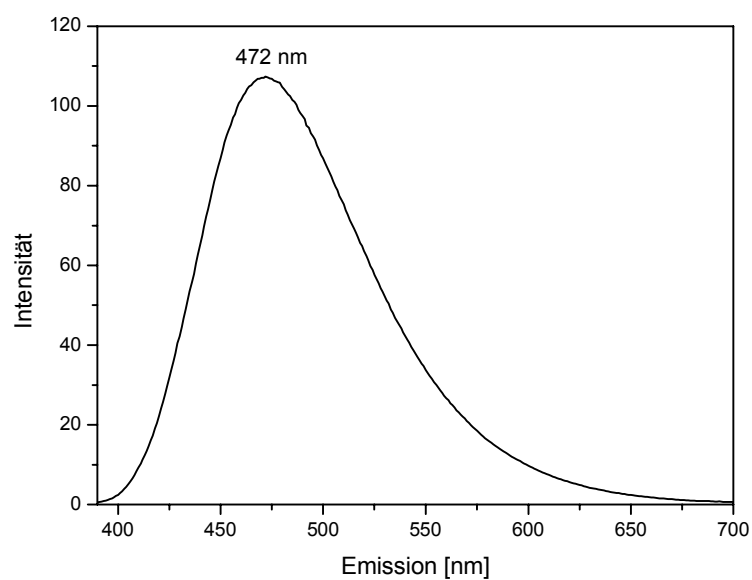


Abbildung 37: Fluoreszenzspektrum von **21** in H₂O ($c = 10^{-4}$ mol/l). Anregung bei 360 nm.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sich die jeweiligen Redoxzustände sowohl beim Riboflavintetraacetat, als auch bei den Dihyronicotinamiden bezüglich der spezifischen Absorptions- und Emissionseigenschaften deutlich unterscheiden. Dadurch wird eine spektroskopische Detektion des Elektronentransfers zwischen den beiden Redoxcofaktoren ermöglicht.

1.5. Kinetische Untersuchung des Elektronentransfers zwischen den 1,4-Dihyronicotinamiden und Riboflavintetraacetat

Die Untersuchung der Kinetik des Elektronentransfers zwischen Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellen geschieht mit Hilfe der UV/VIS-Spektrometrie. Dazu werden in wässriger Pufferlösung die Reaktanden im Verhältnis 1:1 unter Ausschluss von Sauerstoff gemischt.

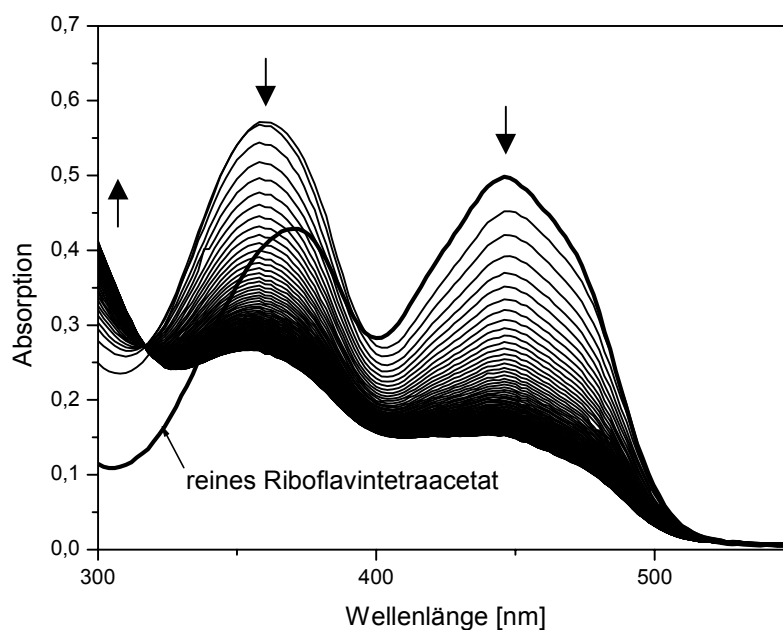


Abbildung 38: Zeitlicher Verlauf der Reaktion von Riboflavintetraacetat mit 1 eq **39** in Tris/HCl-Puffer bei pH 9.0 ($c = 5 \cdot 10^{-5}$ mol/l) unter Argon-Atmosphäre.

In *Abb. 38* ist der zeitliche Verlauf der Absorption einer Lösung von Riboflavintetraacetat und einem Äquivalenten des 1,4-Dihyronicotinamids **39** dargestellt. Es ist

zu erkennen, dass die langwellige Bande des Flavins im Bereich von 450 nm kontinuierlich abnimmt. Dies ist auf die Reduktion des Riboflavintetraacetats zum Flavohydroquinon zurückzuführen. Nach einer anfänglichen Zunahme, verursacht durch die Zugabe des Dihyronicotinamids, geht auch die Absorption zwischen 350 und 400 nm zurück und fällt schließlich deutlich unter das Niveau des reinen Flavins. Auch hier deutet alles auf eine Reduktion des Riboflavintetraacetats hin. Gleichzeitig verschwindet die Bande des Dihyronicotinamids bei 360 nm, was auf die Oxidation zum Pyridiniumion zurückzuführen ist. Unterhalb des isosbestischen Punkts bei 317 nm lässt sich dagegen eine Zunahme der Absorption beobachten. Dies liegt an der gleichzeitigen Bildung der Pyridiniumverbindung ($\lambda_{\max} = 262 \text{ nm}$) und des Flavohydroquinons ($\lambda_{\max} = 268 \text{ nm}$).

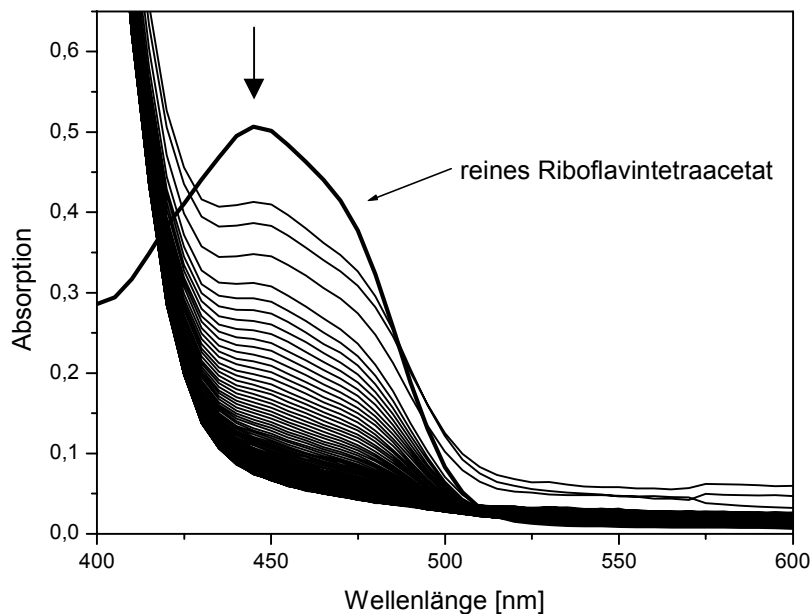


Abbildung 39: Zeitlicher Verlauf der Reaktion von Riboflavintetraacetat ($c = 4 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$) mit 10 eq **21** in HEPES/KOH-Puffer bei pH 7.4 unter Argon-Atmosphäre.

Allerdings wird bei der Umsetzung von Riboflavintetraacetat mit 1 eq NADH-Modellverbindung keine vollständige Reduktion des Flavins erreicht. Erst bei einem Überschuss an Dihyronicotinamid wird das Flavin - wie es in *Abb. 39* dargestellt ist - komplett reduziert. Außerdem lassen sich nun auch schwache, langwellige Banden

($\lambda > 500$ nm) beobachten, was auf die Existenz von Charge-Transfer Zwischenstufen schließen lässt.

In *Abb. 40* ist ein Ausschnitt der Spektren aus *Abb. 39* vergrößert dargestellt. Hier ist deutlich ein isosbestischer Punkt bei 516 nm zu erkennen. Während unterhalb des isosbestischen Punktes die Absorption im Verlauf der Reaktion abnimmt, entwickelt sich bei Wellenlängen über 516 nm eine neue Bande. Diese Absorption lässt sich einem Charge-Transfer – Komplex zwischen Flavohydroquinon und der oxidierten Pyridiniumspezies zuordnen.^{61,74,99,100}

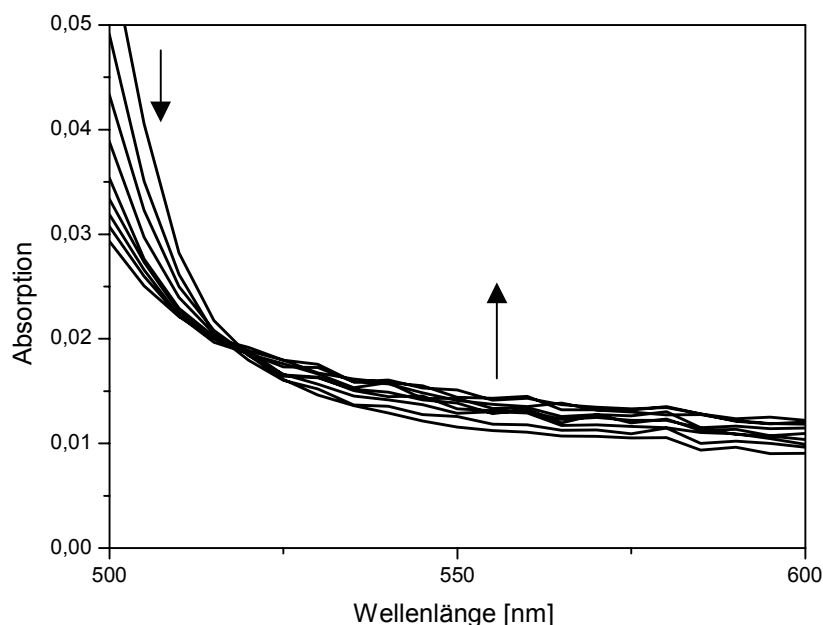


Abbildung 40: Zeitlicher Verlauf der Reaktion von Riboflavintetraacetat ($c = 4 \cdot 10^{-5}$ mol/l) mit 10 eq **21** in HEPES/KOH-Puffer bei pH 7.4 im langwelligen Bereich.

1.5.1. Kinetische Untersuchungen mit einem Dihyronicotinamid ohne Bindungsstelle für Flavin

Nachdem alle bisherigen experimentellen Daten auf einen Elektronentransfer zwischen Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellverbindungen hinweisen, soll im folgenden eine detaillierte, quantitative Auswertung der Reaktionskinetik geschehen. Dazu werden zunächst Messungen mit dem 1,4-Dihyronicotinamid **41** durchgeführt,

welches im Gegensatz zu den NADH-Modellsystemen keine Bindungsstelle für das Flavin aufweist.

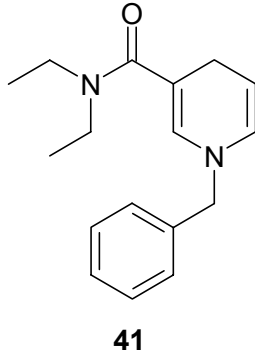
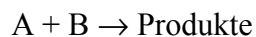


Abbildung 41: Struktur des 1,4-Dihyronicotinamids ohne Bindungsstelle.

Die Elektronenübertragung zwischen Riboflavintetraacetat und dem Dihydropyridin **41** ist eine Reaktion 2.Ordnung. Die allgemeine Reaktionsgleichung hierfür lautet:



Für die Reaktionsgeschwindigkeit gilt dann folgende Gleichung:

$$v = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = k_2 \cdot [A] \cdot [B] \quad \text{Gleichung 1}$$

k_2 ist hierbei die Geschwindigkeitskonstante 2.Ordnung. Durch Integration und unter der Voraussetzung, dass A und B in gleichen Ausgangskonzentrationen vorliegen, gelangt man zum integrierten Zeitgesetz:

$$k_2 \cdot t = \frac{1}{[A]_0 - [A]_t} - \frac{1}{[A]_0} \quad \text{Gleichung 2}$$

Soll nun eine Absorptionsmessung kinetisch ausgewertet werden, so lässt sich *Gleichung 2* unter Verwendung von Extinktionen umformen:¹⁰¹

$$k_2 \cdot t = \frac{1}{[A]_0} \cdot \frac{E_{\lambda,t} - E_{\lambda,0}}{E_{\lambda,\infty} - E_{\lambda,t}} \quad \text{Gleichung 3}$$

Hierbei ist es allerdings problematisch, einen verlässlichen Wert für E_∞ zu finden. Eine ungünstige Wahl dieses Parameters führt zu großen Fehlern in der Geschwindigkeitskonstanten. Dieses Problem lässt sich aber durch eine Auswertung

nach Roseveare^{102,103} umgehen. Dabei gilt für gleiche Ausgangskonzentrationen der beiden Reaktanden folgendes integriertes Zeitgesetz:

$$\frac{E_{\lambda,t} - E_{\lambda,0}}{t} = -k_2 \cdot [A]_0 \cdot E_{\lambda,\infty} - k_2 \cdot [A]_0 \cdot E_{\lambda,t} \quad \text{Gleichung 4}$$

Aus Gleichung 4 lässt sich nun über die Geradensteigung der Auftragung von $(E_{\lambda,t} - E_{\lambda,0})/t$ gegen $E_{\lambda,t}$ die Geschwindigkeitskonstante k_2 bestimmen.

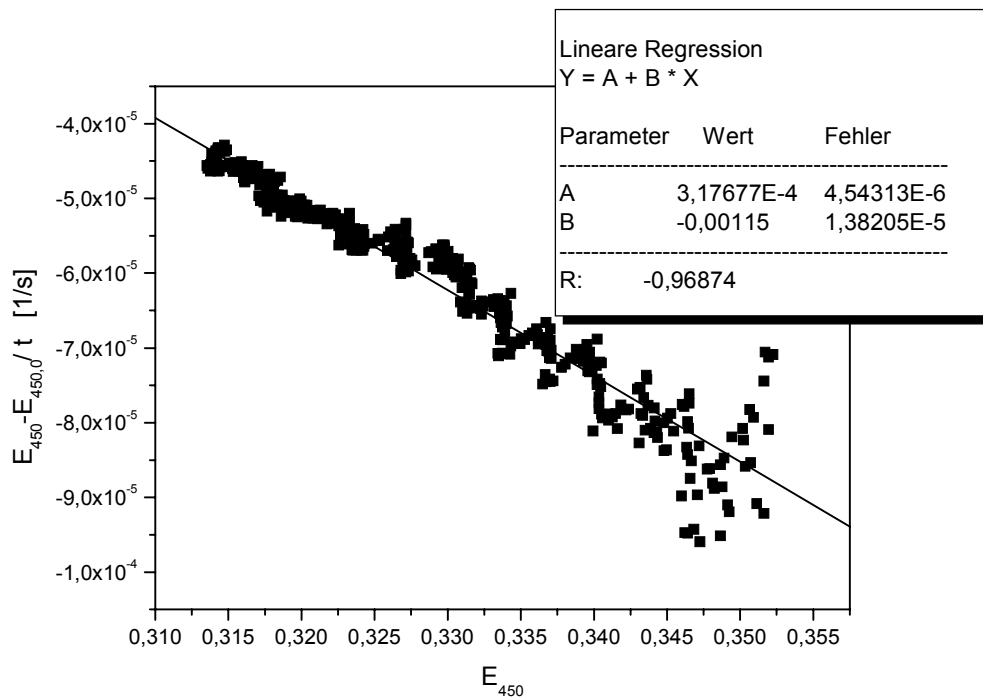


Abbildung 42: Auftragung nach Roseveare. Reaktion von Riboflavintetraacetat und 1eq **41** in HEPES/KOH-Puffer pH 7.4 bei 25°C ($c = 4.8 \cdot 10^{-5}$ mol/l). Detektion bei 450 nm.

Der zeitliche Verlauf der Reaktion von Riboflavintetraacetat mit dem Dihyronicotinamid **41** wird über die Änderungen der Absorptionen bei 450 nm verfolgt. Bei der Auswertung nach dem Roseveare-Verfahren ergibt sich eine Geschwindigkeitskonstante von $k_2 = 22.8 \pm 1.6 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Dabei wurde der Mittelwert aus insgesamt drei Messungen gebildet.

Flavin	Dihydronicotinamid	T [°C]	Solvens	Geschwindigkeitskonstante [l·mol ⁻¹ ·s ⁻¹]	Ref.
FMN	BNAH	25	Tris/HCl, pH 7	20.6	104
Lumiflavin	<i>N</i> -Propyl-1,4-dihydronicotinamid	25	Tris/HCl, pH 8	100	75
Lumiflavin	<i>N</i> -Methyl-1,4-dihydronicotinamid	25	Tris/HCl, pH 8	70	73
3-Methyl-lumiflavin	BNAH	30	KOH/H ₃ BO ₃ pH 8.9	22.3	79
Riboflavintetraacetat	41	25	HEPES/KOH pH 7.4	22.8	-

Tabelle 2: Vergleich der gemessenen Geschwindigkeitskonstante mit Literaturwerten.

In *Tab. 2* sind einige Literaturwerte von ähnlichen Systemen zusammengefasst. Dabei fügt sich der gemessene Wert für das System Riboflavintetraacetat und **41** größenordnungsmäßig gut ein. Ein direkter Vergleich mit der Geschwindigkeitskonstante zwischen FMN und *N*-Benzyl-1,4-dihydronicotinamid (BNAH) unter nahezu identischen Messbedingungen zeigt sogar im Bereich der Fehlergrenzen eine ziemlich genaue Übereinstimmung.

1.5.2. Auswertung der Kinetik zwischen Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellen nach Roseveare

Da die Auswertung der Vergleichsverbindung **41** mit dem Roseveare-Verfahren einen verlässlichen Wert geliefert hat, sollen nun die Geschwindigkeitskonstanten der Reaktion von Riboflavintetraacetat mit den NADH-Modellverbindungen ebenfalls nach dieser Methode berechnet werden.

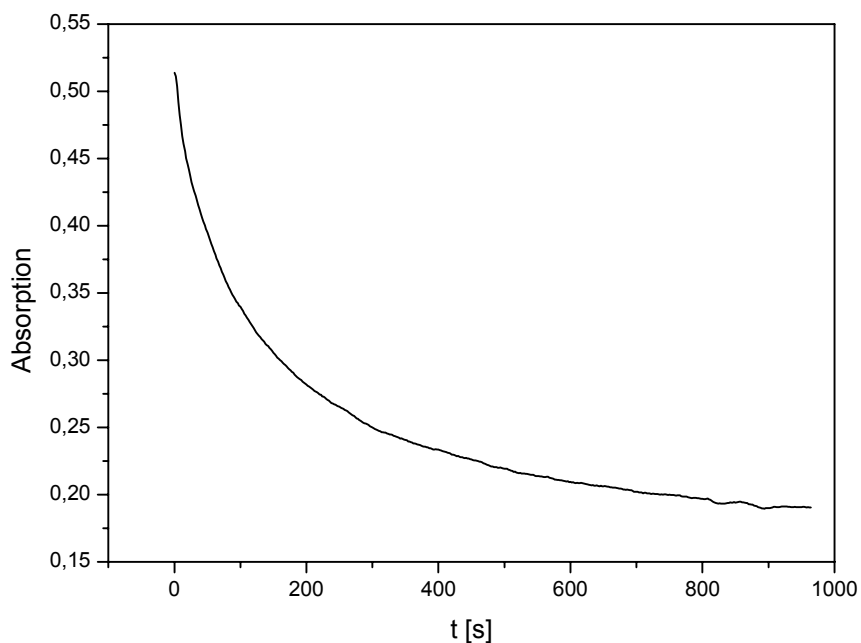


Abbildung 43: Zeitlicher Verlauf der Absorption bei 450 nm einer 1:1-Mischung von Riboflavintetraacetat und **21**. Gemessen in HEPES/KOH pH 7.4 bei 25°C und $c = 5 \cdot 10^{-5}$ mol/l.

In *Abb. 43* ist eine typische Zeit-Extinktions-Kurve einer äquimolaren Mischung aus Riboflavintetraacetat und einer NADH-Modellverbindung dargestellt. Wie schon aus der Form des Graphen ersichtlich wird, handelt es sich bei dieser Reaktion nicht um eine typische Reaktion 2.Ordnung. So liefert auch das Verfahren nach Roseveare nur für den Bereich zu Beginn der Reaktion eine lineare Auftragung (s. *Abb. 44*). Im späteren Verlauf scheint die Kinetik dann etwas komplexer zu werden. Daher werden nur die Anfangsgeschwindigkeiten der Reaktion nach der Methode von Roseveare bestimmt und der Kinetik von Verbindung **41** gegenübergestellt.

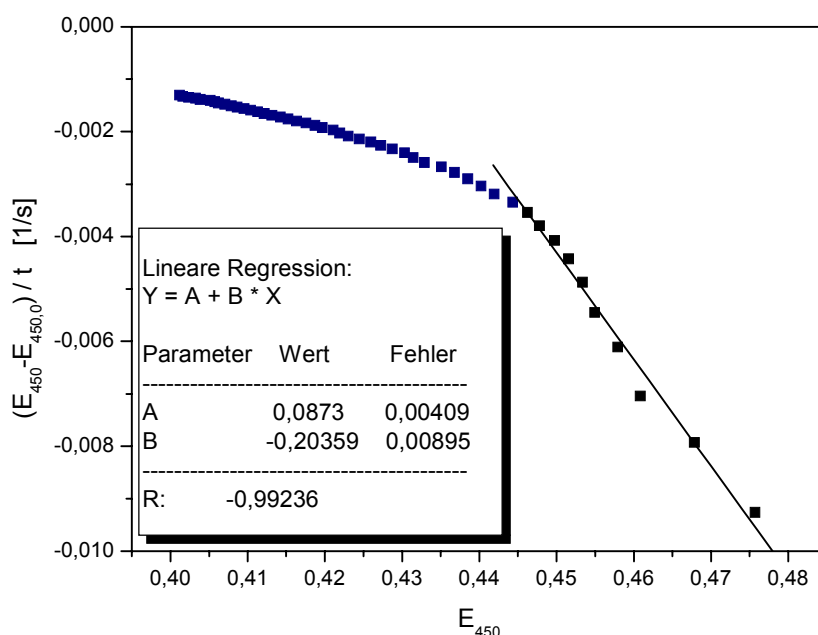


Abbildung 44: Auftragung nach Roseveare. Reaktion von Riboflavintetraacetat und 1eq **33** in HEPES/KOH-Puffer pH 7.4 bei 25°C ($c = 5 \cdot 10^{-5}$ mol/l). Linearer Verlauf nur zu Beginn der Reaktion.

Beim Vergleich der erhaltenen Geschwindigkeitskonstanten (s. Tab. 3) fällt insgesamt auf, dass alle Werte deutlich größer sind als derjenige für den Elektronentransfer zwischen Riboflavintetraacetat und Verbindung **41**. Außerdem zeigt die Reaktionsgeschwindigkeit eine deutliche Abhängigkeit von der Länge des Spacers zwischen der Flavin-Bindungsstelle und dem Dihyronicotinamid. NADH-Modell **21** besitzt den kleinsten Wert für k_2 . Mit wachsendem Abstand zum Zn(II)-Cyclen steigt die Geschwindigkeit zunächst an und fällt dann bei **39** wieder auf einen ähnlichen Wert wie bei **27**. Auffallend ist die hohe Geschwindigkeitskonstante von etwa $4000 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ für die Reaktion von **33** mit Riboflavintetraacetat, was einer Beschleunigung um den Faktor 175 gegenüber der Vergleichsverbindung **41** entspricht. Anscheinend können hier die beiden Reaktionspartner eine besonders günstige räumliche Anordnung zueinander einnehmen, so dass ein optimaler Elektronentransfer stattfinden kann. Während Verbindung **27** und **33** etwa gleich große Geschwindigkeitskonstanten aufweisen, ist der Wert für **21** deutlich kleiner. Möglicherweise besitzt der relativ kurze Spacer dieses Dihydropyridins eine vergleichsweise geringe Flexibilität.

NADH-Modell	k_2 [$\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$]	Beschlg. im Vgl. zu <u>41</u>
21	408 ± 26	18
27	671 ± 37	29
33	3998 ± 321	175
39	646 ± 67	28

Tabelle 3: Geschwindigkeitskonstanten der Reaktion von den NADH-Modellverbindungen mit 1 eq Riboflavintetraacetat in HEPES/KOH pH 7.4 ($c = 5 \cdot 10^{-5}$ mol/l). Detektiert spektrophotometrisch bei 450 nm und gemittelt aus jeweils drei Messungen.

1.5.3. Auswertung der Reaktion zwischen Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellen unter Berücksichtigung eines Assoziations-Gleichgewichtes

Eine realistischere Beschreibung des Elektronentransfers zwischen Riboflavintetraacetat und den NADH-Modellverbindungen ist in *Abb. 45* dargestellt.



Abbildung 45: Reaktion zwischen Riboflavintetraacetat (R) und Dihyronicotinamid (D) zu Flavohydroquinon (F) und Pyridinium (P).

Dabei bildet sich, zunächst reversibel, in einem vorgelagerten Assoziationsgleichgewicht eine Aggregat aus Riboflavintetraacetat und Dihyronicotinamid, welches anschließend intramolekular in einer Kinetik 1.Ordnung zu den Produkten weiterreagiert. Die Reaktion verläuft analog einer Enzymkinetik, die dem Michaelis-Menten-Mechanismus¹⁰⁵ gehorcht. Allerdings ist eine Auswertung nach diesem Mechanismus nicht möglich, weil beide Reaktionspartner im UV/VIS absorbieren und es daher nicht praktikabel ist, eine Spezies im großen Überschuss einzusetzen. Das apparativ maximal Mögliche ist die Verwendung von zwanzig Äquivalenten Dihyronicotinamid. Bei der Herleitung der Michaelis-Menten-Gleichung wird aber die Näherung gemacht, dass eine Komponente – in der Regel das Substrat – in einem großen Überschuss gegenüber dem Enzym eingesetzt wird.

Zur quantitativen Auswertung obiger Reaktion wird ausgehend von dem Assoziationsgleichgewicht $K_{ass} = \frac{[RD]}{[R] \cdot [D]}$ unter Verwendung der Konzentrationsbilanzen $[R]_0 = [R] + [RD]$ bzw. $[D]_0 = [D] + [RD]$ folgende Gleichung erhalten:¹⁰⁶

$$K_{ass} = \frac{[RD]}{([R]_0 - [RD]) \cdot ([D]_0 - [RD])} \text{ Gleichung 5}$$

Wird *Gleichung 5* nach $[RD]$ aufgelöst und anschließend unter Verwendung des Ausdrucks für die Reaktionsgeschwindigkeit $v = k_1 \cdot [RD]$ umgeformt, ergibt sich:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{2 \cdot k_1 \cdot [R]_0 \cdot [D]_0} \cdot \left([R]_0 + [D]_0 + \frac{1}{K_{ass}} + \sqrt{\left([R]_0 + [D]_0 + \frac{1}{K_{ass}} \right)^2 - 4 \cdot [R]_0 \cdot [D]_0} \right)$$

Gleichung 6

Mit Hilfe von *Gleichung 6* lassen sich nun bei bekannten Reaktionsgeschwindigkeiten und Konzentrationen Werte für die Geschwindigkeitskonstante 1. Ordnung k_1 und die Bindungskonstante K_{ass} zwischen Riboflavintetraacetat und den Dihyronicotinamiden bestimmen.

Dazu wird das Flavin in wässriger Pufferlösung bei pH 7.4 mit einem bis zehn Äquivalenten der NADH-Modellverbindungen versetzt und spektrophotometrisch die Reaktionsgeschwindigkeiten bei 460 nm und 25°C verfolgt.

In *Abb. 46* ist exemplarisch die Reaktion zwischen Riboflavintetraacetat und **33** dargestellt. Deutlich zu erkennen ist die Sättigungstendenz ab einem vierfachen Überschuss an Dihyronicotinamid. Die Werte von k_1 (*s. Tab. 4*) zeigen die gleiche Tendenz wie die Geschwindigkeitskonstanten 2. Ordnung. Auch hier wurde die höchste Reaktionsgeschwindigkeit für Dihyronicotinamid **33** gemessen. Die Assoziationskonstanten der unterschiedlichen NADH-Modellverbindungen zu Riboflavintetraacetat sind, im Rahmen der Fehlergrenzen, gleich groß und bewegen sich im Bereich von 10^4 l/mol. Ein Vergleich dieser Bindungsaffinität mit den potentiometrisch bestimmten Bindungskonstanten der entsprechenden Pyridiniumsalze zu Riboflavintetraacetat zeigt eine vier- bis fünffach stärkere Wechselwirkung der Dihyronicotinamide.

Beispielsweise wurde hier mit Hilfe des Auswerteprogramms Hyperquad 2000¹⁰⁷ aus den Titrationsdaten von Riboflavintetraacetat und **20** ein Wert von $K = 2700$ l/mol bei $\text{pH} = 7.5$ berechnet. Diese stärkere Affinität des Dihyronicotinamids zu Riboflavintetraacetat im Vergleich zur entsprechenden Pyridiniumverbindung lässt sich mit zusätzlichen Charge-Transfer Wechselwirkungen erklären (s. auch Abb. 15). Die Stärke dieser Interaktionen zwischen *N*-Methyldihyronicotinamid und einer Reihe von unterschiedlichen Flavinen wurde von Blankenhorn quantifiziert.⁷³ Dabei wurden in wässrigem Medium Bindungskonstanten von bis zu 10 l/mol gemessen.

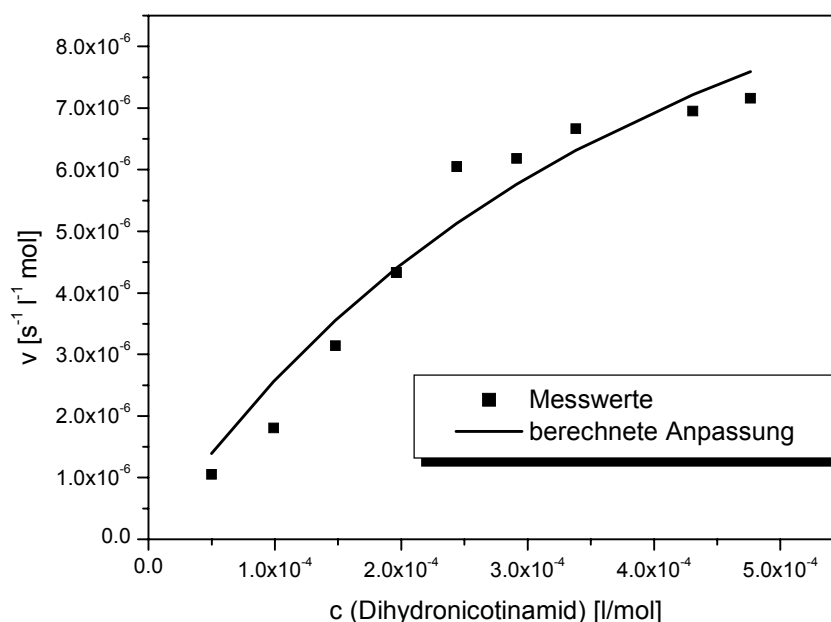


Abbildung 46: Auftragung der Anfangsgeschwindigkeiten gegen die Konzentration an 1,4-Dihyronicotinamid. Reaktion zwischen Riboflavintetraacetat ($c = 5 \cdot 10^{-5}$ mol/l in 2 ml 20mM HEPES/KOH-Puffer pH 7.4) und 1-10 eq **33** ($c = 0.01$ mol/l in CH_3CN) unter Argonatmosphäre. Detektion bei 460 nm und 25°C.

Die ähnlichen Assoziationskonstanten zwischen Riboflavintetraacetat und den vier NADH-Modellverbindungen lassen darauf schließen, dass die Unterschiede in den Geschwindigkeitskonstanten nicht auf verschiedene Bindungsstärken zurückzuführen sind, sondern auf geometrische Faktoren. Während der Redoxreaktion wird das Wasserstoffatom am C-4' des Dihyronicotinamids auf das N-5 des Flavins übertragen.⁷² Dabei stehen die beiden Ringsysteme parallel zueinander (s. auch Abb. 15

und 47) und der Abstand zwischen C-4' und N-5 beträgt 0.35 nm, wie durch Röntgenstrukturanalyse des Flavoenzyms Glutathion-Reduktase gezeigt wurde.¹⁰⁸ Anscheinend befinden sich im Aggregat zwischen Riboflavintetraacetat und **33** die bei der Reaktion beteiligten Atome C-4' und N-5 in einer besonders günstigen Anordnung zueinander, so dass ein effizienter Transfer des Wasserstoffatoms ermöglicht wird.

NADH-Modell	k_1 [s ⁻¹]	K_{ass} [l/mol]
21	0.040 ± 0.003	12000 ± 3400
27	0.053 ± 0.004	14000 ± 4000
33	0.318 ± 0.047	8000 ± 2900
39	0.052 ± 0.008	10200 ± 2000

Tabelle 4: Geschwindigkeits- und Assoziationskonstanten der Reaktion von den NADH-Modellverbindungen mit Riboflavintetraacetat.

