

Nachweis der Cyclobutan-Pyrimidin-Dimer-Bildung in DNA durch Triplett-Triplett-Energietransfer mit C-Nukleosid-Photosensibilisatoren

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

von der KIT-Fakultät für Chemie und Biowissenschaften
des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte
Dissertation
von
M. Sc. Sebastian Häcker

Karlsruhe, März 2025

1. Referent: Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht
2. Referent: Prof. Dr. Joachim Podlech

Tag der mündlichen Prüfung: 05.05.2025

Meiner Familie

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von Februar 2022 bis März 2025 am Institut für Organische Chemie des Karlsruher Instituts für Technologie unter der Leitung von Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht angefertigt. In dieser Zeit durfte ich viele wertvolle Erfahrungen sammeln, für die ich mich an dieser Stelle herzlich bedanken möchte.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht für die Aufnahme in den Arbeitskreis und das damit verbundene Vertrauen. Ihre fachliche Unterstützung, wertvolle Anregungen sowie die Freiheit, eigene Ideen zu verfolgen, haben meine Forschung entscheidend geprägt. Besonders dankbar bin ich Ihnen für die Möglichkeit, meine Ergebnisse auf nationalen und internationalen Konferenzen präsentieren zu dürfen. Vielen Dank für die großartige Betreuung!

Ein weiterer Dank gilt meinen Kollegen aus dem Arbeitskreis Wagenknecht: Jan Kunzmann, Simon Heckmeier, Anna-Lena Ruopp, Eileen List, Sven Klehenz, Madeleine Giraud, Stefan Behling, Max Flügge, Lukas Frey, Mathis Mitha, Elrike Reinalter, Andreas Schmidt, Markus Bäth und den ehemaligen Kollegen Dr. Kerstin Müller, Dr. Philipp Geng, Dr. Fabian Weick, Dr. Maren Schrödter, Dr. Nicola Seul, Dr. Lisa Rieger, Dr. Rita Michenfelder, Dr. Desiree Steuernagel. Vielen Dank für die gemeinsame Zeit, für die angenehme Arbeitsatmosphäre und Hilfsbereitschaft sowie auch die Feiern außerhalb der Arbeitszeit.

Im Speziellen bedanke ich mich bei:

- Claudia Sommer und Ariane Baumgart für eure Unterstützung bei bürokratischen und organisatorischen Problemen. Eure herzliche und offene Art hat mir sehr geholfen.
- Annette Hochgesand für die zuverlässige Hilfe bei den DNA-Bestellungen sowie den MALDI-Messungen.
- Lara für die Messungen zahlreicher ESI-MS und ESI-LC-MS Messungen.
- Meinen Kooperationspartnern Till Zähringer und Prof. Dr. Christoph Kerzig von der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz für die transienten Absorptionsmessungen sowie die stets kompetente Zusammenarbeit. Vielen Dank für eure wertvolle Unterstützung!
- Mathis Mitha, Lukas Frey, Simon Heckmeier und Jan Kunzmann danke ich herzlich für das gründliche Korrekturlesen dieser Arbeit und euren wertvollen Anmerkungen.
- Meinen Laborfreunden aus dem Labor 007, Hannes und Simon, danke ich für die unvergessliche Zeit! Eure Gesellschaft, die vielen fachlich wertvollen und genauso vielen wertlosen Gespräche, haben den Arbeitsalltag bereichert und ihn gleichzeitig sehr unterhaltsam gemacht. Es war mir eine Freude, mit euch zusammenzuarbeiten und mit euch Freunde zu werden.

- Meinen vertiefenden Studenten und Azubi: Jiangxiong Xiao, Evelyn Hayn und Jannis Jung danke ich für euer engagiertes Arbeiten und die tatkräftige Unterstützung bei verschiedenen Projekten.
- Den AKW Ultras: Andi, Basti, Jan, Mathis, Simon, Lukas und Stephan für die großartige Zeit, nicht nur im Labor, sondern auch außerhalb der Arbeit, beispielsweise bei unserem unvergesslichen Ausflug nach Hamburg. Ein besonderer Dank gilt Simon Heckmeier und Jan Kunzmann für die gemeinsamen Stunden beim Rennradfahren, Fußballschauen und all die anderen schönen Momente.
- Meinen Freunden, die mich im Studium begleitet haben und ohne die das Studium sicherlich nicht so schön verlaufen wäre: Jules, Leon, Jonas, Lisa und Eileen. Ein besonderer Dank geht an Jonas. Du warst ein großartiger Mitbewohner. Mit dir konnte man nicht nur gut zusammen feiern, sondern du hast mich auch oft während des Studiums motiviert und unterstützt. Besonders Jules und Eileen, die mich im Studium der Chemischen Biologie begleitet haben, danke ich für das gemeinsame Lernen und die schöne Zeit die wir miteinander verbracht haben. Leon danke ich für die vielen gemeinsamen Stunden beim Tennis, Basketball, Tischtennis und anderen sportlichen Aktivitäten sowie für dein offenes Ohr.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Geschwistern und Eltern bedanken, dass ihr immer für mich da seid und ich mich stets auf euch verlassen kann. Eure bedingungslose Unterstützung und Liebe bedeuten mir sehr viel. Ein besonderer Dank geht an Caro für deine emotionale Unterstützung, dein Verständnis und den Rückhalt, den du mir jederzeit gibst.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	I
Inhaltsverzeichnis	III
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung.....	1
2 Theoretische Grundlagen	3
2.1 Photochemie: Entstehung von Singulett und Triplett angeregten Zuständen	3
2.2 Triplett-Triplett-Energietransfer und Photosensibilisatoren	7
2.2.1 Triplett-Triplett-Energietransfer.....	7
2.2.2 Photosensibilisatoren und deren Eigenschaften.....	8
2.3 Transiente Absorptionsspektroskopie.....	10
2.4 Strukturelle Eigenschaften der DNA und ihre Auswirkungen auf lichtinduzierte Schäden ..	12
2.5 Lichtinduzierte DNA-Schäden.....	13
2.5.1 CPD-Schaden	13
2.5.2 6,4-Photoschaden und Dewar-Schaden	13
2.5.3 Weitere DNA-Schäden durch Photosensibilisatoren.....	14
2.6 Energietransfer in DNA.....	16
3 Themenstellung.....	21
4 Ergebnisse und Diskussion	23
4.1 Synthese der Photosensibilisatoren.....	23
4.1.1 Synthese von 2-Bromacridon (2).....	23
4.1.2 Synthese einfach bromierter Thioxanthone.....	24
4.2 Synthese der Phosphoramidite	31
4.3 Untersuchung der distanzabhängigen CPD-Bildung durch Energietransfer	33
4.3.1 Xanthone als Photosensibilisator	35
4.3.2 Thioxanthone als Photosensibilisatoren	40
4.3.3 Acridon als Photosensibilisator	50
4.3.4 Zusammenfassung der Experimente.....	51

4.4	Messungen der transienten Absorption	55
4.4.1	Referenzmessung von Thioxanthon und Naphthalin in Lösung.....	56
4.4.2	Messungen der DNA-Proben.....	57
5	Zusammenfassung und Ausblick	65
6	Experimenteller Teil	70
6.1	Materialien und Methoden.....	70
6.2	Analytische und spektroskopische Methoden	71
6.3	Synthesevorschriften.....	74
6.4	Oligonukleotid Synthese und Analytik	119
7	Literaturverzeichnis.....	125
8	Unterstützende Informationen	130
8.1	Spektren	130
8.2	Verbindungen.....	131
	Charakterisierung der Oligonukleotide	183
	LC ESI-MS.....	200
9	Appendix.....	214
9.1	Publikationen.....	214
9.2	Konferenzen mit Poster-Präsentation.....	215
9.3	Lehre	216
	Eidesstattliche Erklärung	217

Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
Å	Angström
Ar.	aromatisch
a.u.	Willkürliche Einheit (<i>arbitrary unit</i>)
C	Cytosin
CPD	Cyclobutan-Pyrimidin-Dimere
CPG	Poröses Glas (<i>Controlled Pore Glass</i>)
DC	Dünnschichtchromatographie
d	Dublett
DMT	Dimethoxytrityl
DNA	Desoxyribonukleinsäure
E	Energie
EnT	Energietransfer
E_T	Triplet-Energie
et al.	<i>et alia</i>
fdC	5-Formyl-2'-Desoxycytidin
fdU	5-Formyl-2'-Desoxyuridin
FRET	FÖRSTER-Resonanzenergietransfer
Fl	Fluoreszenz
G	Guanin
h	Stunde
HAT	Wasserstoffatomtransfer
$h\nu$	Photonenenergie

HR	Hochauflösend
Hz	Hertz
I_{LED}	Lichtstärke
IC	Innere Umwandlung
ISC	Interkombination
ICL	Interstrang <i>Crosslinks (Interstrand Crosslinks)</i>
J	Kopplungskonstante
K	Kelvin
$k_{E_{nT}}$	Energietransferrate
kJ	Kilojoule
L	Liter
LED	Licht-emittierende Diode
M	Molar
mL	Milliliter
MHz	Megahertz
min	Minuten
MALDI	Matrix-unterstützte Laser-Desorptions/Ionisation
m	Multiplett
mdeg	Milligrad
mmol	Millimol
mol	Mol
MS	Massenspektrometrie
mW	Milliwatt
NaPi	Natriumphosphat-Puffer
nm	Nanometer

NMR	Kernspinresonanz (<i>nuclear magnetic resonance</i>)
ns	Nanosekunde
NtI	Naphthalin
Pd(dppf)Cl ₂	[1,1'-Bis(diphenylphosphino)ferrocen]dichlorpalladium(II)
pH	<i>Pondus Hydrogenii</i>
ppm	<i>parts per million</i>
ps	Pikosekunden
quant.	quantitativ
R	Kernkoordinate
r	Abstand
RP-HPLC	Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
s	Singulett (NMR)
SiO ₂	Kieselgel
Smp	Schmelzpunkt
S _n	Singulett-Zustände
SOC	Spin-Bahn-Kopplung
T	Thymin
t	Zeit
t	Triplet (NMR)
TAS	Transiente Absorptionsspektroskopie
TBDMS	Tertbutyldimethylsilan
T _m	Schmelztemperatur
T _n	Triplet-Zustände

TTET	Triplet-Triplet-Energietransfer
TX	Thioxanthon
v	Schwingungsniveau
UV	ultraviolet
Vis	sichtbares Licht
VR	Schwingungsrelaxation oder auch vibronische Relaxation
W	Watt
μ s	Mikrosekunde
Φ_{ISC}	ISC-Quantenausbeute
τ	Triplet-Lebenszeit
δ	chemische Verschiebung
ΔOD	Differenz der Optischen Dichte
ϵ	Extinktionskoeffizient
λ	Wellenlänge

1 Einleitung

Die DNA als Träger der genetischen Information ist ständig verschiedenen externen und internen Einflüssen ausgesetzt, die ihre Integrität durch DNA-Schäden und daraus resultierende Mutationen bedrohen. Neben ionisierender Strahlung, chemischen Substanzen, wie polzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen und reaktiven Sauerstoffspezies, ist einer der wichtigsten externen Faktoren ultraviolettes (UV) Licht.^[1-4] Das UV-Licht ist ein wesentlicher Bestandteil des Sonnenlichts und kann in UV-A-Licht (400 nm – 320 nm), UV-B-Licht (320 nm – 280 nm) und UV-C-Licht (280 nm – 100 nm) unterteilt werden. Das hochenergetische UV-C-Licht wird durch die Ozonschicht in der Stratosphäre effektiv absorbiert und ist daher auf der Erdoberfläche nicht vorhanden.^[5] UV-B-Licht wird direkt von der DNA absorbiert und führt so zu direkten Photoschäden, während das energieärmere UV-A-Licht über indirekte Mechanismen DNA-Schäden verursachen kann.^[6-8] Beide Prozesse können Mutationen verursachen, die, wenn sie nicht repariert werden, im schlimmsten Fall zur Entstehung von Hautkrebs führen können.^[4] Inzidenz, Morbidität und Mortalität von Hautkrebs nehmen stetig zu und Prognosen zufolge wird sich die Zahl der Fälle zwischen 2022 und 2050 mehr als verdoppeln.^[9]

Die mit Abstand am häufigsten DNA-Schäden sind die Cyclobutan-Pyrimidin-Dimere (**CPD**), welche durch eine [2+2]-Cycloaddition benachbarter Pyrimidinbasen, meist Thymindimere, innerhalb eines DNA-Stranges entstehen und als molekulare Ursache für Hautkrebs gelten (Abbildung 1).^[10]

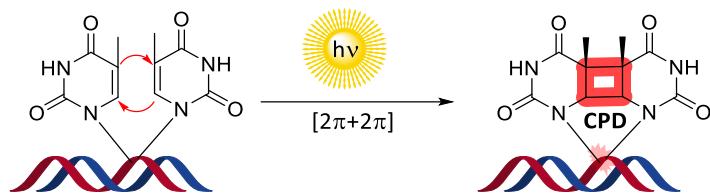


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Entstehung eines **CPD**-Schadens durch Lichtabsorption.

Während UV-B-Strahlung direkt von den DNA-Basen absorbiert wird und zur Bildung von **CPDs** führt, macht UV-A-Licht bis zu 95 % des gesamten UV-Lichts auf der Erdoberfläche aus und dringt tiefer in die Haut bis zur Subcutis ein. UV-A-Licht wird nicht direkt von den DNA-Basen absorbiert, sondern kann von endogenen und exogenen Photosensibilisatoren absorbiert werden, die ihrerseits die Lichtenergie durch Energietransfer auf die DNA übertragen können. Diese indirekt induzierten angeregten Zustände in der DNA können ebenfalls zu Schäden wie Oxidationen, DNA-Crosslinks oder **CPDs** führen.^[11-15]

Trotz umfangreicher Forschung sind die Mechanismen, die zu DNA-Schäden führen, noch nicht vollständig verstanden. Besonders herausfordernd ist es, die durch UV-A-Licht indirekt induzierten angeregten Zustände in der DNA selektiv zu erzeugen und präzise zu lokalisieren, was die vollständige Aufklärung erschwert. Ein tiefgehendes Verständnis dieser Prozesse ist nicht nur für die

Einleitung

Grundlagenforschung an der DNA von Bedeutung, sondern hat auch unmittelbare Relevanz für die Prävention und Therapie von Hautkrebs.

2 Theoretische Grundlagen

Die aromatischen DNA-Basen Adenin, Thymin, Cytosin und Guanin (**A, T, C, G**) absorbieren UV-B-Licht direkt. Die entstehenden angeregten Singulett-Zustände der DNA zerfallen jedoch in den meisten Fällen extrem schnell (<1 ps) in ladungsgtrennte Zustände (Exzitonen).^[16-19] Diese kehren durch Ladungsrekombination in ihren Grundzustand zurück, eine Eigenschaft der DNA, die sie vor lichtinduzierten Schäden schützt.^[20] Die direkt angeregten Singulett-Zustände können jedoch auch zu photochemischen Reaktionen, wie **CPDs** führen.^[21, 22] Jedoch kann auch UV-A-Licht durch Photosensibilisatoren indirekt angeregte Triplet-Zustände in der DNA induzieren, welche ebenfalls zu **CPDs** führen können.^[11, 23]

2.1 Photochemie: Entstehung von Singulett und Triplet angeregten Zuständen

Das Verständnis der Entstehung angeregter Zustände ist entscheidend für die Aufklärung der Mechanismen lichtinduzierter DNA-Schäden. Die photophysikalische Anregung von Molekülen aus ihrem Grundzustand (S_0) erfolgt durch die Absorption eines Photons, was zu einer Umverteilung der Elektronendichte führt. Das Molekül gelangt dabei in einen höher liegenden angeregten Singulett-Zustand ($S_{>0}$). Aufgrund der wesentlich größeren Masse der Atomkerne im Vergleich zu den Elektronen bewegen sich die Kerne wesentlich langsamer. Da elektronische Übergänge schneller ablaufen als die Kernbewegung, können Kern- und Elektronenbewegung mit der BORN-OPPENHEIMER-Näherung entkoppelt betrachtet werden. Auf dieser Grundlage erklärt das FRANCK-CONDON-Prinzip, dass die Absorption auf einer Achse, welche die Kernbewegung beschreibt, vertikal verläuft und somit die Wahrscheinlichkeit des Übergangs in einen angeregten Zustand von der Überlappung der Schwingungswellenfunktionen des Anfangs- und des Endzustands abhängt. Je größer das Überlappungsintegral, desto wahrscheinlicher ist der elektronische Übergang (Abbildung 2).^[24, 25]

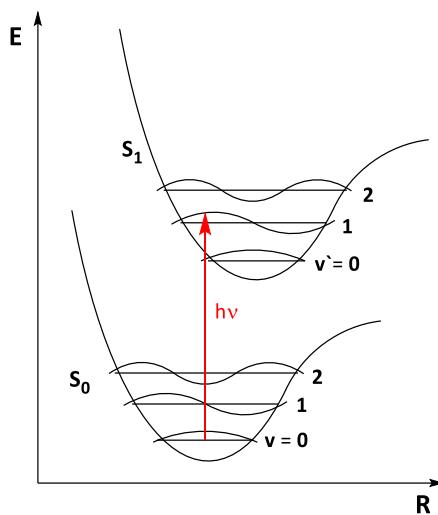


Abbildung 2: FRANCK-CONDON-Prinzip: Schematische Darstellung des elektronischen Grundzustands (S_0) und des ersten angeregten Zustands (S_1). Die Schwingungsniveaus ($v = 0 - 2$) sind als horizontale Linie eingezeichnet mit den jeweiligen Schwingungswellenfunktionen. Die Absorption des wahrscheinlichsten Übergangs wurde als roter Pfeil dargestellt.

Die photophysikalischen Prozesse lassen sich anschaulich in einem JABŁOŃSKI-Diagramm darstellen (Abbildung 3).^[26] Ein $^1\pi\pi^*$ -Zustand entsteht, wenn ein Elektron aus einem π -Orbital in ein antibindendes π^* -Orbital in den ersten angeregten Zustand (S_1) angeregt wird. Im Gegensatz dazu resultiert die Anregung eines Elektrons aus einem n-Orbital in das antibindende π^* -Orbital in einem $^1n\pi^*$ -Zustand. Dieser Zustand liegt üblicherweise energetisch niedriger als der $^1\pi\pi^*$ -Zustand und weist eine längere Lebenszeit auf (Abbildung 3).^[27, 28] Die energetische Lage aromatischer Carbonyle, die sowohl $n\pi^*$ - als auch $\pi\pi^*$ -Zustände besitzen, hängt jedoch stark von der Polarität des Lösungsmittels ab. Polar protische Lösungsmittel destabilisieren $n\pi^*$ -Zustände, wodurch deren energetische Lage angehoben wird, verglichen mit weniger polaren Lösungsmitteln. $\pi\pi^*$ -Zustände werden hingegen durch polar protische Lösungsmittel stabilisiert, sodass diese energetisch abgesenkt werden.^[29]

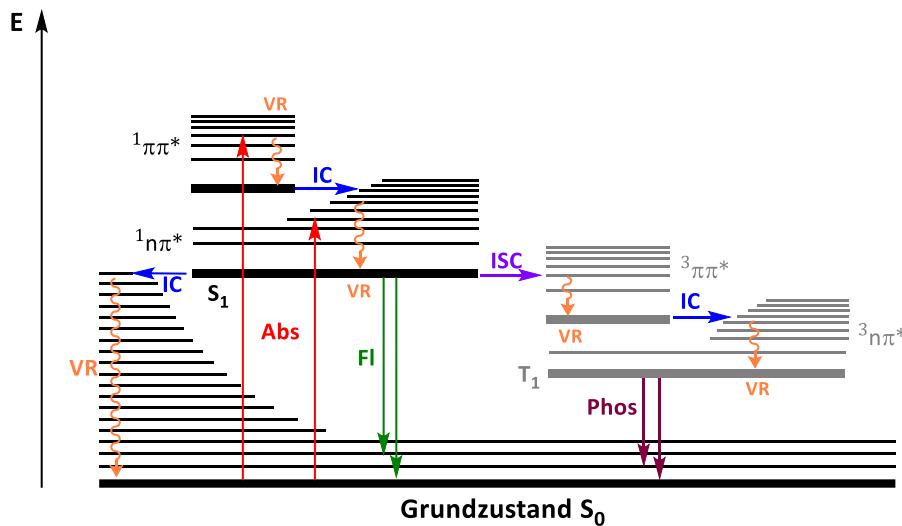


Abbildung 3: JABŁOŃSKI-Diagramm: Dargestellt ist die Absorption (**Abs**, rot) aus einem π - oder n-Orbital in das antibindende π^* -Orbital im S_1 , sowie folgende photophysikalischen Prozesse: Innere Umwandlung (*internal conversion, IC*, dunkelblau), Schwingungsrelaxation (*vibrational relaxation, VR*, orange), Fluoreszenz (**Fl**, grün), Interkombination (*inter system crossing, ISC*, lila), Phosphoreszenz (**Phos**, dunkelrot).

Von den angeregten Singulett-Zuständen ausgehend können verschiedene weitere photophysikalische Prozesse ablaufen (Abbildung 3). Bei strahlenden Prozessen wird die Energie durch die Emission eines Photons abgegeben, während bei strahlungslosen Prozessen die Energie anderweitig, wie etwa durch Wärmeabgabe, dissipiert wird.

Die innere Umwandlung (*internal conversion, IC*) gehört zu den strahlungslosen Prozessen und überführt das Molekül durch einen adiabatischen Übergang unter Beibehaltung der Spinmultiplizität in den nächsttieferen elektronischen Zustand S_{n-1} bzw. T_{n-1} . Bei der Schwingungsrelaxation (*vibrational relaxation, VR*) gibt das Molekül überschüssige Energie strahlungslos an die Umgebung durch Wärme ab, wodurch der Schwingungsgrundzustand erreicht wird.^[30] Moleküle, die sowohl π -Bindungen als auch nicht-bindende Elektronenpaare besitzen, wie es bei Carbonylverbindungen der Fall ist, können einen Übergang vom $\pi\pi^*$ -Zustand in den energieärmeren $n\pi^*$ -Zustand durchlaufen. Dieser Übergang erfolgt ebenfalls durch **IC** und **VR**. Auch dieser **IC**-Prozess findet unter Beibehaltung der Spinmultiplizität statt, wobei die Energie in Form von Wärme abgegeben wird.^[28, 31]

Wenn die Photonenergie ausreicht, können auch höhere Singulett-Zustände wie S_2 oder S_3 angeregt werden. Die KASHA-Regel besagt jedoch, dass alle nachfolgenden strahlenden Prozesse aus dem niedrigsten angeregten Zustand (S_1) hervorgehen, welcher innerhalb von Femtosekunden durch **IC** und **VR** erreicht wird.^[32] Die Emission eines Photons aus dem vibronischen Grundzustand des S_1 wird als Fluoreszenz bezeichnet und das Molekül kehrt in seinen S_0 -Grundzustand zurück. Die Lebensdauer des S_1 -Zustands ist mit 10^{-9} s relativ kurz.^[30]

Theoretische Grundlagen

Die Interkombination (*intersystem crossing, ISC*) ist ein strahlungsloser, isoenergetischer Prozess, der zwischen zwei elektronischen Zuständen mit unterschiedlichen Spinmultiplizitäten stattfinden kann. Dabei erfolgt ein Übergang vom **S₁**-Zustand in einen Triplett-Zustand oder umgekehrt, wobei der **T₁** Grundzustand schnell durch **IC** und **VR** erreicht wird. Aufgrund der Spinumkehr weist der Triplett-Zustand eine signifikant längere Lebensdauer auf, da Übergänge zwischen Zuständen mit unterschiedlicher Spinmultiplizität in der Regel spin-verboten sind und daher langsamer ablaufen. Wenn jedoch die Energiedifferenz zwischen Singulett- und Triplett-Zustand, z.B. **S₁**- und **T₁**-Zustand, klein genug ist, kann der **ISC** durch Spin-Bahn-Kopplung (*Spin-Orbit coupling, SOC*) erleichtert werden. Die Stärke der **SOC** ist direkt von der Ordnungszahl des Atoms abhängig und nimmt mit steigender Kernladung deutlich zu (*heavy atom effect*). Das bedeutet, dass die Einführung von schweren Atomen, wie z.B. Jod oder Brom, in ein Molekül die Spin-Bahn-Wechselwirkung verstärkt, wodurch die Wahrscheinlichkeit des **ISC** erhöht wird. Zusätzlich ist die Regel von EL-SAYED von Bedeutung: Demnach ist die **SOC** besonders begünstigt, wenn sich die elektronische Orbitalkonfiguration zwischen den Zuständen ändert. Ein Beispiel hierfür ist der **ISC** zwischen dem ¹nπ*-Zustand und ³ππ*-Zustand, dessen Übergangswahrscheinlichkeit aufgrund der veränderten Orbitalcharakteristik und die verstärkte **SOC** deutlich erhöht wird.^[30, 33]

Aus dem niedrigsten angeregten Triplett-Zustand (**T₁**) kann das Molekül durch die Emission eines Photons in den **S₀**-Grundzustand zurückkehren. Dieser strahlende Prozess, bekannt als Phosphoreszenz, ist erneut mit einer Spinumkehr verbunden. Da dieser Übergang spin-verboten ist, weist der Triplett-Zustand eine vergleichsweise lange Lebenszeit im Millisekunden- bis Sekundenbereich auf.^[30]

Angeregte Triplett-Zustände sind in der Photochemie von großer Bedeutung, da ihre längere Lebenszeit im Vergleich zu kurzlebigen Singulett-Zuständen intermolekulare Prozesse, wie Elektronen- oder Energietransfer, effizienter ermöglicht.^[34] Zudem können sie durch indirekte Prozesse in Anwesenheit eines Photosensibilisators generiert werden.

2.2 Triplet-Triplet-Energietransfer und Photosensibilisatoren

Es gibt verschiedene Energietransfer-Mechanismen, die zu angeregten Zuständen führen können. Im einfachsten Fall erfolgt ein strahlender Energietransfer, wobei ein angeregtes Donor-Molekül ein Photon emittiert, während das Akzeptor-Molekül dieses absorbiert und dadurch angeregt wird. Im Gegensatz dazu beschreibt der FÖRSTER-Resonanzenergietransfer (**FRET**) einen strahlunglosen Singulett-Energietransfer, welcher über Dipol-Dipol-Wechselwirkungen vermittelt wird und über Distanzen von bis zu 100 Å stattfinden kann.^[35] Demgegenüber steht der Triplet-Triplet-Energietransfer (**TTET**), der durch Photosensibilisatoren stattfinden kann.^[30, 36]

2.2.1 Triplet-Triplet-Energietransfer

Der **TTET** beruht auf dem 1953 von D. L. DEXTER beschriebenen quantenmechanischen Mechanismus, der als **DEXTER-Mechanismus** oder **DEXTER-Energietransfer** bekannt ist. Dieser beschreibt einen synchronen, doppelten Elektronenaustausch zwischen den Molekülorbitalen eines Donors (Photosensibilisator) und eines Akzeptors (Substrat) (Abbildung 4). Aufgrund der erforderlichen Überlappung der Molekülorbitale von Donor und Akzeptor ist dieser Energietransfer nur bei geringen Abständen von max. 10 Å effektiv. Die Energietransferrate (k_{EnT}) ist exponentiell vom Abstand (r) zwischen Donor und Akzeptor abhängig und lässt sich auf Grundlage der Formel 1 beschreiben. Der Faktor **K** repräsentiert die Stärke der Orbitalwechselwirkung, die den Elektronenaustausch ermöglicht, während **J** das spektrale Überlappungsintegral darstellt, welches das Ausmaß der Überlappung der Absorptionsspektren von Donor (**D**) und Akzeptor (**A**) beschreibt. Das Hauptmerkmal der Formel 1 ist die exponentielle Abhängigkeit der Energietransferrate vom Abstand, wobei **L** die Summe der VAN-DER-WAALS-Radien der beiden Moleküle darstellt.^[27, 36]

$$k_{EnT} = KJ \cdot e^{\frac{-2r}{L}}$$

Formel 1: k_{EnT} = Energietransferrate; **K** = Faktor der Orbitalwechselwirkung; **J** = Überlappungsintegral; **r** = Abstand; **L** = Summe der der VAN-DER-WAALS-Radien.

Diese Distanzabhängigkeit kann am besten durch den β -Wert der empirisch bestimmten Fit-Funktion beschrieben werden (Formel 2).^[37]

$$y = k \cdot e^{-\beta \cdot r}$$

Formel 2: Empirisch bestimmte exponentielle Abhängigkeit des **TTET**. β = Abschwächungsfaktor; r = Distanz zwischen Donor und Akzeptor.

Typische β -Werte für DEXTER-Energietransfers können im Bereich von 0,1 Å⁻¹ bis 5 Å⁻¹ liegen.^[38-40] Ein höherer β -Wert zeigt einen steileren exponentiellen Abfall der Energietransferrate an und begrenzt den effizienten Energietransfer auf kürzere Distanzen.

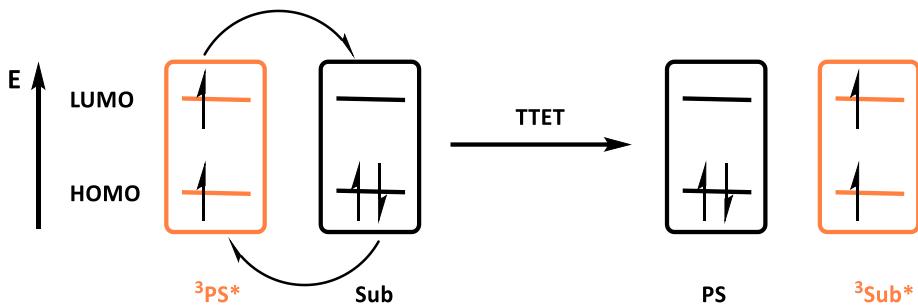


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Erzeugung eines reaktiven Triplett-Zustands eines Substrats ($^3\text{Sub}^*$) durch **TTET** vom angeregten Triplett-Zustand eines Photosensibilisators ($^3\text{PS}^*$) über den DEXTER-Mechanismus. Die horizontalen Balken repräsentieren die Energieniveaus der Molekülorbitale.

2.2.2 Photosensibilisatoren und deren Eigenschaften

Photosensibilisatoren sind Moleküle, die Licht einer spezifischen Wellenlänge absorbieren und die aufgenommene Energie auf benachbarte Moleküle übertragen können, welche selber bei dieser Wellenlänge nicht absorbieren. Dadurch lassen sich indirekt angeregte Triplett-Zustände erzeugen: Der Photosensibilisator wird angeregt, gelangt durch **ISC** in seinen angeregten Triplett-Zustand und überträgt die Energie über einen **TTET** auf ein nahegelegenes Substrat. Dieses wird aus seinem Grundzustand direkt in den angeregten Triplett-Zustand überführt, während der Photosensibilisator in seinen Grundzustand zurückkehrt (Abbildung 4).^[41]

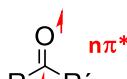
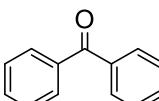
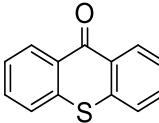
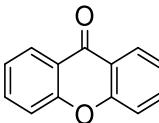
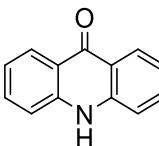
Damit ein **TTET** effizient und selektiv stattfinden kann, sollten Photosensibilisatoren gewisse photophysikalischen Eigenschaften besitzen. Zum einen sollte der Photosensibilisator bei einer Wellenlänge absorbieren, bei der das Substrat transparent ist, um unspezifische Anregungen zu vermeiden. Des Weiteren sollte eine hohe Triplett-Quantenausbeute durch effizientes **ISC** auftreten. Nach EL-SAYED ist dies insbesondere bei Molekülen der Fall, die ein nicht-bindendes Elektronenpaar an einem Sauerstoff- oder Stickstoffatom besitzen und eine niedrige $^1\text{n}\pi^*$ -Energie aufweisen.^[33] Die Triplett-Lebensdauer des Photosensibilisators sollte ausreichend lang sein (ns - μs), um einen **TTET**-Mechanismus mit einem Substrat zu ermöglichen. Schließlich muss die Triplett-Energie des Photosensibilisators höher liegen als die des Substrates. Sie sollte um mind. 12 kJ/mol über der des Substrates liegen, um einen irreversiblen **TTET** zu ermöglichen.^[42, 43]

Zu diesen Photosensibilisatoren gehören zum Beispiel Acetophenon, Benzophenon und Xanthone, die bereits zur Untersuchung von DNA-Schäden verwendet wurden (Abschnitt 2.6), sowie Acridon und Thioxanthone, die in dieser Arbeit zum ersten Mal im Hinblick auf die Entstehung von **CPD**-Schäden in der DNA untersucht werden sollten und neue Erkenntnisse über die Triplett-Photochemie in der DNA liefern sollten. Es sollte jedoch beachtet werden, dass solche Photosensibilisatoren in ihrem $\text{n}\pi^*$ -Zustand ein ungepaartes Elektron am Sauerstoff besitzen, und daher anfällig für

Theoretische Grundlagen

Wasserstoffatomtransfer aus hydridischen C-H-Bindungen sind. Dies kann zur Degradation des Sensibilisators und zur Bildung unerwünschter Nebenprodukte führen.^[41, 44] Zudem können die photophysikalischen Eigenschaften des Sensibilisators von der Polarität des verwendeten Lösungsmittels abhängen (Tabelle1).

Tabelle 1: Typische Carbonyl-Photosensibilatoren mit $n\pi^*$ -Zuständen und ihre photophysikalischen Eigenschaften in Abhängigkeit von einem polaren oder unpolaren Lösungsmittel (**LM**): Triplet-Energie (E_T), Triplet-Lebenszeit (τ), ISC-Quantenausbeute (Φ_{ISC}) und Wellenlänge der stärksten Absorption (λ_{max}).

Photosensibilisator	Photophysikalische Eigenschaften	
	Polares LM	nicht polares LM
	$E_T = 311 \text{ kJ/mol}^{[45]}$ $\tau = 0,14 \mu\text{s}^{[45]}$ $\Phi_{ISC} \geq 0,95^{[45]}$ $\lambda_{max} = 243 \text{ nm}^{[46]}$	$E_T = 310 \text{ kJ/mol}^{[45]}$ $\tau = 0,23 \mu\text{s}^{[45]}$ $\Phi_{ISC} \geq 0,95^{[45]}$ $\lambda_{max} = 243 \text{ nm}^{[46]}$
	$E_T = 289 \text{ kJ/mol}^{[45]}$ $\tau = 50 \mu\text{s}^{[45]}$ $\Phi_{ISC} \geq 0,95^{[45]}$ $\lambda_{max} = 255 \text{ nm}^{[46]}$	$E_T = 287 \text{ kJ/mol}^{[45]}$ $\tau = 6,9 \mu\text{s}^{[45]}$ $\Phi_{ISC} \geq 0,95^{[45]}$ $\lambda_{max} = 255 \text{ nm}^{[46]}$
	$E_T = 274 \text{ kJ/mol}^{[47]}$ $\tau = 0,76 \mu\text{s}^{[47]}$ $\Phi_{ISC} = 0,66^{[48]}$ $\lambda_{max} = 380 \text{ nm}^{[47]}$	$E_T = 265 \text{ kJ/mol}^{[41]}$ $\tau = 73 \mu\text{s}^{[41]}$ $\Phi_{ISC} = 0,85^{[48]}$ $\lambda_{max} = 377 \text{ nm}^{[49]}$
	$E_T = 310 \text{ kJ/mol}^{[45]}$ $\tau = 17,2 \mu\text{s}^{[50]}$ $\Phi_{ISC} = 0,97^{[50]}$ $\lambda_{max} = 337 \text{ nm}^{[51]}$	$E_T = 310 \text{ kJ/mol}^{[45]}$ $\tau = 0,07 \mu\text{s}^{[50]}$ $\Phi_{ISC} = 0,97^{[50]}$ $\lambda_{max} = 337 \text{ nm}^{[51]}$
	$E_T = 252 \text{ kJ/mol}^{[45]}$ $\tau = 9,2 \mu\text{s}^{[45]}$ $\Phi_{ISC} = 0,014^{[52]}$ $\lambda_{max} = 413 \text{ nm}^{[53]}$	$E_T = 244 \text{ kJ/mol}^{[45]}$ $\tau = 20 \mu\text{s}^{[45]}$ $\Phi_{ISC} = 0,99^{[45]}$ $\lambda_{max} = 388 \text{ nm}^{[53]}$

2.3 Transiente Absorptionsspektroskopie

Energietransferraten sowie angeregte Triplet-Zustände und deren Lebenszeiten können u.a. mit Hilfe der transienten Absorptionsspektroskopie (**TAS**) experimentell bestimmt und nachgewiesen werden. Die **TAS** ermöglicht die Detektion besonders kurzlebiger angeregter Zustände und Intermediate in chemischen und physikalischen Prozessen. Das Grundprinzip beruht darauf, dass angeregte Zustände, wie z.B. Triplet-Zustände, eine charakteristische Absorption aufweisen, welche sich von der des Grundzustandes unterscheiden.

Bei dem *pump-probe*-Verfahren werden typischerweise zwei Lichtquellen verwendet. Eine für die Anregung der Moleküle, typischerweise ein gepulster Laser (*pump*), und eine zweite Lichtquelle (*probe*), welche die Änderung der Absorption in Abhängigkeit von Wellenlänge (λ) und Zeit (t) misst. Die **TAS** kann auf zwei Zeitskalen eingesetzt werden. Die Nanosekunden-**TAS** und die Femtosekunden-**TAS**. Letztere wird hauptsächlich zur Detektion von angeregten Singulett-Zuständen sowie zur Detektion sehr schneller Prozesse wie Photoisomerisierung und Lösungsmittelrelaxation verwendet. Die Nanosekunden-**TAS** wird für langsamere Prozesse (5 ns – s) verwendet, wie z.B. die Detektion von angeregten Triplet-Zuständen, Elektronentransfer oder **TTET**.^[54]

Abbildung 5 zeigt in vereinfachter Form das Prinzip der Nanosekunden-**TAS** mit einem Molekül, das nach Anregung im S_1 -Zustand über **ISC** in den T_1 -Zustand übergeht. Zum Zeitpunkt vor der Anregung ($t < 0$) befinden sich die meisten Moleküle in ihrem Grundzustand (S_0) und ein Absorptionsspektrum des Grundzustands (**OD₀**) wird durch eine Lichtquelle aufgenommen (*probe*). Zum Zeitpunkt $t = 0$ trifft der Anregungslaserpuls auf die Probe und die Moleküle werden im angeregten Zustand S_1 angereichert (*pump*). Nach unterschiedlichen Zeitintervallen ($t > 0$) wird erneut ein Absorptionsspektrum durch die Lichtquelle aufgenommen (*probe*). Wieder wird die Anregung von S_0 nach S_1 detektiert. In den Zeitintervallen ($t > 0$) wurde jedoch auch der T_1 -Zustand durch **ISC** populiert, so dass eine zusätzliche Absorptionsbande auftritt, die für den angeregten Triplet-Zustand charakteristisch ist (**OD_t**). Ebenso ist zu beobachten, dass die Absorption des Grundzustandes geringer ist. Dieses Phänomen wird als Grundzustandsbleichen (*ground state bleach*) bezeichnet und tritt auf, da der Grundzustand (S_0) durch den Laserpuls weniger stark besetzt ist. Das finale transiente Absorptionsspektrum ergibt sich aus der Differenz der Absorptionsspektren zum Zeitpunkt $t < 0$ und $t > 0$ und zeigt die durch den Laserpuls verursachte Absorptionsänderung (ΔOD_t).^[54]

Theoretische Grundlagen

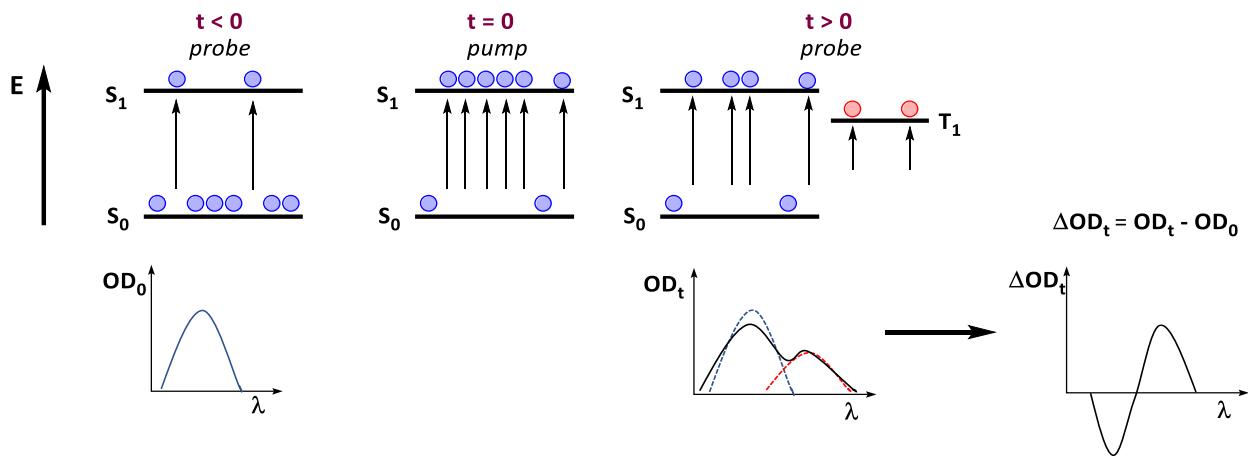


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Ablaufs einer Nanosekunden-TAS-Messung mit den verschiedenen Zeitpunkten: Zeitpunkt vor der Laseranregung ($t < 0$), Zeitpunkt der Laseranregung ($t = 0$) und Zeitpunkt nach der Anregung ($t > 0$). Das transiente Absorptionspektrum ergibt sich aus der Differenz der Absorptionsspektren, die vor und nach der Anregung aufgenommen wurden.

Mit geeigneten Triplett-Energiedonoren und Energieakzeptoren kann mit Hilfe dieser Technik **TTET** nachgewiesen werden, was zu wichtigen chemischen, physikalischen oder biologischen Erkenntnissen führen kann. So konnte die Gruppe von KIEFHABER et al. zeigen, dass aus der intramolekularen Kettenbewegung von Polypeptiden eine obere Grenze für die Geschwindigkeit der Proteinfaltung (20 ns) bestimmt werden kann. Dazu wurden Thioxanthon als Energiedonor und Naphthalin als Energieakzeptor an definierten Positionen in eine Polypeptidkette eingebaut (Abbildung 6). Aus den charakteristischen Absorptionen der angeregten Triplett-Zustände von Thioxanthon (620 nm) und Naphthalin (420 nm) konnten schließlich die distanzabhängigen Triplett-Energietransferraten bestimmt werden. (Abbildung 6).^[55]

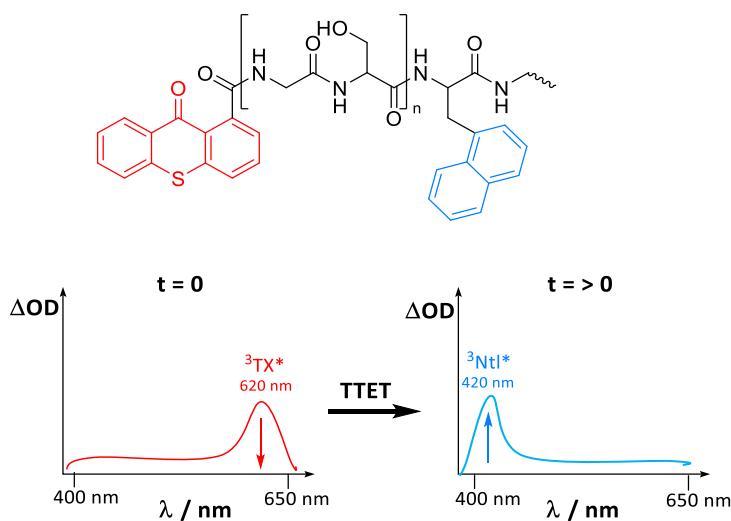


Abbildung 6: Oben: Polypeptidkette mit Thioxanthon als Energiedonor und Naphthalin als Energieakzeptor. Unten: Transiente Absorptionsspektren der Polypeptidkette. Links, rot: Charakteristische Absorption des angeregten Triplett-Zustandes von Thioxanthon ($^3\text{TX}^*$) direkt nach dem Anregungslaserpuls. Rechts, blau: Transientes Absorptionsspektrum nach dem Zeitpunkt $t > 0$. Die $^3\text{TX}^*$ Absorption wurde durch **TTET** vollständig gelöscht und die Absorption des angeregten Triplett-Zustandes von Naphthalin ($^3\text{Ntl}^*$) ist zu sehen.^[55]

2.4 Strukturelle Eigenschaften der DNA und ihre Auswirkungen auf lichtinduzierte Schäden

Die 1953 von WATSON und CRICK entdeckte Struktur der DNA, des Trägers der genetischen Information, besteht aus den beiden Pyrimidinen Thymin (T) und Cytosin (C) sowie aus den beiden Purinen Adenin (A) und Guanin (G) (Abbildung 7). Sie entdeckten, dass die DNA eine Doppelhelix aus zwei antiparallelen DNA-Einzelsträngen bildet. Jeder Einzelstrang besteht aus 2'-Desoxynukleotiden, die sich aus einem Phosphatrest, dem Zucker 2-Desoxyribose und einer der Basen zusammensetzt. Die DNA-Stränge sind zueinander komplementär und bilden durch die spezifische Basenpaarung A-T und G-C die DNA-Doppelhelix, die durch π - π -Stapelwechselwirkungen und den Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basen stabilisiert wird. Ein 2'-Desoxynukleosid besteht dagegen nur aus dem 2'-Desoxyribofuranosid, das über eine N-glykosidische Bindung mit der jeweiligen Nukleinbase verknüpft ist (Abbildung 7).^[56]

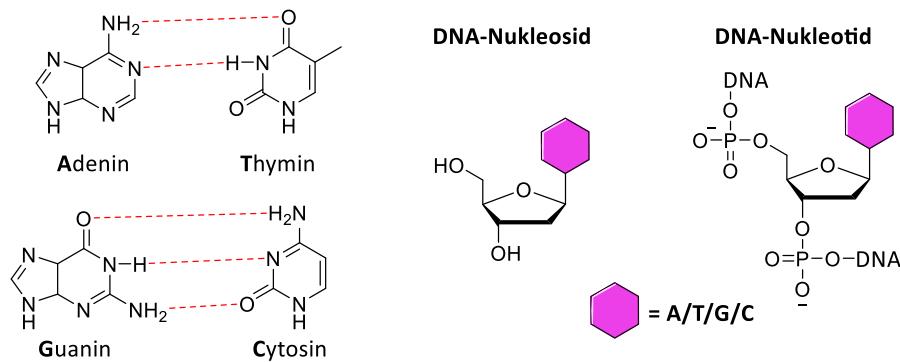


Abbildung 7: Darstellung der DNA-Basen Adenin, Thymin, Guanin, Cytosin mit den spezifischen Paarungen über Wasserstoffbrückenbindungen (rote gestrichelte Linie). Sowie Struktur eines DNA-Nukleosids und eines DNA-Nukleotids.

Eine wichtige Kenngröße der DNA ist die Schmelztemperatur, die angibt, bei welcher Temperatur sich die beiden Einzelstränge der DNA-Doppelhelix voneinander trennen (Denaturierung). Sie ist abhängig von der Basenzusammensetzung der DNA. Ein höherer **GC**-Gehalt führt zu einer stabileren DNA-Doppelhelix und einer höheren Schmelztemperatur, da **GC**-Basenpaare aufgrund der stärkeren π - π -Stapelwechselwirkungen effektiver miteinander interagieren. Die drei Wasserstoffbrücken zwischen Guanin und Cytosin im Vergleich zu den zwei Wasserstoffbrücken zwischen Adenin und Thymin tragen hingegen nur einen geringen Beitrag zur Stabilität der Doppelhelix bei. Der Denaturierungsprozess der DNA ist reversibel. Die DNA-Einzelstränge können durch Abkühlung wieder zum Doppelstrang renaturiert werden (Hybridisierung).^[57, 58]

Die DNA kann in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren, wie z.B. der Salzkonzentration, unterschiedliche Doppelhelix-Strukturen annehmen. Man unterscheidet die A-, B- und Z-Helix, wobei die B-Helix die physiologisch häufigste und damit die biologisch wichtigste Form ist. Sie zeichnet sich

Theoretische Grundlagen

durch eine rechtsgängige Doppelhelix mit 10,4 Basenpaaren pro Windung und einem Durchmesser von ~20 Å aus. Der Abstand der Basen beträgt 3,4 Å, wodurch sich eine Ganghöhe von 35,7 Å ergibt.^[59] Die dichte und enge Anordnung der Basen in der DNA ermöglicht und erleichtert den Elektronen- und Energietransfer. Die dichte Packung hält benachbarte Basenpaare in ihrer Anordnung, wodurch Dimer-Photoschäden entstehen können.^[60-62]

2.5 Lichtinduzierte DNA-Schäden

Zu den häufigsten DNA-Photoschäden gehören **CPDs**, 6,4-Photoschäden sowie der Dewar-Schaden. Die DNA hat ein Absorptionsmaximum bei 260 nm und kann daher durch die Absorption von UV-B-Licht direkt angeregt werden. Dies führt zu angeregten $^1\pi\pi^*$ -Zuständen, welche extrem schnell (<1 ps) in ladungsgtrennte Zustände zerfallen (Exitone). Diese Zustände haben eine relativ lange Lebenszeit von bis zu 200 ps und relaxieren schließlich durch Ladungsrekombination in ihren Grundzustand, eine Eigenschaft, welche die DNA vor Photoschäden schützen kann.^[14, 62]

2.5.1 CPD-Schaden

Allerdings können die angeregten $^1\pi\pi^*$ -Zustände bei benachbarten Pyrimidinen zur Bildung von **CPDs** führen. W. J. SCHREIER et al. zeigten, dass die Bildung von **CPDs** aus angeregten Singulett-Zuständen von Thyminen über eine extrem schnelle und nahezu barrierefreie [2 π +2 π]-Cycloaddition erfolgt, die innerhalb von weniger als 1 ps abläuft.^[63] Die räumliche Anordnung benachbarter Pyrimidine in der B-DNA führt ausschließlich zu *cis-syn*-Isomeren (Abbildung 8, A).^[64] Im Gegensatz dazu können *trans-syn*-Isomere bei Dinucleotiden sowie Polynukleotiden beobachtet werden, welche diese Konformation sterisch erlauben.^[65] Hauptsächlich entstehen **TT-CPDs**, während **CPDs** zwischen **TC-** und **CT-**Basenpaaren seltener gebildet werden, da ihre Quantenausbeute im Vergleich zu **TT-CPDs** geringer ist. **CPDs** zwischen **CC**-Basenpaaren werden hingegen nicht beobachtet.^[62] Neben den angeregten Singulett-Zuständen können auch angeregte Triplett-Zustände zur Bildung von **CPDs** beitragen. Diese entstehen meist indirekt durch Photosensibilisatoren und die Absorption von UV-A-Licht.^[12, 23]

2.5.2 6,4-Photoschaden und Dewar-Schaden

Der 6,4-Photoschaden ist der zweithäufigste DNA-Photoschaden und entsteht ebenfalls durch eine [2 π +2 π]-Cycloaddition zwischen der C4-Carbonylgruppe und der C5, C6-Doppelbindung benachbarter Pyrimidine. Diese Reaktion ist in der organischen Chemie als PATERNÓ-BÜCHI-Reaktion bekannt, wobei ein Oxetan als Intermediat entsteht. Das Oxetan ist instabil und zerfällt über eine Ringöffnung, wodurch der 6,4-Photoschaden entsteht (Abbildung 8, B). Im Gegensatz zum **CPD**-Schaden zeigen **CT**-Basenpaare hier die höchsten Ausbeuten. Der 6,4-Photoschaden kann nur durch die Absorption von UV-C- und UV-B-Licht induziert werden. Er weist eine langwelligere Absorptionsbande bei ca.

Theoretische Grundlagen

325 nm auf, was ihn von den Pyrimidinen und Purinen unterscheidet. Es wird vermutet, dass der 6,4-Photoschaden selbst als endogener Photosensibilisator wirken und durch Absorption von UV-A-Licht zur Bildung von **CPDs** führen kann. Diese Annahme konnte jedoch durch Arbeiten in unserer Arbeitsgruppe widerlegt werden. Darüber hinaus kann der Schaden unter UV-A-Anregung durch eine 4π -Elektrocyclisierung in den Dewar-Schaden überführt werden (Abbildung 8, C).^[62, 66-68]

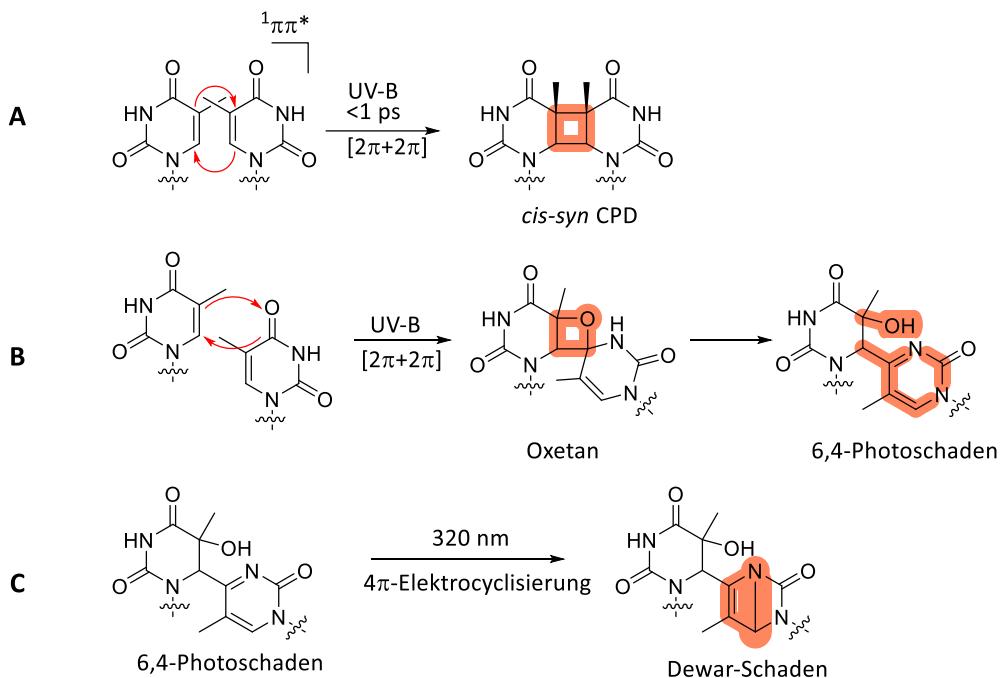


Abbildung 8: Darstellung der Mechanismen, die zu DNA-Photoschäden führen. **A)** Durch Absorption von UV-B-Licht wird Thymin in den $1\pi\pi^*$ -Zustand angeregt und in einer sehr schnellen Reaktion (<1 ps) entsteht der **CPD**-Schaden durch $[2\pi+2\pi]$ -Cycloaddition. **B)** Entstehung des 6,4-Photoschadens zweier benachbarter Thyminen durch UV-B Absorption. Durch eine PATERNÓ-BÜCHI-Reaktion entsteht das instabile Oxetan, welches zum 6,4-Photoschaden umlagert. **C)** Entstehung des Dewar-Schadens, der nach UV-A-Anregung des 6,4-Photoschadens entsteht.

2.5.3 Weitere DNA-Schäden durch Photosensibilisatoren

Neben den bereits beschriebenen Photoschäden können Photosensibilisatoren auf unterschiedliche Weisen mit der DNA interagieren und Schäden verursachen (Abbildung 9).

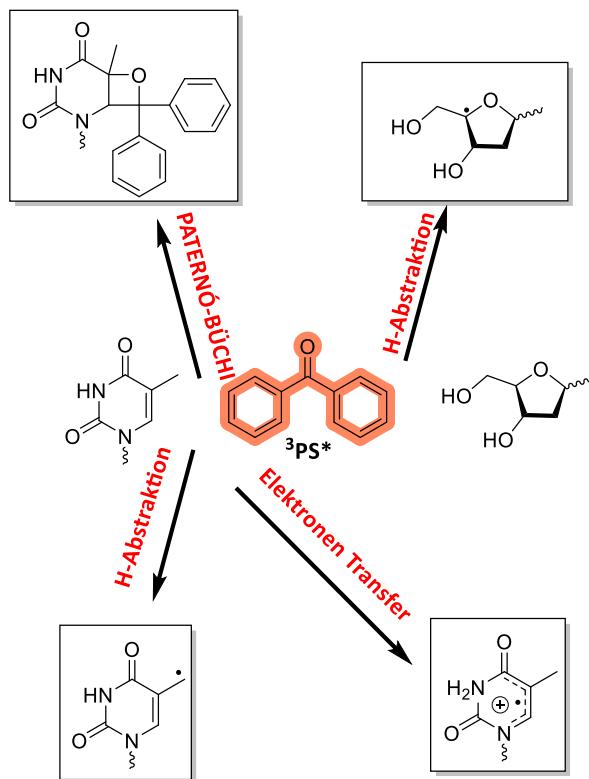


Abbildung 9: Der Photosensibilisator, hier Benzophenon, angeregt in seinem Triplett-Zustand (${}^3\text{PS}^*$), kann mit DNA-Basen, hier Thymin oder dem Zuckerrückgrat unterschiedlich interagieren. Dabei sind folgende Mechanismen möglich: Elektronentransfer, Wasserstoffabstraktion (H-Abstraktion) oder die PATERNÓ-BÜCHI-Reaktion.

Ein Elektronentransfer von einer DNA-Base auf den Photosensibilisator kann beispielsweise die Bildung von Radikal-Kationen in der DNA auslösen, die in Gegenwart von Sauerstoff oxidative Schäden verursachen.^[69] Darüber hinaus können Photosensibilisatoren Wasserstoffatome (H-Abstraktionen) von DNA-Basen oder dem Zucker-Rückgrat entfernen, was zur Entstehung reaktiver Radikale führt (Abbildung 9).^[70] Diese Radikale können wiederum Interstrang-Crosslinks (**ICLs**) verursachen, bei denen die beiden antiparallelen DNA-Stränge irreversibel kovalent miteinander verbunden werden.^[71, 72] Solche **ICLs** blockieren sowohl die DNA-Replikation als auch die DNA-Transkription und führen so zum Zelltod. Aufgrund dieser zytotoxischen Eigenschaften sind Verbindungen, welche gezielt **ICLs** induzieren können, attraktive potentielle Kandidaten für Krebsmedikamente. Ein Beispiel hierfür ist Psoralen, das in der PUVA-Therapie als **ICL**-induzierendes Medikament eingesetzt wird. Psoralen interkaliert in die DNA und bildet nach UV-A-Bestrahlung über zweifache $[2\pi+2\pi]$ -Cycloadditionen mit zwei Thyminen, kovalente Verbindungen, die zur Entstehung von **ICLs** führen (Abbildung 10).^[73]

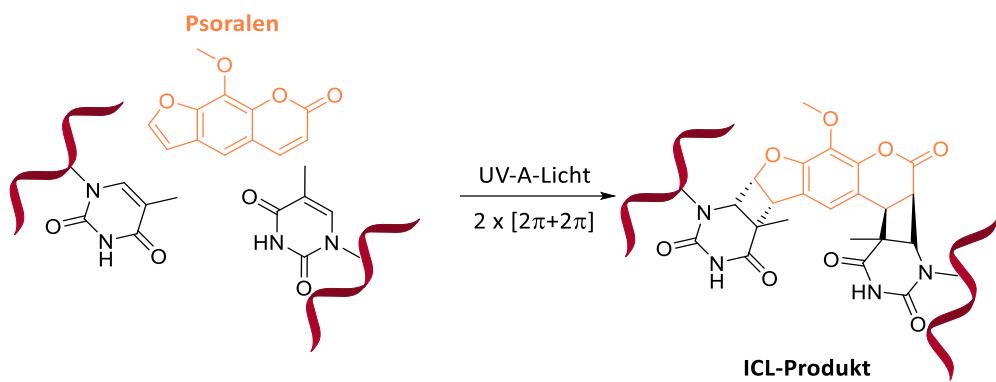


Abbildung 10: Darstellung des Wirkmechanismus von Psoralen, das durch doppelte $[2\pi+2\pi]$ -Cycloaddition zweier Thymin ICLs bildet.

