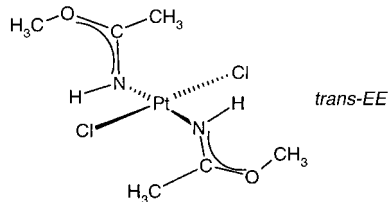


Cytostatisch wirkende *trans*-Platinkomplexe können Querverknüpfungen zu angrenzenden Purinresten bilden**

Yangzhong Liu, Concetta Pacifico, Giovanni Natile und Einar Sletten*

Die Struktur-Aktivitäts-Beziehung, die der hohen Wirksamkeit von *cis*-Diammindichloroplatin(II) (*cis*-DDP) bei der Behandlung von Krebs zugrundeliegt, ist nach wie vor nicht vollkommen entschlüsselt (zu neueren Übersichten siehe Lit. [1]). Es herrscht Konsens über die wichtige Rolle, die die Fähigkeit von Cisplatin spielt, Intrastrang-Querverknüpfungen (N7,N7) zwischen benachbarten Purinen bilden zu können. Das klinisch unwirksame *trans*-Isomer *trans*-DDP kann diese Art von Addukten nicht bilden. Inzwischen wurde jedoch gezeigt, dass mehrere Analoga von *trans*-DDP ähnlich gut wie *cis*-DDP cytotoxisch wirken können.^[2–5] Von besonderem Interesse ist eine Gruppe von Iminoetherderivaten der Formel *trans*-[PtCl₂(iminoether)₂], bei denen in vivo eine erhebliche cytotoxische Aktivität nachgewiesen wurde^[3–6] und die gegenüber Tumorzellen sogar wesentlich cytotoxischer waren als die *cis*-Isomere.^[2] Die DNA-Läsion, die durch solche Iminoetherderivate hauptsächlich verursacht wird, ist die Bildung eines Monoaddukts mit dem Stickstoffatom N7 einer Purinbase. Über die detaillierte NMR-spektroskopische und HPLC-Analyse eines DNA-Duplex, bestehend aus mit *trans*-[PtCl₂((E)-HN=C(OMe)Me)₂] (*trans*-EE) platinisiertem 5'-d(CCTCG*CTCTC) und seinem Komplement 5'-d(GAGCGAGG), ist vor kurzem berichtet worden.^[7]



Wir haben nun mehrere Addukte von *trans*-EE mit dem Ribodinucleotid r(ApG) durch Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) und ¹H- sowie ¹⁵N-NMR-Spektroskopie

charakterisiert. Dazu wurden in bestimmten Zeitabständen kleine Fraktionen des 1:1-Reaktionsgemischs aus *trans*-EE und r(ApG) durch HPLC analysiert. Die Verteilung der Spezies für zwei Zeiträume ist in Abbildung 1 gezeigt. Zunächst entsteht hauptsächlich ein Produkt (**M1**), das nach rund 8 h 70% aller Produkte ausmacht. Anschließend wird dieses Addukt in zwei Spezies umgewandelt, **M2** und **M3**, die nach ungefähr drei Wochen ein stationäres Gleichgewicht mit einem Verhältnis **M2**:**M3** von ca. 2:1 erreichen.

