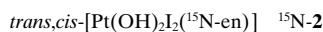


Platinierung von Nucleotiden, induziert durch sichtbares Licht**

Nicole A. Kratochwil, John A. Parkinson,
Patrick J. Bednarski und Peter J. Sadler*

Großes Interesse besteht derzeit an der Entwicklung von photoaktivierbaren Metallkomplexen als Lumineszenzmarker und für photochemische DNA-Spaltungsreaktionen^[1] sowie am Design von Photosensitzern für die photodynamische Krebstherapie.^[2, 3] Photosensitizer katalysieren die Bildung von reaktivem Singuletsauerstoff und sind daher abhängig von Sauerstoff im Zielgewebe. Der Vorteil von Photochemotherapeutika liegt in ihrer selektiven Lichtaktivierbarkeit und der dadurch erzielten Verringerung von Nebenwirkungen im Vergleich zur klassischen Chemotherapie. Wir sind an der Entwicklung von sauerstoffunabhängigen, photoaktivierbaren Metallkomplexen interessiert, vor allem an photoaktivierbaren Analoga von Cisplatin, *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂], einem der wichtigsten Antitumormittel in der Krebstherapie. Iodokomplexe von Pt^{IV} sind in dieser Hinsicht vielversprechend, da ihre Cytotoxizität gegen Tumorzellen in Anwesenheit von Licht erhöht wird.^[4] Wir zeigen hier, daß stereospezifische Photoreaktionen eines Diiododiamin-Pt^{IV}-Komplexes mit dem Nucleotid Guanosin-5'-monophosphat (5'-GMP) durch sichtbares Licht induziert werden können und daß die Photoaktivierung durch die axialen Liganden beeinflußt werden kann, wodurch eine Feinabstimmung der Photoreaktivität dieser Komplexe ermöglicht wird. Dies ist unseres Wissens der erste Bericht über die Platinierung von Nucleotiden, die allein durch sichtbares Licht induziert wird.

Photoreaktionen der ¹⁵N-markierten Diiodo-Pt^{IV}-Komplexe ¹⁵N-1 und ¹⁵N-2 wurden in Anwesenheit von 5'-GMP durch 1D-¹H-, 2D-[¹H, ¹⁵N]-HSQC- sowie 2D-[¹H, ¹⁵N]-HSQC-TOCSY-NMR-Experimente untersucht (en = Ethyldiamin). Als Bestrahlungsquelle wurde ein Argonlaser verwendet, der mit einem faseroptischen Lichtleiter versehen war, was eine Bestrahlung der zu untersuchenden Lösung direkt im Magnetfeld des NMR-Spektrometers ermöglichte. Unter Lichtausschluß blieben die Pt-Komplexe in Anwesenheit von 5'-GMP über 30 h stabil.



[*] Prof. Dr. P. J. Sadler, Dr. N. A. Kratochwil, Dr. J. A. Parkinson
Department of Chemistry, University of Edinburgh
West Mains Road, Edinburgh EH9 3JJ (Großbritannien)
Fax: (+44) 131-650-6452
E-mail: p.j.sadler@ed.ac.uk

Prof. Dr. P. J. Bednarski
Pharmazeutische/Medizinische Chemie
Institut für Pharmazie der Universität Greifswald

[**] Wir danken der EU (Marie Curie Research Training Grant Nr. ERB4001GT963865 für N.A.K. und COST Action D8), dem BBSRC, dem EPSRC und der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Förder-Nr. 1287/1-2) für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit. Wir sind ferner Dr. A. Jones für die Leihgabe des Argonlasers zu Dank verpflichtet sowie Dr. Z. Pikramenou, Dr. T. Ridley und Dr. R. Maier (Department of Chemistry, University of Edinburgh) für hilfreiche Diskussionen.

Der zeitliche Verlauf der Photoreaktion von **1** ($\epsilon_{457.9} = 327 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$) in Anwesenheit von 1 Äquiv. 5'-GMP (200 μM in H₂O, 298 K, pH 6.2)^[5] wurde durch 1D-¹H-NMR-Spektroskopie verfolgt (Abbildung 1; für Strukturen und Numerierung der Komplexe siehe Schema 1A). Während der Be-