1.6. Untersuchung des kinetischen Isotopeneffekts

Wie unter 1.1.2. dargelegt wurde, ist der Mechanismus von Reduktionen durch 1,4-Dihydronicotinamide umstritten. Daher soll nun, exemplarisch an einem Beispiel, der kinetische Isotopeneffekt der Redoxreaktion zwischen Riboflavintetraacetat und einer NADH-Modellverbindung gemessen werden. Dazu wird die Natriumdithionit-Reduktion des Pyridiniumsalzes **20** in D₂O durchgeführt, um das in 4-Position einfach deuterierte Dihydronicotinamid zu erhalten.¹⁰⁹ Dieses 1,4-Dihydronicotinamid wird dann unter den gleichen Bedingungen wie oben (*s. unter 1.5.*) mit Riboflavintetraacetat zur Reaktion gebracht. Die Auswertung ergibt eine Geschwindigkeitskonstante von $k_1 = 0.031 \pm 0.002 \text{ s}^{-1}$, was einem kinetischen Isotopeneffekt von $k_H/k_D = 1.29 \pm 0.09$ entspricht. Daraus lässt sich folgern, dass das Wasserstoffatom in 4-Position des Dihydronicotinamids im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt abgespalten wird. Dies spricht für eine Hydrid-Übertragung zwischen Dihydronicotinamid und Flavin in diesem System.

1.7. Schlussfolgerungen

Es wurde 1,4-Dihyronicotinamid kovalent mit einem Lewis-sauren azamacrocyclischen Zn(II)-Komplex funktionalisiert. Dabei wurde der Abstand zwischen dem redoxaktiven Dihydropyridin und der koordinativen Bindungsstelle systematisch variiert. Durch potentiometrische Titration konnte gezeigt werden, dass die dargestellten NADH-Modellverbindungen unter physiologischen Bedingungen mit Riboflavintetraacetat eine nicht-kovalente Wechselwirkung eingehen können.

Der Elektronentransfer zwischen den beiden Redoxcofaktoren wird durch diese Metall-Ligand Koordination signifikant beschleunigt, wobei sich eine deutliche Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten von der Spacerlänge zwischen Dihyronicotinamid und Bindungsstelle ergibt.

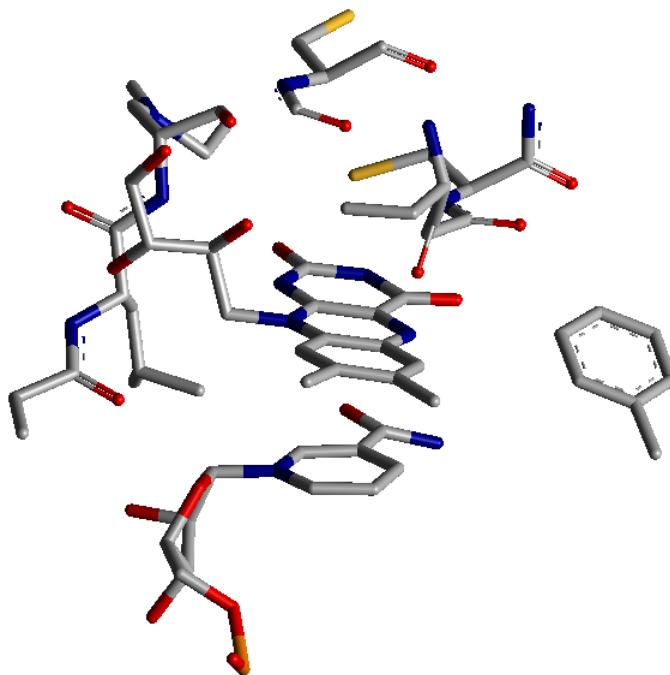


Abbildung 47: Anordnung des NADPH zum Flavin während der Redoxreaktion im Enzym Glutathion-Reduktase. Ausschnitt aus der Struktur Nr. 1GRB der Brookhaven Protein Datenbank.¹¹⁰

Diese Ergebnisse geben eine chemische Erklärung, warum die geometrische Anordnung der Cofaktoren NADH und FAD zueinander in den bisher strukturell untersuchten Flavoenzymen Glutathion-Reduktase,^{108,110-112} NADH-Peroxidase,¹¹³ Ferredoxin-Reduktase¹¹⁴ und Adrenodoxin-Reduktase¹¹⁵ sehr ähnlich ist, obwohl sich die

Funktionen und Eigenschaften dieser Enzyme unterscheiden. In allen genannten Proteinen ist das 1,4-Dihydropyridin nahezu parallel zum Flavin-Ringsystem angeordnet und in etwa deckungsgleich mit dem mittleren Ring des Isoalloxazins (s. *Abb. 47*). Der Abstand der Ringsysteme variiert dabei zwischen 0.31 und 0.38 nm. Anscheinend garantiert nur diese Geometrie einen effizienten Elektronen- bzw. Hydridtransfer zwischen 1,4-Dihydronicotinamid und Flavin.

2. Veränderung der Redoxeigenschaften von Flavin durch die Koordination an Zn(II)-Cyclen*

In biologischen Redoxprozessen spielen Flavine eine wichtige Rolle (*s. unter B.I.I.*). Dabei kann das Redoxpotential des Flavins durch die Proteinumgebung in einem Bereich von über 500 mV variiert werden.¹¹⁶ Dies lässt sich auch in chemischen Modellsystemen durch supramolekulare Interaktionen verwirklichen. So ist bekannt, dass sich die Redoxeigenschaften von Flavinen durch intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen¹¹⁷⁻¹²² und elektrostatische Wechselwirkungen¹²³ verändern lassen. Bisher nicht untersucht wurde der Einfluss von reversiblen koordinativen Metall-Ligand – Wechselwirkungen auf das Redoxpotential des Flavins. Dies soll nun am Beispiel der Bindung von Flavin durch die Zn(II)-Cyclen – Imid Wechselwirkung (*s. unter A.I.I.*) geschehen.

Da ein Studium der elektrochemischen Eigenschaften im wässrigen Milieu durch das relativ kleine elektrochemische Fenster erschwert ist, müssen hydrophobe Moleküle verwendet werden. Daher werden für die Untersuchungen 10-Butylflavin **42**¹²⁴ und 1,4,7,10-Tetradodecyl-tetraaza-cyclododecan-zink(II)-diperchlorat **43**¹²⁵ genutzt.

2.1. Bestimmung der Affinität zwischen **42** und **43** durch NMR-Titration

Zunächst wird die Bindung zwischen **42** und **43** durch ein NMR-Titrationsexperiment¹²⁶ in CDCl₃ verifiziert. Dabei wurde eine Affinitätskonstante von $\geq 10^5$ l/mol abgeschätzt. Dieser Wert ist so hoch, dass durch NMR-Titration keine genauere Bestimmung der Bindungskonstante mehr möglich ist. Es wird aber deutlich, dass die Wechselwirkung zwischen **42** und **43** stark genug ist, um die Redoxeigenschaften des Flavins deutlich zu beeinflussen.

* Die Ergebnisse dieses Projekts wurden bereits veröffentlicht: König, B.; Pelka, M.; Reichenbach-Klinke, R.; Schelter, J.; Daub, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2297-2303.

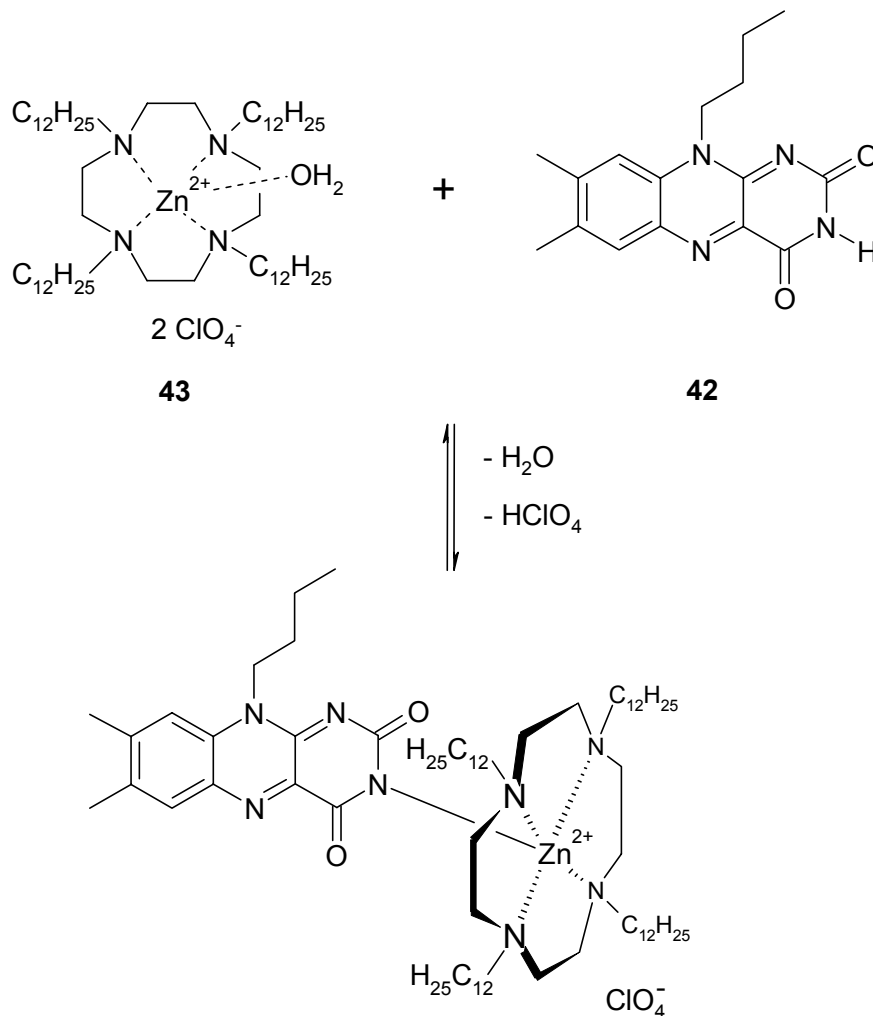


Abbildung 48: Aggregat zwischen 10-Butylflavin **42** und 1,4,7,10-Tetradodecyl-tetraaza-cyclododecan-zink(II)-diperchlorat **43**.

2.2. Cyclovoltammetrische Untersuchung von **42** in Gegenwart von **43**

Die elektrochemischen Eigenschaften des 10-Butylflavins wurden mittels Cyclovoltammetrie^{127,128} in Dichlormethan bestimmt.

Das Cyclovoltammogramm von reinem **42** (Abb. 49) zeigt die typische Form eines Flavins in aprotischem Milieu und lässt sich mit einem ECE (elektrochemisch-chemisch-elektrochemisch) – Mechanismus erklären.¹²⁹ Zunächst wird das Flavin-Radikalanion (Fl_{rad}⁻) erzeugt, welches dann teilweise durch das imidische Wasserstoffatom eines anderen Flavinmoleküls protoniert wird und so das neutrale Flavosemiquinon (Fl_{rad}H) bildet. Das Flavosemiquinon wird schließlich

elektrochemisch zum Flavohydroquinon-Anion ($\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$) reduziert. Die Reoxidation geschieht dann in zwei getrennten Stufen, wobei Fl_{rad}^- bei einem negativeren Potential oxidiert wird als $\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$.

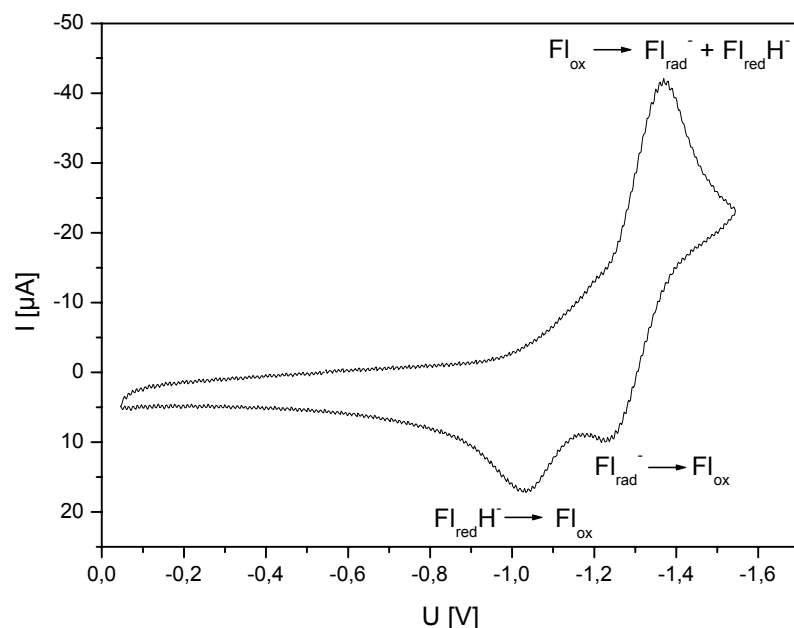


Abbildung 49: Cyclovoltammogramm von 10^{-3} mol/l **42** in CH_2Cl_2 mit 0.1 mol/l $\text{NBu}_4^+ \text{BF}_4^-$. Geeicht gegen Fc/Fc^+ . Scangeschwindigkeit 500 mV/s.

In Gegenwart von **43** verändert sich das Cyclovoltammogramm des Flavins **42** deutlich (*Abb. 50*). Der Reduktionspeak wird von -1.37 V nach -1.31 V verschoben, d.h. die Reduktion zu Fl_{rad}^- bzw. $\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$ wird durch die Koordination des Flavins an **43** erleichtert. Außerdem verschwindet die Oxidationsstufe bei -1.22 V vollständig, welche der Oxidation von Fl_{rad}^- zuzuordnen ist. Daraus lässt sich schließen, dass bei der Reduktion nun ausschließlich $\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$ gebildet wird. Der Peak bei -1.03 V, welcher der Oxidation von $\text{Fl}_{\text{red}}\text{H}^-$ entspricht, verschwindet ebenfalls. Gleichzeitig taucht aber eine neue Oxidationsstufe bei -0.33 V auf. Das bedeutet, dass durch die Wechselwirkung des Flavins an den Lewis-aciden Zn(II)-Komplex das Flavohydroquinon-Anion um 700 mV stabilisiert wird.

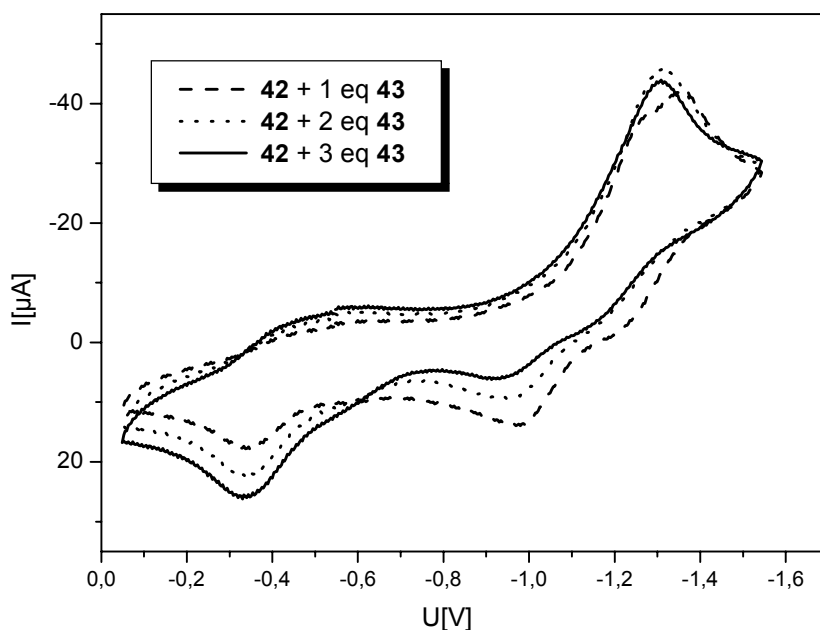


Abbildung 50: Cyclovoltammogramm von 10^{-3} mol/l **42** in Gegenwart von **43** in CH_2Cl_2 mit 0.1 mol/l $\text{NBu}_4^+ \text{BF}_4^-$. Geeicht gegen Fc/Fc^+ . Scangeschwindigkeit 500 mV/s.

Ähnliche aber viel weniger stark ausgeprägte Effekte wurden bei der Koordination von Flavin durch Wasserstoffbrückenbindungen beobachtet. Hierbei wurde das Flavin-Radikalanion um 233 mV¹³⁰ bzw. 155 mV¹³¹ stabilisiert.

Es wurde gezeigt, dass es möglich ist, die Redox Eigenschaften von Flavinen durch die Koordination an ein Lewis-acides Metallzentrum zu verändern. Dabei wurden sogar stärkere Effekte beobachtet als bei den bisher bekannten Systemen, die vor allem auf Wechselwirkungen über Wasserstoffbrückenbindungen basieren.

3. Molekulare Erkennung von Vitamin B 2 durch polymergebundenes Zn(II)-Cyclen*

Die quantitative Bestimmung von Vitamin B 2 (Riboflavin) im Urin, in Blutplasma und in Vitamintabletten ist von analytischer Bedeutung.¹³²⁻¹³⁴ Daher soll nun, basierend auf der Zn(II)-Cyclen – Imid Bindung (s. *unter A.1.1.*), eine quantitative Analytik von Riboflavin entwickelt werden.

3.1. Synthese von polymergebundenem Zn(II)-Cyclen

Um dies zu erreichen, wird zunächst ein Polymer mit Zn(II)-Cyclen Bindungsstellen funktionalisiert. Dazu wird 1,4,7-Tris-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10** an Fractogel[®] EMD Epoxy (Merck) – ein Polymer, welches reaktive Epoxidgruppen trägt – gekoppelt. Anschließend werden die Boc-Schutzgruppen durch Behandlung mit TFA abgespalten. Aus der Elementaranalyse von **44** lässt sich die Beladung des Polymers berechnen (0.14 mmol Cyclen / g Polymer).

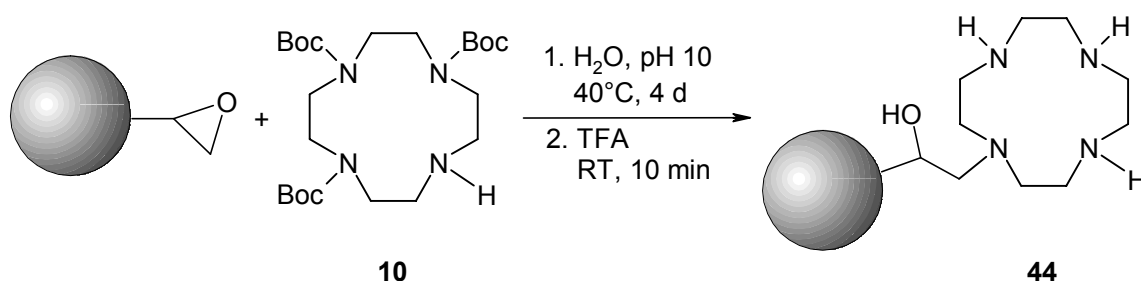


Abbildung 51: Synthese des polymergebundenen Cyclen **44**.

Im nächsten Schritt wird aus **44** durch Umsetzung mit Zink(II)-perchlorat-hexahydrat der entsprechende Zn(II)-Komplex hergestellt. Dieser weist eine Beladung von 0.15 mmol Zn(II)-Cyclen pro Gramm Polymer auf, was im Rahmen der Fehlergrenze mit dem für **44** erhaltenen Wert übereinstimmt. Man kann also davon ausgehen, dass die Azamacrocyclen vollständig durch Zn²⁺ komplexiert wurden.

* Die Ergebnisse dieses Projekts wurden bereits veröffentlicht: König, B.; Gallmeier, H.-C.; Reichenbach-Klinke, R. *Chem. Commun.* **2001**, 2390-2391. Die Experimente wurden in enger Zusammenarbeit mit H.-C. Gallmeier durchgeführt.

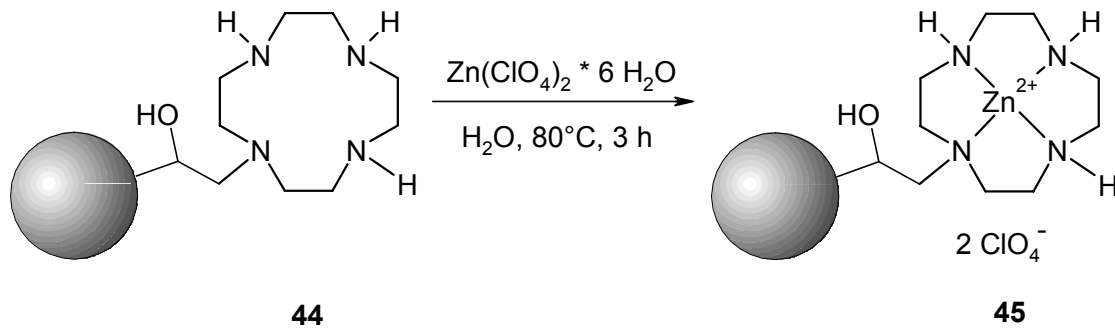


Abbildung 52: Synthese des polymergebundenen Zn(II)-Cyclen **45**.

3.2. Bindung von Riboflavin bzw. Riboflavintetraacetat an **45**

Aufgrund der großen Anzahl von Bindungsstellen auf dem Polymer **45**, sollte eine quantitative Isolierung von Flavin aus einer wässrigen Lösung möglich sein. Um dies zu verifizieren, wurden 1.0 g **45** in eine Chromatographiesäule gefüllt und 10 ml einer physiologischen Riboflavinlg. ($c = 4.9 \cdot 10^{-5}$ mol/l in Tris/HCl pH 7.4) über das Polymer gegeben.

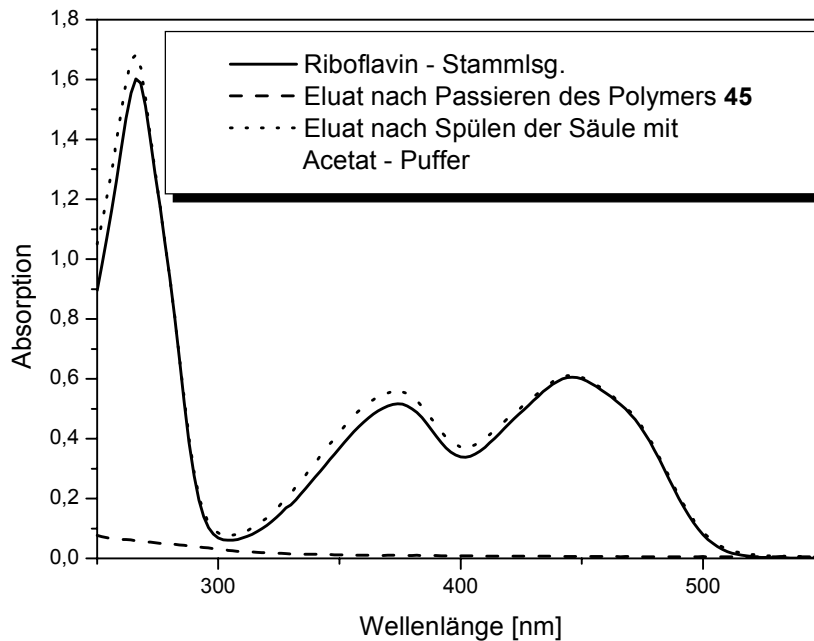


Abbildung 53: UV/VIS-Spektren der verschiedenen Pufferlösungen.

Wie in *Abb. 53* deutlich zu erkennen ist, wurde das Riboflavin quantitativ gebunden. Die typischen Absorptionen des Flavins sind im Eluat nach dem Passieren der polymerbeladenen Säule komplett verschwunden. Außerdem ist es möglich das gebundene Flavin mit einem schwach sauren Puffer (Acetatpuffer, pH 4.4) wieder vollständig vom Polymer herunterzuwaschen. Das erhaltene Spektrum der sauren Waschlösung ist identisch mit demjenigen der Riboflavin-Stammlösung vor dem Eluieren über **45**.

Um sicherzugehen, dass es sich bei der beobachteten Bindung nicht nur um Adsorption am polymeren Material handelt, wird ein direkter Vergleich mit einem Fractogel[®] EMD Epoxy durchgeführt, welches durch Behandeln mit Glycin deaktiviert wurde und keine Bindungsstellen für Flavin aufweist. Dazu wurde eine Riboflavintetraacetatlg. ($c = 5.5 \cdot 10^{-5}$ mol/l in Tris/HCl pH 7.4) über die beiden verschiedenen Polymere gegeben und anschließend die UV/VIS-Spektren der Eluate gemessen.

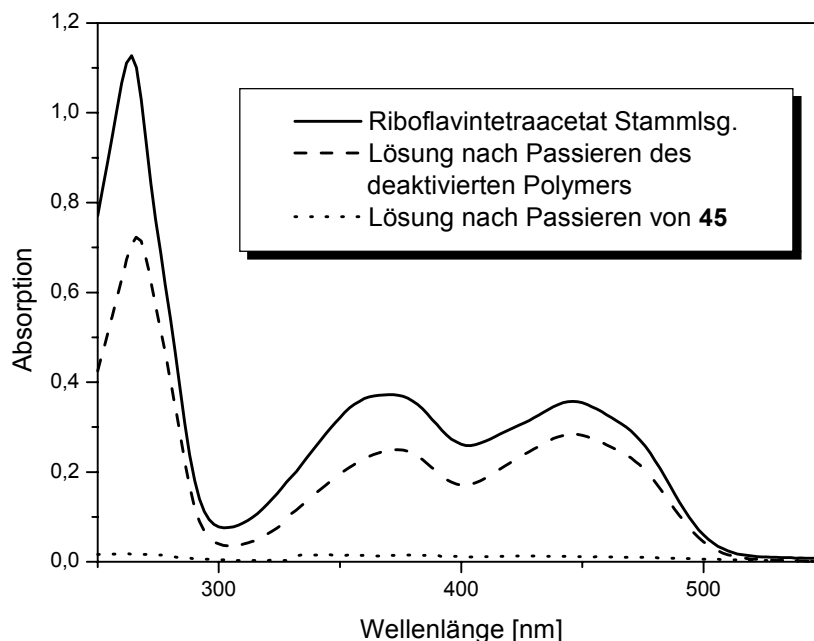


Abbildung 54: Vergleich von **45** mit einem Polymer ohne Zn(II)-Cyclen Bindungsstellen.

Wie in *Abb. 54* zu sehen ist, adsorbiert nur ein kleiner Teil des Flavins unspezifisch am Polymer. Durch anschließendes Waschen mit reinem Puffer lässt sich dieses adsorbierte Riboflavintetraacetat leicht wieder vom Polymer entfernen.

3.3. Quantitative Bestimmung von Riboflavin in einer Vitamintablette

Nachdem gezeigt wurde, dass Riboflavin reversibel an dem Polymer **45** gebunden werden kann, soll nun eine quantitative Analytik des Flavins in einer Vitamintablette[§] durchgeführt werden. Dazu wird die Tablette in wässriger NaOH gelöst, so dass sich ein pH zwischen 8 und 9 ergibt.

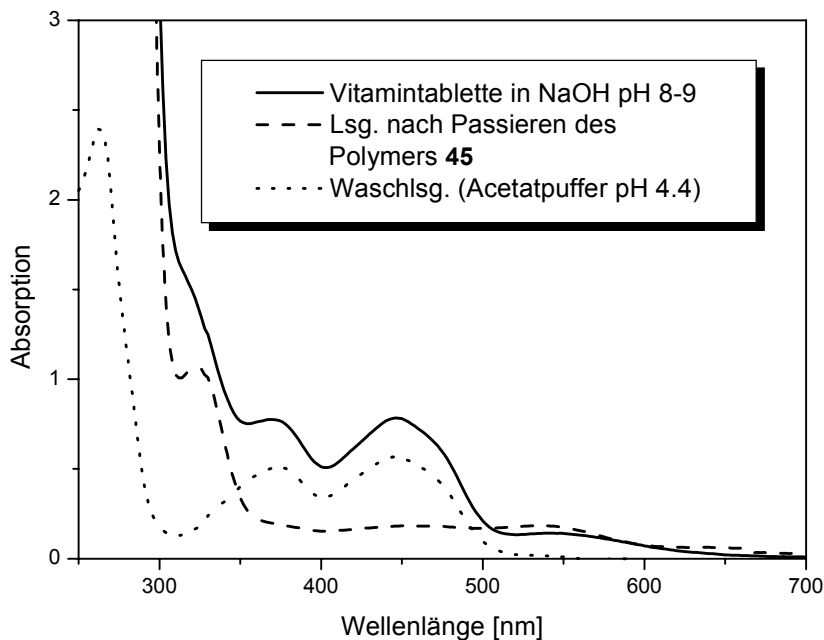


Abbildung 55: UV/VIS-Spektren der unterschiedlichen Lösungen.

Im Absorptionsspektrum der Vitamintablette (*Abb. 55*) sind deutlich die charakteristischen Peaks des Riboflavin zu erkennen. Nach dem Eluieren über das Polymer **45** sind diese Absorptionen verschwunden, d.h. das Flavin wurde vollständig

[§] Die Vitamintablette mit Orangengeschmack der Firma Krüger GmbH enthält in 100 g neben 35.6 mg Riboflavin: Vitamin B1(31.1 mg), Vitamin B6 (44.4. mg), Nicotinamid (400 mg), Folsäure (4.4 mg), Vitamin B12 (22.2 µg), Biotin (3.3 mg), Vitamin C (1.33 g), Vitamin E (222 mg), Pantothenensäure (133 mg), Kohlenhydrate (7.2 g). Weitere Zutaten sind: Citronensäure, Fructose, Stärke, Natriumbicarbonat, Farbstoff aus Roter Beete, Natriumcyclamat und Natriumsaccharin.

am Polymer gebunden. Nach anschließendem Waschen des Polymers mit Acetatpuffer pH 4.4 sind im Spektrum der Waschlösung nur die typischen Peaks von Riboflavin zu erkennen. Daraus lässt sich folgern, dass von der Vielzahl der in der Vitamintablette enthaltenen Substanzen ausschließlich das Flavin gebunden wurde. Die quantitative Auswertung des Absorptionsspektrums der Waschlösung ergibt einen Riboflavingehalt von 1.7 mg pro Tablette. Dieser Wert zeigt im Rahmen der Fehlergrenzen eine gute Übereinstimmung mit der Herstellerangabe (1.6 mg/Tablette).

4. Synthese und Untersuchung eines Thiol-funktionalisierten Zn(II)-Cyclen Komplexes

Self-assembled Monolayers (SAM) von Alkanthiolen auf Goldoberflächen besitzen vielfältige Anwendungsmöglichkeiten in der Sensorik.¹³⁵⁻¹³⁷ Aufgrund der spezifischen Bindung von Imiden (vgl. unter A.I.1.) sollten mit Zn(II)-Cyclen funktionalisierte SAM's interessante Anwendungen besitzen. Unter diesem Gesichtspunkt soll nun ein Thiol-funktionalisiertes Zn(II)-Cyclen synthetisiert werden und daraus SAM's hergestellt werden.

4.1. Synthese und potentiometrische Untersuchung von **48**

Die Synthese beginnt mit der Umsetzung von 1,4,7-Tris-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10** mit Thiiran. Nach mehreren Tagen Reaktionszeit wird das Thiol **46** in einer hohen Ausbeute von 98 % isoliert. Es schließen sich die Abspaltung der Boc-Schutzgruppen mit HBr in Eisessig und Umsetzung mit $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ zum Komplex **48** an.

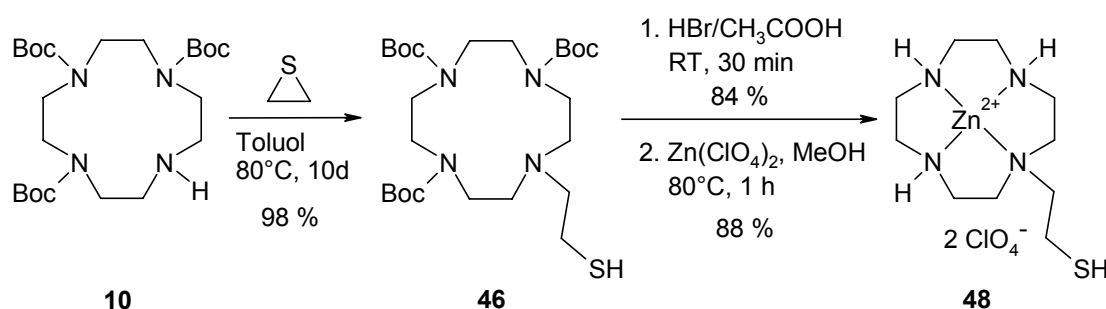


Abbildung 56: Synthese des Thiols **48**.