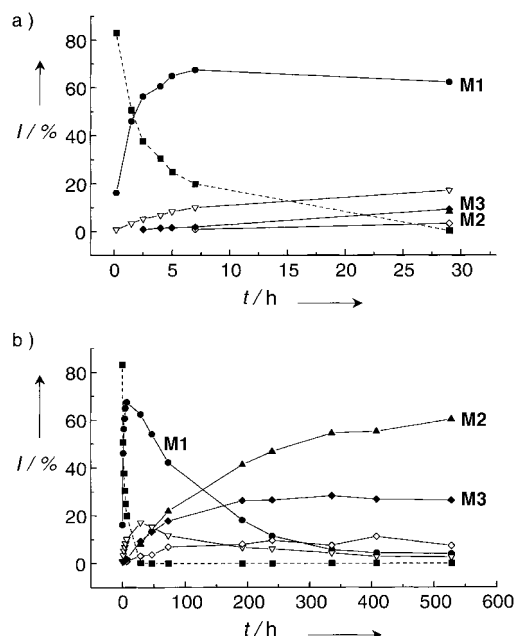


Abbildung 1. Verteilung der Spezies im Reaktionsgemisch der Platinierung von r(ApG) mit *trans*-EE über den Zeitraum von 0–30 Stunden (a) und 0–3 Wochen (b).

Nach unseren früheren Arbeiten über die Reaktion von *trans*-EE mit GMP und AMP bindet Platin an die Position N7 unter Bildung eines Monoaddukts, welches allmählich in Gegenwart von im Überschuss vorliegendem Mononucleotid in ein Diaddukt umgewandelt wird.^[8] Die Reaktion mit GMP ist dabei wesentlich schneller ($t_{1/2} = 3.5$ h) als die mit AMP ($t_{1/2} = 23$ h). In der Reaktion zwischen *trans*-EE und r(ApG) wird das Addukt **M1** relativ schnell gebildet ($t_{1/2} = 1.6$ h) und anschließend innerhalb von Tagen ($t_{1/2} = 101$ h) in **M2** überführt. Bei **M1** handelt es sich um ein Monochloraddukt an G-N7; eine Tieffeldverschiebung des G-H8-Signals um 0.45 ppm ist in Einklang mit einer N7-Platinierung. Bei den nur in geringeren Mengen auftretenden Komponenten dürfte es sich um das solvatisierte G-N7- und das A-N7-Monoaddukt handeln (die zeitabhängigen HPLC-Muster für das letztgenannte Addukt und für **M1** sind denen ähnlich, die bei der Solvolyse des AMP- bzw. GMP-Monoaddukts auftreten^[8]).

Das NMR-Spektrum von **M2** weist zwei Besonderheiten für den Adenosinrest auf: eine extreme Tieffeldverschiebung (3.68 ppm) für das anomere Proton A-H1' und eine große Tieffeldverschiebung (0.82 ppm) für das aromatische Proton A-H2 ($\delta = 8.85$) (Abbildung 2). Auch die meisten anderen Zuckerprotonen des Adenosinrests weisen deutliche Tieffeldverschiebungen auf. Die Signalzuordnung gründet sich

[*] Prof. Dr. E. Sletten, Y. Liu
Department of Chemistry
University of Bergen
Alleg. 41, 5007 Bergen (Norwegen)
Fax: (+47) 55589490
E-mail: einar.sletten@kj.uib.no

C. Pacifico, Prof. Dr. G. Natile
Dipartimento di Chimia Pharmaceutica
Università di Bari
Via E. Orabona 4, 70125, Bari (Italien)

[**] Diese Arbeit wurde durch das BIOMED-II-Programm der Europäischen Kommission (Vertrag BMH4-CT97-2485) und durch COST (D8/007/97 und D8/012/97) sowie durch den Norwegischen Forschungsrat (Vertrag 135055/410), die Universität in Bari, das italienische Forschungsministerium MURST (Cofin. 1988 Nr. 9803021072) und den Consiglio Nazionale delle Ricerche CNR (Rom) gefördert.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder vom Autor anzufordern.

