

Supramolekulare Chromophor-DNA-Architekturen – Steuerung der Chromophorsequenz und der helikalen Orientierung

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN
(Dr. rer. nat.)

Von der KIT-Fakultät für Chemie und Biowissenschaften
des Karlsruher Institut für Technologie (KIT) - Universitätsbereich



genehmigte

DISSERTATION

von

M.Sc. Robert Hofsäß

aus Pforzheim

Karlsruhe, 2018

KIT-Dekan: Prof. Dr. Reinhard Fischer
Referent: Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht
Korreferent: Prof. Dr. Joachim Podlech

Tag der mündlichen Prüfung: 18.10.2018

Meiner Familie

*In der Wissenschaft gleichen wir alle nur den Kindern,
die am Rande des Wissens hie und da einen Kiesel aufheben,
während sich der weite Ozean des Unbekannten vor unseren Augen erstreckt.*

Sir Isaac Newton

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde von Juni 2015 bis Oktober 2018 am Institut für Organische Chemie des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) unter der Anleitung von Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht für die die interessante Themenstellung, hervorragende Betreuung, sowie dem wissenschaftlichen Freiraum und die sehr gute Arbeitsatmosphäre.

Im Speziellen möchte ich mich bedanken bei:

- der *Karlsruhe School of Optics & Photonics (KSOP)* für die wissenschaftlichen Möglichkeiten, die zahlreichen Weiterbildungsmöglichkeiten sowie die finanzielle Förderung meiner Forschung.
- Dr. Stephan Sinn und Dr. Frank Biedermann (*Institut für Nanotechnologie, KIT*) für die interessante Zusammenarbeit, die erfolgreichen Messungen der CD- und FDCD-Spektren sowie die Gastfreundschaft am Campus Nord.
- Lorenz Graf von Reventlow und Dr. Alexander Colsmann (*Lichttechnisches Institut, KIT*) für das erfolgreiche Herstellen der DNA-OLED sowie die angenehme Zusammenarbeit.
- Prof. Dr. Eberhard Riedle (*Fakultät für Physik, LMU München*) für die Informationen und die Zusammenarbeit bezüglich der Deep-UV-LEDs.
- Dr. Michael Gamer (*Institut für Anorganische Chemie, KIT*) für die Einkristall-Röntgenstrukturanalyse meines Schalters.
- Dr. Patrick Weis (*Institut für Physikalische Chemie, KIT*) für die ESI-Messungen der Schalter-Nukleoside.
- Rouven Müller (*Institut für Technische Chemie und Polymerchemie, KIT*) für die Vermessung der Hg-Xe-Lampe.
- Dr. Caroline Schweigert (*Institut für Physikalische Chemie, KIT*) für die Hilfe bei den anfänglichen Problemen mit den Belichtungsapparaturen.
- Dieter Walz (*Feinmechanische Werkstatt IPC, KIT*) für die Anfertigung der Probenhalter.
- Claudia Sommer für ihre Hilfe in allen organisatorischen Belangen und ihre ständige Hilfsbereitschaft.

- Anette Hochgesand für das Messen meiner MALDI-Proben.
- Dr. Andreas Rapp und Tanja Ohmer für das Messen der NMR-Proben.
- Angelika Möhle für das Messen der zahlreichen Molekülmassen, auch wenn diese sich mal wieder weigerten.
- Uli, Damian, Sergej und David für das Messen der Belegproben am 500 MHz-Spektrometer.
- meinen Vertiefer- und Bachelorstudenten Tim, Laura und Joana sowie meiner Auszubildenden Carolin für ihr großes Interesse und ihrer fleißigen Mitarbeit.
- Silvana, Larissa, Stephan und Damian für das Korrekturlesen dieser Arbeit.
- Meinen Arbeitskollegen Dr. Effi Bätzner, Dr. Peggy Bohländer, Dr. Martin Weiser, Dr. Philipp Ensslen, Dr. Marcus Merkel, Dr. Heidi Walter, Dr. Stefanie Arndt, Dr. Nadine Gaß, Dr. Krisana Peewasan, Dr. Barbara Reiß, Dr. Jeannine Steinmeier, Linda Nötzel, Andrea Bijeljanin, Tamina Schneider, Benjamin Chaoui, Leonora Nurcaj, Andreas Dittmer, Isabella Weiß, Dennis Harijara, Daniel Sack, Christian Schwechheimer, Dr. Franziska Rönicke, Christoph Bickmann, Ulrike Reisacher, Sergej Hermann, Damian Ploschik, Lara Hirsch, Arthur Kuhlmann, Fabienne Speck, Yannic Fritz, Lisa Gramespacher, Benjamin Lehmann, Samantha Wörner, Sara Müller, Judith Winsauer, Hülya Ucar Julian Gebhard, Nathalie Wagener, Fabian Lang, David Rombach, Katja Krell und Larissa Doll für die wunderschöne Zeit im AKW und die tolle Arbeitsatmosphäre.
- Meinen Laborkollegen Larissa, Katja, Heidi und Christian für die super Arbeitsatmosphäre, die gute Zusammenarbeit und für zahlreiche musikalische Exzesse.
- Damian für sein offenes Ohr, die ständige Hilfsbereitschaft und den besten Cytrynowka.
- Christian und Benny für die gegenseitige Unterstützung in den letzten Wochen.
- Jeannine für ihre offene unkomplizierte Art und die vielen unterhaltsamen Gespräche.
- David für die Einführung in Turbomole, die musikalische Untermalung aus dem Nachbarlabor und für die lustigen Abende mit dem einzigartigen Knotenknut.
- Heidi und Christian für die spaßige Zeit im L-Labor und den Pelikan-Mutationsgesang.

- Steffi für die wunderschöne Zeit in Sevilla, die tolle Betreuung während dem Vertiefenpraktikum, dem Ausdenken von so manchem Schabernack und die Wikipedia-Wettrennen.
- Marcus für deine lockere Art, die schönen Gespräche und das gemeinsame Musizieren.
- Jack für den umfangreichen Einblick in die thailändische Küche.
- Larissa für die vielen tollen Gespräche im und außerhalb des Labors, ihre unkomplizierte Art und die alltäglichen Privatkonzerte.
- Samantha für ihre aufmunternde Art, wenn man einfach mal schlecht drauf ist.
- Benny für seine jahrlange Freundschaft, die vielen lustigen gemeinsamen Stunden, die gegenseitige Unterstützung, das Lachen über meine dummen Witze und dafür, dass wir irgendwie einfach auf der gleichen Wellenlänge sind.
- Stephan, Benny, Thomas, Silvana, Patrick, Michel, Larissa, Christl, Matze, Timon und Joana für ihre Freundschaft, Unterstützung und die wunderschöne und unvergessliche Zeit in Karlsruhe.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, meiner Schwester und meiner Freundin Josina dafür, dass sie mich immer unterstützt und an mich geglaubt haben. Danke, dass ihr für mich da seid!

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG UND THEMENSTELLUNG	1
2	THEORETISCHER HINTERGRUND	5
2.1	CHROMOPHOR-DNA-ARCHITEKTUREN	5
2.2	MOLEKULARE PHOTOSCHALTER	24
3	SEQUENZKONTROLLIERTE ASSEMBLIERUNG	31
3.1	SYNTHESE DER VERWENDETEN NUKLEOSIDE	32
3.2	OPTISCHE CHARAKTERISIERUNG VON PY-DAP	34
3.3	ANLAGERUNGSEXPERIMENTE VON PY-DAP	35
3.4	PROGRAMMIERBARE ANLAGERUNG VON PY-DAP UND NR-DU	39
3.5	PY-DG ALS WEITERER BAUSTEIN	46
3.6	ZUSAMMENFASSUNG	52
4	SCHALTBARE CHROMOPHOR-DNA-AGGREGATE.....	55
4.1	SYNTHESE DER SCHALTER 13, 14 UND 15	57
4.2	BESTIMMUNG DER SCHALTEIGENSCHAFTEN.....	59
4.3	SYNTHESE DER SCHALTERNUKLEOSIDE 11 UND 12.....	74
4.4	EIGENSCHAFTEN DER SCHALTERNUKLEOSIDE 11 UND 12	76
4.5	ANLAGERUNGSVERSUCHE DES SCHALTERNUKLEOSIDS 11.....	81
4.6	ZUSAMMENFASSUNG	84
5	KONTROLLE DER HELIKALEN ORIENTIERUNG.....	87
5.1	SYNTHESE DER VERWENDETEN NUKLEOSIDE PY-LDU UND NR-LDU.....	88
5.2	SYNTHESE DER L-KONFIGURIERTEN OLIGONUKLEOTIDE.....	91
5.3	OPTISCHE CHARAKTERISIERUNG DER L-KONFIGURIERTEN NUKLEOSIDE	91
5.4	ANLAGERUNGSEXPERIMENTE	93
5.5	UNTERSUCHUNG DER AGGREGATE MITTELS CD-SPEKTROSKOPIE.....	100
5.6	ZUSAMMENFASSUNG	104
6	CHROMOPHOR-DNA-AGGREGATE ALS AKTIVE SCHICHT IN OLEDS.....	107
7	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	111

8	EXPERIMENTELLER TEIL	115
8.1	MATERIALIEN, ANALYTIK UND GERÄTE.....	115
8.2	BELICHTUNGSEXPERIMENTE	123
8.3	BESTIMMUNG DER PHOTOCHROMEN AUSBEUTE	127
8.4	REAKTIONSQWANTENAUSBEUTE.....	128
8.5	ANLAGERUNGSEXPERIMENTE	131
8.6	OLIGONUKLEOTIDE	134
8.7	SYNTHEVORSCHRIFTEN.....	141
8.8	ZUSÄTZLICHE SPEKTREN UND DATEN	169
9	LITERATURVERZEICHNIS	175
10	APPENDIX	185
10.1	PUBLIKATIONEN	185
10.2	KONFERENZEN UND POSTERBEITRÄGE.....	186
10.3	LEHRE	187

Abkürzungsverzeichnis

Å	Ångström	dG	2'-Desoxyguanosin
A	Ampere	DMF	Dimethylformamid
a. u.	willkürliche Einheit (<i>arbitrary units</i>)	DMSO	Dimethylsulfoxid
abs	Absorption	DMT	Dimethoxytrityl
abs.	absolut	DNA	Desoxyribonukleinsäure
APCI	<i>atmospheric pressure chemical ionization</i>	ds	doppelsträngig
ATT	6-Aza-2-thiothymin	T	Thymin
Äq.	Äquivalente	EE	Essigsäureethylester
Ar	Aryl	EI	Elektronenstoßionisation
bp	Basenpaare (<i>base pairs</i>)	em	Emission
BPF	Bandpassfilter	ESI	Elektronensprayionisation
bzw.	beziehungsweise	EnT	Energietransfer
c	Konzentration	ET	Elektronentransfer
ca.	circa	<i>et al.</i>	und andere (<i>et alii</i>)
CAN	Cer(IV)ammoniumnitrat	EtOH	Ethanol
CD	Circulardichroismus	exc	Anregung (<i>excitation</i>)
cd	Candela	FAB	<i>Fast Atom Bombardement</i>
Cl	Chlorid	FC	<i>Flash</i> Chromatographie
cm	Zentimeter	FDCD	fluoreszenzdetektierter Circulardichroismus
CPG	<i>controlled pore glass</i>	FRET	Förster-Resonanzenergietransfer
cps	<i>counts per second</i>	g	Gramm, Erdbeschleunigung
d	Dublett, Schichtdicke	h	Stunde
Da	Dalton	HPA	Hydroxypicolinsäure
dA	2'-Desoxyadenosin	HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
DAD	Diodenarraydetektor	HR	Hochauflösung (<i>high resolution</i>)
DC	Dünnschichtchromatographie	Hz	Hertz
dC	2'-Desoxycytidin	I	Intensität, Stromstärke
DCM	Dichlormethan	IdU	5-Iod-2'-desoxyuridin

ITO	<i>indium tin oxide</i>	NMR	Kernspinnresonanz (<i>nuclear magnetic resonance</i>)
<i>J</i>	Kopplungskonstante		
konz.	konzentriert	OFCP	Octafluorocyclopenten
LED	<i>light-emitting diode</i>	PEI	Polyethylenimin
Lsg.	Lösung	PESA	<i>Photo-Electron Spectroscopy in Air</i>
M	molar	p.a.	pro analysi
m	Multipllett	pH	pH-Wert
mbar	Millibar	ppm	<i>parts per million</i>
MALDI	<i>Matrix assisted laser desorption ionization</i>	PSS	photostationärer Zustand
MeCN	Acetonitril	q.	Quartett
mdeg	Millidegree	quant.	quantitativ
MeOH	Methanol	quin.	Quintett
mg	Milligramm	QYDS	<i>Quantum Yield Determination Setup</i>
MHz	Megahertz	R_f	Retentionsfaktor
min	Minute	RCF	Zentrifugalbeschleunigung (<i>relative centrifugal force</i>)
min.	mindestens	RNA	Ribonukleinsäure
mL	Milliliter	RP	Umkehrphase (<i>reserved phase</i>)
mM	millimolar	rpm	<i>rounds per minute</i>
MS	Massenspektroskopie	RT	Raumtemperatur
mW	Milliwatt	RQY	Reaktionsquantenausbeute (<i>reaction quantum yield</i>)
m/z	Masse-zu-Ladungs-Verhältnis	s	Singulett, Sekunde
n	Stoffmenge	SBW	Spaltbreite (<i>slit bandwidth</i>)
NaOH	Natriumhydroxid	ss	einzelsträngig (<i>single stranded</i>)
NaP _i	Natriumphosphatpuffer	t	Triplet
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid	TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
NEt ₃	Triethylamin	TFA	Trifluoressigsäure
NH ₃	Ammoniak	THAP	2,4,6-Trihydroxyacetophenon
nm	Nanometer	THF	Tetrahydrofuran
nmol	Nanomol	T _m	Schmelztemperatur

U	Spannung
UV	Ultraviolett
ü.N.	über Nacht
V	Volt
vgl.	vergleiche
vis	<i>visible</i>
W	Watt
z.B.	zum Beispiel
°C	Grad Celsius
$\epsilon_{xxx \text{ nm}}$	Extinktionskoeffizient bei XXX nm
Δ	Differenz
δ	chemische Verschiebung
λ	Wellenlänge
λ_{em}	Emissionswellenlänge
λ_{exc}	Anregungswellenlänge
μL	Mikroliter
μM	Mikromolar
μA	Mikroampere
ϕ_F	Fluoreszenzquantenausbeute

Die in dieser Arbeit verwendete Nomenklatur orientiert sich an den *Chemical Abstracts*^[a] und an den von der *IUPAC-IUB-Kommission*^[b] empfohlenen Richtlinien. Als Dezimaltrennzeichen werden in dieser Arbeit Punkte anstatt Kommata verwendet. 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**, 455-4

1 Einleitung und Themenstellung

Die Chemie nahm ihren Anfang vermutlich bereits in der Antike mit weitgehend empirisch angesammeltem Wissen über das makroskopische Verhalten von Stoffen. Erst Jahrhunderte später, nämlich gegen Ende des 18. Jahrhunderts, begann die Entwicklung der wissenschaftlich fundierten Chemie, wie wir sie heutzutage kennen. Über die Jahre verlagerte sich dabei der Fokus der Forschung immer weiter auf die Synthese und Betrachtung von Einzelmolekülen mit kovalenten Bindungen. 1967 schlug – mit der Entdeckung der Kronenether durch Charles J. Pedersen – dann die Geburtsstunde der supramolekularen Chemie.^[1] Diese, von Jean-Marie Lehn 1987 bei der Verleihung des Nobelpreises¹ treffend als die „Chemie jenseits des Moleküls“ bezeichnet,^[2] beschäftigt sich mit der *zwischenmolekularen* Bindung und Struktur sowie Funktion der geformten übergeordneten Suprastrukturen.

Supramolekulare Materialien zeichnen sich durch ihren Aufbau aus molekularen Bausteinen aus, die auf definierte Weise eine Struktur mit spezifischer Architektur ausbilden. Eine Möglichkeit den Aufbau der entstehenden Aggregate gezielt zu steuern, stellt die Nutzung eines Templats dar. Als solches eignet sich hervorragend die DNA mit ihrer hochgeordneten Struktur und der kanonischen Basenpaarung. Diese bietet die Möglichkeit, Bausteine, wie beispielsweise Chromophore, über Wasserstoffbrücken spezifisch in klar definierten Abständen an das Templat zu binden. Aufgrund der helikalen Struktur der DNA wird zusätzlich eine helikale Orientierung der Bausteine ermöglicht – im Fall der Chromophore bildet sich ein Chromophorstapel aus. Die entstehenden Aggregate werden dabei durch nicht-kovalente Wechselwirkungen (Van-der-Waals-, π - π -, hydrophobe, elektrostatische Wechselwirkungen und Wasserstoffbrücken) zusammengehalten und weisen neue, von denen der Bausteine verschiedene, Eigenschaften auf.

Die bisherige Nutzung von DNA als strukturgebendes Gerüst beschränkte sich größtenteils auf den kovalenten Einbau. Zwar ermöglicht dieser eine präzise Kontrolle über die Chromophorsequenz und die Position der Chromophore im Stapel, die Synthese und

¹ Nobelpreis für Chemie im Jahre 1987, verliehen an Donald J. Cram, Jean-Marie Lehn und Charles J. Pedersen „für ihre Entwicklung und Verwendung von Molekülen mit strukturspezifischer Wechselwirkung von hoher Selektivität“.

Aufreinigung der Architekturen ist jedoch aufwändig und nicht sehr effizient. Eine weitere Möglichkeit zur Darstellung von supramolekularen Chromophor-DNA-Architekturen stellt die Selbstassemblierung von passend modifizierten Chromophoren dar. So konnten beispielsweise SCHENNING *et al.* mit einem Oligothymidinstrang Chromophorstapel mit bis zu 40 Naphthalinen herstellen,^[3] und WAGENKNECHT *et al.* nutzten solche Architekturen bereits als photoaktive Schicht in Solarzellen.^[4] Jedoch gestaltet sich die, für die genaue Einstellung der gewünschten Eigenschaften notwendige, exakte Kontrolle über den Aufbau und die Struktur der Multichromophor-DNA-Architekturen bis heute schwierig. An diesem Punkt knüpft die hier vorliegende Arbeit an.

Im ersten Teil soll die programmierbare sequenzspezifische Anlagerung mehrerer Chromophore an einen gemeinsamen Templatstrang etabliert werden. Ausgehend von den Anlagerungsexperimenten mit 5-Ethynilrot-2'-desoxyuridin (**Nr-dU**) und 5-Ethynilpyren-2'-desoxyuridin (**Py-dU**) aus dem Arbeitskreis WAGENKNECHT,^[5-7] soll ein neues Chromophornukleosid entwickelt werden, das spezifisch an Thymidin im Templatstrang bindet und somit orthogonal mit den oben genannten Bausteinen anlagert. Hierfür soll das pyrenmodifizierte 2-Amino-2'-desoxyadenosin **Py-DAP** synthetisiert und in orthogonalen Anlagerungsexperimenten mit **Nr-dU** untersucht werden.

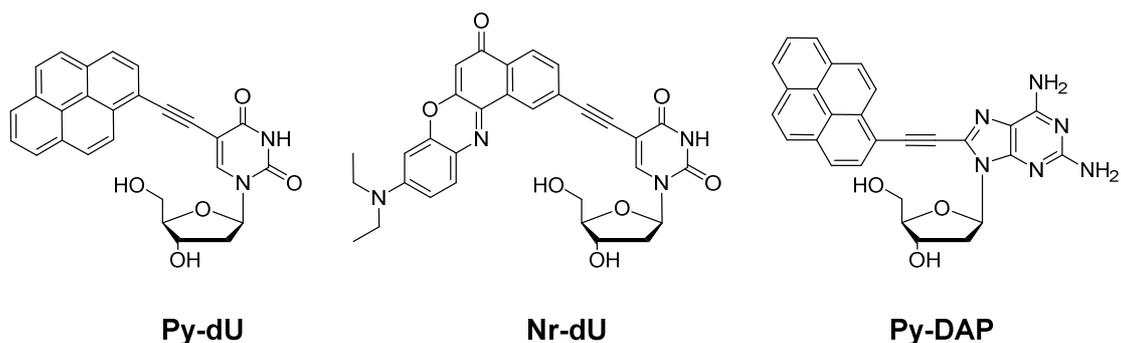


Abbildung 1: Strukturen der untersuchten Nucleoside **Py-dU**, **Nr-dU** und **Py-DAP**.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit soll die Steuerung des Aggregationsvorgangs über den Einbau von Diarylethenen als Photoschalter in den Chromophorstapel untersucht werden. Hierfür sollen zunächst neue Dibenzothienylethene mit elektronenziehenden Gruppen an der 2- und 2'-Position hergestellt und der Einfluss der Substituenten auf die Schalteigenschaften untersucht werden. Ausgehend von den erhaltenen Ergebnissen soll anschließend ein

schaltermodifiziertes Nukleosid hergestellt und angelagert werden. Es wird sich dabei eine durch gezielte Belichtung steuerbare Assemblierung erhofft.

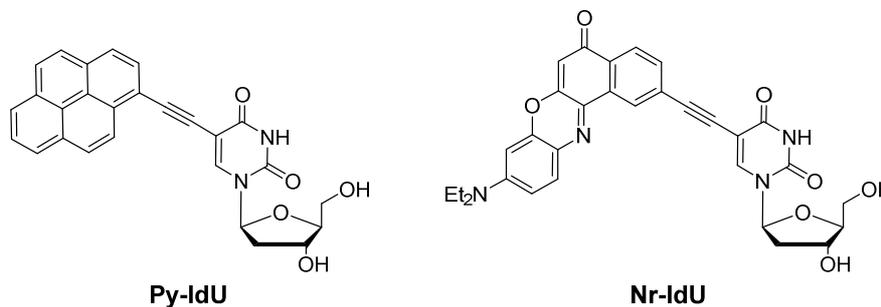


Abbildung 2: Strukturen der für die Steuerung der helikalen Ordnung synthetisierten *L*-konfigurierten **Py-IdU** und **Nr-IdU**.

Als nächster Schritt hin zur vollständigen Programmierbarkeit der gebildeten DNA-Architekturen soll in einem weiteren Teil der Arbeit die gezielte Kontrolle über die helikale Ordnung erreicht werden. Ausgangspunkt für die Untersuchungen soll hier die Konfiguration der Monomere und der DNA sein, da diese für die helikale Ordnung der gebildeten Aggregate verantwortlich sind. Dementsprechend sollen ausgehend von den bereits von WAGENKNECHT *et al.* synthetisierten *D*-konfigurierten Bausteinen **Py-dU** und **Nr-dU** die *L*-konfigurierten Analoga **Py-IdU** und **Nr-IdU** sowie ein linksgängiger Templatstrang hergestellt werden. Es wird so ein System erhalten, in dem sämtliche mögliche Kombinationen der Bausteine bei der Anlagerung bezüglich ihres Einflusses auf die helikale Anordnung hin untersucht werden können.

Aufgrund von Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren im Stapel besitzen die Aggregate interessante und modulierbare optische Eigenschaften, die so nicht von Einzelmolekülen erreicht werden können. Dies macht sie vor allem für die Anwendung in optoelektronischen Systemen interessant, weshalb im letzten Teil der Arbeit exemplarisch die Verwendung eines Farbstoff-DNA-Aggregats als emittierende Schicht in einer organischen Leuchtdiode (OLED) untersucht werden soll.

2 Theoretischer Hintergrund

2.1 Chromophor-DNA-Architekturen

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Aufbau und der Steuerung von Chromophor-DNA-Architekturen. Die DNA dient dabei als Templat. Ihre exakt vorhersagbare Struktur, die rechtsgängige Helix und der klar definierte Abstand von 3.4 Å zwischen den Basenpaaren sowie die Möglichkeit, artifizielle Bausteine einzubauen, erlauben dabei die exakte Positionierung von Chromophoren. In den dabei hergestellten Architekturen befinden sich die Chromophore in räumlicher Nähe zueinander, wobei sich aufgrund der DNA-Struktur helikal orientierte Chromophorstapel ausbilden können. Wechselwirken die Chromophore im Grundzustand, können sich J- beziehungsweise H-Aggregate ausbilden, in welchen eine bathochrome bzw. hypsochrome Verschiebung der Absorbanz zu beobachten ist.^[8] Erfolgt die Wechselwirkung der Chromophore hingegen im angeregten Zustand, so können sich Excimere (*excited dimer*) oder Exciplexe (*excited complex*) bilden, was sich durch eine Fluoreszenzänderung beobachten lässt. Zudem können Energietransfer-Prozesse (EnT) und Elektronentransferprozesse (ET) zwischen den Chromophoren stattfinden. Die optischen Eigenschaften eines Systems sind also von den Chromophoren selbst, ihrer Anzahl und ihrer Anordnung im Strang abhängig. In den nachfolgenden Kapiteln soll die Herstellung von kovalenten und supramolekularen Chromophor-DNA-Architekturen erläutert werden.

2.1.1. Kovalente Chromophor-DNA-Architekturen

Eine Möglichkeit Chromophor-DNA-Architekturen herzustellen, ist der kovalente Einbau von Farbstoffen in DNA. Einer der größten Vorteile der DNA ist ihre Herstellung über die Phosphoramiditmethode. Diese wurde bereits 1981 von CARUTHERS und BEAUCAGE entwickelt und bis heute stetig optimiert,^[9-12] sodass heutzutage Oligonukleotide größtenteils über automatisierte Festphasensynthese nach dieser Methode hergestellt werden. Diese erlaubt die Programmierung der gewünschten Sequenz und somit die exakte Positionierung der Chromophore in DNA.^[13] Die dafür benötigten Bausteine der natürlichen Basen sind in großen Mengen kommerziell erhältlich, benötigte artifizielle Bausteine können über organische Synthese hergestellt werden. Der Einbau von Chromophoren kann dabei auf verschiedenen Wegen realisiert werden. In den folgenden Abschnitten sollen die vier gängigsten

Möglichkeiten – nämlich die Substitution des Nucleosids mit einem azyklischen oder zyklischen Linker, Substitution der Nucleobase, Modifikation der 2'-Hydroxygruppe und Modifikation der Nucleobase selbst – vorgestellt werden (siehe Abbildung 3).

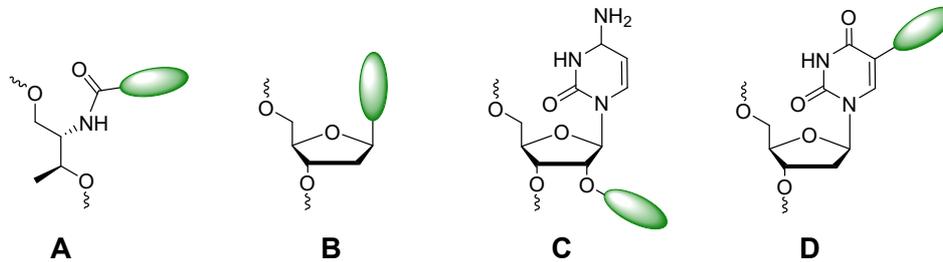


Abbildung 3: Mögliche Wege zum Einbau von Chromophoren in DNA. A) Einbau über einen azyklischen oder zyklischen Linker, hier: *D*-Threolinaldehyd^[14]; B) Substitution der Nucleobase; C) Modifikation der 2'-Hydroxygruppe; D) Modifikation der Nucleobase, hier: 2'-Desoxyuridin (Chromophore in grün).

2.1.1.1. Einbau als Nucleosidsurrogate

Die Struktur der DNA und ihrer Doppelhelix wird zu großen Teilen durch den Aufbau und die Anordnung der Nucleoside bestimmt. Bei Einbau von Chromophoren in DNA ist es daher wünschenswert die Nucleosidstruktur nicht zu beeinträchtigen. Die Synthese von artifiziellen Phosphoramidit-Bausteinen ist jedoch relativ kostspielig und benötigt eine ausgereifte Schutzgruppenstrategie. Zusätzlich ist die glykosidische Bindung zwischen Zucker und Base, vor allem mit positiv geladenen Farbstoffen als Nucleobasensurrogate, empfindlich gegenüber säurekatalysierter Hydrolyse.^[15-16] Aus diesen Gründen werden Chromophore oftmals über azyklische Linker, wie *D*-Threolinaldehyd^[14], *S*-Serinaldehyd^[17] und verschiedene Glykolderivate^[18-20], in Einzelstränge eingebaut (siehe Abbildung 4). Dabei können neben langen flexiblen Linkern auch kurze Linker verwendet werden, die die Interkalation der Chromophore erzwingen (sog. *Forced intercalation (FIT) probes*).^[21-22]

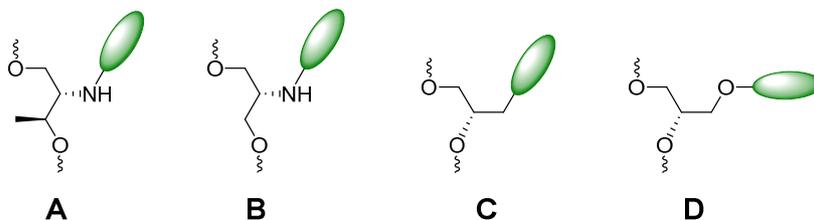


Abbildung 4: Strukturen verschiedener azyklischer Linker für den Einbau von Chromophoren in DNA. A) *D*-Threolinaldehyd^[14]; B) *S*-Serinaldehyd^[17]; C) Glykolderivat *S*-1,2-Propandiol^[18]; D) Glykolderivat *S*-1,2,3-Propantriol^[19] (Chromophore in grün).

So nutzten beispielsweise ASANUMA *et al.* *D/L*-Threolinol um DNA-Einzelstränge mit bis zu sechs Methylrot-Einheiten herzustellen.^[23] Anhand dieser untersuchten sie den Einfluss der DNA-Doppelhelix auf die Anordnung der Chromophore. Im Einzelstrang bildeten sich mit wachsender Größe des Chromophorstapels H-Aggregate aus, was zu einer erhöhten Absorbanz, einer hypsochromen Verschiebung und einer vollständigen Fluoreszenzlöschung führte. Bei Hybridisierung mit dem entsprechenden Gegenstrang verschwand die Absorptionsbande des H-Aggregats und eine bathochrom verschobene Bande konnte beobachtet werden. Dieser Vorgang ist durch Dehybridisierung des Doppelstrangs vollständig reversibel. Der bei der Hybridisierung beobachtete Effekt wird durch eine helikale Anordnung der Chromophore im Duplex hervorgerufen.

Des Weiteren stellten ASANUMA und KOMIYAMA *et al.* Einzelstränge mit Methylrot- und Naphthylrot-Einheiten in der Mitte der Stränge her, um die Bildung von homo- und hetero-Farbstoffaggregaten zu untersuchen (siehe Abbildung 5).^[24-25] Dabei diente *D*-Threolinol nicht nur als Linker zum Einbau der Chromophore, sondern auch als *Spacer* zwischen den Farbstoffen, um eine effiziente Aggregatbildung zu ermöglichen. Während im methylrotmodifizierten Einzelstrang **ML1** aufgrund fehlender Wechselwirkungen lediglich die Absorption von Methylrot zu sehen war, führte sowohl die Hybridisierung mit dem methylrotmodifizierten Gegenstrang **ML2** als auch die Hybridisierung mit einem Naphthylrot-Strang **NL3** zu einer hypsochromen Verschiebung der Absorption durch die Bildung von Aggregaten mit einer reißverschlussartigen Anordnung im DNA-Duplex.

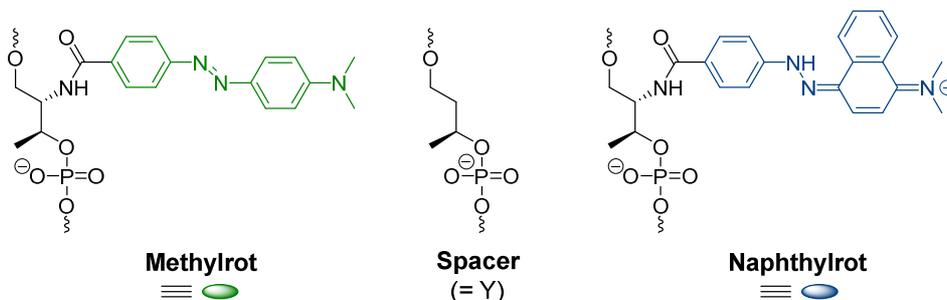
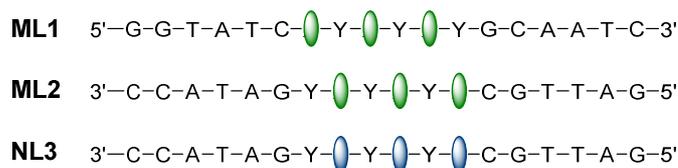


Abbildung 5: Sequenzen der modifizierten DNA-Einzelstränge und Strukturen der chromophormodifizierten *D*-Threolinol-Linker von ASANUMA *et al.* zur Untersuchung von homo- und hetero-Farbstoffaggregaten im DNA-Doppelstrang.^[24-25]

Auf ähnliche Weise untersuchten WAGENKNECHT *et al.* die Bildung eines Perylen-3,4:9,10-tetracarbonsäurebisimid (PBI)-Aggregats in einer DNA-Doppelhelix.^[26] Hierfür wurden zwei Einzelstränge hergestellt, die mit je 3 PBIs modifiziert wurden. Ähnlich wie zuvor beschrieben, wurden auch hier *Spacer* (abasische Stelle oder Thymidin) verwendet, um die Bildung einer reißverschlussartigen Chromophoranordnung zu erleichtern. Durch Hybridisierung der beiden Einzelstränge konnte ein Duplex mit sechs PBI-Einheiten erhalten werden, bei dem die Gegenbase der Chromophore über die helikale Orientierung des Chromophorstapels entscheidet: Wurden abasische Stellen verwendet, bildete sich eine rechtsgängige Helix aus, während in Gegenwart von Thymidin eine linksgängige Helix beobachtet werden konnte.

In weiteren Arbeiten von WAGENKNECHT *et al.* konnten, aufbauend auf der Hydrophobizität der PBIs, supramolekulare DNA-Architekturen hergestellt werden. Dafür wurden zunächst PBIs über *S*-Aminopropandiol-Linker in die Mitte oder an das 5'-Ende von DNA-Einzelsträngen eingebaut (siehe Abbildung 6).^[27-28] Nach Hybridisierung zeigten alle Stränge aufgrund starker π - π -Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren eine signifikante Excimerfluoreszenz. Dies ließ darauf schließen, dass die 5'-modifizierten Stränge durch die hydrophoben Wechselwirkungen der PBI-Enden verbunden waren. Auf diese Weise konnte ein Netzwerk aus Y-förmigen DNA-*three-way-junctions* hergestellt werden. Die Verknüpfung der einzelnen Bausteine konnte dabei über die Wechselwirkungen der modifizierten 5'-Enden realisiert werden.^[29]

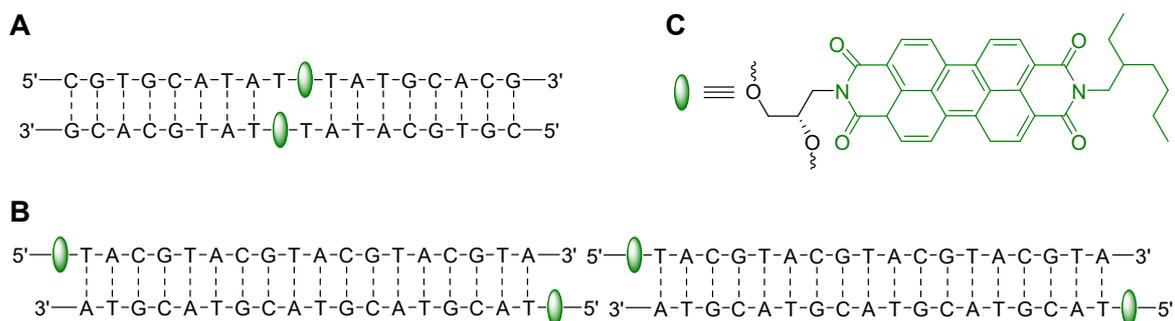


Abbildung 6: Perylenbisimid-modifizierte Doppelstränge nach WAGENKNECHT *et al.*^[27-28] A) DNA-Duplex mit PBI-Modifikation in der Mitte der Einzelstränge; B) DNA-Doppelstränge mit PBI am 5'-Ende der Einzelstränge. Mehrere Doppelstränge lagern sich aufgrund der hydrophoben Enden aneinander an; C) Struktur des eingebauten Perylen-3,4:9,10-tetracarbonsäurebisimids.

Wie oben bereits erwähnt, eignet sich DNA aufgrund ihrer Struktur für die exakte Positionierung von Chromophoren. Auf dieser Grundlage untersuchten ASANUMA *et al.* Pyren und Perylen als Förster-Resonanzenergietransfer (FRET)-Paar in DNA, indem sie beide Chromophore über einen azyklischen Linker einbauten.^[30] Die DNA erlaubt es, Donor und Akzeptor in räumliche Nähe zueinander zu bringen, ohne dass sich ungewünschte Excimere und Exciplexe bilden. Durch die selektive Anregung von Pyren, die zu einer Perylenemission führte, wurde ein erfolgreicher FRET nachgewiesen. Die höchste Effizienz konnte dabei erhalten werden, wenn die beiden Chromophore nur durch ein Basenpaar getrennt waren.

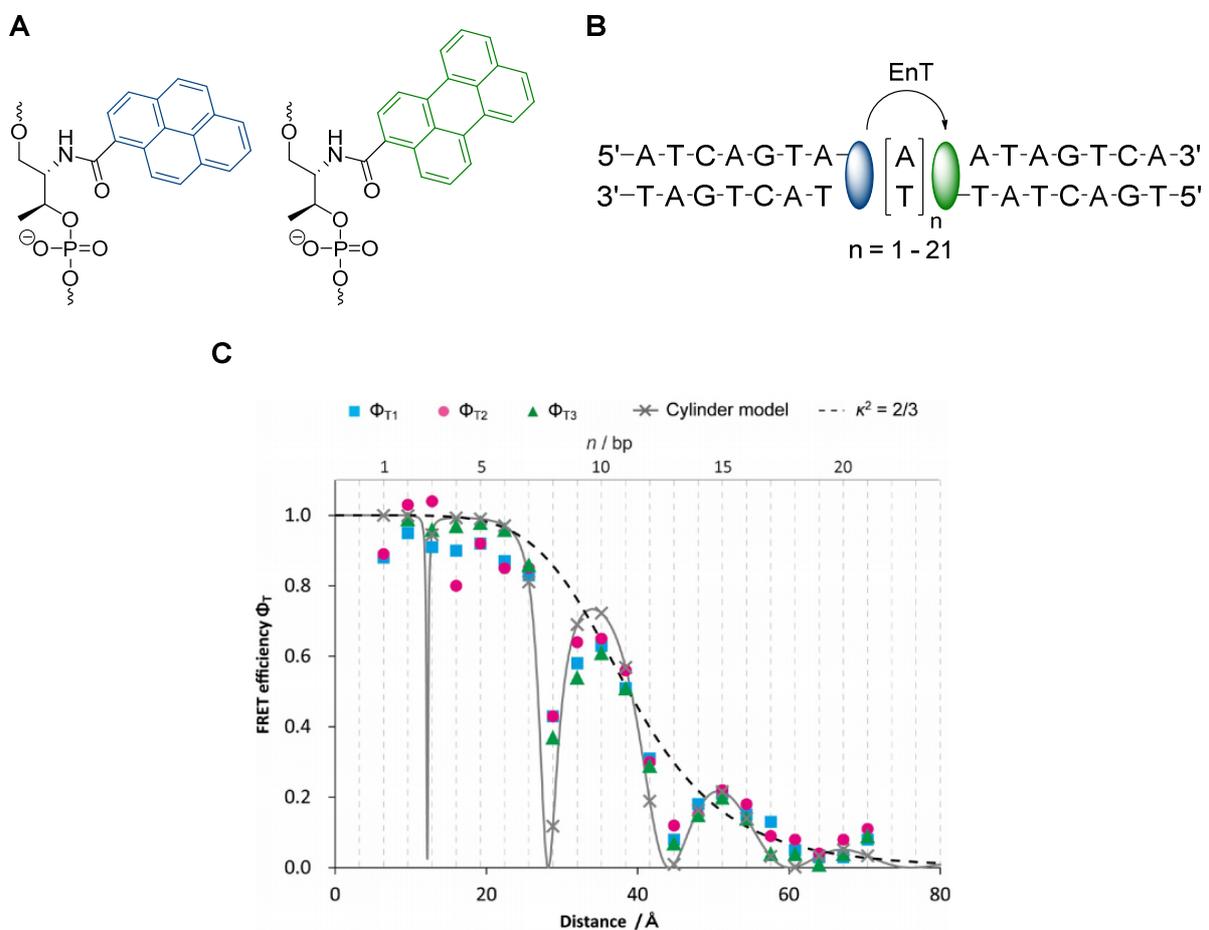


Abbildung 7: Untersuchung der Distanz- und Orientierungsabhängigkeit des Förster-Resonanzenergietransfers (FRET) in DNA von ASANUMA *et al.*^[30-31] A) Modifizierte *D*-Threosinol Linker mit Pyren (blau) und Perylen (grün); B) Sequenzen der verwendeten Stränge mit schematischem Einbau der A-T-Paare; C) Abhängigkeit der FRET-Effizienz vom Abstand der Chromophore. Die Messergebnisse aus stationärer Fluoreszenzspektroskopie sind als Quadrate und Kreise dargestellt, die aus der zeitaufgelösten Fluoreszenzspektroskopie als Dreiecke. Theoretische Werte des zylindrischen Modells sind als X dargestellt. Eine willkürliche Anordnung der Chromophore ist durch eine gestrichelte Linie gekennzeichnet.²

² (C) Reprinted with permission from [31] Copyright 2013 American Chemical Society

In weiteren Untersuchungen wurde die Abhängigkeit der FRET-Effizienz vom Abstand zwischen den Chromophoren und ihrer Orientierung zueinander untersucht (siehe Abbildung 7).^[31] Hierfür wurden bis zu 21 A-T-Paare zwischen Donor und Akzeptor positioniert, wobei die Effizienz mit steigendem Abstand abnahm. Obwohl die FRET-Effizienz nach je 5 A-T-Paaren, was einer halben Umdrehung der B-Helix entspricht, aufgrund einer ungünstigen Orientierung der Chromophore stark abnahm oder vollständig einbrach, ergab sich eine interessante Anwendung als „Molekulares Lineal“ in biologischen Systemen.^[32] WILHELMSSON *et al.* konnten diese Beobachtungen bestätigen, indem sie Chromophore als Nukleobasensurrogate in DNA einbauten.^[33-34] Insgesamt wird deutlich, dass die FRET-Effizienz nicht nur von der Distanz der Chromophore, sondern auch von ihrer Orientierung zueinander abhängig ist. Die DNA eignet sich dabei mit ihrer regelmäßigen Struktur bestens zur Kontrolle dieser Parameter.

HÄNER *et al.* nutzten achirale Carboxamid-Linker, um Pyrene^[35], Phenanthroline^[36] und Phenanthrene^[37] in DNA einzubringen. Durch Hybridisierung von Einzelsträngen mit bis zu sieben Pyrenen konnte ein rechtsgängiger Chromophorstapel aus bis zu 14 Pyrenen im Inneren der Helix erhalten werden.^[38] Die Doppelstränge zeigten eine Excimerfluoreszenz, was Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren der einzelnen Stränge beweist. Auf Grundlage dieser Ergebnisse wurde eine Lichtsammelantenne entwickelt, welche aus einem DNA-Gerüst, Phenanthrenen als Lichtsammleinheiten und einem Pyren als Akzeptor besteht.^[39] Eine Weiterentwicklung dieses Lichtsammelsystems wurde basierend auf triangulärer DNA hergestellt.^[40] Der Phenanthren-Lichtsammelkomplex wurde in einem der drei Arme untergebracht, während der Akzeptor durch die Geometrie der dreisträngigen DNA-Struktur in die Nähe des Komplexes gebracht wurde. Sowohl Pyren als auch ein Cyaninfarbstoff wurden als Akzeptoren getestet. In beiden Fällen konnte ein erfolgreicher Energietransfer verzeichnet werden.

2.1.1.2. Einbau als Nukleobasensurrogat

Im vorherigen Kapitel wurde der Einbau von Chromophoren in DNA mit Hilfe von azyklischen Linkern als Nukleosidsurrogate beschrieben. Ein entscheidender Nachteil dieser Methode ist jedoch, dass beim Einbau des Chromophors das Zucker-Phosphat-Rückgrat und damit die natürliche Struktur der DNA verändert wird. Eine Möglichkeit, Multichromophorsysteme in DNA zu realisieren, ohne die natürliche DNA-Struktur zu beeinträchtigen, ist der Einbau des Chromophors als sogenanntes Nukleobasensurrogat, wobei die Purin- oder Pyrimidinbase am anomeren Zentrum der 2'-Desoxyribose durch das Chromophor ersetzt wird.

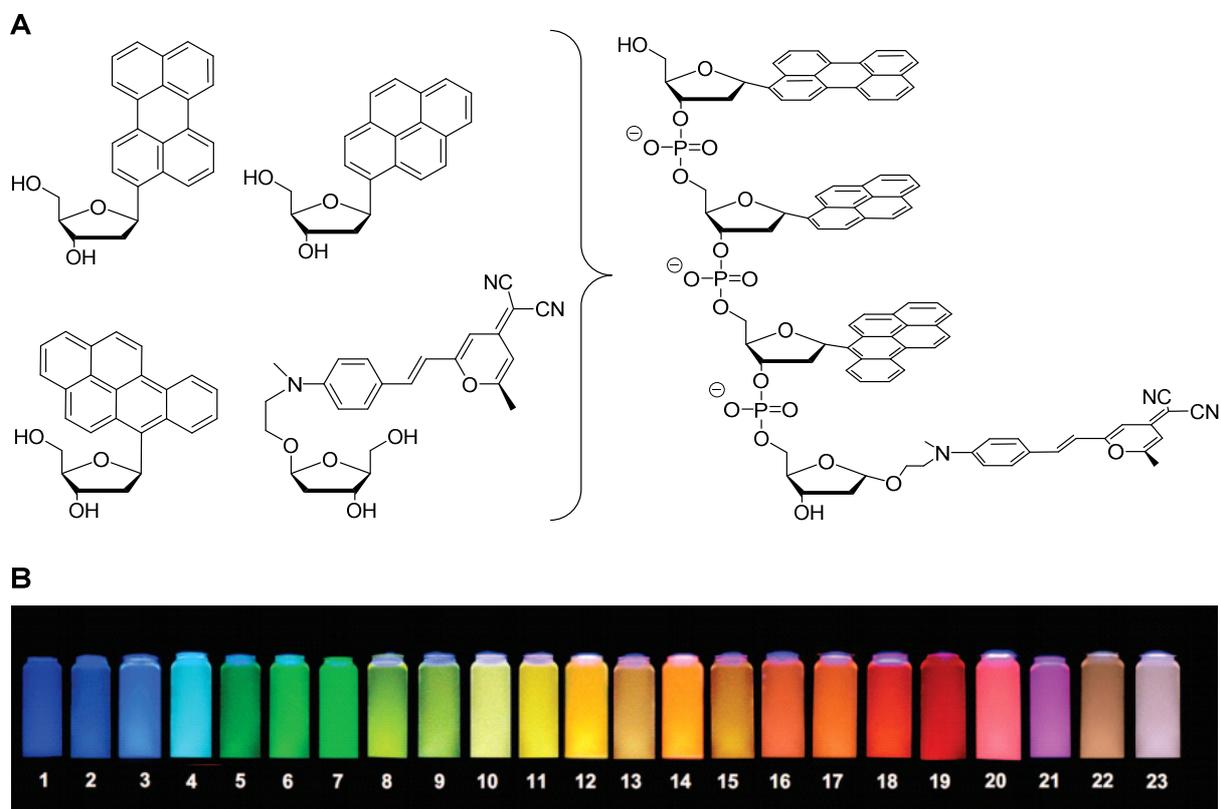


Abbildung 8: Beispielhafte Oligodesoxyfluoroside (ODFs) von KOOL *et al.*^[41-44] A) Strukturen der verwendeten Monomere und ein daraus resultierendes Tetrafluor-ODF; B) Fluoreszenzfarben eines Systems aus 23 multispektralen ODFs bei Anregung mit $\lambda = 354 \text{ nm}$.³

KOOL *et al.* synthetisierten auf diese Weise verschiedene C-Nucleoside mit unterschiedlichen planaren, aromatischen Systemen, welche zu sogenannten Oligodesoxyfluorosiden (ODF) verknüpft wurden (siehe Abbildung 8).^[41-42] In einem ersten kombinatorischen Versuch wurden tetramere ODFs aus vier verschiedenen Chromophoren hergestellt, wobei eine

³ (B) reprinted with permission from [48] Copyright 2009 American Chemical Society.

Bibliothek mit 256 ODFs erhalten werden konnte.^[41] Spektroskopische Untersuchungen zeigten, dass sich die optischen Eigenschaften der erhaltenen ODFs deutlich von den Eigenschaften der einzelnen C-Nucleoside unterscheiden. Die ODFs verhalten sich eher wie ein großes Chromophor, anstatt wie eine Kombination aus ihren einzelnen Monomeren, und weisen große Stokes-Verschiebungen sowie hohe molekulare Extinktionskoeffizienten auf. Diese Änderung ist auf das DNA-Gerüst zurückzuführen, welches die Chromophore in eine strukturierte Anordnung in räumliche Nähe zueinander bringt und so starke photophysikalische Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren begünstigt.^[45] In weiteren Experimenten konnte eine Bibliothek mit 14000 ODFs aus 11 verschiedenen Chromophoren hergestellt werden.^[43] Aus dieser Bibliothek wurden 23 ODFs ausgewählt, um ein System zu schaffen, das bei nur einer Anregungswellenlänge das ganze sichtbare Spektrum mit seiner Emission abdeckt.^[44, 46-47] Dies ist vor allem bei der fluoreszenten Zellbildgebung von Vorteil, da der apparative Aufwand für eine simultane Detektion verschiedener Emissionen durch die Verwendung der selben Anregungswellenlänge deutlich gesenkt wird.

Den Arbeitsgruppen von SEITZ und LEUMANN gelang es Biphenylgruppen in DNA einzubringen.^[48-51] Wurden mehrere Biphenylmodifikationen alternierend in die beiden Einzelstränge eingebaut, konnte eine Stabilisierung der DNA Doppelhelix beobachtet werden. Während der Hybridisierung der beiden Einzelstränge bildete sich eine reißverschlussartige Chromophor-Struktur im Inneren der DNA aus, welche die Doppelhelix über hydrophobe Chromophor-Chromophor-Wechselwirkungen stabilisiert. Die resultierende DNA-Architektur wurde unter anderem über CD-Spektroskopie untersucht, wobei gezeigt werden konnte, dass die Biphenylmodifikationen nahezu keinen Einfluss auf die B-Form der Doppelhelix haben. In einer ähnlichen Arbeit gelang es SEITZ *et al.*, Binaphthylgruppen als nicht-planare Nucleobasensurrogate in DNA einzubauen.^[51] Auch hier konnte eine reißverschlussartige Anordnung der Binaphthylmodifikationen im Inneren der DNA Doppelhelix beobachtet werden, was zu einer Stabilisierung der Doppelhelix über hydrophobe Chromophor-Chromophor-Wechselwirkungen führte. Eine Besonderheit dieses Systems ist, dass keine Fluoreszenzlöschung stattfindet, weshalb es für die Anwendung in optoelektronischen DNA-Systemen von besonderem Interesse ist.

2.1.1.3. Modifikation der 2'-Position von Ribosebausteinen

Eine weitere Möglichkeit, Chromophor-Oligonukleotid-Architekturen herzustellen, stellt die Anknüpfung der Chromophore an die 2-Hydroxygruppe der Riboseeinheit von RNA-Bausteinen dar. YAMANA *et al.* nutzten einen kurzen Methoxylinker, um Pyren an Adenosin^[52] (**PyA**) oder Uridin^[53] (**PyU**) zu knüpfen und so RNA-Oligonukleotide mit bis zu vier Pyreneinheiten zu erhalten (siehe Abbildung 9). Wurden die RNA-Stränge mit unmodifizierten Einzelsträngen hybridisiert, wurden Duplexe (**RNA1**) erhalten die eine starke Excimerfluoreszenz zeigen, wobei die Intensität dieser mit der Anzahl der Pyrene im Duplex ansteigt. Diese Eigenschaften wurden mit einer helikalen Anordnung der Pyrene entlang der kleinen Furche begründet und über moleküldynamische Berechnungen bestätigt. Enthielt auch der komplementäre Gegenstrang Pyrenmodifikationen, konnte nach der Hybridisierung der beiden Stränge (**RNA2**) erneut eine starke Excimeremission beobachtet werden.^[54] Moleküldynamische Berechnungen sowie CD-spektroskopische Untersuchungen deuten hier jedoch auf eine Reißverschlussartige Anordnung der Chromophore entlang der kleinen Furche hin. KORSHUN *et al.* untersuchten den Einfluss des Linkers auf das System.^[55] Ein Austausch des kurzen Methoxylinker gegen eine starre Carbamatstruktur führte zur Lokalisierung des Pyrenstapels in der großen anstatt der kleinen Furche.

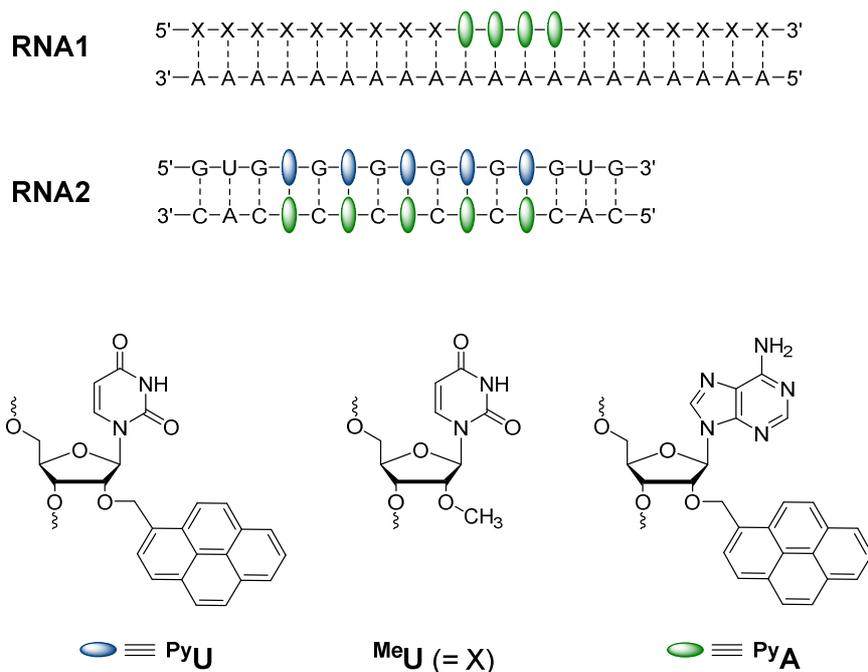


Abbildung 9: RNA-Sequenzen und Strukturen der modifizierten Nucleoside von YAMANA *et al.*.^[52-54]

2.1.1.4. Modifikation der DNA-Base

Soll die DNA-Struktur trotz Einbau von Chromophoren erhalten werden, bietet sich eine Modifikation der DNA-Base an. Dabei muss jedoch die Position der Modifikation mit Sorgfalt gewählt werden. Erfolgt der Einbau des Chromophors an der C8-Position von Purinen, führt dies zu einer *syn*-Konformation der Nukleoside und die Basenpaarung wird gestört.^[56] Wird das Chromophor jedoch an der C7-Position von 7-Deazapurinen oder an der C5-Position von Pyrimidinen angebracht, bleibt die natürliche *anti*-Konformation des Nukleosids bestehen und die Basenpaarung erhalten.^[57-58]

Auf diese Weise konnten STULZ *et al.* die Bildung von Porphyrin-Stapeln an DNA erreichen. Bis zu elf Porphyrine wurden in einen Einzelstrang eingebracht, indem Diphenylporphyrine^[59] und Tetraphenylporphyrine^[60] über eine Acetylenbrücke an Uridin geknüpft wurden (siehe Abbildung 10). Der entstehende Stapel zeigte bereits im Einzelstrang eine helikale Anordnung. Wurden die Porphyrine so auf die zwei Gegenstränge verteilt, dass sich bei Hybridisierung eine reißverschlussartige Struktur ausbildete, fand eine Stabilisierung der DNA-Helix aufgrund von Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren statt.^[61] Ein Energietransfer innerhalb des Porphyrinstapels wurde über eine Löschung der Zn-Porphyrin-Fluoreszenz durch metallfreies Porphyrin bewiesen.

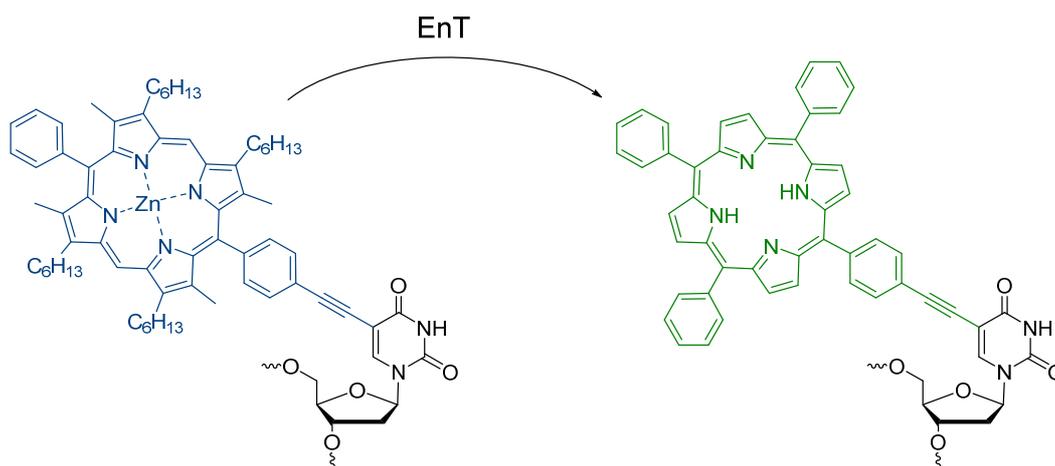


Abbildung 10: Diphenylporphyrin- und Tetraphenylporphyrin-modifizierte 2'-Desoxyuridine von STULZ *et al.* mit schematischer Fluoreszenzlöschung durch Energietransfer von Zn-Porphyrin auf das metallfreie Tetraphenylporphyrin.^[59-61]

WAGENKNECHT *et al.* knüpften Phenothiazin^[62] und Pyren^[63] an die 5-Position von 2'-Desoxyuridin, um DNA-Duplexe mit bis zu fünf Chromophoren zu erhalten. Beim Einbau von

fünf Phenothiazin-Einheiten bildeten sich rechtsgängige Chromophorstapel in der großen Furche aus und eine stark rot-verschobene Fluoreszenz konnte beobachtet werden.^[62] Auch der Einbau von fünf Pyrenen führte zu einer rechtsgängigen, hochgeordneten Struktur des Chromophorstapels, in dem elektrostatische und π - π -Wechselwirkungen zwischen den Pyrenen stattfinden können, was einen EnT ermöglicht.^[63] Dies spiegelt sich in den aufgenommenen Fluoreszenzspektren wieder: Für den Strang mit fünf Pyreneinheiten ist, verglichen mit dem einfachmodifizierten Strang, eine Verzehnfachung der Fluoreszenzintensität zu beobachten, welche im Duplex sogar noch weiter gesteigert werden konnte. In Übereinstimmung mit den bisherigen Ergebnissen führte eine falsche Basenpaarung von lediglich einem Pyren zu einer Störung der Chromophoranordnung und damit zu einer signifikanten Abnahme der Fluoreszenz. Dies zeigt, dass ein EnT ausschließlich in einem hochgeordneten System stattfinden kann.

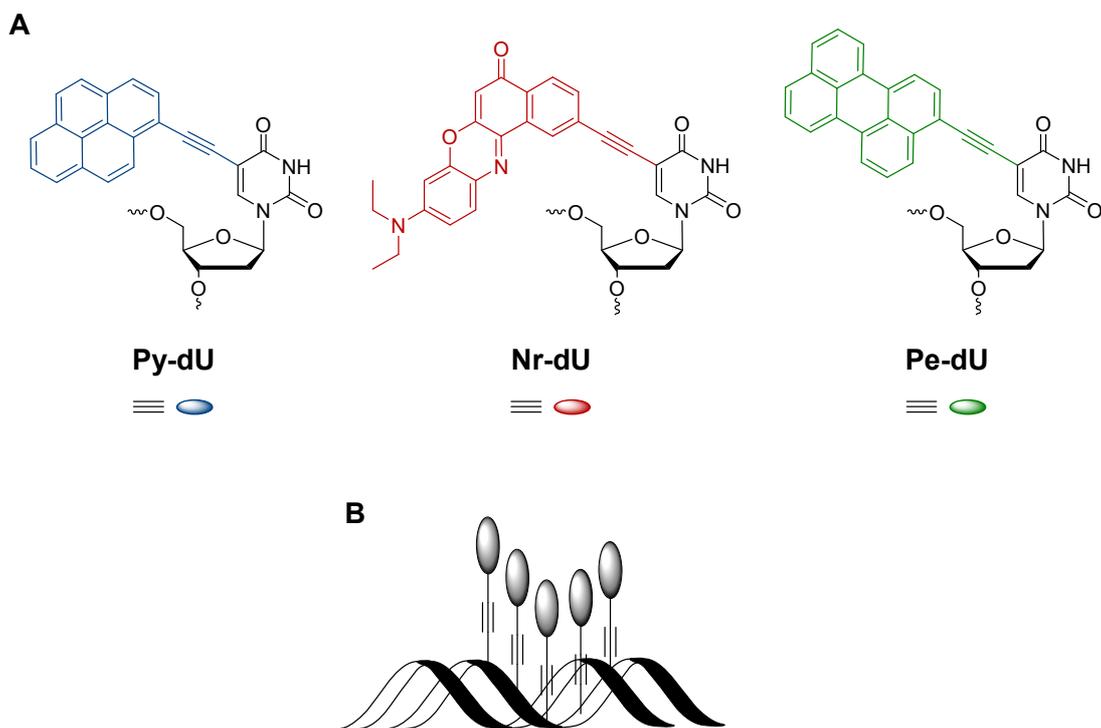


Abbildung 11: Kovalente Chromophor-DNA-Strukturen nach WAGENKNECHT *et al.*^[15, 64-65] A) Strukturen der verwendeten Chromophornucleoside **Py-dU**, **Nr-dU** und **Pe-dU**; B) Schematischer Aufbau einer rechtsgängigen Helix bei Einbau von fünf **Py-dU** oder **Nr-dU** Einheiten.

In weiteren Studien wurden Ethinylpyren^[66] (**Py-dU**) und Ethinylnilrot^[65] (**Nr-dU**), wie zuvor beschrieben, über die 5-Position von 2'-Desoxyuridin in DNA eingebaut (siehe Abbildung 11). Der Einbau von bis zu fünf **Py-dU** ergab einen nicht-linearen Anstieg der Pyrenabsorption aufgrund von excitonischen Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren. Die Ausbildung

einer rechtsgängigen helikalen Orientierung konnte hier jedoch nur beobachtet werden, wenn mehr als drei benachbarte **Py-dU** im Doppelstrang vorhanden waren und die komplementäre Gegenbase gewählt wurde. Hierbei wurde eine Stabilisierung der DNA, also eine Schmelzpunkterhöhung, aufgrund von π - π -Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren, beobachtet. Auch in den Doppelsträngen mit drei bis fünf benachbarten **Nr-dU** konnte eine rechtsgängige Chromophoranordnung festgestellt werden. Dabei bildeten sich H-Aggregate aus, was zu einer starken hypsochromen Verschiebung der Absorption und zur vollständigen Fluoreszenzlöschung führte.^[5] Der Einbau der Nilrot-Einheiten führte hierbei jedoch zu einer Destabilisierung der DNA (Schmelzpunkterniedrigung).