Die $\text{p}K_s$ -Werte des freien Liganden **47** und die Komplexbildungskonstante mit Zn^{2+} wurden durch potentiometrische Titration in wässrigem Medium bestimmt. Bei der Titration von **47** wurden drei $\text{p}K_s$ -Werte gemessen (s. Abb. 57). Diese wurden den sekundären Aminen im Azamacrocyclen zugeordnet, obwohl unter den Messbedingungen auch eine Deprotonierung des Thiols möglich sein könnte, wie ein

Vergleich mit den pK_s -Werten von Ethanthiol ($pK_s = 10.6$ in H_2O bei $25^\circ C$)¹³⁸, 2-Amino-ethanthiol ($pK_s = 8.35$ in H_2O bei $25^\circ C$ und $I = 0.02$)¹³⁹ oder 2-(*N,N*-Dimethylamino)-ethanthiol ($pK_s = 7.74$ in H_2O bei $25^\circ C$)^{140,141} zeigt. Für diese Zuordnung spricht aber, dass bei vergleichbaren alkylierten Cyclenderivaten ähnliche Werte erhalten wurden (vgl. unter B.1.3.). Außerdem wurde durch Elementaranalyse festgestellt, dass **47** als Trihydrobromid vorliegt und eine unvollständige Deprotonierung der Amine würde eine Komplexierung des Zn^{2+} -Ions, welches fest im Azamacrocyclus gebunden wird ($\log K = 10.4$), unmöglich machen.

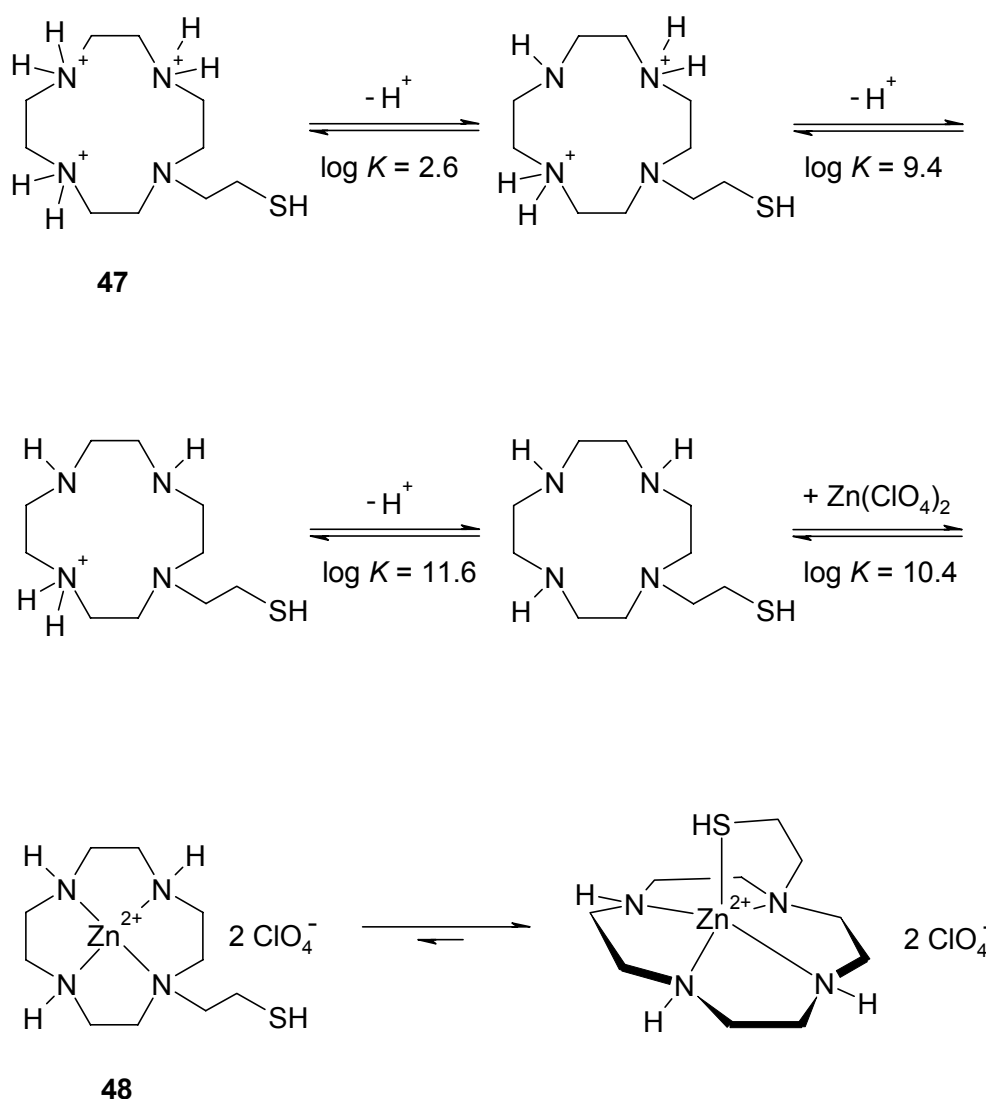


Abbildung 57: Durch potentiometrische Titration bestimmte Gleichgewichtskonstanten.

Überraschenderweise konnte weder in reinem Wasser noch in MeOH / H₂O = 9:1 ein pK_s-Wert für das axial koordinierte Wassermolekül beobachtet werden. Dies könnte bedeuten, dass, wie in *Abb. 57* dargestellt, anstatt eines Wassermoleküls die wesentlich nucleophilere Thiolgruppe intramolekular an das Zn(II)-Zentrum koordiniert.

4.2. Kapazitive Untersuchungen von **48** auf einer Goldoberfläche *

Die Beschichtung der Goldoberflächen geschieht mit einer Mischung aus **48** und Alkylthiolen nach der spreader-bar Technik.^{142,143} Als Alkylthiole wurden 1-Dodecanthiol und 1-Hexanthiol verwendet. Die Beschichtungslösungen enthielten den Rezeptor **48** (c = 1 mmol/l) und das jeweilige Alkanthiol (c = 10 µmol/l). Als Lösungsmittel wurde Methanol verwendet. Die Beschichtung erfolgte durch Selbstorganisation bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 75 Stunden.

Die kapazitiven Untersuchungen^{144,145} der sechs beschichteten Goldelektroden (jeweils drei mit dem gleichen Alkanthiol) ergaben spezifische Kapazitäten zwischen 36.7 und 41.9 µF·cm⁻². Diese Werte liegen im Bereich von nahezu unbeschichteten Elektroden. Auch eine Erhöhung der Alkanthiolkonzentration auf 100 µmol/l führte zu unverändert hohen spezifischen Kapazitäten. Nur bei einer Elektrode von insgesamt fünf wurde eine niedrigere Kapazität von 26.0 µF·cm⁻² gemessen.

Abb. 58 zeigt die Messung der Elektrode mit der niedrigen Kapazität von 26.0 µF·cm⁻². Allerdings ist auch dieser Wert noch ziemlich hoch, da in bisher erfolgreich untersuchten Systemen die Kapazitätswerte unter gleichen Messbedingungen in einer Größenordnung von 6 bis 15 µF·cm⁻² liegen. Außerdem deutet der Drift im Messsignal auf eine unzureichende Stabilisierung der Monoschicht hin, verbunden mit einer möglichen Desorption von Alkanthiolen oder **48** von der Oberfläche. Die Kapazitätserniedrigungen nach Analytzugabe könnten eine mögliche Bindung des Thymins an den Rezeptor **48** anzeigen. Dies ist aber nicht sicher, da auch eine unspezifische Adsorption von Thymin auf der unvollständig bedeckten Goldelektrode möglich ist.

* Diese Untersuchungen wurden von Thomas Hirsch in der Arbeitsgruppe von V. Mirsky am Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik der Universität Regensburg durchgeführt.

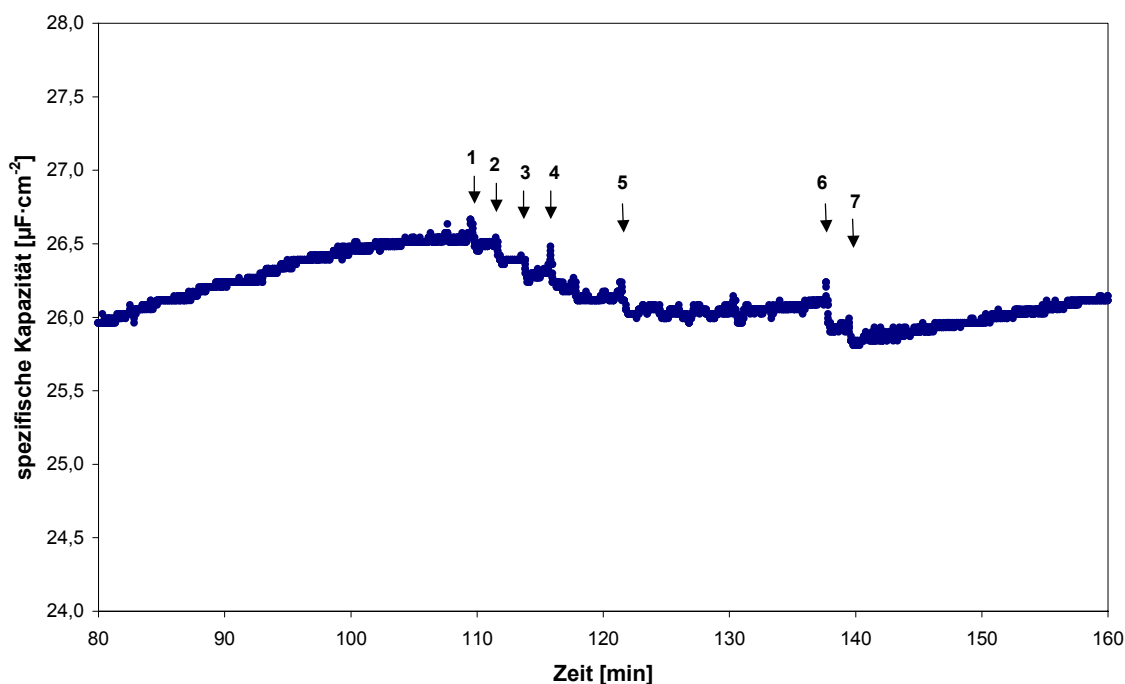


Abbildung 58: Messprotokoll einer Goldelektrode, beschichtet mit **48** und 1-Hexanthiol. Die Pfeile 1 bis 7 markieren die Zugabe von Thymin (jeweilige Thyminkonzentration in der Messzelle: 1 = 5 µmol/l, 2 = 10 µmol/l, 3 = 20 µmol/l, 4 = 40 µmol/l, 5 = 80 µmol/l, 6 = 160 µmol/l, 7 = 320 µmol/l).

4.3. Untersuchung der Esterhydrolyseaktivität von **48**

Da der zu **48** analoge Hydroxyl-funktionalisierte Komplex **4** eine hohe Aktivität in der katalytischen Esterhydrolyse aufweist⁹⁶ (s. auch unter A.1.2.), erscheint es wegen der generell besseren Nucleophilie von Thiolen im Vergleich zu Alkoholen vielversprechend, das Thiol-Zn(II)-Cyclen **48** auf seine hydrolytische Aktivität zu testen.

Dazu wurde zunächst die Hydrolyse von 4-Nitrophenylacetat (NA) durch Zn(II)-Cyclen unter den gleichen Bedingungen wie für Komplex **4** beschrieben⁹⁶ untersucht. Die Messungen wurden bei pH 8.7 in 20 mM HEPES/KOH-Puffer durchgeführt, welcher mit NaCl auf eine Ionenstärke von $I = 0.1$ eingestellt wurde. Um eine Löslichkeit von NA zu erreichen, wurden der wässrigen Pufferlösung 20% (v/v) Acetonitril zugesetzt. Die Zunahme der Absorption des 4-Nitrophenolat-anions bei 400 nm wurde UV/VIS-spektroskopisch bei einer Temperatur von 25°C verfolgt. Die Konzentration an NA betrug $1.8 \cdot 10^{-4}$ mol/l bei einem fünffachen Überschuss an Zn(II)-Cyclen. Um die

Hintergrundhydrolyse des NA durch den wässrigen Puffer zu eliminieren, diente als Referenz eine Küvette mit reiner NA-Lösung.

In *Abb. 59* ist eine typische Messkurve dargestellt. Deutlich zu erkennen ist der Anstieg der Absorption nach der Zugabe von Zn(II)-Cyclen bei 100 s Messzeit. Durch lineare Regression wird aus der Geraden die Reaktionsgeschwindigkeit bestimmt. Aus insgesamt drei Messungen wird ein Wert von $k = (6.12 \pm 0.10) \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ erhalten. Wird dieser Wert durch die Konzentration an Zn(II)-Cyclen geteilt, so ergibt sich die Geschwindigkeitskonstante 2.Ordnung zu $k_2 = 0.068 \pm 0.001 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Die gemessene Geschwindigkeitskonstante liegt in der Größenordnung des Literaturwerts¹⁴⁶ von $k_2 = 0.10 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, welcher etwas größer ist, da er bei einem höheren pH-Wert von 9.3 bestimmt wurde.

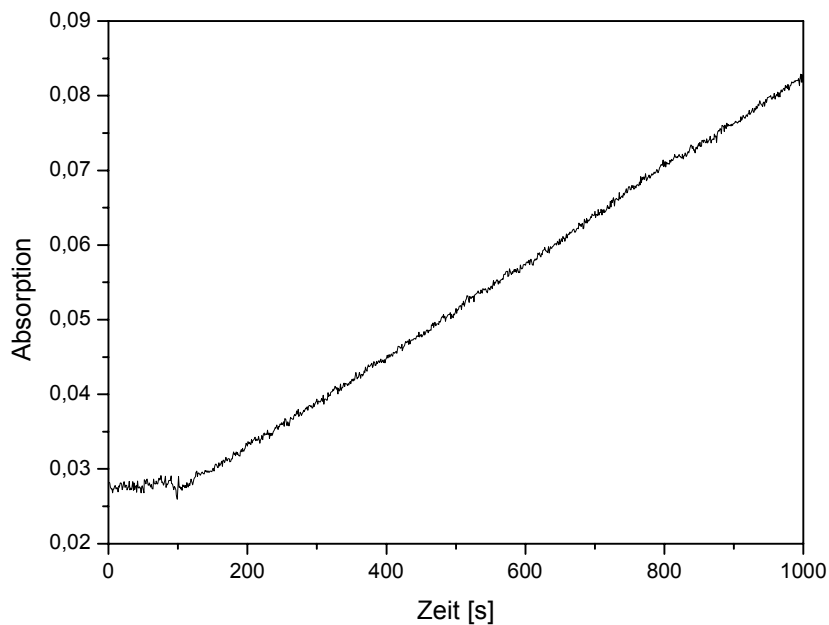


Abbildung 59: Zeitlicher Verlauf der Absorption bei 400 nm einer $1.8 \cdot 10^{-4}$ molaren NA-Lsg. mit $9 \cdot 10^{-4}$ mol/l Zn(II)-Cyclen. Zugabe des Zn(II)-Cyclens nach 100 s Messzeit.

Die Untersuchung der Hydrolyse von NA durch **48** unter gleichen Bedingungen ergibt eine Geschwindigkeitskonstante von $k_2 = 0.012 \pm 0.003 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Das bedeutet, dass **48** im Gegensatz zu **4** eine geringere Hydrolyseaktivität aufweist als Zn(II)-Cyclen.

Während **4** vier- bis fünfmal schneller NA spaltet als Zn(II)-Cyclen, hydrolysiert **48** um den Faktor fünf bis sechs langsamer als Zn(II)-Cyclen.

4.4. Schlussfolgerung

Weder brachte die Esterhydrolyse mit **48** eine Aktivitätssteigerung, noch konnte **48** erfolgreich auf einer Goldoberfläche immobilisiert werden. Eine Ursache für dieses unerwartete Verhalten könnte sein, dass die Thiolgruppe in **48** größtenteils intramolekular an das Zn^{2+} -Kation koordiniert ist und daher nicht für eine Reaktion mit NA oder für eine Bindung an Goldoberflächen zur Verfügung steht. Diese Vermutung wird durch die Ergebnisse der potentiometrischen pH-Titration gestützt. Außerdem konnte im IR-Spektrum von **48** keine SH-Schwingung im charakteristischen Bereich von 2550 cm^{-1} bis 2600 cm^{-1} beobachtet werden. Auch im ^1H -NMR-Spektrum ist bei der zu erwartenden chemischen Verschiebung kein Thiol-Signal zu finden.

5. Synthese und Eigenschaften von azamacrocyclischen Zn(II)-Hydroxylamin – Komplexen

5.1. Einführung

Die Strukturen von Hydroxylamin-Komplexen besitzen eine große Vielfalt.¹⁴⁷ Das Hydroxylamin kann sowohl über den Stickstoff, als auch mit dem Sauerstoff an ein Metallatom binden (s. Abb. 60). Im deprotonierten Zustand ist zusätzlich eine side-on – Koordination möglich. Dieses Strukturmotiv wird von Metallen in hohen Oxidationsstufen (z. B. Ti(IV), V(V), Mo(IV) und U(IV)) bevorzugt und taucht auch im Naturstoff Amavadin (Vanadium-Komplex von Oxyimino-2,2'-dipropionat) auf.¹⁴⁸⁻¹⁵¹

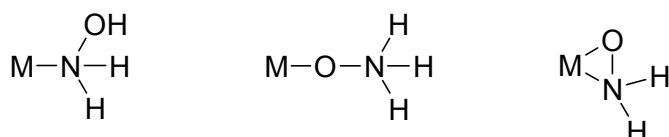


Abbildung 60: Verschiedene Koordinationsmöglichkeiten in Hydroxylamin-Komplexen.

Während freies Hydroxylamin nur einen sehr schwach ausgeprägten Säurecharakter besitzt ($pK_s = 13.7$ ¹⁵²), wird durch die Koordination an das Metallatom der pK_s -Wert der Hydroxylgruppe deutlich abgesenkt (s. Abb. 61).

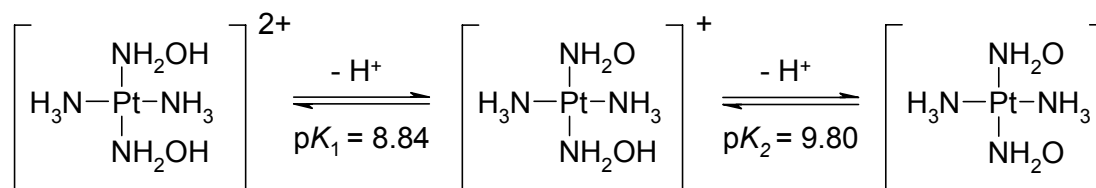


Abbildung 61: Deprotonierung der Hydroxylamin-Liganden in $\text{trans}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{NH}_2\text{OH})_2]^{2+}$.¹⁴⁷

Azamacrocyclische Hydroxylamin-Komplexe sind bislang kaum bekannt. Sargeson *et al.* synthetisierten verschiedene macrobicyclische Co(III)-Komplexe, welche bis zu drei Hydroxylamingruppen aufweisen.^{153,154} Auch hier wurde eine signifikante Acidität der Hydroxylamine (pK_s 2.8 – 6) beobachtet.

Aufgrund dieser aciden Hydroxylgruppen sollten Hydroxylaminderivate des Zn(II)-Cyclens interessante Rezeptoreigenschaften aufweisen. Hier wären dann in direkter Nachbarschaft zum Lewis-aciden Zn(II)-Zentrum leicht deprotonierbare OH-Gruppen vorhanden, welche Wasserstoffbrücken oder ionische Wechselwirkungen ausbilden können. Daher ist die Synthese und Untersuchung von Hydroxylaminderivaten des Zn(II)-Cyclens eine interessante Herausforderung und soll im folgenden dargestellt werden.

5.2. Synthese neuer Mono- und Dihydroxylamin-Komplexe basierend auf Zn(II)-Cyclen

Sargeson *et al.* gehen bei ihrer Synthese direkt von den azamacrobicyclischen Co(III)-Komplexen $[\text{Co}(\text{Cl}_2\text{sar})]^{3+}$ bzw. $[\text{Co}(\text{NO}_2)_2\text{sar}]^{3+}$ (sar = 3,6,10,13,16,19-hexabicyclo [6.6.6]icosan) aus.¹⁵⁴ Diese werden, um die entsprechenden Hydroxylamine zu erhalten, mit Wasserstoffperoxid umgesetzt. Der Nachteil bei dieser Syntheseroute ist, dass bei der Umsetzung schwer zu trennende Produktgemische aus Mono-, Di- und Trihydroxylamin-Komplexen entstehen. Daher wird hier eine anderer Zugang ausgehend von der Derivatisierung des freien Liganden mit Hydroxylamingruppen und anschließender Komplexierung gewählt.

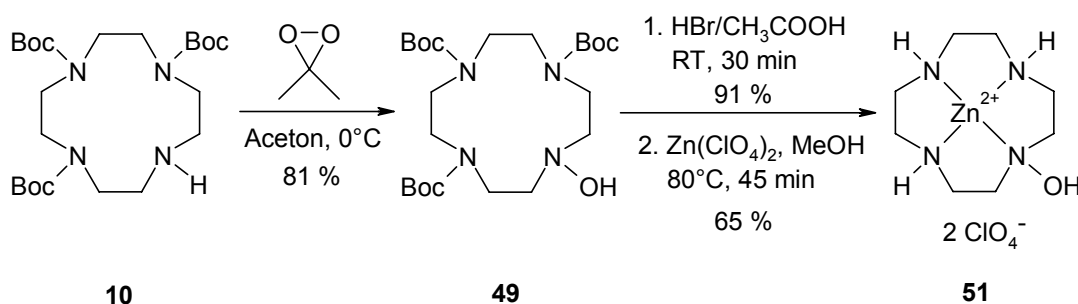


Abbildung 62: Synthese des Komplexes 51.

Zur Synthese des Monohydroxylamin-Komplexes wird 1,4,7-Tris-*tert*-butyloxy-carbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10**⁸⁸ mit Dimethyldioxiran¹⁵⁵ umgesetzt. Diese sehr schonende Methode wurde bereits erfolgreich zur Darstellung von verschiedenen Hydroxylaminen aus den entsprechenden sekundären Aminen

eingesetzt.¹⁵⁶ Nach der säulenchromatographischen Reinigung wird das Hydroxylamin **49** in einer Ausbeute von 81 % isoliert. Nebenprodukte treten bei dieser Reaktion nicht auf. Außerdem kann nicht umgesetztes Edukt zurückgewonnen werden. Anschließend werden die Boc-Schutzgruppen mit Hilfe von HBr in Eisessig entfernt. Zuletzt wird durch Reaktion mit Zink(II)perchlorat-hexahydrat der Komplex **51** dargestellt.

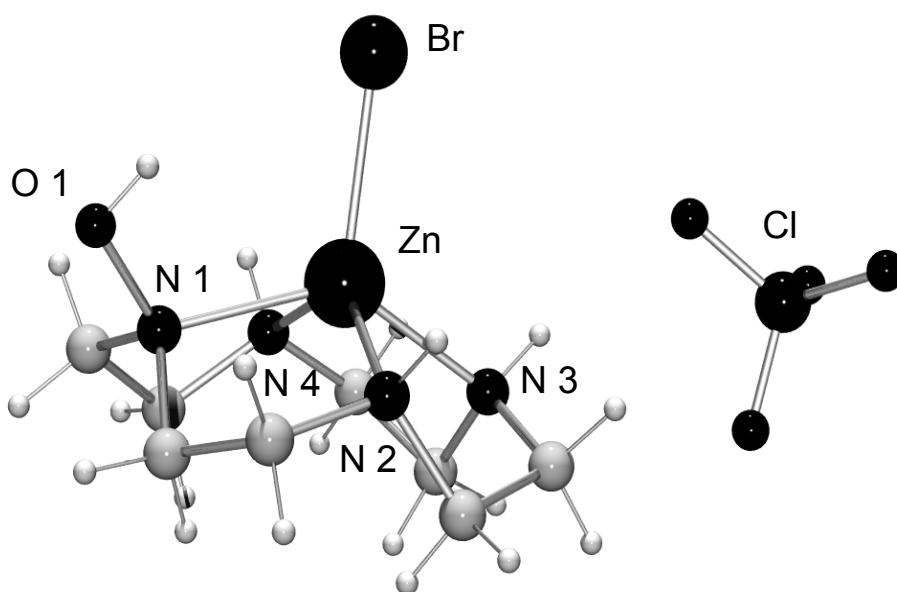


Abbildung 63: Röntgenstruktur von **51**.

Von **51** konnten aus einer methanolischen Lösung durch langsames Abdampfen des Lösungsmittels farblose Kristalle erhalten werden. In der Kristallstruktur (s. *Abb. 63*) wird die Koordinationssphäre des Zn(II)-Ions durch ein axial koordiniertes Bromid-Ion vervollständigt, wobei der Abstand Zn-Br 2.350 Å beträgt. Auffallend ist auch, dass die Metall-Stickstoffbindungen im Vergleich zum Zn(II)-Cyclen¹⁴ eine größere Variation der Abstände aufweisen (Zn-N1: 2.192 Å, Zn-N2: 2.148 Å, Zn-N3: 2.122 Å, Zn-N4: 2.127 Å).

Bei der Darstellung des Dihydroxylamin-Komplexes wird von 1,7-Bis(benzyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **52**¹⁵⁷ ausgegangen, welches ebenfalls mit Dimethyldioxiran umgesetzt wird. Dabei entsteht ein Gemisch aus mono- und disubstituiertem Cyclen, welches chromatographisch an Kieselgel aufgetrennt

werden kann. Das Hydroxylamin **53** wird dann in einer Ausbeute von 46 % isoliert. Die Abspaltung der Cbz-Schutzgruppen geschieht zunächst durch katalytische Hydrierung mit Palladium auf Aktivkohle. Hierbei wird selbst nach dreitägigem Rühren bei 20 bar Wasserstoffdruck und Raumtemperatur keine vollständige Entschützung erreicht. Bessere Resultate werden durch Umsetzung von **53** mit HBr in Eisessig erzielt. Hier gelingt die quantitative Abspaltung der Carbamate problemlos und das Hydrobromid **54** wird in einer Ausbeute von 93 % erhalten. Als letzter Reaktionsschritt schließt sich die Reaktion zum Zn(II)-Komplex **55** an.

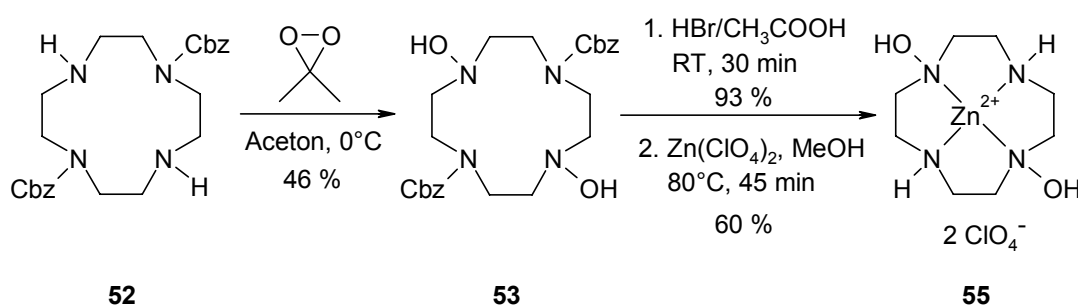


Abbildung 64: Synthese von Verbindung **55**.

5.3. Potentiometrische Untersuchung der Komplexe **51** und **55**

Bei der potentiometrischen pH-Titration des freien Liganden **50** (s. Abb. 65) wurden drei pK_s -Werte beobachtet ($\log K = 8.5$, 10.2 und 11.6). Diese Werte wurden den drei sekundären Aminen im Azamacrocyclus zugeordnet. Allerdings könnte hier auch eine Beteiligung des Hydroxylamins möglich sein, wobei der pK_s -Wert für die Deprotonierung des Stickstoffatoms im Hydroxylamin eigentlich wesentlich niedriger liegen sollte, wie ein Vergleich mit Literaturwerten von *N,N*-Diethylhydroxylamin ($pK_s = 5.6$ in H_2O bei 30°C und $I \approx 0.02$)¹⁵⁸ und *N,N*-Dimethylhydroxylamin ($pK_s = 5.3$ in H_2O bei 25°C und $I = 0.06$)¹⁵⁹ zeigt. Dass das Hydroxylamin unter den Bedingungen der sauren Entschützung von **49** nicht protoniert wird, obwohl dies nach den pK_s -Werten der literaturbekannten Hydroxylamine zu erwarten ist, könnte an sterischen Faktoren liegen. Anscheinend ist das Stickstoffatom gegen den Angriff eines Protons durch den Azamacrocyclus und die Hydroxylgruppe stark abgeschirmt. Eine Deprotonierung der OH-Gruppe im Hydroxylamin ist auszuschließen, da nur drei pK_s -

Werte gemessen wurden und **50** laut Elementaranalyse als Trihydrobromid vorliegt. Bei einer Beteiligung der OH-Gruppe hätte daher auf jeden Fall ein vierter $\log K$ -Wert beobachtet werden müssen. Außerdem sprechen auch Literaturdaten gegen eine Deprotonierung der Hydroxylgruppe unter den gegebenen Messbedingungen, beispielsweise wurde für *N,N*-Diethylhydroxylamin ein pK_s -Wert von 12.88 (gemessen in H_2O bei $25^\circ C$) bestimmt.¹⁶⁰

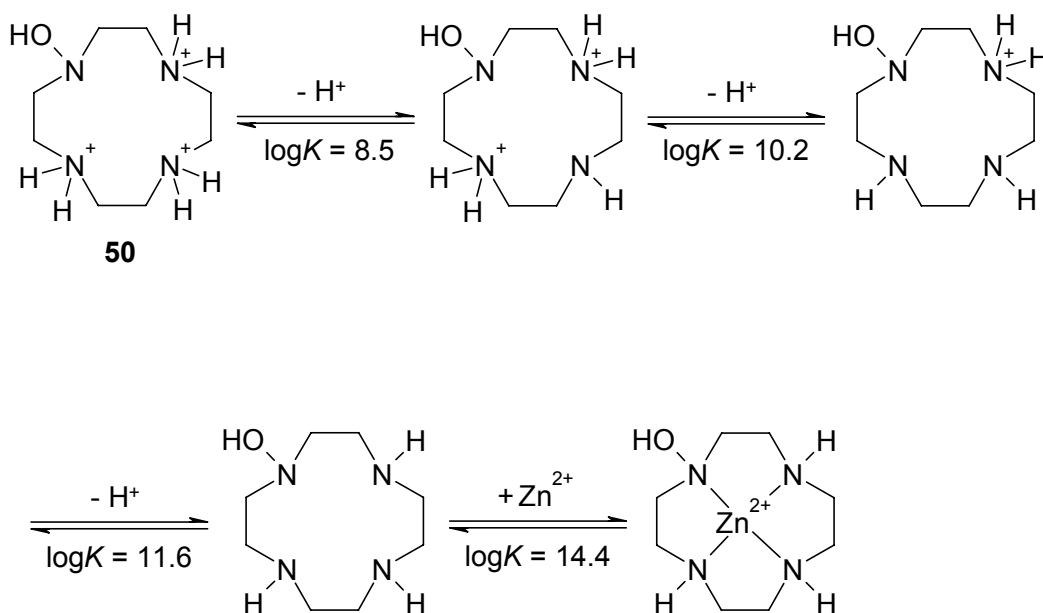


Abbildung 65: Durch Potentiometrie bestimmte Gleichgewichtskonstanten des freien Liganden **50**.

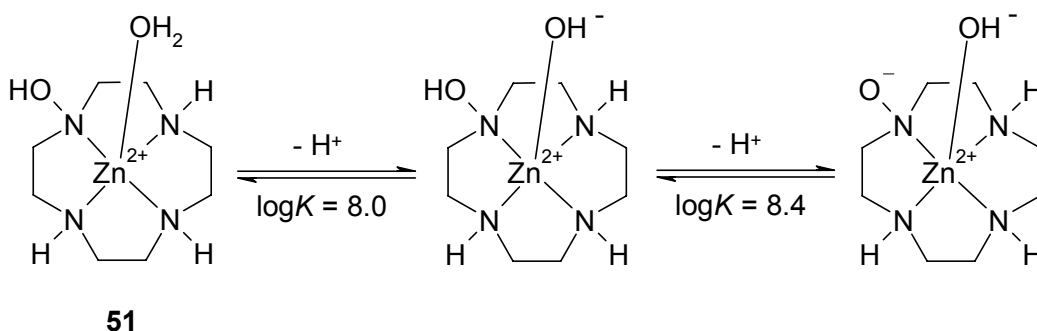


Abbildung 66: pK_s -Werte des Komplexes **51**.

Die Aciditäten der protonierten Stickstoffatome in **50** unterscheiden sich deutlich von denen im Cyclen. Hier wurden für zwei gegenüberliegende Stickstoffatome pK_s -Werte

von 9.86 und 11.04 gemessen.⁹⁶ Die anderen beiden Amine besitzen im Cyclen dagegen so kleine pK_s -Werte ($\log K < 2$), dass diese nicht über potentiometrische Titration bestimmt werden können. Das Metallkation wird im Macrocyclus **50** ähnlich fest gebunden wie im Cyclen ($\log K = 15.3$).