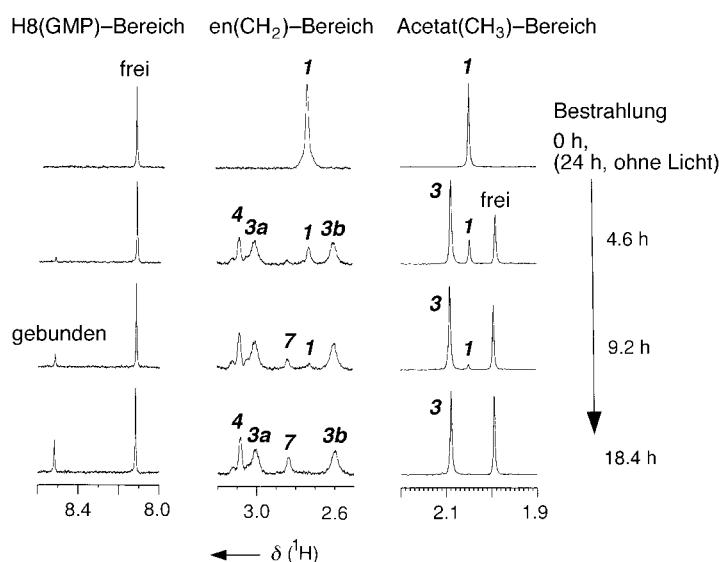


Abbildung 1. Ausgewählte Bereiche von 500-MHz-1D-¹H-NMR-Spektren, aufgenommen während der Photoreaktion von **1** in Anwesenheit von 5'-GMP bei verschiedenen Bestrahlungszeiten: 0, 4.6, 9.2 und 18.4 h (und 24 h unter Ausschluß von Licht); pH 6.2, 298 K. Dem lichtinduzierten Ligandaustausch (**1** → **3**) schließt sich die Bindung von 5'-GMP an.

strahlung mit sichtbarem Licht ($\lambda_{\text{irr}} = 457.9 \text{ nm}$, $12.2 \times 10^{-3} \text{ J s}^{-1}$) nahm die Intensität der Signale für **1** (CH_2 : $\delta = 2.7$; CH_3 : $\delta = 2.05$) ab, und zwei neue Multipletts bei $\delta = 3.01$ (Signal **3a**) und 2.60 (**3b**) sowie ein Singulett bei $\delta = 3.08$ (**4**) wurden im Bereich der en(CH_2)-Signale detektiert. Im Methylbereich des ¹H-NMR-Spektrums traten zwei neue Singulets auf, die als koordiniertes ($\delta = 2.09$; **3**) und freigesetztes Acetat ($\delta = 1.99$) identifiziert wurden. Später wurde ein Singulett bei $\delta = 8.52$ beobachtet, das H8 von platiertem 5'-GMP zugeordnet werden kann (freies 5'-GMP: $\delta = 8.10$). Die Tieffeldverschiebung des Signals für H8 von 5'-GMP ist typisch für die Koordination von Metallionen an N7 von 5'-GMP.^[6]

Die Photoreaktion von ¹⁵N-1 in Anwesenheit von 5'-GMP wurde weiterhin durch 2D-[¹H, ¹⁵N]-HSQC- und HSQC-TOCSY-NMR-Spektroskopie untersucht (Abbildung 2). Nach 1 h (Abbildung 2A) wurden ein Kreuzsignal für **1** mit chemischen Verschiebungen von 7.84/1.98 (¹H/¹⁵N) sowie drei neue Kreuzsignale mit chemischen Verschiebungen von 7.30/9.54 (**3a**), 7.30/–20.9 (**3b**) und 6.81/–6.45 (**4**) detektiert. Das 2D-[¹H, ¹⁵N]-HSQC-TOCSY-NMR-Spektrum ließ erkennen, daß die Multipletts **3a** und **3b** dem gleichen Spinsystem angehören und eine Kopplung mit den (en)NH₂-Gruppen bei 7.30/9.54 (**3a**) und 7.30/–20.9 (**3b**) besteht sowie eine Korrelation zwischen dem Singulett der CH_2 -Gruppe bei $\delta = 3.08$ und dem Kreuzsignal bei 6.81/–6.45 (**4**). Die nicht äquivalenten CH_2 -Gruppen des koordinierten en-Liganden (Signale **3a** und **3b**) und die Beobachtung von zwei ¹H/¹⁵N-Kreuzsignalen, die mit NH₂-Gruppen von en *trans* zu **1** (**3a**)

