

DNA als Templat für die heteroleptische Komplexbildung und Anlagerung von Ethynylnitro- und Ethynylpyren-Nukleosiden

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN

(Dr. rer. nat.)

Fakultät für Chemie und Biowissenschaften

Karlsruher Institut für Technologie (KIT) – Universitätsbereich



genehmigte

DISSERTATION

von

Dipl.-Chem. Philipp Ensslen

aus Ludwigsburg, Baden-Württemberg

Karlsruhe, 2015

Dekan: Prof. Dr. Willem M. Klopper

Referent: Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht

Korreferent: Prof. Dr. Michael A. R. Meier

Tag der mündlichen Prüfung: 23.10.2015

meiner Familie

*„You the people have the power
to make this life free and beautiful,
to make this life a wonderful adventure.“*

- Charlie Chaplin

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Oktober 2012 bis Oktober 2015 am Institut für Organische Chemie des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht für die hervorragende Betreuung sowie für die wissenschaftlichen Freiheiten und die sehr gute Arbeitsatmosphäre. Außerdem möchte ich mich für viele angenehme und anregende Gespräche und die Unterstützung bei der Realisierung von eigenen Ideen bedanken.

Im speziellen möchte ich mich bei folgenden Personen bedanken:

- ◇ Der KSOP (*Karlsruhe School of Optics and Photonics*) für die finanzielle Unterstützung, den zahlreichen interessanten Seminaren und den Weiterbildungsmöglichkeiten.
- ◇ Stefan Gärtner, Konstantin Glaser und Dr. Alexander Colsmann vom Lichttechnischen Institut am KIT für die Anfertigung und Charakterisierung der „DNA-Solarzelle“.
- ◇ Dr. Jochen Bürck, Bianca Posselt und Siegmund Roth (IBG2, KIT) am Arbeitskreis von Prof. Dr. Anne Ulrich für die Bereitstellung des CD-Spektrometers und die ausgezeichnete Unterstützung bei allen Fragen rund um die CD-Spektroskopie.
- ◇ Privatdozent Dr. Patrick Weis vom Institut für Physikalische Chemie des KITs für die ESI-MS-Messungen.
- ◇ Dr. Andreas Rapp, Tanja Ohmer, Anne-Lena Emmerich und Pia Lang für das Messen der NMR-Proben.
- ◇ Richard von Budberg und Jakob Mayer für das Reparieren von allen möglichen Geräten.
- ◇ Ingrid Roßnagel und Angelika Mösle für die Anfertigung der Massenspektren.
- ◇ Dr. Norbert Foitzik für die wertvolle Hilfe rund ums Praktikum.

- ◇ Annette Hochgesandt für die Einkäufe und das Durchhaltevermögen bei den vielen MALDI-Messungen.
- ◇ Andreas Dittmer für die Unterstützung bei der Nilrot-Synthese, seinem humorvollen Wesen und den vielen guten Gesprächen.
- ◇ Claudia Sommer für ihre Unterstützung in organisatorischen und verwaltungstechnischen Anliegen und den vielen netten Gesprächen.
- ◇ *Meinen Kollegen:*
Marcus Merkel, Barbara Reiß, Dr. Michael Weinberger, Dr. Ulrike Wenge, Dr. Sabrina Sezi, Dr. Christian Wellner, Dr. Claudia Stubinitzky, Stefanie Arndt, Krisana Peewasan, Nadine Gaß, Dr. Wolfgang Schmucker, Dr. Sebastian Barrois, Dr. Effi Bätzner, Dr. Alexander Penner, Jeannine Steinmeyer, Benjamin Lehmann, David Rombach, Heidi Walter, Christian Schwechheimer, Robert Hofsäß, Dr. Thomas Ehrenschwender, Dr. Carolin Holzhauser, Dr. Peggy Bohländer, Martin Weiser, Sergej Hermann, Damian Ploschik, Andrea Bijeljanin, Tamina Schneider und Benjamin Chaoui für die sehr gute Zusammenarbeit, viele hilfreiche Diskussionen und die schönen Jahre im AKW.

Inhaltsverzeichnis

I.	Einleitung und Themenstellung	1
II.	Theoretischer Hintergrund	5
1.	CD-Spektroskopie	5
1.1.	Grundlagen	5
1.2.	Excitonische Wechselwirkung	6
1.3.	CD-Spektroskopie von DNA	9
1.4.	Farbstoffe in DNA	11
2.	Farbstoffstapel in DNA	13
2.1.	Grundlagen	13
2.2.	C-Nukleoside	14
2.3.	Linker	16
2.4.	Modifikation natürlicher Basen	20
3.	Artifizielle Lichtsammelsysteme	24
3.1.	Grundlagen	24
3.2.	Lichtsammelantennen auf DNA-Basis	25
3.3.	Lichtsammelsysteme auf DNA-Protein-Basis	27
4.	DNA-templierte Selbstassemblierung	30
4.1.	Allgemeines	30
4.2.	Anlagerung an ein DNA-Templat	32
4.3.	Selbstassemblierung durch Metallkomplexe	35
4.4.	Das HETTAP-Konzept	38
5.	Fullerenmodifizierte DNA	39
5.1.	Allgemeines Interesse an Fullerenen	39
5.2.	Bioaktive Fulleren-DNA-Konjugate	40
5.3.	Selbstassemblierung	41
III.	Selbstassemblierung an DNA	43
1.	Synthese	43
1.1.	Synthese von Nr≡-dU und Nr≡-dA	44
1.2.	Synthese von Py≡-dU	46
1.3.	Synthese der fullerenmodifizierten DNA	46
2.	Titration von Nr≡-dU zu (dA)_n-Strängen	48
3.	Anlagerung von Py-/Nr≡-dU Mischungen	53
3.1.	Mischungen in DMSO ohne DNA	53

3.2. Mischungen mit DNA9	55
3.3. Mischungen mit DNA1	62
4. DNA-Farbstoff-Aggregate als aktive Schicht einer Solarzelle.....	72
5. Anlagerung von Nr≡dA/Py≡dU	74
6. Zusammenfassung und Ausblick	79
IV. Heteroleptische Metallkomplexe in DNA.....	81
1. Synthese	81
1.1. Synthese des MesPhen-dU Bausteins.....	82
1.2. Synthese des Terpyridin-dU Bausteins.....	83
1.3. Synthese des terpyridinmodifizierten Fulleren	85
2. Heteroleptische Komplexe zwischen DNA2 und DNA3	86
2.1. DNA-Synthese	86
2.2. Optische Spektroskopie	87
2.3. Gelelektrophorese	91
3. Heteroleptische Komplexe zwischen DNA4 und Terpy-Fulleren	93
3.1. DNA-Synthese	93
3.2. Optische Spektroskopie	94
3.3. Gelelektrophorese	97
4. Zusammenfassung und Ausblick	98
V. Zusammenfassung	101
VI. Experimenteller Teil.....	107
1. Material und Methoden	107
2. Synthesevorschriften	112
2.1. Nukleoside	112
2.2. Artificielle DNA-Bausteine.....	113
2.3. Fulleren-Derivate	116
3. DNA-Synthese	121
3.1. Syntheseprotokoll	121
3.2. Aufarbeitung und HPLC-Reinigung.....	123
3.3. Charakterisierung	124
3.4. Konzentrationsbestimmung	125
3.5. Schmelztemperaturbestimmung der DNA-Duplexe	125
3.6. Postsynthetische Modifizierung	126
4. Probenvorbereitung Selbstassemblierung.....	127

4.1. Titration Nr≡dU	127
4.2. Anlagerung Nr≡dU/Py≡dU.....	127
4.3. Liste der verwendeten Templat-DNA-Stränge	128
4.4. Heteroleptische Komplexe	128
VII. Zusätzliche Spektren.....	131
1. CD-Spektren von DNA9 und DNA1	131
2. Verschiedene Spektren zu DNA4.....	136
VIII. Literaturverzeichnis.....	139
IX. Anhang.....	149

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin, 2'-Desoxyadenosin
Å	Angstrøm
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
ber.	berechnet
C	Cytosin, 2'-Desoxycytidin
ca.	circa
CD	Circulardichroismus
CPG	Controlled Pore Glass
d	Dublett, Schichtdicke
dA	2'-Deoxyadenosin
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
dG	2'-Deoxyguanosin
d.h.	das heißt
DIPEA	Diisopropylethylamin
DMAP	4-(Dimethylamino)-pyridin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMTr	4,4'-Dimethoxytrityl
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ds	Doppelstrang (engl. <i>double strand</i>)
dT	2'-Desoxythymidin
d. Th.	der Theorie
dU	2'-Desoxyuridin
EE	Ethylacetat
EI	Elektrische Ionisation
EIT	Elektronentransfer
emi	Emission

Abkürzungsverzeichnis

EnT	Energietransfer
eq	Äquivalent
ESI	Elektrosprayionisation
exc	Anregung (engl. <i>excitation</i>)
FAB	<i>Fast Atom Bombardment</i>
FC	Flash-Säulenchromatographie
FRET	Förster-Resonanzenergietransfer
g	Gramm
G	Guanosin, Guanin
gef.	gefunden
h	Stunde
H ₂ O	Wasser
HCl	Salzsäure
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HOMO	höchstes besetztes Molekülorbital (engl. <i>highest occupied molecular orbital</i>)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. <i>high performance liquid chromatography</i>)
Hz	Hertz
J	Kopplungskonstante
K	Kelvin
K ₂ CO ₃	Kaliumcarbonat
konz.	Konzentriert
LUMO	niedrigstes unbesetztes Molekülorbital (engl. <i>lowest unoccupied molecular orbital</i>)
m	Multipllett, milli
M	molar; mol/L
MALDI	<i>Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization</i>
mbar	Millibar
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
mg	Milligramm
MgSO ₄	Magnesiumsulfat

MHz	Megahertz
min	Minute
mA	Milliampere
mL	Milliliter
mM	millimolar
mm	Millimeter
mmol	Millimol
MS	Massenspektrometrie
m/z	Verhältnis Masse zu Ladung
NaPi	Natriumphosphatpuffer
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
NEt ₃	Triethylamin
NHS	N-Hydroxysuccinimid
nm	Nanometer
nmol	Nanomol
NaOH	Natriumhydroxid
NMR	Kernspinmagnetresonanz (engl. <i>nuclear magnetic resonance</i>)
PAGE	Polyacrylamidgelelektrophorese
pH	pH-Wert
ppm	<i>parts per million</i>
quant.	quantitativ
RP	<i>Reversed Phase</i>
RT	Raumtemperatur
s	Singulett, Sekunde
ss	Einzelstrang (engl. <i>single strand</i>)
sog.	sogenannt
s. a.	siehe auch
s. o.	siehe oben
t	Triplett
T	Thymin, 2'-Desoxythymidin
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TDA-1	Tris[2-(2-methoxyethoxy)ethyl]amin
TFA	Trifluoressigsäure

Abkürzungsverzeichnis

T _m	Schmelztemperatur der DNA [°C]
THF	Tetrahydrofuran
TMS	Trimethylsilyl
U	Uridin
UV/Vis	Ultraviolettes- und sichtbares Lichtspektrum (190 – 800 nm)
UV	ultraviolett
Vis	sichtbar (engl. <i>visible</i>)
V	Volt
vgl.	vergleiche
z. B.	zum Beispiel
°C	Grad Celsius
δ	chemische Verschiebung
Δε	Circulardichroismus
ε	Extinktionskoeffizient
λ	Wellenlänge
μA	Mikroampere
μL	Mikroliter
θ	chiraler Winkel

Die in dieser Arbeit verwendete Nomenklatur orientiert sich an den *Chemical Abstracts*^[a] und an den von der *IUPAC-IUB-Kommission*^[b] empfohlenen Richtlinien. Fachausdrücke aus dem Englischen werden kursiv gedruckt.

[a] Chemical Abstracts, Index Guide, 77.

[b] IUPAC Commission on Nomenclature of Organic Chemistry (CNOC) und IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN), Tentative Rules for Carbohydrate Nomenclature, *Biochemistry* **1971**, 10, 3983-4004; *Eur. J. Biochem.* **1971**, 21, 455-477.

I. Einleitung und Themenstellung

In einem Artikel von *Robert F. Service*^[1] wirft der Autor die Frage auf, ob die Chemiker jemals im Stande sein werden, Strukturen mit solch einer Komplexität und Funktionalität, wie sie aus der Natur bekannt sind, routiniert und in einer einfachen Weise herzustellen. Als Beispiel dient die natürliche Herstellung von Gewebe. Lipide formen durch Selbstassemblierungsprozesse Zellmembranen, die wiederum Zellverbände bilden und Gewebe mit diversen Funktionalitäten formen (Epithel-, Binde-, Muskel- oder Nervengewebe).^[2] Dieser *Bottom-Up*-Ansatz (engl. von unten nach oben) ist ein grundlegendes Prinzip der Natur, Strukturen aus Einzelstücken zu erstellen. Nicht nur die Herstellung von beispielsweise Gewebe oder der DNA (ausgehend von Nukleotiden)^[2], auch z.B. die Schwarmbildung von Lebewesen^[3] erfolgt nach diesem Prinzip und ist somit nicht zwangsläufig auf die molekulare Ebene zu reduzieren.

Seit dem 19. Jahrhundert hat sich der Blick des Chemikers von der makroskopischen auf die molekulare Ebene erweitert und es wurde erkannt, dass Bindungsverhältnisse und Strukturen innerhalb der Moleküle ausschlaggebend für deren Funktion (Polarität, Löslichkeit, Farbigkeit etc.) sind.^[4] Dabei wurde festgestellt, dass nicht nur die starken Wechselwirkungen der kovalenten Bindungen zwischen Atomen, sondern gerade die schwachen Wechselwirkungen (Van-der-Waals-, hydrophobe und π - π -Wechselwirkungen sowie Wasserstoffbrücken) zwischen den Molekülen, eine tragende Rolle bei der Erstellung von komplexen, funktionalisierten Gebilden spielen und für einzigartige Eigenschaften sorgen.^[1, 4] Beispielsweise sind es die Wasserstoffbrückenbindungen, zwischen den einzelnen Wassermolekülen die dem Wasser seine charakteristischen Eigenschaften verleihen (Siedepunkt, Oberflächenspannung, Viskosität, Löslichkeitsverhalten etc.).^[5] Aber auch in der Biologie spielen die Wasserstoffbrücken eine tragende Rolle, z.B. bei der Sequenzerkennung in der DNA.^[2] Vor ca. 50 Jahren begannen Chemiker sich mit diesen Phänomenen der sog. supramolekularen Chemie zu befassen. Pionierarbeiten leisteten dabei *Pedersen*, *Lehn* und *Cram* und erhielten für ihre Forschung „über das Molekül hinaus“ 1987 den Nobelpreis für Chemie.^[6-7] Mithilfe der schwachen und den koordinativen Wechselwirkungen ist ein gezielter Aufbau von Systemen mit definierter Architektur und Funktion, ausgehend von molekularen Bausteinen, im Nanometerbereich

I. Einleitung und Themenstellung

möglich.^[8] Über diese „neue Art“ der Chemie ist aufgrund des geringen Syntheseaufwands eine kosteneffiziente Methode gegeben, um neue Materialien mit speziellen Eigenschaften z.B. im Bereich der Nanoelektronik oder Energiegewinnung herzustellen.^[9-10] Besonders die DNA bietet eine Möglichkeit, Monomere über Wasserstoffbrücken zu binden und diese in klar definierten Abständen und einem helikalen Aufbau anzuordnen.^[11-12] Diese DNA-templierten Aggregate können mithilfe der optischen Spektroskopie auf Aggregationsverhalten und Energietransferprozesse untersucht werden.^[13-14]

Im ersten Teil dieser Arbeit soll die DNA-templierte Selbstassemblierung von farbstoffmodifizierten Nucleosiden untersucht werden. Hierfür sollen die Nucleoside **Py≡-dU**, **Nr≡-dU** und **Nr≡-dA** zur Aggregation entlang verschiedener Templat-DNA-Stränge verwendet werden. Im Falle des 2'-Desoxyuridins soll Ethynylpyren und Ethynylnilrot an der 5-Position mittels *Sonogashira*-Kupplung angebracht werden. Das 7-Deaza-2'-desoxyadenosin soll an der 7-Position mit Ethynylnilrot modifiziert werden.

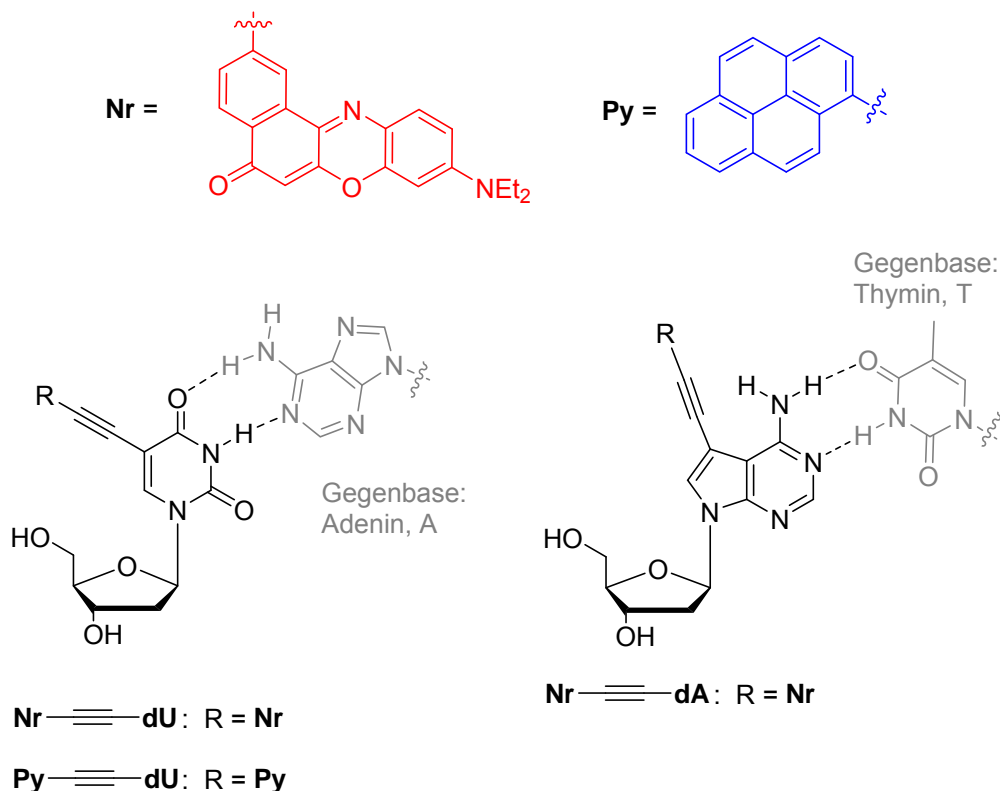


Abb. 1 Strukturen der farbstoffmodifizierten Nucleoside und deren Gegenbasen für die Anlagerung an ein Templat-DNA-Strang.

Zunächst soll das Anlagerungsverhalten von **Nr≡-dU** gegenüber den DNA-Basen Adenin (komplementär) und Thymin (nicht-komplementär) und unterschiedlichen Templat-DNA-Stranglängen (dA)_n (n = 10, 14, 16 und 20) geprüft werden. Anschließend soll eine simultane Anlagerung von verschiedenen Mischungs-

verhältnissen aus **Py≡dU** und **Nr≡dU** entlang eines (dA)₂₀-Templatstrangs erfolgen. Um das Aggregationsverhalten der farbstoffmodifizierten Nucleoside im bichromophoren Stapel zu untersuchen, sollen UV/Vis-Absorptions-, Fluoreszenz- und CD-Spektroskopie verwendet werden. Der Templat-DNA-Strang soll im Weiteren mit einem Fulleren-Derivat **1** modifiziert werden, was zu einer Fluoreszenzlöschung der angelagerten Farbstoffmischungen führen soll (Abb. 2). Durch die Verwendung eines bichromophoren Farbstoff-DNA-Aggregats als aktive Schicht in einer Solarzelle zur Erzeugung eines Photostroms, soll ein neues Anwendungsgebiet der DNA-templierten Selbstassemblierung von farbstoffmodifizierten Nucleosiden untersucht werden. Hierfür soll das Mischungsverhältnis von **Py≡dU:Nr≡dU** entlang der fullerenmodifizierten DNA, mit den besten Eigenschaften hinsichtlich Energietransfer und excitonischer Kopplung, verwendet werden.

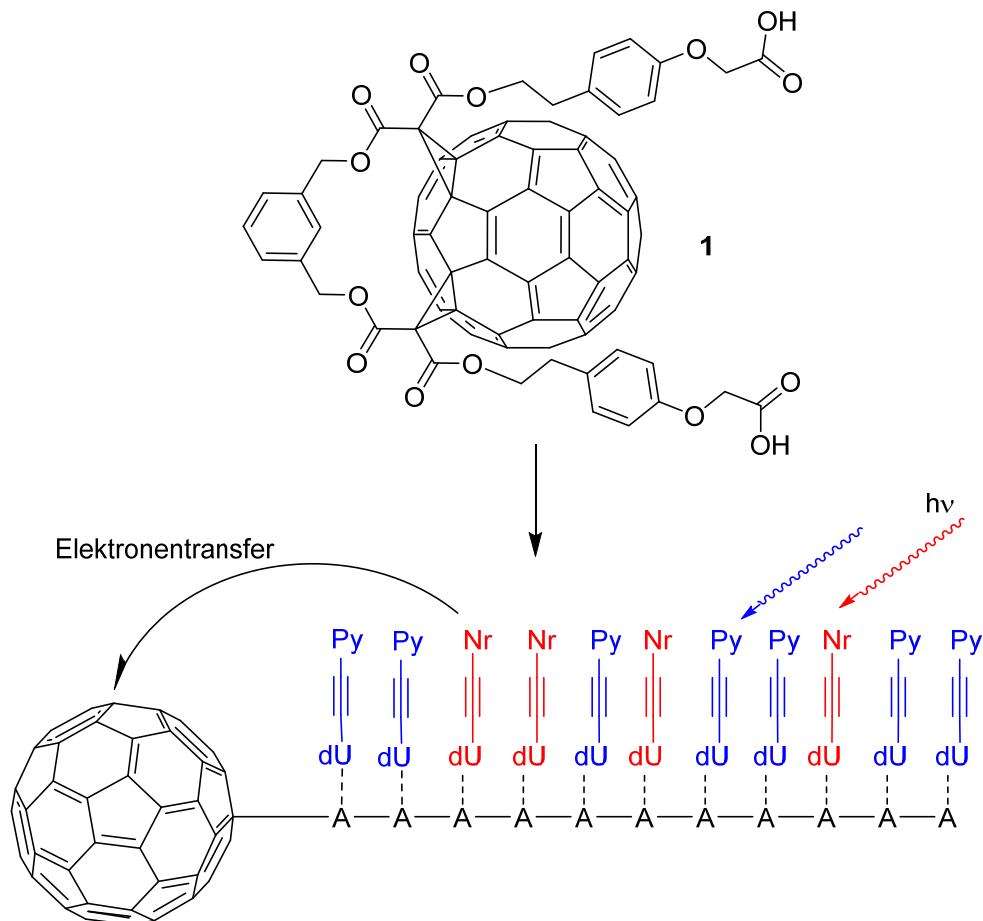


Abb. 2 Struktur des Fulleren-Derivats **1** und die schematische Darstellung des angelagerten Farbstoffstapels aus **Py≡dU** und **Nr≡dU** entlang der fullerenmodifizierten DNA.

Die Anlagerung von Nucleosiden mit gleicher DNA-Gegenbase lässt keine Aussage über die Sequenz des Farbstoffstapels zu. Deshalb soll im Rahmen dieser Arbeit der erste Schritt zur Bildung eines sequenzabhängigen Farbstoffstapels durch

Verwendung von **Py≡dU** (Gegenbase: A) und **Nr≡dA** (Gegenbase: T) gegangen werden (Abb. 1). Dabei wird das Aggregations- und das Energietransfer- bzw. Elektronentransfer-verhalten der Farbstoffe in Abhängigkeit verschiedener DNA-Sequenzen mithilfe der optischen Spektroskopie untersucht.

Im zweiten Teil soll ein von *Schmittel et al.*^[15] entwickeltes Konzept zur selektiven Ausbildung eines heteroleptischen Metallkomplexes zwischen einem Phenanthrolin-Derivat, das an den Positionen 2 und 9 mit je einer Mesityl-Gruppe modifiziert ist und einem 2,2':6',2''-Terpyridin im wässrigen Medium untersucht werden.^[15] Angelehnt an diese Arbeit soll ein neuer phenanthrolinmodifizierter DNA-Baustein **2** für die automatisierte Festphasensynthese (nach der Phosphoramidit-Methode) synthetisiert werden (Abb. 3). Anschließend sollen die gebildeten heteroleptischen DNA-Komplexe zwischen der mit **2** modifizierten DNA und verschiedenen Terpyridin-Derivaten charakterisiert werden. Hierfür soll zum einen ein unpolares, wasserunlösliches terpyridinmodifiziertes Fulleren **3** und zum anderen ein wasserlöslicher DNA-Strang mit **TP**-Modifizierung zur Komplexbildung verwendet werden, um mögliche Einflüsse auf die Löslichkeit herauszufinden. Außerdem werden vier verschiedene Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} und Ni^{2+}) bzgl. ihres Einflusses auf die Ausbildung der heteroleptischen Komplexe untersucht.

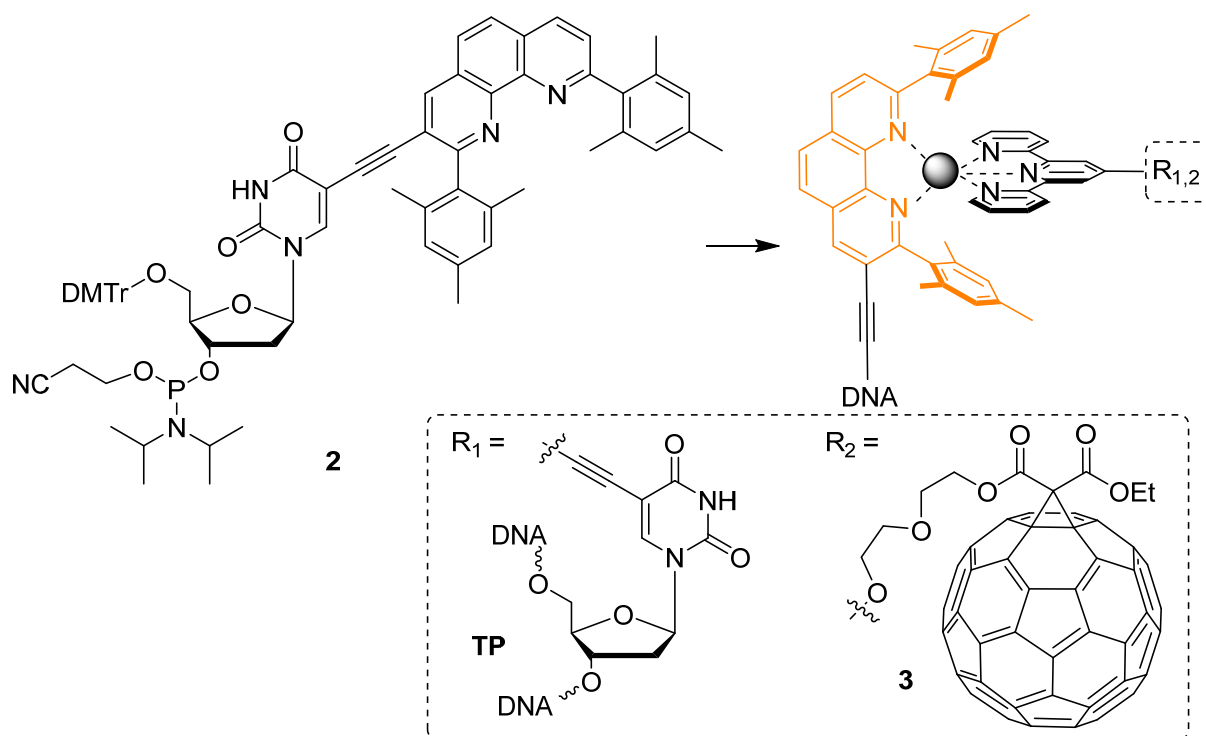


Abb. 3 Strukturen des künstlichen DNA-Bausteins **2** und der Terpyridin-Liganden **TP** und **3** sowie die schematische Darstellung des heteroleptischen Metallkomplexes.

II. Theoretischer Hintergrund

1. CD-Spektroskopie

1.1. Grundlagen^[16-17]

Optisch aktive Verbindungen weisen einen sog. Zirkulardichroismus (CD) auf, da sie zirkular polarisiertes Licht unterschiedlich stark absorbieren. Mittels chiroptischen Methoden ist es möglich Aussagen über die Molekülstruktur bzw. Verbindung zu treffen. In einem Dichrographen wird die zu untersuchende Probe abwechselnd mit linksdrehendem (L) und rechtsdrehendem Licht (R) bestrahlt und in Abhängigkeit der Wellenlänge die Differenz der Absorptionen gebildet ($\Delta A = A_L - A_R$). Über das *Lambert-Beersche-Gesetz* kann somit die Aussage $\Delta \varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R$ getroffen werden. $\Delta \varepsilon$ wird zirkularer Dichroismus genannt. Wird zirkular polarisiertes Licht von einem Medium unterschiedlich stark absorbiert, sind nicht nur die Extinktionskoeffizienten verschieden ($\varepsilon_L \neq \varepsilon_R$), sondern auch die Wellenlänge und Geschwindigkeit ($\lambda_L \neq \lambda_R$ und $c_L \neq c_R$) der rechts- und linksdrehend polarisierten Komponente unterscheiden sich.

Chirale Moleküle entsprechen optisch aktiven Medien und sind in der Lage, die Polarisationsrichtung von Licht zu drehen. Bei diesen Verbindungen besteht keine Möglichkeit, Bild und Spiegelbild in Deckung zu bringen. Chiralität wird (in Molekülen) beispielsweise durch asymmetrische Substitution am Kohlenstoffzentrum erzeugt. In größeren Molekülverbänden bestimmt die sekundäre Struktur (Helix, Faltblatt) die Chiralität. Außerdem kann durch Anlegen eines gerichteten Magnetfeldes oder einer asymmetrischen, elektronischen Umgebung optische Aktivität in symmetrischen Molekülen erzeugt werden.

In linear polarisiertem Licht besteht der E-Vektor aus den Komponenten R und L, deren Intensitäten und Phasen gleich sind (Abb. 4 a). Dieser Summenvektor E oszilliert auf einer Linie. Trifft dieses Licht auf eine Probe optischer Aktivität, so wird die rechtsgängige bzw. linksgängige Komponente unterschiedlich beeinflusst. Der daraus resultierende Summenvektor oszilliert auf einer Ellipse (Abb. 4 b). Hieraus ergibt sich ein Winkel Θ aus den Ellipsenachsen a und b ($\arctang(a/b)$, Abb. 4 c), welcher Elliptizität genannt wird und proportional zu ΔA ($\Theta = \Delta A \cdot 32.98$) ist. Wird die Ellipse um den Winkel α zur Hauptachse verdreht, so entspricht dies dem Drehwert, der ebenfalls Informationen zur Chiralität der Probe enthält.

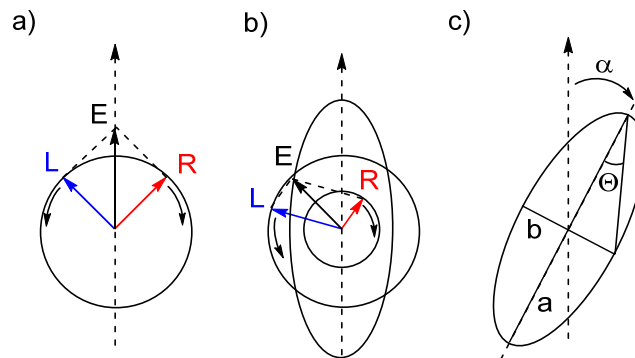


Abb. 4 Bildung des E-Vektors in a) linear polarisiertem Licht b) zirkular polarisiertem Licht c) die Winkel Θ (Elliptizität) und α (Rotation der Ellipse bzgl. der Hauptachse = Drehwert).

Bei der CD Spektroskopie handelt es sich um eine empirische Aufklärungsmethode. Prinzipiell ist es möglich, mittels der Rosenfeld-Gleichung CD-Spektren vorherzusagen. Dennoch ist dies kein triviales Verfahren, da es sehr stark vom zu untersuchenden System abhängt. Ein CD-Signal tritt zudem nur auf, wenn bei dieser Wellenlänge ebenfalls eine Absorption im UV/Vis-Spektrum zu sehen ist. Dabei muss nicht zwangsläufig bei einer hohen Intensität der Absorption auch ein starkes CD-Signal auftreten, da dieses in keinem Verhältnis zum Extinktionskoeffizienten steht. Befinden sich zwei Moleküle in direkter Nähe, so kann es aufgrund von Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zu einer charakteristischen Aufspaltung im CD-Signal kommen.

1.2. Excitonische Wechselwirkung

Wird ein Molekül, z.B. ein Chromophor, durch Anregung in einen energetisch höheren Zustand gebracht, kann dies durch ein elektronisches Übergangsdipolmoment μ beschrieben werden.^[18] μ entspricht einer vektoriellen Größe, die in Abhängigkeit des Chromophors eine Polarisierung, Richtung und Intensität besitzt. Außerdem gibt die Richtung an, wie Licht polarisiert sein muss, damit es zur Anregung kommt. Das Quadrat des Betrags von μ repräsentiert die Wahrscheinlichkeit, mit der ein Übergang in den angeregten Zustand stattfindet. Befinden sich zwei Moleküle in räumlicher Nähe, ist es möglich, dass deren elektronische Übergangsdipolmomente mittels Dipol-Dipol-Wechselwirkungen eine Exciton-Kopplung eingehen. Dieser delokalisierte, angeregte Zustand wird Exciton genannt. Als Folge der Austauschwechselwirkung tritt eine Spaltung der Energieniveaus (α und β), die Davydov-Aufspaltung, auf (Abb. 5).^[19-20]

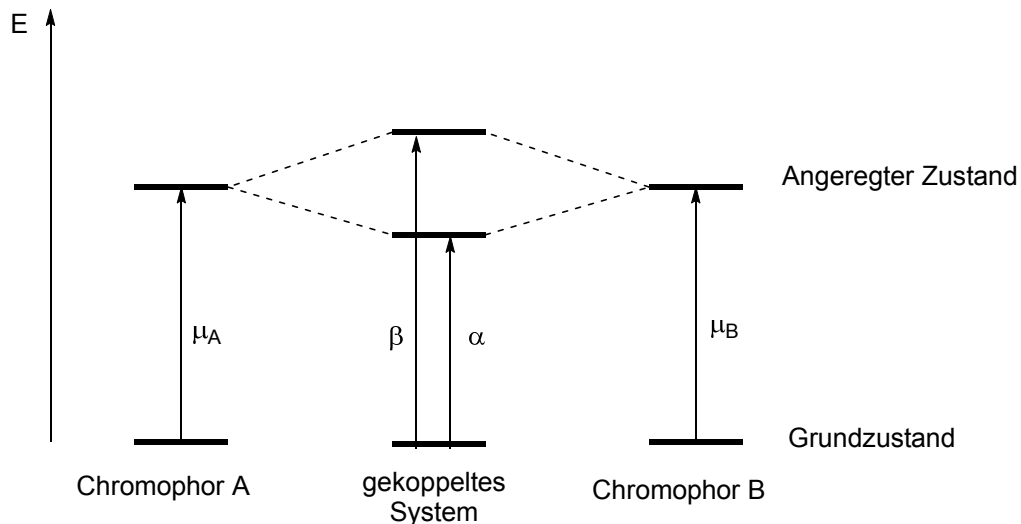


Abb. 5 Schematische Darstellung der Energieniveaufspaltung in einem Exciton-gekoppelten System (Davydov-Aufspaltung).

Je nach Orientierung der Monomere zueinander, insbesondere der Übergangsdipolmomente, ist der Übergang entweder in Zustand α oder β erlaubt. Beim Übergang in Zustand α tritt eine bathochrome Verschiebung der Absorptionsbande auf und wird J-Bande genannt. Die gebildeten Aggregate werden J-Aggregate genannt. Hierbei steht „J“ für den Wissenschaftler Jelley, der sich als erster mit dieser Absorptionsverschiebung befasst hatte.^[21] Eine hypsochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums tritt beim Übergang in Zustand β auf. Diese Bande wird, angelehnt an hypsochrom, H-Bande genannt. Die entsprechenden Aggregate werden als H-Aggregate bezeichnet.^[22] Sind die Übergangsdipolmomente der Chromophore mit einem Winkel von $\delta = 90^\circ$ zur vertikalen Achse orientiert, ist nur der Übergang in das höher gelegene Niveau β erlaubt (Abb. 6 links). Als Erscheinung wird, verglichen mit dem Monomer, eine Absorptionsbande mit kürzerer Wellenlänge beobachtet. Anders sieht es bei einer „Kopf-Schwanz“ Orientierung der Chromophore aus ($\delta = 0^\circ$). Bei dieser Anordnung ist nur der energetisch niedrigere Zustand α zugänglich. Dies hat eine Verschiebung der Absorptionsbande zu höheren Wellenlängen zur Folge und wird in J-Aggregaten vorgefunden (Abb. 6 rechts). Die Intensität der Verschiebung hängt nicht nur vom Winkel δ ab, sondern auch von der Stapelgröße.^[23] Neben dem Absorptionsverhalten wird auch das Fluoreszenzverhalten der Aggregate, gegenüber den Monomeren, beeinflusst. Wohingegen bei J-Aggregaten die Wellenlänge des emittierten Lichts bathochrom verschoben wird und diese meist höhere Quantenausbeuten als bei den Monomeren aufweisen,^[24-25] ist die Fluoreszenz in H-Aggregaten meistens gelöscht.^[26-30]

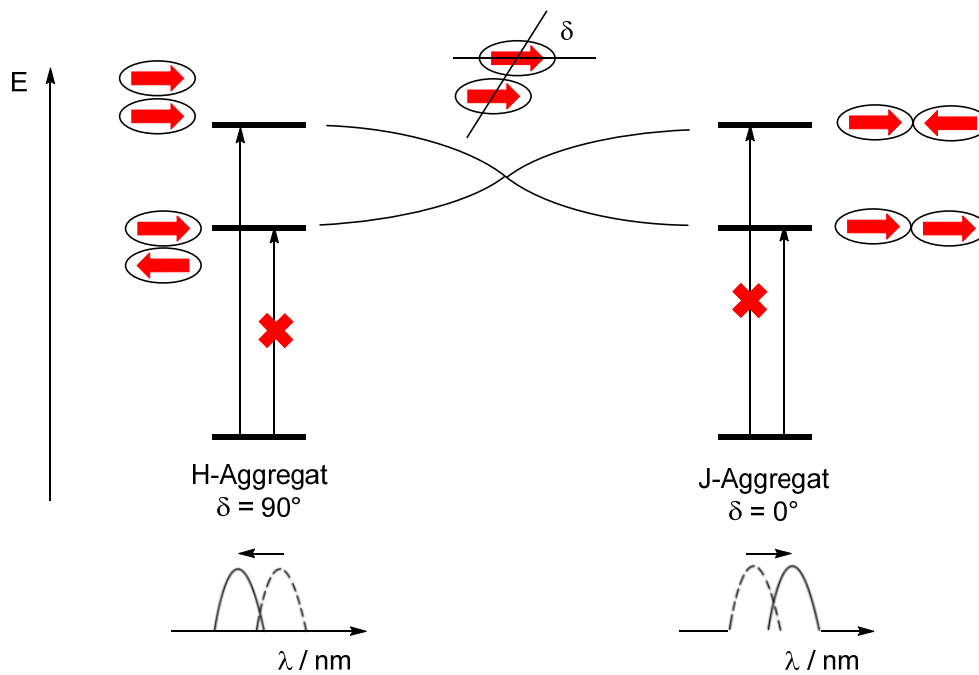


Abb. 6 Schematische Darstellung der elektronischen Übergänge und Orientierung von J- und H-Aggregaten.

Dies liegt begründet in einem inneren Übergang (engl. *internal conversion*, „IC“) vom energiereichen Exciton-Zustand β in den energieärmeren Zustand α . Hieraus erfolgt dann der Übergang in den Grundzustand strahlungslos. Die Fluoreszenzlöschung von H-Aggregaten wurde in der Vergangenheit als Tatsache dieses Aggregationsverhaltens hingenommen. Erst die *Exciton-Theorie* von *Kasha*^[31] und *Försters Coupled Oscillator Model*^[32] ermöglichten es, dieses Verhalten zu erklären.

Wenn die Chromophore nicht nur um den Winkel δ zur vertikalen Achse verschoben sind sondern noch eine chirale Orientierung ($\alpha \neq 0$, Abb. 7 b) aufweisen, so kommt es zu einem zweiphasigen CD-Signal.^[17]

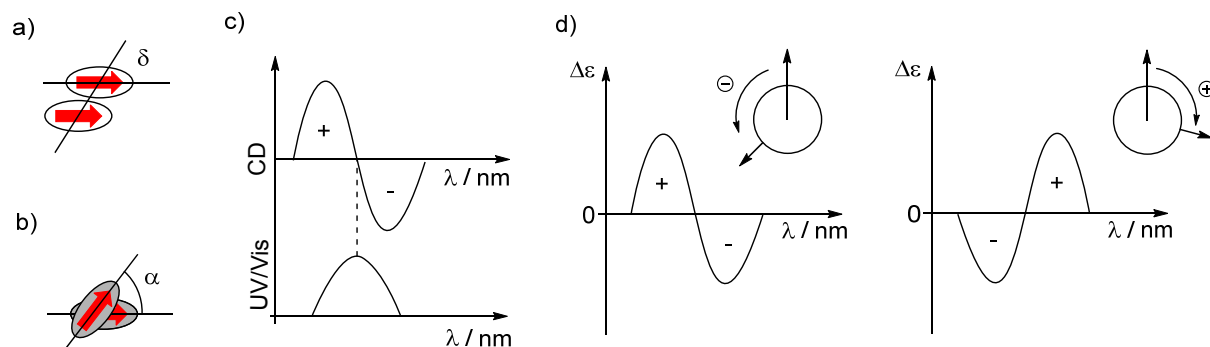


Abb. 7 Orientierung der Chromophore in a) Seitenansicht (δ = Verschiebungswinkel) b) Draufsicht (α = Rotationswinkel) c) Cotton-Effekte im CD-Signal. Nullpunkt (CD) = λ_{\max} im UV/Vis Spektrum d) Abfolge der Cotton-Effekte und die dazugehörige Orientierung.

Der Nulldurchgang des CD-Signals wird meistens bei der Wellenlänge, welche dem Maximum im Absorptionsspektrum entspricht, beobachtet (Abb. 7 c). Um diesen

Nullpunkt erscheinen gegensätzliche Cotton-Effekte. Je nach Abfolge kann darüber auf die Orientierung der Chromophore zueinander geschlossen werden (Exciton-Chiralitäts-Regel).^[33] Für eine linksgängige Orientierung findet man im langwelligen Bereich eine Bande mit negativem Cotton-Effekt, die im kurzwelligen Bereich von einem positiven Cotton-Effekt gefolgt wird. Zeigt das CD-Signal hingegen erst einen positiven Cotton-Effekt im langwelligen Bereich, der von einem negativen Cotton-Effekt gefolgt wird, findet man hier eine rechtsgängige Orientierung der Übergangsdipolmomente vor (Abb. 7 d).

Nicht nur die Übergangsdipolmomente, sondern auch der Abstand und die Verdrehung zwischen den Chromophoren beeinflussen die Intensität des CD-Signals.^[34-35] Dieser Zusammenhang wird in Formel 1 wiedergegeben.

$$\Delta\varepsilon \approx \pm \frac{\pi}{4\lambda} \mu_A \mu_B R^{-2} \sin(2\alpha)$$

Formel 1: CD-Signalstärke in Abhängigkeit von Übergangsdipolmomenten und Winkel zwischen den Chromophoren A und B. $\mu_{A,B}$ = Übergangsdipolmoment der Chromophore; R = Abstand zwischen den Chromophoren; α = Rotationswinkel zwischen Chromophor A und B (siehe Abb. 7 b)

Über diese Beziehung wird ersichtlich, dass bei einem Winkel von $\alpha = 45^\circ$ bzw. 135° das Signal maximal wird. $\Delta\varepsilon$ wird dagegen null, wenn der Winkel Werte von $\alpha = 0^\circ$, 90° oder 180° annimmt.

1.3. CD-Spektroskopie von DNA

Die CD-Spektroskopie eignet sich sehr gut, um Informationen über die Konformationen in DNA-Strängen zu erhalten. Je nach Erscheinungsbild des CD-Signals kann zwischen A-, B-, und Z-Form der DNA-Helix unterschieden werden. Sonderformen wie die Bildung eines Triplexstrangs oder die Ausbildung von G-Quadruplex Einheiten können mittels CD-Spektroskopie detektiert werden.^[36] Die Vorteile dieser Strukturaufklärungsmethode sind zum einen die Sensitivität, die einfache Probenvorbereitung und die Tatsache, dass das Probenmaterial anschließend weiter verwendet werden kann. Ein großer Nachteil liegt allerdings in der Empirie. Die Simulation von langen Strängen ist sehr komplex, wodurch eine Aussage über Strukturierung auf atomarer Ebene mittels CD nicht verifiziert werden kann.

II.1. CD-Spektroskopie

DNA-Strukturen wurden bereits im tiefen UV- als auch im IR-Bereich untersucht.^[37-38] Typischerweise werden die meisten CD-Messungen im Bereich der DNA-Absorption, bei 180 – 300 nm, durchgeführt.^[39]

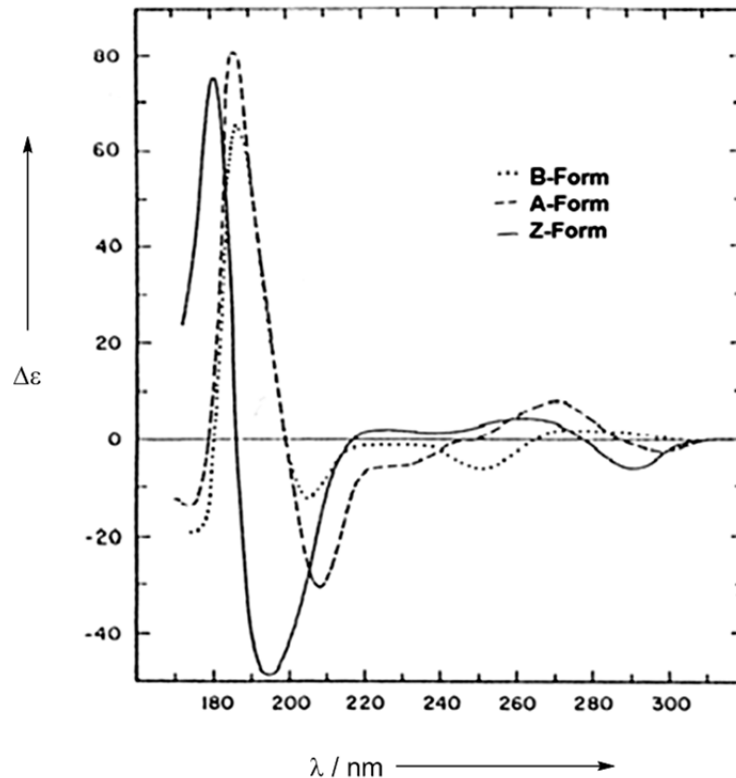


Abb. 8: CD von poly(dGdC) in: B-Form 10 mM NaP_i (pH = 7); A-Form 0.67 mM NaP_i + 80 % Trifluorethanol; Z-Form 2 M NaClO₄ + 10 mM NaP_i (pH = 7).^[40]

Der CD-Wert $\Delta\epsilon$ der DNA ist relativ schwach, da sich die Basenpaare im Lot der Doppelhelix befinden (Abb. 8). Dennoch erhält man ein ausgeprägtes Signal mit positivem Cotton-Effekt im Bereich 260 – 280 nm und einen negativen Cotton-Effekt bei 245 nm für die B-Form (rechtsgängige Helix, 36° Verdrehung pro Basenpaar). Befindet sich die DNA in Ethanol, kommt es zu einer Konformationsänderung. Eine positive Bane bei 260 nm und eine Negative bei 210 nm erscheinen. Dies entspricht der A-Form (rechtsgängig, 34° pro Basenpaar). Diese Form findet man üblicherweise in RNA vor.^[41] Ein grobes Spiegelbild der B-Form bildet die Z-Form (linksgängig, 60° pro Dimer), mit einem negativen Signal bei 290 nm und einem positiven Signal bei 260 nm.^[40] Durch Veränderung von Salzkonzentrationen, Temperatur und Lösungsmittelzusätzen können Konformationsänderungen hiermit spektroskopisch beobachtet werden.^[36]

1.4. Farbstoffe in DNA

Prinzipiell können sich Farbstoffe auf zwei Arten an die DNA nichtkovalent anlagern. Entweder sie interkalieren in den Basenstapel oder legen sich in die Furchen, wobei hier zwischen großer und kleiner Furche unterschieden werden muss.

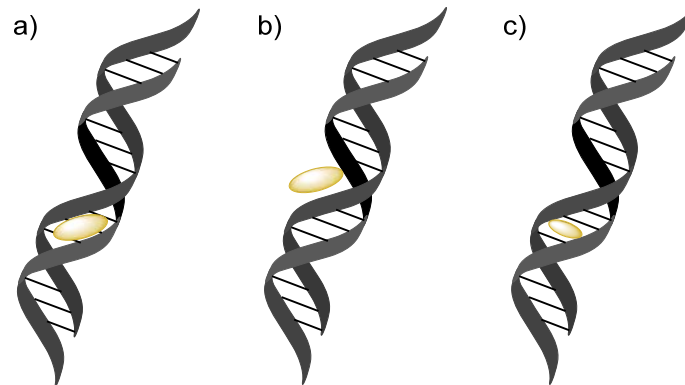


Abb. 9 Verschiedene Arten wie Farbstoffe an DNA anlagern können a) kleine Furche b) große Furche c) Interkalation in den Basenstapel.

Diese intermolekulare Interaktion zwischen einem achiralen Farbstoff und der chiralen Umgebung der DNA induziert ein CD-Signal im Bereich der Farbstoffabsorption.^[42] Optisch inaktive Farbstoffe werden hierdurch optisch aktiv. Sind Magnitude sowie Richtung der Übergangsdipolmomente von Farbstoff und DNA bekannt, kann mittels CD-Spektroskopie auf die Orientierung innerhalb des Farbstoff-DNA-Aggregats rückgeschlossen werden. Außerdem verändern Interkalation oder Furchenbindung unterschiedlich stark den DNA-Basenstapel, was im Bereich des DNA CD-Signals wiedergespiegelt wird. Ob das Signal des induzierten CD-Signals (ICD) einen positiven oder negativen Cotton-Effekt zeigt, hängt nicht nur von der Orientierung innerhalb des Stapels ab, sondern auch von der Sequenz der DNA. Bei Farbstoffen, die in der großen Furche angelagert sind, ist der Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten von Basenstapel und Farbstoff zu betrachten, da dieser für das Vorzeichen des Signals entscheidend ist (Abb. 10).^[43-46]

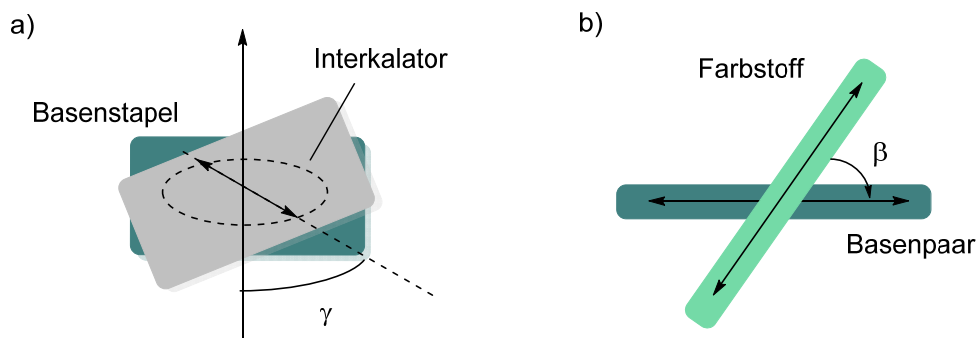


Abb. 10 Winkeldefinition für a) Interkalation und b) Furchenbildung von Farbstoffen.

II.1. CD-Spektroskopie

An dieser Stelle ist zu erwähnen, wenn zwei oder mehrere Farbstoffe an der DNA angelagert und in räumlicher Nähe sind, kommt es zu einem biphasigen CD-Signal, da die Farbstoffe eine Exciton-Kopplung ausbilden (ECD).

Lewis et al. zeigten in einer Versuchsreihe, dass die excitongekoppelte CD-Spektroskopie als Abstandsmesser für DNA angewendet werden kann.^[47] Zwei Stilben-Linker wurden in einer DNA-Haarnadel durch verschieden große AT-Basenpaarstapel getrennt (Abb. 11), wodurch die Distanz und der Winkel zwischen den Chromophoren eingestellt werden konnte.

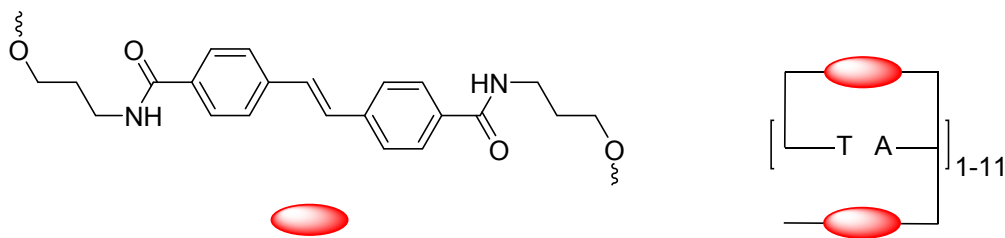


Abb. 11 Struktur des Stilben-Linkers und Design der DNA-Haarnadel

Im Bereich von 300 – 400 nm war das zweiphasige CD-Signal der Stilben-Chromophore zu sehen. Je nach Orientierung zueinander war eine links- oder rechtsgängige Abfolge erkennbar. Dies kann darüber erklärt werden, dass die Kopplung immer über den kleineren Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten stattfindet. Zudem nahm das CD-Signal mit wachsender Basenstapelgröße ab. MD-Simulationen bestätigten dabei die experimentellen Ergebnisse.

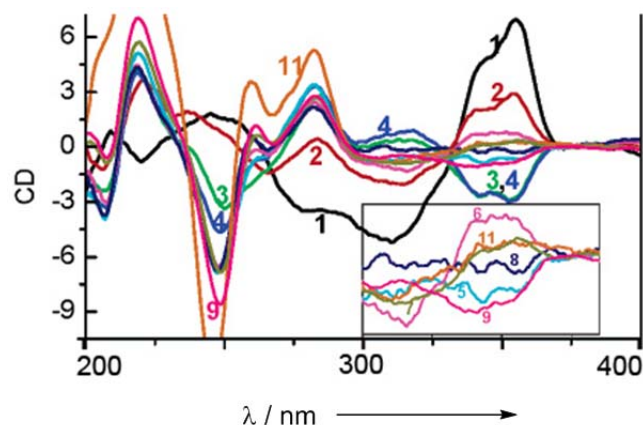


Abb. 12 CD-Spektren der Haarnadeln von *Lewis et al.* als DNA Lineal. 1 - 11 entspricht der Größe des Basenpaarstapels.^[47]

2. Farbstoffstapel in DNA

2.1. Grundlagen

Organische Moleküle mit einem ausgedehnten π -System sind meistens in der Lage, Licht zu absorbieren, wodurch sie farbig erscheinen. Durch Bestrahlung mit Licht werden Elektronen aus dem Grundzustand in einen angeregten Zustand überführt. Das Übergangsdipolmoment μ kann durch Veränderung der Umgebungspolarität, räumliche Nähe zu einem anderen Chromophor oder anhand des pH-Werts beeinflusst werden. Als Folge dieser Umgebungsänderungen findet eine andere Farbwahrnehmung statt. Somit eignen sich Farbstoffe sehr gut, um die Wechselwirkungen mit den Umgebungsmolekülen zu untersuchen. Befinden sich Chromophore in räumlicher Nähe, ist es möglich, dass diese durch Aggregation miteinander im Grundzustand wechselwirken. Wird eine Blau- bzw. Rotverschiebung des Absorptionsmaximums beobachtet, kann darüber auf eine J- oder H-Aggregation geschlossen werden (siehe II.1.2).^[31] Wechselwirken die Farbstoffe erst im angeregten Zustand, so kann es zur Bildung von Excimeren (*excited dimer*, Aggregation zwischen zwei gleichen Molekülen), oder Exciplexen (Aggregation zwischen ungleichen Molekülen) kommen, was in der veränderten Fluoreszenz, gegenüber dem Monomer, beobachtet werden kann.^[48] Wie in Abschnitt II.1 beschrieben, liefert die CD-Spektroskopie ebenfalls wichtige Informationen zur räumlichen Anordnung und Wechselwirkung mit einer chiralen Umgebung bzw. einem Chromophor in Nachbarschaft (Exciton-Kopplung). Fixiert man die Chromophore in einem strukturgebenden Gerüst, können durch Variation der Position, Elektronen- und Energietransfer Prozesse zwischen den Farbstoffen untersucht werden. Die DNA bietet ein solches Grundgerüst. Ihre rechtsgängige Doppelhelix, die Watson-Crick Basenpaarung und damit einhergehende Sequenzerkennung, der klar definierte Abstand von 3.4 Å (B-DNA) zwischen den Basenpaaren und die Möglichkeit artifizielle Bausteine über automatisierte Synthesemethoden einzubringen, macht die DNA zu einem nützlichen Werkzeug, Wechselwirkungen zwischen Farbstoffen zu untersuchen. Durch die Wahl der Sequenz und die Art der Modifizierung kann die Lage der Farbstoffe zueinander sehr präzise kontrolliert werden. Es gibt verschiedene Methoden, Farbstoffe kovalent in die DNA-Sequenz, mittels automatisierter Festphasensynthese, einzubauen. Bei

II.2. Farbstoffstapel in DNA

einem C-Nukleosid wird die natürliche glykosidische C-N Bindung durch eine chemisch stabilere C-C Bindung ersetzt und der Chromophor positioniert sich im Basenstapel (Abb. 13 a).^[49] Modifikationen an der 5-Position von 2'-Desoxyuridin (Abb. 13 b) oder am C7 von 7-Deazapurinen dirigieren die Farbstoffe in die große Furche, da die Watson-Crick Basenpaarung erhalten bleibt.^[50-51] Besteht die Verbindung zwischen Chromophor und Base aus einer einfachen C-C Bindung oder einer Ethinylbrücke, herrscht eine starke elektronische Kopplung beider Komponenten. Eine Phenylenbrücke sorgt für eine Entkopplung der Komponenten^[48]

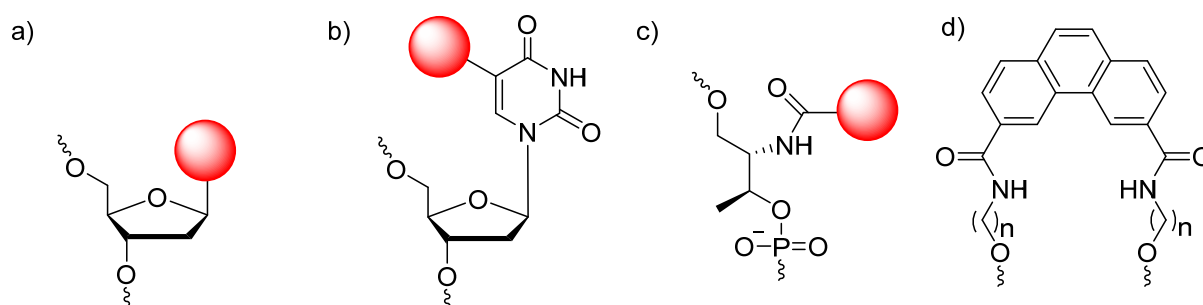


Abb. 13 Strukturen von modifizierten DNA Bausteinen. a) C-Nukleosid b) Anknüpfung an 5-Position von Desoxyuridin c) Beispiel für einen azyklischen Linker^[52] d) Beispiel eines nicht nukleosidischen Basenanalogs nach Häner *et al.*^[53]

Eine synthetisch einfachere Möglichkeit, Farbstoffe einzubauen, ermöglichen die azyklischen Linker (Abb. 13 c).^[52] Durch flexible Linker können die Farbstoffe sehr gut in den DNA-Basenstapel interkalieren.^[54] Zudem kann der Chromophor auch direkt in das DNA-Rückgrat inkorporiert werden. Ein Beispiel nach Häner *et al.* für ein solches nicht-nukleosidisches Basenanalogs wird in Abb. 13 d dargestellt.^[53]

Im Folgenden werden Beispiele für die verschiedenen kovalenten Modifikationen gezeigt und die Auswirkungen der DNA-bedingten Anordnung auf multichromophore Stapel beschrieben.

2.2. C-Nukleoside

In einer Arbeit von Leumann *et al.* wurde gezeigt, dass der Einbau von multiplen Biphenyl-Basensurrogaten zu einer Stabilisierung der DNA Doppelhelix führt.^[55-56] Die Besonderheit hierbei ist, dass die Stabilisierung nur durch hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den Biphenyleinheiten erzeugt wird. Im Inneren der DNA-Doppelhelix lagern sich die Biphenylmodifikationen reisverschlussartig ein (Abb. 14). Dass die Doppelhelix eine B-Form besitzt und die Biphenylreste keine Verformung erzeugen, konnte u.a. mithilfe der CD-Spektroskopie gezeigt werden.

