

Partialsynthese maßgeschneiderter
Photosensibilisatoren vom Chlorintyp und
Studien zur pharmazeutischen Anwendung in
der Photodynamischen Therapie

Dissertation

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

dem Fachbereich 2 (Biologie/Chemie) der Universität Bremen
im Januar 2011 vorgelegt

von

Daniela Bauer

Bremen 2011

1. Gutachter: Prof. Dr. Franz-Peter Montforts
2. Gutachter: Prof. Dr. Wolf-Dieter Stohrer

Tag des öffentlichen Kolloquiums: 18.02.2011, 12.15 Uhr in Raum C0300/NW2

Schriftliche Erklärung nach § 6 Absatz 5 der Promotionsordnung vom 14. März 2007:

Hiermit versichere ich, die vorliegende Arbeit mit dem Titel: Partialsynthese maßgeschneiderter Photosensibilisatoren vom Chlorintyp und Studien zur pharmazeutischen Anwendung in der Photodynamischen Therapie, ohne unerlaubte fremde Hilfe nur unter Verwendung der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht zu haben.

Ebenfalls erkläre ich hiermit eidesstattlich, dass es sich bei den von mir abgegebenen Arbeiten um drei identische Exemplare handelt.

Bremen, den 28.01.2011

Daniela Bauer

“Life is simply a matter of chemistry”
(James Watson, Nobelpreis 1962)^[1]

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Franz-Peter Montforts gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des sehr interessanten und abwechslungsreichen Themas sowie die gute Betreuung und die ausgezeichneten, experimentellen Bedingungen.

Herrn Prof. Dr. Wolf-Dieter Stohrer danke ich für die Anfertigung des zweiten Gutachtens.

Aus der instrumentalanalytischen Abteilung von Herrn Prof. Dr. Dieter Leibfritz gilt mein Dank Herrn Dr. Thomas Dülcks und Frau Dipl. Ing. Dorit Kemken für die Aufnahme der zahlreichen Massenspektren. Außerdem bedanke ich mich bei Herrn Dipl. Ing. Johannes Stelten für die Messung und Interpretation zahlreicher NMR-Spektren.

Ich danke außerdem Frau M. Sc. M. Rams-Baron aus der Arbeitsgruppe von Frau Prof. A. Ratuszna im Institut für Physik der Universität von Schlesien in Kattowitz für die Erlaubnis, ihre Ergebnisse der biomedizinischen Messungen der Zytotoxizität und PDT-Aktivität in meiner Arbeit zu präsentieren.

Herrn Dr. H. Görner des Max-Planck-Instituts für Bioorganische Chemie in Mühlheim an der Ruhr danke ich für die Genehmigung die Ergebnisse der photophysikalischen Messungen in dieser Arbeit zu verwenden.

Für die technische Versorgung und die Durchführung der qualitativen HPLC-Analytik danke ich Frau Jessica Schmal und Frau Christina Kenst.

Mein Dank gilt außerdem meinem Forschungspraktikanten Herrn Dipl. Chem. Michael Arkenau für die tatkräftige und ausdauernde Zusammenarbeit.

Für die gute Zusammenarbeit, die stetige Hilfs- und Diskussionsbereitschaft, aber auch für die Freundschaft bedanke ich mich herzlich bei meinen ehemaligen und jetzigen Kollegen: Herrn Dipl. Chem. Michael Arkenau, Herrn Dipl. Chem. Sebastian Bischoff, Herrn Dipl. Chem. Jan-Erik Damke, Herrn Dipl. Chem. Matthias Düker, Herrn Dr. Christoph Eberle, Herrn Dipl. Chem. Martin Erbacher, Frau Dipl. Chem. Janna Freitag, Frau Dipl. Chem. Kerstin Geller, Herrn Dipl. Chem. Emrah Gögüs, Herrn Dr. Thorsten Könekamp, Herrn Dipl. Chem. Torben

König, Herrn B. Sc. Felix Kutter, Herrn Dipl. Chem. Dennis Leupold, Herrn Dr. Stephan Leupold, Frau Ursula Lücking, Frau Dipl. Chem. Yvonne Neumann, Herrn M. Sc. Nghiem Hai Vu, Frau M. Sc. Nguyen Thi Viet Thanh, Frau Dr. Martina Osmers, Frau Dr. Barbara Panek-Bryla und Herrn Dr. Tien Doan Duy.

Danken möchte ich außerdem meinen Freunden für die Begleitung auf meinem Weg seit der Grundschule und die nötige Zerstreuung und Abwechslung von der Chemie. Kurz: wir hatten eine großartige Zeit.

Ich bedanke mich von ganzem Herzen bei Christian Beck und meiner Familie für die große Unterstützung während meines Studiums sowie den starken Rückhalt und ihre Liebe.

Abstract

Photodynamic therapy is still in its initial stages. Non-acceptance in clinical application so far is due to the need for appropriate photosensitizers fulfilling several requirements. However, in the present state of research, amphiphilic chlorins without charges or ionic moieties are the most promising chromophores. Partial water-solubility or solubility in physiological solvents is important for a clinical application.

This thesis deals with the synthesis of chlorin-carbohydrate-amides of various degrees of hydrophilicity, followed by the investigation of their photophysical and bio-medical properties. The synthesis is based on Deuteroporphyrin, which can be converted into chlorins with different alkyl chains by partial synthesis. Another approach is based on the substitution of the chromophores of chlorin e_6 and its derivatives. Consequently, the carboxylic moieties were amidated successfully with acyclic sugar amines. The solubility of these amides ranges from moderate to good water-solubility. For all derivatives photophysical measurements showed enhanced absorption qualities compared to those of Photofrin, the currently best reviewed and medically most applied photosensitizer.

1. Einleitung	1
2. Theoretische Grundlagen	3
2.1 Grundlagen zu Krebs.....	3
2.2 Allgemeine Grundlagen der Photodynamischen Therapie.....	5
2.3 Physikalisch-chemische Grundlagen.....	7
2.4 Porphyrinoide als Photosensibilisatoren.....	9
2.5 Absorptionsspektren von Porphyrinoiden.....	11
2.6 Struktur-Wirkungs-Beziehungen der Sensibilisatoren.....	13
2.7 Anforderungen an Photosensibilisatoren	15
2.8 Photosensibilisatoren der 2. Generation	17
3. Aufgabenstellung.....	19
3.1 Motivation und Zielsetzung	19
3.2 Syntheseplanung.....	19
4. Durchführung der Synthesen	23
4.1 Darstellung von Chlorinen ausgehend von Deuteroporphyrin.....	23
4.1.1 Synthese von Heptylchlorinen	24
4.1.2 Synthese von Palmitylchlorinen.....	30
4.1.3 Synthese von Lauryl- und Myristyl-substituierten Porphyrinen.....	34
4.2 Chlorine aus natürlich vorkommenden Chlorophyllquellen.....	36
4.2.1 Synthese von Chlorin e ₆ -Derivaten	36
4.3 Synthese von Chlorin-Amiden	38
4.3.1 Amidierungsreaktionen	38
4.3.2 Synthese eines Deuteroporphyrin-Glucamin-Amids	38
4.3.3 Synthese von Alkylchlorin-Kohlenhydrat-Amiden	40
4.3.6 Synthese von Chlorin e ₆ -MME-Kohlenhydrat-Amiden.....	46
4.4 Photophysikalische Messungen.....	51
4.5 Biomedizinische Untersuchungen.....	57
4.5.1 Zytotoxizität und PDT-Effizienz.....	57
5. Zusammenfassung und Ausblick	61
5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	61
5.2 Ausblick.....	65

6. Summary and Outlook.....	67
6.1 Summary	67
6.2 Outlook.....	71
7. Experimenteller Teil.....	73
7.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen	73
7.1.1 Analytische Methoden.....	73
7.1.2 Chromatographie	75
7.1.3 Qualität der verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel	76
7.1.5 Software und Datenbanken	76
7.2 Synthese von Heptylchlorin-dicarbonensäuren.....	78
7.2.1 Darstellung von 3,3'-[2,7,12,18-Tetramethylporphyrin-13-17-diyl]-dipropionsäure- dimethylester (11) ^[37a, 49]	78
7.2.2 Darstellung von [13,17-Bis-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-2,7,12,18-tetramethyl- porphyrinato]-Kupfer(II) (20).....	80
7.2.3 Darstellung von [3,3'-[3-(1-Oxoheptyl)-2,7,12,18-tetramethyl-porphyrinato-13,17- diyl]-dipropionsäure-dimethylester]-kupfer(II) (21) im Gemisch mit dem 8-(1- Oxoheptyl)-Konstitutionsisomeren (22)	81
7.2.4 Darstellung von 3,3'-[3-(1-Oxoheptyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21H,23H-porphyrin- 13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (23) im Gemisch mit dem 8-(1- Oxoheptyl)-Konstitutionsisomeren (24)	83
7.2.5 Darstellung von (±)-3,3'-[(3RS)-(1-Hydroxyheptyl)-2,7,12,18-tetramethyl- 21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (<i>rac</i> - 25) im Gemisch mit dem (±)-(8RS)-(1-Hydroxyheptyl)-Konstitutionsisomeren (<i>rac</i> - 26) und deren chromatographische Trennung	85
7.2.6 Darstellung von 3,3'-[(2RS,3Z)-2-(Dimethylcarbamoylemethyl)-3-heptyliden- 2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure- dimethylester (<i>rac</i> - 27) im Gemisch mit dem E-Isomeren (<i>rac</i> - 28) ^[37b]	89
7.2.7 Darstellung von 3,3'-[(7RS,8Z)-7-(Dimethylcarbamoylemethyl)-8-heptyliden- 2,7,12,18-tetramethyl-7,8-dihydro-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure- dimethylester (<i>rac</i> - 33) im Gemisch mit dem E-Isomeren (<i>rac</i> - 34).....	91
7.2.8 Darstellung von 3,3'-[(<i>cis</i> -2RS,3SR)-2-(Dimethylcarbamoylemethyl)-3-heptyl- 2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure- dimethylester (<i>rac</i> - 29) im Gemisch mit dem <i>trans</i> -Isomeren (<i>rac</i> - 30).....	93
7.2.9 Darstellung von 3,3'-[(<i>cis</i> -7RS,8SR)-7-(Dimethylcarbamoylemethyl)-8-heptyl- 2,7,12,18-tetramethyl-7,8-dihydro-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure- dimethylester (<i>rac</i> - 35) im Gemisch mit dem <i>trans</i> -Isomeren (<i>rac</i> - 36).....	95
7.2.10 Darstellung von 3,3'-[(<i>cis</i> -2RS,3SR)-2-(Dimethylcarbamoylemethyl)-3-heptyl- 2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure (<i>rac</i> - 31) im Gemisch mit dem <i>trans</i> -Isomeren (<i>rac</i> - 32).....	97

7.2.11 Darstellung von 3,3'-[(<i>cis</i> -7 <i>RS</i> ,8 <i>SR</i>)-7-(Dimethylcarbamoylmethyl)-8-heptyl-2,7,12,18-tetramethyl-7,8-dihydro-21 <i>H</i> ,23 <i>H</i> -porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure (<i>rac</i> - 37) im Gemisch mit dem <i>trans</i> -Isomeren (<i>rac</i> - 38).....	99
7.3 Synthese von Palmitylchlorin-dicarbonsäuren	101
7.3.1 Darstellung von [3,3'-[3-(1-Oxohexadecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-porphyrinato-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester]-kupfer(II) (39).....	101
7.3.2 Darstellung von 3,3'-[3-(1-Oxohexadecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21 <i>H</i> ,23 <i>H</i> -porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (40)	103
7.3.3 Darstellung von (±)-3,3'-[(3 <i>RS</i>)-(1-Hydroxyhexadecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21 <i>H</i> ,23 <i>H</i> -porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (<i>rac</i> - 41).....	105
7.3.4 Darstellung von 3,3'-[(2 <i>RS</i> ,3 <i>Z</i>)-2-(Dimethylcarbamoylmethyl)-3-hexadecyliden-2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21 <i>H</i> ,23 <i>H</i> -porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (<i>rac</i> - 43) im Gemisch mit dem <i>E</i> -Isomeren (<i>rac</i> - 42).....	107
7.3.5 Darstellung von 3,3'-[(<i>cis</i> -2 <i>RS</i> ,3 <i>SR</i>)-2-(Dimethylcarbamoylmethyl)-3-hexadecyl-2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21 <i>H</i> ,23 <i>H</i> -porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (<i>rac</i> - 45) im Gemisch mit dem <i>trans</i> -Isomeren (<i>rac</i> - 44).....	109
7.3.6 Darstellung von 3,3'-[(<i>cis</i> -2 <i>RS</i> ,3 <i>SR</i>)-2-(Dimethylcarbamoylmethyl)-3-hexadecyl-2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21 <i>H</i> ,23 <i>H</i> -porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure (<i>rac</i> - 47) im Gemisch mit dem <i>trans</i> -Isomeren (<i>rac</i> - 46).....	111
7.4 Synthese von Hydroxy-alkyl-deuteroporphyrin-derivaten	113
7.4.1 Darstellung von [3,3'-[3-(1-Oxotetradecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-porphyrinato-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester]-kupfer(II) (48) im Gemisch mit dem 8-Isomeren (50).....	113
7.4.2 Darstellung von 3,3'-[3-(1-Oxotetradecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21 <i>H</i> ,23 <i>H</i> -porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (52) im Gemisch mit dem 8-Isomeren (54).....	115
7.4.3 Darstellung von (±)-3,3'-[(3 <i>RS</i>)-(1-Hydroxytetradecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21 <i>H</i> ,23 <i>H</i> -porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (<i>rac</i> - 56) im Gemisch mit dem 8-Isomeren (<i>rac</i> - 58).....	117
7.4.4 Darstellung von [3,3'-[3-(1-Oxododecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-porphyrinato-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester]-kupfer(II) (49) im Gemisch mit dem 8-Isomeren (51).....	119
7.4.5 Darstellung von 3,3'-[3-(1-Oxododecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21 <i>H</i> ,23 <i>H</i> -porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (53) im Gemisch mit seinem 8-Isomeren (55).....	121
7.4.6 Darstellung von (±)-3,3'-[(3 <i>RS</i>)-(1-Hydroxytetradecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21 <i>H</i> ,23 <i>H</i> -porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (<i>rac</i> - 57) im Gemisch mit dem 8-Isomeren (<i>rac</i> - 59).....	123
7.5 Synthese von Alkylchlorin-Kohlenhydrat-Amiden	125
7.5.1 Amidierung von Heptylchlorin mit Glucamin	125
7.5.2 Darstellung von 1-Deoxy-L-arabinitylamin 70	129
7.5.3 Amidierung von Heptylchlorin mit 1-Deoxy-arabinitylamin	129
7.5.4 Amidierung von Palmitylchlorin mit Glucamin.....	131

7.6 Synthese von Chlorin e ₆ -Derivaten	133
7.6.1 Darstellung von 17S,18S-[8-Ethyl-17-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-15-methoxycarbonylmethyl-2,7,12,18-tetramethyl-3-vinyl-17,18-dihydro-21H,23H-porphyrin-13-yl]-carbonsäure-methylester (61)	133
7.6.2 Darstellung 17S,18S-[8-Ethyl-17-(2-carboxyl-ethyl)-15-carboxymethyl-2,7,12,18-tetramethyl-3-vinyl-17,18-dihydro-21H,23H-porphyrin13-yl]-carbonsäure (17). 134	
7.6.3 Darstellung von 17S,18S-[8-Ethyl-17-(2-carboxyl-ethyl)-15-carboxymethyl-2,7,12,18-tetramethyl-3-vinyl-17,18-dihydro-21H,23H-porphyrin13-yl]-carbonsäure-methylester (62)	135
7.7 Synthese von Chlorin e ₆ -Kohlenhydrat-Amiden	137
7.7.1 Umsetzung von Chlorin e ₆ - α -monomethylester 62 mit Glucamin.....	137
7.7.2 Amidierung von Chlorin e ₆ - α -monomethylester 62 mit 1-Deoxy-Arabinitylamin	139
7.7.3 Amidierung von Chlorin e ₆ 17 mit Glucamin	141
7.8 Synthese eines Deuteroporphyrin-Kohlenhydrat-Amids	143
7.8.1 Darstellung von 3,3'-[2,7,12,18-Tetramethyl-21H, 23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure (63).....	143
7.8.2 Amidierung von Deuteroporphyrin-IX-dicarbonensäure 63 mit Glucamin	144
8. Literaturverzeichnis.....	147
9. Abkürzungsverzeichnis.....	151
Lebenslauf.....	153

1. Einleitung

In den letzten hundertfünfzig Jahren ist es Naturwissenschaftlern gelungen, komplexe Molekülstrukturen natürlichen Ursprungs durch die Entwicklung und den Einsatz physikalischer Analysemethoden aufzuklären, mittels Partial- und Totalsynthese nachzubauen, ihre Biogenese und ihren Metabolismus zu erforschen und zum Vorteil der Menschen zu nutzen. Mit der Synthese gehen auch Entdeckungen zahlreicher neuer Reaktionen und Synthesestrategien sowie die Entwicklung neuer Theorien einher. Vor allem die Medizin hat durch die chemische Synthese einen großen Fortschritt gemacht und beweist die Wichtigkeit dieses Fachgebiets für die Menschheit durch Heilung und Behandlung zahlreicher Krankheiten.

“Many times during the course of human history, small molecules have cured tens of millions of people of serious diseases and improved quality of life. Organic Synthesis will always be the heart of chemistry” (Ryoji Noyori, Nobelpreis 2001).^[2]

Arzneimittel in primitiverer Form gibt es schon seit vielen tausend Jahren, indem man versuchte Krankheiten durch natürliche Ressourcen wie Kräuter, Beeren, Wurzeln und Rinden zu heilen, jedoch sind die aktiven Inhaltsstoffe erst seit etwa 150 Jahren bekannt geworden. Eine der größten Entdeckungen aus medizinischer Sicht war die von Penicillin durch A. Fleming 1928 und dessen Totalsynthese durch Sheehan 1957. Das Verständnis von bakteriellen Krankheitserregern wurde dadurch maßgeblich geprägt und der medizinische Nutzen als Antibiotika erkannt. Heutzutage gibt es zahlreiche Antibiotika, dennoch ging die Rettung unzähliger Menschenleben auf diese bedeutende Entdeckung zurück.^[2]

Die Entdeckung und das Design neuer, therapeutisch verwendbarer chemischer Verbindungen und deren Entwicklung zu Arzneimitteln, die Interpretation ihres Wirkungsmechanismus und des Metabolismus sind Aufgaben der sogenannten medizinischen Chemie. Dabei wird von Leitstrukturen als Prototypen des späteren Arzneimittels ausgegangen. Diese werden häufig zufällig identifiziert, indem ihre pharmakologische Aktivität in sogenannten Random-Screenings bemerkt wird. Diese Leitstrukturen weisen durchaus auch ungewünschte Eigenschaften auf, die durch chemische Modifikation minimiert werden können. Ebenso lässt sich auf diese Weise die pharmakologische Wirksamkeit verbessern. Struktur-Wirkungs-Beziehungen spielen hier eine zentrale Rolle.^[3]

1. Einleitung

Biologisch wirksame Stoffe reichen von kleinen, chemisch einfachen Molekülen wie Acetylsalicylsäure zur Blutverdünnung und Behandlung von Schmerzen bis hin zu großen, komplexen 3-dimensionalen Strukturen von Proteinen wie Insulin zur Behandlung von Diabetes.

In den Industrienationen ist Krebs mittlerweile Todesursache Nummer 2. Deshalb liegt das Augenmerk auf dem Design verbesserter Zytostatika oder neuer Krebstherapien. Traditionelle Krebstherapien wie operative Entfernung, Strahlen- und Chemotherapie erfordern eine ausgeglichene Balance zwischen der Zerstörung von krankem Gewebe und der Schonung des umliegenden gesunden Gewebes und haben häufig schwere Nebenwirkungen.^[4] Ein neuer und vielversprechender Ansatz zur Behandlung von Krebs ist die Photodynamische Tumorthherapie, die bereits klinische Anwendung findet. Dabei wird ein Photosensibilisator mit sichtbarem Licht bestrahlt und generiert dann zytotoxische Sauerstoff-Spezies. Jeder der Faktoren ist für sich allein ungefährlich und die Photodynamische Wirkung kann nur erfolgen, wenn alle Faktoren zusammenkommen.^[5]

In der vorliegenden Arbeit geht es um die Synthese neuer Photosensibilisatoren mit verbesserten pharmakologischen Eigenschaften.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Grundlagen zu Krebs

Krebs ist die allgemein gebräuchliche Bezeichnung für jede maligne Neubildung von Gewebe und gekennzeichnet durch unkontrolliertes Wachstum und zerstörendes Eindringen in umliegendes, gesundes Gewebe. Krebs ist in Deutschland die zweithäufigste Todesursache nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen (s. Tabelle 1). Jährlich sterben mehr als 200.000 Menschen an Krebs und die Neuerkrankungsrate liegt bei mehr als 420.000 (Jahr 2006, s. Tabelle 2). Somit liegt die Wahrscheinlichkeit, im Laufe des Lebens an Krebs zu erkranken, für Frauen bei 38% und bei Männern bei 47%. Diese Zahl hat seit 1985 drastisch zugenommen. Eine der Ursachen ist in der gestiegenen Lebenserwartung zu suchen, da die Wahrscheinlichkeit, an Krebs zu erkranken, mit dem Alter zunimmt. Sie ist auch Ergebnis der vermehrten Früherkennung, welche andererseits die Heilungschancen erhöht. Deshalb ist die altersstandardisierte Sterberate um mehr als 20% gesunken.^[4]

Tabelle 1: Kennziffern zur todesursachenspezifischen Sterblichkeit in Deutschland 1995.^[6]

Todesursache	Sterbefälle		
	Anzahl	Männer in %	Frauen in %
Insgesamt	884588	100	100
Krankheiten des Kreislaufsystems	429407	43,5	52,9
Neubildungen	218597	27	22,8
Krankheiten der Atmungsorgane	53898	7,1	5,2
Krankheiten der Verdauungsorgane	41821	5,3	4,2
Verletzungen und Vergiftungen	39367	6	3,1
Endokrinopathien, Ernährungs- und Stoffwechselkrankheiten sowie Störungen im Immunsystem	26323	2,2	3,6
Symptome und schlecht bezeichnete Affektionen	22756	2,6	2,6
Krankheiten des Nervensystems und der Sinnesorgane	14675	1,6	1,7
Psychiatrische Krankheiten	11383	1,7	0,9
Sonstige	26361	3,0	3,0

2. Theoretische Grundlagen

Diese Zahlen machen deutlich, dass weiterhin neue Behandlungs- und Diagnosemethoden benötigt werden. Dabei liegt das Augenmerk auf der Früherkennung, aber auch auf der Verbesserung von bereits eingesetzten Therapien wie Radio- oder Chemotherapie.

Um Krebs erfolgreich therapieren zu können, ist es wichtig, die Entstehung von Krebs und dessen Morphologie zu kennen. Nach dem derzeit gültigen Modell der Krebsentstehung wird der Prozess durch Mutation der DNA mittels Kanzerogene initiiert. Darauf folgt die Phase der Promotion, bei der sich, ausgelöst durch Promoter-Moleküle, die mutierte Zelle durch Klonen ausdehnt. Diese Zellteilung zur Gewebe- oder Organvergrößerung unterliegt normalerweise strengen Kontrollmechanismen, die in verschiedenen Stadien des Zellzyklus wirksam sind. So wird sichergestellt, dass bei DNA-Fehlern oder Expression onkogener Proteine die Zelle aussortiert oder durch Apoptose der programmierte Zelltod eingeleitet wird. Störungen in diesen Kontrollmechanismen wurden in fast allen Krebszellen gefunden. Im letzten Stadium, der Progression, benötigen die veränderten Zellen keine Stimulation zur Zellteilung mehr. Es kommt zum ungebremsten Wachstum, wodurch gesundes Gewebe verdrängt wird und seine Aufgaben nicht mehr erfüllen kann. Man geht also davon aus, dass die Karzinogenese ein mehrstufiger Prozess ist, bei dem verschiedene Faktoren zusammenkommen und der mehrere Jahre benötigt.

Krebszellen garantieren ihr Überleben durch Überlisten des Immunsystems, den Aufbau einer eigenen Blutversorgung und das Überleben unter Sauerstoffmangel. Aufgrund der schrankenlosen Zellteilung ist ihr Nährstoffverbrauch besonders hoch. Außerdem wurde ein niedrigerer pH-Wert im Interzellularraum beobachtet.^[7]

Tabelle 2: Krebsverbreitung in Deutschland 2006 (*: je 100.000).^[4]

	Männer	Frauen
Erkrankungsfälle 2006	229200	197600
Projektion für 2010	246200	204000
Rohe Neuerkrankungsrate*	568,6	469,9
Standard. Neuerkrankungsrate Europa*	432,9	318,3
Standard. Neuerkrankungsrate Welt*	300,6	230,7
Sterbefälle 2006	112438	98492
Standard. Sterberate Europa*	208,0	130,6
Standard. Sterberate Welt*	136,9	87,4

2.2 Allgemeine Grundlagen der Photodynamischen Therapie

Die Photodynamische Tumorthherapie (PDT) ist eine Photochemotherapie, die sowohl der Diagnostik als auch der Behandlung von Tumoren dient. Das Prinzip beruht auf der selektiven Anreicherung von Photosensibilisatoren (PS) – spezielle Licht absorbierende Phototherapeutika – im Tumorgewebe, welche bei Bestrahlung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge in Gegenwart von Sauerstoff in einer photochemischen Reaktion zytotoxischen Singulett-Sauerstoff bilden. Dieser reagiert mit den Zellbestandteilen, was zur Zerstörung der Zelle führt. Der Wirkungsprozess ist folglich nur dann möglich, wenn die drei Faktoren Licht, Photosensibilisator und Sauerstoff zusammenkommen (Abb. 1).^[5, 8]

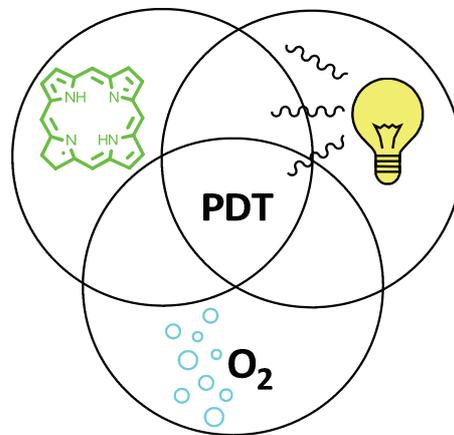


Abbildung 1: Die drei Faktoren der Photodynamischen Therapie.

Die Photodynamische Therapie stellt ein minimal invasives Therapieverfahren dar. Dabei wird dem Patienten meist intravenös ein Photosensibilisator appliziert, der sich innerhalb von 10–48 Stunden selektiv im Tumorgewebe anreichert. Anschließend wird das betroffene Areal mit Licht einer Wellenlänge von 600 nm–800 nm einige Minuten bestrahlt. Bereits innerhalb weniger Stunden tritt als Folge der Behandlung Zelltod in Form von Nekrose und Apoptose ein. Erste sichtbare Schäden werden nach einer Woche beobachtet, die im Idealfall nach vier bis sechs Wochen zur vollständigen Auflösung des Tumors führen.^[9] Die Zeit bis zur vollständigen Ausscheidung des PS hängt von den biochemischen Eigenschaften des PS ab und kann bis zu sechs Wochen dauern (Abb. 2).^[10]

2. Theoretische Grundlagen

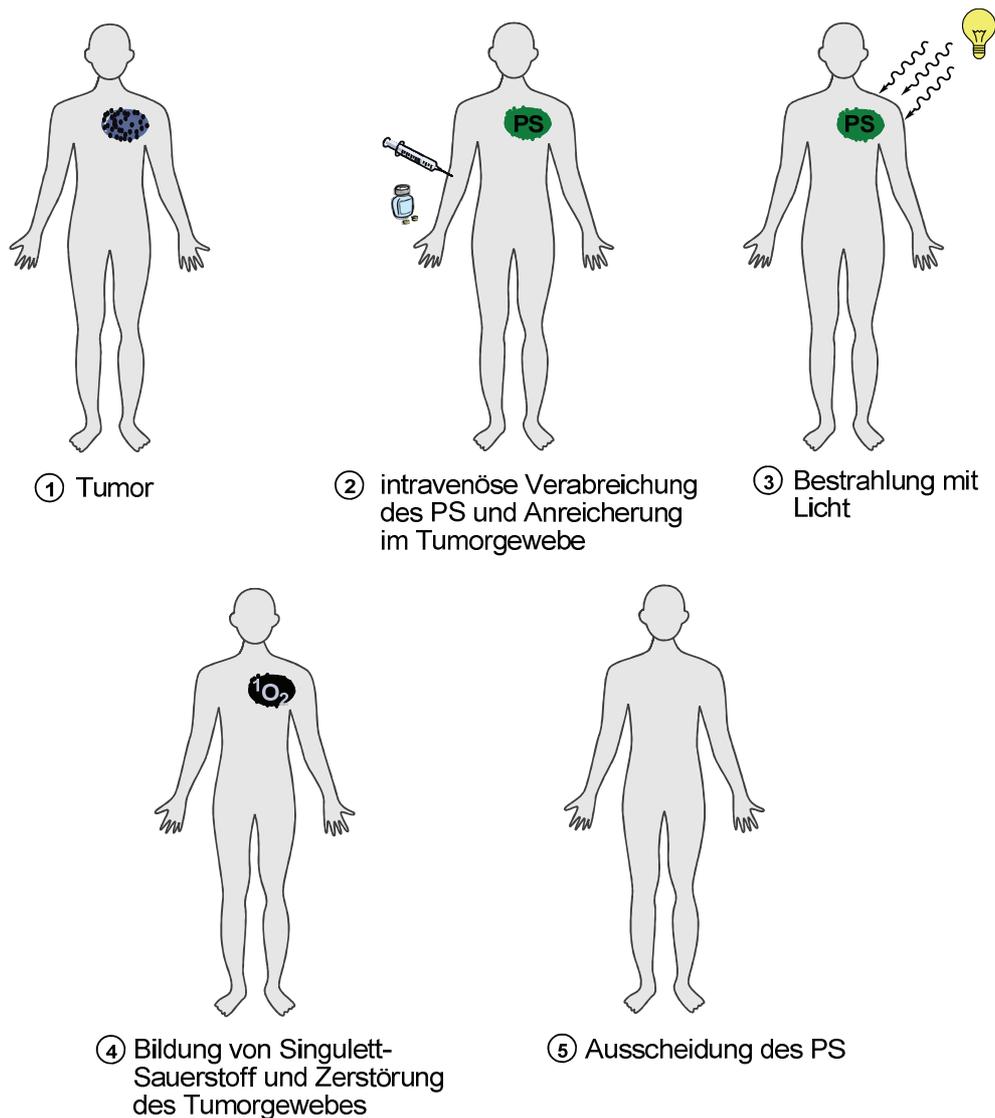


Abbildung 2: Schematischer Verlauf einer Behandlung mittels PDT.

Vor allem im frühmalignen Zustand findet die PDT Anwendung bei Tumoren der endoskopisch zugänglichen Hohlorgane, wie Blase, Lunge Speiseröhre, Magen und Gebärmutterhals sowie bei Hauttumoren und Mammakarzinomen (Neubildungen des Brustdrüsengewebes) zusätzlich mit guten kosmetischen Ergebnissen. Zudem bietet die PDT den Vorteil, dass die Anwendung auch vor oder nach Behandlung mit anderen Therapieformen wie Chemotherapie und Radiotherapie möglich ist.^[11] Die Behandlungserfolge sind abhängig von der Art und Größe des Tumors. Die Grenzen der PDT liegen bei einer Dicke des Gewebes von 1 mm–2 cm, abhängig von den photophysikalischen Eigenschaften des PS. Außerdem müssen die Parameter Bestrahlungszeit, Bestrahlungsdosis, Lichtstärke, Lichtquelle, aber vor allem der Photosensibilisator sowie seine Applikationsdosis optimiert werden, worin zukünftige Aufgaben der Forschung liegen, um die PDT praktikabel und mit anderen Therapieverfahren konkurrenzfähig zu machen.^[12]

2.3 Physikalisch-chemische Grundlagen

Der photophysikalische Prozess der Sensibilisierung wird am besten durch ein modifiziertes Jablonsky-Schema beschrieben (Abb. 3). Bei der Bestrahlung mit Licht einer geeigneten Wellenlänge findet eine Anregung eines Elektrons vom Grundzustand (S_0) des Photosensibilisators in den ersten (S_1) oder höher angeregten Singulettzustand (S_n) statt. Die höher angeregten Zustände fallen unter strahlungsloser Desaktivierung in den ersten angeregten Zustand zurück. Unter Emission von Photonen kann das Elektron zurück in den Grundzustand relaxieren (F).

Zur Tumordiagnostik und dessen Lokalisierung macht man sich diese Fluoreszenz des Photosensibilisators zunutze. Dabei erhält man sowohl Informationen zur Unterscheidung von malignen und benignen Tumoren, als auch über die Wirksamkeit der Therapie, indem die Fluoreszenz vor, während und nach der Behandlung gemessen wird.^[13]

Eine andere Reaktionsmöglichkeit nach Elektronenanregung des Sensibilisators ist der Übergang des Elektrons in den angeregten Triplettzustand (T_1) durch Intersystem-Crossing (ISC) unter Spinumkehr. Dieser Übergang ist normalerweise spin-verboten, jedoch bilden makrozyklische Moleküle mit konjugiertem π -System eine Ausnahme und machen den als Sensibilisierung bezeichneten Prozess erst möglich.

In diesem relativ langlebigen angeregten Zustand kann der Sensibilisator auf zwei verschiedenen Wegen weiterreagieren. In einer Typ I-Reaktion geht der Photosensibilisator Radikal- und Redoxreaktionen mit zellulären Molekülen ein. Bei einem Zusammenstoß des PS mit Sauerstoff wird die Energie des PS auf zellulären Sauerstoff unter Bildung des hochreaktiven Singulett-Sauerstoffs übertragen, wobei der Sensibilisator in den Grundzustand zurückfällt. Um ein Elektron aus dem Grundzustand des Sauerstoffs in den Singulettzustand anzuregen, ist eine Energie von $95 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (entspricht $\lambda = 1274 \text{ nm}$) nötig.^[14] Folglich sollte die Absorptionsbande mit der niedrigsten Energie des Chromophors nicht bei größeren Wellenlängen als 900 nm (entspricht $135 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) liegen. Auf der anderen Seite sollte die absorbierte Wellenlänge jedoch so hoch wie möglich sein, da die Eindringtiefe des Lichts mit längeren Wellenlängen zunimmt.

Sauerstoff besitzt zwei angeregte Zustände: den in Abb. 3 gezeigten energieärmeren $^1\Delta_g$ -Zustand mit den zwei Elektronen in einem π^* -Orbital und dem $^1\Sigma_g$ -Zustand mit den zwei Elektronen in beiden π^* -Orbitalen, welcher schnell in den $^1\Delta_g$ -Zustand übergeht.

2. Theoretische Grundlagen

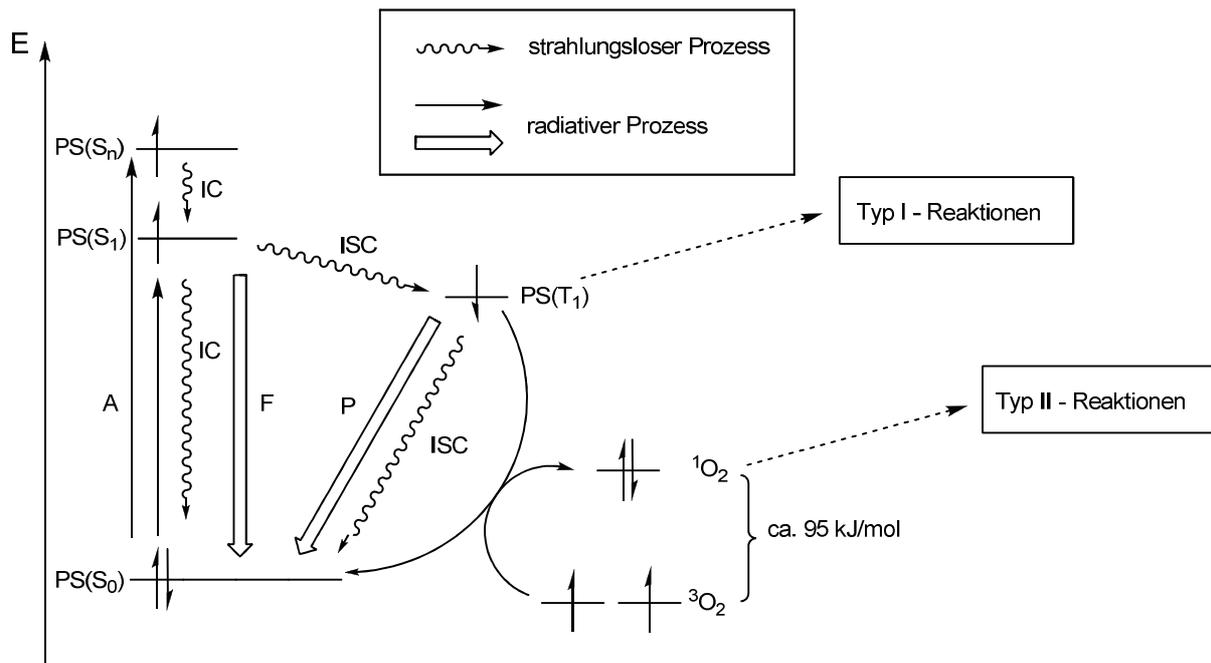


Abbildung 3: Modifiziertes Jablonsky-Diagramm: Absorption (A), Fluoreszenz (F), Phosphoreszenz (P), Internal Conversion (IC), Intersystem-Crossing (ISC), Singulett (S), Triplett (T).

Singulett-Sauerstoff hat in wässrigen Medien eine Lebenszeit von 0,04 μ s und somit diffusionskontrolliert eine Reichweite von 0,02 μ m. In Typ II-Reaktionen, definiert durch eine Abhängigkeit von der O₂-Konzentration, reagiert der angeregte PS mit Zellbestandteilen wie Lipiden (ungesättigte Fette und Fettsäuren sowie Cholesterin) und Seitenketten von Aminosäuren (Tryptophan, Histidin, Methionin) in [2+2]-, [4+2]-Cycloadditionen und En-Reaktionen. Die Schäden betreffen also vor allem Membranen der Zelle, des Zellkerns und der Mitochondrien, aber auch das raue endoplasmatische Reticulum, den Golgi-Apparat und Lysosomen, wodurch Stoffwechselwege unterbunden oder biochemische Prozesse initiiert werden, die sowohl Nekrose als auch Apoptose zur Folge haben können.^[15]

2.4 Porphyrinoide als Photosensibilisatoren

Photosensibilisatoren sind makrocyclische Moleküle mit konjugiertem π -System, welche im sichtbaren Bereich des Lichtspektrums absorbieren. Ihre photodynamische Aktivität ist nicht auf bestimmte Strukturen begrenzt, jedoch gibt es Chromophore, die sich bereits bewährt haben. Geeignete Moleküle sind beispielsweise Porphyrine und Chlorine.

Diese farbigen Verbindungen finden sich in allen Lebensformen wieder und ihnen kommen zahlreiche für das Leben essentielle Funktionen zu. Deshalb werden sie zu Recht als „Pigmente des Lebens“ bezeichnet.

Porphyriinoide werden je nach Sättigungsgrad ihres makrozyklischen Chromophors unterteilt. Das Porphyrin-Grundgerüst **1** besteht formal aus vier Pyrroleinheiten, welche über Methin-Brücken zu einem komplett ungesättigten Makrocyclus verknüpft sind. Mit 18- π -Elektronen in cyclischer Konjugation stellt es ein aromatisches System nach Hückel dar. Der unsubstituierte Makrocyclus selbst ist planar und schlecht löslich in organischen Lösungsmitteln und Wasser. Periphere Substitution des aromatischen Ringsystems führt durch Überladung zur teilweisen Aufhebung der Planarität. Diese Deformation geht allerdings mit wenig Verlust an Aromatizität einher und erhöht die Löslichkeit.

Der Hohlraum im Inneren des Porphyrinrings kann mit nahezu jedem Metall komplexiert werden. Für die PDT-Anwendung eignen sich jedoch nur Metallkomplexe mit vollständig besetzten oder leeren d-Orbitalen. Bei teilweise besetzten d-Orbitalen ist der angeregte Zustand äußerst kurzlebig und eine Sensibilisierung findet nicht statt. Aus diesem Grund eignet sich Hämin **2**, das mit Eisen (III) koordiniert ist, nicht als Photosensibilisator. Der rote Blutfarbstoff Häm, der als prosthetische Gruppe von Proteinen wie Globin für den Sauerstofftransport und dessen Speicherung oder in Form von Cytochromen für den Elektronentransfer in der Atmungskette verantwortlich ist, stellt den wichtigsten Vertreter der Porphyrine dar.^[16]

Aufgrund der Absorption von sichtbarem Licht sind Porphyrine tiefrot gefärbt (griech. *porphyra*: purpur).

2. Theoretische Grundlagen

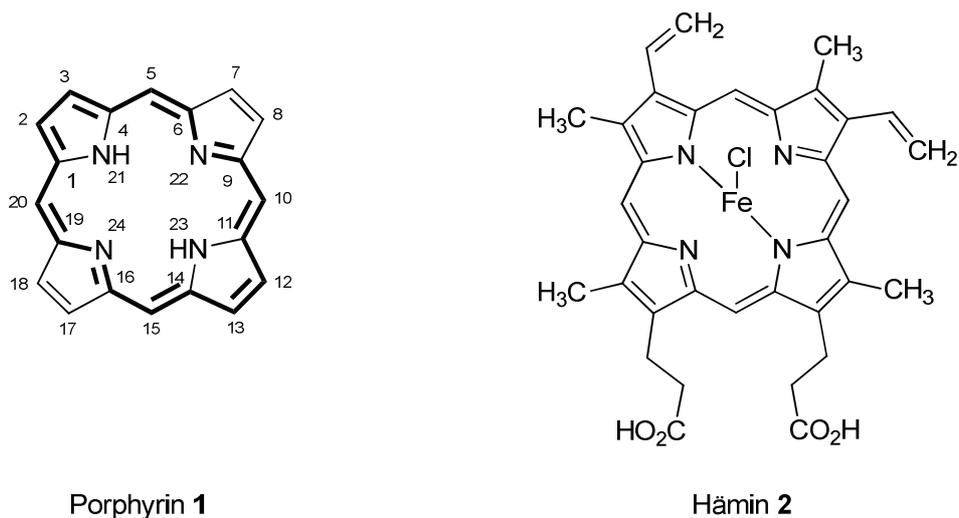


Abbildung 4: Konstitution des Porphyringrundgerüsts als 18-Annulensystem **1** und des Hämins **2**.

Durch Reduktion einer der peripheren Doppelbindungen unter Erhalt des 18-Annulensystems gelangt man zu der Substanzklasse der Chlorine **3** oder nach IUPAC-Nomenklatur 2,3-Dihydroporphyrine.^[17] Namensgebend hierfür ist der grüne Blattfarbstoff Chlorophyll *a* **4** (griech. *chloros*: grün), der als wichtigster Teil des Photosyntheseapparates bei Pflanzen und Cyanobakterien fungiert. Der Tetrapyrrolring koordiniert ein Magnesium-Ion und ist durch eine Esterbindung kovalent mit Phytol, einem stark hydrophoben aus 20 Kohlenstoffatomen bestehenden Alkohol, an der Propionsäure-Seitenkette verknüpft.^[18]

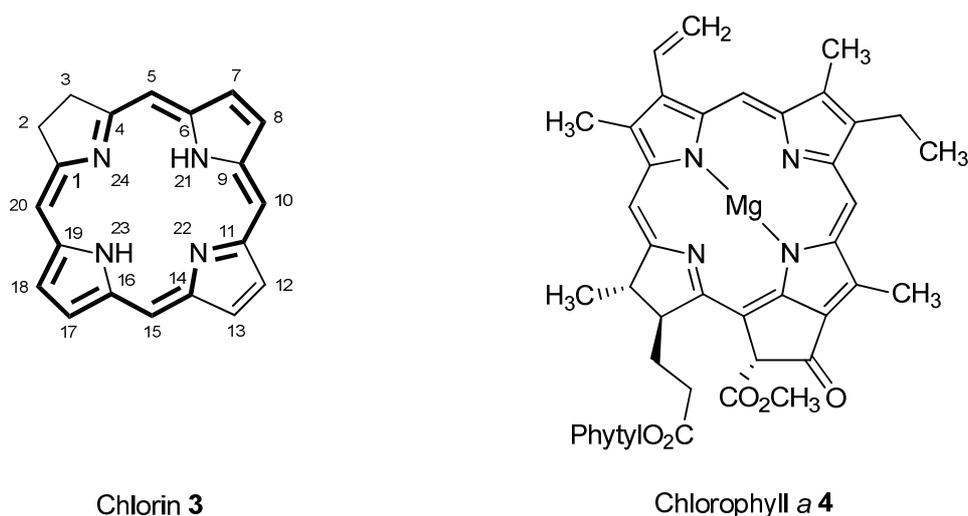


Abbildung 5: Konstitution des Chloringrundgerüsts **3** und Konfigurationsformel von Chlorophyll *a* **4**.

2.5 Absorptionsspektren von Porphyrinoiden

„man ... cannot give a true reason for the grass under his feet why it should be green rather than red or any colour ...” (Sir Walter Raleigh, *History of the World: Preface 1614*)^[19]

Die intensive Färbung der porphyrinoiden Verbindungen ist auf die Absorption von sichtbarem Licht durch das konjugierte π -System zurückzuführen.

Alle Porphyrinoide zeigen eine intensive Absorption um 400 nm mit molaren Extinktionskoeffizienten von $\sim 10^5 \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$, die nach ihrem Entdecker (1883) Soret-Bande genannt wird. Dabei handelt es sich um einen $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergang. Leider kann diese Absorptionsbande nicht für die PDT genutzt werden, da das Licht dieser Wellenlänge aufgrund von Absorption durch Melanin und Häm kaum in das Gewebe eindringt. Es existieren jedoch weitere Banden bei höheren Wellenlängen ($\lambda = 500 \text{ nm} - 800 \text{ nm}$) mit geringerer Intensität, die für die PDT genutzt werden können und als Q-Banden bezeichnet werden. Diese werden aus Richtung der energieärmsten Bande mit römischen Ziffern benannt (s. Abb. 6).

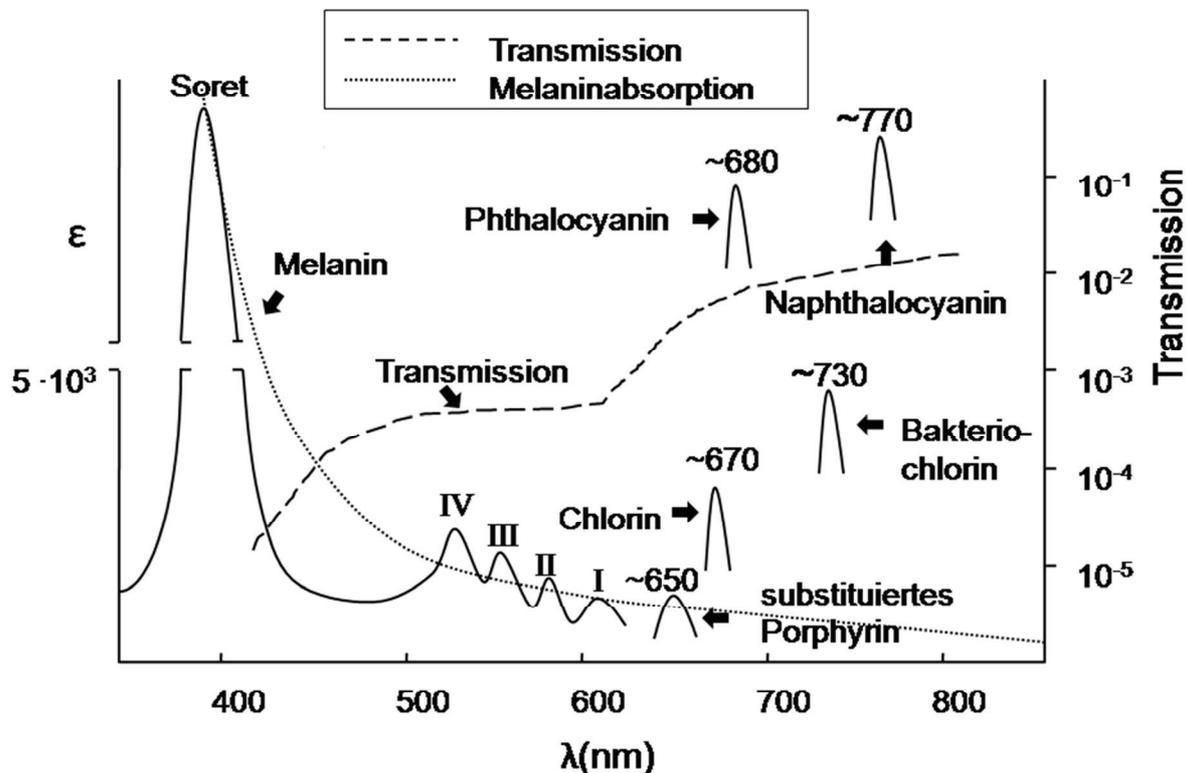


Abbildung 6: Absorptionsspektrum von Porphyrinoiden, Melanin und Transmission der Haut in diesem Wellenlängenbereich.^[20]

2. Theoretische Grundlagen

Normalerweise führt die Verkleinerung eines Chromophors zu einem hypsochromen Shift (Blauverschiebung). Die sukzessive Reduktion der Doppelbindungen im Porphyrin über das Chlorin zum Bakteriochlorin führt jedoch zu einem bathochromen Shift (Rotverschiebung). So zeigen Porphyrine ihre langwelligste Absorptionsbande bei 630 nm, während die Chlorine im längerwelligen Bereich bei 650 nm mit einem um den Faktor 10 höheren molaren Absorptionskoeffizienten und die Bakteriochlorine bei 710 nm absorbieren.

Das 4-Orbital-Modell nach Gouterman erlaubt eine qualitative Erklärung für die Absorptionsspektren der Porphyrinoide.^[21]

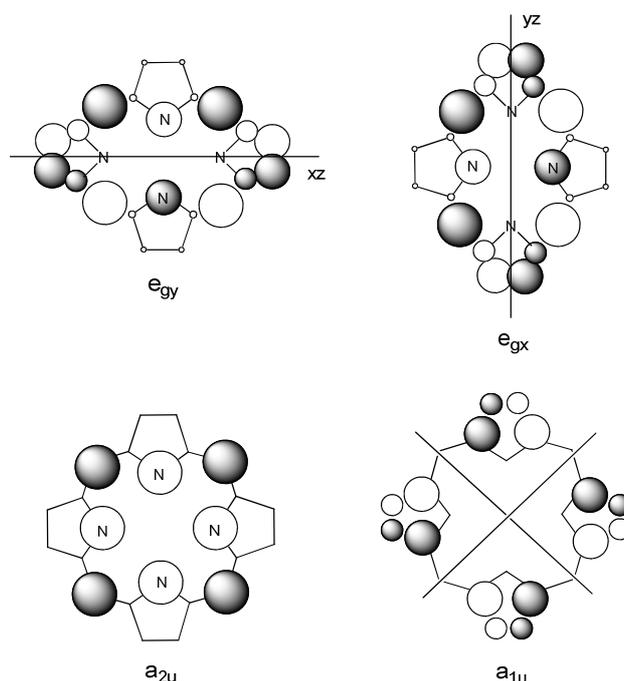


Abbildung 7: Elektronendichteverteilung der Orbitale im Metalloporphyrin.^[22]

Abbildung 7 zeigt die zwei besetzten Orbitale a_{1u} und a_{2u} (HOMO und HOMO -1) und die zwei unbesetzten Orbitale e_{gx} und e_{gy} (LUMO und LUMO -1). Die Absorptionsbanden gehen auf Linierkombinationen von Ein-Elektron-Übergängen dieser Orbitale zurück. Die Q-Banden resultieren aus der subtraktiven Kombination und die Soret-Bande aus der additiven Kombination.

Im unsubstituierten Metalloporphyrin mit D_{4h} -Symmetrie sind die Energien von a_{1u} und a_{2u} ähnlich und die LUMO-Orbitale e_{gx} und e_{gy} entartet (s. Abb. 8). Demetallierung oder Hydrierung zum Chlorin oder Bakteriochlorin bewirkt eine sukzessive Minderung der Symmetrie und die x- und y-Achse sind nicht mehr äquivalent. Daher sind diese Orbitale auch nicht mehr entartet, sondern werden energetisch aufgespalten:

Die Orbitale e_{gy} und a_{1u} werden destabilisiert und energetisch angehoben, während e_{gx} und a_{2u} davon unberührt bleiben. Deshalb nimmt die Energie des kleinsten Übergangs zum Bakteriochlorin hin ab, die Absorption findet also bei höheren Wellenlängen statt. Dieser Ansatz bietet auch eine Erklärung für die höheren molaren Absorptionskoeffizienten, da Symmetrie-Einschränkungen aufgehoben werden und die Absorption wahrscheinlicher wird.

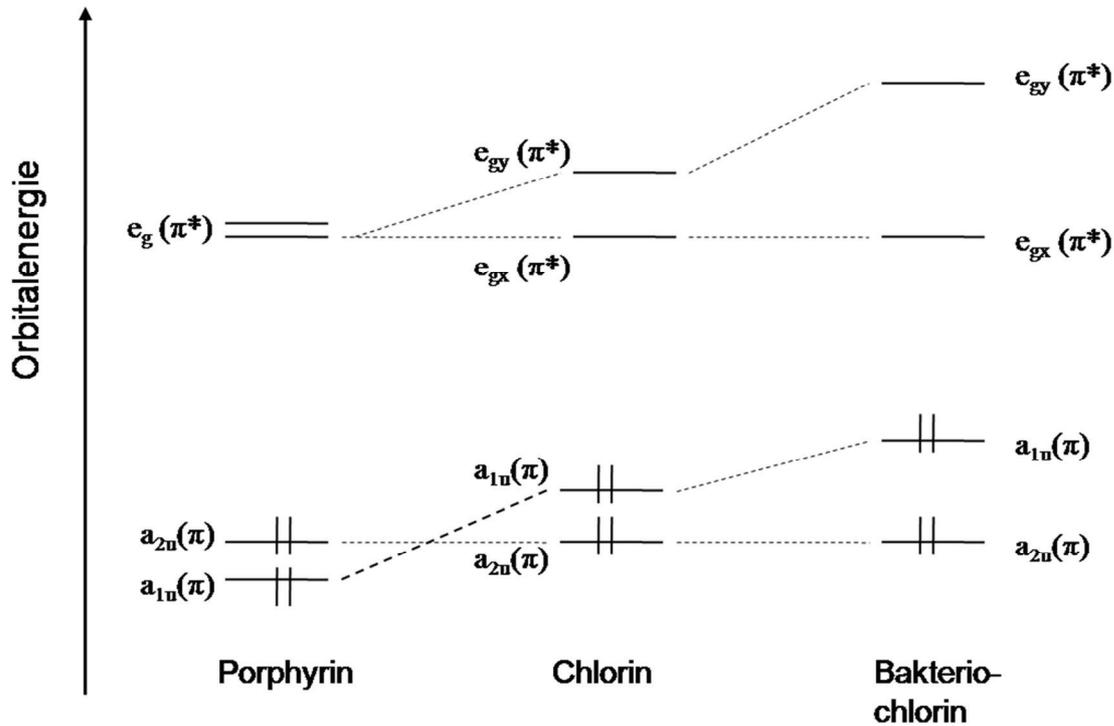


Abbildung 8: Energien der Molekülorbitale von Zink-komplexiertem Porphyrin, Chlorin und Bakteriochlorin im Vergleich.

2.6 Struktur-Wirkungs-Beziehungen der Sensibilisatoren

Voraussetzung für die Photodynamische Tumorthherapie ist die selektive Anreicherung des Sensibilisators im Tumorgewebe. Die Anreicherung und die Lokalisierung in der Zelle sind entscheidend von der Morphologie der Tumorzelle und von der Struktur des Photosensibilisators abhängig, auch wenn diese Zusammenhänge noch nicht endgültig geklärt sind.

Im Allgemeinen wird die Anreicherung eines PS mit steigender Lipophilie erhöht. Solche PS verweilen jedoch auch länger im Körper, besonders in den sich schnell teilenden Zellen der Haut und der Augen, wodurch die Lichtempfindlichkeit begründet ist.^[23]

2. Theoretische Grundlagen

Kationische PS werden *in vitro* in sehr hohen Konzentrationen in Mitochondrien angereichert. Bei Schäden der Mitochondrien wird häufig der Zelltod in Form von Apoptose eingeleitet. Der Nachteil ist jedoch, dass sie auch sehr schnell wieder ausgeschieden werden, sodass eine Behandlung mittels PDT erschwert wird.^[24]

Stark anionische PS weisen auch eine große Akkumulation in Tumorzellen auf, zeigen aber eine sehr schlechte Photodynamische Aktivität. Als Beispiel dienen die Carbonsäuren der Benzoporphyrinderivate (s. Abb. 2.8). Dabei zeigt die Mono-Säure eine 10-mal höhere photodynamische Aktivität als die Di-Säure. Jedoch erfolgt auch hier die Ausscheidung aus dem Körper bereits nach 3 Stunden.^[25]

Gesucht sind also solche Moleküle, die sich selektiv im Tumor anreichern, aber auch schnell wieder aus dem Körper ausgeschieden werden, um eine lange Lichtempfindlichkeit zu vermeiden. Die Verweilzeit sollte jedoch groß genug sein, um die PDT praktikabel anwenden zu können. Diese Kriterien werden in der Regel von amphiphilen Strukturen erfüllt, welche sowohl lipophile als auch hydrophile Substituenten an verschiedenen Enden des Moleküls tragen. Da der porphyrinoide Makrozyklus für sich allein schon lipophil ist, erhält man durch Substitution mit Sulfonsäuren, Carbonsäuren, Hydroxylgruppen und quaternären Ammoniumionen die gewünschte Amphiphilie.

In einem Experiment wurde der Einfluss von zunehmender Lipophilie durch Substitution mit wachsenden Alkylketten in einem an sich eher hydrophilen Molekül, dem Pyropheophorbid α , untersucht. Dabei wurde die größte Aktivität bei einer Kettenlänge von C₆ festgestellt, die 10-mal größer war als bei dem Derivat mit C₁₂-Ketten, obwohl dessen Konzentration in den Zellen 3-mal größer war.^[26]

Ein weiteres Beispiel sind die Sulfonsäuren der Tetraphenylporphyrine, kurz TPPS. Es hat sich herausgestellt, dass TPPS₂ am effektivsten in den Zellen angereichert wird, TPPS₃ und TPPS₄ jedoch schlechte Photodynamische Aktivität zeigen. Dies kann mit der größeren Amphiphilie von TPPS₂ begründet werden, wie Margaron *et al.* demonstrierten.^[27]

Es ist derzeit allgemein anerkannt, dass amphiphile Photosensibilisatoren generell eine höhere photodynamische Aktivität besitzen als symmetrisch hydrophobe oder hydrophile PS.^[28] Die Erklärung beruht auf einer erhöhten Lokalisierung in den hydrophoben-hydrophilen Membranzwischenräumen und der Oberfläche von Proteinen. Des Weiteren wird anhand der Beispiele deutlich, dass eine ausgewogene Balance zwischen Hydrophilie und Lipophilie herrschen muss, und kleine strukturelle Veränderungen einen großen Einfluss auf die *in vivo*-Aktivität haben können.^[27, 29]

2.7 Anforderungen an Photosensibilisatoren

Der erste klinisch eingesetzte und auch am intensivsten erforschte PS ist Photofrin. Dabei handelt es sich um ein sehr komplexes Porphyringemisch von Hämatorporphyrinderivaten HpD **6**, welches aus Hämatorporphyrin-dihydrochlorid durch Behandlung mit Säuren und anschließender alkalischer Aufarbeitung und Entfernung der Monomere entsteht. Dabei erhält man eine Mischung von ester- und etherverknüpften Di- und Oligomeren, deren Zusammensetzung schwer reproduzierbar ist. Bislang wurden bis zu 40 Komponenten nachgewiesen. Dies macht Struktur-Wirkungsbeziehungen unmöglich. Ein weiterer Nachteil ist die lange Verweilzeit im Körper und in der Haut von bis zu 6 Wochen, die eine Vermeidung von Sonnenlicht des Patienten in dieser Zeit erfordert.^[25b, 30]

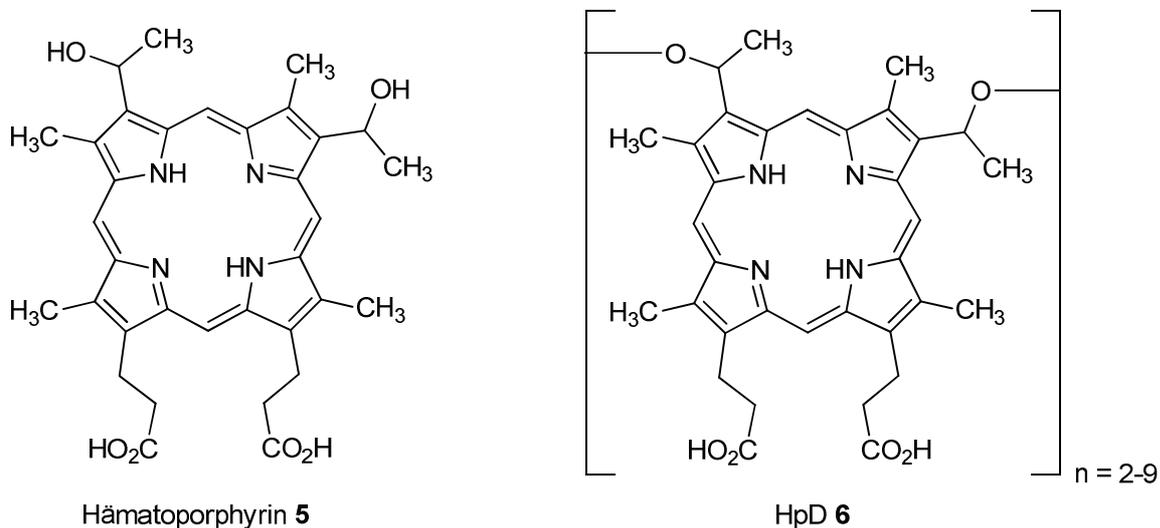


Abbildung 9: Strukturformel von Hämatorporphyrin **5** und schematische Darstellung von HpD **6**.