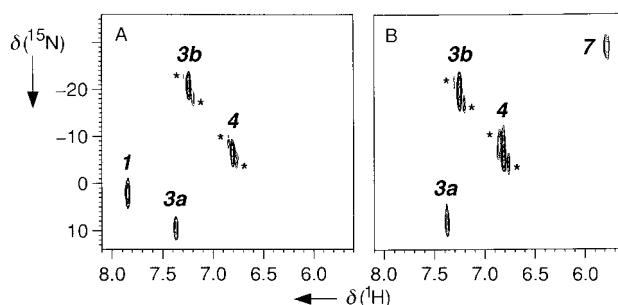
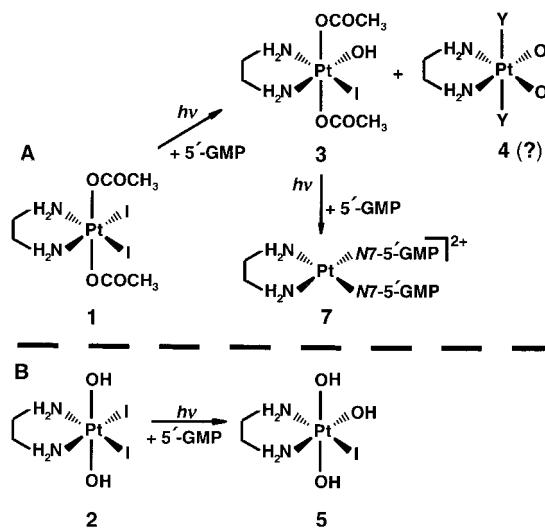


Abbildung 2. 2D-[$^1\text{H}, ^{15}\text{N}$]-HSQC-NMR-Spektren für die Reaktion von ^{15}N -**1** mit 5'-GMP (1:1, 200 μM) nach A) 1 h und B) 4.6 h Bestrahlung; pH 6.2, 298 K. Sterne markieren ^{195}Pt -Satelliten.

und O (**3b**) in Einklang waren, wiesen auf die Bildung von *trans,cis*-[Pt(OCOCH₃)₂(OH)I(^{15}N -en)] ^{15}N -**3** während der Photoreaktion von **1** hin (Schema 1A). Die chemischen



Schema 1. Mechanismus der Photoreaktion von A) **1** und B) **2** in Anwesenheit von 5'-GMP. **4** ist ein Strukturvorschlag, wobei Y entweder I oder OH sein kann.

Verschiebungen des zweiten, simultan gebildeten Photoproducts **4** und die Beobachtung von nur einem $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ -Kreuzsignal ($\delta(^1\text{H})/\delta(^{15}\text{N}) = 6.81/-6.45$; (en)CH₂: $\delta(^1\text{H}) = 3.08$) sowie die Detektion von freiem Acetat ließen auf einen symmetrischen Pt^{IV}-Komplex (äquivalente CH₂-Gruppen des koordinierten en) schließen, der zwei Acetatliganden während der Photoreaktion freigesetzt hatte. Zur Identifizierung

von **4** wurde ein Gemisch aus *trans,cis*-[Pt(OH)₂I₂(^{15}N -en)] ^{15}N -**2**, *mer*-[Pt(OH)₃I(^{15}N -en)] ^{15}N -**5** und [Pt(OH)₄(^{15}N -en)] ^{15}N -**6** durch ein 2D-[$^1\text{H}, ^{15}\text{N}$]-HSQC-TOCSY-NMR-Experiment untersucht (Abbildung 3). Die Unterschiede in den

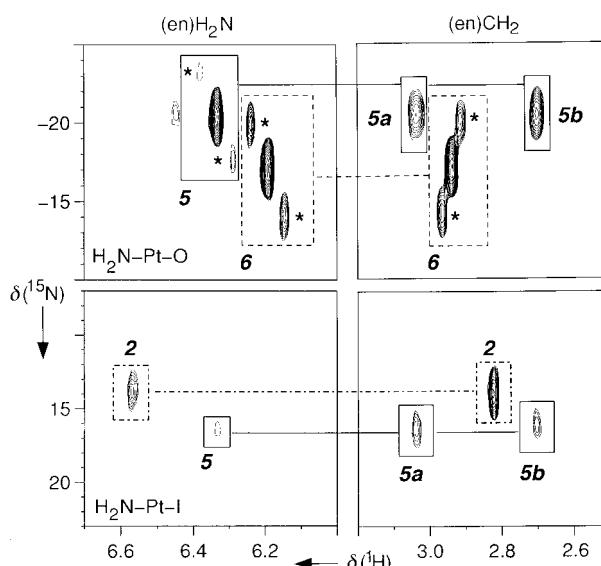


Abbildung 3. Charakterisierung der ^{15}N -markierten Pt^{IV}-Komplexe ^{15}N -**2**, ^{15}N -**5** und ^{15}N -**6** durch 2D-[$^1\text{H}, ^{15}\text{N}$]-HSQC-TOCSY-NMR (pH 6.2, 298 K). Sterne markieren ^{195}Pt -Satelliten (Näheres siehe Text).

chemischen Verschiebungen (Tabelle 1) schlossen jedoch die Bildung dieser Komplexe während der Photoreaktion von **1** aus. Möglicherweise ist **4** ein Dihydroxo-Pt^{IV}(en)-Komplex mit ein oder zwei axialen Iodoliganden.