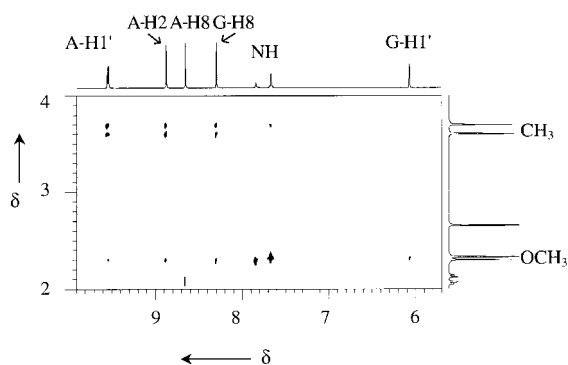


Abbildung 2. Ausschnitt aus dem ROESY-Spektrum des Addukts **M2** in D_2O (δ -Werte bezogen auf $\delta(HDO) = 4.952$). Insgesamt wurden 2048 komplexe Datenpunkte in t_2 für jedes der 256 t_1 -Inkrementen gesammelt, und jedes Inkrement war der Mittelwert von 72 Transienten. Am Iminoether-NH-Signal ist bei 280 K ein langsamer Austausch mit D_2O innerhalb eines Tages festzustellen.

auf COSY- und ROESY-Spektren sowie auf den Vergleich mit den chemischen Verschiebungen von freiem $r(ApG)$, sowohl den von uns bestimmten als auch den von Van Hemelryck et al.^[9] beschriebenen (siehe die Hintergrundinformationen). Die Zuordnung von A-H2 und A-H8 wurde zusätzlich durch Messung der T_1 -Relaxationszeiten bestätigt.

Die Auftragung der chemischen Verschiebungen gegen den pH-Wert (Abbildung 3) ergibt für den gesamten pH-Bereich

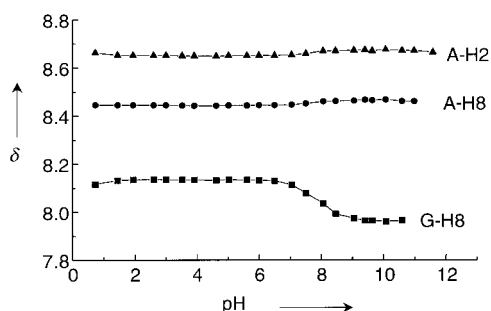


Abbildung 3. 1H -NMR-chemische Verschiebungen gegen den pH-Wert für A-H2, A-H8 und G-H8 im Addukt **M2**.

(1–11) keine wesentlichen Veränderungen der Signallagen von A-H2 und A-H8. Der pK_a -Wert eines freien A-N1-Atoms beträgt normalerweise etwa 3.5 für unplatiniertes und 1.2–1.5 für N7-platiniertes Adenin. Das Fehlen einer Verschiebungsänderung kann somit entweder auf eine Platinierung an A-N1 oder auf eine an A-N3 hinweisen, sofern letztere eine pK_a -Verschiebung außerhalb des untersuchten pH-Bereichs zur Folge hat. Die geschätzten pK_a -Werte von N3-platiniertem N6,N9-Trimethyladenin sind 0.3 für N7 und –1.2 für N1.^[10] Deshalb könnte die Platinierung an A-N3 sowohl das Titrationsexperiment als auch die sehr großen Tieffeldverschiebungen von A-H1' und A-H2 erklären, da sich diese Protonen dann genau im Entschirmungskegel des Platinzentrums befänden. Die Entschirmung durch das Platinzentrum könnte auch für die Tieffeldverschiebung der meisten Zuckerprotonen des Adenosinrests verantwortlich sein.

M2 weist zudem eine G-H8-Tieffeldverschiebung von 0.45 ppm auf, welche für eine Koordination von Platin an G-N7 spricht. In der Auftragung des G-H8-Signals gegen den pH-Wert (Abbildung 3) findet sich ein Wendepunkt bei pH 7.5, der der N1-(De)Protonierung eines an G-N7 platinierten Rests entspricht. Im *cis*-DDP- $r(ApG)$ -Addukt, in dem Platin an A-N7 und G-N7 koordiniert, ist der pK_a -Wert 7.8^[9] und somit in Einklang mit unseren Ergebnissen.