Die bisher anhand von Photofrin gewonnenen Erkenntnisse über die Mechanismen der Sensibilisierung, der Anreicherung in Tumorzellen und des Zerstörungsprozesses in Tumorzellen und -geweben führen zu genau definierten Anforderungen an einen PS.

2. Theoretische Grundlagen

Ein optimaler Photosensibilisator sollte folgende Eigenschaften aufweisen:

Table 3: Anforderungen an einen Photosensibilisator.^[31]

Photophysikalische Anforderungen	langwellige Absorption (> 630 nm) mit hoher molarer Extinktion
	hohe Quantenausbeute für die Bildung von Singulett-Sauerstoff bei Triplettlöschung
	eine Quantenausbeute von ca. 20% für die Fluoreszenz
Pharmakologische Anforderungen	Anreicherung im Tumorgewebe (> 10:1)
	Wasserlöslichkeit für einen guten Transport im Blutkreislauf
	kurze Verweilzeit in gesundem Gewebe
	geringe Toxizität des Sensibilisators und seiner Metabolite
Chemische Anforderungen	strukturell einheitlich
	kostengünstige Herstellung
	stabil unter physiologischen Bedingungen
	amphiphile Grundstruktur

Bislang erfüllt allerdings keiner der getesteten PS alle Anforderungen, jedoch lässt sich die pharmakologische Wirksamkeit eines PS anhand dieser Eigenschaften abschätzen.

2.8 Photosensibilisatoren der 2. Generation

Die Photosensibilisatoren der 2. Generation orientierten sich bei dem Design an den in Kapitel 2.7 formulierten Anforderungen und zeigen alle Verbesserungen im Absorptionsmaximum und der photodynamischen Aktivität. In diesem Kapitel werden die Sensibilisatoren mit Chlorin-Chromophor vorgestellt (s. Abb. 10), die bereits in klinischer Anwendung oder klinischen Phasen sind.

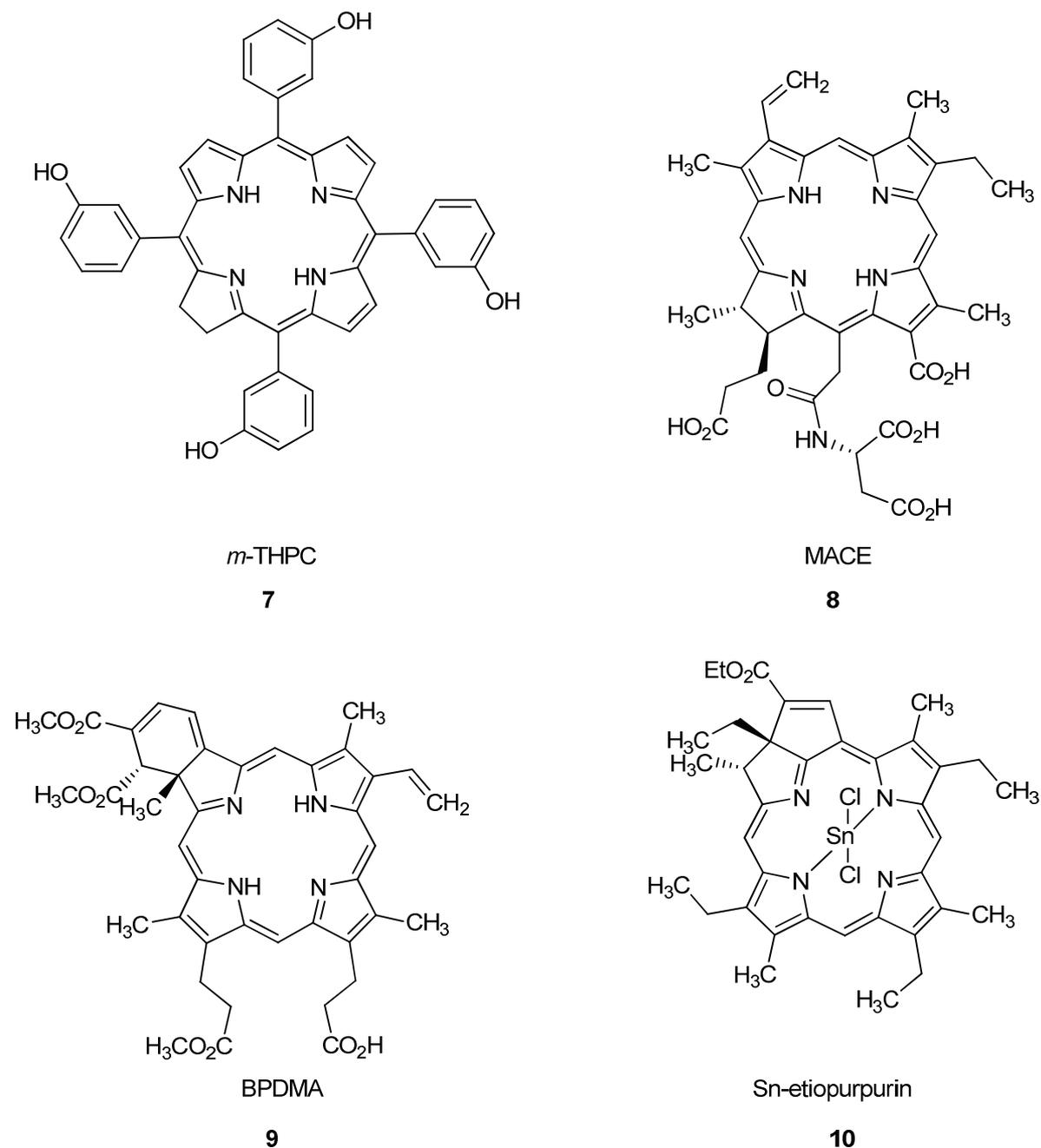


Abbildung 10: Ausgewählte Photosensibilisatoren der 2. Generation.

2. Theoretische Grundlagen

Als aussichtsreichster Photosensibilisator wird zurzeit *m*-THPC **7** gehandelt. Er wird durch Reduktion des korrespondierenden Porphyrins mittels Diimin synthetisiert. Interessanterweise weist das *meta*-Isomer eine deutlich höhere photodynamische Aktivität auf, obwohl die photophysikalischen Eigenschaften der Isomere sehr ähnlich sind.

Mono-L-aspartylchlorin e₆ MACE **8** ist ein sehr gut wasserlöslicher PS ausgehend von Chlorophyll *a* **4**. Dieses eignet sich aufgrund seiner Oxidationsanfälligkeit nicht als Sensibilisator. Deshalb wurden die labilen Struktureinheiten chemisch modifiziert. Tabelle 4 ist zu entnehmen, dass MACE **8** eine sehr hohe Quantenausbeute der Singulett-Sauerstoff-Bildung aufweist.

Benzoporphyrin-Derivat-Monoester BPDMA **9** ist bereits zugelassen für die Behandlung von altersbedingter Makuladegeneration. Dieser wird aus Protoporphyrin-dimethylester durch Diels-Alder-Reaktion an dem 1,3-Dien der Vinylgruppe gewonnen. Basenkatalysierte Isomerisierung führt zu dem thermodynamisch stabileren Produkt, da die isolierten Doppelbindungen nun in Konjugation zum Chromophor stehen. Trotz der Carbonsäure ist BPDMA **9** hydrophob und muss liposomal verabreicht werden.

Zinn-etio-*purpurin* SnEt₂ **10** ist ein lipophiler PS, der als Emulsion verabreicht werden kann. Zur Herstellung wird Etio-porphyrin in meso-Position mit Acrylester substituiert, welcher unter mild sauren Bedingungen thermisch zyklisiert. Gute Resultate wurden bereits bei kutanem Brustkrebs erzielt, jedoch ist eine langanhaltende Lichtempfindlichkeit beobachtet worden.^[32]

Tabelle 4: Ausgewählte photophysikalische und klinische Kenndaten von PS in klinischer Phase.^[32]

PS als Kürzel	Handelsname	Wellenlänge [nm]	Extinktionskoeffizient [cm ² · mmol ⁻¹]	Quantenausbeute Φ _Δ	Verabreichung
HpD 6	Photofrin	630	3.000	k.A.	5% Dextrose
ALA	Levulan	635	5.000	0.60	wasserlöslich
<i>m</i>-THPC 7	Foscan	652	30.000	0.43	PEG/EtOH/H ₂ O
MACE 8	NPe ₆	660	40.000	0.80	wasserlöslich
BPDMA 9	Verteporfin	690	35.000	0.70	liposomal
Sn-etio-purpurin 10	Purlytin	659	28.000	0.60	Lipidemulsion

3. Aufgabenstellung

3.1 Motivation und Zielsetzung

In den letzten 20 Jahren ist die Aktivität an Forschung im Bereich der photodynamischen Therapie nahezu explodiert und eine Vielzahl von Publikationen zur Synthese von neuen potentiellen Photosensibilisatoren wurde veröffentlicht. Dennoch erfüllt bislang kein PS die in Abschnitt 2.7 genau definierten Anforderungen.

Aus Abschnitt 2.6 zu den Struktur-Wirkungsbeziehungen geht hervor, dass amphiphile Strukturen gegenwärtig am aussichtsreichsten sind. Wie ebenso deutlich wird, ist der photodynamische Prozess sehr komplex. Bereits kleinste strukturelle Unterschiede der PS können sich auf die *in vivo*-Aktivität enorm auswirken.

Zielsetzung dieser Arbeit war die Synthese von amphiphilen Chlorinen als potentielle Photosensibilisatoren. Das Augenmerk lag auf einer Verbesserung der chemischen und pharmakologischen Eigenschaften. So sollte durch geeignete hydrophile Substituenten eine partielle Wasserlöslichkeit oder Löslichkeit in physiologischen Lösungsmitteln erhalten werden. Das Design umschließt eine ausgewogene Balance zwischen Hydrophilie und Lipophilie, und sollte eine schnelle Anreicherung aber auch Ausscheidung aus dem Körper erzielen. Neben der Synthese sollten die neuen Substanzen auf ihre Eignung als Photosensibilisatoren getestet werden.

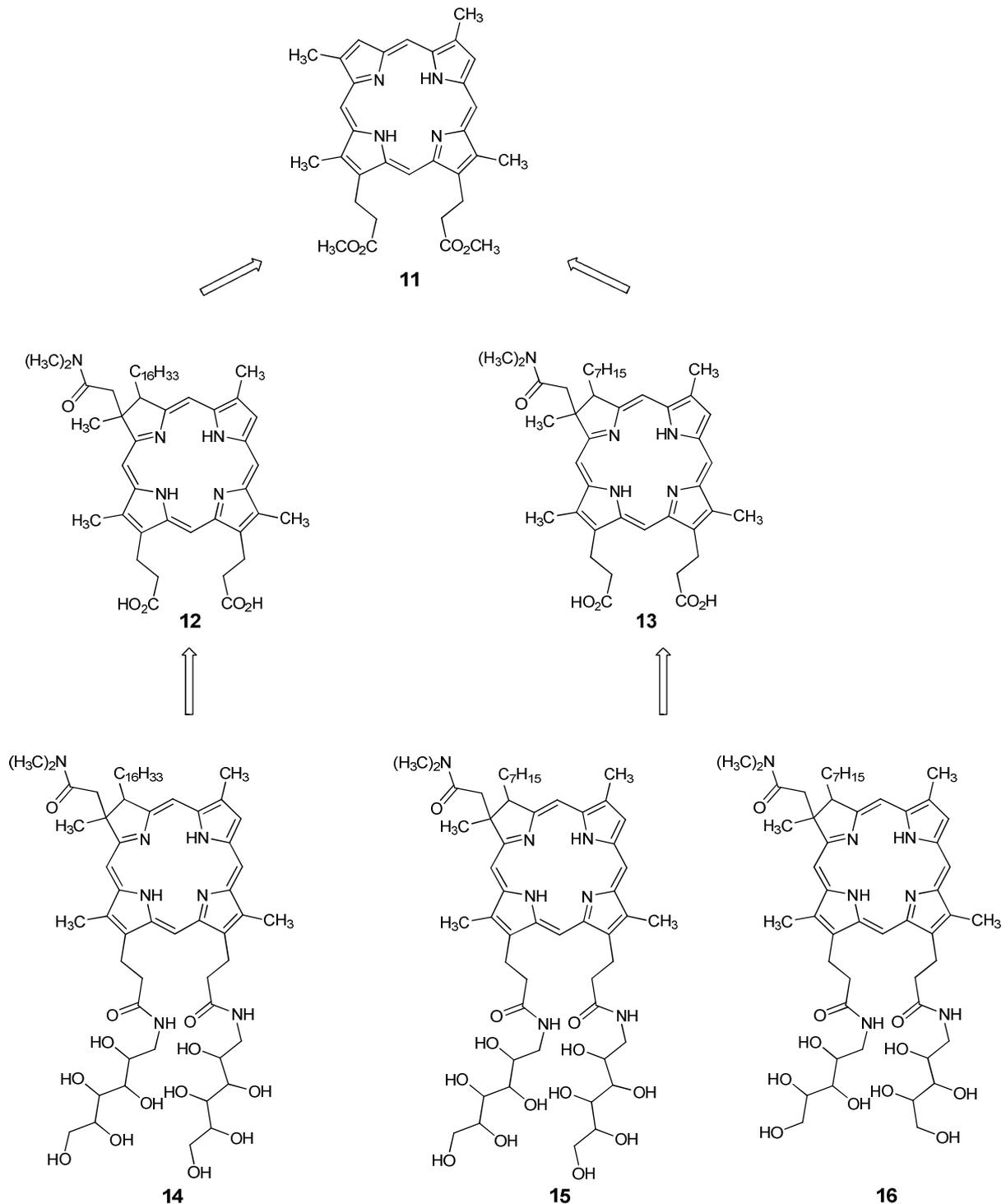
3.2 Syntheseplanung

Bei der Synthese von Chlorinen sollten zwei generell unterschiedliche Ansätze verfolgt werden, die beide auf Isolation und Modifikation von natürlichen Ressourcen beruhen.

In dem in unserer Arbeitsgruppe entwickelten Verfahren zur Synthese von Chlorinen geht man von Deuteroporphyrin-IX-dimethylester **11** aus. Die Umsetzung zum Chlorin erfolgt durch Eschenmoser-Claisen-Umlagerung eines Allylalkohols, der durch Friedel-Crafts-Acylierung in den Chromophor eingeführt wird. Durch Variation der Seitenkettenlänge sollten unterschiedlich lipophile Chlorine darstellbar sein. Des Weiteren bieten die Propionsäureseitenketten Möglichkeiten zur hydrophilen Substitution.

Schema 1 zeigt das Konzept für die Chlorinsynthese ausgehend von Deuteroporphyrin.

3. Aufgabenstellung

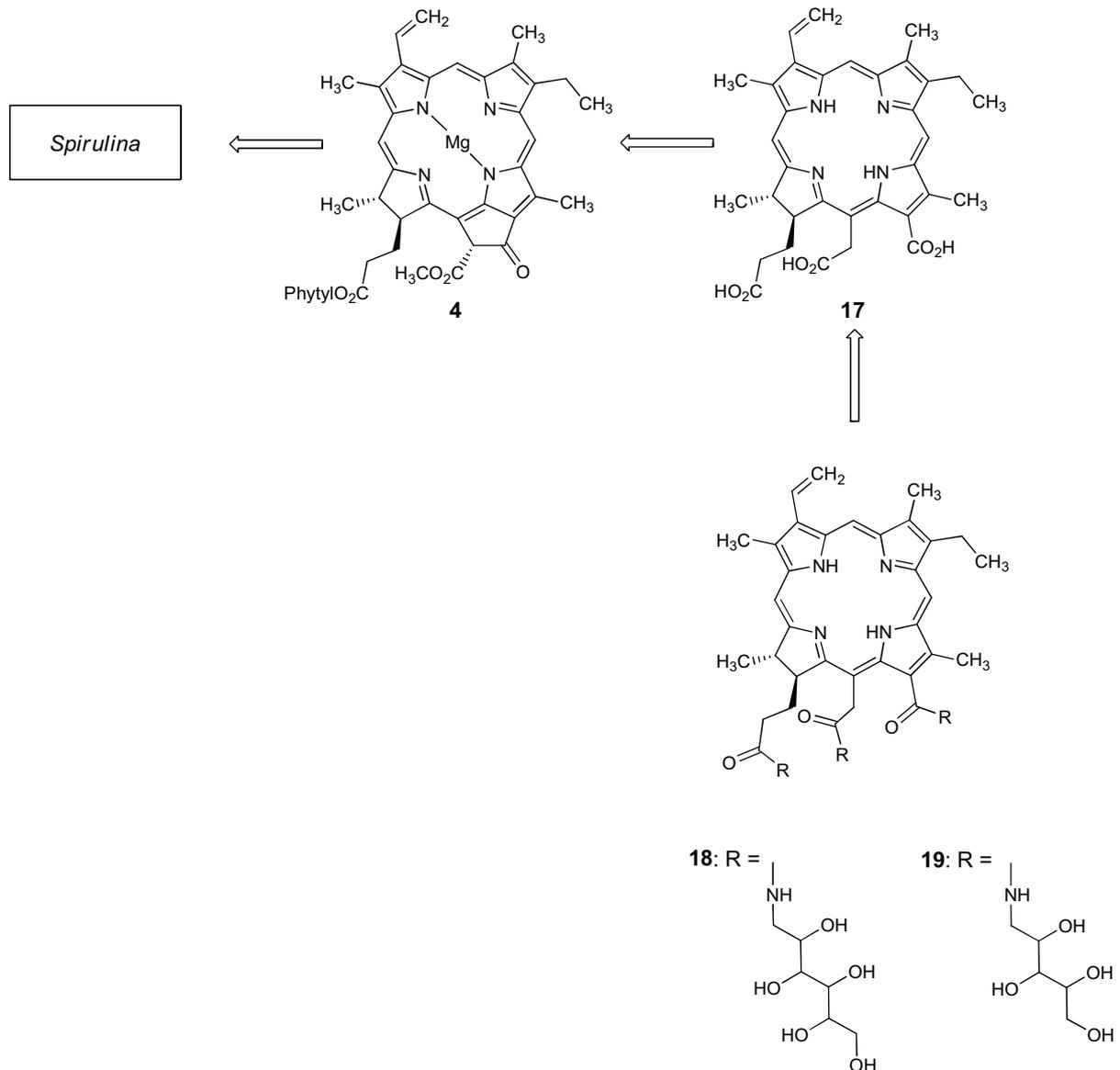


Schema 1: Konzept zur Synthese von amphiphilen Chlorinen ausgehend von Deuteriochlorophyllin mit variierender Polarität.

Ein anderer Ansatz beruht auf der Verwendung von natürlich vorkommenden Chlorinen. Reines Chlorophyll *a* **4** kann aus Cyanobakterien wie *Spirulina* isoliert und zum chemisch stabileren Chlorin *e*₆-trimethylester umgesetzt werden. Der Chlorin-Makrozyklus mit seiner Vinylgruppe ist für sich allein schon lipophil. Zur hydrophilen Funktionalisierung stehen drei

3. Aufgabenstellung

Carbonsäurefunktionen zur Verfügung, die aufgrund der Positionen am Chlorin-Ring und der Kettenlänge unterschiedlich reaktiv sein sollten. Ob alle drei Carbonsäuren gleichzeitig reagieren oder nicht, hängt auch von der Größe der Substituenten ab und lässt sich schwer voraussagen.



Schema 2: Konzept zur Synthese von amphiphilen Chlorinen ausgehend von Chlorophyll *a* 4 aus dem Cyanobakterium *Spirulina* mit variierender Polarität.

Die Wahl geeigneter hydrophiler Bausteine unterliegt verschiedenen Einschränkungen, die auf den physiologischen und chemischen Anforderungen beruhen. Wie in Abschnitt 2.6 gezeigt haben ionische Funktionalitäten nachteilige Eigenschaften *in vivo*, da die Verbindungen dadurch zu gut wasserlöslich werden.

Verschieden hydrophile Polyole wie die natürlich vorkommenden Kohlenhydrate stehen in Form von Pentosen, Hexosen und Heptosen zur Verfügung. Die Alkoholfunktionen böten

3. Aufgabenstellung

eine einfache Möglichkeit der Verknüpfung mit den Propionsäuren. Da die Zielstrukturen aber unter physiologischen Bedingungen stabile Bindung aufweisen sollten, sind Esterbindungen zu vermeiden. Zudem sind die in der Natur vorkommenden Kohlenhydrate zwar enantiomerenrein, bilden in Lösung jedoch durch Halbacetalisierung der Aldehydfunktion die zwei Anomere der zyklischen Pyranose. Dies würde bei Verknüpfung mit dem Chlorin zu weiteren Stereoisomeren führen und dieses würde das Kriterium der chemischen Einheitlichkeit nicht erfüllen. Kondensation der Aldehydfunktion mit primären Aminen zum Imin und anschließende Reduktion liefert die korrespondierenden azyklischen Amine. Diese sollten teilweise kommerziell erhältlich oder aber chemisch leicht zugänglich sein und stellen optimale hydrophile Bausteine dar, da die Bildung von Anomeren nicht möglich ist und Amine mit den Carbonsäuren äußerst stabile Amide ergeben sollten.

Neben der Synthese sollte auch eine Charakterisierung im Hinblick einer Eignung als PS im Blickpunkt stehen.

Photophysikalische Messungen beinhalten die Untersuchung der Absorptionseigenschaften, des Fluoreszenzverhalten und die Bestimmung der Quantenausbeute für Singulett-Sauerstoff-Bildung.

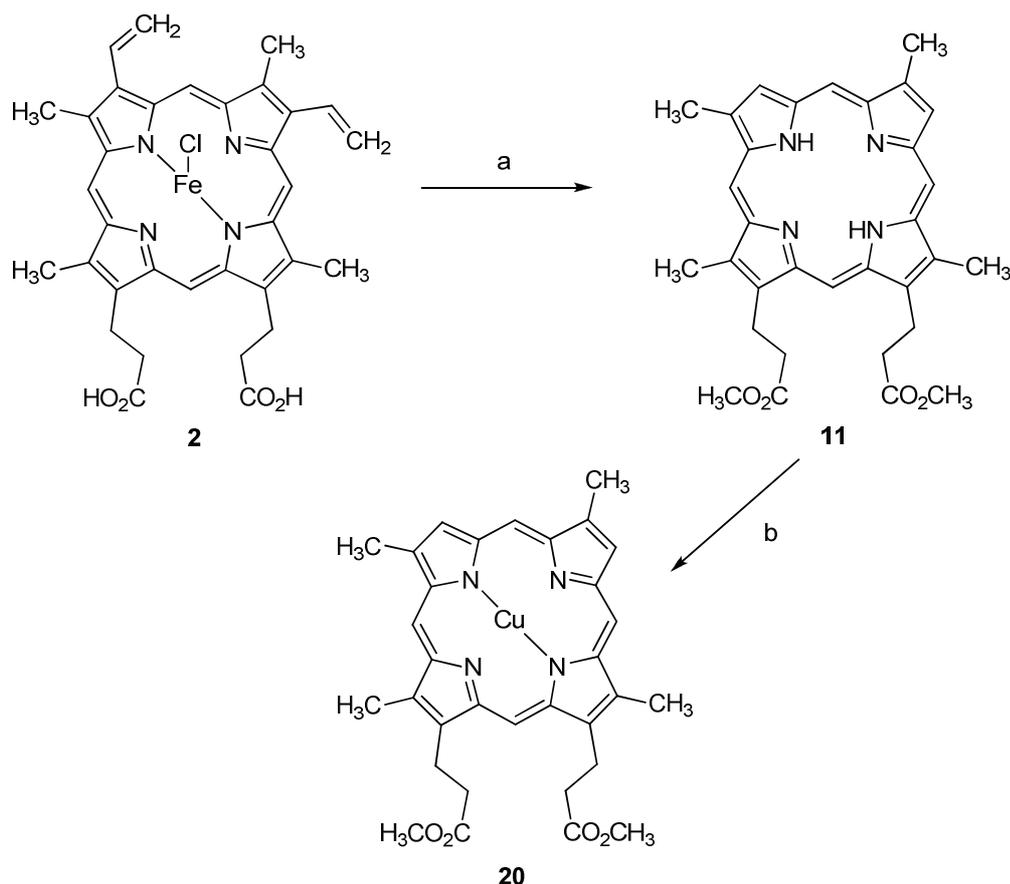
In Zusammenarbeit mit dem Onkologischen Institut in Kattowitz sollten biologisch-medizinische Tests die Chlorine mit den besten pharmakologischen Eigenschaften *in vitro* identifizieren.

4. Durchführung der Synthesen

4.1 Darstellung von Chlorinen ausgehend von Deuteroporphyrin

Ausgehend von dem natürlich vorkommenden Porphyrin Häm sind Chlorine mit unterschiedlich langen Alkylseitenketten partialsynthetisch zugänglich.

Edukt für die Synthese war Heminchlorid **2**, welches sich aus Blut gewinnen lässt. Die Vinylgruppen wurden in einer Resorcinschmelze in einer Schumm-Reaktion entfernt. Anschließendes Einleiten von Chlorwasserstoff in eine methanolische Lösung des Zwischenprodukts unter reduktiven Bedingungen bewirkt die säureinduzierte Entfernung des Eisens und gleichzeitige Veresterung der Propionsäure-Seitenketten zu Deuteroporphyrin-IX-dimethylester **11**.^[33] Der Einbau des Kupfers zu **20** erfolgte mit Kupfer(II)-acetat und aktiviert den Chromophor für eine nachfolgende selektive Friedel-Crafts-Acylierung, indem die basischen Stickstoffe vor einer reaktionshemmenden Protonierung geschützt werden.^[34]



Schema 3: Synthese des Kupfer-deuteroporphyrin-dimethylesters **20**.

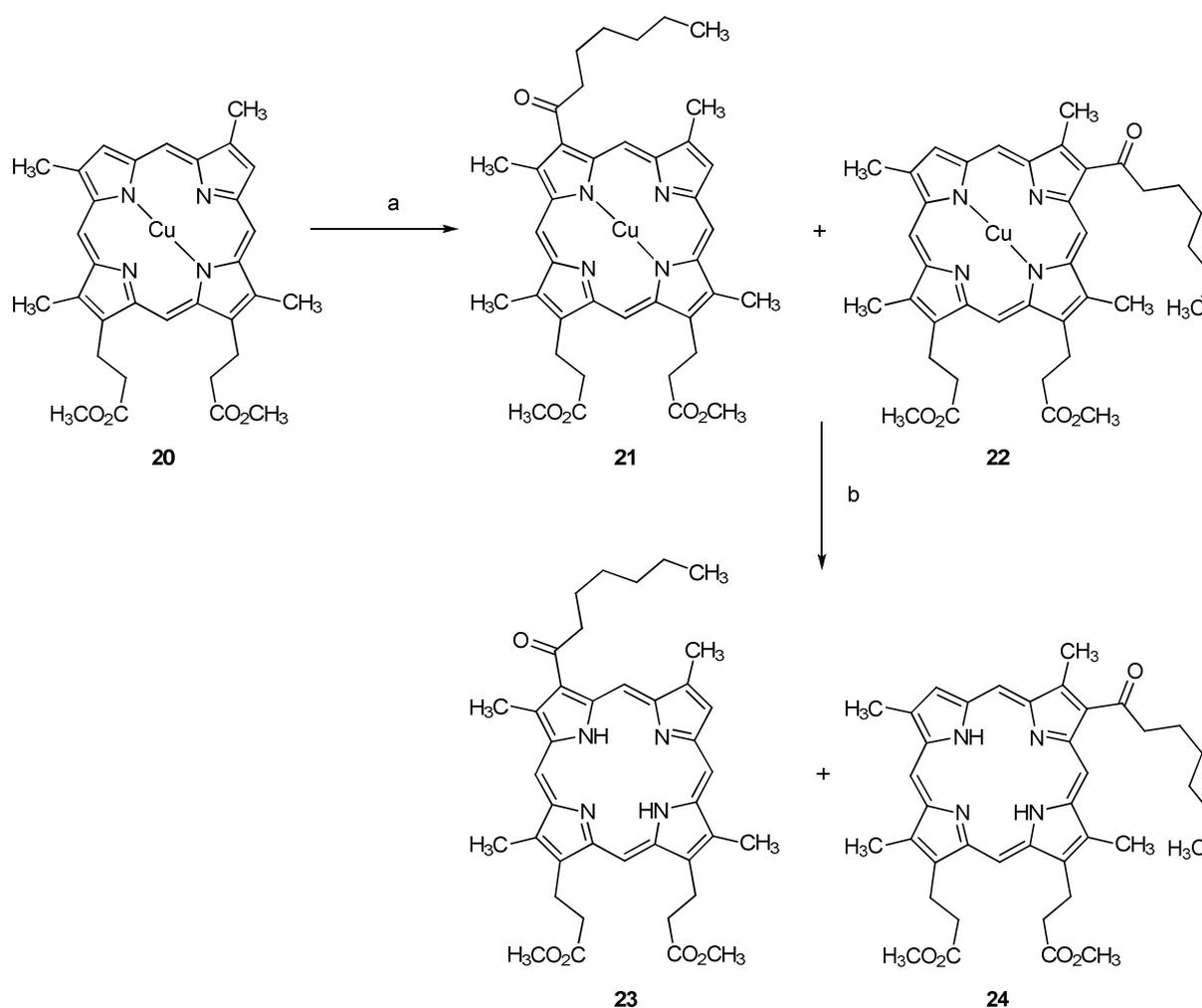
a) 1. Resorcin, 165 °C, 45 min; 2. FeSO₄·H₂O, Pyridin, MeOH, HCl, 79 %; b) Cu(II)-acetat·H₂O, CHCl₃, MeOH, 70 °C, 3 h, 99 %.

4. Durchführung der Synthesen

4.1.1 Synthese von Heptylchlorinen

Die Friedel-Crafts-Acylierung erfolgte mit Heptansäureanhydrid und Zinntetrachlorid als Katalysator und lieferte die 3- bzw. 8-Oxoheptyl-Konstitutionsisomere **21** und **22**. Die Reaktionszeit von 15 Minuten sollte dabei streng eingehalten werden, da es schnell zu zweifach-Acylierungen kommt.^[35] Dabei wurde eine Umsetzung von 92 % erreicht. Eine Trennung der konstitutionsisomeren 3-/8-Oxoheptyl-deuteroporphyrin-dimethylester **21** und **22** war auf dieser Stufe nicht möglich. Deshalb wurde in den folgenden Reaktionsschritten das Gemisch verwendet.

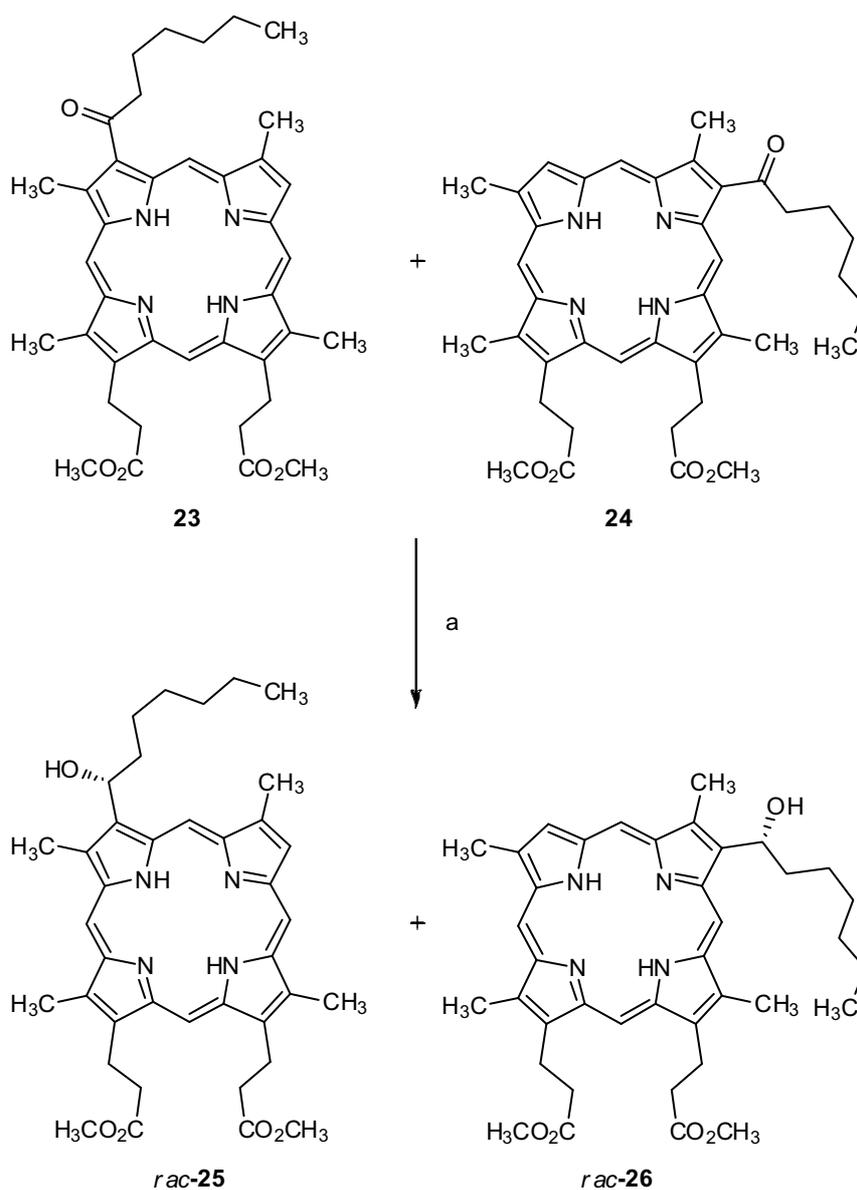
Anschließend wurde mit konzentrierter Schwefelsäure und Trifluoressigsäure dekomplexiert.^[36] Mit etherischer Diazomethanlösung ließen sich die teilweise hydrolysierten Carboxylgruppen der Propionsäure-Seitenketten zu **23** und **24** verestern.



Schema 4: Synthese der Oxoheptyl-deuteroporphyrine **23** und **24**.

a) Heptansäureanhydrid, SnCl₄, CH₂Cl₂, -15 °C, 1 h, 92 %; b) 1. CF₃CO₂H, konz. H₂SO₄, 1 h; 2. CH₂N₂/Ether, 30 min, 84 %.

Daraufhin wurde die Ketofunktion mit Natriumborhydrid in Methanol reduziert.^[37] Auf der Stufe der Alkohole war eine vollständige Trennung der 3- und 8-Hydroxyheptyl-Konstitutionsisomeren *rac*-**25** und *rac*-**26** durch Chromatographie über eine Stufensäule im präparativen Maßstab mit einer Ausbeute von ca. 50 % für *rac*-**25** möglich. So ergaben 600 mg Isomerengemisch 290 mg *rac*-**26**.

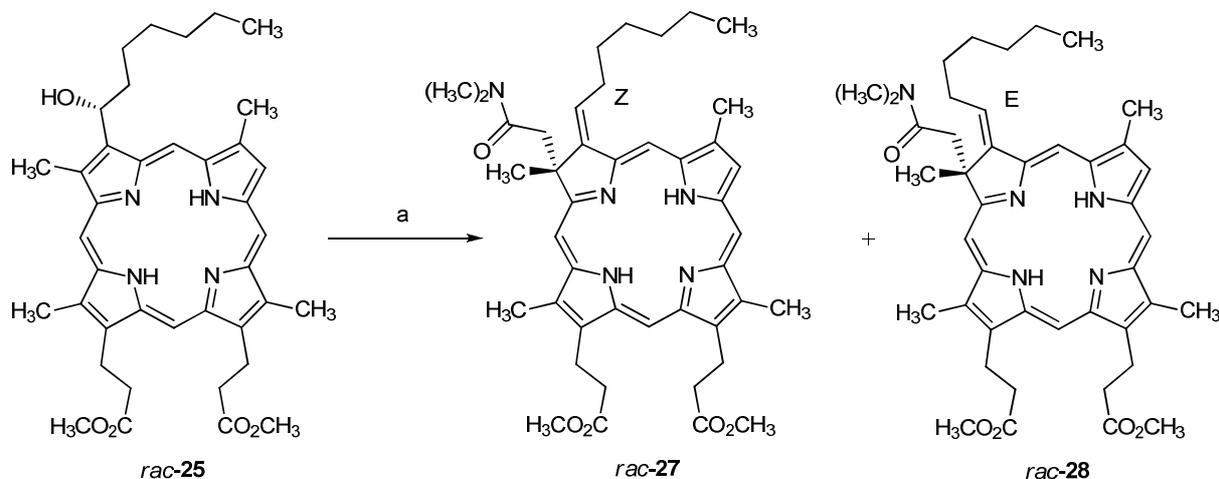


Schema 5: Synthese der Hydroxyheptyl-deuterioporphyrine *rac*-**25** und *rac*-**26**.
 a) NaBH₄, CH₂Cl₂, MeOH, -15 °C, 1 h, 91 %, 50 % *rac*-**25**, 41 % *rac*-**26**.

Schlüsselschritt zur Darstellung der Chlorine ist eine Amidacetal-Claisen-Umlagerung nach Meerwein und Eschenmoser zu den geminal-dialkylierten Chlorinen *rac*-**27** und *rac*-**28** mit exozyklischer Doppelbindung.^[38] Die Umsetzung erfolgte mit N,N-Dimethylacetamid-

4. Durchführung der Synthesen

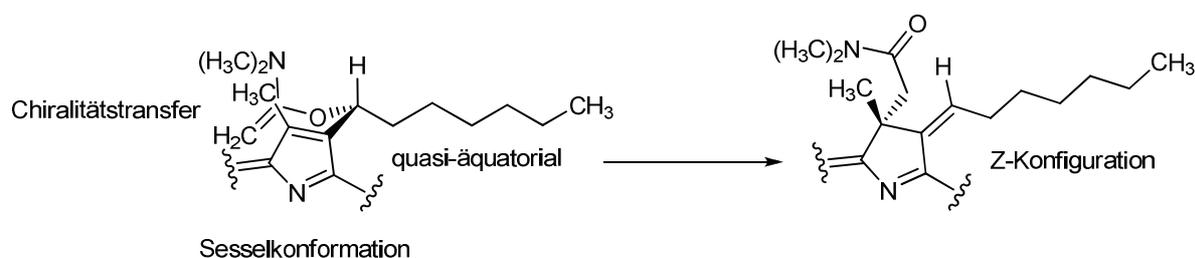
dimethylacetal in *o*-Xylol unter Rückfluss. Das entstehende Methanol wurde durch Extraktion über Molekularsieb 4 Å aus dem Reaktionsgemisch entfernt, um die Ausbeute zu verbessern.



Schema 6: Synthese der 3-Heptenylchlorin-dimethylester *rac*-27 und *rac*-28.

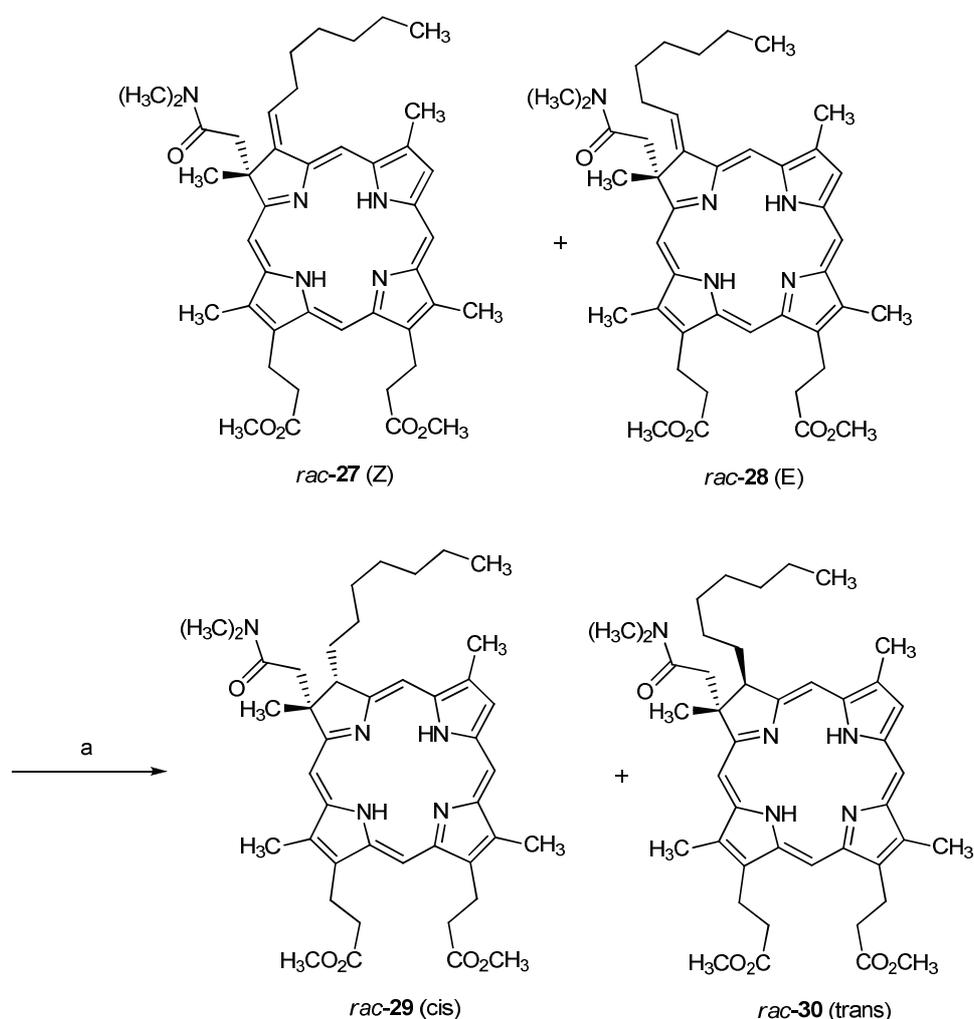
a) *N,N*-Dimethylacetamid-dimethylacetal, *o*-Xylol, Soxhlet, 130–160 °C, 3 h, Rfl, 80 %.

Aufgrund einer energetisch günstigeren quasi-äquatorialen Anordnung der Alkylkette in einem wie bei Claisen-Umlagerungen bevorzugten sesselförmigen Übergangszustand wird selektiv das Isomer mit Z-konfigurierter exozyklischer Doppelbindung gebildet (s. Schema 7). Bei quasi-axialer Anordnung erhielte man die E-konfigurierte Doppelbindung. Aufgrund von Photoisomerisierungen entsteht zum Teil jedoch auch das E-Isomer. Auf eine Trennung wurde aus diesem Grund verzichtet, da die Einwirkung von Licht bei der Aufarbeitung nicht vollständig auszuschließen ist. Verbunden mit der Selektivität ist ein Chiralitätstransfer auf das geminal dialkylierte Zentrum. Da jedoch ein racemisches Gemisch des Alkohols eingesetzt wurde, kommt diese Stereospezifität nicht zum tragen.^[38a, 39]



Schema 7: Bevorzugter Übergangszustand der Amidacetal-Claisenumlagerung.

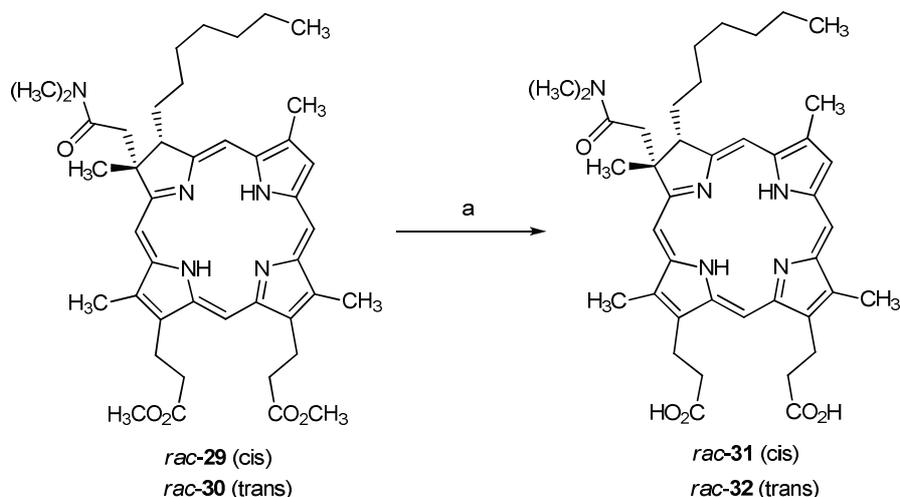
Die exozyklische Doppelbindung ist für Isomerisierungen und Oxidationen sehr anfällig. Deshalb wurde die Doppelbindung im anschließenden Reaktionsschritt mit Triethoxysilan und Wasser unter Verwendung von Palladium(II)-acetat als Katalysator hydriert.^[37b] Im Lauf der Reaktion kommt es in Wasser unter Pd-Katalyse zur Polymerisation von Triethoxysilan zu einer Polysiloxan-Matrix, auf der das Palladiummetall fein dispergiert ist. Dabei wurde der für die Reaktion notwendige Wasserstoff *in situ* gebildet, jedoch ließ sich die Ausbeute durch die Zugabe von zusätzlichem Wasserstoff über einen Ballon steigern. Auf diese Weise entstanden bei der Hydrierung die *cis/trans*-Diastereomere *rac-29* und *rac-30*.^[40] Eine Reaktionszeit von 15 Minuten war streng einzuhalten, da es sonst zur Bildung von Nebenprodukten in Form von mehrfach hydrierten Spezies kam.



Schema 8: Synthese der 3-Heptylchlorin-dimethylester *rac-29* und *rac-30*.
a) Pd(II)-diacetat, Triethoxysilan, H₂O, H₂, THF, 15 min, RT, 76 %.

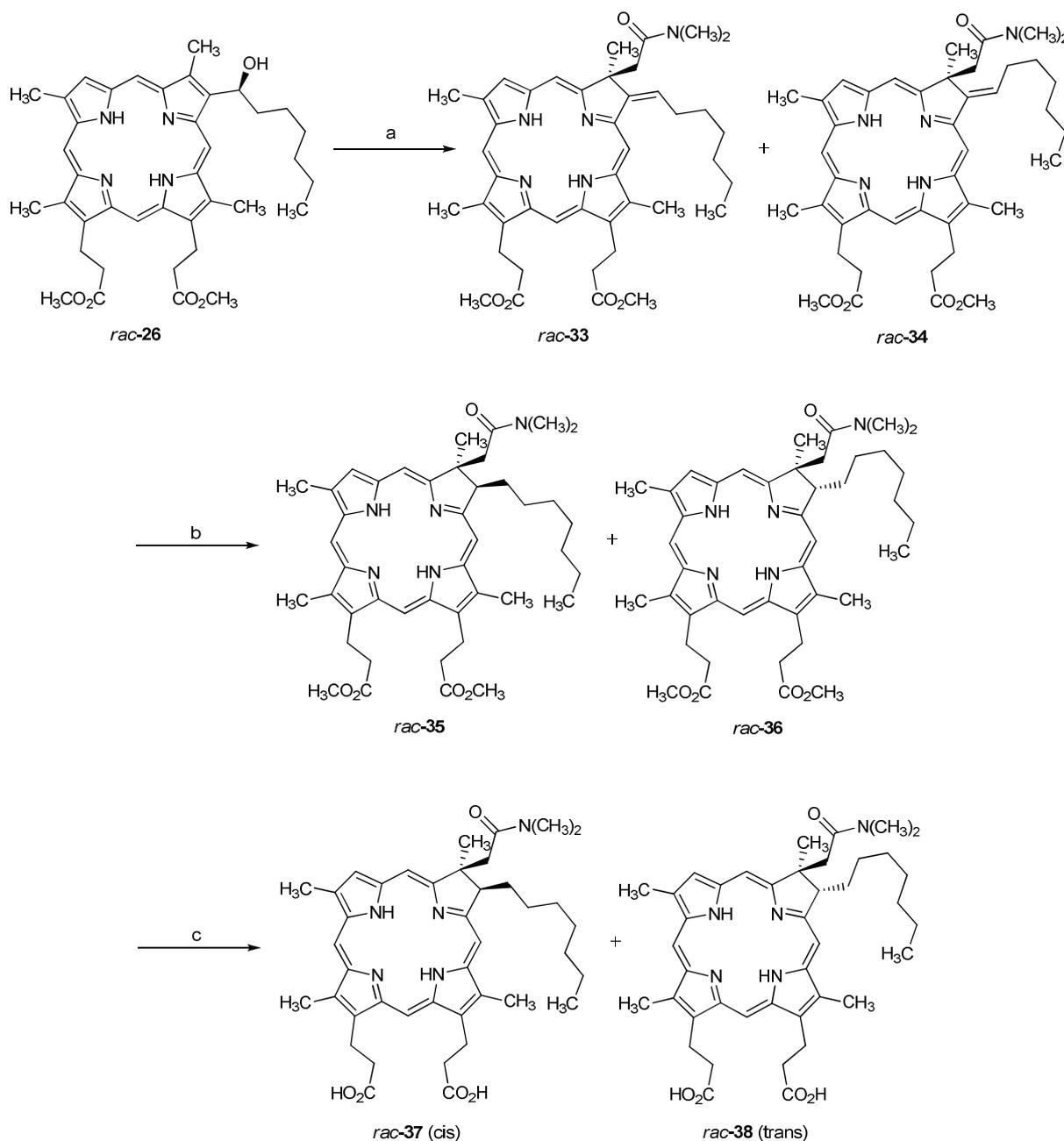
4. Durchführung der Synthesen

Abschließend wurden die Estergruppen in guten Ausbeuten in THF mit 5 molarer Kalilauge unter Rückfluss zu den freien Säuren *rac-31* und *rac-32* hydrolysiert.^[41]



Schema 9: Hydrolyse der Chlorindimethylester.
a) THF, 5M KOH, 70 h, 50 °C, 75 %.

Diese Carbonsäuren sind in Hinsicht auf die Anwendung als Photosensibilisator bereits intensiv erprobt worden. In der Publikation von A. Szurko *et al.* in Zusammenarbeit mit unserem Arbeitskreis wurde sowohl die Dunkeltoxizität als auch die PDT-Aktivität an LLC-Zellen (*Lewis lung carcinoma*) untersucht. Da die Löslichkeit der Heptylchlorin-Carbonsäuren *rac-31* und *rac-32* in Wasser sehr gering ist, waren die Ergebnisse bei Applikation *via* liposomaler Emulsion am aussichtsreichstem.^[42] Auch die intrazelluläre Lokalisierung wurde mittels konfokaler Mikroskopie gemessen, um voraussagen zu können, wo Zellschäden in Folge einer Behandlung mit PDT am größten sein sollten. Um eine Applikation auch in wässriger Lösung zu ermöglichen, wurden diese Carbonsäuren mit hydrophilen Substituenten weiter modifiziert.



Schema 10: Synthese der 8-Heptylchlorin-dicarbonsäuren *rac-37* (cis) und *rac-38* (trans).
 a) DMA-DMA, o-Xylol, Soxhlet, 130-160 °C, 3 h, Rfl., 82 %; b) Pd(II)-diacetat, Triethoxysilan, H₂O, H₂, THF, 15 min, RT, 74 %; c) THF, 5M KOH, 70 h, 50 °C, 79 %.

Eine Anwendungsmöglichkeit ist der Einsatz dieser Chlorin-dicarbonsäuren in Farbstoff-Solarzellen (dye sensitized solar cells DSSC) als Alternative zu den konventionellen Silizium-Solarzellen. Taffa *et al.* setzten in Kooperation mit unserer Arbeitsgruppe mesoporöse TiO₂-Elektroden mit Alkylphosphonsäuren um, welche geladene Kopfgruppen auf der anderen Seite trugen, um eine Membran an der Oberfläche zu erhalten. Die Chlorin-dicarbonsäuren

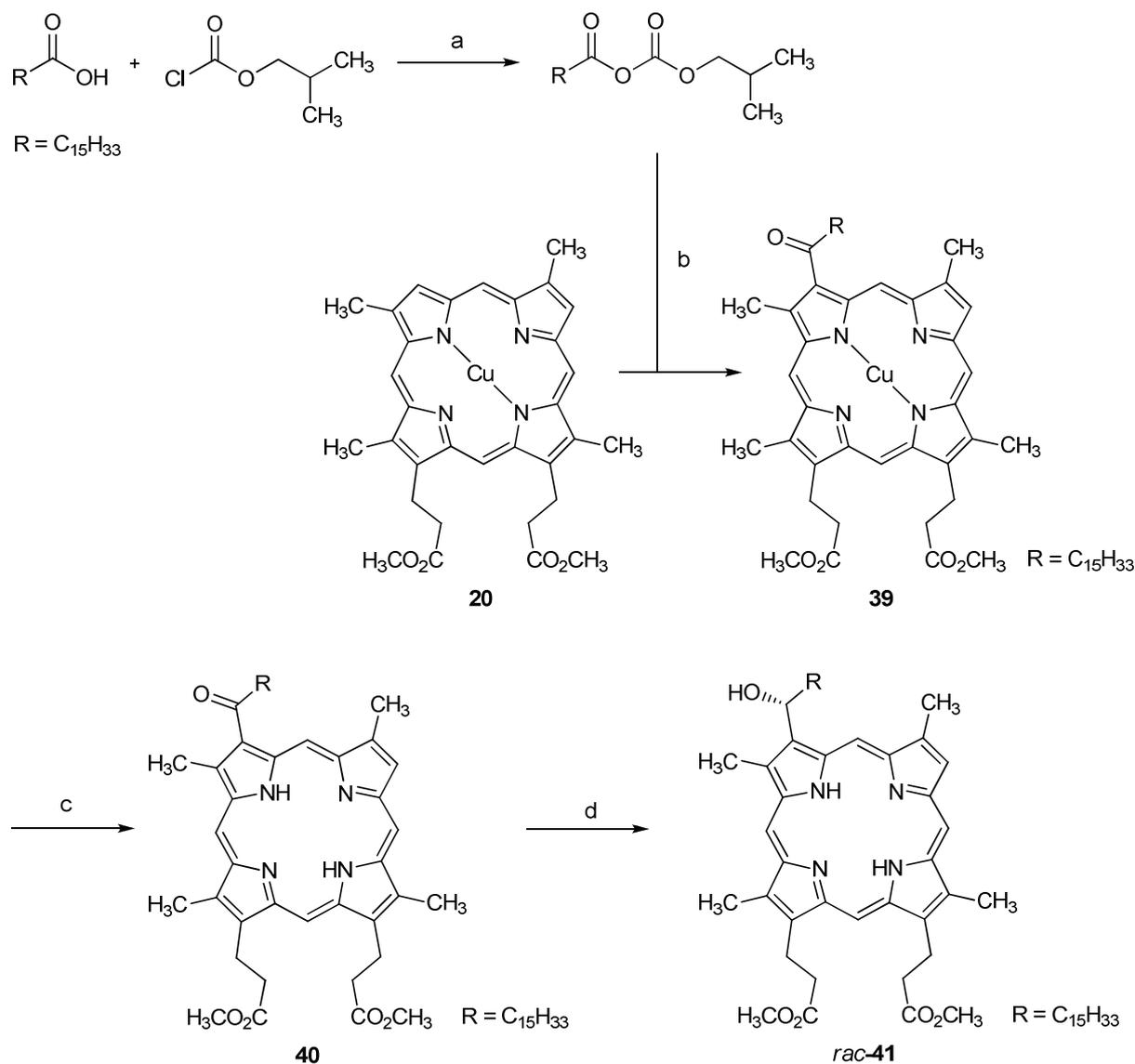
4. Durchführung der Synthesen

lagern sich bei positiv geladenen Kopfgruppen in diese Membranen ein, ohne jedoch kovalent gebunden zu sein. Negative Kopfgruppen verhindern durch Coulomb-Abstoßung mit den Carbonsäuren des Chlorins dessen Einlagerung. Diese neue selbstorganisierende Technik kommt ohne TiO₂-bindende Substituenten am Farbstoff aus und bietet demnach eine hohe Flexibilität bei wenigen, simplen Bausteinen. Trotzdem ist ein Elektronenfluss durch die Membran möglich.^[43]

4.1.2 Synthese von Palmitylchlorinen

Die liposomale Verabreichung eines Photosensibilisators gilt als Alternative der Wahl bei wasserunlöslichen Substanzen und hat für die Heptylchlorin-dicarbonensäuren in biologisch-medizinischen Test bereits vielversprechende Resultate erzielt.^[42] Für den Einbau in Liposomen eignen sich vor allem lipophile Substanzen. Die in unseren Laboratorien entwickelte Synthese von geminal dialkylierten Chlorinen erlaubt die Darstellung von Chlorinen mit Alkylketten unterschiedlicher Länge. So war ein Ziel dieser Arbeit, amphiphile Chlorine mit langer Alkylkette speziell für den Einbau in Liposomen zu synthetisieren. Palmitinsäure mit 16 C-Atomen kommt in der Natur in großen Mengen vor und eignet sich deshalb besonders als Ausgangsstoff für die Synthese, da in dieser Arbeit ein Augenmerk auf natürliche Ressourcen gelegt wurde. Zur Aktivierung für die Friedel-Crafts-Acylierung wurde die Säure mit Chlorameisensäureethylester zum gemischten Anhydrid umgesetzt. Die Acylierung, wurde wie bereits in Abschnitt 4.1.1 beschrieben, mit Zinntetrachlorid katalysiert und ergab bei kurzen Reaktionszeiten um sechs Minuten ausschließlich das 3-acylierte Porphyrin **39** in Ausbeuten um 50 %. Die Vermeidung der aufwendigen Trennung der 3-/8-Konstitutionsisomere rechtfertigte die mäßige Ausbeute. Zudem konnte das nicht umgesetzte Edukt wiedergewonnen und erneut eingesetzt werden.

Die weitere Umsetzung erfolgte analog der Heptylchlorinsynthese mit der Entfernung des Kupfers in konzentrierter Schwefelsäure und Trifluoressigsäure zum 3-Palmitoyl-deuteroporphyrin-dimethylester **40** sowie der Reduktion zum Alkohol mit Natriumborhydrid zu 3-Hydroxy-palmityl-deuteroporphyrin-dimethylester *rac*-**41**.



Schema 11: Synthese des 3-Hydroxy-palmityl-deuteroporphyrin-dimethylester *rac-41*.
 a) Palmitinsäure, Et₃N, Chlorameisensäureethylester, -15 °C, 1 h; b) SnCl₄, CH₂Cl₂, -15 °C, 8 min, 65 %; c) 1. CF₃CO₂H, konz. H₂SO₄, 1 h; 2. CH₂N₂/Ether, 30 min, 96 %; d) NaBH₄, CH₂Cl₂, MeOH, -15 °C, 1 h, 75 %.

In Abbildung 11 ist das ¹H-NMR-Spektrum von 3-Hydroxy-palmityl-deuteroporphyrin-dimethylester *rac-41* in CDCl₃ zu sehen. Das Spektrum zeigt im vergrößerten Ausschnitt einen einfachen Satz der fünf Signale der Methinprotonen zwischen 9,07 und 10,41 ppm und der vier Methylgruppen zwischen 3,59 und 3,71 ppm, als Beweis, dass nur ein Isomer vorliegt. Das zweidimensionale NOESY-Experiment hat gezeigt, dass die 2- und 18-CH₃-Gruppe sich in räumlicher Nähe befinden. Dies beweist, dass es sich bei der Substanz um das 3-substituierte Isomer handelt.

