

FUNKTIONALE DNA-ARCHITEKTUREN

**Supramolekulare Chromophor-DNA-Architekturen
mit aggregationsinduzierter Emission**

Zur Erlangung des akademischen Grades einer

DOKTORIN DER NATURWISSENSCHAFTEN

(Dr. rer. nat.)

von der KIT-Fakultät für Chemie und Biowissenschaften

des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)



genehmigte

DISSERTATION

von

M.Sc. Hülya Ucar

Karlsruhe, 2021

1. Referent: Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht

2. Referent: Prof. Dr. Joachim Podlech

Tag der mündlichen Prüfung: 17.12.2021

*„Der Mensch hat dreierlei Wege klug zu handeln;
erstens durch Nachdenken, das ist der edelste,
zweitens durch Nachahmen, das ist der leichteste,
und drittens durch Erfahrung, das ist der bitterste.“*

Konfuzius

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Dezember 2018 bis Dezember 2021 am Institut für Organische Chemie des Karlsruher Institut für Technologie unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht angefertigt.

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich im Rahmen dieser Arbeit und darüber hinaus unterstützt haben.

In erster Linie danke ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht für die interessante Themenstellung und hervorragenden Betreuung. Außerdem möchte ich mich für Ihre stetige Ansprechbarkeit, Verständnis und Unterstützung bei allen erdenklichen Problemen bedanken.

Weiterhin möchte ich mich bei meinen Kollegen für die gute Zusammenarbeit, stetige Hilfsbereitschaft und eine unvergessliche Promotionszeit bedanken: Dr. Christoph Bickmann, Anke Culetto, Dr. Larissa Doll, Dorothée Ganz, Benjamin Felker, Elena Foitzik, Dr. Yannic Fritz, Julian Gebhard, Philipp Geng, Lisa Gramespacher, Dennis Harijan, Lara Hirsch, Annette Hochgesand, Dr. Robert Hofsäß, Sina Jaschik, Joana Krämer, Dr. Katja Krell, Arthur Kuhlmann, Dr. Fabian Lang, Dr. Benjamin Lehmann, Eileen List, Rita Michenfelder, Michaela Mijic, Karen Möbius, Kerstin Müller, Dr. Sara Müller, Bastian Pfeuffer, Dr. Damian Ploschik, Dr. Ulrike Reisacher, Lisa Rieger, Dr. David Rombach, Dr. Franziska Rönicke, Daniel Sack, Maren Schrödter, Manuel Schupp, Dr. Christian Schwechheimer, Maximilian Seifermann, Nicola Seul, Dr. Fabienne Seyfert, Desirée Steuernagel, Claudia Sommer, Fabienne Urbanek, Fabian Weick, Judith Winsauer, Dr. Samantha Wörner.

Im Speziellen möchte ich mich bedanken bei:

- ❖ Dr.-Ing Alexander Colsmann und Lorenz Graf von Reventlow für die gemeinsame Arbeit an den **TPE-dU** basierten aktiven Schichten für die Anwendung in OLEDs und die Geduld die für diese Experimente nötig war.
- ❖ Angelika Möhle für die Anfertigung der Massenspektren.
- ❖ Julia Leier und Claudia Bizzari für die Unterstützung bei den Fluoreszenzlebenszeitmessungen.

- ❖ Dr. Andreas Rapp für die Unterstützung bei vielen organisatorischen Angelegenheiten und für die Betreuung der NMR-Spektrometer.
- ❖ Richard von Budberg für seine großartige Unterstützung bei allen Glasgeräten, egal wie lang die Wunschliste war.
- ❖ Annette Hochgesand für die zahllosen MALDI-Messungen, die Hilfsbereitschaft bei jeder Angelegenheit und die zahlreichen netten Gespräche.
- ❖ Claudia Sommer für die Unterstützung und Hilfsbereitschaft in allen organisatorischen Angelegenheiten, ohne dich würde vieles im AK nicht gehen. Danke, dass du einen immer mit einem Lächeln begrüßt hast.
- ❖ Lara Hirsch für die ESI-Messungen und deine unendliche Geduld in der Nilrotsynthese.
- ❖ Dr. Jochen Brück und Bianca Posselt (IBG2, KIT) aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Anne Ulrich für die Bereitstellung des CD-Spektrometers und die hervorragende Unterstützung bei allen offenen Fragen bezüglich der CD-Spektroskopie.
- ❖ Amrutha Praboth und Dr. Frank Biedermann (INT, KIT) für die Unterstützung bei den FDCD-Messungen und der Gastfreundschaft am Campus Nord.
- ❖ Meiner Bachelorandin Leonie. Du hast gelernt, was es heißt, wenn die Synthese nicht richtig funktioniert. Mit deinem Ehrgeiz und Durchhaltvermögen auch bei der gefühlt hundertsten Säule konntest du eindrucksvoll zeigen, wie man eine sehr gute Bachelorarbeit abliefern kann.
- ❖ Meiner Auszubildenden Elena. Ich hoffe, dass ich dir ein bisschen was beibringen konnte und dass dir die gemeinsame Zeit so gefallen hat wie mir. Danke für deine interessierte und begeisterte Mitarbeit, trotz unendlich langer Säulen.
- ❖ Mein Besonderer Dank gilt Fabian, Julian, Katja, Dr. Werner Kirchner und insbesondere Sara für das Korrekturlesen dieser Arbeit. Ohne euch wäre die Arbeit nicht das, was sie jetzt ist.
- ❖ Julian, dem besten Laborpartner den man haben kann. Danke für deine geduldige Art und dass du mich immer zum Lachen bringen und falls ich gestresst war, runterbringen konntest. Danke, dass du immer ein offenes Ohr für mich hattest und für all die großartigen Gespräche, die wir geführt haben.
- ❖ Meinen Laborkollegen Maren, Nicola und Julian für ihre ehrliche sowie unkomplizierte Art und die schöne Zeit in 204. Zusammen haben wir viel gelacht, viel wissenschaftlich diskutiert und über alles Mögliche gequatscht.

- ❖ Dem 205-Trio Lisa, Rita und Basti für die vielen großartigen Gespräche und eure erfrischende, positive Art.
- ❖ Fabian aka Premium für deine beeindruckendes chemisches Wissen und dass du immer für ein Bier zu haben warst.
- ❖ Juliane und Thorben, dass ihr mit uns die Leidenschaft für Sushi geteilt habt sowie die vielen unvergesslichen Tage, die wir zusammen verbracht haben.

Auch bei den ehemaligen Kollegen möchte ich mich bedanken:

- ❖ Katja, die mich immer mit ihrer Allgemeinbildung und technischen Skills beeindruckt hat, sowie für die großartigen Gespräche mit dir egal über welches Thema.
- ❖ Sara, ich danke dir für deine Hilfsbereitschaft bei allen Angelegenheiten. Die stundenlangen Gespräche, sei es in der Uni über CD-Spektren oder in Würzburg über alles Mögliche und einfach, weil du so ein großartiger Mensch bist.
- ❖ Fabian Lang 2, dass du mir immer mit Rat und Google zur Seite standst, außerdem für den technischen Support sowohl was Computer als auch den Synthesizer anging. Ohne dein Organisationstalent wäre so einiges im AK nicht möglich gewesen.
- ❖ Yannic Fritz für deine Begeisterung für die Anlagerungsexperimente, die mich ein Stück weit angesteckt hat. Danke für die Einführung in die Spektroskopie und dass ich so viel von dir lernen durfte. Mit deiner witzigen Art konntest du einem immer ein Lächeln ins Gesicht zaubern.
- ❖ Arthur für deine hilfsbereite Art, deine Arbeit als Klassensprecher und das Öffnen so einiger Stickstoffgasflaschen.
- ❖ Karen, die mir mit ihrer stets positiven und freundlichen Art oft beeindruckt hat und dass wir mittlerweile so gute Freunde geworden sind.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei all den lieben Menschen bedanken, die mich in dieser Zeit ertragen mussten und mir die Zeit oft verschönert haben. Allen voran meinem Freund Matthias, der so viel Geduld und Verständnis aufgebracht hat und ohne den ich nicht ansatzweise so weit gekommen wäre. Danke, dass du immer für mich da warst und bist.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Themenstellung	1
2	Theoretischer Hintergrund.....	7
2.1	Desoxyribonukleinsäure	7
2.1.1	Kanonische Basenpaarung	8
2.1.2	Nicht-kanonische Basenpaarung.....	9
2.2	DNA-Multichromophorsysteme	11
2.2.1	Kovalenter Ansatz.....	11
2.2.2	Nicht-kovalente supramolekulare DNA-Architekturen.....	14
2.3	Grundlagen der optischen Spektroskopie	18
2.3.1	UV/Vis-Absorptionsspektroskopie	19
2.3.2	Emission.....	21
2.3.3	Zirkulardichroismus (CD)	23
2.3.4	Spektroskopische Analyse supramolekularer Chromophor-Architekturen.....	28
2.3.5	FÖRSTER-Resonanz-Energietransfer	31
2.4	Aggregationsinduzierte Emission (AIE).....	34
2.4.1	Tetraphenylethylen (TPE).....	36
2.4.2	Dicyanodistilbene	38
2.5	Organische Lichtdioden (OLED)	40
3	Kontrolle der helikalen Orientierung	41
3.1	Synthese.....	42
3.2	Spektroskopische Charakterisierung	44
3.3	Untemplierte supramolekulare Chromophor-Architekturen.....	46
3.3.1	Chromophor-Aggregate als aktive Schicht in OLEDs.....	53
3.4	DNA-templierte supramolekulare Architekturen.....	59
3.4.1	Prinzip der Anlagerungsexperimente.....	59
3.4.2	Spektroskopische Resultate	61
3.4.3	Steuerung des Energietransfers	67
3.4.4	Kovalenter Einbau	74
3.5	Zusammenfassung	81
4	Sequenzspezifische Assemblierung.....	83
4.1	Synthese CDS-dU	84

4.2	Optische Charakterisierung von CDS-dU	86
4.3	DNA-templierte Assemblierung von CDS-dU	88
4.4	Sequenzspezifische Assemblierung CDS-dU und Nr-dAp	93
4.4.1	Synthese Nr-dAp.....	93
4.4.2	Orthogonale Selbstassemblierung	94
4.5	Sequenzspezifische Assemblierung CDS-dU und Pe-dAp.....	98
4.6	Zusammenfassung.....	103
5	Zusammenfassung.....	105
6	Experimenteller Teil.....	109
6.1	Materialien und Methoden	109
6.2	Synthese der Oligonukleotide	114
6.3	Synthesevorschriften.....	121
7	Ergänzende Spektren	139
7.1	Kontrolle der helikalen Orientierung.....	139
7.1.1	Spektroskopische Charakterisierung.....	139
7.1.2	Untemplierte supramolekulare Chromophor-Architekturen	140
7.1.3	DNA-templierte supramolekulare Architekturen	142
7.2	Sequenzspezifische Assemblierungen.....	147
7.2.1	Optische Charakterisierung von CDS-dU.....	147
7.2.2	DNA-templierte Assemblierung von CDS-dU	147
7.2.3	Sequenzspezifische Assemblierung von CDS-dU und Nr-dAp.....	149
7.2.4	Sequenzspezifische Assemblierung von CDS-dU und Pe-dAp.....	150
8	Literaturverzeichnis	151
9	Appendix	161
9.1	Publikation.....	161
9.2	Konferenzen und Posterbeiträge	161

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
Å	Ångström
A(λ)	Absorbanz
a. u.	willkürliche Einheit (engl. <i>arbitrary unit</i>)
Ab.	Absorption
ACQ	aggregationsinduzierte Fluoreszenzlöschung (engl. <i>aggregation caused quenching</i>)
AIE	aggregationsinduzierte Emission
Äq.	Äquivalente
C	Cytosin
c	Konzentration
CDS	Dicyanodistilben
CDS-dU	5-Dicyanodistilben-2'-desoxyuridin
CPG	<i>controlled pore glass</i>
CPL	zirkular polarisierte Lumineszenz (engl. <i>circular polarised luminescence</i>)
CP-OLED	zirkular polarisierte organische Leuchtdiode (engl. <i>circular polarised organic light emitting diode</i>)
cs	komplementärer DNA-Strang
d	Dublett, Schichtdicke
D.I.T.	<i>data integration time</i>
dA	2'-Desoxyadenosin
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMTr-	Dimethyltrithyl-
DNA	Desoxyribonukleinsäure (engl. <i>deoxyribonucleic acid</i>)
DSB	<i>trans</i> -1,4-Distyrylbenzol

dU	2'-Desoxyuridin
<i>E</i>	FRET-Effizienz
EI	Elektronenstoßionisation (engl. <i>electron impact ionization</i>)
EQE	externe Quanteneffizienz
ESI	Elektronensprayionisation
<i>et al.</i>	und andere (et alii)
EtOH	Ethanol
<i>f</i>	Besetzungsgrad
FAB	<i>fast atom bombardement</i>
FDCD	fluoreszenzdetektierter Zirkulardichroismus (engl. <i>fluorescent detected circular dicroism</i>)
Fl.	Fluoreszenz
FRET	FÖRSTER-Resonanz-Energietransfer
<i>g</i>	Erdbeschleunigung
G	Guanin
H	HOOGSTEN
HOMO	höchste besetzte Molekülorbital (engl. <i>highest occupied molecular orbital</i>)
HPLC	Hochleistungsflüssig-Chromatographie (<i>high performance liquid chromatography</i>)
HR	Hochauflösung (high resolution)
hyb.	hybridisiert
I	Intensität
IC	innere Konversion (engl. <i>internal conversion</i>)
ICD	induzierter Zirkulardichroismus (engl. <i>induced circular dicroism</i>)
I-dU	5-Iod-2'-desoxyuridin
IGB II	Institut für Biologische Grenzflächen II
ISC	Interkombination (engl. <i>intersystem crossing</i>)
ITO	Indiumzinkoxid (engl. <i>indium tin oxide</i>)
<i>J</i>	Kopplungskonstante
konz.	konzentriert
LCD	Flüssigkristallbildschirme (engl. <i>liquid crystal display</i>)

L-dU	β-L-2'-Desoxyuridin
Liq/Al	8 Hydroxychinolinolato-Lithium gekoppelt mit Aluminium
L-TPE-dU	5-Tetraphenylethylen-2'-L-desoxyuridin
LUMO	niedrigste unbesetzte Molekülorbital (engl. <i>lowest unoccupied molecular orbital</i>)
m	Multipllett
MALDI-TOF	Matrix assistierte Laserdesorptionsionisierung mit Flugzeitanalyse (engl. <i>time of flight</i>)
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
NaP _i	Natriumphosphat-Puffer
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Buthyllithium
NMR	Kernspinnresonanz (engl. <i>nuclear magnetic resonance</i>)
norm.	normiert
Nr-dAp	8-Nilrot-2-amino-2'-desoxyadenosin
OLED	organische Leuchtdiode (engl. <i>organic light emitting diode</i>)
org.	organisch
p. a.	pro analysi
Pe-dAp	8-Perylen-2-amino-2'-desoxyadenosin
PEDOT:PSS	Poly-3,4-ethylendioxythiophen:Polystyrolsulfonat
PTSA	<i>para</i> -Toluolsulfonsäure (engl. <i>para-toluenesulfonic acid</i>)
q	Quartett
quant.	quantitativ
quin	Quintett
R _{e-m}	elektrisch-magnetische Rotationsstärke
R _{ex}	exzitonische Rotationsstärke
R _f	Retentionsfaktor
RIR	Einschränkung der intermolekularen Rotation (engl. <i>restriction of intramolecular rotation</i>)
R _{mon}	monomere Rotationsstärke
rpm	Umdrehungen pro Minute (engl. <i>rounds per minute</i>)
RT	Raumtemperatur

S	Zucker (engl. <i>sugar</i>)
s	Singulett
S ₀	elektronischer Grundzustand
S ₁ , ..., S _n	höherer elektronische Grundzustand
SBW	spektrale Bandbreite (engl. <i>spectral bandwidth</i>)
ss-CD-Spektroskopie	Festkörper-CD-Spektroskopie (engl. <i>solid state CD-spectroscopy</i>)
T	Thymin
t	Triplet
T(λ)	Transmission
T ₁	erster elektronische angeregte Tripletzustand
T ₂ , ..., T _n	höherer elektronisch angeregter Tripletzustand
TBDMS-	<i>tert</i> -Butyldimethylsilyl-
TEA	Triethylamin
TEAA	Triethylammoniumacetat
TFA	Trifluoressigsäure (engl. <i>trifluoroacetic acid</i>)
THF	Tetrahydrofuran
TmPyPB	1,3,5-Tris(3-pyridyl-3-phenyl)benzol
TMS-	Trimethylsilyl-
TPE	Tetraphenylethylen
TPE-dU	5-Tetraphenylethylen-2'-desoxyuridin
U	Uracil
UV	ultraviolette Strahlung
Vis	Sichtbares Licht
VR	Schwingungsrelaxation
WC	WATSON-CRICK
WW	Wechselwirkung
zentr.	zentrifugiert
Φ _f	Fluoreszenzquantenausbeute
κ ²	Orientierungsfaktor
δ	chemische Verschiebung
ε	Extinktionskoeffizient
Θ	Elliptizität

λ_{em}	Emissionswellenlänge
λ_{exc}	Anregungswellenlänge
μ_A	Dipolmoment eines Moleküls im angeregten Zustand
μ_G	Dipolmoment eines Moleküls im Grundzustand

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

^[a] Chemical Abstracts, Index Guide, 77.

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

1 Einleitung und Themenstellung

„Farbe ist das Leben, denn eine Welt ohne Farben erscheint wie tot. Und nur dem, der die Farben liebt, eröffnet sich ihre Schönheit und ihr innewohnendes Wesen“

Johannes Itten

Nichts zeigt die Schönheit unserer Welt so eindringlich wie ihre Farben. Das Blau des Himmels, das Grün der Pflanzen, das Rot der Erde; Farben prägen die Welt. Wie entstand nun unsere heutige bunte Welt? Mit ihrer Ausdrucksstärke und Auffälligkeit sind Farben eines der wichtigsten Kommunikationsmittel für Mensch und Umwelt. So verwundert es nicht, dass die Natur schon seit jeher Farben einsetzte. In der Pflanzen- und Tierwelt dienen diese als Signalfarben. Sie werden zur Partnererkennung, als Tarnfarbe sowie als Warn-, Anreiz-, oder Locksignale eingesetzt. Die Faszination der Farben in der Natur veranlasste den Menschen diese „in seine Hände“ zu bekommen. Sowohl Farbstoffe als auch Farbpigmente wurden bereits vor mehreren tausend Jahren in Höhlenmalereien verwendet. Diese stammten aus natürlichen Mineralien, Steinen und Erden.



Abbildung 1.1: Verdeutlichung des Farbspektrums unserer Welt. Die Bilder wurden alle von <https://pixabay.com> entnommen und sind nicht urheberrechtlich geschützt.

Gegen Ende des 19. Jahrhunderts wurden erstmals synthetische Farbstoffe in der Färbindustrie eingesetzt. Diese färbten effizienter als die zuvor verwendeten natürlichen Farbstoffe. Die bis dahin in Naturfarben gehaltene Welt hat sich verändert und ist bis heute in allen Lebensbereichen geprägt mit einer durchdringenden, früher unvorstellbaren Farbenvielfalt (Abbildung 1.1).^[1]

Trifft Licht auf einen Gegenstand, können drei Prozesse stattfinden: Das Licht wird absorbiert, wird reflektiert oder transparente Stoffe lassen das Licht passieren. Stoffe erscheinen dann farbig, wenn das reflektierte oder durchgelassene Licht in unser Auge trifft und über wellenlängenabhängige Rezeptoren einen elektrischen Impuls erzeugt. Das Gehirn interpretiert die Information und erzeugt dadurch die Wahrnehmung von Farbe. Physikalisch kann das Phänomen der Lichtabsorption wie folgt erklärt werden. Ein Lichtteilchen (Photon) regt ein Elektron in einem Atom oder Molekül an und überführt es vom Grundzustand in einen höher gelegenen elektronischen Energiezustand. Nach der Schwingungsrelaxation wird das Elektron wieder in den Grundzustand überführt. Die Energie dieses Übergangs steht in direkter Beziehung zur Wellenlänge (Farbe) des Lichtes. Die Energiedifferenz dieses Übergangs muss im sichtbaren Spektralbereich stattfinden, damit uns ein Objekt farbig erscheint. Dies trifft häufig auf konjugierte, organische Moleküle zu.

Lange Zeit wurde angenommen, dass organische Stoffe nur von Lebewesen herstellbar seien. FRIEDRICH WÖHLER^[2] konnte im Jahr 1828 beweisen, dass das nicht stimmt. Ihm war es möglich, Harnstoff durch die Umsetzung von Silbercyanat mit Ammoniumchlorid darzustellen. Seitdem wurden die nächsten 170 Jahre kovalente Bindungen zwischen verschiedenen, molekularen Ausgangsverbindungen genutzt, um neue molekulare Strukturen zu erhalten. Das Aufkommen der supramolekularen Chemie in den letzten Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts stellte Chemikern eine Fülle neuer Möglichkeiten dar. Neue artifizielle Makromoleküle, ohne aufwändige chemische Synthesen, waren nun einfach zugänglich. Deren monomere Einheiten werden anstelle von kovalenten Bindungen lediglich über schwache, nicht-kovalente Interaktionen wie Wasserstoffbrücken, π - π -Wechselwirkungen, elektrostatische oder van-der-Waals Wechselwirkungen zusammengehalten.

Der Begriff supramolekulare Chemie wurde von JEAN-MARIE-LEHN geprägt. Für seine Arbeit „*Chemistry of Molecular Assemblies and of the Intermolecular Bond*“ erhielt er zusammen mit DONALD CRAM und CHARLES PEDERSEN 1987 den Nobelpreis für Chemie. Die supramolekulare Polymerisation eröffnet interessante Möglichkeiten, um funktionale Chromophor-Aggregate zu generieren. Inspiriert durch die molekularen Architekturen in der Natur gab es in den letzten Jahren viele neue Konzepte zur Herstellung komplexer, supramolekularer Architekturen,^[3-5] beispielsweise die Nutzung einer Templatstruktur, wie Nukleinsäuren, zur hierarchischen Selbstorganisation kleinerer Moleküle entlang dieser. Desoxyribonukleinsäure (DNA, engl. *deoxyribonucleic acid*) als strukturgebendes Grundgerüst ist aus mehreren Gründen attraktiv für die supramolekulare Polymerisation. Die genau definierten Basenabstände und die Kontrolle der Chromophorabfolge durch die Sequenz, welche durch die kanonische Watson-Crick Basenpaarung kodiert ist, erlauben den Aufbau spezifischer DNA-Chromophor-Architekturen.

Kontrolle der helikalen Orientierung

WAGENKNECHT *et al.* zeigten die selektive und sequenzkontrollierte Assemblierung chromophormodifizierter Nukleoside (Nilrot,^[6-8] Pyren,^[6, 8-9] und Perylen^[10-11]) entlang Einzelstrang-DNA als Templat-Grundgerüst. Diese konventionellen Chromophore sind gekennzeichnet durch schwache Fluoreszenz bzw. durch vollständige Fluoreszenzlöschung im aggregierten Zustand. Um das Potential der Chromophor-DNA-Architekturen voll auszuschöpfen und vor allem für optoelektronische Anwendungen (z. B. OLEDs) zu nutzen, sind dagegen Chromophore mit einer hohen Fluoreszenz im aggregierten Zustand von großem Interesse. Neben den von der Arbeitsgruppe WAGENKNECHT untersuchten Chromophoren eignen sich daher AIE-Fluorophore (engl. *aggregation induced emission*) hervorragend zur Entwicklung stark fluoreszenter Chromophor-DNA-Architekturen. Diese zeichnen sich durch eine Fluoreszenzsteigerung im aggregierten Zustand, wie sie nach der Assemblierung an DNA vorherrschen, aus. Basierend auf den selektiven, jedoch nur gering fluoreszierenden Assemblierungen von WAGENKNECHT *et al.* stand im ersten Teil der vorliegenden Arbeit die Entwicklung neuer DNA-Chromophor-Architekturen mit ausgezeichneten Fluoreszenzeigenschaften im Vordergrund.

Zu diesem Zweck sollten chromophormodifizierte 2'-Desoxyuridine mit AIE-Eigenschaft synthetisiert werden. Hierzu wurde TPE (engl. *tetraphenylethylene*) aufgrund der ausgeprägten AIE-Eigenschaft, der simplen Synthese und einfachen Funktionalisierbarkeit des Moleküls als Chromophor gewählt. Das TPE sollte kovalent an die 5-Position des 2'-Desoxyuridins geknüpft werden. Mit dem so erhaltenen **TPE-dU** sollte im ersten Schritt mithilfe der DNA die Chiralität der gebildeten Chromophor-Nukleosid-Aggregate kontrolliert werden. **TPE-dU** wurde hierzu sowohl in D- als auch in L-Konfiguration synthetisiert (Abbildung 1.2), um den Einfluss der Zucker-Konfiguration zu prüfen. Die gebildeten Chromophor-Architekturen eignen sich für Anwendungen in optoelektronischen Systemen, weshalb sie als emittierende Schicht in einer organischen Leuchtdiode (OLED) verwendet werden sollten.

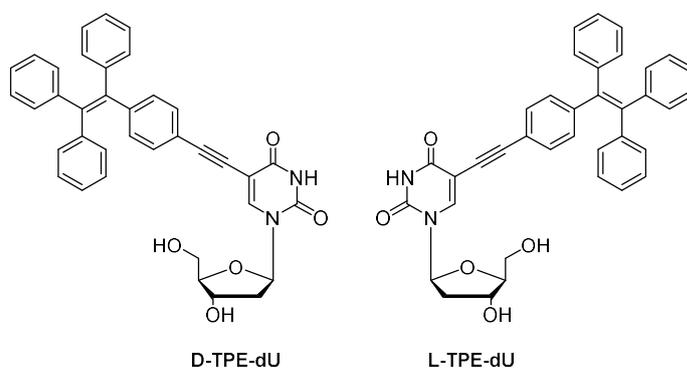


Abbildung 1.2: Struktur der zu synthetisierenden TPE-modifizierten Nukleoside **D-TPE-dU** und **L-TPE-dU**.

Neben den nicht-templierten Assemblierungen sollten die optischen Eigenschaften des TPE-Chromophors durch die Assemblierung entlang DNA-Templatsträngen kontrolliert werden. Auch hier sollte der Einfluss der Konfiguration der Zuckereinheit (**D-TPE-dU** und **L-TPE-dU**) der synthetisierten Nukleoside, jedoch auch der DNA-Templatstränge (**D-A₂₀** und **L-A₂₀**) untersucht werden. Eine illustrative Darstellung der erwarteten Assemblierung von **TPE-dU** entlang eines DNA-Einzelstranges als Templatstruktur ist in Abbildung 1.3 dargestellt.

Der nächste Schritt hin zu DNA-basierten Lichtsammelsystemen ist der Transfer der Anregungsenergie des bei Aggregation emittierenden TPEs zu einem geeigneten Energieakzeptor. Daher sollten im Folgenden die Assemblierungen entlang

Atto-modifizierten DNA-Templatsträngen (Akzeptor) wiederholt und optisch untersucht werden.

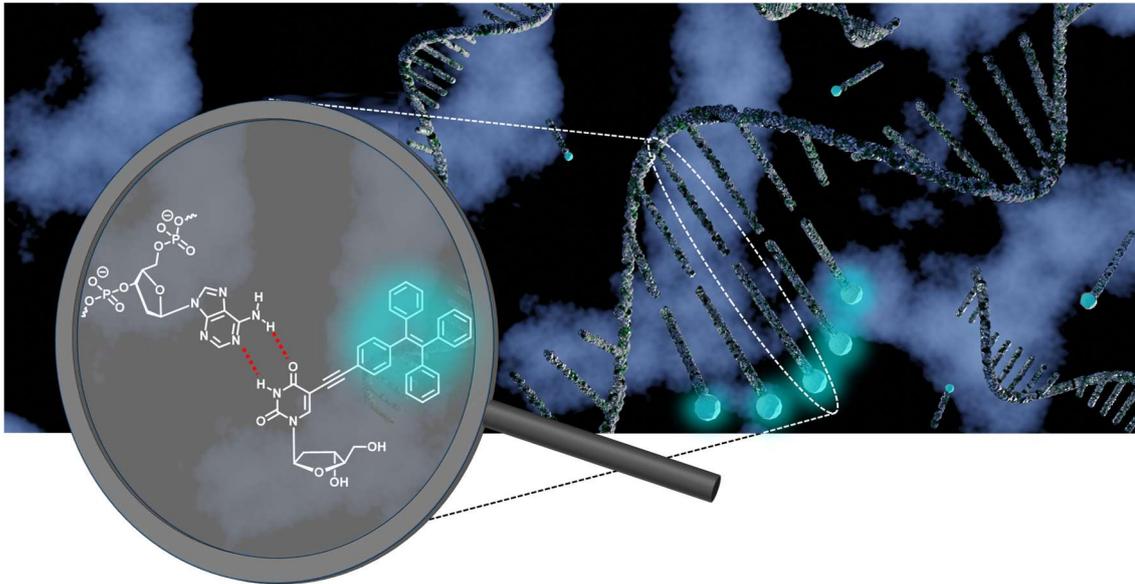


Abbildung 1.3: Beispielhafte Illustration der Selbstassemblierung von **TPE-dU** entlang einer Einzelstrang-DNA bestehend aus dA.

Sequenzkontrollierte Assemblierung

Die supramolekulare Organisation von Chromophoren bietet die Möglichkeit der Bildung von Nanostrukturen, beispielsweise zur Anwendung als funktionale Nanomaterialien in optoelektronischen Materialien. Eine große Herausforderung besteht in der präzisen und kontrollierbaren Anordnung der Farbstoffe zur Kontrolle ihrer optischen, chiroptischen und elektronischen Eigenschaften. Für programmierbare, selektive Assemblierungen ist die Kontrolle der Chromophorabfolge über die Sequenz entscheidend. Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit liegt der Schwerpunkt auf der sequenzspezifischen Assemblierung des neuartigen AIE-Nukleosids **CDS-dU** (5-Dicyanodistilben-2'-desoxyuridin, Abbildung 1.4).

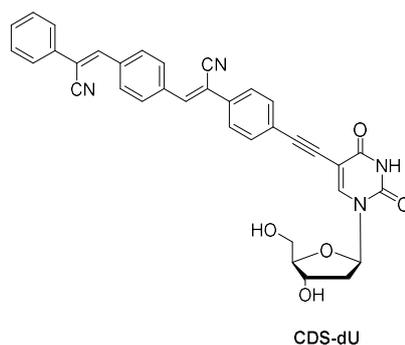


Abbildung 1.4: Struktur des zu synthetisierenden Nucleosids **CDS-dU**.

Als orthogonal bindende Chromophor-Nucleoside wurden 8-Ethynylnilrot-2-amino-2'-desoxyadenosin (**Nr-dAp**) bzw. 8-Ethynylperylene-2-amino-2'-desoxyadenosin (**Pe-dAp**) gewählt. Die orthogonalen Assemblierungen sollten entlang gemischter DNA-Templatstränge (A₁₀T₁₀, (AT)₁₀, (AATT)₅ und (ATTT)₅) durchgeführt werden.

2 Theoretischer Hintergrund

2.1 Desoxyribonukleinsäure

Die Natur nutzt, angefangen bei einfachen Prokaryoten über multizelluläre Organismen wie Tieren und Pflanzen bis hin zum Menschen, die Desoxyribonukleinsäure (DNA, engl. *deoxyribonucleic acid*) als Träger der Erbinformation. Deren Struktur ist essenziell für genetische Prozesse, wie Replikation, Transkription und Translation. Sie besteht aus einer langen Kette von Desoxyribonukleotiden. Nukleotide bestehen aus drei Komponenten: Nukleobase, 2'-Desoxyribose und Phosphatdiesterbrücken. Die Verknüpfung der Purinbasen (Adenin A und Guanin G) sowie der Pyrimidinbasen (Thymin T bzw. Cytosin C) an das C1'-Atom der 2'-Desoxyribose erfolgt über eine N-glykosidische Bindung, wodurch das sogenannte Nukleosid gebildet wird. Ist die Hydroxygruppe am C5' oder C3' des Zuckers mit einem Phosphatrest verestert, wird von einem Nukleotid gesprochen. Die erbinformationstragende DNA besteht aus zwei Nukleotidsträngen, die antiparallel angeordnet sind. Diese winden sich helikal um eine gemeinsame Achse und bilden so eine Doppelhelix (Abbildung 2.1).^[12] Neben der normalen DNA-Konformation, auch B-Konformation genannt, gibt es weitere Doppelstrangkongformationen (z. B. A- und Z-DNA), die von der gezeigten Struktur abweichen. Die B-DNA verfügt über eine kleine, schmale Furche und eine große, weite Furche.

Für die Selbstassemblierung von chromophormodifizierten Nukleosiden entlang DNA-Templatsträngen ist die selektive Basenpaarung über Wasserstoffbrücken von entscheidender Wichtigkeit, weshalb im Nachfolgenden auf die unterschiedlichen Basenpaarungen eingegangen wird.

2.1.1 Kanonische Basenpaarung

Zur Codierung der Erbinformation in DNA benutzen nahezu alle Lebewesen die gleiche genetische Sprache, die von den vier kanonischen Nucleobasen (A, G, C, T) gebildet wird (Abbildung 2.1). Die Basis des genetischen Systems sind spezifische Wasserstoffbrücken zwischen den Pyrimidin- und Purinbasen. Dabei bildet jeweils eine Pyrimidinbase mit einer Purinbase ein WATSON-CRICK-Basenpaar (T mit A bzw. C mit G).^[13] Die endocyclische NH-Gruppen im Ring und die exocyclischen NH₂-Gruppen dienen hierbei als H-Donoren. Die Keto-Gruppen fungieren aufgrund der freien Elektronenpaare als H-Akzeptoren. Die Stärke einer Wasserstoffbrücke beträgt ca. 6-10 kJmol⁻¹. Da das Basenpaar G-C drei und das Basenpaar A-T zwei Wasserstoffbrücken ausbilden kann, ist erstere geringfügig stabiler.

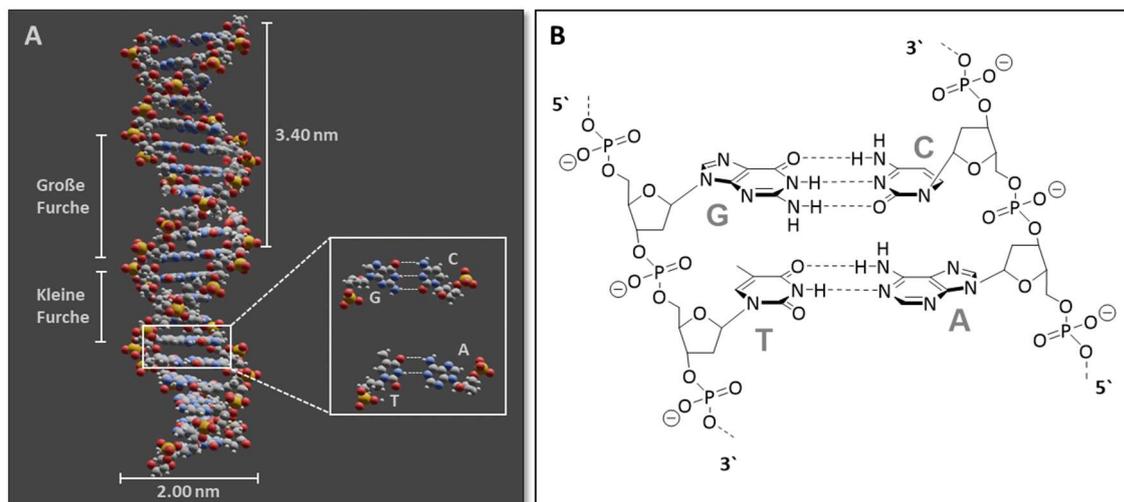


Abbildung 2.1: A: Schematische Darstellung der DNA-Helix in B-Konformation. Die Nucleobasen liegen waagrecht zwischen zwei Rückgratsträngen. Die verschiedenen Atome sind als verschiedenfarbige Kugeln dargestellt: Kohlenstoff (grau), Phosphor (gelb), Sauerstoff (rot), Stickstoff (blau) und Wasserstoff (weiß). B: Chemische Struktur eines DNA-Ausschnittes und Darstellung der WATSON-CRICK-Basenpaarung zwischen G und C bzw. T und A. Wasserstoffbrücken sind als gestrichelte Linie dargestellt.

Die Wasserstoffbrücken spielen lediglich zur spezifischen Hybridisierung eine entscheidende Rolle. Zur Stabilität des Doppelstranges tragen sie kaum bei. Den entscheidenden Beitrag zur Stabilität der Doppelhelix leisten die π - π Stapelwechselwirkungen.

2.1.2 Nicht-kanonische Basenpaarung

In der Doppelhelix der DNA sind die Ausrichtungen der Zucker und der Nucleobasen streng vorgegeben, wodurch Wasserstoffbrückenbindungen größtenteils nur in einer Richtung ausgebildet werden können. Durch Fehlen eines starren Rückgrates bei der nicht-kovalenten Assemblierung von modifizierten Nucleosiden können sich diese frei an die Nucleobasen des Templatstranges ausrichten. Dies macht mehr als nur die klassische WATSON-CRICK-Basenpaarung möglich.

Neben den kanonischen Basenpaaren können auch andere Kombinationen der Nucleobasen und andere Geometrien auftreten. Jede Nucleobase kann in drei Ebenen unterteilt werden. Diese werden WATSON-CRIK-Kante (WC), HOOGSTEN-Kante (H) sowie Zucker-Kante (S, engl. *s*ugar) genannt, wobei die Zucker-Kante vereinfacht auch oft zur WATSON-CRICK-Kante gezählt wird.^[14] Jede dieser „Kanten“ kann durch Wasserstoffbrücken mit anderen Nucleobasen interagieren. Die verschiedenen Kanten sind in Abbildung 2.2 (A) dargestellt.

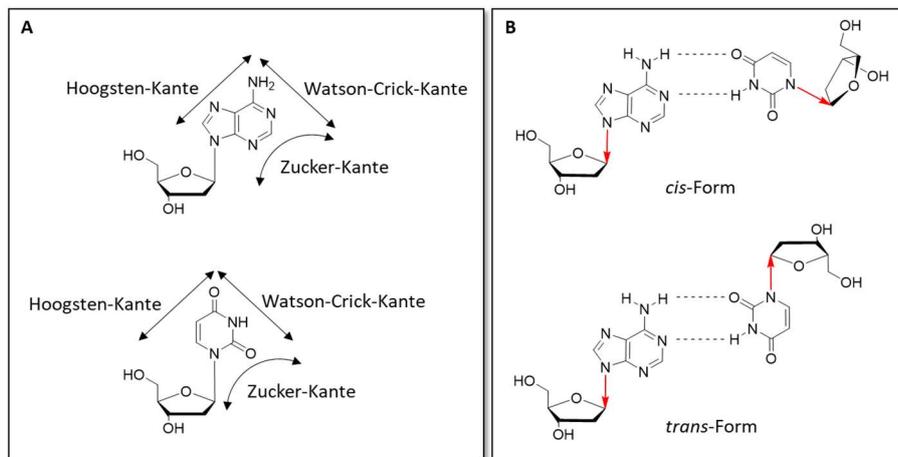


Abbildung 2.2: A: Die drei zugänglichen Kanten für Wasserstoffbrücken der Purin- und Pyrimidinbasen, schematisch dargestellt für 2'-Desoxyadenosin und 2'-Desoxyuridin. B: Darstellung der *cis*- und *trans*-Form der Nucleoside in den nicht-kanonischen Basenpaaren.

Neben diesen drei Kanten kann jedes Basenpaar ebenfalls in der *cis*- oder *trans*-Form vorliegen (Abbildung 2.2 B). Diese Strukturen hängen von der Orientierung der 2'-Desoxyribose zu den ausgebildeten Wasserstoffbrücken ab. Somit ergeben sich 12 Basistypen der Basenpaarung, welche in DNA bzw. RNA-Strukturen gefunden werden

können. Wird jetzt noch die Richtung der glykosidischen Bindung miteinbezogen, ergeben sich sogar weit mehr mögliche Paarungen.

HOOGSTEN-Basenpaarung

Zehn Jahre nachdem JAMES WATSON und FRANCIS CRICK ihr Model der DNA publizierten,^[15] berichtete KARST HOOGSTEN^[16] von einer Kristallstruktur des Basenpaares A-T, welche sich geometrisch der von WATSON und CRICK beschriebenen unterschied. Die HOOGSTEN-Basenpaarung entsteht, wie die WC-Basenpaarung zwischen Adenin und Thyminid bzw. Cytosin und Guanin, wobei die Purin-Basen (A oder G) im Vergleich zu den Pyrimidin-Basen eine andere Konformation einnehmen. Die Purin-Base rotiert hierfür um 180° um die glykosidische Bindung, wodurch zur WC-Basenpaarung unterschiedliche Wasserstoffbrücken entstehen. Im Falle von Adenin und Thyminid bleibt ein WC-Paar (Adenin-N6 und Thymin-C4) erhalten. Anstelle des WC-Paares zwischen Adenin-N1 und Thymin-N3 entsteht das HOOGSTEN-Paar zwischen Adenin-N7 und Thymin-N3 (Abbildung 2.3 A).

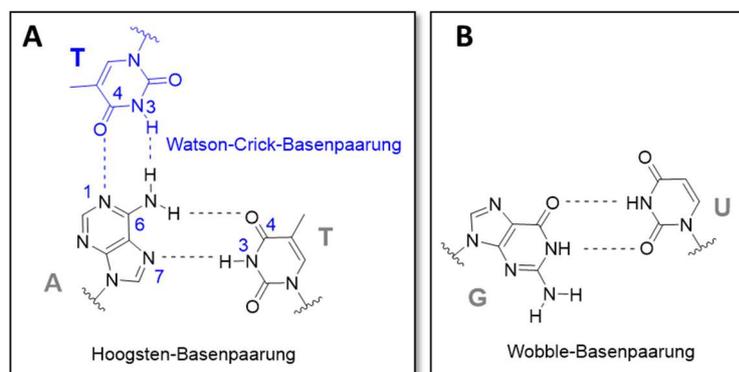


Abbildung 2.3: Strukturelle Darstellung der nicht-kanonischen Basenpaarungen zwischen den Nucleobasen. **A:** HOOGSTEN-Basenpaarung, beispielhaft zwischen A und T; die klassische WC-Basenpaarung wurde in blau eingezeichnet. **B:** Wobble-Basenpaarung zwischen G und U.

Wobble-Basenpaar

Die Wobble-Basenpaarung wurde 1966 von CRICK erstmals vermutet.^[17] Diese spielt besonders bei der Erkennung der tRNA eine Rolle. Die meisten Organismen haben weniger als 45 verschiedene tRNA-Moleküle, rein technisch wären im Falle der

kanonischen Basenpaarung im genetischen Code mindestens 61 nötig. Die *Wobble*-Basenpaarung erlaubt dem 5'-Anticodon an eine Nicht-Standardbasenpaarung zu binden (Abbildung 2.3 B). Die thermodynamische Stabilität der *Wobble*-Basenpaarung ist vergleichbar mit der WC-Basenpaarung.

2.2 DNA-Multichromophorsysteme

Lichtsammelsysteme sammeln die Lichtenergie und befördern sie durch eine Kaskade von Elektronen- oder Energietransferprozessen zum Reaktionszentrum, in dem eine Ladungstrennung zur Speicherung der chemischen Energie führt.^[18-20] Das Design dieser Systeme stellt viele Herausforderungen dar, da viele Chromophore in räumliche Nähe gebracht werden müssen, ohne eine aggregationsinduzierte Fluoreszenzlöschung zu erhalten. DNA als supramolekulares Gerüst ist ideal geeignet, um diesen strukturellen Anforderungen gerecht zu werden.^[10, 21-22] Die automatisierte DNA-Festphasensynthese erlaubt den Einbau künstlicher chromophormodifizierter Bausteine.^[23] Durch die vorgegebene Sequenz können die Distanz und Orientierung der Farbstoffe präzise kontrolliert werden. Die helikale Anordnung der Chromophore, welche durch die DNA vorgegeben wird, kontrolliert sowohl Energie- als auch Elektronentransferprozesse und reduziert dabei noch Fluoreszenzlöschungsprozesse, welche typischerweise in Farbstoff-Aggregaten beobachtet werden.^[24]

2.2.1 Kovalenter Ansatz

Ein großer Vorteil von DNA als strukturgebendes Motiv ist dessen supramolekularer Aufbau aus kleineren Bausteinen. Die unmodifizierten Nukleoside sind kommerziell erhältlich. Farbstoffe können durch synthetische Modifikationen dieser einfach eingebracht werden, beispielweise durch die automatisierte DNA-Festphasensynthese.

Es gibt kovalente und nicht-kovalente Strategien zur Chromophormodifikation von DNA.^[25] Zahlreiche Möglichkeiten zur kovalenten Einbringung der Chromophore in DNA wurden bereits entwickelt, auf die im Folgenden kurz eingegangen wird. Die Farbstoffmodifikation kann sowohl postsynthetisch als auch mittels automatisierter

Festphasensynthese erfolgen.^[26-28] Innerhalb der Festphasensynthese ergeben sich mehrere Möglichkeiten der Modifikation. Die Chromophore können als Basen- oder als vollständiges Zuckersurrogat, über eine direkte Modifizierung der Nukleobase oder als vollständiger Ersatz des Nukleosids in die DNA eingebracht werden (Abbildung 2.4).^[25]

Bei C-Nukleosiden wird der Farbstoff direkt über eine C-glykosidische Bindung, anstelle der natürlichen N-glykosidischen Bindung, an die 2'-Desoxyribofuranose geknüpft.^[29] Dadurch wird die chemische Stabilität der DNA stark verbessert und planare Chromophore können in den Basenstapel interkalieren. Die Chromophore können auch über D-/L-Threolinol,^[30] D-Serinol^[31] oder Glykolderivate^[32-33] als azyklische Linker direkt an das DNA-Phosphatrückgrat geknüpft werden. Für gewöhnlich interkalieren die Chromophore in diesem Fall ebenfalls in den DNA-Basenstapel (Abbildung 2.4, A).

Die Farbstoffmodifikation kann zudem als DNA-Basenmodifikation erfolgen. Die Chromophore werden für gewöhnlich an die 5-Position^[34] der Pyrimidin-Basen oder 8-Position^[10] der Purinbasen geknüpft, da diese am reaktivsten sind. Die Modifikation der Nukleobase hat den Vorteil, dass die Struktur des gebildeten Doppelstranges kaum beeinflusst wird. Dabei ragen die Chromophore in die große Furche der DNA, in der große Chromophore ausreichend Platz finden und die Struktur sowie Stabilität der DNA kaum beeinflussen. Dieser Ansatz hat den großen Vorteil, dass die Nukleobase weiterhin Wasserstoffbrücken ausbilden kann und so die sequenzspezifische Einbringung der Chromophore möglich ist. Daher wurde dieser Ansatz im Rahmen der vorliegenden Arbeit präferiert. Eine Adressierung der kleinen Furche kann über die 2'- oder 4'-Position der Ribose erfolgen (Abbildung 2.4, B, C).^[35-37] Es ist auch möglich, Chromophore als Teil eines achiralen, nicht-nukleosidischen Linkers direkt im DNA-Rückgrat zu integrieren (Abbildung 2.4, D).^[38]

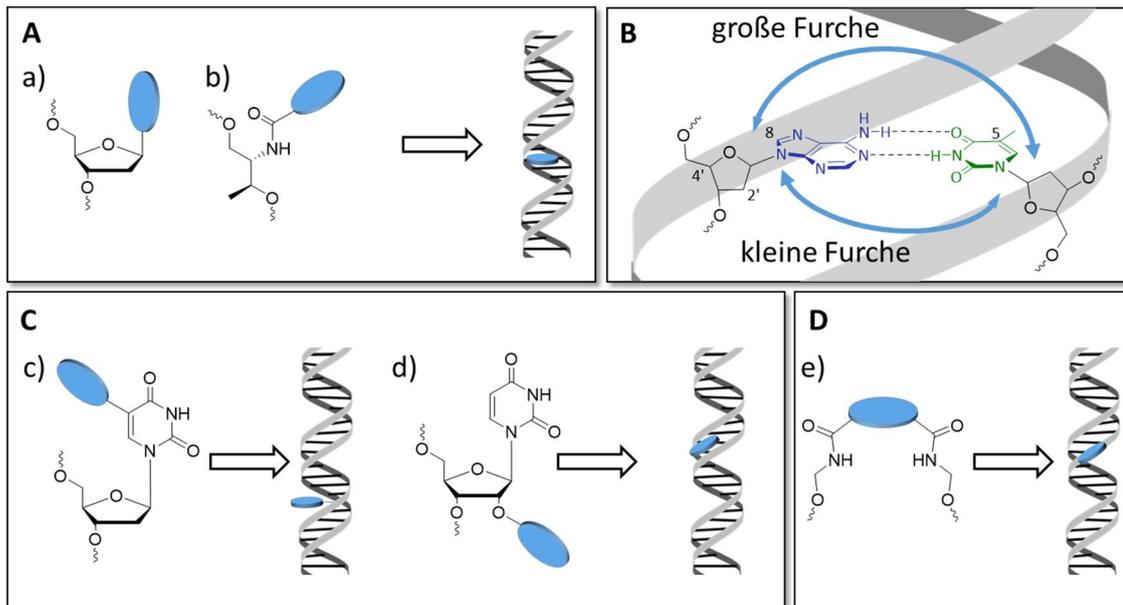


Abbildung 2.4: Artificielle DNA-Bausteine: **A:** Chromophor als C-Nucleosid (a) oder über einen azyklischen Linker (D-Treolinol, b) an die DNA geknüpft. Dies führt zur Interkalation des Chromophors in den Basenstapel. **B:** Schematische Darstellung der dirigierenden Wirkung in die große bzw. kleine Furche, abhängig von der Knüpfungsposition des Chromophors. **C:** Knüpfung des Chromophors direkt an der Nucleobase (c) bzw. am 2'C der Ribose (d) zum Dirigieren in die große bzw. kleine Furche. **D:** Im Rückgrat der DNA über einen achiralen, nicht-nucleosidischen Linker eingebaut.

Ein Beispiel für den kovalenten Einbau von Chromophoren zeigte die Arbeitsgruppe um WAGENKNECHT.^[39] Sie inkorporierten Pyren und Nilrot über die 5-Position an 2'-Desoxyuridine und darüber in DNA-Einzelstränge. Beide Chromophore wurden in direkter Nachbarschaft eingebaut. Aufgrund der Überlappung der Fluoreszenz des Pyrens mit der Absorption des Nilrots ist ein Energietransfer zwischen beiden Chromophoren möglich. Dieser Energietransfer ist im Einzelstrang effizienter als im Doppelstrang. Im Doppelstrang wurde nahezu die gleiche Fluoreszenzintensität für Pyren (blaugrün) und Nilrot (rot) beobachtet, wodurch die Gesamtemission weiß wirkt. Der effektivere Energietransfer im Einzelstrang führt zu einer roten Nilrotfluoreszenz. Dieses Phänomen wurde durch die starke Abhängigkeit des Energietransfers von der relativen Orientierung der Chromophore erklärt. Im Doppelstrang ist die helikale Verdrehung der Chromophore im höheren Maße ausgeprägt. Da die Ausprägung der Doppelstrang-DNA temperaturabhängig ist, ermöglicht somit die Farbe des emittierten Lichts eine qualitative Aussage über die Temperatur.

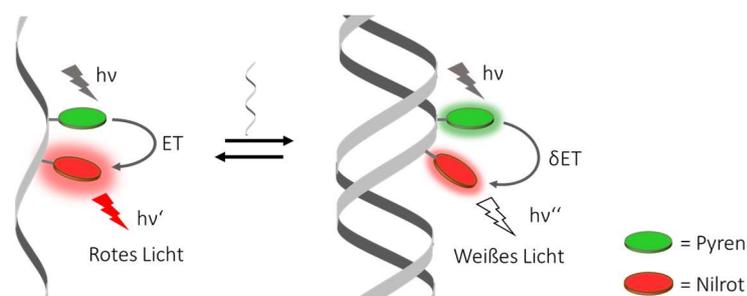


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung des durch Hybridisierung induzierten Farbwechsels der Emission. Der Einzelstrang erscheint nach Anregung des Pyrens ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$) durch den effizienten Energietransfer auf das Nilrot rot. Im Doppelstrang wird, aufgrund des unvollständigen Energietransfers, eine weiße Emission nach Anregung der Pyrens beobachtet.

2.2.2 Nicht-kovalente supramolekulare DNA-Architekturen

Neben den kovalenten Ansätzen gibt es auch nicht-kovalente Ansätze zum Aufbau von DNA-Architekturen. Diese haben im Vergleich zu den kovalenten Ansätzen mehrere Vorteile. Die zeit- und arbeitsintensive DNA-Festphasensynthese wird obsolet. Diese ist oft limitiert auf den kovalenten Einbau von 5-10 Chromophoren in einer Reihe und weist schlechte Ausbeuten für längere Konjugate auf.^[40-41]

Die nicht-kovalente Assemblierung von Chromophoren entlang der Doppelhelix von DNA kann auf verschiedene Weise erfolgen.^[21, 27-28, 42] Planare Chromophore können über ihr π -System in den Basenstapel interkalieren. Einige Fluorophore zeichnen sich sogar durch eine Fluoreszenzsteigerung nach der Interkalation aus.^[43] Die Assemblierung von positiv geladenen Chromophoren kann elektrostatisch am negativ geladenen Phosphat-Rückgrat erfolgen. Eine Ansteuerung der kleinen bzw. großen Furche der Chromophore über hydrophobe Wechselwirkungen ist ebenfalls möglich (Abbildung 2.6 A).

Die Bindung von Farbstoffen, eingeschlossen Ethidiumbromid,^[43] *SYBR Green I*,^[44] *TOTO-3*,^[45] *Hoechst 33258*^[46] und *DAPI*^[46], durch Interkalation oder in einer der DNA-Furchen wurden bereits zur Doppelstrang-Nukleinsäure-Detektion eingesetzt.^[47] Diese Farbstoffe zeichnen sich durch eine starke Fluoreszenzerhöhung nach Interaktion mit der DNA aus und werden daher auch häufig als „light-up“-Farbstoffe bezeichnet.

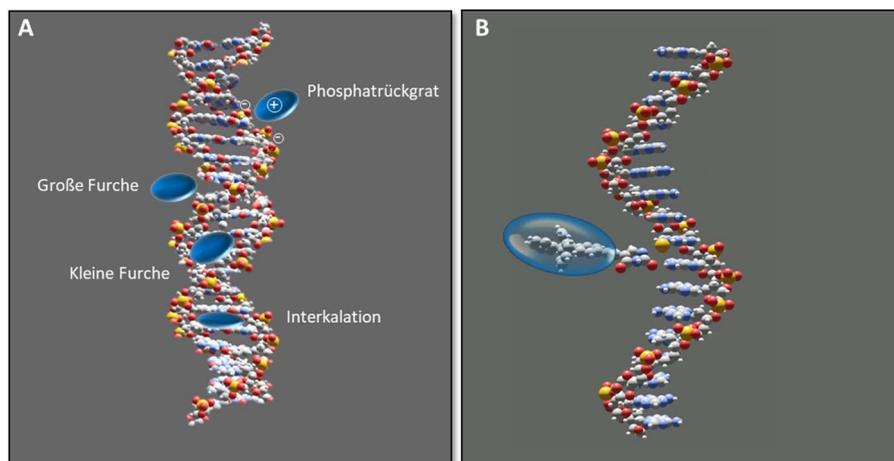


Abbildung 2.6: Darstellung der Inkorporation von Chromophoren über nicht-kovalente Wechselwirkungen. **A:** Assemblage von Chromophoren über nicht-kovalente Wechselwirkungen an einen DNA-Doppelstrang. Die Chromophore können über elektrostatische WW an das Phosphatrückgrat, über hydrophobe WW in die große bzw. kleine Furche oder über π - π WW in den Basenstapel interkalieren. **B:** Sequenzspezifische Assemblage eines chromophormodifizierten Nucleosids (**TPE-dU**) über Wasserstoffbrückenbindungen an einen DNA-Einzelstrang. Die Chromophore sind als blaue Ellipsoide dargestellt.