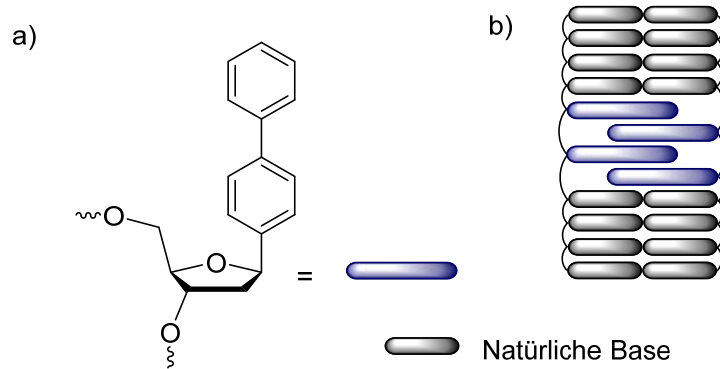


Abb. 14 a) Struktur des Biphenyl-Nucleosids b) Schematische Darstellung des Biphenylstapels.^[55-56]

Eine Vielzahl an C-Nucleosiden wurde von *Kool et al.* für die Herstellung der „Oligodeoxyfluorosiden“ (ODFs) entwickelt. Durch verschiedene Kombinationen von nur vier Chromophoren, die als kurzer DNA-Einzelstrang vorliegen, kann das ganze sichtbare Farbspektrum in Form von Emission dargestellt werden.^[57] Die verwendeten Aromaten werden durch das DNA-Rückgrat in eine strukturierte Anordnung gebracht, wodurch sie in der Lage sind, photophysikalische Wechselwirkungen im angeregten Zustand einzugehen.^[58-59]

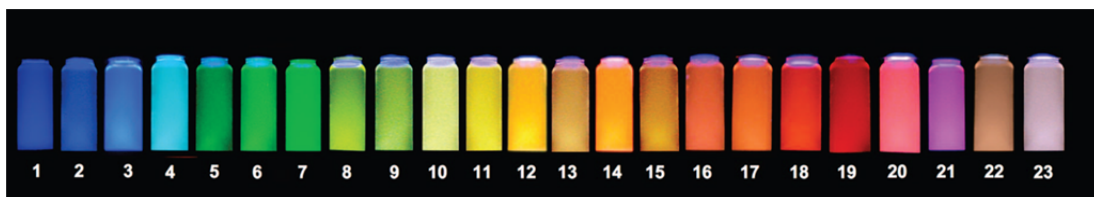
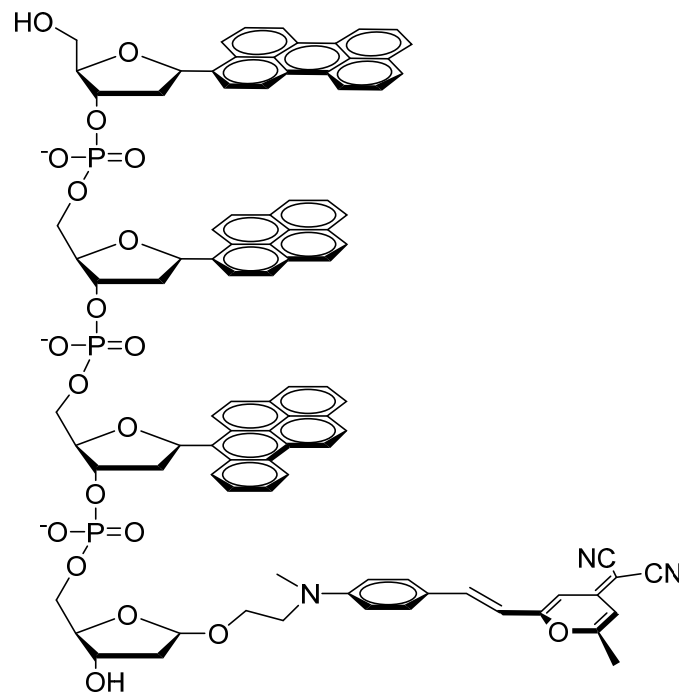


Abb. 15 (oben) Beispielstruktur eines tetrameren ODFs (unten) 23 verschiedene ODFs zeigen das gesamte sichtbare Spektrum bei $\lambda_{exc} = 345 \text{ nm}$.^[57]

II.2. Farbstoffstapel in DNA

Das System verhält sich als ein Gesamtchromophor und nicht wie vier verschiedene Monomere. Bisher wurden mehr als 14000 bekannte ODFs entwickelt, aber nur 23 sind notwendig, um das ganze sichtbare Spektrum abzudecken (Abb. 15). Vorteilhaft bei diesem System ist die Verwendung von nur einer Anregungswellenlänge für alle ODFs (340 – 380 nm) damit es zur Fluoreszenz kommt. Eine simultane Detektion von verschiedenen Emissionswellenlängen (bei nur einer Anregungswellenlänge), bei z.B. fluoreszenter Zellbildgebung, wird hierdurch ermöglicht.

2.3. Linker

Wie bereits erwähnt, ist es möglich, die 2'-Desoxyriboseeinheit durch einen flexiblen azyklischen Linker zu ersetzen. Die Gruppe um *Asanuma* nutzte diese Variante um bis zu sechs Methylrotbausteine in die DNA zu inkorporieren.^[52] Als Linker wurde Threoninol (sowohl D- als auch L-Konfiguration) verwendet (Abb. 16).

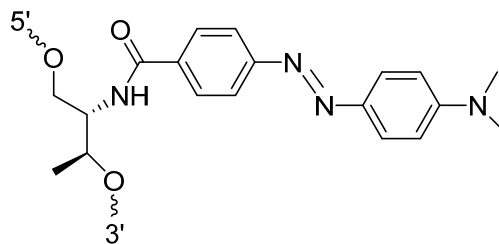


Abb. 16 Struktur des Methylrotbausteins nach *Asanuma et al.*^[52]

Es zeigte sich, dass durch Vergrößern des Methylrot-Stapels im Einzelstrang die Absorption anstieg und sich von 484 nm auf 415 nm hypsochrom verschob. Zusammen mit der fehlenden Fluoreszenz und dem Vorhandensein eines biphasigen CD-Signals im Farbstoffbereich wird deutlich, dass im Einzelstrang ein H-Aggregat ausgebildet wird. Die Hybridisierung mit dem Gegenstrang resultiert im Verschwinden der H-Bande bei 415 nm und dem Erscheinen einer neuen Bande bei 448 nm. Auch das CD-Signal wird bathochrom verschoben. Dehybridisiert man den Strang, so erscheint erneut die H-Bande bei 415 nm. Hier zeigt sich deutlich, welchen Einfluss das Gerüst der DNA-Doppelhelix auf die Anordnung der Chromophore hat.

Zur Untersuchung des Energietransfers zwischen Pyren und Perylen in Abhängigkeit der räumlichen Anordnung wurden diese über den gleichen Linker in DNA eingebaut (Abb. 17).^[60] Pyren fluoresziert in einem Bereich von 370 – 430 nm und überlappt mit der Absorption von Perylen (390 – 470 nm). *Asanuma et al.* konnten zeigen, dass bei einer selektiven Anregung von Pyren nur die Emission von Perylen zu sehen ist. Die

Kombination dieser beiden Farbstoffe ergibt ein sehr effizientes Energietransfersystem in DNA.

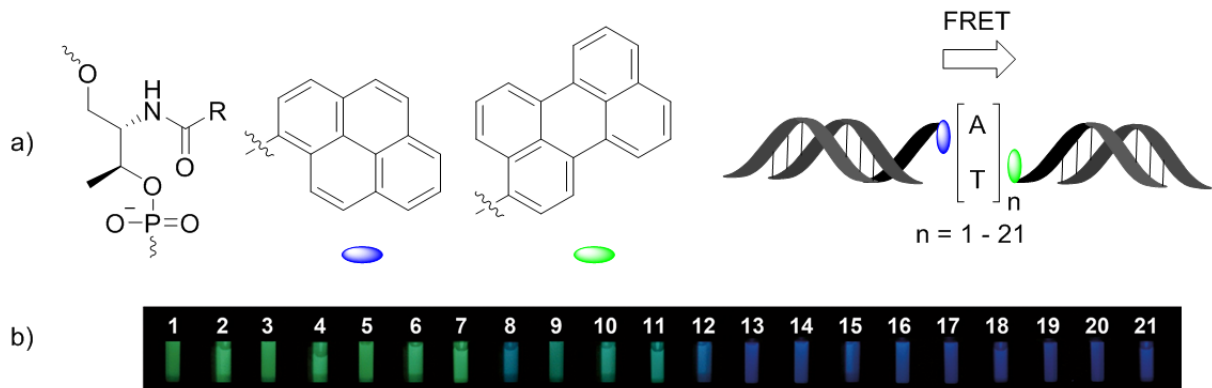


Abb. 17 a) Perylen- (grün) und Pyren-Bausteine (blau) nach *Asanuma et al.* und die verwendete DNA-Sequenz zur Untersuchung der Energietransfereffizienz. b) Bilder der verschiedenen Sequenzen in Lösung unter UV-Licht.^[60-61]

Durch den Einbau von bis zu 21 AT-Basenpaaren zwischen Pyren und Perylen konnte außerdem gezeigt werden, dass die Abnahme der Akzeptorfluoreszenz mit der Vergrößerung der Distanz zwischen den Farbstoffen einhergeht (Abb. 17) und alle 5 Basen ($n = 3, 8, 13$) die Energieübertragung stark einbricht (Abb. 18).^[61] Die Entwicklung eines theoretischen Modells, das von einer starren, zylindrischen B-DNA ausgeht, zeigte, wie sich u. a. der Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten auf die Energietransfereffizienz auswirkt. Die experimentellen Beobachtungen stimmen mit den theoretischen Berechnungen sehr gut überein.^[61]

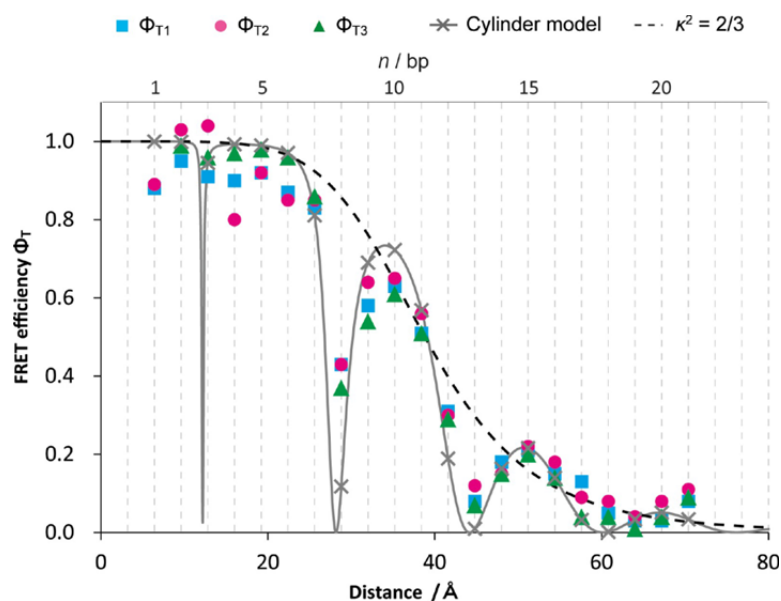


Abb. 18 Messpunkte aus stationärer (Quadrate und Kreise) und zeitaufgelöster (Dreiecke) Fluoreszenzspektroskopie. Werte des zylindrischen Modells (X). Gestrichelte Linie, willkürliche Anordnung der Chromophore.^[61]

II.2. Farbstoffstapel in DNA

Weitere Chromophore wie Phenanthren^[62], Phenanthrolin^[63] und Pyren^[64] wurden von Häner *et al.* über einen Carboxamid-Linker als nicht-nukleosidische Basenanaloga in die DNA eingebaut (Abb. 19). Der Einbau von sieben Phenanthren-Bausteinen und einem Pyren-Baustein ergab eine Lichtsammelantenne auf DNA-Basis.^[65] Die Bausteine bilden einen Stapel im Inneren der DNA-Doppelhelix. Gegenüber dem Pyren liegt eine abasische Stelle, wodurch der Chromophor besser in den Stapel interkalieren kann (schwarzer Kasten in Abb. 19). Wird der Phenanthren-Stapel bei 300 – 400 nm angeregt, so kommt es zu einer Energieübertragung und der Pyren-Phenanthren-Exciplex fluoresziert bei 450 nm. Je mehr Phenanthren-Bausteine vorhanden sind, desto intensiver wird diese Exciplex Fluoreszenz.

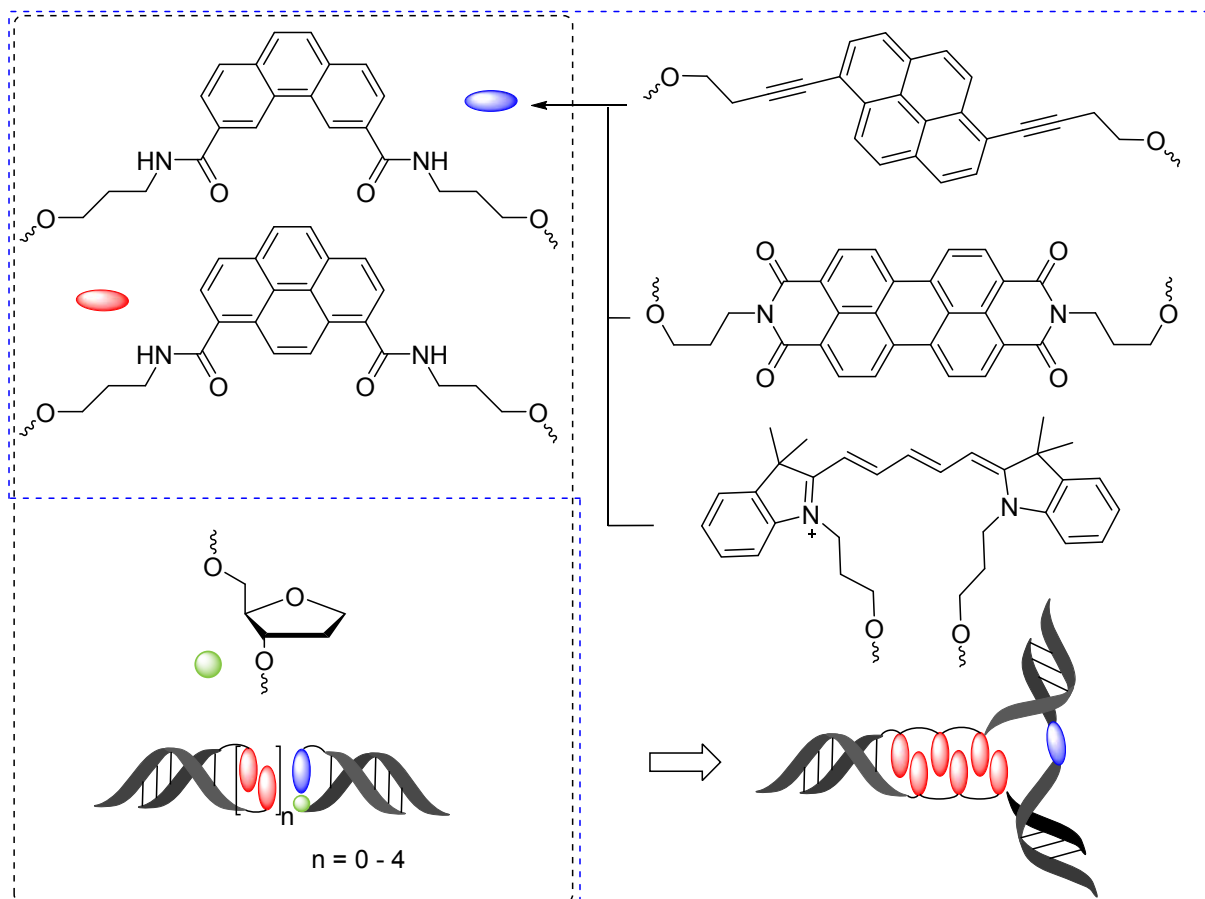


Abb. 19 Lichtsammelantennen nach Häner *et al.*^[65-66]

Eine Weiterentwicklung dieser Lichtsammelantenne zeigt sich in der Verwendung einer triangulären DNA. Diese Art von DNA besteht aus drei Strängen, deren Sequenzen so gewählt sind, dass bei der Hybridisierung eine „Y-Struktur“ entsteht. Häner *et al.* fügten eine Lichtsammereinheit, bestehend aus einem Phenanthren-Stapel, in den einen Arm der triangulären DNA ein. Dieser befindet sich am Kreuzungspunkt in räumlicher Nähe zu einem austauschbaren Energieakzeptor

(blauer Kasten in Abb. 19). Als Akzeptoren wurden Pyren, Perylenbisimid und ein Cyaninfarbstoff untersucht. In allen Fällen konnte eine Energieübertragung beobachtet werden. Erwähnenswert ist die große Verschiebung zwischen Anregungswellenlänge (320 nm) und Emissionswellenlänge (650 nm) im Falle des Cyaninfarbstoffs von 330 nm.^[66]

Ein letztes Beispiel für den Einbau eines Farbstoffs mittels Linker soll anhand des Perylen-3,4:9,10-tetracarbonsäurebisimids (PBI) gegeben werden. *Wagenknecht et al.* verwendeten einen (S)-Aminopropandiol Linker zum Einbau des PBI-Chromophors, das aufgrund seiner sehr guten Photostabilität, der hohen Fluoreszenzquantenausbeute und den starken intermolekularen hydrophoben Wechselwirkungen besondere Bedeutung in der supramolekularen Chemie gefunden hat.^[67-69] Neben dem Einbau in der Sequenzmitte, terminal^[69] und in Form von netzwerkbildender triangulärer DNA^[70] wurden auch sechs PBI-Bausteine in einen Doppelstrang inkorporiert.^[71] Die starken π - π -Wechselwirkungen erzeugen eine Aggregation, die in der Absorption und durch das Auftreten einer Excimer-Fluoreszenz bei 660 nm verfolgt werden kann. In einem Strang befinden sich drei PBI-Moleküle, die entweder durch eine abasische Stelle oder ein Thyminid voneinander getrennt sind (Abb. 20). Werden zwei Stränge mit abasischer Stelle hybridisiert, so erscheint ein CD-Signal, das auf rechtsgängige Orientierung hindeutet. Bei den durch Thyminid getrennten Strängen zeigt das CD-Signal eine linksgängige Orientierung. Somit kann durch die Wahl der Gegenbase zum PBI-Chromophor die Helikalität des Stapels beeinflusst werden.

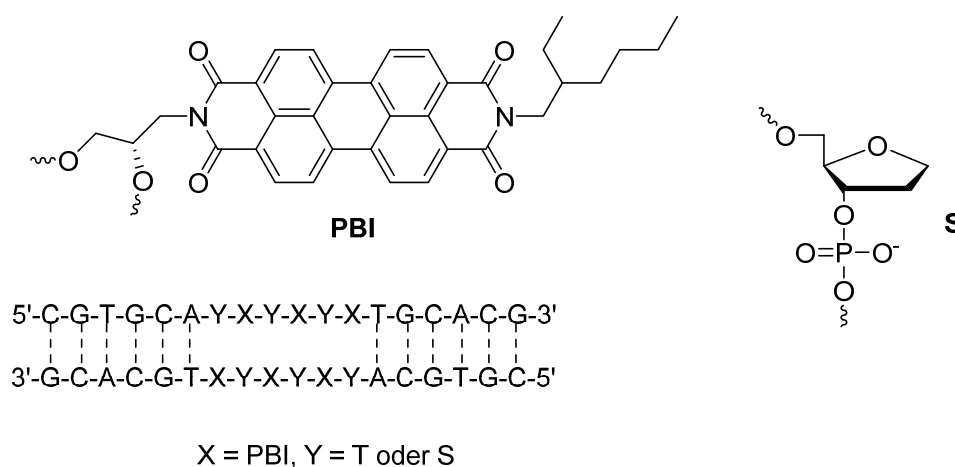


Abb. 20 Struktur der abasischen Stelle **S**, dem Perylenbisimid Baustein **PBI** nach *Wagenknecht et al.* und der DNA-Sequenz für die sechsfach modifizierte PBI-DNA.^[71]

2.4. Modifikation natürlicher Basen

Der Einbau von Tetraphenylporphyrin-^[72] und Diphenylporphyrin^[73] gelang *Stulz et al.* durch die Anknüpfung mittels einer Ethinyl-Brücke an die 5-Position von 2'-Desoxyuridin. Mit bis zu elf Einheiten in einer Reihe wurde ein Porphyrin-Stapel in DNA generiert. Die Absorptionsbande um 422 nm zeigt, mit wachsendem Porphyrin-Gehalt, eine Schulter bei ~ 404 nm. Darüber hinaus führt der mehrfache Porphyrin-Einbau zu einer Fluoreszenzlöschung. Beides sind Indizien auf eine H-Aggregation. Die CD-Spektroskopie weist im Absorptionsbereich von Porphyrin einen negativen Cotton-Effekt auf, der durch eine induzierte Chiralität des DNA-Gerüsts erklärt werden kann. Theoretische Kraftfeldberechnungen prognostizieren eine helikale Anordnung der Chromophore entlang des Einzelstrangs. Im Doppelstrang liegen diese in der großen Furche, was auf eine intakte Basenpaarung zwischen der modifizierten 2'-Desoxyuridin-Einheit und der Gegenbase schließen lässt.^[72-73]

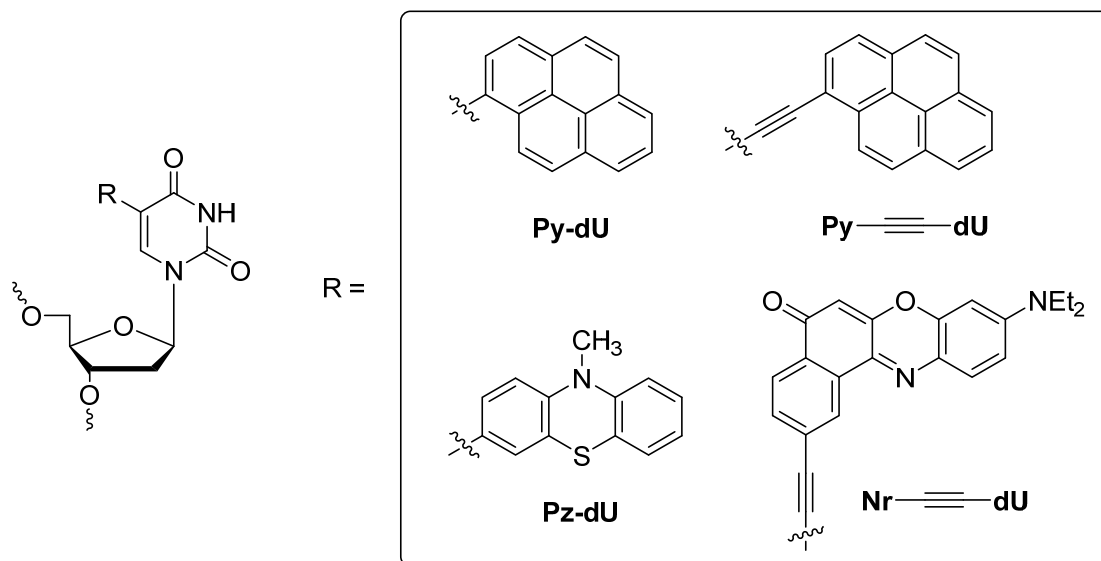


Abb. 21 2'-Desoxyuridin modifiziert an der 5-Position mit Pyren (**Py-dU**), Ethinylpyren (**Py≡-dU**), Phenothiazin (**Pz-dU**) und Ethinylnilrot (**Nr≡-dU**).

In der Gruppe von *Wagenknecht* wurden die Farbstoffe Pyren (**Py-dU**)^[74], Ethinylpyren (**Py≡-dU**)^[75], Phenothiazin (**Pz-dU**)^[76] und Ethinylnilrot (**Nr≡-dU**)^[77] an die 5-Position von 2'-Desoxyuridin geknüpft. Alle Chromophore wurden jeweils mit einer Stapelgröße von bis zu fünf Einheiten eingebaut.

Neben einer breiten Absorptionsbande im Bereich 300 – 400 nm zeigt Phenothiazin (**Pz-dU**) im fünffachen Einbau eine stark rotverschobene Fluoreszenz. Eine rechtsgängige Aggregation entlang der großen Furche wurde durch ein typisches CD-Signal bei 300 – 450 nm bestätigt.^[76]

Die Kombination von **Py-dU** und **Pz-dU** in einer alternierenden Abfolge, führt zu einer starken Löschung der Pyren-Fluoreszenz bei 465 nm.^[76] Werden hingegen fünf **Py-dU** Bausteine in DNA eingebaut, wird eine 22-mal stärkere Fluoreszenz (445 nm) im Doppelstrang, verglichen mit einem einfach **Py-dU** modifiziertem DNA-Doppelstrang (475 nm), festgestellt. Dieser Fluoreszenzanstieg, die rotverschobene Absorptionsbande und das starke zweiphasige CD-Signal (rechtsgängig) deuten auf einen sehr strukturierten Chromophorstapel hin.^[74] Im Weiteren modifizierten *Wagenknecht et al.* die Base über eine Ethinylbrücke mit Pyren (**Py≡dU**). Beim Einbau von zwei bis fünf **Py≡dU** Bausteinen wurde ein nicht linearer Anstieg der Extinktion im Bereich von Pyren (330 – 400 nm) festgestellt, was auf Grundzustandswechselwirkungen der Chromophore zurückzuführen ist. Wie bei den vorherigen Experimenten zeigt auch hier das CD-Signal eine rechtsgängige Orientierung der Chromophore, die in der großen Furche angeordnet sind. Während der Einbau von nur einem **Py≡dU** die Schmelztemperatur des Doppelstrang um 9 °C verringert, wird bei dem fünffach modifizierten Strang, nicht, wie erwartet, eine noch größere Destabilisierung, sondern nur eine um 5 °C geringere Schmelztemperatur (vgl. mit dem unmodifizierten Doppelstrang) beobachtet. Dies zeigt, dass die π - π -Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren, relativ betrachtet, zu einer Stabilisierung des Doppelstrangs führen.^[75]

Der Farbstoff Nilrot besitzt neben einem solvatochromen Charakter auch eine sehr gute Fluoreszenzquantenausbeute. Nilrot wurde ebenfalls über eine Ethinylbrücke mit 2'-Desoxyuridin verknüpft (**Nr≡dU**).^[77] Im polaren Lösungsmittel besitzt das Nukleosid ein Absorptionsmaximum von 569 nm (Methanol), in einem unpolaren Lösungsmittel wie Diethylether dagegen liegt das Maximum bei 532 nm. Außerdem tritt in unpolaren Lösungsmitteln eine Bande bei 650 nm auf, was auf die Aggregation der Monomere zurückzuführen ist.^[78] Eingebaut in DNA zeigt Nilrot eine Bande bei 615 nm und fluoresziert bei einer Wellenlänge von 655 nm. Die bathochrome Verschiebung resultiert aus der polaren wässrigen Umgebung. Werden die Nilrot-Einheiten auf fünf erhöht, so findet eine hypsochrome Verschiebung des Absorptionsmaximum auf $\lambda_{\max} = 570$ nm statt und die Fluoreszenz wird gelöscht. Diese Beobachtungen zeigen deutlich, dass Nilrot H-Aggregate ausbildet. Das CD-Spektrum bestätigt zudem einen rechtsgängigen Nilrot-Stapel.^[78]

Eine Kombination von **Nr≡dU** und **Py≡dU** führt zu einer weißlichtemittierenden DNA (Abb. 22).^[79] Das UV/Vis-Absorptionsspektrum dieser modifizierten DNA zeigt

II.2. Farbstoffstapel in DNA

die charakteristischen Banden von Pyren ($\lambda_{\max} = 401 \text{ nm}$) und Nilrot ($\lambda_{\max} = 615 \text{ nm}$) und schließt somit Grundzustandswechselwirkungen der beiden Chromophore aus.

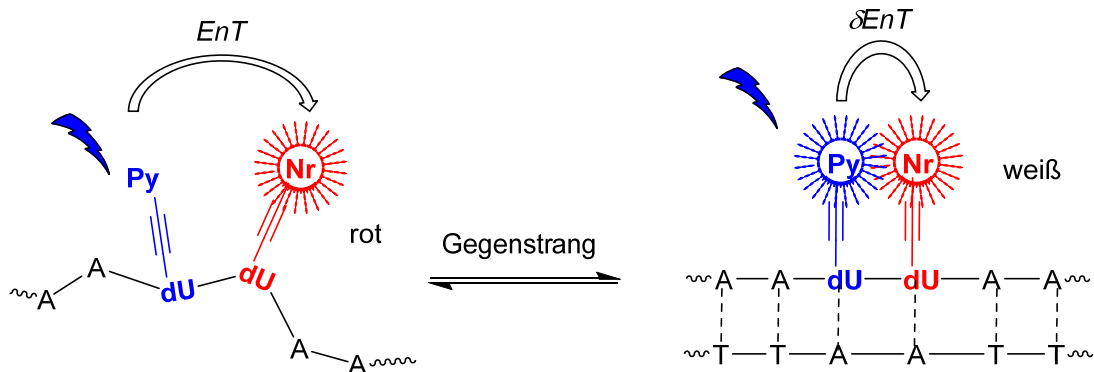


Abb. 22 Schematische Darstellung des Energietransfers zwischen Nilrot und Pyren im Einzel- und Doppelstrang bei Anregung von Pyren.^[79]

Im Einzelstrang findet bei einer Anregung des Pyrens ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$) ein Energietransfer auf Nilrot statt, der durch den Fluoreszenzanstieg bei 665 nm beobachtet werden kann (Abb. 22 a). Bildet die DNA mit dem Gegenstrang eine Doppelhelix aus, kommt es zu einem partiellen Energietransfer (δEnT) von Pyren auf Nilrot und beide Chromophore fluoreszieren in einem Bereich von $400 - 750 \text{ nm}$. Die Fluoreszenzintensitäten sind mit einem Verhältnis von $I_{440\text{nm}}/I_{665\text{nm}} = 0.96$ nahezu gleich stark und werden als weißes Licht wahrgenommen. Dieses Konzept wurde verwendet, um das Öffnen und Schließen eines „*Molecular-Beacon*“ (MB) zu visualisieren.^[80] Im geschlossenen Zustand des MBs wird die Energie von Pyren auf Nilrot übertragen und somit nur die rote Fluoreszenz wahrgenommen. Wird nun die Zielsequenz schrittweise hinzutitriert, kann in Abhängigkeit des Verhältnisses von offenem und geschlossenem Zustand ein Farbübergang von rot nach weiß, bis hin zum komplett geöffneten Zustand mit einer blauen Pyren-Fluoreszenz ($\lambda_{\max} = 435 \text{ nm}$) beobachtet werden (Abb. 23).

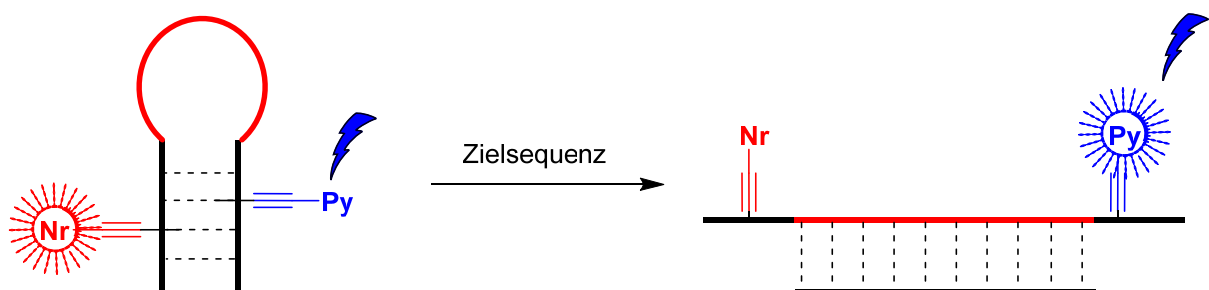


Abb. 23 Schematische Darstellung der Öffnung eines „*Molecular-Beacon*“ mit Hilfe von Nilrot und Pyren zur Visualisierung nach Wagenknecht et al.^[80]

Um möglichst den gesamten Wellenlängenbereich des sichtbaren Lichts mit einem Multichromophorstapel in DNA zu absorbieren, wurde zu **Nr≡dU** und **Py≡dU** noch

Perylen eingebaut (**Pe**≡**dU**, Abb. 24 a). Werden die drei Farbstoffe in direkter Nachbarschaft zueinander eingebaut, erfolgt eine komplette Fluoreszenzlöschung. Grundzustands- und excitonische Wechselwirkungen sind in UV/Vis- und CD-Spektren zu sehen. Diese verschwinden, wenn der Abstand zwischen den Chromophoren durch bis zu zwei AT-Basenpaare vergrößert wird. Die Anregung von Pyren ($\lambda_{\text{max}} = 380 \text{ nm}$) bewirkt dann eine Energietransferkaskade, welche zu einem starken Anstieg der Nilrot-Fluoreszenz führt (Abb. 24 b). Durch zeitaufgelöste Fluoreszenzspektroskopie konnten *Wagenknecht et al.* zeigen, dass ein Energiefluss von Pyren auf Perylen und Nilrot stattfindet. Befinden sich die Chromophore in räumlicher Nähe, führt der Elektronentransfer, als Konkurrenzreaktion zum Energietransfer, zu einer Fluoreszenzlöschung durch einen ladungstrennten Zustand.^[81]

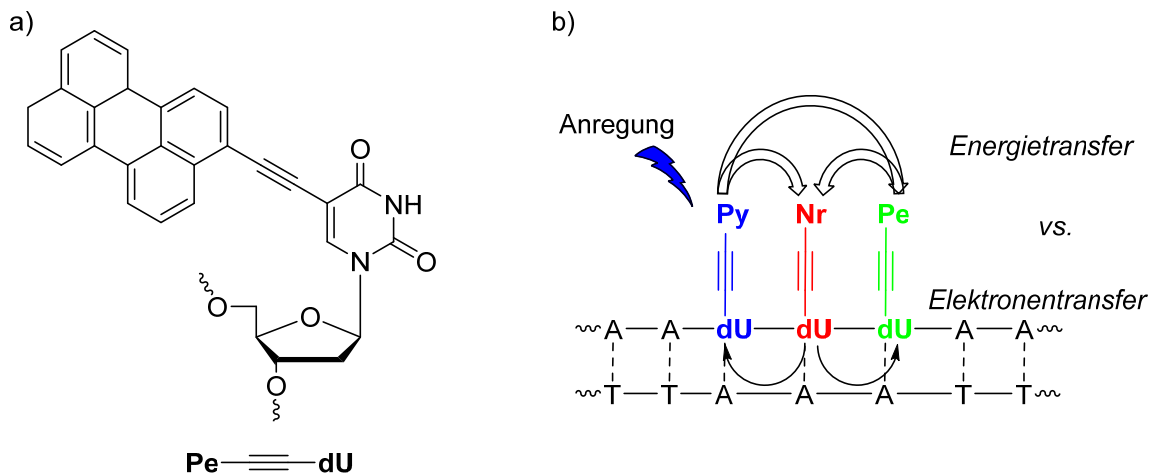


Abb. 24 a) Struktur des Ethynylperylen modifizierten 2'-Desoxyuridin Bausteins (**Pe**≡**dU**) b) Energie- und Elektronentransferkaskade in trichromophorer DNA.

Je nach Sequenz kann diese trichromophore DNA zwischen einem gerichteten Energie- bzw. Elektronenfluss eingestellt werden. Beides sind wichtige Eigenschaften, die zum Verständnis und zum Aufbau weiterer artifizierlicher Lichtsammelsysteme von Bedeutung sind.

3. Artificielle Lichtsammelsysteme

3.1. Grundlagen

Täglich trifft Sonnenstrahlung mit einer Energie von 165 W/m^2 auf die Erdoberfläche. Dies entspricht in etwa fünftausendmal dem Energiebedarf, den die gesamte Menschheit (täglich) benötigt.^[82-83] Die Nutzbarmachung dieser erneuerbaren Energie treibt schon seit Jahren Wissenschaftler an, Systeme zu entwickeln, um diese Energie in eine speicherbare Form zu bringen.^[84-85] Das große Beispiel ist die natürliche Photosynthese, bei der Sonnenenergie in chemische Energie umgewandelt und als Glukose gespeichert wird.^[86] Manche Organismen besitzen Lichtsammelkomplexe (engl. *light harvesting complex*, *LHC*), deren Aufgabe darin besteht, Licht zu absorbieren und durch Energietransfer an das Reaktionszentrum weiterzuleiten. Hier wird über mehrere Redoxreaktionen ADP in ATP und NADP^+ in NADPH/H^+ umgewandelt.^[87] Die Chlorophyll-Einheiten sind in den LHCs ringförmig mit einer Distanz von ca. 9 \AA zwischen den Magnesiumzentren angeordnet. Diese präzise und klar definierte Anordnung führt dazu, dass die Farbstoffe wie eine Einheit funktionieren, die das Licht sehr effizient absorbiert und an das ca. 40 \AA entfernte Reaktionszentrum weiterleitet.^[88-90] Nach der Lichtabsorption und den sehr schnellen Energietransferprozessen (im Pikosekundenbereich)^[91] wird in den „Dunkelreaktionen“ das gebildete ATP und NADPH/H^+ verwendet, um Glukose mithilfe von Kohlenstoffdioxid herzustellen (Calvin-Zyklus).^[92] Die Separation von Reaktionszentrum und Lichtsammelantennen ermöglicht, durch die größere Anzahl an Antennen gegenüber einem Reaktionszentrum, eine Instandhaltung der Reaktionen auch bei geringer Lichteinstrahlung.^[88, 91] Eine sehr effiziente Nutzung der Lichtenergie (ohne Wärmeverlust) ist außerdem durch eine stabile Quantenverschränkung (Teilchen sind nicht unabhängig und können nur in einem gemeinsamen Zustand beschrieben werden) der Photonen gegeben.^[93] Somit wird in Hinblick auf die artifizialen Lichtsammelsysteme ersichtlich, dass ein großes, klar strukturiertes Farbstoffnetzwerk mit einem großen Absorptionsbereich im sichtbaren Licht notwendig ist, um gesammelte Energie verlustfrei an ein Reaktionszentrum weitergeben zu können. An diesem findet anschließend eine Umwandlung in chemische Energie statt. Es gibt viele Ansätze, künstliche Lichtsammelsysteme zu

entwickeln bzw. herzustellen. In diesem Abschnitt werden jedoch nur die Systeme betrachtet, bei denen als Gerüst für die Farbstoffanordnung DNA verwendet wird.

3.2. Lichtsammelantennen auf DNA-Basis

In Kapitel II.2 wurden schon einige Beispiele gezeigt, wie farbstoffmodifizierte DNA verwendet werden kann, um Lichtsammelantennen zu generieren. Im Folgenden werden zwei Beispiele dargestellt, die einen komplexeren Ansatz verfolgen und dabei den Aspekt der Selbstorganisation in Betracht ziehen.

Die Arbeitsgruppe von *Liu* verwendete ein DNA-Bündel aus sieben Helices (7HB, nach *Seeman*^[94]), um daran Chromophore zu arrangieren.^[95] Als Donor wurde Pyren ($\lambda_{\max, \text{abs}} = 400 \text{ nm}$, $\lambda_{\max, \text{emi}} = 438 \text{ nm}$), Cy3 als Zwischenstufendonor ($\lambda_{\max, \text{abs}} = 550 \text{ nm}$, $\lambda_{\max, \text{emi}} = 566 \text{ nm}$) und Alexa Fluor 647 (AF, $\lambda_{\max, \text{abs}} = 650 \text{ nm}$, $\lambda_{\max, \text{emi}} = 668 \text{ nm}$) als Akzeptor verwendet. Die Donoren sind in den äußeren sechs Helices lokalisiert und der Akzeptor in der zentralen Helix (Abb. 25). Stationäre und zeitaufgelöste Fluoreszenzmessungen zeigten, dass bei einer selektiven Anregung von Pyren ein Energietransfer über Cy3 zum Akzeptor (AF) stattfindet.

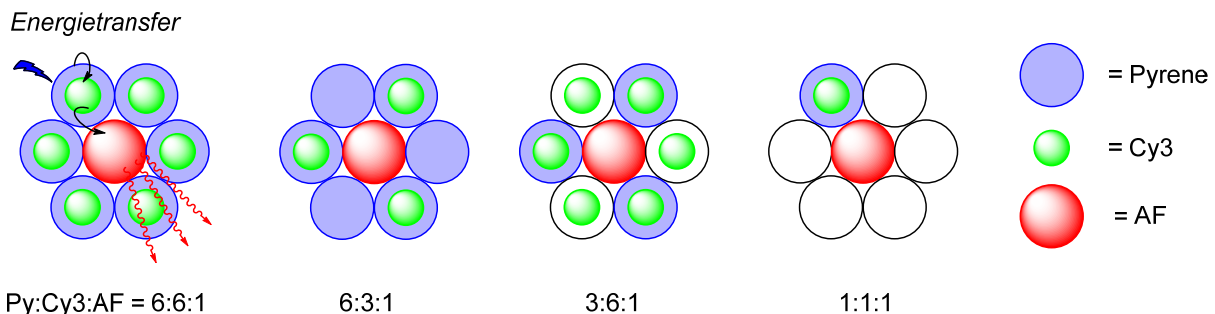


Abb. 25 Schematische Darstellung des DNA-Bündels aus sieben Helices (7HB) nach *Liu et al.*^[95] Ein Kreis entspricht einer Helix. Die Farbigkeit gibt an, mit welchen Farbstoffen die Helix modifiziert ist.

Durch unterschiedliche Verhältnisse von Pyren zu Cy3 konnte gezeigt werden, dass durch eine ausreichende Menge an Cy3 ein effizienter Energietransfer auf AF möglich ist. Die zeitaufgelösten Fluoreszenzmessungen ergaben Transfergeschwindigkeiten im Pikosekundenbereich.

Roelfes et al. knüpften ein Cumarinderivat an das 5'-Ende eines kurzen Oligonukleotids (3' – GGGTT – 5').^[96] Durch Zugabe eines Kaliumpuffers zu den modifizierten Oligonukleotiden bildet sich ein G-Quadruplex aus und das verwendete Porphyrinderivat lagert sich am Ende des Komplexes an.^[97] In diesem System dienen die Cumarine als Donoren und das Porphyrinderivat als Akzeptor (Abb. 26). Die

II.3. Artificielle Lichtsammelsysteme

Anlagerung des Porphyrins kann durch Veränderungen im Absorptionsspektrum sowie das Auftreten einer negativen CD-Bande um 440 nm nachgewiesen werden. Außerdem erscheint eine dem Cumarin zugeordnete intensive CD-Bande bei 360 nm, die nur in Anwesenheit des Porphyrins auftritt und somit auf eine sehr geordnete supramolekulare Struktur zwischen den einzelnen Komponenten hindeutet.

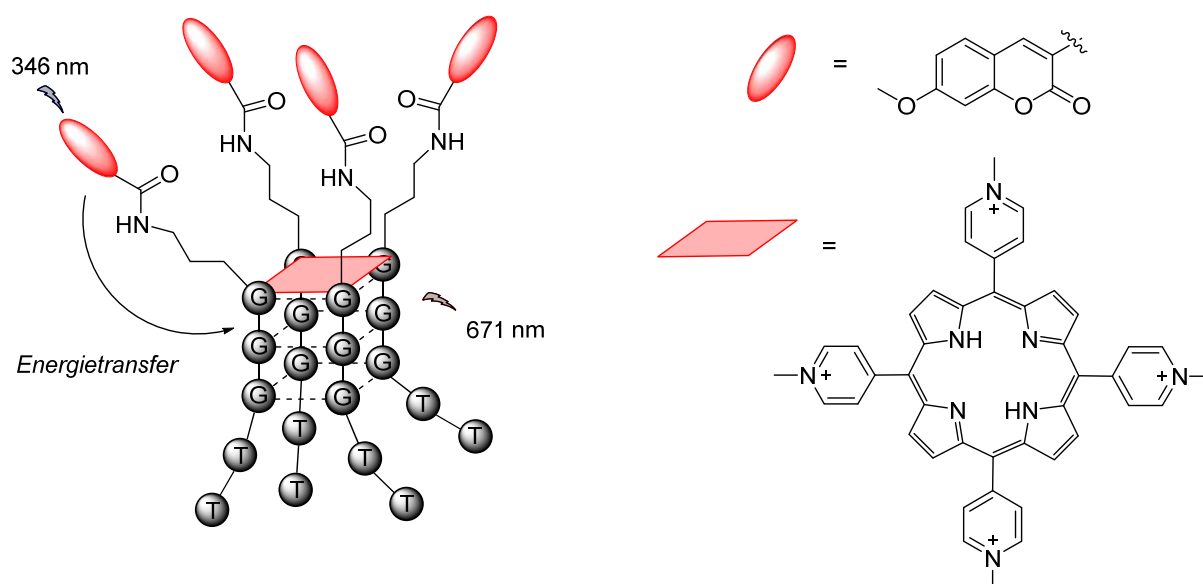


Abb. 26 Strukturen der verwendeten Porphyrin und Cumarinderivate sowie schematische Darstellung der G-Quadruplex Lichtsammelantenne nach Roelfes *et al.*^[96]

Anregungsspektren der Porphyrinmission ($\lambda_{\max, \text{emi}} = 671 \text{ nm}$) zeigen durch das Auftreten der Bande bei 346 nm einen Energietransfer ausgehend von den Cumarin-Donoren. Titrationsexperimente ergaben, dass bei einem Mischungsverhältnis von G-Quadruplex:Porphyrin = 1:1 ein Maximum des Energietransfers erreicht wird. Daraus ergibt sich, dass nur angelagerte Porphyrine als Akzeptoren fungieren.

In diesen zwei Beispielen wurde gezeigt, wie Lichtsammelantennen anhand von supramolekularen DNA-Strukturen aufgebaut werden können. Dabei wurden mehrere gleiche Farbstoffe gewählt, um einen Energietransfer zu einem zentralen Akzeptorfarbstoff zu ermöglichen.

Durch die Verankerung einer porphyrinmodifizierten DNA in einer Lipiddoppelschicht und anschließender Anlagerung von YO-PRO-1-Farbstoffen an die DNA untersuchten Albinsson *et al.*, auf welchen Wegen der Energietransfer zwischen den Farbstoffen und dem Porphyrin stattfindet (Abb. 27).^[98] Anhand von stationärer und zeitaufgelöster Fluoreszenz sowie einer Markov-Ketten-Simulation wurde ersichtlich, dass prinzipiell der direkte Energietransfer von YO-PRO-1 zum Porphyrin vorliegt. Ist

die DNA mit YO-PRO-1 vollbesetzt, herrscht eine hohe Farbstoffkonzentration. Die außenliegenden Farbstoffe übertragen somit erst ihre Energie auf einen nähergelegenen Farbstoff, der dann die Energie auf das Porphyrin überträgt.

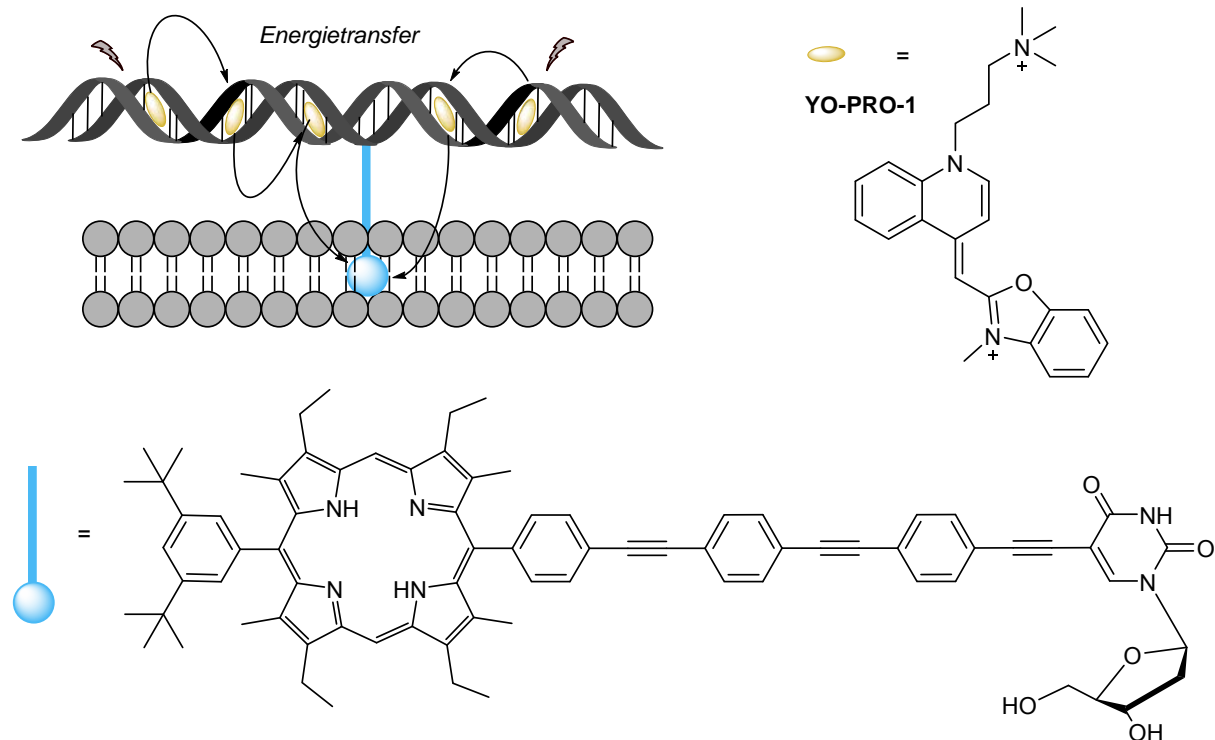


Abb. 27 YO-PRO-1 besetzte DNA mit Porphyrin-Verankerung in Lipiddoppelschicht nach *Albinsson et al.*^[98]

3.3. Lichtsammelsysteme auf DNA-Protein-Basis

Eine Weiterentwicklung stellt die Kombination von DNA und Proteinkomplexen dar. Beide Biomoleküle dienen als Grundgerüst, Farbstoffe oder anderen organische Moleküle zu arrangieren. Neuartige künstliche Lichtsammelkomplexe auf DNA-Protein-Basis, die durch Selbstassemblierung generiert werden können, wurden von *Duff et al.* entwickelt.^[99] Damit eine Affinität zwischen DNA und Protein bei neutralem pH-Wert (pH = 7) gewährleistet ist, erfolgte die Amidierung der Carboxylgruppen des *Bovine Serumalbumin* Proteins (BSA) mit Ethylendiamin. Dadurch wurde eine kationische Oberfläche geschaffen, die eine attraktive Wechselwirkung mit dem negativ geladenen Rückgrat der DNA eingeht.^[100] Der Farbstoff *Hoechst 33258* wurde als Donor eingesetzt. Er besitzt eine hohe Affinität, sich in die kleine Furche der DNA anzulagern, was mit einem Fluoreszenzanstieg des Farbstoffs einhergeht.^[101-102] Als Akzeptorfarbstoff dient in diesem Fall das Cumarin 540A, welches eine hohe Affinität gegenüber BSA besitzt.^[103] Somit ist der Donor in der DNA lokalisiert und der Akzeptor findet sich am Protein wieder (Abb. 28 a). Die

II.3. Artificielle Lichtsammelsysteme

selektive Bindung wurde jeweils mithilfe der CD-Spektroskopie nachgewiesen.^[99] Erst wenn alle vier Komponenten einen Komplex bilden, steigt bei Anregung des Donors ($\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$) die Akzeptorfluoreszenz ($\lambda_{\text{max}} = 580 \text{ nm}$) um das 540-fache an.

Um einen ladungstrennten Zustand zu erhalten, gingen *Yan et al.* einen Schritt weiter. Sie isolierten das von einem Reaktionszentrum der Photosynthese bekannte Protein (RC) aus *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.1 und modifizierten es mit einer triangulären DNA. Dabei wurde ein DNA-Strang kovalent an das Protein geknüpft. Die zwei anderen Stränge enthielten Cy3 und Cy5 als Donor-Akzeptor-Farbstoffe (Abb. 28 b).^[104] Die Emission des Donors überlappt mit der Absorption des Akzeptors, dessen Emission wiederum mit der Absorption des Bakteriochlorophylls im Reaktionszentrum überlappt. Somit konnte eine Energietransferkaskade von der DNA zum Protein aufgebaut werden. Im Reaktionszentrum findet anschließend über mehrere Schritte eine Ladungstrennung zwischen dem Bakteriochlorophyll (P) und einem Ubichionon-10 (Q_A) statt. Verschiedene Fluoreszenzmessungen ergaben, dass eine Energieübertragung vom Donor auf das Reaktionszentrum nur erfolgen kann, wenn Cy5 vorhanden ist und als „Energiebrücke“ dient. Das ganze System deckt einen Absorptionsbereich von 350 – 900 nm ab. Aussagen über die Bildung von P^+ und somit dem ladungstrennten Zustands in Abhängigkeit des Donors können durch die Differenz der Absorptionsspektren, einmal im Dunkeln und einmal bei Belichtung des Donors, getroffen werden. Dabei ist die Differenz des Absorptionsmaximums von P^+ ($\lambda_{\text{max}} = 862$), im Vergleich zum RC ohne DNA-Lichtsammelantenne, wesentlich stärker.

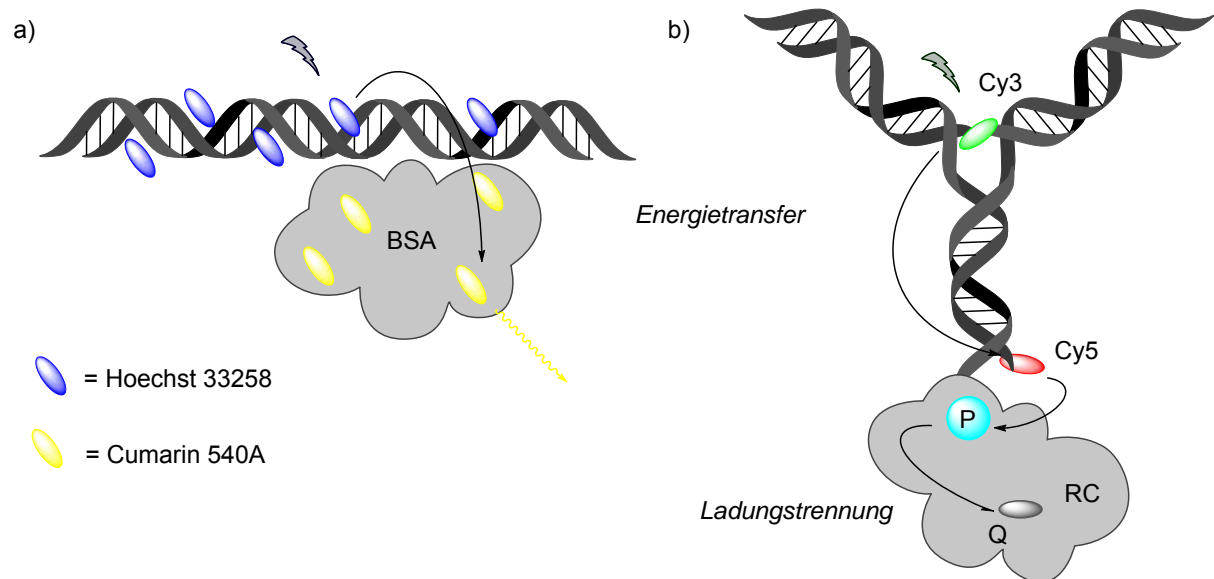


Abb. 28 Schematische Darstellung des DNA-Protein Lichtsammelsystem a) nach *Duff et al.*^[99] und b) nach *Albinsson et al.*^[98]. Dabei ist P = Bakteriochlorophyll und Q_A = Ubichionon-10.

Die hier vorgestellten Konzepte gehen alle in die Richtung, Lichtenergie zu sammeln, die dann durch einen Energiegradienten zu einem Zielmolekül fließt. Der letztgenannte Ansatz geht soweit, dass ein ladungstrennender Zustand durch Energieübertragung initiiert wird. Jedoch fehlt in allen Fällen eine gezielte Anwendung um diese Energie in Form von chemischer Energie zu speichern.

4. DNA-templierte Selbstassemblierung

4.1. Allgemeines

In der Oligonukleotidsynthese hat sich über die letzten Jahre eine automatisierte Festphasensynthese, bei der die Phosphoramiditmethode nach *Caruthers* und *Beaucage* verwendet wird, etabliert.^[105-106] Bei dieser Methode werden die Bausteine als Phosphoramiditderivate eingesetzt und durchlaufen einen vierstufigen Syntheszyklus (Entschützung, Kupplung, *Capping* und Oxidation siehe Syntheseprotokoll S. 121). Die Anforderungen an künstliche Bausteine werden hierbei klar. Damit ein erfolgreicher Einbau gewährleistet wird, müssen diese gegenüber sauren, basischen und oxidativen Bedingungen stabil sein. Weitere limitierende Faktoren sind die Tatsachen, dass bei einem Mehrfacheinbau von artifiziellen Basen Löslichkeitsprobleme auftreten und dass bei längeren Oligonukleotiden die Ausbeuten gering werden, wodurch maximal 150 Basen eingebaut werden können.^[48] Um die genannten Probleme zu umgehen, bietet sich als Alternative die Selbstassemblierung von achiralen Farbstoffen entlang eines chiralen Templats an.^[107] Die DNA bietet sich aufgrund der geometrischen Eigenschaften und der Sequenzerkennung als ein mögliches Templat für die Selbstassemblierung von Monomeren an. Mithilfe der DNA-templierten Selbstassemblierung können die Mechanismen der Anlagerung und das Verhalten von größeren Farbstoffstapeln hinsichtlich ihrer optischen Eigenschaften, untersucht werden.^[108] Die Selbstassemblierung von organischen Molekülen wird u. a. für die Entwicklung von neuartiger Optoelektronik (z.B. OLEDs) verwendet.^[109] Im Bereich der Nano- und Biotechnologie finden supramolekulare DNA-Materialien immer mehr Anwendung.^[110-111] Die Kombination beider Gebiete könnte zur Entwicklung optoelektronischer DNA-Nanotechnologie führen. Durch die Verwendung von selbstassemblierenden Systemen ist ein nützliches Werkzeug gegeben, Sequenz, Größe und Geometrie durch die Wahl des chiralen Templats zu steuern.^[112-115] Komplexe Systeme können somit aus einfach zugänglichen Monomeren gebildet und durch den entsprechend geringeren Synthesaufwand können hierbei Kosten gespart werden. Die typischen Motive worüber supramolekulare Systeme aufgebaut und zusammengehalten werden, sind Wasserstoffbrückenbindungen, elektrostatische und π - π -Wechselwirkungen^[109, 116] sowie Metallkomplexe.^[117]

Eine ideale Methode, die supramolekulare Strukturierung und deren Aggregation zwischen den achiralen Molekülen zu detektieren, wird durch die CD-Spektroskopie gegeben.^[107] In Kombination mit UV/Vis- und Fluoreszenzspektroskopie können Aussagen über Helikalität, Exciton-Kopplung und Aggregationsmuster (H oder J) getroffen werden. Die Bestimmung von thermodynamischen Größen wie Enthalpie (ΔH) oder Entropie (ΔS), Gleichgewichtskonstanten und Schmelztemperaturen lassen sich durch konzentrations- bzw. temperaturabhängige CD- und UV/Vis-Messungen ermitteln.^[14, 107] Auswertungen des CD- bzw. UV/Vis-Verlaufs bei einer Wellenlänge in Abhängigkeit von Temperatur oder Konzentration geben Aufschluss über den zugrundeliegenden Aggregationsmechanismus (Abb. 29).

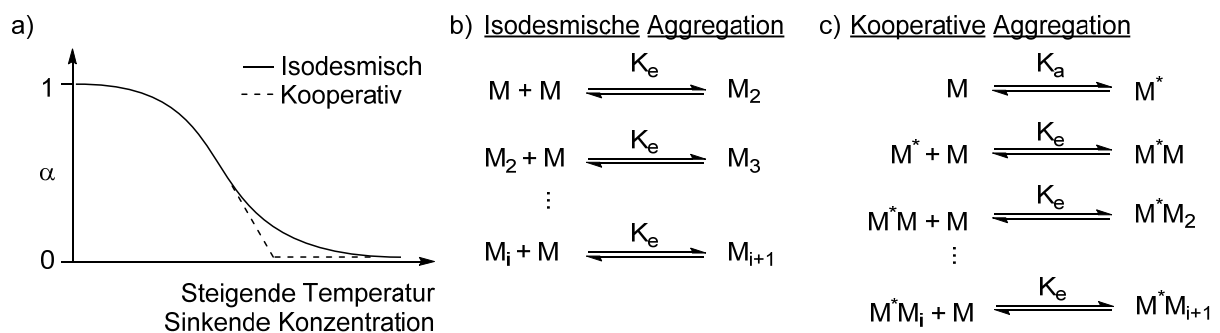


Abb. 29 a) Schematischer Kurvenverlauf der Aggregation (α) in Abhängigkeit von Temperatur und Konzentration. Selbstassemblierungsmechanismen der Monomere im Falle von b) isodesmischem oder c) kooperativem Verhalten.

Im Falle des isodesmischen Mechanismus findet ein gleichmäßiges Wachstum aggregierter Monomere mit der Gleichgewichtskonstante K_e statt. Der Aggregationsgrad α besitzt einen sigmoidalen Kurvenverlauf, dessen Wendepunkt der Schmelztemperatur des Aggregats entspricht. Der kooperative Mechanismus ist durch eine langsame Kernbildung der Monomere bis zu einer gewissen Größe mit der Gleichgewichtskonstante K_a gekennzeichnet. Besitzt der Kern die nötige Stapelgröße kommt es zum Wachstum des Aggregats. Sobald der Kern gebildet ist, steigt die Kurve des Aggregationsgrads sprunghaft am Punkt der kritischen Konzentration bzw. Temperatur an und das Wachstum findet mit einer Gleichgewichtskonstante K_e statt. Schlussendlich kann durch die Wahl der Konzentration und der Temperatur Einfluss auf den Grad der Aggregation genommen werden.^[14] Die optische Spektroskopie liefert viele Informationen über das gebildete Aggregat, dennoch sind genaue Beobachtungen und teilweise komplexe Auswertungen notwendig, um Aussagen über das Aggregationsverhalten treffen zu können. Besteht das System aus mehr als zwei Komponenten (z.B. ein

II.4. DNA-templierte Selbstassemblierung

Templat und zwei verschiedene Monomere), wird dadurch die Auswertung weiter erschwert.^[107]

Die DNA ist nicht nur ein Speichermedium, sondern aufgrund der Sequenzerkennung, durch Wasserstoffbrücken und der stabilisierenden π - π -Wechselwirkungen im Basenstapel ein Beispiel für Selbstassemblierung aus der Natur.^[116-117] Im Folgenden soll die Anlagerung von Monomeren entlang eines DNA-Einzelstrangs beschrieben werden.