Darüber hinaus wurde am Beispiel des in der DNA immobilisierten Photosensibilisators Benzophenon gezeigt, dass solche Sensibilisatoren über eine PATERNÒ-BÜCHI-Reaktion mit Thymin auch Oxetane bilden können, die ebenfalls ICLs induzieren (Abbildung 9).^[74]

2.6 Energietransfer in DNA

Die Triplet-Photochemie spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung von DNA-Schäden, ist jedoch noch nicht so gut verstanden wie die Singulett-Photochemie in DNA. Grund dafür ist die Schwierigkeit, Triplet-Zustände selektiv anzuregen und lokal zu erzeugen. Ein entscheidender Parameter für den TTET in DNA ist die Triplet-Energie der DNA-Basen. Im Vergleich zu den anderen DNA-Basen hat Thymin die niedrigste Triplet-Energie, die in doppelsträngiger DNA ca. 270 kJ/mol und in der Form des Thyminmonophosphats etwa 310 kJ/mol beträgt.^[75] Dies verdeutlicht, dass die Umgebung einen großen Einfluss auf die Triplet-Energie eines Moleküls haben kann. Photosensibilisatoren mit höherer Triplet-Energie können über TTET Thymin in den angeregten Triplet-Zustand versetzen, was zu DNA-Schäden, wie CPDs, führen kann.^[69]

BARTON et al. untersuchten 1998 den durch DNA vermittelten TTET über große Distanzen von bis zu 44 Å und verwendeten dabei polypyridylbasierte Ru(II)- und Os(II)-Komplexe als Donor-Akzeptor-Paar. Der TTET wurde anhand der Lumineszenzlösung des Ru(II)-Komplex durch den Os(II)-Komplex nachgewiesen. Die Metallkomplexe waren kovalent an die jeweiligen 5'-Enden der komplementären DNA-Stränge gebunden und interkalierten spezifisch in die DNA, wodurch sie eine definierte Anordnung im Basenstapel einnahmen (Abbildung 11).^[38]

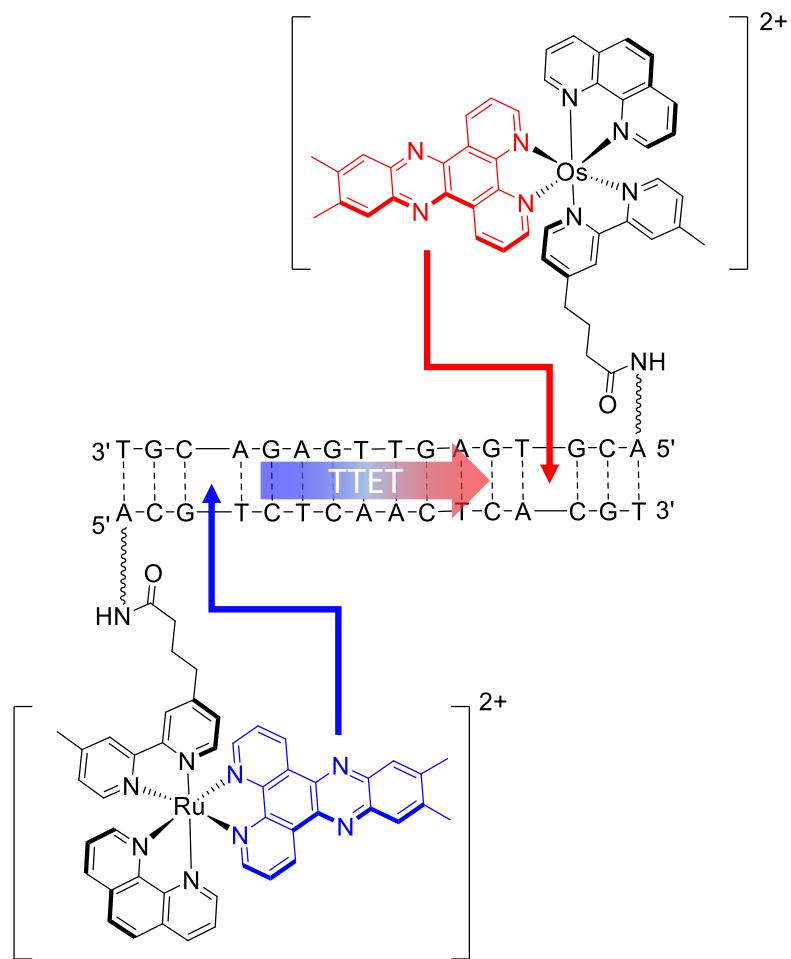


Abbildung 11: Darstellung des **TTET** zwischen einem Ruthenium(II)-Komplex und einem Osmium(II)-Komplex, die an die 5'-Enden komplementärer DNA-Stränge modifiziert wurden. Der Ru(II)-Komplex (blau) und der Os(II)-Komplex (rot) interkalieren spezifisch in die DNA.

Die beobachtete Distanzabhängigkeit des **TTET** zeigte mit einem β -Wert von $0,1 \text{ \AA}^{-1}$ nur eine geringe Abnahme der Effizienz über die Distanz. Dies ist besonders überraschend, da die Triplet-Energie des Ru(II)-Komplexes (vergleichbarer Komplex: $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ 192 kJ/mol)^[76] deutlich unter 270 kJ/mol liegt, der niedrigsten Triplet-Energie der DNA-Base Thymin. Eine Sensibilisierung der DNA-Basen kann somit ausgeschlossen werden, sodass nur ein direkter **TTET** zwischen Ru(II)- und Os(II)-Komplex als Mechanismus möglich erscheint. Angesichts der großen Donor-Akzeptor Distanz von bis zu 44 Å ist ein solcher direkter Energietransfer jedoch unwahrscheinlich. Offene Fragen und tiefere Einblicke in den genauen Energietransfermechanismus blieben leider unbeantwortet.^[38]

Unsere Arbeitsgruppe konnte durch die Verwendung einer ternären DNA-Architektur und den kovalenten Einbau eines Photosensibilisators, der als Anregungsort diente, selektiv an definierten Positionen angeregte Triplet-Zustände unterschiedlicher Energie in DNA erzeugen (Abbildung 12). Die Photosensibilisatoren wurden in unterschiedlichen, exakt definierten Abständen zu benachbarten Thyminen eingebaut, die nicht kovalent über das Phosphatrückgrat miteinander verknüpft sind. Durch die **CPD**-Bildung an dieser Stelle wurden die DNA-Stränge, die an den 3'- und 5'-Enden eine Thymin-

Theoretische Grundlagen

Base aufwiesen, kovalent miteinander verbunden. Der **CPD**-Schaden führte zur Bildung eines verlängerten DNA-Strangs, der über den kovalent gebundenen Farbstoff mittels Gelelektrophorese nachgewiesen werden konnte.^[14, 37, 77]

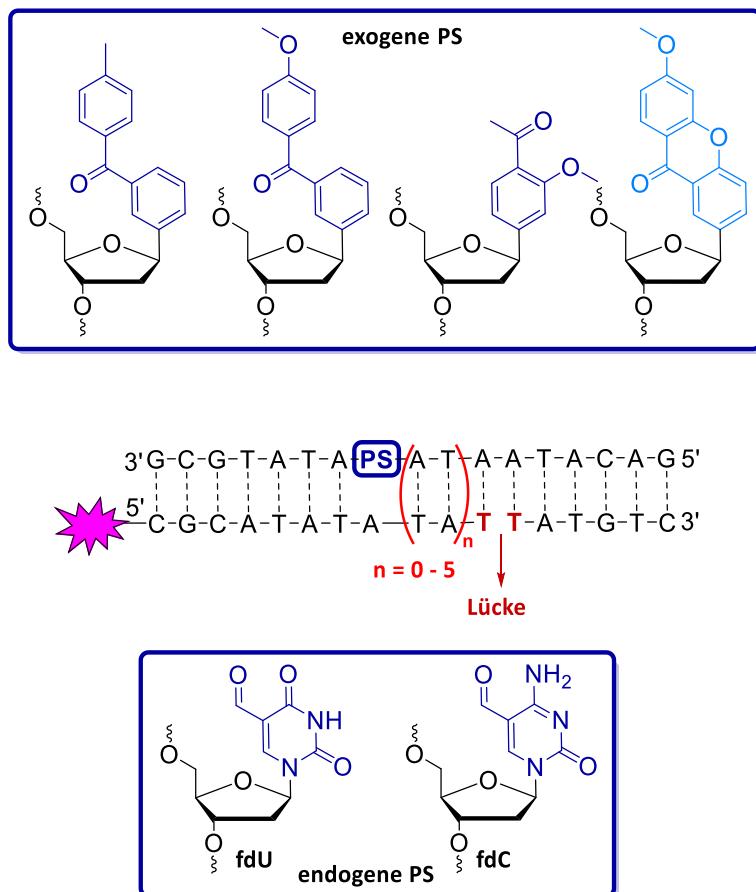


Abbildung 12: Verwendete ternäre DNA-Architekturen mit den eingebauten Photosensibilisatoren (**PS**, blau). Die benachbarten Thyminen (rot), sind nicht über eine Phosphordiesterbindung miteinander verbunden. Die Distanz zwischen Photosensibilisator und Thymin-Paar wurde durch die Anzahl der **AT**-Paare ($n = 0 - 15$) variiert.

Mit den Photosensibilisatoren Benzophenon und Acetophenon wurde eine exponentielle Distanzabhängigkeit der **CPD**-Bildung bis zu einer Entfernung von 37 Å beobachtet. Die β -Werte lagen dabei zwischen 0,13 Å⁻¹ und 0,34 Å⁻¹. Um diese relativ schwache Distanzabhängigkeit zu erklären, wurde ein Energie-Hüpfmechanismus postuliert, bei dem angeregte Triplet-Zustände von Thymin zu Thymin in der DNA „springen“, bis sie auf zwei benachbarte Thyminbasen treffen, die die Triplet-Energie durch **CPD**-Bildung abfangen (Abbildung 13).^[14, 37] Berechnungen von VOITYUK et al. stützen diesen Energietransfer und deuten auf einen bevorzugten Intrastrang-Energietransfer hin.^[78]

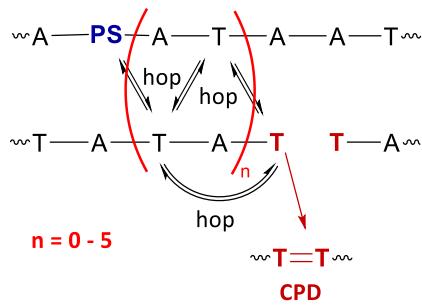


Abbildung 13: Dargestellt ist der postulierte Mechanismus des Triplett-Energietransfers über einen Energie-Hüpfmechanismus, ausgehend vom Photosensibilisator (**PS**, blau) über **TTET** zu den benachbarten Thyminen (rot), die die Triplett-Energie durch **CPD**-Bildung löschen.

Im Gegensatz dazu konnten mit dem Photosensibilisator 3-Methoxyxanthon **CPDs** bis zu einer erstaunlichen Reichweite von bis zu 105,4 Å nachgewiesen werden. Auf Grund der charakteristischen Distanzabhängigkeit wurde postuliert, dass die zugrunde liegende Photochemie in diesem Fall auf Singulett-Photochemie zurückzuführen sein muss, da 3-Methoxyxanthon Fluoreszenz zeigt und eine sigmoidale Distanzabhängigkeit beobachtet wurde, die einem **FRET** ähnelt.^[77]

Diese postulierten Mechanismen und Beobachtungen konnten jedoch bisher noch nicht endgültig bestätigt werden, und einige Fragen bleiben offen. Zum einen weist nicht nur der **TTET**, sondern auch die Elektronentransferprozesse durch die DNA eine exponentielle Distanzabhängigkeit auf.^[79-81] Photosensibilisatoren können Elektronentransfer induzieren, wodurch die **CPD**-Bildung durch Elektronentransfer auch denkbar wäre.^[69] Zudem wurden in der Literatur auch ein **TTET**-Tunnelmechanismus beschrieben, welcher in diesem Kontext auch nicht ausgeschlossen werden kann.^[82, 83] Für einen **FRET**-ähnlichen Mechanismus spricht zwar die sigmoidale Distanzabhängigkeit, allerdings ist das Überlappungsintegral zwischen der Emission des Photosensibilisators und der Absorption der DNA-Basen sehr gering bis hin zu nicht vorhanden, was diese Hypothese eher unwahrscheinlich erscheinen lässt.

Ebenfalls können endogene Photosensibilisatoren, wie z.B. Flavine, durch Energietransfer zur Entstehung von DNA-Schäden beitragen.^[84] Besonders im Fokus jüngster Untersuchungen stehen dabei 5-Formyl-2'-Desoxycytidin (**fdC**), das als Intermediat beim Abbau des epigenetischen Markers 5-methyl-2'-Desoxycytidin entsteht, sowie 5-Formyl-2'-Desoxyuridin (**fdU**), ein oxidatives Schadensprodukt von Thymidin. Diese beiden natürlichen DNA-Modifikationen kommen in Organismen vor und sind aufgrund ihrer strukturellen und photophysikalischen Eigenschaften von großem Interesse. Sowohl **fdC** als auch **fdU** enthalten eine Carbonylgruppe, die die Populierung von $\pi\pi^*$ - und $n\pi^*$ -Zuständen ermöglicht. Experimentelle und theoretische Studien zeigen, dass **fdC** extrem schnell (<20 ps) über ein effizientes **ISC** in den Triplett-Zustand übergeht, eine Eigenschaft, die es zu einem sehr effektiven endogenen Photosensibilisator macht. Die bestimmten Triplett-Energien liegen

Theoretische Grundlagen

im Bereich von 304 – 314 kJ/mol^[13, 85] für **fdU** und 326 kJ/mol^[85] für **fdC**, vergleichbar mit den zuvor erwähnten externen Photosensibilisatoren. Diese Erkenntnisse deuten darauf hin, dass **fdC** und **fdU** als endogene Photosensibilisatoren in der Lage sein könnten, **CPDs** in DNA über einen **TTET** zu induzieren.^[86-89]

Die Studie von LHIAUBET-VALLET et al. 2020 zeigte anhand eines Thymin-Dimer-Modells, dass **fdU** und **fdC CPDs** durch **TTET** induzieren können. Dabei erwies sich **fdU** als effizienterer Photosensibilisator für die **CPD**-Bildung in diesem Modell als **fdC**. Allerdings fehlte der Nachweis, dass **fdU** und **fdC** auch in doppelsträngiger **DNA**, und damit unter biologisch relevanten Bedingungen, als endogene Photosensibilisatoren wirken und **CPDs** über **TTET** induzieren können.^[90]

Im Jahr 2024 konnte SCHRÖDTER et al. durch den Einbau der **fdU**- und **fdC**-Modifikation in die zuvor erwähnte ternäre DNA-Architektur nachweisen, dass **fdU** und **fdC** als endogene Photosensibilisatoren in DNA **CPDs** induzieren können (Abbildung 12). Dabei zeigte **fdU** eine starke Distanzabhängigkeit, typisch für einen direkten **DEXTER-TTET**-Mechanismus, wobei die **CPDs** bevorzugt nahe der Modifikationsstelle gebildet wurden. Im Gegensatz dazu wies **fdC** eine geringere Distanzabhängigkeit auf und induzierte **CPDs** noch in einer Entfernung von bis zu 37 Å. Dies wird auf die höhere Triplet-Energie der **fdC**-Modifikation zurückgeführt, die einen **TTET**-Hüpfmechanismus ermöglicht. **fdU** hingegen besitzt eine niedrigere Triplet-Energie und kann **CPDs** nur über einen direkten **TTET**-Mechanismus an der Schadensstelle induzieren.^[91]

Die hier genannten offenen Fragen verdeutlichen die Notwendigkeit einer detaillierten Analyse der zugrunde liegenden Mechanismen des **TTET** in der DNA, um die Entstehung von **CPD**-Schäden besser zu verstehen und dadurch zukünftige Strategien zur Behandlung von DNA-Schäden zu verbessern.

3 Themenstellung

Ziel dieser Arbeit ist die detaillierte Analyse der Entstehung von **CPD**-Schäden sowie der zugrunde liegenden photophysikalischen und photochemischen Mechanismen. Dabei soll eine ternäre DNA-Architektur verwendet werden, in der ausgewählte Photosensibilisatoren mit unterschiedlichen photophysikalischen Eigenschaften als C-Nukleoside kovalent in die DNA eingebaut werden. Im Fokus stehen typische Photosensibilisatoren wie Xanthin, Acridon sowie Thioxanthone (Abbildung 14).

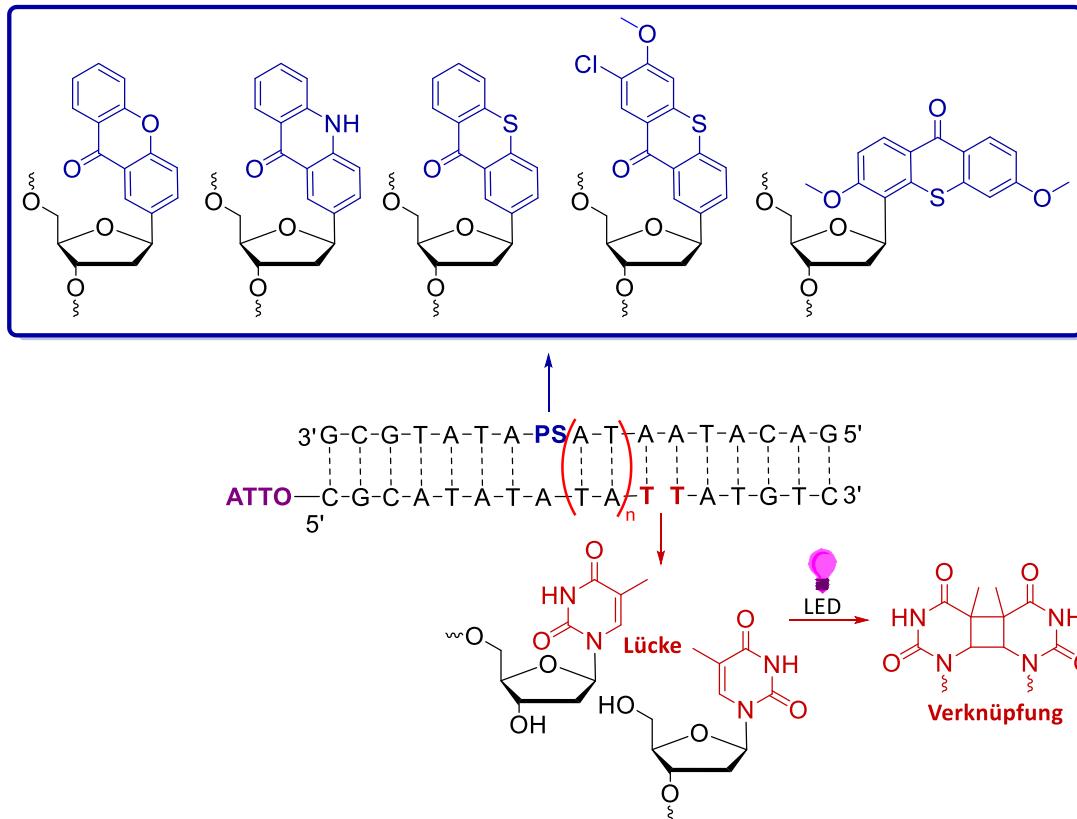


Abbildung 14: Darstellung der ternären DNA-Architektur mit den eingebauten Photosensibilisatoren (**PS**) und den benachbarten Thyminen (rot), welche sich in definierten Abständen zum **PS** befinden. Diese sind nicht kovalent miteinander verbunden. Wird Thymin durch Belichtung über **TTET** angeregt und bildet ein **CPD**-Schaden, so werden die benachbarten Thymine (rot) über einen Cyclobutanring kovalent verknüpft und ein längerer DNA-Strang resultiert. Die Analyse dieses Stranges wird durch den 5'-gebundenen ATTO-Farbstoff (**ATTO**) ermöglicht.

Durch die eingebauten Photosensibilatoren wird in der ternären DNA-Architektur ein selektiver Anregungsort geschaffen, der an definierten Positionen in der DNA lokalisiert werden kann. In dieser Sequenz gibt es nur einmal zwei benachbarte Thymin, die sequenzkontrolliert in definierten Abständen zum Photosensibilator angeordnet sind und den Ort des **CPD**-Schadens bilden. Sie sind nicht kovalent über das Phosphatrückgrat verbunden, sondern bilden erst durch die Entstehung des **CPD**-Schadens eine kovalente Verknüpfung, die zu einem verlängerten DNA-Strang führt (Abbildung 14). Die distanzabhängige **CPD**-Bildung kann somit mittels RP-HPLC analysiert und quantifiziert werden.

Themenstellung

werden. Ein an das 5'-Ende kovalent gebundener, photostabiler ATTO-Farbstoff soll die Auswertung durch seine spezifische und starke Emission vereinfachen.

Zudem soll mit Hilfe der transienten Absorptionsspektroskopie der Nachweis eines **TTET** in der DNA geliefert werden, welcher zu weitreichenden DNA-Schäden führen kann. Hierfür soll Thioxanthon als Energiedonor und Naphthalin als Energieakzeptor an definierten Positionen in einen DNA-Doppelstrang eingebaut werden (Abbildung 15). Anschließend soll die Energietransfergeschwindigkeit zwischen Thioxanthon und Naphthalin bestimmt werden und durch die Variation der Abstände deren Distanzabhängigkeit festgestellt werden.

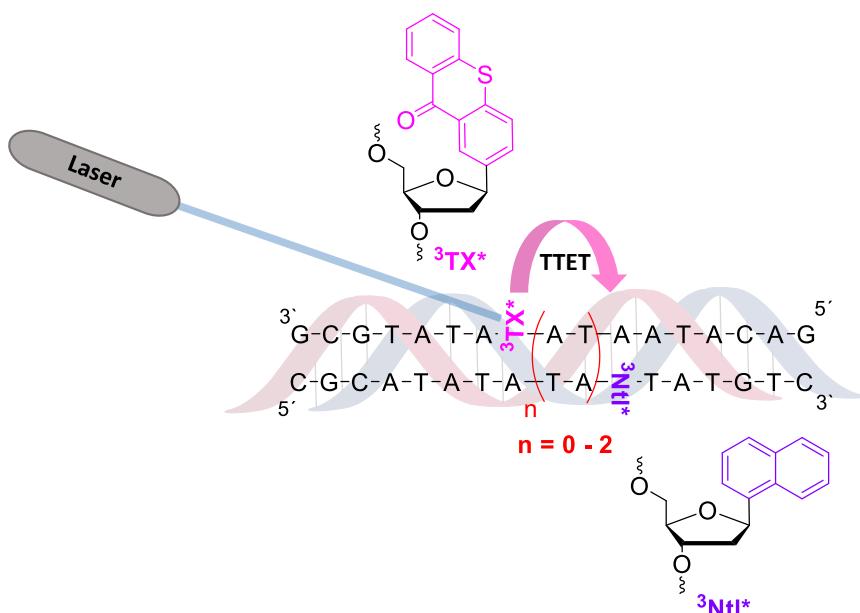


Abbildung 15: Darstellung zweier komplementärer DNA-Stränge, in welchen Thioxanthon (**TX**) bzw. Naphthalin (**Ntl**) eingebaut wurden. Thioxanthon dient als Energiedonor und soll Naphthalin nach Laseranregung über **TTET** in den angeregten Triplett-Zustand überführen, was durch transiente Absorptionsspektroskopie nachgewiesen werden kann.

Die Verwendung unterschiedlicher Photosensibilisatoren, der Vergleich der distanzabhängigen **CPD**-Bildung sowie die transienten Absorptionsmessungen sollen zu neuen tiefgreifenden Erkenntnissen hinsichtlich des **TTET** in DNA führen sowie postulierte Mechanismen bestätigen oder widerlegen.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Synthese der Photosensibilisatoren

Als Photosensibilisatoren wurden 2-Bromacridon (**2**) und die Thioxanthone **3 - 9** synthetisiert, während 2-Bromxanthon (**1**) kommerziell erhältlich war (Abbildung 16). Alle Photosensibilisatoren wurden mit Brom modifiziert, um sie in einer Heck-Kupplung für die Synthese der 2'-Desoxynucleoside einzusetzen. Anschließend wurden sie als Phosphoramidite in die DNA eingebaut und hinsichtlich ihrer sensibilisierenden Wirkung auf die CPD-Bildung untersucht (Abschnitt 4.3).

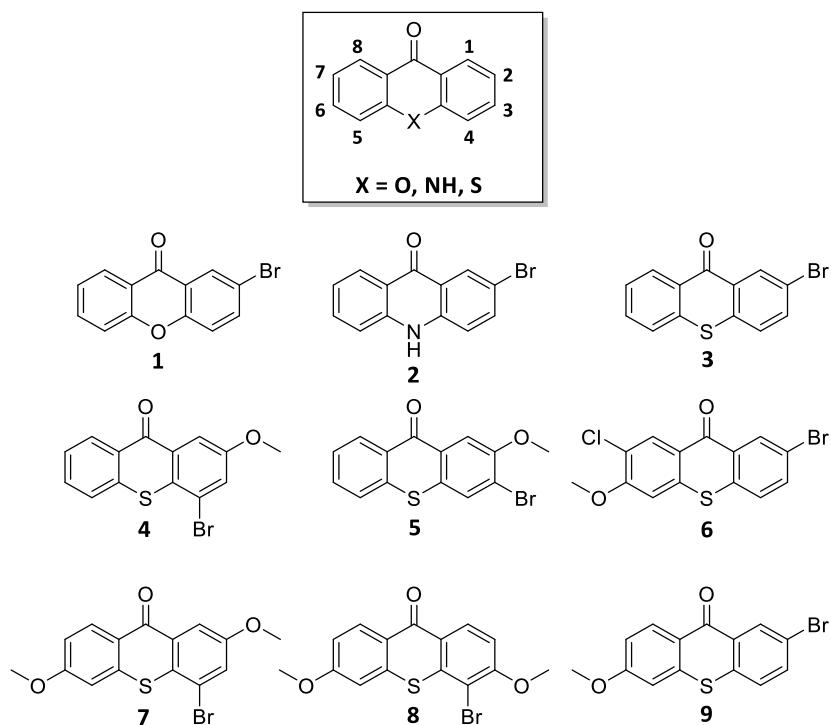


Abbildung 16: Darstellung der verwendeten Photosensibilisatoren: Das kommerziell erhältliche Xanthon **1** sowie das synthetisierte 2-Bromacridon (**2**) und die synthetisierten Thioxanthone **3 - 9**.

K. BOOKER-MILBURN et al. konnten zeigen, dass auxochrome Gruppen am Thioxanthon, je nach Typ und Position, die UV/Vis-Absorption bathochrom oder hypsochrom verschieben können und damit einhergehend die Triplet-Energien verringern oder erhöhen.^[47] Entsprechend wurden die Thioxanthone **3 - 9** synthetisiert, um diese Eigenschaften auszunutzen. Im folgenden Abschnitt wird auf die Synthese der Photosensibilisatoren und deren photophysikalischen Eigenschaften eingegangen.

4.1.1 Synthese von 2-Bromacridon (**2**)

Da das kommerziell erhältliche Acridon (**10**) empfindlich gegenüber elektrophilen Substitutionen ist, würde eine direkte Bromierung, z. B. mit elementarem Brom in Essigsäure, ein schwer trennbares

Ergebnisse und Diskussion

Gemisch aus einfach, zweifach und dreifach bromierten Acridonen ergeben.^[92] Aus diesem Grund wurde die in Abbildung 17 dargestellte Reaktion verwendet, wobei Benzyltriethylammonium-Tribromid (BTEABr_3) stöchiometrisch eingesetzt wurde und eine selektivere Bromierung ermöglichte.^[93]

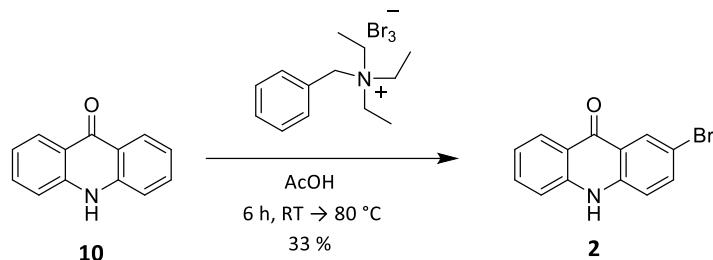


Abbildung 17: Bromierung von Acridon (**10**) mit BTEABr₃ zu 2-Bromacridon (**2**).

Es wurde postuliert, dass Bromierungen mit BTEABr₃ über Methylhypobromit verlaufen können, da gezeigt wurde, dass Methanol diese Reaktion erleichtert (Abbildung 18, A).^[93, 94] Bei der Bromierung von Acridon (**10**) wurde jedoch auf die Zugabe von Methanol verzichtet, da in diesem Fall keine Verbesserung der Reaktion beobachtet wurde.^[93] Daher ist es wahrscheinlicher, dass das BTEABr₃ durch Dissoziation in elementares Brom als Bromierungsquelle reagiert hat (Abbildung 18, B).^[95]

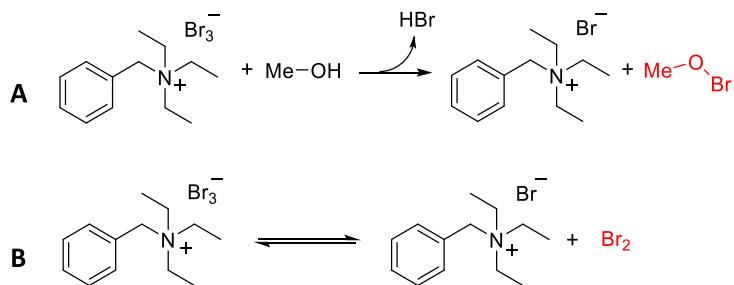


Abbildung 18: A) Postulierter Mechanismus zur Bildung der reaktiven Spezies (rot) bei der Bromierung mit BTEABr₃. B) Vermuteter Mechanismus der Bildung der reaktiven Spezies (rot) im Fall der Bromierung von Acridon (**10**).

Das Acridon **2** wurde mit einer Ausbeute von 33 % erhalten. Die geringe Ausbeute ist auf die Bildung des Nebenprodukts, des zweifach bromierten 2,7-Dibromacridons, zurückzuführen.

4.1.2 Synthese einfach bromierter Thioxanthone

Die Verbindungen **3**, **4** und **5** wurden auf der Grundlage eines Patents zur Herstellung von Thioxanthonen synthetisiert.^[96] Als Edukt diente die kommerziell erhältliche 2,2'-Dithiodibenzoesäure (**15**). Dabei wurde das Intermediat **12** *in situ* durch Umsetzung mit Thionylchlorid und Sulfurylchlorid erzeugt. Die Reaktanden 2- und 3-Bromanisol sowie Brombenzol dienten gleichzeitig als Lösungsmittel und reagierten nach Zugabe des FRIEDEL-CRAFTS-Katalysators AlCl₃ zu den Thioxanthonen **3**, **4** und **5** in moderaten Ausbeuten von 28 % – 64 %.

Ergebnisse und Diskussion

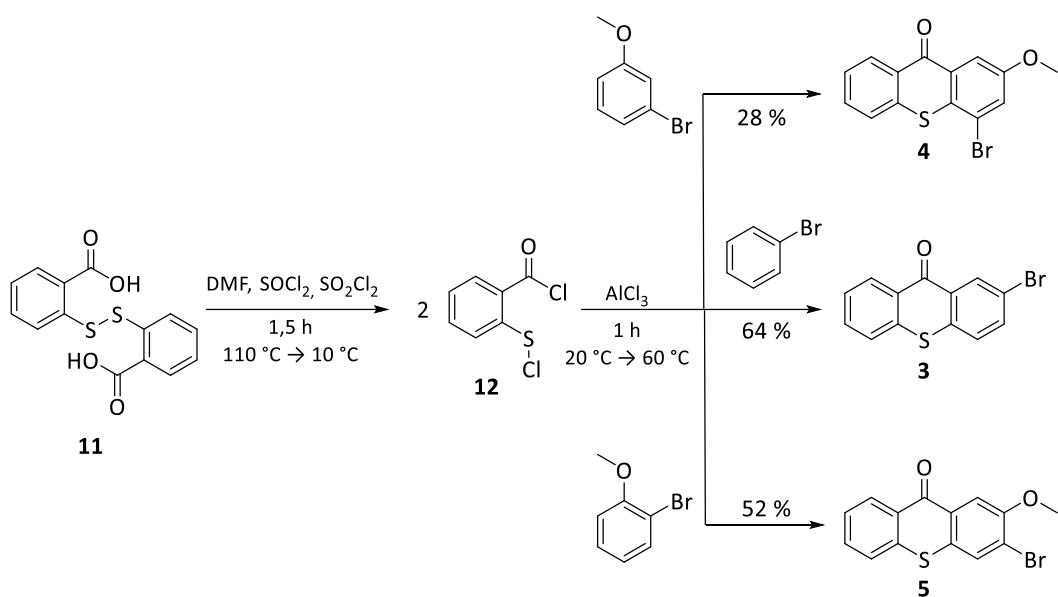


Abbildung 19: Synthese der Thioxanthone **3**, **4** und **5** ausgehend von der 2,2'-Dithiodibenzoesäure (**11**).

Aufgrund der Mesomerieeffekte des Bromsubstituenten und der Methoxygruppe werden die Thioxanthone selektiv gebildet. Dabei greift die reaktivere Sulfenylgruppe des Intermediats **12** zuerst bevorzugt die *para*-Position elektrophil an. In einem zweiten Schritt erfolgt über eine intramolekulare FRIEDEL-CRAFTS-Acylierung der Ringschluss zu den entsprechenden Thioxanthonen **3**, **4**, **5**.

Die Synthese der Thioxanthone **6**, **7** und **9** erfolgte nach derselben Synthesestrategie (Abbildung 21). Ziel war es, die Methoxygruppe in 3- bzw. 6-Position einzuführen, um die photophysikalischen Eigenschaften der Thioxanthone im Hinblick auf eine Erhöhung der Triplet-Energie zu verbessern.^[47] Da die verwendete Synthesestrategie die Einführung der Methoxy-Gruppe nur in der 2-Position erlaubte, bedingt durch den Mesomerieeffekt, musste diese bereits zu Beginn am Edukt **17** eingeführt werden.

Die Thiosalicylsäure **17** wurde nach dem in Abbildung 20 dargestellten Reaktionsschema synthetisiert, das in leicht abgewandelter Form aus der Literatur übernommen wurde.^[47]

Ergebnisse und Diskussion

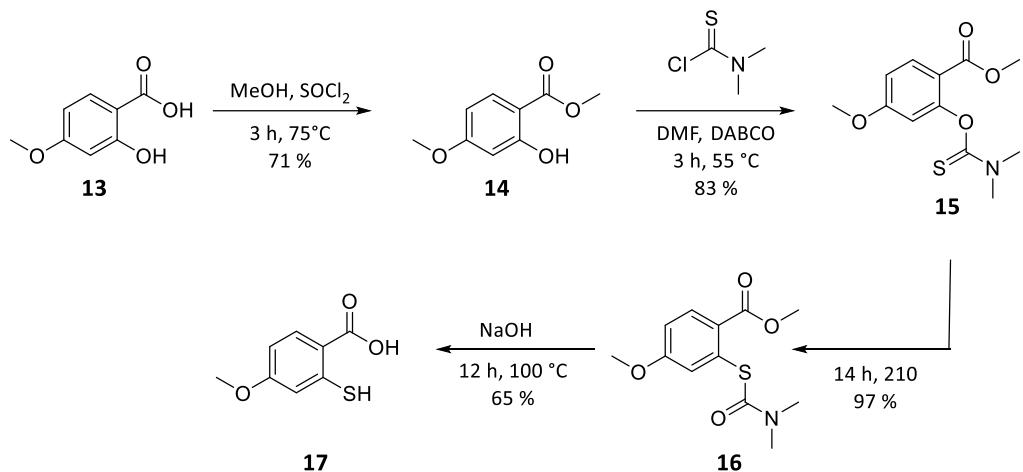


Abbildung 20: Vierstufige Synthese der Thiosalicylsäure **21** ausgehend von Salicylsäure **17**.

Ausgehend von der 4-Methoxysalicylsäure (**13**) wurde durch Veresterung und anschließender NEWMAN-KWART-Umlagerung die entsprechende Thiosalicylsäure **17** in einer Gesamtausbeute von 36 % in vier Schritten erhalten.

Die Umsetzung mit Thionylchlorid und Sulfurylchlorid ergab das entsprechende 2-Chlorsulfenyl-Benzoylchlorid **18**, welches *in situ* entstand. Durch Zugabe von AlCl₃ reagierte das Intermediat **18** mit 3-Bromanisol bzw. Brombenzol zu den Thioxanthonen **6**, **7** und **9**, wobei Ausbeuten zwischen 13 % und 53 % erzielt wurden (Abbildung 21).

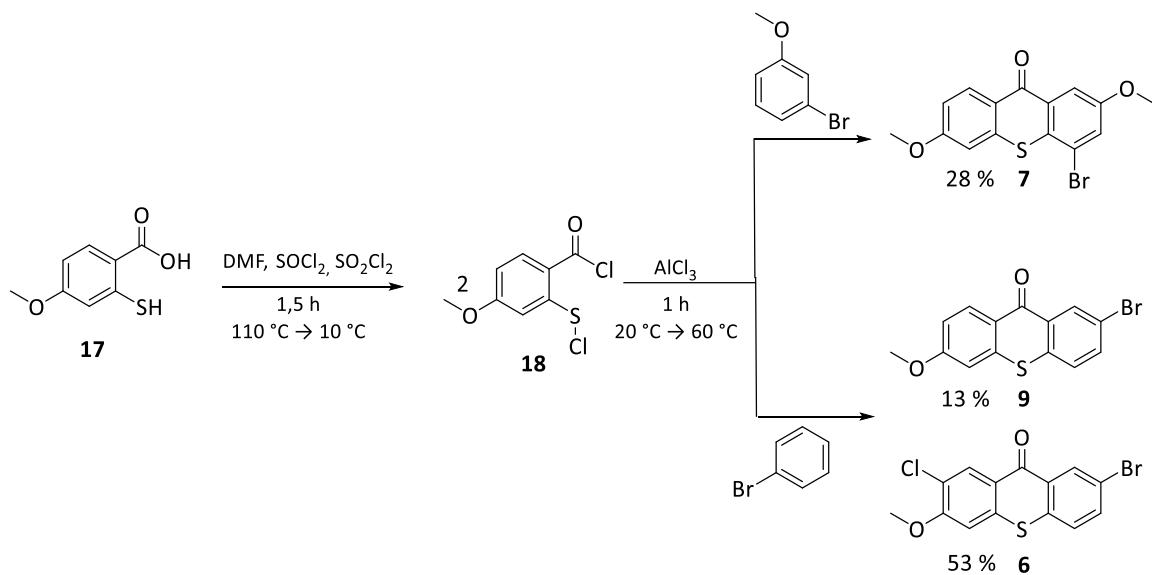


Abbildung 21: Synthese der Thioxanthone **6**, **7** und **9** ausgehend von der Thiosalicylsäure **17**.

Das Hauptprodukt der Reaktion mit Brombenzol war nicht, wie erwartet, Thioxanthon **9**, sondern Thioxanthon **6**. Dies konnte durch NMR-Spektroskopie und einem entsprechenden Signal in der Massenspektrometrie identifiziert werden (Abbildung 22).

Ergebnisse und Diskussion

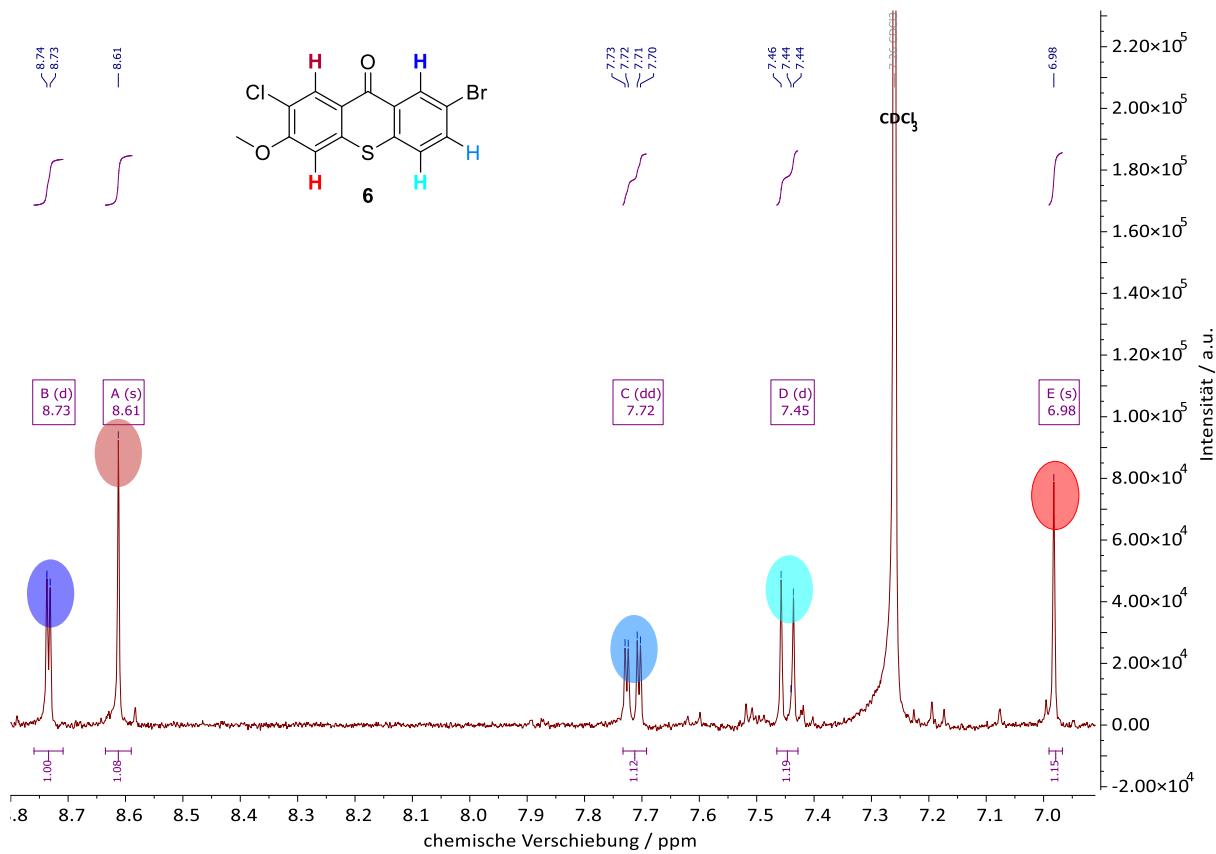


Abbildung 22: Ausschnitt des ^1H -NMR-Spektrums (400 MHz) von Thioxanthon 6 in CDCl_3 , sowie die farbliche Zuordnung der aromatischen Protonen.

Durch die Chlorierung an der 7-Position entstehen die charakteristischen Singulets (Abbildung 22, Rot). Unter den Reaktionsbedingungen dissoziiert Sulfurylchlorid zu SO_2 und Cl_2 , wobei das freigesetzte Cl_2 höchstwahrscheinlich als Chlorierungsreagenz agierte. Zusätzlich kann AlCl_3 als Katalysator die Reaktivität weiter verstärken.^[97, 98] Aufgrund der aktivierenden Wirkung der Methoxygruppe wird der Aromat bevorzugt an der *ortho*-Position (5- und 7-Position) chloriert. Dies könnte auch die geringeren Ausbeuten der Thioxanthone **4** und **7** erklären, bei denen Nebenprodukte beobachtet wurden, die nach der Aufreinigung jedoch nicht identifiziert werden konnten.

Für die Synthese des 4-Brom-3,6-Dimethoxythioxanthons (**8**) wurde das literaturbekannte 3,6-Dimethoxythioxanthon (**20**) synthetisiert und in einem weiteren Schritt bromiert. Die Thiosalicylsäure **17** wurde durch eine ULLMANN-Kupplung zum Thioether **19** umgesetzt, welcher über eine intramolekulare Friedel-Crafts Acylierung zum Dimethoxythioxanthon **8** umgesetzt wurde.^[47]

Ergebnisse und Diskussion

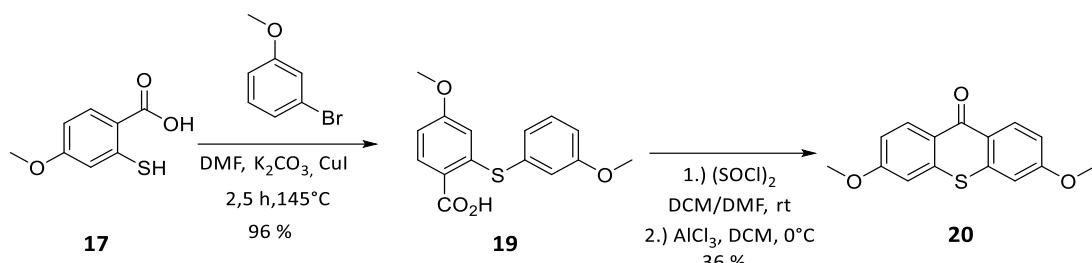


Abbildung 23: Synthese des Thioxanthons **20**.

Für eine selektive Bromierung wurde zunächst erneut die Umsetzung mit BTEABr_3 versucht, wobei jedoch kein Umsatz beobachtet werden konnte. Daher wurde das aus der Literatur bekannte, reaktivere Benzyltrimethylammonium-Tribromid (BTMABr_3) zur elektrophilen Substitution eingesetzt. Da BTMABr_3 nur schwer löslich in Essigsäure ist, wurde ZnCl_2 zur Verbesserung der Löslichkeit hinzugegeben, was eine Bromierung unter milden Bedingungen ermöglichte. Hierbei wird als aktive Spezies ein Komplex zwischen BTMABr_3 und ZnCl_2 postuliert (Abbildung 24).^[94] Es wurden Bromierungen an der 2- und 4-Position im Verhältnis 1 : 4 beobachtet, obwohl aus sterischer Sicht die 2-Position bevorzugt wäre. Denkbar ist, dass der aktive Komplex zwischen dem Schwefel und der Methoxy-Gruppe koordiniert, wodurch die Bromierung bevorzugt an der 4-Position erfolgt. Nach Umkristallisation konnte das Produkt **8** mit einer Ausbeute von 43 % isoliert werden.

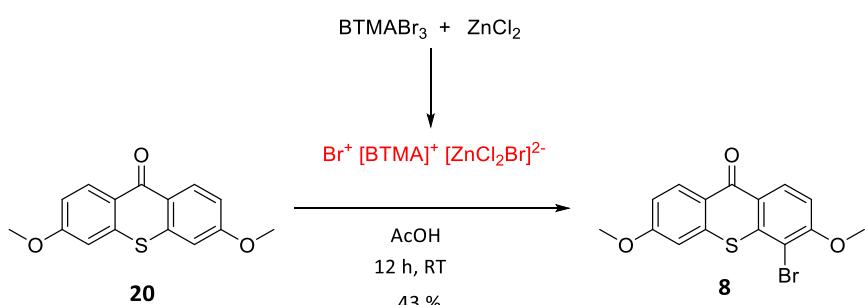


Abbildung 24: Bromierung des Dimethoxythioxanthons **20** unter Beteiligung der postulierten reaktiven Spezies (rot) zum bromierten Thioxanthon **8**.

4.1.2.1 Eigenschaften der synthetisierten Thioxanthone

Photosensibilatoren müssen spezifische Eigenschaften aufweisen, um für die Untersuchung von **CPD**-Schäden in DNA durch Triplet-Triplet-Energietransfer (**TTET**) geeignet zu sein. Sie müssen selektiv angeregt werden können, indem sie Wellenlängen im UV-A-Bereich absorbieren, bei denen die DNA nicht absorbiert. Dies minimiert die direkte Anregung der DNA und ermöglicht einen gezielten Energietransfer vom angeregten Photosensibilator auf die DNA. Darüber hinaus ist eine hohe **ISC**-Quantenausbeute von Vorteil, um den Triplet-Zustand effizient zu besetzen. Entscheidend ist das

Ergebnisse und Diskussion

Energieniveau des Triplet-Zustandes, das höher als das der Thymin-Base in DNA liegen muss (>270 kJ/mol)^[75], da Thymin die niedrigste Tripletenergie der DNA-Basen aufweist. Nur so kann ein effektiver Energietransfer gewährleistet werden.

Thioxanthon und dessen Derivate haben das Potential, ein optimaler Photosensibilisator für die Untersuchung der Entstehung von **CPD**-Schäden durch Energietransfer zu sein. In der Literatur hat Thioxanthon bereits seine Wirksamkeit als Photosensibilisator in anderen [2+2]-Cycloadditionen gezeigt.^[99-102] Dies deutet darauf hin, dass Thioxanthon auch in der Lage sein sollte, die [2+2]-Cycloaddition zwischen zwei Thyminen in der DNA zu sensibilisieren, was zu einem **CPD**-Schaden führt. In der Literatur sind Triplet-Energien von unmodifiziertem Thioxanthon zwischen 263 kJ/mol und 274 kJ/mol beschrieben.^[47, 103-105] Diese Werte kommen der von MIRANDA et al. bestimmten Triplet-Energie von Thymin-Basen in DNA von 270 kJ/mol sehr nahe, könnten jedoch für eine Sensibilisierung der **CPD**-Bildung nicht ausreichen.^[75] Daher sollte die Triplet-Energie der Thioxanthone durch die Funktionalisierung mit Methoxy-Gruppen erhöht werden.

Das UV/Vis-Spektrum der synthetisierten Thioxanthone zeigt, dass die Funktionalisierung mit Brom sowie mit einer Methoxygruppe an der 2- bzw. 7-Position eine bathochrome Verschiebung der Absorptionsbande bewirkt, während die Substitution an der 3- bzw. 6-Position zu einer hypsochromen Verschiebung führt (Abbildung 25). Diese Effekte sind additiv und bei der Methoxygruppe deutlich ausgeprägter als bei Brom. Außerdem zeigt das Absorptionsspektrum der Thioxanthone **4**, **7** und **8**, dass eine Substitution in 4-Position ebenfalls zu einer bathochromen Verschiebung führt. Diese Effekte sind in der Literatur bereits für Thioxanthone beschrieben und zeigen, dass die Tripletenergien mit diesen Verschiebungen korrelieren: Eine bathochrome Verschiebung führt zu einer Verringerung der Triplet-Energie, während eine hypsochrome Verschiebung diese erhöht.^[47]

Ergebnisse und Diskussion

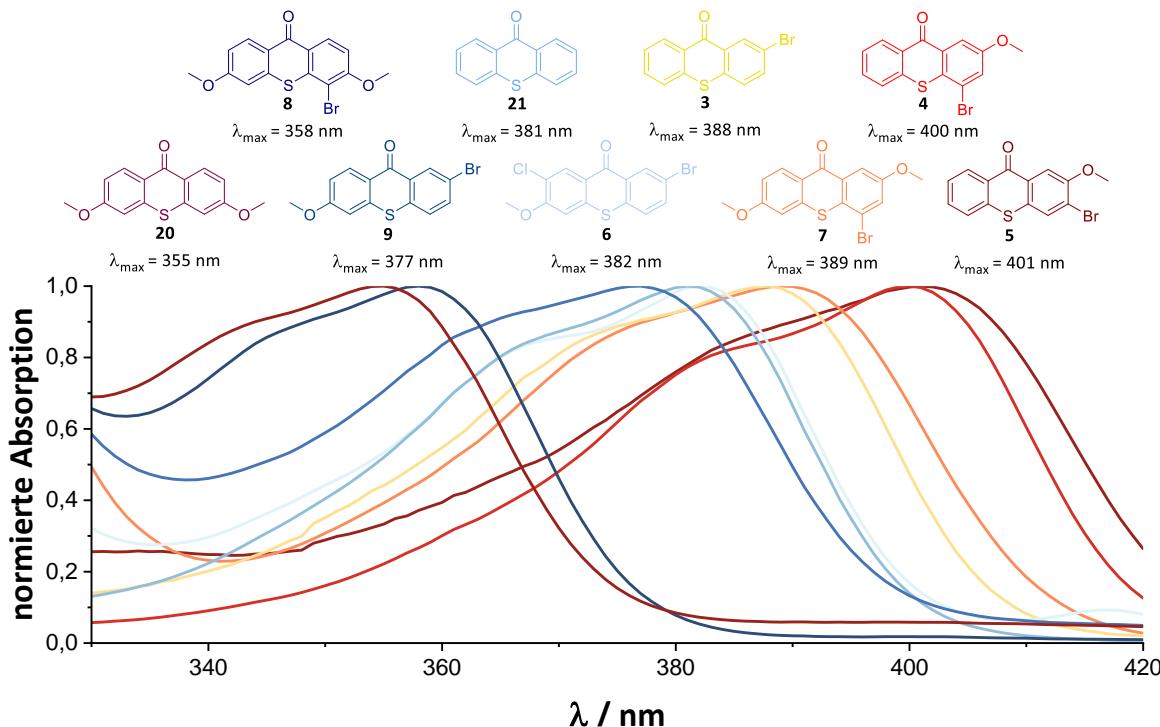


Abbildung 25: Normierte UV/Vis-Absorption der synthetisierten Thioxanthone **3-9** und **20** gemessen in DCM.

Somit ergibt sich für die Triplettenenergien der neu synthetisierten Thioxanthone folgende Reihenfolge: **20** (298 kJ/mol)^[47] > **8** > **9** > **21** (274 kJ/mol)^[47] > **6** > **3** > **7** > **4** > **5**. Da die bathochrome Verschiebung des Bromsubstituenten höchstwahrscheinlich vernachlässigt werden kann, da in dieser Position die Heck-Kupplung stattfindet, wurden die Thioxanthone **3**, **6** und **8** als Sensibilisatoren für die Untersuchung von CPD-Schäden in der DNA ausgewählt.

4.2 Synthese der Phosphoramidite

Die Photosensibilisatoren sowie der Energieakzeptor Naphthalin wurden als C-Nukleoside zu den entsprechenden Phosphoramiditen **28**, **33**, **38**, **43**, **48** und **53** umgesetzt, um anschließend in die DNA eingebaut zu werden. Der Einbau in die DNA als C-Nukleosid ermöglicht eine exakte Abstandsbestimmung, da der Photosensibilisator die natürliche DNA-Base ersetzt und somit durch π - π -Stapelwechselwirkungen spezifisch in den DNA-Basenstapel integriert wird. Im Gegensatz zu den entsprechenden N-Nukleosiden sind sie stabiler gegenüber enzymatischer und spontaner Hydrolyse.^[106] Diese Eigenschaften sind optimal für die Untersuchung der Photochemie in der DNA.

Dazu wurden die C-Nukleoside über eine Heck-Kupplung synthetisiert, dem entscheidenden Syntheseschritt zwischen dem Glykal **23** und den bromierten Chromophoren **1-3**, **6**, **8** und **54**.^[107, 108] Das Glykal **23** konnte dabei durch die literaturbekannte Eliminierung von TBDMS-geschütztem Thymidin **22** in einer Ausbeute von 54 % erhalten werden.^[109] Die Heck-Kupplung zwischen dem anomeren C-Atom des Glykals **23** und den bromierten Photosensibilisatoren **1-3**, **6**, **8** und **54** wurde gewählt, da diese Reaktion regio- und stereoselektiv zum entsprechenden β -Anomer verläuft. Durch die sterisch hindernden TBDMS-Schutzgruppen des Glykals **23**, in Kombination mit den Liganden des Palladiumkatalysators, erfolgt der Angriff an das anomere Zentrum von der weniger sterisch gehinderten Seite. Der Palladiumkatalysator Pd₂dba₃ in Kombination mit dem Liganden Q-Phos erzielte die höchsten Ausbeuten zwischen den bromierten Chromophoren **2**, **6**, **8**, **54** und dem Glykal **23**. Für die Kupplung zwischen Chromophor **1** und Zucker **23** erwies sich BrettPhos Pd G3 als am besten, zwischen **3** und **23** Pd(dppf)Cl₂. Es wurden Ausbeuten zwischen 45 % und 79 % erzielt, wobei **44** erst nach der Entschützung mit Et₃N·HF aufgereinigt werden konnte und eine Ausbeute von 37 % über zwei Stufen erzielt wurde. Es wurden auch einfach entschützte Heckprodukte beobachtet, bei denen die 3'-TBDMS-Funktion verloren ging und die 3'-Carbonylgruppe entstand. Trotzdem wurden nur β -Anomere beobachtet, was vermuten lässt, dass die TBDMS-Schutzgruppe nach erfolgter Kupplung abgespalten worden ist. Als Nebenprodukt konnte zusätzlich eine Dehalogenierung des Chromophors beobachtet werden, welches durch π - π -Stapelwechselwirkungen die Aufreinigung erschwerte. Anschließend wurden die verbliebenen TBDMS-Schutzgruppen mit Et₃N·HF in Ausbeuten zwischen 60 % und 99 % entfernt. Nach der vollständigen Entschützung wurde das resultierende 3'-Ketoderivat **25**, **30**, **35**, **40**, **45** und **50** mit NaBH(OAc)₃ reduziert.^[110] Hierbei handelt es sich wieder um eine stereoselektive Reduktion, da das Boratom an die 5'-OH Gruppe bindet, indem eine OAc-Gruppe substituiert wird und somit das Hydrid den Carbonylkohlenstoff nur einseitig angreifen kann, was zu der gewollten 2'-Desoxyribofuranosidkonfiguration führt. Die C-Nukleoside **26**, **31**, **36**, **46** und **51** wurden in Ausbeuten zwischen 55 % und 83 % erhalten. C-Nukleosid **41** wurde über zwei Stufen in einer Ausbeute von 39 % erhalten. Für den folgenden kovalenten Einbau in Oligonukleotide über

Ergebnisse und Diskussion

Festphasensynthese wurden die C-Nukleoside zu entsprechenden Phosphoramiditen **28, 33, 38, 43, 48** und **53** umgesetzt. Hierfür wurde die 5'-OH Gruppe mit DMT-Cl in Ausbeuten zwischen 33 % und 71 % geschützt. Obwohl die DMT-Cl Schutzgruppe dafür bekannt ist, primäre Alkohole selektiv zu schützen, konnte je nach gekuppeltem Chromophor auch eine Schützung der 3'-OH Gruppe beobachtet werden, was vermutlich auf unterschiedliche Löslichkeiten zurückzuführen ist. Schließlich wurden die 5'-DMT geschützten Nukleoside über eine Phosphitylierung zu den jeweiligen Phosphoramiditen in einer Ausbeute zwischen 47 % und 98 % umgesetzt (Abbildung 26).^[108]

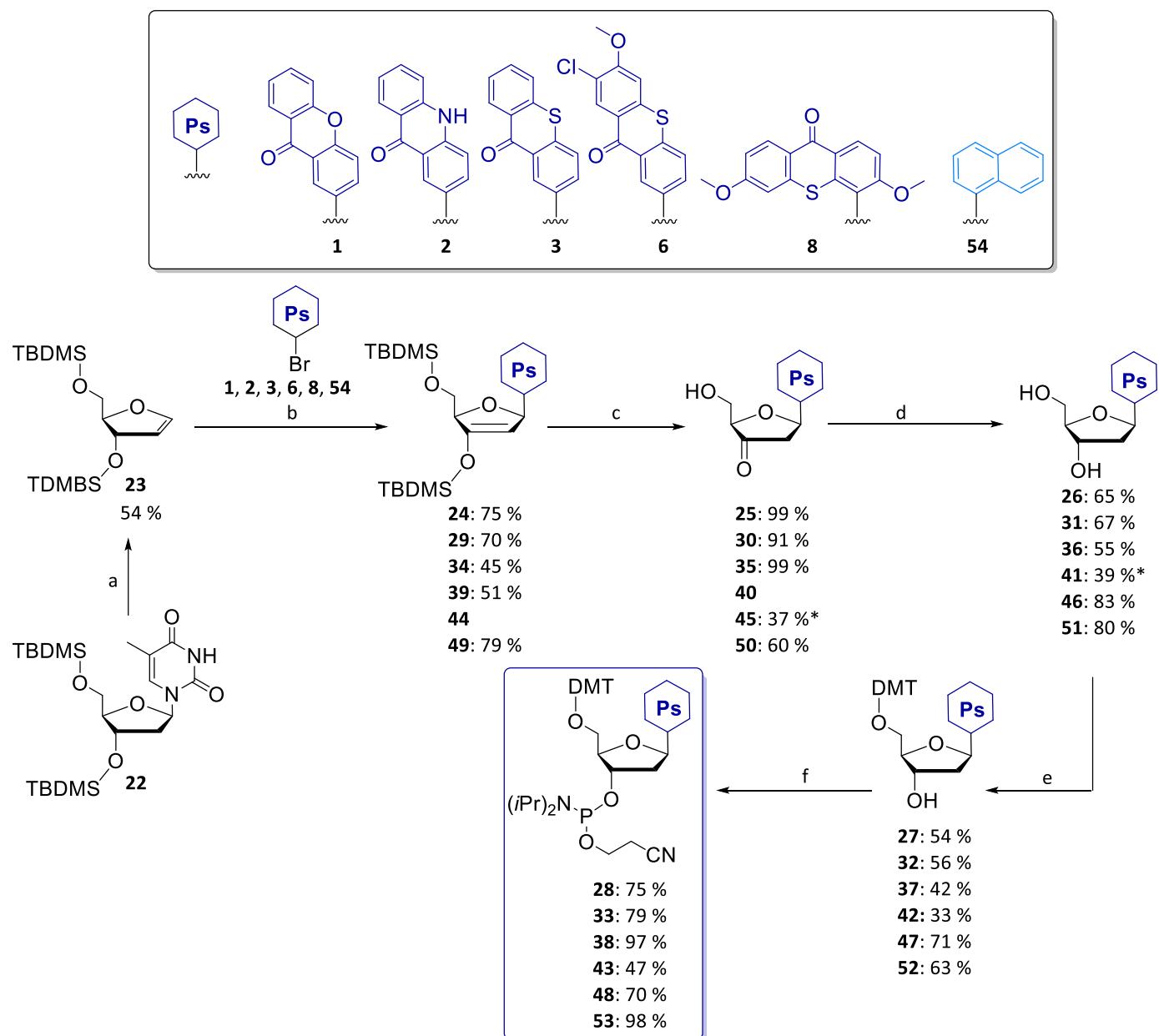


Abbildung 26: Synthese der Phosphoramidite **28, 33, 38, 43, 48, 53** mit den Chromophoren (PS): **a)** HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 127 °C, 3 h. **b)** PdL₂, Et₃N, DMF oder MeCN, 75 – 85 °C, 72 h. **c)** Et₃N·HF, THF, RT, 12 h. **d)** NaBH(OAc)₃, MeCN:AcOH 1:1, 0 °C, 1 h. **e)** DMT-Cl, Pyridin, RT, 12 h. **f)** 2-Cyanoethyl N,N-Diisopropylchlorophosphoramidit, DIPEA, RT, 4 h.*Ausbeute über zwei Stufen.

4.3 Untersuchung der distanzabhängigen CPD-Bildung durch Energietransfer

Die verwendete ternäre DNA-Architektur (**DNAX-n**) besteht aus dem durch Phosphoramidit-Synthese hergestellten Templatstrang (**TS**), in den an der Position **X** die jeweiligen Photosensibilisatoren als C-Nukleotide eingebaut wurden, und zwei komplementären, kommerziell erhältlichen DNA-Gegensträngen mit jeweils endständigen Thymin-Basen, am 3'-Ende des attomarkierten-Stranges (**AS**) und am 5'-Ende des Gegenstranges (**GS**). Diese benachbarten Thyminen sind somit nicht über eine Phosphodiesterbindung kovalent miteinander verbunden. Nach selektiver Anregung der in die DNA-Architektur eingebauten Photosensibilisatoren **X** kann an dieser Stelle ein **CPD**-Schaden entstehen, wodurch eine kovalente Verknüpfung der Gegenstränge **AS** und **GS** resultiert.^[108] Die Sequenz der **DNAX-n** wurde so gewählt, dass nur genau eine **CPD**-Schadensstelle möglich ist (Abbildung 27).