Die beschriebenen Beispiele betrachten stets die Einbringung von Chromophoren in die Doppelhelix der DNA, haben aber den Nachteil, dass sie im Gegensatz zum kovalenten Einbau nicht gezielt an bestimmte Positionen in der DNA eingebracht werden können. Für die spezifische und sequenzkontrollierte supramolekulare Organisation zur Kontrolle der Chromophorabfolge und der Distanz sowie der Geometrie der Chromophore wären Assemblierungen entlang Einzelstrang-DNA als Templat vorteilhaft. SCHENNING *et al.*^[42] konnten als eine der ersten eine derartige Assemblierung nachweisen. Hierfür wurden Naphthalin-2,4-Diaminopurin-Konjugate zur Erkennung von Oligothymidinen als einzelsträngige DNA-Templat über Wasserstoffbrückenbindungen verwendet. Die π - π -Wechselwirkungen der Chromophor-Stapel stabilisieren die entstandenen Konjugate mit wachsender Templatlänge. So konnten bis zu 40 Chromophore (Naphthaline^[48] oder Porphyrine^[49-50]) nicht-kovalent in Reihe entlang von DNA-Einzelsträngen assembliert werden.

WAGENKNECHT *et al.* zeigten ebenfalls die nicht-kovalente Assemblierung von farbstoffmodifizierten (Nilrot,^[6-7] Pyren^[6, 10, 51] und Perylen^[10-11]) Nucleosiden entlang unterschiedlicher DNA-Einzelstränge als Templatstrukturen. Dabei wurden pyren- und nilrotmodifizierte 2'-Desoxyuridine (**Py-dU** und **Nr-dU**) an einzelsträngige DNA (A_{20})

angalagert. Zuvor wurde jeweils die selektive Assemblierung von **Nr-dU**^[7] bzw. **Py-dU**^[51] an DNA-Templatstränge gezeigt, wobei vor allem erstere eine sehr selektive Assemblierung entlang der komplementären DNA (A_{20}) zeigte. Bei gemeinsamer Assemblierung beider Nucleoside resultiert eine statistische Mischung ohne Kontrolle der Anordnung der Chromophore über die Sequenz (Abbildung 2.7).^[6]

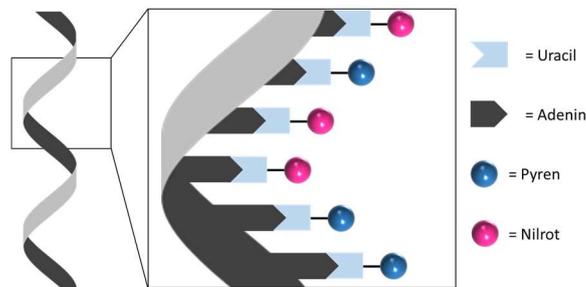


Abbildung 2.7: Schematische Darstellung der gemischten Assemblierung von **Nr-dU** und **Py-dU** entlang eines poly(A)-Stranges.

Durch Einführung eines neuen Bindungsmotivs konnte eine sequenzkontrollierte Assemblierung ermöglicht werden. Dafür wurde Pyren kovalent an die 8-Position des 2-Amino-2'-desoxyadenosins (dAp) geknüpft, wodurch dieses chromophormodifizierte Nucleosid (**Py-dAp**) nun selektiv an Thymin bindet.^[52] Die Anordnung der Chromophore konnte nun über die Sequenz gesteuert werden. Die Verwendung des dAp-Nucleosids erfolgte, da drei anstelle von zwei Wasserstoffbrückenbindungen mit Thymin gebildet werden können, wodurch eine höhere Selektivität der Assemblierung erreicht wurde. Die optischen Eigenschaften der assemblierten Chromophore konnten über die Sequenz kontrolliert werden. Die **Py-dAp**-Nucleoside zeigen eine starke Exzimer-Fluoreszenz an T_{10} -Strängen. Im Gegensatz dazu ist die Fluoreszenz der **Nr-dU**-Nucleoside entlang A_{10} -Strängen komplett gelöscht. Daher fungiert Nilrot in diesem Beispiel als Fluoreszenzlöcher. In den gemischten Sequenzen ist eine Zunahme der Fluoreszenz mit fallender Anzahl an Grenzflächen zwischen Nilrot und Pyren zu beobachten. Somit steigt die Fluoreszenz des Pyrens von $(AT)_{10}$ über $(AATT)_5$ zu $(ATTT)_5$. Die Assemblierung entlang $A_{10}T_{10}$ zeigte die höchste Fluoreszenz (Abbildung 2.8 A).

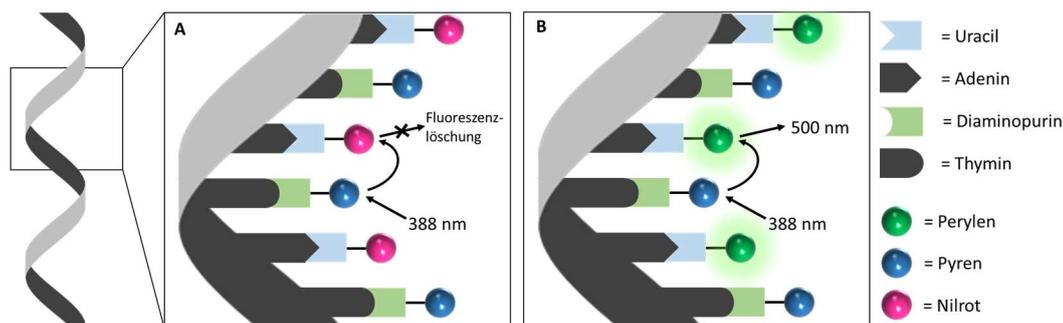


Abbildung 2.8: Schematische Darstellung der sequenzspezifischen Assemblierung von **Nr-dU** und **Py-dAp** (links) bzw. **Pe-dU** und **Py-dAp** (rechts) entlang eines alternierenden AT-DNA-Stranges und deren Energietransfereigenschaften. **A:** Es wird eine Fluoreszenzlöschung nach dem Transfer der Anregungsenergie des Pyrens beobachtet. **B:** Nach Anregung des Pyrens findet ein Energietransfer zu Perylen statt, wodurch die Perylenfluoreszenz detektiert werden kann.

Um die Energiedonoreigenschaft von **Py-dAp** zu nutzen, wurde Nilrot durch das in wässriger Lösung fluoreszierende Perylen (**Pe-dU**) als Akzeptor ersetzt. Eine orthogonale Assemblierung wurde erneut durchgeführt, um den sequenzspezifischen Energietransfer zu untersuchen.^[10] Dabei stieg die Fluoreszenzintensität in den Anlagerungen von $A_{10}T_{10}$ über $(AATT)_5$ über $(AT)_{10}$, wodurch das gegenteilige Fluoreszenzverhalten zum zuvor erwähnten System beobachtet werden konnte (Abbildung 2.8 B). Mithilfe dieser sequenzspezifischen Assemblierungen wurde im Rahmen dieser Arbeit ein neues sequenzspezifisches Assemblierungssystem entwickelt, wobei die Energietransfereigenschaften des AIE-Chromophors kontrolliert wurden.

Der Einfluss des Linkers zwischen Chromophor und Nucleobase auf die Assemblierungsexperimente wurde weiterhin von WAGENKNECHT *et al.*^[11] publiziert. Ethinyl-, Phenyl- und Ethinylphenyl-Linker zwischen Perylen und zwei unterschiedlichen Nucleobasen (2-Aminoadenin und Uracil) wurden untersucht. Sie konnten zeigen, dass die Verknüpfung von Chromophoren über einen Acetyl-Linker in einer coplanaren Anordnung der beiden aromatischen Bereiche der Chromophor-Nucleosid-Konjugate resultiert. Diese erlaubt eine effiziente Stapelung sowie die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen. Durch die coplanare Anordnung wird das aromatische System des Chromophors durch das aromatische System der Nucleobase erweitert. Dies führt zu einer Rotverschiebung der Perylenabsorption. Die optischen Eigenschaften von Perylen im Falle der Phenyl- und

Ethynylphenylen-Verknüpfung stimmen im Großen und Ganzen mit den Eigenschaften des reinen Chromophors überein.

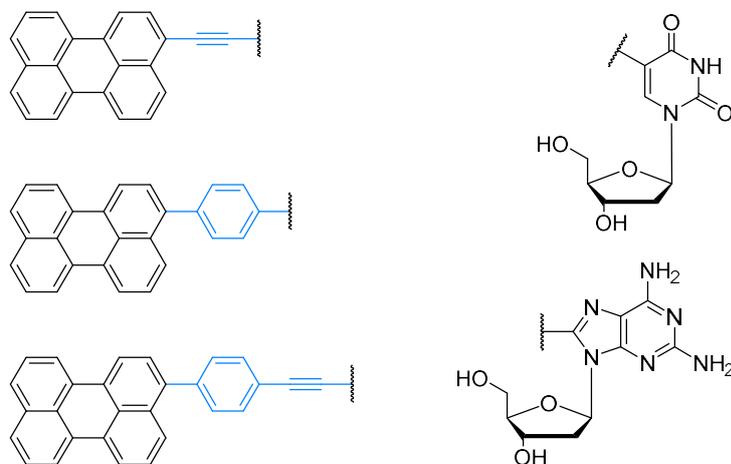


Abbildung 2.9: Struktur der von WAGENKNECHT *et al.* synthetisierten Perylen-Nukleoside. Struktur des Perylens mit verschiedenen Linkern (links). Die Linker sind blau hervorgehoben. Struktur der beiden genutzten Nukleoside (2'-Desoxyuridin und 2-Amino-2'-desoxyadenosin, rechts).

Es kann davon ausgegangen werden, dass die beiden aromatischen Systeme bei der Phenylen- bzw. Ethynylphenylen-Knüpfung separiert vorliegen. Im Gegensatz zur coplanaren Orientierung liegt bei dem Phenylen-Linker eine Verdrillung beider Abschnitte vor. Der dritte Linker kombiniert beide geometrischen Ausrichtungen. Die beste Assemblierung konnte im Falle der Knüpfung des Perylens durch einen Ethynyl-Linker an 2-Amino-2'-desoxyadenosin entlang T₂₀ erzielt werden. Der Phenylen-Linker führte zu keiner Assemblierung.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurde im Rahmen dieser Arbeit die Ethynyl-Verknüpfung zur Bindung der AIE-Chromophore an die entsprechenden Nucleobasen gewählt.

2.3 Grundlagen der optischen Spektroskopie

Die Synthese von chromophormodifizierten Nucleosiden und Oligonucleotiden ist aufgrund ihrer einzigartigen optischen Eigenschaften von besonderem Interesse. Hierbei sind die Absorption von Licht, der Transport der aufgenommenen Energie (FRET) und die Emission von Licht (OLED) zu nennen. Die optische Spektroskopie basiert auf der

Wechselwirkung von Atomen oder Molekülen mit einfallender, elektromagnetischer Strahlung.

Informationen über die elektronische Struktur eines Moleküls im Grundzustand können mit Hilfe der UV/Vis-Absorptionsspektroskopie abgeleitet werden, während mit der Fluoreszenzspektroskopie Informationen über die Art und Weise, wie das Molekül in den Grundzustand zurückkehrt, abgeleitet werden.

2.3.1 UV/Vis-Absorptionsspektroskopie

Eine der elementarsten Methoden zur spektroskopischen Untersuchung von Chromophoren ist die UV/Vis-Absorptionsspektroskopie.

Die Absorption von Licht bestimmter Wellenlänge λ durch ein absorbierendes Medium ist charakterisiert durch die Absorbanz $A(\lambda)$ oder der Transmission $T(\lambda)$. Diese sind wie folgt definiert:

$$A(\lambda) = \log \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = -\log T(\lambda) \quad [1]$$

$$T(\lambda) = \frac{I_{\lambda}}{I_{\lambda}^0} \quad [2]$$

wobei I_{λ}^0 und I_{λ} die Lichtintensität des einfallenden beziehungsweise transmittierten Strahls des absorbierenden Mediums sind. Die Absorbanz einer Probe folgt in der Regel (bei verdünnten Lösungen) dem LAMBERT-BEERSchen^[53-54] Gesetz:

$$A(\lambda) = \log \frac{I_{\lambda}^0}{I_{\lambda}} = \epsilon(\lambda)lc \quad [3]$$

wobei $\epsilon(\lambda)$ dem molaren dekadischen Absorptionskoeffizienten ($\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$), c der Konzentration (molL^{-1}) der absorbierenden Spezies und l der Schichtdicke des durchstrahlten Körpers (cm) entspricht. Abweichungen von der linearen Abhängigkeit der Absorption von der Konzentration sind beispielsweise infolge von Aggregatbildung, bei

hohen Konzentrationen oder der Anwesenheit einer anderen absorbierenden Substanz möglich.^[55]

Das Verhalten von Fluorophoren nach Anregung durch Licht sowie die Wechselwirkungen der Chromophore untereinander erfordert Kenntnisse über die zugrundeliegenden physikalisch-chemischen Prozesse, die im Nachfolgendem genauer erläutert werden. Die Absorption eines Photons angemessener Energie kann ein π -Elektron zum antibindenden Orbital π^* anheben. Dieser Übergang wird mit $\pi \rightarrow \pi^*$ bezeichnet. Dieser elektronische Übergang findet gewöhnlich aus dem Schwingungsgrundzustand statt, welcher nach der BOLTZMANN-Verteilung bei Raumtemperatur von den meisten Molekülen besetzt ist.^[56]

Die Anhebung von σ -Elektronen benötigt wesentlich mehr Energie (Absorption im fernen UV). Nicht bindende Elektronen wie an Heteroatomen können ebenfalls angeregt werden. Die korrespondierenden Orbitale werden als n-Orbitale bezeichnet und somit der Übergang als $n \rightarrow \pi^*$. Der elektronische Übergang erfolgt ebenfalls hauptsächlich aus dem Schwingungsgrundzustand. In der optischen Spektroskopie werden überwiegend zwei Arten an Orbitalen berücksichtigt: das höchste besetzte Molekülorbital (HOMO, engl. *highest occupied molecular orbital*) und das niedrigste unbesetzte Molekülorbital (LUMO, engl. *lowest unoccupied molecular orbital*). Beide beziehen sich auf den Grundzustand des Moleküls. Wenn eines der Elektronen mit gegensätzlichem Spin (aus MO im Grundzustand) in ein MO mit höherer Energie angeregt wird, ist der Spin nichtsdestotrotz unverändert und somit 0 ($S = \sum s_i$, mit $s_i = +1/2$ oder $-1/2$). Die Multiplizität des Grundzustands und des angeregten Zustands ist gleich 1 ($M = 2S + 1$). Somit werden beide Zustände als Singulett-Zustand bezeichnet. S_0 wird der Grundzustand bezeichnet und S_1, S_2, \dots, S_n die angeregten Zustände. Der zugrundeliegende Übergang wird als Singulett-Singulett-Übergang bezeichnet. Ein Molekül im angeregten Singulett-Zustand kann in einen anderen Zustand überführt werden, in der die angeregten Elektronen ihren Spin ändern. Dadurch sind zwei Elektronen mit parallelem Spin im System vorhanden, wodurch die Multiplizität gleich 3 ist. Solch ein System wird als Triplett-Zustand bezeichnet. Aufgrund der HUNDSCHEN-REGEL^[57] besitzt der Triplett-Zustand eine geringere Energie als der Singulett-Zustand der gleichen Konfiguration.^[58]

Die Absorption findet mit einer Geschwindigkeit von 10^{-15} s schneller als alle anderen, nachfolgenden Prozesse statt. Daher ändert sich die Position der Atomkerne während

dieser Zeit nicht (FRANCK^[59]-CONDON^[60]-Prinzip), wodurch vertikale Übergänge abgebildet werden können. Die nachfolgende Relaxation kann sowohl strahlungsfrei als auch strahlend stattfinden. Es können ebenfalls die Prozesse innere Konversion (IC, engl. *internal conversion*) und Interkombination (ISC, engl. *intersystem crossing*) stattfinden. Die Prozesse, die zwischen der Absorption eines Photons bis zur Rückkehr in den Grundzustand ablaufen, werden in Abbildung 2.10, dem sog. JABŁOŃSKI^[61]-Diagramm, veranschaulicht. In diesem Diagramm sind keine Lösungsmiteleinflüsse und Auslöschungsprozesse berücksichtigt.

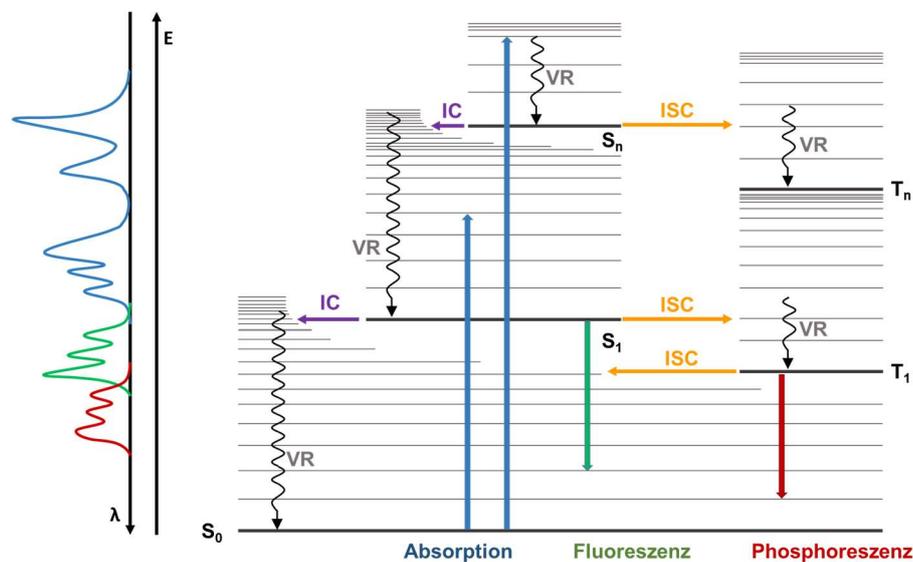


Abbildung 2.10: Darstellung möglicher Relaxationsprozesse nach Photoanregung in Form eines JABŁOŃSKI-Diagramms. Folgende Abkürzungen wurden zur besseren Anschaulichkeit verwendet: innere Konversion (IC), Schwingungsrelaxation (VR), Interkombination (ISC), elektronischer Grundzustand (S_0), erster elektronisch angeregter Singulettzustand (S_1), höherer elektronisch angeregter Singulettzustand (S_n), erster elektronisch angeregter Triplettzustand (T_1) und höherer elektronisch angeregter Triplettzustand (T_n). Schwingungsübergänge sind durch gewellte Pfeile dargestellt, elektronische Übergänge durch gerade Pfeile.

Nachfolgend soll näher auf die Emission als Relaxation aufgrund der Relevanz in Bezug auf die vorliegende Arbeit eingegangen werden.

2.3.2 Emission

Nach der Absorption relaxieren die Moleküle strahlungslos innerhalb von 10^{-12} s über Schwingungsrelaxation und IC in den Vibrationsgrundzustand des S_1 -Zustandes.

Anschließend gelangt das Molekül durch Emission in verschiedene Vibrationszustände des Grundzustandes. Dieser Prozess wird als Fluoreszenz bezeichnet und besitzt eine Lebenszeit von 10^{-9} bis 10^{-6} s.

Als Fluoreszenz wird für gewöhnlich der Übergang $S_1 \rightarrow S_0$ bezeichnet, wobei die Fluoreszenz unabhängig von der Anregungswellenlänge ist, da der Übergang aus dem Schwingungsgrundzustand des elektronisch angeregten Zustands erfolgt (KASHA-Regel).^[62] Das Emissionsspektrum von Fluorophoren in Lösung ist normalerweise zu längeren Wellenlängen verschoben im Gegensatz zum Absorptionsspektrum. Die Relaxation des Kernes und das Lösungsmittel übertragen einen Teil der Anregungsenergie an die Umgebung, noch bevor das Molekül fluoresziert. Diese Rotverschiebung wird als STOKES-Verschiebung bezeichnet, nach dem britischen Mathematiker und Physiker GEORGE STOKES.^[63] Dabei spiegelt die STOKES-Verschiebung sowohl die intramolekulare Schwingungsrelaxation der angeregten Moleküle als auch die Relaxation des umgebenden Lösungsmittels dar. Je größer die Ausdehnung des π -Elektronensystems, desto geringer ist die Energie der tiefliegenden $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergänge und somit auch umso länger die Wellenlänge der korrespondierenden Absorptionsbande.^[64]

Die Emission ist nicht nur verschoben im Vergleich zur Absorption. Das Emissionsspektrum eines Moleküls ist oft näherungsweise eine spiegelbildliche Abbildung des Absorptionsspektrums. Mehrere Faktoren führen zu dieser Symmetrie. Wenn die BORN-OPPENHEIMER-Näherung gilt und die Schwingungsmoden harmonisch sind sowie die gleiche Frequenz in den Grund- und angeregten Zuständen haben, dann sind die Energien der erlaubten Übergänge in den Absorptions- und Emissionsspektren symmetrisch auf gegenüberliegenden Seiten der 0-0 Übergangsenergie.

Statt der Fluoreszenz kann zur Relaxation auch ein ISC stattfinden. Aus dem angeregten Zustand findet hierbei ein spinverboteener Übergang in einen Triplettzustand T_1 statt. Der Übergang aus T_1 in den Grundzustand S_0 ist quantenmechanisch verboten und kann nur durch Spinumkehr erreicht werden. Die Lebenszeit des angeregten Zustands verlängert sich so durch die doppelte Spinumkehr auf 10^{-4} bis 10^2 s. Die Emission ist in diesem Fall stark bathochrom verschoben, aufgrund der Energie, die zur Spinumkehr benötigt wird. Dieser Prozess wird als Phosphoreszenz bezeichnet.

2.3.3 Zirkulardichroismus (CD)

Die Chiralität ist eine der Eigenschaften, die den Menschen schon von Beginn der Entdeckung an faszinierten. Einer der Gründe liegt vermutlich darin begründet, dass im Grunde alle lebenden Systeme auf chiralen Strukturen basieren, sowohl molekular, supramolekular als auch auf Biopolymerebene und dabei homochiral sind. In der Natur sind fast ausschließlich L-Aminosäuren und D-Zucker vertreten. Mit modernen spektroskopischen Methoden kann diese interessante Eigenschaft chiraler Chromophore, darunter der elektronische Zirkulardichroismus (ECD, kurz: CD, engl. *electronic circular dichroism*) und die zirkular polarisierte Lumineszenz (CPL, engl. *circular polarised luminescence*), spektroskopisch untersucht werden und gewinnt täglich an Bedeutung.

Chiralität bedeutet vereinfacht, dass Bild und Spiegelbild nicht deckungsgleich sind. Viele Naturstoffe weisen Unterschiede in ihrer Absorption von links und rechts zirkular polarisiertem Licht auf. Dieses Phänomen wird als Zirkulardichroismus bezeichnet. Dabei entsteht aus linear polarisiertem Licht elliptisch polarisiertes Licht. Dieser Effekt ist vergleichsweise eher gering (1 von 10^4), kann jedoch unter Verwendung eines elektrooptischen Modulators, welcher schnell zwischen rechter und linker Zirkularpolarisation hin- und herwechselt, gemessen werden. Die zugeordnete Größe kann am einfachsten als Differenz zwischen den molaren Extinktionskoeffizienten für links und rechts zirkular polarisiertes Licht ausgedrückt werden.

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon_{links} - \varepsilon_{rechts} \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1} \quad [4]$$

Die unterschiedliche Absorption ist im CD-Spektrum sichtbar und wird mit der Elliptizität θ quantifiziert. Die Elliptizität θ wird häufig anstelle von ΔA angegeben. Da der Zirkulardichroismus die Differenz zwischen zwei Absorptionsintensitäten darstellt, kann der Wert sowohl positiv als auch negativ ausfallen.

Ein zweiphasiges CD-Signal wird induziert, wenn Chromophore nicht nur um den Winkel zur vertikalen Achse verschoben sind, sondern auch noch eine chirale Orientierung aufweisen. Der Nulldurchgang des CD-Signals entspricht für gewöhnlich dem Maximum im Absorptionsspektrum. Rechts und links vom Nulldurchgang befinden sich gegensätzliche Signale, die als COTTON-Effekt bezeichnet werden. Mit der

Exziton-Chiralitäts-Regel kann je nach Abfolge auf die Orientierung der Chromophore zueinander geschlossen werden.

Die Betrachtung erfolgt vom langwelligeren Bereich zum kurzwelligeren Bereich. Ein negativer COTTON-Effekt beginnend, gefolgt von einem positiven COTTON-Effekt deutet auf eine linksgängige Orientierung und wird auch als negatives Couplet bezeichnet. Im umgekehrten Fall des positiven Couplets liegt eine rechtsgängige Orientierung der Chromophore vor (Abbildung 2.11).^[65] Ein zweiphasiges CD-Spektrum kann durch die exzitonische Wechselwirkung der Chromophore induziert werden.

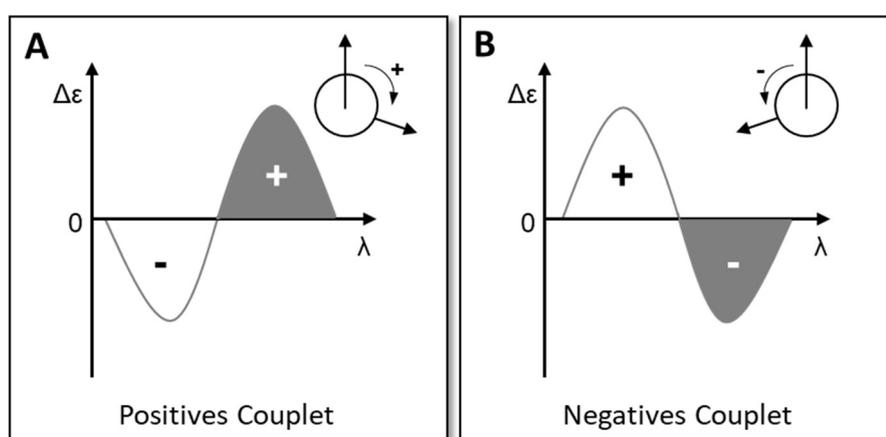


Abbildung 2.11: Schematische Darstellung der Exziton-Chiralitäts-Regel. **A:** Positives Couplet, rechtsgängige Orientierung der Chromophore. **B:** Negatives Couplet, linksgängige Orientierung der Chromophore. Die Betrachtungsrichtung ist ausgehend vom langwelligen zum kurzwelligen Bereich.

Exzitonische Wechselwirkung

Befinden sich zwei Moleküle in räumlicher Nähe können deren elektronische Übergangsdipolmomente aufgrund von Dipol-Dipol-Wechselwirkungen eine Exziton-Kopplung eingehen. Aufgrund der exzitonischen Kopplung dieser beiden Chromophore kann es zu einer DAVYDOV-Aufspaltung der angeregten Zustände kommen. Als Resultat dieser Wechselwirkung wird relativ zu dem ungestörten System ein Term höherer und ein Term niedriger Energie erhalten (Abbildung 2.12 A). Diese Aufspaltung ist abhängig vom Winkel der Übergangsdipolmomente und der Distanz zwischen den beiden Molekülen.^[66-67] Der delokalisierte, angeregte Zustand wird als Exziton bezeichnet. Eine Anregung zu den α - und β -Niveaus führt im CD-Spektrum zu einem zweiphasigen

Signal, zwei COTTON-Effekte unterschiedlichen Vorzeichens (Abbildung 2.12 B). Die Intensität des CD-Signals wird nicht nur von den Übergangsdipolmomenten beeinflusst, sondern auch vom Abstand und der Verdrehung der Chromophore (Abbildung 2.12 C).^[68]

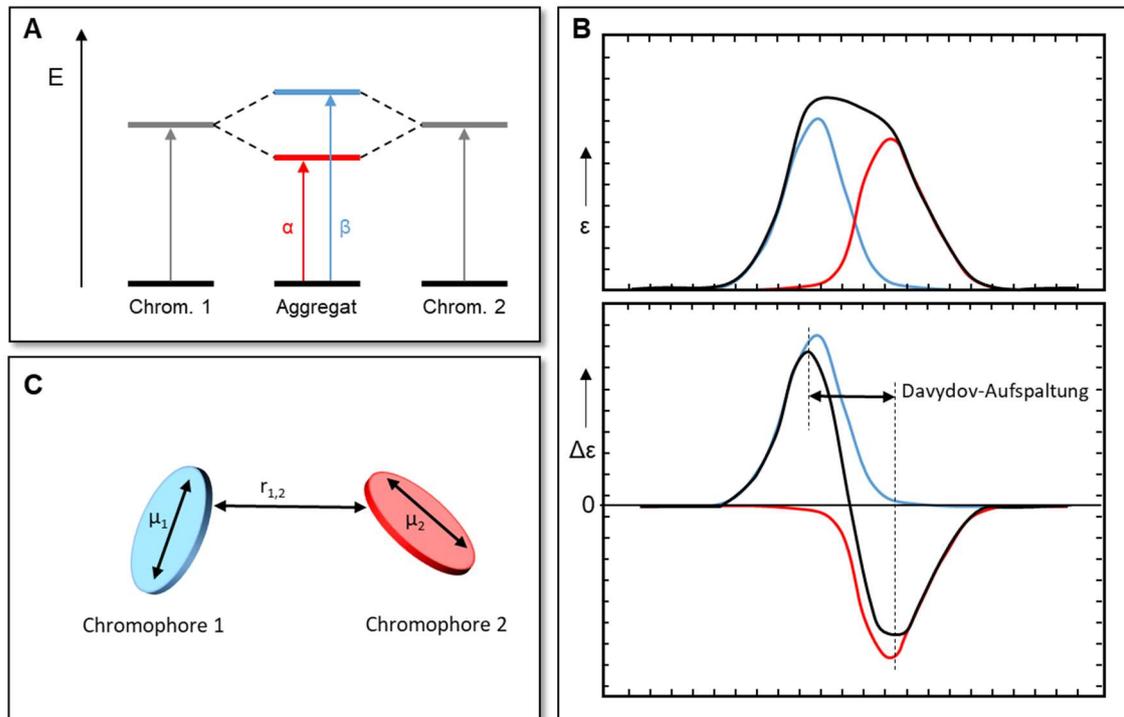


Abbildung 2.12: Schematische Darstellung der Auswirkungen der Wechselwirkung zweier Chromophore. **A:** Schematische Darstellung der DAVYDOV-Aufspaltung des angeregten Zustands zu den Zuständen α und β nach Interaktion zweier Chromophore. **B:** Darstellung der DAVYDOV-Aufspaltung im Absorptionsspektrum und dessen Auswirkung auf das CD-Spektrum. **C:** Darstellung der Orientierung der Dipolmomente der Chromophore und die Distanz $r_{1,2}$ zwischen beiden Chromophoren.

CD und DNA

Die CD-Spektroskopie wird überwiegend in der Sekundärstrukturanalyse von Polypeptiden verwendet,^[69-71] findet jedoch auch für andere Biomoleküle, wie DNA, Verwendung.^[72-74] Das CD-Signal dieser supramolekularen Gebilde ist in der Regel wesentlich höher als bei monomeren Verbindungen. In der Regel werden Referenzspektren bekannter Strukturen verwendet, um über Superposition die Struktur der unbekanntes Substanz zu ermitteln. Für Peptide gibt es umfangreiche Referenz-Datenbanken.^[75] Aber auch ohne Referenzspektrum können wichtige Eigenschaften über die Struktur abgeleitet werden. Außerdem können exzitonische Kopplungen und π -Stapel nachgewiesen werden.

Nukleobasen sind achiral, Nukleoside und Nukleotide sowie deren Derivate sind jedoch optisch aktive Verbindungen. Das CD-Signal einzelner Nukleoside oder Nukleotide ist sehr gering. Durch die Bildung von Polynukleotiden, speziell RNA oder doppelsträngige DNA, wird helikale Chiralität in das System eingeführt, wobei die helikale Achse nahezu senkrecht zu den Nukleobasen steht. In diesem Fall ändert sich das CD-Signal, aufgrund der exzitonischen Kopplung zwischen den verschiedenen $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergängen, dramatisch. Es ist faszinierend, dass viele einzelsträngige Polynukleotide mit hinreichender Länge ebenfalls in einem gewissen Ausmaß eine chirale Sekundärstruktur aufweisen und somit auch ein CD-Signal.^[76] Diese Information ist wichtig im Zusammenhang mit den Assemblierungen, die im Rahmen dieser Dissertation erarbeitet wurden. In diesen Architekturen findet die Assemblierung entlang von DNA-Einzelsträngen statt, die als Templatstruktur genutzt werden. Bindet ein achiraler Farbstoff oder Molekül an eine Nukleinsäure, wird durch die chirale Umgebung ein sogenannter induzierter Zirkulardichroismus (ICD, engl. *induced circular dichroism*) beobachtet, dessen Vorzeichen und Intensität durch die Bindungsgeometrie beeinflusst wird.^[73]

DNA-assemblierte Chromophore zeichnen sich in der Regel ebenfalls durch ein induziertes CD-Signal aus, welche von der Elliptizität abhängig ist. Mathematisch entscheidend für die Berechnung der Elliptizität ist die Rotationsstärke R . Diese kann in drei Terme untergliedert werden: die monomere Rotationsstärke (R_{mon}), die elektrisch-magnetische (R_{e-m}) und die exzitonische (R_{ex}). Dabei ist R_{mon} unabhängig von der relativen Orientierung des Dimers, wohingegen R_{em} und R_{ex} von dessen relativen Orientierung abhängen. R_{em} und R_{ex} wirken zwar mit dem gleichen Betrag, aber umgekehrten Vorzeichen auf die zwei Exzitonbanden. Für den Fall einer starken exzitonischen Kopplung wird der R_{mon} -Term vernachlässigbar klein und die beiden anderen Terme (R_{em} und R_{ex}) dominieren. Da beide ein Vorzeichenwechsel der Absorptionsbanden verursachen, entsteht ein Nulldurchgang im CD-Spektrum. Der Nulldurchgang wird häufig bei der Wellenlänge, welche dem Absorptionsmaximum entspricht, beobachtet. Im gegenteiligen Fall einer fehlenden bis schwachen Kopplung (z. B. bei Monomeren) dominiert der R_{mon} -Term, wodurch kein Nulldurchgang auftritt. Der erste Fall ist bei der Betrachtung von assemblierten Chromophoren weitaus interessanter. Hier wird eine starke exzitonische Wechselwirkung der Chromophore erwartet und somit ein zweiphasiges CD-Signal.

Emissionsbasierte polarisierte Spektroskopie

Emissionsbasierte chiroptische Spektroskopiemethoden wie fluoreszenzdetektierter Zirkulardichroismus (FDCD, engl. *fluorescent detected circular dichroism*) und Zirkular polarisierte Lumineszenz (CPL, engl. *circular polarised luminescence*) kombinieren die Vorteile von chiroptischer und der sensitiven Fluoreszenzspektroskopie, um Moleküle zu charakterisieren die sowohl chiral als auch fluoreszent sind. Sie ist daher weitaus sensitiver als die normale CD-Spektroskopie. Dabei hat die FDCD-Spektroskopie den Vorteil, dass Fluorophore in Anwesenheit von nicht-fluoreszierenden Substanzen gemessen werden können, während nur die chiroptischen Eigenschaften der fluoreszierenden Verbindung detektiert werden. So ist sie ideal geeignet, um beispielsweise die chiroptischen Eigenschaften eines Fluorophores der kovalent oder nicht-kovalent an DNA gebunden ist, ohne störendes CD-Signal der DNA zu bestimmen.^[73, 77]

In der FDCD-Spektroskopie wird die Differenz der Fluoreszenzintensitäten für links und rechts zirkular polarisierte Anregung gemessen.^[78] In der CPL-Spektroskopie stattdessen wird die Differenz der Emissionsintensität von rechts und links polarisierter Strahlung einer chiralen, fluoreszierenden Probe nach Anregung mit nicht-polarisiertem Licht gemessen (Abbildung 2.13).

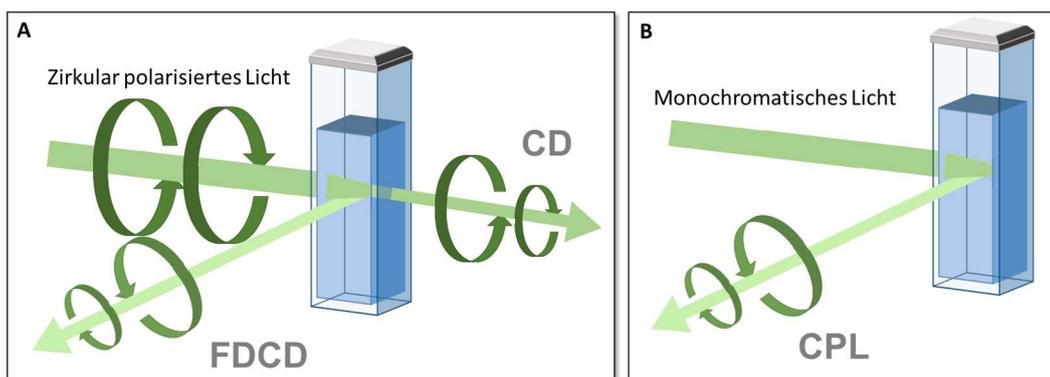


Abbildung 2.13: Schematische Darstellung des Messprinzips in der CD-, FDCD- und CPL-Spektroskopie. **A:** Die Probe wird abwechselnd mit rechts und links polarisiertem Licht bestrahlt. Chirale Verbindungen absorbieren eine davon mehr, wodurch das CD-Spektrum resultiert. Im 90°-Winkel zur CD-Spektroskopie wird das FDCD-Spektrum detektiert. **B:** Die Probe wird mit monochromatischem Licht bestrahlt und emittiert zirkular polarisiertes Licht.

Während die FDCD-Spektroskopie die Geometrie und die Eigenschaften des Grundzustandes darstellt, wird bei der CPL-Spektroskopie der niedrigste angeregte Zustand verdeutlicht. Die FDCD-Spektroskopie ist ein bereits etabliertes Verfahren zur Charakterisierung von Ligand-Makromolekül-Interaktionen. Die älteste Verwendung geht zurück in die 80er Jahre,^[79] wohingegen die CPL-Spektroskopie am Anfang steht und erste Untersuchungen an DNA erst vor einigen Jahren publiziert wurden.^[80]

2.3.4 Spektroskopische Analyse supramolekularer Chromophor-Architekturen

Die Energien der Übergänge in einem JABŁOŃSKI-Diagramm der Chromophore können sich durch intermolekulare Wechselwirkungen verändern. Dabei spielt die direkte Umgebung der Chromophore und die relative Orientierung zueinander eine entscheidende Rolle. Auch die Wahl des Lösungsmittels (polar oder unpolar) kann angeregte Zustände stabilisieren oder destabilisieren. Die Folge ist eine unterschiedliche Farbigkeit, auch Solvatochromie genannt. Diese beschreibt den Einfluss von Molekül-Lösungsmittel-Wechselwirkungen auf die Absorptions- und Emissionsspektren. Es wird zwischen speziellen und allgemeinen Wechselwirkungen unterschieden. Zu den speziellen zählen Wasserstoffbrücken oder π - π -Wechselwirkungen. Allgemeine Wechselwirkungen hängen von den Dipolmomenten des Moleküls im Grundzustand (μ_G) sowie im angeregten Zustand (μ_A) und von der Polarität des Lösungsmittels ab.

Häufig ist das Dipolmoment des Grundzustandes deutlich kleiner als des angeregten Zustandes. Die polaren Lösungsmittel orientieren sich nach der Absorption entlang des Dipolmomentes μ_A und stabilisieren so den angeregten Zustand. Je polarer das Lösungsmittel ist, umso stärker ist die Stabilisierung, wobei gleichzeitig der Grundzustand energetisch leicht angehoben wird. Die Destabilisierung des Grundzustandes hängt mit der Orientierung der Lösungsmittelmoleküle zusammen. Unmittelbar nach der Emission entspricht dieser der Orientierung des angeregten Zustandes. Die Energiedifferenz zwischen den beiden Zuständen wird damit klein und die Emission verschiebt sich bathochrom. Dieser beschriebene Prozess wird positive Solvatochromie genannt.

Neben der positiven Solvatochromie, die im Emissionsspektrum sichtbar wird, wird die negative Solvatochromie im Absorptionsspektrum beobachtet. Ist das Dipolmoment im Grundzustand deutlich größer als im angeregten Zustand, wird der Grundzustand in polaren Lösungsmitteln stärker stabilisiert. Gleichzeitig wird der angeregte Zustand destabilisiert. Beide Effekte führen zu einer höheren Energiedifferenz zwischen Grund- und angeregtem Zustand mit steigender Lösungsmittelpolarität. Dies wird in einer hypsochromen Verschiebung des Absorptionsmaximums mit zunehmender Polarität des Lösungsmittels sichtbar. Die Solvatochromie spielt im Rahmen der vorliegenden Arbeit eine entscheidende Rolle bei den verwendeten Chromophoren Nilrot und Dicyanodistilben.

Überwiegen die Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren in einer energetisch ungünstigen Umgebung, kommt es zu einer ungerichteten Aggregation. Bei einer bestimmten Größe der Aggregate fallen diese als Feststoff aus. Sie können jedoch auch, beispielsweise als Kolloide, in Lösung gehalten werden. Das spektroskopische Verhalten dieser unterscheidet sich deutlich von dem Monomer-Verhalten. Die breite Verteilung der Partikelgrößen und Orientierungen führt zu einer Verbreiterung und zunehmenden „Unschärfe“ des Spektrums. Die steigende Streuung aufgrund der steigenden Partikelgröße führt zu einer Erhöhung der Grundlinie. In supramolekularen Assemblierungen wird für gewöhnlich auch eine Abweichung der spektroskopischen Eigenschaften von den Monomeren erwartet. Diese unterscheiden sich jedoch für die gerichteten Aggregate deutlich von den zuvor erwähnten, ungerichteten Aggregaten. Die Nahordnung in den supramolekularen Systemen wirkt auf alle Chromophore nahezu gleich, wodurch erneut ein „scharfes“ Spektrum, jedoch mit Veränderung der Feinstruktur im Vergleich zu den Monomeren entsteht.

In Hinblick auf die Themenstellung der vorliegenden Arbeit ist das Absorptionsverhalten verschiedener gerichteter Aggregate entscheidend. Die Bildung von Aggregaten wird meist durch π - π -Wechselwirkungen zwischen planaren Molekülen, van-der-Waals-Wechselwirkungen und anderen intermolekularen Wechselwirkungen oder Kräften angetrieben. Abhängigkeit von der Geometrie der Aggregate wird zwischen H-Typ (Sandwich) und J-Typ (Kopf-zu-Schwanz) Aggregaten unterschieden. Laut dem von KASHA und MCRAE formulierten Exzitation-Modell unterscheiden sich diese stark in ihren

optischen Eigenschaften.^[81-82] Der Buchstabe „J“ in J-Aggregaten steht für den Wissenschaftler JELLEY, der sich als erster mit dieser Absorptionsverschiebung befasst hatte.^[83] Die H-Aggregate werden aufgrund der H-Bande, angelehnt an hypsochrom, benannt.

Die Absorption der H-Aggregate ist blauverschoben im Vergleich zur Monomerabsorption. Diese Aggregate sind für gewöhnlich nicht-fluoreszierend. Der nicht-emittierende Charakter wird durch den niedrigeren Exziton-Zustand (antiparallele Übergangsdipolmomente) mit verbotenem Übergang in den molekularen Grundzustand begründet. Obwohl der höhere Exziton-Zustand (paralleler Übergangsdipolmoment) besetzt ist, findet durch den direkten Absorptionsprozess ein schneller IC statt, wodurch schließlich der untere Exziton-Zustand besetzt ist (Abbildung 2.14 A).

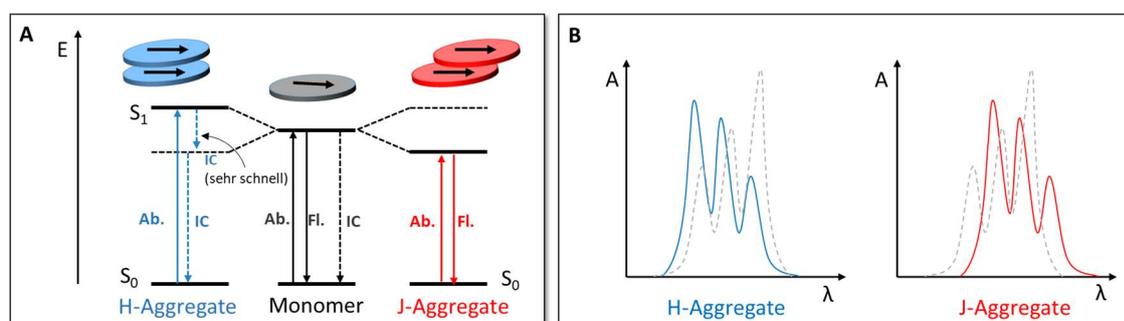


Abbildung 2.14: Schematische Darstellung der Energieniveaus bei H- und J-Aggregaten (A) und Auswirkungen auf die Absorptionsspektren (B). Die Monomerabsorption ist grau gestrichelt dargestellt.

Im Gegenteil ist das Absorptionsmaximum der J-Aggregate relativ zur Monomerabsorption rotverschoben (Abbildung 2.14 B). Die Fluoreszenz fällt zum Teil sogar höher aus als die Monomer-Fluoreszenz.^[84] H-Aggregate bilden sich häufig im Falle von planaren organischen Farbstoffen, wohingegen J-Aggregate nur in ausgewählten Fällen beobachtet werden.^[85] Durch die Assemblierung von Chromophoren entlang von DNA-Templaten entsteht eine Nahordnung, die sowohl H- als auch J-Aggregate induzieren kann.

2.3.5 FÖRSTER-Resonanz-Energietransfer

Der effiziente Transport von Energie spielt eine wichtige Rolle bei der Entwicklung neuer optoelektronischer Materialien. Ein strahlungsloser Energietransfer, in der die Energie des angeregten Zustandes eines Donors auf den Grundzustand eines Akzeptors übertragen wird, findet durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen bei einem Abstand bis zu 10 nm statt. Dabei ist es erforderlich, dass das Emissionsspektrum des Donors mit dem Absorptionsspektrum des Akzeptors überlappt und somit das Überlappungsintegral $J(\lambda)$ nicht null ist. Mehrere vibronische Übergänge des Donors haben in diesem Fall praktisch dieselbe Energie, wie die korrespondierenden Übergänge beim Akzeptor. Solche Übergänge sind gekoppelt. THEODOR FÖRSTER^[86] postulierte 1946 erstmals diesen Resonanz-Energietransfer (RET), weshalb dieser auch FÖRSTER-Resonanz-Energietransfer (FRET) genannt wird. Die FRET-Effizienz E ist gegeben durch folgende Formel:

$$E = \frac{1}{1 + \left(\frac{R}{R_0}\right)^6} \quad [5]$$

R steht für die Distanz zwischen Donor und Akzeptor. R_0 hingegen steht für die Distanz in der $E = 0.5$ ist. Diese Distanz ist als FÖRSTER-Radius bekannt. Wie an Formel 5 zu erkennen, ist die Effizienz des Energietransfers abhängig von der Distanz. Der FÖRSTER-Radius kann durch folgenden Ausdruck beschrieben werden:

$$R_0 = \left(\frac{8.79 \cdot 10^{23} \cdot \kappa^2 \cdot \Phi_D \cdot J(\lambda)}{n^4} \right)^{\frac{1}{6}} [\text{Å}] \quad [6]$$

wobei $J(\lambda)$ das spektrale Überlappungsintegral, n den Brechungsindex des Lösungsmittels, Φ_D die Quantenausbeute des Donors und κ^2 den Orientierungsfaktor widerspiegelt. Der Orientierungsfaktor κ^2 beschreibt die relative Orientierung des Donor-Dipolmomentes zum Dipolmoment des Akzeptors. Für den Fall von freibeweglichen Chromophoren kann dieser als 2/3 angenommen werden.

FRET und DNA

Die Bestimmung von Distanzen über den FRET-Mechanismus ist eine sehr geläufige Methode in der Biochemie, daher wird sie häufig auch als molekulares Lineal bezeichnet.

Obwohl der FRET-Mechanismus schon in den späten 1940ern von THEODOR FÖRSTER^[86-87] aufgeklärt wurde, wurden FRET-basierte DNA-Anwendungen erstmals in den frühen 1990er Jahren publiziert.^[88-90] Der Energietransfer basiert auf der Tatsache, dass ein angeregter Farbstoff (Donor) die Energie, ohne Emission eines Photons, auf ein anderes Molekül (Akzeptor) über Dipol-Dipol-Wechselwirkungen übertragen kann. Als Resultat wird die Donorfluoreszenz gelöscht und die Fluoreszenz des Akzeptors steigt. Neben der Donorfluoreszenz nimmt auch dessen Fluoreszenzlebenszeit und Fluoreszenzquantenausbeute ab. Die Effizienz dieses Energietransfers ist dabei stark abhängig von der Distanz der beiden Farbstoffe. So können Donor-Akzeptor-Abstände von 20 bis 100 Å gemessen werden.

Es gibt jedoch zwei entscheidende Probleme bei quantitativen FRET-Messungen an Oligonukleotiden. Die Fluorophore sind für gewöhnlich über lange Linker (z. B. C₆-Linker) an die DNA gebunden. Die Gesamtlänge vom Anknüpfungspunkt an der DNA bis zu der Mitte des Chromophors beträgt ca. 20 Å, wodurch die Distanzbestimmung in einer gewissen Ungenauigkeit mündet.^[91] Dieser Effekt und die damit verbundenen Probleme sind weitestgehend bekannt.^[92-93]

Außerdem hängt die FRET-Effizienz nicht nur von der Distanz der beiden Chromophore ab, sondern auch von der relativen Orientierung der Übergangsdipole, welche durch den Orientierungsfaktor κ^2 ausgedrückt wird. Dieser kann Werte zwischen $\kappa^2 = 0$ und 4 annehmen und hat einen starken Einfluss auf die gemessenen FRET-Effizienzen. Nur im idealen Fall von frei beweglichen Chromophoren kann die geläufige Annahme von $\kappa^2 = 2/3$ getroffen werden. Der Orientierungsfaktor κ^2 und somit die Donor-Akzeptor-Distanz können durch Dipol-Diffusion und Neuorientierung der Chromophore stark beeinflusst werden. Zusätzlich können Wechselwirkungen zwischen Farbstoff und DNA nicht nur die Position des Chromophors, sondern auch dessen Orientierung sowie die photophysikalischen Eigenschaften beeinflussen. Zu diesen Wechselwirkungen zählen elektrostatische Interaktion mit dem negativ geladenen Rückgrat der DNA sowie Interkalation der Farbstoffe in den Basenstapel oder in eine der DNA-Furchen. Diese wirken sich direkt auf den FÖRSTER-Radius aus.^[94]

Beispiele hierfür sind geladene Farbstoffe. Das positiv geladene Rhodamin und dessen Derivate interagieren durch elektrostatische Anziehung stark mit dem negativ geladenen DNA-Rückgrat. So konnten NEUBAUER *et al.* zeigen, dass endständig verknüpftes *Rhodamin 6G* mehrere Konformationen besitzt und schlugen unterschiedliche Löschungskinetiken für die verschiedenen Zustände vor,^[95] wohingegen der negativ geladene Farbstoff *Fluorescein* vom DNA-Rückgrat abgestoßen wird und sich so nahezu willkürlich orientieren kann, was durch die Fluoreszenz-Anisotropie des Farbstoffes gezeigt werden konnte.^[96]

Es gibt verschiedene Ansätze, um diese Probleme zu lösen. Beispielsweise können die Farbstoff- und Linker-Bewegungen modelliert und so die Position des Farbstoffs auf ein bestimmtes Volumen eingegrenzt werden.^[97-98] Dies ist jedoch nur in einer genau definierten Farbstoff-Umgebung, zum Beispiel in doppelsträngiger DNA, möglich. In vielen anderen Biomolekülen, z. B. bei komplexen RNA-Strukturen, ist die lokale Struktur unbekannt und die Berechnung somit unmöglich. Ein weiterer Ansatz, die Positionsungewissheit des Chromophors zu minimieren, ist Fluorophore kovalent direkt an die Enden der DNA-Duplexe zu knüpfen^[99] oder das Ersetzen von Nukleobasen durch fluoreszierende Analoga.^[100] Diese Ansätze jedoch schränken die Bewegung der Chromophore stark ein, wodurch κ^2 nicht mehr als 2/3 angenommen werden kann.

Obwohl sich FRET bereits als molekulares Lineal in der Biochemie etabliert hat, gibt es bislang nur wenige Untersuchungen zur Orientierungsabhängigkeit des FRET-Mechanismus. ASANUMA *et al.* untersuchten diese Orientierungsabhängigkeit, indem Akzeptor und Donor über einen D-Threoninol-Linker in DNA eingeführt wurden. Zuvor konnten bereits WILHELMSSON *et al.* ähnliche Resultate zeigen.^[101] Als Donor-Akzeptor Paar wurde Pyren und Perylen genutzt. Die starke Stapelwechselwirkung zwischen den interkalierten Farbstoffen und die natürlichen Basenpaare unterdrücken die Beweglichkeit der Farbstoffe und zwingen sie in der Doppelhelix in eine bestimmte Position. Die Distanz und die Orientierung der Chromophore wurde durch die Anzahl der AT-Paare ($n = 1-21$) zwischen den Farbstoffen kontrolliert. Dabei zeigte sich, dass die FRET-Effizienz nicht linear mit der Anzahl der eingefügten AT-Paare sank, sondern alle 5 Basenpaare ($n = 8, 13$ und 18) sprunghaft abfiel, übereinstimmend mit einer halben Umdrehung in einer B-Typ Helix (Abbildung 2.15). So war es ihnen möglich mit Hilfe der

FRET-Effizienz die Orientierung der beiden Chromophore Pyren und Perylen zu bestimmen.^[102]

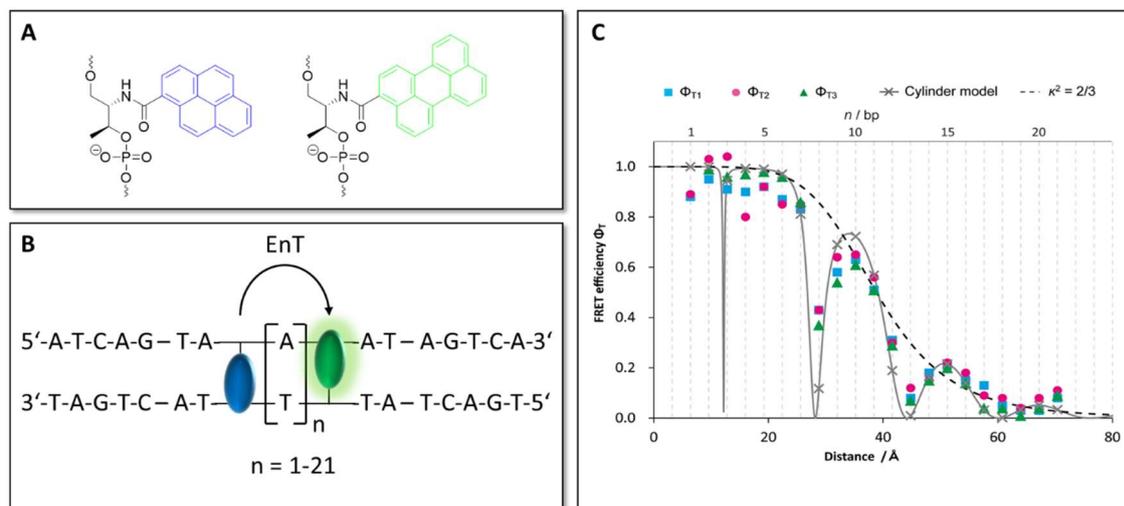


Abbildung 2.15: Untersuchung der Distanz- und Orientierungsabhängigkeit des FRETs in DNA von ASANUMA *et al.*^[102]. **A:** Struktur des verwendeten Linkers (D-Threosinol) und des Akzeptor-Donor-Paares (Pyren und Perylen). **B:** Darstellung der verwendeten DNA-Sequenz. Die Anzahl der AT-Basenpaare zwischen Pyren (blau) und Perylen (grün) wurden variiert. **C:** Vergleich der FRET-Effizienzen erhalten über die Fluoreszenzmessungen (Φ_{T1} : blaue Quadrate, Φ_{T2} : pinke Kreise) und der Fluoreszenzlebenszeitmessungen (Φ_{T3} : grüne Dreiecke) mit theoretischen Werten des zylindrischen Modells. Reprinted with permission from ^[102]. Copyright 2013 American Chemical Society.