4.2. Anlagerung an ein DNA-Templat

Mit der Anlagerung von diaminotriazinmodifizierten Naphthalinderivaten entlang eines Oligo-2'-desoxythymidins (dT₄₀) gelang *Schenning et al.* die erste Aggregation von Monomeren, gestützt durch einen Templat-DNA-Strang (Abb. 30).^[11]

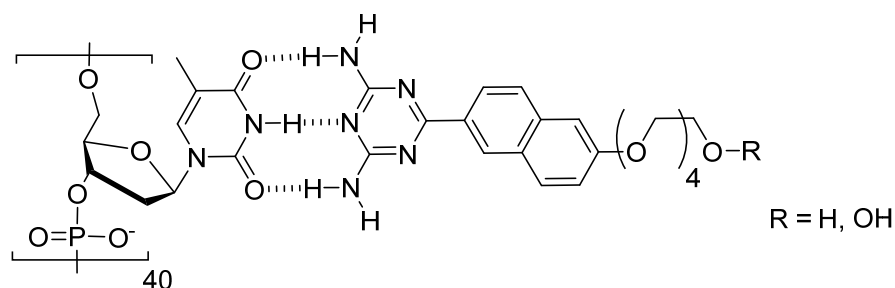


Abb. 30 Diaminotriazinmodifiziertes Naphthalin und Bindungsmotiv mit Oligodesoxythymidin.^[11]

Die achiralen Naphthalinderivate wiesen nach Zugabe des DNA-Strangs ein ECD-Signal im Absorptionsbereich des Naphthalins auf, das durch die chirale Aggregation entlang des DNA-Strangs bedingt ist. Temperaturabhängige Messungen zeigten ein kooperatives Aggregationsverhalten. Außerdem wurde im Verlauf der Absorption eine frühere Aggregation im Vergleich zu den CD-Messungen beobachtet. Dies kann dadurch begründet werden, dass zuerst die Wasserstoffbrücken ausgebildet werden, bevor es zu einer helikalen Anordnung kommt.^[11] In weiteren Untersuchungen wurde gezeigt, dass prinzipiell eine konzentrationsabhängige Aggregation vorliegt, genauer betrachtet aber die Monomer-Monomer- und Monomer-Templat-Wechselwirkungen ausschlaggebend sind. So führt eine starke Monomer-Templat-Interaktion, die dennoch eine schwache Monomer-Monomer-Interaktion besitzt, zu keiner Aggregation, da die Stabilisierung über die π - π -Wechselwirkung nicht gegeben ist. Umgekehrt führt eine starke Monomer-Monomer-, aber schwache Monomer-Templat-Interaktion zu keiner

Aggregation der Monomere entlang des Templats.^[13] Zudem konnte gezeigt werden, dass bei kurzen Templatsträngen (< 10 Basen) eine geringe Anlagerungseffizienz gegeben ist, die nur durch eine hohe Konzentration der Monomere verbessert werden kann. Theoretische Berechnungen bestätigten das beobachtete Verhalten und ergaben eine Mindestlänge von 8 Basen für eine erfolgreiche Selbstassemblierung der Naphthalinderivate.^[13] Ein weiteres Naphthalinderivat von *Schenning et al.*, das eine Diaminopurin-Einheit trägt (Abb. 33) und somit ein größeres π -System besitzt, das zu einer höheren Stabilisierung des Aggregats beitragen soll, wurde auf den Einfluss des pH-Werts untersucht.^[118] Wird der pH-Wert größer sieben eingestellt, so erscheint im CD-Spektrum ein typisches Signal für eine rechtsgängige Anordnung der Naphthalin-Monomere. Hingegen bei einem pH-Wert kleiner drei kehrt sich das Signal um und zeigt eine linksgängige Anordnung. Der Grund für diese Schaltbarkeit liegt darin, dass in einer linksgängigen DNA (Z-DNA) ein größerer Abstand zwischen den Basen vorliegt und somit die protonierte Spezies des diaminopurinmodifizierten Naphthalinderivats eine geringere elektrostatische Repulsion erfährt.^[118] Diaminopurinmodifizierte Porphyrine sind ebenfalls in der Lage an einen Oligodesoxythymidinstrang anzulagern. Die Arbeitsgruppe um *Balaz* verwendete dieses Porphyrinderivat, um die Einflüsse der Abkühlgeschwindigkeit und der Ionenstärke der Umgebung auf das Aggregationsverhalten zu untersuchen (Abb. 31).^[12]

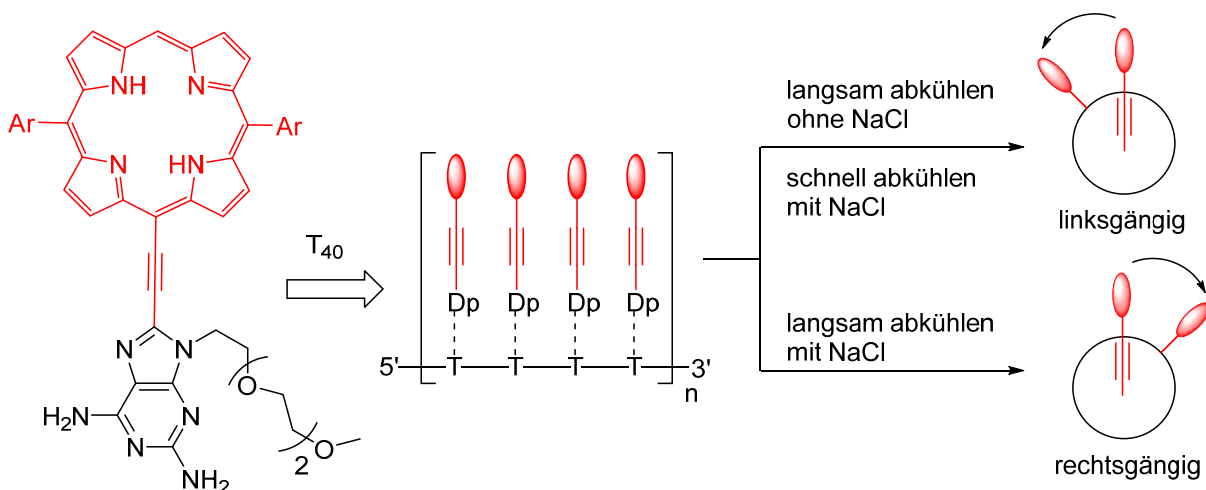


Abb. 31 Struktur des diaminopurinmodifizierten Porphyrins und schematische Darstellung der Anlagerung an ein Templat-DNA-Strang. Variation der Ionenstärke und der Abkühlgeschwindigkeit führt zur unterschiedlichen Orientierung der Porphyrine.^[12]

Ein langsames Abkühlen der Probe (85 °C → 20 °C, Abkühlrate: 1 °C/min), führt zu einer linksgängigen helikalen Anordnung der Porphyrine entlang des Templat-DNA-

II.4. DNA-templierte Selbstassemblierung

Strangs. Wird die Ionenstärke der Umgebung durch Zugabe von NaCl erhöht, so führt ein langsames Abkühlen zur spiegelbildlichen Anordnung. Eine linksgängige Helix wird zudem bei hoher Ionenstärke durch schnelles Abkühlen erzielt (85 °C → 20 °C in 5 min).^[12] Berechnungen mittels zeitabhängiger Dichtefunktionaltheorie bestätigten die Interpretationen der CD-Spektren bezüglich der Helikalität.^[12, 119]

Die Frage, ob sich pyrenmodifizierte Nukleoside entlang eines Templats anlagern und inwiefern sich die spektroskopischen Daten mit denen des kovalent verknüpften Pyren-Stapels in DNA unterscheiden, beantworteten *Wagenknecht et al.*. Als Monomer wurde 2'-Desoxyuridin mit Ethinylpyren an der 5-Position verwendet und entlang eines Oligo-2'-desoxyadenosin-Templatstrangs angelagert (Abb. 32).^[120]

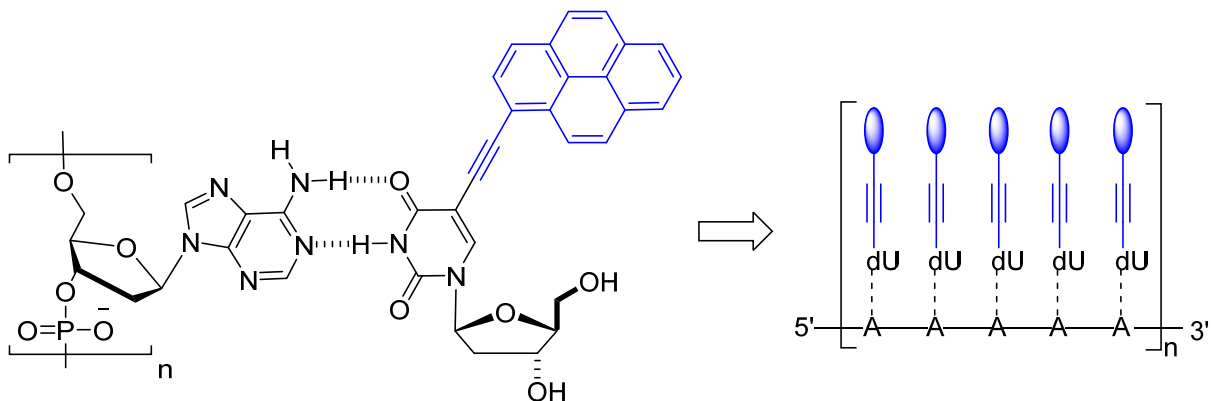


Abb. 32 Struktur des 5-Ethinylpyren-2'-desoxyuridins und die schematische Darstellung der Anlagerung an ein Oligo-2'-desoxyadenosin-Templatstrang.^[120]

Beachtlich ist hierbei die selektive Anlagerung von **Py≡dU**. In Wasser oder in Gegenwart des „falschen“ Templatstrangs (Oligo-2'-desoxythymidin) bildet **Py≡dU** einen unlöslichen Niederschlag. Nur wenn der „richtige“ Templatstrang (Oligo-2'-desoxyadenosin) anwesend ist, kann **Py≡dU** im wässrigen Medium in Lösung gebracht werden. Die optischen Eigenschaften des Pyren-Stapels (Absorption und Fluoreszenz) zeigen ein sehr ähnliches Verhalten wie im kovalent verknüpften System (siehe Kapitel II.2.4). Das CD-Spektrum des Aggregats zeigt ein spiegelbildlichen Verlauf zu dem kovalenten Ansatz und deutet somit auf ein linksgängiges Arrangement der nichtkovalent gebundenen **Py≡dU** Monomere hin.^[75, 120]

Die Möglichkeit, dass ein gerichteter Energietransfer in einem DNA-templierten, selbstassemblierten System erfolgen kann, wurde von *Schenning et al.* gezeigt. Der Energiedonor war hierbei ein diaminopurinmodifizierter Naphthalinstapel, dessen Energie auf ein Cy3.5 Farbstoff, geknüpft an das 5'-Ende des Templat-DNA-Stangs,

übertragen wurde (Abb. 33). Die Löschung der Naphthalinfluoreszenz mit gleichzeitigem Auftreten der Cy3.5-Emission zeigte einen erfolgreichen Energietransfer in diesem System.^[121]

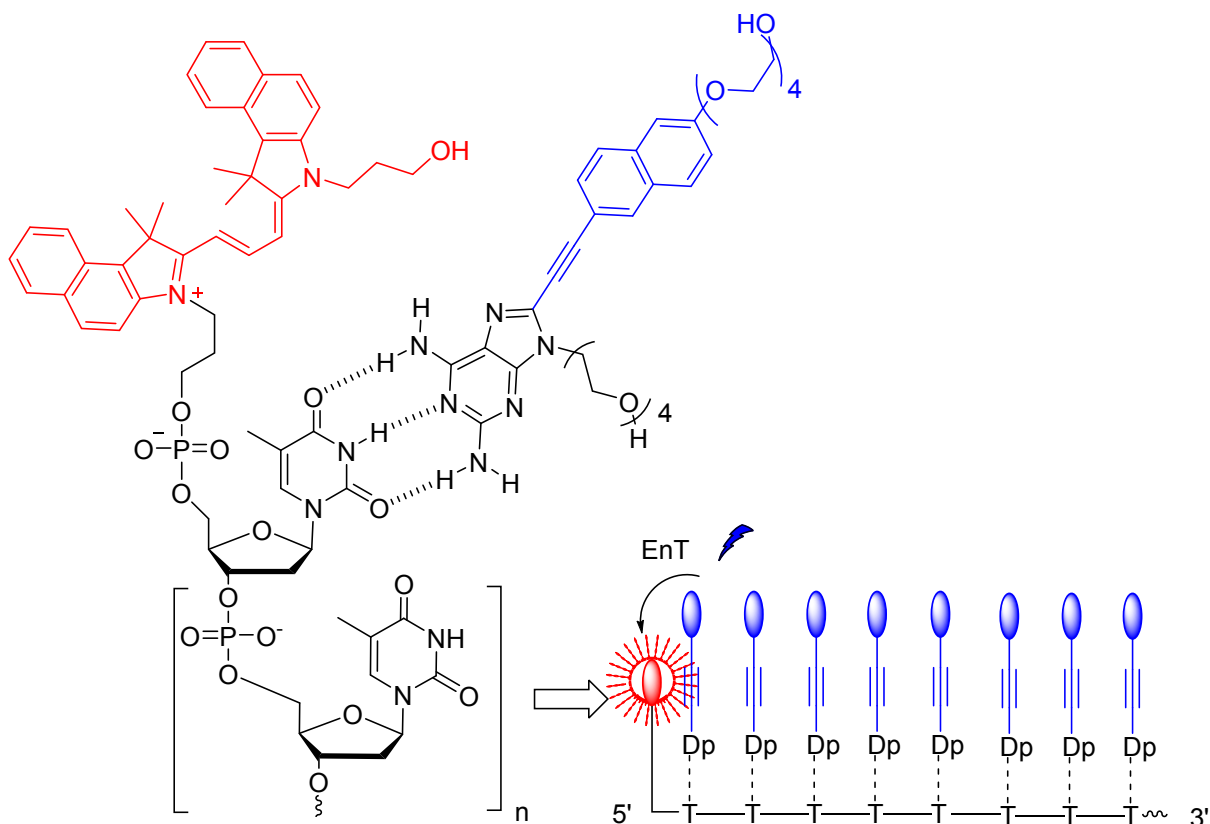


Abb. 33 Struktur des Cy3.5 modifizierten Oligodesoxythymidin-Templatstrangs und des diaminopurinmodifizierten Naphthalinderivats nach *Schenning et al.* sowie die schematische Darstellung des Energietransfers vom Naphthalinderivat auf den Cy3.5-Farbstoff.^[121]

In den hier gezeigten Beispielen erfolgte eine Selbstassemblierung von verschiedenen Monomeren, gesteuert durch ein strukturgebendes DNA-Templat. Veränderungen der Abkühlgeschwindigkeit, des pH-Werts oder der Ionenstärke können zu unterschiedlicher Helikalität führen, die mittels CD-Spektroskopie detektiert werden kann. Über Wasserstoffbrücken werden die Positionen im DNA-Strang erkannt und durch π - π -Wechselwirkungen zwischen den Monomeren der Stapel stabilisiert. Metallkomplexe dienen als weiteres Erkennungsmotiv in der supramolekularen Chemie und sollen im folgenden Abschnitt kurz erwähnt werden.

4.3. Selbstassemblierung durch Metallkomplexe

Verlässt man den eindimensionalen Raum und möchte zwei- oder sogar dreidimensionale DNA-Konstrukte entwickeln, so bietet sich das sogenannte „DNA-Origami“ an. Hier werden Gebilde wie z.B. ein lachendes Gesicht, Dreiecke oder

II.4. DNA-templierte Selbstassemblierung

sogar Männchen im Nanometerbereich, allein durch sequenzabhängige DNA-Faltung erzielt.^[122-126] Auch hier ist es erstrebenswert, diese großen Konstrukte durch Selbstassemblierung kleinerer Einheiten aufzubauen. Um eine größere Varianz zu erzielen bietet, es sich an, Metallkomplexe als Verknüpfungsmotiv in Betracht zu ziehen.^[127-128] Viele Arbeitsgruppen beschäftigen sich mit dem Einbau von Liganden als Basensurrogate und untersuchen die dabei resultierende Stabilisierung der DNA-Doppelhelix durch Komplexbildung bei Zugabe von Metallionen.^[129-131] Die metallvermittelte Basenpaarung hat zudem den Vorteil, dass eine erhöhte Leitfähigkeit auftritt, was wiederum interessant im Bezug auf Nanoelektronik sein kann.^[132] Werden die Liganden am Ende des DNA-Strangs oder durch eine Basenmodifikation in der großen Furche platziert, können auch helixübergreifende und metallvermittelte Strukturen aufgebaut werden.^[117, 127, 129, 133] Besonders der dreizählige Ligand 2,2':6',2''-Terpyridin (Terpy) weckte großes Interesse, da er mit vielen Übergangsmetallen einen oktaedrischen Komplex bildet.^[134] Der Einbau von Terpy mithilfe eines flexiblen Linkers erlaubte die Konstruktion von supramolekularen Objekten durch metallvermittelte Selbstassemblierung.^[135-138] Außerdem wurde Terpy über eine Ethinyl-^[139-141] bzw. Ethinylphenyl-Brücke^[142] an die 5-Position von 2'-Desoxyuridin geknüpft. Lineare Ketten bzw. röhrenartige Konstruktionen konnten über metallvermittelte „Ende-an-Ende“- oder „Seite-an-Seite“-Verknüpfungen realisiert werden und mittels Gelelektrophorese oder Rasterkraftmikroskopie detektiert werden.^[139-142]

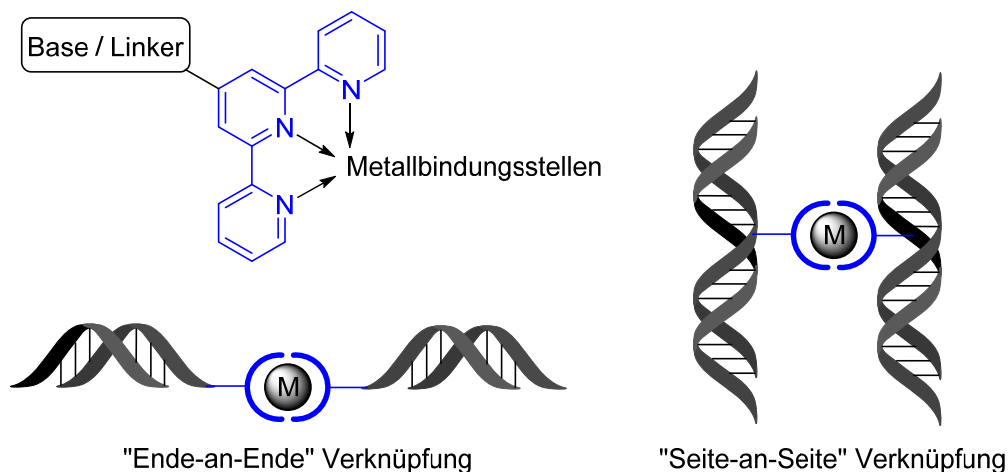


Abb. 34 Struktur des dreizähligen 2,2':6',2''-Terpyridin-Liganden und die verschiedenen supramolekularen DNA-Verknüpfungsmotive.

Ein Nachteil der sich hierbei ergibt, ist, dass nur homoleptische Komplexe d.h. Komplexe mit mehreren gleichen Liganden gebildet werden können. Tragen verschiedene Sequenzen den gleichen Liganden ist keine Adressierung möglich, da

alle denkbaren Kombinationen entstehen. Abhilfe würde die Verwendung von verschiedenen Liganden schaffen, die gezielt nur einen heteroleptischen Komplex bilden. Die ersten Schritte in diese Richtung gingen *Sleiman et al.*, indem sie Terpy und Diphenylphenanthrolin (dpp) über Linker an die DNA anknüpften. Die DNA-Sequenzen wurden so gewählt, dass die beiden Liganden im Doppelstrang gegenüber liegen und durch Zugabe von Metallionen ein stabilisierendes Basenpaar bilden.^[143] Wurden zwei Terpy-Liganden gegenübergesetzt, konnte durch die Komplexbildung mit Eisen(II)-Ionen eine Stabilisierung von mehr als 40 °C gegenüber dem unmodifizierten Doppelstrang, durch die Bildung eines sehr stabilen oktaedrischen Komplexes erreicht werden. Für zwei gegenüberliegende dpp-Liganden konnte ein ähnliches Ergebnis mit Kupfer(I)-Ionen erreicht werden (tetraedrischer Komplex). Wurden Terpy und dpp als metallvermitteltes Basenpaar gewählt, konnte mit z.B. Cu(II), Zn(II) oder Ag(I) Stabilisierungen von ~ + 25 °C im Doppelstrang erzielt werden. Durch Zugabe von Fe(II) zu dem Terpy-dpp-modifizierten Doppelstrang bildeten sich Dimere, da ein homoleptischer Terpy-Terpy-Komplex bevorzugt ausgebildet wurde. Prinzipiell ist die Ausbildung von heteroleptischen Komplexen in DNA möglich, allerdings bisher nur als Basenpaar in einem Doppelstrang und in Abhängigkeit des verwendeten Metallions.

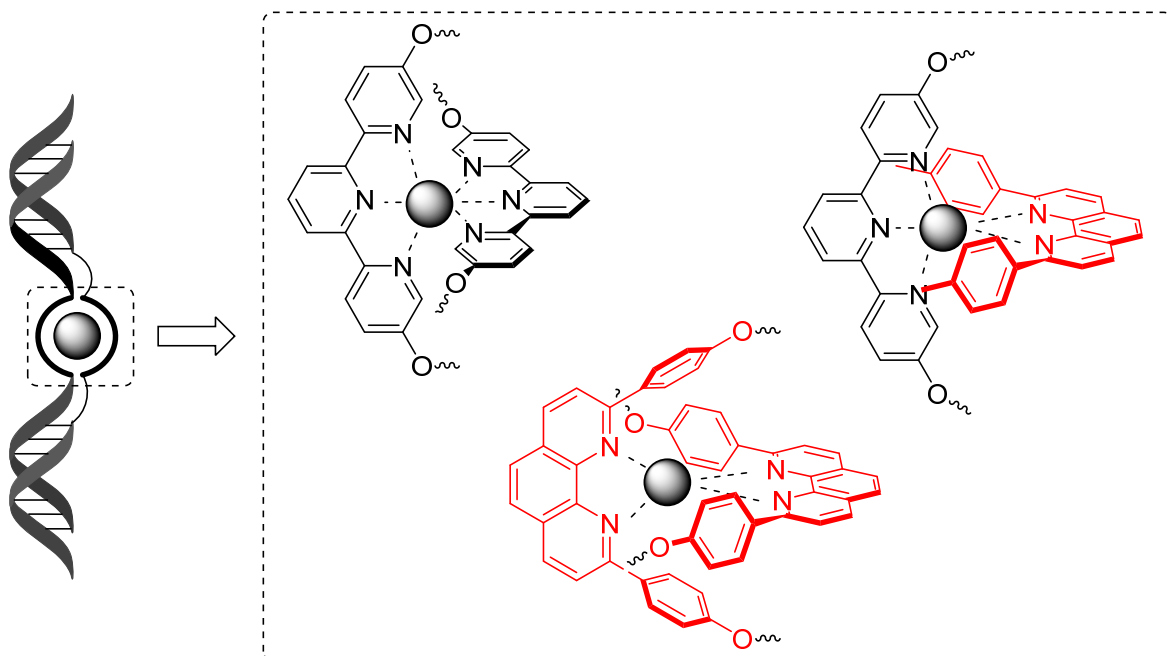


Abb. 35 Metallvermittelte Basenpaare zwischen Terpyridin und Diphenylphenanthrolin nach *Sleiman et al.*^[143]

4.4. Das HETTAP-Konzept

Ein interessanter Ansatz in Bezug auf selbstsortierende supramolekulare Systeme getrieben durch Metallkomplexierung wurde von *Schmittel et al.* vorgestellt. Bei dem sogenannten HETTAP-Konzept (*heteroleptic terpyridine and phenanthroline complex formation*) bilden sich ausschließlich durch Zugabe von Zink- oder Quecksilber-Ionen Komplexe zwischen den Terpy- und Phenanthrolin-Liganden.^[15] Phenanthrolin wird dabei an den Positionen 2 und 9 mit je einer Mesityl-Gruppe substituiert^[144] Die sterisch anspruchsvollen Substituenten verhindern eine homoleptische Komplexbildung zwischen zwei Phenanthrolin-Liganden. Die treibende Kraft, dass kein Terpy-Terpy-Komplex gebildet wird, liegt in den attraktiven π - π -Wechselwirkungen zwischen den Mesitylsubstituenten und dem Terpy-Liganden. In mehreren Versuchen konnte die Arbeitsgruppe zeigen, dass der heteroleptische Komplex quantitativ gebildet wird.^[15, 145-146]

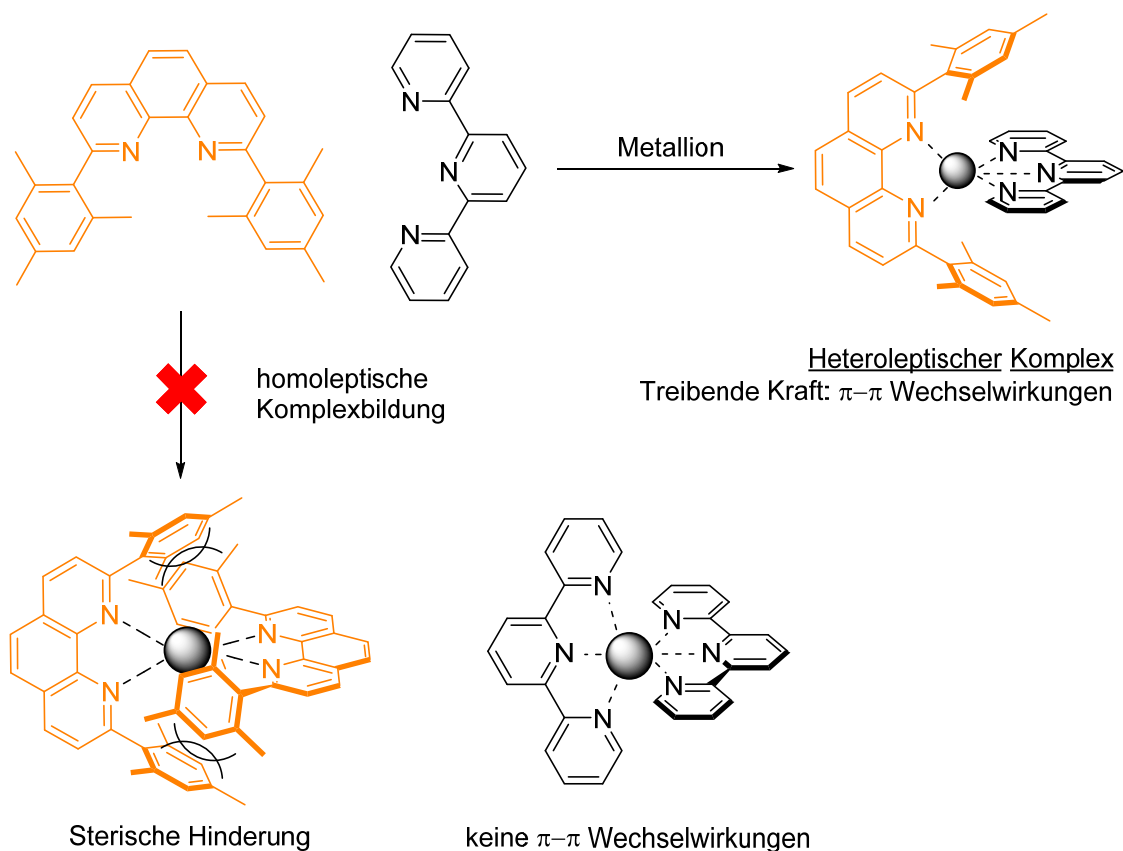


Abb. 36 Schematische Darstellung des HETTAP Konzepts nach Schmittel et al.^[15]

Dieses Motiv wurde bisher nur in organischen Lösungsmitteln verwendet, um durch Selbstassemblierung Objekte zu bilden. Für eine heteroleptische Komplexbildung zwischen zwei DNA-Doppelsträngen könnte dieser Ansatz ebenfalls verwendet werden. Bisher ist jedoch unklar, ob das HETTAP-Konzept im wässrigen Medium funktioniert.

5. Fullerenmodifizierte DNA

5.1. Allgemeines Interesse an Fullerenen

Fullerene sind sphärische Moleküle, bestehend aus Kohlenstoffatomen. Sie sind neben Graphit und Diamant eine weitere Modifikation des Kohlenstoffs. Das bekannteste und am besten untersuchte Fulleren ist das C₆₀-Fulleren. Benannt wurde es nach dem Architekten Richard Buckminster Fuller. Dieser wurde für die Konstruktion von geodätischen Kuppeln bekannt, welche im Aussehen Ähnlichkeiten mit den Fullerenen haben. C₆₀ besitzt eine hohe Symmetrie und ist aus 12 Fünfecken und 20 Sechsecken aufgebaut, was sehr an einen Fußball erinnert und deshalb umgangssprachlich auch „Fußballmolekül“ genannt wird.^[147]

Großes Interesse hat Fulleren durch seine besonderen elektrochemischen und elektrischen Eigenschaften geweckt, die im Bereich der molekularen Elektronik und Lichtsammelapparaturen, wie z.B. organischen Solarzellen, wertvoll sind.^[148-154]

Modifizierungen mit elektrischen- und/oder photoaktiven Komponenten ermöglichen Studien zu intramolekularen Elektron- und Energietransferprozessen.^[148, 153, 155-156]

Das dabei verwendete Donor-Brücken-Akzeptor-Modell kann durch Ausbildung von Metall-Liganden-Komplexen realisiert werden. Es gibt zahlreiche Berichte über bipyridin-^[157], porphyrin-^[158], terpyridin-^[159] und phenanthrolinmodifizierte^[160] Fullerene, die mit kationischen Übergangsmetallen Komplexe bilden und in der Lage sind, Elektronen von dem Metallzentrum auf das Fulleren zu übertragen. Besonderes Interesse hinsichtlich der künstlichen Lichtsammelsysteme gilt den Ligand-Metall-Komplexen, bei denen ein photoinduzierter Elektronentransfer ermöglicht werden kann. Als Beispiel kann ein Bis(diphenyl-1,10-phenanthrolin)-Kupfer(I)-Komplex genannt werden, an welchem ein Elektronentransfer aus dem ³MLCT-Zustand des Kupferkomplexes auf das Fulleren photoinduziert stattfindet.^[161]

Eine andere Anwendung findet Fulleren im biologischen Bereich. In verschiedenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass modifizierte Fullerene eine biologische Aktivität gegenüber lebenden Zellen, Enzymen, Viren aber auch DNA besitzen.^[162-163]

Lichteinstrahlung führt dazu, dass das Fulleren in einen kurzlebigen Singulett-Zustand angeregt wird und dann in einen langlebigen Triplett-Zustand übergeht. Aus diesem Zustand wird Energie auf molekularen Sauerstoff übertragen und Singulett-Sauerstoff gebildet.^[164] Dieser Sauerstoff führt z.B. in DNA zum Strangbruch, mit

einer Selektivität gegenüber Guanosin.^[165-166] Um dieses Verhalten gezielt und sequenzabhängig anzuwenden, gibt es Ansätze, Oligonukleotide mit Fulleren zu modifizieren.

5.2. Bioaktive Fulleren-DNA-Konjugate

Das erste Oligonukleotid-Fulleren-Konjugat wurde 1994 von *Hélène et al.* vorgestellt.^[167] Die Verknüpfung des modifizierten Fulleren mit dem Oligomer wurde dabei durch einen Thioether realisiert (Abb. 37). Dieses bioaktive 14-mer wurde an einem Einzelstrang (20-mer), einem Doppelstrang (26-mer) und einer DNA-Haarnadel (41-mer) getestet. Dabei befand sich das Fulleren in G-reichen Regionen und sollte hier einen photoinduzierten Strangbruch erzeugen. Nach Belichtung mit einer Xenon-Lampe konnten die erfolgreichen Strangbrüche an den dafür vorgesehenen Sollbruchstellen mittels Gelelektrophorese nachgewiesen werden. Genauere Untersuchungen anhand von diesem Motiv ergaben, dass nicht nur Singulett-Sauerstoff für den Strangbruch verantwortlich ist. In Abwesenheit von Sauerstoff erfolgt ein Elektronentransfer zwischen dem Triplett-Zustand des Fulleren ($^3C_{60}$) und Guanosin, wodurch ein Strangbruch eingeleitet wird.^[165, 168]

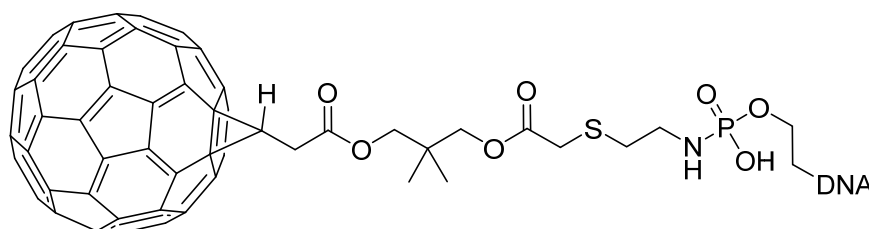


Abb. 37 Struktur des Fulleren modifizierten Oligonucleotids nach *Hélène et al.*^[167]

Um die Selektivität noch weiter zu erhöhen, war die Idee von *Prato et al.* das Fulleren-DNA-Konjugat mit Trimethoxyindol (TMI), das selektiv an AT-reiche Regionen bindet, zu modifizieren.^[169] Lagert sich das modifizierte Oligonukleotid nun durch Sequenzerkennung an einen Doppelstrang an, kann das über einen flexiblen Linker angebrachte TMI-Fulleren sich an die AT-reiche Region anlagern und hier mit einem nahegelegenen Guanosin den Strangbruch initiieren. Die Triplexbildung mit einem 29-mer aus der HIV-proviralen-DNA wurde anhand von gelelektrophoretischen Untersuchungen als nicht vollständig ausgebildet nachgewiesen. Simulationen ergaben, dass die Linker zwischen DNA-Fulleren und Fulleren-TMI eine gewisse

Länge haben müssen, das Fulleren zu groß für die kleine Furche ist, aber auch dass das negativ geladene Rückgrat der DNA die hydrophobe Oberfläche des Fulleren abstoßt. All diese Gründe führen dazu, dass es zu keiner vollständig ausgebildeten Trippelhelix kommt und somit kein Strangbruch initiiert werden kann.

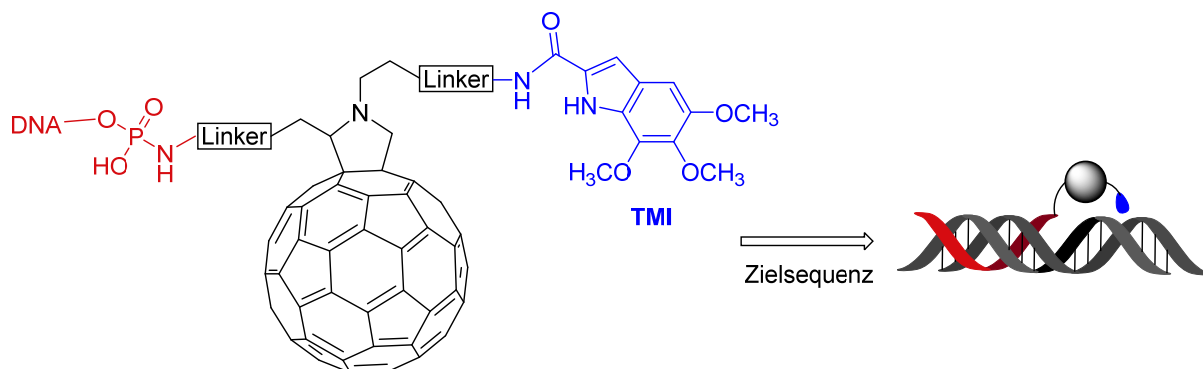


Abb. 38 Trimethoxyindol (TMI) modifiziertes DNA-Fulleren-Konjugat und schematische Darstellung der Triplexbildung mit kleiner Furchenbindung von TMI nach *Prato et al.*^[169]

5.3. Selbstassemblierung

Neben den bisher genannten Verwendungen von Fulleren, können auch Strukturänderungen hervorgerufen werden. *Tour et al.* synthetisierten ein positiv geladenes Fulleren, welches sich an das negativ geladene Rückgrat der DNA über elektrostatische Wechselwirkungen anlagern kann. Dies hatte zur Folge, dass aufgrund der DNA-Struktur und den hydrophoben Wechselwirkungen zwischen den Fullerenen Fasern und Netzwerke ausbildeten, die mittels Transmissions-elektronenmikroskopie sichtbar gemacht werden konnten.^[170]

Diese hydrophoben Wechselwirkungen haben sich die Arbeitsgruppe von *Ree et al.* zu nutze gemacht, um eine pH-Wert-abhängige Strukturänderung in einem DNA-Strang hervorzurufen.^[171] Hierfür wurde eine „i-Motif“-DNA^[172] an dem 3'- und 5'-Ende über einen Aminolinker mit einem Fulleren-Carboxylderivat modifiziert. Liegt das modifizierte 21-mer im Doppelstrang vor und wird der pH-Wert durch Zugabe von Säure verringert, findet eine Dehybridisierung statt und es bildet sich eine intramolekulare „i-Motif“-Struktur (Abb. 39). Das Cytosin wird protoniert und ist somit in der Lage, einen viersträngigen Komplex mit anderen Cytosinmolekülen zu bilden (i-Motif). Darüber hinaus stabilisieren die terminalen Fullerene diesen Komplex aufgrund der hydrophoben Wechselwirkungen. Erhöht man den pH-Wert, bildet sich erneut der Doppelstrang aus.^[171]

II.5. Fullerenmodifizierte DNA

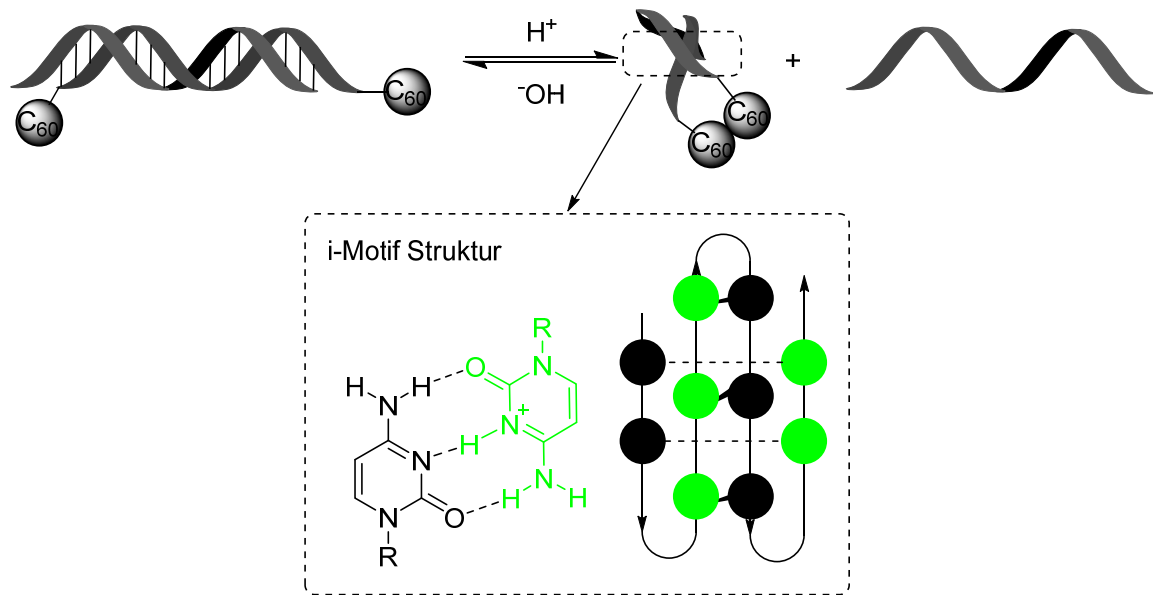


Abb. 39 pH-Wert-abhängige Strukturänderung der zweifach fullerenmodifizierten DNA nach *Ree et al.*^[171] Im Kasten: schematische Darstellung der i-Motif DNA-Struktur.^[172]

Die hier gezeigten Experimente wurden verwendet, um Strukturänderungen, DNA-Spaltungen und supramolekulare Aggregationen zu untersuchen. Bisher wurde noch kein Oligonukleotid mit Fulleren modifiziert und auf seine Eigenschaften hinsichtlich eines Elektronenakzeptors in DNA untersucht.

III. Selbstassemblierung an DNA

1. Synthese

Für die Untersuchung der Selbstassemblierung entlang eines Templat-DNA-Strangs wurden die Nucleoside **Nr≡dU**, **Nr≡dA** und **Py≡dU** verwendet. Der Farbstoff wurde hierbei über eine Ethinylbrücke an die 5-Position des 2'-Desoxyuridins oder an die 7-Position des 2'-Desoxy-7-deazaadenosins geknüpft. Die Synthese der einzelnen Nucleoside wird in den folgenden Abschnitten beschrieben.

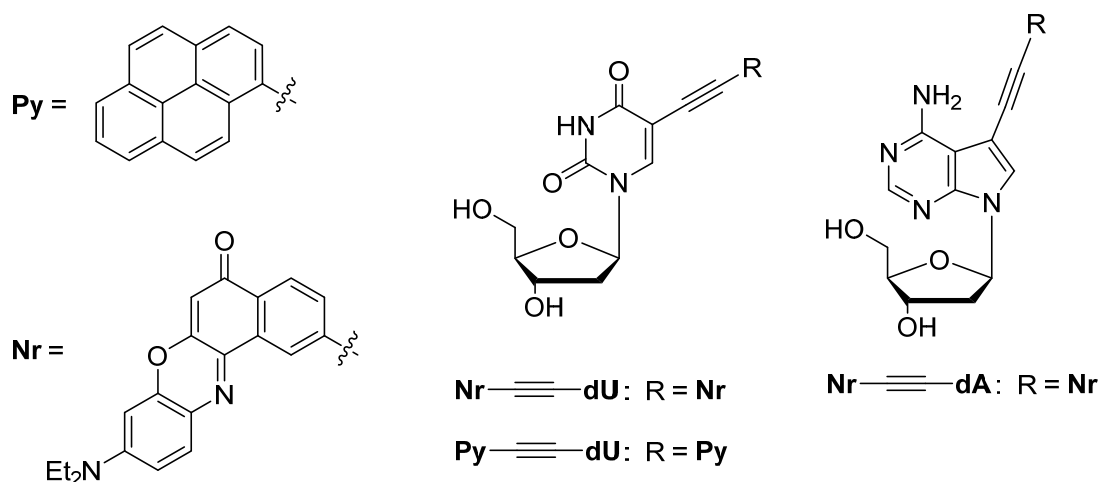


Abb. 40 Strukturen der Nucleoside für die DNA-templierte Selbstassemblierung.

Ein weiteres Ziel war die Synthese eines Fulleren-DNA-Konjugats (**DNA1**), das als Templat-DNA-Strang eingesetzt werden sollte, um Elektronentransferprozesse zu untersuchen. Über einen Bismalonat-Linker wurde das Fulleren mit der DNA verknüpft. Als Bindungsmotiv wurde eine Amidbindung zwischen dem Fulleren-Carboxylderivat und der aminmodifizierten DNA gewählt.

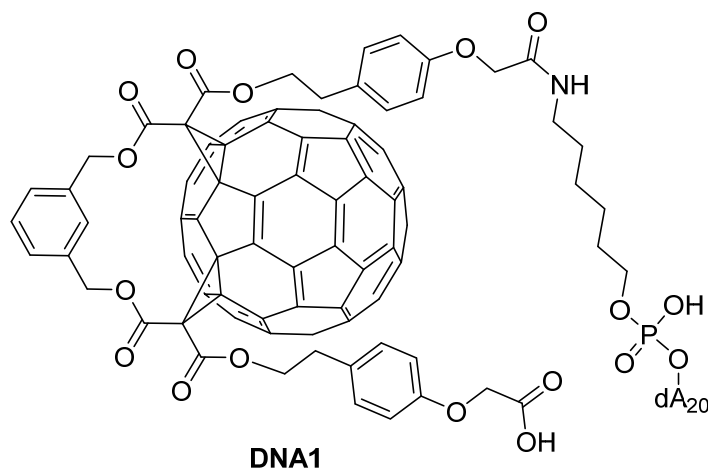


Abb. 41 Struktur des Fulleren-DNA-Konjugats **DNA1**.

1.1. Synthese von $\text{Nr}\equiv\text{dU}$ und $\text{Nr}\equiv\text{dA}$

Ethynylnilrotdeoxyuridin ($\text{Nr}\equiv\text{dU}$) war bereits bekannt und wurde entsprechend der Literatur synthetisiert.^[77, 173-174] 5-*N,N*-Diethylamin-2-nitrosophenol (**5**) wurde durch Umsetzung von *N,N*-Diethylaminphenol (**4**) mit Isoamylnitrit synthetisiert und als Hydrochlorid **5** isoliert. Der Aufbau des Benzophenoxazin-Grundgerüsts von **7** wurde durch eine intermolekulare Zyklisierung von **5** mit 1,6-Dihydroxynaphthalin (**6**) erzielt. Um eine bessere Abgangsgruppe für die folgende *Sonogashira*-Kupplung zu erhalten, wurde mit *N*-Phenylbis(trifluormethylsulfon)amid eine Triflyl-Gruppe eingeführt (**8**) und anschließend mit TMS-Acetylen zu **9** umgesetzt. Die Entschützung der Alkinfunktion (**10**) erfolgte unter Verwendung von Tetrabutylammoniumfluorid. Durch eine weitere *Sonogashira*-Kupplung mit 5-Iod-2'-desoxyuridin (**18**) wurde das ethynylnilrotmodifizierte 2'-Desoxyuridin ($\text{Nr}\equiv\text{dU}$) erhalten.

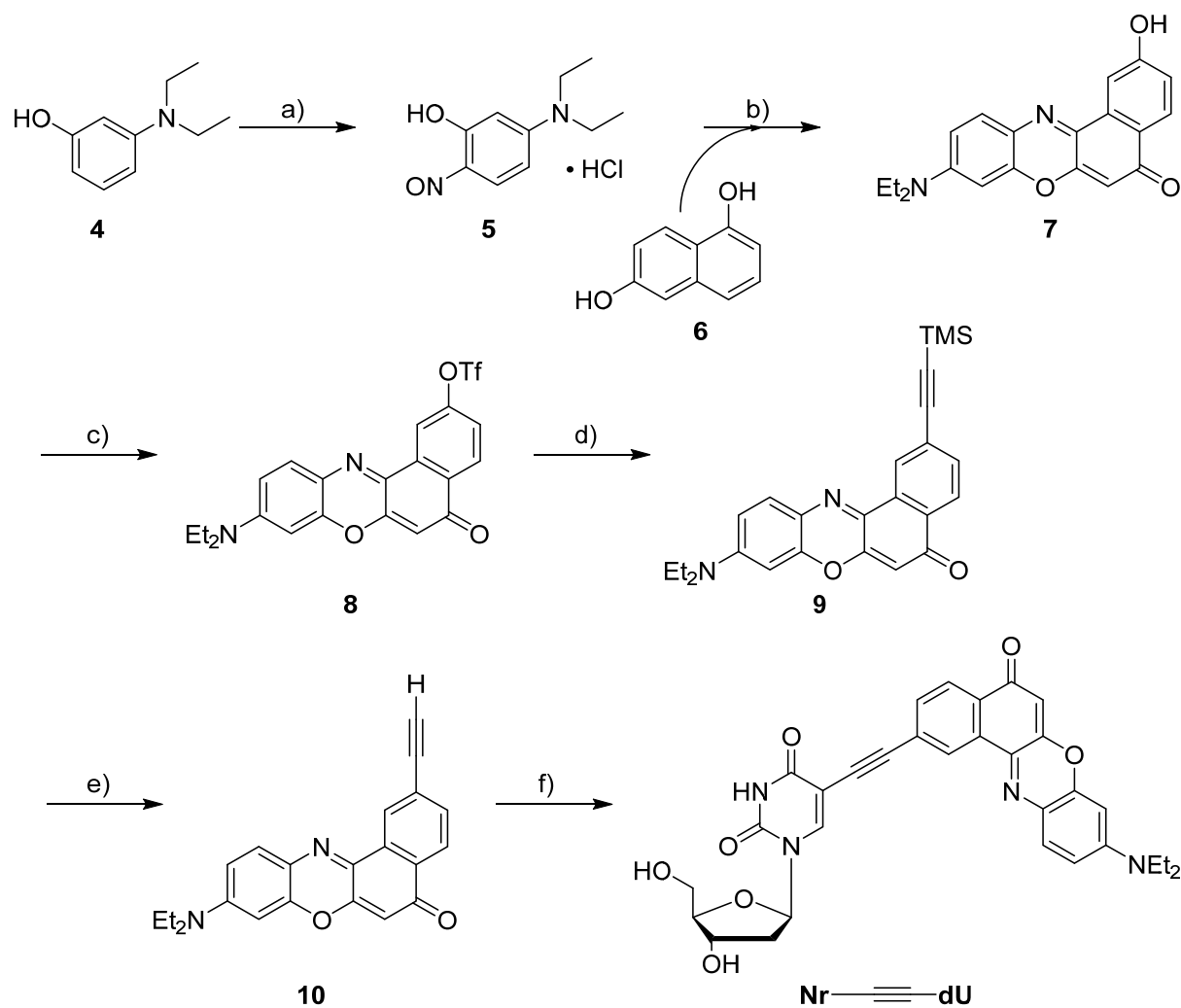


Abb. 42 Synthese des ethynylnilrotmodifizierten 2'-Desoxyuridins $\text{Nr}\equiv\text{dU}$: a) Isoamylnitrit, 4 M HCl in Dioxan, 0 °C, 1 h, 90 %. b) in DMF, 153 °C, 4 h, 60 %. c) Tf_2NPh , NEt_3 in abs. THF, RT, 24 h, 80 %. d) TMS-Acetylen, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, CuI, NEt_3 in abs. DMF, 80 °C, 3 h, 70 %. e) TBAF in abs. DCM, RT, 1 h, 90 %. f) 5-Iod-2'-desoxyuridin, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, CuI, NEt_3 in abs. DMF, 60 °C, 12 h, 40 %.

Um das literaturbekannte **Nr≡dA**^[77] zu synthetisieren, wurde im ersten Schritt am anomeren Zentrum der 2'-Desoxy-D-ribose (**11**) eine Methoxygruppe durch Umsetzung mit Methanol eingeführt (**12**).^[175] Darauffolgend wurden die 3'- und 5'-Positionen des Zuckers **12** durch eine Veresterung mit *p*-Toluoylchlorid geschützt (**13**) und anschließend am anomeren Zentrum durch eine nukleophile Substitution chloriert (**14**). Im weiteren Syntheseverlauf wurde 6-Chlor-7-deaza-7-iodpurin an den Zucker **14** geknüpft. Die Verwendung dieses Chlorzuckers bringt den Vorteil, dass bei der Reaktion mit einer Purinbase nur das gewünschte β -Anomer entsteht.^[176] Die Entschützung und gleichzeitige Substitution des Chlorids in der 6-Position zu einem primären Amin erfolgt durch die Reaktion mit wässrigem Ammoniak in Dioxan unter Druck. Das dabei erhaltene Nucleosid **16** wurde mit **10** über eine *Sonogashira*-Kupplung zum gewünschten Nilrot-Nucleosid **Nr≡dA** umgesetzt.^[77]

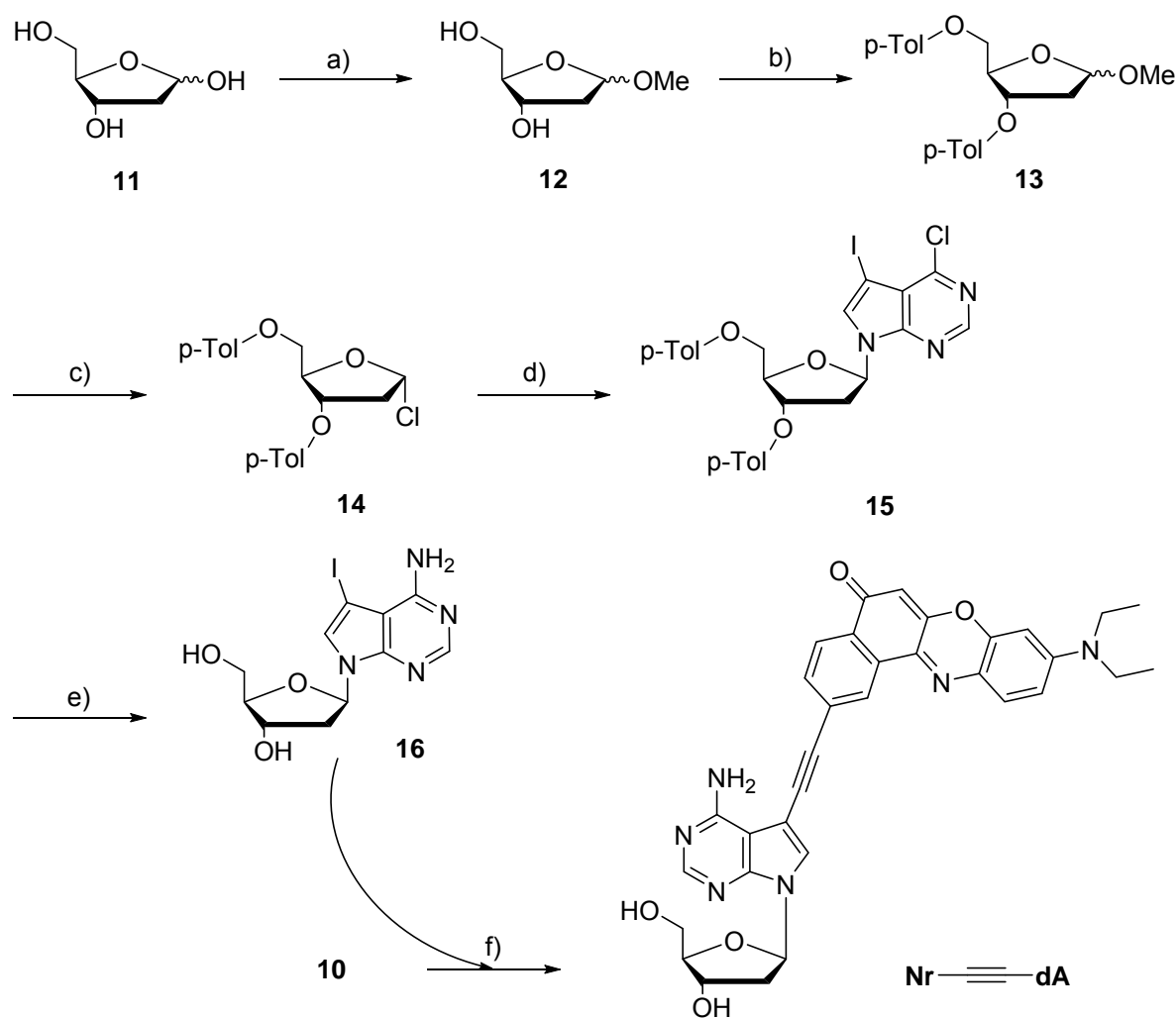


Abb. 43 Synthese des ethynylnilrotmodifizierten 7-Deaza-2'-desoxyadenosins **Nr≡dA**: a) 1 % HCl in Methanol, RT, 25 min., quant. b) *p*-Toluoylchlorid, NEt₃ in abs. Aceton, RT, 12 h, 83 %. c) 4 M HCl in Dioxan, 0 °C, 2 h, 69 % d) 6-Chlor-7-Ioddeazapurin, KOH, TDA-1 in abs. Acetonitril, RT, 15 min, 45 %. e) konz. NH_{3(aq)} in Dioxan unter Druck, 90 °C, 20 h, 87 %. f) Pd(PPh₃)₄, CuI, NEt₃ in abs. DMF, 45 °C, 12 h, 37 %.

1.2. Synthese von **Py≡dU**

Die Synthese von **Py≡dU** war ebenfalls literaturbekannt.^[177-178] 1-Ethynylpyren (**17**) und 5-Iod-2'-desoxyuridin (**18**) waren kommerziell erhältlich und wurden über eine *Sonogashira*-Kupplung zu dem gewünschten Pyren-Nukleosid **Py≡dU** umgesetzt.

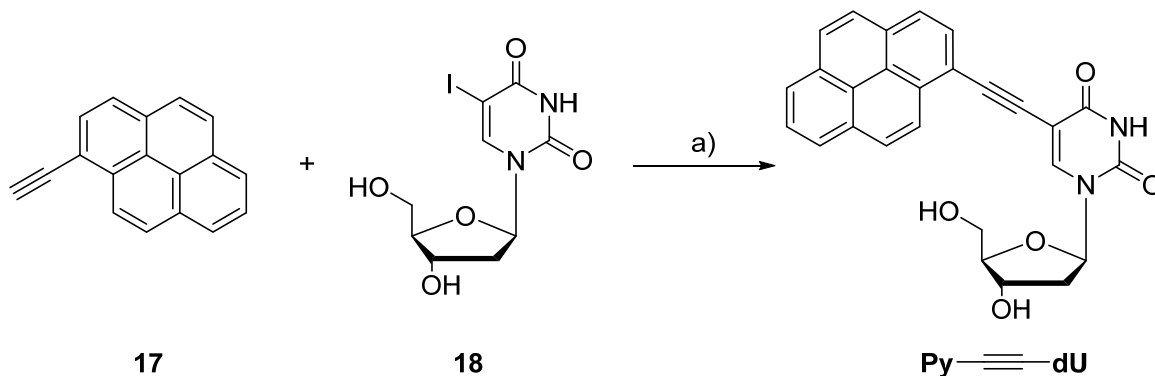


Abb. 44 Synthese des ethynylpyrenmodifizierten Desoxyuridins **Py≡dU**: a) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, CuI , NEt_3 in abs. DMF, 60°C , 12 h, 40 %.

1.3. Synthese der fullerenmodifizierten DNA

Wie in der Literatur beschrieben, wurde das Bisbalonat **21** aus 1,3-Di(hydroxymethyl)benzol (**19**) und Meldrumsäure (**20**) hergestellt.^[179] **24** wurde aus *tert*-Butylbromacetat (**23**) und Hydroxyethylphenol (**22**) synthetisiert.^[180]

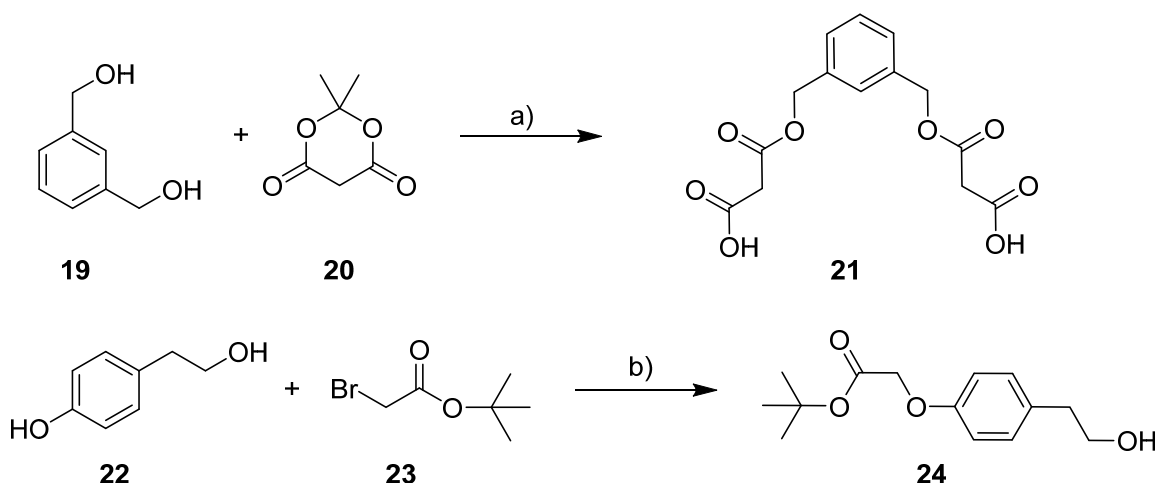


Abb. 45 Synthese der Linkervorstufen **21** und **24**. a) 120°C , 8 h, quant. b) K_2CO_3 in Acetonitril, 82°C , 16 h, quant.

Mit Hilfe von Dicyclohexylcarbodiimid wurden **21** und **24** zu dem Bismalonat **25** (Abb. 46) umgesetzt, was später DNA und Fulleren verknüpfen soll. **25** wurde *in situ* mit Iod und der Base 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) zum Halomalonat umgesetzt und in einer doppelten *Bingel*-Reaktion an das C_{60} -Fulleren addiert (siehe Abb. 46). Durch die Wahl des metasubstituierten Bismalonats läuft diese Reaktion sehr regio-

und stereoselektiv ab und es entsteht nur das cis-2-Addukt mit einer out-out-Stereoisomerie (Reste des Malonats zeigen in die selbe Richtung).^[179] Die mit *tert*-Butyl-Resten veresterten Carbonsäuregruppen (**26**) wurden mit Trifluoressigsäure entschützt (**1**) und mit *N*-Hydroxysuccinimid zum Aktivester **27** umgesetzt. Im letzten Schritt wurde dieser mit der aminmodifizierten DNA in einem DMF/Carbonatpuffer_(aq)-Gemisch (pH = 8.3) umgesetzt und die fullerenmodifizierte DNA **DNA1** durch Aufreinigung per RP-HPLC gewonnen.