Wurden die beiden Chromophore benachbart in DNA eingebaut, konnte ein FRET beobachtet werden.^[67] Selektive Anregung des Donors bei $\lambda = 380$ nm führte zu einer Löschung der Donor-Fluoreszenz bei gleichzeitiger Ausbildung einer neuen Fluoreszenzbande bei $\lambda = 615$ nm. Die FRET-Effizienz hing auch hier, wie zuvor von ASANUMA *et al.* beschrieben,^[31] von der relativen Orientierung der Chromophore zueinander ab. Während im Einzelstrang eine FRET-Rate von $k_{ET} = 5.2 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ gemessen werden konnte, nahm diese im Doppelstrang aufgrund einer ungünstigeren Orientierung der Chromophore zueinander auf $k_{ET} = 1.7 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ ab. Aufgrund dessen nahm die Fluoreszenz bei $\lambda = 615$ nm ab und die Donorfluoreszenz bei $\lambda = 440$ nm stieg an. Es ergab sich ein Intensitätsverhältnis der beiden Emissionen von nahezu 1 ($I_{440 \text{ nm}/615 \text{ nm}} = 0.96$), was einer Weißlichtemission entspricht, weshalb diese Stränge auch *Weißlicht-emittierende-DNA* (WED) genannt werden.^[67] Aufgrund ihrer Eigenschaft, die FRET-Effizienz und damit die Emissionsfarbe durch Hybridisierung und Dehybridisierung der DNA zu steuern, fanden WEDs unter anderem Verwendung als molekulare Thermometer.

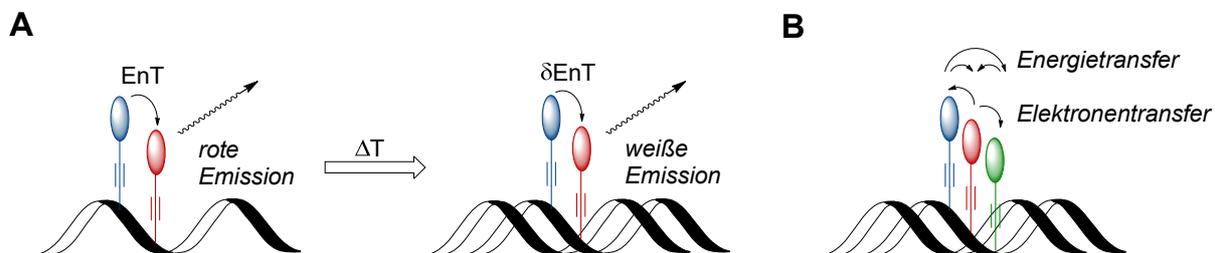


Abbildung 12: Energie- und Elektronentransferprozesse in DNA. A) *Weißlicht-emittierende DNA* (WED) mit vollständigem Energie- und Elektronentransfer und somit roter Emission im Einzelstrang und partiellem Energie- und Elektronentransfer mit weißer Emission in Doppelstrang;^[67] B) Energie- und Elektronentransferkaskade in einem System mit **Py-dU** (blau), **Nr-dU** (rot) und **Pe-dU** (grün) (Strukturen der Nucleoside siehe Abbildung 11)^[64].

In weiteren Studien wurde dieses System durch den Einbau von Perylen (ebenfalls als dU-Modifikation) als drittes Chromophor erweitert (siehe Abbildung 12).^[64] Die optischen Eigenschaften des Strangs konnten dabei über den Abstand der Chromophore gesteuert werden. Wurden diese durch zwei A-T-Paare voneinander getrennt, fand nach selektiver Anregung von Pyren ein Energietransfer von Pyren über Perylen auf Nilrot statt und eine Nilrotfluoreszenz wurde beobachtet. Im Gegensatz dazu konnte bei benachbartem Einbau der Chromophore, ohne trennende A-T-Paare, nach selektiver Anregung von Pyren ein Elektronentransfer von Nilrot über Perylen auf Pyren vermutet werden, welcher zu einem ladungstrennten Zustand und somit zu einer vollständigen Löschung der Nilrotfluoreszenz führte. Innerhalb dieses Systems kann also durch geschickte Distanzkontrolle zwischen einem gerichteten Energietransfer und einem gerichteten Elektronentransfer gewählt werden. Eine exakte Steuerung dieser Prozesse ist von grundlegender Bedeutung für eine mögliche Anwendung der Chromophor-DNA-Architekturen in der chemischen Photokatalyse oder in optoelektronischen Systemen.

2.1.2. Supramolekulare Chromophor-DNA-Strukturen

In den vorherigen Kapiteln wurde der kovalente Einbau von Chromophoren in DNA sowie der Aufbau kovalenter DNA-Multichromophor-Architekturen beschrieben. Zwar ermöglicht der kovalente Einbau eine einfache und präzise Kontrolle über die Chromophorsequenz und die Position der Chromophore im Stapel, jedoch ist die Synthese und Aufarbeitung von mehrfach modifizierter DNA aufwändig und nicht sehr effizient. Wie bereits zuvor erwähnt, werden Oligonukleotide größtenteils über die Phosphoramiditmethode hergestellt.^[9-11] Die artifiziellen Nukleoside müssen dabei sowohl säure- und basenstabil als auch oxidationsbeständig sein, was eine ausgereifte Schutzgruppenstrategie notwendig macht. Unmodifizierte Oligonukleotidstränge können auf diese Weise bis zu einer Länge von 150 Basen effizient hergestellt werden, bei längeren Strängen bricht die Ausbeute hingegen stark ein.^[68] Sollen chromophormodifizierte Stränge hergestellt werden, so treten bereits ab 5-10 Bausteinen Löslichkeitsprobleme während der Synthese auf. Diese Probleme können teilweise durch postsynthetische Modifikationen^[69] oder chemische Ligation^[70] umgangen werden, wobei jedoch die zeitaufwändige Synthese sowie die relativ hohen Kosten der Bausteine die Anwendung der Phosphoramiditmethode einschränken.

Eine potente Methode zur Darstellung von Multichromphor-DNA-Architekturen, die derartige Problematiken vermeidet, ist die nicht-kovalente, supramolekulare Selbstassemblierung von Chromophoren entlang eines DNA-Templats. Dieses zeichnet sich durch seine hochgeordnete, regelmäßige Struktur, sowie seine Programmierbarkeit durch die kanonische Basenpaarung aus.^[71-72] Die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Nukleobasen liefern dabei ein gutes Bindungsmotiv für die Anlagerung der Chromophore. Der entstehende Chromophorstapel wird zusätzlich durch π - π -Wechselwirkungen stabilisiert. Ein großer Vorteil dieser Methode ist die einfache Herstellung der Aggregate ohne den aufwändigen Einbau der Chromophore in einzelsträngige DNA. So konnten beispielweise supramolekulare Lichtsammelsysteme durch die Interkalation von Chromophoren in DNA-Duplexe und Quadruplexe hergestellt werden.^[73-76] Ziel dieser Arbeit ist es jedoch, die Assemblierung von Grund auf steuern zu können, also beispielweise eine sequenzkontrollierte Anlagerung mehrerer Chromophore zu ermöglichen. Da dies nur mit einzelsträngiger DNA als Templat und nicht durch Interkalation in Duplexe erreicht werden kann, soll nachfolgend die Selbstassemblierung von Chromophoren an DNA-Einzelsträngen genauer betrachtet werden.

SCHENNING *et al.* untersuchten die geordnete Anlagerung von Naphthalinen entlang eines Oligonukleotidstrangs (siehe Abbildung 13).^[3] Hierfür wurden die Chromophore gemäß dem Bindungsmotiv mit Diaminotriazin modifiziert, um eine Assemblierung entlang des verwendeten T₄₀-Templats zu ermöglichen. Die erfolgreiche Anlagerung von **NT1** wurde dabei über CD-Spektroskopie durch Chiralitätsübertrag vom Templat auf die achiralen Chromophore nachgewiesen. Bindungsstudien bei verschiedenen Konzentrationen zeigten, dass sowohl die Wechselwirkung zwischen dem Templat und den Monomeren als auch Wechselwirkungen unter den Monomeren selbst für eine erfolgreiche Anlagerung wichtig sind. Liegen schwache Monomer-Monomer-Wechselwirkungen vor, findet die Assemblierung aufgrund fehlender π - π -Wechselwirkungen im Chromophorstapel nicht statt. Ist die Monomer-Templat-Wechselwirkung zu schwach ausgeprägt, bilden sich ungeordnete Monomer-Aggregate ohne Templatbeteiligung.

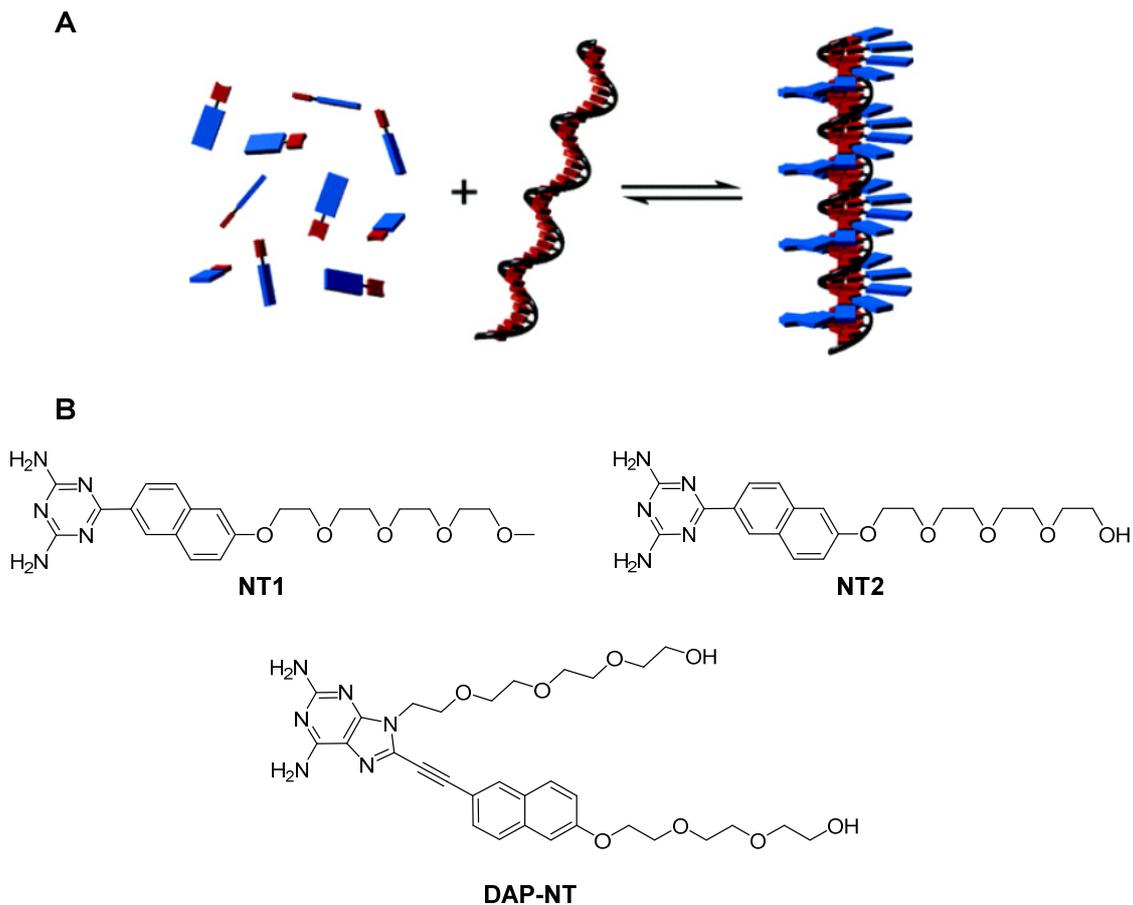


Abbildung 13: Anlagerung von modifizierten Naphthalinen an einen dT₄₀-Templatstrang.^[3, 77-79] A) Schematische Darstellung der Anlagerung (blau: Naphthaline, rot: Bindungsmotiv, schwarz: DNA-Einzelstrang);⁴ B) Strukturen der mit den Bindungsmotiven modifizierten Naphthaline **NT1**, **NT2** und **DAP-NT**.

Um diese Parameter ideal anzupassen und die Bildung von reinen Monomer-Aggregaten zu unterdrücken, führten SCHENNING *et al.* eine, die Monomer-Monomer-Wechselwirkung abschwächende, Hydroxygruppe ein (**NT2**).^[78] Anhand des neuen Systems wurde der Einfluss der Templatlänge auf die Anlagerung untersucht. Hierbei konnte gezeigt werden, dass bei einer Länge unter zehn Basen deutlich höhere Konzentrationen für eine vollständige Besetzung benötigt werden als für längere Template. Dies lässt auf einen starken kooperativen Effekt während der Anlagerung schließen: Durch π - π -Wechselwirkungen stabilisieren bereits angelagerte Naphthalin-Monomere das entstehende Aggregat und die Anlagerung weiterer Bausteine wird begünstigt, sobald der Chromophorstapel eine gewisse Größe erreicht. Laut theoretischen Berechnungen wird eine Mindesttemplatlänge von acht Nukleotiden für eine

⁴ (A) reprinted with permission from [3] Copyright 2007 American Chemical Society.

erfolgreiche Assemblierung benötigt, da die kooperativen Effekte nur dann ausreichend groß sind, um das entstehende Aggregat zu stabilisieren.

In weiteren Studien sollte die Stabilisierung des Aggregats durch Naphthaline mit einem größeren π -System erhöht werden, weshalb die Diaminotriazin-Modifikation gegen ein Diaminopurinsystem ausgetauscht wurde (**DAP-NT**).^[79] Bei der Anlagerung der neuen Monomere ließ sich eine interessante Abhängigkeit der helikalen Orientierung des Aggregats vom pH-Wert der Lösung feststellen: pH-Werte >9 ergaben eine rechtsgängige Orientierung, während sich bei pH-Werten <9 eine linksgängige Helix ausbildete. Hervorgerufen wird dies durch die unterschiedlichen Strukturen der rechts- und linksgängigen DNA. Die linksgängige DNA liegt als Z-DNA vor und besitzt größere Abstände im Duplex, welche zu geringeren Abstoßungen der protonierten Aminogruppen durch elektrostatische Wechselwirkungen führen.

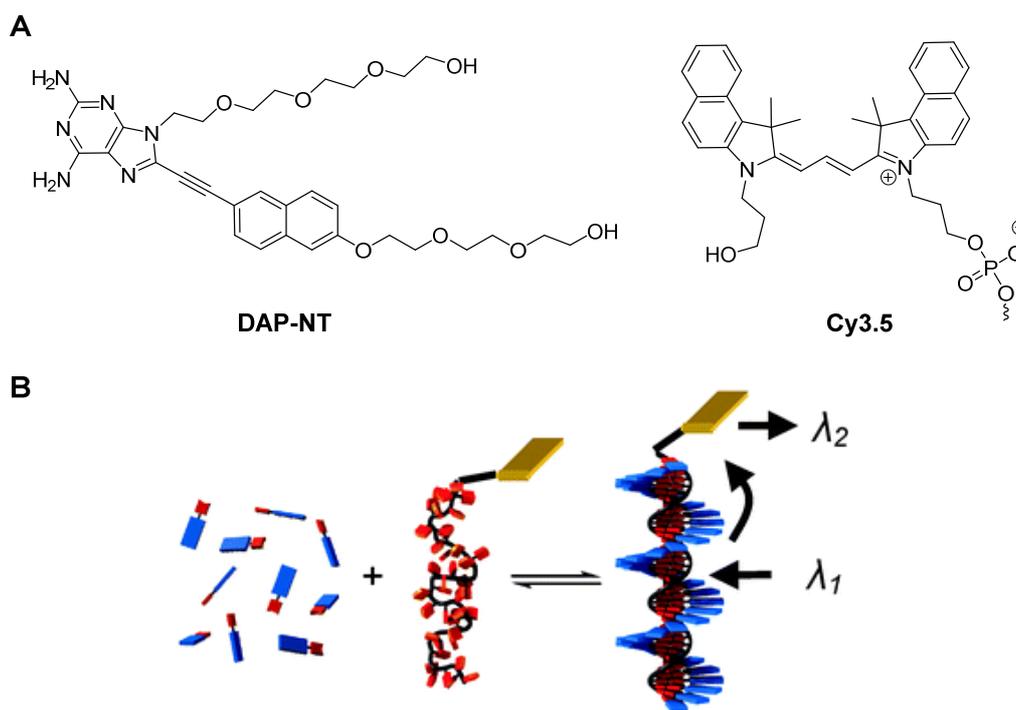


Abbildung 14: Gerichteter ET entlang eines eindimensionalen Chromophorstapels an DNA nach SCHENNING *et al.*^[77]. A) Strukturen der verwendeten Chromophore; B) Schematische Darstellung des Aggregats und den stattfindenden photophysikalischen Prozessen.⁵

⁵ Copyright Bildabschnitt B: Chemical communications by Royal Society of Chemistry (Great Britain) Reproduced with permission of ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY in the format Thesis/Dissertation via Copyright Clearance Center.

Erfolgte die Anlagerung der Naphthalin-Monomere an Oligothymidin-Templatstränge mit einem am 5'-Ende kovalent angebundenen Cyanin-Farbstoff (**Cy3.5**), fand ein gerichteter Entlang des eindimensionalen Chromophorstapels statt (siehe Abbildung 14):^[77] Während die Anregung der Naphthalin-Monomere zu einer reinen Monomer-Emission führte, konnte nach der Zugabe des T_{40} /**Cy3.5**-Templats ein zeitaufgelöster Rückgang der Monomer-Emission und ein Anstieg der **Cy3.5**-Emission bei $\lambda = 625$ nm beobachtet werden. Wurde nur das Templat angeregt, konnte lediglich eine schwache **Cy3.5**-Emission gemessen werden.

Basierend auf dem gleichen Bindungsmotiv untersuchten BALAZ *et al.* den Einfluss der Anlagerungsbedingungen auf die helikale Orientierung eines Porphyrin-Aggregats (siehe Abbildung 15).^[80-81] Dafür wurden die Monomere zusammen mit dem Templatstrang auf 85 °C erhitzt und anschließend auf 20 °C abgekühlt, wobei eine linksgängige M-Helix entstand. Eine rechtsgängige P-Helix bildete sich in Gegenwart von Natriumchlorid unter ansonsten gleichen Bedingungen aus. Wurde die Probe mit Natriumchlorid hingegen schnell abgekühlt, konnte erneut die Bildung einer linksgängigen Helix beobachtet werden.

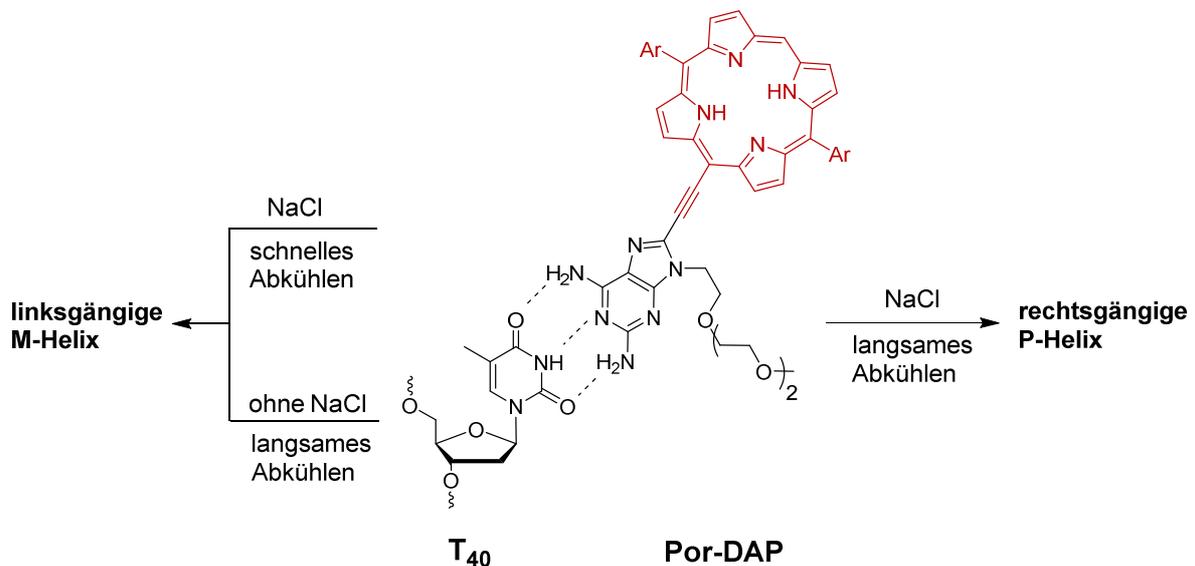


Abbildung 15: Anlagerung von Diaminopurin-modifizierten Porphyrinen an einem T_{40} -Templatstrang und Kontrolle der resultierenden helikalen Orientierung durch die Anlagerungsbedingungen.^[80-81]

Durch die Anlagerung von kovalent an 2'-Desoxyuridin gebundenen Magnesium(II)-tetraazaporphyrinen (**Mg-TAP**) an Oligo-2'-desoxyadenosin-Stränge konnten von STULZ *et al.* Chromophor-Aggregate mit interessanten Eigenschaften für bioanalytische Anwendungen hergestellt werden.^[82] Aufgrund der schlechten Löslichkeit der Monomere in

wässrigen Lösungen wurden die Anlagerungsversuche nach HUD *et al.* in dem stark eutektischen Lösungsmittel Glycholin (Glycerol:Cholinchlorid = 4:1) durchgeführt, in welchem schon DNA-Origamis hergestellt wurden.^[83] Über spektroskopische Untersuchungen konnte die Bildung von hochgeordneten chiralen **Mg-TAP**-Stapeln entlang des Templatstrangs nachgewiesen werden, wobei ein deutlicher Anstieg der Monomerfluoreszenz beobachtet wurde. Die Intensität der Fluoreszenz steigt dabei mit zunehmender Länge des dA-Blocks an. Diese Erkenntnis wurde genutzt, um die Anzahl an kurzen repetitiven dA_n-Blöcken in einem DNA-Strang über eine selektive Fluoreszenzantwort zu bestimmen. Dies ist vor allem in Hinblick auf die forensische Bestimmung des genetischen Fingerabdrucks für die Analyse von Mikrosatelliten (*short tandem strands*) von Bedeutung.

WAGENKNECHT *et al.* untersuchten die Anlagerung von **Py-dU**^[6] und **Nr-dU**^[5] entlang von Oligo-2'-desoxyadenosinen. Dabei zeigte sich eine selektive Bindung von **Py-dU** an das komplementäre dA₁₇-Templat. Während das Monomer ohne Templat sowie mit dem nicht-komplementären T₁₇-Oligonukleotid aus wässriger Lösung ausfiel, blieb das mit dA₁₇ entstehende Aggregat in Lösung. Beim Vergleich mit dem zuvor beschriebenen kovalenten Einbau von fünf benachbarten Ethinylpyrenen,^[66] die an die 5-Position von 2'-Desoxyuridin geknüpft wurden, zeigten sich zunächst recht ähnliche optische Eigenschaften. Weitergehende Untersuchungen mittels CD-Spektroskopie ergaben jedoch interessanterweise eine inverse, linksgängige helikale Orientierung des angelagerten Chromophorstapels. Das gleiche Ergebnis konnte für die Anlagerung von **Nr-dU** erhalten werden. Auch hier zeigten sich gleiche optische Eigenschaften wie beim mehrfachen kovalenten Einbau, wobei auch hier eine invertierte und damit linksgängige helikale Anordnung zu beobachten war. Zusätzlich wurde der Beladungsgrad durch Titrationsexperimente untersucht, wobei eine vollständige Besetzung des Templats festgestellt werden konnte.

Darüber hinaus wurden verschiedene Mischungen von **Py-dU** und **Nr-dU** (20:0 – 0:20) an ein T₂₀-Templat angelagert (siehe Abbildung 16A).^[7] Für Aggregate mit Mischungsverhältnissen zwischen **Py-dU:Nr-dU** = 10:10 und 2:18 konnte dabei sowohl eine Pyren- als auch eine Nilrotfluoreszenz beobachtet werden, was auf einen EnT von Ethinylpyren auf Ethinylnilrot im Chromophorstapel schließen ließ.

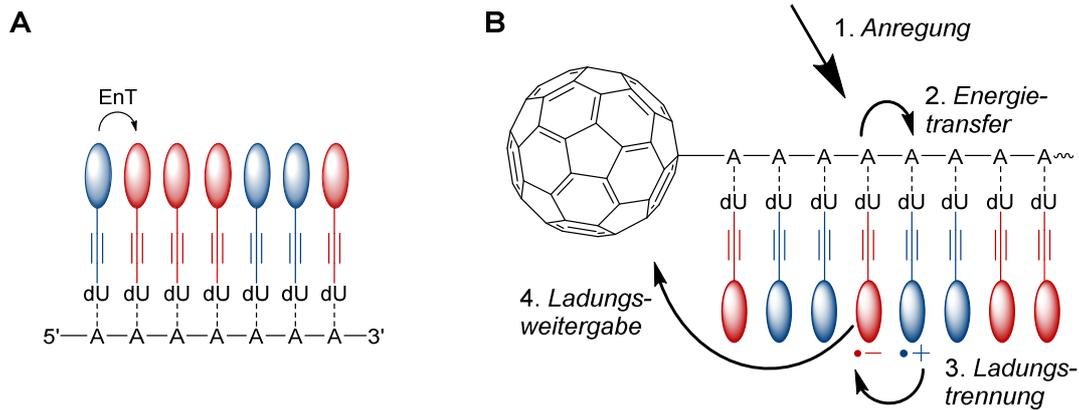


Abbildung 16: Supramolekulare Chromophor-DNA-Architekturen von WAGENKNECHT *et al.*^[5-7] A) Schematische Darstellung eines Aggregats von **Py-dU** und **Nr-dU** entlang eines dA₂₀-Templats mit Energietransfer von Pyren auf Nilrot; B) Fulleren-Chromophor-DNA-Architektur als photoaktive Schicht in Solarzellen.^[4] (**Py-dU** (blau), **Nr-dU** (rot); Strukturen siehe Abbildung 11).

Sollen Chromophor-DNA-Aggregate in opto- und nanoelektronischen Anwendungen zum Einsatz kommen, müssen Hybridstrukturen mit kohlenstoffbasierten Materialien hergestellt werden. WAGENKNECHT *et al.* nutzten einen C₆-Linker, um Fulleren am 5'-Ende eines Oligo-2'-desoxyadenosin-Templats anzubringen und lagerten die oben beschriebenen **Py-dU-Nr-dU**-Mischungen an dieses an (siehe Abbildung 16B).^[4] Spektroskopische Untersuchungen zeigten einen gerichteten ET gefolgt von einem EnT in die entgegengesetzte Richtung im Chromophorstapel, wobei ein Exciton erzeugt wurde. Dieses ist nicht nur im Chromophorstapel lokalisiert, sondern dissoziiert, wobei ein Elektron auf das Fulleren übertragen wird. Fullerene werden aufgrund ihrer Eigenschaften oft als Elektronenakzeptoren und Transportdomänen in organischen Solarzellen verwendet.^[84] Auch WAGENKNECHT *et al.* verwendeten ihre Hybrid-Aggregate erfolgreich als photoaktive Schicht in Solarzellen. Bei einer Bestrahlungsstärke von einer Sonneneinheit ergab sich eine Spannung von 670 mV und somit ein Wirkungsgrad von 2 ‰. Für eine Anwendung ist dies noch zu gering, dennoch zeigt dieses Ergebnis deutlich das Potential DNA-basierter Nanomaterialien.

2.2 Molekulare Photoschalter

Im zweiten Teil dieser Arbeit wird die Entwicklung neuer Photoschalter sowie einer schaltbaren Chromophor-DNA-Architektur untersucht. Das nachfolgende Kapitel soll deswegen einen Einblick in das Thema Photoschalter und insbesondere die hier verwendeten Diarylethene geben.

2.2.1. Allgemeines

Das grundlegende Prinzip, auf das alle molekularen Photoschalter aufbauen, ist der Photochromismus. Dieser bezeichnet die reversible photoinduzierte Transformation eines Moleküls zwischen seinen beiden Isomeren mit unterschiedlichen Eigenschaften.^[85-87] Es kann dabei zwischen einer sogenannten P-Typ- und T-Typ-Photochromie unterschieden werden. Während bei beiden Varianten die Hinreaktion durch Licht (typischerweise im UV-Bereich) induziert wird, unterscheiden sie sich hinsichtlich der Rückreaktion: So kann beim T-Typ die Rückreaktion thermisch und photochemisch ablaufen, beim P-Typ ist sie ausschließlich durch Licht induzierbar.^[88] Zusätzlich kann zwischen positiver und negativer Photochromie unterschieden werden. Positiv photochrome Verbindungen werden bei der photoinduzierten Hinreaktion farbig, negative werden entfärbt.^[89-90] Neben den optischen Eigenschaften werden durch den Schaltprozess auch die Polarisation, die Ladungsverteilung und die Geometrie der Schalter verändert.^[91] Letztere ist dabei für die, in dieser Arbeit untersuchte, Verwendung in Chromophor-DNA-Architekturen von zentraler Bedeutung.

Bevor anschließend die relevantesten Schalterklassen kurz vorgestellt werden, sollen hier zunächst wichtige Eigenschaften für die Charakterisierung von photochromen Systemen vorgestellt werden:

Die Ermüdungsresistenz (engl. *fatigue resistance*) ist ein Maß für die Stabilität und somit die Lebensdauer des Schalters. Dabei wird gemessen, wie viele Schaltzyklen vom Photoschalter durchlaufen werden können, ohne dass es durch Nebenreaktionen zu einer signifikanten Zerstörung des Schaltsystems kommt.

Ein wichtiges Maß für die Leistungsfähigkeit von Photoschaltern stellt der sogenannte photostationäre Zustand dar. Unter Belichtung mit Licht einer bestimmten Wellenlänge stellt

sich ein Gleichgewicht zwischen Hin- und Rückreaktion und somit zwischen den beiden schaltbaren Isomeren ein. Dieses Gleichgewicht wird photostationärer Zustand genannt und gibt an, zu welchem Prozentsatz das photochrome System in der gewünschten Form vorliegt. Dieser Parameter ist neben der Anregungswellenlänge und den Extinktionskoeffizienten der einzelnen Isomere bei dieser Wellenlänge maßgeblich von den Reaktionsquantenausbeuten der einzelnen Schaltreaktionen abhängig. Letztere stellen das Verhältnis zwischen der Anzahl der gebildeten Moleküle und der Anzahl der von der Probe absorbierten Photonen dar. Die Berechnung der Schaltquantenausbeuten ist in Kapitel 8.4 genauer erläutert.

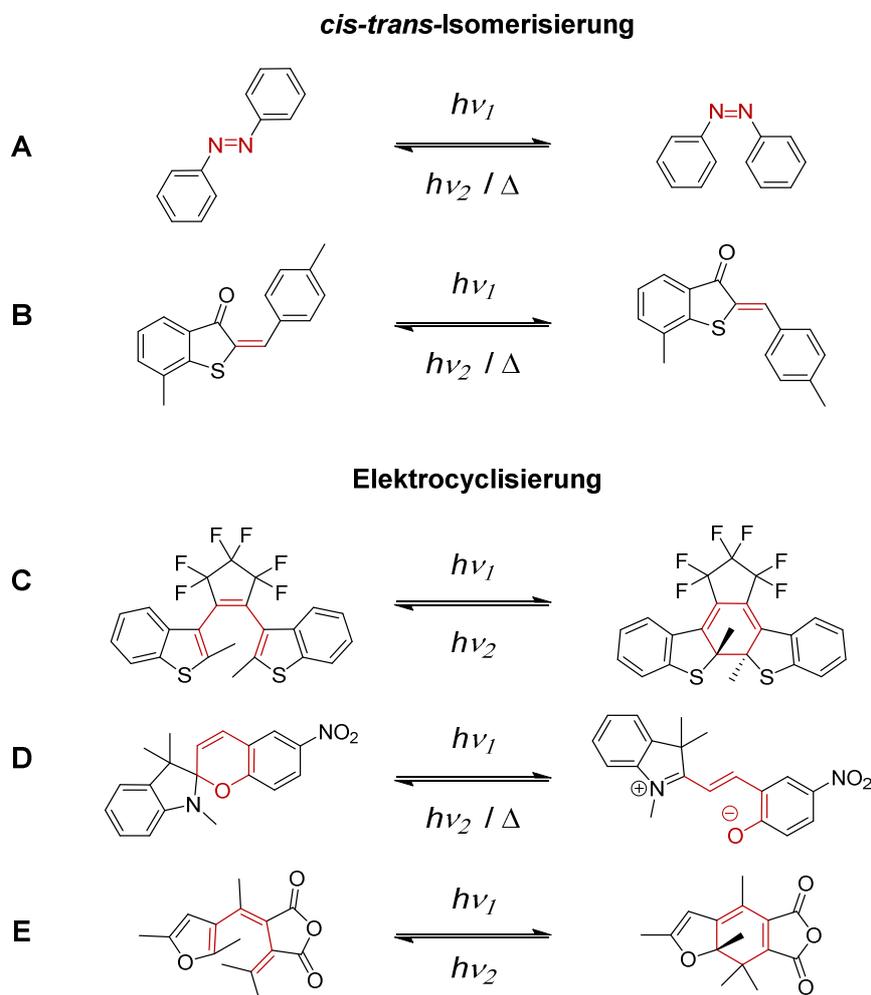


Abbildung 17: Übersicht über einige Schaltertypen. A) Azobenzole^[92-93]; B) Hemithioindigos^[94]; C) Diarylethene^[85, 91]; D) Spiropyrene^[95] und E) Furylfulgide^[96]. Die an den Schaltprozessen beteiligten Atome und Bindungen sind in Rot dargestellt.

In Abbildung 17 ist eine Übersicht über einige Schalterklassen gezeigt. Diese können über den Schaltmechanismus grob in zwei Gruppen geteilt werden. Bei den Azobenzolen und den Hemithioindigos erfolgt der Schaltvorgang über *cis-trans*-Isomerisierung, während bei Diarylethenen, Spiropyranen und Furylfulgiden eine Elektrocyclisierung bzw. eine Cycloreversion abläuft.

Eine der wichtigsten Schalterklassen stellen die Azobenzole dar. Sie zeichnen sich durch ihre relativ einfache Synthese, hohe Isomerisierungsquantenausbeuten sowie einen gut gelegenen photostationären Zustand aus. Zudem können während des Schaltvorgangs eine große Geometrieänderung und Änderung des Dipolmoments beobachtet werden.^[97] Die *trans*-Isomerisierung erfolgt unter Anregung bei $\lambda = 320$ nm, die Rückreaktion entweder durch thermische Anregung oder durch Bestrahlung bei $\lambda > 420$ nm. Die Geschwindigkeiten der einzelnen Reaktionen und die thermische Stabilität der *trans*-Form lassen sich dabei über Substitution des Schalter sowie über das gewählte Lösungsmittel genau einstellen.^[93, 98-99] Azobenzole werden beispielsweise zur Bildspeicherung,^[100] zur Kontrolle der Enzymbindung,^[92, 101-102] zur Steuerung der Sekundärstruktur von Peptiden^[103] sowie zur Kontrolle über die Bildung der DNA-Doppelhelix^[104-105] verwendet.

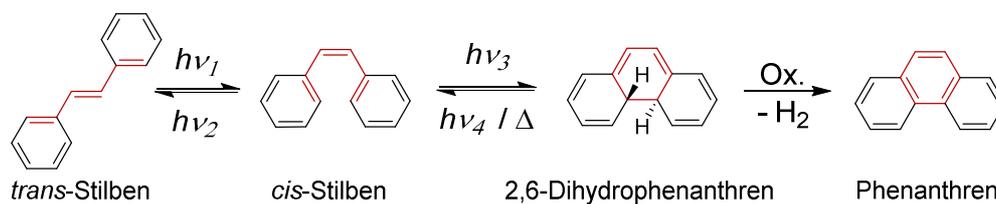
Eine weitere wichtige Schalterklasse bilden die Spiropyrane. Ihre gute synthetische Zugänglichkeit sowie einfache Modifikationsmöglichkeiten erlauben eine große Bandbreite an Schaltern. Der Schaltvorgang verläuft nach WOODWARD-HOFFMANN^[106] konrotatorisch über eine 6π -Cyclisierung von einer Spiro- zu einer zwitterionischen farbigen Merocyaninform.^[95] Aufgrund der starken Zunahme der Polarität während des Schaltvorgangs kann der photostationäre Zustand durch die Verwendung von polaren Lösungsmitteln in Richtung der Merocyaninform verschoben werden.^[107] Anwendung fanden diese Photoschalter beispielweise als Akzeptor in einem FRET-Paar mit Pyren, wodurch eine steuerbare Fluoreszenz erreicht werden konnte.^[108]

Die bisher besprochenen Schalter wiesen alle einen T-Typ Photochromismus auf, wohingegen Diarylethene und Furylfulgide zu den P-Typ Schaltern gehören und ihre Cycloreversion nur photochemisch möglich ist. Beide Schalter können dabei von einer offenen, flexiblen in eine starre, planare Form überführt werden. Die Diarylethene eignen sich im geschlossenen Zustand aufgrund möglicher π - π -Wechselwirkungen mit den Chromophoren für die

Verwendung in den untersuchten DNA-Aggregaten. Sie werden deshalb im Folgenden genauer beschrieben.

2.2.2. Diarylethene

Die Entwicklung der Diarylethene erfolgte ausgehend von Stilben. Wird dieses belichtet kann nach *cis*-Isomerisierung eine reversible, photoinduzierte Elektrocyclisierung zu 2,6-Dihydrophenanthren stattfinden. Unter oxidativen Bedingungen reagiert dieses anschließend unter Abgabe von Wasserstoff irreversibel zu Phenanthren (siehe Schema 1).



Schema 1: Wichtige Reaktionen des Stilbens: *cis-trans*-Isomerisierung, Cyclisierung zu 2,6-Dihydrophenanthren sowie anschließende Oxidation zu Phenanthren.^[91]

Um diese oxidative Zersetzung zu verhindern, können die Wasserstoffatome an den reaktiven 2- und 6-Positionen durch Alkylsubstituenten ersetzt werden.^[109] Hierdurch kann reversibel zwischen *cis*-Stilben und 2,6-Dihydrophenanthren geschaltet werden, wobei letzteres jedoch nur eine geringe thermische Stabilität aufweist und schnell in die *cis*-Form des Stilbens zurückschaltet. Die thermische Stabilität der geschlossenen Form wurde anschließend durch Austausch der aromatischen Gruppen untersucht. Hierbei konnte festgestellt werden, dass elektronenziehende Gruppen am Aromaten oder die Verwendung von Heteroaromaten die Energiebarriere für die Cycloreversion deutlich erhöhen, sodass diese nicht mehr thermisch, sondern nur noch photochemisch induziert werden kann.^[110-111] Darüber hinaus stellt die Reisolierung zu *trans*-Stilben eine Konkurrenzreaktion zu der gewünschten Elektrocyclisierung dar, wodurch nur geringe Schaltausbeuten erhalten werden. Um die E/Z-Isomerie zu unterbinden, modifizierten IRIE *et al.* die Ethenbrücke mit zwei Cyanidgruppen bzw. Maleinsäureanhydrid, wodurch die ersten thermisch irreversiblen Diarylethene erhalten werden konnten (siehe Abbildung 18).^[109] Basierend auf diesen Verbindungen wurden weitere Diarylethene mit Furan^[112], Indol^[113], Thiazol^[114] und Thiophen^[115] als aromatische Gruppen sowie asymmetrisch substituierte Schalter hergestellt.^[116-117]

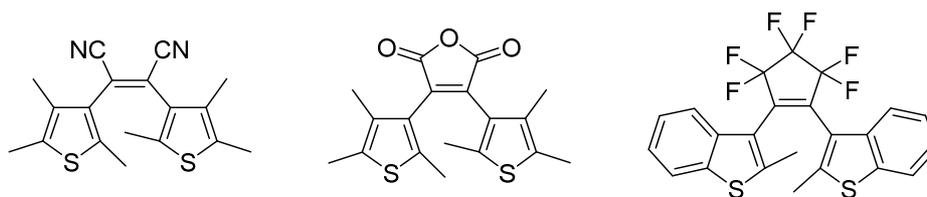
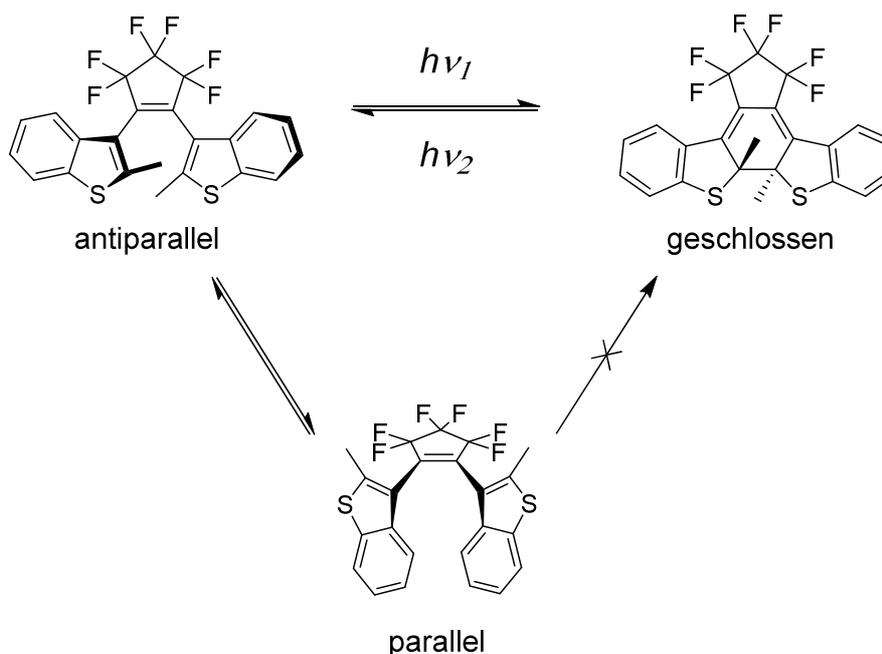


Abbildung 18: Strukturen einiger Diarylethenphotoschalter. *Links und Mitte:* Erste P-Typ Diarylethene von IRIE *et al.*^[109]; *rechts:* ein moderner, in dieser Arbeit verwendeter, Photoschalter.

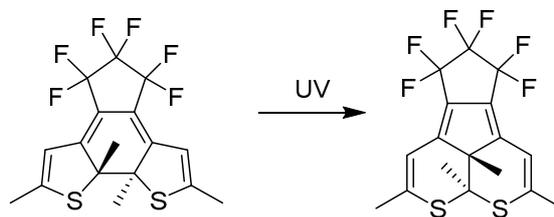
Die Diarylethene schalten unter Bestrahlung im UV-Bereich durch eine konrotatorische 6π -Electrocyclisierung von einer flexiblen und farblosen, offenen Form in eine farbige und planare, geschlossene Form. Die offene Form besteht dabei aus einem parallelen und einem antiparallelen Isomer, welche miteinander im Gleichgewicht stehen, wobei nur das antiparallele Isomer die Electrocyclisierung eingehen kann (siehe Schema 2).



Schema 2: Übersicht über die Konformere und den Schaltmechanismus eines Diarylethens. Lediglich die antiparallele Form des Schalters kann in einer Electrocyclisierung zur geschlossenen Form reagieren.

Ob die Cycloreversion thermisch ablaufen kann oder nur photochemisch abläuft, hängt von den verwendeten aromatischen Gruppen und Brückenmodifikationen ab. Während indol- und phenylsubstituierte Photoschalter bei $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ in wenigen Minuten in die offene Form zurückschalten, sind die geschlossenen Formen der furan-, thiophen- und benzothiophensubstituierten Diarylethene unter Lichtausschluss mehrere Monate stabil lagerbar.^[118-119] NAKAMURA und IRIE *et al.* untersuchten dieses Verhalten 1988 in theoretischen

Studien, wobei sie die Stabilisierungsenergien der verwendeten Aromaten mit den Energiebarrieren der Cycloreversion in Bezug setzten.^[111] Dabei konnte herausgefunden werden, dass Diarylethene mit stabilen Aromaten thermisch induzierte Rückreaktionen eingehen, während mit instabilen Aromaten nur eine photoinduzierte Cycloreversion möglich ist. Diese Tendenz gilt jedoch nur für unsubstituierte Photoschalter. Sterisch anspruchsvolle Gruppen an der 2- und 2'-Position sowie stark elektronenziehende Substituenten am Ethenrückgrad vermindern die Stabilität der neu geknüpften C-C-Bindung und eine thermische Rückreaktion wird möglich.^[120-121]



Schema 3: Bildung eines Nebenprodukts bei der Belichtung eines Diarylethens im UV-Bereich durch Ringumlagerung.

Neben der thermischen Stabilität spielt auch die Schaltstabilität bzw. die Ermüdungsresistenz der Diarylethene eine wichtige Rolle für potenzielle Anwendungen. Diese lässt sich durch das Substitutionsmuster der Schalter stark beeinflussen. So gehen beispielweise Photoschalter mit Thienylgruppen Nebenreaktionen wie Eliminierungen, Oxidationen oder Ringumlagerungen ein. Diese können durch Substitution an der 4-Position oder durch Verwendung von Benzothiophen als aromatische Gruppe unterbunden und so die Ermüdungsresistenz deutlich gesteigert werden.^[122-123] Moderne Diarylethene weisen sehr hohe Schaltstabilitäten auf und können bis zu 10 000 Schaltzyklen durchlaufen, was sie vor allem für die Anwendung in Speichermedien interessant macht.^[91, 124-128] Darüber hinaus kommen Diarylethene zur Steuerung der Sekundärstruktur von Peptiden^[129-130], zur Steuerung der DNA Struktur und Stabilität^[131-132], zur Kontrolle über die Enzymaktivität^[133] sowie in der photodynamischen Therapie^[134] zum Einsatz.

3 Sequenzkontrollierte Assemblierung

Wie bereits in Kapitel 2.1.2 beschrieben, stellt die selbstassemblierte, supramolekulare Polymerisation von Chromophorbausteinen an DNA-Einzelsträngen einen einfachen und potenten Weg dar, um Multichromophorsysteme mit interessanten und einzigartigen optoelektronischen Eigenschaften darzustellen.

Als problematisch stellt sich dabei derzeit noch die programmierbare, also sequenzspezifische Anlagerung mehrerer Chromophornukleoside an einen Templatstrang heraus. Es wurden zwar bereits erste Versuche von WAGENKNECHT *et al.* zur gemeinsamen Anlagerung von Pyren und Nilrot an ein gemeinsames Templat durchgeführt,^[4, 7] da jedoch beide Chromophore an ein 2'-Desoxyuridin gebunden waren, wurden nur Aggregate mit statistischen oder durch Chromophor-Chromophor-Wechselwirkungen favorisierte Mischungen der Nukleoside erhalten. Allerdings ist die sequenzgesteuerte Anlagerung verschiedener Chromophore entlang eines Templatstrangs ein wünschenswertes Ziel, da sie die exakte Steuerung der optoelektronischen Eigenschaften des Aggregats erlaubt.

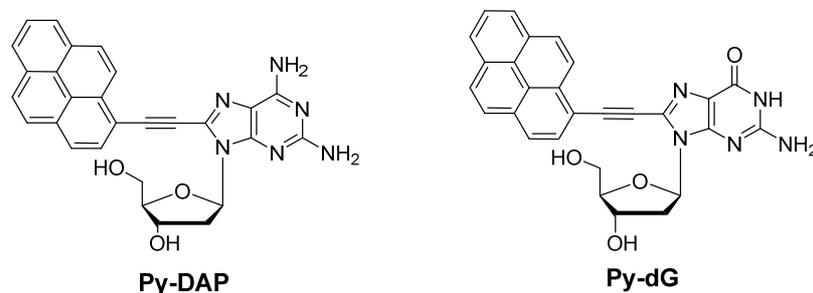


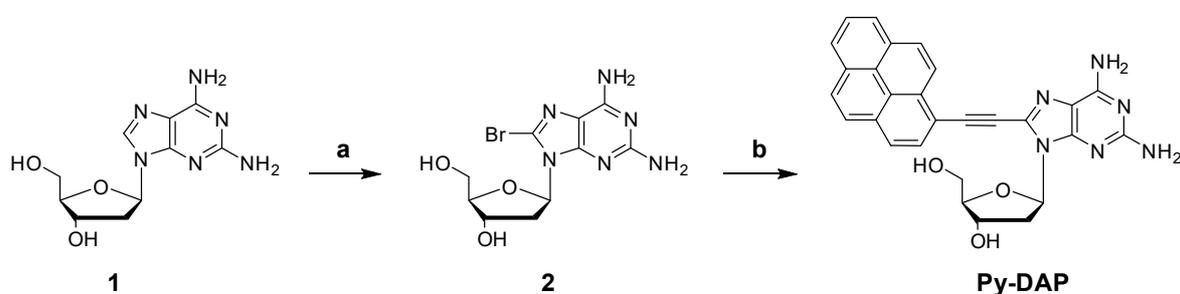
Abbildung 19: Strukturen der untersuchten Nukleoside 8-Ethynylpyren-2-Amino-2'-desoxyadenosin (**Py-DAP**) und 8-Ethynylpyren-2'-desoxyguanosin (**Py-dG**)^[135].

Aus diesem Grund wurde, basierend auf dem erfolgreichen Diaminopurin-Bindungsmuster von SCHENNING *et al.*^[79] und BALAZ *et al.*^[80-81], ein pyrenmodifiziertes 2-Amino-2'-desoxyadenosin (**Py-DAP**) entwickelt, welches selektiv an Thymidin im Templatstrang bindet. Durch Kombination des neuen Bausteins **Py-DAP** mit dem bereits bekannten **Nr-dU**^[5], welches selektiv an 2'-Desoxyadenosin anlagert, konnte ein System entwickelt werden, in dem die Sequenz des Templatstrangs die Abfolge der Chromophore im Stapel und somit die optischen Eigenschaften der Aggregate bestimmt.

Zur Erweiterung dieses Systems wurde zusätzlich das bekannte 8-Ethynylpyren-2'-desoxyguanosin^[135] hergestellt und untersucht, wodurch sich eine selektive Anlagerung an 2'-Desoxycytidin erhofft wurde.

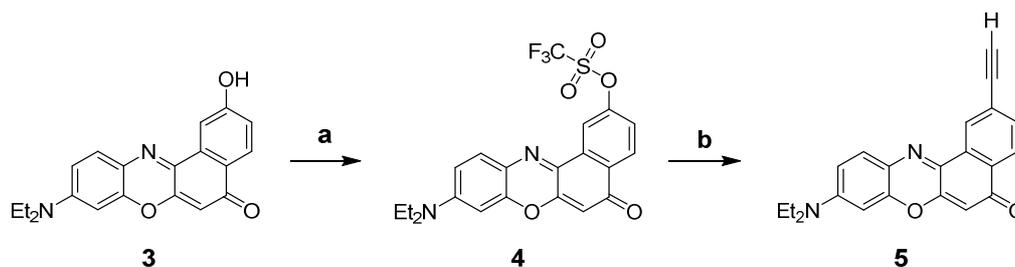
3.1 Synthese der verwendeten Nukleoside

Das pyrenmodifizierte 2-Amino-2'-desoxyadenosin **Py-DAP** wurde ausgehend vom kommerziell erhältlichen, unmodifizierten Nukleosid **1** dargestellt (siehe Schema 4). Zunächst wurde **1** mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) in DMF an der 8-Position bromiert. Wichtig war hierbei, dass die Reaktion bei 0 °C und unter Lichtausschluss durchgeführt wurde. Höhere Temperaturen und die Exposition mit Licht führten zur Zersetzung des NBS und verringerten somit die Ausbeute signifikant. Wurde die Reaktion bei -20 °C durchgeführt, bildeten sich aufgrund der verminderten Reaktivität auch nach einer Reaktionsdauer von 16 h nur Spuren des Produktes. Anschließend wurde das bromierte Nukleosid **2** zusammen mit 1-Ethynylpyren in einer palladiumkatalysierten SONOGASHIRA-Kupplung umgesetzt. Dabei wurde das gewünschte Produkt **Py-DAP** mit einer Gesamtausbeute von 36 % über zwei Stufen erhalten.



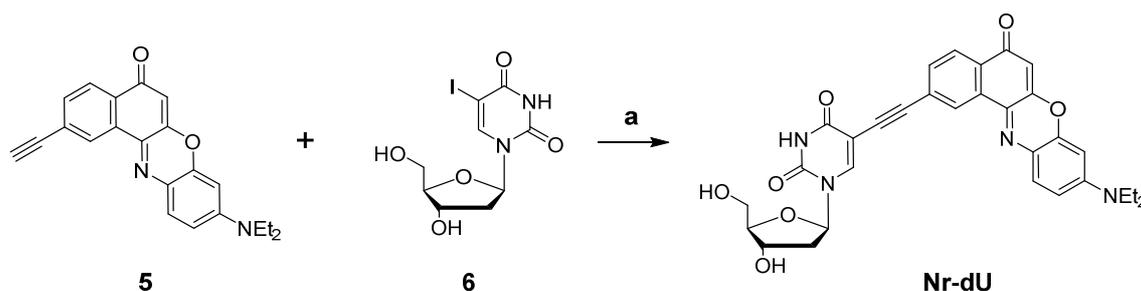
Schema 4: Synthese des pyrenmodifizierten Bausteins **Py-DAP**. a) *N*-Bromsuccinimid, DMF, 0 °C; 2 h (54 %); b) Pd(PPh₃)₄, CuI, NEt₃, abs. DMF, 50 °C, 4 h danach RT, 16 h (66 %).

Das nilrotmodifizierte 2'-Desoxyuridin **Nr-dU** wurde nach der literaturbekannten Syntheseroute hergestellt.^[65, 136-137] Diese wurde optimiert, um deren synthetischen und zeitlichen Aufwand zu verringern. Da sich vor allem die Aufreinigung der Nilrotverbindungen aufgrund der schlechten Auftrennung sowie der Bildung sehr breiter Produktbanden in der säulenchromatographischen Aufreinigung als sehr aufwändig herausstellte, wurden die letzten beiden Schritte der Synthese von 2-Ethynlnilrot (**5**) zusammengefasst und die TMS-Gruppe ohne vorherige Aufreinigung abgespalten (siehe Schema 5, Schritt b).



Schema 5: Synthese von 2-Ethynylnilrot (**5**) ausgehend von 2-Hydroxynilrot. a) Tf_2NPh , NEt_3 , abs. THF, RT, 68 h (66 %); b) 1. TMS-Acetylen, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, CuI , NEt_3 , abs. DMF, 80 °C, 4 h; 2. TBAF (1 M in THF), abs. DCM, RT, 35 min (22 %).

Im ersten Schritt wurde **5** ausgehend von der 2-Hydroxyverbindung **3** hergestellt (siehe Schema 5). Hierfür wurde die Hydroxygruppe mit *N*-Phenylbis-(trifluormethansulfonimid) in eine Triflyl-Gruppe überführt (**4**). Damit konnte eine bessere Abgangsgruppe für die nachfolgende SONOGASHIRA-Kupplung mit TMS-Acetylen geschaffen werden. Die TMS-Schutzgruppe wurde mit *tert*-Butylammoniumfluorid (1 M in THF) abgespalten und das gewünschte Produkte **5** konnte mit einer Ausbeute von 15 % über zwei Stufen erhalten werden. Das Endprodukt **Nr-dU** wurde über eine palladiumkatalysierte SONOGASHIRA-Kupplung des kommerziell erhältlichen 5-Iod-2'-desoxyuridins (**6**) mit **5** in 47 % Ausbeute erhalten (siehe Schema 6). Ausbeuteverluste können über die aufwändige und unzureichende säulenchromatographische Aufreinigung erklärt werden.



Schema 6: Synthese des nilrotmodifizierten 2'-Desoxyuridins **Nr-dU**. a) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, CuI , NEt_3 , abs. DMF, 60 °C, 22 h (47 %).

3.2 Optische Charakterisierung von Py-DAP

Zur optischen Charakterisierung des neuen Nucleosids **Py-DAP** wurden die in Abbildung 20 gezeigten Absorptions- und Fluoreszenzspektren in verschiedenen Lösungsmitteln aufgenommen.

Neben der Absorption des nucleosidischen Grundgerüsts zwischen $\lambda = 320 \text{ nm} - 350 \text{ nm}$ kann im Spektrum die Absorption des Chromophors erkannt werden. Der Verlauf der Absorption ist in allen verwendeten Lösungsmitteln grundsätzlich sehr ähnlich, jedoch sind die Maxima in Ethanol ($\lambda_{\text{max}} = 395 \text{ nm}$) über Dioxan, THF, DMF, Pyridin hin zu DMSO ($\lambda_{\text{max}} = 403 \text{ nm}$) bathochrom verschoben.

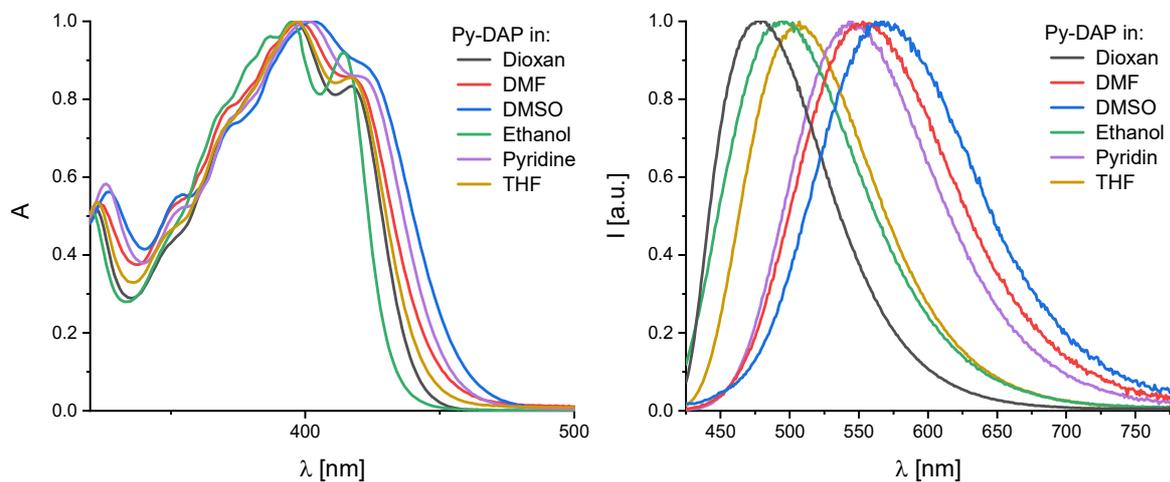


Abbildung 20: Normierte Absorptionsspektren (links) und Fluoreszenzspektren (rechts) von **Py-DAP** in verschiedenen organischen Lösungsmitteln ($c(\text{Py-DAP}) = 2.0 \times 10^{-2} \text{ mmol/L}$).

Das beschriebene solvatochrome Verhalten kann deutlicher im Fluoreszenzspektrum beobachtet werden. Wird **Py-DAP** bei 403 nm angeregt, reichen die Fluoreszenzmaxima von $\lambda_{\text{max}} = 479 \text{ nm}$ in Dioxan bis hin zu $\lambda_{\text{max}} = 568 \text{ nm}$ in DMSO. Die Fluoreszenzquantenausbeute liegt dabei zwischen 17 % für **Py-DAP** in DMSO bis hin zu 56 % für die Lösung in THF.

3.3 Anlagerungsexperimente von Py-DAP

Als erstes wurde die Selektivität des pyrenmodifizierten 2-Amino-2'-desoxyadenosins **Py-DAP** gegenüber den verschiedenen Oligonukleotid-Templatsträngen nach einer im Arbeitskreis WAGENKNECHT etablierten Methode untersucht.^[6-7, 138-139] Das entsprechende Monomer wurde dafür in DMSO gelöst und anschließend zu einer wässrigen Lösung der DNA-Templete gegeben. Die Konzentration der Stammlösung von **Py-DAP** wurde dabei so gewählt, dass ein Anteil von 2 % DMSO in der finalen Lösung nicht überschritten wurde, um eine Destabilisierung der entstehenden Aggregate zu verhindern.^[140] Nach erfolgter Zugabe wurden die Proben für eine Stunde inkubiert und anschließend zentrifugiert (40 min bei 16000 g). Im Optimalfall sollten die ungebundenen Monomere durch diese Methode ausgefällt und abgetrennt werden. Der erhaltene Überstand wurde anschließend spektroskopisch untersucht. Die entsprechenden Spektren sind in Abbildung 21 gezeigt.

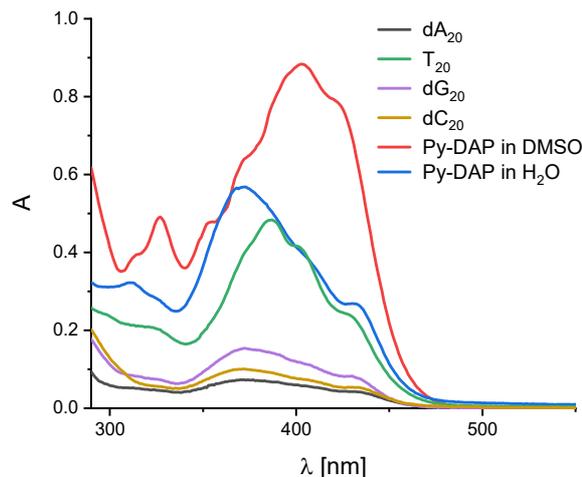


Abbildung 21: UV/Vis-Absorptionsspektrum von **Py-DAP** in DMSO ($c(\text{Py-DAP}) = 25 \mu\text{M}$), ohne Templat in Wasser ($c(\text{Py-DAP}) = 25 \mu\text{M}$), in Wasser + 2 % DMSO in mit dem komplementären Templatstrangs T₂₀, sowie in Gegenwart der nicht-komplementären Template dA₂₀, dG₂₀ und dC₂₀ (jeweils $c(\text{Templat}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Py-DAP}) = 25 \mu\text{M}$) nach Zentrifugation für 40 min bei 16000 g.

Wie im Spektrum zu sehen ist, konnte **Py-DAP** ohne Templatstrang nicht abgetrennt werden, sondern verblieb auch nach harscher Zentrifugation (40 min bei 16000 g) zu großen Teilen in Lösung. Im Vergleich zu den pyren- und nilrotmodifizierten 2'-Desoxyuridinen von WAGENKNECHT *et al.*,^[5-7] welche ohne Templat aus wässriger Lösung fast vollständig ausfallen, weist **Py-DAP** eine andere Struktur mit zwei Aminogruppen auf und ist deswegen, aufgrund der erhöhten Polarität, offensichtlich besser in Wasser löslich. Das ungebundene Nukleosid

weist in wässriger Lösung eine breite Absorption mit einem Maximum bei $\lambda = 372$ nm und einer Schulter bei $\lambda = 433$ nm auf. In Gegenwart der nicht-komplementären DNA-Templates dA_{20} , dG_{20} und dC_{20} fiel **Py-DAP** jedoch größtenteils aus und konnte so durch Zentrifugieren und Abpipettieren des Überstands abgetrennt werden. Die beobachtete Absorption entspricht dem Spektrum der ungebundenen Nukleoside, sodass es sich hierbei um eine kleine Menge verbleibender Monomere und nicht um eine Fehlanlagerung handelt. Es wird davon ausgegangen, dass die Nukleoside mit dem Templat wechselwirken, wobei jedoch aufgrund der falschen Basenpaarung keine Assemblierung stattfindet. Dabei bilden sich unlösliche Monomer-Monomer-Aggregate und das Nukleosid fällt aus.