2.4 Aggregationsinduzierte Emission (AIE)

Konventionelle Fluorophore zeigen bei hohen Konzentrationen oder im Feststoff aufgrund von π - π -Stapelwechselwirkungen eine Reduktion ihrer Fluoreszenz bzw. eine komplette Löschung. Dieses Phänomen ist als ACQ (engl. *aggregation caused quenching*) bekannt (Abbildung 2.16 A). Für technische Anwendungen, insbesondere OLEDs, sind Fluorophore mit einer starken Fluoreszenz im aggregierten Zustand oder in der Festphase entscheidend. Aber auch in wässrigen Systemen, wie bei der Assemblierung entlang von DNA-Templatstrukturen, sind diese von großer Bedeutung. In wässriger Lösung neigen konventionelle Chromophore zu ACQ, die bei den benötigten Fluoreszenzsystemen unterbunden werden sollte. Seit der zufälligen Entdeckung der sehr effizienten aggregationsinduzierten Emission (AIE, engl. *aggregation induced emission*) im Jahre 2001

durch TANG *et al.*^[103] ist ein enormer Anstieg der Zahl der Publikationen und Anwendungen zu diesen neuartigen Fluorophoren zu verzeichnen (Abbildung 2.16 B).

Die Arbeitsgruppe um TANG beschrieb das ungewöhnliche Verhalten des propellerförmigen 1-Methyl-1,2,3,4,5-pentaphenylsilols, welches in Lösung nicht emittierte, jedoch in aggregierter Form oder im Feststoff eine starke Fluoreszenz aufwies (Abbildung 2.16 C). Nachfolgende theoretische und experimentelle Untersuchungen legen nahe, dass die Fluoreszenzerhöhung aus der Einschränkung der intermolekularen Rotation (RIR, engl. *restriction of intramolecular rotation*) in der aggregierten Form rührt.

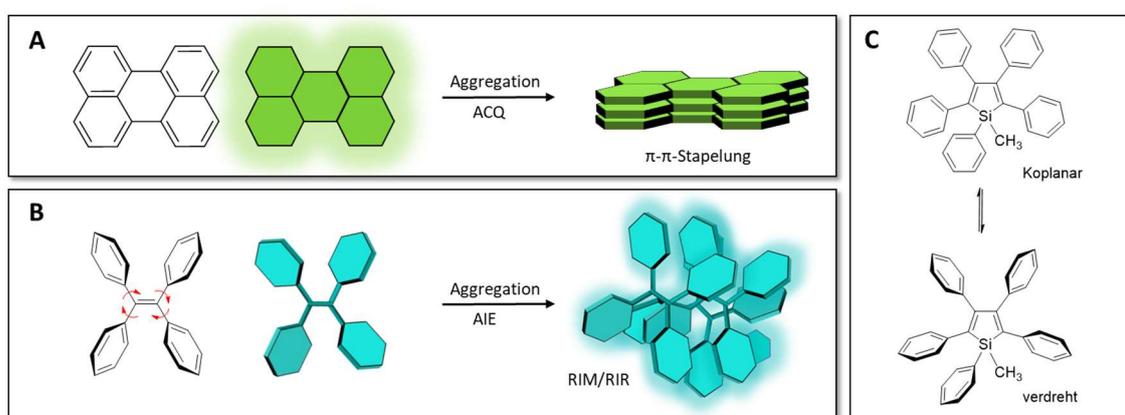


Abbildung 2.16: Veranschaulichung des ACQ- sowie AIE-Effekts in der festen Phase. **A:** ACQ von Perylen in fester Phase aufgrund der π - π -Stapelung. **B:** AIE-Effekt des TPE-Moleküls in fester Phase aufgrund des RIR-Mechanismus. Propellerartige Struktur des TPEs. Die roten Pfeile deuten die Rotation der Phenylringe in Lösung an. **C:** Struktur des 1-Methyl-1,2,3,4,5-pentaphenylsilols.

In Lösung jedoch wird der angeregte Zustand durch die intramolekulare Rotation der Phenylringe um die C-C Bindung strahlungslos in den Grundzustand abgesenkt. Dieser RIR-Mechanismus ist im aggregierten Zustand blockiert und eröffnet so den Pfad zur Strahlungsrelaxation und führt so zu einer Emissionsverstärkung. Der RIR-Mechanismus ist für Silol-Derivate gut untersucht, jedoch stellt deren Synthese und Modifikation eine Herausforderung dar. Daher rückten AIE-Chromophore, vor allem Tetraphenylethylene (TPE) und dessen Derivate, immer mehr in den Vordergrund der aktuellen Forschung. Diese sind synthetisch einfach zugänglich, leicht zu modifizieren, thermisch stabil und besitzen hohe Fluoreszenzquantenausbeuten.^[104]

2.4.1 Tetraphenylethylen (TPE)

Unter vielen Luminophoren besticht TPE mit seiner einfachen molekularen Struktur und besitzt dabei einen ausgeprägten AIE-Effekt. Wie aus Kristallstrukturanalysen hervorgeht, sind die vier Phenylringe um $\sim 50^\circ$ zu der zentralen Alkenebene verdreht. Diese propellerartige Konformation des Chromophors verhindert effektiv die direkte π - π -Stapelung. Zwischen den Wasserstoffatomen der Phenylringe und den π -Elektronen der Phenylringe eines benachbarten TPE-Moleküls bilden sich diverse C-H \cdots π -Wasserstoffbrücken aus. Diese Wasserstoffbrückenbindungen blockieren und versteifen die molekulare Konformation weiter. All diese Effekte zusammen führen zu einer sehr hohen Emission des TPEs im aggregierten Zustand.^[105]

TPE und DNA

Einfache und zuverlässige Fluoreszenzmethoden zur Nukleinsäure-Detektion sind von großer Bedeutung für Biosensor-Technologien,^[106] aber auch für funktionale Materialien basierend auf DNA-Architekturen.^[107] Es wurde bereits ein weites Spektrum an Farbstoffen in DNA eingebracht. Diese zeichnen sich durch vielfältige photophysikalische Effekte, wie Exziplex-Bildung,^[108] H- und J-Aggregate^[109-110] und andere einzigartige optische und chirale Eigenschaften^[111-113] dieser DNA-Konstrukte aus. In den letzten Jahren zeigten immer mehr dieser Farbstoffe auch AIE-Eigenschaften, wobei TPE besonders hervorstach. Die Wechselwirkung dieser AIE-Farbstoffe mit DNA,^[114] Proteinen^[115] und anderen biologischen Systemen^[116] wurden bereits untersucht.

Einen kovalenten Ansatz zur Inkorporation des TPE-Fluorophors in DNA zeigte die Arbeitsgruppe um HÄNER.^[117] Sie synthetisierten DNA-Stränge, in denen TPE über Acetylenbrücken ein komplettes Nukleotid ersetzte. Über die Bildung einer Doppelhelix konnte so die Aggregation der TPE-Moleküle induziert und somit die Emission über den AIE-Mechanismus kontrolliert werden. Mit diesem Ansatz konnte ein bis zu 10-facher Anstieg in der Fluoreszenz der Doppelhelix im Vergleich zum Einzelstrang erreicht werden. So konnte das TPE-Molekül zur Doppelstrang-Detektion genutzt werden.

Die kovalente Markierung von Oligonukleotiden birgt einige Nachteile, wie zuvor ausführlich erläutert. DNA-Markierungen, welche auf nicht-kovalenten Wechselwirkungen (Interkalation, elektrostatische Wechselwirkungen sowie Furchenbindung) basieren, wurden umfangreich erforscht. Einige erfolgreiche Interkalations- und furchenbindende Farbstoffe, eingeschlossen Ethidiumbromid,^[43] *SYBR Green I*,^[44] *TOTO-3*,^[45] *Hoechst 33258*^[46] und *DAPI*^[46] wurden bereits zur Doppelstrang-Nukleinsäure-Detektion eingesetzt.^[47] Diese Farbstoffe zeichnen sich durch eine starke Fluoreszenzerhöhung nach Interaktion mit der DNA aus und werden daher auch häufig als „*light-up*“-Farbstoffe bezeichnet. Jedoch stehen diese, wie das häufig verwendete Ethidiumbromid, im Verdacht, stark mutagen und kanzerogen zu sein. Alternativen wie die *SYBR*-basierten Farbstoffe müssen aufgrund ihrer Lipophilie in org. Lösungsmitteln, wie DMSO, gelöst werden. DMSO ist bekannt, die Hautbarriere sehr leicht zu durchbrechen und als Transportvermittler gelöste Substanzen mit durch die Hautbarriere zu schleusen.^[118] Eine sichere Alternative wäre von großer Bedeutung. TPE-basierte Chromophore haben durch ihren AIE-Charakter und der relativ einfachen Synthese und Funktionalisierung viel Aufmerksamkeit erweckt. Das Fluoreszenzsignal zeigt aufgrund des RIR-Mechanismus nach der Bindung an ein Biomakromolekül ebenfalls einen „*turn up*“-Effekt. Durch die Wahl der Substituenten kann nahezu jede benötigte Farbe des sichtbaren Bereichs erzielt werden.^[119] Außerdem zeichnen sich TPE-Derivate durch eine hohe STOKES-Verschiebung von über 100 nm aus, wodurch störende Interferenzen zwischen Anregungslicht und detektiertem Fluoreszenzsignal sehr gering sind. Außerdem kann mit Hilfe von geladenen Substituenten die Löslichkeit in Wasser verbessert werden, was zur Anwendung in biologischen Problemstellungen von enormem Vorteil ist.^[120-121]

Diese Vorteile nutzt die Arbeitsgruppe um ZHENG.^[122] Ihnen ist es 2020 gelungen, einen DNA-Sensor zu synthetisieren, der durch nicht-kovalente Interaktion an DNA bindet und so die zeitaufwändige, kovalente Markierung überflüssig macht. Hierzu wurde die Eigenschaft einer starken Fluoreszenzsteigerung der TPE-Derivate durch Einschränkung der Rotation der Phenylringe genutzt. So wird die Anregungsenergie durch einen strahlenden Übergang anstelle von Rotationswärme abgegeben. Dazu wurde ein positiv geladenes TPE-Derivat synthetisiert, das in der Lage war mit dem negativ geladenen

Rückgrat der DNA elektrostatisch zu wechselwirken. Dabei wurde die Rotation der Phenylringe durch die Bindung an die DNA auf der einen Seite und durch die Verbindung zweier Phenylringe durch einen Kronenether jeweils in *cis*- bzw. *geminal*-Lage auf der anderen Seite blockiert (Abbildung 2.17 A). Es zeigte sich, dass in *cis*-Lage die Rotation der Phenylringe stärker bei Bindung an die DNA blockiert ist und somit eine starke Fluoreszenz und sogar ein schwaches CPL-Signal beobachtet werden konnte (Abbildung 2.17 B).

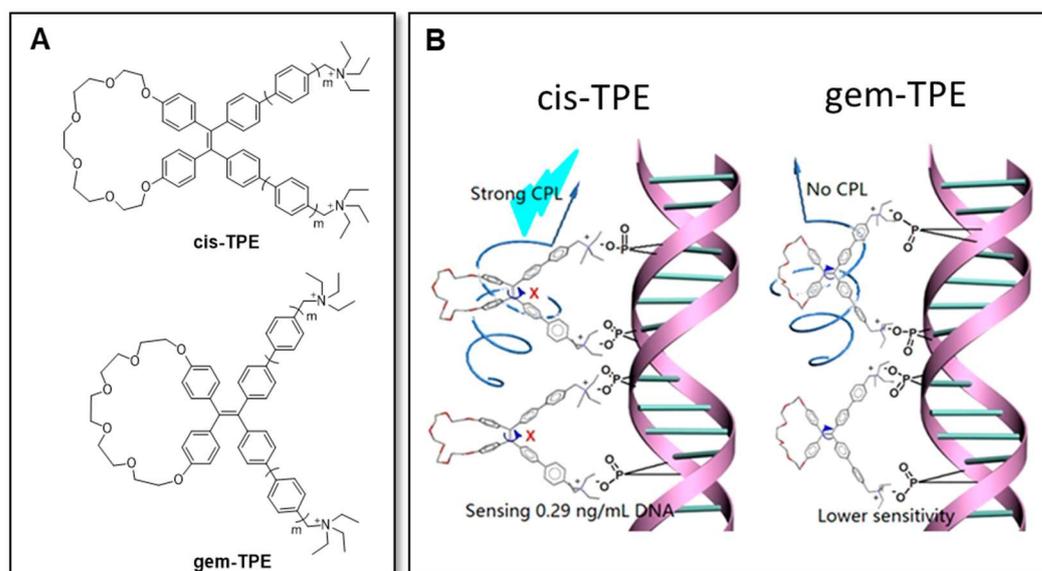


Abbildung 2.17: A: Struktur der beiden von ZHENG *et al.*^[122] synthetisierten TPE-Derivate zur DNA-Detektion. B: Darstellung der Bindung der synthetisierten TPE-Derivate an DNA. Reprinted with permission from ^[122]. Copyright 2020, American Chemical Society.

2.4.2 Dicyanodistilbene

Trans-1,4-Distyrylbenzol (DSB) ist ein typischer ACQ-Farbstoff.^[123] Durch Einführung von Cyano-Substituenten an die Vinyl-Einheiten konnten OELKRUG und HANACK den AIE-Charakter des erhaltenen Moleküls nachweisen (Abbildung 2.18 A).^[124]

Dicyanodistilbene (CDS) sind nur schwach fluoreszierend in Lösung. Die molekulare Struktur, berechnet über quantenchemische Berechnungen, deutet aufgrund der sterischen Hinderung der Cyano-Gruppen auf eine verdrehte Konformation im Monomer hin.^[125]

Nach Aggregation wird eine starke aggregationsinduzierte Emission beobachtet. Einkristall-Röntgenstrukturanalysen zeigen eine fischgrätenmusterartige Anordnung auf

in der die drei Phenylringe nahezu planar zueinanderstehen (Abbildung 2.18 B).^[125] Im aggregierten Zustand zwingen die zwischenmolekularen Kräfte das CDS in die planare Konformation, wodurch die Vibration und Rotation um die flexible Bindung eingeschränkt ist. Durch die Planarisierung im Aggregat entstehen J-Aggregate, welche zu einer Fluoreszenzerhöhung führen.^[126] Somit wird die AIE-Eigenschaft des CDS nicht nur durch den RIR-Mechanismus, sondern auch zu einem großen Teil durch die Planarisierung geprägt. Dieser AIE-Chromophor wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit gewählt, da durch die Planarisierung die Assemblierung entlang DNA-Templaten mit hoher Besetzungszahl möglich sein sollte.

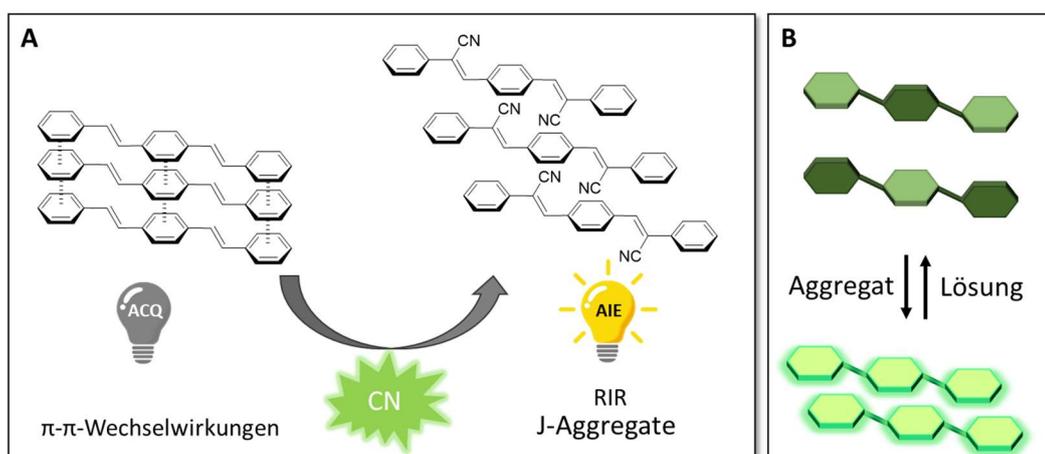


Abbildung 2.18: **A:** Demonstration des ACQ-Effekts durch die π - π -Stapelung des Distyrylbenzols (DSB) im aggregierten Zustand. Durch Einführung von Cyano-Substituenten, werden J-Aggregate gebildet, die zu einer Fluoreszenzsteigerung führen. **B:** Durch die gezwungene Planarisierung des CDS-Chromophors und des RIR-Mechanismus im aggregierten Zustand wird eine gesteigerte Fluoreszenz (AIE) beobachtet.

Die Funktionalisierung der Vinyl-Einheit mit Cyano-Gruppen kann sowohl in α - als auch in β -Position erfolgen, wodurch zwischen α -CDS und β -CDS unterschieden werden kann. Die Absorption und Fluoreszenz dieser beiden Verbindungen sind im Vergleich zur Ausgangsverbindung (DSB) rotverschoben, wobei diese Verschiebung bei β -CDS größer ausfällt. Dies kann durch die verbesserte Resonanzstabilisierung erklärt werden.^[127]

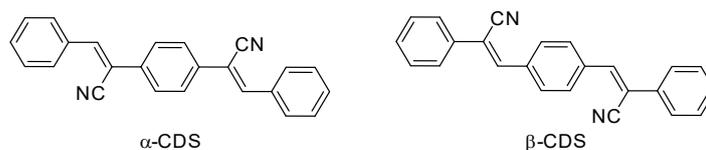


Abbildung 2.19: Chemische Struktur der cyanomodifizierten Distilbene α -CDS und β -CDS.

2.5 Organische Lichtdioden (OLED)

Organische Leuchtdioden (OLED, engl. *organic light emitting diode*) sind zu einer sehr beliebten Bildschirm-Technologie geworden. OLED-Bildschirme besitzen im Gegensatz zu herkömmlichen Flüssigkristallbildschirmen (LCD, engl. *liquid crystal display*) einen sehr hohen Kontrast, da sie ohne Hintergrundbeleuchtung funktionieren. Dadurch sind OLEDs effizienter als vergleichbare Bildschirmtechnologien. Durch ihren geringen Energiebedarf können OLEDs gut in kleinen, tragbaren Geräten verwendet werden.

OLEDs sind aus mehreren Schichten aufgebaut, wobei mindestens eine aus einer organischen, lichtemittierenden Schicht besteht. Diese befindet sich zwischen zwei Elektroden. Seit einigen Jahren ist die zirkular polarisierte Lumineszenz im Gespräch für 3D-Bildschirme, wodurch das Hauptaugenmerk in der Forschung auf zirkular polarisierten OLEDs (CP-OLEDs, engl. *circular polarised organic light emitting diode*) liegt. Hierzu werden chirale, organische Chromophore mit einer hohen Fluoreszenz in der festen Phase benötigt.^[128] Zum jetzigen Zeitpunkt gibt es nur sehr wenige Publikationen zu chiralen AIE-Chromophoren in CP-OLEDs.^[129] Um diese Technologie weiter voranzubringen, kosteneffektiver und wettbewerbsstark zu machen, werden außerordentlich stabile, effiziente und rein blau, grün oder rot emittierende Materialien benötigt. Während unzählige rote und grüne Fluorophore entwickelt und synthetisiert wurden, welche ausgezeichnete Elektrolumineszenzen aufwiesen,^[130-132] fehlen immer noch blaue Hochleistungsemitter. Bis heute zeigen die blauen Emitter in OLEDs die mit Abstand geringste Lebensdauer, wodurch die Lebensdauer der OLEDs durch diese begrenzt ist. Klassische blaue Fluorophore wie Anthracen- oder Pyren-Derivate sind durch eine hohe Fluoreszenz in verdünnter Lösung gekennzeichnet, zeigen jedoch in konzentrierter Lösung oder als Feststoff, wie in dünnen Filmen der OLEDs, nahezu keine Fluoreszenz mehr. Um dieses Problem zu umgehen, werden immer häufiger AIE-Chromophore verwendet. TPE-basierte AIE-Chromophore eignen sich hierfür ideal und wurden auch im Rahmen dieser Arbeit für OLED-Anwendungen verwendet.

3 Kontrolle der helikalen Orientierung

Die gezielte Steuerung der helikalen Chiralität stellt einen wichtigen Schritt zur Darstellung von Chromophorsystemen mit interessanten und einzigartigen Eigenschaften dar. Für technische Anwendungen, insbesondere OLEDs, sind Chromophore mit einer hohen Fluoreszenzquantenausbeute in aggregierter Form oder als Feststoff entscheidend.^[130-132] Die sequenzselektive Assemblierung von Pyren,^[6, 10] Perylen^[10-11] und Nilrot^[6-7] als modifizierte 2'-Desoxynukleoside entlang einzelsträngiger DNA zeigte überwiegend ACQ. AIE-Eigenschaften könnten die Bedeutung dieser DNA-basierten Materialien für optoelektronische Anwendungen (wie OLEDs) stark erhöhen.

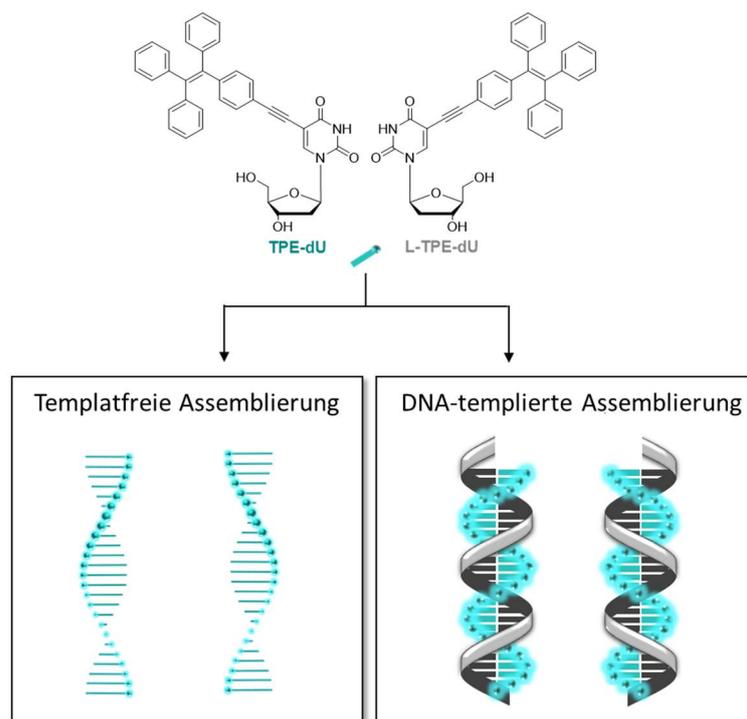


Abbildung 3.1: Beispielhafte Illustration der templatfreien und DNA-templierten Assemblierung der TPE-modifizierten Nucleoside **TPE-dU** und **L-TPE-dU**.

Daher wird im Folgenden das TPE-modifizierte 2'-Desoxyuridin **TPE-dU** als interessanter Kandidat für supramolekulare Chromophor-Architekturen vorgestellt. Dabei soll vorwiegend auf die templierten bzw. untemplierten Assemblierungen von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** zur Kontrolle der helikalen Chiralität eingegangen werden (Abbildung 3.1).

3.1 Synthese

Wie bereits in Kapitel 2.2.2 erwähnt, führt eine Ethinyl-Verbrückung zwischen Chromophor und Nukleobase zu den besten Anlagerungsergebnissen.^[11] Daher wurde TPE über einen Acetylenlinker an die 5-Position des 2'-Desoxyuridins geknüpft. Dies sorgt dafür, dass Chromophore in die große Furche der DNA ragen. Große Chromophore finden hier genügend Platz und stören die Doppelhelix der DNA kaum.^[133] Als Grundgerüst wurde 2'-Desoxyuridin aufgrund der einfachen synthetischen Modifizierbarkeit gegenüber anderen Nukleosiden bevorzugt.

Die Syntheseroute des **TPE-dU** ist in Abbildung 3.2 dargestellt. Zu Beginn wurde das alkinmodifizierte TPE **7** hergestellt, um anschließend als Substrat für die geplante SONOGASHIRA-Reaktion zu dienen. Hierzu wurde, anhand einer Publikation von WANG *et al.*^[134], Diphenylmethan (**2**) mit 4-Brombenzophenon (**3**) zum tertiären Alkohol **4** umgesetzt. Im Anschluss wurde **4** dehydratisiert, wodurch bromsubstituiertes TPE **5** erhalten wurde. Der Ethinyl-Linker wurde mithilfe einer SONOGASHIRA-Kupplung eingeführt. Anschließend wurde die TMS-Schutzgruppe abgespalten und nach säulenchromatographischer Aufreinigung konnte Verbindung **7** in quantitativer Ausbeute erhalten werden, was gut mit der Literatur übereinstimmt.^[134]

Im letzten Syntheseschritt wurde das TPE-Acetylen **7** mit kommerziell erhältlichem 5-Iod-D-desoxyuridin (I-dU) **8** in einer SONOGASHIRA-Reaktion umgesetzt. Das gewünschte **TPE-dU** konnte in einer Gesamtausbeute von 34 % über fünf Stufen erhalten werden.

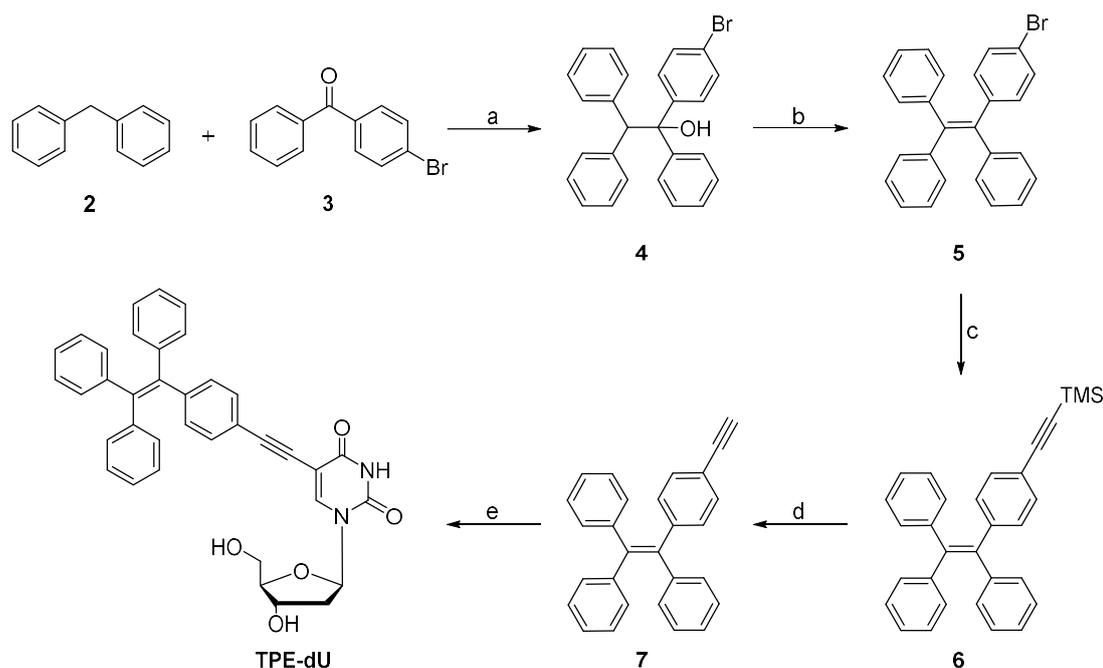


Abbildung 3.2: Syntheseübersicht zur Darstellung des **TPE-dUs**. a) *n*-BuLi, THF, 0 °C-RT, 6 h; b) PTSA, Toluol, 110 °C, 4 h, 68 % (über zwei Stufen); c) TMS-Acetylen, PdCl₂(PPh₃)₂, CuI, PPh₃, THF/Et₃N, 60 °C, 19 h, 84 %; d) KOH, THF, MeOH, RT, 19 h, quant.; e) I-dU, Pd(PPh₃)₄, CuI, DMF, Et₃N, 60 °C, 19 h, 60 %.

Für die SONOGASHIRA-Reaktion wurden Pd(PPh₃)₄ und Kupfer(I)iodid als Katalysatoren eingesetzt. Die Zugabe von CuI erhöht die Reaktivität des Systems und damit auch die Ausbeute. Jedoch können sich ungewünschte Homokupplungs-Produkte durch die GLASER-Reaktion^[135] bilden. Dies kann jedoch durch den Ausschluss von Sauerstoff und der Zugabe von Triethylamin (TEA) effektiv unterdrückt werden.^[136]

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte der Einfluss der Zuckerkonformation auf die Kontrolle der helikalen Chiralität der gebildeten supramolekularen Architekturen untersucht werden. Daher wurde ebenfalls das TPE-modifizierte L-2'-Desoxyuridin (**L-TPE-dU**) synthetisiert. Die Synthese von **L-TPE-dU** erfolgte auf analoge Weise wie die Synthese des D-Enantiomers. Jedoch ist 5-Iod-2'-L-desoxyuridin kommerziell nicht erhältlich. Die Synthese des **L-TPE-dUs** erfolgte daher ausgehend vom kommerziell erhältlichen β-L-2'-Desoxyuridin (L-dU), welches nach einer Vorschrift von *Sy et al.*^[137-138] mit Silbernitrat und elementarem Iod an der 5-Position iodiert wurde (Abbildung 3.3). Dieses wurde anschließend einer SONOGASHIRA-Reaktion mit Verbindung **7** unterworfen,

3 Kontrolle der helikalen Orientierung

wodurch **L-TPE-dU** als weißer Feststoff in einer Gesamtausbeute von 46 % isoliert werden konnte (Abbildung 3.3).

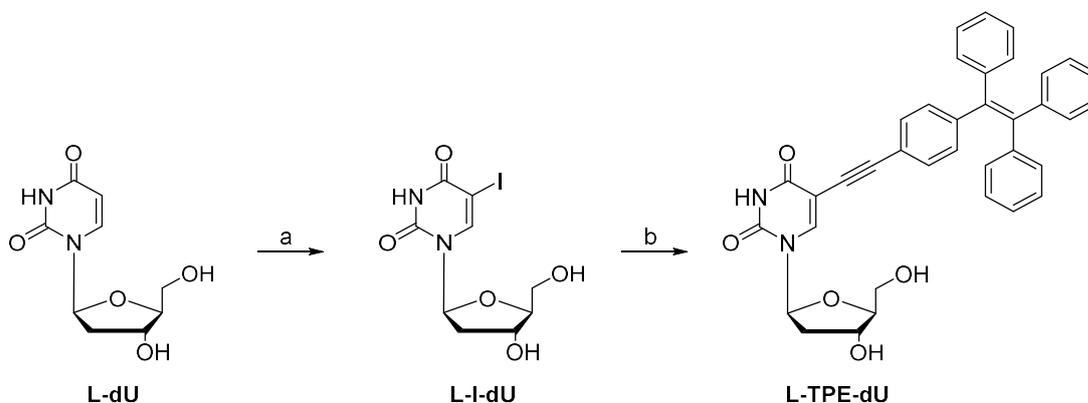


Abbildung 3.3: Synthese des L-konfigurierten TPE-modifizierten Nukleosids **L-TPE-dU**. a) I_2 , $AgNO_3$, MeOH, RT, 2 h, quant.; b) TPE-Acetylen **7**, $Pd(PPh_3)_4$, CuI, DMF, Et_3N , 60 °C, 19 h, 81 %.

Der Einfluss der Zuckerkonfiguration auf die helikale Chiralität der gebildeten Chromophor-Aggregate sollte zusätzlich mit TPE-Uracil **10**, welches keine chirale Zuckereinheit besitzt, verglichen werden. Die Synthese dieser Verbindung ist in Abbildung 3.4 gezeigt. Dafür wurde TPE-Acetylen **7** mittels einer SONOGASHIRA-Kupplung an die 5-Position des 5-Ioduracils **9** geknüpft. Verbindung **10** konnte in einer Ausbeute von 61 % erhalten werden.

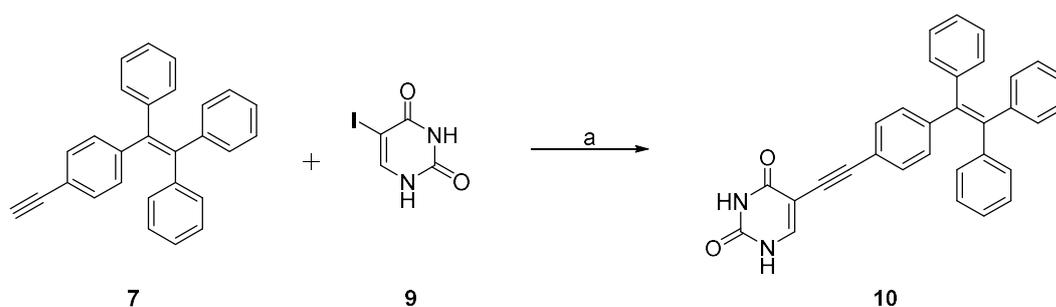


Abbildung 3.4: Synthese des TPE-modifizierten Uracils **10**. a) $Pd(PPh_3)_4$, CuI, DMF, Et_3N , 60 °C, 19 h, 61 %.

3.2 Spektroskopische Charakterisierung

Zur Charakterisierung der synthetisierten Nukleoside **TPE-dU** und **L-TPE-dU** wurden Absorption und Fluoreszenz in wässriger Lösung (1 % DMSO) gemessen. Enantiomere

unterscheiden sich in der Regel nicht in ihren optischen Eigenschaften, lediglich in ihrer optischen Aktivität, was in Abbildung 3.5 deutlich wird. UV/Vis-Absorption und Fluoreszenz beider Enantiomere sind nahezu identisch. Die Absorptionsmaxima befinden sich bei 246 nm und 341 nm, wobei erstere dem Uracil und letztere dem TPE zuzuordnen sind. Das Fluoreszenzmaximum befindet sich für beide Konjugate bei 487 nm. Die STOKES-Verschiebung fällt mit 146 nm relativ hoch aus, wodurch störende Interferenzen zwischen Anregungslicht und detektiertem Fluoreszenzsignal reduziert werden.

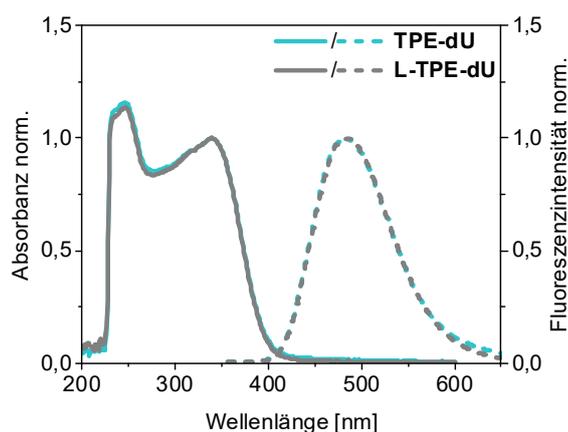


Abbildung 3.5: UV/Vis-Absorption (durchgestrichen) und Fluoreszenz (gestrichelt) der Nucleoside **TPE-dU** und **L-TPE-dU**. Bedingungen: 37.5 μ M **TPE-dU/L-TPE-dU**, Wasser (1 % DMSO), 1 h bei RT inkubiert, λ_{exc} = 341 nm.

Die Fluoreszenz des Nucleosids **TPE-dU** sollte aufgrund der AIE-Eigenschaft mit steigender Löslichkeit abnehmen. Daher wurden UV/Vis-Absorption und Fluoreszenz von **TPE-dU** in verschiedenen Wasser-DMSO-Mischungen gemessen. Das Chromophor-Nucleosid ist sehr gut löslich in DMSO, jedoch nahezu gar nicht in Wasser. Wie an den Fluoreszenzspektren von **TPE-dU** in verschiedenen DMSO-Anteilen (1-60 %) klar zu erkennen, ist ein Abfall der Fluoreszenzintensität mit steigendem DMSO-Anteil beobachtbar (Abbildung 3.6). Bei einem DMSO-Anteil von 40 bis 60 % ist kaum Fluoreszenz messbar. Diese steigt bei geringeren DMSO-Anteilen jedoch sprunghaft an. Zwischen 1 und 10 % DMSO-Anteil ist eine Sättigung des Fluoreszenzanstiegs zu verzeichnen. Der nahezu sigmoidale Verlauf der Fluoreszenz in Abhängigkeit des DMSO-Anteils ist in Abbildung 3.6 dargestellt. Der Wendepunkt der Kurve liegt bei ca. 30 %. Mit abnehmendem DMSO-Anteil wird eine bathochrome Verschiebung des

Fluoreszenzmaximums von 467 nm (60 % DMSO) zu 484 nm (1 % DMSO) beobachtet. Diese bathochrome Verschiebung ist typisch für den AIE-Charakter, wurde bereits für andere AIE-Farbstoffe beobachtet und ist vermutlich auf die Ausbildung von J-Aggregaten zurückzuführen.^[139]

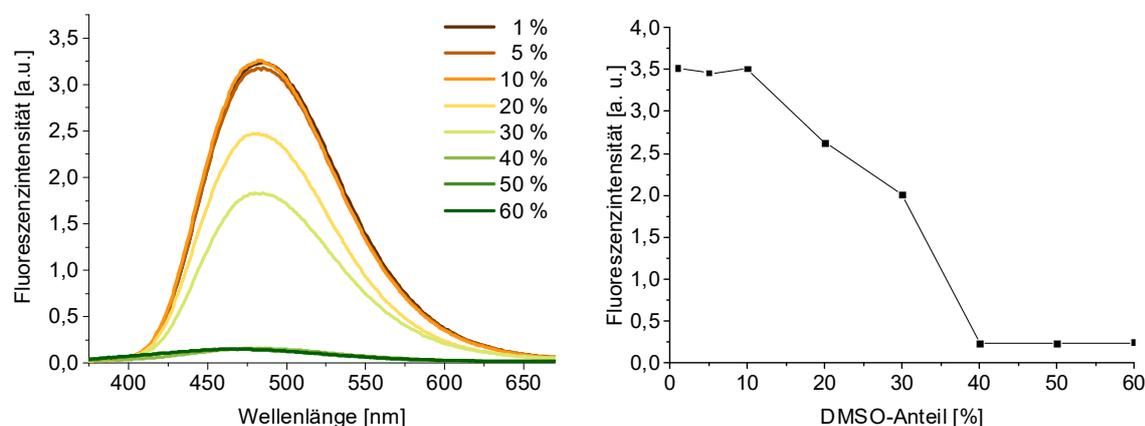


Abbildung 3.6: Fluoreszenz (links) von **TPE-dU** in verschiedenen Wasser-DMSO-Gemischen sowie Auftragung der Fluoreszenzintensität gegen den DMSO-Anteil (rechts). Bedingungen: 37,5 μM **TPE-dU**, $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$.

3.3 Untemplierte supramolekulare Chromophor-Architekturen

In bisherigen Arbeiten wurde die Helikalitätskontrolle über äußere Bedingungen realisiert. SCHENNING *et al.* nutzten den pH-Wert der chemischen Umgebung, um die Helikalität von Oligonaphthalin-Aggregaten zu steuern.^[140] BALAZ *et al.* hingegen, kontrollierten die helikale Orientierung von Porphyrin-Architekturen durch Zugabe von Kochsalz und unterschiedlich schnelles Abkühlen nach Hybridisierung der Proben.^[49-50] Angelehnt an diese Arbeiten wurde die Aggregation von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** unter verschiedenen Bedingungen untersucht.

Die Bildung von Chromophor-Aggregaten wurde zunächst ohne DNA-Template untersucht. Hierfür wurden Proben in wässriger Lösung vorbereitet. Die Stammlösungen der Nukleoside **TPE-dU** und **L-TPE-dU** wurden in THF bzw. DMSO (4,3 mM) vorbereitet, um die vollständige Löslichkeit dieser zu gewährleisten. Aus diesen Lösungen wurde eine geringe Menge (8,77 μL) entnommen und auf 1 mL Lösung mit Wasser aufgefüllt, sodass am Ende eine DMSO- bzw. THF-Endkonzentration von ca. 1 % vorlag. Die Proben wurden unter zwei unterschiedlichen Bedingungen inkubiert (Abbildung 3.7). In der ersten

Präparationsmethode wurden die Probenlösungen für 1 h bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend spektroskopisch untersucht. Weitere Proben wurden unter Hybridisierungsbedingungen 5 min bei 90 °C inkubiert und anschließend langsam (ca. 1 °C/min) auf RT abkühlen gelassen.

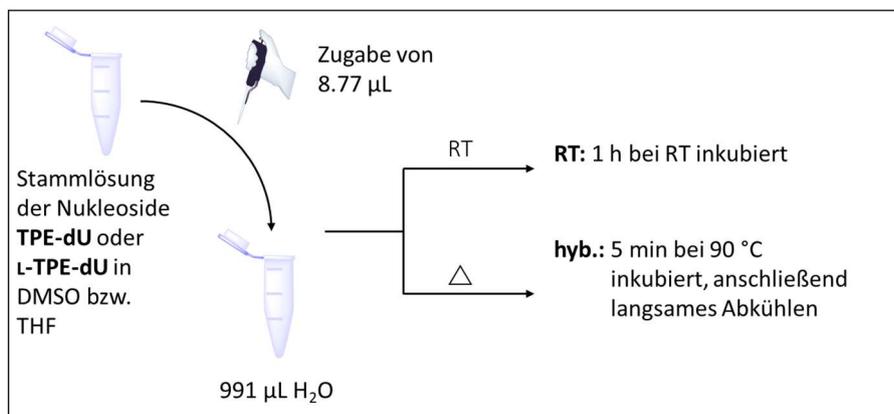


Abbildung 3.7: Schematische Darstellung der Vorgehensweise zur Darstellung der untemplierten Chromophor-Aggregate.

Im Folgenden werden die Aggregate mit 1 % THF-Anteil betrachtet (Abbildung 3.8). Die DMSO-Wasser-Proben zeigen ein ähnliches spektroskopisches Verhalten (Abbildung 7.3, Kapitel 7.1.2). Die Absorption im Bereich von 300 bis 400 nm kann dem Chromophorteil zugeordnet werden. Die Inkubation der Nucleoside bei Raumtemperatur führt zu einem deutlichen Absorptionsmaximum bei 341 nm für beide Chromophor-Nucleoside. Nach Inkubation unter Hybridisierungsbedingungen ist eine Verbreiterung der Absorption erkennbar, was auf die Bildung von Chromophor-Aggregaten hindeutet. Die Absorption ist zudem leicht hypsochrom verschoben.

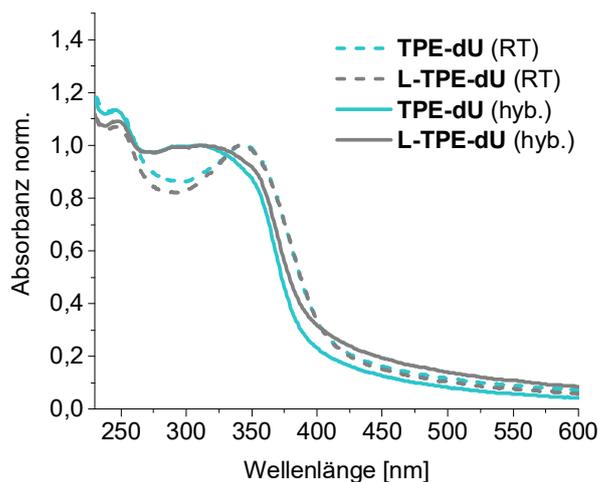


Abbildung 3.8: UV/Vis-Absorption der Chromophor-Nukleosid-Aggregate aus **TPE-dU** und **L-TPE-dU**. Bedingungen: 37.5 μM Nukleosid, Wasser (1 % THF), Inkubationsbedingungen: 1 h bei RT (gestrichelt) und 5 min bei 90 °C (durchgezogen). Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Die Fluoreszenzspektren zeigen Maxima bei 478 nm nach Inkubation bei Raumtemperatur, wohingegen die hochgeheizten Proben Maxima bei 442 nm mit einer reduzierten Intensität aufweisen. Das unterschiedliche Fluoreszenzverhalten kann bereits deutlich mit dem bloßen Auge beobachtet werden (Abbildung 3.9). Prinzipiell zeigen **TPE-dU** und **L-TPE-dU** das gleiche Absorptions- und Fluoreszenzverhalten unter gleichen Inkubationsbedingungen. Nach Inkubation bei Raumtemperatur dominiert vermutlich die Interaktion zwischen den TPE-Chromophoren, was an der typischen bathochromen Verschiebung und hohen Fluoreszenz von AIE-Farbstoffen abgeleitet werden kann.

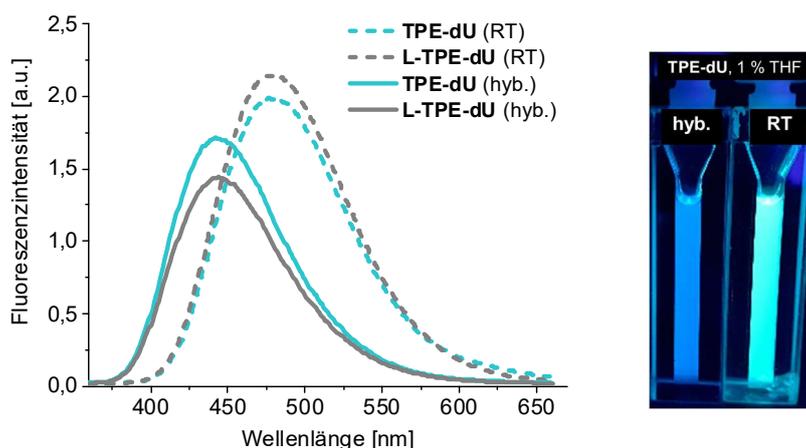


Abbildung 3.9: Fluoreszenz (links) der Chromophor-Nukleosid-Aggregate aus **TPE-dU** und **L-TPE-dU**. Bedingungen: 37.5 μM Nukleosid, Wasser (1 % THF), Inkubationsbedingungen: 1 h bei RT (gestrichelt) und 5 min bei 90 °C (durchgezogen). Foto der Küvetten (rechts) der nicht-templierten Aggregate von **TPE-dU** unter den verschiedenen Inkubationsbedingungen abgebildet. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Hingegen werden die Aggregate der hochgeheizten Proben vermutlich durch die π -Stapelung der 5-Ethynl-2'-desoxyuridine kontrolliert. Demnach führt die elektronische Entkopplung des TPE vom Ethynl-2'-desoxyuridin zu einer Blauverschiebung der Fluoreszenz.

Die Fluoreszenzquantenausbeuten der gebildeten Aggregate sind in Tabelle 3.1 abgebildet. Für Aggregate in Wasser fallen die Quantenausbeuten relativ hoch aus, was charakteristisch für AIE-Farbstoffe ist.^[105, 141] Übereinstimmend mit der Fluoreszenz zeichnen sich die bei Raumtemperatur inkubierten Proben durch die höchsten Quantenausbeuten (ca. 50 %) aus. Dabei sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den Enantiomeren oder zwischen der Lösungsmittelzusammensetzung zu verzeichnen. Die hochgeheizten Proben zeigen ebenfalls für beide Enantiomere und Lösungsmittelgemische geringere Werte von 30 bis 36 %.

Tabelle 3.1: Fluoreszenzquantenausbeuten Φ_f der Aggregate unter unterschiedlichen Bedingungen. RT: Proben wurden für 1 h bei RT inkubiert. hyb.: Proben wurden für 5 min bei 90 °C inkubiert und anschließend langsam auf RT gekühlt, ($\lambda_{exc} = 389$ nm).

	Φ_f 1 % THF	Φ_f 1 % DMSO
TPE-dU (RT)	0.56	0.51
L-TPE-dU (RT)	0.53	0.53
TPE-dU (hyb.)	0.30	0.32
L-TPE-dU (hyb.)	0.36	0.32

Die Chiralität der hergestellten Aggregate wurde über CD-Spektroskopie bestimmt. Die beiden Nukleoside **TPE-dU** und **L-TPE-dU** zeigen wie erwartet spiegelbildliche CD-Signale für beide Präparationsmethoden und Lösungsmittelgemische (Abbildung 3.10). Der Absorptionsbereich zwischen 305 und 450 nm kann dem TPE-Chromophor zugeordnet werden. Für **TPE-dU** nach Inkubation bei Raumtemperatur wird ein negativer COTTON-Effekt bei 370 nm, gefolgt von einem positiven COTTON-Effekt bei 326 nm beobachtet. Der Nulldurchgang befindet sich bei 346 nm, was annähernd dem

3 Kontrolle der helikalen Orientierung

Absorptionsmaximum entspricht. Da im Falle der Chromophor-Aggregate im CD-Spektrum ein zweiphasiges Signal detektiert werden konnte, ist die Ausbildung einer helikalen Struktur wahrscheinlich. Innerhalb dieser Strukturen bildet vermutlich der hydrophobe Rest den Kern, so dass die hydrophilen Reste nach außen zeigen und mit der wässrigen Umgebung wechselwirken können (Abbildung 3.11). Interessanterweise wird für das D-konfigurierte Konjugat **TPE-dU** nach Inkubation bei RT somit eine linksgängige helikale Anordnung festgestellt, wohingegen **L-TPE-dU** eine rechtsgängige Chiralität aufweist. Die CD-Signale der hochgeheizten Proben von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** ähneln diesen im Bereich von 305 bis 400 nm, jedoch ist der Nulldurchgang um 24 nm (346 nm zu 370 nm) bathochrom verschoben.

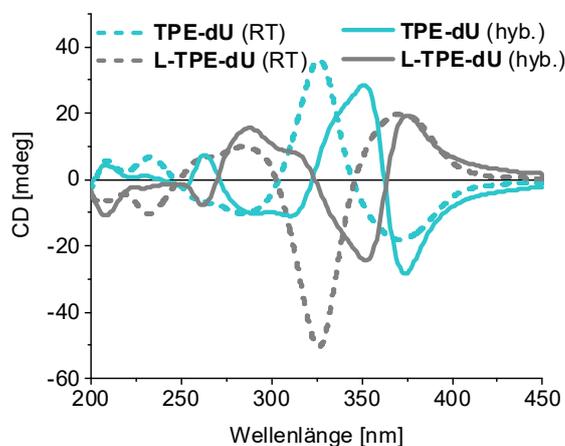


Abbildung 3.10: Zirkulardichroismus der Chromophor-Nukleosid-Aggregate aus **TPE-dU** und **L-TPE-dU**. Bedingungen: 37.5 μ M Nukleosid, Wasser (1 % THF), Inkubationsbedingungen: 1 h bei RT (gestrichelt) und 5 min bei 90 °C (durchgezogen). Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Der Absorptionbereich zwischen 200 und 305 nm kann der 5-Ethynyl-Uracil-Einheit der Konjugate zugeordnet werden. Hier zeigen die aufgeheizten Proben des D-konfigurierten **TPE-dUs** ebenfalls Linksgängigkeit, während die Aggregate des L-konfigurierten **L-TPE-dU** auf eine rechtsgängige helikale Anordnung hindeuten. Der Nulldurchgang ist bei ca. 270 nm, was dem Absorptionsmaximum von 5-Ethynyl-2'-desoxyuridin entspricht. Damit wird die Annahme, dass die Chiralität der aufgeheizten Proben durch die Nukleosidstapelung kontrolliert wird, bestätigt. Diese gegensätzliche Chiralität mag ungewöhnlich erscheinen, jedoch gibt es auch andere Fälle, in denen diese Helikalität

beobachtet wurde. Die *D*-konfigurierten nilrotmodifizierten 2'-Desoxyuridine zeigen ebenfalls eine linksgängige helikale Struktur.^[8]

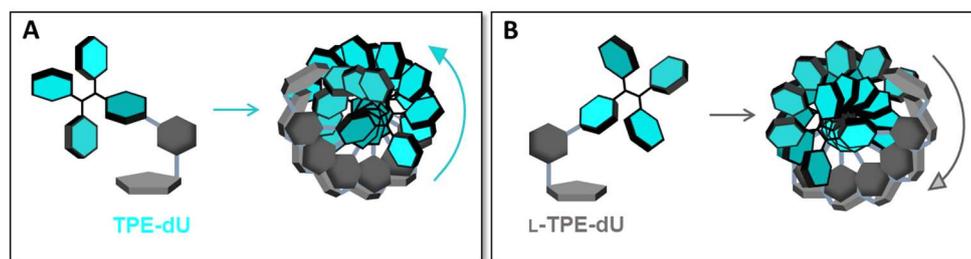


Abbildung 3.11: Beispielhafte Darstellung der möglichen helikalen Strukturen von **TPE-dU** und **L-TPE-dU**. **A:** **TPE-dU** führt zu einer linksgängigen Helizität. **B:** **L-TPE-dU** führt zu einer rechtsgängigen Helizität.

Die bisher beschriebenen Absorptions-, Fluoreszenz- und CD-Spektren wurden in wässriger Lösung mit einem THF-Anteil von 1 % gemessen. Die Absorptions- und Fluoreszenzspektren der Proben mit 1 % DMSO sind nahezu identisch (Abbildung 7.3, Kapitel 7.1.2). Die CD-Spektren zeigen jedoch zum Teil unterschiedliche chiroptische Eigenschaften. Zur vereinfachten Übersicht sind die Vorzeichen der CD-Couplets in Tabelle 3.2 dargestellt. Die CD-Spektren der Aggregate in verschiedenen Lösungsmittelgemischen sind in Abbildung 7.4 (Kapitel 7.1.2) zu finden.

Tabelle 3.2: In den CD-Spektren beobachtete positive (+) und negative (-) Couplets der Aggregate aus **TPE-dU** und **L-TPE-dU** unter verschiedenen Präparationsbedingungen und Lösungsmittelgemischen. Ein positives Couplet deutet auf eine rechtsgängige helikale Anordnung und ein negatives Couplet auf eine linksgängige helikale Anordnung hin.

Absorptionsbereich	Chiralität 1 % THF		Chiralität 1 % DMSO	
	Desoxyuridin	TPE	Desoxyuridin	TPE
TPE-dU (RT)	-	-	Kein Signal	
L-TPE-dU (RT)	+	+		
TPE-dU (hyb.)	-	-	+	-
L-TPE-dU (hyb.)	+	+	-	+

Mit 1 % DMSO-Anteil werden im Allgemeinen im TPE-Bereich die gleichen Chiralitäten festgestellt. Lediglich die RT-Proben weichen hiervon ab. Während, wie bereits

3 Kontrolle der helikalen Orientierung

beschrieben, mit 1 % THF-Anteil eine Linksgängigkeit für **TPE-dU** und eine Rechtsgängigkeit für **L-TPE-dU** festgestellt wurden, zeigen die gleichen Proben mit 1 % DMSO-Anteil keinerlei CD-Signal.

Der CD zeigt klar, dass die Chiralität der Aggregate durch die Konfiguration der 2'-Desoxyribofuranose gesteuert wird. Der TPE-Chromophor weist lediglich eine helikale Chiralität auf, in der die Phenylringe entweder im Uhrzeigersinn oder gegen den Uhrzeigersinn um die Doppelbindungsebene verdreht sein können. Diese beiden Konformationen werden auch als M- oder P-Konformere bezeichnet (Abbildung 3.12).^[142-143]

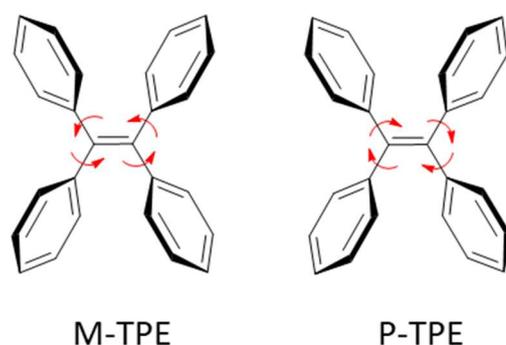


Abbildung 3.12: Struktur der beiden Konformationen des TPE-Moleküls. Beim M-TPE sind die Phenylringe gegen den Uhrzeigersinn relativ zur Doppelbindungsebene verdreht, im Falle des P-TPEs im Uhrzeigersinn.

Diese Konformere liegen für gewöhnlich im Gleichgewicht zueinander vor und haben so keinen Einfluss auf die chiroptischen Eigenschaften, was an den CD-Spektren von TPE-Acetylen **7** erkennbar ist (Abbildung 7.5, Kapitel 7.1.2). Durch die Einführung einer chiralen Gruppe (2'-Desoxyuridin) wird der Chromophor chiroptisch aktiv. Dieses Verhalten der propellerförmigen AIE-Chromophore konnte bereits von der Arbeitsgruppe um MORI beschrieben werden.^[144] Sie zeigten, dass durch die Einführung von chiralen Substituenten an die *para*-Position der Phenylringe die chiroptische Aktivität der propellerförmigen Chromophore mit der Anzahl an chiralen Gruppen steigt. Sie argumentierten, dass durch die Einführung der chiralen Gruppen eine der planaren Konformationen (M- oder P-Konformation) bevorzugt wird.

Der Einfluss der Zuckerkonfiguration auf die Chiralitätskontrolle wurde durch das synthetisierte TPE-modifizierte Uracil **10** bestätigt. Unter allen Präparationsmethoden wurde für TPE-Uracil **10** kein CD detektiert (Abbildung 7.5, Kapitel 7.1.2).