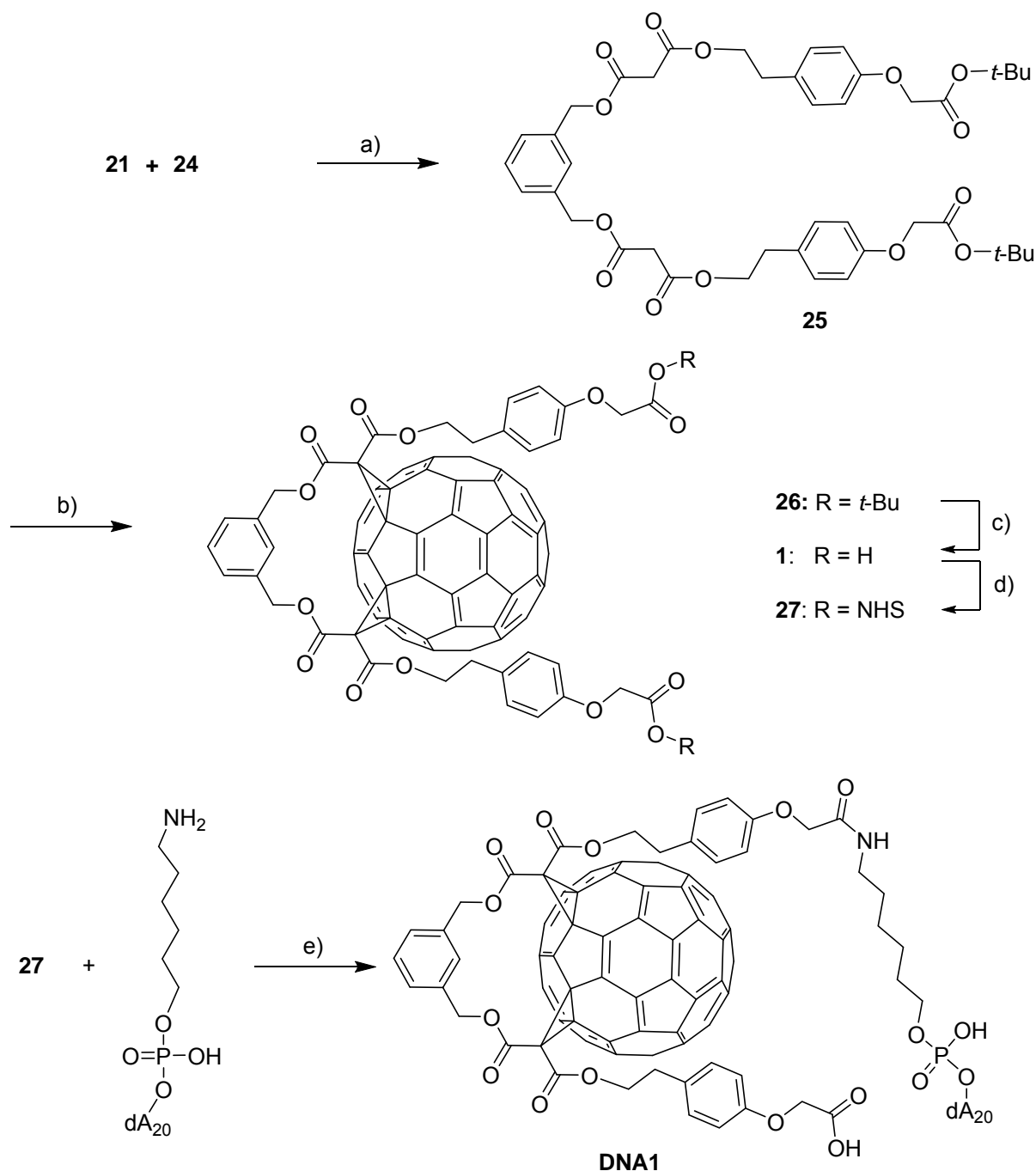


Abb. 46 Synthese der fullerenmodifizierten DNA **DNA1**. a) DCC, HOBt, DMAP, in abs. Dichlormethan, 1 h bei 0 °C dann 20 h bei RT, 60 %. b) C₆₀, DBU, Iod, in Toluol, 4 h, RT, 16 %. c) Trifluoressigsäure/Dichlormethan, RT, 20 h, quant. d) NHS, EDC•HCl, in abs. THF, RT, 12 h. e) DMF/Carbonatpuffer_(aq) (pH = 8.3), 0 °C, 8 h, 60 %.

2. Titration von Nr≡dU zu (dA)_n-Strängen

Wie bereits in Kapitel II.4 beschreiben, eignet sich ein DNA-Einzelstrang zur Anlagerung von Monomeren und der Charakterisierung des Aggregationsverhaltens durch optische Spektroskopie. Angelehnt an die bisherigen Ergebnisse von *Sabrina Sezi*^[120, 181] bzgl. der Anlagerung und Selektivität von **Py≡dU** gegenüber Templat-DNA-Strängen ((dA)₁₇ vs. (dT)₁₇) soll in diesem Abschnitt das Anlagerungsverhalten von **Nr≡dU** untersucht werden.

In Abb. 47 sind die Absorptionsspektren von **Nr≡dU** (25 μM) in DMSO, in Wasser und in der Gegenwart des komplementären (dA:dU) Stranges **DNA6** ((dA)₁₀) bzw. des nichtkomplementären Gegenstranges **DNA5** ((dT)₁₀) (jeweils 2.5 μM DNA + 25 μM Monomer) dargestellt.

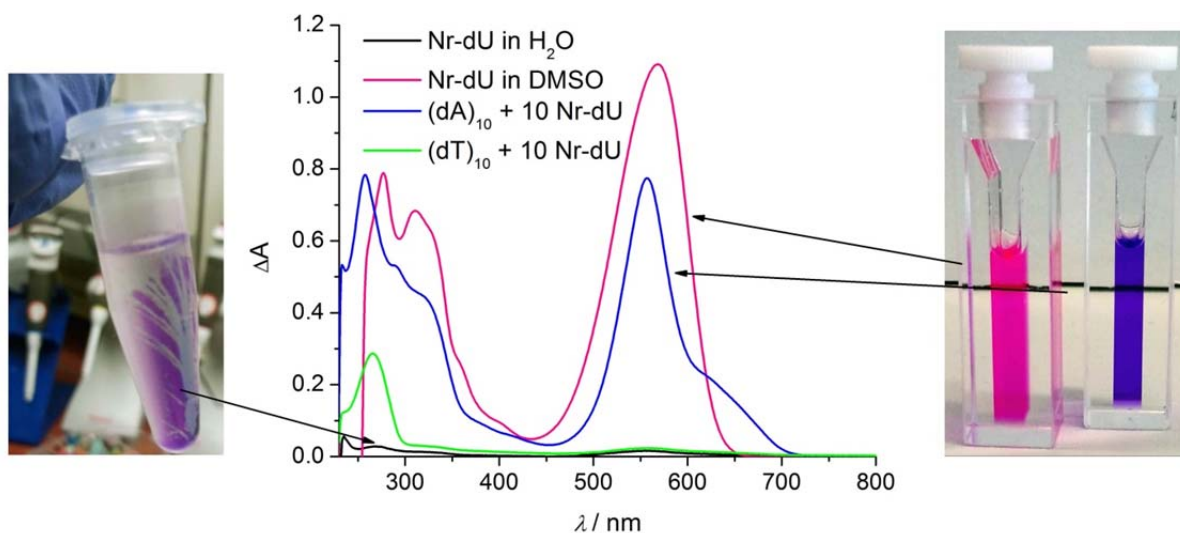


Abb. 47 UV/Vis-Absorptionsspektrum von **Nr≡dU** in DMSO (pink), in Wasser mit **DNA6** (blau), - mit **DNA5** (grün) und ohne DNA (schwarz).

In DMSO weist das Nucleosid eine purpurne Farbe auf und zeigt ein Absorptionsmaximum bei 568 nm, was charakteristisch für Nilrot in diesem Lösungsmittel ist. Außerdem liegen die Nucleoside nicht als Aggregat vor, da keine Schulter bei 650 nm zu beobachten ist.^[78] Wurde **Nr≡dU** ohne DNA in Wasser gegeben, war es komplett unlöslich und fiel als Feststoff aus (Abb. 47, links). Die Gegenwart des nichtkomplementären Gegenstranges **DNA5** führte ebenfalls dazu, dass das Nucleosid größtenteils ausfiel. Die einzige Möglichkeit, **Nr≡dU** im wässrigen Medium in Lösung zu bringen, bestand darin, dass der komplementäre Gegenstrang **DNA6** vorlag, wodurch das Nucleosid rückstandslos durch

Assemblierung entlang des DNA-Strangs in Lösung blieb. Dabei wird das Absorptionsmaximum hypsochrom auf 558 nm verschoben, der Extinktionskoeffizient reduziert und eine Schulter zwischen 600 – 700 nm erscheint (Abb. 47, blaue Kurve). Wie auch im Fall der kovalent verknüpften Nilrot-Stapel im DNA-Doppelstrang^[78] deutet die Absorptionsänderungen auf eine Aggregation der **Nr≡dU**-Einheiten entlang des DNA-Strangs (**DNA6**) hin. Aus diesen Beobachtungen wurde ersichtlich, dass das Nilrot-Nukleosid eine Selektivität gegenüber dem Templat-DNA-Strang aufweist (dA vs. dT) und nur an das komplementäre Templat anlagert.

Die Bindungsaffinität in Anhängigkeit der Templatlänge $(dA)_n$ wurde anhand von Titrationsexperimenten untersucht, wobei Längen von $n = 10, 14, 16, 20$ gewählt wurden (**DNA6-9**). Zu den jeweiligen wässrigen DNA-Lösungen wurden schrittweise Portionen aus einer **Nr≡dU**-Stammlösung hinzugegeben (siehe VI.4.1). Diese wurden so gewählt, dass durch eine Zugabe im Idealfall eine Bindungsstelle am Templat-DNA-Strang durch eine **Nr≡dU**-Einheit besetzt werden sollte. Um eine Destabilisierung des Aggregats durch eine hohe DMSO Konzentration zu vermeiden, wurde eine Endkonzentration von maximal 2 % DMSO in Wasser gewählt. Die Schmelztemperaturen von DNA-Doppelsträngen werden hierdurch nur geringfügig vermindert.^[182] Im Folgenden wird die Titration von **Nr≡dU** zu **DNA9** $((dA)_{20})$ beschrieben.

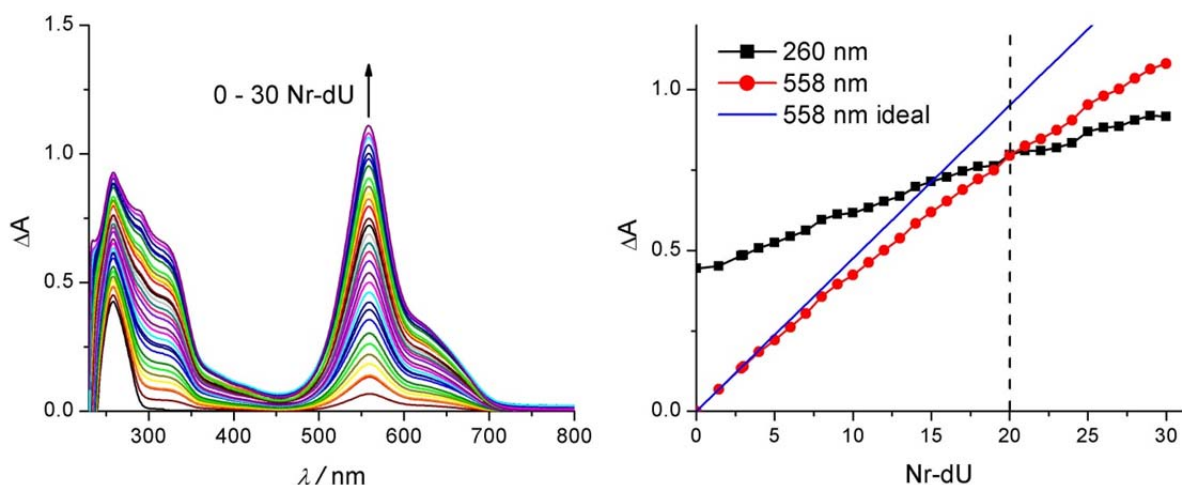


Abb. 48 Links: UV/Vis-Absorptionsspektren der Titration von **Nr≡dU** zu $1.25 \mu\text{M}$ **DNA9** in H_2O + 2 % DMSO. Rechts: Auftragung der Absorptionsmaxima bei 260 und 558 nm gegen die Konzentration von **Nr≡dU**.

Wie bereits erwähnt, absorbiert kovalent verknüpftes Ethynilnilrot in DNA bei $\lambda_{\text{max}} = 615 \text{ nm}$ (II.2.4). Verglichen dazu absorbiert angelagertes **Nr≡dU** bei

III.2. Titration von Nr≡dU

$\lambda_{\max} = 558 \text{ nm}$ mit einer Schulter zwischen $600 - 700 \text{ nm}$. Mit diesem Hintergrundwissen ist zu erkennen, dass selbst bei Zugabe einer geringen Menge **Nr≡dU** zu **DNA9** nur eine Bande bei 558 nm (mit Schulter über 600 nm) auftritt und darauf hindeutet, dass **Nr≡dU** als Stapel an die DNA bindet. Eine Erhöhung der Nilrot-Nukleosid-Konzentration führte nicht nur zu einem Anstieg der Absorption bei 558 nm , sondern auch zu einem Anstieg im Bereich der DNA bei $\lambda_{\max} = 260 \text{ nm}$, da Nilrot auch in diesem Bereich eine Absorptionsbande besitzt. Betrachtet man den Verlauf der Absorption bei diesen Wellenlängen (Abb. 48 rechts) sind zwei Dinge erkennbar: 1.) Die Absorption bei 558 nm steigt nicht, wie im Idealfall erwartet, linear an. Dies ist auf Grundzustandswechselwirkungen der Chromophore im Stapel zurückzuführen. 2.) Sind die Bindungsstellen des Strangs voll besetzt, in diesem Fall bei Zugabe von 20 Monomeren, tritt ein Kreuzungspunkt der zwei Absorptionen an dieser Stelle auf. Da **Nr≡dU** in wässriger Umgebung ohne einen komplementären Gegenstrang unlöslich ist, konnte ungebundenes Material nach beendeter Titration durch Zentrifugieren abgetrennt werden. Das Absorptionsspektrum der überstehenden Lösung weist ein Verhältnis von 1.04 für $\Delta A_{260 \text{ nm}}/\Delta A_{558 \text{ nm}}$ auf. Dies entspricht in etwa dem gleichen Wert, der nach Zugabe von 20 Nilrot-Nukleosiden erhalten wird und deutet somit auf eine vollständige Besetzung des Templat-DNA-Strangs hin. Bei anderen Templatlängen war dieses Verhalten ebenfalls erkennbar, was darauf schließen lässt, dass eine Vollbesetzung unabhängig der hier untersuchten Templatlängen ist.

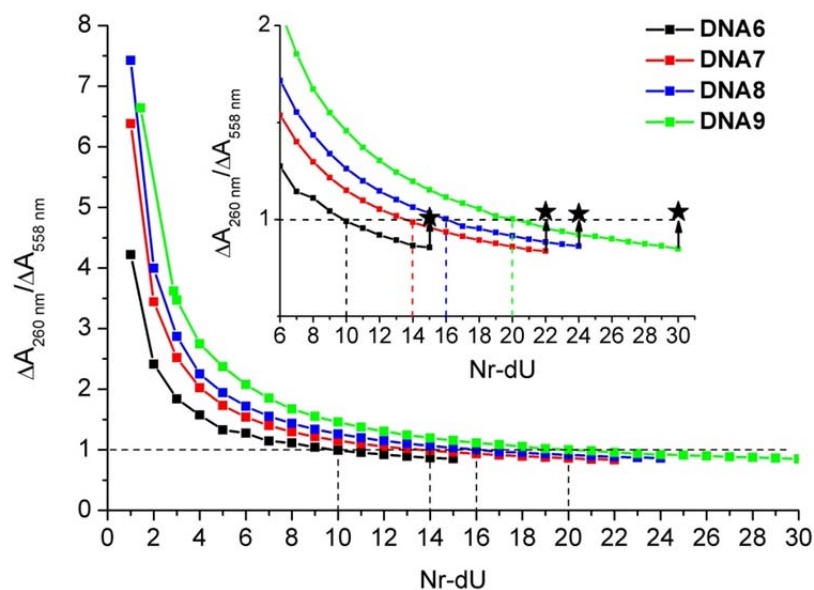


Abb. 49 $\Delta A_{260 \text{ nm}}/\Delta A_{558 \text{ nm}}$ Analyse der Titration von **Nr≡dU** zu den Templat-DNA-Strängen **DNA6-9**. Die Sterne geben das Verhältnis nach dem Zentrifugieren an.

Wurde die Umgebungstemperatur schrittweise um 5 °C erhöht, war eine deutliche Abnahme des Extinktionskoeffizienten, eine hypsochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums (558 nm → 547 nm) und das verstärkte Auftreten einer Schulter im Bereich 600 – 700 nm zu erkennen. Dies sind alles Indizien für eine Umstrukturierung der Nilrot-Nukleoside. Die DNA-Aggregate werden aufgelöst und es kommt zur Bildung von mizellenartigen Nanopartikeln aus **Nr≡dU**, die bereits von *Wagenknecht et al.* beschrieben wurden.^[78] In Abb. 50 sind die UV/Vis-Absorptionsspektren der temperaturabhängigen Messungen des **(Nr≡dU)₂₀-DNA9**-Aggregats dargestellt.

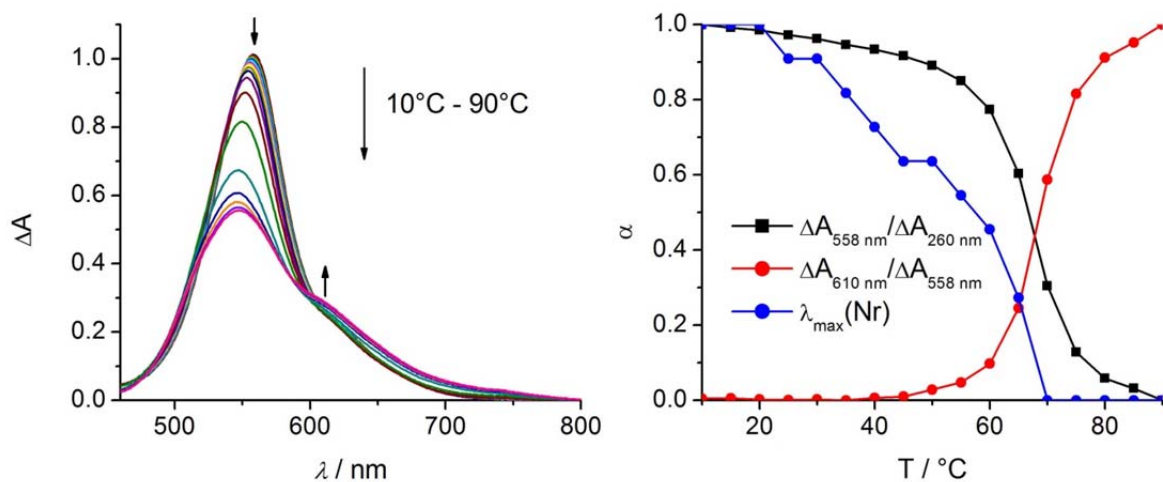


Abb. 50 Temperaturabhängige UV/Vis-Messung des DNA-Nilrot-Aggregats. $c = 1.25 \mu\text{M}$ in $\text{H}_2\text{O} + 2\%$ DMSO (10 min Inkubationszeit zwischen den einzelnen Schritten).

Gilt das normierte Verhältnis von $\Delta A_{558\text{ nm}} / \Delta A_{260\text{ nm}}$ als Maß für den Aggregationsgrad α der Nilrot-Nukleoside entlang des Templat-DNA-Strangs **DNA9**, ist eine Deaggregation bei steigender Temperatur ersichtlich (Abb. 50, schwarze Kurve). Ein normiertes Verhältnis von $\Delta A_{610\text{ nm}} / \Delta A_{558\text{ nm}}$ zeigt, dass die Nilrot-Nukleoside bei steigender Temperatur eine Aggregation ohne DNA eingehen (Abb. 50, rote Kurve). Somit ist dieses Verhältnis ein Maß für die Bildung der Nanopartikel. Außerdem ist ein sprunghafter Anstieg der Verschiebung des Absorptionsmaximums von Nilrot (Abb. 50, blaue Kurve) bei einer Temperatur von 65 °C zu sehen und deutet auf ein kooperatives Verhalten der Nilrot-Aggregation entlang des Templat-DNA-Strangs hin (II.4.1). Dabei wird das Absorptionsmaximum des DNA-Aggregats bei 558 nm als vollständig aggregiert gesetzt ($\alpha = 1$) und das Absorptionsmaximum der Nanopartikel bei 547 nm als nicht aggregiert gesetzt ($\alpha = 0$). Diese Kurve (blau) kann als Indikator für die Wechselwirkung zwischen den angelagerten Nilrot-Nukleosiden entlang des Templat-DNA-Strangs gesehen werden. Die Wendepunkte der schwarzen Kurve (die

III.2. Titration von Nr≡dU

als Maß für die Monomer-DNA-Wechselwirkung dient) und der blauen Kurve unterscheiden sich um ca. 5 °C. Angelehnt an die Beobachtungen von *Schenning et al.*^[11] kann hier ebenfalls gefolgert werden, dass erst die Wasserstoffbrücken zwischen der DNA und den Monomeren gebildet werden und anschließend die Ausbildung der helikalen Anordnung zwischen den Nilrot-Einheiten entlang des DNA-Strangs erfolgt.

3. Anlagerung von Py-/Nr≡dU Mischungen

Bisher wurden nur Anlagerungsexperimente mit einer Monomer-Spezies entlang eines Templat-DNA-Strangs durchgeführt. Im Rahmen dieser Arbeit soll die Anlagerung einer Mischung, bestehend aus zwei verschiedenen Nucleosiden, untersucht werden. Hierfür wurden **Nr≡dU** und **Py≡dU** in verschiedenen Mischungsverhältnissen (**Nr≡dU:Py≡dU** = 0:20, 1:19, ... , 19:1, 20:0) zu **DNA9** (dA₂₀) und in einer zweiten Experimentreihe zu einer fullerenmodifizierten DNA (**DNA1**) gegeben. Die Verwendung der fullerenmodifizierten DNA soll aufgrund eines Elektronentransfers vom Farbstoffstapel zum Fulleren zu einer Fluoreszenzlöschung führen.

3.1. Mischungen in DMSO ohne DNA

Um sicherzustellen, dass in den reinen Farbstoffmischungen keine unerwünschten Aggregationen auftreten, wurden diese in DMSO ohne DNA untersucht. In den Absorptionsspektren ist ein linearer Anstieg der Nilrot-Absorption bei $\lambda_{\max} = 569 \text{ nm}$ und ein gleichzeitiger Abfall der Pyren-Absorptionsbanden bei $\lambda_{\max} = 398 \text{ nm}$ und 375 nm zu sehen (Abb. 51).

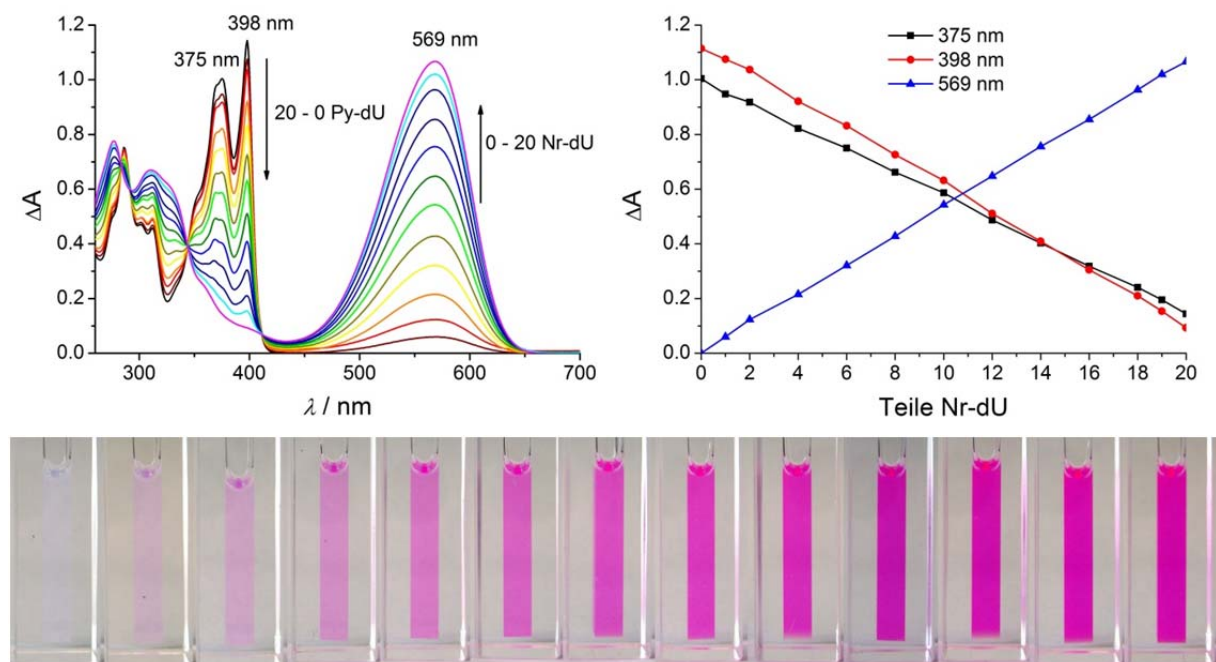


Abb. 51 UV/Vis-Absorptionsspektren der **Nr≡dU:Py≡dU** Mischungen ($c_{\text{ges}} = 25 \mu\text{M}$) in DMSO (oben links) und Verlauf der Absorptionsintensität gegen die Anzahl an **Nr≡dU** (oben rechts). Bilder der Mischungen von **Nr≡dU:Py≡dU** 0:20 bis 20:0 bei Tageslicht (unten).

III.3. Anlagerung von Py-/Nr≡dU Mischungen

Da das Nilrot-Nukleosid ebenfalls in diesem Bereich (300 – 400 nm) absorbiert, muss das Pyren-Signal gegen diese Absorption korrigiert werden, damit eine lineare Abnahme in einem Verhältnis von $\Delta A_{398\text{nm}} / \Delta A_{375\text{nm}} = 1.14$ (keine Aggregation zwischen den Pyren-Nukleosiden, da die Bande bei $\Delta A_{398\text{nm}}$ dominiert) erkennbar wird. Die UV/Vis-Spektren zeigen demnach, dass zwischen den Monomeren keine Aggregationen bzw. Grundzustandswechselwirkungen auftreten.

In den Emissionsspektren ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$) sind zwei Maxima bei 408 und 427 nm zu erkennen, die auf das Pyren-Nukleosid zurückzuführen sind (Abb. 52, links). Wird der Pyrenanteil verringert und der Nilrotanteil erhöht, nimmt die Pyrenemission nicht linear ab, aber die Nilrotemission ($\lambda_{\text{max}} = 644 \text{ nm}$) steigt linear an (Abb. 52, rechts). Liegt nur **Nr≡dU** vor, steigt die Fluoreszenz sprunghaft an. Demnach führt das Vorhandensein der Pyren-Nukleoside zu einer Löschung der Nilrotemission. Die Emissionsspektren zeigen ebenfalls, dass die Nukleoside als Monomere vorliegen.

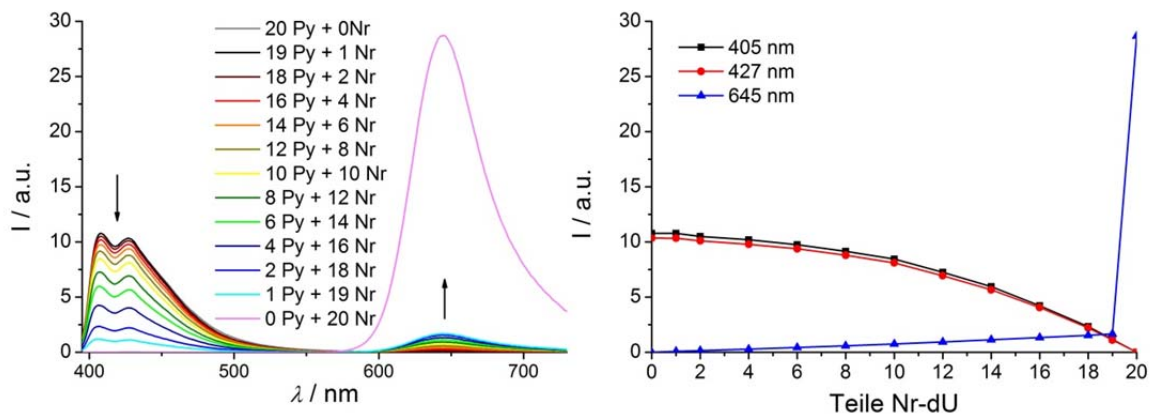


Abb. 52 Emissionsspektren der **Nr≡dU:Py≡dU** Mischungen ($c_{\text{ges}} = 25 \mu\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$) in DMSO (oben links) und Verlauf der Intensitäten gegen die Anzahl an **Nr≡dU** (oben rechts). Bilder der Mischungen von **Nr≡dU:Py≡dU** 0:20 bis 20:0 unter UV-Licht (unten).

Aus diesen Voruntersuchungen geht hervor, dass die Monomere untereinander keine Aggregate bilden und somit das beobachtete Aggregationsverhalten in den folgenden Untersuchungen auf die Selbstassemblierung entlang des Templat-DNA-Strangs zurückzuführen ist.

3.2. Mischungen mit DNA9

3.2.1. Absorptions- und Emissionsspektren

Nachdem ausgeschlossen wurde, dass die Monomere in DMSO ohne Templat aggregieren, soll nun eine simultane Anlagerung der zwei Nucleoside **Nr≡dU** und **Py≡dU** entlang eines Templat-DNA-Strangs **DNA9** ((dA)₂₀) in verschiedenen Mischungsverhältnissen untersucht werden. In Abb. 53 sind die UV/Vis-Absorptionsspektren der verschiedenen Aggregate und deren Verlauf dargestellt.

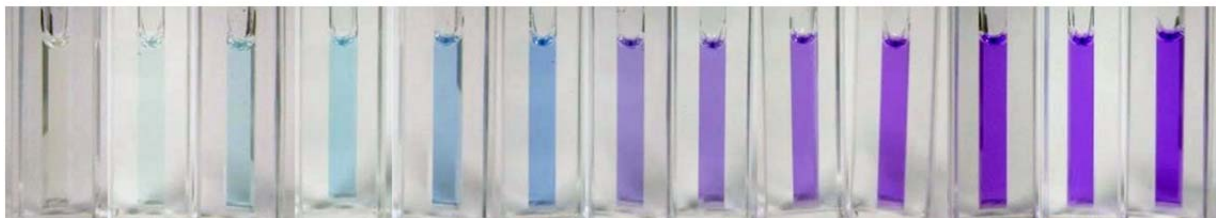
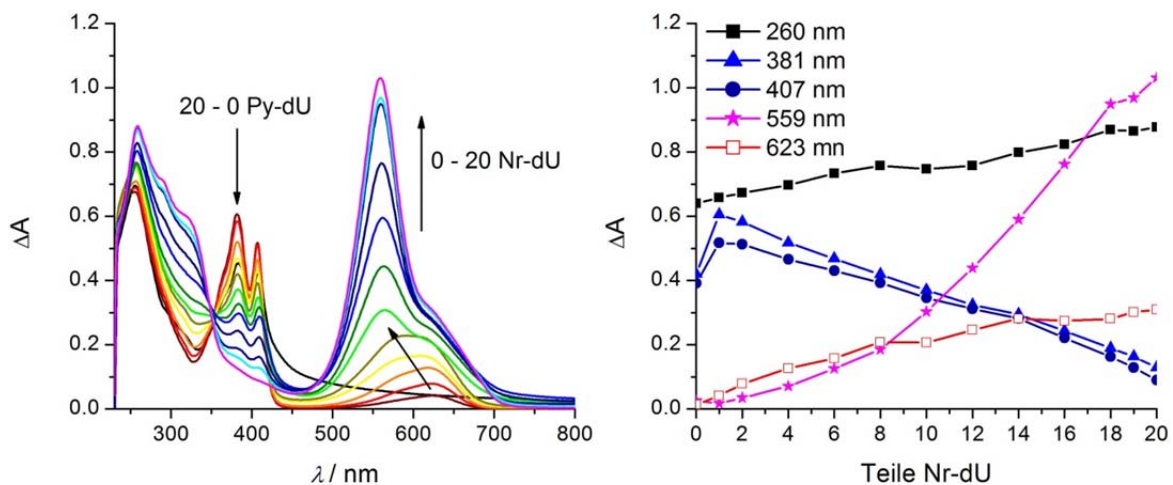


Abb. 53 UV/Vis-Absorptionsspektren der **Nr≡dU:Py≡dU** Mischungen an **DNA9** ($c = 1.25 \mu\text{M}$) in $\text{H}_2\text{O} + 2\% \text{DMSO}$ (oben links) und Verlauf der Absorptionsintensität gegen die Anzahl an **Nr≡dU** (oben rechts). Bilder der Mischungen von **Nr≡dU:Py≡dU** 0:20 bis 20:0 bei Tageslicht (unten).

Das Absorptionsspektrum des reinen Pyren-Stapels (**Py≡dU**)₂₀ zeigt Absorptionsbanden bei 382 nm und 407 nm, die typisch für kovalent^[75, 183] und nicht-kovalent^[120] verknüpfte pyrenmodifizierte DNA-Konjugate sind. Verglichen mit den Vorversuchen in DMSO, sind die Absorptionsmaxima bathochrom verschoben und zeigen ein anderes Verhältnis der Banden zueinander ($\Delta A_{407\text{nm}} / \Delta A_{382\text{nm}} = 0.93$). Diese Beobachtungen deuten auf einen aggregierten Pyren-Stapel hin. Im Absorptionsbereich über 420 nm ist eine breit auslaufende Bande zu erkennen, die auf ein größeres Agglomerat zwischen den DNA-Pyren-Aggregaten schließen lässt. Durch das Einbringen von nur einer Nilroteinheit (**Py≡dU:Nr≡dU** = 19:1) verschwindet diese Bande und somit wird das strangübergreifende Agglomerat

III.3. Anlagerung von Py-/Nr≡dU Mischungen

aufgelöst. Eine weitere Beobachtung ist, dass die Absorptionsbanden von Pyren bei 382 nm und 407 nm sprunghaft ansteigen und ebenfalls auf die Auflösung des Agglomerats hindeuten. Die Ergebnisse aus Kapitel III.1.3 zeigen, dass **Nr≡dU** nur in gestapelter Form an den Templat-DNA-Strang bindet ($\lambda_{\max} = 558$ nm, Schulter über 600 nm), wobei die Mischung **Py≡dU:Nr≡dU** = 19:1 eine Absorptionsbande für Nilrot bei 623 nm zeigt. Diese Bande entspricht Nilrot, das mit keiner weiteren Nilrot-Einheit in Wechselwirkung steht^[78], wodurch ersichtlich wird, dass ein bichromophorer Stapel (aus Nilrot- und Pyren-Nukleosiden bestehend) entlang der Templat-DNA gebildet wurde und die Pyren-Nukleoside das Nilrot stabilisieren. Durch Erhöhen des Nilrot-Gehalts in den Mischungen erscheint eine zweite Absorptionsbande bei 558 nm, die auf Wechselwirkungen zwischen den Nilrot-Nukleosiden zurückzuführen ist. Bis zu einem Verhältnis von **Py≡dU:Nr≡dU** = 12:8 steigen die Nilrot-Banden für das Monomer ($\lambda_{\max} = 623$ nm) und die aggregierte Form ($\lambda_{\max} = 558$ nm) etwa gleichmäßig, ab einer Mischung von **Py≡dU: Nr≡dU** = 10:10 steigt nur noch das Signal bei $\lambda_{\max} = 558$ nm, an (Abb. 53, rechts). Demnach lagert sich ab diesem Mischungsverhältnis (10:10) hauptsächlich gestapeltes **Nr≡dU** an.

Eine weitere, interessante Eigenschaft dieser Aggregate ist die zweifarbige Fluoreszenz (Abb. 54). Zur Untersuchung des Emissionsverhaltens und möglicher Energietransferprozesse wurden die verschiedenen **Py≡dU:Nr≡dU** Mischungen bei einer für das Pyren typischen Wellenlänge von 380 nm angeregt. Die vollständig **Py≡dU** besetzte DNA weist ein Emissionsmaximum bei 508 nm auf, das typisch für gestapelte Pyren-Nukleoside ist.^[120] Wird der **Nr≡dU**-Anteil in den Mischungen erhöht, findet eine hypsochrome Verschiebung der **Py≡dU**-Emission auf 470-460 nm statt und die Intensität nimmt signifikant ab (bis **Py≡dU:Nr≡dU** 12:8). In der Mischung **Py≡dU:Nr≡dU** 1:19 tritt eine charakteristische, monomere Pyrenemission auf und zeigt, dass die Pyren-Einheiten (wie das Nilrot) bei geringem Anteil als Monomere im Stapel vorliegen. Bei $\lambda_{\max} = 672$ nm erscheint in den Emissionsspektren eine zusätzliche Bande für die Nilrot-Nukleoside. Die höchste Intensität dieser Bande wird bei einer Mischung von **Py≡dU:Nr≡dU** 16:4 erreicht. Wird Nilrot direkt bei $\lambda_{\text{exc}} = 558$ nm angeregt, erscheint die höchste Intensität erst bei einem Verhältnis von **Py≡dU:Nr≡dU** 12:8. Die Beobachtungen deuten alle auf kleiner werdende **Py**- und wachsende **Nr≡dU**-Stapel hin. Außerdem wechseln die

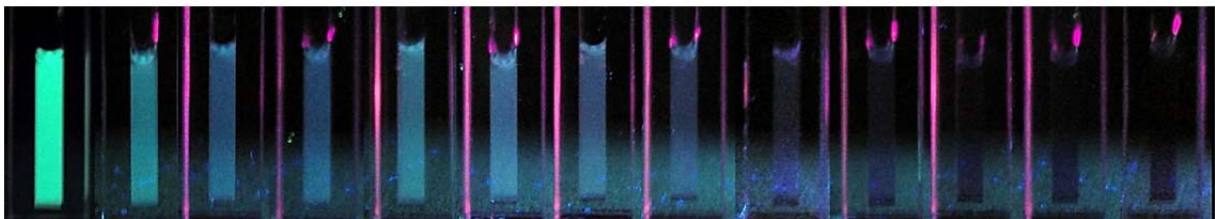
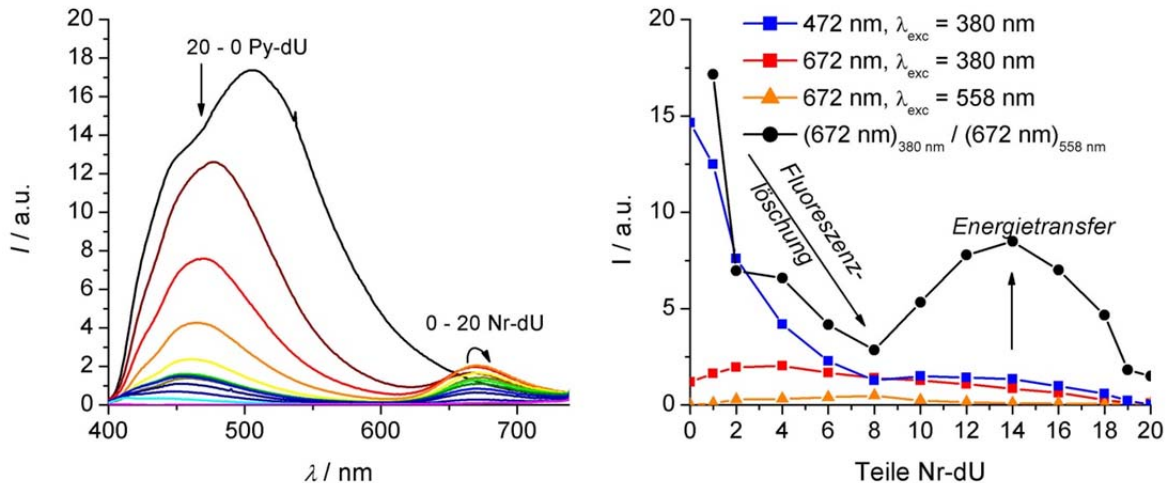


Abb. 54 Emissionsspektren ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$) der **Nr≡-dU:Py≡-dU** Mischungen an **DNA9** ($c = 1.25 \mu\text{M}$) in $\text{H}_2\text{O} + 2\% \text{ DMSO}$ (oben links) und Verlauf der Intensitäten gegen die Anzahl an **Nr≡-dU** (oben rechts). Bilder der Mischungen von **Nr≡-dU:Py≡-dU** 0:20 bis 20:0 unter UV-Licht (unten).

Nilrot-Nukleoside von fluoreszenten Monomeren zu nicht-fluoreszenten Aggregaten durch Erhöhung des Nilrotanteils. Als dominierender Effekt tritt eine über alle Wellenlängen reichende Fluoreszenzlöschung bis zu einem Anteil von 8 **Nr≡-dU** auf. Im Gegensatz dazu findet ab der Mischung von **Py≡-dU:Nr≡-dU** 10:10 ein Energietransfer von Pyren auf Nilrot statt. Die Emission von Nilrot ist bei einer Anregung mit $\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$ wesentlich stärker als bei direkten Anregung mit $\lambda_{\text{exc}} = 558 \text{ nm}$. Dieses Verhältnis der beiden Fluoreszenzintensitäten deutet auf einen Energietransfer von Pyren auf Nilrot (Abb. 54 rechts) hin.

Um den Energietransfer zwischen den Pyren- und Nilrot-Nukleosiden weiter zu charakterisieren, wurden Anregungsspektren für die Nilrotfluoreszenz bei 672 nm gemessen (Abb. 55). Die Spektren weisen ein deutliches Signal im Wellenlängenbereich von Pyren (350 - 430 nm) und bei $\lambda_{\text{max}} = 617 \text{ nm}$ für Nilrot auf. Das Verhältnis der Fluoreszenzintensitäten bei den Anregungswellenlängen von 378 nm und 617 nm deutet, wie erwartet, auf einen Energietransfer zwischen den Farbstoffen hin (Abb. 55, rechts). In den Aggregaten mit höherem Pyrenanteil (**Py≡-dU:Nr≡-dU** = 19:1 – 12:8) kommt es durch die Anregung bei $\lambda_{\text{exc}} = 378 \text{ nm}$ zu einer Emission bei 672 nm. Allerdings weisen die größeren Pyren-Stapel eine nicht zu

III.3. Anlagerung von Py-/Nr≡dU Mischungen

vernachlässigende Fluoreszenzintensität in diesem Bereich auf und lassen somit keine direkte Aussage über einen Energietransfer zu. Wird hingegen der Nilrotanteil weiter erhöht, liefert die Anregung des Pyrens weiterhin einen großen Anteil für die Fluoreszenz bei 672 nm, obwohl die Anzahl der **Py≡dU**-Einheiten abnimmt (ab **Py≡dU:Nr≡dU** = 10:10). Diese Tatsache bestärkt die Annahme auf einen Energietransfer zwischen Pyren und Nilrot in diesen Aggregaten. Der einzige Unterschied zwischen den Analysen der Fluoreszenzspektren und Anregungsspektren ist, dass der Bereich in dem ein Energietransfer stattfindet, geringfügig abweicht. Die Auswertung der Anregungsspektren ergibt einen Energietransfer schon ab acht Teilen **Nr≡dU** bzw. zwölf Teilen **Py≡dU** und nicht, wie in den Fluoreszenzspektren zu erkennen, erst ab einem Verhältnis von 10:10.

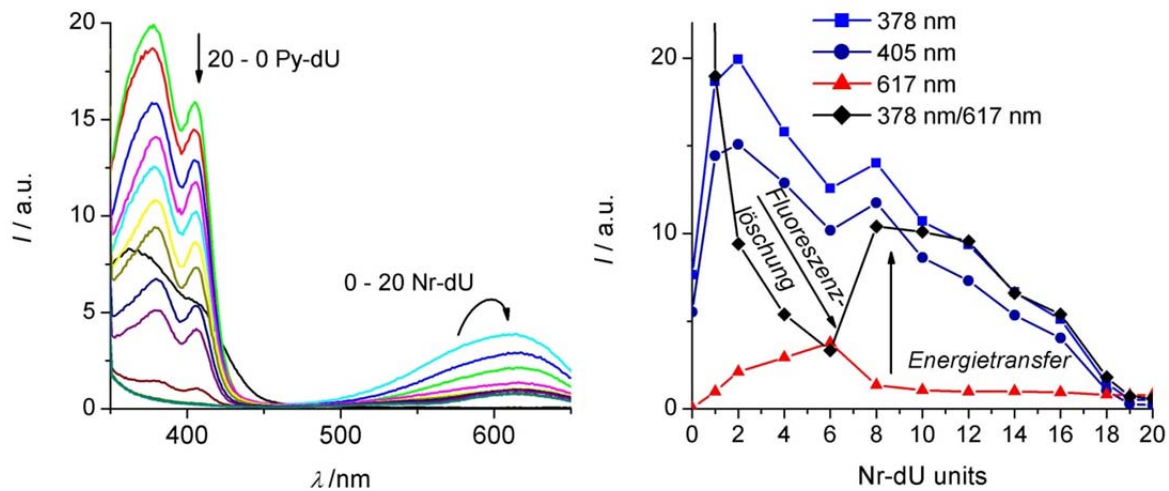


Abb. 55 Anregungsspektren ($\lambda_{\text{emi}} = 672 \text{ nm}$) der **Nr≡dU:Py≡dU** Mischungen an **DNA9** ($c = 1.25 \mu\text{M}$) in $\text{H}_2\text{O} + 2\% \text{ DMSO}$ (links) und Verlauf der Intensitäten gegen die Anzahl an **Nr≡dU** (rechts).

3.2.2. CD-Spektroskopie

Mithilfe der UV/Vis-, Emissions- und Anregungsspektren wurde das System der DNA-templierten Selbstassemblierung auf das Aggregations- und Emissionsverhalten der Farbstoffe untersucht. Um den Einfluss des Templat-DNA-Strangs auf die helikale Orientierung der Chromophore zu untersuchen, wurden die Mischungen mithilfe der CD-Spektroskopie vermessen. Die Monomere absorbieren allerdings nicht nur in den charakteristischen Bereichen der Farbstoffe über 300 nm, sondern auch im Bereich der Nukleoside (230 – 300 nm). In diesem Bereich weisen die Farbstoff-Nukleoside ein starkes excitongekoppeltes CD-Signal auf und überlagern

damit das Signal der DNA. Hieraus ergibt sich ein Problem der Interpretation, da das CD-Signal in diesem Bereich nicht mit typischen Spektren wie z.B. einer B-DNA verglichen werden kann, um Aussagen zur Struktur (A-, B-, Z-Form) des Farbstoff-DNA-Aggregats zu treffen.

Liegt ein reiner **Py≡dU**-Stapel (20 Pyren-Einheiten) angelagert an **DNA9** vor, ist ein starkes Signal mit einem negativen *Cotton*-Effekt im Bereich 416 – 394 nm, gefolgt von einem positiven *Cotton*-Effekt im Bereich 355 – 328 nm, das die Nulllinie bei 383 nm kreuzt, erkennbar (Abb. 56, blaue Kurven). Ein Vergleich mit dem Spektrum des publizierten, kovalent verknüpften **Py≡dU**-Stapels^[75] ergibt, dass die Chiralität des nicht-kovalent verknüpften **Py≡dU**-Stapels spiegelbildlich ist. Wird angenommen, dass der kovalente Stapel, durch den DNA-Doppelstrang, in eine rechtsgängige Orientierung gezwungen wird, kann die Aussage getroffen werden, dass im vorliegenden Aggregat die Farbstoffe einer linksgängigen Orientierung folgen. Dieses Phänomen wurde bereits von *Wagenknecht et al.* beobachtet.^[120, 181]

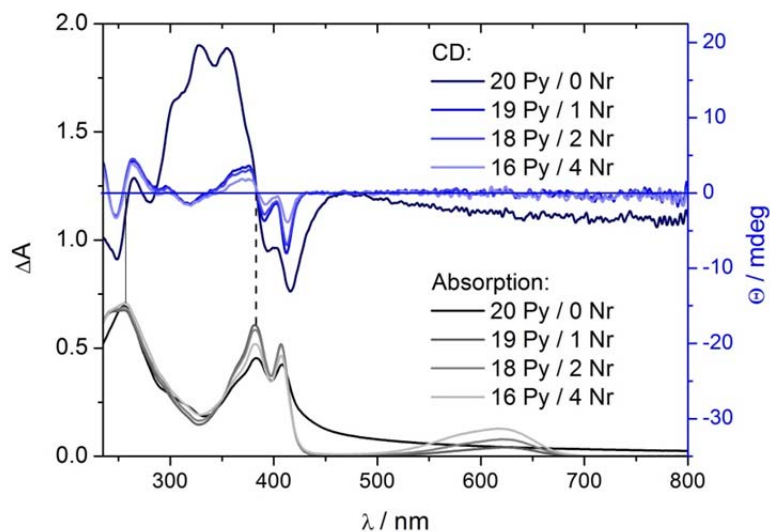


Abb. 56 CD-Spektren im Vergleich mit den Absorptionsspektren der Mischungen **Nr≡dU:Py≡dU** von 0:20 bis 16:4 mit **DNA9** ($c = 1.25 \mu\text{M}$) in $\text{H}_2\text{O} + 2\% \text{DMSO}$.

Die Verminderung des Pyrenanteils (**Py≡dU:Nr≡dU** = 20:0 bis 16:4) führt lediglich zu einer Abnahme des CD-Signals nicht aber zu einer Verschiebung oder einer Umkehrung der Signalabfolge. Somit wird ersichtlich, dass nur das starre Gerüst eines DNA-Doppelstrangs in der Lage ist, den Farbstoffen eine rechtsgängige Orientierung zu geben. Des Weiteren ist zu erkennen, dass ein gemischter Farbstoff-Stapel vorliegt, da das Einbringen der Nilrot-Nukleoside zu einer Schwächung des CD-Signals im Pyren-typischen Bereich führt (siehe Abb. 56). Bis zu einem

Verhältnis von **Py≡dU:Nr≡dU** = 14:6 nimmt das Signal stetig ab und im Bereich der Nilrot-Absorption ist noch kein CD-Signal zu sehen. Erst ab einem Verhältnis von **Py≡dU:Nr≡dU** = 12:8 erscheint ein schwaches CD-Signal im Nilrot-Bereich mit einem negativen *Cotton*-Effekt bei 604 – 564 nm, einem Nulldurchgang bei 556 nm und einem positiven *Cotton*-Effekt bei 553 – 507 nm (siehe Abb. 57). Außerdem ändert sich das Pyren-CD-Signal von einem ECD- in ein ICD-Signal (siehe Kapitel II.1.3) und besitzt nur noch einen positiven *Cotton*-Effekt im Bereich der Pyren-Absorption. Dadurch wird ersichtlich, dass die Pyren-Nukleoside eine Umorientierung erfahren und keine excitonische Kopplung mehr zwischen den Chromophoren existiert.

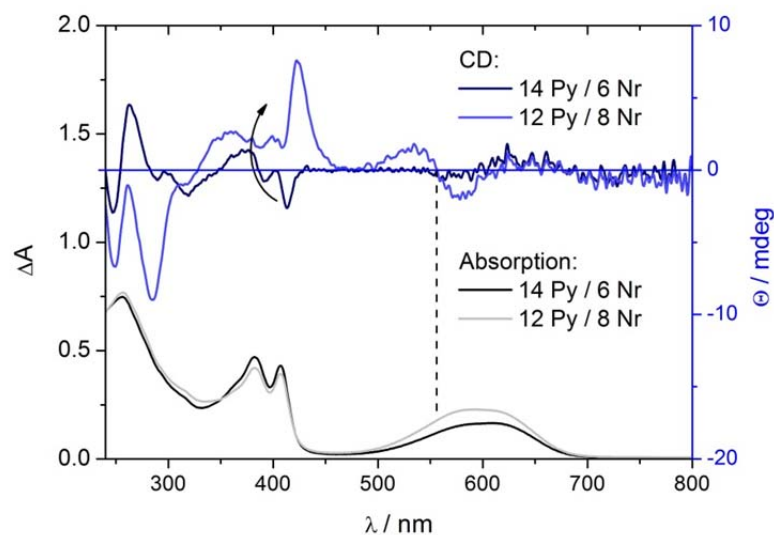


Abb. 57 CD-Spektren im Vergleich mit den Absorptionsspektren der Mischungen **Nr≡dU:Py≡dU** von 6:14 und 8:12 mit **DNA9** ($c = 1.25 \mu\text{M}$) in $\text{H}_2\text{O} + 2\% \text{ DMSO}$.

Diese signifikanten Veränderungen stimmten mit den bisherigen Beobachtungen der vorherigen Messungen überein. Im UV/Vis-Spektrum ist bei diesem Mischungsverhältnis erstmals die Bande bei 558 nm dominierend, was auf eine Aggregation der Nilrot-Einheiten zurückzuführen ist. Aus den Anregungsspektren wird ersichtlich, dass ab diesem Mischungsverhältnis ein Energietransfer von Pyren auf Nilrot stattfindet. Eine Erhöhung der **Nr≡dU**-Konzentration (ab **Py≡dU:Nr≡dU** = 10:10) führt nicht nur im Nilrot-Bereich zu einem intensiveren CD-Signal, sondern auch im Pyren-Bereich (Abb. 58). Der Vergleich mit bereits publizierten Spektren von kovalent verknüpften **Nr≡dU**-Stapeln im DNA-Doppelstrang^[78] zeigt, dass die nicht kovalent angelagerten **Nr≡dU**-Einheiten linksgängig orientiert sind. Die Intensität des CD-Signals für Nilrot als auch für Pyren wird bei einem Mischungsverhältnis von

Py≡dU:Nr≡dU = 6:14 maximal. Außerdem wird eine hypsochrome Verschiebung des Nilrot-CD-Signals beobachtet. Die Analyse der Fluoreszenzspektren ergibt für dieses Mischungsverhältnis den effizientesten Energietransfer in diesem System. Demnach herrscht eine ideale Orientierung zwischen den Übergangsdipolmomenten der Farbstoffe.

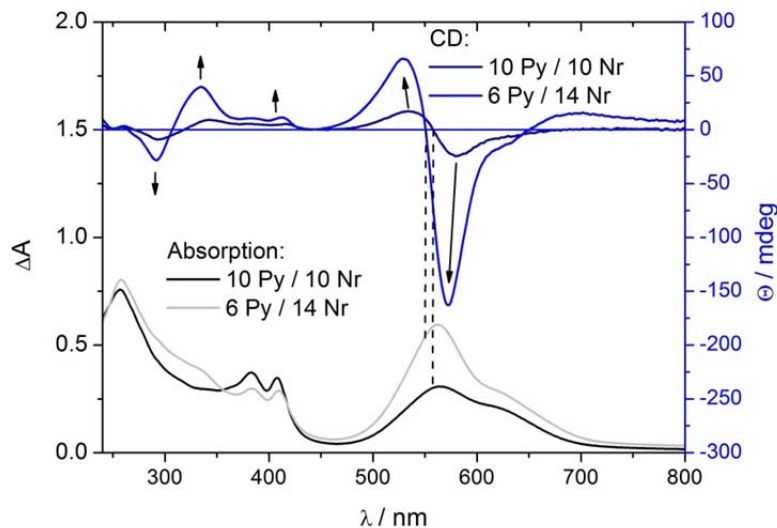


Abb. 58 CD-Spektren im Vergleich mit den Absorptionsspektren der Mischungen **Nr≡dU:Py≡dU** von 10:10 und 14:6 mit **DNA9** ($c = 1.25 \mu\text{M}$) in $\text{H}_2\text{O} + 2\% \text{DMSO}$.

Durch weiteres Erhöhen des **Nr≡dU**-Anteils (bis 20 Nilroteinheiten) wird der positive *Cotton*-Effekt von 528 auf 510 nm und der Negative von 572 auf 553 nm verschoben. Zudem nehmen die CD-Signalstärken in den Farbstoffbereichen ab (Abb. 59).

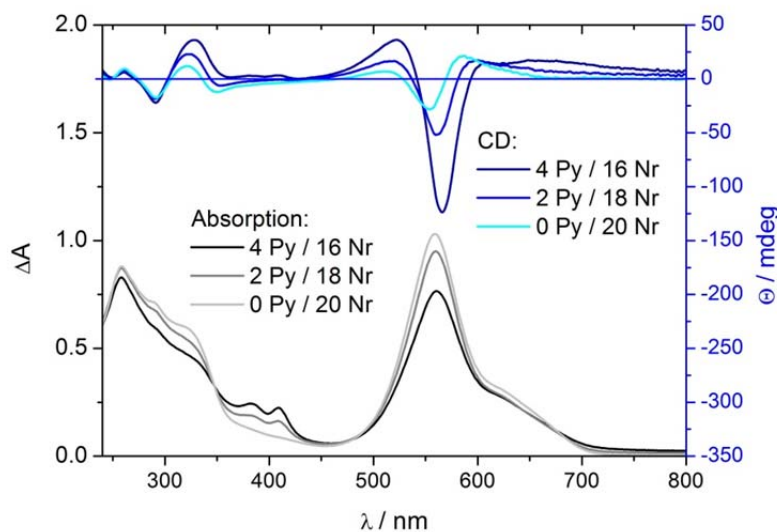


Abb. 59 CD-Spektren im Vergleich mit den Absorptionsspektren der Mischungen **Nr≡dU:Py≡dU** von 16:4 bis 20:0 mit **DNA9** ($c = 1.25 \mu\text{M}$) in $\text{H}_2\text{O} + 2\% \text{DMSO}$.

III.3. Anlagerung von Py-/Nr≡dU Mischungen

Sind weniger als vier **Py≡dU**-Einheiten vorhanden, verschwindet das entsprechende CD-Signal.

Wie in Kapitel II.1 beschrieben, hängt die Intensität des excitongekoppelten CD-Signals von der Orientierung bzw. dem Winkel α zwischen den Übergangsdipolmomenten zweier identischer Chromophore ab. Die Formel für $\Delta\varepsilon$ beinhaltet die Funktion $\sin(2\alpha)^{[34-35]}$, wodurch das Signal für $\alpha = 45$ bzw. 135° am intensivsten wird. Umgekehrt, für $\alpha = 0$ bzw. 180° ist das CD-Signal null. Demnach muss in den Mischungsverhältnissen von **Py≡dU:Nr≡dU** = 8:12 - 4:16 eine ideale Orientierung ($\alpha \approx 45$ oder 135°) zwischen den Nilrot-Einheiten herrschen, da die CD-Signalstärke maximal ist. Andernfalls wird der Winkel verkleinert und die Signalstärke nimmt ab. Im Falle des Pyren-CD-Signals wird ein anderes Verhalten beobachtet. Im reinen Pyren-Stapel tritt das stärkste excitongekoppelte CD-Signal auf, das durch Erhöhung des Nilrotanteils an Intensität verliert.

3.3. Mischungen mit DNA1

Eine weitere Aufgabenstellung dieser Arbeit war die Herstellung eines Fulleren-DNA-Konjugats und die Untersuchung hinsichtlich der Funktion als Elektronenakzeptor. Hierfür wurde das Fulleren-Derivat postsynthetisch über einen Aktivester an eine aminmodifizierte DNA geknüpft (siehe III.1.3). Diese fullerenmodifizierte DNA (**DNA1**) weist, gegenüber bisher publizierter Fulleren-DNA-Konjugaten (siehe II.5) den Vorteil auf, dass eine Aufreinigung mittels HPLC und eine eindeutige Charakterisierung über die MALDI-Massenspektrometrie durchgeführt werden kann (VI.3).

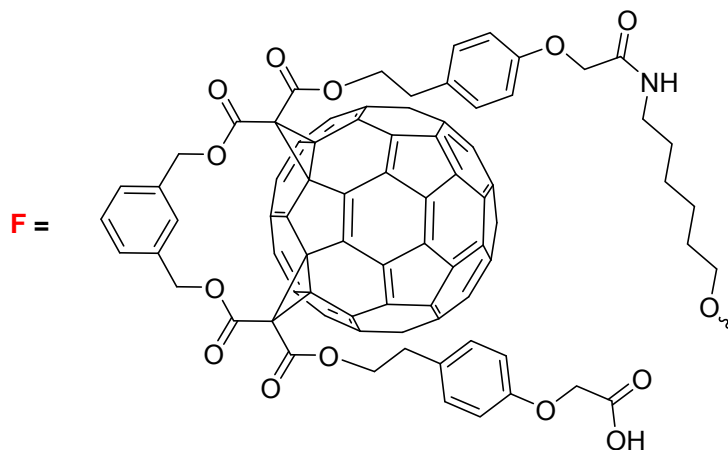
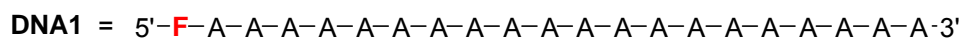


Abb. 60 Sequenz der fullerenmodifizierten **DNA1**.

3.3.1. Fullerenmodifizierte DNA

Bevor die fullerenmodifizierte DNA als Templat-DNA-Strang für die Anlagerung von **Py≡-dU:Nr≡-dU** verwendet wurde, sollte das Absorptionsverhalten und die Schmelztemperatur untersucht werden.

