



Design oralen Antidiabetika auf Vanadiumbasis

Dissertation

zur Erlangung des
naturwissenschaftlichen Doktorgrades

von

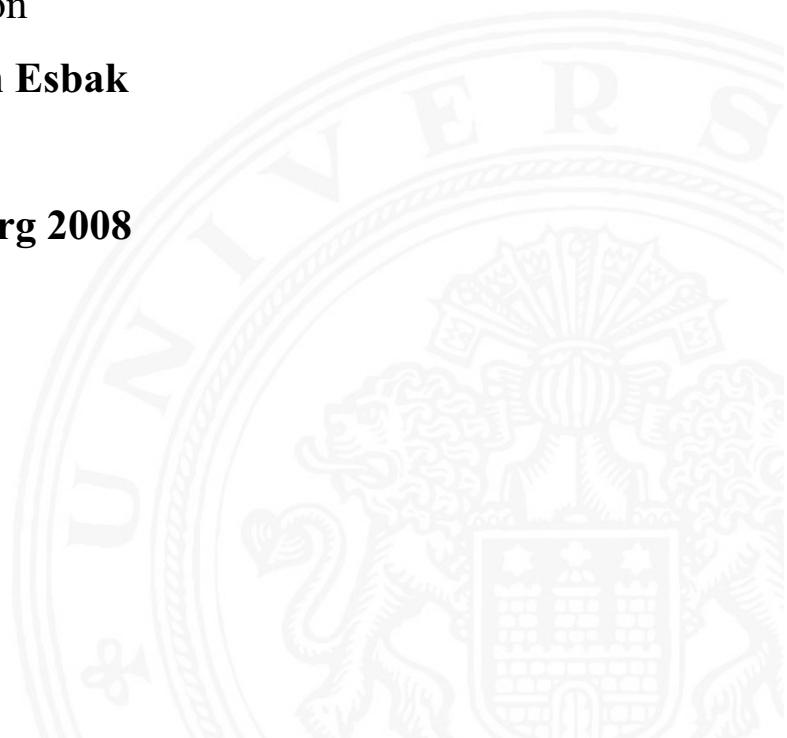
Hossein Esbak

Hamburg 2008

UH



Universität Hamburg



DESIGN ORALER ANTIDIABETIKA AUF VANADIUMBASIS

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
am Department Chemie
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Hossein Esbak

aus Babol

Hamburg, im Juli 2008

1. Gutachter: Prof. Dr. Dieter Rehder
2. Gutachter: Prof. Dr. Ulrich Behrens

Tag der Disputation: 12. September 2008

DANKSAGUNGEN

Die vorliegende Arbeit wurde von April 2005 bis Juli 2008 am Institut für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. D. Rehder angefertigt. Teile der praktischen Arbeit wurden im Labor von Prof. Dr. Ebbe Nordlander an der Universität Lund in Schweden und Prof. Dr. Tamás Kiss an der Universität Szeged in Ungarn durchgeführt.

Meinem Doktorvater Herrn *Prof. Dr. Dieter Rehder* danke ich für die Überlassung des Themas und seine Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit. Mein besonderer Dank gilt für die Diskussionsbereitschaft, die vielen hilfreichen Anregungen und die Ermöglichung meiner zahlreichen Auslandsaufenthalte während der Forschungsarbeiten.

Herrn Prof. H. Sakurai, Kyoto, Japan, möchte ich danken für die Durchführung der Zelltests zur Bestimmung der Insulin-mimetischen Aktivität. Herrn Prof. E. Nordlander und Prof. T. Kiss danke ich für die freundliche Aufnahme und Kooperation während der Auslandsaufenthalte in Schweden und Ungarn. Tack så mycket för allt! Köszönöm szépen!

Ferner bin ich den Damen und Herren der Serviceabteilungen zu Dank verpflichtet, die das Entstehen dieser Arbeit ermöglicht haben. Herrn Dr. Haupt möchte ich vor allem für die zahlreichen Diskussionen danken.

Der FREIEN UND HANSESTADT HAMBURG und dem DAAD (Deutscher Akademischer Austausch Dienst) bin ich für die großzügige Unterstützung dieser Arbeit dankbar.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie, meinen Freunden und vor allem meinen Geschwistern Haleh und Hoda danken, die mich zu jeder Zeit liebevoll unterstützt haben. Sie alle haben entscheidend zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

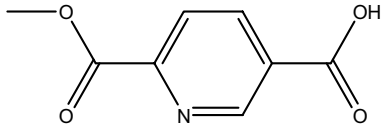
AVV	Allgemeine Versuchsvorschrift
Abb.	Abbildung
Abs.	Absolut
Acac	Acetylacetonat/2,4-Pentandionato
APT	Attached Proton Test
Ar.	Aromat/ aromatisch
as	Antisymmetrische FT-IR
Asp	Asparaginsäure
ATP	Adenosintriphosphat
BAT-Wert	Biologischer Arbeitsstofftoleranzwert
BEOV	<i>Bis</i> (ethylmaltolato)Oxidovanadium(IV)
BMOV	<i>Bis</i> (maltolato)Oxidovanadium(IV)
BPA	N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin
Br	Breiter Peak/breite Bande
CD	Circulardichroismus
d	Tag, Dublett (NMR), deuteriert
DCM	Dichlormethan
δ	Deformationsschwingung; chemische Verschiebung
DMSO	Dimethylsulfoxid
ε	molarer Extinktionskoeffizient
EI	Elektronenstoßionisation
EPR	Electron Paramagnetic Resonance
Et/EtOH	Ethyl/Ethanol
eV	Elektronenvolt
FAB	Fast Atom Bombardement

FFA	free fatty acids
FT-IR	Fourier-Transform-Infrarotspektroskopie
H	Stunde
Hb(CO)	Carboxyhämoglobin
His	Histidin
HMBC	Hetero- nuclear multiple quantum correlation
HMM	high-molecular-mass
HPA	N-(2-hydroxybenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin
HPLC	High pressure liquid chromatography
HSA	Human Serum Albumin
HSQC	Hetero-nuclear single quantum correlation
<i>i</i>	<i>iso</i>
ICP	inductively coupled plasma (induktiv gekoppeltes Plasma)
IDDM	Insulin-dependent diabetes mellitus
Ile	<i>Iso</i> -Leucin
IR	Infrarotspektroskopie
KMR	Kanzerogen, Mutagen, Reproduktionstoxisch
L	Ligand
LC₅₀	Entspricht der Wirkstoffkonzentration bei der eine 50%ige Inhibierung z. B. der Lipolyse erfolgt
leu	Leucin
LMM	low-molecular-mass
M	mol/l, Molekül, Molare Masse
m	Multiplett, meta, Masse
Me/MeOH	Methyl/Methanol
m/z	Masse/Ladungsverhältnis
MHz	Megahertz
m-NBA	3-Nitrobenzylalkohol
MPA	N-(2-mercaptobenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin

MS	Massenspektrometrie
NAD⁺/NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (ox./red. Form)
NIDDM	Non-insulin-dependent diabetes mellitus
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
OES	optical emission spectrometry (optische Emissionsspektrometrie)
pH	potentia hydrogenii
Pic	Picolin(at)
ppm	parts per million
Pr	Propyl
PTP	Protein-Tyrosin-Phosphatase
Py	Pyridin
R	Rest
RF	Rückfluss
RT	Raumtemperatur
Ser	Serin
STZ	Streptozotocin
THF	Tetrahydrofuran
Tf	Transferrin
TMS	Tetramethylsilan
TPA	<i>Tris</i> (2-pyridylmethyl)amin
Trp	Tyrtophan
TT	Tieftemperatur
Tyr	Tyrosin
VO²⁺	Vanadyl
δ	Chemische Verschiebung; Deformationsschwingung
v	Wellenzahl; Streckschwingung

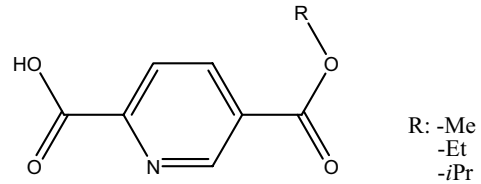
VERWENDETE LIGANDEN

2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure

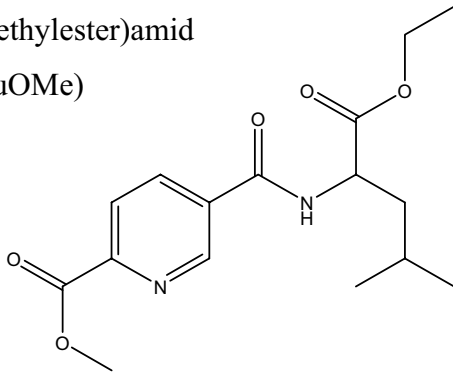


5-Carboalkoxypyridin-2-carbonsäuren

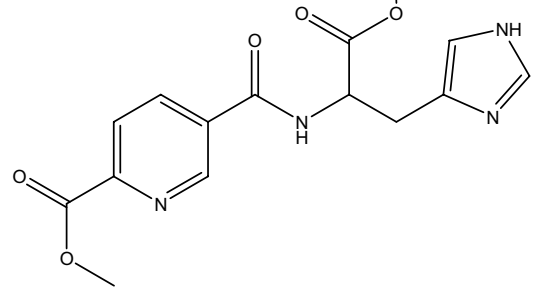
(Pic-5OMe/OEt/OiPr)



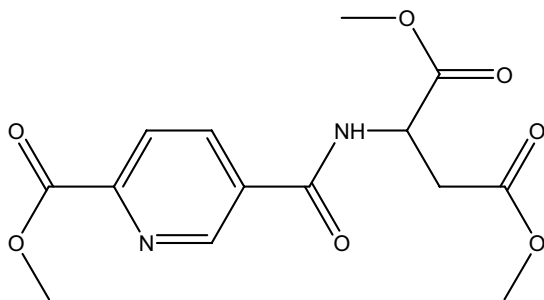
2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Leucinethylester)amid
(PicLeuOMe)



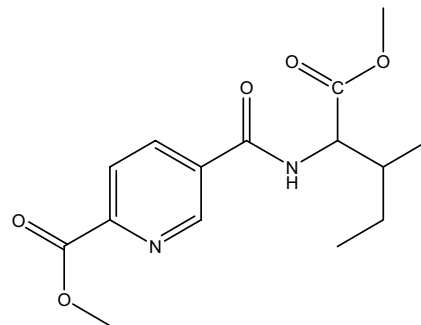
2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Histidin-
methylester)amid (PicHisOMe)



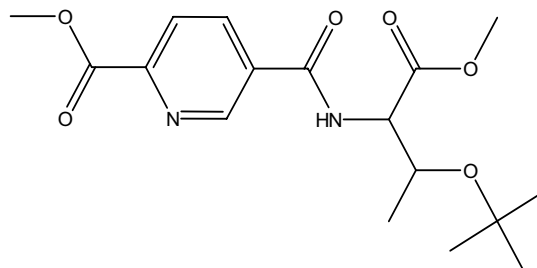
2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Asparaginsäuremethylester)amid
(PicAspOMe)



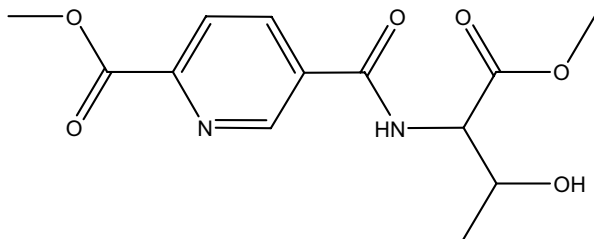
2-Carbomethoxypyridin-5-(L-isoleucin-
methylester)amid (PicIleOMe)



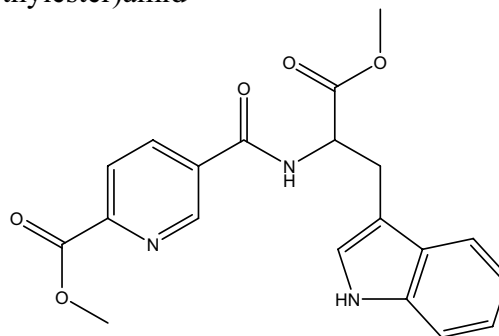
2-Carbomethoxypyridin-5-(O-*tert.*-butyl-L-threoninmethylester)amid (PicThrOtButyl)



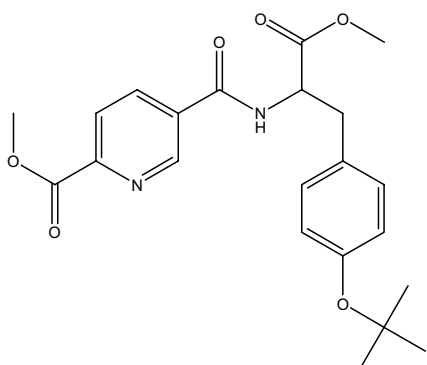
2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threonin-
methylester)amid



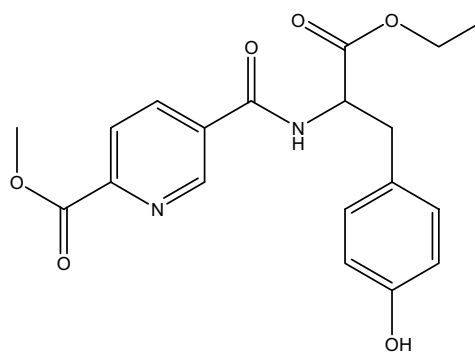
2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tryptophan-
methylester)amid



2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tyrosin-O-*tert.*-
butylmethylester)amid



2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tyrosin-
ethylester)amid



AUSWAHL AN KOMPLEXEN

Kapitel 7.5

VOPicAsp

VOPicIle

VOPicLeu

VOPicThr*O*tButyl

VOPicTrp

VOPicTyr*O*tButyl

VOPicTyr

VOPicHis

VOPicThr

Kapitel: 7.7

VO(TPA)(PicTyr)

VO(TPA)(PicIle)

VO(TPA)(PicTrp)

VO(MPA)(PicThr)

VO(TPA)(Pic-5-OEt)

VO(TPA)(Pic-5-OiPr)

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
1.1	ALLGEMEINE BEDEUTUNG DES VANADIUMS.....	1
1.2	DIABETES UND INSULINMIMETISCHE EIGENSCHAFTEN DES VANADIUMS	3
2	STAND DER FORSCHUNG	8
3	ZIELSETZUNG	13
4	ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	14
4.1	SYNTHESE DER LIGANDEN	14
4.1.1	<i>Einführung der Schutzgruppe: Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure</i>	<i>15</i>
4.1.2	<i>Modifizierung der Pyridin-2,5-dicarbonensäure: Alkylesterderivate in 5-Position</i>	<i>19</i>
4.1.3	<i>Modifizierung der Picolinsäure in 5-Position mit polaren Aminosäuren (Thr, Tyr, Trp, Asp) ...</i>	<i>20</i>
4.2	VANADIUMKOMPLEXE POLARER AROMATISCHER AMINOSÄUREDERIVATE	33
4.2.1	<i>Darstellung und Elektronen-Paramagnetische Resonanz-Spektroskopie</i>	<i>33</i>
4.2.2	<i>IR-Spektroskopische Untersuchung der Vanadium(IV)-Komplexe</i>	<i>42</i>
4.2.3	<i>Thermoanalyse.....</i>	<i>45</i>
4.2.4	<i>CD-Spektroskopie</i>	<i>47</i>
4.3	MODIFIZIERUNG DER PICOLINSÄURE MIT UNPOLAREN AMINOSÄUREN (ILE, LEU)	53
4.3.1	<i>2-Carbomethoxypyridin-5-(L-iso-Leucinmethylester)amid</i>	<i>53</i>
4.3.2	<i>2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Leucinethylester)amid.....</i>	<i>55</i>
4.4	VANADIUMKOMPLEXE VON 2-CARBOMETHOXYPYRIDIN-5-(L-LEUCINETHYLESTER)- UND (L-ISO-LEUCINMETHYLESTER)AMID	56
4.4.1	<i>Darstellung und IR-spektroskopische Charakterisierung.....</i>	<i>56</i>
4.4.2	<i>Thermoanalyse.....</i>	<i>57</i>
4.4.3	<i>UV-VIS-Spektroskopie</i>	<i>58</i>
4.5	SPEZIATIONSANALYSEN	60
4.5.1	<i>(De)Protonierungsformen der 5-(L-Histidin)amid-picolinsäure</i>	<i>63</i>
4.5.2	<i>Speziationsanalyse der binären Systeme.....</i>	<i>64</i>
4.5.3	<i>Speziationsanalysen ternärer Systeme.....</i>	<i>67</i>
4.6	CHARAKTERISIERUNG DER KOMPLEXE MIT HISTIDIN-PICOLINSÄURE-DERIVATEN	78
4.6.1	<i>pH-abhängige EPR-Untersuchung der Komplexe mit 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Histidinmethylester)amid, PicHis(OMe)₂</i>	<i>78</i>
4.6.2	<i>pH-Abhängige EPR-Untersuchung des Komplexes mit 5-L-Histidinamid-picolinsäure, PicHis .</i>	<i>80</i>
4.6.3	<i>UV-Vis-Spektroskopische Untersuchungen des VO²⁺/PicHis-Systems</i>	<i>86</i>
4.7	INSULIN-MIMETISCHE TESTS DER PICOLINATO-VERBINDUNGEN IN HINBLICK AUF DIE INHIBIERUNG DER LIPOLYSE.....	88
4.7.1	<i>Inhibierung der Lipolyse durch die Liganden.....</i>	<i>88</i>
4.7.2	<i>Inhibierung durch Picolinato-Komplexe</i>	<i>89</i>
		X

4.7.3	<i>Inhibierung in Anwesenheit von Ascorbinsäure</i>	90
4.7.4	<i>Vergleich der insulinmimetischen Wirkung in An- und Abwesenheit von Ascorbinsäure</i>	91
4.8	SYNTHESE UND CHARAKTERISIERUNG VON MULTIKOMPONENTEN-KOMPLEXEN	93
4.8.1	<i>Darstellung der Liganden TPA und MPA</i>	93
4.8.2	<i>Umsetzung der Picolinsäurederivate und von MPA mit dem Vanadium(V)-Precursor</i>	95
4.8.3	<i>Umsetzung der Picolinsäurederivate und N-(2-hydroxybenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin (HPA) mit dem Vanadium(IV)-Precursor</i>	97
4.8.4	⁵¹ V-NMR-Untersuchung der Umsetzung von Picolinsäurederivate mit dem Vanadium(V)-Precursor	99
4.8.5	⁵¹ V-NMR-Untersuchung der Umsetzung von Picolinsäurederivate und TPA mit dem Vanadium(V)-Precursor.....	101
4.9	INSULINMIMETISCHE TESTS MIT DEN MULTIKOMPONENTEN-KOMPLEXEN	102
4.10	INSULIN-MIMETISCHE TESTS MIT DEN LIGANDEN.....	103
5	ZUSAMMENFASSUNG	104
6	SUMMARY	109
7	EXPERIMENTELLER TEIL	114
7.1	PHYSIKALISCHE UNTERSUCHUNGSMETHODEN.....	114
7.1.1	<i>NMR-Spektroskopie</i>	114
7.1.2	<i>Infrarot-Spektroskopie</i>	114
7.1.3	<i>UV/VIS-Spektroskopie</i>	114
7.1.4	<i>Elementaranalysen</i>	114
7.1.5	<i>Elektronenresonanzspektroskopie</i>	115
7.1.6	<i>Differenzthermoanalyse</i>	115
7.1.7	<i>Circulardichroismus (CD)</i>	115
7.1.8	<i>High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)</i>	115
7.1.9	<i>Massenspektrometrie</i>	115
7.2	„BIOCHEMISCHE“ UNTERSUCHUNGSMETHODEN	116
7.2.1	<i>Speziationsanalysen</i>	116
7.2.2	<i>Membrane Ultrafiltration und ICP-OES Untersuchung</i>	116
7.2.3	<i>Spektrofluorimetrische Untersuchung</i>	117
7.2.4	<i>Insulin-mimetische Tests bezüglich der Inhibierung der Lipolyse</i>	117
7.3	ALLGEMEINE ARBEITSTECHNIK, LÖSUNGSMITTEL UND AUSGANGSVERBINDUNGEN	118
7.3.1	<i>Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung von 2-Carbomethoxy-pyridin-5-carbonsäure, 1 (AVV1)</i> 118	
7.3.2	<i>Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung von 5-Chlorocarbonylpyridin-2-methylester, 2 (AVV2)</i> 119	
7.3.3	<i>Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung der 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(Aminosäureethylester)amide (AVV3)</i>	119

7.3.4	<i>Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung der Pyridin-2,5-dicarbonsäure-dialkylester (AVV4)</i>	119
7.3.5	<i>Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung der 5-Carboalkoxyppyridin-2-carbonsäuren (AVV5)</i>	120
7.4	VERSUCHSVORSCHRIFTEN ZUR SYNTHESE DER LIGANDEN (PICOLINSÄURE DERIVATE)	121
7.4.1	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-carbonsäure, 1 nach AVV1</i>	121
7.4.2	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-(O-tert.-butyl-L-threoninmethylester)amid, 3 nach AVV3</i>	122
7.4.3	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-(L-threoninmethylester)amid, 4</i>	123
7.4.4	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-(L-Tyrosin-O-tert.-butylmethylester)amid, 5</i>	124
7.4.5	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-(L-Tyrosinethylester)amid, 6</i>	125
7.4.6	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-(L-Tryptophanmethylester)amid, 7</i>	125
7.4.7	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-(L-Asparaginsäuremethylester)amid, 8</i>	126
7.4.8	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-(L-homoserinethylester), 9</i>	127
7.4.9	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-(L-Histidinmethylester)amid, 10</i>	129
7.4.10	<i>Darstellung von Natrium-5-(L-Histidin)amid-picolinat</i>	130
7.4.11	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-(L-isoleucinmethylester)amid, 11</i>	130
7.4.12	<i>Darstellung von Natrium-5-(L-Isoleucin)amid-picolinat</i>	131
7.4.13	<i>Darstellung von 2-Carbomethoxyppyridin-5-(L-Leucinethylester)amid, 12</i>	132
7.5	VERSUCHSVORSCHRIFTEN ZUR SYNTHESE DER VANADIUM(IV)-KOMPLEXE	133
7.5.1	<i>Darstellung von Bis(pyridin-5-L-asparaginsäuredimethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)</i>	133
7.5.2	<i>Darstellung von Bis(pyridin-5-L-Histidinmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)</i>	134
7.5.3	<i>Darstellung von Bis(pyridin-5-L-isoleucinamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)</i>	134
7.5.4	<i>Darstellung von Bis(pyridin-5-L-leucinamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)</i>	135
7.5.5	<i>Darstellung von Bis(pyridin-5-O-tert.-butyl-L-threoninamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)</i>	136
7.5.6	<i>Darstellung von Bis(pyridin-5-L-threoninamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)</i>	137
7.5.7	<i>Darstellung von Bis(pyridin-5-L-tryptophanamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)</i>	138
7.5.8	<i>Darstellung von Bis(pyridin-5-O-tert.-butyl-L-Tyrosinamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)</i>	138
7.5.9	<i>Darstellung von Bis(pyridin-5-L-tyrosinamidethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)</i>	139
7.6	VERSUCHSVORSCHRIFTEN ZUR SYNTHESE ANDERER LIGANDEN	140
7.6.1	<i>Darstellung von L-Seryl-Glycinethylester Hydrochlorid</i>	140
7.6.2	<i>Darstellung von Tris(2-pyridylmethyl)amin (TPA)</i>	141
7.7	VERSUCHSVORSCHRIFTEN ZUR SYNTHESE DER VANADIUM(V)-KOMPLEXE	142
7.7.1	<i>Umsetzung von 5-Carboisopropoxyppyridin-2-carbonsäure mit dem Vanadium(V)precursor: VO(Pic-5OiPr)</i>	142

7.7.2	Umsetzung von 5-Carboisopropoxy-pyridin-2-carbonsäure und Tris(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(TPA)(Pic-5OiPr)Cl ₂	142
7.7.3	Umsetzung von 5-Carboetoxy-pyridin-2-carbonsäure und Tris(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(TPA)(Pic-5OEt)Cl ₂	143
7.7.4	Umsetzung von 5-L-Tyrosinamid-pyridin-2-carbonsäure und Tris(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(TPA)(PicTyr)Cl ₂	144
7.7.5	Umsetzung von 5-L-Isoleucinamid-pyridin-2-carbonsäure und Tris(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(TPA)(PicIle)Cl ₂	144
7.7.6	Umsetzung von 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(L-Tryptophanmethylester)amid und Tris(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(TPA)(PicTrp)Cl ₂	145
7.7.7	Umsetzung von 2-Carbomethoxy-pyridin-5-threoninamid und N-(2-Mercaptobenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(MPA)(PicThr)Cl ₂	146
8	ASPEKTE DES ARBEITS- UND UMWELTSCHUTZES	147
8.1	RECHTLICHES UMFELD UND REGLEMENTIERUNG DES CHEMIKERS	147
8.2	SICHERHEITASPEKTE BEI DER SÄULENCHROMATOGRAPHIE MIT DICHLORMETHAN ALS LAUFMITTEL 149	
8.2.1	Toxikologie des Dichlormethans	149
8.2.2	Durchführung der Säulenchromatographie	151
8.2.3	Durchführung der Messung von Dichlormethan in der Atemluft	151
8.2.4	Ergebnis/Diskussion und Auswertung	152
8.3	TOXIZITÄT VON VANADIUMVERBINDUNGEN	153
8.4	ENTSORGUNG	154
8.5	STOFFBILANZ	155
9	LITERATURVERZEICHNIS	156

1 Einleitung und Problemstellung

1.1 Allgemeine Bedeutung des Vanadiums

Metalle sind für lebende Organismen von großer Bedeutung, um Stoffwechselprozesse aufrecht zu erhalten. Die Unterteilung erfolgt in Mengenelemente wie Natrium, Kalium oder Calcium, die u. a. als Elektrolyte zur Signalübertragung oder (im Falle des Calciums) zum Aufbau eines Skeletts benötigt werden, und Spurenelemente, wie beispielsweise Eisen, Zink, Kupfer, Mangan oder Vanadium, die in Enzymen sowohl funktionelle als auch strukturelle Aufgaben übernehmen können.

Das Übergangsmetall Vanadium ist sowohl ein ubiquitäres Element als auch ein essentielles Spurenelement für Menschen, Tiere und Pflanzen¹ (Abbildung 1). Vanadium ist das zweithäufigste Übergangsmetall im Meerwasser (20 – 35 nM), in dem es in Form von Ionenpaaren $\text{Na}^+\text{H}_2\text{VO}_4^-$ vorliegt. Der menschliche Organismus enthält bis zu 300 µg Vanadium, die hauptsächlich im Knochenmaterial, in Leber, Milz, Nieren, der Skelettmuskulatur und in der Schilddrüse eingelagert sind. Die wesentlichen Funktionen, die bei Untersuchungen an Tieren festgestellt werden konnten, sind einerseits die wachstumsfördernde Wirkung bei Jungtieren, andererseits eine essentielle Bedeutung bei der Fortpflanzung.² Vergiftungen, für die grippeähnliche Symptome typisch sind, treten insbesondere durch eingeatmete V_2O_5 -Stäube in der Industrie auf.³

Periodensystem der Bioelemente

H														C	N	O	F	
Na	Mg													Si	P	S	Cl	
K	Ca			<i>V</i>	<i>Cr</i>	<i>Mn</i>	<i>Fe</i>	Co	<i>Ni</i>	<i>Cu</i>	Zn			As	Se	Br		
	Sr				<i>Mo</i>						Cd		Sn			I		
	Ba				<i>W</i>													
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	

E "Organische" Elemente
E essentiell in [nahezu] allen Lebewesen; E essentiell in vielen Lebewesen; E sporadisch essentiell; *kursiv*: Metalle, die vorwiegend Redoxfunktion haben.

Abbildung 1: Elemente und ihre Biorelevanz

Bei anderen Lebewesen (Seescheiden, Strudelwürmer, Braunalgen, Rotalgen, Flechten und Pilzen) kommt es zu einer teils starken Anreicherung und Speicherung von Vanadium.⁴ So können Seescheiden (*Asciaceae*), die zu den Manteltieren (*Tunicatae*) gehören, Vanadium bis zum 10⁸-fachen gegenüber dem Meerwasser in speziellen Blutzellen, den Vanadocyten, anreichern. Aus Pilzen der Gattung *Amanita* konnte sogar eine niedermolekulare, oxido-freie Vanadiumverbindung (Amavadin; Abbildung 2) isoliert und untersucht werden.⁵ Die physiologische Bedeutung ist hier jedoch noch ungeklärt.

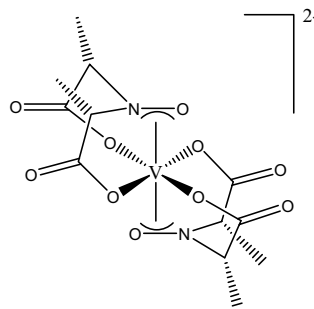
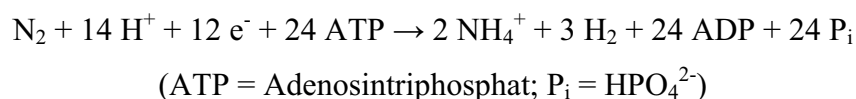


Abbildung 2: Amavadin im Fliegenpilz, ein non-oxido-Vanadium(IV)-Komplex.

Solche Komplexe, ohne die sonst charakteristische doppelt gebundene Oxidogruppe, sind in Anbetracht der Oxophilie des V(IV) und V(V) eher ungewöhnlich. Der Fliegenpilz *Amanita muscaria* weist mit bis zu 325 mg V/kg Trockengewicht die höchsten Vanadiumgehalte unter den *Amanitae* auf.⁶

Vanadium spielt – neben Molybdän – auch eine zentrale Rolle bei der Stickstofffixierung (Abbildung 3). Das Metall sitzt im aktiven Zentrum einer speziellen Nitrogenase, die man aus den stickstofffixierenden Bakterien *Azotobacter chroococcum* und *Azotobacter vinelandii*, sowie dem Cyanobakterium *Anabaena* isolieren kann. Diese Vanadium-abhängige Nitrogenase katalysiert hauptsächlich die reduktive Protonierung des Distickstoffs, gekoppelt mit der Reduktion von Protonen:⁷



Aber auch andere Substrate, z.B. Acetylen, Ethylen und Isonitrile, werden reduziert.

Vanadat-abhängige Haloperoxidasen, die u.a. in marinen Braunalgen (Knotentang, *Ascophyllum nodosum*) gefunden werden, enthalten Vanadium(V) im aktiven Zentrum (Abbildung 4).

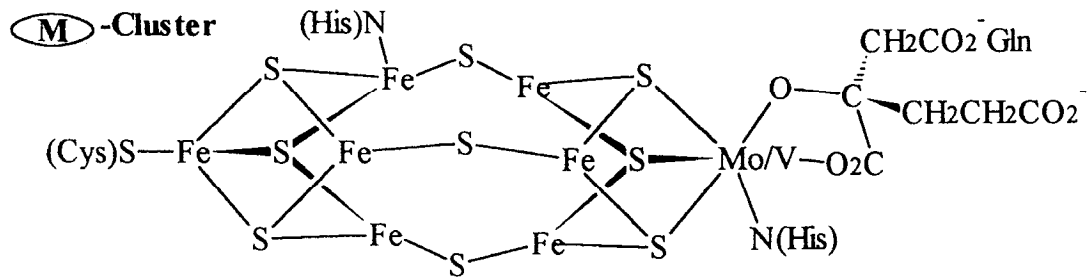


Abbildung 3: Aufbau des M-Clusters der Mo/V-Nitrogenasen.

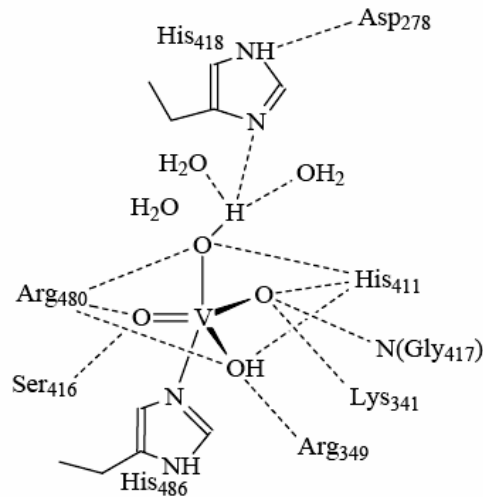
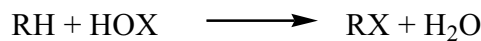
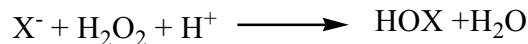


Abbildung 4: Aktives Zentrum der Haloperoxidase aus *Ascophyllum nodosum*.

Das Enzym katalysiert die kinetisch gehemmte Oxidation von Halogenid zu Hypohalogeniger Säure mit Wasserstoffperoxid. Durch die Hypohalogenige Säure werden dann nicht-enzymatisch organische Substrate halogeniert.⁸



X: Halogenid; R: org. Rest

1.2 Diabetes und Insulinmimetische Eigenschaften des Vanadiums

Seit ca. 2 Jahrzehnten wird ein weiterer bedeutender Aspekt der biologischen Funktionen von Vanadiumverbindungen intensiv beforscht: Das wachsende Interesse beruht auf der

insulinmimetischen Wirkung vieler Vanadiumverbindungen. Aus Tierversuchen ist bereits seit den sechziger Jahren bekannt, dass Diabetes mit Hilfe von Chrom- und Vanadiumverbindungen behandelt werden kann. Einfache anorganische Vanadiumverbindungen wie Vanadat, Peroxidovanat und Vanadylsulfat haben sich dabei als wirksam erwiesen. Zu den insulinmimetischen Eigenschaften der Vanadiumverbindungen gehören die Stimulierung des Glucosetransports und der Glucoseoxidation in Fettzellen, die Anregung der Glucosespeicherung als Glykogen (die Erhöhung der Aktivität der Glykogen-Synthase) und die Inhibierung der Gluconeogenese.⁹ Weiterhin kann Vanadium wie Insulin die Lipogenese stimulieren bzw. die Lipolyse inhibieren. Damit bietet Vanadium grundsätzlich die Basis für die Darstellung von Medikamenten zur Behandlung von Diabetes.

Die häufigste schwerwiegende Stoffwechselerkrankung der heutigen Zeit, *Diabetes mellitus*, ist eine Stoffwechselerkrankung, bei der es zu einer chronischen Erhöhung des Blutzuckerwertes und zu einer Störung des Fett- und Proteinstoffwechsels kommt, verbunden mit dem Risiko für schwere Begleit- und Folgeerkrankungen; 5% der Weltbevölkerung (in den industrialisierten Regionen bis zu 12%) sind betroffen. Ursache ist ein absoluter oder relativer Mangel an Insulin.

Insulin fördert den Einstrom von Glucose aus dem Blut in die Körperzellen und unterdrückt die Glucoseproduktion in der Leber durch Inhibierung der Glykogenolyse. Bei Insulinmangel kann Glucose nicht mehr wie üblich umgesetzt werden, wodurch es zur Akkumulation ketonischer Körper wie Acetessigsäure im Blut kommt. Zudem werden statt Glucose Fette und Proteine abgebaut, bis größere Mengen organischer Säuren aus dem Fettstoffwechsel ins Blut übertreten, die zu einer gefährlichen Übersäuerung des Blutes und der Gewebe führen. Als Folge davon treten Tiefenatmung, eine hohe Flüssigkeitsausscheidung über den Harn (und damit ein generelles Flüssigkeitsdefizit) sowie Blutdruckabfall und im Extremfall Bewusstlosigkeit auf, das lebensgefährliche diabetische Koma (*Coma diabeticum*). Weiterhin kommt es zu Störungen der peripheren Blutzirkulation und damit zum Absterben peripheren Gewebes. Die Zerstörung der Blutgefäße der Retina führt zu Sehstörungen oder sogar zur Erblindung. Die Erkrankung kann in jedem Lebensalter auftreten.

Man unterscheidet zwischen zwei Typen, dem Typ-I-Diabetes und dem Typ-II-Diabetes. Der Typ-I-Diabetes („juvener Diabetes“) tritt überwiegend bei Kindern, Jugendlichen und jungen Erwachsenen auf. Die Symptome sind starker Durst, häufiges Wasserlassen und Gewichtsabnahme. Der Typ-I-Diabetes entsteht durch einen absoluten Insulinmangel infolge Zerstörung der Insulin-produzierenden Zellen (in der Bauchspeicheldrüse) durch das

körpereigene Immunsystem (Autoimmunkrankheit), aber auch durch virale Infekte oder Unfall. Das Risiko für den Typ-I-Diabetes kann durch den Nachweis spezifischer Autoantikörper im Blut erkannt werden, da diese schon viele Monate bis Jahre vor Erkrankungsbeginn positiv sind. Der Typ-II-Diabetes entwickelt sich hauptsächlich im mittleren und höheren Lebensalter und wurde deshalb lange als „Altersdiabetes“ bezeichnet. Etwa 90% aller Diabeteserkrankungen gehören zum Typ-II-Diabetes. Die akuten Symptome wie Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Juckreiz, Durst und häufiges Wasserlassen sind am Anfang nicht stark ausgeprägt, sodass es bei der Krankheitsfeststellung meist zu einer Verzögerung von fünf bis acht Jahren kommt und dann schon Langzeitfolgen der Erkrankung nachweisbar sind. Typ-II-Diabetes ist auf eine Verminderung der zellulären Insulinrezeptoren im Alter und/oder mangelnden Respons der Rezeptoren gegenüber Insulin zurückzuführen.

Vanadium, das in seiner Oxidationsstufe +V unter physiologischen Bedingungen als Monovanadat $[H_2VO_4]^-$ vorliegt, besitzt in vielen Lebewesen eine essentielle Rolle, indem es als Antagonist zum Phosphat in die Regulation vieler Bereiche des Phosphatmetabolismus eingreift. Auch der insulinmimetische Effekt von Vanadat ist auf diesen Antagonismus zurückzuführen. In pharmakologischen Studien wurde die Wirkung des Vanadiums eingehend untersucht; man weiß, dass Vanadium einen stimulierenden Einfluss auf den Glucose-Metabolismus hat. Damit bietet Vanadium die Grundlage für die Darstellung von Medikamenten zur Behandlung von Diabetes, um damit bestimmte Aufgaben des Insulins zu übernehmen. Insulin ist ein 6-kD-Polypeptidhormon, das von den β -Zellen der Langerhansschen Inseln des Pankreas, stimuliert durch eine Zunahme der Konzentration an Glucose, produziert wird, u. a. als hormoneller Regulator des sogenannten Brennstoffmetabolismus auf den Glykogenstoffwechsel (Glucosespeicher) einwirkt. Ein hoher Blutglucosespiegel nach der Nahrungsaufnahme bewirkt eine gesteigerte Freisetzung monomeren Insulins aus der hexameren Speicherform. Dies fördert die Aufnahme von Glucose in verschiedene Arten von Zellen, besonders in die der Muskulatur und des Fettgewebes.

Zu Beginn der so genannten Insulin-Signal-Kaskade (**a** in Abbildung 5) bindet Insulin auf der extrazellulären Seite der Zellmembran an den Insulinrezeptor. Es kommt aufgrund einer Konformationsänderung zur Phosphorylierung der Tyrosinreste auf der intrazellulären Seite des Insulinrezeptors; dies leitet die Insulin-Signalkaskade ein (**b** in Abbildung 5). Der Glucose-Carrier (Glut4) wird aktiviert und Glucose gelangt in die Zelle. In Abwesenheit von Insulin wird die Signaltransduktion durch die intrazelluläre Hydrolyse der Phosphat-Tyrosin-Bindung durch eine Protein-Tyrosin-Phosphatase (PTP) unterbrochen (**c** in Abb. 5).

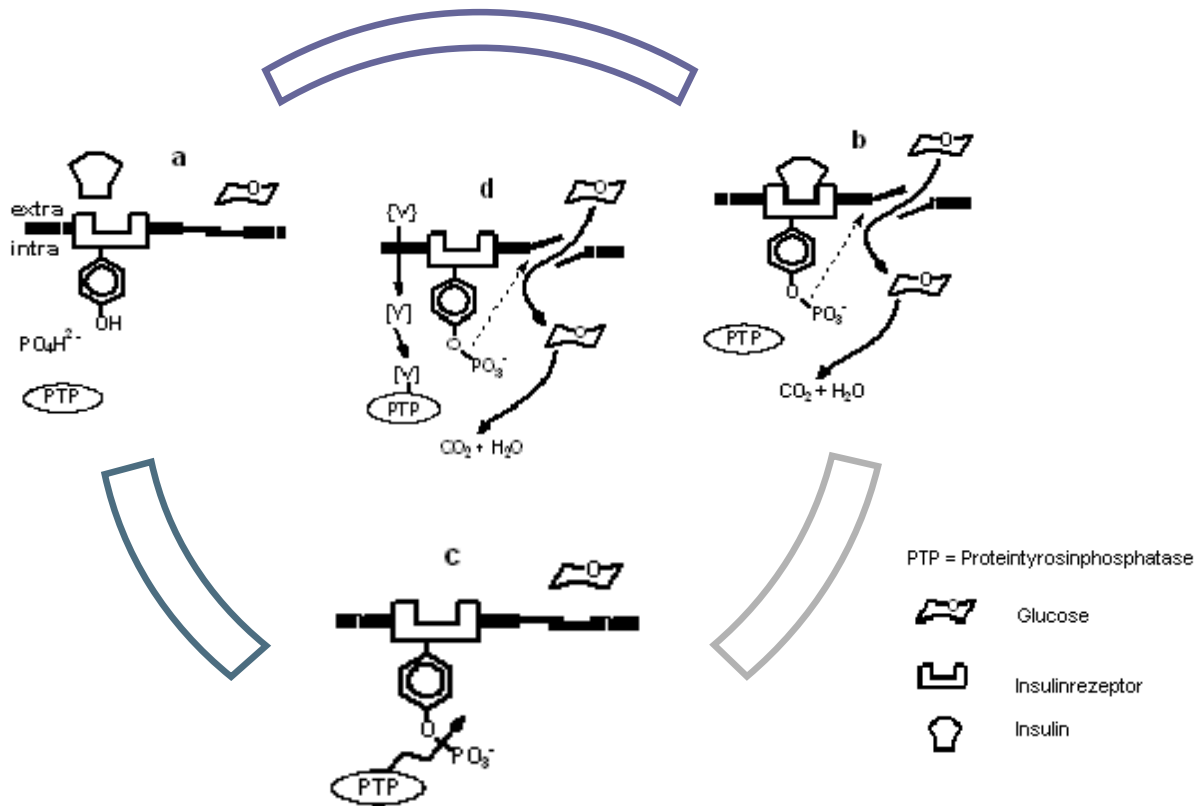


Abbildung 5: Vorgeschlagener Mechanismus der insulinmimetischen Wirkung des Vanadiums im Organismus.

Bei Insulinmangel erfolgt nur noch unzureichende Glucoseaufnahme und -verwertung. Insulin wirkt u.a. auch stimulierend auf die Fettsäuresynthese und Inhibierung der Lipolyse. Zusätzlich hat Insulin Einfluss auf den Aminosäure- und Proteinstoffwechsel.¹⁰

Der genaue Wirkungsmechanismus der Vanadiumverbindungen ist nicht abschließend geklärt. Denkbar ist ein vom Insulin-Rezeptor unabhängiger Weg, der die „Permeabilität“ der Membran gegenüber Glucose erhöht. Hierbei wäre der Kreislauf, der im Krankheitsfall gestört ist, durch einen alternativen Schritt **d** in Abb. 5 wieder hergestellt: Indem die Vanadiumverbindung die Proteintyrosinphosphatase inhibiert, kann es nicht mehr zur Hydrolyse der Phosphoresterbindung (Schritt **c**) kommen und die Signaltransduktion (Schritt **b**) bleibt somit erhalten. Für eine solche Funktionsweise spricht, dass Vanadat ein Inhibitor für Phosphatasen ist.¹¹

Trotz vieler Erleichterungen bei der Applikation von Humaninsulin durch innovative Entwicklung wäre ein oral verfügbares Insulinmimetikum ein enormer Fortschritt, insbesondere auch bei Insulinresistenz. Die Entwicklung einer Verbindung, die durch alternative

Signalübertragungswege die Wirkung von Insulin nachahmt, wäre ein viel versprechendes neues Medikament, das oral appliziert und sowohl zur Behandlung des Typ-I- wie auch des Typ-II-Diabetes eingesetzt werden könnte. In Tierversuchen haben sich einfache anorganische Vanadiumverbindungen wie Vanadat, Peroxidovanat und Vanadylsulfat als wirksam erwiesen.

Die Wirkung der Verbindungen des Vanadiums im menschlichen Organismus ist noch wenig erforscht. Vanadium ist, wie die meisten Metallionen, in höheren Dosierungen toxisch. Im Falle des Vanadiums ist die Toxizität wohl auf die Tatsache zurückzuführen, dass Vanadiumverbindungen (insbesondere die phosphatähnlichen Anionen $[\text{V}^{\text{V}}\text{O}_2(\text{OH})_2]^-$ und $[\text{V}^{\text{IV}}\text{O}(\text{OH})_3]^-$) in den Phosphatmetabolismus eingreifen, z.B. durch Hemmung der Na^+/K^+ -ATPase. Im Jahre 1977 führte die Entdeckung, dass Vanadat ein Inhibitor der Na^+/K^+ -ATPase ist, zu zahlreichen Studien, die im Zusammenhang mit den inhibierenden und stimulierenden Eigenschaften von Vanadat stehen.¹²

2 Stand der Forschung

Das Potential von Vanadiumverbindungen als Medikament wurde erstmalig gegen Ende des 19. Jahrhunderts durch Lyonnet erforscht. Im Krankenhaus L'Hôtel-Dieu in Lyon wurde die Vergabe von wässrigen Natriummetavanadat (4 – 5 mg) bei der Behandlung von 60 Patienten mit unterschiedlichen Krankheitsbildern, z.B. Bleichsüchtige und Tuberkulöse sowie Diabetiker erprobt. Sie beobachteten bei allen Patienten eine Zunahme des Appetits, eine merkliche Gewichtszunahme, und bei Diabetikern (3 Patienten) eine Verringerung der Blutzuckerwerte.¹³ Zur Behandlung von Diabetikern gelang es im Juli 1921 dem Kanadier Frederick Grant Banting das Hormon Insulin aus der Bauchspeicheldrüse zu isolieren, um damit die Patienten zu therapieren (Banting und MacLeod, Nobelpreis 1923). Bis Mitte der 1980er Jahre wurde Insulin aus den Bauchspeicheldrüsen von Tieren, beispielsweise von Rindern und Schweinen gewonnen. Darauf folgte die Produktion aus gentechnisch veränderten Bakterien. Allerdings hat es bislang keine besondere Verbesserung in der Darreichungsform (subkutan) von Insulin gegeben.

Durch diese Entdeckung geriet die therapeutische Wirksamkeit der Vanadiumverbindungen in den Hintergrund und wurde nur noch vereinzelt von wenigen Arbeitsgruppen verfolgt. Erst mehr als siebenzig Jahre nach der erstmaligen Entdeckung des antidiabetischen Potentials der Vanadiumsalze knüpften verschiedene Arbeitskreise wieder an die Untersuchungen an. Bezüglich des Wirkmechanismus wurde meist davon ausgegangen, dass Vanadiumverbindungen inhibierend auf enzymatische Vorgänge wirken, an denen Phosphatasen beteiligt sind.¹⁴ Im Jahr 1977 berichtete Cantley von der Inhibierung der Natrium-Kalium-Pumpe (Na^+, K^+ -ATPase) durch Vanadium in der Oxidationsstufe +V.¹⁵ Diese Entdeckung stellte einen Meilenstein in der

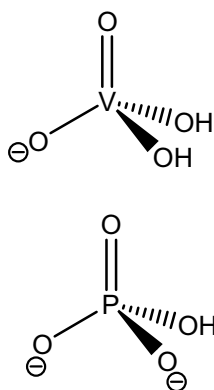


Abbildung 6. Vanadat (oben)
Phosphat (unten)

bioanorganischen Chemie des Vanadiums dar und löste hohes Interesse in die Erforschung des Phosphat-Vanadat-Antagonismus aus. Die Wirkung wurde auf die strukturelle Ähnlichkeit des Vanadats (unter physiologischen Bedingungen H_2VO_4^-) und HPO_4^{2-} zurückgeführt (Abbildung 6). Die Verknüpfung der Inhibitorwirkung von Vanadat(V) gegenüber der Na^+, K^+ -ATPase mit einer anschließenden Insulin-ähnlichen Stimulierung des Glucose-Transports in Zellgeweben veranlasste Dubyak und Kleinzeller zu der systematischen Untersuchung der Effekte von Vanadat auf den Hexose-Transport in Adipocytten (Fettzellen).¹⁶

Sie schlugen eine Beeinflussung der Phosphorylierung wichtiger Membranproteine als Mechanismus vor.

Vanadium in den Oxidationsstufen +IV und +V wirkt damit als Übergangszustands-Analogon für die Hydrolyse der Phosphoresterbindung.¹⁷ Die intrazelluläre Inhibierung der Protein-Tyrosin-Phosphatase (PTP) wurde in engen Kontext zum insulinmimetischem Effekt des Vanadiums gestellt. Mit der Intention, den Wirkmechanismus aufzuklären, konnten Shechter et al. *in vitro* bei der Behandlung von Ratten-Adipocyten mit Vanadat eine Metabolisierung von

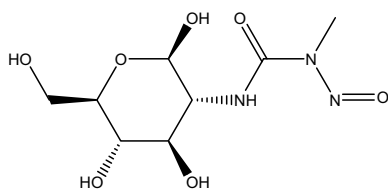


Abbildung 7: Streptozotocin (STZ)

Glucose in den Zellen nachweisen. Hierzu wurde Natriumorthovanadat (Na_3VO_4) in einer Konzentration von *ca.* 0.1 mM verabreicht, wobei in wässriger Lösung eine Mischung aus dem Mono- (H_2VO_4^-), Di- ($\text{H}_2\text{V}_2\text{O}_7^{2-}$) und Tetravanadat $\text{V}_4\text{O}_{12}^{4-}$ vorliegt. Es wurde vermutet, dass dieser Effekt eigentlich durch Vanadyl (VO^{2+}) hervorgerufen wird,

d.h. Vanadium in der Oxidationsstufe +V wird intrazellulär zu Vanadium(IV) reduziert.¹⁸ Es folgten Berichte, im Jahre 1985, über Insulin-mimetische Effekte von Vanadat *in vivo*.¹⁹ Hierbei konnte an Ratten, bei denen mit Streptozotocin (STZ) (Abbildung 7) künstlich Typ-I Diabetes erzeugt wurde, der Blutglucosespiegel annähernd auf den durchschnittlichen Wert von gesunden Ratten gesenkt werden. Den Versuchstieren wurde Natriumorthovanadat Na_3VO_4 , (0.6 – 0.8 mg/mL) in das Trinkwasser gemischt. Im Gegensatz zu Insulin besitzen Vanadiumverbindungen bei oraler Anwendung eine Insulin-mimetische Aktivität.

Im Späteren folgten Untersuchungen mit der Vanadium(IV)-Verbindung VOSO_4 an STZ-induzierten diabetischen Ratten, die hinsichtlich des Insulin-mimetischen Effekts vergleichbare Werte lieferten.²⁰ Vanadylsulfat zeigt eine weitaus geringere Toxizität als Verbindungen der Oxidationsstufe +V, wird jedoch schlechter absorbiert. In wässrigen Lösungen existiert

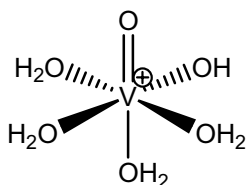
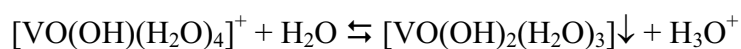


Abbildung 8: Struktur von $[\text{VO}(\text{H}_2\text{O})_4\text{OH}]^+$

Vanadylsulfat ausschließlich im sauren Milieu. Bei pH-Erhöhung treten folgende Reaktionen auf:



Im leicht basischen Bereich, wie er u.a. im Darmmilieu vorliegt, kommt es zur Bildung schwerlöslicher Vanadiumhydroxide.

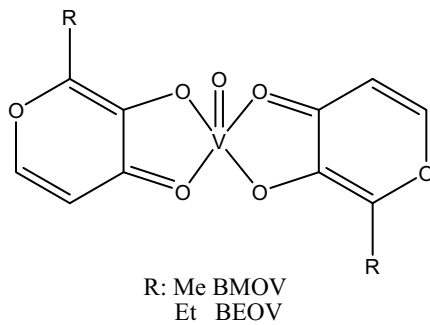


Abbildung 9: Die Bis(maltolato)-Oxidovanadium(IV)-Komplexe

Die potentielle Toxizität der Vanadate, die damit verbundenen Unverträglichkeitsreaktionen und die geringe Resorption aus dem Darmmilieu reduzieren den therapeutischen Nutzen der anorganischen Vanadiumverbindungen. In den letzten 15 Jahren wurden daher vermehrt Vanadium-Verbindungen mit organischer Komponente in der Koordinationssphäre eingesetzt. So konnten die Toxizitätsprobleme verringert und eine Optimierung der Stabilität bezüglich pH-Änderungen erzielt werden. Neben einer Verbesserung der Resorption können organische Liganden möglicherweise unerwünschte Redox-Prozesse unterbinden. Im Jahre 1992 berichtete die Gruppe von C. Orvig über die Insulin-mimetischen Eigenschaften einer organischen Vanadium(IV)-Verbindung, das *Bis(maltolato)-oxidovanadium* (BMOV) (Abbildung 9).²¹ Vanadium, kombiniert mit Maltol, führt zur Optimierung der Resorption. Der Ligand ist in den USA und Großbritannien als Nahrungsmittelzusatz zugelassen und scheint demnach hinsichtlich der Stoffwechselprodukte unbedenklich zu sein. Dieser Ligand wurde ausgewählt, um die Lipophilie und damit die Resorption im Darm-Trakt zu erhöhen. *In vivo*-Studien weisen zusätzlich eine gegenüber Vanadylsulfat höhere Effektivität bezüglich der Erniedrigung des Glucosespiegels im Blut, sowie eine höhere Verträglichkeit auf.²² Der Komplex zeichnet sich durch Labilität in Bezug auf Oxidation und Reduktion aus. In alkoholischer Lösung entsteht leicht die entsprechende Alkoxo-*bis(maltolato)oxidovanadium(V)*-Spezies, und in wässriger Lösung erfolgt Oxidation durch Luftsauerstoff zum anionischen Dioxidovanadium(V)-Komplex $[\text{VO}_2(\text{maltolat})_2]^-$, der keine insulinmimetische Wirkung mehr zeigt.²¹

Eine weitere Klasse von Komplexen des Vanadium(IV) mit Picolinato-Liganden wurde von der Sakurai-Gruppe im Jahre 1995 eingeführt.²³ Diese Verbindungsklasse hat gute Resultate in Hinblick auf die oben angesprochenen Aspekte Stabilität und Verträglichkeit gezeigt. Ein Vorteil dieses Liganden ist sein natürliches Vorkommen als Metabolit beim Abbau der Aminosäure Tryptophan; zusätzlich zeichnet sich der Komplex durch eine hohe Hydrolysestabilität aus. Der Wechsel zwischen Vanadium(IV) und Vanadium(V) ist im Gegensatz zu den Maltolatoverbindungen in den Komplexen mit Picolinato-Liganden erschwert. Die Picolinate bilden Vanadiumverbindungen mit einer (NO)-Koordination. Die Verbindungen normalisieren

erhöhte Blutglucosewerte in STZ-Ratten und senken den Gehalt an freien Fettsäuren (free fatty acid, FFA) in Adipocyten *in vitro*.²³

Ausgehend von diesen Erfolgen wurde die Klasse der Picolinato-Vanadium-Komplexe in unterschiedlichen Oxidationsstufen (+IV/+V) sowohl im Hinblick auf das chemische Verhalten, als auch auf ihre Insulin-mimetischen Eigenschaften intensiv beforscht. Moderne Vanadium-Komplexe mit *in vitro* und/oder *in vivo* Aktivität zeigen neben dem oben erwähnten (NO)-Koordinationsmodus, wie er von den Picolinaten bereitgestellt wird, eine breite Variabilität bezüglich der chemischen Zusammensetzung und der koordinierenden Funktionen; Abbildung 10.

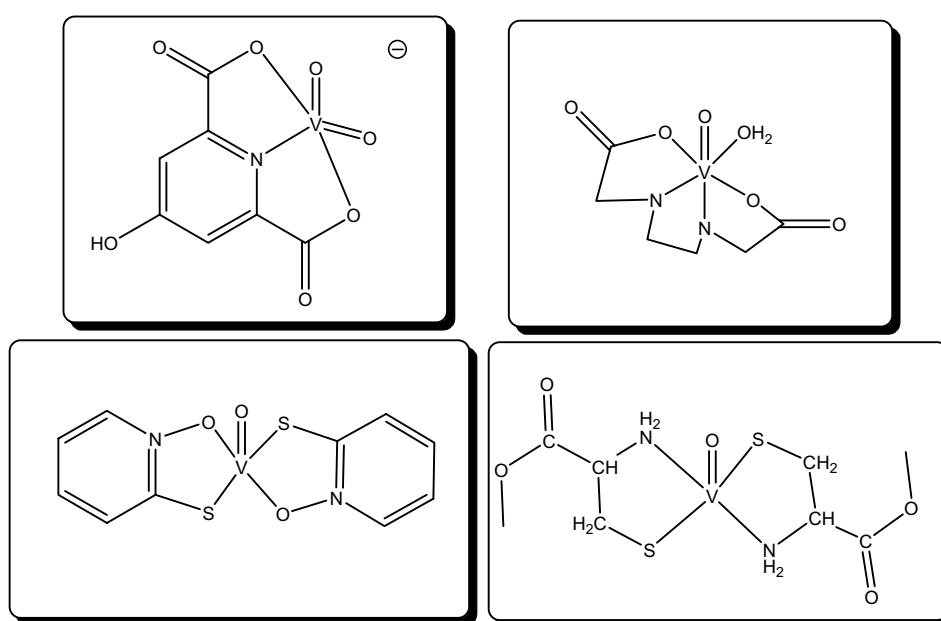


Abbildung 10: Ausgewählte Vanadium-Komplexe mit *in vivo* bzw. *in vitro* Aktivität.

So werden Insulin-mimetisch wirksame Vanadiumkomplexe in der Literatur beschrieben, in denen u.a. auch Schwefelfunktionen an das Vanadium koordinieren.²⁴ Die Auswahl der hier dargestellten Komplexe zeigt Koordination über den Sauerstoff, Stickstoff und Schwefel, mit den Donorsätzen (NO_2) , $(NO)_2$, $(OS)_2$, $(NS)_2$.²⁵ Die Wirkung der Komplexe reicht von der Erniedrigung des Blutglucose-Levels über eine Verminderung der FFA-Konzentration bis hin zur Stimulierung der Phosphorylierung von Proteintyrosin-Resten.

Auch von Vanadium(III)-Komplexen mit Maltolato-Liganden der Zusammensetzung $[V(\text{maltolato})_3]$ wird eine Insulin-verstärkende Wirkung beschrieben.²⁶ Offen steht die Frage, in wie weit die Aktivität der Komplexe von der Natur des koordinierenden Liganden und der Oxidationsstufe des Vanadiums abhängt, und inwieweit die applizierte bzw. die intrazellulär gebildete Form des Komplexes wirksam ist. Im Falle der Vanadium(III)-Verbindungen z.B.

erfolgt ein rascher Wechsel des Oxidationszustandes oberhalb von pH 3 zu Vanadium(IV) bzw. Vanadium(V). Anscheinend wirkt damit Vanadium in der Oxidationsstufen +IV und +V auf unterschiedliche Art und Weise. Während Vanadium +IV wahrscheinlich erst nach der extrazellulären Hydrolyse und Oxidation wirkt, gelangt Vanadium +V möglicherweise über Phosphat-Kanäle direkt in das Zellinnere und nimmt Einfluss auf den Glucose- und Fettstoffwechsel.²⁷ Im Falle der PTP-Inhibierung wird eine Koordinierung des Vanadiums an Aminosäurereste des aktiven Zentrums der Protein-Tyrosin-Phosphatase als Ursache angesehen.²⁸ Berichtet wird aber auch über eine PTP-Inhibierung durch die Oxidation eines Cysteinatrestes in Proteinphosphatasen.²⁹ Bedeutend ist neben der Stabilität, die hauptsächlich durch die koordinierenden Gruppen der Liganden beeinflusst wird, auch die Balance der Lipophilie/Hydrophilie, die durch die Peripherie der Liganden beeinflusst wird.

Neben Vanadium wurde bislang eine Reihe anderer Metalle bezüglich ihrer Insulinmimetischen Wirkung untersucht. Hierunter fällt neben Mangan, Cobalt, Zink und Lithium auch Chrom in Form von Chrompicolinat. Vorteilhaft ist bei all diesen Verbindungen die Möglichkeit der oralen Anwendung.

3 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Darstellung und Charakterisierung von Vanadium(IV/V)-Verbindungen mit (potenziell) insulinmimetischen Eigenschaften. Der Ligandentyp wird dabei in Anlehnung an organische Vanadiumverbindungen gewählt, deren Verträglichkeit und insulinmimetische Wirkung *in vitro* in unserer Arbeitsgruppe bereits bestätigt wurde.³⁰ Die Basis dieser Liganden ist Picolinsäure (Pyridin-2-carbonsäure), die wichtige Kriterien erfüllt, nach denen ein organischer Ligand für eine Vanadiumverbindung mit therapeutischem Potential geeignet sein könnte (s.a. Stand der Forschung). Um die Transporteigenschaften und die Aufnahme zu verbessern sowie die Toxizität zu verringern, wurden Modifikationen in 5-Position vorgenommen. Eine ausgewogene Lipophilie und Hydrophilie soll der Unterstützung des passiven Transports durch die hydrophoben Membranen dienen. Um eventuell auch einen aktiven Transport in die Zielzellen einzuleiten, sollten Moleküle entwickelt werden, die an der 5-Position Erkennungsmerkmale für Zellmembranrezeptoren tragen. Geeignet erscheinen Aminosäuren mit unterschiedlicher Polarität und Aromatizität. Nach der Umsetzung mit der Vanadiumverbindung sollten die erhaltenen Komplexe vollständig charakterisiert werden. Anschließend sollten die Wechselwirkung der Verbindungen mit nieder- und hochmolekularen Blutkomponenten untersucht und ihre Insulin-mimetischen Wirkung bestimmt werden.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Synthese der Liganden

Die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit fokussieren sich auf Aspekte zur Regulierung und Optimierung von Aufnahme, Transport und Wirkung von Vanadiumkomplexen mit antidiabetischen Eigenschaften. Hierzu wurden Liganden entwickelt, die auf der Picolinsäure basieren. Vanadiumverbindungen mit diesem Liganden sind besonders gut verträglich, zeigen die notwendige Säurestabilität und können sehr wirksame Insulinmimetika sein. Wichtig für die Entwicklung geeigneter Verbindungen sind organische Liganden, die dem Körper einen Wiedererkennungswert liefern und nach der Biotransformation ausgeschieden werden können. Hierzu gehören Picolin-Derivate. Als Ausgangssubstanz für die Ligandensysteme wurde Pyridin-2,5-dicarbonsäure gewählt, und damit Derivate der Picolinsäure (Pyridin-2-carbonsäure) mit einer weiteren Carboxylgruppe, die die Möglichkeit zur Modifikation bietet. Es wurden organische Reste in 5-Position eingeführt die sowohl eine Verringerung der Toxizität der Vanadiumkomplexe als auch eine Verbesserung der Transporteigenschaften sowie der Aufnahme in die Zellen bewirken sollen. Hierzu wurden in die Position 5 unterschiedliche Substituenten mit biologischer Relevanz eingeführt, für die einerseits Zellmembranrezeptoren existieren, und die andererseits in den aktiven Zentren unterschiedlicher Enzyme vorliegen können. Auf diesem Wege sollte einerseits eine Strukturstabilisierung der Komplexe erzielt werden, andererseits nach Einnahme ein Transport der entsprechenden Vanadiumverbindungen in die Zielzellen gewährleistet sein.

4.1.1 Einführung der Schutzgruppe: Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure

Für die Synthese des Grundgerüsts musste an Pyridin-2,5-dicarbonsäure vorab eine partielle Deaktivierung der Säurefunktionen vorgenommen werden. Hierzu wurde durch Veresterung die Carboxylgruppe in 2-Position geschützt. Dazu wurde das Edukt Pyridin-2,5-dicarbonsäure in Methanol gelöst und mit konz. Schwefelsäure als Katalysator versetzt (Abbildung 11). Anschließend wurde das Reaktionsgemisch für die Veresterung zwei Stunden unter Rückfluss erhitzt.

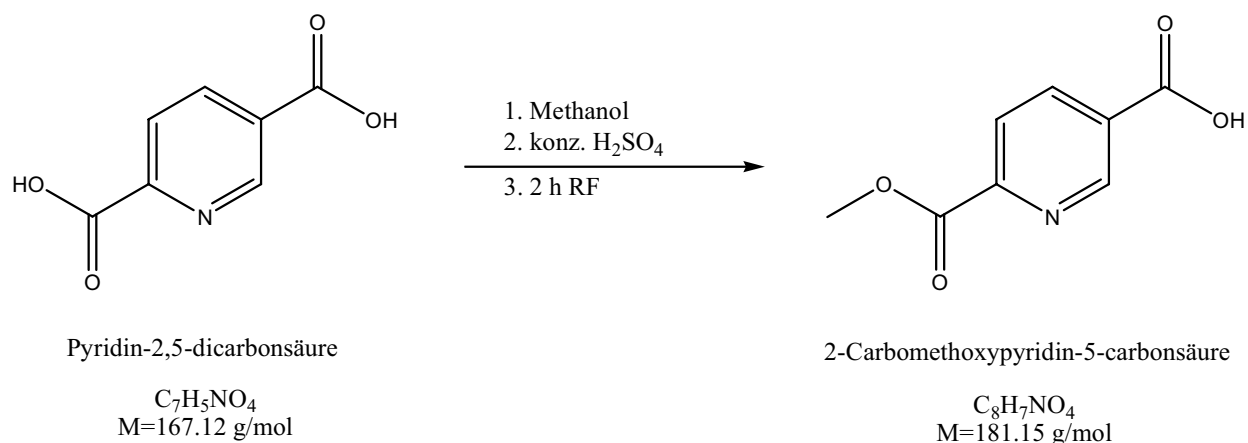


Abbildung 11: Partielle Schützung der Pyridin-2,5-dicarbonsäure in 2-Position.

Das Produkt konnte mit einer Ausbeute von über 70% erhalten werden. Die Verbindung wurde mittels IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HSQC, HMBC und MS charakterisiert.^{31,32}

Ein Vergleich des IR-Spektrums der Pyridin-2,5-dicarbonsäure mit dem Spektrum des entstandenen Produktes weist auf eine mögliche partielle Schützung hin. Im IR-Spektrum werden unterschiedliche Banden für die Carbonylgruppen der Estergruppierung (1733 cm⁻¹) und der freien Säurefunktion (1717 cm⁻¹) beobachtet. Die Banden der aromatischen Schwingungen befinden sich erwartungsgemäß bei ca. 1580, 1300 und 750 cm⁻¹ und sind teilweise leicht zu niedrigeren Wellenzahlen verschoben (Abbildung 12). Die Methylestergruppe ist durch die folgenden Banden charakterisiert: ~2880, C-H-Schwingung; 1430, δ_{CHasy}; 1370 cm⁻¹, δ_{CHsym}; 1150 cm⁻¹ O-C-Schwingung. Bei dem in 2-Position methylierten Produkt wird gegenüber der

Dicarbonsäure eine Intensitätsabnahme der Schlüsselbanden für die OH-Schwingungen der Carbonsäuregruppierung im Bereich von 3200-2400 cm^{-1} beobachtet, was auf die abnehmende intermolekulare Wechselwirkung im Monoester zurückzuführen ist.