3.3.1 Chromophor-Aggregate als aktive Schicht in OLEDs

Blaue Farbstoffe mit einer hohen Quanteneffizienz in der Festphase werden noch heute für OLED-Anwendungen gesucht. AIE-Chromophore, insbesondere TPE, sind hierfür potenzielle Kandidaten.^[145] Im Rahmen dieser Arbeit konnte die helikale Anordnungen von Chromophor-Aggregaten durch die Konformation der chiralen Riboseinheit kontrolliert werden. Diese Chromophor-Aggregate zeigen einzigartige optoelektronische Eigenschaften, wie hohe Fluoreszenzquantenausbeuten in wässriger Lösung. Außerdem bilden sich die Aggregate in der Abwesenheit von Templatstrukturen (z. B. DNA), was sie zu kosteneffizienten Kandidaten für die Herstellung von OLEDs macht.

Die zuvor beschriebenen helikalen Chromophor-Aggregate wurden in wässriger Lösung mit 1 % DMSO- bzw. THF-Anteil dargestellt und charakterisiert. Es wird vermutet, dass deren optischen Eigenschaften innerhalb der Schicht erhalten bleiben, wodurch sie als aktive Schicht in optoelektronischen Anwendungen, wie OLEDs, genutzt werden können. Die Herstellung der Chromophor-Aggregat-Schichten ist in Abbildung 3.13 schematisch dargestellt. Zur Aggregatbildung wurden die Nukleoside (**TPE-dU** oder **L-TPE-dU**) zunächst in THF gelöst. Zu dieser Lösung wurde Wasser hinzugeben und die Probe gut durchgemischt. Anschließend wurde die Suspension auf Quarzglas-Scheiben aufgetragen und über Nacht getrocknet.



Abbildung 3.13: Schematische Darstellung der Vorgehensweise bei der Herstellung von Chromophor-Aggregat-Schichten auf Quarzglas-Scheiben.

Zur Aggregatbildung wurden lediglich Wasser-THF-Mischungen verwendet, da DMSO aufgrund des hohen Siedepunkts schwieriger zu entfernen ist. Die Konzentration des **TPE-dU**-Nukleosids in wässriger Lösung betrug $37.5 \mu\text{M}$. Es sind weitaus höhere Chromophorkonzentrationen zur Anwendung in aktiven Schichten notwendig. Für die Schichten wurden Lösungen der Konzentration 40 mg/mL ($\approx 70 \text{ M}$) angesetzt. Die Löslichkeit der Nukleoside in 1 % THF war jedoch nicht ausreichend für die hohe Menge an **TPE-dU**. Der geringste realisierbare THF-Anteil betrug 50 %. Aufgrund dessen wurden verschiedene Wasser-THF-Gemische zur Herstellung der Schichten untereinander verglichen.

Für eine erste Einschätzung der helikalen Ordnung der dargestellten Schichten wurden diese zunächst mittels CD-Spektroskopie untersucht. In Abbildung 3.14 sind die resultierenden CD-Spektren dargestellt. Für einen THF-Anteil von 50 % und 60 % ist ein nahezu identischer Verlauf mit einem negativen COTTON-Effekt bei 394 nm, einem positivem COTTON-Effekt bei 330 nm und einem Nulldurchgang bei 362 nm zu erkennen. Eine linksgängige helikale Orientierung der Chromophor-Aggregate kann somit angenommen werden. Diese Orientierung stimmt mit den in Lösung gebildeten Aggregaten überein, wodurch angenommen wird, dass die Aggregate auch nach Entfernen des Lösungsmittels weiter ihre helikale Ordnung innerhalb der Schichten beibehalten. Ab 70 % THF-Anteil wird die exzitonische Wechselwirkung der Chromophore geringer. Für THF-Anteile von 80 % und 90 % wird kaum ein zweiphasiges CD-Signal mehr beobachtet, lediglich ein negativer COTTON-Effekt bei 370 nm. In reinem THF ist kein CD messbar. Der Einsatz von reinem THF hätte zwar den Vorteil, dass homogenere Schichten gebildet werden, aufgrund der gleichmäßigen Verdampfung des Lösungsmittels, jedoch ohne helikale Anordnung der Chromophore. Ein THF-Gehalt von 60 % ist ein guter Kompromiss zwischen der gleichmäßigen Schichtbildung und der Ausbildung von geordneten Aggregaten und wurde nachfolgend genutzt.

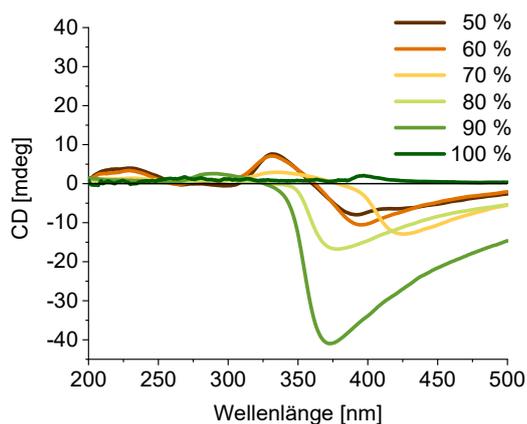


Abbildung 3.14: CD der Chromophor-Aggregat-Schichten hergestellt aus **TPE-dU**. In Prozent wird der THF-Anteil bei der Darstellung der Schichten angegeben. Die Quarzglas-Scheiben wurden für die Messung vor den Detektor des CD-Spektrometers befestigt.

Die CD-Spektroskopie ermöglicht lediglich die Messung einer zufälligen Orientierung der Schichten. Da aber im Festkörper das CD-Signal im Gegensatz zur Lösung vom Winkel abhängt, wurde nachfolgend Festkörper-CD-Spektroskopie (*ss-CD-Spektroskopie*, engl. *solid state CD spectroscopy*) zur Analyse der helikalen Ordnung der Chromophor-Aggregat von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** innerhalb der Schichten verwendet (Abbildung 3.15). Diese Messungen erfolgten im Arbeitskreis ULRICH am IGB II (KIT). Es wurden acht Messungen in unterschiedlichen Winkeln (45° Rotation) aufgenommen, um spektrale Artefakte zu minimieren. Die *ss-CD*-Spektren stimmen größtenteils mit den CD-Spektren der Chromophor-Aggregate in Lösung überein. Entgegen der Erwartung sind die Spektren beider Enantiomere nicht absolut spiegelbildlich, was vermutlich auf die unterschiedliche Morphologie der Schichten zurückzuführen ist.

3 Kontrolle der helikalen Orientierung

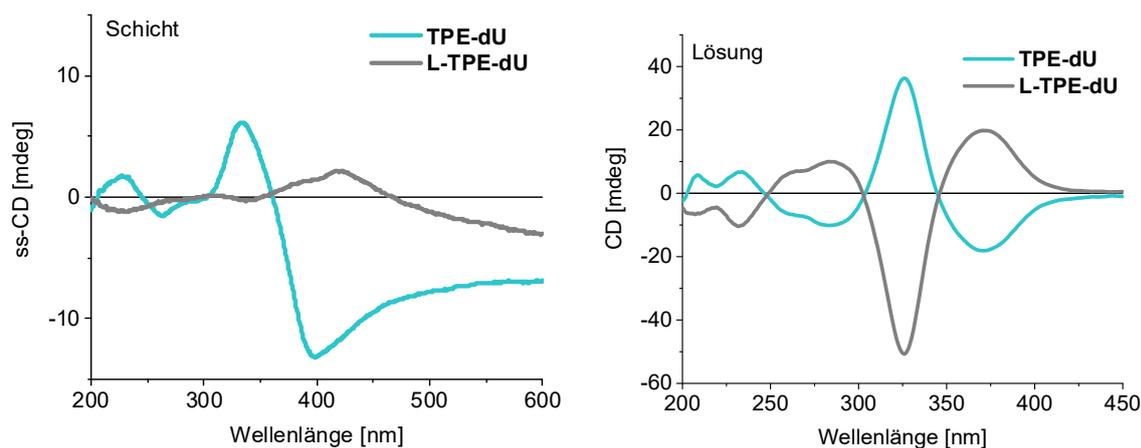


Abbildung 3.15: Festkörper-CD-Spektren (links) der Chromophor-Aggregat-Schichten und die CD-Spektren der Chromophor-Aggregate in Lösung (rechts). Bedingungen (Schicht): 40 mgmL⁻¹ TPE-dU/L-TPE-dU, In 8 unterschiedlichen Winkeln gemessen und anschließend verrechnet. Die Schichten wurden aus wässrigen Lösungen mit einem THF-Anteil von 60 % abgeschieden. Bedingungen (Lösung): 37.5 μ M TPE-dU/L-TPE-dU, 1 h bei RT inkubiert, Wasser (1 % THF).

OLED-Anwendungen erfordern eine hohe Fluoreszenz der gebildeten Schichten. Daher wurde in Kooperation mit LORENZ GRAF von REVENTLOW der Arbeitsgruppe COLSMANN (KIT) Fluoreszenzquantenausbeuten der Schichten bestimmt. Die Schichten zeichneten sich durch eine hohe Fluoreszenzquantenausbeute von 40 % für beide Enantiomere aus.

Somit war es möglich, Schichten herzustellen, die eine geordnete helikale Struktur der Chromophor-Nukleoside aufweisen und eine sehr hohe blaue Fluoreszenz zeigten (Abbildung 3.16 B). Diese eignen sich ideal als aktive Schicht in OLEDs. In Kooperation mit LORENZ GRAF von REVENTLOW wurde daher die Anwendung dieser Chromophor-Aggregate in OLEDs getestet.

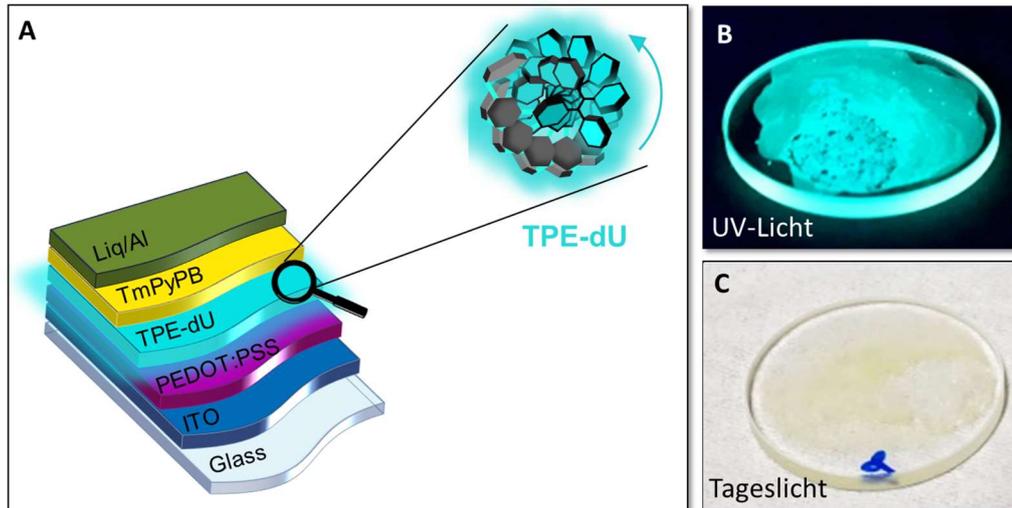


Abbildung 3.16: **A:** Schematischer Aufbau der hergestellten OLED. Von unten nach oben folgt: Transparenter Leiter (Anode): Indiumzinnoxid (ITO, engl. *indium tin oxide*), Loch-Transport-Schicht: Poly-3,4-ethylendioxythiophen:Polystyrolsulfonat (PEDOT:PSS), Emissionsschicht: **TPE-dU**, Elektronen-Transport-Schicht: 1,3,5-Tris(3-pyridyl-3-phenyl)benzol (TmPyPB) und Metallkathode: 8-Hydroxychinolinolato-Lithium (Liq), gekoppelt mit Aluminium (Al). **B:** Hergestellte Schicht aus **TPE-dU** unter UV-Licht (366 nm). **C:** Hergestellte Schicht aus **TPE-dU** unter Tageslicht.

Die hergestellte OLED, bestehend aus fünf Schichten, ist schematisch in Abbildung 3.16 A dargestellt. Die unterste Schicht besteht aus einer transparenten Glasplatte, welche mit Indiumzinnoxid (ITO, engl. *indium tin oxide*) beschichtet war. Zusammen mit der nächsten Schicht, bestehend aus PEDOT:PSS (Poly-3,4-ethylendioxythiophen:Polystyrolsulfonat) als Loch-Transport-Schicht, bildet diese die Anode. Darauf folgt die aktive Schicht als Emissionsschicht, die aus den **TPE-dU**-Aggregaten gebildet wird. Die Kathode bildet die abschließende Schicht. Diese setzt sich aus der Elektronen-Transport-Schicht (1,3,5-Tris(3-pyridyl-3-phenyl)benzol, TmPyPB) und einer Metallkathode (8-Hydroxychinolinolato-Lithium (Liq), gekoppelt mit Aluminium (Al)) zusammen.

Die externe Quanteneffizienz (EQE) einer OLED ist eine repräsentative Größe mit der unterschiedlich emittierende OLEDs in ihrer Effizienz verglichen werden können. Diese ist durch das Verhältnis aus abgestrahlter Strahlungsleistung oder Photonenzahl zu der zugeführten elektrischen Leistung gegeben. Für die hergestellte Chromophor-Aggregat-OLED wurde die EQE bestimmt (Abbildung 3.17). Die Effizienz ist mit einem Wert von knapp über 0.2 % zwar deutlich hinter aktuell produzierten OLEDs,^{[146-}

3 Kontrolle der helikalen Orientierung

^{148]} sie zeigt jedoch eindrucksvoll die Eignung von chromophormodifizierten Nucleosiden mit AIE-Eigenschaft als aktive Schicht in OLEDs.

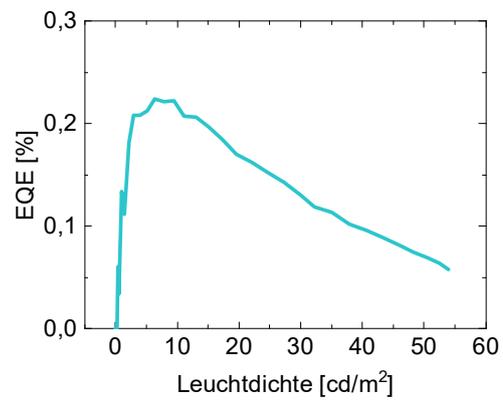


Abbildung 3.17: Externe Quanteneffizienz (EQE) in Abhängigkeit der Leuchtdichte der hergestellten OLED.

3.4 DNA-templierte supramolekulare Architekturen

Eine interne Kontrolle der Chromophor-Architekturen ohne Abhängigkeit von äußeren Einflüssen wäre von grundlegendem Interesse, um eine möglichst uneingeschränkte Anwendbarkeit dieser zu gewährleisten. Aus diesem Grund wurde ein System entwickelt, welches auf der Selbstassemblierung von **TPE-dU** entlang verschiedener DNA-Template basiert. Dabei sollte der Einfluss der Konfiguration der Monomere **TPE-dU** und **L-TPE-dU** sowie der DNA-Template auf die helikale Orientierung der ausgebildeten DNA-Architekturen untersucht werden. Die erhaltenen Aggregate wurden mittels Absorptions-, Fluoreszenz- und CD-Spektroskopie untersucht, um den Einfluss der Konfiguration der verschiedenen Komponenten auf die Beladung der Template, Selektivität und helikale Orientierung zu bestimmen.

3.4.1 Prinzip der Anlagerungsexperimente

Die supramolekulare Organisation von Farbstoffen bietet die Möglichkeit optoelektronisch interessante Strukturen zur Anwendung in der Nanotechnologie zu bilden.^[3, 149] Eine große Herausforderung besteht in der präzisen und programmierbaren Anordnung der Farbstoffe zur Kontrolle ihrer optischen, chiroptischen und elektronischen Eigenschaften.

DNA mit ihrem Selbstassemblierungsmechanismus und der chiralen helikalen Struktur macht diese zu einer einzigartigen Templatstruktur um Chromophore im Nanometer-Maßstab zu steuern und organisieren.^[24] Die klar definierte WATSON-CRICK-Basenpaarung ermöglicht eine kontrollierte Assoziation. Durch Wasserstoffbrückenbindungen, π - π -Stapelung und nicht-kovalente Wechselwirkungen findet ein Einzelstrang in Lösung den passenden komplementären Strang mit einer außergewöhnlichen Präzision.^[12]

3 Kontrolle der helikalen Orientierung

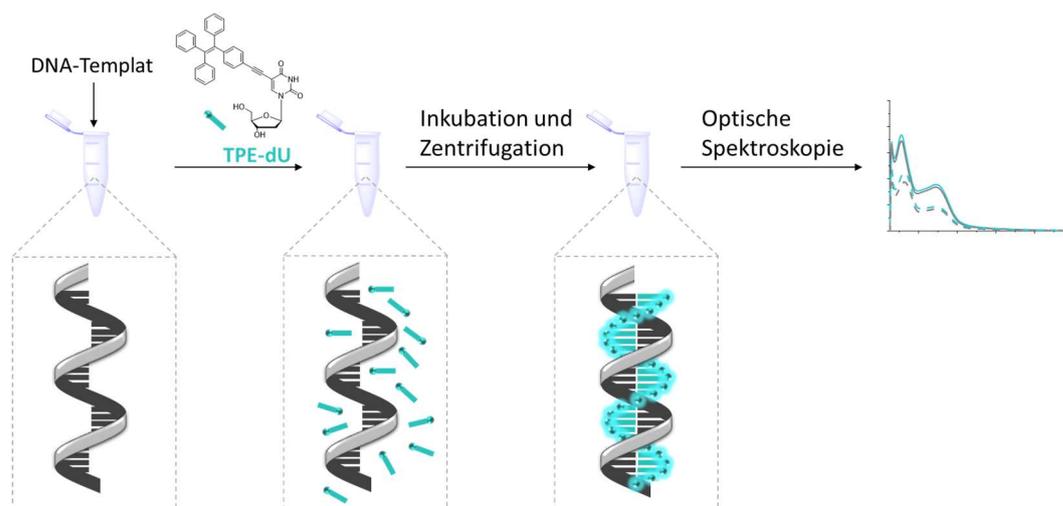


Abbildung 3.18: Schematische Darstellung der Selbstassemblierung, beispielhaft gezeigt an der Assemblierung von **TPE-dU** entlang eines poly-A-Einzelstranges.

Der Assemblierungsprozess von Chromophor-Nukleosiden entlang ausgewählter DNA-Strängen ist ein komplexer und sensibler Prozess, der sehr empfindlich auf äußere Einflüsse reagiert. Um die Reproduzierbarkeit zu gewährleisten, muss ein einheitliches Protokoll gefunden werden. Ein sehr wichtiger Faktor zur Einstellung der Parameter für die Assemblierungsexperimente ist die Löslichkeit der chromophormodifizierten Nukleoside. Die Löslichkeit dieser sollte nicht zu hoch sein, damit Nukleoside, die nicht an den DNA-Strang gebunden sind, durch Zentrifugation entfernt werden können. Jedoch sollte die Löslichkeit der synthetisierten Nukleoside auch nicht zu gering sein, um eine frühzeitige Präzipitation, vor Interaktion mit der DNA, zu vermeiden. Im Allgemeinen zeigen die Nukleoside eine schlechte Löslichkeit in Wasser. Daher wurden die Stammlösungen der Nukleoside in organischen Lösungsmitteln vorbereitet. Die Lösungsmittel DMSO und THF wurden aufgrund der guten Lösungsmiteigenschaften bevorzugt. Beide Lösungsmittel wurden bereits bei den untemplierten Chromophor-Aggregaten verwendet. Es zeigte sich, dass ca. 1 % DMSO- bzw. THF-Anteil einen guten Kompromiss in der Löslichkeit der Chromophor-Nukleoside aufwies. Aufgrund dessen wurde die Konzentration der Stammlösungen (4.3 mM) so gewählt, dass ein Gehalt von 1 % Kosolvent (DMSO oder THF) in den finalen wässrigen Proben nicht überschritten wurde. Sowohl **TPE-dU** als auch **L-TPE-dU** wurden im 1.5-fachen Überschuss (37.5 μM) hinzugegeben, um eine vollständige Besetzung der DNA-Bindungsstellen zu

gewährleisten. Zur Stabilisierung der doppelhelikalen DNA-Struktur werden meistens 250 mM NaCl verwendet.^[150] Erwartungsgemäß sollte dies ebenfalls die supramolekulare DNA-Architektur stabilisieren, weshalb zusätzlich NaCl zugegeben wurde. Es wurden geringe Volumina (8.77 μ L) der 2'-Desoxynukleosid-Stammlösungen in DMSO oder THF zu den wässrigen DNA-Lösungen (1 mL, 1.25 μ M) hinzugegeben (Abbildung 3.18). Anschließend wurden die Proben eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Beide Konjugate **TPE-dU** und **L-TPE-dU** sind nahezu unlöslich bei diesen hohen Salzkonzentrationen und können somit durch eine kurze Zentrifugation (3 min) entfernt werden. Der Überstand wurde anschließend mittels optischer Spektroskopie charakterisiert.

3.4.2 Spektroskopische Resultate

Im Folgenden sind lediglich die Absorptions-, Fluoreszenz- und CD-Spektren der Assemblierungen von **TPE-dU** entlang der Templatstränge A_{20} , $L-A_{20}$, $L-T_{20}$ und T_{20} abgebildet. Die Spektren der Assemblierung von **L-TPE-dU** können Kapitel 7.1.3 (Abbildung 7.6) entnommen werden und zeigen nahezu die gleichen spektroskopischen Eigenschaften. Es wird erwartet, dass aufgrund der kanonischen Basenpaarung die Assemblierung entlang der komplementären Strange A_{20} und $L-A_{20}$ selektiver abläuft als entlang der nicht-komplementären Kontrollstränge $L-T_{20}$ und T_{20} . Der Absorptionsbereich zwischen 300 und 400 nm kann dem TPE-Chromophor zugeordnet werden. Die Absorbanz in diesem Bereich ist für die Assemblierungen von **TPE-dU** entlang A_{20} und **L-TPE-dU** entlang $L-A_{20}$ signifikant höher als mit T_{20} und $L-T_{20}$ (Abbildung 3.19 und Abbildung 7.6, Kapitel 7.1.3).

3 Kontrolle der helikalen Orientierung

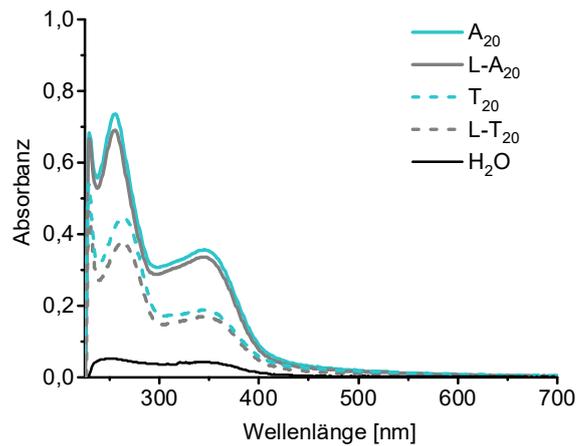


Abbildung 3.19: UV/Vis-Absorption der Assemblierung von **TPE-dU** entlang der DNA-Templatstränge A_{20} , $L-A_{20}$, $L-T_{20}$ und T_{20} , sowie ohne DNA. Bedingungen: $1.25 \mu\text{M}$ DNA in Wasser (1 % DMSO), $37.5 \mu\text{M}$ **TPE-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, 3 min zentrifugiert. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Dieses Ergebnis zeigt die präferierte Bindung von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** mit A_{20} und $L-A_{20}$ passend zur kanonischen Basenpaarung, da beide modifizierten 2'-Desoxyuridine komplementär zu den 2'-Desoxyadenosinen der DNA-Templates sind, aber nicht-komplementär zu den Thymidinen. Diese Selektivität ist jedoch nicht im gleichen Maße ausgeprägt, wie die WATSON-CRICK-Basenpaarung in unmodifizierten DNA-Doppelsträngen. Sowohl **TPE-dU** als auch **L-TPE-dU** zeigt eine signifikante Fehlpaarung entlang der nicht-komplementären Templates T_{20} und $L-T_{20}$. Dies kann durch die höhere Flexibilität der Chromophor-Nukleoside erklärt werden. DNA-Doppelhelices verfügen über eine starre Struktur mit nur wenig Bewegungsfreiraum (Abbildung 3.20 A). Die Chromophor-Nukleoside hingegen können sich so drehen, dass eine Basenpaarung möglich ist (Abbildung 3.20 B).

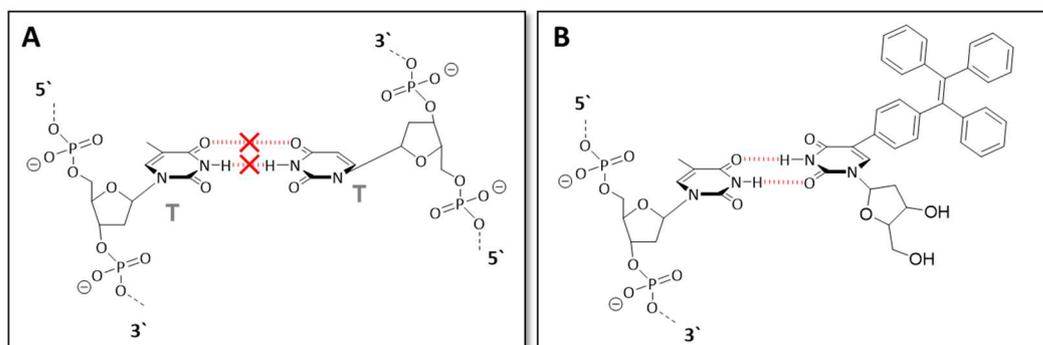


Abbildung 3.20: **A:** Illustration der T-T Basenfehlpaarung in einem DNA-Doppelstrang. **B:** Hypothetisch mögliche Basenpaarung von **TPE-dU** mit einem T_x -Oligonukleotid.

Außerdem wird keine konfigurationsselektive Erkennung der DNA-Template beobachtet. Die Absorptionen der Assemblierungen von **TPE-dU** entlang A_{20} und $L-A_{20}$ sind nahezu gleich stark, was ebenfalls für **L-TPE-dU** gilt. Diese Beobachtung kann erneut durch die höhere Flexibilität der Chromophor-Nukleoside im Vergleich zu einem starren DNA-Doppelstrang erklärt werden. Die Absorbanz im Absorptionsbereich des Chromophors kann zur Berechnung des Besetzungsgrades f genutzt werden, welche die Anzahl der besetzten Bindungsstellen (durch **TPE-dU** oder **L-TPE-dU**), geteilt durch die Anzahl der verfügbaren Bindungsstellen entspricht. Für die Assemblierungen von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** entlang A_{20} und $L-A_{20}$ liegt f im Bereich von 0.55 ± 0.10 , dementsprechend sind etwa 11 der 20 verfügbaren Bindungsstellen der DNA-Template besetzt (Abbildung 3.21). Offensichtlich nehmen die vier nicht-planaren Phenylringe des TPEs sterisch viel Platz ein und verhindern so eine vollständige Besetzung aller Bindungsstellen. Bei planaren Chromophoren, wie im Fall des Nilrots, ist eine Besetzung aller Bindungsstellen möglich.^[6]

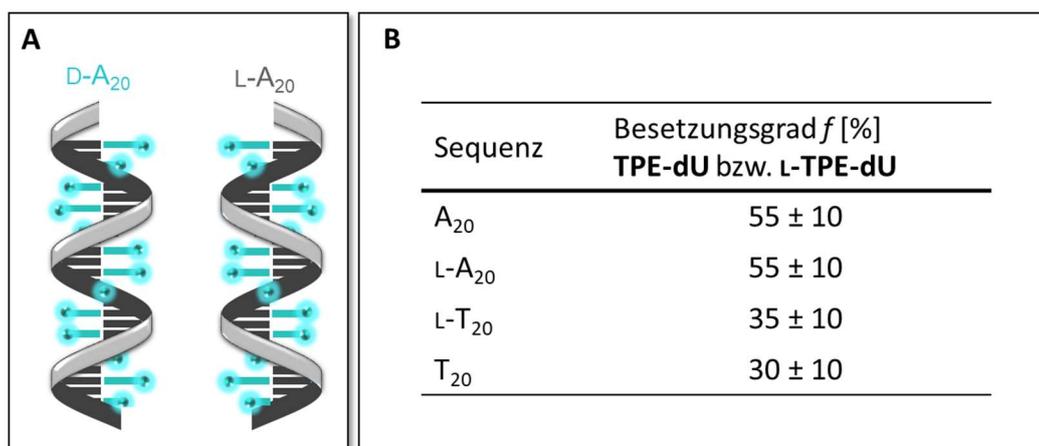


Abbildung 3.21: **A:** Schematische Darstellung der möglichen Struktur der gebildeten DNA-Architekturen von **TPE-dU** oder **L-TPE-dU** entlang A_{20} und $L-A_{20}$. Es wird vermutet, dass jede zweite Bindungsstelle von **TPE-dU** besetzt ist. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22] **B:** Tabellarische Zusammenfassung der aus den Absorptionsintensitäten berechneten Besetzungsgrade f entlang unterschiedlicher DNA-Sequenzen.

Die Fluoreszenzspektroskopie liefert zusätzliche Informationen bezüglich der selektiven Bindung der Chromophor-Nukleoside entlang der DNA-Stränge. TPE zeichnet sich durch eine aggregationsinduzierte Emission aus und ungebundene Chromophor-Konjugate wurden durch Zentrifugation entfernt, wodurch das Fluoreszenzsignal den

DNA-Architekturen von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** zugeordnet werden kann. Die Assemblierung von **TPE-dU** entlang A_{20} und $L-A_{20}$ zeigt die stärkste Fluoreszenz mit einem Maximum bei 492 nm und einer Quantenausbeute von $\Phi_f = 0.40$ (Abbildung 3.22). Die Assemblierung von **L-TPE-dU** entlang A_{20} und $L-A_{20}$ zeigt ähnlich hohe Fluoreszenzintensitäten, wohingegen die Assemblierungen entlang der nicht-komplementären Template T_{20} und $L-T_{20}$ signifikant niedrigere Fluoreszenzintensitäten für beide Chromophor-Nukleoside aufweisen. Diese Ergebnisse stimmen gut mit den Absorptionsunterschieden und der Idee der selektiven Bindung von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** an A_{20} und $L-A_{20}$ überein.

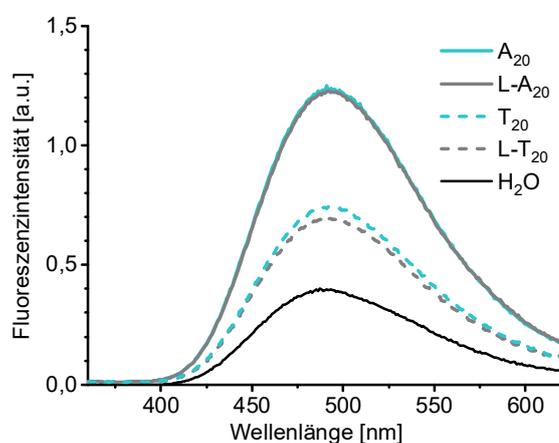


Abbildung 3.22: Fluoreszenz der Assemblierung von **TPE-dU** entlang der DNA-Templatestränge A_{20} , $L-A_{20}$, $L-T_{20}$ und T_{20} , sowie ohne DNA. Bedingungen: 1.25 μ M DNA in Wasser (1 % DMSO), 37.5 μ M **TPE-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, 3 min zentrifugiert. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Obwohl keine Konfigurationsselektivität der Chromophor-Nukleoside gegenüber den DNA-Templatesträngen festgestellt wurde, wurde die Chiralität der helikalen Architekturen durch CD-Spektroskopie untersucht. Der CD der DNA-templierten Assemblierungen weist im Allgemeinen geringere Intensitäten auf als die untemplierten Assemblierungen von Kapitel 3.3 (Abbildung 3.23). Es sind lediglich Signale im Absorptionsbereich der 2'-Desoxynukleoside zwischen 200 und 300 nm zu beobachten (dU in den TPE-Konjugaten, A oder T in den Templaten). Im Gegenteil zu den untemplierten Assemblierungen wird die Chiralität der DNA-templierten Assemblierungen nicht durch die Konfiguration der 2'-Desoxyribofuranose in **TPE-dU** und **L-TPE-dU** kontrolliert,

stattdessen durch die Konfiguration der DNA-Template. Entsprechend des charakteristischen zweiphasigen CD-Signals mit einem Nulldurchgang bei 280 nm führt die Assemblierung von **TPE-dU** an A_{20} und T_{20} zu einer rechtsgängigen Anordnung, wohingegen die Assemblierung an $L-A_{20}$ und $L-T_{20}$ zu einer linksgängigen Helizität führt. Es wird kein messbares CD-Signal über 305 nm beobachtet, wodurch keine Informationen über die geordnete Chiralität der TPE-Chromophore entlang der DNA-Template getroffen werden können. Die Besetzung lediglich jeder zweiten Bindungsstelle der DNA-Template durch **TPE-dU** oder **L-TPE-dU** verhindert vermutlich die direkte exzitonische Wechselwirkung der TPE-Chromophore. Basierend auf der Feststellung der generellen Helizität der DNA-ähnlichen Architekturen durch das CD-Signal zwischen 200 und 300 nm, liegen die TPE-Chromophore vermutlich ebenfalls helikal angeordnet vor (Abbildung 3.21).

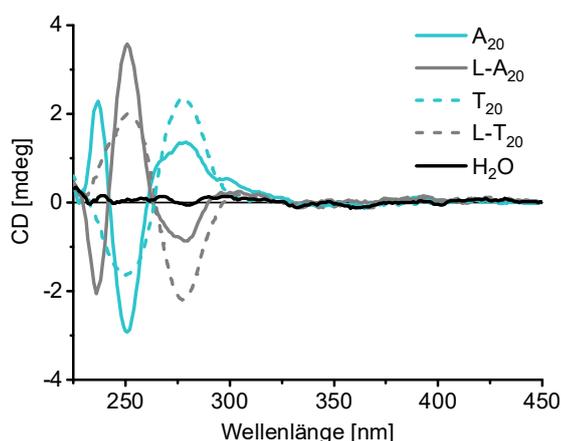


Abbildung 3.23: CD-Spektren der Assemblierung von **TPE-dU** entlang der DNA-Templatstränge A_{20} , $L-A_{20}$, $L-T_{20}$ und T_{20} , sowie ohne DNA-Stränge. Bedingungen: 1.25 μ M DNA in Wasser (1 % DMSO), 37.5 μ M **TPE-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, 3 min zentrifugiert. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Wie zuvor bei den templatfreien Chromophor-Aggregaten von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** wird in wässriger Lösung mit 1 % DMSO-Anteil keinerlei CD-Signal im Absorptionsbereich des TPEs beobachtet. Daher ist eine Aussage über die Nahordnung der Chromophore nicht möglich. Die untemplierten Chromophor-Aggregate von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** in wässrigen Lösungen mit 1 % THF-Anteil zeigten jedoch im Absorptionsbereich des TPEs ein deutliches CD-Signal. Daher wurden die DNA-templierten

Assemblierungsexperimente mit den THF-Stammlösungen der Nucleoside wiederholt, um nähere Informationen über die Struktur der DNA-Architekturen zu erhalten.

Die Absorptions- und Fluoreszenzspektren dieser Assemblierungen (Abbildung 7.8 und Abbildung 7.9, Kapitel 7.2.2) sind nahezu identisch zu den zuvor gezeigten (1 % DMSO-Anteil). Im Absorptionsbereich der 2'-Desoxynucleoside (200-300 nm) wird in den CD-Spektren die gleiche Helizität wie zuvor beobachtet. Die Assemblierungen entlang der D-konfigurierten Templatstränge sind durch eine rechtsgängige Chiralität und die der L-konfigurierten durch eine linksgängige geprägt (Abbildung 7.11, Kapitel 7.2.2). Im Absorptionsbereich des TPE-Chromophors von 300 bis 400 nm ist erneut nahezu kein CD-Signal für die DNA-Architekturen von A₂₀ bzw. L-A₂₀ mit **TPE-dU** und **L-TPE-dU** erkennbar.

Aufgrund der schlechten Löslichkeit der Chromophor-Nucleoside in wässriger Lösung (1 % THF) sind nach der Zentrifugation kaum ungebundene Chromophor-Nucleoside in Lösung vorhanden. Daher wurde der CD in Abwesenheit der DNA ohne vorherige Zentrifugation gemessen. Diese Messungen unterscheiden sich von den untemplierten Chromophor-Aggregaten lediglich durch den Zusatz von Natriumchlorid. Im Absorptionsbereich des Chromophors wird ein zweiphasiges CD-Signal mit spiegelbildlichem Verlauf für die beiden Enantiomere beobachtet (Abbildung 3.24). Im Vergleich zu den untemplierten Assemblierungen fällt jedoch die Intensität deutlich geringer aus. Vermutlich unterbindet der Zusatz von Natriumchlorid zum Teil die Aggregatbildung. Die beobachtete Helizität stimmt jedoch mit den untemplierten Assemblierungen überein, linksgängig für **TPE-dU** und rechtsgängig für **L-TPE-dU**. Es wird vermutet, dass die Nucleoside bereits vor der Interaktion der Nucleosid-Konjugate mit den DNA-Strängen eine gewisse Nahordnung in Form von Chromophor-Aggregaten ausbilden. Diese wird durch nicht-kovalente Wechselwirkungen mit den DNA-Templaten aufgebrochen, wodurch kein CD im Absorptionsbereich des TPEs detektiert wird, da die exzitonischen Wechselwirkung zwischen den TPE-Chromophoren in den gebildeten DNA-Architekturen zu gering ist.

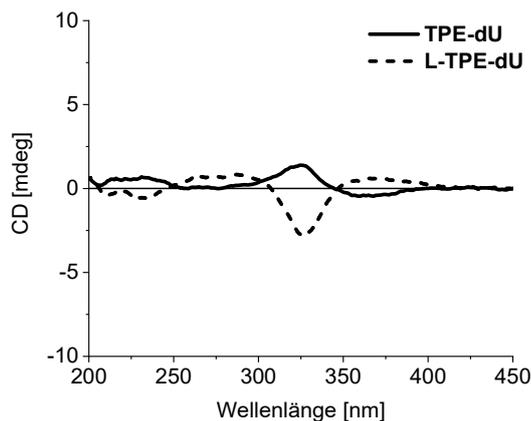


Abbildung 3.24: CD der Assemblierung von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** ohne DNA. Die Messung erfolgte vor dem Zentrifugationsschritt. Bedingungen: 37.5 μ M **TPE-dU** in Wasser (1 % THF), 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert.

3.4.3 Steuerung des Energietransfers

Die Voraussetzung zur Entwicklung von DNA-basierenden Lichtsammelsystemen ist das Verstehen von Energietransferprozessen zwischen Chromophoren. Deshalb sollte die Anregungsenergie des aggregationsemissiven TPEs an einen passenden Energieakzeptor übertragen werden. Die Präparation dieser Energietransfersysteme wurde im Rahmen dieser Arbeit allein auf die D-konfigurierten Assemblierungen (**TPE-dU** an A_{20}) beschränkt, weil die benötigten farbstoffmodifizierten DNA-Stränge kommerziell verfügbar waren. Es wird jedoch davon ausgegangen, dass die folgenden Experimente ebenfalls mit den L-konfigurierten Systemen möglich sind und ähnliche bis identische Ergebnisse liefern würden.

Die zu dem Nukleosid-Konjugat komplementäre DNA A_{20} trägt eine Atto565- oder Atto633-Modifikation am 5'-Ende, welche als Energieakzeptoren in den supramolekularen Assemblierungen mit **TPE-dU** dienen. Die Atto-Farbstoffe zählen zu den Rhodamin-Farbstoffen, welche aufgrund der sehr hohen Fluoreszenzquantenausbeuten, sowie der hohen thermischen und photochemischen Stabilität gewählt wurden. Eine effiziente Anregung dieser Atto-Farbstoffe erfolgt für gewöhnlich im Bereich von 545 bis 575 nm (Atto565) bzw. 610 bis 645 nm (Atto633). Außerdem zeichnen sich beide Farbstoffe durch eine hohe spektrale Überlappung der Atto-Absorption mit der TPE-Emission aus (Abbildung 3.25), wodurch eine wichtige Voraussetzung für einen effektiven Energietransfer erfüllt ist.

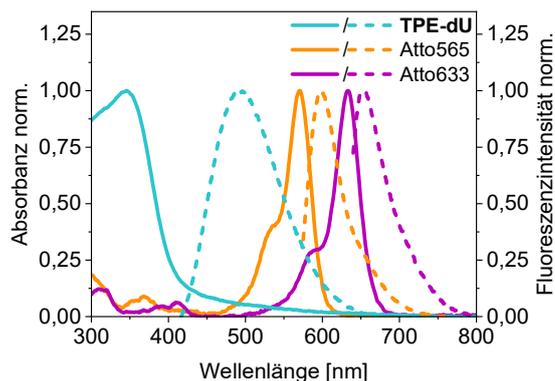


Abbildung 3.25: Absorption (durchgängige Linien) und Fluoreszenz (gestrichelte Linien) der Verbindungen **TPE-dU**, A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633. Bedingungen: 1.25 µM DNA in Wasser (1 % DMSO), 37.5 µM **TPE-dU**, 1 h bei RT inkubiert, λ_{exc} = 341 nm, 565 nm bzw. 633 nm.

Die Experimente wurden nach demselben Protokoll wie die vorherigen Assemblierungen durchgeführt, inklusive der Zentrifugation zum Abtrennen von ungebundenen **TPE-dU**-Konjugaten. Die Assemblierung von **TPE-dU** findet im gleichen Umfang an A₂₀-Atto565 sowie A₂₀-Atto633 wie an den unmodifizierten A₂₀-Strang statt (Abbildung 3.26). Die Absorptionsintensitäten im Chromophorbereich (300-400 nm) sind nahezu identisch, gleichbedeutend mit der Besetzung jeder zweiten Bindungsstelle mit **TPE-dU**.

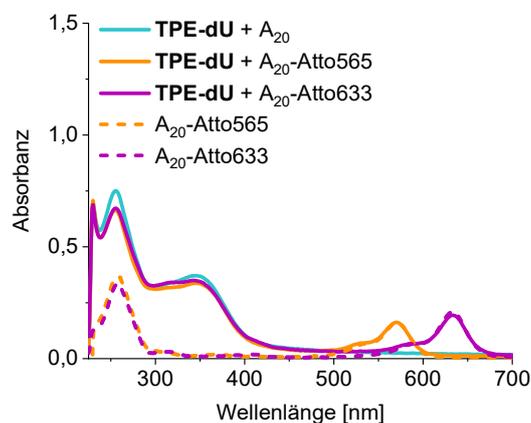


Abbildung 3.26: UV/Vis-Absorption der Assemblierung von **TPE-dU** entlang der DNA-Templatstränge A₂₀, A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633 sowie die DNA-Stränge A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633 in Abwesenheit von **TPE-dU**. Bedingungen: 1.25 µM DNA in Wasser (1 % DMSO), 37.5 µM **TPE-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, 3 min zentrifugiert. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Die Fluoreszenz der TPE-Chromophore bei 492 nm nach Anregung des Donors (**TPE-dU**, λ_{exc} = 341 nm) in den Architekturen entlang A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633 ist stark

reduziert im Vergleich zur Assemblierung von **TPE-dU** entlang A_{20} . Als Ergebnis des Energietransfers wird ein hohes Fluoreszenzsignal der Atto-Farbstoffe bei 598 nm (Atto565) beziehungsweise 660 nm (Atto633) beobachtet. Als Kontrollexperimente wurden die Fluoreszenzen der Atto-modifizierten DNA-Stränge A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 ebenfalls bei 341 nm angeregt, jedoch in der Abwesenheit des Donors. Diese zeigten signifikant niedrigere Fluoreszenzintensitäten bei 598 nm und 660 nm. Die Anregungsspektren in Abbildung 3.27 zeigen für die DNA-Architekturen **TPE-dU**- A_{20} -Atto565 und **TPE-dU**- A_{20} -Atto633 im Absorptionsbereich des TPEs (300-400 nm) ein deutlich höheres Signal als für A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633. Dadurch wird deutlich, dass die Fluoreszenz der Atto-Farbstoffe bei 598 nm und 660 nm durch die Anregung des TPEs bei 341 nm entsteht und ein Energietransfer vom TPE zu den Atto-Farbstoffen stattfindet.

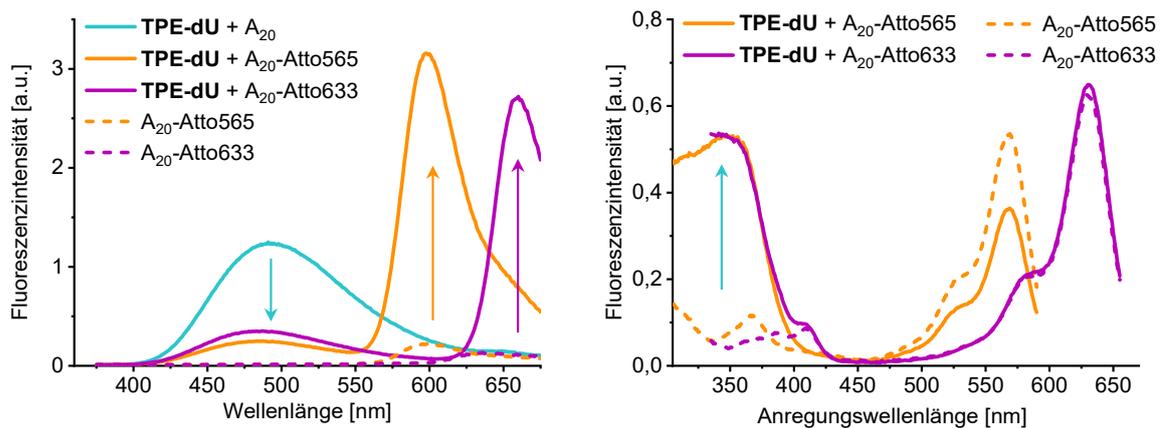


Abbildung 3.27: Fluoreszenz (links) und Anregungsspektren (rechts) der Assemblierung von **TPE-dU** entlang der DNA-Templatstränge A_{20} , A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 sowie die DNA-Stränge A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 in Abwesenheit von **TPE-dU**. Bedingungen: 1.25 μM DNA in Wasser (1 % DMSO), 37.5 μM **TPE-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, 3 min zentrifugiert, $\lambda_{\text{exc}} = 341$ nm. Für die Anregungsspektren wurde jeweils die Fluoreszenz der Atto-Farbstoff (Atto565: 598 nm und Atto633: 660 nm) betrachtet. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Zur Bestimmung der FRET-Effizienz E wurden die Fluoreszenzquantenausbeuten Φ der DNA-Architekturen gemessen. Die Berechnung der Effizienz des Energietransfers erfolgte gemäß folgender Formel:

$$E = 1 - \frac{\Phi_{DA}}{\Phi_A}, \quad [7]$$

3 Kontrolle der helikalen Orientierung

wobei Φ_{DA} die Quantenausbeute des Donors in Anwesenheit des Akzeptors und Φ_A die Quantenausbeute des Akzeptors nach Donoranregung beschreibt. Die Quantenausbeuten (nach Donoranregung) für den Fluoreszenzbereich des Donors (400-550 nm, **TPE-dU**) und des Akzeptors (550-675 nm) sind in Tabelle 3.3 zusammengefasst. Diese erlauben die Berechnung der Effizienz des Elektronentransfers E gemäß Formel 7, welche bemerkenswerte hohe Effizienzen von $E = 86\%$ für die DNA-Architekturen mit **A₂₀-Atto565** und $E = 80\%$ mit **A₂₀-Atto633** liefert. Eine mögliche Erklärung für die geringfügig höhere Effizienz des Energietransfer in den Architekturen **TPE-dU-A₂₀-Atto565** ist die höhere spektrale Überlappung der Donorfluoreszenz mit der Akzeptorabsorption (Abbildung 3.25).

Tabelle 3.3: Fluoreszenzquantenausbeuten des Donors in Anwesenheit des Akzeptors (Φ_{DA}) in den DNA-Architekturen **TPE-dU + A₂₀-Atto565** und **TPE-dU + A₂₀-Atto633** sowie des Akzeptors (Φ_A) nach Anregung des Donors bei 389 nm.

	Φ_{DA} 400 - 550 nm	Φ_A 550 – 675 nm	FRET-Effizienz $E = 1 - \frac{\Phi_{DA}}{\Phi_A}$
TPE-dU + A₂₀-Atto565	0.06	0.58	0.86
TPE-dU + A₂₀-Atto633	0.08	0.37	0.80

Zur weiteren Aufklärung des Energietransfers wurden Fluoreszenzlebenszeitmessungen der DNA-Architekturen durchgeführt. Die Fluoreszenzlebenszeit von **TPE-dU** entlang des DNA-Templates **A₂₀** bei 492 nm entspricht 3.78 ns nach Anregung des TPEs bei $\lambda_{exc} = 366$ nm. In den DNA-Architekturen mit **A₂₀-Atto565** ist sie auf 2.11 ns und mit **A₂₀-Atto633** auf 2.59 ns gesunken. Da die Fluoreszenzlebenszeitmessungen eines Fluorophors sowohl von den strahlenden (z.B. Fluoreszenz) als auch von den nicht-strahlenden (z.B. Fluoreszenzlöschung durch FRET) Prozessen abhängt, ist es nicht verwunderlich, dass der FRET-Energietransfer vom TPE zu den Atto-Farbstoffen zu einer Lebenszeitverkürzung des Donors führt. Die Lebenszeiten der Akzeptoren betragen 2.78 ns bei 589 nm (Atto565) und 3.41 ns bei 660 nm (Atto633) in den DNA-Architekturen mit **TPE-dU** nach Anregung des Donors (Tabelle 3.4).

Tabelle 3.4: Fluoreszenzlebenszeiten des Donors (τ_D) in den DNA-Architekturen **TPE-dU** + A₂₀, **TPE-dU** + A₂₀-Atto565 und **TPE-dU** + A₂₀-Atto633 und des Akzeptors (τ_A) nach Anregung des Donors bei 366 nm.

	τ_D $\lambda_{em} = 492 \text{ nm}$	τ_A $\lambda_{em} = 598/660 \text{ nm}$
TPE-dU + A ₂₀	3.78	-
TPE-dU + A ₂₀ -Atto565	2.11	2.78
TPE-dU + A ₂₀ -Atto633	2.59	3.41

Die Fluoreszenzlebenszeitmessungen der Template A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633 in Abwesenheit von **TPE-dU** konnten nicht bestimmt werden, da deren Fluoreszenzintensitäten für die Bestimmung zu gering waren. Allerdings wurde zuvor die Fluoreszenz von A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633 ohne **TPE-dU** nach Donoranregung ($\lambda_{exc} = 341 \text{ nm}$) gezeigt, welche in sehr geringen Intensitäten resultierten (Abbildung 3.27). Dies ist ein klares Indiz, dass die Akzeptor-Farbstoffe nicht direkt angeregt werden, sondern **TPE-dU** die Energie effizient auf die Atto-Farbstoffe übertragen wird.

Dieser Energietransfer ist bereits mit dem bloßen Auge sichtbar (Abbildung 3.28 A). Die DNA-Architekturen von **TPE-dU** mit A₂₀ zeigen eine deutliche blaue Fluoreszenz des TPE-Chromophors. Die DNA-Template A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633 zeigen ohne **TPE-dU** kaum Fluoreszenz. Wohingegen mit **TPE-dU** nach Anregung des Donors eine deutliche Fluoreszenz der Atto-Farbstoffe zu erkennen ist (orange für Atto565 und lila für Atto633).

Bei den untemplierten Chromophor-Aggregaten in Kapitel 3.3 konnte gezeigt werden, dass die gebildeten supramolekularen Architekturen auch nach Entfernung des Lösungsmittels innerhalb der Schichten erhalten bleiben. Um zu überprüfen, ob dies auch für die DNA-Architekturen der Fall ist, wurde das Lösungsmittel über Gefriertrocknung entfernt. Die resultierenden Feststoffe sind in Abbildung 3.28 B dargestellt. Nach Anregung des Donors sind erstaunlicherweise weiterhin die gleichen Fluoreszenzfarben wie zuvor in Lösung zu erkennen. Daher wird vermutet, dass die DNA-Architekturen auch nach Entfernen des Lösungsmittels innerhalb der Feststoffe bestehen bleiben.

Wie zuvor erwähnt wurden 250 mM NaCl als Zusatz zu den Assemblierungsexperimenten verwendet. Ohne diesen Zusatz werden die DNA-Architekturen unzureichend stabilisiert,

was einen direkten Einfluss auf die Energietransporteigenschaften hat. Wurden die gleichen Assemblierungsexperimente entlang A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 ohne den Zusatz von NaCl durchgeführt, ist nur ein gering ausgeprägter Energietransfer vom TPE zu den Atto-Farbstoffen zu verzeichnen (Abbildung 7.13, Kapitel 7.1.3). Lediglich eine geringe Abnahme der TPE-Fluoreszenz und Zunahme der Atto-Fluoreszenzen wird beobachtet, wodurch erneut deutlich wird, wie wichtig der Zusatz von NaCl ist und wie sensibel die Assemblierungsexperimente auf äußere Bedingungen reagieren.

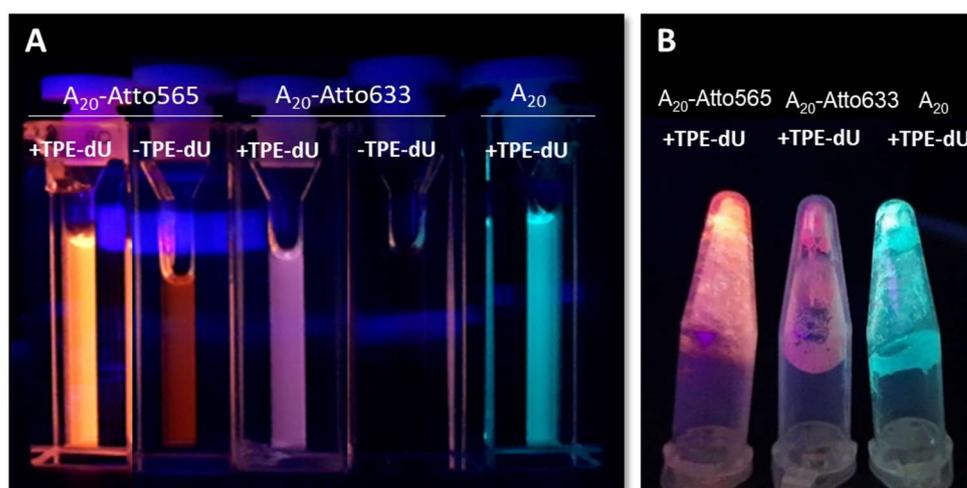


Abbildung 3.28: A: Photographien der Assemblierungsexperimente von **TPE-dU** entlang A_{20} -Atto565, A_{20} -Atto633 und A_{20} und der DNA-Lösungen von A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 in der Abwesenheit von **TPE-dU**. B: Photographien der DNA-Architekturen **TPE-dU**- A_{20} -Atto565, **TPE-dU**- A_{20} -Atto633 und **TPE-dU**- A_{20} nach Entfernung des Lösungsmittels durch Gefriertrocknung. Die Photographien wurden während der Belichtung mit einer UV-Lampe (366 nm) aufgenommen. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Zur weiteren Validierung des Systems wurden Kontrollexperimente mit den nicht-komplementären T_{20} -Strängen durchgeführt. Diese sind am 5'-Ende der DNA, wie zuvor die A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633-Stränge, mit einem Atto-Farbstoff-modifiziert.

Die Absorption im Chromophorbereich (300-400 nm) der DNA-Architekturen **TPE-dU**- T_{20} -Atto565 und **TPE-dU**- T_{20} -Atto633 entsprechen denen nach Assemblierung der **TPE-dU**-Konjugate entlang des unmodifizierten T_{20} -Stranges (Abbildung 3.29), wodurch festgestellt wurde, dass die Atto-Modifikationen keinen Einfluss auf den Besetzungsgrad der Assemblierungen haben.

Die DNA-Architekturen mit T₂₀-Atto565 und T₂₀-Atto633 zeichnen sich durch signifikant geringere Energietransferraten aus, erkennbar an der hohen Donorfluoreszenz bei 492 nm und den geringeren Akzeptorfluoreszenzen bei 598 nm und 660 nm. Dies ist durch die geringere Anzahl an **TPE-dU**-Konjugaten erklärbar, welche an diese „falschen“ DNA-Templates gebunden sind.