Wurde **Py-DAP** zu einer wässrigen Lösung des komplementären T_{20} -Templats gegeben, verblieb es auch nach der Zentrifugation vollständig in Lösung. Das Absorptionsspektrum ist verglichen mit den ungebundenen Nukleosiden bathochrom zu $\lambda = 387$ nm verschoben und der Extinktionskoeffizient ist aufgrund hypochromer Effekte im Chromophorstapel verringert. Zusätzlich ist die Bildung einer weiteren Schulter bei $\lambda = 402$ nm zu beobachten. Diese Absorptionsänderung wurde bereits für die Anlagerung von chromophormodifizierten 2'-Desoxyuridinen beobachtet und ist charakteristisch für die Ausbildung von geordneten Chromophorstapeln entlang des Templatstrangs.^[5-7] Auch hier deuten die beobachteten Ergebnisse somit auf eine erfolgreiche Anlagerung von **Py-DAP** am komplementären DNA-Strang hin. Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass **Py-DAP** gemäß der Watson-Crick-Basenpaarung lediglich an das komplementäre Thymidin bindet, während mit den restlichen Nukleosiden keine Anlagerung beobachtet wird.

Um die oben beschriebene Problematik der nicht ausfallenden Monomere zu umgehen, wurden neben DMSO weitere organische Lösungsmittel zur Herstellung der Monomer-Stammlösung getestet. Mit THF und Pyridin konnte keinerlei Verbesserung festgestellt werden, mit DMF kam es sogar zu Fehlanlagerungen von **Py-DAP** mit dA_{20} (siehe Kapitel 8.8, Abbildung 85). Aus diesem Grund wurde für die nachfolgenden Versuche weiterhin DMSO verwendet. Dieses hat zusätzlich den Vorteil, dass es auch bei der Anlagerung von **Nr-dU** verwendet wird, und **Py-DAP** somit zusammen mit **Nr-dU**, wie in Kapitel 5.4 beschrieben, in sequenzspezifischen Anlagerungsversuchen verwendet werden konnte.

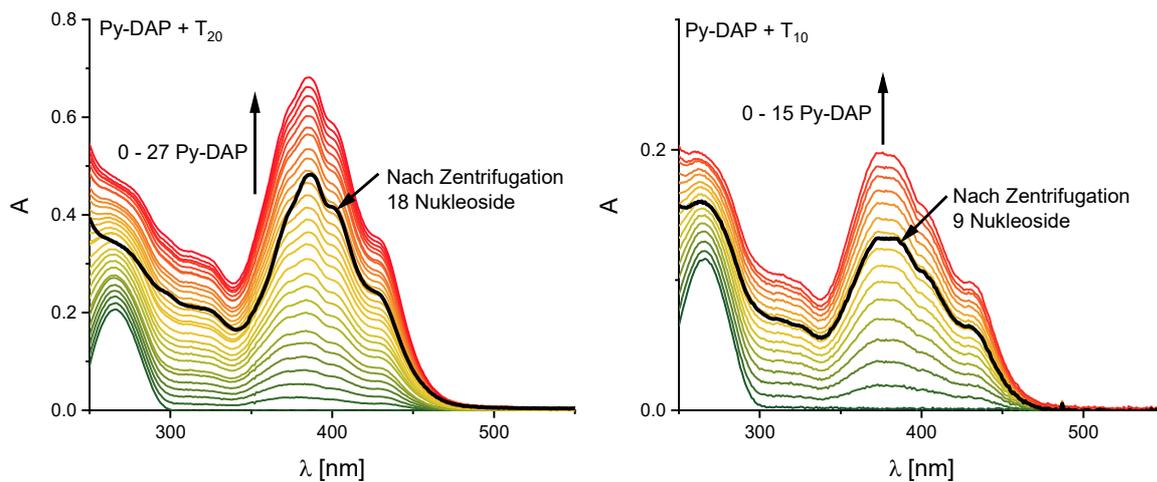


Abbildung 22: Absorptionsspektren der Titrations von **Py-DAP** zu den DNA-Templat-Strängen T_{20} (links) und T_{10} (rechts). Die Absorptionsspektren der Überstände nach der finalen Zentrifugation sind in schwarz in die jeweiligen Graphen eingefügt.

Als nächstes wurde die Bindung von **Py-DAP** in Abhängigkeit der Templatlänge untersucht, indem Titrationsexperimente mit einem T_{10} - und einem T_{20} -Strang durchgeführt wurden. Hierfür wurde eine **Py-DAP**-Stammlösung hergestellt, welche schrittweise zu einer wässrigen Lösung der DNA gegeben wurde (siehe Kapitel 8.5.2). Die pro Schritt verwendete Menge entsprach dabei genau einer Nukleobase im Templat. So sollte im Idealfall pro Titrationsschritt eine Bindungsstelle besetzt werden. Die Intensität der Chromophorbande zwischen $\lambda = 350 \text{ nm} - 480 \text{ nm}$ steigt dabei nicht linear an, sondern der Anstieg pro Aliquot wird aufgrund hypochromer Effekte im Chromophorstapel mit jeder weiteren Zugabe kleiner. Nach beendeter Titration wurden alle ungebundenen Bausteine durch Zentrifugation (40 min bei 16000 g) von der Lösung abgetrennt und der Überstand spektroskopisch untersucht (siehe Abbildung 22, schwarze Kurven). Dabei wurde für die Titration mit T_{20} ein Absorptionsspektrum erhalten, welches dem Spektrum nach 18 Zugaben **Py-DAP** entspricht. Daraus lässt sich ableiten, dass 18 der 20 Bindungsplätze im Templat besetzt sind und somit ein Belegungsgrad von etwa 90 % vorliegt. Diese Ergebnisse waren reproduzierbar und konnten in Titrationsexperimenten mit dem kürzeren dT_{10} -Strang bestätigt werden. Zusätzlich kann deshalb davon ausgegangen werden kann, dass die Bindung im getesteten Rahmen unabhängig von der Templatlänge ist.

Die helikale Orientierung des entstehenden Aggregats von **Py-DAP** mit dem komplementären T₂₀-Strang wurde anschließend mittels CD-Spektroskopie untersucht. Da das ungebundene Nukleosid kein Signal im CD-Spektrum zeigt, stellt das CD-Spektrum des Aggregats einen zusätzlichen Beweis für die erfolgreiche Anlagerung des Nukleosids dar. Für das angelagerte Nukleosid wird ein excitongekoppeltes Signal mit positivem COTTON-Effekt bei $\lambda = 411$ nm, gefolgt von negativem COTTON-Effekt bei $\lambda = 374$ nm beobachtet, welches einen Nulldurchgang bei $\lambda = 387$ nm besitzt (siehe Abbildung 23). Vergleicht man die aufgenommenen CD-Spektren mit den publizierten Spektren von rechtsgängigen DNA-Doppelsträngen, in die fünf benachbarte Ethinylpyren-Einheiten kovalent als dU-Konjugat eingebaut wurden,^[66] kann ein ähnlicher Signalverlauf festgestellt werden. Das pyrenmodifizierte **Py-DAP** besitzt also die intrinsische Eigenschaft, angelagert an DNA-Template, Chromophorstapel mit rechtsgängiger helikaler Orientierung auszubilden.

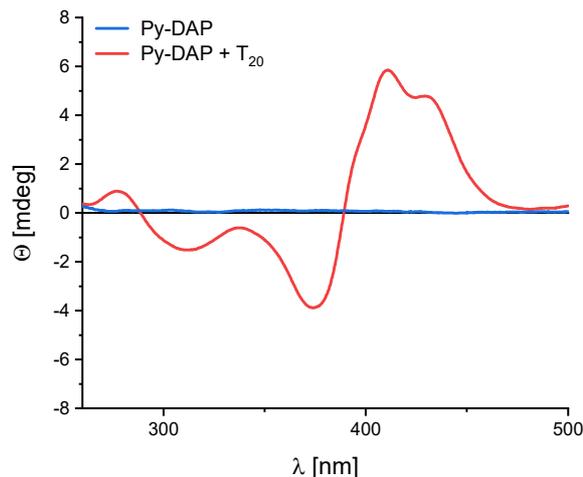


Abbildung 23 CD-Spektren des reinen Bausteins **Py-DAP** in DMSO ($c(\text{Py-DAP}) = 25 \mu\text{M}$) und des Aggregats von **Py-DAP** mit T₂₀ in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nukleoside}) = 25 \mu\text{M}$) nach Zentrifugation.

3.4 Programmierbare Anlagerung von Py-DAP und Nr-dU

Im vorherigen Abschnitt konnte gezeigt werden, dass **Py-DAP** durch die Watson-Crick-Basenpaarung selektiv an das komplementäre T₂₀ anlagert und in Gegenwart der nicht-komplementären DNA-Stränge dA₂₀, dG₂₀ und dC₂₀ ausfällt. Dabei werden die vorhandenen Bindungsstellen im Templat unabhängig von der Templatlänge nahezu vollständig (90 % Beladungsgrad) besetzt. Analog lagern die im Arbeitskreis WAGENKNECHT entwickelten pyren- und nilrotmodifizierten 2'-Desoxyuridine **Nr-dU** und **Py-dU** selektiv an die zu ihnen komplementären dA-Template an.^[4, 6-7, 139] Aufbauend auf diesen Ergebnissen sollte es also möglich sein, **Py-DAP** zusammen mit **Nr-dU** oder **Py-dU** am selben Templatstrang anzulagern. Durch die sequenzspezifische Anlagerung der einzelnen Nukleoside sollte dabei eine Chromophorabfolge im Stapel erhalten werden, die von der Sequenz des DNA-Templates gesteuert wird. Im Folgenden wurden daher orthogonale Anlagerungsversuche von **Py-DAP** und **Nr-dU** zusammen mit verschiedenen DNA-Templaten, wie in Abbildung 24 dargestellt, durchgeführt.

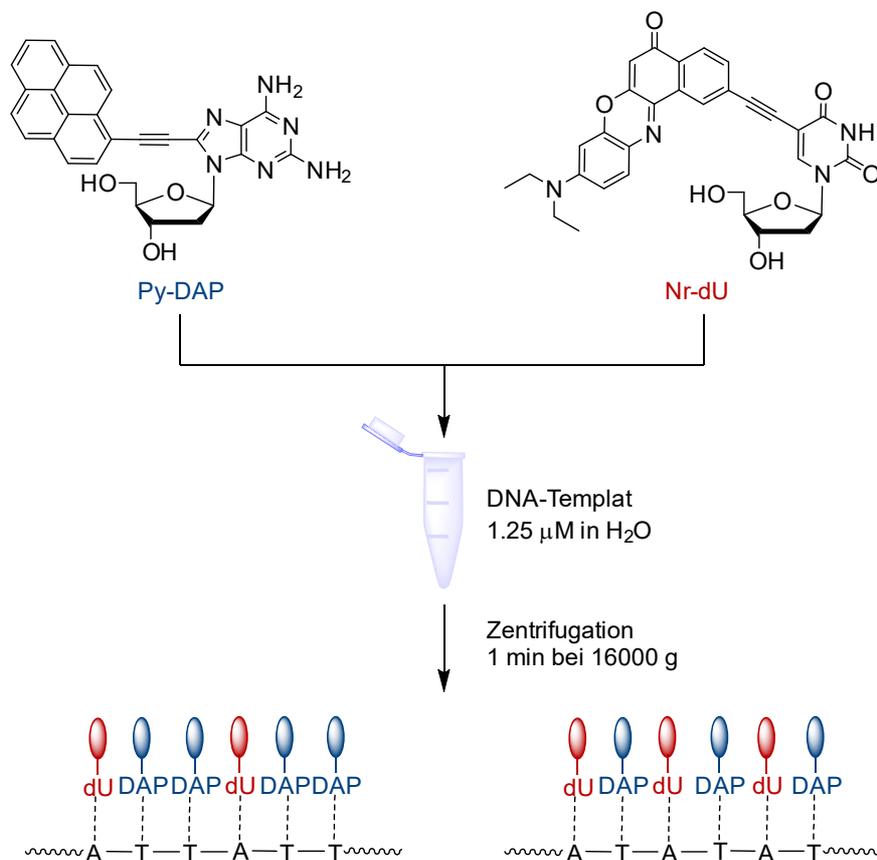


Abbildung 24: Schematischer Ablauf der orthogonalen Anlagerungsexperimente mit **Py-DAP** und **Nr-dU**.

Um die sequenzspezifische Anlagerung der beiden Nucleoside **Py-DAP** und **Nr-dU** zu untersuchen, wurden die in Abbildung 25 gezeigten Templatstränge verwendet. Mit den Oligonucleotiden dA_{10} , dA_{20} , T_{10} und T_{20} wurde zunächst die selektive Anlagerung des entsprechenden Bausteins **Py-DAP** und **Nr-dU** auch in Gegenwart des jeweils anderen Nucleosids untersucht. Anschließend wurde eine mögliche Sequenzkontrolle mittels der gemischten Template $dA_{10}T_{10}$, $(dAdATT)_5$, $(dATTT)_5$ und $(dAT)_{10}$ getestet, wobei die Größe der einzelnen dA bzw. T-Blöcke nach und nach verringert sowie die Anzahl der Grenzflächen zwischen den verschiedenen Chromophoren erhöht wurde.

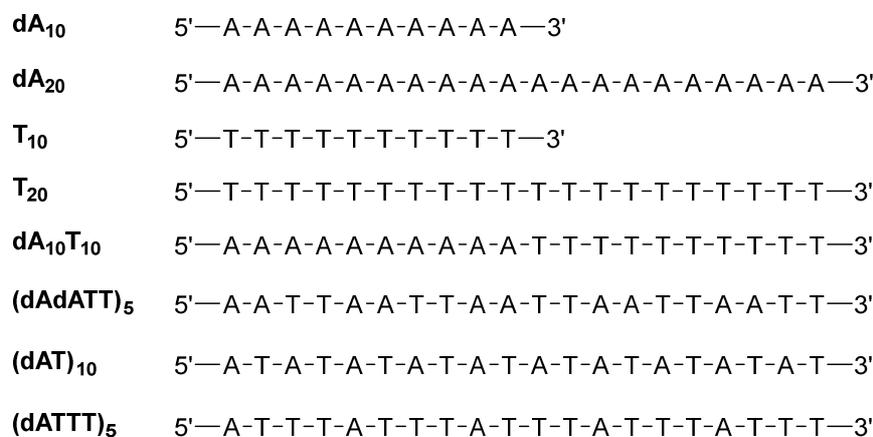


Abbildung 25: Sequenzen der für die orthogonalen Anlagerungsexperimente verwendeten DNA-Templatstränge.

Für die Anlagerungsversuche wurden separate Stammlösungen von **Py-DAP** und **Nr-dU** in DMSO vorbereitet und nacheinander zu einer Lösung des Templates in Wasser gegeben. Als wichtig stellte sich hierbei die Reihenfolge der Zugabe heraus. Wurden die beiden Nucleoside zeitgleich zum Template gegeben, bildeten sich Monomer-Monomer-Aggregate aus, die aus der wässrigen Lösung ausfielen und somit nicht mehr angelagert werden konnten. Auch bei Zugabe von **Py-DAP** vor **Nr-dU** fand aufgrund von Präzipitation keine Anlagerung statt.

Eine erfolgreiche Anlagerung konnte bei folgender Vorgehensweise erreicht werden: Zunächst wurde **Nr-dU** zum Template gegeben und die Probe für eine Stunde inkubiert, bevor anschließend **Py-DAP** zugefügt wurde. Nach einer weiteren Stunde Inkubationszeit wurden die ungebundenen Nucleoside durch Zentrifugation abgetrennt und der Überstand spektroskopisch untersucht. Interessanterweise genügte dabei eine, im Vergleich zum reinen **Py-DAP**, sehr kurze Zentrifugationsdauer von einer Minute, da ungebundenes **Py-DAP** zusammen mit **Nr-dU** ausfällt und daher leichter abzutrennen ist.

Mit Hilfe der erarbeiteten Methode wurden zunächst die Selektivitäten von **Py-DAP** und **Nr-dU** in Gegenwart des jeweils anderen Monomers untersucht (siehe Abbildung 26). Dabei wurden gleiche Mengen des komplementären und des „falschen“ Nucleosids in einem 1.5-fachen Überschuss zugegeben, um eine möglichst vollständige Besetzung der Template zu erreichen.

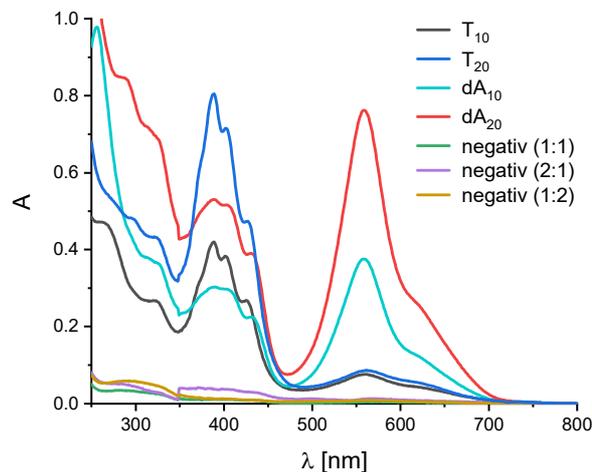


Abbildung 26: Absorptionsspektren der orthogonalen Anlagerungsversuche von **Py-DAP** und **Nr-dU** in Gegenwart von dA_x und T_x -Template, sowie der Negativproben ohne Template in verschiedenen Mischungsverhältnissen der Chromophore in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nucleoside}) = 25 \mu\text{M}$).

Nach Zentrifugation ist für die T_x -Template eine Absorption mit Maximum bei $\lambda = 388 \text{ nm}$ zu sehen, welche dem Spektrum der angelagerten **Py-DAP** Nucleoside entspricht (siehe Kapitel 3.3). Die Absorbanz des nicht-komplementären Nucleosids **Nr-dU** bei $\lambda = 559 \text{ nm}$ ist nur sehr schwach ausgeprägt und zeigt damit, dass nur geringe Anteile dieses Nucleosids in Lösung verbleiben. Ähnliche Ergebnisse wurden durch die Anlagerung von **Nr-dU** erhalten. Während im Spektrum bei $\lambda = 559 \text{ nm}$ das typische Absorptionsmuster von angelagerten Nilrot-Nucleosiden beobachtet werden kann, entspricht die Form der Absorptionsspektren bei $\lambda = 388 \text{ nm}$ der des ungebundenen **Py-DAP**. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass auch hier nur das komplementäre Nucleosid angelagert wurde. Die Selektivität der Nucleoside **Py-DAP** und **Nr-dU** bleibt also auch während der gemeinsamen Anlagerung erhalten. Um auszuschließen, dass sich reine Monomer-Aggregate bilden, wurden zusätzlich Negativproben ohne DNA-Template durchgeführt. Nach Zentrifugation konnte jedoch keine signifikante Absorption detektiert werden, was zeigt, dass die ungebundenen Chromophore nahezu vollständig abgetrennt werden konnten.

Ausgehend von den bisherigen Ergebnissen wurde die Anlagerung an die gemischten DNA-Template untersucht. Es zeigte sich, dass die Absorbanz von **Py-DAP** bei $\lambda = 388$ nm mit den Templaten $dA_{10}T_{10}$ and $(dAdATT)_5$ nahezu identisch zu der von **Py-DAP** am reinen dT_{10} -Templat ist. Auch für **Nr-dU** können entsprechende Beobachtungen für die Absorption der Aggregate mit $dA_{10}T_{10}$ and $(dAdATT)_5$ gemacht werden. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Absorbanzen bei $dA_{10}T_{10}$ und $dA_{10} + T_{10}$ gleich sind (siehe Abbildung 27). Es ist also für die Anlagerung nicht von Relevanz, ob die verfügbaren Bindungsstellen in einem gemeinsamen Strang oder in zwei separaten Strängen vorliegen. Lediglich die Absorbanzen des Aggregates mit $(dAT)_{10}$ sind niedriger als erwartet, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass nicht alle vorhandenen Bindungsstellen im Templat besetzt wurden. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass sich zwischen den unterschiedlichen Chromophoren, anders als in Systemen mit nur einem Chromophor, nur schwache kooperative Effekte ausbilden können. Das Aggregat wird nicht zusätzlich stabilisiert und die Anlagerung weiterer Nucleoside damit erschwert.

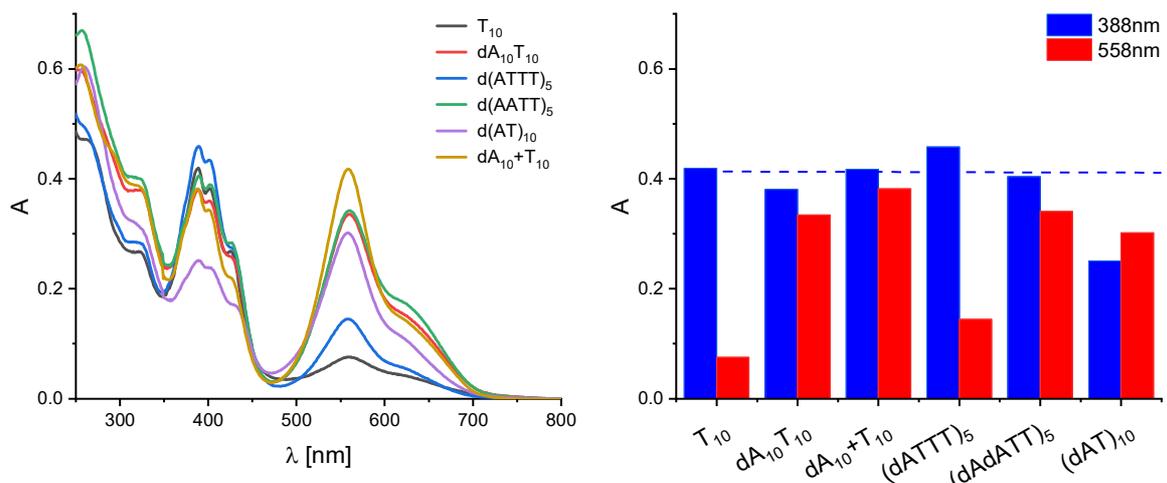


Abbildung 27: Absorptionsspektren (links) und Vergleich der Absorbanzen bei 388 nm und 558 nm (rechts) für die Aggregate entlang T_{10} , $dA_{10}T_{10}$, $dA_{10} + T_{10}$, $(dAdATT)_5$, $(dATTT)_5$ und $(dAT)_{10}$ in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nucleoside}) = 25 \mu\text{M}$).

Zudem erfolgte die Untersuchung eines unsymmetrischen Templates $(dATTT)_5$, in dem die Anzahl der Adenosine im Strang auf fünf verringert und die Anzahl an Thymidinen auf 15 erhöht wurde. Entsprechend sank auch die Absorption bei $\lambda = 558$ nm deutlich, während die Absorbanz bei $\lambda = 388$ nm leicht anstieg. Zusammengefasst liefern diese Ergebnisse einen ersten Beweis für die sequenzspezifische Anlagerung der Bausteine.

Mit den bisher aufgenommenen Absorptionsspektren konnte lediglich eine Aussage über die Menge der angelagerten Nukleoside, jedoch nicht über ihre Sequenz, getroffen werden. Aus diesem Grund wurden zusätzlich Fluoreszenzspektren der Aggregate aufgenommen (siehe Abbildung 28). Für die Anlagerung von **Py-DAP** mit T_{10} wurde eine Fluoreszenz mit Maximum bei $\lambda = 540$ nm gemessen. Durch Anregungsspektren konnte belegt werden, dass es sich hierbei um die Excimer-Emission von **Py-DAP** handelt. Zusätzlich ist eine Schulter bei $\lambda = 490$ nm zu sehen, welche **Py-DAP**-Dimeren zugeordnet werden kann.^[141] Dagegen ist die Fluoreszenz reiner **Nr-dU**-Aggregate entlang des dA_{10} -Templats vollständig gelöscht.^[7] Wurden Ethylnilrot und Ethylpyren als dU-Konjugate zusammen in DNA kovalent eingebaut, konnte ein Energietransfer von Pyren auf Nilrot mit anschließendem Elektronentransfer in umgekehrter Richtung beobachtet werden, was zur Fluoreszenzlöschung führte.^[64] Auch in dem hier verwendeten System mit **Py-DAP** und **Nr-dU** fungiert Nilrot als Fluoreszenzlöcher.

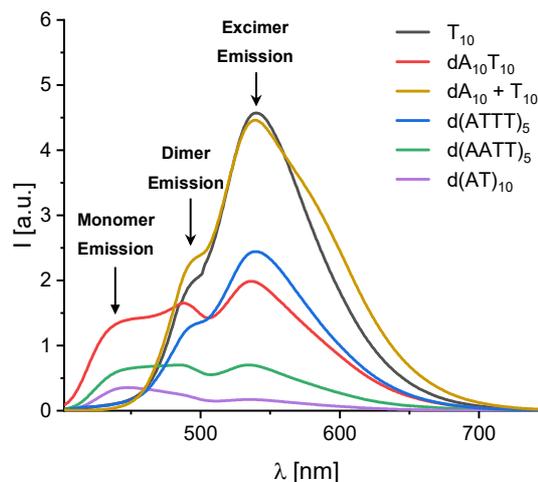


Abbildung 28: Fluoreszenzspektren der Aggregate entlang T_{10} , $dA_{10}T_{10}$, $dA_{10} + T_{10}$, $(dAdATT)_5$, $(dATTT)_5$ und $(dAT)_{10}$ in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nukleoside}) = 25 \mu\text{M}$).

Mit diesem Hintergrundwissen wurden anschließend die gemischten Template untersucht. Dabei wurden zunächst die Fluoreszenz von $dA_{10}T_{10}$ mit derjenigen der beiden separat zugegebenen Stränge $dA_{10} + T_{10}$ verglichen. Die Fluoreszenz von $dA_{10}T_{10}$ ist im Vergleich zu T_{10} deutlich gelöscht, während bei $dA_{10} + T_{10}$ kein Unterschied zur Referenz festzustellen ist. Die oben genannten photophysikalischen Prozesse finden also nur innerhalb eines Stranges, nicht aber zwischen zwei Strängen statt. Wie oben beschrieben wird die Fluoreszenz der

Pyreneinheiten durch Energietransfer auf Nilrot gelöscht. Dementsprechend nehmen die beobachteten Excimer- und Dimerfluoreszenzen mit erhöhter Anzahl an Chromophorgrenzflächen ab. Schon bei (dATTT)₅ ist dieser Effekt trotz erhöhter Anzahl der Pyreneinheiten deutlich ausgeprägt, (dAdATT)₅ zeigt eine noch stärker verminderte Fluoreszenz, bei (dAT)₁₀ ist diese kaum noch vorhanden. Im Verlauf von (dATTT)₅ über (dAdATT)₅ zu (dAT)₁₀ bildete sich eine weitere Bande bei $\lambda = 436$ nm aus, welche charakteristisch für **Py-DAP**-Monomere in einer unpolaren Umgebung ist (siehe Kapitel 3.2). Während (dAT)₁₀, wie zu erwarten, nur eine reine Monomerfluoreszenz zeigt, kann mit (dAdATT)₅ eine Mischung von Monomer- und Dimeremission beobachtet werden. Dies legt die Vermutung nahe, dass nicht alle Bindungsstellen im Templat besetzt sind, wodurch eine Mischung aus **Py-DAP** Monomeren und Dimeren erhalten wird. Jedoch wurde in Abschnitt 3.3 gezeigt, dass **Py-DAP** unabhängig von der Templatlänge circa 90 % der Bindungsstellen besetzt. Auch für **Nr-dU** wurde eine Vollbesetzung unabhängig der Templatlänge publiziert.^[7] Es müssen also weitere Effekte auftreten, die die Intensität der beobachteten Monomerfluoreszenz bei (dAdATT)₅ erklären. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass die helikale Orientierung von Pyreneinheiten entlang eines DNA-Strangs die Bildung von Excimeren verhindert.^[141] Dieser Effekt könnte in kleineren **Py-DAP**-Stapeln stärker ausgeprägt sein, als in großen Chromophor-Clustern.

Um die Struktur und die Sequenz der gebildeten Aggregate weiter aufzuklären, wurden zusätzlich CD- und FD-CD-Spektren der Aggregate in Kooperation mit STEPHAN SINN aus der Arbeitsgruppe von FRANK BIEDERMANN (*Karlsruher Institut für Technologie*) aufgenommen.

Wie bereits in den Kapiteln 3.3 und 5.5 beschrieben, zeigen beide Monomere, wie für kleine flexible Chromophore typisch,^[142] kein Signal im CD-Spektrum. Reine Monomer-Aggregate können zwar ein entsprechendes Signal verursachen,^[6] wurden jedoch in der Probenvorbereitung abgetrennt. Die in Abbildung 29 dargestellten Spektren sind somit ausschließlich auf die DNA-Chromophor-Aggregate zurückzuführen.

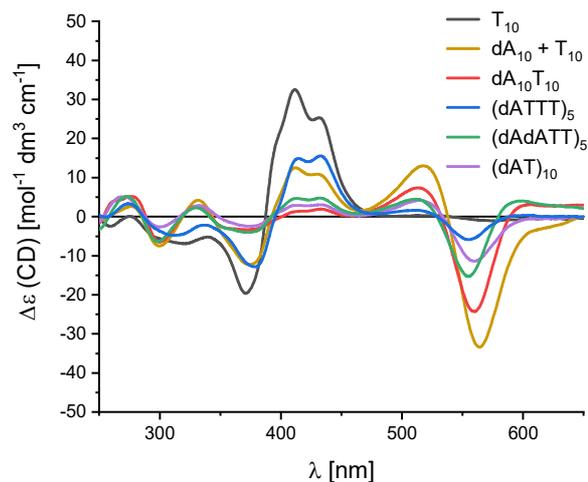


Abbildung 29: CD-Spektren der Anlagerungen von **Py-DAP** und **Nr-dU** entlang T_{10} , $dA_{10}T_{10}$, $dA_{10} + T_{10}$, $(dAdATT)_5$, $(dATTT)_5$ und $(dAT)_{10}$ in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nukleoside}) = 25 \mu\text{M}$).

Im Bereich der Absorption von **Py-DAP** zwischen $\lambda = 300 \text{ nm} - 450 \text{ nm}$ ist ein excitongekoppeltes CD-Signal mit positivem COTTON-Effekt bei $\lambda = 410 \text{ nm}$, gefolgt von einem Nulldurchgang bei $\lambda = 382 \text{ nm}$ und einem negativen COTTON-Effekt bei $\lambda = 370 \text{ nm}$ zu beobachten. Wie bereits ausführlich in Kapitel 3.3 beschrieben, kann dies auf eine rechtsgängige helikale Orientierung der **Py-DAP** Nukleoside entlang des DNA-Templats zurückgeführt werden. Zusätzlich kann ein weiteres excitongekoppeltes Signal im Bereich der Absorption von **Nr-dU** zwischen $\lambda = 470 \text{ nm} - 600 \text{ nm}$ mit positivem COTTON-Effekt bei $\lambda = 560 \text{ nm}$, gefolgt von einem Nulldurchgang bei $\lambda = 538 \text{ nm}$ und einem negativen COTTON-Effekt bei $\lambda = 515 \text{ nm}$ beobachtet werden. Dieser Verlauf entspricht dem der reinen **Nr-dU** Aggregate^[4, 7] (siehe Kapitel 5.5) und lässt auf eine linksgängige Orientierung des Nilrot-Chromophorstapels schließen. Diese Beobachtungen scheinen widersprüchlich, jedoch konnte die genaue Struktur des Chromophorstapels mit den zur Verfügung stehenden Messmethoden nicht weiter untersucht werden.

Da es sich bei den Aggregaten um relativ komplexe supramolekulare Systeme handelt, wurde die helikale Orientierung der **Py-DAP**-Nukleoside zusätzlich über FDCD-Messungen bestätigt (siehe Abbildung 30). Diese erlaubt es, fluoreszente Chromophore mit einer helikalen Orientierung, hier **Py-DAP**, auch in Gegenwart einer Vielzahl von nicht-fluoreszenten Molekülen, wie hier dem DNA-Templat und **Nr-dU**, selektiv zu untersuchen.^[143-145] Da die Intensität der FDCD-Spektren mit der Fluoreszenzintensität zusammenhängt, konnten für die

stark emittierenden Aggregate an T_{10} und $(dATTT)_5$ signifikante Signale im Spektrum beobachtet werden, während die gelöschten $(dAT)_{10}$, $(dAdATT)_5$ und $dA_{10}T_{10}$ nur schwache Signale ergaben. Die Richtung und Intensität der erhaltenen Signale stimmt dabei mit den aufgenommenen CD-Spektren überein und bestätigen somit die angenommene linksgängige Ausrichtung der **Py-DAP**-Nukleoside.

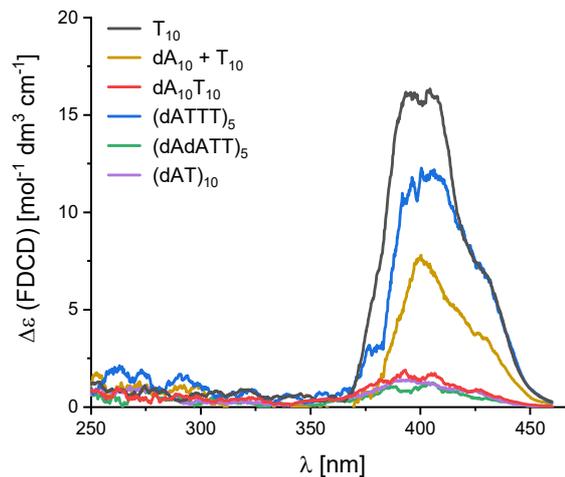


Abbildung 30: FDCD-Spektren der Anlagerungen von **Py-DAP** und **Nr-dU** entlang T_{10} , $dA_{10}T_{10}$, $dA_{10} + T_{10}$, $(dAdATT)_5$, $(dATTT)_5$ und $(dAT)_{10}$ in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nukleoside}) = 25 \mu\text{M}$). Korrektur der FDCD-Spektren siehe Kapitel 8.1.

Zusammenfassend konnte eine orthogonale Anlagerung der beiden Bausteine **Py-DAP** und **Nr-dU** realisiert werden, wobei die Sequenz des Templatstrangs die Abfolge der Chromophore im Stapel steuert. Die optischen Eigenschaften der Aggregate entsprachen dabei genau denen, die ausgehend von der Chromophorabfolge erwartet wurden und bestätigen somit die erfolgreiche sequenzgesteuerte Anlagerung.

3.5 Py-dG als weiterer Baustein

In dem vorherigen Kapitel wurde **Py-DAP** als neuer Baustein etabliert, der orthogonal zu den literaturbekannten Nukleosiden **Nr-dU** und **Py-dU** angelagert werden konnte und eine sequenzkontrollierte Anlagerung mit gemischten AT-Strängen ermöglicht. Um dieses System zu erweitern, sollte nun ein pyrenmodifiziertes 2'-Desoxyguanosin **Py-dG**^[135] untersucht werden, welches selektiv an 2'-Desoxycytidin bindet (siehe Abbildung 31).

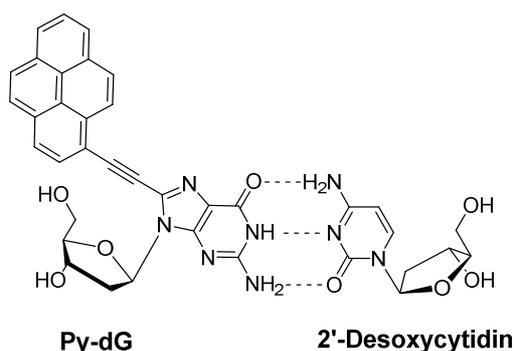
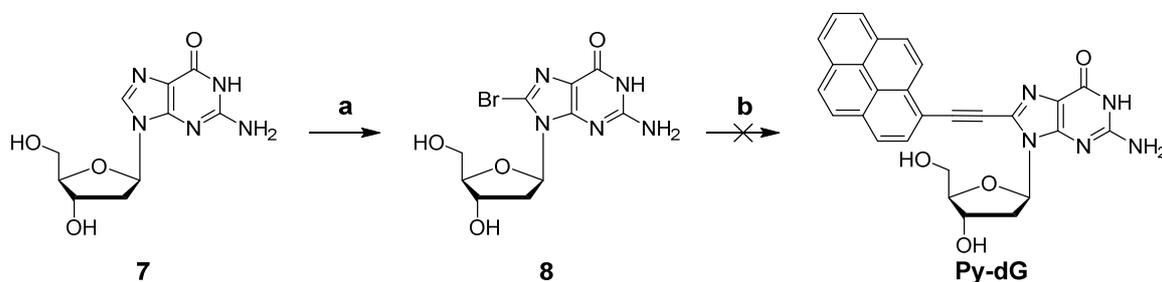


Abbildung 31: Struktur und Bindungsmuster des synthetisierten 8-Ethynylpyren-2'-desoxyguanosin (**Py-dG**).^[135]

Ausgehend von der erfolgreichen Synthese von **Py-DAP** (siehe Kapitel 3.1), sollte analog auch **Py-dG** ohne Schützung der Hydroxygruppen, wie in Schema 7 gezeigt, dargestellt werden. Hierfür wurde zunächst das unmodifizierte Nukleosid **7** nach einer Vorschrift von CARELL *et al.* mit *N*-Bromsuccinimid an der 8-Position bromiert.^[146] Nachfolgend sollte **8** mit 1-Ethynylpyren in einer SONOGASHIRA-Kupplung zum gewünschten Zielmolekül **Py-dG** umgesetzt werden. Es wurden dabei verschiedene Reaktionsbedingungen getestet, welche in Tabelle 1 aufgeführt sind.



Schema 7: Syntheschema zur Darstellung von 8-Ethynylpyren-2'-desoxyguanosin (**Py-dG**) ohne vorherige Schützung der Hydroxygruppen. a) *N*-Bromsuccinimid, MeCN : H₂O = 4:1, RT, 2 h (88 %);^[146] b) SONOGASHIRA-Kupplung mit 1-Ethynylpyren unter verschiedenen Reaktionsbedingungen (siehe Tabelle 1).

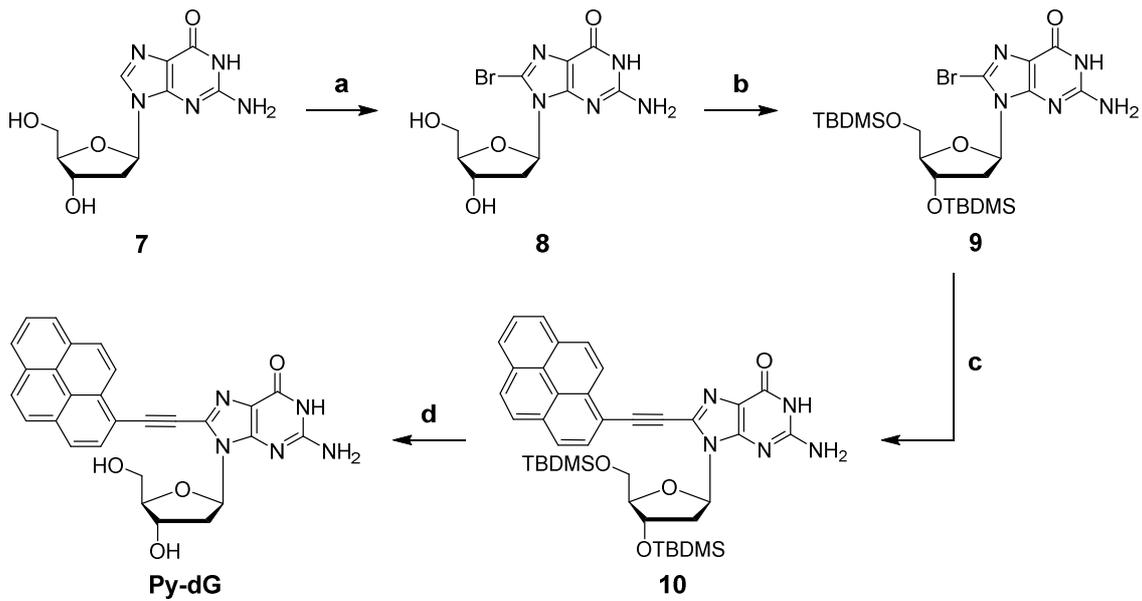
Zunächst wurde in Ansatz 1 ein im Arbeitskreis etabliertes Katalysesystem mit Pd(PPh₃)₄ als Palladiumkatalysator getestet. Da sich hierbei nur Spuren des Produktes bildeten, wurden anschließend die Reaktionsbedingungen systematisch variiert. Jedoch konnten nur geringe Verbesserungen festgestellt werden, sodass nachfolgend ein anderer Palladiumkatalysator verwendet wurde. Zusätzlich wurde in einem weiteren Ansatz nach FIRTH *et al.* Amberlite IRA-670 anstatt Triethylamin als Base verwendet.^[147] Als bestes System erwies sich Ansatz 3,

wobei auch hier nur unzureichende Mengen eines stark verunreinigten Rohprodukts erhalten werden konnten.

Tabelle 1: Getestete Reaktionsbedingungen für die SONOGASHIRA-Kupplung von 1-Ethynylpyren mit **8**.

	1	2	3	4	5 ^[147]
Pd-Kat.	Pd(PPh ₃) ₄	Pd(PPh ₃) ₄	Pd(PPh ₃) ₄	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂
[Äq.]	0.18	0.20	0.18	0.10	0.10
Base	NEt ₃	NEt ₃	NEt ₃	NEt ₃	Amberlite IRA-670
[Äq.]	3.40	2.50	3.40	3.00	220 w %
1-Ethynylpyren [Äq]	1.20	1.00	1.20	2.00	2.00
Cu [Äq.]	0.16	0.20	0.16	0.20	0.20
Temperatur [°C]	RT	60	80	110	110

Insgesamt erwies sich keine der getesteten Syntheserouten als ausreichend erfolgreich. Da als Grund für den schlechten Umsatz eine Beeinträchtigung des Katalysators durch die Hydroxygruppen des Nucleosids angenommen wurde, wurde anschließend eine Syntheseroute mit TBDMS-geschützten Hydroxygruppen nach OKAMOTO und SAITO *et al.* getestet (siehe Schema 8).^[135] Die Einführung der Schutzgruppe wurde mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid und Imidazol durchgeführt, wobei das geschützte, bromierte Nucleosid **9** in quantitativer Ausbeute erhalten wurde. Dieses konnte nachfolgend in einer SONOGASHIRA-Kupplung mit 1-Ethynylpyren in guten Ausbeuten zu **10** umgesetzt werden. Nach Entschützung mit Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF) wurde das gewünschte Zielmolekül **Py-dG** mit einer Gesamtausbeute von 31 % über vier Stufen erhalten.



Schema 8: Erfolgreiche Syntheseroute zur Darstellung von 8-Ethynylpyren-2'-desoxyguanosin (**Py-dG**) nach CARELL *et al.* (Reaktion a)^[146] und OKAMOTO und SAITO *et al.* (Reaktionen b-d)^[135] a) *N*-Bromsuccinimid, MeCN : H₂O = 4:1, RT, 2 h (88 %); b) TBDMS-Cl, Imidazol, abs. DMF, RT, 18 h (99 %); c) 1-Ethynylpyren, Pd(PPh₃)₄, CuI, NEt₃, abs. DMF, 50 °C, 5 h danach RT, 19 h (73 %); d) TBAF, THF, RT, 14 h (49 %).

Das synthetisierte **Py-dG** besitzt bereits als Feststoff unter Anregung bei $\lambda = 254$ nm eine „orangefarbene“ Fluoreszenz. In DMSO gelöst zeigte sich eine Absorption mit Maximum bei $\lambda = 395$ nm mit einer pyrentypischen Feinstruktur. Unter Anregung im Absorptionsmaximum ergab sich eine breite Fluoreszenz im Bereich zwischen $\lambda = 420$ nm – 750 nm mit einem Maximum bei $\lambda = 593$ nm.

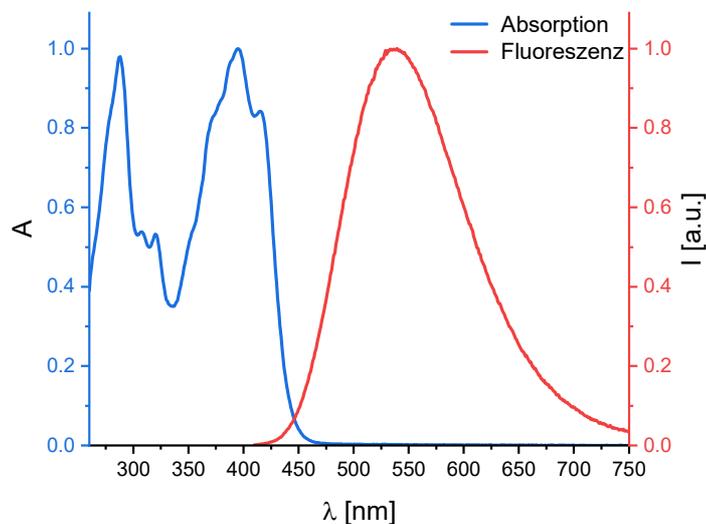


Abbildung 32: Normierte Absorptions- (blau) und Fluoreszenzspektren (rot) von **Py-dG** in DMSO ($c(\text{Py-dG}) = 2.25$ mM).

Anschließend wurde das Anlagerungsverhalten von **Py-dG** analog zu den in Kapitel 3.3 beschriebenen Experimenten für **Py-DAP** untersucht. Zunächst wurden die Zentrifugationsbedingungen optimiert, um ein möglichst vollständiges Abtrennen der ungebundenen Monomere zu gewährleisten, ohne aber die gebildeten Aggregate durch zu harsche Bedingungen zu zerstören. Das beste Ergebnis konnte bei einer Zentrifugationsdauer von einer Minute bei 16000 g erzielt werden, weshalb diese Einstellungen für die weiteren Messungen genutzt wurden. Bei ersten Tests, welche bei Raumtemperatur durchgeführt wurden (siehe Abbildung 33), zeigte sich, dass zwar das ungebundene Nukleosid, wie gewünscht, ausfiel, **Py-dG** jedoch sowohl mit dem komplementären dC₂₀ als auch mit den nicht-komplementären dA₂₀, dG₂₀ und dT₂₀ Aggregate ausbildet.

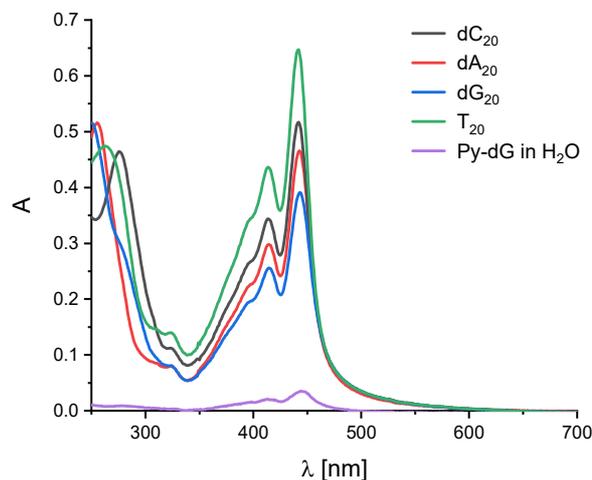


Abbildung 33: UV/Vis-Spektren der Anlagerungsversuche von **Py-dG** mit dA₂₀, T₂₀, dC₂₀ und dG₂₀ bei Raumtemperatur in Wasser + 2 % DMSO nach Zentrifugation für 5 min bei 16000 g ($c(\text{Templat}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Py-dG}) = 25 \mu\text{M}$).

Im Folgenden sollte die Selektivität der Anlagerung, wie von BALAZ *et al.* beschrieben, durch Hybridisierung der Probe für 10 min bei 75 °C und anschließendem langsamen Abkühlen über eine Stunde auf Raumtemperatur gesteigert werden (siehe Abbildung 34).^[81] Dies führte jedoch zu einer unselektiven Bildung von reinen Monomer-Aggregaten in Gegenwart der komplementären sowie der nicht-komplementären Template. Die langsam auslaufende Absorption und die gleiche Intensität der Absorbanzen ließen dabei auf eine ungeordnete Agglomeration von **Py-dG** ohne Templatbeteiligung schließen.

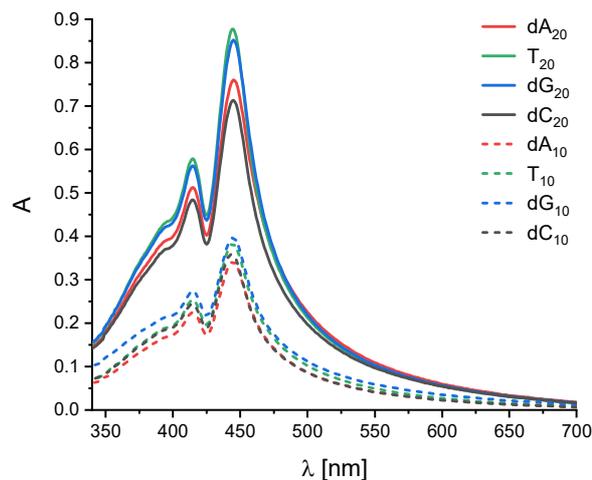


Abbildung 34: Absorptionsspektren der Anlagerungsversuche von **Py-dG** mit dA_x, T_x, dC_x und dG_x Templaten nach Hybridisierung für 10 min bei 75 °C (Zentrifugation für 5 min bei 16000 g, c(Templat) = 1.25 μM und c(**Py-dG**) = 25 μM).

Darauffolgend sollte der entstehende Doppelstrang stabilisiert werden, um so eine selektivere Anlagerung zu erreichen. Hierfür wurden Versuche mit reinem Natriumchlorid sowie mit Natriumchlorid und Natriumphosphat-Puffer, durchgeführt (c(NaCl) = 250 mM, c(NaP_i) = 10mM). Auch auf diese Weise konnte jedoch keine Verbesserung der Selektivität für die Anlagerung von **Py-dG** festgestellt werden.

Schon bei vorherigen, von WAGENKNECHT *et al.* durchgeführten Untersuchungen zu kovalent eingebautem 8-Pyren-2'-desoxyguanosin stellte sich heraus, dass bei der Hybridisierung mit verschiedenen Gegensträngen keine Unterscheidung der Gegenbasen und somit keine selektive Basenpaarung stattfindet.^[148] Auch in den hier gezeigten Anlagerungsexperimenten von 8-Ethynylpyren-2'-desoxyguanosin **Py-dG** konnte keine selektive Anlagerung erreicht werden. Da beide unabhängig voneinander durchgeführten Studien zeigen, dass 2'-Desoxyguanosin mit Pyrenmodifikation an der 8-Position keine selektive Basenpaarung eingehen und somit keine spezifische Anlagerung stattfinden kann, wurden die Untersuchungen an diesem Baustein eingestellt.

3.6 Zusammenfassung

In diesem Teil der vorliegenden Arbeit sollte ein neues pyrenmodifiziertes 2-Amino-2'-desoxyadenosin synthetisiert und untersucht werden, welches selektiv an Thymidin im Templat bindet und so eine sequenzkontrollierte Anlagerung ermöglicht. Das gewünschte Nukleosid **Py-DAP** konnte dabei ausgehend von unmodifiziertem 2-Amino-2'-desoxyadenosin erfolgreich mit einer Gesamtausbeute von 36 % über zwei Stufen erhalten werden. Anlagerungsexperimente von **Py-DAP** mit verschiedenen Templatsträngen zeigten eine stark ausgeprägte Selektivität der Bindung des neuen Nukleosids an komplementäre dT_x-Template. Während für Oligothymidinstränge eine nahezu vollständige Besetzung mit einem Belegungsgrad von etwa 90 %, unabhängig der Templatlänge, festgestellt werden konnte, fiel das Nukleosid in Gegenwart der nicht-komplementären dA₂₀, dC₂₀ und dG₂₀ aus der Lösung aus und konnte mittels Zentrifugation abgetrennt werden. Die erfolgreiche Anlagerung wurde zusätzlich über CD-Spektroskopie belegt. Diese zeigte eine rechtsgängige helikale Anordnung der Chromophore entlang des Templats, wohingegen die reinen Nukleoside kein Signal im CD-Spektrum aufwiesen.

Basierend auf diesen Ergebnissen wurde anschließend durch Kombination von **Py-DAP** mit **Nr-dU**, welches selektiv an Adenosin im Templat bindet, die erste programmierbare, sequenzkontrollierte Anlagerung zweier verschiedener Chromophore am selben Templatstrang entwickelt. Die Abfolge der Chromophore im Stapel wurde dabei über die Reihenfolge der Nukleotide in DNA-Strängen mit gemischten A-T-Sequenzen gesteuert. Absorptionsspektroskopische Untersuchungen zeigten, dass durch Zugabe von **Nr-dU** vor **Py-DAP** die Selektivität beider Nukleoside auch im gemischten System erhalten blieb und nahezu alle Bindungsstellen von den Chromophoren besetzt wurden. Zudem fungierte **Nr-dU** in diesem System als Fluoreszenzlöscher, wodurch die erfolgreiche Sequenzkontrolle auch über Fluoreszenzspektroskopie nachgewiesen werden konnte. Die gemessenen spektroskopischen Eigenschaften der Aggregate entsprachen dabei genau denen, die aufgrund der Chromophorsequenz erwartet wurden. Die Struktur der entstehenden supramolekularen Aggregate wurde anschließend über CD- und FDCD-Spektroskopie aufgeklärt, wobei die Bildung eines hochgeordneten, helikalen Chromophorstapels entlang des DNA-Templats bewiesen werden konnte.

Um dieses sequenzkontrollierte System um einen zusätzlich orthogonalen Baustein zu erweitern, sollte das literaturbekannte 8-Ethynylpyren-2'-Desoxyguanosin **Py-dG**^[135] synthetisiert und angelagert werden. Das Nukleosid konnte dabei, nach Optimierung der Syntheseroute, mit einer guten Gesamtausbeute von 31 % über vier Stufen dargestellt werden. In verschiedenen Anlagerungsexperimenten konnte keine selektive Wechselwirkung von **Py-dG** mit dem Templatstrang festgestellt werden. Auch durch Hybridisieren der Probe sowie Stabilisierung des entstehenden Doppelstrangs konnte keine Verbesserung erreicht werden. Da ähnliche Beobachtungen bereits für kovalent eingebautes 8-Pyren-2'-desoxyguanosin literaturbekannt sind,^[148] wurde von einer weiteren Untersuchung des Bausteins abgesehen. Zurückzuführen sind diese Beobachtungen möglicherweise auf die Modifikation an der 8-Position. Diese führt zu einer *syn*-Konformation des Nukleosids und die Basenpaarung wird gestört.^[56]

4 Schaltbare Chromophor-DNA-Aggregate⁶

Im vorherigen Kapitel wurde eine sequenzspezifische Assemblierung zweier Chromophore entlang eines DNA-Templatstrangs entwickelt. Ein weiteres wünschenswertes Ziel wäre es, den Anlagerungsprozess von Grund auf steuern und damit den Zeitpunkt der stattfindenden Anlagerung präzise mit Licht kontrollieren zu können.

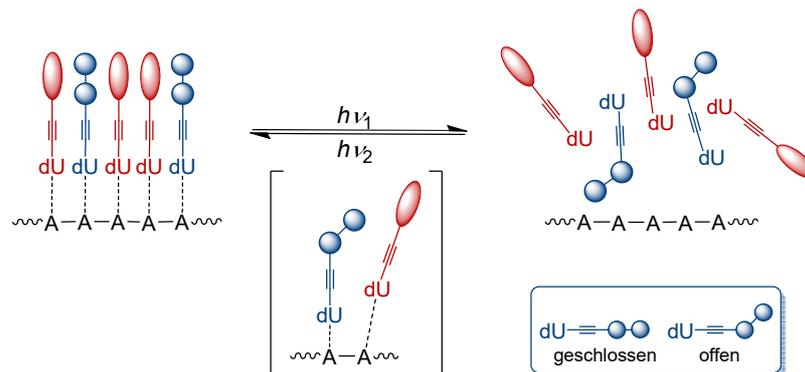


Abbildung 35: Schematische Darstellung der Anlagerungskontrolle durch die Inkorporation von Schalter-nucleosiden (blau) in den Chromophorstapel (rot). Der verdrehte offene Schalter führt zu einer sterischen Hinderung der Chromophor-Wechselwirkung (siehe schwarze Klammer) und stört somit die Anlagerung.

Hierfür sollten Diarylethene als Photoschalter in den Chromophorstapel eingebracht werden, welche über ihre Geometrieänderung während des Schaltprozesses die Anlagerung kontrollieren können. Im geschlossenen Zustand sind die Schalter planar und wechselwirken mit den Chromophoren, sodass die Anlagerung ermöglicht wird. Im Gegensatz dazu liegt der Schalter im offenen Zustand in einer verdrehten Form vor. Dadurch werden die Chromophor-Wechselwirkungen aufgrund sterischer Hinderung vermindert und die Anlagerung wird unterbunden. Dafür sollten zwei diarylethenmodifizierte Nucleoside hergestellt, ihre optischen Eigenschaften untersucht und Anlagerungsversuche an DNA-Templaten durchgeführt werden.

⁶ Der folgende Abschnitt bis einschließlich Kapitel 4.1 enthält Abschnitte aus der eigenen Masterarbeit.^[150] Die Synthese des fluorierten Schalters **15** wurde in der Masterarbeit erarbeitet, optische Charakterisierung sowie Bestimmung der Schalteigenschaften wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführt.

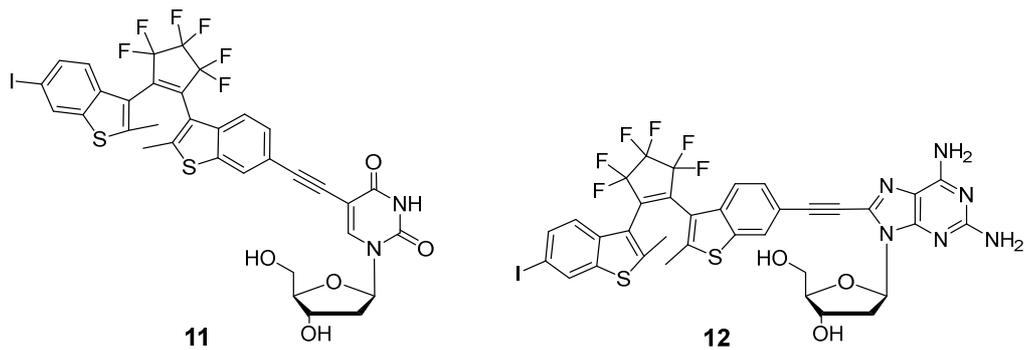


Abbildung 36: Strukturen der untersuchten Schalter nucleoside **11** und **12**.

Zusätzlich erfolgte im Rahmen dieses Projektes die Entwicklung neuer Photoschalter für die Anwendung in DNA. Da bei Wellenlängen < 290 nm der Schaltvorgang aufgrund der Eigenabsorption der DNA-Basen beeinträchtigt wird und Belichtung im UV-C Bereich photochemische DNA-Schäden verursachen kann, sollte dabei eine Anregungswellenlänge über $\lambda = 300$ nm erreicht werden.

Basierend auf den Forschungen von HERDER *et al.*, die durch Substitution der 5- und 5'-Position mit elektronenziehenden Arylgruppen eine Verbesserung der Ermüdungsresistenz erreichen konnten,^[127] sollte hier der Einfluss von elektronenziehenden Gruppen in der 2- und 2'-Position der Photoschalter auf die Schalteigenschaften untersucht werden. Hierfür wurden zwei neue Photoschalter mit Fluor- (**15**) bzw. Trifluormethyl-Substitution (**14**) hergestellt und mit dem bekannten methylierten Schalter **13**^[85, 91] als Referenz verglichen.

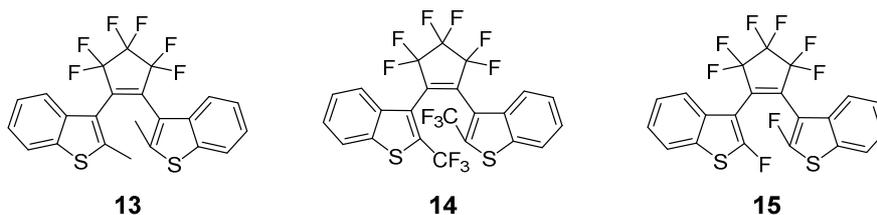
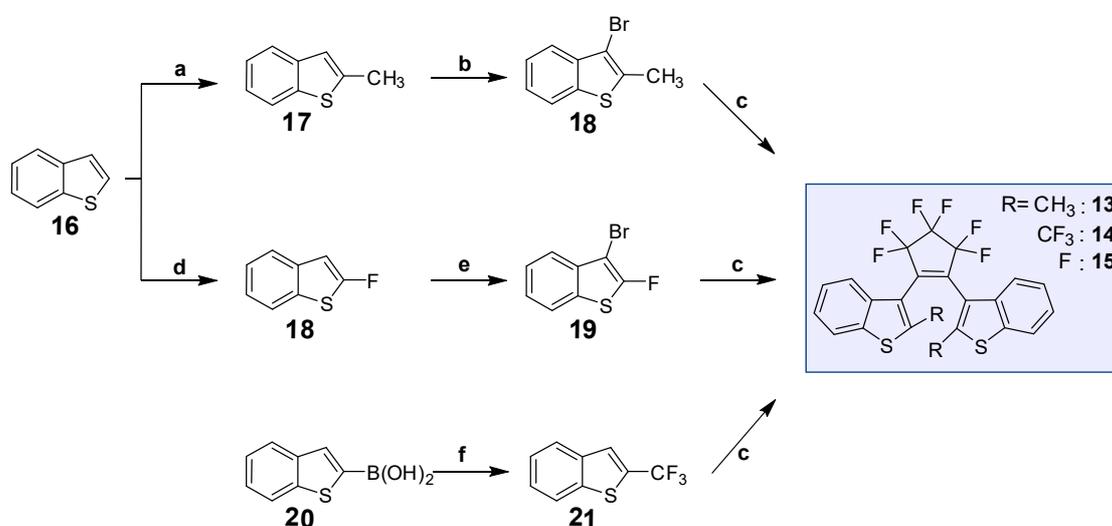


Abbildung 37: Strukturen der hergestellten und vermessenen Diarylethene **13**, **14** und **15**.

4.1 Synthese der Schalter 13, 14 und 15

Die Synthese des literaturbekannten methylierten Photoschalters **13**^[85, 91] erfolgte ausgehend von Benzothiophen, in welches mit *n*-Butyllithium und Methyljodid eine Methylgruppe an der 2-Position mit einer sehr guten Ausbeute von 97 % eingeführt wurde. Anschließend erfolgte die Bromierung in 3-Position. Das bromierte Zwischenprodukt **18** wurde zunächst mit *n*-Butyllithium aktiviert und nachfolgend mit Octafluorocyclopenten zum gewünschten Photoschalter umgesetzt, wobei **13** mit einer guten Ausbeute von 67 % über drei Stufen erhalten werden konnte.