Bei der potentiometrischen Titration des Komplexes **51** wurden zwei pK_s -Werte beobachtet (s. *Abb. 66*). Die beiden Gleichgewichtskonstanten unterscheiden sich allerdings nur so geringfügig, dass eine eindeutige Zuordnung nicht möglich ist und daher nur rein willkürlich geschehen kann. Die Lewis-Acidität des Metallzentralatoms in **51** wird im Vergleich zu Zn(II)-Cyclen (s. *Abb. 2*) durch die Hydroxylamino-Gruppe nicht beeinflusst. Wie vermutet wird der pK_s -Wert des Hydroxylamins durch die Koordination ans Zink(II) deutlich herabgesetzt und liegt ungefähr in der Größenordnung des axial koordinierten Wassermoleküls.

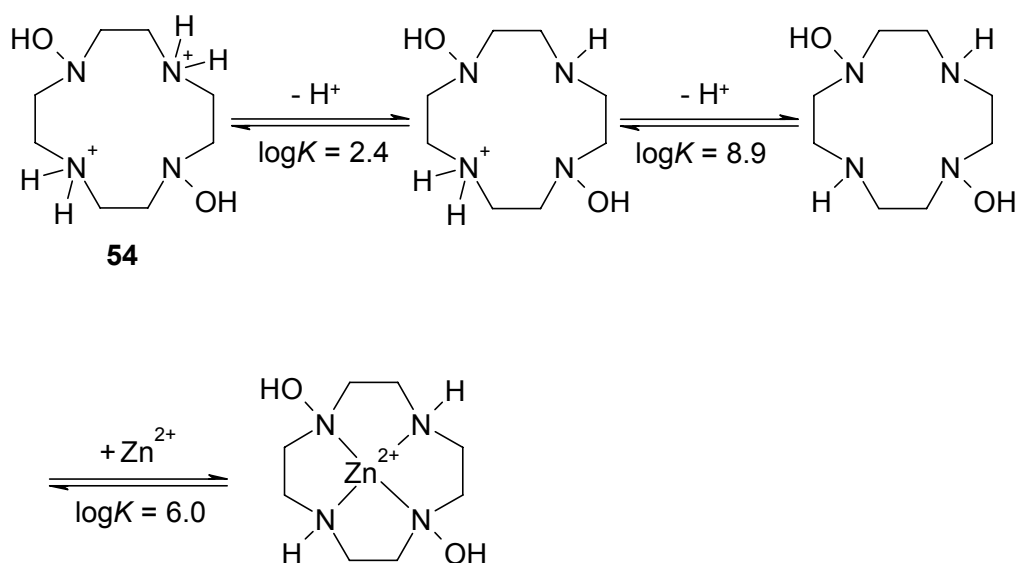


Abbildung 67: Durch Potentiometrie bestimmte Gleichgewichtskonstanten des Liganden **54**.

Die beiden pK_s -Werte des Liganden **54** unterscheiden sich signifikant (s. *Abb. 67*). Auch hier ist wieder eine Beteiligung der Stickstoffatome der Hydroxylamino-Gruppen nicht vollständig auszuschließen, aber aufgrund von sterischen Faktoren, ähnlich wie bei Ligand **50**, eher unwahrscheinlich. Das Zn^{2+} -Kation wird durch das 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,7-diol wesentlich schwächer gebunden als durch Cyclen oder 1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-ol.

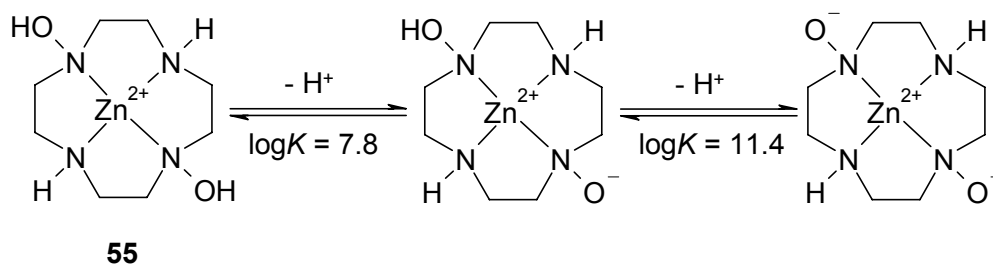


Abbildung 68: Deprotonierung des Komplexes **55**.

Bei der Titration des Komplexes **55** wurden nur zwei pK_s -Werte beobachtet (s. *Abb. 68*), welche der Deprotonierung der Hydroxylamine zugeordnet wurden. Ein dritter Wert für ein axial koordiniertes Wassermolekül wurde nicht gemessen. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass das Metallzentralatom in **55** eine etwas andere Koordinationssphäre aufweist als sonst in Zn(II)-Cyclen-Derivaten üblich. Vorstellbar wäre beispielsweise die zusätzliche Bindung einer OH-Gruppe des Hydroxylamins an das Zn^{2+} -Kation im Sinne einer side-on – Koordination (vgl. *Abb. 60*). Eine alternative Interpretationsmöglichkeit wäre, dass zwar ein H_2O axial koordiniert ist, aber entweder dieses Wassermolekül oder eine der Hydroxylamingruppen unter den Messbedingungen nicht deprotoniert wird.

5.4. Untersuchung der Bindungseigenschaften von **51**

5.4.1. Wechselwirkung mit Kreatinin

Die Wechselwirkung von **51** mit Kreatinin, einem Abbauprodukt aus dem Muskelstoffwechsel (s. *unter 6.*), wurde mit potentiometrischer pH-Titration untersucht. Dabei wurde eine Bindungskonstante von $\log K = 3.0$ gemessen. Dieser Wert ist wesentlich geringer als die Affinität zwischen Kreatinin und Zn(II)-Cyclen ($\log K = 6.8$). In der Spezies-Verteilungskurve (s. *Abb. 69*) ist zu erkennen, dass erst im basischen Milieu bei einem pH-Wert > 10 eine Wechselwirkung zwischen **51** und Kreatinin auftritt.

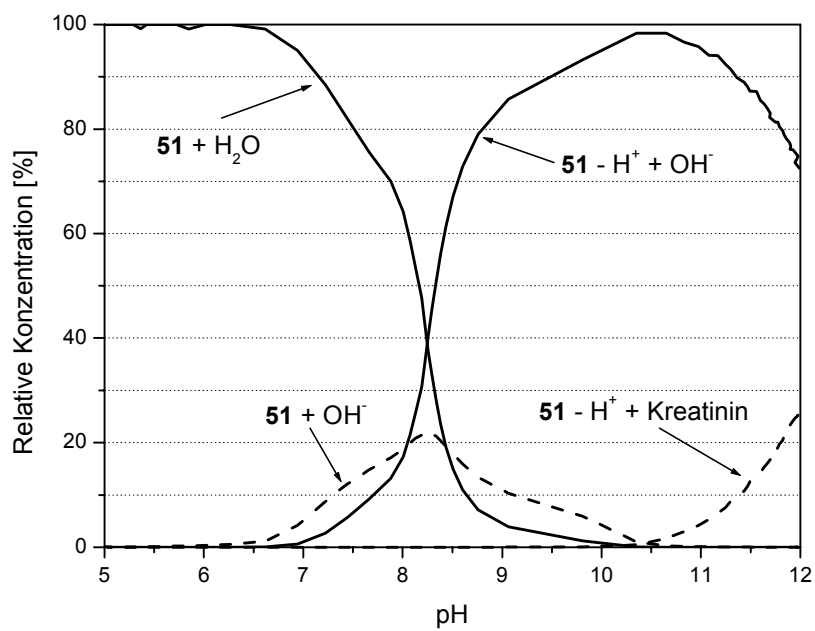


Abbildung 69: Spezies-Verteilung im System **51** – Kreatinin.

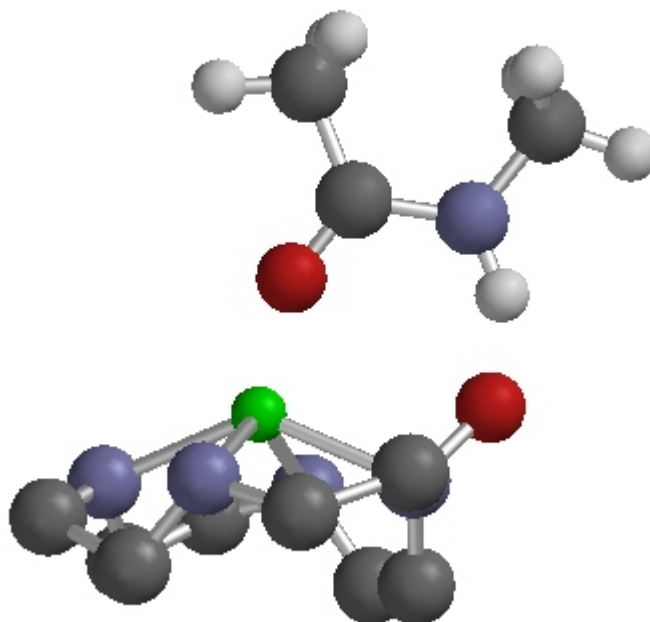


Abbildung 70: Vorstellbares Bindungsmotiv zwischen **51** und N-Methylacetamid. Der Übersicht halber wurden bei **51** die Wasserstoffatome weggelassen.

5.4.2. Wechselwirkung mit verschiedenen Peptiden

Verbindung **51** sollte ein guter Rezeptor für Peptide sein. Dabei könnte das Carbonyl-Sauerstoffatom der Peptidbindung an dem Lewis-aciden Zn^{2+} -Kation koordinieren und sich gleichzeitig eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem amidischen NH und der deprotonierten OH-Gruppe des Hydroxylamins ausbilden (s. *Abb. 70*).

Die potentiometrische pH-Titration von **51** mit verschiedenen einfachen Peptiden (*N*-Methylacetamid, *N*-Acetylglycin und *N*-Ethylcarbamoylmethyl-acetamid) in Wasser ergibt eine Wechselwirkung. Allerdings handelt es sich hierbei um keine 1:1-Bindung, sondern um komplexere Aggregate unter Beteiligung einer 2:1 (**51**:Peptid) – Stöchiometrie.

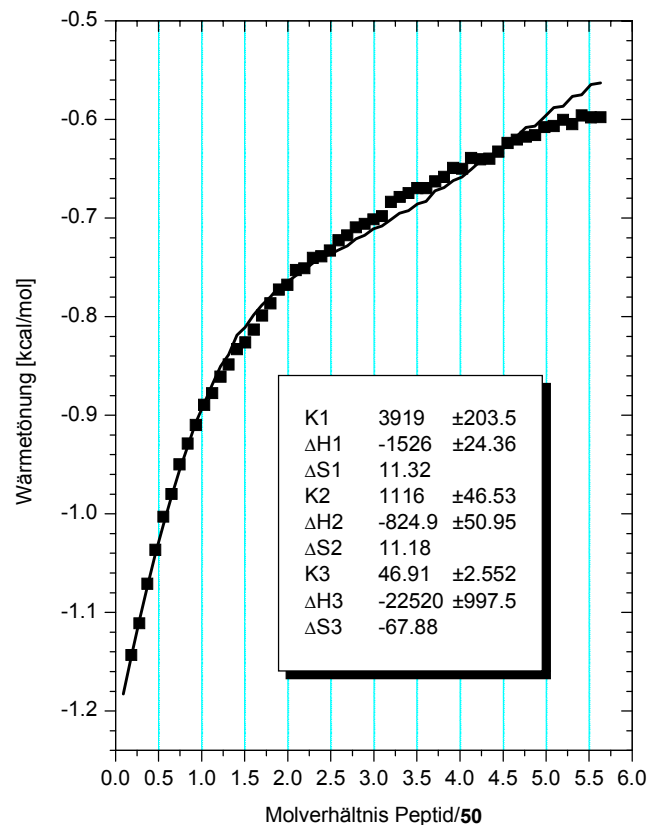


Abbildung 71: Auswertung der kalorimetrischen Titration von **51** mit *N*-Ethylcarbamoylmethylacetamid in DMSO.

Die Wechselwirkung von **51** mit *N*-Ethylcarbamoylmethyl-acetamid wurde zusätzlich durch kalorimetrische Titration in DMSO untersucht. Auch hier wurde die Bildung von höheren Aggregaten beobachtet. Insgesamt wurden drei Bindungskonstanten erhalten (s. *Abb. 71*). Eine Vergleichsmessung mit Zn(II)-Cyclen und *N*-Ethylcarbamoylmethyl-acetamid führt allerdings zu ähnlichen Ergebnissen. Es handelt sich hierbei also anscheinend nicht um eine spezifische Wechselwirkung zwischen dem Peptid und **51**.

5.5. Schlussfolgerung

Es wurde die Synthese neuer azamacrocyclischer Hydroxylamine beschrieben. Durch die Komplexierung eines Zn^{2+} -Ions in diesen Macrocyclen wird die Acidität der Hydroxylamine deutlich erhöht. Die Untersuchung der Bindungseigenschaften von **51** mit verschiedenen Peptiden ergab komplexe Stöchiometrien und keine wesentlichen Unterschiede zu den Wechselwirkungen mit Zn(II)-Cyclen. Deutliche Differenzen wurden allerdings in der Affinität der beiden Zn(II)-Komplexe zu Kreatinin beobachtet. Bei der potentiometrischen pH-Titration von **55** mit Harnstoff wurde keine Wechselwirkung gemessen. Aufgrund der interessanten Struktur erscheinen weitere Untersuchungen der Rezeptoreigenschaften von **51** und **55** sinnvoll.

6. Wechselwirkung von Kreatinin mit Zn(II)-Cyclen

Kreatinin ist das Endprodukt des Muskelstoffwechsels und entsteht spontan und irreversibel durch Cyclisierung von Kreatin. Der Kreatinin-Gehalt im Blut bzw. Urin ist direkt proportional zur Muskelmasse eines Individuums. Da die täglich ausgeschüttete Menge an Kreatinin konstant ist, kann Kreatinin als endogener Stoff für die Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate verwendet werden. Die Analytik und die molekulare Erkennung von Kreatinin besitzen daher ein großes Anwendungspotential in der Medizin.

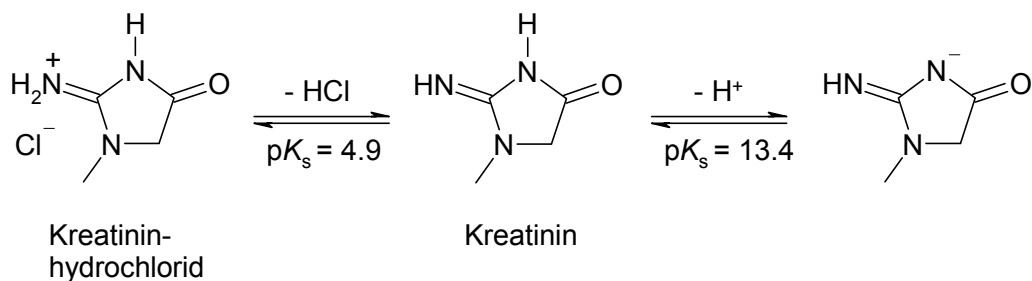


Abbildung 72: Durch potentiometrische pH-Titration bestimmte pK_s -Werte von Kreatinin in Wasser.

Kreatinin-hydrochlorid besitzt zwei acide Wasserstoffatome mit pK_s -Werten von 4.9 und 13.4 (s. Abb. 72).

Bei der potentiometrischen pH-Titration von Kreatinin-hydrochlorid mit Zn(II)-Cyclen (s. Abb. 73) in Wasser wird eine Affinitätskonstante von $\log K = 6.8$ gemessen. Im Spezies-Verteilungsdiagramm (s. Abb. 74) ist zu erkennen, dass bereits bei einem pH-Wert von 8.4 die Hälfte des Kreatinins an das Zn(II)-Cyclen gebunden ist. Die Bindungskonstante zwischen Zn(II)-Cyclen und Kreatinin ist etwa um eine Größenordnung höher als diejenige zwischen Zn(II)-Cyclen und verschiedenen Imiden (vgl. unter A.1.1.). Allerdings ist dieser Unterschied nicht groß genug, um eine Selektivität gegenüber Imiden, wie beispielsweise Riboflavin oder Thymidin, zu erhalten.

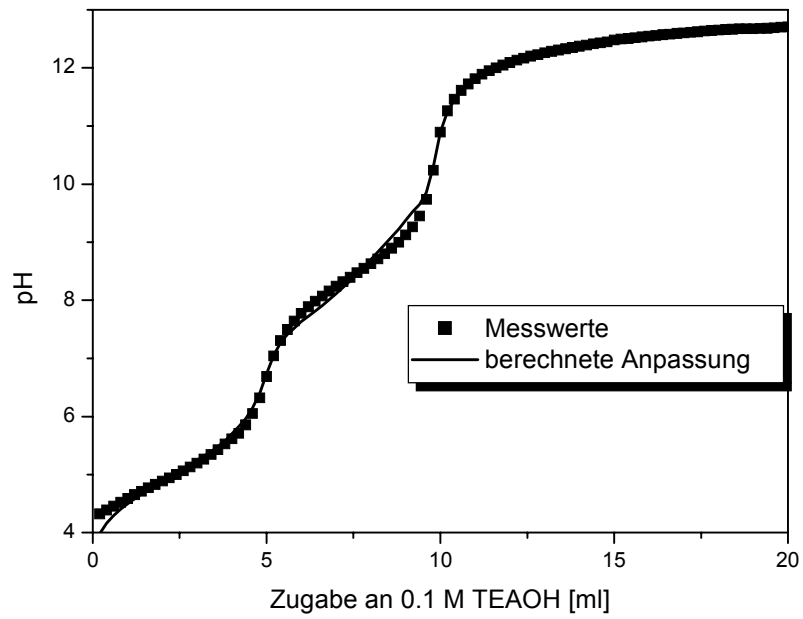


Abbildung 73: Potentiometrische pH-Titration von Kreatinin-hydrochlorid und Zn(II)-Cyclen.

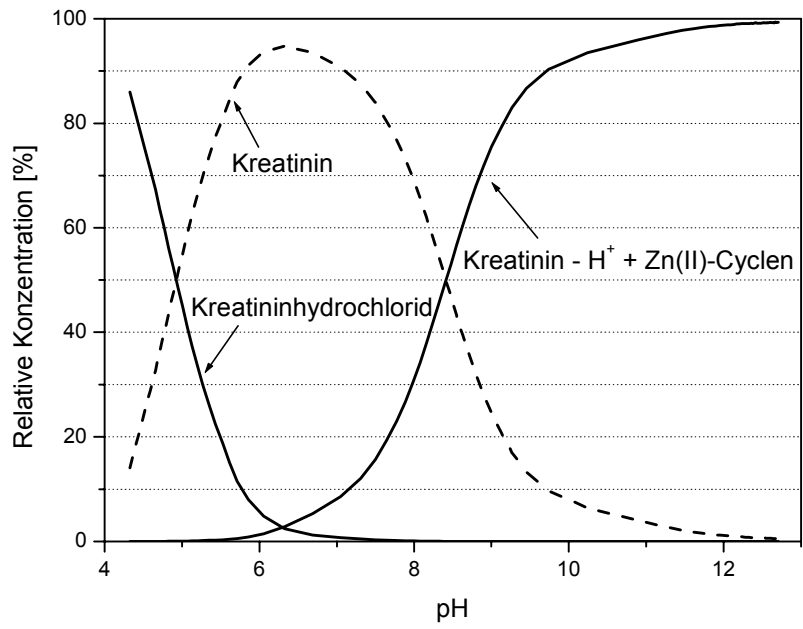


Abbildung 74: Spezies-Verteilung im System Kreatinin – Zn(II)-Cyclen.

Die Koordination von Kreatinin an Zn(II)-Cyclen konnte außerdem durch eine Röntgenstrukturanalyse belegt werden (s. *Abb. 75*). Durch langsames Eindampfen einer äquimolaren Lösung aus Kreatinin und Zn(II)-Cyclen in wässriger NaOH wurden farblose Cokristalle erhalten. In der Kristallstruktur beträgt der Abstand zwischen N5 und Zn 1.996 Å. Dies ist vergleichbar mit dem Abstand zwischen dem imidischen Stickstoff und dem Zink(II) von 2.053 Å in der Röntgenstruktur von Zn(II)-Cyclen mit 3'-Azido-3'-deoxythymidin.¹⁴ Die Ebene des Kreatinins liegt ziemlich genau zwischen N1 und N2 bzw. N3 und N4, was an den Abständen zwischen O1-N1(3.175 Å) und O1-N2 (3.244 Å) bzw. N7-N3 (4.080 Å) und N7-N4 (3.915 Å) deutlich wird. Diesen Abständen zufolge könnten auch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen O1 und N1 bzw. N2 möglich sein. Außerdem enthält die Elementarzelle ein Wassermolekül, welches wesentlich näher an N3 als an N4 lokalisiert ist (O2-N3: 3.113 Å, O2-N4: 5.116 Å). Eventuell kann dieses Wassermolekül Wasserstoffbrückenbindungen zu den beiden nächstgelegenen Aminengruppen N3 und N7 ausbilden (O2-N7: 3.395 Å).

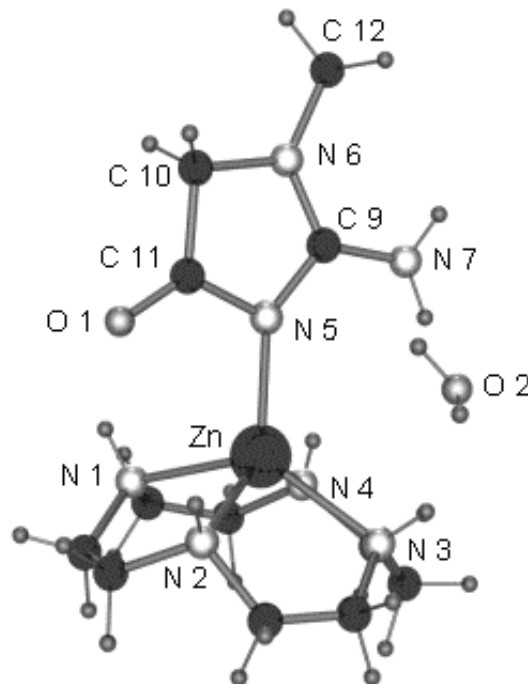


Abbildung 75: Cokristall aus Zn(II)-Cyclen und Kreatinin. Die Elementarzelle enthält zusätzlich ein Wassermolekül und zwei Perchlorat-Anionen (nicht dargestellt).

Interessant ist ein Vergleich der Affinität von **51** und **14** zu Kreatinin. **51** bindet wesentlich schlechter an Kreatinin als Zn(II)-Cyclen (s. *unter 5.4.1.*). Dagegen weist das mit einem Pyridiniumrest funktionalisierte Zn(II)-Cyclen Derivat **14** mit einer Affinität von $\log K = 9.2$ eine stärkere Bindung an Kreatinin auf als Zn(II)-Cyclen. Im Spezies-Verteilungsdiagramm (s. *Abb. 76*) ist zu erkennen, dass schon bei einem pH-Wert von 7.8 die Hälfte des Kreatinin am Zn(II)-Cyclen koordiniert ist.

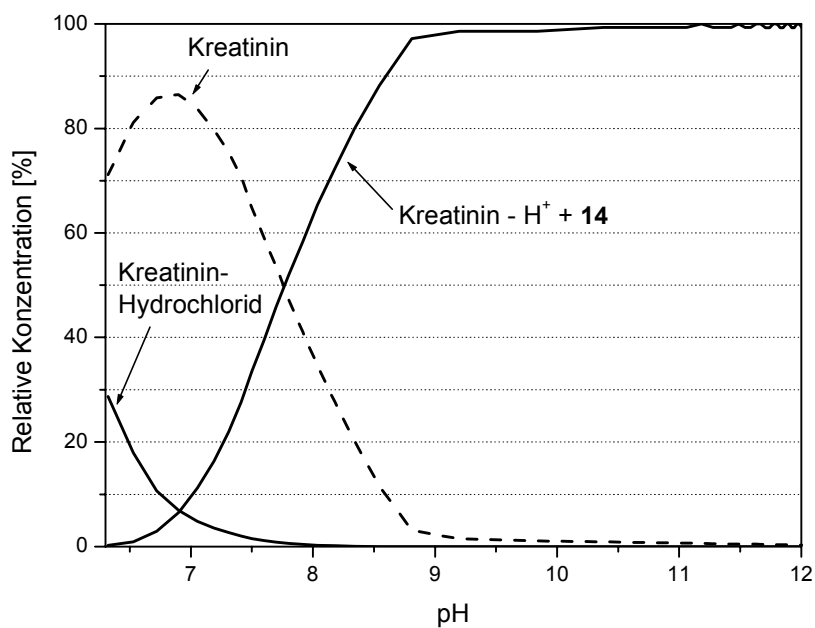


Abbildung 76: Spezies-Verteilung im System **14** - Kreatinin.

C Zusammenfassung

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde 1,4-Dihydrionicotinamid kovalent mit einem Lewis-sauren azamacrocyclischen Zn(II)-Komplex funktionalisiert. Dabei wurde der Abstand zwischen dem redoxaktiven Dihydropyridin und der koordinativen Bindungsstelle systematisch variiert, so dass insgesamt vier NADH-Modellverbindungen synthetisiert wurden. Durch potentiometrische pH-Titration konnte gezeigt werden, dass die dargestellten NADH-Modellverbindungen unter physiologischen Bedingungen Riboflavintetraacetat reversibel koordinieren können.

Der Elektronentransfer zwischen den beiden Redoxcofaktoren wurde UV/VIS-spektroskopisch untersucht. Dabei wurde beobachtet, dass die Redoxreaktion durch die Metall-Ligand – Koordination signifikant beschleunigt wird, wobei sich eine deutliche Abstandsabhängigkeit zwischen Dihydrionicotinamid und Bindungsstelle ergibt.

Welchen Einfluss die Koordination an ein Lewis-acides Metallzentrum auf die Redox Eigenschaften des Flavins besitzt, wurde durch cyclovoltammetrische Untersuchungen von 10-Butyl-flavin in Gegenwart eines hydrophoben Zn(II)-Cyclen – Derivats untersucht. Die Messungen ergaben eine signifikante Stabilisierung des Flavohydroquinon-Anions um 700 mV.

Durch Immobilisierung von Zink(II)-Cyclen konnte ein Polymer erhalten werden, das hohe Affinitäten zu Verbindungen mit einer Imid-Funktionalität zeigt. Dieses Polymer eignet sich zur Bindung von Flavinen wie Riboflavin (Vitamin B 2) und Riboflavintetraacetat. In wässriger Lösung konnte mit Hilfe des dargestellten Polymers Riboflavin quantitativ bestimmt werden.

Auch die Bindung von Zink(II)-Cyclen gegenüber Kreatinin, einer für die medizinische Diagnostik wichtigen Substanz, wurde untersucht. Die potentiometrische Titration ergab eine Bindungskonstante von $\log K = 6.8$ in Wasser. Das Bindungsmotiv konnte außerdem durch die Röntgenstruktur eines Cokristalls belegt werden.

Des Weiteren wurde die Synthese eines Thiol-funktionalisierten Zn(II)-Cyclen – Komplexes beschrieben. Der Versuch, diesen Komplex auf einer Goldoberfläche zu immobilisieren, verlief nicht erfolgreich. Auch bei der Hydrolyse von 4-Nitrophenylacetat wurde wider Erwarten keine erhöhte Aktivität im Vergleich zu Zn(II)-Cyclen festgestellt. Als Erklärungsmöglichkeit wird eine intramolekulare Koordination des Thiols an das Metallzentrum diskutiert.

Schließlich wurden zwei neue azamacrocyclische Hydroxylamin-Liganden synthetisiert. Es konnte durch potentiometrische pH-Titration gezeigt werden, dass durch die Komplexierung eines Zn^{2+} -Ions in diesen Macrocyclen die Acidität der Hydroxylamine deutlich erhöht wird. Die Untersuchungen der Bindungseigenschaften der beiden Komplexe gegenüber Peptiden mit potentiometrischer und kalorimetrischer Titration erbrachten keine Verbesserungen verglichen mit den entsprechenden Wechselwirkungen zu Zn(II)-Cyclen. Allerdings erscheinen hier wegen der potentiell interessanten Rezeptoreigenschaften weitere Bindungsstudien sinnvoll.

D Experimenteller Teil

1. Allgemeines

Schmelzpunkte wurden mit einer Apparatur nach Tottoli der Firma Büchi (SMP-20) bestimmt und sind nicht korrigiert.

IR: Bio-Rad FTS 3000 MX FT-IR

UV/VIS: Varian Cary 50 Bio bzw. Zeiss Specord M 500. Verwendet wurden Quarzküvetten der Firma Hellma mit 1 cm Schichtdicke.

Fluoreszenz: Varian Cary Eclipse. Verwendet wurden ebenfalls Quarzküvetten der Firma Hellma mit 1 cm Schichtdicke.

¹H-NMR: Bruker AM 400 (400 MHz) und Bruker AC 250 (250 MHz). Alle Spektren wurden in deuterierten Lösungsmitteln aufgenommen und entweder auf Tetramethylsilan ($\delta = 0.00$ ppm) oder den Restprotonenpeak des Lösungsmittels geeicht. Die Signalaufspaltung wird wie folgt abgekürzt: s = Singulett, bs = breites Singulett, d = Dublett, t = Triplett, m = Multipllett.

¹³C-NMR: Bruker AM 400 (100 MHz) und Bruker AC 250 (62 MHz). Die Zuordnung der Signale wurde durch die DEPT-Aufnahmetechnik mit einem Pulswinkel von 135° bestimmt und wie folgt angegeben: (+) für CH₃ oder CH, (-) für CH₂ und (C_{quart}) für quartäre Kohlenstoffatome.

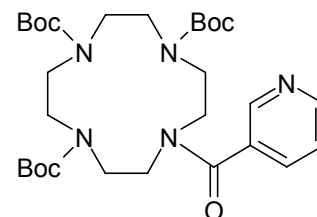
Massenspektroskopie: Varian CH-5 (EI), Finnigan MAT 95 (FAB), Finnigan MAT SSQ 7000 (ESI). Im FAB dient Xenon als Ionisationsgas, die Matrix ist jeweils aufgeführt.

Elementaranalyse: Zentrale Analytik der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg.

Alle Reaktionen wurden unter Feuchtigkeitsausschluss und Inertgasatmosphäre (N₂) durchgeführt. Lösungsmittel wurden nach den üblichen Labormethoden gereinigt und getrocknet.¹⁶¹ Säulenchromatographie: Merck Kieselgel (70-230 mesh). Dünnschichtchromatographie: Aluminiumfolien Merck 60 F₂₅₄ Kieselgel, Schichtdicke 0.2 mm, Detektion durch UV-Licht bei 254 nm oder durch Anfärben mit ethanolischer Ninhydrin-Lösung.

2. Darstellung der Verbindungen

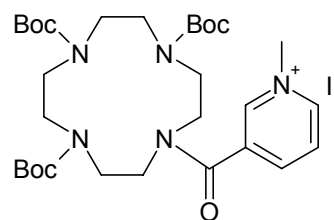
1,4,7-Tris-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10**⁸⁸, Riboflavintetraacetat¹⁶², Dimethyldioxiran¹⁶³, und 1,7-Bis(benzyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **52**¹⁶⁴ wurden nach literaturbekannten Synthesevorschriften dargestellt.



10-(Pyridin-3-carbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-*tert*-butylester (**11**):

1,4,7-Tris-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10** (1.89 g, 4.0 mmol) wird in 10 ml CH₂Cl₂ gelöst. Anschließend werden DMAP (0.66 g, 5.4 mmol), DCC (1.11 g, 5.4 mmol), Nicotinsäure (0.55 g, 4.5 mmol) und weitere 10 ml CH₂Cl₂ zugegeben. Die Reaktionsmischung lässt man 48 h bei Raumtemperatur rühren. Nach Reaktionsende saugt man vom ausgefallenen Dicyclohexylharnstoff ab und wäscht gründlich mit CH₂Cl₂ nach. Das Filtrat wird mit jeweils 10 ml 2N NaOH und 1 N HCl extrahiert. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und eingengt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt (Laufmittel: EE, R_f = 0.3). Man erhält **11** als farblosen Feststoff (1.52 g, 2.63 mmol, 88%).