Das EI-Massenspektrum lieferte den erwarteten Molekülionenpeak bei m/z 181. Aus dem ^1H -NMR Spektrum in DMSO- d_6 ist das Protonensignal der freien Säurefunktion verbreitert im Bereich von 14.50-13.00 ppm zu finden; Abbildung 13. Leicht hochfeldverschoben findet man bei 9.17 ppm den X-Teil (dem Pyridin-N benachbarte CH-Gruppe) des ABX-Spinsystems. Die aromatischen Protonen (AB-Teil des ABX-Systems) befinden sich bei 8.47 und 8.18 ppm. Die Methylschutzgruppe ist bei 3.94 ppm zu finden. Wegen des nur geringen Unterschieds in den chemischen Verschiebungen der Methylschutzgruppen der 5-Carbomethoxypyridin-2-carbonsäure und 2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure kann anhand von ^1H -NMR-Untersuchungen keine genaue Aussage über die exakte Methylierungs-Position gegeben werden.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

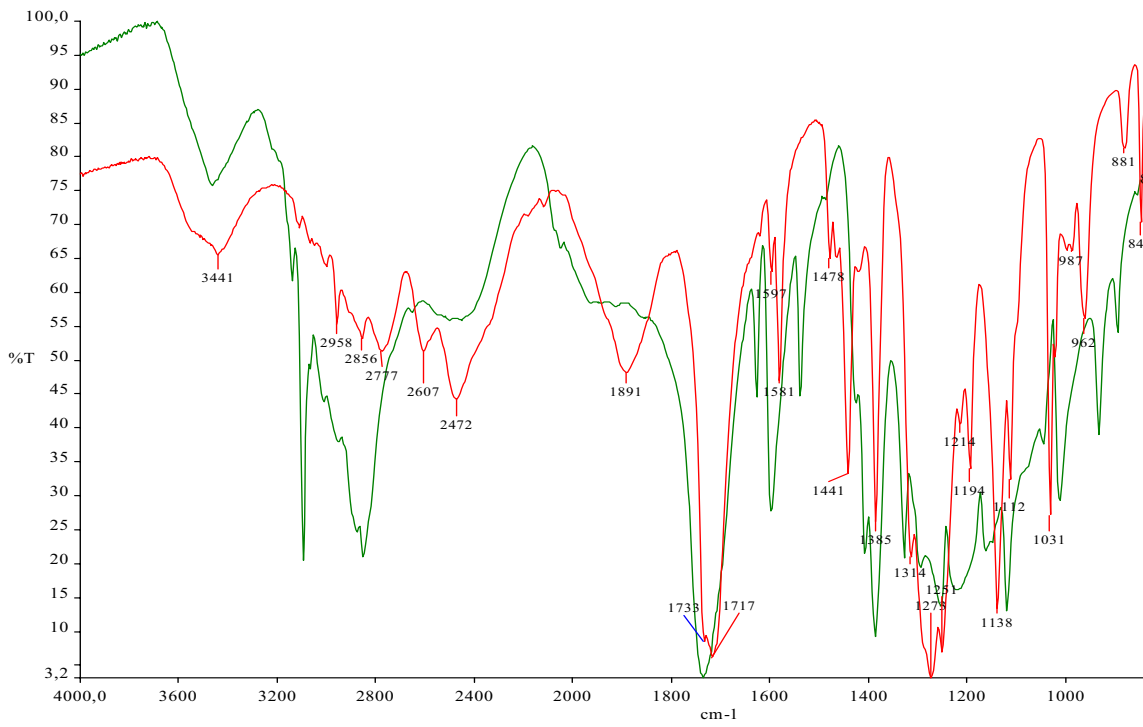


Abbildung 12: IR-Spektrum der Pyridin-2,5-dicarbonsäure (grün) und deren 2-Methylester (rot).

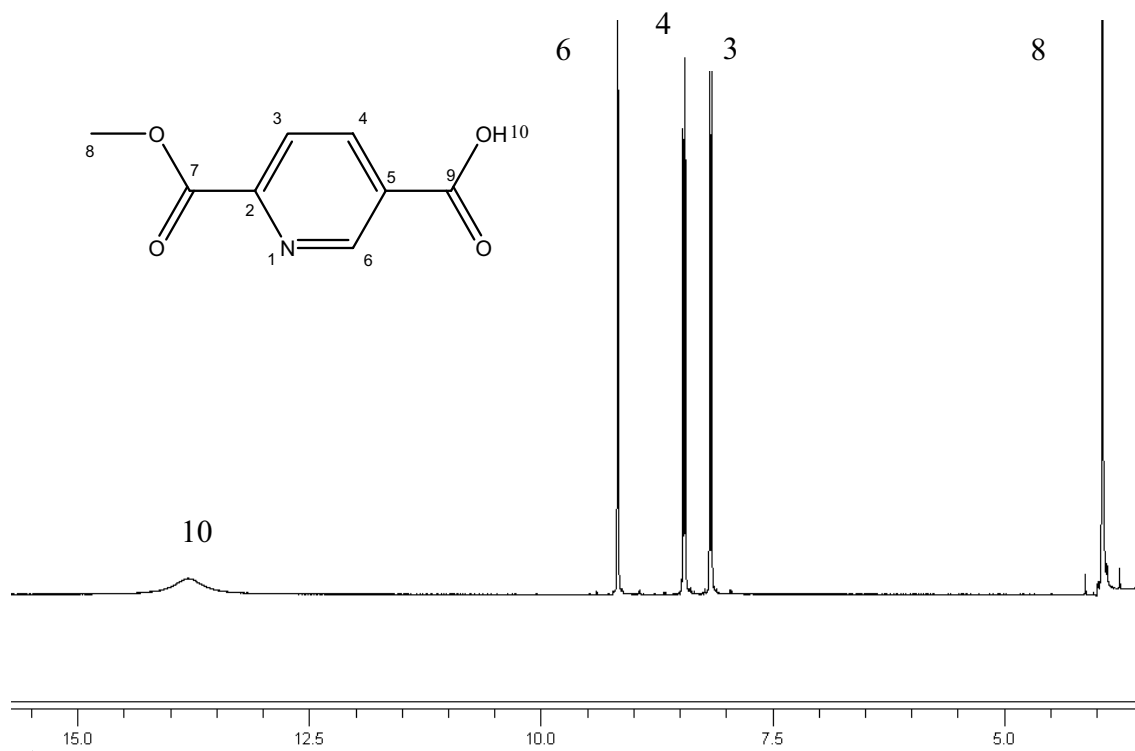


Abbildung 13: ¹H-NMR Spektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure in DMSO-d₆.

Durch das ^{13}C -NMR-Spektrum wird die Identität der Verbindung aber bestätigt: Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind sieben Kohlenstoffatome zu erkennen. Die Abwesenheit eines achten Signals im ^1H -Breitband-entkoppelten ^{13}C -NMR konnte mithilfe eines APT-Experimentes aufgeklärt werden: Aus dem APT-Spektrum geht hervor, dass die chemischen Verschiebungen des tertiären C-Atoms C6 mit dem des quaternären C2 zusammenfällt (150 ppm); Abbildung 14.

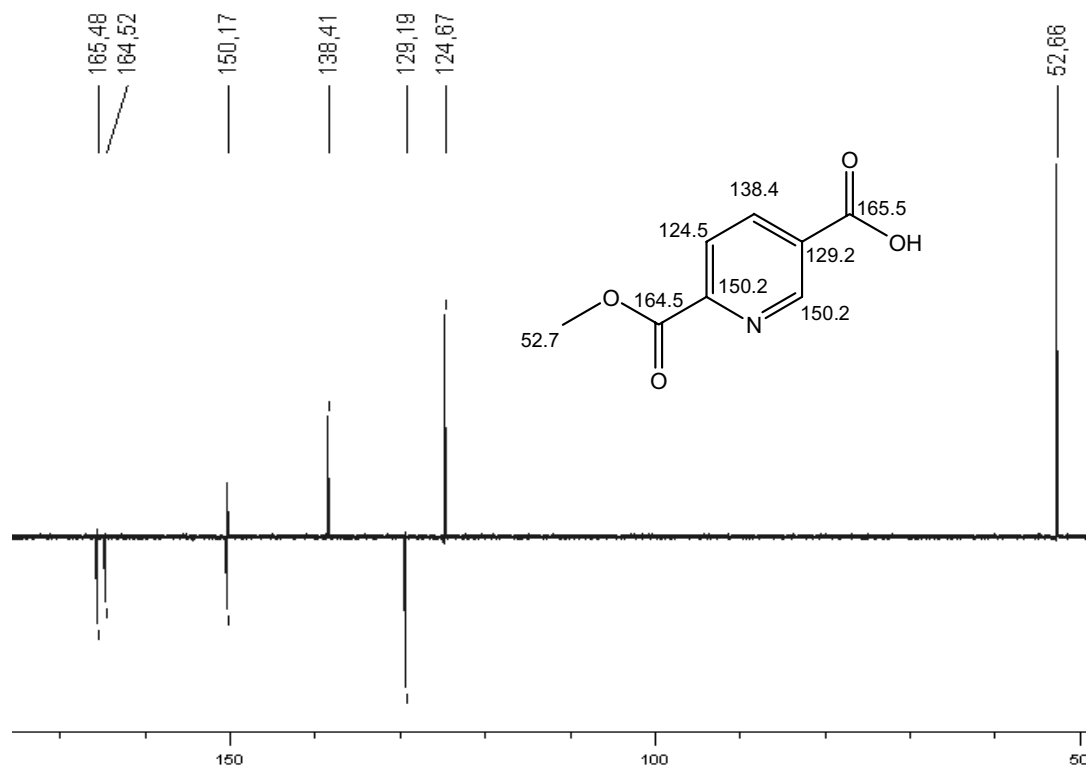


Abbildung 14: APT- ^{13}C -NMR-Spektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure in DMSO-d_6 .

Die Zuordnung der Methylschutzgruppe in 2-Position erfolgte anhand des HSQC- und HMBC-Spektrums in Verbindung mit dem bereits aus den ^1H -NMR und ^{13}C -NMR inklusive APT-Experiment gesammelten Erkenntnissen. Auf der Grundlage der „hetero nuclear multiple quantum“ Korrelation der Protonen an der Methylgruppe mit dem quartären Kohlenstoffatom der Carboxylgruppe (C7), und der Konnektivität dieser Carboxylgruppe zum quartären C2 wird diese Zuordnung möglich; die beiden quartären Carboxylkohlenstoffe (C7 und C9) weisen im ^{13}C -NMR einen Unterschied der chemischen Verschiebung von 1 ppm auf.

4.1.2 Modifizierung der Pyridin-2,5-dicarbonsäure: Alkylesterderivate in 5-Position

Zur Synthese der 5-Carboalkoxypyridin-2-carbonsäuren wurden zunächst, ausgehend von der Pyridin-2,5-dicarbonsäure, die entsprechenden Dialkylester dargestellt.³³ Die Aktivierung erfolgte hierbei in Toluol mit Thionylchlorid zum Säurechlorid. Das *in situ* hergestellte Säurechlorid wurde anschließend mit der jeweiligen Alkoholkomponente zum Dialkylester umgesetzt.

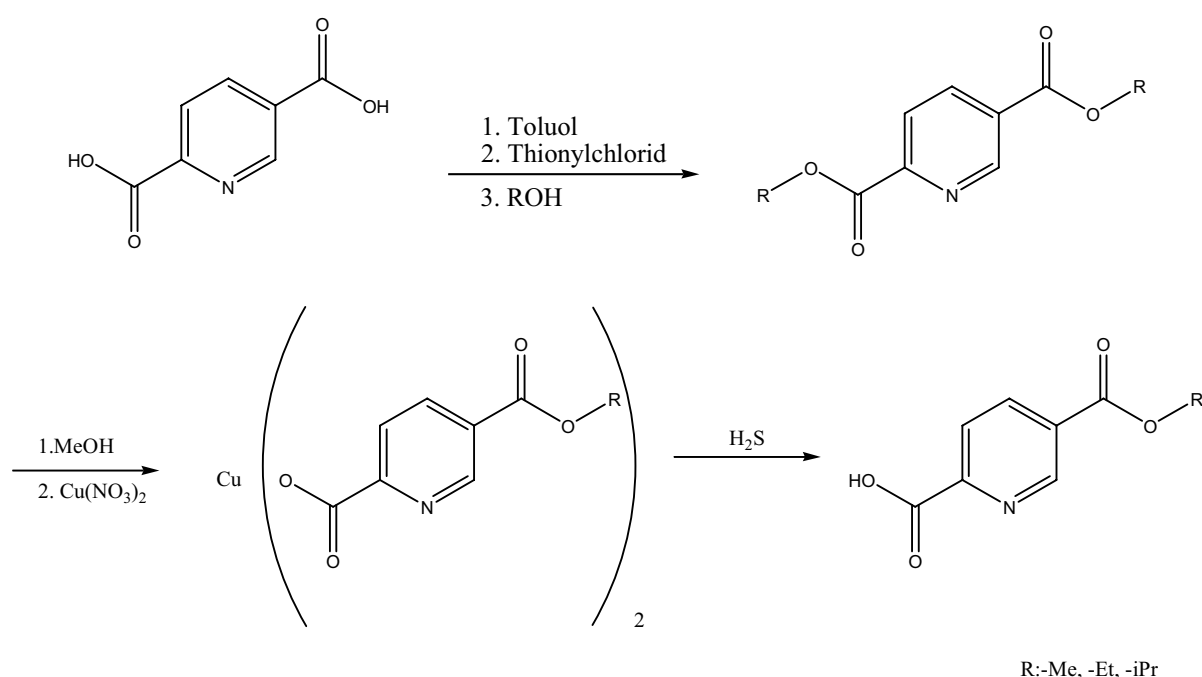


Abbildung 15: Reaktionsweg zur Darstellung der 5-Carboalkoxypyridin-2-carbonsäuren.

Nach der Umsetzung der Dialkylesterderivate mit Kupfernitrat in Methanol wurden die Kupferchelatekomplexe erhalten, aus denen die Halbestere mit Schwefelwasserstoff nach dem in Abbildung 15 gezeigten Reaktionsweg freigesetzt werden konnten.³⁴

Im IR-Spektrum der Kupferverbindungen treten Banden für die aromatischen Schwingungen in den erwarteten Bereichen auf (~ 1580 , 1300 , 750 cm^{-1}). Es können zwei Carbonylbanden beobachtet werden: Die Bande bei ~ 1725 cm^{-1} wird der Estergruppierung, die bei 1650 cm^{-1} der antisymmetrischen Carboxylat-Schwingung zugeordnet. Auch die symmetrische Carboxylat-Schwingung ist im Spektrum zu beobachten (~ 1345 cm^{-1}).

4.1.3 Modifizierung der Picolinsäure in 5-Position mit polaren Aminosäuren (Thr, Tyr, Trp, Asp)

Damit Pharmaka ihre Wirkung erzielen können, müssen diese nach der Applikation an ihren Zielort gelangen. Bei der intravenösen Darreichungsform entfällt die Resorption, setzt jedoch aufgrund des schnellen Wirkungseintritts fundiertes Wissen über die aktuelle Blutglucosekonzentration voraus. Bei einer peroralen Applikation des Medikaments und der Freisetzung des eigentlichen Wirkstoffs wird das Pharmakon vom Körper über unterschiedliche Wege, z. B. die Mundschleimhaut oder den Magen-Darmbereich aufgenommen (Resorption, Absorption). Danach verteilt sich der Wirkstoff im Körper über die Blutbahn. Nur wenige Arzneistoffe werden in erwähnenswertem Umfang durch die Mundschleimhaut aufgenommen. Hauptresorption im Körper erfolgt im Darmbereich. Bei Aufnahme im Bereich der Mundschleimhaut erfolgt - zumeist durch niedermolekulare, wasserlösliche Verbindungen - ein rascher Wirkungseintritt, wahrscheinlich aufgrund der hohen Durchblutung der Mundschleimhaut und das Umgehen der ersten Leberpassage.³⁵

Die Aufnahme einer Substanz durch die Mundschleimhaut und/oder Darmmucosa sowie durch die Zielzellen setzt voraus, dass Aufnahmewege existieren. Lipophile Substanzen vermögen in einigen Fällen die lipophile (hydrophobe) Zellmembran durch Diffusion zu überwinden. Dies ist jedoch kein besonders effizienter Transportweg. Die Zellwand enthält Membranproteine, die als Rezeptoren, Transporter oder Kanäle ausgebildet sind. Typischerweise werden solche Transportsysteme durch *hydrophile* Aminosäuren gebildet. Für den aktiven, Carrier-vermittelten Transport einer Substanz muss diese dann hydrophile Anteile und gegebenenfalls strukturelle Ähnlichkeit mit körpereigenen Stoffen aufweisen, um vom Transportsystem weitergeleitet zu werden. So ist eine hohe Affinität zu den polaren Aminosäure-Seitenresten z.B. der Transportkanäle – und damit ein Transmembran-Transport – gewährleistet, wenn die Substanz ihrerseits polare Reste aufweist³⁶ und über eine niedrige Molmasse verfügt. Wird eine Substanz oder ein Substanzteil darüber hinaus durch einen Membranrezeptor erkannt, so ist ein Transport in das Cytosol z.B. auch mittels Endocytose möglich.

In der vorliegenden Arbeit werden diese Kriterien durch geeignete Auswahl der Liganden der Vanadiumkomplexe berücksichtigt.

4.1.3.1 Darstellung von 5-Chlorocarbonyl-pyridin-2-carbonsäuremethylester und 2-Carbomethoxypyridin-5-(*O*-*tert*-butyl-L-threoninamidmethylester)

Der 2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure **1** wurde zunächst zur Aktivierung in das Säurechlorid **2** überführt; der Reaktionsweg ist in Abbildung 16 zusammengefasst.

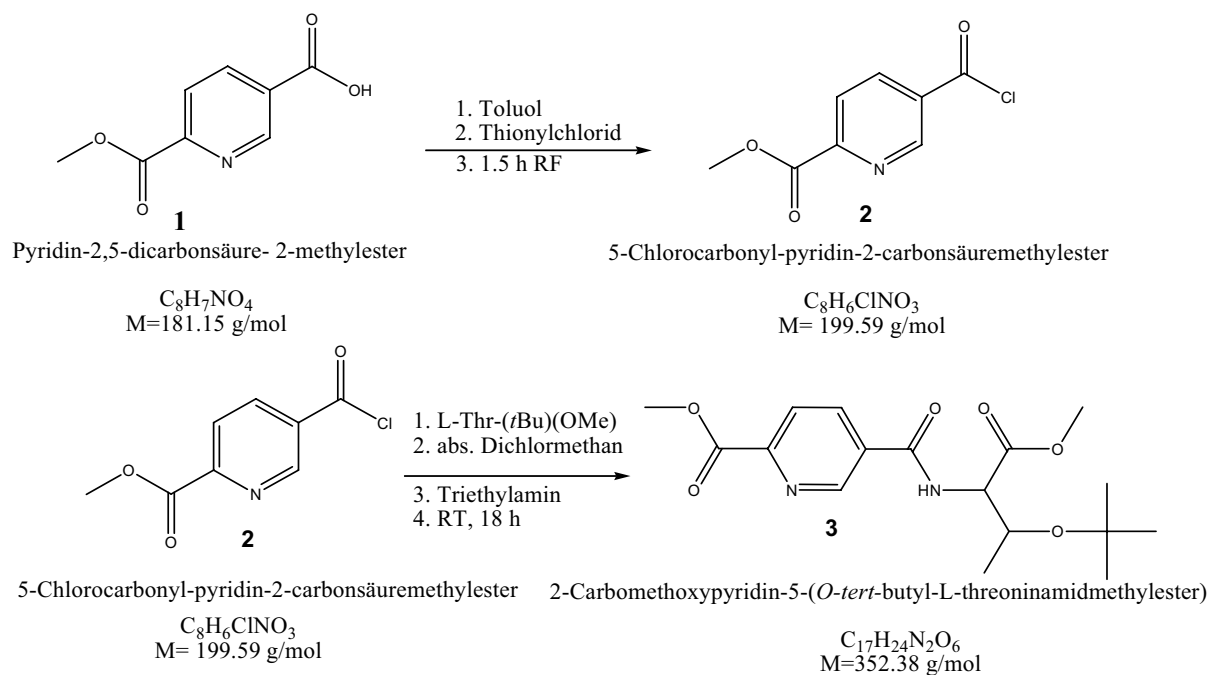


Abbildung 16: Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(*O*-*tert*-butyl-L-threoninamidmethylester), **3.**

2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure **1** wurde unter Schlenkbedingungen in Toluol suspendiert und mit Thionylchlorid versetzt. Die Überführung in das Säurechlorid **2** verlief durch Erhöhung der Temperatur bis auf den Siedepunkt. Nach Erhalt einer klaren gelben Lösung und Abklingen der Gasentwicklung wurde überschüssiges Thionylchlorid abdestilliert und das Produkt dreimal mit Toluol extrahiert. Nach Trocknung von **2** im Vakuum wurde die Verbindung direkt für die nächste Stufe eingesetzt.

Hierzu wurde das Säurechlorid des Pyridin-2,5-dicarbonsäure-2-methylesters **2** unter Schlenkbedingungen in getrocknetem Dichlormethan gelöst. Dann wurde zu dieser Lösung eine Suspension aus *tert*-Butyl-geschütztem Threoninmethylester und Triethylamin in Dichlormethan unter Eiskühlung zugetropft und 30 Minuten gerührt. Anschließend wurde 18 h bei Raumtemperatur gerührt und das braune Rohprodukt chromatographisch gereinigt, wobei **3** mit einer Ausbeute von über 80% isoliert wurde.

Die Charakterisierung der Verbindung **3** erfolgte mittels IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HMBC, HSQC, und MS. Im EI-Massenspektrum konnte der erwartete Molekülionenpeak $(\text{M}+\text{H})^+$ bei m/z 353 beobachtet werden. Im IR-Spektrum liegen die Banden der CH-Valenzschwingungen bei 2978 und 2953 cm^{-1} , die Carboxylschwingungen liegen bei $\sim 1735 \text{ cm}^{-1}$. Die Banden bei 1668, 1595, 1524 und 1437 cm^{-1} sind der C=C-, C=N-Schwingung und NH-Deformationsschwingung zuzuordnen. Darauf folgen die CH-Deformations- und die aromatischen CC- und CN-Schwingungen.

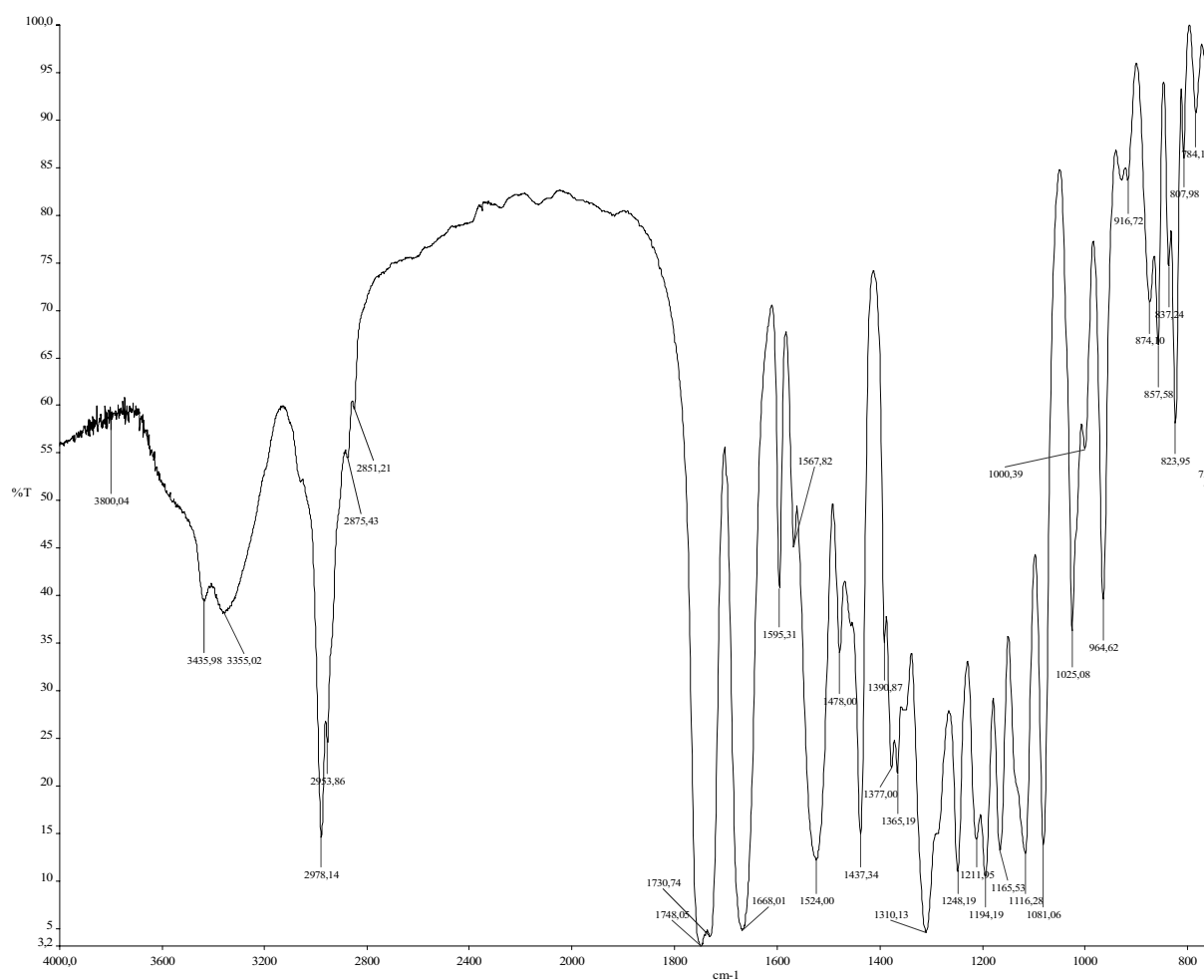


Abbildung 17: IR-Spektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-(O-*tert.*butyl-L-threoninamidmethylester), **3**.

Im ^{13}C -NMR-APT-Spektrum in DMSO-d_6 zeigen die Carbonyl-Kohlenstoffatome eine Tieffeldverschiebung von über 160 ppm. Gefolgt von den aromatischen Kohlenstoffen im Bereich von 160 – 120 ppm (Abbildung 18). Die aliphatischen Kohlenstoffe befinden sich im Bereich von 75 – 20 ppm. Die nah beieinander liegenden Signale der beiden Methoxykohlenstoffe können nicht präzise zugeordnet werden. Alle weiteren Kohlenstoffe konnten mittels HMBC- und HSQC-Spektren identifiziert werden.

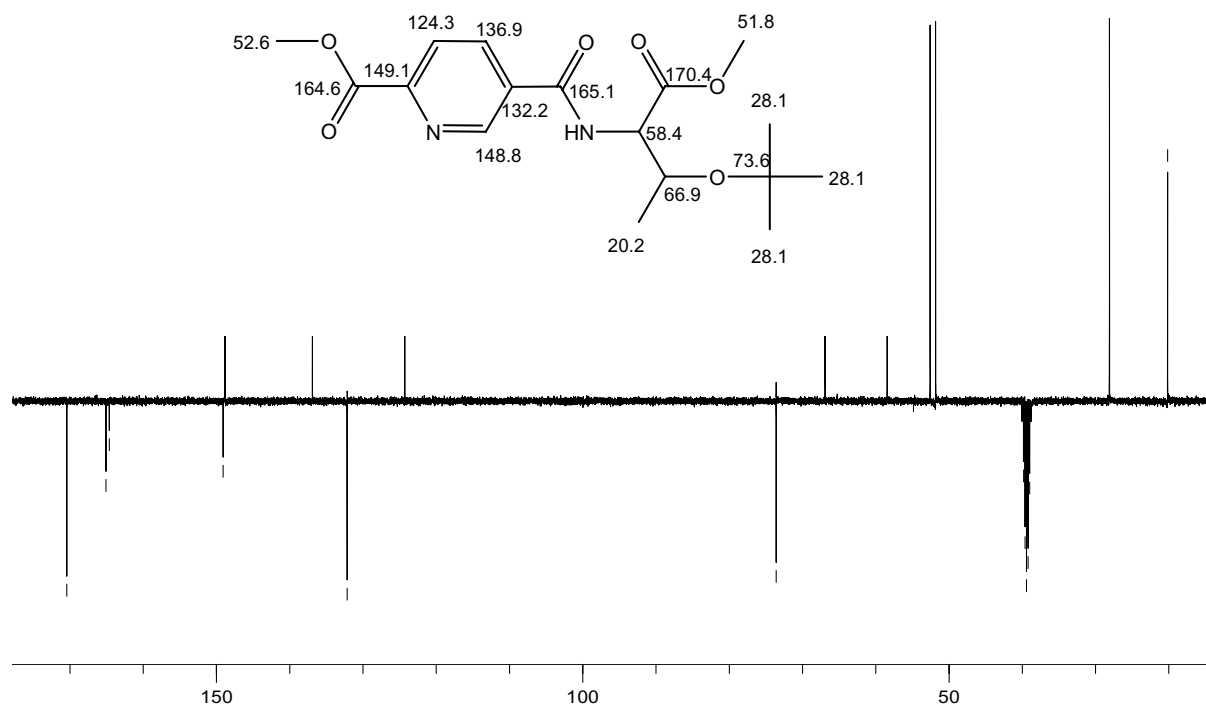


Abbildung 18: ^{13}C -NMR-Spektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-(O-*tert.*-butyl-L-threoninamid-methylester); DMSO-d_6 , **3**.

Aus dem ^1H -NMR Spektrum in deuteriertem DMSO in Abbildung 19 geht hervor, dass die drei aromatischen Protonen erwartungsgemäß eine Tieffeldverschiebung von über 8 ppm aufzeigen. Das am Stickstoff gebundene Proton der Amidgruppe erscheint als Dublett bei 8.85 ppm. Das dd-System des C_αH -Protons am chiralen Zentrum weist eine chemische Verschiebung von 4.61 ppm auf, gefolgt vom C_βH -Proton bei 4.20 ppm. Die genaue Zuordnung erfolgte aus den HSQC und HMBC-Spektren. Die Protonen der beiden Methylestergruppen befinden sich bei 3.92 und 3.68 ppm. Die Signale der beiden Methylgruppen und der *tert*-Butylgruppe liegen im Bereich 1.10 – 1.20 ppm.

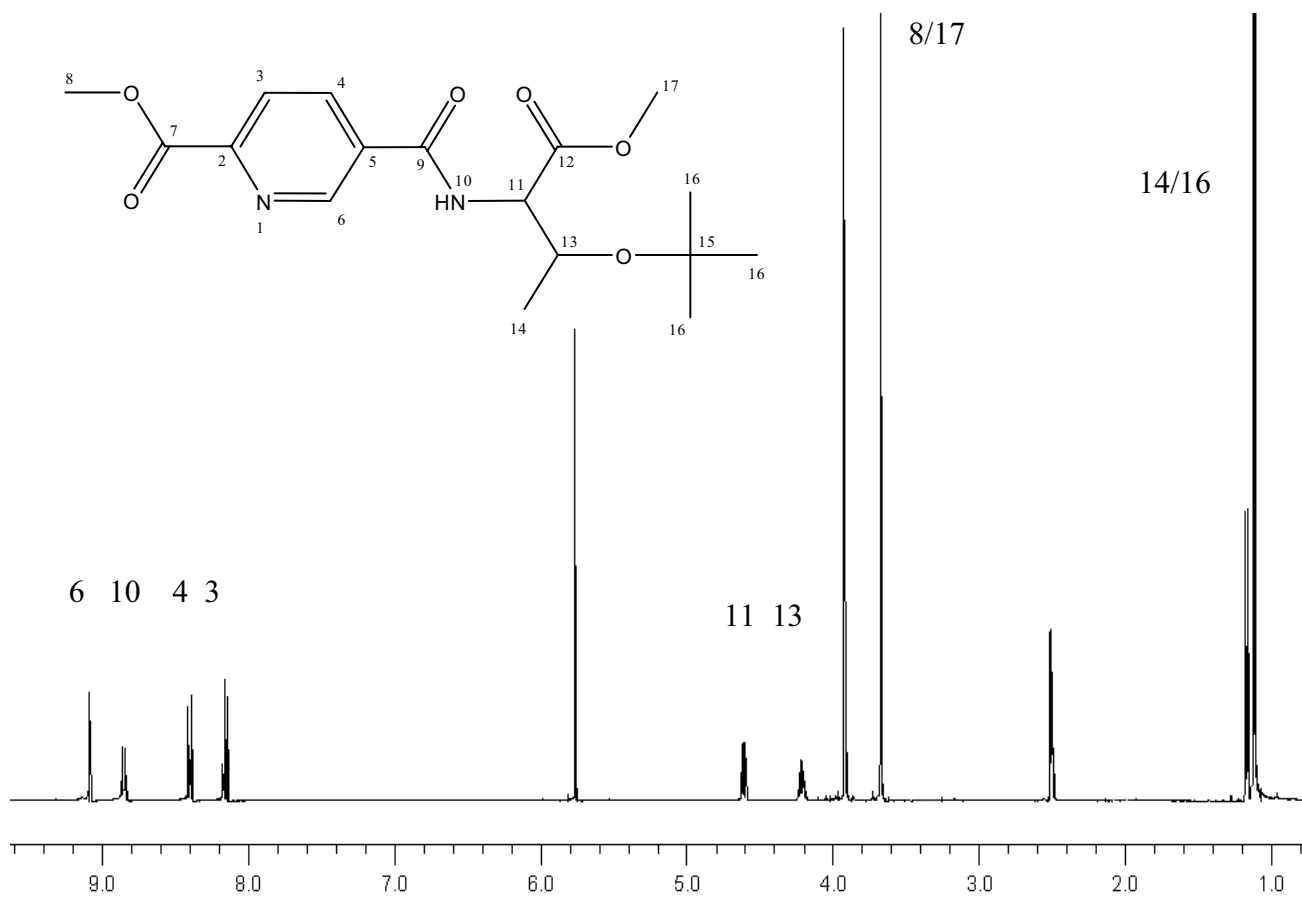


Abbildung 19: ^1H -NMR-Spektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-(O-*tert.*butyl-L-threoninamidmethylester); DMSO-d_6 , 3.

4.1.3.2 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninamidmethylester)

Die Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninamidmethylester) erfolgte aus dem Säurechlorid des Pyridin-2,5-dicarbonsäure-2-methylesters und Threoninmethylester-Hydrochlorid in Gegenwart von Triethylamin in getrocknetem Dichlormethan unter Eiskühlung (siehe Abbildung 20). Die chromatographische Reinigung ergab das gewünschte Produkt mit einer Ausbeute von über 60%.

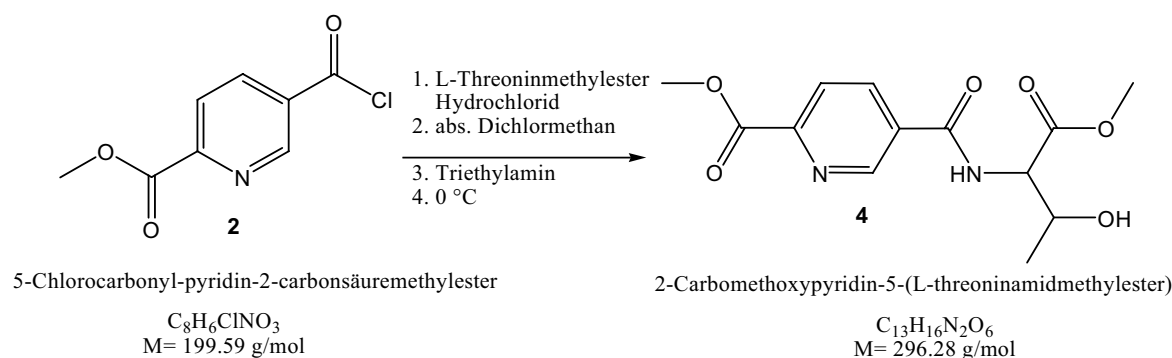


Abbildung 20: Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninamidmethylester), 4.

Die Verbindung wurde mittels IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, HMBC, HSQC, HH-COSY und MS charakterisiert: Im EI-Massenspektrum konnte der erwartete Molekülionenpeak $(M+H)^+$ bei m/z 297 beobachtet werden.

Ein Vergleich der IR-Spektren des *tert.*Butyl-geschützten Liganden **3** und der ungeschützten Verbindung **4** zeigt für **4** die Anwesenheit einer verbreiterten Bande im Bereich von $\sim 3300 \text{ cm}^{-1}$, die einer freien oder an Wasserstoff-Brücken beteiligten OH-Gruppierung zugeordnet werden kann. Die Carboxylschwingungen liegen bei $\sim 1735 \text{ cm}^{-1}$. Die Banden bei 1670 , 1596 , 1534 und 1437 cm^{-1} sind der C=C-, C=N-Schwingung und NH-Deformationsschwingung zugeordnet; ihre Lage weicht nur unerheblich von der des geschützten Liganden **3** ab. Ferner stehen die beiden Spektren aufgrund des identischen Grundgerüsts bezüglich der weiteren Banden in sehr engem Zusammenhang zueinander (Abbildung 21; Vergleichspektrum Abbildung 17).

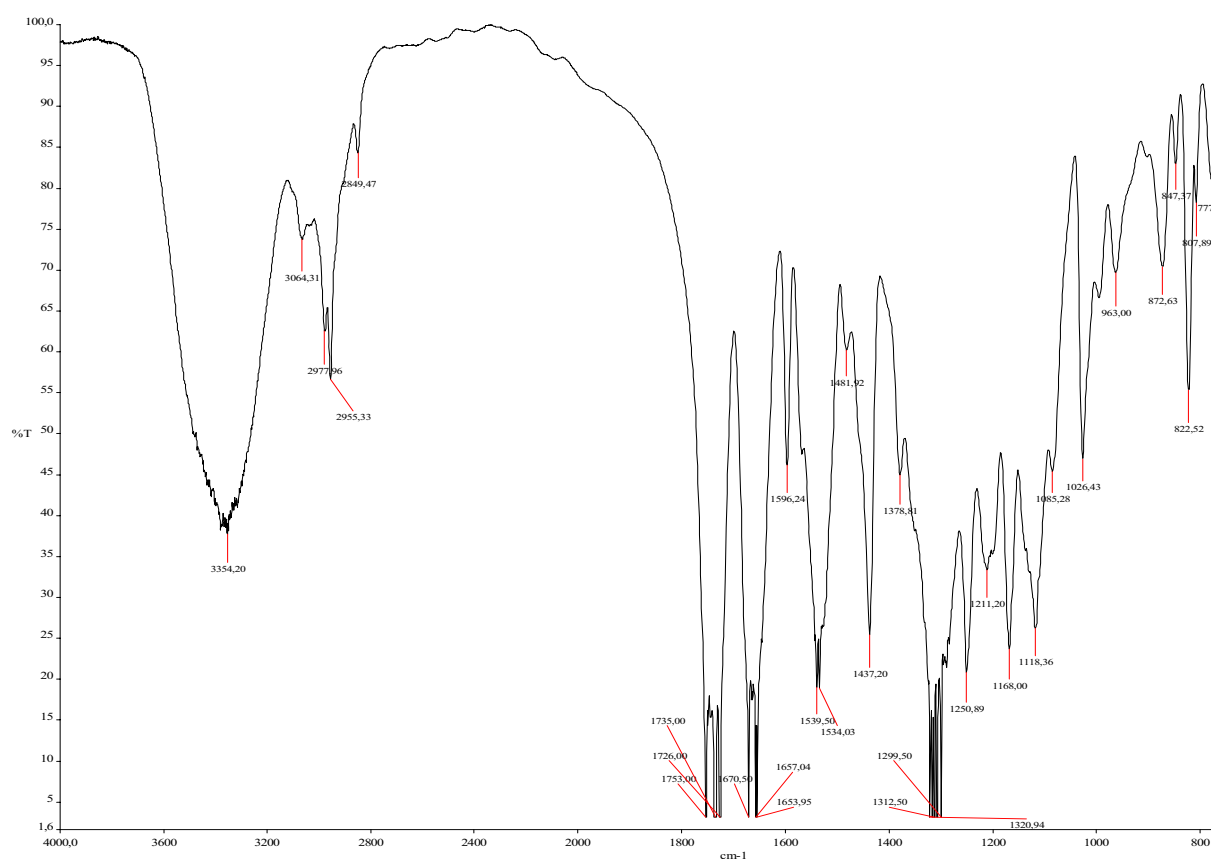


Abbildung 21: IR-Spektrum von 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(L-threoninamidmethylester), **4**.

Im ¹³C-NMR-Spektrums in DMSO-d₆ konnten alle Signale den Kohlenstoffatomen zugeordnet werden (APT-Spektrum Abbildung 22). Im ¹³C-NMR-Spektrums fehlen die Signale der *tert*-Butyl-Schutzgruppe (vergl. **4** in Abbildung 22 und **3** in Abbildung 18). Im ¹H-NMR-Spektrum (Abbildung 23) des 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(threoninamid-methylesters) ist statt des Signals der *tert*-Butyl-Schutzgruppe ein Dublett bei 5.05 ppm zu finden. Aufgrund der Abwesenheit des Korrelations-Signals im HSQC, zusätzlicher Signale im HMBC für CH_α, CH_β (C11/C13), für die Methylgruppe (C14) (Abbildung 24) und des Cross-Peaks im HH-COSY für H_β wurde das Signal bei ~5 ppm der OH-Gruppe zugeordnet (¹H-Spektrum in Abbildung 23).

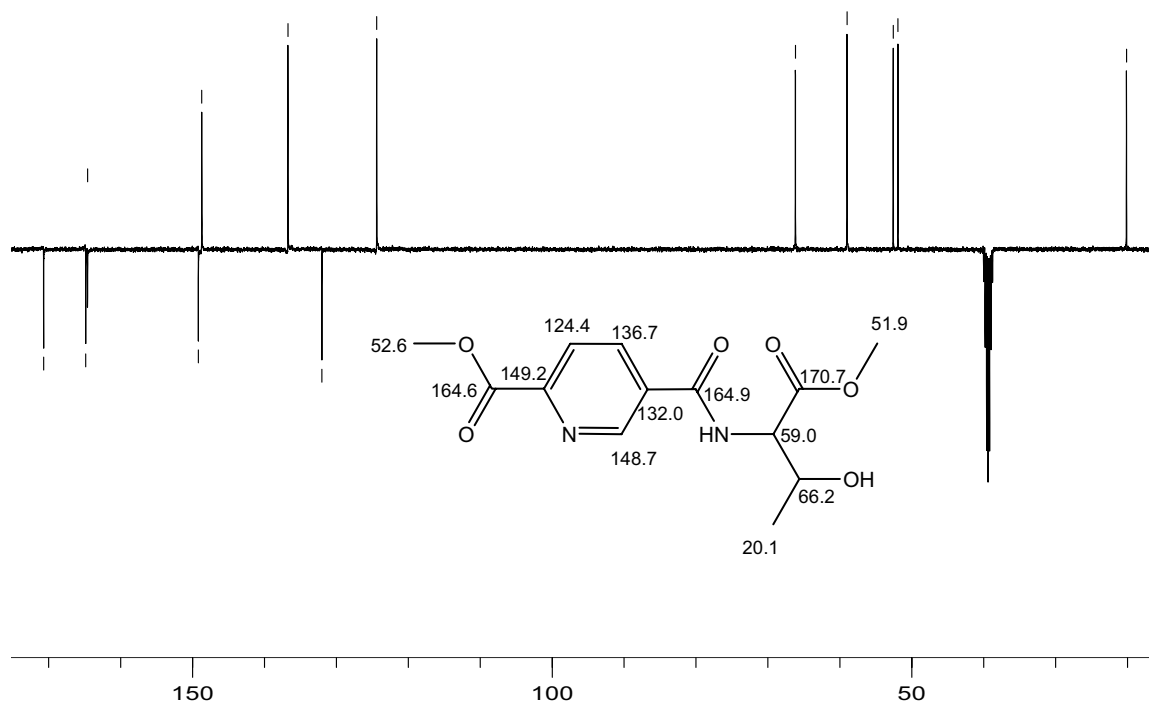


Abbildung 22: ^{13}C -NMR-Spektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninamidmethylester), 4, in DMSO-d_6 .

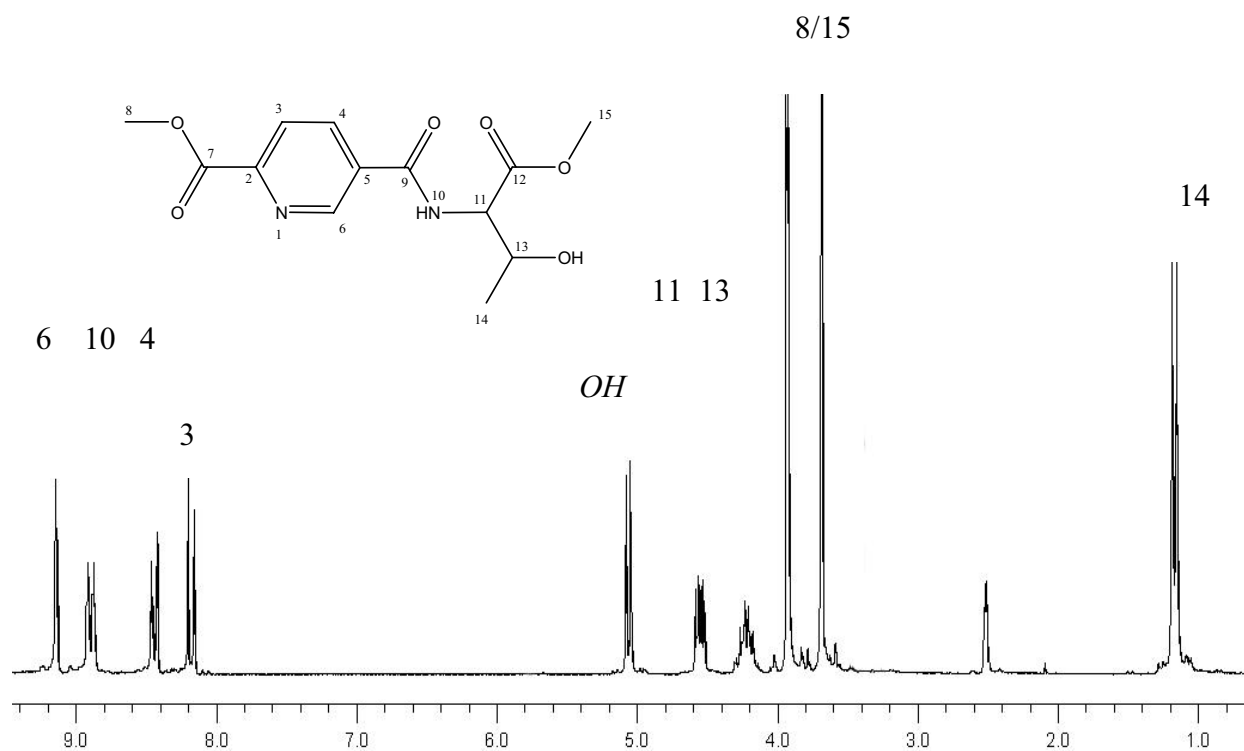


Abbildung 23: ^1H -NMR-Spektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninamidmethylester), 4, in DMSO-d_6 .

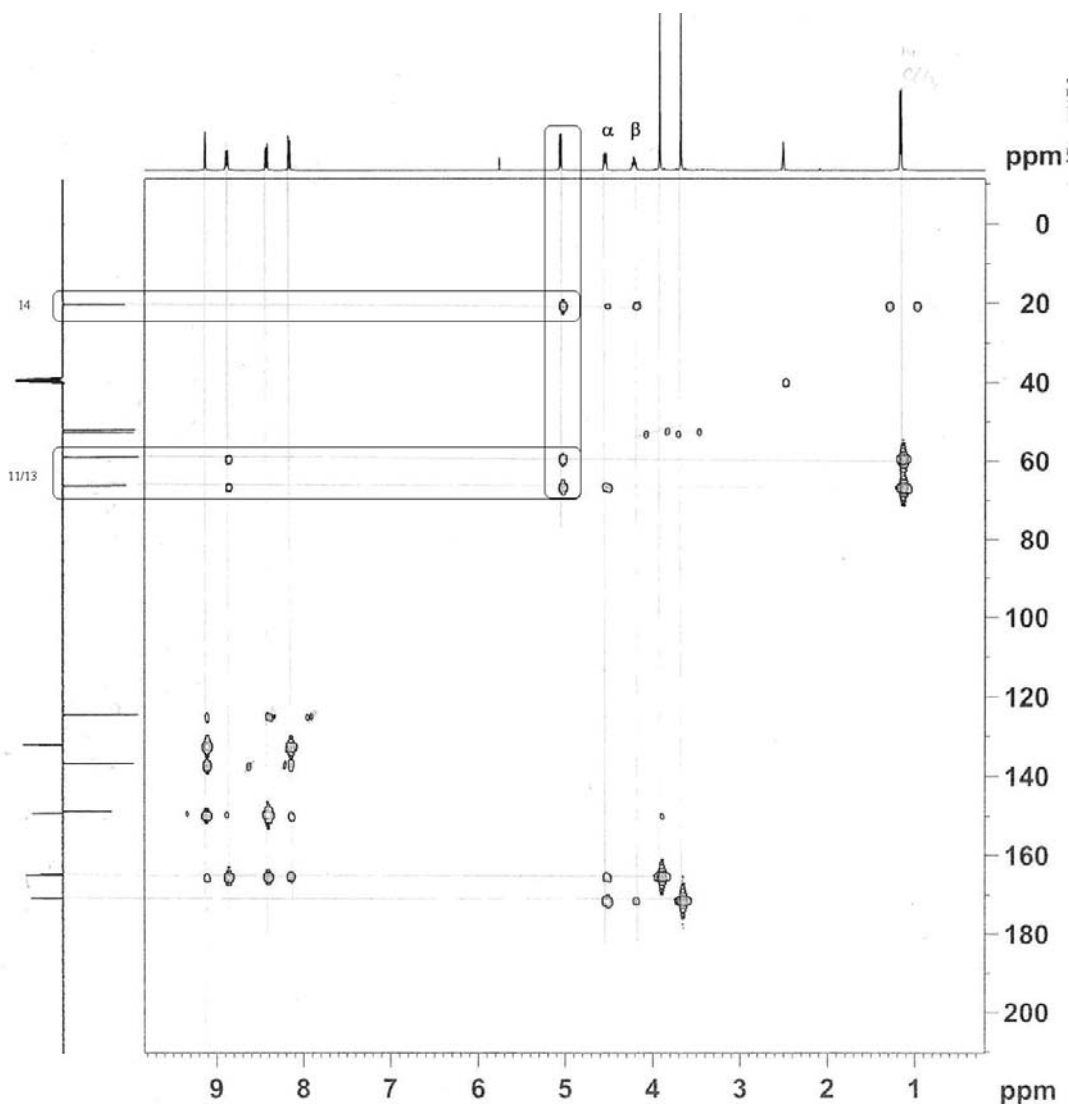


Abbildung 24: HMBC-Spektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninamidmethylester), 4, in DMSO- d_6 .

4.1.3.3 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-tyrosin-O-*tert.*butylmethylester) amid, 5

Nach der Aktivierung von 2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure mit Thionylchlorid in 5-Position wurde das Säurechlorid vom Lösungsmittel befreit und mehrmals mit abs. Toluol eingedampft. Nach der Trocknung im Vakuum wurde das Produkt *in situ* mit L-Tyrosin-O-*tert.*butylmethylester-Hydrochlorid umgesetzt. Die Verbindung wurde mittels IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ und FAB-MS charakterisiert.

Im IR-Spektrum liegen die Banden der CH-Valenzschwingungen bei 2977, 2953 und 2872 cm^{-1} , die Carboxylschwingungen bei 1744, 1670 cm^{-1} und die NH-Deformationsschwingung bei 1542 cm^{-1} . Die Banden bei 1366, 1311, 1239, 1123 und 1023 cm^{-1} sind den aromatischen C=C- und C=N-Schwingungen, COC- und CH-Schwingungen zuzuordnen. Im FAB-Massenspektrum konnte der erwartete Molekülionenpeak bei m/z 415 beobachtet werden. Die Carbonyl-Kohlenstoffatome zeigen im ^{13}C -NMR-Spektrum eine Verschiebung von über 160 ppm, gefolgt von den aromatischen Kohlenstoffen im Bereich von 154 – 123 ppm und den aliphatischen Kohlenstoffen im Bereich von 78 – 28 ppm. Im ^1H -NMR Spektrum in DMSO- d_6 liegen die drei aromatischen Protonen des Picolinsäurerestes bei 8 – 9 ppm. Die Protonen der beiden Methylestergruppen befinden sich bei 3.09 und 3.64 ppm. Das aliphatische CH-Proton am

chiralen Zentrum weist eine Verschiebung von 4.69 ppm auf. Die CH_2 -Protonen mit dem aromatischen Ring als Nachbarn zeigen eine Verschiebung von 3.18 – 3.01 ppm. Der Ligand konnte mit einer Ausbeute von 68 % erhalten werden.

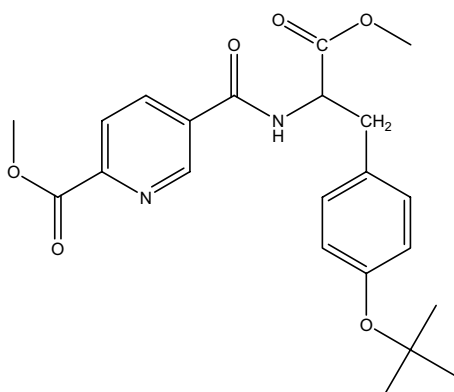


Abbildung 25: 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tyrosin-O-*tert.*butylmethylester), 5.

4.1.3.4 Darstellung von 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(L-tyrosinethylester)amid, 6

Für die Synthese des Liganden wurde aktivierte Picolinsäure mit dem Aminosäure-Methylester umgesetzt. Die säulenchromatographische Aufarbeitung (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol als Laufmittel) wurde mehrmals mit unterschiedlichen Gradienten durchgeführt, um die entstandenen Nebenprodukte mit ähnlichem R_f -Wert vom Produkt zu trennen. Die Verbindung konnte schließlich mit einer Ausbeute von 40 % isoliert und mittels IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ und FAB-MS charakterisiert werden.

Im FAB-Massenspektrum wurde der erwartete Molekülionenpeak bei m/z 373 beobachtet. Im IR-Spektrum liegen die Banden der CH-Valenzschwingungen bei 2954 cm^{-1} , die Carboxylschwingung der Estergruppe bei 1739 cm^{-1} ; die freie Hydroxygruppe ist durch eine breite Bande berhalb 3000 cm^{-1} charakterisiert, und die CO-Valenz- und NH-Deformationsschwingungen der Amidbindung liegen bei ~ 1650 und 1538 cm^{-1} . Die aromatischen C=C- und C=N-Schwingungen sowie die CH-Deformationsschwingungen befinden sich bei 1651 , 1476 , 1438 und 1375 cm^{-1} . Das $^1\text{H-NMR}$ wurde in Chloroform- d_1 gemessen, dabei konnten die Signale der aromatischen Protonen am Pyridinring (9 – 8 ppm) und am aromatischen Ring des Tyrosins (7.0 – 6.7 ppm) zugeordnet werden. Das N-H-Proton der Amidbindung befindet sich unter den Signalen der aromatischen Protonen des Tyrosinrings. Eine Trennung der Signale und Sichtbarmachung der Kopplung zum Proton am chiralen Zentrum gelingt durch Wechsel oder Zugabe anderer Lösungsmittels (z.B. deuteriertes Methanol, DMSO).

Im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum sind alle 19 Kohlenstoffatome identifizierbar. Die Carbonyl- und die aromatischen Kohlenstoffe zeigen eine chemische Verschiebung von über 179 ppm, die sich bis ~ 187 ppm fortsetzt, gefolgt von den aromatischen Kohlenstoffen im Bereich von 170 – 130 ppm und den aliphatischen Kohlenstoffen im Bereich von 93 – 15 ppm.

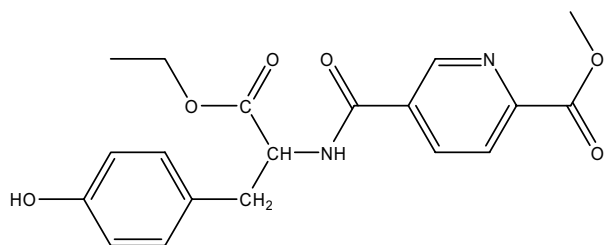


Abbildung 26: 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(L-Tyrosinethylester)amid, 6.

4.1.3.5 Darstellung von 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(L-tryptophanmethylester)amid, 7

Die Verbindung wurde mit einer Ausbeute von 82 % erhalten und mittels IR, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ und FAB-MS charakterisiert. Im IR-Spektrum liegt die Bande der CH-Valenzschwingungen bei 2952 cm^{-1} , die Carboxylschwingung der Estergruppen bei $\sim 1738\text{ cm}^{-1}$ und die CO-Valenz- und NH-Deformationsschwingungen der Amidfunktion bei 1657 und 1531 cm^{-1} . Die aromatischen Ringsschwingungen befinden sich im Bereich ~ 1600 , ~ 1500 , ~ 1300 , $\sim 740\text{ cm}^{-1}$. Das $^1\text{H-NMR}$ wurde in Chloroform- d_1 gemessen. Die aromatischen Protonen konnten den Peaks im Bereich $9.0 - 6.9\text{ ppm}$ zugeordnet werden, wobei die Protonen des Pyridinringes mit dem Indol-NH (kein Cross-Peak im HSQC (Abbildung 27) eine Tieffeldverschiebung von $8 - 9\text{ ppm}$ aufweisen. Die Protonen des Tryptophanringes sind im Gegensatz zu denen des Pyridinring eher hochfeldverschoben ($7.5 - 6.9\text{ ppm}$). Die Peaks im Bereich $4.1 - 3.4\text{ ppm}$ konnten der Methylsterschutzgruppe zugeordnet werden.

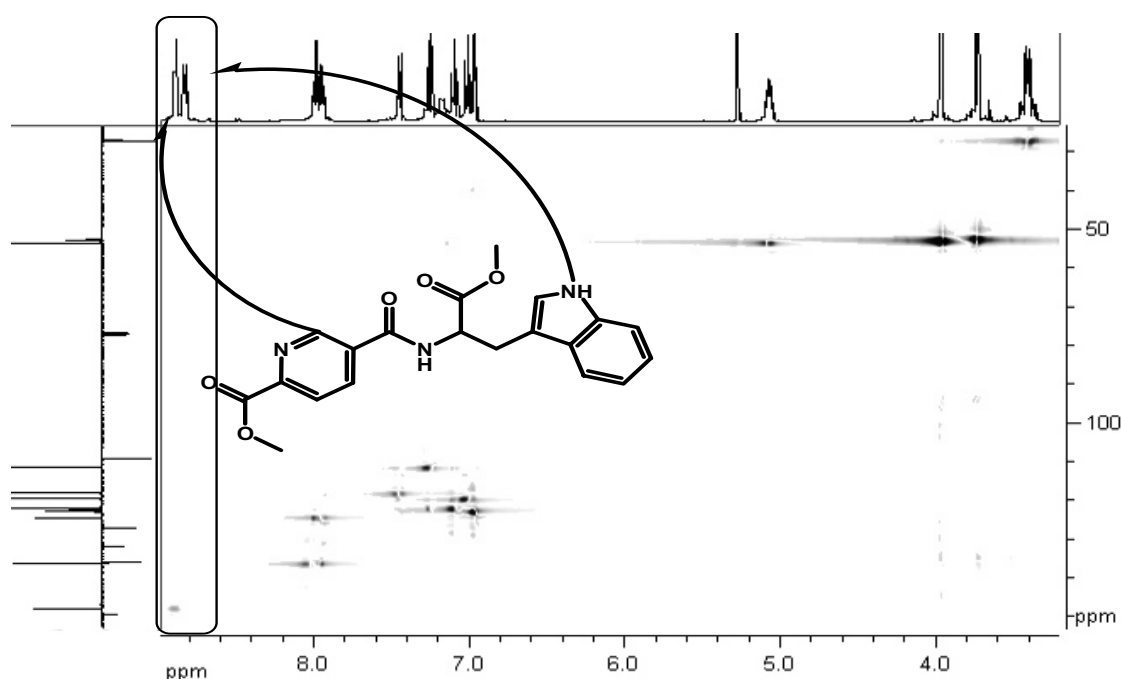


Abbildung 27: Ausschnitt des HSQC-Spektrum des Tryptophanderivates in CDCl_3 , 7.

Die Carbonylkohlenstoffatome zeigen eine chemische Verschiebung von über 160 ppm , gefolgt von den aromatischen Kohlenstoffen im Bereich von $170 - 120\text{ ppm}$ und den aliphatischen Kohlenstoffen im Bereich von $55 - 28\text{ ppm}$. Die Zuordnung erfolgte über das HSQC, Abbildung 27. Die Protonen der Methylschutzgruppen (3 ppm im ^1H) zeigen Korrelations-Signale im

Bereich von ~ 50 ppm im ^{13}C -Spektrum. Im FAB-Massenspektrum konnte der erwartete Molekülionenpeak bei m/z 382 erhalten werden.

4.1.3.6 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-asparaginsäuredimethylester), 8

5-Chlorocarbonyl-pyridin-2-carbonsäuremethylester wurde mit einer Suspension von Asparaginsäuredimethylester Hydrochlorid und Triethylamin in Dichlormethan versetzt. Durch die vorherige partielle Schützung der Pyridin-2,5-dicarbonsäure in 2-Position konnte der Reaktionsablauf an der 5-Position des Pyridinringes sichergestellt werden.

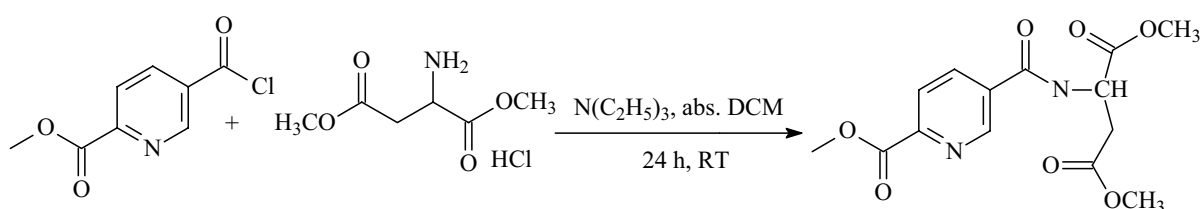


Abbildung 28: Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-asparaginsäuremethylester), 8.

Die Verbindung wurde mittels IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR und FAB-MS charakterisiert. Im IR-Spektrum liegen die Banden der CH-Valenzschwingungen bei 2957 und 2850 cm^{-1} , die Carboxylschwingung bei $\sim 1740\text{ cm}^{-1}$ und 1644 cm^{-1} . Die aromatischen C=C- und C=N-Schwingungen befinden sich im Bereich von $\sim 1550\text{ cm}^{-1}$. Aus dem ^1H -NMR Spektrum in $\text{DMSO-}d_6$ geht hervor, dass die drei aromatischen Protonen des Picolinsäureresters erwartungsgemäß eine Tieffeldverschiebung von $8.1 - 9.4$ ppm aufzeigen. Die Protonen der beiden Methylestergruppen befinden sich bei $3.7 - 4.0$ ppm. Das aliphatische CH-Proton weist eine Verschiebung von 3.2 ppm auf. Im ^{13}C -NMR-Spektrum sind alle 14 Kohlenstoffatome sichtbar. Die Carbonyl-Kohlenstoffe zeigen eine chemische Verschiebung von 170 ppm, gefolgt von den aromatischen Kohlenstoffen im Bereich von $170 - 104$ ppm und den aliphatischen Kohlenstoffen im Bereich von $52 - 49$ ppm. Im FAB-Massenspektrum konnte der erwartete Molekülionenpeak bei m/z 325 erhalten werden. Für die spätere Komplexierung wurde der Ligand sowohl in geschützter als auch in verseifter Form umgesetzt.

4.2 Vanadiumkomplexe polarer aromatischer Aminosäurederivate

Für die Komplexierung wurden unterschiedliche Metall-Ligand-Verhältnisse und Lösungsmittel gewählt. Hierzu wurden zunächst die Liganden im Verhältnis 1:1 und 1:2 (Metall:Ligand) in einem Gemisch aus entgastem Wasser und Tetrahydrofuran gelöst und unter Zusatz von Natriumacetat umgesetzt. Des Weiteren wurden einzelne Liganden durch die Entfernung der Schutzgruppe aktiviert und anschließend komplexiert. Im Anschluss daran erfolgten die spektroskopischen und spektrometrischen Untersuchungen.

4.2.1 Darstellung und Elektronen-Paramagnetische Resonanz-Spektroskopie

Für die Charakterisierung von Vanadium(IV)-Verbindungen (d^1 -Systeme; $S = \frac{1}{2}$) eignet sich im besonderen Maße die EPR-Spektroskopie. EPR-Spektren wurden in unterschiedlichen Lösungsmitteln bei Raumtemperatur (isotrop) und bei ca. 100 K (anisotrop) aufgenommen.

Die Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (Electron Paramagnetic Resonance, EPR) ist eine Hochfrequenz-Spektroskopie, die sich mit der Untersuchung der Eigenschaften paramagnetischer Stoffe befasst. Für das Elektron sind aufgrund der Quantelung des magnetischen Dipolmomentes in Feldrichtung (Y_z) nur bestimmte Energiezustände erlaubt. Durch Zufuhr elektromagnetischer Strahlung kann ein Übergang aus dem energieärmeren in den energiereicheren Zustand und somit Resonanz bewirkt werden. Herkömmliche EPR-Spektrometer arbeiten bei einer Frequenz von 9 – 10 GHz und bei einem Feld von 300 – 400 mT. Es gilt die Resonanzbedingung:

$$\Delta E = h \cdot \nu = g \cdot \mu_B \cdot B_0$$

Formel 1 : ΔE Energiedifferenz zwischen Grund- und angeregtem Zustand

h = Plancksches Wirkungsquantum

ν = Frequenz der elektromagnetischen Strahlung

g = g-Faktor oder spektroskopischer Aufspaltungsfaktor

μ_B = Bohrsches Magneton

B_0 = magnetische Feldstärke

Bei konstanter Frequenz wird für gewöhnlich die magnetische Feldstärke so lange variiert, bis die Resonanzbedingung erfüllt und somit Absorption nachweisbar ist. Wenn im Molekül weitere permanente magnetische Dipole (ungepaarte Elektronen oder Kernspins) vorliegen, spalten die beiden Energieniveaus, die Zeeman-Niveaus, zwischen denen sich das Elektron bewegt, weiter auf. Daraus resultiert eine Hyperfeinstruktur im Spektrum, die durch die Hyperfeinkopplungskonstante A charakterisiert wird.

Durch die magnetische Wechselwirkung des ungepaarten Elektrons mit dem magnetischen Moment des Vanadiumkernes, dessen Kernspin $I = 7/2$ beträgt, resultieren in isotropen Spektren $2I+1$, also acht Linien (Abbildung 29).

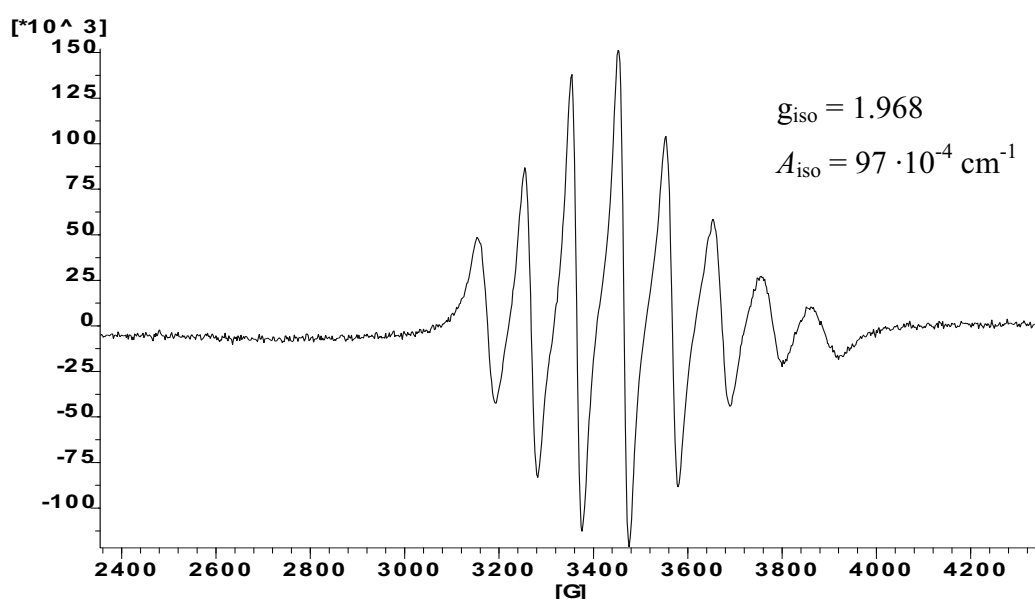


Abbildung 29: Raumtemperatur (isotropes) EPR-Spektrum des Vanadium(IV)-Komplexes von Ligand 8 [2-Carbomethoxypyridin-5-(*L*-asparaginsäuremethylester)] in Methanol.

Die Spektren werden zum einen charakterisiert durch den g -Faktor, dem Pendant zur chemischen Verschiebung im NMR, der bei konstanter Frequenz in erster Näherung den Spektrenschwerpunkt im Feld darstellt, und zum anderen durch die Kopplungskonstante A , deren Größe unabhängig vom äußeren Feld ist und die Stärke der magnetischen Wechselwirkung zwischen Elektron und Kern quantifiziert. Typisch für Vanadyl (VO^{2+}) Komplexe tetragonaler Geometrie (d.h. quadratisch-pyramidal und oktaedrisch), in denen das Elektron ein d_{xy} -Orbital besetzt, ist eine isotrope Hyperfeinaufspaltung von A_{iso} um $100 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ und ein g -Faktor von g_{iso} um 1.95. Die Kopplungskonstante stellt ein Maß für die Delokalisierung des freien Elektrons am Vanadium auf den koordinierten Liganden dar. Hohe Werte für A zeigen, dass diese Delokalisierung eher gering ist. A wird maßgeblich durch die Art der äquatorialen Liganden (d.h. der Liganden in der xy -Ebene) am Vanadylzentrum beeinflusst, siehe Abbildung 30.

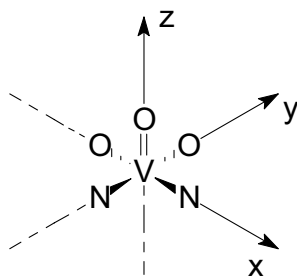


Abbildung 30: Definition des Koordinatensystems für VO(N₂O₂)-Komplexe.