Schema 9: Synthese der Diarylethen-Schalter **13**, **14** und **15**. a) *n*-Butyllithium, Methyljodid, abs. THF, -78 °C – RT, 2 h (97 %); b) Brom, abs. CHCl₃, RT, 5 h (94 %); c) Octafluorocyclopenten, *n*-Butyllithium, abs. THF, -78 °C, 1 h dann RT, ü.N. (**13**: 73 %, **14**: 46% und **15**: 75 %); d) *n*-Butyllithium, *N*-Fluorbenzolsulfonimid, abs. THF, -78 °C, 2 h dann RT, 16 h (59 %); e) Brom, NaOAc, abs. CHCl₃, RT, 30 min (76 %); f) CuI, NaSO₂CF₃, *tert*-Butylhydroperoxid, MeOH:DCM:H₂O = 1.25:1:25:1; RT, 16 h (77 %).^[149]

Für den fluorierten Photoschalter **15** wurde im ersten Schritt an der 2-Position mit *n*-Butyllithium und *N*-Fluorbenzolsulfonimid fluoriert. Die anschließenden Syntheseschritte erfolgten weitestgehend analog zum oben beschriebenen **13**. Der Schalter **15** wurde dabei mit einer Ausbeute von 21 % über drei Stufen erhalten.

Auch der trifluormethylierte Photoschalter **14** sollte anhand der zuvor etablierten Synthesemethode hergestellt werden. Hierfür wurde zunächst ausgehend von Benzothiophen-2-Boronsäure nach KÜNZI *et al.* die Trifluormethyl-Gruppe in einer kupferkatalysierten Reaktion in 2-Position eingeführt.^[149] Ähnlich zu der oben beschriebenen Syntheseroute sollte auch hier in 3-Position bromiert werden. Da die zuvor verwendete

Methode (siehe Tabelle 2, Ansatz 1) jedoch aufgrund der nicht ausreichenden Elektrophilie des Bromierungsreagenzes kein Produkt lieferte, wurden weitere Synthesen getestet (siehe Tabelle 2). Zunächst wurde eine Steigerung der Reaktivität durch Zugabe von Lewissäure als Katalysatoren getestet. Während mit Aluminium(III)chlorid keine Produktbildung stattfand, führte die Zugabe von Eisen(III)chlorid sowohl bei Raumtemperatur als auch schon bei 0 °C zu einer unselektiven Bromierung, wobei sogar mehrfach bromierte Spezies auftraten. Um eine unselektive Bromierung zu verhindern, wurden mildere Bromierungsreagenzien, wie Bromwasserstoffsäure und *N*-Bromsuccinimid, getestet, bei denen jedoch wiederum kein Umsatz mehr beobachtet werden konnten.

Tabelle 2: Getestete Reaktionsbedingungen für die Bromierung von **21** in 3-Position.

	1	2	3	4	5	6	7
Bromierungsreagenz	Br ₂	Br ₂	Br ₂	Br ₂	HBr	Br ₂	NBS
Katalysator	-	AlCl ₃	FeCl ₃	FeCl ₃	-	-	-
Lösungsmittel	CHCl ₃	CHCl ₃	CHCl ₃	CHCl ₃	DMSO, EE	AcOH	THF
Temperatur	RT	RT	RT	0 °C	60 °C	55 °C	5 °C - RT
Ausbeute	-	-	< 5 %	< 5 %	-	-	-

Der stark negative induktive Effekt der Trifluormethylgruppe führte offensichtlich zur einer geringeren Elektronendichte und damit zur Desaktivierung der 3-Position. Dies sollte im Umkehrschluss aufgrund einer signifikant erhöhten Azidität des Protons eine direkte Deprotonierung dieser Position erlauben. **21** wurde deswegen direkt, wie zuvor bei den anderen Photoschaltern beschrieben, mit *n*-Butyllithium deprotoniert und mit Octafluorocyclopenten umgesetzt, wobei der gewünschte Schalter **14** mit einer guten Gesamtausbeute von 58 % über zwei Stufen erhalten werden konnte.

4.2 Bestimmung der Schalteigenschaften

Im weiteren Verlauf der Arbeit wurden die optischen Eigenschaften der dargestellten Photoschalter **13**, **14** und **15** bestimmt. Aufgrund der guten Löslichkeit der Moleküle und der niedrigen *cutoff*-Wellenlänge des Lösungsmittels ($\lambda = 195$ nm) wurden alle Messungen in Hexan durchgeführt.

In vorherigen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Belichtung mit niedriger Strahlungsleistung mit langen Schaltzeiten einhergeht und zu einer vermehrten Bildung von Nebenprodukten führt.^[150] Da sich dies insgesamt negativ auf die Schalteigenschaften, insbesondere auf die Ermüdungsresistenz des Schalters, auswirkt, wurde in dieser Arbeit die Belichtung im UV-Bereich mit einer Hg-Xe-Lampe durchgeführt. Durch die Verwendung eines Bandpassfilters, welcher Licht zwischen $\lambda = 390$ nm – 650 nm herausfiltert, konnte eine effiziente Anregung der Schalter im UV-A Bereich zwischen $\lambda = 290$ nm – 330 nm erreicht werden. Zusätzlich wird dabei die Anregung im sichtbaren Bereich, und somit die hier ungewollte Rückreaktion verhindert. Für die Ringöffnungsreaktion erfolgte die Belichtung im sichtbaren Bereich bei $\lambda = 530$ nm mit NICHIA Hochleistungs-LEDs (siehe Kapitel 8.2).

4.2.1. Optische Schalteigenschaften von **13**

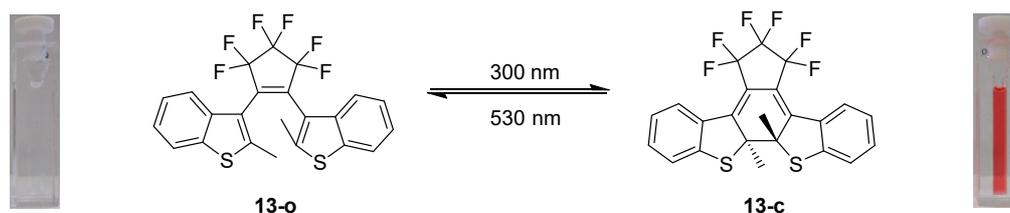


Abbildung 38: Ringschluss- und Ringöffnungsreaktion des methylierten Schalters **13** sowie Bilder der Lösungen des offenen (links) und geschlossenen (rechts) photostationären Zustands.

Zunächst wurde die offene, farblose Form des methylierten Schalters **13-o** untersucht, dessen Absorptionsspektrum mehrere Maxima bei $\lambda = 257$ nm, 290 nm und 299 nm aufweist. Anschließend wurde der Schalter durch Belichtung im UV-Bereich in die geschlossene Form **13-c** überführt. Dabei änderte sich die Farbe der Lösung zu einem intensiven Rot und es bildeten sich zwei neue Maxima bei $\lambda = 347$ nm und 515 nm aus, wohingegen die Absorbanz bei $\lambda = 227$ nm deutlich abnahm (siehe Abbildung 39).

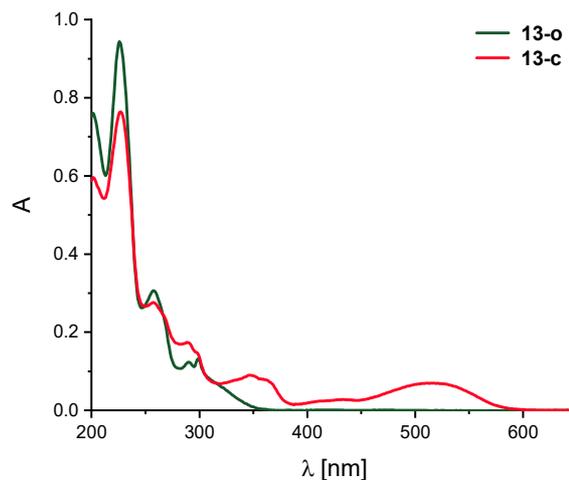


Abbildung 39: Absorptionsspektren von **13-o** und **13-c** im Vergleich ($c(\mathbf{13}) = 20 \mu\text{M}$ in Hexan).

Eine wichtige Kenngröße für Photoschalter ist die Geschwindigkeit, mit der die photostationären Zustände (PSS) erreicht werden. Ausgehend von den Spektren der offenen und geschlossenen Form sollte deswegen die Schaltgeschwindigkeit genauer untersucht werden. Dafür wurde **13**, wie oben beschrieben belichtet, wobei nach definierten Zeitabständen ein Absorptionsspektrum aufgenommen wurde (siehe Abbildung 40, oben links).

Im Verlauf der Cyclisierung verringerte sich die Intensität der erwähnten Absorptionsbanden von **13-o**, während sich die Banden des geschlossenen Isomers ausbildeten. Hierbei konnte bei $\lambda = 265 \text{ nm}$, 304 nm und 317 nm jeweils ein isobestischer Punkt beobachtet werden. Die Intensität der neu gebildeten Absorptionsbande bei $\lambda = 515 \text{ nm}$ in Abhängigkeit von der Belichtungsdauer gibt Aufschluss über die Geschwindigkeit, mit der der geschlossene photostationäre Zustand erreicht wurde (Abbildung 40, oben rechts). Dies war hier nach 30 Sekunden der Fall, da die Absorption auch bei weiterer Belichtung konstant blieb.

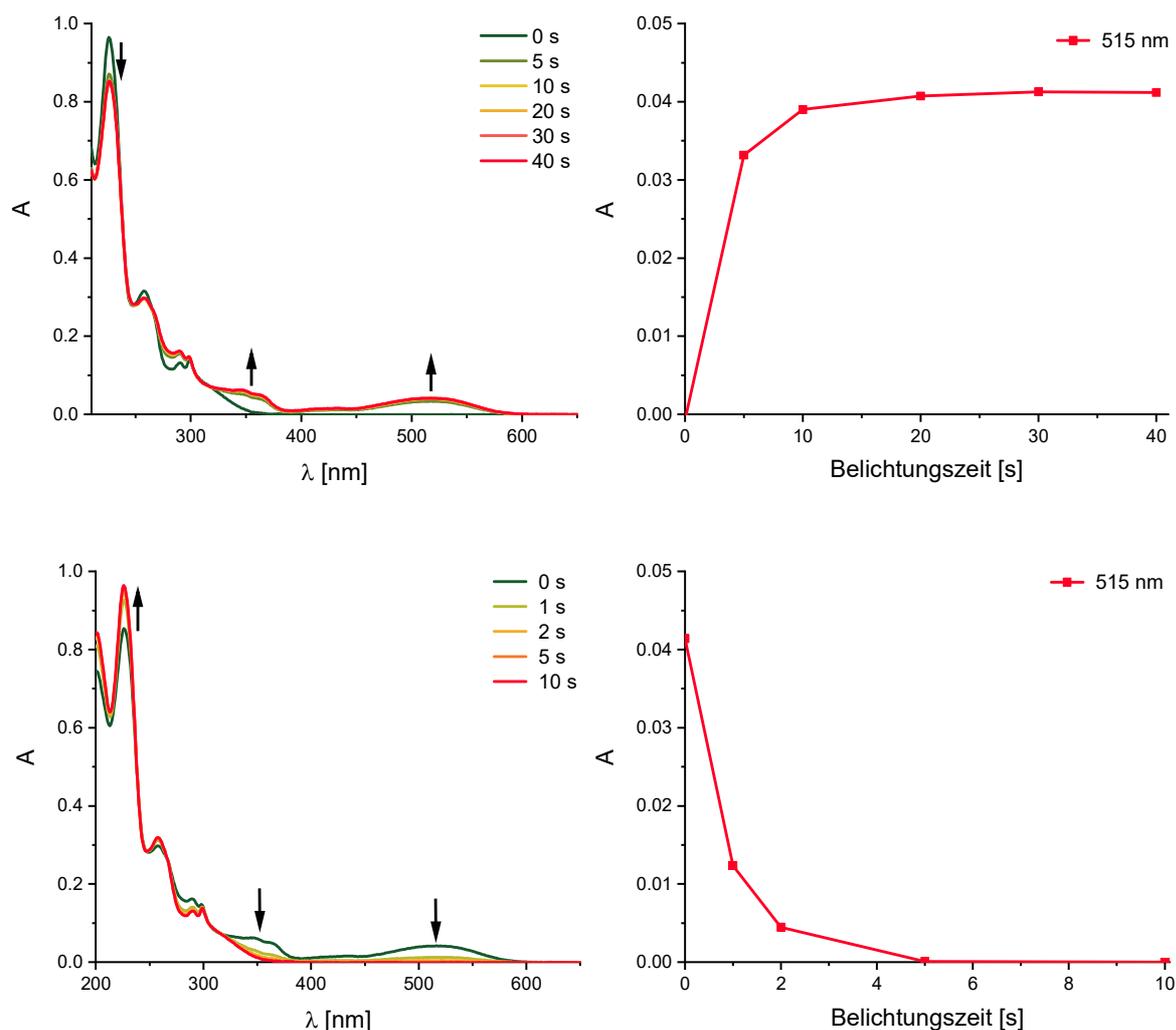


Abbildung 40: Bestimmung der Schaltgeschwindigkeiten von **13**. *Oben links:* Zeitabhängige Absorptionsspektren von **13** unter Belichtung im UV-Bereich ($c(\mathbf{13}) = 20 \mu\text{M}$ in Hexan); *Oben rechts:* Verlauf der Electrocyclisierung von **13-o** in Abhängigkeit von der Belichtungszeit. Aufgetragen ist die Absorption des geschlossenen Isomers **13-c** im Maximum bei $\lambda = 515 \text{ nm}$; *unten links:* Zeitabhängige Absorptionsspektren der Belichtung von **13-c** bei $\lambda = 530 \text{ nm}$ ($c(\mathbf{13}) = 20 \mu\text{M}$ in Hexan).; *unten rechts:* Verlauf der Cycloreversion in Abhängigkeit von der Belichtungszeit. Auch hier ist die Absorption von **13-c** bei $\lambda = 515 \text{ nm}$ aufgetragen.

Die Geschwindigkeit, mit der der offene photostationäre Zustand erreicht wird, wurde auf gleiche Weise unter Belichtung bei $\lambda = 530 \text{ nm}$ bestimmt. Wie in Abbildung 40 zu sehen, ist die Ringöffnung mit 6 Sekunden um ein Vielfaches schneller als der Ringschluss des Schalters. Grund hierfür könnten die unterschiedlichen Belichtungsmethoden der beiden Schaltprozesse sein. Zum Zeitpunkt dieser Arbeit waren keine Hochleistungs-LEDs mit einer Emission um $\lambda = 300 \text{ nm}$ erhältlich, weshalb die Belichtung im UV-Bereich, wie oben beschrieben, durch eine Hg-Xe-Lampe mit Bandpassfilter realisiert wurde. Die Filterung der Anregungswellenlänge geht dabei mit einem deutlichen Intensitätsverlust der Strahlung

einher. Allerdings ist auch der Einfluss sterischer Effekte nicht auszuschließen. So kann eine sterische Hinderung bei der Annäherung der Substituenten in 2-Position des Benzothiophens eine Verminderung der Reaktionsgeschwindigkeit nach sich ziehen. Aus diesem Grund wurden nachfolgend in Kapitel 4.2.4 die Reaktionsquantenausbeuten der einzelnen Schaltprozesse bestimmt.

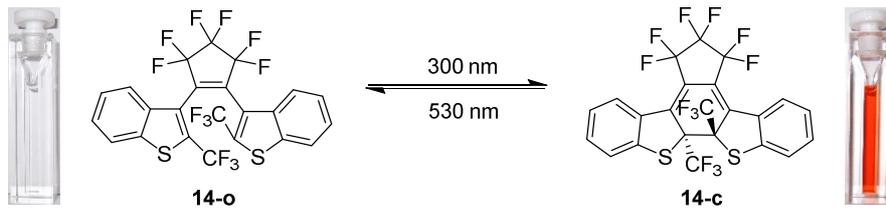
4.2.2. Optische Schalteigenschaften von **14**

Abbildung 41: Elektrocyclisierung und Cycloreversion des trifluormethylierten Photoschalters **14** sowie Bilder der Lösungen des offenen (links) und geschlossenen (rechts) photostationären Zustands.

Die Untersuchung des trifluormethylierten Schalters **14** erfolgte analog zu der oben beschriebenen Charakterisierung von **13**. Auch hier lag der offene Schalter in Hexan als klare farblose Lösung vor, wobei das Absorptionsspektrum Maxima bei $\lambda = 258$ nm, 299 nm und 309 nm aufwies. Wurde der Schalter durch Anregung im UV-Bereich geschlossen, ergab sich eine intensive rote Färbung der Lösung und es bildeten sich neue Absorptionsmaxima bei $\lambda = 361$ nm und 506 nm aus, während die Absorbanz der vorherigen Maxima abnahm (siehe Abbildung 42). Auffällig war dabei, dass die Banden des geschlossen Isomers deutlich intensiver waren, als bei dem zuvor beschriebenen **13**. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass entweder ein höherer Extinktionskoeffizient des geschlossenen Isomers vorliegt oder der photostationäre Zustand in Richtung der geschlossenen Form verschoben ist. Um diesen Effekt weiter zu untersuchen, wurden nachfolgend in Kapitel 4.2.5 die Zusammensetzungen der photostationären Zustände der Schalter bestimmt.

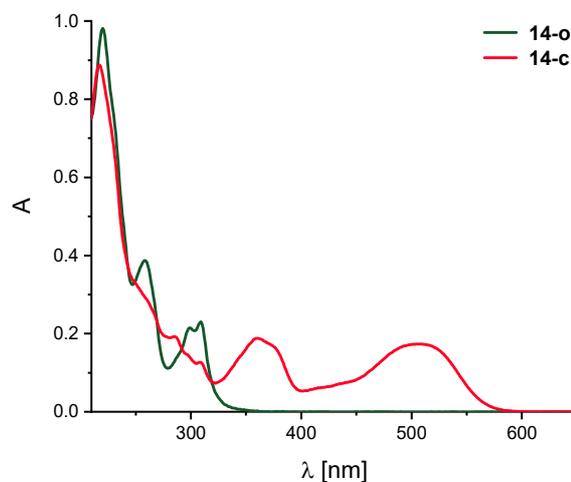


Abbildung 42: Absorptionsspektren von **14-o** und **14-c** ($c(\mathbf{14}) = 30 \mu\text{M}$ in Hexan).

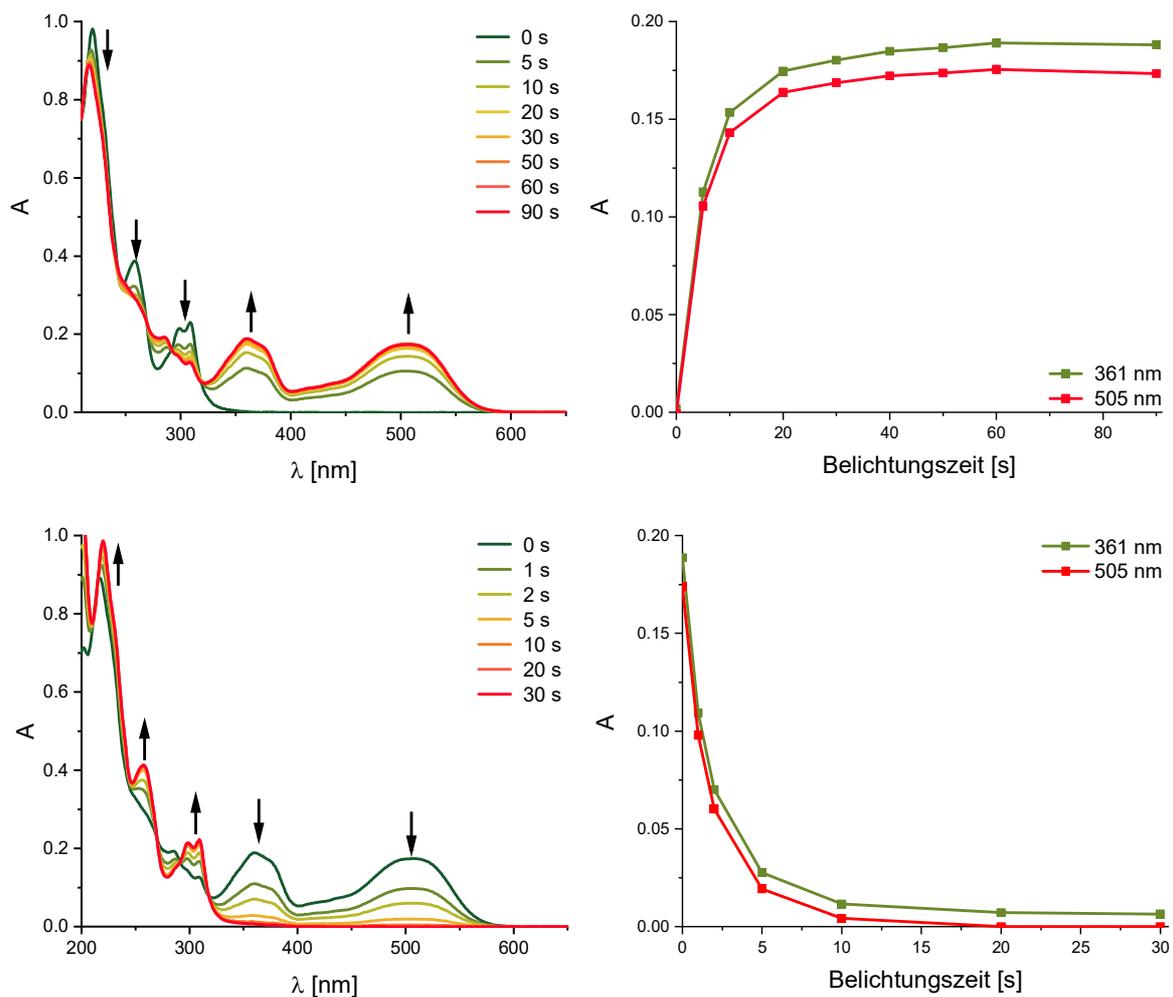


Abbildung 43: Bestimmung der Schaltgeschwindigkeiten von **14**. *Oben links:* Zeitabhängigkeit der Absorptionsspektren von **14** unter Belichtung im UV-Bereich ($c(\mathbf{14}) = 30 \mu\text{M}$ in Hexan); *Oben rechts:* Verlauf der Absorptionen bei $\lambda = 361 \text{ nm}$ und 505 nm in Abhängigkeit von der Belichtungszeit; *unten links:* Zeitabhängige Absorptionsspektren der Belichtung von **14-c** bei $\lambda = 530 \text{ nm}$ ($c(\mathbf{14}) = 30 \mu\text{M}$ in Hexan).; *unten rechts:* Verlauf der Cycloreversion in Abhängigkeit von der Belichtungszeit.

Auch die Schaltgeschwindigkeiten wurden analog zu **13** aus den in Abbildung 43 dargestellten Absorptionsverläufen bestimmt. Dabei ergab sich eine Belichtungszeit von 60 Sekunden bis zur Einstellung des geschlossenen photostationären Zustands. Anders als bei **13** führte hier eine weitere Belichtung zur Abnahme der Absorbanz. Zu erklären ist dies durch die, bereits in Kapitel 2.2.2 beschriebenen, ablaufenden Nebenreaktionen.

Bei der Cycloreversion wurde der photostationäre Zustand bereits nach 20 Sekunden erreicht, was, ähnlich wie bei **13**, um ein Vielfaches schneller ist als der Ringschluss des Schalters. Auch hier wurden zur weiteren Untersuchung die Reaktionsquantenausbeuten der einzelnen Schaltprozesse bestimmt.

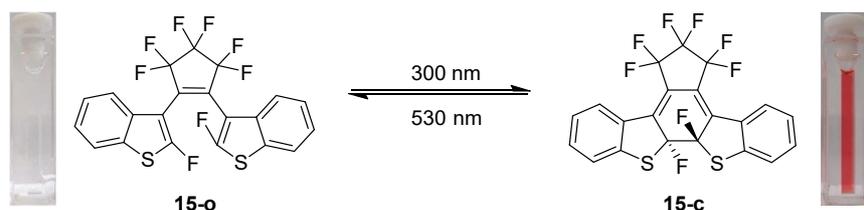
4.2.3. Optische Schalteigenschaften von **15**

Abbildung 44: Schaltprozesse des fluorinierten Schalters **15** sowie Bilder des offenen (links) und geschlossenen (rechts) photostationären Zustands.

Auch die Untersuchung der Eigenschaften von **15** erfolgte analog zu **15**. Wie die beiden anderen Schalter liegt **15** im offenen Zustand in Lösung farblos vor. Unter Belichtung des Absorptionsmaximums der offenen Form ($\lambda = 304 \text{ nm}$) konnte eine Rotfärbung beobachtet werden und es bildeten sich neue Maxima bei $\lambda = 379 \text{ nm}$ und 519 nm aus (siehe Abbildung 45). Vor allem die Bande bei $\lambda = 379 \text{ nm}$ ist deutlich stärker ausgeprägt als die entsprechenden Banden der anderen Schalter, was für einen höheren Extinktionskoeffizienten oder einen besser gelegenen photostationären Zustand spricht. Zur Überprüfung wurden die Zusammensetzungen des Schalters am photostationären Zustand bestimmt (siehe Kapitel 4.2.5).

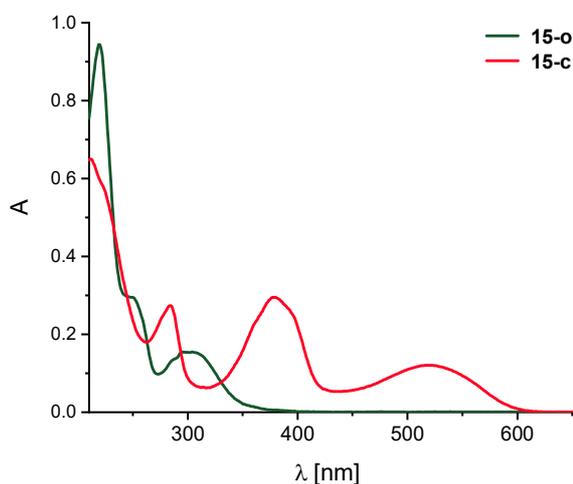


Abbildung 45: Absorptionsspektren von **15-o** und **15-c** ($c(\mathbf{15}) = 30 \mu\text{M}$ in Hexan).

Die bestimmten Schaltgeschwindigkeiten von **15** sind deutlich langsamer als die der anderen Schalter. Wie in Abbildung 46 zu sehen, wird das Ende der Cyclisierung erst nach 90 Sekunden erreicht. Im Vergleich zu **14** und **13** bedeutet dies eine Zunahme der Schaltdauer um 30 bzw.

um 60 Sekunden. Auch die Cycloreversion läuft deutlich langsamer ab als bei den anderen Schaltern, wobei ein vollständiges Öffnen erst nach 360 Sekunden beobachtet werden konnte. Der stark elektronenziehende Charakter der Fluorsubstituenten scheint sich also negativ auf die Schaltgeschwindigkeiten auszuwirken. Eine abschließende Aussage kann jedoch erst nach Bestimmung der Schaltquantenausbeuten gemacht werden (siehe Kapitel 4.2.4)

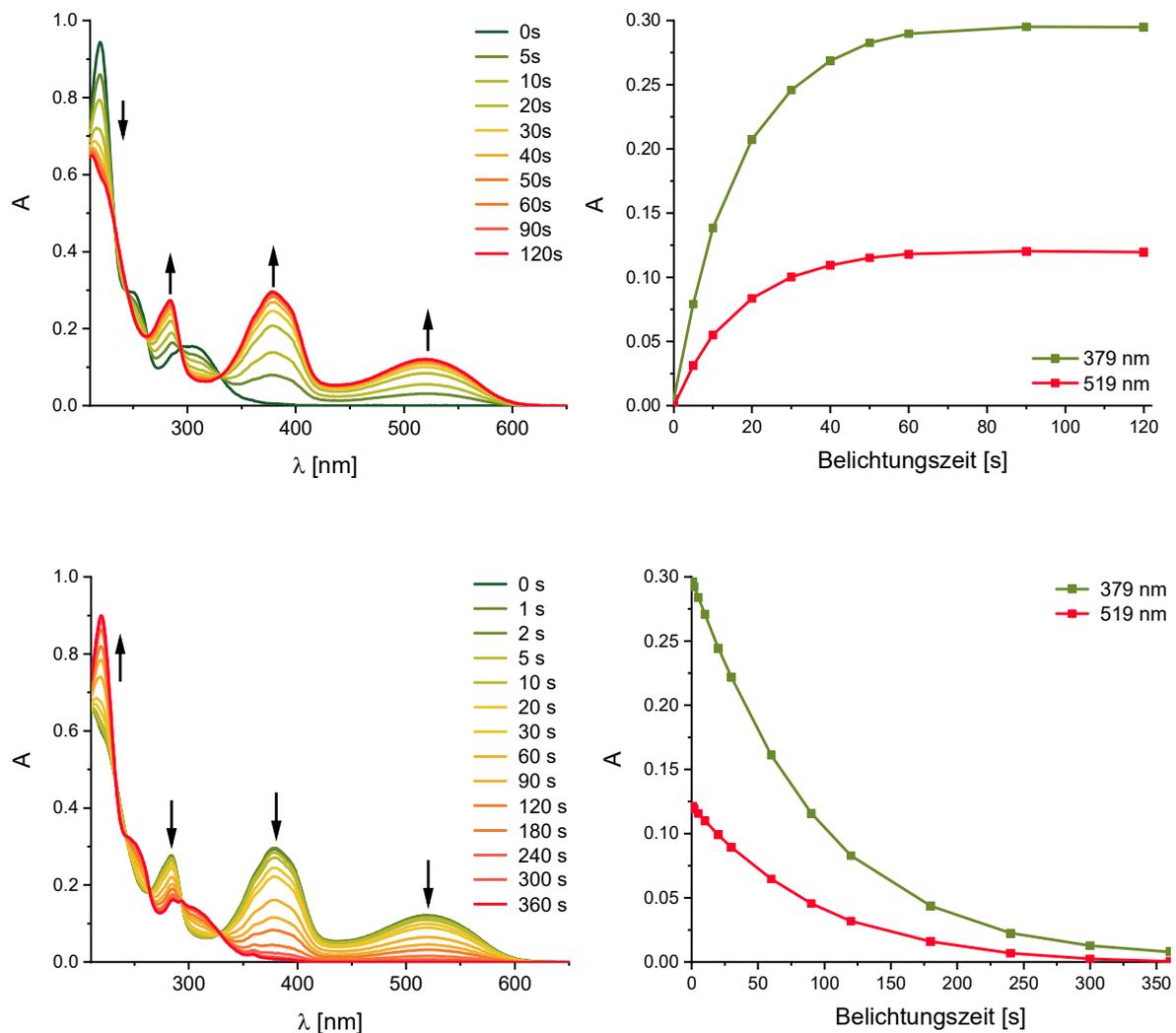


Abbildung 46: Bestimmung der Schaltgeschwindigkeiten von **15**. *Oben links:* Zeitabhängigkeit der Absorptionsspektren von **15** unter Belichtung im UV-Bereich ($c(\mathbf{15}) = 20 \mu\text{M}$ in Hexan); *Oben rechts:* Verlauf der Absorptionen bei $\lambda = 379 \text{ nm}$ und 519 nm in Abhängigkeit von der Belichtungsdauer; *unten links:* Zeitabhängige Absorptionsspektren der Belichtung von **15-c** bei $\lambda = 530 \text{ nm}$ ($c(\mathbf{15}) = 20 \mu\text{M}$ in Hexan).; *unten rechts:* Verlauf der Cycloreversion in Abhängigkeit von der Belichtungszeit.

4.2.4. Schaltquantenausbeute

In den vorherigen Abschnitten wurden bereits die Schaltgeschwindigkeiten bestimmt, welche jedoch stark von den gewählten Belichtungsparametern abhängen. Eine deutlich genauere Methode, die Effizienz der Schaltprozesse zu untersuchen, stellt die Messung der Reaktionsquantenausbeute von Cyclisierung und Cycloreversion dar. Diese sogenannte Schaltquantenausbeute beschreibt dabei das Verhältnis zwischen der Menge an gebildetem Produkt und der Menge an aufgenommenem Licht. Die Menge des gebildeten Produkts wurde dabei über die Absorbanz im Maximum des geschlossenen Isomers bestimmt, da in diesem Bereich keine Überlagerung mit der offenen Form vorliegt. Der dafür benötigte Extinktionskoeffizient wurde während der Charakterisierung der photostationären Zustände (Kapitel 4.2.5) bestimmt.

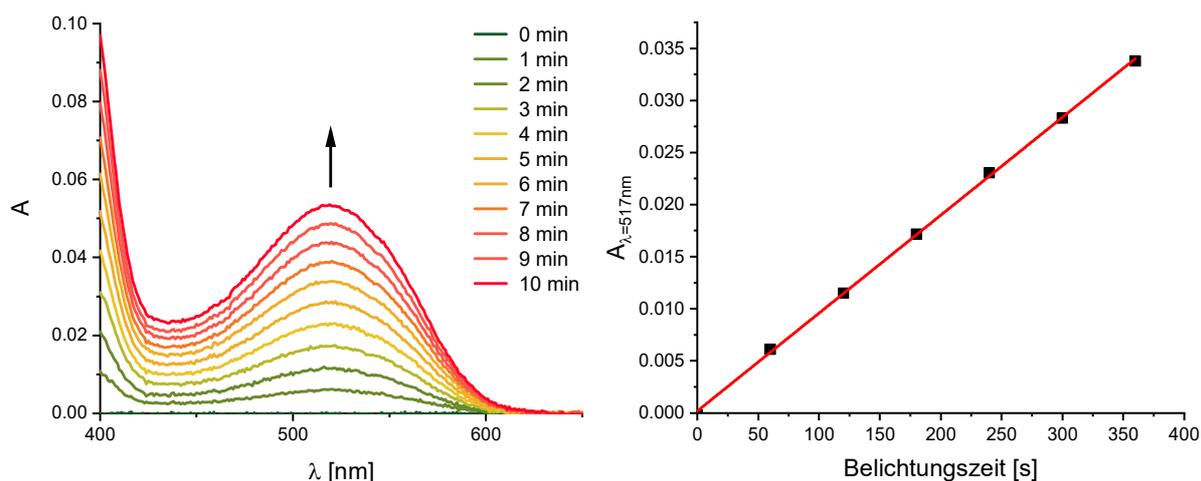


Abbildung 47: Linearer Umsatz von **15** unter Belichtung bei $\lambda = 300$ nm nach der „initial-slope Methode“. Verlauf der Absorption von **15** nach Belichtungsintervallen von 60 s (rechts); Auftragung der Absorption im Maximum bei $\lambda = 517$ nm gegen die Belichtungszeit (links).

Die Bestimmung der Reaktionsquantenausbeuten für Ringschluss und Ringöffnung erfolgte über die „initial-slope Methode“ (siehe Abbildung 47). Dabei wurde schrittweise bis zu einem Umsatz von 10 % belichtet, da in diesem Bereich die Absorbanz bei der Belichtungswellenlänge konstant bleibt und sich nur so wenig Produkt bildet, dass die Rückreaktion vernachlässigbar ist.^[151] Die Reaktionsquantenausbeuten wurden, wie in Kapitel 8.4 ausführlich beschrieben, berechnet, wobei sich mit steigender Elektronegativität absteigende Werte von 0.12 für **13**, über 0.10 für **14** bis zu 0.08 für **15** ergaben. Auch bei der

Ringöffnungsreaktion konnte diese Tendenz beobachtet werden: **13** zeigte eine Quantenausbeute von 0.14, für **14** ergab sich ein Wert von 0.026 und für **15** wurde der Wert 0.002 erhalten.

4.2.5. Bestimmung der Zusammensetzung der photostationären Zustände

Es sollte zudem die Zusammensetzung der offenen und geschlossenen photostationären Zustände der Schalter bestimmt werden. Wünschenswert wäre dabei ein möglichst vollständiger Umsatz zum geschlossenen bzw. offenen Isomer. Die Bestimmung der Zusammensetzung ist nachfolgend exemplarisch am fluorierten Photoschalter **15** gezeigt. Die Messdaten der anderen Schalter sind in Kapitel 8.8.2 zu finden.

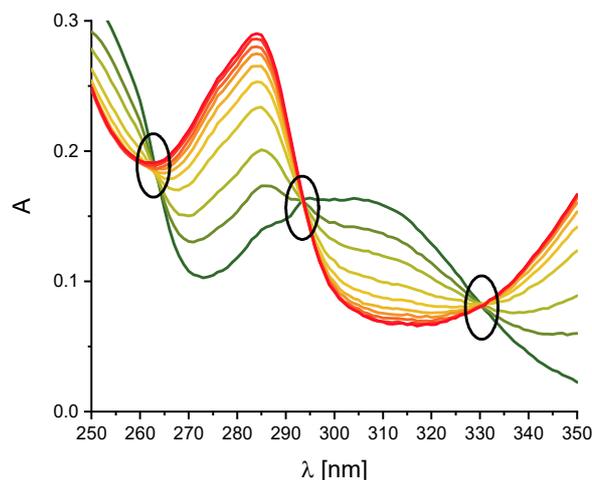


Abbildung 48: Isobestische Punkte von **15** unter Belichtung mit einer Hg-Xe-Lampe mit vorgeschaltetem UG11-Bandpassfilter.

Zunächst wurde eine Stammlösung des Schalters bis zum Erreichen des photostationären Zustands belichtet, also so lange, bis keine Absorptionsänderung mehr festzustellen war. Anschließend wurde die Mischung aus offenem und geschlossenem Isomer mittels HPLC getrennt. Da das Verhältnis der Schalter über Integration der HPLC-Trennungen bestimmt werden sollte, sind zwei wichtige Bedingungen zu erfüllen. Erstens muss die Trennung isokratisch verlaufen, da so eine konstante Basislinie erhalten wird. Zweitens muss die Integration bei einer Wellenlänge stattfinden, die einen isobestischen Punkt während des Schaltvorgangs darstellt (siehe Abbildung 48). Da sich im Verlauf des Schaltprozesses hier die

Absorbanz nicht verändert, kann davon ausgegangen werden, dass offene und geschlossene Form bei dieser Wellenlänge einen gleichen Extinktionskoeffizienten haben. Aus dem Verhältnis zwischen dem Integral der Peaks der offenen und der geschlossenen Form lässt sich so die Zusammensetzung am photostationären Zustand bestimmen. Die verwendeten HPLC-Bedingungen und isosbestischen Punkte sind für die einzelnen Schalter in Kapitel 8.3 aufgeführt. In Abbildung 24 ist beispielhaft der Vergleich zwischen den HPLC-Trennungen des offenen und des geschlossenen photostationären Zustands von **15** gezeigt.

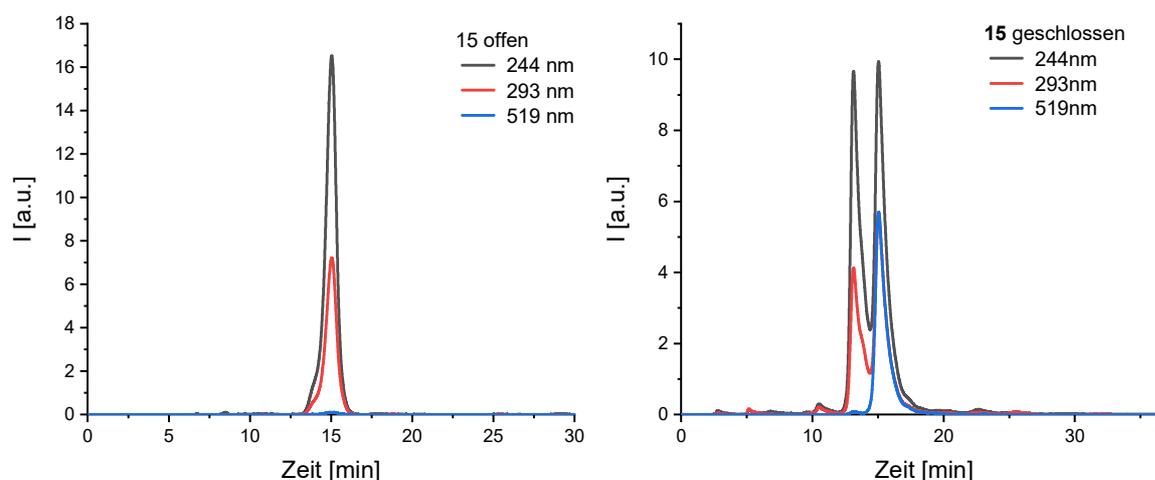


Abbildung 49: HPLC-Läufe des offenen (links) und (geschlossenen) photostationären Zustands von **15**. Dargestellt ist der Verlauf der Absorbanz bei 244 nm, 293 nm und 519 nm. Die Absorbanz bei 519 nm ist lediglich beim geschlossenen Isomer zu sehen und hilft so bei der Identifizierung der Spezies im Spektrum.

Da die offenen Isomere keinerlei Absorbanz im sichtbaren Bereich besitzen, sollte dem zu Folge keine Rückreaktion (Elektrocyclisierung) beim Öffnen der Schalter unter Bestrahlung mit $\lambda = 530$ nm stattfinden. Wie zu erwarten, konnte für alle Verbindungen ein Schaltumsatz zur offenen Form von >99 % beobachtet werden. Für die Zusammensetzung des geschlossenen photostationären Zustands unter Belichtung im UV-Bereich wurden größere Unterschiede zwischen den einzelnen Schaltern festgestellt. Während bei **13** lediglich 10 % der Moleküle in geschlossener Form vorlagen, waren es bei **14** 15 % und bei **15** sogar 54 %.

4.2.6. Ermüdungsresistenz

Als nächstes wurde die Ermüdungsresistenz der Photoschalter bestimmt. Diese stellt, wie bereits in Kapitel 2.2.1 beschrieben, ein Maß für die Stabilität eines photochromen Moleküls dar und ist deswegen eine wichtige Kenngröße für die Anwendbarkeit der Schalter. Um eine zu lange Belichtungszeit zu vermeiden, welche sich negativ auf die Ermüdungsresistenz auswirken würde, wurden die Ergebnisse der bisherigen Versuche verwendet, um die Belichtungszeiten für Öffnen und Schließen der Schalter optimal anzupassen (siehe Tabelle 3). Es wurden neun Schaltzyklen durchgeführt, wobei nach jedem Zyklus ein Absorptionsspektrum des Photoschalters aufgenommen wurde. Die Absorption im Maximum der geschlossenen Schalter wurde anschließend gegen die Anzahl der Schaltzyklen aufgetragen (siehe Abbildung 50).

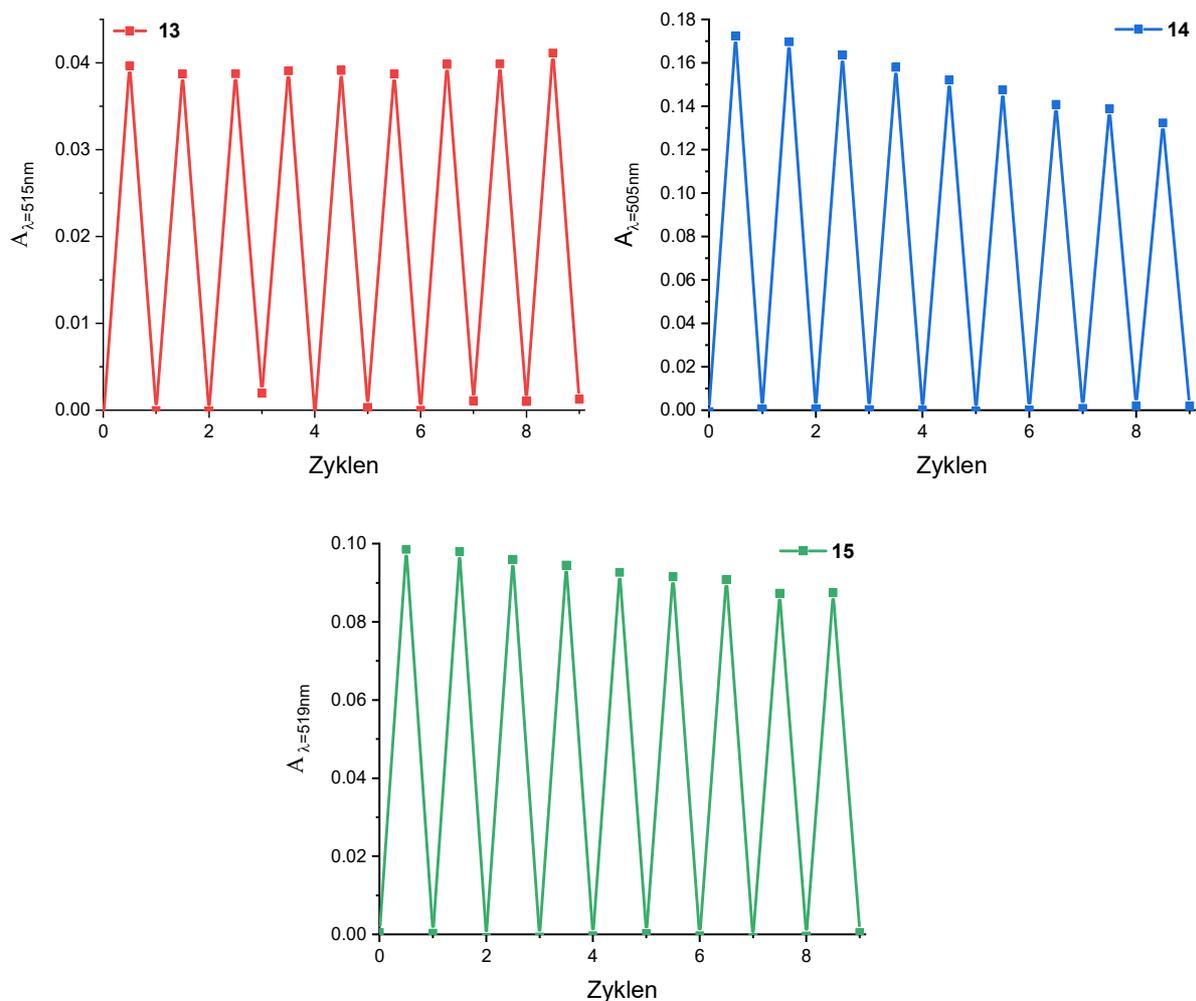


Abbildung 50: Bestimmung der Ermüdungsresistenz der Photoschalter **13** (links oben), **14** (rechts oben) und **15** (unten). Aufgetragen ist die Absorbanz im jeweiligen Absorptionsmaximum der geschlossenen Form gegen die Anzahl der Schaltzyklen. Die Belichtung erfolgte wie in Tabelle 3 angegeben.

Um den Verlust der Schalter über die Zyklen zu berechnen, wurde zunächst jeweils für den ersten und für den letzten Zyklus die Differenz der Absorbanzen von offenem und geschlossenem photostationären Zustand gebildet. Aus dem Vergleich der beiden erhaltenen Werte für die Absorbanz ergab sich anschließend die Verminderung der effektiven Absorbanzänderung über die neun Zyklen. Bei dem als Referenz dienenden methylierten Photoschalter **13** konnte, wie bereits in der Literatur beschrieben,^[85, 91] kein Verlust festgestellt werden. Der trifluormethylierte Photoschalter **14** besaß die geringste Ermüdungsresistenz mit einem Verlust von 2.5 % der schaltbaren Moleküle pro Zyklus. Als deutlich besser stellte sich der fluorierte Schalter **15** heraus. Hier konnte lediglich ein Verlust von 1.3 % pro Zyklus beobachtet werden.

Tabelle 3: Verwendete Belichtungsdauern für Öffnen und Schließen der Schalter zur Bestimmung der Ermüdungsresistenzen.

	13	14	15
Schließen (UG11-BPF)	20 s	60 s	90 s
Öffnen ($\lambda = 530 \text{ nm}$)	6 s	20 s	360 s

4.2.7. Zusammenfassung der Schalteigenschaften

In diesem Teil der Arbeit sollten neue Diarylethene mit elektronenziehenden Gruppen an der 2- und 2'-Position hergestellt und der Einfluss der Substituenten auf die Schalteigenschaften untersucht werden. Die hier bestimmten Eigenschaften für das Öffnen und Schließen der Photoschalter sind in Tabelle 4 und Tabelle 5 zusammengefasst. Werden diese Eigenschaften in Abhängigkeit des steigenden elektronenziehenden Charakters der Substituenten ($\text{CH}_3 < \text{CF}_3 < \text{F}$) betrachtet, ergeben sich einige interessante Tendenzen.

Wie bereits oben erwähnt steigt die Absorption des geschlossenen Schalters im sichtbaren Bereich von **13** über **14** hin zu **15** an. Während dies nicht über die Extinktionskoeffizienten der geschlossenen Isomere erklärt werden kann, zeigt sich eine ähnliche Tendenz in der Zusammensetzung der geschlossenen photostationären Zustände. Für **13** werden lediglich 10 % geschlossenes Isomer beobachtet, für **14** schon 15 % und bei **15** liegen bemerkenswerte 54 % der Schalter in geschlossener Form vor. Durch die Einführung von elektronenziehenden Gruppen an der 2- und 2'-Position kann also eine deutliche Verbesserung des geschlossenen photostationären Zustands erreicht werden. Da bei keinem Schalter das offene Isomer eine

Absorption im sichtbaren Bereich besitzt, konnte für das Öffnen bei allen Schaltern ein vollständiger Umsatz (PSS > 99 %) beobachtet werden.

Tabelle 4: Eigenschaften der Diarylethene **13**, **14** und **15** für die Elektrocyclisierung bei $\lambda = 300\text{nm}$.

	Schließen: $\lambda_{\text{exc}}=300\text{ nm}$				
	$\lambda_{\text{max, o}}$ [nm]	PSS	$\epsilon_{\text{o, 300nm}}$ [$\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$]	Φ	t [s]
13	291 299	0.10	7,000	0.12	20
14	299 309	0.15	7,200	0.10	60
15	304	0.54	7,200	0.08	90

Auch bei den Reaktionsgeschwindigkeiten ergab sich eine deutliche Abhängigkeit vom elektronenziehenden Charakter. Sowohl die Geschwindigkeit der Cyclisierung als auch die Geschwindigkeit der Cycloreversion nahmen mit steigendem -I-Effekt deutlich ab. Bei der Cycloreversion ist die Schaltdauer von **13** zu **15** sogar um das 60-fache erhöht. Dieser Verlauf spiegelt sich auch in den Schaltquantenausbeuten wieder. Während die Reaktionsquantenausbeuten für das Schließen der Schalter von 0.12 für **13** über 0.10 für **14** hin zu 0.08 für **15** abnehmen, ist dieser Verlauf bei der Cycloreversion deutlich stärker ausgeprägt. Hier nehmen die Reaktionsquantenausbeuten mit steigendem -I-Effekt von 0.14 über 0.026 hin zu 0.002 ab.

Tabelle 5: Eigenschaften der Photoschalter **13**, **14** und **15** für das Öffnen unter Belichtung bei $\lambda = 520\text{ nm}$.

	Öffnen: $\lambda_{\text{exc}}=530\text{ nm}$				
	$\lambda_{\text{max, c}}$ (nm)	PSS	$\epsilon_{\text{c Isomer}}$ ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	ϕ	t [s]
13	517	0.99	21,400	0.14	6
14	360 506	0.99	39,200	0.026	20
15	379 519	0.99	10,700	0.002	360

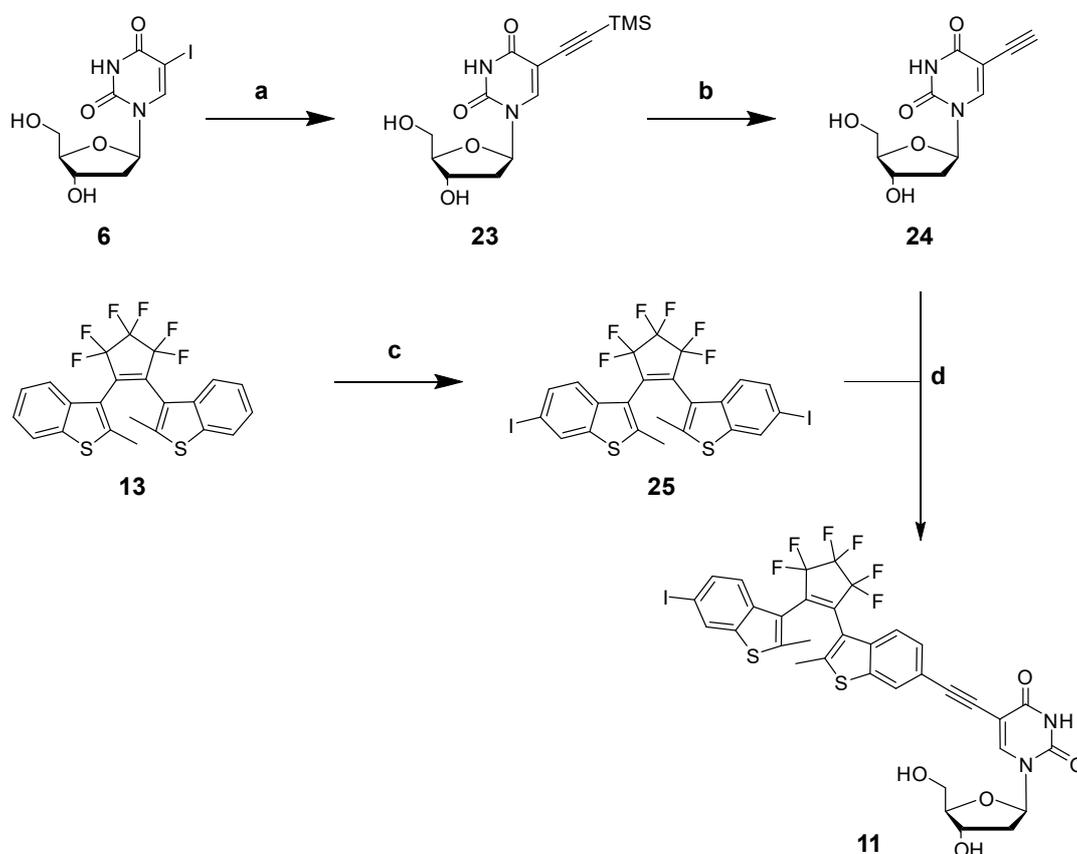
Eine weitere interessante Beobachtung ergibt sich durch den Vergleich der Ermüdungsresistenzen. Für die beiden neuen Schalter **15** und **14** konnte eine Ermüdung von

1.3 % bzw. 2.5 % festgestellt werden, was nur geringfügig mehr ist als die des methylierten Referenzschalters **13**.

Durch Einführung der elektronenziehenden Gruppen konnten also die geschlossenen photostationären Zustände deutlich verbessert werden, während die Ermüdungsresistenzen nur geringfügig vermindert wurden. Zusätzlich konnte eine signifikante Verlangsamung der Schaltreaktionen beobachtet werden.

4.3 Synthese der Schalternukleoside **11** und **12**

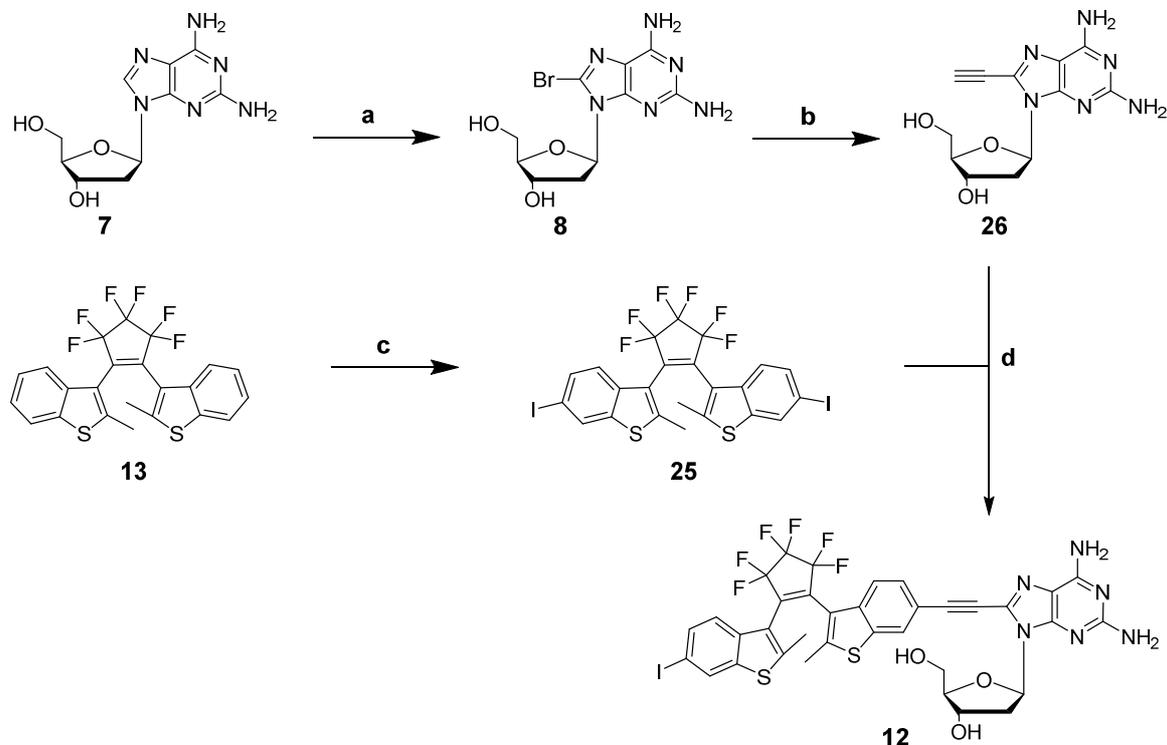
Für die Untersuchung zu den schaltbaren Chromophor-Aggregaten wurde nachfolgend ausschließlich der methylierte Schalter **13** verwendet, da dieser hierfür die besten Schalteigenschaften zeigte. In Hinblick auf die Darstellung schaltbarer Chromophorstapel sollten die beiden Schalternukleoside **11** und **12** hergestellt werden. Für die Synthese von **11** wurden zunächst die beiden Verbindungen **24** und **25** synthetisiert und anschließend über eine SONOGASHIRA-Kupplung verknüpft (siehe Schema 10).



Schema 10: Synthese des Schalternukleosids **11**. a) TMS-Acetylen, Pd(PPh₃)₄, CuI, MeCN, NEt₃, 40 °C, 4 h; b) KF, THF, Methanol, RT, 1 h (58 % über zwei Stufen); c) Iod, H₅IO₆, AcOH, Ac₂O, H₂SO₄, 65 °C, 14 h (36 %); d) Pd(OAc)₂, PPh₃, DMF, NEt₃, RT, ü.N. (31 %).

Die Herstellung des 5-Ethynyl-2'-desoxyuridins **24** erfolgte dabei ausgehend vom iodierten Nucleosid **6**, welches in einer SONOGASHIRA-Kupplung mit TMS-Acetylen zu **23** umgesetzt wurde. Die erhaltene Zwischenstufe wurde ohne weitere Aufreinigung direkt mit Kaliumfluorid als Fluoridquelle in THF und Methanol entschützt, wobei das gewünschte Produkt **24** mit einer Ausbeute von 58 % über zwei Stufen erhalten werden konnte.

Um den iodierten Schalter **25** herzustellen, wurde **13** mit einer Mischung aus Iod und Periodsäure in Essigsäure und Essigsäureanhydrid versetzt. Für die nachfolgende SONOGASHIRA-Kupplung sollte dabei bestmöglich ein mono-iodiertes Produkt erhalten werden. Jedoch konnte auch bei Zugabe von nur einem halben Äquivalent der Iodquelle eine selektive Bildung des diiodierten Schalters beobachtet werden. Vermutlich ist dies auf eine Aktivierung des Moleküls zurückzuführen: Nach Iodierung in 5-Position an einem der Arylsysteme wird die Reaktivität der entsprechenden Position im anderen Arylsystem erhöht, sodass vor Erstsitution anderer Moleküle eine Diiodierung zu erfolgen scheint. Aus diesem Grund wurde bei der nachfolgenden SONOGASHIRA-Kupplung ein leichter Überschuss des Schalters **25** verwendet. Das gewünschte Schalternukleosid **11** konnte dabei mit einer Ausbeute von 31 % erhalten werden. Die moderate Ausbeute ist auf die aufwändige Aufreinigung des Nukleosids zurückzuführen. Um ein vollständig sauberes Produkt zu erhalten, musste zunächst eine Normalphasen-Säulenchromatographie gefolgt von einer Umkehrphasen-Säulenchromatographie durchgeführt werden. Da sich jedoch bei beiden Trennungen breite und unscharfe Banden bildeten, konnte ein Produktverlust nicht verhindert werden.



Schema 11: Darstellung des Schalternukleosids **12**. a) *N*-Bromsuccinimid, DMF, 0 °C, 2 h (54 %); b) 1. TMS-Acetylen, Pd(OAc)₂, PPh₃, CuI, DMF, NEt₃; 40 °C, 4 h; 2. KF, THF, Methanol, RT, 1 h (19 % über zwei Stufen); c) Iod, H₅IO₆, AcOH, Ac₂O, H₂SO₄, 65 °C, 14 h (36 %); d) Pd(OAc)₂, PPh₃, DMF, NEt₃, RT, ü.N. (44 %).

Auf ähnliche Weise wurde das Schalternukleosid **12** synthetisiert (siehe Schema 11). Hierfür wurde das unmodifizierte Nukleosid **7** zunächst mit *N*-Bromsuccinimid an der 8-Position bromiert. Anschließend erfolgte die Einführung der Acetylen-Gruppe mittels SONOGASHIRA-Kupplung mit TMS-Acetylen. Die geschützte Verbindung wurde nachfolgend mit Kaliumfluorid in THF und Methanol entschützt. Dabei konnte das gewünschte 8-Ethynyl-2-amino-2'-desoxyadenosin (**26**) mit einer Ausbeute von 10 % erhalten werden. Die geringe Ausbeute ist der hohen Instabilität des Produktes geschuldet, das sich schon während der zur Aufreinigung notwendigen Säulenchromatographie größtenteils zersetzte. Versuche, die Azidität des Kieselgels durch Zugabe von 0.5 % Triethylamin zur mobilen Phase zu vermindern, sowie eine schnellere Elution des Produktes führten hierbei zu keiner Verbesserung der Problematik. Es wurde deshalb versucht die Kreuzkupplung mit dem Rohprodukt durchzuführen, was allerdings zu keiner Produktbildung führte, weswegen ohne weitere Optimierung fortgefahren wurde. Abschließend wurde **26** zusammen mit dem iodierten Schalter **25**, analog zu Verbindung **11**, in einer SONOGASHIRA-Kupplung mit einer Ausbeute von 44 % zum gewünschten Schalternukleosid **12** umgesetzt.

4.4 Eigenschaften der Schalternukleoside **11** und **12**

Vor den Anlagerungsversuchen wurden die Schalternukleoside hinsichtlich ihrer grundlegenden optischen Eigenschaften untersucht, welche für die Anlagerungen von Relevanz sind. Dazu wurden zunächst Absorptionsspektren des offenen und geschlossenen photostationären Zustands von **11** aufgenommen.