Nach Bestrahlung des Reaktionsgemisches (4.6 h; Abbildung 2B) wurden zwei neue, dicht beieinander liegende $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ -Kreuzsignale ($\delta = 5.79/-30.9$ und $5.72/-30.9$; **7**) im 2D-[$^1\text{H}, ^{15}\text{N}$]-HSQC-NMR-Spektrum detektiert, die auf nicht äquivalente en-NH-Protonen hinwiesen. Die beobachteten chemischen Verschiebungen für ^1H und ^{15}N in diesem Bereich sind charakteristisch für einen Pt^{II}-Diaminkomplex und sind im Einklang mit der Struktur von [Pt(5'-GMP-N7)(^{15}N -en)]²⁺ **7**.^[6, 7]

Aus dem zeitlichen Verlauf der Reaktion (Abbildung 4 A, Schema 1 A) geht hervor, daß *trans,cis*-[Pt(OCOCH₃)₂(OH)I(^{15}N -en)] ^{15}N -**3** mit dem Nucleotid unter Bildung des Pt^{II}-(5'-GMP)₂-Addukts **7** eine Photoreduktion eingeht und daß das Pt^{IV}-Photoprodukt **4** stabil ist.

Tabelle 1. Chemische Verschiebungen ($^1\text{H}, ^{15}\text{N}$) und Kopplungskonstanten $^1J(^{195}\text{Pt}, ^{15}\text{N})$ [Hz].

Pt-Komplex	CH_3 $\delta(^1\text{H})$	CH_2 $\delta(^1\text{H})$	NH_2 (<i>trans</i> zu)	^{15}N (<i>trans</i> zu)	$^1J(^{195}\text{Pt}, ^{15}\text{N})$ (<i>trans</i> zu)
<i>trans,cis</i> -[Pt(OCOCH ₃) ₂ I ₂ (en)]	1 ^[4]	2.05	2.72	7.84 (I)	1.98 (I)
<i>trans,cis</i> -[Pt(OH) ₂ I ₂ (en)]	2 ^[4]		2.82	6.56 (I)	14.03 (I)
<i>trans,cis</i> -[Pt(OCOCH ₃) ₂ (OH)I(en)]	3	2.09	3.01, 2.60	7.30 (I,O)	9.54 (I), -20.9 (O)
<i>trans,cis</i> -[PtY ₂ (OH) ₂ (en)] ^[a]	4		3.08	6.81	-6.45
<i>mer</i> -[Pt(OH) ₃ I(en)]	5		3.06, 2.70	6.33 (I,O)	16.32 (I), -20.07 (O)
[Pt(OH) ₄ (en)]	6		2.94	6.19 (O)	-16.77 (O)
[Pt(5'-GMP-N7) ₂ (en)] ²⁺	7		2.84	5.79, 5.72 (N)	-30.9 (N)

[a] Strukturvorschlag; Y = I oder OH.

