

BestMasters

Jan Hormann

# Cyclen-basierte Metallonucleasen

Synthese und biochemische Evaluation



Springer Spektrum

---

# BestMasters

Mit „BestMasters“ zeichnet Springer die besten Masterarbeiten aus, die an renommierten Hochschulen in Deutschland, Österreich und der Schweiz entstanden sind. Die mit Höchstnote ausgezeichneten Arbeiten wurden durch Gutachter zur Veröffentlichung empfohlen und behandeln aktuelle Themen aus unterschiedlichen Fachgebieten der Naturwissenschaften, Psychologie, Technik und Wirtschaftswissenschaften. Die Reihe wendet sich an Praktiker und Wissenschaftler gleichermaßen und soll insbesondere auch Nachwuchswissenschaftlern Orientierung geben.

---

Jan Hormann

# Cyclen-basierte Metallonucleasen

Synthese und biochemische  
Evaluation

 Springer Spektrum

Jan Hormann  
Berlin, Deutschland

BestMasters

ISBN 978-3-658-09268-9

ISBN 978-3-658-09269-6 (eBook)

DOI 10.1007/978-3-658-09269-6

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Springer Spektrum

© Springer Fachmedien Wiesbaden 2015

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsgesetz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlags. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Der Verlag, die Autoren und die Herausgeber gehen davon aus, dass die Angaben und Informationen in diesem Werk zum Zeitpunkt der Veröffentlichung vollständig und korrekt sind. Weder der Verlag noch die Autoren oder die Herausgeber übernehmen, ausdrücklich oder implizit, Gewähr für den Inhalt des Werkes, etwaige Fehler oder Äußerungen.

Gedruckt auf säurefreiem und chlorfrei gebleichtem Papier

Springer Fachmedien Wiesbaden ist Teil der Fachverlagsgruppe Springer Science+Business Media ([www.springer.com](http://www.springer.com))

# Geleitwort

Die Bekämpfung von Krebs stellt eine der aktuellen Herausforderungen unserer Gesellschaft dar, insbesondere für ihre Wissenschaftler. Neben den herkömmlichen organischen Molekülen, die als Antikrebstherapeutika genutzt werden, steckt viel Potential in metallhaltigen Molekülen – ausgeschöpft wurde dieses bisher lediglich für das Element Platin, dessen Derivate auch klinisch eingesetzt werden. Übergangsmetallionen haben aufgrund ihrer besonderen Eigenschaften (Lewis-Acidität und Redoxaktivität) jedoch zahlreiche Möglichkeiten der Interaktion mit Biomolekülen und erlauben damit therapeutische und diagnostische Ansätze. DNA als Speicher der Erbinformation und als Code für diverse Krankheiten wie Krebs ist dafür Angriffs- und Auslesepunkt.

So sind redoxinaktive Metallionen als DNA-Spalter für diagnostische Zwecke im Einsatz, während eine oxidative DNA-Spaltung durch redoxaktive Metallionen, also die Zerstörung von DNA und damit von ganzen Zellen, für eine therapeutische Wirkung von Interesse sein könnte.

Herr Hormann hat es sich im Rahmen seiner Masterarbeit zur Aufgabe gemacht, Metallkomplexe von Derivaten des Cyclenliganden zu synthetisieren, die in der Lage sind, DNA oxidativ zu spalten. Der Stickstoffmacrocyclus Cyclen (1,4,7,10-Tetraazacyclododecan) ist aufgrund seiner hervorragenden Koordinationseigenschaften ein beliebter Ligand in der Komplexchemie und wird bei Anwendungen in Therapie und Diagnostik, so z.B. der Gadoliniumkomplex eines Cyclen-Derivats in der MRI-Diagnostik, eingesetzt. Für die oxidative DNA-Spaltung mit dem o.g. Ziel ist Cyclen jedoch eher mäßig erfolgreich gewesen, sodass Modifikationen des Systems für eine Optimierung nötig waren.

Vor diesem Hintergrund beschreibt Herr Hormann zunächst die Synthese von Heteroatom- (mit O oder S anstelle von N sowie O und S anstelle von zwei N) und Interkalator-substituierten Derivaten (Naphthalin, Anthracen und Anthrachinon an einem N) und deren Cu- und Zn-Komplexen. Im Falle des Anthracens gelang auch eine in der Literatur bisher kaum beschriebene Substitution mit drei Interkalator-Molekülen, Die Komplexe waren teilweise unbekannt und von zwei dieser Komplexe konnten Kristallstrukturen erhalten werden.