Aus sterischen Gründen können *trans*-Pt-Verbindungen keine Dikoordination unter Beteiligung von A-N7/G-N7 oder A-N1/G-N7 eingehen. Daher muss, wenn G-N7 eine der Bindungsstellen ist, die zweite Bindungsstelle A-N3 sein. Dieses Modell mag ungewöhnlich scheinen (schließlich ist N1 merklich basischer als N3), doch es wird gestützt durch 2D- $[^1H, ^{15}N]$ -HMBC-NMR-Spektren (durchgeführt mit dem natürlichen ^{15}N -Gehalt; siehe Hintergrundinformationen), nach denen die Signale von G-N7 und A-N3 um 99 bzw. 83 ppm hochfeldverschoben sind, während die der anderen Stickstoffatome nur geringe Tieffeldverschiebungen aufweisen. Diese Verschiebungen passen gut zu den durch Platin induzierten Verschiebungen in GMP- und AMP-Addukten.^[8]

Das Dikordinationsmodell wurde rechnerisch optimiert (BIOSYM),^[11] wobei aus den ROESY-Spektren abgeleitete Abstandseinschränkungen verwendet wurden. Der *trans*-EE-Ligand wurde zunächst in der Konformation fixiert, die durch eine Röntgenstrukturanalyse bestimmt worden war.^[12] Für die abschließende Rechnung wurde nur eine quadratisch-planare Anordnung des Platin- und der vier Stickstoffatome festgelegt. Es resultierte eine Geometrie, die qualitativ mit den experimentellen Daten in Einklang ist (Abbildung 4). In

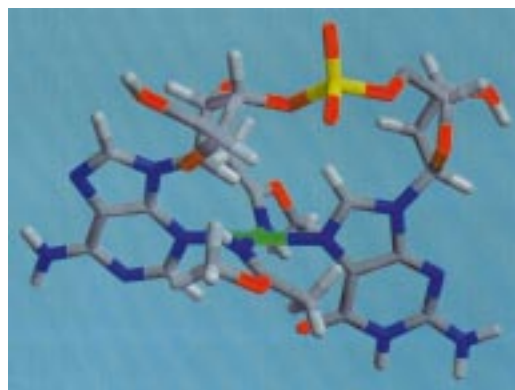


Abbildung 4. Energieminimierte Struktur des *trans*-EE- $r(ApG)(N3,N7)$ -Chelats.

diesem Modell befindet sich A-H1' dicht am Platinzentrum (2.29 Å), was die große (3.68 ppm), durch die paramagnetische Anisotropie von Platin bedingte Tieffeldverschiebung erklärt. Große Tieffeldverschiebungen sind typisch für Protonen in einer pseudoaxialen Position über dem Platin eines quadratisch-planaren Komplexes.^[13] Bei der Kristallstrukturanalyse von *trans*-[PtCl₂(benzochinolin)(PEt₃)] wurde ein kurzer Pt...H-Abstand von 2.53 Å festgestellt, der in Einklang ist mit einer Tieffeldverschiebung in Lösung von 2.75 ppm.^[13]

Die NMR-Spektren von **M3**, der zweiten bei langer Reaktionszeit gebildeten Hauptkomponente, unterscheiden sich

deutlich von denen von **M1** und **M2**. Aus der Integration der 1D-NMR-Spektren folgt für **M3** ein *trans-EE*:r(ApG)-Verhältnis von 2:1. Darüber hinaus werden das A-H8- und das G-H8-Signal tieffeldverschoben (um 0.83 bzw. 0.70 ppm), was eindeutig auf eine N7-Platinierung beider Reste hinweist. Deshalb kann die Bildung von **M3** mit dem Vorliegen eines leichten Überschusses des Platinkomplexes in der Reaktionslösung erklärt werden, der die Bildung eines dimetallierten r(ApG) ermöglicht.