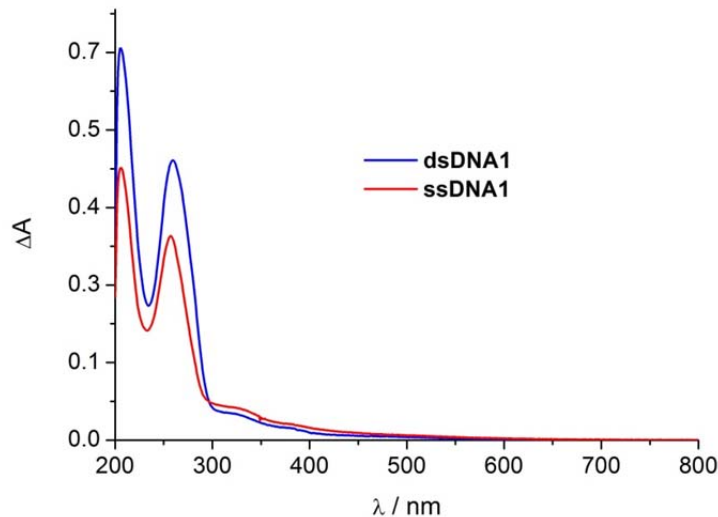


Abb. 61 UV/Vis-Absorptionsspektrum von **DNA1** als Einzel- (rot) und im Doppelstrang (blau) in wässriger Lösung ($c = 1.25\mu\text{M}$, 10 mM NaP_i -Puffer (pH = 7.2), 250 mM NaCl).

Liegt **DNA1** im Einzelstrang vor, ist im Absorptionsspektrum eine Bande bei $\lambda_{\text{max}} = 257 \text{ nm}$ zu sehen (Abb. 61). Einerseits kann diese Bande den Basen im DNA-Strang zugeordnet werden, andererseits absorbiert C_{60} ebenfalls in diesem Bereich und trägt somit zur Intensität in diesem Bereich bei. Die breite, auslaufende Bande bei 300 – 600 nm, mit einem Maximum bei 327 nm, ist sehr charakteristisch für Fulleren^[147, 184] und bestätigt, dass ein Fulleren-DNA-Konjugat vorliegt. Wird die fullerenmodifizierte DNA mit dem passenden Gegenstrang ($(\text{dT})_{20}$) hybridisiert (**dsDNA1**), besitzt die Absorptionsbande im DNA-Bereich ein Maximum bei 260 nm. Die fullerentypische Absorption verschiebt sich hypsochrom von 327 nm auf 323 nm und der Extinktionskoeffizient wird verringert. Beides sind Indizien für eine veränderte Umgebung des Fulleren durch den Doppelstrang.

Ein Vergleich der Schmelztemperatur eines unmodifizierten DNA-Doppelstrangs (gleiche Sequenz) und **dsDNA1** ergibt eine Erhöhung der Schmelztemperatur von + 3 °C durch die Fullerenmodifikation (Abb. 62). Solch eine stabilisierende Wirkung im Fulleren-DNA-Konjugat wurde bereits im DNA-Doppelstrang beobachtet.^[169] Das Fulleren-DNA-Konjugat **DNA1** verhält sich in Absorption und Einfluss auf die

III.3. Anlagerung von Py-/Nr≡dU Mischungen

Doppelstrangstabilität wie erwartet und wird im Folgenden als Templat-DNA-Strang für die Anlagerung der Nilrot- und Pyren-Nukleoside verwendet.

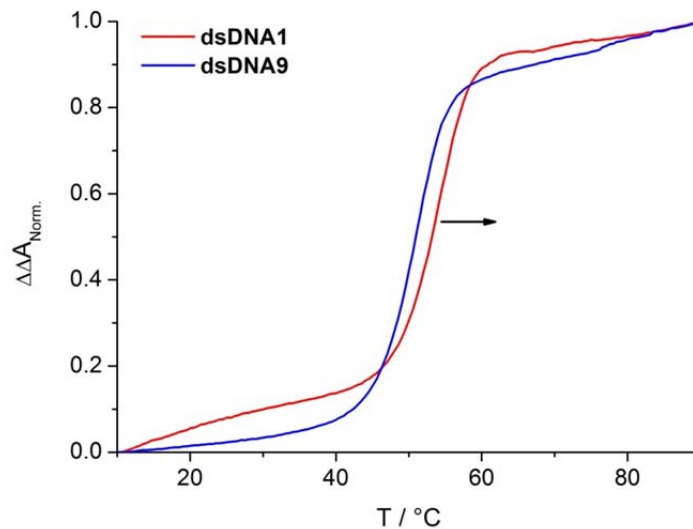


Abb. 62 Schmelzkurven von **dsDNA1** (rot) und unmodifiziertem Referenzstrang **dsDNA9** (blau).

3.3.2. Selbstassemblierung entlang DNA1

Die Anlagerungsexperimente erfolgen analog zu den bereits beschriebenen Experimenten mit **DNA9**. Wieder werden **Nr≡dU** und **Py≡dU** in verschiedenen Mischungsverhältnissen (**Py≡dU:Nr≡dU** = 20:0 bis 0:20) zur Untersuchung des Anlagerungsverhaltens mit einem Templat-DNA-Strang, in diesem Fall **DNA1**, zusammengegeben.

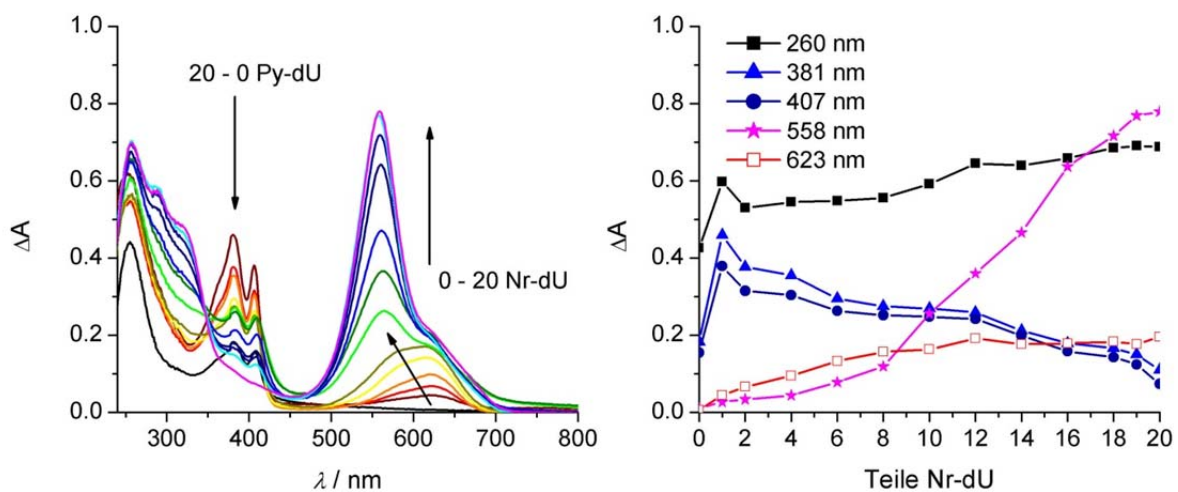


Abb. 63 UV/Vis-Absorptionsspektren der **Nr≡dU:Py≡dU** Mischungen an **DNA1** ($c = 1.25 \mu\text{M}$) in $\text{H}_2\text{O} + 2\% \text{DMSO}$ (links) und Verlauf der Absorptionsintensität gegen die Anzahl an **Nr≡dU** (rechts).

Im Fall des reinen Pyren-Stapels (**Py≡dU:Nr≡dU** = 20:0) sind wieder zwei Banden bei 382 nm und 407 nm zu sehen, wodurch bestätigt wird, dass eine Anlagerung der Pyren-Nukleoside auch im Falle der fullerenmodifizierten DNA erfolgt. Allerdings ist das (**Py≡dU**)₂₀-**DNA1**-Aggregat sehr hydrophob und bildet teilweise unlösliche Agglomerate, was in der stark verminderten Absorption und der auslaufenden Bande im Bereich über 420 nm wiedergespiegelt wird. Bei **DNA9** bildete die (**Py≡dU**)₂₀-Mischung zwar auch größere Zusammenschlüsse, dennoch blieben diese in Lösung. Die Agglomeration im Fall von **DNA1** konnte ebenfalls durch Zugabe von Nilrot-Nukleosiden unterbunden werden. Bei **Py≡dU:Nr≡dU** = 19:1 verschwindet die Bande ab 420 nm, die Pyrenabsorption steigt an und eine typische Bande für monomeres Nilrot erscheint bei 623 nm. Wie bereits in Kapitel III.3.2 erläutert, wird aus diesen Beobachtungen ersichtlich, dass erstens: ein strangübergreifendes Aggregat aufgelöst wird und zweitens: **Nr≡dU** ein Teil des Pyren-Stapels ist und kein reiner Nilrot-Stapel an DNA gebildet wird. Mit **DNA1** tritt ab einem Mischungsverhältnis von **Py≡dU:Nr≡dU** = 10:10 eine signifikante Bande bei 558 nm auf und deutet auf eine Aggregation der Nilrot-Nukleoside hin. Durch Erhöhung der Nilrotkonzentration (bis **Py≡dU:Nr≡dU** = 0:20) steigt diese Bande weiter an, wodurch ersichtlich wird, dass die Nilrot-Aggregate größer werden.

Bei den Emissionen ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$) ist die gleiche Tendenz wie mit **DNA9** zu erkennen, dennoch gibt es ein paar Unterschiede bei Verwendung von **DNA1**. In dem reinen **Py≡dU**-Stapel ist das Emissionsmaximum bei 475 nm und nicht, wie mit **DNA9**, bei 508 nm. Der Grund könnte in einem anderen strangübergreifendem Aggregationsmuster zwischen den **Py≡dU**-DNA-Aggregaten liegen. Bilden die Pyren-**DNA9**-Aggregate größere Zusammenschlüsse, dann wird dies vermutlich über die Bildung eines noch größeren Pyren-Stapels geschehen. Dadurch wird das Emissionsverhalten stärker beeinflusst (Excimer-Emission^[120]). Im (**Py≡dU**)₂₀-**DNA1**-Aggregat werden, mit großer Wahrscheinlichkeit, die hydrophoben Fullerene den Kern des Agglomerats bilden, wodurch die Pyren-Stapel weniger im Emissionsverhalten beeinflusst werden. Durch Zugabe von Nilrot-Nukleosiden nimmt die Pyrenfluoreszenz (wie auch mit **DNA9**) ab und weist bei einem Mischungsverhältnis von **Py≡dU:Nr≡dU** = 1:19 eine monomere Pyrenfluoreszenz auf. Beachtenswert ist dennoch, dass durch Zugabe von nur einer **Nr≡dU**-Einheit, die Fluoreszenz bei 475 nm, um 57 % gelöscht wird ($I_{475 \text{ nm}}(\text{Py}_{19})/I_{475 \text{ nm}}(\text{Py}_{20})$). Im

III.3. Anlagerung von Py-/Nr≡dU Mischungen

Vergleich dazu nimmt mit **DNA9** die Fluoreszenz bei dieser Wellenlänge um 17 % ab. Außerdem ist das Verhältnis zwischen der Pyren- und der Nilrotfluoreszenz mit **DNA1** kleiner ($I_{467\text{ nm}}/I_{666\text{ nm}} = 2.60$. vgl. mit **DNA9** = 7.56) und deutet auf einen effektiveren Energietransfer von Pyren auf Nilrot.

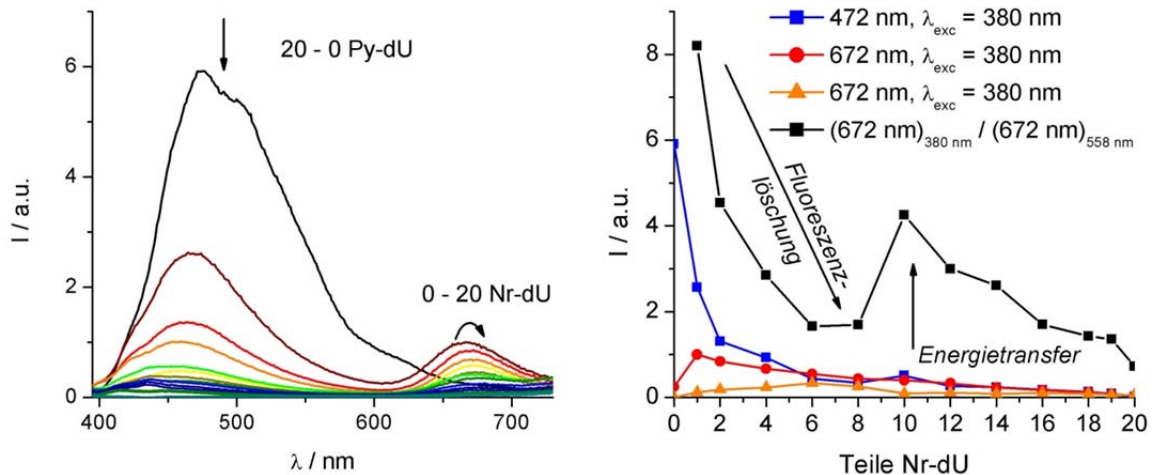


Abb. 64 Emissionsspektren ($\lambda_{\text{exc}} = 380\text{ nm}$) der **Nr≡dU:Py≡dU** Mischungen an **DNA1** ($c = 1.25\ \mu\text{M}$) in $\text{H}_2\text{O} + 2\%$ DMSO (links) und Verlauf der Intensitäten gegen die Anzahl an **Nr≡dU** (rechts).

Der Verlauf von Fluoreszenzlöschung und Energietransfer ist ähnlich zu den Ergebnissen mit **DNA9** und wird in Abschnitt III.3.3.3 genauer betrachtet.

Zur vollständigen Charakterisierung der Systeme hinsichtlich des Energietransfers wurden auch für die Mischungen mit **DNA1** Anregungsspektren bei einer Emissionswellenlänge von 672 nm (Nilrotfluoreszenz) aufgenommen.

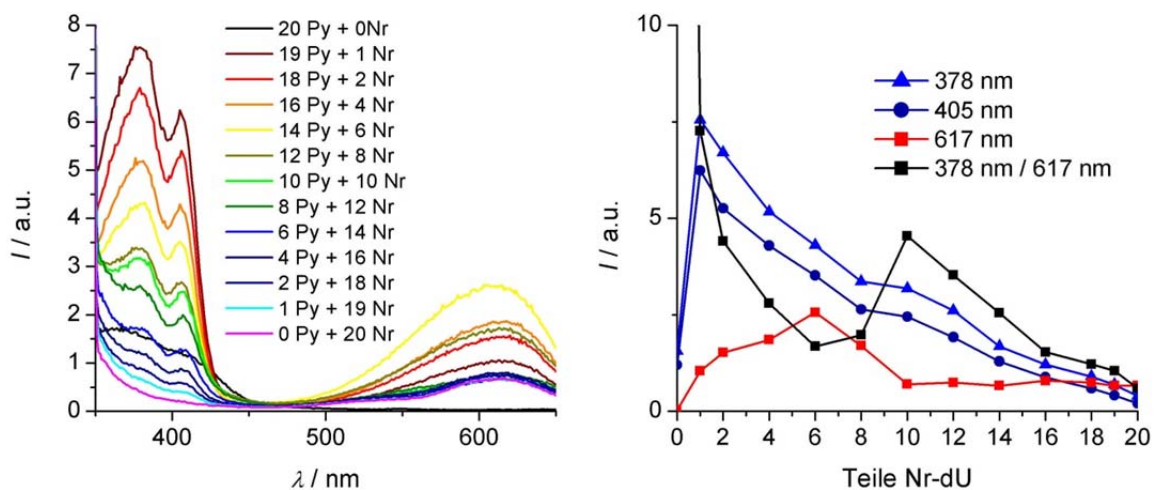


Abb. 65 Anregungsspektren ($\lambda_{\text{emi}} = 672\text{ nm}$) der **Nr≡dU:Py≡dU** Mischungen an **DNA1** ($c = 1.25\ \mu\text{M}$) in $\text{H}_2\text{O} + 2\%$ DMSO (links) und Verlauf der Intensitäten gegen die Anzahl an **Nr≡dU** (rechts).

Die Anregungsspektren weisen Banden im charakteristischen Bereich von Pyren (350 – 400 nm) und Nilrot (500 – 650 nm) auf. Ein Energietransfer wird ersichtlich, wenn der Quotient zwischen den Intensitäten bei 378 nm und 617 nm gebildet wird. Bis zu einer Mischung von **Py≡dU:Nr≡dU** = 12:8 kommt es zur Fluoreszenzlöschung in diesem System. In den Mischungen von **Py≡dU:Nr≡dU** = 10:10 - 4:16 tritt ein Energietransfer auf, danach allerdings wieder eine Fluoreszenzlöschung. Verglichen mit den **DNA9**-Mischungen trägt Pyren, im Verhältnis gesehen, weniger zur Nilrotfluoreszenz im **DNA1**-System bei.

Die Untersuchungen mithilfe der optischen Spektroskopie zeigten, dass Mischungen bestehend aus **Py≡dU** und **Nr≡dU** erfolgreich an die fullerenmodifizierte DNA anlagern. Die Farbstoff-**DNA1**-Aggregate zeigten ein gleiches Aggregationsverhalten und eine gleiche Tendenz in den Emissions- und Anregungsspektren bzgl. Fluoreszenzlöschung und Energietransfer wie mit **DNA9**. Dennoch ist das System mit **DNA1** in sich konsistenter, da alle markanten Änderungen (z.B. Aggregation von Nilrot, Auftreten des Energietransfers in Emissions- und Anregungsspektren) bei einem Mischungsverhältnis von **Py≡dU** : **Nr≡dU** = 10:10 auftreten. Ein genauerer Vergleich der Pyren-Nilrot-Mischungen entlang **DNA9** und **DNA1** erfolgt im anschließenden Abschnitt.

3.3.3. Vergleich zwischen **DNA9** und **DNA1**

Die UV/Vis-, Emissions- und Anregungsspektren der DNA-templierten Selbstassemblierung von **Py≡dU** und **Nr≡dU** entlang des unmodifizierten Oligo-2'-desoxyadenosins **DNA9** und der fullerenmodifizierten DNA (**DNA1**) zeigen ein ähnliches Verhalten der assemblierten Chromophor-Nukleoside. In diesem Abschnitt wird das Emissionsverhalten beider Systeme genauer verglichen, um einen möglichen Elektronentransfer auf das Fulleren festzustellen. Der Vergleich des reinen Pyren-Stapels entlang **DNA9** bzw. **DNA1** zeigt nicht nur ein hypsochrom verschobenes Emissionsmaximum (508 nm → 475 nm), sondern auch eine verringerte Emissionsintensität (Abb. 66 links).

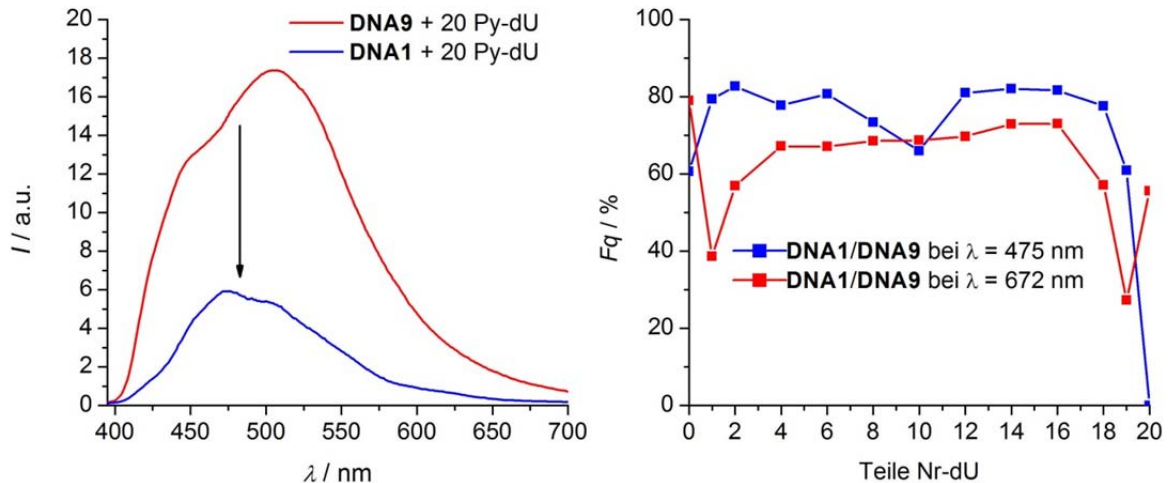


Abb. 66 Links: Emissionsspektrum ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$) von **(Py≡dU)₂₀** entlang **DNA9** (rot) bzw. **DNA1** (blau). Rechts: Quotient der Intensitäten bei $\lambda(\text{Py}) = 475 \text{ nm}$ und $\lambda(\text{Nr}) = 672 \text{ nm}$ von **DNA1/DNA9** in Abhängigkeit des Nilrot-Anteils.

Wurde der Quotient zwischen den Intensitäten der **(Py≡dU)₂₀**-DNA-Aggregate bei $\lambda = 475 \text{ nm}$ bestimmt, ergab sich eine Löschung der Fluoreszenz (F_q) von 60 %. Mit **Nr≡dU** im Stapel erhöhte sich die Fluoreszenzlöschung in den Mischungen bis auf einen Wert von $F_q = 83 \%$ für **Py≡dU:Nr≡dU = 18:2**. Alle anderen Mischungsverhältnisse befanden sich im Bereich von $F_q \sim 80 \%$ (Abb. 66, rechts, blau). Eine Ausnahme bildet das Mischungsverhältnis von **Py≡dU:Nr≡dU = 10:10**. Hierbei betrug die Fluoreszenzlöschung 66 %. Im Falle des reinen Nilrot-Stapels **(Nr≡dU)₂₀** konnte bei dieser Wellenlänge keine Fluoreszenzlöschung bestimmt werden, da keine Emission vorhanden war. Für die Fluoreszenzintensität von Nilrot bei $\lambda = 672 \text{ nm}$ ergeben sich Werte für F_q von ca. 70 % (Abb. 66, rechts, rot).

Um einen Energietransfer von Pyren auf Nilrot festzustellen, wird das Verhältnis der Nilrotemissionsintensitäten bei Anregung des Pyrens ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$) bzw. bei direkter Anregung ($\lambda_{\text{exc}} = 558 \text{ nm}$) gebildet (Abb. 67, links). Dabei wird ersichtlich, dass die Aggregate mit **DNA1** ein geringeres Verhältnis aufweisen und der Mischungsbereich, in dem ein Energietransfer stattfindet, kleiner ist (10 – 14 Teile **Nr≡dU**; vgl. **DNA9**: 10 – 18 Teile **Nr≡dU**). Wird das Energietransferverhalten mithilfe der Anregungsspektren betrachtet (Abb. 67, rechts), zeigt sich auch hier ein geringeres Verhältnis ($I_{380 \text{ nm}}/I_{617 \text{ nm}}$), sofern **DNA1** als Templat-DNA-Strang verwendet wurde. Und auch in dieser Betrachtung wurde ein kleineres Energietransferfenster für die Mischungen mit der fullerenmodifizierten DNA festgestellt (10 – 14 Teile **Nr≡dU**; vgl. **DNA9**: 8 – 14 Teile **Nr≡dU**).

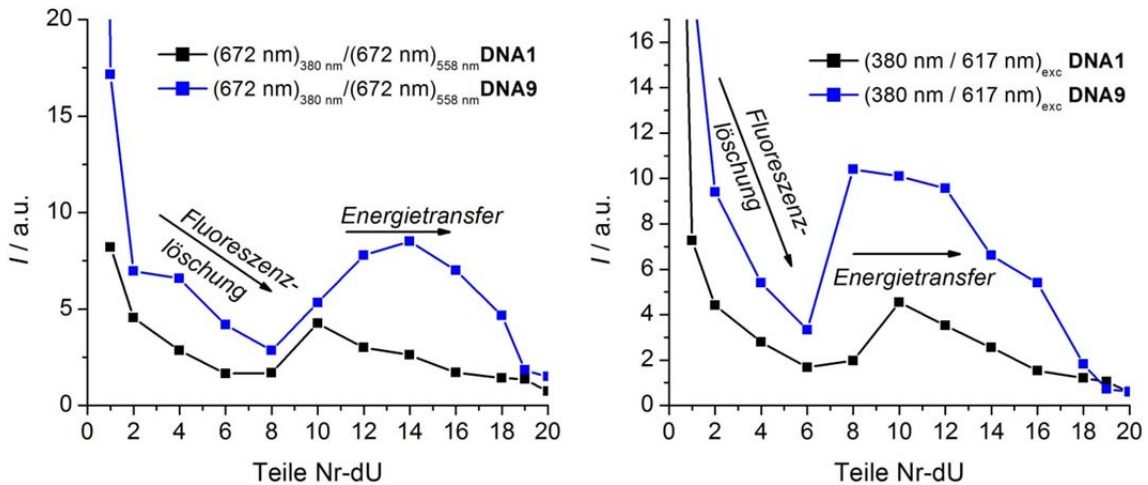


Abb. 67 Vergleich der Quotienten aus Emissionsspektren (links) und Anregungsspektren (rechts) der Mischungen entlang **DNA1/DNA9** in Abhängigkeit des Nilrot-Anteils.

Grund für die geringeren Verhältnisse ist die auftretende Fluoreszenzlöschung. Da in beiden Analysen der Energietransfer bei 10 Teilen **Nr≡dU** am stärksten und die Fluoreszenzlöschung bei diesem Verhältnis am geringsten ist ($F_q = 66\%$), wird die Aussage bestätigt. Somit konnte gezeigt werden, dass das Fulleren zu einer Fluoreszenzlöschung führt und durch einen Elektronentransfer vom Chromophor-Stapel auf das Fulleren angenommen werden kann.

Ähnliches wurde von *Janssen et al.* für ein supramolekulares System, bestehend aus Oligo(p-phenylenvinyl)-Einheiten (OVPs) und einer Fulleren-Einheit, berichtet. Die Fluoreszenz des OPV-Stapels wird durch das Fulleren stark gelöscht was auf einen Elektronentransfer zurückzuführen ist.^[185]

3.3.4. CD-Spektroskopie

Abschließend soll ein kurzer Vergleich der CD-Spektren von den Farbstoffmischungen entlang **DNA9** und **DNA1** erfolgen. Prinzipiell sind die Signalabfolgen und -stärken gleich, dennoch soll hier auf markante Unterschiede eingegangen werden. Für den reinen Pyren-Stapel ist das CD-Signal bathochrom verschoben und zeigt ein stärkeres Signal bei der Verwendung von **DNA1**. Bis zu einem Mischungsverhältnis von **Py≡dU:Nr≡dU** = 14:6 sind die CD-Spektren fast identisch (siehe Anhang). Wird der Nilrotanteil auf 8 Teile erhöht, zeigt sich ein Unterschied in den Spektren. Wo mit **DNA9** ein Phasenwechsel im charakteristischen Bereich von Pyren auftritt, ist mit **DNA1** nur eine weitere Abnahme des biphasigen CD-Signals zu erkennen (Abb. 68). Weiterhin tritt das erste ECD-

III.3. Anlagerung von Py-/Nr-≡-dU Mischungen

Signal im nilrottypischen Bereich auf, obwohl das Absorptionsmaximum mit **DNA1** bei 616 nm liegt und eher monomerem Nilrot entspricht (vgl. **DNA9** $\lambda_{\max}(\text{Nr}) = 585 \text{ nm}$).

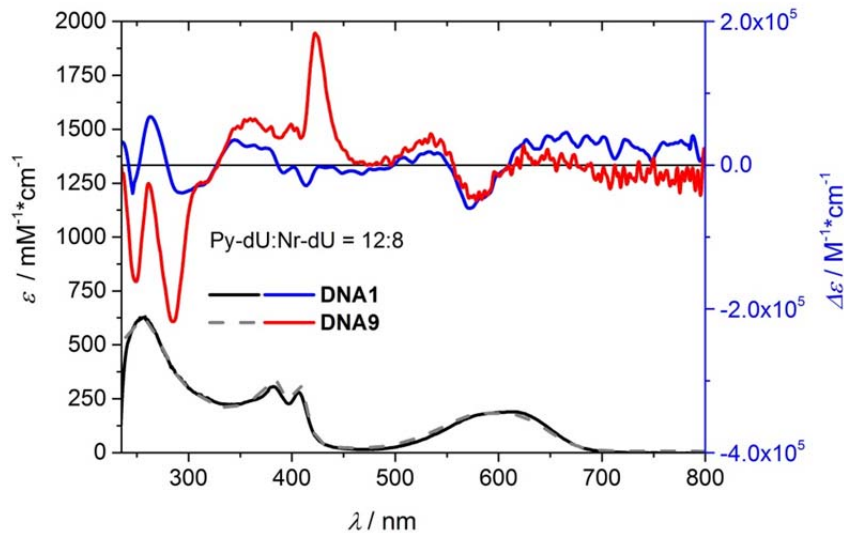


Abb. 68 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Nr-≡-dU:Py-≡-dU** = 8:12 mit **DNA9** und **DNA1** in $\text{H}_2\text{O} + 2 \%$ DMSO.

Der Phasen- und auch Signaltypwechsel (ECD \rightarrow ICD) im Bereich des Pyren-Nukleosids ist mit **DNA1** erst ab einer Mischung von **Py-≡-dU:Nr-≡-dU** = 10:10 zu beobachten (siehe Anhang). Ab diesem Mischungsverhältnis sind die CD-Spektren wieder gleich in der Signalposition und -abfolge. Der einzige Unterschied in den Spektren mit höherem Nilrot-Anteil ist das intensivere CD-Signal in den Farbstoffbereichen (Abb. 69).

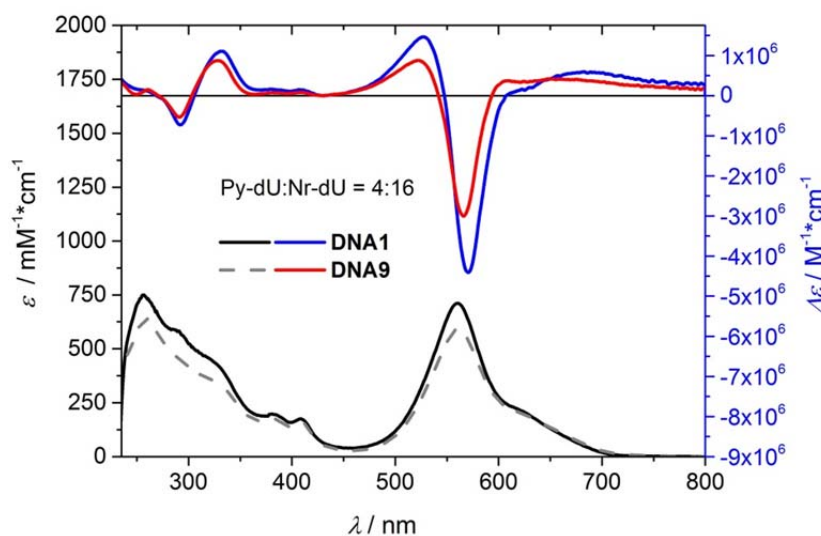


Abb. 69 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Nr-≡-dU:Py-≡-dU** = 16:4 mit **DNA9** und **DNA1** in $\text{H}_2\text{O} + 2 \%$ DMSO.

Da die Signalstärke des CD-Signals ($\Delta\epsilon$) bekanntlich von der Orientierung der Chromophore bzw. den Übergangsdipolmomenten abhängt, deutet dies auf einen positiven Einfluss des Fullerenes auf die Orientierung der Farbstoffe im Stapel hin.

In diesem Abschnitt konnte gezeigt werden, dass eine Mischung von zwei Farbstoff-Nukleosiden einen bichromophoren Stapel durch Selbstassemblierung entlang eines Templat-DNA-Strangs bildet. Außerdem wurde gezeigt, dass unter Verwendung einer fullerenmodifizierten DNA ein Elektronentransfer vom Farbstoffstapel auf das Fulleren angenommen werden kann. Allerdings ist unklar, in welcher Abfolge die Nukleoside im Stapel angeordnet sind.

In den nachfolgenden Abschnitten soll ein Gemisch aus **Py≡-dU:Nr≡-dU** und **DNA1** zur Erzeugung eines Photostroms als aktive Schicht in einer Solarzelle untersucht werden (siehe III.4). Außerdem soll durch Verwendung von **Py≡-dU** und **Nr≡-dA** die Möglichkeit einer Sequenzkontrolle des Farbstoffstapels untersucht werden (siehe III.5).

4. DNA-Farbstoff-Aggregate als aktive Schicht einer Solarzelle

Die Anlagerung von **Py≡dU** und **Nr≡dU** entlang der fullerenmodifizierten DNA (**DNA1**) kann als artifizielles Lichtsammelsystem betrachtet werden. Der Farbstoffstapel dient dabei als Lichtsammelantenne und überträgt die gesammelte Lichtenergie in Form von Elektronen auf das Fulleren, wodurch eine Ladungstrennung im System entsteht. Typischerweise werden Fullerene in organischen Solarzellen als Elektronenakzeptoren verwendet.^[186-193] Deshalb soll dieses DNA-basierte Lichtsammelsystem zur Erzeugung eines Photostroms als aktive Schicht in einer Solarzelle verwendet und untersucht werden.

Die einzelnen Schichten der Solarzelle wurden auf einem mit ITO (engl. *indium tin oxide*) beschichteten Glassubstrat aufgebracht (Abb. 70). Für einen besseren Elektronentransport zur Elektrode wurde eine Zinkoxid-Schicht (ZnO) verwendet. Die ITO- und ZnO-Schichten bilden dabei die Kathode. Als Anode dienen die Schichten aus Molybdän(VI)-oxid (Lochtransportschicht) und Silber.^[193] Eine Mischung bestehend aus den Komponenten **Py≡dU:Nr≡dU** = 8:12 und **DNA1** wurde als aktive Schicht eingesetzt. Wird die Solarzelle mit Licht bestrahlt, geht dieses durch die transparenten Schichten aus Glas, ITO und ZnO und wird von der DNA-Farbstoff-Schicht absorbiert. Restliches Licht wird an der Anode reflektiert und kann erneut von der aktiven Schicht absorbiert werden. Findet die Bestrahlung durch die Kathode statt, wird von einer „invertierten Architektur“ gesprochen.^[187, 193]

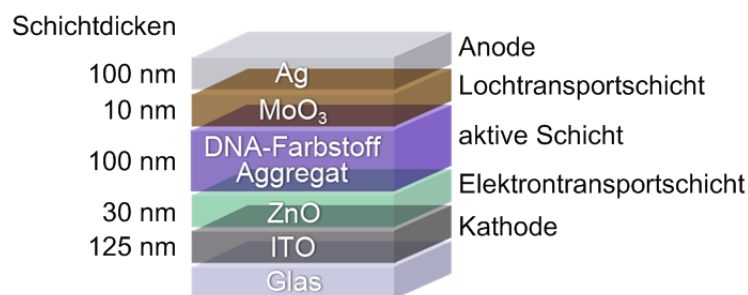


Abb. 70 Schematische Darstellung der einzelnen Schichten in der verwendeten Solarzelle.

Die Mischung aus **DNA1** und **Py≡dU:Nr≡dU** = 8:12 wurde mit einer Konzentration von 40 mg/mL in einem DMSO-Wasser-Gemisch (80:20) gelöst und als Schicht mit einer Dicke von 100 nm aufgetragen.

Die fertige Solarzelle wurde durch Bestimmung der Quantenausbeute charakterisiert. Hierfür wurde in Abhängigkeit der Wellenlänge das Verhältnis der freigesetzten

Elektronen zu den absorbierten Photonen bestimmt (EQE, Externe Quanteneffizienz). In Abb. 71 ist das EQE-Spektrum (schwarz) im Vergleich zu den normierten Absorptionsspektren in Lösung (blau) bzw. der Schicht (rot) des DNA-Farbstoff-Aggregats dargestellt. Dabei sind ähnliche Kurvenverläufe ersichtlich. Im EQE-Spektrum ist eine deutliche Bande bei 360 nm zu erkennen und kann auf eine direkte Anregung des Fullerenes zurückgeführt werden. Die Maxima der farbstoff-modifizierten Nucleoside sind im Falle des EQE-Spektrums hypsochrom zur Absorption in Lösung verschoben ($\lambda_{\max}(\text{Py}) = 402 \text{ nm}$ (EQE) vs. 409 nm (Lsg.) und $\lambda_{\max}(\text{Nr}) = 554 \text{ nm}$ (EQE) vs. 563 nm (Lsg.)). Durch das Absorptionsspektrum der Schicht wird ersichtlich, dass die Farbstoffe ein leicht verändertes Verhalten in der festen Phase aufweisen. Dennoch geht aus diesen Spektren hervor, dass die angelagerten Farbstoffe einen Beitrag zur Photostromerzeugung liefern.

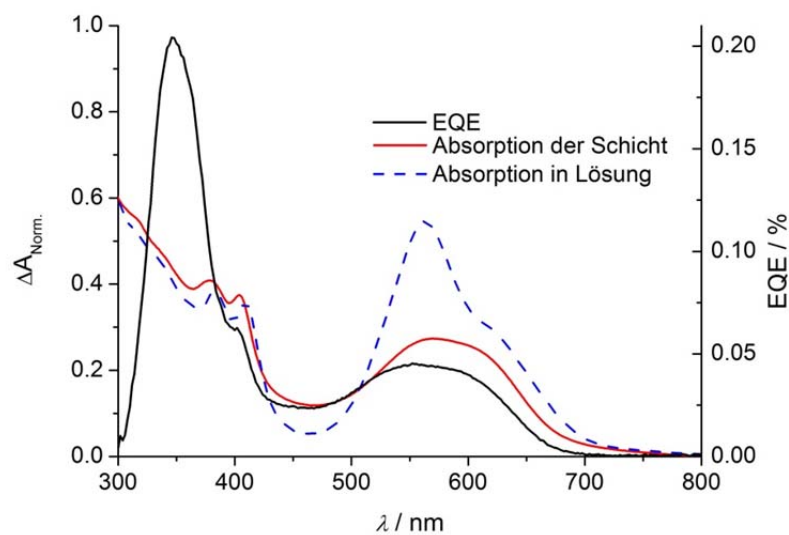


Abb. 71 Verlauf der externen Quanteneffizienz (schwarz) im Vergleich zur normierten Absorption in Lösung (blau) bzw. als Schicht (rot) der Mischung **DNA1** mit **Py≡dU:Nr≡dU = 8:12**.

Die Kurzschlussstromdichte J_{SC} (engl. *shortcut current*) gibt an, welche Stromdichte die Solarzelle bei Belichtung maximal liefern kann.^[194] Durch Integrieren des Stroms über die Wellenlänge (aus EQE) wurde eine Kurzschlussstromdichte von $J_{\text{SC}} = 7.2 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ermittelt. Diese ist verglichen mit der Literatur sehr gering (typisch im mA/cm^2 Bereich).^[187, 193, 195] Dennoch wurde ersichtlich, dass durch die Verwendung eines selbstassemblierten DNA-Farbstoff-Aggregates als aktive Schicht eine Konvertierung von Lichtenergie in Elektronen möglich ist.

5. Anlagerung von Nr≡dA/Py≡dU

In den bisher untersuchten, DNA-templierten Selbstassemblierungen von Farbstoffmischungen konnte keine direkte Aussage über die Abfolge der Chromophore im Stapel getroffen werden. Daher wäre es von Vorteil, wenn über die DNA-Sequenz die Reihenfolge der Farbstoff-Nukleoside bestimmt werden könnte. Ein potentieller Kandidat für ein Nukleosid, das eine andere Gegenbase besitzt und damit eine sequenzabhängige Anlagerung zulassen könnte, ist das aus der Arbeitsgruppe bekannte Nilrot-Nukleosid **Nr≡dA**. Dieses Nukleosid entspricht einem modifizierten 2'-Desoxy-7-deazaadenosin und sollte selektiv an dT als Gegenbase binden. Wie auch für 5-Ethynylnilrot-2'-desoxyuridin, sollte **Nr≡dA** hinsichtlich seiner Löslichkeit in Wasser und der Selektivität gegenüber komplementärer und nicht-komplementärer Gegenstränge untersucht werden. In Abb. 72 werden die Absorptionsspektren von **Nr≡dA** (21,25 μM) in DMSO, in Wasser und in Gegenwart des komplementären (**DNA10**; (dT)₁₇) bzw. des nicht-komplementären Gegenstrangs (**DNA11**; (dA)₁₇) mit jeweils 1.25 μM DNA + 21.25 μM Monomer gezeigt.

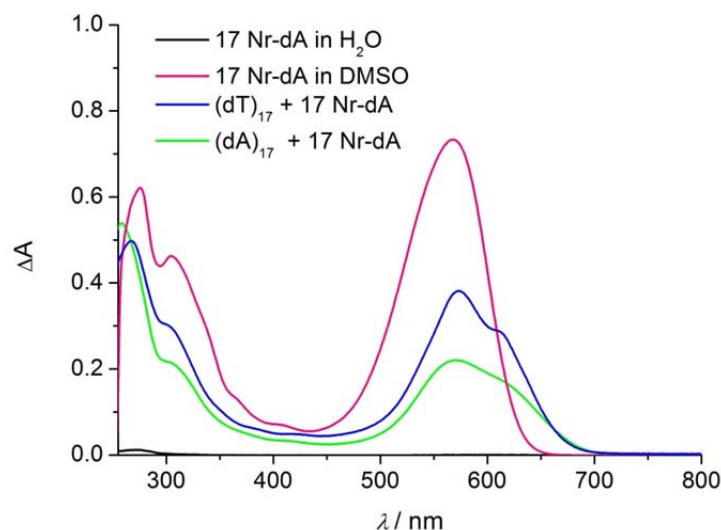


Abb. 72 UV/Vis-Spektrum von **Nr≡dA** in DMSO (pink), in Wasser mit **DNA10** (blau), - mit **DNA11** (grün) und ohne DNA (schwarz).

Nr≡dA verhält sich in DMSO wie **Nr≡dU**, zeigt eine Bande bei $\lambda_{\text{max}} = 568$ nm und liegt somit als Monomer vor. In Wasser ist **Nr≡dA** komplett unlöslich und fällt als Feststoff aus. Wird das neue Nilrot-Nukleosid zusammen mit dem komplementären Gegenstrang **DNA10** in Lösung gebracht, erscheint eine bathochrom verschobene Bande bei 573 nm mit einem zweiten Peak bei 610 nm. Demnach weist **Nr≡dA**,

verglichen mit dem Uridin-Derivat, ein anderes Absorptions- und möglicherweise ein anderes Aggregationsverhalten entlang der DNA auf. Da das nilrotmodifizierte 7-Deaza-2'-desoxyadenosin bisher noch nicht als Stapel (kovalent verknüpft) in DNA eingebaut wurde, kann an dieser Stelle kein Vergleich gezogen werden. Außerdem weist die **Nr≡dA**-Anlagerung ebenfalls ein nicht-fluoreszentes Verhalten auf. Wird das 7-Deaza-2'-desoxyadenosin-Derivat zu dem nicht-komplementären Gegenstrang gegeben (**DNA11**), fällt dies nur teilweise aus. Im UV/Vis-Spektrum ist eine Bande ohne Feinstruktur bei $\lambda_{\max} = 573$ nm zu sehen. Die in Wasser unlöslichen **Nr≡dA**-Partikel werden vermutlich von dem hydrophoberen Gegenstrang **DNA11** in Lösung gehalten. Dennoch findet keine Selbstassemblierung entlang des DNA-Strangs statt, was durch die fehlende Feinstruktur erkennbar ist.

Auch wenn die Selektivität von **Nr≡dA** gegenüber dem komplementären bzw. nicht-komplementärem Gegenstrang nicht in dem Maß gegeben ist, wie bei **Nr≡dU**, sollte dennoch eine simultan Anlagerung zusammen mit **Py≡dU** untersucht werden. Das Pyren-Nukleosid besitzt eine gute Selektivität gegenüber Adenosin^[120] und könnte somit das **Nr≡dA** im Stapel an die „richtige“ Position dirigieren.

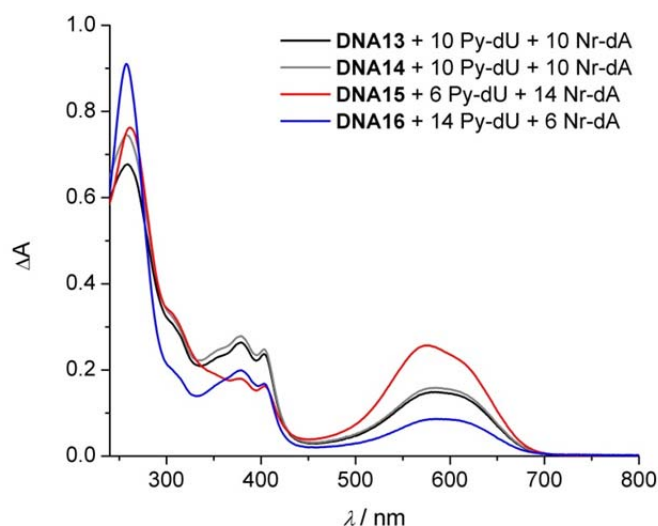


Abb. 73 UV/Vis-Absorptionsspektren verschiedener **Nr≡dA:Py≡dU**-DNA-Aggregate, $c = 1.25 \mu\text{M}$ in $\text{H}_2\text{O} + 2\% \text{DMSO}$.

In Abb. 73 sind die Absorptionsspektren der verschiedenen Farbstoff-DNA-Aggregate dargestellt. Als Templat-DNA-Stränge wurden 20-mere mit einer dA-dT alternierenden (**DNA13**) und einer $\text{dT}_2\text{-dA}_2$ alternierenden Sequenz (**DNA14**) verwendet. Außerdem wurden DNA-Stränge gewählt, in denen entweder dA als Dimer vorlag und jeweils durch ein dT getrennt wurden (**DNA15**) bzw. umgekehrt, dT

als Dimer und separiert durch dA (**DNA16**). Die Mischung **Nr≡dA:Py≡dU** = 10:10 weist bei Verwendung der alternierenden DNA-Sequenz (**DNA13**) die typischen Banden für Pyren bei 379 nm und 403 nm mit einem Verhältnis von ($\Delta A_{403\text{nm}} / \Delta A_{379\text{nm}} = 0.9$) auf. Dieses Verhältnis deutet auf eine aggregierte Spezies hin, wenn auch die Wellenlängen der Absorptionsbanden eher monomerem **Py≡dU** im DNA-Doppelstrang entsprechen. Für Nilrot ist eine Bande mit $\lambda_{\text{max}} = 585$ nm zu erkennen, die weder einer **Nr≡dA**-Monomerbande in DNA (615 nm^[181]) noch einem angelagerten **Nr≡dA**-Stapel (573 nm) entspricht. Somit wurde ersichtlich, dass eine Wechselwirkung zwischen gleichen Farbstoff-Nukleosiden herrscht, obwohl diese jeweils durch ein anderes Nukleosid getrennt sein sollten. Wurde das gleiche Mischungsverhältnis und ein Templat-DNA-Strang mit alternierender Dimerabfolge (dT₂dA₂, **DNA14**) verwendet, war keine signifikante Änderung im UV/Vis-Spektrum zu erkennen. Erst wenn eine Sequenz gewählt wurde, in der die dT-Dimere durch ein dA getrennt sind (**DNA15**) und **Nr≡dA:Py≡dU** im Verhältnis 14:6 verwendet wurde, kam es zum Anstieg der Nilrot-Bande bei 573 nm. Hieraus wurde ersichtlich, dass die Nilrot-Dimere miteinander wechselwirken, obwohl eine Trennung durch **Py≡dU** gegeben sein sollte. Für die Mischung **Nr≡dA:Py≡dU** = 6:14 entlang des Templat-DNA-Strangs **DNA16** (dA-Dimere getrennt durch dT) besitzt die Nilrotabsorption ein Maximum bei 586 nm und **Py≡dU** zeigt eine stärkere Aggregation ($\Delta A_{403\text{nm}} / \Delta A_{379\text{nm}} = 0.84$). Diese Ergebnisse zeigen, dass speziell durch die Wahl der DNA-Sequenz, Einfluss auf das Aggregationsverhalten der Farbstoff-Nukleoside genommen werden kann.

Um das Emissionsverhalten und einen möglichen Energietransfer zwischen Pyren und Nilrot zu untersuchen, wurden Emissionsspektren bei einer Anregungswellenlänge von 380 nm aufgenommen (Abb. 74, links). In allen Fällen ist eine sehr schwache Emission bei 665 nm für **Nr≡dA** zu erkennen. Dieses schlechte Emissionsverhalten wurde bereits bei kovalent verknüpftem **Nr≡dA** in DNA beobachtet.^[181] **Py≡dU** weist in allen Fällen eine Emission bei 414 nm und 435 nm auf. Diese Pyrenemission ist mit **DNA14** schwächer, wie bei der Verwendung von **DNA13** als Templat-DNA-Strang (dT₂dA₂ vs. dTdA). Sind **Nr≡dA**-Dimere die dominierende Spezies im Farbstoff-DNA-Aggregat (**DNA15**), wird die Pyrenfluoreszenz nahezu komplett gelöscht. Demnach haben **Nr≡dA**-Dimere einen

großen Einfluss auf das Fluoreszenzverhalten von **Py≡dU**. Im Gegenteil dazu, weisen die Pyren-Nukleosid-Dimere mit **DNA16** die stärkste Fluoreszenz auf (verglichen mit den anderen drei Farbstoff-DNA-Aggregaten). Die Schulter bei 450 nm ist ein Indiz für eine Aggregation der direkt benachbarten Pyren-Einheiten. **Nr≡dA** besitzt als Monomer demnach wenig Einfluss auf das Fluoreszenzverhalten der Pyren-Nukleoside.

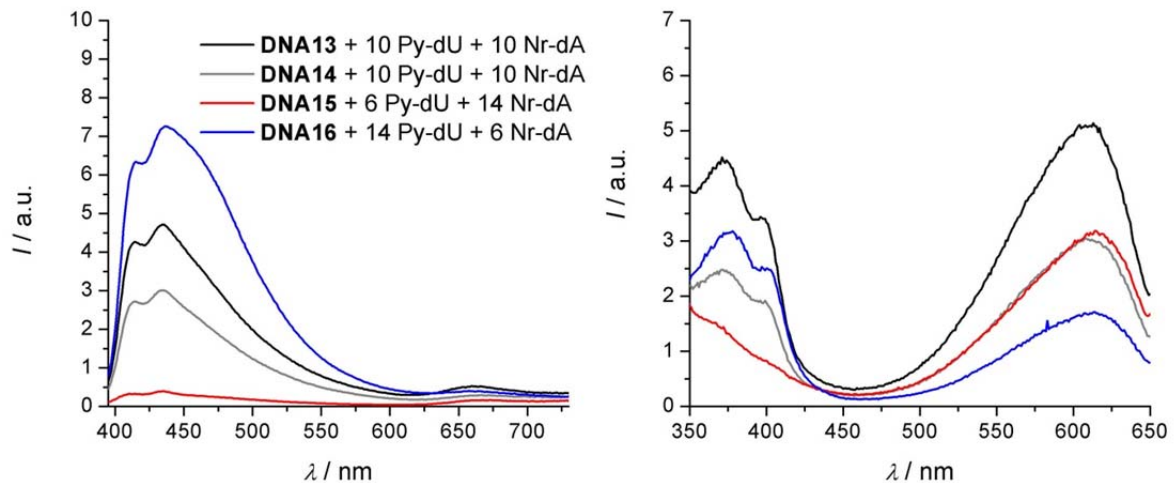


Abb. 74 Emissionsspektren ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$, links) und Anregungsspektren ($\lambda_{\text{emi}} = 672 \text{ nm}$, rechts) verschiedener **Nr≡dA:Py≡dU**-DNA-Aggregate, $c = 1.25 \mu\text{M}$ in $\text{H}_2\text{O} + 2 \%$ DMSO.

Die Emissionsspektren lassen keine Aussage hinsichtlich eines Energietransfers zu, deshalb wurden Anregungsspektren für die Nilrotfluoreszenz bei 672 nm aufgenommen, um die Herkunft dieser geringen Emission zu bestimmen (Abb. 74, rechts). Bei **DNA15** als Templatstrang ist keine pyrentypische Bande zu erkennen, wonach die Nilrotemission ausschließlich durch Anregung der **Nr≡dA**-Einheiten kommt. Bei der Verwendung von **DNA13-14** und **DNA15** sind sowohl im Bereich der Nilrot-, als auch der Pyrenabsorption typische Banden zu sehen. Die alternierende Abfolge mit **DNA13** weist das stärkste Signal auf. Mit **DNA14** nimmt die Intensität (bei gleichem Mischungsverhältnis) ab, wobei das Verhältnis zwischen $I_{372\text{nm}}/I_{609\text{nm}}$ in beiden Fällen gleich bleibt. Wird **DNA16** verwendet, ist das Verhältnis von $I_{372\text{nm}}/I_{609\text{nm}} = 1.85$, was an der höheren **Py≡dU** Konzentration liegen kann. Da die Emission von **Nr≡dA** bei 672 nm sehr schwach ist und **Py≡dU** in diesem Bereich eine leichte Eigenfluoreszenz aufweist, kann aus den Anregungsspektren ebenfalls kein direkter Rückschluss auf einen Energietransfer getroffen werden.

III.5. Anlagerung von Nr≡-dA/Py≡-dU

Prinzipiell ist unter Verwendung von **Nr≡-dA** und **Py≡-dU** eine Sequenzierung des Farbstoffstapels möglich. Dennoch zeigten die hier verwendeten Sequenzen kein direkt erkennbares Energietransferverhalten von Pyren auf Nilrot und müssen in weiteren Experimenten genauer untersucht werden.

6. Zusammenfassung und Ausblick

In diesem Teil der Arbeit konnte die Selbstassemblierung von **Nr≡dU** entlang eines Templat-DNA-Strangs erfolgreich durchgeführt werden. Mithilfe der UV/Vis-Absorptionsspektroskopie wurde gezeigt, dass **Nr≡dU** im wässrigen Medium nur durch die Gegenwart des komplementären Gegenstrangs (Gegenbase dA zu dU) in Lösung gebracht werden kann und somit eine Selektivität gegenüber des Templat-DNA-Strangs aufweist (dT vs. dA). Durch Titrationsexperimente wurde gezeigt, dass **Nr≡dU** unabhängig von der Templatlänge eine Vollbesetzung der verfügbaren Bindungspositionen eingeht. Der Grund hierfür ist ein ausgewogenes Verhältnis der Monomer-Monomer- und Monomer-Templat-Wechselwirkungen. Außerdem wurde ersichtlich, dass keine Einzelanlagerung von Monomeren, sondern nur eine Anlagerung in gestapelter Form erfolgt. Die Auswertung temperaturabhängiger Absorptionmessungen ergab, dass erst die Wasserstoffbrücken zwischen den Monomeren und dem Gegenstrang gebildet werden, bevor es zur Ausbildung der helikalen Anordnung zwischen den Farbstoffen kommt.

Zum ersten Mal wurde eine simultane Anlagerung von Mischungen der Nukleoside **Nr≡dU** und **Py≡dU** entlang eines Templat-DNA-Strangs ($(dA)_{20}$) beschrieben. Durch die optische Spektroskopie wurde gezeigt, dass der Farbstoffstapel beide Chromophore enthält. Die Wahl des Mischungsverhältnisses ermöglicht eine Kontrolle über das Aggregationsverhalten der Farbstoff-Nukleoside. Außerdem besitzen die Systeme eine zweifarbige Emission, die durch einen Energietransfer von Pyren auf Nilrot hervorgerufen wird. Besonders in den Mischungen **Nr≡dU:Py≡dU** = 12:8 – 16:4 konnte dieser beobachtet werden. In allen Mischungen wurde mithilfe der CD-Spektroskopie eine linksgängige Orientierung der Chromophore entlang des Templat-DNA-Strangs festgestellt. Die Signale deuten zudem auf eine starke excitonische Kopplung zwischen den Chromophoren hin und somit auf eine „ideale“ Orientierung zwischen den Übergangsdipolmomenten. In Hinblick auf die Entwicklung eines DNA-templierten Lichtsammelsystems wurde eine fulleren-modifizierte DNA hergestellt und als Templatstrang für die Selbstassemblierung der Nilrot- und Pyren-Nukleoside eingesetzt. Dabei zeigte sich, dass die Nukleoside ein gleiches Anlagerungsverhalten wie mit $(dA)_{20}$ aufweisen. Die Anregung des Farbstoffstapels resultiert in einer Fluoreszenzlöschung, da vermutlich ein

Elektronentransfer von den Chromophoren auf das Fulleren stattfindet. Dieses System wurde aufgrund der Lichtsammeleigenschaften als aktive Schicht in einer organischen Solarzelle verwendet. Mithilfe eines wellenlängenabhängigen Quanteneffizienz-Spektrums konnte gezeigt werden, dass die Farbstoffstapel an der Erzeugung des Photostroms beteiligt sind.

Die modifizierten 2'-Desoxyuridin-Nukleoside binden beide an die gleiche Gegenbase, wodurch eine willkürliche Anordnung der Farbstoffe im Stapel erfolgt. Um eine Sequenzierung zu ermöglichen, wurde nilrotmodifiziertes 7-Deaza-2'-desoxyadenosin (**Nr≡dA**; Gegenbase dT) zusammen mit **Py≡dU** entlang verschiedener dA- und dT-enhaltender Templat-DNA-Stränge assembliert. Durch die Wahl der Sequenz konnte Einfluss auf das Aggregationsverhalten der Nukleoside genommen werden. Allerdings wiesen die untersuchten Systeme keinen Energietransfer vom Pyren zu Nilrot auf. Lag **Nr≡dA** als Dimer vor, so wurde die Fluoreszenz von **Py≡dU** in allen Fällen gelöscht.

Die Resultate zeigen, dass die DNA-templierte Selbstassemblierung von Farbstoff-Nukleosiden Potential für organische Solarzellen und für die Untersuchung von Lichtsammelsystemen besitzt. Hinsichtlich der Sequenzierung des Farbstoffstapels ist der erste Schritt durch die Verwendung von **Nr≡dA:Py≡dU**-Mischungen gegangen worden. Dieses Feld bietet eine große Vielfalt zur Optimierung der Energietransfereigenschaften. Einfluss auf das Bindungs- und Aggregationsverhalten von **Nr≡dA** kann möglicherweise durch eine alternative Anknüpfung (C8 anstelle von C7) des Ethinylnilrots erzielt werden. Durch eine Veränderung des Wasserstoffbrückenbindungsmotivs (durch Einfügen einer weiteren Aminfunktion) könnte die Selektivität von **Nr≡dA** (dT vs. dA) weiter gesteigert werden. Außerdem könnten computergestützte Modellierungen Einblick in die Anordnung der Farbstoff-Nukleoside entlang des Templat-DNA-Strangs gewähren. Zur Steigerung des generierten Photostroms in der Solarzelle sollten die HOMO- und LUMO-Energien der Farbstoffe und des Fulleren untersucht und optimiert werden, damit ein besserer Ladungstransport in dem System erfolgt. Außerdem könnte eine Erhöhung des Fulleren-Anteils zu einem besseren Ladungsabtransport führen.

IV. Heteroleptische Metallkomplexe in DNA

1. Synthese

Zur Ausbildung von heteroleptischen Komplexen zwischen Bismesitylphenanthrolin und Terpyridin nach dem in Kapitel II.4.4 vorgestellten Konzept war das primäre Synthesziel die Entwicklung eines neuartigen 5-(Bismesitylphenanthrolin)-2'-desoxyuridin Bausteins (MesPhen-dU). Dabei wurde das 2,9-Bismesityl-1,10-phenanthrolin über eine Ethinylbrücke an die 5-Position des 2'-Desoxyuridins geknüpft (**2**).

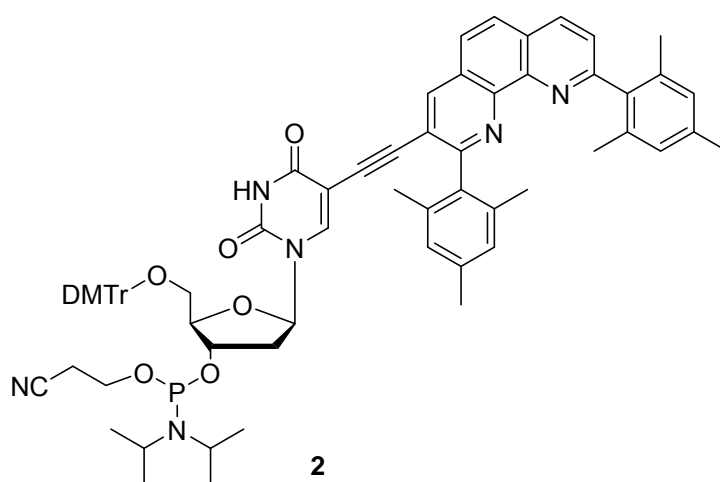


Abb. 75 Struktur des 5-(Bismesitylphenanthrolin)-3-ethynyl-2'-desoxyuridin Bausteins **2**.

Als Terpyridin-Liganden wurden ein modifiziertes Fulleren (**3**) und eine modifizierte DNA für die Komplexbildung untersucht. Die DNA Modifizierung erfolgte mit dem Terpyridin-dU Baustein **28**.

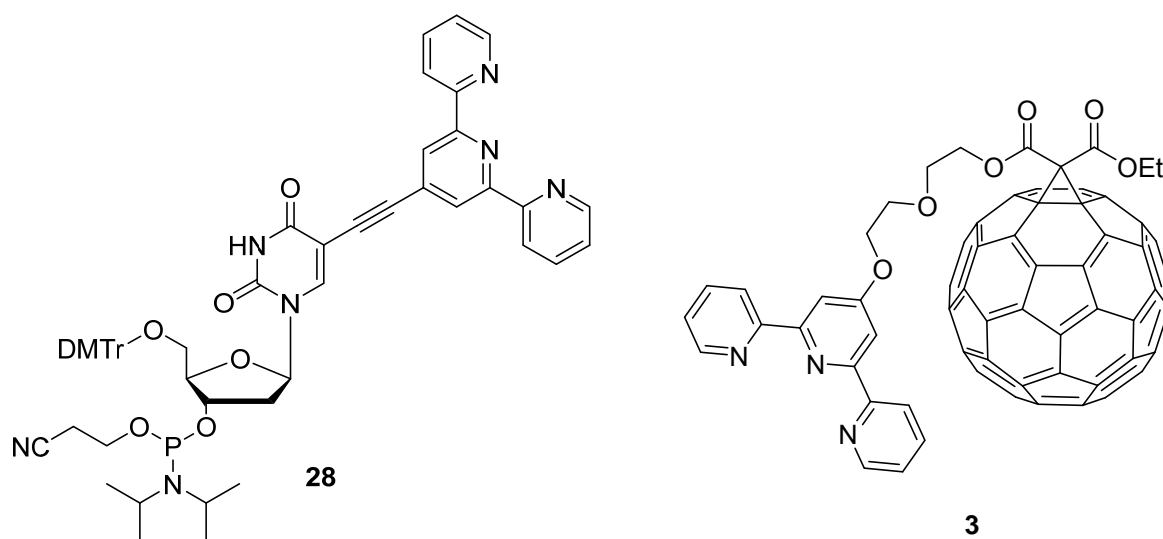


Abb. 76 Struktur des Terpyridin-dU Bausteins **28** und des terpyridinmodifizierten Fulleren **3**.