4. Durchführung der Synthesen

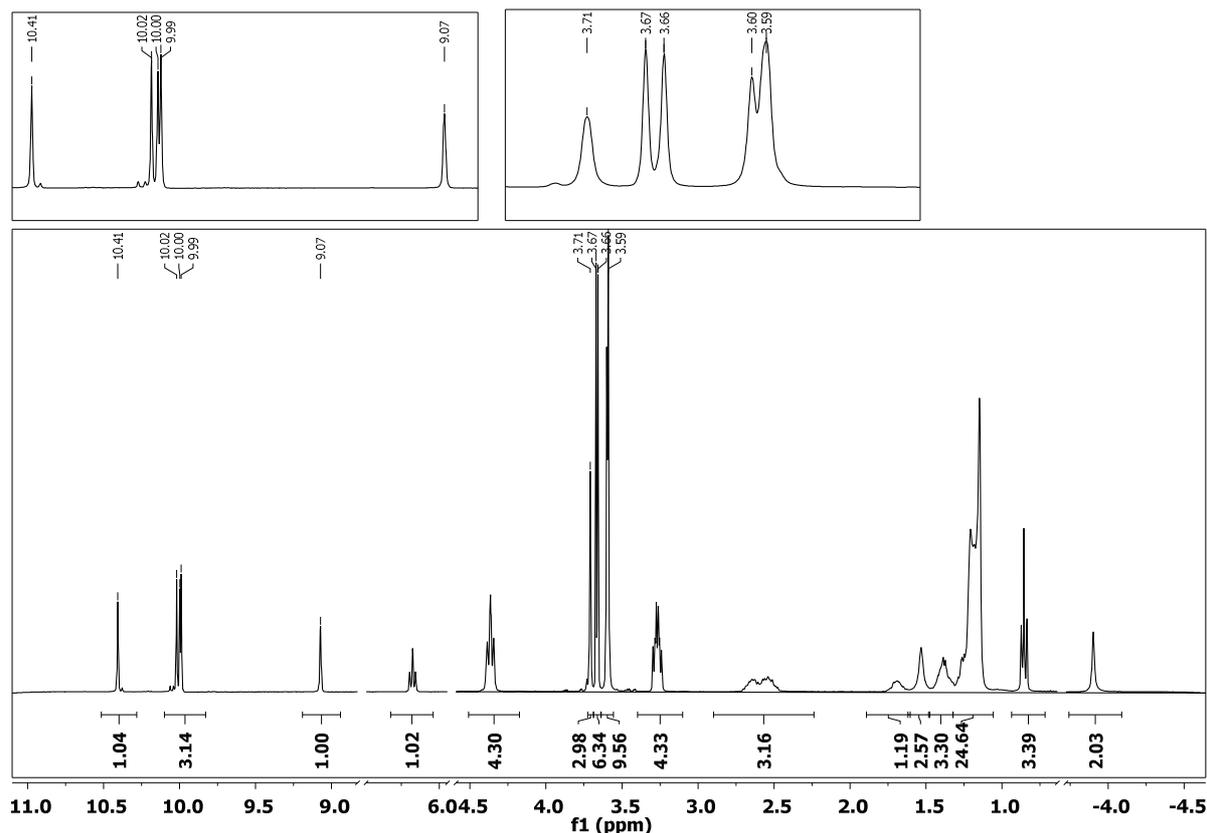


Abbildung 11: $^1\text{H-NMR}$ von 3-Hydroxypalmityl-deuterioporphyrin-dimethylester **41** in CDCl_3 .

Mit *N,N*-dimethylacetamid-dimethylacetal wurde der Alkohol zu den *E/Z*-isomeren Palmitenyl-chlorin-dimethylestern *rac-42* und *rac-43* umgelagert. Die Ausbeute für diese Reaktion lag bei nur 65 % und damit deutlich geringer als bei der Synthese der Heptylchlorine. In diesem Fall kam es zu einem großen Teil zur Eliminierung des Alkohols, der Konkurrenzreaktion der Umlagerung, die vermutlich aufgrund der langen Alkylkette sterisch gehindert ist. Die entstehenden *E/Z*-Isomere *rac-42* und *rac-43* konnten säulenchromatographisch leicht getrennt werden.

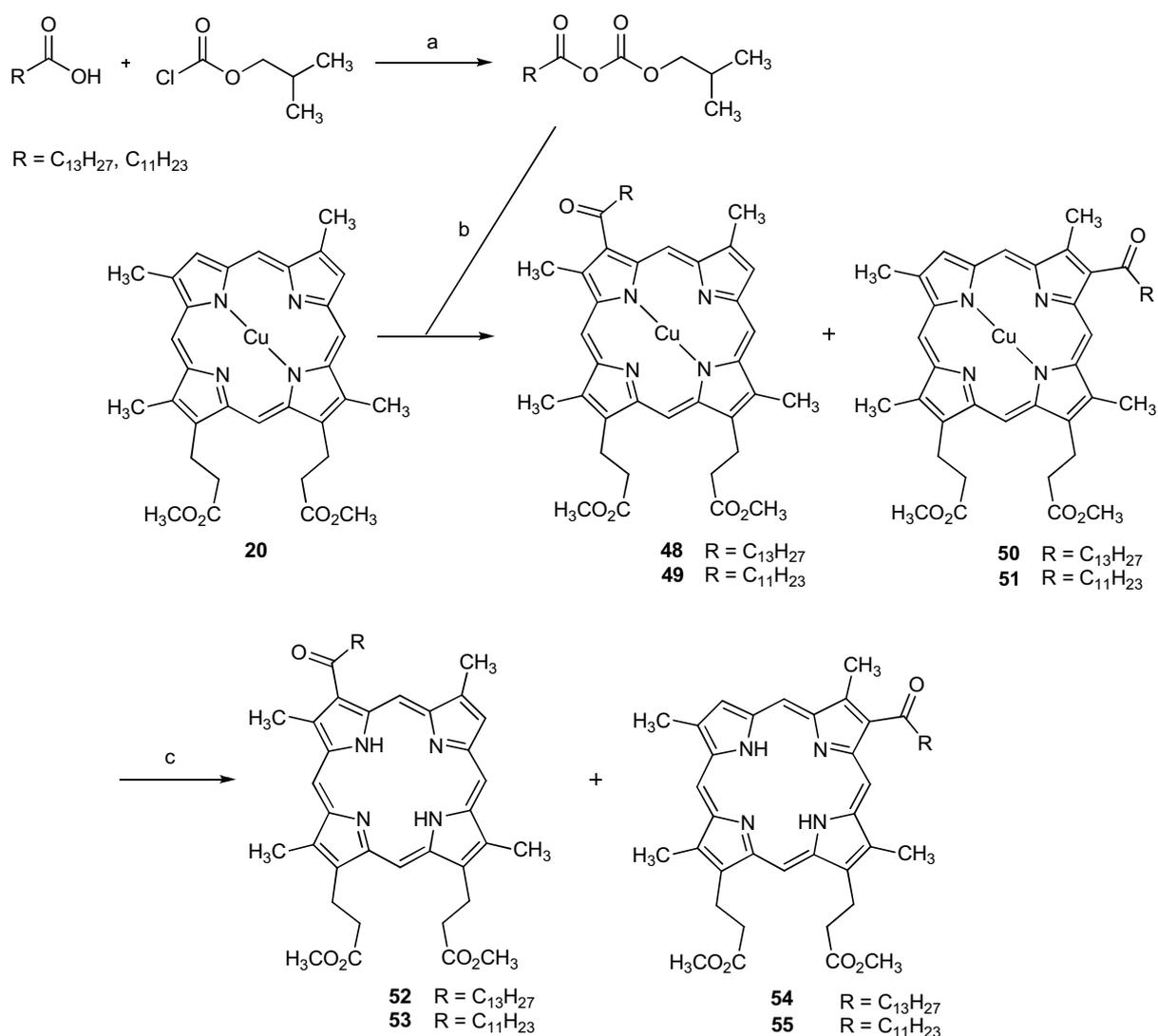
Die für Reaktionen labile exozyklische Doppelbindung wurde im anschließenden Reaktionsschritt mit Triethoxysilan und Wasser unter Verwendung von Palladium(II)-acetat als Katalysator zu den *cis-/trans*-Palmitylchlorin-dimethylestern *rac-44* und *rac-45* hydriert.^[37b]

Abschließend wurden die Estergruppen in quantitativer Ausbeute mit 5-molarer Kalilauge in THF unter Rückfluss zu den freien Säuren *rac-46* und *rac-47* hydrolysiert.^[41]

4. Durchführung der Synthesen

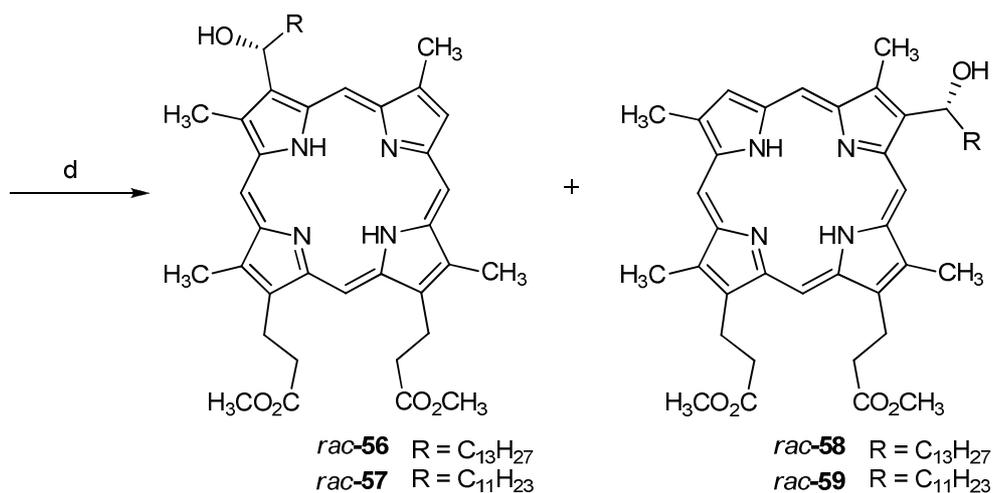
4.1.3 Synthese von Lauryl- und Myristyl-substituierten Porphyrinen

Die Synthese von Lauryl- bzw. Myristyl-substituierten Porphyrinen sollte zeigen, ob auch bei kürzeren Seitenketten ausschließlich die 3-Position des Makrozyklus substituiert wird. Es wurden Reaktionszeiten von sechs Minuten eingehalten. Zur besseren Aufklärung wurde das Kupfer mit Trifluoressigsäure und konzentrierter Schwefelsäure dekomplexiert und das Keton mit Natriumborhydrid reduziert.



Schema 13: Synthese der Lauryl-/Myristyl-substituierten Porphyrine **52**, **53**, **54** und **55**.

a) Laurinsäure (Dodecansäure) bzw. Myristinsäure (Tetradecansäure), Et_3N , Chlorameisensäureethylester, -15°C , 1 h; b) SnCl_4 , CH_2Cl_2 , -15°C , 8 min, 50 % **48/50**, 77 % **49/51**; c) 1. $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$, konz. H_2SO_4 , 1 h; 2. $\text{CH}_2\text{N}_2/\text{Ether}$, 30 min, 87 % **52/54**, 75 % **53/55**.



Schema 14: Synthese der Hydroxy-Lauryl-/Miristyl-porphyrine *rac-56/rac-58*, *rac-57/rac-59*.

d) NaBH₄, CH₂Cl₂, MeOH, -15 °C, 1 h, 74 % *rac-56/rac-58*, 77 % *rac-57/rac-59*.

In Abbildung 12 ist exemplarisch das ¹H-NMR-Spektrum von 3-/8-Oxo-myristyl-deuteroporphyrin-IX-dimethylester **52** und **54** gezeigt. Zu sehen ist jeweils ein doppelter Signalsatz für die Methinprotonen zwischen 9,08 und 10,66 ppm und die Protonen der Methylgruppen zwischen 3,54 und 3,80 ppm, die oberhalb des gesamten Spektrums noch einmal vergrößert abgebildet sind und dies belegt das Vorliegen von zwei Konstitutionsisomeren.

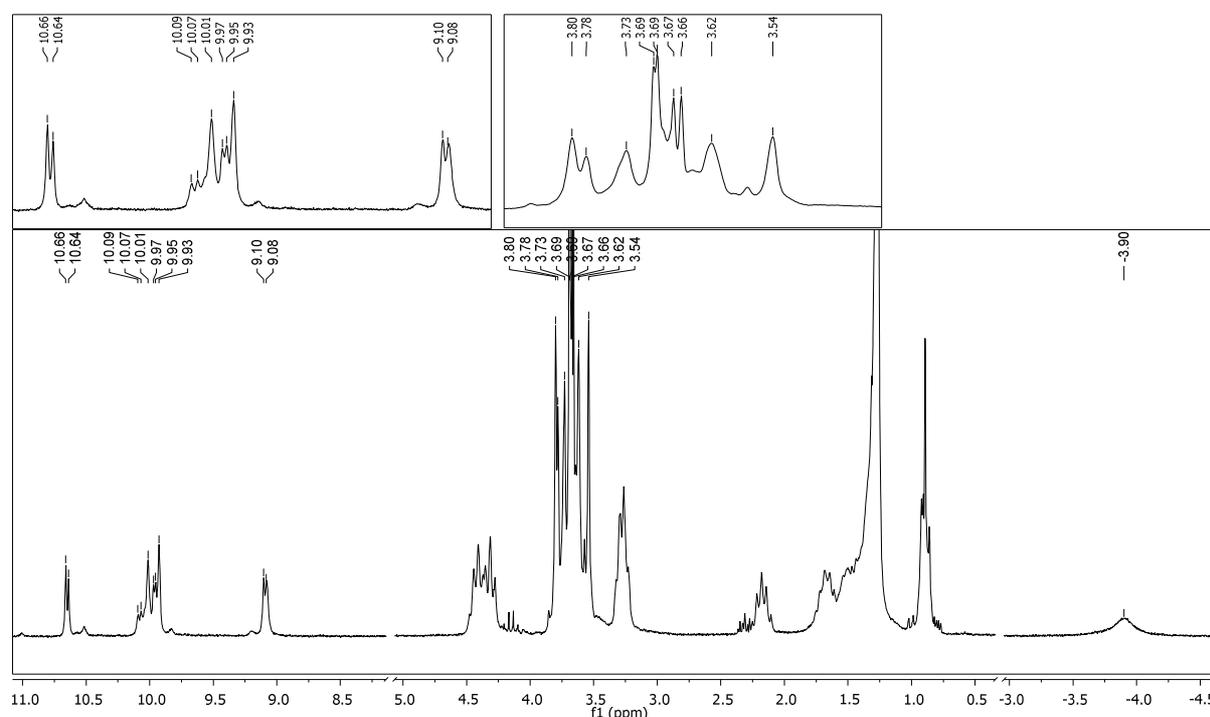


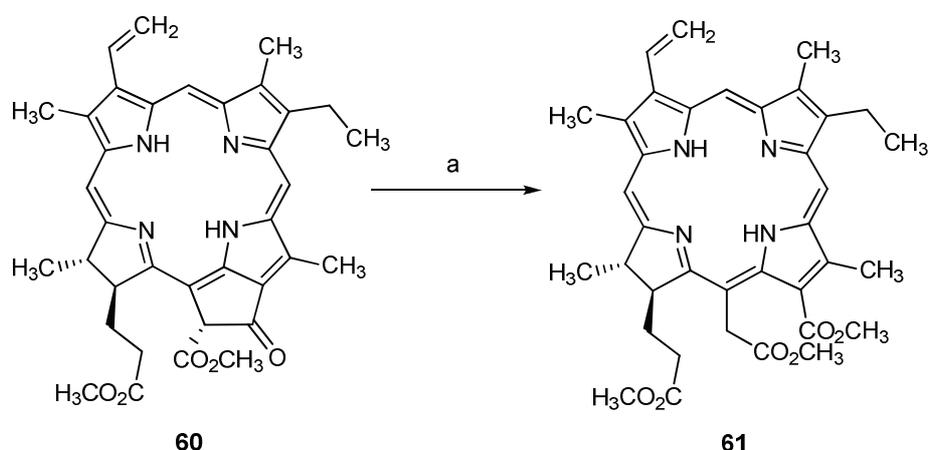
Abbildung 12: Ausschnitte des ¹H-NMR-Spektrum von 3-/8-Oxo-myristyl-deuteroporphyrin-IX-dimethylester **52** und **54** in CDCl₃.

4. Durchführung der Synthesen

4.2 Chlorine aus natürlich vorkommenden Chlorophyllquellen

4.2.1 Synthese von Chlorin e₆-Derivaten

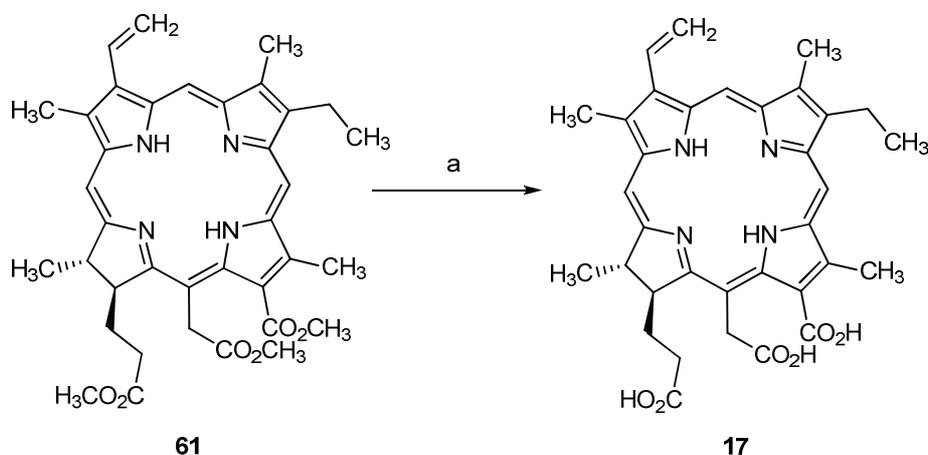
Chlorophyll *a* **4** lässt sich in reiner Form aus dem Cyanobakterium *Spirulina* extrahieren. Die weitere Umsetzung ist literaturbekannt und erfolgte über Pheophytin *a* als Zwischenstufe, welches mit konzentrierter Schwefelsäure in Methanol Pheophorbid *a*-methylester **60** ergab. Pheophorbid *a*-methylester **60** wurde mit Kaliumhydroxid in Methanol zu dem schwarzblauen, kristallinen Chlorin e₆-trimethylester **61** umgesetzt.



Schema 15: Synthese von Chlorin e₆-trimethylester **61**.

a) THF, CHCl₃, 1M KOH/MeOH, RT, 30 min, 73 %.

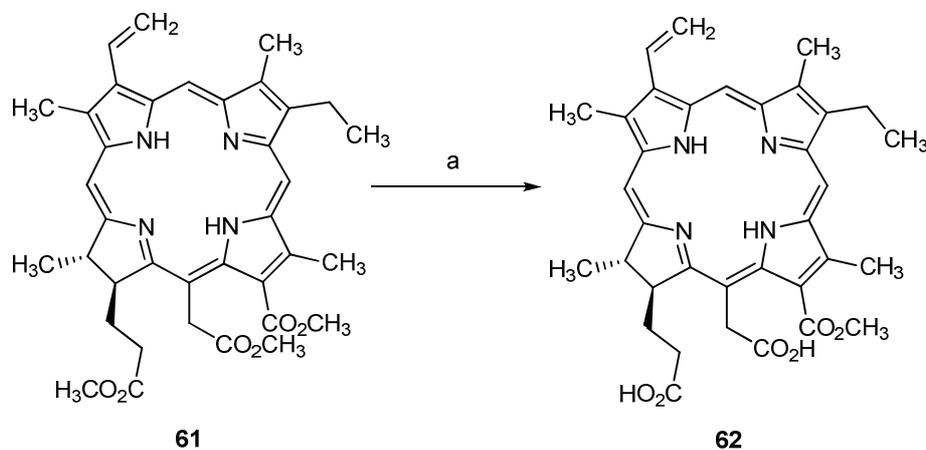
Die Hydrolyse des Chlorin e₆-trimethylesters **61** erfolgte in Aceton mit in Methanol gelöstem Kaliumhydroxid bei 40 °C unter Lichtausschluss. Zur Aufarbeitung wurde das Rohprodukt aus verdünnter Salzsäure ausgefällt.



Schema 16: Synthese von Chlorin e₆ **17**.

a) Aceton, KOH/MeOH, 40 °C–60 °C, 3 h, 99 %.

Nach der Vorschrift von J. B. Conant aus dem Jahr 1933 wurde Chlorin e_6 - α -monomethylester **62** durch die teilweise Hydrolyse von Chlorin e_6 -trimethylester **61** durch Lösen in Pyridin und Umsetzung mit Kaliumhydroxid in Methanol bei Raumtemperatur dargestellt.^[44]



Schema 17: Synthese von Chlorin e_6 - α -monomethylester **62**.^[44]
a) Pyridin, KOH/MeOH, 10 min, RT, 40 %.

Abbildung 13 zeigt das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von Chlorin e_6 - α -monomethylester **62** (Monomethylester im Folgenden mit MME abgekürzt) in CDCl_3 mit Zusatz von Pyridin- d_5 . Das Signal bei 4,07 ppm konnte mit zweidimensionalen NOESY-, COSY-, HSQC- und HMBC-Experimenten eindeutig der 13-Methylester-Gruppe zugeordnet werden.

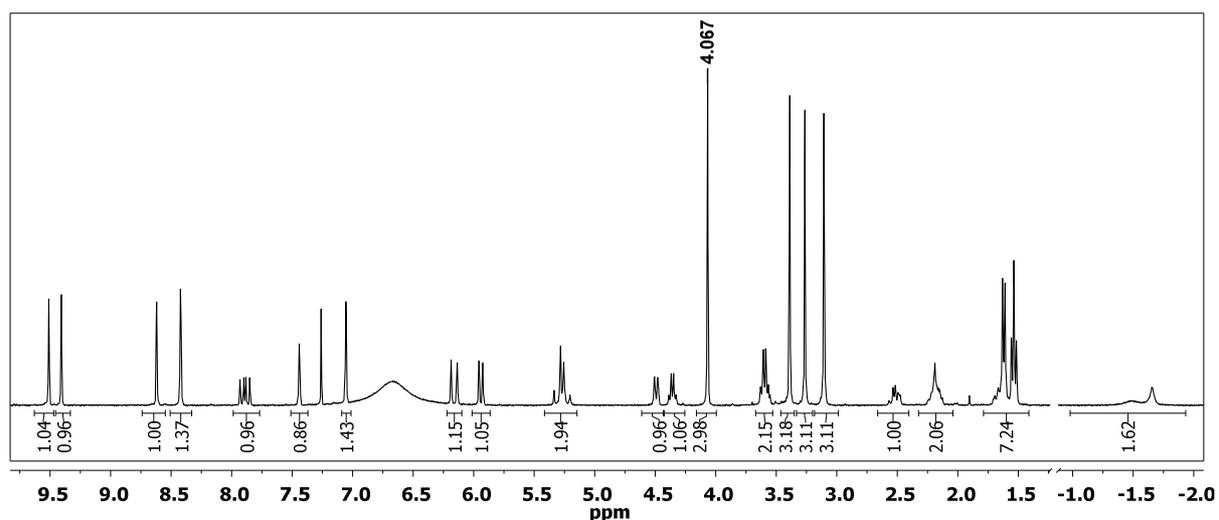


Abbildung 13: $^1\text{H-NMR}$ von Chlorin e_6 -MME **62** in CDCl_3 + Pyridin- d_5 .

4.3 Synthese von Chlorin-Amiden

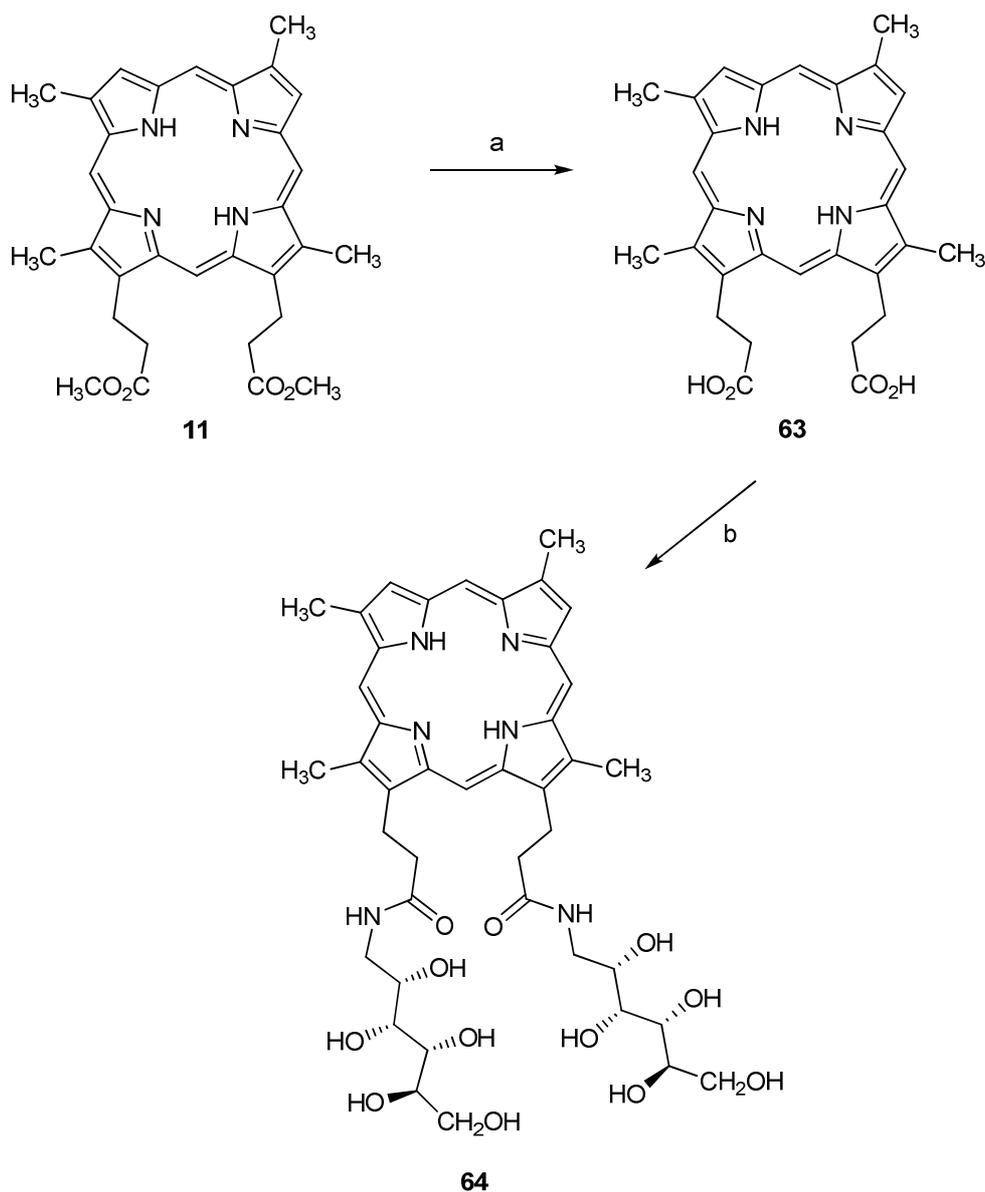
4.3.1 Amidierungsreaktionen

Zu den Standardreaktionen der organischen Chemie gehört die Amidierung von Carbonsäuren mit primären und sekundären Aminen. Aufgrund der Bedeutsamkeit der Darstellung von Peptiden sind bereits sehr vielfältige Reaktionsmethoden in der Literatur beschrieben worden. Diese beinhalten jedoch häufig das wasserfreie Arbeiten, wobei die ausschließlich wasserlöslichen Zuckeramine dabei eine Schwierigkeit darstellen.

In einem ersten Experiment wurde die leicht zugängliche Deuteroporphyrin-IX-dicarbonsäure **63** mit Chlorameisensäureisobutylester zum gemischten Anhydrid aktiviert, um die Reaktionsbedingungen zu testen. Glucamin wurde in einer Mischung aus Wasser, Triethylamin und Ethanol – zur besseren Löslichkeit in der Reaktionslösung – dazugegeben. Unter diesen Bedingungen war das Anhydrid stabil genug, um mit dem Glucamin zu reagieren.

4.3.2 Synthese eines Deuteroporphyrin-Glucamin-Amids

Deuteroporphyrin-IX-dicarbonsäure **63** wurde bei -15 °C in THF mit Triethylamin deprotoniert und mit Chlorameisensäureisobutylester versetzt. Die Bildung des Anhydrids konnte mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt werden. War die Bildung des Anhydrids abgeschlossen, gab man ohne Isolierung eine Lösung von Glucamin in Triethylamin, Ethanol und Wasser dazu. Die Aufreinigung erfolgte mittels Extraktion mit Ethylacetat und anschließender Filtration über RP-18-Kieselgel. Diese Methode erwies sich als sehr viel schneller und einfacher als eine entsprechende Säulenchromatographie über RP-Kieselgel. Nach dem Entfernen des Wassers durch Gefriertrocknung erhielt man das Amid **64**.



Schema 18: Amidierung von Deuteroporphyridin-dicarbonsäure **63** mit Glucamin.

a) THF, KOH, 24 h, Rfl., 93 %; b) 1. THF, Et₃N, Chlorameisensäureisobutylester, -15 °C, 1 h; 2. Glucamin, Et₃N, EtOH, H₂O, 18 h, RT, 25 %.

Das entstandene Produkt **64** ist in den meisten organischen Lösungsmitteln und Wasser nicht löslich. Die NMR-spektroskopische Strukturaufklärung erfolgte in Methanol und DMSO. Das ESI-Massenspektrum des Zielmoleküls im positiven Ionenmodus in Abbildung 14 zeigt das Molekülion $[M+H]^+$ bei $m/z = 837$ und mit weit höherer Intensität das Natriumaddukt $[M+Na]^+$ bei $m/z = 859$. In Abbildung X ist der negative Ionenmodus mit dem Molekülion $[M-H]^-$ bei $m/z = 835$ zu sehen. Beide Spektren zusammen bestätigen eindeutig die Bildung des gewünschten Produkts.

4. Durchführung der Synthesen

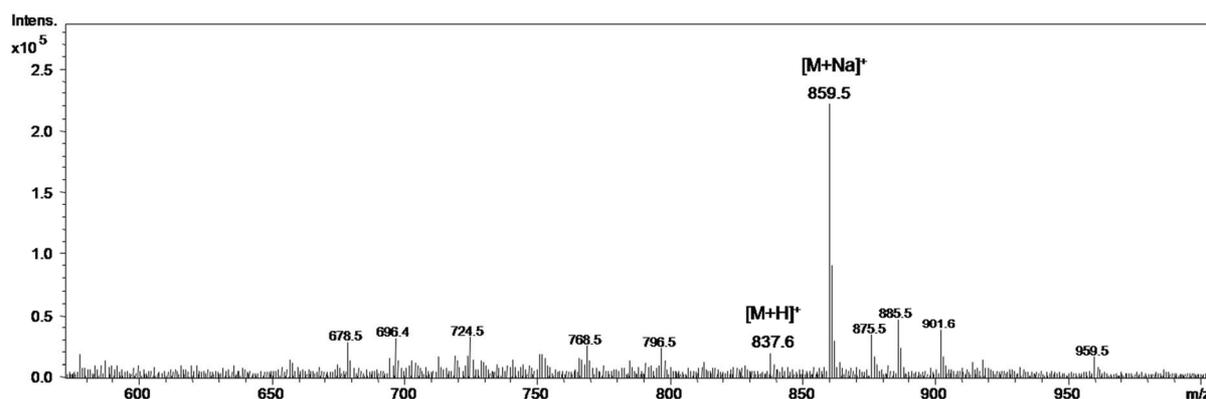


Abbildung 14: Ausschnitt des ESI-MS (positiver Ionenmodus) von Deuteroporphyrin-Glucamin-Amid **64**.

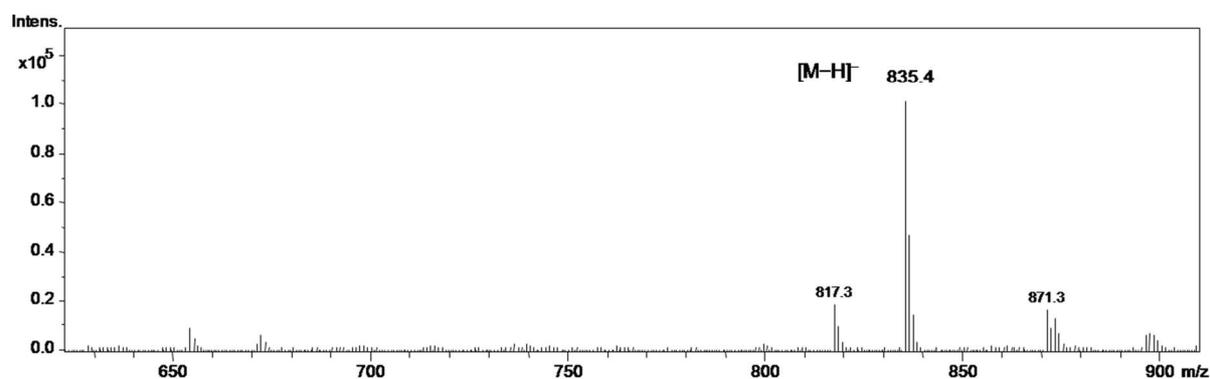
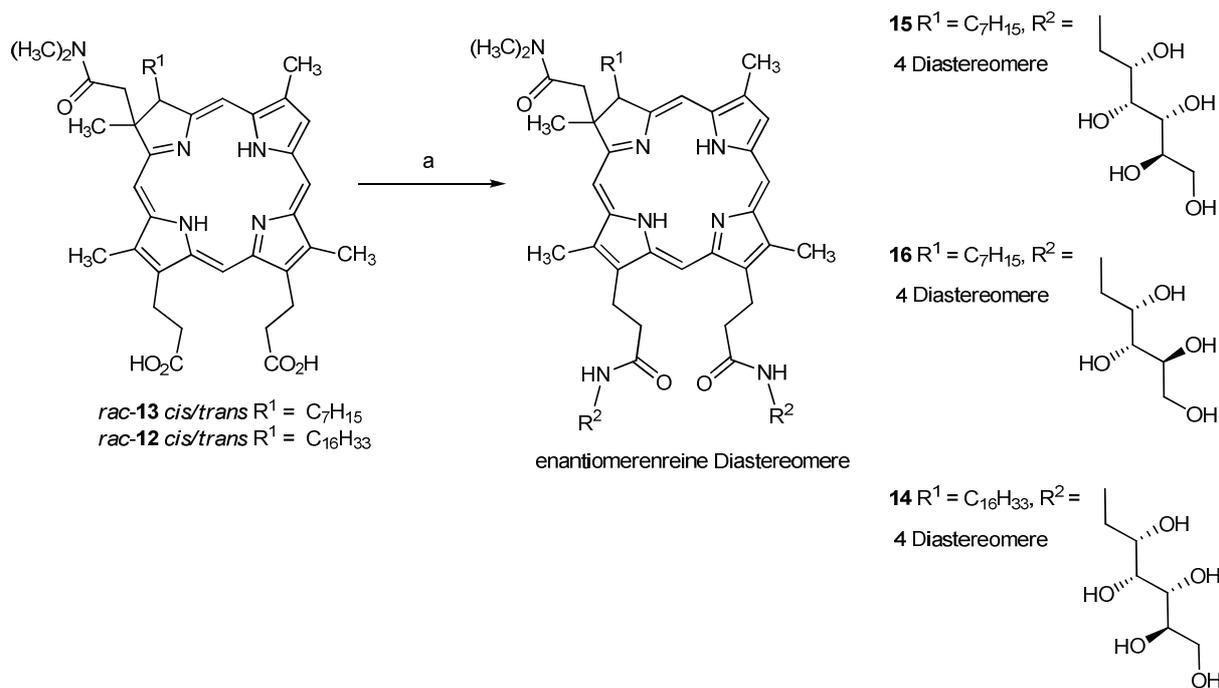


Abbildung 15: Ausschnitt des ESI-MS (negativer Ionenmodus) von Deuteroporphyrin-Glucamin-Amid **64**.

4.3.3 Synthese von Alkylchlorin-Kohlenhydrat-Amiden

Ausgangstoffe sind die in den Abschnitten 4.1.1 und 4.1.2 synthetisierten Alkylchlorin-dicarbonsäuren. Heptylchlorin-dicarbonsäure **13** wurde dazu nach der im vorherigen Abschnitt erprobten Prozedur sowohl mit Glucamin als auch mit dem um eine CH₂OH-Einheit kürzeren 1-Deoxy-arabinitylamin umgesetzt, um verschiedenen hydrophile Produkte zu erhalten.



Schema 19: Bibliothek der Alkylchlorin-Kohlenhydrat-Amide **15**, **16** und **14**.

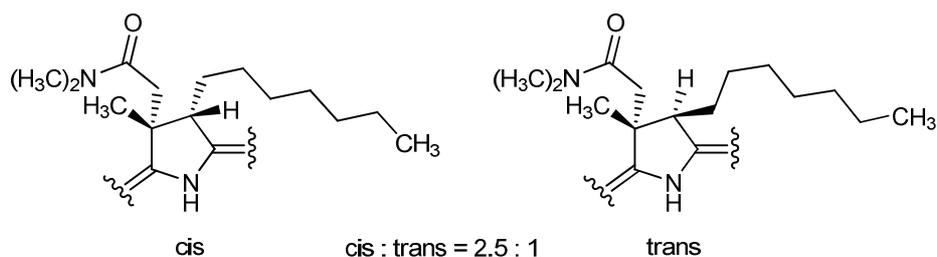
a) 1. THF, Et_3N , Chlorameisensäureisobutylester, -15°C , 1 h; 2. Glucamin, Et_3N , EtOH, H_2O , 18 h, RT, 82 % **15**, 72 % **16**, 70 % **14**.

Die Aufarbeitung erfolgte mittels Extraktion und anschließender Filtration über RP-18-Kieselgel in Wasser/Methanol 1:1. In diesem Lösungsmittelverhältnis blieb das Produkt auf der stationären Phase zurück und das überschüssige Glucamin konnte entfernt werden. Durch Erhöhen des Methanolanteils auf 75 % ließ sich das Produkt aus der stationären Phase extrahieren.

Die Amidierung mit Glucamin verlief mit einer Ausbeute von 82 %. Über alle Reaktionsschritte der Synthese ausgehend von Heminchlorid **2** wurde eine Ausbeute von 11 % erreicht. Die Chlorine zeigen eine gute Löslichkeit in Wasser. Aufgrund ihres amphiphilen Charakters sind sie zudem auch in zahlreichen polaren Lösungsmitteln wie Methanol und Dimethylsulfoxid löslich.

Die Reaktion von Heptylchlorin ergab aufgrund des Einsatzes von zwei diastereomeren Enantiomerenpaaren nach der Reaktion mit dem chiralen Zucker vier Diastereomere. Eine vollständige Trennung der *cis*- von den *trans*-Diastereomeren war auch mittels HPLC nicht möglich. Dennoch konnte in einer quantitativen HPLC anhand der Peakflächen ein Verhältnis von *cis* zu *trans* von 2,5 : 1 ermittelt werden.

4. Durchführung der Synthesen



Schema 20: *cis/trans*-Diastereomere *rac*-**29** und *rac*-**30**.

In Abbildung 16 ist das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der Heptylchlorin-Glucamin-Amide **15** zu sehen. Anhand der Integrale der Methinprotonen bei 8,99 bis 9,93 ppm konnte das Verhältnis von *cis* zu *trans* von 2,5 : 1 bestätigt werden. Gut zu sehen ist das Signal der Amid-Protonen bei 8.10 ppm. Die Signale der Glucamin- CH_2 -Protonen liegen zwischen 3,46 und 3,71 ppm. Eine genauere Zuordnung der einzelnen Signale war nicht möglich.

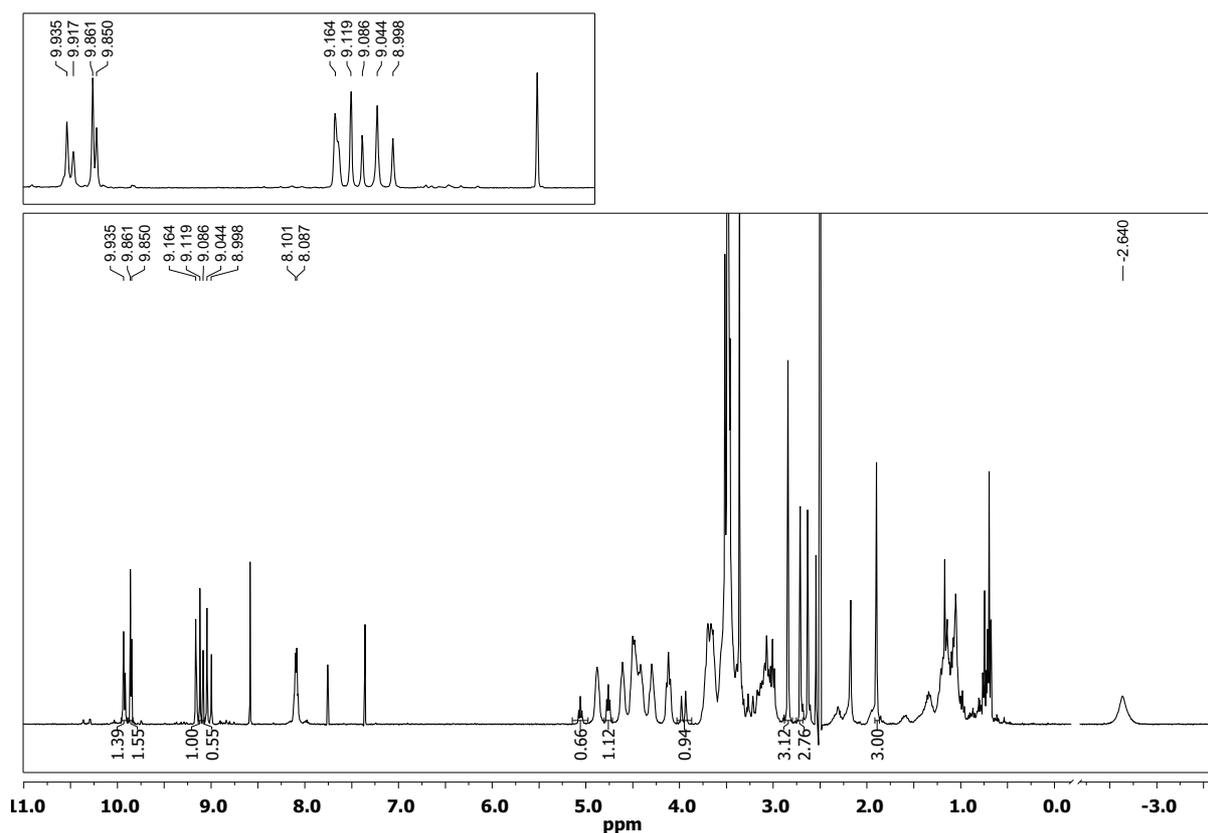


Abbildung 16: $^1\text{H-NMR}$ von 3-*cis/trans*-Heptylchlorin-Glucamin-Amid **15** in DMSO-d_6 und Pyr-d_5 .

Abbildung 17 zeigt einen Ausschnitt des ESI-Massenspektrums im positiven Modus mit den Signalen des Molekülions $[M+H]^+$ bei $m/z = 1022$ sowie den Natrium- und Kalium-Addukten $[M+Na]^+$ und $[M+K]^+$ bei $m/z = 1044$ und $m/z = 1060$.

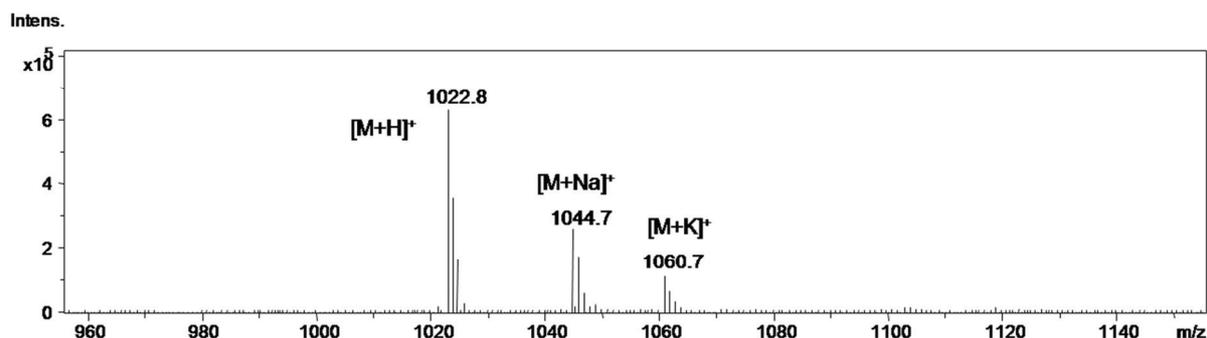


Abbildung 17: Ausschnitt des ESI-MS (positiver Ionenmodus) von Heptylchlorin-Glucamin-Amid 15.

In Abbildung X im negativen Modus des ESI-Spektrums liegt das Signal des Molekülions bei $m/z = 1020$ und das des Chlor-Addukts bei $m/z = 1059$. Zusammen mit dem positiven Modus ist damit die Masse des Zielmoleküls eindeutig bestätigt.

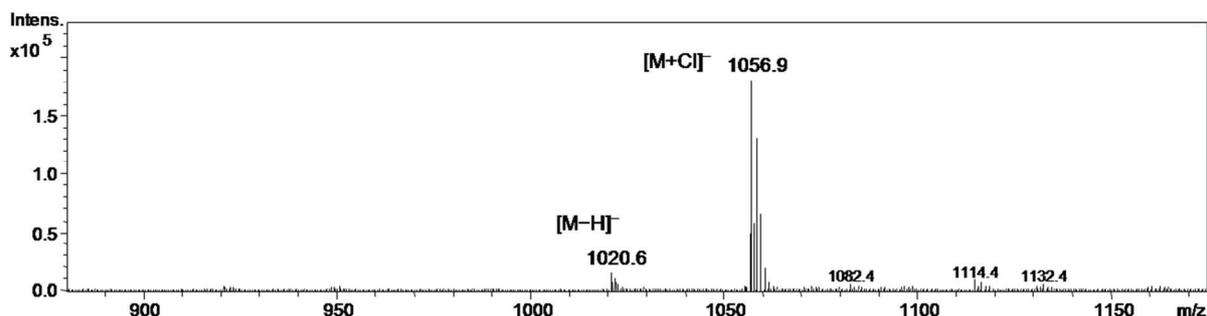


Abbildung 18: Ausschnitt des ESI-MS (negative Ionenmodus) von Heptylchlorin-Glucamin-Amid 15.

Die Amidierung mit 1-Deoxy-arabinitylamin erfolgte mit der gleichen Methode und lieferte Heptylchlorin-Arabinityl-Amid 16 mit einer Ausbeute von 72 %. Über die ganze Synthese ausgehend von Heminchlorid 2 konnte eine Ausbeute von 10 % erreicht werden. Auch dieses amphiphile Amid löst sich gut in Wasser und polaren organischen Lösungsmitteln. Da sich das Molekül von dem Glucaminderivat nur durch jeweils eine CH_2OH -Einheit pro Zucker unterscheidet, sind die 1H -NMR-Spektren sehr ähnlich. Das ESI-Massenspektrum im positiven und negativen Ionenmodus in den Abbildungen 19 und 20 bestätigt die Bildung des gewünschten Amids.

4. Durchführung der Synthesen

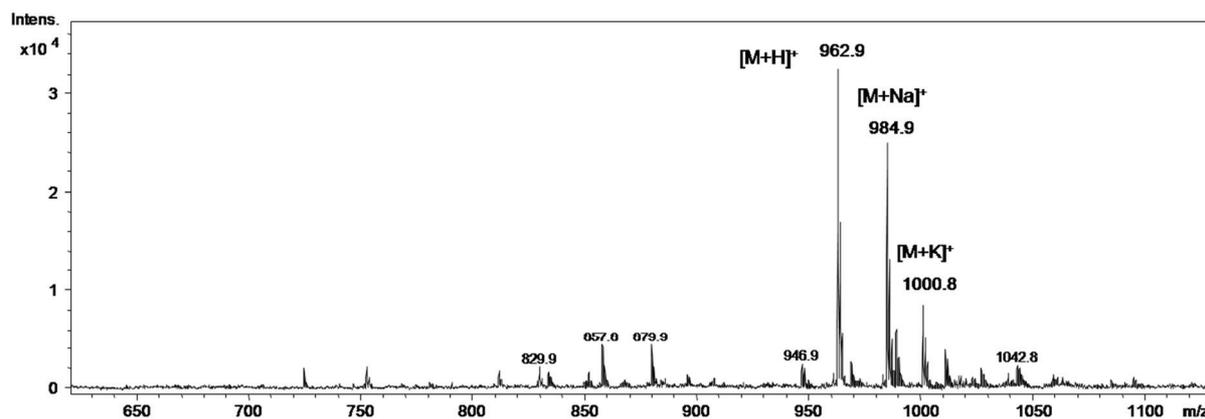


Abbildung 19: Ausschnitt des ESI-MS (positiver Ionenmodus) von Heptylchlorin-Arabinityl-Amid 16.

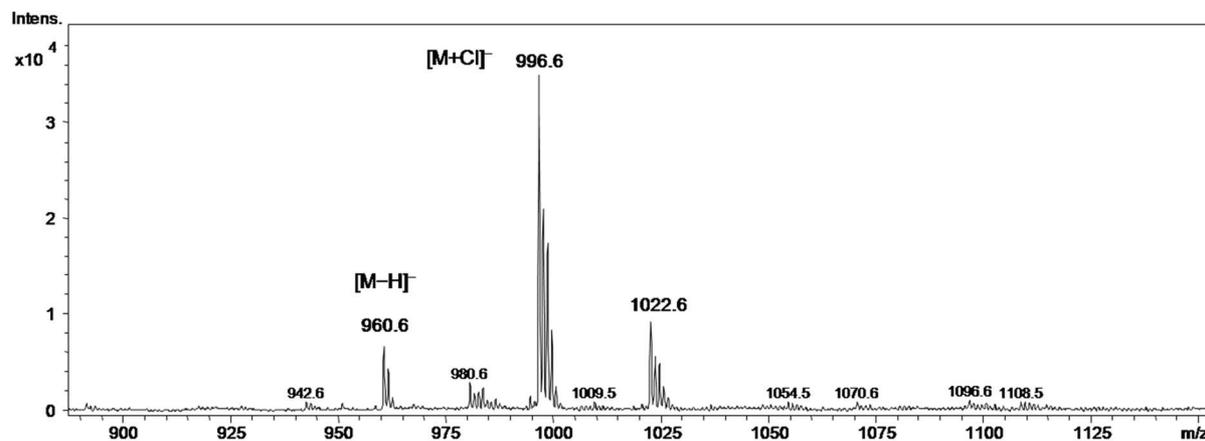


Abbildung 20: Ausschnitt des ESI-MS (negative Ionenmodus) von Heptylchlorin-Arabinityl-Amid 16.

Die Amidierung von Palmitinchlorin-dicarbonsäure **12** mit Glucamin lieferte das gewünschte Produkt **14** in 70 % iger Ausbeute. Über alle Reaktionsschritte beginnend bei Heminchlorid **2** gelangte man zu einer Ausbeute von 8 %. Wie zu erwarten, ist das Amid aufgrund der langen Palmitin-Kette nicht wasserlöslich. Dagegen löst es sich in Methanol, DMSO und schlecht in Dichlormethan. Zur Aufarbeitung wurde der Feststoff mehrmals mit Wasser gewaschen, um das überschüssige Glucamin zu entfernen. Die organischen Verunreinigungen wurden mit Petrolether extrahiert. Die Reinheit lässt sich auch durch das ¹H-NMR-Spektrum bestätigen (Abb. 21).

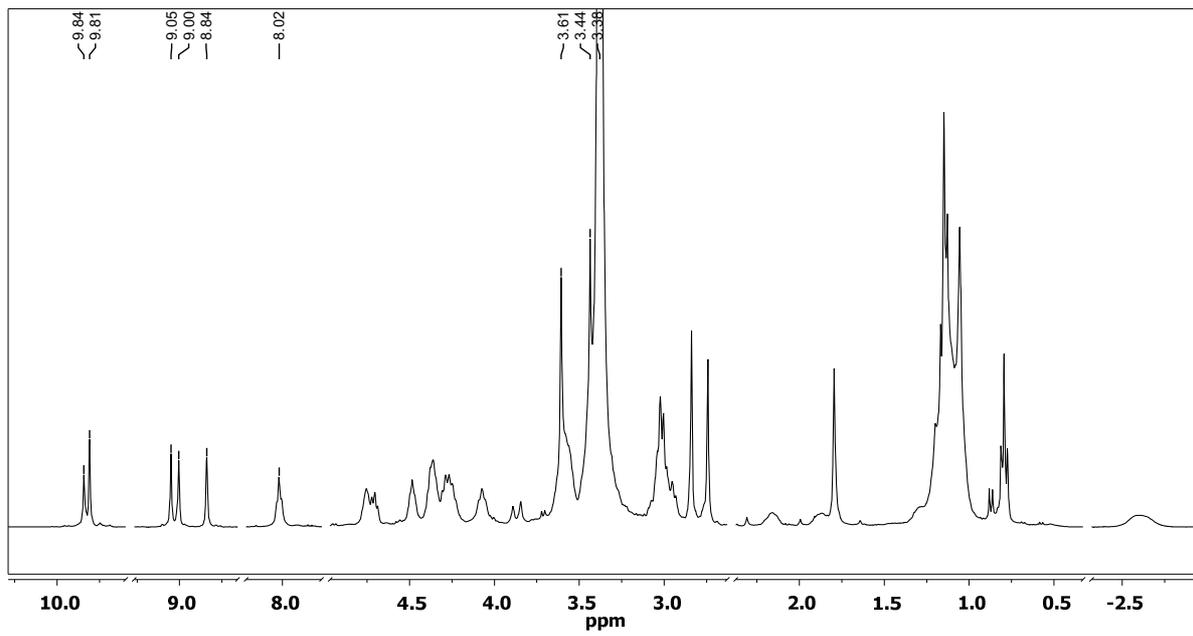
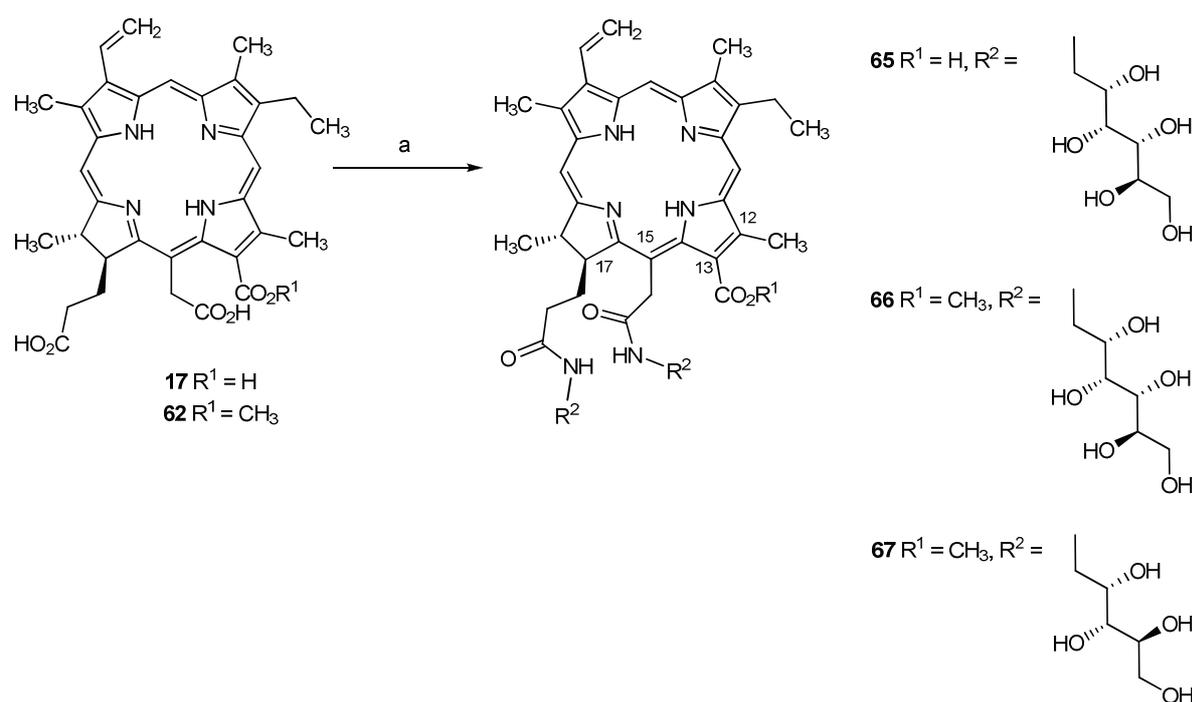


Abbildung 21: ¹H-NMR-Spektrum von Palmitylchlorin-Glucamin-Amid **14** in DMSO-d₆.

4. Durchführung der Synthesen

4.3.6 Synthese von Chlorin e₆-MME-Kohlenhydrat-Amiden

Chlorin e₆-MME **62** weist zwei freie Carbonsäuregruppen zur Funktionalisierung auf. Es bietet den Vorteil, dass die dritte Carbonsäure in Form des Methyl ester keine Ladungen trägt und das Molekül vor Decarboxylierungen geschützt ist, wofür Chlorin e₆-Derivate sehr anfällig sind.



Schema 21: Bibliothek der Chlorin e₆-Derivat-Kohlenhydrat-Amide **65**, **66** und **67**.

a) 1. THF, Et₃N, Chlorameisensäureisobutylester, -15 °C, 1 h; 2. Glucamin bzw. 1-Deoxy-arabinitylamin, Et₃N, EtOH, H₂O, 18 h, RT, 88 % **65**, 59 % **66**, 61 % **67**.

Die Amide mit Glucamin und 1-Deoxy-arabinitylamin ließen sich mit Ausbeuten von 59 % respektive 61 % realisieren. Die Aufreinigung erfolgte, wie schon bei den Heptylamiden beschrieben, durch Extraktion gegen Ethylacetat und Filtration über RP-18-Kieselgel. In reinem Wasser sind diese Derivate nicht löslich. Durch Zugabe von 0,3 % DMSO können sie in Lösungen gebracht werden. Diese Lösungen eignen sich ebenso für die intravenöse Applikation.

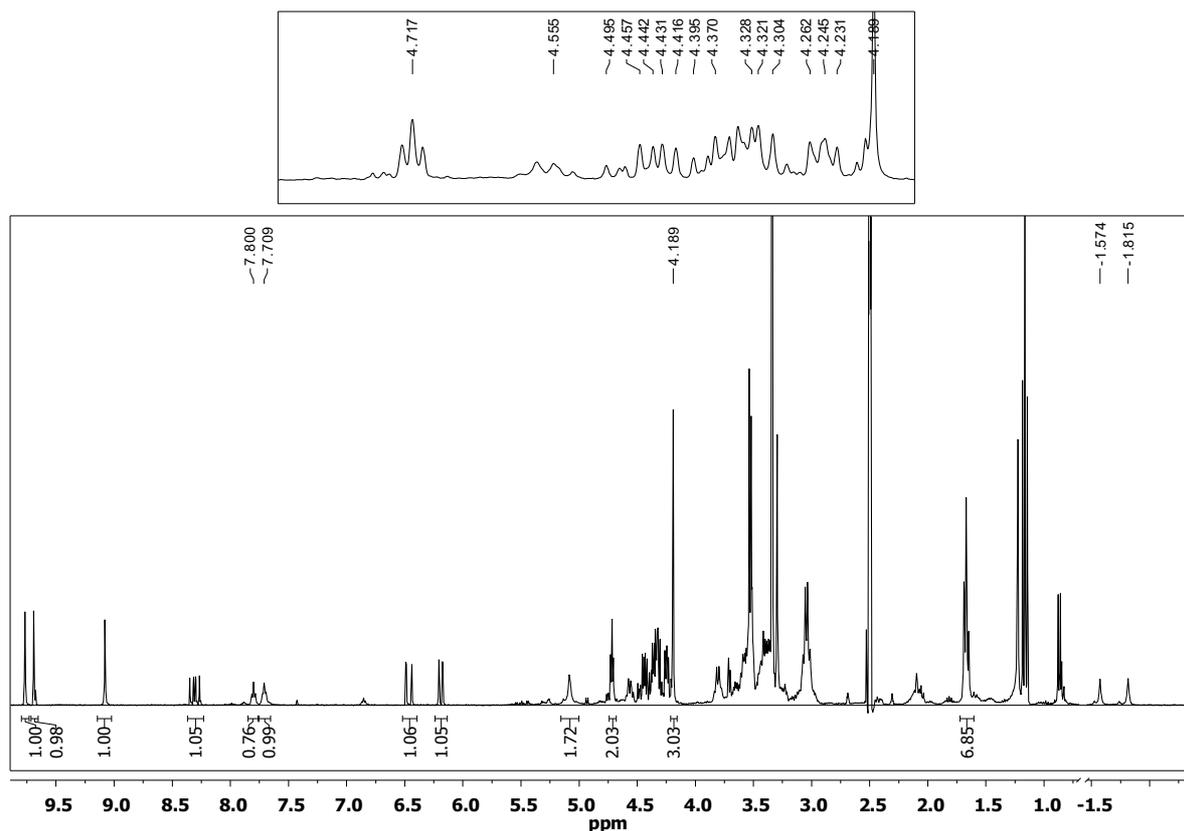


Abbildung 22: $^1\text{H-NMR}$ von $\text{Che}_6\text{-MME-Glucamin-Amid 66}$ in DMSO-d_6 .