Im Anschluss beschreibt Herr Hormann die Anwendung der Komplexe in der DNA-Spaltung. Während die Heteroatoms substitution Einfluss auf die Redoxeigenschaften der resultierenden Komplexe hat, können Interkalatoren die Wechselwirkung mit DNA unterstützen. In vergleichenden Experimenten wurden deshalb die erhaltenen Cu- und Zn-Komplexe auf ihre Aktivität bezüglich der Spaltung von Plasmid-DNA untersucht. Während alle Zn-Komplexe unter den gewählten Reaktionsbedingungen inaktiv waren, zeigte sich bei den Cu-Komplexen, dass sich der Heteroatom-Austausch positiv auf die Spalteeffizienz auswirkt ( $O > S > N$ ). Ebenso konnte Herr Hormann bei einer Mehrfachsubstitution mit Interkalatormolekülen wie Anthracen eine Effizienzsteigerung beobachten. Ein Anthrachinon-substituierter Komplex wies schließlich unter Bestrahlung eine ungewöhnlich hohe DNA-Spaltaktivität auf. Zum besseren mechanistischen Verständnis der DNA-Spaltung wurden die Experimente auch in Anwesenheit von Quenchern für reaktive Sauerstoffspezies (ROS) durchgeführt.

Durch systematische Variation des Ligandengerüsts ist es Herrn Hormann gelungen, effektive Cyclen-Derivate für die oxidative DNA-Spaltung zu erzeugen. Seinen Weg dorthin beschreibt Herr Hormann klar und graphisch sehr ansprechend. Ich wünsche dieser Arbeit eine breite Leserschaft, die nicht nur aus Bioorganikern besteht, sondern auch interessierte Leser aus angrenzenden Bereichen umfassen soll – die Arbeit bietet inhaltlich und stilistisch beste Voraussetzungen dafür.

Prof. Dr. Nora Kulak

# Vorwort

Ich hatte niemals vor, Chemie zu studieren. Mein Weg zu dieser Abschlussarbeit war alles, aber nicht geradlinig. Nach ersten und kurzen Gehversuchen in einem Studium der *Life Science Engineering* begann ich ein Lehramtsstudium, in dem Chemie eher zufällig ein Fach von vielen war.

Schon nach dem ersten Semester des Chemiestudiums wurde mir klar, dass dieses Gebiet meine ungeteilte Aufmerksamkeit verdient. Die Vielfältigkeit dieser Disziplin und die Faszination, die Natur im Aller kleinsten begreifen zu können, hatten mich in ihren Bann gezogen.

Von Anfang an hat mich die bioanorganische Chemie besonders interessiert. Besonders attraktiv an der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Nora Kulak war für mich der Blick über den Tellerrand der Chemie hinaus – weg von rein akademischer Arbeit hin zu medizinisch relevanten Fragestellungen. Der große Motivator für meine Arbeit ist und war immer das Gefühl, Forschung mit Anwendungsbezug zu betreiben.

Besonderen Dank möchte ich allen meinen Dozenten und im Besonderen Frau Prof. Dr. Nora Kulak aussprechen. Ihnen allen verdanke ich, einen Beruf gefunden zu haben, der mich ausfüllt und immer wieder zu Neuem motiviert.

Jan Hormann, M.Sc.

# Inhaltsverzeichnis

<b>Geleitwort</b> .....	<b>V</b>
<b>Vorwort</b> .....	<b>VII</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Nucleasen .....	1
1.2 Hydrolytische DNA-Spaltung .....	2
1.3 Oxidative DNA-Spaltung .....	4
1.4 Cyclen-basierte Metallonucleasen.....	6
1.5 Zielsetzung dieser Arbeit.....	8
<b>2 Ergebnisse und Diskussion</b> .....	<b>11</b>
2.1 Synthese.....	11
2.1.1 Synthese von Cyclen .....	11
2.1.2 Synthese von Thiacyclen.....	13
2.1.3 Synthese von Oxathiacyclen.....	15
2.1.4 Synthese von Mono(interkalator)-substituiertem Cyclen.....	15
2.1.5 Synthese von Bis- und Tris(anthracenmethyl)cyclen ...	17
2.1.6 Synthese der Kupfer(II)cyclenanaloga .....	19
2.1.7 Synthese der Interkalator-substituierten Kupfer(II)cyclenkomplexe .....	24
2.1.8 Synthese der Zinkcyclenkomplexe.....	26
2.2 Plasmid-DNA-Spaltung.....	28
2.2.1 Plasmid-DNA-Spaltung durch Kupfer(II)cyclenanaloga.....	28
2.2.2 Plasmid-DNA-Spaltung der Interkalator- substituierten Komplexe .....	37
2.2.3 Plasmid-DNA-Spaltung durch Bestrahlung .....	41
2.2.4 Plasmid-DNA-Spaltung durch Zink(II)cyclenanaloga .....	44
2.3 Fazit .....	45
<b>3 Ausblick</b> .....	<b>47</b>