1.1. Synthese des MesPhen-dU Bausteins

Die Synthese zur Herstellung von 2,9-Bismesityl-3-ethynyl-1,10-phenanthrolin (**34**) war literaturbekannt^[196-199] und wird in Abb. 77 dargestellt.

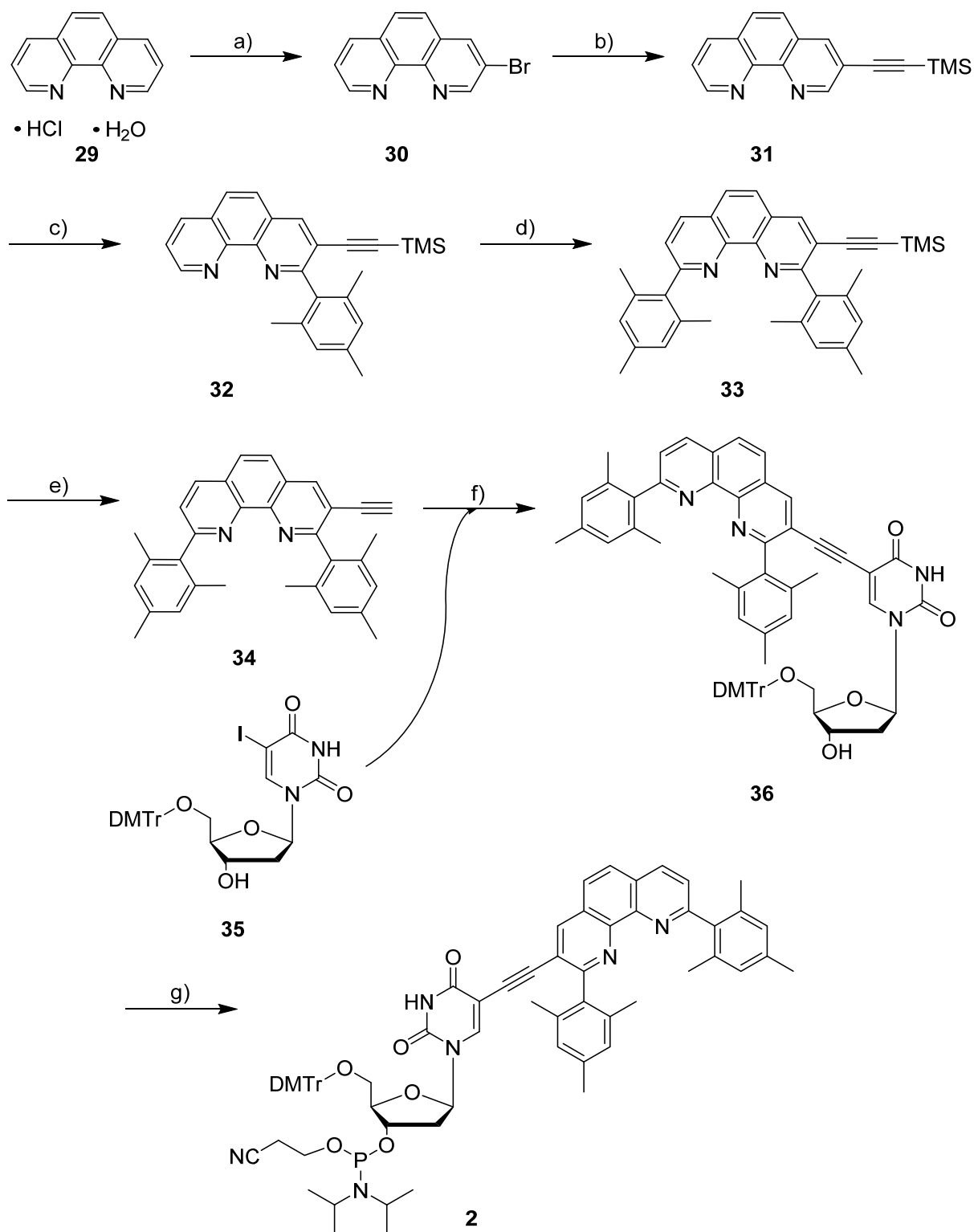


Abb. 77 Synthese des MesPhen-dU Bausteins **2**. a) Br_2 , in Nitrophenol, 4 h, 140°C , 27 %. b) TMS-Acetylen, in abs. THF, $\text{Pd}(\text{PPh}_2)_2\text{Cl}_2$, CuI, NEt_3 , 12 h, 60°C , 58 %. c) i. Brommesitylen, $n\text{-BuLi}$ in abs. Et_2O , 6 h, 0°C dann 12 h, RT, ii. MnO_2 in Dichlormethan, 3 h, RT, 64 %. d) i. Brommesitylen, $n\text{-BuLi}$ in abs. Et_2O , 6 h, 0°C dann 12 h, RT, ii. MnO_2 in Dichlormethan, 3 h, RT, 55 %. e) KOH, in THF/MeOH (1:1), 2 h, RT, quant. f) in abs. DMF, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, CuI, NEt_3 , 12 h, 60°C , 60 %. g) 2-Cyanoethoxy-*N,N*-diisopropylaminochlorophosphoramidit, DIPEA, in abs. DCM, 4 h, RT, 60 %.

Im ersten Schritt der Synthese wurde 1,10-Phenanthrolin (**29**) durch Umsetzung mit elementarem Brom in Nitrobenzol bei 140 °C bromiert. Um das gewünschte Produkt (**30**) von den mehrfach bromierten Nebenprodukten abzutrennen, wurde ein mehrstufiger Fällungsprozess mit Hydrochlorid durchgeführt.^[197] Anschließend wurde die TMS-geschützte Ethinyl-Gruppe über eine *Sonogashira*-Kupplung an der 3-Position des Phenanthrolins eingeführt (**31**). Die Mesityl-Gruppen wurden über nukleophile Substitutionen an die 2- und 9-Position des Phenanthrolins geknüpft. Dafür wurde Brommesitylen mit *n*-Butyllithium durch einen Halogen-Metall-Austausch aktiviert und zu **31** gegeben. Um das an der 2-Position substituierte Phenanthrolin **32** zu erhalten, wurde anschließend mit Mangandioxid oxidiert. Die Substitution an der 9-Position des Phenanthrolins **33** erfolgte nach der gleichen Prozedur. Anschließend wurde die Ethinyl-Gruppe von **34** mit Kaliumhydroxid in THF/MeOH (1:1) entschützt und durch eine *Sonogashira*-Kupplung an die 5-Position des 5'-Dimethoxytrityl-5-Iod-2'-desoxyuridin (**35**)^[200] gekuppelt (**36**) und im letzten Schritt mit 2-Cyanoethoxy-*N,N*-diisopropylaminochlorophosphoramidit zu dem gewünschten MesPhen-dU Baustein **2** umgesetzt.

1.2. Synthese des Terpyridin-dU Bausteins

Die Synthese des Terpyridin-dU Bausteins **28** wurde entsprechend der Literatur durchgeführt (Abb. 78).^[141, 201-203] Hierfür wurde ein Picolinsäureethylester (**37**) mit Aceton unter stark basischen Bedingungen zu **38** umgesetzt. Anschließend wurde das 2,2':6',2''-Terpyridin-Grundgerüst **39** durch einen Ringschluss mit NH₄OAc aufgebaut. Die Triflyl-Gruppe an der 4'-Position wurde mit Trifluormethansulfonsäureanhydrid eingeführt (**40**) und in einer darauffolgenden *Sonogashira*-Kupplung durch TMS-Acetylen substituiert (**41**). Diese Schutzgruppe wurde mit Tetrabutylammoniumfluorid entfernt (**42**) und in einer erneuten *Sonogashira*-Kupplung an die 5-Position von **35** geknüpft. Das dabei erhaltene Nukleosid **43** wurde im letzten Schritt mit 2-Cyanoethoxy-*N,N*-diisopropylaminochlorophosphoramidit zu dem terpyridinmodifizierten DNA-Baustein **28** umgesetzt.

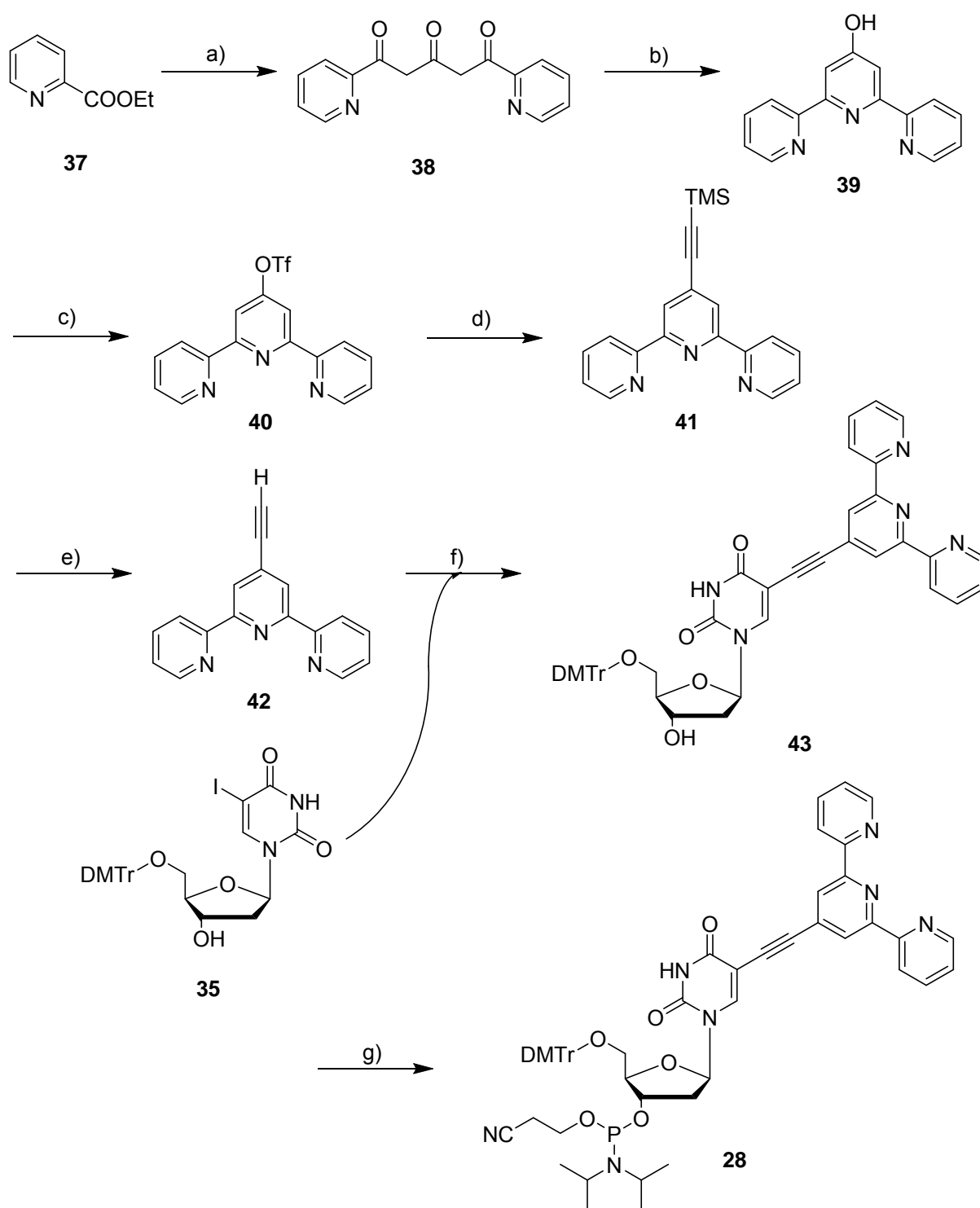


Abb. 78 Synthese des Terpyridin-dU Bausteins **28**. a) Aceton, NaOMe, in abs THF, 5 h, 66 °C, 91 %. b) NH₄OAc, in EtOH, 5 h, 80 °C, 60 %. c) Tf₂O, in abs. Pyridin, 30 min, 0 °C dann 2 d, RT, 71 % d) TMS-Acetylen, Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI, NEt₃, in abs. THF, 3 h, 60 °C, 58 %. e) TBAF in abs. DCM, RT, 1 h, 90 %. f) Pd(PPh₃)₂Cl₂, CuI, NEt₃, in abs. THF, 5 h, 60 °C, 58 %. g) 2-Cyanoethoxy-*N,N*-diisopropylaminochlorophosphoramidit, DIPEA, in abs. DCM, 4 h, RT, quant.

1.3. Synthese des terpyridinmodifizierten Fullerenes

Bei der Darstellung des terpyridinmodifizierten Fullerenes **3** wurde der literaturbekannte Syntheseweg verwendet.^[201, 204] Zu Beginn wurde das Terpyridin-Derivat **42** durch Umsetzung mit 2-(2-Chlorethoxy)ethanol an der 4'-Position zu **44** substituiert. Anschließend wurde für die spätere Fulleren-Anknüpfung eine Malonyl-Gruppe durch die Verwendung von Ethynylmalonylchlorid eingeführt (**45**). Diese wurde unter stark basischen Bedingungen mit Tetrabrommethan bromiert (**46**) und direkt in einer *Bingel*-Reaktion mit dem C₆₀-Fulleren verknüpft, wodurch das gewünschte Produkt **3** entstand.

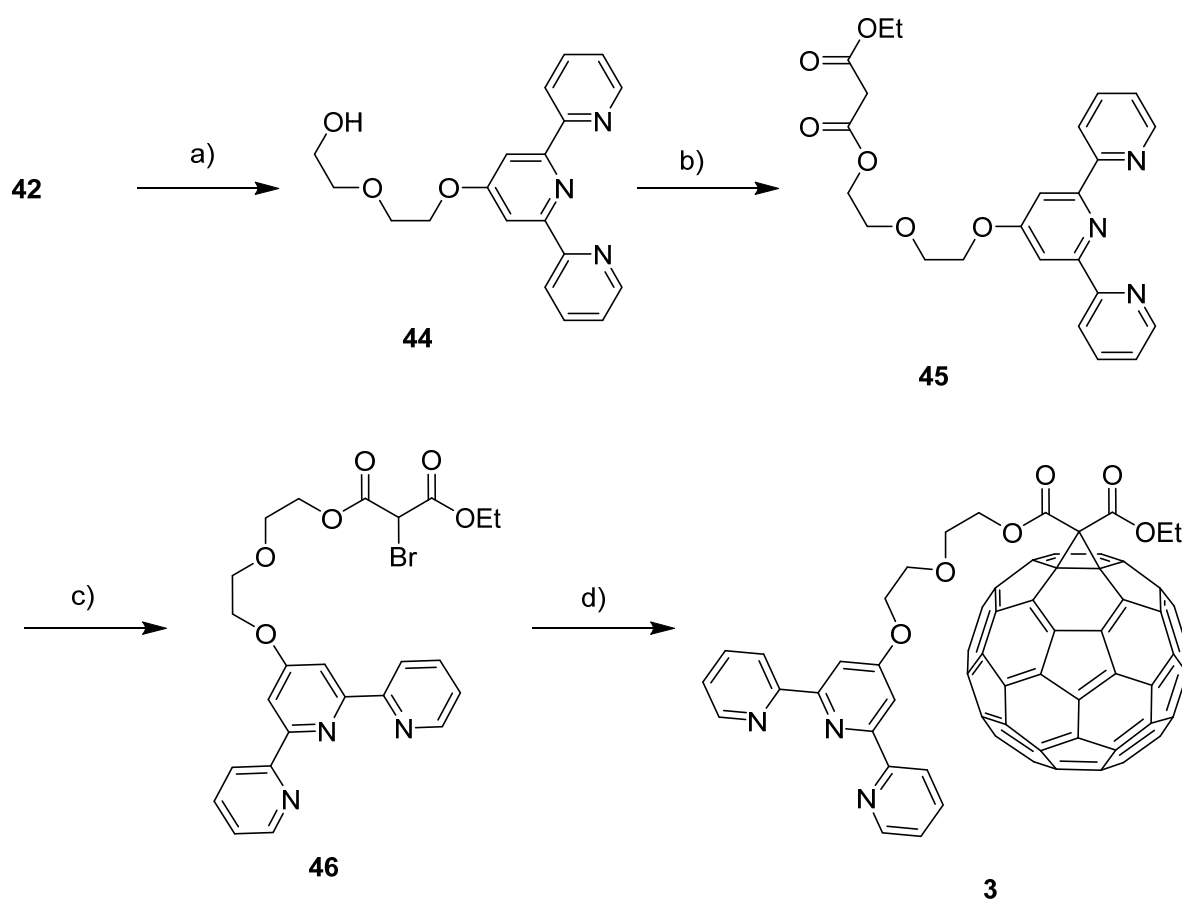


Abb. 79 Synthesen des terpyridinmodifizierten Fullerenes **3**. a) 2-(2-Chlorethoxy)ethanol, K₂CO₃, NaI, in abs. DMF, 20 h, 70 °C, 75 %. B) Ethylmalonylchlorid, Pyridin, in DCM, 1 h, 0 °C → RT 1 h, dann 10 h, RT, 85 %. c) i. DBU, in abs THF, 30 min, 0 °C → RT. ii. CBr₄, 2 h, -78 °C. d) C₆₀, DBU, in Toluol, 4 h, RT, 13 %.

2. Heteroleptische Komplexe zwischen DNA2 und DNA3

2.1. DNA-Synthese

Die Bausteine **28** (**TP**) und **2** (**MP**) wurden mithilfe der automatisierten Phosphoramidit-Methode in die DNA eingebaut, um zu untersuchen, ob selektiv ein heteroleptischer Komplex zwischen 2,2':6',2''-Terpyridin und 2,9-Bismesityl-1,10-phenanthrolin im wässrigen Medium gebildet wird (siehe II.4.4.).

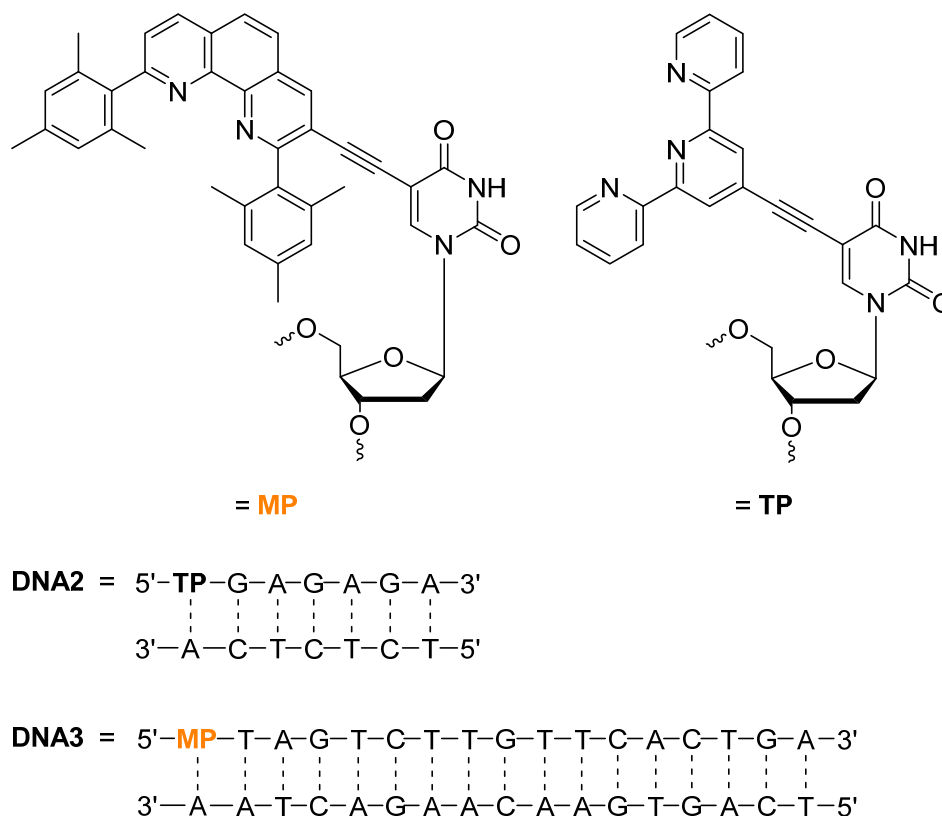


Abb. 80 Strukturen der künstlichen Basen Terpyridin-dU **TP** und MesPehn-dU **MP** und verwendete DNA-Sequenzen.

Dabei wurden zwei unterschiedlich lange DNA-Sequenzen gewählt, um den erwünschten heteroleptischen Komplex von den unerwünschten homoleptischen Komplexen durch die unterschiedlichen Migrationszeiten im Gel zu detektieren. Die DNA-Stränge wurden jeweils am 5'-Ende der Sequenz modifiziert. **DNA2** trägt die **TP**-Modifizierung und ist sieben Basenpaare lang. Die längere **DNA3** (siebzehn Basenpaare) besitzt die **MP**-Modifizierung. Um unerwünschte Wechselwirkungen zwischen den DNA-Basen und den Metallionen zu vermeiden, wurden die DNA-Stränge mit ihren Gegensträngen hybridisiert und im Doppelstrang für die Komplexierungsversuche eingesetzt. Da folglich die DNA-Stränge nur als Doppelstränge eingesetzt wurden, wird der Übersicht halber auf eine Kennzeichnung mit „ds“ verzichtet. Die Herstellung der Komplexe in wässrigem NaP_i-Puffer

(pH = 7.2) erfolgte durch Zugabe von 1.1 Äquivalent Metallionen zu **DNA3** und anschließender Zugabe von **DNA2** mit einer Inkubationszeit von 30 min. Für die Untersuchung der gebildeten Komplexe wurden Methoden der optischen Spektroskopie (Absorptions – und Emissionsmessungen) und die Analyse mittels Gelelektrophorese herangezogen.

2.2. Optische Spektroskopie

In Abb. 81 sind die UV/Vis-Absorptionsspektren von **DNA2** und **DNA3** in Kombination verschiedener Metallionen gezeigt. Prinzipiell ist bei 260 nm eine starke Absorption der DNA-Basen zu sehen, jedoch werden in diesem Abschnitt nur die charakteristischen Absorptionsbanden von **TP** und **MP** ab 300 nm betrachtet.

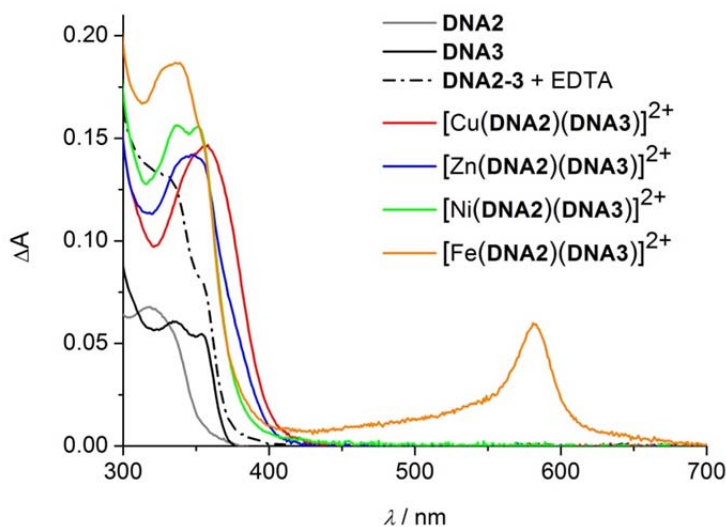


Abb. 81 UV/Vis-Absorptionsspektren der Doppelstrangkombinationen **DNA2** und **DNA3** in Gegenwart von EDTA und verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , 2.75 μM , 2.5 μM DNA in 10 mM NaP_i -Puffer (pH = 7.2), 250 mM NaCl).

Die terpyridinmodifizierte **DNA2** zeigt eine charakteristische Absorption mit einem Maximum bei 318 nm und für die **MP**-Modifikation von **DNA3** ist eine Absorption mit charakteristischen Banden bei 335 nm und 354 nm zu erkennen. Durch Zugabe von EDTA zu einer Mischung aus **DNA2** und **DNA3** sollte sichergestellt werden, dass kein metallvermittelter Komplex zwischen den beiden DNA-Strängen gebildet wird. Die Absorption des DNA-Gemischs entspricht dabei dem Summenspektrum der einzelnen Komponenten und indiziert, dass keine Wechselwirkung zwischen **DNA2** und **DNA3** ohne das Vorhandensein von Metallionen besteht. Durch Zugabe von 1.1 Äquivalent verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+}) zu den DNA-Strängen ändert sich diese Situation. Die Absorption zwischen 300 – 400 nm steigt in allen

IV.2. Heteroleptische Komplexe zwischen DNA2 und DNA3

Fällen an und die Maxima werden verschoben. Für die Komplexe mit Cu(II) und Zn(II) besitzen die Absorptionen nur eine Bande bei 347 nm (Cu) bzw. 358 nm (Zn). Wurden Nickel(II) und Eisen(II) eingesetzt, sind zwei charakteristische Banden zu erkennen (siehe Tabelle 1). Der Eisen(II)-Komplex weist zudem eine MLCT-Bande bei 581 nm auf, die charakteristisch für Eisen-Komplexe mit Terpyridin- und Phenanthrolin-Liganden ist.^[205] Für eine bessere Aufklärung und Charakterisierung hinsichtlich der gebildeten Komplexe wurden zusätzlich Absorptionsspektren der einzelnen DNA-Doppelstränge in Gegenwart der Metallionen aufgenommen (Abb. 82).

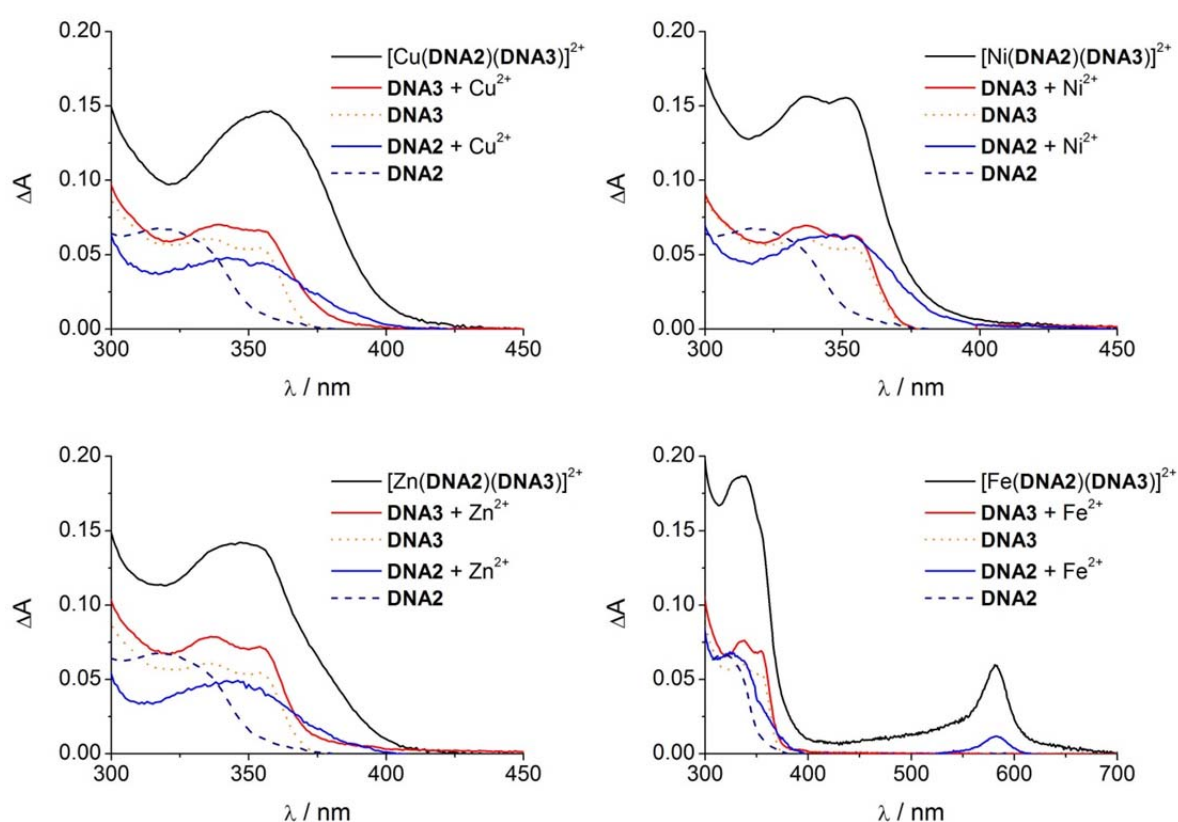


Abb. 82 UV/Vis-Absorptionsspektren der Kontrollexperimente. Doppelstränge **DNA2** und **DNA3** in Gegenwart verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , 2.75 μM , 2.5 μM DNA in 10 mM NaP_i -Puffer (pH = 7.2), 250 mM NaCl).

Die Absorption von **DNA3** nahm durch Zugabe der Metallionen leicht zu (rote vs. orange gepunktete Kurve), jedoch ist keine signifikante Verschiebung zu sehen. Hieraus kann angenommen werden, dass **DNA3** keine homoleptischen Komplexe bildet. Anders sieht es hingegen bei **DNA2** aus. In Gegenwart der Metallionen wurden in allen Fällen die Maxima bathochrom verschoben und eine Abnahme der Absorption trat auf. Für $[\text{Fe}(\text{DNA2})]^{2+}$ ist eine, verglichen mit dem Komplex zwischen **DNA2** und **DNA3**, schwache MLCT-Bande bei 581 nm erkennbar. Diese

Beobachtungen deuten auf eine homoleptische Komplexbildung zwischen **DNA2** bei Vorhandensein von Metallionen hin.^[141] Die Absorptionsspektren der $[M(\mathbf{DNA2})(\mathbf{DNA3})]^{2+}$ -Komplexe (Abb. 82, schwarze Kurven) sind verschieden zu den Spektren der einzelnen DNA-Doppelstränge mit Metallionen, was auf einen heteroleptischen Komplex hindeutet, da Grundzustandswechselwirkungen zwischen den Liganden herrschen.

Eine weitere Möglichkeit die Komplexbildung zu untersuchen, wird durch die Fluoreszenzspektroskopie gegeben. Wurde **DNA2** bei 336 nm angeregt, zeigt sich eine sehr schwache Fluoreszenz bei $\lambda_{\max} = 412$ nm. Verglichen dazu, erscheint für die **MP**-modifizierte **DNA3** eine sehr starke Fluoreszenz bei $\lambda_{\max} = 394$ nm. In einer Mischung der beiden Doppelstränge, zusammen mit EDTA, ist keine Änderung im Emissionsspektrum zu erkennen.

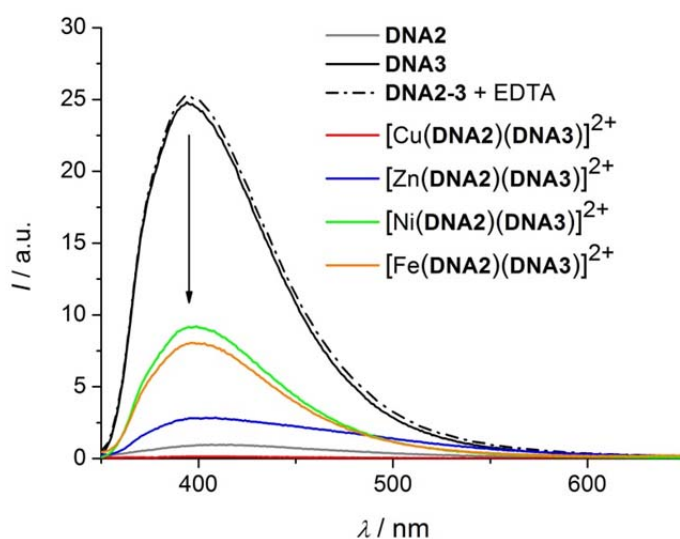


Abb. 83 Emissionsspektren ($\lambda_{\text{exc}} = 336$ nm) der Doppelstrangkombination **DNA2** und **DNA3** in Gegenwart von EDTA und verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , je $2.75 \mu\text{M}$, $2.5 \mu\text{M}$ DNA in 10 mM NaP_i -Puffer ($\text{pH} = 7.2$), 250 mM NaCl).

In Anwesenheit der verschiedenen Metallionen trat eine Fluoreszenzlöschung von **MP** bei $\lambda_{\max} = 394$ nm auf (F_q für Cu^{2+} : 99 %, Zn^{2+} : 88 %, Ni^{2+} : 65 %, Fe^{2+} : 61 %). Die Fluoreszenzlöschung als Nachweis der Komplexbildung wurde in der Arbeitsgruppe *Wagenknecht* bereits verwendet, um die homoleptische Komplexbildung zwischen **TP**-modifizierten DNA-Strängen in Anwesenheit der vier verschiedenen Metallionen zu bestätigen.^[141] Da **DNA3** keine homoleptischen Komplexe bildet, muss die Fluoreszenzlöschung durch die Anwesenheit der terpyridinmodifizierten **DNA2** und somit einer heteroleptischen Komplexbildung zwischen **MP** und **TP** bedingt sein.

IV.2. Heteroleptische Komplexe zwischen DNA2 und DNA3

Außerdem zeigt die Fluoreszenzlöschung eine elektronische Kopplung der zwei ligandmodifizierten Nucleoside an.

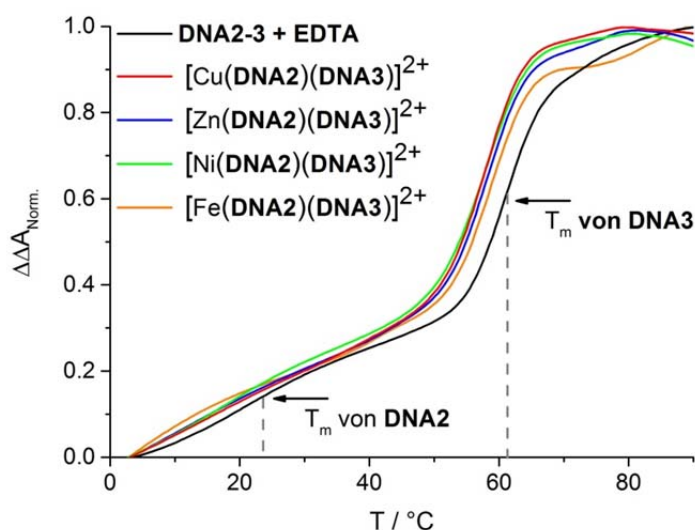


Abb. 84 Temperaturabhängige Absorptionsänderung bei 260 nm der Doppelstrangkombination **DNA2** und **DNA3** in Gegenwart von EDTA und verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , 2.75 μM , 2.5 μM DNA in 10 mM NaP_i -Puffer (pH = 7.2), 250 mM NaCl).

Abschließend zu den Untersuchungen mithilfe der optischen Spektroskopie, wurden die Schmelzentemperaturen T_m der DNA-Doppelstrangmischungen in Ab- und Anwesenheit der vier Metallionen untersucht. Die Kurven der Absorptionsänderung bei 260 nm besitzen zwei Wendepunkte, die den Schmelztemperaturen der zwei DNA-Doppelstränge entsprechen. Für **DNA2** liegt T_m bei 21.4 °C und für **DNA3** bei 61.1 °C. **DNA2** weist aufgrund der kürzeren Sequenz die geringere Schmelztemperatur auf. Sind Metallionen anwesend, werden die Schmelztemperaturen durch die entstehenden Metallkomplexe verringert. Diese Destabilisierungen der DNA-Doppelstränge deuten auf eine heteroleptische Komplexbildung hin. Tabelle 1 zeigt alle Ergebnisse aus diesen Untersuchungen.

Tabelle 1 Daten aus den spektroskopischen Untersuchungen von **DNA2**, **DNA3** und den Komplexen mit Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} . [a]: $\lambda_{\text{exc}} = 336 \text{ nm}$

DNA	λ_{abs} [nm]	λ_{emi} [nm] ^a	Fq [%]	T_m [°C]	ΔT_m [°C]
DNA2	318	412	-	21.4	-
DNA3	336, 354	394	-	61.1	-
$[\text{Cu}(\text{DNA2})(\text{DNA3})]^{2+}$	358	398	99	57.5 / 15	-3.6 / -6.4
$[\text{Zn}(\text{DNA2})(\text{DNA3})]^{2+}$	347	400	88	57.8 / 15	-3.3 / -6.4
$[\text{Ni}(\text{DNA2})(\text{DNA3})]^{2+}$	336, 351	396	65	57.8 / 16	-3.3 / -5.4
$[\text{Fe}(\text{DNA2})(\text{DNA3})]^{2+}$	338, 581	398	61	58.3 / 10	-2.8 / -11.4

2.3. Gelelektrophorese

Um die Beobachtungen aus dem vorangegangenen Abschnitt zu bestätigen, wurden die DNA-Metall-Proben mithilfe der denaturierenden Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE) untersucht (Abb. 85). Durch die Denaturierung der DNA-Proben mit Harnstoff sollte gezeigt werden, dass der Komplex zwischen **DNA2** und **DNA3** ausschließlich metallvermittelt erfolgt.

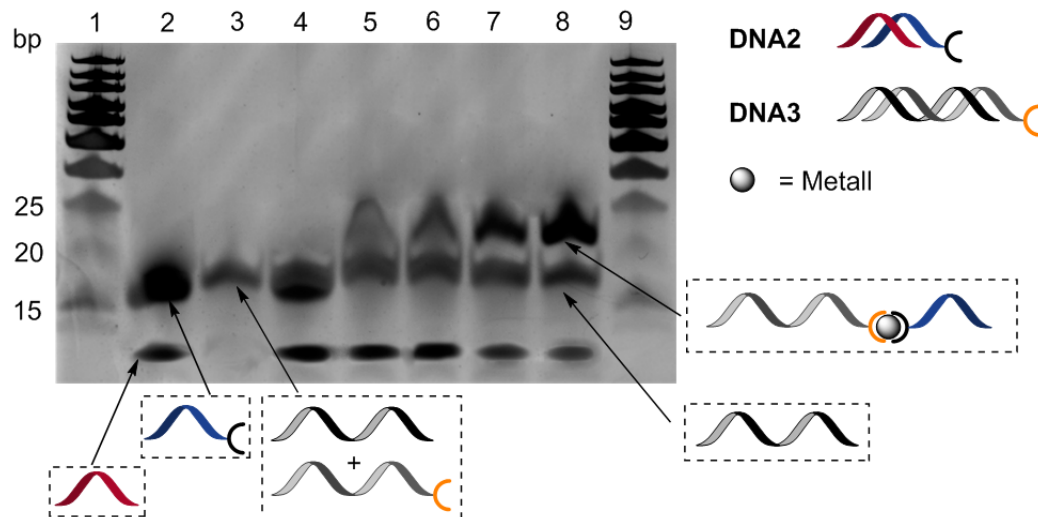


Abb. 85 Analyse der 25 %igen Urea-PAGE. Spalten 1 und 9: Basenpaarleiter, Spalte 2: **DNA2**, Spalte 3: **DNA3**, Spalte 4: **DNA2-3** + EDTA, Spalte 5: **DNA2-3** + Cu²⁺, Spalte 6: **DNA2-3** + Zn²⁺, Spalte 7: **DNA2-3** + Fe²⁺, Spalte 8: **DNA2-3** + Ni²⁺.

In Spalte 2 und 3 sind als Referenzen die DNA-Doppelstränge **DNA2** und **DNA3** gezeigt. Wohingegen bei **DNA3** der modifizierte Strang und der Gegenstrang die gleiche Migrationszeit aufweisen, ist zwischen dem **TP**-modifizierten Einzelstrang und dessen Gegenstrang ein Unterschied in den Migrationen zu erkennen. Obwohl der terpyridinmodifizierte Einzelstrang kürzer ist, weist er dennoch eine ähnliche Migrationszeit wie der längere **MP**-modifizierten Einzelstrang auf. Möglicherweise kommt es in **DNA2** unter den PAGE-Bedingungen zu einer starken Veränderung der Ladungssituation, wodurch der **TP**-modifizierte Einzelstrang eine geringere Migrationszeit zeigt und somit nicht mit anderen Stranglängen verglichen werden kann. Liegen **DNA2** und **DNA3** gemeinsam (ohne Metall, mit EDTA) vor, findet keine nennenswerte Veränderung in den Migrationszeiten der einzelnen DNA-Stränge statt (Spalte 4). Werden die Metall-**DNA2-3**-Komplexe betrachtet, ist eine neue Bande mit einer geringeren Migrationszeit zu erkennen und kann dem heteroleptischen Komplex zwischen den modifizierten DNA-Einzelsträngen zugewiesen werden (Spalte 5-8). Die Banden der verschiedenen Metall-DNA-Komplexe sind trotz gleicher

IV.2. Heteroleptische Komplexe zwischen DNA2 und DNA3

Stoffmenge unterschiedlich stark durch die Silberfärbung angefärbt worden. Der Grund hierfür ist unbekannt und liegt vermutlich nicht an einer unvollständigen Ausbildung der Komplexe, da die charakteristische Bande des **TP**-modifizierten Einzelstrangs in keinem Fall auftritt.

Um nachzuweisen, dass die neue Bande dem heteroleptischen Komplex entspricht und nicht etwa einem homoleptischen Komplex zwischen **DNA2** bzw. **DNA3**, wurden die einzelnen DNA-Doppelstränge mit den vier verschiedenen Metallionen versetzt und mittels denaturierender PAGE analysiert. In Abb. 86 ist das Gel der Kontrollexperimente abgebildet. In den Spalten 1 – 4 ist eindeutig zu sehen, dass die **MP**-modifizierten Stränge keine homoleptischen Komplexe bilden, da keine neuen Banden erscheinen. Für die terpyridinmodifizierten Stränge (Spalte 7 – 10) tritt bei der Verwendung von Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} eine neue, weniger mobile Bande auf und entspricht einer Dimerbildung. Die Ausbildung eines homoleptischen Kupfer(II)-Komplexes findet unter den PAGE-Bedingungen nicht statt. Diese Beobachtungen zur Komplexbildung von **TP**-modifizierter DNA stimmen mit den bereits publizierten Ergebnissen von *Wagenknecht et al.* überein.^[141] An dieser Stelle ist es wichtig zu erwähnen, dass die Bande der homoleptischen Terpyridin-Komplexe eine andere Migrationszeit wie die Bande der heteroleptischen Komplexe aufweist. Somit konnte eindeutig gezeigt werden, dass ein heteroleptischer Komplex zwischen **DNA2** und **DNA3**, unabhängig des verwendeten Metallions, gebildet wird und diese Komplexbildung spektroskopisch verfolgt werden kann.

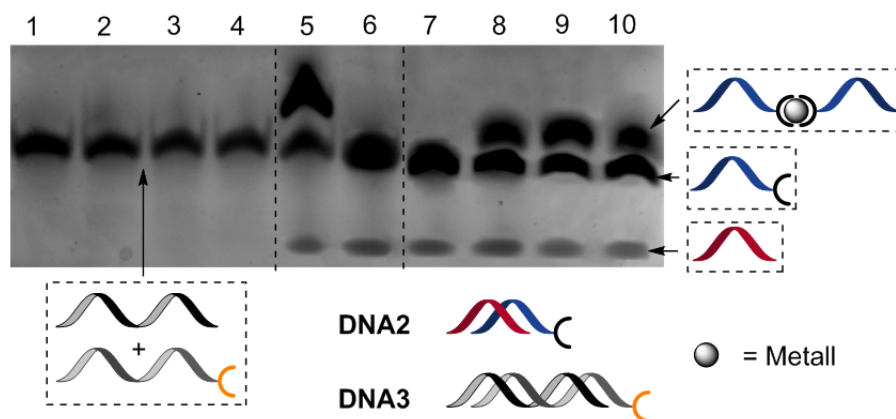


Abb. 86 Analyse des Urea-PAGE-Kontrollexperimentes. Spalten 1: **DNA3** + Cu^{2+} , Spalten 2: **DNA3** + Zn^{2+} , Spalten 3: **DNA3** + Fe^{2+} , Spalten 4: **DNA3** + Ni^{2+} , Spalte 5: **DNA2-3** + Ni^{2+} , Spalte 6: **DNA2-3** + EDTA, Spalten 7: **DNA2** + Cu^{2+} , Spalten 8: **DNA2** + Zn^{2+} , Spalten 9: **DNA2** + Fe^{2+} , Spalten 10: **DNA2** + Ni^{2+} .

3. Heteroleptische Komplexe zwischen DNA4 und Terpy-Fullerenen

3.1. DNA-Synthese

In Kapitel IV.2. wurde gezeigt, dass selektiv und unabhängig des gewählten Metalls ein heteroleptischer Komplex zwischen einer terpyridinmodifizierten DNA und einer **MP**-modifizierten DNA (jeweils am 5'-Ende modifiziert) gebildet werden kann. Das Ziel ist, dieses selbstorganisierende Motiv zu verwenden, um ein terpyridinmodifiziertes Fulleren (**3**) über einen Komplex an eine **MP**-modifizierten DNA zu binden.

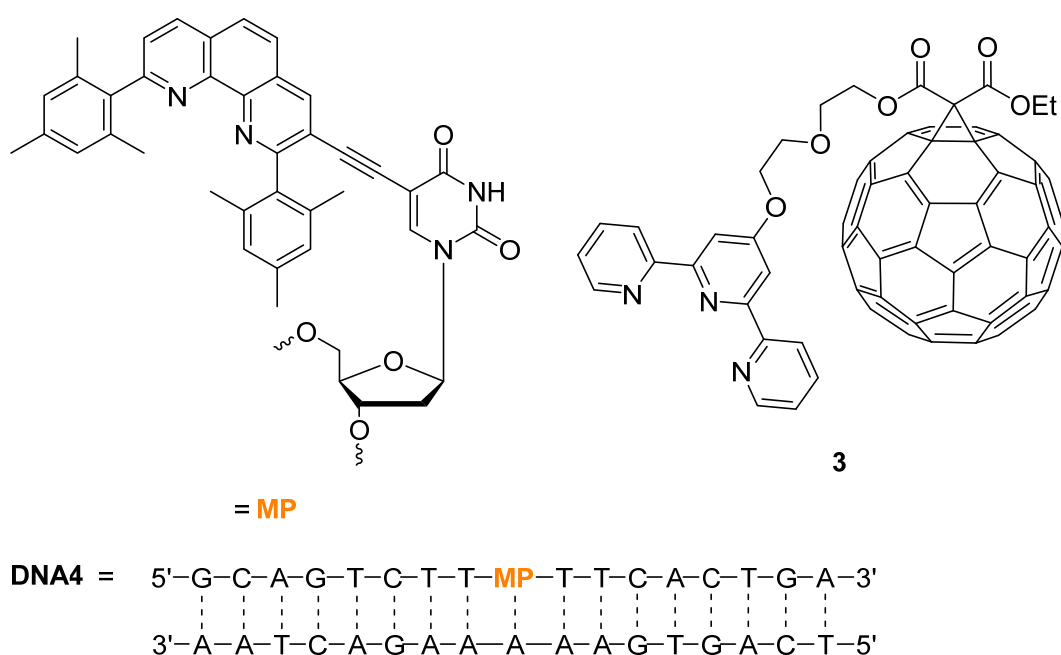


Abb. 87 Strukturen der künstlichen Base MesPehn-dU **MP** und des Fulleren-Derivats **3** sowie die verwendete DNA-Sequenz.

Die verwendete **DNA4** ist dabei in der Sequenzmitte durch den künstlichen Baustein **MP** modifiziert. Die Wahl der Sequenz kann damit begründet werden, dass durch die Modifizierung eines 2'-Desoxyuridins in 5-Position die Watson-Crick-Basenpaarung zu der Gegenbase dA erhalten bleibt und der Phenanthroline-Ligand in der großen Furche lokalisiert ist (siehe II.2.4). Wird nun ein Komplex mit dem Fulleren-Derivat **3** ausgebildet, befindet sich das große, hydrophobe Fulleren ebenfalls in der großen Furche, wodurch eine Destabilisierung des DNA-Doppelstrangs über Schmelztemperaturmessungen nachgewiesen werden kann.^[169]

Wie im vorherigen Kapitel beschrieben, wurden die gebildeten Komplexe mit Methoden der optischen Spektroskopie (Absorptions – und Emissionsmessungen) und der Analyse von Gelen (denaturierende PAGE) untersucht.

3.2. Optische Spektroskopie

Vorversuche mit **DNA4** in Gegenwart verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+}) zeigten, dass die Positionierung des **MP**-Bausteins keinen Einfluss auf dessen Komplexverhalten besitzt. Die Absorptions- und Emissionsspektren zeigen nach Zugabe der Metallionen keine Veränderungen, wodurch ersichtlich wird, dass kein homoleptischer Komplex zwischen den **MP**-Liganden entsteht. Eine Ausnahme bildet die Emission bei Zugabe von Kupfer(II)-Ionen, da hier eine Fluoreszenzlöschung von ca. 20 % festgestellt wurde. Die Schmelztemperatur bleibt ebenfalls unverändert mit einem Wert von $T_m \sim 56 \text{ }^\circ\text{C}$ (siehe Anhang). Demnach sind die Veränderungen in den folgenden Spektren auf den Einfluss des Fulleren-Derivats **3** zurückzuführen.

Der Versuch, **3** zusammen mit **DNA4** in wässrigem NaP_i -Puffer ($\text{pH} = 7.2$) in Lösung zu bringen, resultierte aufgrund des in Wasser unlöslichen Fulleren-Derivats in einer Trübung (Abb. 88, rechts a). EDTA verhinderte dabei, dass eine eventuelle Metallionen-Verunreinigung zu einer Komplexbildung führt. Im Absorptionsspektrum dieser Lösung sind charakteristische Banden der **MP**-Modifikation bei 336 nm und 354 nm zu erkennen und eine breite, auslaufende Bande ab 400 nm, bedingt durch das unlösliche Fulleren.

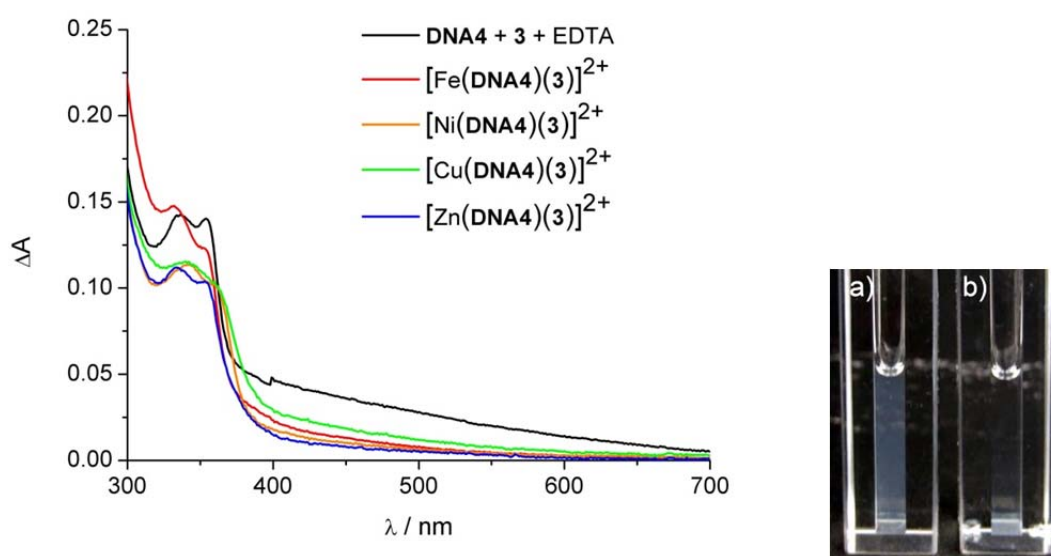


Abb. 88 Links: UV/Vis-Absorptionsspektren von **DNA4** mit **3** (2.5 μM) in Gegenwart von EDTA und verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , 2.75 μM , in 10 mM NaP_i -Puffer ($\text{pH} = 7.2$), 250 mM NaCl). Rechts: Küvettenbilder a) **DNA4** + **3** + EDTA b) **DNA4** + **3** + Cu^{2+} .

In Gegenwart der vier verschiedenen Metallionen war eine veränderte Absorption zu erkennen. In allen Fällen war eine Verschiebung der **MP**-Absorption und eine Reduzierung der breiten Bande ab 400 nm sichtbar, da das Fulleren durch die Komplexbildung in Lösung gebracht wurde (Abb. 88, rechts b). Dennoch weist diese

Bande eine gewisse Absorption auf, was charakteristisch für Fulleren ist (siehe III.3.3). Die Absorption der DNA-Fulleren-Komplexe mit Zn^{2+} , Cu^{2+} , und Ni^{2+} nimmt im Bereich 300 – 400 nm ab. Für den Komplex mit Fe^{2+} ist ein anderes Verhältnis der zwei Absorptionsbanden zu erkennen (Abb. 88). Diese Veränderungen traten erst durch Zugabe des Fulleren-Derivats auf, was ein deutliches Indiz für eine Komplexbildung zwischen **DNA4** und **3** ist.

Die Emission von **DNA4** zeigt zwei Banden bei 375 nm und 386 nm, wodurch ersichtlich wird, dass die Position von **MP** einen Einfluss auf dessen Emissionsverhalten besitzt (vgl. **DNA3** $\lambda_{\text{max}} = 396$ nm). Ohne Zusatz von Metallionen bleibt das Emissionsspektrum von **DNA4** durch das dispergierte Fulleren-Derivat **3** unverändert. Wie zu erwarten, findet eine Fluoreszenzlöschung in Anwesenheit der Metallionen statt ($\lambda_{\text{max}} = 386$ nm. F_q für Cu^{2+} : = 95 %, Zn^{2+} : = 44 %, Ni^{2+} : = 81 %, Fe^{2+} : = 31 %). Der Einfluss von Zn^{2+} und Fe^{2+} ist relativ gering. Mit Cu^{2+} und Ni^{2+} kommt es jedoch zu einer sehr starken Löschung der Fluoreszenz. Demnach besteht je nach Wahl des Metallions eine andere elektronische Kopplung zwischen den Liganden. Inwieweit ein Elektronentransfer von den fluoreszenten Metallkomplexen auf das Fulleren stattfindet und zur Fluoreszenzlöschung beiträgt, bleibt an dieser Stelle ungeklärt.

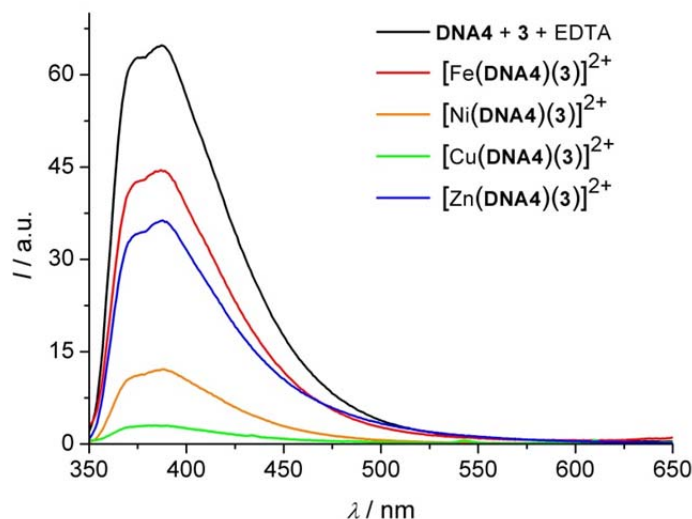


Abb. 89 Emissionsspektren ($\lambda_{\text{exc}} = 336$ nm) von **DNA4** mit **3** (2.5 µM) in Gegenwart von EDTA und verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , 2.75 µM, in 10 mM NaPi-Puffer (pH = 7.2), 250 mM NaCl).

Ein weiteres, deutliches Indiz für die Ausbildung eines heteroleptischen Komplexes zwischen der **MP**-modifizierten **DNA4** und dem terpyridinmodifizierten Fulleren **3** wird durch die Schmelztemperaturanalyse gegeben (Abb. 90).

IV.3. Heteroleptische Komplexe zwischen DNA4 und Terpy-Fulleren

In der Sequenzmitte führt die **MP**-Modifizierung, verglichen zum terminalen Einbau in **DNA3**, zu einer Verringerung der Schmelztemperatur von -5.8 °C (T_m **DNA3** = 61.1 °C , **DNA4** = 55.6 °C). In Gegenwart von **3** und den vier verschiedenen Metallionen nimmt die Schmelztemperatur weiter ab. Für den Zink(II)-Komplex ist T_m mit 49.7 °C am geringsten. Alle vier Metallkomplexe weisen eine deutliche Destabilisierung des DNA-Doppelstrangs auf. Die unterschiedlichen Werte sind möglicherweise auf verschiedene Stabilitäten der DNA-Fulleren-Metall-Komplexe zurückzuführen. Abschließend sind alle Ergebnisse in Tabelle 2 zusammengefasst.

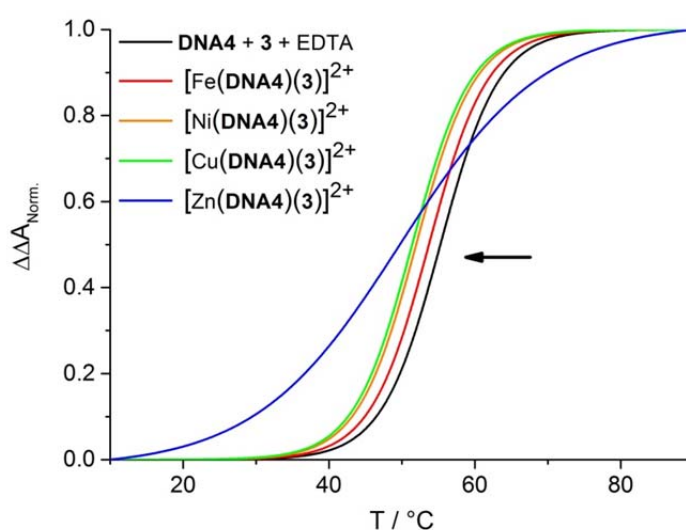


Abb. 90 Temperaturabhängige Absorptionsänderung bei 260 nm von **DNA4** mit **3** ($2.5\text{ }\mu\text{M}$) in Gegenwart von EDTA und verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , $2.75\text{ }\mu\text{M}$, in 10 mM NaP_i -Puffer ($\text{pH} = 7.2$), 250 mM NaCl).

Tabelle 2 Daten aus den spektroskopischen Untersuchungen von **DNA4** mit **3** und den Komplexen mit Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} . a: $\lambda_{\text{emi}} = 336\text{ nm}$

DNA	λ_{abs} [nm]	λ_{abs} [nm] ^a	Fq [%]	T_m [°C]	ΔT_m
DNA4	336, 354	375, 386	-	55.6	-
$[\text{Cu}(\text{DNA4})(\mathbf{3})]^{2+}$	358	383	95	51.4	-3.9
$[\text{Zn}(\text{DNA4})(\mathbf{3})]^{2+}$	347	375, 388	44	49.7	-5.6
$[\text{Ni}(\text{DNA4})(\mathbf{3})]^{2+}$	336, 351	375, 388	81	51.9	-3.4
$[\text{Fe}(\text{DNA4})(\mathbf{3})]^{2+}$	338, 581	375, 388	31	53.7	-1.6

3.3. Gelelektrophorese

Die bisherigen Untersuchungen deuten auf eine heteroleptische Komplexbildung zwischen **DNA4** und **3** bei Vorhandensein von verschiedenen Metallionen hin. In Abschnitt IV.2.3 wurde der heteroleptische Komplex zwischen **DNA2** und **DNA3** mithilfe der denaturierenden Polyacrylamid-Gelelektrophorese (PAGE) nachgewiesen. Mit dieser Methode sollten in diesem Abschnitt ebenfalls die metallvermittelten Komplexe zwischen **DNA4** und **3** untersucht werden. Die **MP**-modifizierte DNA zeigt (wie bei **DNA3**) die gleiche Migrationszeit wie der entsprechende Gegenstrang (Spalte 1, Abb. 91). Das terpyridinmodifizierte Fulleren **3** besitzt keine Mobilität (Spalte 2) und keinen Einfluss auf **DNA4** (Spalte 3). Erst durch Zugabe der Metallionen tritt eine neue Bande mit einer kaum vorhandenen Mobilität auf (Spalte 4 - 7). Je nach Metallion „schmiert“ die neue Bande unterschiedlich stark. Vermutlich besitzen die denaturierenden PAGE-Bedingungen unterschiedlichen Einfluss auf die verschiedenen DNA-Fulleren-Metall-Komplexe. Der Grund für die schlechte Mobilität der heteroleptischen Komplexe liegt nicht nur an der starken Hydrophobizität des Fulleren, sondern auch an dem positiv geladenen Metallkomplex, der die negative Ladung des DNA-Rückgrats beeinflusst und somit ebenfalls negativ auf die Mobilität wirkt.