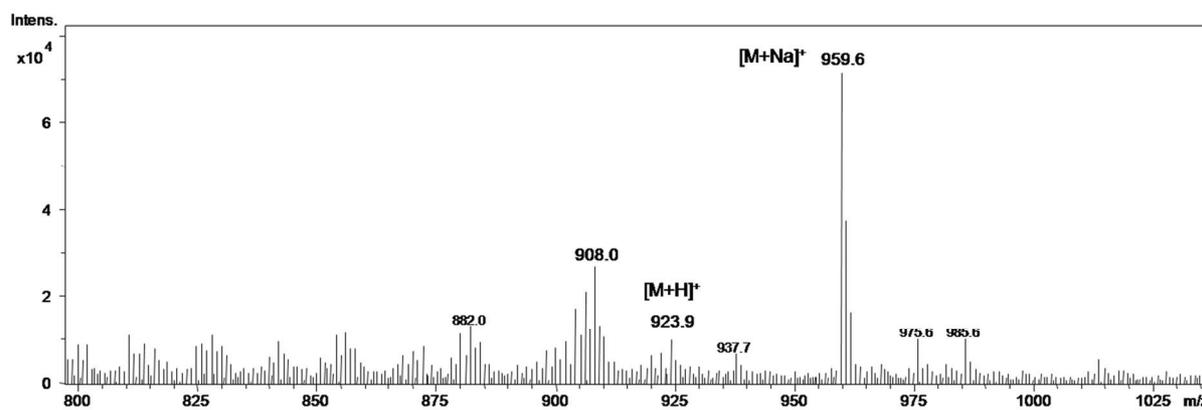


Abbildung 23: Ausschnitt des ESI-MS (positiver Ionenmodus) von $\text{Che}_6\text{-MME-Glucamin-Amid 66}$.

Um die Wasserlöslichkeit gegenüber den Monomethylesterderivaten zu erhöhen, wurde Chlorin e_6 **17** mit drei freien Carbonsäuren unter denselben Bedingungen amidiert. Dazu wurde Glucamin in großem Überschuss zugegeben. Trotzdem ergaben massenspektrometrische Untersuchungen, dass lediglich zwei der drei Carbonsäuren reagiert

4. Durchführung der Synthesen

haben (Abb. 24 und 25). So zeigt das ESI-Massenspektrum lediglich die Massen für das Molekülion im positiven Modus $[M+H]^+$ bei $m/z = 923$ und weitere Addukte, jedoch keine Signale für das einfache oder dreifache Amid bei $m/z = 760$ respektive $m/z = 1086$. Im negativen Modus wurde nur das Ion $[M-H]^-$ bei $m/z = 921$ detektiert. Mittels zweidimensionaler NMR-Experimente konnte eindeutig bewiesen werden, dass die Propionsäure in Position 17 und die Ethansäure in Position 15 mit Glucamin reagierten, während die direkt gebundene Carbonsäure in Position 13 keine Reaktion zeigte (die Nummerierung ist in Schema 21 noch einmal illustriert). Dieses Ergebnis lässt sich durch eine zu große sterische Hinderung begründen.

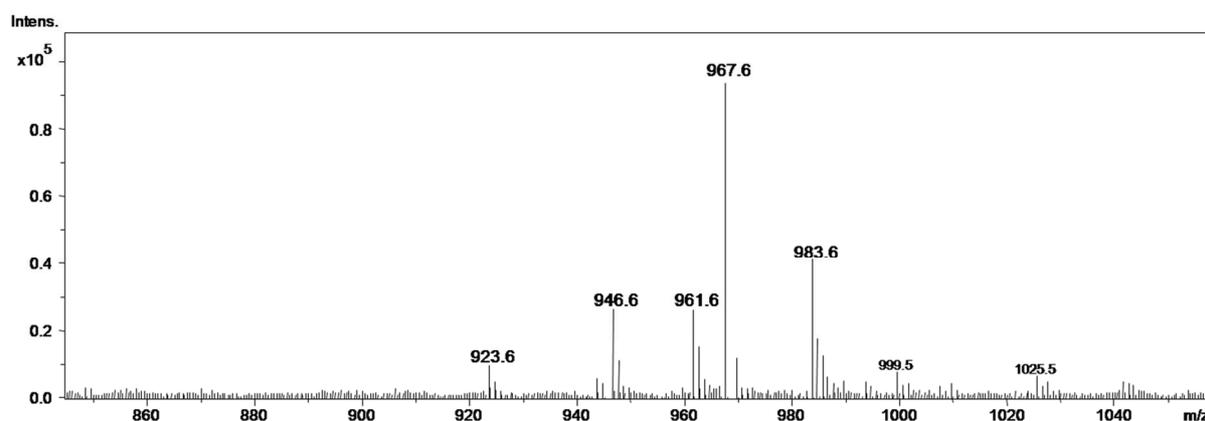


Abbildung 24: Ausschnitt des ESI-Massenspektrums (positiver Ionenmodus) von Chlorin e_6 -diglucamin-Amid **65**.

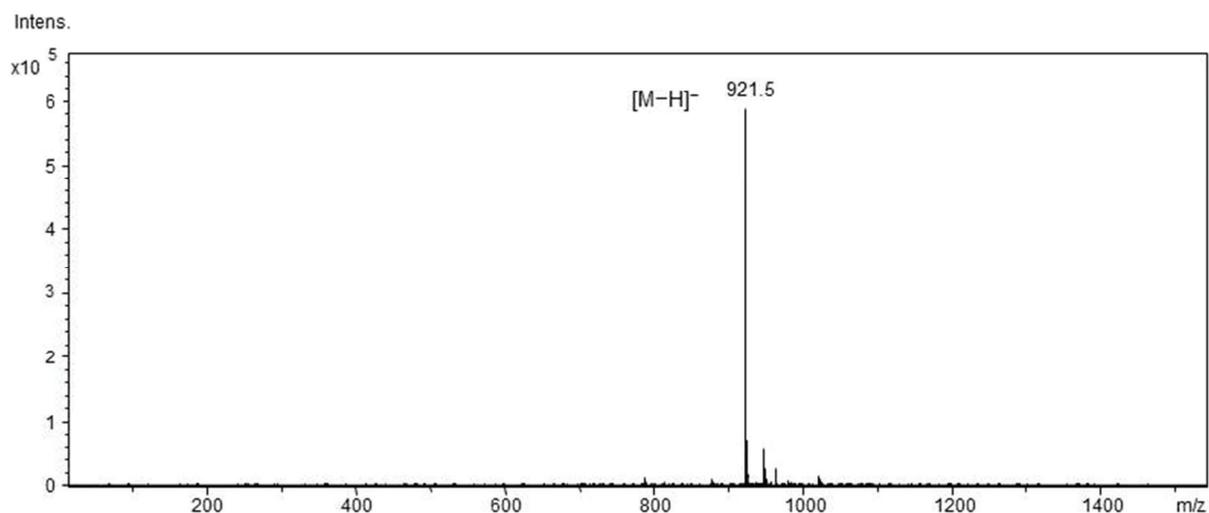


Abbildung 25: Ausschnitt des ESI-Massenspektrums (negativer Ionenmodus) von Chlorin e_6 -diglucamin-Amid **65**.

Semi-empirische Rechnungen sollten Aufschluss darüber geben, ob eine Amidierung in Position 13 generell sterisch möglich ist. Dafür wurde zunächst vorausgesetzt, dass die Säuren in Position 15 und 17 bereits amidiert sind. Um das Problem zu vereinfachen und die Rechenzeit zu minimieren, wurden zunächst lediglich Methylamide betrachtet. Mittels PM3-Rechnungen wurde eine Geometrieoptimierung durchgeführt. In der energetisch günstigsten Anordnung sind die Seitenketten in die unterschiedlichen Halbräume ausgerichtet. Ein nucleophiler Angriff des Glucamins aus der Richtung des gelben Pfeils 1 in Abbildung 26 ist durch die Ethansäureamid-Seitenketten in Position 15 abgeschirmt, während ein Angriff aus Richtung des gelben Pfeils 2 durch die benachbarte Methylgruppe in Position 12 sterisch gehindert ist.

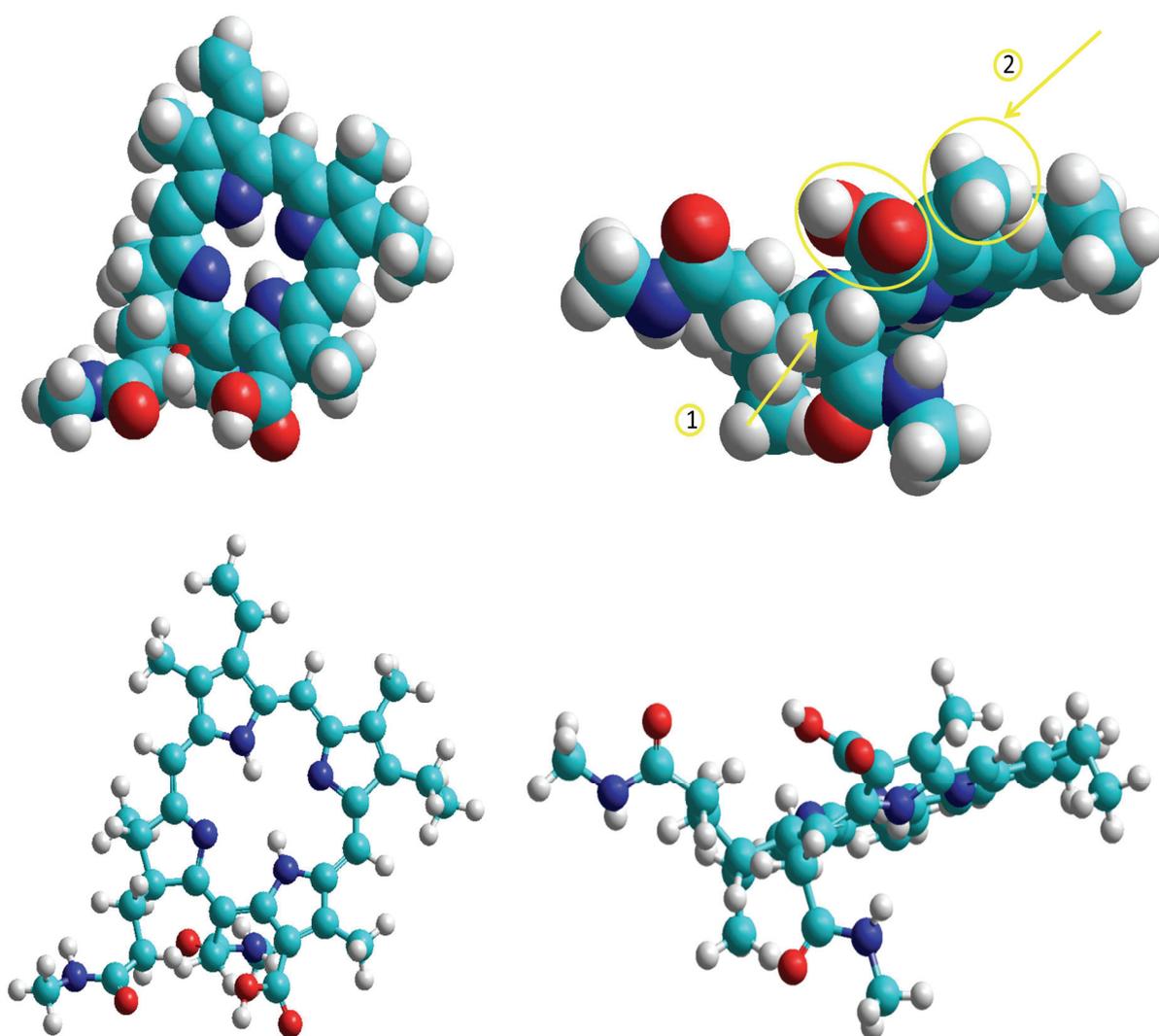


Abbildung 26: Struktur des Chlorin e_6 -dimethylamids im Kalottenmodell nach Geometrieoptimierung mittels PM3-Rechnungen. Links: Aufsicht; rechts: nahezu perpendikulare Ansicht; cyan: Kohlenstoff, weiß: Wasserstoff, rot: Sauerstoff, blau: Stickstoff.

4. Durchführung der Synthesen

Die Drehung der Carbonylgruppe in die Ebene des Chlorin-Chromophors, in der ein ungehinderter Angriff möglich wäre, ist um 1,7 kcal/mol energetisch höher. Damit bestätigen die quantenmechanischen Berechnungen die experimentellen Resultate.

Ähnliche Ergebnisse erhält man, wenn man sich die optimierte Struktur des Produkts Chlorin ϵ_6 -Diglucamin-Amid **65** als Kalottenmodell ansieht. Die Amid-Seitenketten befinden sich jeweils ober- und unterhalb der Chlorin-Ebene. In dieser Anordnung nehmen sie einen möglichst großen Abstand voneinander ein. In Abbildung 27 ist deutlich zu sehen, dass ein Angriff auf die Carbonsäure aus sterischen Gründen nicht möglich ist.

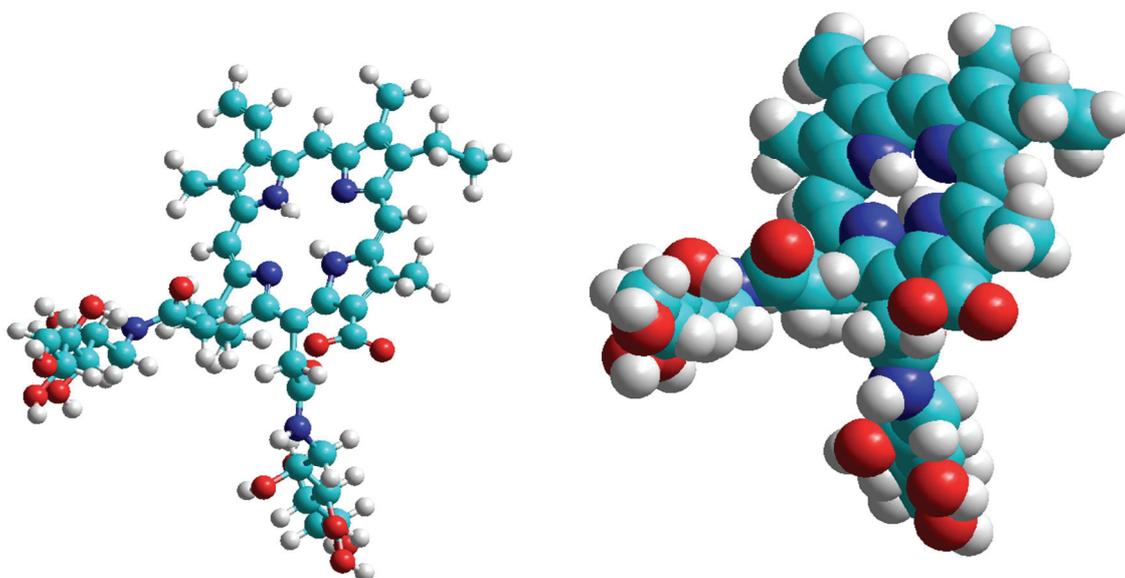


Abbildung 27: Optimierte Struktur des Chlorin ϵ_6 -Diglucamin-Amids **65** im Kugel-Stab- (links) und Kalottenmodell (rechts) nach Geometrieoptimierung mittels PM3-Rechnungen. Cyan: Kohlenstoff, weiß: Wasserstoff, rot: Sauerstoff, blau: Stickstoff.

Das entstandene Diamid **65** zeigt im Gegensatz zu dem Chlorin ϵ_6 -MME-Derivat **66** eine gute Wasserlöslichkeit. Aus diesem Grund wurde nicht weiter versucht, ein Triamid **68** zu synthetisieren.

Dies sollte jedoch möglich sein, indem die Propion- und Ethansäuregruppen zunächst in Form eines leicht hydrolysierbaren Esters geschützt werden und die direkt gebundene Carbonsäure in Position 13 mit Glucamin amidiert wird. Anschließend könnten die Schutzgruppen entfernt und die freien Carbonsäuren ebenfalls mit Glucamin zum Triamid umgesetzt werden. Abbildung 28 zeigt die optimierte Struktur eines solchen Triamids nach Geometrieoptimierung mittels PM3-Rechnungen. Da sich die Glucamin-Substituenten jeweils

ober- oder unterhalb der Molekülebene ausrichten, haben sie einen maximalen Abstand voneinander.

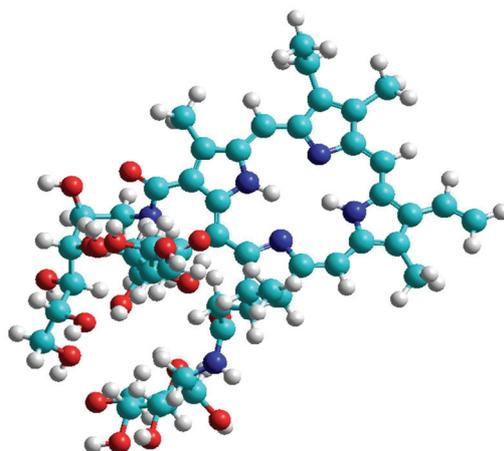


Abbildung 28: Optimierte Struktur eines Triamids **68** im Kugel-Stab-Modell nach Geometrieoptimierung mittels PM3-Rechnungen. Cyan: Kohlenstoff, weiß: Wasserstoff, rot: Sauerstoff, blau: Stickstoff.

4.4 Photophysikalische Messungen

Die photophysikalischen Messungen der Fluoreszenzspektroskopie und Transienten-Absorptionsspektroskopie wurden im Max-Planck-Institut für Bioorganische Chemie in Mühlheim an der Ruhr von Helmut Görner durchgeführt.

Zur Anwendung als Photosensibilisator in der Photodynamischen Tumorthherapie sind die photophysikalischen Eigenschaften einer Substanz mit ausschlaggebend für dessen Aktivität.

In den Abbildungen 29 und 30 sind die UV/Vis-Spektren von Chlorin e_6 -MME-Glucamin-Amid **66** und Heptylchlorin-Glucamin-Amid **15** zu sehen, die als stellvertretend für alle Derivate der jeweiligen Chromophore anzusehen sind, da sie die typischen Absorptionsbanden mit der Soret-Bande bei 400 nm und der langwelligsten Absorption für die Chlorin e_6 -Derivate bei 660 nm respektive 644 nm für die auf Deuteroporphyrin basierenden Derivate aufweisen.

4. Durchführung der Synthesen

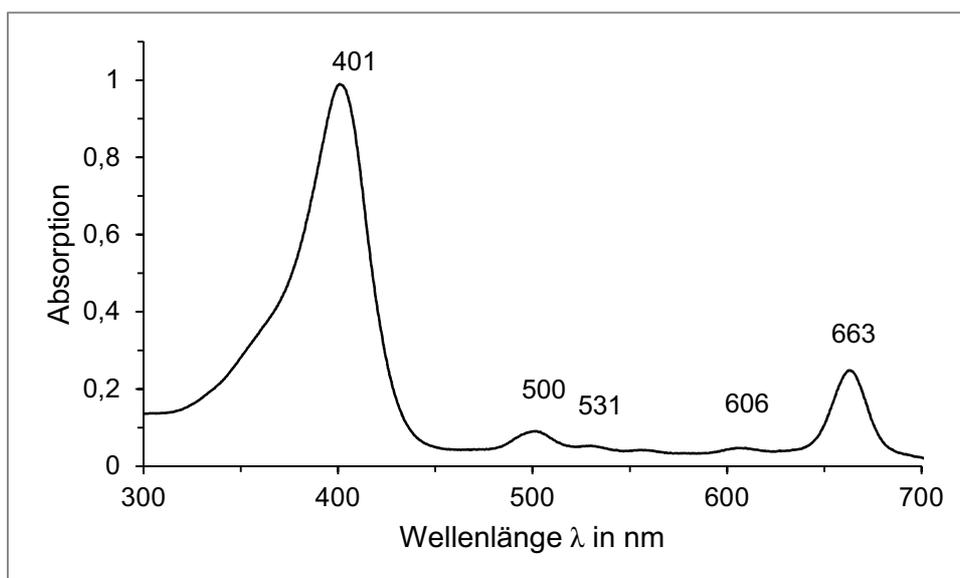


Abbildung 29: UV/Vis-Spektrum von Che₆-MME-Glucamin-Amid **66** in Methanol, $c = 5 \cdot 10^{-6}$ M.

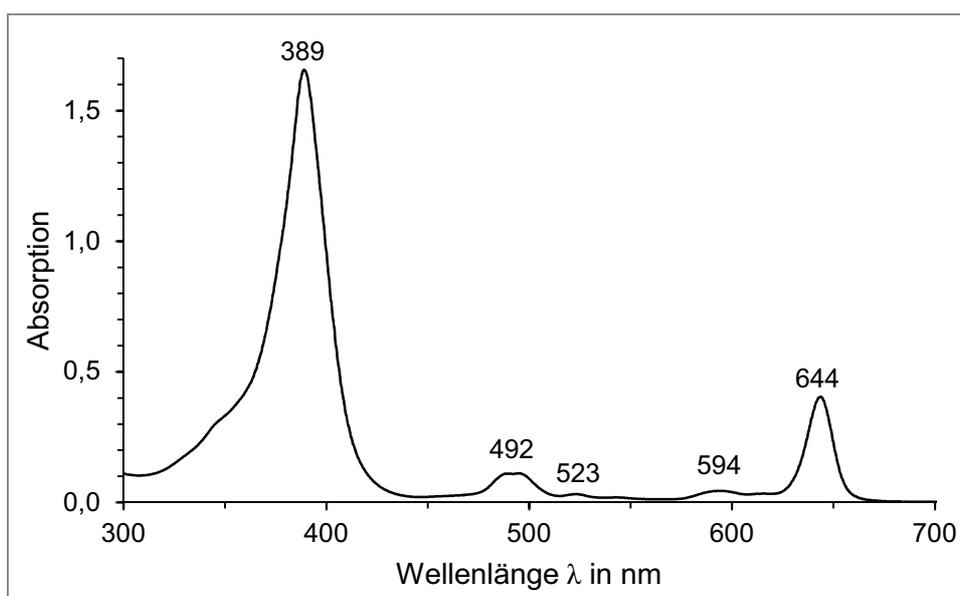


Abbildung 30: UV/Vis-Spektrum von 3-cis/trans-Heptylchlorin-Glucamin-Amid **15** in MeOH, $c = 1 \cdot 10^{-5}$ M.

In Tabelle 5 sind die für die PDT relevanten Absorptionsmaxima der langwelligsten Q₁-Bande mit molarem Extinktionskoeffizienten aller in dieser Arbeit synthetisierten amphiphilen Chlorinderivate zusammengefasst. Diese erfüllen allesamt die Anforderungen bezüglich der langwelligigen Absorption mit hohem molarem Extinktionskoeffizienten. Das bedeutet, dass sie für Anwendungen in tieferen Gewebeschichten in Frage kommen, da bei längeren

Wellenlängen die Gewebedurchlässigkeit für Licht größer ist. Sie bieten demnach gegenüber dem am bisher häufigsten medizinisch angewendeten PS Photofrin einen erheblichen Vorteil, da dieser bei 630 nm mit einem molaren Absorptionskoeffizienten von lediglich 3000 absorbiert.

Tabelle 5: Wellenlänge und molarer Extinktionskoeffizient der langwelligsten Absorptionsbande Q_I .

Substanz	Lösungs- mittel	Q_I -Bande	ϵ in cm^2 mmol^{-1}
Che₆-Glu 65	MeOH	663	29300
Che₆-MME-Glu 66	MeOH	663	28000
Che₆-MME-Arab 67	MeOH	663	29000
C₇-Ch-Glu 15	MeOH	644	43000
C₇-Ch-Arab 16	MeOH	643	32000
C₁₆-Ch-Glu 14	MeOH	642	36500

Die Abbildung 31 zeigt die Fluoreszenzspektren von Heptylchlorin-Glucamin-Amid **15** und Chlorin e₆ **17** im Vergleich. Die Fluoreszenzanregungsmaxima und Emissionsmaxima λ_f^{ex} und λ_f^{em} sind sehr ähnlich. Die Fluoreszenz-Lebenszeit liegt im Bereich von 5 ns.

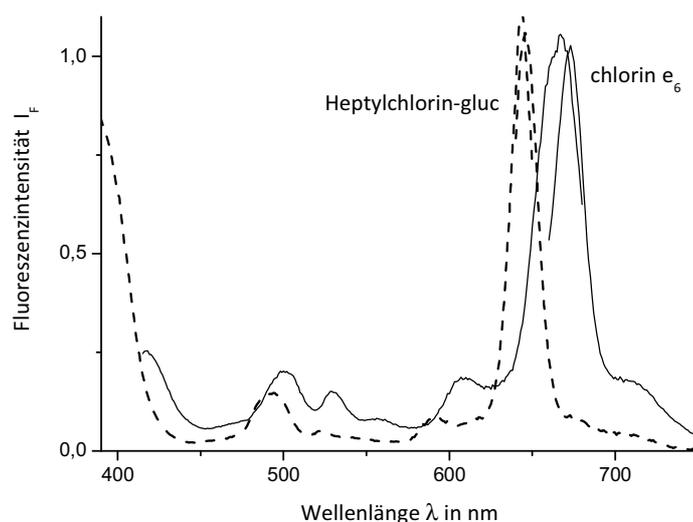


Abbildung 31: Fluoreszenzspektrum in Acetonitril von Heptylchlorin-Glucamin-Amid **15** (gestrichelte Linie) und Chlorin e₆ **17** (durchgezogene Linie) im Vergleich mit $\lambda_{\text{exc}} = 630 \text{ nm}$ bzw. 650 nm und $\lambda_{\text{em}} = 660 \text{ nm}$ bzw. 690 nm .

4. Durchführung der Synthesen

In Tabelle 6 sind die Fluoreszenzdaten einiger ausgewählter Chlorinderivate aufgelistet. Die Fluoreszenzquantenausbeute liegt für alle Derivate bei 5% und kann damit für die Tumordiagnostik genutzt werden.

Tabelle 6: Fluoreszenzdaten ausgewählter Chlorinderivate.

Substanz	Lösungs- mittel	λ_f^{ex} in nm	λ_f^{em} in nm	Φ_f
Che₆-MME	CH ₂ Cl ₂	664	667	–
62	Acetonitril	660	663	0,05
Che₆-MME	CH ₂ Cl ₂	665	668	–
-Glu 66	Acetonitril	660	663	0,05
C₇-Ch-Glu	CH ₂ Cl ₂	648	651	–
15	Acetonitril	645	648	0,05

Die Triplettdaten wurden über die Transientenabsorptions-Spektroskopie ermittelt. Die Transientenabsorptions-Spektroskopie kann als Erweiterung der normalen Absorptionsspektroskopie aufgefasst werden, in der es möglich ist, extrem kurzlebige photoinduzierte Zustände zu untersuchen. Die Anregung mit Licht mittels Flash-Photolyse (*Pump-Pulse*) erzeugt einen Transienten, welcher wiederum eine charakteristische Absorption aufweist. In Abhängigkeit von der Zeit klingt dieser angeregte Zustand ab und gibt Aufschluss auf die Triplettlebenszeit.

Durch einen ultrakurzen *Pump-Pulse* geht ein Teil der Moleküle in den angeregten Zustand über. Nach einem definierten Zeitintervall (Delay) τ wird ein *Probe-Pulse* mit sehr geringer Energie durch die Probe geschickt. Das Differenz-Absorptionsspektrum (ΔA) berechnet sich aus der Absorption des angeregten Zustands minus der Absorption der Probe im Grundzustand. Durch Änderung der Zeitintervalle τ erhält man ΔA als Funktion der Zeit und der Wellenlänge. Das Differenz-Absorptionsspektrum setzt sich aus verschiedenen Beiträgen zusammen: Positive Werte können durch angeregter-Zustand-Absorption oder Produkt-Absorption entstehen. Negative Werte werden durch Grundzustand-Absorption oder stimulierte Emission erzeugt. Die Summe dieser Beiträge ergibt dann das Spektrum.^[45]

Zur Auswertung der Transientenabsorptions-Spektren wurden die Signale am Ende des 20 ns-Pulses extrapoliert. Die Quantenausbeute Φ_{Δ} wurde aus den I_{Δ} -Werten und optisch passenden

Lösungen bestimmt. Als Referenz diente 2-Acetonaphthon in Benzol mit einer Quantenausbeute von $\Phi_{\Delta} = 0,81$. Dabei musste ein Korrektur-Faktor verwendet werden, da aus anderen Lösungsmitteln als Benzol gemessen wurde. Dieser berechnet sich als Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten der radiativen Desaktivierung des anderen Lösungsmittels zu der Konstanten in Benzol und beträgt 2 für Dichlormethan respektive 3 für Acetonitril. Die Messungen wurden, wenn nicht anders vermerkt, bei einer Temperatur von 24 °C mit Luft-gesättigten wässrigen Lösungen durchgeführt.^[46]

In den Abbildungen 32 und 33 sind die Spektren für Chlorin e_6 -monomethylester-Glucamin-Amid **66** und Heptylchlorin-Glucamin-Amid **15** gezeigt. Transiente Absorption ist über das gesamte Spektrum zu beobachten.

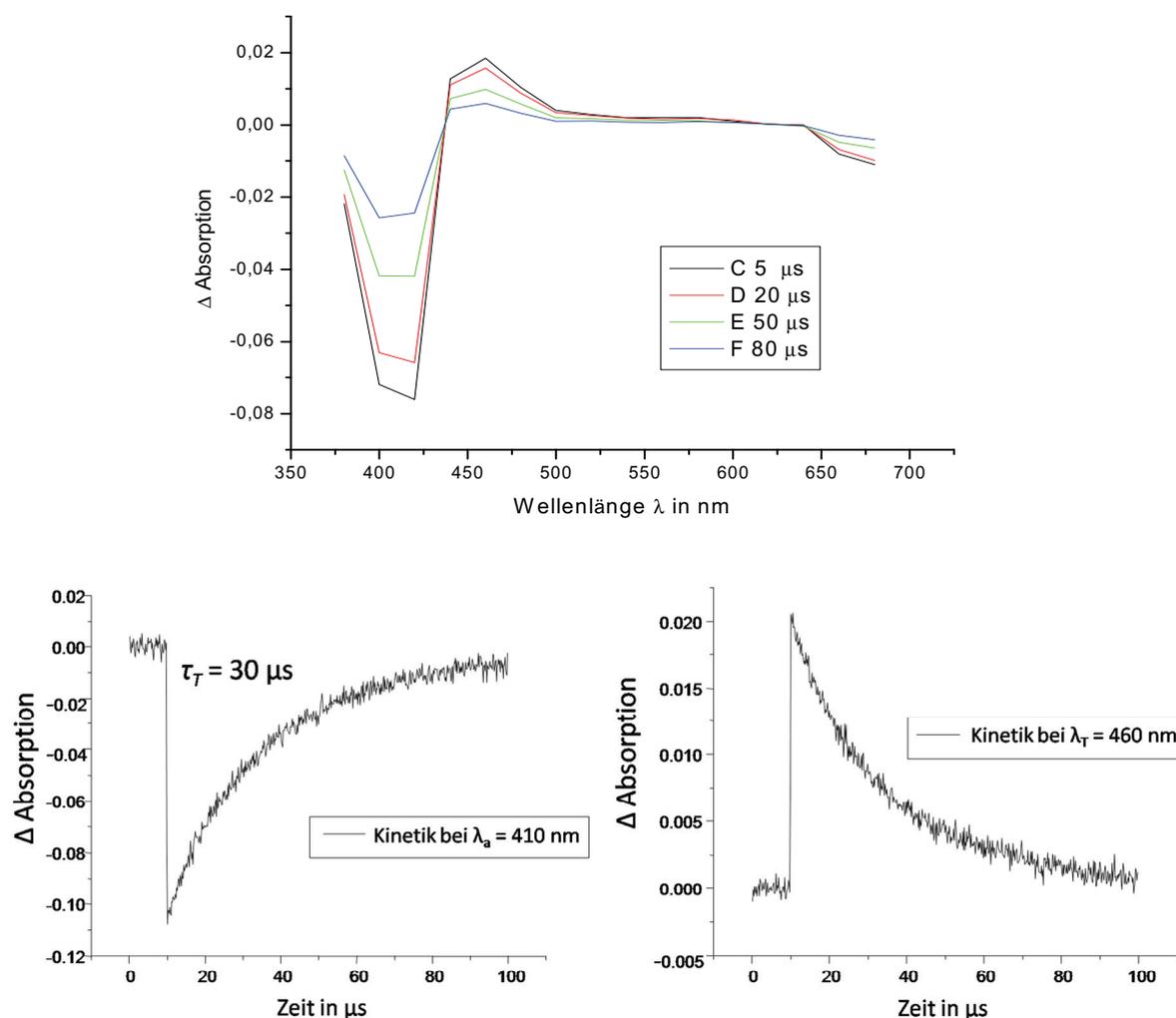


Abbildung 32: Transientenabsorptions-Spektrum von Chlorin e_6 -monomethylester-Glucamin-Amid **66** mit Kinetik der Abklingkurven bei 410 bzw. 460 nm in Argon-gesättigtem Dichlormethan und $\lambda_{exc} = 420$ nm.

4. Durchführung der Synthesen

Die Kinetik der Abklingkurven hängt nur von der Sauerstoffkonzentration ab und ist erster Ordnung in Argon-gesättigten Lösungen in Dichlormethan und Acetonitril.

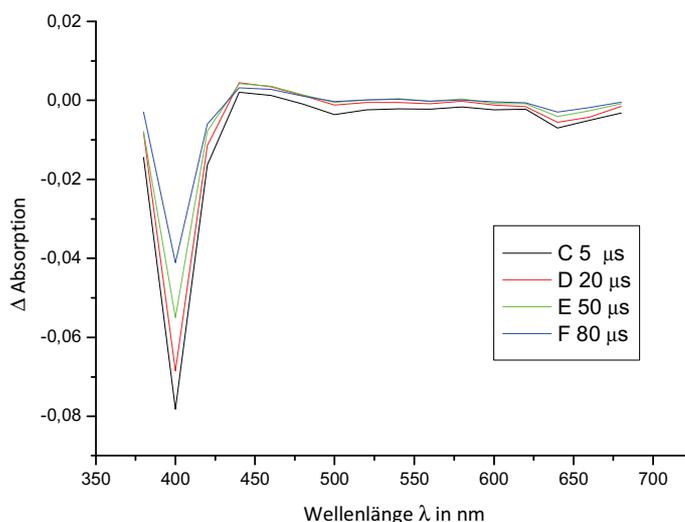


Abbildung 33: Transientenabsorptions-Spektrum von Heptylchlorin-Glucamin-Amid **15** in Argon-gesättigtem Dichlormethan und $\lambda_{\text{exc}} = 420$ nm.

In Tabelle 7 sind die entscheidenden photophysikalischen Daten der Tripletanregung dieser Chlorinderivate zu sehen. Die Quantenausbeuten für die Singulett-Sauerstoffbildung wurden in Luft-gesättigten Lösungen bestimmt und liegen zwischen 50–60 %. Sie sind damit vergleichbar mit den Quantenausbeuten von Chlorin e_6 **17**, welche je nach Lösungsmittel im Bereich von 0,61–0,65 liegen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die synthetisierten Chlorinderivate ideal die photophysikalischen Anforderungen erfüllen, um als PS eingesetzt zu werden.

Tabelle 7: Triplettdaten einiger ausgewählter Chlorinderivate in Argon-gesättigten Lösungen, wenn nicht anders vermerkt (a: in Luft-gesättigten Lösungen).

Substanz	Lösungs- mittel	Φ_{Δ}^a	Φ_{ISC}	τ_{T} in ns
Che₆-MME	CH ₂ Cl ₂	0,6	–	30
62	Acetonitril	–	0,6	30
Che₆-MME	CH ₂ Cl ₂	0,5	–	25
-Glu 66	Acetonitril	–	0,6	30
C₇-Ch-Glu 15	CH ₂ Cl ₂	0,5	–	20
	Acetonitril	–	0,6	20

4.5 Biomedizinische Untersuchungen

Die biomedizinischen Messungen der Zytotoxizität und PDT-Aktivität wurden in der Arbeitsgruppe von Alicja Ratuszna im Institut für Physik der Universität von Schlesien in Kattowitz von Marzena Rams-Baron durchgeführt.

4.5.1 Zytotoxizität und PDT-Effizienz

Die synthetisierten, amphiphilen Chlorinderivate wurden an menschlichen Krebszellen ersten Zelltests zur Bestimmung der Zytotoxizität und PDT-Effizienz unterzogen. Dazu wurden die *Human colon carcinoma cultured cells* HCT (HCT 116+/+) in 30-mm Petrischalen (der Firma Nunc) überimpft und für 24 Stunden unter Standardkulturbedingungen inkubiert.

Eine Kontrollgruppe wurde weder bestrahlt noch mit Photosensibilisator inkubiert. Zur Bestimmung der Zytotoxizität diente eine Gruppe, welche mit verschiedenen Konzentrationen an Photosensibilisator inkubiert, jedoch nicht bestrahlt wurde (Dunkeltoxizität).

Die anderen Kulturen wurden einer photodynamischen Behandlung unterzogen. Dafür wurde nach dem Spülen mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS, pH 7.2) das Kulturmedium der letzten Gruppe mit Lösungen verschiedener Konzentration an Sensibilisator für 4 h–12 h inkubiert. Vor der Bestrahlung wurde das Medium durch DMEM-Nährmedium (*Dulbecco 's modified eagle medium* ohne Phenolrot) ersetzt.

Die Bestrahlung erfolgte mittels einer Halogenlampe der Firma Optel mit einem 630 nm-Longpassfilter im Abstand von 3 cm. Die Lichtdosis betrug 15 J/cm^2 .

Eine zweite Gruppe wurde ohne Sensibilisator bestrahlt, um den Effekt von Licht auf das Zellwachstum zu untersuchen. Dafür wurde vor der Bestrahlung frische Nährlösung hinzugegeben und die Zellen unter Standardbedingungen für 24 Stunden gehalten.

Die Anzahl an lebensfähigen Zellen wurde mit dem MTS-tetrazolium Reduktions-*assay* (Promega) ermittelt. Diese kolorimetrische Methode basiert auf der Reduktion des farblosen MTS-Reagenz [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium] zu farbigem Formazanderivat durch Enzyme in lebenden Zellen. Die Menge an gebildetem Formazan, welche proportional zu den lebensfähigen Zellen ist, wurde spektroskopisch über die Absorption bei 490 nm in einem *96-well plate reader* bestimmt. Als Background wurde die Absorption einer Lösung von DMEM-Medium mit MTS-Reagenz subtrahiert. Der Teil an überlebenden Zellen wurde als Anteil der lebensfähigen Zellen zu der Anzahl im Kontroll-Sample (ohne PS, ohne Bestrahlung) kalkuliert.

4. Durchführung der Synthesen

Beide untersuchten Chlorinderivate **16** und **15** zeigen in den Experimenten, wie in Abbildung 34 zu sehen ist, keinen zytotoxischen Effekt bei Konzentrationen bis 10 μM .

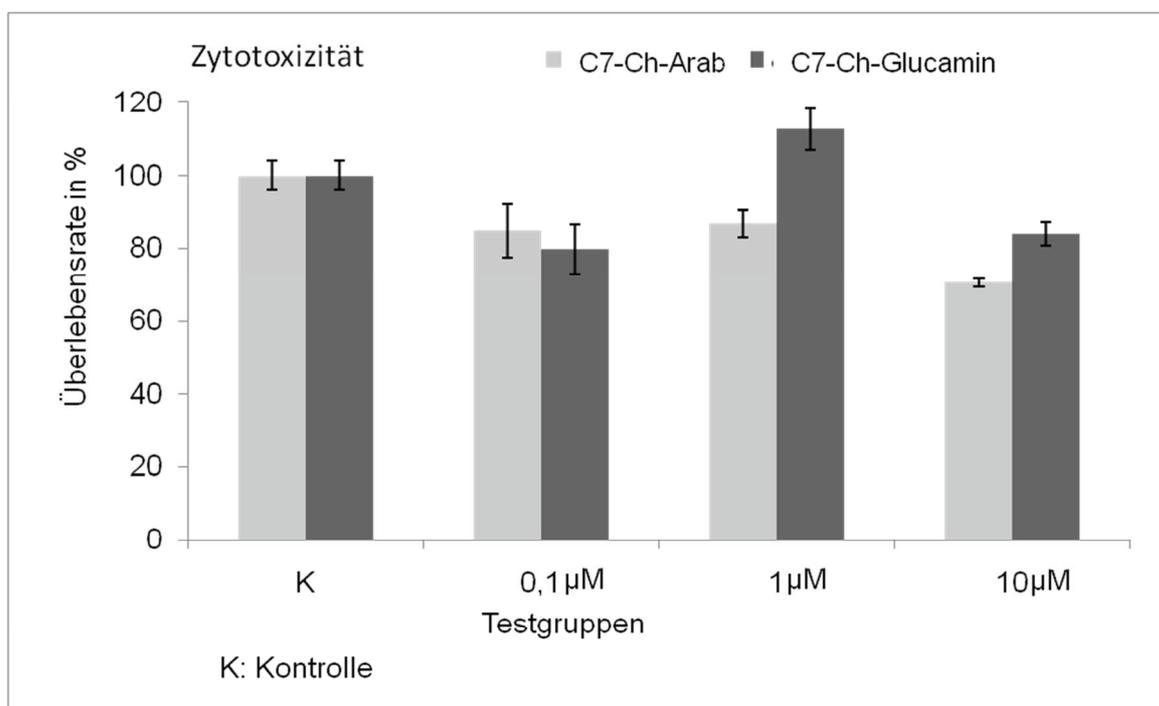


Abbildung 34: Zytotoxizitätsuntersuchung an HCT-Zellen von Heptylchlorin-arabinitylamid **16** und Heptylchlorin-glucaminamid **15** im Vergleich.

Abbildung 35 zeigt die PDT-Aktivität mit unterschiedlich langen Inkubationszeiten der Chlorinlösungen und mit steigenden Konzentrationen für das Chlorinderivat mit Arabinoseresten **16** (oben) und mit Glucoseresten **15** (unten). Ab 2.5 μM Lösungen ist eine Überlebensrate von nur noch maximal 20% für das Arabinosederivat **16** respektive 15 % für das Glucosederivat **15** bei einer Konzentration von 1 μM zu beobachten. Eine Steigerung der verabreichten Konzentration bewirkt keine Verbesserung der PDT-Effizienz. Eine maximale PDT-Aktivität ist also schon bei sehr niedrigen Konzentrationen möglich, während die Dunkeltoxizität der beiden Derivate bei einer Konzentration größer als 7,5 μM liegt. Dies zeigt deutlich, dass die Substanzen eine gute Effektivität für die PDT-Behandlung *in vitro* zeigen, während sie selbst bei größeren Konzentrationen noch keine Dunkeltoxizität aufweisen. Inkubationszeiten von 4-6 Stunden ergeben die besten Ergebnisse. Eine Erhöhung der Inkubationszeit auf 12 Stunden führt zu schlechteren Resultaten. Für weitere Untersuchungen wurden deshalb Inkubationszeiten von vier Stunden eingehalten.

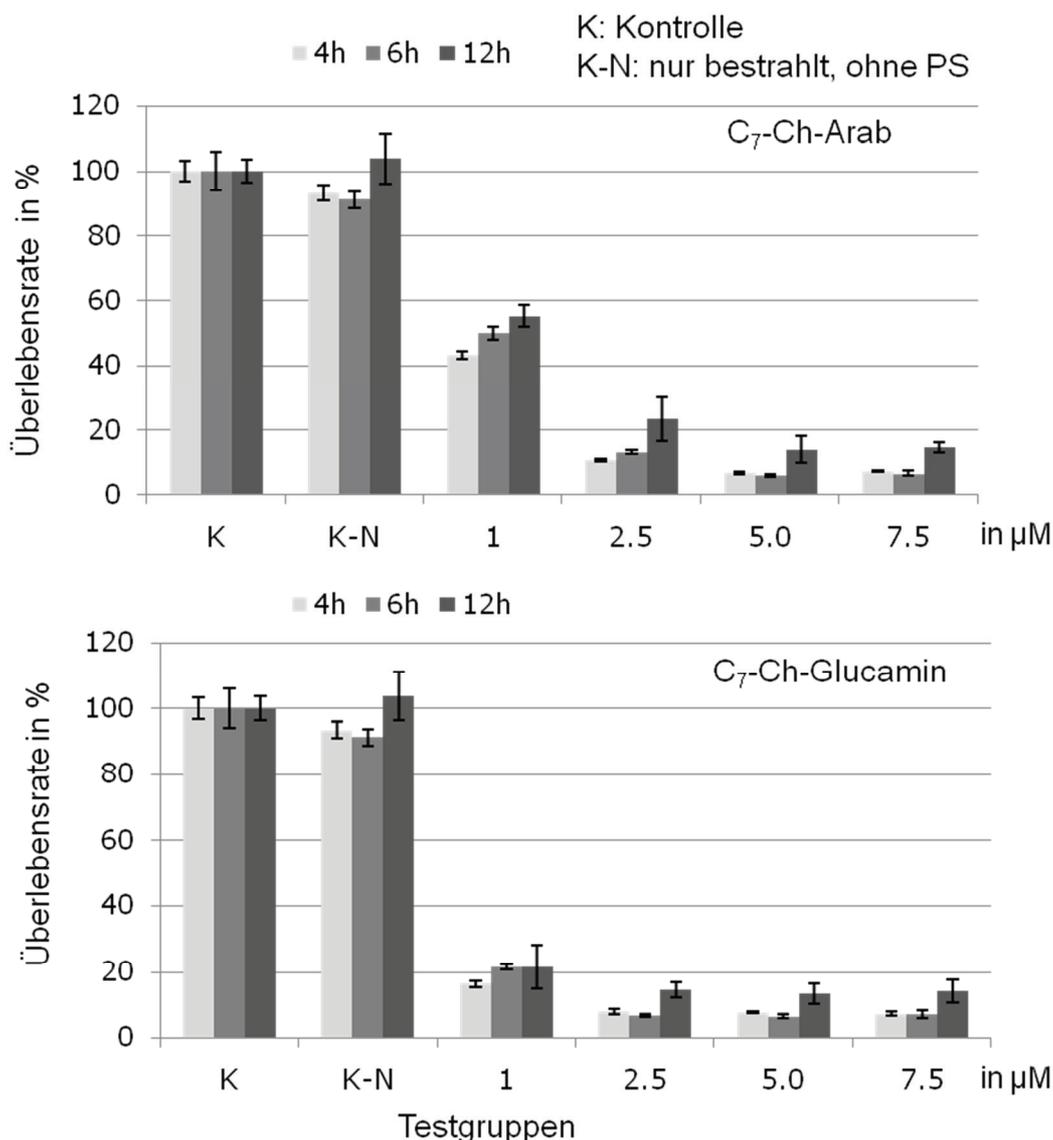


Abbildung 35: PDT-Aktivität an HCT-Zellen der Chlorinderivate Heptylchlorin-arabinitylamid **16** und Heptylchlorin-glucaminamid **15** für verschiedene Konzentrationen und Inkubationszeiten.

Um eine Verbesserung gegenüber der freien Heptylchlorin-dicarbonsäure zu ermitteln, wurde in weiteren Experimenten die Photodynamische Aktivität aller Heptylchlorinderivate unter gleichen Bedingungen untersucht. Abbildung 36 zeigt die PDT-Aktivitäten für die Heptylchlorinderivate im Vergleich mit der Heptylchlorin-dicarbonsäure. Beide Amid-Derivate zeigen höhere Aktivitäten als die freie Carbonsäure. Gut zu sehen ist, dass bei Konzentrationen von 1 µM das Arabinitylderivat **16** nahezu doppelt so aktiv ist wie das Glucaminderivat **15**. Die besten Resultate zeigt das Arabinitylderivat bei einer Konzentration von 2,5 µM mit einer Überlebensrate von 13 %.

4. Durchführung der Synthesen

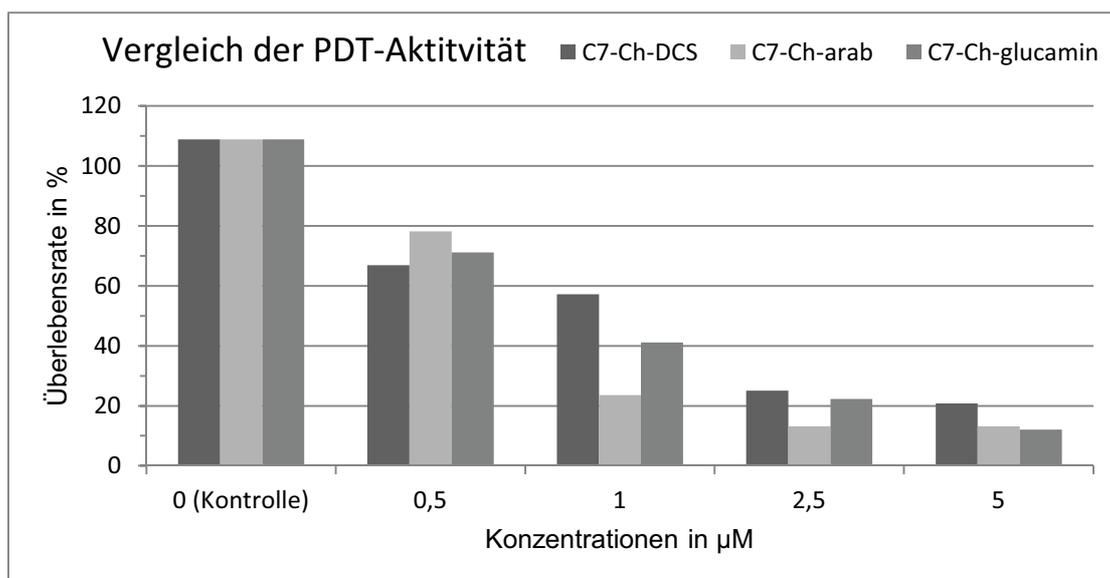


Abbildung 36: PDT-Aktivität an HCT-Zellen der Chlorinderivate Heptylchlorin-dicarbonsäure **13**, Heptylchlorin-arabinityl-amid **16** und Heptylchlorin-glucamin-amid **15** im Vergleich bei verschiedenen Konzentrationen.

Die gleichen Experimente ergeben für die Chlorin e_6 -monomethylesterderivate die in Abbildung 37 gezeigten Ergebnisse. Auch für diesen Chromophor weist das Arabinitylderivat **67** die beste PDT-Effizienz auf. Bei einer Konzentration von nur 1 μM erreicht dieses eine siebenmal niedrigere Überlebensrate von 13 % als der einfache Monomethylester **62**.

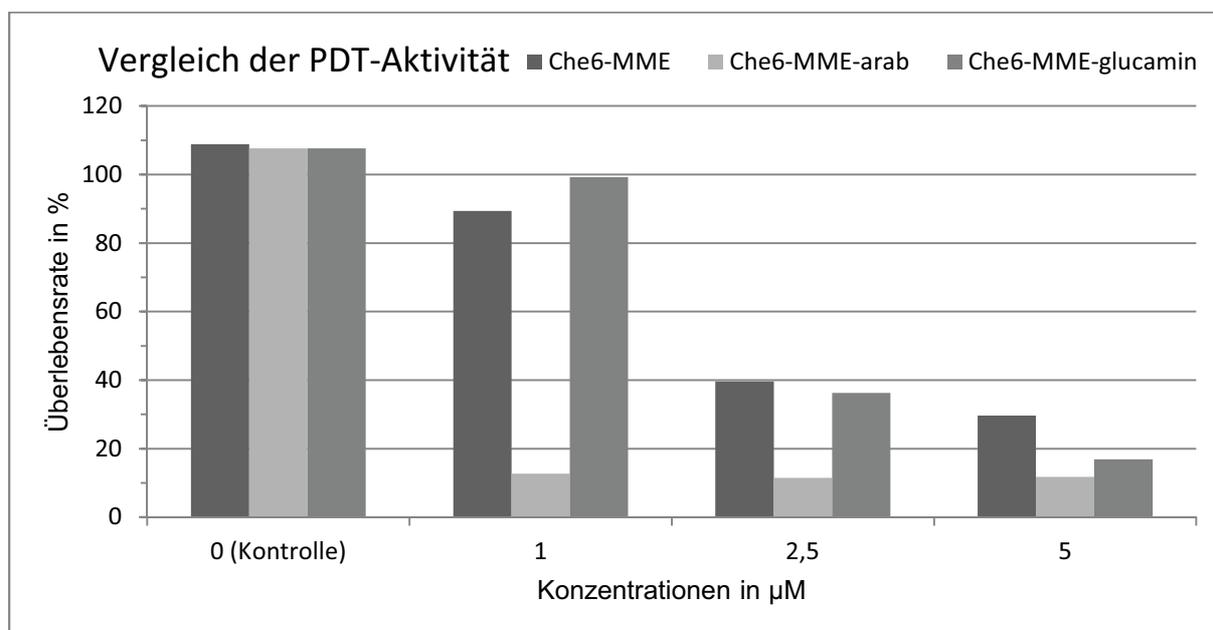
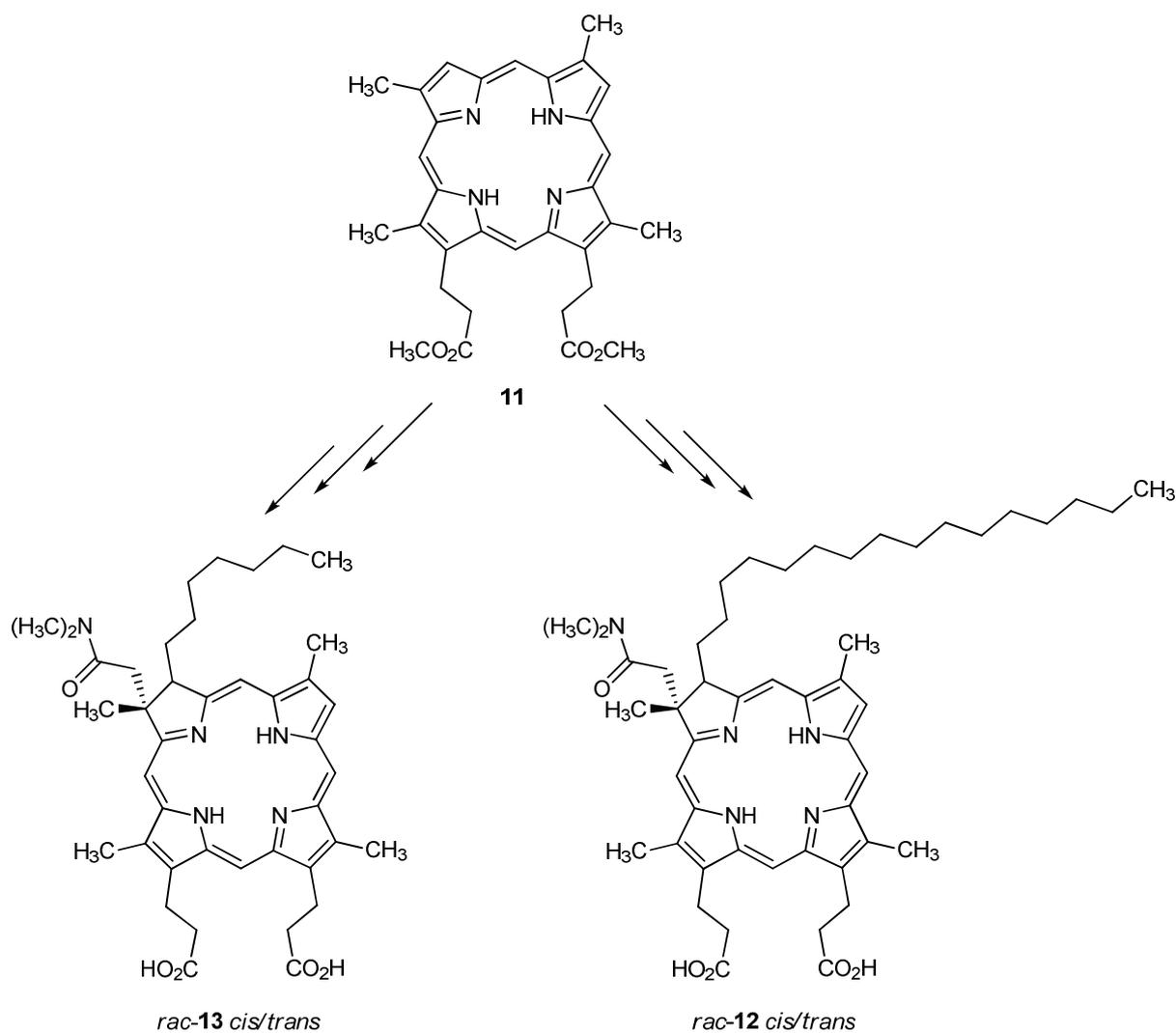


Abbildung 37: PDT-Aktivität an HCT-Zellen der Chlorinderivate Chlorin e_6 -MME **62**, Chlorin e_6 -MME-arabintyl-amid **67** und Chlorin e_6 -MME-glucamin-amid **66** im Vergleich bei verschiedenen Konzentrationen.

5. Zusammenfassung und Ausblick

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

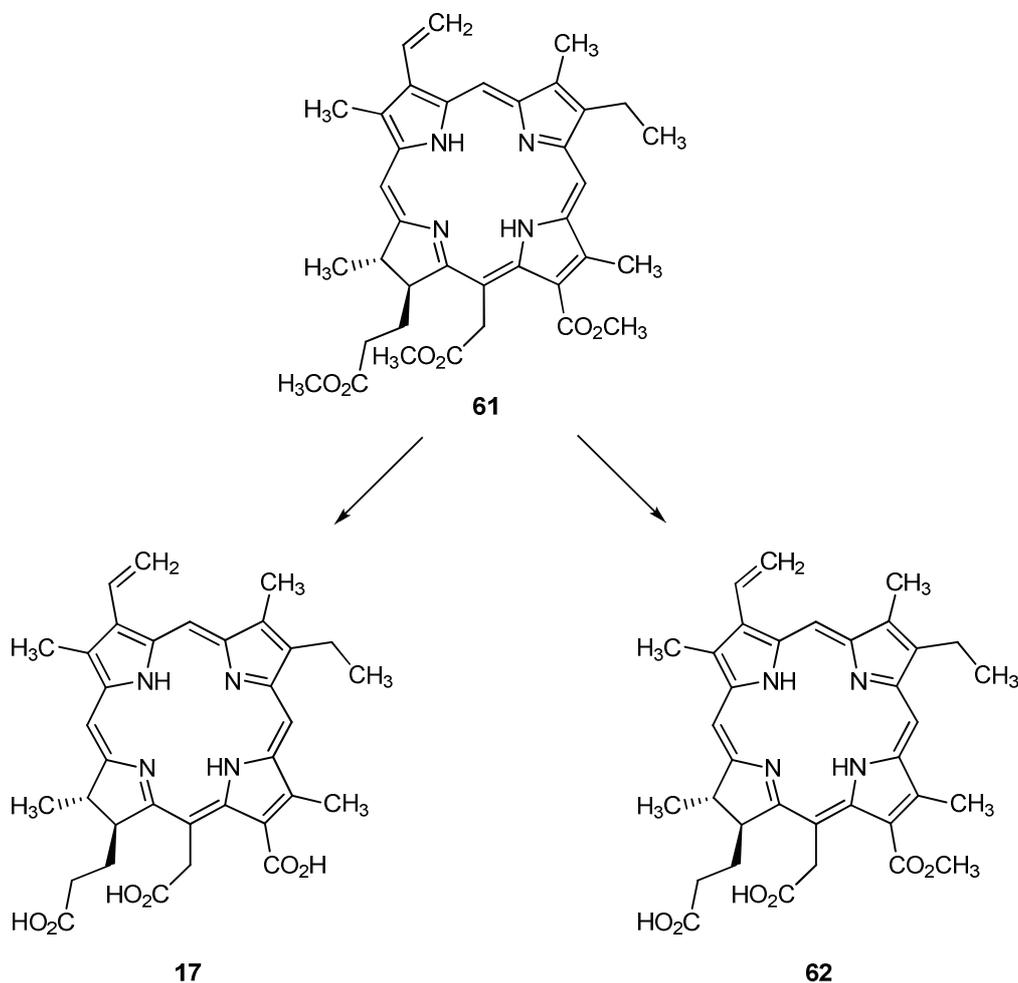
Im Rahmen dieser Arbeit konnten mit dem Konzept der Partialsynthese ausgehend von Deuteroporphyrin-IX-dimethylester **11** verschiedene, lipophile Chlorine synthetisiert werden, die über die Propionsäuregruppen weiter funktionalisiert werden konnten.



Schema 22: Synthese der Alkylchlorine unterschiedlicher Lipophilie ausgehend von Deuteroporphyrin-IX-dimethylester **11**.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Ein weiterer Ansatz beruht auf der Isolation und Modifikation von natürlich vorkommendem Chlorophyll *a* **4** zu Chlorin *e*₆ **17** und Chlorin *e*₆- α -monomethylester **62**, die sowohl chemisch stabiler sind, als auch über geeignete Gruppen für die weitere Funktionalisierung verfügen.



Schema 23: Synthese von Chlorin *e*₆ **17** und Chlorin *e*₆-monomethylester **62**.

Glucamin und 1-Deoxy-arabinitylamin stellten geeignete hydrophile Substituenten dar. Die Umsetzung mit den Chlorinen **12** und **13** lieferte die in Abbildung 39 gezeigten, unter physiologischen Bedingungen stabilen Amide. Die Heptylderivate sind gut wasserlöslich, während das Palmylderivat sich in Liposomen eingebaut leicht verabreichen lassen sollte.