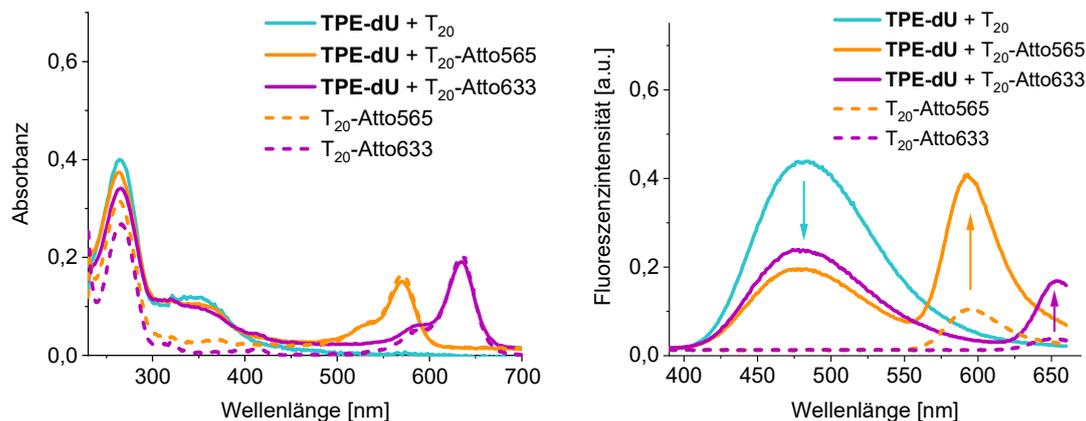


Abbildung 3.29: UV/Vis-Absorption und Fluoreszenz der Assemblierung von **TPE-dU** entlang der DNA-Templatstränge T₂₀, T₂₀-Atto565 und T₂₀-Atto633 sowie die DNA-Stränge T₂₀-Atto565 und T₂₀-Atto633 in Abwesenheit von **TPE-dU**. Bedingungen: 1.25 μM DNA in Wasser (1 % DMSO), 37.5 μM **TPE-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, 3 min zentrifugiert, $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Wie zuvor erwähnt, entspricht die Assemblierung von **TPE-dU** entlang A₂₀ (ohne Atto-Modifikation) einer Quantenausbeute von $\Phi = 0.40$. Dementgegen wird eine Löschung der Fluoreszenz der **TPE-dU** Architekturen entlang A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633 um 86 % bzw. 80 % beobachtet. Die Anregungsspektren zeigen klar, dass die Emission der Atto-Farbstoffe durch die Anregung der **TPE-dU**-Einheit entsteht. Bei einer Besetzungsdichte von 55 % der potenziell verfügbaren 20 Bindungsstellen sind vermutlich 9 der 11 DNA-gebundenen **TPE-dU**-Moleküle in ihrer Fluoreszenz gelöscht. Basierend auf dem regulären Abstand der Nukleobasen im DNA-Basenstapel (B-DNA) von 3.4 Å ist das weiteste **TPE-dU** das am Energietransfer beteiligt ist, in 58 Å Entfernung zum Atto-Farbstoff. Die effiziente Löschung über diese lange Distanz ist normalerweise nicht das Resultat eines einstufigen Energietransfers, indem jeweils ein TPE-Molekül in verschiedenen Abständen die Energie auf den Atto-Farbstoff überträgt. Die effiziente Löschung deutet auf einen schrittweisen Homo-Energietransfer zwischen den TPE-Molekülen hin, welche im finalen Schritt die Energie auf den Atto-Akzeptorfarbstoff

übertragen (Abbildung 3.30). Diese These soll im nächsten Abschnitt durch den kovalenten Einbau des TPE-Chromophors in DNA überprüft werden.

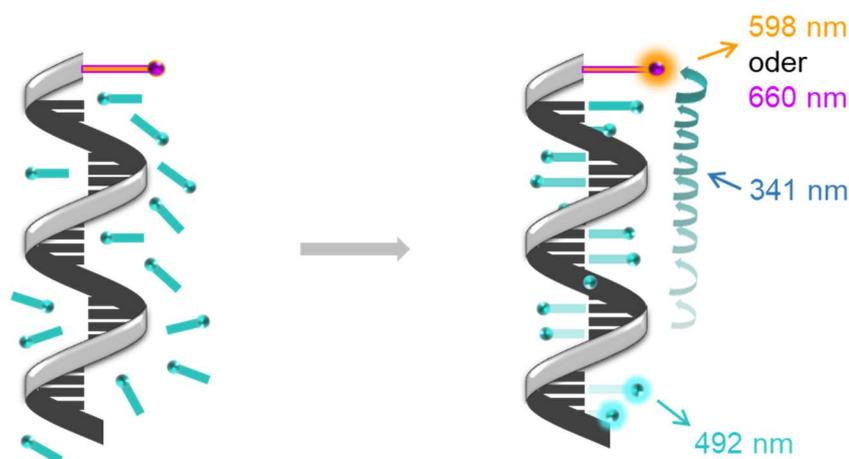


Abbildung 3.30: Schematisch Darstellung der vorgeschlagenen Struktur der DNA-Architekturen mit **TPE-dU** entlang Atto-modifizierter Templat-Einzelstränge. Durch Anregung des TPEs erfolgt ein mehrstufiger Homo-Energietransfers entlang der assemblierten TPE-Chromophore zu dem endständig verknüpften Atto565- bzw. Atto633-Farbstoff, wodurch die Atto-Fluoreszenz beobachtet wird. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

3.4.4 Kovalenter Einbau

Zur Validierung der Distanzabhängigkeit des Energietransfers zwischen **TPE-dU** und den Atto-Farbstoffen wurde **TPE-dU** als modifiziertes Nukleotid in eine synthetische Einzelstrang-DNA inkorporiert. Eine einfache Berechnung des Förster-Radius ist im Falle von Nukleinsäuren nicht trivial, wie in Kapitel 2.3.5 bereits erläutert. Die optischen Eigenschaften dieser kovalenten Modifikation wurden mit den nicht-kovalenten supramolekularen Architekturen verglichen.

Synthese der artifiziellen DNA

Die DNA-Festphasensynthese setzt eine DMTr-Schützung am 5'-OH und eine Phosphoramiditfunktion am 3'-OH voraus. Für die Darstellung der DMTr-geschützten Verbindung **11** wurden zwei unterschiedliche Syntheserouten (A & B) getestet (Abbildung 3.31).

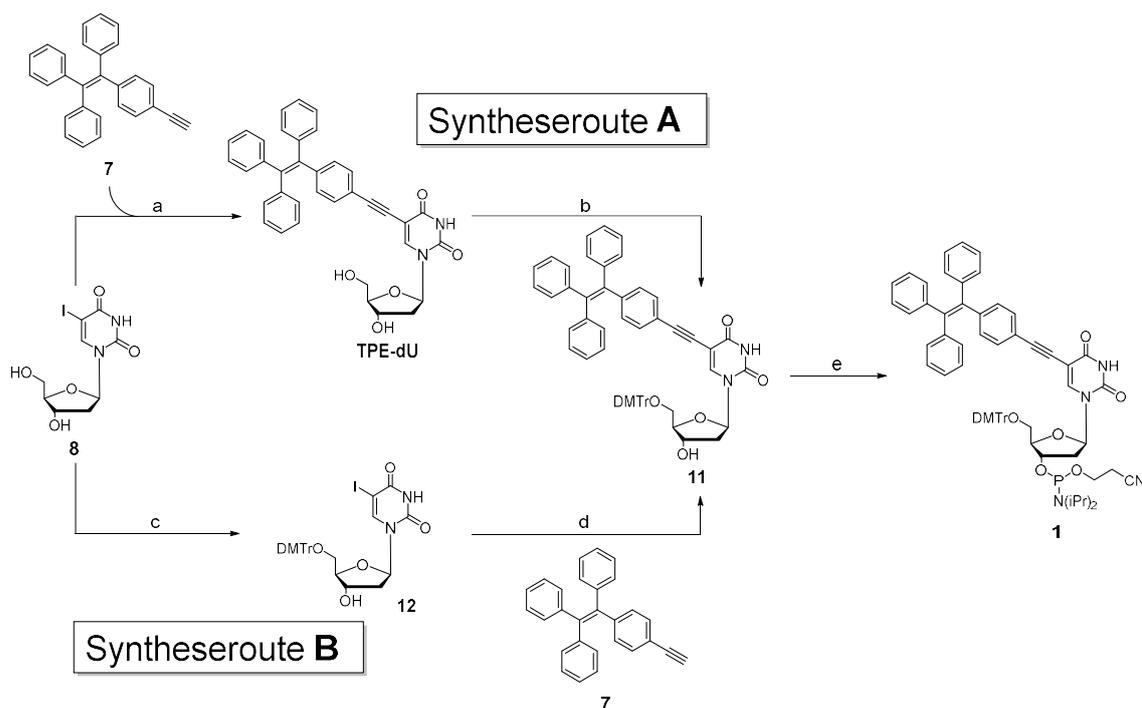


Abbildung 3.31: Syntheserouten A und B zur Darstellung des DMTr-geschützten Nucleosids **11** und anschließende Umsetzung zum Phosphoramidit **1**. a) Pd(PPh₃)₄, CuI, DMF, Et₃N, 60 °C, 19 h, 60 %; b) DMTrCl, Pyridin, RT, 19 h, 57 %; c) DMTrCl, Pyridin, RT, 12 h, 93 %; d) Pd(PPh₃)₄, CuI, DMF, Et₃N, 60 °C, 19 h, 81 %; e) iPr₂NP(Cl)OCH₂CH₂CN, DIPEA, DCM, RT, 3 h, 88 %.

In Syntheseroute A wird das TPE-modifizierte Nucleoside **TPE-dU** über eine DMTr-Schätzung zu Verbindung **11** umgesetzt. Hierzu wurde **TPE-dU** mit DMTrCl in Pyridin umgesetzt. In Syntheseroute B findet die DMTr-Schätzung vor der Kupplung mit TPE statt. Hierzu wurde im ersten Schritt I-dU mit DMTr-Cl in Pyridin zum DMTr-geschützten Nucleosid **12** umgesetzt. Anschließend wurde in der darauffolgenden SONOGASHIRA-Reaktion Verbindung **11** in einer Ausbeute von 81 % erhalten. Syntheseweg B lieferte mit 65 % eine höhere Gesamtausbeute im Vergleich zur Syntheseroute A (42 %). Durch die Umsetzung von Verbindung **11** mit Phosphoramiditchlorid in Pyridin konnte Zielmolekül **1** mit einer Gesamtausbeute von 57 % über drei Stufen erhalten werden.

Anschließend wurden die TPE-modifizierten DNA-Stränge mittels automatischer Oligonucleotid-Festphasensynthese dargestellt. Um die Energietransfereigenschaften zu untersuchen, wurden zwei DNA-Stränge synthetisiert, bei denen die **TPE-dU**-Modifikation in der Mitte der Sequenz (**TPE1a**) bzw. in Nähe zum 3'-Ende (**TPE1b**) vorliegt. Zur besseren Vergleichbarkeit mit den nicht-kovalenten Assemblierungen wurden nur AT-Sequenzen

3 Kontrolle der helikalen Orientierung

gewählt (Tabelle 3.5). Zudem wurden zwei DNA-Stränge mit jeweils zwei TPE-Modifikationen synthetisiert. In **TPE2a** und **TPE2b** sitzt die TPE-Modifikation ebenfalls in der Mitte, wobei in **TPE2b** die zwei TPE-Modifikationen durch eine Base getrennt sind, während sie in **TPE2a** nebeneinander liegen.

Die Sequenzen der kommerziell verfügbaren komplementären DNA-Strängen **DNA1** bis **DNA3** sind ebenfalls in Tabelle 3.5 aufgelistet. **DNA2** trägt am 5'-Ende eine Atto565-Farbstoffmodifikation, **DNA3** eine Atto633-Modifikation.

Tabelle 3.5: Sequenzen der synthetisierten DNA-Stränge **TPE1a** bis **TPE2b** sowie der komplementären Stränge **DNA1** bis **DNA3**. **X** = TPE-dU

Bezeichnung	DNA-Sequenz
TPE1a	5'-ATATA TTTT X TTT TATTA-3'
TPE1b	5'-ATATA TTTT TTTT X ATTA-3'
TPE2a	5'-ATATA TTT X TTTT TATTA-3'
TPE2b	5'-ATATA TTT X T X TTT TATTA-3'
DNA1	3'-TATA AAAAA AAAAA ATAAT -5'
DNA2	3'-TATA AAAAA AAAAA ATAAT- Atto565 -5'
DNA3	3'-TATA AAAAA AAAAA ATAAT- Atto633 -5'

Spektroskopische Charakterisierung

Die Fluoreszenzen der Einzelstränge **TPE1a** bis **TPE2b** zeigen ein Maximum bei ungefähr 489 nm. Die Fluoreszenzintensität der Doppelstränge **TPE1a-DNA1** und **TPE1b-DNA1** ist signifikant reduziert und das Maximum zu 430 nm bzw. 460 nm verschoben, wenn die modifizierten Einzelstränge mit dem komplementären Strang **DNA1** hybridisiert wurden (Abbildung 3.32). Es ist erstaunlich, dass für alle DNA-Stränge eine Fluoreszenzerniedrigung beobachtet wurde. Die aggregationsinduzierte Emission des TPEs wird erhöht, wenn die Rotation der Phenylringe gehindert ist. Dieser RIR-Mechanismus wurde zuvor in Kapitel 2.4 erklärt. Die Rotationshinderung kann in Form

von Chromophor-Aggregaten erfolgen, jedoch auch aufgrund der chemischen Umgebung des TPEs. Es wäre zu erwarten gewesen, dass die Rotation der Phenylringe um die Doppelbindung des TPEs im Doppelstrang, aufgrund der starren, unflexiblen Struktur, in einem größeren Ausmaß blockiert ist als im flexiblen Einzelstrang. Die Arbeitsgruppe um TANG konnte TPE sogar bereits als Hybridisierungs-sonde verwenden.^[151] Hierzu wurde ein TPE-Azid durch eine Kupfer-katalysierte *Click*-Reaktion an eine Einzelstrang-DNA geknüpft. Nach Hybridisierung mit der komplementären DNA konnte ein Fluoreszenzanstieg um den Faktor 3 beobachtet werden.

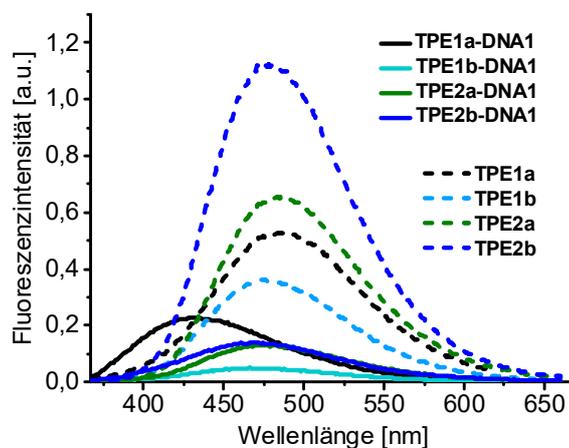


Abbildung 3.32: Fluoreszenz der synthetisierten Einzelstränge **TPE1a** bis **TPE2b** und der Doppelstränge mit dem komplementären DNA-Strang (cs) **DNA1**. Bedingungen: $c(\text{DNA}) = c(\text{cs}) = 2.50 \mu\text{M}$, 250 mM NaCl, 10 mM NaPi , $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Eine hypsochrome Verschiebung und geringere Fluoreszenzintensität wurde ebenfalls in den hochgeheizten templatfreien Chromophor-Aggregaten von **TPE-dU** beobachtet (Kapitel 3.3). Diese Beobachtung geht vermutlich auf die Stapelung des 5-Ethynyl-Uracils in den Chromophor-Architekturen zurück, welche die Rotation der Phenylgruppen beinhaltet. Infolgedessen kommt es zu einer Entkopplung des TPE-Chromophors von der Ethynyl-Nukleosid-Einheit, wodurch ein starker Effekt auf die Fluoreszenz, also geringe Fluoreszenzintensität und eine Blauverschiebung, beobachtet wird. Ein ähnlicher Effekt könnte auch hier stattfinden, weshalb die Fluoreszenzen der Hybridisierung von **TPE1a-DNA1** mit drei unterschiedlichen Konzentrationen (1.25 μM , 2.50 μM und 3.75 μM) gemessen wurden. Liegen tatsächlich Aggregate vor, die die Fluoreszenz des TPEs beeinflussen, sollte sich dieser Effekt mit der Konzentration ändern. In den Fluoreszenzspektren ist für alle drei Konzentrationen das gleiche Fluoreszenzverhältnis

zwischen Doppel- und Einzelstrang beobachtbar (Abbildung 3.33). Demzufolge ist die Fluoreszenz des Einzel- und Doppelstranges abhängig von der DNA-Struktur.

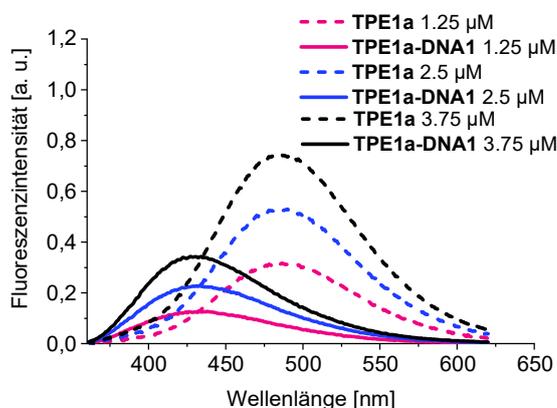


Abbildung 3.33: Fluoreszenz des synthetisierten DNA-Einzelstranges **TPE1a** und des Doppelstranges **TPE1a-DNA1** in drei verschiedenen Konzentrationen. Bedingungen: $c(\text{DNA}) = c(\text{cs}) = 1.25 \mu\text{M}$ (rot), $c(\text{DNA}) = c(\text{cs}) = 2.50 \mu\text{M}$ (blau), $c(\text{DNA}) = c(\text{cs}) = 3.75 \mu\text{M}$ (schwarz), 250 mM NaCl, 10 mM NaPi, $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$.

Es wird vermutet, dass aufgrund von hydrophoben Wechselwirkungen der DNA-Einzelstrang sich um den unpolaren TPE-Chromophor windet. Durch die starre Struktur des Doppelstrangs ist dies nicht mehr möglich. Durch die raumfüllende Propellerstruktur des TPEs ist vermutlich die Interkalation in den Basenstapel nicht möglich. Die Knüpfung des TPEs an die 5-Position des 2'-Desoxyuridins dirigiert vermutlich den TPE-Chromophor in die große Furche.^[133] In dieser ist genug Platz für die Rotation der Phenylringe des TPEs, wodurch es zu einer hypsochromen Verschiebung des Fluoreszenzmaximums mit geringerer Intensität im Doppelstrang kommt.

Im nächsten Schritt wurde die Distanzabhängigkeit des Energietransfers zwischen TPE und den Atto-Farbstoffen untersucht. Daher wurden **TPE1a** und **TPE1b** mit **DNA2** bzw. **DNA3** hybridisiert, welche eine Atto565- bzw. Atto633-Modifikation am 5'-Ende trugen. Die erhaltenen Ergebnisse wurden anschließend mit den nicht-kovalenten Assemblierungen der **TPE-dU**-Konjugate entlang der Atto-modifizierten Templatstränge verglichen.

Die TPE-Fluoreszenz der Hybride **TPE1a-DNA2** und **TPE1a-DNA3** ist nicht gelöscht und es konnte kein Energietransfer beobachtet werden (Abbildung 7.16, Kapitel 7.1.3). Die Fluoreszenzintensität der Atto-Farbstoffe im Doppelstrang ist ähnlich der

Einzelstrangfluoreszenz nach Anregung des TPEs. Vermutlich ist die Distanz von 34 Å lang, um einen Energietransfer zu induzieren. Im Vergleich wird bei den Hybriden **TPE1b-DNA2** und **TPE1b-DNA3** eine Löschung der TPE-Emission um 48 % bzw. 46 % beobachtet, also ein Energietransfer zu den Atto-Farbstoffen über eine Distanz von 17 Å (Abbildung 3.34, Abbildung 3.35).

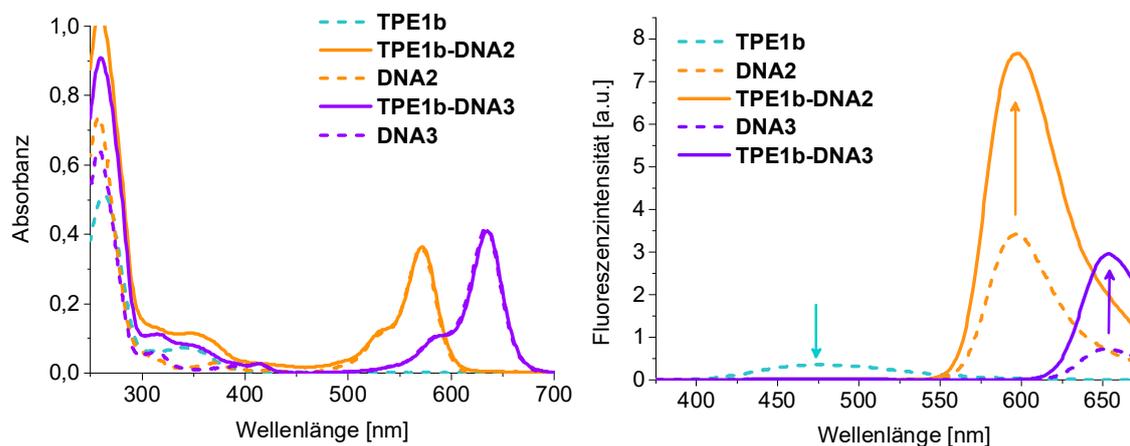


Abbildung 3.34: UV/Vis-Absorption und Fluoreszenz des Einzelstranges **TPE1b** und der Doppelstränge mit **DNA2** (cs) und **DNA3** (cs). Bedingungen: $c(\text{DNA}) = c(\text{cs}) = 2.50 \mu\text{M}$, 250 mM NaCl, 10 mM NaP_i , $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Fluoreszenzquantenausbeutemessungen waren für diese Systeme nicht möglich, da die Absorption bei 389 nm (geringstmögliche Anregungswellenlänge) zu gering war, weswegen keine FRET-Effizienzen berechnet werden konnten. Es ist jedoch am Fluoreszenzanstieg der Atto-Farbstoffe ersichtlich, dass der Energietransfer in einem deutlich geringeren Ausmaß stattfindet als in den nicht-kovalenten Assemblierungen. In den nicht-kovalenten DNA-Architekturen **TPE-dU-A₂₀-Atto565** und **TPE-dU-A₂₀-Atto633** wurde eine ausgeprägte Fluoreszenzlöschung und ein sehr effizienter Energietransfer über 58 Å festgestellt. Wodurch die zuvor aufgestellte Hypothese eines mehrstufigen Homo-Energieübertragungsmechanismus bestätigt wurde.

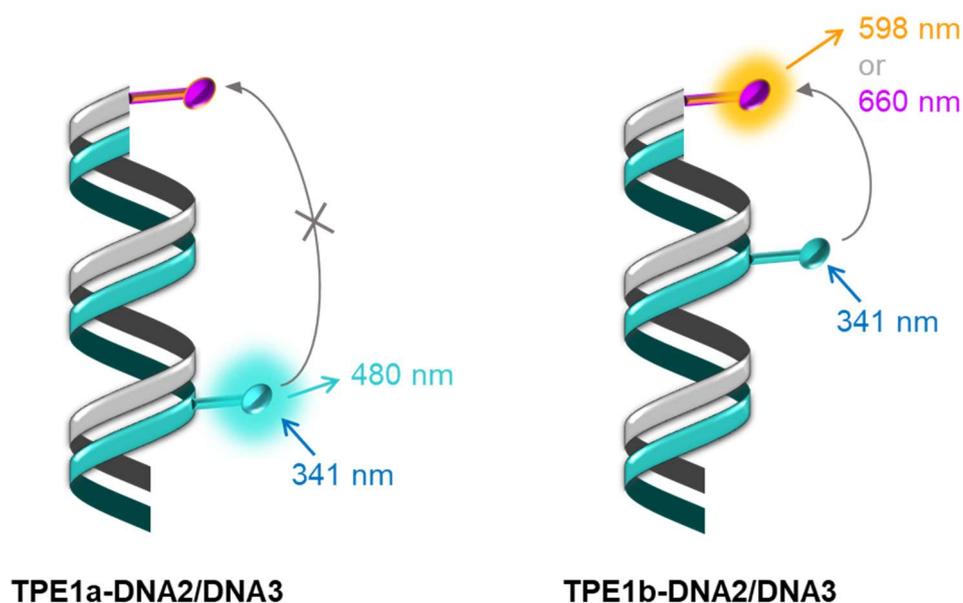


Abbildung 3.35: Illustrationen der vorgeschlagenen Struktur der Hybride **TPE1a-DNA2/DNA3** und **TPE1b-DNA2/DNA3**. In den Hybriden **TPE1a-DNA2/DNA3** wird kein FRET vom TPE zu den Atto-Farbstoffen beobachtet und daher lediglich die TPE-Fluoreszenz detektiert. Durch den FRET vom TPE zu den Atto-Farbstoffen in den Hybriden **TPE1b-DNA2/DNA3** konnte auch Atto-Farbstoff Fluoreszenz detektiert werden. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[22]

Solch ein Homo-Energietransport kann nicht durch die unmodifizierten AT-Paare, welche das TPE vom Atto-Farbstoff in den Hybriden **TPE1a-DNA2** und **TPE1a-DNA3** trennen, stattfinden. Diese Resultate unterstreichen die bedeutende Rolle der DNA-Template, welche nicht nur die Richtung des Energietransfers kontrollieren, sondern auch die Energietransporteigenschaften durch die Bausteine in den supramolekularen DNA-Architekturen entscheidend verbessern.

Die Stränge **TPE2a** und **TPE2b** wurden zweifach mit dem Nukleotid **TPE-dU** modifiziert. Die Hybridisierung mit dem Gegenstrang **DNA1** hat den gleichen Effekt auf die Fluoreszenz wie für **TPE1b**. **TPE2a** und **TPE2b** wurden ebenfalls mit **DNA2** und **DNA3** hybridisiert. In beiden Fällen konnte kein Energietransfer zwischen **TPE-dU** und den Atto-Farbstoffen in den doppelsträngigen DNA-Hybriden beobachtet werden (Abbildung 7.17, Kapitel 7.1.3).

3.5 Zusammenfassung

Die zwei neuen Konjugate **TPE-dU** und **L-TPE-dU** wurden synthetisiert. Diese Konjugate mit TPE als fluoreszenter AIE-Chromophor wurden zur Präparation einer neuen Art von supramolekularen DNA-Architektur durch Selbstassemblierung verwendet. Alle Assemblierungen, eingeschlossen die untemplierten Chromophor-Aggregate und die DNA-templierten Architekturen, zeigen aggregationsinduzierte Emission. Die Quantenausbeute der Assemblierung von **TPE-dU** entlang des komplementären A₂₀-Stranges beträgt 0.40. Diese Quantenausbeute ist sehr hoch im Vergleich zu anderen chromophorbasierten Assemblierungen, in denen die Fluoreszenz der Chromophore für gewöhnlich gelöscht wurde.^[6-8] Es konnte gezeigt werden, dass ungefähr 55 % aller Bindungsstellen der DNA-Template durch **TPE-dU** bzw. **L-TPE-dU** besetzt werden.

Die beiden Konjugate **TPE-dU** und **L-TPE-dU** unterschieden sich lediglich durch die Konfiguration der 2'-Desoxyribofuranose. Die Chiralität der templatfreien und DNA-templierten Assemblierungen entlang D- und L-konfigurierten DNA-Template konnte mittels optischer Spektroskopie untersucht werden. Die Chiralität der untemplierten Assemblierungen von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** wird ausschließlich durch die Konfiguration der Zucker-Einheit kontrolliert (Abbildung 3.36). Unterschiedliche Chromophor-Aggregate konnten durch die Variation der Inkubationsmethoden erhalten werden, wohingegen die Chiralität der templierten Assemblierungen durch die Konfiguration der DNA-Template bestimmt wird (Abbildung 3.36). Es wurde keine konfigurationsselektive Erkennung bzw. Bindung von **TPE-dU** an A₂₀ oder **L-TPE-dU** an L-A₂₀ festgestellt.

Diese supramolekularen DNA-Architekturen sind hierarchisch geordnet. Die DNA-Template kontrollieren nicht nur die Chiralität, sondern auch die Bindungselektivität und die Energietransporteigenschaften. Die starke aggregationsinduzierte Emission dieser DNA-Architekturen mit **TPE-dU** und **L-TPE-dU** wird effektiv gelöscht und die Anregungsenergie zu den Atto-Farbstoffen am 5'-Ende der DNA-Template transportiert, wodurch die Energietransporteigenschaften kontrolliert werden konnten.

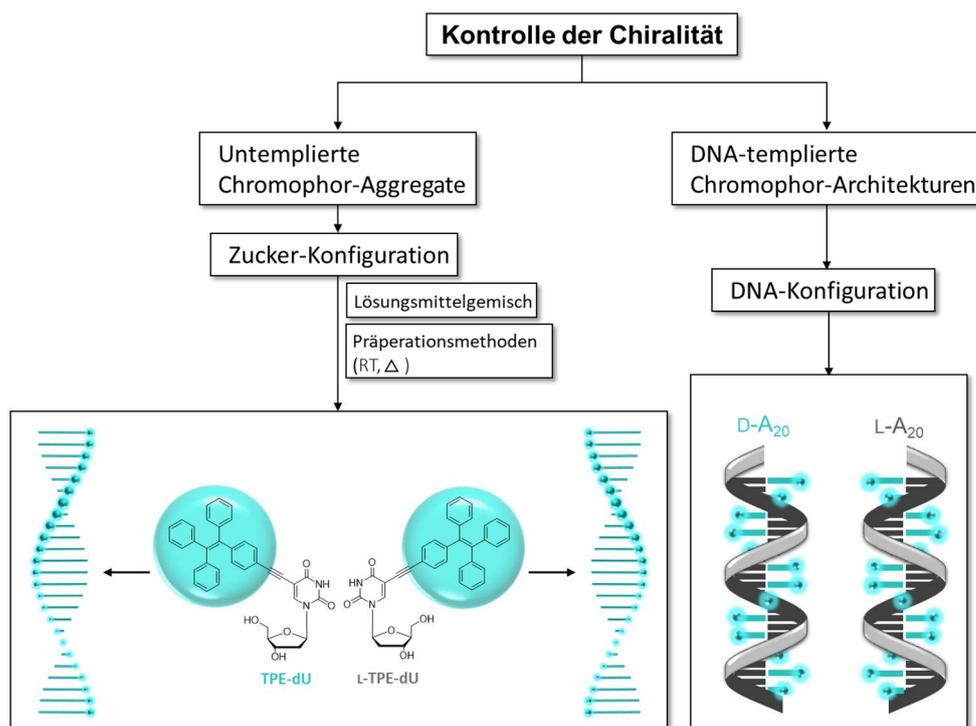


Abbildung 3.36: Schematische Darstellung der Chiralitätskontrolle der hergestellten templatfreien Chromophor-Aggregate und DNA-templierten supramolekularen Architekturen von **TPE-dU** und **L-TPE-dU**. Die Chiralität der untemplierten Chromophor-Aggregate wird durch die Konfiguration der Riboseinheit der Nucleosid-Konjugate gesteuert, wohingegen die Chiralität der DNA-templierten Architekturen durch die Konfiguration der DNA-Templatstränge bestimmt wird.

Die bisher beschriebenen Systeme wurden in wässriger Lösung charakterisiert. Für optoelektronische Anwendungen, wie OLEDs, sind die spektroskopischen und optoelektronischen Eigenschaften in der Festphase entscheidend. Daher wurden die optischen Eigenschaften der templatfreien Chromophor-Aggregate als Schicht untersucht. Diese zeigten die gleichen Eigenschaften wie in Lösung. Daher wurden diese als aktive Schicht in einer OLED getestet, wodurch eindrucksvoll die Eignung dieser chromophormodifizierten Nucleosid in optoelektronischen Anwendungen gezeigt werden konnten.

4 Sequenzspezifische Assemblierung

Die supramolekulare Organisation von Chromophoren bietet die Möglichkeit, die spektroskopischen Eigenschaften speziell für jede Anwendung über die Chromophoranordnung zu steuern.^[4, 152] Als strukturgebendes Grundgerüst kann einzelsträngige DNA verwendet werden. Mithilfe der kanonischen Basenpaarung kann bestenfalls die Chromophorabfolge über die DNA-Sequenz gesteuert werden.^[24]

WAGENKNECHT *et al.* gelang es, die beiden Chromophore Pyren und Perylen über die chromophormodifizierten Nukleoside **Py-dAp** und **Pe-dU** orthogonal entlang gemischter DNA-Template anzulagern.^[10] Innerhalb dieses Systems fand ein Energietransfer von Pyren zu Perylen statt. Je nach Templatsequenz und somit der Chromophorabfolge konnten unterschiedlich intensive Emissionen des Perylens beobachtet werden, wodurch die Kontrolle der Chromophorabfolge über die Sequenz bestätigt werden konnte. Angelehnt an dieses System sollte im Rahmen der vorliegenden Arbeit ein supramolekulares DNA-Chromophorsystem durch Assemblierung eines Donor-Akzeptor-Paares entlang gemischter DNA-Template generiert werden, um die ablaufenden Energietransferprozesse genauer zu untersuchen. Als chromophormodifiziertes Nukleosid mit aggregationsinduzierter Emission wurde **CDS-dU** (Donor) gewählt, welches simultan mit **Nr-dAp** bzw. **Pe-dAp** (Akzeptor) entlang gemischter DNA-Template assembliert werden sollte.

4.1 Synthese CDS-dU

In Abbildung 4.1 sind zwei mögliche Syntheserouten für die Synthese von **CDS-dU** über eine SONOGASHIRA-Kupplung gezeigt. Für die Syntheseroute A dienen Ethinyl-CDS **13** und das kommerziell erhältliche 5-Iod-2'-desoxyuridin (**8**) als Kupplungspartner.

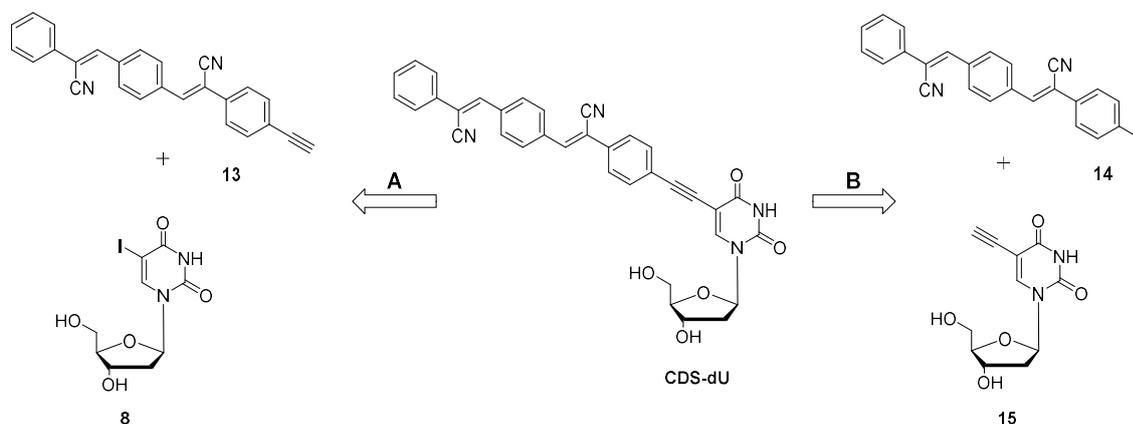


Abbildung 4.1: Retrosynthetische Übersicht zur Darstellung von **CDS-dU**.

Die Synthese der Verbindung **14** erfolgte angelehnt an eine Vorschrift von KOIZUMI *et al.*^[153] Die KNOVENAGEL-Kondensation des Arylacetonitrils **16** mit Terephthalaldehydmono(diethylacetal) (**17**) wurde in Methanol in der Anwesenheit von NaOMe durchgeführt, wobei das halbgeschützte Terephthalaldehyd **17** eine asymmetrische Reaktionsführung ermöglichte. Nach der zweiten KNOVENAGEL-Kondensation von Verbindung **18** mit Arylacetonitril **19** in Ethanol wurde die gewünschte Verbindung **14** in einer Gesamtausbeute von 74 % über zwei Stufen erhalten.

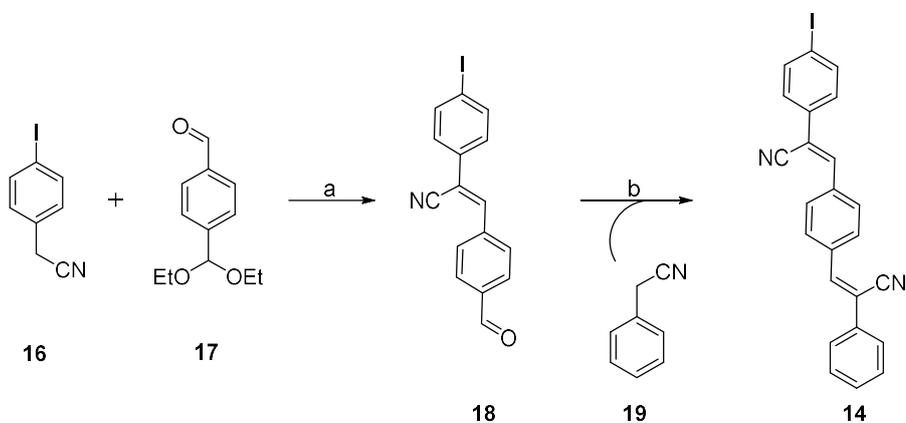


Abbildung 4.2: Synthese des I-CDSs **14**. a) 1. NaOMe, MeOH, RT, 10 min, 2. konz. HCl, CHCl₃, 100 °C, 30 min, 80 %; b) NaOMe, MeOH, EtOH, RT, 40 min, 93 %.

Die nächsten zwei Stufen zur gewünschten Verbindung **21** umfassen eine SONOGASHIRA-Reaktion mit TMS-Acetylen und die anschließende Abspaltung der TMS-Gruppe. Aufgrund der sehr schlechten Löslichkeit des Chromophors und der dadurch bedingten erschwerten säulenchromatographischen Reinigung war es nicht möglich, das gewünschte Produkt **21** in ausreichender Reinheit zu isolieren. Die Verunreinigung durch Verbindung **14** führte im weiteren Syntheseverlauf zu unerwünschten Nebenprodukten.

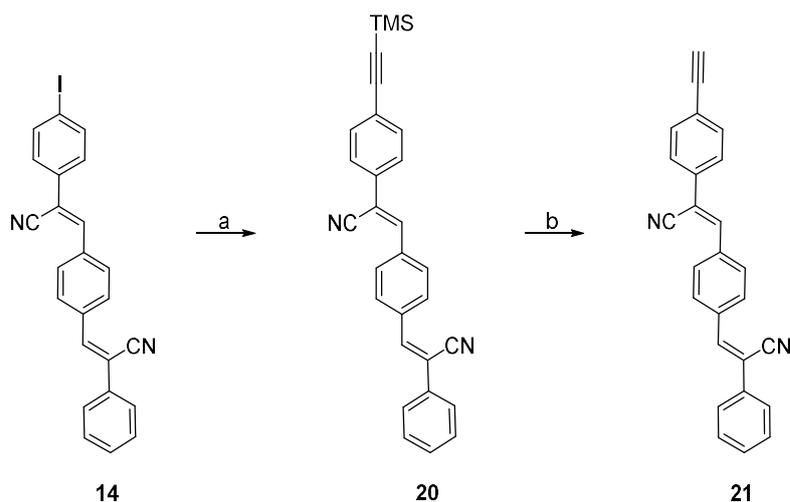


Abbildung 4.3: Synthese des CDS-Acetylens **21**. a) $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, CuI, PPh_3 , THF, TEA, Piperidin, 60 °C, 19 h, 94 %; b) KOH, THF, MeOH, RT, 19 h, 69 %.

Daher wurde Syntheseroute B bevorzugt (Abbildung 4.1). Für die SONOGASHIRA-Reaktion dienten das literaturbekannte 5-Ethynyl-2'-desoxyuridin (**15**)^[154-155] und Chromophor **14** als Ausgangsverbindungen. Aufgrund von Löslichkeitsproblemen wurde die *tert*-Butyldimethylsilyl-geschützte (TBDMS-geschützte) Verbindung **23** anstelle von Verbindung **15** eingesetzt. Mit dieser Synthesestrategie war es möglich, zunächst das TBDMS-geschützte Nukleosid **24** und nach anschließender Entschützung das gewünschte Nukleosid **CDS-dU** in einer Gesamtausbeute von 18 % über zwei Stufen zu erhalten.

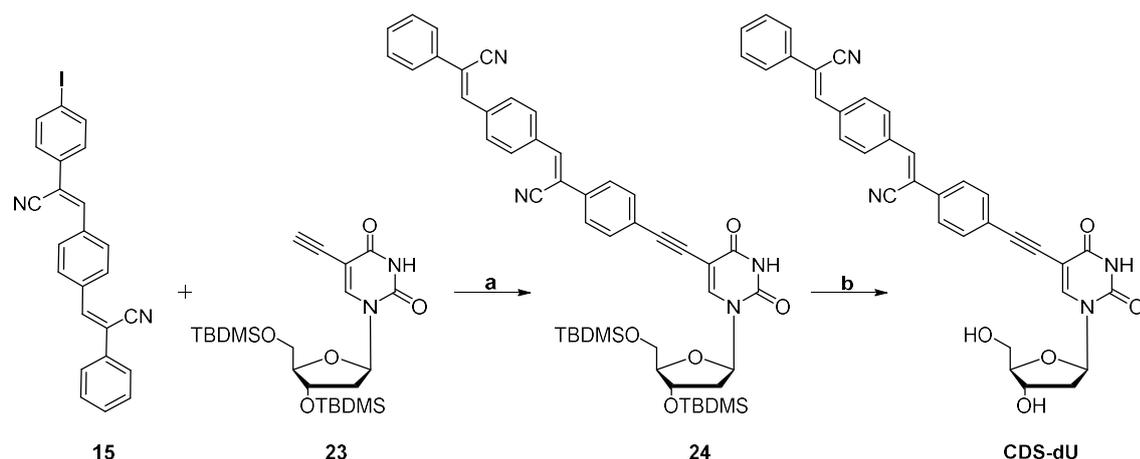


Abbildung 4.4: Synthese von **CDS-dU**. a) $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, CuI , PPh_3 , DMF , TEA , $90\text{ }^\circ\text{C}$, 4 h, 32 %; b) TEA^*HF , THF , RT, 19 h, 56 %.

4.2 Optische Charakterisierung von CDS-dU

Im Folgenden wurden die spektroskopischen Eigenschaften der neuartigen Verbindung **CDS-dU** in verschiedenen Lösungsmitteln untersucht. In fast allen Lösungsmitteln werden Absorptionsmaxima bei 390 nm und eine Schulter bei 320 nm beobachtet (Abbildung 4.5). Nur in Wasser (1% DMSO) weist **CDS-dU** ein hypsochrom verschobenes Absorptionsmaximum bei 320 nm auf.

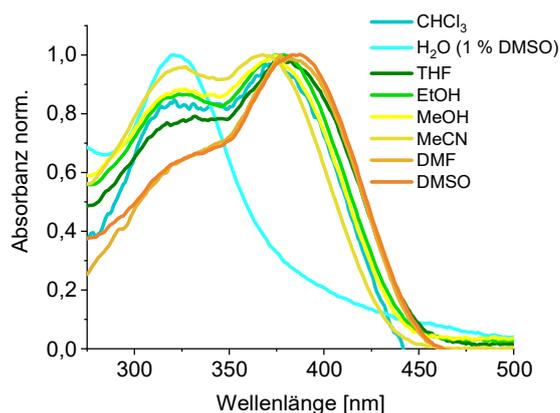


Abbildung 4.5: UV/Vis-Absorption von **CDS-dU** in verschiedenen Lösungsmitteln. Bedingungen: $37.5\text{ }\mu\text{M}$ **CDS-dU**, 1 h bei RT inkubiert.

Zur weiteren spektroskopischen Charakterisierung wurde die Fluoreszenz von **CDS-dU** in verschiedenen Lösungsmitteln gemessen (Abbildung 4.6). Die erhaltenen

Fluoreszenzmaxima und -quantenausbeuten sind in Tabelle 4.1 zusammengefasst. Es wurden Fluoreszenzmaxima zwischen 490 nm (Wasser, 1 % DMSO) und 559 nm (DMSO) beobachtet, wodurch die Solvatochromie des **CDS-dU** bereits mit bloßem Auge deutlich wird (Abbildung 4.6). Das solvatochrome Verhalten des CDS-Chromophors war bereits bekannt^[156] und scheint nicht durch die 2'-Desoxyuridinmodifikation beeinflusst zu werden.

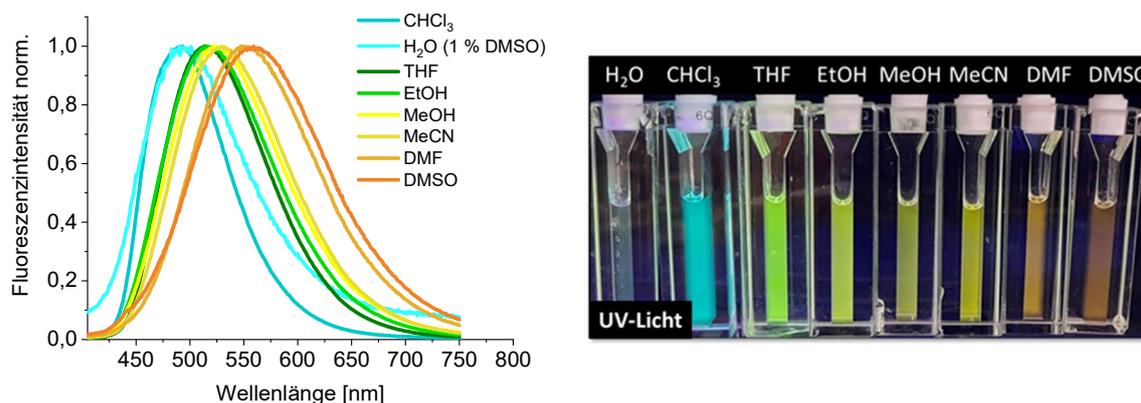


Abbildung 4.6: Fluoreszenz (links) und Foto der Lösungen (rechts) von **CDS-dU** in verschiedenen Lösungsmitteln. Bedingungen: 37.5 μM **CDS-dU**, 1 h bei RT inkubiert, $\lambda_{\text{exc}} = 390$ nm.

In organischen Lösungsmitteln wurden hohe Fluoreszenzquantenausbeuten Φ_f zwischen 20 und 72 % für **CDS-dU** ermittelt, wohingegen in wässriger Lösung ein sehr geringer Wert von 7 % beobachtet wird. AIE-Chromophore zeichnen sich für gewöhnlich durch eine hohe Fluoreszenz in wässriger Lösung und reduzierte Fluoreszenzintensitäten in organischen Lösungsmitteln aus,^[105, 139, 144] was auch für den unmodifizierte CDS-Chromophor beschrieben wird.^[156] Vermutlich führt die Knüpfung an 2'-Desoxyuridin zu einer höheren Löslichkeit von **CDS-dU** in wässriger Lösung, wodurch nur geringe Fluoreszenzen beobachtet werden.

Ein solches Fluoreszenzverhalten wurde bereits für andere AIE-Chromophore beobachtet. Durch die Einführung von Trialkylammoniumsubstituenten wurde die Löslichkeit der Chromophore in Wasser stark erhöht, wodurch nur noch geringe Fluoreszenzen beobachtet wurden. Die wasserlöslichen AIE-Chromophore wurden als „light up“-Sonden zur DNA-Detektion eingesetzt, da durch die elektrostatische Wechselwirkung mit dem DNA-Rückgrat aggregationsinduzierte Emission beobachtet werden konnte.^[120-121, 157]

Nach erfolgreicher Assemblierung von **CDS-dU** entlang einzelsträngiger DNA wird daher ebenfalls aggregationsinduzierte Emission erwartet.

Tabelle 4.1: Fluoreszenzquantenausbeuten Φ_f und -maxima von **CDS-dU** in verschiedenen Lösungsmitteln. Bedingungen: 37.5 μ M **CDS-dU**, 1 h bei RT inkubiert, λ_{exc} = 390 nm.

Lösungsmittel	Φ_f	λ_{max} [nm]
H ₂ O (1 % DMSO)	0.07	490
CHCl ₃	0.24	493
THF	0.72	514
EtOH	0.35	516
MeOH	0.20	522
MeCN	0.35	529
DMF	0.31	547
DMSO	0.24	559

4.3 DNA-templierte Assemblierung von CDS-dU

Die Assemblierung von **CDS-dU** entlang verschiedener Templatstränge (A_{20} und T_{20}) wurde nach der in Kapitel 3.4 gezeigten Assemblierungsmethode durchgeführt. Das entsprechende Monomer wurde hierzu in DMSO gelöst und anschließend zu einer wässrigen Lösung der DNA-Template gegeben. Erneut wurde die Konzentration der Stammlösung (4.3 mM) so gewählt, dass ein Anteil von 1 % DMSO in der finalen wässrigen Lösung nicht überschritten wurde. Zur Charakterisierung der Assemblierungsexperimente wurden UV/Vis-Absorption, Fluoreszenz und CD gemessen.

Die selektive Bindung von **CDS-dU** entlang des komplementären A_{20} -Stranges wurde mithilfe der Absorptionsspektroskopie untersucht. Es wurden Maxima bei 330 nm beobachtet, die dem CDS-Chromophor zugeordnet werden können (Abbildung 7.19, Kapitel 7.2.2). Das Absorptionsmaximum bei 260 nm wird durch die Nukleobasen (A in der DNA und U in **CDS-dU**) hervorgerufen. Die Absorptionen im Chromophorbereich (300-400 nm) der Assemblierungen von **CDS-dU** entlang A_{20} und T_{20} sowie ohne DNA sind

nahezu gleich. Ungebundene **CDS-dU**-Konjugate konnten somit nicht durch Zentrifugation abgetrennt werden, wodurch im Folgenden auf den Zentrifugationsschritt verzichtet wurde.

Zur weiteren Charakterisierung der DNA-Architekturen mit **CDS-dU** wurde CD gemessen. Im Absorptionsbereich des CDS-Chromophors wird für die Assemblierung von **CDS-dU** entlang A_{20} und T_{20} sowie ohne DNA ein positives Couplet mit einem Nulldurchgang bei 318 nm beobachtet (Abbildung 4.7), was dem Absorptionsmaximum entspricht. Im Absorptionsbereich zwischen 230 und 300 nm sind für die Assemblierungen entlang der DNA-Template auch positive Couplets mit einem Nulldurchgang bei 264 nm erkennbar. Daher wird für die DNA-Architekturen von **CDS-dU** entlang der D -konfigurierten DNA-Template eine rechtsgängige helikale Anordnung angenommen. Die Assemblierung von **CDS-dU** entlang A_{20} und T_{20} hat keine Auswirkungen auf die Chromophoranordnung, was am gleichen zweiphasigen CD-Signal im Chromophorbereich für die Assemblierungen mit und ohne DNA erkennbar ist.

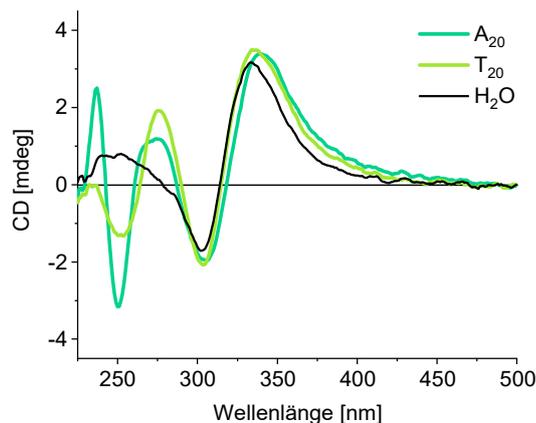


Abbildung 4.7: Zirkulardichroismus der Assemblierung von **CDS-dU** entlang A_{20} und T_{20} sowie ohne DNA. Bedingungen: 1.25 μ M DNA in Wasser (1 % DMSO), 25 μ M **CDS-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert.

Weder die Absorptions- noch CD-Messungen der Assemblierungen von **CDS-dU** lassen auf eine spezifische Erkennung des komplementären A_{20} -Templates schließen. Mithilfe der Fluoreszenzspektroskopie konnten zusätzliche Informationen zu der Bindung von **CDS-dU** entlang der DNA-Stränge festgestellt werden. Die geringste Fluoreszenz mit einem Maximum bei 545 nm wurde ohne DNA beobachtet (Abbildung 4.8). Die Assemblierung entlang des nicht-komplementären T_{20} -Stranges weist eine geringfügig höhere

Fluoreszenz auf, wohingegen entlang des komplementären A₂₀-Stranges eine signifikant höhere, bathochrom verschobene (von 545 nm zu 551 nm) Fluoreszenz beobachtet wurde. Wie erwartet wird vermutlich entlang des komplementären A₂₀-Stranges aggregationsinduzierte Emission des **CDS-dU** und somit ein „light up“-Effekt nach erfolgreicher Assemblierung beobachtet. Die Fluoreszenzquantenausbeuten Φ_f der Assemblierungen entlang A₂₀ ($\Phi_f = 0.14$) und ohne DNA ($\Phi_f = 0.05$) wurden ermittelt. Nach erfolgreicher Assemblierung steigt die Fluoreszenz somit um den Faktor 3, wodurch auf eine selektive Bindung von **CDS-dU** an den komplementären A₂₀-Strang geschlossen werden kann.

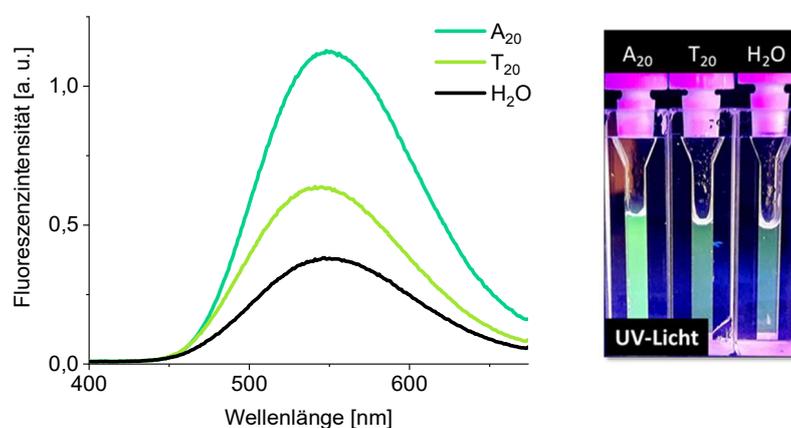


Abbildung 4.8: Fluoreszenz (links) und Foto (rechts) der Assemblierung von **CDS-dU** entlang A₂₀ und T₂₀ sowie ohne DNA. Bedingungen: 1.25 μM DNA in Wasser (1 % DMSO), 25 μM **CDS-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, $\lambda_{\text{exc}} = 360$ nm.

Da ungebundene **CDS-dU**-Konjugate nicht durch Zentrifugation entfernt werden konnten, wurde der Besetzungsgrad der Assemblierung über Titrationsexperimente bestimmt. Hierfür wurde die Fluoreszenz von 0 bis 30 Äquivalenten **CDS-dU** in Gegenwart von A₂₀ und ohne DNA gemessen. Im komplementären A₂₀-Strang sind 20 potenzielle Bindungsstellen für **CDS-dU** vorhanden. Die Auftragung der Fluoreszenzintegrale gegen die Äquivalente an **CDS-dU** ist in Abbildung 4.9 dargestellt. Die Fluoreszenzspektren können Kapitel 7.2.2 (Abbildung 7.20) entnommen werden. Für die Assemblierung von **CDS-dU** entlang A₂₀ wurde ein höherer Fluoreszenzanstieg (grüne Quadrate) als ohne DNA (schwarze Kreise) beobachtet. Die Differenz beider Werte wurde gebildet und ebenfalls aufgetragen, wodurch die absolute Fluoreszenz der Assemblierung entlang A₂₀ erhalten

wurde (grüne Dreiecke). Diese steigt für bis zu 15 Äquivalenten linear an, was einer Besetzungsrate von 75 % entspricht. Ab 15 Äquivalenten steigt die Fluoreszenz nur noch geringfügig, wodurch eine spezifische Bindung von **CDS-dU** an die DNA ausgeschlossen wird.