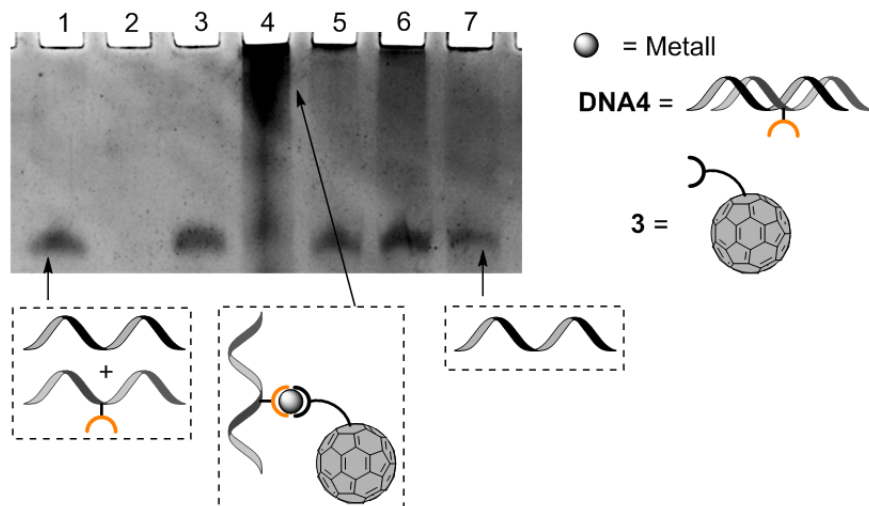


Abb. 91 Analyse der 25 %igen Urea-PAGE. Spalten 1: **DNA4**, Spalte 2: **3**, Spalte 3: **DNA4** und **3** + EDTA, Spalte 4: **DNA4** + **3** + Cu^{2+} , Spalte 5: **DNA4** + **3** + Zn^{2+} , Spalte 6: **DNA4** + **3** + Fe^{2+} , Spalte 7: **DNA4** + **3** + Ni^{2+} .

Die PAGE-Analyse unterstützt die Annahme, dass ein heteroleptischer Komplex zwischen der **MP**-modifizierten DNA (**DNA4**) und einem terpyridinmodifizierten Fulleren (**3**) ausgebildet wird, wobei die starke Aggregation zwischen den DNA-Fulleren-Konjugaten die Interpretation erschwert. Am deutlichsten ist die Ausbildung des heteroleptischen Komplexes in den Schmelztemperaturanalysen zu erkennen.

4. Zusammenfassung und Ausblick

Zur Ausbildung von heteroleptischen Metallkomplexen im wässrigen Medium wurde ein literaturbekanntes Konzept^[15] aufgefasst, in dem ein durch Mesityl-Gruppen substituiertes, sterisch gehindertes Phenanthrolin selektiv heteroleptische Metallkomplexe mit Terpyridin-Liganden bildet. Um dieses Konzept in DNA zu übernehmen, wurde das 3-Ethynyl-2,9-bismesityl-1,10-phenanthrolin (**34**) an die 5-Position von 2'-Desoxyuridin geknüpft (**36**) und über die Standard-Phosphoramidit-Methode in DNA eingebaut (**DNA3** und **DNA4**). Eine heteroleptische Komplexbildung zwischen zwei DNA-Doppelsträngen wurde durch die Verwendung einer am 5'-Ende terpyridinmodifizierte DNA (**DNA2**) als zweiter Komplex-Ligand realisiert. Zur Vermeidung unerwünschter Wechselwirkungen der Metallionen mit den DNA-Basen, wurden die modifizierten DNA-Stränge mit ihren Gegensträngen hybridisiert eingesetzt. Die Komplexbildung zwischen **DNA2** und **DNA3**, durch Zugabe von verschiedenen Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} und Fe^{2+}), konnte mittels optischer Spektroskopie verfolgt werden. Die Änderungen in den UV/Vis-Absorptionsspektren sowie die Fluoreszenzlöschung des Phenanthrolin-Derivats deuteten auf die Ausbildung eines Komplexes zwischen den modifizierten DNA-Strängen hin. Auch der negative Einfluss auf die Stabilitäten der Doppelstränge nach Zugabe der Metallionen indizierte die Ausbildung von Metallkomplexen. Zur eindeutigen Aufklärung, ob homo- oder heteroleptische Komplexe zwischen den DNA-Strängen vorliegen, wurde die denaturierende PAGE verwendet. Dabei zeigte sich, dass nur der heteroleptische Komplex gebildet wurde.

Nachdem das Konzept erfolgreich in DNA angewandt wurde, sollte eine metallvermittelte Verknüpfung zwischen DNA und einem Fulleren-Derivat mithilfe der Phenanthrolin- und Terpyridin-Liganden erfolgen. Die Komplexbildung zwischen der phenanthrolinmodifizierten **DNA4** und einem terpyridinmodifiziertem Fulleren **3** wurde über die optische Spektroskopie verfolgt. Dabei konnte gezeigt werden, dass das Fulleren-Derivat nur unter Zugabe der Metallionen in Lösung geht. Die Verringerung der Schmelztemperatur von **DNA4** deutet ebenfalls auf die Ausbildung eines Metallkomplexes hin. Eine Analyse der denaturierenden PAGE wurde durch die geringe Mobilität des DNA-Fulleren-Komplexes erschwert. Die positive Ladung des Metallkomplexes und vor allem das hydrophobe Fulleren wirken sich dabei auf die Migrationszeit im Gel aus, wodurch keine eindeutige Bande ersichtlich wurde.

In dieser Arbeit wurde eine neue Methode beschrieben, um einen heteroleptischen Komplex zwischen zwei DNA-Doppelsträngen bzw. einem DNA-Doppelstrang und einem terpyridinmodifizierten Fulleren zu bilden. Dabei konnte gezeigt werden, dass der heteroleptische Komplex zwischen Terpyridin und Phenanthrolin unabhängig des gewählten Metallions entsteht. Die auftretende Fluoreszenzlöschung in den Metallkomplexen zeigt, dass eine elektronische Kopplung zwischen den Komponenten herrscht und könnte von Interesse bei der Entwicklung von elektrischen Leitern im Nanometermaßstab (Nanoelektronik) sein.

Um den heteroleptischen Komplex zwischen der modifizierten DNA und dem Fulleren-Derivat in der PAGE eindeutig nachzuweisen, könnte eine längere DNA-Sequenz gewählt werden.

V. Zusammenfassung

Im Wesentlichen beschäftigt sich diese Arbeit mit der Selbstassemblierung farbstoffmodifizierter Nucleoside entlang eines Templat-DNA-Strangs, getrieben durch Wasserstoffbrückenbindungen und π - π -Wechselwirkungen und der DNA-gestützten Selbstassemblierung von heteroleptischen Metallkomplexen.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde die Anlagerung des Nilrot-Nucleosids **Nr≡dU** entlang eines Templatstrangs erfolgreich durchgeführt. Dabei wurde festgestellt, dass **Nr≡dU** nur an den komplementären Strang $(dA)_n$ bindet und somit eine Selektivität aufweist (dA vs. dT). Außerdem wurde ersichtlich, dass die Nucleoside über Wasserstoffbrückenbindungen an den DNA-Strang anlagern und π - π -Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren zur Stabilisierung des Aggregats beitragen.

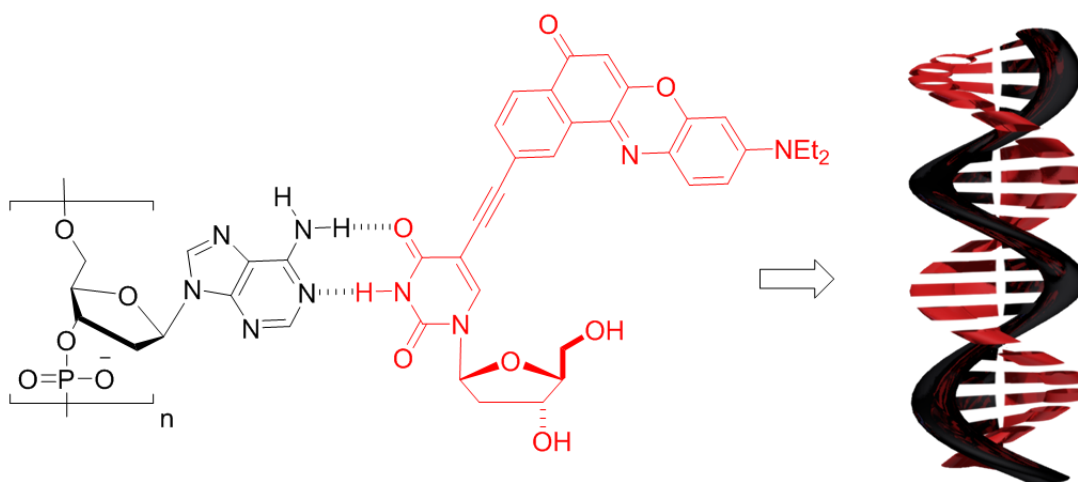


Abb. 92 Struktur des Nilrot-Nucleosids **Nr≡dU** und die schematische Darstellung der Anlagerung an ein Oligo-2'-desoxyadenosin-Templatstrang

Des Weiteren wurden die Selbstassemblierungen von Mischungen bestehend aus den farbstoffmodifizierten Nucleosiden **Nr≡dU:Py≡dU** in verschiedenen Verhältnissen entlang eines $(dA)_{20}$ -Strangs untersucht. Das Aggregationsverhalten im Farbstoffstapel der einzelnen Komponenten konnte dabei mittels optischer und CD-Spektroskopie verfolgt werden. Liegt eine Komponente in geringerer Konzentration vor (z.B. **Nr≡dU:Py≡dU** = 1:19 bzw. 19:1), weist diese ein mit einem Monomer vergleichbares optisches Verhalten auf. Wird die Konzentration erhöht, kommt es zur Aggregation im Stapel. Somit wurde deutlich, dass ein gemischter Farbstoffstapel an dem Templat-DNA-Strang ausgebildet wurde. Die

hohen Intensitäten der Signale in den CD-Spektren deuten zudem auf eine präzise Anordnung der Farbstoffe entlang des DNA-Strangs hin. Die duale Emission der Farbstoff-DNA-Aggregate weist einen Energietransfer von Pyren zu Nilrot auf, wodurch dieses System Potenzial zur Nutzung als Lichtsammelantenne mit sich bringt. Um Elektronen von dem selbstassemblierten Farbstoffstapel abzuführen, wurde eine fullerenmodifizierte DNA (**DNA1**) als Templat eingesetzt. Das Fulleren wurde in Form eines Aktivesters an die aminmodifizierte DNA über eine Amidbindung geknüpft. Erstmals war es möglich, ein DNA-Fulleren-Konjugat durch RP-HPLC zu reinigen und massenspektrometrisch nachzuweisen. Bei Verwendung von **DNA1** konnte nach Anlagerung der einzelnen **Nr≡dU:Py≡dU** Mischungen eine Fluoreszenzlöschung von durchschnittlich 80 % der Pyrenfluoreszenz und ca. 70 % der Nilrotfluoreszenz festgestellt werden. Diese starken Fluoreszenzlöschungen deuten auf einen Elektronentransfer vom Farbstoffstapel auf das Fulleren hin.

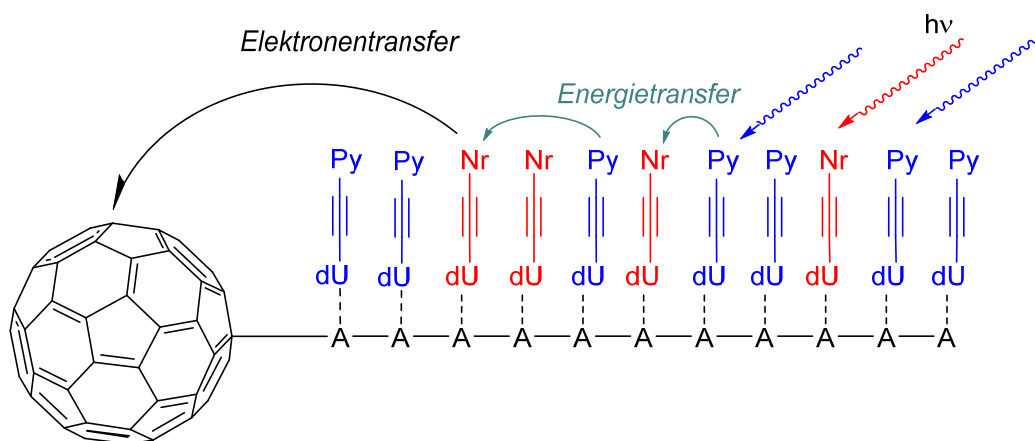


Abb. 93 Schematische Darstellung des angelagerten Farbstoffstapels **Py≡dU:Nr≡dU** entlang der fullerenmodifizierten DNA (**DNA1**).

Um mit diesem DNA-basierten Lichtsammelsystem in die Anwendung zu gehen, wurde das DNA-Farbstoff-Aggregat als aktive Schicht in einer Solarzelle mit invertierter Architektur^[187, 193] verwendet (Abb. 94). Durch das Messen der freigesetzten Elektronen, nach Absorption der eingestrahlten Photonen, wurde die Quantenausbeute in Abhängigkeit der Wellenlänge für die Solarzelle bestimmt. Der Kurvenverlauf zeigte Maxima bei den typischen Wellenlängen der Farbstoffaggregate von Nilrot und Pyren. Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass es die DNA-templierten Aggregate sind, die eine Konvertierung der Lichtenergie in elektrische Energie ermöglichen. Allerdings ist die Quantenausbeute noch sehr gering und bedarf Optimierungen hinsichtlich der DNA-Fulleren-Aggregate, um einen besseren Ladungsabtransport zu ermöglichen.

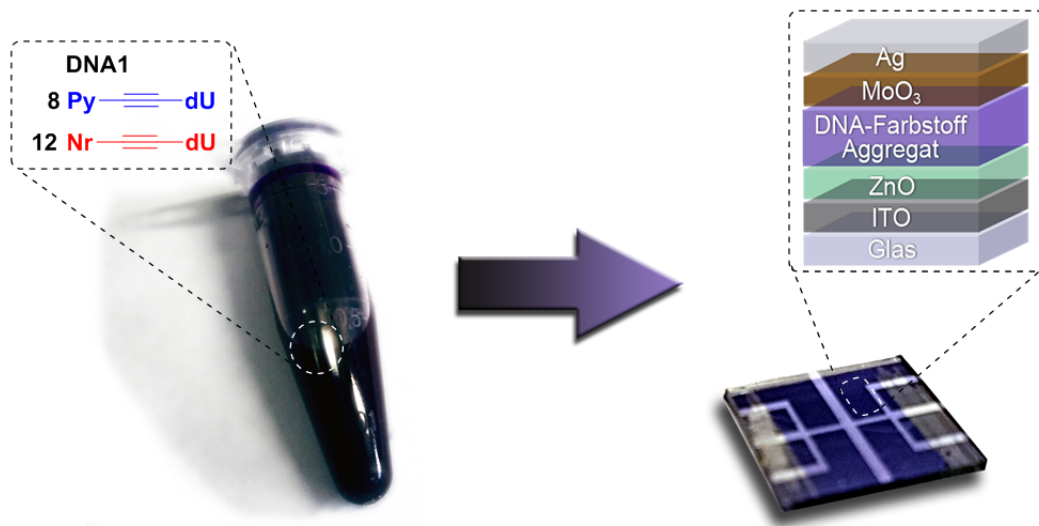


Abb. 94 Bild des gelösten DNA-Farbstoff-Aggregats aus **DNA1** mit **Py≡dU:Nr≡dU = 8:12** und die schematische Darstellung der Schichtabfolge in der Solarzelle.

Somit konnte gezeigt werden, dass die erstmalige Anlagerung eines Gemisches aus zwei verschiedenen farbstoffmodifizierten Nucleosiden entlang eines fulleren-modifizierten DNA-Strangs erfolgreich zur Umwandlung von Licht in Strom eingesetzt werden kann. Damit wurde ein neues Anwendungsgebiet für DNA-templierte Farbstoffaggregate erschlossen und bietet viele Möglichkeiten für weitere Untersuchungen.

Durch die Wahl von farbstoffmodifizierten Nucleosiden mit unterschiedlichen Gegenbasen, sollte eine Sequenzsteuerung des Farbstoffstapels ermöglicht werden. Die Verwendung der Monomere **Py≡dU** (Gegenbase: A) und **Nr≡dA** (Gegenbase: T) zeigten nach Anlagerung an verschiedene DNA-Stränge, dass gezielt Einfluss auf das Aggregationsverhalten der farbstoffmodifizierten Nucleoside durch die Wahl der DNA-Sequenz genommen werden kann. Allerdings wurde kein Energietransfer zwischen den hier verwendeten Nucleosiden und DNA-Sequenzen festgestellt und bedarf weiterer Untersuchungen.

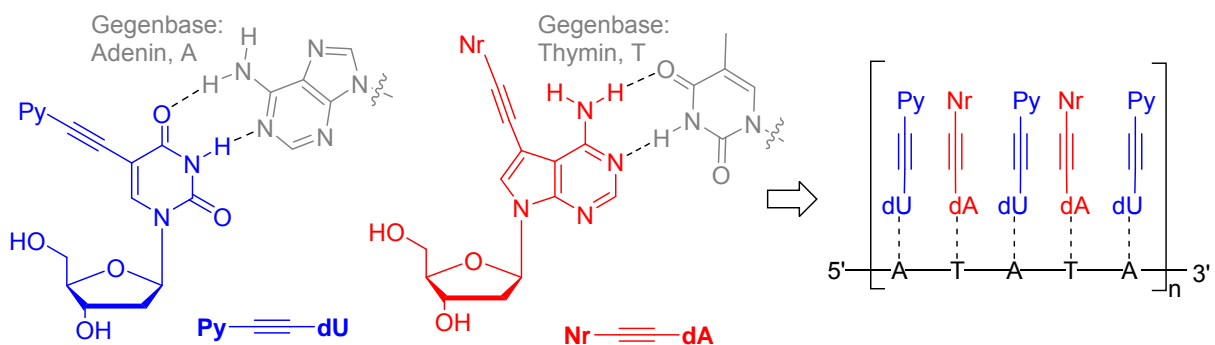


Abb. 95 Schematische Darstellung der Farbstoffstapel-Sequenzierung.

Dennoch bietet die DNA-templierte Selbstassemblierung von Nucleosiden eine neue Möglichkeit, Materialien für die Energiegewinnung aus Licht zu erstellen.

Der zweite Teil dieser Arbeit bestand in der Synthese eines artifiziellen DNA-Bausteins zur Ausbildung von heteroleptischen Komplexen. Hierfür wurde 3-Ethynyl-2,9-bis(mesityl)-1,10-phenanthrolin (**34**) an die 5-Position von 2'-Desoxyuridin (**36**) geknüpft und über die Standard-Phosphoramidit-Methode in die DNA eingebaut (Abb. 96, **DNA3-4**). Dieses Phenanthrolin-Derivat (**MP**) soll mit 2,2':6',2''-Terpyridin-Liganden selektiv heteroleptische Metallkomplexe (in organischen Lösungsmitteln) ausbilden^[15] und wurde in dieser Arbeit auf das Verhalten in wässrigem Medium untersucht. Als Terpy-Liganden wurden eine modifizierte DNA (Abb. 96, **DNA2**) und ein modifiziertes Fulleren eingesetzt (Abb. 96, **3**). Die Komplexe wurden nach Zugabe von vier verschiedenen Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} und Ni^{2+}) mittels UV/Vis- und Fluoreszenzspektroskopie, Schmelztemperaturbestimmung und denaturierender Gelelektrophorese (PAGE) untersucht.

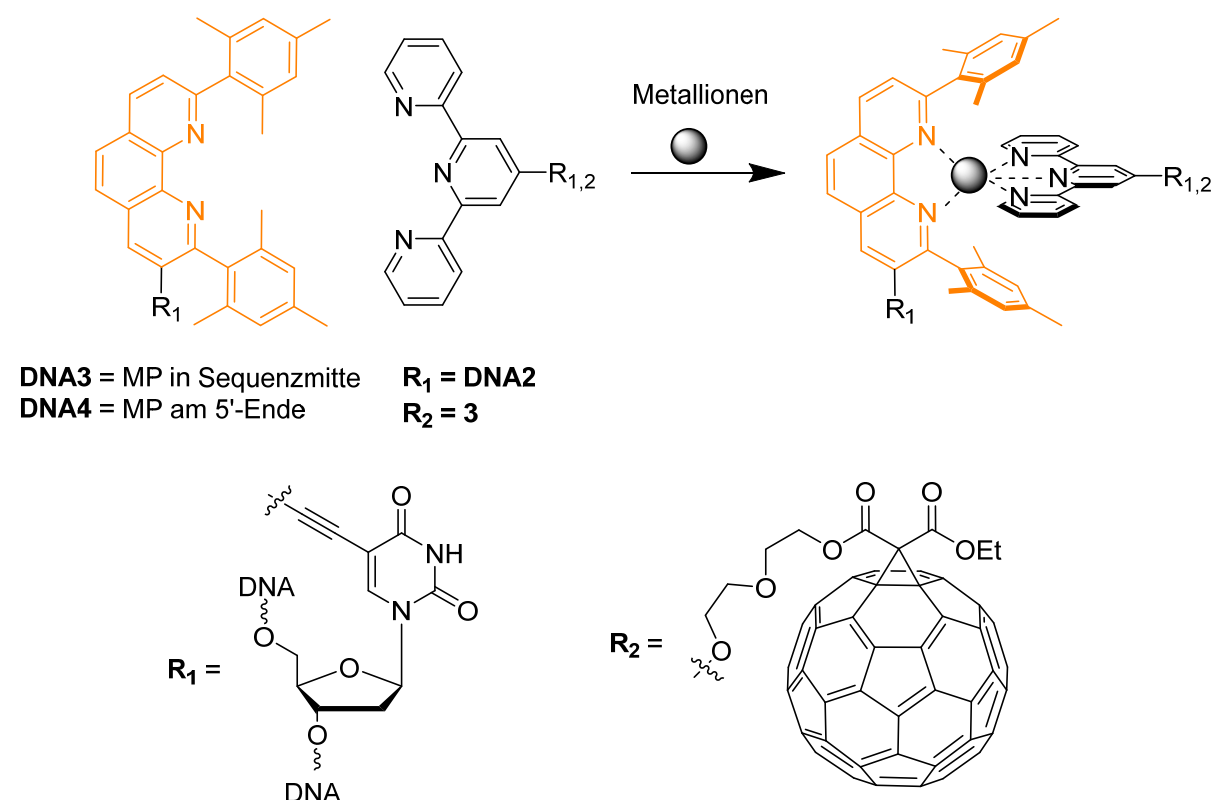


Abb. 96 Strukturen der verwendeten Komponenten zur Ausbildung heteroleptischer Komplexe zwischen Phenanthrolin und Terpyridin in wässriger Umgebung.

Für die Metallkomplexe ($[\text{M}(\text{DNA2})(\text{DNA3})]^{2+}$ und $[\text{M}(\text{DNA4})(\text{3})]^{2+}$) wurden veränderte Absorptionen im Bereich (300 – 400 nm) der **MP**- und **TP**-Liganden und eine Löschung der **MP**-Emission ($\lambda_{\text{exc}} = 336 \text{ nm}$) nach Zugabe der Metallionen festgestellt. Die Schmelztemperaturanalysen ergaben sowohl für die Komplexbildung

der **MP**-modifizierten DNA (**DNA3**) mit der **TP**-modifizierten DNA (**DNA2**) als auch mit dem modifizierten Fulleren (**3** + **DNA4**) eine Destabilisierung. All diese Beobachtungen deuten auf eine Ausbildung der gewünschten heteroleptischen Metallkomplexe hin. Im Falle des **DNA2-3**-Komplexes konnte mithilfe der PAGE durch das Auftreten einer neuen Bande mit geringerer Mobilität als die unkomplexierten DNA-Stränge der heteroleptische Metallkomplex eindeutig nachgewiesen werden. Für den $[M(\mathbf{DNA4})(\mathbf{3})]^{2+}$ Komplex war dies nicht ausreichend aussagekräftig, da das unpolare Fulleren die Mobilität des Komplexes im Polyacrylamid-Gel stark verringert und somit keine eindeutige scharfe Bande festgestellt werden konnte. Dennoch sind die Ergebnisse aus der optischen Spektroskopie Indizien dafür, dass ein heteroleptischer Metallkomplex vorliegt.

Durch die Verwendung der **MP**- und **TP**-modifizierten DNA-Bausteine konnte in dieser Arbeit erstmals ein heteroleptischer Metallkomplex zwischen zwei DNA-Doppelstränge (in wässriger Umgebung) gebildet werden. Außerdem wurden in dieser Arbeit zwei neue Methoden vorgestellt, wie DNA entweder kovalent (**DNA1**) oder nicht-kovalent ($[M(\mathbf{DNA4})(\mathbf{3})]^{2+}$) mit einem Fulleren verknüpft werden kann. Die Selbstassemblierung von modifizierten Nukleosiden entlang eines Templat-DNA-Strangs, die Verknüpfung von DNA und Fulleren sowie die Ausbildung von heteroleptischen Metallkomplexen an DNA können nützliche Werkzeuge für die Entwicklung neuer, funktionalisierter Nanoarchitektur sein.

VI. Experimenteller Teil

1. Material und Methoden

Reagenzien und Lösungsmittel

Chemikalien für Synthese und Experimente wurden von den Firmen *Alfa Aesar*, *Fluka*, *Merck*, *ABCR*, *Carl Roth*, *VWR* und *Sigma Aldrich* bezogen. Die dabei verwendete Qualitätsstufe war mindestens „zur Synthese“. Die verwendeten Lösungsmittel besaßen mindestens die Qualitätsstufe p.A. (pro analysi). Trockene Lösungsmittel wurden von *Acros Organics* bezogen und unter Argon aufbewahrt. Für die HPLC wurden hochreine organische Lösungsmittel (HPLC Grade) und entionisiertes Wasser aus einer *Millipore*-Anlage verwendet.

Reaktionsführung

Reaktionen unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss wurden unter einer Argon Atmosphäre (Schweißargon 4.6, 99,996 % Reinheit) durchgeführt. Die dafür benötigten Glasgeräte wurden vor Gebrauch im Hochvakuum getrocknet.

Kommerzielle Oligonukleotide

Unmodifizierte und die mit dem C6-Aminolinker-modifizierten Oligonukleotide wurden von *metabion* bezogen. Diese waren bereits HPLC gereinigt und lyophilisiert. Vor ihrer Verwendung wurde die DNA in entionisiertem Wasser gelöst und die Konzentration über die Absorption bei 260 nm bestimmt.

DNA-Festphasensynthese

Die DNA-Festphasensynthese erfolgte an einem *Expedite Nucleic Acid Synthesizer* System von *Applied Biosystems* (ABI). Hierbei wurde das System mit Argon als Schutzgas betrieben. Für die Festphase wurden CPGs (*Controlled Pore Glass*) mit 1 μmol Belegung (500 Å) von *Proligo Reagents* verwendet. Alle weiteren Chemikalien wurden von *ABI* und *Glen Research* bezogen.

Chromatographie

- Dünnschichtchromatographie (DC)

Hierfür wurden fertig beschichtete Aluminiumfolien der Firma *Merck* verwendet. Die Beschichtung bestand aus 60 F₂₅₄ Kieselgel mit einer Schichtdicke von 0.25 mm. Die Auswertung erfolgte über die sichtbare Fluoreszenzlöschung bei einer Anregungswellenlänge von $\lambda = 254$ nm bzw. über Fluoreszenz, angeregt bei $\lambda = 366$ nm. Wenn erforderlich, erfolgte eine chemische Auswertung durch Anfärben mit Schwefelsäure (3 %) in Methanol und anschließendem Erhitzen mit einem Heißluftfön.

- Flash-Säulenchromatographie (FC)

Für die stationäre Phase wurde Kieselgel der Firma *Sigma Aldrich* mit einer Korngröße von 40 - 63 μm verwendet. Die Säulen wurden nass gepackt und nach dem von *Still* beschriebenen Verfahren^[206] mit Überdruck durchgeführt. Die Auftragung der zu reinigende Substanz erfolgte entweder im Laufmittel gelöst oder adsorbiert auf Kieselgel.

- Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Reversed-phase (RP) HPLC erfolgte an einem *Shimadzu* HPLC System (Entgaser, Pumpeneinheit LC-10AT, Autosampler SIL-10AD, Diodenarraydetektor SPD-M10A, Steuereinheit SCL-10A, Steuersoftware Class-VP). Für die analytische Chromatographie wurde eine *Supelcosil* LC-318-Säule (250 x 4.6 mm, 3 μm) verwendet. Für die fullerenmodifizierte DNA wurde eine *Supelco Discovery® BIO Wide Pore* C5-Säule (250 x 4.6 mm, 3 μm) verwendet. Die präparative Trennung erfolgte über eine *Supelcosil* LC-318-Säule (250 x 10 mm, 5 μm) bzw. für die fullerenmodifizierte DNA wurde eine *Supelco Discovery® BIO Wide Pore* C5-Säule (250 x 10 mm, 5 μm) verwendet. Als Flussraten wurden bei analytischen Methoden 1 mL/min und bei semipräparativen Methoden 2.5 mL/min eingestellt. Die Säulen wurden mit 50 mM Ammoniumacetat-Puffer (pH = 6.5, Laufmittel A) äquilibriert und anschließend mit verschiedenen Acetonitril-Gradienten (Laufmittel B) eluiert. Die Detektion erfolgte mittels UV/Vis-Absorption bei $\lambda = 260$ nm und einer charakteristischen UV/Vis-Absorption des artifiziellen Bausteins.

Gefriertrocknung

Gereinigte DNA Proben wurden nach Ausfrieren in flüssigen Stickstoff entweder an der Gefriertrocknungsanlage *Alpha 1- 2 LD Plus* von *Christ* oder in einem Vakuumkonzentrator (*Alpha RVC*) von *Christ* getrocknet.

NMR

Die Kernresonanzspektren wurden an einem *Bruker Avance 300*, *Avance 400*, *Avance 600* oder *Avance DRX 500* aufgenommen. Verwendet wurden Probenröhrchen von 5 mm Außendurchmesser, deuterierte Lösungsmittel und eine Substanzmenge von ca. 10 - 20 mg in 0.6 mL Lösungsmittel. Chemische Verschiebungen δ werden in ppm angegeben und beziehen sich auf Tetramethylsilan als Nullpunkt. Als Referenz dient das Signal des unvollständig deuterierten Lösungsmittels ($^1\text{H-NMR}$) bzw. das Lösungsmittelsignal ($^{13}\text{C-NMR}$).^[207]

- CDCl_3 : $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 7.26$ ppm $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 77.16$ ppm
- THF-d_8 : $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 3.58$ ppm $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 67.57$ ppm
- DMSO-d_6 : $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 2.49$ ppm $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 39.4$ ppm

Die Kopplungskonstanten J werden in Hz angegeben. Zur Kennzeichnung der Multiplizität der ^1H -Signale werden folgenden Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), dd (Dublett vom Dublett), m (Multiplet) und bs (breites Singulett).

Massenspektrometrie

An einem *BIFLEX-IV* Spektrometer von *Bruker Daltonics* wurden die MALDI-TOF-Massenspektren gemessen. Dabei wurden folgende Matrices eingesetzt:

- Für DNA Proben: Hydroxypikolinsäure (gesättigte Lösung in Acetonitril: Wasser = 1:1) / Diammoniumhydrogencitrat (0.44 M in Wasser) = 9:1
- Für kleine Moleküle: 6-Aza-2-thiothymin (gesättigte Lösung in Acetonitril)

Außerdem wurden Massenspektren an einem *Finnigan MAT95* gemessen. Hierbei dienten EI (Elektronenstoßionisation) und FAB (*Fast Atom Bombardement*) als Ionisierungsverfahren. Die Angabe der Peaks erfolgte im Masse zu Ladungsverhältnis m/z .

Gelelektrophorese

Polyacrylamidgele wurden an einer *Mini-PROTEAN® Tetra cell* Gelelektrophorese von *Bio-Rad* mit 0.75 mm Schichtdicke bei Raumtemperatur durchgeführt. Die denaturierenden Gele enthielten 25 % Acrylamid/Bisacrylamid, 8.3 M Urea, 89 mM TRIS-Base, 89 mM Borsäure (pH = 8.0). Der Laufpuffer bestand aus 89 mM TRIS-Base, 89 mM Borsäure, pH = 8.0. Der Ladepuffer wurde in folgender Zusammensetzung eingesetzt: 10 mM Tris-HCl (pH = 7.6), 60 % Glycerin und je 0.03 % Xylencyanol FF und Bromphenol Blau.

Optische Spektroskopie

Die Messungen erfolgten, soweit nicht anders angegeben, in 1 mL Quarzglasküvetten der Firma *Starna* mit einer Dicke von 1 cm, bei einer Temperatur von 20 °C.

- UV/Vis Spektroskopie

UV/Vis-Absorptionsspektren wurden entweder an einem *Cary 100 Bio* der Firma *Varian* mit Temperatureinheit (*Cary 100 Temperature Controller*) und oder an einem *Perkin Elmer Lambda 750* aufgenommen. Die Spektren wurden gegen die UV/Vis-Absorption des Lösungsmittels basislinienkorrigiert.

Folgende Messparameter wurden stets verwendet:

- *Cary 100 Bio*: SBW: 2.0 nm, Durchschnittszeit: 0.1 s, Datenintervall: 1.0 nm, Lampenwechsel: 350 nm
- *Perkin Elmer Lambda 750*: Datenintervall: 1 nm, Slits: 2 nm, Response 0.08 s, Lampenwechsel: 320 nm

DNA-Schmelzpunkte wurden durch die Absorption bei $\lambda = 260$ nm über einen Temperaturbereich von 10 – 90 °C detektiert. Die Temperatur am Start- bzw. Endpunkt wurde jeweils 10 min konstant gehalten. Die Heiz- bzw. Kühlrate betrug 0.7 °C/min.

- Fluoreszenzspektroskopie

Fluoreszenzspektren wurden an einem *Fluoromax-3* der Firma *Jobin-Yvon*, mit einem Peltier-Element *LFI-3751* zur Temperaturregulierung oder einem *Horiba Jobin-Yvon Fluoromax-4-NIR* Fluoreszenzspektrometer, ausgestattet mit einem *Haake A 25* Thermostaten von *Thermo Scientific* gemessen. Die Spektren wurden gegen die Ramanstreuung des Lösungsmittels basislinienkorrigiert. Folgende Messparameter wurden verwendet: Increment: 1 nm, Integration Time: 0.2 s.

- Zirkulardichroismus (CD)

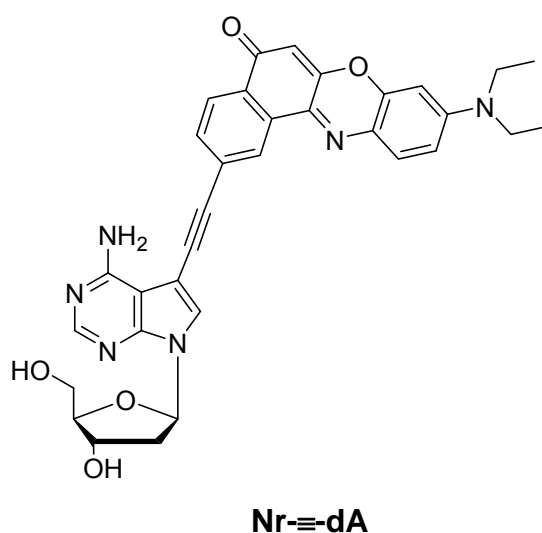
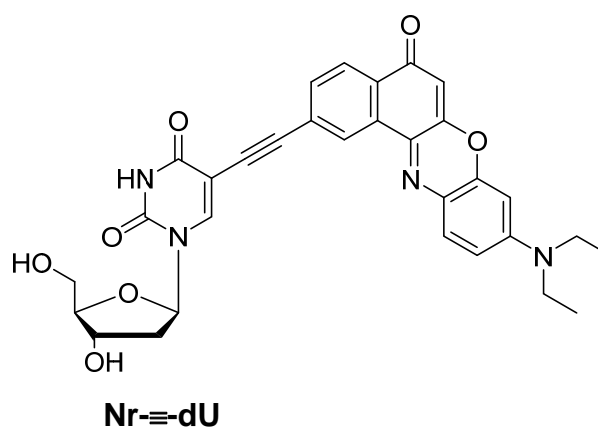
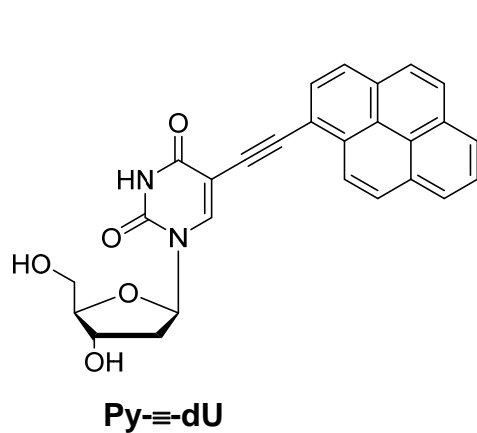
Die Messungen erfolgten an einem *JASCO J-815* Spektropolarimeter, ausgestattet mit einem *Julabo FP35-Kälte-Umwälzthermostat* am Institut für Biologische Grenzflächen 2 (IBG-2) des Karlsruher Instituts für Technologie. Die Messungen wurden gegen das Lösungsmittel korrigiert. Die Spektren wurden in einem Wellenlängenbereich von 800 nm bis 230 nm mit folgenden Messparametern aufgenommen: Data Pitch: 0.1 nm, Mode: continuous, Speed: 20 nm/min, Response: 8 s, Band Width: 1 nm, Accumulations: 2.

2. Synthesevorschriften

Im Folgenden werden nur die neu entwickelten Synthesen detailliert aufgeführt. Für alle Literatur bekannten Moleküle werden stets die Literaturstellen angegeben. Die analytischen Daten stimmten in allen Fällen mit der Literatur überein.

2.1. Nukleoside

Die Nukleoside **Py≡dU**^[177-178], **Nr≡dU**^[77, 173-174] und **Nr≡dA**^[77, 173-176] wurden nach den Literatur bekannten Vorschriften synthetisiert.

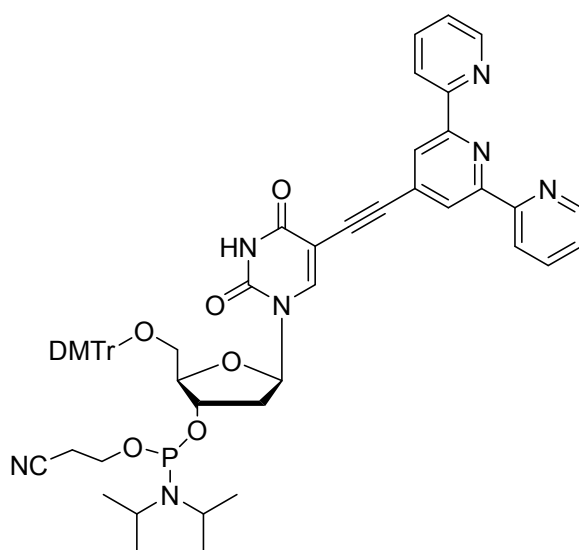


2.2. Artificielle DNA-Bausteine

Für die artifizialen DNA-Bausteine wurde 2'-Deoxy-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-5-iodouridin (**35**) verwendet und entsprechend der Literatur synthetisiert.^[200]

2.2.1. *Terpy-dU*

Die Synthese von 4'-Ethynyl-2,2':6',2''-terpyridin (**42**)^[201-203] und das für die DNA-Synthese verwendete Phosphoramiditderivat (**28**)^[141] wurden nach bekannten Vorschriften synthetisiert.



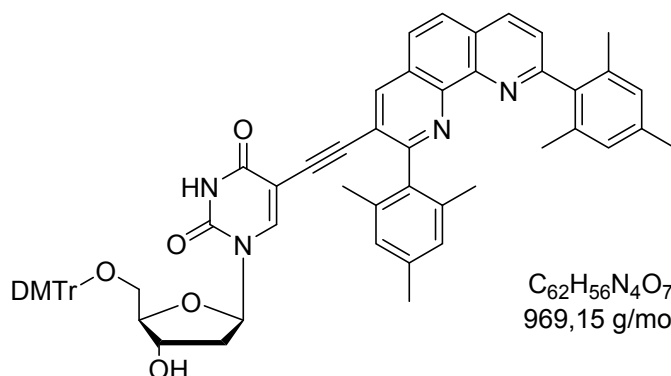
28

2.2.2. *MesPhen-dU*

Der Baustein 2,9-Bismesityl-3-ethinyl-[1,10]phenanthrolin (**34**) wurde wie in der Literatur beschrieben hergestellt.^[196-199]

(36)

5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-5-(2,9-bismesityl-3-ethinyl-[1,10]phenanthrolin)-2'-desoxyuridin



Unter Argon-Atmosphäre wurden **35** (151 mg, 0.230 mmol) und **34** (92.0 mg, 0.209 mol) in abs. DMF (10 mL) gelöst. Anschließend wurden Pd(PPh₃)₄ (48.3 mg, 0.042 mmol), CuI (7.95 mg, 0.042 mmol) und NEt₃ (145 µL, 1.04 mmol) zugegeben und über Nacht bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mittels FC (CH₂Cl₂/MeOH 100:1 → 50:1 + 0.1% NEt₃) vorgereinigt. Anschließend konnte mittels RP-Flash Chromatographie (MeOH:H₂O 9:1 – MeOH) das Produkt isoliert werden. Es wurden 121 mg (0.124 mmol, 60 % d. Th.) eines leicht ockerfarbenen Feststoffs gewonnen.

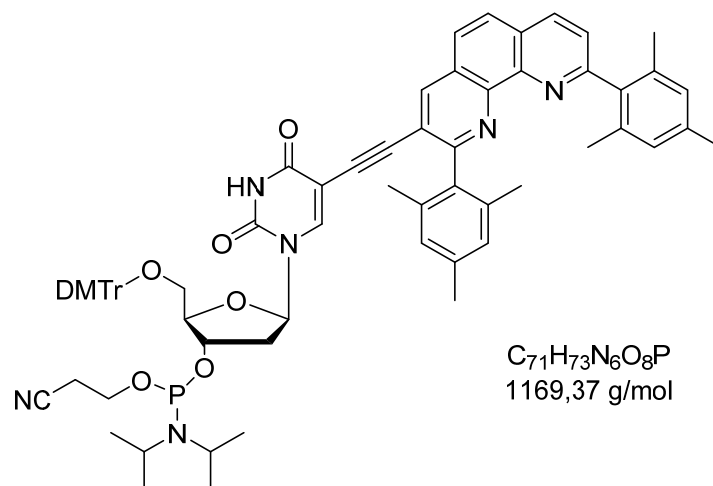
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 8.61 (s, 1H), 8.49 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 8.25 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.48 - 7.33 (m, 9H), 6.88 (s, 2H), 6.86 (s, 2H), 6.79 (m, 4H), 6.14 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 4.46 (m, 1H), 4.32 (m, 1H), 3.98 (m, 2H), 3.65 (s, 6H), 3.37 – 3.33 (m, 2H), 2.43 (m, 1H), 2.27 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.05 (s, 6H), 1.99 (s, 3H), 1.98 (s, 3H).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 160.77, 160.52, 159.97, 159.55, 158.08, 150.03, 144.98, 144.76, 144.26, 139.21, 137.77, 136.87, 136.68, 136.59, 136.53, 135.46, 135.38, 135.13, 129.72, 128.33, 128.16, 127.96, 127.91, 127.63, 127.36, 127.16, 126.72, 126.28, 125.67, 118.76, 113.29, 98.27, 89.10, 87.08, 85.82, 85.80, 84.87, 70.50, 69.88, 63.73, 55.07, 45.76, 20.81, 20.76, 20.01, 19.58, 19.48.

EI-MS *m/z* (ber.) = 968.41[M-H⁺]; *m/z* (gef.) = 968.4 [M-H⁺].

(2)

3'-O-((2-Cyanoethoxy)(diisopropylamino)phosphinyl)-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-5-(2,9-bismesityl-3-ethinyl-[1,10]phenanthrolin)-2'-deoxyuridin



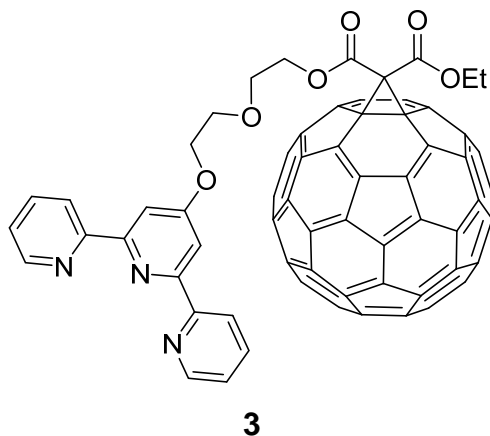
36 (58.0 mg, 0.062 mmol) wurde unter Argon Atmosphäre in abs. DCM (1.2 mL) gelöst. Anschließend wurden DIPEA (52.6 μ L, 0.31 mmol) und 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidit (55.2 μ L, 0.248 mmol) zugegeben und für 4 h bei RT gerührt. Das Rohprodukt wurde direkt mittels FC (CH_2Cl_2 :Aceton 5:1 + 0.1 % NEt_3) gereinigt. Hierbei wurden 43.5 mg (0.037 mmol, 60 % d. Th.) eines leicht ockerfarbenen Feststoffs isoliert.

^{31}P NMR (121MHz, $DMSO-d_6$) δ (ppm) = 149.26.

2.3. Fulleren-Derivate

2.3.1. *Terpy*-Fulleren

Als Ligand für die Ausbildung des heteroleptischen Komplexes wurde ein terpyridinmodifiziertes Fulleren (**3**) verwendet und nach der Literatur synthetisiert.^[201, 204]

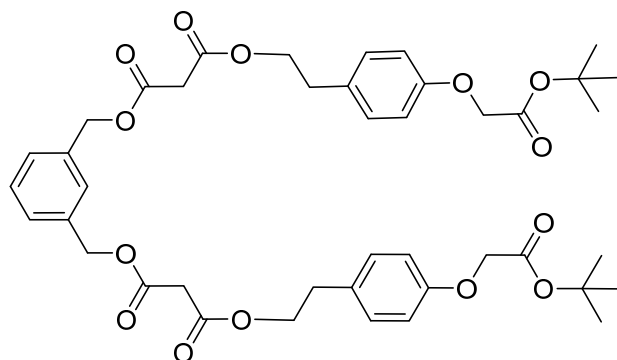


2.3.2. *Aktivester Fulleren*

Die Vorstufen **21**^[179] und **24**^[180] wurden nach bekannter Vorschrift synthetisiert.

(**25**)

1,3-Bis([(2-(4-((*tert*-butoxycarbonyl)-methoxy)-phenyl)-ethoxycarbonyl)-acetoxymethyl]benzol



C₄₂H₅₀O₁₄
778.85 g/mol

Die Komponenten **21** (1.00 g, 3.23 mmol) und **24** (1.71, 6.77 mmol) wurden in abs. CH₂Cl₂ (35 mL) gelöst. Bei 0 °C wurden DCC (6.77 mL, 6.77 mmol, 1 M in CH₂Cl₂), HOBT (44.0 mg, 0.323 mmol) und DMAP (158 mg, 1.29 mmol) zugegeben und 1 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung langsam auf RT gebracht und für 12 h gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert, die Reaktionslösung eingeeengt und mittels FC (Hex:EE 3:1 – 1:1) gereinigt. Es wurden 1.66 g **25** (2.13 mmol, 66 % d. Th.) als farbloses Öl gewonnen.

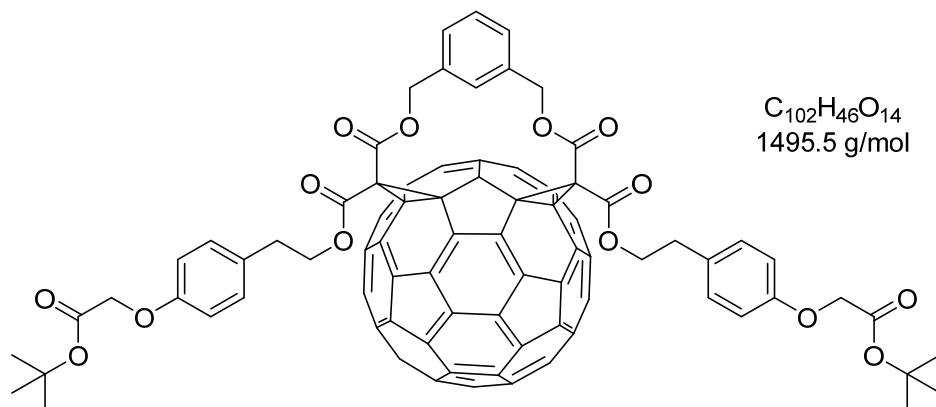
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.40 – 7.27 (m, 4H), 7.09 (d, *J* = 8.6 Hz, 4H), 6.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 4H), 5.15 (s, 4H), 4.47 (s, 4H), 4.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 4H), 3.40 (s, 4H), 2.85 (t, *J* = 7.2 Hz, 4H), 1.47 (s, 18H).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 168.15, 166.39, 156.84, 135.84, 130.36, 130.00, 129.05, 128.40, 128.16, 114.77, 82.43, 66.95, 66.25, 65.83, 41.59, 34.09, 28.16.

EI-MS *m/z* (ber.) = 778.3 [M-H⁺]; *m/z* (gef.) = 778.4 [M-H⁺].

(26)

Bis(2-(4-((tert-butoxycarbonyl)-methoxy)-phenyl)-ethyl)-endo,endo-(m-phenyldimethyl)-1,2:7,21-bis(methan)[60]fulleren-61,61,62,62-tetracarboxylat



Unter Argon wurde **25** (400 mg, 0.514 mmol) in Toluol (206 mL) gelöst, mit Fulleren (C_{60}) (370 mg, 0.514 mmol) und Iod (164 mg, 0.648 mmol) versetzt. Sobald alles gelöst war, wurde DBU (220 μ L, 1.45 mmol) zugegeben und 4 h bei RT gerührt. Die Reaktionslösung wurde über eine kurze Kieselgelsäule (1. Toluol, 2. CH_2Cl_2) vorgereinigt. Anschließend konnte mittels FC (CH_2Cl_2 – CH_2Cl_2 :EE 400:3) das saubere Produkt **26** (108 mg, 0.072 mmol, 14 % d. Th.), als rot-orangener Feststoff isoliert werden.

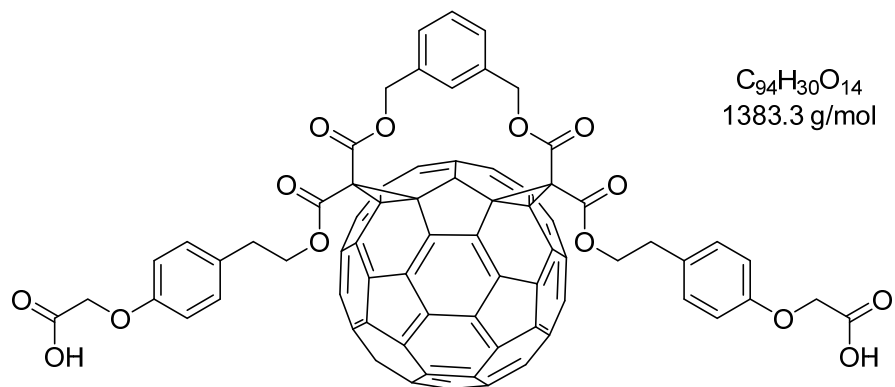
1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.35 (s, 1H), 7.21 – 7.17 (m, 3H), 7.08 (d, J = 8.6 Hz, 4H), 6.73 (d, J = 8.6 Hz, 4H), 5.69 (d, J = 13.0 Hz, 2H), 4.86 (d, J = 13.0 Hz, 2H), 4.52 – 4.42 (m, 4H), 4.38 (s, 4H), 2.91 (t, J = 6.7 Hz, 4H), 1.42 (s, 18H).

^{13}C -NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 168.05, 162.93, 156.82, 148.80, 147.67, 147.63, 147.49, 146.22, 146.14, 145.91, 145.85, 145.79, 145.50, 145.36, 145.30, 145.14, 144.75, 144.55, 144.38, 144.35, 144.12, 143.91, 143.74, 143.41, 143.06, 142.46, 141.37, 141.18, 140.07, 136.70, 136.34, 135.95, 130.01, 128.72, 128.46, 126.64, 123.42, 114.80, 82.47, 67.60, 67.46, 65.73, 49.34, 33.94, 28.21.

MALDI-MS m/z (ber.) = 1493.3 [$M-H^+$]; m/z (gef.) = 1494.4 [$M-H^+$].

(1)

Bis(2-(4-((carboxy)-methoxy)-phenyl)-ethyl)-endo,endo-(m-phenyldimethyl)-1,2:7,21-bis(methan)[60]fulleren-61,61,62,62-tetracarboxylat



26 (96.0 mg, 64.2 μ mol) wurde in 2.47 mL Trifluoressigsäure/ CH_2Cl_2 (1:1) gelöst und über Nacht unter Argon-Atmosphäre gerührt. Anschließend wurde das Produkt mit Wasser gefällt, abfiltriert und mit kaltem Wasser gewaschen. Das Produkt wurde in THF aufgenommen und über $MgSO_4$ getrocknet. Nach entfernen des Lösungsmittels, konnte **1** (87.9 mg) in quantitativer Ausbeute erhalten werden.

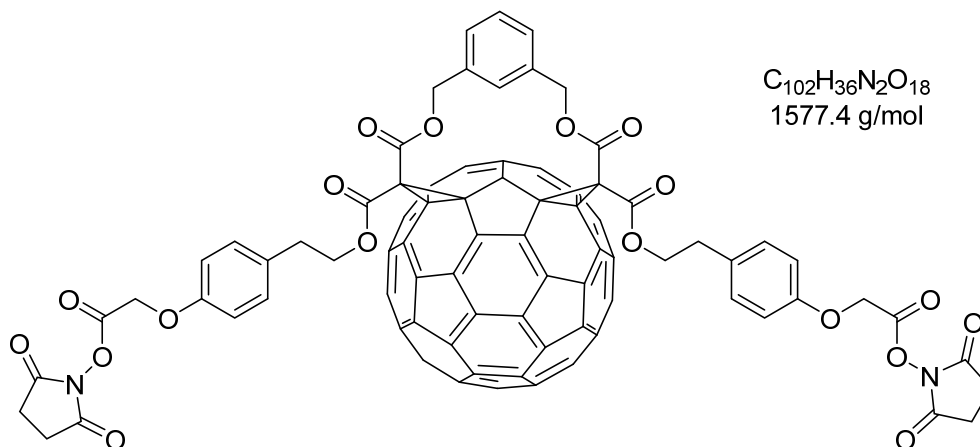
1H -NMR (500 MHz, THF- d_8) δ (ppm) = 7.27 (s, 1H), 7.25 – 7.14 (m, 3H), 7.06 (d, J = 8.6 Hz, 4H), 6.72 (d, J = 8.6 Hz, 4H), 5.69 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 4.80 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 4.45 (s, 4H), 4.44 – 4.35 (m, 4H), 2.86 (t, J = 6.6 Hz, 4H).

^{13}C -NMR (126 MHz, THF- d_8) δ (ppm) = 170.34, 163.22, 163.16, 158.21, 150.17, 148.38, 148.31, 148.23, 147.48, 146.93, 146.71, 146.64, 146.53, 146.18, 146.02, 145.51, 145.39, 145.08, 144.77, 144.50, 144.46, 144.44, 144.04, 143.22, 142.08, 142.04, 141.08, 138.35, 138.05, 137.28, 136.83, 136.71, 131.00, 130.62, 129.18, 127.19, 123.79, 115.48, 68.40, 68.27, 65.71, 34.17.

MALDI-MS m/z (ber.) = 1382.6 $[M-H^+]$; m/z (gef.) = 1382.4 $[M-H^+]$.

(27)

Bis(2-(4-((succinidylcarbonyl)-methoxy)-phenyl)-ethyl)-endo,endo-(m-phenyldimethyl)-1,2:7,21-bis(methan)[60]fulleren-61,61,62,62-tetracarboxylat



1 (46.0 mg, 33.3 μ mol) und NHS (8.04 mg, 69.9 μ mol) wurden unter Argon in abs. THF (1.55 mL) gelöst. Unter Rühren wurde 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-carbodiimid Hydrochlorid (13.4 mg, 69.9 μ mol) gelöst in abs. THF (1.50 mL) zu getropft. Sobald die Reaktion beendet war (DC-Kontrolle) wurde das Reaktionsgemisch mit 20 mL DCM verdünnt, drei mal mit je 20 mL gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über $MgSO_4$ getrocknet. Das Produkt wurde ohne weitere Aufarbeitung zur postsynthetischen DNA-Modifizierung eingesetzt.

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.43 – 7.26 (m, 4H), 7.19 (d, J = 8.6 Hz, 4H), 6.87 (d, J = 8.6 Hz, 4H), 5.73 (d, J = 13.0 Hz, 2H), 4.91 (s, 4H), 4.90 (d, J = 13.0 Hz, 2H), 4.60 – 4.50 (m, 4H), 3.00 (t, J = 6.6 Hz, 4H), 2.83 (s, 8H).

^{13}C -NMR (126 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 168.69, 164.77, 162.98, 162.92, 156.12, 148.81, 147.69, 147.65, 147.51, 146.24, 146.18, 145.93, 145.87, 145.81, 145.52, 145.38, 145.31, 145.13, 144.77, 144.57, 144.41, 144.37, 144.14, 143.93, 143.76, 143.42, 143.04, 142.46, 141.38, 141.20, 140.07, 136.77, 136.31, 135.92, 130.25, 128.73, 126.61, 123.37, 114.99, 70.74, 67.80, 67.58, 67.50, 67.05, 63.38, 49.37, 33.91, 29.75.

MALDI-MS m/z (ber.) = 1576.2 $[M-H^+]$; m/z (gef.) = 1574.0 $[M-H^+]$.

3. DNA-Synthese

Die DNA-Synthese erfolgte an einem *Expedite 8909* Synthesizer von ABI, dabei wurde die Phosphoramidit-Methode zur Synthese verwendet. Die kommerziell erhältlichen unmodifizierten DNA-Bausteine wurden in Acetonitril (*amidite diluent*) aufgenommen und als 0.067 M Lösung in den Syntheseautomaten eingesetzt. Die artifiziellen Bausteine Terpy-dU (**28**) und MesPhen-dU (**2**) wurden ebenfalls in Acetonitril, allerdings mit einer Konzentration von 0.1 M in den Syntheseautomaten eingesetzt.

3.1. Syntheseprotokoll

Die Reihenfolge, welche Reagenzien, für welche Zeit über die CPG Säule gepumpt werden sollen, wird durch das Syntheseprotokoll definiert. Dabei entspricht ein Puls 16 µL Substanz aus den Vorratsflaschen. Eine Zeitangabe von 0 s bedeutet einen schnellstmöglichen Durchfluss der Substanz. Bei allen Oligonukleotiden wurde am Ende der Synthese die 5'-terminale DMTr-Schutzgruppe entfernt (*trityl-off* Synthese). Im Folgenden wird exemplarisch das Protokoll für dA gezeigt.

Verwendete Reagenzien werden abgekürzt dargestellt.

Dbk:	3 % Dichloressigsäure in Dichlormethan
Wsh:	Acetonitril
Act:	0.45 M Tetrazol in Acetonitril
Caps:	Acetanhydrid in THF/Pyridin (Cap A) und N-Methylimidazol in THF/Pyridin (Cap B)
Ox:	Iod in Wasser/THF/Pyridin

VI.3. DNA-Synthese

Tabelle 3: DNA-Syntheseprotokoll für die natürliche Base A.

Codierung	Funktion	Modus	Menge / Arg1	Zeit / Arg2	Beschreibung
<i>\$Deblocking</i>					
144	Index Frakt. Coll.	NA	1	0	Ereignisausgabe AN
0	Default	WAIT	0	1.5	Warten
141	Trityl Mon. On/Off	NA	1	1	START Daten Sammlung
16	Dbk	PULSE	10	0	Dbk auf Säule
16	Dbk	PULSE	50	49	Deblock
38	Diverted Wsh A	PULSE	40	0	System mit Wsh A spülen
141	Trityl Mon. On/Off	NA	0	1	STOP Daten Sammlung
38	Diverted Wsh A	PULSE	40	0	System mit Wsh A spülen
144	Index Fract. Coll.	NA	2	0	Vorgang aus abgeschaltet
<i>\$Coupling</i>					
1	Wsh	PULSE	5	0	System mit Wsh spülen
2	Act	PULSE	5	0	System mit Act
21	A+ Act	PULSE	5	0	A + Act auf Säule
21	A + Act	PULSE	2	16	Monomer kupplen
2	Act	PULSE	3	24	Monomer kupplen
1	Wsh	PULSE	7	56	Monomer kupplen
1	Wsh	PULSE	8	0	System mit Wsh spülen
<i>\$Capping</i>					
12	Wsh A	PULSE	20	0	System mit Wsh A spülen
13	Caps	PULSE	8	0	Caps auf Säule
12	Wsh A	PULSE	6	15	Cap
12	Wsh A	PULSE	14	0	System mit Wsh A spülen
<i>\$Oxidizing</i>					
15	Ox	PULSE	15	0	Ox auf Säule
12	Wsh A	PULSE	15	0	System mit Wsh A spülen
<i>\$Capping</i>					
13	Caps	PULSE	7	0	Caps auf Säule
12	Wsh A	PULSE	30	0	Ende des Laufes - Wsh

Eine Variation im Bereich „\$Coupling“ wurde für die artifiziellen Bausteine vorgenommen. Für einen möglichst effektiven Einbau wurden Kupplungszeit und Anzahl der Pulse angepasst. Tabelle 4 zeigt den veränderten Bereich für die artifiziellen Bausteine.

Tabelle 4: Syntheseprotokoll zum Einbau von **28** (oben) und **2** (unten) in DNA.