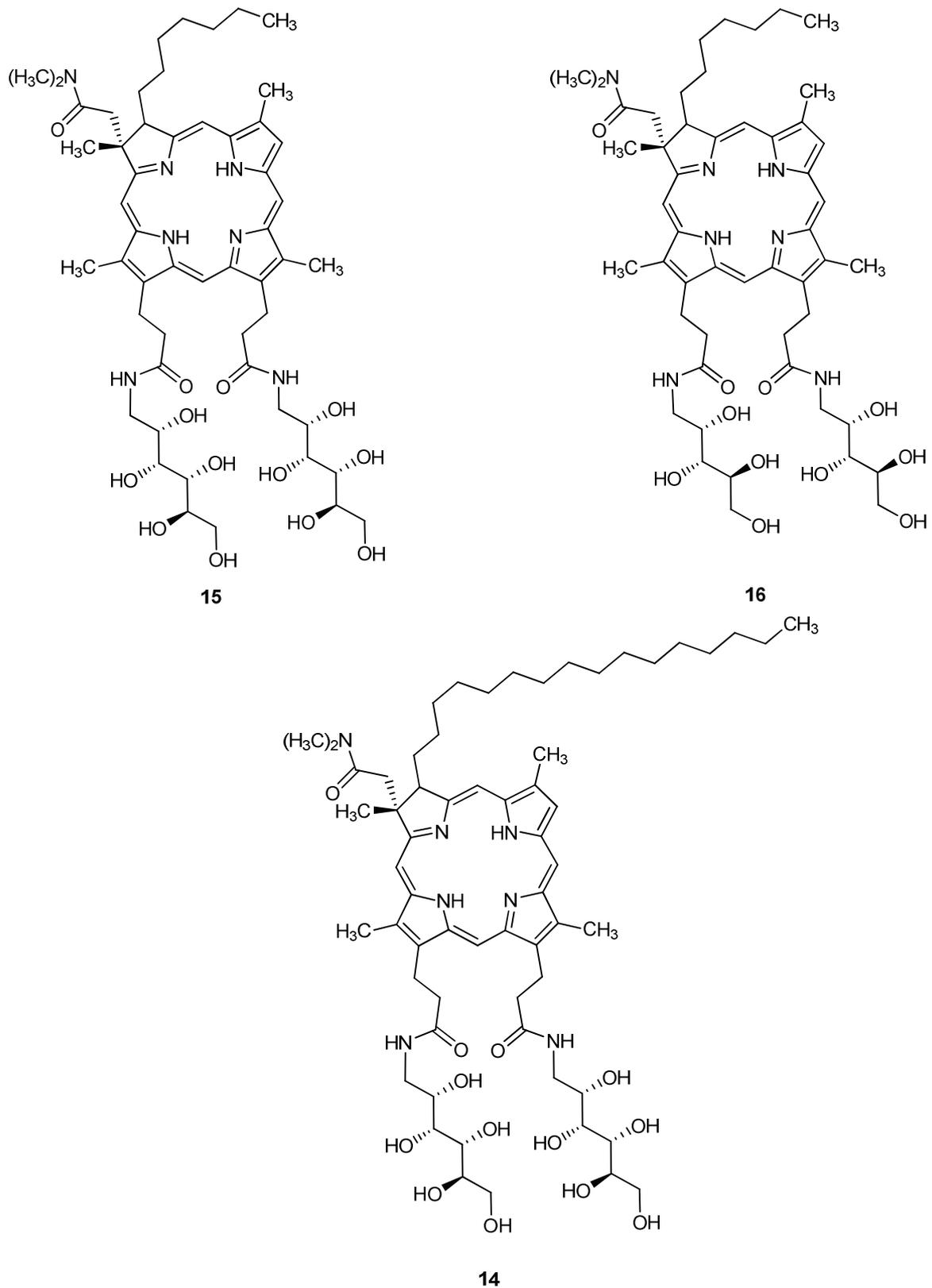


Abbildung 38: Bibliothek der synthetisierten amphiphilen Alkylchlorin-Kohlenhydrat-Amide 15, 16 und 14.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Durch Umsetzung der Monomethylester mit Glucamin respektive 1-Deoxy-arabintylamin konnten die in Abbildung 40 dargestellten Amide erhalten werden. Sie lassen sich durch Zusatz von 0,3 % DMSO in Wasser lösen. Die Umsetzung von Chlorin e_6 **17** mit Glucamin führte aus sterischen Gründen nicht zur Bildung eines Triamids, sondern lediglich zum Diamid. Dieses Chlorin e_6 -diglucaminderivat **65** zeigt aber aufgrund der zusätzlichen Carbonsäurefunktion eine gute Wasserlöslichkeit.

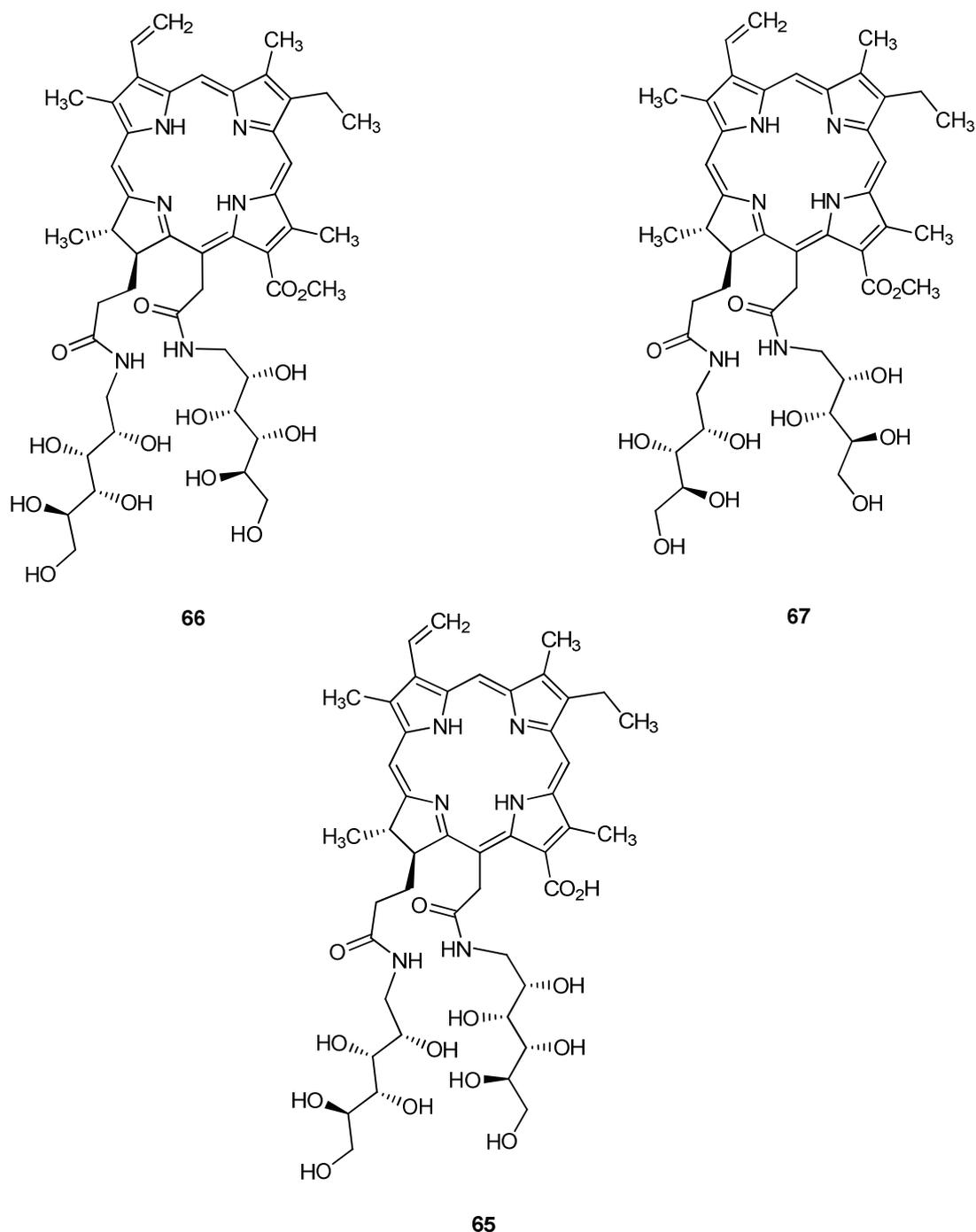


Abbildung 39: Bibliothek der synthetisierten amphiphilen Chlorin e_6 -Kohlenhydrat-Amide **66**, **67** und **65**.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die in dieser Arbeit beschriebenen Chlorin-Kohlenhydrat-Amide eine ausgewogene Balance zwischen Hydrophilie und Lipophilie aufweisen. Dies führt dazu, dass sie wasserlöslich beziehungsweise partiell wasserlöslich sind oder aber eine Löslichkeit in physiologischen Lösungsmitteln zeigen. Trotzdem sind sie lipophil genug und eine hohe Affinität für Tumorzellen zeigen sollten, wie es für eine gute Anreicherung gegenüber gesundem Gewebe wünschenswert ist.

Neben der Synthese konnten die neuen Substanzen auf ihre Eignung als Photosensibilisatoren getestet werden.

Photophysikalische Messungen haben ergeben, dass die in dieser Arbeit synthetisierten Chlorine klare Vorteile in Bezug auf die langwellige Absorption und die Quantenausbeute für die Singulett-Sauerstoff-Bildung gegenüber Photofrin und vergleichbare Eigenschaften mit den zur Zeit am vielversprechendsten gehandelten Benzoporphyrin-Derivat-monoester **9** und *m*-THPC **7** aufweisen.

Zusätzlich konnte die Photodynamische Aktivität dieser Verbindungen bestimmt werden. Verglichen mit Photofrin zeigten alle Verbindungen bei niedrigeren Konzentrationen bereits bessere PDT-Effizienz. Zudem zeigten sie in dem untersuchten Konzentrationsbereich keine zytotoxische Wirkung.

Diese ersten Untersuchungsergebnisse lassen die Aussage zu, dass in dieser Arbeit eine Substanzbibliothek entwickelt wurde, die verbesserte chemische und pharmakologische Eigenschaften gegenüber Photofrin, der weiterhin als Standard gilt, aufweist.

5.2 Ausblick

Die Photodynamische Tumorthherapie steht trotz ihrer über 30-jährigen Geschichte noch am Anfang. Generelle Akzeptanz unter den Onkologen aufgrund mangelnder geeigneter Photosensibilisatoren fehlt bisher, obwohl das Konzept der PDT, bei dem die Wirkung in Kombination von den ungefährlichen Faktoren Photosensibilisator, Licht und Sauerstoff generiert wird, weiterhin sehr attraktiv ist.^[9]

5. Zusammenfassung und Ausblick

Einzug in die Medizin hat sie jedoch bereits zur Behandlung von verschiedenen bösartigen Tumoren und der altersbedingten Makuladegeneration, einer häufigen Ursache von altersbedingter Erblindung, gehalten. Die Erforschung von weiteren Einsatzgebieten umfasst unter anderem die Behandlung von AIDS, Autoimmunkrankheiten, Hautkrankheiten und Transplantatabstoßungen.^[47]

Bis zur Zulassung als Arzneimittel muss für ein potentiell es Medikament zunächst tierexperimentell eine akut-toxische Wirkung ausgeschlossen werden können. Anschließend muss es die Arzneimittelprüfung in mehreren vorklinischen und klinischen Phasen durchlaufen.

Die vielversprechenden Ergebnisse der ersten Untersuchungen der Chlorin-Bibliotheken geben Anlass zu weiteren für die klinische Erprobung wichtige Voruntersuchungen. Zunächst sollte vor allem eine Bestimmung der Aktivität *in vivo* im Fokus stehen.

Auch eine weitere Verbesserung dieser Chlorine durch chemische Modifikation wäre denkbar. So könnte durch den Einbau von Metallen wie Palladium und Zinn die Quantenausbeute für die Singulett-Sauerstoff-Bildung noch gesteigert werden, auch wenn damit eine Verschiebung der Absorption zu niedrigeren Wellenlängen einhergeht.

6. Summary and Outlook

6.1 Summary

For the purposes of the present thesis, based on the concept of partial synthesis of chlorins, starting with Deuteroporphyrin-IX-dimethylester **11**, chlorins with a varied degree of lipophilicity were synthesized and could be chemically modified further *via* the propionic acid side chains.

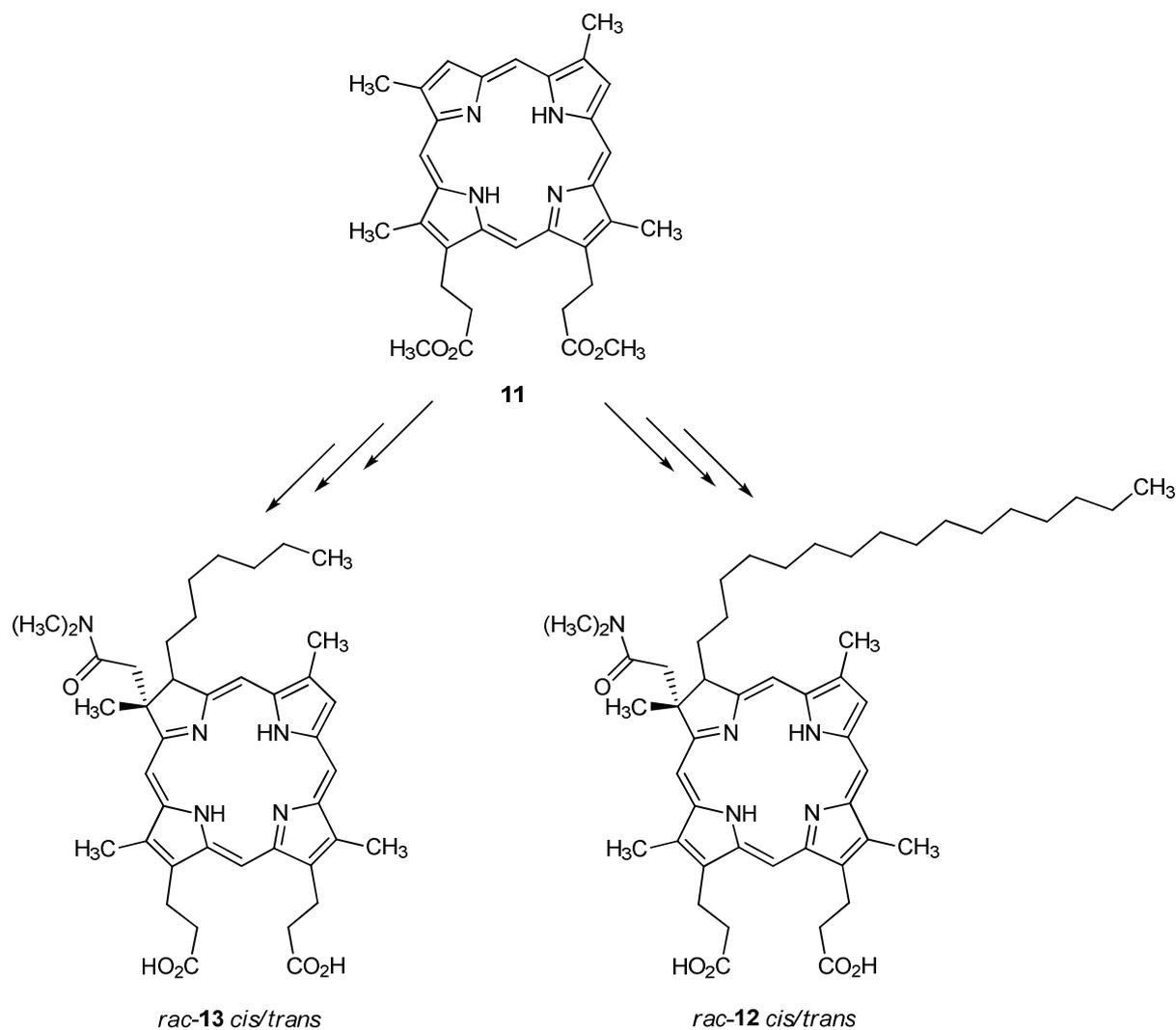


Figure 1: Synthesis of alkyl-chlorins with a varied degree of lipophilic side chains based on Deuteroporphyrin-dimethylester **11**.

6. Summary and Outlook

Another approach is based on the isolation and modification of naturally occurring Chlorophyll *a* **4** leading to Chlorin *e*₆ **17** und Chlorin *e*₆- α -monomethylester **62**. In addition, they are more stable and can therefore be functionalized modifying the carboxylic groups.

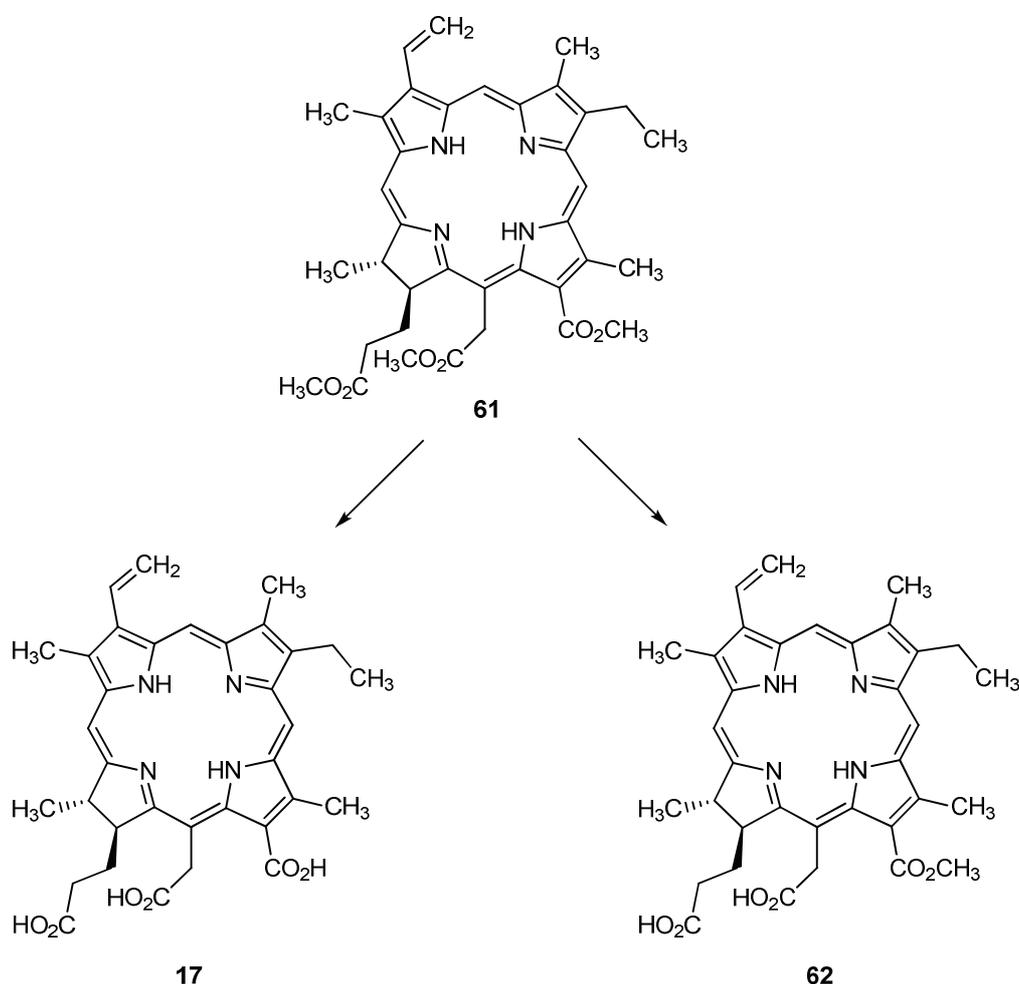


Figure 2: Synthesis of Chlorin *e*₆ **17** and Chlorin *e*₆-monomethylester **62**.

Glucamin und 1-Deoxy-arabinitylamin represent excellent hydrophilic moieties. The reaction with the chlorins **12** and **13** yielded under physiological conditions stable amides as displayed in figure 3. The heptyl-derivatives show good water-solubility, while the palmityl-derivative should be applicable encapsulated into liposomes.

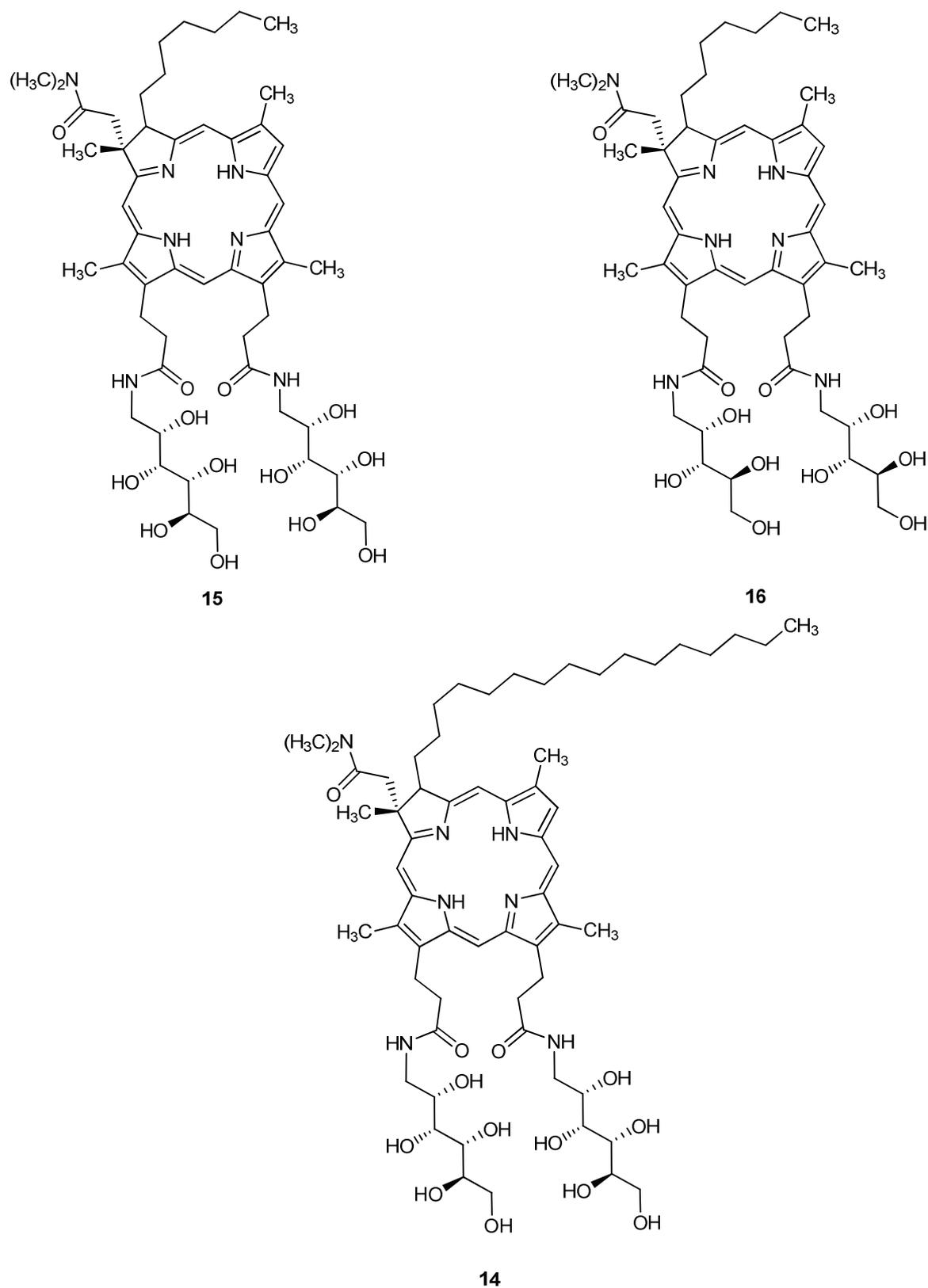


Figure 3: Library of synthesized amphiphilic alkyl-chlorin-carbohydrate-amides **15**, **16** and **14**.

6. Summary and Outlook

The reaction of the monoesters with Glucamin with 1-Deoxy-arabintylamin respectively gave the amides illustrated in figure 4. They are soluble in water by addition of 0.3 % DMSO. For sterical reasons, Chlorin e_6 **17** treated with Glucamin did not result in the formation of a tri-amide, but merely to a di-amide. Due to the additional carboxylic moiety this chlorin e_6 -diglucamin-derivative **65** is completely water-soluble.

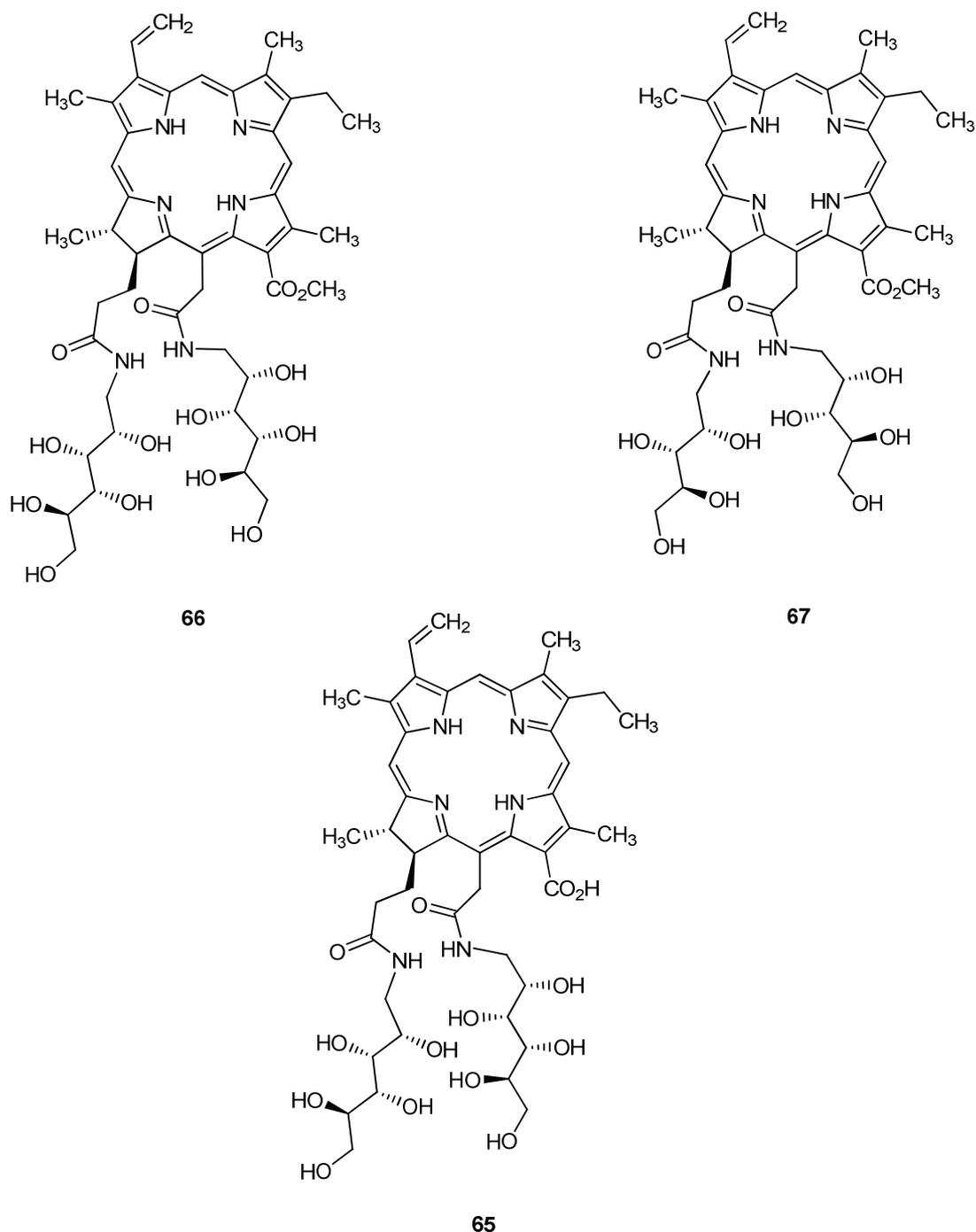


Figure 4: Library of synthesized amphiphilic Chlorin e_6 -carbohydrate-amides **66**, **67** and **65**.

Summing up, the chlorin-carbohydrate-amides show a well-balanced ratio between hydrophilicity and lipophilicity resulting in water-solubility or partial water-solubility respectively, or solubility in physiological solvent systems. Nevertheless, they are lipophilic enough for a high affinity towards tumor cells desired for an effective accumulation compared with healthy tissue.

In addition to the synthesis, the new substances were examined in respect to their applicability as photosensitizers.

For all compounds under discussion in this thesis, photophysical studies reveal advantages in the absorption at longer wavelength and quantum yield of singlet oxygen formation compared with Photofrin and similar properties compared with the actually most promising sensitizers Benzoporphyrin-derivative-monoester **9** and m-THPC **7**.

Additionally, the photodynamic activity of these compounds could be determined. Compared with Photofrin, all substances show enhanced PDT-efficiency even at lower concentrations. Furthermore, no cytotoxic effect was measured in this range of concentration.

Based on the first results, it can be concluded that within this thesis a library of substances was developed with enhanced chemical and pharmacological properties compared with Photofrin, which is still the gold standard.

6.2 Outlook

Despite its 30-year history, photodynamic therapy is still in its initial stages. Although the basic concept of PDT, involving the combination of the harmless factors sensitizer, visible light and oxygen, is very attractive, general acceptance under oncologist is missing, due to lack of appropriate photosensitizers.

However, PDT has already arrived in medicine in terms of the treatment of different kinds of malign tumors and as a treatment of age-related macular degeneration, which is in many cases the cause of age-related blindness. The research of alternative fields of application includes, inter alia, the treatment of AIDS, autoimmune diseases, skin diseases and transplant rejection.

After excluding acute toxic effects by animal experiments, a potential pharmaceutical has to pass through several preclinical and clinical phases for its marketing authorization.

6. Summary and Outlook

The promising results of the chlorin library give reason for further examination necessary for clinical proving. In the first instance, these are focused on the determination of the PDT-activity *in vivo*.

Also an enhancement of the chlorin by chemical modification is possible. Insertion of metal ions like palladium and tin could raise the quantum yield of singlet oxygen production, even though associated with a shift of absorption to lower wavelength.

7. Experimenteller Teil

7.1 Allgemeine experimentelle Bedingungen

7.1.1 Analytische Methoden

Schmelzpunktbestimmung: Die Schmelzpunktmessungen erfolgten an einem Schmelzpunktgerät der Firma Reichert-Jung und sind unkorrigiert. Die Lösungsmittel wurden beim jeweiligen Experiment angegeben.

Kernresonanzspektroskopie (¹H-NMR): Die Experimente wurden an einem DPX-200 Advance (ν : ¹H = 200 MHz) oder einem AM-360 NMR-Gerät (ν : ¹H = 360 MHz, ¹³C = 90 MHz) der Firma Bruker-Daltonic bei Raumtemperatur durchgeführt. Es wurden NMR-Röhrchen mit 5 mm Durchmesser verwendet. Der Standard wurde durch die Spektrometer-Software der Firma Bruker-Daltonic vorgegeben. Die chemische Verschiebung (in ppm) wurde mittels undeuterierter Lösungsmittelreste bestimmt. Die Feinstruktur der Protonensignale wurde mit s (Singulett), br (breites Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett), m (Multiplett) usw. beschrieben.

Infrarot-Spektroskopie (IR): Die Spektren wurden an einem Paragon 500 FT-IR-Spektrometer der Firma Perkin-Elmer mit einer Auflösung von 4,0 cm⁻¹ aufgenommen. Die relativen Intensitäten der Banden wurden mit s (Bande starker Intensität), m (Bande mittlerer Intensität), w (Bande schwacher Intensität) und br (breite Bande) gekennzeichnet.

UV/VIS-Spektroskopie: Die Aufnahmen wurden an einem Cary 50 Spektrometer der Firma Varian oder mit einem Spektrometer mit Diodenarray-Detektor der Firma HP (8453) durchgeführt. Für die quantitativen Messungen wurden 10⁻⁵ molare Lösungen verwendet.

$$E = \varepsilon \cdot c \cdot d$$

E gemessene Absorption bei einer Wellenlänge λ

ε molarer Extinktionskoeffizient in cm² · mmol⁻¹

c Konzentration in mol · L⁻¹

d Schichtdicke in cm

7. Experimenteller Teil

Fluoreszenzspektroskopie: Die Fluoreszenz-Spektren wurden mit einem Spektrofluorimeter der Firma Varian Cary (eclipse) aufgenommen. Die Fluoreszenz-Kinetik wurde mittels eines Spektrafluorimeters F900 der Firma Edinburgh gemessen. Die jeweilige angeregte Wellenlänge wurde in nm angegeben. Die Proben wurden in einem Konzentrationsbereich von ungefähr 10^{-5} molar gemessen.

Transienten-Absorptionsspektroskopie: Die Flash-Photolyse wurde bei $\lambda_{\text{exc}} = 410\text{--}690$ nm durch einen Nd-YAG-Laser + OPO angeregt, die Absorptionssignale mit einem Luzchem-System gemessen. Die Phosphoreszenz des Singulett-Sauerstoffs wurde nach einem Puls mit einem gekühlten Ge-Detektors der Firma North Coast (EO 817FP) bei 1269 nm detektiert. Dabei wurde ein Silikon-Filter, ein Interferenz-Filter und ein Amplifier der Firma Comlinear (CLC-103) wie in der Literatur beschrieben genutzt.^[46]

Massenspektrometrie (MS): Elektrospray-Ionisation Massenspektrometrie (ESI) wurde mit einem Ionenfallenmassenspektrometer ESQUIRE-LC der Firma Bruker mit einer Kapillarspannung von 3,8 kV und einer Flussrate von 2 $\mu\text{L}/\text{min}$ aufgenommen. Die Injektion erfolgte über eine Spritzenpumpe.

Die Elektronenstoßionisation Massenspektren wurden mit einem Gerät der Firma Finnigan MAT 8222 durchgeführt. Die Ionisationsenergie betrug 70 eV und die Quelltemperatur 200°C. Die Probenezufuhr erfolgte direkt. Die Verdampfungstemperatur ist angegeben.

Die MALDI-Massenspektren wurden mit einem Gerät der Firma Voyager durchgeführt. Das Reaktandgas ist jeweils angegeben.

7.1.2 Chromatographie

Säulenchromatographie: Als Adsorbens wurde Kieselgel 32-63 μm , 60 \AA der Firma ICN Biomedicals und Matrex-Kieselgel LC 20-45 μm 60 \AA der Firma Amicon verwendet. Es wurde weiterhin Kieselgel 100 C18-Reversed Phase, der Firma Fluka mit einer Partikelgröße von 0.015-0.035 mm verwendet. Zur Gel-Permeations-Chromatographie wurde Sephadex LH-20 der Firma GE Healthcare verwendet. Die Säulen wurden nach der Slurry-Methode (Aufschlämmen des Adsorbens) gepackt. Säulen mit Aluminiumoxid, neutral, Aktivität II-III nach Brockmann der Firma ICN Biomedicals wurden nach der Sedimentationsmethode gepackt. Die mobilen Phasen wurden beim jeweiligen Experiment angegeben.

Dünnschichtchromatographie (DC): Es wurden DC-Kieselgel-Platten 60 F₂₅₄, 20 · 20 cm² mit einer Schichtdicke von 0,2 mm und Aluminiumoxid-Platten Alox N/F₂₅₄ mit einer Schichtdicke von 0,2 mm der Firma Fluka verwendet und auf ca. 2,5·7,5 cm² zurechtgeschnitten. Des Weiteren wurden Glas-Platten beschichtet mit RP 8 F₂₅₄, 5 · 20 cm² mit einer Schichtdicke von 0,25 mm der Firma Merck verwendet. Die Detektion der Banden erfolgte mit einer Fluoreszenz-Lampe bei 254 bzw. 466 nm. Die Laufmittelsysteme sind jeweils angegeben.

Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC): Die qualitativen Messungen wurden mit einer HPLC-Pumpe 64 der Firma Knauer, mit Zweikanal-Potentiometerschreiber SE 120 der Firma BBC Goerz Metrawatt und einem UV-Spektrometer der Firma Knauer durchgeführt. Die Parameter Säule, Fließgeschwindigkeit und Lösungsmittel wurden beim jeweiligen Experiment angegeben.

7.1.3 Qualität der verwendeten Chemikalien und Lösungsmittel

Reagenzien: Die verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen Acros, Fluka, Merck, Aldrich oder Riedel-de-Häen in der Qualität „zur Synthese“ oder höherer Reinheit bezogen. Empfindliche Reagenzien wurden frisch destilliert. Die etherische Diazomethan-Lösung wurde aus Diazogen (N-Methyl-N-nitroso-4-toluol-sulfonamid) nach der gebräuchlichen Vorschrift hergestellt und über Kaliumhydroxid bei -20°C gelagert.

Als Schutzgas wurde technisches Argon 5.0 oder technischer Stickstoff 5.0 der Firma Linde eingesetzt.

Lösungsmittel: Alle verwendeten Lösungsmittel wurden für die Synthese, sowie für die Dünnschicht- und Säulenchromatographie zuvor destilliert. Trockene Lösungsmittel wurden nach Standardverfahren über dem unten angegebenen Trockenmittel abdestilliert.

Dichlormethan	über Phosphorpentoxid abdestilliert
Diethylether	über Natrium/Benzophenon abdestilliert
Methanol	über Calciumoxid abdestilliert
Tetrahydrofuran	über Natrium/Benzophenon abdestilliert
Toluol	über Calciumchlorid abdestilliert
Triethylamin	über Calciumhydrid abdestilliert
o-Xylol	über Calciumhydrid abdestilliert

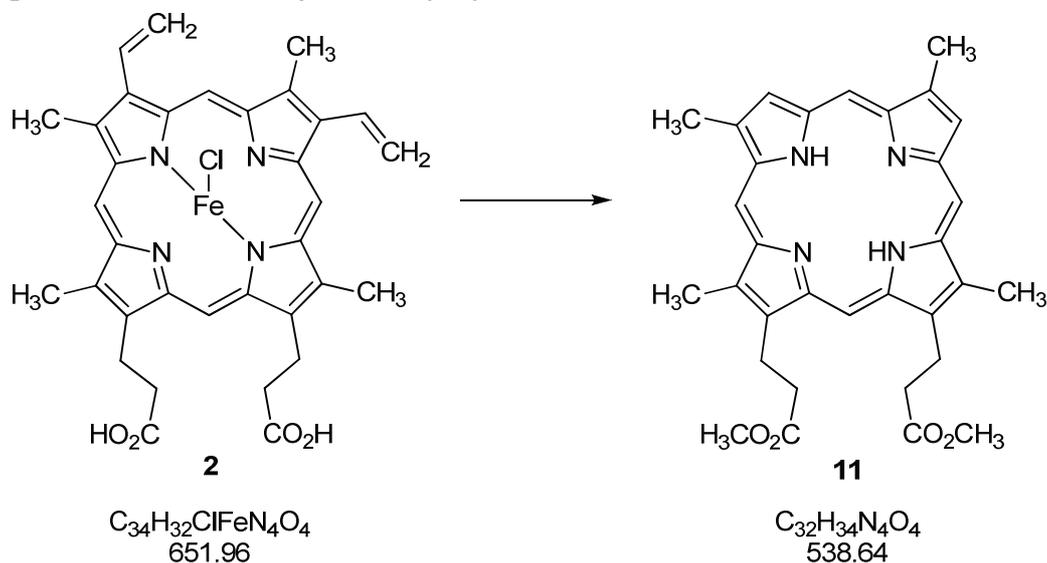
Die verwendeten Abkürzungen orientierten sich an den allgemeinen Vorgaben der *Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh)* für die Zeitschrift *Angewandte Chemie*.^[48] Weitere verwendete Abkürzungen finden sich im Abkürzungsverzeichnis im Anhang wieder.

7.1.5 Software und Datenbanken

Die Formelbilder wurden mit der Software ChemDraw Ultra 11.0 der Firma CambridgeSoft erstellt. Die Auswertung der NMR-Spektren erfolgte mit MestReC 4.9.9.9 der Firma Mestrelab Research.

Die Literaturrecherche erfolgte mit MDL Beilstein Crossfire Commander V7.1 (Datenbank BS 100300AE 2010/09) oder SciFinder Scholar 2010 der American Chemistry Society. Falls zum Zeitpunkt der Recherche Einträge in den entsprechenden Datenbanken vorhanden waren, so wurde die Registriernummer (BRN und CAS) im Anschluss an die analytischen Daten der Experimente angehängt.

7.2 Synthese von Heptylchlorin-dicarbonsäuren

7.2.1 Darstellung von 3,3'-[2,7,12,18-Tetramethylporphyrin-13-17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (**11**)^[37a, 49]

5 g (80 % Reinheit, 6.13 mmol) Heminchlorid **2** wurden mit 20 g (0.18 mol, 23 eq.) Resorcin vermischt und unter Argon auf 165 °C erhitzt. Die Schmelze wurde für 45 min. intensiv gerührt. Nach Entfernen des Metallbades wurden sofort vorsichtig 100 mL Diethylether über einen Rückflusskühler zu der noch heißen Schmelze gegeben. Die Suspension wurde über einen D3-Glasfiliertiegel filtriert und der Rückstand bis zur Farblosigkeit des Filtrats mit Ether (300 mL) gewaschen. Nach dem Trocknen im Hochvakuum wurde der Feststoff in 35 mL Pyridin suspendiert und mit 125 mL Methanol versetzt. Anschließend wurden 25 g (89.2 mmol) Eisen(II)-sulfat-heptahydrat dazu gegeben. Die Lösung wurde mit einer Eis-Kochsalz-Kältemischung auf 0 °C abgekühlt. Es wurde bei 0 °C für ca. 4 h trockenes HCl-Gas kräftig eingeleitet, woraufhin sich die Lösung rotviolett färbte. Nach Ablauf der Reaktion wurde die Lösung auf 150 mL Eis gegossen und erschöpfend mit insgesamt 600 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über heiße Watte filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die Aufarbeitung erfolgte mittels Säulenchromatographie (5 cm-Säule, 500 g Aluminiumoxid Aktivität II-II, CH₂Cl₂). Trocken im Vakuum einer Ölpumpe ergab 2.6 g (4.83 mmol) Deuteroporphyrin-IX-dimethylester **11** (79 % d. Th.).

Schmelzpunkt: 221 °C (Lit.: 221.5-223 °C)^[37a];

DC (CH₂Cl₂/EtOAc 10+1): R_f = 0.75;

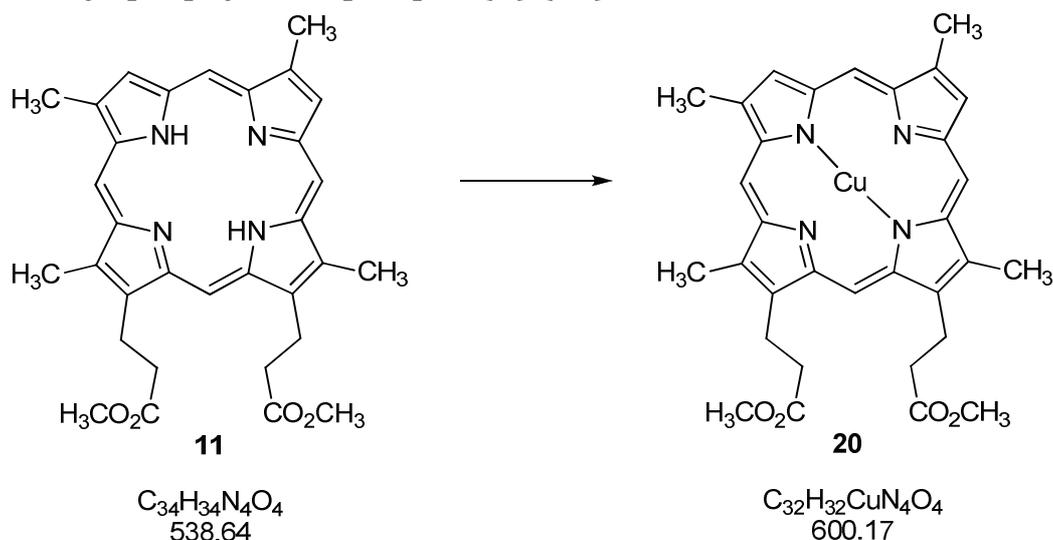
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3400 cm⁻¹ (m, b, N-H), 2880 (m), 1730 (s, C=O Ester), 1435 (m), 1365 (m), 1300 (w), 1195 (s), 1170 (s), 1105 (m), 980 (m), 920 (w), 845 (s), 790 (w), 735 (s), 710 (w), 675 (m);

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ = -4.02 (s, 2H, NH), 3.23, 3.24 (2t, 4H, 13²-CH₂, 17²-CH₂), 3.55 (s, 6H, 13-OCH₃, 17-OCH₃), 3.63, 3.64, 3.66, 3.67 (4s, 12H, 2,7,12,18-CH₃), 4.34, 4.35 (2t, 4H, 13¹-CH₂, 17¹-CH₂), 9.0 (s, 2H, 3-H, 8-H), 9.92, 9.96, 9.97, 9.99 (4s, 4H, 5,10,15,20-H) ppm;

MS (EI, 70 eV, 300 °C, direkt): m/z (% rel. Intensität) = 538 (100) [M]⁺, 465 (75) [M-C₃H₅O₂]⁺ (benzylartige Spaltung), 392 (30) [M-2C₃H₅O₂]⁺ (benzylartige Spaltung).

7. Experimenteller Teil

7.2.2 Darstellung von [13,17-Bis-(2-methoxycarboylethyl)-2,7,12,18-tetramethyl-porphyrinato]-Kupfer(II) (**20**)



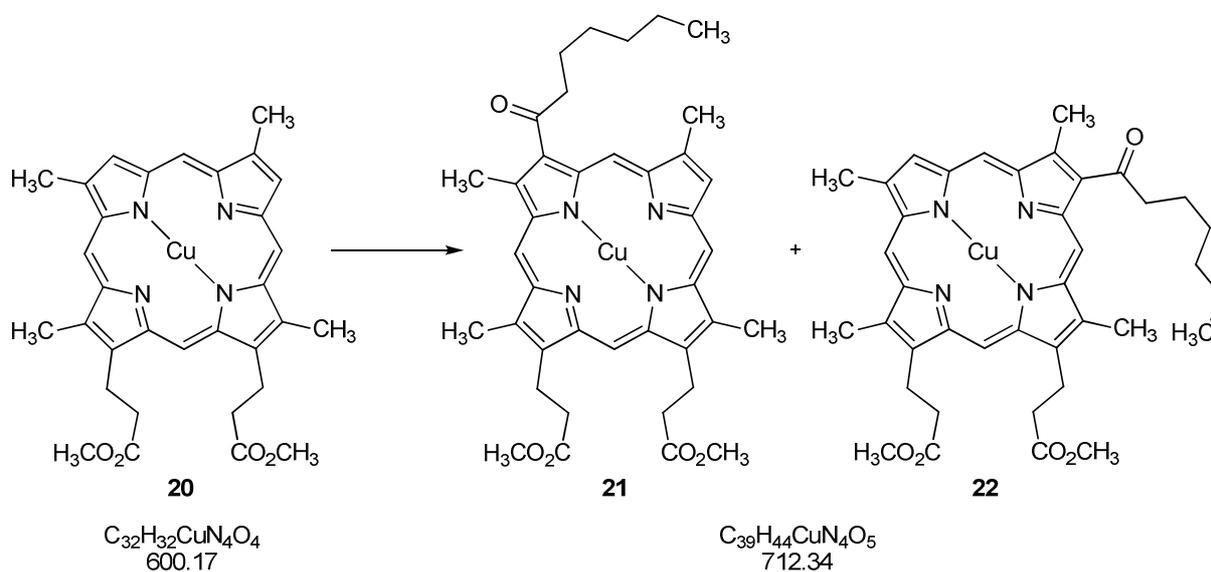
2.6 g (4.83 mmol) Deuterioporphyrin-IX-dimethylester **11** wurden in 300 mL Chloroform gelöst und mit 1.16 g (5.8 mmol) Kupfer(II)-acetat-Monohydrat, gelöst in 400 mL heißem Methanol, versetzt. Die Reaktionsmischung wurde für 3 h unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde mit 400 mL Wasser versetzt und mit Dichlormethan erschöpfend extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden daraufhin über heißer Watte filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhielt 2.9 g (4.83 mmol) des roten Kupfer-deuterioporphyrin-IX-dimethylester **20** (99 % d. Th.).

Schmelzpunkt: 236 °C (Lit: 236 °C);

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3400\text{ cm}^{-1}$ (m, N-H), 2880 (w, C-H), 1730 (s, C=O Ester), 1435 (m), 1415 (w), 1385 (w), 1355 (m), 1320 (m), 1305 (w), 1280 (m), 1235 (m), 1200 (s), 170 (m), 1140 (m), 1125 (m), 1115 (w), 1055 (w), 1030 (w), 970 (w), 955 (w), 930 (w), 890 (m), 840 (s), 825 (s), 745 (w), 680 (w), 670 (w);

MS (EI, 70 eV, 300 °C, direkt): m/z (% rel. Intensität) = 599 (100) $[M]^+$, 526 (30) $[M-C_3H_5O_2]^+$ (benzylartige Spaltung), 453 (15) $[M-2C_3H_5O_2]^+$ (benzylartige Spaltung).

7.2.3 Darstellung von [3,3'-[3-(1-Oxoheptyl)-2,7,12,18-tetramethylporphyrinato-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester]-kupfer(II) (21) im Gemisch mit dem 8-(1-Oxoheptyl)-Konstitutionsisomeren (22)



Eine Lösung von 0.83 g (1.38 mmol) Kupfer-deuterioporphyrin-IX-dimethylester **20** wurde in 230 mL trockenem Dichlormethan gelöst und unter Argonatmosphäre mit 12 mL (0.045 mol, 33 eq.) Heptansäureanhydrid versetzt. Anschließend wurde mit einer Ethanol/Stickstoff-Kältemischung auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt. Über einen Tropftrichter wurden 1.4 mL Zinntetrachlorid in 80 mL trockenem Dichlormethan über einen Zeitraum von 6 min hinzugegeben. Das grüne Reaktionsgemisch wurde noch weitere 10 min bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und der Reaktionsverlauf mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 250 mL Eiswasser beendet.

Anschließend wurde die wässrige Phase von der organischen Phase getrennt und 5-mal mit Dichlormethan extrahiert (ges. 250 mL). Die vereinigten organischen Phasen wurden daraufhin 2-mal mit dest. Wasser, 3-mal mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und 2-mal mit ges. NaCl -Lösung extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über heiße Watte filtriert. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der tiefrote Rückstand im Hochvakuum von überschüssigem Heptansäureanhydrid getrennt.

Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte durch Säulenchromatographie (Aluminiumoxid, Aktivität II-III, CH_2Cl_2 /Petrolether, 29+1). Man eluierte nacheinander 50 mg (0.08 mmol) Edukt **20** (6 % d. Th.) und 0.90 g (1.26 mmol) eines Gemisches der Konstitutionsisomeren 3- und 8-Kupfer-oxoheptylprodukte **21** und **22** (92 % d. Th., bzw. 97 % d. Th. bezogen auf umgesetztes Edukt).

7. Experimenteller Teil

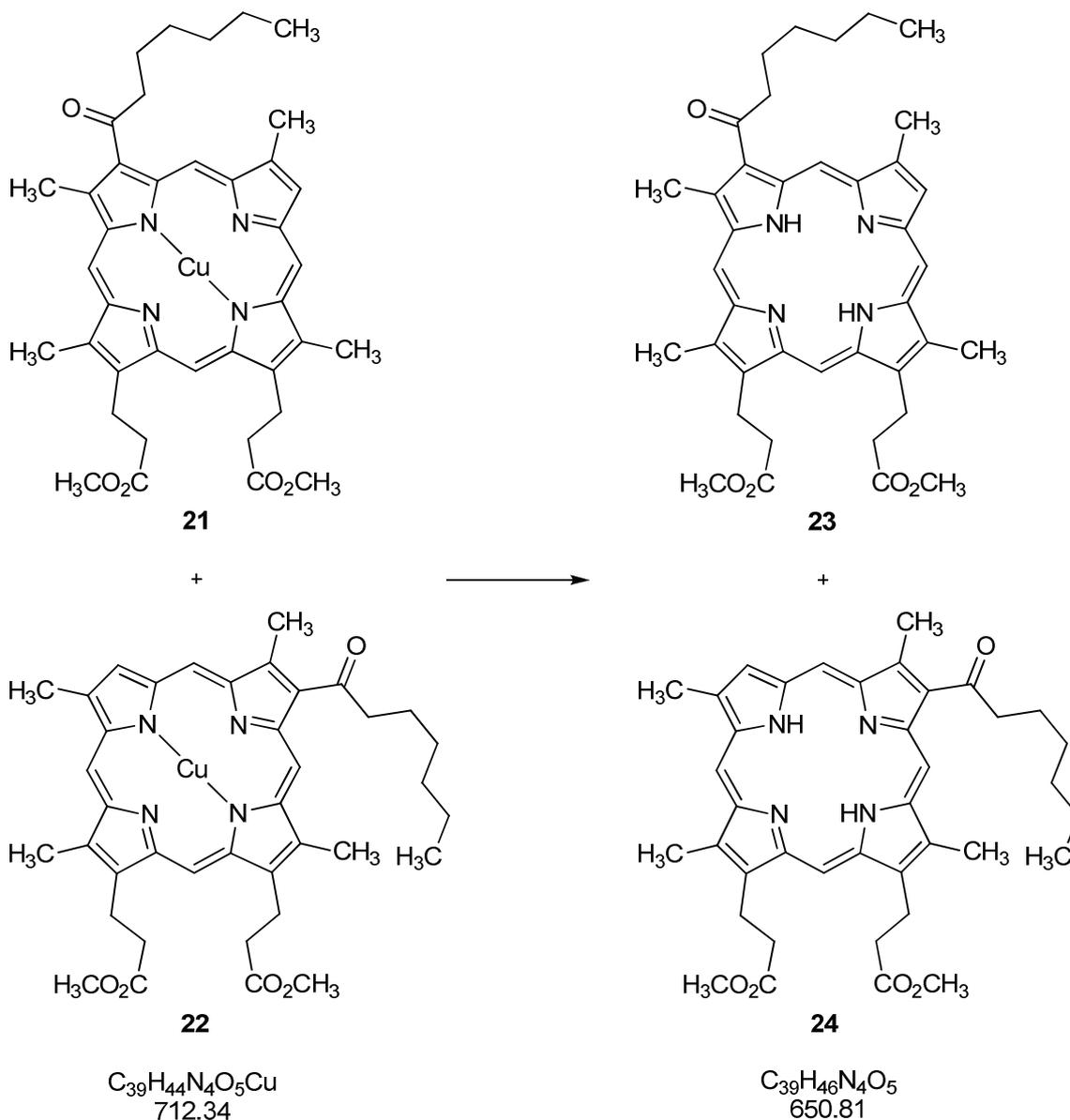
DC (Alox, CH₂Cl₂/Petrolether): R_{f1} = 0.46 (Edukt), R_{f2} = 0.27;

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3400 cm⁻¹ (m, N-H), 2900 (w, C-H), 1725 (s, C=O Ester), 1645 (m, C=O Carbonyl), 1430 (m), 1380 (m), 1350 (m), 1165 (m), 1120 (w), 840 (m), 745 (w);

UV/VIS (CHCl₃): λ_{\max} (ϵ) = 406 (186100); 532 (10700), 577 (18400);

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: m/z = 712 [M+H]⁺, 734 [M+Na]⁺, 750 [M+K]⁺.

7.2.4 Darstellung von 3,3'-[3-(1-Oxoheptyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (23) im Gemisch mit dem 8-(1-Oxoheptyl)-Konstitutionsisomeren (24)



0.90 g (1.26 mmol) des Konstitutionsisomeren-Gemisch **21** und **22** wurden unter Argonatmosphäre mit 8 mL Trifluoressigsäure suspendiert und mit 35 mL konz. Schwefelsäure versetzt. Nach 1.5-stündigem Rühren unter Argon wurde die grüne Reaktionslösung auf 300 mL Eiswasser gegossen und die wässrige Phase abgetrennt. Es wurde 5-mal mit insgesamt 250 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen je 2-mal mit Wasser gewaschen. Nach Filtrieren über heiße Watte wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand an der Ölpumpe getrocknet. Das Rohprodukt wurde unter Argonatmosphäre mit 30 mL etherischer

7. Experimenteller Teil

Diazomethanlösung versetzt und unter Argon bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde mittels DC verfolgt. Daraufhin wurde das Lösungsmittel und überschüssiges Diazomethan am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand an der Ölpumpe getrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, CH₂Cl₂+MeOH, 30+1) gereinigt. Man erhielt 0.69 g (1.06 mmol) eines violetten Gemischs aus den metallfreien Deuteroporphyrin-IX-dimethylestern **23** und **24** (84 % d. Th.).

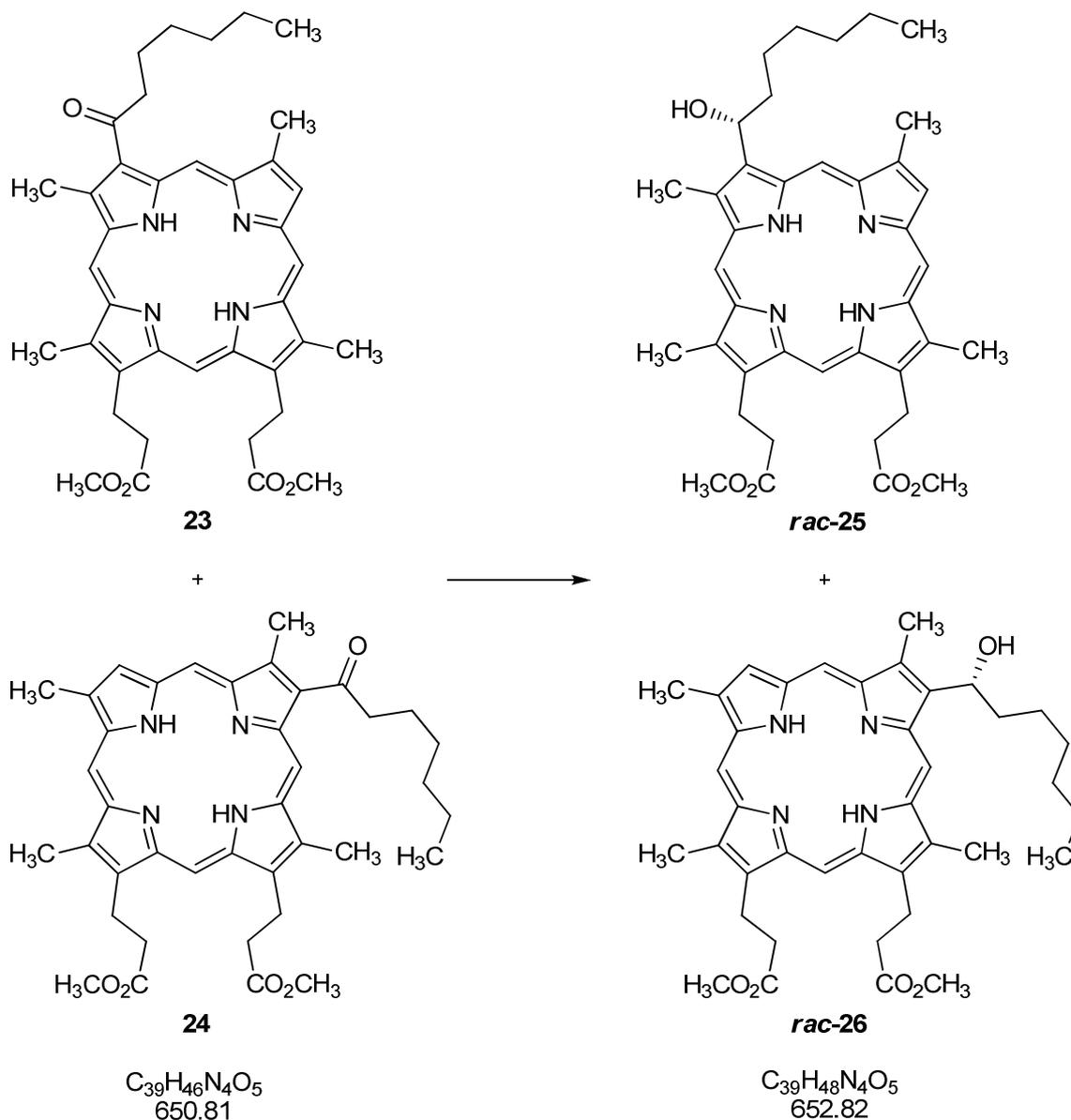
DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH, 15+1): R_f = 0.78;

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3400 cm⁻¹ (m, N-H), 2900 (w, C-H), 1725 (s, C=O Ester), 1640 (w, C=O Carbonyl), 1430 (w), 1350 (w), 1160 (m), 950 (w), 840 (w), 730 (m), 670 (w);

UV/VIS (CHCl₃): λ_{\max} (ϵ) = 406 (136500), 507 (9700), 544 (10200), 575 (6400), 630 (1400);

MS (EI, 70 eV, 300 °C, direkt): m/z (% rel. Intensität) = 650 (100) [M]⁺, 711 (15) [M-2H+Cu]⁺.