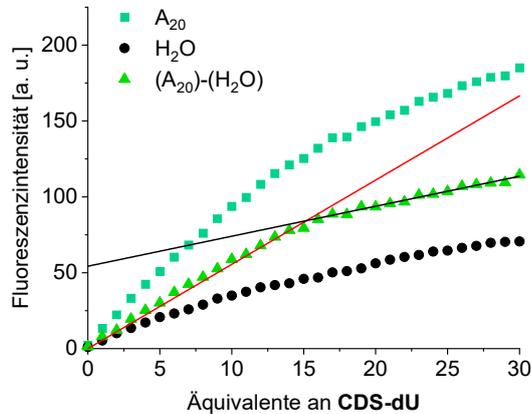


Abbildung 4.9: Auftragung der Fluoreszenzintegrale gegen die Äquivalente an **CDS-dU** nach der Assemblierung entlang A₂₀ sowie ohne DNA. Die rote Linie entspricht der Fitgerade für 1-15 Äq. **CDS-dU**. Die schwarze Fitkurve wurde für 16-30 Äq. angepasst. Bedingungen: 1.25 µM DNA in Wasser (1 % DMSO), 25 µM **CDS-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, λ_{exc} = 360 nm.

Basierend auf der selektiven Bindung von **CDS-dU** entlang von A₂₀ wurden die Energietransferprozesse innerhalb dieser Assemblierung untersucht. Hierzu wurde die Assemblierung von **CDS-dU** entlang Atto-modifizierter DNA charakterisiert, wobei die Vorgehensweise die gleiche wie zuvor in Kapitel 3.4.3 war. Die verwendeten DNA-Stränge waren ebenfalls mit den Farbstoffen *Atto565* und *Atto633* am 5'-Ende modifiziert. Die Absorption dieser Farbstoffe überlappt mit der Emission des **CDS-dU**, wodurch ein Energietransfer möglich sein sollte (Abbildung 7.21, Kapitel 7.2.2). Die erhaltenen DNA-Architekturen wurden mittels UV/Vis-Absorption und Fluoreszenz charakterisiert. Die Absorptionsspektren können Abbildung 7.22 aus Kapitel 7.2.2 entnommen werden und zeigen im CDS-Chromophorbereich jeweils die gleiche Absorption für die Assemblierung von **CDS-dU** entlang A₂₀, A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633. Nach erfolgter Assemblierung von **CDS-dU** entlang A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633 ist die CDS-Fluoreszenz deutlich gelöscht und eine Zunahme der Atto565- bzw. Atto633-Fluoreszenz ist zu erkennen (Abbildung 4.10).

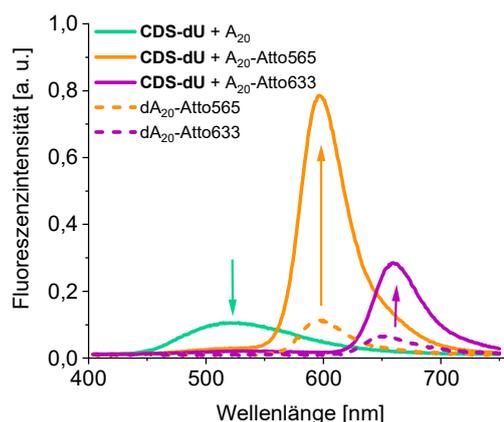


Abbildung 4.10: Fluoreszenz der Assemblierungen von **CDS-dU** entlang A_{20} , A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 sowie die DNA-Stränge A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 ohne **CDS-dU**. Bedingungen: 1.25 μM DNA in Wasser (1 % DMSO), 25 μM **CDS-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, $\lambda_{\text{exc}} = 360$ nm.

Die Fluoreszenzquantenausbeuten des Donors in Anwesenheit des Akzeptors Φ_{DA} und des Akzeptors Φ_A nach Donoranregung wurden bestimmt und mithilfe von Formel 7 (Kapitel 3.4.3) die FRET-Effizienz E berechnet (Tabelle 4.2). Für die Assemblierung von **CDS-dU** entlang A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 wurden hohe Effizienzen von 81 % und 72 % ermittelt, wodurch vermutlich ein mehrstufiger Homo-Energietransfer zwischen den CDS-Chromophoren stattfindet, bevor die Anregungsenergie des **CDS-dU** auf die Atto-Farbstoffe übertragen wird, wie zuvor für **TPE-dU** beschrieben (Kapitel 3.4.3).

Tabelle 4.2: Fluoreszenzquantenausbeuten des Donors in Anwesenheit des Akzeptors (Φ_{DA}) in den DNA-Architekturen **CDS-dU** + A_{20} -Atto565 und **CDS-dU** + A_{20} -Atto633 sowie des Akzeptors (Φ_A) nach Anregung des Donors bei 389 nm.

	Φ_{DA}	Φ_A	FRET-Effizienz
	400 - 550 nm	550 - 675 nm	$E = 1 - \frac{\Phi_{DA}}{\Phi_A}$
CDS-dU + A_{20} -Atto565	0.03	0.16	0.81
CDS-dU + A_{20} -Atto633	0.04	0.14	0.72

4.4 Sequenzspezifische Assemblierung CDS-dU und Nr-dAp

Basierend auf der selektiven Assemblierung von **CDS-dU** entlang des komplementären A₂₀-Stranges (Kapitel 4.3) wurde die simultane sequenzkontrollierte Assemblierung mit **Nr-dAp** untersucht (Abbildung 4.11). **Nr-dAp** wurde aufgrund der spektralen Überlappung der Nilrotabsorption mit der Emission des CDS-Chromophors gewählt, wodurch ein Energietransfer möglich sein sollte. Durch die simultane Assemblierung von **CDS-dU** und **Nr-dAp** sollten die Energietransferprozesse für unterschiedliche AT-Sequenzen untersucht werden.

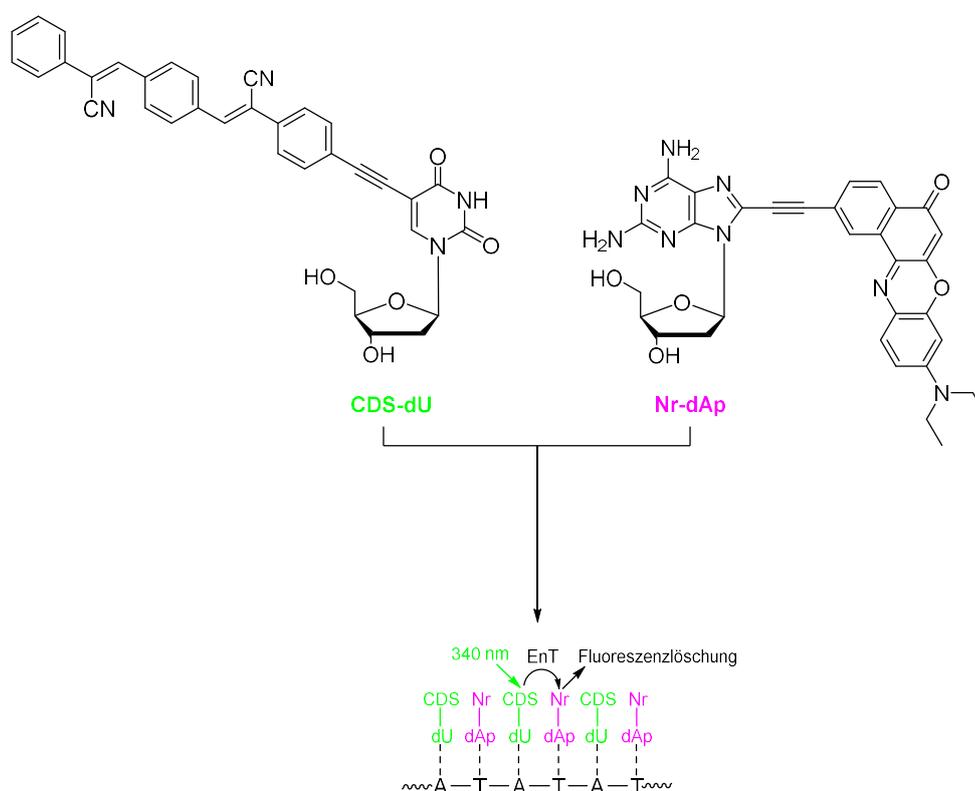


Abbildung 4.11: Struktur der modifizierten Nucleoside **CDS-dU** und **Nr-dAp** sowie die schematische Darstellung der orthogonalen Assemblierung entlang eines DNA-Stranges mit gemischter AT-Sequenz.

4.4.1 Synthese Nr-dAp

Nilrot-Acetylen **26** wurde mit 5-Iod-2-amino-2'-desoxyadenosin (**25**) in einer SONOGASHIRA-Reaktion umgesetzt. Die gewünschte Verbindung **Nr-dAp** wurde als violetter Feststoff in einer Ausbeute von 60 % erhalten (Abbildung 4.12).

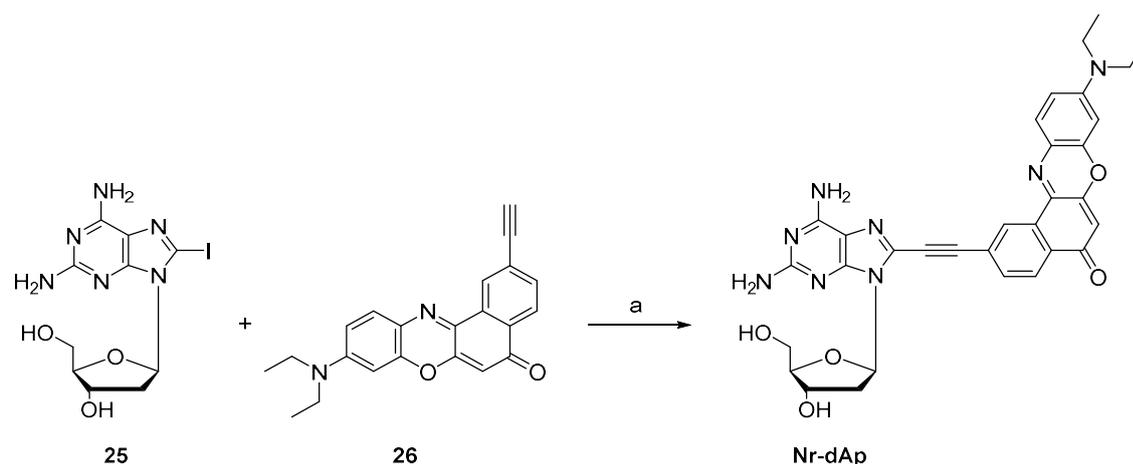


Abbildung 4.12: Synthese des Nucleosids **Nr-dAp**. a) Pd(PPh₃)₄, CuI, Et₃N, DMF, 60 °C, 19 h, 60 %.

4.4.2 Orthogonale Selbstassemblierung

Die simultane Assemblierung von **CDS-dU** und **Nr-dAp** entlang gemischter DNA-Stränge wurde untersucht, wobei **CDS-dU** selektiv an Adenin und **Nr-dAp** an Thymin binden sollte. Die Vorgehensweise für diese Assemblierungsexperimente ist in Abbildung 4.13 gezeigt, wofür folgendes Protokoll verwendet wurde: Zunächst wurden die DNA-Template im wässrigem Medium vorgelegt. Es wurden die reinen DNA-Stränge A₁₀ und T₁₀ sowie DNA-Stränge mit gemischten AT-Sequenzen verwendet (Tabelle 4.3), um die sequenzspezifische Bindung beider Nucleoside und die Kontrolle der Energietransfereigenschaften zu untersuchen.

Tabelle 4.3: Sequenzabfolge der verwendeten DNA-Template und Anzahl der Grenzflächen n zwischen beiden Chromophoren bei korrekter Belegung.

Bezeichnung	DNA-Sequenz	Grenzfläche n
A ₁₀	5'-AAAAA AAAAA-3'	0
T ₁₀	5'-TTTTT TTTTT-3'	0
A _{10T₁₀}	5'-AAAAA AAAAA TTTTT TTTTT-3'	1
(AATT) ₅	5'-AATTA ATTAA TTAAT TAATT-3'	9
(ATTT) ₅	5'-ATTTA TTTAT TTATT TATTT-3'	9
(AT) ₁₀	5'-ATATA TATAT ATATA TATAT-3'	19

4.4 Sequenzspezifische Assemblierung CDS-dU und Nr-dAp

In den verwendeten Strängen nimmt die Zahl der Grenzflächen zwischen Nilrot und Dicyanodistilben in der Reihe $A_{10}T_{10}$, $(AATT)_5$, $(ATTT)_5$ und $(AT)_{10}$ bei korrekter Belegung zu. **Nr-dAp** wurde zu diesen DNA-Strängen hinzugegeben, für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend zentrifugiert, um ungebundene Nucleoside zu trennen. Danach wurde **CDS-dU** hinzugefügt und erneut für eine Stunde inkubiert und zentrifugiert. Die Reihenfolge der Nucleosid-Zugabe war entscheidend für die orthogonalen Assemblierungsexperimente. Die Assemblierung von **Nr-dAp** zeigte die bessere Selektivität gegenüber dem komplementären Strang und ungebundene **Nr-dAp**-Konjugate konnten durch Zentrifugation abgetrennt werden, weshalb dieses zuerst hinzugegeben wurde. Der Überstand wurde über UV/Vis-Absorption, Fluoreszenz und CD charakterisiert.

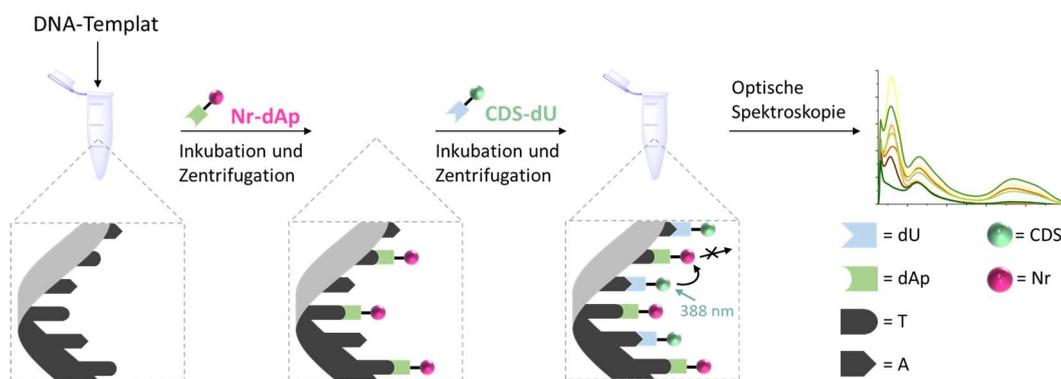


Abbildung 4.13: Schematische Darstellung der Vorgehensweise bei der orthogonalen Assemblierung von **Nr-dAp** und **CDS-dU**.

Die Konzentration der Stammlösung von **Nr-dAp** (2.0 mM) und **CDS-dU** (4.3 mM) in DMSO wurde ausreichend hoch gewählt, sodass sich ein DMSO-Gehalt von nur ungefähr 1 % in der finalen wässrigen Lösung ergab. Innerhalb der Assemblierungsexperimente wurden die Chromophor-Nucleoside in 1.5-fachem Überschuss eingesetzt, um eine möglichst hohe Besetzung der DNA-Template zu erreichen.

Um einen Einblick zu bekommen, welche Chromophore in den DNA-Architekturen gebunden sind, wurde die UV/Vis-Absorption gemessen. Die Assemblierung von **Nr-dAp** entlang des komplementären T_{10} -Strangs zeigt eine hohe Nilrotabsorption bei 570 und 630 nm (Abbildung 4.14). Die Absorption entlang des nicht-komplementären A_{10} -Stranges und ohne DNA hingegen ist sehr gering, wodurch die selektive Erkennung von Thymin

durch **Nr-dAp** gezeigt werden konnte. Die selektive Bindung von **Nr-dAp** an den komplementären T_{10} -Strang wurde ebenfalls in der Anwesenheit von **CDS-dU** getestet, wobei ähnliche Absorptionen wie zuvor erhalten wurden und die Selektivität von **Nr-dAp** bestätigt wurde.

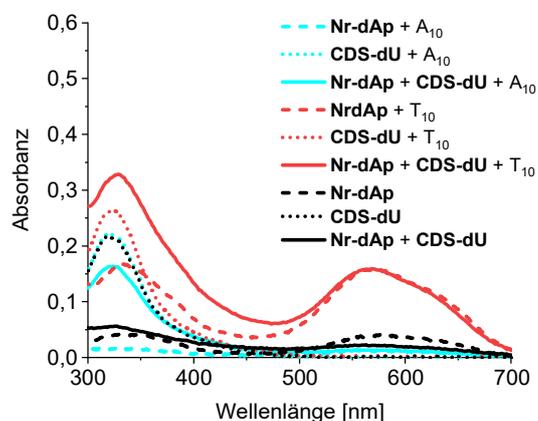


Abbildung 4.14: UV/Vis-Absorption der simultanen Assemblierung von **Nr-dAp** und **CDS-dU** entlang A_{10} und T_{10} sowie ohne DNA. Bedingungen: 18.75 μ M **Nr-dAp**, 18.75 μ M **CDS-dU**, 1.25 μ M DNA in Wasser (1 % DMSO), 250 mM NaCl, jeweils 1 h bei RT inkubiert und anschließend 1 min zentrifugiert.

In allen Assemblierungen von **CDS-dU** entlang A_{10} und T_{10} sowie ohne DNA wurde nahezu die gleiche Dicyanodistilbenabsorption bei 320 nm beobachtet, wodurch ungebundene **CDS-dU**-Konjugate wie in Kapitel 4.3 nicht durch Zentrifugation entfernt werden konnten. Daher wurde für die orthogonale Assemblierung nachfolgend nur der Absorptionsbereich des Nilrots betrachtet.

Nr-dAp und **CDS-dU** wurden zunächst ohne DNA in wässriger Lösung untersucht, um Monomerpaarung auszuschließen. Sowohl im Absorptionsbereich des Nilrots als auch des Dicyanodistilbens wurden lediglich geringe Absorptionen beobachtet, wodurch ungebundenen Chromophor-Nukleoside in den simultanen Assemblierungen durch Zentrifugation entfernt werden konnten.

Die Assemblierungen von **Nr-dAp** und **CDS-dU** entlang der gemischten DNA-Stränge zeigten mit Ausnahme von $(AT)_{10}$ eine hohe Nilrotabsorption bei 560 nm, wobei für $(AATT)_5$ und $A_{10}T_{10}$ nahezu die gleiche Absorption beobachtet wurde. Für die Assemblierung entlang $(ATTT)_5$ ist eine geringfügig höhere Absorption in Übereinstimmung mit der höheren Zahl an potenziellen Bindungsstellen für **Nr-dAp**

erkennbar. Die Nilrotabsorptionen in den gemischten Assemblierungen entlang (AATT)₅, (ATTT)₅ und A₁₀T₁₀ gleichen der korrespondierenden Absorption der reinen **Nr-dAp**-Assemblierung entlang von T₁₀. Es wird vermutet, dass die Assemblierung von **Nr-dAp** entlang (AT)₁₀ nicht stattfindet, da stabilisierende π - π -Wechselwirkungen zwischen den Nilrot-Chromophoren nicht zustande kommen können. Die erfolgreiche Assemblierung von **Nr-dAp** ist anhand der blauen Färbung bereits mit bloßem Auge sichtbar (Abbildung 4.16 A).

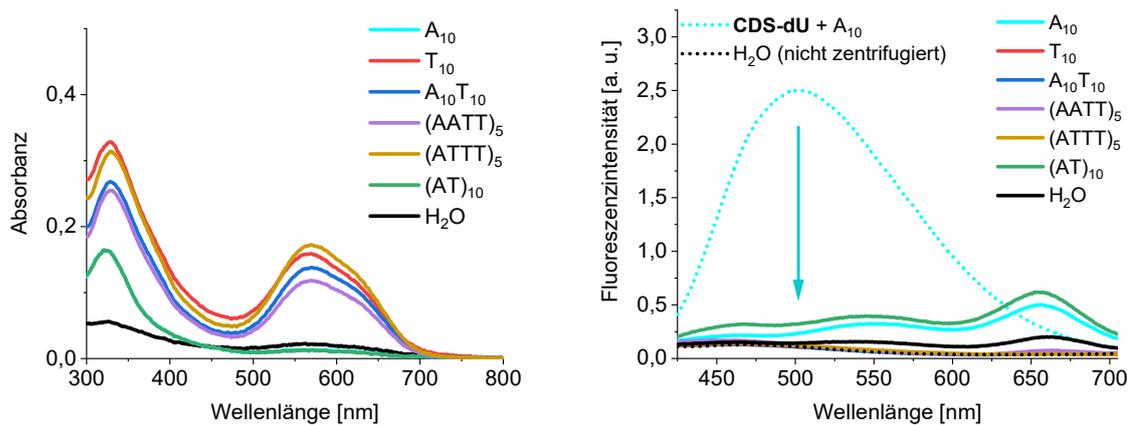


Abbildung 4.15: UV/Vis-Absorption und Fluoreszenz der simultanen Assemblierung von **Nr-dAp** und **CDS-dU** entlang A₁₀, T₁₀, A₁₀T₁₀, (AT)₁₀, (AATT)₅ und (ATTT)₅ sowie ohne DNA. Bedingungen: 18.75 μ M **Nr-dAp**, 18.75 μ M **CDS-dU**, 1.25 μ M DNA in Wasser (1 % DMSO), 250 mM NaCl, jeweils 1 h bei RT inkubiert und anschließend 1 min zentrifugiert, λ_{exc} = 360 nm.

Die Fluoreszenz der orthogonalen Assemblierungen beider Chromophor-Nukleoside entlang der gemischten DNA-Stränge ist in Abbildung 4.15 dargestellt. Entlang aller DNA-Stränge sowie ohne DNA wird die Fluoreszenz des **CDS-dU** bei 500 nm gelöscht. Es wird vermutet, dass bereits geringe Mengen an **Nr-dAp** einen Energietransfer von Dicyanodistilben auf Nilrot erlauben. Die Nilrotfluoreszenz in wässriger Lösung ist gelöscht, wodurch für die DNA-Architekturen, mit Ausnahme von (AT)₁₀ und A₁₀, keine Fluoreszenz beobachtet wurde. Die Assemblierungen entlang A₁₀ und (AT)₁₀ zeigten zuvor die geringsten Nilrotabsorptionen. Durch die geringe Konzentration von **Nr-dAp** sind die fluoreszenzlöschenden π - π -Wechselwirkungen zwischen den Nilrot-Chromophoren vermutlich reduziert, wodurch eine geringe Nilrotfluoreszenz bei 657 nm erkennbar ist (Abbildung 4.15 und Abbildung 4.16 B).

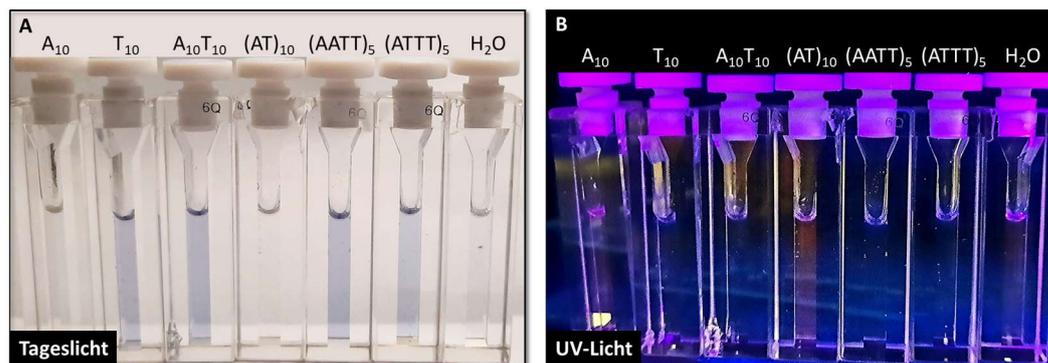


Abbildung 4.16: Fotos der Assemblierung von **Nr-dAp** und **CDS-dU** entlang A₁₀, T₁₀, A₁₀T₁₀, (AT)₁₀, (AATT)₅ und (ATTT)₅ sowie in der Abwesenheit jeglicher DNA bei Tageslicht (A) und unter der UV-Lampe (B).

Die Helizität der DNA-Architekturen wurde mittels CD-Spektroskopie untersucht. Im Absorptionsbereich der Chromophore ist nahezu kein CD erkennbar (Abbildung 7.23, Kapitel 7.2.3), wodurch keine Aussage über die Anordnung der Chromophore in den DNA-Architekturen getroffen werden kann. Da für einzelsträngige DNA ab 20 Basen eine helikale Struktur angenommen werden kann,^[158] liegen die DNA-Architekturen vermutlich ebenfalls helikal vor.

4.5 Sequenzspezifische Assemblierung CDS-dU und Pe-dAp

WAGENKNECHT *et al.* konnten die selektive Assemblierung von **Pe-dAp** entlang des komplementären T₂₀-Stranges zeigen,^[11] weshalb ebenfalls die simultane Assemblierungen von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang gemischter AT-Stränge untersucht werden sollte. Zuvor konnte die orthogonale Anlagerung von **CDS-dU** und **Nr-dAp** gezeigt werden (Kapitel 4.4.2). Innerhalb dieser DNA-Architekturen fand ein Energietransfer von Dicyanodistilben auf Nilrot statt, wodurch die Fluoreszenz gelöscht wurde. Die sequenzspezifische Assemblierung von **CDS-dU** (Donor) und **Pe-dAp** (Akzeptor) erlaubt den Energietransfer von Dicyanodistilben auf Perylen, der die Fluoreszenz steigern statt löschen soll. Hierfür wurde das gleiche Assemblierungsprotokoll wie in Kapitel 4.4.2 verwendet, wobei erneut die Reihenfolge entscheidend war. Zuerst wurde **Pe-dAp** entlang der DNA-Template assembliert, womit die besten Resultate in Bezug auf

Orthogonalität erzielt wurden. In umgekehrter Reihenfolge konnten ungebundene Nucleoside nicht aus der wässrigen Lösung abgetrennt werden. Das Nucleosid **Pe-dAp** ist literaturbekannt^[11] und wurde für die Assemblierungsexperimente von Dr. YANNIC FRITZ zur Verfügung gestellt.

Zur Charakterisierung der simultanen Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang der gemischten AT-Sequenzen wurde die UV/Vis-Absorption gemessen. Zunächst wurde die Monomerpaarung zwischen **Pe-dAp** und **CDS-dU** untersucht. Lagen die Chromophor-Nucleoside getrennt in wässriger Lösung ohne DNA vor, konnten die **Pe-dAp**-Konjugate nahezu vollständig abgetrennt werden, wohingegen **CDS-dU**-Konjugate in Lösung blieben, was an der Absorption bei 320 nm erkennbar ist (Abbildung 4.17). Befanden sich jedoch beide Nucleoside gemeinsam in Lösung, konnten diese nahezu vollständig entfernt werden. Vermutlich bildet **CDS-dU** im wässrigen Medium wasserlösliche mizellenartige Aggregate, die schwer abtrennbar sind. Solche Strukturen wurden zuvor für ähnliche Verbindungen (z. B. **Nr-dU**) in wässriger Lösung nachgewiesen.^[7] Befinden sich beide Chromophor-Nucleoside in Lösung, ist die Bildung solcher Aggregate vermutlich gestört, wodurch **CDS-dU** nicht mehr in Lösung gehalten wird.

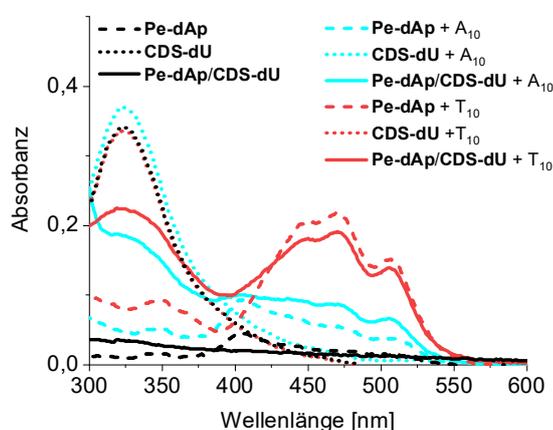


Abbildung 4.17: UV/Vis-Absorption der orthogonalen Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang A₁₀ und T₁₀ sowie ohne DNA. Bedingungen: 1.25 μ M DNA in Wasser (1 % DMSO), 18.75 μ M **Pe-dAp**, 18.75 μ M **CDS-dU**, 250 mM NaCl, jeweils 1 h bei RT inkubiert und anschließend 1 min zentrifugiert.

Als Referenzexperimente wurde die simultane Assemblierung von **CDS-dU** und **Pe-dAp** entlang A₁₀ und T₁₀ untersucht. Aufgrund der schlechten Abtrennung ungebundener **CDS-dU**-Konjugate und der überlappenden Absorption des 2-Aminopurin von **Pe-dAp** im

Absorptionsbereich des Dicyanodistilbens wurde lediglich die Perylenabsorption zwischen 400 und 550 nm betrachtet. Die Assemblierung von **Pe-dAp** entlang des komplementären T₁₀-Stranges in der Anwesenheit von **CDS-dU** zeigte signifikant höhere Absorptionen im Perylenbereich als die Assemblierung entlang des nicht-komplementären A₁₀-Stranges oder ohne DNA. Diese Absorptionen stimmen mit den komplementären Absorptionen der reinen **Pe-dAp**-Assemblierungen überein, wodurch die selektive Assemblierung von **Pe-dAp** entlang T₁₀ auch in der Anwesenheit von **CDS-dU** gezeigt werden konnte. Die geringe Perylenabsorption entlang des nicht-komplementären A₁₀-Stranges deutet auf eine gewisse Fehlpaarung des **Pe-dAps** hin.

Die Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang der gemischten DNA-Templates A₁₀T₁₀, (AATT)₅, (ATTT)₅ und (AT)₁₀ wurde untersucht, um den Einfluss der DNA-Sequenz auf den Energietransfer zu charakterisieren. Die Perylenabsorption der simultanen Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** ist für A₁₀T₁₀, (AATT)₅ und (AT)₁₀ nahezu identisch, wohingegen (ATTT)₅ eine höhere Absorption in Übereinstimmung mit den verfügbaren Bindungsstellen für **Pe-dAp** zeigt (Abbildung 4.18).

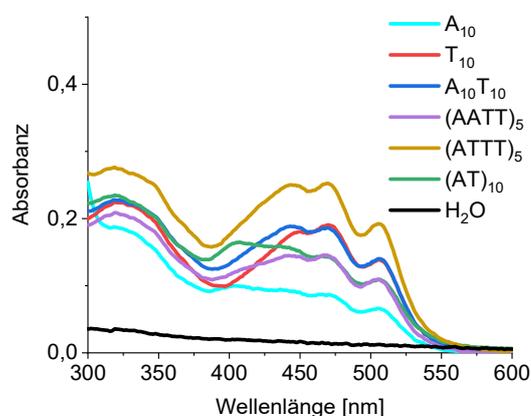


Abbildung 4.18: UV/Vis-Absorption der simultanen Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang A₁₀, T₁₀, A₁₀T₁₀, (AT)₁₀, (AATT)₅ und (ATTT)₅ sowie ohne DNA. Bedingungen: 18.75 μ M **Pe-dAp**, 18.75 μ M **CDS-dU**, 1.25 μ M DNA in Wasser (1 % DMSO), 250 mM NaCl, jeweils 1 h bei RT inkubiert und anschließend 1 min zentrifugiert.

Die Fluoreszenz der reinen und gemischten Assemblierungen gibt zusätzliche Hinweise auf die sequenzspezifische Bindung beider Chromophor-Nukleoside. Die Fluoreszenzen nach Anregung des Dicyanodistilbens ($\lambda_{exc} = 360$ nm) sind in Abbildung 4.19 dargestellt.

Mischungen von **Pe-dAp** und **CDS-dU** sind nahezu unlöslich in wässriger Lösung, wodurch keine Fluoreszenz erkennbar ist. Die Fluoreszenzmessungen vor der Zentrifugation zeigen ebenfalls keine Perylenfluoreszenz, wodurch ein Energietransfer zwischen beiden Monomeren ohne DNA ausgeschlossen wird. Zuvor wurde vermutet, dass die mizellenartigen Aggregate von **CDS-dU** durch die Anwesenheit von **Pe-dAp** aufgebrochen werden, vermutlich wird daher auch keine aggregationsinduzierte Emission von **CDS-dU** beobachtet. Die Assemblierung von **CDS-dU** entlang des komplementären A₁₀-Stranges zeigt eine hohe Fluoreszenz bei 500 nm. Für die Referenzexperimente der simultanen Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang der Stränge A₁₀ und T₁₀ sind nur sehr geringe Perylenfluoreszenzen und keine Fluoreszenz des Dicyanodistilbens erkennbar. Da beide Monomere ohne DNA keinen Energietransfer zeigten, liegen vermutlich Fehlpaarungen beider Chromophor-Nukleoside vor, wodurch ein geringer Energietransfer beobachtet werden kann.

Die Assemblierungsexperimente entlang der gemischten DNA-Template zeigen hohe Perylenfluoreszenzen mit Maxima bei 538 nm und 571 nm, wobei die Intensität in der Reihe (AT)₁₀, A₁₀T₁₀, (AATT)₅ und (ATTT)₅ zunimmt. Der DNA-Templatestrang (AT)₁₀ hat die höchste Zahl an potenziellen Grenzflächen zwischen beiden Chromophor-Nukleosiden und sollte somit die höchste Perylenfluoreszenz zeigen. Vermutlich ist eine simultane Assemblierung beider Nukleoside in dieser Sequenz aufgrund der raumfüllenden Struktur des Dicyanodistilbens von **CDS-dU** nicht möglich. Die Assemblierung entlang (ATTT)₅ zeigt eine höhere Perylenfluoreszenz als entlang (AATT)₅ trotz gleicher Anzahl an potenziellen Grenzflächen zwischen beiden Chromophoren. Die höhere Perylenfluoreszenz ist auf die größere Zahl potenzieller **Pe-dAp**-Bindungsstellen zurückzuführen.

4 Sequenzspezifische Assemblierung

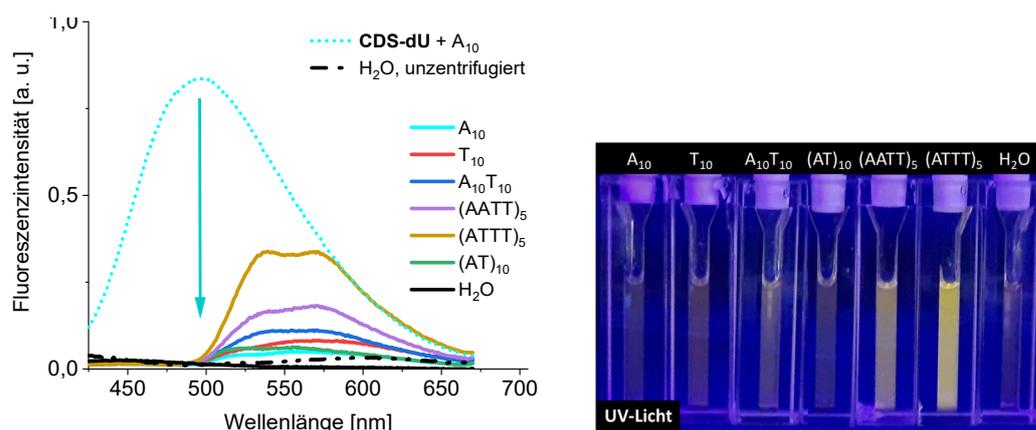


Abbildung 4.19: Fluoreszenz und Foto der Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang A_{10} , T_{10} , $A_{10}T_{10}$, $(AT)_{10}$, $(AATT)_5$ und $(ATTT)_5$ sowie ohne DNA. Bedingungen: $18.75 \mu\text{M}$ **Pe-dAp**, $18.75 \mu\text{M}$ **CDS-dU**, $1.25 \mu\text{M}$ DNA in Wasser (1 % DMSO), 250 mM NaCl, jeweils 1 h bei RT inkubiert und anschließend 1 min zentrifugiert, $\lambda_{\text{exc}} = 360 \text{ nm}$.

Zur Charakterisierung der helikalen Anordnung innerhalb der DNA-Architekturen wurde der CD gemessen. Im Perylenabsorptionsbereich ist ein positives Couplet für die simultane Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang T_{10} mit einem Nulldurchgang bei 471 nm in Übereinstimmung mit dem Absorptionsmaximum von Perylen zu erkennen (Abbildung 4.20). Ähnliche positive Couplets mit geringerer Intensität wurden für die Assemblierungen entlang $(AATT)_5$, $(ATTT)_5$ und $A_{10}T_{10}$ beobachtet, aufgrund der exzitonicen Wechselwirkungen zwischen den Perylen-Chromophoren.

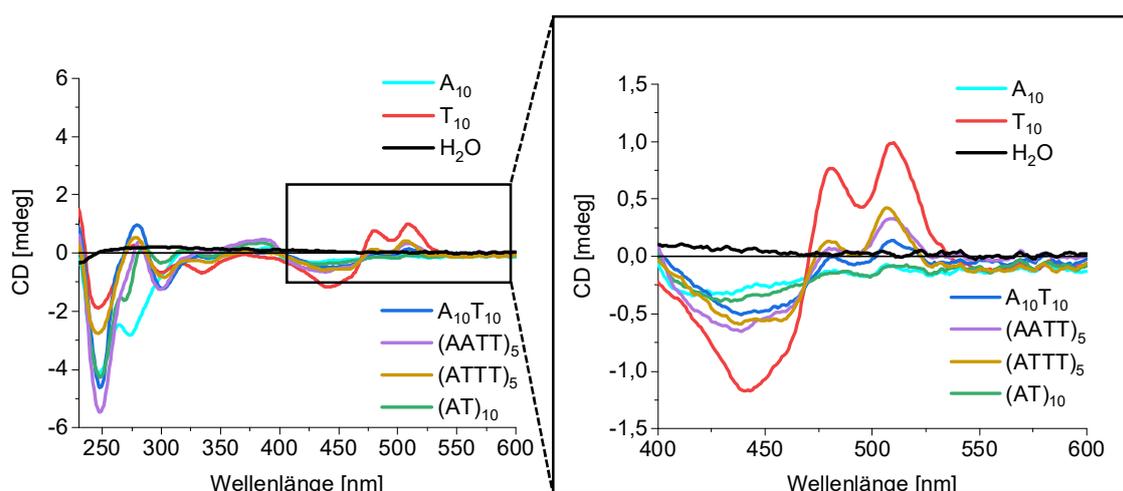


Abbildung 4.20: CD der Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang A_{10} , T_{10} , $A_{10}T_{10}$, $(AT)_{10}$, $(AATT)_5$ und $(ATTT)_5$ sowie ohne DNA. Bedingungen: $18.75 \mu\text{M}$ **Pe-dAp**, $18.75 \mu\text{M}$ **CDS-dU**, $1.25 \mu\text{M}$ DNA in Wasser (1 % DMSO), 250 mM NaCl, jeweils 1 h bei RT inkubiert und anschließend 1 min zentrifugiert, $\lambda_{\text{exc}} = 360 \text{ nm}$.

Somit konnten sowohl mithilfe der Fluoreszenz als auch des CD die erfolgreiche simultane Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang $A_{10}T_{10}$, $(AATT)_5$ und $(ATTT)_5$ bestätigt werden.

4.6 Zusammenfassung

Die Synthese des neuartigen **CDS-dUs** und dessen Assemblierung entlang der DNA-Einzelstränge A_{20} und T_{20} konnten gezeigt werden. Die selektive Assemblierung von **CDS-dU** konnte nicht durch Absorption und CD bestätigt werden. Jedoch wurde eine deutliche Zunahme der Fluoreszenz entlang des komplementären A_{20} -Stranges festgestellt, wodurch auf eine selektive Erkennung von Adenin durch **CDS-dU** geschlossen werden kann (Abbildung 4.21 A). Die aggregationsinduzierte Emission des CDS-Chromophors konnte nach Assemblierung von **CDS-dU** entlang A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 erfolgreich auf die Atto-Farbstoffe übertragen werden (Abbildung 4.21 B).

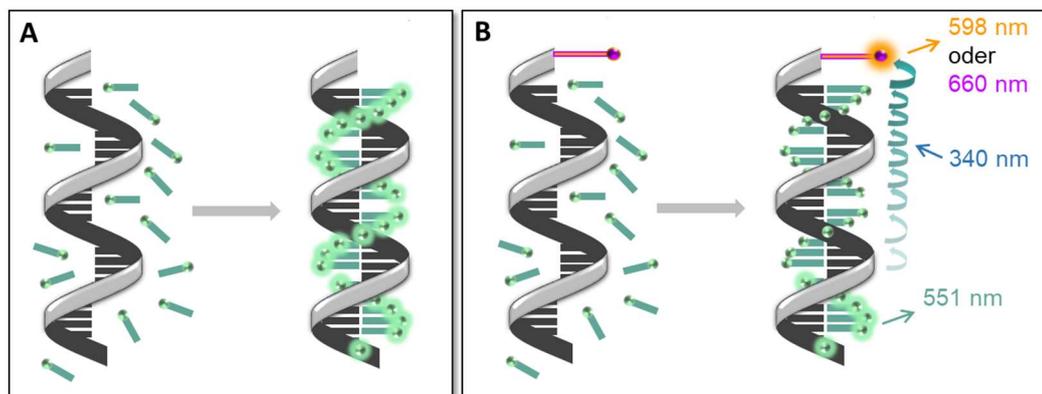


Abbildung 4.21: **A:** Illustration der Assemblierung von **CDS-dU** entlang einzelsträngiger A_x -DNA. **B:** Illustration der Assemblierung von **CDS-dU** entlang einzelsträngiger A_x -DNA die am 5'-Ende durch Atto565 bzw. Atto633 modifiziert wurde. Nach Anregung von **CDS-dU** wird die Energie nach einem mehrstufigen Homo-Energietransfermechanismus auf die Atto-Farbstoffe übertragen.

Die selektive Selbstassemblierung des neuartigen **Nr-dAp**-Konjugates entlang des komplementären T_{10} -Stranges konnte gezeigt werden. Die spezifische Erkennung von Thymin wurde anschließend in der simultanen Assemblierung von **Nr-dAp** und **CDS-dU** entlang gemischter AT-Sequenzen genutzt. Durch die Sequenz der Templatstränge konnten die Energietransferprozesse zwischen beiden Chromophoren kontrolliert werden

4 Sequenzspezifische Assemblierung

und so die sequenzspezifische Assemblierung gezeigt werden. Die simultane Assemblierung entlang $(AT)_{10}$ konnte nicht nachgewiesen werden, da keine stabilisierenden π - π -Wechselwirkungen zwischen den Nilrot-Chromophoren stattfinden können. Es konnte der erfolgreiche Energietransfer vom **CDS-dU** zum **Nr-dAp** beobachtet werden. Durch die gelöschte Nilrotfluoreszenz in wässriger Lösung konnten für die DNA-Architekturen keine Fluoreszenz beobachtet werden (Abbildung 4.22 A).

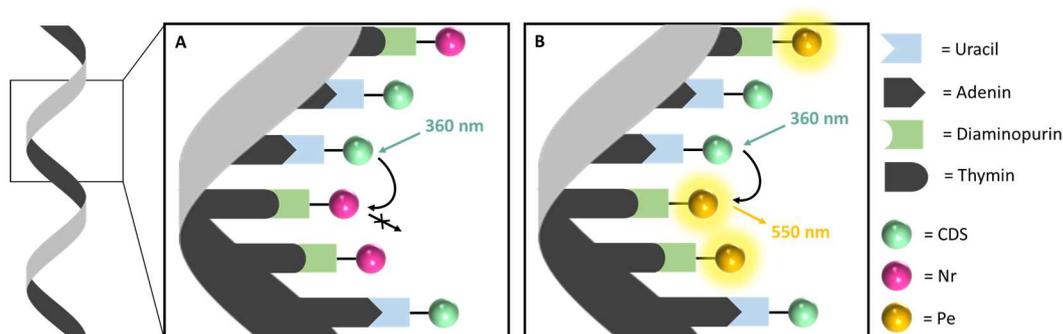


Abbildung 4.22: Beispielhafte Darstellung der sequenzspezifischen Assemblierung von **CDS-dU** und **Nr-dAp** (links) bzw. **Pe-dAp** (rechts) entlang einer alternierenden (AATT)-Sequenz. **A:** Nach der Anregung des **CDS-dU** wird aufgrund des Energietransfers zum Nilrot eine Fluoreszenzlöschung beobachtet. **B:** Nach der Anregung des **CDS-dU** wird die gelbe Perylenfluoreszenz, aufgrund der Energietransfers zum Perylen beobachtet.

Ein zweites Energietransferpaar, bestehend aus **Pe-dAp** (Donor) und **CDS-dU** (Akzeptor), wurde unter den gleichen Bedingungen untersucht. Erneut war keine Assemblierung entlang der gemischten Sequenz $(AT)_{10}$ möglich. Die sequenzabhängige Assemblierung von **CDS-dU** und **Pe-dAp** entlang von $A_{10}T_{10}$, $(AATT)_5$ und $(ATTT)_5$ konnte durch den erfolgreichen Energietransfer der aggregationsinduzierten Emission des **CDS-dU** zum **Pe-dAp** gezeigt werden. Die Perylenfluoreszenz nahm in der Reihe $A_{10}T_{10}$, $(AATT)_5$ und $(ATTT)_5$ zu.

5 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der Selbstassemblierung farbstoffmodifizierter Nucleoside entlang von DNA-Templatsträngen, getrieben durch π - π -Wechselwirkungen und kontrolliert durch Wasserstoffbrückenbindungen.

Im ersten Teil wurde die erfolgreiche Assemblierung eines neuartigen TPE-modifizierten Nucleosids **TPE-dU** entlang des komplementären A₂₀-Stranges gezeigt. Zur Überprüfung der Chiralitätskontrolle über die Zuckerkonfiguration wurde das Enantiomer **L-TPE-dU** synthetisiert. Es zeigte sich, dass weder für **TPE-dU** noch **L-TPE-dU** eine konfigurationsselektive Assemblierung entlang der Templatstränge A₂₀ und L-A₂₀ festgestellt werden konnte. Diese neuen Chromophor-DNA-Architekturen zeichnen sich durch eine stark ausgeprägte aggregationsinduzierte Emission aus.

Dieses Lichtsammelsystem wurde durch die Assemblierung von **TPE-dU** entlang Atto-modifizierter DNA-Stränge genutzt. In diesen supramolekularen DNA-Architekturen wurde die aggregationsinduzierte Emission der TPE-Chromophore, nach erfolgreicher Assemblierung entlang A₂₀-Atto565 und A₂₀-Atto633, an die endständig geknüpften Atto-Farbstoffe übertragen. Durch synthetische Einbringung von **TPE-dU** in DNA und anschließender Hybridisierung mit komplementären Atto-modifizierten DNA-Strängen wurde die Distanzabhängigkeit dieses Energietransfers näher untersucht. Es zeigte sich, dass in den nicht-kovalenten Assemblierungen der Energietransfer über eine längere Distanz nur dann möglich ist, wenn ein mehrstufiger Energieübertragungsmechanismus zwischen den TPE-Chromophoren zugrunde gelegt wird, bevor die Energie auf die Atto-Farbstoffe übertragen wird.

Die Chiralität dieser Chromophor-DNA-Architekturen wurde durch die Konfiguration der DNA-Stränge kontrolliert. In den untemplierten Chromophor-Architekturen von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** wurde die helikale Ordnung durch die Konfiguration der chiralen

Riboseeinheit bestimmt. Dabei zeigte **TPE-dU** eine linksgängige helikale Anordnung und **L-TPE-dU** eine rechtsgängige. Die Präparationsmethoden spielten ebenfalls eine Rolle bei der Aggregatbildung. Diese Chromophor-Nukleosid-Architekturen wurden als aktive Schicht in einer OLED verwendet. Innerhalb dieser Schicht zeigten sich die gleichen chiroptischen Eigenschaften wie zuvor in wässriger Lösung.

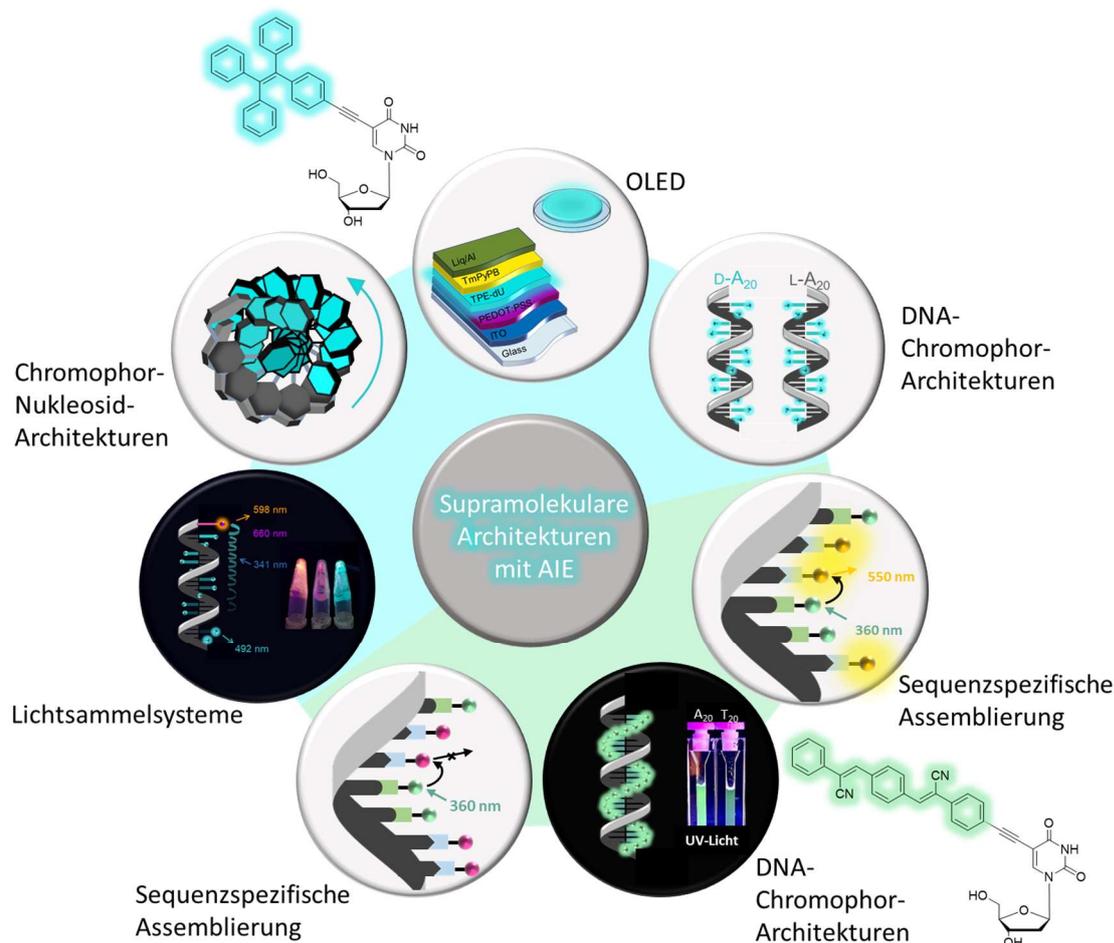


Abbildung 5.1: Zusammenfassende Darstellung der in dieser Arbeit behandelten Themen.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde die erfolgreiche Assemblierung des **CDS-dU**-Nukleosids entlang des komplementären A₂₀-Strangs gezeigt. In diesen Assemblierungen war die Zentrifugation zur Abtrennung ungebundener Nukleosid-Konjugate nicht erforderlich, da **CDS-dU** in Anwesenheit der komplementären DNA einen durch die Aggregation induzierten „light up“-Effekt zeigte. Im nächsten Schritt wurde diese aggregationsinduzierte Emission durch simultane Assemblierung entlang gemischter AT-Sequenzen (A₁₀T₁₀, (AATT)₅ und (ATTT)₅) an einen passenden Akzeptor übertragen. Als

Akzeptoren wurden **Nr-dAp** und **Pe-dAp** untersucht, wobei **Nr-dAp** im wässrigen Medium nach Übertragung der Energie keine Fluoreszenz zeigte, **Pe-dAp** hingegen eine starke Perylenfluoreszenz.

Zusammenfassend war es möglich, zwei chromophormodifizierte Nukleoside mit AIE-Eigenschaften zu synthetisieren und die erfolgreiche Assemblierung dieser entlang komplementärer DNA-Stränge zu zeigen. Die Energietransferprozesse beider Nukleoside in den supramolekularen DNA-Architekturen wurde intensiv erforscht.

6 Experimenteller Teil

6.1 Materialien und Methoden

Reagenzien

Die innerhalb dieser Arbeit verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen ABCR, ACROS ORGANICS (THERMO FISCHER), ALFA AESAR, CARL ROTH, FLUKA, MERCK, SIGMA ALDRICH (MERCK), TCI und VWR bezogen. Es wurde mindestens die Qualitätsstufe „zur Synthese“ verwendet. Luft- und wasserempfindliche Verbindungen wurden unter Argonatmosphäre gelagert, temperaturempfindliche Reagenzien bei niedrigen Temperaturen.

Lösungsmittel

In Synthesen und in der Analytik verwendete Lösungsmittel hatten die Qualitätsstufe p. a. (pro analysi) oder höher. Absolute Lösungsmittel wurden von ACROS ORGANICS bezogen und unter Argonatmosphäre sowie über Molekularsieb aufbewahrt. Sofern nicht anders angegeben, wurden zur Aufarbeitung von Reaktionen technische Lösungsmittel verwendet. Hochgereingte, organische Lösungsmittel (*HPLC-grade*) der Firma MERCK sowie entionisiertes, ultrafiltriertes Wasser aus einer *Millipore-Entsalzungsanlage Q8* (MERCK) wurden für die HPLC-Aufreinigung und spektroskopische Untersuchungen verwendet. Deuterierte Lösungsmittel wurden in einer Reinheit von 99,8 % von EURISOTOP bezogen.

Reaktionsführung

Luft- und wasserempfindliche Reaktionen wurden unter Argonatmosphäre (Schweißargon 5.0, 99.999 % Reinheit, ALPHAGAZ) durchgeführt. Die verwendeten

Glasapparaturen wurden vor Gebrauch mindestens dreimal im Hochvakuum evakuiert, ausgeheizt und mit Argon geflutet. Die Standard-SCHLENK-Technik wurde bei wasser- und luftempfindlichen Verbindungen sowie absoluten Lösungsmitteln verwendet. Verwendete Lösungsmittel und Flüssigkeiten wurden bei Bedarf über die *Freeze-Pump-Thaw*-Methode oder durch Einleiten von Argon entgast. Die benötigten Temperaturen wurden mit flüssigem Stickstoff (-196 °C) oder über folgende Kältemischungen erreicht:

- Isopropanol/Trockeneis: -78 °C
- Eis/NaCl: -21 °C
- Wasser/Eis: 0 °C

Zentrifugation

Eine *Biofuge Pico* Zentrifuge mit *24-place microliter roto* oder eine Mikrozentrifuge *Micro Star 17R* von VWR mit integrierter Kühlung wurde für die Anlagerungsexperimente verwendet. Die Proben wurden sofern nicht anders angegeben mit einer Geschwindigkeit von 13 000 rpm und somit einer relativen Zentrifugalbeschleunigung von 16 000 g zentrifugiert.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Für die DC wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumplatten mit Fluoreszenzindikator der Firma MERCK (Kieselgel 60, F₂₅₄, Schichtdicke 0.25 nm) verwendet. Die Detektion fand für UV-aktive Substanzen unter UV-Licht, durch Fluoreszenzlöschung bei $\lambda = 254$ nm bzw. Fluoreszenzanregung bei $\lambda = 366$ nm statt. UV-inaktive, zuckerhaltige Verbindungen wurden mit Hilfe einer Lösung aus Schwefelsäure in Methanol (3 % H₂SO₄) zur Visualisierung angefärbt.

Säulenchromatographie

Als stationäre Phase für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel 60 (Porengröße 60 Å, Partikelgröße 40-63 µm) der Firma SIGMA ALDRICH verwendet. Die Auftragung der Proben

erfolgte durch Lösen in der mobilen Phase oder bei schlechter Löslichkeit als *Dryload* (an Kieselgel absorbiert). Die Elution erfolgte mit leichtem Überdruck durch eine Handpumpe (0.2-0.3 bar).

Sublimationstrocknung

Wässrige Proben wurden in einem CHRIST *Alpha RVC Vakuumkonzentrator* oder nach Einfrieren in Stickstoff an einer CHRIST *Alpha 1-2 LD Plus Lyophilisierungsanlage* getrocknet. Organische Substanzen wurden in Benzol gelöst, in flüssigem Stickstoff ausgefroren und an einer Drehschieberpumpe lyophilisiert.

Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)

Die NMR-Messungen wurden an einem BRUKER *Advance 400* (400 MHz ^1H -NMR bzw. 101 MHz ^{13}C -NMR) oder BRUKER *Advance 500* (500 MHz ^1H -NMR, 126 MHz ^{13}C -NMR, 202 MHz ^{31}P) durchgeführt. Die zu messenden Substanzen wurden in ca. 0.5 mL deuteriertem Lösungsmittel gelöst und zur Messung in Probenröhrchen mit einem Durchmesser von 5 mm überführt. Je nach Löslichkeit wurde $[d_6]$ -DMSO, $[d_4]$ -MeOD oder $[d_1]$ - CDCl_3 verwendet. Die chemische Verschiebung (δ) wurde in *parts per million* (ppm) angegeben und bezieht sich auf Tetramethylsilan als Nullpunkt. Als Referenzwerte dienten folgende Signale der nicht vollständig deuterierten Lösungsmittel:

$[d_6]$-DMSO:	^1H -NMR: $\delta = 2.50$ ppm	^{13}C -NMR: $\delta = 39.52$ ppm
$[d_4]$-MeOD:	^1H -NMR: $\delta = 3.31$ ppm	^{13}C -NMR: $\delta = 49.00$ ppm
$[d_1]$-CDCl_3:	^1H -NMR: $\delta = 7.26$ ppm	^{13}C -NMR: $\delta = 77.16$ ppm

Die Kopplungskonstante J wurde in Hz angegeben. Die Kennzeichnung der Multiplizität erfolgte über folgende Abkürzungen: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplett), q (Quartett), quin (Quintett) und m (Multiplett).

Massenspektrometrie

Matrix-Assistierte-Laser-Desorption-Ionisierung mit Flugzeitbestimmung (MALDI-TOF) wurde an einem *AXIMA Confidence* Spektrometer von SHIMADZU gemessen. Folgende Matrices wurden hierzu verwendet:

DNA:	3-Hydroxypicolinsäure (gesättigte Lösung in Acetonitril/Wasser = 1:1)/Diammoniumhydrogencitrat (0.44 M in Wasser) = 9:1
Moleküle bis 1200 g/mol:	6-Aza-2-thiothymine (gesättigte Lösung in Acetonitril) oder 2,4,6-Trihydroxyacetophenon (gesättigte Lösung in Acetonitril)

Die hochauflösenden Massenspektren wurden entweder an einem THERMOFISHER *Scientific Q Exactive (Orbitrap)* mit der Ionisierungsmethode ESI (*electron spray ionisation*) oder über FAB (*fast atom bombardement*) sowie EI (Elektronenstoßionisation) an einem FINNIGAN *MAT 95* Spektrometer aufgenommen. Die Signale wurden im Masse/Ladungsverhältnis dargestellt. Das Molekülion wurde entweder als $[M^+]$ oder als protonierte Form $[MH]^+$ angegeben.

Probenvorbereitung für die optische Spektroskopie

Die spektroskopischen Messungen erfolgten in 1.5 mL Quarzglasküvetten der Firma STARNA (26-F/Q/10 mm). Die Messtemperatur betrug stets 20 °C. Alle Spektren wurden gegen das Signal des Lösungsmittels basislinienkorrigiert.

UV/Vis-Absorptionsspektroskopie

Die Absorptionsmessungen wurden an einem *Lamda 750* (Software: PERKINELMER UV WinLab) mit einem *PTB-6+6 Peltier-System* der Firma PERKINELMER sowie einem *CorioTM CD*-Thermostat von JULABO durchgeführt. Es wurden stets dieselben Messparameter (SBW: 2.0 nm, *Average time*: 0.1 s, Datenintervall: 1.0, Lampenwechsel: 350 nm) verwendet.

Fluoreszenzspektroskopie

Die Fluoreszenzmessungen erfolgten an einem *Fluoromax-4* Spektrofluorometer von HORIBA-SCIENTIFIC mit einem AC 200 Thermostat von THERMO SCIENTIFIC und der Software *Fluorescence V3.5*. Die Messparameter (*Increment: 1 nm, Increment time: 0.2 s, $\Delta T = 0.1$ °C, equilibration time: 0 s*) wurden mit Ausnahme der Spaltbreite stets gleich gewählt. Alle Spektren, die in dieser Arbeit miteinander in Relation stehen, wurden bei selber Spaltbreite gemessen.

Fluoreszenzquantenausbeuten

Absolute Fluoreszenzquantenausbeuten wurden mit einem *Quantaaurus QY C11347* in langhalsigen 5 mL Quarzglasküvetten der Firma HAMAMATSU gemessen. Dabei wurden mehrere Messungen durchgeführt und die erhaltenen Werte anschließend gemittelt.

Zirkulardichroismus (CD)

CD-Messungen wurden an einem JASCO *J-810 Spectropolarimeter* mit einem *Peltier-Element PTC-423S* und einem AC 200 Thermostat von THERMO SCIENTIFIC durchgeführt. Die Software *SpectraManager* mit konstanten Einstellungen (*Scanning speed: 100 nm/min, Accumulations: 4, D.I.T.: 4 s, Band width: 1.00 nm*) wurde verwendet. Die Bildung von Ozon wurde durch das konstante Spülen der Probenkammer mit Stickstoffgas verhindert.

Chromophor-Aggregate als Schicht

Es wurde ein 50 μL Aliquot, mit einer Konzentration von 40 g/L in verschiedenen THF/H₂O-Verhältnissen, auf einer Quarzglasplatte mit einem Durchmesser von 20 mm aufgetragen. Die Probe wurde über Nacht getrocknet. Die Schichten wurden vor den Detektor, jedoch hinter den Lichtstrahl des CD-Spektrometers, geklemmt, um die Schichten auf ihre chiroptischen Eigenschaften hin zu untersuchen.

Die ss-CD-Spektren wurden in der Arbeitsgruppe von Prof. ANNE ULRICH am Institut für Biologische Grenzflächen II (KIT, Campus Nord) an einem JASCO *J-810 Spectropolarimeter*

aufgenommen. Die Aufnahme der Spektren erfolgte in acht verschiedenen Winkeln (45° Rotation der Quarzglasplatte), um spektrale Artefakte zu minimieren. Das finale Spektrum ergibt sich aus den gemittelten Spektren. Die Messungen erfolgten bei 25 °C mit folgenden Parametern: *Scanning speed*: 50 nm/min, *Accumulations*: 1, *D.I.T.*: 4 s, *Band width*: 8.00 nm.

Fluoreszenz-Detektierter Circular dichroismus (FD CD)

FD CD-Messungen erfolgten in der Arbeitsgruppe von DR. FRANK BIEDERMANN am Institut für Nanotechnologie (KIT, Campus Nord). Die Spektren wurden an einem *J-1500* CD-Spektrometer von JASCO mit einem *PTC-510 Peltier-Element*, einem *F250* Umlaufkühler von JULABO, einem *PM-539* Standarddetektor und einem *PML-534* FD CD-Detektor aufgenommen. Die Steuerung erfolgte über die Software *SpectraManager* mit folgenden Einstellungen: *CD scale*: 1000 mdeg/1.0 dOD, *FL scale*: 1000 mdeg/1.0 dOD, *Data integration time*: 4 s, *Band width*: 4.0 nm, *Data pitch*: 0.1 nm, *Scanning speed*: 100 nm/min, *Accumulation*: 10 times.

6.2 Synthese der Oligonukleotide

Kommerzielle Oligonukleotide

Unmodifizierte sowie Atto-modifizierte Oligonukleotide wurden HPLC-gereinigt von METABION bezogen. Diese wurden in *MilliQ*-Wasser gelöst und die Konzentration über die Absorption bei $\lambda = 260$ nm bestimmt.

Synthetisierte Oligonukleotide

Zur Oligonukleotid-Synthese wurde ein *H-6 DNA/RNA Synthesizer* der Firma K&A LABORGERÄTE für die Phosphoramidit-Festphasensynthese (DMTr-on bzw. DMTr-off) unter Argonatmosphäre (Schweißargon 5.0, 99.999 % Reinheit) verwendet. Alle verwendeten Phosphoramidite wurden zuvor in Acetonitril oder Dichlormethan gelöst. Die

Konzentration der kommerziell erhältlichen Phosphoramidite der Firma SIGMA ALDRICH betrug 0.067 M. Als feste Phase wurden CPG-Säulchen der Firmen SIGMA ALDRICH und GLEN RESEARCH mit einer Belegungsdichte von 1 μmol und einer Porengröße von 500 Å verwendet. Im folgenden Syntheseprotokoll wurden einzelne Teilschritte der Synthese angepasst (Tabelle 6.1), um eine bestmögliche Kupplungsausbeute zu erreichen. Beispielsweise wurde die Kupplungsdauer und die *Pulse*-Anzahl des TPE-Bausteins erhöht (Tabelle 6.2), sodass ein Einbau des Bausteins in höheren Ausbeuten stattfinden konnte.

Synthese der L-konfigurierten Oligonukleotide

Die L-konfigurierten Templatstränge L-A₂₀ und L-T₂₀ wurden über automatisierte Festphasensynthese nach der Phosphoramiditmethode dargestellt. Das kommerziell erhältliche β -L-Desoxyadenosin- und β -L-Desoxythymidin-Phosphoramidit wurde als Lösung in Acetonitril (0.067 M) verwendet. Das Standardsyntheseprotokoll wurde verwendet (Tabelle 6.1).

Tabelle 6.1: Standardsyntheseprotokoll.

Schritte	Zeit [0.1 s]	Reagenzien	Zielort	S.Col.Ptr.	Totzeit [s]	Branch
Entschützung						
1	4	TCA	COL			
2	30	TCA	TRM	ON		
3				ON		
4					15	
5	25	TCA	TRM	ON		
6				ON		
7					15	
8	25	TCA	TRM	ON		
9				ON		
10					15	
11	25	TCA	TRM	ON		
12				ON		
13					15	
14	25	TCA	TRM	ON		
15				ON		

16					15
17	30	GAS	TRM		
18	10	ACN	M_W		
19	20	ACN	COL	ON	
20				ON	
21					4
22	30	GAS	COL		
23	2	ACN	M_W		
24	20	ACN	COL	ON	
25				ON	

Kopplung

1	15	GAS	COL		2	
2	2	TET	COL	ON		
3				ON		
4					2	1
5	10	ACN	M_W		50	
6	10	ACN	COL	ON		
7				ON		
8	35	GAS	COL			
9	20	GAS	M_W			

Branch

1	4	TET	COL	ON		
2	8	AMD +TET	COL			
3				ON		
4					10	
5	6	AMD + TET	COL	ON		
6				ON		
7					5	
8	10	ACN	M_W			
9	10	GAS	M_W			

Capping

1	20	CP_A + CP_B	COL	ON		
2				ON		
3					15	
4	10	CP_A + CP_B	COL	ON		
5				ON		
6					15	
7	20	GAS	COL			
8	2	ACN	M_W			
9	12	ACN	COL	ON		

10				ON	
11	10	GAS	M_W		2
12	30	GAS	COL		
Oxidation					
1	35	OXI	COL	ON	
2				ON	
3	10	ACN	M_W		9
4					9
5		WTH			150
6		WTH			150
7	30	GAS	COL		
8	2	ACN	M_W		
9	16	ACN	COL	ON	
10				ON	
11	20				
12	30	GAS	COL		
13	2	ACN	M_W		
14	15	ACN	COL	ON	
15				ON	
16	40				
17	15	ACN	COL	ON	
18				ON	
19	50				
20	10	GAS	M_W		
21	30	GAS	COL		

Tabelle 6.2: Angepasstes Syntheseprotokoll für die Inkorporation von TPE-dU.

Schritte	Zeit [0.1 s]	Reagenzien	Zielort	S.Col.Ptr.	Totzeit [s]	Branch
Branch						
1	4	TET + _O_	COL	ON		
2	6	AMD + TET	COL			
3				ON		
4					99	
5					99	
6					99	
7					99	
8					99	
9	6	AMD + TET	COL	ON		

10				ON	
11					99
12					99
13					99
14					99
15					99
16	6	AMD + TET	COL	ON	
17				ON	
18					99
19					99
20					99
21					99
22					99
23	20	_O_	COL	ON	
24	20	ACN	COL	ON	

Aufreinigung

Unmodifizierte Oligonukleotide lassen sich nur schwer von ihren Abbruchsträngen über HPLC-Aufreinigung trennen, daher wurde die DMTr-Schutzgruppe der letzten Base nicht abgespalten. Dies ermöglicht die schnelle Aufreinigung über *Glenk-PakTM Säulen*, welche über GLENRESEARCH bezogen wurden. Die Lösungen wurden langsam mit einer 1 mL-Spritze von BRAUN durch die Säule gedrückt. Der DNA-Strang wurde in 2.0 mL einer 50 mg/mL NaCl-Lösung aufgenommen. Zunächst wurde die Säule mit 0.5 mL MeCN und 1.0 mL TEAA-Puffer (Triethylammoniumacetat, 2 M, pH = 7) äquilibriert. Anschließend wurde die DNA-Lösung aufgetragen und die Säule zweimal mit 1.0 mL einer Salz-Lösung (5 % Acetonitril in 100 mg/mL NaCl-Lösung) gewaschen, um Abbruchstränge zu eluieren. Durch die Zugabe von zweimal 1.0 mL TFA-Lösung (2 % Trifluoressigsäure in Wasser) wurde die DMTr-Schutzgruppe abgespalten. Abgespaltene TFA- und Salzreste wurden mit zweimal 1.0 mL *Milliq*-Wasser entfernt. Der gereinigte DNA-Strang wurde mit 1.0 mL Elutionslösung (0.5 % Ammoniumhydroxid in Acetonitril/Wasser = 1:1) eluiert und lyophilisiert. Die erhaltenen Stränge wurden zusätzlich über HPLC aufgereinigt.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Aufreinigung der synthetisierten Oligonukleotide erfolgte an einem THERMO SCIENTIFIC HPLC-Gerät (*Dionex UltiMate3000* mit Autosampler, Pumpenmodul, Säulenofen, Multidiodenarray, RS Fluoreszenzdetektor, Fraktionssammler, Software *Chromeleon 7*) mittels Umkehrphasenchromatographie. Eine *VDSpher OptiBio PUR 300 S18-SE*-Säule (250 x 10 mm, 5 μ m) mit einer Flussrate von 2.5 mL/min wurde für die semipräparative Trennung verwendet. Als mobile Phase diente ein 50 mM Ammoniumacetat-Puffer (pH = 6.5, Komponente A) und Acetonitril (Komponente B). Es wurde mit einem steigenden Gradienten an Komponente B eluiert.

Charakterisierung

Die Bestimmung der Reinheit der gesammelten Fraktionen erfolgte mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie (Tabelle 6.3). Alle reinen Fraktionen wurden vereinigt.

Tabelle 6.3: Berechnete und durch MALDI-TOF gefundene Massen sowie Extinktionskoeffizienten der synthetisierten DNA-Stränge.

DNA	[M] ⁺ ber. [g/mol]	[M] ⁺ gef. [g/mol]	ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
L-A ₂₀	6199.2	6197.4	277.2
L-T ₂₀	6019.0	6020.4	158.4
TPE1a	6404.1	6403.3	203.6
TPE1b	6404.1	6405.5	203.6
TPE2a	6744.3	6749.8	219.1
TPE2b	6744.3	6745.8	219.1

Konzentrationsbestimmung

Die Konzentration der gelösten DNA-Proben wurde über das LAMBERT-BEER Gesetz ermittelt. Die optische Dichte wurde hierfür bei 260 nm in Wasser an einem *ND-1000 Spektrophotometer* von NANODROP (im Nukleinsäure-Modus) bestimmt. Der molare Extinktionskoeffizient ϵ_{260} ergibt sich ausfolgender Formel:

$$\varepsilon_{260} = (dA \cdot \varepsilon_{dA} + T \cdot \varepsilon_T + \mathbf{TPE-dU} \cdot \varepsilon_{\mathbf{TPE-dU}}) \cdot 0.9 \quad [8]$$

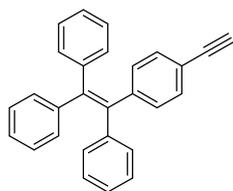
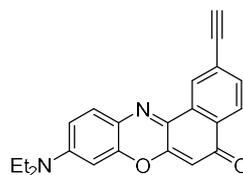
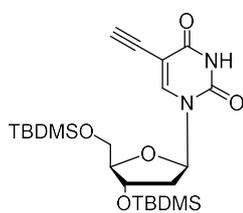
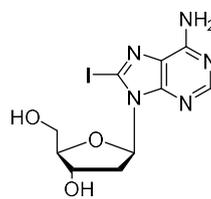
Dabei entsprechen dA und T der Anzahl der im Strang enthaltenen natürlichen Nukleoside und **TPE-dU** der Anzahl an Sonderbausteinen sowie ε_{dA} , ε_T und $\varepsilon_{\mathbf{TPE-dU}}$ den molaren Extinktionskoeffizienten (Tabelle 6.4). Die Wechselwirkung der Nachbarbasen im Strang bedingt eine Abnahme der Absorbanz der einzelnen Bausteine. Diese wird durch die Multiplikation mit dem Faktor 0.9 berücksichtigt.

Tabelle 6.4: Extinktionskoeffizienten der verwendeten Bausteine.

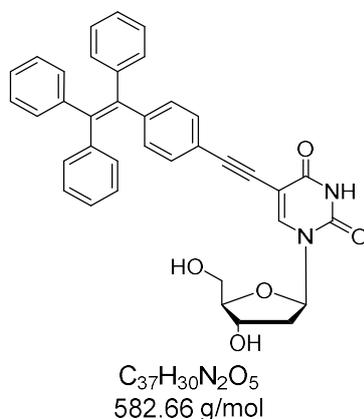
Baustein	$\varepsilon_{260} [\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}]$
dA	15.4
T	8.8
TPE-dU	23.4

6.3 Synthesevorschriften

Die Synthese des TPE-Acetylens **7**^[134], des Nilrot-Acetylens **26**^[159] sowie der Nucleoside **23**^[160] und **25**^[11] erfolgte nach in der Literatur beschriebenen Syntheserouten. Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

**7****26****23****25**

1-((2R,4S,5R)-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-((4-(1,2,2-triphenylvinyl)phenyl)ethynyl)pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione (TPE-dU):



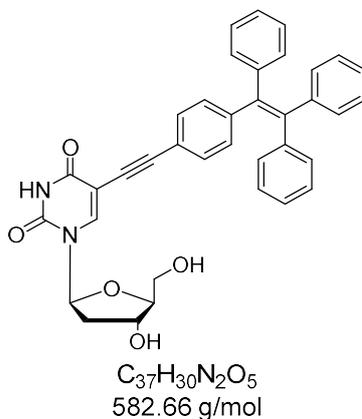
In einem ausgeheizten Kolben wurden 400 mg TPE-Acetylen **7** (1.12 mmol, 1.00 Äq.), 440 mg 5-Iod-2'-desoxyuridin (1.23 mmol, 1.10 Äq.) und 0.04 mg CuI (0.220 mmol, 0.20 Äq.) unter Argon vorgelegt. Anschließend wurden 5 mL absolutes DMF und 0.390 mL absolutes Triethylamin (2.81 mmol, 2.50 Äq.) hinzugegeben und die Reaktionslösung unter Einleiten von Argon entgast. Unter Argonstrom wurde 260 mg Pd(PPh₃)₄ (0.220 mmol, 0.20 Äq.) hinzugegeben und die Reaktion für 19 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (DCM/MeOH 0-10 %) gereinigt. Das Produkt wurde als blassgelber Feststoff in einer Ausbeute von 60 % (392 mg, 0.672 mmol) erhalten.

DC (DCM/MeOH (5 %)): $R_f = 0.31$

¹H-NMR (500 MHz, DMSO): $\delta = 11.67$ (s, 1H, **NH**), 8.35 (s, 1H, **6-CH_{du}**), 7.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, **H_{Ar}**), 7.19-7.09 (m, 9H, **H_{Ar}**), 7.00-6.94 (m, 8H, **H_{Ar}**), 6.12 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H, **1'-CH_{du}**), 5.25 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H, **3'-OH_{du}**), 5.14 (t, $J = 4.7$ Hz, 1H, **5'-OH_{du}**), 4.24 (q, $J = 4.2$ Hz, 1H, **3'-CH_{du}**), 3.80 (q, $J = 3.3$ Hz, 1H, **4'-CH_{du}**), 3.70-3.50 (m, 2H, **5'-CH_{2, du}**), 2.22-2.04 (m, 2H, **2'-CH_{2, du}**).

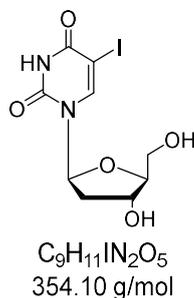
¹³C-NMR (126 MHz, DMSO): $\delta = 161.4$ (**4-C_{q, du}**), 149.5 (**2-C_{q, du}**), 143.8 (**C_{q, Ar}**), 143.6 (**6-CH_{du}**), 142.9 (**C_{q, Ar}**), 142.7 (**C_{q, Ar}**), 141.3 (**C_{q, Ar}**), 139.8 (**C_{q, Ar}**), 131.0 (**CH_{Ar}**), 130.8 (**CH_{Ar}**), 130.6 (**CH_{Ar}**), 128.0 (**CH_{Ar}**), 127.8 (**CH_{Ar}**), 126.8 (**CH_{Ar}**), 126.7 (**CH_{Ar}**), 120.4 (**C_{q, Ar}**), 98.1 (**5-C_{q, Ar}**), 91.7 (**C_{C≡C}**), 87.6 (**4'-CH_{du}**), 84.8 (**1'-CH_{du}**), 82.8 (**C_{C≡C}**), 69.9 (**3'-CH_{du}**), 60.8 (**5'-CH_{2, du}**), 40.0 (**2'-CH_{2, du}**).

HR-MS (FAB): m/z berechnet für $C_{37}H_{30}N_2O_5^+$ [M^+] = 582.2155, gefunden = 582.2154.

1-((2S,4R,5S)-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-((4-(1,2,2-triphenyl vinyl)phenyl)ethynyl)pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione (L-TPE-dU)

Das Nukleosid **L-TPE-dU** wurde auf analoge Weise wie das D-Enantiomer (**TPE-dU**) hergestellt. Als Edukt wurde 5-Iod-L-2'-desoxyuridin verwendet. Die analytischen Daten stimmen überein.

1-((2S,4R,5S)-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-5-iodopyrimidine-2,4(1H,3H)-dione (L-I-dU):



In einem SCHLENKkolben wurden 1.00 g β -L-2'-Desoxyuridin (4.38 mmol, 1.00 Äq.), 1.11 g elementares Iod (8.76 mmol, 2.00 Äq.) und 890 mg Silbernitrat (5.26 mmol, 2.00 Äq.) unter Argonatmosphäre in absolutem Methanol vorgelegt und für 3 h bei 40 °C gerührt. Der bei der Reaktion entstandene hellgrüne Niederschlag wurde abfiltriert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand aus Wasser/Methanol (1:1) umkristallisiert. Das Produkt wurde als weißer, feinkristalliner Niederschlag in einer Ausbeute von 65 % (1.00 g, 2.82 mmol) erhalten.

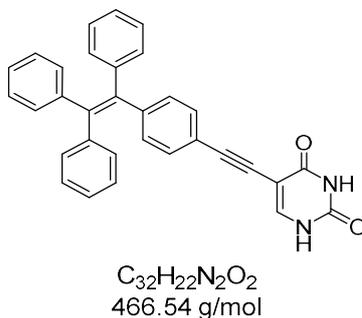
DC (DCM/MeOH (5 %)): $R_f = 0.14$

1H -NMR (400 MHz, DMSO): $\delta = 11.65$ (s, 1H, **NH**), 8.39 (s, 1H, **6-CH_{du}**), 6.09 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H, **1'-CH_{du}**), 5.16 (s, 2H, **OH**), 4.24 (q, $J = 5.2, 4.8$ Hz, 1H, **3'-CH_{du}**), 3.79 (q, $J = 3.3$ Hz, 1H, **4'-CH_{du}**), 3.60 (td, 2H, **5'-CH_{2, du}**), 2.12 (ddd, $J = 6.4, 4.9, 1.8$ Hz, 2H, **2'-CH_{2, du}**).

^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO): $\delta = 160.5$ (**4-C_{q, du}**), 150.1 (**2-C_{q, du}**), 145.1 (**6-CH_{du}**), 87.5 (**4'-CH_{du}**), 84.7 (**1'-CH_{du}**), 70.0 (**3'-CH_{du}**), 60.8 (**5'-CH_{2, du}**), 40.0 (**2'-CH_{2, du}**).

HR-MS (EI): m/z berechnet für $C_9H_{11}IN_2O_5^+ [M^+] = 353.9713$, gefunden = 353.9708.

5-((4-(1,2,2-triphenylvinyl)phenyl)ethynyl)pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione (TPE-Uracil 10):



Es wurden 100 mg TPE-Acetylen **7** (0.280 mmol, 1.00 Äq.), 70.0 mg 5-Ioduracil (0.310 mmol, 1.10 Äq.) und 2.70 mg CuI (0.010 mmol, 0.05 Äq.) unter Argon vorgelegt. Die Feststoffe wurden in 5 mL absolutem DMF und 100 μ L Triethylamin (71.5 mg, 0.700 mmol, 2.50 Äq.) gelöst und die Reaktionslösung unter Einleiten von Argon entgast. Unter Argonstrom wurde 64.8 mg Pd(PPh₃)₄ (0.060 mmol, 0.20 Äq.) hinzugegeben und die Reaktion für 19 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde anschließend unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (DCM/MeOH 0-1 %) gereinigt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff in einer Ausbeute von 61 % (80.0 mg, 0.171 mmol) erhalten.

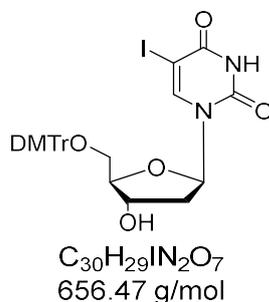
DC (DCM/MeOH (5 %)): $R_f = 0.39$

¹H-NMR (400 MHz, DMSO): $\delta = 11.41$ (s, 2H, **NH**), 7.85 (s, 1H, **6-CH_{du}**), 7.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, **H_{Ar}**), 7.18-7.07 (m, 9H, **H_{Ar}**), 7.01-6.93 (m, 8H, **H_{Ar}**).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO): $\delta = 162.5$ (**4-C_{q, du}**), 150.5 (**2-C_{q, du}**), 143.4 (**C_{q, Ar}**), 142.9 (**6-CH_{du}**), 142.9 (**C_{q, Ar}**), 142.7 (**C_{q, Ar}**), 141.3 (**C_{q, Ar}**), 139.9 (**C_{q, Ar}**), 131.0 (**CH_{Ar}**), 130.7 (**CH_{Ar}**), 130.6 (**CH_{Ar}**), 128.0 (**CH_{Ar}**), 127.9 (**CH_{Ar}**), 126.8 (**CH_{Ar}**), 126.7 (**CH_{Ar}**), 120.6 (**C_{q, Ar}**), 96.8 (**5-C_{q, Ar}**), 91.5 (**C_{C=C}**), 83.1 (**C_{C=C}**).

HR-MS (FAB): m/z berechnet für $C_{32}H_{22}N_2O_2^+$ [M^+] = 466.1681, gefunden = 466.1683.

1-((2R,4S,5R)-5-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)-5-iodopyrimidine-2,4(1H,3H)-dione (12):



In einem ausgeheizten SCHLENKkolben wurden 2.00 g 5-Iod-2'-desoxyuridin (5.65 mmol, 1.00 Äq.) unter Argon vorgelegt und über Nacht im Hochvakuum getrocknet. Unter Argonstrom wurden 2.49 g 4,4'-Dimethoxytritylchlorid (7.34 mmol, 1.30 Äq.) hinzugegeben und in 2 mL absolutem Pyridin gelöst. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zum Beenden der Reaktion wurden 20 mL MeOH hinzugegeben und daraufhin die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mittels Säulenchromatographie (DCM/MeOH 9:1 + 0.1 % TEA) gereinigt. Das Produkt wurde als weißer, feinkristalliner Feststoff in einer Ausbeute von 81 % (3.00 g, 4.58 mmol) erhalten.

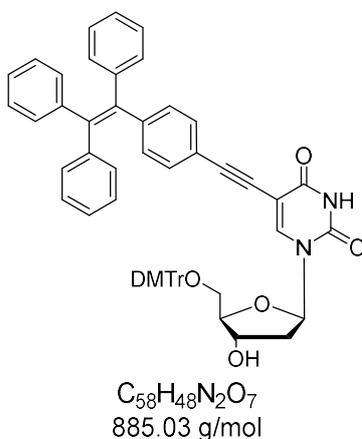
DC (DCM/MeOH (5 %)): $R_f = 0.47$

1H -NMR (400 MHz, DMSO) $\delta = 11.72$ (s, 1H, **NH**), 8.01 (s, 1H, **6-CH_{du}**), 7.44-7.15 (m, 9H, **CH_{Ar}**, **DMTr**), 6.94-6.85 (m, 4H, **CH_{Ar}**, **DMTr**), 6.10 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H, **1'-CH_{du}**), 5.35 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, **3'-OH**), 4.23 (dt, $J = 7.2, 3.5$ Hz, 1H, **3'-CH_{du}**), 3.94-3.87 (m, 1H, **4'-CH_{du}**), 3.17 (td, $J = 10.5, 8.9, 4.0$ Hz, 2H, **5'-CH₂**, **du**), 2.30-2.13 (m, 2H, **2'-CH₂**, **du**), 1.20 (t, $J = 7.3$ Hz, 6H, **CH₃**, **DMTr**).

^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO) $\delta = 160.5$ (**4-C_q**, **du**), 158.1 (**C_q**, **Ar**), 150.0 (**2-C_q**, **du**), 144.7 (**6-CH_{du}**), 144.2 (**C_q**, **Ar**), 135.5 (**C_q**, **Ar**), 129.7 (**CH_{Ar}**), 127.9 (**CH_{Ar}**), 127.6 (**CH_{Ar}**), 126.7 (**CH_{Ar}**), 113.3 (**CH_{Ar}**), 85.8 (**4'-CH_{du}**), 84.9 (**1'-CH_{du}**), 70.5 (**3'-CH_{du}**), 63.7 (**5'-CH₂**, **du**), 45.3 (**2'-CH₂**, **du**), 8.5 (**CH₃**, **DMTr**).

HR-MS (FAB): m/z berechnet für $C_{30}H_{29}N_2O_7I^+$ [M^+] = 656.1019, gefunden = 656.1014.

1-((2R,4S,5R)-5-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-4-hydroxytetrahydrofuran-2-yl)-5-((4-(1,2,2-triphenylvinyl)phenyl)ethynyl)pyrimidine-2,(1H,3H)-dione (11):



In einem ausgeheizten SCHLENKkolben wurden 300 mg TPE-Acetylen **7** (0.84 mmol, 1.00 Äq.), 497 mg der Verbindung **12** (0.76 mmol, 0.90 Äq.) und 32.1 mg CuI (0.170 mmol, 0.20 Äq.) unter Argon vorgelegt. Es wurden 5 mL absolutes DMF und 0.290 mL TEA (215 mg, 2.10 mmol, 2.10 Äq.) hinzugegen und die Reaktionsmischung durch Einleiten von Argon entgast. Unter Argon-Gegenstrom wurde 195 mg Pd(PPh₃)₄ (0.170 mmol, 0.20 Äq.) hinzugegeben und die Reaktionsmischung 19 h bei 60 °C gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (DCM/MeOH 20:1 + 0.1 % TEA) gereinigt. Das Produkt wurde als hellgelber, feinkristalliner Niederschlag in einer Ausbeute von 81 % (602 mg, 0.680 mmol) erhalten.

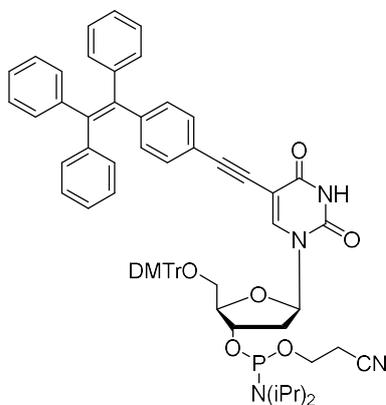
DC (DCM/MeOH (1 %)): $R_f = 0.19$

¹H-NMR (500 MHz, DMSO) $\delta = 11.73$ (s, 1H, **NH**), 8.02 (s, 1H, **6-CH_{du}**), 7.37 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H, **H_{Ar}**), 7.30-7.24 (m, 4H, **H_{Ar}**), 7.22 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H, **H_{Ar}**), 7.15-7.10 (m, 10H, **H_{Ar}**), 7.02-6.92 (m, 6H, **H_{Ar}**), 6.81 (t, $J = 8.9$ Hz, 4H, **H_{Ar}**), 6.13 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H, **1'-CH_{du}**), 5.34 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, **3'-OH**), 4.56-4.11 (m, 1H, **3'-CH_{du}**), 3.95 (dt, $J = 5.5, 3.1$ Hz, 1H, **4'-CH_{du}**), 3.63 (s, 6H, **CH_{3,DMTr}**), 3.18 (ddd, $J = 44.6, 10.6, 3.9$ Hz, 2H, **5'-CH_{2,du}**), 2.34-2.16 (m, 2H, **2'-CH_{2,du}**).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO) δ = 161.4 (**4-C_q**, dU), 158.0 (**C_q**, Ar), 149.3 (**C_q**, Ar), 144.6 (**6-CH_{dU}**), 143.4 (**CH_{Ar}**), 142.9 (**C_q**, Ar), 142.9 (**C_q**, Ar), 142.8 (**C_q**, Ar), 142.7 (**C_q**, Ar), 141.2 (**C_q**, Ar), 139.8 (**C_q**, Ar), 135.5 (**C_q**, Ar), 135.3 (**C_q**, Ar), 130.7 (**CH_{Ar}**), 130.6 (**CH_{Ar}**), 129.7 (**CH_{Ar}**), 129.6 (**CH_{Ar}**), 128.3 (**CH_{Ar}**), 127.9 (**CH_{Ar}**), 127.9 (**CH_{Ar}**), 127.8 (**CH_{Ar}**), 127.5 (**CH_{Ar}**), 126.7 (**CH_{Ar}**), 126.6 (**CH_{Ar}**), 120.2 (**CH_{Ar}**), 113.2 (**CH_{Ar}**), 99.5 (**C_q**, Ar), 98.5 (**C_q**, Ar), 98.5 (**C_q**, Ar), 91.9 (**C_q**, Ar), 85.9 (**4'-CH_{dU}**), 85.1 (**1'-CH_{dU}**), 82.1, 81.1, 70.5 (**3'-CH_{dU}**), 63.7 (**5'-CH₂**, dU), 55.0 (**CH₃**, DMTr), 40.0 (**2'-CH₂**, dU).

HR-MS (ESI): m/z berechnet für C₅₈H₄₈N₂O₇⁺ [M⁺] = 884.3462, gefunden = 884.3455.

(2R,3S,5R)-2-((bis(4-methoxyphenyl)(phenyl)methoxy)methyl)-5-(2,4-dioxo-5-((4-(1,2-triphenylvinyl)phenyl)ethynyl)-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)tetrahydrofuran-3-yl(2-cyanoethyl) diisopropylphosphoramidite (1**):**



$C_{67}H_{65}N_4O_8P$
1085.25 g/mol

In einem ausgeheizten Kolben wurden 300 mg der Verbindung **11** (0.340 mmol, 1.00 Äq.) über Nacht im Hochvakuum getrocknet und unter Argonatmosphäre in 5 mL absolutem DCM gelöst. Anschließend wurden 177 μ L *N,N*-Diisopropylethylamin (0.132 g, 1.02 mmol, 3.00 Äq.) und 114 μ L 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidit (120 mg, 0.510 mmol, 1.50 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 3 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend direkt, ohne Entfernen des Lösungsmittels, mittels Säulenchromatographie (DCM/Aceton 5:1 + 0.1 % TEA) gereinigt. Das Produkt wurde in einer Ausbeute von 88 % (352 mg, 0.300 mmol) als blassgelber Feststoff erhalten.

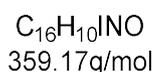
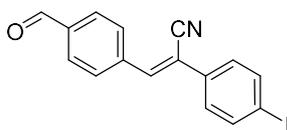
DC (DCM/Aceton 5:1): $R_f = 0.89$

DC (DCM/Aceton 10:1) $R_f = 0.28$

^{31}P -NMR (162 MHz, MeOD): $\delta = 148.5, 148.2$.

HR-MS (ESI): m/z berechnet für $C_{67}H_{65}N_4O_8P^+$ [M^+] = 1084.4540, gefunden = 1084.4533.

(Z)-3-(4-formylphenyl)-2-(4-iodophenyl)acrylonitrile (18):

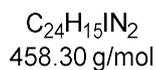
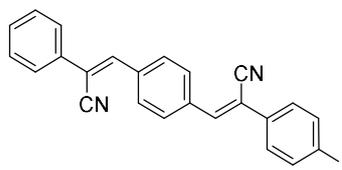


Zu einer Mischung aus 972 mg 4-Iod-benzylcyanid (4.00 mmol, 1.00 Äq.) und 833 mg Terephthalaldehydmono(diethylacetal) (4.00 mmol, 1.00 Äq.) in 3 mL MeOH wurde 10 mL einer 0.5 M NaOMe-Lösung in MeOH hinzugegeben und für 60 min bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 10 mL Methanol verdünnt und anschließend der gelbe Feststoff abfiltriert. Das Filtrat wurde in 50 mL Wasser geschüttet. Der entstandene Feststoff wurde filtriert und mit 1 mL MeOH gewaschen. Der Feststoff wurde in 4 mL Chloroform gelöst. Zu dieser Lösung wurde 2 mL konzentrierte HCl hinzugegeben und anschließend für eine halbe Stunde refluxiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde als gelber Feststoff in einer Ausbeute von 70 % (1.00 g, 2.80 mmol) erhalten.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 10.06 (s, 1H, **CHO**), 8.03 (d, J = 8.4 Hz, 2H, **CH_{Ar}**), 7.97 (d, J = 8.5 Hz, 2H, **CH_{Ar}**), 7.80 (d, J = 8.5 Hz, 2H, **CH_{Ar}**), 7.58 (s, 1H, **C=CH**), 7.43 (d, J = 8.6 Hz, 2H, **CH_{Ar}**).

^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$): δ = 191.3 (**CHO**), 140.6 (**C=CH**), 138.9 (**CH_{Ar}**), 138.4 (**CH_{Ar}**), 137.2, 133.4, 130.2 (**CH_{Ar}**), 129.8 (**CH_{Ar}**), 127.7 (**CH_{Ar}**), 117.0 (**C_q**), 113.9 (**C_q**), 96.11 (**C_q**), 77.4 (**C_q**), 77.1 (**C_q**), 76.7 (**C_q**).

HR-MS (EI): m/z berechnet für $C_{16}H_{10}INO^+$ [M^+] = 358.9807, gefunden = 358.9802.

(Z)-3-(4-((Z)-2-cyano-2-(4-iodophenyl)vinyl)phenyl)-2-phenylacrylonitrile (14):

Zu einer Lösung aus 450 mg der Verbindung **18** (1.25 mmol, 1.00 Äq.) und 147 mg Benzylcyanid (1.5 mmol, 1.00 Äq.) in 10 mL Ethanol wurden 4 mL einer 4.37 M (25 wt. %) NaOMe-Lösung in Methanol hinzugegeben. Die Mischung wurde für 40 min bei Raumtemperatur gerührt und anschließend mit 10 mL Ethanol verdünnt. Der entstandene Feststoff wurde abfiltriert und mit 5 mL Ethanol und 50 mL Methanol gewaschen und unter Vakuum getrocknet. Das Produkt wurde als gelber Feststoff in einer Ausbeute von 93 % (531 mg, 1.16 mmol) erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ = 8.00 (d, J = 2.1 Hz, 4H, CH_{Ar}), 7.84-7.78 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.75-7.68 (m, 2H, CH_{Ar}), 7.58-7.52 (m, 2H, C=CH), 7.52-7.42 (m, 5H, CH_{Ar}).

Aufgrund der geringen Löslichkeit des Produktes in allen gängigen deuterierten Lösungsmitteln (DMSO, MeOH und CHCl_3 , Pyridin, DMF, Aceton, DCM, Chlorbenzol, Acetonitril, Benzol und Nitromethan) konnte lediglich ein Protonen-NMR gemessen werden.

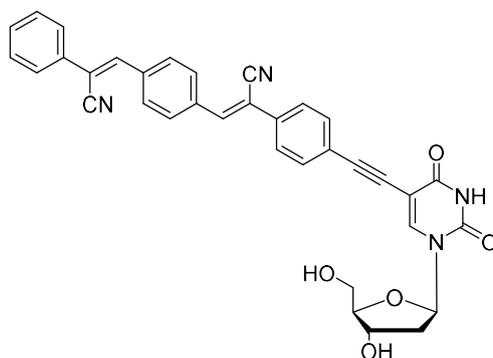
HR-MS (FAB): m/z berechnet für $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{N}_2^{127}\text{I}_1^+$ [M^+] = 458.0280, gefunden = 458.0280.

0.97-0.82 (m, 18H, **CH₃**, **TBDMS**), 0.18-0.09 (m, 6H, **Si-CH₃**, **TBDMS**), 0.09-0.04 (m, 6H, **Si-CH₃**, **TBDMS**).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ = 161.3 (**4-C_q**, **dU**), 149.1 (**2-C_q**, **dU**), 143.4 (**CH_{CDS}**), 142.7 (**CH_{CDS}**), 141.1 (**CH_{CDS}**), 140.7 (**CH_{CDS}**), 140.6 (**CH_{CDS}**), 135.8 (**C_q**), 135.3 (**C_q**), 134.2 (**C_q**), 132.5 (**CH_{CDS}**), 132.4 (**CH_{CDS}**), 130.4 (**CH_{CDS}**), 130.0 (**CH_{CDS}**), 129.9 (**CH_{CDS}**), 129.8 (**CH_{CDS}**), 129.6 (**CH_{CDS}**), 129.3 (**CH_{CDS}**), 129.3 (**CH_{CDS}**), 129.0 (**CH_{CDS}**), 126.3 (**CH_{CDS}**), 126.2 (**CH_{CDS}**), 126.0 (**CH_{CDS}**), 124.4 (**C_q**), 119.6 (**C_q**), 117.8 (**C_q**), 115.2 (**C_q**), 113.3 (**C_q**), 112.4, 100.1 (**C_q**), 100.0, 93.1 (**C_{C=C}**), 88.7 (**4'-CH_{dU}**), 86.2 (**1'-CH_{dU}**), 82.7 (**C_{C=C}**), 77.5, 77.2 (**3'-CH_{dU}**), 76.8, 72.6 (**C_q**), 63.1 (**5'-CH₂**, **dU**), 42.3 (**2'-CH₂**, **dU**), 37.2 (**C_q**), 32.1 (**C_q**), 30.2 (**C_q**), 29.8 (**C_q**), 29.5 (**C_q**), 27.2 (**CH₃**, **TBDMS**), 26.2 (**CH₃**, **TBDMS**), 25.9 (**CH₃**, **TBDMS**), 22.8 (**CH₃**, **TBDMS**), 19.9 (**CH₃**, **TBDMS**), 18.6 (**CH₃**, **TBDMS**), 18.1 (**CH₃**, **TBDMS**), 14.3 (**CH₃**, **TBDMS**), -4.5 (**CH₃**, **TBDMS**), -4.7 (**CH₃**, **TBDMS**), -5.1 (**CH₃**, **TBDMS**), -5.3 (**CH₃**, **TBDMS**).

MS (MALDI-TOF): m/z berechnet für C₄₇H₅₄N₄O₅Si₂ [M] = 810.36, gefunden = 810.06.

(Z)-3-(4-((Z)-2-cyano-2-(4-((1-((2R,4S,5R)-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-yl)ethynyl)phenyl)vinyl)phenyl)-2-phenylacrylonitrile (CDS-dU):



$C_{35}H_{26}N_4O_5$
582.62 g/mol

In einem SCHLENKkolben wurden 200 mg der Verbindung **24** (0.250 mmol, 1.00 Äq.) unter Argonatmosphäre vorgelegt und in 10 mL absolutem THF gelöst. Es wurden 2.01 mL TEA·HF (198 mg, 1.23 mmol, 5.00 Äq.) hinzugegeben und die Reaktion über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in 500 mL DCM gelöst. Die organische Phase wurde mit einer gesättigten $NaHCO_3$ -Lösung (3 × 150 mL) gewaschen. Diese wurde anschließend über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (DCM/MeOH 0-3 %). Das Produkt wurde als gelber Feststoff in einer Ausbeute von 56 % (81.6 mg, 0.140 mmol) erhalten.

DC (DCM/MeOH (5 %)): $R_f = 0.31$

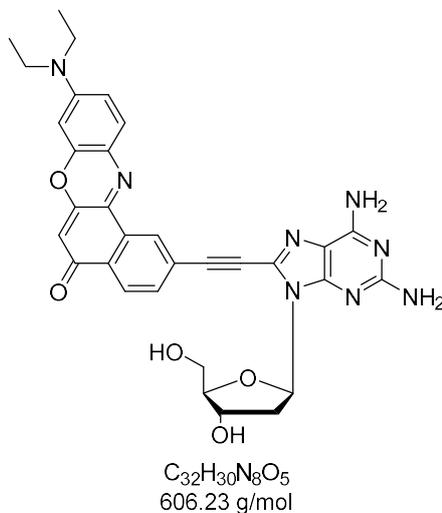
1H -NMR (400 MHz, DMSO) $\delta = 8.40$ (d, $J = 5.2$ Hz, 1H, **6-CH_{du}**), 8.20 (s, 1H), 8.11 (d, $J = 12.1$ Hz, 3H, **CH_{CDS}**), 7.99 (s, 1H, **CH_{CDS}**), 7.89-7.72 (m, 4H, **CH_{CDS}**), 7.64-7.40 (m, 5H, **CH_{CDS}**), 7.39-7.34 (m, 1H, **CH_{CDS}**), 6.14 (q, $J = 6.0$ Hz, 1H, **1'-CH_{du}**), 4.26 (t, $J = 4.8$ Hz, 1H, **4'-CH_{du}**), 3.81 (p, $J = 4.4, 3.9$ Hz, 1H, **5'-CH_{2, du}**), 3.63 (dq, $J = 20.2, 9.1, 8.4, 4.0$ Hz, 2H, **5'-CH_{2, du}**), 2.17 (q, $J = 4.8, 3.9$ Hz, 2H, **2'-CH_{2, du}**).

^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO) $\delta = 162.1, 144.2$ (**6-CH_{du}**), 142.1 (**CH_{CDS}**), 141.7 (**CH_{CDS}**), 135.7 (**C_q**), 135.4 (**C_q**), 133.6 (**C_q**), 133.3 (**C_q**), 132.0 (**CH_{CDS}**), 131.8 (**CH_{CDS}**), 130.2 (**CH_{CDS}**), 129.7 (**CH_{CDS}**), 129.6 (**CH_{CDS}**), 129.3 (**CH_{CDS}**), 129.2 (**CH_{CDS}**), 129.1 (**CH_{CDS}**), 126.2 (**CH_{CDS}**), 126.0

(CH_{CDS}), 125.9 (CH_{CDS}), 117.7 (C_q), 117.5 (C_q), 111.6 (C_q), 110.8 (C_q), 97.9 (C_q), 87.6 ($5'-\text{CH}_2, \text{dU}$), 84.9 ($1'-\text{CH}_{\text{dU}}$), 69.9 ($4'-\text{CH}_{\text{dU}}$), 60.8 ($5'-\text{CH}_2, \text{dU}$), 40.2 ($2'-\text{CH}_2, \text{dU}$).

HR-MS (ESI): m/z berechnet für $\text{C}_{35}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_5^+$ [M^+] = 582.1903, gefunden = 582.1869.

2-((2,6-diamino-9-((2R,4S,5R)-4-hydroxy-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-yl)-9H-purin-8-yl)ethynyl)-9-(diethylamino)-5H-benzo[a]phenoxazin-5-one (NrdAp):



In einem ausgeheizten SCHLENKkolben wurden 330 mg Nilrot-Acetylen **26** (0.960 mmol, 1.00 Äq.), 340 mg l-dAp **25** (0.870 mmol, 0.90 Äq.) und 36.7 mg CuI (0.190 mmol, 0.20 Äq.) unter Argonatmosphäre vorgelegt. Anschließend wurden die Feststoffe in 5 mL absolutem DMF gelöst und mit 0.340 mL TEA (0.246 mg, 2.41 mmol, 2.50 Äq.) versetzt. Das Lösungsmittel wurde durch Einleiten von Argon entgast und unter Argongegenstrom 0.223 mg Pd(PPh₃)₄ (0.190 mmol, 0.20 Äq.) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 19 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (DCM/MeOH 0-6%) gereinigt. Es wurden 316 mg (0.522 mmol, 60 %) eines dunkelvioletten Feststoffs erhalten.

DC (DCM/MeOH (5 %)): $R_f = 0.14$

¹H-NMR (400 MHz, DMSO): $\delta = 8.55$ (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, **CH_{Nr}**), 8.08 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H, **CH**, **CH_{Nr}**), 7.77 (dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, 1H, **CH_{Nr}**), 7.56 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, **CH_{Nr}**), 7.17 - 7.13 (bs, 2H, **NH₂**), 6.78 (dd, $J = 9.2, 2.7$ Hz, 1H, **CH_{Nr}**), 6.54 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H, **CH_{Nr}**), 6.46 (dd, $J = 8.3, 6.4$ Hz, 1H, **1'-CH_{dAp}**), 6.23 (s, 1H, **CH_{Nr}**), 5.97 (s, 2H, **NH₂**), 5.49 (s, 1H, **OH**), 5.35 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H, **OH**), 4.50 (dq, $J = 6.0, 2.7$ Hz, 1H, **3'-CH_{dAp}**), 3.95 (td, $J = 4.5, 2.4$ Hz, 1H, **4'-CH_{dAp}**), 3.72 (dd, $J = 11.8, 4.4$ Hz, 1H, **5'-CH_{2, dAp}**), 3.58 (dd, $J = 12.0, 4.8$ Hz, 1H, **5'-CH_{2, dAp}**), 3.45 (q, $J = 6.9$ Hz, 4H, **N-CH₂-CH₃**), 3.16 (dtd, $J = 17.3, 8.6, 5.7$ Hz, 1H, **2'-CH_{2, dAp}**), 2.25 (ddd, $J = 13.3, 6.4, 2.3$ Hz, 1H, **2'-CH_{2, dAp}**), 1.14 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H, **N-CH₂-CH₃**).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO): δ = 180.8 (O=C_{Nr}), 160.8 (C_q), 156.4 (C_q), 151.9 (C_q), 151.2 (C_q), 151.0 (C_q), 146.5 (C_q), 136.7 (C_q), 131.7 (CH_{Nr}), 131.6 (CH_{Nr}), 131.2 (CH_{Nr}), 130.7 (CH_{Nr}), 126.3 (CH_{Nr}), 125.7 (CH_{Nr}), 124.5 (CH_{Nr}), 123.3 (C_q), 114.5 (C_q), 110.6 (CH_{Nr}), 104.7 (C_q), 95.9 (CH_{Nr}), 92.4 (C_{C≡C}), 88.3 (4'-CH_{dAp}), 84.5 (1'-CH_{dAp}), 82.0 (C_{C≡C}), 71.5 (3'-CH_{dAp}), 62.5 (5'-CH_{2, dAp}), 44.5 (N-CH₂-CH₃), 37.6 (2'-CH_{2, dAp}), 12.5 (N-CH₂-CH₃).

HR-MS (FAB): m/z berechnet für C₃₂H₃₁N₈O₅⁺ [M+H⁺] = 607.2412, gefunden = 607.2410.

7 Ergänzende Spektren

7.1 Kontrolle der helikalen Orientierung

7.1.1 Spektroskopische Charakterisierung

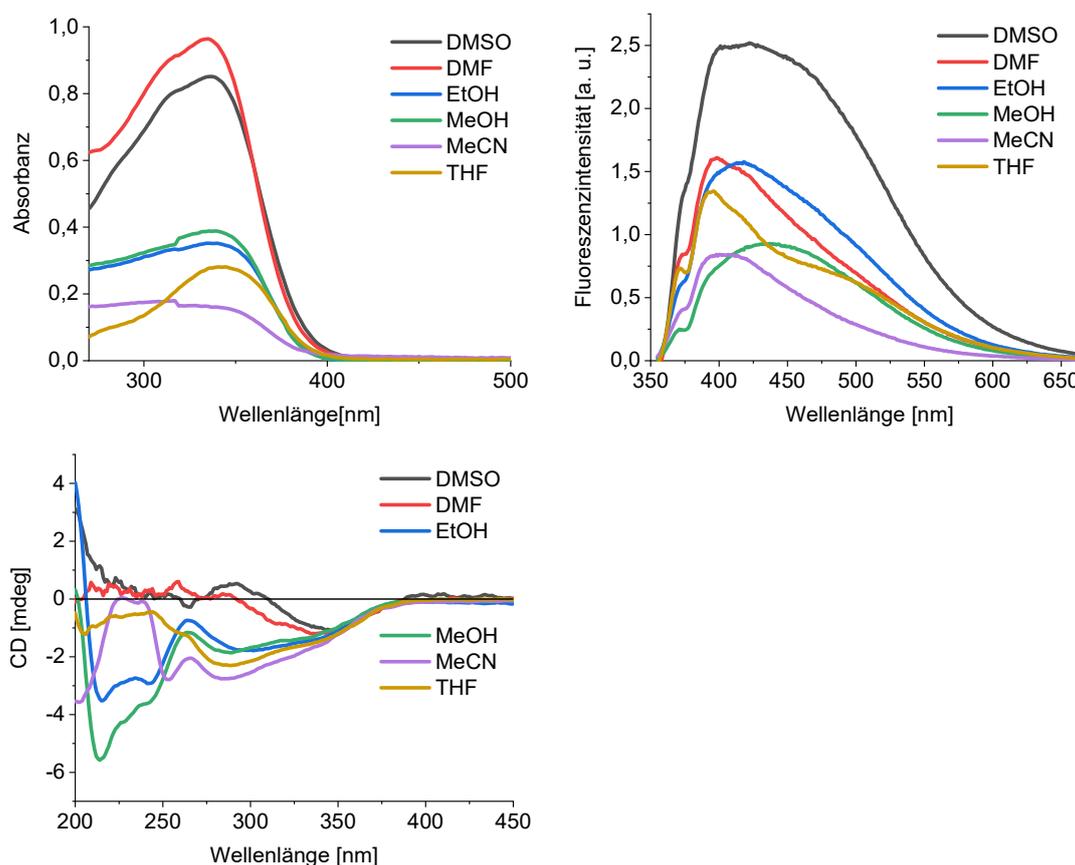


Abbildung 7.1: UV/Vis-Absorption, Fluoreszenz und CD des TPE-modifizierten Nukleosids **TPE-dU** in verschiedenen Lösungsmitteln (DMSO, DMF, EtOH, MeOH, MeCN und THF). Bedingungen: 37.5 μM TPE-dU, $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$.

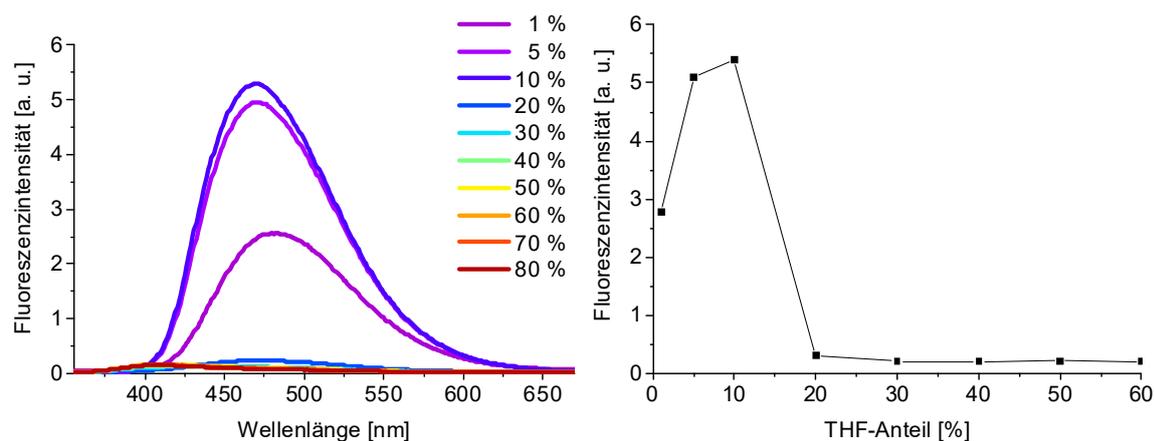


Abbildung 7.2: Fluoreszenz (links) von **TPE-dU** in verschiedenen Wasser-THF-Gemischen sowie Auftragung der Fluoreszenzintensität gegen den DMSO-Anteil (rechts). Bedingungen: 37.5 μ M **TPE-dU**, λ_{exc} = 341 nm.