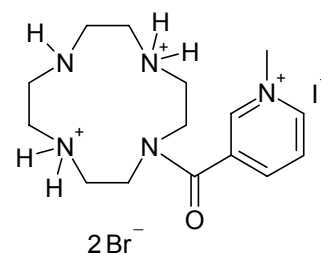
Schmpkt.: 60°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1163, 1251, 1367, 1411, 1466, 1639, 1695, 2976; UV/VIS (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 260 nm (3.507); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.47 (s, 18 H, CH₃), 1.50 (s, 9 H, CH₃), 3.31 - 3.67 (m, 16 H, CH₂), 7.34 - 7.37 (m, 1 H, CH), 7.71 - 7.74 (m, 1 H, CH), 8.65 - 8.67 (m, 2 H, CH); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.21 (3 C, +), 28.37 (3 C, +), 28.41 (3 C, +), 48.51 (-), 49.14 (-), 49.31 (-), 49.64 (-), 49.89 (-), 50.15 (-), 50.80 (-), 51.53 (-), 80.20 (C_{quart}), 80.41 (C_{quart}), 80.44 (C_{quart}), 123.29 (+), 132.50 (C_{quart}), 134.07 (+), 147.23 (+), 150.34 (+), 155.32 (C_{quart}), 156.75 (C_{quart}), 157.10 (C_{quart}), 169.55 (C_{quart}); MS (EI, 70 eV): m/z (%) = 577 (7) [M⁺], 477 (4) [M⁺ - Boc], 376 (4) [M⁺ - 2 Boc], 276 (13) [M⁺ - 3 Boc]; Elementaranalyse ber. für C₂₉H₄₇N₅O₇: C 60.30, H 8.20, N 12.12; gef.: C 60.12, H 8.24, N 11.82.



1-Methyl-3-(4,7,10-tris-*tert*-butoxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-carbonyl)-pyridinium-iodid (**12**):

Das Edukt **11** (1.73 g, 3.0 mmol) wird in 30 ml Methanol gelöst und Iodmethan (0.94 ml, 2.13 g, 15.0 mmol) wird hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wird 24 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wird frisches Iodmethan (0.47 ml, 1.06 g, 7.50 mmol) zugefügt und es wird weitere 24 h refluxiert. Nach dem Abkühlen wird die gelbe Lösung zur Trockene eingeeengt. Zur weiteren Reinigung wird das Rohprodukt in wenig Diethylether suspendiert und der Feststoff abgesaugt. Das Produkt **12** wird in Form von gelben Kristallen (1.94 g, 2.69 mmol, 90 %) isoliert.

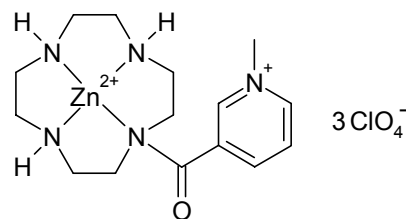
Schmpkt.: 158-160°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 778, 1162, 1251, 1367, 1414, 1469, 1646, 1694, 2932, 2975; UV/VIS (MeOH): λ_{max} (lg ϵ) = 270 nm (3.672), 358 nm (2.878); ¹H-NMR (250 MHz, CD₃OD): δ [ppm] = 1.43 (s, 9 H, CH₃), 1.50 (s, 9 H, CH₃), 1.51 (s, 9 H, CH₃), 3.46 - 3.76 (m, 16 H, CH₂), 4.82 (s, 3 H, CH₃), 8.25 (dd, ³J = 7.9, 6.0 Hz, 1 H, CH), 8.66 (d, ³J = 7.9 Hz, 1 H, CH), 9.07 (d, ³J = 5.9 Hz, 1 H, CH), 9.19 (s, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, Aceton-d₆): δ [ppm] = 28.61 (+), 28.68 (+), 28.77(+), 28.95 (+), 29.26 (+), 29.56 (+), 30.18 (+), 30.49 (+), 30.79 (+), 48.83 (-), 49.34 (-), 49.85 (+), 50.27 (-), 50.48 (-), 50.82 (-), 51.15 (-), 51.23 (-), 51.65 (-), 80.48 (C_{quart}), 80.69 (C_{quart}), 81.72 (C_{quart}), 129.26 (+), 137.72 (C_{quart}), 143.64 (+), 144.97 (+), 147.20 (+), 156.73 (C_{quart}), 157.02 (C_{quart}), 157.77 (C_{quart}), 165.60 (C_{quart}); MS (FAB, MeOH): m/z (%) = 592 (100) [K⁺], 1311 (70) [(2 K⁺ + I⁻)⁺]; HRMS (C₃₀H₅₀N₅O₇⁺): ber. 592.3710, gef. 592.3700 ± 0.0014; Elementaranalyse ber. für C₃₀H₅₀IN₅O₇: C 50.07, H 7.00, N 9.73; gef.: C 49.96, H 6.77, N 9.52.



1-Methyl-3-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-carbonyl)-pyridinium-iodid-di-hydrobromid (**13**):

Der Makrocyclus **12** (1.86 g, 2.59 mmol) wird mit 7.0 ml HBr in Eisessig (33%, 4.1 M) versetzt. Bei der Zugabe beobachtet man eine heftige Gasentwicklung und die Abscheidung eines farblosen Niederschlags. Die Suspension wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend zur vollständigen Präzipitation des Produkts mit 20 ml Diethylether versetzt. Der extrem hygroskopische Niederschlag wird abgesaugt und gründlich mit Diethylether gewaschen. Zur Reinigung wird das Rohprodukt in 7.0 ml Ethanol suspendiert und kurz zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen (Gefrierschrank) wird der Feststoff abgesaugt und mit Diethylether gewaschen. Das Produkt **13** (1.36 g, 2.34 mmol, 90 %) besitzt eine leicht gelbliche Färbung.

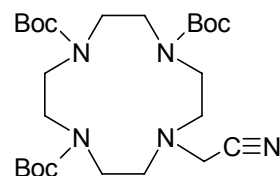
Zers. ab 198-200°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 681, 819, 1163, 1292, 1359, 1423, 1455, 1647, 2957, 3429; UV/VIS (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 270 nm (3.454), 360 nm (2.312); ¹H-NMR (250 MHz, D₂O): δ [ppm] = 2.93 (t, 2 H, CH₂), 3.08 (t, 2 H, CH₂), 3.28 (m, 8 H, CH₂), 3.60 (t, 2 H, CH₂), 3.73 (t, 2 H, CH₂), 4.34 (s, 3 H, CH₃), 8.07 (dd, ³J = 7.9, 5.9 Hz, 1 H, CH), 8.58 (d, ³J = 7.9 Hz, 1 H, CH), 8.82 (d, ³J = 5.9 Hz, 1 H, CH), 9.01 (s, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, D₂O): δ [ppm] = 42.85 (-), 43.45 (-), 44.48 (-), 45.08 (-), 45.87 (-), 46.09 (-), 46.52 (-), 48.97 (+), 49.24 (-), 128.68 (+), 134.98 (C_{quart}), 143.57 (+), 143.97 (+), 146.63 (+), 168.06 (C_{quart}); MS (ESI, MeOH / H₂O + 1 % AcOH): m/z (%) = 147 (20) [(K⁺ + H⁺)²⁺], 292 (100) [K⁺], 372 (5) [(K⁺ + HBr)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₁₅H₂₈Br₂IN₅O: C 31.00, H 4.86, N 12.05; gef.: C 31.96, H 5.09, N 12.00.



1-Methyl-3-(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1-carbonyl)-pyridinium-zink(II)-triperchlorat (**14**):

Eine wässrige Lösung von **13** (0.74 g, 1.77 mmol) wird über einen stark basischen Ionentauscher gegeben. Anschließend zieht man das Solvens ab und löst das freie Amin in 5 ml Methanol. Dieser Lösung werden 2 Äquivalente Zink(II)-perchlorat-hexahydrat (1.32 g, 3.54 mmol) in 3 ml Methanol zugefügt. Es beginnt sofort ein farbloser Niederschlag auszufallen. Die Reaktionsmischung wird 1 h unter Rückfluss erhitzt. Danach rotiert man etwa zur Hälfte ein und lässt die Mischung erkalten (Eisbad). Der Niederschlag wird abgesaugt und **14** (0.75 g, 1.14 mmol, 64 %) wird als gelber Feststoff isoliert.

Zers. ab 237°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 628, 1091, 1144, 1209, 1458, 1548, 1647, 2932, 3447; UV/VIS (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 276 nm (3.617), 430 nm (3.006); ¹H-NMR (250 MHz, D₂O): δ [ppm] = 2.64 - 3.12 (m, 12 H, CH₂), 3.47 (t, 2 H, CH₂), 3.68 (t, 2 H, CH₂), 4.33 (s, 3 H, CH₃), 8.05 (m, 1 H, CH), 8.58 (m, 1 H, CH), 8.80 (m, 1 H, CH), 8.98 (m, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 42.91 (-), 43.42 (-), 43.84 (-), 44.53 (-), 45.45 (-), 45.64 (-), 45.89 (-), 47.97 (+), 49.00 (-), 127.56 (+), 135.10 (C_{quart}), 143.53 (+), 144.23 (+), 146.05 (+), 169.25 (C_{quart}); MS (ESI, CH₃CN + 1 % AcOH): m/z (%) = 208 (30) [(K³⁺ + CH₃COO⁻)²⁺], 292 (72) [(K³⁺ - Zn²⁺)⁺], 392 (100) [(K³⁺ - Zn²⁺ + HClO₄)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₁₅H₂₆Cl₃N₅O₁₃Zn: C 27.46, H 3.99, N 10.67; gef.: C 27.48, H 3.98, N 10.57.

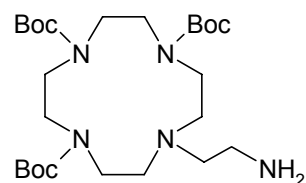


10-Cyanomethyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-tert-butylester (**15**):

1,4,7-Tris-tert-butyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10** (2.77 g, 5.9 mmol) wird in 20 ml Acetonitril gelöst. Anschließend werden Kaliumcarbonat (0.98 g, 7.1

mmol) und Bromacetonitril (0.45 ml, 0.78 g, 6.5 mmol) zugegeben. Die Suspension wird 16 h bei 50°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das K₂CO₃ abgesaugt und gründlich mit Acetonitril gewaschen. Das Filtrat wird eingengt und chromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: EE / PE = 1:1, R_f = 0.6) gereinigt. Das Produkt **15** (2.97 g, 5.8 mmol, 98 %) ist ein farbloser Feststoff.

Schmpkt.: 71°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1165, 1250, 1366, 1417, 1461, 1685, 2935, 2974; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.43 (s, 18 H, CH₃), 1.46 (s, 9 H, CH₃), 2.82 (bs, 4 H, CH₂), 3.35 - 3.47 (m, 12 H, CH₂), 3.82 (bs, 2 H, CH₂); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.47 (6 C, +), 28.71 (3 C, +), 38.88 (-), 46.44 (-), 46.93 (-), 47.33 (2 C, -), 49.85 (-), 50.07 (-), 53.93 (-), 54.47 (-), 79.57 (C_{quart}), 79.89 (C_{quart}), 80.19 (C_{quart}), 114.52 (C_{quart}), 155.09 (C_{quart}), 155.84 (C_{quart}), 155.98 (C_{quart}); MS (ESI, CH₃CN): m/z (%) = 512 (100) [MH⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₅H₄₅N₅O₆: C 58.69, H 8.86, N 13.69; gef.: C 58.40, H 8.61, N 13.42.

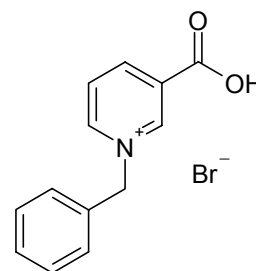


10-(2-Aminoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-tert-butylester (**16**):

Das Nitril **15** (3.24 g, 6.3 mmol) wird in 50 ml NH₃-gesättigtem Ethanol gelöst. Als Katalysator werden etwa 0.5 g Raney-Nickel zugesetzt. Anschließend wird die Reaktionsmischung im Autoklaven bei einem H₂-Druck von 15 bar bei Raumtemperatur 48 h gerührt. Nach Reaktionsende wird der Katalysator über Celite abgesaugt und es wird mit Ethanol nachgewaschen. Nach dem Einengen erhält man das Amin **16** (2.93 g, 5.7 mmol, 91 %) als farblosen Feststoff.

Schmpkt.: 63°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1171, 1251, 1366, 1417, 1463, 1689, 2934, 2976, 3443; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.27 (s, 2 H, NH₂), 1.45 (s, 18 H, CH₃), 1.47 (s, 9 H, CH₃), 2.55 - 2.80 (m, 6 H, CH₂), 2.83 (t, 2 H, CH₂), 3.20 - 3.59 (m, 12 H, CH₂); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.51 (6 C, +), 28.68 (3 C, +), 38.21 (-), 48.07 (4 C, -), 50.00 (2 C, -), 54.61 (-), 55.67 (-), 56.65 (-), 79.37 (C_{quart}), 79.59 (2 C, C_{quart}), 155.43 (C_{quart}), 155.78 (C_{quart}), 156.18 (C_{quart}); MS (ESI, CH₂Cl₂): m/z (%) = 516

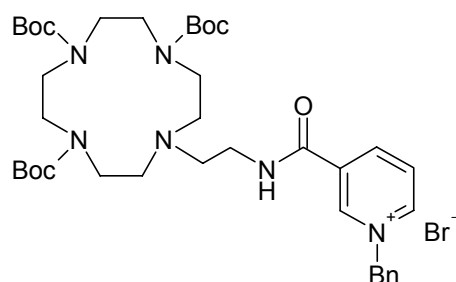
(100) [MH⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₅H₄₉N₅O₆: C 58.23, H 9.58, N 13.58; gef.: C 58.20, H 9.45, N 13.24.



1-Benzyl-3-carboxypyridinium-bromid (17):

Das Pyridinium **17** wurde mittels einer modifizierten Literaturvorschrift¹⁶⁵ synthetisiert. Nicotinsäure (2.46 g, 20 mmol) und Benzylbromid (2.80 ml, 6.84 g, 40 mmol) werden gemischt. Anschließend wird 5 d bei 110°C erhitzt. Nach dem Erkalten der Reaktionsmischung wird das überschüssige Benzylbromid im Vakuum abgezogen. Der zähe Rückstand wird zum Entfernen von Resten an Benzylbromid in 50 ml Aceton suspendiert und kurz zum Rückfluss erhitzt. Nun wird der farblose Niederschlag abgesaugt und zur weiteren Reinigung aus Ethanol / 2-Propanol = 1:1 umkristallisiert. Das Produkt **17** (2.72 g, 9.24 mmol, 46 %) wird in Form von farblosen Kristallen isoliert.

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 6.01 (s, 2H, CH₂), 7.43 (m, 3 H, CH), 7.59 (m, 2 H, CH), 8.28 (dd, ³J = 6.3, 8.3 Hz, 1 H, CH), 8.97 (d, ³J = 8.3 Hz, 1 H, CH), 9.41 (d, ³J = 6.3 Hz, 1 H, CH), 9.72 (s, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 63.27 (-), 128.71 (+), 129.01 (2 C, +), 129.20 (2 C, +), 129.43 (+), 131.50 (C_{quart}), 134.02 (C_{quart}), 145.71 (+), 145.92 (+), 147.53 (+), 162.96 (C_{quart}).

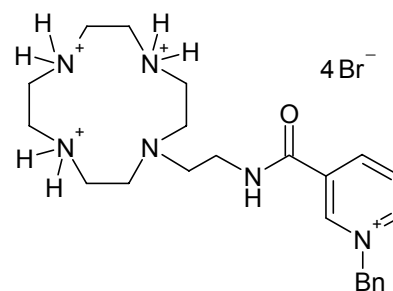


1-Benzyl-3-[2-(4,7,10-tris-*tert*-butoxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethyl-carbamoyl]-pyridinium-bromid (18):

Das Amin **16** (0.70 g, 1.36 mmol) wird in 10 ml DMF gelöst. Anschließend werden HOAt (0.22 g, 1.63 mmol), 1-Benzyl-3-carboxypyridinium-bromid **17** (0.44 g, 1.50

mmol) und EDC (0.29 ml, 0.25 g, 1.63 mmol) zugegeben. Die gelbe Lösung wird 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die nun orange Reaktionsmischung eingengt. Der rötliche Rückstand wird in 15 ml CH₂Cl₂ gelöst und zweimal mit jeweils 5 ml 1 N HCl ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen über MgSO₄ wird die organische Phase eingengt. Das Rohprodukt lässt sich bei Bedarf mit Hilfe einer präparativen HPLC über eine Umkehrphase (RP 18) weiter aufreinigen. Das Pyridinium **18** (0.96 g, 1.21 mmol, 89 %) wird als farbloser Feststoff erhalten.

Schmpkt.: 68-71°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 706, 1174, 1253, 1368, 1416, 1478, 1686, 2934, 2981, 3425; UV/VIS (CH₃CN): λ_{\max} (lg ϵ) = 264 nm (3.648); ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.44 (s, 18 H, CH₃), 1.45 (s, 9 H, CH₃), 3.35 (bs, 4 H, CH₂), 3.48 (bs, 10 H, CH₂), 3.64 (bs, 4 H, CH₂), 3.89 (bs, 2 H, CH₂), 5.88 (bs, 2 H, CH₂), 7.45 (m, 3 H, CH), 7.49 (m, 2 H, CH), 8.03 (bs, 1 H, CH), 8.91 (bs, 1 H, CH), 9.02 (bs, 1 H, CH), 9.84 (bs, 1 H, CH), 10.22 (bs, 1 H, NH); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.25 (6 C, +), 28.31 (3 C, +), 35.16 (-), 45.35 (2 C, -), 49.98 (4 C, -), 50.42 (2 C, -), 53.85 (-), 65.65 (-), 81.00 (C_{quart}), 81.86 (2 C, C_{quart}), 128.18 (+), 129.58 (2 C, +), 129.92 (2 C, +), 130.49 (+), 131.63 (C_{quart}), 134.62 (C_{quart}), 144.96 (+), 145.03 (+), 145.14 (+), 156.55 (C_{quart}), 156.71 (2 C, C_{quart}), 161.90 (C_{quart}); MS (ESI, CH₂Cl₂/MeOH + 1 % AcOH): m/z (%) = 356 (10) [(K⁺ + H⁺)²⁺], 411 (2) [(K⁺ - 3 Boc)⁺], 511 (2) [(K⁺ - 2 Boc)⁺], 611 (2) [(K⁺ - Boc)⁺], 711 (100) [K⁺]; HRMS (C₃₈H₅₉N₆O₇⁺): ber. 711.4445, gef. 711.4433 ± 0.0007.

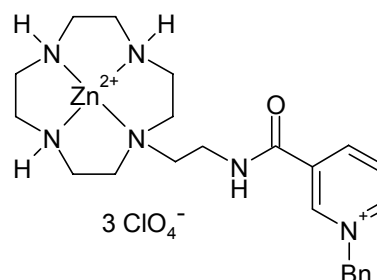


1-Benzyl-3-[2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethylcarbamoyl]-pyridinium-bromide-tri-hydrobromid (**19**):

Verbindung **18** (1.145 g, 1.45 mmol) wird mit 5.0 ml HBr in Eisessig (33%, 4.1 M) versetzt und die Suspension wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Produkt durch Zugabe von 10 ml Diethylether vollständig ausgefällt. Der extrem hygroskopische Niederschlag wird abgesaugt und gründlich mit Ether

gewaschen. Zur weiteren Reinigung wird das Rohprodukt in 10 ml Ethanol suspendiert und etwa 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Produkt abgesaugt und das Hydrobromid **19** (0.83 g, 1.13 mmol, 78 %) wird als farbloser Feststoff isoliert.

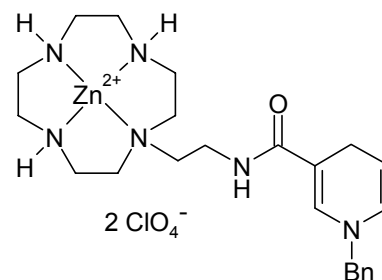
Zers. ab 125°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1440, 1544, 1628, 1669, 2725, 2980, 3420; UV/VIS (H₂O): λ_{max} (lg ϵ) = 263 nm (3.843); ¹H-NMR (250 MHz, D₂O): δ [ppm] = 2.75 - 3.53 (m, 20 H, CH₂), 5.80 (s, 2 H, CH₂), 7.40 (s, 5 H, CH), 8.09 (dd, ³J = 6.3, 7.9 Hz, 1 H, CH), 8.77 (d, ³J = 7.9 Hz, 1 H, CH), 8.96 (d, ³J = 6.3 Hz, 1 H, CH), 9.21 (s, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, D₂O): δ [ppm] = 36.75 (-), 41.62 (2 C, -), 42.14 (2 C, -), 44.31 (2 C, -), 48.02 (2 C, -), 51.80 (-), 65.15 (-), 128.73 (+), 129.49 (2 C, +), 129.72 (2 C, +), 130.24 (+), 132.21 (C_{quart}), 134.02 (C_{quart}), 144.05 (2 C, +), 146.64 (+), 163.81 (C_{quart}); MS (ESI, MeOH / H₂O): m/z (%) = 206 (100) [(K⁺ + H⁺)²⁺], 411 (5) [K⁺], 491 (9) [(K⁺ + HBr)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₃H₃₈Br₄N₆O × 2 H₂O: C 35.87, H 5.50, N 10.91; gef.: C 35.75, H 5.54, N 10.92.



1-Benzyl-3-[2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethylcarbamoyl-pyridinium-zink(II)-tri-perchlorat (**20**):

Zur Freisetzung der Amine wird das Hydrobromid **19** (0.71 g, 0.97 mmol) in 3 ml H₂O gelöst und über einen stark basischen Ionentauscher gegeben. Das Eluat wird eingengt und der feste Rückstand wird in 3 ml Methanol gelöst. Anschließend wird eine Lösung von Zn(ClO₄)₂ × 6 H₂O (0.72 g, 1.94 mmol) in 5 ml Methanol zugefügt. Es bildet sich sofort ein Niederschlag. Nun wird die Reaktionsmischung 1 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen (Eisbad) wird der Niederschlag abgesaugt und mit Diethylether nachgewaschen. Zur weiteren Reinigung wird das Rohprodukt in Acetonitril gelöst, die unlöslichen Salze abfiltriert und das Filtrat eingengt. Der Komplex **20** (0.64 g, 0.82 mmol, 85 %) wird in Form von orangen Kristallen isoliert.

Zers. ab 230-240°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 549, 1093, 1458, 1552, 1632, 1672, 2938, 3084, 3296, 3363; UV/VIS (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 262 nm (3.689); ¹H-NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 2.55 - 3.76 (m, 23 H, CH₂, NH), 5.81 (s, 2 H, CH₂), 7.48 (m, 5 H, CH), 7.81 - 8.14 (m, 2 H, CH, NH), 8.83 (m, 2 H, CH), 9.18 (s, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 36.38 (-), 43.47 (2 C, -), 44.76 (2 C, -), 45.58 (2 C, -), 50.94 (-), 52.27 (2 C, -), 65.92 (-), 129.63 (+), 130.48 (2 C, +), 130.56 (2 C, +), 131.05 (+), 133.53 (C_{quart}), 135.50 (C_{quart}), 145.06 (+), 145.41 (+), 147.20 (+), 163.27 (C_{quart}); MS (ESI, CH₃CN): m/z (%) = 237 (100) [(M³⁺ - H⁺)²⁺], 288 (20) [(M³⁺ + ClO₄⁻)²⁺], 575 (28) [(M³⁺ + ClO₄⁻ - H⁺)⁺], 675 (5) [(M³⁺ + 2 ClO₄⁻)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₃H₃₅Cl₃N₆O₁₃Zn × H₂O: C 34.82, H 4.70, N 10.59; gef.: C 35.02, H 4.70, N 10.61.

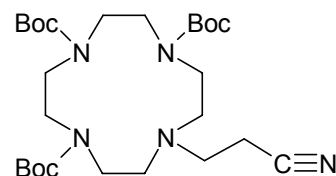


1-Benzyl-1,4-dihydropyridin-3-carbonsäure-[2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethyl]-amid-zink(II)-di-perchlorat (**21**):

Das Pyridinium **20** (34 mg, 44 μ mol) wird in 5 ml entgastem H₂O suspendiert. Nach der Zugabe von 4 eq Natriumcarbonat (19 mg, 0.18 mmol) und 2 eq Natriumdithionit (18 mg, 88 μ mol) wird die Reaktionsmischung 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Während der Reaktion bildet sich eine klare, gelbe Lösung. Anschließend wird das Wasser abgezogen und der Rückstand in 1 ml entgastem Acetonitril aufgenommen. Die unlöslichen Salze werden abgesaugt und das gelbe Filtrat wird eingengt. Das Dihydropyridin **21** (27 mg, 40 μ mol, 91 %) wird als gelber, extrem sauerstoffempfindlicher Feststoff isoliert.

UV/VIS (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 356 nm (3.781); Fluoreszenz (H₂O, λ_{ex} = 360 nm): λ_{\max} = 472 nm; ¹H-NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 2.46 - 2.98 (m, 18 H, CH₂), 3.04 (m, 2 H, CH₂), 3.20 - 3.43 (m, 5 H, CH₂, NH), 4.32 (s, 2 H, CH₂), 4.75 (dt, ³J = 8.0, 3.6 Hz, 1 H, CH), 5.88 (ddt, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.6, 1.7 Hz, 1 H, CH), 6.31 (bs, 1 H, NH), 7.03 (m, 1 H, CH), 7.29 (m, 5 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 22.85 (-),

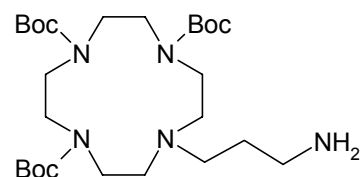
36.00 (–), 43.49 (2 C, –), 44.69 (2 C, –), 45.55 (2 C, –), 51.53 (2 C, –), 53.88 (–), 57.59 (–), 103.90 (+), 128.44 (2 C, +), 128.73 (+), 129.81 (2 C, +), 130.33 (2 C, +), 139.31 (C_{quart}), 140.21 (C_{quart}), 169.98 (C_{quart}).



10-(2-Cyanoethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-tert-butylester (22):

1,4,7-Tris-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10** (1.08 g, 2.27 mmol) wird in Acrylnitril (50.0 ml, 40.5 g, 0.76 mol) gelöst und 5 Tage refluxiert. Während der Reaktion bildet sich ein farbloses, unlösliches Polymer. Die Reaktionsmischung wird zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird mit 50 ml Dichlormethan versetzt und es wird vom unlöslichen Polymer abfiltriert. Das Filtrat wird eingengt und chromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: EE, $R_f = 0.7$) gereinigt. Das Produkt **22** (0.32 g, 0.62 mmol, 27 %) wird als farbloser Feststoff isoliert. Außerdem lässt sich nicht umgesetztes **10** (0.58 g, 1.23 mmol) zurückgewinnen.

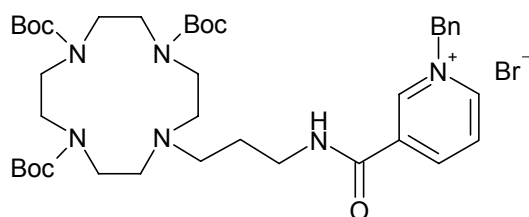
Schmpkt.: 55-56°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 773, 1171, 1251, 1366, 1417, 1462, 1686, 2248, 2977; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.45 (s, 18 H, CH₃), 1.47 (s, 9 H, CH₃), 2.49 (t, ³J = 6.9 Hz, 2 H, CH₂), 2.72 (m, 4 H, CH₂), 3.00 (t, ³J = 6.9 Hz, 2 H, CH₂), 3.32 - 3.51 (m, 12 H, CH₂); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.49 (6 C, +), 28.68 (3 C, +), 47.61 (3 C, –), 48.00 (3 C, –), 50.14 (2 C, –), 53.35 (–), 54.35 (–), 79.49 (C_{quart}), 79.87 (2 C, C_{quart}), 119.11 (C_{quart}), 155.34 (C_{quart}), 155.84 (C_{quart}), 156.16 (C_{quart}); MS (ESI, CH₃CN): m/z (%) = 526 (100) [MH⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₆H₄₇N₅O₆: C 59.41, H 9.01, N 13.32; gef.: C 59.20, H 9.15, N 13.04.



10-(3-Aminopropyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-tert-butylester (23):

Das Nitril **22** (0.43 g, 0.82 mmol) wird in 10 ml NH₃-gesättigtem Ethanol gelöst. Als Katalysator werden etwa 0.5 g Raney-Nickel zugesetzt. Anschließend wird die Reaktionsmischung im Autoklaven bei einem H₂-Druck von 15 bar bei Raumtemperatur 24 h gerührt. Nach Reaktionsende wird der Katalysator über Celite abgesaugt und es wird mit Ethanol nachgewaschen. Nach dem Einengen erhält man das Amin **23** (0.41 g, 0.77 mmol, 94 %) als farblosen Feststoff.

Schmpkt.: 52-56°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1172, 1251, 1366, 1416, 1463, 1690, 2933, 2976, 3438; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.45 (s, 18 H, CH₃), 1.47 (s, 9 H, CH₃), 1.67 (m, 2 H, CH₂), 2.05 (bs, 2 H, NH₂), 2.57 - 2.75 (m, 8 H, CH₂), 3.29 - 3.61 (m, 12 H, CH₂); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 27.44 (-), 28.53 (6 C, +), 28.70 (3 C, +), 40.14 (-), 47.56 (-), 47.94 (3 C, -), 49.98 (3 C, -), 53.76 (-), 54.82 (-), 79.34 (C_{quart}), 79.57 (2 C, C_{quart}), 155.44 (C_{quart}), 155.77 (C_{quart}), 156.19 (C_{quart}); MS (ESI, MeOH + 1% AcOH): m/z (%) = 265 (10) [(M + 2 H⁺)²⁺], 530 (100) [MH⁺], 1059 (1) [(2 M + H⁺)⁺], 1081 (1) [(2 M + Na⁺)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₆H₅₁N₅O₆ × H₂O: C 57.01, H 9.75, N 12.79; gef.: C 57.09, H 9.46, N 12.38.

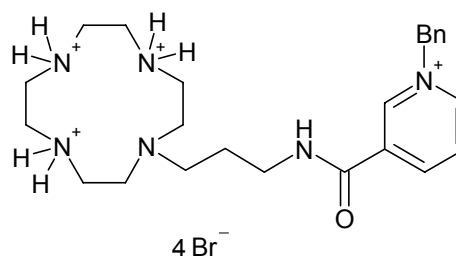


1-Benzyl-3-[3-(4,7,10-tris-tert-butoxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-propylcarbamoyl]-pyridinium-bromid (24):

Das Amin **23** (0.38 g, 0.71 mmol) wird in 10 ml DMF gelöst. Anschließend werden HOAt (0.12 g, 0.86 mmol), 1-Benzyl-3-carboxy-pyridinium-bromid **17** (0.23 g, 0.78 mmol) und EDC (0.15 ml, 0.13 g, 0.86 mmol) zugegeben. Die gelbe Lösung wird 18 h

bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird die nun orange Reaktionsmischung eingengt. Der rötliche Rückstand wird in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst und zweimal mit jeweils 10 ml 1 N HCl ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen über MgSO₄ wird die organische Phase eingengt. Das Pyridinium **24** (0.51 g, 0.63 mmol, 89 %) wird als farbloser Feststoff erhalten.

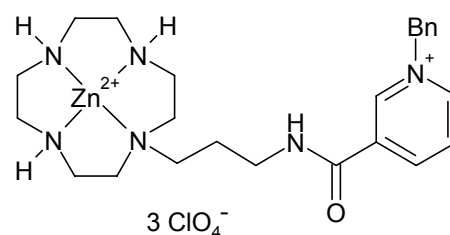
Schmpkt.: 83°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1162, 1251, 1367, 1414, 1468, 1694, 2932, 2975, 3433; UV/VIS (CH₃CN): λ_{\max} (lg ϵ) = 257 nm (3.729); ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.44 (bs, 27 H, CH₃), 2.25 (bs, 2 H, CH₂), 3.29 - 3.84 (m, 20 H, CH₂), 6.06 (bs, 2 H, CH₂), 7.34 (m, 3 H, CH), 7.49 (m, 2 H, CH), 8.03 (m, 1 H, CH), 8.91 (m, 1 H, CH), 9.22 (m, 1 H, CH), 9.68 (bs, 1 H, CH), 10.21 (bs, 1 H, NH); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 23.91 (-), 28.44 (6 C, +), 28.51 (3 C, +), 37.03 (-), 45.56 (2 C, -), 48.52 (2 C, -), 50.10 (2 C, -), 50.50 (2 C, -), 52.21 (-), 65.06 (-), 80.98 (C_{quart}), 81.59 (2 C, C_{quart}), 128.06 (+), 129.70 (2 C, +), 129.88 (2 C, +), 130.10 (+), 132.49 (C_{quart}), 134.73 (C_{quart}), 144.78 (+), 145.06 (+), 145.52 (+), 156.53 (2 C, C_{quart}), 156.64 (C_{quart}), 161.56 (C_{quart}); MS (ESI, MeOH): m/z (%) = 363 (100) [(K⁺ + H⁺)²⁺], 725 (80) [K⁺]; HRMS (C₃₉H₆₁N₆O₇⁺): ber. 725.4602, gef. 725.4622 ± 0.0037.