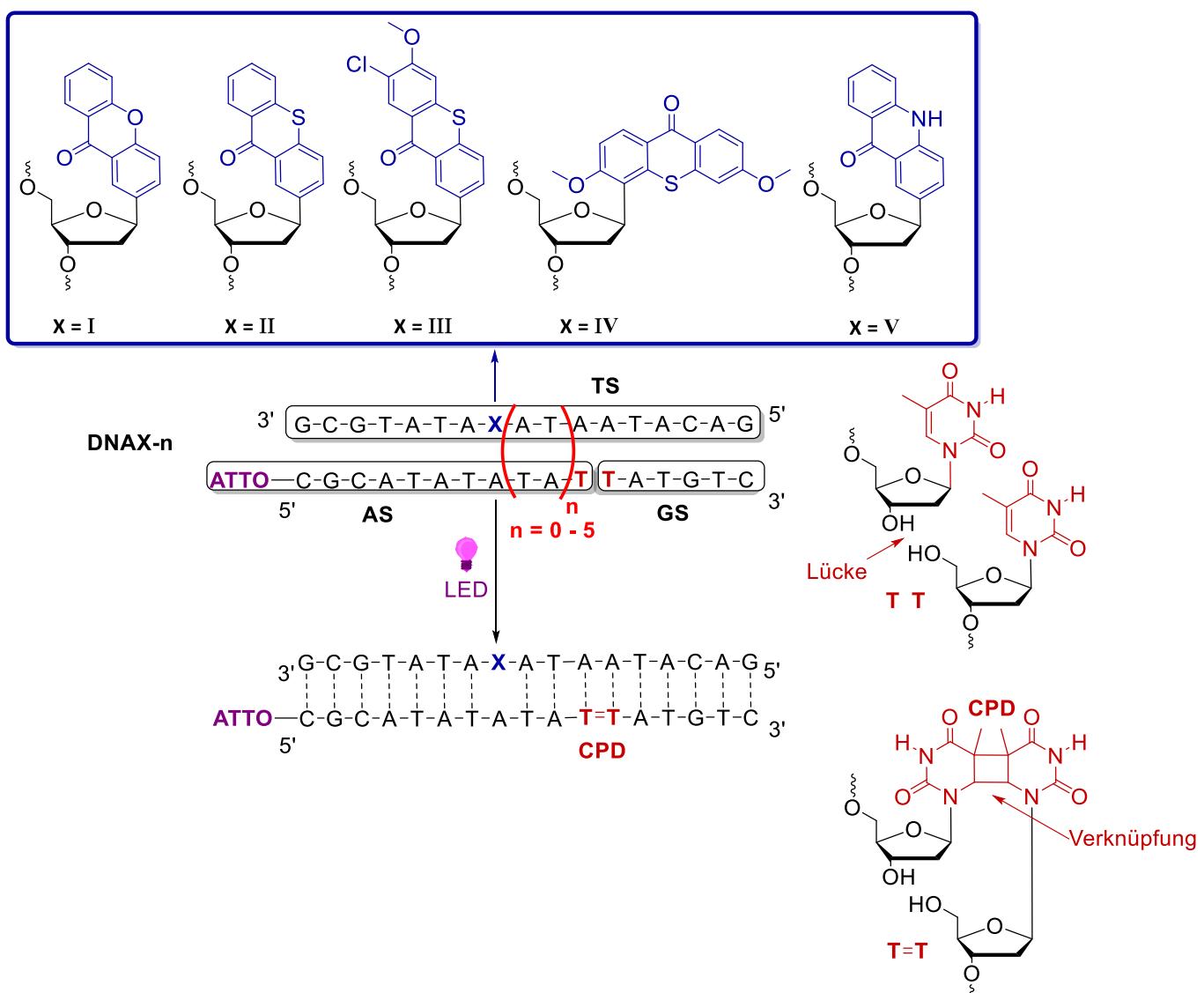


Abbildung 27: Darstellung der DNA-Architektur **DNAX-n** (**X = I – V, n = 0 – 5**) mit den komplementären DNA-Strängen **TS**, **AS** und **GS** zur Untersuchung der distanzabhängigen **CPD**-Bildung.

Ergebnisse und Diskussion

Der durch den **CPD**-Schaden verlängerte DNA-Strang kann mittels RP-HPLC aufgrund der damit einhergehenden veränderten Retentionszeit nachgewiesen werden. Für eine sensitivere und vereinfachte Analyse wurde ein ATTO550-Farbstoff am 5'-Ende des Gegenstrangs **AS** modifiziert, wodurch die **CPD**-Bildung über den Fluoreszenzkanal der HPLC ($\lambda_{\text{exc}} = 554 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{em}} = 576 \text{ nm}$) verfolgt werden konnte. Dieser Farbstoff zeichnet sich durch eine hohe photochemische Stabilität aus und besitzt eine maximale Extinktion bei 554 nm sowie ein Emissionsmaximum bei 576 nm.^[111] Die Schmelztemperaturen der hybridisierten DNA-Architekturen **DNAx-n** wurden gemessen und ergaben zwei Schmelztemperaturen, T_{m1} von 11 – 15 °C (zwischen **TS** und **GS**) und T_{m2} von 43 – 49 °C (zwischen **TS** und **AS**) (Abbildung 28, A, Tabelle 8). Dies deutet auf eine vollständige Hybridisierung der DNA-Architekturen unter 10 °C hin. Aufgrund der niedrigen Schmelztemperatur des Gegenstrangs **GS** ist davon auszugehen, dass ein kleiner Teil dissoziiert vorliegt. Dies kann jedoch vernachlässigt werden, da sich das 6-mer Oligonukleotid bei allen Belichtungsexperimenten nicht verändert. Zusätzlich wurden CD-Spektren bei 10 °C der DNA-Architekturen **DNAI-0**, **DNAII-0** und **DNA0-0** aufgenommen. Bei **DNA0-0** wurde anstelle des Photosensibilisators eine Thymin-Base als Kontrolle eingebaut. Die Spektren zeigen eine positive Bande bei 280 nm und eine negative Bande bei 245 nm, was typisch für die B-DNA-Konformation ist und zusätzlich auf eine erfolgreiche Hybridisierung sowie eine intakte B-DNA-Doppelhelix hinweist (Abbildung 28, B).^[112]

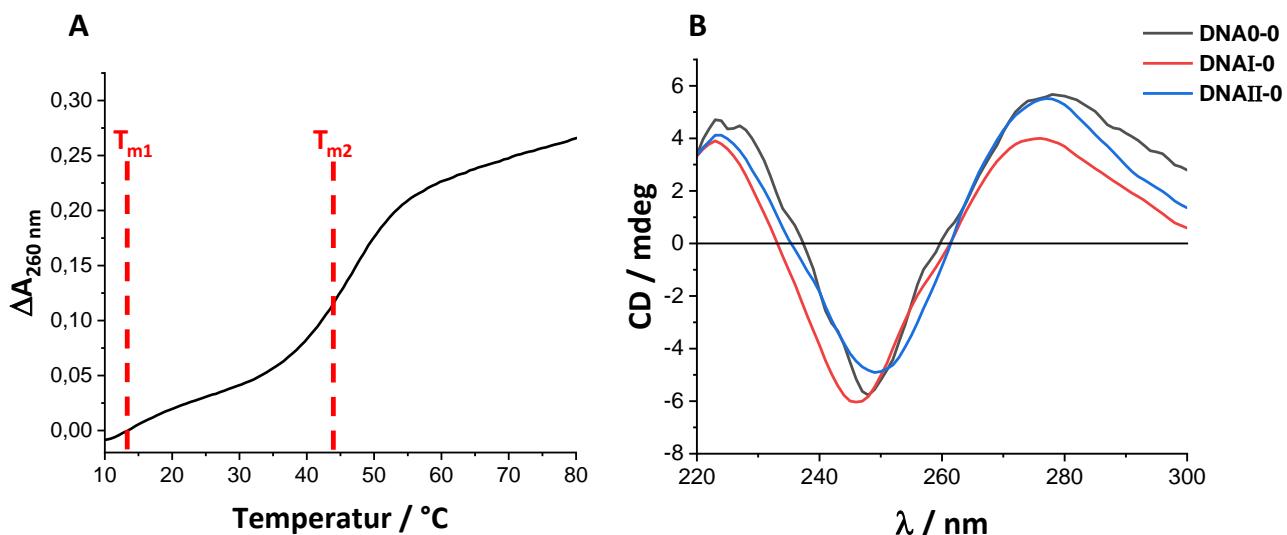


Abbildung 28: A) Exemplarische Schmelztemperaturkurve der **DNAI-2**. B) CD-Spektrum der **DNA0-0**, **DNAI-0** und **DNAII-0** (2,5 µM DNA, 250 mM NaCl, 10 mM Na-Pi Puffer bei 10 °C).

Folgend wurden die DNA-Architekturen bei 10 °C, unter Sauerstoffausschluss und unter Argonatmosphäre belichtet, um eine vollständige Hybridisierung und eine intakte DNA-Doppelhelix zu gewährleisten sowie oxidative Schäden durch Sauerstoff zu vermeiden. Alle Belichtungsexperimente wurden mindestens als Duplikate, die meisten als Triplikate durchgeführt. Während der Belichtung

Ergebnisse und Diskussion

wurden nach definierten Zeitabständen Proben aus der Hybridisierungslösung entnommen und mittels RP-HPLC die **CPD**-Bildung über die Zeit bestimmt. Die **CPD**-Ausbeuten sowie **ICLs** zwischen **TS** und **AS** wurden aus dem Emissionskanal der HPLC als Verhältnis der Integrale des verlängerten DNA-Stranges (**CPD**-Schaden oder **ICL**) in Prozent bestimmt. Trotz der Photostabilität des ATTO550-Farbstoffs wurde mit der Zeit ein Ausbleichen des Farbstoffs beobachtet. Es wird jedoch angenommen, dass der Farbstoff am Gegenstrang **AS** sowie nach der **CPD**-Bildung in gleichem Maße gebleicht wird, so dass dies keinen Einfluss auf die **CPD**-Ausbeute hat. Als Negativkontrolle wurde die DNA-Architektur **DNA0-0** mit der komplementären Base Thymin anstelle des Photosensibilisators **X** verwendet, wobei keine **CPD**-Schäden beobachtet werden konnten (Abbildung S96).

4.3.1 Xanthon als Photosensibilisator

Zur selektiven Anregung des Photosensibilisators **I** wurden sowohl der Extinktionskoeffizient, $\epsilon_{260} = 9800 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, bestimmt als auch das Absorptionsspektrum des Xanthon-Nukleosid **I** aufgenommen. Die Belichtungsexperimente der DNA-Architekturen **DNAI-0 – DNAI-5** erfolgten daher mit einer 365 nm LED (Abbildung 29, A). Nach definierten Zeitabständen wurden Proben entnommen und mittels RP-HPLC analysiert. Zu Beginn der Belichtung ist das Signal des **AS** bei einer Retentionszeit von 46,8 min zu sehen, welches durch die Fluoreszenz des ATTO550-Farbstoffs entsteht. Dabei lässt sich die 1:2:1 Aufspaltung des Signals durch Isomere des Farbstoffs erklären.^[111] Nach Belichtung entsteht benachbart, bei einer verkürzten Retentionszeit von 45,7 min, ein zweites Signal im Emissionskanal der RP-HPLC (Abbildung 29, B). Dieses konnte durch LC-ESI-MS dem durch einen **CPD**-Schaden verknüpften Strang aus **AS** und **GS** zugeordnet werden. Bei einer noch kürzeren Retentionszeit von ca. 43 min entstand ein weiteres Signal im Emissionskanal über die Zeit. Dieses konnte über LC-ESI-MS dem **ICL**-Produkt aus **TS** und **AS** zugeordnet werden.^[108]

Ergebnisse und Diskussion

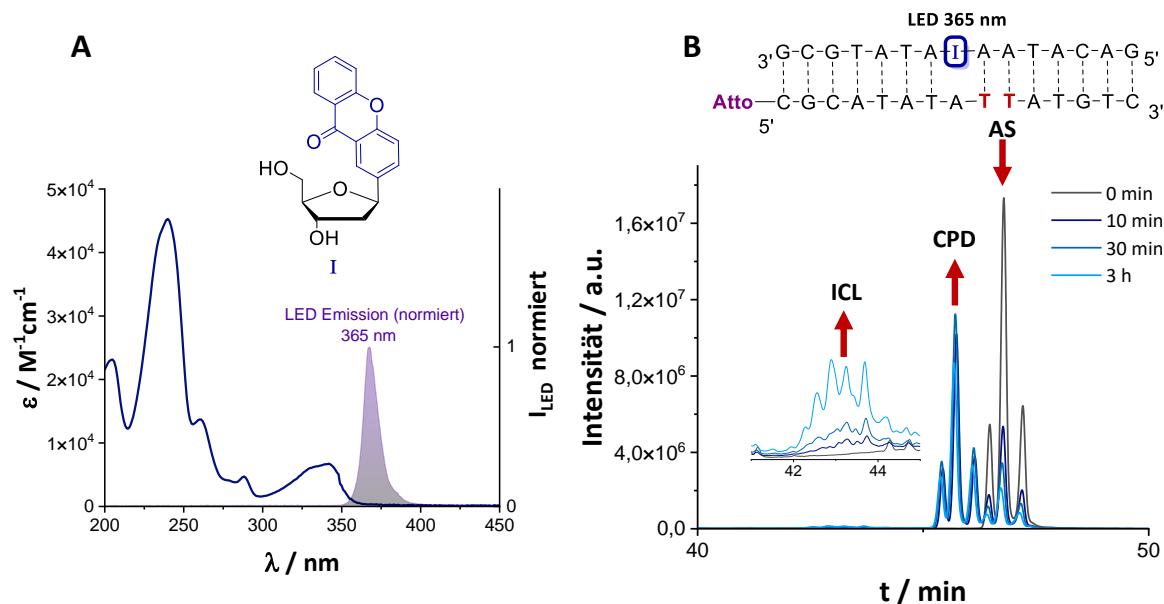


Abbildung 29: A) UV/Vis-Absorption des Xanthos-Nukleosids **I** (18,8 µM in MeCN) mit dem normierten Emissionsspektrum der verwendeten 365 nm LED. B) Exemplarisches Chromatogramm des Emissionskanals der RP-HPLC von **DNAI-0** nach 0 min, 10 min, 30 min und 3 h Belichtung mit einer 365 nm LED.

Aus dem Verhältnis der Integrale der Emissionssignale wurden die prozentualen Ausbeuten der **CPD**- und **ICL**-Schäden für die jeweiligen DNA-Architekturen **DNAI-0 – DNAI-5** bestimmt (Abbildung 30 und 31). **DNAI-0** erreicht bereits nach 10 min Belichtung eine **CPD**-Ausbeute von 58 % und nach einer Stunde eine maximale **CPD**-Ausbeute von 73 %. Von da an wurde bei längerer Exposition eine Abnahme des **CPD**-Schadens beobachtet, wobei sich ein Gleichgewicht bei ca. 49 % **CPD** einstellte (Abbildung 30, A). Eine solche **CPD**-Öffnung, die zu einer Abnahme der **CPD**-Ausbeute führt, wurde in der Literatur u.a. auch für Benzophenon beobachtet.^[37] Ebenfalls ist bekannt, dass **CPDs** photoinduziert sowohl oxidativ als auch reduktiv wieder geöffnet (repariert) werden können.^[113-115] Xanthos sollte mit einem Reduktionspotential von 1,57 V (vs SCE)^[116] und einer Triplet-Energie von 310 kJ/mol^[103] in der Lage sein, **CPDs** oxidativ zu öffnen, basierend auf den ermittelten Oxidationspotentialen von Thymin (1,84 V vs SCE)^[117] und **CPDs** (1,4 -1,8 V vs SCE).^[104, 116, 118]

Die freie Enthalpie (ΔG) dieses Elektronentransfer-Prozesses wird durch die REHM-WELLER-Gleichung (Formel 3) beschrieben, welche in der Praxis verwendet wird, um zu prüfen, ob ein photochemischer Elektronentransfer möglich ist:^[119-121]

$$\Delta G = E_{ox} - E_{red} - E_{00} - \omega$$

Formel 3: ΔG = freie Enthalpie; E_{ox} = Oxidationspotential des Elektronendonors; E_{Red} = Reduktionspotential des Elektronenakzeptors; E_{00} = Energie des angeregten Zustands; ω = Solvatisierungseffekt.

Durch Einsetzen des Mittelwerts der in der Literatur angegebenen Oxidationspotentiale des **CPD**-Schadens ($E_{ox} = \approx 1,6$ V) sowie des Reduktionspotential von Xanthos ($E_{Red} = 1,57$ V) und der Anregungsenergie des Triplet-Zustands von Xanthos ($E_{00} = 3,22$ eV)^[116] ergibt sich ein negativer Wert

Ergebnisse und Diskussion

für die freie Enthalpie ($\Delta G = -0,05 \text{ eV}$). Dies zeigt, dass die oxidative Öffnung des **CPD**-Schadens durch die photochemische Anregung von Xanthon im Rahmen des möglichen liegt. In polaren Lösungsmitteln ist die zur Ladungstrennung erforderliche Energie (ω) sehr gering und kann vernachlässigt werden.^[121]

Bei **DNAI-0** ist die **CPD**-Öffnung ab 1 h Belichtung besonders ausgeprägt, was sich mit einer Reduktion der **CPD**-Ausbeute zeigt. Dies liegt vermutlich daran, da hier der Photosensibilisator in direkter Nachbarschaft positioniert ist, wodurch der Elektronentransfer zur **CPD**-Öffnung effizienter abläuft. Für die **DNAI-1-5** wurde nach ca. 2 h Belichtung ein Plateau erreicht, wahrscheinlich ein Gleichgewicht zwischen **CPD**-Bildung und **CPD**-Öffnung bis zu 10 A-T-Basenpaaren (**DNAI-5**).

Die **CPD**-Ausbeuten nach 6 h Belichtung wurden für die DNA-Architekturen **DNAI-0-5** mit den unterschiedlichen Abständen zwischen Photosensibilisator und **CPD**-Schadensstelle (0 – 10 AT-Basenpaaren; 3,4 Å, 10,2 Å, 17 Å, 23,8 Å, 30,6 Å, 37,4 Å) aufgetragen. Dabei wurde eine exponentielle Distanzabhängigkeit mit einem β -Wert von $0,1 \text{ Å}^{-1}$ ermittelt (Abbildung 30, B). Im Vergleich zu den aus der Literatur bekannten Werten für Benzophenon und Acetophenon ($0,13 - 0,34 \text{ Å}^{-1}$) ist der β -Wert von Xanthon niedriger, was auf einen weiterreichenden Energietransfer hindeutet, der zu **CPDs** führt. Der Grund dafür könnte die im Vergleich höhere Triplett-Energie von Xanthon sein.

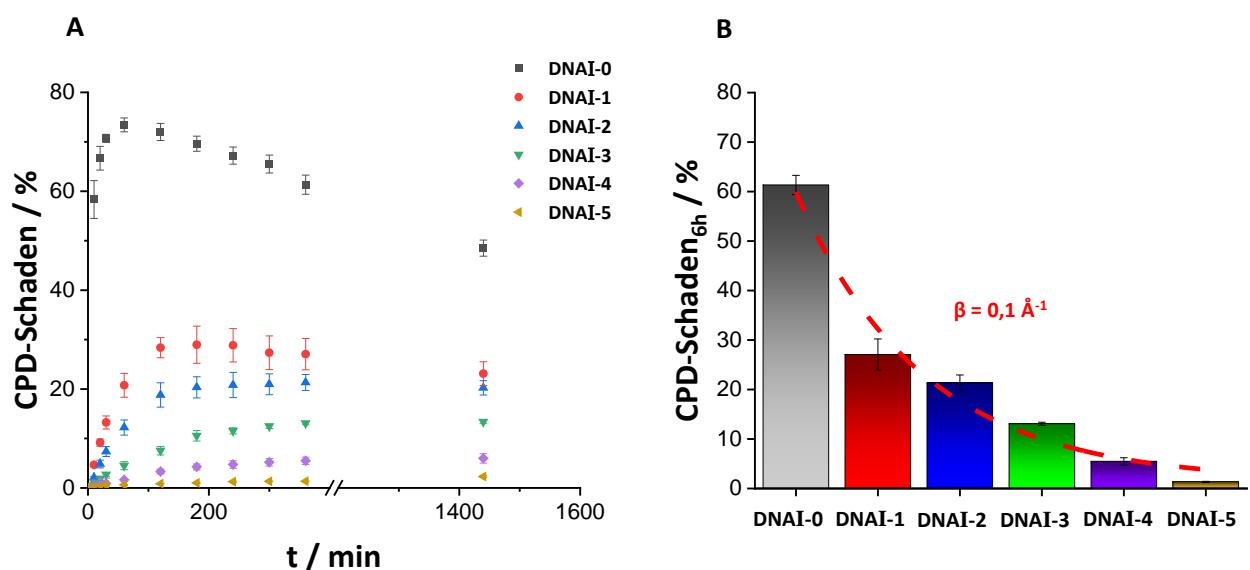


Abbildung 30: A) Zeitabhängige **CPD**-Ausbeuten für die DNA-Architektur **DNAI-n**. B) Aufgetragene **CPD**-Ausbeuten nach 6 h Belichtung für die jeweiligen Abstände (3,4 Å, 10,2 Å, 17 Å, 23,8 Å, 30,6 Å, 37,4 Å) der DNA-Architektur **DNAI-n** ergibt eine mono exponentielle Abstandsabhängigkeit mit einem β -Wert von $0,1 \text{ Å}^{-1}$.

Für **DNAI-n** ist zu beobachten, dass die **ICL**-Schäden mit der Belichtungszeit zunehmen. Die Zunahme flacht ebenfalls mit der Zeit ab, es bildet sich jedoch kein deutliches Plateau wie bei den **CPD**-Schäden. Nach 24 h Belichtung wurden für **DNAI-1-5** **ICL**-Ausbeuten von 19 % – 27 % bestimmt, wobei keine

Ergebnisse und Diskussion

Distanzabhängigkeit erkennbar ist (Abbildung 31, B). Im Gegensatz dazu zeigt **DNAI-0** deutlich niedrigere Ausbeuten von 12 % nach 24 h.

Die **ICLs** entstehen wahrscheinlich durch unspezifische Wasserstoffabspaltung durch den angeregten Triplet-Zustand des Photosensibilisators, wobei z.B. ein Wasserstoffatom von der Methylgruppe eines Thymins oder vom Zuckerrückgrat abgespalten wird.^[70] Dies führt zur Bildung von reaktiven Radikalen. Diese Radikale können durch Radikal-Radikal-Rekombination entweder mit einem entstandenen Radikal des Photosensibilisators oder zwischen zwei gegenüberliegenden Radikalen der Oligostränge (**TS** und **AS**) reagieren, was zur unselektiver **ICL**-Bildung führt. Dies könnte das relativ breite Signal im HPLC-Emissionsspektrum erklären (Abbildung 29, B). Im Gegensatz zu den **CPD**-Schäden kann kein Rückgang der **ICL**-Ausbeute und keine Ausbildung eines Plateaus beobachtet werden, da die kovalenten Verbindungen der **ICLs** nicht wieder gespaltet werden können.

Der Unterschied der **ICL**-Ausbeute kann durch die Eigenschaften der $n\pi^*$ -Photosensibilisatoren erklärt werden, bei denen neben dem **TTET** auch **HAT** als konkurrierender Prozess stattfindet. Der **TTET** sowie der **HAT** erfolgt aus dem angeregten Triplet-Zustand des Photosensibilisators und findet im Nanosekunden-Bereich statt.^[122] In **DNAI-0** befindet sich Xanthon (**I**) in direkter Nachbarschaft zum benachbarten Thyminpaar, wodurch der angeregte Triplet-Zustand effizient durch **TTET** auf das benachbarte Thymin gelöscht werden kann und bevorzugt zur Bildung von **CPD**-Schäden führt. In den DNA-Architekturen **DNAI-1-5** hingegen verschiebt sich das Gleichgewicht zwischen **TTET** und **HAT** in Richtung **HAT**, da der angeregte Triplet-Zustand nicht unmittelbar durch die **CPD**-Bildung gelöscht wird. Dies führt zu den ähnlichen **ICL**-Ausbeuten (Abbildung 31, B).

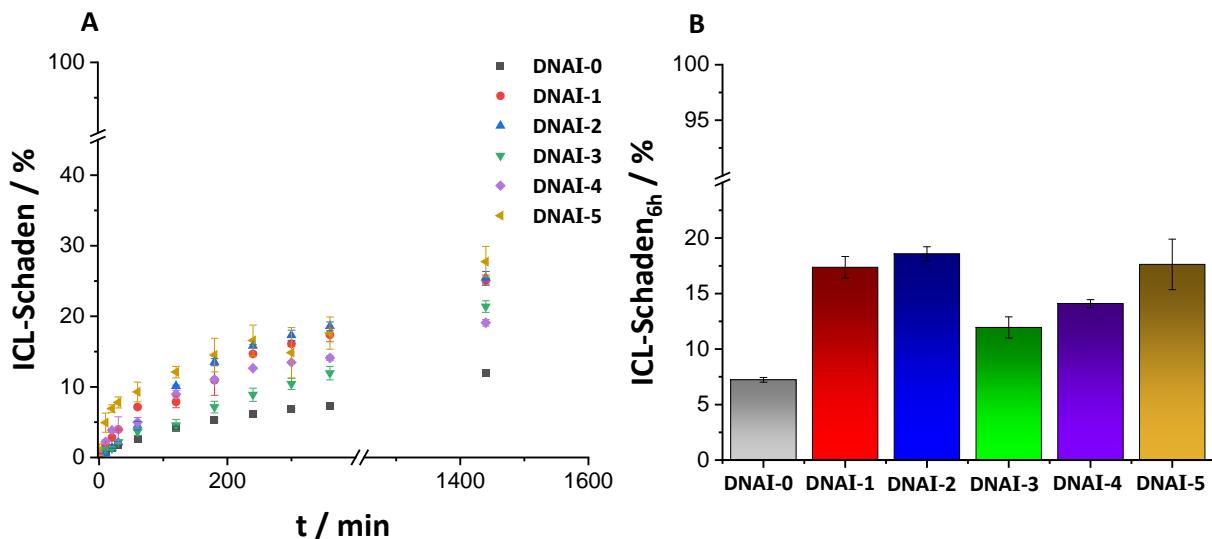


Abbildung 31: A) Zeitabhängige **ICL**-Ausbeuten für die DNA-Architektur **DNAI-n**. B) Aufgetragene **ICL**-Ausbeuten nach 6 h Belichtung für die jeweiligen Abstände der DNA-Architektur **DNAI-n**.

Ergebnisse und Diskussion

Die Bildung solcher **ICL**-Produkte in DNA wurde auch bei der Verwendung der Triplet-Sensibilisatoren Acetophenon und Benzophenon mit Ausbeuten von über 14 % nach 1 h beobachtet und ist daher bei der Verwendung von Triplet-Sensibilisatoren nicht überraschend.^[37] Es sollte jedoch bedacht werden, dass **ICLs** die toxischsten DNA-Schäden sind, aber auch in der Krebstherapie von großer Relevanz sein können.^[123]

Ein Kontrollexperiment für **DNAI-2**, bei dem Photosensibilisator **I** und **CPD**-Schadensstelle (**TT**) durch vier Basenpaare getrennt sind, sollte Aufschluss darüber geben, ob sowohl Intrastrang-Energietransfer als auch Interstrang-Energietransfer zur **CPD**-Bildung führen kann. Dazu wurde eine Thyminbase, die auf Grund ihrer niedrigen Energie im Triplet-Zustand die Energie von einer Thyminbase zur nächsten weitergegeben würde, durch eine andere Base (**G**, **C**, **A**) ersetzt (Abbildung 32). Dadurch sollte der Energietransfer im Gegenstrang (**AS**) behindert sein, sodass der Energietransfer ausschließlich durch Intrastrang-Energietransfer im Templatstrang (**TS**) und einen anschließenden Interstrang-Energietransfer erfolgen kann, der zur **CPD**-Bildung führt.

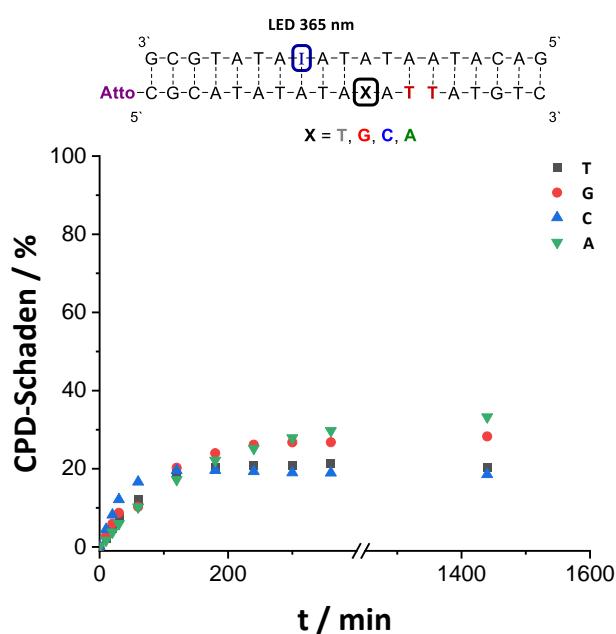


Abbildung 32: Zeitabhängige **CPD**-Ausbeuten für die DNA-Architektur **DNAI-n** mit den unterschiedlichen **AS** Gegensträngen.

Es konnte keine Verringerung der **CPD**-Ausbeute beobachtet werden, was darauf hinweist, dass der Triplet-Energietransfer in DNA sowohl durch Intrastrang-Energietransfer als auch Interstrang-Energietransfer erfolgen kann. Diese Beobachtung passt zu den von BLANCAFORT und VOITYUK et al. postulierten Mechanismus für lang weitreichenden Triplet-Energietransfer in DNA.^[78] Interessanterweise führen die Purine **G** und **A** zu einer leichten Erhöhung der **CPD**-Ausbeute. Ein möglicher Grund dafür könnte sein, dass die Fehlpaarung in der DNA durch die sterische Hinderung zu

Ergebnisse und Diskussion

einem „Knick“ in der Helix führt, wodurch der Photosensibilisator näher an die **CPD**-Schadenstelle rückt.

4.3.2 Thioxanthone als Photosensibilisatoren

4.3.2.1 DNAII-n

Das Absorptionsspektrum von C-Nukleosid **II** zeigt ein lokales Absorptionsmaximum bei 381 nm in Acetonitril. Folgend wurde **DNAII-n** mit einer 385 nm LED belichtet (Abbildung 33, A). Im Gegensatz zu **DNAI-n** konnte jedoch kein **CPD**-Schaden beobachtet und durch LC-ESI-MS bestätigt werden. Der Grund hierfür ist sehr wahrscheinlich eine zu niedrige Triplettenenergie des Thioxanthons. Laut Literatur liegt diese zwischen 265 kJ/mol^[124] und 274 kJ/mol^[47]. Zudem zeigen Absorptionsspektren von Thioxanthon in DNA (**TS-II**) eine Rotverschiebung im Vergleich zum Thioxanthon Nukleosid **II**, was auf eine weitere Reduktion der Triplettenenergie hinweisen könnte.^[47] Dabei verschiebt sich das lokale Maximum von 381 nm zu 394 nm (Abbildung S1). Diese bathochrome Verschiebung ist vermutlich auf die polarere Umgebung des wässrigen Puffers sowie der umliegenden DNA-Basen zurückzuführen, die den $\pi\pi^*$ -Zustand stabilisieren.^[125]

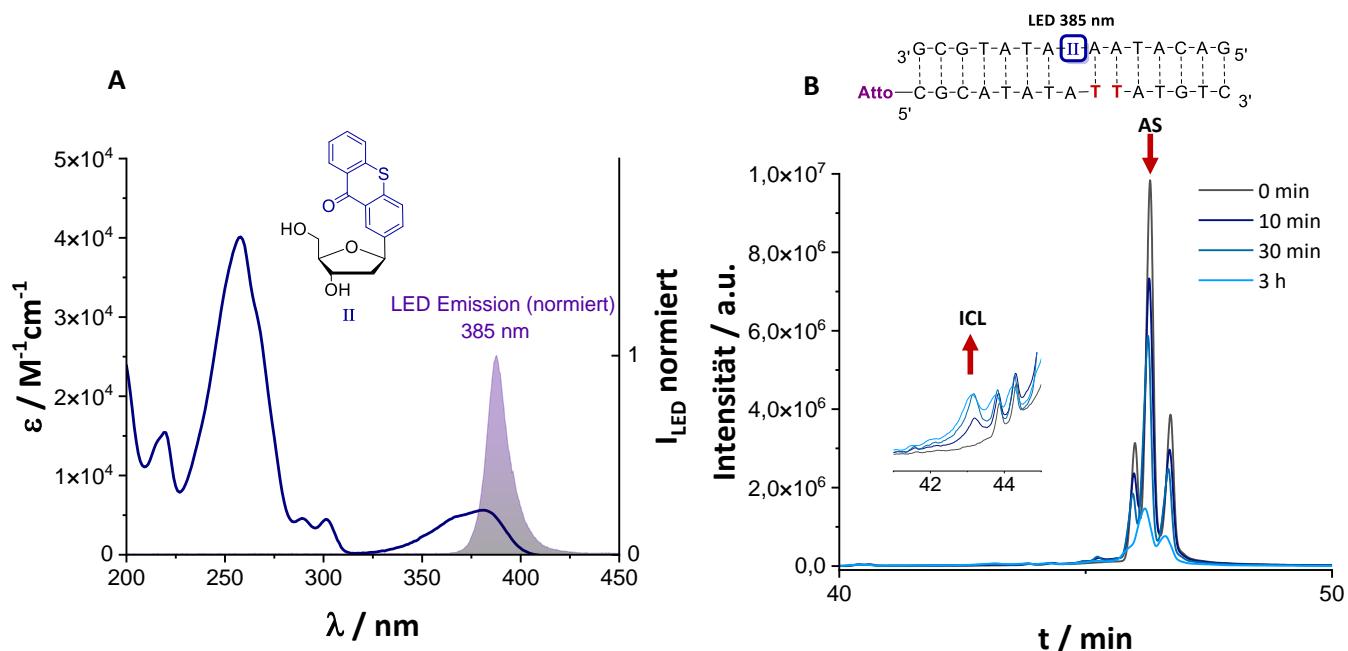
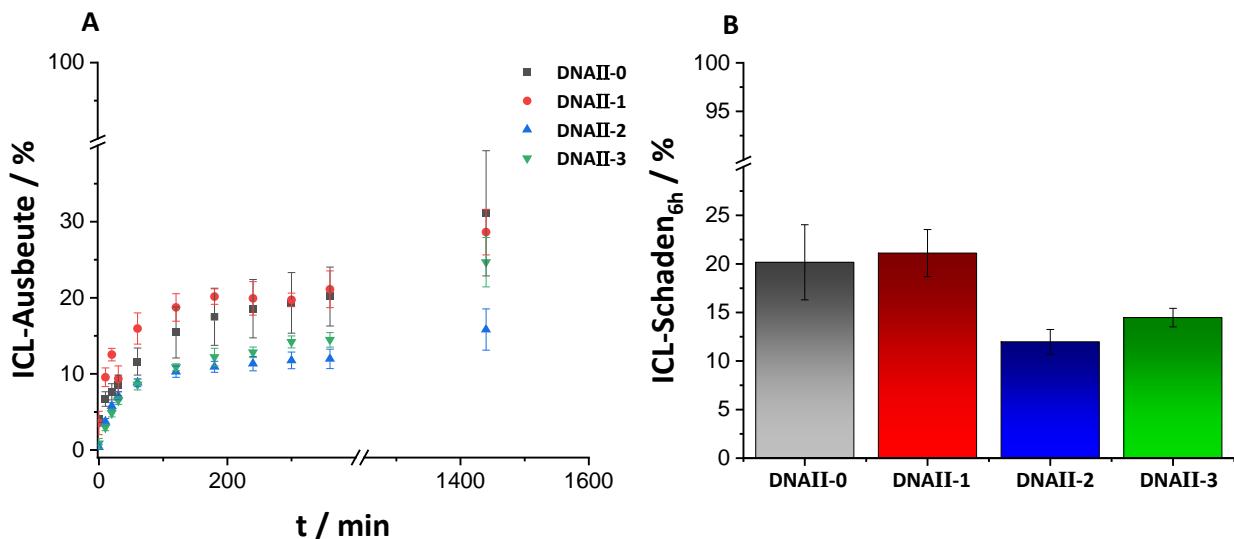


Abbildung 33: A) UV/Vis-Absorption des Thioxanthon-Nukleosids **II** (15 μ M in MeCN) mit dem normierten Emissionsspektrum der verwendeten 385 nm LED. B) Exemplarisches Chromatogramm des Emissionskanals der RP-HPLC von **DNAII-0** nach 0 min, 10 min, 30 min und 3 h Belichtung mit einer 385 nm LED.

Jedoch ist ebenfalls im Emissions-Chromatogramm bei einer Retentionszeit von 43 min ein Signal zu beobachten, welches über die Zeit zunimmt (Abbildung 33, B). Dieses Signal konnte durch LC-ESI-MS dem **ICL**-Produkt aus **TS** und **AS** zugeordnet werden.^[108] Dabei konnten nach 24 h Belichtungszeit für

Ergebnisse und Diskussion

die **ICL-Schäden** Ausbeuten von bis zu 31 % bestimmt werden. Diesmal liegt die **ICL-Ausbeute** für **DNAII-0** in einem ähnlichen Bereich wie bei den anderen Distanzen und fällt nicht wie bei **DNAI-0** ab. Dies ist konsistent mit der Beobachtung, dass bei **DNAII-n** keine **CPD-Schäden** nachgewiesen wurden. Der konkurrierende Prozess der schnellen **CPD-Bildung**, der den angeregten Triplet-Zustand effektiv löschen würde, entfällt somit. Ebenfalls ist wie zu erwarten keine Distanzabhängigkeit zu erkennen.



4.3.2.2 DNAIII-n

Das Thioxanthon C-Nukleosid **III** hat ein lokales Absorptionsmaximum von 375 nm und sollte aufgrund der hypsochromen Verschiebung im Vergleich zum unmodifizierten Thioxanthon-C-Nukleosid **II** eine erhöhte Tripletenergie aufweisen (Abbildung 35, A).^[47] Im Emissions-Chromatogramm konnte mit zunehmender Belichtungszeit bei einer Retentionszeit von 45,7 min ein zusätzliches Signal, welches mit der Zeit zunimmt, beobachtet werden. Mittels LC-ESI-MS konnte dieses erneut dem **CPD-Schaden** zugewiesen werden (Abbildung S115). Ebenfalls wurden **ICLs** bei einer Retentionszeit von 43,6 min beobachtet (Abbildung 35, B, Abbildung S116).

Ergebnisse und Diskussion

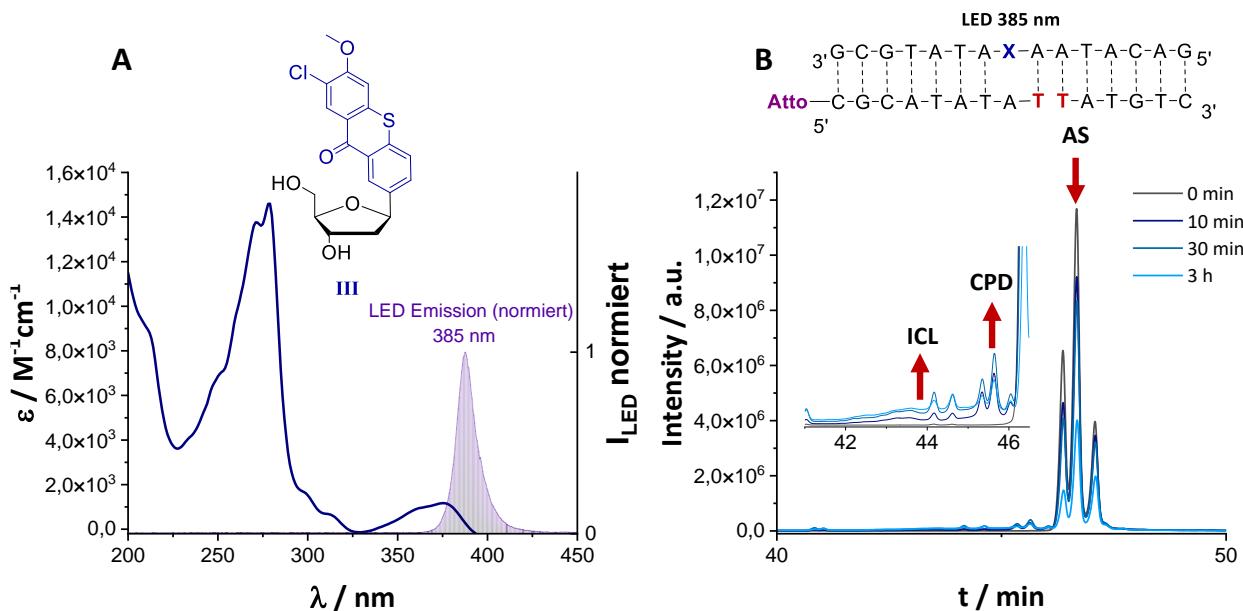


Abbildung 35: A) UV/Vis-Absorption des Thioxanthon-Nukleosids **III** (30 µM in MeCN) mit dem normierten Emissionsspektrum der verwendeten 385 nm LED. B) Exemplarisches Chromatogramm des Emissionskanals der RP-HPLC von **DNAIII-0** nach 0 min, 10 min, 30 min und 3 h Belichtung mit einer 385 nm LED.

Dies zeigt, dass die Triplettenergie der Photosensibilisatoren entscheidend dafür ist, ob ein **TTET** in DNA zu **CPD**-Schäden führen kann. Darüber hinaus konnte präzise die Schwelle bestimmt werden, ab der in der verwendeten DNA-Architektur **CPDs** nachweisbar entstehen. Somit liegt die Triplett-Energie von Thymin zwischen der Triplett-Energie von Thioxanthon **II** und Thioxanthon **III**.

Erneut wurde für **DNAIII-0** und **DNAIII-1** der **CPD**-Schaden in Prozent über die Zeit bestimmt, wobei sich nach einem schnellen Anstieg der **CPD**-Ausbeute nach 2 h ein Plateau bei ca. 8 % für **DNAIII-0** und 2 % für **DNAIII-1** ausbildet, wahrscheinlich, wie zuvor vermutet, aufgrund eines Gleichgewichtes zwischen **CPD**-Schädigung und **CPD**-Öffnung. Für **DNAIII-n** könnte wiederum eine exponentielle Distanzabhängigkeit vorliegen. Da jedoch aufgrund der geringen **CPD**-Ausbeuten nur **DNAIII-0** und **DNAIII-1** ausgewertet werden konnten, konnte kein β -Wert bestimmt werden. Im Vergleich zu **DNAIII-0** mit einer Ausbeute von 8 % nach 6 h zeigt **DNAIII-1** mit 2,5 % eine um mehr als 50 % geringere Ausbeute, ein Trend, der auch bei der exponentiell abhängigen **DNAI-n** beobachtet wurde (Abbildung 36, B).

Ergebnisse und Diskussion

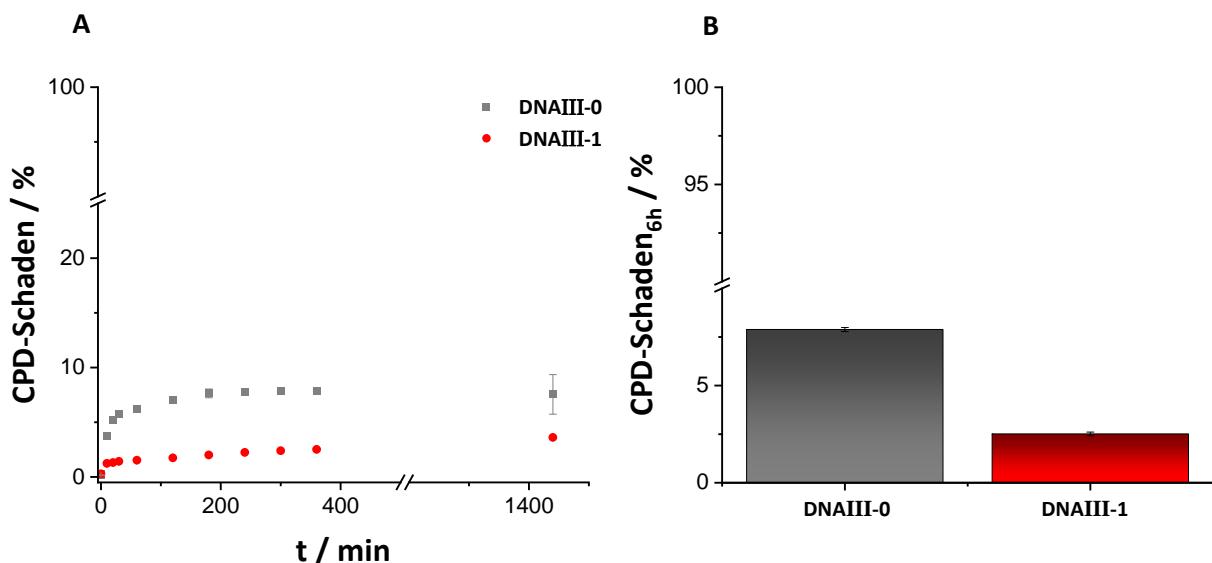


Abbildung 36: A) Zeitabhängige CPD-Ausbeuten für die DNA-Architektur **DNAIII-0** und **DNAIII-1**. B) Aufgetragene CPD-Ausbeuten nach 6 h Belichtung für die jeweiligen Abstände der DNA-Architektur **DNAIII-0** und **DNAIII-1**.

Für **DNAIII-0** wurden nach 6 h Belichtung ICL-Ausbeuten von 9 % und für **DNAIII-1** von 12 % ermittelt (Abbildung 37). Dies steht im Einklang mit dem zuvor beobachteten Phänomen, dass die DNA-Architekturen **DNAX-0** eine Ausnahme darstellen. In diesem Fall befindet sich der Photosensibilisator in direkter Nachbarschaft zum Energieakzeptor (Thyminpaar), wodurch der angeregte Triplet-Zustand in **DNAIII-0** schneller gelöscht wird als in **DNAIII-1**. Dies würde erneut die geringere ICL Ausbeute von **DNAIII-0** erklären.

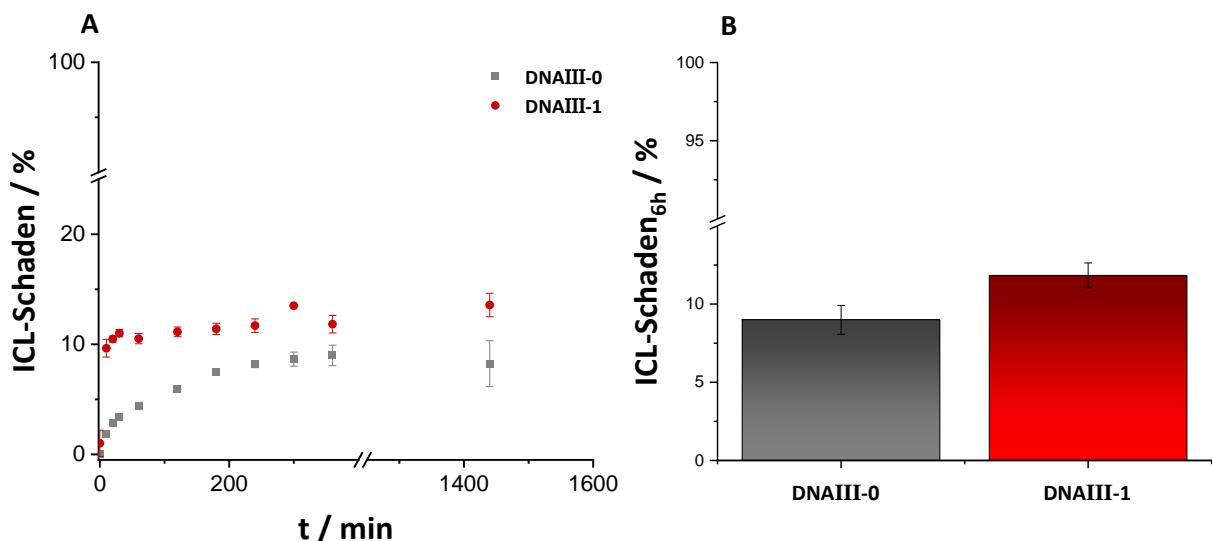


Abbildung 37: A) Zeitabhängige ICL-Ausbeuten für die DNA-Architektur **DNAIII-0** und **DNAIII-1**. B) Aufgetragene ICL-Ausbeuten nach 6 h Belichtung für die jeweiligen Abstände der DNA-Architektur **DNAIII-0** und **DNAIII-1**.

4.3.2.3 DNAIV-n

Durch die Einführung von Methoxygruppen an der 3- und 6-Position sollte die Triplettenenergie des Photosensibilisators **IV** weiter erhöht werden.^[47] Im Absorptionsspektrum des C-Nukleosids **IV** liegt das lokale Absorptionsmaximum bei 357 nm (Abbildung 38, A). Die hypsochrome Verschiebung im Vergleich zu den vorherigen Thioxanthonen **II** und **III**, weist auf eine Erhöhung der Triplettenenergie hin.^[47] Folgend wurde die **DNAIV-n** mit einer 365 nm LED belichtet. Während der Belichtung konnte bei einer Retentionszeit von 51 min ein Signal beobachtet werden, das dem **CPD**-Schaden zwischen **AS** und **GS** zugewiesen wurde (Abbildung S122). Zudem konnte bei einer Retentionszeit von 45 min die Entstehung von **ICLs** beobachtet werden (Abbildung 38, B, Abbildung S123).

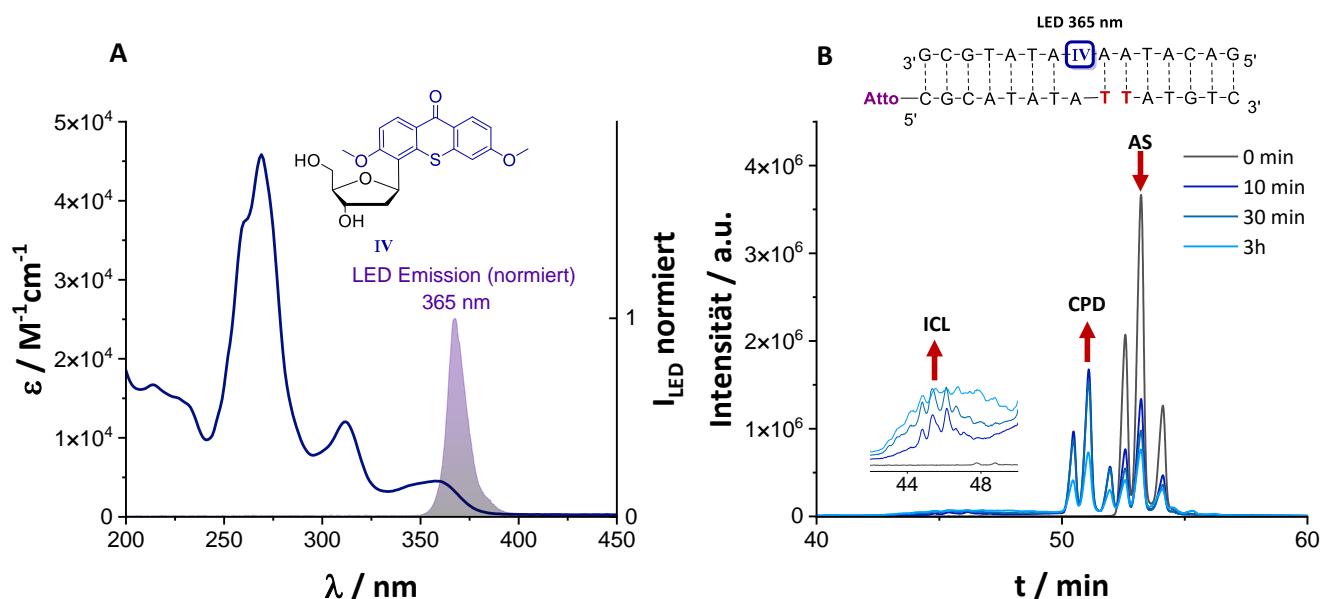


Abbildung 38: A) UV/Vis-Absorption des Thioxanthon-Nukleosids **IV** (12,5 µM in MeCN) mit dem normierten Emissionsspektrum der verwendeten 365 nm LED. B) Exemplarisches Chromatogramm des Emissionskanals der RP-HPLC von **DNAIV-0** nach 0 min, 10 min, 30 min und 3 h Belichtung mit einer 365 nm LED.

Die **CPD**-Schäden wurden erneut über die Zeit in Prozent bestimmt, sowie die **CPD**-Ausbeuten nach 6 h Belichtung in Abhängigkeit der unterschiedlichen Distanzen der DNA-Architekturen **DNAIV-n** aufgetragen (Abbildung 39). Dabei kann festgestellt werden, dass die maximale **CPD**-Ausbeute deutlich schneller erreicht wird als bei den zuvor untersuchten Photosensibilisatoren. **DNAIV-0** und **DNAIV-1** erreichen bereits nach 20 min ihre maximale **CPD**-Ausbeute von 51 % und 33 %. **DNAIV-2** erzielt nach 1 h eine maximale Ausbeute von 28 %, während **DNAIV-3** nach 24 h eine maximale Ausbeute von 14 % erreicht. Das **TX IV** könnte aufgrund des Schwefelatoms sowie der zwei zusätzlichen Methoxy-Gruppen ein effizienteres **ISC** durchlaufen, bedingt durch den Schweratomeffekt. Dies könnte die schnellere **CPD**-Bildung erklären.

Nach Erreichen der maximalen **CPD**-Ausbeute bildet sich ein Plateau, ähnlich wie bei den **DNAI-n** und **DNAIII-n** Architekturen. Bei **DNAIV-0** ist jedoch, vergleichbar mit **DNAI-0**, ein deutlicher Rückgang

Ergebnisse und Diskussion

der **CPD**-Ausbeute zu beobachten. Dieser Effekt lässt sich durch die Möglichkeit erklären, dass **CPDs** photochemisch wieder geöffnet werden können.^[126-128] Durch die Betrachtung des Reduktionspotentials ($E_{\text{Red}} = 1,20 \text{ V vs SCE}$)^[129] sowie des Oxidationspotential ($E_{\text{ox}} = 1,82 \text{ V vs SCE}$)^[129] von Photosensibilisator **IV** und der entsprechenden Potentiale des **CPD**-Schadens ($E_{\text{ox}} = 1,4 - 1,8 \text{ V vs SCE}$, $E_{\text{red}} = -1,93 \text{ V vs SCE}$)^[117] erscheint ein Elektronentransfer-Prozess zur oxidativen **CPD**-Öffnung, analog zum Xanthin **I**, hier am wahrscheinlichsten.

Das einsetzen dieser Werte in die REHM-WELLER-Gleichung (Formel 3) ergibt für die oxidative **CPD**-Öffnung durch den Photosensibilisator **IV**:

$$\Delta G(-0,22 \text{ V}) = E_{\text{ox}}(1,6 \text{ V}) - E_{\text{red}}(-1,2 \text{ V}) - E_{\text{00}}(3,02 \text{ V})$$

Die negative freie Enthalpie verdeutlicht, dass die oxidative **CPD**-Öffnung thermodynamisch begünstigt ist. Ebenfalls erklärt der negativere ΔG -Wert im Vergleich zu Photosensibilisator **I** den ausgeprägteren Rückgang der **CPD**-Ausbeute von **DNAIV-0** im Vergleich zu **DNAI-0**. Eine reduktive **CPD**-Öffnung hingegen erscheint unwahrscheinlich. Das Einsetzen der entsprechenden Werte in die Formel 3 ergibt:

$$\Delta G(+0,73 \text{ V}) = E_{\text{ox}}(1,82 \text{ V}) - E_{\text{red}}(-1,93 \text{ V}) - E_{\text{00}}(3,02 \text{ V})$$

Der positive ΔG -Wert deutet darauf hin, dass die reduktive **CPD**-Öffnung unter diesen Bedingungen nicht abläuft.

Es wird ein Gleichgewicht zwischen der Bildung und Öffnung von **CPDs** vermutet, wobei das Gleichgewicht auf der Seite der **CPD**-Bildung liegt. Bei hohen **CPD**-Konzentrationen könnte daher nur ein geringer Anteil der **CPDs** durch Elektronentransfer geöffnet werden. Ein weiterer möglicher Mechanismus zur Öffnung der **CPDs** ist der Elektronentransfer ausgehend von Guanin (**G**). Guanin ist in der Lage, nach Anregung **CPDs** reduktiv zu öffnen.^[127] In den hier untersuchten DNA-Architekturen ist Guanin im Gegenstrang (**GS**) nur zwei **AT**-Basenpaare vom **CPD**-Schaden entfernt, was einen solchen Elektronentransfer ermöglichen könnte. Allerdings ist eine direkte Anregung von Guanin bei der verwendeten Wellenlänge von 365 nm unwahrscheinlich.

Die Ergebnisse deuten insgesamt darauf hin, dass der durch **TTET** induzierte **CPD**-Schaden nicht irreversibel entsteht. Wäre dies der Fall, müsste die **CPD**-Ausbeute über die Zeit kontinuierlich ansteigen. Stattdessen zeigt sich, dass die **CPD**-Bildung in einem dynamischen Gleichgewicht mit anderen Prozessen steht, einschließlich der möglichen Öffnung von **CPDs** durch Elektronentransfer.

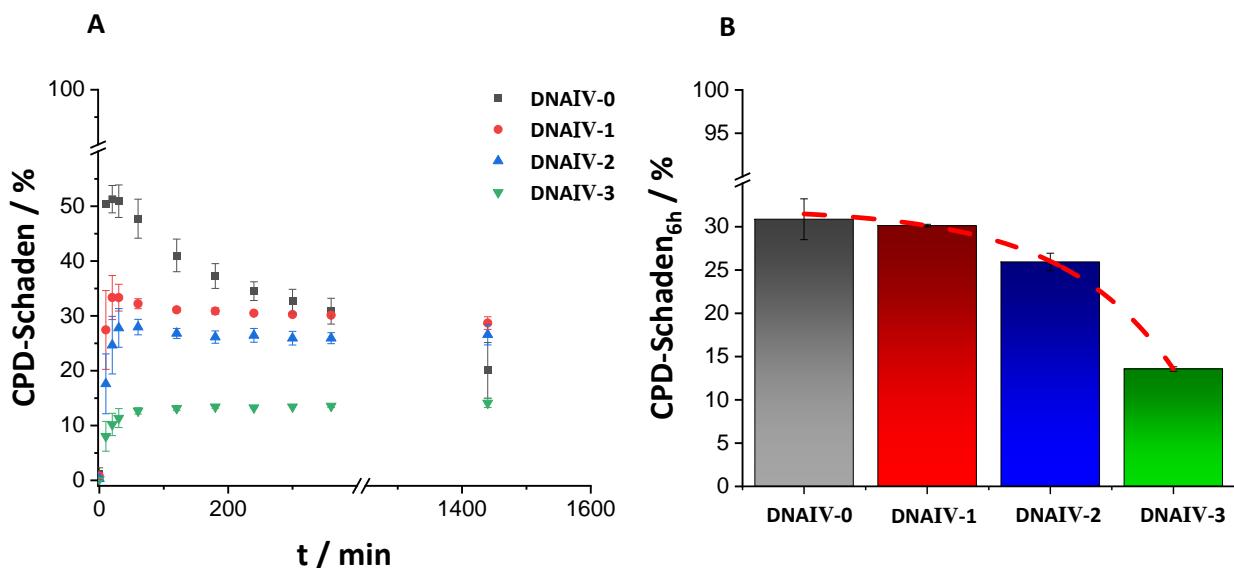


Abbildung 39: A) Zeitabhängige CPD-Ausbeuten für die DNA-Architektur **DNAIV-n**. B) Aufgetragene CPD-Ausbeuten nach 6 h Belichtung für die jeweiligen Abstände der DNA-Architektur **DNAIV-n**.

Darüber hinaus scheint der **TTET** bei einem Abstand von bis zu vier **AT**-Basenpaaren im Vergleich zu **DNAI-0** effizienter zu sein, da keine starke Distanzabhängigkeit nach 6 h Belichtung zu beobachten ist (Abbildung 39, B). Bei der längeren Distanz (6-AT-Basenpaare, **DNAIV-3**) konnte eine Reduktion von 48 % an CPD-Ausbeute nach 6 h Belichtung beobachtet werden. Eine ähnliche, über größere Distanzen sigmoidale Distanzabhängigkeit konnte ebenfalls in der Literatur mit dem Photosensibilisator 3-Methoxyxanthon beobachtet werden, wobei gegen einen Triplettennergie- und Elektronentransfer argumentiert wurde, da das verwendete Xanthon Fluoreszenz zeigt und keine exponentielle Abhängigkeit beobachtet wurde. Für kürzere Distanzen wurde ein kohärenter Mechanismus postuliert, bei dem der Energietransfer zwischen den DNA-Basen auf der ultraschnellen Zeitskala (ps) stattfindet, und für größere Distanzen ein inkohärenter Energie-Hüpfmechanismus.^[77]

Es ist bekannt, dass Thioxanthon in polaren Lösungsmitteln auch Fluoreszenz zeigt, wobei mit steigender Polarität und Protizität des Lösungsmittels die Fluoreszenzquantenausbeute steigt.^[130] Somit ist nicht auszuschließen, dass der Photosensibilisator **IV** in wässriger Lösung auch Fluoreszenz zeigt. U. E. STEINER et al. konnten am Beispiel von Thioxanthon, das über unterschiedlich lange Linker kovalent an eine photolabile Schutzgruppe angebracht wurde, in Methanol zeigen, dass analog zum Xanthon^[131, 132] verzögerte Fluoreszenz auftreten kann.^[133] Dies tritt auf, wenn der $^1\pi\pi^*$ - und der $^3n\pi^*$ -Zustand nahezu isoenergetisch liegen, sodass eine schnelle Interkombination (**ISC**) in beide Richtungen möglich ist. In einem langsameren Prozess kann der $^3n\pi^*$ -Zustand durch **IC** in den energetisch niedrigeren $^3\pi\pi^*$ -Zustand übergehen. Diese Art der verzögerten Fluoreszenz ist als thermisch aktivierte verzögerte Fluoreszenz (**TADF**) bekannt und beruht darauf, dass durch thermische Energie der Triplett-Zustand erneut in den Singulett-Zustand überführt werden kann, wodurch eine

Ergebnisse und Diskussion

spätere Fluoreszenzemission beobachtet werden kann. Da **DNAIV-n** in einer polareren, wässrigen Lösung vorliegt, wird der $^3n\pi^*$ -Zustand energetisch weiter angehoben, wodurch dieser womöglich nicht mehr zugänglich ist. Infolgedessen erfolgt die **ISC** in den $^3\pi\pi^*$ -Zustand, wodurch verzögerte Fluoreszenz unwahrscheinlich scheint.