7.2.5 Darstellung von (\pm)-3,3'-[(3RS)-(1-Hydroxyheptyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (*rac*-25) im Gemisch mit dem (\pm)-(8RS)-(1-Hydroxyheptyl)-Konstitutionsisomeren (*rac*-26) und deren chromatographische Trennung



0.69 g (1.06 mmol) eines Gemisches der konstitutionsisomeren 3-/8-Oxoheptyl-deuteroporphyrin-IX-dimethylester **23** und **24** wurden unter Argonatmosphäre in 200 mL trockenem Dichlormethan gelöst und mit einem Ethanol/Stickstoff-Kältebad auf $-15\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. 0.62 g (16.4 mmol, 15 eq.) Natriumborhydrid wurden unter Argon in 100 mL auf $-15\text{ }^\circ\text{C}$ vorgekühltem, trockenem Methanol gelöst und rasch zur Reaktionslösung gegeben. Daraufhin wurde das Kältebad entfernt und das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur kräftig gerührt. Der Fortgang der Reaktion wurde dabei mittels Dünnschichtchromatographie

7. Experimenteller Teil

(Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 7+1) verfolgt. Nach 1 h wurde die Reaktion durch Zugabe von 2.1 mL Eisessig beendet, wodurch überschüssiges Natriumborhydrid zerstört wurde. Die Lösung wurde 3-mal mit Wasser (insgesamt 400 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über heiße Watte filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach dem Trocknen an der Ölpumpe wurde das Rohproduktgemisch mittels Säulenchromatographie (200 g Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 7+1) gereinigt. Man erhielt 0.60 g des tiefvioletten Konstitutionsisomerengemisches *rac*-**25** und *rac*-**26**.

Die Trennung der Konstitutionsisomere erfolgte chromatographisch mittels einer Stufensäule (Länge:30 cm, Anzahl der Stufen: 4, Stufenhöhe: 10 cm). In einer Trennung wurden 0.2 g Isomerengemisch mit 130 g Matrex-Kieselgel als stationäre Phase und Dichlormethan/1,4-Dioxan, 96.5+3.5 als mobile Phase innerhalb von 16 h getrennt. Das 3-Isomere verließ aufgrund der geringeren Polarität zuerst die Säule. Die erhaltene Mischfraktion wurde einer weiteren Trennung unterzogen. Auf diese Weise wurden 0.6 g Isomerengemisch getrennt. Man erhielt 0.29 g (0.46 mmol) von reinem 3-Hydroxyheptyl-deuteroporphyrin-dimethylester *rac*-**25** (50 % d. Th.) und von reinem 0.25 g (0.38 mmol) 8-Hydroxyheptyl-deuteroporphyrin-dimethylester *rac*-**26** (41 % d. Th.). Die Gesamtausbeute an beiden Isomeren betrug demnach 91 % d. Th.

DC (Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 7+1): R_{f1} = 0.78 (Deuteroporphyrin-IX-dimethylester), R_{f2} = 0.63 (*rac*-**31**+*rac*-**32**), R_{f3} = 0.33 (disubstituiertes Produkt);

DC (Kieselgel, CH₂Cl₂+1,4-Dioxan, 97+3): R_{f1} = 0.33 (3-Hydroxyheptyl *rac*-**31**, R_{f2} = 0.29 (8-Hydroxyheptyl *rac*-**32**).

3-Hydroxyheptyl-deuteroporphyrin-IX-dimethylester *rac*-25:

Schmelzpunkt (CH₂Cl₂/MeOH): 155 °C;

HPLC (Nucleosil 50-10, Dichlormethan/1,4-Dioxan 96:4, 1.5 mL/min, UV 405 nm): t_R = 3.1 min;

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3500 cm⁻¹ (m, O-H), 3300 (m, N-H), 2940 (s, C-H), 2920 (s, C-H), 2840 (m, C-H), 1725 (s, C=O Ester), 1600 (w), 1495 (w), 1430 (s), 1360 (m, δ O-H), 1290 (m), 1230 (m), 1190 (s), 1160 (s, C-O), 1115 (m), 1100 (m, C-O), 1070 (w), 1050 (m), 1020 (m), 995

(w), 975 (w), 950 (w), 925 (w), 900 (w), 865 (w), 840 (m), 830 (m), 740 (s), 725 (s), 710 (m), 670 (m);

UV/VIS (CHCl₃): λ_{\max} (ϵ) = 401 (182800), 498 (15000), 532 (9400), 567 (6800), 620 (4700);

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ = -3.95 (s, 2H, NH), 0.78 (t, ³J = 6.5 Hz, 3H, 3⁷-CH₃), 1.18, 1.34 (2m, 8H, 3³-3⁶-CH₂), 1.64, 2.60 (2m, 2H, 3²-CH₂), 2.49 (m, 1H, 3-OH), 3.25, 3.27 (2t, ³J = 7 Hz, 4H, 13²-CH₂, 17²-CH₂), 3.54, 3.57, 3.58, 3.64, 3.65, 3.69 (6s, 18H, 2-, 7-, 12-, 13-, 17-, 18-CH₃), 4.32, 4.34 (2t, ³J = 7 Hz, 4H, 13¹-CH₂, 17¹-CH₂), 6.08 (t, ³J = 7.2 Hz, 1H, 3¹-CH), 9.06 (s, 1H, 8-H), 9.97, 10.34 (2s, 4H, 5-, 10-, 15-, 20-H) ppm;

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: m/z = 653 [M+H]⁺, 675 [M+Na]⁺, 691 [M+K]⁺; negativ: m/z = 651 [M-H]⁻, 683 [M+CH₃O]⁻.

8-Hydroxyheptyl-deuteroporphyrin-IX-dimethylester *rac*-26:

Schmelzpunkt (CH₂Cl₂/MeOH): 173 °C;

HPLC: Nucleosil 50-10, Dichlormethan/1,4-Dioxan (96:4), 1.5 mL/min, UV 405 nm, t_R = 3.65 min;

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3500 cm⁻¹ (m, O-H), 3300 (m, N-H), 2940 (s, C-H), 2920 (s, C-H), 2840 (m, C-H), 1725 (s, C=O Ester), 1600 (w), 1580 (w), 1495 (w), 1430 (s), 1405 (m), 1355 (m, δ O-H), 1340 (m), 1290 (m), 1265 (m), 1250 (m), 1225 (m), 1195 (s), 1160 (s, C-O), 1125 (m), 1105 (m, C-O), 1070 (w), 1050 (m), 1015 (m), 995 (m), 975 (m), 950 (w), 920 (w), 900 (w), 890 (w), 860 (w), 840 (m), 835 (m), 735 (s), 725 (s), 705 (m), 670 (m);

UV/VIS (CHCl₃): λ_{\max} (ϵ) = 620 nm (4400), 567 (7000), 531 (9300), 498 (15100), 401 (185500);

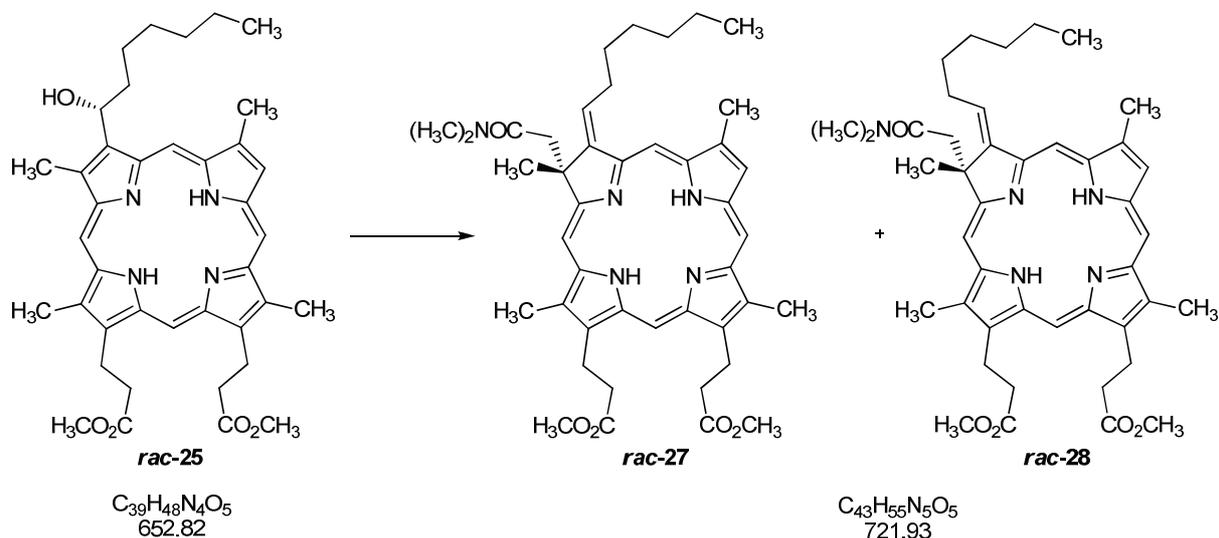
¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ = -3.97 (s, 2H, NH), 0.78 (t, ³J = 7.2 Hz, 3H, 3⁷-CH₃), 1.19, 1.34 (2m, 8H, 3³-3⁶-CH₂), 1.64, 2.59 (2m, 2H, 3²-CH₂), 2.48 (m, 1H, 3-OH), 3.24, 3.25 (2t, ³J = 7.2 Hz, 4H, 13²-CH₂, 17²-CH₂), 3.51, 3.57, 3.58, 3.65, 3.66, 3.71 (6s, 18H, 2-, 7-, 12-,

7. Experimenteller Teil

13-, 17-, 18-**CH**₃), 4.34, 4.37 (2t, ³*J* = 7.3 Hz, 4H, 13¹-**CH**₂, 17¹-**CH**₂), 6.05 (t, ³*J* = 7.5 Hz, 1H, 3¹-**CH**), 9.04 (s, 1H, 8-**H**), 9.93, 9.99, 10.01, 10.28 (4s, 4H, 5-, 10-, 15-, 20-**H**);

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: *m/z* = 653 [M+H]⁺, 675 [M+Na]⁺, 691 [M+K]⁺;
negativ: *m/z* = 651 [M-H]⁻, 683 [M+CH₃O]⁻.

7.2.6 Darstellung von 3,3'-[(2*RS*,3*Z*)-2-(Dimethylcarbamoylmethyl)-3-heptyliden-2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21*H*,23*H*-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (*rac*-27) im Gemisch mit dem *E*-Isomeren (*rac*-28)^[37b]



0.215 g (0.33 mmol) des Porphyrins *rac*-25 wurden in 50 mL trockenem *o*-Xylol mit dem Ultraschallbad suspendiert und mit 4.7 mL (32.1 mmol) *N,N*-Dimethylacetamid-dimethylacetal versetzt. Die Reaktion wurde unter Lichtausschluss mit einem mit trockenem Molekularsieb 4 Å gefüllten Soxhlet-Extraktor durchgeführt. Zunächst wurde innerhalb von 15 min unter Argonatmosphäre auf 130 °C erhitzt und 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde 150 min bei 165 °C unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden flüchtige Bestandteile und Lösungsmittel am Kugelrohr im Ölpumpenvakuum bei 55 °C entfernt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte mittels Säulenchromatographie (100 g Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 3+1). Man erhielt neben 20 mg (0.033 mmol) Edukt *rac*-25 (10 % d. Th.) 0.19 g (0.26 mmol) des braungrünen Chlorins *rac*-27 im Gemisch mit dem *E*-Isomeren *rac*-28 (80.0 % d. Th., bezogen auf umgesetztes Edukt 88.6 %).

DC (Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 3+1): $R_{f1} = 0.82$ (Edukt *rac*-25), $R_{f2} = 0.69$ (*rac*-27), $R_{f3} = 0.58$ (*rac*-28);

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3340$ cm⁻¹ (m, N-H), 2950 (s, C-H), 2920 (s, C-H), 2850 (m, C-H), 1725 (s, C=O Ester), 1620 (s, C=O Amid), 1605 (s, C=O Amid), 1555 (w), 1540 (w), 1510 (w), 1490 (w, δ C-N), 1445 (m), 1430 (m), 1390 (m), 1375 (m, δ C-H), 1355 (m), 1290 (w), 1255 (m),

7. Experimenteller Teil

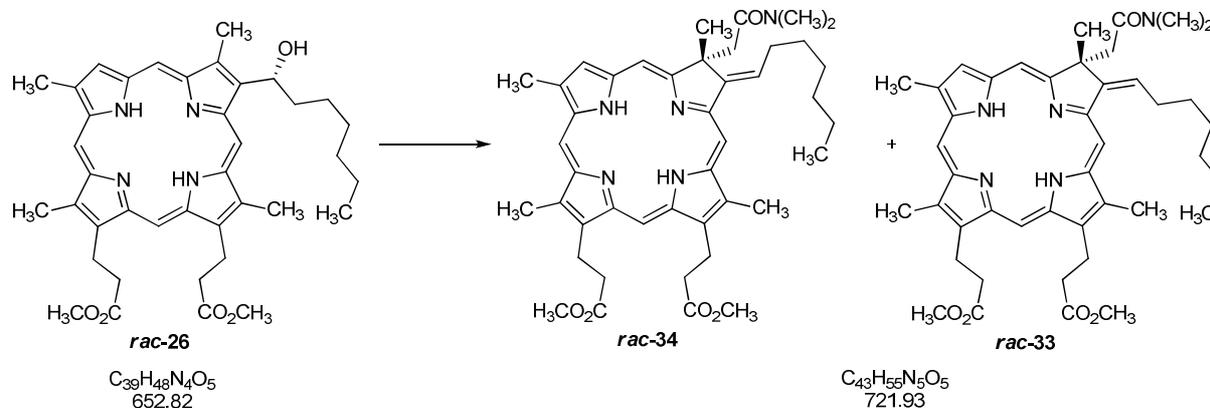
1230 (s), 1210 (m), 1185 (s), 1150 (s, C-O), 1100 (m), 1090 (m), 1075 (m), 1050 (m), 1015 (w), 975 (w), 945 (m), 890 (w), 850 (w), 835 (w), 750 (w), 735 (w), 720 (m), 705 (m), 655 (w);

UV/VIS (CHCl₃): λ_{max} (ϵ) = 401 (169300), 498 (11900), 504 (10800), 534 (13700), 603 (4600), 630 (3400), 659 (46600);

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ = -2.68, -2.52 (s, 2H, NH), 0.96 (t, ³J = 6.8 Hz, 3H, 3⁷-CH₃), 1.48 (m, 4H, 3⁵-, 3⁶-CH₂), 1.80 (m, 2H, 3⁴-CH₂), 1.96 (m, ³J = 7 Hz, 2H, 3³-CH₂), 2.20 (s, 3H, 2-CH₃), 2.27, 2.81 (2s, 6H, NCH₃), 2.95, 3.12 (2d, ²J = 14 Hz, 2H, 2¹-CH₂), 3.20 (m, 4H, 13²-, 17²-CH₂), 3.30 (m, ³J = 7 Hz, 2H, 3²-CH₂), 3.41 (s, 3H, 12-CH₃), 3.47 (s, 3H, 18-CH₃), 3.58 (s, 3H, 7-CH₃), 3.66, 3.68 (2s, 6H, 13-,17-CH₃), 4.18, 4.32 (2t, ³J = 6.8 Hz, 4H, 13¹-, 17¹-CH₂), 6.28 (t, ³J = 7 Hz, 1H, 3¹-CH), 8.86 (s, 1H, 20-H), 8.94 (s, 1H, 8-H), 9.48 (s, 1H, 5-H), 9.69 (s, 1H, 15-H), 9.71 (s, 1H, 10-H) ppm;

MS (Elektronenstoß, 70 eV, 250 °C, Direkteinlass): m/z (% rel. Intensität) = 721 (48) [M]⁺, 635 (100) [M-C₄H₈NO]⁺ (allyl. Spaltung), 634 (17) [M-C₄H₉NO]⁺ (McLafferty-Umlagerung), 564 (5), 561 (5), 491 (5).

7.2.7 Darstellung von 3,3'-[(7*RS*,8*Z*)-7-(Dimethylcarbamoylmethyl)-8-heptyliden-2,7,12,18-tetramethyl-7,8-dihydro-21*H*,23*H*-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (*rac*-33) im Gemisch mit dem E-Isomeren (*rac*-34)



0.184 g (0.28 mmol) des Porphyrins *rac*-**26** wurden in 40 mL trockenem *o*-Xylol mit dem Ultraschallbad suspendiert und mit 4.0 mL (27.4 mmol) *N,N*-Dimethylacetamid-dimethylacetal versetzt. Die Reaktion wurde unter Lichausschluss mit einem mit trockenem Molekularsieb 4 Å gefüllten Soxhlet-Extraktor durchgeführt. Zunächst wurde innerhalb von 15 min unter Argonatmosphäre auf 130 °C erhitzt und 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde 150 min bei 165 °C unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden flüchtige Bestandteile und Lösungsmittel am Kugelrohr im Ölpumpenvakuum bei 55 °C entfernt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte mittels Säulenchromatographie (75 g Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 3+1). Man erhielt neben 16 mg (0.024 mmol) Edukt *rac*-**26** (9 % d. Th.) 0.166 g (0.23 mmol) des braungrünen Chlorins *rac*-**33** im Gemisch mit dem E-Isomeren *rac*-**34** (82.0 % d. Th., bezogen auf umgesetztes Edukt 90.0 %).

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3340 cm⁻¹ (m, N-H), 2950 (s, C-H), 2920 (s, C-H), 2850 (m, C-H), 1725 (s, C=O Ester), 1620 (s, C=O Amid), 1605 (s, C=O Amid), 1555 (w), 1540 (w), 1510 (w), 1490 (w, δ C-N), 1445 (m), 1430 (m), 1390 (m), 1375 (m, δ C-H), 1355 (m), 1290 (w), 1255 (m), 1230 (s), 1210 (m), 1185 (s), 1150 (s, C-O), 1100 (m), 1090 (m), 1075 (m), 1050 (m), 1015 (w), 975 (w), 945 (m), 890 (w), 850 (w), 835 (w), 750 (w), 735 (w), 720 (m), 705 (m), 655 (w);

7. Experimenteller Teil

UV/VIS (CHCl_3): λ_{max} (ϵ) = 401 (169300), 498 (11900), 504 (10800), 534 (13700), 603 (4600), 630 (3400), 659 (46600);

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, CDCl_3): δ = -2.56 (s, 2H, **NH**), 0.97 (t, $^3J = 6.8$ Hz, 3H, 3^7-CH_3), 1.47 (m, 4H, 8^5- , 8^6-CH_2), 1.69 (m, 2H, 8^4-CH_2), 1.97 (m, , 2H, 8^3-CH_2), 2.10 (s, 3H, 7-CH_3), 2.27, 2.79 (2s, 6H, NCH_3), 3.11-3.26 (m, 6H, 7^1- , 13^2- , 17^2-CH_2), 3.31 (m, $^3J = 6.8$ Hz, 2H, 8^2-CH_2), 3.43 (s, 3H, 12-CH_3), 3.50 (s, 3H, 18-CH_3), 3.63 (s, 3H, 2-CH_3), 3.67, 3.69 (2s, 6H, 13- , 17-CH_3), 4.21, 4.37 (2t, $^3J = 7.1$ Hz, 4H, 13^1- , 17^1-CH_2), 6.30 (t, $^3J = 7$ Hz, 1H, 8^1-CH), 8.68 (s, 1H, **3-H**), 8.80 (s, 1H, **5-H**), 9.47 (s, 1H, **10-H**), 9.74 (2s, 2H, **15-**, **20-H**);

MS (Elektronenstoß, 70 eV, 250 °C, Direkteinlass): m/z (% rel. Intensität) = 721 (48) $[\text{M}]^+$, 635 (100) $[\text{M-C}_4\text{H}_8\text{NO}]^+$ (allyl. Spaltung), 634 (17) $[\text{M-C}_4\text{H}_9\text{NO}]^+$ (McLafferty-Umlagerung), 564 (5), 561 (5), 491 (5).

7. Experimenteller Teil

und daraufhin über einen Ballon mit Wasserstoff begast. Die Reaktionslösung wurde 15 min bei Raumtemperatur gerührt und rasch über eine Kieselgelsäule filtriert, um den Katalysator abzutrennen und die Reaktion zu beenden. Es wurde bis zur Farblosigkeit des Filtrats mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2+\text{EtOAc}$, 2+1 gespült. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (80 g Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2+\text{EtOAc}$, 6+1) gereinigt. Man erhielt 0.143 g (0.2 mmol) der *cis/trans*-Isomeren *rac*-**29** und *rac*-**30** (76 % d. Th.).

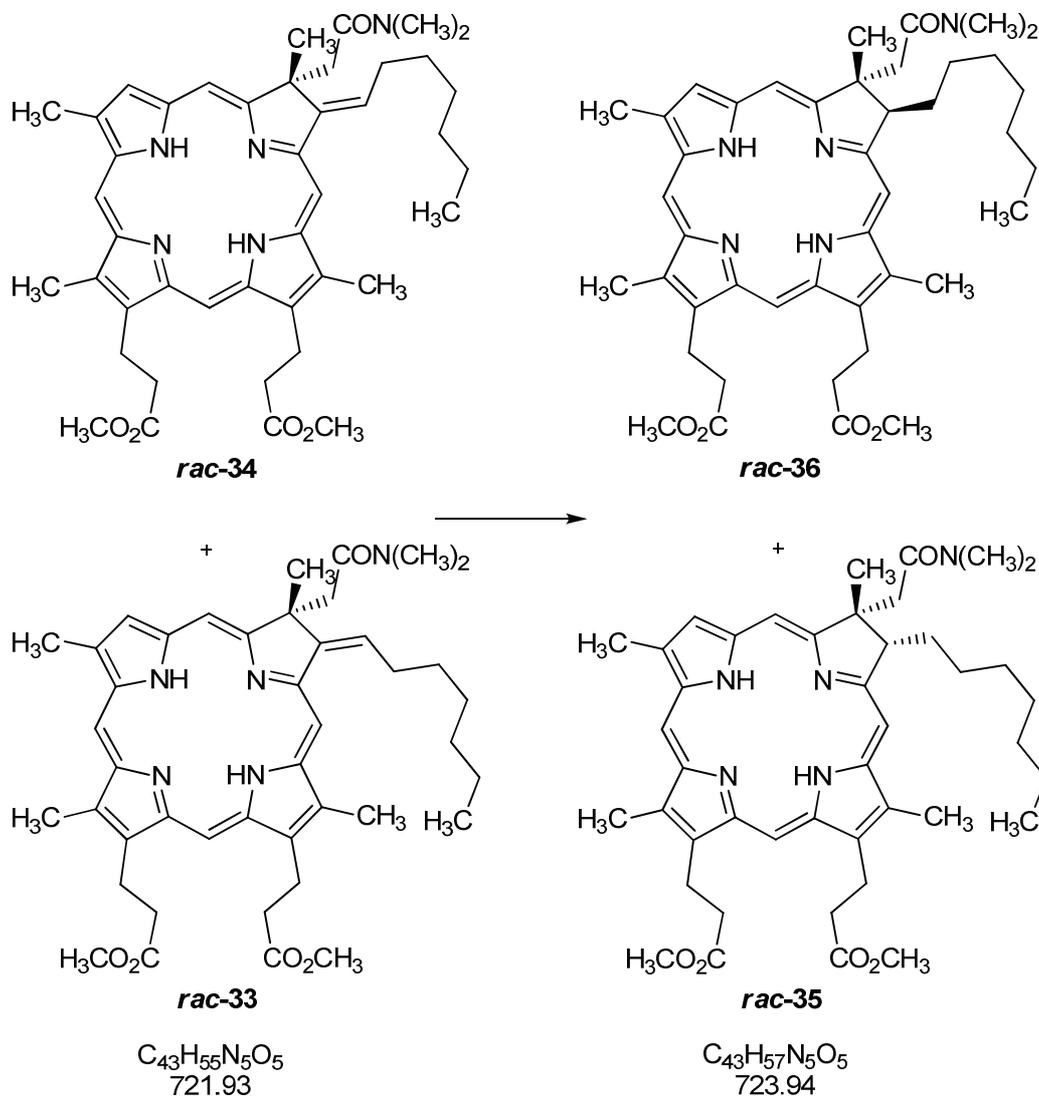
DC (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 4+1): $R_{f1} = 0.43$ (*cis*), $R_{f2} = 0.38$ (*trans*);

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3340 \text{ cm}^{-1}$ (m, N-H), 2925 (s, ν C-H), 2850 (m, ν C-H), 1730 (s, C=O Ester), 1630 (s, C=O Amid), 1610 (s, C=O Amid), 1540 (w), 1510 (w), 1485 (w), 1445 (m, δ C-H), 1430 (m, δ C-H), 1385 (sh), 1375 (sh), 1365 (m), 1345 (m), 1290 (m), 1230 (w), 1185 (s, C-O Ester), 1170 (s, C-O), 1100 (m), 1060 (w), 1050 (w), 975 (w), 955 (w), 945 (w), 910 (m), 880 (w), 845 (w), 825 (w), 815 (w), 770 (w), 745 (w), 715 (m), 700 (m), 680 (w);

UV/VIS (CHCl_3): λ_{max} (ϵ) = 645 nm (49100), 618 (3600), 593 (4100), 524 (3200), 497 (12500), 490 (12600), 393 (172800);

MS (ESI, $\text{MeOH}+\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 10+1) positiv: $m/z = 724$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 746 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 762 $[\text{M}+\text{K}]^+$; negativ: $m/z = 722$ $[\text{M}-\text{H}]^-$.

7.2.9 Darstellung von 3,3'-[(*cis*-7*RS*,8*SR*)-7-(Dimethylcarbamoylmethyl)-8-heptyl-2,7,12,18-tetramethyl-7,8-dihydro-21*H*,23*H*-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (*rac*-35) im Gemisch mit dem *trans*-Isomeren (*rac*-36)



0.150 g (0.21 mmol) der E/Z-isomeren Chlorine *rac*-33 und *rac*-34 wurden in 6.0 mL trockenem Tetrahydrofuran gelöst und mit 9 mg (0.042 mmol) Palladium(II)-acetat, gelöst in 1.3 mL Tetrahydrofuran sowie mit 1.6 mL (0.09 mol) dest. Wasser versetzt. Das Reaktionsgefäß wurde daraufhin über einen Reitmeyeraufsatz im Vakuum einer Wasserstrahlpumpe evakuiert und mit Argon gespült. Dies wurde 3-mal wiederholt. Anschließend wurden 0.37 mL frisch dest. Triethoxysilan hinzugegeben, mit Argon gespült und daraufhin über einen Ballon mit Wasserstoff begast. Die Reaktionslösung wurde 15 min bei Raumtemperatur gerührt und rasch über eine Kieselgelsäule filtriert, um den Katalysator abzutrennen und die Reaktion zu beenden. Es wurde bis zur Farblosigkeit des Filtrats mit

7. Experimenteller Teil

CH₂Cl₂+EtOAc, 2+1 gespült. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (100 g Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 4+1) gereinigt. Man erhielt 0.113 g (0.156 mmol) der *cis/trans*-Isomeren *rac*-**35** und *rac*-**36** (74 % d. Th.).

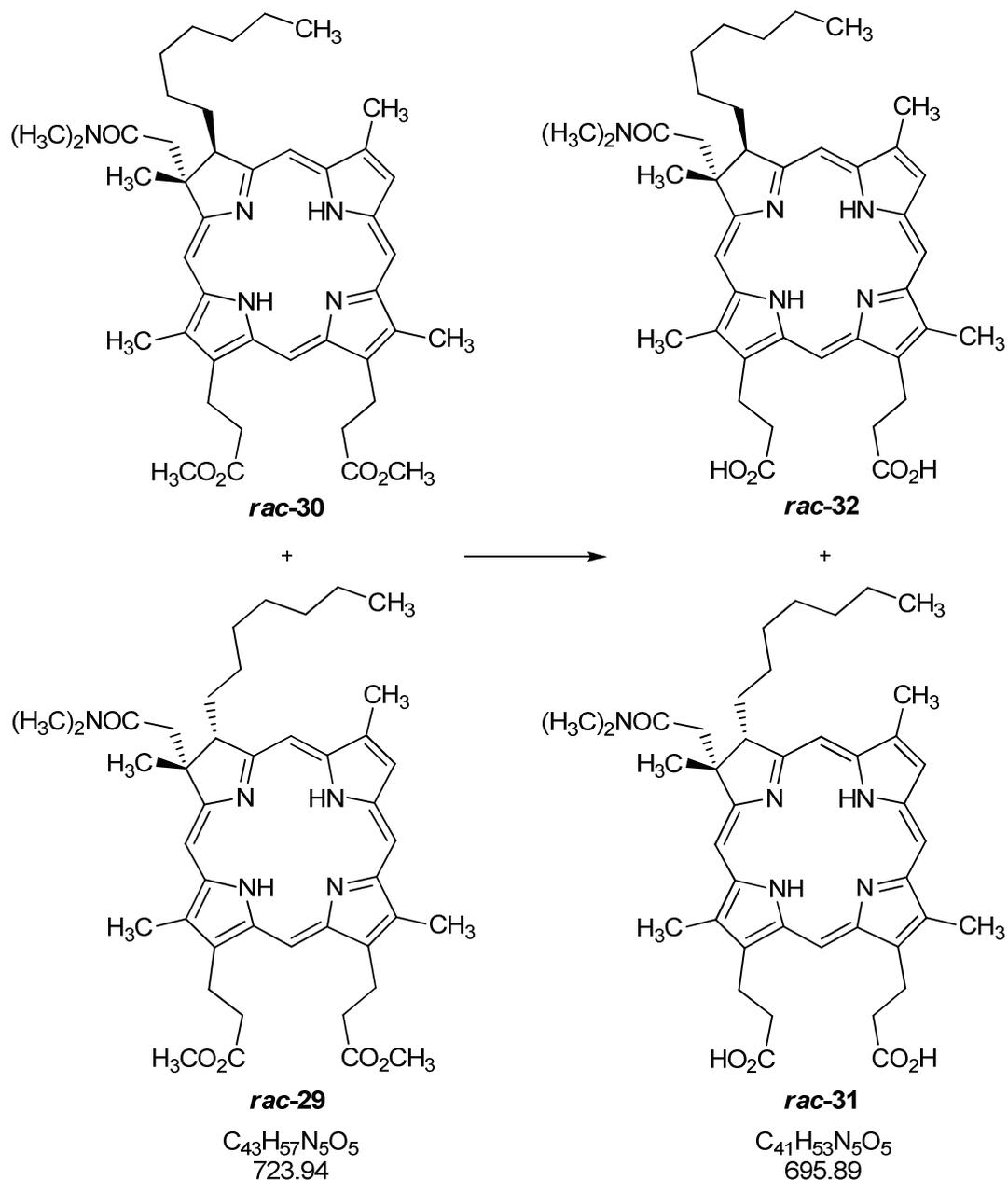
DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/EtOAc, 4+1): R_{f1} = 0.56 (*cis*), R_{f2} = 0.47 (*trans*);

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3330 cm⁻¹ (m, N-H), 3040 (s, v C-H), 2910 (s, v C-H), 2840 (m, v C-H), 1725 (s, C=O Ester), 1630 (s, C=O Amid), 1600 (s, C=O Amid), 1530 (w), 1515 (w), 1485 (w), 1475 (w), 1425 (m, δ C-H), 1390 (m), 1360 (m), 1320 (w), 1290 (w), 1260 (m), 1225 (w), 1190 (s, C-O Ester), 1160 (s, C-O), 1115 (w), 1095 (m), 1080 (m), 1065 (m), 1040 (w), 1015 (w), 965 (w), 935 (m), 900 (w), 880 (w), 840 (w), 820 (m), 770 (w), 755 (w), 725 (m), 710 (m), 700 (m), 670 (m);

UV/VIS (CHCl₃): λ_{\max} (ϵ) = 644 nm (45000), 616 (4300), 591 (4800), 523 (3800), 496 (13400), 490 (13400), 393 (183700);

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: m/z = 724 [M+H]⁺, 746 [M+Na]⁺, 762 [M+K]⁺; negativ: m/z = 722 [M-H]⁻.

7.2.10 Darstellung von 3,3'-[(*cis*-2*RS*,3*SR*)-2-(Dimethylcarbamoylmethyl)-3-heptyl-2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21*H*,23*H*-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure (*rac*-31) im Gemisch mit dem *trans*-Isomeren (*rac*-32)



0.142 g (0.2 mmol) *rac*-29 und *rac*-30 wurden in 40 mL Tetrahydrofuran gelöst und mit 100 mL 5 molarer KOH versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 70 h bei 50 °C unter Argonatmosphäre kräftig gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Lösung mit 150 mL einer pH-4-Pufferlösung versetzt und mit 2 molarer Salzsäure auf pH-3 angesäuert. Anschließend wurde 3-mal mit insgesamt 150 mL *tert*-Butylmethylether extrahiert. Nach Filtration über heiße Watte wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand im Vakuum einer Ölpumpe getrocknet. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (80 g

7. Experimenteller Teil

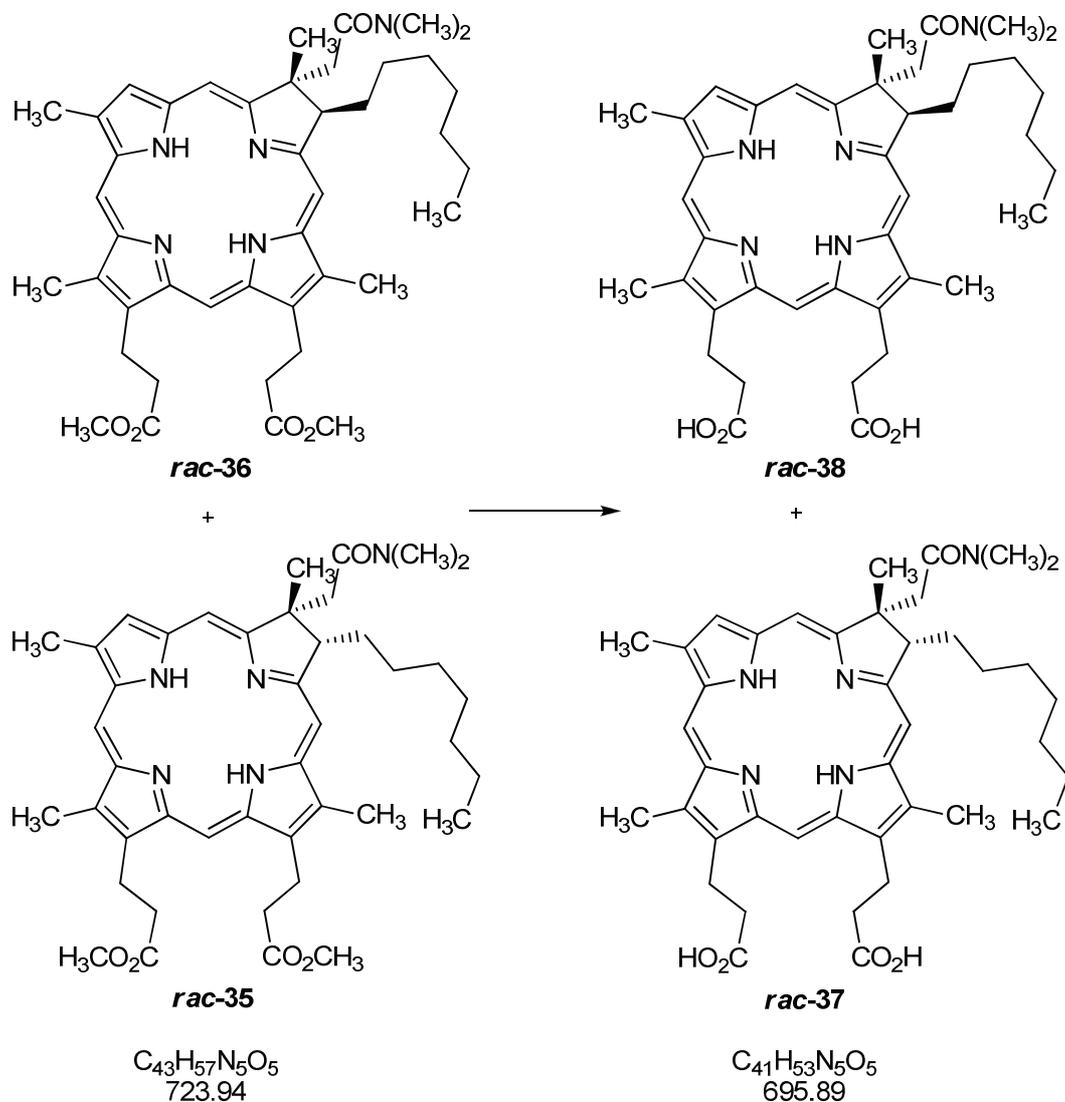
Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 30+1) gereinigt. Man erhielt 0.103 g (0.148 mmol) der grünen 3-*cis*-Heptylchlorin-dicarbonsäure *rac*-**31** im Gemisch mit dem *trans*-Isomeren *rac*-**32** (75 % d. Th.).

UV/VIS (CHCl₃): λ_{\max} (ϵ) = 645 nm (33700), 616 (1600), 592 (2100), 525 (2300), 496 (6500), 490 (6600), 393 (119200);

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3320 cm⁻¹ (m, N-H), 2910 (s, ν C-H), 2840 (m, ν C-H), 1720 (s, C=O Säure), 1705 (s, C=O Säure), 1605 (s, C=O Amid), 1450 (m, δ C-H), 1395 (m), 1380 (m), 1255 (w), 1195 (w), 1145 (w), 1100 (w), 1065 (w), 1040 (w), 970 (w), 920 (w), 850 (w), 720 (m), 670 (m);

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1): positiv: m/z = 696 [M+H]⁺, 718 [M+Na]⁺; negativ: m/z = 694 [M-H]⁻.

7.2.11 Darstellung von 3,3'-[(*cis*-7*RS*,8*SR*)-7-(Dimethylcarbamoylmethyl)-8-heptyl-2,7,12,18-tetramethyl-7,8-dihydro-21*H*,23*H*-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure (*rac*-37) im Gemisch mit dem *trans*-Isomeren (*rac*-38)



0.10 g (0.14 mmol) *rac*-35 und *rac*-36 wurden in 30 mL Tetrahydrofuran gelöst und mit 70 mL 5 molarer KOH versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 70 h bei 50 °C unter Argonatmosphäre kräftig gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Lösung mit 100 mL einer pH-4-Pufferlösung versetzt und mit 2 molarer Salzsäure auf pH-3 angesäuert. Anschließend wurde 3-mal mit insgesamt 100 mL *tert*-Butylmethylether extrahiert. Nach Filtration über heiße Watte wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand im Vakuum einer Ölpumpe getrocknet. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (60 g Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 30+1) gereinigt. Man erhielt 0.077 g (0.111 mmol) der

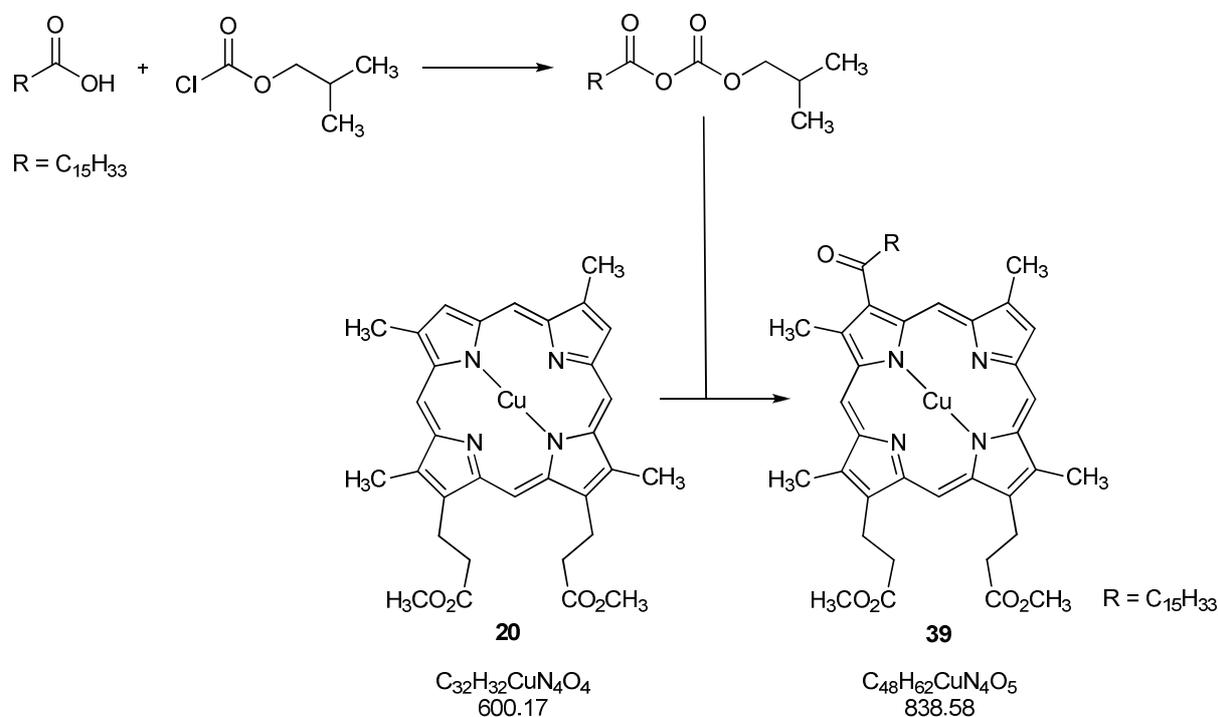
7. Experimenteller Teil

grünen 8-*cis*-Heptylchlorin-dicarbonsäure *rac*-**37** im Gemisch mit dem *trans*-Isomeren *rac*-**38** (79 % d. Th.).

UV/VIS (CHCl₃): λ_{\max} (ϵ) = 645 nm (35600), 616 (2100), 591 (2300), 521 (1300), 497 (7700), 490 (76600), 393 (138700);

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3310 cm⁻¹ (m, N-H), 2905 (s, ν C-H), 2840 (m, ν C-H), 1715 (s, C=O Säure), 1700 (s, C=O Säure), 1600 (s, C=O Amid), 1440 (m, δ C-H), 1390 (m), 1370 (m), 1255 (w), 1180 (m), 1150 (m), 1100 (m), 1065 (w), 1040 (w), 970 (w), 940 (w), 920 (w), 840 (w), 720 (m), 670 (w);

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1): positiv: m/z = 696 [M+H]⁺, 718 [M+Na]⁺; negativ: m/z = 694 [M-H]⁻.

7.3 Synthese von *Palmitylchlorin-dicarbonsäuren*7.3.1 Darstellung von [3,3'-[3-(1-Oxohexadecyl)-2,7,12,18-tetramethylporphyrinato-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester]-kupfer(II) (**39**)

3.42 g (13.33 mmol) Palmitinsäure wurden in 100 mL trockenem Dichlormethan gelöst und auf $-15\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. Dazu wurden 3.6 mL (26.0 mmol) trockenes Triethylamin und 2.5 mL (26.3 mmol) Chlorameisensäureethylester in 10 mL trockenem Dichlormethan dazugegeben und für 1 h bei $-15\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt, bis sich das gemischte Anhydrid gebildet hatte. Zu der Reaktionslösung wurde eine Lösung von 200 mg (0.33 mmol) Cu-Deuteroporphyrin-dimethylester **20** in 10 mL trockenem Dichlormethan gegeben. Zum Starten der Reaktion wurden 4 mL (34.2 mmol) Zinntetrachlorid in 10 mL trockenem Dichlormethan innerhalb von 4 min dazu getropft und die Reaktionslösung noch 2 min weitergerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde das Gemisch auf 150 mL Eiswasser gegossen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit ca. 300 mL Dichlormethan erschöpfend extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3-mal mit je 50 mL Wasser gewaschen. Es wurde über heiße Watte filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (3 cm-Säule, 80 g Aluminiumoxid Aktivität II-III, CH₂Cl₂/PE 25+1). Man erhielt 180 mg (0.21 mmol, 65 % d. Th.) Cu-Oxohexadecyl-DP-DME **39** in Form eines violett-braunen Feststoffs.

7. Experimenteller Teil

DC (Alox, CH₂Cl₂/PE 25+1): R_f = 0.54;

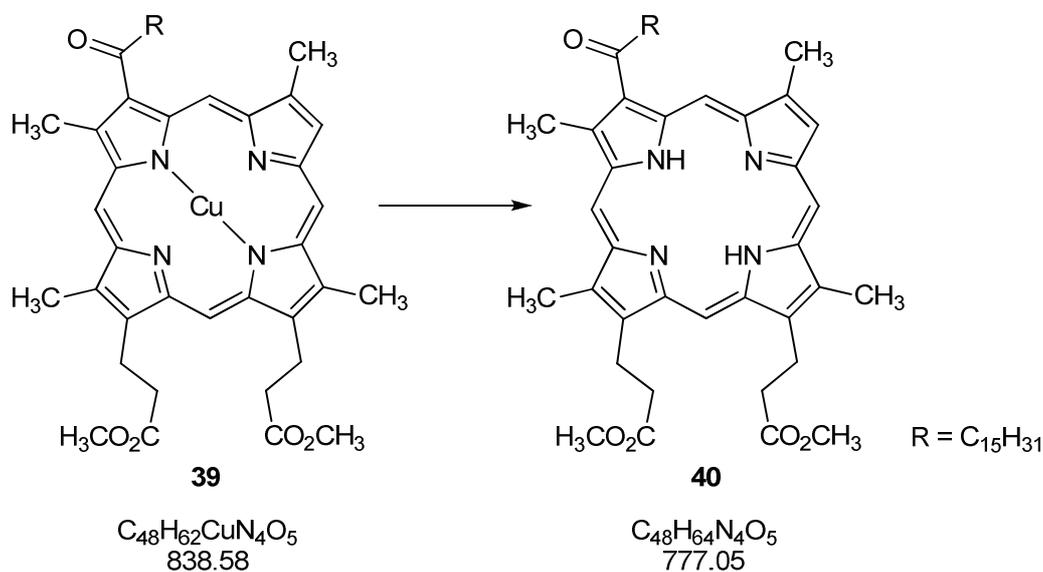
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3440 cm⁻¹ (s, N-H), 2920 (s, v C-H), 2850 (s, v C-H), 1735 (m, C=O Ester), 1655 (m, C=O Carbonyl), 1450 (w), 1440 (w), 1380 (w), 1260 (w), 1165 (w), 845 (w), 745 (w);

UV/VIS (MeOH): λ_{max} (rel. Intensität) = 405 (12), 530 (1), 575 (1.3);

¹H-NMR: paramagnetisch;

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: m/z = 838 [M+H]⁺, 860 [M+Na]⁺, 876 [M+K]⁺;
negativ: m/z = 836 [M-H]⁻.

7.3.2 Darstellung von 3,3'-[3-(1-Oxohexadecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (**40**)



185 mg (0.22 mmol) des Cu-Oxohexadecyl-deuteroporphyrin-IX-dimethylesters **39** wurden unter Argonatmosphäre mit 1.5 mL Trifluoressigsäure suspendiert und mit 7 mL konz. Schwefelsäure versetzt. Nach 1.5-stündigem Rühren unter Argon wurde die grüne Reaktionslösung auf 150 mL Eiswasser gegossen und die wässrige Phase abgetrennt. Es wurde 5-mal mit insgesamt 150 mL Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen je 2-mal mit 30 mL Wasser gewaschen. Nach Filtrieren über heiße Watte wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand im Vakuum einer Ölpumpe getrocknet. Das Rohprodukt wurde unter Argonatmosphäre mit 5 mL etherischer Diazomethanlösung versetzt und unter Argon bei Raumtemperatur gerührt. Der Reaktionsverlauf wurde mittels DC verfolgt. Daraufhin wurde das Lösungsmittel und überschüssiges Diazomethan am Rotationsverdampfer abdestilliert und der Rückstand im Vakuum einer Ölpumpe getrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + \text{MeOH}$, 30+1) gereinigt. Man erhielt 165 mg (0.21 mmol) des violetten metallfreien 3-Palmitoyl-Deuteroporphyrin-IX-dimethylesters **40** (96 % d. Th.).

DC (SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 30+1): $R_f = 0.78$;

Schmelzpunkt (THF/PE): 150-152 °C;

7. Experimenteller Teil

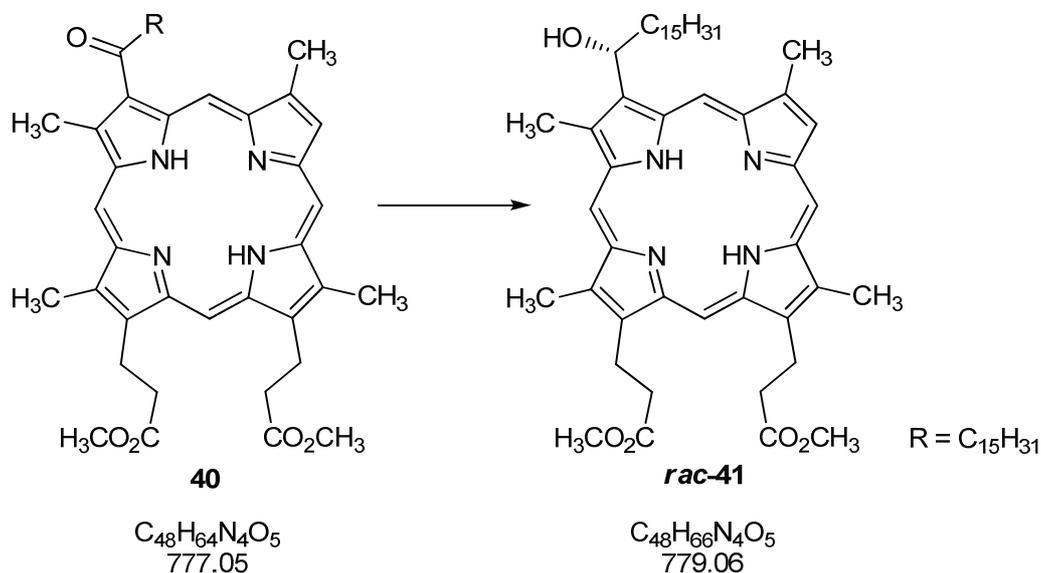
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3430 cm^{-1} (s, N-H), 2920 (s, ν C-H), 2850 (s, ν C-H), 1645 (m, C=O Ester), 1630 (m, C=O Carbonyl), 1460 (w), 1435 (w), 1370 (w), 1290 (w), 1185 (w), 1170 (w), 1110 (w), 1030 (w), 845 (w), 730 (m) 670 (w);

UV/VIS (MeOH): λ_{max} (rel. Intensität) = 403 (26), 502 (1.8), 543 (1.2), 574 (1);

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): δ = -3.87 (s, 2H, NH), 0.87 (t, 3J = 6.5 Hz, 3H, 3^{16}-CH_3), 0.90, 1.23, 1.27, 1.67 (18H, $3^2\text{-}3^{15}\text{-CH}_2$) 3.26, 3.30 (2m, 4H, 13^2-CH_2 , 17^2-CH_2), 3.62, 3.65, 3.67, 3.68, 3.69 (5s, 18H, 2-, 7-, 12-, 13-, 17-, 18- CH_3), 4.31, 4.34 (2m, 4H, 13^1-CH_2 , 17^1-CH_2), 9.12 (s, 1H, 8-**H**), 10.03, 10.11 (2s, 4H, 5-, 10-, 15-, 20-**H**) ppm;

MS (ESI, MeOH+ CH_2Cl_2 , 10+1) positiv: m/z = 777 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 799 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 815 $[\text{M}+\text{K}]^+$;
negativ: m/z = 775 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

7.3.3 Darstellung von (\pm) -3,3'-[(3*RS*)-(1-Hydroxyhexacecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21*H*,23*H*-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (*rac*-41)



170 mg (0.21 mmol) eines Gemisches der konstitutionsisomeren 3-Oxoheptyldeuteroporphyrin-IX-dimethylester **40** wurden unter Argonatmosphäre in 40 mL trockenem Dichlormethan gelöst und auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt. 0.13 g (3.4 mmol, 16 eq.) Natriumborhydrid wurden unter Argon in 20 mL auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ vorgekühltem, trockenem Methanol gelöst und rasch zur Reaktionslösung gegeben. Daraufhin wurde das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur für 1 h kräftig gerührt. Der Fortgang der Reaktion wurde dabei mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 7+1) verfolgt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Reaktion durch Zugabe von 0.4 mL Eisessig beendet, wodurch überschüssiges Natriumborhydrid zerstört wurde. Die Lösung wurde 3-mal mit Wasser (insgesamt 100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über heiße Watte filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach dem Trocknen im Vakuum einer Ölpumpe wurde das Rohproduktgemisch mittels Säulenchromatographie (80 g Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 7+1) gereinigt. Man erhielt 122 mg (0.16 mmol, 75 % d. Th.) des konstitutionsisomerenreinen, tiefvioletten *rac*-**41**.

Schmelzpunkt (CHCl₃/PE): 142 °C;

DC (SiO₂, CHCl₂/EtOAc 10+1): R_f = 0.45;

7. Experimenteller Teil

HPLC (LiChrosorb, CH₂Cl₂/MeOH/Dioxan 15+1+0.05, 1.5 mL/min, UV 405 nm): $t_R = 17$ min;

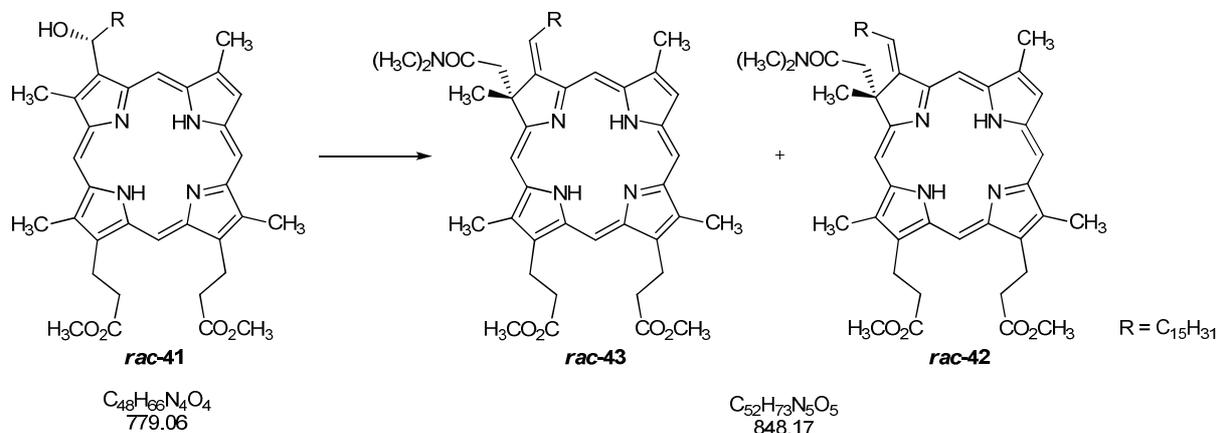
IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3440$ cm⁻¹ (s, N-H), 3315 (m, O-H), 2920 (s, ν C-H), 2850 (s, ν C-H), 1733 (m, C=O Ester), 1630 (w), 1440 (w), 1360 (w), 1295 (w), 1260 (w), 1225 (w), 1195 (w), 1160 (m), 1100 (w), 1010 (w), 840 (w), 725 (m) 670 (m);

UV/VIS (MeOH): λ_{\max} (rel. Intensität) = 399 (49), 498 (3.7), 530 (2.2), 543 (1.2), 567 (1.6), 621 (1);

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): $\delta = -3.89$ (s, 2H, NH), 0.86 (t, $^3J = 6.5$ Hz, 3H, 3¹⁶-CH₃), 1.14, 1.21, 1.27, 1.38, 1.54, 1.69 (18H, 3²-3¹⁵-CH₂), 3.66, 3.67 (2m, 4H, 13²-CH₂, 17²-CH₂), 3.59 (1s, 6H, 2-, 12-CH₃), 3.60 (s, 3H, 18-CH₃), 3.66, 3.67 (2s, 6H, 13-,17-OCH₃), 3.71 (1s, 3H, 7-CH₃), 4.37 (m, 4H, 13¹-CH₂, 17¹-CH₂), 6.18 (m, 1H, ¹3-CH-OH), 9.07 (s, 1H, 8-H), 9.99 (s, 1H, 10-H), 10.00 (s, 1H, 15-H), 10.02 (s, 1H, 20-H), 10.41 (s, 1H, 5-H) ppm;

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: $m/z = 779$ [M+H]⁺; negativ: $m/z = 777$ [M-H]⁻.

7.3.4 Darstellung von 3,3'-[(2*RS*,3*Z*)-2-(Dimethylcarbamoylmethyl)-3-hexadecyliden-2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21*H*,23*H*-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (*rac*-43) im Gemisch mit dem *E*-Isomeren (*rac*-42)



158 mg (0.20 mmol) des Porphyrins *rac*-41 wurden in 30 mL trockenem *o*-Xylol mit dem Ultraschallbad suspendiert und mit 2.8 mL (19.2 mmol) *N,N*-Dimethylacetamid-dimethylacetal versetzt. Die Reaktion wurde unter Lichausschluss mit einem mit trockenem Molekularsieb 4 Å gefüllten Soxhlet-Extraktor durchgeführt. Zunächst wurde innerhalb von 15 min unter Argonatmosphäre auf 130 °C erhitzt und 30 min bei dieser Temperatur gerührt. Anschließend wurde 150 min bei 165°C unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden flüchtige Bestandteile und Lösungsmittel am Kugelrohr im Ölpumpenvakuum bei 55 °C entfernt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte mittels Säulenchromatographie (80 g Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 3+1). Man erhielt 86 mg (0.1 mmol) des braungrünen Chlorins *rac*-43 im Gemisch mit dem *E*-Isomeren *rac*-42 (50 % d. Th.).

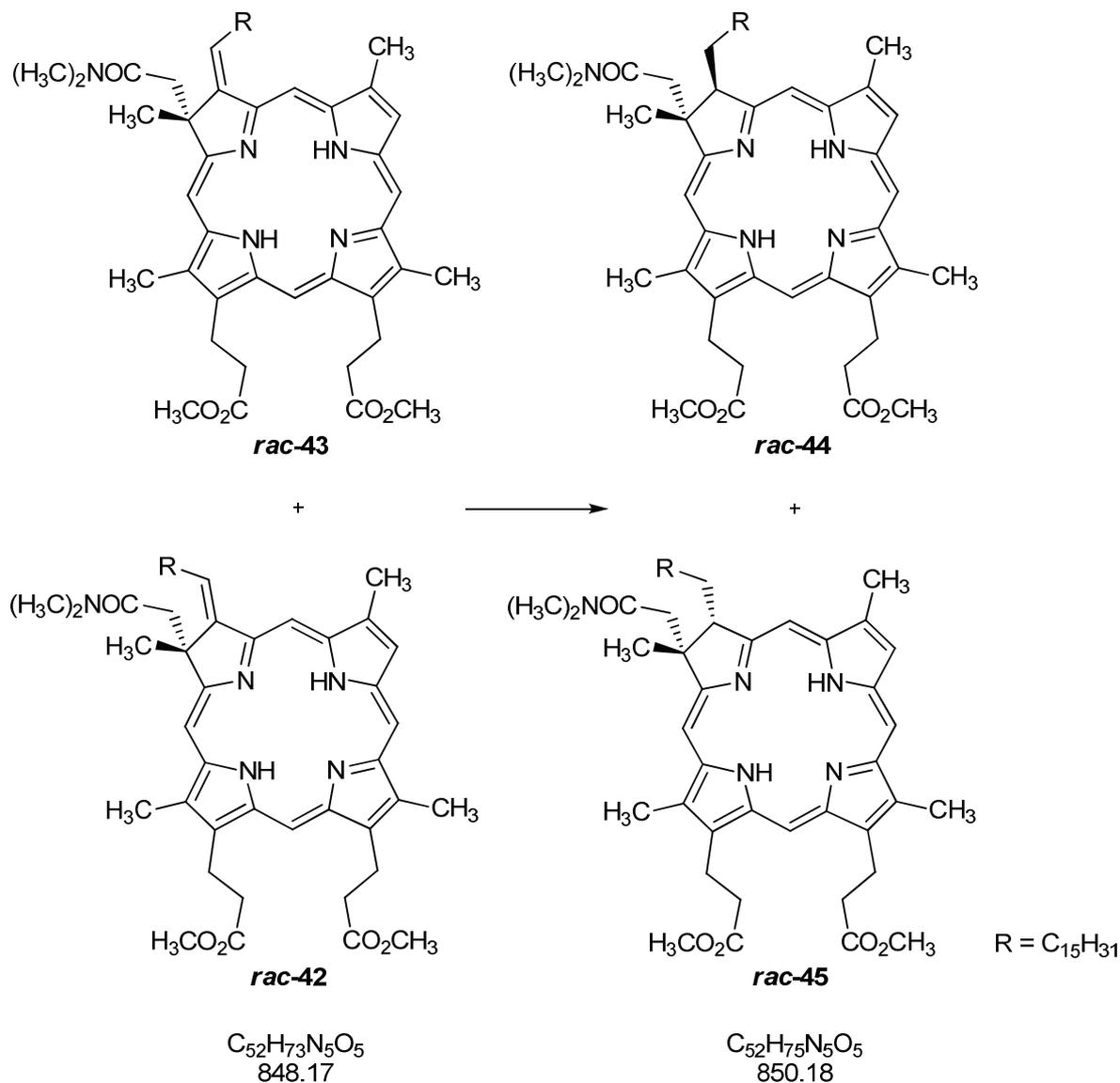
DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/EtOAc, 4+1): R_{f1} = 0.51 (*cis*), R_{f2} = 0.42 (*trans*);

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3420 cm⁻¹ (m, N-H), 2920 (s, ν C-H), 2850 (m, ν C-H), 1735 (s, C=O Ester), 1646 (s, C=O Amid), 1610 (s, C=O Amid), 1510 (w), 1460 (m), 1440 (m, δ C-H), 1395 (m), 1360 (m), 1260 (m), 1190 (s, C-O Ester), 1160 (s, C-O), 1050 (w), 840 (w), 705 (m), 670 (m);

UV/VIS (CH₂Cl₂): λ_{max} (rel. Intensität) = 400 (33), 498 (2.5), 534 (2.7), 602 (1), 660 (8.0);

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: m/z = 848 [M+H]⁺, 870 [M+Na]⁺, 886 [M+K]⁺; negativ: m/z = 846 [M-H]⁻.