1-Benzyl-3-[3-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-propylcarbamoyl]-pyridinium-bromid-tri-hydrobromid (**25**):

Verbindung **24** (0.46 g, 0.57 mmol) wird mit 3 ml HBr in Eisessig (33%, 4.1 M) versetzt und die Suspension wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Produkt durch Zugabe von 6 ml Diethylether vollständig ausgefällt. Der extrem hygroskopische Niederschlag wird abgesaugt und gründlich mit Ether gewaschen. Zur weiteren Reinigung wird das Rohprodukt in 2 ml Ethanol suspendiert und etwa 15 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Produkt abgesaugt und das Hydrobromid **25** (0.33 g, 0.44 mmol, 77 %) wird als farbloser Feststoff isoliert.

Zers. ab 169°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1456, 1551, 1669, 2955, 3433; UV/VIS (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 263 nm (3.759); ¹H-NMR (250 MHz, D₂O): δ [ppm] = 1.83 (tt, ³J = 6.7, 8.1 Hz, 2H, CH₂), 2.85 (t, ³J = 8.0 Hz, 2 H, CH₂), 3.03 - 3.24 (m, 16 H, CH₂), 3.33 (t, ³J = 6.7 Hz, 2 H, CH₂), 5.75 (s, 2 H, CH₂), 7.36 (m, 5 H, CH), 8.02 (dd, ³J = 6.3, 8.2 Hz, 1 H, CH), 8.72 (d, ³J = 8.3 Hz, 1 H, CH), 8.89 (d, ³J = 6.2 Hz, 1 H, CH), 9.19 (s, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, D₂O): δ [ppm] = 23.53 (-), 37.94 (-), 42.33 (2 C, -), 42.61 (2 C, -), 43.94 (2 C, -), 49.14 (2 C, -), 51.57 (-), 65.11 (-), 128.60 (+), 129.41 (2 C, +), 129.67 (2 C, +), 130.17 (+), 132.20 (C_{quart}), 134.44 (C_{quart}), 144.11 (2 C, +), 146.34 (+), 163.81 (C_{quart}); MS (ESI, H₂O): m/z (%) = 213 (100) [(K⁴⁺ - 2 H⁺)²⁺], 425 (20) [(K⁴⁺ - 3 H⁺)⁺], 507 (9) [(K⁴⁺ - 2 H⁺ + Br⁻)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₄H₄₀Br₄N₆O × 4 H₂O: C 35.14, H 5.90, N 10.25; gef.: C 35.03, H 5.63, N 10.39.

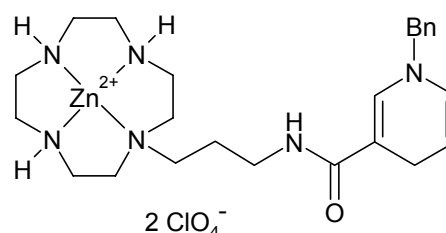


1-Benzyl-3-[3-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-propylcarbamoyl]-pyridinium-zink(II)-tri-perchlorat (26):

Zur Freisetzung der Amine wird das Hydrobromid **25** (0.31 g, 0.41 mmol) in etwa 2 ml H₂O gelöst und über 4 g eines stark basischen Ionentauschers gegeben. Das Eluat wird eingengt und der feste Rückstand wird in 2 ml Methanol gelöst. Anschließend wird eine Lösung von Zn(ClO₄)₂ × 6 H₂O (0.29 g, 0.78 mmol) in 2 ml Methanol zugefügt. Es bildet sich sofort ein Niederschlag. Nun wird die Reaktionsmischung 1 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen (Eisbad) wird der Niederschlag abgesaugt und mit wenig kaltem Methanol gewaschen. Der Komplex **26** (0.21 g, 0.27 mmol, 66 %) wird in Form von orangen Kristallen isoliert.

Schmpkt.: 127-133°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 627, 1091, 1552, 1668, 2933, 3437; UV/VIS (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 263 nm (3.774), 375 (2.658), 442 (2.163); ¹H-NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 1.85 (m, 2 H, CH₂), 2.70 - 3.44 (m, 23 H, CH₂, NH), 5.81 (s, 2 H, CH₂), 7.49 (m, 5 H, CH), 7.76 (bs, 1 H, NH), 8.11 (dd, ³J = 6.3, 7.9 Hz, 1 H, CH), 8.82 (m, 2 H, CH), 9.16 (s, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 23.17 (-)

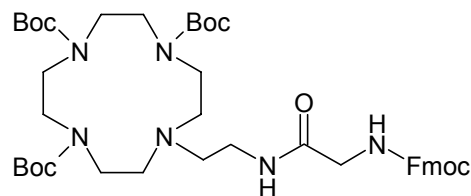
), 38.76 (–), 43.39 (2 C, –), 44.71 (2 C, –), 45.22 (2 C, –), 50.47 (2 C, –), 51.40 (–), 65.85 (–), 129.53 (+), 130.50 (2 C, +), 130.55 (2 C, +), 131.03 (+), 133.54 (C_{quart}), 136.03 (C_{quart}), 145.04 (+), 145.30 (+), 147.11 (+), 162.64 (C_{quart}); MS (ESI, CH₃CN): m/z (%) = 274 (96) [(K³⁺ + CH₃COO⁻)²⁺], 294 (100) [(K³⁺ + ClO₄⁻)²⁺], 587 (14) [(K³⁺ – H⁺ + ClO₄⁻)⁺], 647 (14) [(K³⁺ + ClO₄⁻ + CH₃COO⁻)⁺], 687 (10) [(K³⁺ + 2 ClO₄⁻)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₄H₃₇Cl₃N₆O₁₃Zn × H₂O: C 35.71, H 4.87, N 10.41; gef.: C 36.10, H 5.08, N 10.41.



1-Benzyl-1,4-dihydropyridin-3-carbonsäure[3-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-propyl]-amid-zink(II)-di-perchlorat (27):

Das Pyridinium **26** (35 mg, 44 μmol) wird in 5 ml entgastem H₂O suspendiert. Nach der Zugabe von 4 eq Natriumcarbonat (19 mg, 0.18 mmol) und 2 eq Natriumdithionit (18 mg, 88 μmol) wird die Reaktionsmischung 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Während der Reaktion bildet sich eine klare, gelbe Lösung. Anschließend wird das Wasser abgezogen und der Rückstand in 1 ml entgastem Acetonitril aufgenommen. Die unlöslichen Salze werden abgesaugt, es wird mit 3 ml Acetonitril nachgewaschen und das gelbe Filtrat wird eingeeengt. Das Dihydropyridin **27** (28 mg, 40 μmol, 91 %) wird als gelber, extrem sauerstoffempfindlicher Feststoff isoliert.

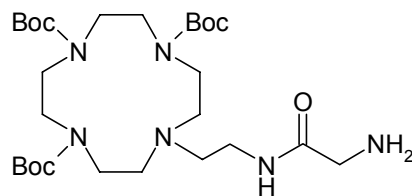
UV/VIS (H₂O): λ_{max} (lg ε) = 357 nm (3.641); Fluoreszenz (H₂O, λ_{ex} = 360 nm): λ_{max} = 462 nm; ¹H-NMR (400 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 1.79 (m, 2 H, CH₂), 2.65 - 3.28 (m, 25 H, CH₂, NH), 4.29 (s, 2 H, CH₂), 4.72 (dt, ³J = 8.0, 3.5 Hz, 1 H, CH), 5.85 (dd, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1 H, CH), 6.21 (s, 1 H, NH), 7.09 (m, 1 H, CH), 7.34 (m, 5 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 22.89 (–), 25.06 (–), 37.96 (–), 43.31 (2 C, –), 44.62 (2 C, –), 45.51 (2 C, –), 51.01 (2 C, –), 52.13 (–), 57.53 (–), 103.62 (+), 128.31 (2 C, +), 128.59 (+), 129.71 (2 C, +), 130.17 (+), 130.49 (+), 139.36 (C_{quart}), 140.03 (C_{quart}), 169.65 (C_{quart}).



10-{2-[2-(9*H*-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-acetylamino]-ethyl}-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-*tert*-butylester (**28**):

Das Amin **16** (1.0 g, 1.9 mmol) wird in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst. Unter Eiskühlung werden HOBt (0.32 g, 2.4 mmol), EDC (0.42 ml, 0.37 g, 2.4 mmol) und Fmoc-Glycin (0.63 g, 2.1 mmol) zugegeben. Die Lösung wird 8 h im Eisbad gerührt und anschließend mit 5 ml 2 N NaOH extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, es wird vom Trockenmittel abgesaugt und eingeeengt. Zur weiteren Reinigung wird das Rohprodukt über Kieselgel (Laufmittel: EE, R_f = 0.6) chromatographiert. Das geschützte Amin **28** (0.92 g, 1.2 mmol, 63 %) wird in Form von farblosen Kristallen erhalten.

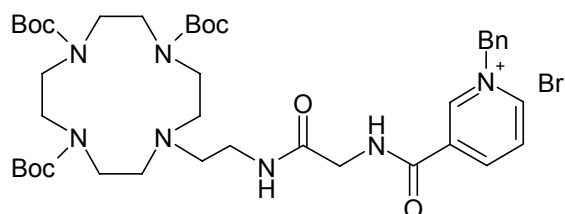
Schmpkt.: 82°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 739, 760, 1159, 1250, 1366, 1417, 1462, 1540, 1685, 2933, 2977, 3329; UV/VIS (CH₃CN): λ_{\max} (lg ϵ) = 265 (4.092), 289 (3.511), 300 (3.596); ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.46 (s, 18 H, CH₃), 1.47 (s, 9 H, CH₃), 2.61 - 3.51 (m, 20 H, CH₂), 3.91 (d, 2 H, CH₂), 4.22 (t, ³J = 7.1 Hz, 1 H, CH), 4.38 (d, ³J = 7.1 Hz, 2 H, CH₂), 5.73 (bs, 1 H, NH), 7.01 (bs, 1 H, NH), 7.27 - 7.39 (m, 4 H, CH), 7.60 (d, ³J = 7.3 Hz, 2 H, CH), 7.75 (d, ³J = 7.3 Hz, 2 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.57 (9 C, +), 36.81 (-), 44.20 (-), 47.14 (+), 47.63 (2 C, -), 49.68 (4 C, -), 52.50 (-), 54.67 (2 C, -), 67.08 (-), 79.87 (C_{quart}), 80.06 (2 C, C_{quart}), 119.96 (2 C, +), 125.18 (2 C, +), 127.06 (2 C, +), 127.69 (2 C, +), 141.29 (2 C, C_{quart}), 143.89 (2 C, C_{quart}), 155.63 (C_{quart}), 156.63 (3 C, C_{quart}), 168.77 (C_{quart}); MS (ESI, CH₂Cl₂/ MeOH + 1% AcOH): m/z (%) = 495 (100) [(MH⁺ - 3 Boc)⁺], 595 (27) [(MH⁺ - 2 Boc)⁺], 695 (10) [(MH⁺ - Boc)⁺], 795 (8) [MH⁺]; Elementaranalyse ber. für C₄₂H₆₂N₆O₉ × H₂O: C 62.05, H 7.93, N 10.34; gef.: C 61.97, H 7.96, N 10.05.



10-[2-(2-Amino-acetyl-amino)-ethyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-tert-butylester (29):

Der Macrocyclus **28** (0.85 g, 1.06 mmol) wird in 3.2 ml DMF gelöst. Anschließend werden 0.8 ml Piperidin zugegeben und die Reaktionsmischung wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach dem Abziehen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt über Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH = 10:1, R_f = 0.7) chromatographisch gereinigt. Das freie Amin **29** (0.52 g, 0.91 mmol, 86 %) wird als farbloser Feststoff isoliert.

Schmpkt.: 79°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 774, 1173, 1251, 1366, 1418, 1464, 1558, 1682, 2977, 3460; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 1.37 (s, 18 H, CH₃), 1.40 (s, 9 H, CH₃), 2.55 - 2.70 (m, 6 H, CH₂, NH₂), 3.18 - 3.49 (m, 18 H, CH₂), 7.89 (t, 1 H, NH); ¹³C-NMR (62 Hz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 28.02 (6 C, +), 28.28 (3 C, +), 33.47 (-), 43.77 (-), 46.31 (-), 46.74 (-), 47.13 (2 C, -), 48.84 (2 C, -), 49.42 (-), 53.67 (-), 54.32 (-), 78.17 (C_{quart}), 78.48 (2 C, C_{quart}), 154.45 (C_{quart}), 154.75 (C_{quart}), 155.02 (C_{quart}), 171.24 (C_{quart}); MS (ESI, MeOH + 1% AcOH): m/z (%) = 573 (100) [MH⁺], 1146 (4) [(2M + H⁺)⁺], 1167 (3) [(2M + Na⁺)⁺]; HRMS (C₂₇H₅₃N₆O₇⁺): ber. 573.3976, gef. 573.3970 ± 0.55 ppm.

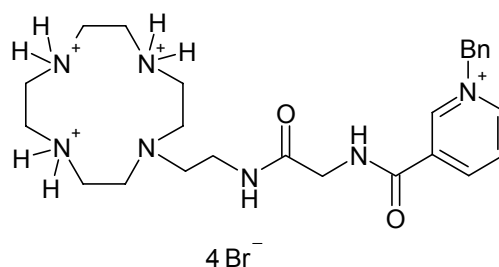


1-Benzyl-3-({[2-(4,7,10-tris-tert-butoxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethylcarbamoyl]-methyl}-carbamoyl)-pyridinium-bromid (30):

Das Amin **29** (0.44 g, 0.76 mmol) wird in 10 ml DMF gelöst. Anschließend werden HOAt (0.13 g, 0.92 mmol), 1-Benzyl-3-carboxy-pyridinium-bromid **17** (0.25 g, 0.84 mmol) und EDC (0.16 ml, 0.14 g, 0.92 mmol) zugegeben. Die gelbe Lösung wird 18 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend eingengt. Der rötliche Rückstand wird

in 15 ml CH₂Cl₂ gelöst und zweimal mit jeweils 5 ml 1 N HCl ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen über MgSO₄ wird vom Trockenmittel abgesaugt und die organische Phase eingengt. Das Pyridinium **30** (0.55 g, 0.65 mmol, 85 %) wird als farbloser Feststoff erhalten.

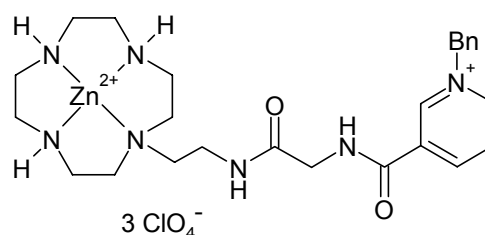
Schmpkt.: 59°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1162, 1252, 1368, 1414, 1478, 1545, 1686, 2933, 2976, 3428; UV/VIS (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 262 nm (3.884); ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.45 (s, 9 H, CH₃), 1.47 (s, 9 H, CH₃), 3.14 - 3.76 (m, 20 H, CH₂), 4.19 (bs, 2 H, CH₂), 6.03 (s, 2 H, CH₂), 7.37 (m, 3 H, CH), 7.64 (m, 2 H, CH), 8.47 (m, 1 H, CH), 8.97 (m, 2 H, CH), 9.92 (m, 1 H, CH), 10.39 (bs, 1 H, NH), 10.48 (bs, 1 H, NH); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.42 (6 C, +), 28.46 (3 C, +), 33.86 (-), 43.69 (-), 45.01 (2 C, -), 49.09 (2 C, -), 49.79 (2 C, -), 50.31 (2 C, -), 54.07 (-), 65.14 (-), 81.70 (C_{quart}), 81.85 (2 C, C_{quart}), 127.73 (+), 129.71 (2 C, +), 129.98 (2 C, +), 130.12 (+), 132.35 (C_{quart}), 134.47 (C_{quart}), 144.83 (+), 144.92 (+), 146.20 (+), 156.54 (3 C, C_{quart}), 161.81 (C_{quart}), 169.88 (C_{quart}); MS (ESI, MeOH + 1% AcOH): m/z (%) = 378 (15) [(K⁺ – 3 Boc – Benzyl + H)⁺], 468 (7) [(K⁺ – 3 Boc)⁺], 568 (12) [(K⁺ – 2 Boc)⁺], 668 (30) [(K⁺ – Boc)⁺], 768 (100) [K⁺]; HRMS (C₄₀H₆₂N₇O₈⁺): ber. 768.4660, gef. 768.4660 \pm 0.0013.



1-Benzyl-3-({[2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethylcarbamoyl]-methyl}-carbamoyl)-pyridinium-bromid-tri-hydrobromid (**31**):

Verbindung **30** (0.56 g, 0.65 mmol) wird mit 2.5 ml HBr in Eisessig (33%, 4.1 M) versetzt und die Suspension wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Produkt durch Zugabe von 10 ml Diethylether vollständig ausgefällt. Der hygroskopische Niederschlag wird abgesaugt und gründlich mit Ether gewaschen. Zur weiteren Reinigung wird das Rohprodukt in 10 ml Ethanol suspendiert und etwa 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Produkt abgesaugt und das Hydrobromid **31** (0.31 g, 0.39 mmol, 60 %) als farbloser Feststoff isoliert.

Zers. ab 200°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1456, 1548, 1669, 2964, 3429; UV/VIS (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 263 nm (3.832); ¹H-NMR (250 MHz, D₂O): δ [ppm] = 2.64 (t, ³J = 5.7 Hz, 2 H, CH₂), 2.81 - 2.92 (m, 8 H, CH₂), 3.09 (m, 8 H, CH₂), 3.27 (t, ³J = 5.7 Hz, 2 H, CH₂), 3.99 (s, 2 H, CH₂), 5.78 (s, 2 H, CH₂), 7.36 (m, 5 H, CH), 8.06 (dd, ³J = 6.2, 8.1 Hz, 1 H, CH), 8.80 (d, ³J = 8.2 Hz, 1 H, CH), 8.93 (d, ³J = 6.2 Hz, 1 H, CH), 9.27 (s, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, D₂O): δ [ppm] = 36.26 (-), 41.76 (2 C, -), 42.16 (2 C, -), 43.54 (-), 44.12 (2 C, -), 48.46 (2 C, -), 52.76 (-), 65.16 (-), 128.59 (+), 129.39 (2 C, +), 129.61 (2 C, +), 130.12 (+), 132.15 (C_{quart}), 133.67 (C_{quart}), 144.20 (+), 144.43 (+), 146.61 (+), 164.27 (C_{quart}), 171.43 (C_{quart}); MS (ESI, H₂O): m/z (%) = 234 (100) [(K⁺ + H⁺)²⁺], 468 (1) [K⁺], 550 (2) [(K⁺ + HBr)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₅H₄₁Br₄N₇O₂ × 2 H₂O: C 36.30, H 5.48, N 11.85; gef.: C 36.12, H 5.66, N 11.76.

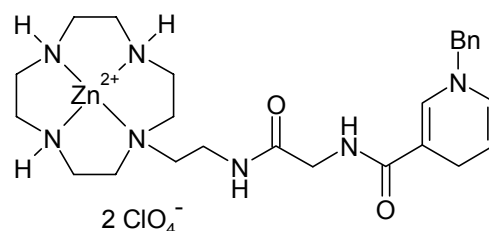


1-Benzyl-3-({[2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethylcarbamoyl]-methyl}-carbamoyl)-pyridinium-zink(II)-tri-perchlorat (**32**):

Zur Freisetzung der Amine wird das Hydrobromid **31** (0.29 g, 0.37 mmol) in etwa 2 ml H₂O gelöst und über einen basischen Ionentauscher gegeben. Das Eluat wird eingengt und der feste Rückstand in 2 ml Methanol gelöst. Anschließend wird eine Lösung von Zn(ClO₄)₂ × 6 H₂O (0.25 g, 0.68 mmol) in 3 ml Methanol zugefügt. Es bildet sich sofort ein Niederschlag, worauf die Reaktionsmischung 1 h zum Rückfluss erhitzt wird. Nach dem Abkühlen (Eisbad) wird der Niederschlag abgesaugt und mit wenig kaltem Methanol gewaschen. Der Komplex **32** (0.19 g, 0.23 mmol, 62 %) wird in Form von orangen Kristallen isoliert.

Zers. ab 117°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 627, 1090, 1110, 1548, 1668, 2932, 3406; UV/VIS (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 264 nm (3.745); ¹H-NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 2.69 - 3.50 (m, 23 H, CH₂, NH), 4.10 (s, 2 H, CH₂), 5.83 (s, 2 H, CH₂), 7.50 (m, 5 H, CH), 8.15 (dd, ³J = 6.2, 8.0 Hz, 1 H, CH), 8.86 (m, 2 H, CH), 9.22 (s, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 36.56 (-), 43.47 (2 C, -), 44.46 (-), 44.80 (2 C, -),

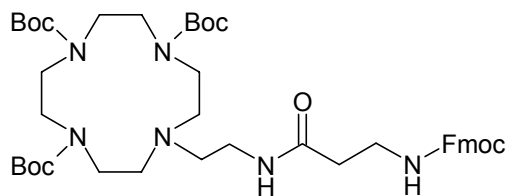
45.51 (2 C, –), 51.92 (2 C, –), 54.32 (–), 65.99 (–), 129.75 (+), 130.52 (2 C, +), 130.60 (2 C, +), 131.10 (+), 133.52 (C_{quart}), 135.21 (C_{quart}), 145.20 (+), 145.51 (+), 147.37 (+), 163.27 (C_{quart}), 172.33 (C_{quart}); MS (ESI, CH₃CN): m/z (%) = 265 (100) [(K³⁺ – H⁺)²⁺], 316 (10) [(K³⁺ + ClO₄[–])²⁺], 440 (10) [(K³⁺ – H⁺ – PhCH₂⁺)⁺], 630 (7) [(K³⁺ – H⁺ + ClO₄[–])⁺], 732 (2) [(K³⁺ + 2 ClO₄[–])⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₅H₃₈Cl₃N₇O₁₄Zn × 2 H₂O: C 34.58, H 4.87, N 11.29; gef.: C 34.59, H 4.97, N 11.25.



1-Benzyl-1,4-dihydropyridin-3-carbonsäure {2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethylcarbamoyl}-methyl}-amid-zink(II)-di-perchlorat (**33**):

Das Pyridinium **32** (37 mg, 44 μmol) wird in 5 ml entgastem H₂O suspendiert. Nach der Zugabe von 4 eq Natriumcarbonat (19 mg, 0.18 mmol) und 2 eq Natriumdithionit (18 mg, 88 μmol) wird die Reaktionsmischung 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Während der Reaktion bildet sich eine klare, gelbe Lösung. Anschließend wird das Wasser abgezogen und der Rückstand in 1 ml entgastem Acetonitril aufgenommen. Die unlöslichen Salze werden abgesaugt, es wird mit 3 ml Acetonitril nachgewaschen und das gelbe Filtrat eingengt. Das Dihydropyridin **33** (29 mg, 40 μmol, 90 %) wird als gelber, sauerstoffempfindlicher Feststoff isoliert.

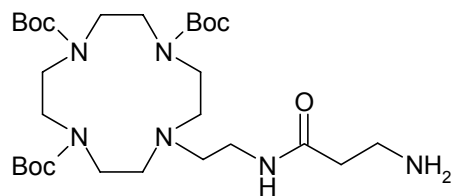
UV/VIS (H₂O): λ_{max} (lg ε) = 359 nm (3.480); Fluoreszenz (H₂O, λ_{ex} = 360 nm): λ_{max} = 463 nm; ¹H-NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 2.65 - 3.38 (m, 27 H, CH₂, NH), 4.30 (s, 2 H, CH₂), 4.72 (m, 1 H, CH), 5.84 (m, 1 H, CH), 6.35 (bs, 1 H, NH), 6.54 (m, 1 H, NH), 7.04 (d, ⁴J = 1.5 Hz, 1 H, CH), 7.32 (m, 5 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 22.88 (–), 35.94 (–), 43.58 (2 C, –), 44.68 (2 C, –), 45.66 (2 C, –), 51.75 (2 C, –), 53.38 (–), 57.56 (–), 65.86 (–), 103.87 (+), 128.40 (2 C, +), 128.69 (+), 129.81 (2 C, +), 130.42 (2 C, +), 139.40 (C_{quart}), 140.16 (C_{quart}), 169.81 (C_{quart}), 172.08 (C_{quart}).



10-{2-[3-(9H-Fluoren-9-ylmethoxycarbonylamino)-propionylamino]-ethyl}-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-tert-butylester (**34**):

Das Amin **16** (1.08 g, 2.10 mmol) wird in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst. Unter Eiskühlung werden HOBt (0.34 g, 2.54 mmol), EDC (0.45 ml, 0.39 g, 2.54 mmol) und Fmoc-β-Alanin (0.72 g, 2.31 mmol) zugegeben. Nun wird die Lösung 4 h im Eisbad gerührt. Anschließend wird die Reaktionsmischung mit 5 ml 2 N NaOH extrahiert. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, es wird vom Trockenmittel abgesaugt und eingengt. Zur weiteren Reinigung wird das Rohprodukt über Kieselgel (Laufmittel: EE, R_f = 0.5) chromatographiert. Das Cyclen-Derivat **34** (1.25 g, 1.54 mmol, 73 %) wird in Form von farblosen Kristallen erhalten.

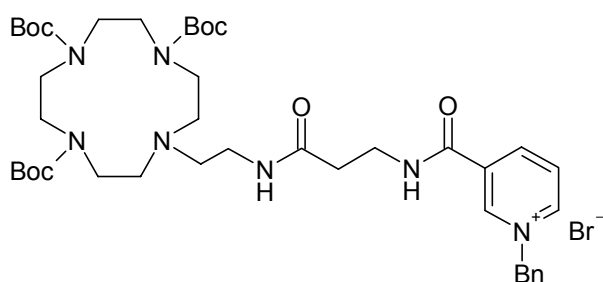
Schmpkt.: 94°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 742, 760, 1158, 1250, 1366, 1416, 1462, 1540, 1690, 2933, 2976, 3067; UV/VIS (MeOH): λ_{\max} (lg ϵ) = 265 (3.990), 289 (3.394), 300 (3.486); ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.45 (s, 18 H, CH₃), 1.47 (s, 9 H, CH₃), 2.46 (m, 2 H, CH₂), 2.63 (m, 6 H, CH₂), 3.33 - 3.52 (m, 16 H, CH₂), 4.20 (t, ³J = 7.2 Hz, 1 H, CH), 4.33 (d, ³J = 7.1 Hz, 2 H, CH₂), 5.85 (bs, 1 H, NH), 6.73 (bs, 1 H, NH), 7.27 - 7.42 (m, 4 H, CH), 7.60 (m, 2 H, CH), 7.74 (m, 2 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.53 (6 C, +), 28.60 (3 C, +), 35.51 (-), 36.70 (-), 37.24 (-), 47.27 (+), 49.40 (-), 50.35 (6 C, -), 52.55 (+), 54.77 (2 C, -), 66.71 (-), 79.86 (3 C, C_{quart}), 119.93 (2 C, +), 125.19 (2 C, +), 127.03 (2 C, +), 127.64 (2 C, +), 141.27 (2 C, C_{quart}), 144.04 (2 C, C_{quart}), 155.61 (C_{quart}), 156.52 (2 C, C_{quart}), 171.16 (C_{quart}), 171.81 (C_{quart}); MS (ESI, CH₂Cl₂/MeOH + 1% AcOH): m/z (%) = 509 (100) [(MH⁺ - 3 Boc)⁺], 609 (75) [(MH⁺ - 2 Boc)⁺], 709 (40) [(MH⁺ - Boc)⁺], 809 (55) [MH⁺], 831 (10) [MNa⁺], 1640 (3) [(2 M + Na⁺)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₄₃H₆₄N₆O₉ × H₂O: C 62.45, H 8.04, N 10.16; gef.: C 62.67, H 8.00, N 9.85.



10-[2-(3-Amino-propionylamino)-ethyl]-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-tert-butylester (35):

Das geschützte Amin **34** (1.13 g, 1.40 mmol) wird in 4 ml DMF gelöst. Anschließend wird 1 ml Piperidin zugegeben und die Reaktionsmischung 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt über Kieselgel (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH = 10:1, R_f = 0.6) chromatographisch gereinigt. Das freie Amin **35** (0.68 g, 1.19 mmol, 85 %) wird als farbloser Feststoff isoliert.

Schmpkt.: 78°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 774, 1122, 1252, 1366, 1418, 1466, 1560, 1686, 2977, 3454; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.45 (s, 18 H, CH₃), 1.47 (s, 9 H, CH₃), 1.67 (bs, 2 H, NH₂), 2.33 (t, ³J = 6.0 Hz, 2 H, CH₂), 2.67 (m, 6 H, CH₂), 3.00 (t, ³J = 6.0 Hz, 2 H, CH₂), 3.33 - 3.53 (m, 14 H, CH₂), 7.20 (bs, 1 H, NH); ¹³C-NMR (62 MHz, DMSO-d₆): δ [ppm] = 28.00 (6 C, +), 28.26 (3 C, +), 33.57 (-), 37.98 (-), 38.65 (-), 46.29 (-), 46.78 (-), 47.10 (2 C, -), 48.90 (2 C, -), 49.46 (-), 53.72 (-), 54.35 (-), 78.15 (C_{quart}), 78.47 (2 C, C_{quart}), 154.46 (C_{quart}), 154.75 (C_{quart}), 155.02 (C_{quart}), 171.17 (C_{quart}); MS (ESI, MeOH + 1% AcOH): m/z (%) = 587 (100) [MH⁺], 1173 (1) [(2M + H⁺)⁺], 1195 (1) [(2M + Na⁺)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₈H₅₄N₆O₇ × H₂O: C 55.61, H 9.33, N 13.90; gef.: C 56.10, H 9.28, N 13.64.

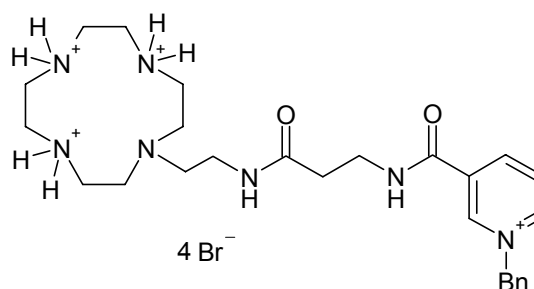


1-Benzyl-3-{2-[2-(4,7,10-tris-tert-butoxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethylcarbamoyl]-ethylcarbamoyl}-pyridinium-bromid (36):

Das Amin **35** (0.62 g, 1.06 mmol) wird in 10 ml DMF gelöst. Anschließend werden HOAt (0.18 g, 1.29 mmol), 1-Benzyl-3-carboxy-pyridinium-bromid **17** (0.34 g, 1.17 mmol) und EDC (0.23 ml, 0.20 g, 1.29 mmol) zugegeben. Die gelbe Lösung wird 18 h

bei Raumtemperatur gerührt und danach eingengt. Der rötliche Rückstand wird in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst, einmal mit 10 ml und ein weiteres Mal mit 5 ml 1 N HCl ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen über MgSO₄ und Abfiltrieren vom Trockenmittel wird die organische Phase eingengt. Das Pyridinium **36** (0.84 g, 0.97 mmol, 92 %) wird als farbloser Feststoff erhalten.

Schmpkt.: 67°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1162, 1253, 1368, 1416, 1479, 1550, 1675, 2976, 3433; UV/VIS (CH₃CN): λ_{\max} (lg ϵ) = 255 nm (3.761); ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.43 (bs, 27 H, CH₃), 2.61 (bs, 2 H, CH₂), 3.20 - 3.78 (m, 22 H, CH₂), 6.09 (s, 2 H, CH₂), 7.35 (m, 3 H, CH), 7.64 (m, 2 H, CH), 8.51 (m, 1 H, CH), 9.02 (d, 1 H, CH), 9.09 (d, 1 H, CH), 9.59 (m, 1 H, CH), 10.31 (bs, 1 H, NH), 11.16 (bs, 1 H, NH); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.42 (6 C, +), 28.48 (3 C, +), 34.53 (-), 36.06 (-), 37.07 (-), 45.29 (2 C, -), 49.13 (2 C, -), 49.99 (2 C, -), 50.31 (2 C, -), 54.81 (-), 65.01 (-), 80.97 (C_{quart}), 81.68 (2 C, C_{quart}), 127.86 (+), 129.72 (2 C, +), 129.87 (2 C, +), 130.14 (+), 132.42 (C_{quart}), 134.79 (C_{quart}), 144.98 (2 C, +), 145.36 (+), 156.52 (C_{quart}), 156.56 (2 C, C_{quart}), 161.39 (C_{quart}), 173.17 (C_{quart}); MS (ESI, MeOH): m/z (%) = 241 (4) [(K⁺ + H⁺ - 3 Boc)²⁺], 291 (4) [(K⁺ + H⁺ - 2 Boc)²⁺], 341 (7) [(K⁺ + H⁺ - Boc)²⁺], 391 (12) [(K⁺ + H⁺)²⁺], 782 (100) [K⁺]; HRMS (C₄₁H₆₄N₇O₈⁺): ber. 782.4816, gef. 782.4784 ± 0.0034.