Im Vergleich zu 3-Methoxyxanthon wurde eine schnelle **CPD**-Bildung beobachtet, wobei sich schon nach 30 min ein Gleichgewicht einstellt, während die **CPD**-Ausbeute beim 3-Methoxyxanthon über mehr als 6 h kontinuierlich steigt.^[77, 108] Zusätzlich konnte durch die gezielte Erhöhung der Triplettennergie der Photosensibilisatoren **II**, **III** und **IV** gezielt **CPDs** induziert werden. Somit lässt sich bei **DNAIV-n** die **CPD**-Bildung auf Triplett-Photochemie zurückführen. Wenn nach 20 min Belichtung die maximale **CPD**-Ausbeute gegen die Distanzen der DNA-Architekturen **DNAIV-n** aufgetragen wird, kann eine schwache exponentielle Distanzabhängigkeit festgestellt werden mit einem β -Wert von $0,02 \text{ \AA}^{-1}$ (Abbildung 40). Dieser Wert ist erstaunlich niedrig für einen **DEXTER-TTET** und deutlich geringer als der β -Wert von **DNAI-n** ($0,1 \text{ \AA}^{-1}$), was auf einen effizienteren Energietransfer hinweist.

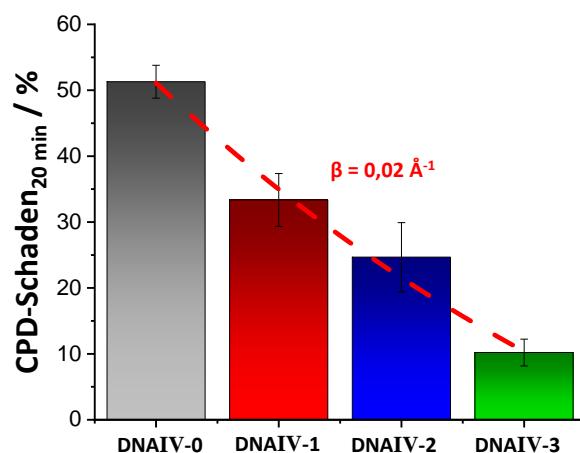


Abbildung 40: Aufgetragene **CPD**-Ausbeuten nach 20 min Belichtung für die jeweiligen Abstände der DNA-Architektur **DNAIV-n** ergibt eine exponentielle Abstandsabhängigkeit mit einem β -Wert von $0,02 \text{ \AA}^{-1}$.

Da die verwendeten Photosensibilisatoren alle an der gleichen Stelle in die DNA-Architektur eingebaut wurden, können strukturelle Eigenschaften der DNA, welche die Distanzabhängigkeit beeinflussen, ausgeschlossen werden. Somit sollte die unterschiedliche Distanzabhängigkeit des Energietransfers in den DNA-Architekturen durch unterschiedliche photophysikalische Eigenschaften und energetische Lagen der angeregten Zustände der verwendeten Photosensibilisatoren erklärt werden. Photosensibilisator **I** besitzt mit 310 kJ/mol eine höhere Triplet-Energie und erzielt somit auch die höchsten **CPD**-Ausbeuten von über 60 %, jedoch nur für **DNAI-0**. Bei weiteren Distanzen fällt die **CPD**-Ausbeute exponentiell. Photosensibilisator **IV** scheint mit seiner niedrigeren Triplet-Energie von 298 kJ/mol^[47] einen effizienteren **TTET** über Distanzen von bis zu vier **AT**-Basenpaaren zu ermöglichen.

Ergebnisse und Diskussion

Wahrscheinlich erfolgt der Energietransfer über einen Hüpfmechanismus, bei dem die Triplettennergie von Thymin zu Thymin weitergegeben wird. Voraussetzung dafür ist, dass die Triplettennergie des Photosensibilisators ausreichend hoch ist ($>282 \text{ kJ/mol}$) und der **TTET** auf Thymin nahezu irreversibel verläuft ($\Delta E_T = \geq 12 \text{ kJ/mol}$).^[43] Dies trifft auf die **DNAI-n** und **DNAIV-n** Architekturen zu und zeigt sich in den niedrigen β -Werten. Die höheren **CPD**-Ausbeuten von **DNAIV-1**, **DNAIV-2** und **DNAIV-3** im Vergleich zu den **DNAI-n** Architekturen könnte auf Unterschiede in den angeregten Zuständen der Photosensibilisatoren zurückzuführen sein. Während der **TTET** von **IV** aus dem $^3\pi\pi^*$ -Zustand erfolgt, könnte er bei **I** aus dem $^3n\pi^*$ -Zustand erfolgen, was möglicherweise eine geringere Effizienz zur Folge hat. Zudem zeigte sich, dass bei der **CPD**-Bildung ein dynamisches Gleichgewicht aus **CPD**-Bildung und **CPD**-Öffnung vorliegt. Eine bevorzugte **CPD**-Öffnung auf kurze Distanzen, welche exponentiell stärker abnimmt als die Abnahme der **CPD**-Bildung, könnte die beobachtete Distanzabhängigkeit für **DNAIV-n** ebenfalls erklären.

Zuvor konnte bei **DNAI-n** gezeigt werden, dass sowohl Intrastrang-Energietransfer als auch Interstrang-Energietransfer stattfinden und zur **CPD**-Bildung führen kann. A. VOITYUK et al. berechneten, dass der Intrastrang-**TTET** von Thymin zu Thymin über ein dazwischen liegendes Adenin, vermittelt durch Superaustausch-Kopplung, bevorzugt wird, verglichen mit dem Interstrang-**TTET** zwischen aufeinanderfolgenden Thymin-Basen. Sie schlugen vor, dass der Austausch eines **AT**-Basenpaares gegen ein **CG**-Basenpaar weitere Einblicke liefern könnte, ob dieser Superaustausch-**TTET**-Mechanismus auch für andere Sequenzen relevant ist. Zudem vermuteten sie, dass der Intrastrang-Energietransfer ebenfalls über andere Basen, wie z.B. Guanin, erfolgen kann.^[78]

In einem Kontrollexperiment wurde für **DNAIV-2** ein modifizierter DNA-Strang synthetisiert: die DNA-Architektur **DNAIV-2_{KtrG/C}**, in der ein **AT**-Basenpaar durch ein **CG**-Basenpaar ersetzt wurde (Abbildung 41). In diesem Fall war nur Intrastrang-**TTET** möglich, sodass der **TTET** von Thymin zu Thymin über eine dazwischenliegende Cytosin-Base erfolgen musste.

Ergebnisse und Diskussion

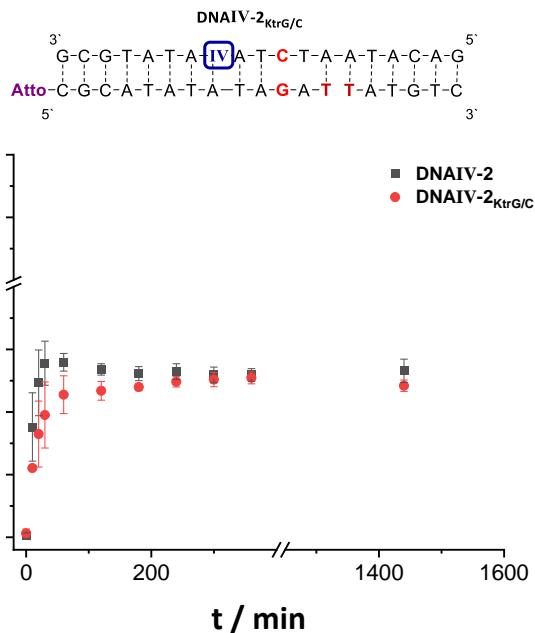


Abbildung 41: Zeitabhängige CPD-Ausbeuten für die DNA-Architektur **DNAIV-2** im Vergleich zur DNA-Architektur **DNAIV-2_{KtrG/C}**.

Tatsächlich wurde auch für **DNAIV-2_{KtrG/C}** CPD-Schäden beobachtet, die in einem ähnlichen Bereich wie bei **DNAIV-2** lagen. Dies zeigt deutlich, dass der TTET-Hüpfmechanismus über Intrastrang-Energietransfer verläuft und sowohl über ein Adenin als auch über ein Cytosin erfolgen kann.

Für die ICL-Ausbeuten wurde für **DNAIV-n** keine Distanzabhängigkeit beobachtet. Ebenfalls ist hier auch kein signifikanter Unterschied zwischen **DNAIV-0** und den anderen Distanzen zu beobachten. Es konnten ICL-Ausbeuten zwischen 15 % und 17 % nach 6 h Belichtung ermittelt werden (Abbildung 42).

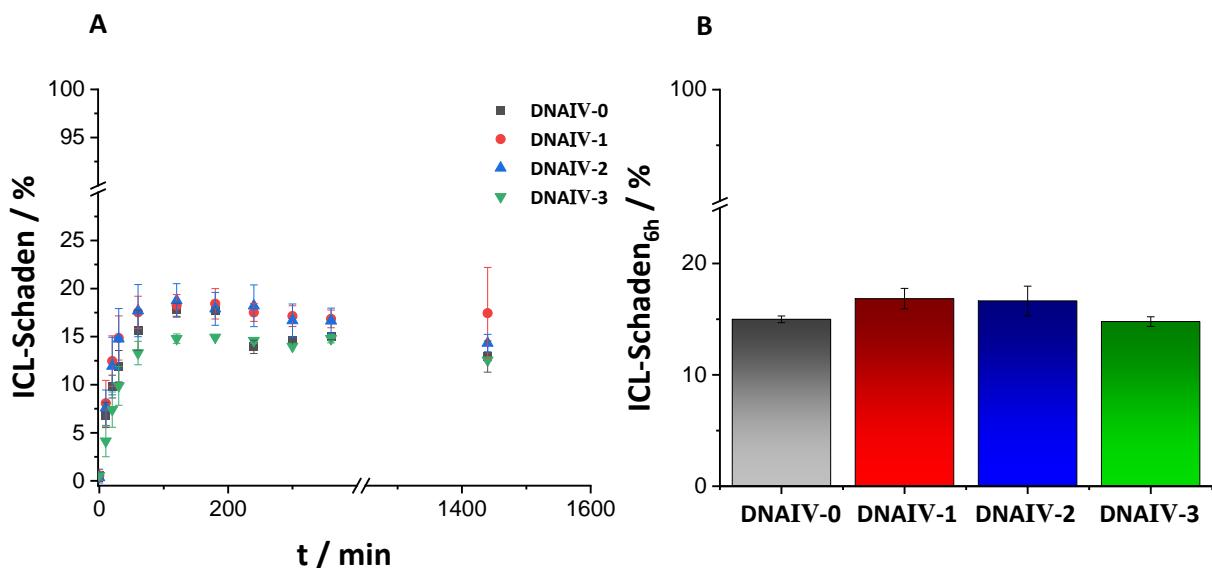


Abbildung 42: A) Zeitabhängige ICL-Ausbeuten für die DNA-Architektur **DNAIV-n**. B) Aufgetragene ICL-Ausbeuten nach 6 h Belichtung für die jeweiligen Abstände der DNA-Architektur **DNAIV-n**.

4.3.3 Acridon als Photosensibilisator

Acridon besitzt in polarem Lösungsmittel eine sehr geringe **ISC**-Quantenausbeute ($\Phi_{ISC} = 0,014$) und zeigt fast ausschließlich nur Fluoreszenz.^[52] Acridon besitzt eine Singulett-Energie von 292 kJ/mol^[52] und eine Triplet-Energie von 252 kJ/mol^[45]. Aufgrund der geringen **ISC**-Quantenausbeute sowie der geringen Triplet-Energie sind keine **CPDs** durch **TTET** zu erwarten. Jedoch sollte überprüft werden, ob Acridon über einen Singulett-Energietransfer zu **CPDs** führt.

Das Acridon-Nukleosid besitzt ein lokales Absorptionsmaximum von 392 nm und wurde mit einer 385 nm LED belichtet (Abbildung 43, A). Dabei wurden über die Zeit keine DNA-Schäden mittels RP-HPLC für **DNAV-0** und **DNAV-1** beobachtet, was aufgrund einer zu niedrigen Triplet-Energie zurückzuführen ist. Ebenfalls konnten keine **ICLs** nachgewiesen werden. Dies lässt sich aufgrund der geringen Triplet-Photochemie des Acridons zurückführen.

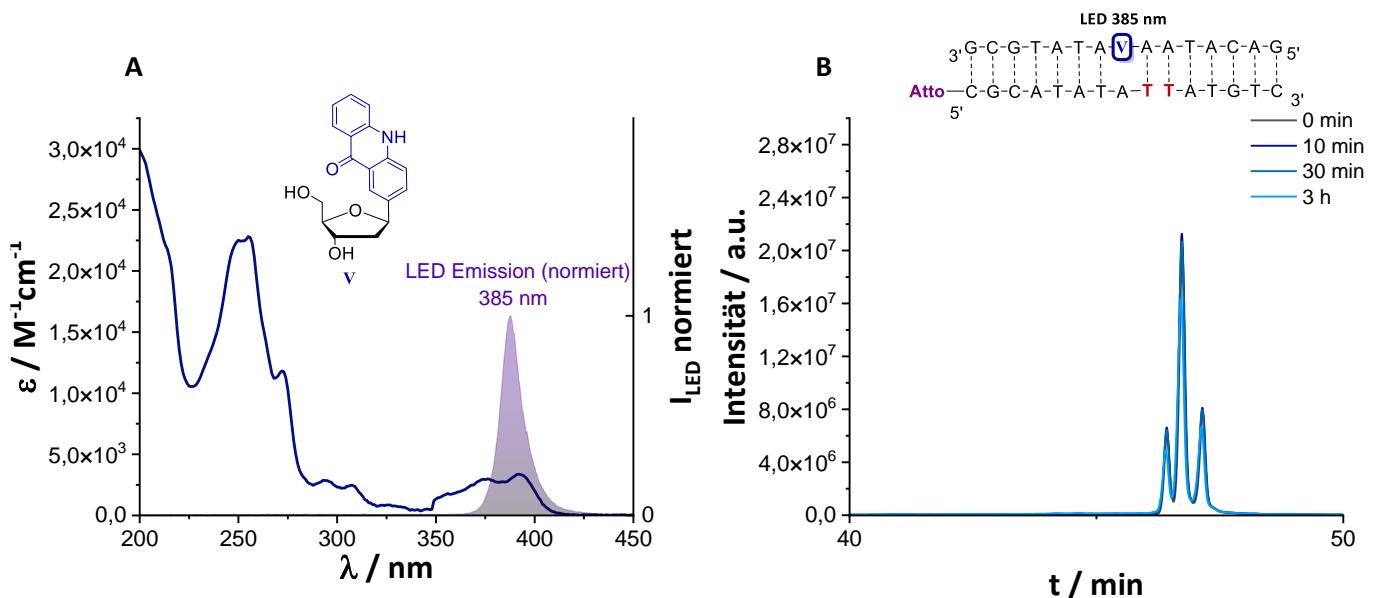


Abbildung 43: A) UV/Vis-Absorption des Acridon-Nukleosids V (12,5 µM in MeCN) mit dem normierten Emissionsspektrum der verwendeten 385 nm LED. B) Exemplarisch dargestelltes Chromatogramm des Emissionskanals der RP-HPLC von DNAV-0 nach 0 min, 10 min, 30 min und 3 h Belichtung mit einer 385 nm LED.

Die berechnete **S₁**-Energie von Thymin liegt zwischen 384 kJ/mol und 442 kJ/mol^[134], kann jedoch durch umgebungsbedingte Faktoren wie die Basenstapelung in der DNA beeinflusst werden. Da die **S₁**-Energie von Acridon (292 kJ/mol) deutlich darunter liegt, reicht sie nicht aus, um Thymin anzuregen und **CPDs** in DNA zu induzieren. Folglich konnte keine Singulett-Photochemie beobachtet werden. Zudem fehlt die notwendige spektrale Überlappung zwischen der Emission von Acridon und der Absorption von Thymin für einen effizienten **FRET**.

Acridon findet breite Anwendung in der medizinischen Chemie, unter anderem als DNA-Interkalator, Endonuklease-Nachahmer, P-Glykoprotein-Inhibitor zur Bekämpfung der Multiresistenzen sowie als

Ergebnisse und Diskussion

auch Enzyminhibitor.^[135] Umso wichtiger ist die Erkenntnis, dass Acridon unter Lichteinwirkung nicht unerwünscht als Photosensibilisator mit DNA interagiert und Schäden verursacht. Diese Eigenschaft macht es besonders geeignet für biologische und therapeutische Anwendungen, ohne das Risiko photogener DNA-Schäden einzugehen.

4.3.4 Zusammenfassung der Experimente

Die Photochemie der fünf verschiedenen Photosensibilisatoren **I – V**, die als C-Nukleoside in die DNA eingebaut wurden, wurde hinsichtlich ihrer sensibilisierenden Wirkung auf **CPD**- und **ICL**-Schäden untersucht. Während bei Photosensibilisator **II** und **V** keine **CPD**-Schäden beobachtet wurden, konnte bei den Photosensibilisatoren **I**, **III** und **IV** **CPD**-Schäden nachgewiesen werden. Diese hatten gemeinsam, dass sich nach einem schnellen Anstieg an **CPD**-Schaden ein Plateau bildet. Dieses kann durch ein sich einstellendes Gleichgewicht zwischen **CPD**-Bildung und **CPD**-Öffnung erklärt werden. Ebenfalls ist zu beobachten, dass die maximale **CPD**-Ausbeute mit steigender Triplet-Energie zunimmt. So erreichte der Triplet-Sensibilisator **I** mit einer Tripletenergie von 310 kJ/mol^[103] eine maximale **CPD**-Ausbeute von 73 %, während Photosensibilisator **IV** mit einer Tripletenergie von 298 kJ/mol^[47] eine maximale Ausbeute von 51 % erreichte. Die Tripletenergie von Photosensibilisator **III** kann aufgrund des lokalen Absorptionsmaximums von 375 nm zwischen 268 kJ/mol und 277 kJ/mol^[47] abgeschätzt werden und erreicht eine maximale **CPD** Ausbeute von 8 %. Dies deutet ebenfalls auf ein Gleichgewicht hin, bei dem durch die Erhöhung der Tripletenergie das Gleichgewicht auf die Seite des **CPD**-Schadens verschoben wird. Der Vergleich mit den in der Literatur beschriebenen **CPD**-Ausbeuten der zur **CPD**-Bildung verwendeten Triplet-Sensibilisatoren Triphenylen^[108], 4-Methylbenzophenon^[37] und 4-Methoxybenzophenon^[37] zeigt eine gute Übereinstimmung mit der hier beschriebenen Abhängigkeit der **CPD**-Bildung. Ebenso passen die Ergebnisse zu dem von MIRANDA et al. bestimmten Wert für die Tripletenergie von Thymin (270 kJ/mol)^[75] (Abbildung 42). Dieser Wert gibt die untere Grenze an, ab der **CPD**-Schäden detektiert werden können. Die geringe Distanzabhängigkeiten von **DNAI-n** ($\beta = 0,1 \text{ \AA}$) und **DNAIV-n** ($\beta = 0,02 \text{ \AA}$) lässt sich durch einen Energiewechselmechanismus erklären, bei dem die Triplet-Energie durch Intrastrang-Energietransfer (k_{intra}) und Interstrang-Energietransfer (k_{inter}) zwischen Thyminen weitergegeben wird und ein Gleichgewicht bildet (Abbildung 44, oben).

Ergebnisse und Diskussion

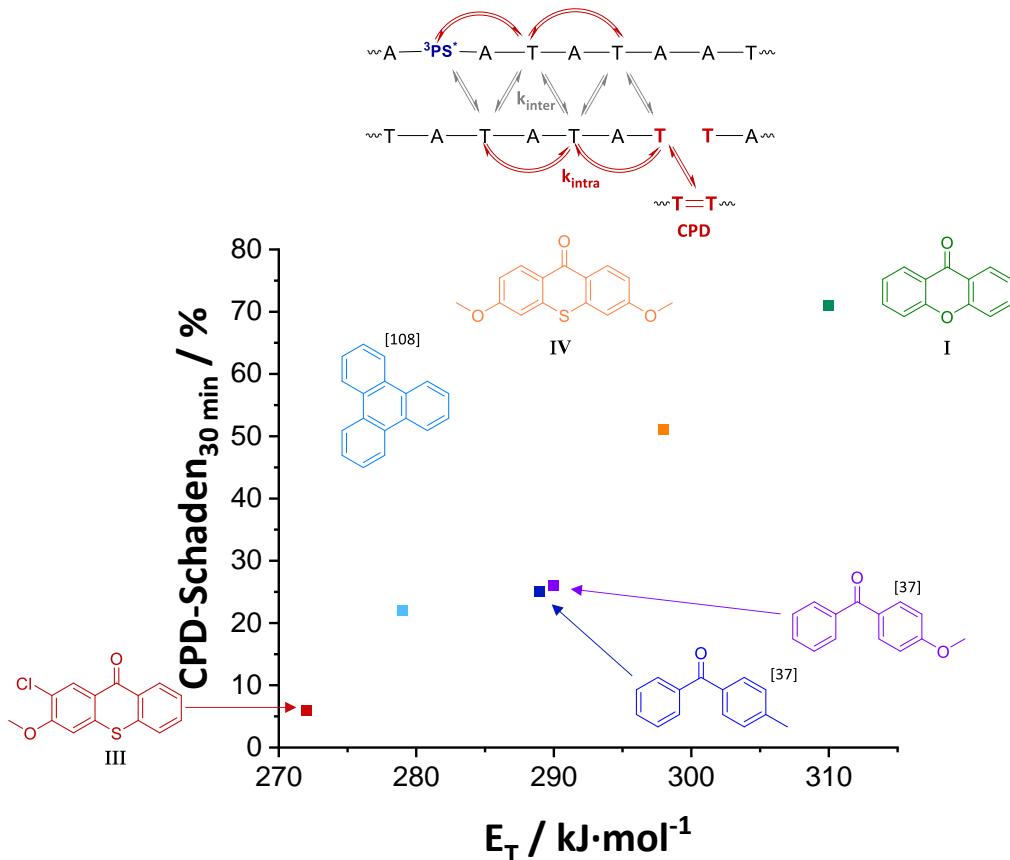
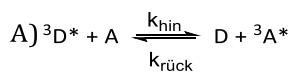


Abbildung 44: Oben: Postulierter Energietransfer-Pfad zwischen Photosensibilisator (**PS**) und Thymin sowie zwischen den Thyminen in DNA durch Intrastrang-Energietransfer (k_{intra} , rot) und Interstrang-Energietransfer (k_{inter} , grau), welcher zur Bildung von **CPDs** führt. Unten: Abhängigkeit der **CPD**-Ausbeute nach einer Belichtungszeit von 30 min von der Triplet-Energie des Photosensibilisators.

TTET kann ein Gleichgewicht zwischen Donor (**D**) und Akzeptor (**A**) bilden, was unter anderem am Beispiel von Nukleotiden nachgewiesen wurde (Formel 3, A).^[136] Die Triplette-Energie-Transferrate (k_{EnT}) zwischen zwei Triplett-Zuständen und damit das Gleichgewicht der Konzentrationen der angeregten Triplett-Zustände ist dabei nur von der Triplett-Energiedifferenz (ΔE_T) abhängig und wird durch die SANDRO-Gleichung beschrieben (Formel 3, B).^[137] Dabei ist k_{max} die maximale Geschwindigkeitskonstante für das System und hängt von Faktoren wie z.B. Orbital Überlappung, Distanz und elektronischer Kopplung ab.



$$\text{B}) k_{\text{EnT}} = \frac{k_{\text{max}}}{e^{\Delta E_T/RT} + 1}$$

Formel 4: A) Gleichgewicht zwischen Triplett-Energie Donor (**D**) und Triplett-Energie-Akzeptor (**A**) mit den Geschwindigkeitskonstanten k_{hin} und $k_{\text{rück}}$. B) Geschwindigkeitskonstante für Energietransfer (k_{EnT}) in Abhängigkeit der maximalen Geschwindigkeitskonstante (k_{max}) und der Triplett-Energiedifferenz zwischen **D** und **A** (ΔE_T).^[137]

Ergebnisse und Diskussion

Bei isoenergetischen Triplettenenergien, wie sie zwischen den Thyminen in der DNA vorliegen, gilt also $k_{\text{hin}} = k_{\text{rück}} = k_{\max}/2$, so dass der **TTET**-Mechanismus zwischen den Thyminen, wie vermutet, im Gleichgewicht ist.^[136] Bei **CPD**-Bildung wird der angeregte Triplet-Zustand gelöscht, wodurch sich das Gleichgewicht in Richtung des **CPD**-Schadens verschiebt. Zudem geht aus Formel 3 hervor, dass je höher ΔE_T ist, desto geringer ist die Rückreaktion $k_{\text{rück}}$.

Der in die DNA eingebaute Photosensibilisator wird selektiv angeregt, sodass seine Triplet-Energie entscheidend dafür ist, ob **CPDs** induziert werden können. Je höher die Triplettennergie des Photosensibilisators und je größer ΔE_T zwischen Sensibilisator und Thymin ist, desto stärker verschiebt sich das Gleichgewicht zugunsten des angeregten Thymins. Dies führt, wie die Experimente zeigen, zu einer höheren **CPD**-Ausbeute. Die Ergebnisse deuten also auf ein Gleichgewicht hin, das durch die Höhe der Triplet-Energie des Photosensibilisators beeinflusst wird. Darüber hinaus begünstigt die kovalente Bindung von Donor (Photosensibilisator) und Akzeptor (Thymin) in der DNA sowie deren direkte Interaktion durch $\pi\pi$ -Stapelwechselwirkungen eine permanente Orbitalüberlappung, die dieses **TTET**-Gleichgewicht weiter begünstigt.

Die unterschiedliche Distanzabhängigkeit von Photosensibilisator **IV** im Vergleich zu Photosensibilisator **I** könnte auf eine bessere elektronische Kopplung zurückzuführen sein, die zu einem effizienteren Energietransfer führt. Dies würde auch die deutlich schnellere **CPD**-Bildung von **DNAIV-n** erklären.

Thioxanthon wird nach Anregung in den $^1\pi\pi^*$ -Zustand überführt, welcher aufgrund des polaren Lösungsmittels energetisch am niedrigsten liegt.^[48, 125, 138] Von dort aus erfolgt **ISC** nach EL SAYED, wenn energetisch möglich, in den $^3n\pi^*$ -Zustand.^[33] Dieser kann durch **IC** in den $^3\pi\pi^*$ -Zustand übergehen, wobei der Prozess langsamer verläuft.^[133] In den DNA-Architekturen **DNA-n** sind die Photosensibilisatoren kovalent in den DNA-Basenstapel integriert, wodurch bei passender Triplet-Energiedifferenz ein schneller **TTET** auf die umliegenden Thymine wahrscheinlich ist. Somit sollte, wenn der $^3n\pi^*$ -Zustand aus dem $^1\pi\pi^*$ -Zustand energetisch erreichbar ist, der **TTET** in den DNA-Architekturen aus dem $^3n\pi^*$ -Zustand erfolgen. Falls jedoch der $^3n\pi^*$ -Zustand energetisch zu hoch liegt, erfolgt der **TTET** aus dem $^3\pi\pi^*$ -Zustand. Dies könnte aufgrund einer verstärkten elektronischen Kopplung zu einem effizienteren **TTET** führen, da in der DNA auch angeregte $\pi\pi^*$ -Zustände für den Energietransfer verantwortlich sind.^[139]

Experimente in Methanol zeigen, dass Thioxanthon eine verzögerte Fluoreszenz aufweist.^[133] Ein solches Gleichgewicht zwischen Singulett- und Triplet-Zustand kann nur auftreten, wenn die Energien nahezu isoenergetisch sind und nach EL SAYED eine Änderung der Orbitalcharakteristik stattfindet. Untersuchungen in Methanol belegen, dass Thioxanthon aus dem $^1\pi\pi^*$ -Zustand über **ISC** in den $^3n\pi^*$ -

Ergebnisse und Diskussion

Zustand übergeht.^[133, 140] Unter der Annahme, dass sich die relativen Energien der angeregten Zustände in **TX IV** ähnlich verhalten, sollte der $^3n\pi^*$ -Zustand in wässriger Lösung durch die polarere Umgebung weiter angehoben werden. Dadurch wäre dieser energetisch nicht mehr zugänglich, sodass stattdessen ein **ISC** in den energetisch niedrigeren $^3\pi\pi^*$ -Zustand erfolgt. Zusätzlich können elektronenschiebende Gruppen, wie die methoxy-Gruppen in **IV**, den $^3\pi\pi^*$ -Zustand weiter stabilisieren und gleichzeitig den $^3n\pi^*$ -Zustand destabilisieren.^[44] Dies macht den **TTET** aus dem $^3\pi\pi^*$ -Zustand für **DNAIV-n** wahrscheinlich.

Xanthon hingegen zeigte in Wasser verzögerte Fluoreszenz, was auf ein schnelles Gleichgewicht zwischen dem $^1\pi\pi^*$ - und $^3n\pi^*$ -Zustand hinweist.^[132] Somit ist wahrscheinlich, dass der **TTET** in **DNAI-n** in wässriger Umgebung über den $^3n\pi^*$ -Zustand verläuft

Dies könnte die unterschiedlichen Distanzabhängigkeiten der **DNAI-n** und **DNAIV-n** erklären, wobei bei **DNAI-n** der **TTET** aus dem $^3n\pi^*$ -Zustand erfolgt und bei **DNAIV-n** aus dem $^3\pi\pi^*$ -Zustand. Zudem könnte die Verknüpfung an 4-Position des Photosensibilisators **IV** von Vorteil sein, wobei eine bessere Integrierung in den Basenstapel denkbar wäre.

4.4 Messungen der transienten Absorption

Zur Stützung der Hypothesen und zum direkten Nachweis eines Triplett-Energietransfers in der DNA wurden transiente Absorptionsmessungen vorgenommen. Diese wurden von T. J. B. ZÄHRINGER durchgeführt und in Zusammenarbeit mit C. KERZIG ausgewertet. Die Abbildungen der transienten Absorptionsspektren wurden von T. J. B. ZÄHRINGER zur Verfügung gestellt.

Für die Untersuchung des **TTET** wurden Thioxanthon (**TX**) als Triplett-Energiedonor und Naphthalin (**Ntl**) als Energieakzeptor in Form von C-Nukleosiden in komplementäre DNA-Einzelstränge eingebaut. Die Donor- und Akzeptor-Moleküle wurden dabei in drei verschiedenen, definierten Abständen ($n = 0 - 2$) zueinander platziert. Durch Hybridisierung dieser modifizierten Einzelstränge entstanden die DNA-Doppelstränge **DNATX/Ntl-n**. Ebenfalls wurden jeweils als Referenz eine Probe ohne **Ntl** als Energieakzeptor (**DNATX-n**) vorbereitet. Um sicherzustellen, dass die gemessenen Signale auf den Energietransfer zwischen **TX** und **Ntl** zurückzuführen sind, wurden Kontrollmessungen durchgeführt. Hierfür wurde eine DNA-Probe verwendet, die weder **TX** noch **Ntl** enthielt, um mögliche Hintergrundsignale der DNA auszuschließen. Darüber hinaus wurden Proben nur mit **Ntl** als Energieakzeptor gemessen, um unspezifische Anregungen auszuschließen. Eine Kontrollmessung des DNA-Einzelstrangs mit **TX** sollte Nebenprodukte ausschließen (Abbildung 45). Die Kontrollmessungen ohne **TX** als Energiedonor, zeigten keine Signale, wodurch unspezifische Anregungen ausgeschlossen werden können (Abbildung S2).^[141]

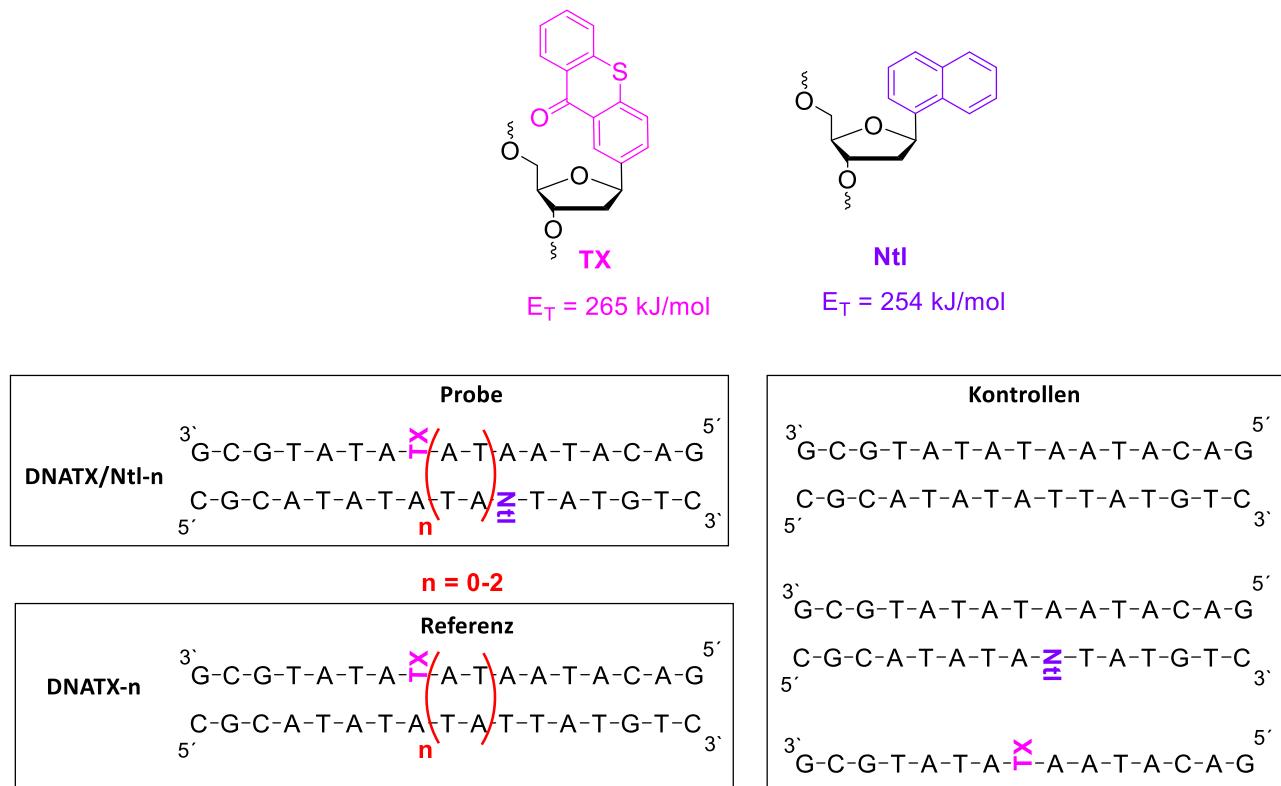


Abbildung 45: Darstellung der mittels transienter Absorption untersuchte DNA-Doppelstränge mit den eingebauten Chromophoren Thioxanthon (**TX**) und Naphthalin (**Ntl**).

4.4.1 Referenzmessung von Thioxanthon und Naphthalin in Lösung

Zum Vergleich wurde für die DNA-Proben **DNATX/Ntl-n** und **DNATX-n** die transiente Absorption von **TX** in Lösung untersucht, sowohl ohne als auch mit **Ntl** als Triplett-Energieakzeptor. Nach Anregung geht **TX** nahezu quantitativ und unmittelbar in den Triplett-Zustand über. Dies zeigt sich in der transienten Absorption durch charakteristische Maxima bei 320 nm und 625 nm sowie einem Grundzustandsbleichen bei 380 nm. In Gegenwart von **Ntl** wird der angeregte Triplett-Zustand von **TX** effizient gelöscht und es bildet sich gleichzeitig der angeregte Triplett-Zustand von **Ntl** mit einem Absorptionsmaximum bei 410 nm (Abbildung 46). Dieser Energietransfer erfolgt aufgrund der höheren Triplett-Energie von **TX** (265 kJ/mol)^[49] im Vergleich zu **Ntl** (254 kJ/mol)^[142], was einer Energiedifferenz von $\Delta E_T = 11 \text{ kJ/mol}$ entspricht. Die natürliche Lebenszeit des angeregten Triplett-Zustands beträgt für **TX** 77 μs ^[49], während für **Ntl** eine Lebenszeit von 21,1 μs bestimmt wurde (Abbildung S3).

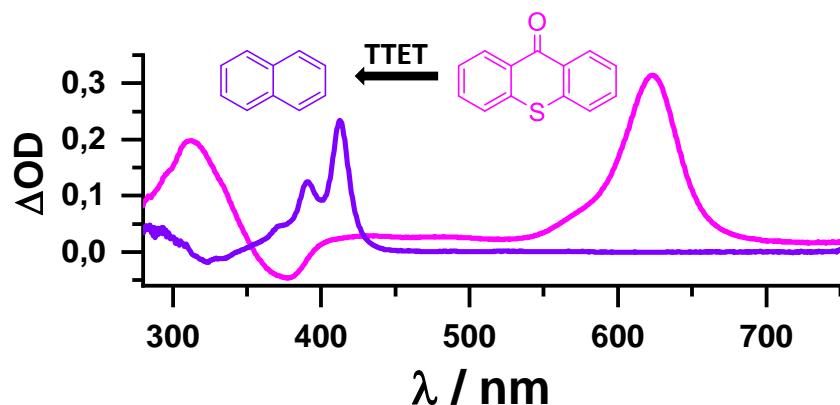


Abbildung 46: Transientes Absorptionsspektrum von 20 µM TX (pink) und zusammen in Gegenwart von 1 mM Ntl (lila) in Acetonitril. Angeregt durch einen 355 nm Laserpuls und 600 ns nach der Anregung aufgenommen.

4.4.2 Messungen der DNA-Proben

Die Absorptionsspektren der Proben **DNATX/Ntl-n** und **DNATX-n** zeigten im Vergleich zur Absorption von **TX** in Acetonitril eine starke bathochrome Verschiebung im Absorptionsspektrum (Abbildung 47). Dies kann durch eine $\pi\pi^*$ -Stabilisierung in polaren protischen Lösungsmitteln sowie durch Hybridisierung im DNA-Doppelstrang erklärt werden.^[125] Daher war eine hohe Konzentration (90 µM) der DNA-Proben erforderlich, um eine effiziente Anregung bei der Laserwellenlänge von 355 nm sowie eine empfindliche Detektion der transienten Absorption zu gewährleisten. Eine direkte Anregung von **Ntl** bei 355 nm kann ausgeschlossen werden, was zusätzlich durch die Kontrollmessungen bestätigt wurde (Abbildung S2).^[141]

Ergebnisse und Diskussion

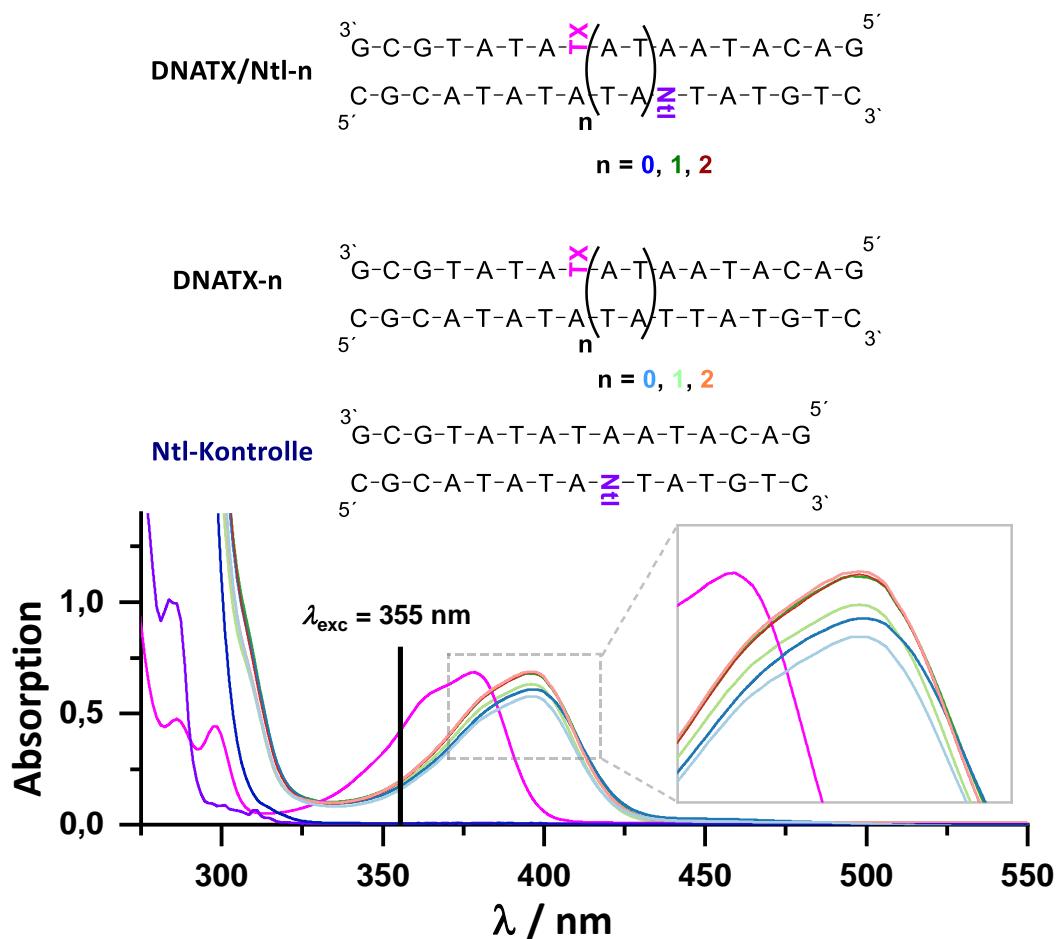


Abbildung 47: Oben: Sequenzen der DNA-Doppelstränge **DNATX/Ntl-n**, **DNATX-n** und **Ntl-Kontrolle**. Unten: UV/Vis-Absorption der Farbkodierten DNA-Doppelstränge **DNATX/Ntl-n**, **DNATX-n** und **Ntl-Kontrolle** (dunkelblau) (90 μM in 250 mM NaCl, 10 mM Na-Pi-Puffer) sowie 80 μM **TX** (pink) und 200 μM **Ntl** (lila) in Acetonitril.

4.4.2.1 Messungen DNATX/Ntl-0 und DNATX-0

Die transienten Absorptionsmessungen der Probe **DNATX-0** zeigten direkt nach Anregung (100 ns) die charakteristischen Signale des angeregten Triplet-Zustands von **TX** mit leicht verschobenen Maxima (320 nm und 612 nm) sowie das Grundzustandsbleichen bei 395 nm (Abbildung 48, A (hellblau)). Im Vergleich dazu zeigte die **DNATX/Ntl-0** ein zusätzliches Maximum bei 424 nm, das dem angeregten Triplet-Zustand des **Ntl** zugeordnet werden kann (Abbildung 48, A (dunkelblau)). Die bathochrome Verschiebung des ${}^3\text{Ntl}^*$ -Maximus wurde bereits in wässriger Lösung beobachtet. Der Verlust der Feinstruktur könnte aus der Verknüpfung des **Ntl** mit dem C-Nukleosid an der α -Position resultieren.^[143, 144] Ähnliche Beobachtungen wurden von KIEFHABER et al. gemacht: Beim Energietransfer von **TX** auf **Ntl**, das kovalent über die α -Position an ein Peptid gebunden war, wurde ein breites Maximum bei 420 nm detektiert (Abschnitt 2.3).^[55]

Ergebnisse und Diskussion

Die Lebenszeitmessungen für **DNATX-0** bei 612 nm ergaben eine Lebenszeiten von 59 μ s, was nahezu der natürlichen Lebenszeit von **TX** in Lösung (77 μ s) entspricht. Im Gegensatz dazu zeigte **DNATX/Ntl-0** eine deutlich verkürzte Lebenszeit von ca. 14 μ s. Die Lebenszeit des $^3\text{Ntl}^*$ -Maximum bei 424 nm betrug ebenfalls 14 μ s (Abbildung 48, B).

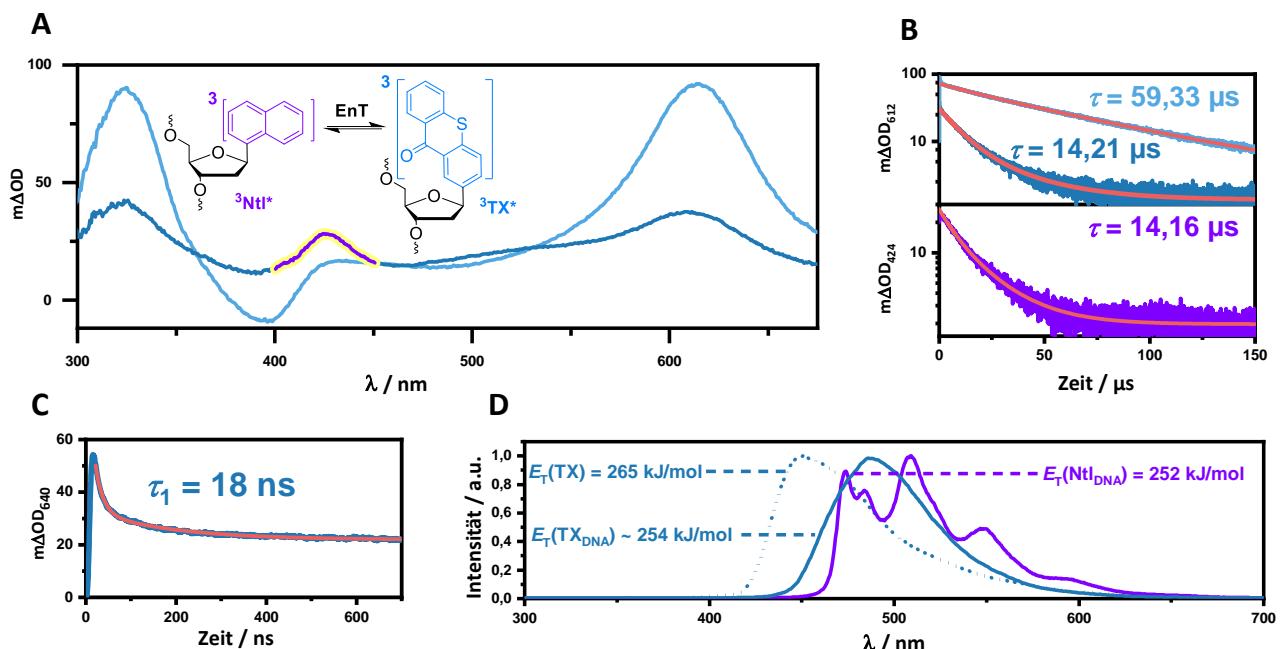


Abbildung 48: Untersuchung von **DNATX/Ntl-0** (dunkelblau) und **DNATX-0** (hellblau) mit einem 355 nm Laserpuls. **A)** Transientes Absorptionsspektrum, aufgenommen 100 ns nach der Anregung. Der angeregte Triplett-Zustand von **Ntl** ist lila hervorgehoben. **B)** und **C)** Zeitaufgelöste Messungen bei verschiedenen Wellenlängen und Zeitskalen. **D)** Zeitabhängige 77 K Phosphoreszenz von **TX** in MeCN (gestrichelte Linie) und **DNATX/Ntl-0** 10 ms – 100 ms (blau) und 5,0 s – 5,3 s (lila) nach Anregung.

Das $^3\text{Ntl}^*$ -Maximum bildete sich bereits nach 100 ns vollständig aus. Gleichzeitig wurde das $^3\text{TX}^*$ -Maximum nicht vollständig gelöscht. Dies deutet darauf hin, dass unmittelbar nach der Anregung ein sehr schneller Energietransfer von $^3\text{TX}^*$ auf **Ntl** stattfindet, bis sich ein Gleichgewicht einstellt. Diese Annahme wird durch die ähnlichen Lebenszeiten von ca. 14 μ s gestützt.

Unter der Voraussetzung, dass die relativen Extinktionskoeffizienten von $^3\text{TX}^*$ und $^3\text{Ntl}^*$ in wässriger Lösung vergleichbar sind, kann über die Intensitätsverhältnisse der Maxima die Löscheffizienz und $^3\text{Ntl}^*$ -Konzentration im Gleichgewicht abschätzt werden. Im Vergleich zu **DNATX-0** wurden 61 % des $^3\text{TX}^*$ (bei 625 nm) gelöscht, sodass 39 % verblieben, während sich gleichzeitig 43 % $^3\text{Ntl}^*$ bildeten. Somit ergab sich ein annäherndes Verhältnis von $^3\text{TX}^*/^3\text{Ntl}^* \approx 1$. Zusätzlich ist bei 525 nm eine Schulter erkennbar, die möglicherweise auf eine Nebenreaktion zurückzuführen ist und den Verlust von 18 % $^3\text{TX}^*$ erklären könnte. Dieses Nebenprodukt könnte durch radikalische Intermediate entstehen, die zu **ICLs** führen. Solche **ICLs** wurden zuvor in Belichtungsexperimenten von **DNAII-n** beobachtet. Das

Ergebnisse und Diskussion

Nebenprodukt bei 525 nm zeigte eine deutlich längere Lebenszeit als die Triplet-Zustände, was für Dublett-Zustände wie z.B. Radikale typisch wäre.

Transiente Absorptionsmessungen im Bereich von 0 – 100 ns nach Anregung wurden durch die Fluoreszenz von **TX** beeinträchtigt. Nach einer Korrektur der Fluoreszenz konnten Messungen im Bereich von 15 – 60 ns durchgeführt werden. In diesem Zeitraum wurde eine Abnahme des Maximums bei 620 nm beobachtet, während das Maximum bei 420 nm zunahm. Eine zeitaufgelöste Messung bei 640 nm ergab für das ${}^3\text{TX}^*$ eine Lebenszeit von 18 ns, bis sich das thermodynamische Gleichgewicht zwischen ${}^3\text{TX}^*$ und ${}^3\text{Ntl}^*$ einstellte (Abbildung 48, C). Im Gegensatz zu **TX** und **Ntl** in MeCN konnte ein effizienter Energierücktransfer beobachtet werden, was auf nahezu isoenergetische Triplettennergien vermuten lässt. Dies ist im Einklang mit der bathochromen Verschiebung der Absorption und Fluoreszenz von **TX** in DNA und in wässriger Lösung.

Zusätzliche Phosphoreszenzmessungen bei 77 K konnten dies bestätigen (Abbildung 48, D). Nach Anregung (100 ms) konnte eine zur Fluoreszenz rotverschobene Emission beobachtet werden, die der Phosphoreszenz des Thioxanthons zugeordnet werden kann. 5 s nach der Anregung wurde ein weiteres Emissionsspektrum aufgenommen, das eindeutig dem ${}^3\text{Ntl}^*$ zugeordnet werden kann. Anhand der Feinstruktur lässt sich der 0-0 Übergang dem ersten Maximum bei 477 nm zuordnen, was einer Triplettennergie von 252 kJ/mol entspricht, und damit 15 kJ/mol unter der Triplettennergie von **TX** in Acetonitril liegt. Das Phosphoreszenzspektrum von ${}^3\text{TX}^*$ der **DNATX/Ntl-0** Probe zeigte keine Feinstruktur, was eine exakte Bestimmung der Triplettennergie erschwert. Jedoch ist es im Vergleich zu **TX** in THF deutlich rotverschoben.^[49] Über die Fluoreszenz und Absorption von **DNATX/Ntl-0** wurde eine Singulett-Energie von 286 kJ/mol bestimmt und liegt somit 21 kJ/mol unter der **S₁**-Energie von **TX** in MeCN (307 kJ/mol). Die Abnahme der Triplettennergie folgt einem ähnlichen Trend. Da jedoch bei den Phosphoreszenzmessungen bei 77 K nur ein Energietransfer in Richtung ${}^3\text{Ntl}^*$ beobachtet wurde, ist anzunehmen, dass die Triplettennergie von ${}^3\text{TX}^*$ leicht höher als die von ${}^3\text{Ntl}^*$ ist, und der Rücktransfer bei Raumtemperatur thermisch aktiviert erfolgt.^[141]

Insgesamt stimmen die Beobachtungen gut mit dem Energietransfer von **TX** und **Ntl** in Peptiden überein: Eine Verbreiterung und bathochrome Verschiebung des ${}^3\text{Ntl}^*$ -Signals, sowie eine schnelle Einstellung des Gleichgewichts zwischen den beiden Triplet-Zuständen.^[55]

4.4.2.2 Messungen DNATX/Ntl-1 und DNATX-1

Im Gegensatz zu **DNATX/Ntl-0** wurde bei **DNATX/Ntl-1** direkt nach der Anregung (100 ns) nur das für den angeregten Triplet-Zustand des **TX** charakteristische Signal beobachtet (Abbildung 49, A). Es fällt jedoch auf, dass die gemessene Lebenszeit von **DNATX/Ntl-1** (26 μs) bei 612 nm deutlich verkürzt ist

Ergebnisse und Diskussion

im Vergleich zu **DNATX-1** ($63 \mu\text{s}$) (Abbildung 49, B). Transiente Absorptionsspektren, die nach unterschiedlichen Zeitintervallen (100 ns – $300 \mu\text{s}$) aufgenommen wurden, zeigen die langsame Bildung von ${}^3\text{NtI}^*$ bei 424 nm, wobei das ${}^3\text{NtI}^*$ -Signal 50 μs nach der Anregung deutlich erkennbar ist (Abbildung 49, A). Dies konnte ebenfalls durch kinetische Messungen bei 424 nm über eine lange Zeitskala von **DNATX/NtI-1** (lila) und **DNATX-1** (helllila) verdeutlicht werden (Abbildung 49, C). Im Vergleich zu **DNATX/NtI-0** wurde unmittelbar nach der Anregung kein schnelles Gleichgewicht zwischen ${}^3\text{TX}^*$ und ${}^3\text{NtI}^*$ beobachtet. Stattdessen wurde der angeregte Triplett-Zustand des Thioxanthons langsam gelöscht. Höchstwahrscheinlich ist die Lebenszeit von ${}^3\text{NtI}^*$ kürzer als die Bildungsgeschwindigkeit, so dass das Signal bei 424 nm nur schwach ausgeprägt ist. Ebenfalls ist vermutlich der Energie-Rücktransfer langsamer als der **TTET** und somit nicht mehr bevorzugt.

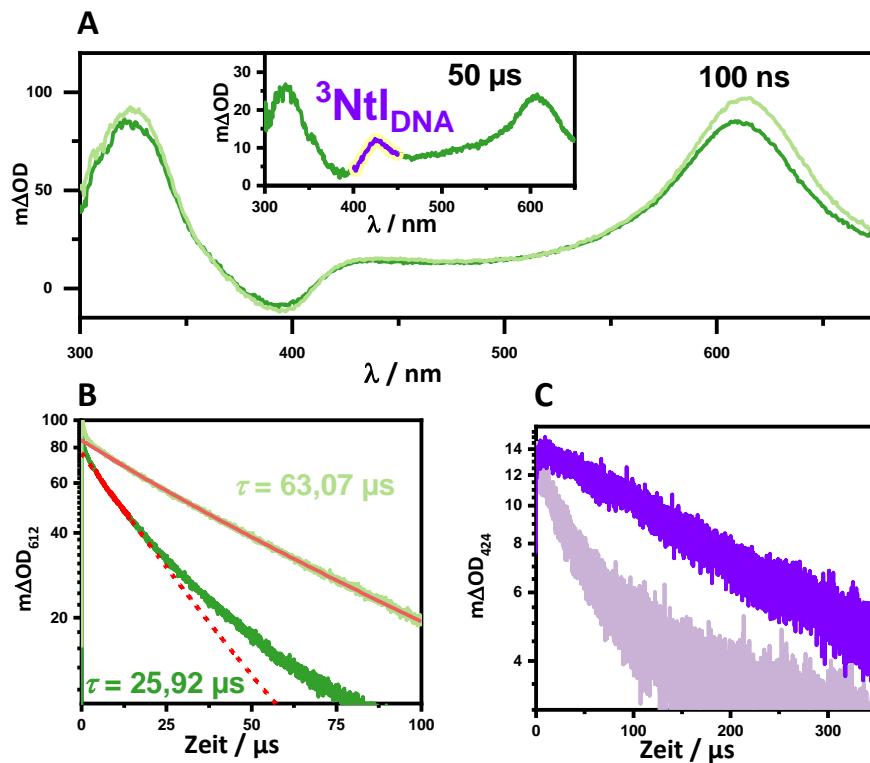


Abbildung 49: Untersuchung von **DNATX/NtI-1** (dunkelgrün) und **DNATX-0** (hellgrün) mit einem 355 nm Laserpuls. **A)** Transientes Absorptionsspektrum, aufgenommen 100 ns nach der Anregung. Einfügung: Transientes Absorptionsspektrum, aufgenommen 50 μs nach der Anregung. **B)** Zeitaufgelöste Messungen bei 612 nm. **C)** Zeitaufgelöste Messungen von **DNATX/NtI-1** (lila) und **DNATX-1** (helllila) bei 424 nm.

4.4.2.3 Messungen DNATX/NtI-2 und DNATX-2

Für **DNATX/NtI2** und **DNATX-2** zeigten die transienten Messungen im Zeitraum von 100 ns bis 1000 μs nahezu keine Unterschiede. Erneut wurde die Lebenszeit des angeregten Triplett-Zustand von **TX** in beiden Proben bei 612 nm bestimmt. Die gemessenen Triplett-Lebenszeiten waren nahezu identisch

Ergebnisse und Diskussion

und wiesen nur eine minimale Veränderung von 57,29 µs auf 57,10 µs auf. Die geringe Abweichung liegt unterhalb des experimentellen Fehlers und sollte als oberes Limit für die Bestimmung der Energietransferrate betrachtet werden. Bei dem Donor und Akzeptor Abstand von 17 Å in **DNATX/Ntl-2** wird der **TTET** vernachlässigbar klein. Aufgrund der starken Distanzabhängigkeit lässt sich auf einen direkten **DEXTER**-Energietransfer schließen.^[141]

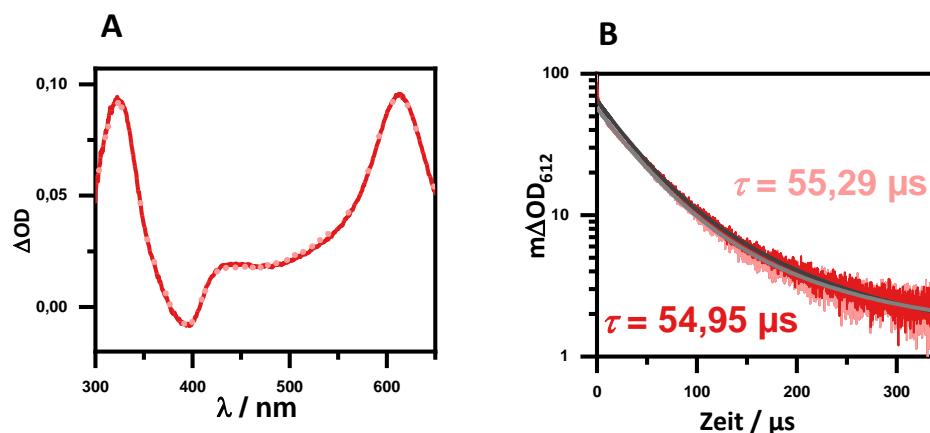


Abbildung 50: Untersuchung von **DNATX/Ntl-2** (dunkelrot) und **DNATX-2** (hellrot) mit einem 355 nm Laserpuls. **A)** Transientes Absorptionsspektrum, aufgenommen 100 ns nach der Anregung. **B)** Zeitaufgelöste Messung bei 612 nm.

4.4.2.4 Mechanismus des Energietransfers

Die Energietransferrate k_{EnT} kann mit Formel 4 bestimmt werden. Da die Bildung des beobachteten Nebenprodukts proportional zur Bildung von $^3\text{Ntl}^*$ ist, sollte das relative Verhältnis der beobachteten Lebenszeiten der Referenz **DNATX-n** und der Proben **DNATX/Ntl-n** nicht beeinflusst werden.

$$k_{EnT} = \frac{1}{\tau_{obs}} - \frac{1}{\tau_{ref}} = k_{obs} - k_{ref}$$

Formel 5: Bestimmung der Energietransferrate (k_{EnT}) mit Hilfe der gemessenen Löschkonstanten k_{obs} und k_{ref} .

Dabei ist k_{ref} ($1/\tau_{ref}$) die gemessene Löschkonstante von **DNATX-0**, **DNATX-1** bzw. **DNATX-2** und k_{obs} ($1/\tau_{obs}$) die gemessene Löschkonstante von **DNATX/Ntl-0**, **DNATX/Ntl-1** bzw. **DNATX/Ntl-2** bei 612 nm.

Tabelle 2: Bestimmte Löschkonstanten k_{ref} für **DNATX-n** und k_{obs} für **DNATX/Ntl-n** sowie die daraus berechnete Energietransferrate k_{EnT} .