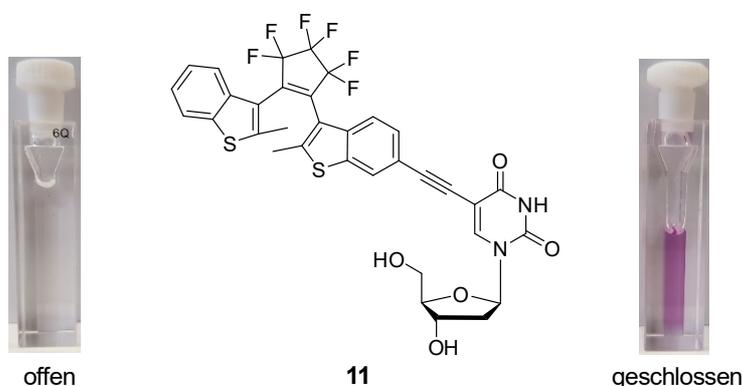


Abbildung 51: Struktur des Schalternukleosids **11** sowie Bilder der Lösungen der offenen (links) und geschlossenen (rechts) Form in DMSO.

Während das offene Isomer in Lösung farblos ist und ein Maximum bei $\lambda = 322$ nm aufweist, ist die Lösung der geschlossenen Form intensiv violett gefärbt und das Absorptionsspektrum zeigt Maxima bei $\lambda = 393$ nm und 558 nm. Zusätzlich ist die Absorbanz des offenen Isomers signifikant verringert (siehe Abbildungen 51 und 52).

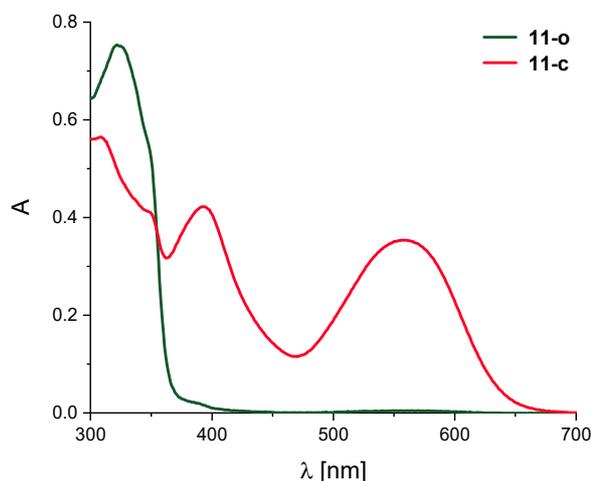


Abbildung 52: Absorptionsspektren des offenen PSS (grün) und geschlossenen PSS (rot) von **11** in DMSO ($c(\mathbf{11}) = 38 \mu\text{M}$).

Die Geschwindigkeit von Cyclisierung und Cycloreversion wurde, wie in Kapitel 4.2 beschrieben, bestimmt (siehe Abbildung 53). Es ergab sich eine Belichtungsdauer von 10 Sekunden bis zum Erreichen des geschlossenen photostationären Zustands. Der Nukleosidschalter ist damit sogar um 20 Sekunden schneller als der unmodifizierte Photoschalter. Dies ist vermutlich auf die Anbindung des Schalters über eine Acetylenbrücke zurückzuführen. Diese erlaubt starke elektronische Wechselwirkungen zwischen den Komponenten und ermöglicht so eine Beeinflussung der Schalteigenschaften durch das Nukleosid.^[152] Auch die Geschwindigkeit der Ringöffnungsreaktion ist mit einer Belichtungsdauer von 4 Sekunden im Vergleich zum unsubstituierten Photoschalter **13** ($t = 20$ Sekunden) deutlich erhöht.

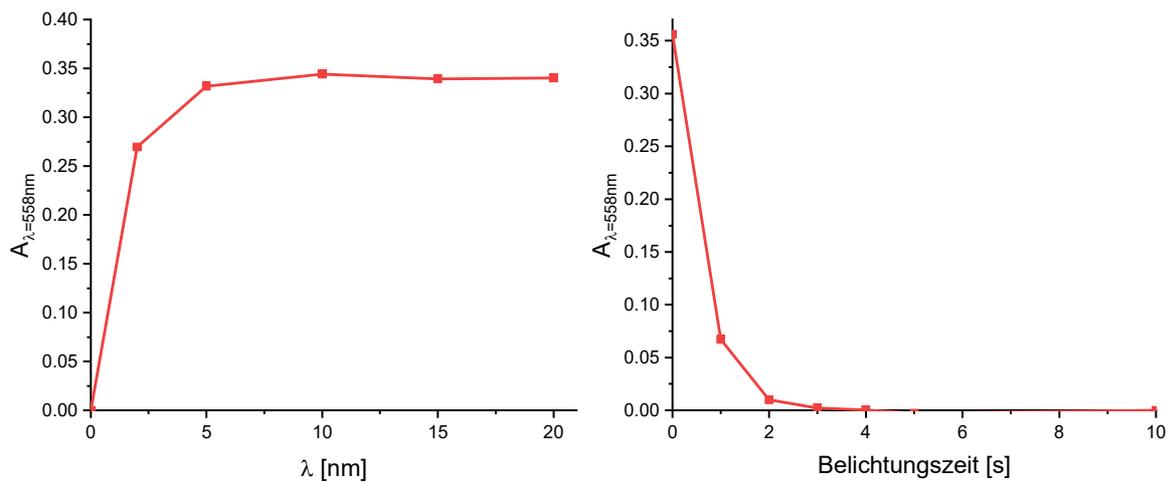


Abbildung 53: Geschwindigkeiten von Cyclisierung (links) und Cycloreversion (rechts) von **11**. Links: Verlauf der Absorption bei $\lambda = 558 \text{ nm}$ unter Belichtung im UV-Bereich; rechts: Verlauf der Absorption unter Belichtung bei $\lambda = 560 \text{ nm}$ ($c(\mathbf{11}) = 38 \mu\text{M}$ in DMSO).

Abschließend wurde die Ermüdungsresistenz des Nukleosidschalters **11**, wie in Kapitel 4.2.6 beschrieben, bestimmt (siehe Abbildung 54). Hierbei konnte ein Verlust an schaltbaren Molekülen von lediglich 0.6 % pro Schaltzyklus festgestellt werden. Die Schaltermüdung ist damit im Vergleich zum reinen Methyl-Schalter **13** nur geringfügig erhöht.

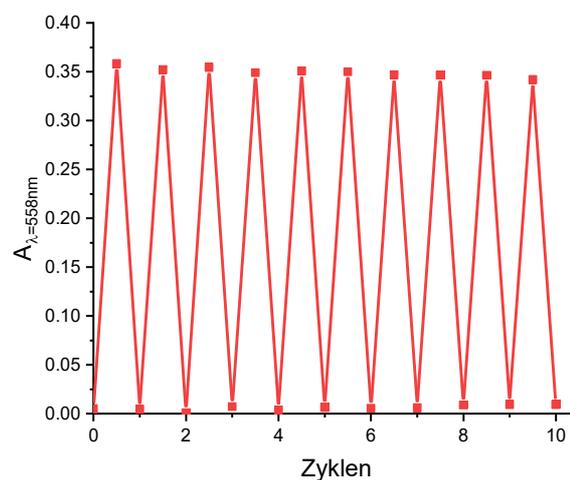


Abbildung 54: Bestimmung der Ermüdungsresistenz von **11**. Aufgetragen ist die Absorbanz im Absorptionssmaximum der geschlossenen Form bei $\lambda = 558 \text{ nm}$ gegen die Anzahl der Schaltzyklen ($c(\mathbf{11}) = 38 \mu\text{M}$ in DMSO).

Auch für das Schalternukleosid **12** wurden die relevanten Schalteigenschaften bestimmt. Die gemessenen Absorptionsspektren ergaben für die offene Form ein Maximum bei $\lambda = 364$ nm sowie für die schwach violette, geschlossene Form ein Maximum im sichtbaren Bereich bei $\lambda = 566$ nm (siehe Abbildungen 55 und 56 links oben).

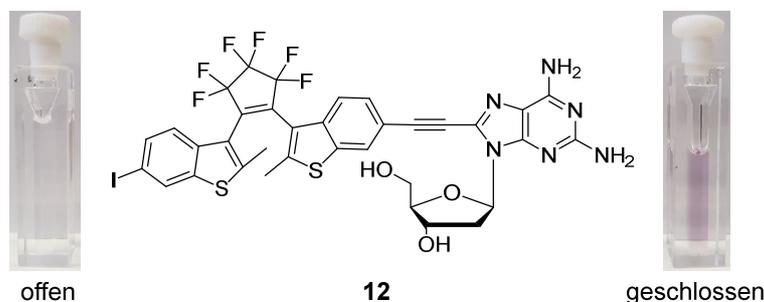


Abbildung 55: Struktur des Schalternukleosids **12** und Lösungen des offenen und geschlossenen Isomers in DMSO.

Im Gegensatz zu **11** ergaben sich für **12** sehr langsame Schaltgeschwindigkeiten. So wurde der geschlossene photostationäre Zustand erst nach 6.7 Minuten erreicht, was einer 40-fachen Verlangsamung der Schaltgeschwindigkeit im Vergleich zu **11** entspricht. Die Cycloreversion ist ebenfalls langsamer als bei **11** und besitzt eine Dauer von 20 Sekunden. Die elektronische Wechselwirkung des Schalters mit dem Nukleosid führt hier also zu einer deutlichen Verschlechterung der Schaltgeschwindigkeiten.

Bei näherer Betrachtung der Ermüdungsresistenz zeigt sich auch hier eine deutliche Verschlechterung der Schalteigenschaften. Während bei **11** und **13** kaum ein Verlust an schaltbaren Molekülen festzustellen ist, gehen bei **12** über 10 Schaltzyklen 60 % der schaltbaren Moleküle durch Nebenreaktionen verloren.

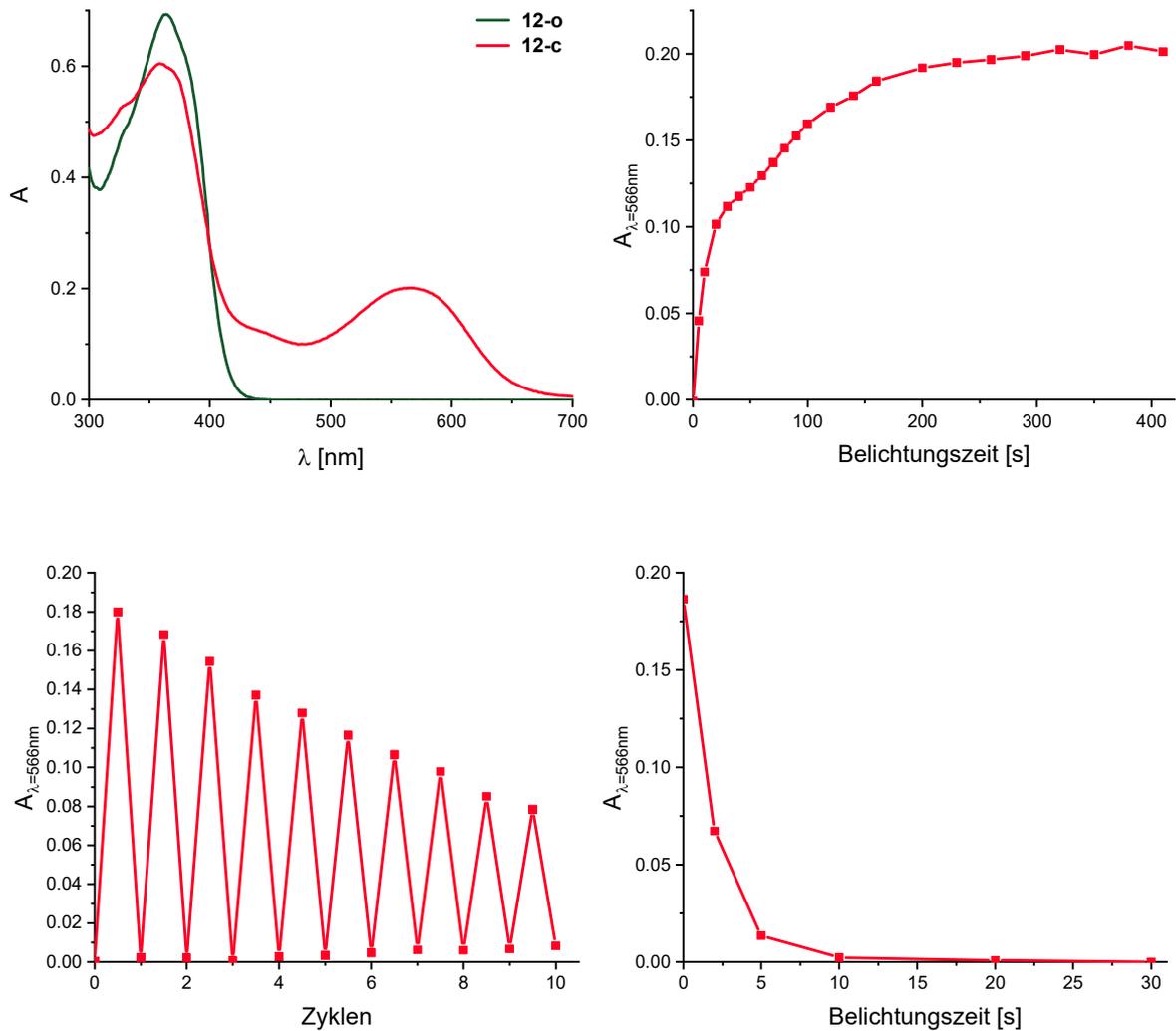


Abbildung 56: Schalteigenschaften von **12** im Überblick. *Oben links:* Absorptionsspektren des offenen (grün) und geschlossenen (rot) photostationären Zustands; *oben rechts:* Verlauf der Absorption bei $\lambda = 556$ nm während der Cyclisierung unter Belichtung im UV-Bereich; *unten links:* Ermüdungsresistenz. Aufgetragen ist die Absorbanz der geschlossenen Form im Absorptionsmaximum bei $\lambda = 558$ nm gegen die Anzahl der Schaltzyklen; *unten rechts:* Verlauf der Cycloreversion unter Belichtung bei $\lambda = 590$ nm (alle Spektren in DMSO, $c(\mathbf{12}) = 26 \mu\text{M}$).

4.5 Anlagerungsversuche des Schalternukleosids **11**

Aufgrund der deutlich besseren Schalteigenschaften von **11** wurde in den folgenden Anlagerungsexperimenten zunächst nur dieses verwendet. Da die Schalternukleoside für die spätere Steuerung der Aggregation zusammen mit den verwendeten Chromophoren anlagern müssen, wurden die ersten Tests mit den Anlagerungsbedingungen der Chromophore durchgeführt (siehe Kapitel 3.3 und Kapitel 5.4). Hierfür wurde das Schalternukleosid zunächst in DMSO gelöst und anschließend zu einer Lösung des zu untersuchenden Templatstrangs in Wasser gegeben. Es wurde darauf geachtet, dass der DMSO-Anteil der finalen Lösung 2 % nicht überstieg. Neben einer möglichen Destabilisierung der DNA spielt hier auch die Löslichkeit des Nukleosids eine Rolle. Durch einen geringen Anteil an DMSO soll die Präzipitation von **11** erleichtert und so die Selektivität erhöht werden.

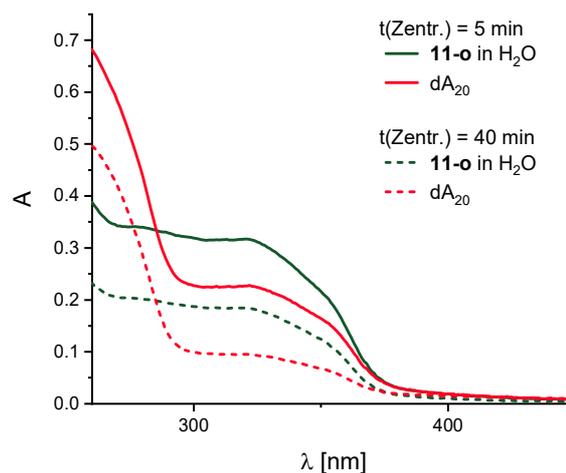


Abbildung 57: Absorptionsspektren des Schalternukleosids **11-o** in Wasser + 2 % DMSO (grün) und des Anlagerungsexperiments von **11-o** mit dem komplementären dA₂₀-Templatstrang (rot) nach Zentrifugation für 5 min und 40 min bei 16000g ($c(\text{Templat}) = 1.25\mu\text{M}$ und $c(\mathbf{11}) = 25\mu\text{M}$).

In Abbildung 57 sind die Anlagerungsversuche des offenen Schalternukleosids **11-o** an dA₂₀ sowie eine Negativprobe ohne DNA-Templat dargestellt (**11-o** in H₂O). Dabei ist zu erkennen, dass der Verlauf der Absorption mit und ohne Templat identisch ist, wobei sich die Kurven nur in der Intensität der Absorbanz unterscheiden. Es liegt also der Verdacht nahe, dass keine Anlagerung stattfindet, da das Nukleosid in Wasser eine zu hohe Löslichkeit aufweist. Aus diesem Grund wurde die Zentrifugationsdauer auf 40 Minuten bei 16000 g erhöht. Jedoch konnte auch hier kein Unterschied zwischen den Proben festgestellt werden. Zwar konnte

eine Verminderung der Absorption beobachtet werden, was für eine Abtrennung der Nucleoside spricht, da dies aber für beide Proben gleichermaßen der Fall war, konnte auch hier von keiner Wechselwirkung zwischen Nucleosid und Templat ausgegangen werden. Zunächst wurde vermutet, dass dieses Verhalten auf die eingeschränkten π - π -Wechselwirkungen zwischen den offenen Schaltern zurückzuführen ist. In offenem Zustand sind diese nicht planar und intermolekulare Wechselwirkungen somit durch sterische Effekte vermindert. Um dies zu überprüfen, sollte nachfolgend das, im geschlossenen photostationären Zustand vorliegende, Nucleosid **11** angelagert werden, da hier ein Großteil der Schaltermoleküle durch die Cyclisierung in planarem Zustand vorliegt.

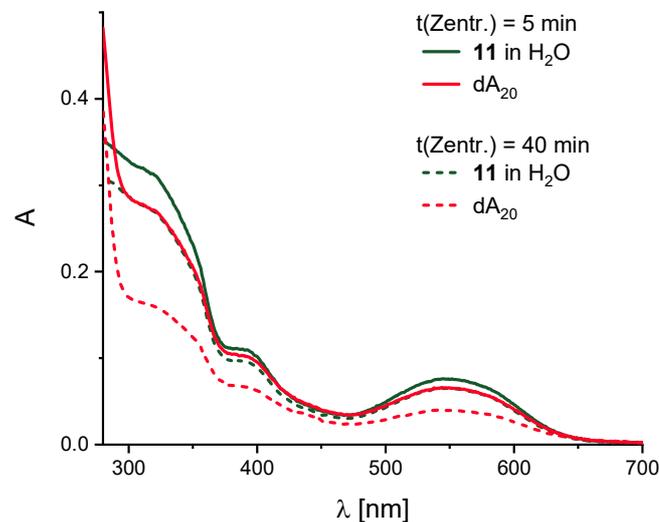


Abbildung 58: Absorptionsspektren des, im geschlossenen photostationären Zustand vorliegenden, Schalternucleosids **11** in Wasser + 2 % DMSO (grün) und der Anlagerung von **11** entlang des komplementären dA_{20} -Templatstrangs (rot) nach Zentrifugation für 5 min und 40 min bei 16000g ($c(\text{Templat}) = 1.25\mu\text{M}$ und $c(\mathbf{11}) = 25\mu\text{M}$).

Wie in Abbildung 58 zu erkennen, konnte allerdings bei der Anlagerung des geschlossenen Schalters **11-c** ein ähnliches Verhalten wie zuvor bei der offenen Form **11-o** festgestellt werden. Zusätzlich ist hier eine viel geringere Abnahme der Absorbanz mit erhöhter Zentrifugationsdauer zu sehen, was darauf schließen lässt, dass die Nucleoside in geschlossenem Zustand noch besser in Lösung verbleiben. Es wird vermutet, dass sich aufgrund starker Fluor-Fluor-Wechselwirkungen wasserlösliche Monomer-Aggregate ohne Beteiligung des DNA-Templats ausbilden.

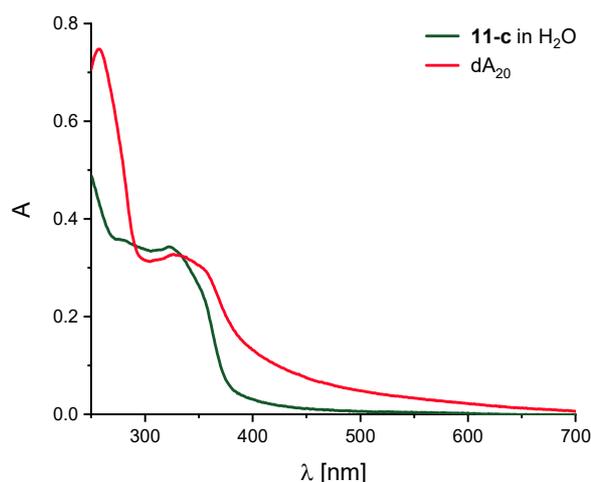


Abbildung 59: Anlagerungsversuche von **11-o** mit Methanol als Lösungsmittel für die Chromophor-Stammlösung. Rot: Anlagerung von **11-c** entlang des komplementären dA₂₀-Templatstrangs; grün: **11-o** in Wasser + 2 % MeOH. Jeweils nach Zentrifugation für 40 min bei 16000g ($c(\text{Templat}) = 1.25\mu\text{M}$ und $c(\mathbf{11}) = 25\mu\text{M}$).

In weiteren Anlagerungsversuchen sollte daher mit Methanol ein fluorophiles Lösungsmittel für die Herstellung der Stammlösung verwendet werden, wovon sich ein Abschwächen der Fluor-Fluor-Wechselwirkungen erhofft wurde (siehe Abbildung 59). In den aufgenommenen Spektren ist auch hier erneut eine ähnliche Absorbanz bei $\lambda = 320\text{ nm}$ für die Negativprobe und die Probe mit Templat zu sehen, sodass auch hier auf die Bildung von wasserlöslichen Monomer-Aggregaten geschlossen werden kann. Diese Hypothese wird zusätzlich durch das Absorptionsspektrum von **11-o** in Gegenwart des Templatstrangs gestützt, welches eine langsam auslaufende Absorption bis hin zu $\lambda = 700\text{ nm}$ zeigt. Dieser Absorptionsverlauf wird typischerweise beobachtet, wenn Chromophore ungeordnete Aggregate ausbilden (siehe Kapitel 3.5). Als weiterer Versuch wurde die Zugabe von Trifluoressigsäure als wasserlösliches fluorophiles Additiv getestet. Um Beschädigungen am DNA-Templat vorzubeugen, wurden lediglich Tests mit 1 % und 2.5 % Trifluoressigsäure durchgeführt, wobei die Bildung der Monomer-Aggregate auch auf diese Weise nicht verhindert werden konnte.

Insgesamt war es, trotz verschiedener getesteter Anlagerungsbedingungen, aufgrund der starken Monomer-Monomer-Wechselwirkungen durch die Perfluorierung des Rückgrads und die dadurch verursachte Löslichkeit nicht möglich, die ungebundenen Nukleoside abzutrennen, sodass keine genaue Aussage über das Anlagerungsverhalten getroffen werden konnte.

4.6 Zusammenfassung

In diesem Teil der Arbeit sollte eine Steuerung der Aggregation durch die Inkorporation von Diarylethen-Photoschaltern in den Chromophorstapel untersucht werden. Zunächst wurden neue Photoschalter mit elektronenziehenden Gruppen in der 2- und 2'-Position entwickelt und der Einfluss der Substituenten auf die Schalteigenschaften bestimmt. Der neue Photoschalter **15** und der Referenzschalter **13** konnten dabei ausgehend von Benzothiophen mit Ausbeuten von 21 % bzw. 67 % über drei Stufen erfolgreich synthetisiert werden. Der trifluormethylierte Schalter **14** wurde ausgehend von Benzothiophen-2-Boronsäure erfolgreich hergestellt und konnte mit einer Gesamtausbeute von 58 % über zwei Stufen erhalten werden. Bei der Untersuchung der Schalteigenschaften stellte sich heraus, dass diese deutlich vom elektronenziehenden Charakter der 2- und 2'-Substituenten beeinflusst wurden. Mit zunehmendem -I-Effekt der Substituenten wurde eine signifikante Verlangsamung der Schaltgeschwindigkeiten sowohl für die Cyclisierung als auch die Cycloreversion beobachtet. Auch die Reaktionsquantenausbeuten für Öffnen und Schließen der Schalter wurden mit steigendem elektronenziehenden Charakter geringer. Dahingegen wurde die Lage des geschlossenen photostationären Zustands mit steigenden -I-Effekten zu Gunsten des geschlossenen Isomers verschoben. Die Ermüdungsresistenz der beiden neuen Schalter **14** und **15** scheint nahezu unbeeinträchtigt von der Variation der 2- und 2'-Substituenten zu sein. Beide Schalter wiesen eine ähnliche oder nur geringfügig höhere Schaltermüdung auf.

Für die Anlagerung des Schalters sollten zunächst die Schalternukleoside **11** und **12** hergestellt werden. Die Synthese von **11** konnte dabei ausgehend von 5-Iod-2'-desoxyuridin erfolgreich in drei Stufen durchgeführt werden. Auch das schaltermodifizierte 2-Amino-2'-desoxyadenosin **12** konnte ausgehend vom unmodifizierten Nukleosid **7** erfolgreich in drei Stufen hergestellt werden. Aufgrund der schlechten Schalteigenschaften von **12** wurden die Anlagerungsversuche mit **11** durchgeführt.

Hierbei konnte trotz verschiedener getesteter Bedingungen keine Aussage über das Anlagerungsverhalten getroffen werden, da ungebundene Nukleoside nicht abgetrennt werden konnten. Dies ist vermutlich auf die Bildung von wasserlöslichen Monomer-Aggregaten aufgrund der sehr starken Monomer-Monomer-Wechselwirkungen durch die Perfluorierung des Cyclopentenrückgrads zurückzuführen. Die vermutete Aggregatbildung konnte trotz Verwendung anderer Lösungsmittel und Additive nicht

unterdrückt werden. Da für eine erfolgreiche Anlagerung ein ausgewogenes Verhältnis der Wechselwirkungen zwischen Monomer und Templat sowie zwischen den einzelnen Monomeren gegeben sein muss, wurde die Untersuchung aufgrund der zu starken Monomer-Monomer-Wechselwirkungen von **11** eingestellt.

5 Kontrolle der helikalen Orientierung

In den vorherigen Kapiteln wurden bereits Methoden zur Kontrolle über die Chromophorabfolge in Nukleosid-Templat-Aggregaten durch sequenzspezifische Anlagerung sowie eine Steuerung der Assemblierung durch schaltbare Nukleoside untersucht. Ein nächster konsequenter Schritt hin zur vollständigen Programmierbarkeit der gebildeten Aggregate stellt die gezielte Steuerung der helikalen Chiralität dar.

In bisherigen Arbeiten wurde eine solche Helikalitätskontrolle lediglich über äußere Bedingungen realisiert. So nutzten beispielweise SCHENNING *et al.* den pH-Wert der Umgebung, um die Helikalität ihrer Oligonaphthalinaggregate zu steuern,^[79] während BALAZ *et al.* die helikale Orientierung der Porphyrinarchitekturen durch die Zugabe von Kochsalz und unterschiedlich schnelles Abkühlen nach Hybridisierung der Probe kontrollierten.^[80-81]

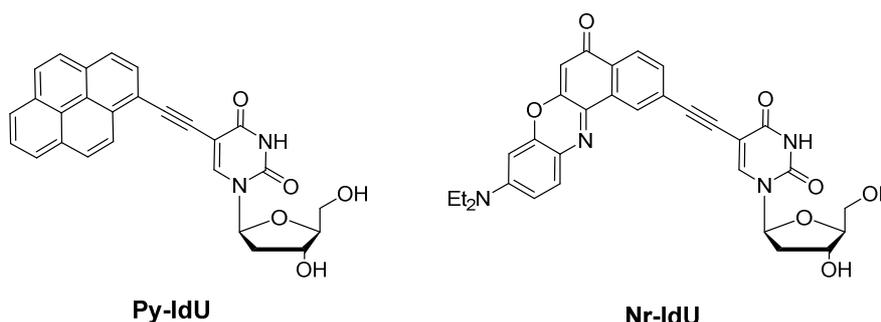


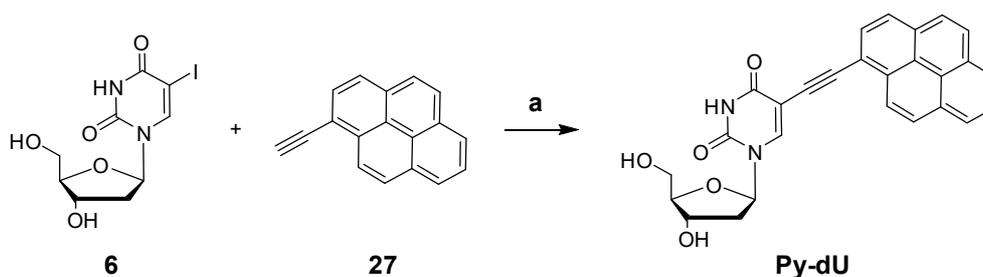
Abbildung 60: Strukturen der synthetisierten ethinylpyren- (**Py-IdU**) und ethinylnilrotmodifizierten (**Nr-IdU**) β -L-2'-Desoxyuridine.

Um eine möglichst uneingeschränkte Anwendbarkeit der Multichromophorarchitekturen zu gewährleisten, wäre jedoch eine interne Kontrolle, ohne Abhängigkeit von äußeren Umständen, wünschenswert und von grundlegendem Interesse. Aus diesem Grund wurde ein System basierend auf den Anlagerungen von 5-Ethinylnilrot-2'-desoxyuridin (**Nr-dU**) und 5-Ethinylpyren-2'-desoxyuridin (**Py-dU**) entwickelt, mit dem der Einfluss der Konfiguration der Monomere und des Templats auf die helikale Orientierung der entstehenden Aggregate untersucht werden konnte. Hierfür wurden zunächst die L-konfigurierten Analoga **Py-IdU** und **Nr-IdU** der bekannten D-konfigurierten Bausteine **Nr-dU** und **Py-dU** hergestellt (siehe Abbildung 60). Zusätzlich wurde ein L-konfigurierter dA₂₀-Templatstrang synthetisiert. In kombinatorischen Anlagerungsversuchen wurden mit den verschiedenen konfigurierten

Bausteinen und Templaten Anlagerungen durchgeführt. Die erhaltenen Aggregate wurden mittels Absorptions- und CD-Spektroskopie untersucht, um den Einfluss der Konfiguration der verschiedenen Komponenten der Aggregate auf Beladung des Templats, Selektivität und helikale Orientierung zu bestimmen.

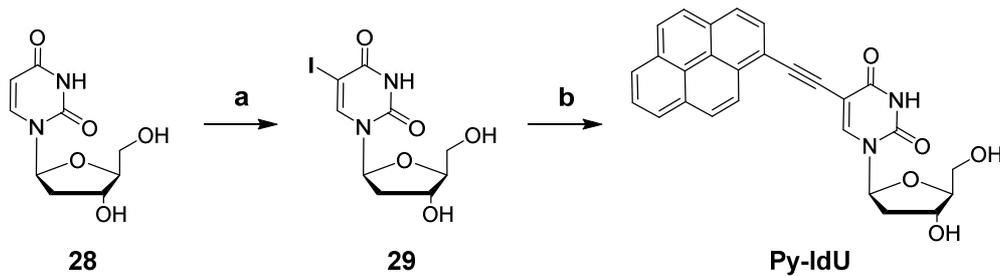
5.1 Synthese der verwendeten Nukleoside Py-IdU und Nr-IdU

Die Synthesen der Bausteine **Nr-dU** und **Py-dU** sind literaturbekannt und wurden wie in Kapitel 3.1 beschrieben durchgeführt.^[65, 136-137, 153-154] Für die Darstellung von **Py-dU** wurden 5-Iod-2'-desoxyuridin (**6**) und 1-Ethynylpyren (**27**) in einer SONOGASHIRA-Kupplung mit Tetrakis(triphenylphosphin)palladium zum gewünschten Produkt **Py-dU** umgesetzt (siehe Schema 12).



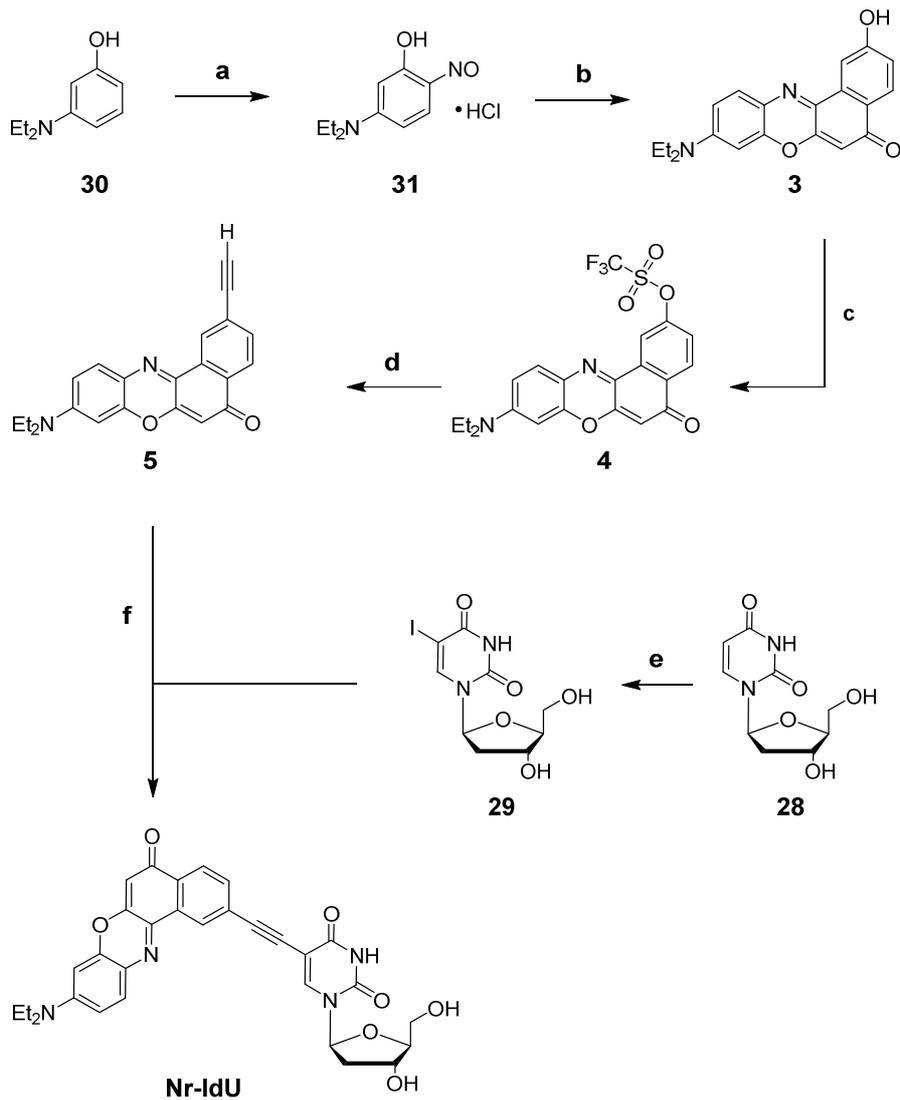
Schema 12: Synthese des **Py-dU** nach KORSHUN *et al.*^[153] und BERLIN *et al.*^[154] a) Pd(PPh₃)₄, CuI, NEt₃, abs. DMF, 60 °C, 16 h (56 %).

Die Synthese des ethynylpyrenmodifizierten *L*-2'-Desoxyuridins **Py-IdU** erfolgte ausgehend von kommerziell erhältlichen β -*L*-2'-Desoxyuridin (**28**), welches nach einer Vorschrift von ROBINS *et al.* mit Cer(IV)ammoniumnitrat und Lithiumiodid an der 5-Position iodiert wurde.^[155] Anschließend wurde der iodierter Baustein **29** in einer SONOGASHIRA-Kupplung mit 1-Ethynylpyren umgesetzt, wobei das Pyren-Nukleosid **Py-IdU** mit einer Gesamtausbeute von 33 % über 2 Stufen erhalten werden konnte (siehe Schema 13). Limitierender Schritt in dieser Synthese war die Iodierung von **28**, welche lediglich mit 37 % Ausbeute ablief. Versuche mit erhöhter Temperatur, verlängerter Reaktionsdauer oder mit höheren Äquivalenten der Reagenzien konnten die Ausbeute jedoch nicht weiter steigern.



Schema 13: Synthese des *L*-Bausteins **Py-IdU**. a) Lithiumiodid, Cer(IV)ammoniumnitrat, Eisessig, 80 °C, 30 min (37 %);^[155] b) 1-Ethynylpyren, Pd(PPh₃)₄, CuI, NEt₃, abs. DMF, 60 °C, 19 h (89 %).

Für die Synthese des *L*-konfigurierten Ethynylnilrot-2'-desoxyuridins (**Nr-IdU**) wurde zuerst 2-Ethynylnilrot (**5**) hergestellt. Die Synthese erfolgte weitgehend nach der literaturbekannten Synthesevorschrift,^[65, 136-137] wurde jedoch angepasst, um den synthetischen und zeitlichen Aufwand der Syntheseroute zu verringern. Dafür wurden die letzten beiden Schritte der publizierten Synthese zu einem Schritt zusammengefasst und die TMS-Gruppe ohne vorherige Aufarbeitung abgespalten (siehe Schema 14, Schritt d). Zunächst wurde *N,N*-Diethylaminophenol (**30**) mit Isoamylnitrit und HCl in Dioxan an der 2-Position nitriert. Das erhaltene 5-*N,N*-Diethylamin-2-nitrophenol-hydrochlorid (**31**) wurde zusammen mit 1,6-Dihydroxynaphthalin durch Erhitzen in DMF unter Rückfluss in einer intermolekularen Cyclisierung zu 2-Hydroxy-Nilrot (**3**) umgesetzt. Danach wurde die Hydroxygruppe mit *N*-Phenylbis(trifluormethansulfonimid) in eine Triflyl-Gruppe überführt, um eine bessere Abgangsgruppe für die nachfolgende SONOGASHIRA-Kupplung mit TMS-Acetylen zu erzeugen. Die TMS-Schutzgruppe wurde anschließend mit *tert*-Butylammoniumfluorid abgespalten, wobei 2-Ethynylnilrot (**5**) mit einer Ausbeute von 8 % über vier Stufen isoliert werden konnte. Ausbeuteverluste lassen sich auf die aufwändige säulenchromatographische Aufreinigung zurückführen. Aufgrund der schlechten Auftrennung sowie der Bildung breiter Produktbanden, konnten die gewünschten Produkte nicht vollständig isoliert werden. Das *L*-konfigurierte Nilrotnukleosid **Nr-IdU** wurde letztlich über eine palladiumkatalysierte SONOGASHIRA-Kupplung von 2-Ethynylnilrot (**5**) mit dem iodierten β -*L*-2'-Desoxyuridin **29** erhalten.



Schema 14: Synthese des ethynylnitro-modifizierten β -L-2'-Desoxyuridins **Nr-IdU**. a) Isoamylnitrit, HCl (4 M in Dioxan), 0 °C, 90 min (86 %); b) 1,6-Dihydroxynaphthalin, DMF, 153 °C, 4 h (63 %); c) Tf₂NPh, NEt₃, abs. THF, RT, 68 h (66 %); d) 1. TMS-Acetylen, Pd(PPh₃)₄, CuI, NEt₃, abs. DMF, 80 °C, 4 h; 2. TBAF (1 M in THF), abs. DCM, RT, 35 min (22 %); e) Lithiumiodid, Cer(IV)ammoniumnitrat, Eisessig, 80 °C, 30 min (37 %);^[155] f) Pd(PPh₃)₄, CuI, NEt₃, abs. DMF, 60 °C, 22 h (34 %).

5.2 Synthese der *L*-konfigurierten Oligonukleotide

Die *L*-konfigurierten Templatstränge IdA₁₀ und IdA₂₀ wurden über automatisierte Festphasensynthese nach der Phosphoramiditmethode hergestellt. Das benötigte β -*L*-Desoxyadenosin-Phosphoramidit war kommerziell erhältlich und wurde als 0.067 M Lösung in Acetonitril verwendet. Für den Einbau wurde ein angepasstes Standardsyntheseprotokoll verwendet, um einen möglichst vollständigen Einbau der *L*-Bausteine zu gewährleisten (siehe Kapitel 8.6).

Da unmodifizierte Oligonukleotidstränge über HPLC-Aufreinigung nur schwer von ihren Abbruchsträngen zu trennen sind, wurde die DMT-Schutzgruppe der finalen Basen während der Synthese beibehalten. Dies ermöglichte die Verwendung von *Glen-Pak* Säulen zur schnellen Reinigung der Oligonukleotide, wobei die Schutzgruppe während der Aufreinigung abgespalten wurde. Die erhaltenen Stränge wurden anschließend, wie in Kapitel 8.6.2 beschrieben, sorgfältig entsalzt.

5.3 Optische Charakterisierung der *L*-konfigurierten Nukleoside

Zunächst wurden die optischen Eigenschaften der farbstoffmodifizierten, *L*-konfigurierten Nukleoside **Py-IdU** und **Nr-IdU** untersucht. Für die nachfolgenden Anlagerungsversuche mit verschiedenen Oligonukleotid-Templatsträngen wurden die in DMSO gelösten Monomere zu einer wässrigen Lösung des Templatstrangs gegeben. Um vergleichbare Messbedingungen zu schaffen, sollten die Nukleoside daher optimalerweise ebenfalls in Wasser vermessen werden. Da jedoch sowohl **Py-IdU** als auch **Nr-IdU** in Wasser unlöslich sind und in Abwesenheit des Templatstrangs sofort ausfallen, wurden die Reinsubstanzen in DMSO gelöst vermessen.

Weiterer Vorteil der Messung in reinem DMSO ist, dass die Nukleoside in diesem Lösungsmittel keine π - π -Stapelung zeigen. Dies erlaubt die Aufnahme von reinen Monomerspektren, was wichtige Informationen und Grundlagen für die spätere Untersuchung der DNA-Multichromophor-Konjugate liefert.

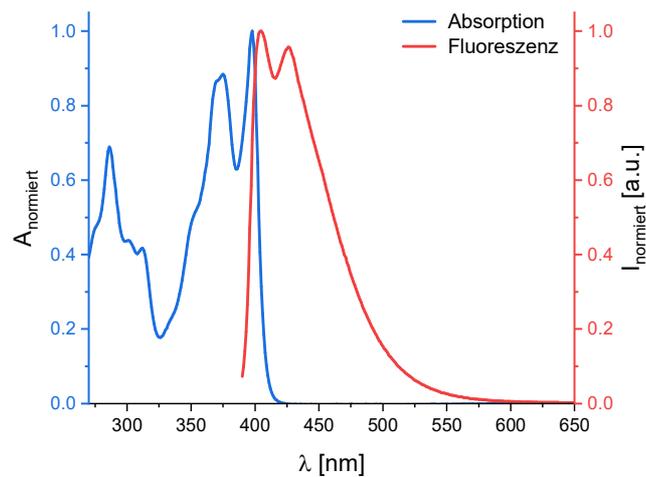


Abbildung 61: Normierte Absorptions- (blau; $c(\text{Py-IdU}) = 2.2 \times 10^{-2} \text{ mmol/L}$) und Fluoreszenzspektren (rot; $c(\text{Py-IdU}) = 5.5 \times 10^{-3} \text{ mmol/L}$) von **Py-IdU** in DMSO. Die Anregung der Fluoreszenz erfolgte bei $\lambda = 375 \text{ nm}$ mit einer Spaltweite von 2 nm.

Wie zu erwarten, weisen die *L*-konfigurierten Nucleoside **Py-IdU** und **Nr-IdU** gleiche optische Eigenschaften wie ihre *D*-konfigurierten Analoga **Py-dU** und **Nr-dU** auf. Im Absorptionsspektrum von **Py-IdU** ist neben der Eigenabsorption von 2'-Desoxyuridin bei 286 nm deutlich eine Feinstruktur mit Maxima bei 375 nm und 398 nm zu erkennen. Diese Feinstruktur ist typisch für Pyren und findet sich auch in der Emission des Moleküls wieder. Wird **Py-IdU** bei $\lambda = 375 \text{ nm}$ angeregt, kann eine Fluoreszenz mit einer geringen Stokes-Verschiebung von 7 nm beobachtet werden, welche Maxima bei 405 nm sowie 426 nm aufweist.

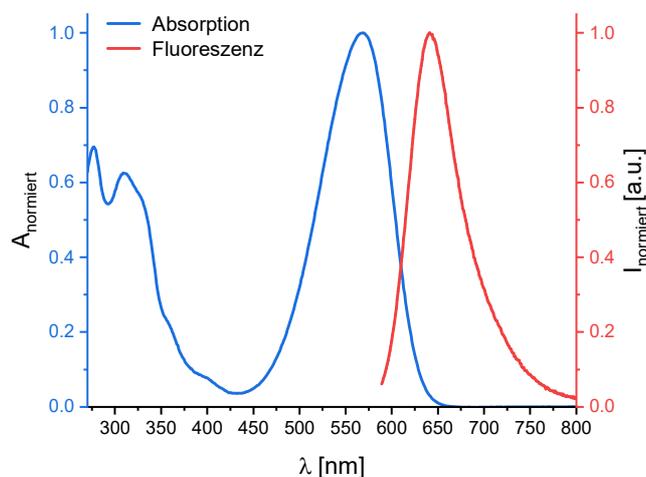


Abbildung 62: Normierte Absorptions- (blau; $c(\text{Nr-IdU}) = 1.71 \times 10^{-2} \text{ mmol/L}$) und Fluoreszenzspektren (rot; $c(\text{Nr-IdU}) = 5.7 \times 10^{-3} \text{ mmol/L}$) von **Nr-IdU** in DMSO. Die Anregung der Fluoreszenz erfolgte bei $\lambda = 596 \text{ nm}$ mit einer Spaltweite von 2 nm.

Das in DMSO gelöste **Nr-IdU** weist eine tief violette Farbe auf und sein Absorptionsspektrum zeigt neben den Maxima von 2'-Desoxyuridin bei 277 nm und 309 nm eine breite Absorbanz mit einem Maximum bei 569 nm. Diese Absorption ist charakteristisch für Nilrot in DMSO und kann auch beim reinen Farbstoff beobachtet werden. Nach Anregung im Maximum bei $\lambda = 569$ nm weist **Nr-IdU** eine breite Emission mit einer Stokes-Verschiebung von 72 nm und einem Maximum bei 641 nm auf. Des Weiteren wurden für beide Verbindungen Extinktionskoeffizienten bestimmt, welche ebenfalls mit denen der *D*-konfigurierten Nukleosiden nahezu identisch sind (siehe Kapitel 8.7).

5.4 Anlagerungsexperimente

Zunächst erfolgte die Untersuchung des Anlagerungsverhaltens der *L*-konfigurierten Nukleoside **Py-IdU** und **Nr-IdU** mit verschiedenen DNA-Templatsträngen. Die Assemblierungsexperimente wurden dabei analog zu den Anlagerungen der *D*-konfigurierten Verbindungen **Py-dU**^[6, 139] und **Nr-dU**^[7, 138] durchgeführt, um den Einfluss der Konfiguration auf die Assemblierung besser beurteilen zu können.

Die entsprechenden Monomere wurden dafür in DMSO gelöst und zu einer Lösung des jeweiligen Templatstrangs in Wasser gegeben. Da DMSO in hohen Konzentrationen die Schmelztemperatur von DNA-Duplexen absenkt und damit zu einer Destabilisierung der gebildeten Aggregate führt, wurde die Konzentration der Monomer-Stammlösung so gewählt, dass ein Anteil von 2 % DMSO in Wasser nicht überschritten wurde. Studien von DAVE *et al.* zeigten, dass die Stabilität der Doppelstränge bei dieser Konzentration nicht nennenswert verringert wird.^[140] Die Proben wurden für eine Stunde inkubiert, ungebundene Chromophornukleoside durch Zentrifugation (1 min bei 16000 g) abgetrennt und der Überstand spektroskopisch untersucht. Abbildung 63 zeigt die Absorptionsspektren von **Py-IdU** in DMSO, in Wasser ohne DNA, sowie in Wasser mit verschiedenen komplementären und nicht-komplementären Templatsträngen.

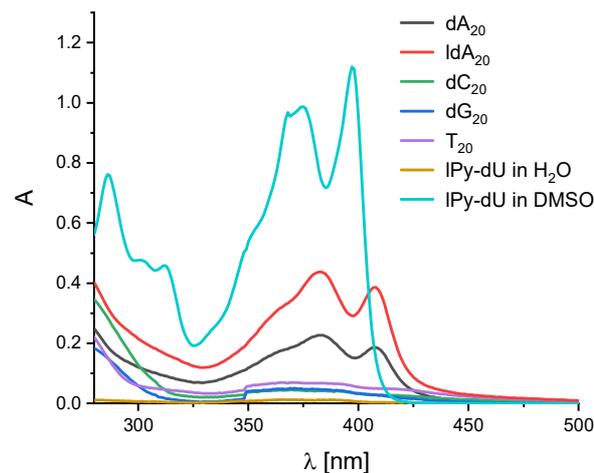


Abbildung 63: UV/Vis-Absorptionsspektrum des *L*-konfigurierten **Py-IdU** in DMSO ($c(\text{Py-IdU}) = 25 \mu\text{M}$), ohne Templat in Wasser ($c(\text{Py-IdU}) = 25 \mu\text{M}$), in Wasser + 2 % DMSO mit den komplementären Templaten dA₂₀, und IdA₂₀ sowie mit den nicht-komplementären Templatsträngen dG₂₀, dC₂₀ und T₂₀ (jeweils $c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Py-IdU}) = 25 \mu\text{M}$) nach Zentrifugation für 1 min bei 16000 g.

Ohne Templatstrang fiel **Py-IdU** aus Wasser aus und konnte durch Zentrifugation vollständig abgetrennt werden. Auch in Gegenwart der nicht-komplementären Template (dC₂₀, T₂₀ und dG₂₀) fiel der Baustein größtenteils aus der Lösung aus und nur geringe Mengen des Monomers konnten im Überstand beobachtet werden. Wurde **Py-IdU** jedoch zu den komplementären Templatsträngen dA₂₀ und IdA₂₀ gegeben, verblieb der Baustein auch nach Zentrifugation in Lösung. Dieses Verhalten ist auf eine Anlagerung der Monomere entlang der DNA-Template zurückzuführen, wobei sich wasserlösliche Multichromophoraggregate ausbildeten. Die Assemblierung von **Py-IdU** am DNA-Templat geht dabei mit einer Absorptionsänderung einher. Wie in Abbildung 63 zu sehen ist, sind die Absorptionsmaxima der Aggregate im Vergleich zum reinen Monomer in DMSO bathochrom auf 382 nm bzw. 407 nm verschoben und der Extinktionskoeffizient ist aufgrund hypochromer Effekte im Chromophorstapel deutlich verringert. Zudem sind die Absorptionsbanden der angelagerten Bausteine infolge von π - π -Wechselwirkungen innerhalb des DNA-Farbstoff-Aggregats im Bereich von 400 nm – 600 nm verbreitert. Diese Effekte konnten ebenfalls beim mehrfachen, kovalenten Einbau des *D*-konfigurierten Nukleosids **Py-dU** in DNA,^[66] sowie bei dessen Anlagerung an das komplementäre dA₁₇-Templat beobachtet werden,^[6, 139] und belegen zusammen mit dem veränderten Löslichkeitsverhalten die erfolgreiche Assemblierung von **Py-IdU**.

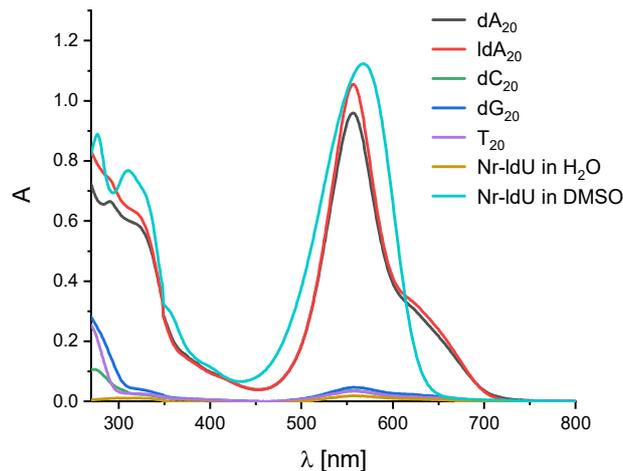


Abbildung 64: UV/Vis-Absorptionsspektrum von **Nr-IdU** in DMSO ($c(\text{Nr-IdU}) = 25 \mu\text{M}$), in Wasser ohne Templatstrang ($c(\text{Nr-IdU}) = 25 \mu\text{M}$), in Wasser + 2 % DMSO in Gegenwart der komplementären Template dA_{20} und IdA_{20} sowie in Gegenwart der nicht-komplementären Templatstränge dG_{20} , dC_{20} und T_{20} (jeweils $c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nr-IdU}) = 25 \mu\text{M}$) nach Zentrifugation für 1 min bei 16000 g.

Die Absorptionsspektren der Anlagerungsexperimente von **Nr-IdU** sind in Abbildung 64 gezeigt. Auch das nilrotmodifizierte Nukleosid **Nr-IdU** fiel ohne Templat oder in Gegenwart der nicht-komplementären Oligonukleotidstränge (dC_{20} , T_{20} und dG_{20}) aus Wasser aus und konnte durch Zentrifugation nahezu vollständig abgetrennt werden. Wie beim pyrenmodifizierten Baustein **Py-IdU** zuvor, bildeten sich zusammen mit den komplementären DNA-Templaten dA_{20} und IdA_{20} wasserlösliche Multichromophoraggregate aus und das Nukleosid verblieb auch nach Zentrifugation komplett in Lösung. Das Absorptionsmaximum der Aggregate ist hypochrom auf 557 nm verschoben und der Extinktionskoeffizient ist im Vergleich zum Monomer verringert. Zudem bildet sich eine breite Schulter zwischen 600 nm – 700 nm aus. Diese Absorptionsänderungen konnten ebenfalls bei der Anlagerung des *D*-konfigurierten **Nr-dU**^[7, 138] sowie beim kovalenten Einbau mehrerer benachbarter Nilrot-Einheiten in DNA^[5] beobachtet werden und beweisen so das Vorhandensein eines geordneten **Nr-IdU**-Stapels entlang der Templatstränge.

Die bisherigen Ergebnisse zeigen deutlich die Selektivität der neuen Nukleoside gegenüber dem DNA-Templat-Strang. Sowohl **Py-IdU** als auch **Nr-IdU** lagern gemäß der Watson-Crick-Basenpaarung lediglich an die komplementären Templatstränge dA_{20} und IdA_{20} an. Dabei fällt jedoch auf, dass bei beiden Nukleosiden, vor allem jedoch bei **Py-IdU**, die Absorbanz der entstehenden Aggregate mit dem IdA_{20} -Templat höher als mit dem

D-konfigurierten dA₂₀-Strang ist. Ein möglicher Grund für diese Unterschiede könnte, neben verschieden stark ausgeprägten hypochromen Effekten in den Chromophorstapeln, eine unterschiedliche Beladung der Template sein. Zwar sollte die Beladung der Template im Hinblick auf das Bindungsmotiv unabhängig von der Konfiguration der Bausteine sein, jedoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass ungünstige Geometrien in den entstehenden Aggregaten den Beladungsgrad verringern. Aus diesem Grund wurde als nächstes die Bindung der Nucleoside in Abhängigkeit der Konfiguration der komplementären DNA-Template in Titrationsexperimenten untersucht.

Hierfür wurde zu einer wässrigen Lösung der DNA schrittweise eine definierte Menge einer **Py-IdU**- oder **Nr-IdU**-Stammlösung gegeben (siehe Kapitel 8.5.2). Die Menge entsprach jeweils genau einer Nucleobase im Templatstrang, sodass im Idealfall pro Titrationsschritt eine Bindungsstelle besetzt werden sollte. Die Probe wurde nach jeder Zugabe sorgfältig geschüttelt, für eine Minute bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend spektroskopisch untersucht. Dabei wurde so lange titriert bis eine Nucleosidkonzentration erreicht wurde, die circa dem 1.5-fachen der Bindungsstellen entsprach, um eine möglichst vollständige Besetzung der Template zu erreichen. Wie bereits gezeigt, sind die Nucleoside in Wasser unlöslich und bleiben nur dann in Lösung, wenn sie an die DNA angelagert sind. Nach Titrationseende konnten daher alle überschüssigen und nicht angelagerten Bausteine durch Zentrifugation von der Lösung abgetrennt werden. Der erhaltene Überstand wurde spektroskopisch untersucht und erlaubt so Rückschlüsse auf die Zahl der besetzten Bindungsstellen.

Zusätzlich wurden Titrationsexperimente mit den literaturbekannten, *D*-konfigurierten Bausteinen **Py-dU** und **Nr-dU** an denselben Templatsträngen durchgeführt, um die Ergebnisse der *L*-konfigurierten Nucleoside besser einordnen zu können. Darüber hinaus sollte untersucht werden, wie die Invertierung der Templatkonfiguration (dA₂₀ vs. IdA₂₀) die bekannten Bindungseigenschaften von **Py-dU**^[6] und **Nr-dU**^[7] beeinflusst.

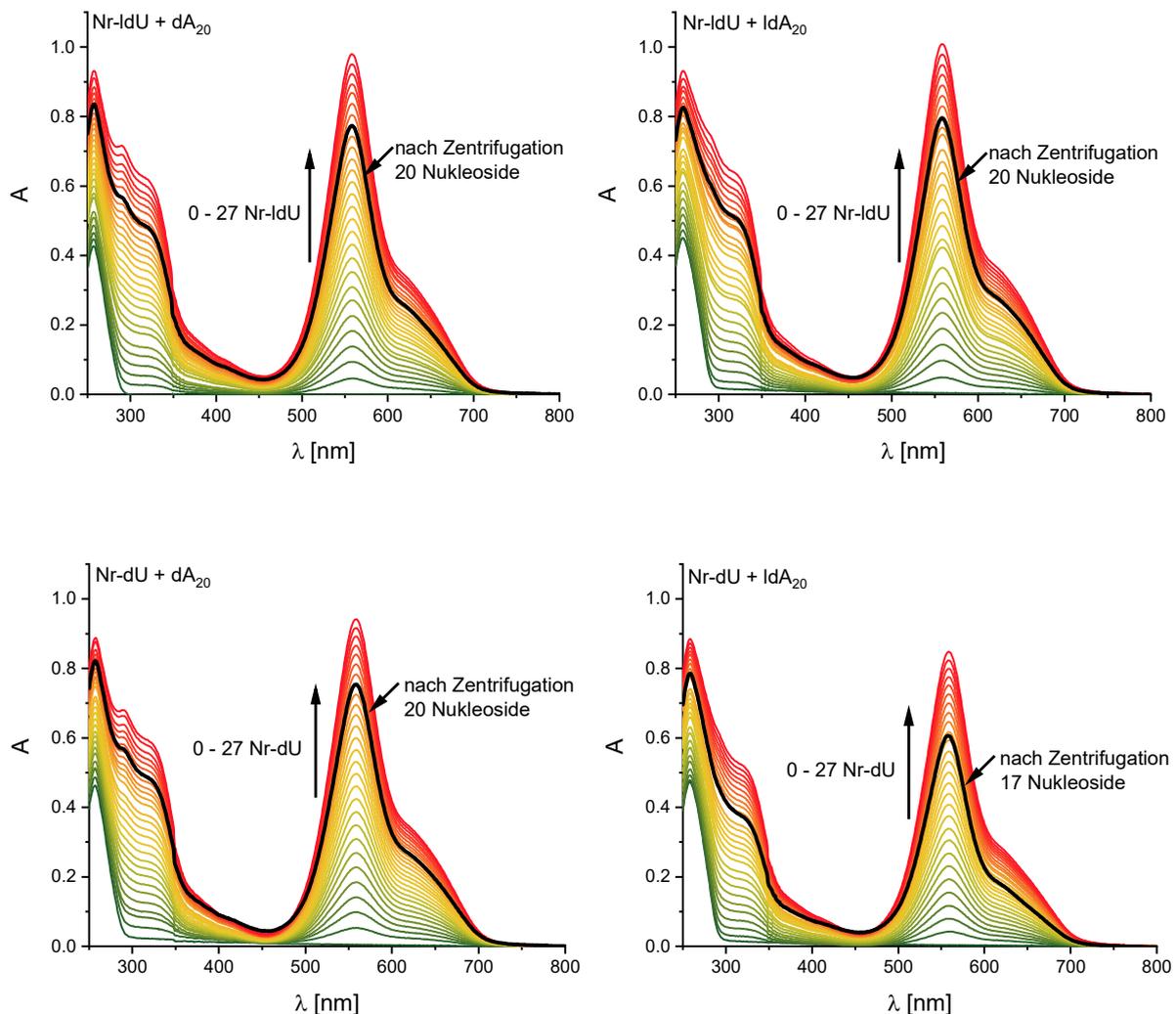


Abbildung 65: Absorptionsspektren der Titrationsexperimente von **Nr-I dU** zu den Templaten dA_{20} (oben links) und IdA_{20} (oben rechts). In der unteren Zeile sind zum Vergleich die Titrations des *D*-konfigurierten **Nr-dU** zu dA_{20} (unten links) und IdA_{20} (unten rechts) gezeigt. Die Absorptionsspektren der Überstände nach der Zentrifugation sind jeweils in schwarz in die entsprechenden Graphen eingezeichnet.

Zunächst wurde die Bindung der beiden Nilrot-Nukleoside **Nr-dU** und **Nr-I dU** untersucht (siehe Abbildung 65). Wie bereits zuvor gezeigt, besitzen die angelagerten Nilrot-Nukleoside ein Absorptionsmaximum bei $\lambda = 557$ nm mit einer breiten Schulter zwischen 600 nm – 700 nm. Während den Titrationsexperimenten konnte dieses Absorptionsmuster bereits nach Zugabe eines Aliquots beobachtet werden. Dies zeigt, dass nur geringen Mengen der Bausteine nötig sind, um einen Nilrot-Stapel entlang des DNA-Templates auszubilden. Wurde die Konzentration der Nukleoside nach und nach erhöht, nahm auch die Absorption im Bereich des Nilrot-Chromophors bei $\lambda = 557$ nm zu. Wie bereits in vorherigen Untersuchungen im Arbeitskreis gezeigt wurde, verläuft der Anstieg der Absorption jedoch nicht linear, sondern

die Zunahme pro Titrationsschritt wird mit zunehmender Anzahl der angelagerten Nilrot-Nukleoside geringer.^[7, 138] Grund hierfür ist eine Verringerung des Extinktionskoeffizienten, hervorgerufen durch Grundzustandswechselwirkungen innerhalb des Chromophorstapels. Dieser hypochrome Effekt ist unter anderem von der relativen Lage der Chromophore zueinander und somit von der Geometrie der Aggregate abhängig, und ist deswegen in den verschiedenen Titrationsexperimenten unterschiedlich stark ausgeprägt. Die während der Titration ansteigende Absorptionsbande im Bereich der DNA bei $\lambda = 260$ nm ist auf die Eigenabsorption der Nilrot-Monomere in diesem Bereich zurückzuführen. Zur Bestimmung der Beladung wurde jedoch nur die Chromophorbande verwendet, da die Templatstränge in diesem Bereich keine Eigenabsorption zeigen.

