

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Struktur von Mitochondrien	1
1.2	Das hochspezifische mitochondriale Adeninnucleotidtransportsystem als biologischer Modellrezeptor	2
1.3	Vergleich des Adeninnucleotidcarriers mit weiteren Nucleotidbindungscentren	10
2	Problemstellung	12
3	Chemischer Teil	14
3.1	Synthese von Nucleosid-5'-carbonsäuren	14
3.2	Synthese von Diarylmonoazofarbstoffen	16
3.2.1	Diazotierung von Aminonaphthalin-4-sulfonsäurenatriumsalz	17
3.2.2	Azokupplung mit 3-Aminophenol zu 1-(4'-Amino-2'-hydroxy-phenylazo)-4-naphthalinsulfonsäure 4 und 1-(4'-Amino-2'-hydroxy-phenylazo)-2-hydroxy-4-naphthalinsulfonsäure 6 und 7	17
3.3	Synthese von 5'-Diarylmonoazonucleosiden	22
3.4	Radioaktive Synthese von Diarylmonoazofarbstoffen und 5'-Diarylmonoazonucleosiden	26
4	Biologischer Teil	28
4.1	Mitochondrienpräparation	28
4.2	Atractylosid-Differenzierungstechnik	29
4.3	Bindungs- und Transportverhalten von [¹⁴ C]-ADP und [¹⁴ C]-pseudo-ADP 12	31
4.4	Bindungsverhalten der radioaktiv markierten Inhibitoren 5 , 8 , 9 , 10 , 13 , 15 , 17 und 18 gegenüber dem mitochondrialen Adeninnucleotidcarrier	33
4.5	Bestimmung der I ₅₀ -Werte von 4 , 6 , 7 , 14 und 16	35
4.6	Bestimmung des Hemmtyps von 4 , 6 und pseudo-ADP 12	36
4.7	Bestimmung der Hemmkonstante K _i für die Inhibitoren 4 und 6	40

4.8	Reaktivierungs- und Schutzexperimente am mitochondrialen Adeninnucleotidcarrier mit Hilfe von Polyvinylpyrrolidon	42
4.8.1	Zeitabhängige Reaktivierungsexperimente mit Polyvinylpyrrolidon	42
4.8.2	Schutzexperimente mit Polyvinylpyrrolidon	43
4.8.3	Wechselwirkung von Polyvinylpyrrolidon mit 8 und 12	44
4.9	Verdrängung von spezifisch-gebundenen [¹⁴ C]-ADP mit 4, 6 und 11	46
4.10	Diskussion	48
5	Experimenteller Teil	66
5.1	Eingesetzte Geräte und Materialien	66
5.2	Synthese von Nucleosid-5'-uronsäuren	68
5.2.1	Synthese von 2',3'-O-Isopropylidennucleosid-5'-uronsäure	68
5.2.1.1	Synthese von 2',3'-O-Isopropylidenadenosin-5'-uronsäure 1a	68
5.2.1.2	Synthese von 2',3'-O-Isopropylideninosin-5'-uronsäure 2a	69
5.2.2	Abspaltung der Schutzgruppe	69
5.2.2.1	Synthese von Adenosin-5'-uronsäure 1	69
5.2.2.2	Synthese von Inosin-5'-uronsäure 2	70
5.2.2.3	Synthese von 2',3'-Dideoxyadenosin-5'-uronsäure 3	71
5.3	Synthese von Diarylmonoazofarbstoffen	71
5.3.1	Synthese von 4-Sulfo-1-diazoniumnaphthalinchlorid	71
5.3.2	Azokupplung mit 3-Aminophenol	72
5.3.2.1	Synthese von 1-(4'-Amino-2'-hydroxy-phenylazo)-4-naphthalinsulfonsäure 4	72
5.3.2.2	Synthese von 1-(4'-Amino-2'-hydroxy-[u- ¹⁴ C]-phenylazo)-4-naphthalinsulfonsäure 5	74
5.3.2.3	Synthese von 1-(4'-Amino-2'-hydroxy-phenylazo)-2-hydroxy-4-naphthalinsulfonsäure 6 und 7	74
5.3.2.4	Synthese von 1-(4'-Amino-2'-hydroxy-[u- ¹⁴ C]-phenylazo)-2-hydroxy-4-naphthalinsulfonsäure 8 und 9	78
5.3.2.5	Cu-Komplex von 1-(4'-Amino-2'-hydroxy-[u- ¹⁴ C]-phenylazo)-2-hydroxy-4-naphthalinsulfonsäure 10	78
5.4	Synthese von 5'-Diarylmonoazonucleosiden	78