Probe	k_{ref} / s^{-1}	k_{obs} / s^{-1}	k_{EnT} / s^{-1}
DNATX/Ntl-0	$16,9 \times 10^3$	$55,6 \times 10^6$	$55,5 \times 10^6$
DNATX/Ntl-1	$15,9 \times 10^3$	$38,6 \times 10^3$	$22,7 \times 10^3$
DNATX/Ntl-2	$18,1 \times 10^3$	$18,2 \times 10^3$	$0,1 \times 10^3$

Ergebnisse und Diskussion

Durch Auftragen der Energietransferraten gegen den Abstand zwischen **TX** und **Ntl** in den DNA-Proben **DNATX/Ntl-0-2** (3,4 Å, 10,2 Å und 17 Å) kann wiederum der β -Wert bestimmt und somit eine Aussage über die Distanzabhängigkeit getroffen werden. Daraus ergibt sich ein β -Wert von 1,15 Å. Dieser liegt deutlich über dem zuvor bestimmten β -Wert von **DNAI-n** (0,1 Å) und **DNAIV-n** (0,02 Å). Aufgrund der niedrigen Triplettenergie des **TX** in der DNA ist **TX** nicht in der Lage, Thymin über einen **TTET** anzuregen, was sich ebenfalls bei den Belichtungsexperimenten der **DNAII-n** zeigte. Ein Energiehüpfmechanismus, bei dem die Triplet-Energie an den Thyminen lokalisiert ist, von Thymin zu Thymin weitergegeben wird und so einen weitreichenden Energietransfer ermöglicht, kann somit ausgeschlossen werden. Somit ist erstaunlich, dass für **DNATX/Ntl-1**, in der **TX** und **Ntl** 10,2 Å voneinander entfernt sind, eine Energietransferrate von $k_{\text{Ent}} = 22,7 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$ bestimmt werden konnte, was bei diesem Abstand vergleichsweise hoch ist.^[145] Für **DNATX/Ntl-2**, wird im Vergleich zur Referenz **DNATX-2** so gut wie keine Veränderung der Lebenszeit festgestellt.

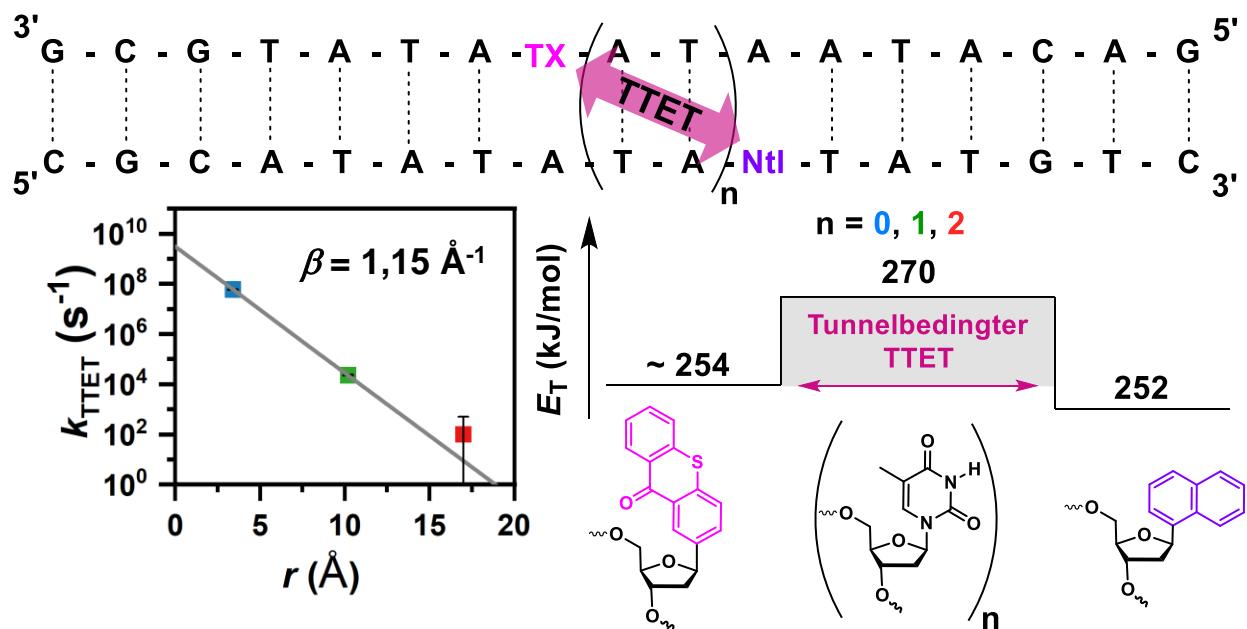


Abbildung 51: Oben: Darstellung von **DNATX/Ntl-n** mit dem dargestelltem Triplet-Energietransfer von Thioxanthon (**TX**) zu Naphthalin (**Ntl**). Unten rechts: Schematisches Energiediagramm des Triplet-Energietransfers mit möglichem Tunnelmechanismus durch den Triplet-Zustand von Thymin. Unten links: Auftragung der bestimmten Energietransferrate gegen die jeweiligen Distanzen.

Der β -Wert von 1,15 Å zeigt eine stärkere Abstandsabhängigkeit im Vergleich zu den zuvor bestimmten β -Werten der DNA-Architekturen **DNAI-n** und **DNAIV-n**. Berechnungen in wässriger Lösung ergeben hingegen einen deutlich höheren Wert von $\approx 3 \text{ \AA}$.^[39] Der hier bestimmte, niedrigere Wert von 1,15 Å könnte darauf zurückzuführen sein, dass Donor und Akzeptor kovalent in der DNA integriert sind, wodurch ein tunnelbedingter **TTET** erleichtert wird. Die Triplett-Energie von Thymin (270 kJ/mol)^[75] ist ausreichend niedrig, sodass ein solcher Tunnelmechanismus sinnvoll erscheint. Dieser Wert liegt somit

Ergebnisse und Diskussion

im Bereich typisch für Dexter-Energietransferprozesse bei denen ein tunnelbedingter Mechanismus postuliert wird.^[82, 146, 147]

5 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden tiefe Einblicke in den **TTET** in DNA gewonnen, ermöglicht durch die Synthese verschiedener Photosensibilisatoren **I – V**, die als C-Nukleoside in die DNA integriert wurden (Abbildung 52). Diese fungierten als Ort der selektiven Anregung, wodurch gezielt angeregte Zustände in der DNA induziert werden konnten, was die Erforschung der Photochemie in DNA ermöglichte.

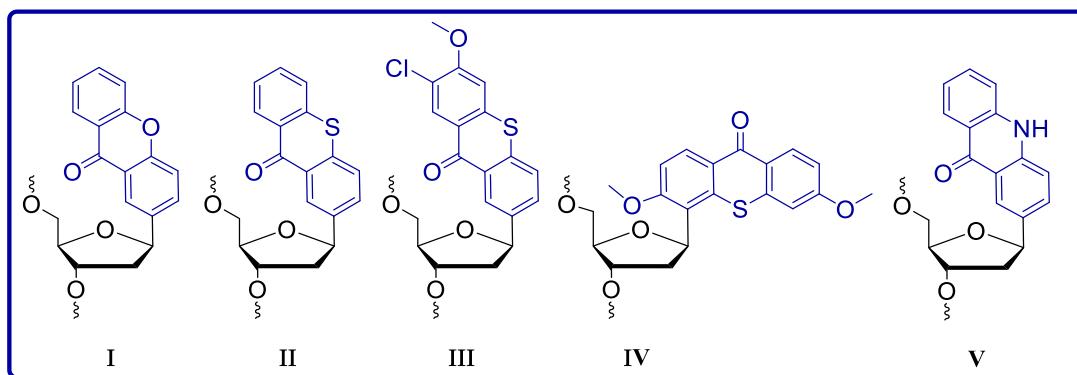


Abbildung 52: Übersicht der in die DNA eingebauten Photosensibilisatoren (**I – V**).

Die Photosensibilisatoren **I – V** wurden in definierten Positionen in ternäre DNA-Architekturen integriert, was es ermöglichte, die **CPD**-Bildung in Abhängigkeit von den exakten Abständen zum Photosensibilisator zu quantifizieren und auf dieser Grundlage Aussagen über den Energietransfermechanismus zu treffen. Dabei wurden für die Photosensibilisatoren Acridon (**V**) und TX (**II**) keine **CPD**-Schäden beobachtet. Das liegt an den zu geringen Triplett-Energien, die unter 270 kJ/mol^[75] liegen und daher nicht in der Lage sind, Thymin über einen **TTET** anzuregen.

Für den Tripletts-Photosensibilisator Xanthin **I**, mit einer Triplett-Energie von 310 kJ/mol, konnte hingegen eine maximale **CPD**-Ausbeute von 73 % bestimmt werden. **CPD**-Schäden wurden dabei bis zu einer erstaunlichen Reichweite von 37,4 Å beobachtet, und ein β -Wert von 0,1 Å wurde ermittelt. Diese hohe Reichweite sowie die geringe Abstandabhängigkeit sind untypisch für einen direkten DEXTER-**TTET**-Mechanismus. Diese Beobachtungen lassen sich jedoch durch einen **TTET**-Hüpfmechanismus erklären, bei dem der angeregte Triplett-Zustand von Thymin zu Thymin übertragen wird.^[78] Die Triplett-Zustände der Thymine stehen aufgrund ihrer isoenergetischen Lage im Gleichgewicht zueinander. Kontrollexperimente zeigten, dass dieser Energietransfer von Thymin zu Thymin sowohl durch Interstrang-Energietransfer als auch Intrastrang-Energietransfer erfolgen kann. Im Fall des Intrastrang-Energietransfers kann der **TTET** zwischen Thyminen stattfinden, welche durch eine Adenin- oder Cytosin-Base voneinander getrennt sind. Voityuk et al. zeigten zudem, dass der Intrastrang-**TTET** von Thymin zu Thymin über ein dazwischenliegendes Adenin bevorzugt abläuft, verglichen mit dem Interstrang-**TTET**.^[78]

Zusammenfassung und Ausblick

Photosensibilisator **III** weist eine höhere Triplet-Energie auf als **TX (II)**, die aufgrund des lokalen Absorptionsmaximums von 375 nm durch den Vergleich anderer Thioxanthone in der Literatur zwischen 268 kJ/mol und 277 kJ/mol abgeschätzt werden kann.^[47] Diese geringe Erhöhung der Triplet-Energie im Vergleich zu **II** induzierte **CPD**-Schäden mit einer maximalen **CPD**-Ausbeute von 8 %. Dies lässt vermuten, dass die Triplet-Energie von **III** nahe der Triplet-Energie von Thymin liegt, wodurch ebenfalls ein Gleichgewicht der angeregten Zustände von Photosensibilisator und Thymin wahrscheinlich ist und die geringen Ausbeuten erklärt.

Mit **TX IV** wurde die Triplet-Energie weiter deutlich erhöht, wodurch maximale **CPD**-Schäden von 51 % beobachtet werden konnten. Im Vergleich zu **DNAI-n** wies **DNAIV-n** aufgrund der niedrigeren Triplet-Energie allerdings eine geringere maximale **CPD**-Ausbeute auf. Jedoch wurde die maximale **CPD**-Ausbeute von 51 % schneller erreicht, und das Gleichgewicht stellte sich früher ein. Ebenfalls zeigte **DNAIV-n** einen effizienteren Energietransfer über eine Distanz von bis zu 17 Å.

Es lässt sich somit festhalten, dass die Triplet-Energie der Photosensibilisatoren entscheidend für die maximale **CPD**-Ausbeute ist. Allerdings lässt sich daraus keine direkte Aussage über die Effizienz des Energietransfers über größere Distanzen ableiten.

Wahrscheinlich beeinflusst die Orbitalkonfiguration des Triplet-Zustands des Photosensibilisators die Effizienz des Energietransfers durch eine veränderte elektronische Kopplung. Dabei erfolgt bei Photosensibilisator **IV** der **TTET** aus dem $^3\pi\pi^*$ -Zustand und bei Photosensibilisator **I** aus dem $^3n\pi^*$ -Zustand (Abbildung 53 A). Dieser $^3\pi\pi^*$ -Zustand sollte eine stärkere elektronische Kopplung mit dem π -System der DNA-Basen auf Grund einer größeren Überlappung der Orbitale aufweisen, was einen effizienteren Energietransfer ermöglicht.

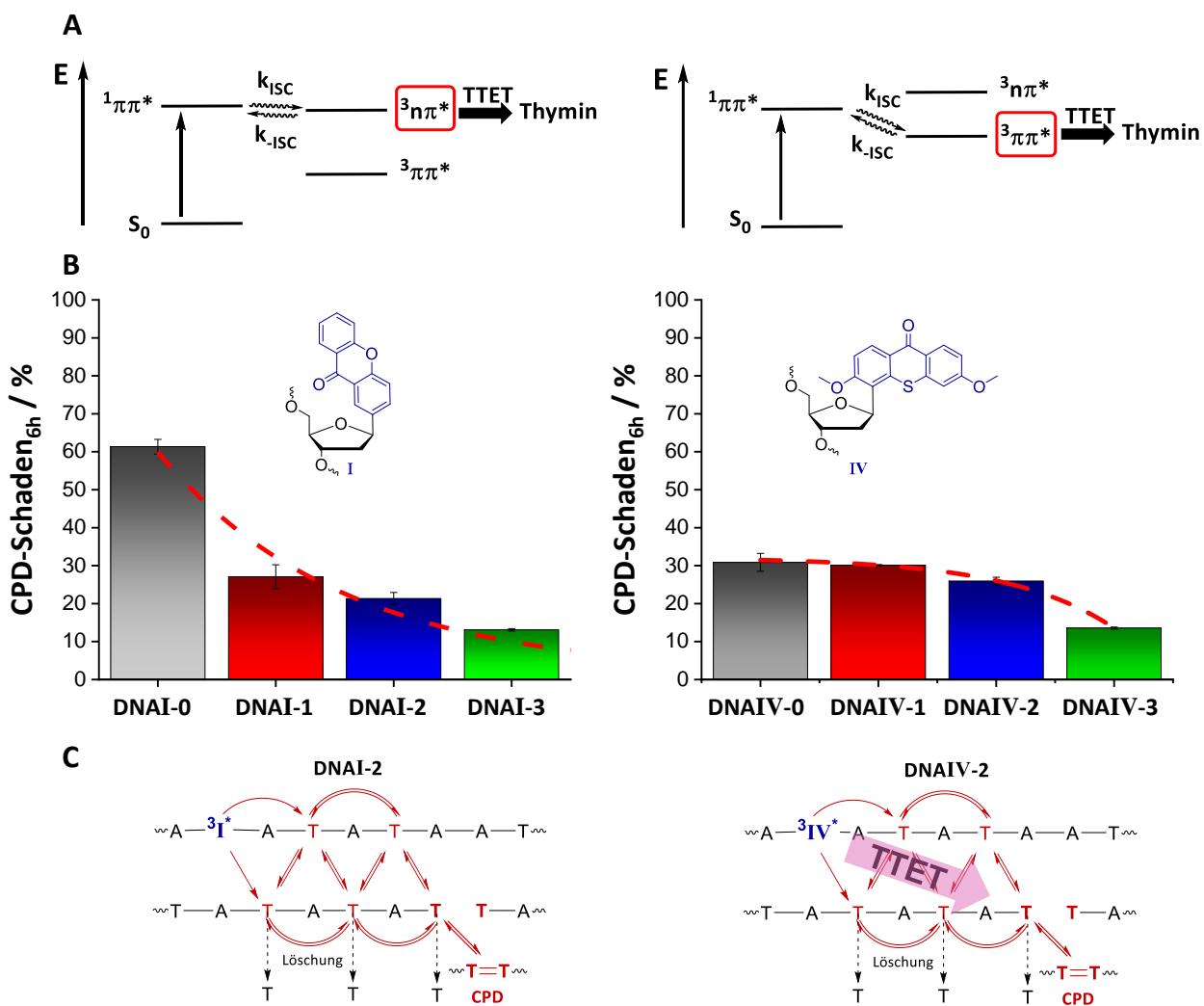


Abbildung 53: A) Vereinfachtes energetisches Schema von Xanthon (I) (rechts) und Thioxanthon IV (links) in wässriger Umgebung nach Anregung in den tiefsten Singulett-Zustand und anschließendem TTET aus dem $^3\pi\pi^*$ - oder $^3n\pi^*$ -Zustand auf ein Thymin. B) Distanzabhängigkeit der CPD-Ausbeute nach 6 h Belichtung der DNAI-n und DNAIV-n. C) Vereinfacht dargestellter Energieträpfmechanismus (links) sowie dargestellter dualer TTET-Mechanismus über den Hüpfmechanismus und den tunnelbedingten direkten Energietransfer.

Aufgrund der zu niedrigen Triplett-Energie von TX konnten keine CPD-Schäden beobachtet werden. Transiente Messungen zeigten jedoch, dass TX einen direkten, tunnelbedingten TTET auf Naphthalin bis zu einer maximalen Distanz von 17 Å erfolgen konnte, wobei eine Distanzabhängigkeit von $1,15 \text{ \AA}^{-1}$ ermittelt wurde. Dies legt nahe, dass auch TX IV neben dem TTET-Hüpfmechanismus, direkt über einen tunnelbedingten TTET CPD-Schäden auf Distanzen bis zu maximal 17 Å induzieren kann. Dieser duale Energietransfermechanismus würde zudem den effizienteren Energietransfer bis hin zu DNAIV-2 (17 Å) erklären, da bis zu dieser Distanz beide Mechanismen wirksam sein könnten. Unter der Annahme, das Xanthon aufgrund seiner elektronischen Eigenschaften ausschließlich über den Energieträpfmechanismus CPDs induzieren kann, könnte dies die beobachteten Unterschiede in der TTET-Reichweite erklären (Abbildung 53, C).

Zusammenfassung und Ausblick

In einer Studie, in der Cadmiumselenid als Energiedonor und Anthracen als Energieakzeptor verwendet wurden, waren Donor und Akzeptor durch 0 bis 5 Phenyleinheiten getrennt. Bis zu einer Distanz von 14 Å wurde ein tunnelbasierter **TTET** beobachtet, während bei größeren Distanzen ein Übergang zu einem weitreichenden **TTET**-Hüpfmechanismus festgestellt wurde.^[146] Eine weitere Studie untersuchte ein Benzophenon-Donor und einen Naphthalin-Akzeptor, die durch eine bis drei Fluoren-Einheiten getrennt waren. Auch hier wurde ein Übergang von einem kurzreichweiten, tunnelbasierten **TTET** zu einem Energiehüpfmechanismus beobachtet, der bei einem Abstand zwischen 11,5 Å und 14,5 Å auftrat.^[147] Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit dem in dieser Arbeit beobachteten tunnelbasierten Energietransfer von Thioxanthon zu Naphthalin in DNA, dessen maximale Reichweite zwischen 10,2 Å und 17 Å liegt. Beide Studien hatten gemeinsam, dass Donor und Akzeptor durch π-Stapelwechselwirkungen getrennt sind. Mit zunehmender Länge der Phenyleinheiten bzw. Fluorenbrücken verstärkt sich diese Wechselwirkung, was unter anderem zu einer reduzierten Triplet-Energie der konjugierten Oligo-Fluorenen und Phenyleinheiten führt.^[146, 147]

Eine vergleichbare Situation ergibt sich in den in dieser Arbeit verwendeten DNA-Architekturen, sodass sowohl ein direkter, tunnelbasierter Mechanismus als auch ein Energiehüpfmechanismus möglich sind. Da die Basen in der DNA-Doppelhelix dichter gepackt sind als in den zuvor erwähnten Studien, liegt eine stärkere π-Stapelwechselwirkung vor. Dies führt zu einem effizienteren Energietransfer über den Energie-Hüpfmechanismus und erklärt die geringere Distanzabhängigkeit.

Daher ist es wahrscheinlich, dass neben dem **TTET**-Hüpfmechanismus auf kurzen Distanzen auch ein direkter tunnelbedingter **TTET** zur **CPD**-Bildung beitragen kann. Die Effizienz dieses tunnelbedingten **TTET** wird jedoch maßgeblich durch das Überlappungsintegral zwischen Donor und Akzeptor bestimmt. In diesem Zusammenhang könnte der $^3\pi\pi^*$ -Zustand des **TX IV** im Vergleich zum $^3n\pi^*$ von Xanthan **I** eine stärkere Überlappung aufweisen, was zu einem effizienteren Energietransfer führt.

Aufgrund des effizienten Energietransfers von **DNAIV-n** ist von Interesse zu untersuchen, wie weit über den Energiehüpfmechanismus noch **CPDs** in DNA entstehen können. Ebenso müssen sich die energetischen Lagen der angeregten Zustände der in die DNA eingebauten Photosensibilisatoren näher betrachtet werden. Zusätzlich sollte der Energietransfer von **TX IV** analog zu **TX II** spektroskopisch untersucht werden, um den in dieser Arbeit postulierten dualen Energietransfermechanismus zu bestätigen, der zu einem effizienten, langweitreichenden Energietransfer in DNA führt. Dies könnte tiefere Einblicke in die Rahmenbedingungen liefern, welche notwendig sind um weitreichenden Energietransfer zu ermöglichen.

Neben den **CPD**-Schäden konnten für die Photosensibilisatoren **I – IV** maximale **ICL**-Ausbeuten von 12 % bis 31 % detektiert werden. Diese entstehen wahrscheinlich ebenfalls aus dem angeregten

Zusammenfassung und Ausblick

Triplet-Zustand der Photosensibilisatoren unspezifisch durch Wasserstoff-Abstraktion an einer DNA-Base oder am Zuckerrückgrat, wahrscheinlich überwiegend an der 4'-und 5'-Position. Acridon (**V**) zeigt in polarem Lösungsmittel nahezu keine **ISC**-Quantenausbeute und somit keine Triplet-Photochemie in wässriger Lösung, wodurch keine **ICLs** gebildet wurden. Bei der Bildung der **ICLs** wurde keine Distanzabhängigkeit beobachtet. In der Regel wurde jedoch für **DNA-X-0** eine niedrigere **ICL**-Ausbeute beobachtet, da der angeregte Triplet-Zustand im Vergleich zu den anderen DNA-Architekturen möglicherweise schneller gelöscht wird.

ICL-induzierende Verbindungen sind aufgrund ihrer hohen zytotoxischen Wirkung vom großen Interesse in der Medizin und stellen vielversprechende Kandidaten für die Krebstherapie dar. Die in dieser Arbeit mittels Phosphoramidit-Synthese hergestellten Photosensibilisator-Oligonukleotide könnten aufgrund ihrer Sequenzspezifität und der selektiven Induktion von **ICLs** durch Belichtung im UV-A Bereich eine vielversprechende Strategie zur selektiven Schädigung von Krebszellen bieten. Ein wesentlicher limitierender Faktor von Oligonukleotid-Therapeutika sind jedoch ihre pharmakokinetischen Eigenschaften sowie eine schlechte Zellmembranpermeabilität. Die Entwicklung effizienter Trägersysteme oder chemische Modifikationen zur Verbesserung dieser Eigenschaften sowie folgende *invivo* Experimente sind daher essentiell für eine potentielle therapeutische Anwendung.

6 Experimenteller Teil

6.1 Materialien und Methoden

Arbeitstechniken

Die luft- und wasserempfindlichen Reaktionen wurden unter Argonatmosphäre (Argon 5.0, Reinheit 99,999 %) durchgeführt. Die verwendeten Glasapparaturen wurden nach der SCHLENK-Technik mehrfach evakuiert und mit Argon geflutet. Falls erforderlich, wurden die Glasapparaturen im Vakuum ausgeheizt. Lösungsmittel und Lösungsmittelgemische wurden, falls erforderlich, mit der *Freeze-Pump-Thaw*-Methode entgast.

Reagenzien und Lösungsmittel

Die für die Synthesen verwendeten Reagenzien wurden von den Firmen ABCR, ABOVCHEM, ACROS ORGANICS, ALFA AESAR, BLDPHARM, CARBOLUTION, CARL ROTH, FISHER SCIENTIFIC, MERCK, SIGMA-ALDRICH, THERMOFISHER SCIENTIFIC, TOKYO CHEMICAL INDUSTRY (TCI) sowie VWR bezogen und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Die für die Synthesen und Analysen verwendeten Lösungsmittel entsprachen dem Reinheitsgrad p.a. (*pro analysi*). Trockene Lösungsmittel wurden kommerziell von der Firma Sigma-Aldrich bezogen, teilweise über Molekularsieb und unter Argonatmosphäre gelagert. Bidestilliertes Wasser wurde aus einer Merck Mili-Q Direct 8 Entsalzungsanlage entnommen.

Unmodifizierte Oligonukleotide, sowie die ATTO550-markierten Oligonukleotide wurden von der Firma METABION erworben.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Für die Durchführung der Dünnschichtchromatographien wurden mit Kieselgel 60 F₂₅₄ beschichtete Aluminiumfolien der Firma MERCK mit einer Schichtdicke von 0,25 mm verwendet. Die Auswertung erfolgte durch Fluoreszenzlösung bei einer Wellenlänge von $\lambda = 254$ nm bzw. durch Fluoreszenzanregung bei einer Anregungswellenlänge von $\lambda = 366$ nm. Zusätzlich wurde eine Tauchlösung mit Schwefelsäure (1 %) in Methanol zur Färbung zuckerhaltiger Verbindungen oder eine Kaliumpermanganatlösung zur Färbung oxidierbarer Verbindungen verwendet. Dazu wurde die DC-Platte in die entsprechende Lösung getaucht und mit einem Heißluftfön erwärmt.

Säulenchromatographie

Die säulenchromatographische Aufreinigung erfolgte mit Kieselgel der Firma Sigma Aldrich (Porengröße: 60 Å, Korngröße: 40 – 63 µm) als stationäre Phase. Diese wurde im jeweiligen Lösungsmittelgemisch nass gepackt und eluiert. Das zu trennende Rohprodukt wurde entweder im Laufmittel gelöst (*wet load*) oder an der stationären Phase adsorbiert (*dry load*) und auf die Säule

Experimenteller Teil

aufgegeben. Die Trennung der Produkte erfolgte unter leichtem Überdruck, der mit einer Handpumpe erzeugt wurde.

Lyophilisierung

Die Lyophilisierung der DNA-Proben erfolgte mit einer Gefriertrocknungsanlage *Alpha 2-4 LSCbasic* der Firma CHRIST in Kombination mit einem Rotations-Vakuum-Konzentrator *RVC 2-25 CDplus* der Firma CHRIST. Ammoniak wurde bei 34 °C und 100 mbar für 30 min aus der Lösung entfernt. Wässrige Lösungen wurden bei 25 °C und 0,1 mbar eingeengt.

6.2 Analytische und spektroskopische Methoden

NMR-Spektroskopie

Die Kernresonanzspektren wurden mit einem BRUKER *Avance 400* Spektrometer aufgenommen (400 MHz ¹H, 101 MHz ¹³C, 162 MHz ³¹P). Als Lösungsmittel wurden deuterierte Lösungsmittel der Firma EURISOTOP verwendet. Die chemische Verschiebung (δ) wurde in *parts per million* (ppm) angegeben und auf das Referenzsignal von Tetramethylsilan bezogen. Die interne Referenzierung der Spektren erfolgte mit den Signalen der unvollständig deuterierten Lösungsmittel

CDCl ₃	¹ H-NMR: δ = 7,26 ppm	¹³ C-NMR: δ = 77,16 ppm
CD ₃ CN	¹ H-NMR: δ = 1,94 ppm	¹³ C-NMR: δ = 1,32 ppm, 118,26 ppm
DMSO-d ₆	¹ H-NMR: δ = 2,50 ppm	¹³ C-NMR: δ = 39,52 ppm
CD ₃ OD	¹ H-NMR: δ = 3,31 ppm	¹³ C-NMR: δ = 49,00 ppm

Die Kopplungskonstanten J wurden in Hertz (Hz) angegeben. Für die Beschreibung der Multiplizitäten wurden folgende Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), dd (Dublett von Dublett), dt (Dublett von Triplet), td (Triplet von Dublett), tt (Triplet von Triplet), qd (Quartett von Dublett), ddd (Dublett von Dublett von Dublett) und m (Multiplett).

Massenspektrometrie

Die hochauflösenden Massenspektren wurden mit einem *Finnigan Modell AT 95* mit Elektronenspray-Ionisationsquelle (ESI) an einem *Q Exactive Plus Orbitrap* der Firma THERMO SCIENTIFIC aufgenommen. Alternativ wurde *Fast Atom Bombardement* (FAB) als Ionisationsmethode verwendet. Die Signale wurden als Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z) und das Molekülion als [M]⁺ oder in protonierter Form [M+H]⁺ angegeben.

Auf einem *AXIMA Confidence* Spektrometer von SHIMADZU wurde die matrix-unterstützte Laser-Desorptions-Ionisierung (*Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization*, MALDI) durchgeführt. Als Matrix

Experimenteller Teil

wurde 3-Hydroxypicolinsäure (ges. in MeCN/ddH₂O 1:1)/Diammoniumhydrogencitrat (0,44 M in ddH₂O) 9:1 verwendet.

LC-ESI-MS

LC-ESI-MS Analytik wurde an einer *Ultimate 3000 Dionex* HPLC mit nachgeschalteter LTQ Orbitrap Elite ESI-MS von THERMO SCIENTIFIC gemessen. Die hierfür verwendeten Gradienten sind in Tabelle 5 gezeigt.

UV/Vis-Absorptionsspektroskopie

Die Absorptionsspektren wurden mit einem *Cary 3500* UV/Vis-Spektrometer der Firma AGILENT aufgenommen. Die Absorptionsmessungen wurden bei Raumtemperatur zwischen 200 und 800 nm durchgeführt. Die Schmelztemperaturen der DNA wurden mit einem Gradienten von 5 bis 90 °C bei 260 nm bestimmt (Temperaturänderung 0,5 °C/min, Datenintervall 0,5 °C/min). Die DNA-Proben für die Schmelztemperaturmessungen hatten eine Konzentration von 2,5 µM, 250 mM in 10 mM Na-Pi-Puffer. Es wurden Quarzglasküvetten der Firma STARNA mit einem Durchmesser von 1 cm verwendet.

Die Absorptionsmessungen der Oligonukleotide **DNATX/Ntl-n** und **DNATX**, wurden mit einem Perkin Elmer Lambda 365 UV/Vis-Spektrometer durchgeführt (JGU Mainz).

Zirkardichroismus (CD)

Die CD-Messungen wurden mit einem Spectropolarimeter *J-810* der Firma JASCO mit einem Peltier-Element PTC-423S und einem Thermostat AC 200 der Firma THERMO SCIENTIFIC durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit der Software *SpectraManager*. Die Bildung von Ozon wurde durch ständiges Spülen mit Stickstoff (99,999 %) verhindert. Die Messungen wurde bei 10 °C und einer Oligonukleotidkonzentration von 2,5 µM durchgeführt.

Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

Für die semi-präparative Aufreinigung sowie die analytische Bestimmung der reinen DNA-Stränge und die Analytik der Belichtungsexperimente wurde eine *Dionex Ultimate 3000* HPLC mit Autosampler, Pumpenmodul, Säulenofen, Multidiodenarray, Fluoreszenzdetektor und Fraktionssammler der Firma THERMO SCIENTIFIC verwendet. Die Auswertung erfolgte mit der Software *Chromeleon 7*. Als Säule wurde für die semi-präparative Aufreinigung eine *Supercosil LC 318* Säule (25 cm x 10 mm, 5 µm) der Firma VDS OPTILAB verwendet. Für die analytische Bestimmung der reinen DNA-Stränge und der Belichteten DNA-Proben wurde eine *VDSpher OptiBio Pur 300 S18-SE* der Firma VDS OPTILAB verwendet.

Transiente Absorption und zeitaufgelöste Emission

Für die transiente Absorptions- und zeitaufgelöste Emissionsspektroskopie wurde das LP980KS-Setup von Edinburgh Instruments mit einem Nd:YAG-Laser von Quantel (Q-smart 450) verwendet. Der frequenzverdreibachte (355 nm) Ausgang diente als Anregungsquelle. Die Laserpulsdauer betrug ≈ 5 ns

Experimenteller Teil

und die Pulsfrequenz 10 Hz. Die typische Pulsenegie, die für transiente Absorptions- und Emissionsstudien verwendet wurde, betrug ≈ 20 mJ. In einer Reihe von Experimenten wurde eine konstante Laserpulsenergie verwendet, was durch Leistungsmessungen vor, nach und zwischen den Experimenten sichergestellt wurde. Die Laserleistung wurde mit einem pyroelektrischen Detektor mit Dämpfungsglied (QE25LP-S-MB-QED-D0) von GENTEC-EO in Kombination mit der integra-Software gemessen. Die Erfassung der transienten Absorptionsspektren erfolgte mit einer iCCD-Kamera von ANDOR. Kinetische Messungen bei ausgewählten Wellenlängen wurden mit einer Photomultiplier-Röhre aufgenommen. Die spektroskopischen Experimente wurden bei 293 K mit einem Küvettenhalter durchgeführt, der eine Temperaturkontrolle ermöglicht. Wenn nicht anders angegeben, wurden die TA-Spektren über 100 ns integriert. Langpassfilter (385 nm oder 400 nm, beide von Newport) wurden für transiente Absorptionsmessungen mit Detektionswellenlängen von mehr als 600 nm verwendet, um Beiträge von Signalen zweiter Ordnung auszuschließen. (JGU Mainz)

77 K Phosphoreszenzmessungen

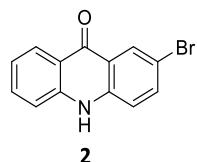
Phosphoreszenzmessungen wurden mit dem LP980KS-Setup durchgeführt, wobei anstelle des Küvettenhalters ein Dewar mit einem 4 mm Glasrohr in flüssigem Stickstoff verwendet wurde. (JGU Mainz)

Belichtungsexperimente

Die Belichtungsexperimente erfolgten mit zwei NICHIA UVA-LEDs (365 nm, 1030 mW und 385 nm, 1030 mW) von der Firma LUMITRONIX unter folgenden Bedingungen: 2,50 μ M DNA, 10 mM Na-P_i-Puffer, 250 mM NaCl in ddH₂O (1 mL) bei 10 °C. Es wurde vor Belichtung 10 min mit Argon durchgespült. Die Temperatur wurde mit einem LAUDA ALPHA R8 Thermostat während der Belichtung kontrolliert. Die Proben wurden in 3.5 mL Quarzglasküvetten von der Firma STARNA mit Septumschraubverschluss und einem Durchmesser von 1 cm belichtet.

6.3 Synthesevorschriften

Synthese von 2-Bromacridon (2)



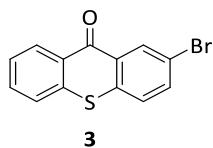
In einem Rundkolben wurden 2,50 g Acridon (12,5 mmol, 1,00 Äquiv.) mit 100 mL AcOH versetzt und 1 h gerührt. Anschließend wurden 5,75 g Benzyltriethylammoniumtribromid (12,5 mmol, 1,00 Äquiv.) zugegeben und die Lösung für 5 h bei Raumtemperatur und anschließend 1 h bei 80 °C gerührt. Die Lösung wurde auf Raumtemperatur gebracht, filtriert, der Niederschlag mit 100 mL MeOH gewaschen und mit EtOAc umkristallisiert. Es wurden 1,12 g **2** (4,09 mmol, 33 %) als gelblicher Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11,92 (s, 1H, NH); 8,29 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,22 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,86 (dd, *J* = 8,8, 2,4 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,76 (dt, *J* = 8,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,54 (t, *J* = 8,7 Hz, 2H, CH_{Ar}); 7,29 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H, CH_{Ar}).

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 273,9859; berechnet: 273,9862.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[148]

Synthese von 2-Bromthioxanthon (3)



In einem Dreihalskolben mit Rückflusskühler und Thermometer wurden 7,66 g 2,2'-Dithio-dibenzoesäure (25,0 mmol, 1,00 Äquiv.), 30,0 µL DMF (750 µmol, 0,0300 Äquiv.) in 50,0 mL Brombenzol auf 113 °C erhitzt und 9,08 mL Thionylchlorid (125 mmol, 14,9 g, 5,00 Äquiv.) wurden innerhalb 30 min zugetropft. Die Lösung wurde auf 5 °C gekühlt und 2,22 mL Sulfurylchlorid (27,5 mmol, 3,71 g, 1,10 Äquiv.) wurden innerhalb einer halben Stunde zugetropft. Nachdem die Gasentwicklung abnahm (30-40 min), wurde die Lösung auf 60 °C erhitzt bis die Gasentwicklung erneut abnahm. In die Lösung (auf 20 °C gekühlt) wurden 7,33 g (55,0 mmol, 2,2 Äquiv.) Aluminiumchlorid langsam hinzugegeben. Nach 30 min röhren wurde die Reaktionslösung auf 60 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf 20 °C wurde der kristalline Niederschlag filtriert und mit Hexan gewaschen. Der Filterkuchen wurde in 100 mL 5 M NaOH gegeben und auf 80 °C für 1 h erhitzt. Nach Abkühlung auf 20 °C wurde der Niederschlag filtriert, mit Wasser gewaschen und unter Vakuum getrocknet. Es wurden 9,34 g **3** (31,1 mmol, 64 %) als leicht gelblicher Feststoff erhalten.

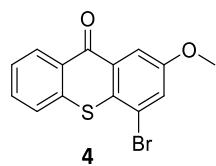
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,68 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,54 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,69 – 7,61 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,61 – 7,54 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,54 – 7,49 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,46 – 7,38 (m, 2H, CH_{Ar}).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 178,88; 136,98; 136,15; 135,36; 132,73; 132,58; 130,60; 130,13; 128,97; 127,69; 126,75; 126,21; 120,39.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 290,9473; berechnet: 290,9474.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[149]

Synthese von 4-Brom-2-methoxythioxanthon (4)



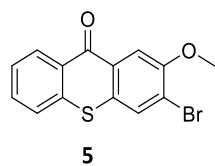
In einem Dreihalskolben mit Rückflusskühler und Thermometer wurden 1,00 g 2,2'-Dithio-dibenzoesäure (3,26 mmol, 1,00 Äquiv.), 1,64 mL 3-Bromanisol (2,42 g, 13,0 mmol, 4,00 Äquiv.) und 30,0 μ L DMF (750 μ mol, 0,230 Äquiv.) in 10,0 mL 1,2-Dichlorethan auf 113 °C erhitzt und 1,18 mL Thionylchlorid (1,93 g, 16,2 mmol, 5,00 Äquiv.) wurden innerhalb 30 min zugetropft. Die Lösung wurde auf 5 °C gekühlt und 0,300 mL Sulfurylchlorid (0,501 g, 3,71 mmol, 1,10 Äquiv.) wurden innerhalb einer halben Stunde zugetropft. Nachdem die Gasentwicklung abnahm (30-40 min), wurde die Lösung auf 60 °C erhitzt bis die Gasentwicklung erneut abnahm. In die Lösung (auf 20 °C gekühlt) wurden 0,960 g (7,17 mmol, 2,20 Äquiv.) Aluminiumchlorid langsam hinzugegeben. Nach 30 min röhren wurde die Reaktionslösung auf 60 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf 20 °C wurde der kristalline Niederschlag filtriert und mit Hexan gewaschen. Der Filterkuchen wurde in 50 mL 5 M NaOH gegeben und auf 80 °C für 1 h erhitzt. Nach Abkühlung auf 20 °C wurde der Niederschlag filtriert, mit Wasser gewaschen und unter Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (SiO_2 , Cyclohexan/EtOAc, 20:1) aufgereinigt. Es wurden 0,588 g **4** (1,83 mmol, 28 %) als gelblicher Feststoff erhalten.

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,62 – 8,57 (m, 1H, CH_{Ar}); 8,13 (d, J = 2,8 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,67 – 7,64 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,56 (d, J = 2,8 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,51 (ddd, J = 8,2, 4,8, 3,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 3,94 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 179,85; 158,33; 137,51; 132,64; 132,07; 130,28; 130,04; 127,67; 126,73; 126,55; 126,07; 120,69; 111,05; 56,11.

HR-MS (ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+$) m/z: gefunden: 320,9580; berechnet: 320,9579.

Synthese von 3-Brom-2-methoxythioxanthon (5)



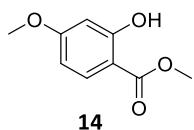
In einem Dreihalskolben mit Rückflusskühler und Thermometer wurden 3,83 g 2,2'-Dithio-dibenzoesäure (12,5 mmol, 1,00 Äquiv.), 15,6 mL 2-Bromanisol (23,4 g, 125 mmol, 10,0 Äquiv.) und 30,0 μ L DMF (0,750 mmol, 0,0600 Äquiv.) auf 113 °C erhitzt und 4,54 mL Thionylchlorid (7,44 g, 62,5 mmol, 5,00 Äquiv.) wurden innerhalb 30 min zugetropft. Die Lösung wurde auf 5 °C gekühlt und 1,11 mL Sulfurylchlorid (1,86 g, 13,8 mmol, 1,10 Äquiv.) wurden innerhalb einer halben Stunde zugetropft. Nachdem die Gasentwicklung abnahm (30-40 min), wurde die Lösung auf 60 °C erhitzt bis die Gasentwicklung erneut abnahm. In die Lösung (auf 20 °C gekühlt) wurden 3,67 g (27,5 mmol, 2,20 Äquiv.) Aluminiumchlorid langsam hinzugegeben. Nach 30 min röhren wurde die Reaktionslösung auf 60 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf 20 °C wurde der kristalline Niederschlag filtriert und mit Hexan gewaschen. Der Filterkuchen wurde in 100 mL 5 M NaOH gegeben und auf 80 °C für 1 h erhitzt. Nach Abkühlung auf 20 °C wurde der Niederschlag filtriert, mit Wasser gewaschen und unter Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation mit EtOAc gereinigt und es wurden 4,18 g 5 (13,0 mmol, 52 %) als leicht gelblicher Feststoff erhalten.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 2,74 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 2,19 (s, 1H, CH_{Ar}); 1,97 – 1,89 (m, 1H, CH_{Ar}); 1,80 – 1,67 (m, 2H, CH_{Ar}); 1,62 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, CH_{Ar}); -1,84 (s, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl₃) δ 179,37; 154,93; 137,19; 132,47; 130,47; 130,11; 130,06; 129,62; 128,57; 126,55; 126,20; 119,34; 110,75; 56,80.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 320,9575; berechnet 320,9579.

Synthese von 2-Hydroxy-4-methoxybenzoësäure-methylester (14)



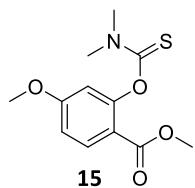
Unter Argon-Atmosphäre wurden 5,00 g 2-Hydroxy-4-Methoxybenzoësäure (29,7 mmol, 1,00 Äquiv.) in 25,0 mL MeOH gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 10,8 mL Thionylchlorid (1,77 g, 14,9 mmol, 5,00 Äquiv.) hinzugetropft. Die Reaktionslösung wurde anschließend für 3 h refluxiert. Anschließend wurde zur Reaktionslösung 200 mL EtOAc hinzugegeben und die organische Phase wurde drei Mal mit Wasser (3 x 100 mL) gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Hex/EE, 5:1) aufgereinigt. Es wurden 3,84 g **14** (21,1 mmol, 71 %) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 10,96 (s, 1H, OH); 7,71 (dd, *J* = 8,4, 0,8 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,45 – 6,39 (m, 2H, CH_{Ar}); 3,89 (s, 3H, CH₃); 3,80 (s, 3H, CH₃).

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 183,0651; berechnet: 183,0652.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[150]

Synthese von 2-((dimethylcarbamothioyl)oxy)-4-methoxybenzoat (15)



Unter Argonatmosphäre wurden 18,2 g **14** (100 mmol, 1,00 Äquiv.) und 17,3 g Dimethylthiocarbamoylchlorid (140 mmol, 1,40 Äquiv.) in 50 mL DMF gelöst und 15,7 g DABCO (140 mmol, 1,40 Äquiv.) zugegeben. Anschließend wurde für 3 h auf 55 °C erhitzt. Die Reaktionslösung wurde auf 250 mL Wasser gegeben und mit EtOAc (3 x 150 mL) extrahiert. Die vereinigte organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter verminderter Druck entfernt. Das gelbe Rohprodukt wurde mit Et₂O gewaschen und getrocknet. Es wurden 22,4 g **15** (83,2 mmol, 83 %) als farbloser Feststoff erhalten.

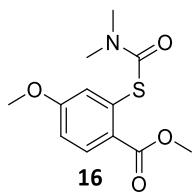
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7,97 (dd, *J* = 8,8, 0,7 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,82 (ddd, *J* = 8,9, 2,6, 0,7 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,63 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 3,85 (s, 3H, CH₃); 3,80 (s, 3H, CH₃); 3,47 (s, 3H, CH₃); 3,39 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 187,40; 164,61; 163,74; 155,55; 133,07; 116,31; 111,90; 110,51; 55,80; 51,93; 43,41; 39,04.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 270,0792; berechnet: 270,0795.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[150]

Synthese von Methyl 2-((Dimethylcarbamoyl)thio)-4-methoxybenzoat (16)



5,00 g **15** (18,6 mmol, 1,00 Äquiv.) wurden bei 210 °C zur Schmelze erhitzt und über Nacht gerührt. Die abgekühlte Reaktion wurde säulenchromatographisch (SiO_2 , $\text{EtOAc}/\text{Hexan}$, 2:3) aufgereinigt. Es wurden 4,83 g **16** (17,9 mmol, 97 %) als leicht rötlicher Feststoff gewonnen.

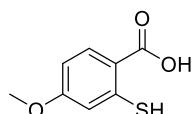
^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7,93 (d, $J = 8,7$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,17 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,91 (dd, $J = 8,7, 2,6$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 3,85 (s, 6H, CH_3); 3,14 (s, 3H, CH_3); 3,04 (s, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 166,52; 166,39; 161,75; 132,87; 132,34; 126,40; 122,70; 114,47; 55,68; 52,13; 37,20; 27,04.

HR-MS (ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+$) m/z: gefunden: 270,0796; berechnet: 270,0795.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[150]

Synthese von 4-Methoxythiosalicylsäure (17)



17

Eine Lösung von 5,00 g **16** (18,6 mmol, 1,00 Äquiv.) und 50 mL 4 M NaOH wurde über Nacht unter Rückfluss gerührt. Die abgekühlte Lösung wurde mit konzentrierter Salzsäure angesäuert. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen, in THF/EtOAc (1:1) gelöst und mit NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel wurde unter verminderterem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Umkristallisation aus EtOAc und Hexan gereinigt. Es wurden 2,23 g **17** (12,1 mmol, 65 %) als farbloser Feststoff erhalten.

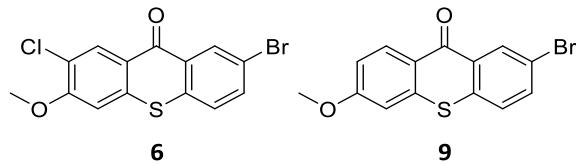
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,57 – 13,04 (m, 1H, OH); 8,01 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,08 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,92 (dd, *J* = 8,7, 2,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 3,69 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 167,22; 162,78; 140,94; 134,02; 120,33; 111,22; 110,58; 55,46.

HR-MS (ESI, [M-H]) m/z: gefunden: 183,0113; berechnet 183,0121.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[47]

Synthese von 7-Brom-2-Chlor-3-Methoxythioxanthon (**6**) und 2-Brom-6-Methoxythioxanthon (**9**)



In einem Dreihalskolben mit Rückflusskühler und Thermometer wurden 1,00 g **17** (5,43 mmol, 1,00 Äquiv.), 12,6 µL DMF (11,9 mg, 0,163 mmol, 0,0300 Äquiv.) in 10,0 mL Brombenzol auf 113 °C erhitzt und innerhalb von 30 min 1,97 mL Thionylchlorid (3,23 g, 27,2 mmol, 5,00 Äquiv.) zugetropft. Die Lösung wurde auf 5 °C abgekühlt und innerhalb 30 min wurden 0,482 mL Sulfurylchlorid (0,806 g, 5,97 mmol, 1,10 Äquiv.) zugetropft. Nachdem die Gasentwicklung nachgelassen hatte, wurde die Lösung auf 60 °C erhitzt, bis die Gasentwicklung erneut nachließ. In die auf 20 °C gekühlte Lösung wurden langsam 1,59 g (11,9 mmol, 2,20 Äquiv.) Aluminiumchlorid gegeben. Nach 30-minütigem Rühren wurde die Reaktionslösung auf 60 °C erhitzt. Nach Abkühlung auf 20 °C wurde der Niederschlag abfiltriert und mit Hexan gewaschen. Der Filterkuchen wurde in 30 mL 5 M NaOH gegeben und für 1 h auf 80 °C erhitzt. Nach Abkühlung auf 20 °C wurde der Niederschlag filtriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Rohprodukt wurde mit Ethylacetat umkristallisiert und es wurden als Hauptprodukt 1,03 g **6** (2,89 mmol, 53 %) als leicht gelblicher Feststoff erhalten. Als Nebenprodukt wurden 0,227 g **9** (0,707 mmol, 13 %) als farbloser Feststoff erhalten.

Analyse von **6**:

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,73 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,61 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,72 (dd, *J* = 8,5, 2,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,45 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,98 (s, 1H, CH_{Ar}); 4,03 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 177,19; 158,44; 137,59; 135,32; 132,65; 131,74; 130,33; 127,57; 123,26; 123,21; 120,72; 107,34; 56,85.

HR-MS (ASAP, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 354,9166; berechnet: 354,9190.

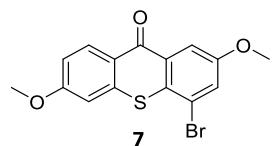
Analyse von **9**:

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,72 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,54 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,68 (dd, *J* = 8,5, 2,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,42 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,06 – 7,03 (m, 1H, CH_{Ar}); 6,96 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 3,93 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 162,83; 134,90; 132,41; 132,18; 127,35; 120,24; 115,44; 108,22; 55,78.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 320,9578; berechnet: 319,9507.

Synthese von 4-Brom-2,6-Dimethoxythioxanthon (7)



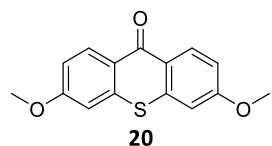
In einem Dreihalskolben mit Rückflusskühler und Thermometer wurden 0,385 g **17** (2,09 mmol, 1,00 Äquiv.), 1,10 mL 3-Bromanisol (1,62 g, 8,66 mmol, 4,14 Äquiv.) und 30,0 µL DMF (28,3 mg, 0,387 mmol, 0,185 Äquiv.) in 10,0 mL 1,2-Dichlorethan gelöst und auf 113 °C erhitzt und innerhalb von 30 min 0,762 mL Thionylchlorid (1,25 g, 10,5 mmol, 5,00 Äquiv.) zugetropft. Die Lösung wurde auf 5 °C abgekühlt und innerhalb 30 min wurden 0,186 mL Sulfurylchlorid (0,310 g, 2,30 mmol, 1,10 Äquiv.) zugetropft. Nachdem die Gasentwicklung nachgelassen hatte, wurde die Lösung auf 60 °C erhitzt, bis die Gasentwicklung erneut nachließ. In die auf 20 °C gekühlte Lösung wurden langsam 0,613 g (4,60 mmol, 2,20 Äquiv.) Aluminiumchlorid gegeben. Nach 30-minütigem Rühren wurde die Reaktionslösung auf 60 °C erhitzt. Nach Abkühlung auf 20 °C wurde der Niederschlag abfiltriert und mit Hexan gewaschen. Der Filterkuchen wurde in 30 mL 5 M NaOH gegeben und für 1 h auf 80 °C erhitzt. Nach Abkühlung auf 20°C wurde der Niederschlag filtriert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Es wurden 0,206 g **7** (0,585 mmol, 28 %) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ= 8,36 (d, J = 9,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,97 (d, J = 2,8 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,81 (d, J = 2,8 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,48 (d, J = 2,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,18 (dd, J = 9,0, 2,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 3,93 (s, 3H, CH₃); 3,91 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ= 177,89; 163,17; 158,45; 139,33; 131,88; 131,75; 128,98; 125,12; 120,90; 120,69; 116,77; 111,96; 109,37; 56,61; 56,44.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 350,9662; berechnet: 350,9685.

Synthese von 3,6-Dimethoxythioxanthon (20)



6,00 g 4-Methoxythiosalicylsäure (**17**) (30,3 mmol, 1,10 Äq.) und 4,60 g K₂CO₃ (33,3 mmol, 1,10 Äq.) wurden in 70,0 mL DMF gelöst. Anschließend wurden 0,579 g CuI (3,030 mmol, 0,10 Äq.) und 4,10 mL 3-Bromanisol (6,230 g, 33,330 mmol, 1,10 Äq.) zugegeben und für 2,5 h bei 145 °C gerührt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur, wurde das Gemisch auf 110 mL Wasser gegeben, filtriert und mit 3 M HCl angesäuert. Der erhaltene Niederschlag wurde erneut filtriert, dreimal mit Wasser (50 mL) gewaschen, in EtOAc (150 mL) gelöst und zweimal mitgewaschen mit NaCl-Lösung (100 mL) gewaschen. Anschließend wurde mit Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter verminderterem Druck entfernt. Es wurden 8,42 g Thioethers **19** (29,0 mmol, 96 %) als gelblicher Feststoff erhalten, der ohne weitere Aufreinigung weiter umgesetzt wurde.

8,42 g Thioether **19** (29,0 mmol, 1,00 Äq.) wurden in 60 mL DCM mit einigen Tropfen DMF gelöst. Zu dieser Lösung wurden unter Röhren 3,25 mL Thionylchlorid (6,93 g, 34,8 mmol, 1,20 Äq.) zugetropft. Nach einer Stunde wurde das Lösungsmittel unter verminderterem Druck entfernt und der Rückstand erneut in 110 mL DCM gelöst. Anschließend wurden 4,64 g Aluminiumchlorid (34,8 mmol, 1,20 Äq.) bei 0 °C portionsweise zugegeben. Nach einer Stunde wurde die Reaktionslösung durch Zugabe von 45 mL Wasser beendet und dreimal mit Dichlormethan (130 mL) extrahiert. Anschließend wurde die vereinigte organische Phase mit Na₂SO₄ getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel unter verminderterem Druck entfernt. Es wurden 2,84 g Thioxanthon **20** (10,4 mmol, 36 %) als leicht gelblicher Feststoff erhalten.

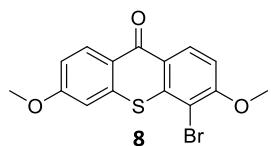
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,54 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, CH_{Ar}); 7,02 (dd, *J* = 9,0 2,5 Hz, 2H, CH_{Ar}); 6,94 (d, *J* = 2,4 Hz, 2H, CH_{Ar}); 3,92 (s, 6H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 178,52; 162,44; 139,29; 132,01; 123,29; 114,98; 108,24; 55,83.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 273,0579; berechnet: 273,0580.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[47]

Synthese von 4-Brom-3,6-Dimethoxythioxanthon (8)



0,300 g Dimethoxythioxanthon **20** (1,10 mmol, 1,00 Äquiv.) wurden 1 Stunde lang mit 12,0 mL Essigsäure gerührt. Anschließend wurden 0,400 g Benzyltrimethylammoniumtribromid (1,100 mmol, 1,00 Äquiv.) und 0,200 g Zinkchlorid (1,100 mmol, 1,00 Äquiv.) zugegeben und für 5 Stunden gerührt. Anschließend wurde die Suspension für 1 Stunde auf 80 °C erhitzt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde der Niederschlag abfiltriert und mit 12 mL Methanol gewaschen und getrocknet. Das Produkt wurde in Ethylacetat, in Dichlormethan und n-Hexan/Ethylacetat umkristallisiert. Es wurden 0,200 g **8**, (0,569 mmol, 43 %) als hellgelber Feststoff erhalten.

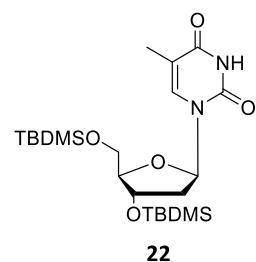
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,64 (d, J = 9,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,50 (d, J = 9,7 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,09 (d, J = 9,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,05 – 7,02 (m, 2H, CH_{Ar}); 4,04 (s, 3H, CH₃); 3,93 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 178,77; 162,78; 158,91; 140,09; 139,73; 131,92; 131,31; 124,88; 122,03; 115,54; 110,03; 108,60; 107,73; 56,83; 55,89.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 350,9682; berechnet: 350,9685.

Das ¹H-NMR-Spektrum beinhaltet zu 20 % das Nebenprodukt 2-Brom-3,6-Dimethoxythioxanthon.

Synthese von 22



Unter Argonatmosphäre wurden 10.0 g Desoxythymidin (41.3 mmol, 1.00 Äquiv.) und 11.8 g Imidazol (173 mmol, 4.20 Äquiv.) in einem Kolben in 100 mL trockenem DMF gelöst und 5 min lang bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 13.1 g tert-Butyldimethylsilylchlorid (86.7 mmol, 2.10 Äquiv.) langsam zugegeben und über Nacht gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde mit 500 mL Wasser versetzt, mit Hexan extrahiert (3 x 400 mL) und über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und es wurden 19.4 g des Produkts **22** (41.2 mmol, 99 %) als weißer Feststoff erhalten.

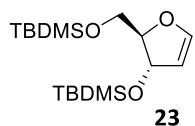
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 8,45 (s, 1H, NH); 7,47 (d, J = 1,4 Hz, 1H, CH); 6,33 (dd, J = 8,0, 5,8 Hz, 1H, CH); 4,40 (dt, J = 5,6, 2,6 Hz, 1H, CH); 3,93 (q, J = 2,5 Hz, 1H, CH); 3,87 (dd, J = 11,4, 2,6 Hz, 1H, CH_2); 3,76 (dd, J = 11,4, 2,5 Hz, 1H, CH_2); 2,25 (ddd, J = 13,1, 5,8, 2,6 Hz, 1H, CH_2); 2,06 – 1,94 (m, 1H, CH_2); 1,91 (d, J = 1,2 Hz, 3H, CH_3); 0,93 (s, 9H, CH_3); 0,89 (s, 9H, CH_3); 0,11 (s, 6H, CH_3); 0,08 (s, 3H, CH_3); 0,07 (s, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, Chloroform-*d*): δ (ppm) = 163,75; 150,32; 135,63; 110,96; 87,99; 84,97; 72,42; 63,14; 41,52; 27,05; 26,08; 25,89; 18,55; 18,16; 12,68; -4,50; -4,69; -5,22; -5,31.

HR-MS (ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+$) m/z: gefunden: 471,2667; berechnet: 471,2705.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[109]

Synthese von 23



Unter Argonatmosphäre wurden 5.00 g Substanz **22** (10.6 mmol, 1.00 Äquiv.) und 48.8 mL Hexamethyldisilazan (38.1 g, 236 mmol, 22.3 Äquiv.) in einem ausgeheizten Kolben vorgelegt und bis zur kompletten Lösung gerührt. Anschließend wurden 2.10 g Ammoniumsulfat (15.9 mmol, 1.50 Äquiv.) zugegeben und für 3 h unter Rückfluss gerührt (127 °C). Das Lösungsmittel wurde unter verminderterem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in Cyclohexan gelöst, mit Wasser, NaHCO₃-Lsg., wieder mit Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter verminderten Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Hexan/Ether, 19:1) gereinigt. Es wurden 2,70 g des Produkts (7.83 mmol, 54 %) als gelbes Öl erhalten.

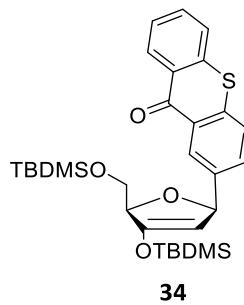
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 6,47 (dd, J = 2,7, 1,0 Hz, 1H, CH); 5,01 (t, J = 2,6 Hz, 1H, CH); 4,86 (td, J = 2,7, 1,0 Hz, 1H, CH); 4,29 (td, J = 6,1, 2,8 Hz, 1H, CH); 3,69 (dd, J = 10,7, 5,7 Hz, 1H, CH₂); 3,51 (dd, J = 10,7, 6,3 Hz, 1H, CH₂); 0,90 (s, 9H, CH₃); 0,89 (s, 9H, CH₃); 0,10 – 0,04 (m, 12H, CH₃).

¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-d): δ (ppm) = 149,12; 103,56; 89,11; 76,13; 62,97; 26,06; 26,03; 18,54; 18,25; -4,11; -4,25; -5,19; -5,22.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 345,2271; berechnet: 345,2276.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[109]

Synthese von 34



Unter Argon-Atmosphäre wurden 1,34 g **3** (4,60 mmol, 1,00 Äquiv.), 1,59 g **23** (4,60 mmol, 1,00 Äquiv.) und 1,37 mL Triethylamin (1,00 g, 9,89 mmol, 2,15 Äquiv.) in Acetonitril gelöst und die Reaktionsmischung wurde unter der Verwendung der *freeze-pump-thaw* Methode drei Mal entgast. Anschließend wurden 841 mg Pd(dppf)Cl₂ (1,15 mmol, 0,250 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion wurde bei 85 °C für 72 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderten Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient Hexan/DCM → DCM) aufgereinigt. Es wurden 1,15 g **34** (2,07 mmol, 45 %) als farbloser Feststoff erhalten.

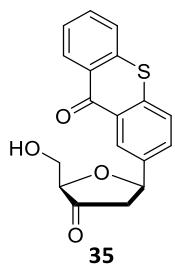
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,62 – 8,59 (m, 1H, CH_{Ar}); 8,48 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,05 (dd, *J* = 8,4, 2,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,59 – 7,51 (m, 3H, CH_{Ar}); 7,48 – 7,44 (m, 1H, CH_{Ar}); 5,85 (dd, *J* = 4,0, 1,6 Hz, 1H, CH); 4,83 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H, CH); 4,63 (dt, *J* = 4,1, 2,1 Hz, 1H, CH); 3,96 – 3,91 (m, 1H, CH₂); 3,82 (dd, *J* = 11,4, 3,8 Hz, 1H, CH₂); 0,95 (s, 9H, CH₃); 0,90 (s, 9H, CH₃); 0,24 – 0,21 (m, 6H, CH₃); 0,07 – 0,05 (m, 6H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 180,03; 151,48; 142,06; 137,42; 136,73; 132,26; 132,25; 129,98; 129,41; 128,73; 127,79; 126,34; 126,13; 102,08; 84,43; 84,30; 64,24; 26,17; 25,72; 18,72; 18,21; -4,74; -4,85; -5,16.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 555,2410; berechnet: 555,2415.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[108]

Synthese von 35



Unter Argon-Atmosphäre wurden 1,10 g **34** (1,98 mmol, 1,00 Äquiv.) in THF gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C gekühlt und 2,59 mL Et₃N·HF (2,56 g, 15,9 mmol, 8,00 Äquiv.) wurden zugetropft. Die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter verminderterem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 10:1) aufgereinigt. Es wurden 643 mg **35** (1,97 mmol, 99 %) als farbloser Feststoff erhalten.