Bei tiefen Temperaturen erhält man für glasartig gefrorene Lösungen anisotrope EPR-Spektren, d.h. zwei Sätze mit jeweils acht Linien. Hierbei handelt es sich um die parallele und die senkrechte Komponente mit den Kopplungskonstanten A_{\parallel} und A_{\perp} sowie den zugehörigen g_{\parallel} und g_{\perp} ; Abbildung 31.

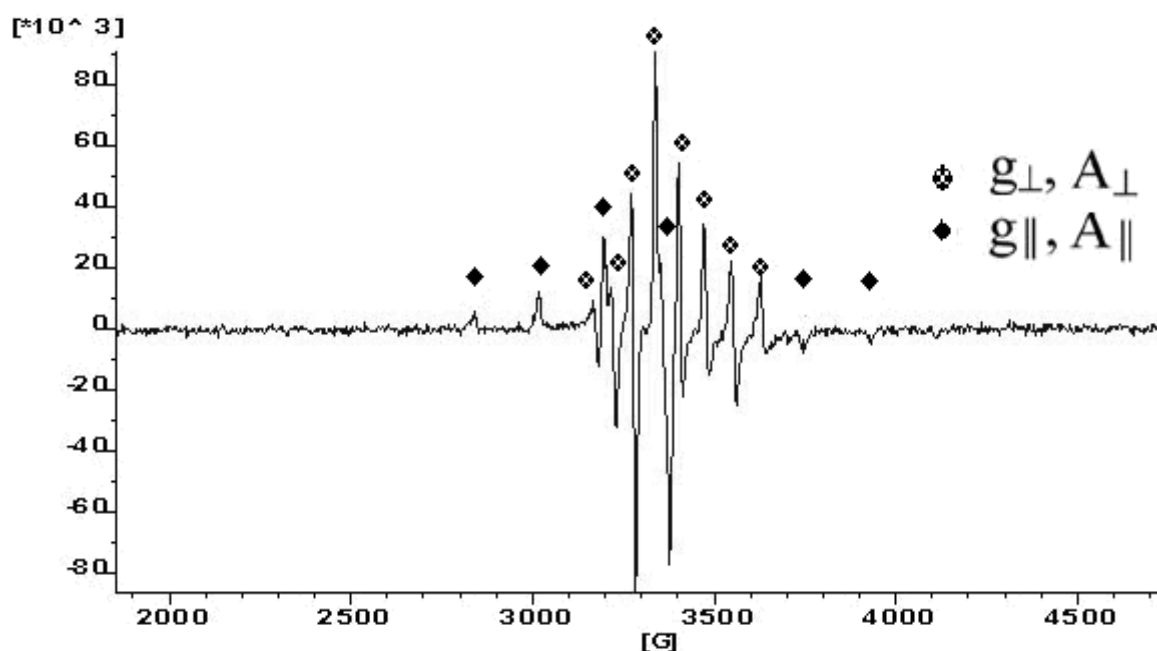


Abbildung 31: Tieftemperatur EPR-Spektrum eines Vanadiumkomplexes mit einer 5-Carboalkoxy-pyridin-2-carbonsäure in Methanol. Die mit Diamantsymbolen gekennzeichneten Signale entsprechen der parallelen, die mit Sternchen versehenen Signale der senkrechten Komponente.

Die Bezeichnungen parallel bezieht sich auf die z-Achse des Moleküls³⁷, die mit der V=O Bindungsrichtung und der Richtung des externen Magnetfeldes zusammenfällt; Abb. 32. Die senkrechte Komponente kann zusätzlich eine (geringe) Aufspaltung für die x- und y-Richtung aufweisen (rhombische und trigonale Verzerrung).

Oxidovanadium(IV)-Komplexe der Koordinationszahl fünf weisen in der Regel quadratisch-pyramidale Anordnungen auf. Seltener sind fünffach-koordinierte trigonal-bipyramidale Komplexe, Abbildung 32. In letzteren wird die Koordinationsgeometrie primär durch den sterischen Bedarf der Liganden bestimmt. Dazwischen liegende Anordnungen sind möglich.

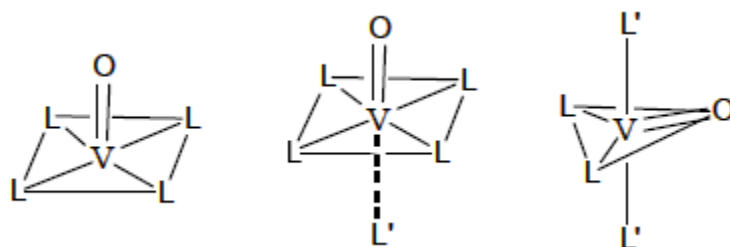


Abbildung 32: Mögliche Anordnungen der Ligandensätze in Oxidovanadium(IV)-Komplexen.

Die anisotropen EPR-Spektren der Komplexe von VO^{2+} mit 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-asparaginsäuredimethylester), **8**, in einem 1:2 und 1:1 Metall:Ligand-Verhältnis zeigen Überlagerungen von 16-Linien mit A_{\parallel} 166 cm^{-1} und $171 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ (1:2 Verhältnis) und $175 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ (1:1 Verhältnis); Abbildung 33.

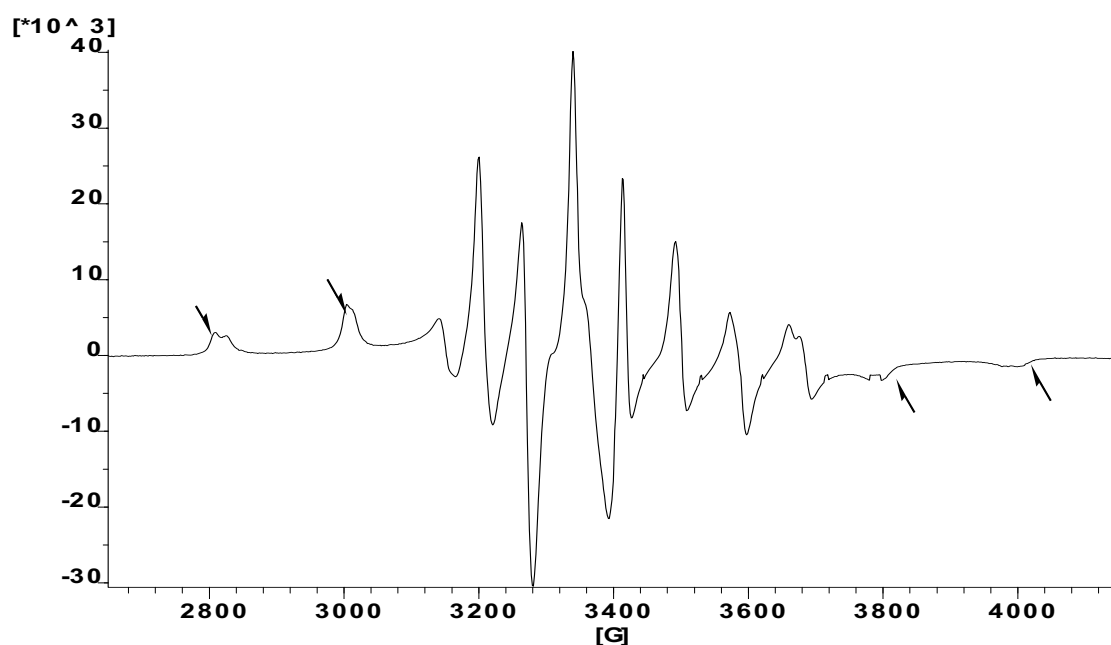


Abbildung 33: Tieftemperatur EPR-Spektrum des VO^{2+} -Komplexes mit dem Asparaginsäure-Derivat (1:1 Verhältnis) - in Methanol. Zusätzliche Signale der zweiten Komponente sind durch Pfeile markiert.

Die Additivitäts-Regel von CHASTEEN beschreibt einen Zusammenhang zwischen der Art der vier äquatorialen Liganden und der Größe der Hyperfeinkopplungskonstanten A_{\parallel} .³⁸ Abgeleitet wurde diese Beziehung von der Abhängigkeit der Größe der isotropen Hyperfeinkopplungs-

Konstanten A_{iso} ($A_{\text{iso}} = [A_{\parallel} + 2A_{\perp}]/3$) von der Anzahl und Art der Sauerstoff- bzw. Stickstoffdonoratome, L_i , in der äquatorialen Ebene.³⁹ Die Summe der partiellen Komponenten (A_p) ergibt den erwarteten Wert für die parallele Hyperfeinkopplungskonstante: $A_{\parallel} = \sum A_p(L_i)$ (summiert über die vier äquatorialen Liganden). Die partiellen Beiträge der einzelnen Ligandenfunktionen sind in Tabelle 1 aufgelistet

Tabelle 1: Partielle Beiträge der vier Funktionen in der Ebene der Komplexe.

Ligand	Beitrag zu A_{\parallel}
H ₂ O	$45.7 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$
Pyridin =N	$40.7 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$
Ar-COO ⁻	$42.7 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$
Aliph-COO ⁻	$41.8 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$

Der Vergleich der experimentellen Werte mit den berechneten Werten für A_{\parallel} (Tabelle 2) ermöglicht eine Bestimmung der äquatorialen Koordinationssphäre innerhalb der experimentellen Fehlergrenzen ($\pm 1.5 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$).

Tabelle 2: Berechnete Werte der parallelen Hyperfeinkopplungskonstante A_{\parallel} (Ar = aromatisch, al = aliphatisch, aq = Wasser)

(NO _{Ar}) ₂	$166.8 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$
(NO _{Ar} , O _{Ar} , O _{aq}),	$171.8 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$
(NO _{Ar} , N, O _{aq})	$169.8 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$
(O _{al} , O _{al} , O _{aq} , O _{aq})	$175.0 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$

Um nähere Aussagen über die Koordinationweise des Liganden treffen zu können, wurden Komplexierungen auch mit dem entschützten Liganden durchgeführt. Hierzu wurde der Ligand mit drei Äquivalenten Lithiumhydroxid in Methanol umgesetzt (Abbildung 34) und nach Beendigung der Reaktion (DC-Kontrolle) mit Vanadylsulfat in schwefelsaurer Lösung zur Reaktion gebracht.

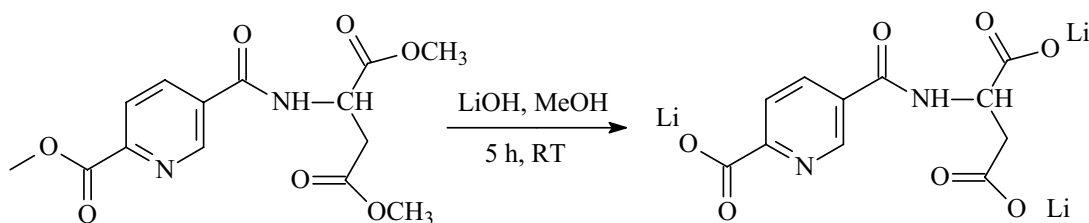


Abbildung 34: Verseifung des Liganden 8.

Der Vergleich der EPR-Spektren der Vanadium(IV)-Verbindungen aus der Umsetzung des entschützten Asparaginderivates mit Vanadylsulfat zeigt Übereinstimmung mit dem EPR-Spektrum der Umsetzung von Vanadylsulfat mit dem geschützten Liganden im Verhältnis 1:1. Auch im EPR-Spektrum des Komplexes mit dem entschützten Liganden überlagern sich zwei, durch A_{\parallel} von 166 (Hauptkomponente) bzw. $175 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ charakterisierte Spektren. Damit erfolgt offenbar bei beiden Synthesen die Koordination der Liganden im Wesentlichen über Pyridin-N und Carboxylat-O, also *bis*-chelatarartig im Sinne einer $(NO_{Ar})_2$ -Koordination (vergl. Tabelle 2). Die zweite Komponente ($A_{\parallel} = 175 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) tritt sowohl bei der Umsetzung mit dem geschützten Liganden bei einem Metall:Ligand Verhältnisse $>1:2$ auf, als auch bei der Umsetzung mit dem entschützten Liganden. Dies kann gemäß Tabelle 2 dahin gehend interpretiert werden, dass auch Carboxylatreste und/oder Wassermoleküle in die äquatoriale Ebene des Metallzentrums koordinieren.

Damit ergibt sich je nach Syntheseweg, Stabilität der koordinierenden Funktionen und verwendetem Lösungsmittel eine Veränderung der äquatorialen Koordinationssphäre des Metallzentrums, und eine damit verbundene Gleichgewichtseinstellungen der unten skizzierten Art (Abbildung 35): Ausgehend von der in fester Form vorliegenden und in Lösung dominierenden Koordination (I) kann sich ein Solvensmolekül *trans*-ständig zum Vanadylsauerstoff anordnen (II). Denkbar ist dann eine Isomerisierung durch Bildung von Verbindung (III). Anschließend kann wahlweise der Ligand oder das Solvensmolekül abdissoziieren, so dass die Ausgangsverbindung (I) oder die Verbindung (IV) entsteht. Bei einer Entschützung des Liganden und/oder Überschuss des Vanadyl-Ions können statt der (NO_{Ar}) -Koordination ebenfalls die aliphatischen Carboxylat-O sich an die Koordination beteiligen (V).

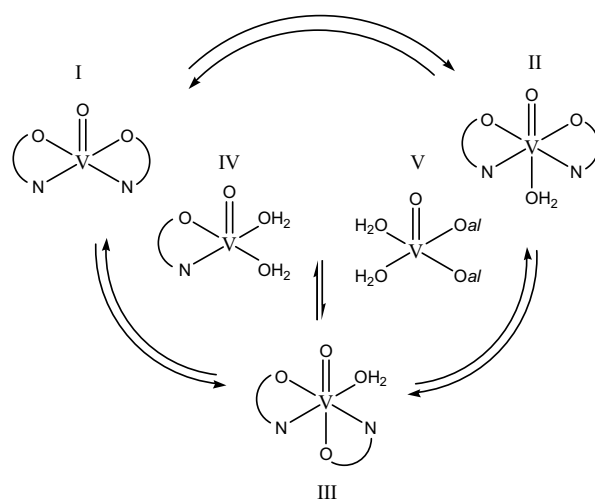


Abbildung 35: Auf Basis der EPR-Spektren mögliche Varianten der Koordinationssphäre der Komplexe in Lösung. (O_{al} :aliphatischer Carboxylat-O).

Zur Darstellung weiterer Vanadium(IV)-Komplexe der Aminosäure-Derivate (Abbildung 36) wurden zwei Äquivalente des jeweiligen Liganden mit Vanadylsulfat-Pentahydrat in einem Gemisch aus entgastem Wasser und Tetrahydrofuran gelöst und unter Zusatz von Natriumacetat umgesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde für mehrere Stunden unter Rückfluss erhitzt, bis eine klare, grüne Lösung entstand. Nach Einengen und Umkristallisieren konnten die entsprechenden binären Verbindungen als grüne Feststoffe in guten Ausbeuten isoliert werden. Die Charakterisierung erfolgte mit Hilfe der IR- und EPR-Spektroskopie sowie mittels Elementaranalyse und Massenspektrometrie.

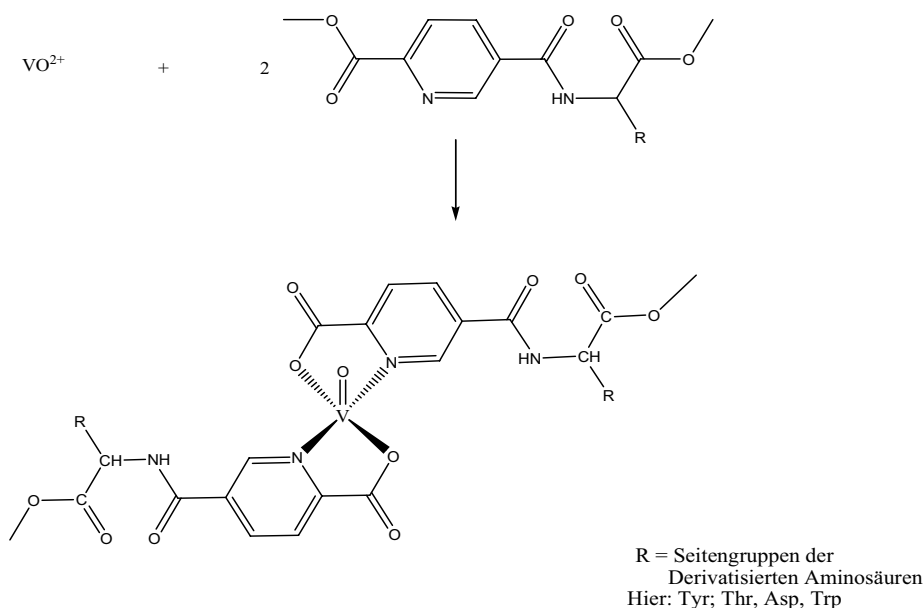


Abbildung 36: Schematisierte Darstellung der Vanadium(IV)-Komplexe mit den Aminosäure.

Die Synthese von *Bis*(pyridin-5-*L*-tryptophanamidmethylester-2-carboxylato)-oxidovanadium-(IV) wurde mit einer Ausbeute von 34 % realisiert. Im FAB-MS ist der Molekülionenpeak $m/z = 800$ zu beobachten. Im IR-Spektrum des Komplexes tritt deutlich die Valenzschwingung $\nu(\text{V}=\text{O})$ bei 975 cm^{-1} auf, wie sie für einen Komplex der Zusammensetzung VO_2 zu erwarten ist (siehe Abbildung 37). Die aus der Elementaranalyse erhaltenen Werte weisen darauf hin, dass der Vanadiumkomplex geringe Anteile an Natriumsulfat enthielt. Das EPR-Spektrum in Methanol bei Raumtemperatur und Tieftemperatur liefert ein 8- bzw. 16-Linien Spektrum. Die in Tabelle 3 zusammengestellten Parameter zeigen, dass ein *Bis*-Chelat-Komplex der Zusammensetzung $\text{VO}(\text{NO}_{\text{Ar}})_2$ vorliegt.

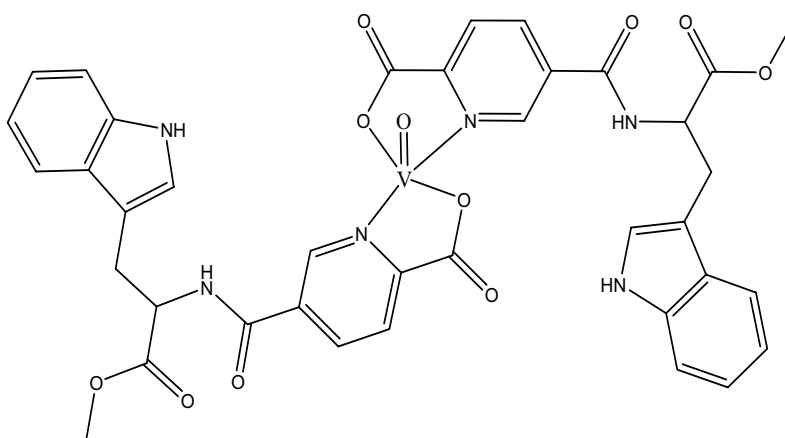


Abbildung 37: *Bis*(pyridin-5-*L*-tryptophanamid-methylester-2-carboxylato) Oxidovanadium(IV).

Diese chelatartige Koordination des Liganden an das Metallzentrum wird offenbar durch den Indol-Stickstoff bevorzugt. Der Indol-Rest steht somit für die „Maskierung“ des Metallzentrums bzw. als Erkennungszentrum für einen Membranrezeptor und folglich zur Optimierung der Transporteigenschaften und Verbesserung der zellulären Aufnahme bereit.

Tabelle 3: Isotrope und anisotrope EPR-Parameter von *Bis*(pyridin-5-*L*-tryptophanamidmethylester-2-carboxylato)Oxidovanadium(IV) in Methanol.

isotrope EPR-Parameter		anisotrope EPR-Parameter			
g_{iso}	$A_{\text{iso}} [10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$	g_{\perp}	g_{\parallel}	$A_{\perp} [10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$	$A_{\parallel} [10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$
1.968	96	1.980	1.945	62	166

Ein Vergleich des Einflusses der Natur der Seitenkette im Aminosäureteil des Liganden auf die Koordination des Liganden an das Metallzentrum lässt sich anhand des Komplexes *Bis*(pyridin-

5-O-*tert.*-butyl-L-tyrosinamidmethylester-2-carboxylato)-oxidovanadium(IV) vollziehen. Hierbei wurde für die Komplexierung die phenolische OH-Gruppe des Tyrosinrestes einerseits frei, andererseits O-*tert.*-Butyl geschützt eingesetzt.

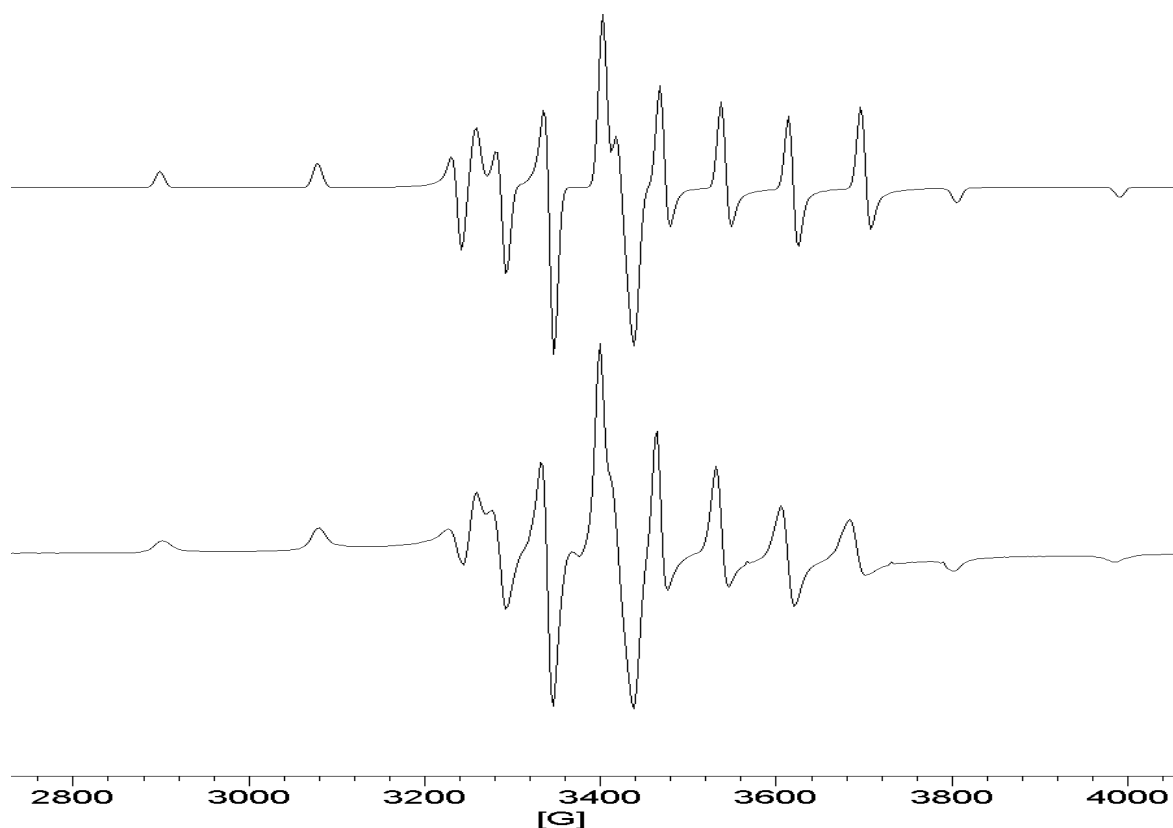


Abbildung 38: Ausschnitt des anisotropen EPR-Spektrums des Vanadium(IV)-Komplexes VOPicTyrO-*tert.*-butyl in Methanol (unten) und die Simulation (oben).

Die EPR-Spektren des geschütztem und entschütztem Tyrosin-Derivates stimmen überein und weisen auf eine Nichtbeteiligung der phenolischen Hydroxygruppe in der äquatorialen Koordination hin (siehe Tabelle 4). Der Beitrag des Phenolat-Sauerstoffes liegt bei $38.9 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ und müsste bei einer Koordination in der Ebene des Vanadiumkomplexes eine Erniedrigung des A_{\parallel} -Wertes hervorrufen.

Tabelle 4: Anisotrope EPR-Parameter der Vanadiumkomplexe der Tyrosinderivate in Methanol.

Anisotrope EPR-Daten				
	g_{\perp}	g_{\parallel}	$A_{\perp} [10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$	$A_{\parallel} [10^{-4} \text{ cm}^{-1}]$
VOPicTyr (O- <i>tert.</i> -butyl)	1.98	1.945	61	166
VOPicTyr (OH)	1.98	1.945	60	166

4.2.2 IR-Spektroskopische Untersuchung der Vanadium(IV)-Komplexe

4.2.2.1 Der Oxidovanadium(IV)-Komplex mit 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(O-*tert.*-butyl-L-threoninamid-methylester) (Ligand 3)

Ein Vergleich des IR-Spektrums des Komplexes in Abbildung 40 mit dem des freien Liganden 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(O-*tert.*-butyl-L-threoninamidmethylester) ermöglicht es, die Koordination an das Metallzentrum wie in Abbildung 39 dargestellt nachzuvollziehen, da die Schwingungsbanden insbesondere derjenigen funktionellen Gruppen gegenüber dem freien Liganden verschoben bzw. verbreitert sind, die an Vanadium koordinieren direkte Nachbarn der koordinierenden Funktion sind.

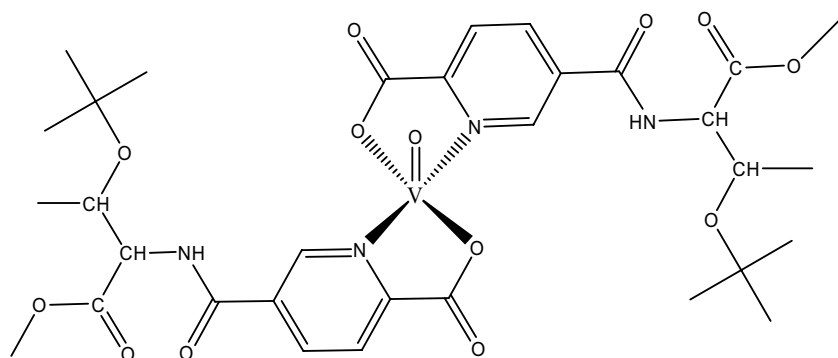


Abbildung 39: Wahrscheinlicher Koordinationmodus des Threoninliganden an das Vanadylzentrum.

Das IR-Spektrum des Komplexes zeigt eine Verbreiterung der Schwingungen im Bereich $1650 - 1600 \text{ cm}^{-1}$, die der antisymmetrische Valenzschwingung der koordinierten Carboxylatfunktion zuzuordnen sind. Des Weiteren tritt eine starke Bande für die die $\nu(\text{V}=\text{O})$ bei 976 cm^{-1} auf. Diese liegt im erwarteten Bereich um $\sim 970 \text{ cm}^{-1}$ für Komplexe der Zusammensetzung VOL_2 .

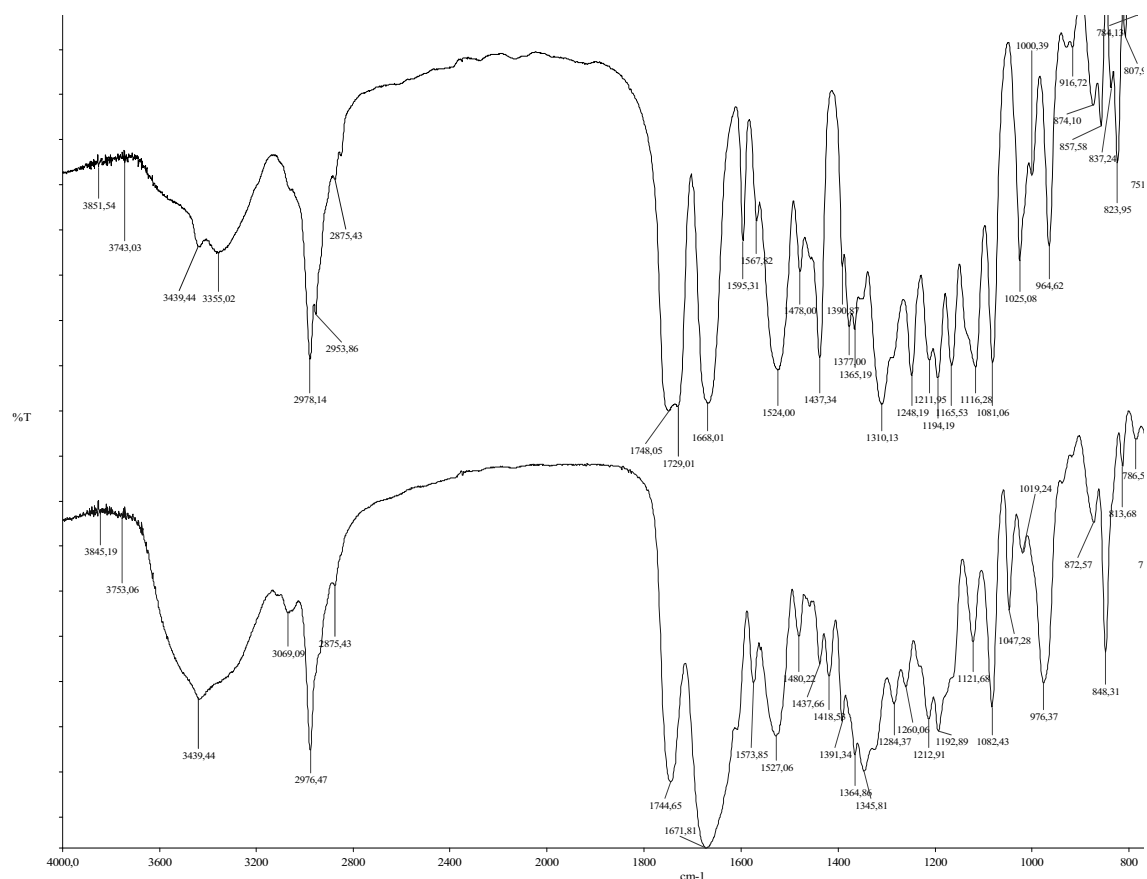


Abbildung 40: IR-Spektren des Threonin-Liganden **3** (oben) und seines Vanadylkomplexes (unten).

In Tabelle 5 sind die charakteristischen Schwingungsbanden des Liganden und des Komplexes zusammengestellt. Der Gegenüberstellung zeigt, dass einige der Banden im Komplex zu niedrigeren Wellenzahlen verschoben sind. Hierzu zählen auch die Banden für die aromatischen C=C- und C=N-Valenz- und Deformationsschwingungen.

Tabelle 5: Gegenüberstellung der IR-Banden für den freien Liganden **3** und dem Komplex .

funktionelle Gruppe	IR-Banden [cm ⁻¹]	
	Ligand	Komplex
$\nu(\text{NH})$	3439/3355	3439
$\nu(\text{C-H})$	2978, 2953	2976
$\nu(\text{C=O})$, Ester	1748	1744
$\nu(\text{C=O})$, $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$, $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$	1668, -, -	1671, 1640-1610 $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$, 1345 $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$
$\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{C=N})$	1567, 1478	1573, 1480
$\nu(\text{V=O})$	-	976

4.2.2.2 Der Oxidovanadium(IV)-Komplex mit 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninamidmethyl ester) (Ligand 4)

Der Vergleich der IR-Spektren (Abbildung 41) ermöglicht auch hier eine Zuordnung der Valenzschwingung $\nu_{as}(\text{CO}_2^-)$ im Bereich von $1670 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ zur koordinierten Carboxylatgruppe des Komplexes. Die symmetrische Carboxylat-Schwingung liegt bei 1340 cm^{-1} . Die Banden für die aromatischen C=C- und C=N-Valenz- und Deformationsschwingungen sind im Komplex verbreitert.

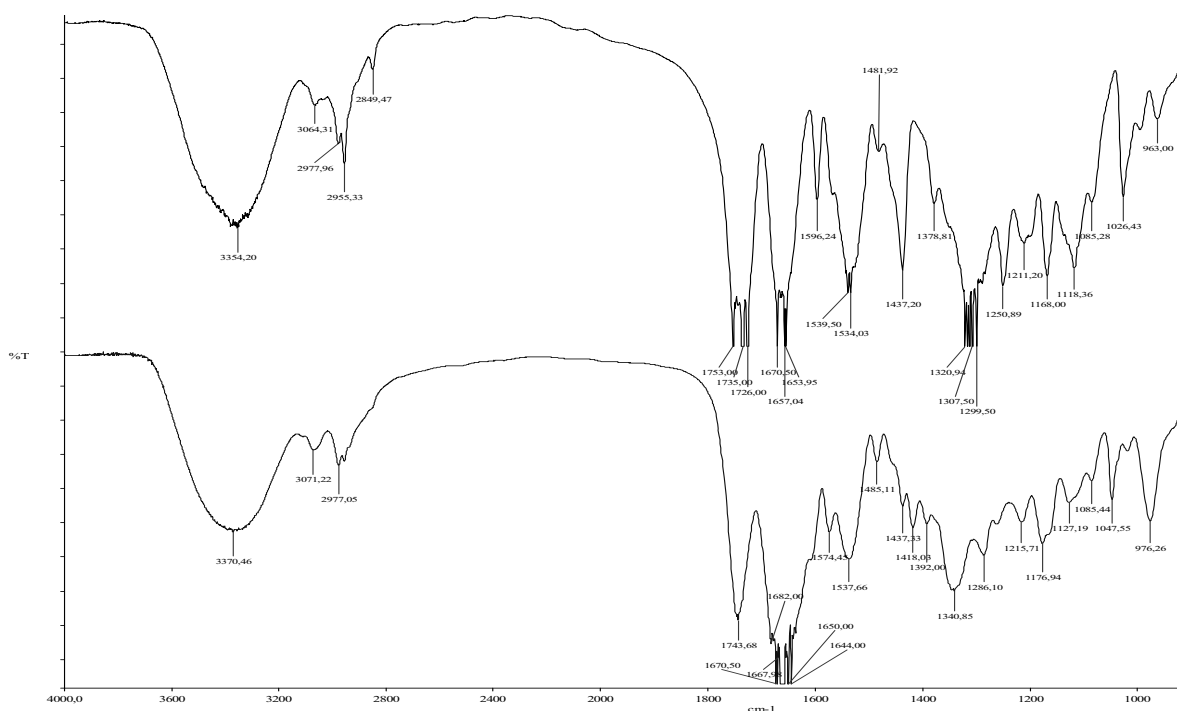


Abbildung 41: IR-Spektren des Threoninderivat-Komplexes (unten) und des Liganden (oben).

Eine Beteiligung des Pyridinstickstoffs an die Koordination sorgt für die Verschiebung der Banden der aromatischen Ringschwingung (Tabelle 6). Die Bande der V=O-Valenzschwingung befinden sich in diesem Komplex bei 976 cm^{-1} .

Tabelle 6: Gegenüberstellung der IR-Banden für den freien Liganden (PicThrOH), 4, und dem Komplex.

funktionelle Gruppe	IR-Banden [cm^{-1}]	
	Ligand	Komplex
$\nu(\text{OH}, \text{NH})$	3354, 3064	3370, 3071,
$\nu(\text{CH})$	2977	2977
$\nu(\text{C}=\text{O}), \text{Ester}$	1753	1744
$\nu(\text{C}=\text{O}), \nu_{as}(\text{CO}_2^-), \nu_s(\text{CO}_2^-)$	1670	$\sim 1682, 1670-1600 \nu_{as}(\text{CO}_2^-),$ $1341 \nu_s(\text{CO}_2^-)$
$\nu(\text{ar. C}=\text{C}), \nu(\text{C}=\text{N})$	1596, 1482	1574, 1485
$\nu(\text{V}=\text{O})$	-	976

4.2.2.3 Vergleichende Betrachtungen

Der Vergleich der IR-Daten der beiden Komplexe untereinander zeigt, dass die Spektren ähnlich strukturiert sind. Charakteristisch ist stets die Schwingung für die V=O-Doppelbindung um $\sim 976 \text{ cm}^{-1}$. Die Banden für die aromatischen C=C- und C=N-Valenz- und Deformationsschwingungen, die sich im freien Liganden und den Komplexen um bis zu zwanzig Wellenzahlen unterscheiden können, weisen im Vergleich der Komplexe untereinander nur geringfügige Unterschiede von ein bis fünf Wellenzahlen auf. Zusätzlich wird bei allen Komplexen je eine Bande für die antisymmetrische $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$ und die symmetrische Carboxylat-Schwingung $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$ beobachtet. Hieraus kann auf eine ähnliche Koordination der beiden Liganden - ohne Beteiligung der *tert.*-Butyl-geschützten (3) bzw. der freien OH Gruppe (4) - geschlossen werden.

4.2.3 Thermoanalyse

Bei der Thermoanalyse bzw. Differenzthermoanalyse (DTA) wird eine Probe in einem kleinen Tiegel im Stickstoff- oder Argonstrom erhitzt, und der Gewichtsverlust in Abhängigkeit von der Temperatur bestimmt. Treten dabei spezifische Umwandlungen auf, wie z.B. der Verlust von koordinierten Lösungsmittelmolekülen, so treten in der Messkurve oberhalb einer bestimmten Temperatur eine oder mehrere Stufen auf, wobei aus der Stufenhöhe der prozentuale Gewichtsanteil errechnet wird. Nicht koordinierte Lösungsmittel weisen kaum eine spezifische Stufe auf, da eine geringe Energie meist schon ausreicht, um diese zu entfernen. Meistens wird zusätzlich die Energieaufnahme des Heizelements registriert, so dass auf endotherme Vorgänge (erhöhte Energieaufnahme bei gleicher Heizrate) oder auf exotherme Vorgänge (erniedrigte Energieaufnahme bei gleicher Heizrate) geschlossen werden kann.

4.2.3.1 Thermoanalyse des Komplexes mit 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninamidmethylesters) (Ligand 4)

Für die Thermoanalyse wurde die Substanz mit einem Temperaturprogramm von 20 °C bis 1400 °C in Schritten von 4 K/min. erhitzt und die Zersetzung thermogravimetrisch verfolgt. In der thermogravimetrischen Analyse zeigt der Komplex bis ca. 100 °C keine Massenänderung. Oberhalb dieser Temperatur lässt sich die beginnende Massenabnahme detektieren (siehe Abbildung 42). Das Molekül erfährt bis zu einer Temperatur von 250 °C einen Massenverlust von ca. 20 %, was dem Verlust von CO₂ zugeordnet werden kann. Die weitere Zersetzung des Moleküls erfolgt schrittweise, bis schließlich nur noch ein Rückstand von Vanadiumoxid (V₂O₄) mit ca. 22% der ursprünglichen Masse vorliegt.

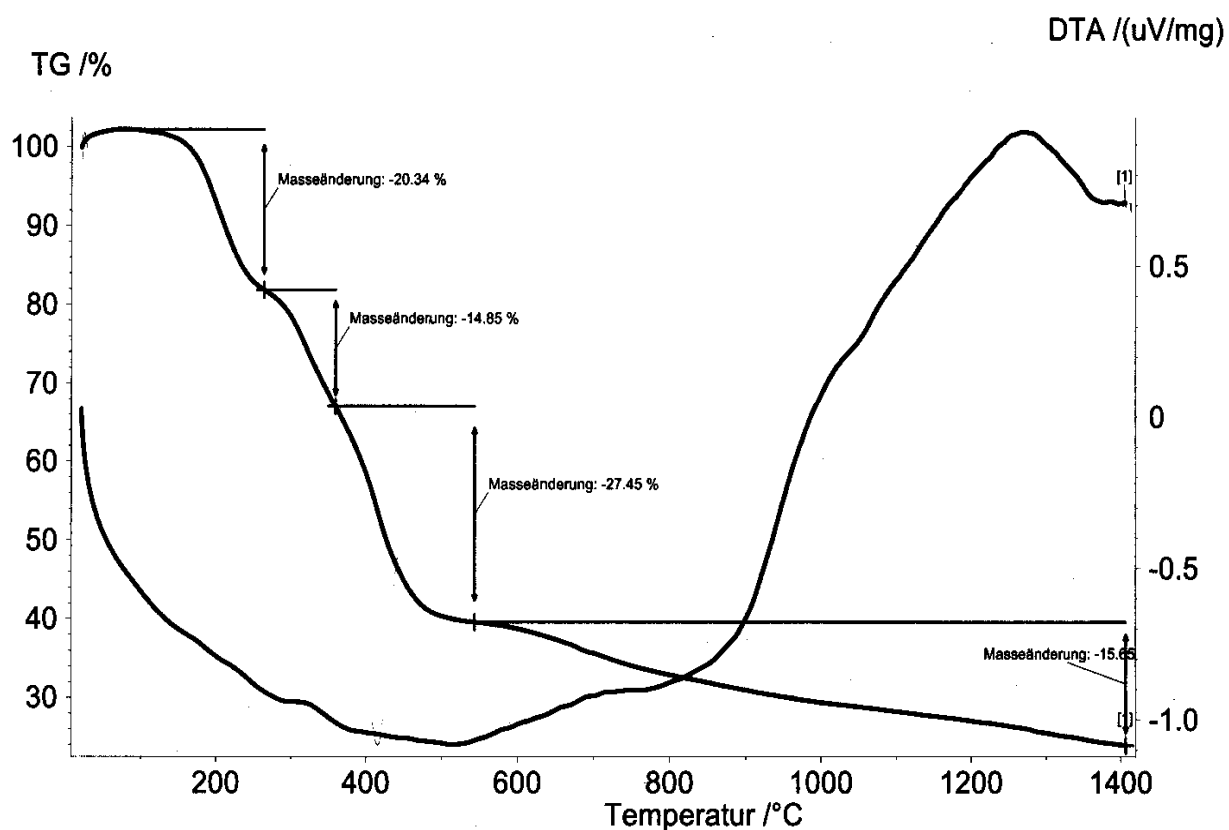
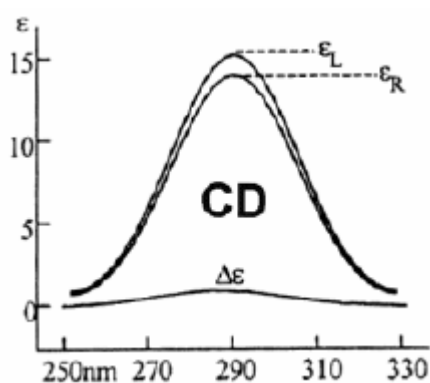


Abbildung 42: Ergebnisse der Thermoanalyse/Thermogravimetrie für den Komplex mit 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninamidmethylester).

4.2.4 CD-Spektroskopie

Als chiroptische Methode ist die Messung des Circular dichroismus (CD) auf Verbindungen mit mindestens einem Asymmetrieelement beschränkt. Chirale Substanzen drehen die Ebene linear polarisierten Lichts, wobei man sich dieses zerlegt denkt in eine rechts- und links-circular polarisierte Welle gleicher Amplitude und Phase. In einem optisch aktiven Medium haben die beiden Wellen mit entgegengesetztem Drehsinn verschiedene Geschwindigkeiten und in den Absorptionsbereichen zusätzlich verschiedene Extinktionskoeffizienten ϵ . Die Bestimmung des Drehwerts α entspricht der Differenz der Geschwindigkeiten; der Circular dichroismus dagegen der Differenz der Extinktionskoeffizienten. Beide, Drehwinkel α und der Circular dichroismus, sind Funktionen der Wellenlänge λ des polarisierten Lichts.

Der CD ist als Differenz der molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten $\Delta\epsilon = \epsilon_L - \epsilon_R$ für links und rechts circular polarisiertes Licht definiert. Daher kann ein CD-Effekt nur innerhalb von Absorptionsbanden beobachtet werden. Üblicherweise handelt es sich dabei um



Elektronenübergänge im sichtbaren oder UV-Bereich des elektromagnetischen Spektrums. Nach dem Durchgang durch das optisch aktive Medium haben die Richtungsvektoren der beiden entgegengesetzt circular polarisierten Lichtstrahlen infolge unterschiedlicher Schwächung (Absorption) unterschiedliche Längen (Beträge).

Abbildung 43: Zusammensetzung eines CD-Effektes aus den beiden Absorptionskoeffizienten.

Dadurch resultiert bei ihrer Überlagerung keine linear polarisierte Welle mehr, sondern das Vektordiagramm wird elliptisch. Aus dem Betrag der Elliptizität lässt sich $\Delta\epsilon$ berechnen. Das CD-Spektrum ist die Darstellung des CD ($\Delta\epsilon$) in Abhängigkeit von der Wellenlänge λ . Haben die entsprechenden elektronischen Übergänge in analogen Verbindungen Cotton-Effekte (CD plus ORD [ORD = optical rational diffraction, korreliert mit dem Drehwert α]) mit dem gleichen Vorzeichen, so gilt als Regel, dass diese Verbindungen die gleiche absolute Konfiguration besitzen.^{40, 41}

4.2.4.1 CD-Spektren der Threonin-Derivate und ihrer Komplexe

CD-Spektrum von L-Threonin (L-Thr)

Das UV-Vis-Absorptionsmaximum von L-Thr liegt bei 200 nm. Es liegt ein Maximum des Cotton-Effektes bei ~209 nm und ein $\Delta\epsilon$ von $4.9 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ vor.

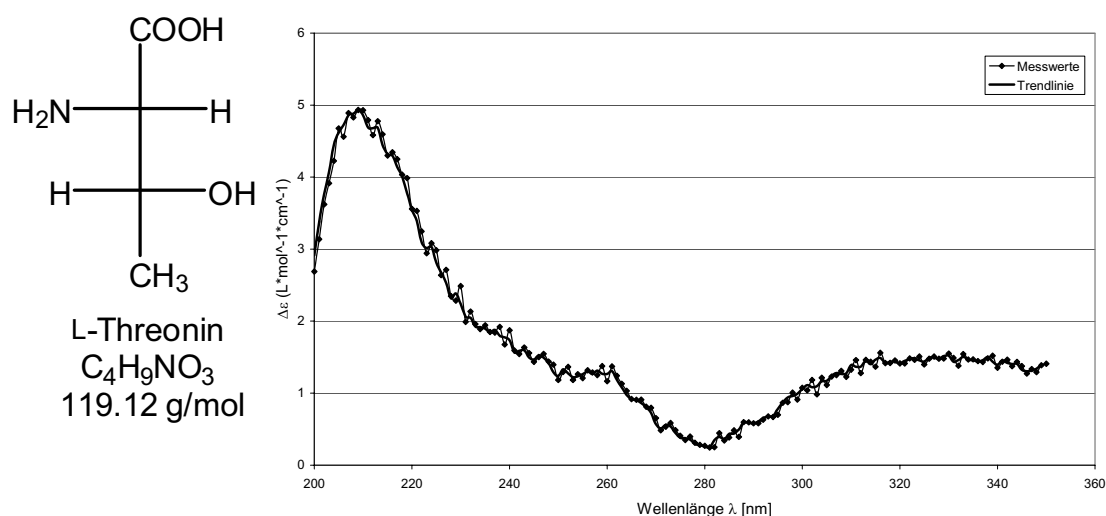


Abbildung 44: Struktur und CD-Spektrum von L-Thr in Wasser.

CD-Spektrum von D-Threonin (D-Thr)

Das UV-Vis-Absorptionsmaximum von D-Thr liegt erwartungsgemäß ebenfalls bei ~200 nm. Das Minimum des Cotton-Effekts liegt bei ~209 nm und hat einen $\Delta\epsilon$ von $-47 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

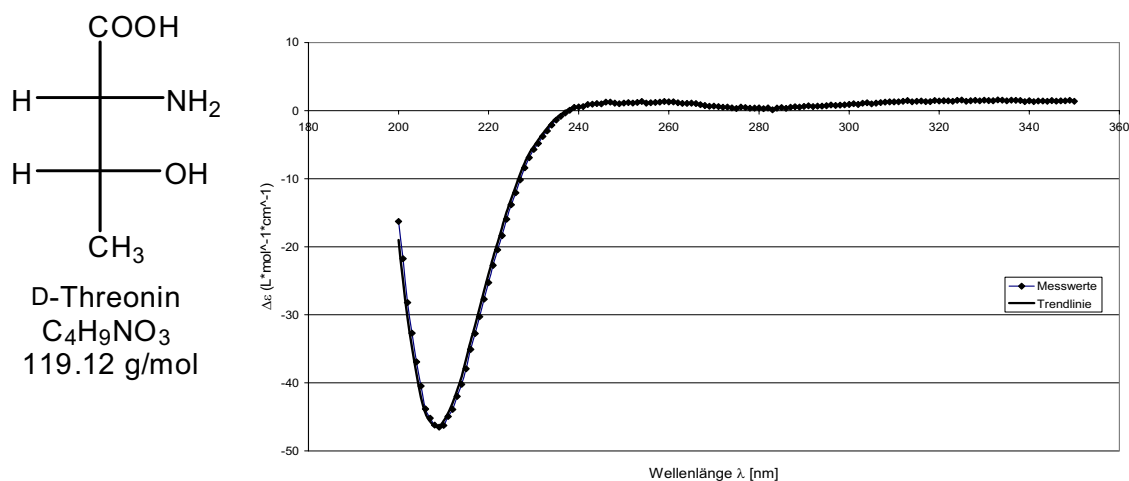
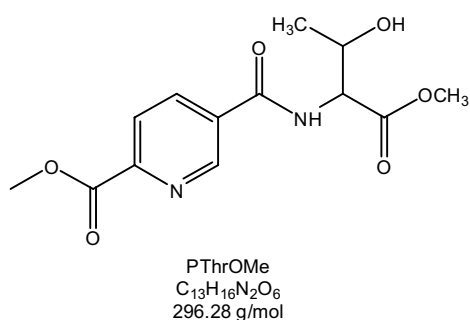


Abbildung 45: Struktur und CD-Spektrum von D-Thr in Wasser.

CD-Spektrum von D,L-Threonin (D,L-Thr)

Das UV-Vis-Absorptionsmaximum liegt bei ~200 nm. Bei 210 nm ist kein Maximum bzw. Minimum des Cotton-Effektes zu erkennen; die racemische Verbindung ist optisch inaktiv. Die von null abweichenden Messwerte sind klein im Vergleich zur Konzentration der Lösung und zu vernachlässigen. Es wird keine Rotation der Ebene des austretenden Lichts beobachtet.

CD-Spektrum von 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(L-threoninmethylester) (PicThrOMe) (4)



Die UV-Vis-Absorptionsmaxima für PicThrOMe liegen bei ~268 nm und ~225 nm (Abbildung 46). Aus der Kombination dieser beiden Maxima ergibt sich das Maximum des Cotton-Effektes im CD-Spektrum (Abb. 47) bei ~246 nm mit einem $\Delta\epsilon$ von $5.4 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

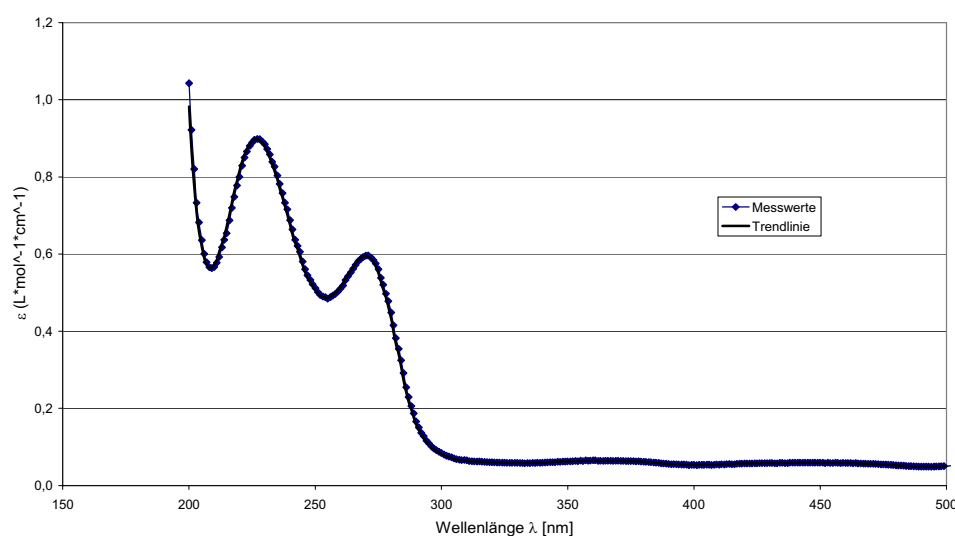


Abbildung 46: UV-Vis-Absorptionsspektrum von PicThrOMe in Wasser.

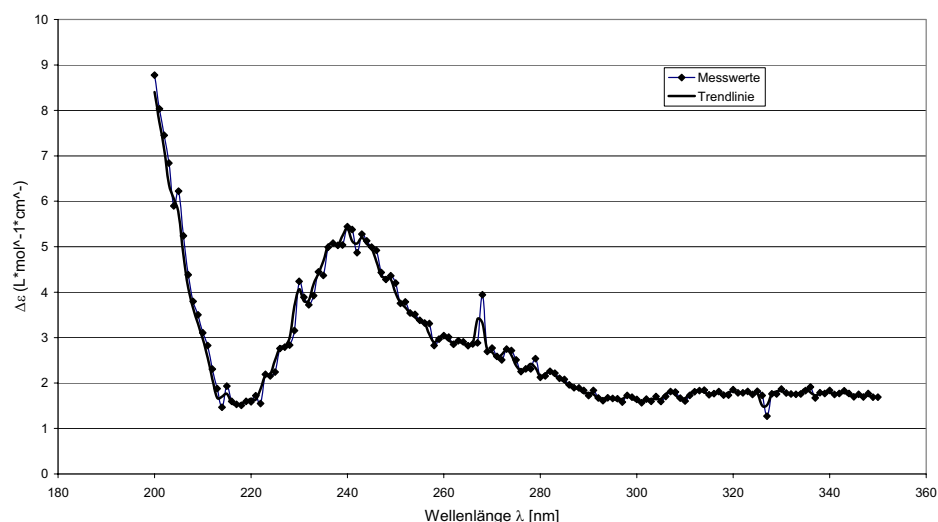


Abbildung 47: CD-Spektrum von PicThrOMe in Wasser.

4.2.4.2 CD-Spektrum des Oxidovanadium(IV)-Komplexes mit PicThrOMe (4), VOPicThrOMe

Das in Wasser aufgenommene UV-Vis-Absorptionsspektrum (Abbildung 48) zeigt ausgeprägtere Maxima (bei ~268 nm und ~221 nm) als sein in Acetonitril aufgenommenes Analogon (~263 nm in Abbildung 49). Auf dem in Wasser aufgenommenen CD-Spektrum ist zwar ein positiver Cotton-Effekt auszumachen, allerdings ist es nicht möglich, sein genaues Maximum zu bestimmen. Auf dem in Acetonitril aufgenommenen Spektrum ist ein Maximum des Cotton-Effetes bei ~221 nm und ein $\Delta\epsilon$ von $11.5 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ zu erkennen, allerdings sind die Werte in diesem Bereich des Spektrums, wahrscheinlich aufgrund der niedrigen Konzentration, mit großen Messfehlern behaftet.

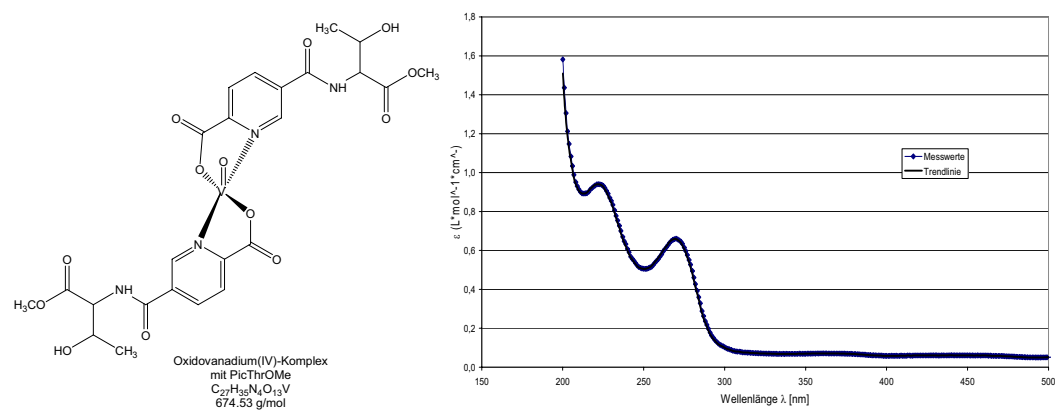


Abbildung 48: UV-Vis-Absorptionsspektrum von VOPicThrOMe in Wasser.

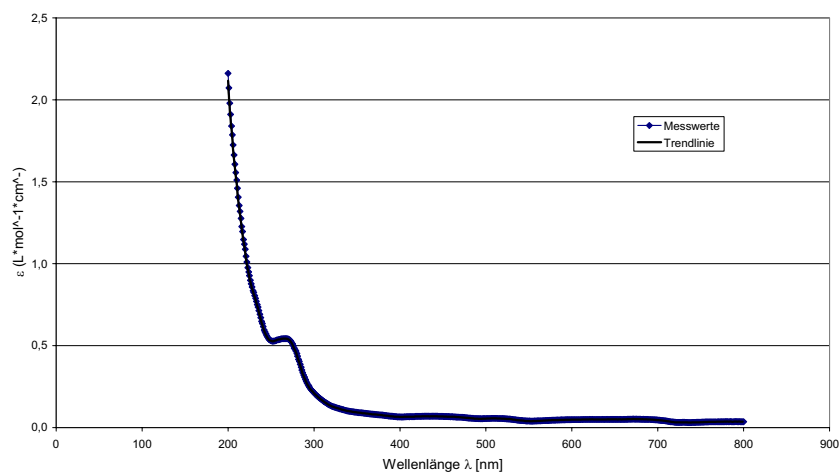


Abbildung 49: UV-Vis-Absorptionsspektrum von VOPicThrOMe in Acetonitril.

Alle Verbindungen die mit L-Threonin umgesetzt wurden zeigen im den CD-Spektren einen positiven Cotton-Effekte. Damit lässt sich aussagen, dass in allen Verbindungen die absolute Konfiguration bezogen auf die Ausgangssubstanz L-Threonin, beibehalten wurde.

4.2.4.3 CD-Spektrum von D-Serin und seinen Derivaten

D-Serin besitzt ein Absorptionsmaximum bei ~200 nm. Der negative Cotton-Effekt hat sein Minimum bei 204 nm und einem $\Delta\epsilon$ von $-353 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

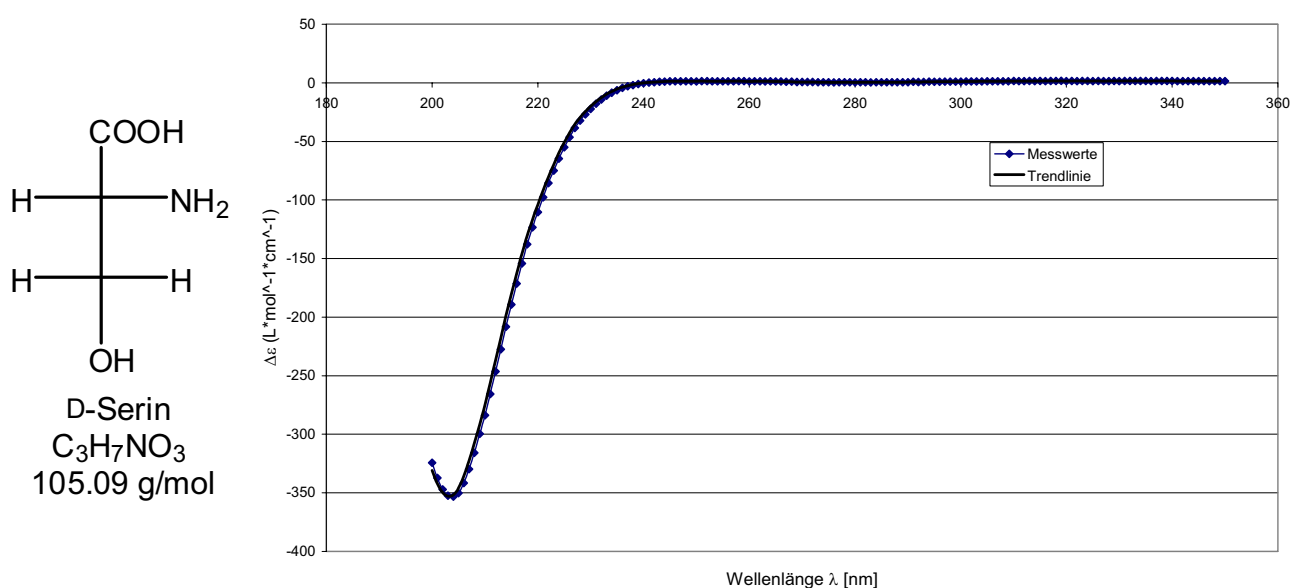


Abbildung 50: Struktur von D-Serin und CD-Spektrum aufgenommen in Wasser.

Im UV-Vis-Spektrum von D,L-Serin liegt das Absorptionsmaximum weiterhin bei ~ 200 nm. Allerdings ist kein positiver oder negativer Cotton-Effekt in diesem Bereich zu erkennen: Es liegt ein Racemat vor.

4.2.4.4 CD-Spektrum von 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(L-homoserinmethylester) (PichSerOMe)

Das erste UV-Vis-Absorptionsmaximum von PichSerOMe liegt bei ~ 267 nm und ist ausgeprägter als das zweite bei ~ 232 nm. Im CD-Spektrum liegt das Maximum des Cotton-Effekts bei ~ 261 nm mit einem $\Delta\epsilon$ von $2.3 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, welches in ein weiteres Maximum bei ~ 239 nm mit einem $\Delta\epsilon$ von $3.5 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ übergeht.

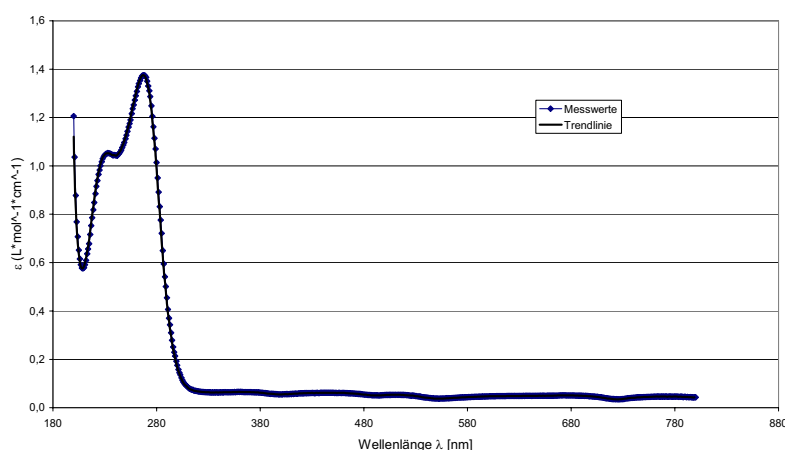
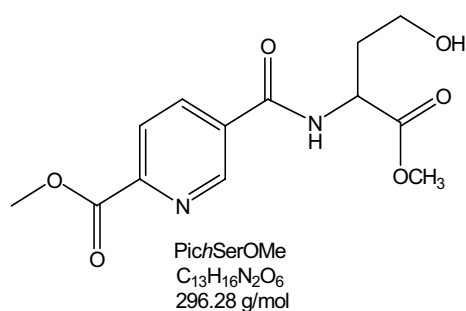


Abbildung 51: Struktur von PichSerOMe (L-Form) und UV-Vis-Absorptionsspektrum in Wasser.

Bei der Interpretation der CD-Spektren der *homoSerin*-Verbindungen treten keine Unstimmigkeiten auf. In allen vermessenen Verbindungen wurde die absolute Konfiguration des eingesetzten L-*homoSerins* beibehalten.

4.3 Modifizierung der Picolinsäure mit unpolaren Aminosäuren (Ile, Leu)

Wie bereits ausgeführt, erfüllen Zellmembran-gebundene Proteine eine Vielzahl verschiedener Funktionen, darunter Rezeptor-, Redox- und Transportfunktionen,⁴² die durch polare Gruppierungen in einer Wirksubstanz genutzt werden können. Unabhängig davon besteht im Allgemeinen eine ausgeprägte Korrelation zwischen der Hydrophobizität einer Verbindung und ihrer Affinität zur Lipidmembran. Die Einführung *unpolarer* Aminosäuren in eine Wirksubstanz kann somit ebenfalls zu einer Verbesserung der Interaktion mit der Membran führen, indem hier die passive Diffusion durch die Lipidmembran genutzt wird.

4.3.1 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-*iso*-Leucinmethylester)amid

Der Ligand wurde mit einer Ausbeute von 39 % erhalten und mittels IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR und FAB-MS charakterisiert. Im IR-Spektrum liegen die Banden der CH-Valenzschwingungen bei 2967 und 2880 cm⁻¹, die Carboxylschwingung der Estergruppen bei 1744 cm⁻¹ und der Amidbindung bei 3271 und 1541 cm⁻¹. Die aromatischen C=C- und C=N- Schwingungen befinden sich bei 1657 und 1434 cm⁻¹. Das in CDCl₃ gemessene ¹H-NMR-Spektrum zeigt Peaks für die aromatischen Protonen im Bereich 9.1 – 8.2 ppm und die der Methoxygruppen im Bereich 4.0 – 3.7 ppm. Die aliphatischen Protonen können den Signalen im Bereich 1.5 – 0.8 ppm zugeordnet werden. Im ¹³C-NMR-Spektrum sind alle 15 Kohlenstoffatome sichtbar. Die Carbonylkohlenstoffe zeigen eine chemische Verschiebung von 175 – 160 ppm, gefolgt von den aromatischen Kohlenstoffen im Bereich von 150 – 120 ppm und den aliphatischen Kohlenstoffen im Bereich von 60 – 10 ppm. Im FAB-Massenspektrum konnte der erwartete Molekülionenpeak bei *m/z* 309 beobachtet werden. Das Proton bei 6.8 ppm zeigt keine direkte Bindung an einen Kohlenstoff (HSQC), jedoch treten im HMBC-Spektrum Korrelationspeaks mit Signalen der benachbarten Kohlenstoffatome (55 und 170 ppm) auf. Im ¹H¹H-COSY-Spektrum (Abbildung 52) ist ein Cross-Signal mit dem Proton des chiralen Zentrums der Aminosäure bei 4.6 ppm zu sehen. Somit kann das Proton bei 6.8 ppm der Amidbindung zugeordnet werden.