5.4.1	Synthese von 4''-N-[(2''-Hydroxy-phenylazo)-2'''-hydroxy-naphthalin-4'''-sulfonsäure]-adenosin-5'-uronsäureamid: pseudo-ADP 11	79
5.4.2	Synthese von 4''-N-((2''-Hydroxy-[u- ¹⁴ C]-phenylazo)-2'''-hydroxy-naphthalin-4'''-sulfonsäure)-adenosin-5'-uronsäureamid 12	81
5.4.3	Cu-Komplex von 4''-N-((2''-Hydroxy-[u- ¹⁴ C]-phenylazo)-2'''-hydroxy-naphthalin-4'''-sulfonsäure)-adenosin-5'-uronsäureamid 13	81
5.4.4	Synthese von 4''-N-[(2''-Hydroxy-phenylazo)-naphthalin-4'''-sulfonsäure]-adenosin-5'-uronsäure 14	81
5.4.5	Synthese von 4''-N-((2''-Hydroxy-[u- ¹⁴ C]-phenylazo)-naphthalin-4'''-sulfonsäure)-adenosin-5'-uronsäure 15	83
5.4.6	Synthese von 4''-N-[(2''-Hydroxy-phenylazo)-2'''-hydroxy-naphthalin-4'''-sulfonsäure]-inosin-5'-uronsäureamid: pseudo-IDP 16	83
5.4.7	Synthese von 4''-N-((2''-Hydroxy-[u- ¹⁴ C]-phenylazo)-2'''-hydroxy-naphthalin-4'''-sulfonsäure)-inosin-5'-uronsäureamid 17	85
5.4.8	Synthese von 4''-N-((2''-Hydroxy-[u- ¹⁴ C]-phenylazo)-2'''-hydroxy-naphthalin-4'''-sulfonsäure)-2',3'-dideoxyadenosin-5'-uronsäureamid 18	85
5.5	Biochemische Untersuchungen	86
5.5.1	Mitochondrienpräparation	86
5.5.2	Bestimmung des Proteingehaltes nach der Biuret-Methode	86
5.5.3	Bindungs- und Transportverhalten von [¹⁴ C]-ADP und [u- ¹⁴ C]-pseudo-ADP 12 gegenüber dem mitochondrialen Adeninnucleotidcarrier	87
5.5.3.1	Zeitabhängigkeit	87
5.5.3.2	Konzentrationsabhängigkeit.	89
5.5.4	Konzentrationsabhängigkeit des Bindungsverhaltens der radioaktiv markierten Inhibitoren 5, 8, 9, 10, 13, 15, 17 und 18 gegenüber dem mitochondrialen Adeninnucleotidcarrier	90
5.5.5	I ₅₀ -Wert-Bestimmung von 4, 6, 7, 14 und 16	91
5.5.6	Bestimmung des Hemmtyps von 4 und 6	94
5.5.7	Bestimmung des Hemmtyps von pseudo-ADP 11	95

5.5.8	Bestimmung der Hemmkonstanten K_i von 4 und 6 für den carrier-katalysierten [^{14}C]-ADP Transport	96
5.5.9	Reaktivierungs- und Schutzexperimente am mitochondrialen Adeninnucleotidcarrier mit Hilfe von Polyvinylpyrrolidon	98
5.5.9.1	Zeitabhängige Reaktivierungsexperimente mit Polyvinylpyrrolidon	98
5.5.9.2	Schutzexperimente mit Polyvinylpyrrolidon	100
5.5.9.3	Wechselwirkung von Polyvinylpyrrolidon mit 8 und 12	101
5.5.10	Verdrängung von spezifisch gebundenem [^{14}C]-ADP durch 4 , 6 und 11	102
6	Zusammenfassung	104
7	Formelanhang	106
8	Abkürzungsverzeichnis	108
9	Anhang	109
10	Literaturverzeichnis	121