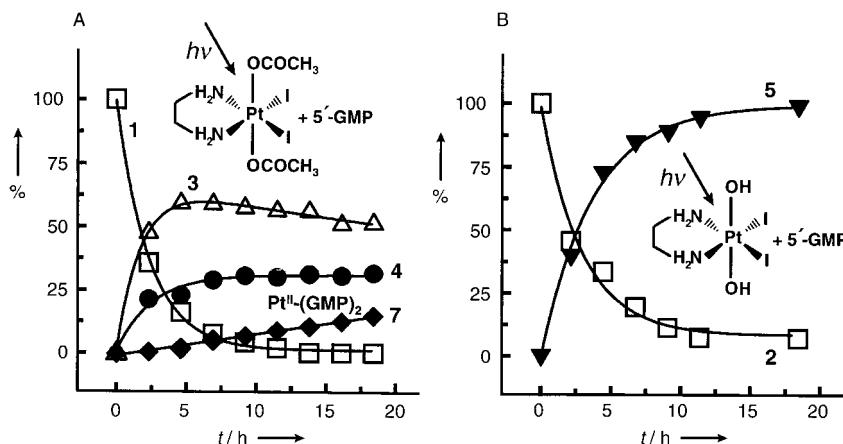


Abbildung 4. Kinetik der Photoreaktion von **1** (A) und **2** (B) in Anwesenheit von 1 Äquiv. 5'-GMP; 200 µM, pH 6.2, 298 K. A) □ 1, △ 3, ● 4, ◆ 7; B) □ 2, ▼ 5. Die kinetischen Daten wurden durch Integration der (en)CH₂-¹H-NMR-Signale erhalten; die Summe der Integrale war während der Reaktion konstant.

Die Photoreaktion von **2** ($\epsilon_{457.9} = 246 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) in Anwesenheit von 5'-GMP (1:1, 200 µM in H₂O, 298 K, pH 6.2)^[5] wurde ebenfalls mit 1D-¹H-, 2D-[¹H,¹⁵N]-HSQC- und 2D-[¹H,¹⁵N]-HSQC-TOCSY-NMR-Experimenten untersucht. Anders als bei der Photoreaktion von **1** wurde nur die Bildung eines Photoprodukts, *mer*-[Pt(OH)₃I(¹⁵N-en)] ¹⁵N-**5** (Abbildung 3, Tabelle 1, Schema 1B), beobachtet, d.h., weder der Komplex **2** noch das Photoprodukt **5** ging innerhalb von 30 h eine Reaktion mit dem Nucleotid ein. Die Geschwindigkeitskonstante für den lichtinduzierten Ligandenaustausch bei **1** ($9.27 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; Halbwertszeit 1.61 h, $\phi = 0.16$, Abbildung 4) ähnelt der für **2** ($7.55 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$; Halbwertszeit 2.02 h, $\phi = 0.11$), die Art der nachfolgenden Photoreaktionen wird jedoch ausschließlich von den axialen Liganden bestimmt. Die Photosubstitution wird durch die Bestrahlung in die Ligand → Metal-Charge-Transfer(LMCT)-Bande induziert, wobei unter Bildung eines Pt^{III}-Zwischenprodukts ein Valenzelektron von I⁻ in ein antibindendes Orbital von d₆-Pt^{IV} übertragen wird. Pt^{IV}-Komplexe reagieren mit Nucleotiden in Abwesenheit von Licht sehr langsam,^[8, 9] und bei **1** und **2** wurde innerhalb von 30 h keine Reaktion mit dem Nucleotid beobachtet.

Frühere Arbeiten über Photoreaktionen von Pt^{IV}-Komplexen beschäftigten sich vor allem mit der Bestrahlung mit UV-Licht.^[10] Lichtinduzierte Ligandenaustauschreaktionen von Pt^{IV}-Komplexen wurden beschrieben, aber kein Beispiel für eine Photohydrolysereaktion *trans* zu einem Am(m)inliganden. Ferner sind Photoreduktionen von Pt^{IV} zu Pt^{II}^[10, 11] und die Photoisomerisierung eines Isomers des antitumorwirksamen Pt^{IV}-Komplexes *cis,trans,cis*-[PtCl₂(OAc)₂(NH₃)-(c-C₆H₁₁NH₂)] (JM216) bekannt.^[12] Aufeinanderfolgende Photosubstitutions- und Photoredoxreaktionen sind dagegen selten, und der Einfluß von axialen Liganden auf die Art der Photoreaktion ist noch nicht beschrieben worden. Bei Pt^{II}-Komplexen führt UV-Bestrahlung zur Spaltung der Pt^{II}-N7G-Bindung.^[13]

Die Photoaktivierung von Pt^{IV}-Komplexen, die direkt zu Pt^{II}-Bis-Nucleotidaddukten führt, schließt die Reparatur von langlebigen Mono-Pt^{II}-Nucleotidaddukten in einer Krebszelle aus und stellt somit eine interessante Möglichkeit dar,

Resistenzmechanismen der Krebszelle zu umgehen.^[14] Der Erfolg von Photochemotherapie ist jedoch abhängig von der Stabilität des Metallkomplexes unter physiologischen Bedingungen, und Diiododiamin-Pt^{IV}-Komplexe erscheinen gegenüber Reduktionsmitteln wie Glutathion zu reaktiv, um für die Photochemotherapie^[15] in Betracht zu kommen. Es zeigte sich aber, daß bei geringfügigen Änderungen im Design von Pt^{IV}-Komplexen die Photosensitivität erhalten und die chemische Reaktivität gegenüber Thiolen stark verringert werden kann.