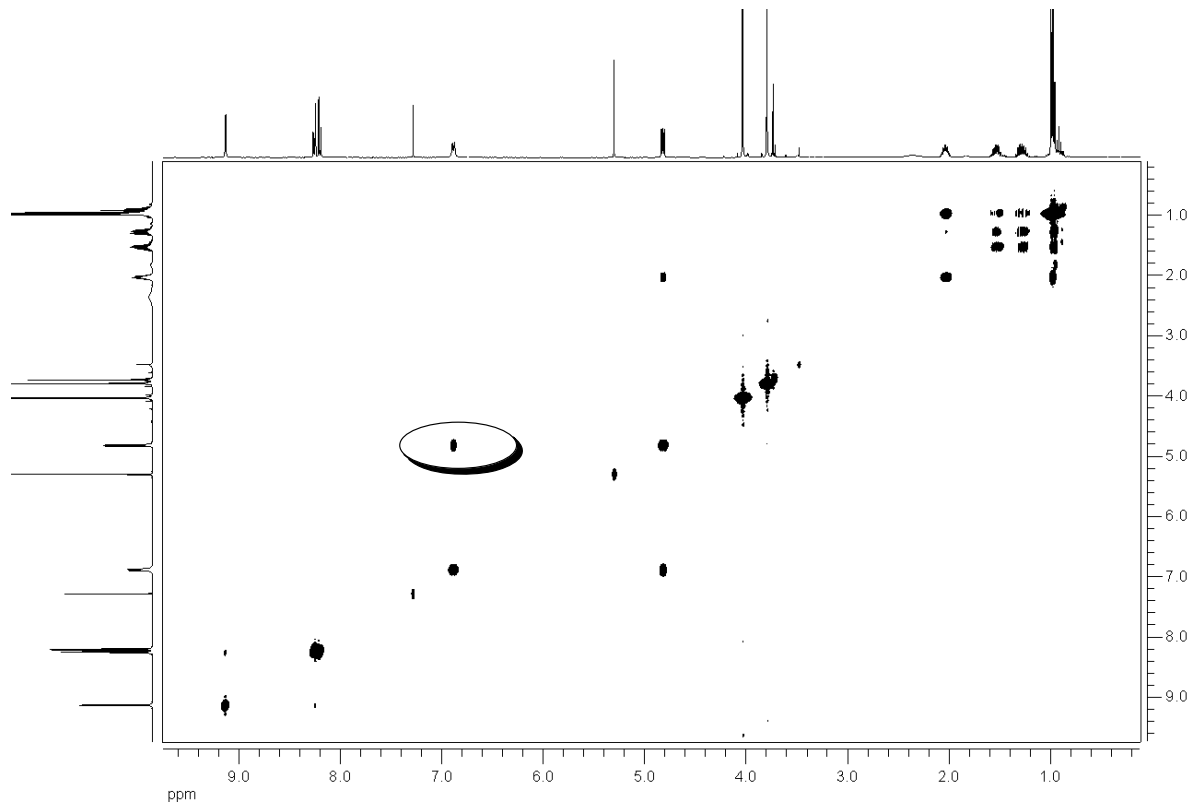
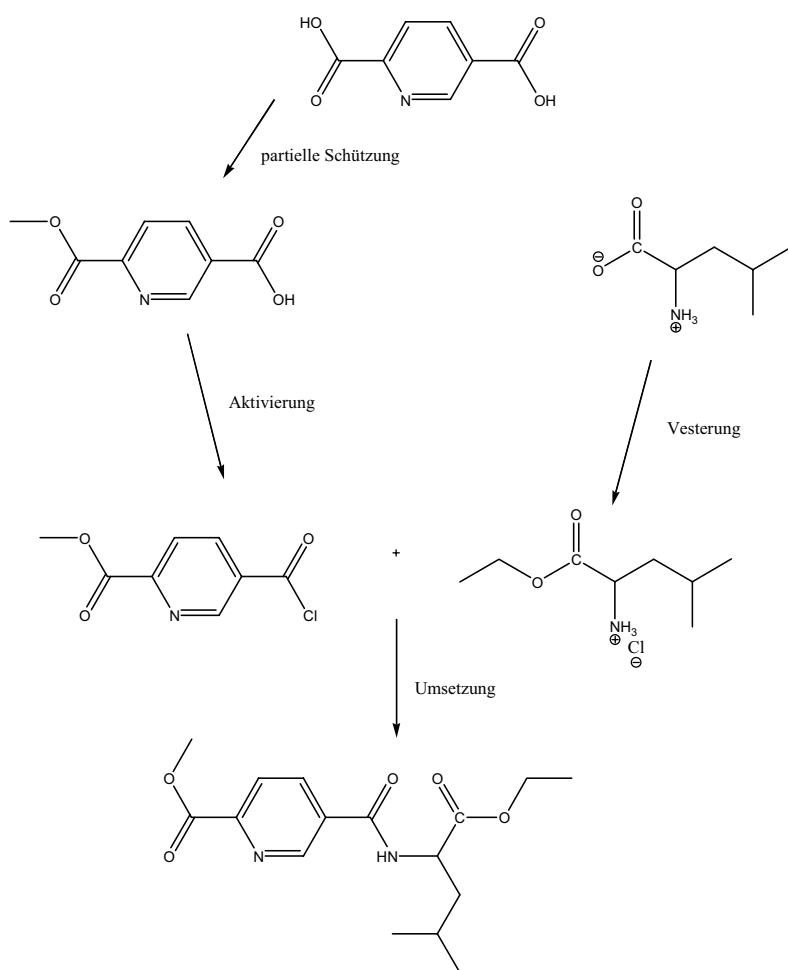


Abbildung 52: ^1H - ^1H -COSY NMR von 2-Carbomethoxy-5-(L-iso-Leucinmethylester)pyridinamid in CDCl_3 .

4.3.2 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Leucinethylester)amid

Für die Synthese wurde zunächst L-Leucin Hydrochlorid im sauren Milieu in den Ethylester überführt und anschließend *in situ* mit 5-Chlorcarbonyl-pyridin-2-carbonsäuremethylester versetzt (siehe Abbildung 53). Nach der säulenchromatographischen Aufreinigung des



Reaktionsgemisches (Kieselgel, zunächst Ethylacetat/*n*-Hexan anschließend Dichlormethan/Methanol) konnte das Produkt als gelbliches Öl erhalten werden, das bei längerem Stehen erstarrte. Der R_F -Wert des Produkts mit den Eluenten Dichlormethan-Methanol liegt bei 0.7 und konnte mit einer Ausbeute von 64% bezüglich der eingesetzten Aminosäure isoliert werden. Im FAB-Massenspektrum kann der Molekülkation-Peak m/z 322 eindeutig zugeordnet werden.

Abbildung 53: Syntheseweg für die Herstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-leucinethylester)amid.

4.4 Vanadiumkomplexe von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Leucinethylester)- und (L-*iso*-Leucinmethylester)amid

4.4.1 Darstellung und IR-spektroskopische Charakterisierung

Die Komplexierung des Liganden erfolgte mit Vanadylsulfat als Precursor in methanolischer Lösung. Im FAB-Massenspektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-*iso*-Leucinethylester)amid ist neben dem Molekülkation-Peak von m/z 654 noch (hervorgerufen durch Spuren von Natriumsulfat) ein Peak für das Natrium-Addukt bei m/z 676 zu sehen. Die Auswertung der Elementaranalyse ergibt, dass neben der Anwesenheit von Natriumsulfat zusätzlich noch Kristallwasser vorhanden ist ($C_{28}H_{34}N_4O_{11}V \cdot 0.1 Na_2SO_4 \cdot 0.5 H_2O$).

Im FAB-Massenspektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Leucinethylester)amid ist ein Molekülkation-Peak bei m/z 682 vorhanden. Neben dem Molekülpeak ist hier wiederum jeweils noch das Natrium-Addukt zu beobachten. Die Auswertung der Elementaranalyse ergibt einen Komplex der Zusammensetzung VOL_2 mit jeweils geringem Anteil an Natriumsulfat. Die IR-Spektren der Komplexe sind wie im Falle der Liganden nahezu identisch und weisen Valenzschwingungen $\nu(V=O)$ bei 974 cm^{-1} (*Iso*-Leucinderivat) und 976 cm^{-1} (Leucinderivat) auf, die der Erwartung für Komplexe mit der Zusammensetzung VOL_2 entsprechen. Eine Verbreiterung des Signals bei 1740 cm^{-1} und zusätzliche Signale im Bereich von $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ entsprechen der antisymmetrischen Valenzschwingung der koordinierten Carboxylatfunktion. Die aus den anisotropen EPR-Spektren erhaltenen Hyperfeinkopplungskonstanten betragen $A_{\perp} = 61 \cdot 10^{-4}\text{ cm}^{-1}$ und $A_{\parallel} = 166 \cdot 10^{-4}\text{ cm}^{-1}$. Der Vergleich mit der theoretisch berechneten Hyperfeinkopplungskonstanten für einen $(NO)_2$ -Donorsatz ($A_{\parallel} = 166 \cdot 10^{-4}\text{ cm}^{-1}$) zeigt eine gute Übereinstimmung innerhalb der experimentellen Fehlergrenzen.

4.4.2 Thermoanalyse

Die Thermoanalyse im Temperaturbereich von 20 °C bis 1400 °C zeigt eine erste Massenabnahme von ca 2% oberhalb von 150 °C, die auf Verlust von Kristallwasser deutet. Oberhalb von 230 °C setzt die Zersetzung des Moleküls durch Freisetzen von Kohlenstoffdioxid ein. Darauf folgt eine stetige Massenänderung, so dass bei einer Temperatur von 500 °C nur noch knapp 40 % der ursprünglichen Masse vorliegen. Am Ende des Temperaturprogramms liegt der Komplex vollständig zersetzt in Form des Vanadiumoxids (V_2O_4) vor.

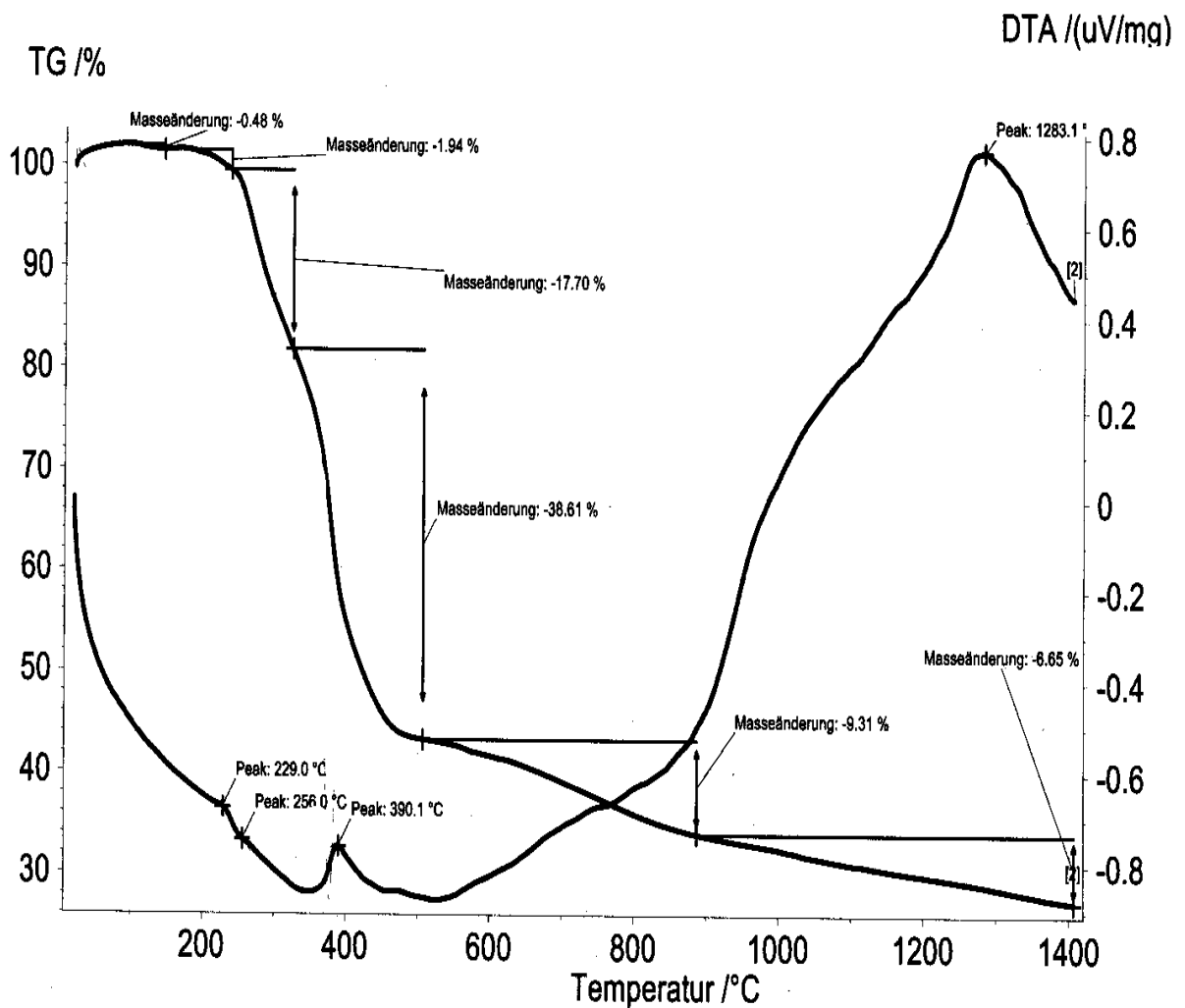
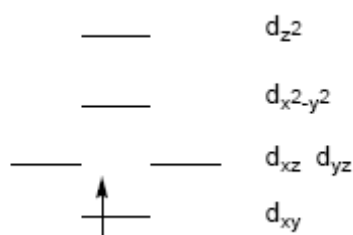


Abbildung 54: Ergebnisse der Thermoanalyse/Thermogravimetrie für den Komplex mit 2-Carbomethoxy pyridin-5-(L-Leucinmethylester)amid.

4.4.3 UV-VIS-Spektroskopie

Das Bestrahlen von Proben mit elektromagnetischer Strahlung im ultravioletten (200-380 nm) beziehungsweise im sichtbaren Bereich (380-800 nm) kann zu Elektronenübergängen führen. Im Falle einer Absorption wird der einfallenden Strahlung Energie entzogen. Die UV-Vis-Spektren anorganischer Komplexe entstehen durch d-d-Übergänge am Zentralatom und/oder durch Charge-Transfer (Elektronen-Donator-Akzeptor-Komplexe), üblicherweise vom Liganden zum Metall (LMCT). Letztere sind um den Faktor 10 bis 100 intensitätsstärker als die Paritätsverbotenen d-d Übergänge. Aus der Lage und der Intensität der Absorptionsbanden kann in Übergangsmetallkomplexen auf die Umgebung des Zentralatoms geschlossen werden. Die Absorptionsmaxima und damit die Farbe des Komplexes hängen unter anderem von der Position der Liganden in der spektrochemischen Reihe ab.

In den UV-Vis-Spektren von Vanadylkomplexen findet man gewöhnlich drei bis vier schwache, breite Banden für d-d-Übergänge, die nach ihrer Lage als Bande IA und IB (~900 – 620 nm), Bande II (~690 – 530 nm) und Bande III (~480 – 330 nm) bezeichnet werden. Die Bande III verschwindet meistens in dort beginnenden Charge-Transfer-Übergängen. Bei Liganden mit π -Systemen treten weitere Charge-Transfer-Banden auf; diese liegen im Bereich von ~500 nm, so dass häufig schon die Bande II nicht oder nur teilweise als Schulter auftritt. Eine exakte Zuordnung der d-d-Übergänge kann nur erfolgen, wenn die Art der Liganden und die Symmetrie

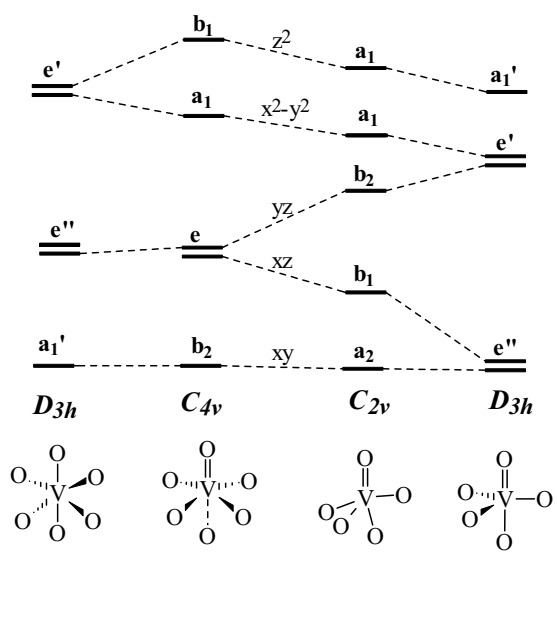


des Komplexes mit berücksichtigt werden. Betrachtet man nur das Vanadylion ohne die Ligandensphäre, so erhält man für das vorliegende d^1 -System nebenstehendes Energieniveauschema (Abbildung 55).

Abbildung 55: Energieniveauschema und Elektronenbelegung für ein Vanadylion (C_{4v} -Symmetrie)

Legt man dieses Modell zugrunde, so kann man die Bande III dem Übergang d_{xy} nach d_{z^2} , die Bande II dem Übergang d_{xy} nach $d_{x^2-y^2}$ und die Bande I dem Übergang d_{xy} nach d_{xz} und d_{yz} zuordnen. Durch die Wechselwirkung mit den Ligandenorbitalen kann die Entartung der d_{xz} und

d_{yz} -Orbitale aufgehoben werden, so dass eine Aufspaltung der Bande I in die Banden IA und IB vorliegt.⁴³



C_{4v}		C_{2v}
$d(xy) \rightarrow d(xz, yz)$	900-620 nm Bande IA/ Bande IB	$d(xy) \rightarrow d(xz) / d(xy) \rightarrow d(yz)$
$d(xy) \rightarrow d(x^2-y^2)$	690-530 nm Bande II	$d(xy) \rightarrow d(x^2-y^2)$
$d(xy) \rightarrow d(z^2)$	480-330 nm Bande III	$d(xy) \rightarrow d(z^2)$

Abbildung 56: Energieschema und Auflistung möglicher Übergänge im UV-Vis-Spektrum

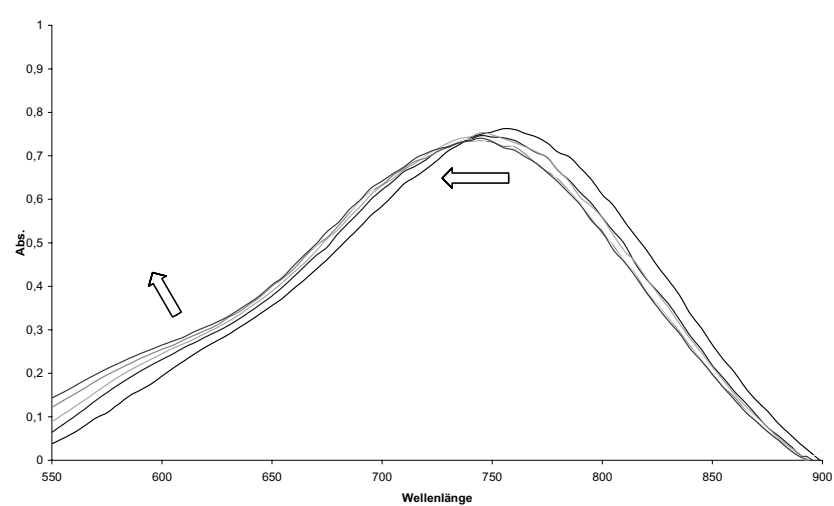


Abbildung 57: pH-abhängige UV-Vis-Spektrum von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-iso-Leucinmethylester)amid.

Die in Abbildung 57 dargestellten UV-Vis-Spektren zeigen eine Verschiebung der Absorptionsmaxima bei Änderung des pH-Wertes von pH 7 auf 3 für die Vanadium(IV)-Komplexe. Damit lässt sich auf eine pH-abhängige Koordination der Liganden an das Metallzentrum schließen, ein Tatbestand, der durch die nachfolgenden Untersuchungen (Kap. 4.5) näher analysiert wird.

4.5 Speziationsanalysen

Hierbei wird ein System bestehend aus Vanadylionen (VO^{2+}) und dem jeweiligen Liganden in unterschiedlichen Verhältnissen in Abhängigkeit vom pH-Wert betrachtet. Die Untersuchungen werden H^+ -potentiometrisch durchgeführt. Ausgewählte Liganden für die Speziationsanalysen sind Derivate der Picolinsäure mit Histidin (His), *iso*-Leucin (Ile) und Tryptophan (Trp), sowie das Dipeptid Gylcylserinethylester (GlySer) (Abbildung 58).

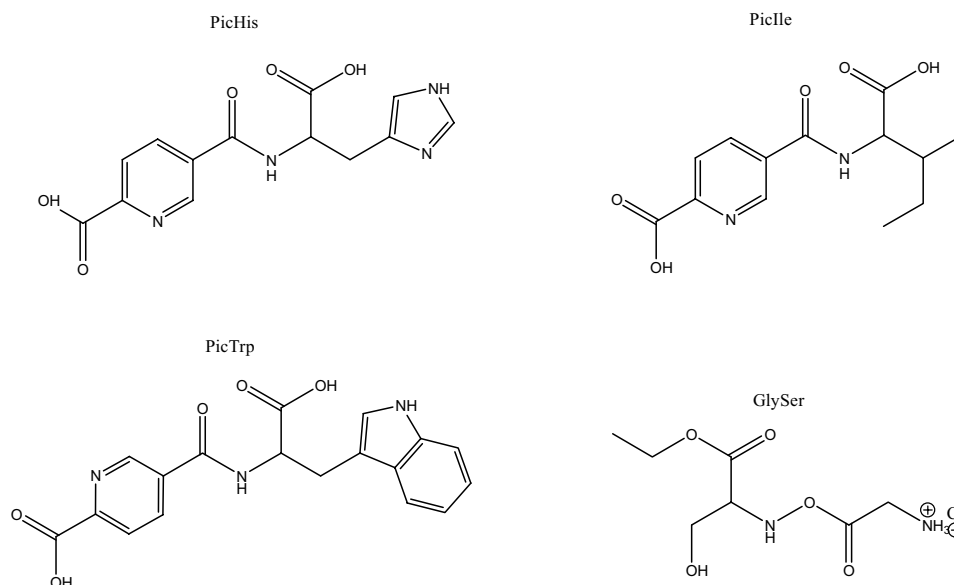


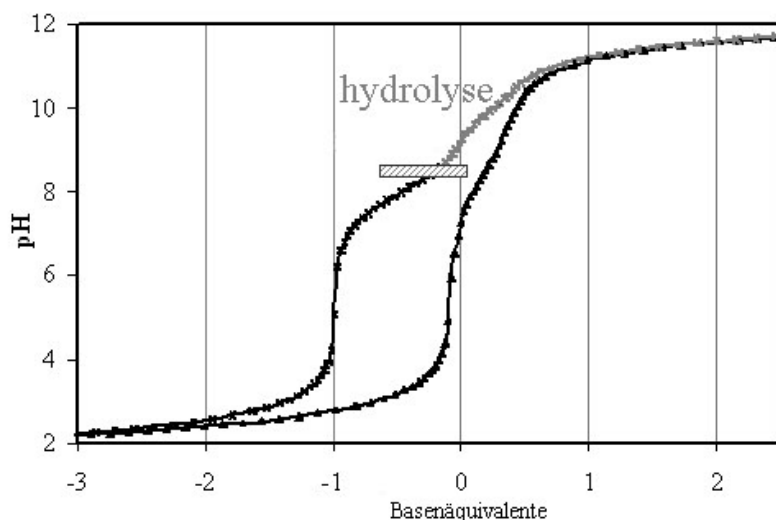
Abbildung 58: Ausgewählte Liganden für Speziationsanalysen.

Die beiden Liganden His und Trp weisen mit dem Imidazolyl- bzw. Benzimidazolylrest zusätzliche Koordinationsstellen auf, die zu einer Stabilisierung der Vanadiumkomplexe gegenüber pH-Schwankungen führen können.

Die potentiellen Koordinationsmöglichkeiten des Dipeptids sind auf wenige Gruppen beschränkt und beinhalten eine pH-labile Estergruppierung. Unabhängig vom pH-Wert sind die hier eingesetzten Liganden in der Lage, auf verschiedenem Wege an das Vanadiumzentrum mehr oder minder stark zu koordinieren.

Für die Untersuchung wird zunächst das Verhalten der *Liganden* pH-abhängig ermittelt, gefolgt von Untersuchungen der Systeme Ligand plus Vanadylion. Die Voruntersuchung mit den Liganden allein liefern einerseits Daten bezüglich der Protonierungs- und Deprotonierungskonstanten, und ermöglichen andererseits einen Einblick in das chemische Verhalten der Moleküle in Lösung in Abhängigkeit vom pH.

Die Labilität der Esterfunktion im basischen Bereich zeigt sich bei einer Titration des Dipeptidethylesters. Wie Abbildung 59 verdeutlicht, setzt der Verseifungsprozess bei Zugabe der Lauge oberhalb pH 8.5 ein. Die anschließende Rücktitration mit Salzsäure ergibt einen zusätzlichen pK_s -Wert für die Carboxylgruppe von ca. 2.6, verbunden mit einem Mehrverbrauch an Säure von einem Äquivalent (-1 Äquivalent Base).



Die pH-potentiometrische Untersuchung des Liganden verdeutlicht, dass während des Zeitraumes der Titration die Estergruppe des Liganden einer Verseifung von ~90% unterliegt. Aufgrund dessen wurden Werte oberhalb von pH 8.5 nicht für die weitere Kalkulation verwendet.

Abbildung 59: pH-potentiometrische Titrationskurve von GlySerOEt (x) und die Rücktitration mit HCl (Δ). ($c_{\text{GlySer}} = 3.8 \cdot 10^{-3}$ M) Negative Basenäquivalente reflektieren die Zugabe der Säureäquivalente.

Wegen zusätzlicher Löslichkeitsprobleme des Liganden mit Tryptophan insbesondere im sauren Bereich wurde ausgehend vom alkalischen Bereich (pH 8) in diesem Falle mit Säure titriert.

In Tabelle 7 sind die ermittelten Protonierungs- und Stabilitätskonstanten β der Liganden und Komplexe, die pK_s -Werte der Liganden, sowie die Zusammensetzung der Komplexe mit Vergleichswerten für das System $\text{VO}^{2+}/5$ -(Methoxycarbonyl)picolinsäure³⁰ (Pic-5OMe) zusammengestellt. Im Vergleich zu Pic-5OMe zeigen die Tryptophan-, *iso*-Leucin- und Histidinderivate zusätzliche pK_s -Werte, die sich auf die funktionellen Gruppen der Seitenketten beziehen. Im Falle des Dipeptids bezieht sich der pK_s auf die Deprotonierung der terminalen Ammoniumgruppe. Die pK_s -Werte der Carboxylgruppen in den Liganden sind ähnlich. Das chemische Reaktionsverhalten der Verbindungen kann aufgrund des Einflusses der Seitenketten nicht schematisiert werden, sondern muss für das jeweilige Molekül individuell betrachtet werden. Hierzu folgen Analysen ausgewählter Systeme.

Tabelle 7: Protonierungskonstanten $\log\beta_{HL}$ und Säurekonstanten pK_s der Liganden, sowie Protonierungskonstanten $\log\beta_{MLH}$ und Komplexbildungskonstanten $\log K$ der VO^{2+} -Ligand Systeme (T = 25 °C; I = 0.20 mol/l KCl)^a. Für die Liganden, s. Abbildung 58.

	PicHis	PicIle	PicTrp	GlySer	Pic-5OMe
$\log\beta$ [HL]	6.98(0.01)	3.90(0.01)	3.89(0.01)	7.80(0.02)	3.35 ^b
$\log\beta$ [H ₂ L]	10.65(0.01)	6.89(0.01)	6.75(0.01)		
$\log\beta$ [H ₃ L]	12.93(0.02)				
pK_{s1}	2.43	2.99	2.86	7.80	3.35 ^b
pK_{s2}	3.52	3.90	3.89		
pK_{s3}	6.98				
$\log\beta$ [VOLH ₂]	15.14(0.09)				
$\log\beta$ [VOLH]	12.52(0.07)	9.17(0.03)	9.3(0.02)		
$\log\beta$ [VOL]	7.77(0.07)	6.39(0.02)	5.31(0.11)	6.86(0.12)	5.16 ^b
$\log\beta$ [VOLH ₁]	0.6(0.02)	1.35(0.02)	-0.12(0.06)		0.38 ^b
$\log\beta$ [VOLH ₂]					-6.8 ^b
$\log\beta$ [VOL ₂ H]		15.27(0.06)	13.57(0.09)		
$\log\beta$ [VOL ₂]					9.52 ^b
$\log\beta$ [(VO) ₂ L ₂ H ₂]					3.78 ^b
$\log K$ (VOLH ₂ /VOLH)	2.62				
$\log K$ (VOLH/VOL)	4.75	2.78	3.99		
$\log K$ (VOL/VOLH ₁)	7.17	5.04	5.45		4.78
Log K (VOLH ₁ /VOLH ₂)					7.18
Anzahl der Datenpunkte	278	257	87	95	
pH-Wertbereich	2.0-8.0	2.0-7.8	8.0-3.5	2.0-8.0	
Fittingparameter (mL) ^c	$9.92 \cdot 10^{-3}$	$9.14 \cdot 10^{-3}$	$6.65 \cdot 10^{-3}$	$5.0 \cdot 10^{-3}$	

^a Standardabweichung in Klammern wurden angegeben, wenn Werte gerundet sind.

^b Referenz³⁰

^c Standardabweichung zwischen der berechneten und experimentell ermittelten Titrationskurve in mL bezüglich des Titranden.

4.5.1 (De)Protonierungsformen der 5-(L-Histidin)amid-picolinsäure

Die Speziationsanalyse des Liganden 5-(L-Histidin)amid-picolinsäure (PicHis) zeigt bei der Titration im pH-Bereich von 2 – 11 folgenden Protonierungsverlauf (Abbildung 60).

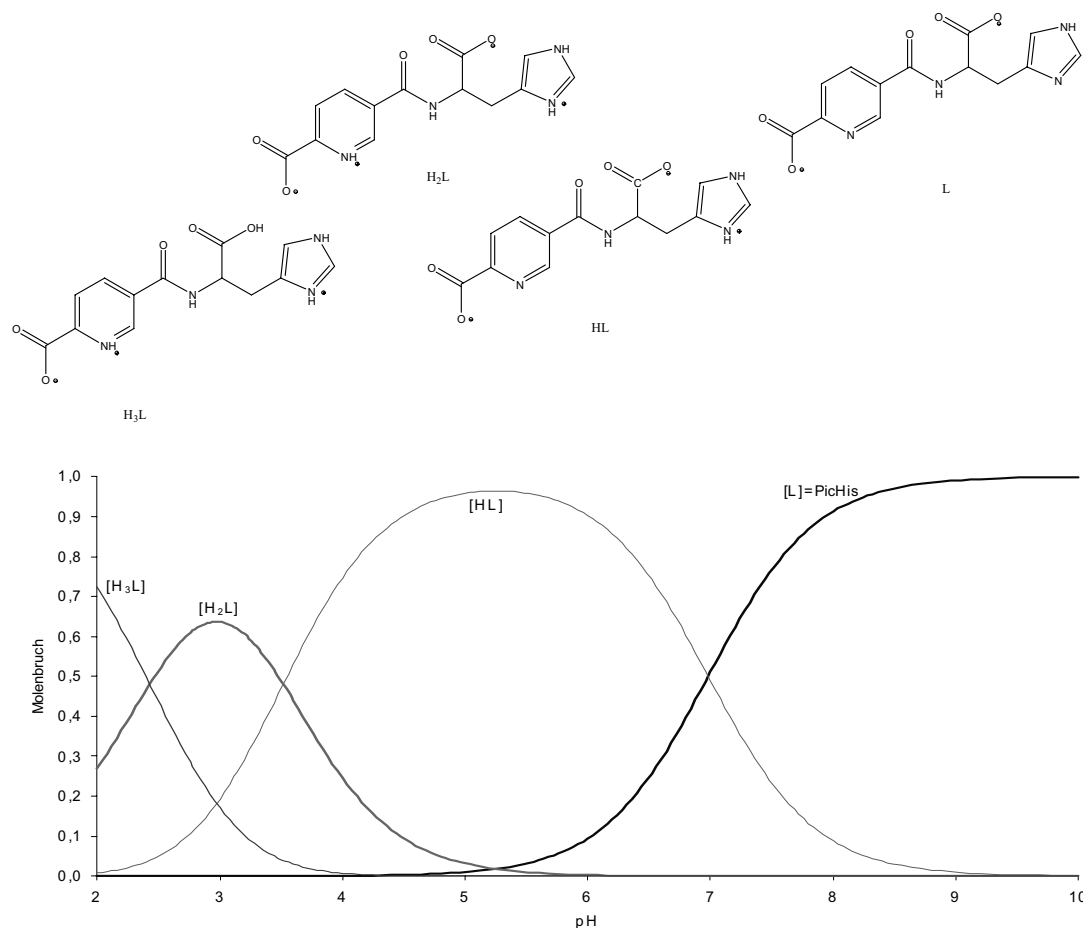


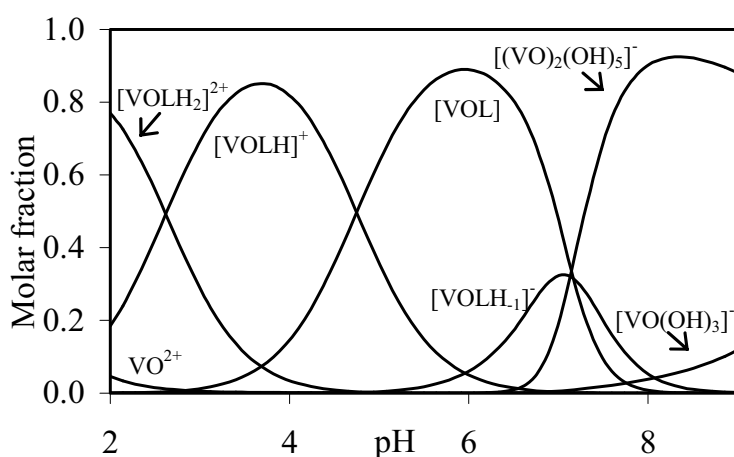
Abbildung 60: Speziationsanalyse von 5-(L-Histidin)amid-picolinsäure.

Beginnend im niedrigen pH-Bereich liegt der Ligand dreifach protoniert vor. Mit steigendem pH-Wert erfolgt die Dissoziation eines Protons ab $\text{pH} \sim 2.6$, charakteristisch für die terminale Carboxylgruppe der Aminosäure. Ähnliche Werte erhält man für die Liganden Pic-Ile (2.99) und Pic-Trp (2.86); Tabelle 7. Diese Form ist ausschließlich bei pH-Wert um 3 vertreten und wird durch die zweifach deprotonierte Hauptspezies [HL] im pH-Bereich 4 – 7 abgelöst. Der zweite $\text{p}K_s$ -Wert, $\text{p}K_2 = 3.59$, entspricht dem $\text{p}K_1 = 3.35$ der Vergleichsubstanz Pic-5OMe, und kann der Deprotonierung am Pyridinring der partiell geschützten Pyridin-2,5-dicarbonsäure zugeordnet werden. Oberhalb pH 7 kommt es zur vollständigen Deprotonierung des Liganden, d.h. hier wird auch ein Stickstoff des Imidazolyls deprotoniert; der $\text{p}K_3$ Wert beträgt 6.98.

4.5.2 Speziationsanalyse der binären Systeme

Im Vergleich zum System Pic-5OMe plus VO^{2+} , in dem über einen weiten pH-Bereich ein *Bis*-Chelat-Komplex vorliegt, zeigen die hier untersuchten Komplexe mit Aminosäuremodifizierung des Picolinatrestes in der 5-Position eine weitaus ausgeprägteres und vielschichtigeres Verhalten über den untersuchten pH-Bereich. In Abbildung 61 ist die graphische Auswertung der Speziationsanalyse des Systems PicHis plus VO^{2+} dargestellt. Aufgetragen ist der Molenbruch der jeweiligen VO^{2+} -Spezies als Funktion des pH-Wertes.

Bereits bei niedrigen pH-Werten (pH \sim 2) kommt es zu Ausbildung eines Komplexes der Zusammensetzung $[\text{VOLH}_2]^{2+}$. Bevorzugt wird über einen weiten pH-Bereich die Bildung der Monoligand-Spezies. Im Bereich von pH 3 – 5 dominiert die Verbindung $[\text{VOLH}]^+$. Mit



steigendem pH-Werten werden auch die Spezies $[\text{VOL}]$ und $[\text{VOLH}_1]^-$ beobachtet. Die Bezeichnung H_1 bezieht sich auf einen deprotonierten Aqualiganden. Ab pH \sim 7 beginnt allmählich die Zersetzung des Komplexes unter vermehrter Bildung der ein- und mehrkernigen Vanadate(IV).

Abbildung 61: Speziationsanalyse des Systems VO^{2+} -PicHis; ($c(\text{ligand}) = 4 \text{ mM}$, $c\text{VO}^{2+} = 1 \text{ mM}$).

Die Speziationsanalyse des Systems VO^{2+} -Glycylserinethylester (Abbildung 62) zeigt eine sehr einfache Zusammensetzung zwischen dem Liganden und dem Vanadylzentrum. Bis zu einem pH-Wert von 3 liegt das Metallion hauptsächlich unkomplexiert vor. Ein signifikanter Anteil des Komplexes liegt erst oberhalb von pH 4 vor. Die geringe Stabilisierung des VO^{2+} durch

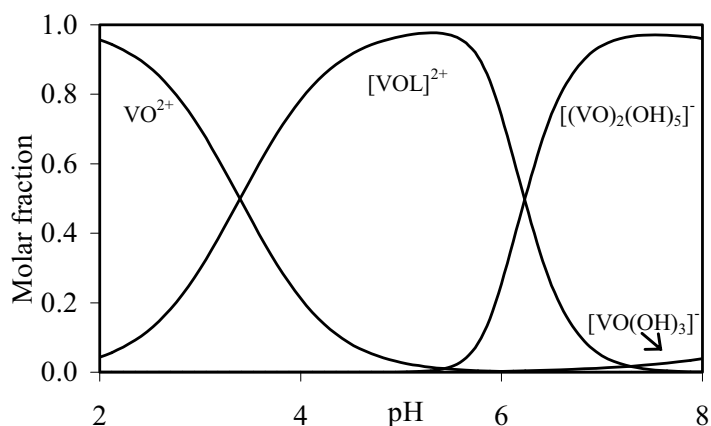


Abbildung 62: Speziationsanalyse des VO^{2+} -GlySer Systems; ($c(\text{ligand}) = 4 \text{ mM}$, $c\text{VO}^{2+} = 1 \text{ mM}$).

GlySer(OEt) führt bereits ab pH 5 zur Zersetzung des Komplexes.

Ein Vergleich der Speziationsanalyse des Systems $\text{VO}^{2+}/\text{PicHis}$ mit dem Systemen $\text{VO}^{2+}/\text{Pic-Trp}$ und $\text{VO}^{2+}/\text{Pic-Ile}$ zeigt große Unterschiede in der Zusammensetzung der Komplexe. Im Falle der Tryptophan- und *iso*-Leucin-Derivate (Abbildung 63) ähneln die Spezies über einen weiten pH-Bereich denen, die VO^{2+} mit der einfach methylgeschütztem Pyridin-2,5-dicarbonsäure Pic-5OMe bildet. Im System $\text{VO}^{2+}/\text{Pic-5OMe}$ kommt es aufgrund der Koordination des Carboxylatsauerstoffes in 2-Position und des Pyridinstickstoffes, sowie des Fehlens weiterer koordinierenden funktioneller Gruppen, zu Bildung eines *Bis*-Chelat-Komplexes.

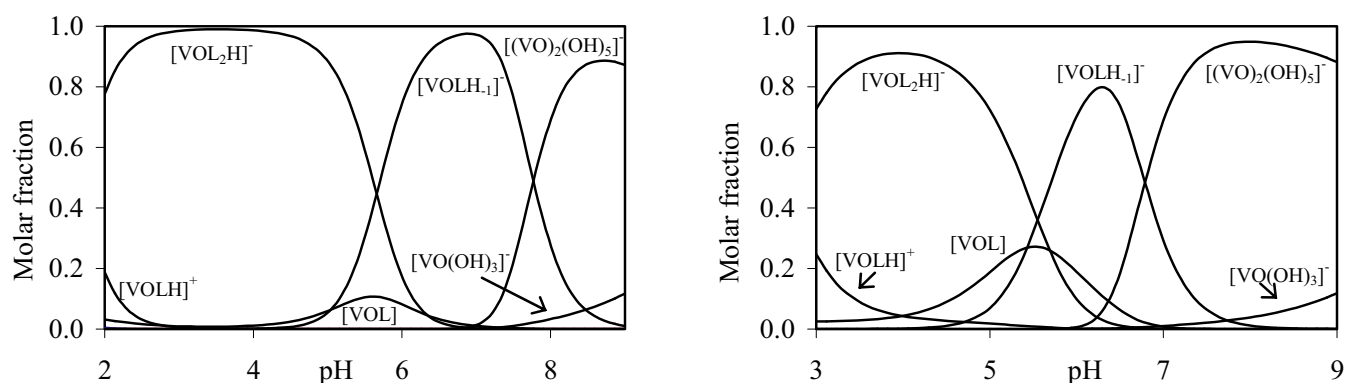


Abbildung 63: Speziationsanalyse der Systeme $\text{VO}^{2+}/\text{PicIle}$ (links); und $\text{VO}^{2+}/\text{PicTrp}$ (rechts); ($c(\text{ligand}) = 4 \text{ mM}$, $c\text{VO}^{2+} = 1 \text{ mM}$).

Auch mit Pic-Leu und Pic-Ile werden über einem weiten pH-Bereich beginnend bei pH $\sim 2 - 5$ *Bis*(Ligand)-Komplexe $[\text{VOL}_2\text{H}]^+$ beobachtet. Diese Art der Stabilisierung sorgt einerseits für einen hohen Anteil des *Bis*-Chelat-Komplexes im stark sauren Milieu, und führt andererseits zu einer rapiden Abnahme an unkomplexiertem VO^{2+} - im Gegensatz zum System $\text{VO}^{2+}/\text{GlySer(OEt)}$ (Abbildung 62). Mit zunehmendem pH-Wert steigt der Anteil des *Mono* (Liganden)-Komplexes mit deprotoniertem Aqualiganden, $[\text{VOLH}_1]$, dessen Dominanz um den Neutralpunkt im basischen Bereich ab pH ~ 9 durch die Mono- und Divanadate(IV) abgelöst wird.

Wichtig im Kontext des insulinmimetischen Potenzials der Komplexe ist hier die Speziation im physiologischen Bereich, d.h. um den pH 7. Während im Tryptophan-System Komplex und Divanadat im Verhältnis 1:1 vorliegen, kommt es im *Isoleucin*-System erst oberhalb von pH 7.5 zu einer signifikanten Bildung des Divanadates. Ausschlaggebend ist hier die Spezies $[\text{VOLH}_1]$ mit einem Anteil von über 95%.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Beginn der Hydrolyse des Vanadyliions $[\text{VO}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+}$ zu Vanadaten(IV) sowohl durch die Eigenschaften der Liganden direkt beeinflusst wird als auch durch deren steigende Konzentration, und zwar im Sinne einer Verschiebung der Hydrolyse hin zu höheren pH-Werten. Die Speziationsanalyse zeigt im Falle des Histidinderivats (mit einer zusätzliche Koordinationstelle in der Seitenkette), dass ein *Mono*(Ligand)-Komplexe gebildet wird. Aus den Stabilitätskonstanten $\log K$ für die unterschiedlichen Protonierungsstufen des 1:1 Komplexes (Tabelle 7) lässt sich ableiten, dass in den $[\text{VOLH}_2]^{2+}$ und $[\text{VOLH}]^+$ Komplexen der Pyridinstickstoff und der 2-Carboxylatsauerstoff koordinieren, während der Imidazolstickstoff protoniert vorliegt. Der $\log K$ ($\text{VOLH}_2/\text{VOLH}$) ist ein Hinweis auf die Deprotonierung der terminalen Carboxylgruppe. Im Komplex $[\text{VOL}]$ (L = PicHis) liegt der Ligand vollständig deprotoniert vor, und sowohl die höhere Stabilität des Komplexes mit PicHis im Vergleich zu den Komplexen mit Pic-Trp, Pic-5OMe und Pic-Ile als auch die fehlende Bildung eines *Bis*(Ligand)-Komplexes weisen auf die Koordination von Pyridin-N, Carboxylat-O und Imidazol-N hin. Diese dreizählige Koordination des Liganden bedingt offenbar die besondere Stabilität der Komplexe mit PicHis.

4.5.3 Speziationsanalysen ternärer Systeme

4.5.3.1 Speziationsanalysen mit niedermolekularen Blutkomponenten

Bei der Beförderung der Vanadiumkomplexe im gepufferten Blutkreislauf sind diese einem pH-Wert von ~ 7.35 sowie unterschiedlichen Blutplasma-Komponenten mit Ligandenfunktion ausgesetzt. Die wichtigsten niedermolekularen Liganden sind hierbei Citrat (0.1 mM), Lactat (1.5 mM), und Phosphat (1.1 mM).⁴⁴ Diese Liganden stehen in Konkurrenz zum ursprünglichen Liganden. Für die Untersuchung wurden zunächst die Konzentration der Liganden im binären System von 1-4 mM variiert, und anschließend die Verhältnisse Metall (VO^{2+}) zu Ligand A (PicHis, PicIle) und Ligand B (Citrat, Lactat, Phosphat) mit 1:1:1, 1:2:1, 1:1:2 und 1:2:2 im pH-Bereich 2 – 11 untersucht. Die Speziationsanalyse der binären Systeme (Abbildung 64) dienten hierbei als Grundlage für die Berechnung der ternären Systeme.

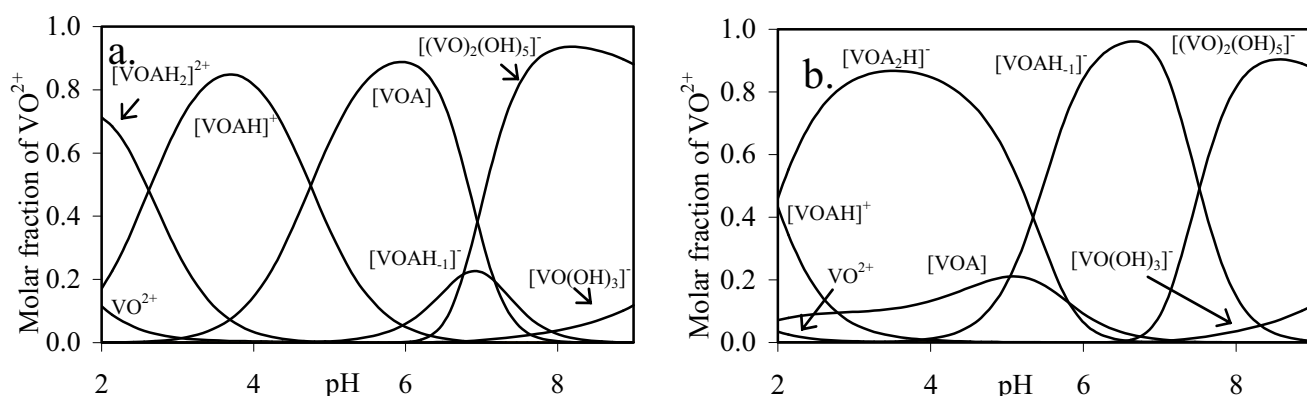


Abbildung 64: Speziationsanalyse der Systeme VO^{2+} -PicHis (a) und VO^{2+} -PicIle (b). $c(\text{ligand}) = 4 \text{ mM}$, $c\text{VO}^{2+} = 1 \text{ mM}$.

Die aus diesen Untersuchungen zugänglichen pK_1 -Werte der Liganden A liegen bei ca. 2.4 – 3 und entsprechen der Carbonsäurefunktion des Aminosäurerestes. Die pK_2 -Werte bei ca. 3.5 – 4 sind ähnlich wie bei Pic-5OMe (5-(methoxycarbonyl)picolinsäure) im Vergleich zur Picolinsäure selbst ($pK_{\text{N-pyr}} 5.19$) – aufgrund des Substitutionseffektes – herabgesetzt; sie entsprechen der Dissoziation des Protons am Pyridinstickstoff. Von Bedeutung ist in diesen Systemen die Bildung des *Bis*-Chelat-Komplexes im Falle von PicIle gegenüber dem Monochelat-Komplexes im Falle von PicHis.

Die experimentell ermittelten Dissoziationskonstanten der Liganden B (Citrat, Lactat, Phosphat) weisen eine gute Übereinstimmung mit den unter gleichen Reaktionsbedingungen gefundenen Konstanten in der Literatur auf.⁴⁵ Die in den ternären Systemen auftretenden Vanadiumkomplexe

sowie die berechneten Protonierungskonstanten (pK -Werte) und Stabilitätskonstanten ($\log\beta$) sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 8: Stabilitätskonstanten ($\log\beta$ -Werte) und pK -Werte der ternärer Systeme VO^{2+} -A-B ($T = 25\text{ }^\circ\text{C}$; Ionenstärke $I = 0.20\text{ mol/l}$ (KCl))^a

	Citrat	Lactat	Phosphat
A = PicHis			
$\log\beta$ [VOABH ₃]	25.85(0.05)	–	34.0(0.1)
$\log\beta$ [VOABH ₂]	22.86(0.03)	19.29(0.09)	–
$\log\beta$ [VOABH]	18.85(0.05)	16.12(0.05)	–
$\log\beta$ [VOAB]	13.83(0.06)	11.08(0.07)	–
$\log\beta$ [VOABH ₁]	7.15(0.04)	4.61(0.06)	–
Fitting (mL) ^b	$3.28 \cdot 10^{-3}$	$3.94 \cdot 10^{-3}$	$4.92 \cdot 10^{-3}$
Anzahl der Daten	281	234	532
pH-Bereich	2-10	2-10	2-6.5
pK (VOABH ₃)	2.99	–	–
pK (VOABH ₂)	4.01	3.17	–
pK (VOABH)	5.02	5.04	–
pK (VOAB)	6.68	6.47	–
A = PicIle			
$\log\beta$ [VOAB]	12.67(0.05)	–	–
$\log\beta$ [VOABH ₁]	7.27(0.09)	5.63(0.08)	–
Fitting (mL) ^b	$6.30 \cdot 10^{-3}$	$7.96 \cdot 10^{-3}$	–
Anzahl der Daten	211	173	–
pH-Bereich	2-8.5	2-7.5	–
pK (VOAB)	5.40	–	–

^a Standardabweichung in Klammern wurden angegeben, wenn Werte gerundet sind.

^b Standardabweichung zwischen der berechneten und experimentell ermittelten Titrationskurve in mL bezüglich des Titranden.

Die Zusammensetzung der ternären Komplexe entspricht, für B = Citrat und Lactat, typischerweise der Formulierung $[VO^{2+}ABH_x]$. Im Falle des Ile-Derivates bleibt die Bildung des ternären Systems mit Phosphat aus. Im Falle von PicHis kommt es im sauren Milieu zur Bildung eines VO^{2+} -PicHis-Phosphat Komplexes ($[VOABH_3]$). Eine in Abbildung 65 dargestellte Simulation verdeutlicht die Beeinflussung der Bildung der Komplexe in Gegenwart unterschiedlicher Picolinato-Liganden (PicIle, PicHis und Pic-5OMe). Interessant hierbei ist die Dominanz der Komplexe mit PicIle unter physiologischen Bedingungen, d. h. einem pH von ca. 7.

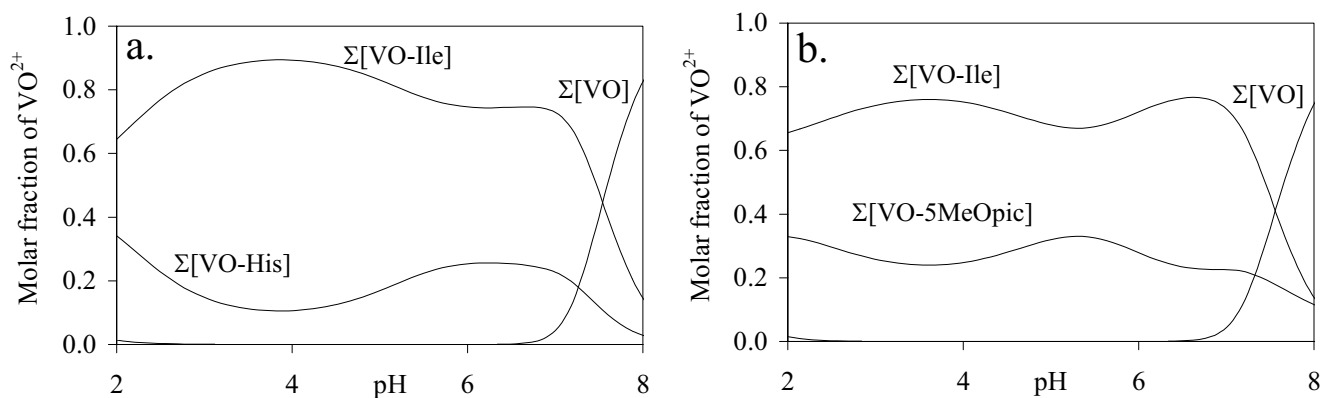


Abbildung 65: Speziationssummen einer Simulation der Systeme VO^{2+} -PicIle-PicHis (a), und VO^{2+} - PicIle-Pic-5OMe (b); $c_{\text{VO}^{2+}} = 1 \text{ mM}$; VO^{2+} :PicIle:Ligand (PicHis, Pic-5OMe) = 1:2:2.

In einem System mit PicHis als Ligand (AH_3) und Citrat (BH_3) als Coligand (siehe Abbildung 66) wird im saurem Milieu ($\text{pH} \sim 2$) die Bildung der binären Spezies mit PicHis $[\text{VO-A}]$ bevorzugt. Die Konzentration der nicht gebundenen Vanadyl-Ionen wird dadurch stark minimiert bzw. eine Stabilisierung des Komplexes im niedrigem pH-Wert erzielt. Mit steigendem pH-Wert sind hauptsächlich die ternären Komplexe $[\text{VO-A-B}]$ stabil. Oberhalb von $\text{pH} 8$ erfolgt langsam die Zersetzung der Komplexe unter Bildung von Vanadaten(IV) der Zusammensetzung $[\text{VOH}_3]$ und $[(\text{VO})_2\text{H}_5]$. Die Notierung H_x bezieht sich auf die Deprotonierung z.B. von Aqualiganden ($\text{H}_2\text{O} - \text{H}^+ \rightarrow \text{OH}^-$), also z.B. $[\text{VO}(\text{H}_2\text{O})_5]^{2+} \rightarrow [\text{VO}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_3]^- (\equiv [\text{VOH}_3]) + 3\text{H}^+$.

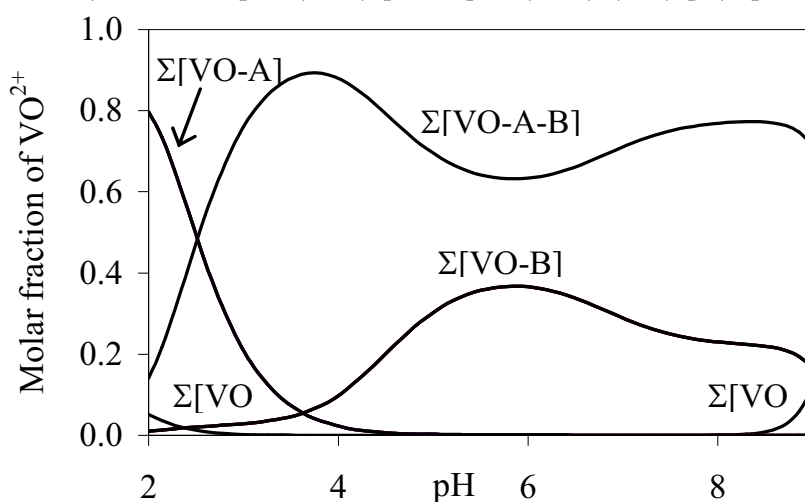


Abbildung 66: Speziationssummen im System VO^{2+} :PicHis:Citrat im Verhältnis 1:2:2, $c(\text{VO}^{2+}) = 1 \text{ mM}$.

Mit Lactat (BH) wird bei niedrigen pH-Werten die Bildung des binären Komplexes $[\text{VO-A}]$ neben dem ternären Komplexen $[\text{VO-A-B}]$ bevorzugt (Abbildung 67). Ab einem pH-Wert von ca. 2.5 dominieren ternäre Komplexe (VOABH , VOAB und VOAB_{-1}) über einen weiten pH-Bereich bis ca. $\text{pH} 8$. Bei höheren pH-Werten kommt es wieder zur Zersetzung der Komplexe unter Bildung der ein- und mehrkernigen Vanadate.

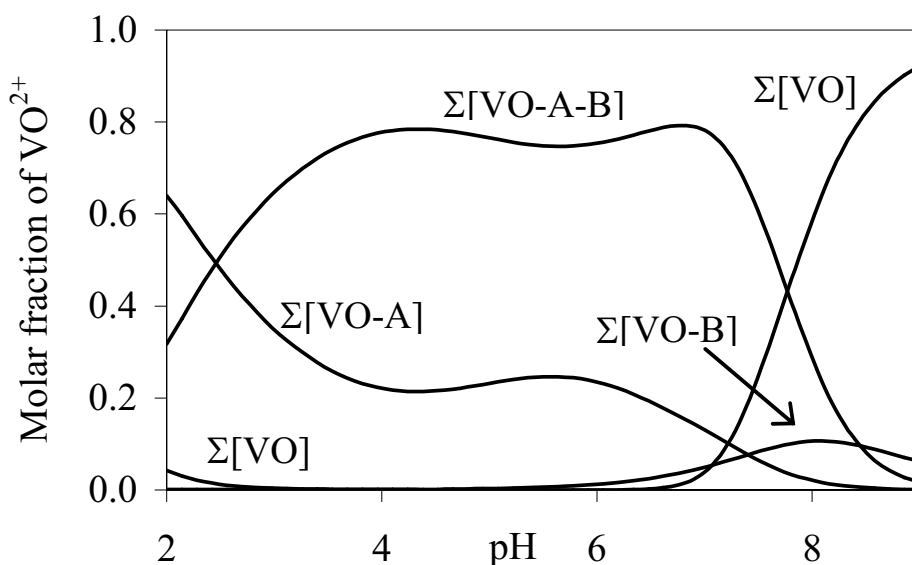


Abbildung 67: Speziationssummen im System VO^{2+} :PicHis:Lactat im Verhältnis 1:2:2, $c(\text{VO}^{2+}) = 1 \text{ mM}$.

Interessante Aspekte ergeben sich bei Betrachtung des Systems, bestehend aus VO^{2+} , dem Liganden PicHis (AH_3) und Phosphat (BH_3). Hierbei bleibt die Bildung der ternären Spezies $[\text{VO-A-B}]$ aus. Die Stabilisierung erfolgt nahezu vollständig über das Picolinsäure-Derivat AH_3 . Die Speziations-Analyse des Systems entspricht der des binären Systems $\text{VO}^{2+}/\text{PicHis}$. Damit spielt Phosphat eine untergeordnete Rolle beim aktiven Transport der Vanadiumkomplexe in der Blutbahn. Wie oben gezeigt, erfolgt mit Lactat die Bildung des ternären Komplexes mit einem Anteil ca. 60%; mit Citrat liegt der ternäre Komplex zu ca. 70% vor, siehe Abbildung 66 und 67. Im Gegensatz zum Phosphat spielen Lactat und Citrat somit eine wichtige Rolle im physiologischen Transport.

Die ternären Komplexe, die mit PicIle gebildet werden, weisen im Vergleich zu den zuvor besprochen Systemen wesentliche Unterschiede auf. Die Bildung der ternären Komplexe mit Citrat und Lactat erfolgt im Falle von PicIle erst bei höheren pH-Werten ($\text{pH} \sim 4$). Der Anteil binärer Komplexe mit den biogenen Liganden, $[\text{VO-B}]$, ist signifikant klein. Lag der Anteil von $[\text{VO-A}]$ im PicHis-Citrat-System bei pH 3 bei nur 20% (Abbildung 66), so steigt der Anteil an $[\text{VO-A}]$ im PicIle-Citrat-System auf über 90% an, siehe Abbildung 68. Ausgehend von den Untersuchungen im binären VO-PicIle-System (Abbildung 64), scheint die Dominanz des Chelat-Komplexes die Stabilisierung über den $[\text{VO-A}]$ -Komplex im sauren bis hin zu pH 4 zu ermöglichen.

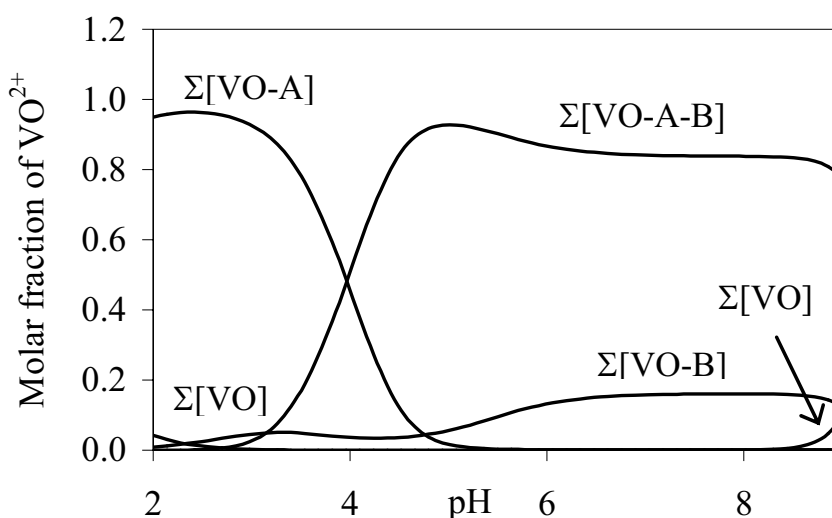


Abbildung 68: Speziationssummen im System VO^{2+} :Piclle:Citrat im Verhältnis 1:2:2, $c(\text{VO}^{2+}) = 1 \text{ mM}$.

Steigt der pH-Wert über 4, so werden die binären [VO-A]-Komplexe zunehmend von den ternären [VO-A-B]-Komplexen abgelöst. Diese dominieren im pH-Bereich von 4 – 9 und sorgen damit für eine Stabilisierung des Vanadylrestes (gegenüber Ausfällung als Hydroxid) weit über dem physiologischen Bereich hinaus. Die Speziationsanalyse des Lactat-Systems ist mit der des Citrat-Systems vergleichbar. Im Lactat-System tritt der Übergang vom binären zum ternären Komplex bei leicht höheren pH-Werten auf (Abbildung 69).

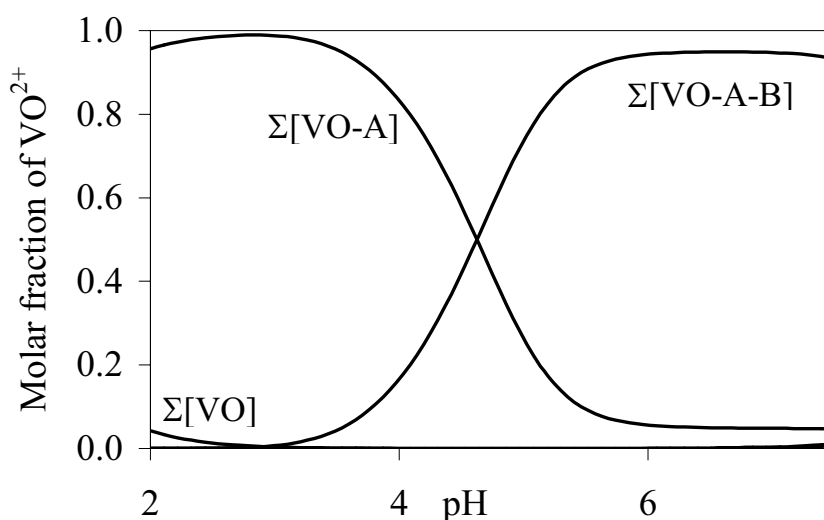


Abbildung 69: Speziationssummen im System VO^{2+} :Piclle:Lactat im Verhältnis 1:2:2, $c(\text{VO}^{2+}) = 1 \text{ mM}$.

Die Resultate der Speziationsanalysen zeigen, dass in Gegenwart von Citrat beide Picolinsäurederivate ternäre Komplexe ausbilden. Befand sich der Anteil des binären Komplexes [VO-B] mit B = Citrat im PicHis-System noch bei ca. 40% (pH 6), so weist die binäre [VO-B] Spezies bei Anwesenheit von Piclle bei diesem pH-Wert eine signifikante Abnahme auf nur

noch 10% auf. Mit B = Lactat kann Piclle sogar die Bildung des Komplexes [VO-B] (im Gegensatz zu PicHis) gänzlich unterdrücken, so dass ab einem pH-Wert von 5 nur noch ternäre Komplexe eine Rolle spielen. Die Bildung der ternären Komplexe [VO-A-B] sowohl für A = PicHis als auch für A = Piclle in Anwesenheit kleiner biogener Liganden B (Citrat, Lactat) zeigt die Bedeutung von Gleichgewichts- und Austauschprozesse beim Transport von Vanadiumkomplexen im menschlichen Organismus.

4.5.3.2 Speziationsanalysen mit hochmolekularen Blutkomponenten

Medikamente werden in der Regel nicht an ihrem Wirkungsort appliziert, sondern müssen eine Reihe von Hindernissen im menschlichen Organismus überwinden. Arzneistoffe müssen, damit sie an ihren spezifischen Platz gelangen, entweder passiv mittels Diffusion oder unter Beteiligung spezieller Carrier-Proteine aktiv transportiert werden. Nach der Speziationsanalyse mit biogenen Liganden (low-molecular-mass LMM), beschäftigt sich dieser Teil der Arbeit nun mit dem Wechselspiel der Komplexe mit biogenen Polymeren (high-molecular-mass HMM) und ihrer Bedeutung als aktive Transporterproteine. Menschliches Albumin (human serum albumin - HSA) und Transferrin (Tf), Abbildung 70, sind dafür bekannt, eine Reihe von Verbindungen darunter Metallionen, Metall-Komplexe und organische Moleküle transportieren zu können.

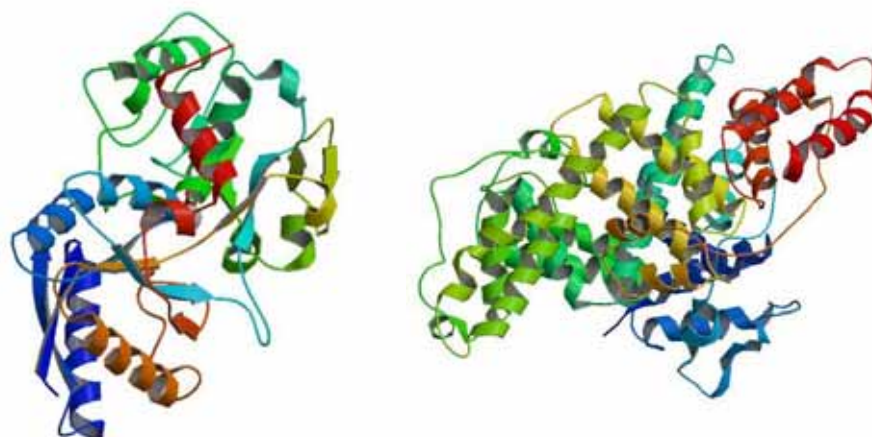


Abbildung 70: Struktur von apo-Transferrin (Tf, links) und humanem Serumalbumin (HSA, rechts)

Die Untersuchung, in wie weit die Insulin-mimetischen Komplexe mit den Proteinen interagieren, stellt eine wichtige Voraussetzung für eine Beurteilung der Wirkungseffizienz der Verbindungen dar. Die ermittelten Daten können für Modellrechnungen unter Berücksichtigung von VO^{2+} -HMM-LMM-Wechselwirkung im physiologischen Bereich genutzt werden. Die

Wechselwirkungen zwischen VO^{2+} und den Picolinatoliganden PicHis und PicIle wurden hierzu zunächst im binären System untersucht und die Stabilitätskonstanten bestimmt.

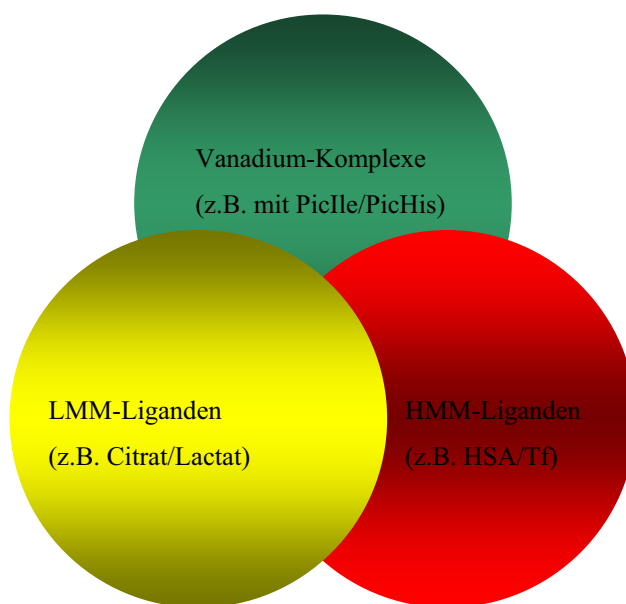


Abbildung 71: Schema zur Darstellung der in Wechselwirkung stehenden Systeme.

Das Zusammenspiel der binären Vanadium-Komplexe VO^{2+} -PicHis/PicIle mit LMM Liganden (Citrat, Lactat), das zur Bildung ternärer Komplexe führt, wurde im Abschnitt 4.5.3 verdeutlicht.

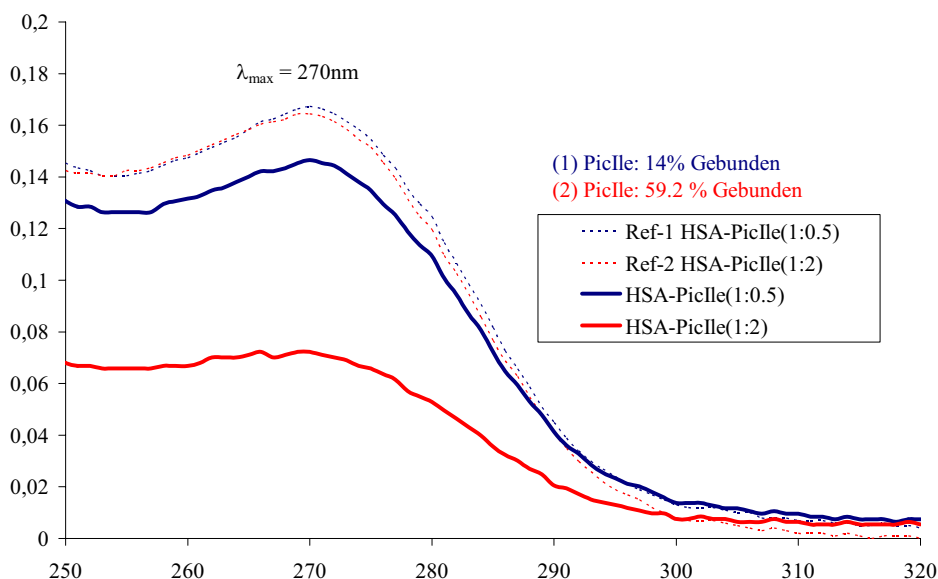


Abbildung 72: Bindungsanteil von PicIle an HSA bei unterschiedlichen Verhältnissen PicIle:HSA, bestimmt auf der Grundlage des Quenchens der Absorption bei 270 nm.