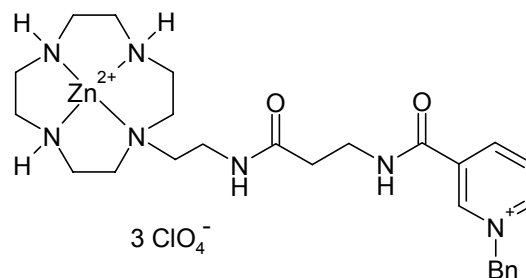


1-Benzyl-3-{2-[2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)ethylcarbamoyl]-ethylcarbamoyl}-pyridinium-bromid-trihydrobromid (**37**):

Verbindung **36** (0.76 g, 0.89 mmol) wird mit 4 ml HBr in Eisessig (33%, 4.1 M) versetzt und die Suspension wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird das Produkt durch Zugabe von 15 ml Diethylether vollständig ausgefällt. Der hygroskopische Niederschlag wird abgesaugt und gründlich mit Ether gewaschen. Zur weiteren Reinigung wird das Rohprodukt in 3 ml Ethanol suspendiert und etwa 15 min

bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird das Produkt abgesaugt und das Hydrobromid **37** (0.48 g, 0.60 mmol, 67 %) wird als farbloser Feststoff isoliert.

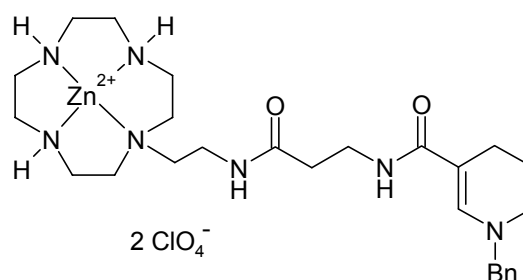
Zers. ab 116°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1456, 1550, 1669, 2927, 3428; UV/VIS (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 264 nm (3.647); ¹H-NMR (250 MHz, D₂O): δ [ppm] = 2.47 (t, ³J = 6.9 Hz, 2 H, CH₂), 2.60 (t, ³J = 6.1 Hz, 2 H, CH₂), 2.75 - 2.88 (m, 8 H, CH₂), 3.06 (m, 8 H, CH₂), 3.20 (t, ³J = 6.1 Hz, 2 H, CH₂), 3.55 (t, ³J = 6.9 Hz, 2 H, CH₂), 5.77 (s, 2 H, CH₂), 7.38 (m, 5 H, CH), 8.06 (dd, ³J = 6.2, 8.2 Hz, 1 H, CH), 8.71 (d, ³J = 8.2 Hz, 1 H, CH), 8.93 (dt, ³J = 6.2 Hz, ⁴J = 1.3 Hz, 1 H, CH), 9.17 (t, ⁴J = 1.3 Hz, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, D₂O): δ [ppm] = 35.36 (-), 35.95 (-), 36.86 (-), 41.75 (2 C, -), 42.08 (2 C, -), 44.15 (2 C, -), 48.25 (2 C, -), 52.25 (-), 65.13 (-), 128.65 (+), 129.38 (2 C, +), 129.67 (2 C, +), 130.17 (+), 132.19 (C_{quart}), 134.42 (C_{quart}), 144.03 (2 C, +), 146.42 (+), 163.70 (C_{quart}), 174.26 (C_{quart}); MS (ESI, MeOH/H₂O): m/z (%) = 644 (20) [(K⁴⁺ - 3 H⁺ + 2 Br⁻)], 724 (50) [(K⁴⁺ - 2 H⁺ + 3 Br⁻)], 804 (100) [(K⁴⁺ - H⁺ + 4 Br⁻)]; Elementaranalyse ber. für C₂₆H₄₃Br₄N₇O₂ × 3 H₂O: C 36.34, H 5.75, N 11.41; gef.: C 36.32, H 5.45, N 11.36.



1-Benzyl-3-{2-[2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)ethylcarbamoyl]-ethylcarbamoyl}-pyridinium-zink(II)-tri-perchlorat (**38**):

Zur Freisetzung der Amine wird das Hydrobromid **37** (0.43 g, 0.54 mmol) in etwa 2 ml H₂O gelöst und über einen basischen Ionentauscher gegeben. Das Eluat wird eingengt und der feste Rückstand in 2 ml Methanol gelöst. Anschließend wird eine Lösung von Zn(ClO₄)₂ × 6 H₂O (0.28 g, 0.76 mmol) in 2 ml Methanol zugefügt. Es bildet sich sofort ein Niederschlag. Nun wird die Reaktionsmischung 1 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen (Eisbad) wird der Niederschlag abgesaugt und mit wenig kaltem Methanol gewaschen. Der Komplex **38** (0.32 g, 0.38 mmol, 70 %) wird in Form von orangen Kristallen isoliert.

Schmpkt.: 124-129°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 627, 1091, 1550, 1663, 2930, 3374; UV/VIS (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 263 nm (3.731), 372 (2.505), 459 (2.279); ¹H-NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 2.64 - 3.76 (m, 27 H, CH₂, NH), 5.82 (s, 2 H, CH₂), 7.34 (m, 1 H, NH), 7.50 (m, 5 H, CH), 7.89 (m, 1 H, NH), 8.13 (dd, ³J = 6.1, 8.1 Hz, 1 H, CH), 8.82 (m, 2 H, CH), 9.13 (bs, 1 H, CH); ¹³C-NMR (62 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 37.13 (-), 37.18 (-), 39.75 (-), 43.19 (2 C, -), 44.96 (2 C, -), 45.29 (2 C, -), 53.04 (2 C, -), 55.35 (-), 65.87 (-), 129.61 (+), 130.54 (2 C, +), 130.57 (2 C, +), 131.06 (+), 133.52 (C_{quart}), 135.73 (C_{quart}), 145.05 (+), 145.29 (+), 147.09 (+), 162.98 (C_{quart}), 178.63 (C_{quart}); MS (ESI, CH₃CN/MeOH): m/z (%) = 272 (100) [(K³⁺ - H⁺)²⁺], 644 (5) [(K³⁺ - H⁺ + ClO₄⁻)⁺], 746 (2) [(K³⁺ + 2 ClO₄⁻)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₆H₄₀Cl₃N₇O₁₄Zn: C 36.90, H 4.76, N 11.58; gef.: C 36.59, H 4.92, N 11.51.

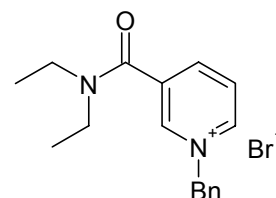


1-Benzyl-1,4-dihydropyridin-3-carbonsäure-2-[2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethylcarbamoyl]-ethyl}-amid-zink(II)-di-perchlorat (**39**):

Das Pyridinium **38** (37 mg, 44 μ mol) wird in 5 ml entgastem H₂O suspendiert. Nach der Zugabe von 4 eq Natriumcarbonat (19 mg, 0.18 mmol) und 2 eq Natriumdithionit (18 mg, 88 μ mol) wird die Reaktionsmischung 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Während der Reaktion bildet sich eine klare, gelbe Lösung. Anschließend wird das Wasser abgezogen und der Rückstand in 1 ml entgastem Acetonitril aufgenommen. Die unlöslichen Salze werden abgesaugt, es wird mit 3 ml Acetonitril nachgewaschen und das gelbe Filtrat eingengt. Das Dihydropyridin **39** (30 mg, 40 μ mol, 91 %) wird als gelber, sauerstoffempfindlicher Feststoff isoliert.

UV/VIS (H₂O): λ_{\max} (lg ϵ) = 357 nm (3.547); Fluoreszenz (H₂O, λ_{ex} = 360 nm): λ_{\max} = 461 nm; ¹H-NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 2.31 – 3.48 (m, 29 H, CH₂, NH), 4.29 (s, 2 H, CH₂), 4.71 (dt, ³J = 8.1, 3.4 Hz, 1 H, CH), 5.84 (dd, ³J = 8.1 Hz, ⁴J = 1.6 Hz, 1 H, CH), 6.28 (t, ³J = 5.8 Hz, 1 H, NH), 7.04 (d, ⁴J = 1.5 Hz, 1 H, CH), 7.25 (m, 1 H,

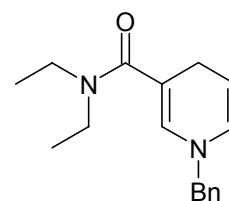
NH), 7.34 (m, 5 H, CH); ^{13}C -NMR (62 MHz, CD_3CN): δ [ppm] = 22.90 (–), 35.44 (–), 36.28 (–), 37.33 (–), 43.43 (2 C, –), 44.58 (2 C, –), 45.56 (2 C, –), 51.30 (2 C, –), 53.12 (–), 57.56 (–), 103.50 (+), 128.35 (2 C, +), 128.65 (+), 129.77 (2 C, +), 130.29 (+), 139.46 (C_{quart}), 139.83 (2 C, +, C_{quart}), 169.26 (C_{quart}), 173.59 (C_{quart}).



1-Benzyl-3-diethylcarbamoyl-pyridinium-bromid (40):

N,N-Diethylnicotinamid (1.68 ml, 1.78 g, 10.0 mmol) und Benzylbromid (2.38 ml, 3.42 g, 20.0 mmol) werden in 10 ml Ethanol gelöst. Die Reaktionsmischung wird 48 h zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wird die erkaltete Lösung zur Trockene eingengt und aus einer Mischung von 20 ml Ethylacetat und 6 ml 2-Propanol umkristallisiert. Als Produkt **40** (2.12 g, 6.04 mmol, 60 %) wird ein farbloser Feststoff erhalten.

Schmpkt.: 197°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm^{-1}] = 1442, 1610, 1633, 2930, 3000, 3060; ^1H -NMR (250 MHz, D_2O): δ [ppm] = 1.12 - 1.29 (m, 6 H, CH_3), 3.38 - 3.47 (m, 4 H, CH_2), 6.37 (s, 2 H, CH_2), 7.43 (m, 3 H, CH), 7.65 (m, 2 H, CH), 8.14 (dd, $^3J = 6.2, 7.9$ Hz, 1 H, CH), 8.34 (d, $^3J = 8.0$ Hz, 1 H, CH), 9.07 (s, 1 H, CH), 9.68 (d, $^3J = 6.1$ Hz, 1 H, CH).

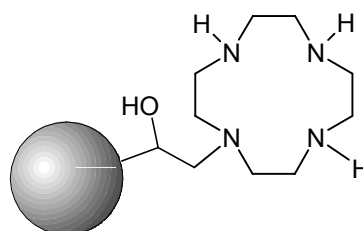


1-Benzyl-1,4-dihydropyridin-3-carbonsäurediethylamid (41):

Verbindung **41** wird in Anlehnung an die Synthese von Schmidt *et al.*¹⁶⁶ dargestellt. Das Pyridinium **40** (0.11 g, 0.30 mmol) wird in 5 ml entgastem H_2O gelöst. Anschließend werden 4 eq Natriumcarbonat (0.13 g, 1.20 mmol) und 2 eq 85 %iges Natriumdithionit (0.13 g, 0.60 mmol) zugegeben. Die Lösung wird 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Während der Reaktion lässt sich eine Gelbfärbung und eine Trübung beobachten. Nun wird die Reaktionsmischung dreimal mit jeweils 20 ml entgastem Chloroform extrahiert. Bei kleineren Ansätzen wird die wässrige Phase zusätzlich mit NaCl

gesättigt. Die vereinigten organischen Phasen werden über MgSO_4 getrocknet. Das Trockenmittel wird abgesaugt und das Filtrat eingeeengt. Das Dihydropyridin **41** (0.76 g, 0.28 mmol, 93 %) wird als gelbes Öl isoliert.

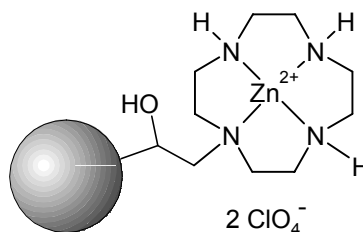
$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): δ [ppm] = 1.05 (m, 6 H, CH_3), 3.13 (ddd, $^3J = 3.4$ Hz, $^4J = 1.6, 0.9$ Hz, 2 H, CH_2), 3.35 (m, 4 H, CH_2), 4.19 (s, 2 H, CH_2), 4.56 (dt, $^3J = 8.0, 3.4$ Hz, 1 H, CH), 5.75 (ddt, $^3J = 8.0$ Hz, $^4J = 1.6, 1.6$ Hz, 1 H, CH), 6.11 (dt, $^4J = 1.6, 0.9$ Hz, 1 H, CH), 7.25 (m, 5 H, CH).



1-Fractogel-1,4,7,10-tetraazacyclododecan (**44**):

Fractogel[®] EMD Epoxy (4.0 g) und 1,4,7-Tris-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10** (0.60 g, 1.27 mmol) werden in 80 ml wässrigem Carbonat-Puffer (pH 10) suspendiert. Die Reaktionsmischung wird unter Rühren 4 Tage auf 40°C erwärmt. Anschließend wird das Polymer abfiltriert und zur Deaktivierung überschüssiger Epoxidgruppen 2 h bei 40°C in 40 ml Tris/HCl-Puffer (pH 8) erhitzt, welcher 0.2 mol/l Glycin enthält. Das Polymer wird abgesaugt und mit 20 ml Trifluoressigsäure versetzt. Die Suspension wird 10 min bei RT gerührt. Danach wird der Feststoff abfiltriert und mit 50 ml 2 M NaOH sowie 100ml H_2O gewaschen. Das Produkt **44** (4.01 g) wird als farbloser Feststoff isoliert.

Elementaranalyse: C 53.32, H 8.02, N 0.80.

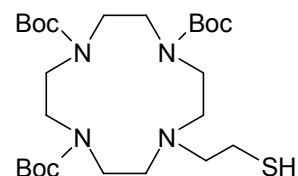


1-Fractogel-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-zink(II)-di-perchlorat (**45**):

Das Polymer **44** (2.02 g) und $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ (1.34 g, 3.6 mmol) werden in 10 ml Wasser suspendiert. Die Reaktionsmischung wird 3 h auf 80°C erwärmt. Anschließend

wird das Produkt abfiltriert und gründlich mit H₂O und MeOH gewaschen. Nach dem Trocknen werden 1.90 g Polymer **45** erhalten.

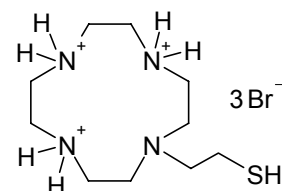
Elementaranalyse: C 51.45, H 7.60, N 0.85.



10-(2-Mercapto-ethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-tert-butylester (**46**):

1,4,7-Tris-*tert*-butyloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10** (2.30 g, 4.9 mmol) wird in 25 ml Toluol gelöst und mit Thiiran (1.0 ml, 1.0 g, 16.8 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wird im verschlossenen Kolben 10 d auf 80°C erhitzt. Alle 48 h wird 1 ml Thiiran zugegeben. Anschließend wird die Reaktionsmischung eingeeengt und säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt (Laufmittel: EE, R_f = 0.8). Das Produkt **46** wird als farbloser Feststoff erhalten (2.56 g, 4.8 mmol, 98 %).

Schmpkt.: 57°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 773, 860, 978, 1171, 1251, 1366, 1416, 1462, 1690, 2553, 2931, 2976; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.45 (s, 18 H, CH₃), 1.47 (s, 9 H, CH₃), 1.50 (s, 1 H, SH), 2.66 - 2.90 (m, 8 H, CH₂), 3.29 - 3.51 (m, 12 H, CH₂); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 19.35 (-), 28.52 (6 C, +), 28.69 (3 C, +), 47.98 (4 C, -), 50.01 (2 C, -), 53.53 (-), 54.87 (-), 56.40 (-), 79.35 (C_{quart}), 79.64 (2 C, C_{quart}), 155.38 (C_{quart}), 155.72 (C_{quart}), 156.14 (C_{quart}); MS (FAB, CH₂Cl₂): m/z = 533 [MH⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₅H₄₈N₄O₆S × H₂O: C 54.52, H 9.15, N 10.17; gef.: C 54.57, H 8.75, N 9.31.

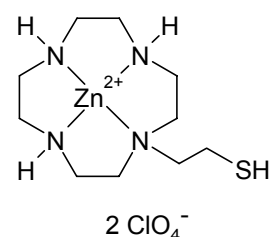


2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethanthiol-tri-hydrobromid (**47**):

Das Thiol **46** (0.50 g, 0.94 mmol) wird mit 4.0 ml HBr in Eisessig (33%, 4.1 M) versetzt und 30 min bei RT gerührt. Dabei wird eine Gasentwicklung beobachtet.

Anschließend werden der Suspension 6 ml Diethylether hinzugefügt. Der ausgefallene Niederschlag wird abgesaugt und gründlich mit Ether gewaschen. Danach wird das Rohprodukt in 6 ml siedendem MeOH gelöst. Beim Erkalten und nach Zugabe von etwas Ether beginnt das Produkt auszufallen. Das farblose Thiol **47** (0.38 g, 0.79 mmol, 84 %) wird abgesaugt und getrocknet.

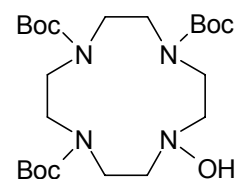
Zersetzung ab 157°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1444, 1618, 2753, 2960, 3429; ¹H-NMR (250 MHz, D₂O): δ [ppm] = 2.74 - 2.89 (m, 12 H, CH₂), 3.03 - 3.19 (m, 8 H, CH₂); ¹³C-NMR (62 MHz, D₂O): δ [ppm] = 21.13 (-), 41.75 (2 C, -), 42.08 (2 C, -), 44.27 (2 C, -), 48.06 (2 C, -), 54.21 (-); MS (ESI, H₂O): m/z = 233 [MH⁺]; Elementaranalyse ber. für C₁₀H₂₇Br₃N₄S × 1.5 CH₃COOH: C 27.63, H 5.88, N 9.91; gef.: C 27.88, H 5.95, N 10.28.



2-(1,4,7,10-tetraazacyclododec-1-yl)-ethanethiol-zink(II)-di-perchlorat (**48**):

Verbindung **47** (0.27 g, 0.56 mmol) wird in 3 ml H₂O gelöst. Anschließend werden Na₂CO₃ (0.24 g, 2.24 mmol) und Zn(ClO₄)₂ × 6 H₂O (0.22 g, 0.60 mmol) zugegeben und die Reaktionsmischung wird 1 h auf 80°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung eingeeengt und der Rückstand wird in 5 ml CH₃CN aufgenommen. Der unlösliche Niederschlag wird abgesaugt und das Filtrat eingeeengt. Der Komplex **48** (0.24 g, 0.49 mmol, 88 %) wird als farbloser Feststoff isoliert.

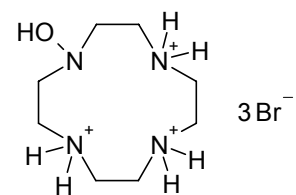
Zersetzung ab 192°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 627, 1089, 1461, 1618, 2879, 2923, 3416; ¹H-NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 2.52 - 3.40 (m, CH₂, NH); ¹³C-NMR (62 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 25.37 (-), 43.58 (-), 43.79 (-), 44.68 (-), 45.35 (-), 45.64 (-), 46.40 (-), 50.55 (-), 51.17 (-), 57.27 (-); MS (ESI, CH₃CN): m/z = 295 [(K²⁺ - H⁺)⁺]; HRMS (C₁₀H₂₃N₄SZn⁺): ber. 295.0935, gef. 295.0932 ± 0.0006.



10-Hydroxy-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,4,7-tricarbonsäure-tri-tert-butylester (49):

Dimethyldioxiran wird nach einer Literaturvorschrift ¹⁶³ dargestellt und sofort weiter umgesetzt. 1,4,7-Tris-tert-butylloxycarbonyl-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **10** (0.50 g, 1.06 mmol) wird in 5 ml N₂-gesättigtem Aceton gelöst. Unter Eiskühlung werden 16 ml Dimethyldioxiran in Aceton (~0.1 M) zugetropft. Anschließend wird die Reaktionsmischung 4 h bei RT gerührt. Die Lösung wird eingengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt (Laufmittel: EE, R_f = 0.6). Das Hydroxylamin **49** (0.42 g, 0.86 mmol, 81 %) wird als farbloser Feststoff erhalten.

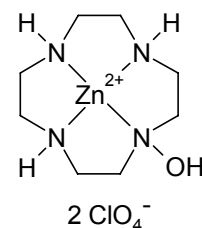
Schmpkt.: 84°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 775, 1174, 1249, 1366, 1420, 1466, 1694, 2933, 2977, 3428; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 1.45 (s, 18 H, CH₃), 1.47 (s, 9 H, CH₃), 2.91 (bs, 4 H, CH₂), 3.31 - 3.95 (m, 12 H, CH₂), 5.85 (bs, 1 H, OH); ¹³C-NMR (62 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 28.47 (6 C, +), 28.69 (3 C, +), 45.27 (-), 46.14 (-), 47.81 (-), 48.15 (-), 49.57 (-), 50.14 (-), 59.07 (-), 59.69 (-), 79.41 (C_{quart}), 79.81 (C_{quart}), 79.94 (C_{quart}), 155.36 (C_{quart}), 156.07 (C_{quart}), 156.41 (C_{quart}); MS(ESI, MeOH/CH₂Cl₂ + 1% AcOH): m/z (%) = 489 (100) [MH⁺]; Elementaranalyse ber. für C₂₃H₄₄N₄O₇: C 56.54, H 9.08, N 11.47; gef.: C 56.40, H 9.33, N 11.12.



1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-ol-tri-hydrobromid (50):

Verbindung **49** (0.30 g, 0.62 mmol) wird mit 2.0 ml HBr in Eisessig (33%, 4.1 M) versetzt und 30 min bei RT gerührt. Dabei wird eine Gasentwicklung beobachtet. Anschließend werden der Suspension 5 ml Diethylether hinzugefügt. Der ausgefallene Niederschlag wird abgesaugt und gründlich mit Ether gewaschen. Das Hydrobromid **50** (0.24 g, 0.56 mmol, 91%) wird als farbloser Feststoff isoliert.

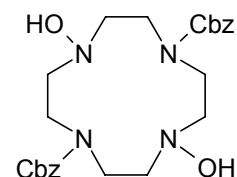
Zers. ab 210°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1635, 2760, 2926, 3422; ¹H-NMR (250 MHz, D₂O): δ [ppm] = 2.84 - 3.52 (m, CH₂); ¹³C-NMR (100 MHz, D₂O): δ [ppm] = 42.61 (2 C, -), 43.39 (2 C, -), 44.04 (2 C, -), 54.39 (2 C, -); MS (ESI, H₂O): m/z (%) = 189 (100) [MH⁺]; Elementaranalyse ber. für C₈H₂₃Br₃N₄O × 0.5 CH₃COOH: C 23.45, H 5.47, N 12.15; gef.: C 23.03, H 5.46, N 12.53.



1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1-ol-zink(II)-di-perchlorat (**51**):

Zur Freisetzung der Amine wird das Hydrobromid **50** (0.22 g, 0.51 mmol) in 2 ml H₂O gelöst und über 2 g eines basischen Ionentauschers gegeben. Das Eluat wird eingengt und der feste Rückstand wird in 2 ml Methanol gelöst. Anschließend wird eine Lösung von Zn(ClO₄)₂ × 6 H₂O (0.28 g, 0.75 mmol) in 2 ml Methanol zugefügt. Es bildet sich sofort ein Niederschlag. Nun wird die Reaktionsmischung 45 min auf 80°C erhitzt. Nach dem Einengen wird der Rückstand unter Erwärmen in 1 ml MeOH suspendiert und anschließend im Eisfach gekühlt. Der Niederschlag wird abgesaugt und der Komplex **51** (0.15 g, 0.33 mmol, 65 %) als farbloser Feststoff erhalten.

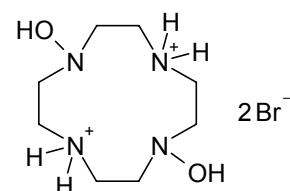
Zers. ab 235°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 628, 1089, 1459, 2933, 3163, 3254, 3410; ¹H-NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 2.60 - 2.79 (m, 4 H, CH₂), 2.84 - 3.20 (m, 12 H, CH₂), 3.36 (bs, 3 H, NH), 6.73 (bs, 1 H, OH); ¹³C-NMR (62 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 43.77 (2 C, -), 44.97 (2 C, -), 45.15 (2 C, -), 56.23 (2 C, -); MS (ESI, H₂O + 1% AcOH): m/z (%) = 311 (100) [(K²⁺ + CH₃COO⁻)⁺], 351 (35) [(K²⁺ + ClO₄⁻)⁺]; Elementaranalyse ber. für C₈H₂₀Cl₂N₄O₉Zn × 0.5 CD₃CN: C 22.78, H 4.88, N 13.28; gef.: C 22.92, H 4.98, N 13.18.



4,10-Dihydroxy-1,4,7,10-tetraazacyclododecan-1,7-dicarbonsäure-dibenzylester (53):

Dimethyldioxiran wird nach einer Literaturvorschrift¹⁶³ dargestellt und sofort weiter umgesetzt. 1,7-Bis(benzyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan **52**¹⁶⁴ (0.70 g, 1.60 mmol) wird in 10 ml N₂-gesättigtem Aceton gelöst. Unter Eiskühlung werden 41 ml Dimethyldioxiran in Aceton (~0.1 M) zugetropft. Anschließend wird die Reaktionsmischung 30 min im Eisbad und weitere 40 min bei RT gerührt. Die Lösung wird eingeeengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch über Kieselgel gereinigt (Laufmittel: CH₂Cl₂/MeOH = 10:1, R_f = 0.8). Das Hydroxylamin **53** (0.34 g, 0.73 mmol, 46 %) wird als farbloser Feststoff erhalten.

Schmpkt.: 54°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 772, 1020, 1167, 1260, 1361, 1412, 1479, 1699, 2948, 3494, 3540; UV/VIS (CH₃CN): λ_{\max} (lg ϵ) = 206 nm (4.297); ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 2.86 – 4.14 (m, 16 H, CH₂), 5.22 (m, 2 H, CH₂), 5.27 (m, 2 H, CH₂), 7.35 (m, 10 H, CH); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃): δ [ppm] = 47.93 (-), 48.70 (-), 48.92 (-), 49.76 (-), 60.48 (2 C, -), 61.24 (-), 61.39 (-), 67.67 (-), 67.74 (-), 127.78 (+), 127.90 (+), 127.94 (+), 128.14 (+), 128.34 (+), 128.40 (+), 128.65 (+), 128.69 (+), 128.71 (+), 128.76 (+), 156.37 (C_{quart}), 156.47 (C_{quart}), 175.26 (2 C, C_{quart}); MS(ESI, MeOH/CH₂Cl₂ + 1% AcOH): m/z (%) = 473 (100) [MH⁺], 495 (2) [MNa⁺]; HRMS (C₂₄H₃₃N₄O₆⁺): ber. 473.2400, gef. 473.2391 ± 0.0006; Elementaranalyse ber. für C₂₄H₃₂N₄O₆ × 2 H₂O: C 56.68, H 7.13, N 11.02; gef.: C 56.83, H 7.13, N 11.02.

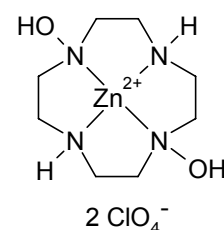


1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,7-diol-di-hydrobromid (54):

Verbindung **53** (0.28 g, 0.60 mmol) wird mit 3.0 ml HBr in Eisessig (33%, 4.1 M) versetzt und 30 min bei RT gerührt. Dabei wird eine Gasentwicklung beobachtet.

Anschließend werden der Suspension 5 ml Diethylether hinzugefügt. Der ausgefallene Niederschlag wird abgesaugt und gründlich mit Ether gewaschen. Das Produkt **54** (0.20 g, 0.55 mmol, 93 %) wird als farbloser Feststoff isoliert.

Schmpkt.: 151°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 1457, 1705, 2762, 2960, 3046, 3259, 3427; ¹H-NMR (250 MHz, D₂O): δ [ppm] = 3.04 - 3.48 (m, CH₂); ¹³C-NMR (62 MHz, D₂O): δ [ppm] = 42.91 (2 C, -), 45.02 (2 C, -), 53.08 (4 C, -); MS (ESI, H₂O): m/z (%) = 205 (100) [MH⁺]; Elementaranalyse ber. für C₈H₂₂Br₂N₄O₂ × 0.5 CH₃CH₂OCH₂CH₃: C 29.79, H 6.75, N 13.90; gef.: C 30.23, H 6.22, N 14.18.



1,4,7,10-Tetraazacyclododecan-1,7-diol-zink(II)-di-perchlorat (**55**):

Zur Freisetzung der Amine wird das Hydrobromid **54** (0.20 g, 0.55 mmol) in 4 ml MeOH/H₂O = 3:1 gelöst und über 2 g eines basischen Ionenauschers gegeben. Das Eluat wird eingeeengt und der feste Rückstand wird in 3 ml Methanol gelöst. Anschließend wird eine Lösung von Zn(ClO₄)₂ × 6 H₂O (0.20 g, 0.54 mmol) in 2 ml Methanol zugefügt. Es bildet sich sofort ein Niederschlag. Nun wird die Reaktionsmischung 45 min auf 80°C erhitzt. Nach dem Einengen wird der Rückstand unter Erwärmen in 1 ml MeOH suspendiert und anschließend im Eisfach gekühlt. Der Niederschlag wird abgesaugt und der Komplex **55** (0.15 g, 0.33 mmol, 60 %) wird als farbloser Feststoff erhalten.

Schmpkt.: 138-140°C; IR (KBr): $\bar{\nu}$ [cm⁻¹] = 628, 1090, 1389, 1450, 2941, 3167, 3224, 3422; ¹H-NMR (250 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 2.65 - 2.75 (m, 4 H, CH₂), 3.02 - 3.27 (m, 12 H, CH₂), 3.71 (bs, 2 H, NH), 7.12 (bs, 1 H, OH), 7.39 (bs, 1 H, OH); ¹³C-NMR (62 MHz, CD₃CN): δ [ppm] = 44.05 (4 C, -), 56.65 (4 C, -); MS (ESI, MeOH + 10 mmol NH₄Ac): m/z (%) = 327 (100) [(K²⁺ + CH₃COO⁻)⁺].

3. Messmethoden

3.1. Potentiometrische Titration

Die potentiometrischen pH-Titrations werden entweder in wässriger 0.1 M TEAP-Lsg. oder in 0.1 M TEAP in MeOH/H₂O = 9:1 durchgeführt, um eine konstante Ionenstärke von $I = 0.1$ zu gewährleisten. Als Base dient 0.1 M Tetraethylammoniumhydroxid, welches mit Hilfe eines Dosimats (Dosimat 665 bzw. 765, Metrohm) zu der auf 25°C thermostatisierten Messlösung gegeben wird. Der pH-Wert wird mit einem Microprocessor pH-Meter (pH 3000) der Firma WTW (Wiss.-techn. Werkstätten, Weilheim) gemessen. Die Base wird in regelmäßigen Abständen mit Natriumphthalat geeicht. Die Eigendissoziation des Wassers ($\log K_w$) wird durch Titration von 0.1 M Perchlorsäure bestimmt.

Die Auswertung erfolgt mit dem Computerprogramm Hyperquad 2000 (Version 2.1).¹⁰⁷

3.2. Bestimmung der Quantenausbeute

Die Quantenausbeuten der 1,4-Dihyronicotinamide **21** und **33** wurde mit Hilfe des Standards Quininbisulfat in 1 N H₂SO₄ ermittelt. Die Auswertung geschieht nach folgender Gleichung:

$$\Phi_{DHNA} = \frac{I_{DHNA} \cdot A_{St} \cdot n_{DHNA}^2}{I_{St} \cdot A_{DHNA} \cdot n_{St}^2} \cdot \Phi_{St}$$

Dabei bezeichnet Φ die Quantenausbeute, I die relative Intensität der Lichtquelle bei der Anregungswellenlänge, A die Fläche des Emissionsspektrums und n den Brechungsindex der Lösung.

3.3. Kinetische Untersuchungen mittels UV/VIS-Spektrometrie

Die extrem sauerstoffempfindlichen 1,4-Dihyronicotinamide werden vor jeder Messung frisch dargestellt und maximal einen Tag im Gefrierfach unter Argon aufbewahrt. Zur Herstellung der Stammlösungen werden entgaste bzw. N₂-gesättigte Lösungsmittel verwendet. Die Lösungen werden kurz vor der Messung frisch angesetzt und sind etwa einen Tag haltbar.

Die kinetischen Untersuchungen finden unter streng anaeroben Bedingungen in einer Quarzküvette (Hellma) mit Silikon-Septum statt. Vor jeder Messung wird die Küvette zunächst 5 min mit Argon gespült. Anschließend werden 2 ml Riboflavintetraacetat in HEPES/KOH-Puffer pH 7.4 ($c \approx 5 \cdot 10^{-5}$ mol/l) zugespritzt und es wird weitere 5-10 min Argon durch die Lösung geblasen. Da auch das Flavin in Lösung nur begrenzt haltbar ist, werden alle 1-2 Wochen neue Stammlösungen angesetzt.