Experimentelles

1 und **2** wurden wie zuvor beschrieben synthetisiert.^[4] **5** und **6** wurden durch Reaktion von [PtI₂(en)] in H₂O mit 1 bzw. 2 Äquiv. AgNO₃ (6 h, RT), Entfernung des entstandenen AgI durch Zentrifugieren und Umsetzung mit 10 Äquiv. H₂O₂ (24 h, RT) erhalten. Pt-Komplexe wurden mit 1 Äquiv. 5'-GMP (200 µM) in H₂O/D₂O (90:10) bei 298 K, pH 6.2, mit und ohne Licht inkubiert. Die Bestrahlung (457.9 nm) der Lösung im Magnetfeld des NMR-Spektrometers erfolgte durch einen Argonlaser (Omnichrome 543-MAP), der an einem faseroptischen Lichtleiter (FT-600-UMT, Ø 600 µm; Elliot Scientific Ltd.) gekoppelt war. Die mit einem LaserMate Powermeter (Coherent Ltd.) gemessene Lichtintensität betrug am Ende des Lichtleiters $12.2 \times 10^{-3} \text{ Js}^{-1}$ und war linear im Bereich von 2.1 bis $12.2 \times 10^{-3} \text{ Js}^{-1}$. Die Quantenausbeuten für die Zersetzung von **1** und **2** wurden bei 457.9 nm bestimmt und Eisen(III)-oxalat als chemisches Aktinometer verwendet. 1D-¹H-, 2D-[¹H,¹⁵N]-HSQC- und 2D-[¹H,¹⁵N]-HSQC-TOCSY-NMR-Spektren (TOCSY: Mischzeit 50 ms) wurden mit einem Bruker-DMX-500-NMR-Spektrometer aufgenommen (¹H: 500 MHz, ¹⁵N: 50.7 MHz).^[6] Dioxan wurde als interner ¹H-NMR-Standard ($\delta = 3.764$ relativ zu [D₆]3-(Trimethylsilyl)propionat (TSP)) verwendet, und alle ¹⁵N-chemischen Verschiebungen wurden auf ¹⁵NH₄⁺ (extern; $\delta = 0$) bezogen. Die Eichung des pH-Meters (Corning 145), das mit einer Mikro kombinationselektrode (Aldrich) ausgestattet war, wurde mit Aldrich-Standardpuffern (pH 4, 7 und 10) durchgeführt und der pH-Wert der jeweiligen Lösung mit verdünnten Lösungen von HClO₄ und NaOH eingestellt. Die Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten erfolgte durch nichtlineare Regression der Meßdaten unter Verwendung des Programms SCIENTIST (Version 2.01, MicroMath Inc.).

Eingegangen am 20. Oktober 1998 [Z 12545]
 International Edition: *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1460–1463

Stichwörter: Bioanorganische Chemie • NMR-Spektroskopie • Nucleotide • Photochemie • Platin

- [1] a) C. Moucheron, A. Kirsch-De Mesmaeker, J. M. Kelly, *Struct. Bonding (Berlin)* **1998**, *92*, 163–216; b) B. Armitage, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1171–1200; c) C. B. Burrows, J. G. Muller, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1109–1151; d) R. E. Holmin, P. J. Dandiker, J. K. Barton, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 2830–2848; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 2715–2730; e) J. Kim, M. F. Sistare, P. J. Carter, H. H. Thorp, *Coord. Chem. Rev.* **1998**, *171*, 341–349.
- [2] a) G. Stochel, A. Wanat, E. Kulisi, Z. Stasicka, *Coord. Chem. Rev.* **1998**, *171*, 203–220; b) H. Brunner, K. M. Scheller, B. Treitinger, *Inorg. Chim. Acta* **1997**, *264*, 67–79; c) H. Kunkely, A. Vogler, *Inorg. Chim. Acta* **1997**, *254*, 417–419; d) M. A. Billadeau, H. Morrison, *Met. Ions Biol. Sys.* **1996**, *33*, 269–296.
- [3] a) L. Milgrom, S. MacRobert, *Chem. Br.* **1998**, *34*, 45–50; b) T. J. Dougherty, *Advances in Photochemistry*, Wiley, New York, **1992**, S. 275–311.