Bindungsverhältnisse und -stärken der Komplexe, die VO^{2+} mit den HMM Komponenten HSA und Tf bildet, sind aus der Literatur bekannt.⁴⁶ Für die Untersuchung der Wechselwirkung der Liganden PicHis and PicIle mit HSA und Tf wurden unterschiedliche Ligand:Protein-Verhältnisse gewählt

(HSA-PicIle, 1:0.5; 1:2 in Abbildung 72). Zum Vergleich wurde eine Versuchsreihe ohne Zusatz

HSA durchgeführt (Ref-HSA/PicIle). Nach einer Inkubationszeit von 3 h wurde die HMM vom LMM durch Ultrafiltration getrennt, und der Anteil des an das Protein gebundenen Liganden bestimmt. Ersichtlich ist, dass bei einem Verhältnis HSA:PicIle von 1:0.5 ca. 14% des Liganden an den Carrier gebunden sind, bei einem Verhältnis HSA:PicIle von 1:2 sogar ca. 60%.

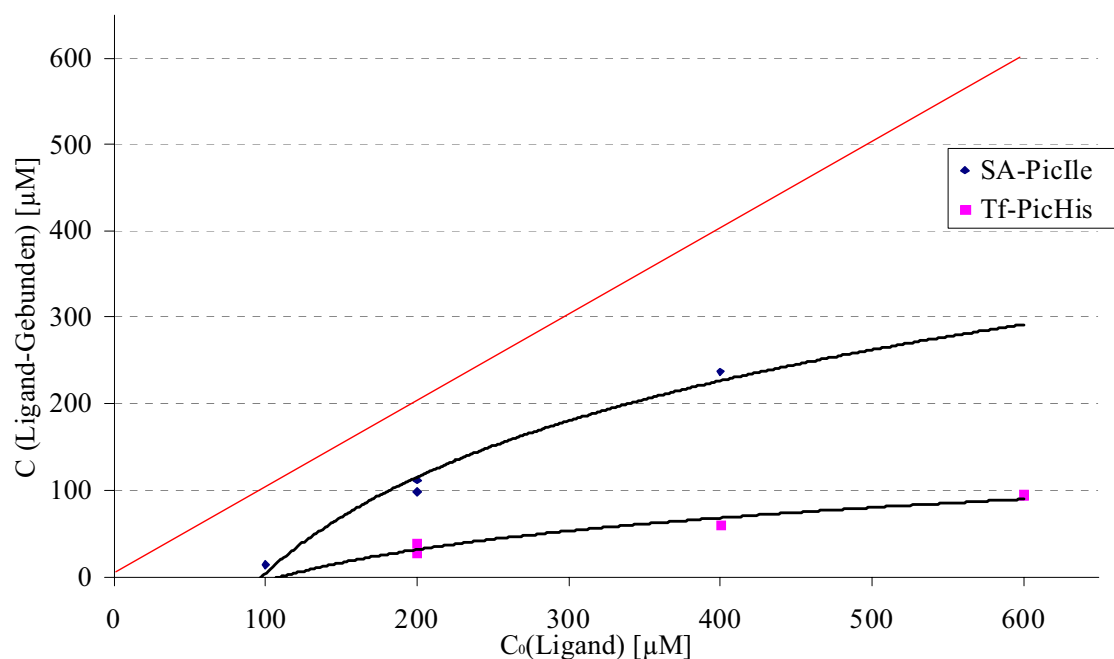


Abbildung 73: Wechselwirkung der Liganden PicHis bzw. PicIle mit HSA bzw. Tf (200 μmol).

Die Bindung zwischen den Liganden PicHis/PicIle und den HMM HSA/Tf ist im Vergleich zur Anfangskonzentration an Ligand ($c_{0\text{Ligand}}$) in Abbildung 73 dokumentiert. Transferrin scheint unter den gewählten Reaktionsbedingungen bei einer Aufnahme von 100 μmol PicHis gesättigt zu sein, im Gegensatz hierzu zeigt HSA eine zunehmende Aufnahmekapazität bei Erhöhung von $c(\text{PicIle})$.

Die ermittelten Stabilitätskonstanten betragen für die jeweiligen Systeme $\log K(\text{HSA-PicIle}) = 4.10(0.10)$ und $\log K(\text{Tf-PicHis}) = 3.02(0.03)$. In den Systemen PicHis + HSA und PicIle + Tf sind die Wechselwirkungen hingegen vernachlässigbar. HSA ist bekannt für eine hohe Affinität gegenüber unpolaren Liganden oder deprotonierten aromatischen Carboxylgruppen. Bei den hier durchgeführten Untersuchungen unter physiologischen Bedingungen sind die Carboxylgruppen der Liganden deprotoniert.

Im Falle von PicHis ist jedoch der Imidazol-Stickstoff des Histidinrestes teilweise noch protoniert, so dass eine im Vergleich zu PicIle nur geringe Wechselwirkung mit HSA auftritt. Bei einer Wechselwirkung mit Transferrin tritt eben dieser polare Histidinrest, der unter den Bedingungen zu ca. 28% protoniert vorliegt, in den Vordergrund. Tritt ein Ligand in Wechselwirkung mit der als „Site I“ charakterisierten Bindungsstelle des HSA, so kommt es zu einer Konformationsänderung des HSA und damit zu einem Quenchen der Emission des dort befindlichen Tryptophan-Restes. Bei der Wechselwirkung von PicIle mit HSA konnte nur eine sehr schwache Abnahme des Emissionsmaximums (~7% bei einem HSA:Ligandverhältnis von 1:2) spektrofluorimetrisch festgestellt werden, was darauf hindeutet, dass der Ligand an einer anderen Stelle des Proteins andockt (wahrscheinlich „Site II“ des HSA).

Durch diese Untersuchung konnte gezeigt werden, dass eine Wechselwirkung zwischen dem Liganden PicHis, PicIle und dem HMM-Anteil im Serum vorliegt. Diese Ligand-Protein-Wechselwirkungen wurden für die Berechnungen im den VO^{2+} -haltigen Systemen in Betracht gezogen.

Nach Ermittlung der Wechselwirkung in den binären Systemen VO^{2+} -PicHis/PicIle einerseits, und den binären Systemen Blutserumproteinen-PicHis/PicIle andererseits, wurde die Umsetzung der Komplexe unter semi-realistischen Bedingungen unter Zusatz von LMM- und HMM-Verbindungen in Konzentrationen, wie sie im Blutserum zu finden sind, durchgeführt. Nach Ultrafiltration, Aufschluss der HMM- und LMM-Fraktion, gefolgt von ICP-OES zur Bestimmung der Vanadiumkonzentration, konnte der Anteil des an die HMM-Fraktion gebundenen Vanadiums bestimmt werden (Abbildung 74). Die berechneten Werte, die unter Zugrundelegung der Interaktionen in den binären Systemen zum Gesamtmodell zusammengefügt wurden, zeigen eine gute Übereinstimmung mit den experimentell ermittelten Daten.

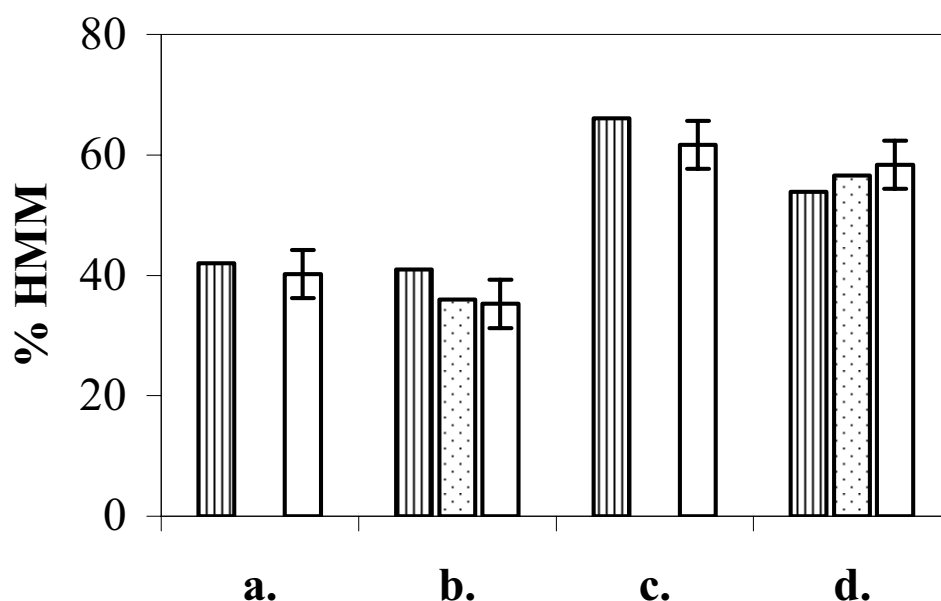


Abbildung 74: Verteilung des an die HMM-Fraktion gebundenen VO^{2+} in den ternären Systemen (VO^{2+} -HMM/LMM-PicHis/PicIle bei pH 7.4. Berechnete Daten ohne (Streifen) sowie mit Berücksichtigung der Protein-Ligand-Wechselwirkung (gepunktet) und experimentelle Daten (ohne Füllung). $c_{\text{VO}^{2+}} = 400 \mu\text{M}$, $c_{\text{PicHis}} = 800 \mu\text{M}$, $c_{\text{HSA}} = 200 \mu\text{M}$ (a), $c_{\text{VO}^{2+}} = 400 \mu\text{M}$, $c_{\text{PicIle}} = 800 \mu\text{M}$, $c_{\text{HSA}} = 200 \mu\text{M}$ (b), $c_{\text{VO}^{2+}} = 200 \mu\text{M}$, $c_{\text{PicHis}} = 400 \mu\text{M}$, $c_{\text{HSA}} = 630 \mu\text{M}$, $c_{\text{TF}} = 37 \mu\text{M}$, $c_{\text{citrat}} = 99 \mu\text{M}$, $c_{\text{lactat}} = 1.51 \text{ mM}$, $c_{\text{phosphat}} = 1.10 \text{ mM}$, $c_{\text{NaHCO}_3} = 0.025 \text{ M}$ (c), $c_{\text{VO}^{2+}} = 200 \mu\text{M}$, $c_{\text{PicIle}} = 400 \mu\text{M}$, $c_{\text{HSA}} = 630 \mu\text{M}$, $c_{\text{TF}} = 37 \mu\text{M}$, $c_{\text{citrat}} = 99 \mu\text{M}$, $c_{\text{lactat}} = 1.51 \text{ mM}$, $c_{\text{phosphat}} = 1.10 \text{ mM}$, $c_{\text{NaHCO}_3} = 0.025 \text{ M}$ (d).

Beim Versetzen einer $200 \mu\text{M}$ Lösung des Vanadium(IV)-Komplexes sind in beiden Systemen (d.h. mit den Liganden PicHis und PicIle) die VO^{2+} -Ionen sowohl an die HMM- als auch die LMM-Fraktion gebunden, siehe Abbildung 75. Die Gesamtmenge an VO^{2+} , das durch Transferrin gebunden wird, entspricht in etwa der an die Liganden PicHis bzw. PicIle gebunden Menge an VO^{2+} . Der Anteil der ternären Komplexe mit Citrat und Lactat ist bei beiden Systemen signifikant hoch, entspricht aber insgesamt nur ca. einem Drittel des an die HMM gebundenen VO^{2+} . Im System mit PicIle ist der Anteil des ternären Komplexes mit Lactat im Vergleich zum PicHis-System leicht erhöht, was darauf zurückzuführen ist, dass im VO^{2+} -PicHis-Lactat-System (Abbildung 67) der Anteil des ternären Komplexes unter physiologischen Bedingungen unterhalb von 80% liegt. Im VO^{2+} -PicIle-Lactat-System jedoch liegt der Komplex nahezu vollständig als ternäre Verbindung vor; dessen Anteil liegt über 95% und überwiegt somit im Vergleich zu dem *Bis*-Chelat-Komplex $\text{VO}(\text{PicIle})_2$ erheblich (Abbildung 69).

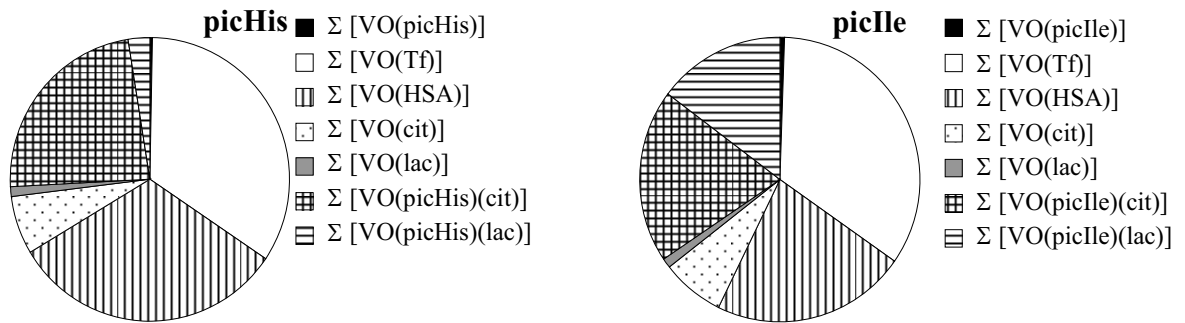


Abbildung 75: Berechnete VO^{2+} -Verteilung in einem System mit $c_{\text{VO}^{2+}} = 200 \mu\text{M}$, $c_{\text{ligand}} = 400 \mu\text{M}$, $c_{\text{citrat}} = 99 \mu\text{M}$, $c_{\text{lactat}} = 1.51 \text{ mM}$, $c_{\text{phosphat}} = 1.10 \text{ mM}$, $c_{\text{NaHCO}_3} = 0.025 \text{ M}$, $c_{\text{HSA}} = 630 \mu\text{M}$, $c_{\text{Tf}} = 37 \mu\text{M}$ im physiologischen pH-Bereich.

4.6 Charakterisierung der Komplexe mit Histidin-Picolinsäure-Derivaten

4.6.1 pH-abhängige EPR-Untersuchung der Komplexe mit 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Histidinmethylester)amid, PicHis(OMe)₂

Zunächst wurde 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Histidinmethylester)amid (PicHis(OMe)₂) mit Vanadylsulfat bei Raumtemperatur umgesetzt. Bei einem Vanadium:Ligand-Verhältnis von 1:4 und einer Vanadyl-Konzentration von 4 mM liegt bis zu einem pH-Wert von 4.5 ausschließlich der Pentaqua-Komplex [VO(H₂O)₅]²⁺ vor. Ab einem pH von 4.5 beginnt die Komplexierung und Ausformung der ersten VO²⁺-Ligand-Spezies (I in Abbildung 76) mit $A_{\parallel} 174 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$. Ab pH ~5.5 kommt es zur Bildung einer weiteren Spezies (II in Abbildung 76) mit $A_{\parallel} 165 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$. Diese Werte unterscheiden sich von den Komplexen, die für die verseifte Form des Liganden (s.u.) gefunden wurden. Die hier ermittelten Daten deuten auf eine monodentate Koordination von einem bzw. zwei Imidazol-N hin, bei einer Zusammensetzung der Komplexe entsprechend [VOL]²⁺ und [VOL₂]²⁺.⁴⁷

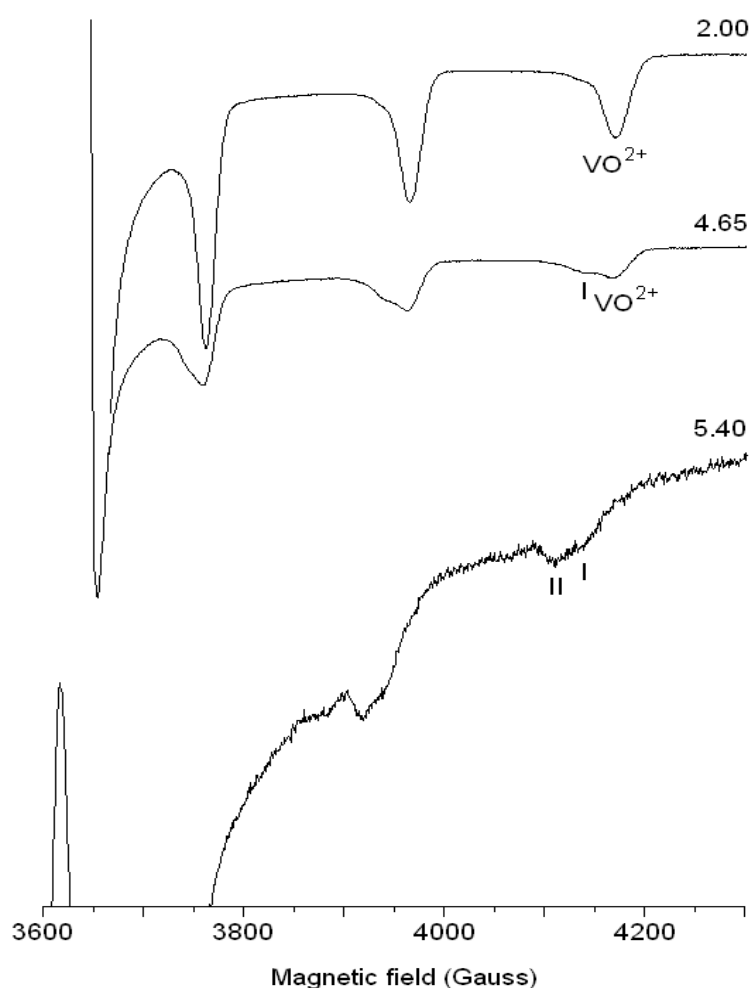


Abbildung 76: Hochfeldauschnitte der anisotropen EPR-Spektren (120 K) von VO²⁺-PicHis(OMe)₂ (1:4) als Funktion des pH-Wertes; $c_{\text{VO}_2^+} = 4 \text{ mM}$.

Die Opaleszenz der Lösung bei der Komplexierung mit PicHis(OMe₂) oberhalb von pH 4.0 im Unterschied zur entschützten Form PicHis, und die Intensitätsabnahme der EPR-Signale

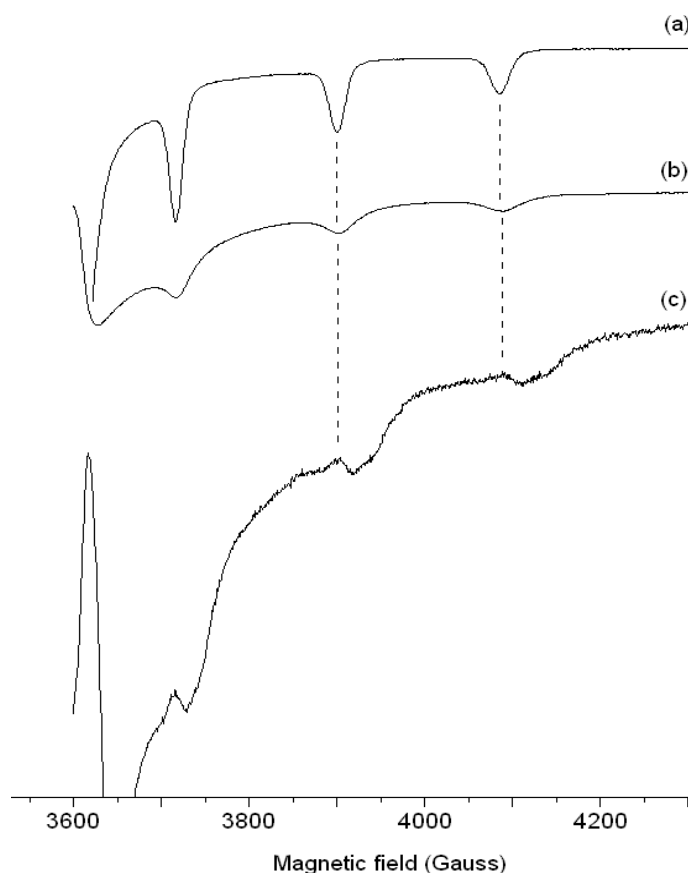


Abbildung 77: Hochfeldauschnitte der anisotropen EPR-Spektren (120 K) von VO²⁺-PicHis(OMe)₂ (1:4) als Funktion des pH-Wertes; $c_{\text{VO}^{2+}} = 4 \text{ mM}$. (a) Picolinat pH 5.0, (b) PicHis pH 5.0 (c) PicHis(OMe)₂ pH 5.4.

oberhalb von pH 5.0 (siehe Abbildung 76), weisen auf erhöhte Hydrolyse (Bildung schwerlöslicher Vanadylhydroxide) im System VO²⁺/PicHis(OMe₂) hin. In Abbildung 77 sind die EPR-Spektren der Systeme mit Picolinat, PicHis und PicHis(OMe₂) um pH ~5 gegenübergestellt. Kennzeichnend ist hier eine Zunahme der parallelen Hyperfeinkopplungskonstante (A_{\parallel}) in (c) (N-Koordination) gegenüber (a) und (b) (O-Koordination), und Abschwächung der Signale als Folge des Hydrolyseprozesses im Falle von PicHis(OMe₂) ((c) in Abbildung 77). Eine Verseifung der Estergruppen und anschließende Koordination des entschützten Liganden an das Vanadyl-Ion kann unter den gewählten Reaktionsbedingungen – Umsetzung bei Raumtemperatur bei kurzer Reaktionszeit ohne Puffer und Aufheizen – aufgrund der EPR-Spektren ausgeschlossen werden. Vergleichbare Liganden, die eine Veresterung der Carboxylgruppe aufweisen, zeigen laut Literatur ebenfalls keine nennenswerte Verseifung bei einer simplen pH-Änderung oder einfachen Umsetzung bei Raumtemperatur⁴⁸. Weiterhin zeigen auch dort die veresterten Liganden gegenüber den freien Formen deutlich abgeschwächtes Komplexierungsverhalten.⁴⁹

Ein Vergleich der Parameter in Tabelle 9 verdeutlicht die Unterschiede der Koordination von PicHis(OMe)₂ und Imidazol: Imidazol vermag aufgrund seines geringeren sterischen Anspruches und/oder der ausgeprägteren Basizität des Imin-N bis zu vier Aqualiganden in der Koordinationssphäre des VO²⁺ auszutauschen.

Tabelle 9: EPR-Parameter und Donorsätze für VO²⁺-Komplexe mit PicHis(OMe)₂ und Imidazol in wässriger Lösung.

Ligand	Komplex	g_{\parallel}	A_{\parallel} (10 ⁻⁴ cm ⁻¹)	Donorsatz
PicHis(OMe) ₂	VOL	1.939	176	[N _{im} ; H ₂ O; H ₂ O; H ₂ O]
	VOL ₂	1.943	171	[N _{im} ; N _{im} ; H ₂ O; H ₂ O]
Imidazol	VOL	1.938	177	[N _{im} ; H ₂ O; H ₂ O; H ₂ O]
	VOL ₂	1.943	171	[N _{im} ; N _{im} ; H ₂ O; H ₂ O]
	VOL ₃	1.947	167	[N _{im} ; N _{im} ; N _{im} ; H ₂ O]
	VOL ₄	1.955	162	[N _{im} ; N _{im} ; N _{im} ; N _{im}]

4.6.2 pH-Abhängige EPR-Untersuchung des Komplexes mit 5-L-Histidinamid-picolinsäure, PicHis

Ausgehend von der Modifizierung der Picolinsäure mit Histidin (PicHis(OMe)₂) und anschließenden Verseifung (PicHis) ergeben sich bei der Komplexbildung mit Vanadylsulfat die in Tabelle 10 zusammengefassten Verbindungen.

Tabelle 10: In Lösung befindliche Hauptspezies des PicHis-Systems in Abhängigkeit vom pH-Wert.

	pH-Wert	Spezies
VO ²⁺	1.60	[VO(H ₂ O) ₅] ²⁺
I	1.60 – 1.95	[VOLH ₂] ²⁺
II	1.95 – 6.20	[VOL(H ₂ O)]
III	6 – 8	[VOL(OH)] ⁻

Schon bei niedrigen pH-Werten beginnt die Komplexbildung. Bei pH-Werten 1.60 – 1.95 ist die Spezies I zu finden. Diese liegt in Form von [VOLH₂]²⁺ vor und ähnelt dem mit Picolinat gebildeten Komplex mit Koordination über Pyridin-N und Carboxylat-O.

Die EPR-Parameter, g_{\parallel} 1.938 und A_{\parallel} $174 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, stimmen mit der Formierung $[\text{VOL}]^+$ (L = Picolinat) überein. Betrachtet man das Spektrum um $\text{pH} \sim 2$, so taucht eine weitere Verbindung, II = $[\text{VOL}(\text{H}_2\text{O})]$, auf, und das Signal für die Spezies I klingt ab. Der Komplex II bleibt über einen breiten pH-Bereich stabil. Ab $\text{pH} \sim 6$ beginnt die Bildung der Spezies III. Hier kommt es durch die Deprotonierung des Aqualiganden in (II) zur Bildung des Komplexes $[\text{VOL}(\text{OH})]^-$.

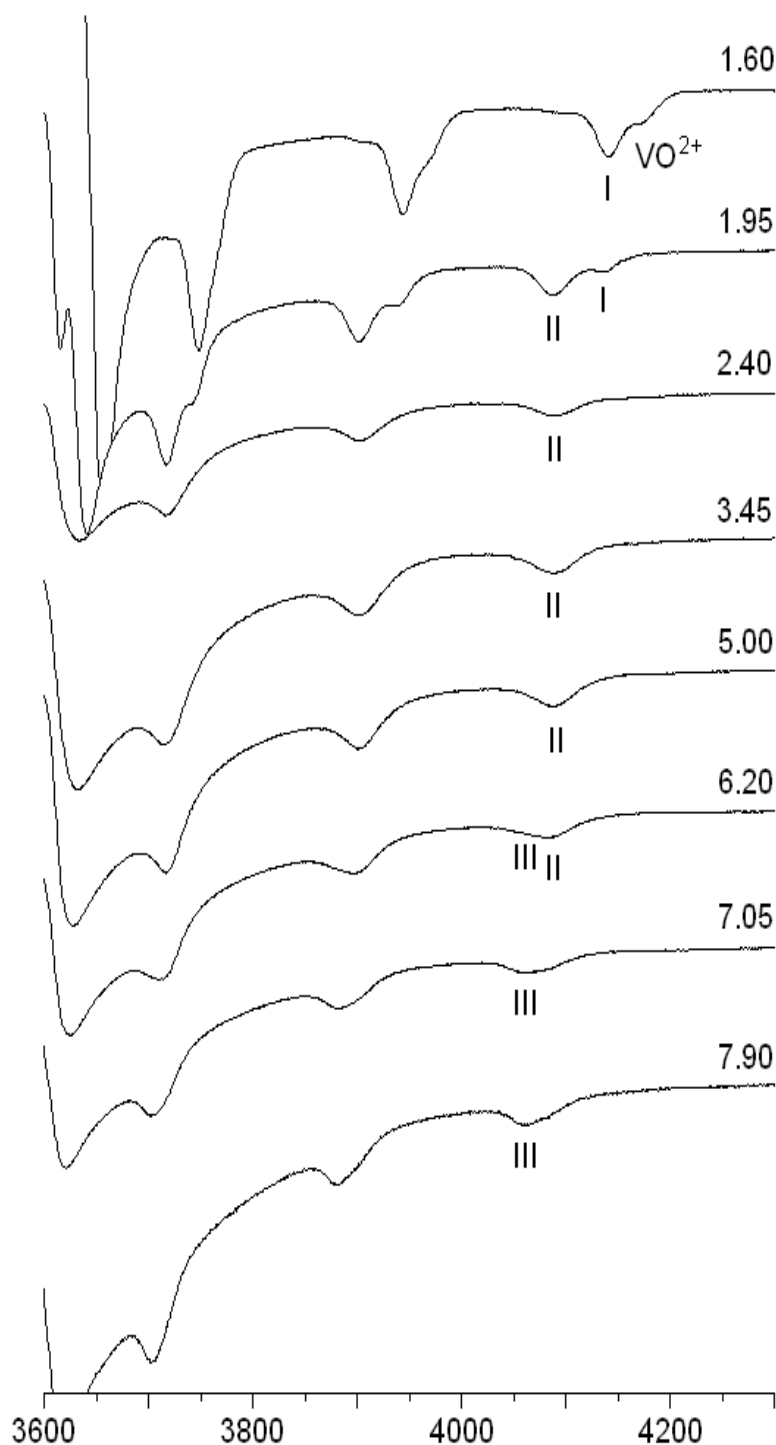


Abbildung 78: Hochfeldauschnitte der anisotropen EPR-Spektren (120 K) von VO^{2+} -PicHis (1:4) als Funktion des pH-Wertes; $c_{\text{VO}^{2+}} = 4 \text{ mM}$.

Die EPR-Parameter der im pH-Bereich 2 – 6 dominierenden Spezies II ähneln sehr denen der Komplexe cis -[VOL₂] mit L = Picolinat: $A_{\parallel} = 165 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ für L = PicHis; $A_{\parallel} = 164 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ für L = Picolinat.

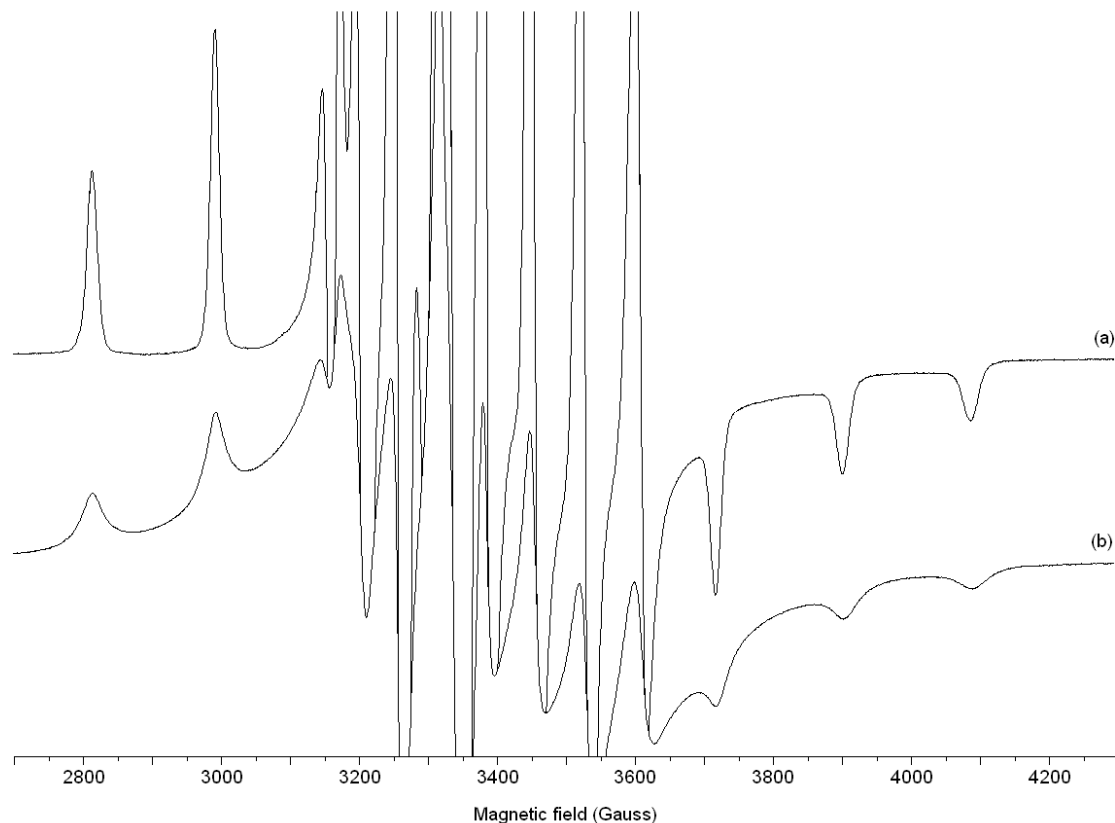


Abbildung 79: Anisotrope EPR-Spektren (120K) des wässrigen Systems von VO_2^+ -Ligand (1:4), $c_{\text{VO}_2^+} = 4 \text{ mM}$; (a) Picolinat, (b) PicHis.

Die Vergleichbarkeit der parallelen Hyperfeinkopplungskonstanten A_{\parallel} ist auf folgende Zusammensetzung der Donorsätze zurück zu führen: Im Falle $[\text{VO}(\text{PicHis})(\text{H}_2\text{O})]$ entspricht der äquatorialen Donorsatz (N_{pyr} , COO^- , $\text{N}_{\text{imidazol}}$; H_2O), im Komplex cis - $[\text{VO}(\text{Pic})_2]$ [$(\text{N}_{\text{pyr}}$, COO^-); (N_{pyr} , $\text{COO}^{-\text{ax}}$); H_2O]. Der einzige Unterschied ist der Austausch eines Pyridin-N durch den Imidazol-N des Hisdinrestes, wobei der Einfluss der beiden Stickstoffliganden bezüglich der Hyperfeinkopplungskonstante vergleichbar ist. Der leicht erhöhte A_{\parallel} -Wert im Komplex $[\text{VO}(\text{PicHis})(\text{H}_2\text{O})]$ kann durch die unterschiedliche Orientierung des Imidazolyl-Restes bezüglich der z-Achse des Moleküls und damit verbundene unterschiedliche Überlappung der Orbitale erklärt werden.⁵⁰

Mit zunehmendem pH-Wert erfolgt ein Übergang von $[\text{VOL}(\text{H}_2\text{O})]$ zu $[\text{VOL}(\text{OH})^-]$. Damit geht der Donorsatz [$(\text{N}_{\text{pyr}}$, COO^- , N_{im}); H_2O] über in [$(\text{N}_{\text{pyr}}$, COO^- , N_{im}); OH^-], was sich in einer Erniedrigung der A_{\parallel} von $165 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ auf $160 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ niederschlägt. Gemäß der

Additivitätsregel (Kap. 3.2.1) und übereinstimmend mit den experimentellen Ergebnissen³⁸ erniedrigt sich beim Ersetzen des Wasserliganden durch den Hydroxid-Donor A_{\parallel} um $\sim 5 - 6 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$. Die pK -Werte im Bereich von 7 – 11 sind vor allem charakteristisch für die Deprotonierung des äquatorialen Wasserliganden anstelle des axial gelegenen.⁵¹ Die g_{\parallel} -Wert der Hydrolyse-Spezies $[\text{VO}(\text{PicHis})(\text{OH})]^{-}$ (1.950) ist gegenüber $\text{cis-}[\text{VO}(\text{Pic})_2(\text{OH})]^{-}$ (1.947) etwas erhöht (siehe Tabelle 11).

Tabelle 11: EPR-Parameter und Donorsätze für VO^{2+} -Komplexe mit Picolinsäure und PicHis in wässriger Lösung.

Ligand	Komplex	g_{\parallel}	A_{\parallel} (10^{-4} cm^{-1})	Donorsatz
Picolinat	$[\text{VOL}]^{+}$	1.938	174	$[(\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-}); \text{H}_2\text{O}; \text{H}_2\text{O}]$
	$\text{cis-}[\text{VOL}_2]$	1.946	164	$[(\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-}); (\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-\text{ax}}); \text{H}_2\text{O}]$
	$\text{cis-}[\text{VOL}_2(\text{OH})]^{-}$	1.947	160	$[(\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-}); (\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-\text{ax}}); \text{OH}^{-}]$
PicHis	$[\text{VOLH}_2]^{2+}$	1.938	174	$[(\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-}); \text{H}_2\text{O}; \text{H}_2\text{O}]$
	$[\text{VOL}(\text{H}_2\text{O})]$	1.946	165	$[(\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-}, \text{N}_{\text{im}}); \text{H}_2\text{O}]$
	$[\text{VOL}(\text{OH})]^{-}$	1.950	160	$[(\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-}, \text{N}_{\text{im}}); \text{OH}^{-}]$

Das chemische und spektroskopische Verhalten der hier untersuchten Systeme weist somit die folgenden Hauptmerkmale auf: Im PicHis-System liegt über den betrachteten pH-Bereich $[\text{VOL}]$ Stöchiometrie vor, mit dem äquatorialen Donorsatz $[(\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-}, \text{N}_{\text{im}}); \text{H}_2\text{O}]$. Im Picolinat-System liegt $\text{cis-}[\text{VOL}_2]$ Stöchiometrie vor; der Donorsatz ist $[(\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-}); (\text{N}_{\text{pyr}}, \text{COO}^{-\text{ax}}); \text{H}_2\text{O}]$. Schon bei niedrigen pH-Werten kommt es zu einer Wechselwirkung des Liganden (PicHis) mit dem Metallzentrum. Das anisotrope EPR-Spektrum bleibt im Bereich pH 2 – 7 nahezu unverändert (Ausschnitte in Abbildung 78); die Signale sind gegenüber dem Picolinatssystem verbreitert (Abbildung 79). Diese Verbreiterungen können durch Wechselwirkung des Elektronenspins mit Spin-1/2 Kernen herrühren, grundsätzlich z.B. von weiteren Vanadiumzentren in polynuklearen Spezies, oder auch Protonen aus der Ligandensphäre.

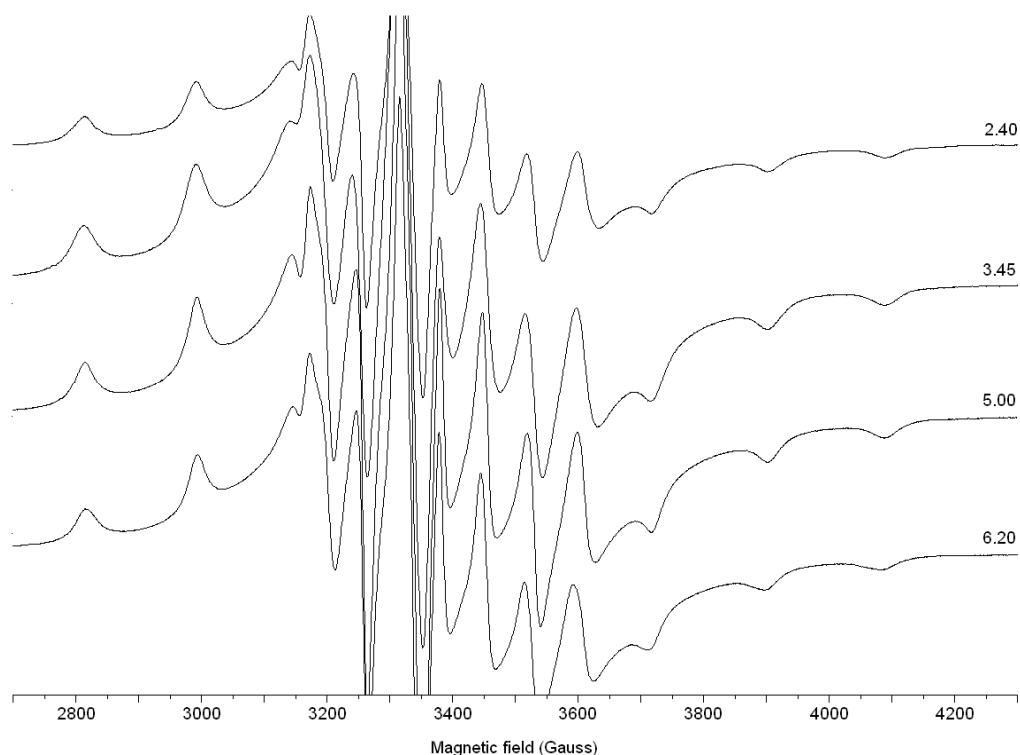


Abbildung 80: Anisotrope EPR-Spektren (120 K) von VO^{2+} -PicHis (1:4) als Funktion des pH-Wertes; $c_{\text{VO}^{2+}} = 4 \text{ mM}$.

Die Intensitätsverhältnisse der Signale lassen jedoch nicht auf das Auftreten eines mehrkernigen Komplexes $[\text{VOL}]_n$ neben der einkernigen Spezies schließen (siehe Abbildung 80). Des Weiteren zeigt sich im EPR-Spektrum des Picolinat-Systems im pH-Bereich 2.3 – 2.4, (Abbildung 81), dass die Komplexe $[\text{VOL}]^+$ und $[\text{VOL}_2]$ nebeneinander koexistieren, in Übereinstimmung mit den potentiometrischen Daten.⁵¹ Dagegen tritt im EPR-Spektrum des Systems VO^{2+} /PicHis lediglich die Spezies $[\text{VOL}]$ auf.

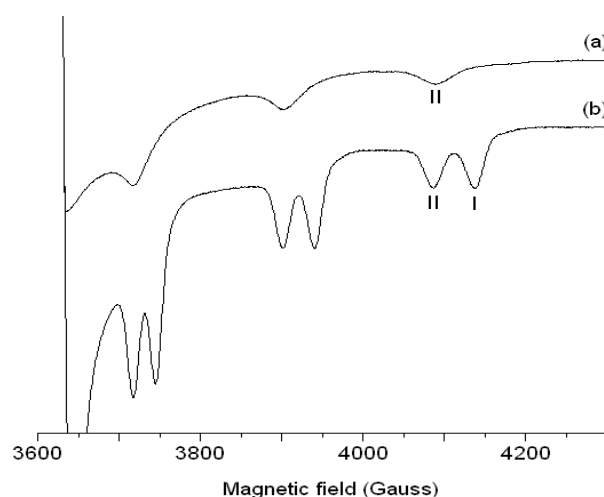


Abbildung 81: Ausschnitt aus den anisotropen EPR-Spektren (120K) im wässrigen System von VO^{2+} -Ligand (1:4) $c_{\text{VO}^{2+}} = 4 \text{ mM}$; (a) Ligand = PicHis pH 2.4, (b) Ligand = Picolinat; pH 2.3.

Die Linienbreite der Signale von $[\text{VO}(\text{PicHis})]$ ist deutlich größer als die der Signale von *cis*- $[\text{VO}(\text{Pic})_2]$. Dies könnte die erhöhte Zahl von Protonen in der Koordinationssphäre des Vanadiums widerspiegeln: Die zusätzliche Superhyperfeinkopplung des Elektrons mit den Wasserstoffkernen ($S = 1/2$) erhöht die Linienbreite im EPR-Signal.

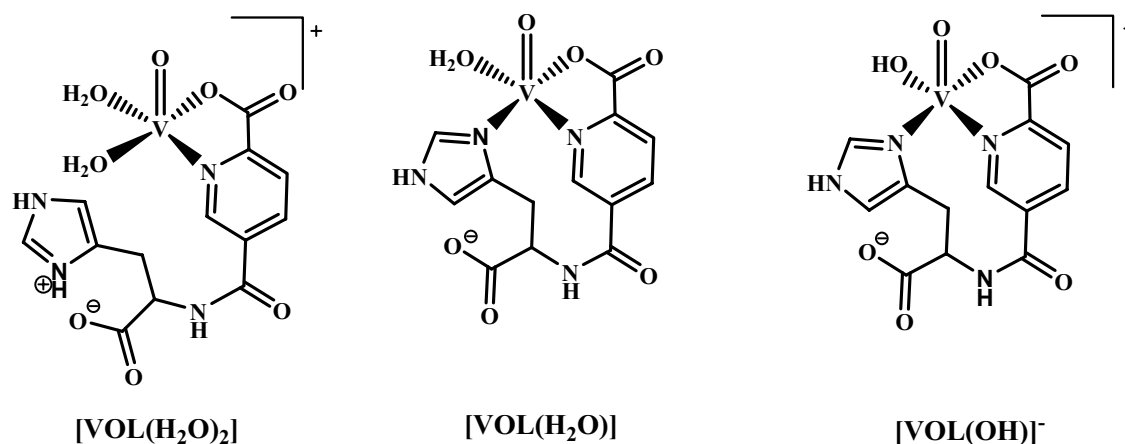


Abbildung 82: Möglich pH-abhängige Koordination des Liganden PicHis an das Vanadiumzentrum.

Die aus den EPR- und Speziations-Analysen gewonnenen Daten ermöglichen eine Prognose des Koordinationmodus der Liganden an das Vanadyl-Ion. In Abbildung 82 sind jeweils die Spezies, die unter den gewählten Reaktionsbedingungen vorherrschen, zusammengefasst. Die geringfügige Abweichung der Hyperfeinkopplungskonstanten vom berechneten Wert im Falle einer Beteiligung des Imidazolylrestes an der Koordination basiert auf der Winkelabhängigkeit $\sin(2\theta - 90)$ von $A_{\parallel \text{Imidazol}}$, d.h. auf der Orientierung des Imidazolylrestes bezüglich der $\text{V}=\text{O}$ -Achse; Abbildung 83.⁵⁰

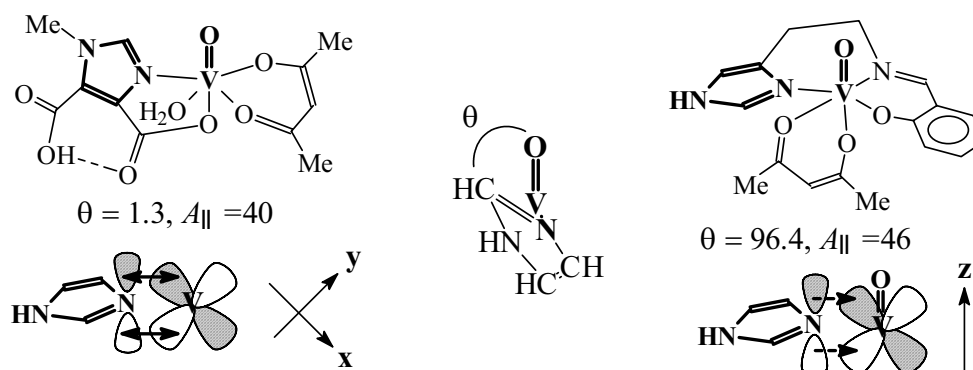


Abbildung 83: Anhängigkeit der parallelen Hyperfeinkopplungskonstanten von der Orientierung des Imidazol-Ringes zur $\text{V}=\text{O}$ -Achse.

4.6.3 UV-Vis-Spektroskopische Untersuchungen des VO^{2+} /PicHis-Systems

Der Vergleich der UV-Vis-Spektren der Systeme mit PicHis bzw. Picolinat unter ähnlichen experimentellen Bedingungen (Ligand:Metall = 4, $c_{\text{VO}} = 4 \text{ mM}$) zeigt sowohl beim pH-Wert 2.3 – 2.4 (Abbildung 84) als auch beim pH 5.0 (Abbildung 85) Unterschiede auf und unterstützt damit die aus den EPR-Daten gewonnen Erkenntnisse.

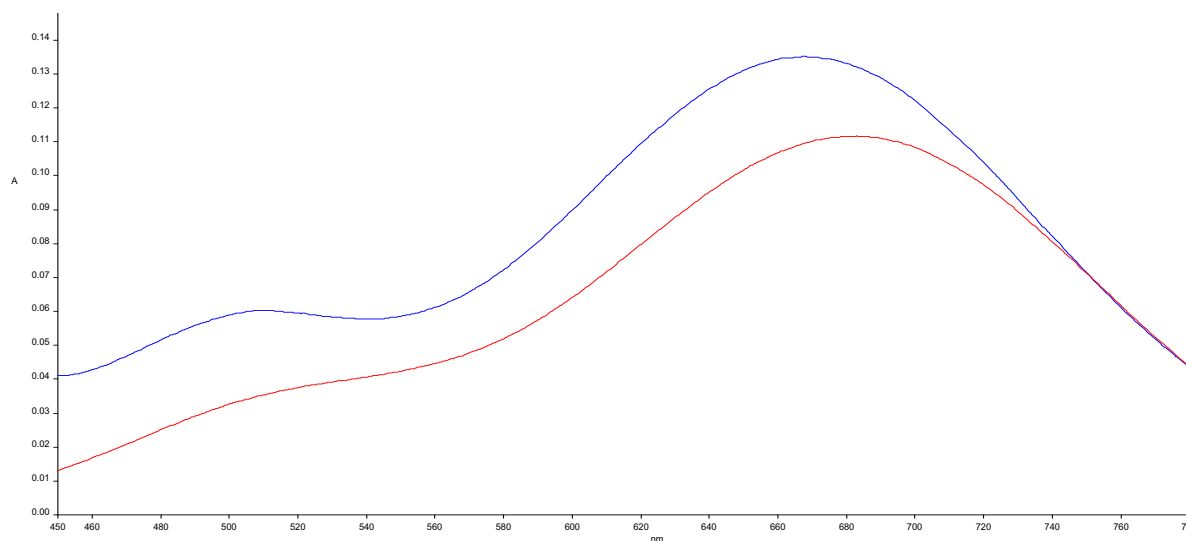


Abbildung 84: UV-VIS-Spektrum im wässrigen System von VO^{2+} und Ligand mit einem Metall-Ligand-Verhältnis von 1:4 und $c(\text{VO}^{2+}) = 4 \text{ mM}$: (blau) PicHis, pH 2.4; (rot) Picolinsäure, pH 2.3.

Im pH-Bereich von 2.3 – 2.4 liegen im Picolinat-System $[\text{VOL}]^+$ neben $[\text{VOL}_2]$ vor, im PicHis-System im pH-Bereich 1.95 – 6.20 $[\text{VOL}(\text{H}_2\text{O})]$.

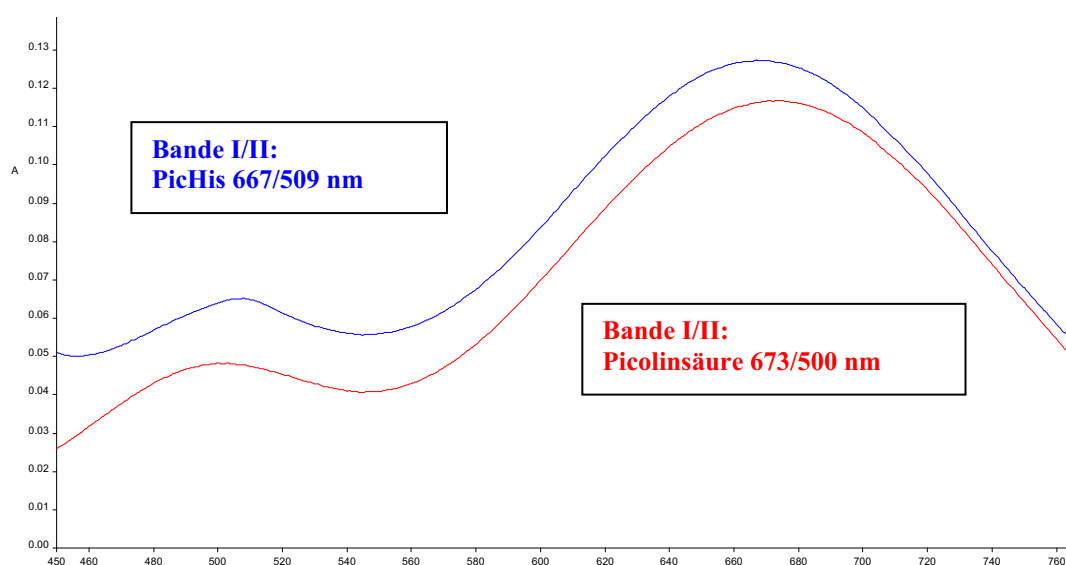


Abbildung 85: UV-VIS-Spektren im wässrigen System von VO^{2+} und Ligand bei einem Metall:Ligand-Verhältnis von 1:4 und $c(\text{VO}^{2+}) = 4 \text{ mM}$. (Oben) PicHis, pH 5.0; (unten) Pic; pH 5.0.

Damit zeigt sich, dass die Spektren der Spezies $[\text{VO}(\text{PicHis})(\text{H}_2\text{O})]$ und $\text{cis}-[\text{VO}(\text{Pic})_2]$ erwartungsgemäß ähnlich aber nicht übereinstimmend sind. In Abbildung 85 sind die Absorptionsmaxima der Banden I und II bei 667 und 509 nm für das PicHis-System, sowie 673 und 500 nm für das Picolinat-System ausgewiesen. Die im pH-Bereich 7.8 – 7.9 vorliegenden Hydrolyse-Produkte $[\text{VO}(\text{PicHis})(\text{OH})]^-$ und $\text{cis}-[\text{VO}(\text{Pic})_2(\text{OH})]^-$ (Abbildung 86) zeigen auch hier deutliche Unterschiede: Bande I liegt bei 750 nm im Falle von $[\text{VO}(\text{PicHis})(\text{OH})]^-$ und bei 710 nm für $\text{cis}-[\text{VO}(\text{Pic})_2(\text{OH})]^-$.

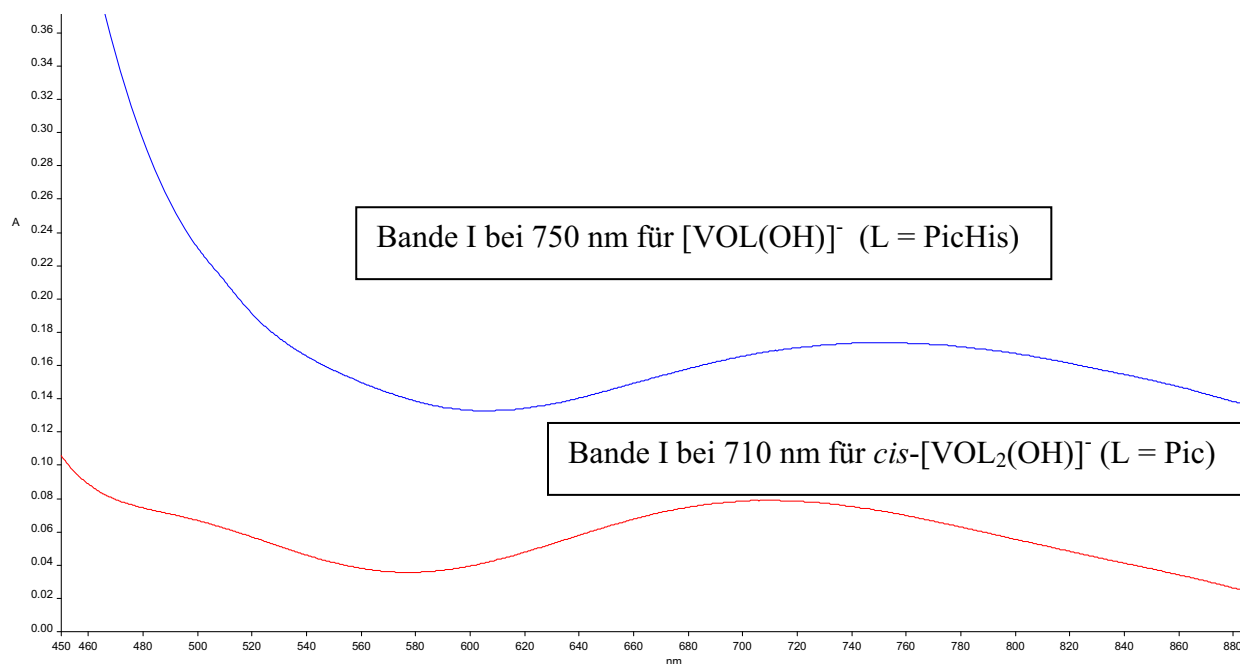


Abbildung 86: UV-VIS-Spektrum im wässrigen System von VO^{2+} und Ligand mit einem Metall:Ligand-Verhältnis von 1:4 und $c_{\text{VO}^{2+}} = 4 \text{ mM}$; pH 7.8-7.9.

4.7 Insulin-mimetische Tests der Picolinato-Verbindungen in Hinblick auf die Inhibierung der Lipolyse

4.7.1 Inhibierung der Lipolyse durch die Liganden

Ein wichtiges Kriterium für die Aktivität der Komplexe -bezüglich ihrer Insulin-mimetischen Wirkung- zielt auf ihre Befähigung, *in vitro* die Lipolyse zu inhibieren und somit eine der Funktionen des Insulins nachzuahmen. Bei der Behandlung von Adipocytten (Fettgewebszellen) mit Adrenalin werden Lipasen aktiviert, welche für die aktive Freisetzung der Fettsäuren sorgen; s. die mit "control" bezeichnete Gruppe in Abbildung 87).

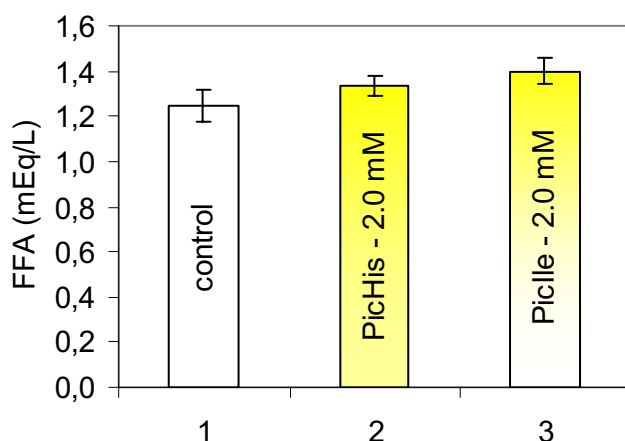
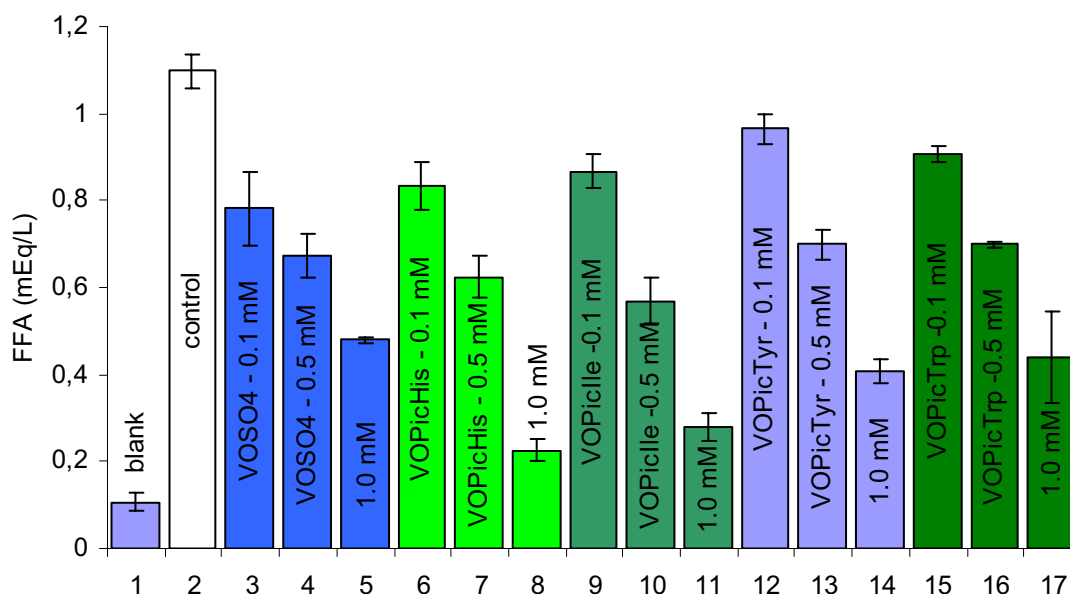


Abbildung 87: Insulin-mimetische Aktivität der Liganden in Hinblick auf Inhibierung der Lipolyse.

Für die Inhibierung der Lipasen wurden nun die in 5-Position mit Histidin und *iso*-Leucinm modifizierten Picolinsäuren (PicHis/PicIle) mit einer Konzentration von 2 mM mit den Adipocytten inkubiert. Der Vergleich der Liganden mit der control-Gruppe zeigt auf, dass der Anteil der von den Lipasen produzierten freien Fettsäuren sich im Schnitt innerhalb der Fehlertoleranzbereiche (Ergebnis aus drei Messreihen) bewegen und damit keine Inhibierung bzw. Insulin-mimetischen Effekt aufweisen (siehe Abbildung 87). Damit kann eine Beeinflussung der Zellkulturen durch die reinen Liganden ausgeschlossen werden.

4.7.2 Inhibierung durch Picolinato-Komplexe

Für die Untersuchung der Vanadium-Komplexe wurde eine Kultur unbehandelt gelassen (blank in Abbildung 88) und zeigt damit den natürlichen Gehalt an freien Fettsäuren (free fatty acids, FFA) an. Anschließend wurden Adipocyten mit Adrenalin behandelt (control) und mit der zu untersuchenden Vanadiumverbindung inkubiert (6-17 in Abbildung 88). Für den direkten Vergleich wurde ein gesonderter Teil der Zellkulturen mit Vanadylsulfat (VOSO₄) in unterschiedlicher Konzentration behandelt (Experiment 3-5).⁵²



1. blank		7. VOPicHis	0.5 mM	13. VOPicTyr	0.5 mM
2. control		8. VOPicHis	1 mM	14. VOPicTyr	1 mM
3. VOSO ₄	0.1 mM	9. VOPicIle	0.1 mM	15. VOPicTrp	0.1 mM
4. VOSO ₄	0.5 mM	10. VOPicIle	0.5 mM	16. VOPicTrp	0.5 mM
5. VOSO ₄	1 mM	11. VOPicIle	1 mM	17. VOPicTrp	1 mM
6. VOPicHis	0.1 mM	12. VOPicTyr	0.1 mM		

Abbildung 88: Insulin-mimetische Aktivität der Komplexe in Hinblick auf Inhibierung der Lipolyse.

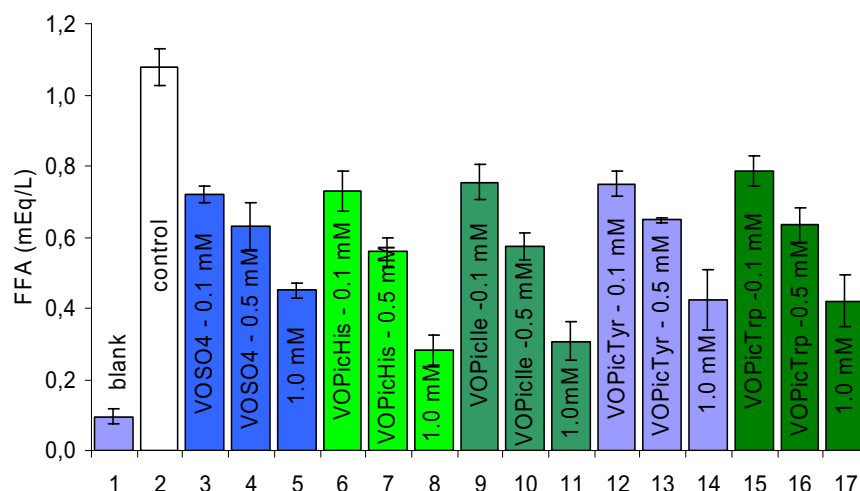
Bei der Betrachtung der Aktivität der Komplexe zeigt sich, dass nahezu alle synthetisierten Verbindungen die Lipolyse inhibieren. Bei einer Konzentration von 0.1 mM zeigt die Modifizierung mit Tyrosin (VOPicTyr) eine geringere Aktivität als Vanadylsulfat (VOSO₄). Für die Modifizierungen der Picolinsäure mit Histidin (VOPicHis), *iso*-Leucin (VOPicIle) und Tryptophan (VOPicTrp) liegen die Werte in diesem Konzentrationsbereich innerhalb der experimentellen Fehlergrenzen in der Nähe der des Vanadylsulfats. Bei einer Konzentration von 0.5 mM weisen die Komplexe eine leicht erhöhte Insulin-mimetische Aktivität auf (Probe 7, 10,

13, 16 in Abbildung 88). Eine Erhöhung der Konzentration auf 1 mM führt zu einer deutlichen Aktivitätssteigerung der Komplexe VOPicIle und VOPicHis gegenüber VOPicTrp, VOPicTyr und Vanadylsulfat. Das einfache Vanadiumsalz zeigt bei dieser Konzentration eine Inhibierung der Lipasen um ~40%, der Komplexe VOPicHis eine Inhibierung von 70% auf.

4.7.3 Inhibierung in Anwesenheit von Ascorbinsäure

Weitere Tests wurden mit Zusatz von Ascorbinsäure zur Redox-Stabilisierung der Vanadium(IV)verbindungen durchgeführt (siehe Abbildung 89). Als Vergleichssubstanzen diente wiederum Vanadylsulfat. Auch in diesen Fällen weisen die synthetisierten Komplexe einen vergleichbaren, konzentrationsabhängigen Insulin-mimetischen Effekt auf. Bei geringen Konzentrationen entsprechen dieser weitestgehend denen des Vanadylsulfats. Bei Erhöhung der

Konzentration verbessert sich die insulin-mimetische Aktivität gegenüber dem einfachen Vanadyl-Salz. Mit dem Komplex VOPicHis wird bei einer Konz. von 1 mM eine Verbesserung der insulin-mimetischen Eigenschaften um ~30% gegenüber dem Salz beobachtet. Die experimentellen Daten sind in Abbildung 89 zusammengefasst.

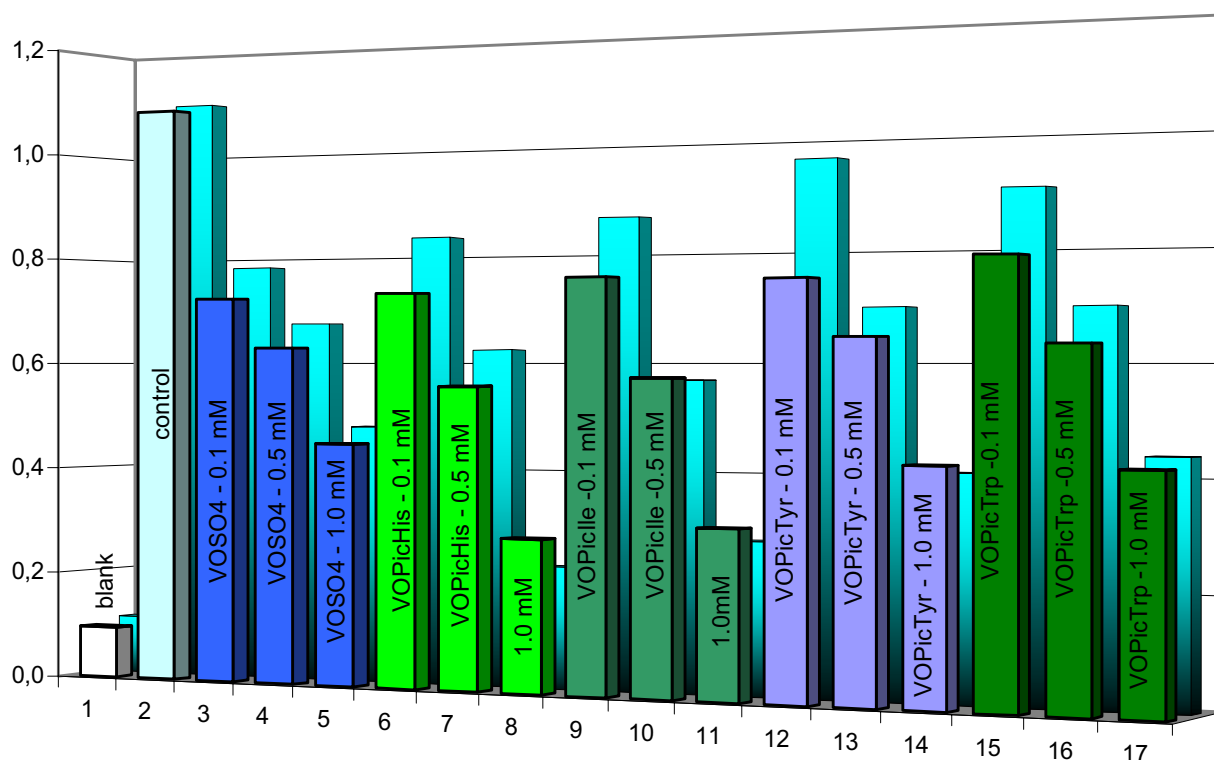


1. blank		7. VOPicHis 0.5 mM	13. VOPicTyr 0.5 mM
2. control		8. VOPicHis 1 mM	14. VOPicTyr 1 mM
3. VOSO ₄ 0.1 mM		9. VOPicIle 0.1 mM	15. VOPicTrp 0.1 mM
4. VOSO ₄ 0.5 mM		10. VOPicIle 0.5 mM	16. VOPicTrp 0.5 mM
5. VOSO ₄ 1 mM		11. VOPicIle 1 mM	17. VOPicTrp 1 mM
6. VOPicHis 0.1 mM		12. VOPicTyr 0.1 mM	

Abbildung 89: Insulin-mimetische Aktivität in Hinblick auf Inhibierung der Lipolyse in Anwesenheit von Ascorbinsäure.

4.7.4 Vergleich der insulinmimetischen Wirkung in An- und Abwesenheit von Ascorbinsäure

Der Vergleich beider Messreihen ermöglicht Aussagen über Einfluss der Ascorbinsäure. Die Werte in Anwesenheit (vordere Messreihe in Abbildung 90) und Abwesenheit von Ascorbinsäure zeigen bei den verdünnten Lösungen einen geringen Unterschied auf, der jedoch innerhalb der experimentellen Fehlergrenzen liegt. Bei Erhöhungen der Konzentration auf 1 mM liegen keine wesentlichen Unterschiede vor.



1. blank		7. VOPicHis	0.5 mM	13. VOPicTyr	0.5 mM
2. control		8. VOPicHis	1 mM	14. VOPicTyr	1 mM
3. VOSO ₄	0.1 mM	9. VOPicIle	0.1 mM	15. VOPicTrp	0.1 mM
4. VOSO ₄	0.5 mM	10. VOPicIle	0.5 mM	16. VOPicTrp	0.5 mM
5. VOSO ₄	1 mM	11. VOPicIle	1 mM	17. VOPicTrp	1 mM
6. VOPicHis	0.1 mM	12. VOPicTyr	0.1 mM		

Abbildung 90: Vergleich der insulinmimetischen Wirkung in Anwesenheit (Vordergrund) und Abwesenheit (Hintergrund) von Ascorbinsäure.