7.1.2 Untemplierte supramolekulare Chromophor-Architekturen

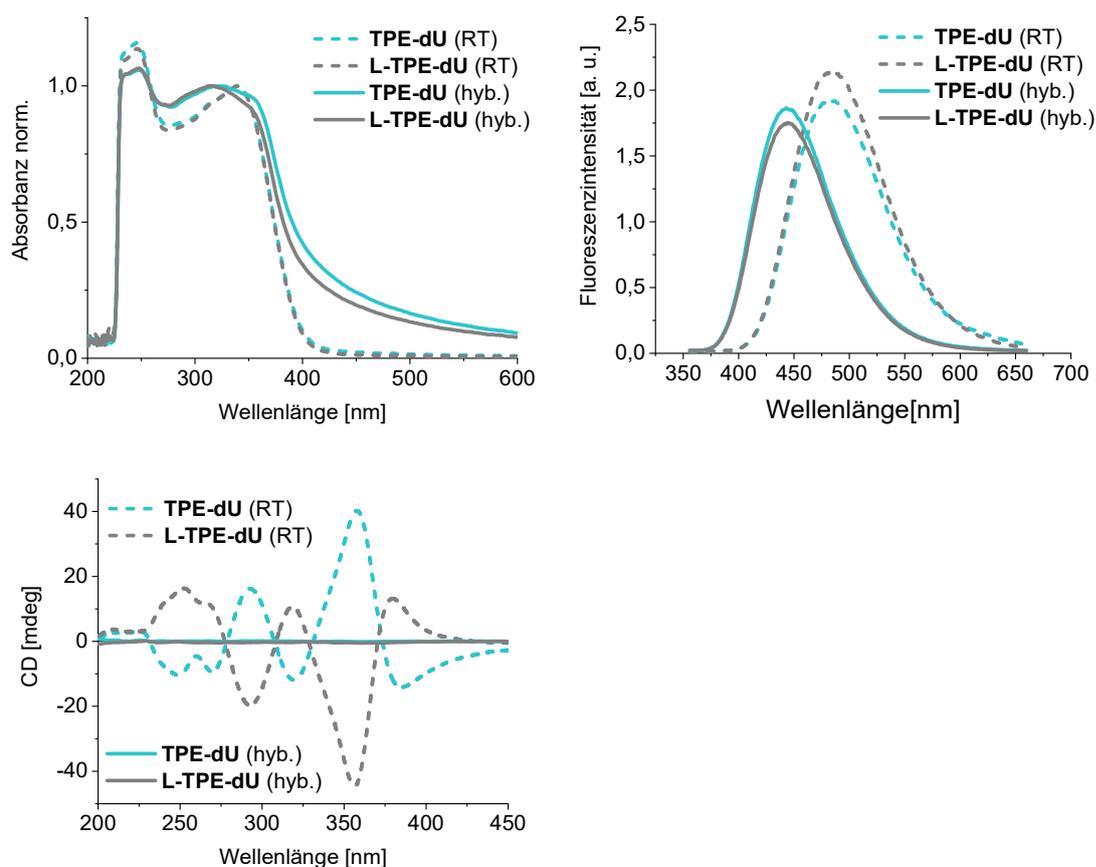


Abbildung 7.3: UV/Vis-Absorption, Fluoreszenz und CD der untemplierten Aggregate von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** ohne DNA. Inkubiert bei RT (gestrichelt) und hybridisiert (durchgezogen). Bedingungen: 37.5 μ M **TPE-dU/L-TPE-dU** in Wasser (1 % DMSO), λ_{exc} = 341 nm.

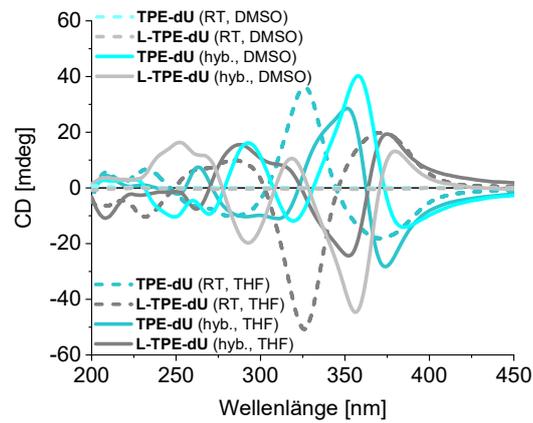


Abbildung 7.4: CD der Chromophor-Nukleosid Aggregate hergestellt aus **TPE-dU** und **L-TPE-dU** ohne DNA-Template (Wasser, 1 % THF bzw. DMSO) sowohl hyb. (durchgezogen) als auch für 1 h bei RT inkubiert (gestrichelt).

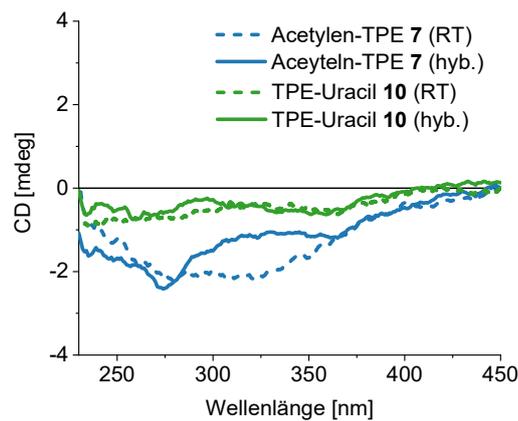


Abbildung 7.5: CD der untemplierten Aggregate von Acetylen-TPE **7** und TPE-Uracil **10**. Inkubiert bei RT (gestrichelt) und hybridisiert (durchgezogen). Bedingungen: 37.5 μM **TPE-dU/L-TPE-dU**, Wasser (1 % DMSO).

7.1.3 DNA-templierte supramolekulare Architekturen

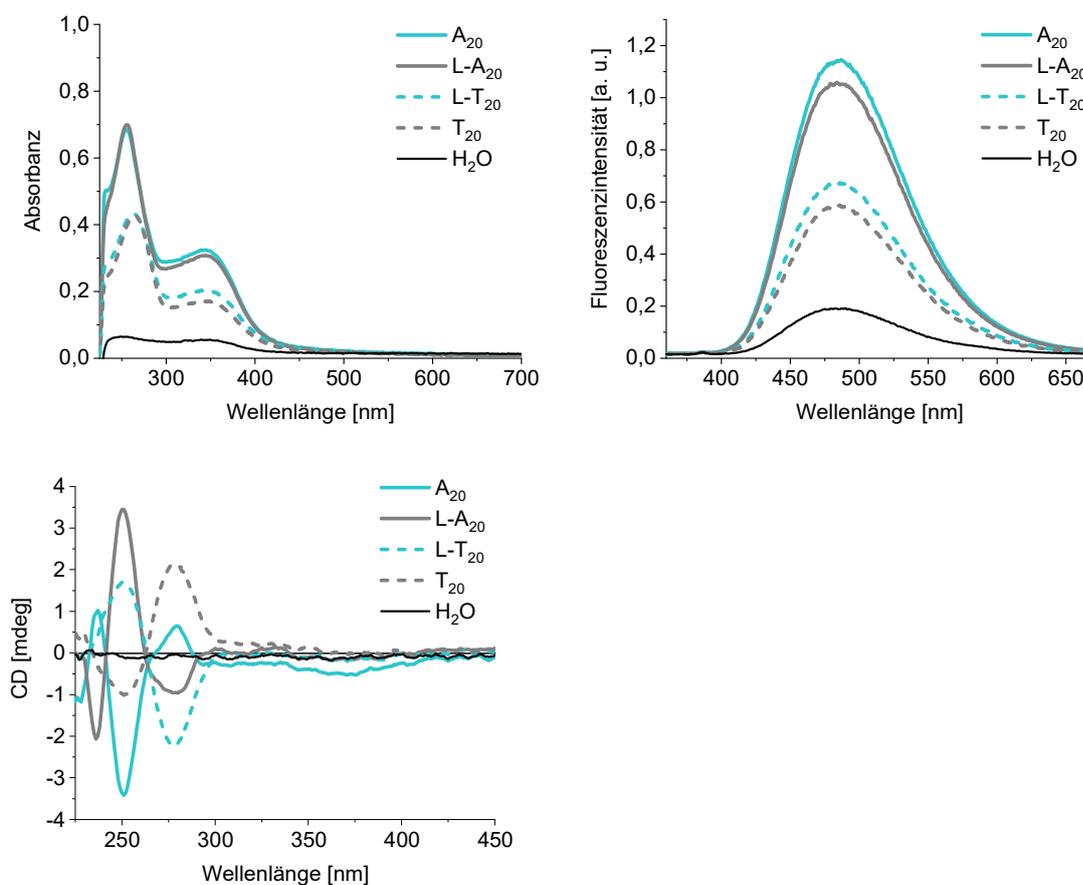


Abbildung 7.6: UV/Vis-Absorption, Fluoreszenz und CD der Selbstassemblierungsversuche von L-TPE-dU in Anwesenheit der DNA-Template A₂₀, L-A₂₀, L-T₂₀ und T₂₀ und ohne DNA. Bedingungen: 37.5 μM L-TPE-dU, 1.25 μM DNA in Wasser (1 % DMSO), 3 min zentrifugiert, 250 mM NaCl, $\lambda_{\text{exc}} = 341$ nm.

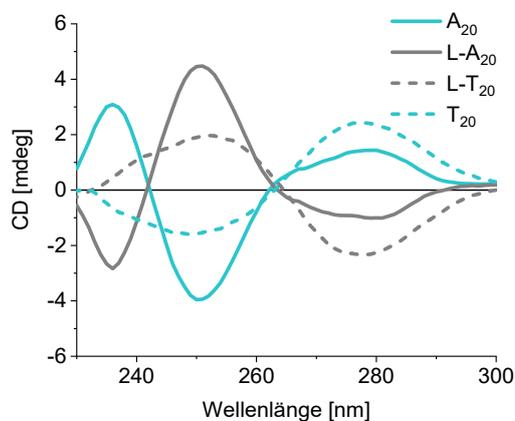


Abbildung 7.7: CD der DNA-Template A₂₀, L-A₂₀, L-T₂₀ und T₂₀ in Abwesenheit von chromophormodifizierten Nucleosiden. Bedingungen: 1.25 μM DNA in Wasser (1 % DMSO), 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert.

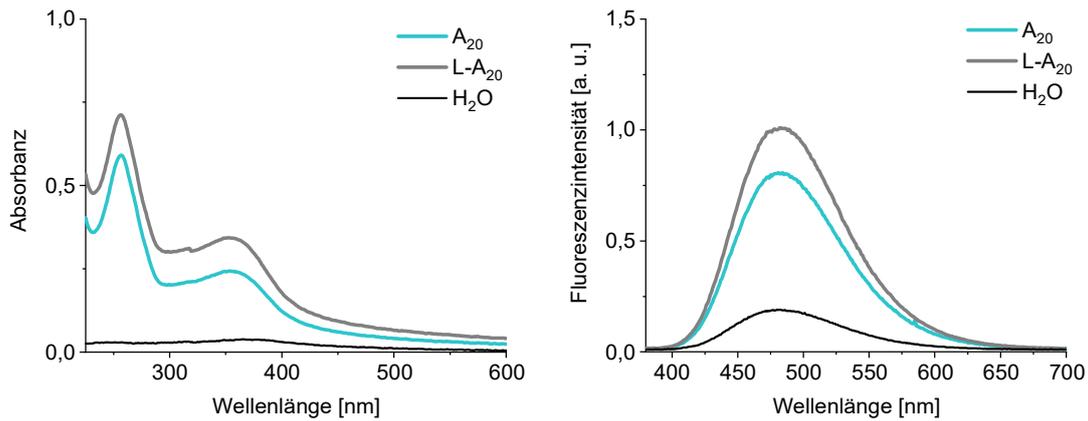


Abbildung 7.8: UV/Vis-Absorption, Fluoreszenz und CD der Selbstassemblierungsversuche von **TPE-dU** entlang der DNA-Template A₂₀ und L-A₂₀ sowie ohne DNA. Bedingungen: 37.5 μM TPE-dU, 1.25 μM DNA in Wasser (1 % THF), 1 min zentrifugiert, 250 mM NaCl, $\lambda_{\text{exc}} = 341$ nm.

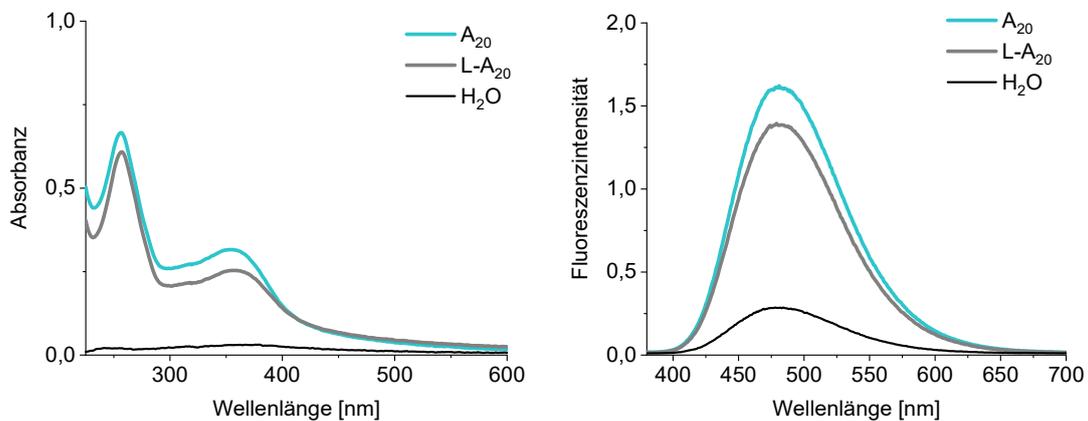


Abbildung 7.9: UV/Vis-Absorption, Fluoreszenz und CD der Selbstassemblierungsversuche von **L-TPE-dU** entlang der DNA-Template A₂₀ und L-A₂₀ sowie ohne DNA. Bedingungen: 37.5 μM L-TPE-dU, 1.25 μM DNA in Wasser (1 % THF), 1 min zentrifugiert, 250 mM NaCl, $\lambda_{\text{exc}} = 341$ nm.

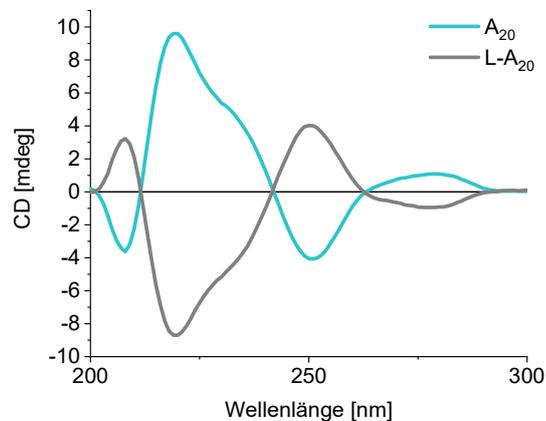


Abbildung 7.10: CD der DNA-Templatestränge A₂₀ und L-A₂₀. Bedingungen: 1.25 μM DNA in Wasser (1 % THF), 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert.

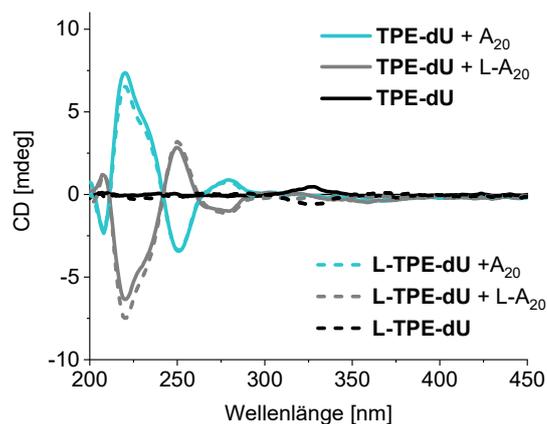


Abbildung 7.11: CD der Assemblierung von **TPE-dU** und **L-TPE-dU** entlang der DNA-Templatstränge A_{20} und $L-A_{20}$, sowie ohne DNA. Bedingungen: $1.25 \mu\text{M}$ DNA in Wasser (1 % THF), $37.5 \mu\text{M}$ **TPE-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, 3 min zentrifugiert.

Steuerung des Energietransfers

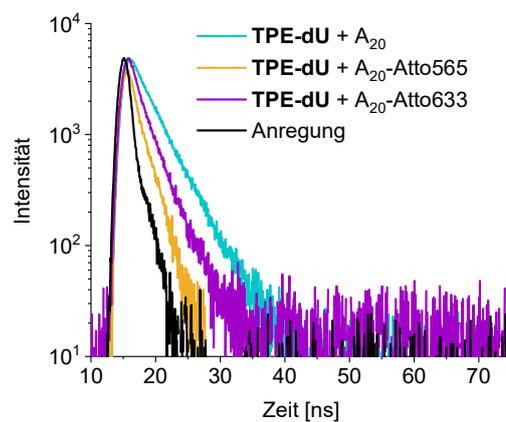


Abbildung 7.12: Fluoreszenzlebenszeitenmessungen des Donors in den DNA-Architekturen **TPE-dU** entlang A_{20} , A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 nach Anregung des Donors bei 366 nm. Bedingungen: $1.25 \mu\text{M}$ DNA in Wasser (1 % DMSO), $37.5 \mu\text{M}$ **TPE-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, 3min zentrifugiert, $\lambda_{\text{exc}} = 366 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 490 \text{ nm}$.

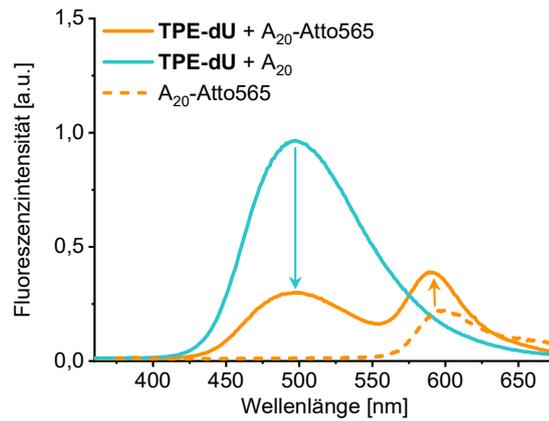


Abbildung 7.13: Fluoreszenz der Assemblierung von **TPE-dU** entlang der DNA-Templatstränge A_{20} und A_{20} -Atto565 sowie A_{20} -Atto565 in Abwesenheit von **TPE-dU**. Bedingungen: $1.25 \mu\text{M}$ DNA, $37.5 \mu\text{M}$ **TPE-dU**, Wasser (1 % DMSO), 1 h bei RT inkubiert, 3 min zentrifugiert, $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$.

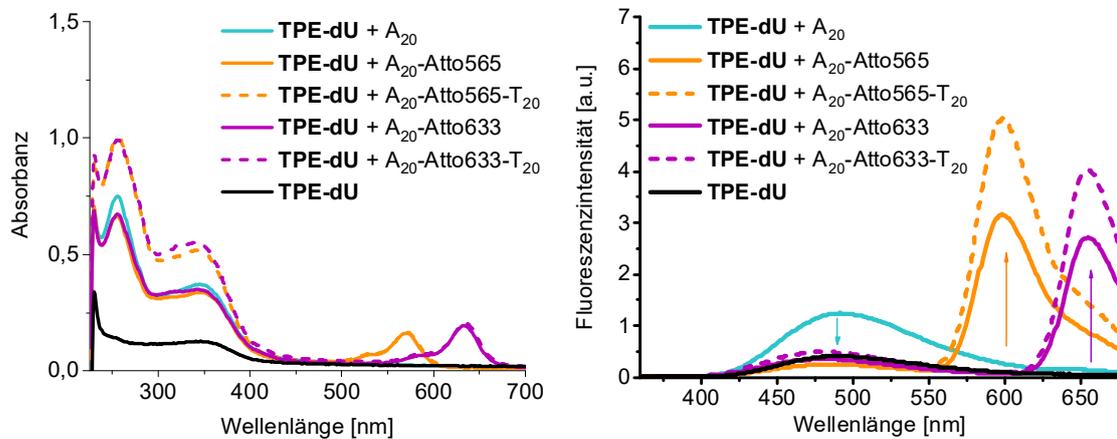


Abbildung 7.14: UV/Vis-Absorption (links) und Fluoreszenz (rechts) der Assemblierung von **TPE-dU** entlang der DNA-Templatstränge A_{20} , A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 sowie entlang der Doppelstränge A_{20} -Atto565- T_{20} und A_{20} -Atto633- T_{20} . Bedingungen: $1.25 \mu\text{M}$ DNA in Wasser (1 % DMSO), $37.5 \mu\text{M}$ **TPE-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, 3 min zentrifugiert, $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$.

Kovalenter Einbau

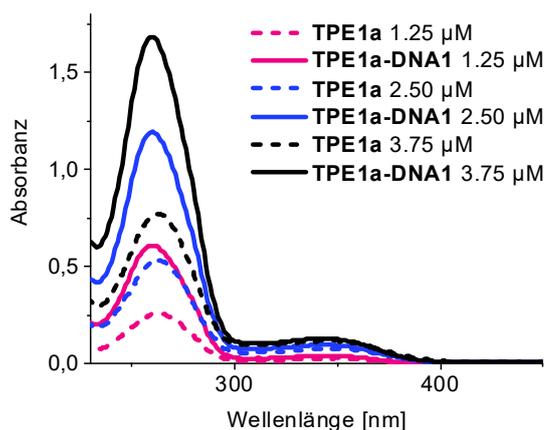


Abbildung 7.15: UV/Vis-Absorption des synthetisierten DNA-Einzelstranges **TPE1a** und des Doppelstranges **TPE1a-DNA1** in drei unterschiedlichen Konzentrationen. Bedingungen: $c(\text{DNA}) = c(\text{cs}) = 1.25 \mu\text{M}$ (rot), $c(\text{DNA}) = c(\text{cs}) = 2.50 \mu\text{M}$ (blau), $c(\text{DNA}) = c(\text{cs}) = 3.75 \mu\text{M}$ (schwarz), 250 mM NaCl, 10 mM NaPi, $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$.

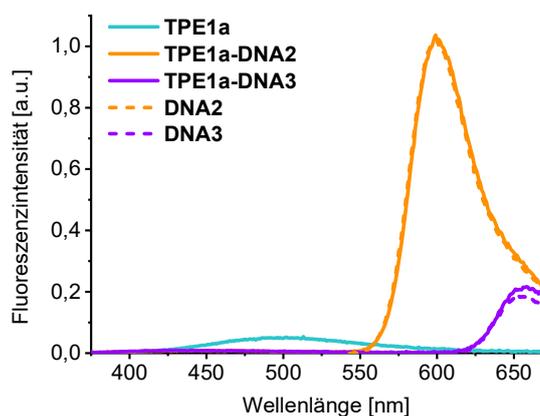


Abbildung 7.16: Fluoreszenz des Einzelstranges **TPE1a** und der Doppelstränge mit **DNA2** (cs) und **DNA3** (cs). Bedingungen: $c(\text{DNA}) = c(\text{cs}) = 2.50 \mu\text{M}$, 250 mM NaCl, 10 mM NaPi, $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$.

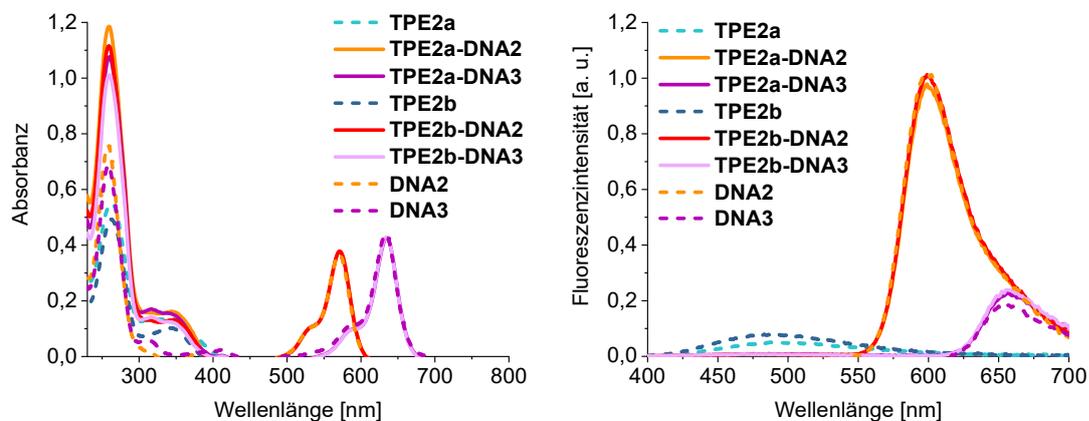


Abbildung 7.17: UV/Vis-Absorption und Fluoreszenz der Einzelstränge **TPE2a**, **TPE2b**, **DNA2** und **DNA3** sowie der Doppelstränge mit **DNA2** (cs) und **DNA3** (cs). Bedingungen: $c(\text{DNA}) = c(\text{cs}) = 2.50 \mu\text{M}$, 250 mM NaCl, 10 mM NaPi, $\lambda_{\text{exc}} = 341 \text{ nm}$.

7.2 Sequenzspezifische Assemblierungen

7.2.1 Optische Charakterisierung von CDS-dU

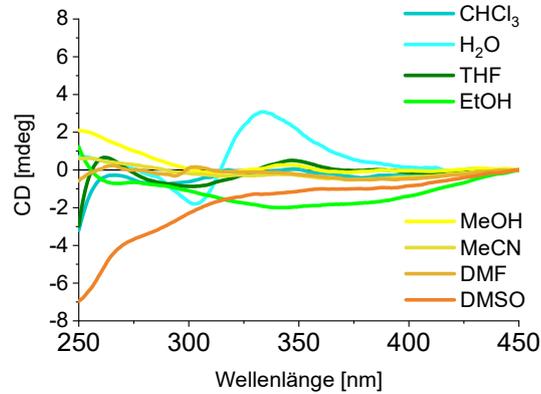


Abbildung 7.18: CD-Spektren von CDS-dU in verschiedenen Lösungsmitteln. Bedingungen: 37.5 μ M CDS-dU, 1 h bei RT inkubiert.

7.2.2 DNA-templierte Assemblierung von CDS-dU

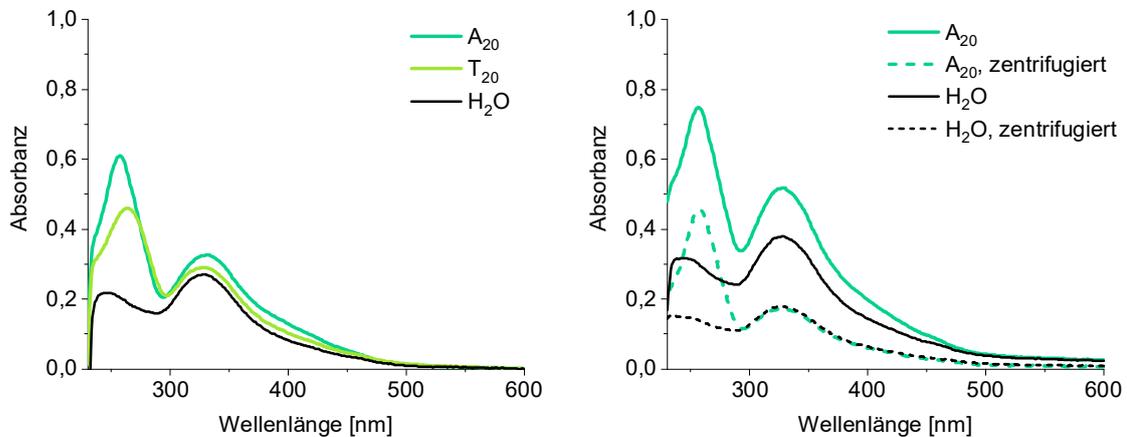


Abbildung 7.19: UV/Vis-Absorption der Assemblierung von CDS-dU entlang A₂₀ und T₂₀ sowie ohne DNA. Bedingungen: 1.25 μ M DNA in Wasser (1 % DMSO), 25 μ M CDS-dU, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, λ_{exc} = 360 nm.

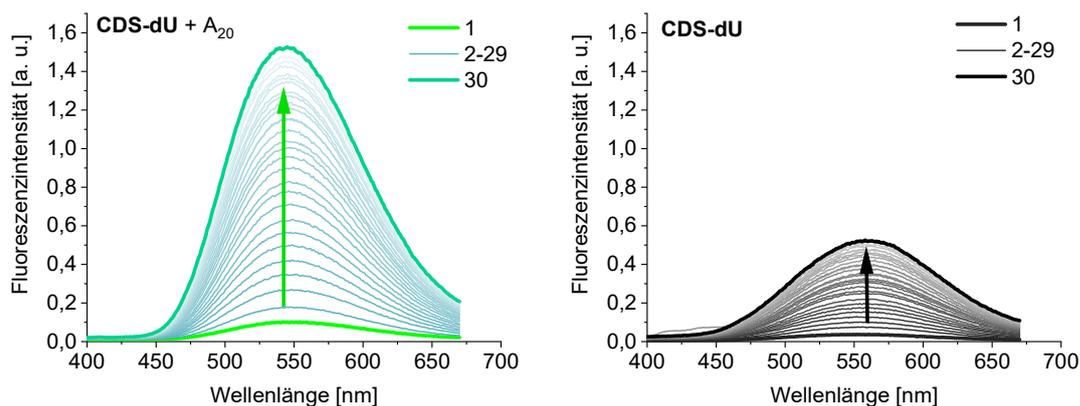


Abbildung 7.20: Fluoreszenz der Assemblierung von **CDS-dU** entlang A_{20} sowie ohne DNA. Zu den wässrigen DNA-Lösungen wurden 1-30 Äq. an **CDS-dU** schrittweise zugegeben. Bedingungen: 1.25 μM DNA in Wasser (1 % DMSO), 25 μM **CDS-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert, $\lambda_{\text{exc}} = 360$ nm.

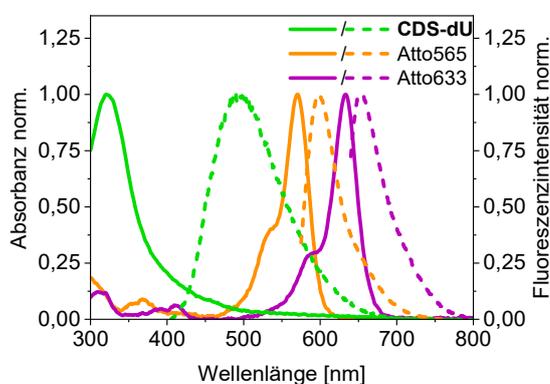


Abbildung 7.21: UV/Vis-Absorption (durchgängige Linien) und Fluoreszenz (gestrichelte Linien) der Verbindungen **CDS-dU**, A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633. Bedingungen: 1.25 μM DNA in Wasser (1 % DMSO), 37.5 μM **CDS-dU**, 1 h bei RT inkubiert, $\lambda_{\text{exc}} = 360$ nm, 565 nm bzw. 633 nm.

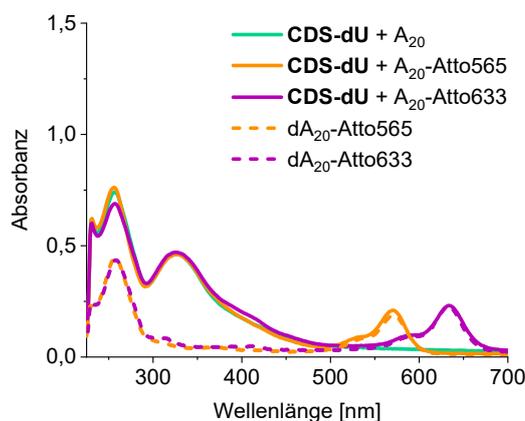


Abbildung 7.22: UV/Vis-Absorption der Assemblierung von **CDS-dU** entlang der DNA-Templatstränge A_{20} , A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 sowie die DNA-Stränge A_{20} -Atto565 und A_{20} -Atto633 in Abwesenheit von **CDS-dU**. Bedingungen: 1.25 μM DNA in Wasser (1 % DMSO), 37.5 μM **CDS-dU**, 250 mM NaCl, 1 h bei RT inkubiert.

7.2.3 Sequenzspezifische Assemblierung von CDS-dU und Nr-dAp

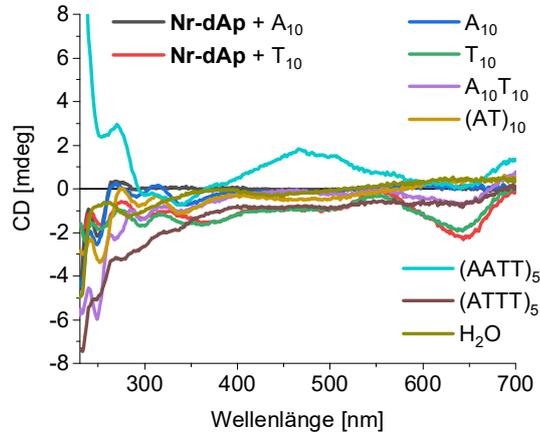


Abbildung 7.23: CD der simultanen Assemblierung von **Nr-dAp** und **CDS-dU** entlang A_{10} , T_{10} , $A_{10}T_{10}$, $(AT)_{10}$, $(AATT)_5$ und $(ATTT)_5$ sowie ohne DNA. Bedingungen: $18.75 \mu\text{M}$ **Pe-dAp**, $18.75 \mu\text{M}$ **CDS-dU**, $1.25 \mu\text{M}$ DNA in Wasser (1 % DMSO), 250 mM NaCl, jeweils 1 h bei RT inkubiert und anschließend 1 min zentrifugiert, $\lambda_{\text{exc}} = 360 \text{ nm}$.

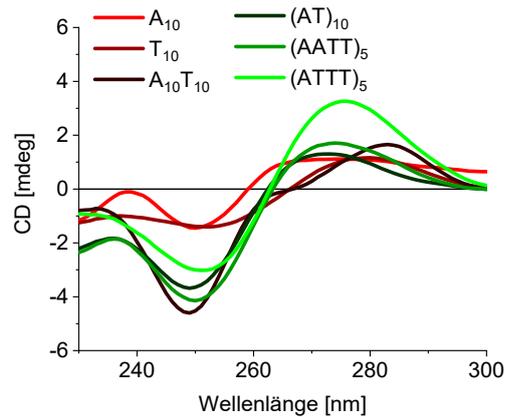


Abbildung 7.24: CD-Spektren der DNA-Template A_{10} , T_{10} , $A_{10}T_{10}$, $(AT)_{10}$, $(AATT)_5$ und $(ATTT)_5$. Bedingungen: $1.25 \mu\text{M}$ DNA in Wasser (1 % DMSO), 1 h bei RT inkubiert.

7.2.4 Sequenzspezifische Assemblierung von CDS-dU und Pe-dAp

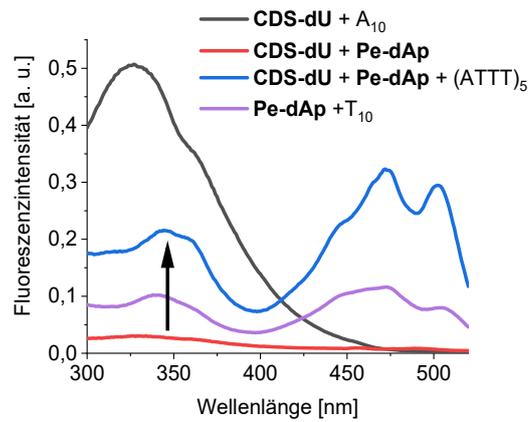


Abbildung 7.25: Anregungsspektren der Assemblierung von **Pe-dAp** und **CDS-dU** entlang A_{10} , T_{10} , und $(ATTT)_5$. Bedingungen: 18,75 μM **Pe-dAp**, 18,75 μM **CDS-dU**, 1,25 μM DNA in Wasser (1 % DMSO), 250 mM NaCl, jeweils 1 h bei RT inkubiert und anschließend 1 min zentrifugiert, $\lambda_{em} = 500/550$ nm.

8 Literaturverzeichnis

- [1] N. Welsch, C. C. Liebmann, in *Farben: Natur Technik Kunst*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, **2012**, pp. 1-3.
- [2] F. Wöhler, *Ann. Phys.* **1828**, *88*, 253-256.
- [3] Z. He, W. Jiang, C. A. Schalley, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 779-789.
- [4] J.-M. Lehn, *Eur. Rev.* **2009**, *17*, 263-280.
- [5] J. V. Barth, J. Weckesser, N. Lin, A. Dmitriev, K. Kern, *Appl. Phys. A* **2003**, *76*, 645-652.
- [6] P. Ensslen, Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 487-492.
- [7] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 9040-9046.
- [8] R. Hofsäß, P. Ensslen, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 1330-1333.
- [9] P. Ensslen, S. Gärtner, K. Glaser, A. Colsmann, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1904-1908.
- [10] S. Müller, Y. Fritz, H. A. Wagenknecht, *ChemistryOpen* **2020**, *9*, 389-392.
- [11] Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *Front. Chem.* **2019**, *7*.
- [12] W. Müller-Esterl, *Biochemie: Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler, Vol. 3. korrigierte Auflage*, Springer-Verlag GmbH Deutschland, Berlin, **2018**.
- [13] T. Carell, C. Brandmayr, A. Hienzsch, M. Müller, D. Pearson, V. Reiter, I. Thoma, P. Thumbs, M. Wagner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 7110-7131.
- [14] N. B. Leontis, E. Westhof, *RNA* **2001**, *7*, 499-512.
- [15] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, *171*, 737-738.
- [16] K. Hoogsteen, *Acta Cryst.* **1963**, *16*, 907-916.
- [17] F. H. C. Crick, *J. Mol. Biol.* **1966**, *19*, 548-555.
- [18] N. Armaroli, V. Balzani, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 52-66.
- [19] Y. Nakamura, N. Aratani, A. Osuka, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 831-845.

- [20] A. Freer, S. Prince, K. Sauer, M. Papiz, A. H. Lawless, G. McDermott, R. Cogdell, N. W. Isaacs, *Structure* **1996**, *4*, 449-462.
- [21] C. V. Kumar, M. R. Duff, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16024-16026.
- [22] H. Ucar, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 10048-10053.
- [23] C. B. Reese, *Organic & Biomolecular Chemistry* **2005**, *3*, 3851-3868.
- [24] P. Ensslen, H.-A. Wagenknecht, *Acc. Chem. Res* **2015**, *48*, 2724-2733.
- [25] W. Schmucker, H.-A. Wagenknecht, *Synlett* **2012**, *23*, 2435-2448.
- [26] L.-A. Fendt, I. Bouamaied, S. Thöni, N. Amiot, E. Stulz, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15319-15329.
- [27] P. K. Dutta, R. Varghese, J. Nangreave, S. Lin, H. Yan, Y. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 11985-11993.
- [28] N. Sancho Oltra, W. R. Browne, G. Roelfes, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 2457-2461.
- [29] R. X. F. Ren, N. C. Chaudhuri, P. L. Paris, Rumney, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7671-7678.
- [30] H. Asanuma, K. Shirasuka, T. Takarada, H. Kashida, M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2217-2223.
- [31] H. Kashida, K. Murayama, T. Toda, H. Asanuma, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 1285-1288.
- [32] R. Huber, N. Amann, H.-A. Wagenknecht, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 744-751.
- [33] E. Meggers, L. Zhang, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 1092-1102.
- [34] N. Amann, E. Pandurski, T. Fiebig, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2978-2980.
- [35] A. Marx, M. P. MacWilliams, T. A. Bickle, U. Schwitter, B. Giese, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 1131-1132.
- [36] T. Chen, N. Hongdilokkul, Z. Liu, R. Adhikary, S. S. Tsuen, F. E. Romesberg, *Nat. Chem.* **2016**, *8*, 556-562.
- [37] J. Matyašovský, P. Perlíková, V. Malnuit, R. Pohl, M. Hocek, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 15856-15859.
- [38] S. M. Langenegger, R. Häner, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 848-851.
- [39] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9307-9310.
- [40] D. Baumstark, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 6640-6645.

- [41] E. Mayer-Enthart, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3372-3375.
- [42] 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.
- [43] B. Li, H. Wei, S. Dong, *Chem. Commun.* **2007**, 73-75.
- [44] B. Liu, *Biosens. Bioelectron.* **2008**, *24*, 756-760.
- [45] C.-K. Chiang, C.-C. Huang, C.-W. Liu, H.-T. Chang, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 3716-3721.
- [46] Z. Zhu, C. Yang, X. Zhou, J. Qin, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 3192-3194.
- [47] D.-L. Ma, H.-Z. He, K.-H. Leung, H.-J. Zhong, D. S.-H. Chan, C.-H. Leung, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 3427-3440.
- [48] M. Surin, P. G. A. Janssen, R. Lazzaroni, P. Leclère, E. W. Meijer, A. P. H. J. Schenning, *Adv. Mater.* **2009**, *21*, 1126-1130.
- [49] G. Sargsyan, A. A. Schatz, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1020-1022.
- [50] G. Sargsyan, B. M. Leonard, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 1878-1892.
- [51] S. Sezi, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9257-9259.
- [52] R. Hofsass, S. Sinn, F. Biedermann, H. A. Wagenknecht, *Chemistry* **2018**, *24*, 16257-16261.
- [53] A. Beer, *Annalen der Physik* **1852**, *162*, 78-88.
- [54] J. W. Verhoeven, *Pure Appl. Chem.* **1996**, *68*, 2223-2286.
- [55] B. Valeur, M. N. Berberan-Santos, *Molecular Fluorescence: Principles and Applications, Second Edition*, Weinheim, Germany, **2012**.
- [56] J. E. Potter, N. C. Steph, P. H. Dwivedi, D. E. Golden, *J. Chem. Phys.* **1977**, *66*, 5557-5563.
- [57] F. Hund, *Phys* **1926**, *36*, 657-674.
- [58] W. W. Parson, *Modern Optical Spectroscopy: With Exercises and Examples from Biophysics and Biochemistry, Vol. Student Edition*, Springer-Verlag, Heidelberg, **2007**.
- [59] J. Franck, *Z. Phys. Chem* **1926**, *120U*, 144-156.
- [60] E. U. Condon, *Phys. Rev.* **1928**, *32*, 858-872.

- [61] A. Jablonski, *Nature* **1933**, 131, 839-840.
- [62] M. Kasha, *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, 9, 14-19.
- [63] G. G. Stokes, *Philos. Trans. R. Soc.* **1852**, 142, 463-562.
- [64] J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy, Vol. Third Edition*, Springer Science+Business Media, New York, **2006**.
- [65] G. Snatzke, *Angew. Chem.* **1979**, 91.
- [66] U. De Rossi, S. Dähne, S. C. J. Meskers, H. P. J. M. Dekkers, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, 35, 760-763.
- [67] E. G. McRae, M. Kasha, *J. Chem. Phys.* **1958**, 28, 721-722.
- [68] F. D. Lewis, Y. Wu, L. Zhang, X. Zuo, R. T. Hayes, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 8206-8215.
- [69] N. J. Greenfield, *Anal. Biochem.* **1996**, 235, 1-10.
- [70] A. Micsonai, F. Wien, L. Kernya, Y.-H. Lee, Y. Goto, M. Réfrégiers, J. Kardos, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2015**, 112, E3095-E3103.
- [71] N. J. Greenfield, *Nat. Protoc.* **2006**, 1, 2876-2890.
- [72] N. C. Garbett, P. A. Ragazzon, J. B. Chaires, *Nat. Protoc.* **2007**, 2, 3166-3172.
- [73] T. Šmidlehner, I. Piantanida, G. Pescitelli, *Beilstein J. Org. Chem.* **2018**, 14, 84-105.
- [74] B. Ranjbar, P. Gill, *Chem. Biol. Drug Des.* **2009**, 74, 101-120.
- [75] L. Whitmore, B. A. Wallace, *Biopolymers* **2008**, 89, 392-400.
- [76] W. Saenger, *Principles of Nucleic Acid Structure*, NY Springer-Verlag, New York, **1984**.
- [77] B. Ranjbar, P. Gill, *Chem. Biol. Drug. Des.* **2009**, 74, 101-120.
- [78] D. H. Turner, I. Tinoco, M. Maestre, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 4340-4342.
- [79] M. L. Lamos, E. W. Lobenstine, D. H. Turner, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 4278-4284.
- [80] M. Górecki, F. Zinna, T. Biver, L. Di Bari, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2017**, 144, 6-11.
- [81] M. Kasha, H. R. Rawls, M. A. El-Bayoumi, *Pure and Applied Chemistry* **1965**, 11, 371-392.
- [82] E. G. McRae, M. Kasha, *Physical Processes in Radiation Biology*, Academic Press, New York, **1964**.

- [83] E. E. Jelley, *Nature* **1936**, 138, 1009-1010.
- [84] M. Bayda, F. Dumoulin, G. L. Hug, J. Koput, R. Gorniak, A. Wojcik, *Dalton Trans.* **2017**, 46, 1914-1926.
- [85] A. Czímerová, J. Bujdák, A. Gáplovský, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp* **2004**, 243, 89-96.
- [86] T. Förster, *Ann. Phys.* **1948**, 437, 55-75.
- [87] T. Forster, *Naturwissenschaften* **1946**, 33, 166-175.
- [88] R. M. Clegg, A. I. H. Murchie, A. Zechel, C. Carlberg, S. Diekmann, D. M. J. Lilley, *Biochemistry* **1992**, 31, 4846-4856.
- [89] F. Belloc, F. Lacombe, P. Domain, F. Lopez, P. Bernard, M. R. Boisseau, J. Reifers, *Cytometry* **1992**, 13, 880-885.
- [90] S. C. Tyagi, *Biochemistry* **1992**, 31, 6447-6453.
- [91] S. Sindbert, S. Kalinin, H. Nguyen, A. Kienzler, L. Clima, W. Bannwarth, B. Appel, S. Müller, C. A. M. Seidel, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 2463-2480.
- [92] R. M. Clegg, A. I. Murchie, A. Zechel, D. M. Lilley, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1993**, 90, 2994-2998.
- [93] E. Haas, *ChemPhysChem* **2005**, 6, 858-870.
- [94] S. Preus, L. M. Wilhelmsson, *ChemBioChem* **2012**, 13, 1990-2001.
- [95] H. Neubauer, N. Gaiko, S. Berger, J. Schaffer, C. Eggeling, J. Tuma, L. Verdier, C. A. M. Seidel, C. Griesinger, A. Volkmer, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 12746-12755.
- [96] J. R. Unruh, G. Gokulrangan, G. H. Lushington, C. K. Johnson, G. S. Wilson, *Biophys. J.* **2005**, 88, 3455-3465.
- [97] A. K. Woźniak, G. F. Schröder, H. Grubmüller, C. A. M. Seidel, F. Oosterhelt, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2008**, 105, 18337-18342.
- [98] R. B. Best, K. A. Merchant, I. V. Gopich, B. Schuler, A. Bax, W. A. Eaton, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, 104, 18964-18969.
- [99] F. D. Lewis, L. Zhang, X. Zuo, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 10002-10003.
- [100] K. Börjesson, S. Preus, A. H. El-Sagheer, T. Brown, B. Albinsson, L. M. Wilhelmsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 4288-4293.

- [101] 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.
- [102] T. Kato, H. Kashida, H. Kishida, H. Yada, H. Okamoto, H. Asanuma, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 741-750.
- [103] J. Luo, Z. Xie, J. W. Y. Lam, L. Cheng, H. Chen, C. Qiu, H. S. Kwok, X. Zhan, Y. Liu, D. Zhuc, B. Z. Tang, *Chem. Commun.* **2001**, 1740-1741.
- [104] Y. Xie, Z. Li, *Chem. Asian J.* **2019**, *14*, 2524-2541.
- [105] Z. Zhao, J. W. Y. Lam, B. Z. Tang, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 23726-23740.
- [106] J. Wang, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 3011-3016.
- [107] F. A. Aldaye, A. L. Palmer, H. F. Sleiman, *Science* **2008**, *321*, 1795-1799.
- [108] S.-n. Uno, C. Dohno, H. Bittermann, V. L. Malinovskii, R. Häner, K. Nakatani, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7362-7365.
- [109] K. C. Hannah, B. A. Armitage, *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 845-853.
- [110] L. I. Markova, V. L. Malinovskii, L. D. Patsenker, R. Häner, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8944-8947.
- [111] M. A. Abdalla, J. Bayer, J. O. Rädler, K. Müllen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 3967-3970.
- [112] M. Balaz, A. E. Holmes, M. Benedetti, P. C. Rodriguez, N. Berova, K. Nakanishi, G. Proni, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4172-4173.
- [113] D. Wenger, V. L. Malinovskii, R. Häner, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 3168-3170.
- [114] Y. Hong, H. Xiong, J. W. Y. Lam, M. Häußler, J. Liu, Y. Yu, Y. Zhong, H. H. Y. Sung, I. D. Williams, K. S. Wong, B. Z. Tang, *Chem.-Eur. J.* **2010**, *16*, 1232-1245.
- [115] F. Wang, J. Wen, L. Huang, J. Huang, J. Ouyang, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 7395-7397.
- [116] C. W. T. Leung, Y. Hong, S. Chen, E. Zhao, J. W. Y. Lam, B. Z. Tang, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 62-65.
- [117] S. Li, S. M. Langenegger, R. Häner, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 5835-5837.
- [118] C. J. Capriotti K, *Int Med Case Rep J.* **2015**, *8*, 231-233.

- [119] X. Gu, J. Yao, G. Zhang, C. Zhang, Y. Yan, Y. Zhao, D. Zhang, *Chem. Asian. J.* **2013**, *8*, 2362-2369.
- [120] Y. Hong, S. Chen, C. W. T. Leung, J. W. Y. Lam, B. Z. Tang, *Chem. Asian J.* **2013**, *8*, 1806-1812.
- [121] Y. Zhuang, F. Huang, Q. Xu, M. Zhang, X. Lou, F. Xia, *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 3289-3294.
- [122] Y.-X. Yuan, H.-C. Zhang, M. Hu, Q. Zhou, B.-X. Wu, F.-I. Wang, M.-h. Liu, Y.-S. Zheng, *Org. Lett.* **2020**, *22*, 1836-1840.
- [123] Z. Xie, W. Xie, F. Li, L. Liu, H. Wang, Y. Ma, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 9066-9071.
- [124] D. Oelkrug, A. Tompert, H.-J. Egelhaaf, M. Hanack, E. Steinhuber, M. Hohloch, H. Meier, U. Stalmach, *Synth. Met.* **1996**, *83*, 231-237.
- [125] C. J. Bhongale, C.-W. Chang, C.-S. Lee, E. W.-G. Diau, C.-S. Hsu, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 13472-13482.
- [126] C. Rost, D. J. Gundlach, S. Karg, W. Rieß, *Int. J. Appl. Phys.* **2004**, *95*, 5782-5787.
- [127] J. Shi, L. E. Aguilar Suarez, S.-J. Yoon, S. Varghese, C. Serpa, S. Y. Park, L. Lüer, D. Roca-Sanjuán, B. Milián-Medina, J. Gierschner, *J. Phys. Chem. C* **2017**, *121*, 23166-23183.
- [128] X. Zhang, Y. Zhang, H. Zhang, Y. Quan, Y. Li, Y. Cheng, S. Ye, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 439-443.
- [129] F. Rizzo, F. Cucinotta, *Isr. J. Chem* **2018**, *58*, 874-888.
- [130] H.-H. Chou, C.-H. Cheng, *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 2468-2471.
- [131] S.-J. Su, C. Cai, J. Kido, *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 274-284.
- [132] S. Gong, Y. Chen, J. Luo, C. Yang, C. Zhong, J. Qin, D. Ma, *Adv. Funct. Mater.* **2011**, *21*, 1168-1178.
- [133] J. Sáagi, A. Szemző, K. Ébinger, A. Szabolcs, G. Sáagi, É. Ruff, L. Ötvös, *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 2191-2194.
- [134] J. Wang, J. Mei, E. Zhao, Z. Song, A. Qin, J. Z. Sun, B. Z. Tang, *Macromolecules* **2012**, *45*, 7692-7703.
- [135] C. Glaser, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1869**, *2*, 422-424.
- [136] G. Evano, N. Blanchard, M. Toumi, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3054-3131.
- [137] W.-W. Sy, B. A. Lodge, A. W. By, *Synth. Commun.* **1990**, *20*, 877-880.
- [138] W.-W. Sy, *Synth. Commun.* **1990**, *20*, 3391-3394.

- [139] F. Würthner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 14192-14196.
- [140] 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.
- [141] D. D. La, S. V. Bhosale, L. A. Jones, S. V. Bhosale, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2018**, *10*, 12189-12216.
- [142] H. Qu, X. Tang, X. Wang, Z. Li, Z. Huang, H. Zhang, Z. Tian, X. Cao, *Chem. Sci.* **2018**, *9*, 8814-8818.
- [143] D. Li, R. Hu, D. Guo, Q. Zang, J. Li, Y. Wang, Y.-S. Zheng, B. Z. Tang, H. Zhang, *J. Phys. Chem. C* **2017**, *121*, 20947-20954.
- [144] T. Kosaka, S. Iwai, Y. Inoue, T. Moriuchi, T. Mori, *J. Phys. Chem. A* **2018**, *122*, 7455-7463.
- [145] J. Liu, H. Su, L. Meng, Y. Zhao, C. Deng, J. C. Y. Ng, P. Lu, M. Faisal, J. W. Y. Lam, X. Huang, H. Wu, K. S. Wong, B. Z. Tang, *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 2737-2747.
- [146] A. Islam, D. Zhang, R. Peng, R. Yang, L. Hong, W. Song, Q. Wei, L. Duan, Z. Ge, *Chem. Asian J.* **2017**, *12*, 2189-2196.
- [147] B. Liu, H. Nie, G. Lin, S. Hu, D. Gao, J. Zou, M. Xu, L. Wang, Z. Zhao, H. Ning, J. Peng, Y. Cao, B. Z. Tang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 34162-34171.
- [148] Y. Li, Z. Xu, X. Zhu, B. Chen, Z. Wang, B. Xiao, J. W. Y. Lam, Z. Zhao, D. Ma, B. Z. Tang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2019**, *11*, 17592-17601.
- [149] K. Das, L. Gabrielli, L. J. Prins, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, *60*, 20120-20143.
- [150] H. Clausen-Schaumann, M. Rief, C. Tolksdorf, H. E. Gaub, *Biophys. J.* **2000**, *78*, 1997-2007.
- [151] Y. Li, R. T. K. Kwok, B. Z. Tang, B. Liu, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 10135-10138.
- [152] T. F. A. De Greef, M. M. J. Smulders, M. Wolffs, A. P. H. J. Schenning, R. P. Sijbesma, E. W. Meijer, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5687-5754.
- [153] S. Hayashi, R. Hirai, S.-i. Yamamoto, T. Koizumi, *Chem. Lett.* **2018**, *47*, 1003-1005.
- [154] G. T. Crisp, B. L. Flynn, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6614-6619.
- [155] M. Hornum, P. Kumar, P. Podsiadly, P. Nielsen, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 9592-9602.

- [156] S. B. Noh, R. H. Kim, W. J. Kim, S. Kim, K.-S. Lee, N. S. Cho, H.-K. Shim, H. E. Pudavar, P. N. Prasad, *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 7422-7429.
- [157] J. Chen, Y. Wang, W. Li, H. Zhou, Y. Li, C. Yu, *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 9866-9872.
- [158] H. G. Hansma, I. Revenko, K. Kim, D. E. Laney, *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 713-720.
- [159] J. Han, J. Jose, E. Mei, K. Burgess, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1684-1687.
- [160] M. R. Reddy, N. Shibata, Y. Kondo, S. Nakamura, T. Toru, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8163-8166.

9 Appendix

9.1 Publikation

H. Ucar, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 10048-10053.

9.2 Konferenzen und Posterbeiträge

- | | |
|---------|---|
| 07/2019 | Summer School 2019 - Nucleic acid chemistry and synthetic biology,
Würzburg, 2019
“Circularly Polarized Luminescence of AIE-dyes and DNA” (Poster) |
| 09/2019 | IX. Nucleinsäurechemietreffen (Saarbrücken, Deutschland)
“Aggregation-Induced Emission Dyes Assembled on DNA Templates”
(Poster) |