Nach Abtrennen der ungebundenen Monomere konnte für die Titration von **Nr-IdU** zum *D*-konfigurierten Templatstrang dA₂₀ ein Absorptionsspektrum erhalten werden, welches ungefähr dem Spektrum nach Zugabe von 20 **Nr-IdU**-Einheiten entspricht und damit auf eine vollständige Besetzung aller Bindungsstellen im Templat hindeutet. Auch bei der Anlagerung von **Nr-IdU** an IdA₂₀ konnte eine Vollbesetzung beobachtet werden. Die Bindung von **Nr-IdU** gegenüber den komplementären dA₂₀- und IdA₂₀-Strängen wird also nicht von der Konfiguration des Templats beeinflusst. Für die Anlagerung von **Nr-dU** an den komplementären dA₂₀-Strang konnte, wie in der Literatur beschrieben,^[138] ebenfalls eine Vollbesetzung des Templats festgestellt werden. Die Belegung ist gegenüber dem IdA₂₀-Strang jedoch verringert. Lediglich 17 der 20 Bindungsstellen sind besetzt, was einer Belegungsrate von 85 % entspricht. Darüber hinaus ist der hypochrome Effekte deutlich ausgeprägter als bei Anlagerung an dA₂₀ sowie bei den Versuchen mit **Nr-IdU** zuvor. Dies deutet darauf hin, dass das Templat den Chromophoren eine andere Geometrie vorgibt, wobei die Chromophore stärker miteinander wechselwirken, dabei jedoch nicht mehr alle Bindungsstellen besetzen können.

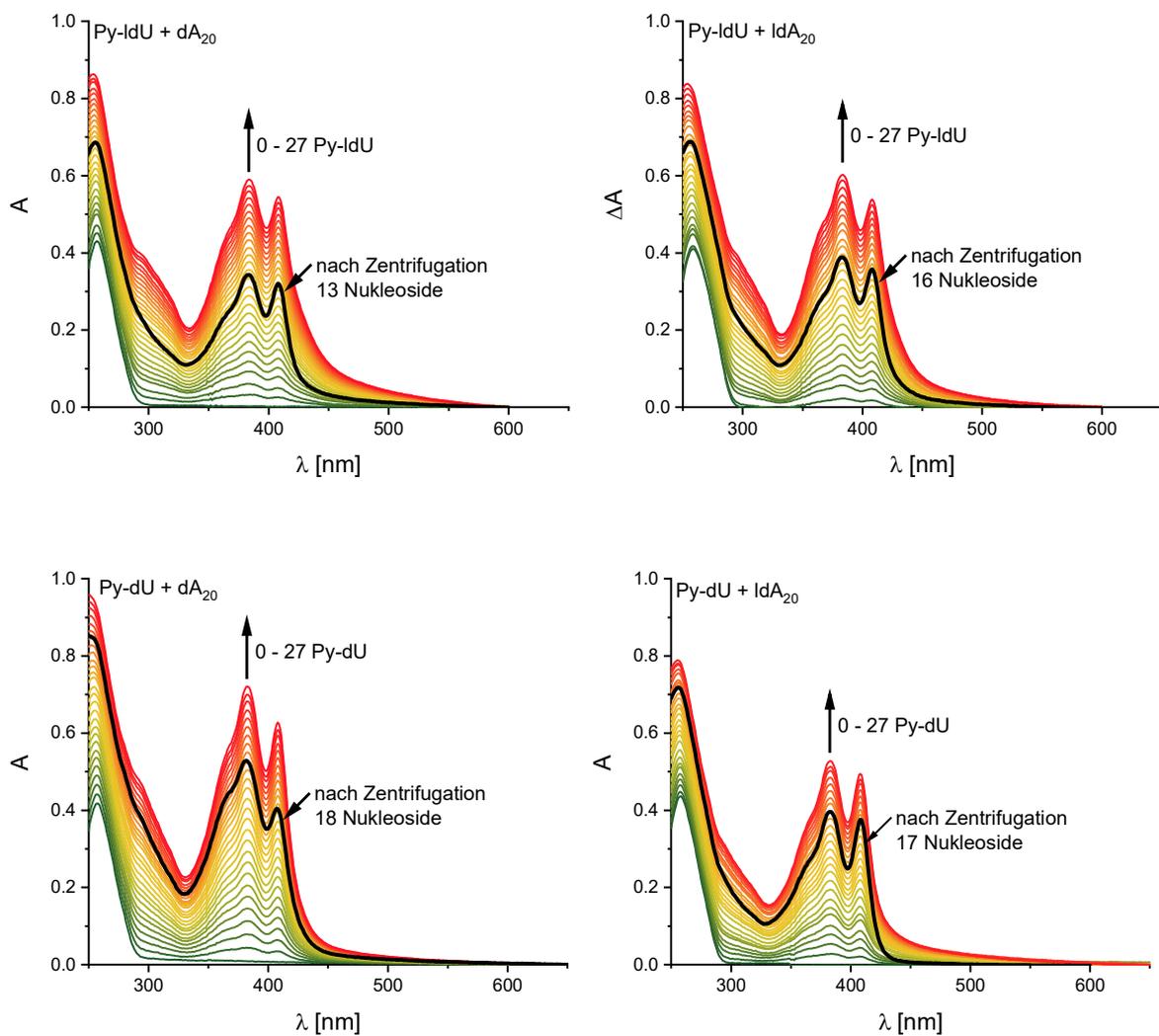


Abbildung 66: Absorptionsspektren der Titrationsexperimente von **Py-IdU** zu dA_{20} (oben links) und IdA_{20} (oben rechts). Zum Vergleich sind die Titrations des *D*-konfigurierten **Nr-dU** zu den Templaten dA_{20} (unten links) und IdA_{20} (unten rechts) in der unteren Zeile dargestellt. Die Absorptionsspektren nach der Zentrifugation sind in schwarz in die jeweiligen Graphen eingefügt.

Die Absorptionsspektren der Titrationsexperimente der pyrenmodifizierten Nukleoside **Py-IdU** und **Py-dU** sind in Abbildung 66 dargestellt. Auch hier zeigt sich schon nach Zugabe von geringen Mengen der Pyren-Nukleoside ein Absorptionsmuster, das den angelagerten Pyren-Bausteinen entspricht. Das Absorptionsmaximum ist bathochrom auf 382 nm verschoben und eine pyrentypische Feinstruktur ist zu erkennen. Im Laufe der weiteren Zugabe nahm sowohl die Absorption im Bereich der DNA bei $\lambda = 260$ nm, sowie die Absorption bei 382 nm zu. Der Anstieg der Chromophorabsorption verläuft dabei, wie zuvor bereits erläutert, aufgrund hypochromer Effekte nicht linear und ist von der Geometrie der Aggregate abhängig.

Tabelle 6: Bindung der untersuchten Nucleoside **Nr-IdU**, **Nr-dU**, **Py-IdU** und **Py-dU** an die Templatstränge dA_{20} und IdA_{20} . Angegeben ist der Belegungsgrad der Bindungsstellen im Templatstrang in Prozent.

	Nr-IdU	Nr-dU	Py-IdU	Py-dU
dA_{20}	100	100	65	90
IdA_{20}	100	85	80	85

In den Titrationsexperimenten von **Py-IdU** mit dem *D*-konfigurierten Templatstrang dA_{20} konnte nach Zentrifugation ein Absorptionsspektrum erhalten werden, welches der Zugabe von 13 Bausteinen und somit einem Belegungsgrad von ungefähr 65 % entspricht. Wurde anstelle von dA_{20} der *L*-konfigurierte Templatstrang IdA_{20} verwendet, konnte die Belegung gesteigert und die Belegungsrate auf 80 % erhöht werden. Im Gegensatz zu **Nr-IdU** zeigt sich bei **Py-IdU** also eine höhere Belegung, wenn Templat und Monomer die gleiche Konfiguration aufweisen. Bei den Anlagerungen von **Py-dU** konnten sowohl mit dA_{20} als auch mit IdA_{20} als Templat höhere Belegungsgrade als bei den entsprechenden Anlagerungen von **Py-IdU** erreicht werden (siehe Tabelle 6). Anders als bei **Nr-IdU** ist bei **Py-dU** ein deutlicher Unterschied zwischen den Absorptionsspektren zur Anlagerung an dA_{20} und IdA_{20} zu sehen. Zum einen ist der hypochrome Effekt beim dA_{20} -Templat signifikant stärker ausgeprägt, zum anderen ist das Intensitätsverhältnis der beiden Absorptionsmaxima bei $\lambda = 382$ nm und 402 nm verschieden. Auch hier kann also angenommen werden, dass sich die Geometrien der beiden Aggregate unterscheiden.

5.5 Untersuchung der Aggregate mittels CD-Spektroskopie

In den bisherigen Experimenten konnte gezeigt werden, dass sich die neuen *L*-konfigurierten Nucleoside **Py-IdU** und **Nr-IdU**, wie zu erwarten, nahezu identisch wie ihre *D*-konfigurierten Analoga verhalten. Die Bausteine weisen gleiche optische Eigenschaften, gleiche Selektivitäten und gleiche Eigenschaften der Aggregate auf. Auch die verschiedenen Konfigurationen der verwendeten Template dA_{20} und IdA_{20} besitzen keinerlei Einfluss auf diese Eigenschaften. Lediglich die Belegungen und hypochromen Effekte unterscheiden sich in den verschiedenen Aggregaten, weshalb von verschiedenen helikalen Orientierungen innerhalb der Aggregate ausgegangen wird. Aus diesem Grund wurde abschließend der

Einfluss der Konfiguration der Nukleoside und des Templats auf die helikale Orientierung der entstehenden Aggregate untersucht. Dafür wurden in Kooperation mit STEPHAN SINN aus der Arbeitsgruppe von FRANK BIEDERMANN (*Karlsruher Institut für Technologie*) CD-Spektren der Aggregate aufgenommen.

Als problematisch stellte sich hierbei die Eigenabsorption der Chromophor-Nukleoside im Bereich der DNA-Absorption heraus. In angelagertem Zustand besitzen die Nukleoside in diesem Bereich ein starkes CD-Signal, welches die Signale der DNA überlagert, und so einen Vergleich der Aggregate mit publizierten DNA-Spektren deutlich erschwert. Die helikale Orientierung der Aggregate wurde aus diesem Grund über das spezifische CD-Signal der angelagerten Chromophore bestimmt.

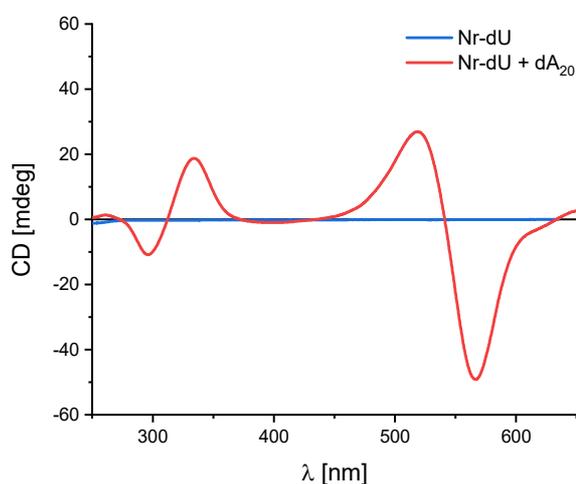


Abbildung 67: Vergleich der CD-Spektren des reinen Nilrot-Bausteins **Nr-dU** in DMSO ($c(\text{Nr-dU}) = 25 \mu\text{M}$), sowie des Aggregates von **Nr-dU** an den komplementären dA₂₀-Templatstrang in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nukleoside}) = 25 \mu\text{M}$).

Zunächst wurden in Voruntersuchungen CD-Spektren der reinen DNA-Template, sowie der Nukleoside und ihrer jeweiligen Vorstufen aufgenommen (siehe Kapitel 8.8.3, Abbildung 91). Wie aufgrund ihrer Absorption zu erwarten, besitzen die DNA-Template lediglich ein CD-Signal im Bereich zwischen 200 nm – 300 nm und beeinträchtigen so die nachfolgenden Messungen nicht. Auch die ungebundenen Monomere **Py-IdU**, **Py-dU**, **Nr-IdU** und **Nr-dU**, sowie ihre Vorstufen zeigten kein signifikantes Signal im CD-Spektrum. Es kann also davon ausgegangen werden, dass in den nachfolgenden Untersuchungen lediglich die Aggregate zu sehen sein werden, und die Ergebnisse nicht durch Spuren von ungebundenen Templaten oder Monomeren verfälscht werden. Des Weiteren lieferten diese Voruntersuchungen einen

zusätzlichen Beweis für die erfolgreiche Anlagerung der Nucleoside. In Abbildung 68 sind exemplarisch die CD-Spektren des reinen Nilrot-Nucleosides **Nr-dU** sowie dessen Aggregat mit dA_{20} dargestellt. Das ungebundene Nucleosid zeigt keine Signale im CD-Spektrum. Wird der Baustein jedoch an einen komplementären DNA-Strang angelagert, bildet sich ein helikales Multichromophor-DNA-Aggregat aus und Signale im Bereich der Chromophorabsorption sowie zwischen $\lambda = 280 \text{ nm} - 380 \text{ nm}$ können beobachtet werden.

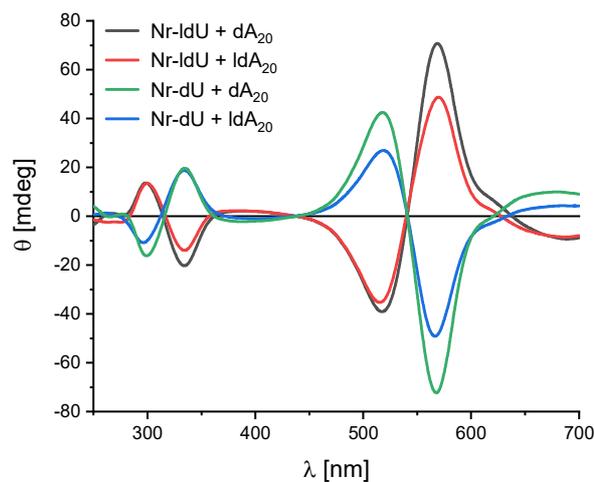


Abbildung 68: CD-Spektren der Assemblierungen von **Nr-IdU** und **Nr-dU** an dA_{20} - und IdA_{20} -Templatsträngen in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nucleoside}) = 25 \mu\text{M}$).

Wird **Nr-IdU** an IdA_{20} angelagert, ist im CD-Spektrum ein starkes excitongekoppeltes Signal mit positivem COTTON-Effekt bei $\lambda = 566 \text{ nm}$ zu sehen, welchem ein negativer COTTON-Effekt bei $\lambda = 517 \text{ nm}$ folgt (siehe Abbildung 68, schwarze Kurve). Der Nulldurchgang des Signals liegt bei $\lambda = 540 \text{ nm}$ und korreliert somit gut mit dem Absorptionsmaximum der angelagerten Nilrot-Bausteine bei $\lambda = 559 \text{ nm}$. Zusätzlich kann ein negatives, excitongekoppeltes CD-Signal zwischen $\lambda = 279 \text{ nm} - 362 \text{ nm}$ mit einem Nulldurchgang bei $\lambda = 314 \text{ nm}$ beobachtet werden. Vergleicht man die gemessenen CD-Spektren mit den publizierten Daten von rechtsgängigen DNA-Doppelsträngen mit fünf kovalent verknüpften Nilrot-Einheiten,^[5] so zeigt sich eine signifikante Übereinstimmung. Das **Nr-IdU** muss in diesem Aggregat also auch eine rechtsgängige Orientierung besitzen. Die gleiche Beobachtung kann auch gemacht werden, wenn **Nr-IdU** an IdA_{20} angelagert wird. Die Aggregate von **Nr-dU** mit dA_{20} besitzen, wie bereits in der Literatur beschrieben,^[4, 6] ein invertiertes CD-Spektrum und somit eine linksgängige Helikalität. Gleiches lässt sich für die Anlagerung an IdA_{20} beobachten.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass **Nr-dU** die intrinsische Eigenschaft besitzt, mit DNA-Templaten linksgängige Chromophorstapel auszubilden. Aufgrund der invertierten Konfiguration von **Nr-IdU** verhält sich der Baustein, wie zu erwarten, gegensätzlich zu seinem *D*-konfigurierten Analoga **Nr-dU** und bildet rechtsgängige Stapel aus (siehe Tabelle 7).

Aus den gemessenen Spektren ist zudem ersichtlich, dass die Helikalität der Aggregate nur von der Konfiguration der Nilrot-Nukleoside abhängig ist und nicht durch die Konfiguration der Templatstränge beeinflusst wird. Daraus lässt sich schließen, dass die Wechselwirkungen der Monomere untereinander deutlich stärker sind als die Wechselwirkungen der Chromophore mit dem Templat. Das Aggregat bildet sich somit in einer möglichst optimalen Anordnung der Monomere zueinander aus, was beim *L*-konfigurierten **Nr-IdU** in einer rechtsgängigen Orientierung gegeben ist.

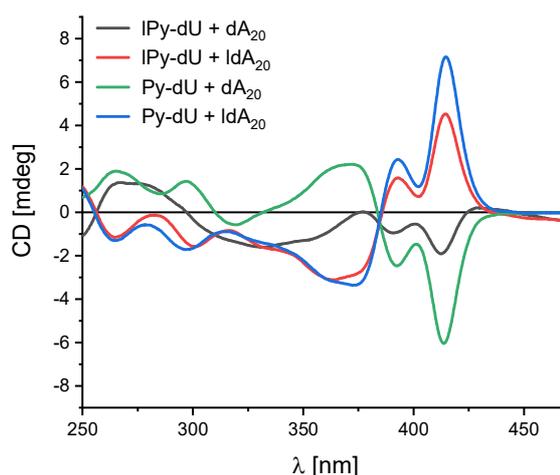


Abbildung 69: CD-Spektren der Anlagerungsexperimente von **Py-IdU** und **Py-dU** mit dA_{20} - und IdA_{20} -Oligonukletidsträngen als Templat in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nukleoside}) = 25 \mu\text{M}$).

Bei der Anlagerung des pyrenmodifizierten Nukleosids **Py-dU** an das dA_{20} -Templat ist im CD-Spektrum ein excitongekoppeltes Signal mit einem negativen COTTON-Effekt bei $\lambda = 413 \text{ nm}$, gefolgt von einem positiven COTTON-Effekt bei $\lambda = 370 \text{ nm}$ und einem Nulldurchgang bei $\lambda = 385 \text{ nm}$ zu erkennen (Abbildung 18, grüne Kurve). Wie bereits literaturbekannt,^[6, 139] ist dieses Spektrum invers zu den publizierten Spektren von DNA-Doppelsträngen mit fünf benachbarten Pyren-Einheiten,^[66] und zeigt somit die linksgängige Orientierung der angelagerten Chromophore. Auch das *L*-konfigurierte **Py-IdU** besitzt ein negatives excitongekoppeltes Signal und bildet mit dem dA_{20} -Templat linksgängige

Aggregate aus. Werden die Nukleoside **Py-IdU** und **Py-dU** an das invertierte IdA₂₀-Templat angelagert, kehrt sich die Helikalität des Chromophorstapels um, was sich an den gespiegelten CD-Spektren erkennen lässt. Es bilden sich hier also rechtsgängige Aggregate aus (siehe Tabelle 7). Im Gegensatz zu den Nilrot-Bausteinen ist bei den pyrenmodifizierten Nukleosiden somit die Konfiguration des DNA-Templats für die Helikalität der Aggregate ausschlaggebend. Die Wechselwirkung zwischen den Monomeren ist also nicht so stark ausgeprägt wie die Wechselwirkung zwischen Monomer und Templat und das Aggregat wird so gebildet, dass die Nukleoside möglichst günstig an der DNA ausgerichtet sind. Dies bedeutet, dass sich mit dA₂₀ linksgängige und mit IdA₂₀ unabhängig der Konfiguration des Nukleosides rechtsgängige Chromophorstapel ausbilden.

Tabelle 7: Helikalität der ausgebildeten Anlagerungen von **Py-IdU**, **Py-dU**, **Nr-IdU** sowie **Nr-dU** an dA₂₀ sowie IdA₂₀. r = rechtsgängige Orientierung, l = linksgängige Orientierung.

	Nr-IdU	Nr-dU	Py-IdU	Py-dU
dA₂₀	r	l	l	l
IdA₂₀	r	l	r	r

5.6 Zusammenfassung

In dem hier beschriebenen Projekt sollte ein System basierend auf den bereits untersuchten **Py-dU** und **Nr-dU** entwickelt werden, mit dem der Einfluss der Konfiguration der Monomere und des Templats auf die helikale Orientierung der Aggregate untersucht werden konnte. Zusätzlich sollte dabei eine erste wichtige Grundlage für eine zukünftige Steuerung der helikalen Orientierung in supramolekularen DNA-Aggregaten gelegt werden. Hierfür sollten zunächst die *L*-konfigurierten Analoga der bereits bekannten *D*-Nukleoside **Nr-dU** und **Py-dU** dargestellt werden. Die Synthese des *L*-konfigurierten, nilrotmodifizierten 2'-Desoxyuridins **Nr-IdU** konnte ausgehend vom unmodifizierten *L*-β-2'-Desoxyuridin erfolgreich durchgeführt werden, wobei das gewünschte Produkt mit einer Gesamtausbeute von 13 % über zwei Stufen erhalten wurde. Auch das *L*-konfigurierte **Py-IdU** wurde ausgehend vom unmodifizierten Nukleosid mit einer Ausbeute von 33 % über zwei Stufen synthetisiert. Die benötigten *L*-konfigurierten DNA-Stränge wurde über automatisierte Festphasensynthese erhalten.

In ersten Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass sowohl die optischen Eigenschaften der Nucleoside als auch ihre Selektivität gegenüber dA_{20} und IdA_{20} analog zu denen der *D*-konfigurierten Bausteine sind. Auch die Absorbanzen der Aggregate waren, abgesehen von ihren Intensitäten nahezu identisch. Titrationsexperimente ergaben, dass für die Nilrotbausteine **Nr-IdU** und **Nr-dU** der Beladungsgrad der Template größtenteils unabhängig von der Templat- und Monomerkonfiguration ist. Lediglich die Anlagerung von **Nr-dU** an IdA_{20} zeigte eine verringerte Beladung sowie einen stärker ausgeprägten hypochromen Effekt. Für die pyrenkonfigurierten Bausteine ist diese Konfigurationsabhängigkeit wesentlich stärker ausgeprägt. Während bei **Py-dU** für die Anlagerungen an dA_{20} und IdA_{20} eine ähnliche Belegung festgestellt werden konnte, war die Absorbanz des Aggregats mit IdA_{20} aufgrund starker hypochromer Effekte deutlich abgesenkt. Für **Py-IdU** zeigte sich ein umgekehrtes Bild: die hypochromen Effekte waren gleich stark ausgeprägt, wohingegen die Bindung zu dA_{20} deutlich schlechter als zu IdA_{20} war. Diese ersten Ergebnisse ließen darauf schließen, dass in den Aggregaten unterschiedliche Geometrien vorhanden sein mussten.

Zur Bestätigung dieser Annahme wurden darauffolgend CD-Spektren aufgenommen. Dabei ergab sich für die Aggregate der Nilrot-Nucleoside eine Abhängigkeit der helikalen Orientierung von der Konfiguration des Nucleosids. Während mit **Nr-IdU** rechtsgängige Architekturen ausgebildet wurden, konnten für **Nr-dU** linksgängige Aggregate beobachtet werden. Bei den Pyren-Bausteinen gibt hingegen die Konfiguration des Templates die Helikalität der Aggregate vor. Hier werden unabhängig von der Konfiguration des Nucleosids mit IdA_{20} rechtsgängige und mit dA_{20} linksgängige Chromophorstapel beobachtet. Als Grund hierfür wird das unterschiedliche Verhältnis von Monomer-Monomer und Monomer-Templat-Wechselwirkungen der verschiedenen Bausteine vermutet. Bei den Nilrot-Nucleosiden überwiegt die Monomer-Monomer-Wechselwirkung und die Aggregate werden so ausgebildet, dass die Chromophore möglichst optimal angeordnet sind. Im Gegensatz dazu ist bei den pyrenmodifizierten Nucleosiden die Wechselwirkung zwischen Monomer und Templat stärker ausgeprägt, sodass das Aggregat so gebildet wird, dass die Nucleoside möglichst günstig an der DNA ausgerichtet sind.

6 Chromophor-DNA-Aggregate als aktive Schicht in OLEDs

Durch die Anordnung von Chromophoren entlang eines DNA-Templats können supramolekulare Architekturen mit interessanten und einzigartigen optoelektronischen Eigenschaften hergestellt werden. Bis dato gingen jedoch nur wenige Forschungsarbeiten über die Darstellung und Charakterisierung neuer Aggregate hinaus. SOTZING *et al.* nutzten chromophormodifizierte DNA-Nanofasern zur Herstellung einer Weißlicht-emittierenden LED,^[156] während WAGENKNECHT *et al.* eine Solarzelle mit einem DNA-Fulleren-Chromophor Konjugat entwickelten.^[4]

In der vorliegenden Arbeit wurde in Kooperation mit LORENZ GRAF VON REVENTLOW aus der Arbeitsgruppe von ALEXANDER COLSMANN die Anwendung von DNA-Chromophor-Aggregaten in OLEDs getestet.

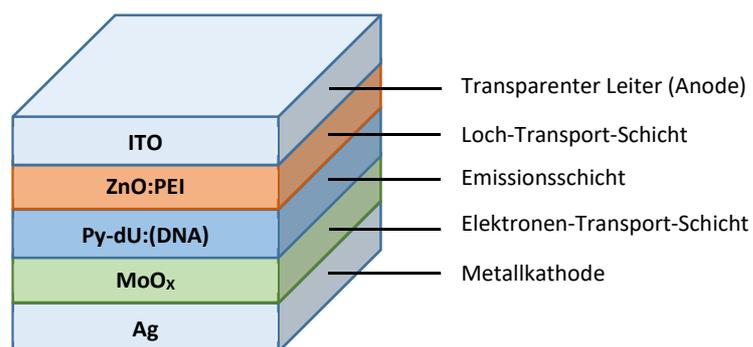


Abbildung 70: Schematischer Aufbau der hergestellten OLEDs (ITO: Indiumzinkoxid (*indium tin oxide*), ZnO:PEI (Polyethylenimin dotiertes Zinkoxid), Py-dU:(DNA): Py-dU-dA₂₀-Aggregat, MoO_x (Molybdänoxid), Ag: Silber).

Die hergestellten OLEDs besitzen eine aus fünf Schichten bestehende Struktur, welche in Abbildung 70 dargestellt ist. Die oberste Schicht besteht dabei aus einer transparenten, mit Indiumzinnoxid beschichteten Glasplatte, die zusammen mit der Loch-Transport-Schicht aus Zinkoxid-Polyethylenimin die Anode bildet. Darauf folgt die Emissionsschicht, welche in der hier hergestellten OLED aus einem **Py-dU-dA₂₀**-Aggregat besteht. Für die ersten Versuche wurde **Py-dU** als Chromophor gewählt, da die Anlagerungseigenschaften gut verstanden sind und das Nukleosid problemlos in den benötigten Mengen hergestellt werden kann. Die abschließende Schicht bildet die aus Elektronentransportschicht (Molybdänoxid) und einer Silberschicht zusammengesetzte Kathode. Das Aggregat wurde dabei als Lösung

(40 g / L, Wasser:DMSO = 80:20) prozessiert und als 100 nm dicke Schicht aufgetragen. Zusätzlich wurde eine OLED mit reinem **Py-dU** ohne DNA-Templat als Referenz hergestellt. Während der Prozessierung der OLEDs stellte sich das Lösungsmittelgemisch der Aggregate als problematisch heraus, da dieses nicht schnell genug verdampfen konnte, um eine einheitliche Schichtdicke der aktiven Schicht zu erreichen. Dies ist jedoch wünschenswert, um ein einwandfreies Funktionieren der OLED zu garantieren. Unregelmäßige Schichten führen zu einer uneinheitlichen Emission oder können im schlimmsten Fall zu Kurzschlüssen führen. Versuche das Lösungsmittel durch niedriger siedende Alternativen, wie eine THF-Wasser-Mischung oder eine Acetonitril-Wasser-Mischung, zu ersetzen, scheiterten jedoch aufgrund der schlechten Löslichkeit der Aggregate. Aus diesem Grund wurde das bisherige Lösungsmittelgemisch beibehalten, wobei die aktive Schicht bei 50 °C aufgebracht wurde, um ein schnelleres Trocknen zu ermöglichen.

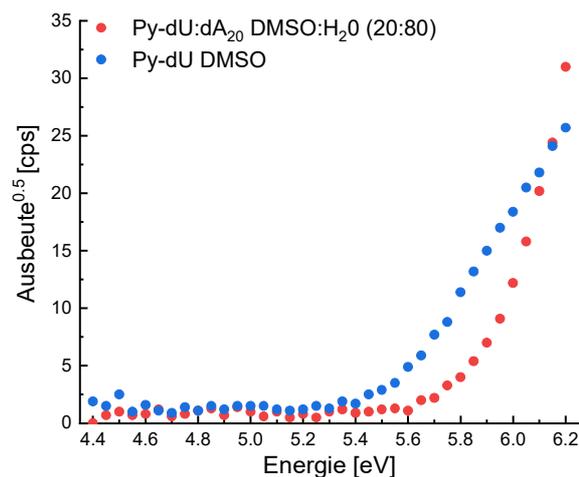


Abbildung 71: Photoemissionsspektren (PESA) der OLEDs mit reinem **Py-dU** und mit einem **Py-dU**-dA₂₀-Aggregat zur Bestimmung der HOMO-Energien der emittierenden Schichten.

Zunächst wurden Photoemissionsmessungen der Emitter durchgeführt, wobei Ionisierungspotentiale von 5.5 eV für die OLED mit reinem **Py-dU** und 5.9 eV für die Aggregat-OLED festgestellt werden konnten (siehe Abbildung 71). Aus diesen Unterschieden wird ersichtlich, dass auch nach der Prozessierung und in fester Phase Wechselwirkung zwischen dem Nukleosid und dem DNA-Templatstrang stattfinden, die die optoelektronischen Eigenschaften beeinflussen.

Anschließend wurde die hergestellte Aggregat-OLED vermessen. Um sicherzustellen, dass die beobachtete Emission auch von den Aggregaten herrührt und nicht von ungebundenen Monomeren verursacht wird, wurden alle Messungen auch mit der reinen **Py-dU**-OLED unter gleichen Bedingungen durchgeführt.

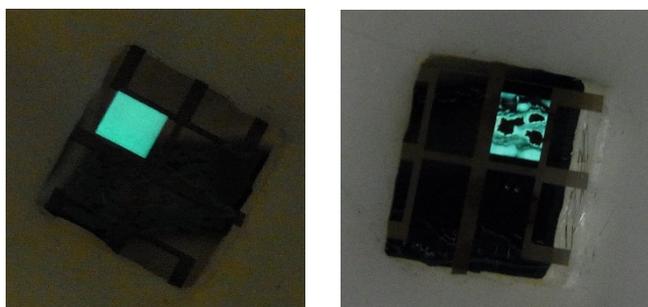


Abbildung 72: Bilder der hergestellten reinen **Py-dU** OLED (links) und der OLED mit **Py-dU-dA₂₀**-Aggregaten als aktive Schicht (rechts). Die dunklen Flecken in der Aggregat OLED rühren von den oben beschriebenen Prozessionsproblemen her.

Trotz hoher Betriebsspannungen von nahezu 16 V (siehe Kapitel 8.8.4, Abbildung 92), die vermutlich auf DMSO Reste in der aktiven Schicht zurückzuführen sind, konnte eine Emission der Aggregat-OLED zwischen $\lambda = 450 \text{ nm} - 650 \text{ nm}$ mit einer maximalen Effizienz von 0.17 cd/A bei einer Leuchtdichte von 4.2 cd/m^2 beobachtet werden. Die **Py-dU**-OLED zeigt bei einer typischen Betriebsspannung von 4 V eine ähnliche Emission, jedoch mit verminderter Intensität und einer deutlich schlechteren, kaum messbaren Effizienz (siehe Abbildung 73).

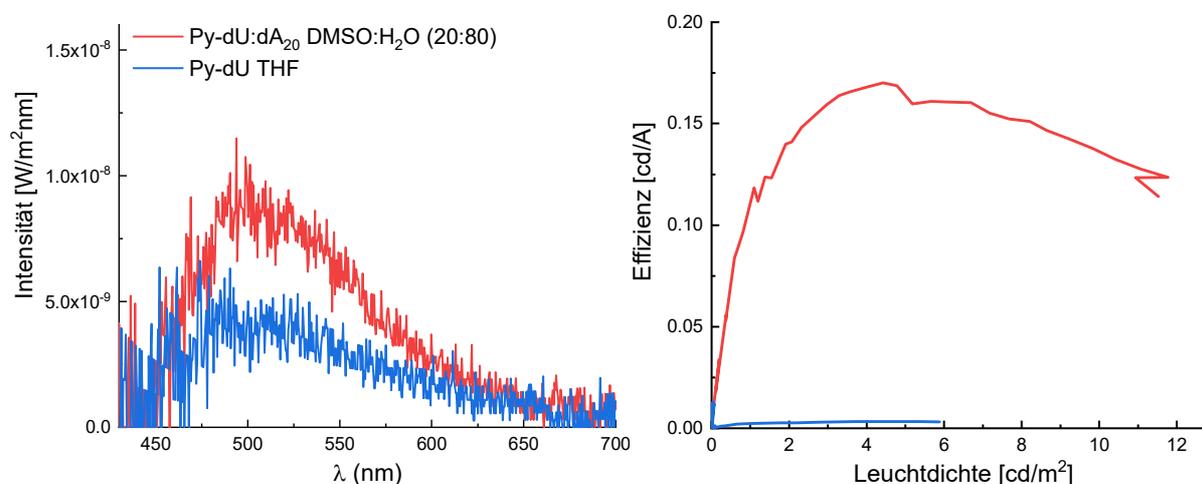


Abbildung 73: Emissionsspektrum (links) und Effizienz in Abhängigkeit der Leuchtdichte (rechts) der beiden hergestellten OLEDs

Zwar bleibt die Aggregat-OLED in Intensität, Betriebsspannung und Wirkungsgrad deutlich hinter den aktuell produzierten OLEDs zurück, sie zeigt jedoch als „proof-of-principle“ eindrucksvoll die Eignung von Multichromophor-DNA-Aggregaten als aktive Schicht solcher Bauteile.

7 Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit dem Aufbau und der Steuerung von Chromophor-DNA-Architekturen. Neben der Steuerung der Chromophorsequenz wurde ebenfalls eine Möglichkeit zur Steuerung der helikalen Orientierung erarbeitet sowie die Steuerung der Aggregation über schaltbare Chromophor-DNA-Aggregate untersucht. Zusätzlich wurde die Anwendung der Aggregate als emittierende Schicht in Organischen Leuchtdioden (OLED) untersucht.

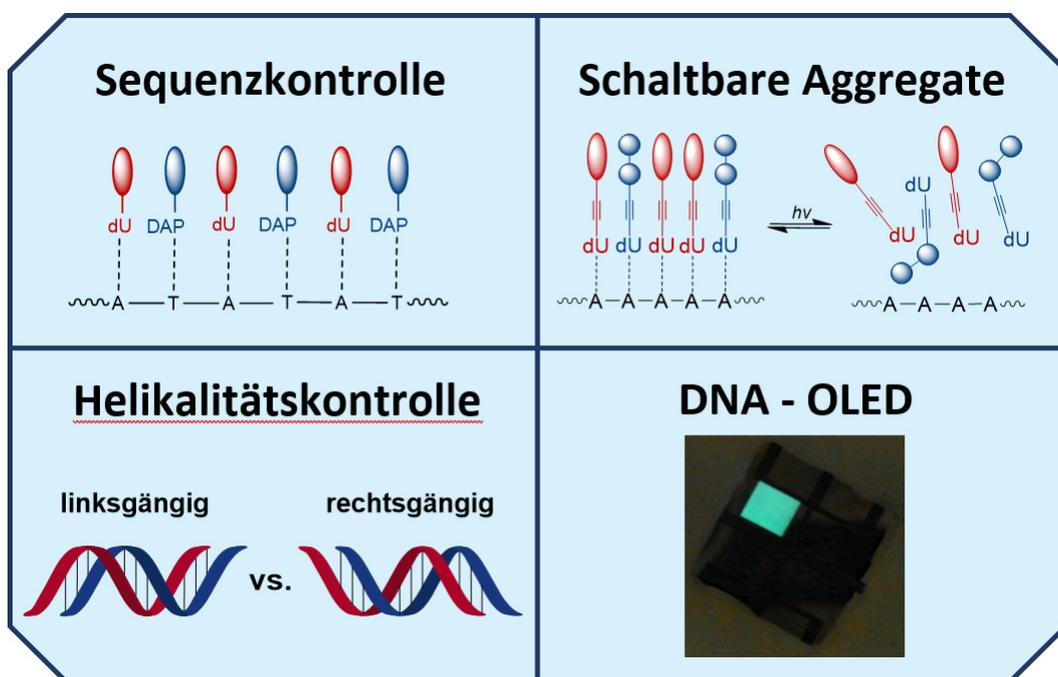


Abbildung 74: Schematische Zusammenstellung der in dieser Arbeit behandelten Themen.

Um eine sequenzspezifische Anlagerung zu erreichen, wurde erfolgreich 8-Ethynylpyren-2-amino-2'-desoxyadenosin (**Py-DAP**) synthetisiert, welches selektiv an Thymin im Templatstrang bindet. Zusammen mit **Nr-dU**, welches selektiv an Adenosin bindet, konnte die erste orthogonale und sequenzspezifische Anlagerung zweier verschiedener Chromophore am selben Templatstrang erreicht werden. Die hergestellten Chromophor-DNA-Architekturen wurden über optische Spektroskopie charakterisiert, wodurch die erfolgreiche sequenzspezifische Anlagerung eindeutig nachgewiesen werden konnte. Zudem zeigte sich die erwartete Abhängigkeit der optischen Eigenschaften der Aggregate von der Anordnung der Chromophore im Stapel. Dies ebnet den Weg hin zu einer

vollständigen Programmierbarkeit der Multichromophor-Aggregate nach den gewünschten Eigenschaften.

Als konsequente Weiterentwicklung wurde ein pyrenmodifiziertes 2'-Desoxyguanosin synthetisiert und in Anlagerungsversuchen untersucht. Jedoch konnte unter verschiedenen Bedingungen keine Anlagerung erreicht werden, was vermutlich durch die Modifikation in 8-Position hervorgerufen wurde.^[56] Es wäre daher interessant, ein an der 7-Position modifiziertes 7-Deaza-dG zu untersuchen, da hier das Nucleosid in *anti*-Konfiguration vorliegt und so die Basenpaarung nicht gestört wird.^[57-58] Darüber hinaus könnten sich iso-dG und iso-dC zur Erweiterung des Systems eignen (Abbildung 75).

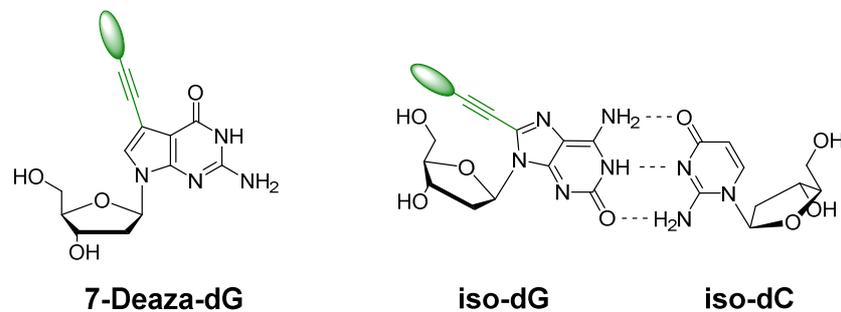


Abbildung 75: Vorgeschlagene Nucleoside zu Erweiterung der Sequenzkontrolle.

Für die Steuerung der Aggregation durch selektive Belichtung sollte ein Schalternucleosid an DNA angelagert und somit in den Chromophorstapel eingebracht werden. Zunächst wurde der Einfluss elektronenziehender Gruppen an der 2-Position und 2'-Position von Dibenzothienylethen untersucht, wofür zwei Photoschalter mit Fluor- bzw. Trifluormethyl-Substituenten synthetisiert und charakterisiert wurden. Dabei wurden interessante Zusammenhänge zwischen den Schalteigenschaften der Moleküle und dem elektronenziehenden Charakter festgestellt: Mit steigendem elektronenziehenden Charakter der Substituenten konnte eine Verbesserung des geschlossenen photostationären Zustands sowie eine erhöhte Absorbanz beobachtet werden. Dabei nahmen jedoch die Schaltgeschwindigkeiten und die Reaktionsquantenausbeuten ab.

Zur Steuerung der Aggregation wurden anschließend die zwei Schalternucleoside **11** und **12** synthetisiert und charakterisiert. Aufgrund der deutlich besseren Schalteigenschaften wurde **11** in Anlagerungsexperimenten untersucht. Dabei konnte jedoch trotz verschiedener Anlagerungsbedingungen keine Aussage über die Anlagerung gemacht werden, da die

Nukleoside sowohl mit als auch ohne Templat vollständig in Lösung verblieben. Es wurde hierbei vermutet, dass aufgrund des perfluorierten Rückgrats zu starke Monomer-Monomer-Wechselwirkungen vorliegen, sodass für weiterführende Untersuchungen ein Schalternukleosid ohne Fluorsubstituenten am Cyclopenten-Rückgrad, wie beispielweise von WAGENKNECHT *et al.*,^[157] vorgeschlagen wird.

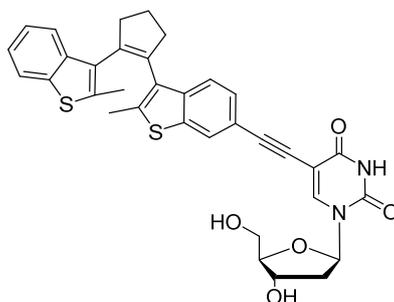


Abbildung 76: Struktur eines möglichen Schalternukleosids für die weitere Untersuchung von schaltbaren Chromophoraggregaten.

Für die Steuerung der helikalen Orientierung der Aggregate wurden die *L*-konfigurierten Analoga der bekannten Bausteine **Nr-dU** und **Py-dU** sowie ein *L*-konfigurierter dA₂₀-Templatstrang synthetisiert. Anhand dieses Systems konnte anschließend der Einfluss der Konfiguration der einzelnen Bausteine auf die resultierende helikale Orientierung des Chromophorstapels untersucht werden. Dabei zeigte sich, dass bei schwach ausgeprägten Monomer-Monomer-Wechselwirkungen die Konfiguration des Templatstrangs über die helikale Anordnung entscheidet. Sind diese Wechselwirkungen hingegen stark ausgeprägt, so wird die helikale Orientierung durch die Konfiguration der Monomere gesteuert. Diese Erkenntnisse liefern wichtige Grundlagen für das Verständnis der Aggregatbildung entlang eines DNA-Templats sowie zur Entwicklung neuer Nukleoside und deren Einfluss auf das gebildete Aggregat.

Um die Anwendung von Chromophor-DNA-Architekturen zu untersuchen, erfolgte exemplarisch die Verwendung eines **Py-dU**-dA₂₀-Aggregats als emittierende Schicht in einer OLED. Hierbei wurde über Photoemissionsmessungen nachgewiesen, dass auch nach der Verarbeitung und als Feststoff Wechselwirkungen zwischen den Monomeren und dem Templat vorliegen. Die DNA-OLED zeigte im Vergleich zur Referenz mit reinem **Py-dU** eine höhere Intensität sowie eine deutlich gesteigerte Effizienz. Allerdings wurde eine höhere Betriebsspannung beobachtet, was vermutlich auf eine uneinheitliche Schichtdicke und

DMSO-Reste zurückzuführen ist. Für weiterführende Untersuchungen steht deswegen eine Optimierung der Prozessierung im Vordergrund.

8 Experimenteller Teil

8.1 Materialien, Analytik und Geräte

Reagenzien

Die zur Synthese und Analytik verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen ABCR, ALFA AESAR, ACROS ORGANICS, BERND KRAFT, CARL ROTH, CHEMGENES, FISHER CHEMICAL, FLUKA, FLUOROCHEM, MERCK, TCI, SIGMA ALDRICH und VWR bezogen. Sie entsprachen mindestens der Qualitätsstufe „zur Synthese“ und wurden, sofern nicht an entsprechender Stelle anders erwähnt, nicht weiter aufgereinigt. Aufgrund der hohen Flüchtigkeit von Octafluorocyclopenten (OFCP) wurde dieses nach Erhalt in eine Stammlösung (ca. 2 M in absolutem THF) überführt, bei -8 °C gelagert und ausschließlich in Form dieser Stammlösung verwendet.

Lösungsmittel

Alle zur Synthese und Analytik benötigten Lösungsmittel besaßen mindestens die Qualitätsstufe p.A (*pro analysi*). Sofern nicht anders angegeben, wurden zur Aufarbeitung der Reaktionen technische Lösungsmittel verwendet. Trockene Lösungsmittel wurden von ACROS ORGANICS bezogen und über Molekularsieb sowie unter Argon-Atmosphäre aufbewahrt. Alle perfluorierten Lösungsmittel stammen von FLUOROCHEM und wurden ebenfalls unter Argon-Atmosphäre gelagert.

Für HPLC-Aufreinigungen wurden hochreine (*HPLC grade*) organische Lösungsmittel von FISHER CHEMICAL, LICHROSOLV und MERCK, sowie Wasser verwendet, welches zuvor an einer *Millipore Direct 8/16* Anlage von MERCK MILLIPORE entionisiert und ultrafiltriert wurde. Dieses doppelt entionisierte Wasser wurde ebenfalls für alle Titrations- und Anlagerungsversuche verwendet. Deuterierte Lösungsmittel für die NMR-Spektroskopie wurden von EURISO-TOP bezogen.

Kommerzielle Oligonukleotide

Unmodifizierte DNA-Stränge wurden HPLC-gereinigt und lyophilisiert von METABION bezogen. Sie wurden in *MilliQ*-Wasser gelöst und die Konzentration der Lösung über die Absorption bei $\lambda = 260 \text{ nm}$ bestimmt.

Reaktionsführung

Luft- oder feuchtigkeitsempfindliche Reaktionen wurden unter Inertgas-Atmosphäre (Schweißargon 5.0, 99.999 % Reinheit) durchgeführt. Hierfür wurden Schlenkapparaturen sowie eine *schlenk line* mit vorgeschalteter Kühlfalle verwendet. Die benötigten Glasgeräte wurden mindestens drei Mal am Hochvakuum evakuiert, ausgeheizt und anschließend mit Argon geflutet.

Lichtempfindliche Reaktionen wurden entweder in Braunglasgeräten durchgeführt oder durch Verkleiden des Reaktionsgefäßes, des Rotationsverdampfers sowie der Reagenzgläser mit Aluminiumfolie vor Licht geschützt. Reaktionen bei 0 °C wurden mit einer Eis/Wasser-Mischung in einem Flachdewargefäß gekühlt, für Reaktionen bei -78 °C wurde eine Trockeneis/Isopropanol-Mischung verwendet.

Lösungsmittel wurden unter vermindertem Druck an einem Rotationsverdampfer mit einer Wasserbadtemperatur von 40 °C entfernt. Wasser und DMF wurden an einem mit flüssigem Stickstoff gekühlten Rotationsverdampfer mit einer Badtemperatur von 50 °C entfernt.

Zentrifugation

Um vergleichbare Ergebnisse der Anlagerungsexperimente zu erhalten, wurden die überschüssigen Nukleoside ausschließlich an einer *Biofuge Pico* von HERAEUS mit *24-place microliter rotor* abzentrifugiert. Dabei wurde mit einer Geschwindigkeit von 4000 rpm bzw. 13000 rpm zentrifugiert, was einer relativen Zentrifugalbeschleunigung (RCF) von ungefähr 1500 g respektive 16000 g entsprach.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Für die DC wurden kieselgelbeschichtete Aluminiumplatten mit Fluoreszenzindikator der Firma MERCK verwendet (Kieselgel 60, F₂₅₄, Schichtdicke 0.25 nm). Die Detektion erfolgte bei UV-aktiven Substanzen mit Hilfe einer UV-Handlampe durch Fluoreszenzlöschung bei $\lambda = 254$ nm bzw. Fluoreszenzanregung bei $\lambda = 366$ nm. UV-inaktive Verbindungen wurden mit einer Lösung aus Schwefelsäure in Methanol (3 % H₂SO₄) oder einer Kaliumpermanganat-Lösung (1.50 g KMnO₄, 10 g K₂CO₃, 1.25 mL 10 % NaOH-Lösung, 200mL H₂O) und anschließendem Erhitzen mit dem Heißluftfön angefärbt. Die verwendeten Laufmittel wurden zusammen mit den R_F-Werten der Verbindungen angegeben. Bei molekularen Schaltern erfolgte die Detektion zusätzlich durch Belichten der Verbindung, sodass die farbige, geschlossene Form erhalten wurden.

Flash-Säulenchromatographie

Die Säulenchromatographie wurde nach einer Methode von W.C. STILL *et al.* mit leichtem Überdruck durchgeführt.^[158] Hierfür wurde die Säule nass gepackt und der erforderliche Überdruck mit einer Handpumpe aufgebaut. Als stationäre Phase wurde Kieselgel 60 (Porengröße 60 Å, Partikelgröße 40 – 63 µm) von SIGMA ALDRICH verwendet. Die zu reinigende Substanz wurde entweder in der mobilen Phase gelöst oder auf Kieselgel adsorbiert, als *dry load*, aufgetragen. Für den *dry load* wurde die Rohsubstanz in wenig Lösungsmittel aufgenommen, mit etwas Kieselgel versetzt, anschließend vom Lösungsmittel befreit und so auf die Säule aufgetragen.

Daneben wurden Trennungen an einem *Intelliflash 310* Säulenautomaten von ANALOGIX durchgeführt. Für Normalphasentrennungen wurden SNAP-KP-Sil (Kieselgel, Partikelgröße 40 – 65 µm, 4 g / 24 g), für Umkehrphasentrennungen SNAP-KP-C18 (C₁₈-Kieselgel, Partikelgröße 40 – 65 µm, 4 g / 24 g) von BIOTAGE verwendet. Dabei wurde ein Fluss von 8 mL / min für 4 g Säulen bzw. 25 mL / min für 24 g Säulen gewählt. Die Detektion erfolgte mit einem Diodenarraydetektor über die UV/Vis-Absorption bei $\lambda = 254$ nm und der charakteristischen Absorption der jeweiligen Substanzen.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Trennung von offenen und geschlossenen Diarylethenen erfolgte an zwei verschiedenen modularen HPLC-Systemen von SHIMADZU.

1. Autosampler *SIL-10AD*, Entgaser *DGU-14A*, Mischer *FCV-10AL*, Pumpenmodul *LC-10AT*, Steuereinheit *SCL-10A*, Multidiodenarraydetektor *SPD-M10A*, Fluoreszenzdetektor *RF-10A XL*, Säulenofen von KNAUER, Steuersoftware *Class-VP*.
2. Autosampler *SIL-10AD*, Entgaser *DGU-14A*, Pumpenmodule *LC-10AD*, Steuereinheit *SCL-10A*, Multidiodenarraydetektor *SPD-M20A*, Säulenofen *CTO-10AS*, Steuersoftware *Lab Solutions*.

Für die Trennungen wurden eine *Supelcosil LC318* Säule (25 cm x 4.6 mm, SUPELCO), eine *Ascentis SI* Säule (25 cm x 4.6 mm, SUPELCO), eine *Chiralpak IB* Säule (25 cm x 4.6 mm, 5 μ M) oder eine *FluoroFlash* (*FluoroFlash* Silica Gel, 15 cm x 4.6mm, 5 μ m) verwendet. Bei analytischen Läufen betrug die Flussgeschwindigkeit 1 mL / min, bei semi-präparativen Trennungen 2.5 mL / min. Der verwendeten Lösungsmittel und Gradienten wurden an den entsprechenden Stellen angegeben. Die Detektion erfolgte mit einem Multidiodenarraydetektor bei $\lambda = 254$ nm, $\lambda = 300$ nm und in den charakteristischen Absorptionsmaxima der entsprechenden Verbindungen.

Dehybridisierung

DNA-Stränge die aufgrund ihrer Sequenz zu einer Hybridisierung mit sich selbst neigen, beispielsweise $dA_{10}T_{10}$, wurden vor ihrer Verwendung dehybridisiert. Hierfür wurden die wässrigen Lösungen der Stränge in einem GRANT BOEKEL *BBA* oder einem VWR *460-3201* Heizblock für 10 min auf 90 °C erwärmt und anschließend mit einer Eis/Wasser-Mischung rasch auf 0 °C heruntergekühlt.

Sublimationstrocknung

Wässrige Oligonukleotidlösungen wurden in EPPENDORF-Reaktionsgefäßen in einem MARTIN CHRIST *CMC-2 Alpha RVC* Vakuumkonzentrator getrocknet. Ammoniak wurde bei 35 °C

und 100 mbar für 30 min entfernt, wässrige Lösungen wurden bei Raumtemperatur und 0.1 mbar über Nacht getrocknet. Größere Volumina wurden nach Ausfrieren in flüssigem Stickstoff an einer *Alpha 1-2 LD Plus* Lyophilisierungsanlage von MARTIN CHRIST vom Lösungsmittel befreit.

DNA-Festphasensynthese

Die DNA-Festphasensynthese wurde an einem *PerSeptive 8909 Nucleic Acid Synthesizer* von APPLIED BIOSYSTEMS unter Verwendung von Argon als Schutzgas durchgeführt. Hierfür wurden CPG-Säulen (*controlled pore glas*) von PROLIGO mit einer Belegung von 1 μmol (500 Å) als feste Phase verwendet. Benötigte Phosphoramidite, Reagenzien und Lösungsmittel wurden von SIGMA ALDRICH, CHEMGENES und GLEN RESEARCH erworben.

Optische Spektroskopie

Alle Messungen wurden, wenn nicht anders angegeben, in semi-micro Quarzglas­küvetten von STARNA (Weglänge 10 mm, Innenabmessung 4 mm \times 10 mm, nominelles Volumen 1.40 mL) oder in *Suprasil* Fluoreszenz-Quarzglas­küvetten von HELMA ANALYTICS (Weglänge 10 mm, Innenabmessung 4 mm \times 10 mm, nominelles Volumen 1.00 mL) bei einer Temperatur von 20 °C durchgeführt.

- **Absorptionsspektroskopie (UV/Vis)**

Alle UV/Vis-Spektren wurden an einem *Cary 100 Scan* Spektrophotometer von VARIAN mit Temperaturregler (*Cary 100 temperature controller*) und Steuersoftware *Cary WinUV Scan Application* aufgenommen und gegen die Absorption des reinen Lösungsmittels hintergrundkorrigiert. Dabei wurden folgende Einstellungen verwendet: *slit bandwidth (SBW)* 2.0 nm, *average time* 0.1 s, *data interval* 1.0, *scan rate* 600 nm / min, *light source changeover* 350 nm.

- **Fluoreszenzspektroskopie**

Emissions- und Anregungsspektren wurden an einem HORIBA JOBIN-YVON *Fluoromax-3* Spektrofluorometer mit *LFI-3751* Peltier-Element von WAVELENGTH ELECTRONICS aufgenommen. Das Spektrometer wurde über den Ramanpeak von Wasser bei $\lambda = 397$ nm geeicht und die Spektren gegen die Ramanstreuung des reinen Lösungsmittels korrigiert. Es wurden, sofern nicht anders angegeben, folgende Parameter benutzt: *slits* 3 nm, *increment* 1.0 nm, *integration time* 0.1 s, *acquisitions* 3 (*average scans*).

- **Circulardichroismus (CD)**

CD-Messungen und FDCD-Messungen (*fluorescence-detected circular dichroism*) wurden zusammen mit DR. STEPHAN SINN in der Arbeitsgruppe von DR. FRANK BIEDERMANN am Institut für Nanotechnologie (*KIT, Campus Nord*) aufgenommen. Dafür wurde ein *J-1500* CD Spektrometer von JASCO mit einem *PTC-510* Peltier-Element, einem *F250* Umlaufkühler von JULABO, einem *PM-539* Standard Detektor, einem *PML-534* FDCD-Detektor und der Steuersoftware *Spectra Manager* verwendet. Die Spektren wurden gegen das CD- bzw. FDCD-Signal des reinen Lösungsmittels hintergrundkorrigiert. Für die Messungen wurden folgende Einstellungen verwendet: *CD scale* 200 mdeg / 1.0 dOD, *FL scale* 2000 mdeg / 1.0 dOD, *data integration time* 4 s, *bandwidth* 8.50 nm, *data pitch* 0.2 nm, *scanning speed* 100 nm / min, *accumulation* 3 times.

Anmerkung: Die aufgenommenen FDCD-Spektren besitzen typischerweise inverse Signale.^[159] Die abgebildeten Spektren wurden für eine bessere Vergleichbarkeit korrigiert und nach einer Vorschrift von JASCO (https://jascoinc.com/wp-content/uploads/2016/03/high-sensitivity-fdcd-measurement_final.pdf, Zugriff Juli 2018) und TURNER et al.^[143] in $\Delta\epsilon$ umgerechnet.

- **Fluoreszenzquantenausbeute**

Fluoreszenzquantenausbeuten wurden an einem HAMAMATSU *Quantaurus QY C11347* im *Single*-Modus gemessen. Die Anregung erfolgte im Absorptionsmaximum der entsprechenden Verbindung. Es wurden spezielle Quarzglas Küvetten mit einem nominellen Volumen von 5.0 mL der Firma HAMAMATSU verwendet.

Massenspektrometrie

MALDI-TOF Spektren wurden entweder an einem BRUKER DALTRONICS *Biflex-IV* Spektrometer oder an einem *AXIMA Confidence* Spektrometer von SHIMADZU aufgenommen. Je nach Probe wurden folgende Matrices verwendet:

- DNA: 3-Hydroxypicolinsäure (gesättigte Lösung in Acetonitril:Wasser = 1:1) / Diammoniumhydrogencitrat (0.44 M in Wasser) = 9:1
- Sonstige: 6-Aza-2-thiothymin (gesättigte Lösung in Acetonitril)
2,4,6-Trihydroxyacetophenon (gesättigte Lösung in Acetonitril)

APCI-Messungen (*atmospheric-pressure chemical ionization*) wurden an einem ADVION *Expression CMS* in der Arbeitsgruppe von PROF. DR. MICHAEL MEIER (KIT) durchgeführt.

Des Weiteren wurden Massenspektren an einem *LTQ Orbitrap XL* von THERMO SCIENTIFIC durch DR. PATRICK WEIS in der Arbeitsgruppe KAPPES (KIT) aufgenommen. Wobei Elektrospray-Ionisation (ESI) als Ionisierungsverfahren verwendet wurde. Des Weiteren wurden ESI-Messungen an einem THERMOFISHER *Scientific Q Exactive (Orbitrap)* durchgeführt.

Elektronenstoßionisation (EI)- oder *fast atom bombardement* (FAB)-MS-Spektren wurden von der analytischen Abteilung des Instituts für Organische Chemie an einem FINNIGAN *MAT 95* Spektrometer aufgenommen.

Die Signale wurden im Masse/Ladungs-Verhältnis (m/z) mit ihrer jeweiligen Intensität (% des Basissignals) angegeben. Für das Molekülion wurde dabei die Abkürzung $[M^+]$ verwendet.

Nanodrop

Die Konzentration von wässrigen Oligonukleotidlösungen wurden an einem NANODROP *ND-1000* Spektrometer im Nukleinsäure-Modus über die charakteristische Absorption der Oligonukleotide bei $\lambda = 260$ nm bestimmt.

Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)

Die Kernresonanzspektren wurden entweder an einem BRUKER *Advance 300* mit *B-ACS 60* Autosampler (300 MHz ^1H -NMR bzw. 75 MHz. ^{13}C -NMR), BRUKER *Advance 400* (400 MHz ^1H -NMR bzw. 101 MHz ^{13}C -NMR) oder BRUKER *Advance 500* (500 MHz ^1H -NMR bzw. 126 MHz. ^{13}C -NMR) aufgenommen. Hierfür wurde ein Probenröhrchen mit 5 mm Durchmesser verwendet, in dem 5-10 mg der zu untersuchenden Substanz in ca. 0.6 mL deuteriertem Lösungsmittel gelöst waren. Dafür wurde je nach Löslichkeit der Probe entweder [*d6*]-DMSO (99.80 atom% D), [*d4*]-MeOD (99.80 atom% D) oder [*d1*]- CDCl_3 (99.80 atom% D) als Lösungsmittel verwendet. Die chemische Verschiebung (δ) wurde in parts per million (ppm) relativ zum Signal von Tetramethylsilan (TMS, $\delta = 0.00$ ppm) angegeben. Die Referenzierung des Spektrums erfolgte über das Signal des nicht vollständig deuterierten Lösungsmittels.

Hierfür wurden folgende Referenzwerte verwendet:

[<i>d6</i>]-DMSO:	^1H -NMR: $\delta = 2.50$ ppm	^{13}C -NMR: $\delta = 39.52$ ppm
[<i>d4</i>]-MeOD:	^1H -NMR: $\delta = 3.31$ ppm	^{13}C -NMR: $\delta = 49.00$ ppm
[<i>d1</i>]- CDCl_3 :	^1H -NMR: $\delta = 7.26$ ppm	^{13}C -NMR: $\delta = 77.16$ ppm

Die Kopplungskonstante J wurde in Hz angegeben. Folgende Abkürzungen wurden für die Signalmuster verwendet: s (Singulett), d (Dublett), dd (Dublett von Dublett), t (Triplet), q (Quartett), quin (Quintett), m (Multiplet).

8.2 Belichtungsexperimente

Die Schaltexperimente der Verbindungen **11**, **12**, **13**, **14** und **15** wurden in semi-micro Quarzglas-Fluoreszenzküvetten von STARNA (Weglänge 10 mm, Innenabmessung 4 mm × 10 mm, nominelles Volumen 1.40 mL) bei 25 °C durchgeführt. Hierfür wurde die jeweilige Verbindung in hochgereinigten Lösungsmitteln (*for spectroscopy*) gelöst und ohne weitere Vorbereitungen in Form dieser Lösung belichtet. Je nach benötigter Wellenlänge kam hierfür eine der folgenden Belichtungsapparaturen zum Einsatz.

8.2.1. LED-Belichtungsreaktor

Belichtungsexperimente bei Anregungswellenlängen für die LEDs verfügbar waren, wurden an einem Belichtungsreaktor durchgeführt, der von MICHAEL WEINBERGER in Kooperation mit der zentralen feinmechanischen und elektronischen Werkstatt der Universität Regensburg gebaut wurde. Der Reaktor verfügt über zwei Peltier-Elemente zur Steuerung der Temperatur, eine zeitgesteuerte Regelung der Belichtung, einen Rührmotor zur gleichmäßigen Durchmischung der Probe, sowie zwei Steckplätze für den Betrieb mit wechselbaren LEDs.



Abbildung 77: oben: LED-Belichtungsreaktor mit Steuereinheit und Magnetrührer; unten: Nahaufnahme des Reaktors mit gekühlter Probenkammer und modular wechselbaren LEDs (grün).

Als Leuchtmittel wurden *high power*-LEDs von NICHIA verwendet, welche von BARBARA REIß mit einem HR2000 Spektrometer (HR2B804, #HC1 Grating, DET2-200-1100nm, slit 25) von OCEANOPTICS vermessen wurden. Die Spektren sowie die gemessenen Emissionsmaxima sind nachfolgend aufgeführt.