Damit wird deutlich, dass Oxidationsprozesse (V^{IV} zu V^V), wie in Abwesenheit von Ascorbinsäure durch Luftsauerstoff möglich, keine wesentliche Rolle auf die Insulin-

mimetischen Effekte haben. Die IC_{50} -Werte in Tabelle 12 verdeutlichen die erhöhte Aktivität der Komplexe mit den Liganden PicHis und PicIle. Die IC_{50} -Werte entsprechen der Wirkstoffkonzentration, bei der eine 50%ige Inhibierung z. B. der Lipolyse hervorgerufen wird.

Tabelle 12: IC_{50} -Werte bezüglich der Inhibierung der Lipolyse in An- und Abwesenheit von Ascorbinsäure.

Komplex	IC_{50} -Wert [mM]	
	Abwesenheit von Ascorbinsäure	Anwesenheit von Ascorbinsäure
VOSO ₄	0.87 ± 0.17	0.63 ± 0.12
VOPicHis	0.41 ± 0.03	0.33 ± 0.09
VOPicIle	0.42 ± 0.08	0.38 ± 0.08
VOPicTyr	0.76 ± 0.13	0.65 ± 0.21
VOPicTrp	0.85 ± 0.25	0.65 ± 0.11

Alle synthetisierten Komplexe zeigen IC_{50} -Werte, die niedriger liegen als Vanadylsulfat.

4.8 Synthese und Charakterisierung von Multikomponenten-Komplexen

4.8.1 Darstellung der Liganden TPA und MPA

Zur Optimierung der Eigenschaften der Insulinmimetika bezüglich ihrer Redox-Stabilität und zur Balancierung des hydro- und lipophilen Charakters wurden zusätzliche Modifizierungen der Komplexe vorgenommen. Hierzu dienten *Tris*(2-pyridylmethyl)amin (TPA) mit der Koordinationsmöglichkeit über bis zu vier Stickstoff-Funktionen und N-(2-Mercaptobenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin (MPA) mit zusätzlicher Komplexierungs-Möglichkeit über den Thiolatschwefel.

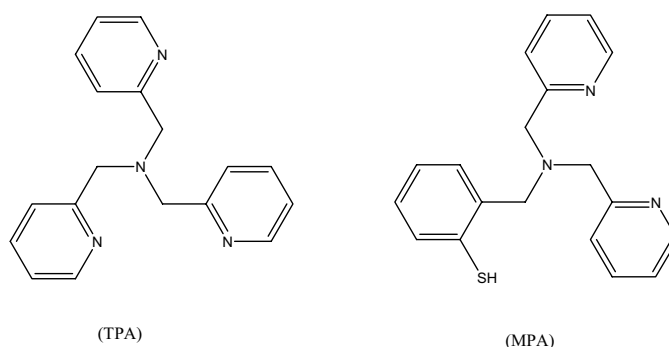


Abbildung 91: Ausgewählte Liganden, die zur Modifizierung der Komplexe dienten: *Tris*(2-pyridylmethyl)amin (TPA) (links) und N-(2-Mercaptobenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin (MPA).

Für die Synthese von TPA eignen sich Picolinaldehyd oder 2-Chlormethylpyridin und 2-(Aminomethyl)pyridin, die in Anwesenheit vom Natrium-*tris*(acetoxy)borhydrid zum Liganden umgesetzt werden können.⁵³ Eine weitere Möglichkeit ist die direkte Umsetzung von Picolylchlorid-Hydrochlorid im Basischen unter Rückfluss mit 2-(Aminomethyl)pyridin⁵⁴ (siehe Abbildung 92).

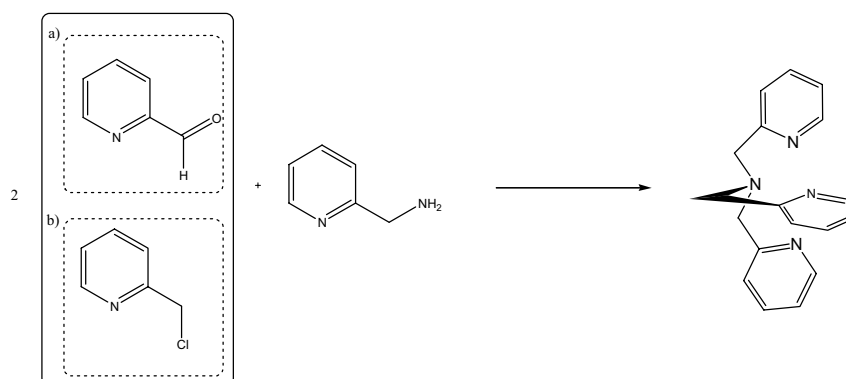


Abbildung 92: Mögliche Synthesewege (a/b) zur Darstellung von *Tris*(2-pyridylmethyl)amin (TPA).

Beide Umsetzungen lieferten das Produkt mit ausreichender Ausbeute. Der zweite Syntheseweg wurde jedoch aufgrund der kürzeren Reaktions- und Aufarbeitungsdauer favorisiert. Die Verbindung wurde mittels IR, FAB-MS und $^1\text{H-NMR}$ charakterisiert. Im IR-Spektrum liegen die Banden der CH-Schwingungen bei 3061, 3014, 2962 und 2921 cm^{-1} , gefolgt von den C=N- und C=C-Schwingungen bei 1593 und 1570. Banden der C-N-Schwingung liegen bei 1150, die der CH-Deformationsschwingung bei 767 und 626 cm^{-1} .

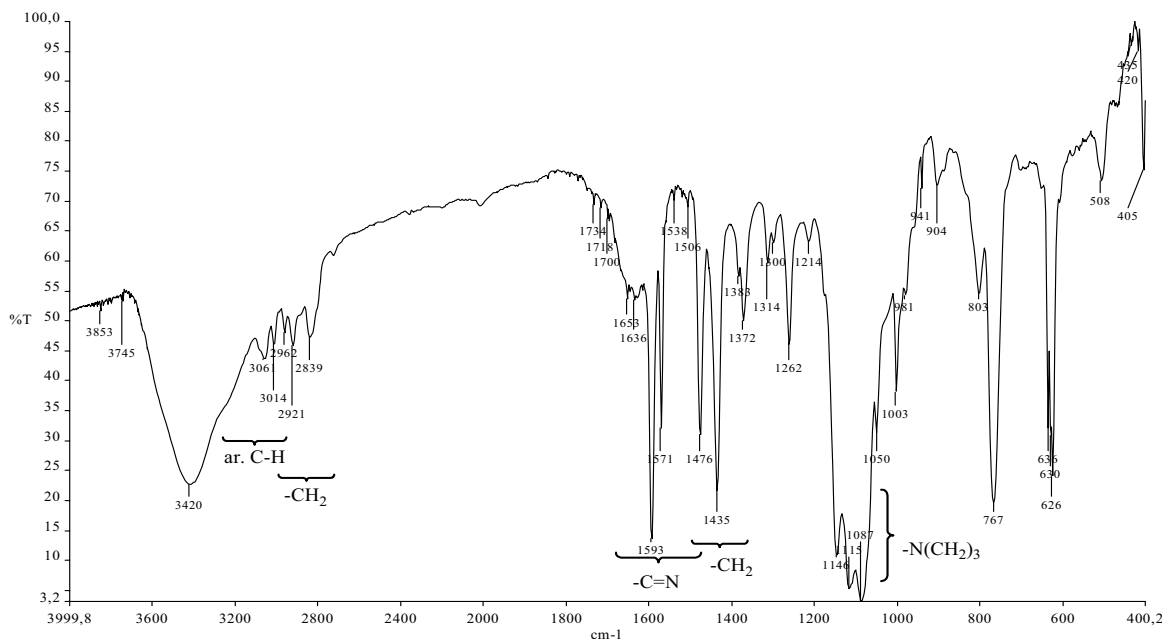


Abbildung 93: IR-Spektrum von *Tris(2-pyridylmethyl)amin* (TPA).

Die Syntheseroute für *N*-(2-Mercaptobenzyl)-*N,N*-bis(2-pyridylmethyl)amin (MPA) ist in Abbildung 94 zusammengestellt; der Ligand stand im Rahmen einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe E. Nordlander (Universität Lund) zur Verfügung.

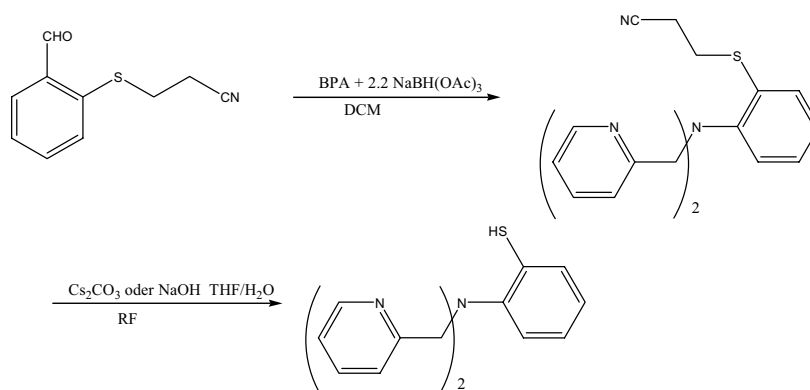


Abbildung 94: Syntheseroute für die Darstellung von *N*-(2-Mercaptobenzyl)-*N,N*-bis(2-pyridylmethyl)amin (MPA); BPA = *N,N*-bis(2-pyridylmethyl)amin, DCM = Dichlormethan.

Beide Liganden (TPA und MPA) sind bezüglich ihres Grundgerüsts sehr ähnlich, was durch einen Vergleich der IR-Spektren verdeutlicht wird (Abbildung 93 und Abbildung 95). Diese Liganden sind damit auch in der Lage, in vergleichbarer Weise – nämlich über die Stickstofffunktionen – an das Metallzentrum zu koordinieren. Durch den Austausch eines Pyridylrings in TPA gegen *o*-Mercaptophenyl ermöglicht MPA durch Koordination über Thiolat eine Koordinationsalternative für den Komplexes. Im IR-Spektrum von MPA ist die S-H-Schwingung als Schulter bei $\sim 2600\text{ cm}^{-1}$ (-SH in Abbildung 95) und die C-S-Schwingungsbande bei 1465 cm^{-1} zu finden.

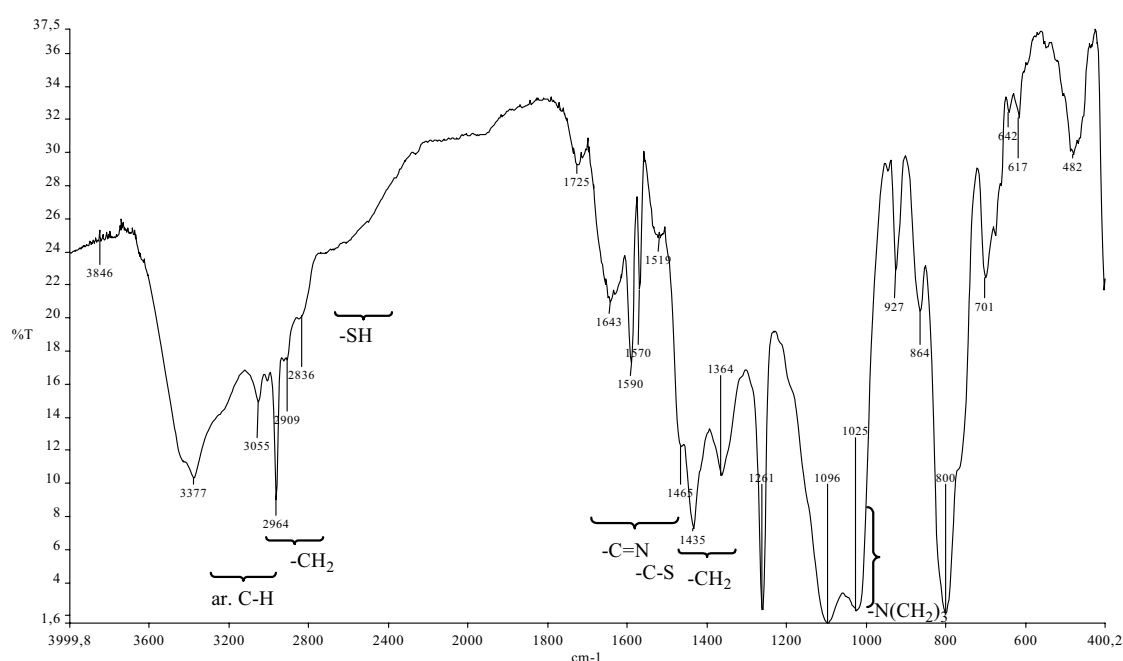


Abbildung 95: IR-Spektrum von N-(2-Mercaptobenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin.

4.8.2 Umsetzung der Picolinsäurederivate und von MPA mit dem Vanadium(V)-Precursor

Bei der Komplexierung wurden Pyridin-2,5-dicarbonsäure und deren Derivate mit N-(2-Mercaptobenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin und Oxidovanadium(V)*tris(isopropylat)* umgesetzt. Zunächst wurde eine Mischung aus N-(2-Mercaptobenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin (MPA) und Pyridin-2,5-dicarbonsäure mit Oxidovanadium(V) *tris(isopropylat)* in Tetrahydrofuran umgesetzt. Hierbei setzt nach einer kurzen Reaktionszeit des Metallions mit den Liganden bei Raumtemperatur ein Redoxprozess ein begleitet durch die Bildung eines grünen Niederschlags. Bei derartigen Vanadium(IV)/(V)-Redox-Reaktionen

spielen neben den Hydrolyse- und Oligomerisierungs-Möglichkeiten der Vanadiumspezies⁵⁵ die Zähigkeit und Chelatisierungsfähigkeit der Liganden eine wichtige Rolle. Um Redoxprozesse hin/anzuhalten wurde die Pyridin-2,5-dicarbonsäure durch das in 5-Position geschützte Derivat Pic-5*OiPr* (5-Carboisopropoxy-pyridin-2-carbonsäure) ausgetauscht und in Chloroform mit Oxidovanadium(V)*tris(isopropylat)* umgesetzt. Auch bei dieser Umsetzung tritt aber eine Redoxreaktion ein, begleitet durch eine Grünfärbung der Lösung.

Die Verfolgung der Reaktion (Zugabe von MPA zu einer Lösung aus Pic-5*OiPr* plus VO(*OiPr*)₃) im UV-Vis-Spektrum zeigt mit zunehmendem Reaktionsverlauf anwachsend das Auftreten von Absorptionsbanden, wie sie für VO²⁺-Komplexe typisch sind: Im sichtbaren Bereich werden Absorptionsbanden bei ~520 nm und ~740 nm beobachtet; Abbildung 96.

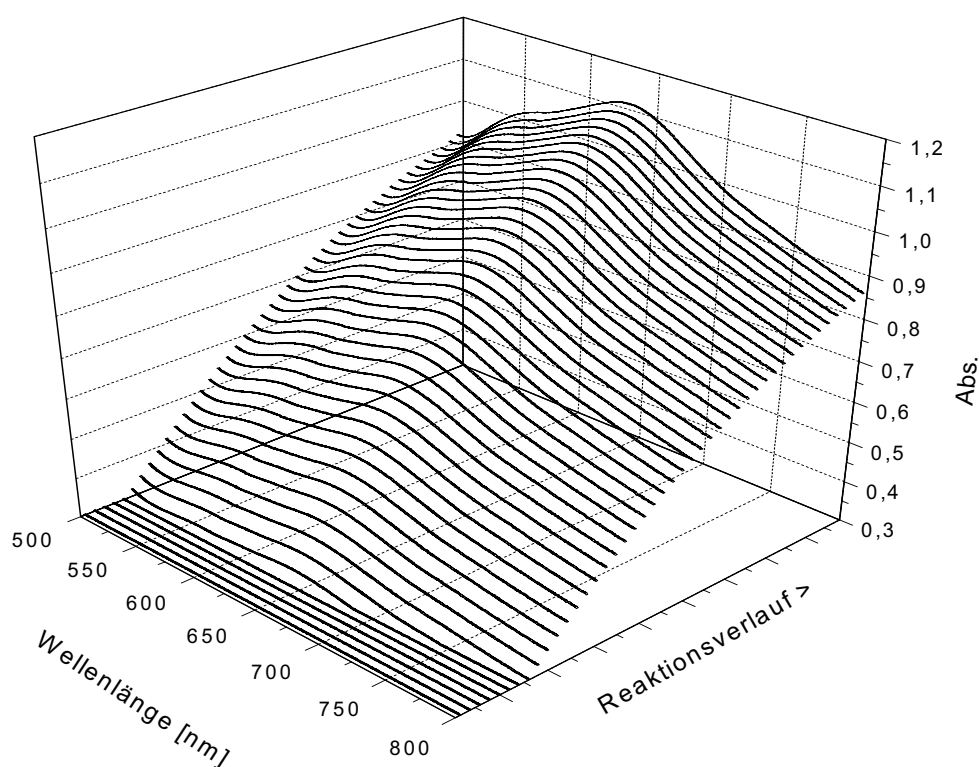


Abbildung 96: Ausschnitt des UV-Vis-Spektrums bei der Umsetzung von 5-Carboisopropoxy-pyridin-2-carbonsäure und Vanadium(V) mit MPA in Chloroform.

Versetzt man die Reaktionslösung mit Heptan so erhält man ähnlich wie bei der Umsetzung mit Pyridin-2,5-dicarbonsäure einen grünen Niederschlag. Das EPR-Spektrum des erhaltenen Produkts zeigt ein für Vanadium(IV) typisches Muster. Im Tieftemperaturspektrum werden sich überlagernde Banden beobachtet, die auf die Bildung unterschiedlicher Komplexe hinweisen. Mit der parallelen Hyperfeinkopplungskonstanten von $168 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ weist einer der Komplexe

eine Koordination über Pyridin-N und Carboxylat-O zum (NO)₂-Donorsatz aus, entsprechend [VO(Pic-5O*i*Pr)₂]. Im FAB-Massenspektrum konnte dies durch den Molekülkation-Peak von [VO(Pic-5O*i*Pr)₂] mit m/z 484 bestätigt werden. Die Beständigkeit des Komplexes, resultierend aus den guten Komplexbildungseigenschaften des Picolinat-Derivats, gewährleistet unter den gewählten Reaktionsbedingungen hier keine Stabilisierung der Oxidationsstufe +V des Vanadiumzentrums.

4.8.3 Umsetzung der Picolinsäurederivate und *N*-(2-hydroxybenzyl)-*N,N*-bis(2-pyridylmethyl)amin) (HPA) mit dem Vanadium(IV)-Precursor

Der Austausch des Vanadium(V)-Precursors (Oxidovanadium(V)*tris*(isopropylat)) durch den Vanadium(IV)-Precursor (Vanadylsulfat) liefert bei der Reaktion mit dem ähnlich strukturierten Liganden *N*-(2-hydroxybenzyl)-*N,N*-bis(2-pyridylmethyl)amin) (HPA) vergleichbare Spektren. Bei HPA ist das Schwefelatom gegen ein Sauerstoffatom ausgetauscht. Die Thiofunktion von MPA wird damit durch eine phenolische OH-Gruppe ersetzt. Dieser Austausch ermöglicht die Unterbindung weiterer Redoxprozesse. Im untersuchten Wellenbereich zeigen die Liganden keine Absorption. Die UV-Vis-Untersuchung der Reaktion von 5-Carboethoxypyridin-2-carbonsäure) und

Vanadylsulfat (VOSO₄) mit HPA zeigt die Maxima bei 522 nm und 742 nm (siehe Abbildung 97).

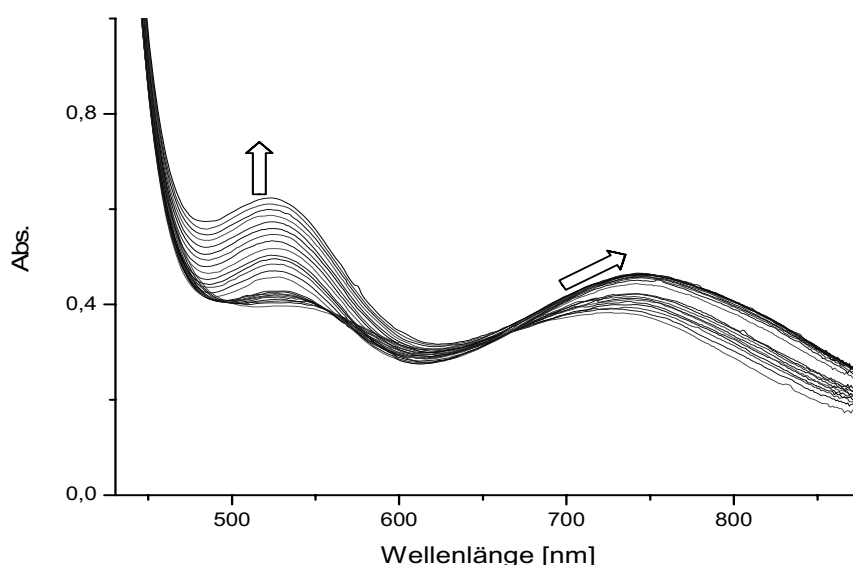


Abbildung 97: UV-Vis-Spektrum von 5-Carboethoxypyridin-2-carbonsäure mit VO²⁺ beim Versetzen mit HPA in Methanol (Pic-5OEt+VO²⁺+HPA).

Wird im Komplex eine der Komponenten, z.B. der iso-Propylester (Pic-5OiPr), gegen 5-Carboethoxyppyridin-2-carbonsäure (Pic-5OEt) ausgetauscht und wiederum mit HPA versetzt, so erhält man Maxima bei 520 und 745 nm. Damit hat eine Erhöhung des sterischen Anspruchs der Picolinsäure in 5-Position einen geringer Einfluss auf die Bandenlage und somit die Koordination. Ändert man nun das 1:1:1-Verhältnis (Pic-5OEt+VO²⁺+HPA) bei der Komplexierung,

beispielsweise durch Erhöhung der HPA-Konzentration auf 1:1:2 (Pic-5OEt+VO²⁺+2HPA), so kommt es zur Verschiebung der Maxima von 522 nm → 535 nm und von 745 nm → 755 nm (Abbildung 98).

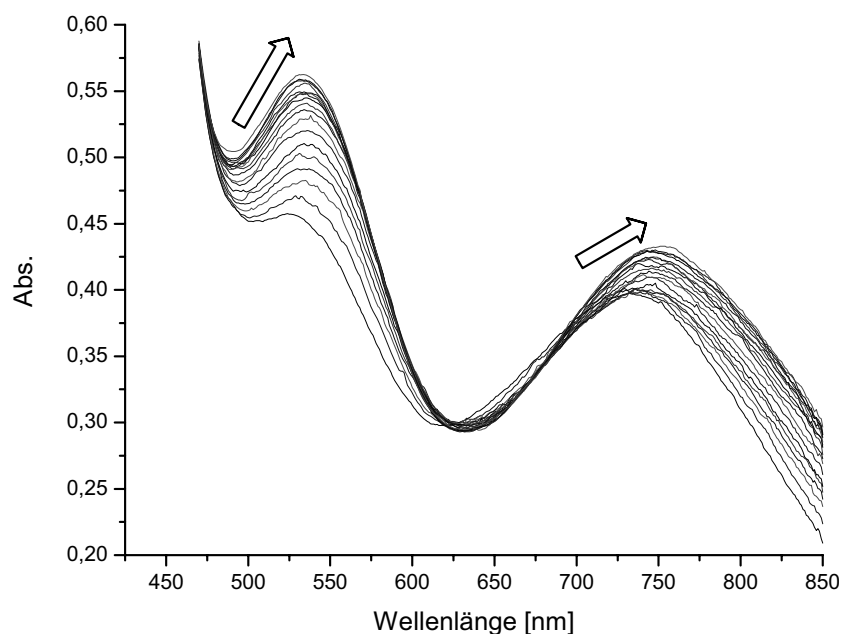


Abbildung 98: UV-Vis-Spektrum von 5-Carboisopropoxyppyridin-2-carbonsäure mit VO²⁺ und HPA bei Zugabe von zusätzlichem HPA (2HPA+V²⁺+Pic-5OEt).

Vergleichbare Werte erhält man bei der Umsetzung von Vanadylsulfat mit HPA ohne Zusatz der Carbalkoxy-Komponente (HPA+VO²⁺). Hierbei kommt es zur Ausbildung zweier Absorptionsmaxima bei ~535 und 755 nm. Damit führt die Erhöhung der HPA-Konzentration bei der Komplexierung mit Bis(5-Carboethoxyppyridin-2-carbonsäure)-Oxidovanadium(IV) (Pic-5OEt+VO²⁺+2HPA) zu einem nahezu identischen UV-Vis-Spektrum (siehe Tabelle 13).

Tabelle 13: Zusammenstellung der Absorptionsbanden der verschiedenen Umsetzungen.

Zusammensetzung	Absorption [nm]	Zusammensetzung	Absorption [nm]
Pic-5OiPr+VO ³⁺ +MPA	520/740	Pic-5OEt+VO ²⁺ +HPA	522/742
HPA+VO ²⁺	535/755	Pic-5OEt+VO ²⁺ +2 HPA	535/755
Pic-5OiPr+VO ²⁺ +HPA	520/745		

Die Chelatisierungseffekte im Komplex *Bis*(5-Carboalkoxy-pyridin-2-carbonsäure)-HPA-Oxidovanadium(IV), die vom 5-Carboalkoxy-pyridin-2-carbonsäure ausgehen, werden bei einer starken Erhöhung der HPA-Konzentration des mehrzähligen Liganden überlagert.

4.8.4 ^{51}V -NMR-Untersuchung der Umsetzung von Picolinsäurederivat mit dem Vanadium(V)-Precursor

Die Umsetzung der 5-Carboisopropoxy-pyridin-2-carbonsäure wurde mit Oxidovanadium(V)*tris*(isopropylat)

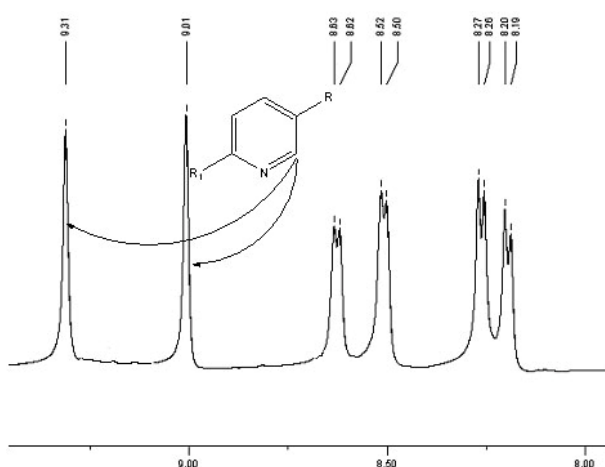
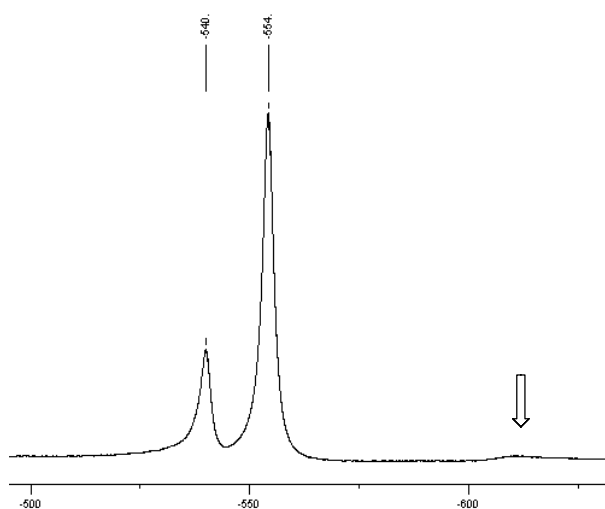


Abbildung 99: NMR-Spektren der Umsetzung von Oxidovanadium-*tris*isopropylat mit 5-Carboisopropoxy-pyridin-2-carbonsäure in Chloroform- d_1 ; ^{51}V -NMR (oben) ^1H -NMR (unten).

vorgenommen. Bei dieser Reaktion kommt es zum Austausch des Isopropoxy- durch den Picolinatoliganden. Hierzu wurde der Precursor mit drei äquivalentem 5-Carboisopropoxy-pyridin-2-carbonsäure versetzt. Dabei treten zwei Signale im ^{51}V -NMR-Spektrum in Chloroform- d_1 auf. Die Signale weisen bezüglich des Oxidovanadium-*tris*(isopropylats) eine Tieffeldverschiebung von bis zu 100 ppm auf. Das Signal des $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3$ verschwindet gegen Ende der Reaktionszeit nahezu vollständig (Pfeilmarkierung im ^{51}V -NMR in Abbildung 99); statt dessen treten Signale bei -540 ppm und -554 ppm auf, die auf Koordination des Picolinats zurückzuführen sind und zwei verschiedenen Komplexen entsprechen. Das zeigt sich ebenfalls durch das Auftreten zweier Signale für das H-6 Proton des Pyridinrings (Pfeile im ^1H -NMR-Spektrum, Abbildung 99) mit einer chemischen Verschiebung von 9.01 und 9.31 ppm. Die Protonen H-3 und H-4 des Pyridinrings zeigen

im Gegensatz zum H-6 Proton kaum einen Verschiebungsunterschied und liegen überlagert im Bereich von 8.70 - 9.19 ppm.

Um zu überprüfen, ob die durch die beiden Signale repräsentierten Komplexe im dynamischen Austausch miteinander stehen, kann die Austauschspektroskopie (Exchange Spectroscopy, EXSY) herangezogen werden. Damit die Resonanzen der austauschenden Spezies aufgelöst werden, müssen die Austausch-Prozesse langsamer sein als die Zeitskala der NMR-Messung. Jedoch darf dieser Austausch auch nicht zu langsam stattfinden, da sonst die Relaxation die gespeicherte Information löscht, bevor die Spezies kommunizieren. Austauschzeiten sollten vergleichbar mit der longitudinalen Relaxationszeit sein ($k_{\text{ex}} = 1/T_1$).⁵⁶ Die Abbildung 100 zeigt das 2D-EXSY ^{51}V -NMR Spektrum des Reaktionsansatzes 5-Carboisopropoxyppyridin-2-carbonsäure plus $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3$ in deuteriertem Chloroform. Eine Korrelation zwischen den Signalen bei -540 und -554 ppm hätte sich durch einen entsprechenden off-diagonal Peak manifestieren müssen. Da dies nicht der Fall ist, liegen somit in Lösung zwei verschiedene Komplexe vor, die deutlich langsamere Austauschzeiten aufweisen als der NMR-Zeitskala entspricht. Die Auswertung der massenspektrometrischen Untersuchung der isolierten Komplexe bestätigt, dass zwei Komponenten mit jeweils zwei bzw. drei 5-Carboisopropoxyppyridin-2-carbonsäure Einheiten vorliegen. Damit läge eine Koordination des 5-Carboisopropoxyppyridin-2-carboxylats zusätzlich zum *Isopropylat* vor; s. hierzu den nächsten Abschnitt.

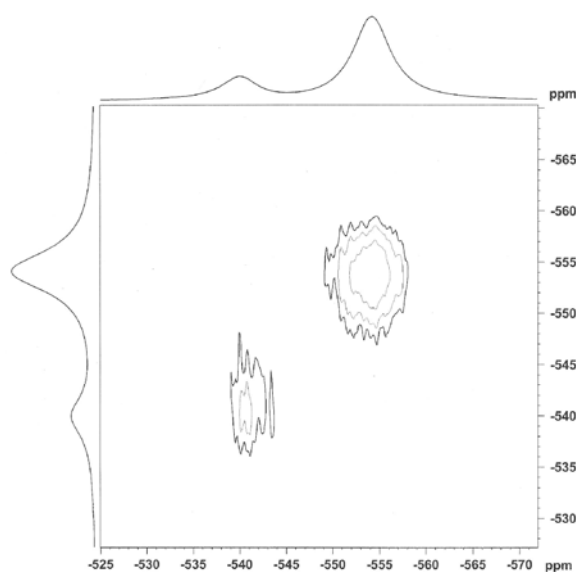


Abbildung 100: EXSY ^{51}V -NMR Spektrum $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3/\text{Pic-5O}i\text{Pr}$ in CDCl_3 bei RT. (Mischzeit 1ms)

4.8.5 ^{51}V -NMR-Untersuchung der Umsetzung von Picolinsäurederivate und TPA mit dem Vanadium(V)-Precursor

Für die Komplexierung wurde *Tris*(2-pyridylmethyl)amin (TPA) mit 5-Carboalkoxypyridin-2-carbonsäure Pic-5OR und dem Precursor $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3$ umgesetzt. Das binäre System $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3$ -TPA zeigt im ^{51}V -NMR das Signal für $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3$ bei -626 ppm, d.h. hier erfolgt kein Ligandenaustausch. Die weitere Umsetzung mit Pic-5O*i*Pr ergibt ein Hauptsignal bei -486 ppm, und zusätzlich hierzu im Hochfeldbereich ein Signal bei -573 ppm. Führt man die Umsetzung mit dem Ethylesterderivat Pic-5OEt durch, so ergeben sich wiederum zwei Signale im ^{51}V -NMR-Spektrum. Die Hauptkomponente weist eine chemische Verschiebung von -489 ppm auf. Dies spricht für eine ähnliche Koordination der Liganden an das Vanadiumzentrum, wie bei der Umsetzung mit Pic-5O*i*Pr. Die zweite Komponente weist eine Hochfeldverschiebung von -534 ppm auf.

In der ^{51}V -NMR-Spektroskopie spielen für die chemischen Verschiebungen neben Elektronegativitäten der Liganden (vergl. z.B. VOBr_3 : +432; VOCl_3 : 0; VOF_3 : -753 ppm) auch die Koordinationszahl und -Geometrie der Komplexe eine wichtige Rolle. Letztere hängen auch vom sterischen Anspruch der beteiligten Liganden ab. Betrachtet man die chemische Verschiebung im ^{51}V -NMR-Spektren von einfachen Oxidovanadium(V)alkoxiden ($\text{VO}(\text{OR})_3$ in Abbildung 101), so ist eine Hochfeldverschiebung mit Zunahme des sterischen Anspruchs von R festzustellen (Tabelle 14).

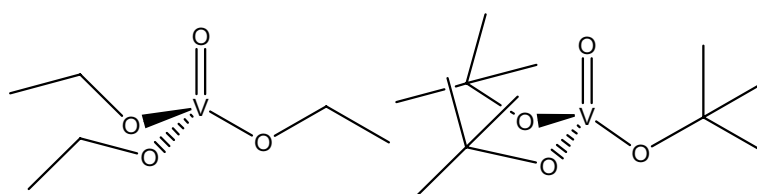


Abbildung 101: Strukturen von Triestern der Orthovanadiumsäure: Triethylester (links), *tert.*-Butylester (rechts).

Die Abschirmung des Vanadiumkerns im Ethylester (-605 ppm) erhöht sich durch Austausch mit der *tert.*-Butylgruppe um 76 ppm auf -681 ppm. Die Tendenz zur Hochfeldverschiebung wird ebenfalls bei Austausch der Chlorido-Liganden in VOCl_3 durch Alkoxido-Liganden beobachtet, s. z.B. (VOCl_3 : 0 ppm; $\text{VOCl}(\text{O}i\text{Pr})_2$ -509 ppm).

Tabelle 14: Chemische Verschiebung der Oxidovanadiumalkoxide und -chloride im ^{51}V -NMR.

Verbindung	Verschiebung	Verbindung	Verschiebung
$\text{VO}(\text{OMe})_3$	-598 ppm	VOCl_3	0 ppm
$\text{VO}(\text{OEt})_3$	-605 ppm	$\text{VOCl}_2(\text{OCPh}_3)$	-325 ppm
$\text{VO}(\text{OiPr})_3$	-623 ppm	$\text{VOCl}(\text{OiPr})_2$	-509 ppm
$\text{VO}(\text{OtBu})_3$	-681 ppm		

Führt man die Umsetzung von $\text{VO}(\text{OiPr})_3$ nun mit den Hydrochloriden der Picolinsäurederivate bzw. dem *Tris*(2-pyridylmethyl)amin durch, so erhält man im ^{51}V -NMR-Spektrum nur noch ein Signal bei -490 ppm. Das Verschwinden des Signals im Hochfeldbereich bei der Umsetzung mit den Hydrochloriden der Liganden deutet darauf hin, dass hier nun alle *Isopropylat*-Liganden ausgetauscht werden.

4.9 Insulinmimetische Tests mit den Multikomponenten-Komplexen

Wie schon in Kap. 4.7 ausgeführt, werden bei der Behandlung von Adipocyten mit Adrenalin, einem Antagonisten des Insulins, Lipasen aktiviert, was zur Freisetzung von Fettsäuren (free fatty acids, FFA) führt (**c** in Abbildung 102). Insulin selbst inhibiert die Lipolyse (**b** in Abbildung 102) Bei der Zugabe von Vanadylsulfat (VOSO_4) kommt es zu einer konzentrationsabhängigen Erniedrigung der FFA-Werte. Zugabe der hier synthetisierten Komplexen (Tabelle 15) bei einer Konzentration von 0.1 mM zeigt ähnlich dem VOSO_4 praktisch keine Wirkung. Konzentrationen von 1 mM führen hingegen im Falle der TPA-Komplexe zu signifikanter Erniedrigung der FFA-Werte, allerdings in deutlich geringerem Ausmaße als bei VOSO_4 ; s. hierzu auch die IC_{50} -Werte in Tabelle 15.

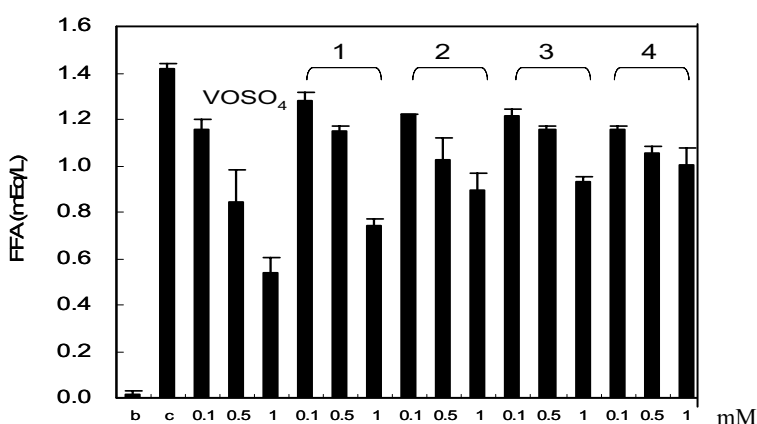


Abbildung 102: Inhibition der Lipolyse durch Vanadylsulfat (VOSO_4) und Vanadium-Komplexen; b: blank (Insulin); c: control (Adrenalin); 1 [VO(TPA)(PicTrp)]; 2 [VO(TPA)(PicIle)]; 3 [VO(TPA)(Pic-5OEt)]; 4 [VO(MPA)(PicThr)].

Tabelle 15: Ermittelte IC_{50} -Werte.

Verbindung	IC_{50} -Werte [mM]
VOSO_4	0.81 ± 0.2
1 [VO(TPA)(PicTrp)]	1.84 ± 0.4
2 [VO(TPA)(PicIle)]	3.72 ± 1.7
3 [VO(TPA)(Pic-5OEt)]	15.1 ± 7.5
4 [VO(MPA)(PicThr)]	~ 100

4.10 Insulin-mimetische Tests mit den Liganden

Bei der Untersuchung der Liganden mit den Adipocyten zeigen drei Liganden eine Inhibierung und damit eine Abnahme der FFA-Konzentration. In Abbildung 103 und Tabelle 16 sind neben der Kontrollgruppe (b) und der mit Adrenalin behandelten Gruppe (c) die Ergebnisse für N-(2-Mercaptobenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin (MPA) (2), Tris(2-pyridylmethyl)amin (TPA) (4), N-(2-hydroxybenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin (HPA) (7) zusammengestellt. Von

Tabelle 16: Ermittelten IC₅₀-Werte.

Ligand	IC ₅₀ -Werte [mM]
(1) PicTrp(OMe)	7.8 ± 3.9
(2) MPA	10.1 ± 1.5
(3) PicThr(OMe)	2.3 ± 0.1
(4) TPA	-
(5) PicIle(H)	-
(6) PicOEt	-
(7) HPA	-

diesen Verbindungen zeigt nur MPA (mit der Mercapto-Einheit) einen inhibierenden Effekt (IC₅₀ 10.1 mM). Bei den modifizierten Picolinen zeigen die Tryptophan- (IC₅₀ 7.8 mM) und Threonin-Derivate (IC₅₀ 2.3 mM) eine inhibierende Wirkung. Die Modifizierung mit *iso*-Leucin (Pile) präsentiert sich ebenso wie die 5-Carboethoxypyridin-2-carbonsäure (Pic-5OEt) ohne jeglichen Einfluss.

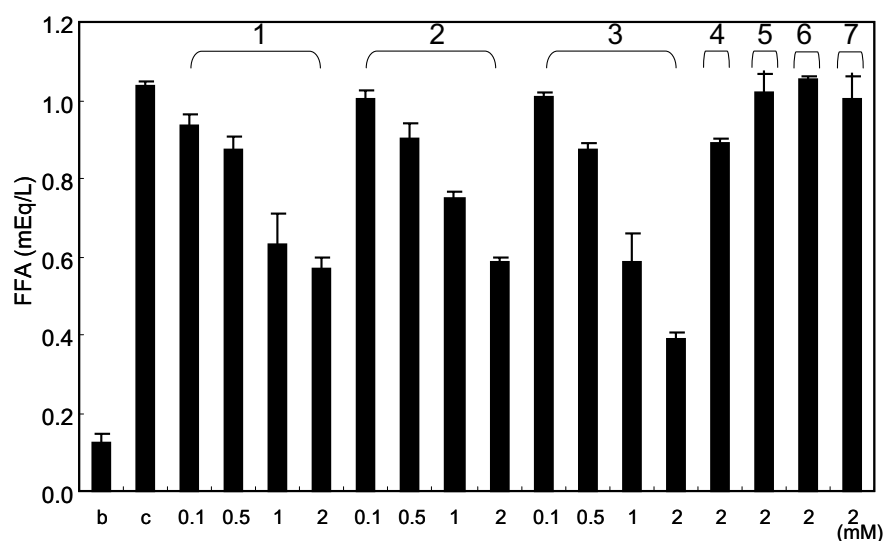


Abbildung 103: Inhibierungseffekte der eingesetzten Liganden bezüglich der Lipolyse; b: blank; c: control, (1) PicTrp(OMe), (2) MPA, (3) PicThr(OMe), (4) TPA, (5) PicIle(H), (6) Pic5-OEt, (7) HPA.

5 Zusammenfassung

Vanadiumverbindungen mit organischen Liganden können in Tierversuchen (*in vivo*) und in Untersuchungen mit Zellkulturen (*in vitro*) effiziente Insulinmimetika sein, und zwar sowohl hinsichtlich des von Insulin beeinflussten Glucosestoffwechsels als auch des Fettstoffwechsels. Vanadiumverbindungen eignen sich daher grundsätzlich in der peroralen Medikation von Diabetes mellitus, und zwar im Unterschied zu Insulin auch bei der besonders häufigen Typ-II Diabetes („Altersdiabetes“), die auf mangelndem Respons der Zellen gegenüber Insulin zurückzuführen ist.

Frühere Untersuchungen in der Arbeitsgruppe hatten gezeigt, dass 5-Carboalkoxi-Derivate der 2,5-Dipicolinsäure Vanadiumkomplexe bilden, die hinsichtlich Stabilität, ausgewogener Lipophilie/Hydrophilie und geringer Zelltoxizität geeignete Insulinmimetika darstellen. Basierend auf diesen Ergebnissen sollten in der vorliegenden Arbeit Vanadiumkomplexe von Derivaten der 2,5-Dipicolinsäure eingesetzt werden, in denen die Carbonsäure-Position 5 mit Aminosäuren derivatisiert ist. Ein offensichtlicher Vorteil liegt darin, dass Aminosäuren körpereigene Substanzen sind, für die Zellen Rezeptoren haben, welche die Aufnahme der Komplexe in die Zelle erleichtern.

Als Aminosäuren wurden hier einerseits solche mit polaren Substituenten eingesetzt [Tryptophan (Trp), Threonin (Thr), Tyrosin (Tyr), Aspartat (Asp) und Histidin (His) bzw. deren *tert.*-Butylgeschützte Methylester], andererseits die Ester der unpolaren Aminosäuren Leucin (Leu) und Isoleucin (Ile). Der Darstellungsweg ist in Abb. Z1 exemplarisch für ein Threoninderivat aufgezeigt. Alle Ligandensysteme konnten in mittleren bis guten Ausbeuten dargestellt und vollständig durch IR, MS, und mehrdimensionale NMR-Spektroskopie charakterisiert werden.

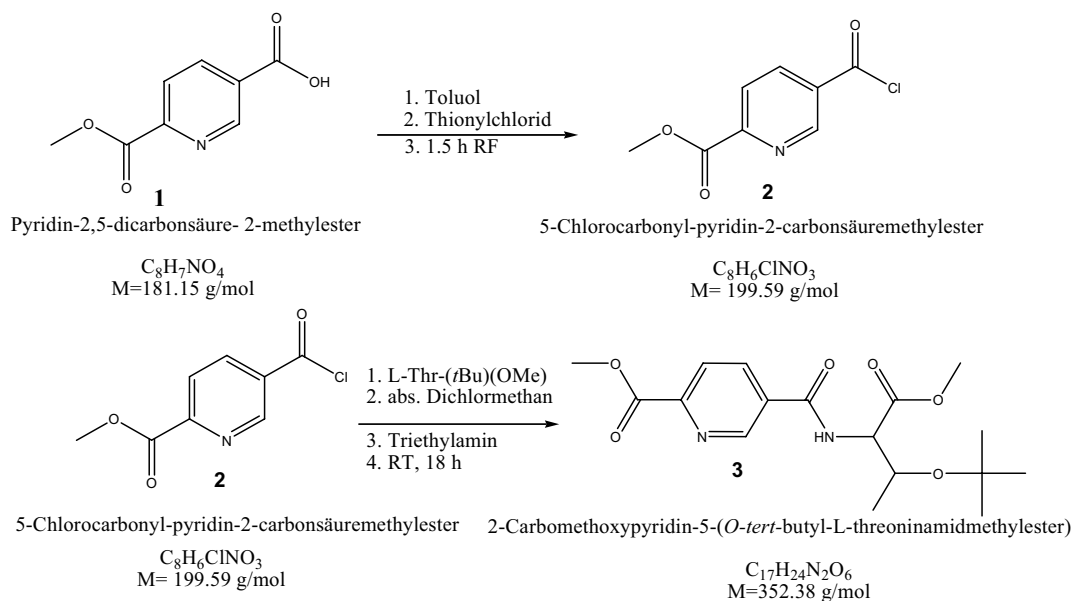


Abbildung Z1. Darstellung von Aminosäurederivaten der 2,5-Dipicolinsäure, exemplifiziert für den *tert*-Butyl-geschützten Methylester des Threonins, *t*BuThrMe.

Oxidovanadium(IV)-Komplexe der Zusammensetzung $[VOL_2]$ wurden durch direkte Umsetzung der Liganden mit Vanadylsulfat in Acetat-gepufferter Lösung erhalten. L steht hier für die 5-Picolylamide mit TrpMe, Tyr, *t*BuTyr, ThrMe, *t*BuThrMe, IleMe und LeuEt. Das generelle Reaktionsschema ist in Abb. Z2 gezeigt. Die Komplexe wurden mittels IR, MS, EPR und Elementaranalyse charakterisiert, teils auch durch ihre UV-Vis Spektren und ihren Circular dichroismus sowie durch thermogravimetrische Untersuchungen. Insbesondere die EPR-Spektroskopie lieferte überzeugende Hinweise auf den äquatorialen Ligandensatz (2 Pyridin-*N* plus 2 Carboxylat-*O* der Picolinat-Einheit) in Lösung.

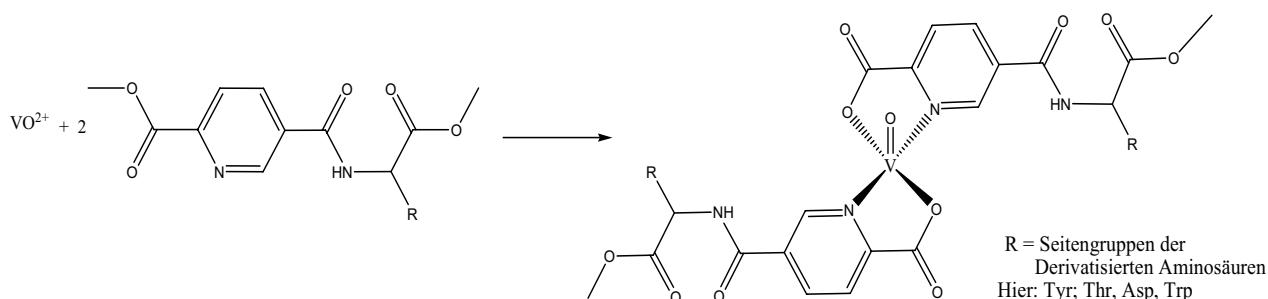


Abbildung Z2. Reaktionsschema für die Darstellung der Oxidovanadium(IV)-Komplexe der Picolylamide. R steht für die Seitenkettenfunktion der Aminosäure.

Um Hinweise auf die Stabilität und Zusammensetzung der Komplexe unter physiologischen Bedingungen zu erhalten, wurden im pH-Bereich 2-9 Speziationsanalysen auf der Basis H^+ -potentiometrischer Messungen vorgenommen. Abb. Z3 zeigt die Ergebnisse für zwei der binären Systeme bestehend aus VO^{2+} und den Picolinatderivaten mit der hydrophoben Aminosäure Isoleucin (PicIle) bzw. der hydrophilen Aminosäure Tryptophan (PicTrp): Während im sauren Bereich *Bis*(Ligand)-Komplexe in unterschiedlichen Protonierungsgraden vorliegen, dominieren um den Neutralbereich die *Mono*(Ligand)-Komplexe und im schwach basischen ligandenfreie Vanadate(IV). Die Protonierungskonstanten lassen – wie die EPR-Spektren – auf eine Koordination über die *NO*-Funktionalität der Picolinateinheit schließen. In Tabelle Z1 sind ausgewählte Protonierungskonstanten der Liganden und Stabilitätskonstanten der Komplexe zusammengestellt.

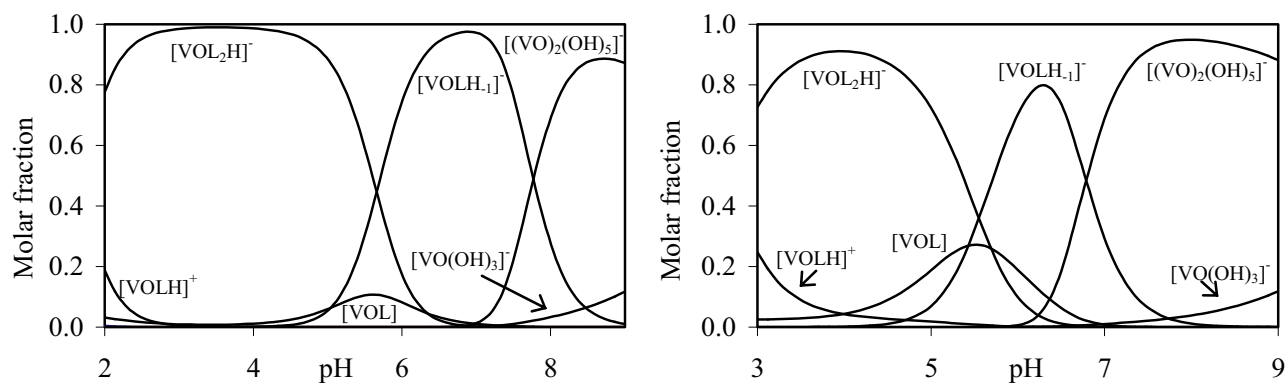


Abbildung Z3. Speziationsdiagramme der Systeme VO^{2+} -PicIle (links) und VO^{2+} -PicTrp (rechts).

Tabelle Z1. Ausgewählte Protonierungs- und Komplexbildungskonstanten für die Liganden L und die binären VO^{2+} -L Systeme; L = PicIle und PicTrp; Ionenstärke 0.2M (KCl).

L	$\log\beta(HL)/pK_{s1}$	$\log\beta(H_2L)/pK_{s1}$	$\log K(VOLH/VOL)$	$\log K(VOL/VOLH_1)^a$
PicIle	3.90/2.99	6.89/3.90	2.78	5.04
PicTrp	3.89/2.86	6.75/3.89	3.99	5.45

^a H_1 bezieht sich auf einen deprotonierten Aqualiganden.

Für den Transport der Vanadiumkomplexe in der Blutbahn sind die Wechselwirkungen mit niedermolekularen Blutkomponenten (insbesondere Citrat, Lactat und Phosphat) sowie mit den hochmolekularen Komponenten Transferrin (Tf) und Albumin (HSA) zu berücksichtigen. Dies wurde durch Speziationsanalysen in den ternären Systemen VO^{2+} -A-B modelliert, wo A für ein Picolinderivat steht und B für eine der Blutkomponenten. Abb. Z4 (links) zeigt das Speziationsdiagramm für A = PicIle und B = Citrat. Im physiologischen pH-Bereich sind damit

die ternären Spezies mit hohen Anteilen vertreten, und im Gegensatz zu den binären Komplexen reicht die Stabilität bis in den alkalischen Bereich hinein. Die Gesamtsituation im quaternären System, d.h. unter Einschluss von Tf und HSA, ist in Abb. Z4 (rechts) gezeigt: Etwa zwei Drittel des Vanadiums ist in binären Komplexen des Tf und HSA eingebunden. Die ternären Komplexe [VO(PicIle)lac] und [VO(PicIle)cit] machen etwa ein weiteres Drittel aus, während die Menge an binärem [VO(PicIle)] vernachlässigbar klein ist. Diese Untersuchungen verdeutlichen die Rolle der Blutserumproteine als Transporter für das Vanadylion; sie zeigen aber auch, dass die durch den ursprünglichen Liganden (hier PicIle) vermittelte „Information“ weiterhin verfügbar ist, nämlich in Form der ternären Komplexe mit Citrat und Lactat.

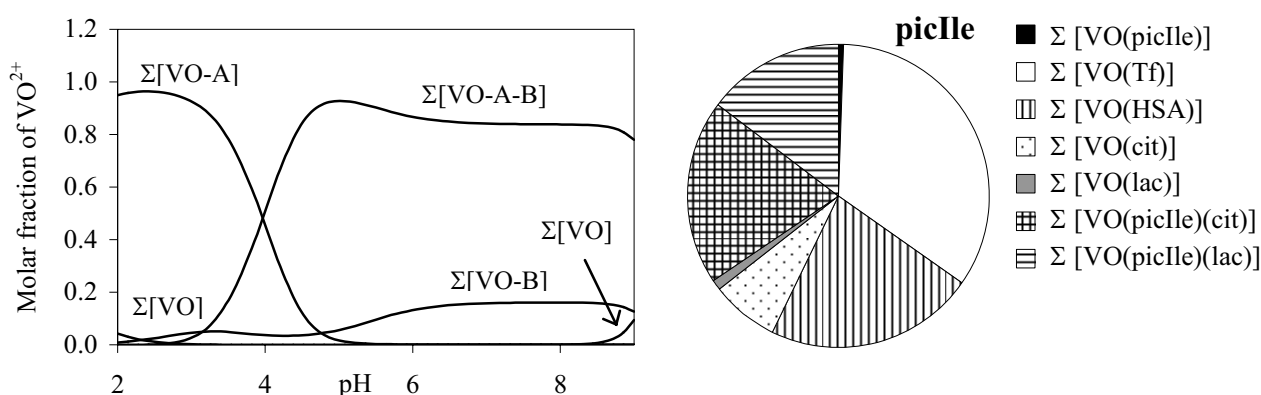


Abbildung Z4. Links: Speziationssummen im System $\text{VO}^{2+}\text{-A-B}$ (A = PicIle, B = Citrat) im Molverhältnis 1:2:2 bei einer Absolutkonzentration $c(\text{VO}^{2+}) = 1\text{mM}$. Rechts: Verteilung von VO^{2+} in Gegenwart von Transferrin (Tf) und humanem Serumalbumin (HSA), Citrat und Lactat bei $c(\text{V}) = 0.2 \text{ mM}$ und etwa physiologischen Konzentrationen der anderen Bestandteile.

Die Insulin-mimetischen Untersuchungen wurden *in vitro* mit Adipocytten in Hinblick auf die Inhibierung der Lipolyse durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abb. Z5 zusammengestellt. Alle Komplexe mit den Picolinderivaten PicHis, PicIle, PicTyr und PicTrp zeigen, insbesondere bei Konzentrationen von 1 mM, gute insulinmimetische Wirkung, im Falle der Komplexe [VO(PicHis)] und [VO(PicIle)] sogar höhere Effizienz als das zum Vergleich eingesetzte Vanadylsulfat. Die IC_{50} -Werte dieser beiden Komplexe betragen 0.41(1). Ascorbinsäure verändert die Ergebnisse nicht, sodass ein möglicher Einfluss von Luftsauerstoff ausgeschlossen werden kann. Eine Inhibierung der Lipolyse wurde schließlich auch für einige Komplex beobachtet, die neben dem Picolinderivat einen zweiten Liganden, z.B. *Tris*(pyridylmethyl)amin (TPA) enthalten. Als effizient in dieser Gruppe von Komplexen, mit einem $\text{IC}_{50} = 1.84$, erwies sich der Vanadium(V)-Komplex $[\text{VO}(\text{PicTrpH})\text{TPA}]^{2+}$.

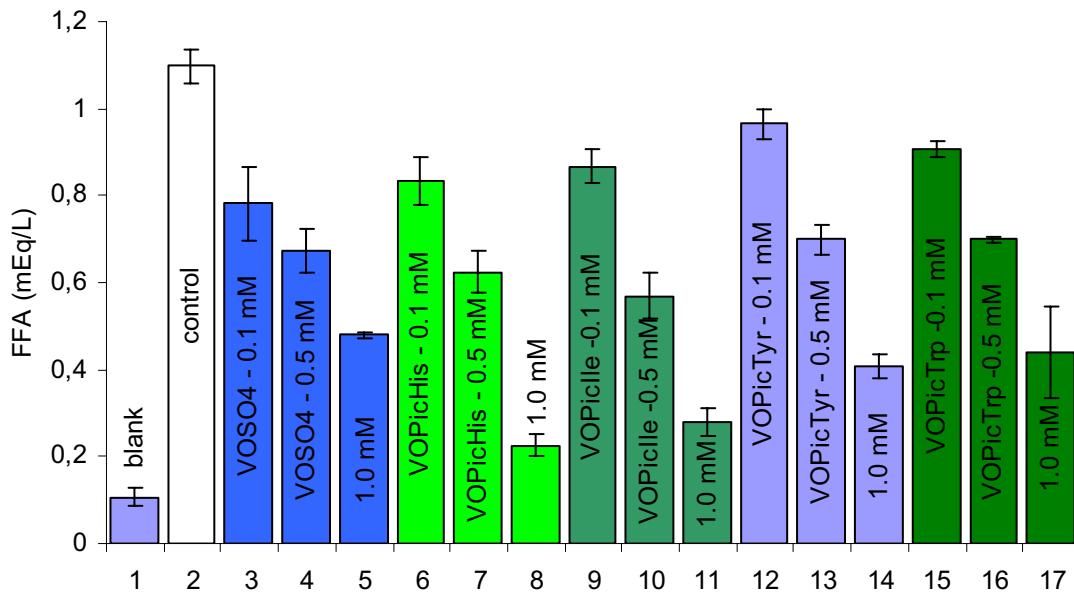


Abbildung Z5. Inhibierung der Lipolyse durch Vanadiumverbindungen. Die Untersuchungen wurden an Adipocyten durchgeführt. „Blank“ = unbehandelte Adipocyten; „control“ = Adipocyten mit Adrenalin (einem Insulin-Antagonisten) versetzt.

6 Summary

Vanadium compounds of organic ligands can be efficient insulin-mimetic agents in diabetic test animals (*in vivo*) and in cell cultures (*in vitro*), where they can act both on the glucose and the lipid metabolism. Vanadium complexes thus exhibit a potential in the oral medication of diabetes mellitus. In contrast to insulin, they can also be efficient in case of the type-II diabetes, which is caused by an insufficient response of cells to insulin.

Earlier investigations in our group have shown that vanadium complexes of 5-carboalkoxy derivatives of 2,5-dipicolinic acid can be particularly appropriate insulin-mimetics with respect to stability, balanced hydro-/lipophilicity and low cell toxicity. Based on these results, the present work aims towards the preparation of ligands and the vanadium complexes thereof, where 2,5-dipicolinic acid is derivatised at the carboxylic acid function in 5 position by amino acids. The obvious advantage lies in the fact that amino acids are body-related products, for which cell receptors exist, allowing for an efficient cellular uptake of the complex.

Amino acids used in the present work were those containing hydrophilic functions on the one hand [tryptophane (Trp), threonine (Thr), tyrosine (Tyr), aspartate (Asp) and histidine (His), usually employed as the (*tert.*-butyl protected) methyl esters], and the esters of the hydrophobic leucine (Leu) and isoleucine (Ile) on the other hand. The synthesis of the respective picolinate derivatives is exemplified in Fig. S1 for a threonine derivative. All of the ligand systems have been obtained in medium to good yields, and were characterised fully by IR, MS and multidimensional NMR.

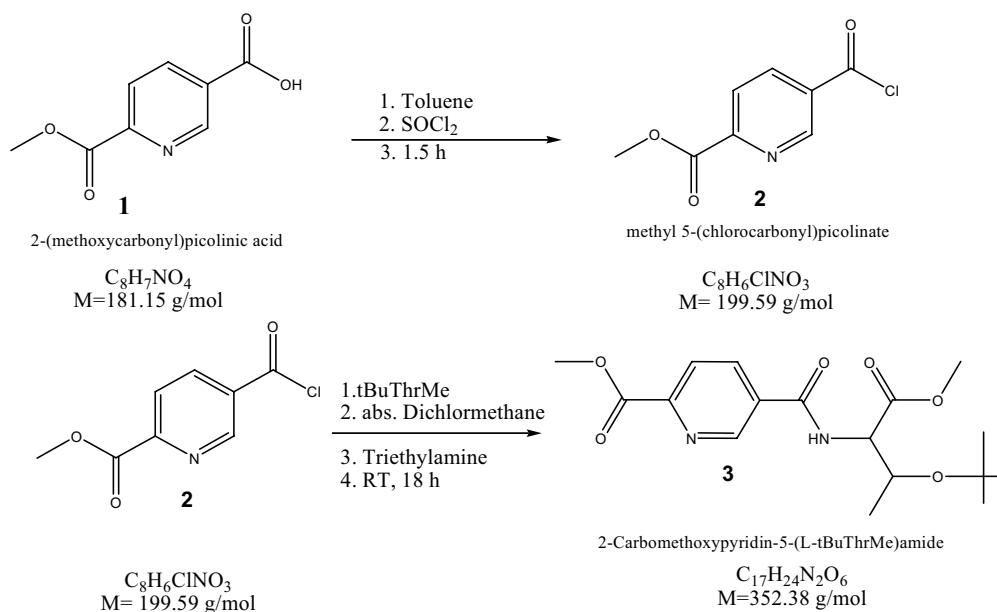


Figure S1. Preparation of amino acid derivatives of 2,5-dipicolinic acid, exemplified for the *tert*-butyl protected threoninemethylester, *t*BuThrMe.

Oxidovanadium(IV) complexes of composition $[\text{VOL}_2]$ were obtained by direct reaction between the ligands and vanadylsulphate in acetate buffered solution, where L stands for the 5-picolylamides formed with TrpMe, Tyr, *t*BuTyr, ThrMe, *t*BuThrMe, IleMe and LeuEt. The general reaction scheme is displayed in Fig. S2. The complexes were characterised by IR, MS, EPR and elemental analyses, and in part by their UV-Vis and circular dichroism patterns, and thermogravimetric properties. EPR in particular provided convincing evidence for the coordination modes of the ligand (2 pyridine-*N* plus 2 carboxylate-*O* of the picolinate moiety) in the equatorial plane in solution.

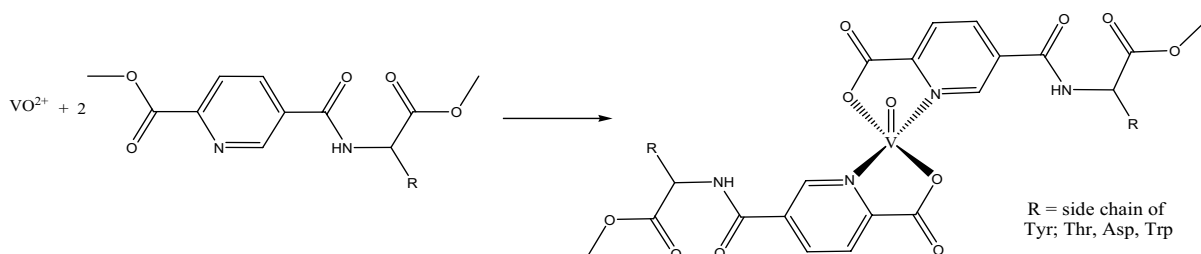


Figure S2. General reaction scheme for the preparation of oxidovanadium(IV) complexes of the picolylamides. R refers to the side-chain function of the amino acid.

In order to obtain information on the stability and composition of the complexes under physiological conditions, H^+ -potentiometric speciation analyses have been carried out in the pH range 2-9. Fig. S3 shows the results for two of the binary systems, viz. VO^{2+} + the picolinate derivatives of hydrophobic isoleucin (PicIle) and hydrophilic tryptophane (PicTrp): While, in the acidic range, the *bis*(ligand) complexes in differing protonation states are present, *mono*(ligand) complexes dominate in the about neutral regime. In the slightly alkaline range, ligand-free vanadates(IV) bestride. The protonation constants suggest – in agreement with the EPR data – coordination via the *NO* functionalities of the picolinate moiety. Selected protonation constants for the ligands and complex formation constants for the complexes are displayed in Table S1.

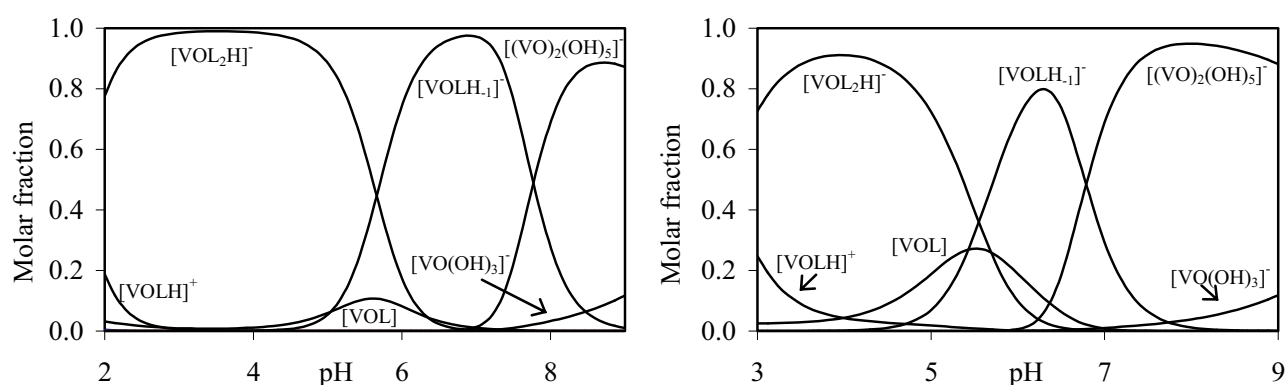


Figure S3. Speciation diagrams of the systems VO^{2+} -PicIle (left) and VO^{2+} -PicTrp (right).

Table S1. Selected protonation and complex formation constants for the ligands L and the binary VO^{2+} -L systems, L = PicIle and PicTrp; ionic strength 0.2M (KCl).

L	$\log\beta(HL)/pK_{s1}$	$\log\beta(H_2L)/pK_{s1}$	$\log K(VOLH/VOL)$	$\log K(VOL/VOLH_{-1})^a$
PicIle	3.90/2.99	6.89/3.90	2.78	5.04
PicTrp	3.89/2.86	6.75/3.89	3.99	5.45

^a H_{-1} refers to a deprotonated aqua ligand.

For the transport of the vanadium complexes in the blood stream it is essential to have information on their interaction with low molecular blood constituents (in particular citrate, lactate and phosphate) and the high molecular constituents transferrin (Tf) and albumin (HMA). This has been modelled by speciation analyses of the ternary systems VO^{2+} -A-B, where A is a picolyl derivative and B one of the blood constituents. Fig. S4, left, represents the situation for A = PicIle and B = citrate, showing that, in the physiological pH range, ternary species are dominating, and further that – contrasting the binary complexes – stability is ascertained also in the alkaline range. The overall situation in the quaternary systems, i.e. including Tf and HAS, is shown in Fig. S4, right: About two third of the vanadium is confined to binary complexes with

Tf and HAS. The ternary complexes [VO(PicIle)lac] and [VO(PicIle)cit] make up about one third, while the amount of binary [VO(PicIle)] is negligibly small. These investigations clearly demonstrate the important role of the blood serum proteins as carriers for the vanadyl ion, but they also show that the “information” implanted by the original ligand (here PicIle) still is available in the form of ternary complexes with the citrate and lactate.