Codierung	Funktion	Modus	Menge / Arg1	Zeit / Arg2	Beschreibung
<i>\$Coupling</i>					
1	Wsh	PULSE	5	0	System mit Wsh spülen
2	Act	PULSE	5	0	System mit Act
22	28+ Act	PULSE	5	0	28 + Act auf Säule
22	28 + Act	PULSE	5	300	Monomer kupplen
2	Act	PULSE	5	300	Monomer kupplen
1	Wsh	PULSE	7	200	Monomer kupplen
1	Wsh	PULSE	8	0	System mit Wsh spülen
<i>\$Coupling</i>					
<i>\$Coupling</i>					
1	Wsh	PULSE	5	0	System mit Wsh spülen
2	Act	PULSE	5	0	System mit Act
25	2+ Act	PULSE	5	0	2 + Act auf Säule
25	2 + Act	PULSE	2	300	Monomer kupplen
2	Act	PULSE	4	400	Monomer kupplen
1	Wsh	PULSE	7	200	Monomer kupplen
1	Wsh	PULSE	8	0	System mit Wsh spülen

3.2. Aufarbeitung und HPLC-Reinigung

Die CPG-Säulen wurden nach der Synthese über Nacht am Hochvakuum getrocknet. Anschließend wurden die CPG-Säulen geöffnet und das Granulat in je ein Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt. Hinzu kamen 700 µL konz. Ammoniaklösung (> 25 %, *trace select, Fluka*) zur Abspaltung der Schutzgruppen und Abspaltung von der festen Phase. Diese Suspension wurde über Nacht bei 50°C inkubiert. Anschließend wurde das Granulat abzentrifugiert, der Überstand entnommen und das Granulat zweimal mit je 300 µL entionisiertem Wasser gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden vereint, gefiltert und an einem Vakuumkonzentrator *Christ Alpha RVC* (35 °C, 30 min, 100 mbar) von Ammoniak und anschließend von Wasser (über Nacht, 0,1 mbar) befreit. Der Rückstand wurde in 300 µL entionisiertem Wasser aufgenommen

VI.3. DNA-Synthese

und über die HPLC gereinigt. Postmodifizierte DNA-Stränge wurden nach der EtOH Fällung über die HPLC aufgereinigt.

Tabelle 5: Bedingungen für die Aufreinigung per RP-HPLC. A = 50 mM NH₄OAc-Puffer (pH 6,5), B = MeCN.

DNA	Säule	Gradient	Detektion
DNA1	Supelco Discovery® BIO Wide Pore C5	0 – 60 % B in 35 min	$\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm},$ 320 nm
DNA2/DNA3	Supelcosil LC-318	0 – 50 % B in 40 min 50 % B für 10 min	$\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm},$ 334 nm
DNA4	Supelcosil LC-318	0 – 25 % B in 40 min	$\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm},$ 320 nm

3.3. Charakterisierung

Für die synthetisierten Oligonukleotide wurden folgende Sequenzen verwendet. Dabei ist **Tp** = 28, **Mp** = 2, und **F** = 1

DNA1: 5' – **F**AA AAA AAA AAA AAA AAA AAA – 3'

DNA2: 5' – **Tp**GA GAG A- 3'

DNA3: 5' - **Mp**TA GTC TTG TTC ACT GA - 3'

DNA4: 5' – GCA GTC TT**Mp** TTC ACT GA - 3'

In Tabelle 6 sind die berechneten bzw. gefundenen Massen und die molaren Extinktionskoeffizienten bei 260 nm für die modifizierten Oligonukleotide aufgeführt.

Tabelle 6: Charakterisierung der synthetisierten DNA-Stränge.

	berechnete Masse [g/mol]	gefundenen Masse [g/mol]	ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
DNA1	7749	7748	368.2
DNA2	5589	5591	177.4
DNA3	5574	5575	176.1
DNA4	2412	2410	89.1

3.4. Konzentrationsbestimmung

Die Konzentration konnte über das Lambert-Beer-Gesetz bestimmt werden. Hierzu wurde die Absorption der Stammlösung bei $\lambda = 260$ nm gemessen. Der Extinktionskoeffizient ϵ_{260} lässt sich über folgende Formel berechnen:

$$\epsilon_{260} = (A * \epsilon_A + T * \epsilon_T + G * \epsilon_G + C * \epsilon_C) \cdot 0.9 + \sum X * \epsilon_X$$

Formel 2: Berechnung des molaren Extinktionskoeffizienten eines DNA-Strangs.

A, C, G, T, X = Anzahl der jeweiligen Basen

$\epsilon_{A, 260} =$	15.4	$\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$
$\epsilon_{C, 260} =$	7.30	$\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$
$\epsilon_{G, 260} =$	11.7	$\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$
$\epsilon_{T, 260} =$	8.80	$\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$
$\epsilon_{Tp, 260} =$	15.9	$\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$
$\epsilon_{Mp, 260} =$	29.1	$\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$
$\epsilon_{F, 260} =$	91.0	$\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$

3.5. Schmelztemperaturbestimmung der DNA-Duplexe

Zur Schmelztemperaturbestimmung wurden die DNA-Stränge mit 2.5 nmol (1 eq) DNA und 2.75 nmol (1.1 eq) des jeweiligen DNA-Gegenstrangs mit 62.5 μL 4 M NaCl-Lösung und 100 μL 100 mM NaP_i-Puffer (pH = 7) vereinigt und für 10 min. auf 90 °C erhitzt. Die Proben kühlten über Nacht auf Raumtemperatur ab. Anschließend wurde das Probenvolumen auf 1000 μL aufgefüllt und die Absorption bei $\lambda = 260$ nm in einem *Varian Cary 100 Bio* Spektrometer gemessen. Durch Bestimmung des Kurvenwendepunkts konnte die Schmelztemperatur ermittelt werden. Der Probenraum des Spektrometers wurde während der Messungen mit Luft gespült.

3.6. Postsynthetische Modifizierung

Die mit einem C6-Aminolinker-modifizierte DNA (1 eq.) wurde in Carbonatpuffer (100 mM, pH = 8.3) gelöst, dass eine 1 mM Lösung (bezogen auf die DNA) vorlag. Das Reaktionsgefäß wurde mit Argon geflutet. Der Aktivester **27** (10 eq, 5 mM) wurde unter Argon in aminfreiem DMF (biotech. grade) gelöst. Anschließend wurde die frisch hergestellte Aktivester-Lösung zu der DNA-Pufferlösung zugegeben und durch starkes schütteln vermischt. Die Reaktionslösung wurde für 8 h bei 0 °C geschüttelt. Anschließend wurde die Mischung in ein 15 mL *Falcon Tube* überführt, mit 450 µL einer 300 mM Natriumacetat-Lösung versetzt und mit EtOH aufgefüllt. Die DNA wurde anschließend über Nacht bei -38 °C ausgefällt. Darauffolgend wurde der Feststoff 20 min bei 4000 rpm abzentrifugiert und der Überstand vorsichtig entfernt. Das DNA-Pellet wurde zwei Mal mit je 1 mL kalter 80 %iger EtOH-Lösung gewaschen. Schließlich wurde die DNA in 300 µL H₂O aufgenommen, für 10 min bei 13000 rpm zentrifugiert, um überschüssiges Fulleren abzutrennen und über die RP-HPLC gereinigt

4. Probenvorbereitung Selbstassemblierung

4.1. Titration Nr≡dU

Für die Titrationsexperimente wurde der komplementäre Templat-DNA-Strang mit einer Konzentration von $c = 2.5 \mu\text{M}$ (für **DNA6-8**), oder im Falle von **DNA9** $c = 1.25 \mu\text{M}$, in $1000 \mu\text{L}$ entionisiertem Wasser vorgelegt. Separat wurde eine Titrationslösung mit einem Volumen von $400 \mu\text{L}$ hergestellt. Diese beinhaltete folgende Komponenten:

- Je nach Vorlage: **DNA6-8** $c = 2.5 \mu\text{M}$; für **DNA9** $c = 1.25 \mu\text{M}$
- **Nr≡dU** in DMSO ($c_{\text{SL}} \sim 1 \text{ mM}$): $n(\text{Nr}) = n_{\text{ges}}((\text{dA})_x) * x * 1.5$
- Das restliche Volumen wurde mit entionisiertem Wasser aufgefüllt

Ein Teil **Nr≡dU** entsprach dann: $V = \frac{400 \mu\text{L}}{x * 1.5}$. Die Zugabe erfolgte bei Raumtemperatur. Nach jeder Zugabe eines Teils Nilrot-Nukleosid zur vorgelegten Oligonukleotid-Lösung, wurde die Küvette gut geschüttelt und nach 10 Minuten Inkubationszeit die Absorption gemessen.

4.2. Anlagerung Nr≡dU/Py≡dU

Der Templatstrang (**DNA1** bzw. **DNA9**) wurde in entionisiertem Wasser mit einer Konzentration von $c = 1.25 \mu\text{M}$ vorgelegt. Von **Nr≡dU** und **Py≡dU** wurde je eine Stammlösung in DMSO ($c_{\text{SL}} \sim 1 \text{ mM}$) hergestellt. Aus diesen Stammlösungen wurden x Teile **Py≡dU** und y Teile **Nr≡dU** (bezogen auf $n(\text{DNA})$, $x = 0$ bis 20 , $y = 20 - x$) entnommen und in einem separaten Gefäß vorgemischt. Diese Mischung wurde bei Raumtemperatur schnell zur Oligonukleotid-Lösung zugegeben und intensiv geschüttelt. Nach mildem Zentrifugieren (0.5 min bei 4000 rpm) wurde die Lösung mittels optischer Spektroskopie untersucht.

Für die Anlagerung von **Nr≡dA** / **Py≡dU** an **DNA12-16** wurde in gleicher Weise vorgegangen.

4.3. Liste der verwendeten Templat-DNA-Stränge

DNA5	5' – TTT TTT TTT T – 3'
DNA6	5' – AAA AAA AAA A – 3'
DNA7	5' – AAA AAA AAA AAA AA – 3'
DNA8	5' – AAA AAA AAA AAA AAA A – 3'
DNA9	5' – AAA AAA AAA AAA AAA AAA AA – 3'
DNA10	5' – TTT TTT TTT TTT TTT TT – 3'
DNA11	5' – AAA AAA AAA AAA AAA AA – 3'
DNA12	5' – TTT TTT TTT TTT TTT TTT TT – 3'
DNA13	5' – TAT ATA TAT ATA TAT ATA TA – 3'
DNA14	5' – TTA ATT AAT TAA TTA ATT AA – 3'
DNA15	5' – TTA TTA TTA TTA TTA TTA TT – 3'
DNA16	5' – AAT AAT AAT AAT AAT AAT AA – 3'

4.4. Heteroleptische Komplexe

DNA2-4 und **3** wurden vor den Experimenten 1 h mit *Chelex*® 100 (*Sigma Aldrich*) behandelt, um sicherzustellen, dass die Proben metallfrei sind.

Probenvorbereitung für die optische Spektroskopie

Die DNA-Stränge ($c = 2.5 \mu\text{M}$) wurden jeweils mit ihrem Gegenstrang in 250 mM NaCl und 10 mM NaPi-Puffer (pH = 7.2) hybridisiert. Dafür wurden die Proben 10 min. bei 90 °C erhitzt und über Nacht auf Raumtemperatur langsam abgekühlt. Anschließend wurde zu den **MP**-modifizierten Strängen **dsDNA3-4** 1.1 eq Metallsalz-Lösung gegeben und 30 min inkubiert. Um daraufhin den Komplex zu bilden, wurde entweder die vorher hybridisierte **dsDNA2** DNA-Lösung oder das in DMSO gelöste

Fulleren **3** hinzu pipettiert und 2 h bei Raumtemperatur geschüttelt, um sicher zu gehen, dass der Komplex vollständig gebildet wurde.

Probenvorbereitung für die Gelelektrophorese

Im Falle der Komplexierung zwischen **dsDNA2** und **dsDNA3** wurden je 3 nmol mit dem jeweiligen Gegenstrang, in 10 mM NaPi-Puffer (28 µL, pH = 7.2) hybridisiert. 0.2 nmol **dsDNA3** wurden mit 0.25 nmol Metallsalz-Lösung versetzt und nach 30 min Inkubation wurden 0.2 nmol **dsDNA2** hinzugegeben. Anschließend wurde mit Ladepuffer auf 20 µL aufgefüllt. Davon wurden je 5 µL auf das Gel aufgetragen.

Für die Komplexierung mit **3** (Stammlösung in DMSO) wurden 1.3 nmol **DNA4** inklusive Gegenstrang in 7 µL DMSO gelöst. 0.2 nmol **dsDNA4** wurden ebenfalls mit 0.25 nmol Metallsalz-Lösung versetzt. Anschließend wurden 0.2 nmol **3** zugegeben und über Nacht inkubiert. Am nächsten Tag wurde das DMSO in einem Vakuumkonzentrator *Christ Alpha RVC* (1h bei 0.1 mbar) entfernt. Die Probe wurde in 5 µL 10 mM NaPi-Puffer aufgenommen und mit 15 µL Ladepuffer versetzt. Davon wurden je 5 µL auf das Gel aufgetragen.

VII. Zusätzliche Spektren

1. CD-Spektren von DNA9 und DNA1

Die Umrechnung der gemessenen Elliptizität Θ [mdeg] in die Einheit $\Delta\varepsilon$ [$M^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$] (molarer Zirkulardichroismus) erfolgte nach folgenden Formeln:

$$[\theta] = \frac{100 * \theta}{c * l} \qquad \Delta\varepsilon = \frac{[\theta]}{3298}$$

Formel 3 Molare Elliptizität $[\theta]$ [deg/($\text{cm}^2\cdot\text{dmol}$)]: Elliptizität θ in mdeg, Konzentration c in mol/L und Schichtdicke l in cm.

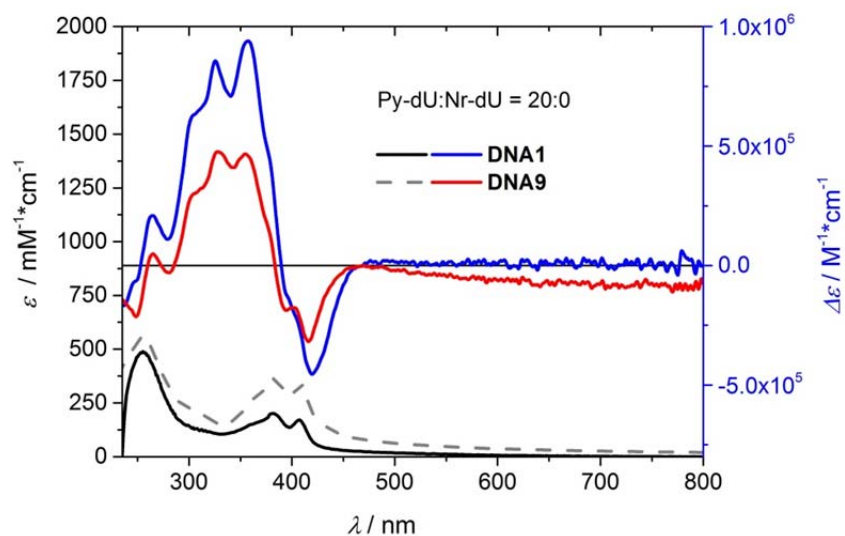


Abb. 97 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 20:0** mit **DNA9** und **DNA1** in $\text{H}_2\text{O} + 2\%$ DMSO.

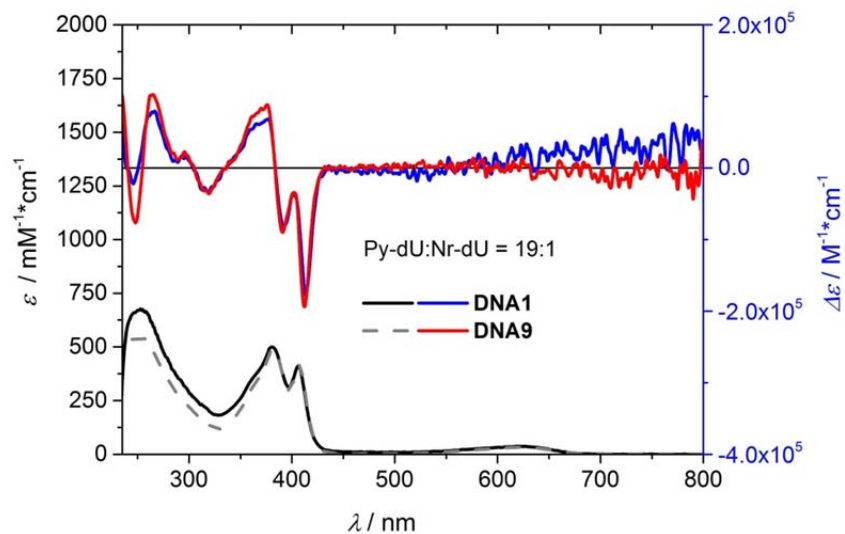


Abb. 98 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 19:1** mit **DNA9** und **DNA1** in $\text{H}_2\text{O} + 2\%$ DMSO.

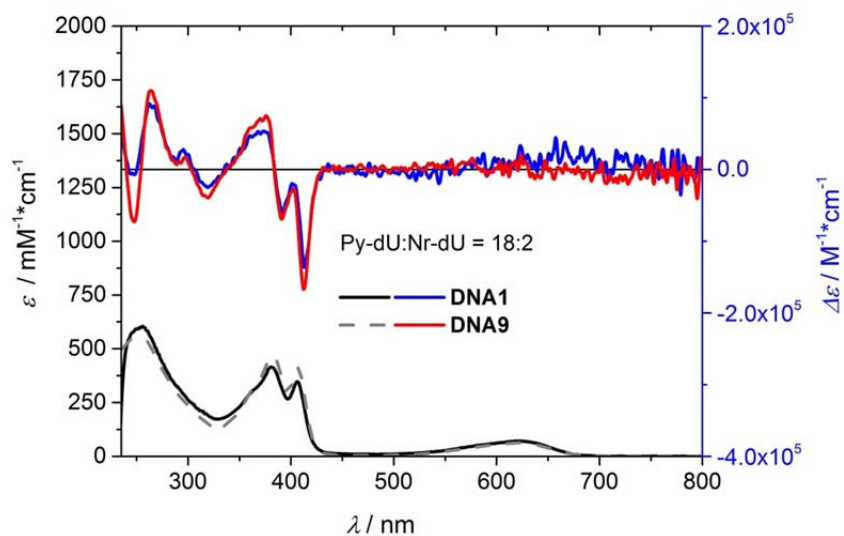


Abb. 99 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 18:2** mit **DNA9** und **DNA1** in $H_2O + 2\%$ DMSO.

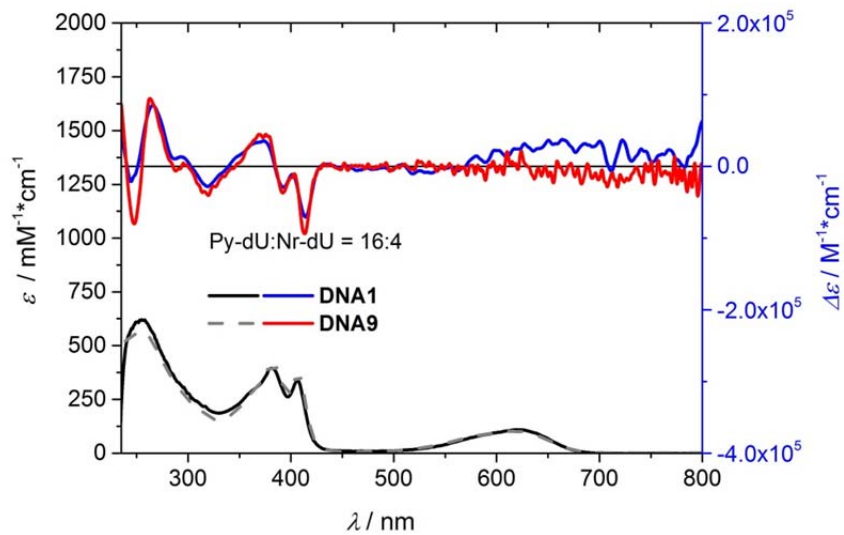


Abb. 100 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 16:4** mit **DNA9** und **DNA1** in $H_2O + 2\%$ DMSO.

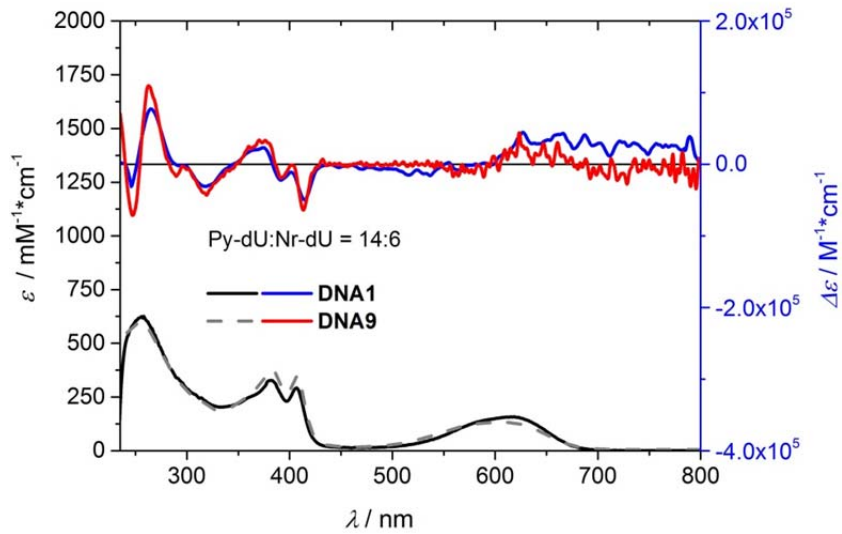


Abb. 101 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 14:6** mit **DNA9** und **DNA1** in $H_2O + 2\%$ DMSO.

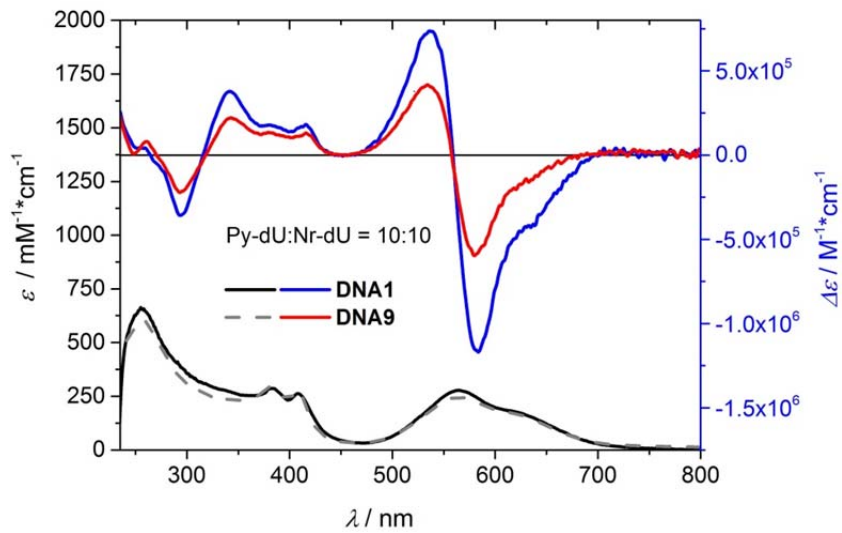


Abb. 102 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 10:10** mit **DNA9** und **DNA1** in $H_2O + 2\%$ DMSO.

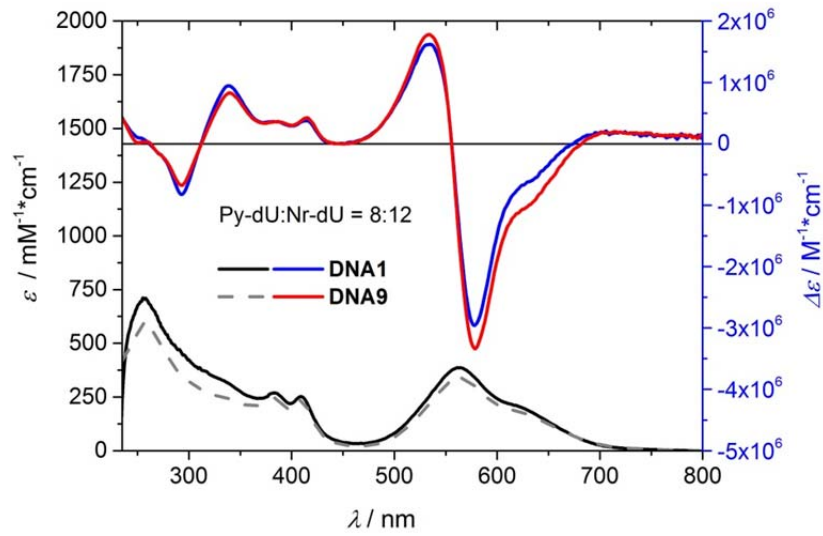


Abb. 103 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 8:12** mit **DNA9** und **DNA1** in $\text{H}_2\text{O} + 2\%$ DMSO.

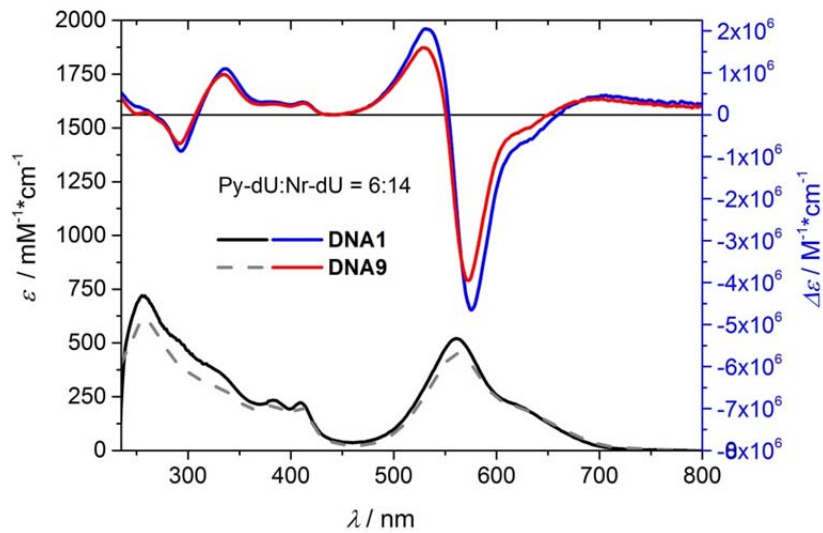


Abb. 104 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 6:14** mit **DNA9** und **DNA1** in $\text{H}_2\text{O} + 2\%$ DMSO.

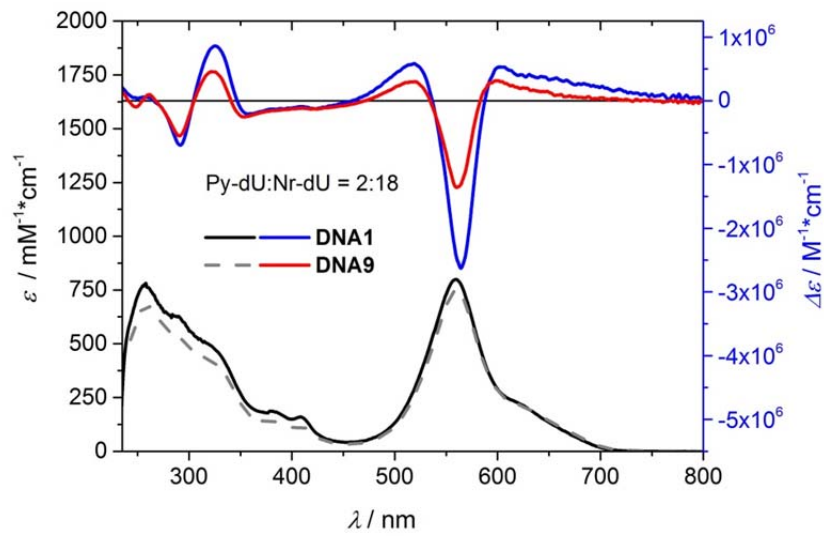


Abb. 105 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 2:18** mit **DNA9** und **DNA1** in $\text{H}_2\text{O} + 2\%$ DMSO.

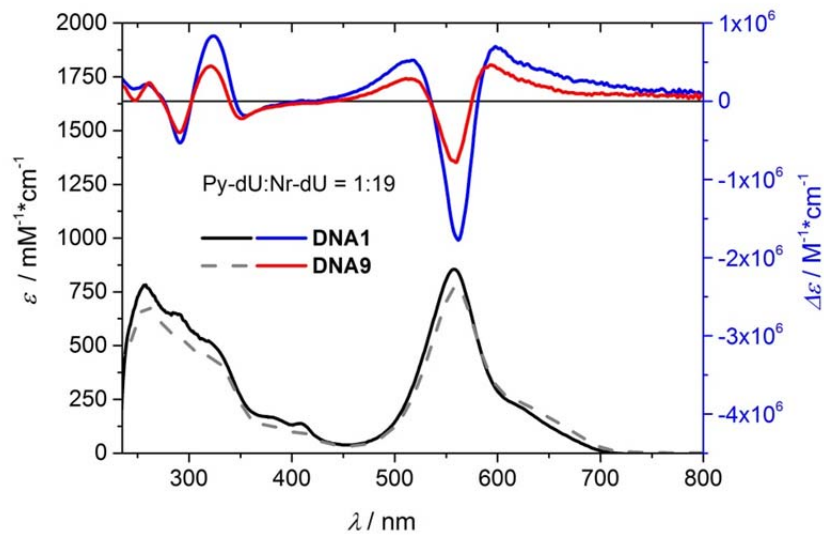


Abb. 106 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 1:19** mit **DNA9** und **DNA1** in $\text{H}_2\text{O} + 2\%$ DMSO.

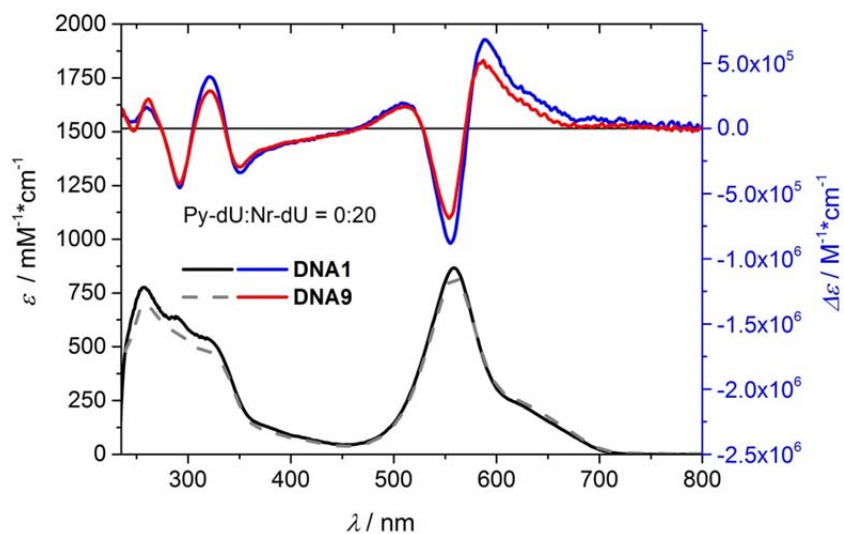


Abb. 107 CD- und Absorptionsspektren der Mischung **Py-dU:Nr-dU = 0:20** mit **DNA9** und **DNA1** in $H_2O + 2\%$ DMSO.

2. Verschiedene Spektren zu DNA4

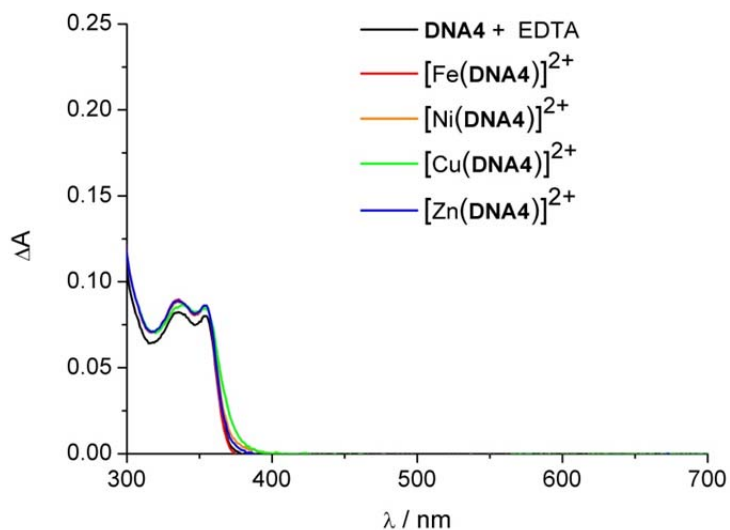


Abb. 108 UV/Vis-Absorptionsspektren von **DNA4** ($c = 2.5 \mu M$) in Gegenwart von EDTA und verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , $2.75 \mu M$, in $10 mM NaP_i$ -Puffer ($pH = 7.2$), $250 mM NaCl$).

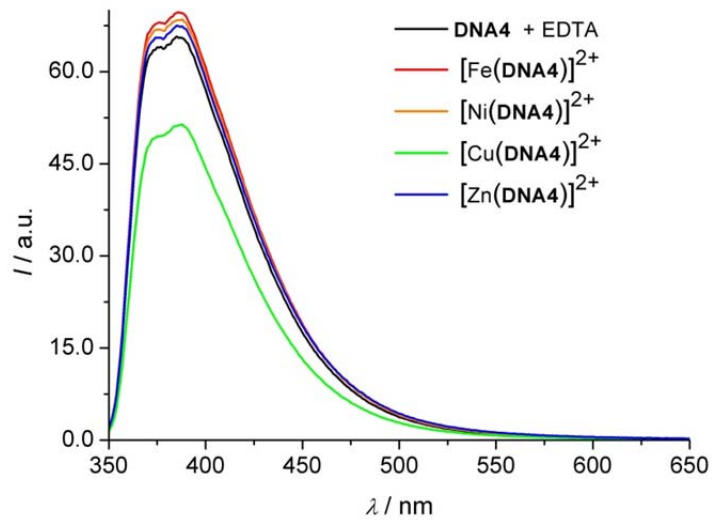


Abb. 109 Emissionsspektren ($\lambda_{\text{exc}} = 336 \text{ nm}$) von **DNA4** ($c = 2.5 \text{ }\mu\text{M}$) in Gegenwart von EDTA und verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , $2.75 \text{ }\mu\text{M}$, in 10 mM NaPi -Puffer ($\text{pH} = 7.2$), 250 mM NaCl).

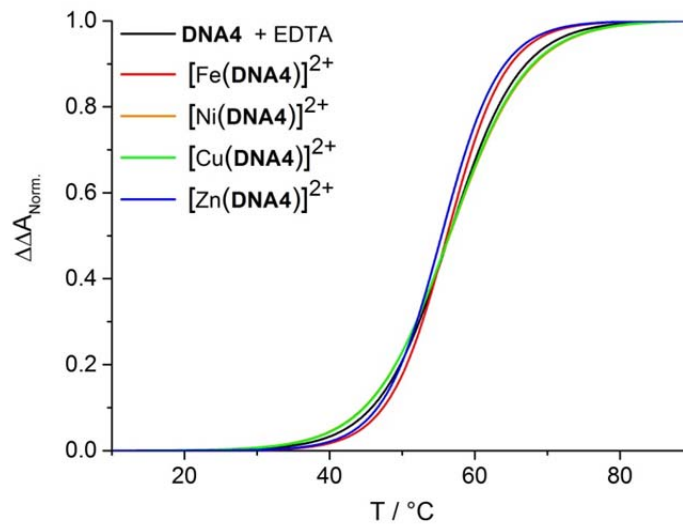


Abb. 110 Temperaturabhängige Absorptionsänderung bei 260 nm von **DNA4** ($c = 2.5 \text{ }\mu\text{M}$) in Gegenwart von EDTA und verschiedener Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+} , $2.75 \text{ }\mu\text{M}$, in 10 mM NaPi -Puffer ($\text{pH} = 7.2$), 250 mM NaCl).

VIII. Literaturverzeichnis

- [1] R. F. Service, *Science* **2005**, 309, 95.
- [2] D. Boujard, *Zell- und Molekularbiologie im Überblick*, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, **2014**.
- [3] Wikipedia, *Schwarmverhalten*, <https://de.wikipedia.org/wiki/Schwarmverhalten>, 03.08.2015.
- [4] K. Gloe, K. Gloe, H. Heßke, L. F. Lindoy, *Wiss. Z. TU Dresden* **2007**, 56, 32-38.
- [5] Wikipedia, *Eigenschaften des Wassers*, https://de.wikipedia.org/wiki/Eigenschaften_des_Wassers, 03.08.2015.
- [6] F. Diederich, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 68-69.
- [7] J.-M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, 100, 91-116.
- [8] J. M. Lehn, *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives*, Wiley, Weinheim, **1995**.
- [9] B. J. Holliday, C. A. Mirkin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 2022-2043.
- [10] L. F. Lindoy, I. M. Atkinson, *Self-assembly in supramolecular systems*, RSC, Cambridge, **2000**.
- [11] P. G. A. Janssen, J. Vandenbergh, J. L. J. van Dongen, E. W. Meijer, A. P. H. J. Schenning, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 6078-6079.
- [12] G. Sargsyan, A. A. Schatz, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 1020-1022.
- [13] P. G. A. Janssen, S. Jabbari-Farouji, M. Surin, X. Vila, J. C. Gielen, T. F. A. de Greef, M. R. J. Vos, P. H. H. Bomans, N. A. J. M. Sommerdijk, P. C. M. Christianen, P. Leclère, R. Lazzaroni, P. van der Schoot, E. W. Meijer, A. P. H. J. Schenning, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 1222-1231.
- [14] M. M. J. Smulders, M. M. L. Nieuwenhuizen, T. F. A. de Greef, P. van der Schoot, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 362-367.
- [15] M. Schmittel, V. Kalsani, R. S. K. Kishore, H. Cölfen, J. W. Bats, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 11544-11545.
- [16] W. Schmidt, *Optische Spektroskopie: eine Einführung*, 2. ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [17] N. Berova, K. Nakanishi, R. W. Woody, *Circular dichroism: principles and applications*, Wiley-VCH, New York, **2000**.
- [18] N. Purdie, H. G. Brittain, *Analytical Applications of Circular Dichroism, Vol. 14*, Elsevier, Amsterdam; New York, **1994**.

- [19] A. S. Davydov, *Zh. Eksp. Teor. Fiz.* **1948**, 18, 210-218.
- [20] A. S. Davydov, *Theory of Molecular Excitons. Translated from the Russian by Michael Kasha and Max Oppenheimer*, McGraw-Hill, New York, **1962**.
- [21] E. E. Jelley, *Nature* **1936**, 138, 1009-1010.
- [22] K. Norland, S. Kenneth, A. Ames, T. Taylor, *Photogr. Sci. Eng.* **1970**, 14, 295-307.
- [23] H. Watarai, K. Adachi, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, 395, 1033-1046.
- [24] G. Scheibe, *Z. Elektrochem. Angew. Phys. Chem.* **1948**, 52, 283-292.
- [25] D. Möbius, *Adv. Mater.* **1995**, 7, 437-444.
- [26] A. Nagai, K. Kokado, J. Miyake, Y. Cyujo, *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem* **2010**, 48, 627-634.
- [27] H. K. Cho, D. D. K. S. Lone, J. H. Choi, S. W. Choi, J. H. Cho, J. H. Kim, I. W. Cheong, *Polymer* **2009**, 50, 2357-2364.
- [28] B. Jancy, S. K. Asha, *Chem. Mater.* **2008**, 20, 169-181.
- [29] F. C. Spano, *Chem. Phys. Lett.* **2000**, 331, 7-13.
- [30] A. K. Mandal, M. K. Pal, *Chem. Phys.* **2000**, 115-124.
- [31] M. Kasha, H. R. Rawls, M. A. El-Bayoumi, *Pure Appl. Chem.* **1965**, 11, 371-392.
- [32] T. Foerster, *Naturwissenschaften* **1946**, 33, 166-175.
- [33] N. Harada, K. Nakanishi, *Acc. Chem. Res.* **1972**, 5, 257-263.
- [34] F. D. Lewis, Y. Wu, L. Zhang, X. Zuo, R. T. Hayes, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 8206-8215.
- [35] F. D. Lewis, X. Liu, Y. Wu, X. Zuo, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 12729-12731.
- [36] J. Kypr, I. Kejnovská, D. Renčiuk, M. Vorlíčková, *Nucl. Acids Res.* **2009**, 37, 1713-1725.
- [37] D. G. Lewis, W. C. Johnson Jr, *J. Mol. Biol.* **1974**, 86, 91-96.
- [38] T. A. Keiderling, P. Pancoska, *Adv. Spectrosc.* **1993**, 21, 267-315.
- [39] W. C. Johnson Jr, in *Circular Dichroism and the conformational analysis of biomolecules*, Springer, **1996**, pp. 433-468.
- [40] E. Mayer-Enthart, *Dissertation*, TU München, **2006**.

- [41] V. I. Ivanov, L. E. Minchenkova, E. E. Minyat, M. D. Frank-Kamenetskii, A. K. Schyolkina, *J. Mol. Biol.* **1974**, *87*, 817-833.
- [42] M. Eriksson, B. Nordén, *Methods Enzymol.* **2001**, *340*, 68-98.
- [43] B. Nordén, F. Tjerneld, *Biopolymers* **1982**, *21*, 1713-1734.
- [44] P. E. Schipper, B. Nordén, F. Tjerneld, *Chem. Phys. Lett.* **1980**, *70*, 17-21.
- [45] R. Lyng, T. Härd, B. Norden, *Biopolymers* **1987**, *26*, 1327-1345.
- [46] R. Lyng, A. Rodger, B. Nordén, *Biopolymers* **1992**, *32*, 1201-1214.
- [47] F. D. Lewis, L. Zhang, X. Liu, X. Zuo, D. M. Tiede, H. Long, G. C. Schatz, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14445-14453.
- [48] Y. N. Teo, E. T. Kool, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4221 - 4245.
- [49] N. C. Chaudhuri, R. X.-F. Ren, E. T. Kool, *Synlett* **1997**, 341-347.
- [50] F. Seela, M. Zulauf, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1878-1898.
- [51] H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *121*, 2878-2881.
- [52] H. Asanuma, K. Shirasuka, T. Takarada, H. Kashida, M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2217-2223.
- [53] S. M. Langenegger, R. Häner, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 848-851.
- [54] U. B. Christensen, E. B. Pedersen, *Nucl. Acids Res.* **2002**, *30*, 4918-4925.
- [55] Z. Johar, A. Zahn, C. J. Leumann, B. Jaun, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 1080-1086.
- [56] C. Brotschi, C. J. Leumann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1655-1658.
- [57] Y. N. Teo, J. N. Wilson, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3923-3933.
- [58] A. Cuppoletti, Y. Cho, J.-S. Park, C. Strässler, E. T. Kool, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 528-534.
- [59] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2009**, 2615-2624.
- [60] H. Kashida, T. Takatsu, K. Sekiguchi, H. Asanuma, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 2479-2486.
- [61] T. Kato, H. Kashida, H. Kishida, H. Yada, H. Okamoto, H. Asanuma, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 741-750.
- [62] S. M. Langenegger, R. Häner, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 2149-2152.
- [63] S. M. Langenegger, R. Häner, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 9273-9276.
- [64] S. M. Langenegger, R. Häner, *Chem. Commun.* **2004**, 2792-2793.

- [65] F. Garo, R. Häner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 916-919.
- [66] M. Probst, S. M. Langenegger, R. Häner, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 159-161.
- [67] F. Würthner, *Chem. Commun.* **2004**, 1564-1579.
- [68] C. Wagner, H.-A. Wagenknecht, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4191-4194.
- [69] D. Baumstark, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2652-2654.
- [70] F. Menacher, V. Stepanenko, F. Würthner, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 6683-6688.
- [71] D. Baumstark, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6640-6645.
- [72] L.-A. Fendt, I. Bouamaied, S. Thöni, N. Amiot, E. Stulz, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15319-15329.
- [73] I. Bouamaied, T. Nguyen, T. Ruhl, E. Stulz, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3888-3891.
- [74] E. Mayer-Enthart, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 3372-3375.
- [75] J. Barbaric, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2088-2090.
- [76] E. Mayer-Enthart, C. Wagner, J. Barbaric, H.-A. Wagenknecht, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3434-3439.
- [77] R. Varghese, P. K. Gajula, T. K. Chakraborty, H.-A. Wagenknecht, *Synlett* **2009**, 3253-3257.
- [78] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 9040-9046.
- [79] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9307-9310.
- [80] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 526-528.
- [81] P. Ensslen, F. Brandl, S. Sezi, R. Varghese, R.-J. Kutta, B. Dick, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 9349-9354.
- [82] *White Book*, http://www.desertec.org/fileadmin/downloads/DESERTEC-WhiteBook_en_small.pdf, 22.06.2015.
- [83] Wikipedia, *Solar Energy*, https://en.wikipedia.org/?title=Solar_energy, 22.06.2015.
- [84] B. Albinsson, J. K. Hannestad, K. Börjesson, *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256*, 2399-2413.
- [85] R. Ziessel, A. Harriman, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 611-631.

-
- [86] V. Hartmann, *Die Photosynthese als erneuerbare Energie: Zukünftige Produktion von Biowasserstoff aus Sonnenlicht*, Springer Fachmedien Wiesbaden, **2015**.
- [87] J. Barber, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 185-196.
- [88] A. N. Glazer, *Annu. Rev. Biochem.* **1983**, *52*, 125-157.
- [89] X. Hu, A. Damjanović, T. Ritz, K. Schulten, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1998**, *95*, 5935-5941.
- [90] Y. Nakamura, N. Aratani, A. Osuka, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 831-845.
- [91] S. Vassiliev, D. Bruce, *Photosynth. Res.* **2008**, *97*, 75-89.
- [92] M. Calvin, A. A. Benson, *Science* **1948**, *107*, 476-480.
- [93] M. Sarovar, A. Ishizaki, G. R. Fleming, K. B. Whaley, *Nat. Phys.* **2010**, *6*, 462-467.
- [94] R. Wang, W. Liu, N. C. Seeman, *Chem. Biol.* **2009**, *16*, 862-867.
- [95] P. K. Dutta, R. Varghese, J. Nangreave, S. Lin, H. Yan, Y. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 11985-11993.
- [96] N. Sancho Oltra, W. R. Browne, G. Roelfes, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 2457-2461.
- [97] C. Wei, G. Jia, J. Yuan, Z. Feng, C. Li, *Biochemistry* **2006**, *45*, 6681-6691.
- [98] J. G. Woller, J. K. Hannestad, B. Albinsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 2759-2768.
- [99] C. V. Kumar, M. R. Duff, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16024-16026.
- [100] A. K. Kumagai, J. B. Eisenberg, W. M. Pardridge, *J. Biol. Chem.* **1987**, *262*, 15214-15219.
- [101] W. Müller, F. Gautier, *Eur. J. Biochem.* **1975**, *54*, 385-394.
- [102] S.-I. Murata, J. Kuśba, G. Piszczek, I. Gryczynski, J. R. Lakowicz, *Biopolymers* **2000**, *57*, 306-315.
- [103] C. V. Kumar, M. R. Duff, *Photochem. Photobiol.* **2008**, *7*, 1522-1530.
- [104] P. K. Dutta, S. Levenberg, A. Loskutov, D. Jun, R. Saer, J. T. Beatty, S. Lin, Y. Liu, N. W. Woodbury, H. Yan, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 16618-16625.
- [105] S. L. Beaucage, M. H. Caruthers, *Tetrahedron Lett* **1981**, *22*, 1859-1862.
- [106] M. H. Caruthers, A. D. Barone, S. L. Beaucage, D. R. Dodds, E. F. Fisher, L. J. McBride, M. Matteucci, Z. Stabinsky, J. Y. Tang, *Methods. Enzymol.* **1987**, *154*, 287-313.

- [107] G. Pescitelli, L. Di Bari, N. Berova, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 5211-5233.
- [108] A. Ruiz-Carretero, P. G. A. Janssen, A. Kaeser, A. P. H. J. Schenning, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4340-4347.
- [109] V. K. Praveen, C. Ranjith, E. Bandini, A. Ajayaghosh, N. Armaroli, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 4222-4242.
- [110] D. Yang, M. R. Hartman, T. L. Derrien, S. Hamada, D. An, K. G. Yancey, R. Cheng, M. Ma, D. Luo, *Acc. Chem. Res.* **2014**, *47*, 1902-1911.
- [111] T. J. Bandy, A. Brewer, J. R. Burns, G. Marth, T. Nguyen, E. Stulz, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 138-148.
- [112] J. Ruokolainen, R. Mäkinen, M. Torkkeli, T. Mäkelä, R. Serimaa, G. t. Brinke, O. Ikkala, *Science* **1998**, *280*, 557-560.
- [113] T. Kato, N. Mizoshita, K. Kishimoto, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 38-68.
- [114] S. Sivakova, S. J. Rowan, *Chem. Soc. Rev.* **2005**, *34*, 9-21.
- [115] M. Weck, *Polymer International* **2007**, *56*, 453-460.
- [116] A. Ruiz-Carretero, P. G. A. Janssen, A. Kaeser, A. P. H. J. Schenning, *Chem. Commun.* **2011**, *48*, 4340-4347.
- [117] C. K. McLaughlin, G. S. Hamblin, H. F. Sleiman, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5647-5656.
- [118] P. G. A. Janssen, A. Ruiz-Carretero, D. González-Rodríguez, E. W. Meijer, A. P. H. J. Schenning, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *121*, 8247-8250.
- [119] G. Sargsyan, B. M. Leonard, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 1878-1892.
- [120] S. Sezi, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9257-9259.
- [121] A. Ruiz-Carretero, P. G. A. Janssen, A. L. Stevens, M. Surin, L. M. Herz, A. P. H. J. Schenning, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 884-886.
- [122] S. Woo, P. W. K. Rothmund, *Nat. Chem.* **2011**, *3*, 620-627.
- [123] C. E. Castro, F. Kilchherr, D.-N. Kim, E. L. Shiao, T. Wauer, P. Wortmann, M. Bathe, H. Dietz, *Nat. Meth.* **2011**, *8*, 221-229.
- [124] F. C. Simmel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5884-5887.
- [125] T. Topping, N. V. Voigt, J. Nangreave, H. Yan, K. V. Gothelf, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5636-5646.
- [126] E. Stulz, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 4456-4469.
- [127] H. Yang, K. L. Metera, H. F. Sleiman, *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 2403-2415.

- [128] C. K. McLaughlin, G. D. Hamblin, H. F. Sleiman, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5647-5656.
- [129] S. Ghosh, E. Defrancq, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 12780-12787.
- [130] Y. Takezawa, M. Shionoya, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 2066-2076.
- [131] G. H. Clever, C. Kaul, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6226-6236.
- [132] G. H. Clever, M. Shionoya, *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 2391-2402.
- [133] J. R. Burns, J. Zekonyte, G. Siligardi, R. Hussain, E. Stulz, *Molecules* **2011**, *16*, 4912.
- [134] S. Leininger, B. Olenyuk, P. J. Stang, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 853-908.
- [135] L. Zapata, K. Bathany, J.-M. Schmitter, S. Moreau, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *2003*, 1022-1028.
- [136] K. M. Stewart, L. W. McLaughlin, *Chem. Commun.* **2003**, 2934-2935.
- [137] S. Ghosh, I. Pignot-Paintrand, P. Dumy, E. Defrancq, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 2729-2737.
- [138] J. S. Choi, C. W. Kang, K. Jung, J. W. Yang, Y.-G. Kim, H. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8606-8607.
- [139] L. Kalachova, R. Pohl, M. Hocek, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 49-55.
- [140] L. Kalachova, R. Pohl, M. Hocek, *Synthesis* **2009**, 105-112.
- [141] T. Ehrenschwender, A. Barth, H. Puchta, H. A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 46-48.
- [142] J. R. Burns, J. Zekonyte, G. Siligardi, R. Hussain, E. Stulz, *Molecules* **2011**, *16*, 4912-4922.
- [143] H. Yang, A. T. Rys, C. K. McLaughlin, H. F. Sleiman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9919-9923.
- [144] M. Schmittel, C. Michel, A. Wiegrefe, V. Kalsani, *Synthesis* **2001**, *2001*, 1561-1567.
- [145] M. Schmittel, V. Kalsani, P. Mal, J. W. Bats, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 6370-6377.
- [146] K. Mahata, M. Schmittel, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16544-16554.
- [147] A. Hirsch, M. Brettreich, *Fullerenes: chemistry and reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
- [148] S. I. Khan, A. M. Oliver, M. N. Paddon-Row, Y. Rubin, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4919-4920.

- [149] T. F. Guarr, M. S. Meier, V. K. Vance, M. Clayton, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 9862-9863.
- [150] T. Suzuki, Y. Maruyama, T. Akasaka, W. Ando, K. Kobayashi, S. Nagase, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1359-1363.
- [151] M. Eiermann, F. Wudl, M. Prato, M. Maggini, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8364-8365.
- [152] D. Gust, T. A. Moore, A. L. Moore, *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 198-205.
- [153] W. Wu, J. Zhao, J. Sun, S. Guo, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 5305-5312.
- [154] S. Honda, T. Nogami, H. Ohkita, H. Benten, S. Ito, *ACS Appl. Mater. Inter.* **2009**, *1*, 804-810.
- [155] Z.-J. Ding, Y.-M. Zhang, X. Teng, Y. Liu, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 1910-1913.
- [156] R. M. Williams, J. M. Zwier, J. W. Verhoeven, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 4093-4099.
- [157] M. Maggini, A. Dono, G. Scorrano, M. Prato, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 845-846.
- [158] J.-F. Nierengarten, J.-F. Nicoud, *Chem. Commun.* **1998**, 1545-1546.
- [159] D. Armspach, E. C. Constable, F. Diederich, C. E. Housecroft, J.-F. Nierengarten, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 723-733.
- [160] L. Shu, S. Pyo, J. Rivera, L. Echegoyen, *Inorg. Chim. Acta* **1999**, *292*, 34-40.
- [161] N. Armaroli, F. Diederich, C. O. Dietrich-Buchecker, L. Flamigni, G. Marconi, J.-F. Nierengarten, J.-P. Sauvage, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 406-416.
- [162] A. W. Jensen, S. R. Wilson, D. I. Schuster, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, *4*, 767-779.
- [163] T. Da Ros, M. Prato, *Chem. Commun.* **1999**, 663-669.
- [164] D. M. Guldi, M. Prato, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 695-703.
- [165] R. Bernstein, F. Prat, C. S. Foote, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 464-465.
- [166] H. Tokuyama, S. Yamago, E. Nakamura, T. Shiraki, Y. Sugiura, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7918-7919.
- [167] A. S. Boutorine, M. Takasugi, C. Hélène, H. Tokuyama, H. Isobe, E. Nakamura, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *33*, 2462-2465.
- [168] Y.-Z. An, C.-H. B. Chen, J. L. Anderson, D. S. Sigman, C. S. Foote, Y. Rubin, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 5179-5189.
- [169] Tatiana D. Ros, M. Bergamin, E. Vázquez, G. Spalluto, B. Baiti, S. Moro, A. Boutorine, M. Prato, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, *2002*, 405-413.

- [170] A. M. Cassell, W. A. Scrivens, J. M. Tour, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 1528-1531.
- [171] K. S. Jin, S. R. Shin, B. Ahn, S. Jin, Y. Rho, H. Kim, S. J. Kim, M. Ree, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 4783-4788.
- [172] H. A. Day, P. Pavlou, Z. A. E. Waller, *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 4407-4418.
- [173] M. S. J. Briggs, I. Bruce, J. N. Miller, C. J. Moody, A. C. Simmonds, E. Swann, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1997**, 1051-1058.
- [174] J. Han, J. Jose, E. Mei, K. Burgess, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1684-1687.
- [175] M. Hoffer, *Chem. Ber.* **1960**, *93*, 2777-2781.
- [176] F. Seela, M. Zulauf, *Synthesis* **1996**, 726-730.
- [177] V. A. Korshun, I. A. Prokhorenko, S. V. Gontarev, M. V. Skorobogatyi, K. V. Balakin, E. V. Manasova, A. D. Malakhov, Y. A. Berlin, *Nucleos. Nucleot. Nucl.* **1997**, *16*, 1461-1464.
- [178] A. D. Malakhov, E. V. Malakhova, S. V. Kuznitsova, I. V. Grechishnikova, I. A. Prokhorenko, M. V. Skorobogatyi, V. A. Korshun, Y. A. Berlin, *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2000**, *26*, 34-44.
- [179] J.-F. Nierengarten, T. Habicher, R. Kessinger, F. Cardullo, F. Diederich, *Helv. Chim. Acta* **1997**, *80*, 2238-2276.
- [180] L. Li, *PCT Int. Appl.*, 2004000294, **2003**.
- [181] S. Sezi, *Dissertation*, Karlsruher Institut für Technologie, **2013**.
- [182] N. Dave, J. Liu, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 15694-15699.
- [183] I. V. Astakhova, D. Lindegaard, V. A. Korshun, J. Wengel, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 8362-8364.
- [184] G. V. Andrievsky, V. K. Klochkov, A. B. Bordyuh, G. I. Dovbeshko, *Chem. Phys. Lett.* **2002**, *364*, 8-17.
- [185] E. H. A. Beckers, P. A. van Hal, A. P. H. J. Schenning, A. El-ghayoury, E. Peeters, M. T. Rispens, J. C. Hummelen, E. W. Meijer, R. A. J. Janssen, *J. Mater. Chem.* **2002**, *12*, 2054-2060.
- [186] P. A. Troshin, R. Koeppel, A. S. Peregudov, S. M. Peregudova, M. Egginger, R. N. Lyubovskaya, N. S. Sariciftci, *Chem. Mat.* **2007**, *19*, 5363-5372.
- [187] M. Glatthaar, M. Niggemann, B. Zimmermann, P. Lewer, M. Riede, A. Hinsch, J. Luther, *Thin Solid Films* **2005**, *491*, 298-300.
- [188] I. D. Tevis, W.-W. Tsai, L. C. Palmer, T. Aytun, S. I. Stupp, *ACS Nano* **2012**, *6*, 2032-2040.

- [189] S. Miyanishi, Y. Zhang, K. Tajima, K. Hashimoto, *Chem. Commun.* **2010**, 46, 6723-6725.
- [190] N. Sary, F. Richard, C. Brochon, N. Leclerc, P. Lévêque, J.-N. Audinot, S. Berson, T. Heiser, G. Hadziioannou, R. Mezzenga, *Adv. Mater.* **2010**, 22, 763-768.
- [191] Y. Lin, J. A. Lim, Q. Wei, S. C. B. Mannsfeld, A. L. Briseno, J. J. Watkins, *Chem. Mat.* **2012**, 24, 622-632.
- [192] T. Liu, A. Troisi, *Adv. Mater.* **2013**, 25, 1038-1041.
- [193] A. K. K. Kyaw, X. W. Sun, C. Y. Jiang, G. Q. Lo, D. W. Zhao, D. L. Kwong, *Appl. Phys. Lett.* **2008**, 93, 221107.
- [194] S. Günes, H. Neugebauer, N. S. Sariciftci, *Chem. Rev.* **2007**, 107, 1324-1338.
- [195] G. Li, C.-W. Chu, V. Shrotriya, J. Huang, Y. Yang, *Appl. Phys. Lett.* **2006**, 88, 253503.
- [196] D. Tzalis, Y. Tor, S. Failla, J. S. Siegel, *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 3489-3490.
- [197] C. Boldron, M. Pitié, B. Meunier, *Synlett* **2001**, 2001, 1629-1631.
- [198] Y. Fan, L.-Y. Zhang, F.-R. Dai, L.-X. Shi, Z.-N. Chen, *Inorg. Chem.* **2008**, 47, 2811-2819.
- [199] M. Schmittel, C. Michel, A. Wiegrefe, V. Kalsani, *Synthesis* **2001**, 10, 1561-1567.
- [200] R. H. E. Hudson, A. Ghorbani-Choghamarani, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 1845-1848.
- [201] E. C. Constable, M. D. Ward, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1990**, 1405-1409.
- [202] K. T. Potts, D. Konwar, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 4815-4816.
- [203] V. Grosshenny, F. M. Romero, R. Ziessel, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 1491-1500.
- [204] D. Armspach, E. C. Constable, F. Diederich, C. E. Housecroft, J.-F. Nierengarten, *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 723-733.
- [205] P. S. Braterman, J. I. Song, R. D. Peacock, *Inorg. Chem.* **1992**, 31, 555-559.
- [206] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, 43, 2923-2925.
- [207] H. E. Gottfried, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7512-7515.

IX. Anhang

Publikationen

- P. Ensslen, F. Brandl, S. Sezi, R. Varghese, R.-J. Kutta, B. Dick and H.-A. Wagenknecht, DNA-Based Oligochromophores as Light-Harvesting Systems. *Chem. Eur. J.*, **2015** 21, 9349–9354.
- P. Ensslen, H.-A. Wagenknecht, 1D Multichromophor Arrays Based on DNA – From Self-Assembly to Light-Harvesting, *Acc. Chem. Res.*, **2015**, eingereicht.

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

- P. Ensslen, S. Gärtner, K. Glaser, A. Colsmann, H.-A. Wagenknecht, A DNA-fullerene conjugate as template for supramolecular chromophore oligomers: Towards DNA-based solar cells, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, angenommen.
- P. Ensslen, H.-A. Wagenknecht, Mesityl phenanthroline-modified 2'-deoxyuridine for heteroleptic complexes in metal ion-mediated assembly of DNA. *Dalton Trans.*, **2015**,44, 6715-6718
- P. Ensslen, Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, Mixed non-covalent assemblies of ethynyl nile red and ethynyl pyrene along oligonucleotide templates, *Org. Biomol. Chem.*, **2015**,13, 487-492

Internet TV Auftritt

S. Barrois, P. Ensslen, H.-A. Wagenknecht, „Synthesis of DNA with optical functionalities”, *Beilstein TV*, **2013**, <http://www.beilstein.tv/tvpost/synthesis-of-dna-with-optical-functionalities/> (Stand 12.07.2015).

Konferenzen

- | | |
|---------|--|
| 11/2013 | Karlsruhe Days of Optics & Photonics, Karlsruhe (Poster) |
| 07/2013 | International Conference on Photochemistry, Leuven, Belgien (Poster) |
| 05/2013 | International Symposium „Templates in Chemistry – Present and Future“, Bonn (Poster) |
| 10/2012 | I. Doktorandenseminar Nukleinsäure, Bad Herrenalb (Poster) |

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, sowie die wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe und die Satzung des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis in der jeweils gültigen Fassung beachtet habe.

Karlsruhe, den 30.11.2015

Philipp Ensslen