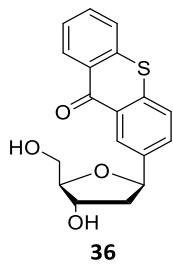
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,63 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,60 (dd, *J* = 8,2, 1,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,73 (dd, *J* = 8,4, 2,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,67 – 7,55 (m, 3H, CH_{Ar}); 7,50 (ddd, *J* = 8,2, 6,8, 1,4 Hz, 1H, CH_{Ar}); 5,35 (dd, *J* = 11,0, 5,8 Hz, 1H, CH); 4,10 (t, *J* = 3,3 Hz, 1H, CH); 4,06 – 3,95 (m, 2H, CH₂); 2,96 (dd, *J* = 17,9, 5,8 Hz, 1H, CH₂); 2,57 (dd, *J* = 18,0, 11,0 Hz, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 213,43; 179,81; 138,57; 137,44; 137,23; 132,57; 130,19; 130,01; 129,11; 129,09; 127,45; 126,69; 126,60; 126,12; 82,75; 77,09; 61,66; 45,52.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 327,0680; berechnet: 327,0686.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[108]

Synthese von 36



Unter Argon-Atmosphäre wurden 0,220 g **35** (0,646 mmol, 1,00 Äquiv.) in 16 mL AcOH/MeCN (1:3) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 1,10 g Natriumtriacetoxyborhydrid (5,17 mmol, 8,00 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion bei Raumtemperatur für 1 h gerührt. Anschließend wurde durch Zugabe von 16 mL EtOH/H₂O (1:1) beendet. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 20:1) aufgereinigt. Es wurden 124 mg **36** (0,362 mmol, 55 %) als farbloser Feststoff erhalten.

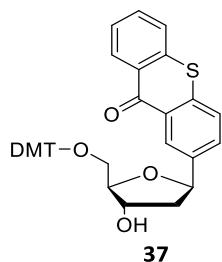
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,47 (dd, *J* = 8,1, 1,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,44 – 8,40 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,88 – 7,73 (m, 4H, CH_{Ar}); 7,59 (ddt, *J* = 8,1, 7,0, 1,2 Hz, 1H, CH_{Ar}); 5,17 (dd, *J* = 10,4, 5,4 Hz, 1H, CH); 5,15 – 5,10 (m, 1H, OH); 4,82 (t, *J* = 5,4 Hz, 1H, OH); 4,24 (td, *J* = 4,6, 4,1, 2,3 Hz, 1H, CH); 3,85 (td, *J* = 5,3, 2,2 Hz, 1H, CH); 3,60 – 3,43 (m, 2H, CH₂); 2,19 (ddd, *J* = 12,8, 5,6, 1,7 Hz, 1H, CH₂); 1,83 (ddd, *J* = 12,7, 10,3, 5,5 Hz, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 178,75; 141,68; 136,56; 135,31; 132,96; 130,99; 129,10; 128,38; 128,12; 126,78; 126,63; 126,59; 126,04; 88,04; 78,62; 72,43; 62,41; 43,57; 40,15; 39,94; 39,73; 39,52; 39,31; 39,10; 38,89.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 329,0836; berechnet: 329,0842.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[108]

Synthese von 37



Unter Argon-Atmosphäre wurden 0,100 g **36** (0,305 mmol, 1,00 Äquiv.) in 8 mL Pyridin gelöst. Anschließend wurden 0,134 g 4,4'-Dimethoxy-triphenylchlormethan (0,396 mmol, 1,30 Äquiv.) langsam hinzugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderterem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO_2 , Hexan/EE 5:1, 0,1 % Et_3N) aufgereinigt. Es wurden 80,8 mg **37** (0,128 mmol, 42 %) als farbloser Feststoff erhalten.

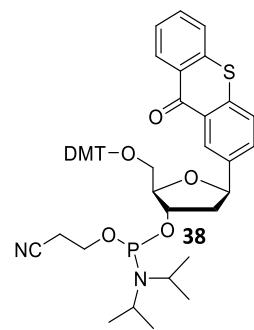
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,62 (dd, $J = 8,2, 1,4$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,57 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,78 (dd, $J = 8,4, 2,1$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,65 – 7,54 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,48 (dd, $J = 8,3, 6,8$ Hz, 3H, CH_{Ar}); 7,40 – 7,34 (m, 4H, CH_{Ar}); 7,34 – 7,11 (m, 4H, CH_{Ar}); 6,90 – 6,77 (m, 4H, CH_{Ar}); 5,28 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H, CH_2); 4,48 (td, $J = 6,3, 4,4$ Hz, 1H, CH_2); 4,36 – 4,18 (m, 1H, CH_2); 3,79 (s, $J = 3,6$ Hz, 6H, CH_3); 3,39 (dd, $J = 9,6, 4,6$ Hz, 1H, CH_2); 3,27 (dd, $J = 9,6, 5,8$ Hz, 1H, CH_2); 2,78 (dt, $J = 13,3, 6,8$ Hz, 1H, CH_2); 2,06 (ddd, $J = 13,3, 7,8, 6,1$ Hz, 1H, CH_2).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 180,04; 158,67; 144,90; 142,00; 137,43; 136,36; 136,08; 136,04; 132,39; 130,19; 130,04; 129,35; 129,33; 129,11; 128,27; 128,13; 128,06; 128,00; 127,05; 127,01; 126,53; 126,42; 126,16; 113,35; 113,27; 86,57; 85,00; 79,49; 77,48; 77,36; 77,16; 76,84; 75,22; 64,80; 55,37; 43,39; 29,84.

HR-MS (EI, $[\text{M}]^+$) m/z: gefunden: 630,2070; berechnet: 630,2076.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[108]

Synthese von 38



Unter Argon-Atmosphäre wurden 114 mg **37** (0.181 mmol, 1.00 Äquiv.) in einem ausgeheizten Rundkolben in 10,0 mL DCM gelöst. Anschließend wurden 108 µL Diisopropylethylamin (81,9 mg, 0,634 mmol, 3,50 Äquiv.) zugegeben und die Lösung für 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 61,0 µL 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidit (64,4 mg, 0,272 mmol, 1,50 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde säulenchromatographisch (SiO₂, DCM/Aceton 50:1, 0,1 % Et₃N) aufgereinigt. Es wurden 122 mg **38** (0,175 mmol, 97 %) als farbloser Feststoff erhalten.

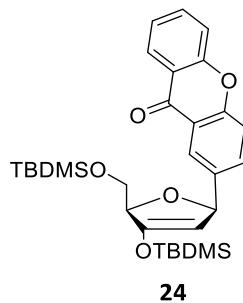
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,65 – 8,55 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,79 (ddd, *J* = 8,4, 6,4, 2,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,66 – 7,52 (m, 3H, CH_{Ar}); 7,51 – 7,45 (m, 3H, CH_{Ar}); 7,40 – 7,34 (m, 6H, CH_{Ar}); 7,23 – 7,17 (m, 1H, CH_{Ar}); 6,88 – 6,77 (m, 4H, CH_{Ar}); 5,35 – 5,27 (m, 1H, CH); 4,63 – 5,51 (m, 1H, CH); 4,33 – 4,22 (m, 1H, CH); 3,91 – 3,81 (m, 1H, CH); 3,79 (s, 3H, CH₃); 3,78 (s, 3H, CH₃); 3,73 – 3,68 (m, 1H, CH₂); 3,67 – 3,53 (m, 2H, CH, CH₂); 3,40 – 3,24 (m, 2H, CH₂); 2,63 (t, *J* = 6,5 Hz, 1H, CH₂); 2,55 – 2,39 (m, 2H, CH₂); 2,14 – 2,01 (m, 1H, CH₂); 1,21 – 1,16 (m, 9H, CH₃); 1,10 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH₃).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 148,27; 147,90.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 831,3224; berechnet: 831,3227.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[108]

Synthese von 24



Unter Argon-Atmosphäre wurden 0,766 g 2-Brom-9H-xanthen-9-on (2,784 mmol, 1,00 Äquiv.), 0,959 g **23** (2,784 mmol, 1,00 Äquiv.) und 0,830 mL Triethylamin (0,606 g, 5,99 mmol, 2,15 Äquiv.) in 8 mL DMF gelöst und die Reaktionsmischung wurde unter der Verwendung der *freeze-pump-thaw* Methode drei Mal entgast. Anschließend wurden 126 mg BrettPhos PdG3 (0,139 mmol, 0,0500 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion wurde bei 80 °C für 72 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderten Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient Cyclohexan/EtOAc 10:1 → 3:1) aufgereinigt. Es wurden 1,13 g **24** (2,09 mmol, 75 %) als farbloser Feststoff erhalten.

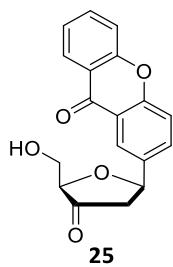
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,35 (dd, *J* = 8,0, 1,7 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,21 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,16 (dd, *J* = 8,7, 2,2 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,72 (ddd, *J* = 8,7, 7,1, 1,8 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,51 – 7,45 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,40 – 7,36 (m, 1H, CH_{Ar}); 5,85 (dd, *J* = 4,0, 1,6 Hz, 1H, CH); 4,83 (t, *J* = 1,8 Hz, 1H, CH); 4,64 – 4,59 (m, 1H, CH); 3,93 (dd, *J* = 11,3, 2,2 Hz, 1H, CH₂); 3,82 (dd, *J* = 11,3, 3,8 Hz, 1H, CH₂); 0,96 (s, 9H, CH₃); 0,91 (s, 9H, CH₃); 0,24 (s, 3H, CH₃); 0,22 (s, 3H, CH_{Ar}); 0,07 (s, 3H, CH_{Ar}); 0,06 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 177,36; 156,33; 156,08; 151,51; 139,39; 134,98; 134,82; 126,89; 124,61; 124,00; 122,04; 121,14; 118,37; 118,12; 102,12; 84,41; 84,10; 64,21; 26,19; 25,74; 18,75; 18,24; -4,72; -4,83; -5,16.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 539,2643; berechnet: 539,2644.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[108]

Synthese von 25



Unter Argon-Atmosphäre wurden 0,579 g **24** (1,07 mmol, 1,00 Äquiv.) in 10 mL THF gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C gekühlt und 1,40 mL Et₃N·HF (1,38 g, 8,56 mmol, 8,00 Äquiv.) wurden zugetropft. Die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter verminderterem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 10:1) aufgereinigt. Es wurden 571 mg **25** (1,06 mmol, 99 %) als farbloser Feststoff erhalten.

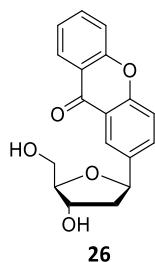
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,30 – 8,20 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,75 (dd, J = 8,7, 2,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,67 (ddd, J = 8,6, 7,0, 1,8 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,41 – 7,29 (m, 3H, CH_{Ar}); 5,27 (dd, J = 10,7, 6,0 Hz, 1H, CH); 4,07 (t, J = 3,1 Hz, 1H, CH); 4,05 – 3,92 (m, J = 12,3, 3,2 Hz, 2H, CH₂); 2,90 (dd, J = 17,9, 5,8 Hz, 1H, CH₂); 2,52 (dd, J = 17,8, 11,0 Hz, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 213,62; 177,07; 156,05; 155,81; 136,14; 135,11; 132,89; 126,72; 124,17; 121,59; 121,40; 118,57; 118,00; 82,84; 76,80; 61,53; 45,62.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 311,0912; berechnet: 311,0914.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[108]

Synthese von 26



Unter Argon-Atmosphäre wurden 0,474 g **25** (1,53 mmol, 1,00 Äquiv.) in 24 mL AcOH/MeCN (1:3) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 2,50 g Natriumtriacetoxyborhydrid (12,2 mmol, 8,00 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion bei Raumtemperatur für 1 h gerührt. Anschließend wurde durch Zugabe von 24 mL EtOH/H₂O (1:1) beendet. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 20:1) aufgereinigt. Es wurden 310 mg **26** (0,994 mmol, 65 %) als farbloser Feststoff erhalten.

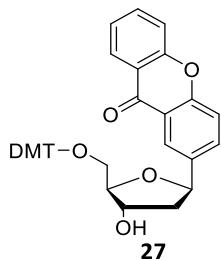
¹H NMR (400 MHz, MeOD) δ 8,31 – 8,23 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,92 (dd, *J* = 8,8, 2,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,85 (ddd, *J* = 8,7, 7,1, 1,7 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,64 – 7,56 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,50 – 7,42 (m, 1H, CH_{Ar}); 5,28 (dd, *J* = 10,5, 5,4 Hz, 1H, CH); 4,39 (dt, *J* = 6,1, 2,0 Hz, 1H, CH); 4,02 (td, *J* = 4,9, 2,4 Hz, 1H, CH); 3,74 (d, *J* = 5,0 Hz, 2H, CH₂); 2,30 (ddd, *J* = 13,1, 5,4, 1,7 Hz, 1H, CH₂); 2,06 – 1,94 (m, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, MeOD) δ 178,91; 157,72; 157,11; 139,90; 136,66; 134,76; 127,33; 125,39; 124,41; 122,65; 122,29; 119,44; 119,31; 89,48; 80,73; 74,46; 64,03; 45,08.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 313,1066; berechnet: 313,1071.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[108]

Synthese von 27



Unter Argon-Atmosphäre wurden 0,196 g **26** (0,628 mmol, 1,00 Äquiv.) in 14 mL Pyridin gelöst. Anschließend wurden 0,319 g 4,4'-Dimethoxy-triphenylchlormethan (0,941 mmol, 1,50 Äquiv.) langsam hinzugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO_2 , Hexan/EE 3:1, 0,1 % Et_3N) aufgereinigt. Es wurden 208 mg **27** (0,339 mmol, 54 %) als farbloser Feststoff erhalten.

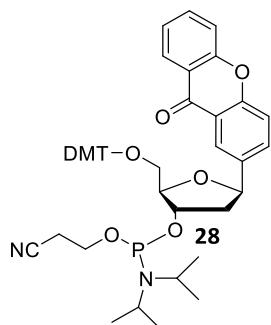
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,29 – 8,21 (m, 1H, CH_{Ar}); 8,19 (d, J = 2,2 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,73 (dd, J = 8,8, 2,2 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,66 – 7,58 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,38 (dd, J = 13,2, 8,3 Hz, 4H, CH_{Ar}); 7,24 (s, 3H, CH_{Ar}); 7,21 – 7,05 (m, 5H, CH_{Ar}); 6,77 – 6,70 (m, 4H, CH_{Ar}); 5,21 (dd, J = 10,1, 5,6 Hz, 1H, CH); 4,43 – 4,33 (m, 1H, CH); 4,05 – 3,94 (m, 1H, CH); 3,69 (s, 6H, CH_3); 3,29 (dd, J = 9,8, 4,6 Hz, 1H, CH_2); 3,21 (dd, J = 9,8, 5,3 Hz, 1H, CH_2); 2,23 (ddd, J = 13,2, 5,6, 1,9 Hz, 1H, CH_2); 2,05 – 1,94 (m, 1H, CH_2).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 177,42; 158,76; 156,32; 147,47; 139,60; 137,56; 136,11; 135,09; 133,09; 130,23; 129,28; 128,47; 127,99; 127,91; 127,21; 126,92; 124,16; 123,96; 118,43; 118,15; 118,13; 113,30; 87,73; 79,49; 74,83; 73,94; 64,60; 63,52; 55,39; 44,40; 43,94.

HR-MS (ESI, $[\text{M}+\text{Na}]^+$) m/z: gefunden: 637,2195; berechnet: 637,2197.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[108]

Synthese von 28



Unter Argon-Atmosphäre wurden 136 mg **27** (0.222 mmol, 1.00 Äquiv.) in einem ausgeheizten Rundkolben in 10,0 mL DCM gelöst. Anschließend wurden 132 µL Diisopropylethylamin (100 mg, 0,777 mmol, 3,50 Äquiv.) zugegeben und die Lösung für 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 74,3 µL 2-Cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidit (78,8 mg, 0,333 mmol, 1,50 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde säulenchromatographisch (SiO₂, DCM/Aceton 50:1, 0,1 % Et₃N) aufgereinigt. Es wurden 136 mg **28** (0,167 mmol, 75 %) als farbloser Feststoff erhalten.

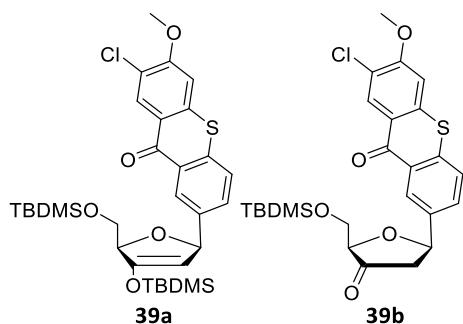
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,35 (dd, *J* = 8,0, 1,7 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,31 (dd, *J* = 5,3, 2,2 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,88 (ddd, *J* = 8,4, 5,7, 2,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,73 (ddd, *J* = 8,6, 7,0, 1,8 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,54 – 7,44 (m, 4H, CH_{Ar}); 7,42 – 7,33 (m, 5H, CH_{Ar}); 7,31 – 7,27 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,24 – 7,16 (m, 1H, CH_{Ar}); 6,90 – 6,75 (m, 4H, CH_{Ar}); 5,30 (dd, *J* = 10,7, 5,1 Hz, 1H, CH); 4,59 – 4,50 (m, 1H, CH); 4,31 – 4,24 (m, 1H, CH); 3,90 – 3,81 (m, 1H, CH); 3,79 (s, *J* = 2,0 Hz, 3H, CH₃); 3,79 (s, *J* = 2,0 Hz, 3H, CH₃); 3,71 (t, 7,0 Hz, 1H, CH₂); 3,64 – 3,57 (m, 2H, CH, CH₂); 3,40 – 3,24 (m, 2H, CH₂); 2,63 (t, *J* = 6,4 Hz, 1H, CH₂); 2,58 – 2,31 (m, 2H, CH₂); 2,14 – 2,01 (m, 1H, CH₂); 1,26 – 1,15 (m, 9H, CH₃); 1,12 – 1,09 (m, 3H, CH₃).

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 148,26; 147,92.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 815,3449; berechnet: 815,3456.

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.^[108]

Synthese von 39a und 39b



Unter Argonatmosphäre wurden 0,546 g **6** (1,54 mmol, 1,00 Äquiv.), 1,06 g **23** (3,07 mmol, 2,00 Äquiv.) und 0,459 mL Triethylamin (0,335 g, 3,31 mmol, 2,15 Äquiv.) in 10 mL DMF gelöst und das Reaktionsgemisch dreimal nach der *freeze-pump-thaw* Methode entgast. Anschließend wurden 141 mg Pd₂dba₃ (0,154 mmol, 0,100 Äquiv.) und 218 mg Q-Phos (0,307 mmol, 0,200 Äquiv.) zugegeben und die Reaktion 72 h lang bei 75 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Hexan/EtOAc, 10:1) gereinigt. Es wurden 400 mg **39a** (0,646 mmol, 42 %) und 67,0 mg **39b** (0,133 mmol, 9 %) mit einer Gesamtausbeute von 51 % als farbloser Feststoff erhalten.

Analytik von 39a

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,56 (s, 1H, CH_{Ar}); 8,43 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,02 (dd, *J* = 8,3, 2,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,47 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,90 (s, 1H, CH_{Ar}); 5,83 (dd, *J* = 4,1, 1,5 Hz, 1H, CH); 4,83 – 4,81 (m, 1H, CH); 4,64 – 4,59 (m, 1H, CH); 3,97 (s, 3H, CH₃); 3,93 (dd, *J* = 11,4, 2,3 Hz, 1H, CH₂); 3,81 (dd, *J* = 11,3, 3,8 Hz, 1H, CH₂); 0,95 (s, 9H, CH₃); 0,89 (s, 9H, CH₃); 0,23 (s, 3H, CH₃); 0,21 (s, 3H, CH₃); 0,06 (s, 3H, CH₃); 0,05 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 178,15; 157,95; 151,45; 142,30; 137,90; 135,94; 132,06; 131,46; 128,28; 127,66; 126,16; 123,50; 122,64; 107,22; 102,02; 84,42; 84,23; 64,20; 56,69; 27,01; 26,15; 25,70; 18,70; 18,19; -4,76; -4,87; -5,18.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 619,2133; berechnet: 619,2131.

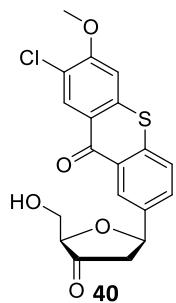
Analytik von 39b

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,61 (s, 1H, CH_{Ar}); 8,58 – 8,54 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,70 (dd, *J* = 8,4, 2,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,60 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,98 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 5,75 (dd, *J* = 8,6, 7,0 Hz, 1H, CH); 4,26 – 4,22 (m, 1H, CH); 4,07 (dd, *J* = 11,0, 2,2 Hz, 1H, CH₂); 4,02 (s, 3H, CH₃); 4,01 – 3,95 (m, 1H, CH₂); 2,93 (dd, *J* = 18,1, 7,0 Hz, 1H, CH₂); 2,55 (dd, *J* = 18,1, 8,7, 1H, CH₂); 0,92 (s, 9H, CH₃); 0,10 (s, 3H, CH₃); 0,08 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 214,57; 158,24; 140,57; 137,85; 136,31; 131,65; 129,81; 128,82; 128,38; 128,33; 127,22; 126,63; 107,33; 81,89; 78,63; 64,98; 56,81; 45,24; 25,99; -5,32; -5,53.

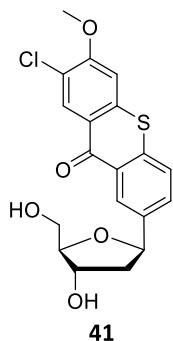
HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 505,1273; berechnet: 505,1266.

Synthese von 40



Unter Argon-Atmosphäre wurden 311 mg **39** (0,502 mmol, 1.00 Äquiv.) in 10 mL THF gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 0,652 mL Et₃N·3HF (0,645 g, 4,00 mmol, 8.00 Äquiv.) zugegeben und für 15 min bei 0°C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde anschließend bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt ohne weitere Aufarbeitung verwendet.

Synthese von 41



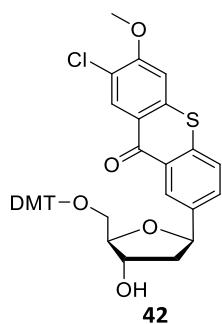
Unter Argon-Atmosphäre wurden 100 mg **40** (0,256 mmol, 1,00 Äquiv.) in 8,00 mL AcOH/MeCN (1:3) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 434 mg Natriumtriacetoxyborhydrid (2,05 mmol, 8,00 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion bei Raumtemperatur für 1 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 8 mL EtOH/H₂O (1:1) beendet. Das Lösungsmittel wurde unter verminderterem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 20:1) aufgereinigt. Es wurden 50,0 mg **41** (0,146 mmol, 39 %) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, Methanol-*d*₄) δ 7,69 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,63 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,00 – 6,96 (m, 1H, CH_{Ar}); 6,84 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,49 (s, 1H, CH_{Ar}); 4,43 – 4,38 (m, 1H, CH); 3,65 – 3,57 (m, 1H, CH); 3,28 – 3,23 (m, 1H, CH); 3,21 (s, 3H, CH₃); 2,99 – 2,94 (m, 1H, CH₂); 2,93 – 2,89 (m, 1H, CH₂); 1,98 – 1,90 (m, 1H, CH₂); 1,17 – 1,13 (m, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CD₃OD) δ 150,22; 134,44; 130,48; 127,73; 122,23; 122,20; 120,00; 117,98; 117,90; 114,63; 114,28; 99,56; 78,33; 70,78; 53,85; 47,99; 35,16.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 393,0557; berechnet: 393,0558.

Synthese von 42



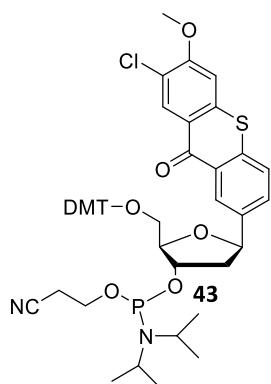
Unter Argon-Atmosphäre wurden 100 mg **41** (0,255 mmol, 1,00 Äquiv.) in 10 mL Pyridin gelöst. Anschließend wurden 104 mg 4,4'-Dimethoxy-triphenylchlormethan (0,306 mmol, 1,20 Äquiv.) langsam hinzugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO_2 , Hexan/EE 3:1, 0,1 % Et_3N) aufgereinigt. Es wurden 58,5 mg **42** (0,0841 mmol, 33 %) als farbloser Feststoff erhalten.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,62 (s, 1H, CH_{Ar}); 8,54 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,74 (dd, $J = 8,4$, 2,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,57 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,32 – 7,27 (m, 5H, CH_{Ar}); 7,19 – 7,15 (m, 4H, CH_{Ar}); 6,98 (s, 1H, CH_{Ar}); 6,85 – 6,80 (m, 4H, CH_{Ar}); 5,25 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, CH); 4,53 (td, $J = 6,8$, 5,3 Hz, 1H, CH); 4,19 – 4,14 (m, 1H, CH); 4,03 (s, 3H, CH_3); 3,89 – 3,82 (m, 1H, CH_2); 3,80 (s, 6H, CH_3); 3,79 – 3,74 (m, 1H, CH_2); 2,77 (dt, $J = 13,3$, 6,8 Hz, 1H, CH_2); 2,14 – 2,06 (m, 1H, CH_2).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 158,79; 139,60; 131,65; 129,86; 129,28; 128,85; 128,01; 127,91; 127,23; 126,94; 126,47; 113,32; 107,33; 85,85; 79,25; 73,36; 62,88; 56,81; 55,41; 43,81.

HR-MS (ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+$) m/z: gefunden: 695,1848; berechnet: 695,1865.

Synthese von 43

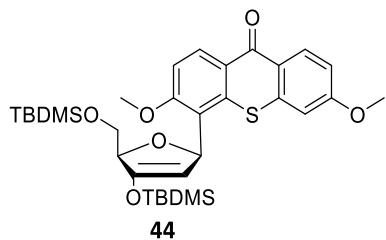


Unter Argon-Atmosphäre wurden 83,0 mg **42** (0.119 mmol, 1.00 Äquiv.) in einem ausgeheizten Rundkolben in 10,0 mL DCM gelöst. Anschließend wurden 71,4 µL Diisopropylethylamin (54,3 mg, 0,417 mmol, 3,50 Äquiv.) zugegeben und die Lösung für 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 39,9 µL 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidit (42,4 mg, 0,179 mmol, 1,50 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde säulenchromatographisch (SiO₂, DCM/Aceton 50:1, 0,1 % Et₃N) aufgereinigt. Es wurden 50,0 mg **43** (0,0558 mmol, 47 %) als farbloser Feststoff erhalten.

³¹P NMR (162 MHz, CDCl₃) δ 148,26; 147,91.

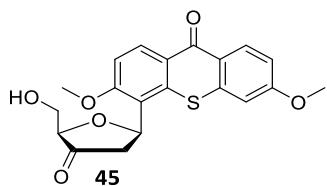
HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 895,2934; berechnet: 895,2943.

Synthese von 44



Unter Argonatmosphäre wurden 3,10 g **8** (4,507 mmol, 1,00 Äquiv.), 3,10 g **27** (9,01 mmol, 2,00 Äquiv.) und 1,35 mL Triethylamin (1,00 g, 9,69 mmol, 2,15 Äquiv.) in 10 mL DMF gelöst und das Reaktionsgemisch dreimal nach der *freeze-pump-thaw* Methode entgast. Anschließend wurden 0,400 g Pd₂dba₃ (0,450 mmol, 0,100 Äquiv.) und 0,600 g Q-Phos (0,901 mmol, 0,200 Äquiv.) zugegeben und die Reaktion 72 h lang bei 70 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Hexan/EtOAc, 25:1 → 10:1) gereinigt. Aufgrund von Restverunreinigungen wurde das Produkt ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet.

Synthese von 45



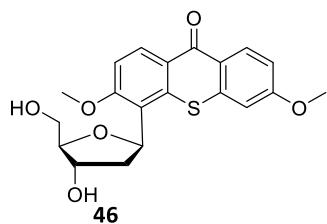
Unter Argonatmosphäre wurden 1,01 g **44** (1,64 mmol, 1,00 Äquiv.) in 15 mL THF gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C gekühlt und 1,2 mL Et₃N·HF (1,19 g, 7,36 mmol, 4,50 Äquiv.) wurden zugetropft. Die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter verminderterem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 15:1) aufgereinigt. Es wurden über zwei Stufen 644 mg **45** (1,67 mmol, 37 %) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,70 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,49 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,14 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,03 (dd, *J* = 9,0, 2,4 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,94 (d, *J* = 2,6 Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,04 (dd, *J* = 10,2, 7,1 Hz, 1H, CH); 4,12 (t, *J* = 3,4 Hz, 1H, CH); 4,04 – 4,00 (m, 2H, CH₂); 3,98 (s, 3H, CH₃); 3,92 (s, 3H, CH₃); 3,20 (dd, *J* = 18,4, 10,2 Hz, 1H, CH₂); 2,79 (dd, *J* = 18,4, 7,0 Hz, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 213,46; 178,81; 162,80; 160,82; 138,54; 133,21; 131,79; 124,20; 122,26; 120,35; 115,49; 110,47; 108,46; 106,32; 82,11; 72,45; 61,66; 56,20; 55,91; 40,46.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 387,0902; berechnet: 387,0897.

Synthese von 46



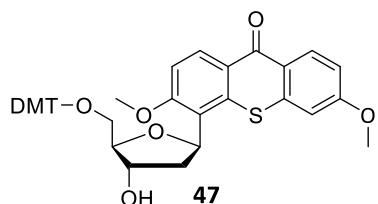
Unter Argon-Atmosphäre wurden 0,397 g **45** (1,03 mmol, 1,00 Äquiv.) in 24 mL AcOH/MeCN (1:3) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 1,74 g Natriumtriacetoxyborhydrid (8,21 mmol, 8,00 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion bei Raumtemperatur für 1 h gerührt. Anschließend wurde durch Zugabe von 24 mL EtOH/H₂O (1:1) beendet. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 10:1) aufgereinigt. Es wurden 333 mg **46** (0,857 mmol, 83 %) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,47 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,30 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,32 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,28 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,11 (dd, *J* = 9,0, 2,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 5,76 – 5,71 (m, 1H, CH); 5,18 (s, 1H, OH); 4,76 (s, 1H, OH); 4,34 – 4,23 (m, 1H, CH); 3,93 (s, 3H, CH₃); 3,92 (s, 3H, CH₃); 3,80 – 3,75 (m, 1H, CH); 3,75 – 3,61 (m, 2H, CH₂); 2,45 (dd, *J* = 6,4, 4,0 Hz, 1H, CH₂); 1,95 – 1,89 (m, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 177,67; 162,30; 160,27; 139,57; 136,82; 131,15; 130,60; 122,78; 122,11; 121,25; 115,59; 110,86; 108,54; 88,37; 73,16; 72,44; 62,15; 56,17; 56,00; 38,16.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 389,1046; berechnet: 389,1053.

Synthese von 47



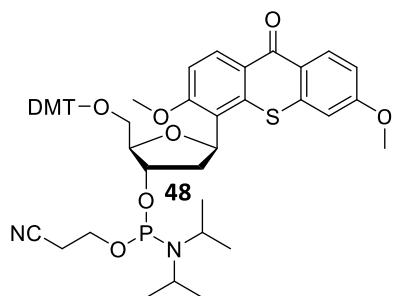
Unter Argonatmosphäre wurden 333 mg **46** (0,857 mmol, 1,00 Äquiv.) in 15 mL Pyridin gelöst. Anschließend wurden 378 mg 4,4'-Dimethoxy-triphenylchlormethan (1,11 mmol, 1,30 Äquiv.) langsam zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderterem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO_2 , Gradient, DCM → DCM/Aceton 20:1, 0,1 % Et_3N) gereinigt. Es wurden 418 mg **47** (0,605 mmol, 71 %) als farbloser Feststoff erhalten.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,55 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,34 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,52 – 7,45 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,39 – 7,32 (m, 4H, CH_{Ar}); 7,22 – 7,13 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,14 – 7,04 (m, 1H, CH_{Ar}); 6,94 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,82 (dd, $J = 9,0, 2,5$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 6,76 – 6,68 (m, 4H, CH_{Ar}); 6,45 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 5,84 (dd, $J = 10,2, 6,4$ Hz, 1H, CH); 4,60 – 4,49 (m, 1H, CH); 3,95 (q, $J = 4,7$ Hz, 1H, CH); 3,73 (s, 3H, CH_3); 3,64 (s, 3H, CH_3); 3,64 (s, 3H, CH_3); 3,48 – 3,39 (m, 2H, CH_2); 3,33 (s, 3H, CH_3); 2,58 (ddd, $J = 13,2, 10,3, 7,5$ Hz, 1H, CH_2); 2,02 (ddd, $J = 13,2, 6,5, 2,4$ Hz, 1H, CH_2).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 179,20; 162,31; 162,25; 160,21; 158,73; 158,64; 158,62; 145,17; 139,60; 136,42; 136,15; 132,06; 131,24; 130,32; 130,23; 129,26; 128,46; 128,37; 128,05; 127,96; 127,89; 127,19; 126,96; 123,90; 122,17; 121,71; 115,37; 113,31; 113,27; 113,14; 109,77; 108,06; 86,58; 86,43; 74,38; 74,18; 63,77; 55,93; 55,37; 55,32; 39,03.

HR-MS (ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+$) m/z : gefunden: 691,2342; berechnet: 691,2360.

Synthese von 48

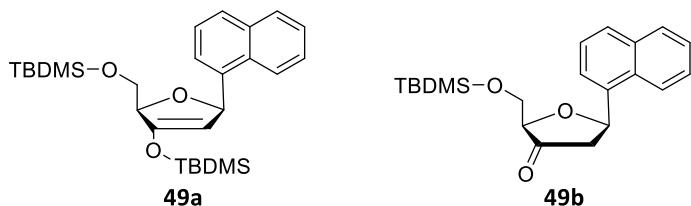


Unter Argonatmosphäre wurden 418 mg **47** (0.605 mmol, 1.00 Äquiv.) in einem ausgeheizten Rundkolben in 20,0 mL DCM gelöst. Anschließend wurden 361 µL Diisopropylethylamin (274 mg, 2,12 mmol, 3,50 Äquiv.) zugegeben und die Lösung für 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 203 µL 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidit (215 mg, 0,908 mmol, 1,50 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde säulenchromatographisch (SiO_2 , DCM/Aceton 50:1, 0,1 % Et_3N) gereinigt. Es wurden 379 mg **48** (0,425 mmol, 70 %) als farbloser Feststoff erhalten.

^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3) δ 149,03; 147,97.

HR-MS (ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+$) m/z: gefunden: 891,3451; berechnet: 891,3439.

Synthese von 49a und 49b



Unter Argonatmosphäre wurden 0,750 mL 1-Bromnaphthalin (1,20 g, 5,80 mmol, 1,00 Äquiv.), 2,00 g Glykal **23** (5,80 mmol, 1,00 Äquiv.) und 1,73 mL Triethylamin (1,26 g, 12,5 mmol, 2,15 Äquiv.) in 7 mL DMF gelöst und das Reaktionsgemisch dreimal nach der *freeze-pump-thaw* Methode ent gast. Anschließend wurden 274 mg Pd₂dba₃ (0,290 mmol, 0,0500 Äquiv.) und 824 mg Q-Phos (1,16 mmol, 0,200 Äquiv.) zugegeben und die Reaktion 72 h lang bei 80 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient, Hexan/EtOAc, 10:1 → 3:1) gereinigt. Es wurden 1,20 g **49a** (2,552 mmol, 44 %) und 956 mg **49b** (2,03 mmol, 35 %) mit einer Gesamtausbeute von 79 % als farbloser Feststoff erhalten.

Analytik von **49a**:

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,15 – 8,10 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,88 – 7,84 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,81 – 7,74 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,54 – 7,42 (m, 3H, CH_{Ar}); 6,53 (dd, *J* = 3,8, 1,6 Hz, 1H, CH); 5,03 (t, *J* = 1,8 Hz, 1H, CH); 4,73 – 4,66 (m, 1H, CH); 3,91 (dd, *J* = 11,2, 2,3 Hz, 1H, CH₂); 3,76 (dd, *J* = 11,2, 4,6 Hz, 1H, CH₂); 0,96 (s, 9H, CH₃); 0,83 (s, 9H, CH₃); 0,25 (s, 3H, CH₃); 0,21 (s, 3H, CH₃); -0,06 (s, 3H, CH₃); -0,07 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 151,30; 138,87; 133,70; 131,19; 128,75; 127,91; 126,03; 125,73; 125,45; 124,19; 123,45; 101,34; 84,37; 80,93; 64,73; 27,07; 26,12; 25,73; 18,64; 18,22; -4,69; -4,73; -5,26; -5,31.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 471,2744; berechnet: 471,2745.

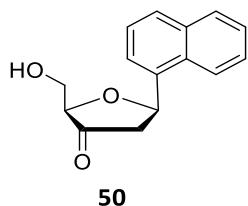
Analytik von **49b**:

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,04 – 7,99 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,94 – 7,87 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,83 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,56 – 7,47 (m, 3H, CH_{Ar}); 5,89 (dd, *J* = 11,2, 5,7 Hz, 1H, CH); 4,16 (t, *J* = 2,6 Hz, 1H, CH); 4,10 – 4,01 (m, 2H, CH₂); 3,04 (dd, *J* = 17,7, 5,7 Hz, 1H, CH₂); 2,55 (dd, *J* = 17,7, 11,2 Hz, 1H, CH₂); 0,88 (s, 9H, CH₃); 0,12 (s, 3H, CH₃); 0,08 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 129,12; 128,64; 126,47; 125,97; 125,82; 125,77; 123,28; 123,03; 120,47; 119,58; 110,71; 82,94; 75,10; 62,68; 45,92; 25,97; -5,24; -5,47.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 357,1879; berechnet: 357,1880.

Synthesis of 50



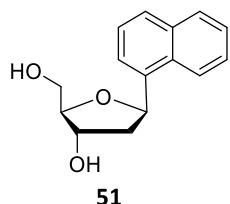
Unter Argonatmosphäre wurden 0,606 g **49** (1,29 mmol, 1,00 Äquiv.) in 10 mL THF gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C gekühlt und 1,68 mL Et₃N·HF (1,66 g, 10,3 mmol, 8,00 Äquiv.) wurden zugetropft. Die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter verminderterem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 20:1) aufgereinigt. Es wurden 187 mg **50** (0,772 mmol, 60 %) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,03 – 7,97 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,91 – 7,83 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,75 (d, J = 7,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,58 – 7,49 (m, 3H, CH_{Ar}); 5,90 (dd, J = 11,1, 5,7 Hz, 1H, CH₂); 4,17 (t, J = 3,5 Hz, 1H, CH); 4,05 – 3,97 (m, 2H, CH₂); 3,11 – 3,03 (m, 1H, CH₂); 2,71 – 2,61 (m, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 213,93; 135,31; 133,88; 130,66; 129,13; 129,07; 126,64; 126,03; 125,61; 123,09; 122,79; 82,43; 75,08; 61,65; 44,79.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 243,1015; berechnet: 243,1016.

Synthesis of 51



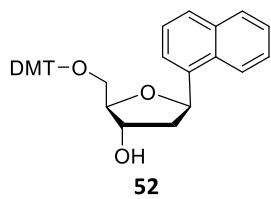
Unter Argon-Atmosphäre wurden 0,448 g **50** (1,85 mmol, 1,00 Äquiv.) in 12 mL AcOH/MeCN (1:3) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 3,14 g Natriumtriacetoxyborhydrid (14,8 mmol, 8,00 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion bei Raumtemperatur für 1 h gerührt. Anschließend wurde durch Zugabe von 12 mL EtOH/H₂O (1:1) beendet. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 10:1) aufgereinigt. Es wurden 362 mg **51** (1,48 mmol, 80 %) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,09 – 8,01 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,87 (dd, *J* = 7,9, 1,7 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,79 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,68 – 7,63 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,56 – 7,45 (m, 3H, CH_{Ar}); 5,90 (dd, *J* = 10,1, 5,7 Hz, 1H, CH); 4,50 (dt, *J* = 6,1, 2,7 Hz, 1H, CH); 4,13 (td, *J* = 4,5, 3,4 Hz, 1H, CH); 3,91 (dd, *J* = 11,6, 4,1 Hz, 1H, CH₂); 3,83 (dd, *J* = 11,6, 4,8 Hz, 1H, CH₂); 2,51 (ddd, *J* = 13,3, 5,8, 2,3 Hz, 1H, CH₂); 2,15 (ddd, *J* = 13,3, 10,1, 6,5 Hz, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 137,08; 133,83; 130,81; 128,94; 128,26; 126,27; 125,81; 125,62; 123,48; 122,02; 87,03; 73,93; 63,60; 43,30.

HR-MS (ESI, [M]⁺) m/z: gefunden: 244,1094; berechnet: 244,1099.

Synthesis of 52



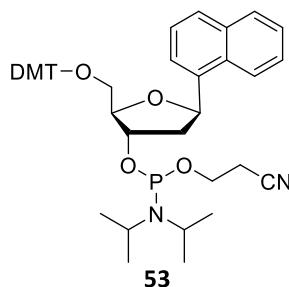
Unter Argonatmosphäre wurden 364 mg **51** (1,49 mmol, 1,00 Äquiv.) in 10 mL Pyridin gelöst. Anschließend wurden 757 mg 4,4'-Dimethoxy-triphenylchloromethan (2,24 mmol, 1,50 Äquiv.) langsam zugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderter Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO_2 , Gradient, DCM → DCM/Aceton 20:1, 0,1 % Et_3N) gereinigt. Es wurden 513 mg **52** (0,939 mmol, 63 %) als farbloser Feststoff erhalten.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7,99 – 7,91 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,80 – 7,75 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,71 – 7,52 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,47 – 7,27 (m, 4H, CH_{Ar}); 7,23 – 7,12 (m, 5H, CH_{Ar}); 7,10 – 7,04 (m, 3H, CH_{Ar}); 6,77 – 6,69 (m, 4H, CH_{Ar}); 5,80 (dd, $J = 10,1, 6,0$ Hz, 1H, CH); 4,39 (ddd, $J = 7,4, 5,3, 2,9$ Hz, 1H, CH); 4,08 – 3,98 (m, 1H, CH); 3,81 (dd, $J = 11,6, 4,1$ Hz, 1H, CH_2); 3,77 – 3,71 (m, 1H, CH_2); 3,69 (s, 6H, CH_3); 2,48 – 2,33 (m, 1H, CH_2); 2,13 – 1,98 (m, 1H, CH_2).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 158,78; 139,60; 130,27; 129,28; 128,93; 128,48; 128,36; 128,24; 128,00; 127,91; 127,23; 126,25; 126,09; 125,79; 125,62; 123,48; 122,01; 113,32; 87,03; 73,95; 63,61; 55,40; 43,33.

HR-MS (EI, [M]) m/z: gefunden: 546,2399; berechnet: 546,2401.

Synthesis of 53



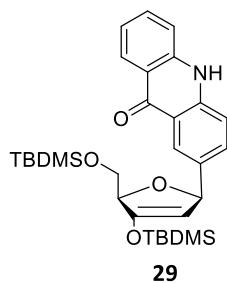
Unter Argonatmosphäre wurden 200 mg **52** (0.366 mmol, 1.00 Äquiv.) in einem ausgeheizten Rundkolben in 12,0 mL DCM gelöst. Anschließend wurden 218 µL Diisopropylethylamin (165 mg, 1,28 mmol, 3,50 Äquiv.) zugegeben und die Lösung für 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 123 µL 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidit (130 mg, 0,549 mmol, 1,50 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde säulenchromatographisch (SiO_2 , DCM/Aceton 50:1, 0,1 % Et_3N) gereinigt. Es wurden 268 mg **53** (0,359 mmol, 98 %) als farbloser Feststoff erhalten.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,12 – 8,05 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,91 – 7,84 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,83 – 7,74 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,53 – 7,42 (m, 5H, CH_{Ar}); 7,39 (ddd, $J = 8,8, 4,3, 1,9$ Hz, 4H, CH_{Ar}); 7,31 – 7,27 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,25 – 7,17 (m, 2H, CH_{Ar}); 6,85 – 6,77 (m, 4H, CH_{Ar}); 5,88 (dt, $J = 10,3, 5,3$ Hz, 1H, CH); 4,64 – 4,53 (m, 1H, CH); 4,35 – 4,29 (m, 1H, CH); 3,92 – 3,80 (m, 1H, CH); 3,80 – 3,77 (m, 6H, CH_3); 3,77 – 3,54 (m, 3H, CH ; CH_2); 3,46 – 3,31 (m, 2H, CH_2); 2,72 – 2,52 (m, 2H, CH_2); 2,52 – 2,44 (m, 1H, CH_2); 2,21 – 2,08 (m, 1H, CH_2); 1,30 – 1,15 (m, 9H, CH_3); 1,10 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3).

$^{31}\text{P NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ (ppm) = 148,4; 147,9.

HR-MS (ESI, $[\text{M}+\text{H}]^+$) m/z: gefunden: 747,3550; berechnet: 747,3558.

Synthese von 29



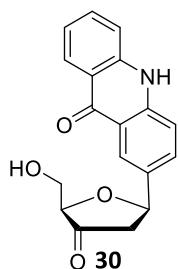
Unter Argon-Atmosphäre wurden 0,510 g **2** (1,86 mmol, 1,00 Äquiv.), 1,10 g **23** (3,72 mmol, 2,00 Äquiv.) und 0,555 mL Triethylamin (0,405 g, 4,00 mmol, 2,15 Äquiv.) in 10 mL DMF gelöst und die Reaktionsmischung wurde unter der Verwendung der *freeze-pump-thaw* Methode drei Mal entgast. Anschließend wurden 85,0 mg Pd₂dba₃ (0,0930 mmol, 0,0500 Äquiv.) und 0,264 mg Q-Phos (0,372 mmol, 0,200 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion wurde bei 75 °C für 72 h gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderten Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient Cyclohexan/EtOAc 10:1 → 3:1) aufgereinigt. Es wurden 0,700 g **29** (1,30 mmol, 70 %) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 9,02 (s, 1H, NH); 8,46 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,25 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,96 (dt, *J* = 8,5, 2,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,61 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,34 (dd, *J* = 8,4, 2,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,25 – 7,17 (m, 2H, CH_{Ar}); 5,80 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H, CH); 4,83 – 4,79 (m, 1H, CH); 4,66 – 4,60 (m, 1H, CH); 3,96 (dd, *J* = 11,3, 2,2 Hz, 1H, CH₂); 3,83 (dd, *J* = 11,3, 4,4 Hz, 1H, CH₂); 0,96 (s, 9H, CH₃); 0,89 (s, 9H, CH₃); 0,23 (s, 3H, CH₃); 0,22 (s, 3H, CH₃); 0,05 (s, 6H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 178,45; 151,32; 140,44; 140,31; 136,74; 133,76; 133,52; 127,42; 125,26; 121,74; 120,82; 116,92; 116,55; 102,35; 84,56; 84,29; 64,59; 26,20; 25,75; -4,70; -4,83; -5,12; -5,14.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 538,2803; berechnet: 538,2803.

Synthese von 30



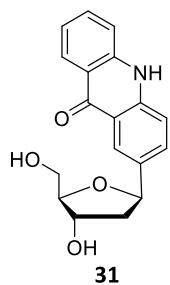
Unter Argon-Atmosphäre wurden 700 mg **29** (1,30 mmol, 1,00 Äquiv.) in 15 mL THF gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde auf 0 °C gekühlt und 1,70 mL Et₃N·HF (1,68 g, 10,4 mmol, 8,00 Äquiv.) wurden zugetropft. Die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter verminderterem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 10:1) aufgereinigt. Es wurden 402 mg **30** (1,18 mmol, 91 %) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,30 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,26 – 8,20 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,89 (dd, *J* = 8,7, 2,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,68 (ddd, *J* = 8,5, 6,9, 1,6 Hz, 1H, CH_{Arj}); 7,54 (dd, *J* = 14,7, 8,3 Hz, 2H, CH_{Ar}); 7,22 (ddd, *J* = 8,0, 6,9, 1,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 5,30 (dd, *J* = 10,9, 5,7 Hz, 1H, CH); 5,00 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H, CH); 4,02 (t, *J* = 3,2 Hz, 1H, CH); 3,85 – 3,64 (m, 2H, CH₂); 2,88 (dd, *J* = 17,5, 5,7 Hz, 1H, CH₂); 2,43 (dd, *J* = 17,5, 11,0 Hz, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 176,68; 140,76; 140,60; 133,22; 133,14; 131,69; 125,96; 123,90; 120,84; 120,54; 119,94; 117,61; 117,22; 82,82; 79,12; 78,79; 78,46; 76,41; 60,44; 45,27; 40,15; 39,94; 39,73; 39,52; 39,31; 39,10; 38,89; -22,66.

HR-MS (ESI, [M+H]⁺) m/z: gefunden: 310,1072; berechnet: 310,1074.

Synthese von 31



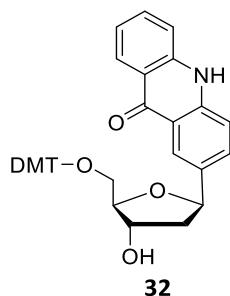
Unter Argon-Atmosphäre wurden 300 mg **30** (0,970 mmol, 1,00 Äquiv.) in 24,0 mL AcOH/MeCN (1:3) gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 1,64 g Natriumtriacetoxyborhydrid (7,76 mmol, 8,00 Äquiv.) hinzugegeben und die Reaktion bei Raumtemperatur für 1 h gerührt. Anschließend wurde die Reaktion durch Zugabe von 24,0 mL EtOH/H₂O (1:1) beendet. Das Lösungsmittel wurde unter verminderterem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO₂, Gradient DCM → DCM/MeOH 10:1) aufgereinigt. Es wurden 203 mg **31** (0,652 mmol, 67 %) als farbloser Feststoff erhalten.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13,04 (s, 1H, NH); 8,90 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,87 – 8,81 (m, 1H, CH_{Ar}); 8,47 – 8,34 (m, 2H, CH_{Ar}); 8,34 – 8,24 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,97 – 7,86 (m, 1H, CH_{Ar}); 5,81 (dd, *J* = 10,6, 5,3 Hz, 1H, CH); 4,92 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H, CH); 4,56 – 4,48 (m, 1H, OH); 4,28 – 4,11 (m, 2H, CH₂); 3,85 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H, CH); 2,81 (dd, *J* = 12,6, 5,4 Hz, 1H, CH₂); 2,06 – 1,84 (m, 1H, CH₂).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 176,72; 140,99; 140,45; 135,10; 133,25; 131,80; 125,97; 122,95; 120,87; 120,47; 119,99; 117,69; 117,56; 87,89; 79,06; 72,52; 62,55; 43,53.

HR-MS (ESI, [M+Na]⁺) m/z: gefunden: 334,1045; berechnet: 334,1050.

Synthese von 32



Unter Argon-Atmosphäre wurden 295 mg **31** (0,946 mmol, 1,00 Äquiv.) in 15 mL Pyridin gelöst. Anschließend wurden 385 mg 4,4'-Dimethoxy-triphenylchlormethan (1,14 mmol, 1,20 Äquiv.) langsam hinzugegeben und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter verminderterem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (SiO_2 , Hexan/EE 3:1, 0,1 % Et_3N) aufgereinigt. Es wurden 325 mg **32** (0,530 mmol, 56 %) als farbloser Feststoff erhalten.

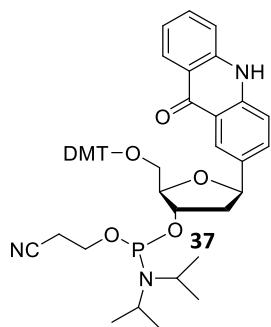
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8,92 (s, 1H, NH); 8,45 (dd, J = 8,3, 1,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,38 (d, J = 2,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,72 (dd, J = 8,6, 2,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,58 (ddd, J = 8,5, 7,0, 1,6 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,49 – 7,41 (m, 2H, CH_{Ar}); 7,38 – 7,32 (m, 5H, CH_{Ar}); 7,30 – 7,27 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,26 – 7,20 (m, 3H, CH_{Ar}); 7,20 – 7,14 (m, 1H, CH_{Ar}); 6,88 – 6,73 (m, 4H, CH_{Ar}); 5,27 (dd, J = 10,2, 5,6 Hz, 1H, CH); 4,43 (dt, J = 5,3, 2,3 Hz, 1H, CH); 4,10 (td, J = 4,9, 2,6 Hz, 1H, CH); 3,75 (s, 6H, CH_3); 3,36 (dd, J = 9,8, 4,7 Hz, 1H, CH_2); 3,32 – 3,27 (m, 1H, CH_2); 2,26 (ddd, J = 13,1, 5,7, 2,0 Hz, 1H, CH_2); 2,09 (ddd, J = 13,1, 10,2, 6,1 Hz, 1H, CH_2).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ 178,51; 158,58; 145,00; 140,57; 140,15; 136,17; 135,19; 133,65; 132,05; 130,23; 128,48; 128,34; 127,97; 127,27; 126,92; 124,60; 121,78; 121,56; 121,08; 117,09; 116,74; 113,29; 86,51; 86,38; 79,80; 74,81; 64,70; 55,34; 43,81.

HR-MS (ESI, [M-DMT] $^+$) m/z: gefunden: 310,0186; berechnet: 310,1079;

(ESI, [DMT] $^+$) m/z: gefunden: 303,1372; berechnet: 303,1385.

Synthese von 33



Unter Argon-Atmosphäre wurden 325 mg **32** (0.530 mmol, 1.00 Äquiv.) in einem ausgeheizten Rundkolben in 10,0 mL DCM gelöst. Anschließend wurden 315 µL Diisopropylethylamin (239 mg, 1,85 mmol, 3,50 Äquiv.) zugegeben und die Lösung für 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 177 µL 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidit (188 mg, 0,794 mmol, 1,50 Äquiv.) zugegeben und die Reaktionslösung für 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde säulenchromatographisch (SiO₂, DCM/Aceton 50:1, 0,1 % Et₃N) aufgereinigt. Es wurden 341 mg **33** (0,419 mmol, 79 %) als farbloser Feststoff erhalten.

³¹P NMR (162 MHz, DMSO) δ 146,95; 146,42.

HR-MS (ESI, [M+H⁺]) m/z: gefunden: 814,3596; berechnet: 814,3616.

6.4 Oligonukleotid Synthese und Analytik

Phosphoramidit-Synthese

Die Oligonukleotidsynthese wurde unter Argonatmosphäre auf einem *H-6 DNA/RNA Synthesizer* der Firma K&A LABORGERÄTE durchgeführt. Als Festphase wurde 1 µmol *Controlled-Pore-Glass* (CPG) mit einer Porengröße von 500 Å verwendet. Die für die Festphasen-DNA-Synthese benötigten Reagenzien, Phosphoramidite und CPG-Säulen wurden von den Firmen CHEMGENES, GLENRESEARCH (EUROGENTEC) und SIGMA ALDRICH bezogen. Die kommerziell erworbenen Phosphoramidite der natürlichen Basen Adenin, Guanin, Thymin und Cytosin wurden in Acetonitril (0,0670 M) gelöst. Die synthetisch hergestellten Phosphoramidite wurden in Acetonitril mit einer Konzentration von 0,100 M gelöst.

Die Synthese der Oligonukleotide erfolgte nach Standardkupplungsbefindungen. Für die nicht natürlichen Phosphoramidite wurde die Kupplungszeit im Vergleich zum Standardkupplungsprotokoll verlängert. Zur vereinfachten Aufreinigung der Oligonukleotide, wurde im DMT-On-Modus die 5'-DMT-Schutzgruppe am Ende der Synthese nicht abgespalten. Das angepasste Kupplungsprotokoll ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 3: Kupplungsprotokoll für die synthetisch hergestellten Phosphoramidite: Xanthor, Thioxanthor, 2-Chlor-3-Methoxythioxanthor, Acridon, Naphtalin.

	Time [0.1 s]	Source	Mixed	Destin	S.Col.Ptr.	Totzeit [s]	Branch
BRANCH							
1	4	TET		COL	ON		
2	6	AMD	TET	COL			
3					ON		
4						99	
5						99	
6						99	
7						99	
8						99	
9						99	
10						99	
11						99	
12	6	AMD	TET	COL	ON		
13					ON		
14						99	
15						99	
16						99	

17						99	
18						99	
19						99	
20						99	
21						99	
22	4	TET		COL	ON		
23					ON		
24	20	ACN		M_W			
25	20	GAS		M_W			

Abspaltung

Nach Beendigung der Festphasensynthese wurde der Inhalt der CPG-Säulen in Eppendorf-Gefäße mit Safe-Lock-Deckel überführt und 750 µL Ammoniumhydroxidlösung (>25 %, trace select, Fluka) zur basischen Abspaltung der 2-Cyanoethylgruppen und der DNA von der CPG-Festphase zugegeben. Die Suspension wurde über Nacht bei 55 °C in einem Heizblock erhitzt. Anschließend wurde das Ammoniak mit der SpeedVac entfernt (Bedingungen). Der Überstand wurde überführt und das CPG wurde dreimal mit je 200 µL ddH₂O gewaschen, um die abgespaltene DNA zu isolieren.

Voraufreinigung mit *Glen-Pak*TM

Die abgespaltenen Oligonukleotide konnten aufgrund der vorhandenen 5'-DMT-Schutzgruppe mit den Glen-PakTM DNA Purification Cartridges der Firma Glen Research gereinigt werden. Die vereinigten Überstände mit den abgespaltenen DNA-Strängen wurden mit 1 mL NaCl-Lösung (100 mg/mL) versetzt, um ein Endvolumen von ca. 2 mL zu erhalten und eine erfolgreiche Beladung der Glen-PakTM Säule zu gewährleisten. Vor dem Beladen der Säule wurde diese mit 0,5 mL Acetonitril equilibriert, gefolgt von 1 mL 2 M TEAA-Lösung. Das Acetonitril wäscht organische Rückstände vom Säulenmaterial ab, während die TEAA-Lösung als Ionenpaar die Bindung der DMT-On Oligonukleotide an das Säulenmaterial verstärkt. Anschließend wurden 2 mL der Oligonukleotid-Lösung auf die Säule gegeben. Durch zweimaliges Waschen mit je 1 mL Salzwashlösung (100 mg/mL NaCl in ddH₂O, 5 % MeCN) wurden unerwünschte Abbruchstränge von der Säule entfernt. Durch anschließende Zugabe von 2 mL TFA-Lösung (2 % in ddH₂O) wurden die DMTr-Schutzgruppen von den Oligonukleotiden entfernt. Vor der Elution der DNA-Stränge wurden die TFA-Rückstände mit 2 mL ddH₂O von der Glen-PakTM Säule gewaschen. Die noch an das Säulenmaterial gebundene DNA wurde anschließend mit 1,5 mL Elutionslösung (MeCN/ddH₂O 1:1, 0,5 % NH₄OH) eluiert und mit der SpeedVac (Bedingungen) lyophilisiert.

Aufreinigung der DNA-Stränge durch semipräparative HPLC

Für die Trennung restlicher DNA-Abbruchstränge und Verunreinigungen, wurde die Vorgereinigte DNA in 300 µL ddH₂O gelöst und mit einer RP-HPLC (*Dionex Ultimate3000*) der Firma THERMO SCIENTIFIC gereinigt. Die DNA wurde über die Absorption bei 260 nm sowie die jeweils charakteristische Wellenlänge der inkorporierten Chromophore detektiert und fraktioniert aufgefangen. Hierzu wurde ein Gradient aus NH₄OAc Puffer und Acetonitril verwendet (Tabelle 4).

Tabelle 4: HPLC Protokoll zur Aufreinigung der modifizierten Oligonukleotide mit MeCN (B) und NH₄OAc (A) als Laufmittel.

DNA	Gradient [% B in A]	Run time [min]	Temperature [°C]	Flussrate [mL/min]	λ [nm]
DNAII-n,					
DNA-III-n	1-45	75	40	2,5	260, 290, 385
DNAIV-n					
DNAI-n	1-45	75	40	2,5	260, 290, 365
DNAV-n	1-45	75	40	2,5	260, 290, 355
DNANTl-n	1-45	75	40	2,5	260, 290, 310

Massenspektrometrie (MALDI-TOF)

Die gesammelten Fraktionen wurden lyophilisiert und anschließend mit 40 µL ddH₂O aufgenommen. Die Fraktionen wurden mittels MALD-TOF analysiert und alle Fraktionen, die nur die Masse des gesuchten DNA-Strangs enthielten, wurden vereinigt.

Analytik mittels analytischer RP-HPLC

Die Analytik der aufgereinigten Oligonukleotide, sowie die Analytik der Belichtungsexperimente, erfolgte mittels analytischer RP-HPLC (Abschnitt 6.2). Dabei wurde ein Gradient aus Acetonitril (B) und 0,05 M Ammoniumacetat-Puffer (A) bei einer Ofentemperatur von 60 °C verwendet (Tabelle 5).

Tabelle 5: HPLC Protokoll für die Analytik der aufgereinigten DNA-Stränge, sowie der Belichtungsexperimente der DNA-Architekturen **DNAX-n**. Als Laufmittel wurde NH₄OAc-Puffer (A) und Acetonitril (B) verwendet.