Bei der Platinierung von Oligonucleotiden mit *trans*-DDP traten Intrastrang-1,3-(N7,N7)-Querverknüpfungen mit d(GpTpG),^[14] d(GpCpG)^[15] und d(GpApG)^[16] sowie eine 1,3-(N1,N7)-Querverknüpfung mit d(ApGpG)^[17] auf. In der Reaktion mit Doppelstrang-DNA entstanden hauptsächlich Monoaddukte und Interstrang-Querverknüpfungen.^[18] Bei *trans*-DDP ging man davon aus, dass seine Struktur die Bildung von 1,2-Intrastrang-Addukten mit d(GpG) und d(ApG) unterbindet.^[17] Folglich repräsentiert das stabile Addukt **M2** eine neuartige Chelatisierungsgeometrie für einen *trans*-Platinkomplex. Obwohl die Chelatbildung relativ langsam ist, kann die N3-Pt-N7-Struktur von biologischer Relevanz sein, da A-N3 in der kleinen Furche leicht platinieren werden kann. Die Beteiligung von A-N3 als Alkylierungsstelle^[19] und in der Spaltung eines Hammerhead-Ribozyms wurde bereits nachgewiesen.^[20] Untersuchungen mit anderen Ribo- und Desoxy-Dinucleotiden werden derzeit durchgeführt.

Experimentelles

trans-EE wurde gemäß Literaturvorschrift^[12] synthetisiert, r(ApG) von Sigma gekauft. *trans-EE* (2.3 mg, 5.6 µmol) wurde bei Raumtemperatur und unter Lichtausschluss zu 5 mL einer 1 mM Lösung von r(ApG) (5 µmol, pH 4.0) gegeben. In bestimmten Zeitabständen wurden Proben für die HPLC-Detektion entnommen. Die Proben wurden lyophilisiert und in 0.5 mL D₂O gelöst. Ihre ROESY-NMR-Spektren (Mischzeit 300 ms, 0.5 mL einer 3 mM Probe, pH 3.9, T = 280 K) wurden mit einem Bruker-DRX-600-Gerät aufgenommen und die pH-Werte auf einem Philips-PW-9420-pH-Meter gemessen. Die HPL-Chromatogramme wurden auf einem Waters-626-LC-Gerät, das mit der Millennium-32-Software und einer Umkehrphasen-Waters-Symmetry-C8-Kolonnen ausgestattet war, durch Gradientenelution (0–50% Methanol in 50 mM NaClO₄, Fließgeschwindigkeit 0.8 mL/min) erhalten.

Eingegangen am 5. Dezember 2000 [Z16227]

- [1] *Cisplatin* (Hrsg.: B. Lippert), Helvetica Chimica Acta/VCH, Zürich, 1999.
- [2] „Metallopharmaceuticals I“: G. Natile, M. Coluccia in *Topics in Biological Inorganic Chemistry, Vol. 1* (Hrsg.: M. J. Clarke, P. J. Sadler), Springer, Berlin, 1999, S. 73–98.
- [3] M. Coluccia, A. Nassi, F. Loseto, A. Boccarelli, M. A. Mariggiò, D. Giordano, F. P. Intini, P. Caputo, G. Natile, *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 510–512.
- [4] N. Farrell in *Metal Ions in Biological Systems, Vol. 32* (Hrsg.: A. Sigel, H. Sigel), Marcel Dekker, New York, 1996, S. 603–639.
- [5] L. R. Kelland, C. F. J. Barnard, I. G. Evans, B. A. Murrer, B. R. C. Theobald, S. B. Wyer, P. M. Goddard, M. Jones, M. Valenti, A. Bryant, P. M. Rogers, K. R. Harrap, *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 3016–3024.
- [6] M. Coluccia, A. Boccarelli, M. A. Mariggiò, N. Cardellischio, P. Caputo, F. P. Intini, G. Natile, *Chem. Biol. Interact.* **1995**, 98, 251–266.
- [7] B. Andersen, N. Margiotta, M. Coluccia, G. Natile, E. Sletten, *Metal-Based Drugs* **2000**, 7, 23–32.
- [8] Y. Liu, M. F. Sivo, G. Natile, E. Sletten, *Metal-Based Drugs* **2000**, 7, 169–176.