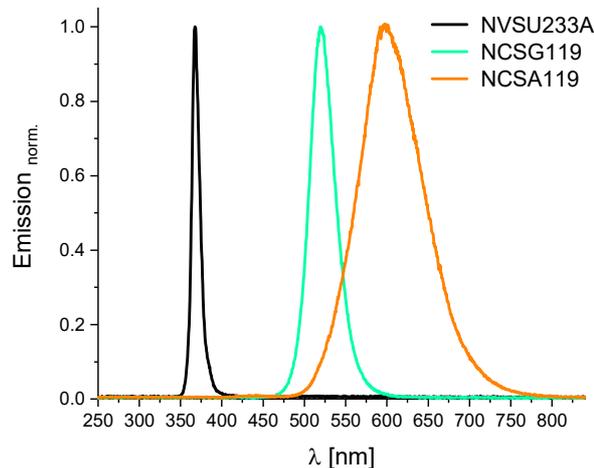


Abbildung 78: Normierte Emissionsspektren der verwendeten NICHIA *high power*-LEDs. Schwarz: NVSU233A ($\lambda_{\max} = 369$ nm); grün: NCSG119 ($\lambda_{\max} = 520$ nm); orange: NCSA119 ($\lambda_{\max} = 597$ nm).

8.2.2. Xenon Bogen-Lichtquelle

Bei Anregungswellenlängen für die keine LED verfügbar war, wurde eine Mitteldruck Hg-Xe-Bogenlampe (200 W) von LOT-ORIEL mit einem LSN 271 Basic Power Supply von ORIEL verwendet. Die Lampe besitzt einen sehr breiten Emissionsbereich von $\lambda = 250$ nm - 2500 nm, weshalb das Licht gefiltert wurde, um eine wellenlängenselektive Anregung zu garantieren. Dabei wurde eine der zwei folgenden Varianten genutzt:

Für Belichtungen bei $\lambda = 300$ nm wurde anfänglich ein Corner Stone 1/8m Monochromator von ORIEL mit Küvettenhalter verwendet. Um eine definierte und reproduzierbare Belichtungsgeometrie zu gewährleisten wurden alle Komponenten auf einer Bodenplatte verschraubt.



Abbildung 79: Belichtungsapparatur mit Hg-Xe-Bogenlampe (rechts), Netzteil (links unten) und Monochromator (links oben) zur Belichtung bei $\lambda = 300$ nm.

Die resultierende Emission wurde zusammen mit ROUVEN MÜLLER aus der Arbeitsgruppe BARNER-KOWOLLIK (KIT) an einem *SR-600* UV/Vis-Spektrometer mit Radiometermesskopf von OPSYTEC DR. GRÖBEL aufgezeichnet. Darüber hinaus wurde ebenfalls die Lichtleistung bestimmt, welche bei $0.016 \text{ mW} / \text{cm}^2$ lag.

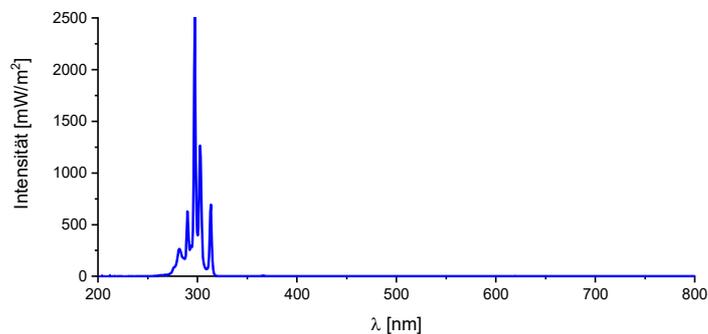


Abbildung 80: Resultierende Emission des Aufbaus mit Monochromator.

Da niedrige Lichtleistungen während der Schalterexperimente zu längeren Belichtungszeiten und damit zu einer vermehrten Bildung von unerwünschten Nebenprodukten führen, wurde in Zusammenarbeit mit der feinmechanischen Werkstatt des Instituts für Physikalische Chemie (KIT) ein Probenhalter entwickelt, der den Einsatz von Bandpassfiltern ermöglichte. Der Probenhalter verfügt über Vertiefungen für die Küvette und die Filter um eine reproduzierbare Belichtungsgeometrie zu garantieren, sowie einen höhenverstellbaren Standfuß für die exakte Positionierung der Probe im Strahlengang. Zusätzlich wurde eine mattschwarze Lackierung aufgebracht, um mögliche Streustrahlung zu minimieren.

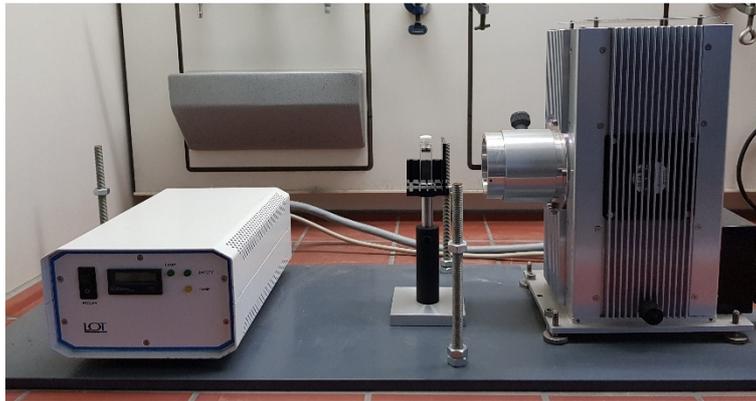


Abbildung 81: oben: Belichtungsapparatur mit Hg(Xe)-Bogenlampe (rechts), Netzteil (links) sowie einem Bandpassfilter (Mitte) zur Filterung des Lichtes; unten: mattierter Probenhalter mit Vertiefungen für Küvette und Bandpassfilter im Strahlengang der Lampe.

Als Filter für Belichtungen im Bereich $\lambda = 290 \text{ nm} - 340 \text{ nm}$ wurde ein *UG11* Bandpassfilter der Firma SCHOTT mit den Abmessungen $50.00 \text{ mm} \times 50.00 \text{ mm} \times 3 \text{ mm}$ verwendet.

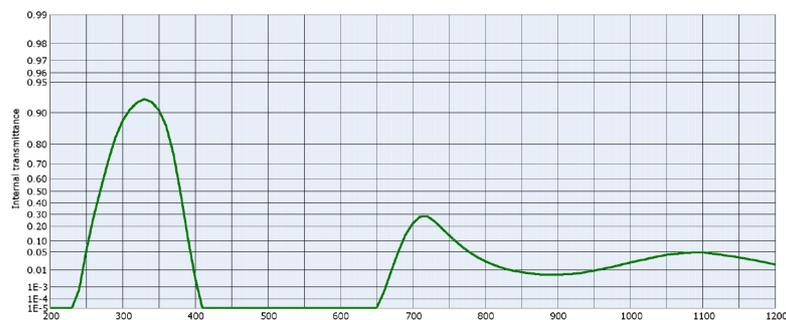


Abbildung 82: Transmissionsspektrum des verwendeten SCHOTT *UG11* Bandpassfilter.⁷

⁷ Schott UG11-Datenblatt (Stand: 01.12.2014, https://www.schott.com/d/advanced_optics/2ac9d777-241a-4b09-940f-4dcf5f7aa898/1.6/schott-uv-bandpass-ug11-jun-2017-de.pdf)

8.3 Bestimmung der photochromen Ausbeute

Die Zusammensetzung der photostationären Zustände wurde über HPLC-Trennungen der belichteten Schalter mit einer Supelcosil LC™ Säule (250 × 10 mm, 5 µm) durchgeführt, wobei folgende Bedingungen verwendet wurden:

Eluent A: Acetonitril
 Eluent B: Wasser
 Flussrate: 2.5 mL / min

Alle HPLC-Läufe wurden isokratisch durchgeführt, um eine anschließende Integration an den in Tabelle 9 aufgeführten isosbestischen Punkten zu ermöglichen. Dabei wurden folgende Laufmittelgemische verwendet:

Schalter **13**: 85% A / 15% B
 Schalter **14**: 85% A / 15% B
 Schalter **15**: 75% A / 25% B

Tabelle 8: Übersicht über die verwendeten Absorptionswellenlängen und isosbestischen Punkte für die Bestimmung der photostationären Zustände.

	Offenes Isomer λ [nm]	Geschlossenes Isomer λ [nm]	Isosbestische Punkte λ [nm]
13	300	517	265, 304, 317
14	300	506	242, 292, 319
15	300	519	244, 293,

8.4 Reaktionsquantenausbeute

Die Quantenausbeuten der Schaltreaktionen von **13**, **14** und **15** wurden an einem *Quantum Yield Determination Setup (QYDS)* von RIEDLE und KÖNIG *et al.* bestimmt,^[160] welches modifiziert wurde, um Belichtungen bei kleinen Leistungen (< 0.3 mW) sowie Belichtungen im UV-B Bereich ($\lambda = 280 - 315 \text{ nm}$) zu ermöglichen. Durch physikalische Leistungsmessungen des Lichts mit und ohne Probe, kann die aufgenommene Lichtmenge und damit die Reaktionsquantenausbeute direkt bestimmt werden.

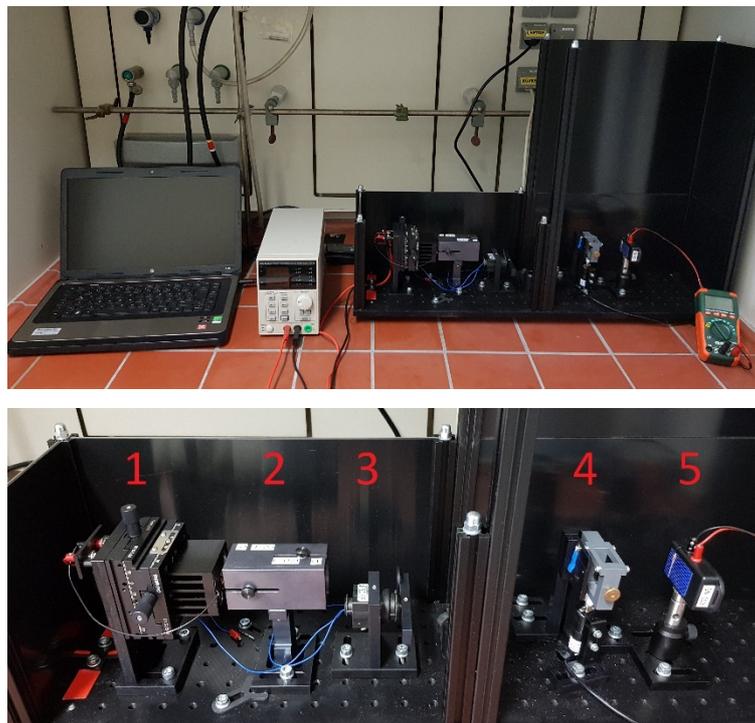


Abbildung 83: Modifizierter Aufbau des QYDS für Messungen im UV-B Bereich und bei Leistungen unter 0.3 mW. *oben:* Übersicht der Belichtungsapparatur mit Laptop (links), Spannungsquelle (Mitte) und Belichtungsreaktor (rechts); *unten:* modularer Aufbau des Belichtungsreaktors mit Solarzelle.

Der verwendete Messaufbau besteht aus einem programmierbaren DC-Netzteil (*KP3005P*, 30 V, 5 A) von KNAUER zur Versorgung der LED, einem Laptop mit Steuerprogrammen für das Netzteil und den *PowerMax*-Sensor, sowie dem Belichtungsreaktor selbst, welcher komplett geschlossen werden kann, sodass die Probe und der Sensor vor Umgebungslicht von außen geschützt sind. Der Reaktor ist modular aufgebaut und verfügt über folgende Bauteile:

- 1 Justierbare Montageplatte mit Kühlkörper und wechselbaren LEDs. (siehe Tabelle 10)
- 2 *Bestform*-Linsensystem zur Fokussierung des Lichtstrahls

- 3 Computergesteuerter *shutter* (zur Zeit der Messung noch nicht in Betrieb, Belichtungsdauer wurde von Hand gesteuert)
- 4 Küvettenhalter mit 8 x 8 mm² Blende und Rührmotor (FAULHABER 1524B024S, variabler Betrieb)
- 5 Solarzelle ohne Beschichtung zur Bestimmung der Lichtleistung mit Multimeter (EXTECH MN16; 0.1 μ A - 10 A)

Die Bestimmungen der Quantenausbeuten erfolgte über die „*initial-slope* Methode“, weshalb lediglich sehr geringe Strahlungsleistungen von 0.1 mW – 0.3 mW benötigt wurden. Während die Leistung der 300 nm LED über das Netzteil passend geregelt werden konnte, emittierte die 520 nm LED selbst bei minimalem Durchlassstrom noch zu stark. Aus diesem Grund wurde zwischen 3 und 4 ein THORLABS *NDUV10A* Neutralsdichtefilter mit einer Durchlässigkeit von 10 % (ND = 1.0) eingebaut, womit eine Strahlungsleistung von 0.1 mW erreicht werden konnte. Zur Messung der Lichtleistung wurde, wie in Abbildung 83 gezeigt, eine unbeschichtete Solarzelle verwendet, wobei der erzeugte Strom über ein Amperemeter gemessen wurde. Da sich die Sensitivität der Solarzelle jedoch für verschiedene spektrale Bereiche unterscheidet, wurde die Solarzelle für jede LED gegen ein *PowerMax-USB* Sensor System (*PM USB PS19Q*) von COHERENT kalibriert. Der dabei erhaltene Kalibrationsfaktor ermöglicht die Umrechnung der erhaltenen Stromstärken in reale Lichtleistung (siehe Abbildung 84).

Tabelle 9: Bezeichnung und Eigenschaften der im QYDS verwendeten LED.

Hersteller	Typ	λ_{\max} [nm]	$\Delta\lambda$ [nm]	I_{\max}/U_{\max} [mA]/[V]	Kalibrationsfaktor der Solarzelle
NIKKISO	VPS1A1	300	20	500/7.0	0.120
OSRAM OSOLON SSL	LTCP7P-KXKZ	530	36	1000/3.7	0.382

Vor der eigentlichen Messung wurde die Strahlungsleistung der LED (P_{irr}) über die Spannungsquelle eingestellt und gegen die Absorption von Küvette und reinem Lösungsmittel hintergrundkorrigiert (P_{ref}). Während der Experimente wurde die Belichtungsdauer und die Stärke des transmittierten Lichts dokumentiert und der chemische Umsatz der Reaktion über Absorptionsspektroskopie verfolgt. Dabei wurde die Menge des gebildeten offenen bzw. geschlossenen Schalterisomers über die Intensitätsänderung der charakteristischen

Absorbanz des geschlossenen Isomers und dem zuvor gemessenen Extinktionskoeffizienten bestimmt.

Die Reaktionsquantenausbeute stellt das Verhältnis zwischen der Anzahl der gebildeten Moleküle und der Anzahl der von der Probe absorbierten Photonen dar. Sie wird wie folgt berechnet:

$$Q.Y. = \frac{N_{Prod}}{N_{Photonen,abs}} = \frac{c_{prod} \cdot V \cdot N_A \cdot h \cdot c}{P_{abs} \cdot \Delta t \cdot \lambda}$$

Wobei c_{prod} die Konzentration des untersuchten Isomers, V das Probenvolumen, N_A die Avogadrozahl, h die Planck-Konstante, c die Lichtgeschwindigkeit, P_{abs} die von der Probe absorbierte Lichtstärke, Δt die Belichtungsdauer und λ die Belichtungswellenlänge darstellt.

Alle Messungen wurden bei 25 °C in Quarzglas-Fluoreszenzküvetten von STARNA (Weglänge 10 mm, Innenabmessung 10 mm × 10 mm, nominelles Volumen 3.00 mL) ohne besondere Probenvorbereitung durchgeführt.

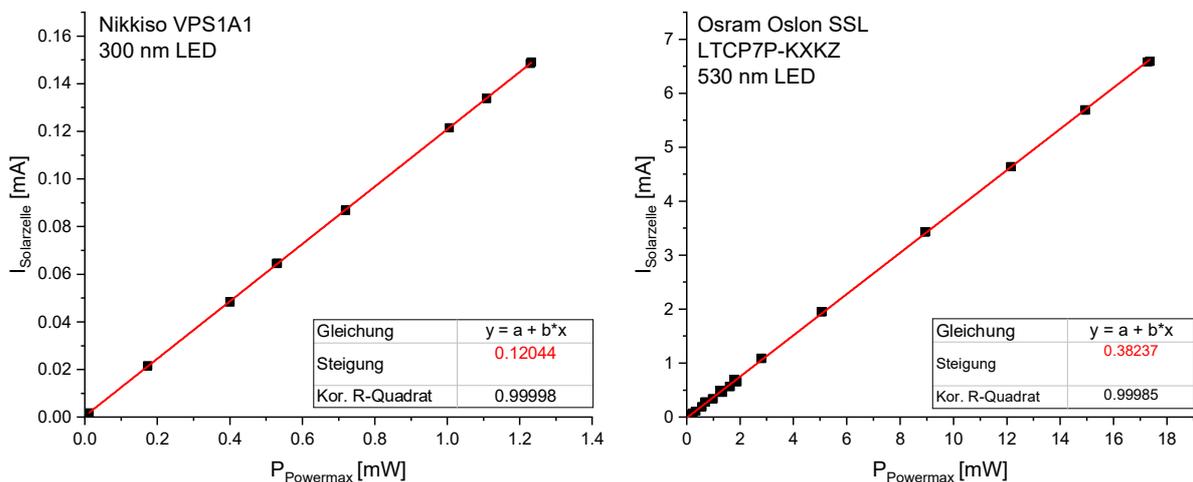


Abbildung 84: Bestimmung der Kalibrationsfaktoren der verwendeten LED zur Umrechnung von Stromstärke der Solarzelle in reale Lichtleistung.

8.5 Anlagerungsexperimente

8.5.1. Anlagerung der reinen Farbstoffe

Zunächst wurden eine Stammlösung des entsprechenden Chromophor-Nukleosids in DMSO ($c \approx 3 \text{ mM}$) und eine $1.25 \mu\text{M}$ Lösung des Templatstranges in $1000 \mu\text{L}$ MilliQ-Wasser vorbereitet. Anschließend wurde so viel Stammlösung zur Lösung des DNA-Strangs gegeben, dass eine Nukleosidkonzentration von $37.5 \mu\text{M}$ für Template mit 20 Basen bzw. eine Konzentration von $18.8 \mu\text{M}$ für Template mit 10 Basen erreicht wurde (für die genaue Berechnung der Konzentrationen siehe Kapitel 8.5.2). Die Nukleosidkonzentration entspricht dabei dem 1.5-fachen der Bindungsstellen.

Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde wurde die Probe bei 16000 g zentrifugiert um überschüssige Monomere aus der Lösung zu entfernen. Die Zentrifugationsdauer wurde je nach verwendetem Nukleosid angepasst und ist an den entsprechenden Stellen beschrieben. Der Überstand wurde abpipettiert und spektroskopisch untersucht.

8.5.2. Titrationsexperimente

Die Titrationsexperimente wurden anhand einer im Arbeitskreis WAGENKNECHT etablierten Methode durchgeführt.^[7] Zunächst wurden, wie in Kapitel 8.5.1 beschrieben, Lösungen des entsprechenden Chromophor-Nukleosids in DMSO sowie des Templatstranges in Wasser vorbereitet. Anschließend wurde eine Titrationslösung mit einem Volumen von $400 \mu\text{L}$ hergestellt, welche den Templatstrang ($c = 1.25 \mu\text{M}$) sowie das anzulagernde Nukleosid in Form der oben genannten Stammlösung enthielt. Die Konzentration des Nukleosids in der Titrationslösung wurde dabei folgendermaßen an den jeweiligen Templatstrang angepasst:

$$n(\text{Nukleosid}) = n(\text{Templat}) \cdot X \cdot 1.5$$

Dabei stellt n die Stoffmenge und X die Anzahl der Bindungsstellen im Templatstrang dar. Der erhaltene Wert wurde noch mit 1.5 multipliziert, um eine Übertitration und somit eine vollständige Besetzung des Templats zu erhalten. Für Template mit 20 Basen ergibt sich hieraus eine Konzentration von $c = 37.5 \mu\text{M}$ und für Template mit 10 Basen eine Konzentration

von $c = 18.8 \mu\text{M}$. Die Titrationslösung wurde anschließend schrittweise zur Lösung des Templatstrangs bei Raumtemperatur zugegeben, wobei jede Zugabe einem angelagerten Nukleosid entsprach ($V_{\text{Zugabe}} = 13.3 \mu\text{L}$ für 20-mere und $26.6 \mu\text{L}$ für 10-mere). Nach jedem Schritt wurde die Küvette sorgfältig geschüttelt und nach einer Minute Inkubationszeit die Lösung über UV/Vis-Spektroskopie untersucht. Nach der letzten Zugabe wurde die Probe zentrifugiert und der Überstand erneut gemessen.

8.5.3. Orthogonale Anlagerung von Py-dAP und Nr-dU

Zuerst wurden Stammlösungen der Chromophor-Nukleoside in DMSO vorbereitet (**Py-DAP** 3.19 mM und **Nr-dU** 4.16 mM). Anschließend wurde das Anlagerungsexperiment folgendermaßen durchgeführt:

- 1) Es wurde eine $4.38 \mu\text{M}$ Lösung des Templatstrangs in Wasser hergestellt.
 $V(\text{H}_2\text{O}) = 400 - V(\text{Nr-dU}) - V(\text{Py-DAP})$.
- 2) Danach wurden $5.88 \mu\text{L}$ der **Nr-dU** Stammlösung für Template mit 10 Bindungsstellen bzw. $11.76 \mu\text{L}$ für 20-mere zugegeben und die Probe für 5 s gevortext. Die zugegebene Menge entspricht dem 1.5-fachen der vorhandenen Bindungsstellen, um einen maximalen Besetzungsgrad zu erreichen.
- 3) Nach 30 min wurden $4.50 \mu\text{L}$ bzw. $9.00 \mu\text{L}$ einer **Py-DAP**-Lösung zugegeben, die Probe erneut für 5 s gevortext und die Mischung für 30 min inkubiert. Analog zu Schritt 2, wurde auch der zweite Baustein im Überschuss zugegeben. Die Zugabe der beiden Monomere erfolgte in separaten Schritten, da die zeitgleiche Zugabe der Bausteine zu unlöslichen Monomer-Monomer-Aggregaten führte.
- 4) Die Probe wurde mit $1000 \mu\text{L}$ *MilliQ*-Wasser verdünnt ($c_{\text{Templat}} = 1.25 \mu\text{M}$), um den prozentualen Anteil an DMSO in der Lösung zu senken und damit das Ausfällen der ungebundenen Monomere durch Zentrifugation zu erleichtern.

5) Nach weiteren 10 min Inkubationszeit wurde die Probe für eine Minute bei 16000 g zentrifugiert. In diesem Schritt werden die ungebundenen, unlöslichen Chromophornukleoside abgetrennt. Nur die angelagerten Monomere werden vom DNA-Templat in Lösung gehalten.

6) Der Überstand wurde abpipettiert und ohne weitere Probenvorbereitung untersucht.

Alle Schritte wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Für die negativen Proben (nur Monomere, keine DNA) wurde dasselbe Volumen *MilliQ*-Wasser anstelle der DNA-Lösung in Schritt 1 verwendet. Ansonsten wurden die Proben analog behandelt.

8.6 Oligonukleotide

8.6.1. Chemische DNA-Synthese

Die automatisierte Festphasensynthese der linksgängigen Oligonukleotide erfolgte nach der Phosphoramiditmethode und wurde an einem *Expedite 8909 Nucleic Acid Synthesizer* von APPLIED BIOSYSTEMS (ABI) durchgeführt. Das kommerziell erhältliche β -L-Desoxyadenosinphosphoramidit wurde in Acetonitril gelöst (*amidite diluent*) und als 0.067 M Lösung zur Synthese genutzt. Als feste Phase wurden CPG-Säulen (Belegung 1 μ mol; 500 Å) von CHEMGENES verwendet, die mit β -L-Desoxyadenosin belegt waren. Um die anschließende Aufreinigung der Oligonukleotide zu vereinfachen, wurden die Stränge im *DMT-on* Modus synthetisiert, was bedeutet, dass die 5'-terminale Dimethoxytrityl-Schutzgruppe (DMT) am Ende der Synthese nicht abgespalten wurde.

Der Ablauf der einzelnen Synthesezyklen ist im Kupplungsprotokoll angegeben (siehe Tabelle 11). Dieses Protokoll steuert, in welchem Teilschritt welche Lösung über die CPG-Säule gepumpt werden soll und wie lange das Reagenz auf der Säule bleibt. Die Substanzmenge wird dabei über die Anzahl der Pulse bestimmt, wobei 1 Puls ein Volumen von 16 μ L darstellt. Eine Zeitangabe von 0 s gibt an, dass die Lösung schnellstmöglich durch die Säule gepumpt wird. Für die linksgängigen Nukleoside wurde der Schritt *SCoupling* angepasst, um eine möglichst vollständige Kupplung zu erreichen. Die verwendeten Chemikalien sind im Protokoll wie folgt definiert:

Dblk (<i>Deblock</i>):	3 % Dichloressigsäure in Dichlormethan
Wsh A (<i>Wash A</i>):	Acetonitril
Wsh (<i>Wash</i>):	Acetonitril
Act (<i>Activator</i>):	0.45 M Tetrazol in Acetonitril
Cap A:	Acetanhydrid in THF / Pyridin
Cap B:	N-Methylimidazol in THF / Pyridin
Ox (<i>Oxidizer</i>):	Iod in Wasser / THF / Pyridin

Tabelle 10: Modifiziertes Syntheseprotokoll für den Einbau von β -L-Desoxyadenosin. Änderungen gegenüber dem Standardprotokoll für natürlicher Bausteine sind **rot** gekennzeichnet. X = artifizielles Phosphoramidit.

Codierung	Funktion	Modus	Menge	Zeit	Beschreibung
<i>§Deblocking</i>					
144	Index Frakt. Coll.	NA	1	0	Event out ON
0	Default	WAIT	0	1.5	Warten
141	Trytl 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	Trytl 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	6	0	System mit Act spülen
23	X + Act	PULSE	5	0	Monomer + Act auf Säule
23	X + Act	PULSE	3	100	Monomer kupplen
2	Act	PULSE	4	150	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	12	0	Caps auf Säule
12	Wsh A	PULSE	6	22	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

8.6.2. Aufarbeitung und Reinigung

Die CPG-Säulen wurden nach erfolgreicher Synthese entnommen, über Nacht im Hochvakuum getrocknet, anschließend geöffnet und die Glaspartikel in ein EPPENDORF-Reaktionsgefäß überführt.

Abspaltung und Entschützung

Zunächst erfolgte die Abspaltung des Oligonukleotidstrangs von der festen Phase sowie die Entschützung der Basen. Dafür wurden die Glaspartikel mit 0.7 mL konz. wässriger Ammoniaklösung (>25 %, *trace select*, FLUKA) versetzt und die entstehende Suspension für 16 h auf 55 °C erhitzt. Nach Abkühlen der Proben auf Raumtemperatur wurde Ammoniak in einem Vakuumkonzentrator (35 min, 35 °C, 100 mbar) entfernt und die überstehende wässrige Lösung abgenommen. Das Granulat wurde dreimal mit je 200 µL *MilliQ*-Wasser gewaschen, die wässrigen Phasen vereinigt und die Lösung anschließend im Vakuumkonzentrator (25 °C, 0.1 mbar) bis zur Trockene eingeeengt.

Reinigung der *DMT-on* synthetisierten Stränge

Die Reinigung der *DMT-on* synthetisierten Oligonukleotide erfolgte mit *Glen-Pak™ DNA Purification Cartridges* von GLEN RESEARCH wie vom Hersteller beschrieben. Dafür wurde die DNA in 2.0 mL einer 50 mg / mL NaCl-Lösung aufgenommen sowie die Säule mit 0.5 mL Acetonitril gewaschen, mit 1.0 mL TEAA-Puffer (Triethylammoniumacetat, 2 M, pH 7) equilibriert und mit 1.0 mL der DNA-Lösung beladen. Es wurde zweimal mit je 1 mL einer Salz-Wasch-Lösung (5 % Acetonitril in 100 mg / mL NaCl-Lösung) gewaschen, wobei die unvollständig synthetisierten Abbruchstränge eluiert wurden. Anschließend wurde die *DMT*-Schutzgruppe mit 2 × 1.0 mL TFA-Lösung (2 % Trifluoressigsäure in Wasser) abgespalten und TFA- sowie Salzreste mit 2 × 1.0 mL *MilliQ*-Wasser entfernt. Die gereinigte DNA wurde mit 2 × 1.0 mL Elutionslösung (0.5 % Ammoniumhydroxid in Acetonitril/Wasser = 1:1) eluiert, in EPPENDORF-Reaktionsgefäßen gesammelt und in einem Vakuumkonzentrator bis zur Trockene eingeeengt und anschließend entsalzt.

Da kein Vakuum-Röhrenkollektor zur Verfügung stand, wurden die entsprechenden Lösungen mit 1 mL Spritzen von BRAUN über die Säulen gedrückt. Dabei wurde eine Flussrate von 1-2 Tropfen pro Sekunde gewählt.

Entsalzen der Oligonukleotid-Stränge

Die aufgereinigten, linksgängigen Oligonukleotide enthielten nach der *GlenPak*-Reinigung noch Natrium- sowie Ammoniumchlorid. Da diese Salze die Anlagerungsexperimente negativ beeinflussen, wurden die Stränge über eine *illustra NAP-10* Säule von GE HEALTHCARE entsalzt. Dafür wurde die Säule mit 15 mL *MilliQ*-Wasser equilibriert und die trockene DNA in 1.0 mL *MilliQ*-Wasser gelöst. Anschließend wurde die Säule mit der DNA-Lösung beladen und die DNA mit 1.5 mL *MilliQ*-Wasser eluiert. Bei diesem Schritt bleiben die Salze auf der Säule und nur die gereinigte DNA wird eluiert. Diese wurde in EPPENDORF-Reaktionsgefäßen gesammelt und in einem Vakuumkonzentrator zur Trockene eingengt. Die so erhaltenen Oligonukleotide wurden charakterisiert und für die Anlagerungsversuche verwendet.

8.6.3. Charakterisierung

Die synthetisierten, linksgängigen Oligonukleotide wurden vor Gebrauch in einer kleinen Menge *MilliQ*-Wasser gelöst und anschließend über massenspektrometrische Analyse charakterisiert, sowie die Konzentration der Lösung bestimmt. Bei erworbenen, unmodifizierten Oligonukleotiden wurde auf die MALDI-Messung verzichtet, da diese in aufgereinigtem Zustand bezogen wurden. Die Massen und Extinktionsfaktoren der verwendeten Oligonukleotide sind in Kapitel 8.6.4 angegeben.

MALDI-TOF

Die massenspektrometrische Analyse der Oligonukleotide wurde an einem BRUKER DALTRONICS *Biflex-IV* Spektrometer oder an einem *AXIMA Confidence* Spektrometer von SHIMADZU durchgeführt. Es wurde im linear negativen Modus gemessen und 3-Hydroxypicolinsäure (gesättigte Lösung in Acetonitril:Wasser = 1:1) / Diammonium-hydrogencitrat (0.44 M in Wasser) = 9:1 als Matrix verwendet.

Konzentrationsbestimmung

Die Konzentration der DNA-Lösungen wurden mittels eines *ND-1000* Spektrophotometers von NANODROP bestimmt. Dafür wurde die Absorbanz der Probe bei $\lambda = 260 \text{ nm}$ bestimmt und die Konzentration über das Lambert-Beer-Gesetz berechnet. Der dazu benötigte molare Extinktionskoeffizient der DNA setzt sich folgendermaßen zusammen:

$$\epsilon_{260nm} = 0.9(dA \epsilon_A + dC \epsilon_C + dG \epsilon_G + T \epsilon_T + X \epsilon_x)$$

Wobei dA, dC, dG und T die Anzahl der im Strang vorkommenden natürlichen Nukleotide, X die Anzahl des Sonderbausteins im Strang und ϵ_A , ϵ_C , ϵ_G , ϵ_T und ϵ_x die molaren Extinktionskoeffizienten der jeweiligen Bausteine darstellen.

Durch die Basenstapelung im Strang ist die Absorbanz geringer als die Summe der Absorbanzen der entsprechenden einzelnen Nukleoside. Diese Hypochromizität wird durch den Vorfaktor 0.9 berücksichtigt.

Tabelle 11: Extinktionskoeffizienten der verwendeten Basen.

Base	$\epsilon_{260} [\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}]$
dA	15.4
dC	7.3
dG	11.7
T	8.8
IdA	15.4

8.6.4. Übersicht der verwendeten Oligonukleotide

Nachfolgend sind die in dieser Arbeit verwendeten DNA-Stränge mit ihrer Masse und ihrem Extinktionskoeffizienten aufgelistet. Für den β -L-Desoxyadenosin-Baustein wurde die Bezeichnung IA, für die linksgängigen poly-A-Stränge die Bezeichnung IdA_x verwendet.

IdA₁₀ 5'—IA—IA—IA—IA—IA—IA—IA—IA—IA—IA—3'

IdA₂₀ 5'—IA—3'

Tabelle 12: Gefundene und berechnete Massen sowie Extinktionskoeffizienten der synthetisierten DNA.

DNA	Berechnete Masse [g/mol]	Gefundene Masse [g/mol]	ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
IdA ₁₀	3068.6	3068.8	138.6
IdA ₂₀	6199.2	6199.5	277.2

dA₁₀ 5'—A—A—A—A—A—A—A—A—A—A—3'

dA₂₀ 5'—A—3'

dC₁₀ 5'—C—C—C—C—C—C—C—C—C—C—3'

dC₂₀ 5'—C—3'

dG₁₀ 5'—G—G—G—G—G—G—G—G—G—G—3'

dG₂₀ 5'—G—3'

T₁₀ 5'—T—T—T—T—T—T—T—T—T—T—3'

T₂₀ 5'—T—3'

dA₁₀T₁₀ 5'—A—A—A—A—A—A—A—A—A—A—T—T—T—T—T—T—T—T—T—T—3'

(dAdATT)₅ 5'—A—A—T—T—A—A—T—T—A—A—T—T—A—A—T—T—A—A—T—T—3'

(dAT)₁₀ 5'—A—T—A—T—A—T—A—T—A—T—A—T—A—T—A—T—A—T—A—T—3'

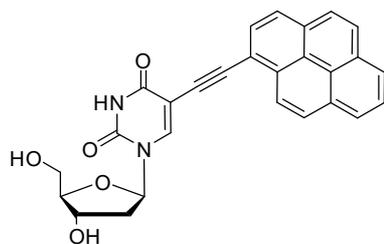
(dATTT)₅ 5'—A—T—T—T—A—T—T—T—A—T—T—T—A—T—T—T—A—T—T—T—3'

Tabelle 13: Massen und Extinktionskoeffizienten der erworbenen DNA.

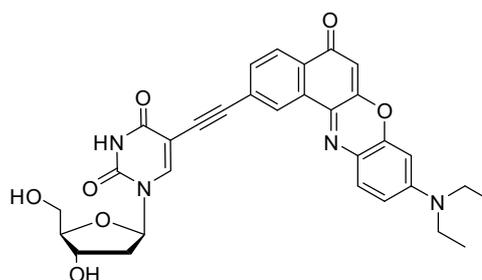
DNA	Masse [g/mol]	ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
dA ₁₀	3068.6	138.6
dA ₂₀	6199.2	277.2
dC ₁₀	2828.2	65.7
dC ₂₀	5719.0	131.4
dG ₁₀	3228.6	105.3
dG ₂₀	6519.1	210.6
T ₁₀	2978.5	79.2
T ₂₀	6019.0	158.4
dA ₅ T ₅	3023.6	108.9
dA ₁₀ T ₁₀	4588.9	217.8
(dAdATT) ₅	4588.9	217.8
(dAT) ₁₀	4588.9	217.8
(dATTT) ₅	6064.0	188.1

8.7 Synthesevorschriften

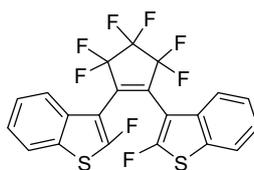
Die chromophormodifizierten Nucleoside **Py-dU**^[153-154] und **Nr-dU**^[65, 136-137] wurden wie in der Literatur beschrieben synthetisiert. Die analytischen Daten stimmen in allen Fällen mit der Literatur überein. Die Synthese des Schalters **15** wurde bereits publiziert.^[161]



Py-dU
 $C_{27}H_{20}N_2O_5$
M = 452.47 g/mol



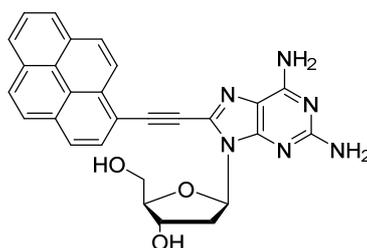
Nr-dU
 $C_{31}H_{28}N_4O_7$
M = 568.59 g/mol



15
 $C_{21}H_8F_8S_2$
M = 476.40 g/mol

Anmerkung zur NMR-Analytik der perfluorierten Diarylethene

Die offene Form der Diarylethene besteht aus einer parallelen und einer anti-parallelen Form, welche schon bei der Synthese entstehen und sich im Gleichgewicht befinden. Darüber hinaus sind nur kleine Mengen an Licht erforderlich, um Spuren des geschlossenen Isomers zu erhalten, sodass ein weiterer Signalsatz im NMR zu sehen war. Die Zuordnung der Signale im NMR wird zusätzlich durch weitere Faktoren erschwert. Perfluorierte Verbindungen besitzen sehr lange longitudinale Relaxationszeiten (T_1), sodass nur sehr schwache Signale im ^{13}C -Spektrum bzw. im HSQC-Spektrum zu sehen sind.^[162-163] Außerdem konnten aufgrund der Geräteausstattung keine ^{13}C -Spektren aufgenommen werden, die zeitgleich ^1H und ^{19}F entkoppelt wurden, sodass starke Kopplungseffekte in den ^{13}C -Spektren zu sehen sind. Die NMR-Spektren der entsprechenden Verbindungen sind deswegen nicht als reines offenes Isomer, sondern als Zusammensetzung der Verbindung im offenen photostationären Zustand zu verstehen. Im Falle der ^{13}C -Spektren sind alle Signale aufgelistet, da eine genaue Zuordnung und eine Untersuchung der Multiplizitäten, aufgrund der oben genannten Faktoren, nicht möglich war.

2-Amino-8-(pyren-1-yl-ethynyl)-2'-desoxyadenosin (Py-DAP)

Py-DAP
 $C_{28}H_{22}N_6O_3$
 $M = 490.52 \text{ g/mol}$

Es wurden 100 mg **2** (1.00 Äq., 0.290 mmol) unter Argon vorgelegt, der Feststoff dreimal entgast und anschließend in 10 mL DMF und 10 mL Triethylamin gelöst. Die Lösung wurde durch Einleiten von Argon bei gleichzeitigem Rühren für 10 Minuten weiter entgast. Danach wurden 8.28 mg Kupfer(I)iodid (0.15 Äq., 0.0435 mmol) und 50.2 mg Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) (0.15 Äq., 0.0435 mmol) zugegeben und die Lösung zuerst für 4 h bei 50 °C und anschließend für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in DCM:MeOH = 1:1 aufgenommen, über eine kurze *Celite S* Säule filtriert und mit DCM:MeOH = 1:2 eluiert. Das Lösungsmittel wurde erneut unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (*silica*, DCM:MeOH = 15:1 – 5:1) gereinigt. Das Produkt **Py-DAP** konnte dabei in einer Ausbeute von 66 % (94 mg, 0.192 mmol) als leuchtend gelber Feststoff isoliert werden.

DC (*silica*, DCM:MeOH = 10:1): $R_f = 0.47$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 8.55 (d, $J = 9.1 \text{ Hz}$, 1H), 8.43 (t, $J = 7.8 \text{ Hz}$, 3H), 8.39 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H), 8.37 – 8.31 (m, 2H), 8.28 (d, $J = 8.9 \text{ Hz}$, 1H), 8.19 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1H), 7.19 (s, 2H), 6.63 (dd, $J = 8.5, 6.3 \text{ Hz}$, 1H), 5.97 (s, 2H), 5.54 – 5.49 (m, 1H), 5.36 (d, $J = 4.0 \text{ Hz}$, 1H), 4.55 – 4.48 (m, 1H), 4.02 – 3.95 (m, 1H), 3.75 – 3.67 (m, 1H), 3.63 – 3.54 (m, 1H), 3.31 – 3.26 (m, 1H), 2.33 – 2.25 (m, 1H).

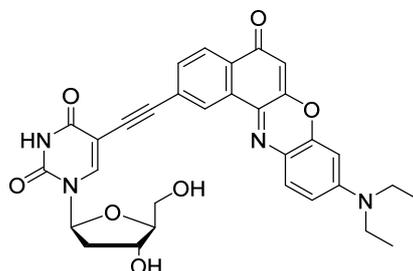
¹³C-NMR (126 MHz, [d₆]-DMSO): δ (ppm) = 160.7, 156.4, 151.1, 131.7, 131.5, 130.8, 130.4, 129.7, 129.5, 129.3, 129.0, 127.3, 127.0, 126.5, 126.3, 125.1, 124.2, 123.6, 123.3, 114.7, 114.5, 92.2, 88.2, 85.4, 84.8, 71.5, 62.4, 37.5.

FAB-MS m/z (%): 289.1 (17) [C₁₂H₁₃N₆O₃⁺], 491.2 (6) [(M+H)⁺].

HR-MS (FAB): m/z berechnet für C₂₈H₂₃O₃N₆⁺ [(M+H)⁺] = 491.1826; gefunden = 491.1828.

ε_{327, DMSO} = 19.3 mM⁻¹cm⁻¹

ε_{403, DMSO} = 34.3 mM⁻¹cm⁻¹

5-((9-Diethylamino-5-benzo[a]phenoxazinon-2-yl)ethynyl)- β -L-2'-desoxyuridin (Nr-IdU)

Nr-IdU

$C_{31}H_{28}N_4O_7$
M = 568.59 g/mol

Es wurden 60.3 mg 2-Ethynylnilrot (1.00 Äq., 0.176 mmol), 68.1 mg **29** (1.10 Äq., 0.192 mmol), 40.6 mg Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) (0.20 Äq., 0.035 mmol) und 7.60 mg Kupfer(I)iodid (0.20 Äq., 0.040 mmol) unter Argon vorgelegt. Es wurden 6.7 mL DMF und 100 μ L Triethylamin zugegeben, die entstehende Lösung durch Einleiten von Argon unter Rühren für 5 min entgast und anschließend für 21 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (*silica*, DCM:MeOH = 1:0 – 18:1) gereinigt. Um letzte Triethylammoniumverunreinigungen zu entfernen wurde das Produkt mit wenig DCM (p.a.) gewaschen und anschließend getrocknet. Dabei konnte das Produkt **Nr-IdU** mit einer Ausbeute von 34 % (37.4mg, 0.065 mmol) als grün-schwarz glänzender Feststoff erhalten werden.

DC (*silica*, DCM:MeOH = 10:1): $R_f = 0.36$

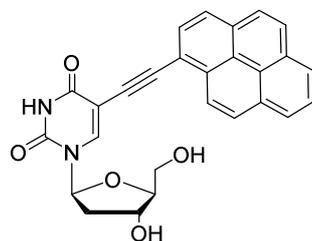
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, $[d_6]$ -DMSO): δ (ppm) = 11.79 (s, 1H), 8.58 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 8.50 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.73 (dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.87 (dd, $J = 9.2, 2.7$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 6.31 (s, 1H), 6.15 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 5.29 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 5.23 (t, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.27 (q, $J = 4.4$ Hz, 1H), 3.83 (q, $J = 3.4$ Hz, 1H), 3.74 - 3.56 (m, 2H), 3.52 (q, $J = 7.0$ Hz, 4H), 2.28 – 2.10 (m, 2H), 1.17 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, $[d_6]$ -DMSO): δ (ppm) = 181.1, 161.4, 152.1, 151.2, 149.4, 146.7, 144.6, 137.2, 131.8, 131.7, 131.2, 130.2, 125.7, 125.4, 124.5, 110.6, 104.7, 97.7, 96.0, 91.4, 87.7, 85.4, 85.0, 69.9, 60.8, 44.6, 40.2, 12.5.

FAB-MS m/z (%): 569.2 (27) [(M+H)⁺].

HR-MS (FAB): m/z berechnet für C₃₁H₂₉O₇N₄⁺ [(M+H)⁺] = 569.2031; gefunden = 569.2032.

$\epsilon_{569, \text{DMSO}} = 41.5 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$

5-(Pyren-1-ylethynyl)- β -L-2'-desoxyuridin (Py-IdU)

Py-IdU

$C_{27}H_{20}N_2O_5$
 $M = 452.47 \text{ g/mol}$

In einem ausgeheiztem *headspace vial* wurden 40.5 mg 1-Ethynylpyren (1.00 Äq., 0.179 mmol), 69.1 mg **29** (1.10 Äq., 0.195 mmol), 41.3 mg Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0) (0.20 Äq., 0.035 mmol) und 7.30 mg Kupfer(I)iodid (0.20 Äq., 0.038 mmol) unter Argon vorgelegt. Nach Zugabe von 6.5 mL trockenem DMF und 100 μ L Triethylamin (2.50 Äq., 0.044 mmol) wurde die Lösung durch Einleiten von Argon unter Rühren für 5 min entgast und die Reaktionslösung anschließend für 19 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (*silica*, DCM:MeOH = 1:0 – 10:1) gereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Produkt mit wenig DCM (p.a.) gewaschen, um letzte Triethylammoniumverunreinigungen zu entfernen, und anschließend getrocknet.

Das gewünschte Produkt **Py-IdU** konnte mit einer Ausbeute von 89 % (79.0 mg, 0.174 mmol) als gelber Feststoff isoliert werden.

DC (*silica*, DCM:MeOH = 10:1): $R_f = 0.44$

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 11.80 (s, 1H), 8.64 (d, $J = 9.1 \text{ Hz}$, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.41 – 8.33 (m, 3H), 8.31 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 1H), 8.26 (d, $J = 8.9 \text{ Hz}$, 1H), 8.22 (d, $J = 8.9 \text{ Hz}$, 1H), 8.17 (d, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 1H), 8.13 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 1H), 6.20 (t, $J = 6.5 \text{ Hz}$, 1H), 5.32 – 5.18 (m, 2H), 4.38 – 4.26 (m, 1H), 3.86 (q, $J = 3.4 \text{ Hz}$, 1H), 3.77 – 3.55 (m, 2H), 2.31 – 2.18 (m, 2H).

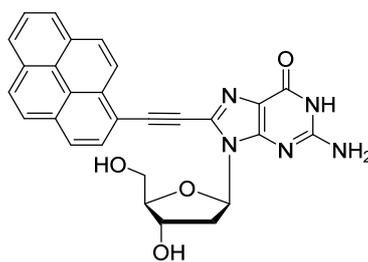
$^{13}\text{C NMR}$ (151 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 161.6, 149.5, 143.8, 130.9, 130.8, 130.8, 130.5, 129.0, 128.7, 128.3, 127.2, 126.8, 125.9, 125.9, 125.0, 124.9, 123.6, 123.4, 117.0, 98.4, 91.1, 88.5, 87.7, 85.0, 69.8, 60.8, 40.1.

FAB-MS m/z (%): 452.2 (3) [M⁺].

HR-MS (FAB): m/z berechnet für C₂₇H₂₀O₅N₂⁺ [M⁺] = 452.1367; gefunden = 452.1369.

$\epsilon_{375, \text{DMSO}} = 35.8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$

$\epsilon_{398, \text{DMSO}} = 40.3 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$

8-(Pyren-1-yl)ethynyl-2'-desoxyguanosin (Py-dG)^[135]**Py-dG**C₂₈H₂₁N₅O₄

M = 491.51 g/mol

Zu einer Lösung von 274 mg **10** (1.00 Äq., 379 µmol) in 30 mL trockenem THF wurden 490 µL TBAF (1 M in THF) (1.30 Äq., 490 µmol) gegeben und die Mischung für 14 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Rohprodukt wurde abfiltriert, mittels Säulenchromatographie (*silica*, CHCl₃:MeOH = 40:1 – 5:1) gereinigt und anschließend mit wenig DCM (p.a.) gewaschen um restliches tert-Butylammonium zu entfernen. Das Produkt **Py-dG** konnte mit einer Ausbeute von 49 % (92.0 mg, 186 µmol) als orangefarbener, fluoreszierender Feststoff isoliert werden.

DC (*silica*, DCM:MeOH = 10:1): $R_f = 0.63$

¹H-NMR (400 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 10.97 (s, 1H), 8.56 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.46 – 8.30 (m, 5H), 8.27 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 8.17 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.70 (s, 2H), 6.58 – 6.51 (m, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.35 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 4.92 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 4.51 – 4.43 (m, $J = 6.3, 3.2$ Hz, 1H), 3.92 – 3.87 (m, 1H), 3.65 (dt, $J = 11.1, 5.4$ Hz, 1H), 3.55 (dt, $J = 11.7, 6.0$ Hz, 1H), 3.32 – 3.23 (m, 1H), 2.33 – 2.25 (m, 1H).

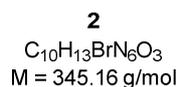
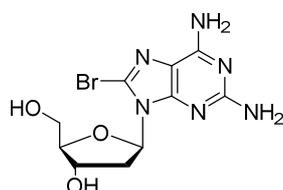
¹³C-NMR (101 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) 156.2, 154.1, 151.1, 131.7, 131.6, 130.7, 130.4, 129.7, 129.5, 129.0, 127.2, 127.0, 126.4, 126.4, 125.1, 124.3, 123.6, 123.3, 117.9, 114.7, 92.0, 87.9, 85.3, 84.1, 71.1, 62.1, 54.9, 37.1.

FAB-MS m/z (%): 491.1 (5) [M⁺], 492.2 (8) [(M+H)⁺].

HR-MS (FAB): m/z berechnet für C₂₈H₂₂N₅O₄⁺ [(M+H)⁺] = 492.1666; gefunden = 492.1667.

$\epsilon_{395, \text{DMSO}} = 32.4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$

2-Amino-8-brom-2'-desoxyadenosin (**2**)



In einem ausgeheizten Rundkolben wurde 1.00 g 2-Amino-2'-desoxyadenosin (1.00 Äq., 3.76 mmol) unter Argon in 30 mL DMF gelöst. Anschließend wurden 902 mg *N*-Bromsuccinimid (1.40 Äq., 5.07 mmol) zugegeben und die Mischung für 2 h unter Lichtausschluss bei 0 °C gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (*silica*, DCM:MeOH = 15:1 – 5:1) gereinigt. Das Produkt **2** wurde mit einer Ausbeute von 54 % (698 mg, 2.02 mmol) als farbloser Feststoff erhalten.

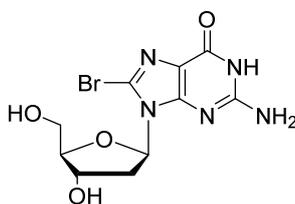
DC (*silica*, DCM:MeOH = 5:1): $R_f = 0.68$

¹H-NMR (400 MHz, [*d*6]-DMSO): δ (ppm) = 6.98 (s, 2H), 6.18 (dd, $J = 8.5, 6.3 \text{ Hz}$, 1H), 5.78 (s, 2H), 5.49 (dd, $J = 8.0, 4.2 \text{ Hz}$, 1H), 5.28 (d, $J = 4.1 \text{ Hz}$, 1H), 4.49 – 4.37 (m, 1H), 3.91 – 3.80 (m, 1H), 3.72 – 3.60 (m, 1H), 3.55 – 3.42 (m, 1H), 3.24 – 3.11 (m, 1H), 2.16 – 1.99 (m, 1H).

¹³C-NMR (101 MHz, [*d*6]-DMSO): δ (ppm) = 159.6, 155.3, 151.9, 121.1, 114.0, 88.2, 85.8, 71.4, 62.3, 36.8.

FAB-MS m/z (%): 345.1 (13) [(M+H)⁺].

HR-MS (FAB): m/z berechnet für $C_{10}H_{14}O_3N_6^{79}Br^+$ [(M+H)⁺] = 345.0305; gefunden = 345.0304.

8-Brom-2'-desoxyguanosin (8)^[146]**8**

$C_{10}H_{12}BrN_5O_4$
 $M = 346.14 \text{ g/mol}$

Zu einer Suspension aus 2.00 g 2'-Desoxyguanosin (1.00 Äq., 7.01 mmol) in einer Mischung aus 80 mL Wasser und 20 mL Acetonitril wurden unter Lichtausschluss 1.87 g *N*-Bromsuccinimid (1.50 Äq., 10.5 mmol) portionsweise zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 2 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Es wurde ein gelber Feststoff erhalten, welcher in 70 mL Aceton suspendiert und für 4 h bei Raumtemperatur gerührt wurde. Die Mischung wurde für 17 h auf 4 °C gekühlt, der Feststoff abfiltriert und mit kaltem Aceton (4 x 5 mL) gewaschen. Nach Trocknen *in vacuo* konnte **8** mit einer Ausbeute von 88 % (2.14 g, 6.18 mmol) als hellorangener Feststoff erhalten werden.

DC (*silica*, DCM:MeOH = 10:1): $R_f = 0.25$

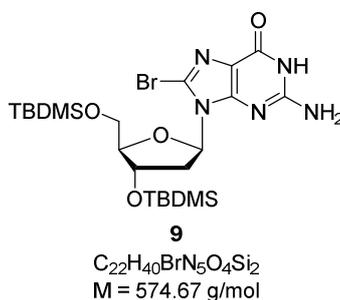
¹H-NMR (400 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 10.82 (s, 1H), 6.51 (s, 2H), 6.15 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 5.26 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 4.87 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.42 – 4.37 (m, 1H), 3.84 – 3.75 (m, 1H), 3.62 (dt, $J = 10.4, 5.0$ Hz, 1H), 3.49 (dt, $J = 11.6, 5.8$ Hz, 1H), 3.22 – 3.07 (m, 1H), 2.17 – 2.03 (m, 1H).

¹³C-NMR (101 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 155.5, 153.4, 152.1, 120.7, 117.5, 88.0, 85.1, 71.1, 62.1, 36.5.

FAB-MS m/z (%): 346.1 (2) [(*M*+*H*)⁺].

HR-MS (FAB): m/z berechnet für $C_{10}H_{13}N_5O_4^{79}Br^+$ [(*M*+*H*)⁺] = 346.0145; gefunden = 345.0144.

3',5'-O,O'-Bis(tert-butyldimethylsilyl)-8-brom-2'-desoxyguanosin (9)^[135]



Unter Argon wurden 1.00 g **8** (1.00 Äq., 2.90 mmol) in 10 mL trockenem DMF gelöst. Es wurden 1.20 g Imidazol (5.90 Äq., 17.0 mmol) sowie 1.20 g TBDMS-Cl (3.00 Äq., 8.62 mmol) zugegeben und die Reaktionsmischung für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Öl mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung versetzt. Der entstandene farblose Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser und Ethanol gewaschen sowie unter vermindertem Druck getrocknet. Das Produkt **9** wurde mit einer Ausbeute von 99 % (1.66 g, 2.88 mmol) als blass, hellgelber Feststoff isoliert.

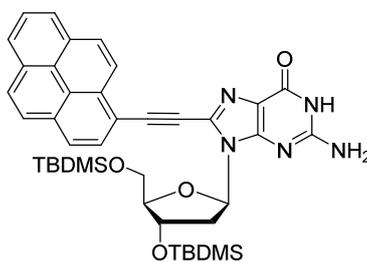
DC (*silica*, DCM:MeOH = 10:1): $R_f = 0.48$

1H -NMR (300 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 10.83 (s, 1H), 6.43 (s, 2H), 6.14 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 4.63 – 4.57 (m, 1H), 3.82 – 3.70 (m, 2H), 3.69 – 3.59 (m, 1H), 3.43 – 3.38 (m, 1H), 2.25 – 1.95 (m, 1H), 0.89 (s, 9H), 0.82 (s, 9H), 0.11 (s, 6H), -0.01 (s, 3H), -0.02 (s, 3H).

^{13}C -NMR (75 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 155.5, 153.4, 152.1, 120.7, 117.4, 87.2, 84.8, 72.4, 62.9, 36.0, 25.8, 18.0, 17.7, -4.7, -4.9, -5.4, -5.5.

FAB-MS m/z (%): 518.3 (7) [(M+Na-Br)⁺], 596.2 (5) [(M+Na)⁺].

HR-MS (FAB): m/z berechnet für $C_{22}H_{40}N_5O_4^{79}BrSi_2Na^+$ [(M+Na)⁺] = 596.0694; gefunden = 596.1693.

3',5'-O,O'-Bis(tert-butyldimethylsilyl)-8-(pyren-1-yl)ethynyl-2'-desoxyguanosin (10)^[135]**10**

$C_{40}H_{49}N_5O_4Si_2$
 $M = 720.03 \text{ g/mol}$

Unter Argon wurden 300 mg **9** (1.00 Äq., 520 μmol) und 142 mg 1-Ethynylpyren (1.20 Äq., 630 μmol) in 18 mL trockenen DMF gelöst und 290 μL Triethylamin (211 mg, 4.00 Äq., 2.09 mmol) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde durch Einleiten von Argon unter Rühren für 5 min entgast. Anschließend wurden 109 mg Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0) (0.18 Äq., 94.0 μmol) und 15.9 mg Kupfer(I)iodid (0.16 Äq., 84.0 μmol) zugegeben und die Lösung für 5 h bei 50 °C und dann für weitere 19 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt mit 5 %-iger wässriger EDTA-Lösung (3 \times 40 mL) und mit 5 %-iger wässrigen NaHSO_3 -Lösung (2 \times 10 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (*silica*, CHCl_3 :MeOH = 60:1 – 30:1) gereinigt, wobei **10** mit einer Ausbeute von 73 % (274 mg, 379 μmol) als orangener Feststoff erhalten wurde.

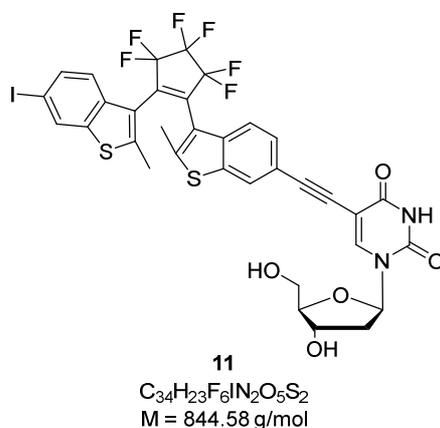
DC (*silica*, DCM:MeOH = 10:1): $R_f = 0.37$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, [*d*6]-DMSO): δ (ppm) = 10.91 (s, 1H), 8.54 (d, $J = 9.1 \text{ Hz}$, 1H), 8.42 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.38 (d, $J = 2.2 \text{ Hz}$, 1H), 8.35 (s, 1H), 8.32 – 8.30 (m, 2H), 8.26 (d, $J = 9.0 \text{ Hz}$, 1H), 8.16 (t, $J = 7.7 \text{ Hz}$, 1H), 6.60 (s, 2H), 6.55 – 6.42 (m, 1H), 4.64 – 4.50 (m, 1H), 3.90 – 3.79 (m, 1H), 3.67 (d, $J = 7.2 \text{ Hz}$, 2H), 3.54 – 3.38 (m, 1H), 2.34 – 2.24 (m, 1H), 0.84 (s, 9H), 0.68 (s, 9H), 0.06 (s, 3H), 0.05 (s, 3H), -0.18 (s, 3H), -0.21 (s, 3H).

¹³C-NMR (101 MHz, [d₆]-DMSO): δ (ppm) = 156.1, 154.0, 151.3, 131.8, 131.7, 130.7, 130.4, 129.6, 129.5, 129.3, 129.0, 127.2, 127.0, 126.4, 126.3, 125.0, 124.2, 123.6, 123.3, 117.8, 114.6, 91.9, 87.3, 85.3, 83.8, 79.2, 72.9, 63.2, 36.7, 25.6, 25.6, 17.8, 17.7, -4.8, -4.9, -5.6, -5.7.

FAB-MS m/z (%): 720.4 (2) [M⁺].

HR-MS (FAB): m/z berechnet für C₄₀H₅₀N₅O₄Si₂⁺ [M⁺] = 720.3396; gefunden = 720.3397.

5-((3-(3,3,4,4,5,5-Hexafluor-2-(6-iod-2-methylbenzo[b]thiophen-3-yl)cyclopent-1-en-1-yl)-2-methylbenzo[b]thiophen-6-yl)ethinyl)-2'-desoxyuridin (11)

In einem ausgeheizten Kolben wurden 100 mg **25** (1.00 Äq., 139 μ mol) und 2.91 mg Triphenylphosphan (0.08 Äq., 11.1 μ mol) unter Argon vorgelegt und in 10 mL absolutem DMF sowie 10 mL Triethylamin gelöst. Die Lösung wurde durch Einleiten von Argon unter Rühren für 5 min entgast. Es wurden 33.3 mg **24** (0.95 Äq., 132 μ mol), 2.65 mg Kupfer(I)iodid (0.10 Äq., 13.9 μ mol) sowie 2.49 mg Palladium(II)-acetat (0.08 Äq., 11.1 μ mol) zugegeben und die Reaktionslösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt zuerst über Umkehrphasen-Säulenchromatographie mit H₂O und MeCN (C18, Gradient 0 – 100 % MeCN in 60 min) und anschließend über Normalphasen-Säulenchromatographie (*silica*, DCM:MeOH = 1:0 – 10:1) gereinigt. Nach Lyophilisieren wurde das Produkt **11** mit einer Ausbeute von 31 % (36.4 mg, 43.1 μ mol) als cremefarbener Feststoff erhalten.

DC (*silica*, DCM:MeOH = 10:1): R_f = 0.64

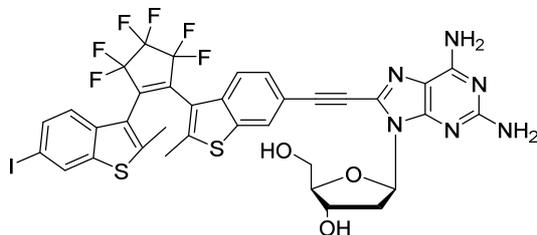
¹H-NMR (500 MHz, [*d*6]-DMSO): δ (ppm) = 11.72 (s, 1H), 8.59 – 8.28 (m, 2H), 8.13 – 6.81 (m, 6H), 6.21 – 6.06 (m, 1H), 5.34 – 5.24 (m, 1H), 5.23 – 5.11 (m, 1H), 4.27 (s, 1H), 3.82 (s, 1H), 3.70 – 3.52 (m, 2H), 2.52 (s, 1H), 2.43 – 2.25 (m, 4H), 2.23 – 2.12 (m, 2H).

¹³C-NMR (126 MHz, [*d*1]-CDCl₃): δ (ppm) = 161.9, 149.7, 144.8, 144.4, 143.6, 140.2, 138.2, 138.1, 137.5, 134.1, 133.8, 130.8, 128.2, 125.6, 123.5, 122.1, 121.9, 121.7, 119.2, 118.8, 116.4, 100.3, 93.7, 89.4, 89.2, 87.5, 87.0, 81.0, 71.5, 62.3, 40.7, 36.7, 32.1, 29.8, 29.5, 15.3, 15.2, 14.3.