DNAX-n	Gradient [% B in A]	Run time [min]	Temperature [°C]	Flussrate [mL/min]	λ [nm]
DNAX-0-1	1-45	75	60	1,0	260, 290, 365/385, 554
DNAX-≥2	1-42	75	60	1,0	260, 290, 365/385, 554

Konzentrationsbestimmung

Die Konzentration der gereinigten DNA-Lösung wurde über die Absorption bei 260 nm mit dem Spektrophotometer *NS-1000* der Firma NANODROP im Nukleinsäuremodus bestimmt. Die Konzentration kann mit Hilfe des LAMBERT-BEER Gesetzes bestimmt werden. Dazu wird der molare Extinktionskoeffizient des Oligonukleotids bei 260 nm ε_{260} benötigt. Dieser ergibt sich aus der Summe der einzelnen Extinktionskoeffizienten (ε_{260}) der im Oligonukleotid vorhandenen Basen.

$$\varepsilon_{260} = \varepsilon_{260}X + (nA^* \varepsilon_A + nT^* \varepsilon_T + nG^* \varepsilon_G + nC^* \varepsilon_C) \cdot 0.9.$$

ε_{260} = molarer Extinktionskoeffizient bei 260 nm

X = Photosensibilisator als unnatürliche Base

n = Anzahl der Vorhandenen Basen

Tabelle 6: Extinktionskoeffizienten der verwendeten Nukleotide bzw. der Verwendeten Chromophor-Nukleoside bei 260 nm.

Nukleotid bzw. Chromophor Nukleosid	$\varepsilon_{260} [\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}]$
A	15400
T	8800
G	11700
C	7300
I	9835
II	38200
III	13100
IV	35080
V	29800
Ntl	3800

Hybridisierung

Die Hybridisierung der komplementärer DNA-Stränge erfolgte äquimolar in einer Konzentration von 2,5 µM in 250 mM NaCl-Lösung und 10 mM NaPi-Puffer in ddH₂O (1 mL Endvolumen). Für die transienten Absorptionmessungen wurde eine DNA-Konzentration von 90 µM gewählt. Die Lösungen wurden für 10 min auf 95 °C erhitzt und anschließend über Nacht auf Raumtemperatur abgekühlt.

Analytik der Aufgereinigten Oligonukleotide sowie die bestimmten Schmelztemperaturen

Tabelle 7: Extinktionskoeffizienten und MALDI-Massen der synthetisierten X-modifizierten einzelsträngigen DNA (**DNAx-n**). *m/z: m/3 mittels LC-ESI-MS bestimmt.

DNAx-n	ϵ_{260}	Masse berechnet	Masse gefunden
	[M ⁻¹ ·cm ⁻¹]	[Da]	[Da]
DNAI-0	161485	4668	4671
DNAI-1	183265	5285	5294
DNAI-2	205045	5902	5918
DNAI-3	226825	6519	6519
DNAI-4	248605	7136	7135
DNAI-5	270385	7753	7764
DNAII-0	189850	4684	4683
DNAII-1	211630	5301	5298
DNAII-2	233410	5918	5920
DNAII-3	255190	6536	6539
DNAII-4	276970	7153	7153
DNAII-5	298750	7770	7795
DNAIII-0	164750	4748	4751
DNAIII-1	186530	5365	5365
DNAIV-0	186730	4744	4755
DNAIV-1	208510	5361	5367
DNAIV-2	230290	5978	5979
DNAIV-3	252070	6596	6619
DNAIV-2_{KtrG/C}	223000	5954	1987*
DNAV-0	181450	4667	4671
DNAV-1	203230	5284	5288
DNAV-2	225010	5901	5908
DNANTl-0	139610	4542	4542
DNANTl-1	161390	5159	5161
DNANTl-2	183170	5776	5776

Tabelle 8: DNA-Schmelztemperaturen der hybridisierten DNA-Architekturen **DNAX-n** sowie der DNA-Doppelstränge **DNATX/Ntl-n** und **DNATX-n**.

DNAX-n	Schmelztemperatur [°C]	
	T_{m1}	T_{m2}
DNAI-0	12	44
DNAI-1	14	43
DNAI-2	14	47
DNAI-3	14	49
DNAI-4	13	52
DNAI-5	15	54
DNAII-0	13	45
DNAII-1	12	44
DNAII-2	13	45
DNAII-3	13	49
DNAII-4	14	53
DNAII-5	13	55
DNAIII-0	15	47
DNAIII-1	11	46
DNAIV-0	11	42
DNAIV-1	11	44
DNAIV-2	12	47
DNAIV-3	12	50
DNAIV-2_{KtrG/C}	13	50
DNAV-0	11	48
DNAV-1	12	43
DNATX-0	52	-
DNATX/Ntl-0	48	-
DNATX-1	54	-
DNATX/Ntl-1	46	-
DNATX-2	56	-
DNATX/Ntl-2	50	-

7 Literaturverzeichnis

1. R. K. Sachs; P.-L. Chen; P. J. Hahnfeldt; L. R. Hlatky, *Math. Biosci.* **1992**, *112*, 271-303.
2. B. Schoket, *Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* **1999**, *424*, 143-153.
3. T. Hemnani; M. Parihar, *Indian J. Physiol. Pharmacol.* **1998**, *42*, 440-452.
4. J.-S. Taylor, *Acc. Chem. Res.* **1994**, *27*, 76-82.
5. A. E. Stapleton, *Plant Cell.* **1992**, *4*, 1353.
6. T. Douki; A. Reynaud-Angelin; J. Cadet; E. Sage, *Biochem.* **2003**, *42*, 9221-9226.
7. J. Zhang; G. T. Bowden, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 54-61.
8. H. A. Wagenknecht, *ChemPhysChem* **2013**, *14*, 3197-3198.
9. S. Okawa; K. Nakata, *Jpn. J. Clin. Oncol.* **2024**, *54*, 945-946.
10. J. Cadet; S. Mouret; J. L. Ravanat; T. Douki, *Photochem. Photobiol.* **2012**, *88*, 1048-1065.
11. J. Cadet; T. Douki; J.-L. Ravanat; P. D. Mascio, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2009**, *8*, 903-911.
12. B. Epe, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2012**, *11*, 98-106.
13. I. Aparici-Espert; G. Garcia-Lainez; I. Andreu; M. A. Miranda; V. Lhiaubet-Vallet, *ACS Chem. Biol.* **2018**, *13*, 542-547.
14. H.-A. Wagenknecht, *ChemBioChem* **2022**, *23*, e202100265.
15. E. B. M. Kroft; N. J. G. Berkhof; P. C. M. van de Kerkhof; R. M. J. P. Gerritsen; E. M. G. J. de Jong, *J. Am. Acad. Dermatol.* **2008**, *59*, 1017-1030.
16. T. Gustavsson; D. Markovitsi, *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54*, 1226-1235.
17. N. K. Schwalb; F. Temps, *Science* **2008**, *322*, 243-245.
18. Y. Zhang; K. d. L. Harpe; A. A. Beckstead; R. Improta; B. Kohler, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 7059-7062.
19. D. B. Bucher; B. M. Pilles; T. Carell; W. Zinth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 4369-4374.
20. C. T. Middleton; K. d. L. Harpe; C. Su; Y. K. Law; C. E. Crespo-Hernandez; B. Kohler, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2009**, *60*, 217-239.
21. K. Heil; D. Pearson; T. Carell, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 4271-4278.
22. J. Cadet; A. Grand; T. Douki, *Top. Curr. Chem.* **2015**, *356*, 249-276.
23. M. C. Cuquerella; V. Lhiaubet-Vallet; J. Cadet; M. A. Miranda, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1558-1570.
24. J. Franck; E. Dymond, *Trans. Faraday Soc.* **1926**, *21*, 536-542.
25. E. U. Condon, *Phys. Rev.* **1928**, *32*, 858.
26. A. Jablonski, *Nature* **1933**, *131*, 839-840.
27. E. V. Anslyn; D. A. Dougherty, *Modern Physical Organic Chemistry*. University Science Books: **2006**.
28. A. Boaro; L. D. Ramos; E. L. Bastos; E. J. H. Bechara; F. H. Bartoloni, *J. Photochem. Photobiol. B* **2024**, *113070*.
29. V. Rai-Constatel; S. Salzmann; C. M. Marian, *J. Phys. Chem. A* **2011**, *115*, 8589-8596.
30. P. Klán; J. Wirz, *Photochemistry of organic compounds: from concepts to practice*. John Wiley & Sons: **2009**.

Literaturverzeichnis

31. W. Domcke; G. Stock, *Adv. Chem. Phys.* **1997**, *100*, 1-169.
32. M. Kasha, *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, *9*, 14-19.
33. M. El-Sayed, *J. Chem. Phys.* **1963**, *38*, 2834-2838.
34. X. Cui; J. Zhao; Z. Mohmood; C. Zhang, *Chem. Rec.* **2016**, *16*, 173-188.
35. T. Förster, *Ann. Phys.* **1948**, *437*, 55-75.
36. D. L. Dexter, *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 836-850.
37. L. Antusch; N. Gaß; H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 1385-1389.
38. R. E. Holmlin; R. T. Tong; J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9724-9725.
39. C. Curutchet; A. A. Voityuk, *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 22179-22185.
40. H. B. Gray; J. R. Winkler, *PNAS* **2005**, *102*, 3534-3539.
41. F. Strieth-Kalthoff; F. Glorius, *Chem* **2020**, *6*, 1888-1903.
42. N. J. Turro; V. Ramamurthy; J. C. Scaiano, *Modern molecular photochemistry of organic molecules*. University Science Books Sausalito, CA: **2010**; Vol. 188.
43. F. H. Quina; G. T. M. Silva, *J. Photochem. Photobiol.* **2021**, *7*, 100042.
44. P. J. Wagner, *Triplet States III* **2006**, 1-52.
45. S. L. Murov; I. Carmichael; G. L. Hug, *Handbook of photochemistry*. Crc Press: **1993**.
46. J. Fendler; E. Fendler; G. Infante; P.-S. Shih; L. Patterson, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 89-95.
47. L. D. Elliott; S. Kayal; M. W. George; K. Booker-Milburn, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 14947-14956.
48. E. Krystkowiak; A. Maciejewski; J. Kubicki, *ChemPhysChem* **2006**, *7*, 597-606.
49. T. J. Zähringer; M. Wienhold; R. Gilmour; C. Kerzig, *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 21576-21586.
50. J. Scaiano, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7747-7753.
51. J. Lalevée; N. Blanchard; M. A. Tehfe; C. Fries; F. Morlet-Savary; D. Gigmes; J. P. Fouassier, *Polym. Chem.* **2011**, *2*, 1077-1084.
52. A. Dadabhoy; S. Faulkner; P. G. Sammes, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2002**, 348-357.
53. A. T. Mohi; H. A. A. Abd Alreda, *J. Phys. Conf. Ser.* **2022**, *2322*, 012075.
54. R. Berera; R. van Grondelle; J. T. Kennis, *Photosynth. Res.* **2009**, *101*, 105-118.
55. O. Bieri; J. Wirz; B. Hellrung; M. Schutkowski; M. Drewello; T. Kiehaber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 9597-9601.
56. J. D. Watson; F. H. Crick, *Nature* **1953**, *171*, 737-738.
57. E. Protozanova; P. Yakovchuk; M. D. Frank-Kamenetskii, *J. Mol. Biol.* **2004**, *342*, 775-785.
58. J. SantaLucia Jr, *PNAS* **1998**, *95*, 1460-1465.
59. S. Arnott, *Trends Biochem. Sci.* **2006**, *31*, 349-354.
60. J. C. Genereux; S. M. Wuerth; J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 3863-3868.
61. J. Genereux; J. K. Barton, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1642-1662.
62. W. Schreier; P. Gilch; W. Zinth, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2015**, *66*, 497-519.
63. W. J. Schreier; T. E. Schrader; F. O. Koller; P. Gilch; C. E. Crespo-Hernandez; V. N. Swaminathan; T. Carell; W. Zinth; B. Kohler, *Science* **2007**, *315*, 625-629.
64. T. Douki, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2013**, *12*, 1286-1302.

Literaturverzeichnis

65. E. Ben-Hur; R. Ben-Ishai, *Biochim. Biophys. Acta, Nucleic Acids Protein Synth.* **1968**, *166*, 9-15.
66. D. Markovitsi, *Photochem. Photobiol.* **2016**, *92*, 45-51.
67. E. Bignon; H. Gattuso; C. Morell; E. Dumont; A. Monari, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 11509-11516.
68. V. Vendrell-Criado; G. M. Rodríguez-Muniz; V. Lhiaubet-Vallet; M. C. Cuquerella; M. A. Miranda, *ChemPhysChem* **2016**, *17*, 1979-1982.
69. A. Blasco-Brusola; I. Vayá; M. A. Miranda, *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 14068-14076.
70. M. Marazzi; M. Wibowo; H. Gattuso; E. Dumont; D. Roca-Sanjuán; A. Monari, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2016**, *18*, 7829-7836.
71. I. S. Hong; H. Ding; M. M. Greenberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 485-491.
72. M. Dizdaroglu; P. Jaruga, *Free Radic. Res.* **2012**, *46*, 382-419.
73. A. J. Deans; S. C. West, *Nat. Rev. Cancer* **2011**, *11*, 467-480.
74. K. Nakatani; T. Yoshida; I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2118-2119.
75. F. Bosca; V. Lhiaubet-Vallet; M. C. Cuquerella; J. V. Castell; M. A. Miranda, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6318-6319.
76. F. Strieth-Kalthoff; M. J. James; M. Teders; L. Pitzer; F. Glorius, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, *47*, 7190-7202.
77. A. Kuhlmann; L. Bihrl; H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 17378-17382.
78. L. Blancafort; A. A. Voityuk, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2018**, *20*, 4997-5000.
79. F. D. Lewis; T. Wu; Y. Zhang; R. L. Letsinger; S. R. Greenfield; M. R. Wasielewski, *Science* **1997**, *277*, 673-676.
80. M. R. Arkin; E. D. A. Stemp; R. E. Holmlin; J. K. Barton; A. Hörmann; E. J. C. Olson; P. F. Barbara, *Science* **1996**, *273*, 475-480.
81. A. M. Brun; A. Harriman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3656-3660.
82. M. E. Walther; O. S. Wenger, *Dalton Trans.* **2008**, 6311-6318.
83. B. Albinsson; M. P. Eng; K. Pettersson; M. U. Winters, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 5847-5864.
84. E. L. Bastos; F. H. Quina; M. S. Baptista, *Chem. Rev.* **2023**, *123*, 9720-9785.
85. A. Francés-Monerris; M. Lineros-Rosa; M. A. Miranda; V. Lhiaubet-Vallet; A. Monari, *Chem. Commun.* **2020**, *56*, 4404-4407.
86. X. Wang; L. Martínez-Fernández; Y. Zhang; P. Wu; B. Kohler; R. Improta; J. Chen, *J. Am. Chem. Soc.* **2024**, *146*, 1839-1848.
87. X. Wang; Y. Yu; Z. Zhou; Y. Liu; Y. Yang; J. Xu; J. Chen, *J. Phys. Chem. B* **2019**, *123*, 5782-5790.
88. P. Kabaciński; M. Romanelli; E. Ponkkonen; V. K. Jaiswal; T. Carell; M. Garavelli; G. Cerullo; I. Conti, *J. Phys. Chem. Lett.* **2021**, *12*, 11070-11077.
89. X. Wang; L. Martínez-Fernández; Y. Zhang; K. Zhang; R. Improta; B. Kohler; J. Xu; J. Chen, *Chem. Eur. J.* **2021**, *27*, 10932-10940.
90. M. Lineros-Rosa; A. Frances-Monerris; A. Monari; M. A. Miranda; V. Lhiaubet-Vallet, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2020**, *22*, 25661-25668.
91. M. Schrödter; H.-A. Wagenknecht, *J. Am. Chem. Soc.* **2024**, *146*, 20742-20749.
92. R. Acheson; M. Robinson, *J. Chem. Soc. (Resumed)* **1953**, 232-238.
93. M. Vlassa; I. A. Silberg; R. Custelceanu; M. Culea, *Synth. Commun.* **1995**, *25*, 3493-3501.

Literaturverzeichnis

94. S. Kajigaishi; T. Kakinami, *Ind. Chem. Libr.* **1995**, 7, 29-48.
95. A. E. Bradfield; B. Jones; K. J. P. Orton, *J. Chem. Soc. (Resumed)* **1929**, 2810-2817.
96. H. M. F. Lumbomir Vacek, *US4101558A* **1978**.
97. W. D. Watson, *J. Org. Chem.* **1985**, 50, 2145-2148.
98. M. Kharasch; H. C. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **1939**, 61, 2142-2150.
99. J. D. Williams; M. Nakano; R. Gérardy; J. A. Rincón; O. De Frutos; C. Mateos; J.-C. M. Monbaliu; C. O. Kappe, *Org. Process Res. Dev.* **2018**, 23, 78-87.
100. R. Alonso; T. Bach, *Angew. Chem.* **2014**, 126, 4457-4460.
101. F. Pecho; Y. Q. Zou; J. Gramüller; T. Mori; S. M. Huber; A. Bauer; R. M. Gschwind; T. Bach, *Chem. Eur. J.* **2020**, 26, 5190-5194.
102. R. Kleinmans; T. Pinkert; S. Dutta; T. O. Paulisch; H. Keum; C. G. Daniliuc; F. Glorius, *Nature* **2022**, 605, 477-482.
103. W. G. Herkstroeter; A. A. Lamola; G. S. Hammond, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, 86, 4537-4540.
104. N. F. Nikitas; P. L. Gkizis; C. G. Kokotos, *Org. Biomol. Chem.* **2021**, 19, 5237-5253.
105. D. Armesto; M. J. Ortiz; A. R. Agarrabeitia; N. El-Boulifi, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 7917-7919.
106. M. Hocek, *Chem. Rev.* **2009**, 109, 6729-6764.
107. J. G. Doyle Daves, *Acc. Chem. Res.* **1990**, 23, 201-206.
108. S. Häcker; M. Schrödter; A. Kuhlmann; H.-A. Wagenknecht, *JACS Au* **2023**, 4, 1843-1850.
109. M. A. Cameron; S. B. Cush; R. P. Hammer, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 9065-9069.
110. N. Joubert; R. Pohl; B. Klepetárová; M. Hocek, *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 6797-6805.
111. ATTO-TEC ATTO 550. <https://www.atto-tec.com/ATTO-550.html?language=de> (accessed 03.02.2025).
112. M. Vorlíčková; I. Kejnovská; K. Bednářová; D. Renčíuk; J. Kypr, *Chirality* **2012**, 24, 691-698.
113. B. Giese; B. Carl; T. Carl; T. Carell; C. Behrens; U. Hennecke; O. Schiemann; E. Feresin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 1848-1851.
114. C. Behrens; L. T. Burgdorf; A. Schwögl; T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 1763-1766.
115. P. J. Dandliker; R. E. Holmlin; J. K. Barton, *Science* **1997**, 275, 1465-1468.
116. J. A. Dantas; J. T. M. Correia; M. W. Paixao; A. G. Correa, *ChemPhotoChem* **2019**, §, 506-520.
117. C. A. M. Seidel; A. Schulz; M. H. M. Sauer, *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, 5541-5553.
118. D. A. Vicic; D. T. Odom; M. E. Nunez; D. A. Gianolio; L. W. McLaughlin; J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 8603-8611.
119. D. Rehm; A. Weller, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **1969**, 73, 834-839.
120. D. Rehm; A. Weller, *Isr. J. Chem.* **1970**, 8, 259-271.
121. N. Hoffmann, *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* **2008**, 9, 43-60.
122. C. Curutchet; A. A. Voityuk, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 1820-1822.
123. M. L. G. Dronkert; R. Kanaar, *Mutation Res.* **2001**, 486, 217-247.
124. K. Meier; H. Zweifel, *J. Photochem.* **1986**, 35, 353-366.
125. J. C. Dalton; F. C. Montgomery, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 6230-6232.
126. C. Helene; M. Charlier, *Biochimie* **1971**, 53, 1175-1180.

Literaturverzeichnis

127. D. B. Bucher; C. L. Kufner; A. Schlueter; T. Carell; W. Zinth, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 186-190.
128. M. R. Holman; T. Ito; S. E. Rokita, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *129*, 6-7.
129. K. Zhu; T. Ohtani; C. B. Tripathi; D. Uraguchi; T. Ooi, *Chem. Lett.* **2019**, *48*, 715-717.
130. D. Burget; P. Jacques, *J. Lumin.* **1992**, *54*, 177-181.
131. H. Satzger; B. Schmidt; C. Root; W. Zinth; B. Fierz; F. Krieger; T. Kieffhaber; P. Gilch, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 10072-10079.
132. B. Heinz; B. Schmidt; C. Root; H. Satzger; F. Milota; B. Fierz; T. Kieffhaber; W. Zinth; P. Gilch, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2006**, *8*, 3432-3439.
133. D. Wöll; S. Laimgruber; M. Galetskaya; J. Smirnova; W. Pfleiderer; B. Heinz; P. Gilch; U. E. Steiner, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12148-12158.
134. J. J. Szymczak; M. Barbatti; J. T. Soo Hoo; J. A. Adkins; T. L. Windus; D. Nachtigallová; H. Lischka, *J. Phys. Chem. A* **2009**, *113*, 12686-12693.
135. P. Prasher; M. Sharma, *MedChemComm* **2018**, *9*, 1589-1618.
136. P. D. Wood; R. W. Redmond, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4256-4263.
137. K. Sandros; F. Haglid; R. Ryhage; R. Stevens, *Acta Chem. Scand.* **1964**, *18*, 2355-2374.
138. G. Angulo; J. Grilj; E. Vauthey; L. Serrano-Andrés; Ó. Rubio-Pons; P. Jacques, *ChemPhysChem* **2010**, *11*, 480-488.
139. C. E. Crespo-Hernández; B. Cohen; P. M. Hare; B. Kohler, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 1977-2019.
140. C. Ley; F. Morlet-Savary; P. Jacques; J. Fouassier, *Chem. Phys.* **2000**, *255*, 335-346.
141. S. Häcker; T. J. B. Zähringer; H.-A. Wagenknecht; C. Kerzig, *ChemRxiv* **2025**.
142. M. Montalti; A. Credi; L. Prodi; M. T. Gandolfi, *Handbook of photochemistry*. CRC press: **2006**.
143. G. Grabner; K. Rechthaler; B. Mayer; G. Köhler; K. Rotkiewicz, *J. Phys. Chem. A* **2000**, *104*, 1365-1376.
144. T. Takemura; K. Hara; H. Baba, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1971**, *44*, 977-984.
145. S. S. Skourtis; C. Liu; P. Antoniou; A. M. Virshup; D. N. Beratan, *PNAS* **2016**, *113*, 8115-8120.
146. Z. Huang; Z. Xu; T. Huang; V. Gray; K. Moth-Poulsen; T. Lian; M. L. Tang, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 17581-17588.
147. J. Vura-Weis; S. H. Abdelwahed; R. Shukla; R. Rathore; M. A. Ratner; M. R. Wasielewski, *Science* **2010**, *328*, 1547-1550.
148. U. Ahmed; M. Manzoor; S. Qureshi; M. Mazhar; A. Fatima; S. Aurangzeb; M. Hamid; K. M. Khan; N. A. Khan; Y. Rashid, *Acta Trop.* **2023**, *239*, 106824.
149. E.-J. Kang; Y.-G. Lee; J.-H. Choi, *Dyes Pigm.* **2022**, *206*, 110594.
150. F. Viani; B. Rossi; W. Panzeri; L. Merlini; A. M. Martorana; A. Polissi; Y. M. Galante, *Tetrahedron* **2017**, *73*, 1745-1761.

8 Unterstützende Informationen

8.1 Spektren

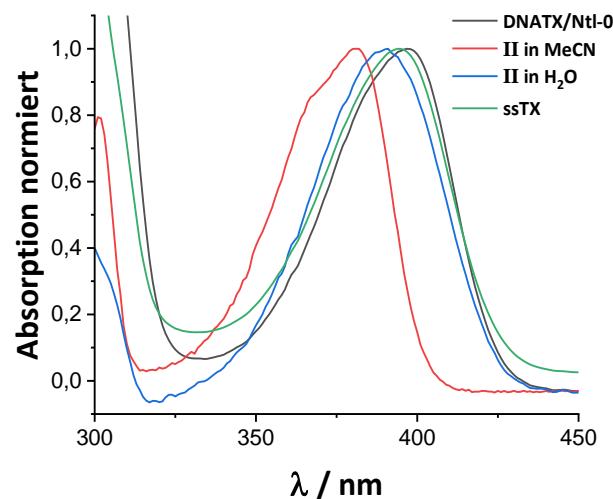


Abbildung S1: Normierte UV/Vis-Absorption des DNA-Doppelstrangs **DNATX/Ntl-0** (dunkelgrau), des Einzelstrangs **ssTX-0** (grün) und des Thioxanthon-Nukleosids **II** in MeCN (rot) und Wasser (blau).

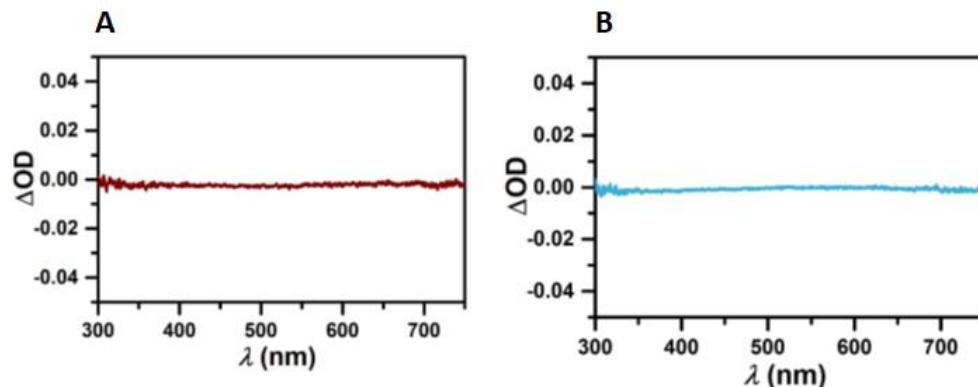


Abbildung S2: A) Kontroll DNA-Doppelstrang ohne **TX** und **Ntl**. B) Kontroll DNA-Doppelstrang ohne **TX** und mit **Ntl**. Transientes Absorptionsspektrum 100 ns nach 355 nm Laseranregung in wässriger Lösung (90 μM DNA, 250 mM NaCl, 10 mM Na-Pi-Puffer).

Zusätzliche unterstützende spektroskopischen Spektren wurden publiziert und sind in der Literatur zu finden.^[141]

8.2 Verbindungen

Verbindung 4-Brom-2-methoxythioxanthon (4)

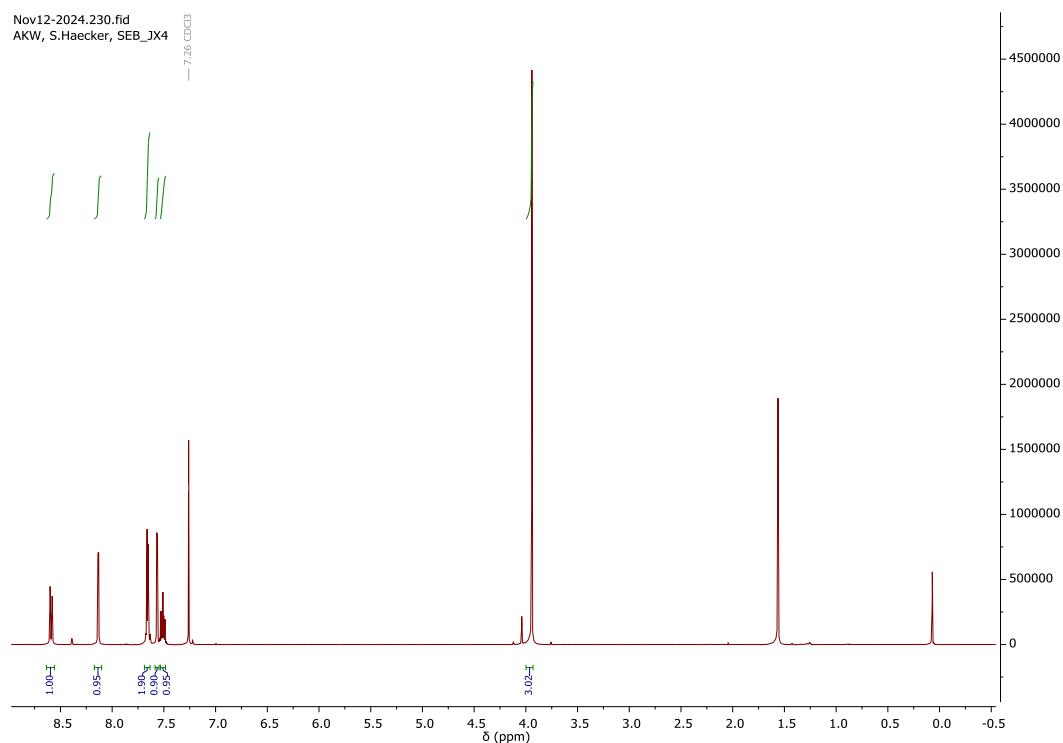
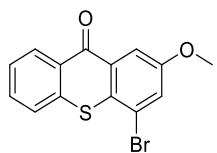


Abbildung S3: 400 MHz ¹H-NMR von 4 in CDCl₃.

Unterstützende Informationen

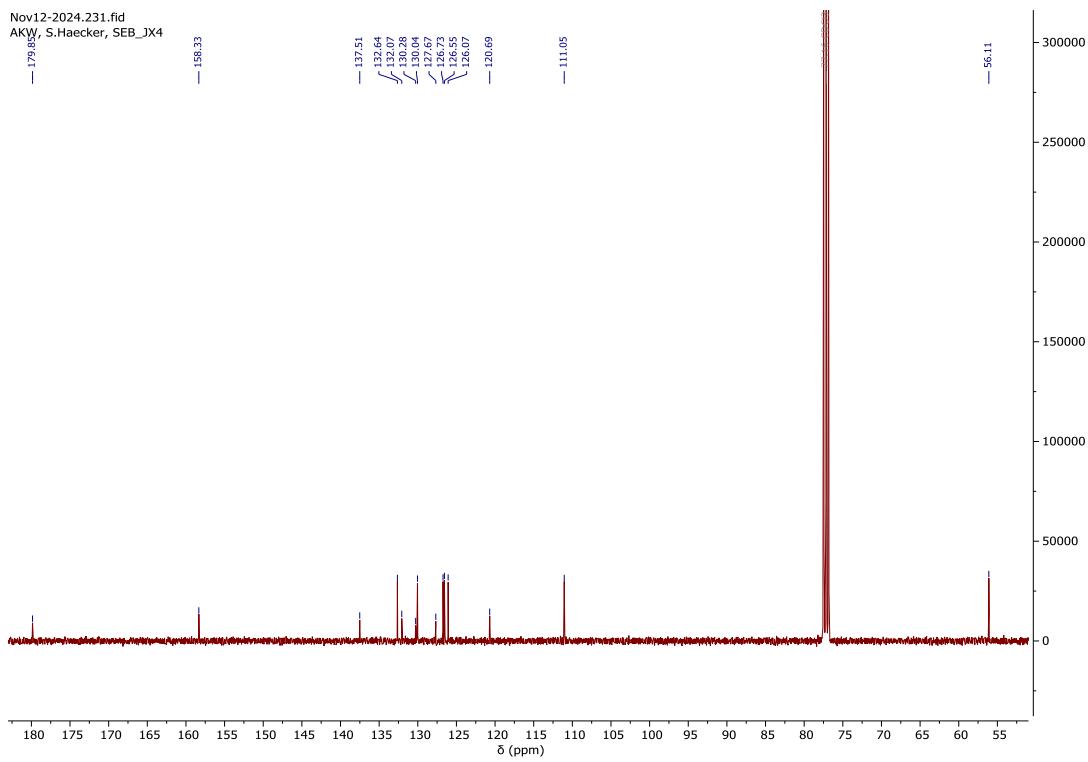


Abbildung S4: 101 MHz ^{13}C -NMR von **4** in CDCl_3 .

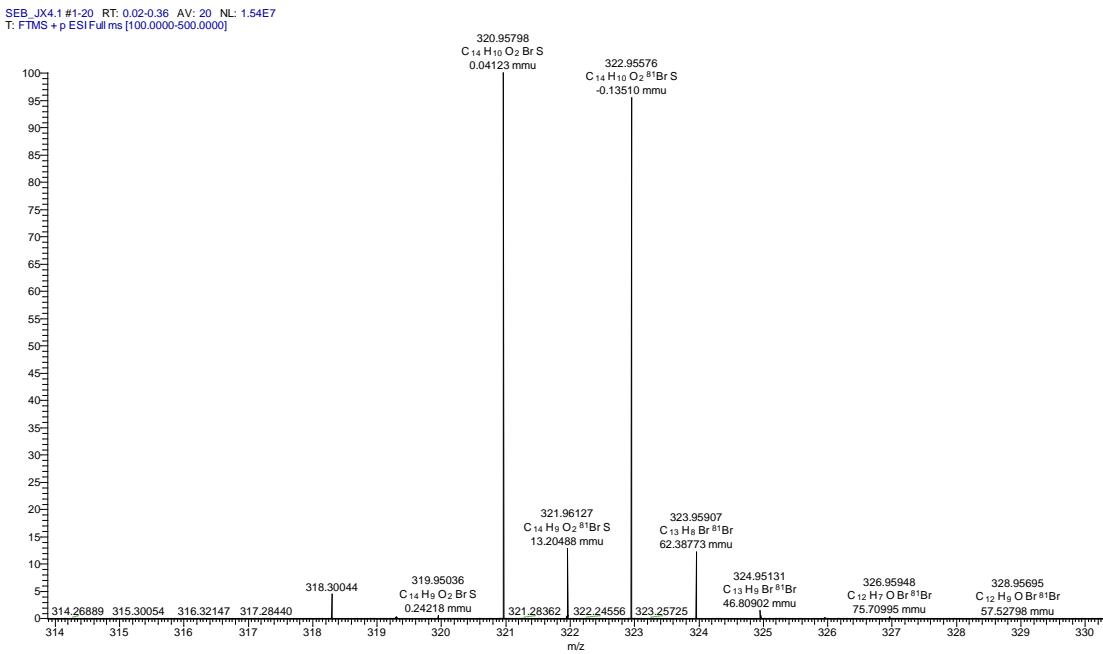


Abbildung S5: HR-ESI-MS von **4**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 5

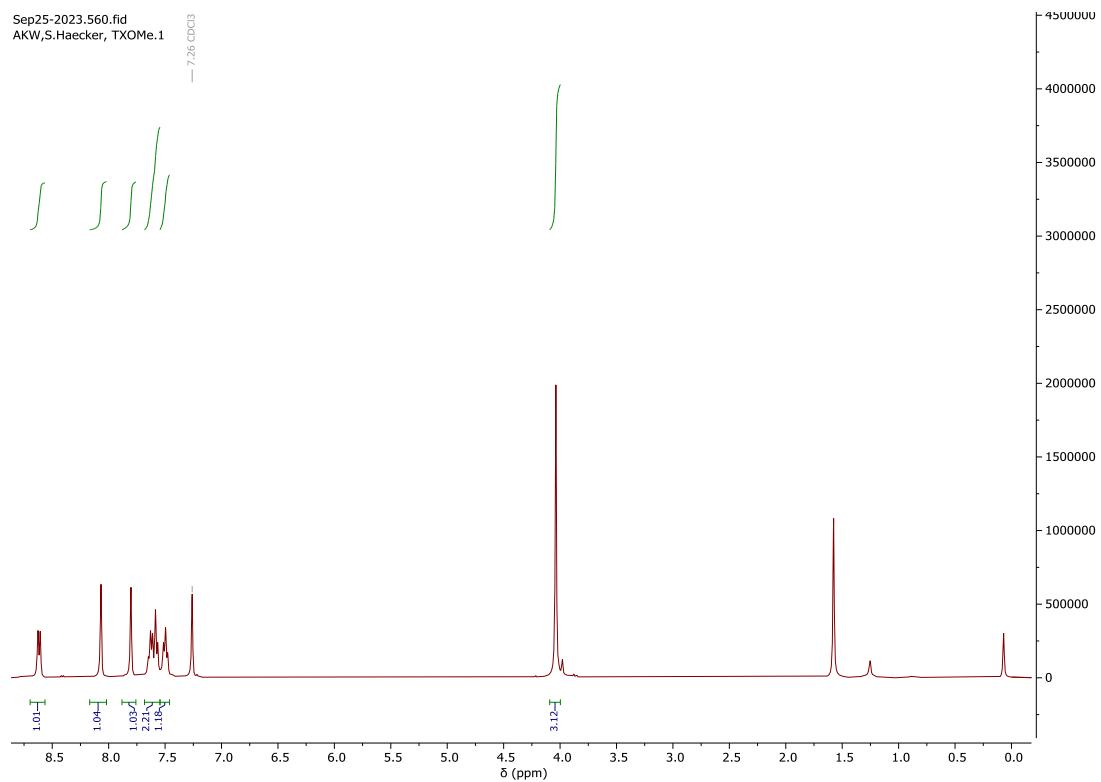
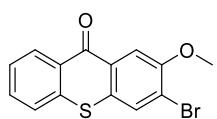


Abbildung S6: 400 MHz ^1H -NMR von **5** in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

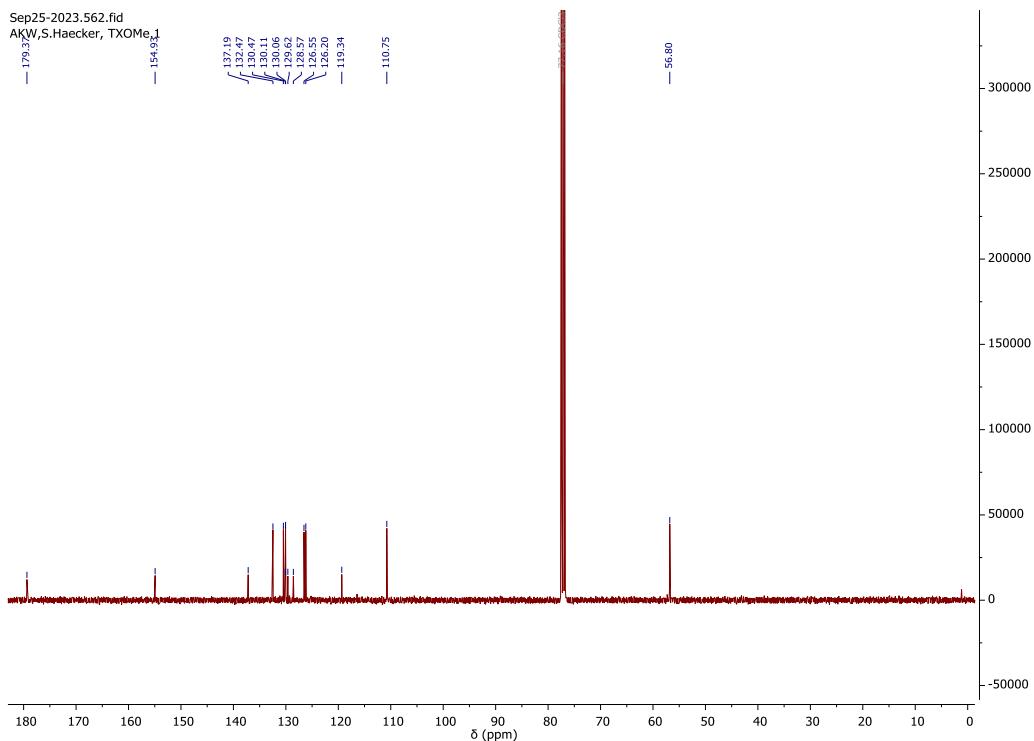


Abbildung S7: 101 MHz ^{13}C -NMR von **5** in CDCl_3 .

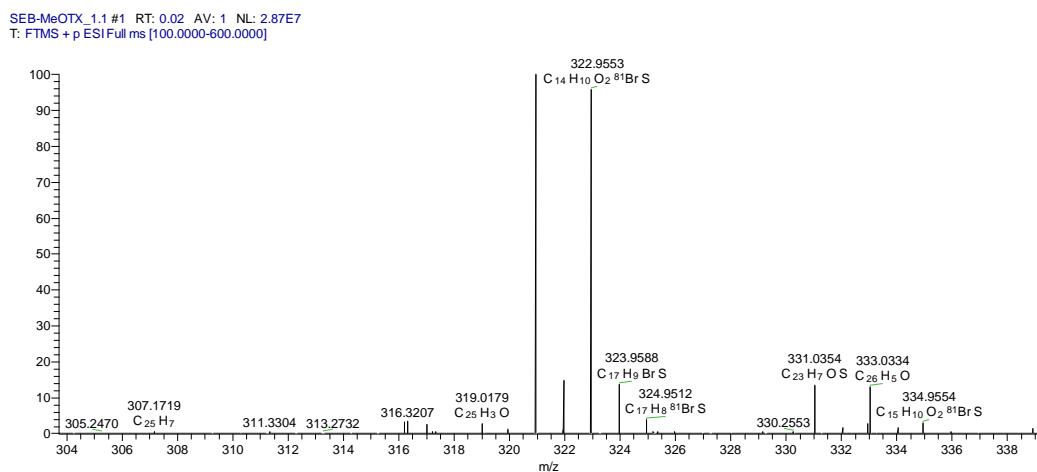
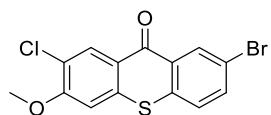


Abbildung S8: HR-ESI-MS von **5**.

Verbindung 6



Unterstützende Informationen

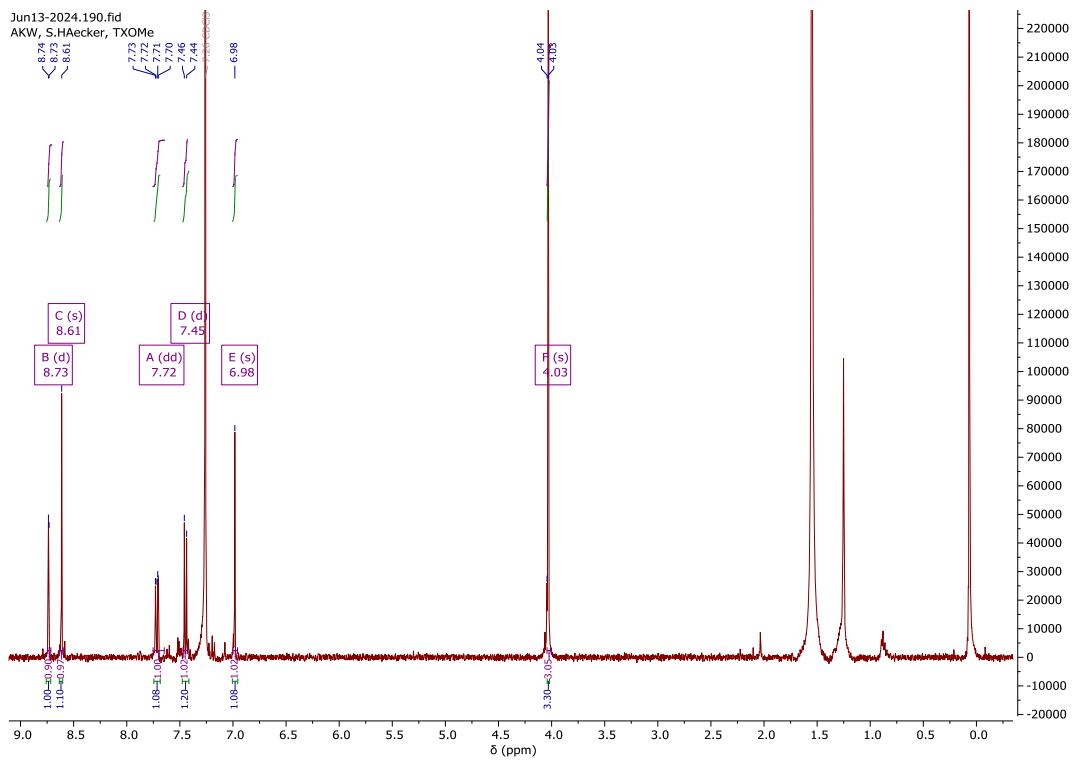


Abbildung S9: 400 MHz ^1H -NMR von **6** in CDCl_3 .

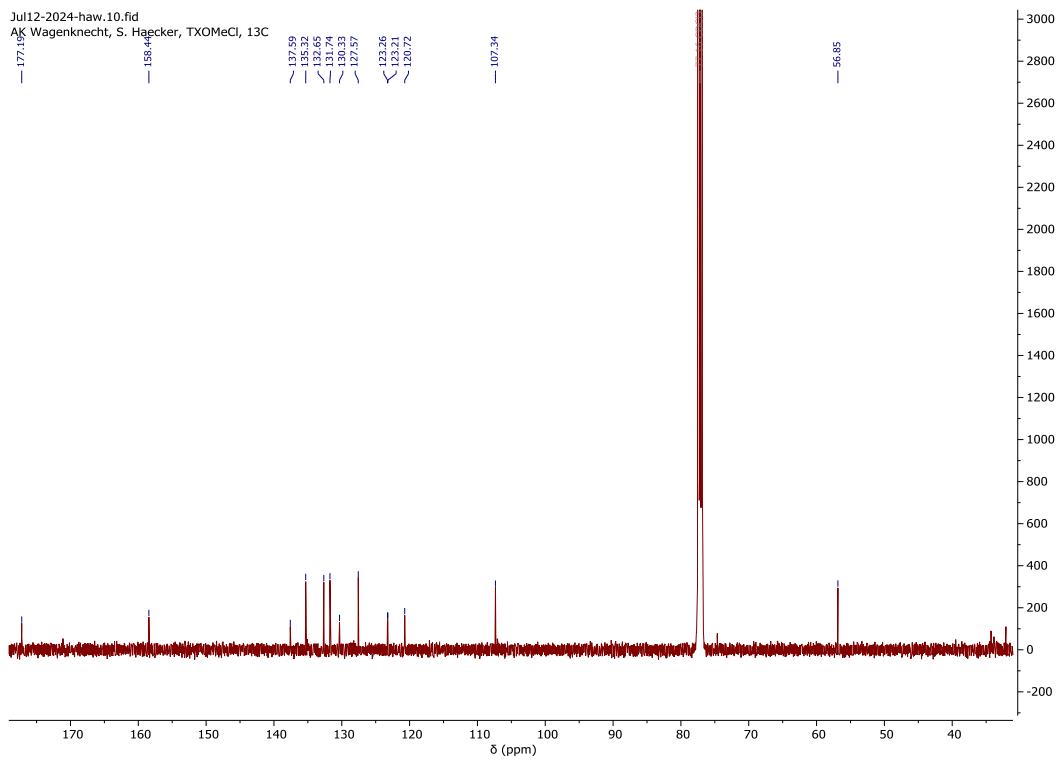


Abbildung S10: 101 MHz ^{13}C -NMR von **6** in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

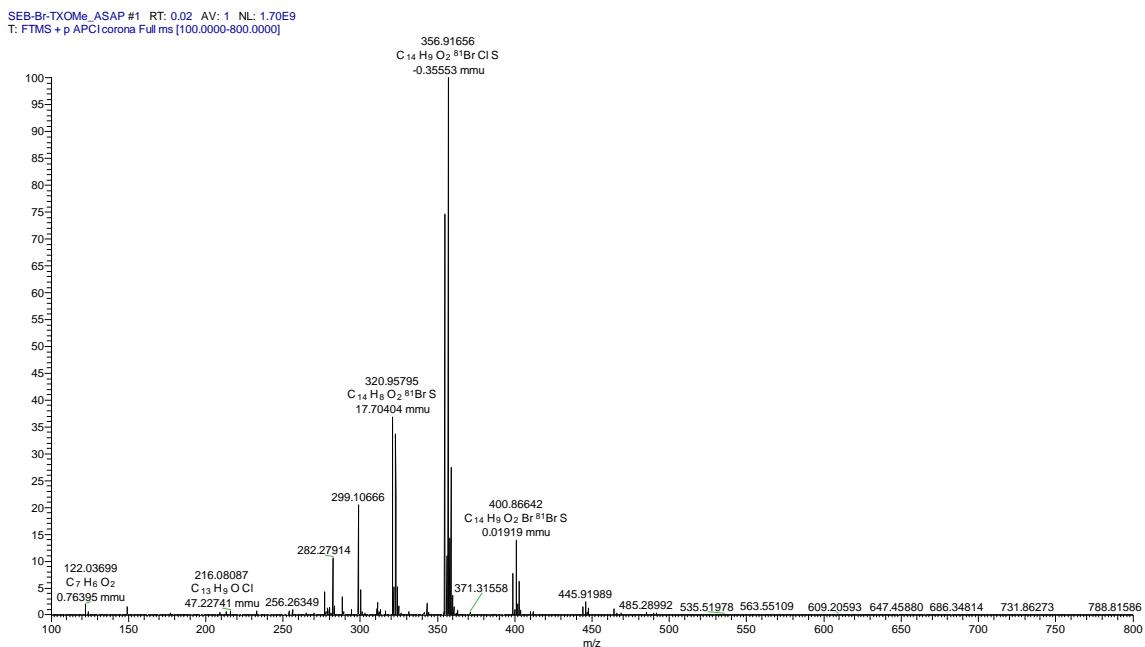


Abbildung S11: HR-ESI-MS von 6.

Unterstützende Informationen

Verbindung 9

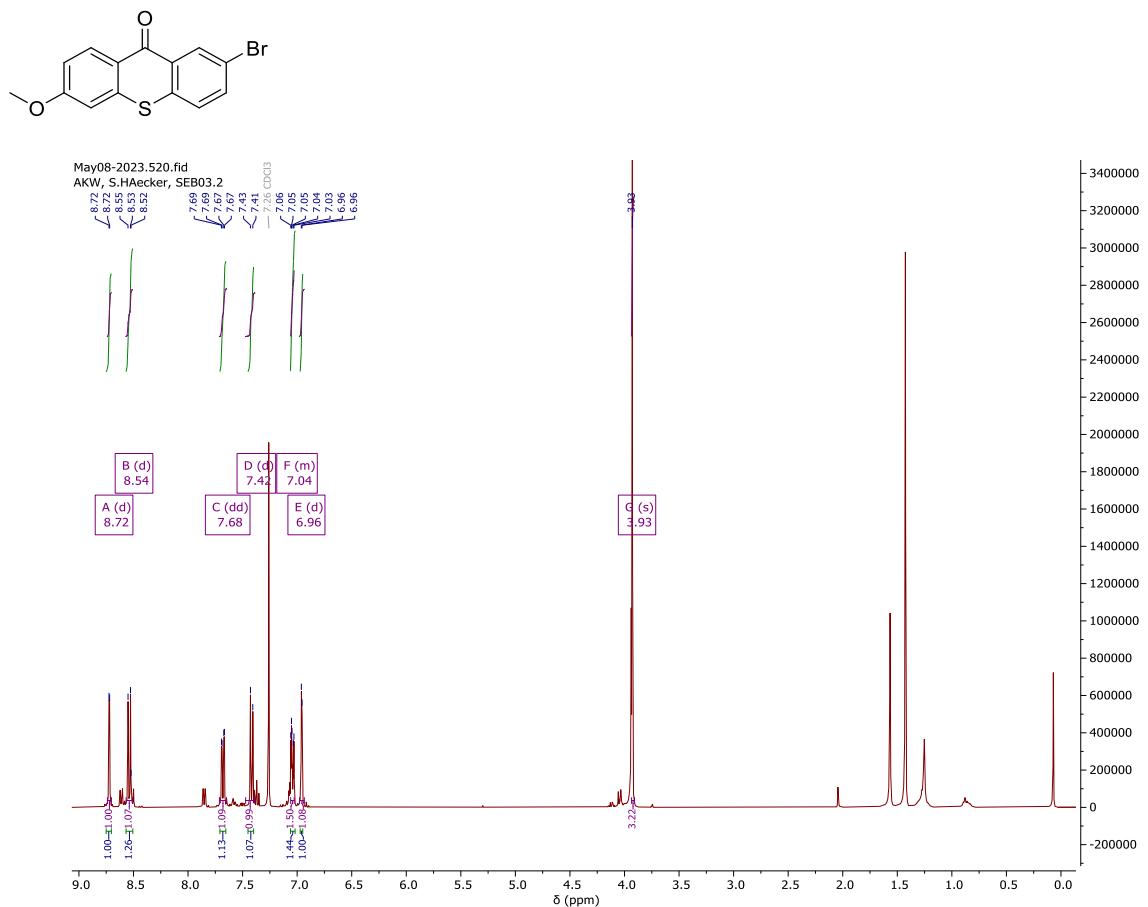


Abbildung S12: 400 MHz ^1H -NMR von **9** in CDCl_3 .

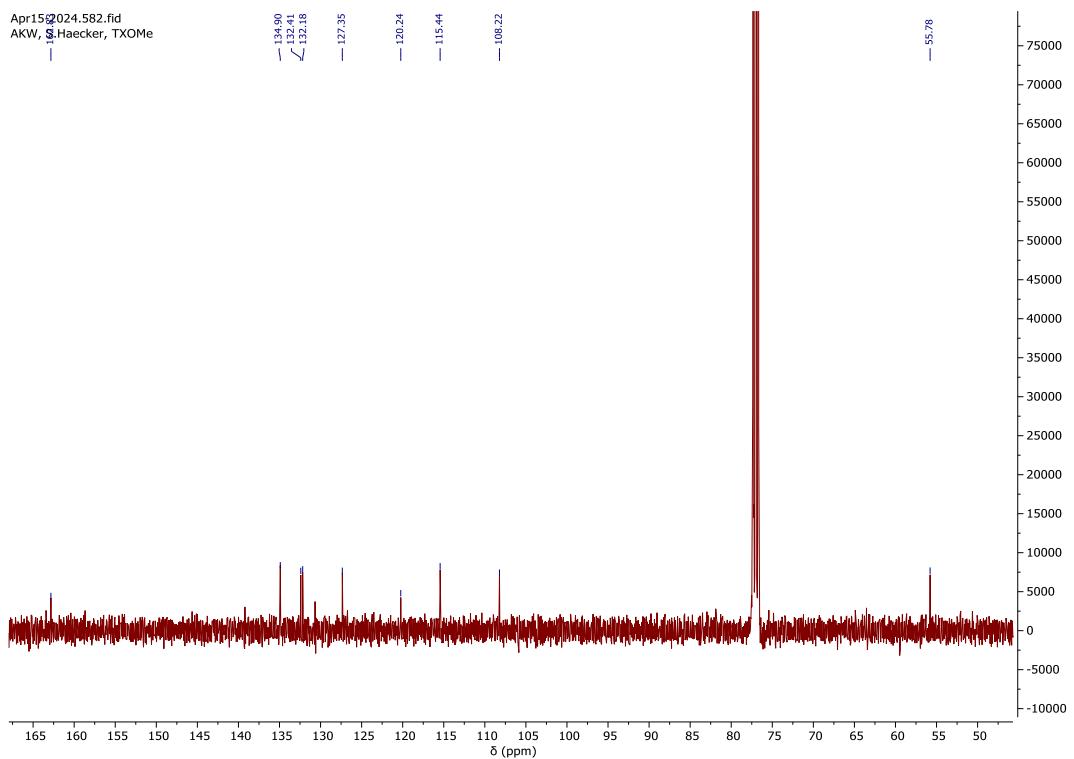


Abbildung S13: 101 MHz ^{13}C -NMR von **9** in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

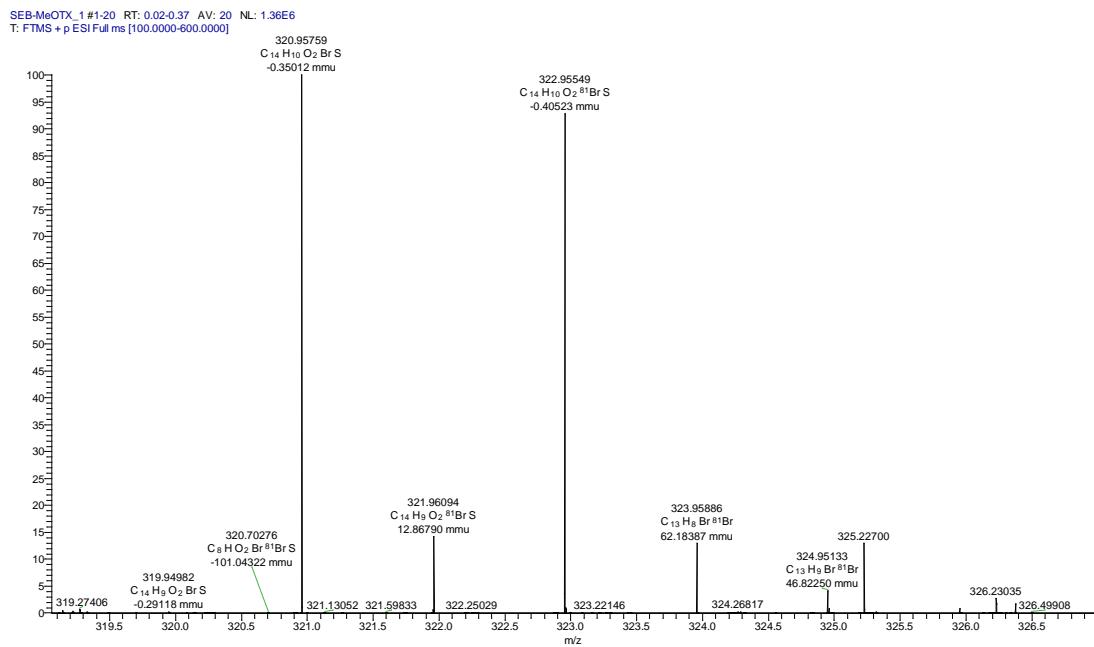


Abbildung S14: HR-ESI-MS von 9.

Unterstützende Informationen

Verbindung 7

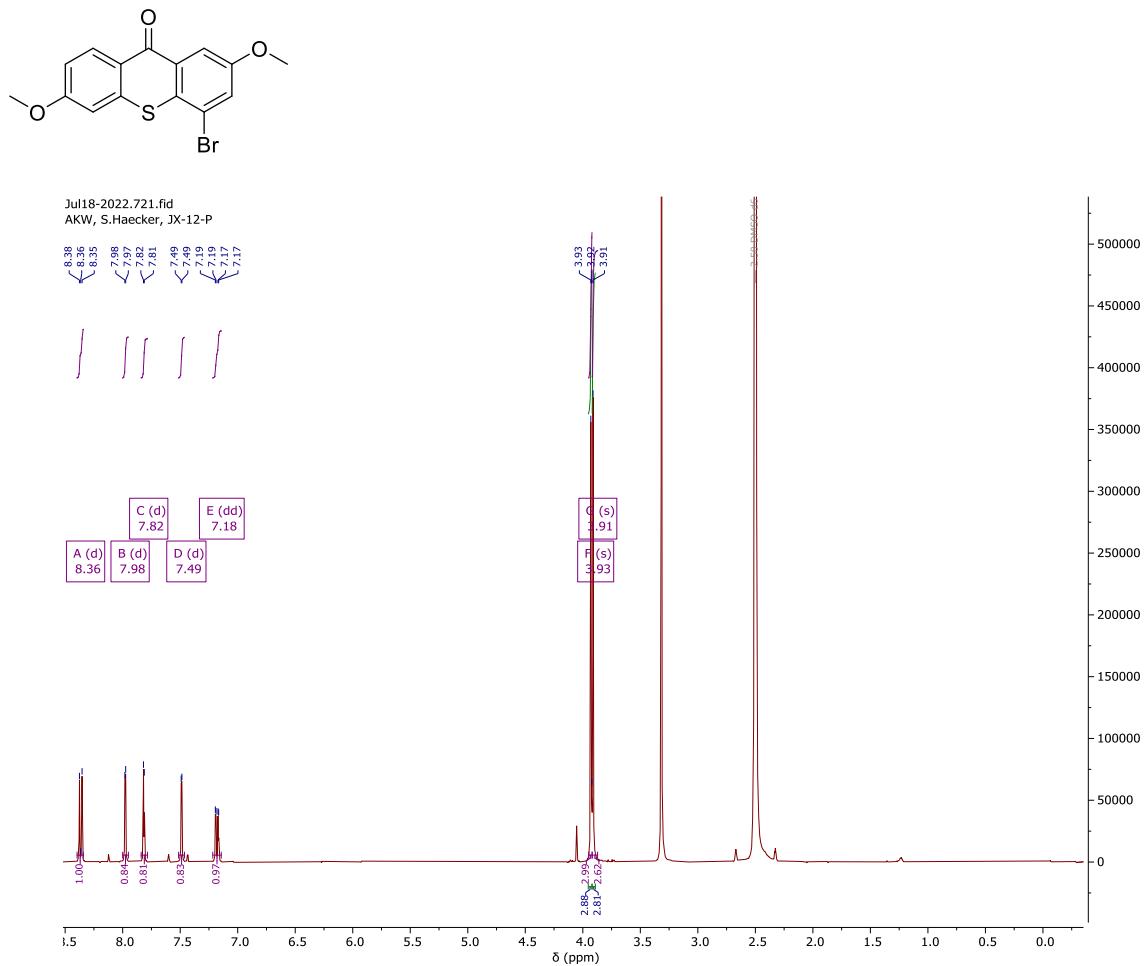


Abbildung S15: 400 MHz ^1H -NMR von **7** in DMSO-d6.