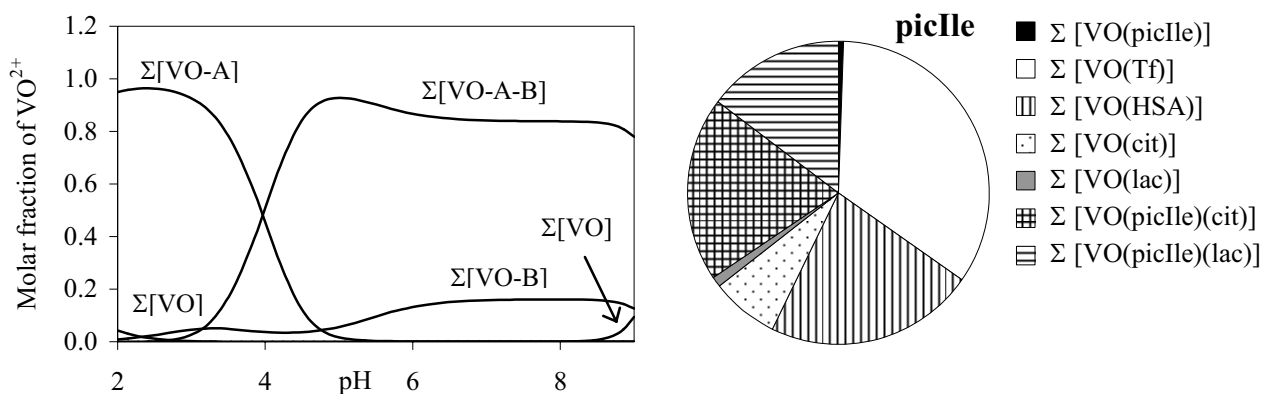


Figure S4. Left: Summed concentration distribution curves in the system $\text{VO}^{2+}\text{-A-B}$ (A = PicIle, B = citrate) in the molar ratio 1:2:2 at an absolute concentration $c(\text{VO}^{2+}) = 1\text{mM}$. Right: Distribution of VO^{2+} in the presence of transferrin (Tf), human serum albumin (HAS), citrate and lactate at $c(\text{V}) = 0.2\text{ mM}$ and about physiological concentrations of the other constituents.

Insulin-mimetic studies were carried out *in vitro* with adipocytes with respect to the inhibition of lipolysis. The results are summarised in Fig. S5. All of the complexes with the picoline derivatives PicHis, PicIle, PicTyr and PicTrp exhibit, in particular at concentrations of 1 mM, satisfactory insulin-mimetic effects. In the case of [VO(PicHis)] and [VO(PicIle)] they are even more efficient than vanadylsulphate, which was used as a bench mark compound. The IC_{50} values of these two complexes amount to 0.41(1). Ascorbic acid does not influence the results; a possible influence of aerial oxygen can thus be excluded. Inhibition of lipolysis has also been observed for complexes containing, along with the picolinate derivative, a second ligand, e.g. *tris*(pyridylmethyl)amine (TPA). The vanadium(V) complex $[\text{VO}(\text{PicTrpH})\text{TPA}]^{2+}$, $\text{IC}_{50} = 1.84$, turned out to be effective within this family of complexes.

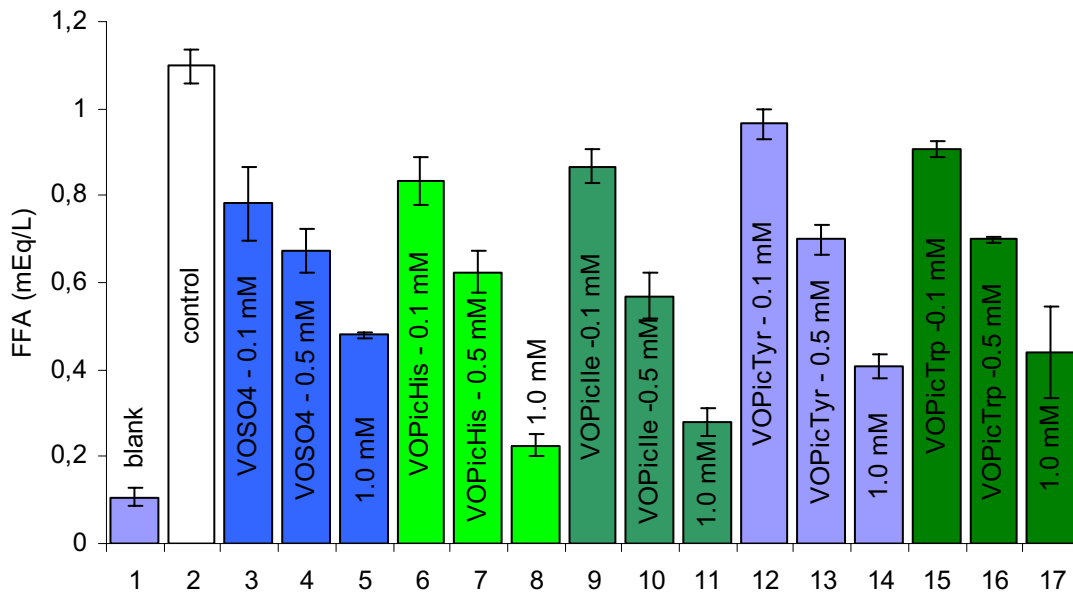


Figure S5. Inhibition of lipolysis by vanadium compounds. The investigations have been carried out with adipocytes. “Blank” = untreated; “control” = adipocytes treated with epinephrine (an insulin antagonist).

7 Experimenteller Teil

7.1 Physikalische Untersuchungsmethoden

7.1.1 NMR-Spektroskopie

^1H -NMR-, ^{13}C -NMR- und ^{51}V -NMR-Spektren wurden mit den Spektrometern Gemini 200 BB der Firma Varian und dem Advance 400 der Firma Bruker in 5 mm-Röhrchen aufgenommen. Die ^1H -NMR spektroskopischen Messungen erfolgten bei 200 MHz über einen Messbereich von 0 – 14 ppm. Die ^{13}C -NMR Spektren wurden bei 100 MHz im Bereich 0 – 200 ppm und die ^{51}V -NMR Spektren bei 105 MHz im Bereich -1000 – 300 ppm aufgenommen. Bei den ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Messungen wurde als interner Standard TMS benutzt; die ^{51}V -NMR-Spektren wurden relativ zu VOCl_3 (als externem Standard) aufgenommen.

7.1.2 Infrarot-Spektroskopie

IR-Spektren wurden im Messbereich von 4000 – 400 cm^{-1} mit dem FT-IR Perkin-Elmer 1720 aufgenommen. Für FIR-Spektren stand das Gerät 1700 XFT der Firma Perkin-Elmer zur Verfügung (Messbereich 500 – 50 cm^{-1}). Präpariert wurden die Substanzen als KBr-Presslinge unter N_2 -Schutzgasatmosphäre.

7.1.3 UV/VIS-Spektroskopie

UV/VIS-Spektren wurden auf einem Gerät Cary 500, Version 8.01, in einem Bereich von 700 bis 250 nm in Quarzküvetten ($d=1$ cm) aufgenommen.

7.1.4 Elementaranalysen

Die Elementaranalysen wurden im Analytischen Labor des Instituts für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg durchgeführt.

Der Gehalt an Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff wurde durch Mikroverbrennungsanalyse auf dem Gerät CHN-O-Rapid der Firma Heraeus bestimmt.

7.1.5 Elektronenresonanzspektroskopie

EPR-Spektren wurden auf einem Gerät ESP-300 E der Firma Bruker bei einer Frequenz von 9.45 – 9.75 GHz (X-Band) bei Raumtemperatur und Tieftemperatur (ca. 100 K) in Röhrchen mit 4 mm Durchmesser bzw. in Kapillaren aufgenommen. Die Konzentration der vermessenen Lösungen lag zwischen 2 und 5 mM.

7.1.6 Differenzthermoanalyse

Die Durchführung der Differenzthermoanalysen erfolgte auf einem Gerät des Typs STA 409 der Firma Netzsch. (Stickstoffstrom von 20 mL/min, Heizprogramm 2 - 5 K/min, zwischen 20°C und 1400°C.)

7.1.7 Circular dichroismus (CD)

Die Aufnahme der CD-Spektren erfolgte auf einem Spektropolarimeter Model 215 der Firma AVIV. Konzentrationen: $c_{L\text{-Thr}}$ 466 $\mu\text{mol/L}$; $c_{D\text{-Thr}}$ 5.62 mmol/L; $c_{\text{PicThrOMe}}$ 63 $\mu\text{mol/L}$; $c_{\text{VOPicThrOMe}}$ 34 $\mu\text{mol/L}$; $c_{D\text{-Ser}}$ 12 mmol/L; $c_{\text{PicSerOMe}}$ 64 $\mu\text{mol/L}$.

7.1.8 High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)

Die Trennung wurde an einer semi-präparativen *RP*-HPLC-Säule: GRACE Vydac C18, (Partikelgröße 5 μm , 5 mL/min) von W.R. Grace&Co. Com (USA) vorgenommen.

Fraktionssammler: SF-3120 „Super Fractions Collector-Advantec“
Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland)

HPLC-Anlagen: La Chrom D 7000, Interface; La Chrom L 7455, Diode Array Interface;
La Chrom L 7200, Autosampler; La Chrom L 7100 Pumpe von Merck
Hitachi (Darmstadt, Deutschland)

7.1.9 Massenspektrometrie

Die Aufnahme der Fast-Atom-Bombardment-Massenspektren erfolgte an einem Gerät vom Typ VG 70-250 S der Firma VG Analytical mit Xenonkanone. Als Matrix wurde meta-Nitrobenzylalkohol verwendet.

7.2 „Biochemische“ Untersuchungsmethoden

7.2.1 Speziationsanalysen

Die Stabilitätskonstanten der VO^{2+} -Komplexe mit den Liganden wurden durch potentiometrische Titration bestimmt. Hierzu wurden je 10.0 mL einer Lösung der Liganden und im Falle der binären und ternären Systeme 5 mL einer Lösung vermessen, die 1 – 4 mM an Ligand war mit einem Verhältnis VO^{2+} :Ligand von 0:1, 1:1, 1:2, 1:4. Für die ternären Systeme mit Lactat, Citrat und Phosphat (B) wurde ein Verhältnis VO^{2+} :A:B von 1:1:1, 1:2:1, 1:1:2 und 1:2:2 gewählt. Die Titrationsen wurden über einen pH-Bereich von 2 – 11, bzw. bis zum Auftreten eines Niederschlags, mit einer Carbonat-freien KOH-Lösung bekannter Konzentration ($c \approx 0.2 \text{ M}$) in einer gereinigten Argonatmosphäre durchgeführt. Die Ionenstärke der Lösungen wurde auf 0.20 M KCl eingestellt. Die Temperatur wurde bei $25.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$ gehalten. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programms PSEQUAD.

7.2.2 Membrane Ultrafiltration und ICP-OES Untersuchung

Die Proben wurden für die Trennung der HMM- und LMM-Fraktion durch Ultrafiltration mit Hilfe von 10 kDa Membranfiltern (Microcon YM-10 centrifugal filter unit, Amicon, Millipore) separiert. Für die Studien der Protein-Liganden-Wechselwirkung wurden jeweils 0.5 mL Proben, versetzt mit 200 μM humanem Serum Albumin (HSA) oder apo-Transferrin (Tf), Liganden (100 - 600 μM) und mit 0.0625 M HEPES-Puffer pH 7.4, vermessen. Für die Studien der Protein-Komplex-Wechselwirkung und Verteilung der VO^{2+} -Ionen wurden 0.5 mL Proben mit 400 μM $[\text{VO}^{2+}\text{L}]$ versetzt mit 200 μM Protein, oder 200 μM $[\text{VO}^{2+}\text{L}]$ versetzt mit 630 μM HSA, 37 μM apo-Tf, 99 μM Citrat, 1.51 mM Lactat, 1.10 mM Phosphat in 0.0625 M HEPES (pH 7.4) vermessen. Diese Konzentrationen entsprechen denen, die im Blutserum vorliegen.⁵⁷ Die Transferrin enthaltenen Proben wurden zusätzlich mit 0.025 M NaHCO_3 versetzt und untersucht. Die Inkubationszeit betrug zwei Stunden bei 25°C . Anschließend wurden die Proben in Filter-Tubes überführt und 45 min. bei 10000 rpm und 25°C zentrifugiert, um die HMM- und LMM-Fraktion zu separieren.

Die Bestimmung der Konzentration der Liganden bzw. VO^{2+} -Ionen in den Filtraten fand mittels UV-Vis und ICP-OES (inductively coupled plasma optical emission spectrometry)⁵⁸ statt. Der prozentuale Anteil, der an das Serumprotein gebundenen Liganden oder VO^{2+} -Ionen wurde

durch einen Vergleich mit den nicht-filtrierten Lösungen der Ausgangsreferenzlösungen der Liganden bzw. Metallkomplexe bestimmt. Die Bestimmung der für die Addukte aus Proteinen und Liganden erfolgte mit Hilfe des Programms PSEQUAD. Die Bestimmung der VO^{2+} -Ionen Konzentration der Proben erfolgte mittels ICP-OES. Zur Vorbereitung wurden die Proben mit 0.5 mL konz. HNO_3 und 0.5 mL 30%ige H_2O_2 versetzt und drei Stunden bei 70 °C erhitzt. Nach dem Aufschluss wurde die Lösung in Messkolben überführt und mit deionisiertem Wasser auf 5.00 mL aufgefüllt.

Die Bestimmung des Vanadiums erfolgte bei 268.8 nm mit einem Jobin-Yvon 24 all-Argon Spektrometer, ausgestattet mit einem Teflon V-Groove Zerstäuber und Gilson Minipuls III peristaltische Pumpe.

UV-Spektroskopische Untersuchung wurden zur Bestimmung der Ligandenkonzentration der Proben genutzt. Hierzu wurden die Filtrate auf 5 mL verdünnt und am Unicam Helios Alpha Spektrophotometer im Bereich von 205 – 350 nm detektiert.

7.2.3 Spektrofluorimetrische Untersuchung

Die Studien wurden am Hitachi-4500 Spektrofluorimeter (Anregung 295 nm; Detektion 310-450 nm) durchgeführt. Die Proben (0.8 μM HSA und 0-4 μM Ligand) wurden mit 0.25 mM HEPES auf pH 7.4 gepuffert.

7.2.4 Insulin-mimetische Tests bezüglich der Inhibierung der Lipolyse

Die Insulin-mimetischen Tests in Hinblick auf die Inhibierung der Lipolyse (free fatty acid (FFA) release) wurden an Ratten-Adipocyten durchgeführt. Männliche Wistar-Ratten wurden unter Narkose getötet, das Fettgewebe entfernt, zerkleinert und mit Collagenase in Krebs-Ringer-Puffer (KRB) (120 mM NaCl, 1.27 mM CaCl_2 , 1.2 mM MgSO_4 , 4.75 mM KCl, 1.2 mM KH_2PO_4 , 24 mM NaHCO_3 ; pH 7.4) unter Zusatz von 2% BSA für eine Stunde bei 37 °C behandelt. Die Adipocyten wurden durch Filtration durch Nylongewebe abgetrennt und dreimal mit KRB-Puffer gewaschen. Anschließend wurden je 240 μL (10^6 Zellen mL^{-1}) der isolierten Zellen mit 15 μL Kochsalzhaltiger Glucoselösung und 30 μL der Vanadiumverbindungen ($c = 0.1 - 1$ mM) in Kochsalzlösung/DMSO versetzt und die Suspensionen bei 37 °C für 30 Minuten präinkubiert. Dann wurden 15 μL Adrenalin (0.2 mM), gelöst in Kochsalzlösung, zugegeben und die Mischung bei 37 °C für drei Stunden inkubiert. Die Reaktion wurde durch Eiskühlung

gestoppt. Die FFA-Konzentration in der extrazellulären Lösung wurde mittels eines NEFA kits (WAKO PURE CHEMICALS, Japan) bestimmt. Alle Tierversuche wurden durch das Experimental Animal Research Committee der KYOTO PHARMACEUTICAL UNIVERSITY (KPU), Japan, genehmigt und nach den Richtlinien für Tierversuche der KPU durchgeführt.

7.3 Allgemeine Arbeitstechnik, Lösungsmittel und Ausgangsverbindungen

Alle Reaktionen wurden, sofern nicht anders angegeben, unter einer Stickstoffatmosphäre mit Hilfe der Schlenk-Technik durchgeführt. Zur Darstellung des Liganden wurden die Apparaturen ausgeheizt und mit Stickstoff gespült.

Feste Substanzen wurden im Hochvakuum getrocknet. Verbindungen mit Vanadium in der Oxidationsstufe +IV wurden unter Lichtausschluss aufbewahrt.

Für die Komplexbildungsreaktionen benötigte Lösungsmittel wurden vor Gebrauch absolutiert bzw. von gelöstem Sauerstoff befreit:

THF wurde 48 h über LiAlH₄ unter Rückfluss erhitzt, anschließend abdestilliert und über frisch regeneriertem Molsieb 3Å aufbewahrt.

Ethanol und Methanol, 2-Propanol wurden über Magnesiumspänen (ca. 5 g pro Liter Alkohol, Zugabe von ca. 1 mL CCl₄) nach Abklingen der Reaktion für 6 Stunden unter Rückfluss gekocht und anschließend abdestilliert.

Destilliertes Wasser wurde durch längeres Durchleiten von Stickstoff von gelöstem Sauerstoff befreit.

Ausgangskemikalien wurden, soweit nicht anders vermerkt, über den einschlägigen Fachhandel (Merck, Fluka u. a.) bezogen und ohne weitere Reinigung in den Synthesen eingesetzt.

7.3.1 Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure, 1 (AVV1)

Zu einer Lösung von Pyridin-2,5-dicarbonsäure (15.0 g, 89.8 mmol) in 180 mL Methanol wurde konz. Schwefelsäure (2.85 mL) hinzugegeben und 2 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Methanol abdestilliert und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Nach dem Abfiltrieren wurde der Niederschlag mit jeweils 60 mL Ethylacetat, Diethylether und 50 mL Chloroform gewaschen. Die Trocknung erfolgte im Ölpumpenvakuum.

7.3.2 Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung von 5-Chlorocarbonylpyridin-2-methylester⁵⁹, 2 (AVV2)

Zu einer Lösung aus 2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure (906 mg, 5.0 mmol) in 25 mL Toluol wurde Thionylchlorid (4.85 mL) gegeben und für drei Stunden unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wurde der gelbe Rückstand noch dreimal mit je 15 mL abs. Toluol extrahiert. Das so hergestellte Säurechlorid wurde direkt weiter umgesetzt.

7.3.3 Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung der 2-Carbomethoxypyridin-5-(Aminosäureethylester)amide⁶⁰ (AVV3)

Zu einer auf 0°C gekühlten Lösung des L-Aminosäureethylester-Hydrochlorids (5.0 mmol) in 10 mL abs. Dichlormethan wurde Triethylamin (1.52 mL) gegeben und für fünf Minuten gerührt (Bildung eines weißen Niederschlags). Anschließend wurde eine ebenfalls gekühlte Lösung des Säurechlorids in 10 mL abs. Dichlormethan zugetropft. Die entstandene gelbe Lösung wurde bis zur vollständigen Reaktion (DC-Kontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der Rückstand in Ethylacetat/Methanol/Ethanol aufgenommen. Die Lösung wurde filtriert und der Niederschlag mit ein wenig Lösungsmittel gewaschen. Anschließend wurde das Filtrat eingengt. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte säulenchromatographisch (ca. 100 g Kieselgel je 1 g Rohprodukt, Laufmittel: Ethylacetat/*n*-Hexan bzw. Dichlormethan/Methanol).

7.3.4 Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung der Pyridin-2,5-dicarbonsäuredialkylester⁶¹ (AVV4)

Pyridin-2,5-dicarbonsäure (10 g, 60 mmol) wurde unter Schlenkbedingung mit Thionylchlorid (120 mL) versetzt und unter Rückfluss erhitzt, bis eine klare gelbe Lösung entstanden war. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wurde der gelblich-braune Rückstand noch drei Mal mit je 20 mL Toluol extrahiert. Es wurde ein bräunliches Öl erhalten, das beim Abkühlen in Form langer Nadeln auskristallisierte. Das Säurechlorid wurde unter Eiskühlung mit einem Überschuss des entsprechenden Alkohols (Methanol, Ethanol, 2-Propanol) tropfenweise versetzt und für 12 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung auf Eis gegeben und mit festem Natriumcarbonat neutralisiert. Die wässrige Lösung wurde fünf Mal mit Dichlormethan

extrahiert. Nach dem Trocknen der organischen Phase über MgSO_4 wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abdestilliert und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

7.3.5 Allgemeine Versuchsvorschrift zur Darstellung der 5-Carboalkoxy-pyridin-2-carbonsäuren⁶² (AVV5)

Zu einer Lösung des Pyridin-2,5-dicarbonsäure-dialkylesters (AVV4) (1 mmol) in 50 mL Methanol wurde $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ (1 mmol) gegeben und die Lösung für 3 h unter Rückfluss erhitzt. Es bildeten sich hellblaue Kristalle. Die Lösung wurde eingengt und anschließend filtriert. Nach dem Waschen des Rückstands mit Wasser und verdünnter Na_2CO_3 -Lösung wurde dieser in 30 mL Aceton suspendiert und für 30 Minuten gerührt. Es wurde abdekantiert, die Kristalle in 30 mL Diethylether aufgenommen und erneut für 30 Minuten gerührt. Das Produkt wurde abfiltriert und getrocknet. Durch eine Suspension des erhaltenen Kupferkomplexes in 100 mL 1,4-Dioxan wurde H_2S geleitet (für ca. fünf Minuten). Überschüssiges H_2S wurde auf dem Wasserbad verkocht. Die Lösung filtriert, eingengt und mit einem Überschuss an *n*-Hexan versetzt. Es bildete sich ein weißer Niederschlag, der abfiltriert, mit *n*-Hexan gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet wurde.

7.4 Versuchsvorschriften zur Synthese der Liganden (Picolinsäure Derivate)

7.4.1 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-carbonsäure, 1 nach AVV1

15.10 g Pyridin-2,5-dicarbonsäure (89.8 mmol) wurden in 180 mL Methanol gelöst, mit 2.8 mL konz. Schwefelsäure versetzt und 2 h unter Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde das Methanol abdestilliert und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Nach dem Abfiltrieren wurde der Niederschlag mit jeweils 30 mL Ethylacetat, Diethylether und 10 mL Chloroform gewaschen. Die Trocknung erfolgte im Ölpumpenvakuum. Das Produkt (14.73 g, 82.3 mmol) liegt in Form eines gelben Pulvers vor. Ausbeute: 92% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , TMS): δ [ppm] = 14.50-13.00 (br, 1 H, COOH), 9.17 (m, 1 H, H6), 8.48-8.44 (m, 1 H, H4), 8.19-8.16 (m, 1 H, H3), 3.94 (s, 3 H, H8).

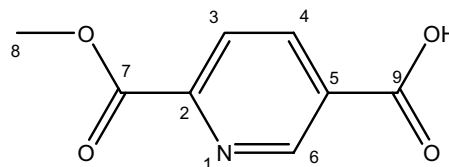
$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , TMS): δ [ppm] = 165.83 (C7), 165.16 (C9), 150.17 (C2), 150.17 (C6), 138.42 (C4), 129.17 (C5), 124.68 (C3), 52.67 (C8).

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3109, 3069, 3001 $\nu(\text{ar. CH})$; 2958 $\nu(\text{CH})$; 1733 $\nu(\text{C=O})$; 1717 $\nu(\text{C=O})$; 1621, 1597, 1581 $\nu(\text{Ar-C=C})$, $\nu(\text{C=N})$; 1441, 1385 $\delta(\text{CH})$, $\delta(\text{OH})$; 1314, 1273, 1251, 1138, 1012, $\nu(\text{Ar-C=C})$, $\nu(\text{C=N})$, $\nu(\text{COC})$; 748 $\delta(\text{ar. CH})$.

MS (70 eV, EI): m/z (%): 181 (10) (M^+), 164 (2), 151 (40), 137 (9), 123 (100), 119 (9), 105 (2), 78 (19), 59 (9), 51 (15), 39 (8).

Elementaranalyse von $\text{C}_8\text{H}_7\text{NO}_4$ gemessen (berechnet):

Wasserstoff 3.90 (3.89), Stickstoff 7.76 (7.73), Kohlenstoff 52.87 (53.04).

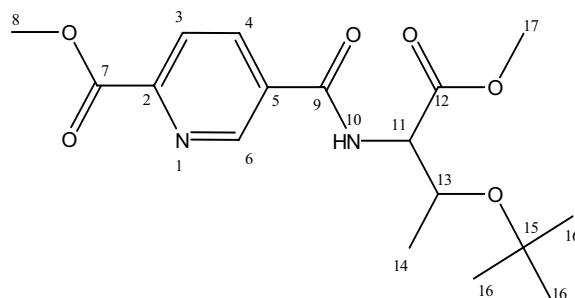


7.4.2 Darstellung von 2-Carbomethoxy-pyridin-5-(O-*tert.*-butyl-L-threoninmethylester)amid, 3 nach AVV3

Unter Schlenkbedingung wurde das Säurechlorid (10 mmol) in 10 mL getrocknetem Dichlormethan gelöst. Zu dieser Lösung wurde eine Suspension aus 2.26 g Threonin-O-*tert.*-butylmethylester (10 mmol) und 6 mL Triethylamin (44 mmol) in 30 mL Dichlormethan unter Eiskühlung zugetropft und 30 Minuten gerührt. Anschließend wurde noch 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, Lösungsmittel entfernt und die Reaktionsmischung im kalten Aceton aufgenommen. Durch Filtration wurde Triethylammoniumchlorid entfernt und das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 99:1 - 9:1) aufgearbeitet. $R_f = 0.85$ (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 9:1). Es wurden 2.96 g (8.40 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 84% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , TMS): δ [ppm]
 = 9.08-9.09 (m, 1 H, H6); 8.83-8.87 (d, 1 H, H10, $^3J_{\text{H10H11}}=8.3$ Hz); 8.38-8.42 (m, 1 H, H4); 8.14-8.17 (m, 1 H, H3); 4.59-4.63 (dd, 1 H, H11, $^3J_{\text{H11H10}}=8.3$ Hz, $^3J_{\text{H11H13}}=4.0$ Hz); 4.18-4.25 (m, 1 H, H13, $^3J_{\text{H13H14}}=6.3$ Hz, $^3J_{\text{H13H11}}=4.0$ Hz); 3.92 (s, 3 H, H8); 3.68 (s, 9 H, H16); 1.15-1.19 (d, 3 H, H14, $^3J_{\text{H14H13}}=6.3$ Hz).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , TMS): δ [ppm] = 170.41 (C12), 165.07 (C9), 164.61 (C7), 149.08 (C2), 148.82 (C6), 136.88 (C4), 132.15 (C5), 124.28 (C3), 73.59 (C15), 66.92 (C13), 58.44 (C11), 52.58 (C8/C17), 51.82 (C8/C17), 28.01 (C16), 20.16 (C14).

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3433, 3355 2958, 2953 $\nu(\text{CH})$, (NH); 1748, 1730 $\nu(\text{C=O})$; 1668, 1595, 1567 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{C=N})$, $\delta(\text{NH})$; 1478, 1437, 1390, 1377, 1365, $\delta(\text{CH})$; 1310, 1248, 1211, 1194 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{COC})$; 751, 742 $\delta(\text{ar. CH})$.

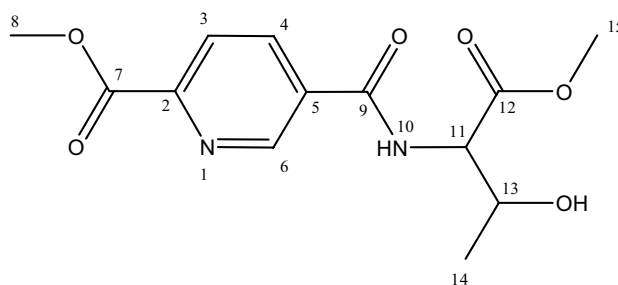
MS (70 eV, EI): m/z (%): 353 (1) ($\text{M}+\text{H}^+$), 321 (9), 279 (40), 252 (100), 237 (22), 220 (48), 192 (5), 164 (70), 137 (73), 101 (22), 78 (10), 57 (50), 41 (8).

7.4.3 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninmethylester)amid, 4

Unter Schlenkbedingung wurde das Säurechlorid (AVV2) (10 mmol) in 10 mL getrocknetem Dichlormethan gelöst. Zu dieser Lösung wurde eine Suspension aus 1.67 g Threoninmethylester-Hydrochlorid (10 mmol) und 6 mL Triethylamin (44 mmol) in 30 mL Dichlormethan unter Eiskühlung zugetropft und 30 Minuten gerührt. Anschließend wurde noch 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, Lösungsmittel entfernt und die Reaktionsmischung im kalten Aceton aufgenommen. Nach der Filtration von Triethylammoniumchlorid wurde das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 99:1→9:1) aufgearbeitet. Es wurden 1.80 g (6.08 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 61% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , TMS): δ [ppm] = 9.13-9.16 (m, 1 H, H6); 8.85-8.94 (m, 1 H, H4); 8.40-8.48 (m, 1 H, H3); 8.15-8.22 (m, 1 H, H10); 5.03-5.10 (m, 1 H, OH); 4.51-4.60 (m, 1 H, H11); 4.12-4.32 (m, 1 H, H13); 3.93 (s, 3 H, H8); 3.69 (s, 3 H, H15); 1.12-1.21 (m, 3 H, H14).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , TMS): δ [ppm] = 170.71 (C12), 164.85 (C9), 164.60 (C7), 149.19 (C2), 148.72 (C6), 136.74 (C4), 132.02 (C5), 124.40 (C3), 66.18 (C13), 59.00 (C11), 52.58 (C8), 51.92 (C15), 20.14 (C14).

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3379, 3354 $\nu(\text{OH, NH})$; 2977, 2955 $\nu(\text{CH})$; 1749 $\nu(\text{C=O})$; 1664, 1596, 1539 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{C=N})$, $\delta(\text{NH})$; 1481, 1437, 1378, 1320 $\delta(\text{CH})$; 1250, 1211, 1168 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{COC})$; 742 $\delta(\text{ar. CH})$.

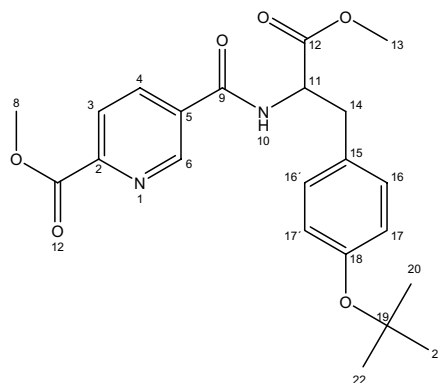
MS (70 eV, EI): m/z (%): $[\text{M+H}]$ 297 (1), 252 (55), 237 (14), 220 (50), 192 (5), 164 (100), 137 (32), 105 (15), 78 (15), 59 (10), 45 (8).

7.4.4 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tyrosin-O-*tert.*-butylester)amid, 5

Unter Schlenkbedingung wurde das Säurechlorid (AVV2) (10 mmol) in 30 mL abs. Dichlormethan gelöst und zu einer Suspension aus 2.88 g (10 mmol) L-Tyrosin-O-*tert.*-butylester-Hydrochlorid und 6 mL Triethylamin unter Eiskühlung zugetropft und 48 Std. gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel abrotiert und die Reaktionsmischung mit kaltem Aceton gewaschen. Durch Filtration wurde Triethylammoniumchlorid entfernt und alles bis zur Trockne einrotiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 99:1- 9:1) aufgearbeitet. Es wurden 2.82 g (6.80 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 68% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6 , TMS): δ [ppm] = 9.27 (d, 1 H, H10, $^3J_{10,11} = 7.6$ Hz), 9.00 (dd, 1 H, H6, $^3J_{6,4} = 2.4$ Hz, $^5J_{6,3} = 0.7$ Hz), 8.30 (dd, 1 H, H4, $^3J_{4,3} = 8.4$ Hz, $^4J_{4,6} = 2.4$ Hz), 8.14 (dd, 1 H, H3, $^3J_{3,4} = 8.4$ Hz, $^5J_{3,6} = 0.7$ Hz), 7.19 (d, 2 H, H16/16', $^3J_{16/16',17/17'} = 8.4$ Hz), 6.87 (d, 2 H, H17/17', $^3J_{17/17',16/16'} = 8.4$ Hz), 4.70-4.67 (m, 1H, H11), 3.91 (s, 3 H, H13), 3.64 (s, 3 H, H8), 3.18-3.01 (m, 2 H, H14), 1.23 (s, 9 H, H20/21/22).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6 , TMS): δ [ppm] = 171.73 (C12), 164.52 (C7), 164.12 (C9), 153.53 (C18), 149.22 (C2), 148.45 (C6), 136.48 (C4), 131.82 (C5), 131.76 (C15), 129.56 (C16/16'), 124.45 (C3), 123.48 (C17/17'), 77.56 (C19), 54.29 (C8), 52.57 (C13), 51.94 (C11), 35.57 (C14), 28.39 (C20/21/22).

IR (KBr) [cm^{-1}]: 2977, 2953, 2871 $\nu(\text{CH})$; 1744, 1670, 1542 $\nu(\text{C=O})$, $\delta(\text{NH})$; 1508, 1475 1437 $\nu(\text{Ar-C=C})$, $\nu(\text{C=N})$; 1366 $\delta(\text{CH})$; 1670, 1311 $\nu(\text{Ar-C=C})$, $\nu(\text{C=N})$; 1239, 1123, 1023 $\nu(\text{COC})$; 742 $\delta(\text{ar. CH})$.

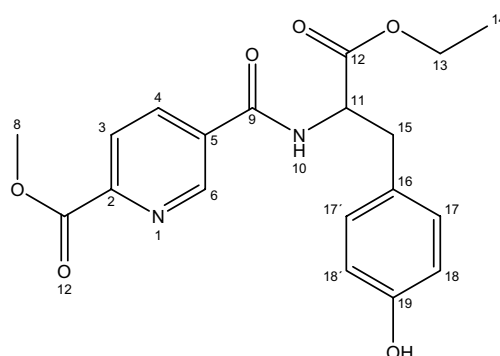
MS (70 eV, EI): m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]$ 415 (100), 359 (75), 299 (40), 252 (34), 240 (5).

7.4.5 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tyrosinethylester)amid, 6

Unter Schlenkbedingung wurde das Säurechlorid (AVV2) (10 mmol) in 30 mL abs. Dichlormethan gelöst und zu einer Suspension aus 2.45 g (10 mmol) L-Tyrosinamidethylester-Hydrochlorid und 6 mL Triethylamin unter Eiskühlung zugetropft und über Nacht gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel abrotiert und die Reaktionsmischung mit kaltem Aceton gewaschen. Durch Filtration wurde Triethylammoniumchlorid entfernt und alles bis zur Trockne einrotiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 99:1-3:1) aufgearbeitet. Es wurden 1.49 g (4.00 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 40% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS): δ [ppm] = 9.27 (m, 1 H, H6), 8.10-8.20 (m, 2 H, H3/4), 6.97 (m, 2 H, H18/18'), 6.70 (m, 3 H, 17/17'/H10); 5.03-5.01 (m, 1 H, H11), 4.28-4.23 (q, 2 H, H13, $^3J_{13,14} = 7.2$ Hz), 4.02 (s, 3 H, H8), 3.26-3.14 (m, 2 H, H15), 1.32 (t, 3 H, H14, $^3J_{14,13} = 7.2$ Hz).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , TMS): δ [ppm] = 186.70 (C12), 179.90 (C7), 179.44 (C9), 170.75 (C19), 164.87 (C2), 163.12 (C6), 151.74 (C4), 147.52 (C5), 145.45 (C17/17'), 141.80 (C16), 140.11 (C3), 130.83 (C18/18'), 77.16 (C13), 68.98 (C8), 68.49 (C11), 68.34 (C15), 51.92 (C14).

IR (KBr) [cm^{-1}]: 2980 $\nu(\text{CH})$; 1739, 1538 $\nu(\text{C=O})$, $\delta(\text{NH})$; 1476 $\nu(\text{C=N})$; 1438, 1375 $\delta(\text{CH})$; 1651, 1311 $\nu(\text{Ar-C=C})$, $\nu(\text{C=N})$; 1247, 1120, 1023 $\nu(\text{COC})$; 736 $\delta(\text{ar. CH})$.

MS (70 eV, EI): m/z (%): 373 (100) (M+H), 307 (15), 299 (18), 289 (10), 210 (4).

7.4.6 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tryptophanmethylester)amid, 7

Unter Schlenkbedingung wurde das Säurechlorid (10 mmol) mit einer Suspension von 2.5 g (10 mmol) Tryptophanmethylester-Hydrochlorid und 6 mL (44 mmol) Triethylamin in 20 mL abs. Dichlormethan unter Eiskühlung versetzt und über Nacht gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und die Reaktionsmischung in gekühltem Aceton aufgenommen. Durch

Filtration wurde Triethylammoniumchlorid entfernt und das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (Laufmittel Dichlormethan/Methanol) aufgearbeitet. Es wurden 3.12 g (8.18 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 82% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS): δ [ppm] = 8.8

(m, 2 H, H17, H6), 8.0-7.9 (m, 2 H,

H4, H3), 7.4-6.9 (m, 6 H, H10, H16, H19, H20,

H21, H22), 5.1 (m, 1 H, H11), 4.0 (s, 3 H, H8/H13),

3.8 (s, 3 H, H8/H13), 3.5-3.4 (m, 2 H, H14).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , TMS): δ [ppm] =

171.9 (C12), 164.8 (C7), 164.4 (C9), 149.4 (C2),

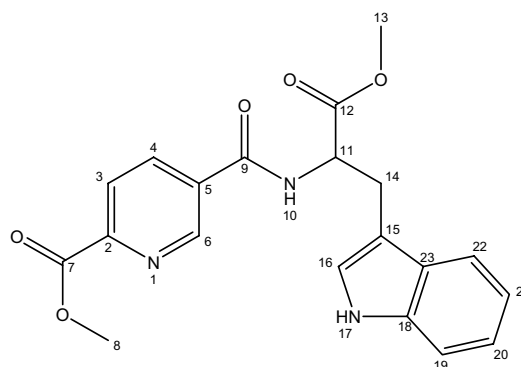
148.0 (C6), 136.2 (C4), 136.1 (C18), 132.0 (C5), 127.0 (C23), 124.6 (C3), 122.9 (C16), 122.3

(C21), 119.6 (C20), 118.1 (C22), 111.6 (C19), 109.4 (C15), 53.8 (C11), 53.1 (C8), 52.6 (C13),

27.2 (C14).

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3328 $\nu(\text{NH})$; 3057 $\nu(\text{Ar}=\text{C}-\text{H})$; 2952 $\nu(\text{CH}_3)$; 2849 $\nu(\text{CH}_2)$; 1738 (C=O); 1657 $\nu(\text{Ar}-\text{C}=\text{C})$; 1595, 1531 $\delta(\text{NH})$, (Ar-C=C); 1458 $\nu(\text{CH})$, 1437 $\nu(\text{CH})$.

MS (m-NBA, FAB) m/z (%): $\text{M}+\text{H}$ 382 (100).

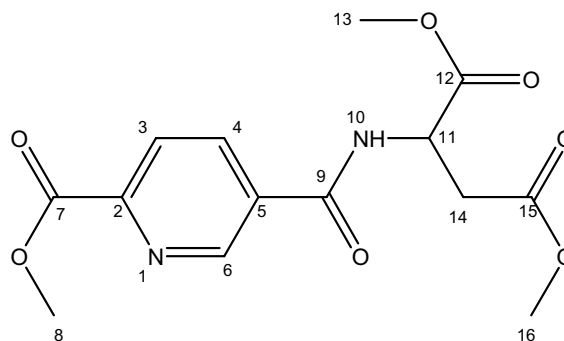


7.4.7 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Asparaginsäuremethylester)amid, 8

Unter Schlenkbedingung wurde das Säurechlorid (AVV2) (10 mmol) mit einer Suspension von 2.0 g (10 mmol) L-Asparaginsäuredimethylester Hydrochlorid und 6 mL (44 mmol) Triethylamin in 20 mL abs. Dichlormethan unter Eiskühlung versetzt und über Nacht gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und die Reaktionsmischung in gekühltem Aceton aufgenommen. Durch Filtration wurde Triethylammoniumchlorid entfernt und das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (Laufmittel Dichlormethan/Methanol 99:1 - 97:3) aufgearbeitet. Es wurden 1.70 g (5.25 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 53% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS): δ [ppm] =
 9.15 (m, 1H, H6), 8.26 (m, 1H, H4), 8.23 (m, 1H, H3), 7.41-739 (d, 1H, H10), 5.07-5.05 (m, 1H, H11), 4.05 (s, 3 H, H8/13/16), 3.82 (s, 3 H, H8/13/16), 3.72 (s, 3 H, H8/13/16), 3.02-2.98 (m, 2H, H14).



$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , TMS) : δ [ppm] =
 171.65 (C12/C15), 170.76 (C12/C15), 164.92 (C9/C7), 164.28 (C9/C7), 150.20 (C2), 148.57 (C6), 136.16 (C4), 131.95 (C5), 124.86 (C3), 53.24 (C8/C13/C16), 53.16 (C8/C13/C16), 52.27 (C8/C13/C16), 49.04 (C11), 35.79 (C14).

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3278 $\nu(\text{NH})$; 3086 $\nu(\text{CH})$; 2957 $\nu(\text{CH}_3)$; 2850 $\nu(\text{CH}_2)$; 1740 (C=O); 1644 $\nu(\text{Ar-C=C})$; 1596, 1554, 1536 $\nu(\text{C=C})$, $\nu(\text{C=N})$, $\delta(\text{N-H})$; 1437 $\nu(\text{CH}_3)$.

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]$ 325 (100).

7.4.8 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-homoserinethylester), 9

Zur Schützung der Carboxygruppe von L-Homoserin als Ethylester wurden 50 mL Ethanol vorgelegt und langsam unter Eiskühlung mit 5 mL (69 mmol) Thionylchlorid versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde drei Stunden gerührt, anschließend mit 1.19 g (10.0 mmol) L-Homoserin versetzt und weitere 24 Stunden gerührt. Die Lösung wurde im Ölpumpenvakuum bis zur Trockne eingengt, zweimal in jeweils 20 mL Ethanol wieder gelöst und mit Diethylether überschichtet und auskristallisiert, um nicht umgesetztes Thionylchlorid abzutrennen. Nach erneuter Trocknung im Ölpumpenvakuum wurden 0.9 g (6.1 mmol) eines feinen weißen Feststoffes erhalten (L-Homoserinethylester, Gemisch Lacton und offenkettige Form).

5-Chlorocarbonylpyridin-2,5-dicarbonsäure-2-methylester (AVV2) wurde in 10 mL absolutem Dichlormethan gelöst und unter Eiskühlung mit einer Suspension aus 0.74 g L-Homoserinethylester (5.03 mmol) und 3.0 mL absolutem Triethylamin (22 mmol) in 10 mL absolutem Dichlormethan versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei es sich dunkelbraun färbte und ein Feststoff ausfiel.

Das Lösungsmittel wurde im Ölpumpenvakuum entfernt und der Rückstand in ca. 15 mL Ethylacetat aufgenommen und filtriert, um ausgefallenes Triethylammoniumchlorid abzutrennen. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer bis fast zur Trockne eingengt. Es wurde ein braunes

Öl erhalten, welches durch *RP*-HPLC und Flash-Chromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol in den Gradienten 99:1 bis 93:7) gereinigt wurde. Es wurden zwei Hauptprodukte isoliert.

Die Produkte wurden kristallisiert, indem die nach der Säulenchromatographie erhaltenen gelblichen Öle in ca. 10 mL Diethylether gelöst, mit 5 mL *n*-Hexan überschichtet und für zwei Tage bei 3 °C gelagert wurden. Die ausgefallenen hellgelben Feststoffe wurden filtriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.^{63, 64}

Vorbereitung der Substanz für die *RP*-HPLC

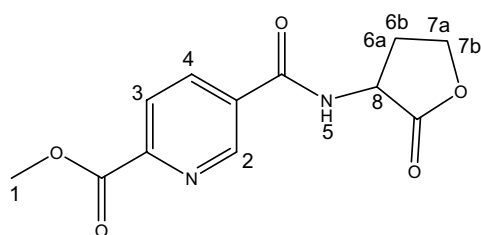
Das Rohprodukt wurde in bidest. Wasser/Acetonitril (95:5) suspendiert, zwei Minuten im Ultraschallbad homogenisiert und anschließend für vier Minuten bei 14000 U/min zentrifugiert. Die nichtlöslichen Rückstände aus dem Überstand wurden mittels Zentrifugationsfilter abgetrennt. Die so erhaltene klare Lösung wurde auf die semi-präparative *RP*-Säule aufgetragen, um die einzelnen Komponenten zu trennen.

Als Laufmittel dienten Laufmittel A (bidest. Wasser/Acetonitril (95:5)) und Laufmittel B (Acetonitril/bidest. Wasser (95:5)). Zur Trennung der Substanzen wurden unterschiedliche Gradientenprogramme verwendet:

Tabelle 17: Gradientenprogramme für die *RP*-HPLC

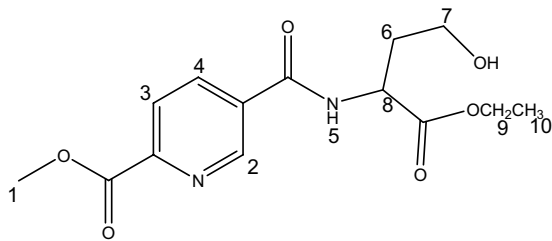
1. Gradient	1 Säulenvolumen	70% A / 30%B nach 65% A / 35% B
2. Gradient	4 Säulenvolumen	65% A / 35% B nach 10% A / 90% B
3. Gradient	1 Säulenvolumen	10% A / 90% B nach 0% A / 100% B

Produkt 1: Charakterisierung:



¹H-NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆, 25 °C, TMS): δ [ppm] = 9.3 (d, 1H, H-2), 9.0 (s, 1H, H-5), 8.2 (m, 1H, H-4), 8.1 (m, 1H, H-3), 4.8 (dd, 1H, H-8), 4.4 (m, 2H, H-7a,7b), 3.8 (s, ³H, H-1), 2.4 (m, ²H, H-6a,6b).

Produkt 2: Charakterisierung:



¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃, 25 °C, TMS): δ [ppm] = 9.27 (d, 1H, H-2), 9.19 (s, 1H, H-5), 8.34 (d, 1H, H-4), 8.23 (d, 1H, H-3), 7.52 (d, 1H, H-8), 4.54 (m, 2H, H-9), 4.19 (m, 2H, H-7), 4.00 (s, ³H, H-1), 2.50 (m, ²H, H-6), 1.27 (t, 3H, H-10).

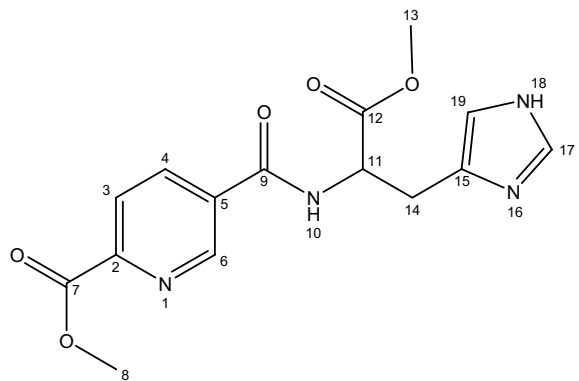
7.4.9 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Histidinmethylester)amid, 10

Unter Schlenkbedingung wurde das Säurechlorid (AVV2) (10 mmol) in 30 mL abs. Dichlormethan gelöst und zu einer Suspension aus 2.42 g (10 mmol) L-Histidinmethylester-Dihydrochlorid und 6 mL Triethylamin unter Eiskühlung zugetropft und über 48h gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und die Reaktionsmischung mit kaltem Aceton gewaschen. Durch Filtration wurde Triethylammoniumchlorid entfernt und bis zur Trockne einrotiert. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol) aufgearbeitet. Es wurden 1.97 g (5.93 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 59% der Theorie.

Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆, TMS): δ [ppm] = 9.60 (d, 1 H, H10), 9.11 (m, 1 H, H6), 8.42-8.37 (m, 1 H, H4), 8.21-8.17 (m, 1 H, H3), 7.62 (d, 1 H, H17), 6.93 (s, 1 H, H19), 4.82-4.72 (m, 1 H, H11), 3.93 (s, 3 H, H8), 3.68 (s, 3 H, H13), 3.13-3.09 (m, 2 H, H14).

¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆, TMS): δ [ppm] = 171.73 (C12), 164.54 (C7), 164.09 (C9), 149.25 (C2), 148.48 (C6), 136.49 (C4), 135.04 (C17), 131.81 (C5/15), 124.51 (C3/19), 54.80 (C11), 53.19, 52.53 (C8)/(C13), 28.52 (C14).



IR (KBr) [cm^{-1}]: 3262 $\nu(\text{NH})$; 2955 $\nu(\text{CH})$; 2851 $\nu(\text{CH}_3)$; 1739, 1656, 1559 $\nu(\text{CH})$, $\nu(\text{C=O})$; 1541, 1482 $\nu(\text{C=C})$, $\nu(\text{C=N})$, $\delta(\text{N-H})$; 1438, 1312, 1289, 1249 $\nu(\text{CH})$, $\nu(\text{C-N})$, $\nu(\text{C-O-C})$.

7.4.10 Darstellung von Natrium-5-(L-Histidin)amid-picolinat

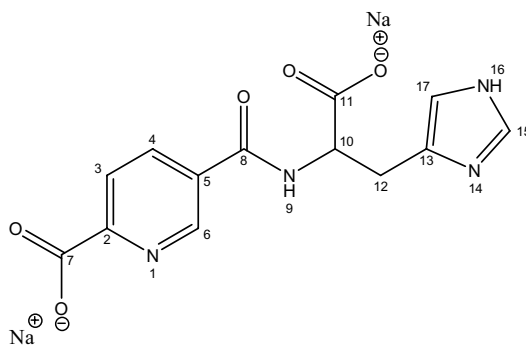
Die Entschützung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Histidinmethylester) erfolgte mit Natriumhydroxid in einer methanolischen Lösung. Hierzu wurden 329 mg (0.99 mmol) 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Histidinmethylester) in Methanol gelöst und mit 79 mg Natriumhydroxid (1.98 mmol) versetzt und 1d bei Raumtemperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktion (DC-Kontrolle) wurden die Hydrolyseprodukte mit Methanol gewaschen und säulenchromatographisch mit einem Methanol/Wasser Gemisch gereinigt. Anschließend erfolgte die Trocknung im Vakuum. Es wurden 275 mg (0.79 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 80% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): δ [ppm] = 8.7 (m, 1 H, H6), 8.1 (m, 1 H, H4), 7.9 (m, 1 H, H3), 7.58 (d, 1 H, H15), 6.93 (s, 1 H, H17), 4.60 (m, 1 H, H10), 3.17-3.00 (m, 2 H, H12).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): δ [ppm] = 177.66 (C11), 172.01 (C7), 167.43 (C8), 155.51 (C2), 147.08 (C6), 136.65 (C4), 136.61 (C15), 133.40 (C13), 130.84 (C5), 123.13 (C3), 117.49 (C17), 55.68 (C10), 29.07 (C12).

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3304 $\nu(\text{NH})$; 2896 $\nu(\text{CH})$; 1602, 1561 (C=O), $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$; 1434 $\nu(\text{CH})$; 1396, 1366 $\delta(\text{CH})$, $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$; 839, 749, 725, 707 $\delta(\text{ar. C-H})$.



7.4.11 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-*isoleucin*methylester)amid, 11

Unter Schlenkbedingung wurde das Säurechlorid (AVV2) (10 mmol) mit einer Suspension von 1.82 g (10 mmol) L-*Isoleucin*methylester Hydrochlorid und 6 mL (44 mmol) Triethylamin in 20

mL abs. Dichlormethan unter Eiskühlung versetzt und über Nacht gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und die Reaktionsmischung in gekühltem, getrocknetem Aceton aufgenommen. Durch Filtration wurde Triethylammoniumchlorid entfernt und das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (Dichlormethan:Methanol) aufgearbeitet. Es wurden 1.83 g (5.94 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 59% der Theorie.

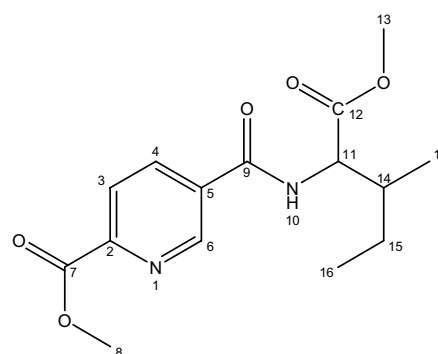
Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , TMS): δ [ppm] = 9.03 (m, 1 H, H6), 8.1 (m, 1 H, H4), 7.9 (m, 1 H, H3), 6.8 (d, 1 H, H10), 4.6 (m, 1 H, H11), 3.8 (s, 3 H, H8), 3.6 (s, 3 H, H13), 1.8 (m, 1 H, H14), 1.4-1.3 (m, 2 H, H15), 0.8-0.7 (m, 6 H, H16, H17).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 , TMS): δ [ppm] = 170.4 (C12), 162.9 (C7), 162.8 (C9), 147.8 (C2), 146.7 (C6), 134.5 (C4), 130.5 (C5), 122.8 (C3), 55.3 (C11), 51.1 (C8), 50.3 (13), 35.8 (C14), 23.5 (C15), 13.6 (C17), 9.5 (C16).

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3271 $\nu(\text{NH})$; 3061 $\nu(\text{Ar}=\text{C}-\text{H})$; 3031 $\nu(\text{Ar}=\text{C}-\text{H})$; 2967 $\nu(\text{CH}_3)$; 2880 $\nu(\text{CH}_3)$; 1744, 1726 (C=O); 1672, 1666, 1662, 1657 $\nu(\text{Ar}-\text{C}=\text{C})$; 1598, 1541 (Ar-C=C), $\delta(\text{NH})$; 1487, 1457 $\nu(\text{CH}_3)$, 1434 $\nu(\text{CH}_3)$.

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]$ 309 (100).



7.4.12 Darstellung von Natrium-5-(L-Isoleucin)amid-picolinat

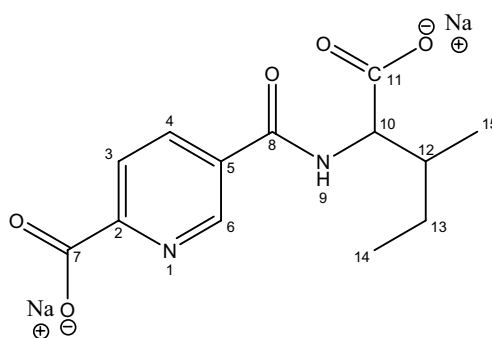
Die Entschützung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-isoleucinmethylester)amid erfolgte mit Natriumhydroxid in wässriger, methanolischer Lösung. Hierzu wurden 400 mg (1.29 mmol) 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-isoleucinmethylester)amid in Methanol gelöst und 104 mg Natriumhydroxid (2.59 mmol) versetzt und 1d bei Raumtemperatur gerührt. Nach Beendigung der Reaktion (DC-Kontrolle) wurden die Hydrolyseprodukte mit Methanol gewaschen und anschließend säulenchromatographisch mit Methanol/Wasser Gemisch gereinigt. Anschließend erfolgte die Trocknung im Vakuum. Es wurden 263 mg (0.81 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 63% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): δ [ppm] = 8.85 (d, 1 H, H6), 8.21 (m, 1 H, H4), 7.92 (m, 1 H, H3), 4.28 (d, 1 H, H10), 1.92 (m, 1 H, H12), 1.20-1.48 (m, 2 H, H13), 0.94 (s, 3 H, H15), 0.87 (s, 3 H, H14).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, D_2O): δ [ppm] = 172.42 (C11), 172.21 (C7), 168.06 (C8), 155.64 (C2), 147.26 (C6), 136.87 (C4), 131.26 (C5), 123.22 (C3), 60.89 (C10), 36.86 (C12), 24.75 (C13), 15.26 (C15), 10.68 (C14).

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3391 $\nu(\text{NH})$; 3067 $\nu(\text{Ar}=\text{C}-\text{H})$; 2965 $\nu(\text{CH}_3)$; 2935 $\nu(\text{CH}_3)$; 2877 $\nu(\text{CH}_3)$; 1743 ($\text{C}=\text{O}$); 1560, 1530 $\delta(\text{NH})$, $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$; 1461 $\nu(\text{CH}_3)$; 1434 $\nu(\text{CH}_3)$; 1399, 1360 $\delta(\text{CH})$, $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$; 839, 825, 749, 707 $\delta(\text{ar. C}-\text{H})$.

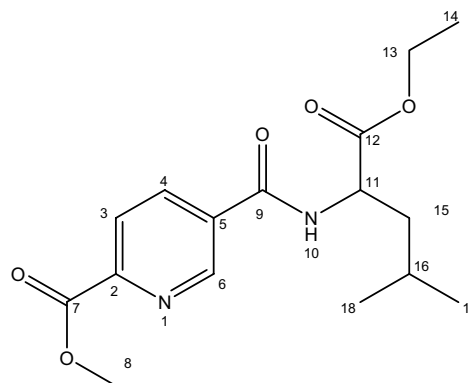


7.4.13 Darstellung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Leucinethylester)amid, 12

Unter Schlenkbedingung wurde das Säurechlorid (**AVV2**) (5.6 mmol) mit einer Suspension von 1.08 g (5.5 mmol) L-Leucinethylester-Hydrochlorid und 3 mL (22 mmol) Triethylamin in 20 mL abs. Dichlormethan unter Eiskühlung versetzt und über Nacht gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und die Reaktionsmischung in gekühltem, getrocknetem Aceton aufgenommen. Durch Filtration wurde Triethylammoniumchlorid entfernt und das Rohprodukt durch Flash-Chromatographie (zunächst Ethylacetat/*n*-Hexan anschließend Dichlormethan:Methanol) aufgearbeitet. Es wurden 1.13 g (3.50 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 64% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6 , TMS): δ [ppm] = 9.14 (m, 1 H, H6), 8.28 (m, 1H, H4), 8.18 (m, 1H, H3), 6.94 (d, 1 H, H10), 4.85 (m, 1H, H11), 4.25 (q, 2 H,



H13), 4.03 (s, 3 H, H8), 1.77 (m, 1 H, H15,H16), 1.32 (t, 3H, H14), 1.00(m, 6H, H17, H18).

^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3 , TMS): δ [ppm] = 173.01 (C12), 164.97 (C9), 164.44 (C7), 150.12 (C2), 148.41 (C6), 136.21 (C4), 132.36 (C5), 124.97 (C3), 61.83 (C13), 53.27 (C8), 51.54 (11), 41.73 (C15), 25.10 (C17/C18), 22.86 (C16), 14.23 (C14). IR (KBr) [cm^{-1}]:]: 3311 $\nu(\text{NH})$; 3069 $\nu(\text{Ar}=\text{C}-\text{H})$; 2959 $\nu(\text{CH}_3)$; 2871 $\nu(\text{CH}_3)$; 1733 (C=O); 1667, 1651 $\nu(\text{Ar}-\text{C}=\text{C})$; 1596 $\delta(\text{Ar}-\text{C}=\text{C})$; 1541 $\delta(\text{NH})$; 1477, 1470 $\nu(\text{CH}_3)$.

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]$ 323 (100).

7.5 Versuchsvorschriften zur Synthese der Vanadium(IV)-Komplexe

7.5.1 Darstellung von Bis(pyridin-5-L-asparaginsäuredimethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)

324 mg 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Asparaginsäuredimethylester) (1 mmol) wurden mit 138 mg Natriumacetat-Trihydrat (1 mmol) vorgelegt und mit 3 mL abs. THF versetzt. Hierzu wurde eine Lösung aus 127.2 mg Vanadylsulfat-Pentahydrat (0.5 mmol) in 4 mL entgastem Wasser gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 3 Tage unter Rückfluss bei 80 °C gerührt, anschließend bis zur Trockene eingengt und aus Ethanol umkristallisiert. Die Trocknung erfolgte im Ölpumpenvakuum. Es wurden 216 mg (0.32 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 64% der Theorie.

Charakterisierung:

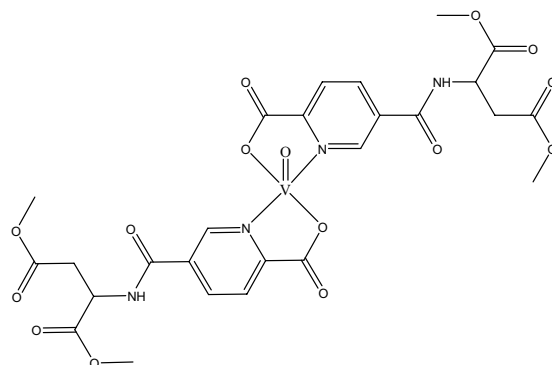
EPR (Methanol, 100 K): $g_{\perp} = 1.980$, $A_{\perp} = 62 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$;
 $g_{\parallel} = 1.945$, $A_{\parallel} = 166 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3296 $\nu(\text{NH}, \text{CH})$; 2959 $\nu(\text{CH})$;
 1736, 1646 $\nu(\text{C}=\text{O})$; 1595, 1546, 1439 $\nu(\text{C}=\text{C})$,
 $\nu(\text{C}=\text{N})$, $\delta(\text{N}-\text{H})$; 1421, 1350 $\delta(\text{C}-\text{H})$, $\nu_s(\text{COO}^-)$;
 1290, 1157, 1046 $\nu(\text{C}-\text{O})$, $\nu(\text{C}-\text{N})$, $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C})$; 977
 $\nu(\text{VO})$;

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]$ 686.3 (50), $[\text{M}+\text{Na}]$ 708 (25)

Elementaranalyse $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_{15}\text{V}$ gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 53.6 (45.56), Wasserstoff 4.3 (3.82), Stickstoff 9.7 (8.17).



7.5.2 Darstellung von *Bis(pyridin-5-L-Histidinmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)*

Hierzu wurden 350 mg 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-histidinmethylester) (1.06 mmol) und 142.5 mg (1.05 mmol) Natriumacetat·3H₂O wurden in 3 mL entgastem Wasser und 3 mL Tetrahydrofuran gelöst. Hierzu wurde eine Lösung aus 130 mg Vanadylsulfat-Pentahydrat (0.52 mmol) in 4 mL entgastem Wasser langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 2 Tage unter Rückfluss gerührt, 2 Tage bei RT gerührt und anschließend bis zur Trockne eingengt, in Tetrahydrofuran aufgenommen und filtriert. Der ausgefallene grüne Feststoff wurde abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 203 mg (0.29 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 56% der Theorie.

Charakterisierung:

EPR (Methanol, 100 K): $g_{\perp} = 1.980$, $A_{\perp} = 62 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$; $g_{\parallel} = 1.945$, $A_{\parallel} = 165 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3298, 3069 $\nu(\text{CH}, \text{NH})$; 2931, 2873 $\nu(\text{CH})$; 1636, 1574, 1516 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{C=N})$, $\delta(\text{NH})$, $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$; 1444, 1373, 1344, $\delta(\text{CH})$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$; 1228, 1108 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{COC})$; 978 $\nu(\text{V=O})$; 688 $\delta(\text{ar. CH})$.

Elementaranalyse von $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_6\text{V} \cdot 0.25 \text{ Na}_2\text{SO}_4 \cdot 1 \text{ H}_2\text{O}$ gemessen (berechnet): Kohlenstoff 38.37 (38.50), Wasserstoff 3.76 (3.23), Stickstoff 11.63 (12.83).

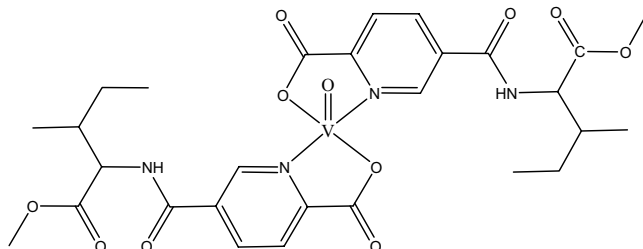
7.5.3 Darstellung von *Bis(pyridin-5-L-isooleucinamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)*

Hierzu wurden 616 mg 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-isooleucinmethylester) (2 mmol) mit 281 mg Natriumacetat-Trihydrat (2 mmol) vorgelegt und mit 5 mL abs. THF versetzt. Hierzu wurde eine Lösung aus 264.9 mg Vanadylsulfat-Pentahydrat (1 mmol) in 4 mL entgastem Wasser gegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht unter Rückfluss bei 80 °C gerührt, anschließend bis zur Trockene eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Die erneute Aufarbeitung erfolgte hier mit Methanol. Die Trocknung erfolgte im Ölpumpenvakuum. Es wurden 510 mg (0.78 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 78% der Theorie.

Charakterisierung:

EPR (Methanol, 100 K): $g_{\perp} = 1.980$, $A_{\perp} = 62 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\parallel} = 1.945$, $A_{\parallel} = 166 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3299 $\nu(\text{NH})$; 3067, 2965, 2937 $\nu(\text{C-H})$; 1660-1600 $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$; 1573, 1486 $\delta(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{C=N})$; 1437, 1419,



1390, 1342, $\delta(\text{CH})$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$; 1285-1155 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{COC})$; 974 $\nu(\text{V=O})$.

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]$ 654 (100), $[\text{M}+\text{Na}]$ 676 (65)

Elementaranalyse $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{V} \cdot 0.1 \text{ Na}_2\text{SO}_4 \cdot 0.5 \text{ H}_2\text{O}$ gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 49.69 (49.69), Wasserstoff 5.63 (5.21), Stickstoff 8.13 (8.28).

7.5.4 Darstellung von Bis(pyridin-5-L-leucinamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)

Es wurden 1.137 g 2- Carbomethoxypyridin-5-(L-Leucinmethylester) (3.50 mmol) mit 488 mg Natriumacetat-Trihydrat (3.60 mmol) in einem Gemisch aus 10.5 mL abs. THF und 10.5 mL dest./entgastem Wasser gelöst. Anschließend wurde über einen Zeitraum von 1 h 440 mg Vanadylsulfat-Pentahydrat (1.90 mmol) gelöst in 12 mL entgastem Wasser hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde über 3 d unter Rückfluss bei 80 °C gerührt. Nach dem Abtrennen des Lösungsmittels wurde der Niederschlag in wenig Methanol aufgenommen und nach eintägigem Aufbewahren bei -20 °C das ausgefallene Natriumsulfat abfiltriert. Die Lösung wurde bis zur Trockene eingengt und im Vakuum getrocknet. Es wurden 666 mg (1.02 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 58% der Theorie.

Charakterisierung:

EPR (Methanol, 100 K): $g_{\perp} = 1.980$, $A_{\perp} = 62 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\parallel} = 1.945$, $A_{\parallel} = 167 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

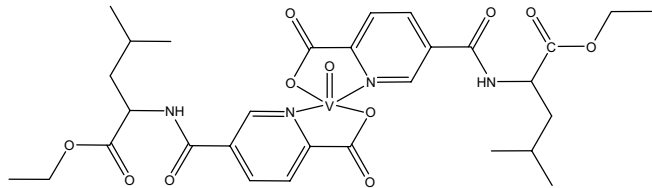
IR (KBr) [cm^{-1}]: 3307 $\nu(\text{NH})$; 3067, 2959, 2872 $\nu(\text{C-H})$; 1740, 1660, 1600

$\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$; 1574, 1541, 1486 $\delta(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{C=N})$; 1441, 1418, 1371, 1339, $\delta(\text{CH})$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$; 1282, 1122 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{COC})$; 976 $\nu(\text{V=O})$.

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]$ 682 (10), $[\text{M}+\text{Na}]$ 704 (30)

Elementaranalyse $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_{11}\text{V} \cdot 0.2 \text{ Na}_2\text{SO}_4$ gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 50.61 (50.75), Wasserstoff 5.56 (5.39), Stickstoff 7.53 (7.89)



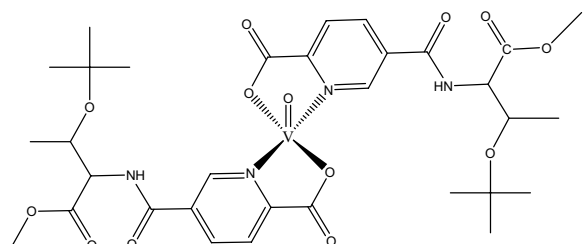
7.5.5 Darstellung von Bis(pyridin-5-O-*tert.*-butyl-L-threoninamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)

351 mg 2-Carbomethoxypyridin-5-(O-*tert.*-butyl-L-threoninamidmethylester) (1.00 mmol) und 136 mg Natriumacetat-Trihydrat (1.12 mmol) wurden in 4 mL entgastem Wasser und 5 mL THF gelöst. Hierzu wurde eine Lösung aus 127 mg Vanadylsulfat-Pentahydrat (0.50 mmol) in 4 mL entgastem Wasser langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur und 20 Stunden unter Rückfluss gerührt, anschließend bis zur Trockne eingengt, in THF aufgenommen und filtriert. Der entstandene grüne Feststoff wurde mit Diethylether gewaschen, abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 230 mg (0.31 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 62% der Theorie.