FAB-MS m/z (%): 729.0 (10) [(C₂₉H₁₅O₂N₂F₆¹²⁷I₁³²S₂)⁺], 844.0 (3) [M⁺], 845.0 (4) [(M+H)⁺].

HR-MS (FAB): m/z berechnet für C₃₄H₂₄O₅N₂F₆¹²⁷I₁³²S₂⁺ [M⁺] = 845.0076; gefunden = 845.0074.

2-Amino-8-((3-(3,3,4,4,5,5-hexafluor-2-(6-iod-2-methylbenzo[b]thiophen-3-yl)cyclopent-1-en-1-yl)-2-methylbenzo[b]thiophen-6-yl)ethynyl)-2'-desoxyadenosin (12**)**



12

$C_{35}H_{25}F_6IN_6O_3S_2$
 $M = 882.64 \text{ g/mol}$

In einem ausgeheizten Kolben wurden 100 mg **25** (1.00 Äq., 139 μmol) und 2.91 mg Triphenylphosphan (0.08 Äq., 11.1 μmol) unter Argon vorgelegt und in 10 mL absolutem DMF sowie 10 mL Triethylamin gelöst. Die Lösung wurde durch Einleiten von Argon unter Rühren für 5 min entgast. Es wurden 45.6 mg **26** (0.95 Äq., 132 μmol), 2.65 mg Kupfer(I)iodid (0.10 Äq., 13.9 μmol) sowie 2.49 mg Palladium(II)-acetat (0.08 Äq., 11.1 μmol) zugegeben und die Reaktionslösung über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt zuerst über Umkehrphasen-Säulenchromatographie mit H_2O und MeCN (C18, Gradient 0 – 100 % MeCN in 50 min) und anschließend über Normalphasen-Säulenchromatographie (*silica*, DCM:MeOH = 1:0 – 10:1) gereinigt. Nach Lyophilisieren wurde das Produkt **12** mit einer Ausbeute von 44 % (54.2 mg, 61.4 μmol) als hellbrauner Feststoff erhalten.

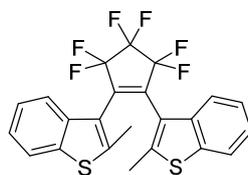
DC (*silica*, DCM:MeOH = 5:1): $R_f = 0.73$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, [*d1*]- CDCl_3): δ (ppm) = 8.08 – 7.76 (m, 2H), 7.69 – 7.32 (m, 3H), 7.19 – 7.01 (m, 1H), 6.65 – 6.55 (m, 1H), 5.51 (s, 2H), 4.88 – 4.76 (m, 3H), 4.24 (s, 1H), 4.00 (d, $J = 12.6 \text{ Hz}$, 1H), 3.79 (d, $J = 12.5 \text{ Hz}$, 1H), 3.13 – 3.01 (m, 1H), 2.48 (d, $J = 20.5 \text{ Hz}$, 2H), 2.30 (dd, $J = 13.5, 5.2 \text{ Hz}$, 1H), 2.21 (d, $J = 17.8 \text{ Hz}$, 4H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, [*d1*]- CDCl_3): δ (ppm) = 159.6, 156.1, 150.4, 145.8, 143.6, 140.3, 139.0, 138.3, 137.5, 133.8, 133.7, 131.8, 130.8, 130.7, 128.5, 128.4, 126.2, 126.0, 123.5, 123.2, 122.2, 122.0, 119.4, 119.0, 117.0, 115.6, 95.0, 89.7, 89.2, 87.3, 78.6, 74.0, 63.8, 40.2, 29.9, 15.6, 15.3, 14.3.

HR-MS (ESI) m/z: = 917.00 (70) [C₃₅H₂₅N₆O₃F₆I₂Cl⁺, (M+Cl)⁺], 1799.04 (100) [C₇₀H₅₀N₁₂O₆F₁₂I₂S₄Cl⁺, (2M+Cl)⁺].

Anmerkung: Die Peaks im ESI-Spektrum entsprechen einem Addukt aus 2 Molekülonen mit einem Chloridion, welches anschließend in ein einfaches Chlorid-Addukt zerfällt. Die Zusammensetzung der Addukte wurde über die Hochauflösung berechnet sowie mit dem Isotopenmuster bestätigt.

3,3'-(Perfluorocyclopent-1-en-1,2-diyl)bis(2-methyl-benzo[b]thiophen) (13)

13
 $C_{23}H_{14}F_6S_2$
 $M = 468.48 \text{ g/mol}$

Unter Argon wurde eine Lösung von 1.33 g **18** (1.00 Äq., 5.86 mmol) in 8 mL trockenem THF für 20 min bei -78°C gerührt, bevor 2.80 ml *n*-Butyllithium-Lösung (2.5 M in Hexan) (1.20 Äq., 7.00 mmol) zugegeben und die Mischung für weitere 60 min gerührt wurde. Anschließend wurden 1.32 mL Octafluorocyclopenten-Lösung (2.0 M in THF) (0.38 Äq., 2.20 mmol) zugegeben und die Reaktionsmischung über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 2 mL Wasser gestoppt und mit Ethylacetat ($4 \times 20 \text{ mL}$) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung ($2 \times 30 \text{ mL}$) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt **13** konnte nach säulechromatographischer (*silica*, Hexan) Reinigung mit einer Ausbeute von 73 % (1.00 g, 2.15 mmol, Isomeregemisch) als farbloser Feststoff erhalten werden.

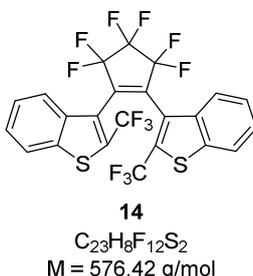
DC (*silica*, Hexan): $R_f = 0.19$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 7.92 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 2H), 7.88 – 7.79 (m, 2H), 7.62 (d, $J = 8.7 \text{ Hz}$, 4H), 7.46 (t, $J = 7.6 \text{ Hz}$, 2H), 7.41 – 7.35 (m, 2H), 7.26 (d, $J = 9.2 \text{ Hz}$, 4H), 2.27 (s, 6H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, [*d1*]- CDCl_3): δ (ppm) = 141.6, 141.1, 137.3, 137.2, 137.0, 133.2, 133.0, 131.6, 131.5, 128.1, 126.2, 126.1, 123.6, 123.4, 123.3, 123.0, 121.2, 121.1, 121.1, 120.8, 120.6, 118.4, 115.2, 110.5, 97.3, 14.1.

FAB-MS m/z (%): 468.1 (100) [M^+], 469.1 (53) [$(\text{M}+\text{H})^+$]

HR-MS (FAB) m/z berechnet für $\text{C}_{23}\text{H}_{14}\text{F}_6\text{S}_2^+$ [M^+] = 468.0438; gefunden = 468.0436.

3,3'-(Perfluorocyclopent-1-en-1,2-diyl)bis(2-(trifluormethyl)benzo[b]thiophen) (14)

Unter Argon wurden 250 mg **22** (1.00 Äq., 1.24 mmol) in 5 mL trockenem THF gelöst und 20 min bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Danach wurden 544 μL *n*-Butyllithium-Lösung (2.0 M in Hexan) (1.10 Äq., 1.36 mmol) über einen Zeitraum von 20 min zugetropft und die Reaktionsmischung für 1 h bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt. Es wurden 279 μL Octafluorocyclopenten (2.0 M in THF) (0.45 Äq., 0.560 mmol) zugegeben und die Reaktionslösung über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Die Reaktion wurde mit 4 mL gesättigter Ammoniumchloridlösung gestoppt und die Mischung mit Diethylether ($3 \times 30\text{ mL}$) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (*silica*, Hexan) gereinigt, wobei **14** mit einer Ausbeute von 75 % (267 mg, 0.463 mmol) als farbloser Feststoff isoliert werden konnte.

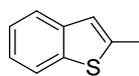
DC (*silica*, Hexan): $R_f = 0.21$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 8.24 (dd, $J = 6.4, 2.7\text{ Hz}$, 1H), 8.14 (d, $J = 7.9\text{ Hz}$, 2H), 8.06 (d, $J = 8.1\text{ Hz}$, 2H), 7.78 – 7.65 (m, 3H), 7.59 – 7.46 (m, 4H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, [*d1*]- CDCl_3): δ (ppm) = 141.2, 141.0, 140.8, 140.5, 138.7, 138.4, 137.6, 136.8, 132.1, 131.8, 131.5, 131.2, 127.7, 127.5, 125.8, 125.5, 124.4, 124.4, 122.8, 122.3, 121.7, 120.6, 120.5, 118.4, 117.7, 117.5, 115.6, 115.4, 115.2, 113.5, 113.3, 113.1, 111.3, 111.1, 110.9.

FAB-MS m/z (%): 576.1 (12) [M^+].

HR-MS (FAB) m/z berechnet für $\text{C}_{23}\text{H}_8\text{F}_{12}\text{S}_2^+$ [M^+] = 575.9870; gefunden = 575.9869.

2-Methyl-benzo[b]thiophen (17)

17
 C_9H_8S
 $M = 148.22 \text{ g/mol}$

Unter Argon wurden 7.00 g Benzo[b]thiophen (1.00 Äq., 51.1 mmol) in 100 mL trockenem THF gelöst und für 30 min bei -78°C gerührt. Anschließend wurden 26.6 mL *n*-Butyllithium-Lösung (2.5 M in Hexan) (1.30 Äq., 66.5 mmol) langsam zugegeben und die Mischung für weitere 30 min bei -78°C gerührt, bevor 4.90 mL Methyljodid (11.2 g, 1.54 Äq., 78.9 mmol) über einen Zeitraum von 15 min zugetropft wurden. Die Mischung wurde für 20 min bei -78°C und danach für 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion wurde mit 100 mL Wasser gestoppt und mit Ethylacetat ($4 \times 50 \text{ mL}$) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Reinigung mittels Säulenchromatographie (*silica*, Hexan) konnte **17** mit einer Ausbeute von 97 % (7.26 g, 49.0 mmol) als farbloser Feststoff isoliert werden.

DC (*silica*, Hexan): $R_f = 0.54$

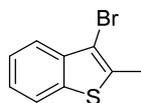
$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 7.87 – 7.83 (m, 1H), 7.74 – 7.64 (m, 1H), 7.35 – 7.21 (m, 2H), 7.12 (quin, $J = 1.2 \text{ Hz}$, 1H), 2.56 (d, $J = 1.2 \text{ Hz}$, 3H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, [*d1*]- CDCl_3): δ (ppm) = 140.6, 140.1, 138.9, 124.2, 123.5, 122.6, 122.1, 121.8, 15.7.

EI-MS m/z (%): 148.1 (8) [M^+].

HR-MS (EI) m/z berechnet für $C_9H_8S^+$ [M^+] = 148.0342; gefunden = 148.0341.

3-Bromo-2-methyl-benzo[b]thiophen (**18**)



18
 C_9H_7BrS
 $M = 227.12 \text{ g/mol}$

Eine Lösung von 2.10 mL Brom (6.55 g, 1.02 Äq., 41.5 mmol) in 60 mL trockenem Chloroform wurde bei Raumtemperatur über einen Zeitraum von 5 h zu einer Lösung von 6.00 g **17** (1.00 Äq., 40.8 mmol) in 300 mL trockenem Chloroform zugetropft. Die Mischung wurde für 15 min bei Raumtemperatur gerührt, die Reaktion anschließend durch Zugabe von 50 mL gesättigter Na_2SO_3 -Lösung gestoppt und anschließend mit DCM ($4 \times 100 \text{ mL}$) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter NaCl-Lösung ($2 \times 100 \text{ mL}$) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Reinigung mittels Säulenchromatographie (*silica*, Hexan), konnte **18** mit einer Ausbeute von 94 % (8.68 g, 38.2 mmol) als farbloser Feststoff erhalten werden.

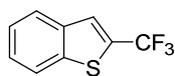
DC (*silica*, Hexan): $R_f = 0.25$

1H -NMR (400 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 8.00 – 7.94 (m, 1H), 7.68 – 7.63 (m, 1H), 7.51 – 7.38 (m, 2H), 2.54 (s, 3H).

^{13}C -NMR (101 MHz, [*d1*]- $CDCl_3$): δ (ppm) = 137.6, 136.6, 135.7, 125.4, 125.1, 122.8, 121.9, 105.8, 15.2.

EI-MS m/z (%): 226.0 (71) [M^+].

HR-MS (EI) m/z berechnet für $C_9H_7S^{79}Br^+$ [M^+] = 225.9448; gefunden = 225.9446.

2-(Trifluormethyl)benzo[b]thiophen (22)^[149]

22
C₉H₅F₃S
M = 202.19 g/mol

Zu einer Lösung aus 1.00 g Benzothiophen-2-boronsäure (1.00 Äq., 5.60 mmol), 560 mg CuCl (1.00 Äq., 5.60 mmol) und 2.63 g NaSO₂CF₃ (3.00 Äq., 16.9 mmol) in einer Mischung aus MeOH:DCM:H₂O = 11.24 mL : 11.24 mL : 9.00 mL wurden unter Rühren bei 0 °C langsam 3.82 mL tert-Butylhydroperoxid (70 %ig in H₂O) (5.00 Äq., 28.1 mmol) zugegeben und die Reaktion über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden 90 mL Diethylether zugegeben, die organische Phase abgetrennt und mit 70 mL gesättigter, wässriger NaHCO₃-Lösung sowie mit 25 mL gesättigter, wässriger Na₂SO₃-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Trockenmittel abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Aufreinigung mittels Säulenchromatographie (*silica*, Hexan) wurde das Produkt **22** mit einer Ausbeute von 77 % (769 mg, 4.33 mmol) als farbloser Feststoff erhalten werden.

Anmerkung: Das Produkt ist leicht flüchtig und konnte deswegen nicht im Hochvakuum getrocknet werden.

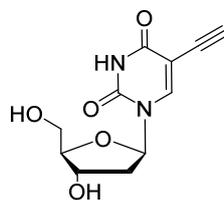
DC (*silica*, Hexan): $R_f = 0.64$

¹H-NMR (500 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 8.19 – 8.12 (m, 2H), 8.06 – 8.01 (m, 1H), 7.61 – 7.50 (m, 2H).

¹³C-NMR (101 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 139.4, 137.6, 129.0, 127.4, 127.2, 125.7, 123.8, 123.2, 121.3.

EI-MS m/z (%): 202.1 (100) [M^+].

HR-MS (EI) m/z berechnet für C₉H₅F₃S⁺ [M^+] = 202.0059; gefunden = 202.0057.

5-Ethynyl-2'-desoxyuridin (24)**24** $C_{11}H_{12}N_2O_5$
M = 252.23 g/mol

Unter Argon wurden 1.00 g 5-Iod-2'-desoxyuridin (1.00 Äq., 2.82 mmol) und 27.0 mg Kupfer(I)iodid (0.05 Äq., 0.141 mmol) in einem ausgeheizten Rundkolben vorgelegt, mit 5 mL Benzol versetzt, in flüssigem Stickstoff ausgefroren und anschließend über Nacht lyophilisiert. Danach wurden 163 mg Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) (0.05 Äq., 0.141 mmol) zugegeben, die Feststoffe in 30 mL Acetonitril sowie 30 mL Triethylamin gelöst und die Reaktionslösung durch Einleiten von Argon unter Rühren für 5 min entgast. Anschließend wurden 2.81 mL TMS-Acetylen (7.00 Äq., 19.8 mmol) langsam zugegeben und die Reaktionsmischung für 4 h bei 40 °C gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt in DCM:MeOH = 2:1 aufgenommen und über *Celite S* filtriert. Das Filtrat wurde eingeeengt und in einer Mischung aus 30 mL THF und 30 mL Methanol aufgenommen. Es wurden 1.64 g KF (10.0 Äq., 28.2 mmol) zugegeben und die Mischung für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Um überschüssige Fluoridionen abzufangen, wurde die Mischung mit Kieselgel aufgeschlämmt, abfiltriert und mit DCM:MeOH = 2:1 eluiert. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (*silica*, DCM:MeOH = 1:0 – 10:1) gereinigt, wobei **24** mit einer Ausbeute von 58 % (412 mg, 1.63 mmol) als farbloser Feststoff isoliert werden konnte.

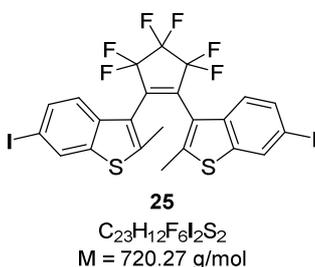
DC (*silica*, DCM:MeOH = 10:1): $R_f = 0.35$

¹H-NMR (500 MHz, [*d*6]-DMSO): 11.62 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 6.10 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 5.25 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 5.14 (t, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.23 (quin, $J = 4.3$ Hz, 1H), 4.10 (s, 1H), 3.85 – 3.74 (m, 1H), 3.66 – 3.48 (m, 2H), 2.16 – 2.06 (m, 2H).

¹³C-NMR (126 MHz, [*d*1]-CDCl₃): δ (ppm) = 161.7, 149.5, 144.6, 97.6, 87.6, 84.8, 83.7, 76.5, 70.0, 60.9, 40.3.

FAB-MS m/z (%): 251.1 (9) [(M-H)⁺], 253.1 (5) [(M+H)⁺], 275.1 (11) [(M+Na)⁺]

HR-MS (FAB) m/z berechnet für C₁₁H₁₁N₂O₅⁺ [(M-H)⁺] = 251.0668 ; gefunden = 251.0666; m/z berechnet für C₁₁H₁₃N₂O₅⁺ [(M+H)⁺] = 253.0824; gefunden = 253.0824 und m/z berechnet für C₁₁H₁₂N₂O₅²³Na⁺ [(M+Na)⁺] = 275.06474; gefunden = 275.0645.

3,3'-(Perfluorocyclopent-1-en-1,2-diyl)bis(6-iod-2-methylbenzo[b]thiophene) (25)

In einer Mischung aus 90 mL Essigsäure und 27 mL Essigsäureanhydrid wurden 900 mg **13** (1.00 Äq., 1.92 mmol) mit 900 μ L Schwefelsäure (479 mg, 2.52 Äq., 4.88 mmol) versetzt und für 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 1.08 mg Periodsäure (2.46 Äq., 4.72 mmol) sowie 863 mg Iod (1.77 Äq., 3.40 mmol) zugegeben und die Reaktionsmischung für 14 h bei 65 °C gerührt. Nach Erkalten wurde die Lösung auf 100 mL Eis gegossen und es wurden 15 g Natriumsulfit zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 20 min bei Raumtemperatur gerührt und mit Ethylacetat (4 \times 80 mL) extrahiert. Die vereinten organischen Phasen wurden mit gesättigter Na_2SO_3 -Lösung (2 \times 150 mL), $NaHCO_3$ -Lösung (8 \times 150 mL) und NaCl-Lösung (2 \times 150 mL) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Nach Reinigung mittels Säulenchromatographie (*silica*, Hexan), konnte **25** als Isomerengemisch mit einer Ausbeute von 36 % (501 mg, 0.694 mmol) als farbloser Schaum isoliert werden.

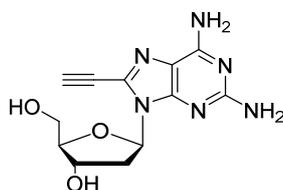
DC (*silica*, Hexan): $R_f = 0.30$

1H -NMR (400 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 8.38 (d, $J = 1.6$ Hz, 2H), 8.31 (d, $J = 1.6$ Hz, 2H), 7.75 (dd, $J = 8.5, 1.6$ Hz, 2H), 7.56 (dd, $J = 8.5, 1.7$ Hz, 2H), 7.43 – 7.37 (m, 4H), 2.24 (s, 6H).

^{13}C -NMR (101 MHz, [*d1*]- $CDCl_3$): δ (ppm) = 144.1, 139.6, 136.8, 136.7, 133.7, 133.4, 131.0, 130.8, 123.1, 117.6, 117.5, 90.1, 14.8.

FAB-MS m/z (%): 539.9 (35) [$(C_{23}H_{12}F_6IS_2)^+$], 719.9 (73) [M^+].

HR-MS (FAB) m/z berechnet für $C_{23}H_{12}F_6^{127}I_2S_2^+$ [M^+] = 719.8369; gefunden = 719.8367.

2-Amino-8-ethinyl-2'-desoxyadenosin (26)**26**

$$\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_3$$

$$M = 290.28 \text{ g/mol}$$

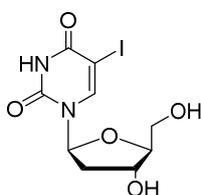
Unter Argon wurden 1.00 g **8** (1.00 Äq., 2.89 mmol) und 28.0 mg Kupfer(I)iodid (0.05 Äq., 0.145 mmol) in einem ausgeheizten Rundkolben vorgelegt, mit 5 mL Benzol versetzt, in flüssigem Stickstoff ausgefroren und anschließend über Nacht lyophilisiert. Danach wurden die Feststoffe in 30 mL absolutem DMF sowie 30 mL Triethylamin gelöst, 51.9 mg Palladium(II)-acetat (0.08 Äq., 0.231 mmol) sowie 60.6 mg Triphenylphosphan (0.08 Äq., 0.231 mmol) zugegeben und die Mischung für 10 min bei 40 °C gerührt. Anschließend wurden 2.87 mL TMS-Acetylen (7.00 Äq., 20.2 mmol) langsam zugetropft und die Reaktionsmischung für weitere 4 h bei 40 °C gerührt. Nach beendeter Reaktion wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt in DCM:MeOH = 2:1 aufgenommen und über *Celite S* filtriert. Das Filtrat wurde eingengt und in 20 mL THF und 20 mL Methanol aufgenommen. Es wurden 1.68 g KF (10.0 Äq., 28.9 mmol) zugegeben und die Mischung für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Mischung wurde mit Kieselgel aufgeschlämmt, um überschüssige Fluoridionen abzufangen, das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand als *dry load* verwendet. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (*silica*, DCM:MeOH = 1:0 – 10:1) gereinigt, wobei **26** mit einer Ausbeute von 19% (189 mg, 0.549 mmol) als beiger Feststoff erhalten wurde.

DC (*silica*, DCM:MeOH = 5:1): $R_f = 0.54$

¹H-NMR (400 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 7.08 (s, 2H), 6.29 (dd, $J = 8.6, 6.2$ Hz, 1H), 5.89 (s, 2H), 5.53 (dd, $J = 7.9, 4.2$ Hz, 1H), 5.29 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 4.83 (s, 1H), 4.48 – 4.33 (m, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.70 – 3.58 (m, 1H), 3.58 – 3.45 (m, 1H), 3.15 – 3.03 (m, 1H), 2.13 – 2.02 (m, 1H).

MALDI-MS m/z: 290.1 [M^+].

5-Iod- β -L-2'-desoxyuridin (**29**)



29

$C_9H_{11}IN_2O_5$
 $M = 354.10 \text{ g/mol}$

Die Synthese wurde analog zu einer von Robins *et al.* publizierten Iodierung von *R*-2'-Desoxyuridin durchgeführt.^[155] Dafür wurde 402 mg β -L-2'-Desoxyuridin (1.00 Äq., 1.77 mmol) und 321 mg Lithiumiodid (1.20 Äq., 2.11 mmol) vorgelegt und in 1 mL Eisessig gelöst. Anschließend wurden 890 mg Cer(IV)-ammoniumnitrat (2.00 Äq., 3.51 mmol) zugegeben und für 30 min bei 80 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt mit Ethanol/Toluol = 1:2 (3 \times 2.5 mL) gewaschen und mit Wasser:Ethanol = 1:2 (3 \times 6 mL) coevaporiert. Anschließend wurde das Produkt zweimal aus 6 mL Wasser:MeOH = 1:1 umkristallisiert. Dabei konnte **29** mit einer Ausbeute von 37 % (229 mg, 0.649 mmol) als farbloser Feststoff erhalten werden.

DC (*silica*, DCM:MeOH = 10:1): $R_f = 0.27$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 11.66 (s, 1H), 8.39 (s, 1H), 6.09 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 5.24 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 5.15 (t, $J = 4.8$ Hz, 1H), 4.23 (quin, $J = 4.2$ Hz, 1H), 3.79 (q, $J = 3.2$ Hz, 1H), 3.63 – 3.56 (m, 2H), 2.18 – 2.05 (m, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, [*d6*]-DMSO): δ (ppm) = 160.5, 150.1, 145.1, 87.5, 84.6, 70.0, 69.3, 60.8, 40.2.

FAB-MS m/z (%): 355.1 (2) [(M+H)⁺].

HR-MS (FAB): m/z berechnet für $C_9H_{12}O_5N_2^{127}I^+$ [(M+H)⁺] = 354.9784; gefunden = 354.9786.

8.8 Zusätzliche Spektren und Daten

8.8.1. Anlagerungsexperimente von Py-DAP

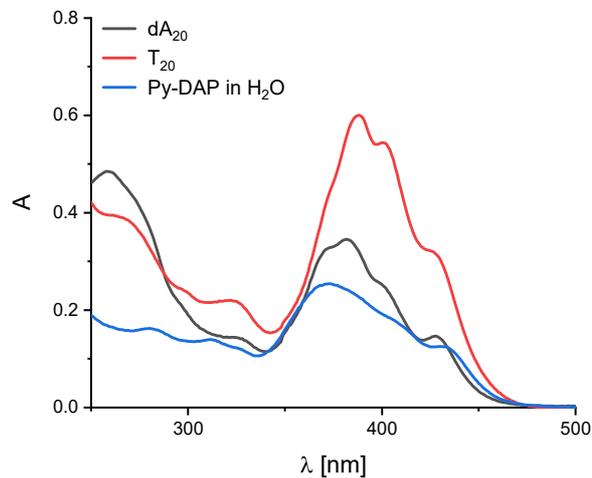


Abbildung 85: Absorptionsspektren der Anlagerungsversuche von **Py-DAP** mit DMF als Lösungsmittel ($c(\text{Templat}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Py-DAP}) = 25 \mu\text{M}$). Das Spektrum in Gegenwart des nicht-komplementären dA_{20} -Templats zeigt eine Überlagerung aus den Spektren der positiven und negativen Anlagerung und lässt so auf fehlangelagerte Nukleoside schließen.

Programmierbare Anlagerung von Py-DAP und Nr-dU

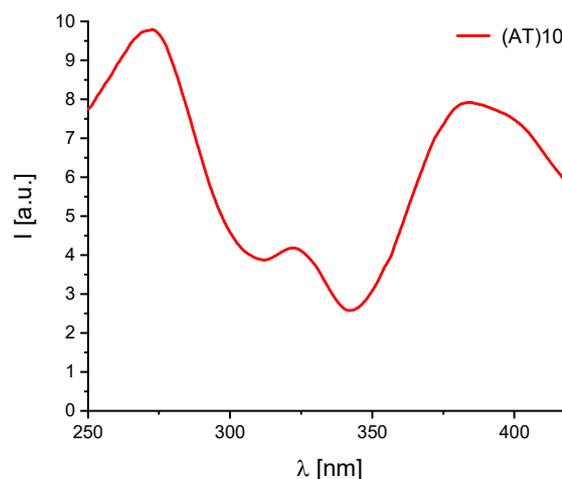


Abbildung 86: Anregungsspektrum ($\lambda_{em.} = 440 \text{ nm}$) der v fluoreszenten Aggregates mit $d(AT)_{10}$ in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nukleoside}) = 25 \mu\text{M}$).

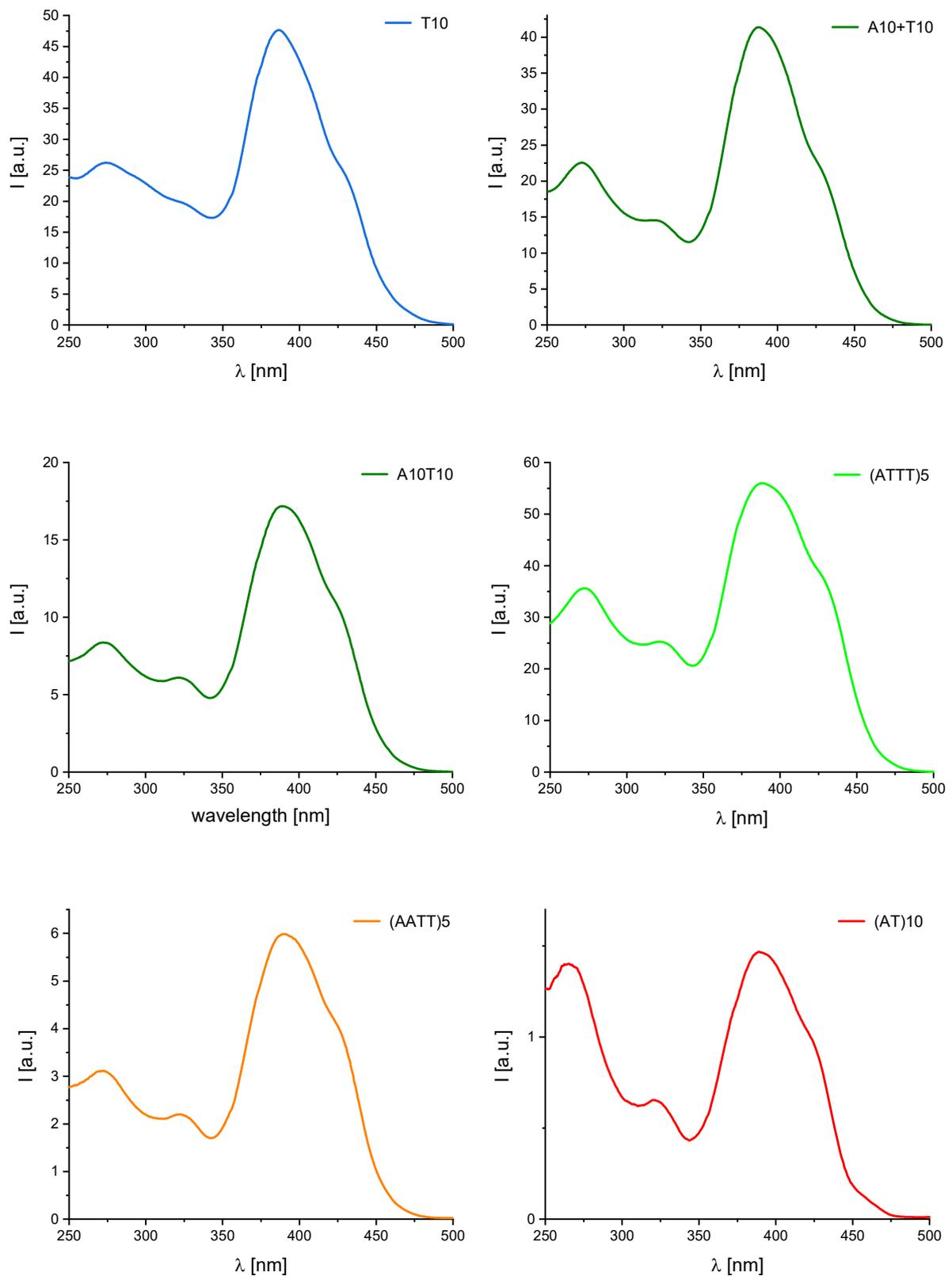


Abbildung 87: Anregungsspektren ($\lambda_{em.} = 545$ nm) der verschiedenen fluoreszenten Aggregate in Wasser + 2 % DMSO ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$ und $c(\text{Nukleoside}) = 25 \mu\text{M}$).

8.8.2. Bestimmung der Zusammensetzung der photostationären Zustände

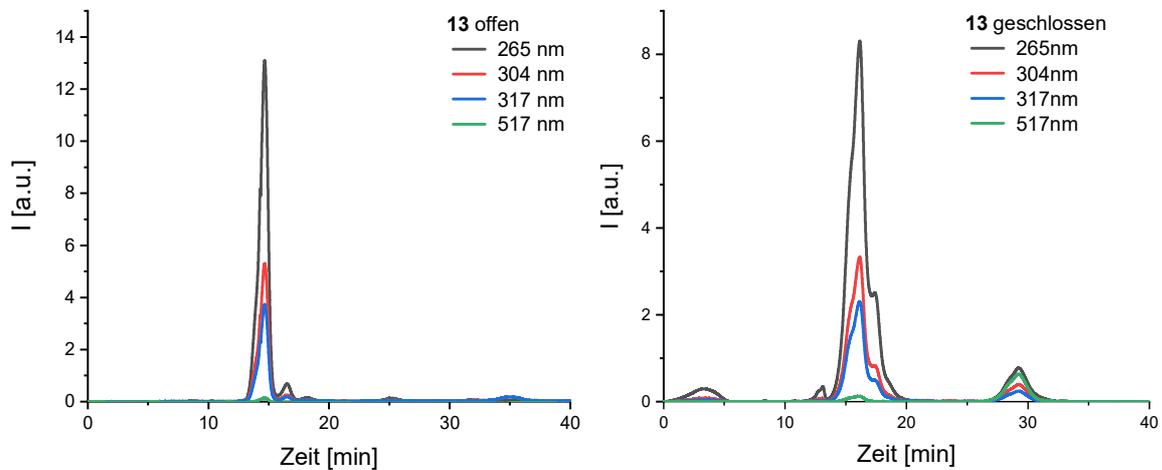


Abbildung 88: HPLC-Trennungen des offenen (links) und (geschlossenen) photostationären Zustands von **13**.

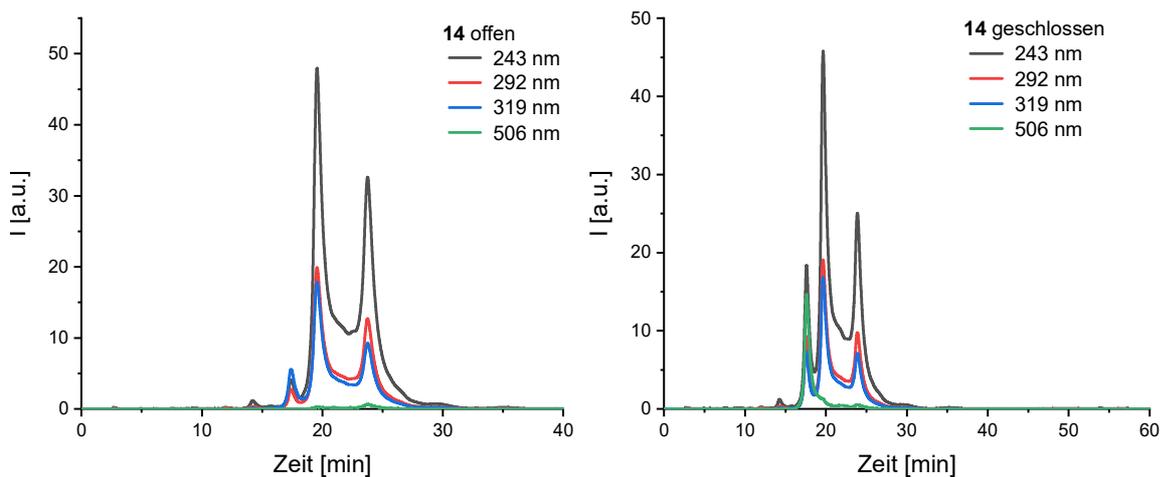


Abbildung 89: HPLC-Trennungen des offenen (links) und (geschlossenen) photostationären Zustands von **14**.

Die Aufspaltung des Peaks der offenen Form von **14** wird durch Stapelung des Schalters während der HPLC-Trennung hervorgerufen. Wurde die Trennung mit einer beheizten Säule durchgeführt, verschwand die Aufspaltung, aber die Trennung von offenem und geschlossenem Isomer konnte nicht mehr erreicht werden. Um auszuschließen, dass es sich um eine weitere Spezies handelt, wurden die Dioden-Array-Spektren der beiden Peaks verglichen. Beide Peaks zeigten dabei das gleiche Spektrum des offenen Isomers. Zusätzlich wurden die Läufe mit einem Einkristall der Verbindung durchgeführt, der zuvor mittels Röntgenstrukturanalyse eindeutig der offenen Form zugeordnet werden konnte.^[161]

8.8.3. CD- und FDCD-Spektren

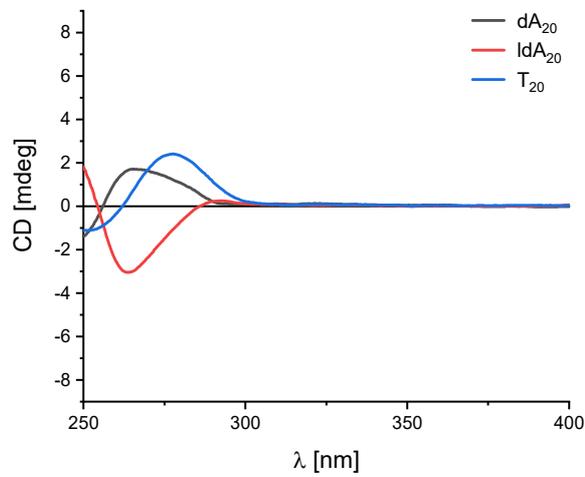


Abbildung 90: Exemplarische CD-Spektren der DNA-Templat-Stränge ($c(\text{DNA}) = 1.25 \mu\text{M}$) in Wasser).

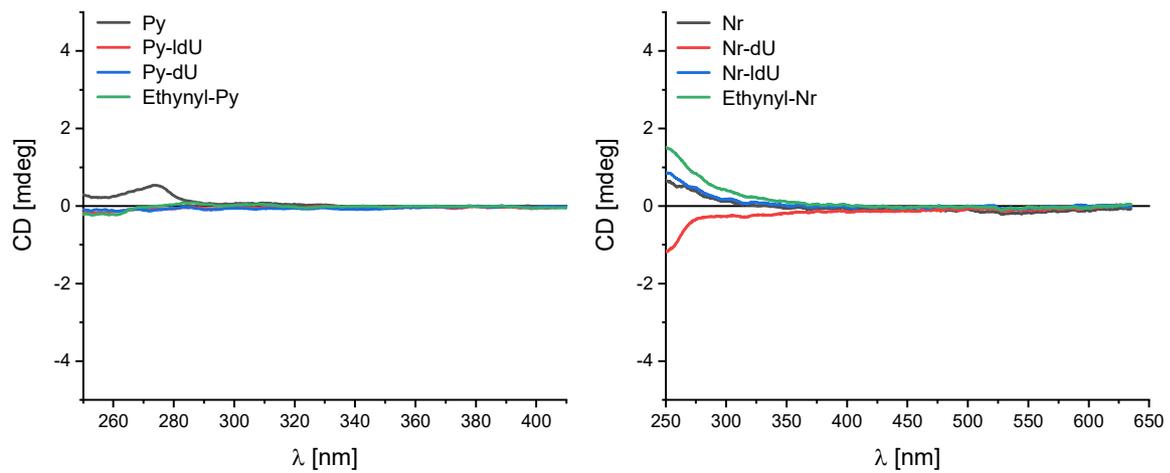


Abbildung 91: CD-Spektren der reinen Nucleoside **Py-IdU** (links) und **Nr-IdU** (rechts) sowie ihrer jeweiligen Vorstufen in DMSO (jeweils $c = 25 \mu\text{M}$).

8.8.4. Chromophor-DNA-Aggregate als aktive Schicht in OLEDs

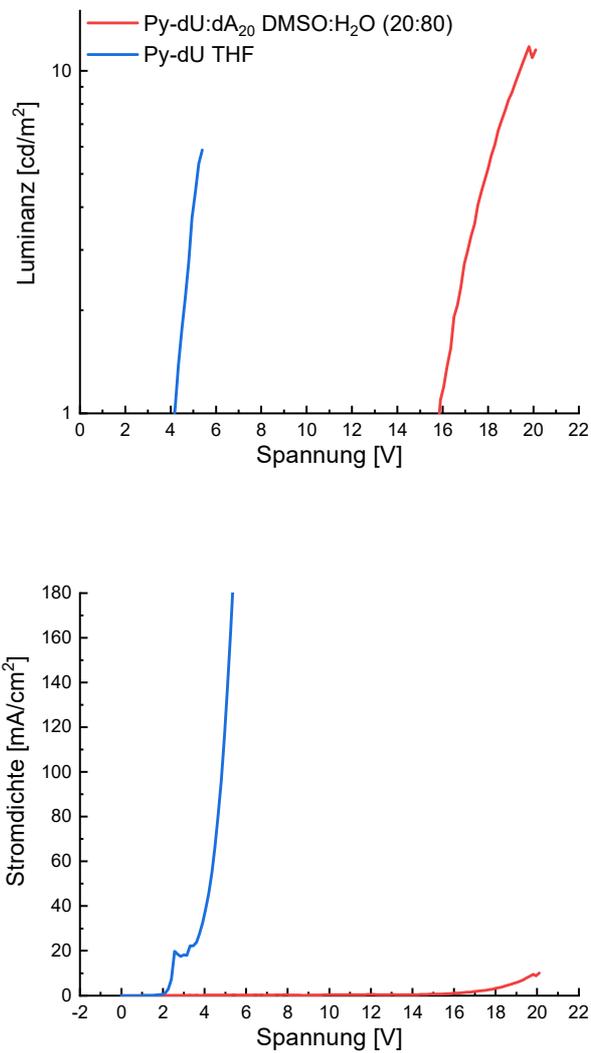


Abbildung 92: Luminanz (oben) und Stromdichte (unten) der OLEDs mit reinem **Py-dU** und mit einem **Py-dU-dA₂₀**-Aggregat als emittierende Schicht in Abhängigkeit der Betriebsspannung.

9 Literaturverzeichnis

- [1] C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 7017-7036.
- [2] J.-M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 89-112.
- [3] P. G. A. Janssen, J. Vandenberg, J. L. J. v. Dongen, E. W. Meijer, A. P. H. J. Schenning, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6078-6079.
- [4] P. Ensslen, S. Gärtner, K. Glaser, A. Colsmann, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1904-1908.
- [5] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 9040-9046.
- [6] S. Sezi, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9257-9259.
- [7] P. Ensslen, Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 487-492.
- [8] M. Kasha, H. R. Rawls, M. Ashraf El-Bayoumi, *Pure Appl. Chem.* **1965**, *11*, 371.
- [9] 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.
- [10] S. L. Beaucage, M. H. Caruthers, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1859-1862.
- [11] M. Caruthers, *Science* **1985**, *230*, 281-285.
- [12] C. B. Reese, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3851-3868.
- [13] W. Schmucker, H.-A. Wagenknecht, *Synlett* **2012**, *23*, 2435-2448.
- [14] H. Asanuma, T. Toda, K. Murayama, X. Liang, H. Kashida, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14702-14703.
- [15] N. Amann, H.-A. Wagenknecht, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 1685-1690.
- [16] O. D. Schärer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2946-2974.
- [17] H. Kashida, K. Murayama, T. Toda, H. Asanuma, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *123*, 1321-1324.
- [18] E. Meggers, L. Zhang, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1092-1102.
- [19] U. B. Christensen, E. B. Pedersen, *Nucleic Acids Res.* **2002**, *30*, 4918-4925.

- [20] N. Amann, R. Huber, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1845-1847.
- [21] O. Köhler, D. V. Jarikote, O. Seitz, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 69-77.
- [22] E. Socher, A. Knoll, O. Seitz, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 7363-7371.
- [23] H. Asanuma, K. Shirasuka, T. Takarada, H. Kashida, M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2217-2223.
- [24] H. Kashida, M. Tanaka, S. Baba, T. Sakamoto, G. Kawai, H. Asanuma, M. Komiyama, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 777-784.
- [25] H. Asanuma, K. Shirasuka, M. Komiyama, *Chem. Lett.* **2002**, 490-491.
- [26] D. Baumstark, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6640-6645.
- [27] C. Wagner, H.-A. Wagenknecht, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4191-4194.
- [28] D. Baumstark, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2612-2614.
- [29] F. Menacher, V. Stepanenko, F. Würthner, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 6683-6688.
- [30] H. Kashida, T. Takatsu, K. Sekiguchi, H. Asanuma, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 2479-2486.
- [31] T. Kato, H. Kashida, H. Kishida, H. Yada, H. Okamoto, H. Asanuma, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 741-750.
- [32] J. Zheng, in *Biomedical Applications of Biophysics* (Ed.: T. Jue), Humana Press, Totowa, NJ, **2010**, 119-136.
- [33] L. M. Wilhelmsson, in *Fluorescent Analogues of Biomolecular Building Blocks: Design and Applications*, John Wiley & Sons, Inc., **2016**, 224-241.
- [34] M. S. Wranne, A. F. Füchtbauer, B. Dumat, M. Bood, A. H. El-Sagheer, T. Brown, H. Gradén, M. Grøtli, L. M. Wilhelmsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 9271-9280.
- [35] S. M. Langenegger, R. Häner, *Chem. Commun.* **2004**, 2792-2793.
- [36] S. M. Langenegger, R. Häner, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 9273-9276.
- [37] S. M. Langenegger, R. Häner, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 848-851.
- [38] V. L. Malinovskii, F. Samain, R. Häner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4464-4467.

- [39] F. Garo, R. Häner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 916-919.
- [40] M. Probst, S. M. Langenegger, R. Häner, *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 159-161.
- [41] J. Gao, C. Strässler, D. Tahmassebi, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11590-11591.
- [42] R. X.-F. Ren, N. C. Chaudhuri, P. L. Paris, S. R. IV, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7671-7678.
- [43] J. Gao, S. Watanabe, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12748-12749.
- [44] Y. N. Teo, J. N. Wilson, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3923-3933.
- [45] A. Cuppoletti, Y. Cho, J.-S. Park, C. Strässler, E. T. Kool, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 528-534.
- [46] N. Dai, Y. N. Teo, E. T. Kool, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 1221-1223.
- [47] Y. N. Teo, E. T. Kool, *Bioconj. Chem.* **2009**, *20*, 2371-2380.
- [48] C. Brotschi, C. J. Leumann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1655-1658.
- [49] A. Zahn, C. J. Leumann, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 1087-1094.
- [50] C. Beuck, I. Singh, A. Bhattacharya, W. Hecker, V. S. Parmar, O. Seitz, E. Weinhold, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 3958-3960.
- [51] S. Hainke, O. Seitz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8250-8253.
- [52] M. Nakamura, Y. Shimomura, Y. Ohtoshi, K. Sasa, H. Hayashi, H. Nakano, K. Yamana, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5*, 1945-1951.
- [53] M. Nakamura, Y. Ohtoshi, K. Yamana, *Chem. Commun.* **2005**, 5163-5165.
- [54] M. Nakamura, Y. Murakami, K. Sasa, H. Hayashi, K. Yamana, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 6904-6905.
- [55] N. N. Dioubankova, A. D. Malakhov, D. A. Stetsenko, M. J. Gait, P. E. Volynsky, R. G. Efremov, V. A. Korshun, *ChemBioChem* **2003**, *4*, 841-847.
- [56] C. Wanninger-Weiß, L. Valis, J. Barbaric, H.-A. Wagenknecht, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 100-106.

- [57] F. Seela, H. Xiong, P. Leonard, S. Budow, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1374-1387.
- [58] F. Seela, M. Zulauf, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1878-1898.
- [59] I. Bouamaied, T. Nguyen, T. Rühl, E. Stulz, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3888-3891.
- [60] L. A. Fendt, I. Bouamaied, S. Thöni, N. Amiot, E. Stulz, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15319-15329.
- [61] T. Nguyen, A. Brewer, E. Stulz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1974-1977.
- [62] E. Mayer-Enthart, C. Wagner, J. Barbaric, H.-A. Wagenknecht, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3434-3439.
- [63] E. Mayer-Enthart, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3372-3375.
- [64] P. Ensslen, F. Brandl, S. Sezi, R. Varghese, R.-J. Kutta, B. Dick, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 9349-9354.
- [65] R. Varghese, P. K. Gajula, T. K. Chakraborty, H.-A. Wagenknecht, *Synlett* **2009**, 3253-3257.
- [66] J. Barbaric, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2088-2090.
- [67] R. Varghese, H. A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9307-9310.
- [68] E. M. LeProust, B. J. Peck, K. Spirin, H. B. McCuen, B. Moore, E. Namsaraev, M. H. Caruthers, *Nucleic Acids Res.* **2010**, *38*, 2522-2540.
- [69] S. H. Weisbrod, A. Marx, *Chem. Commun.* **2008**, 5675-5685.
- [70] J. Qiu, A. H. El-Sagheer, T. Brown, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 6959-6961.
- [71] N. C. Seeman, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 3220-3238.
- [72] P. W. K. Rothmund, *Nature* **2006**, *440*, 297.
- [73] J. G. Woller, J. K. Hannestad, B. Albinsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 2759-2768.
- [74] C. V. Kumar, M. R. Duff, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16024-16026.
- [75] P. K. Dutta, R. Varghese, J. Nangreave, S. Lin, H. Yan, Y. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 11985-11993.

- [76] N. Sancho Oltra, W. R. Browne, G. Roelfes, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 2457-2461.
- [77] 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.
- [78] 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.
- [79] P. G. A. Janssen, A. Ruiz-Carretero, D. González-Rodríguez, E. W. Meijer, A. P. H. J. Schenning, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8103-8106.
- [80] G. Sargsyan, A. A. Schatz, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1020-1022.
- [81] G. Sargsyan, B. M. Leonard, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 1878-1892.
- [82] M. V. Ishutkina, A. R. Berry, R. Hussain, O. G. Khelevina, G. Siligardi, E. Stulz, *Eur. J. Org. Chem.*, doi:10.1002/ejoc.201800683.
- [83] I. Gállego, M. A. Grover, N. V. Hud, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 6765-6769.
- [84] U. S. C. Brabec, V. Dyakonov, *Organic Photovoltaics: Materials, Device Physics, and Manufacturing Technologies*, Wiley, **2011**.
- [85] M. Irie, T. Fukaminato, K. Matsuda, S. Kobatake, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 12174-12277.
- [86] H. Bouas-Laurent, H. Dürr, *Pure Appl. Chem.* **2001**, *73*, 639.
- [87] H. Dürr, *Photochromism: Molecules and Systems*, Elsevier Science, **2003**.
- [88] G. H. Brown, *Techniques of Chemistry, Vol. III, Photochromism*, John Wiley & Sons, New York, **1971**.
- [89] S. Helmy, F. A. Leibfarth, S. Oh, J. E. Poelma, C. J. Hawker, J. Read de Alaniz, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 8169-8172.
- [90] T. Yamaguchi, Y. Kobayashi, J. Abe, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 906-913.
- [91] M. Irie, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1683-1684.
- [92] W. Szymański, J. M. Beierle, H. A. V. Kistemaker, W. A. Velema, B. L. Feringa, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 6114-6178.

- [93] H. M. D. Bandara, S. C. Burdette, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1809-1825.
- [94] S. Wiedbrauk, H. Dube, *Tetrahedron Lett.* **2015**, *56*, 4266-4274.
- [95] G. Berkovic, V. Krongauz, V. Weiss, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1741-1754.
- [96] Y. Yokoyama, Y. Kurita, *Molecular Crystals and Liquid Crystals Science and Technology. Section A. Molecular Crystals and Liquid Crystals* **1994**, *246*, 87-94.
- [97] P. Nguyen, J. Li, T. S. Sreeprasad, K. Jasuja, N. Mohanty, M. Ikenberry, K. Hohn, V. B. Shenoy, V. Berry, *Small* **2013**, *9*, 3823-3828.
- [98] N. Norio, S. Toshinobu, Y. Hideyuki, I. Etsuko, Y. Shunzo, H. Shigeo, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1976**, *49*, 1381-1387.
- [99] P. Bortolus, S. Monti, *J. Phys. Chem.* **1979**, *83*, 648-652.
- [100] T. Ikeda, O. Tsutsumi, *Science* **1995**, *268*, 1873-1875.
- [101] G. Mayer, A. Heckel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4900-4921.
- [102] W. Szymanski, M. E. Ourailidou, W. A. Velema, F. J. Dekker, B. L. Feringa, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 16517-16524.
- [103] S. Kitzig, M. Thilemann, T. Cordes, K. Rück-Braun, *ChemPhysChem* **2016**, *17*, 1252-1263.
- [104] P. Mondal, M. Biswas, T. Goldau, A. Heckel, I. Burghardt, *J. Phys. Chem. B.* **2015**, *119*, 11275-11286.
- [105] T. Goldau, K. Murayama, C. Brieke, H. Asanuma, A. Heckel, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 17870-17876.
- [106] J. J. Vollmer, K. L. Servis, *J. Chem. Educ.* **1968**, *45*, 214.
- [107] N. A. Murugan, S. Chakrabarti, H. Ågren, *J. Phys. Chem. B.* **2011**, *115*, 4025-4032.
- [108] C. Beyer, H.-A. Wagenknecht, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2752-2755.
- [109] M. Irie, M. Mohri, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 803-808.
- [110] R. M. Kellogg, M. B. Groen, H. Wynberg, *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 3093-3100.
- [111] S. Nakamura, M. Irie, *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 6136-6138.

- [112] T. Yamaguchi, M. Irie, *J. Mater. Chem.* **2006**, *16*, 4690-4694.
- [113] Y. Kyoko, I. Masahiro, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2003**, *76*, 1625-1628.
- [114] S. Pu, H. Li, G. Liu, W. Liu, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 3575-3579.
- [115] C. Zheng, S. Pu, J. Xu, M. Luo, D. Huang, L. Shen, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 5437-5449.
- [116] Z. Sun, H. Li, G. Liu, C. Fan, S. Pu, *Dyes Pigment.* **2014**, *106*, 94-104.
- [117] Z. Sun, H. Li, S. Pu, G. Liu, B. Chen, *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 2471-2475.
- [118] U. Kingo, M. Toyokazu, S. Koichi, I. Masahiro, H. Shigehiko, I. Masahiro, *Chem. Lett.* **1999**, *28*, 835-836.
- [119] Y. Nakayama, K. Hayashi, M. Irie, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 2592-2596.
- [120] S. L. Gilat, S. H. Kawai, J.-M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **1995**, *1*, 275-284.
- [121] S. L. Gilat, S. H. Kawai, J.-M. Lehn, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1439-1442.
- [122] K. Uchida, T. Ishikawa, M. Takeshita, M. Irie, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 6627-6638.
- [123] M. Irie, T. Lifka, K. Uchida, S. Kobatake, Y. Shindo, *Chem. Commun.* **1999**, 747-750.
- [124] Q. Zhang, J. Li, L. Niu, Z. Chen, L. Yang, S. Zhang, L. Cao, F. Zhang, *Chin. Sci. Bull.* **2013**, *58*, 74-78.
- [125] S. Kawata, Y. Kawata, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1777-1788.
- [126] C. C. Corredor, Z.-L. Huang, K. D. Belfield, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 2910-2914.
- [127] M. Herder, B. M. Schmidt, L. Grubert, M. Pätzelt, J. Schwarz, S. Hecht, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 2738-2747.
- [128] V. L. C. C. Warford, N. R. Branda, *Molecular Switches*, Wiley-VCH Verlag & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2011**.
- [129] K. Fujimoto, T. Maruyama, Y. Okada, T. Itou, M. Inouye, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 6170-6175.
- [130] K. Fujimoto, M. Kajino, I. Sakaguchi, M. Inouye, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 9834-9840.

- [131] A. Mammana, G. T. Carroll, J. Areephong, B. L. Feringa, *J. Phys. Chem. B* **2011**, *115*, 11581-11587.
- [132] H. Cahová, A. Jäschke, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *125*, 3268-3272.
- [133] B. Reisinger, N. Kuzmanovic, P. Löffler, R. Merkl, B. König, R. Sterner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 595-598.
- [134] Q.-J. Hu, Y.-C. Lu, C.-X. Yang, X.-P. Yan, *Chem. Commun.* **2016**, *52*, 5470-5473.
- [135] A. Okamoto, Y. Ochi, I. Saito, *Chem. Commun.* **2005**, 1128-1130.
- [136] H. Junyan, J. Jiney, M. Erwen, B. Kevin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1684-1687.
- [137] 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.
- [138] P. Ensslen, *DNA als Templat für die heteroleptische Komplexbildung und Anlagerung von Ethinylnilrot- und Ethinylpyren-Nukleosiden* Dissertation, Karlsruher Institut für Technologie **2015**.
- [139] S. Sezi, *Assemblierung von Ethinylnilrot und Ethinylpyren mithilfe von DNA und Pyrrolidiny-PNA* Dissertation, Karlsruher Institut für Technologie **2013**.
- [140] N. Dave, J. Liu, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 15694-15699.
- [141] A. Trifonov, M. Raytchev, I. Buchvarov, M. Rist, J. Barbaric, H. A. Wagenknecht, T. Fiebig, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 19490-19495.
- [142] N. Berova, L. D. Bari, G. Pescitelli, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 914-931.
- [143] D. H. Turner, I. Tinoco, M. Maestre, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 4340-4342.
- [144] K. Tanaka, G. Pescitelli, K. Nakanishi, N. Berova, *Monatsh. Chem.* **2005**, *136*, 367-395.
- [145] B. Ranjbar, P. Gill, *Chem. Biol. Drug. Des.* **2009**, *74*, 101-120.
- [146] M. Münzel, C. Szeibert, A. F. Glas, D. Globisch, T. Carell, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 5186-5189.
- [147] A. G. Firth, K. Wilson, C. G. Baumann, I. J. S. Fairlamb, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **2011**, *30*, 168-184.

- [148] L. Valis, E. Mayer-Enthart, H.-A. Wagenknecht, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3184-3187.
- [149] Y. Ye, S. A. Künzi, M. S. Sanford, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 4979-4981.
- [150] R. Hofsäß, *Synthesen eines fluorierten Diarylethens und Studien zum Einbau in DNA*, Masterarbeit, Karlsruher Institut für Technologie **2015**.
- [151] M. Herder, *Improving the design of diarylethene photoswitches and their exploitation as remote-controlled building blocks*, Humboldt-Universität zu Berlin, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät **2015**.
- [152] Y. N. Teo, E. T. Kool, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4221-4245.
- [153] I. V. Astakhova, A. D. Malakhov, I. A. Stepanova, A. V. Ustinov, S. L. Bondarev, A. S. Paramonov, V. A. Korshun, *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 1972-1980.
- [154] A. D. Malakhov, E. V. Malakhova, S. V. Kuznitsova, I. V. Grechishnikova, I. A. Prokhorenko, M. V. Skorobogaty, V. A. Korshun, Y. A. Berlin, *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2000**, *26*, 34-44.
- [155] J. Asakura, M. J. Robins, *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 4928-4933.
- [156] Y. Ner, J. G. Grote, J. A. Stuart, G. A. Sotzing, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *121*, 5236-5240.
- [157] S. Barrois, H.-A. Wagenknecht, *Beilstein J. Org. Chem.* **2012**, *8*, 905-914.
- [158] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.
- [159] R. E. Synovec, E. S. Yeung, *J. Chromatogr. A* **1986**, *368*, 85-93.
- [160] U. Megerle, R. Lechner, B. König, E. Riedle, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2010**, *9*, 1400-1406.
- [161] R. Hofsäß, D. Rombach, H.-A. Wagenknecht, *Synlett* **2017**, *28*, 1422-1426.
- [162] R.-C. Jesús, B. B. P., B. P. A., B. J. W.M., *NMR Biomed.* **2011**, *24*, 114-129.
- [163] I. Tirota, V. Dichiarante, C. Pigliacelli, G. Cavallo, G. Terraneo, F. B. Bombelli, P. Metrangolo, G. Resnati, *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 1106-1129.

10 Appendix

10.1 Publikationen

R. Hofsäß, P. Ensslen, H.-A. Wagenknecht Control of helical chirality in supramolecular chromophore-DNA architectures, *Chem. Commun.* **2019**, 55, 1330-1333.

R. Hofsäß, S. Sinn, F. Biedermann, H.-A. Wagenknecht Programmable and sequence-selective supramolecular assembly of two different chromophores along DNA templates, *Chem. Eur. J.* **2018**, 24, 16257-16261.

R. Hofsäß, H.-A. Wagenknecht Multichromophore stacks in DNA: Novel light-harvesting systems
in: T. Govindaraju (Ed.) Templated DNA Nanotechnology: Functional DNA Nanoarchitectonics
2018, Pan Stanford Publishing. ISBN: 9789814800211

U. Reisacher, L. Antusch, R. Hofsäß, C. Schwechheimer, B. Lehmann, H.-A. Wagenknecht Light-induced functions in DNA, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2017**, 40, 119-126.

R. Hofsäß, D. Rombach, H.-A. Wagenknecht The influence of electron-withdrawing groups at the 2- and 2'-positions of dibenzothienylethenes on molecular switching, *Synlett* **2017**, 28, 1422-1426.

R. Hofsäß, Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht Aus DNA wird Solarzelle, *Nachr. Chem.* **2016**, 64, 1148-1151.

H. Mutlu, R. Hofsäß, R. E. Montenegro, M. A. R. Meier Self-metathesis of fatty acid methyl esters: full conversion by choosing the appropriate plant oil, *RSC Adv.* **2013**, 3, 4927-4934.

N. Kolb, R. Hofsäß, M. A. R. Meier α -Arylation of saturated fatty acids, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2013**, 115, 729-734

10.2 Konferenzen und Posterbeiträge

- 09/2012 *Jahrestagung Nachhaltige Chemie*, Kaiserslautern (Posterpräsentation)
- 03/2014 *7th Workshop on Fats and Oils as Renewable Feedstock for the Chemical Industry*, Karlsruhe (Posterpräsentation)
- 09/2015 *VII.-Nukleinsäuretreffen*, Berlin (Posterpräsentation)
- 11/2015 *Karlsruhe Days of Optics and Photonics (KDOP)*, Karlsruhe (Posterpräsentation)
- 09/2016 *6th EuCheMS Konferenz*, Sevilla, Spanien (Posterpräsentation)
- 09/2017 *VIII.-Nukleinsäuretreffen*, Mainz (Posterpräsentation)
- 10/2017 *Symposium on molecular architectures for fluorescent imaging of cells*, Karlsruhe (Posterpräsentation)

10.3 Lehre

SS2015	Betreuung des organisch-chemischen Grundpraktikums für Studierende der Biologie, der Geoökologie und des Lehramts Chemie.
WS2015/2016	Betreuung des organisch-chemischen Grundpraktikums für Studierende der Chemie.
09/2015 – 09/2016	Betreuung einer Auszubildenden im zweiten Jahr der Ausbildung zum Chemielaboranten.
12/2015 – 03-2016	Betreuung einer Vertieferarbeit zum Thema: „Synthese und Charakterisierung eines fluorierten Diarylethens“
09/2016 – 11/2016	Betreuung einer Bachelorarbeit zum Thema: „Synthese und Selbstassemblierung von L-konfigurierten pyren- und nilrotmodifizierten Nukleosiden an L-konfigurierte Oligo-2'-desoxyadenosin-Template“
09/2019 – 11/2016	Betreuung eines Forschungspraktikums zum Thema: „Synthese eines pyrenmodifizierten 2'-Desoxyguanosin und Anlagerungsstudien an DNA“
WS2016/2017	Betreuung des organisch-chemischen Grundpraktikums für Studierende der Chemie.
WS2016/2017	Betreuung des organisch-Chemisches Grundpraktikums für Studierende der Biologie, der Angewandten Biologie, der Geoökologie und des Lehramts Chemie.
WS2017/2018	Betreuung des organisch-Chemisches Grundpraktikums für Studierende der Biologie, der Angewandten Biologie, der Geoökologie und des Lehramts Chemie.

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet, 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. Weiterhin versichere ich, dass die elektronische Version der Arbeit mit der schriftlichen übereinstimmt und die Abgabe und Archivierung der Primärdaten gemäß Abs. A (6) der Regeln zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis des KIT beim Institut gesichert ist.

Karlsruhe, den 04.09.2018

Robert Hofsäß