- [9] B. Van Hemelryck, J.-P. Girault, G. Chottard, P. Valadon, A. Laoui, J.-C. Chottard, *Inorg. Chem.* **1987**, 26, 787–795.
- [10] C. Meiser, B. Song, E. Freisinger, M. Peilert, H. Sigel, B. Lippert, *Chem. Eur. J.* **1997**, 3, 388–398.
- [11] BIOSYM-Handbuch für Insight II (Version 2.3.5), Discover (Version 2.9.5) und NMR Refine (Version 2.3).
- [12] R. Cini, P. Caputo, F. P. Intini, G. Natile, *Inorg. Chem.* **1995**, 34, 1130–1137.
- [13] A. Albinati, P. S. Pregosin, F. Wombacher, *Inorg. Chem.* **1990**, 29, 1812–1817.
- [14] J. L. van der Veer, G. J. Ligtoet, H. van den Elst, J. Reedijk, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 3860–3862.
- [15] D. Gibson, S. J. Lippard, *Inorg. Chem.* **1987**, 26, 2275–2279.
- [16] C. A. Lepre, L. Chassot, C. E. Costello, S. J. Lippard, *Biochemistry* **1990**, 29, 811–823.
- [17] C. A. Lepre, K. G. Strothkamp, S. J. Lippard, *Biochemistry* **1987**, 26, 5651–5657.
- [18] M. Boudvillain, R. Dalbès, C. Aussourd, M. Leng, *Nucleic Acids Res.* **1995**, 23, 2381–2388.
- [19] M. A. Warpehoski, D. E. Harper, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 2951–2952.
- [20] S. Bevers, G. Xiang, L. W. McLaughlin, *Biochemistry* **1996**, 35, 6483–6490.

Haag-Dessau-Katalysatoren zur Ringöffnung von Cycloalkanen

Andreas Raichle, Yvonne Traa, Franz Fuder, Martin Rupp und Jens Weitkamp*

Im Zuge des Auto-Öl-Programms der Europäischen Union wurde der Arengehalt des Benzins ab dem Jahr 2000 auf 42 Vol.-% (davor 45 Vol.-%) begrenzt. Ab dem Jahr 2005 sind nur noch 35 Vol.-% zulässig.^[1] Daher ist in Westeuropa alsbald mit einem Überschuss an Arenen (vor allem Toluol) zu rechnen. Eine der Quellen für Arene ist das Pyrolysebenzin, das bei der Herstellung von Ethen und Propen aus Naphtha im Steamcracker als Nebenprodukt anfällt. Da die Nachfrage nach Ethen^[2] und Propen^[3] stark zunimmt, wird auch die gekoppelte Produktion von Pyrolysebenzin – und damit von Arenen – steigen. Zur Verwertung überschüssiger Arene am Ort ihres Entstehens wurden kürzlich zwei Verfahren vorgestellt, mit denen Pyrolysebenzin zu einem hochwertigen Steamcracker-Einsatz (hauptsächlich bestehend aus Ethan, Propan und *n*-Butan) umgesetzt werden kann. Dies gelingt entweder durch direkte Umsetzung der Arene an bifunktionellen Zeolith-Katalysatoren^[4] oder durch ihre Hydrierung zu Cycloalkanen und anschließende Ringöffnung an sauren Zeolith-Katalysatoren.^[5] Nun wurde fest-

- [*] Prof. Dr. J. Weitkamp, Dipl.-Chem. A. Raichle, Dr. Y. Traa
Institut für Technische Chemie
Universität Stuttgart, 70550 Stuttgart (Deutschland)
Fax: (+49) 711-685-4065
E-mail: jens.weitkamp@po.uni-stuttgart.de
Dr. F. Fuder, Dr. M. Rupp
ARAL-Forschung
Querenburger Straße 46, 44789 Bochum (Deutschland)