- [4] N. A. Kratochwil, M. Zabel, K. J. Range, P. J. Bednarski, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2499–2507.
- [5] pH-Titrationen von ^{15}N -**1** und ^{15}N -**2** in 90 % $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ durch 1D- ^1H - und 1D-[$^1\text{H}, {^{15}\text{N}}$]-HSQC-NMR-Spektroskopie ergaben, daß die Signale für (en) $^{15}\text{NH}_2$ bei pH-Werten >pH 6.3 bzw. 6.8 aufgrund von ^{15}NH -Austauschreaktionen verschwanden. Die Signale der (en) $^{15}\text{NH}_2$ -Gruppen von **1** waren pH-unabhängig im Bereich von 2.3–6.3, und die chemischen Verschiebungen von **2** ($\delta = 6.94$ bei pH 2.37 und $\delta = 6.54$ bei pH 6.72) ließen eine Bestimmung des pK_a -Werts des Hydroxoliganden zu. Dieser Wert (pK_a 3.8) kommt dem für $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_5(\text{H}_2\text{O})]^{4+}$ angegebenen sehr nahe (pK_a 4.1): K. S. Koshy, G. M. Harris, *Inorg. Chem.* **1983**, *22*, 2947–2953.
- [6] a) S. J. Berners-Price, J. D. Ranford, P. J. Sadler, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 5842–5846; b) S. J. Berners-Price, U. Frey, J. D. Ranford, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8649–8659, zit. Lit.
- [7] Die UV-Bestrahlung einiger Metallkomplexe führte zur Modifizierung des Zuckerrests und des Sechsringes von 5'-GMP;^[1] solche Reaktionen sind aber bei der Verwendung von sichtbarem Licht unwahrscheinlich.
- [8] a) E. G. Talman, W. Brüning, J. Reedijk, A. L. Spek, N. Veldman, *Inorg. Chem.* **1997**, *36*, 854–861; b) O. Nováková, O. Vrána, V. I. Kiseleva, V. Brabec, *Eur. J. Biochem.* **1995**, *228*, 616–624; c) L. T. Ellis, H. M. Er, T. W. Hambley, *Aust. J. Chem.* **1995**, *48*, 793–806; d) M. Yoshida, A. R. Khokhar, Z. H. Siddik, *Cancer Res.* **1994**, *54*, 4691–4697; e) R. M. Roat, J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.* **1993**, *52*, 263–274.
- [9] Es gibt eine Mitteilung darüber, daß Licht die Reaktion von Pt^{IV} mit 5'-GMP zu Pt^{II} -Produkten verstärkt (etwa 10–20 %), die Bestrahlungsquelle wurde aber nicht angegeben: J. L. van der Veer, A. R. Peters, J. Reedijk, *J. Inorg. Biochem.* **1986**, *26*, 137–140.
- [10] a) T. Lippert, J. Dauth, B. Deubzer, J. Weis, A. Wokaun, *Radiat. Phys. Chem.* **1996**, *47*, 889–897; b) T. G. Appleton, K. A. Byriel, J. R. Hall, C. H. L. Kennard, D. E. Lynch, J. A. Sinkinson, G. Smith, *Inorg. Chem.* **1994**, *33*, 444–455; c) O. Horvath, K. L. Stevenson, *Charge Transfer Photochemistry of Coordination Compounds*, VCH, New York, **1993**; d) H. Kunkely, A. Vogler, *Coord. Chem. Rev.* **1991**, *111*, 15–25; e) V. Balzani, V. Carassiti, *Photochemistry of coordination compounds*, Academic Press, London, **1970**.
- [11] Zum Beispiel: a) Y. Wu, B. W. Pfennig, S. L. Sharp, D. R. Ludwig, C. J. Warren, E. P. Vicenzi, A. B. Bocarsly, *Coord. Chem. Rev.* **1997**, *159*, 245–255; b) V. F. Plyusin, V. P. Grivin, L. F. Kryola, L. D. Dikanskaja, Y. V. Ivanov, H. Lemmettyinen, *J. Photochem. Photobiol. A* **1997**, *104*, 45–52; c) R. I. Rudyi, I. F. Golovaneva, O. N. Evstaf'eva, A. V. Babaeva, L. I. Solomentseva, *Zh. Neorg. Khim.* **1975**, *20*, 422–428; d) A. G. Samatov, N. N. Zheligovskaya, V. I. Spitsyn, *Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Khim.* **1974**, *7*, 1467–1472; e) N. N. Zheligovskaya, N. Kamalov, V. I. Spitsyn, *Dok. Akad. Nauk SSSR* **1972**, *206*, 1380–1383.
- [12] C. F. J. Barnhard, J. F. Vollano, P. A. Chaloner, S. Z. Dewa, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 3280–3284.
- [13] a) S. A. Kane, S. J. Lippard, *Biochemistry* **1996**, *35*, 2180–2188; b) D. Payet, M. Leng, *Metal-Based Drugs* **1995**, *2*, 137–141.
- [14] F. Reeder, Z. Guo, P. del S. Murdoch, A. Corazza, T. W. Hambley, S. J. Berners-Price, J.-C. Chottard, P. J. Sadler *Eur. J. Biochem.* **1997**, *249*, 370–382.
- [15] N. A. Kratochwil, Z. Guo, P. del S. Murdoch, J. A. Parkinson, P. J. Bednarski, P. J. Sadler, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8253–8254.

Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Erkennung zwischen Lewis^X-Glycoconjugaten**

Armin Geyer,* Christian Gege und Richard R. Schmidt

Professor Hans-Jürgen Quadbeck-Seeger zum 60. Geburtstag gewidmet

Schwache polyvalente Wechselwirkungen spielen eine große Rolle in biologischen Systemen.^[1] Während es zu Protein-Protein- und Protein-Kohlenhydrat-Wechselwirkungen inzwischen viele Beispiele gibt, existieren zur Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Erkennung kaum Untersuchungen. Polyvalente, interzelluläre Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Kontakte addieren sich zu Kräften, die für die Zelladhäsion relevant sind. Inwiefern die von Glycosphingolipiden (GSLs) durch laterale Entmischung auf der Membran gebildeten GSL-Mikrodomänen (Lipidcluster) eine Rolle spielen, ist bisher nicht eindeutig geklärt.^[2] Seitliche Kontakte zwischen den GSLs stabilisieren die Mikrodomänen, Kontakte zwischen GSLs verschiedener Membranen bewirken die Zelladhäsion.^[2b] Die GSL-Mikrodomänen sind indirekt nachweisbar durch das Auszählen aggregierter Zellen^[3] oder über die Verteilung von GSL-Antikörpern auf Zellmembranen.^[4] GSL-Domänen mit Durchmessern von 20 nm wurden kürzlich direkt beobachtet.^[5]

Die Aggregation von Zellen über homotyp Kopf-Kopf-Wechselwirkungen wurde hauptsächlich für das Lewis^X(Le^X)-GSL, das als Kopfgruppe das Trisaccharid $\text{d-Gal}\beta(1 \rightarrow 4)[\text{L-Fuca}(1 \rightarrow 3)]\text{d-GlcNAc}\beta(1 \rightarrow \text{OR})$ trägt, untersucht.^[2–4] Auch wurde gezeigt, daß nicht in der Membran verankerte Le^X-Oligosaccharide in der Lage sind, diese Zell-Zell-Kontakte wieder zu lösen.^[3] Eine direkte NMR-spektroskopische Beobachtung von Le^X-Le^X-Dimeren ist nicht möglich, da die Dimere wegen der schwachen Adhäsionskräfte in Lösung hauptsächlich dissoziiert vorliegen.^[6] Die transiente Bindung eines niedermolekularen Liganden an einen hochmolekularen Rezeptor kann aber NMR-spektroskopisch über Transfer-NOEs nachgewiesen werden.^[7] Kohlenhydrate mit ihren hohen Off-Raten bei der Rezeptorbinding eignen sich besonders für diese Messungen,^[8] auch für die Quantifizierung der Membranaffinität von niedermolekularen Verbindungen kann diese Methode eingesetzt werden.^[9] Da die NOEs eines transienten an einen membranständigen Rezeptor bindenden Oligosaccharids stark negativ sind, sollten auch die sehr schwachen Affinitäten der Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Erkennung nachweisbar sein. Das native Le^X-GSL wurde auf zwei Modellverbindungen reduziert, die nur noch die für die homotyp Erkennung relevanten Gruppen tragen (**1** und **2**).

[*] Dr. A. Geyer, Dipl.-Chem. C. Gege, Prof. Dr. R. R. Schmidt
Fakultät für Chemie M716 der Universität
D-78457 Konstanz
Fax: (+49) 7531-88-3898
E-mail: armin.geyer@uni-konstanz.de

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft und vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert. Wir danken der Lipoid GmbH (Ludwigshafen) für das DMPC und Dr. G. Bendas (Fachbereich Pharmazie der Universität Halle) für die Lichtstreuexperimente.