7.3.5 Darstellung von 3,3'-[(*cis*-2*RS*,3*SR*)-2-(Dimethylcarbamoylmethyl)-3-hexadecyl-2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21*H*,23*H*-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (*rac*-45) im Gemisch mit dem *trans*-Isomeren (*rac*-44)



81 mg (0.12 mmol) der E/Z-isomeren Chlorine *rac*-42 und *rac*-43 wurden in 3.15 mL trockenem Tetrahydrofuran gelöst und mit 5 mg (0.022 mmol) Palladium(II)-acetat, gelöst in 0.65 mL Tetrahydrofuran sowie mit 0.84 mL (45.7 mmol) dest. Wasser versetzt. Das Reaktionsgefäß wurde daraufhin über einen Reitmeyeraufsatz im Vakuum einer Wasserstrahlpumpe evakuiert und mit Argon gespült. Dies wurde 3-mal wiederholt. Anschließend wurden 0.19 mL (1.029 mmol) frisch dest. Triethoxysilan hinzugegeben, mit Argon gespült und daraufhin über einen Ballon mit Wasserstoff begast. Die Reaktionslösung wurde 15 min bei Raumtemperatur gerührt und rasch über eine Kieselgelsäule filtriert, um den Katalysator abzutrennen und die Reaktion zu beenden. Es wurde bis zur Farblosigkeit des

7. Experimenteller Teil

Filtrats mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2+\text{EtOAc}$, 3+1 gespült. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatographie (20 g Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2+\text{EtOAc}$, 6+1) gereinigt. Man erhielt 71 mg (0.2 mmol, 71% d. Th.) der *cis/trans*-Isomeren *rac*-**44** und *rac*-**45**.

Schmelzpunkt: 124-125 °C (Chloroform/Petrolether);

DC (Kieselgel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$, 4+1): $R_{f1} = 0.69$ (*cis*), $R_{f2} = 0.65$ (*trans*);

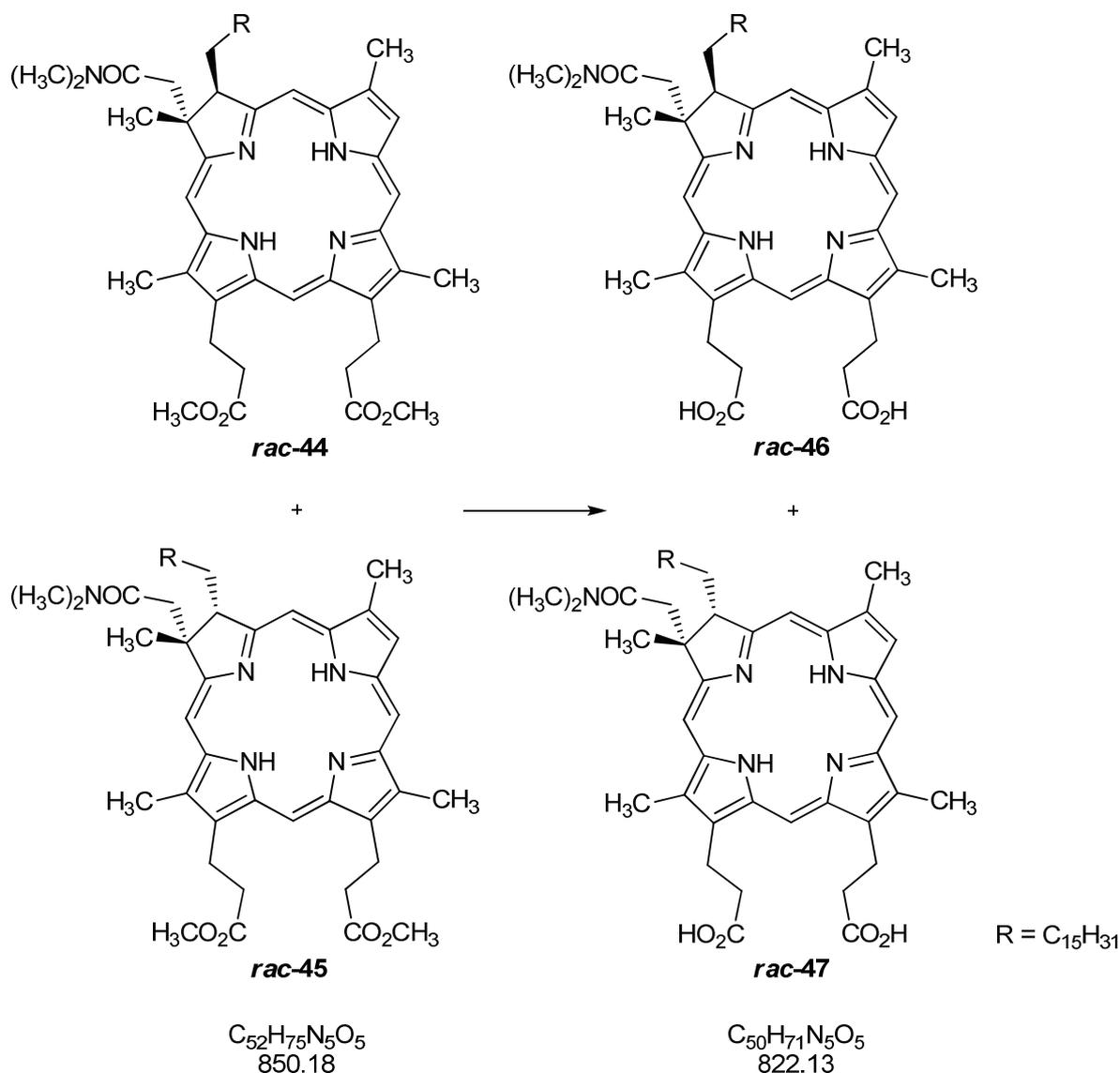
IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3440 \text{ cm}^{-1}$ (m, N-H), 3340 (m), (s, v C-H), 2920 (s, v C-H), 2850 (m, v C-H), 1734 (s, C=O Ester), 1640 (s, C=O Amid), 1605 (s, C=O Amid), 1540 (w), 1515 (w), 1450 (m), 1395 (m), 1360 (w), 1260 (m), 1200 (s, C-O Ester), 1160 (s, C-O), 1100 (m), 1050 (w), 970 (w), 920 (w), 845 (w), 820 (w), 715 (m), 670 (m);

UV/VIS (CH_2Cl_2): λ_{max} (rel. Intensität) = 392 (18.6), 490 (1.3), 599 (1), 646 (4.8);

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): $\delta = -2.60$ (s, 2H, NH), 0.85 (t, $^3J = 6.5 \text{ Hz}$, 3H, 3^{16}-CH_3), 1.22, 1.55, 1.76 (18H, $3^2\text{-}3^{15}\text{-CH}_2$), 1.37, 2.71 (2s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.29 (s, 3H, 2- CH_3), 2.43 (m, 2H, 1^3-CH_2), 3.15, 3.20 (2m, 2H, 2- CH_2CO), 3.40, 3.45, 3.54, 3.64, 3.66 (5s, 15H, 7-, 12-, 13-, 17-,18- CH_3), 4.20, 4.36 (m, 4H, 13^1-CH_2 , 17^1-CH_2), 4.68 (t, $^3J = 6.8 \text{ Hz}$, 1H, 3-**H**), 8.86 (s, 1H, 8-**H**), 8.95 (s, 1H, 10-**H**), 9.06 (s, 1H, 15-**H**), 9.81 (s, 1H, 20-**H**), 9.82 (s, 1H, 5-**H**);

MS (ESI, $\text{MeOH}+\text{CH}_2\text{Cl}_2$, 10+1) positiv: $m/z = 850$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 872 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 888 $[\text{M}+\text{K}]^+$; negativ: $m/z = 848$ $[\text{M}-\text{H}]^-$.

7.3.6 Darstellung von 3,3'-[(*cis*-2*RS*,3*SR*)-2-(Dimethylcarbamoylmethyl)-3-hexadecyl-2,7,12,18-tetramethyl-2,3-dihydro-21*H*,23*H*-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure (*rac*-47) im Gemisch mit dem *trans*-Isomeren (*rac*-46)



23 mg (0.027 mmol) *rac*-44 und *rac*-45 wurden in 5 mL Tetrahydrofuran gelöst und mit 15 mL 5 M KOH versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 24 h bei 70 °C unter Argonatmosphäre kräftig gerührt. Zur Aufarbeitung wurde die Lösung mit 50 mL einer pH 4-Pufferlösung versetzt und mit 2 molarer Salzsäure auf pH-3 angesäuert. Anschließend wurde 3-mal mit insgesamt 100 mL *tert*-Butylmethylether extrahiert. Nach Filtration über heiße Watte wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand im Vakuum einer Ölpumpe getrocknet. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (10 g Kieselgel, Dichlormethan/Methanol 25+1) gereinigt. Man erhielt 20 mg (0.024 mmol, 90 % d. Th.) der grünen 3-*cis*-Palmitylchlorin-dicarbonsäure *rac*-47 im Gemisch mit dem *trans*-Isomeren *rac*-46.

7. Experimenteller Teil

Schmelzpunkt: 187 °C (CHCl₃/PE);

DC (Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH, 35+1): R_f = 0.23;

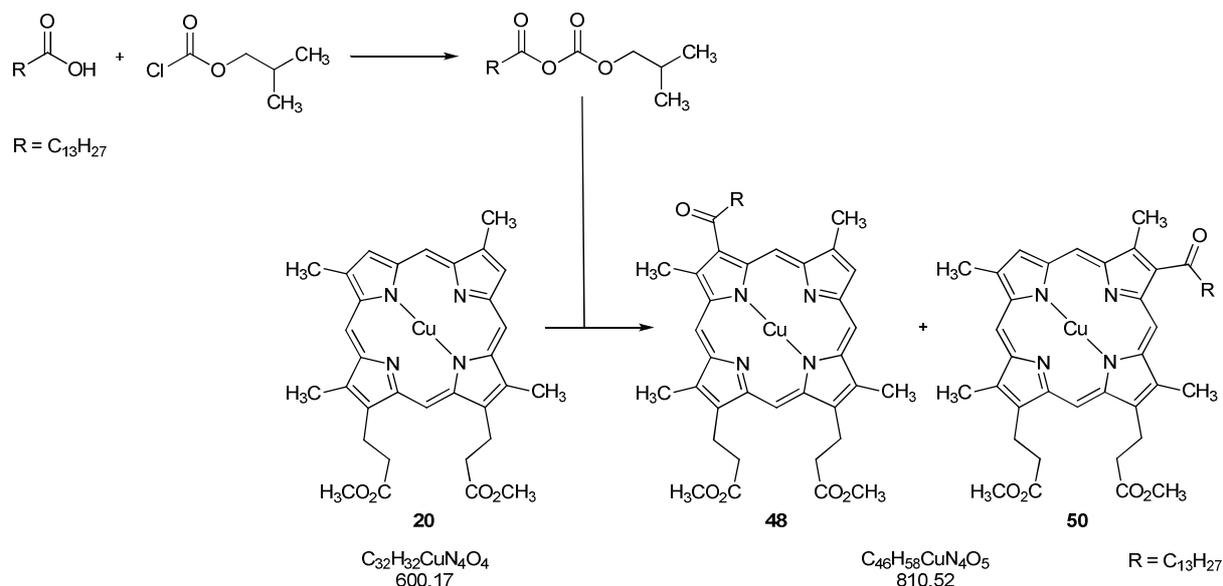
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3340 cm⁻¹ (m, N-H), 2965 (m, ν C-H), 2920 (s, ν C-H), 2850 (m, ν C-H), 1680 (s, C=O Säure), 1585 (m), 1490 (w), 1400 (s, δ C-H), 1275 (s), 1150 (m, C-O Säure), 1070 (m), 1000 (w), 975 (w), 900 (m), 830 (w), 790 (w), 735 (m), 665 (m);

UV/VIS (CH₂Cl₂): λ_{\max} (rel. Intensität) = 396 (34), 497 (1.7), 525 (1), 597 (1.2), 624 (2.2), 645 (5.1);

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = -3.32 (2s, 2H, Chl-NH), 0.85 (t, ³J = 7.3 Hz, 3H, 3¹⁶-CH₃), 1.16-1.23 (m, 26H, 3²-CH₂-3¹⁵-CH₂), 1.51, 2.62 (2s, 6H, 2³-N-(CH₃)₂), 1.82 (m, 2H, 3¹-CH₂), 2.19 (s, 3H, 2-CH₃), 2.75, 3.17 (2t, 4H, 13²-CH₂CO, 17²-CH₂CO), 3.17, 3.45 (2m, 2H, 2-CH₂CO), 3.40 (m, 4H, 13⁵-CH₂, 17⁵-CH₂), 3.40 (m, 2H, 2¹-CH₂), 3.60 (s, 3H, 12-CH₃), 3.65 (s, 3H, 18-CH₃), 3.68 (s, 3H, 7-CH₃), 4.56, 4.59 (2m, 4H, 13²-CH₂, 17²-CH₂), 4.65 (m, 1H, 3-CH), 8.71 (s, 1H, 20-CH), 8.92 (s, 1H, 5-CH), 9.11 (s, 1H, 8-CH), 9.88 (s, 1H, 10-CH), 9.92 (s, 1H, 15-CH) ppm;

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: m/z = 822 [M+H]⁺; negativ: m/z = 820 [M-H]⁻.

7.4 Synthese von Hydroxy-alkyl-deuteroporphyrin-derivaten

7.4.1 Darstellung von [3,3'-[3-(1-Oxotetradecyl)-2,7,12,18-tetramethylporphyrinato-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester]-kupfer(II) (**48**) im Gemisch mit dem 8-Isomeren (**50**)

2.1 g (9.36 mmol) Myristinsäure wurden in 80 mL trockenem Dichlormethan gelöst und auf -15°C abgekühlt. Dazu wurden 1.0 mL (7.2 mmol) trockenes Triethylamin und 2.0 mL (15.2 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 2 mL trockenem Dichlormethan dazugegeben und für 1 h bei -15°C gerührt, bis sich das gemischte Anhydrid gebildet hatte. Zu der Reaktionslösung wurde eine Lösung von 200 mg (0.33 mmol) Cu-Deuteroporphyrin-dimethylester **20** in 10 mL trockenem Dichlormethan gegeben. Zum Starten der Reaktion wurden 2.3 mL (19.6 mmol) Zinntetrachlorid in 10 mL trockenem Dichlormethan innerhalb von 2 min dazu getropft und die Reaktionslösung noch 4 min weitergerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde das Gemisch auf 60 mL Eiswasser gegossen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit ca. 60 mL Dichlormethan erschöpfend extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3-mal mit je 20 mL Wasser gewaschen. Es wurde über heiße Watte filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (5 cm-Säule, 200 g SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc 15+1). Man erhielt nacheinander 76 mg (0.127 mmol, 77 % d. Th.) Edukt **20** und 123 mg (0.152 mmol, 45% d. Th., 74% bezogen auf umgesetztes Edukt) 3-/8-Cu-Oxotetradecyl-DP-DME **48** und **50** in Form eines violett-braunen Feststoffs.

7. Experimenteller Teil

DC (Alox, CH₂Cl₂/PE 24+1): R_f = 0.15;

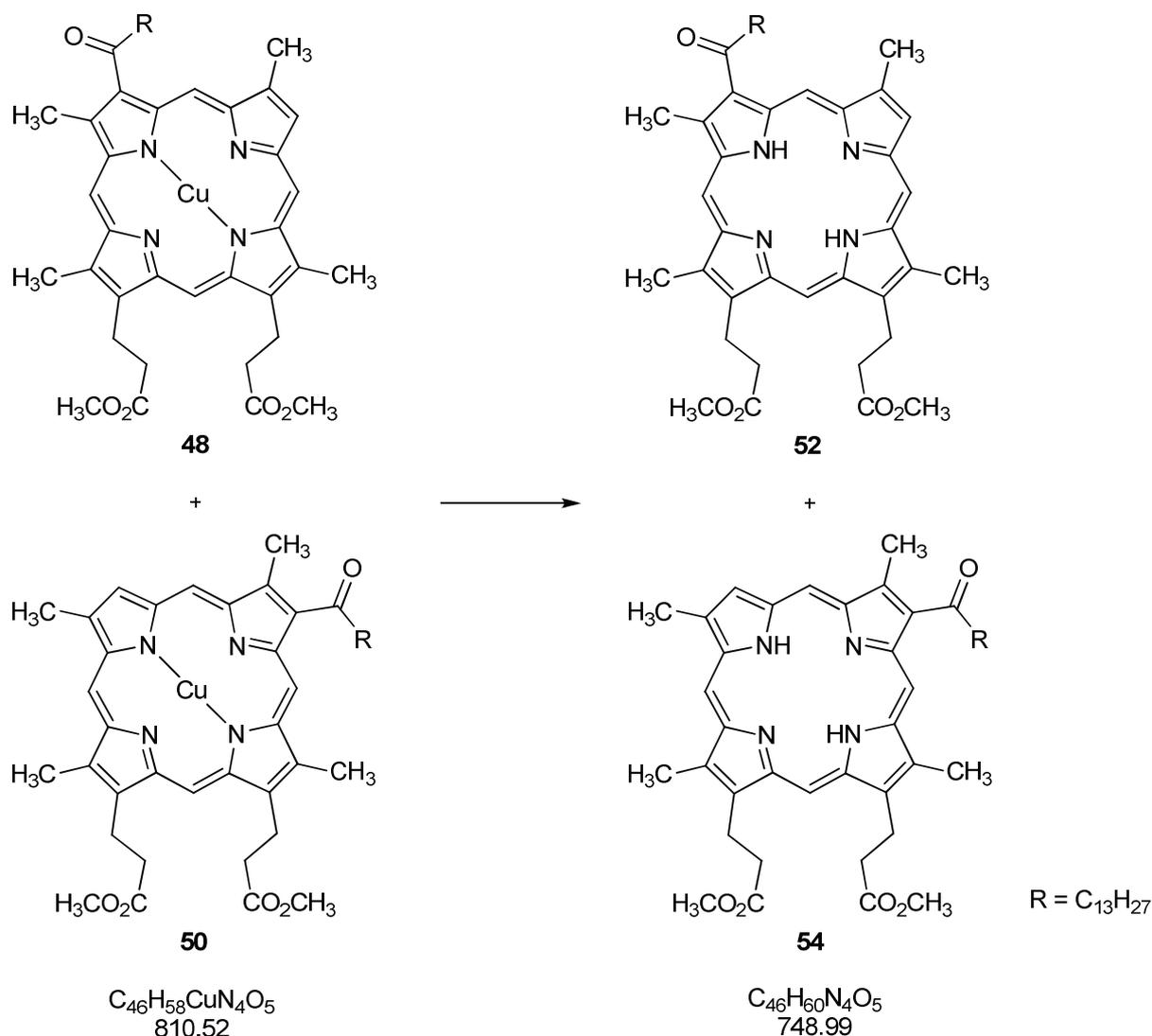
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3435 cm⁻¹ (s, N-H), 2920 (s, v C-H), 2850 (s, v C-H), 1725 (m, C=O Ester), 1655 (m, C=O Carbonyl), 1630 (m), 1450 (w), 1440 (w), 1390 (w), 1285 (w), 1240 (w), 1200 (m), 1170 (w), 1055 (w), 1025 (w), 840 (w);

UV/VIS (CH₂Cl₂): λ_{max} (rel. Intensität) = 400 (20), 528 (1), 561 (1.3), 573 (1.4);

¹H-NMR: -paramagnetisch;

MS (EI, 70 eV, Direkteinlass, T = 344°C): m/z (% rel. Intensität) = 809 (100) [M]⁺, 599 () [M-COC₁₃H₂₇]⁺.

7.4.2 Darstellung von 3,3'-[3-(1-Oxotetradecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (52) im Gemisch mit dem 8-Isomeren (54)



120 mg (0.148 mmol) 3-/8-Cu-Oxotetradecyl-deuteroporphyrin-IX-dimethylester **48** und **50** wurden in 3 mL konz. Schwefelsäure suspendiert und mit 0.9 mL Trifluoressigsäure versetzt. Die grüne Reaktionslösung wurde 1 h unter Argon bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Lösung auf 80 mL Eiswasser gegossen und erschöpfend mit ca. 150 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3-mal mit je 50 mL Wasser gewaschen. Nach Filtration über heiße Watte wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in wenig Dichlormethan gelöst. Die Lösung wurde mit 6 mL etherischer Diazomethanlösung versetzt und 30 min bei Raumtemperatur unter Schutzatmosphäre gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und überschüssigem Diazomethan wurde der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Die Aufreinigung erfolgte mittels

7. Experimenteller Teil

Säulenchromatographie (70 g Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 15+1) und man erhielt 96 mg (0.148 mmol, 87 % d. Th.) 3-Oxotetradecyl-deuteroporphyrin-IX-dimethylester **52** im Gemisch mit dem 8-Isomeren **54**.

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3440 cm⁻¹ (s, N-H), 2950 (s, v C-H), 2920 (s, v C-H), 2850 (s, v C-H), 1730 (s, C=O Ester), 1650 (m, C=O Carbonyl), 1460 (m), 1435 (m), 1365 (m), 1295 (m), 1280 (m), 1190 (m), 1170 (m), 1115 (w), 1075 (w), 955 (w), 845 (w), 735 (m), 680 (w);

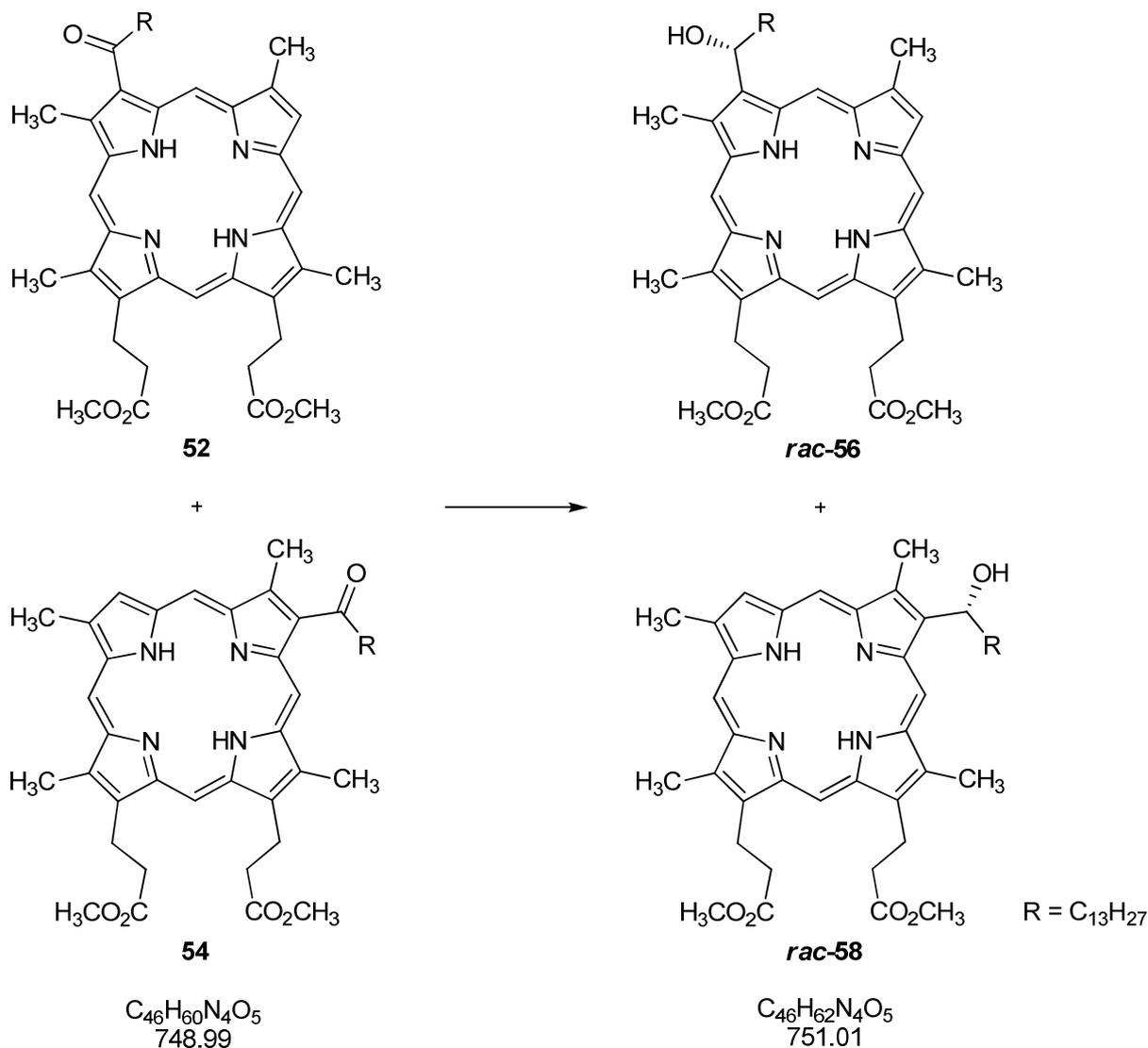
UV/VIS (CH₂Cl₂): λ_{max} (rel. Intensität) = 406 (100), 503 (6.5), 543 (5.5), 573 (4), 628 (1);

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = -3.87 (s, NH), 0.84 (t, ³J = 6.5 Hz, 3¹⁴-CH₃, 8¹⁴-CH₃), 0.91, 1.25, 1.26 (2s, 3³-3¹³-CH₂, 8³-8¹³-CH₂), 1.67 (m, 3²-CH₂, 8³-CH₂), 2.16, 3.26 (2m, 13²-CH₂, 17²-CH₂), 3.52, 3.60, 3.64, 3.65, 3.67, 3.69, 3.71, 3.77, 3.78 (9s, 2-, 7-, 12-, 13-, 17-, 18-CH₃), 4.30, 4.39 (2m, 13¹-CH₂, 17¹-CH₂), 9.06, 9.09, (2s, 3-H, 8-H), 9.91, 9.93, 9.95, 10.00, 10.05, 10.08, 10.62, 10.64 (8s, 5-, 10-, 15-, 20-H) ppm;

MS (EI, 70 eV, Direkteinlass, T = 333°C): m/z (% rel. Intensität) = 748 (100) [M]⁺.

Da ein Konstitutionsisomerenmisch vorlag, wurde auf eine weitergehende Charakterisierung verzichtet.

7.4.3 Darstellung von (±)-3,3'-[(3RS)-(1-Hydroxytetradecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (*rac*-56) im Gemisch mit dem 8-Isomeren (*rac*-58)



90 mg (0.12 mmol) eines Gemisches der konstitutionsisomeren 3-/8-Oxoheptyldeuteroporphyrin-IX-dimethylester **52** und **54** wurden unter Argonatmosphäre in 25 mL trockenem Dichlormethan gelöst und auf $-15\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. 70 mg (1.9 mmol, 15 eq.) Natriumborhydrid wurden unter Argon in 15 mL auf $-15\text{ }^\circ\text{C}$ vorgekühltem, trockenem Methanol gelöst und rasch zur Reaktionslösung gegeben. Daraufhin wurde das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur für 1 h kräftig gerührt. Der Fortgang der Reaktion wurde dabei mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 6+1) verfolgt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Reaktion durch Zugabe von 0.24 mL Eisessig beendet, wodurch überschüssiges Natriumborhydrid zerstört wurde. Die Lösung wurde 3-mal

7. Experimenteller Teil

mit Wasser (insgesamt 100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über heiße Watte filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach dem Trocknen im Vakuum einer Ölpumpe wurde das Rohproduktgemisch mittels Säulenchromatographie (70 g Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 6+1) gereinigt. Man erhielt 67 mg (0.09 mmol, 74 % d. Th.) des Konstitutionsisomerengemischs *rac*-**56** und *rac*-**58**.

DC (SiO₂, CHCl₂/EtOAc 6+1): R_f = 0.72;

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3440 cm⁻¹ (s, N-H), 3315 (m, O-H), 2920 (s, v C-H), 2850 (s, v C-H), 1735 (m, C=O Ester), 1665 (m), 1580 (m), 1480 (m), 1440 (m), 1360 (w), 1290 (w), 1195 (w), 1155 (m), 1100 (w), 1045 (w), 970 (w), 835 (w), 730 (m) 670 (m);

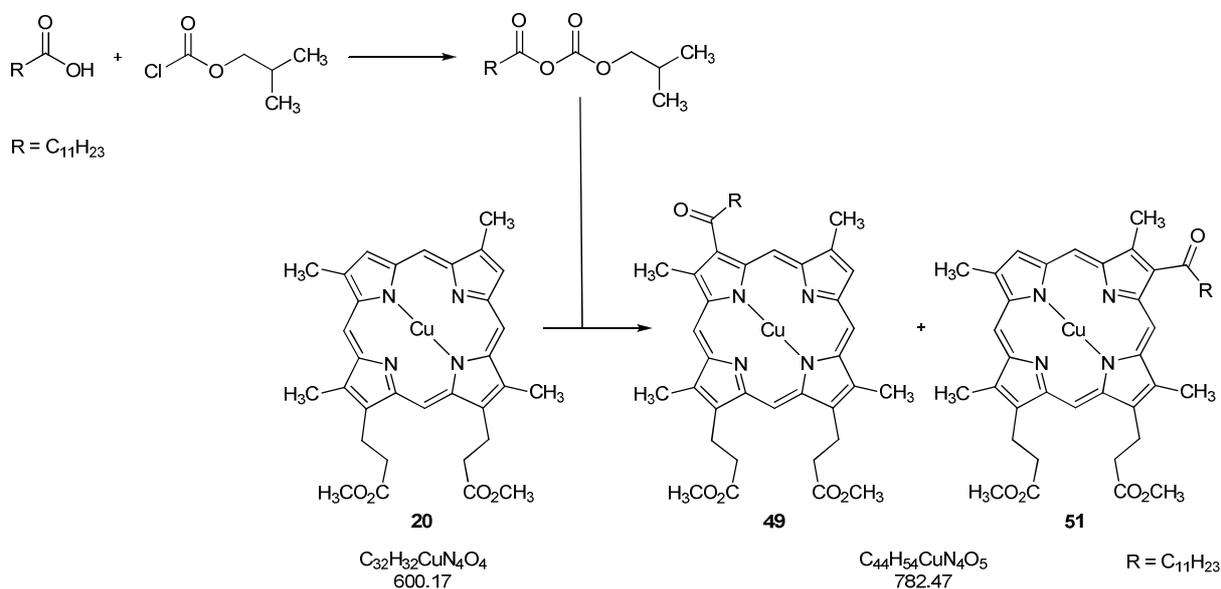
UV/VIS (MeOH): λ_{\max} (rel. Intensität) = 399 (49), 498 (3.7), 530 (2.2), 567 (1.6), 621 (1);

¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ = -4.03 (s, NH), 0.85 (t, ³J = 6.5 Hz, 3¹⁴-CH₃, 8¹⁴-CH₃), 1.15, 1.27 (2s, 3³-3¹³-CH₂, 8³-8¹³-CH₂), 1.62 (m, 3²-CH₂, 8²-CH₂), 2.49, 3.26 (2m, 13²-CH₂, 17²-CH₂), 3.47, 3.55, 3.57, 3.67, 3.68, 3.70 (6s, 2-, 12-CH₃, 18-CH₃, 13-, 17-OCH₃), 4.33 (m, 13¹-CH₂, 17¹-CH₂), 5.30 (s, 3¹-OH, 8¹-OH), 5.98 (m, 1³-CH-OH, 8¹-CH-OH), 9.04 (s, 8-H, 3-H), 9.92, 9.95, 9.97, 10.00, 10.25, 10.28 (6s, 5-, 10-, 15-, 20-H) ppm;

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: m/z = 751 [M+H]⁺, 773 [M+Na]⁺, 789 [M+K]⁺; negativ: m/z = 749 [M-H]⁻.

Da ein Konstitutionsisomerengemisch vorlag, wurde auf eine weitergehende Charakterisierung verzichtet.

7.4.4 Darstellung von [3,3'-[3-(1-Oxidodecyl)-2,7,12,18-tetramethylporphyrinato-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester]-kupfer(II) (49) im Gemisch mit dem 8-Isomeren (51)



1.9 g (9.36 mmol) Laurinsäure wurden in 80 mL trockenem Dichlormethan gelöst und auf $-15\text{ }^\circ\text{C}$ abgekühlt. Dazu wurden 1.0 mL (7.2 mmol) trockenes Triethylamin und 2.0 mL (15.2 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 2 mL trockenem Dichlormethan dazugegeben und für 1 h bei $-15\text{ }^\circ\text{C}$ gerührt, bis sich das gemischte Anhydrid gebildet hatte. Zu der Reaktionslösung wurde eine Lösung von 200 mg (0.33 mmol) Cu-Deuteroporphyrin-dimethylester **20** in 10 mL trockenem Dichlormethan gegeben. Zum Starten der Reaktion wurden 2.2 mL (18.7 mmol) Zinntetrachlorid in 10 mL trockenem Dichlormethan innerhalb von 2 min dazu getropft und die Reaktionslösung noch 4 min weitergerührt. Zum Beenden der Reaktion wurde das Gemisch auf 60 mL Eiswasser gegossen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase wurde mit ca. 60 mL Dichlormethan erschöpfend extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3-mal mit je 20 mL Wasser gewaschen. Es wurde über heiße Watte filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (5 cm-Säule, 200 g SiO₂, CH₂Cl₂/EtOAc 15+1). Man erhielt 200 mg (0.256 mmol, 77 % d. Th) 3-/8-Cu-Oxidodecyl-DP-DME **49** und **50** in Form eines violett-braunen Feststoffs.

DC (Alox, CH₂Cl₂/PE 24+1): R_f = 0.19;

7. Experimenteller Teil

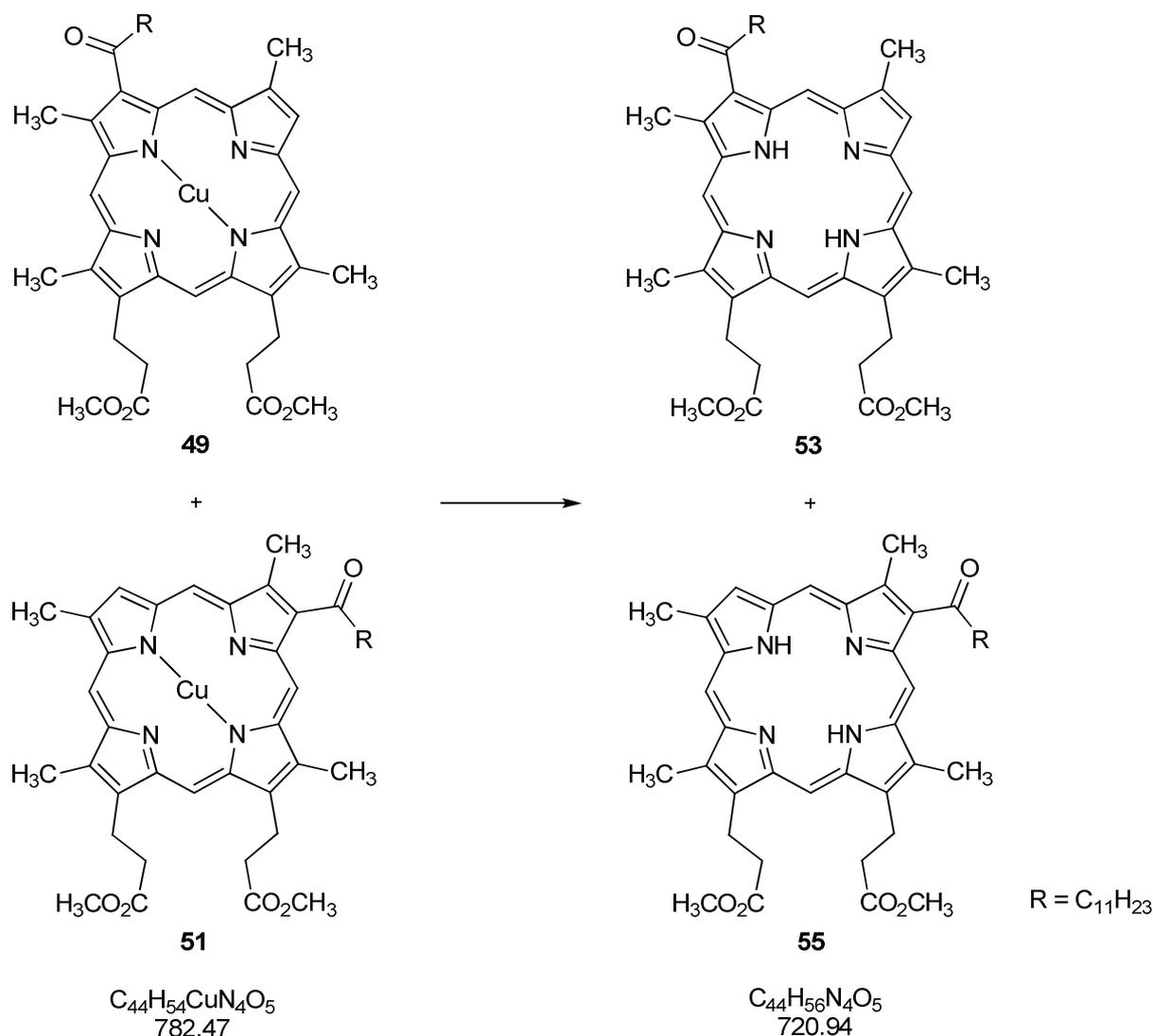
IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3445 cm^{-1} (s, N-H), 2920 (s, ν C-H), 2860 (s, ν C-H), 1730 (m, C=O Ester), 1655 (m, C=O Carbonyl), 1520 (w), 1460 (m), 1440 (m), 1370 (m), 1285 (w), 1230 (w), 1205 (m), 1175 (m), 1120 (w), 1030 (w), 1025 (w), 985 (w), 845 (w), 740 (w);

UV/VIS (CH_2Cl_2): λ_{max} (rel. Intensität) = 400 (19.4); 528 (1), 573 (1.5);

$^1\text{H-NMR}$: -paramagnetisch;

MS (EI, 70 eV, Direkteinlass, $T = 344^\circ\text{C}$): m/z (rel. Intensität) = 781 (100) $[\text{M}]^+$, 599 () $[\text{M-COC}_{11}\text{H}_{23}]$.

7.4.5 Darstellung von 3,3'-[3-(1-Oxododecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (53) im Gemisch mit seinem 8-Isomeren (55)



199 mg (0.254 mmol) 3-/8-Cu-Oxododecyl-deuteroporphyrin-IX-dimethylester **49** und **51** wurden in 5 mL konz. Schwefelsäure suspendiert und mit 1.5 mL Trifluoressigsäure versetzt. Die grüne Reaktionslösung wurde 1 h unter Argon bei Raumtemperatur gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Lösung auf 100 mL Eiswasser gegossen und erschöpfend mit ca. 150 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden 3-mal mit je 50 mL Wasser gewaschen. Nach Filtration über heiße Watte wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in wenig Dichlormethan gelöst. Die Lösung wurde mit 10 mL etherischer Diazomethanlösung versetzt und 30 min bei Raumtemperatur unter Schutzatmosphäre gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels und überschüssigem Diazomethan wurde der

7. Experimenteller Teil

Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie (90 g Kieselgel, CH₂Cl₂/MeOH 15+1) und man erhielt 134 mg (0.191 mmol, 75 % d. Th.) 3-Oxododecyl-deuteroporphyrin.IX-dimethylester **53** im Gemisch mit dem 8-Isomeren **55**.

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3445 cm⁻¹ (s, N-H), 2950 (s, ν C-H), 2920 (s, ν C-H), 2850 (s, ν C-H), 1730 (s, C=O Ester), 1645 (m, C=O Carbonyl), 1455 (m), 1440 (m), 1350 (m), 1300 (m), 1280 (m), 1190 (m), 1170 (m), 1130 (w), 1075 (w), 990 (w), 900 (w), 845 (w), 740 (w);

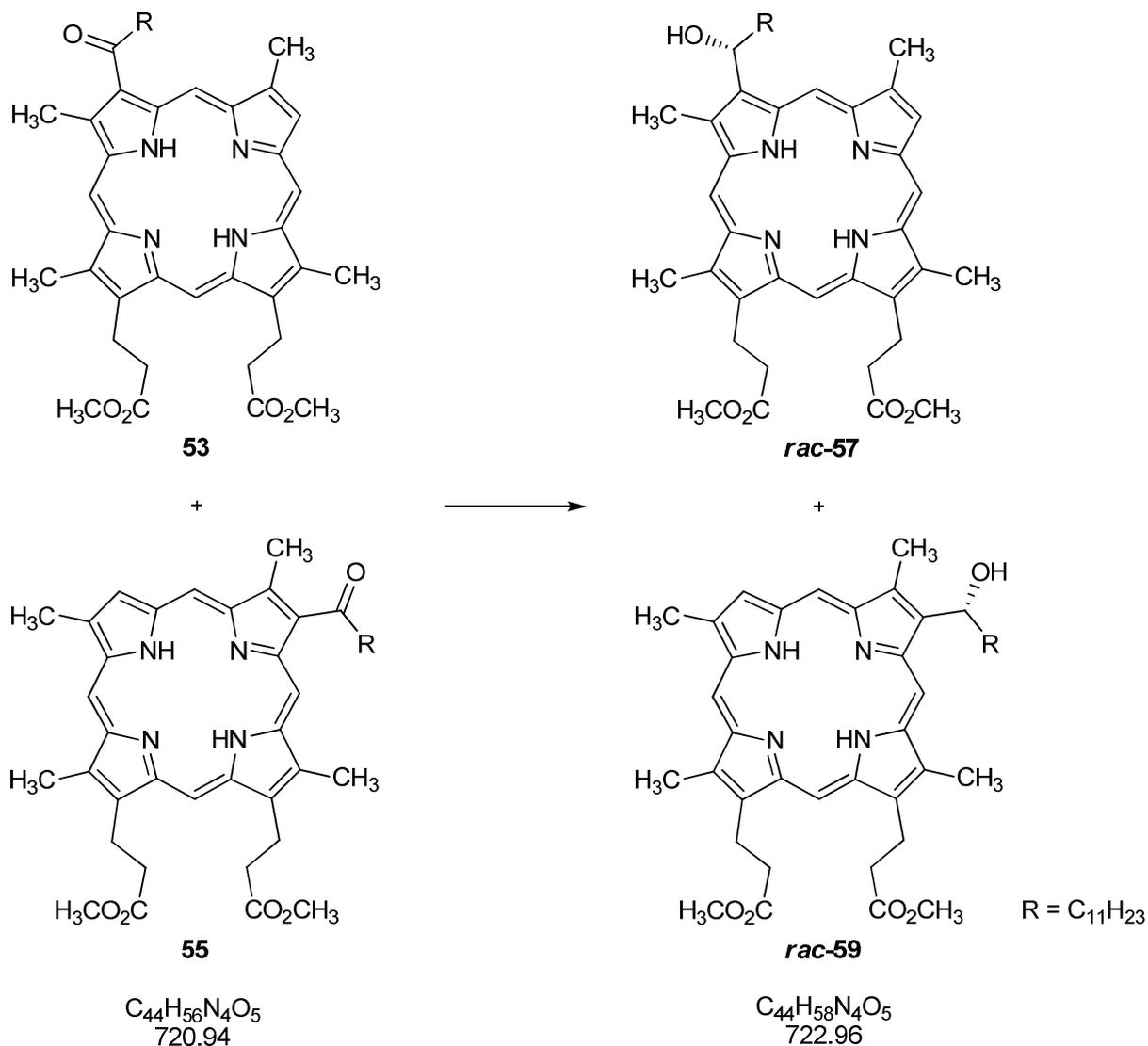
UV/VIS (CH₂Cl₂): λ_{\max} (rel. Intensität) = 628 nm (1), 574 (3.8), 543 (5.7), 507 (5.9), 406 (93);

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): δ = -4.02 (s, NH), 0.88 (t, ³J = 6.5 Hz, 3¹²-CH₃, 8¹²-CH₃), 1.27 (s, 3³-3¹¹-CH₂, 8³-8¹¹-CH₂), 1.65 (m, 3²-CH₂, 8²-CH₂), 2.16, 3.23 (2m, 13²-CH₂, 17²-CH₂), 3.46, 3.51, 3.54, 3.56, 3.61, 3.64, 3.75, 3.81, (8s, 2-, 7-, 12-, 13-, 17-, 18-CH₃), 4.28, 4.37 (2m, 13¹-CH₂, 17¹-CH₂), 9.02, 9.07, (2s, 3-H, 8-H), 9.86, 9.87, 9.88, 9.91, 9.92, 10.60, 10.62 (7s, 5-, 10-, 15-, 20-H) ppm;

MS (EI, 70 eV, Direkteinlass, T = 296°C): m/z (rel. Intensität) = 720 (100) [M]⁺, 538 (80) [M-COC₁₁H₂₃].

Da ein Konstitutionsisomerenmisch vorlag, wurde auf eine weitergehende Charakterisierung verzichtet.

7.4.6 Darstellung von (\pm)-3,3'-[(3RS)-(1-Hydroxytetradecyl)-2,7,12,18-tetramethyl-21H,23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure-dimethylester (*rac*-57) im Gemisch mit dem 8-Isomeren (*rac*-59)



130 mg (0.18 mmol) eines Gemisches der konstitutionsisomeren 3-/8-Oxoheptyldeuteroporphyrin-IX-dimethylester **53** und **55** wurden unter Argonatmosphäre in 30 mL trockenem Dichlormethan gelöst und auf -15°C abgekühlt. 105 mg (2.8 mmol, 15 eq.) Natriumborhydrid wurden unter Argon in 15 mL auf -15°C vorgekühltem, trockenem Methanol gelöst und rasch zur Reaktionslösung gegeben. Daraufhin wurde das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur für 1 h kräftig gerührt. Der Fortgang der Reaktion wurde dabei mittels Dünnschichtchromatographie (Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 6+1) verfolgt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Reaktion durch Zugabe von 0.36 mL Eisessig beendet, wodurch überschüssiges Natriumborhydrid zerstört wurde. Die Lösung wurde 3-mal

7. Experimenteller Teil

mit Wasser (insgesamt 100 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über heiße Watte filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Nach dem Trocknen im Vakuum einer Ölpumpe wurde das Rohproduktgemisch mittels Säulenchromatographie (70 g Kieselgel, CH₂Cl₂+EtOAc, 6+1) gereinigt. Man erhielt 101 mg (0.14 mmol, 77 % d. Th.) des Konstitutionsisomerengemischs *rac*-**57** und *rac*-**59**.

DC (SiO₂, CHCl₂/EtOAc 6+1): R_f = 0.57;

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3445 cm⁻¹ (s, N-H), 3340 (m, O-H), 2920 (s, v C-H), 2850 (s, v C-H), 1735 (s, C=O Ester), 1635 (s), 1610 (s), 1540 (m), 1460 (m), 1400 (w), 1260 (w), 1190 (m), 1160 (m), 1100 (w), 1045 (w), 970 (w), 920 (ww), 845 (w), 820 (w), 720 (m) 670 (m);

UV/VIS (MeOH): λ_{\max} (rel. Intensität) = 621 nm (1), 567 (1.5), 531 (2.0), 498 (3.2), 399 (38);

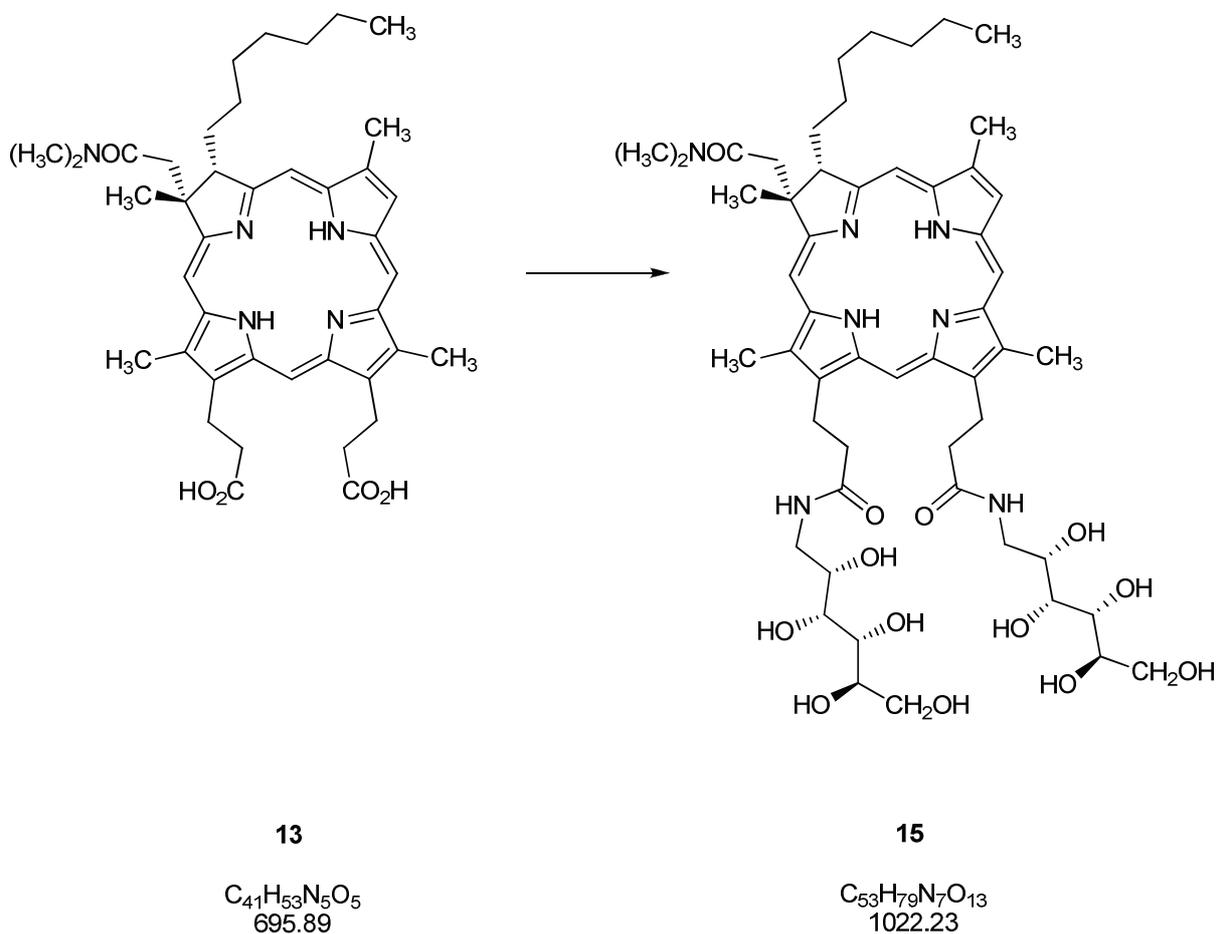
¹H-NMR (360 MHz, CDCl₃): δ = -3.99 (s, NH), 0.81 (t, ³J = 6.5 Hz, 3¹²-CH₃, 8¹²-CH₃), 1.13, 1.25 (2s, 3³-3¹¹-CH₂, 8³-8¹¹-CH₂), 1.60 (m, 3²-CH₂, 8²-CH₂), 2.46, 3.24 (2m, 13²-CH₂, 17²-CH₂), 3.45, 3.54, 3.64, 3.65, 3.66, (5s, 2-, 12-CH₃, 18-CH₃, 13-, 17-OCH₃), 4.31 (m, 13¹-CH₂, 17¹-CH₂), 5.28 (s, 3¹-OH, 8¹-OH), 5.93 (s, 1³-CH-OH, 8¹-CH-OH), 9.02 (s, 8-H, 3-H), 9.88, 9.92, 10.22, 10.24, (4s, 5-, 10-, 15-, 20-H) ppm;

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: 723 [M+H]⁺, 745 [M+Na]⁺, 761 [M+K]⁺; negativ: 721 [M-H]⁻.

Da ein Konstitutionsisomerengemisch vorlag, wurde auf eine weitergehende Charakterisierung verzichtet.

7.5 Synthese von Alkylchlorin-Kohlenhydrat-Amiden

7.5.1 Amidierung von Heptylchlorin mit Glucamin



0.181 mg (0.26 mmol) 3-Heptylchlorin-dicarbonsäure **13** wurden in 55 mL trockenen THF gelöst und mit 12 mL trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurden 1.45 mL (11.2 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 20 mL trockenem THF dazugetropft. Die Reaktionslösung wurde für 1.5 h bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 0.92 g (5.08 mmol) Glucamin 5 mL Ethanol, 5 mL Triethylamin und 5 mL dest. Wasser tropfenweise dazugegeben und 4 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase mit Gradienten chromatographiert (7 g RP-18 SiO_2 , MeOH/ H_2O 1+1, MeOH/ H_2O

7. Experimenteller Teil

2+1, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 218 mg **15** (0.21 mmol) als grünen Feststoff (82 % d. Th).

DC (RP-8, MeOH/H₂O): R_f = 0.17 (**15**);

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3490 cm⁻¹ (s, br, O-H), 2974 (s, sh, ν C-H), 2929 (s, ν C-H), 2738 (m, ν C-H), 2671 (s, C-H), 2597 (s, C-H), 2487 (s, C-H), 1694 (m,), 1635 (s, sh, C=O, Amid), 1616 (s, C=O,Amid), 1546 (m,), 1476 (s, δ C-H), 1395 (s,), 1266 (m, br, C-O), 1170 (m, C-O), 1074 (m,), 1034 (s,), 849 (m,), 805 (m,), 705 (m), 669 (m), 455 (m) cm⁻¹;

UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ϵ) = 389 (177000), 492 (11900), 523 (3400), 594 (3400), 644 (43200);

HPLC (LiChrosorb RP-18, MeOH/H₂O 85:15, 1 mL/min, UV 405 nm): t_{R1} = 16,3 (*trans* - Isomere), t_{R2} = 19,0 (*cis* -Isomere);

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆+Pyridin-d₅, a: *cis*-Isomer, b: *trans*-Isomer, Verhältnis a:b 2:1): δ = -2.64 ab (2s, 2H, Chl-NH), 0.70 a/ 0.75 b (t, ³J = 7.3 Hz, 3H/3H, 3⁷-CH₃), 1.04-1.26 ab (m, 4H, 3³-CH₂, 3⁴-CH₂), 1.08 a/ 1.14 b (m, 2H/2H, 3⁶-CH₂), 1.21/ 1.38 a, 1.43/ 1.59 b (m, 2H/2H, 3²-CH₂), 1.90 a/ 2.18 b (s, 3H/3H, 2-CH₃), 1.96/ 2.21 a, 2.31 b (m, 2H/2H, 3¹-CH₂), 2.71 / 2.84 a, 2.54 / 2.63 b (m, 6H/6H, 2³-N-(CH₃)₂), 3.01 ab (t, 2H, 13²-CH₂), 3.07 ab (t, 2H, 17²-CH₂), 3.12/ 3.38 ab (m, 4H, 13⁵-CH₂, 17⁵-CH₂), 3.48/ 3.93 a , 3.18/ 3.27 b (m, 2H/2H, 2¹-CH₂), 3.36 ab (s, 3H, 12-CH₃), 3.49 a/ 3.46 b (s, 3H/3H, 18-CH₃), 3.52 a/ 3.51 b (s, 3H/3H, 7-CH₃), 3.46 /3.64 ab (m, 4H, 13¹⁰-O-CH₂, 17¹⁰-O-CH₂), 3.49-3.68 ab (m, 6H, 13⁷-13⁹-O-CH, 17⁷-17⁹-O-CH), 3.71 ab (m, 2H, 13⁶-O-CH, 17⁶-O-CH), 4.12 ab (m, 2H, 13²-CH₂), 4.30 ab (m, 2H, 17²-CH₂), 4.76 a/ 5.06 b (dt, 1H, 3-CH), 8.09 ab (s, 1H, 17⁴-NH), 8.10 ab (s, 1H, 13⁴-NH), 9.04 a/ 9.00 b (s, 1H, 20-CH), 9.12 a/ 9.09 b (s, 1H, 5-CH), 9.16 a/ 9.15 b (s, 1H, 8-CH), 9.86 a/ 9.85 b (s, 1H, 10-CH), 9.93 a/ 9.92 b (s, 1H, 15-CH);

¹³C-NMR (90 MHz, DMSO-d₆+Pyridin-d₅, a: *cis*-Isomer, b: *trans*-Isomer): δ = 10.6 ab (18-CH₃), 10.9 ab (12-CH₃), 12.6 ab (7-CH₃), 13.5 ab (3⁷-CH₃), 21.6 ab (3⁶-CH₂), 21. 6 ab (17¹-CH₂), 21.9 ab (13¹-CH₂), 28.7 a/ 22.0 b (2-CH₃), 26.4 a/ 27.2 b (3²-CH₂), 28.0-29.0 ab (3³-CH₂, 3⁴-CH₂), 30.8 a/ 31.0 b (3⁵-CH₂), 31.0 a/ 31.6 b (3¹-CH₂), 34.6/ 36.7 a, 34.4/ 36.4 b (2⁴-N-(CH₃)₂), 37.4 a/ 43.5 b (2¹-CH₂), 37.9 ab (17²-CH₂), 38.5 ab (13²-CH₂), 42.0 ab (13⁵-N-

CH₂, 17⁵-N-CH₂), 52.0 a/ 51.8 b (2-CH), 57.1 a/ 54.2 b (3-CH), 61.5-72.0 ab (13⁷-13⁹-C-OH, 17⁷-17⁹-C-OH), 63.2 ab (13¹⁰-CH₂-OH, 17¹⁰-CH₂-OH), 71.7 ab (13⁶-C-OH, 17⁶-C-OH), 91.4 ab (20-CH), 93.7 a/ 93.6 b(5-CH), 98.7 ab (15-CH), 101.8 ab (10-CH), 125.9 ab (8-CH), 170.9 a/ 170.1 b (2²-C=O), 172.2 ab (17³-C=O), 172.6 ab (13³-C=O);

MS (MALDI, cca) positiv: $m/z = 1022$ [M]⁺; negativ: $m/z = 1021$ [M-H]⁻;

(ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: $m/z = 1022$ [M+H]⁺, 1044 [M+Na]⁺, 1060 [M+K]⁺;

negativ: $m/z = 1020$ [M-H]⁻, 1056 [M+Cl]⁻;

7. Experimenteller Teil

Die Reaktionslösung wurde für 1 h bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 250 mg (1.65 mmol) 1-Amino-1deoxy-arabinitol (1.65 mmol) in 0.8 mL Ethanol, 0.5 mL Triethylamin und 0.6 mL dest. Wasser tropfenweise dazugegeben und 4 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase mit Gradienten chromatographiert (8 g RP-18 SiO₂, MeOH/H₂O 1+1, MeOH/H₂O 2+1, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 39 mg (0.041 mmol, 72 % d. Th.) amidiertes Heptylchlorin **16** als grünen Feststoff.