<b>4</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>49</b>
4.1	Methoden und Materialien	49
4.1.5	Chemikalien	49
4.1.6	Allgemeine Arbeitstechniken	50
4.1.7	Kernresonanzspektroskopie	50
4.1.8	Massenspektrometrie	50
4.1.9	Schmelzpunktbestimmung	51
4.1.10	Infrarot-Spektroskopie	51
4.1.11	UV-Spektroskopie	51
4.1.12	UV-Spektroskopie	51
4.2	Ligandensynthese	52
4.2.1	N,N',N''-Tris(p-tolylsulfonyl)diethylentriamin	52
4.2.2	N,O,O'-Tris(p-tolylsulfonyl)diethanolamin	53
4.2.3	N,N',N''-Tris(p-tolylsulfonyl)diethylentriamin-Dinatriumsalz	54
4.2.4	1,4,7,10-Tetrakis(p-tolylsulfonyl)1,4,7,10-tetraazacyclododecan	56
4.2.5	1,4,7,10-Tetraazacyclododecan	57
4.2.6	Bis(2-aminoethyl)sulfid	58
4.2.7	Bis[(p-tolylsulfonylamino)ethyl]sulfid	59
4.2.8	Bis[(p-tolylsulfonylamino)ethyl]sulfid-Dinatriumsalz	60
4.2.9	4,7,10-Tris(p-tolylsulfonyl)-1-thia-4,7,10-triazacyclododecan	61
4.2.10	1-Thia-4,7,10-triazacyclododecan: Variante 1	62
4.2.11	1-Thia-4,7,10-triazacyclododecan: Variante 2	63
4.2.12	4,10-Bis(p-tolylsulfonyl)-1-oxa-7-thia-4,10-diazacyclododecan	64
4.2.13	4,10-Bis(p-tolylsulfonyl)-1-oxa-7-thia-4,10-diazacyclododecan	65
4.2.14	1-(2-Naphthalinmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan	66
4.2.15	1-(9-Anthracenmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan	67
4.2.16	1,7-Bis(tert-butyloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan	69

4.2.17	1,7-Bis(9-anthracenmethyl)-4,10-bis(tert-butylloxycarbonyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan.....	70
4.2.18	1,7-Bis(9-anthracenmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan.....	71
4.2.19	1,4,7-Tris(9-anthracenmethyl)-1,4,7,10-tetraazacyclododecan.....	72
4.3	Synthese der Kupferkomplexe.....	73
4.3.1	Synthese von $[\text{Cu}([12]\text{aneN}_4)(\text{NO}_3)_2]$ .....	73
4.3.2	Synthese von $[\text{Cu}([12]\text{aneN}_3\text{O})(\text{NO}_3)_2]$ .....	74
4.3.3	Synthese von $[\text{Cu}([12]\text{aneN}_3\text{S})(\text{NO}_3)_2]$ .....	75
4.3.4	Synthese von $[\text{Cu}([12]\text{aneN}_2\text{OS})(\text{NO}_3)_2]$ .....	76
4.3.5	Synthese von Anthrachinonmethyl-substituiertem $[\text{Cu}([12]\text{aneN}_4)(\text{NO}_3)_2]$ .....	77
4.3.6	Synthese von Naphthalinmethyl-substituiertem $[\text{Cu}([12]\text{aneN}_4)(\text{NO}_3)_2]$ .....	79
4.3.7	Synthese von Anthracenmethyl-substituiertem $[\text{Cu}([12]\text{aneN}_4)(\text{NO}_3)_2]$ .....	80
4.3.8	Synthese von Tris(anthracenmethyl)-substituiertem $[\text{Cu}([12]\text{aneN}_4)(\text{NO}_3)_2]$ .....	81
4.4	Synthese der Zinkkomplexe .....	82
4.4.1	Synthese von $[\text{Zn}([12]\text{aneN}_4)\text{Cl}_2]$ .....	82
4.4.2	Synthese von $[\text{Zn}([12]\text{aneN}_3\text{O})\text{Cl}_2]$ .....	83
4.4.3	Synthese von $[\text{Zn}([12]\text{aneN}_3\text{S})\text{Cl}_2]$ .....	84
4.4.4	Synthese von $[\text{Zn}([12]\text{aneN}_2\text{OS})\text{Cl}_2]$ .....	85

## Literaturverzeichnis..... 87

*Die Anhänge des Buches sind als Zusatzmaterialien unter [www.springer.com](http://www.springer.com) auf der Produktseite dieses Werkes verfügbar.*