Nun wird die Küvette in das Spektrometer (Varian Cary 50 Bio bzw. Zeiss Specord M 500) überführt und vor Beginn der Messung 10 min bei 25°C thermostatisiert. Anschließend wird der zeitliche Verlauf der Absorption bei 450 nm bzw. 460 nm verfolgt. Nach etwa 1 min werden 50 µl des Dihyronicotinamids in Methanol ($c \approx 2 \cdot 10^{-3}$ mol/l) zugespritzt. Für die Messungen mit wechselnden Konzentrationen an NADH-Modellverbindung (*s. unter B.1.5.3.*) wird eine 0.01 molare Stammlösung von Dihyronicotinamid in Acetonitril verwendet.

3.4. NMR-Titration

Die NMR-Titrationsen wurden bei einer Frequenz von 400 MHz durchgeführt. Die Auswertung geschieht mit Hilfe des Programms Sigma-Plot 5.0 durch eine Anpassung an folgende Gleichung:¹⁶⁷

$$x_{obs} = x_S + 0.5 \cdot (x_{SL} - x_S - x_L) \cdot ([S]_t + [L]_t + K_D - \{([S]_t + [L]_t + K_D)^2 - 4 \cdot [S]_t \cdot [L]_t\}^{\frac{1}{2}}) / [S]_t$$

x_{obs} : beobachtete chem. Verschiebung

x_S : chem. Verschiebung des Substrats S

x_{SL} : chem. Verschiebung des Substrat – Ligand Komplexes

x_L : chem. Verschiebung des Liganden L

K_D : Dissoziationskonstante

3.5. Cyclovoltammetrie

Die cyclovoltammetrischen Messungen werden in absolutem Dichlormethan mit 0.1 mol/l $\text{NBu}_4^+ \text{BF}_4^-$ als Leitsalz und unter Luftausschluss durchgeführt. Als Arbeitselektrode dient eine Graphitelektrode, als Gegenelektrode ein Platindraht und als Referenzelektrode Ag/AgCl in LiCl-gesättigtem Ethanol. Der Potentiostat Autolab

PGSTAT 20 stammt von der Firma Eco Chemie und wird mit dem Programm GPES V 3.0 gesteuert.

3.6. Kalorimetrische Titration

Die Kalorimetrischen Titrationsen werden mit einem isothermen Titrationsmikrokalorimeter VP-ITC der Firma Microcal durchgeführt. Die Auswertung der Messdaten geschieht mit dem Programm Origin 5.0 von Microcal.

3.7. Röntgenstrukturanalyse

3.7.1. Cokristall aus Zn(II)-Cyclen und Kreatinin

$C_{12}H_{27}N_7OZn, 2 ClO_4, H_2O$; $M = 574.59$ g/mol, orthorhombisch, Raumgruppe Pbc_a, $a = 12.4683$ (7) Å, $\alpha = 90^\circ$, $b = 29.6664$ (15) Å, $\beta = 90^\circ$, $c = 12.4080$ (5) Å, $\gamma = 90^\circ$, $V = 4.5896$ nm³, $Z = 8$, $D_x = 1.663$ Mg/m³, λ (Mo-K α) = 71.073 pm, $\mu = 1.368$ mm⁻¹, $F(000) = 2380$, $T = 297$ (2) K. Ein farbloser, flacher Kristall mit den Maßen $0.48 \times 0.45 \times 0.05$ mm wurde verwendet, um auf einem STOE-IPDS Diffraktometer eine Gesamtzahl von 35813 Reflexen (4147 unabhängige Reflexe, $R_{int} = 0.0538$) von 2.14° bis 25.30° zu messen.

Die Struktur wurde durch direkte Methoden gelöst (SIR97)¹⁶⁸ und der F^2 -Wert mit dem Programm SHELXL-97¹⁶⁹ für alle nicht-Wasserstoff-Atome verfeinert. Die Position der Wasserstoffatome wurde rechnerisch ermittelt. Der endgültige $\omega R(F^2)$ -Wert für alle Reflexe betrug 0.1386; $R(F) = 0.0555$, $S = 1.063$, max. $\Delta\rho = 525$ e·nm⁻³.

3.7.2. Kristallstruktur von 51

$C_8H_{20}BrN_4OZn, ClO_4$; $M = 433.02$ g/mol, orthorhombisch, Raumgruppe P 21 21 21, $a = 8.9049$ (5) Å, $\alpha = 90^\circ$, $b = 12.2325$ (8) Å, $\beta = 90^\circ$, $c = 14.0969$ (11) Å, $\gamma = 90^\circ$, $V = 1535.56$ (18) Å³, $Z = 4$, $D_x = 1.873$ Mg/m³, λ (Mo-K α) = 0.71073 Å, $\mu = 4.398$ mm⁻¹, $F(000) = 872$, $T = 173$ (1) K. Ein farbloser, nadelförmiger Kristall mit den Maßen $0.525 \times 0.454 \times 0.375$ mm wurde verwendet, um auf einem STOE-IPDS Diffraktometer eine

Gesamtzahl von 11144 Reflexen (2904 unabhängige Reflexe, $R_{\text{int}} = 0.0396$) von 2.71° bis 25.77° zu messen.

Die Struktur wurde durch direkte Methoden gelöst (SIR97)¹⁶⁸ und der F^2 -Wert mit dem Programm SHELXL-97¹⁶⁹ für alle nicht-Wasserstoff-Atome verfeinert. Die Position der Wasserstoffatome wurde rechnerisch ermittelt. Der endgültige $\omega R(F^2)$ -Wert für alle Reflexe betrug 0.0843; $R(F) = 0.0308$, $S = 1.073$, max. $\Delta\rho = 1.248 \text{ e}\cdot\text{\AA}^{-3}$.

3.8. Kapazitätsmessungen

Die Kapazität der beschichteten Goldelektroden wurde in einem 2-Elektrodensystem (Gold - **48**/Thiol und Ag/AgCl) mit Hilfe eines lock-in Verstärkers (Ithaco Dynatrac 391A) gemessen. Dazu wird sowohl ein DC Potential von + 300 mV als auch ein Wechselstrom mit einer Amplitude von 10 mV und einer Frequenz von 80 Hz an die Goldelektrode angelegt. Vom resultierenden Strom wurde der zur Kapazität proportionale Anteil der 90° -Komponente (= Imaginärteil) aufgezeichnet. Als Elektrolyt diente ein 10 mM Phosphatpuffer pH = 7.4 mit 100 mM KCl. Die Messzelle wurde auf 28°C temperiert.

E Abkürzungsverzeichnis

AcOH	= Essigsäure
Bn	= Benzyl
BNAH	= <i>N</i> -Benzyl-1,4-dihydronicotinamid
Boc	= <i>tert</i> -Butoxycarbonyl
Cbz	= Benzyloxycarbonyl
DCC	= Dicyclohexylcarbodiimid
DHNA	= 1,4-Dihydronicotinamid
DMAP	= 4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	= <i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	= Dimethylsulfoxid
DNA	= Desoxyribonucleinsäure
EDC	= <i>N</i> -(3-Dimethylaminopropyl)- <i>N'</i> -ethyl-carbodiimid
EI	= Ionenstossionisation
EE	= Essigsäureethylester
eq	= Äquivalent
ESI	= Elektrosprayionisation
EtOH	= Ethanol
FAB	= Fast-atom bombardement
Fc	= Ferrocen
Fmoc	= 9-Fluorenylmethoxycarbonyl
HEPES	= [4-(2-Hydroxyethyl)-piperazino]-ethansulfonsäure
HPLC	= High performance liquid chromatography
HOAt	= 1-Hydroxy-7-azabenzotriazol
HOBt	= 1-Hydroxybenzotriazol
IR	= Infrarotspektroskopie
K	= Molekülkation
M	= Molekülion
MS	= Massenspektrometrie
MeOH	= Methanol

NMR	= Kernresonanzspektroskopie
PE	= Petrolether 40/60
RNA	= Ribonucleinsäure
RT	= Raumtemperatur
St	= Standard
TEAOH	= Tetraethylammonium-hydroxid
TEAP	= Tetraethylammonium-perchlorat
TFA	= Trifluoressigsäure
Tris	= Tris(hydroxymethyl)-aminomethan

F Literaturverzeichnis

- (1) Lehn, J.-M. *Supramolecular Chemistry: Concept and Perspectives*; VCH: Weinheim, 1995.
- (2) Vögtle, F. *Supramolekulare Chemie*; Teubner, Stuttgart, 1992.
- (3) Traylor, T. G. *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 265-274.
- (4) Collman, J. P.; Zhang, X. *Functional analogs of the oxygen binding and activating heme proteins in Compr. Supramol. Chem. Vol. 5*; Suslick, K. S., Ed.; Elsevier, Oxford, 1996.
- (5) Christianson, D. W.; Fierke, C. A. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 331-339.
- (6) Paveltich, N. P.; Pabo, C. O. *Science* **1993**, *261*, 1701-1707.
- (7) Kimura, E.; Shiota, T.; Koike, T.; Shiro, M.; Kodama, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 5805-5811.
- (8) Kimura, E.; Shionoya, M.; Hoshino, A.; Ikeda, T.; Yamada, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 10134-10137.
- (9) Kimura, E.; Koike, T.; Shionoya, M.; Shiro, M. *Chem. Lett.* **1992**, 787-790.
- (10) Kimura, E. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 171-179.
- (11) Kimura, E.; Kikuta, E. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, *5*, 139-155.
- (12) Weiss, J. *J. Incl. Phen. Macrocycl. Chem.* **2001**, *40*, 1-22.
- (13) Mock, W. L.; Tsay, J. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 8635-8643.
- (14) Shionoya, M.; Kimura, E.; Shiro, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 6730-6737.
- (15) Shionoya, M.; Sugiyama, M.; Kimura, E. *Chem. Commun.* **1994**, 1747-1748.
- (16) Kimura, E.; Ikeda, T.; Aoki, S.; Shionoya, M. *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, *3*, 259-267.
- (17) Aoki, S.; Honda, Y.; Kimura, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 10018-10026.
- (18) Koike, T.; Gotoh, T.; Aoki, S.; Kimura, E.; Shiro, M. *Inorg. Chim. Acta* **1998**, *270*, 424-432.
- (19) Shionoya, M.; Ikeda, T.; Kimura, E.; Shiro, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3848-3859.
- (20) Kimura, E.; Kitamura, H.; Ohtani, K.; Koike, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4668-4677.

- (21) Kikuta, E.; Murata, M.; Katsube, N.; Koike, T.; Kimura, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 5426-5436.
- (22) Kimura, E.; Kikuta, E. *Prog. React. Kinetics and Mech.* **2000**, *25*, 1-64.
- (23) Koike, T.; Takashige, M.; Kimura, E.; Fujioka, H.; Shiro, M. *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 617-623.
- (24) Kimura, E.; Ikeda, T.; Shionoya, M. *Pure and Appl. Chem.* **1997**, *69*, 2187-2195.
- (25) Aoki, S.; Kimura, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4542-4548.
- (26) Kimura, E.; Kikuchi, M.; Kitamura, H.; Koike, T. *Chem. Eur. J.* **1999**, *5*, 3113-3123.
- (27) Kikuta, E.; Aoki, S.; Kimura, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7911-7912.
- (28) Kimura, E.; Aoki, S.; Koike, T.; Shiro, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3068-3076.
- (29) König, B.; Pelka, M.; Zieg, H.; Ritter, T.; Bouas-Laurent, H.; Bonneau, R.; Desvergne, J.-P. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1681-1687.
- (30) Kimura, E.; Kodama, Y.; Koike, T.; Shiro, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8304-8311.
- (31) Kim, D.; Lee, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 647-652.
- (32) Norman, P. R.; Cornelius, R. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2356-2361.
- (33) Chin, J.; Banaszczyk, M.; Jubian, V.; Zou, X. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 186-190.
- (34) Meyer, G. R.; Cornelius, R. *J. Inorg. Biochem.* **1984**, *22*, 249-258.
- (35) Akkaya, E. U.; Czarnik, A. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 8553-8554.
- (36) Chung, Y.; Akkaya, E. U.; Venkatachalam, T. K.; Czarnik, A. W. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 5413-5416.
- (37) Kim, J. H.; Chin, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9792-9795.
- (38) Hay, R. W.; Govan, N. *Transition Met. Chem.* **1998**, *23*, 721-725.
- (39) Hettich, R.; Schneider, H.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 5638-5647.
- (40) Merbach, A. E.; Toth, E. *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*; John Wiley & Sons Inc., New York, 2001.
- (41) Dickins, R.; Gunnlaugsson, T.; Parker, D.; Peacock, R. *Chem. Commun.* **1998**, 1643-1644.

- (42) Bruce, J.; Dickins, R.; Govenlock, L.; Gunnlaugsson, T.; Lopinski, S.; Lowe, M.; Parker, D.; Peacock, R.; Perry, J.; Aime, S.; Botta, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9674-9684.
- (43) Amin, S.; Lake, C. H.; Churchill, M. R.; Morrow, J. R. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 773-775.
- (44) Amin, S.; Voss, D.; Horrocks, W.; Lake, C.; Churchill, M.; Morrow, J. R. *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 3294-3300.
- (45) Amin, S.; Voss, D.; Horrocks, W.; Morrow, J. R. *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 7466-7467.
- (46) Wang, C.; S., C.; Vink, C.; Secord, E.; Morrow, J. R. *Chem. Commun.* **2000**, 2509-2510.
- (47) Morrow, J. R.; Aures, K.; Epstein, D. *Chem. Commun.* **1995**, 2431-2432.
- (48) Baker, B.; Khalili, H.; Wei, N.; Morrow, J. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8749-8755.
- (49) Chappell, L.; Voss, D.; Horrocks, W.; Morrow, J. R. *Inorg. Chem.* **1998**, *37*, 3989-3998.
- (50) Epstein, D.; Chappell, L.; Khalili, H.; Supkowski, R.; Horrocks, W.; Morrow, J. R. *Inorg. Chem.* **2000**, *39*, 2130-2134.
- (51) Huang, L.; Chappell, L.; Iranzo, O.; Baker, B.; Morrow, J. R. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2000**, *5*, 85-92.
- (52) Koolman, J.; Röhm, K.-H. *Taschenatlas der Biochemie*; Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1998.
- (53) Müller, F. *Chemistry and Biochemistry of Flavoenzymes*; CRC Press, Boston, 1991.
- (54) Coves, J.; Fontecave, M. *Eur. J. Biochem.* **1993**, *211*, 635-641.
- (55) Fontecave, M.; Eliasson, R.; Reichard, P. *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 12325-12331.
- (56) Fontecave, M.; Nordlund, P.; Eklund, H.; Reichard, P. *Adv. Enzymol.* **1992**, *65*, 145-183.
- (57) Walsh, C. *Acc. Chem. Res.* **1980**, *13*, 148-155.
- (58) Fontecave, M.; Eliasson, R.; Reichard, P. *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 12325-12331.

- (59) Gaudu, P.; Touati, D.; Niviere, V.; Fontecave, M. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 8182-8188.
- (60) Fieschi, F.; Niviere, V.; Frier, C.; Decout, J.; Fontecave, M. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 30392-30400.
- (61) Niviere, V.; Vanoni, M. A.; Zanetti, G.; Fontecave, M. *Biochemistry* **1998**, *37*, 11879-11887.
- (62) Niviere, V.; Fieschi, F.; Decout, J.; Fontecave, M. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 18252-18260.
- (63) Ingelman, M.; Ramaswamy, S.; Niviere, V.; Fontecave, M.; Eklund, H. *Biochemistry* **1999**, *38*, 7040-7049.
- (64) Powell, M. F.; Bruice, T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 1014-1021.
- (65) Verhoeven, J. W.; van Gerresheim, W.; Martens, F. M.; van der Kerk, S. M. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 975-992.
- (66) Mestres, J.; Duran, M.; Bertran, J. *Bioorg. Chem.* **1996**, *24*, 69-80.
- (67) Gassner, G.; Wang, L.; Batie, C.; Ballou, D. P. *Biochemistry* **1994**, *33*, 12184-12193.
- (68) Carlson, B. W.; Miller, L. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 479-485.
- (69) Fukuzumi, S.; Nishizawa, N.; Tanaka, T. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1985**, 371-378.
- (70) Fukuzumi, S.; Ishikawa, M.; Tanaka, T. *Tetrahedron* **1986**, *42*, 1021-1034.
- (71) Bunting, J. W. *Bioorg. Chem.* **1991**, *19*, 456-491.
- (72) Blankenhorn, G. *Eur. J. Biochem.* **1976**, *67*, 67-80.
- (73) Blankenhorn, G. *Biochemistry* **1975**, *14*, 3172-3176.
- (74) Blankenhorn *Eur. J. Biochem.* **1975**, *50*, 351-356.
- (75) Porter, D. J. T.; Bright, H. J. *J. Biol. Chem.* **1980**, *255*, 7362-7370.
- (76) Sakurai, T.; Hosoya, H. *Biochim. Biophys. Acta* **1966**, *112*, 459-468.
- (77) Shinkai, S.; Honda, N.; Ishikawa, Y.; Müller, F.; Manabe, O. *Chem. Lett.* **1985**, 543-546.
- (78) Shinkai, S.; Nakao, H.; Honda, N.; Manabe, O.; Müller, F. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1986**, 1825-1831.
- (79) Shinkai, S.; Ishikawa, Y.; Shinkai, H.; Tsuno, T.; Makishima, H.; Ueda, K.; Manabe, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 1801-1808.

- (80) Radziejewski, C.; Ballou, D. P.; Kaiser, E. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3352-3354.
- (81) Tabushi, I.; Kodera, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 4734-4735.
- (82) Tomizaki, K.; Tsunekawa, Y.; Akisada, H.; Mihara, H.; Nishino, N. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 813-822.
- (83) Takeda, J.; Ohta, S.; Hirobe, M. *Tetrahedron Letters* **1985**, *26*, 4509-4512.
- (84) Hayashi, T.; Fujimoto, A.; Kajiki, T.; Kondo, S.; Yano, Y. *Chem. Lett.* **2000**, 1018-1019.
- (85) Kuhn, R.; Rudy, H. *Chem. Ber.* **1934**, *67*, 1936-1939.
- (86) Karrer, P.; Schöpp, K. *Helv. Chim. Acta* **1934**, *17*, 1557-1558.
- (87) König, B.; Pelka, M.; Klein, M.; Dix, I.; Jones, P. G.; Lex, J. *J. Incl. Phen.* **2000**, *37*, 39-57.
- (88) Brandes, S.; Gros, C.; Denat, F.; Pullumbi, P.; Guillard, R. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1996**, *133*, 65-73.
- (89) Eisner, U.; Kuthan, J. *Chem. Rev.* **1972**, *72*, 1-46.
- (90) Caughey, W. S.; Schellenberg, K. A. *J. Org. Chem.* **1966**, *31*, 1978-1982.
- (91) Blankenhorn, G.; Moore, E. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 1091-1098.
- (92) Geißer, B.; König, B.; Alsfasser, R. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2001**, 1543-1549.
- (93) Stout, D. M.; Meyers, A. I. *Chem. Rev.* **1982**, *82*, 223-243.
- (94) Martell, A. E.; Motekaitis, R. J. *Determination and use of stability constants*; VCH, Weinheim, 1992.
- (95) Koike, T.; Watanabe, T.; Aoki, S.; Kimura, E.; Shiro, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12696-12703.
- (96) Koike, T.; Kajitani, S.; Nakamura, I.; Kimura, E.; Shiro, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 1210-1219.
- (97) Ghisla, S.; Massey, V.; Lhoste, J.-M.; Mayhew, S. G. *Biochemistry* **1974**, *13*, 589-597.
- (98) Weber, G. *Nature* **1957**, 1409.
- (99) Lennon, B. W.; Williams, C. H. *Biochemistry* **1997**, *36*, 9464-9477.
- (100) Gassner, G. T.; Lippard, S. J. *Biochemistry* **1999**, *38*, 12768-12785.
- (101) Logan, S. R. *Grundlagen der Chemischen Kinetik*; Wiley-VCH, Weinheim, 1997, S. 29-32.

- (102) Bliefert, C.; Kwiatkowski, J. *Kinetische Analyse mit Hilfe der UV-VIS-Spektrometrie*; VCH, Weinheim, 1991, S. 22.
- (103) Roseveare, W. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1931**, *53*, 1651-1661.
- (104) Taylor, K. E.; Jones, J. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 5689-5694.
- (105) Cornish-Bowden, A. *Fundamentals of Enzyme Kinetics*; Portland Press, London, 1995, S. 23 - 51.
- (106) Hammett, L. P. *Physikalische Organische Chemie*; VCH, Weinheim, 1973, S. 86 ff.
- (107) Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A. *Hyperquad 2000*; University of Leeds, Leeds, 2000.
- (108) Pai, E. F.; Schulz, G. E. *J. Biol. Chem.* **1983**, *258*, 1752-1757.
- (109) Dittmer, D. C.; Fouty, R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 91-95.
- (110) Karplus, P. A.; Schulz, G. E. *J. Mol. Biol.* **1989**, *210*, 163-180.
- (111) Karplus, P. A.; Schulz, G. E. *J. Mol. Biol.* **1987**, *195*, 701-729.
- (112) Pai, E. F.; Karplus, P. A.; Schulz, G. E. *Biochemistry* **1988**, *27*, 4465-4474.
- (113) Stehle, T.; Claiborne, A.; Schulz, G. E. *Eur. J. Biochem.* **1993**, *211*, 221-226.
- (114) Senda, T.; Yamada, T.; Sakurai, N.; Kubota, M.; Nishizaki, T.; Masai, E.; Fukuda, M.; Mitsui, Y. *J. Mol. Biol.* **2000**, *304*, 397-410.
- (115) Ziegler, G. A.; Schulz, G. E. *Biochemistry* **2000**, *39*, 10986-10995.
- (116) Ghisla, S.; Massey, V. *Eur. J. Biochem.* **1989**, *181*, 1-17.
- (117) Niemz, A.; Rotello, V. M. *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 44-52.
- (118) Rotello, V. M. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 747-751.
- (119) Cuello, A. O.; McIntosh, C. M.; Rotello, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3517-3521.
- (120) Kajiki, T.; Moriya, H.; Hoshino, K.; Kuroi, T.; Kondo, S.; Nabeshima, T.; Yano, Y. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9679-9689.
- (121) Bourgel, C.; Boyd, A. S. F.; Cooke, G.; Augier de Cremiers, H.; Duclairoir, F. M. A.; Rotello, V. M. *Chem. Commun.* **2001**, 1954-1955.
- (122) Kajiki, T.; Tamura, N.; Nabeshima, T.; Yano, Y. *Chem. Lett.* **1995**, 1063-1064.
- (123) Goodman, A.; Breinlinger, E.; McIntosh, C.; Grimaldi, L.; Rotello, V. M. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1531-1534.
- (124) Sax, M. Diplomarbeit, Universität Regensburg, 2001.

- (125) Fricke, T. Dissertation, Universität Regensburg, 2001.
- (126) Schneider, H.-J.; Yatsimirski, A. *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry*; Wiley, Chichester, 2000.
- (127) Speiser, B. *Chemie in unserer Zeit* **1981**, *15*, 62-67.
- (128) Heinze, J. *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 823-840.
- (129) Niemz, A.; Imbriglio, J.; Rotello, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 887-892.
- (130) Kajiki, T.; Moriya, H.; Kondo, S.; Nabeshima, T.; Yano, Y. *Chem. Commun.* **1998**, 2727-2728.
- (131) Breinlinger, E.; Niemz, A.; Rotello, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5379-5380.
- (132) Cha, G.; Meyerhoff, M. E. *Anal. Biochem.* **1988**, *168*, 216-227.
- (133) Massolini, G.; De Lorenzi, E.; Calleri, E.; Tabolotti, E.; Caccialanza, G. *J. Chromatogr. B* **2000**, *738*, 343-355.
- (134) Hustad, S.; Ueland, P. M.; Schneede, J. *Clin. Chem.* **1999**, *45*, 862-868.
- (135) Bain, C. D.; Whitesides, G. M. *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 522-528.
- (136) Ulman, A. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 1533-1554.
- (137) Ostuni, E.; Yan, L.; Whitesides, G. M. *Colloids Surf., B* **1999**, *15*, 3-30.
- (138) Kreevoy, M. M.; Harper, E. T.; Duvall, R. E.; Wilgus, H. S.; Ditsch, L. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 4899-4902.
- (139) Benesch, R. E.; Benesch, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, *77*, 5877-5881.
- (140) Kostyukovskii, Y. L.; Bruk, Y. A.; Pavlova, L. V.; Slavachevskaya, N. M.; Kokushkina, A. V.; Mirkin, B. S.; Belen'kaya, I. A. *Zh. Obshch. Khim.* **1972**, *42*, 662-665.
- (141) Keillor, J. W.; Brown, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 5114-5116.
- (142) Mirsky, V. M.; Hirsch, T.; Piletsky, S. A.; Wolfbeis, O. S. *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1179-1181.
- (143) Mirsky, V. M.; Hirsch, T.; Panasyuk, T. L.; Piletsky, S. A.; Wolfbeis, O. S. *Med. Biol. Engineer. Comput.* **1999**, *37*, 344-345.
- (144) Mirsky, V. M.; Riepl, M.; Krause, C.; Novotny, I.; Splonskowski, M.; Rehacek, V.; Tvarozek, V.; Hummel, H.; Wolfbeis, O. S. *Material Science Forum* **1998**, 287-288, 423-426.
- (145) Riepl, M.; Mirsky, V. M.; Wolfbeis, O. S. *Anal. Chim. Acta* **1999**, *392*, 77-84.

- (146) Koike, T.; Takamura, M.; Kimura, E. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8443-8449.
- (147) Wieghardt, K. *Adv. Inorg. Bioinorg. Mech.* **1984**, *3*, 213-274.
- (148) Carrando, C. T.; Duarte, M. T. L. S.; Pessoa, J. C.; Silva, J. A. L.; Frausto da Silva, J. J. R. *Chem. Commun.* **1988**, 1158-1159.
- (149) Anderegg, G.; Koch, E.; Bayer, E. *Inorg. Chim. Acta* **1987**, *127*, 183-188.
- (150) Armstrong, E. M.; Beddoes, R. L.; Calviou, L. J.; Charnock, J. M.; Collison, D.; Ertok, N.; Naismith, J. H.; Garner, C. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 807-808.
- (151) Harben, S. M.; Smith, P. D.; Beddoes, R. L.; Collison, D.; Garner, C. D. *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 1985-1987.
- (152) Hollemann, A. F.; Wiberg, E.; Wiberg, N. *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*; de Gruyter, Berlin, 1985, S. 591.
- (153) Sargeson, A. M. *Pure Appl. Chem.* **1986**, *58*, 1511-1522.
- (154) Bull, D. J.; Creaser, I. I.; Sargeson, A. M.; Skelton, B. W.; White, A. H. *Inorg. Chem.* **1987**, *26*, 3040-3043.
- (155) Murray, R. W.; Jeyaraman, R. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2847-2853.
- (156) Murray, R. W.; Singh, M. *U.S. Patent 5001233*, 1991.
- (157) Kovacs, Z.; Sherry, A. D. *Synthesis* **1997**, 759-763.
- (158) Ball, S.; Bruice, T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 6498-6503.
- (159) Bissot, T. C.; Parry, R. W.; Campbell, D. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 796-800.
- (160) Colthurst, M. J.; Kanagasooriam, A. J. S. S.; Wong, M. S. O.; Contini, C.; Williams, A. *Can. J. Chem.* **1998**, *76*, 678-685.
- (161) Autorenkollektiv *Organikum*; Wiley-VCH, Weinheim, 1999.
- (162) Kyogoku, Y.; Sul Yu, B. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1969**, *42*, 1387-1393.
- (163) Adam, W.; Chan, Y.; Cremer, D.; Gauss, J.; Scheutzow, D.; Schindler, M. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 2800-2803.
- (164) Kovacs, Z.; Sherry, A. D. *Chem. Commun.* **1995**, 185-186.
- (165) Gündel, W.-H. *Z. Naturforsch. B Anorg. Chem.* **1985**, *40 B*, 305-312.
- (166) Schmidt, R. R.; Berger, G. *Chem. Ber.* **1976**, *109*, 2936-2947.
- (167) Schneider, H.-J.; Yatsimirski, A. *Principles and Methods in Supramolecular Chemistry*; Wiley, Chichester, 2000, S. 138 ff.

- (168) Altomare, A.; Cascarano, G.; Giacovazzo, C.; Guagliardi, A. *J. Appl. Cryst.* **1993**, *26*, 343-350.
- (169) Sheldrick, G. M. *Programm für Kristallstrukturverfeinerung*, Universität Göttingen, 1997.

Publikationen

Veröffentlichungen in Fachzeitschriften:

- A Model System for Flavoenzyme Activity - Binding of Flavin and Modulation of its Redox Potentials through Coordination to a Lewis-acidic Azamacrocyclic Zinc(II) Complex
B. König, M. Pelka, R. Reichenbach-Klinke, J. Schelter, J. Daub *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 2297 - 2303.
- Selective Binding and Reversible Release of Riboflavin by Polymer-bound Zinc(II) Azamacrocycles
B. König, H.-C. Gallmeier, R. Reichenbach-Klinke *Chem. Commun.* **2001**, 2390-2392.
- Metal Complexes of Azacrownethers in Molecular Recognition and Catalysis (Review)
R. Reichenbach-Klinke, B. König *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2002**, 121-130.
- NADH Model Systems functionalized with Zn(II)-cyclen as Flavin Binding Site – Structure Dependence of the Redox Reaction within reversible Aggregates
R. Reichenbach-Klinke, M. Kruppa, B. König *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, zur Publikation angenommen.

Rezensionen:

- Einführung in die Organische Chemie, R. Reichenbach-Klinke, B. König, *Angew. Chem.* **2000**, 112, 1766-1767.
- Supramolecular Chemistry, R. Reichenbach-Klinke, B. König, *Angew. Chem.* **2001**, 113, 1596-1597.

Tagungsbeiträge:

- Photoinduced Electron Transfer in a Supramolecular Assembly Consisting of Two Biological Redox Cofactors (*Poster*), R. Reichenbach-Klinke, B. König, L. de Cola, 4th Symposium of the VW-Schwerpunktprogramm: “Intra- and Intermolecular Electron Transfer”, Wildbad Kreuth, 4.-6. Juni 2000.

- A Supramolecular Assembly Consisting of Two Biological Redox Cofactors: A Model System for Flavin Reductase (*Poster*), R. Reichenbach-Klinke, B. König, EURESCO-Konferenz “Reactivity and Catalysis in Supramolecular Systems”, Urbino, 31.8. – 5.9.2000.
- Electron Transfer in a Supramolecular Assembly Consisting of Two Biological Redox Cofactors: A Model System for Flavin Reductase (*Poster und Vortrag*), R. Reichenbach-Klinke, B. König, Workshop des Graduiertenkollegs “Sensory photoreceptors in natural and artificial systems”, Nove Hradý (CZ), 20. - 24. Juli 2001.
- Elektronentransfer in einem supramolekularen Aggregat aus zwei biologischen Redox Cofaktoren: Ein Modellsystem für Flavin Reduktase (*Poster und Posterkurzvortrag*), R. Reichenbach-Klinke, M. Kruppa, B. König, GDCh-Jahrestagung Chemie 2001, Würzburg, 23. – 29. September 2001.
- Elektronentransfer in einem supramolekularen Aggregat aus zwei biologischen Redox Cofaktoren (*Vortrag*), R. Reichenbach-Klinke, B. König, Weihnachtskolloquium des Instituts für Organische Chemie der Universität Regensburg, Regensburg, 19.12.2001.

Lebenslauf

Name: Roland Reichenbach-Klinke
Geburtsort: München
Geburtsdatum: 23.1.1973
Familienstand: verheiratet seit 16.8.01
eine Tochter, geb. 6.12.01

09/1979 – 07/1983: Grundschule in München und Buch a. E., Landkreis Landshut
09/1983 – 07/1992: Gymnasium in Moosburg a. d. Isar
08/1992 – 10/1993: Zivildienst beim Malteser-Hilfsdienst in Moosburg

11/1993: Beginn des Chemiestudiums an der Universität Regensburg
6.3. - 31.3.1995: Ferienjob im Katalysatorenwerk der Süd-Chemie AG in Moosburg
11/1995: Vordiplomsprüfung an der Universität Regensburg
09/1996 – 01/1997: Auslandssemester an der University of Aberdeen, Schottland
03/1998: Diplomprüfung an der Universität Regensburg
04/1998 – 03/1999: Diplomarbeit bei Prof. Dr. Seeger am Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik der Universität Regensburg (Thema: Synthese und Untersuchung neuer Cellulosederivate für die Verwendung in der Langmuir-Blodgett Technik)
7.6. – 6.8.1999: Werkstudent in der Zentralen Forschung der Bayer AG, Leverkusen
09/1999 – 06/2002: Promotionsarbeit bei Prof. Dr. König am Institut für Organische Chemie der Universität Regensburg