Charakterisierung:

EPR (Methanol, 100 K): $g_{\perp} = 1.980$, $A_{\perp} = 60 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\parallel} = 1.945$, $A_{\parallel} = 166 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3437 3069, 2976 $\nu(\text{CH})$, $\nu(\text{NH})$; 1744, 1671 $\nu(\text{C=O})$; 1640, 1600 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{C=N})$; 1573, 1480 $\nu(\text{ar. C=C})$,



$\nu(\text{C}=\text{N})$, $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$; 1437, 1391, 1345, $\delta(\text{CH})$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$; 1284, 1121 $\nu(\text{ar. C}=\text{C})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{COC})$; 976 $\nu(\text{V}=\text{O})$.

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $[\text{M}+\text{Na}]$ 764 (100)

Elementaranalyse $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_{13}\text{V}$ gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 50.83 (51.82), Wasserstoff 5.65 (5.71), Stickstoff 7.13 (7.55)

7.5.6 Darstellung von Bis(pyridin-5-L-threoninamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)

Es wurden 444 mg 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-threoninamidmethylester) (1.50 mmol) und 204 mg Natriumacetat-Trihydrat (1.50 mmol) in 4 mL entgastem Wasser und 5 mL THF gelöst. Hierzu wurde eine Lösung aus 190 mg Vanadylsulfat-Pentahydrat (0.75 mmol) in 4 mL entgastem Wasser langsam zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur und 20 Stunden unter Rückfluss gerührt, anschließend bis zur Trockne eingedunstet, in Methanol aufgenommen und filtriert. Der entstandene grüne Feststoff wurde mit Diethylether gewaschen, abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 352 mg (0.56 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 75% der Theorie.

Charakterisierung:

EPR (Methanol, 100 K): $g_{\perp} = 1.980$, $A_{\perp} = 62 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\parallel} = 1.945$, $A_{\parallel} = 166 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

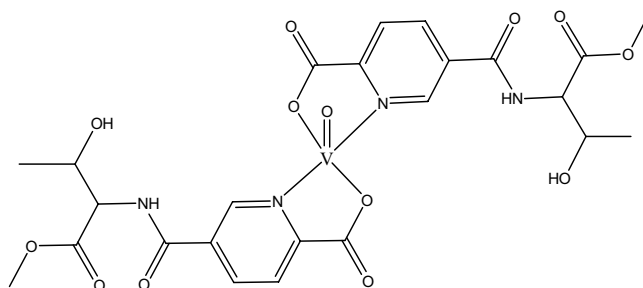
IR (KBr) [cm^{-1}]: 3370, 3071 $\nu(\text{CH}, \text{NH})$; 2977, 2955 $\nu(\text{CH})$; 1743, 1672 $\nu(\text{C}=\text{O})$; 1640, 1600 $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$, $\nu(\text{C}=\text{N})$;

1574, 1485 $\nu(\text{ar. C}=\text{C})$, $\nu(\text{C}=\text{N})$; 1437, 1392, 1340, $\delta(\text{CH})$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$; 1286, 1127, 1047 $\nu(\text{ar. C}=\text{C})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{COC})$; 976 $\nu(\text{V}=\text{O})$.

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $(\text{M}+\text{H})^+$ 630 (15).

Elementaranalyse $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_{13}\text{V} \cdot 1.5 \text{ NaAc}$ gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 44.43 (43.10), Wasserstoff 4.86 (4.09), Stickstoff 7.59 (7.45).



7.5.7 Darstellung von Bis(pyridin-5-L-tryptophanamidmethylester-2-carboxylato)Oxidovanadium(IV)

Es wurden 386 mg 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tryptophanmethylester) (1 mmol) mit 138 mg Natriumacetat-Trihydrat (1 mmol) vorgelegt und mit 3 mL THF und 2 mL entgastem Wasser versetzt. Hierzu wurde eine Lösung aus 127.2 mg Vanadylsulfat-Pentahydrat (0.5 mmol) in 4 mL entgastem Wasser gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 5 Tage unter Rückfluss bei 80 °C gerührt, anschließend bis zur Trockene eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Die erneute Aufarbeitung erfolgte auch hier mit Methanol. Die Trocknung erfolgte im Ölpumpenvakuum. Es wurden 270 mg (0.34 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 68% der Theorie.

Charakterisierung:

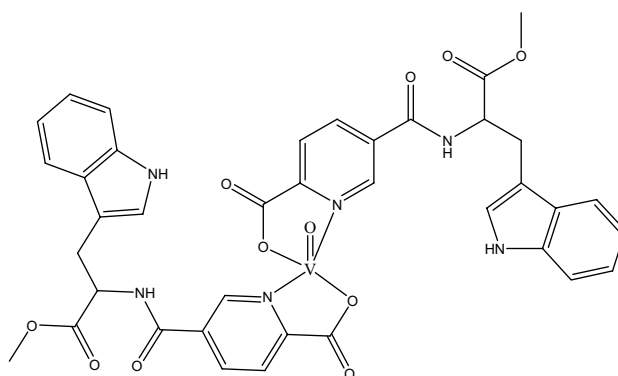
EPR (Methanol, 100 K): $g_{\perp} = 1.980$, $A_{\perp} = 62 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\parallel} = 1.945$, $A_{\parallel} = 166 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3396, 3059, 2952 $\nu(-\text{NH})$, $\nu(\text{ar C-H})$; 1738, 1666, 1646 $\nu(\text{C=O})$, $\nu(\text{C=C})$, $\nu(\text{C=N})$; 1574, 1540, 1458, 1488 $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$, $\nu(\text{C=C})$, $\nu(\text{C=N})$; $\delta(\text{NH})$; 1437, 1420, 1392, 1343 $\delta(\text{CH})$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$; 975 $\nu(\text{V=O})$.

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $[\text{M}+\text{Na}]$ 822 (7), $[\text{M}+\text{H}]$ 800.

Elementaranalyse $\text{C}_{38}\text{H}_{32}\text{N}_6\text{O}_{11}\text{V} \cdot 0.25 \text{ Na}_2\text{SO}_4$ gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 53.60 (54.95), Wasserstoff 4.40 (3.88), Stickstoff 9.70 (10.96)



7.5.8 Darstellung von Bis(pyridin-5-O-tert.-butyl-L-Tyrosinamidmethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)

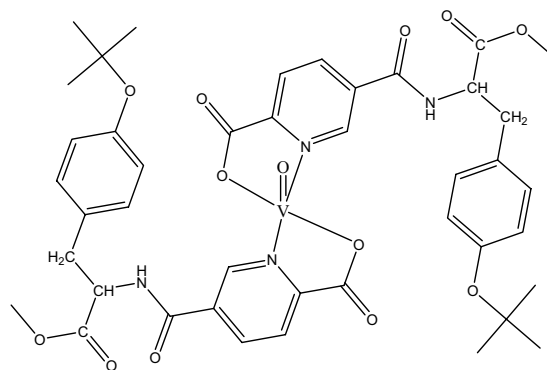
Es wurden 374 mg (0.9 mmol) 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-tyrosin-O-tert.-butylmethylester) und 138 mg (1.0 mmol) Natriumacetat-Trihydrat in 3 mL entgastem Wasser und 3 mL THF gelöst. Hierzu wurde eine Lösung aus 127 mg Vanadylsulfat-Pentahydrat (0.78 mmol) in 4 mL entgastem Wasser langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 4 Tage unter Rückfluss

gerührt, 2 Tage bei RT gerührt und anschließend bis zur Trockne eingengt, in THF aufgenommen und filtriert. Es wurden 285 mg (0.33 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 73% der Theorie.

Charakterisierung:

EPR (Methanol, 100 K): $g_{\perp} = 1.980$, $A_{\perp} = 61 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\parallel} = 1.945$, $A_{\parallel} = 166 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3282, 3058 $\nu(\text{CH}, \text{NH})$; 2977, 2871 $\nu(\text{CH})$; 1640, 1578, 1538 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{C=N})$, $\delta(\text{NH})$, $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$; 1438, 1392, 1345, $\delta(\text{CH})$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$; 1283, 1107 $\nu(\text{ar. C=C})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{COC})$; 1045 $\delta(\text{OH})$; 967 $\nu(\text{V=O})$; 667 $\delta(\text{ar. CH})$.



MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $[\text{M}+\text{Na}]$ 888 (71), 553 (37), 445 (100), 389 (60).

Elementaranalyse $\text{C}_{44}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_{13}\text{V} \cdot 2 \text{H}_2\text{O} \cdot \text{NaAc}$ gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 53.88 (53.31), Wasserstoff 5.57 (5.20), Stickstoff 5.40 (5.78).

7.5.9 Darstellung von Bis(pyridin-5-L-tyrosinamidethylester-2-carboxylato)-Oxidovanadium(IV)

204 mg (0.55 mmol) 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tyrosinamidethylester) und 75.9 mg (0.55 mmol) Natriumacetat-Trihydrat wurden in 7 mL entgastem Wasser und 5 mL THF gelöst. Hierzu wurde eine Lösung aus 69.6 mg Vanadylsulfat-Pentahydrat (0.28 mmol) in 5 mL entgastem Wasser langsam zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde 2 Tage unter Rückfluss gerührt, 4 Tage bei RT gerührt und anschließend bis zur Trockne eingengt, in THF aufgenommen und filtriert. Der ausgefallene grüne Feststoff wurde abfiltriert und im Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 117 mg (0.15 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 54% der Theorie.

Charakterisierung:

EPR (Methanol, 100 K): $g_{\perp} = 1.980$, $A_{\perp} = 61 \times$

10^{-4} cm^{-1} , $g_{\parallel} = 1.945$, $A_{\parallel} = 166 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$.

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3315, 3069 $\nu(\text{CH}, \text{NH})$;

2980, 2873 $\nu(\text{CH})$; 1656, 1574, 1516 $\nu(\text{ar.}$

$\text{C}=\text{C}$), $\nu(\text{C}=\text{N})$, $\delta(\text{NH})$, $\nu_{\text{as}}(\text{COO}^-)$; 1444,

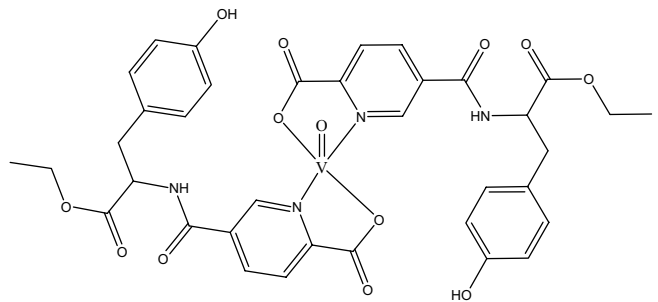
1374, 1347, $\delta(\text{CH})$, $\nu_{\text{s}}(\text{COO}^-)$; 1268, 1107

$\nu(\text{ar. C}=\text{C})$, $\nu(\text{CN})$, $\nu(\text{COC})$; 1046 $\nu(\text{O}-\text{CH})$; 975 $\nu(\text{V}=\text{O})$; 690 $\delta(\text{ar. CH})$.

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]$ 782 (17).

Elementaranalyse $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_{13}\text{V} \cdot \text{THF}$ gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 56.25 (56.54), Wasserstoff 5.09 (4.51), Stickstoff 6.55 (6.59).



7.6 Versuchsvorschriften zur Synthese anderer Liganden

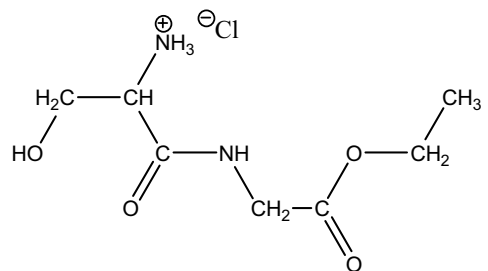
7.6.1 Darstellung von L-Seryl-Glycinethylester Hydrochlorid

Es wurden 50 mL absolutes Ethanol vorgelegt und langsam 5 mL Thionylchlorid (8.20 g, 68.92 mmol) zugetropft. Die Lösung wurde ca. 1 h gerührt und anschließend 1.00 g L-Seryl-Glycin (6.20 mmol) zugegeben. Zunächst bildete sich eine klare Lösung. Die Reaktion war nach dem Erscheinen eines dichten weißen Niederschlag beendet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgetrennt und der erhaltene weiße Niederschlag mehrmals mit Ethanol gewaschen. Anschließend wurde das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet. Es wurden 900 mg (3.97 mmol) des Feststoffs erhalten. Ausbeute: 64% der Theorie.

Charakterisierung:

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): δ [ppm] = 4.25-4.01 (m, 1 H, CH (Ser), 6 H, 3 x CH_2 (-ethyl, Gly, Ser), 1.28 (t, 3 H, CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, DMSO-d_6 , TMS): δ [ppm] =



171.87 (C=O), 168.89 (C=O), 63.29 (-CH₂-Ser), 60.76 (-O-CH₂-Etlyl), 55.19 (CH-Ser), 42.06 (CH₂-Gly), 13.93 (CH₃-Ethyl). IR (KBr) [cm⁻¹]: 3311, 3214, ν(-O-H/ N-H), 2985 ν(CH₃), 1728 ν(C=O), 1677 (C=O Amid), 1573 δ(NH), 1375ν(CH).

7.6.2 Darstellung von *Tris*(2-pyridylmethyl)amin (TPA)

Es wurden 12 g Picolychlorid-Hydrochlorid (80 mmol) in 20 mL demin. Wasser gelöst und mit 4.0 mL 2-(Aminomethyl)pyridin (40 mmol) versetzt. Zu dem Gemisch wurden 15 mL Natriumhydroxid-Lösung (1M) innerhalb von 3 h zugetropft und anschließend für 30 min auf 70 °C erhitzt. Die rote Lösung wurde dreimal mit jeweils 75 mL Chloroform extrahiert und über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel entfernt. Der dunkelbraune Feststoff wurde aus Chloroform n-Hexan umkristallisiert und mit der Kugelrohrdestille im Vakuum destilliert. Es wurden 6.20 g (21 mmol) des Produkts erhalten. Ausbeute: 53% der Theorie.

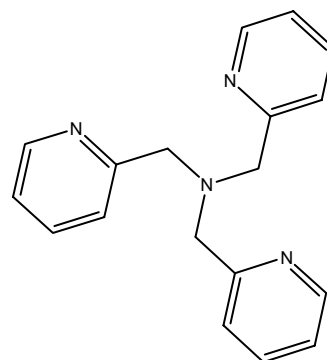
Charakterisierung:

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃, TMS): δ [ppm] = 8.56 (m, 3 H, H6), 7.56 (m, 3 H, H4), 7.20 (m, 3 H, H3), 7.05 (m, 3 H, H5), 3.69 (s, 6 H, aliph. H).

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃, TMS): δ [ppm] = 157.64 (C2), 150.74 (C6), 137.65 (C4), 123.63, 122.97 (C3)(C5), 59.50 (aliph. C).

IR (KBr) [cm⁻¹]: 3061, 3014 ν(ar. C-H), 2962, 2921, 2839, 1593, 1570 ν(C=N), ν(C-H), 1476, 1434 δ(C-H); 1372, 1314, 1262 ν(C=C), δ(CH), 1146, 1115, 1087 δ(C-H), ν(C-N); 941, 904, 767 δ(ar. C-H).

MS (m-NBA, FAB): *m/z* (%): [TPA+H] 291 (95).



7.7 Versuchsvorschriften zur Synthese der Vanadium(V)-Komplexe

7.7.1 Umsetzung von 5-Carboisopropoxyppyridin-2-carbonsäure mit dem Vanadium(V)precursor: VO(Pic-5O*i*Pr)

In einem 50 mL Zweihals-Rundkolben wurden 188 mg 5-Carboisopropoxyppyridin-2-carbonsäure (0.90 mmol) in 15 mL abs. Dichlormethan gelöst. Zur dieser Lösung wurden 73.3 mg Oxidovanadium(V)*tris(isopropylat)* (0.30 mmol) in 10 mL abs. Dichlormethan gelöst, tropfenweise zugegeben. Die Farbe der Lösung änderte sich von farblos nach gelb, und nach 30 Minuten wurde das Lösungsmittel unter Vakuum abgezogen.

Charakterisierung:

^{51}V -NMR (CDCl_3 , VOCl_3): δ [ppm] (Integral) = -540 (0.3), -554 (1)

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3429, 3074 ν (ar. CH); 2982, 2877 ν (-CH₂), ν (-CH₃); 1724 ν (C=O); 1697 ν (C=C); 1609, 1581 $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$; 1481, 1468 ν (ar. C=C); 1392, 1375, 1318, 1284 $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$, ν (C=C), ν (C=N); 1253 ν (C=C), ν (C=N); 1149 ν (C-C); 1103, 1036 ν (CO); 977 ν (V=O); 849 δ (CH); 749 δ (ar. CH).

7.7.2 Umsetzung von 5-Carboisopropoxyppyridin-2-carbonsäure und *Tris*(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(TPA)(Pic-5O*i*Pr)Cl₂

Für die Umsetzung wurden in einem 25 mL Zweihals-Rundkolben 197 mg 5-Carboisopropoxyppyridin-2-carbonsäure (HPic-5O*i*Pr) (0.94 mmol) in Form des Hydrochlorids in 5 mL abs. Chloroform mit 137 mg *Tris*(2-pyridylmethyl)amin (TPA) (0.47 mmol) gelöst und mit 91 mg Oxidovanadium(V)*tris(isopropylat)* (0.37 mmol) versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2 d bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit trockenem *n*-Hexan überschichtet. Die Umkristallisation des isolierten rot/braunen Feststoffes erfolgte aus Chloroform/Aceton.

Charakterisierung:

^{51}V -NMR (CDCl_3 , VOCl_3): δ [ppm] (Integral) = -486 (1), -573 (0.4)

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): [VO(Pic-5O*i*Pr)₂Na] 506 (30), [VO(Pic-5O*i*Pr)(TPA)] 565 (30), [VO(Pic-5O*i*Pr)₃Na₂] 737 (10)

IR (KBr) [cm⁻¹]: 3427, 3070 ν (ar. =CH); 2983, 2939 ν (-CH₂), ν (-CH₃); 1718 ν (C=O); 1652, 1636, 1597, 1570 $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$, ν (C=C), ν (C=N); 1388 $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$; 1472, 1457, 1437 δ (ar. CH), ν (ar. C=C); ν (CH); 1387, 1348, 1280, 1165 ν (C=N); ν (CH); 1121, 1045, 1026 ν (CO); 966 ν (V=O); 838, 773, 749 δ (CH); δ (ar. CH).

7.7.3 Umsetzung von 5-Carboethoxy-pyridin-2-carbonsäure und *Tris*(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(TPA)(Pic-5OEt)Cl₂

In einem 25 mL Zweihals-Rundkolben wurden 25 mg 5-Carboethoxy-pyridin-2-carbonsäure (HPic-5OEt, 0.13 mmol) in Form des Hydrochlorids in 3 mL Chloroform suspendiert und mit 29 mg Oxidovanadium(V)*tris*(*isopropylat*) (0.13 mmol) versetzt. Hierzu wurde innerhalb 1 h 37 mg *Tris*(2-pyridylmethyl)amin (0.13 mmol) gelöst in 5 mL Chloroform hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend eingeengt, mit Hexan versetzt und der gewonnene Niederschlag aus Chloroform/Aceton umkristallisiert. Dabei wurden zwei Komplexe der Zusammensetzung [VO(Pic-5OEt)TPA]Cl₂ bzw. [VO(Pic-5OEt)₂TPA]Cl erhalten

Charakterisierung:

⁵¹V-NMR (CDCl₃, VOCl₃): δ [ppm] (Integral) = -489 (1), -534 (0.3)

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): [VO(Pic-5OEt)₂TPA] 745 (10), [VO(Pic-5OEt)TPA] 551 (65)

IR (KBr) [cm⁻¹]: 3424, 3069 ν (ar. =CH); 2923, 2832 ν (-CH₂), ν (-CH₃); 1722 ν (C=O); 1606, 1570, 1483, 1442 $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$, ν (C=C), ν (C=N); 1353 $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$; 1289, 1089, 1029, ν (CO); 940 907, 805, 765, 733 ν (V=O); δ (CH); δ (ar. CH).

Elementaranalyse C₂₇H₂₇Cl₂N₅O₅V gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 52.53 (52.11), Wasserstoff 4.25 (4.21), Stickstoff 11.35 (11.25)

7.7.4 Umsetzung von 5-L-Tyrosinamid-pyridin-2-carbonsäure und *Tris*(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(TPA)(PicTyr)Cl₂

Zunächst wurden 73 mg TPA (0.17 mmol) durch versetzen mit Salzsäure in das Hydrochlorid-Salz überführt und der entstandene Niederschlag abfiltriert und mit 20 mL Ethanol gewaschen. Zu der Suspension aus TPA-Hydrochlorid in Ethanol wurden 65 mg Dinatrium-5-L-Tyrosinamid-picolinat (0.17 mmol) hinzugegeben und mit 42 mg Oxidovanadium(V)*tris(isopropylat)* (0.17 mmol) versetzt. Der farblose Niederschlag wurde abfiltriert, das Lösungsmittel entfernt und das Produkt aus Methanol / Hexan bei - 20°C ausgefällt.

Charakterisierung:

⁵¹V-NMR (CDCl₃, VOCl₃): δ [ppm] = -461- -452

IR (KBr) [cm⁻¹]: 3423 ν(NH), 2921, 2813 ν(-CH₂), ν(-CH₃); 1653 ν(ar.C=C.); 1610 ν_{as}(CO₂⁻); 1516 ν(C=C), ν_{sym}(C=N); 1486 ν(ar. C=C); 1439 ν(C-H); 1360, 1349 ν_{sym}(CO₂⁻); 1287 ν(C=C), ν(C=N); 1263, 1145 ν_{as}(O-H), ν(C=O); 1122 ν(ar. =CH); 1108 ν(C-O-C); 1090 ν(C=C), ν(C=N); 1034 ν(C=N); 956, 900 ν(V=O); 764 ν(C-H); 637 ν(C=N).

7.7.5 Umsetzung von 5-L-Isoleucinamid-pyridin-2-carbonsäure und *Tris*(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(TPA)(PicIle)Cl₂

Für die Umsetzung wurden 150 mg 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Isoleucinmethylester)amid (0.49 mmol) in 10 mL Methanol gelöst und mit 225 mg Kaliumhydroxid (4.00 mmol) versetzt und ca. 5 h bei 60°C gerührt. Nach Beendigung der Reaktion (DC-Kontrolle) wurde der pH-Wert des Reaktionsgemisches mit 1M-Salzsäure auf pH 3 eingestellt und vom Lösungsmittel befreit. Der entschützte Ligand (Picolinsäure-5(L-Isoleucin)amid) wurde anschließend mit abs. Methanol extrahiert. Für die Komplexierung wurde *Tris*(2-pyridylmethyl)amin (TPA) (0.14 mmol) durch versetzen mit Salzsäure in das Hydrochlorid-Salz überführt und in 5 mL abs. Methanol suspendiert. Danach wurde 34 mg Oxidovanadium(V)*tris(isopropylat)* (0.14 mmol) gelöst in 2 mL Tetrahydrofuran innerhalb von 1 h zu der Suspension zugetropft. Das Reaktionsgemisch wurde 1 d bei Raumtemperatur gerührt und mit 39 mg der Picolinsäure-5(L-Isoleucin)amid (0.14 mmol) in 3 mL Methanol versetzt. Anschließend wurden die Lösungsmittel

entfernt und eine gesättigte Lösung aus Methanol mit Hexan überschichtet und bei -20 °C gelagert.

Charakterisierung:

^{51}V -NMR (CDCl_3 :MeOH (3:1), VOCl_3): δ [ppm] = -489

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): [VO(PicIle)TPA] 636 (100)

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3404, 3060 $\nu(\text{ar. =C-H})$; 2965, 2933, 2877 $\nu(-\text{CH}_2)$, $\nu(-\text{CH}_3)$; 1727 $\nu(\text{C=O})$; 1654, 1611, 1571 $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$, $\nu(\text{C=N})$; 1486 $\nu(\text{ar. C=C})$; 1464 $\nu(\text{C=N})$, $\nu(\text{C=C})$; 1443 $\nu(\text{C-H})$; 1387 $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$; 1337 $\nu(\text{CN})$; 1291, 1248 $\nu(\text{C=O})$; 1160, 1100 $\nu(\text{CO})$; 979 $\nu(\text{V=O})$; 733, 637, 624 $\delta(\text{CH})$; $\delta(\text{ar. CH})$.

Elementaranalyse $\text{C}_{31}\text{H}_{37}\text{Cl}_4\text{N}_6\text{O}_6\text{V}$ gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 47.70 (47.59), Wasserstoff 6.70 (4.77), Stickstoff 10.09 (10.74)

7.7.6 Umsetzung von 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tryptophanmethylester)amid und *Tris*(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(TPA)(PicTrp)Cl₂

Für die Umsetzung wurden 977 mg 2-Carbomethoxypyridin-5-(L-Tryptophanmethylester)amid (2.56 mmol) in 10 mL Methanol gelöst und mit 449 mg Kaliumhydroxid (8.00 mmol) versetzt und ca. 4 h bei 60°C gerührt. Nach Beendigung der Reaktion (DC-Kontrolle) wurde der pH-Wert des Reaktionsgemisches mit 1M-Salzsäure auf pH 3 eingestellt und vom Lösungsmittel befreit. Der entschützte Ligand (Picolinsäure-5(L-Tryptophan)amid) wurde anschließend mit abs. Chloroform extrahiert. Für die Komplexbildung wurde *Tris*(2-pyridylmethyl)amin (TPA) (0.28 mmol) durch versetzen mit Salzsäure in das Hydrochlorid-Salz überführt und in 5 mL abs. Tetrahydrofuran suspendiert. Danach wurde 68 mg Oxidovanadium(V)*tris*(isopropylat) (0.28 mmol) gelöst in 2 mL Methanol innerhalb von 1 h zu der Suspension zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 1 d bei Raumtemperatur gerührt und mit 100 mg der Picolinsäure-5(L-Tryptophan)amid (0.28 mmol) in 3 mL Methanol versetzt. Die Umkristallisation des gewonnenen Niederschlages erfolgte aus Methanol / Toluol.

Charakterisierung:

^{51}V -NMR (CDCl_3 MeOH (3:1), VOCl_3): δ [ppm] = -485

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3415 ν (ar. =C-H); 2953, 2925, 2854 ν (-CH₂), ν (-CH₃); 1713 ν (C=O); 1608, 1573 $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$, ν (C=N); 1462, 1445 ν (ar. C=C), ν (C=N), ν (C-H); 1380; 1351 ν (CN), $\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$ 1299, 1282, 1248 ν (C=O); 1132, 1103, 1021 ν (CO); 978 ν (V=O); 774, 746 δ (CH); δ (ar. CH).

Elementaranalyse C₃₆H₃₂Cl₂N₇O₆V 0.8 Toluol gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 58.51 (58.49), Wasserstoff 4.19 (4.53), Stickstoff 11.30 (11.48)

7.7.7 Umsetzung von 2-Carbomethoxypyridin-5-threoninamid und N-(2-Mercaptobenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin mit dem Vanadium(V)precursor: VO(MPA)(PicThr)Cl₂

Für die Umsetzung wurde 100 mg 2-Carbomethoxypyridin-5-threoninamid (0.37 mmol) in Form des Hydrochlorids in 5 mL abs. Chloroform gelöst und mit 91 mg Oxidovanadium(V)*tris(isopropylat)* (0.37 mmol) versetzt. Die gelbe Lösung wurde 1 d bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 119 mg N-(2-mercaptobenzyl)-N,N-bis(2-pyridylmethyl)amin (0.37 mmol) versetzt. Der Farbwechsel von gelb nach grün und das einsetzen der Feststoffbildung konnte nach ca. 10 min beobachtet werden. Nach überschichten mit Hexan konnte ein grüner Feststoff isoliert werden.

Charakterisierung:

EPR (THF, 100 K): $g_{\perp} = 1.980$, $A_{\perp} = 66 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, $g_{\parallel} = 1.945$, $A_{\parallel} = 173 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$

MS (m-NBA, FAB): m/z (%): [M-H] 654 (20)

IR (KBr) [cm^{-1}]: 3551,3475,3414,3239 ν (N-H); 1733 ν (C=O); 1639 ν (NH); 1576 $\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$; 1539 ν (N-H) ν (C=N); 1487 ν (ar. C=C); 1437 ν (C-H); 1348 $\nu_{\text{sym}}(\text{CO}_2^-)$; 1261 ν (C-O); 1160 ν (C-N); 1095 ν (C-O-C); 1060 ν (C=O); 1029 ν (C-N); 976 ν (V=O); 864 ν (ar. C=C); 771 ν (C-H); 623 ν (ar. C=C).

Elementaranalyse C₃₀H₃₁Cl₂N₅O₇SV iPrOH gemessen (berechnet):

Kohlenstoff 50.81 (50.32), Wasserstoff 4.63 (4.99), Stickstoff 8.02 (8.89), Schwefel 4.22 (4.07)

8 Aspekte des Arbeits- und Umweltschutzes

8.1 Rechtliches Umfeld und Reglementierung des Chemikers

In seinem weiten Tätigkeitsfeld wird der Chemiker mit einer Fülle von Gesetzen und Verordnungen konfrontiert, die alle dem Schutz von Mensch und Umwelt dienen. Die Verordnungen des Chemikalienrechts, vor allem über Gefahrstoffe, stellen einen Teil der Rechtsordnung dar. Diese regeln einerseits die Tätigkeit des Chemikers, andererseits werden sie selbst von seinen Erkenntnissen und Erfahrungen beeinflusst.

Im Chemikaliengesetz werden Gefahrstoffe folgendermaßen definiert:

- gefährliche Stoffe, Zubereitungen oder Erzeugnisse nach § 3a sowie Stoffe und Zubereitungen, die sonstige chronisch schädigende Eigenschaften besitzen
- explosionsgefährliche Stoffe, Zubereitungen und Erzeugnisse
- Stoffe, Zubereitungen und Erzeugnisse, die explosionsgefährliche Stoffe freisetzen können
- Stoffe, Zubereitungen und Erzeugnisse, die erfahrungsgemäß Krankheitserreger übertragen können.

Wenn sehr giftige oder giftige Stoffe in den Verkehr gebracht oder abgegeben werden, ist dies nur dann rechtlich zulässig, wenn die verantwortliche Person volljährig ist, die erforderliche Zuverlässigkeit besitzt und die Sachkenntnis nach der Chemikalienverbotsverordnung (ChemverbotsV) nachweisen kann. Für einen verantwortungsvollen Umgang mit Chemikalien müssen dem Chemiker die wesentlichen Eigenschaften der Gefahrstoffe, die mit ihrer Verwendung verbundenen Gefahren und die einschlägigen Vorschriften bekannt sein, so wie dies nach § 5 des ChemverbotsV bestimmt wird.

Die Kenntnis der dazugehörigen Vorschriften setzt die rechtlichen Definitionen der Gefährlichkeitsmerkmale, die Kennzeichnung und Einstufung gefährlicher Stoffe und Zubereitungen anhand der Gefahreigenschaften voraus. Die letztgenannten erfolgen gemäß dem Listenprinzip, wenn die Stoffe in der maßgeblichen Liste erfasst sind, und gemäß dem Definitionsprinzip, wenn die Stoffe nach der Operationalisierung der Gefährlichkeitsmerkmale dies nicht sind.

Außerdem sind für den Chemiker auch das Wissen über die Tatbestände der fahrlässigen Tötung und Körperverletzung, der Vergiftung (§§ 222, 230 und 229 StGB), sowie des strafbaren

Inverkehrbringens von Giften und über die Ordnungswidrigkeiten beim Inverkehrbringen von und beim Umgang mit Giften von Bedeutung. Er sollte sich im weiteren über das Gefahrguttransportrecht, das Abfallrecht, das Lebensmittelgesetz, das Bundesimmissionsschutzgesetz, das Wasserhaushaltsgesetz sowie über die Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS) unterrichten, die teilweise die geltenden Regeln und Erkenntnisse inhaltlich näher bestimmen.

Durch die TRGS 451 wird z. B. der Umgang mit Gefahrstoffen im Hochschulbereich definiert. Die TRGS 555 das Aussehen und den Inhalt von Betriebsanweisungen, die in chemischen Labors, in denen mit Gefahrstoffen gearbeitet wird, vorhanden sind und die auf sämtliche Gefahren der betreffenden Stoffe hinweisen müssen, eingehender fest als es die Gefahrstoffverordnung (GefStofV) tut. Die TRGS hat als Ziel, ein Maximum an Sicherheit zu gewähren und dient folglich dazu, Gefahrstoffe unter sicherheitstechnischen, arbeitsmedizinischen, hygienischen und arbeitswissenschaftlichen Aspekten eindeutig einzuordnen.⁶⁵

Mit dem Inkrafttreten der Gefahrstoffverordnung 2005 wurde ein neues gesundheitsbasiertes Grenzwertkonzept eingeführt. Daher haben die in der TRGS 900 geführten Technischen Richtkonzentrationen (TRK-Werte) keine Rechtsgrundlage mehr. Alle übrigen Grenzwerte (gesundheitsbasierte MAK-Werte) werden übergangsweise bis zum Erscheinen der neuen TRGS 900 weiter angewendet. Diese werden als AGW-Werte (Arbeitsplatzgrenzwerte) ausgewiesen. Gemäß dem TRK-Konzept kann auch bei einer Einhaltung dieser Werte eine Gesundheitsgefährdung insbesondere bei krebserzeugenden oder erbgutverändernden Stoffen nicht ausgeschlossen werden.

Beispielhaft werden im Folgenden die Betriebsanweisungen für Pyridin-2,5-dicarbonsäure angegeben.

Substanz: Pyridin-2,5-dicarbonsäure

Arbeitsplatz: Raum 532, Inst. für Anorg. u. Angew. Chemie

Gefahrensymbole: Xi (reizend).

Gefahren für Mensch und Umwelt: Reizt die Augen, Atmungsorgane und die Haut. Wassergefährdender Stoff (WGK 2).

Schutzmaßnahmen und Verhaltensregeln: Gefäß dicht verschlossen halten. Bei Handhabung geeignete Schutzkleidung (Schutzbrille, Handschuhe) tragen.

Verhalten im Gefahrfall: Bei unbeabsichtigtem Freisetzen trocken aufnehmen. Brände mit Pulver, Schaum, Wasser löschen.

Besondere Gefahren: Brennbar. Im Brandfall Entstehung gefährlicher Dämpfe möglich. Im Brandfall können NO_x entstehen.

Erste Hilfe: Nach Hautkontakt mit reichlich Wasser abwaschen. Kontaminierte Kleidung entfernen. Nach Augenkontakt mit reichlich Wasser bei geöffnetem Lidspalt mindestens 10 min. ausspülen. Augenarzt hinzuziehen. Nach Einatmen für Frischluft sorgen. Nach Verschlucken viel Wasser trinken lassen und Erbrechen auslösen. Arzt hinzuziehen.

Abfallentsorgung: Reste müssen der fachgerechten Entsorgung zugeführt werden.

8.2 Sicherheitsaspekte bei der Säulenchromatographie mit Dichlormethan als Laufmittel

Im Rahmen der Tätigkeiten mit KMR-Stoffen der Kategorie 3 wurden hier die Gefahrenpotentiale des Dichlormethans am Arbeitsplatz bewertet. Am Arbeitsplatz wurde eine mehrtätige Säulenchromatographie unter Verwendung einer ca. 1000 mL fassenden Säule mit Dichlormethan:Methanol (97:3) unter dem Abzug sowie parallel dazu dünnschichtchromatographische Untersuchung zur Beobachtung des Trennvorgangs (teilweise unter dem Abzug) durchgeführt.

8.2.1 Toxikologie des Dichlormethans

Dichlormethan (DCM) ist ein Chlorkohlenwasserstoff, der in Verdacht steht krebserzeugend zu sein (Kat. 3). Der Arbeitsplatzgrenzwert, das heißt die Schadstoffkonzentration, die bei täglich achtstündiger Exposition an 5 Tagen pro Woche nicht dauerhaft überschritten werden darf, beträgt 100 mL/m³ bzw. 350 mg/m³.

Der BAT-Wert (Biologischer Arbeitstoffsstofftoleranzwert) für Dichlormethan (DCM) beträgt im Bezug auf Hb(CO) 5% (s.u.) und im Bezug auf das Blutvolumen 1 g/mL (jeweils im Vollblut). Im menschlichen Körper wird Dichlormethan grundsätzlich auf zwei Arten metabolisiert: durch das Cytochroms P-450 in der Leber und durch die Glutathion-Transferasen.⁶⁶ Im P-450-katalysierten Weg wird Dichlormethan (A1; vergl. Abbildung 104) vom P-450 zunächst zu

Formylchlorid (A2) oxidiert, welches dann in Kohlenmonoxid (A3) und Chlorwasserstoff zerfällt. Alternativ kann das Formylchlorid (A2) auch mit Glutathion (GSH, A4) über ein Glutathion-Konjugat (A5) zu Ameisensäure (A6) reagieren, aus der letztendlich Kohlendioxid (A7) entsteht. Ein zweiter Weg ist die direkte Reaktion des Dichlormethans (A1) mit Glutathion (A4) über ein anderes Glutathion-Konjugat (A8). Es entsteht zunächst das Hydrolyseprodukt des Konjugates (A9), woraus anschließend Formaldehyd (A10), dann Ameisensäure (A6) und letztendlich wieder Kohlendioxid (A7) gebildet wird. Für die Carcinogenität des Dichlormethans sind vermutlich die Reaktionsintermediate Formylchlorid (A2) und Formaldehyd (A10) verantwortlich. Eine zusätzliche Gefahr stellt das entstehende Kohlenmonoxid (A3) dar. Kohlenmonoxid bindet 500fach besser an Hämoglobin als Sauerstoff. Durch Bildung von Carboxyhämoglobin (Hb(CO)) ist es somit in der Lage, die Sauerstoffaufnahme des Hämoglobins zu inhibieren, wodurch ein Sauerstoffmangel im Gewebe auftritt.

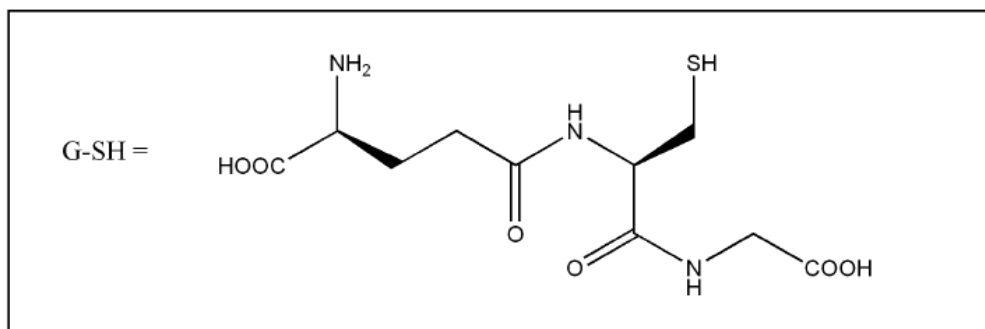
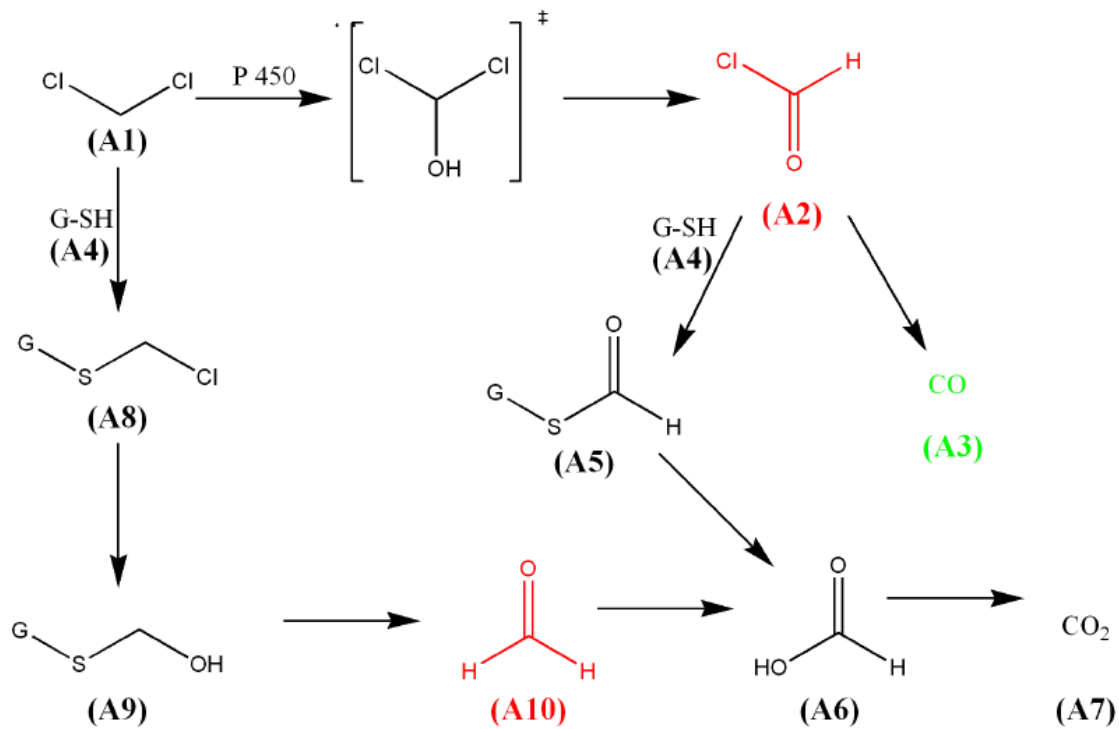


Abbildung 104: Metabolismus des Dichlormethans (DCM).

8.2.2 Durchführung der Säulenchromatographie

Die Säulenchromatographie wurde mithilfe einer etwa 1 m langen Glassäule mit einem Durchmesser von ca. 5 cm und einer Lösungsmittelblase mit einem Volumen von 1 L durchgeführt. Als stationäre Phase wurde Kieselgel verwendet. Ein Dichlormethan-Methanolgemisch mit einem Konzentrationsgradienten, begonnen bei 99:1 (DCM:MeOH), wurde als Laufmittel eingesetzt. Die Methanolkonzentration wurde alle 500 mL um 2% (absolut) erhöht. Die erhaltenen Fraktionen wurden durch eine Tüpfelprobe auf UV-Aktivität überprüft, UV-aktive Fraktionen wurden dünnschichtchromatographisch analysiert (Laufmittel: DCM:MeOH 9:1). Die Fraktionen mit Substanzen gleichen *R_f*-Wertes wurden vereinigt und das Lösungsmittelgemisch am Rotationsverdampfer entfernt.

8.2.3 Durchführung der Messung von Dichlormethan in der Atemluft

Während der Säulenchromatographie wurde die Atemluft mittels Probenahmepumpen (PAS-Pumpe) über Aktivkohleröhrchen (Dräger, Typ B) geführt. Die Aktivkohleröhrchen waren hierbei etwa auf Höhe der Atemwege angebracht. Der Volumenstrom der Pumpen betrug 20 L/h. Bei Langzeitmessungen betrug die Messzeit 120 min. Bei Kurzzeitmessungen, die die Expositionsspitzen erfassen sollten, betrug die Messzeit 15 min. Diese Messungen wurden teilweise unterbrochen, wenn keine Arbeiten mit Dichlormethan durchgeführt wurden.

Messverfahren: Die Proben wurden im Berufsgenossenschaftlichen Institut für Arbeitsschutz - BGIA - in Sankt Augustin vermessen. Um das Dichlormethan aus den Aktivkohleröhrchen zu extrahieren wurde die Aktivkohle aus dem Proberöhrchen 18 h mit 10 mL CS₂ extrahiert. Der Extrakt wurde über Einmalfilter filtriert, mit internem Standard versetzt und gaschromatographisch parallel auf zwei Säulen unterschiedlicher Polarität qualitativ und quantitativ getrennt.

Gaschromatographische Arbeitsbedingungen:

Gerät: Sichromat 1 mit Autosampler und 2 Dosierknöpfen

Säule 1: 1. 50 m OV 101 Glaskapillare Säule 2: 50 m CW 20 M Glaskapillare

IS: 2.5 µL 2-Methylheptan IS: 2.5 µL n-Undecan

Detektor: FID

Injektionsvolumen: 0.5 µL

Trägergas: 1.5 mL/min He, Split: 1:50

Temperaturen: Ofen:

1. 50 °C isotherm 8 min

2. 50 - 80 °C (5°/min)

3. 80 °C isotherm 8 min

4. 80 - 180 °C (5°/min)

Injektor: 200 °C ; Detektor: 230 °C

8.2.4 Ergebnis/Diskussion und Auswertung

Sowohl bei der Langzeit- als auch bei Kurzzeitmessungen wurden die Bestimmungsgrenzen (5 mg/m³ bei Langzeitmessungen und 40 mg/m³ bei Kurzzeitmessungen) *unterschritten*. Das Ergebnis der Messung von Dichlormethan in der Atemluft ist damit positiv (im Sinne vernachlässigbarer Belastung) zu bewerten. Die Gesamtbewertung der Messergebnisse aus beiden Messberichten (051212/1 und 051212/2) beruht auf der Einhaltung des Arbeitsplatzgrenzwerts unter den durchgeführten Arbeitsbedingungen: Der Arbeitsplatzgrenzwert von 350 mg/m³ wurde deutlich unterschritten, die Dichlormethan Konzentrationen lagen sogar durchweg unterhalb der Bestimmungsgrenze. Es ist nicht davon auszugehen, dass eine Gefährdung durch die Inhalation von Dichlormethan bei der Säulenchromatographie bestanden hat. Da an den Messtagen winterliches Wetter (Außen-/Innentemperatur: 4 °C/ 20 °C, bewölkt) vorherrschte, wäre es zweckmäßig, weitere Messungen in den Sommermonaten durchzuführen. Es kommt bei sommerlichen Außentemperaturen und direkter Sonnenstrahlung zu einer Aufheizung der Laborluft und damit einhergehend zu einer möglichen erhöhten Belastung durch Dichlormethan in der Umgebungsluft.

8.3 Toxizität von Vanadiumverbindungen

Es gibt bislang relativ wenige Untersuchungen über das Gefahrenpotenzial vanadiumhaltiger Verbindungen, wobei speziell den Auswirkungen von toxischen Effekten auf Menschen nur eine geringe Aufmerksamkeit geschenkt wird.

Vor allem Vanadium in der Oxidationsstufen (IV) und (V) wurden zahlreich untersucht, da angenommen wird, dass diese höheren Oxidationsstufen ein größeres Risiko darstellen. Insbesondere in Form von V_2O_5 oder Vanadat, besitzt Vanadium die Fähigkeit durch Endocytose oder über Phosphat-Ionenkanäle in das Zellinnere zu dringen.⁶⁷ Hier kann Vanadat mit zelleigenen Reduktionsmitteln wie Ascorbat, Glutathion oder NAD(P)H reagieren, so dass einerseits die Zelle aufgrund des Verlustes an zelleigenen Reduktionsmitteln anfälliger gegenüber anderen toxischen Stoffen wird, andererseits das resultierende vierwertige Vanadium wieder durch Sauerstoff zurückoxidiert werden kann. Pentavalentes Vanadium verfügt über eine beträchtliche Toxizität: es ist imstande, reaktive Sauerstoffspezies zu erzeugen, in wichtige Phosphorylierungsprozesse einzugreifen, sowie Enzyme zu inhibieren, die sowohl in cytoplasmatische als auch in Prozesse des Zellkerns eingebunden sind. Auch wurde festgestellt, dass Vanadium(V) die immunologischen Prozesse beeinflusst, d.h. es vermag die Immunantwort auf bestimmte Viren und Bakterien drastisch zu reduzieren. Vanadium, das oral aufgenommen wird, gelangt in die Nieren, die Leber und das Blut, und es kann zu Magen-Darm Störungen kommen. Eine mittelfristige Speicherung erfolgt in den Knochen. Weiterhin hat sich herausgestellt, dass bei längerer Exposition gegenüber Vanadiumpentoxid Krankheiten wie Asthma und Bronchitis verstärkt auftreten. Außerdem steigen durch Sekundäreffekte die Fälle von Lungenkrebs. Darüber hinaus kann Vanadium auch Rezeptor-Proteine verändern, wodurch veränderte Bindungsaffinitäten derselben resultieren, was wiederum Veränderungen der regulatorischen Eigenschaften bedingt.

Eine Veröffentlichung auf diesem Gebiet⁶⁸ zeigt, dass Vanadiumverbindungen mutagene, teratogene und carcinogene Eigenschaften haben können. Die mutagene Wirkung wird auf die Bildung von DNA-Querverbindungen vor allem durch Vanadium(V) zurückgeführt. Im Weiteren können Vanadiumverbindungen in hohen Konzentrationen cytotoxisch wirken, d.h. es kommt zu Veränderungen der Zellfunktionen in der Mitose-Phase. Vierwertiges Vanadium kann aber auch auf die DNA-Synthese und DNA-Reperatur Einfluss ausüben; so bewirkt Vanadylsulfat in bestimmten Organismengruppen die Stimulierung des Thymidineinbaus in die DNA. Vanadat kann DNA-Strangbrüche in menschlichen Leukocyten verursachen.

Über direkte carcinogene Wirkungen des Vanadiums sind bisher keine verlässlichen Daten bekannt. Möglicherweise gibt es jedoch einen Zusammenhang mit der Stimulierung der Tyrosin-Kinase durch Vanadat, so dass man eine carcinogene Wirkung unter bestimmten Bedingungen nicht ganz ausschließen kann. Auch teratogene Eigenschaften von Vanadium-verbindungen können bislang nur vermutet werden. Gründliche Aussagen darüber liegen bislang nicht vor.

8.4 Entsorgung

Zu einem verantwortungsvollen Arbeiten mit Chemikalien aller Art gehört auch die sachgerechte Entsorgung, die in der BRD durch das 1986 erneuerte Gesetz über die Vermeidung und Entsorgung von Abfällen (AbfG) reglementiert ist. Demgemäß soll die Entsorgung nicht nur auf die Sammlung und die regelgerechte Umwandlung gefährlicher Stoffe in weniger gefährliche Substanzen begrenzt sein, sondern soll, soweit möglich, durch die Wahl geeigneter Verfahren die bereits im Labor entstehenden Abfallmengen auf ein Minimum reduzieren. Dabei sind verschiedene Maßnahmen möglich, wie z. B. entsprechend klein dimensionierte Forschungsansätze, die Wiedergewinnung bestimmter Lösungsmittel wie Aceton und Ethanol, die in erster Linie zu Reinigungszwecken verwendet werden, oder aber die Wiedergewinnung teurer Lösungsmittel wie deuteriertes THF. Auch ist der Ersatz sehr gefährlicher Stoffe durch weniger gefährliche Stoffe zu testen und wenn möglich auch vorzunehmen. So ist bei vielen Synthesen der Ersatz von Benzol durch die weniger gefährlichen Lösungsmittel Toluol durchaus möglich.

Im Folgenden werden die wichtigsten Entsorgungsarten der in der Arbeit verwendeten Stoffe aufgezählt:

- Die getrennte Sammlung von halogenierten und nicht-halogenierten Lösungsmitteln erfolgte in lösungsmittelbeständigen und bruchsicheren PE-Kanistern (rot für halogenhaltige und blau für halogenfreie Lösungsmittel) mit einem maximalen Fassungsvermögen von 5 Litern. Dabei wurden die Lösungsmittel vor der Entsorgung destillativ von etwaigen Metallverbindungen getrennt.
- Mit Chemikalien kontaminierte Papierfilter, Butylschläuche, DC-Folien etc. wurden dem Sammelbehälter für kontaminierte Betriebsmittel zugeführt.
- Glasgefäße wurden nach entsprechender Reinigung und Entfernung aller Etiketten dem normalen Glasmüll zugeführt.

- Verunreinigte Heizbäder und Öl aus Vakuumpumpen gelten als stark kontaminiertes Altöl und wurden als Sondermüll der Entsorgung zugeführt.
- Alle metallhaltigen Rückstände wurden mit einem Gemisch aus konzentrierter Schwefelsäure und 30%igem Wasserstoffperoxid oxidativ aufgeschlossen und nach Verkochen des überschüssigen Peroxids und Abstumpfung mit Soda oder Natriumhydroxid dem Abfallbehälter für metallhaltige anorganische Verbindungen zugeführt.

8.5 Stoffbilanz

Während der Arbeit wurden ca. 150 Forschungsansätze durchgeführt. Folgende Chemikalienmengen (mit dem größten Anteil am Gesamtverbrauch) wurden verwendet:

- An Metallkomponenten wurden ca. 15 g der Vanadium-Precursor $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3$ und $\text{VO}(\text{O}i\text{Pr})_3$, sowie, ca. 10 g Natrium und 5 g Magnesium für die Trocknung der Lösungsmittel verwendet.
- Etwa 50 L Lösungsmittel wurde verbraucht, davon ca. 30 L für Ligandendarstellung und -reinigung (10 L Ethylacetat, 8 L *n*-Hexan, 5 L Dichlormethan, 3 L Ethanol, 2 L Methanol, ferner Toluol, Pentan, Petrolether und Dimethylsulfoxid). Für Forschungsansätze wurden im Wesentlichen Dichlormethan und Methanol eingesetzt.
- Zu Reinigungszwecken wurden 10 L Extran und 5 L Aceton verwendet.

9 Literaturverzeichnis

- ¹ J. G. Macara; *Trends Biochem. Sci.* **1980**, 5, 92-94.
- ² K. Schwarz; D. B. Milne; *Science* **1971**, 174, 426-428.
- ³ D. Rehder; *Angew. Chem.* **1991**, 103, 152-172.
- ⁴ R. Wever, K. Kustin; *Adv. Inorg. Chem.* **1990**, 35, 81.
- ⁵ a) E. Bayer, H. Kneifel; *Z. Naturforsch. B.* **1972**, 27, 20. b) E. Bayer, H. Kneifel; *Angew. Chem.* **1973**, 85, 542. c) E. Bayer, H. Kneifel; *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 3075. d) E. Bayer, E. Koch, G. Anderegg; *Angew. Chem.* **1987**, 99, 570.
- ⁶ H. U. Meisch, J. A. Schmitt, W. Reinle; *Z. Naturforsch. C* **1978**, 33, 1.
- ⁷ a) B. J. Hales, E. E. Case, M. J. E. Morningstar, M. F. Dzeda, L. A. Mauterer; *Biochemistry* **1986**, 25, 7251-7255. b) R. L. Robson, R. R. Eady, T. H. Richardson, R. W. Miller, M. Hawkins, J. R. Postgate; *Nature* **1986**, 322, 388.
- ⁸ a) H. Vilter; *Bot. Mar.* **1983**, 26, 429. b) W. Kaim, B. Schwederski; *Bioanorganische Chemie*, 2. Auflage, B.G. Teubner Verlag, Stuttgart, **1995**.
- ⁹ A. Green; *Biochem. J.* **1986**, 238, 663-669.
- ¹⁰ L. Stryer; *Biochemie*, 4. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, **1996**.
- ¹¹ D. Rehder; *Inorganic Chemistry Communications* **2003**, 6(5), 604-617.
- ¹² a) K. Kustin, I. G. Macara ; *Comments Inorg. Chem.* **1982**, 2, 1. b) L.C. Cantley, L. Josephson, R. Warner, M. Yanagisawa, C. Lechene, G. Guidotti; *J. Biol. Chem.* **1977**, 252, 7421-7423.
- ¹³ a) D. Rehder; *Bioinorganic Vanadium Chemistry*, Wiley, Chichester, **2008**. b) B. Lyonnet. X. Martz, E. Martin; *Presse Med.* **1899**, 32 191-192.
- ¹⁴ a) H. Minden, R. Rothe; *Z. ges. Hyg.* **1966**, 12(5), 315-321. b) Reviews: T. J. B. Simons; *Nature* **1979**, 281, 337. c) I. G. Macara; *Trends Biochem. Sci.* **1980**, 5, 92-94.
- ¹⁵ L. C. Cantley Jr., L. Josephson, R. Warner, M. Yanagisawa, C. Lechene, G. Guidotti; *J. Biol. Chem.* **1977**, 252, 7421-7423.
- ¹⁶ G. R. Dubyak, A. Kleinzeller; *J. Biol. Chem.* **1980**, 255, 5306-5312.
- ¹⁷ V. Lopez;, T. Stevens, R. N. Lindquist; *Arch. Biochem. Biophys.* **1976**, 175, 31-38.
- ¹⁸ Y. Shechter, S. J. D. Karlish; *Nature* **1980**, 284, 556-558.
- ¹⁹ C. E. Heyliger, A. G. Tahiliani, J. H. McNeill; *Science* **1985**, 227, 1474-1477.
- ²⁰ S. Ramanadham, J. J. Mongold, R. W. Brownsey, G. H. Cros and J. H. McNeill; *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **1989**, 257, 904-911.

- ²¹ J. H. McNeill, V. G. Yuen, H. R. Hoveyda, C. Orvig; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1489.
- ²² a) G. R. Hanson, Y. Sun, C. Orvig; *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 6507-6512. b) K. H. Thompson, C. Orvig; *J. Inorg. Biochem.* **2006**, 1925-1935.
- ²³ H. Sakurai, K. Fujii, H. Watanabe and H. Tamura; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1995**, *14*, 1095-1101.
- ²⁴ a) Sakurai, H.; Hamada, Y.; Shimomura, S.; Yamashita, S.; Ishizu, K.; *Inorg. Chim. Acta* **1980**, *46*, 119. b) M. C. Cam, G. H. Cros, J. J. Serrano, R. Lazaro, J. H. McNeill; *Diab. Res. Clin. Pract.* **1993**, *20*, 111. c) H. Watanabe, M. Nakai, K. Komazawa, H. Sakurai; *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 876. d) N. Durai, G. Saminathan; *J. Clin. Biochem. Nutr.* **1997**, *22*, 31.
- ²⁵ a) H. Sakurai, H. Sano, T. Takino and H. Yasui; *Chem. Lett.* **1999**, 913-914. b) H. Ou, L. Yan, D. Mustafi, M. W. Makinen, M. J. Brady; *J. Biol. Inorg. Chem.* **2005**, *10*, 874-886. c) K. Kawabe, M. Tadokoro, Y. Kojima, Y. Fujisawa, H. Sakurai; *Chem. Lett.* **1998**, 9-10. d) D. C. Crans, M. Mahroof-Tahir, M. D. Johnson, P. C. Wilkins, L. Yang, K. Robbins, A. Johnson, J. A. Alfano, M. E. Godzala, III, L. T. Austin, G. R. Willsky; *Inorg. Chim. Acta* **2003**, 356, 365-378.
- ²⁶ M. Melchior, S. J. Rettig, B. D. Liboiron, K. H. Thompson, V. G. Yuen, J. H. McNeill, C. Orvig; *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 4686-4690.
- ²⁷ Y. Shechter, I. Goldwasser, M. Mironchik, M. Fridkin, D. Gefel; *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *237*, 3-11.
- ²⁸ J. Li, G. Elberg, D.C. Crans, Y. Shechter; *Biochemistry* **1996**, *35*, 8314-8318.
- ²⁹ F. P. Ballistreri, E. G. M. Barbuzzi, G. A. Tomaselli, R. M. Toscano; *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *80*, 173-176.
- ³⁰ a) J. Gätjens, B. Meier, T. Kiss, E. M. Nagy, P. Buglyo, H. Sakurai, K. Kawabe; D. Rehder, *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 4924-4935. b) J. Gätjens, B. Meier, Y. Adachi, H. Sakurai, D. Rehder; *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, 3575-3585.
- ³¹ M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh; *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 5. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**.
- ³² a) Autorenkollektiv; *Organikum*, 20. Auflage, Johann Ambrosius Barth Verlag, Heidelberg, Leipzig, **1996**, 84-111. b) F. A. Carey, R. J. Sundberg; *Org. Chem.*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**. c) K. Vollhardt, C. Peter, E. Neil; *Org. Chem.*, 4. Auflage; **2005**.
- ³³ T. H. Fife, T. J. Przystas; *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2251-2257.
- ³⁴ G. K. S. Ooi, R. J. Magee; *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1970**, *32*, 3315-3320.
- ³⁵ H. Breuninger, U. Frine; *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* **1968**, *191*(2), 662-665.

- ³⁶ P. W. Hildebrand, S. Lorenzen, A. Goede, R. Preissner; *Proteins* **2006**, *64*, 253-262.
- ³⁷ J. Selbin; *Coord. Chem. Rev.* **1966**, *1*, 293-314.
- ³⁸ N. D. Chasteen, L. J. Berliner, J. Reuben; *Biological Magnetic Resonance* **1981**, *3*, Plenum Press, New York, 53-119.
- ³⁹ T. S. Smith II, R. LoBrutto, V. L. Pecoraro; *Coord. Chem. Rev.* **2002**, *228*, 1.
- ⁴⁰ C. Djerassi; *Optical Rotary Dispersion*, McGraw-Hill, New York, **1960**.
- ⁴¹ J. Michl, E. W. Thulstrup; *Spectroscopy with Polarized Light*, VCH, New York, **1995**.
- ⁴² P. W. Hildebrand, K. Rother, R. Preissner, A. Goede, C. Frömmel; *Biophys J.* **2005**, *88*, 1970-1977.
- ⁴³ a) J. Selbin; *Chem. Rev.* **1965**, *65*, 153-175. b) I. Cavaco, J. Costa Pessoa, M. T. Duarte, R. T. Henriques, P. M. Matias, R. D. Gillard; *J. Chem. Soc. A, Dalton Trans.* **1996**, *9*, 1989-96.
- ⁴⁴ W. R. Harris; *J. Clin. Chem.* **1992**, *38*, 1809-1818.
- ⁴⁵ (a) T. Kiss, P. Buglyo, D. Sanna, G. Micera, P. Decock, D. Dewaele; *Inorg. Chim. Acta* **1995**, *239*, 145-153. (b) G. Micera, D. Sanna, A. Dessi, T. Kiss, P. Buglyo; *Gazz. Chim. Italia* **1993**, *123*, 573-577. (c) T. Kiss, E. Kiss, G. Micera, D. Sanna; *Inorg. Chim. Acta* **1998**, *183*, 202-210.
- ⁴⁶ T. Kiss, T. Jakusch, S. Bouhsina, H. Sakurai, É. A. Enyedy; *Eur. J. Inorg. Chem.* **2006**, *18*, 3607-3613.
- ⁴⁷ D. Sanna, G. Micera, L. Strinna Erre, M. G. Molinu, E. Garribba; *J. Chem. Res.* **1996**, 41-42.
- ⁴⁸ L. Strinna Erre, E. Garribba, G. Micera, A. Pusino, D. Sanna; *Inorg. Chim. Acta* **1997**, *255*, 215-220.
- ⁴⁹ K. Várnagy, I. Sóvágó, H. Suli-Vargh, D. Sanna, G. Micera; *J. Inorg. Biochem.* **2000**, *81*, 35-41.
- ⁵⁰ T. S. Smith II; C.A. Roof, J. W. Kampf, P. G. Rasmussen, V. L. Pecoraro; *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 767-775.
- ⁵¹ a) P. Buglyó, E. Kiss, I. Fábrián, T. Kiss, D. Sanna, E. Garribba, G. Micera; *Inorg. Chim. Acta* **2000**, *306*, 174. b) P. Buglyó, T. Kiss, E. Kiss, D. Sanna, E. Garribba, G. Micera; *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2002**, 2275. c) E. Garribba, G. Micera, D. Sanna, E. Chruscinska; *Inorg. Chim. Acta* **2003**, *348*, 97. d) T. Kiss, K. Petrohan, D. Sanna, E. Garribba, G. Micera, T. Kiss; *Polyhedron* **2000**, *19*, 55-61. e) E. Chruscinska, E. Garribba, G. Micera, A. Panzanelli; *J. Inorg. Biochem.* **1999**, *75*, 225.
- ⁵² M. Nakai, H. Watanabe, C. Fujiwara, H. Kakegawa, T. Satoh, T. Takada, R. Matsushita, H. Sakurai; *Biol. Pharm. Bull.* **1995**, *18*, 719-725.

-
- ⁵³ G. J. P. Britovsek, J. England, A. J. P. White; *Inorg. Chem.* **2005**, *44*, 8125-8134.
- ⁵⁴ J. W. Canary, Y. Wang, R. Roy Jr., L. Que Jr., H. Miyake; *Inorg. Synthesis.* **1998**, *32*, 70–75.
- ⁵⁵ Y. Sun, B. R. James, S. J. Rettig, C. Orvig; *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 1667-1673.
- ⁵⁶ J. Jeener, B.H. Meier, P. Bachmann, R.R. Ernst; *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4546.
- ⁵⁷ W. R. Harris, *Clin. Chem.* **1992**, *38*, 1809-1818.
- ⁵⁸ a) B. Welz; *Atomabsorptionsspektrometrie*, Wiley-VCH, Weinheim, **1985**. b) W. Finkelburg, H. Maecker; *Handbuch der Physik*, 22, Springer Verlag, Berlin, **1956**.
- ⁵⁹ K. Ohta, E. Kawachi, N. Inoue, H. Fukasawa, Y. Hashimoto, A. Itai, H. Kagechika; *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 1504-1513.
- ⁶⁰ A. G. Talma, P. Jouin, J. G. De Vries, C. B. Troostwijk, G. H. W. Buning, J. K. Waninge, J. Visscher, R. M. Kellogg; *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3981-3997.
- ⁶¹ T. H. Fife, T. J. Przystas; *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2251-2257.
- ⁶² G. K. S. Ooi, R. J. Magee; *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1970**, *32*, 3315-3320.
- ⁶³ K. Ohta, E. Kawachi, N. Inoue, H. Fukasawa, Y. Hashimoto, A. Itai, H. Kagechika; *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 1504-1513.
- ⁶⁴ in Anlehnung an: A. G. Talma, P. Jouin, J. G. De Vries, C. B. Troostwijk, G. H. W. Buning, J. K. Waninge, J. Visscher, R. M. Kellogg; *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 3981-3997.
- ⁶⁵ G. Borchert; *Recht für Chemiker*, **1994**, Hinzl Verlag Stuttgart.
- ⁶⁶ K. Watanabe, F. P. Guengerich; *Chem. Res. Toxicol.* **2006**, *19*, 1091-1096.
- ⁶⁷ M. D. Cohen; *Toxicol. Ecotoxicol. News*, **1996**, *3*, 132-135.
- ⁶⁸ A. Leonard, G. B. Berber; *Mutat. Res.* **1994**, *317*, 81-88.

Lebenslauf

Geburtsdatum: 21. September 1979

Geburtsort: Babol – Iran / Persien

Schulbildung:

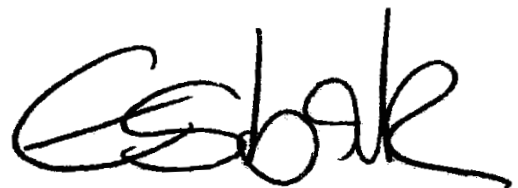
<i>1985 – 1988</i>	Grundschule Babol – Iran / Persien
<i>1988 – 1990</i>	Grundschule Langenhorn – Deutschland
<i>1990 – 1999</i>	Hermann-Tast-Schule – Husum – Deutschland
<i>Juni 1999</i>	<i>Abitur</i> an der Hermann-Tast-Schule

Hochschulstudium:

<i>Oktober 1999</i>	Beginn des Chemiestudiums an der Universität Hamburg
<i>Dezember 2001</i>	<i>Vordiplom</i> in der Chemie an der Universität Hamburg
<i>Oktober 2004</i>	Zuerkennung des <i>Diploms</i> ; Thema der Diplomarbeit: „Design insulinmimetischer Vanadiumverbindungen“
<i>Oktober 2004</i>	Beginn der <i>Promotion</i> im Bereich der bioanorganischen Chemie; Titel: „Design oraler Antidiabetika auf Vanadiumbasis“
<i>April 2005</i>	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Anorganische Chemie: Betreuung des Chemie-Praktikums
<i>September 2005</i>	Teilnahme am Norddeutschen Doktoranden Kolloquium – Rissen
<i>Oktober 2005</i>	Teilnahme am 4 th Working group meeting, Thessaloniki – <i>Griechenland</i> “Insulin-Mimetic Vanadium Compounds”
<i>Sep. – Okt. 2006 und Aug. – Okt. 2007</i>	<i>Auslandsaufenthalt</i> an der Universität Lund – <i>Schweden</i> im Rahmen eines vom DAAD und STINT geförderten Programms
<i>Oktober 2006</i>	Teilnahme am Norddeutschen Doktoranden Kolloquium – Warnemünde
<i>Juli 2007</i>	Teilnahme an der International Conference on Bioinorganic Chemistry ICBIC–XIII in Wien – <i>Österreich</i>
<i>September 2007</i>	Teilnahme am Norddeutschen Doktoranden Kolloquium – Bremen
<i>Feb.– März 2008</i>	<i>Auslandsaufenthalt</i> Szeged – <i>Ungarn</i> im analytischen Institut

Hiermit versichere ich, dass ich alle dieser Arbeit zugrunde liegenden Experimente selbstständig durchgeführt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

Hiermit versichere ich, dass ich mit der vorliegenden Arbeit noch keine weiteren Promotionsversuche unternommen habe.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Esbak'. The signature is stylized with a large, sweeping initial 'E' and a long, horizontal tail stroke.

Hamburg, im Juli 2008

(Hossein Esbak)