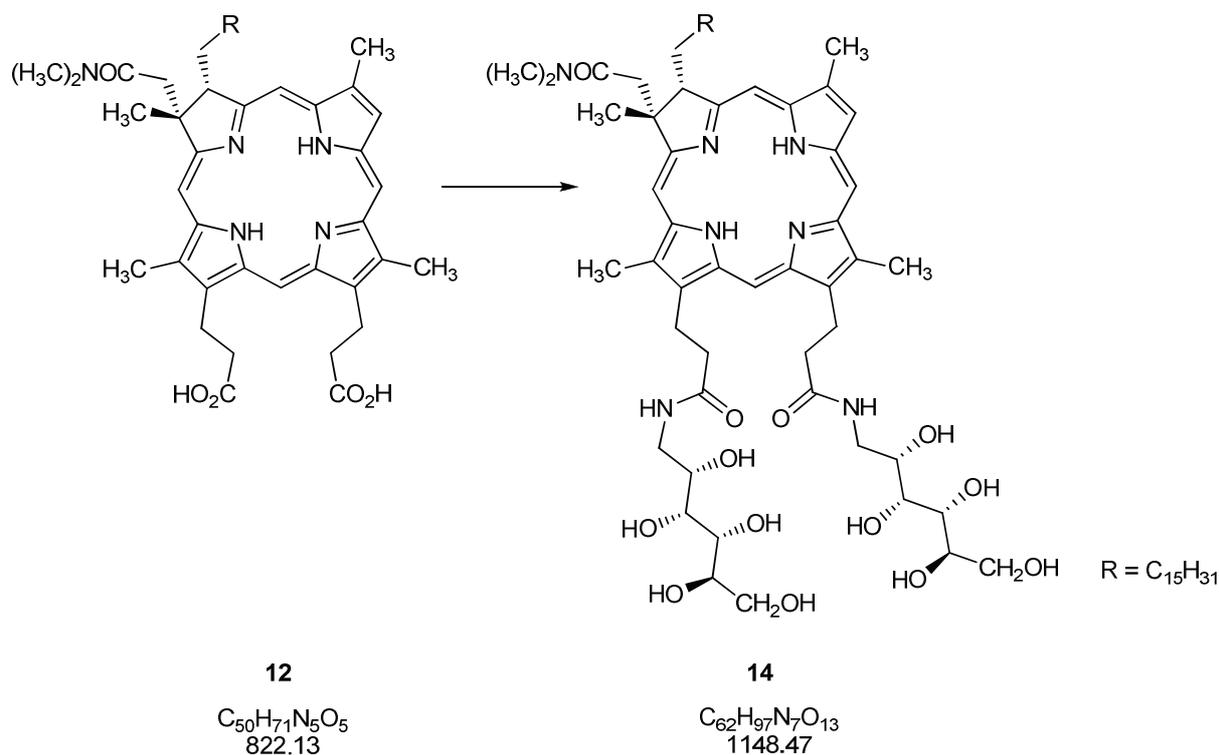
IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3435\text{ cm}^{-1}$ (s, br, O-H), 2951 (m, ν C-H), 2925 (m, ν C-H), 2854 (m), 1620 (s), 1550 (w), 1453 (w), 1386 (w), 1192 (sh), 1103 (s);

UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ϵ): 389 (137500), 494 (9275), 523 (3020), 593 (3950), 643 (32060) nm;

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): $\delta = -2.72$ (s, 2H, Chl-NH), 0.73 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 3H, 3⁷-CH₃), 1.10 (m, 4H, 3³-CH₂, 3⁴-CH₂), 1.18 (m, 4H, 3⁶-CH₂, 3²-CH₂), 1.87 (s, 3H, 2-CH₃), 2.15 (m, 2H/2H, 3¹-CH₂), 2.71, 2.84 (2s, 6H, 2³-N-(CH₃)₂), 3.03 (t, 2H, 13²-CH₂), 3.16 (t, 2H, 17²-CH₂), 3.19 (m, 4H, 13⁵-CH₂, 17⁵-CH₂), 3.52/ 3.97 (2m, 2H, 2¹-CH₂), 3.38 (s, 3H, 12-CH₃), 3.49 (s, 3H, 18-CH₃), 3.52 (s, 3H, 7-CH₃), 3.61 (m, 4H, 13¹⁰-O-CH₂, 17¹⁰-O-CH₂), 3.71-3.79 (m, 6H, 13⁷-13⁸-O-CH, 17⁷-17⁸-O-CH), 3.90-3.97 (m, 2H, 13⁶-O-CH, 17⁶-O-CH), 4.45 (m, 4H, 13²-CH₂, 17²-CH₂), 4.72 (t, 1H, 3-CH), 8.09 (s, br, 2H, 13⁴-NH, 17⁴-NH), 9.02 (s, 1H, 20-CH), 9.09 b (s, 1H, 5-CH), 9.15 (s, 1H, 8-CH), 9.84 (s, 1H, 10-CH), 9.88 (s, 1H, 15-CH) ppm;

MS (ESI, positiv, MeOH): $m/z = 962$ [M+H]⁺, 984[M+H]⁺, 1000 [M+K]⁺; (ESI, negativ, MeOH): $m/z = 960$ [M-H]⁻, 996 [M+Cl]⁻.

7.5.4 Amidierung von Palmitylchlorin mit Glucamin



29 mg (0.035 mmol) 3-Palmitylchlorin-dicarbonsäure **12** wurden in 6 mL trockenen THF gelöst und mit 0.3 mL trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurden 0.3 mL (2.3 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 2 mL trockenem THF dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde für 1.5 h bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 90 mg (0.49 mmol) Glucamin 0.8 mL dest. Wasser, 0.4 mL Triethylamin und 0.4 mL Ethanol tropfenweise dazugegeben und 16 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase mit Gradienten chromatographiert (7 g RP-18 SiO₂, MeOH/H₂O 1+1, MeOH/H₂O 2+1, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 28 mg (0.024 mmol) **14** als grünen Feststoff (70 % d. Th).

IR (KBr): $\hat{\nu} = 3490\text{ cm}^{-1}$ (s, br, O-H), 2974 (s, sh, v C-H), 2929 (s, v C-H), 2738 (m, v C-H), 2671 (s, C-H), 2597 (s, C-H), 2487 (s, C-H), 1694 (m,), 1635 (s, sh, C=O, Amid), 1616 (s,

7. Experimenteller Teil

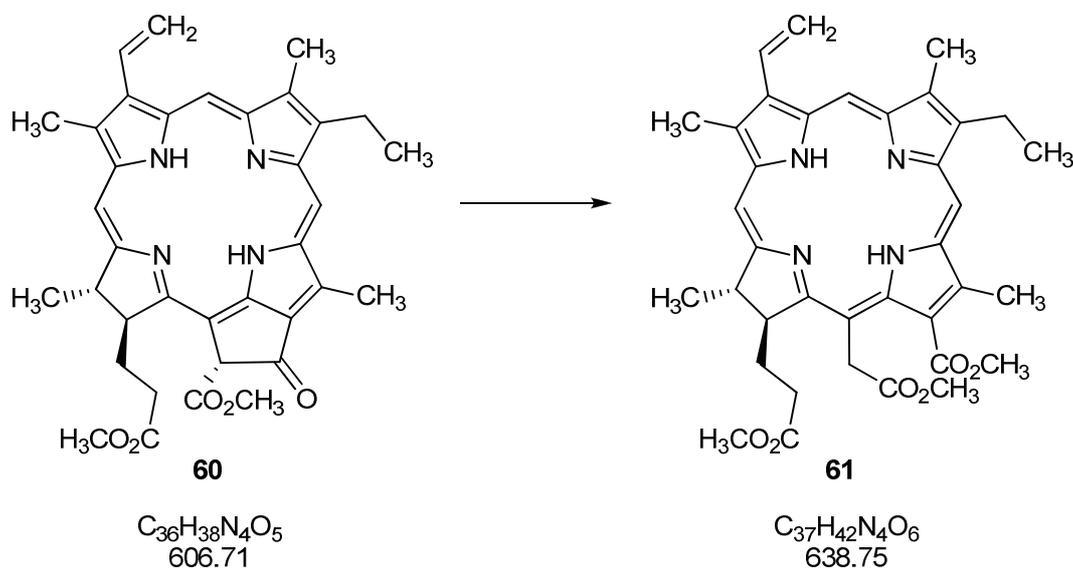
C=O,Amid), 1546 (m,), 1476 (s, δ C-H), 1395 (s,), 1266 (m, br, C-O), 1170 (m, C-O), 1074 (m,), 1034 (s,), 849 (m,), 805 (m,), 705 (m), 669 (m), 455 (m) cm^{-1} ;

UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ϵ) = 389 nm (170000), 494 (11000), 592 (4300), 642 (36500);

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6): δ = -2.64 (2s, 2H, Chl-NH), 0.79 (t, 3J = 7.3 Hz, 3H, 3^{16} -CH₃), 1.00–1.20 (m, 24H, 3^3 -CH₂, 3^{14} -CH₂), 1.16 (m, 2H, 3^{15} -CH₂), 1.15/1.32 (m, 2H, 3^2 -CH₂), 1.79 (s, 3H, 2-CH₃), 1.87/2.16 (m, 2H, 3^1 -CH₂), 2.74, 2.84, (m, 6H, 2^3 -N-(CH₃)₂), 2.95 (t, 2H, 17^2 -CH₂), 3.01 (m, 2H, 13^5 -CH₂), 3.03 (t, 2H, 13^2 -CH₂), 3.07 (m, 2H, 17^5 -CH₂), 3.36 (s, 3H, 18-CH₃), 3.36, 3.55 (m, 4H, 13^{10} -CH₂-OH, 17^{10} -CH₂-OH), 3.41–3.61 (m, 6H, 13^7 - 13^9 -O-CH, 17^7 - 17^9 -O-CH), 3.44 (s, 3H, 12-CH₃), 3.61 (s, 3H, 7-CH₃), 3.63 (m, 2H, 13^6 -O-CH, 17^6 -O-CH), 4.07 (m, 2H, 17^1 -CH₂), 4.25 (m, 2H, 13^1 -CH₂), 4.70 (m, 1H, 3-CH), 8.02 (s, 2H, 13^4 -NH, 17^4 -NH), 8.84 (s, 1H, 8-CH), 9.00 (s, 1H, 5-CH), 9.05 (s, 1H, 10-CH), 9.81 (s, 1H, 20-CH), 9.84 (s, 1H, 15-CH) ppm;

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, DMSO- d_6): δ = 10.9 (12-CH₃), 11.3 (18-CH₃), 13.2 (7-CH₃), 14.0 (3^{16} -CH₃), 21.9 (13^1 -CH₂), 22.1 (3^{15} -CH₂), 22.2 (17^1 -CH₂), 26.5 (3^2 -CH₂), 28.7 (2-CH₃), 28.8–29.1 (3^3 -CH₂– 3^{13} -CH₂), 31.5 (3^1 -CH₂), 35.0, 37.0 (2^4 -N-(CH₃)₂), 37.6 (2^1 -CH₂), 38.3 (13^2 -CH₂), 39.0 (17^2 -CH₂), 42.2 (17^5 -N-CH₂), 45.6 (13^5 -N-CH₂), 51.7 (2-CH), 57.5 (3-CH), 63.4 (13^{10} -CH₂-OH, 17^{10} -CH₂-OH), 71.8 (13^6 -C-OH, 17^6 -C-OH), 71.5–72.0 (13^7 - 13^9 -C-OH, 17^7 - 17^9 -C-OH), 93.4 (15-CH), 94.4 (5-CH), 98.8 (15-CH), 100.1 (20-CH), 122.0 (8-CH), 129.6 (12-C_q), 132.5 (14-C_q=N), 132.6 (1-C_q=N), 136.8 (2-C_q), 137.2 (18-C_q), 137.9 (4-C_q=N), 137.6 (16-C_q=N), 137.8 (13-C_q), 140.5 (17-C_q), 149.3 (19-C_q=N), 149.8 (16-C_q=N), 167.1 (9-C_q=N), 170.9 (2^2 -C=O), 172.1 (13^3 -C=O), 172.4 (17^3 -C=O) ppm;

MS (ESI, MeOH+CH₂Cl₂, 10+1) positiv: m/z = 1022 [M+H]⁺, 1044 [M+Na]⁺, 1060 [M+K]⁺;
negativ: m/z = 1020 [M-H]⁻ 1056 [M+Cl]⁻.

7.6 Synthese von Chlorin *e*₆-Derivaten7.6.1 Darstellung von 17*S*,18*S*-[8-Ethyl-17-(2-methoxycarbonyl-ethyl)-15-methoxycarbonylmethyl-2,7,12,18-tetramethyl-3-vinyl-17,18-dihydro-21*H*,23*H*-porphyrin-13-yl]-carbonsäure-methylester (**61**)

1.7 g (2.8 mmol) Pheophorbid *a*-methylester **60** wurden unter Argon in 20 mL trockenem, entgastem Tetrahydrofuran gelöst und mit 100 mL Chloroform versetzt. Anschließend wurden 10 mL einer 1 M KOH in Methanol auf einmal dazugegeben und für 30 min bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss gerührt. Die Reaktionslösung wurde auf 400 mL Eiswasser gegossen und zweimal mit je 100 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden viermal mit je 200 mL Wasser gewaschen und über heiße Watte filtriert. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (200 g Kieselgel, CH₂Cl₂/PE/Aceton 10+10+1) gereinigt. Eine Umkristallisation aus Aceton/Methanol ergab 1.3 g (2.0 mmol, 73 % d. Th.) Chlorin *e*₆-Trimethylester **61** als schwarz-blauen Feststoff.

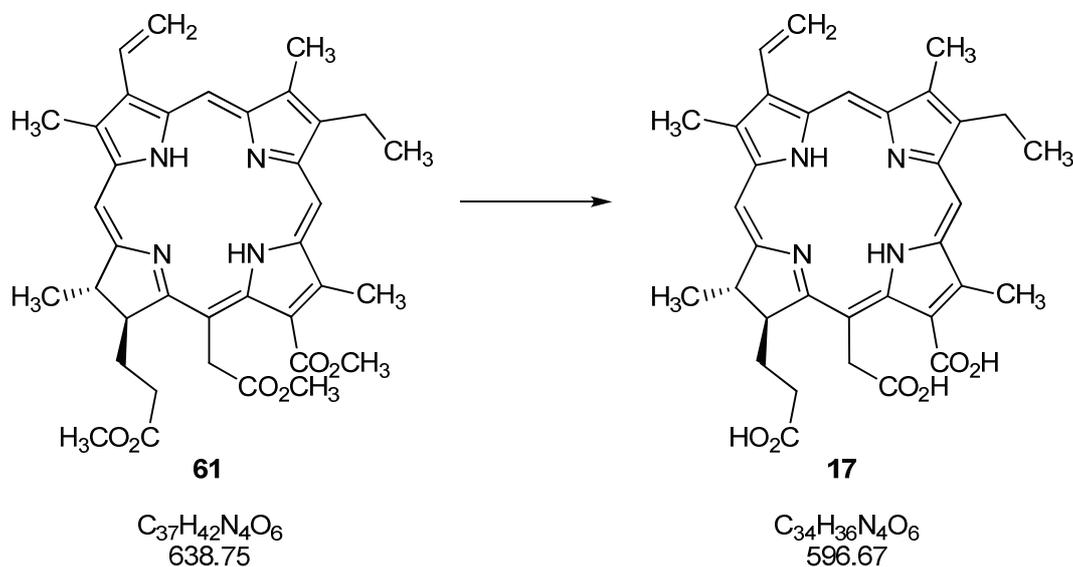
Schmelzpunkt (Aceton/MeOH): 210 °C (Lit: 211 °C (Aceton/MeOH));

MS (ESI, positiv, CH₂Cl₂/MeOH 1:10): $m/z = 639$ [M+H]⁺; (ESI, negativ, MeOH): $m/z = 637$ [M-H]⁻;

BRN: 1208350.

7. Experimenteller Teil

7.6.2 Darstellung 17S,18S-[8-Ethyl-17-(2-carboxyl-ethyl)-15-carboxymethyl-2,7,12,18-tetramethyl-3-vinyl-17,18-dihydro-21H,23H-porphyrin13-yl]-carbonsäure (17)



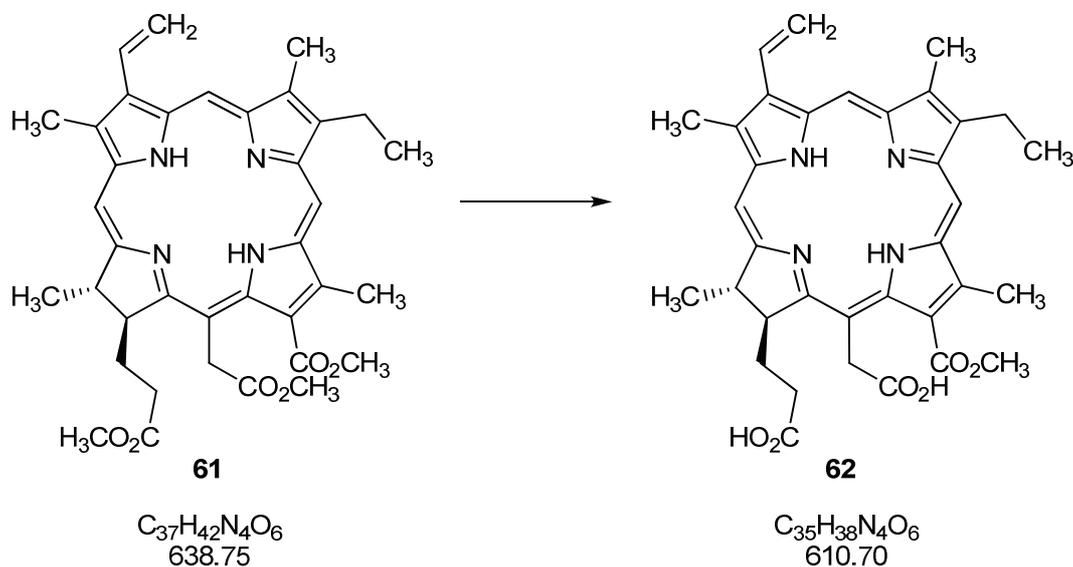
147 mg (0.23 mmol) Chlorin e_6 -Trimethylester **61** wurden in 10 mL entgastem Aceton gelöst und mit 10 mL entgaster 15 %iger KOH in Methanol versetzt. Die Reaktionslösung wurde unter Argon für 40 min bei 40 °C und Lichtausschluss gerührt und anschließend 150 min auf 60°C unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionsmischung auf 100 mL 0.25 M HCl gegossen und über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Der ausgefallene feine, schwarze Niederschlag wurde über eine Glasfritte filtriert und mit Wasser gewaschen. Anschließend wurde der Rückstand in Aceton gelöst und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Produkt wurde im Vakuum einer Ölpumpe getrocknet und man erhielt ohne weitere Aufarbeitung 138 mg (0.22 mmol, 99% d. Th.) Chlorin e_6 **17** als schwarzer Feststoff.

Schmelzpunkt (MeOH/ $CHCl_3$): > 230 °C;

MS (ESI, positiv, MeOH): $m/z = 597 [M+H]^+$; (ESI, negativ, MeOH): $m/z = 595[M-H]^-$;

BRN: 75185.

7.6.3 Darstellung von 17S,18S-[8-Ethyl-17-(2-carboxyl-ethyl)-15-carboxymethyl-2,7,12,18-tetramethyl-3-vinyl-17,18-dihydro-21H,23H-porphyrin13-yl]-carbonsäure-methylester (**62**)



Chlorin e_6 - α -monomethylester **62** wurde nach der in der Literatur^[44] beschriebenen Vorschrift dargestellt.

Schmelzpunkt (CHCl₃/PE): > 230 °C;

IR (KBr): $\hat{\nu} = 3420 \text{ cm}^{-1}$ (s), 2960 (m, C-H), 2920 (s, C-H), 2860 (m, C-H), 1720 (s), 1600 (s), 1440 (m), 1380 (m), 1255 (m), 1215 (m), 800 (w), 730 (w), 670 (w);

UV/VIS (MeOH): λ_{max} (rel. Absorption) = 410 nm (31.3), 503 (1.1), 530 (1.5), 560 (1), 600 (1.1), 648 (5.3);

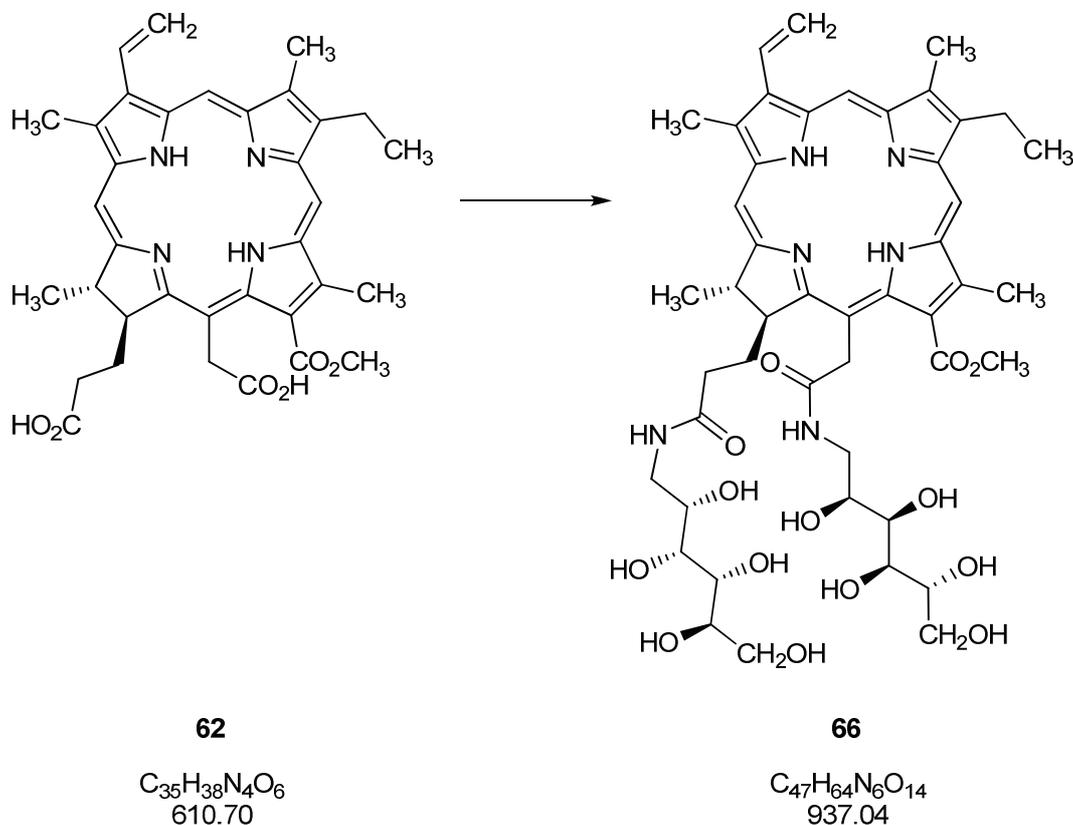
¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃+Pyridin-d₅): $\delta = 1.53$ (t, $^3J = 7.2$ Hz, 3H, 8-CH₃), 1.61 (s, 3H, 18-CH₃), 1.67 (s, 1H, 17-CH₂), 2.16 (m, 1H, 17-CO-CH₂), 2.21 (m, 1H, 17-CH₃), 2.50 (m, 1H, 17-CO-CH₂), 3.10 (s, 3H, 7-CH₃), 3.26 (s, 3H, 2-CH₃), 3.39 (s, 3H, 12-CH₃), 3.59 (q, 2H, 8-CH₂), 4.07 (s, 3H, 13-COO-CH₃), 4.36 (q, $^3J = 8.0$ Hz, 1H, 18-CH), 4.50 (d, 1H, 17-CH), 5.24/5.31 (q, $^3J = 7.8$ Hz, 2H, 15-CH₂), 5.94/6.16 (dd, 2H, 3-CH₂), 7.89 (dd, 1H, 3-CH), 8.62 (s, 1H, 20-CH), 9.41 (s, 1H, 5-CH), 9.51 (s, 1H, 10-CH) ppm;

7. Experimenteller Teil

$^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3 +Pyridin- d_5): δ = 10.5 (7- CH_3), 11.4 (2- CH_3), 11.5 (12- CH_3), 16.8 (8- CH_3), 18.9 (8- CH_2), 22.5 (18- CH_3), 29.4 (17- CH_2), 31.1 (17-CO- CH_2), 38.4 (15- CH_2), 48.8 (18- CH), 52.3 (13- OCH_3), 52.5 (17- CH), 93.2 (20- CH), 97.8 (5- CH), 101.1(10- CH), 103.2 (15- C), 121.0 (3- CH_2), 123.3 (13- C), 128.9 (11-N= C), 129.0 (3- CH), 129.8 (2- C), 133.9 (3- C), 134.4 (4-N= C), 135.2 (14-N= C), 135.3 (7- C), 135.8 (12- C), 138.5 (1-N= C), 144.5 (8- C), 148.2 (9-N= C), 153.9 (6-N= C), 167.6 (16-N= C), 169.2 (13- $\text{C}=\text{O}$), 169.2 (19-N= C), 174.7 (15-COOH), 175.4 (17-COOH) ppm;

MS (ESI, positiv, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:10): 611 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

BRN: 75359.

7.7 Synthese von Chlorin *e*₆-Kohlenhydrat-Amiden7.7.1 Umsetzung von Chlorin *e*₆- α -monomethylester **62** mit Glucamin

20 mg (0.033 mmol) Chlorin *e*₆- α -monomethylester **62** wurden in 5 mL trockenen THF gelöst und mit 0.12 ml trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf -15°C wurden 0.2 mL (1.5 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 5 mL trockenem THF dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde für 1 h bei -15°C gerührt bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 60 mg (0.33 mmol) Glucamin in 0.5 mL Ethanol, 0.5 mL Triethylamin und 0.5 mL dest. Wasser tropfenweise dazugegeben und 15 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase mit Gradienten chromatographiert (RP-18 SiO_2 , MeOH/ H_2O 1+1, MeOH/ H_2O 2+1, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 18 mg amidierten Chlorin *e*₆- α -monomethylester **66** (0.019 mmol, 59 % d. Th.) als grünen Feststoff.

7. Experimenteller Teil

Schmelzpunkt (MeOH/CHCl₃): 132-133 °C;

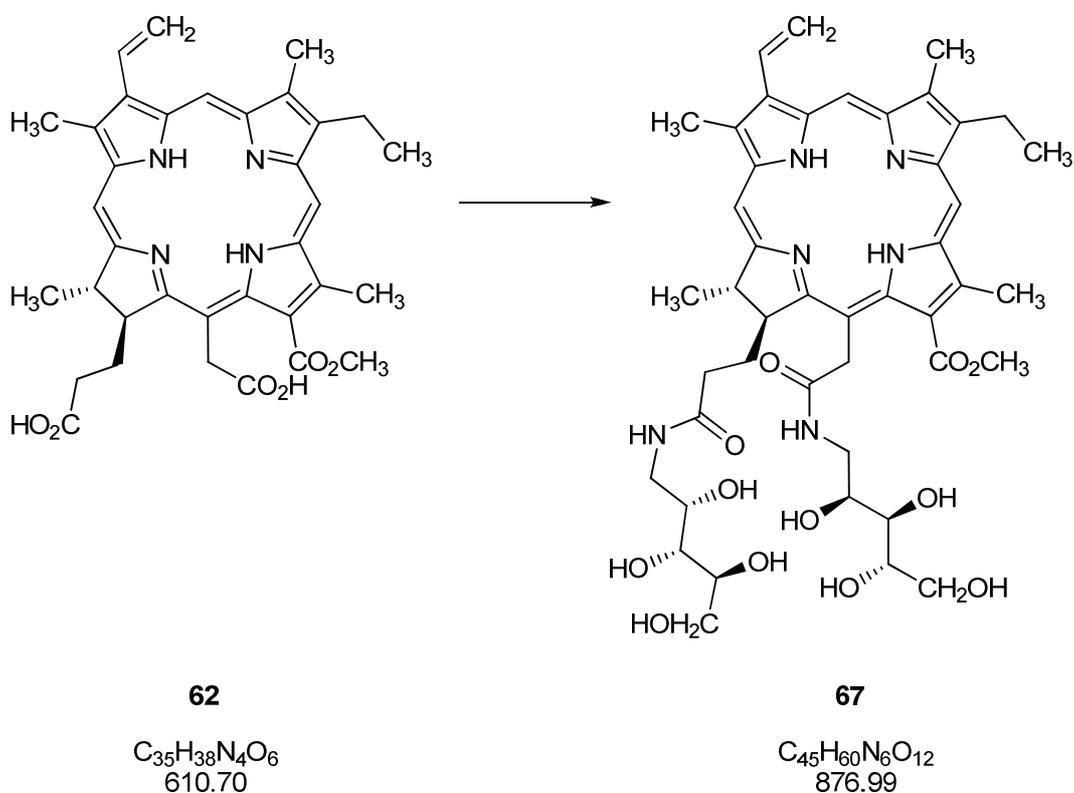
IR (KBr): $\hat{\nu}$ = 3395 cm⁻¹ (s, br, ν O-H, N-H), 2945 (m, ν C-H), 2910 (m, ν C-H), 2850 (m, ν C-H), 1710 (m, ν C=O Ester), 1670 (s, ν C=C), 1540 (m, ν C=C), 1440 (δ C-H), 1385 (m), 1240 (m, C-O), 1070 (s), 725 (m);

UV/VIS (MeOH): λ_{\max} (ϵ) = 401 nm (102000), 500 (9300), 531 (5800), 606 (5100), 663 (28000);

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ = -1.58/-1.81 (2s, 2H, Chl-NH), 1.58/ 2.11 (t, 2H, 17¹-CH₂), 1.67 (t, 6H, 18-CH₃, 8-CH₃), 2.08/ 2.42 (m, 2H, 17²-CH₂), 3.02/ 3.24 (m, 2H, 15⁴-N-CH₂), 3.09/ 3.40 (m, 2H, 17⁵-N-CH₂), 3.30 (s, 3H, 7-CH₃), 3.35/ 3.53 (m, 4H, 15⁹-O-CH₂, 17¹⁰-O-CH₂), 3.40-3.70 (m, 8H, 15⁵-15⁸-O-CH, 17⁵-17⁹-O-CH), 3.52 (s, 3H, 2-CH₃), 3.54 (s, 3H, 12-CH₃), 3.81 (q, 2H, 8-CH₂), 4.19 (s, 3H, 13-O-CH₃), 4.20-4.70 (m, 10 H, 15⁵-15⁹-OH, 17⁶-17¹⁰-OH), 4.35 (d, 1H, 17-CH), 4.57 (d, 1H, 18-CH), 5.08 (s, 2H, 15¹-CH₂), 6.19/ 6.46 (2d, 2H, 3¹=CH₂), 7.71 (t, 1H, 15³-NH), 7.79 (t, 1H, 17⁴-NH), 8.31 (dd, 1H, 3²=CH₂), 9.08 (s, 1H, 20-CH), 9.69 (s, 1H, 5-CH), 9.77 (s, 1H, 10-CH) ppm;

¹³C-NMR (90 MHz, DMSO-d₆): δ = 10.8 (7-CH₃), 11.7 (12-CH₃), 11.9 (2-CH₃), 17.6 (8-CH₃), 18.6 (8-CH₂), 22.8 (18-CH₃), 30.4 (17¹-CH₂), 32.5 (17²-CH₂), 39.0 (15¹-CH₂), 41.8 (15⁴-N-CH₂), 42.4 (17⁵-N-CH₂), 48.3 (18-CH), 52.7 (17-CH), 53.1 (13-O-CH₃), 63.1 (15¹⁰-O-CH₂, 17¹⁰-O-CH₂), 69.4-74.4 (15⁵-15⁸-O-CH, 17⁶-17⁹-O-CH), 94.1 (20-CH), 98.2 (5-CH), 101.4 (10-CH), 122.2 (3²=CH₂), 129.3 (3¹=CH) ppm;

MS (ESI, positiv, MeOH): m/z = 959 [M+Na]⁺, 975 [M+K]⁺; (ESI, negativ, MeOH): m/z = 971 [M+Cl]⁻.

7.7.2 Amidierung von Chlorin e₆- α -monomethylester **62** mit 1-Deoxy-Arabinitylamin

39 mg (0.063 mmol) Chlorin e₆- α -monomethylester **62** wurden in 10 mL trockenen THF gelöst und mit 0.35 mL trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurden 0.25 mL (1.9 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 5 mL trockenem THF dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde für 30 min bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 200 mg (1.3 mmol) 1-Amino-1-deoxy-arabinitol in 0.8 mL Ethanol, 0.5 mL Triethylamin und 0.6 mL dest. Wasser tropfenweise dazugegeben und 15 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase-Säule mit Gradienten chromatographiert (RP-18 SiO₂, MeOH/H₂O 1+1, MeOH/H₂O 2+1, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 34 mg (0.039 mmol, 61 % d. Th.) amidierter Chlorin e₆- α -monomethylester **67** als grünen Feststoff.

Schmelzpunkt (MeOH/CHCl₃): $> 230\text{ }^{\circ}\text{C}$;

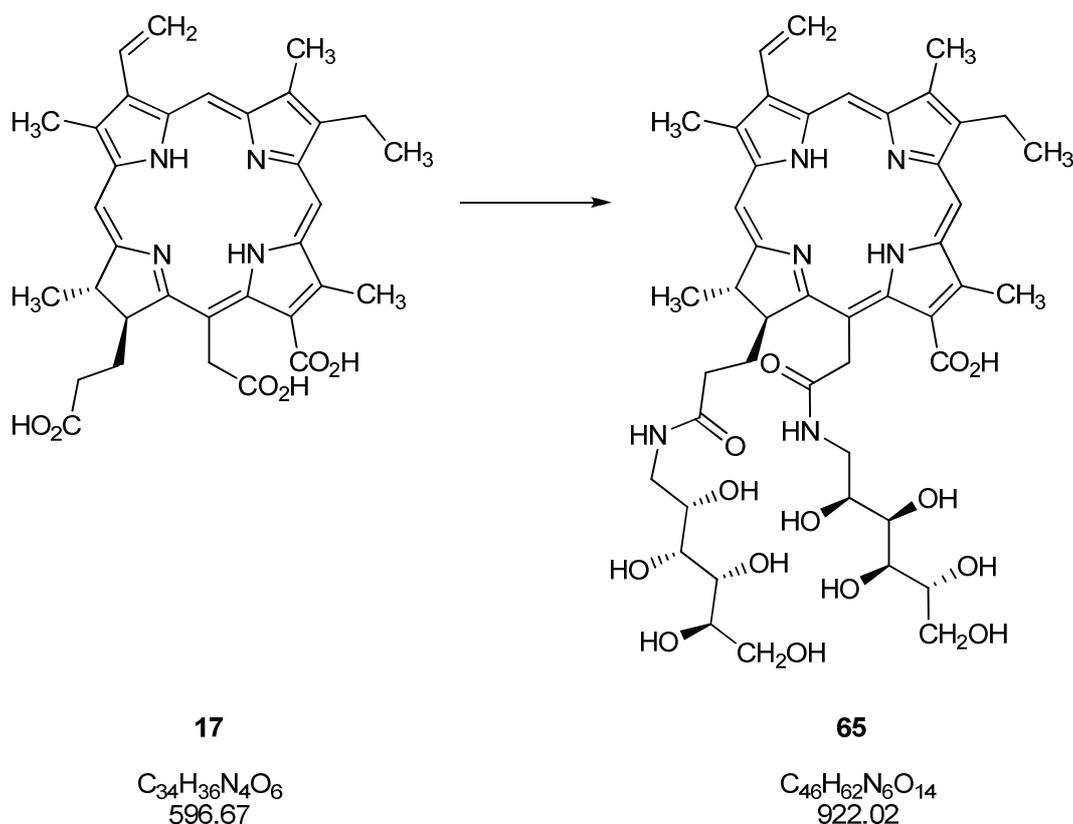
7. Experimenteller Teil

IR (KBr): $\hat{\nu} = 3395 \text{ cm}^{-1}$ (s, br, ν O-H, N-H), 2945 (m, ν C-H), 2910 (m, ν C-H), 2850 (m, ν C-H), 1710 (m, ν C=O Ester), 1600 (s, ν C=O Amid), 1540 (m, ν C=C), 1440 (δ C-H), 1385 (m), 1240 (m, C-O), 1070 (s), 725 (m);

UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ϵ) = 400 nm (103000), 501 (9400), 532 (5700), 607 (5000), 663 (29000);

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -1.59/-1.83$ (2s, 2H, Chl-NH), 1.65/ 2.14 (t, 2H, 17¹-CH₂), 1.65 (t, 6H, 18-CH₃, 8-CH₃), 2.84 (t, 2H, 17²-CH₂), 3.03 (m, 2H, 15⁴-N-CH₂), 3.16 (m, 2H, 17⁵-N-CH₂), 3.19 (s, 3H, 7-CH₃), 3.47 (m, 4H, 15⁸-O-CH₂, 17⁹-O-CH₂), 3.40-3.60 (m, 6H, 15⁵-15⁷-O-CH, 17⁵-17⁸-O-CH), 3.49 (s, 3H, 2-CH₃), 3.52 (s, 3H, 12-CH₃), 3.75 (q, 2H, 8-CH₂), 4.09 (s, 3H, 13-O-CH₃), 4.20-4.50 (m, 8 H, 15⁵-15⁸-OH, 17⁶-17⁹-OH), 4.35 (d, 1H, 17-CH), 4.45 (d, 1H, 18-CH), 5.02 (m, 2H, 15¹-CH₂), 6.20/ 6.49 (2d, 2H, 3¹=CH₂), 7.77 (t, 1H, 15³-NH), 7.83 (t, 1H, 17⁴-NH), 8.31 (dd, 1H, 3²=CH₂), 9.06 (s, 1H, 20=CH), 9.69 (s, 1H, 5=CH), 9.75 (s, 1H, 10=CH) ppm;

MS (ESI, positiv, MeOH): $m/z = 872$ [M+H]⁺, 899[M+H]⁺, 915 [M+K]⁺; (ESI, negativ, MeOH): $m/z = 911$ [M+Cl]⁻.

7.7.3 Amidierung von Chlorin e₆ **17** mit Glucamin

45 mg (0.075 mmol) Chlorin e₆ **17** wurden in 20 mL trockenem THF gelöst und mit 0.36 mL trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurden 0.3 mL (2.3 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 5 mL trockenem THF dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde für 15 min bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 150 mg (0.83 mmol) Glucamin in 1.6 mL Ethanol, 1.0 mL Triethylamin und 1.0 mL dest. Wasser tropfenweise dazugegeben und 15 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in Wasser gelöst und mit Ethylacetat gewaschen. Die wässrige Phase wurde am Lyophilisator gefriergetrocknet. Das Rohprodukt wurde mittels reversed-phase-Säule mit Gradienten chromatographiert (RP-18 SiO₂, MeOH/H₂O 4+3, MeOH). Nach dem Entfernen des Lösungsmittels und Trocknen im Hochvakuum erhielt man 61 mg (0.066 mmol, 88 % d. Th.) amidierte Chlorin e₆- α-monocarbonsäure **65** als grünen Feststoff.

Schmelzpunkt (MeOH/CHCl₃): $> 230\text{ }^{\circ}\text{C}$;

7. Experimenteller Teil

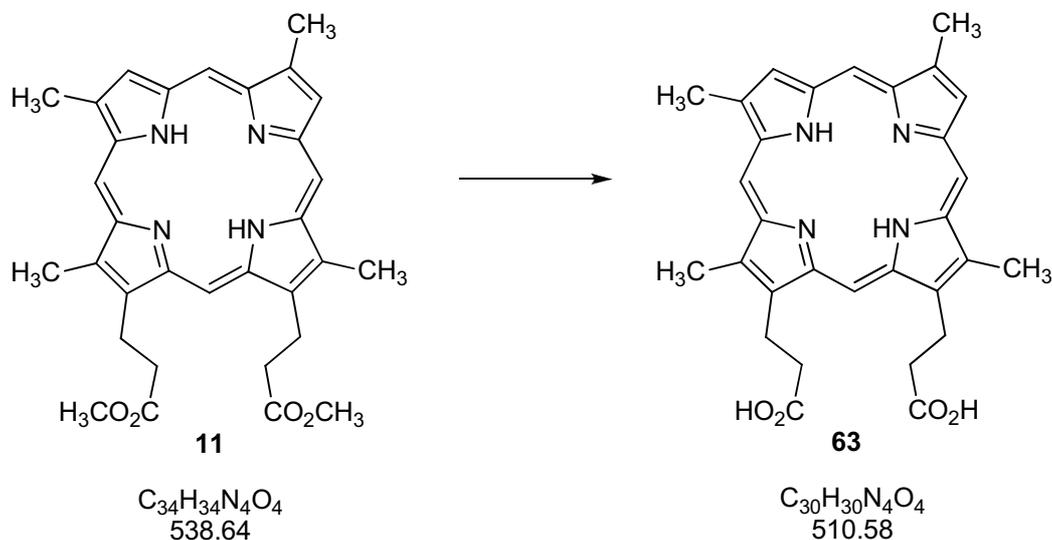
IR (KBr): $\hat{\nu} = 3410 \text{ cm}^{-1}$ (s, br, ν O-H, N-H), 2965 (m, ν C-H), 2935 (m, ν C-H), 2850 (m, ν C-H), 1690 (m, ν C=O Säure), 1620 (s, ν C=O Amid), 1540 (m, ν C=C), 1470 (m, δ C-H), 1430 (m), 1265 (m, C-O), 1160 (w), 1080 (m), 1030 (w), 725 (m);

UV/VIS (MeOH): λ_{max} (ϵ) = 400 nm (102000), 499 (9200), 530 (5500), 607 (4800), 662 (29300);

MS (ESI, positiv, MeOH): $m/z = 872$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 899 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 915 $[\text{M}+\text{K}]^+$; (ESI, negativ, MeOH): $m/z = 911$ $[\text{M}+\text{Cl}]^-$.

7.8 Synthese eines Deuteroporphyrin-Kohlenhydrat-Amids

7.8.1 Darstellung von 3,3'-[2,7,12,18-Tetramethyl-21H, 23H-porphyrin-13,17-diyl]-dipropionsäure (63)



63 mg (0.12 mmol) Deuteroporphyrin-IX-dimethylester **11** wurden in 10 mL THF gelöst und mit 30 mL 5 molarer KOH versetzt. Die Reaktionslösung wurde für 24 h unter Rückfluss erhitzt. Nach Abkühlen der Reaktionslösung wurde diese mit 100 mL pH-4 Pufferlösung versetzt und mit 2 molarer HCl auf pH-2-3 angesäuert. Die wässrige Phase wurde dreimal mit insgesamt 150 mL *tert*-Butylmethylether extrahiert. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Man erhielt ohne weitere Aufarbeitung 55 mg (0.108 mmol, 93 % d. Th.) Deuteroporphyrin-IX-dicarbonsäure **63**.

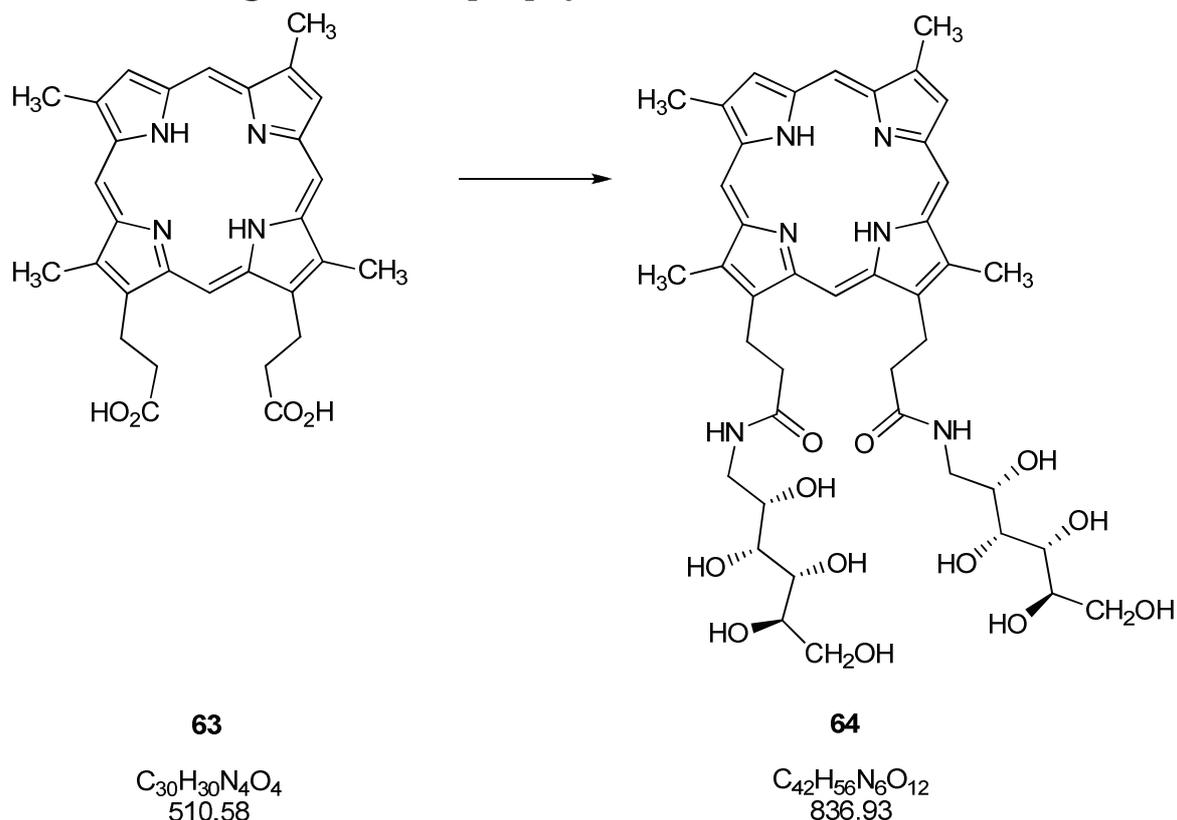
Schmelzpunkt: > 230°C;

IR (KBr): $\tilde{\nu}$ = 3435 cm^{-1} (s, N-H), 2920 (s, ν C-H), 2850 (s, ν C-H), 1700 (s, C=O Säure), 1400 (w), 1075 (w), 840 (w), 730 (m) 690 (m);

MS (ESI, THF+CH₃CN, 1+10) positiv: 511 [M+H]⁺; negativ: 509 [M-H]⁻;

CAS: 448-65-7;

BRN: 5786175.

7.8.2 Amidierung von Deuteroporphyrin-IX-dicarbonsäure **63** mit Glucamin

50.0 mg (0.098 mmol) Deuteroporphyrin-IX-dicarbonsäure **63** wurden in 18 mL trockenem THF gelöst und mit 0.9 mL trockenem Triethylamin versetzt. Nach dem Abkühlen auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ wurden 1.0 mL (7.7 mmol) Chlorameisensäureisobutylester in 10 mL trockenem THF dazu getropft. Die Reaktionslösung wurde für 1.5 h bei $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt, bis sich das Anhydrid vollständig gebildet hatte. Daraufhin wurde eine Lösung von 260 mg (1.43 mmol) Glucamin 3.0 mL dest. Wasser, 0.4 mL Triethylamin und 2.0 mL Ethanol tropfenweise dazugegeben und 16 h bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer bei vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mit Ethylacetat gewaschen. Das Rohprodukt wurde mit Wasser gewaschen und filtriert. Nach dem Trocknen im Hochvakuum erhielt man 20 mg (0.024 mmol) **64** als grünen Feststoff (25 % d. Th).

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 3435\text{ cm}^{-1}$ (s, br, N-H, O-H), 2920 (s, v C-H), 2850 (s, v C-H), 1620 (m, C=O Amid), 1605 (m, C=O Amid), 1400 (w), 1075 (w), 840 (w), 730 (m) 690 (m);

$^1\text{H-NMR}$ (360 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -4.05$ (s, 2H, NH), 2.82 (t, 4H, 13^2-CH_2 , 17^2-CH_2), 3.09 (m, 4H, 13^5-CH_2 , 17^5-CH_2), 3.05-3.33 (m, $13^6\text{-}13^9\text{-CH}$, $17^6\text{-}17^9\text{-CH}$), 3.53 (m, $13^{10}\text{-CH}_2\text{-OH}$, $17^{10}\text{-CH}_2\text{-OH}$), 3.60, 3.64, 3.71, 3.75, (4s, 12H, 2-, 7-, 12- CH_3), 4.34 (m, 4H, 13^1-

CH_2 , 17^1-CH_2), 7.98 (s, 2H, NH), 9.31 (s, 2H, 8-H, 3-H), 10.28, 10.31 (2s, 4H, 5-, 10-, 15-, 20-H) ppm;

MS (ESI, positiv, MeOH): $m/z = 837 [\text{M}+\text{H}]^+$, $859 [\text{M}+\text{Na}]^+$, (ESI, negativ, MeOH): $m/z = 835 [\text{M}-\text{H}]^-$.

8. Literaturverzeichnis

- [1] I. Duncan, D. Glover, in *DNA: The secret of life*, USA, **2003**.
- [2] K. C. Nicolaou, T. Montagnon, in *Molecules that changed the world*, Wiley VCH, Weinheim, **2008**.
- [3] R. B. Silverman, *Medizinische Chemie, Vol. 1*, VCH, Weinheim, **1995**.
- [4] *Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends, Vol. 7*, Robert-Koch-Institut (Hrsg.) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg.), Berlin, **2010**.
- [5] R. Bonnett, G. Martinez, *Tetrahedron* **2001**, 57, 9513-9547.
- [6] "Tabelle (statisch): Sterblichkeit, Todesursachenspezifisch, Kennziffern 1995 [Gesundheitsbericht für Deutschland, 1998], www.gbe-bund.de 15.10.2010
http://www.gbe-bund.de/gbe10/ergebnisse.prc_tab?fid=1453&suchstring=kennziffern_zur_todesursachen_spezifischen_sterblichkeit_1995&query_id=&sprache=D&fund_typ=TAB&methode=1&vt=1&verwandte=1&page_ret=0&seite=1&p_lfd_nr=1&p_news=&p_sprachkz=D&p_uid=gast&p_aid=31422841&hlp_nr=3&p_janein=J
- [7] M. Knowles, P. Selby, *Introduction to the Cellular and Molecular Biology of Cancer, Vol. 4*, Oxford University Press, New York, **2005**.
- [8] E. S. Nyman, P. H. Hynninen, *J. Photochem. Photobiol. B* **2004**, 73, 1-28.
- [9] J. J. Schuitmaker, P. Baas, H. L. L. M. van Leengoed, F. W. van der Meulen, W. M. Star, N. van Zandwijk, *J. Photochem. Photobiol. B* **1996**, 34, 3-12.
- [10] a) A. Hirth, U. Michelsen, D. Wöhrle, *Chemie in unserer Zeit* **1999**, 33, 84-94;
b) R. Bonnett, *Rev. Contemp. Pharmacother.* **1999**, 10, 1-17.
- [11] J. Moan, K. Berg, *Photochem. Photobiol.* **1992**, 55, 931-948.
- [12] D. Jocham, C. Ell, R. Baumgartner, L. Gossner, K. Häußinger, H. Iro, R.-M. Szeimies, *Deutsches Ärzteblatt* **2000**, 97, A3337-A3343.
- [13] R. R. Allison, G. H. Downie, R. Cuenca, Xin-Hua Hu, C. J. Childs, C. H. Sibata, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* **2004**, 1, 27-42.
- [14] A. Hirth, U. Michelsen, D. Wöhrle, *Chemie in unserer Zeit* **1999**, 33, 84-94.
- [15] a) G. Jori, *J. Photochem. Photobiol. A* **1992**, 62, 371-378;
b) G. Jori, in *Photodynamic Therapy. Basic Principles and Clinical Applications* (Ed.: B. W. Henderson, T. J. Dougherty), Marcel-Dekker, New York, **1992**.
- [16] J. Deisenhofer, H. Michel, *Angewandte Chemie* **1989**, 101, 872-892.

8. Literaturverzeichnis

- [17] *IUPAC Compendium of Chemical Terminology* **1997**, 69, 1298.
- [18] F.-P. Montforts, M. Glasenapp-Breiling, in *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Vol. 84* (Ed.: W. Herz, H. Falk, G. Kirby), Springer, Wien/New York, **2002**.
- [19] Sir Walter Raleigh, William Oldys, Thomas Birch, in *The works of Sir Walter Raleigh, Kt.: The history of the world, Vol. II*, The University Press, Oxford, **1829**.
- [20] R. Bonnett, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, 24, 19-33.
- [21] M. Gouterman, in *The Porphyrins: Physical Chemistry, Part A, Vol. III* (Ed.: D. Dolphin), Academic Press, New York, **1978**.
- [22] L. K. Hanson, in *Chlorophylls* (Ed.: H. Scheer), CRC Press. Inc., Boca Raton, **1991**.
- [23] T. J. Dougherty, *et al.*, *Photochem. Photobiol.* **1987**, 45, 879-889.
- [24] a) D. Kessel, *Photochem. Photobiol.* **1982**, 36, 99-101;
b) D. A. Bellnier, D. N. Young, M. R. Detty *et al.*, *Photochem. Photobiol.* **1999**, 70, 630-636;
c) A. Villanueva, G. Jori, *Cancer Lett.* **1993**, 73, 59-64.
- [25] a) I. J. Macdonald, T. J. Dougherty, *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2001**, 5, 105-129;
b) T. J. Dougherty, *Advances in Photochemistry* **1992**, 17, 275;
c) A. M. Richter, S. Cerruti-Sola, E. D. Sternberg, *et al.*, *J. Photochem. Photobiol. B* **1990**, 5, 231-244;
d) K. Woodburn, S. Stylli, J. S. Hill, *et al.*, *Br. J. Cancer* **1999**, 65, 321-328.
- [26] D. A. Bellnier, B. W. Henderson, R. K. Pandey, W. R. Potter, T. J. Dougherty, *J. Photochem. Photobiol. B* **1993**, 20, 55-61.
- [27] P. Margaron, M. Gregoire, V. Scasnar *et al.*, *Photochem. Photobiol.* **1996**, 63, 217-223.
- [28] R. W. Boyle, D. Dolphin, *Photochem. Photobiol.* **1996**, 63, 469-485.
- [29] a) A. M. Richter, E. Waterfield, A. K. Jain, *et al.*, *Photochem. Photobiol.* **1990**, 52, 495-500;
b) H. Ali, L. J. Langlois, J. R. Wagner, *et al.*, *Photochem. Photobiol.* **1988**, 47, 713-717.
- [30] R. L. Lipson, E. J. Baldes, A. M. Olsen, *J. Natl. Cancer Inst.* **1961**, 26, 1.
- [31] G. Jori, *J. Photochem. Photobiol. B* **1996**, 36, 87-93.
- [32] a) R. Bonnett, *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*, 1. ed., Gordon and Breach Science Publishers, Amsterdam, **2000**;
b) W. M. Sharman, C. M. Allen, J. E. van Lier, *Therapeutic Focus* **1999**, 4, 507-517.

- [33] a) O. Schumm, *Z. Physiol. Chem.* **1928**, 176, 122-126;
b) O. Schumm, *Z. Physiol. Chem.* **1929**, 181, 141-175.
- [34] H. Brockmann jr., K.-M. Bliesener, H. H. Inhoffen, *Liebigs Ann. Chem.* **1968**, 718, 148-161.
- [35] a) F.-P. Montforts, G. Zimmermann, *Angew. Chem.* **1986**, 98, 451;
b) F.-P. Montforts, G. Zimmermann, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, 25, 458;
c) A. Meier, *Diplomarbeit*, Universität Bremen, **1988**;
d) G. Schermann, A. Völcker, K. Seikel, R. Schmidt, H.-D. Brauer, F.-P. Montforts, *Photochem. Photobiol.* **1990**, 51, 45-51.
- [36] F. Pont, *Dissertation*, Universität Bremen, **1998**.
- [37] a) G. Scheurich, *Dissertation*, Universität Bremen, **1989**;
b) D. Kusch, *Diplomarbeit*, Universität Bremen, **1992**.
- [38] a) G. Haake, A. Meier, F.-P. Montforts, G. Scheurich, G. Zimmermann, *Liebigs Ann. Chem.* **1992**, 325-336;
b) F.-P. Montforts, A. Meier, G. Haake, F. Höper, *Tetrahedron Letters* **1991**, 32, 3481-3482;
c) F.-P. Montforts, B. Gerlach, G. Haake, F. Höper, D. Kusch, A. Meier, G. Scheurich, H. -D. Brauer, K. Schiwon, G. Schermann, *SPIE* **1994**, 2325, 29-39.
- [39] a) F.-P. Montforts, A. Meier, G. Haake, F. Höper, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 3481-3482;
b) F.-P. Montforts, B. Gerlach, G. Haake, F. Höper, D. Kusch, A. Meier, G. Scheurich, H.-D. Brauer, K. Schiwon, G. Schermann, *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.* **1995**, 2325, 29-39.
- [40] D. Kusch, *Dissertation*, Universität Bremen, **1994**.
- [41] C. Grewer, G. Schermann, R. Schmidt, A. Völker, H. D. Brauer, *J. Photochem. Photobiol. B* **1991**, 11, 285-293.
- [42] A. Szurko, M. Rams, A. Sochanik, K. Sieron-Stoltny, A. M. Koziolec, F.-P. Montforts, R. Wrzalik, A. Ratuszna, *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **2009**, 17, 8197-8205.
- [43] D. T. Taffa, M. Kathiresan, T. Arnold, L. Walder, M. Erbacher, D. Bauer, F.-P. Montforts, J. Nordmann, M. Haase, *J. Photochem. Photobiol. A* **2010**, 216, 35-43.
- [44] J. B. Conant, K. F. Armstrong, *J. Am. Chem. Soc.* **1933**, 55, 829-839.
- [45] R. Berera, R. van Grondelle, J. T. M. Kennis, *Photosynth. Res.* **2009**, 101, 105-118.

8. Literaturverzeichnis

- [46] G. Martinez, S. G. Bertolotti, O. E. Zimerman, D. O. Martire, S. E. Braslavsky, N. A. Garcia, *J. Photochem. Photobiol. B* **1993**, *17*, 247-255.
- [47] N. Lane, *Spektrum der Wissenschaft Spezial: Moderne Medizin* **2007**, 26-37.
- [48] *Instructions for authors, Angew. Chem.* **2000**, *112*, 19-23.
- [49] B. Zehnder, *Dissertation*, ETH Zürich Nr. 7130, **1982**.
- [50] D. D. Heard, B. G. Hudson, R. Barker, *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 464-467.

9. Abkürzungsverzeichnis

Arab	1-Deoxy-arabinitylamin
ber.	berechnet
BRN	<i>Beilstein Registry Number</i>
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
Ch	Chlorin
DMADMA	Dimethylacetamid-dimethylacetal
DMEM	<i>Dulbecco 's modified eagle medium</i>
DME	Dimethylester
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (<i>Desoxyribonuclein acid</i>)
DP	Deuteroporphyrin-IX
d. Th.	der Theorie
ESI	Elektrosprayionisation
eq.	Äquivalent (<i>equivalent</i>)
Et	Ethyl-
EtOAc	Ethylacetat
ges.	gesättigt
Gluc	Glucamin
HCT	<i>Human colon carcinoma cultured cells</i>
HOMO	<i>Highest occupied molecular orbital</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
konz.	konzentriert
LLC	<i>Lewis lung carcinoma cells</i>
LUMO	<i>Lowest unoccupied molecular orbital</i>
MeOH	Methanol

9. Abkürzungsverzeichnis

MME	Monomethylester
MTBE	<i>tert</i> -Butylmethylether
MTS	[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium]
NOE	<i>nuclear Overhauser effect</i>
PBS	phosphatgepufferter Salzlösung (<i>phosphate buffered saline</i>)
PDT	Photodynamische Tumorthherapie
PM3	<i>parameterized model number 3</i>
PS	Photosensibilisator
<i>rac</i>	racemus
Rfl-	Reflux
RT	Raumtemperatur
RP	<i>reversed-phase</i>
Smp.	Schmelzpunkt
THF	Tetrahydrofuran
TME	Trimethylester
verd.	verdünnt

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Daniela Bauer
Geburtsdatum: 11. Mai 1984
Geburtsort: Heilbronn
Anschrift: Borgfelder Str. 50
28215 Bremen
Telefon: 0421 33809980
E-mail: daniela_bbauer@web.de

Schulbildung:

August 1990-Juni 1994: Grundschule in der Karlstraße, Achim
August 1994-Juni 1996: Orientierungstufe am Markt, Achim
August 1996-Juni 2003: Cato Bontjes van Beek-Gymnasium, Achim
Juni 2003: Abitur, Cato Bontjes van Beek-Gymnasium, Achim
Note: 1,7

Hochschulausbildung:

Oktober 2003-April 2008: Chemie-Studium an der Universität Bremen
September-Oktober 2005: Diplomvorprüfungen
Note: 1,6
September-November 2007: Diplomprüfungen
Dezember 2007-April 2008: Anfertigung der Diplomarbeit im Institut für Organische Chemie der Universität Bremen unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. F.-P. Montforts
Thema: Synthese und Charakterisierung von amphiphilen Chlorinen als Photosensibilisatoren für die Photodynamische Therapie

- April 2008: Akademischer Grad: Diplom-Chemikerin
Note: 1,0
- Juli 2008-Februar 2011: Anfertigung der Doktorarbeit im Institut für Organische Chemie der Universität Bremen unter Anleitung von Prof. Dr. F.-P. Montforts
Thema: Partialsynthese maßgeschneiderter Photosensibilisatoren vom Chlorintyp und Studien zur pharmazeutischen Anwendung in der Photodynamischen Therapie
- Februar 2011: Akademischer Grad: Doktor der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)
Note: summa cum laude

Veröffentlichungen:

Publikationen:

- November 2010: *Dye sensitized membranes within mesoporous TiO₂: Photocurrents in aqueous solution,*
D. T. Taffa, M. Karthiresan, T. Arnold, L. Walder, M. Erbacher, D. Bauer, F.-P. Montforts, J. Nordmann, M. Haase, *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry* **2010**, *216*, 35-43.

Vorträge:

- Juni 2009: *Synthesis and Characterization of Chlorins as Photosensitizers for Photodynamic Therapy (PDT),* D. Bauer, A. M. Koziolec, F.-P. Montforts, IV International Symposium on medical Physics, Szczyrk.
- Dezember 2009: *Synthese maßgeschneiderter Photosensibilisatoren vom Chlorintyp für die Photodynamische Tumortherapie,* D. Bauer, F.-P. Montforts, GdCh Weihnachtskolloquium, Bremen.

Poster:

März 2009:

Synthesis and Characterization of water-soluble Chlorins for Application in Photodynamic Therapy, D. Bauer, A. M. Kozielec, F.-P. Montforts, 11. Frühjahrs-symposium der Gesellschaft deutscher Chemiker-*JungChemikerForum*, Essen.

Juni 2010:

Synthesis of tailor-made photosensitizers for photodynamic therapy (PDT) from naturally occurring porphyrinoids, D. Bauer, F.-P. Montforts, 14 th annual green chemistry & engineering conference, 4 th international conference on green and sustainable chemistry, ACS Green Chemistry Institute, Washington, D. C.

Zusatzqualifikationen:

Sprachen:

sehr gute Englischkenntnisse in Wort und Schrift
Grundkenntnisse in Französisch

EDV:

MS Office (Word, Excel, PowerPoint) sehr gut
Endnote (Literaturverwaltung), ChemDraw, OriginPro