Unterstützende Informationen

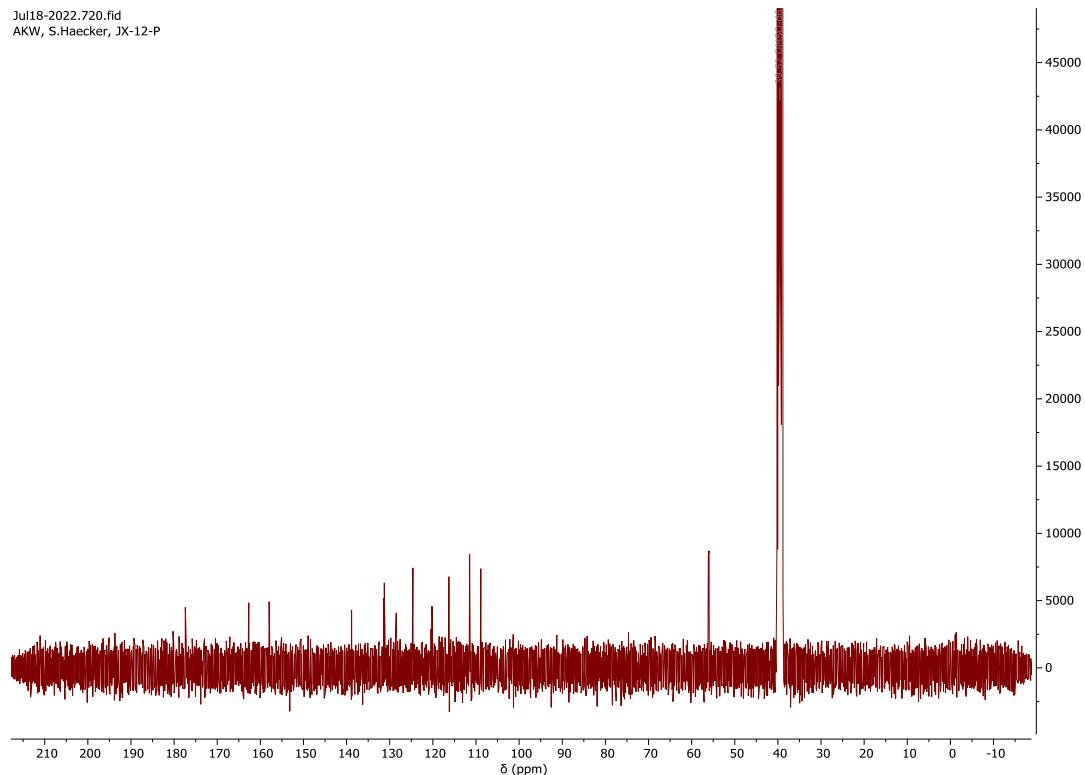


Abbildung S16: 101 MHz ^{13}C -NMR von **7** in DMSO-d6.

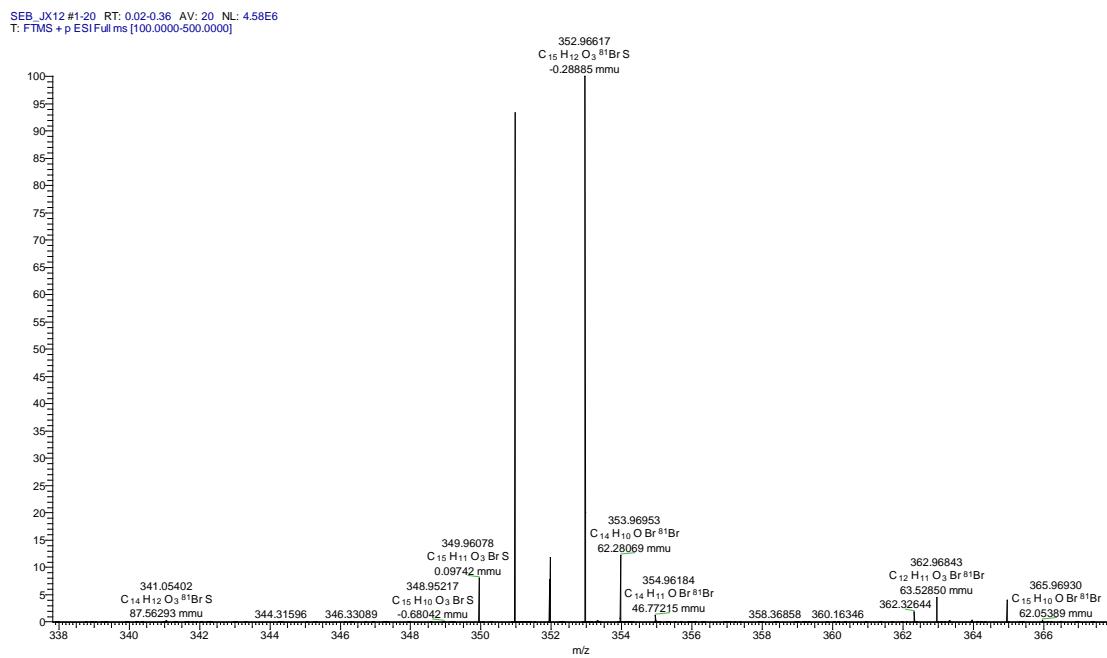
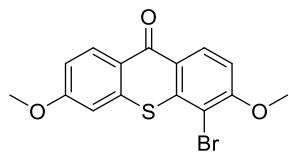


Abbildung S17: HR-ESI-MS von **7**.

Verbindung 8



Nov20-2024.120.fid
AKW, S.Haecker, ER18.3.7.1

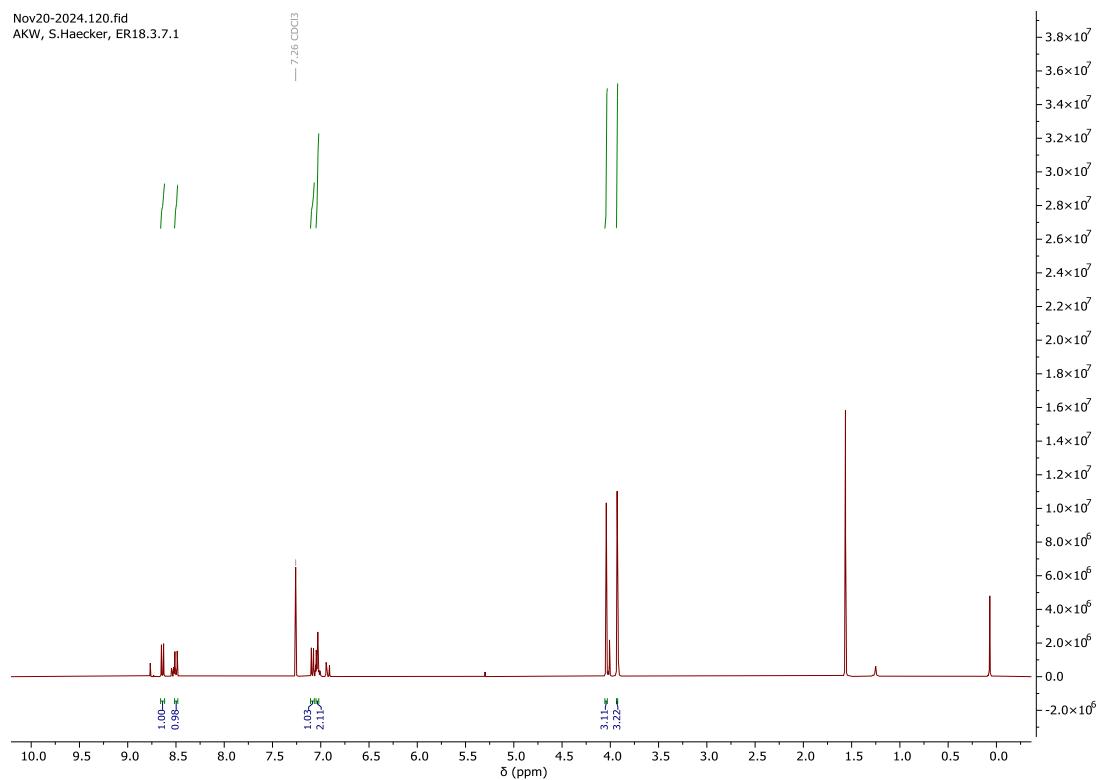


Abbildung S18: 400 MHz ^1H -NMR von **8** in CDCl_3 .

Das ^1H -NMR-Spektrum beinhaltet zu 20 % das Nebenprodukt 2-Brom-3,6-Dimethoxythioxanthon.

Unterstützende Informationen

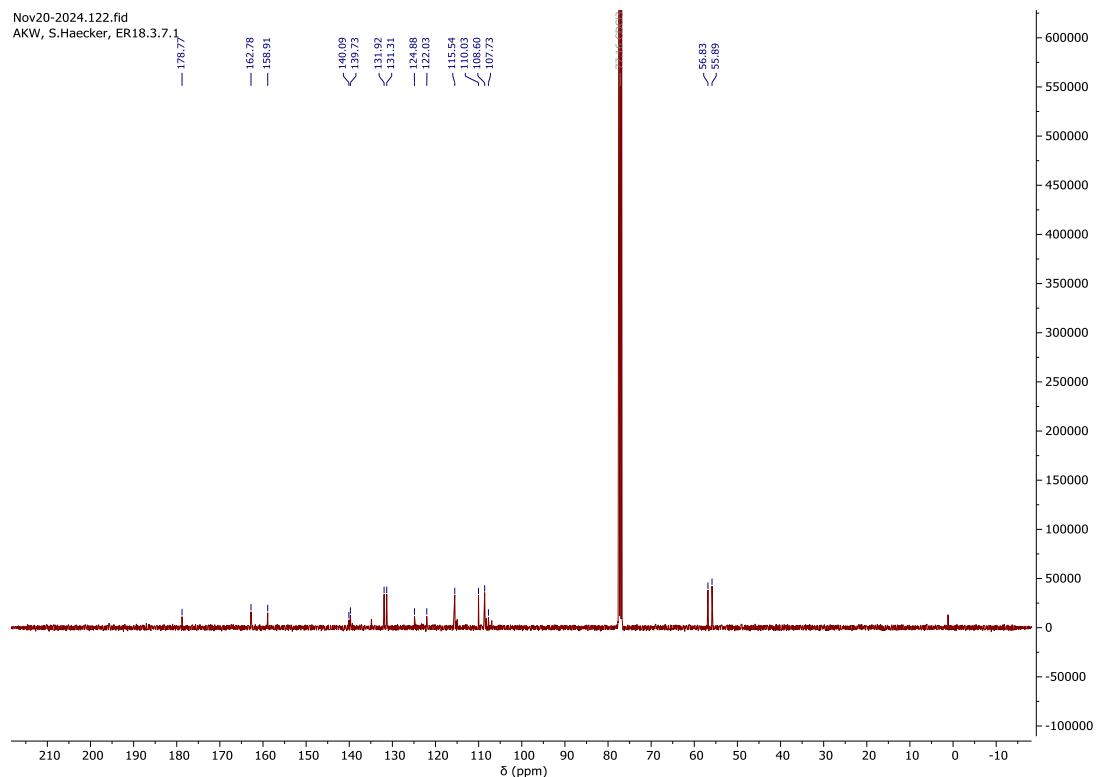


Abbildung S19: 101 MHz ^{13}C -NMR von **8** in CDCl_3 .

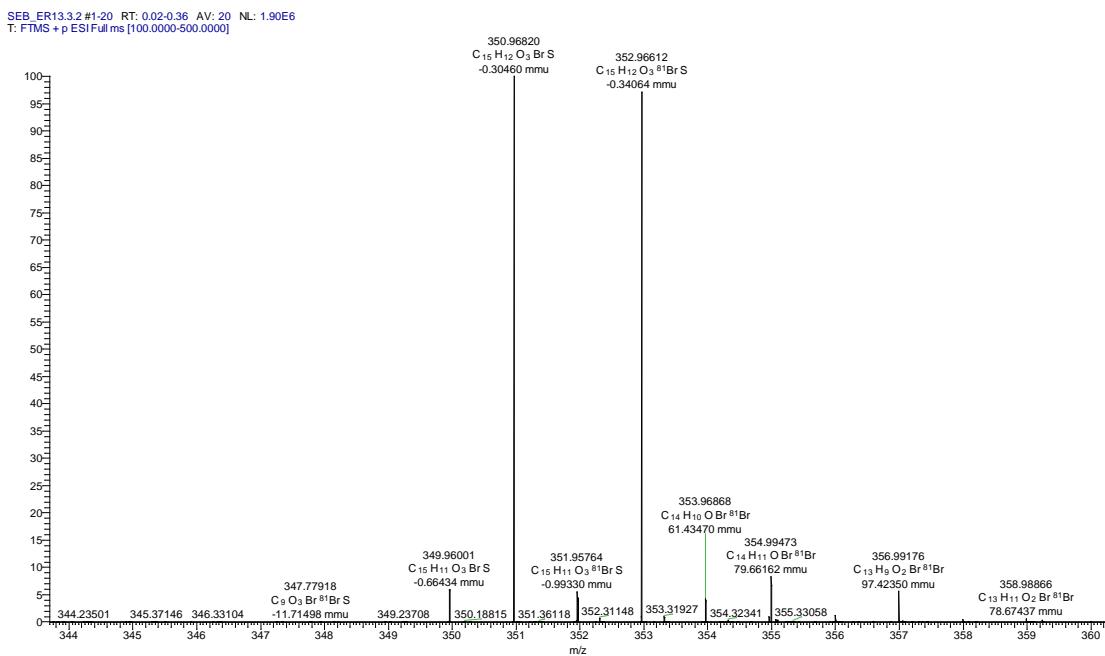


Abbildung S20: HR-ESI-MS von **8**.

Verbindung 39a

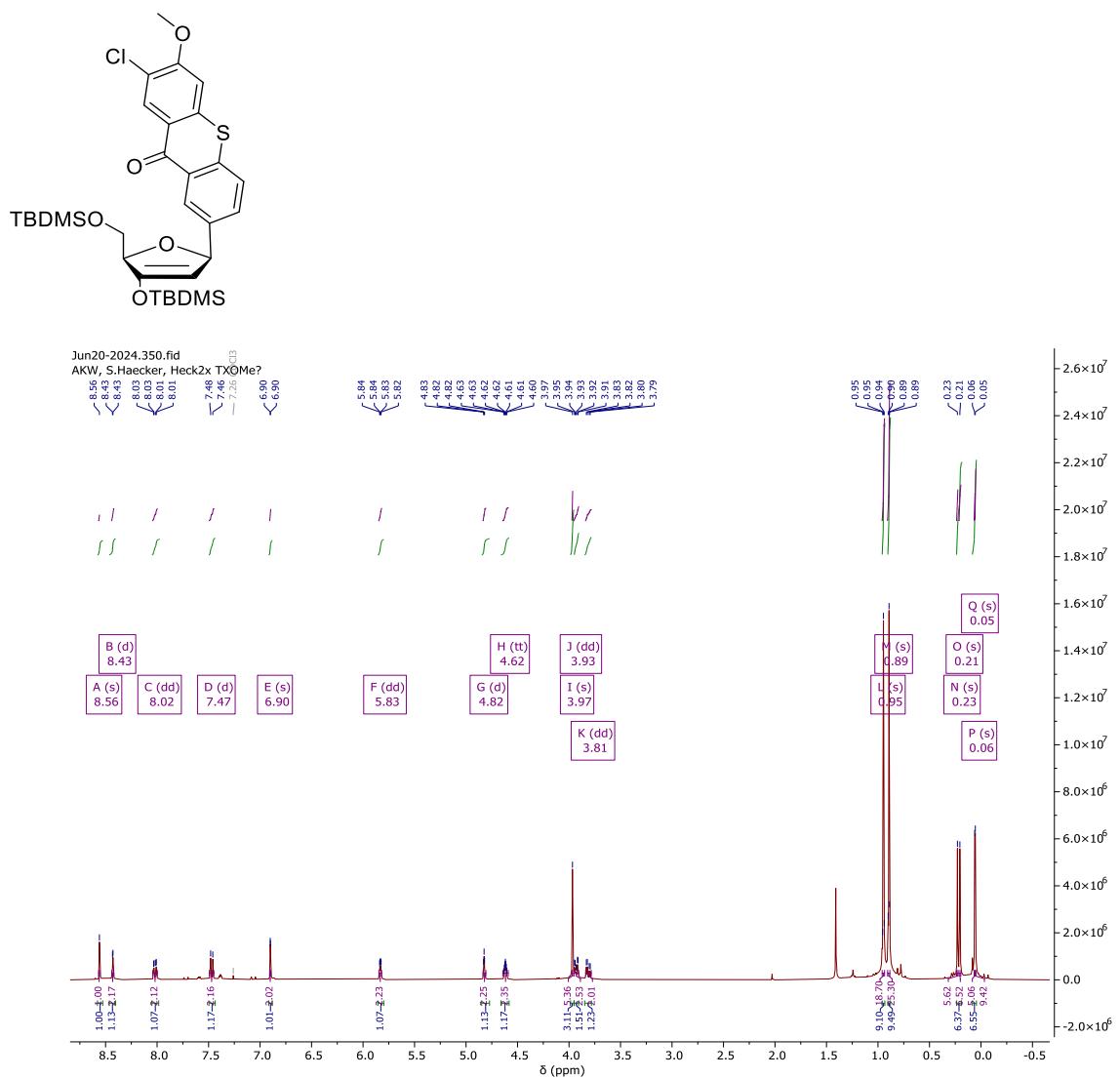


Abbildung S21: 400 MHz ^1H -NMR von 39a in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

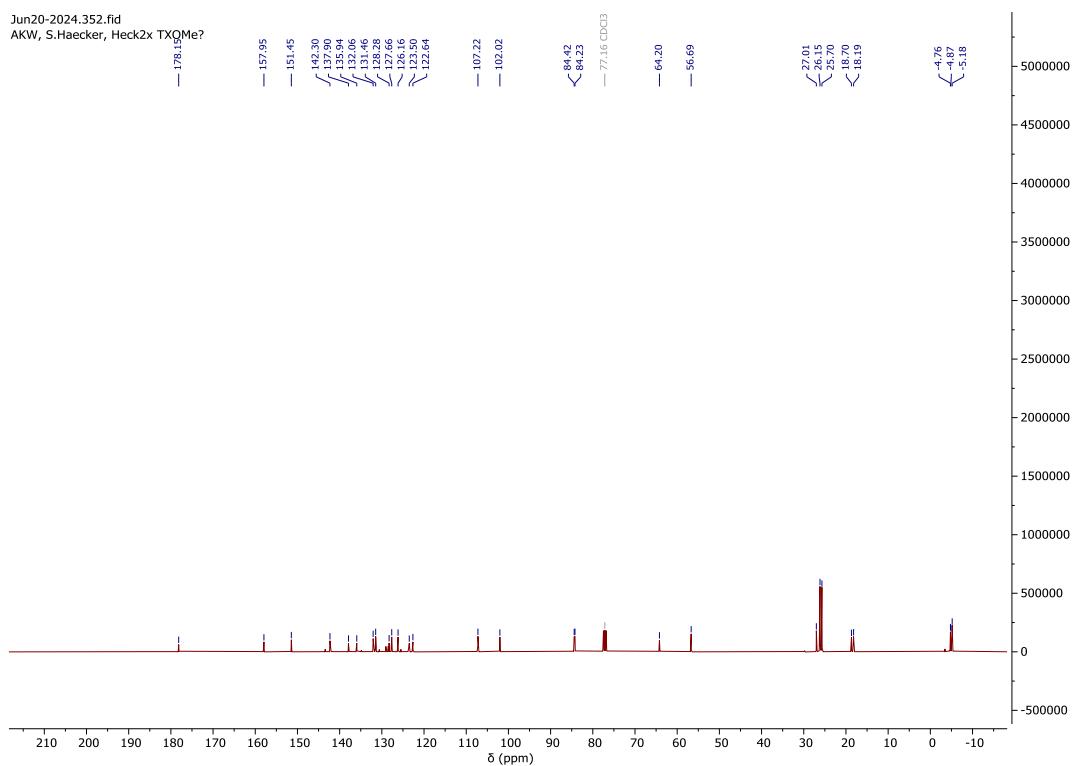


Abbildung S22: 101 MHz ^{13}C -NMR von **39a** in CDCl_3 .

SEB_TXOME Heck x2 #1 RT: 0.02 AV: 1 NL: 1.20E5
T: FTMS + p ESI Full ms [100.0000-1000.0000]

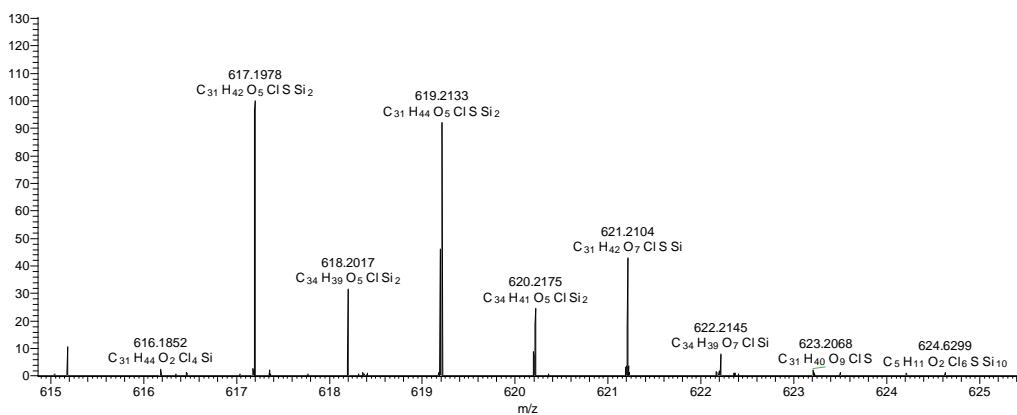


Abbildung S23: HR-ESI-MS von **39a**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 39b

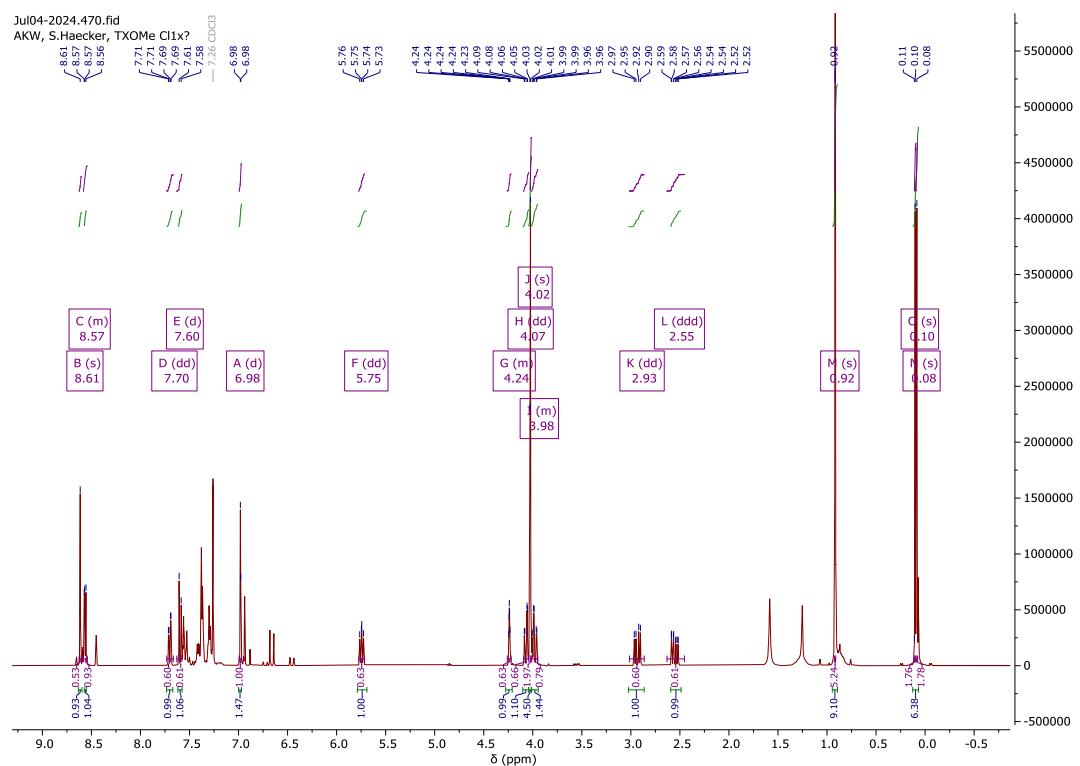
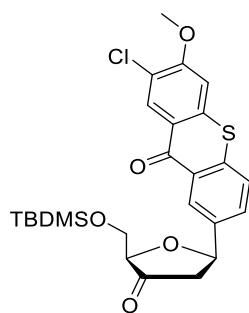


Abbildung S24: 400 MHz ^1H -NMR von **39b** in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

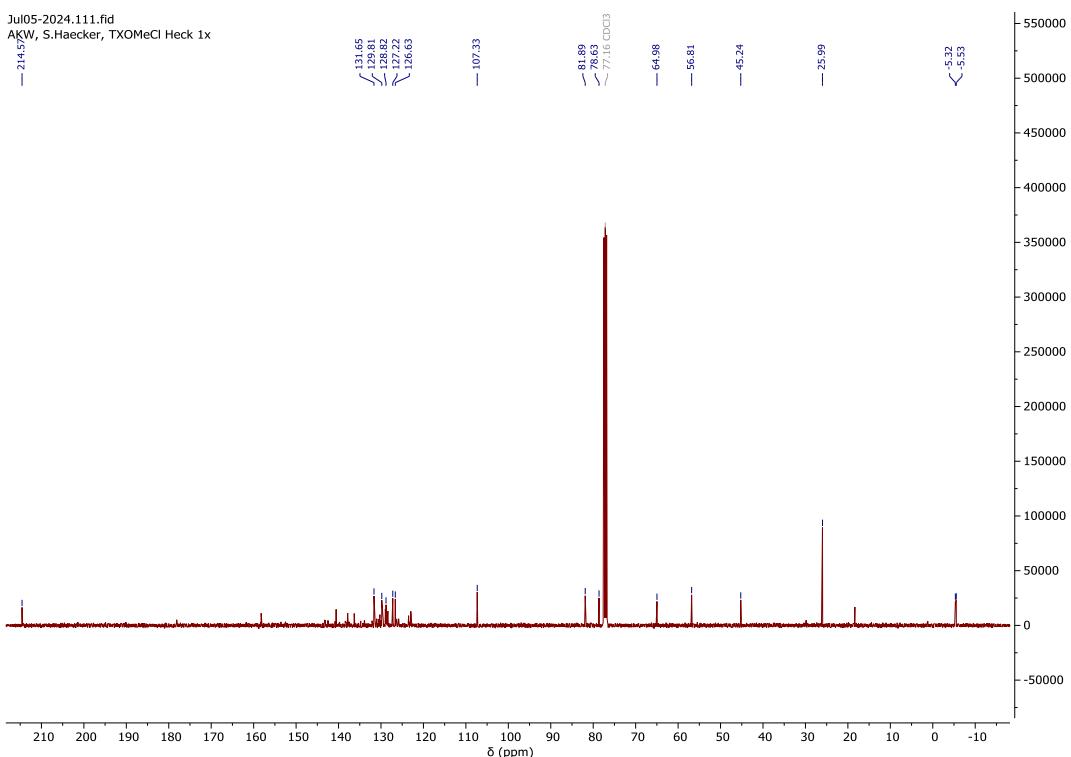


Abbildung S25: 101 MHz ¹³C-NMR von **39b** in CDCl₃.

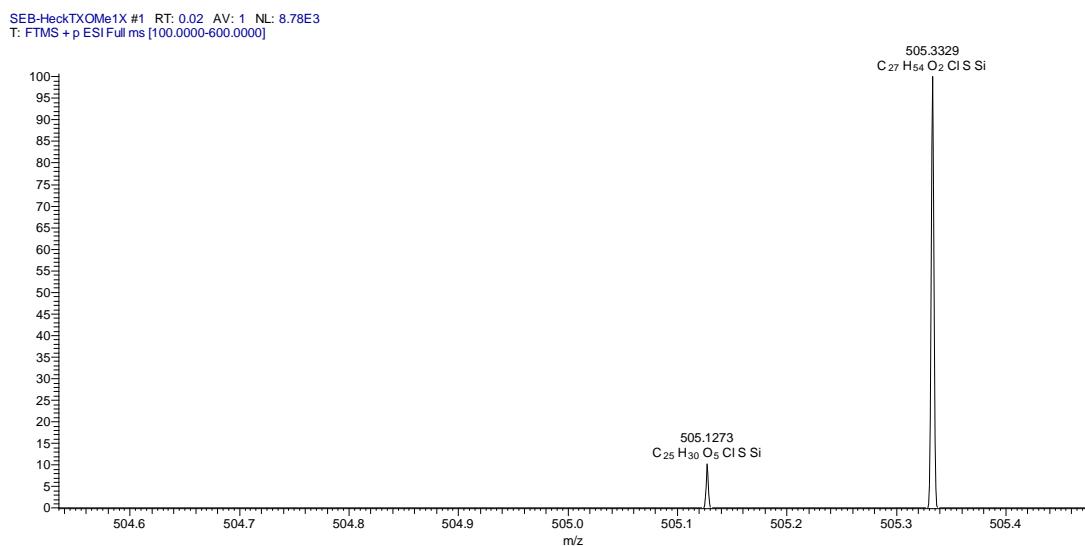


Abbildung S26: HR-ESI-MS von **39b**.

Verbindung 41

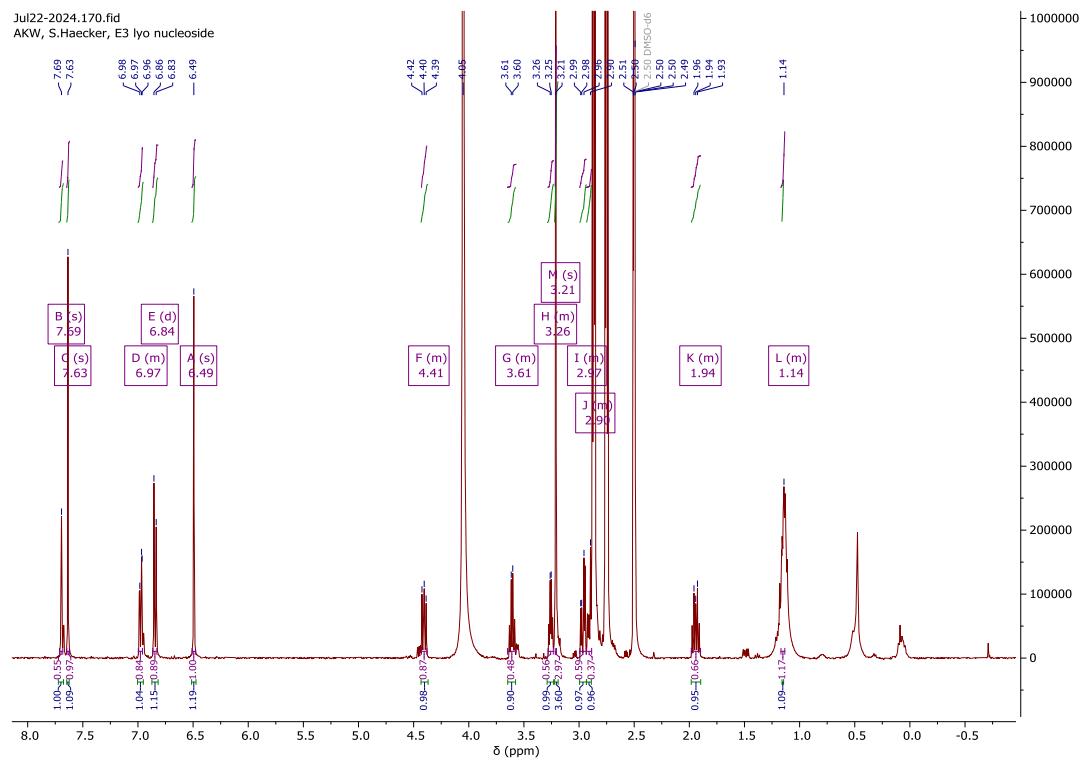
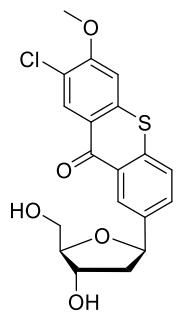


Abbildung S27: 400 MHz ^1H -NMR von 41 in DMSO-d6.

Unterstützende Informationen

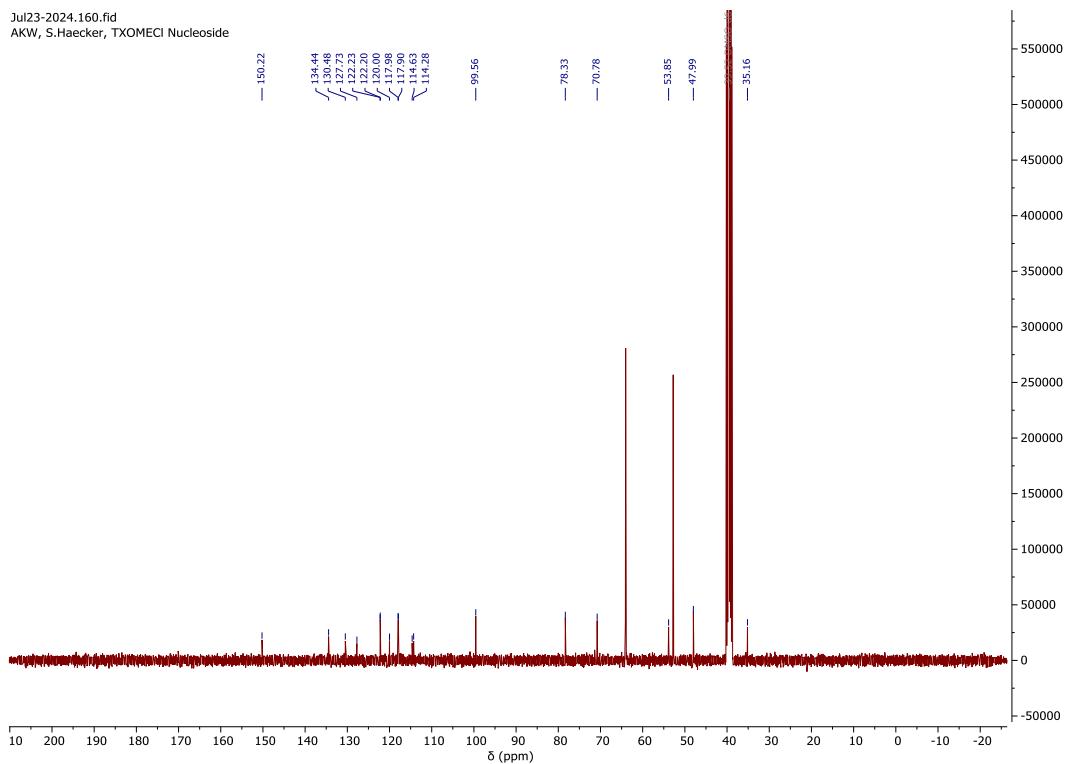


Abbildung S28: 101 MHz ^{13}C -NMR von **41** in DMSO-d6.

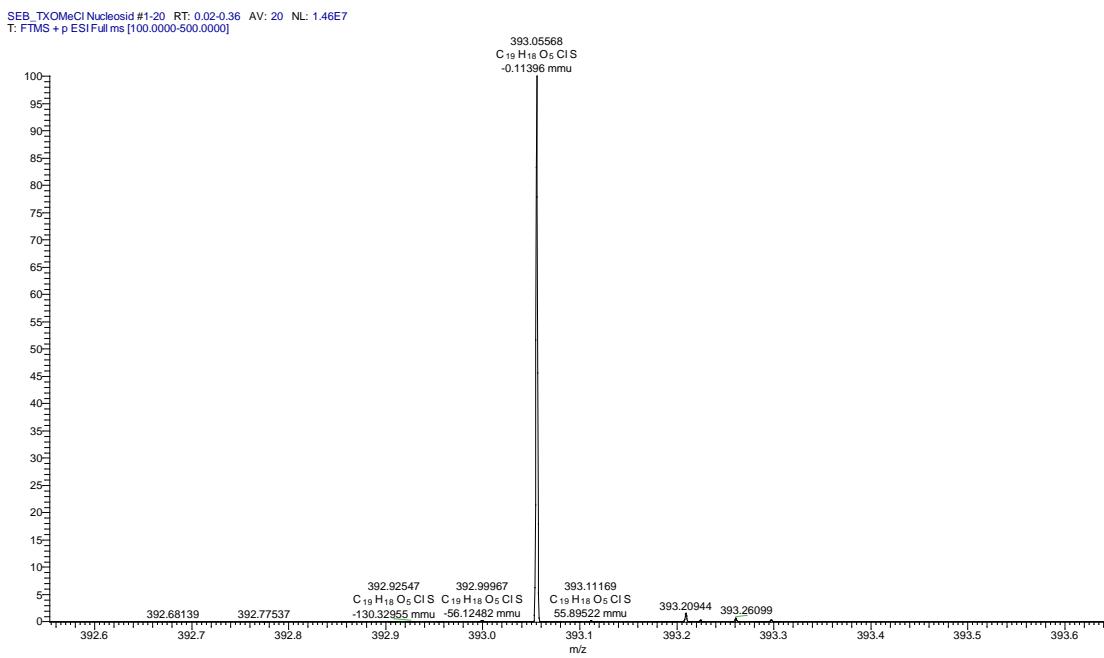


Abbildung S29: HR-ESI-MS von **41**.

Verbindung 42

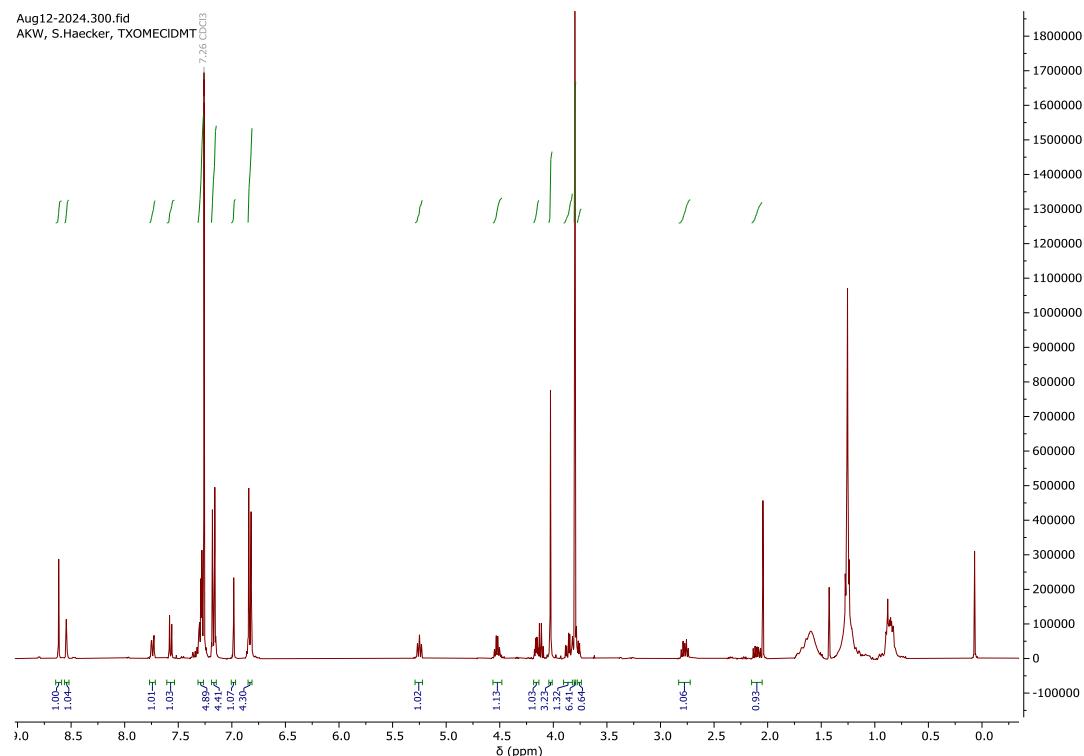
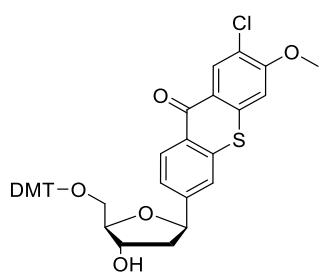


Abbildung S30: 400 MHz ¹H-NMR von 42 in CDCl₃.

Unterstützende Informationen

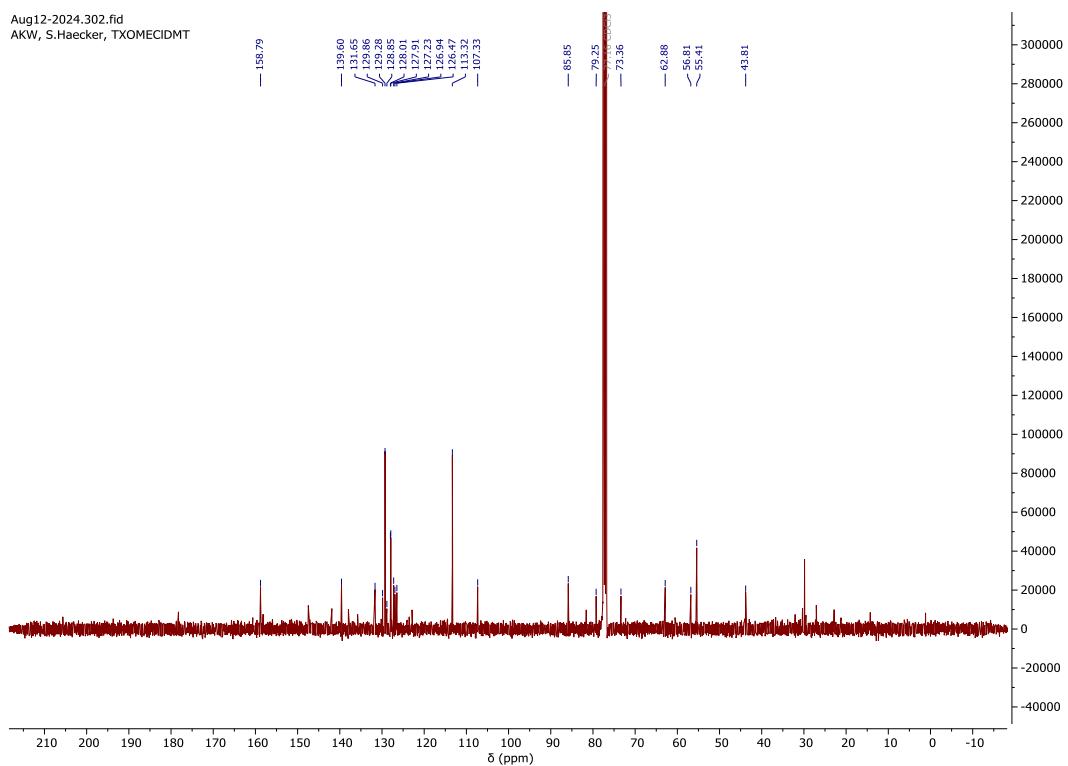


Abbildung S31: 101 MHz ^{13}C -NMR von **42** in CDCl_3 .

SEB-TXOMeCl-DMT #1-20 RT: 0.02-0.39 AV: 20 NL: 3.37E2
T: FTMS + p ESIful ms [100.0000-1500.0000]

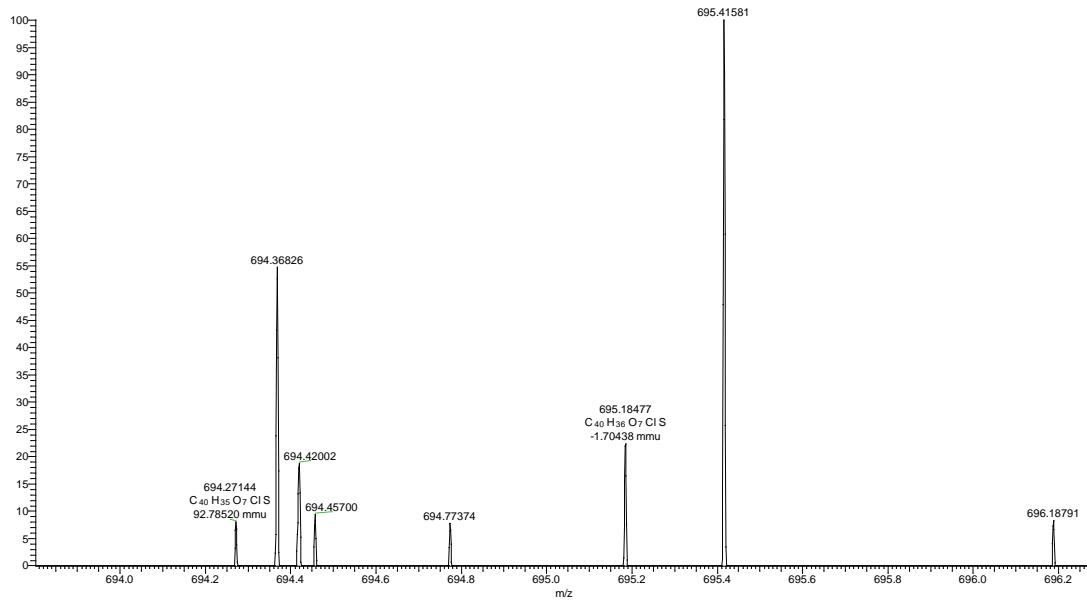
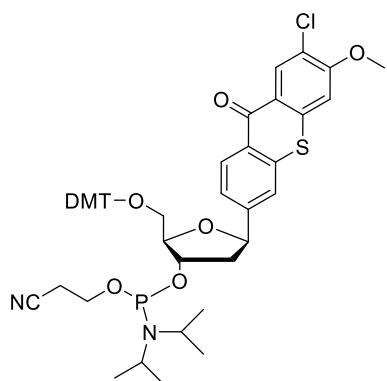


Abbildung S32: HR-ESI-MS von **42**.

Verbindung 43



Aug13-2024-181.fid
AKW, S:Becker, TXOMeCl PA
\\

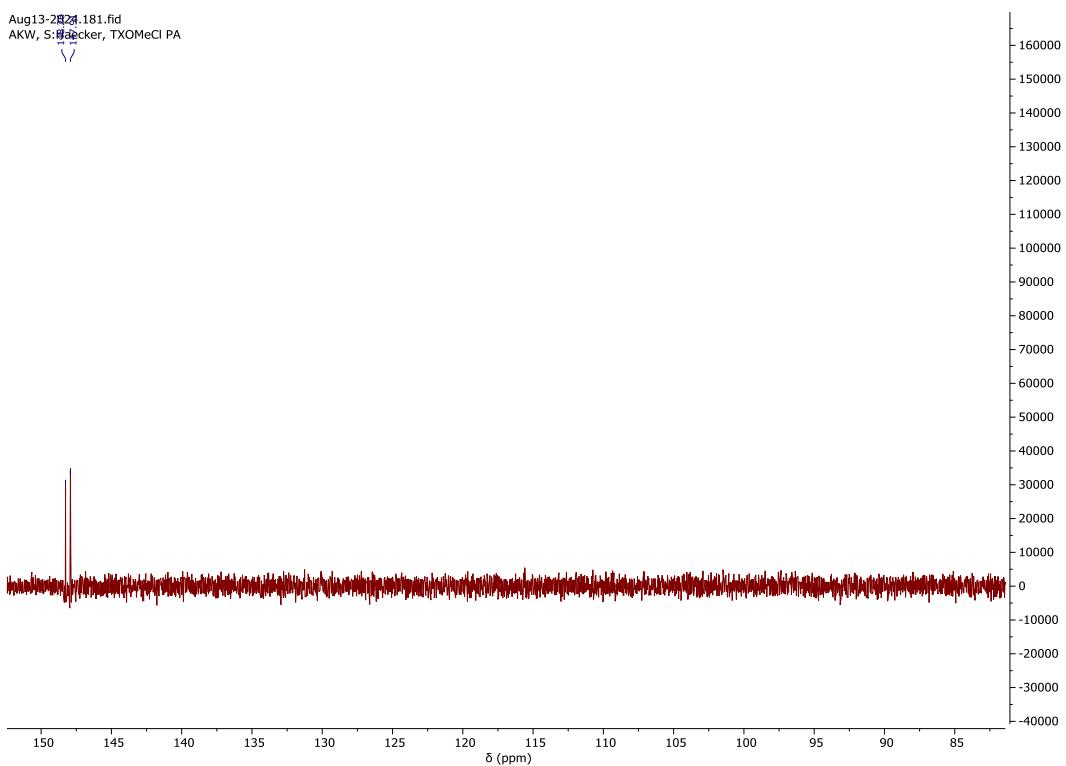


Abbildung S33: 162 MHz ^{31}P -NMR von 43 in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

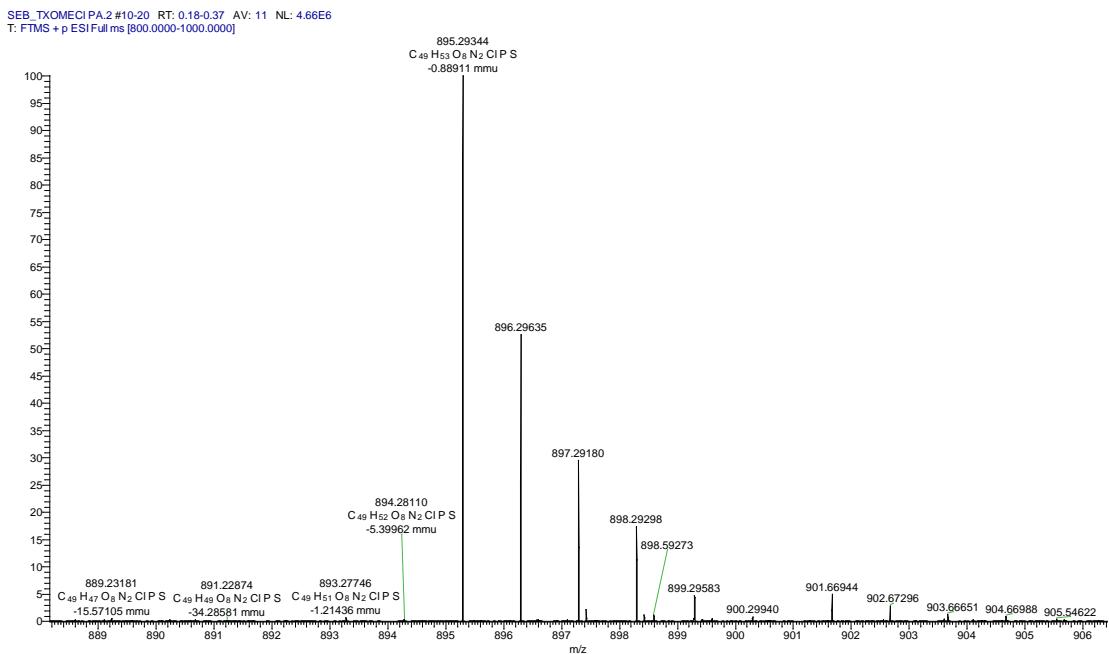


Abbildung S34: HR-ESI-MS von 43.

Unterstützende Informationen

Verbindung 45

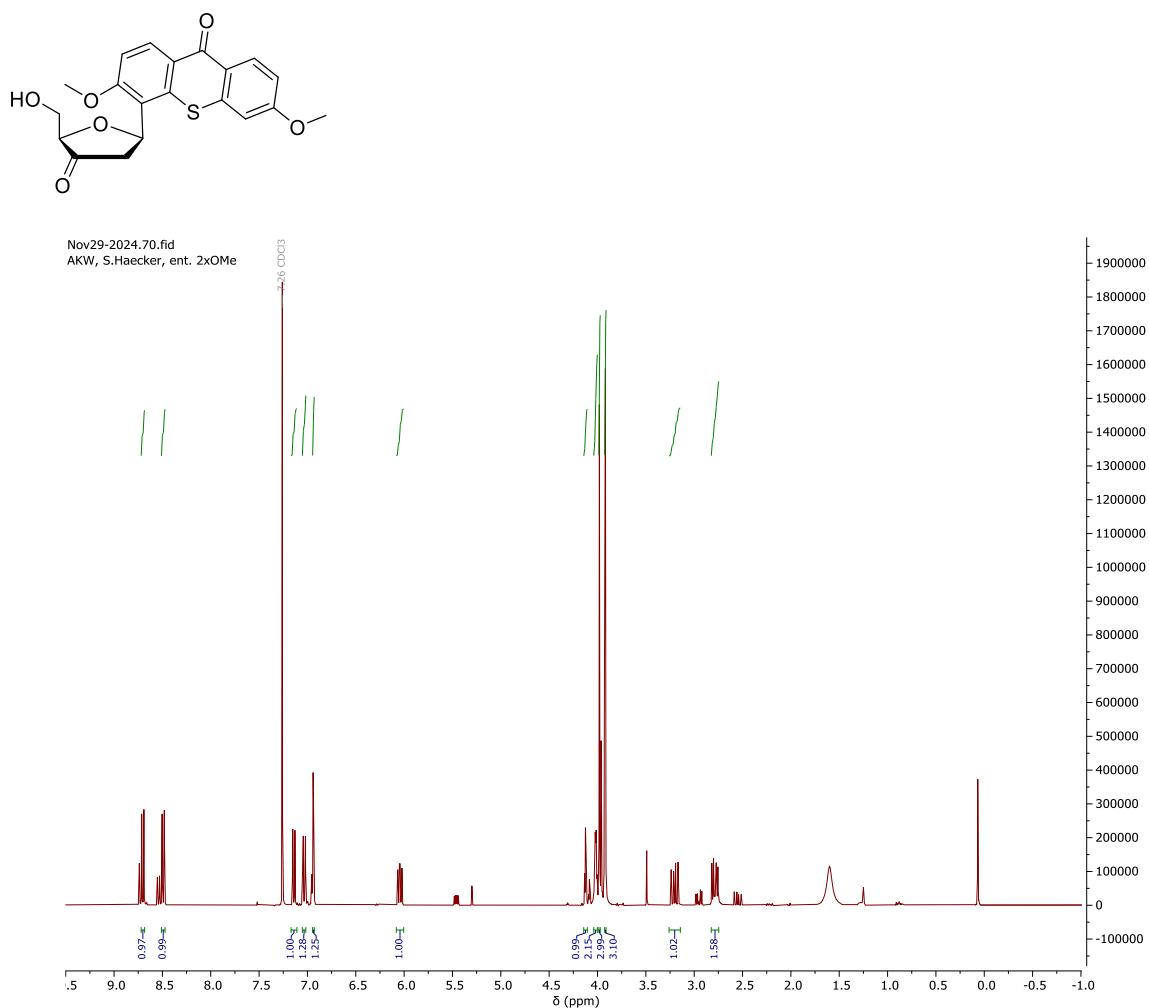


Abbildung S35: 400 MHz ^1H -NMR von **45** in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

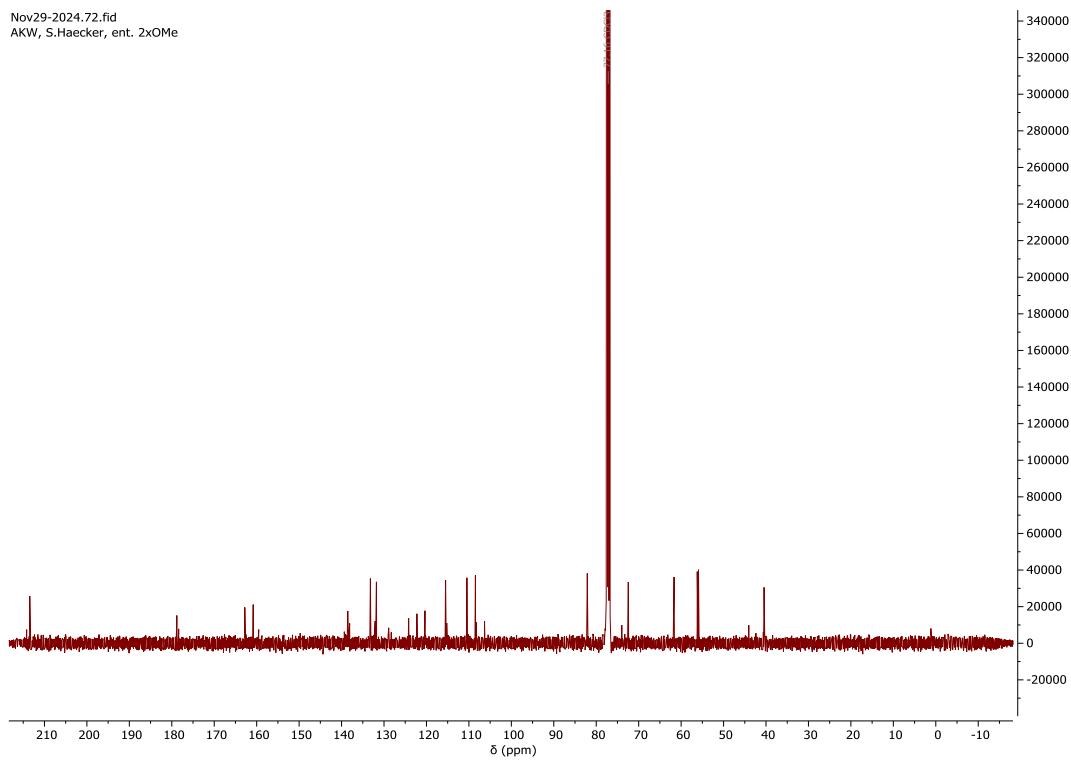


Abbildung S36: 101 MHz ^{13}C -NMR von **45** in CDCl_3 .

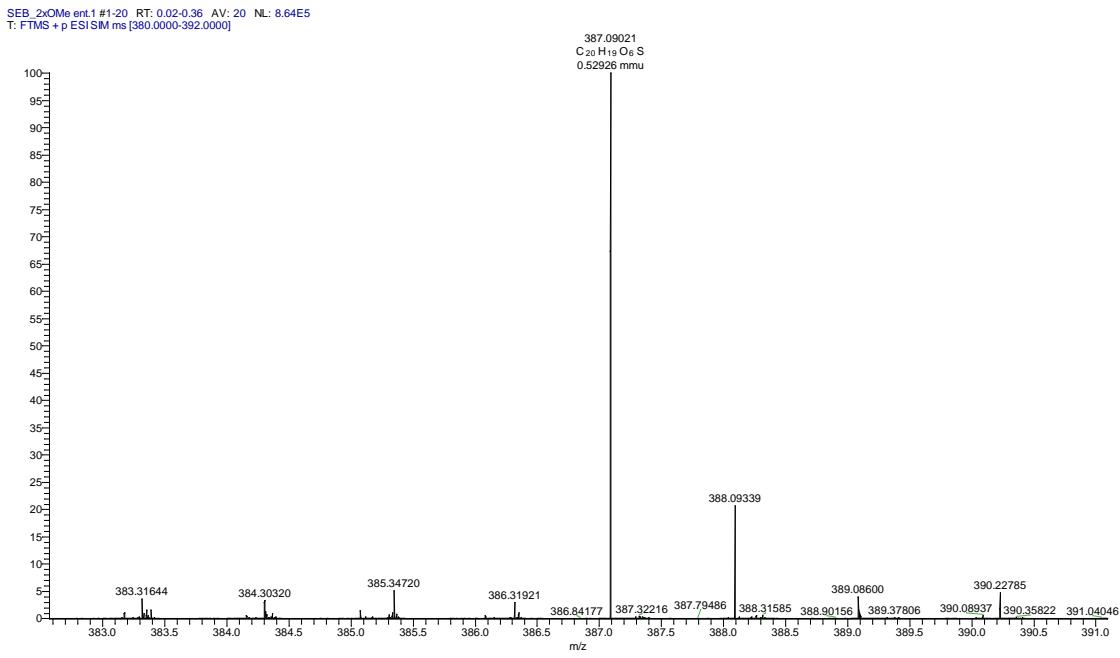


Abbildung S37: HR-ESI-MS von **45**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 46

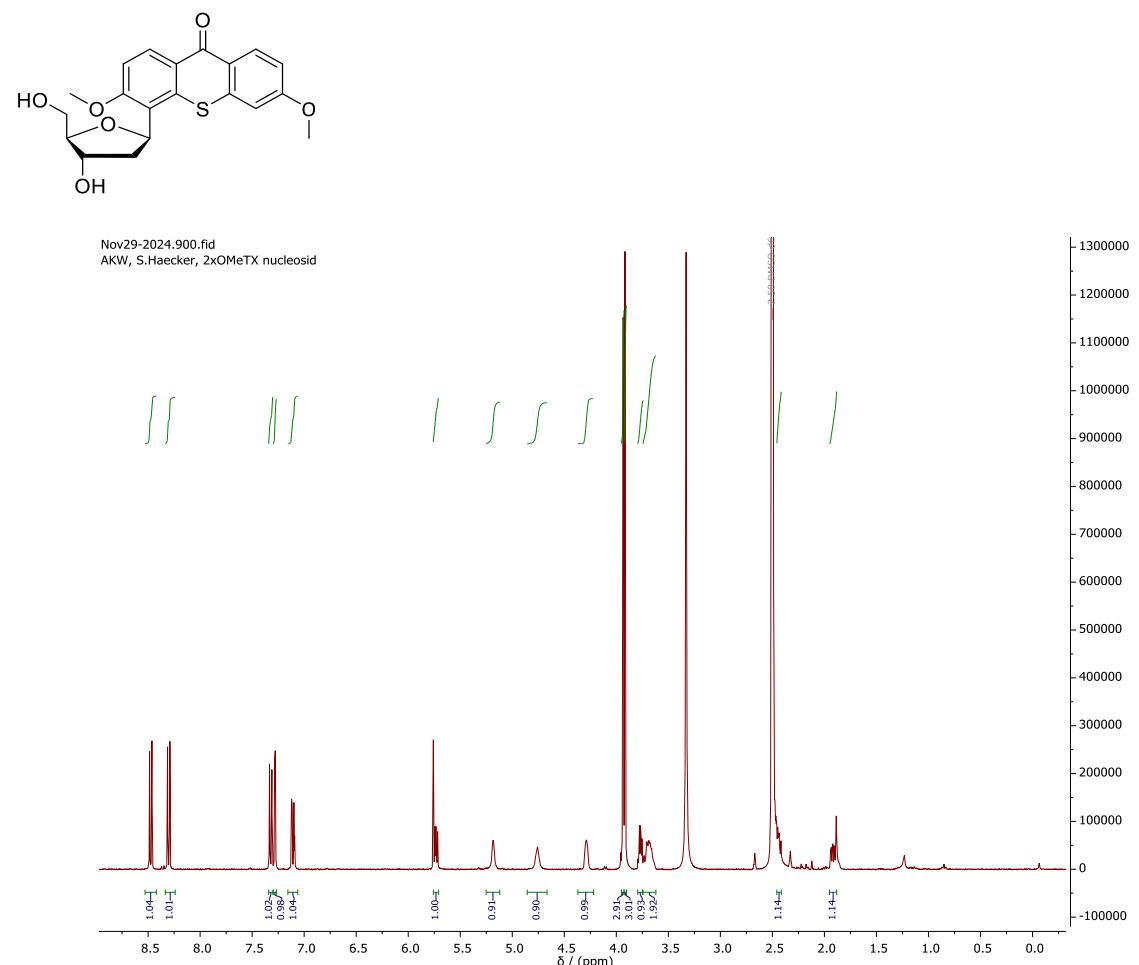


Abbildung S38: 400 MHz ¹H-NMR von **46** in DMSO-d₆.

Unterstützende Informationen

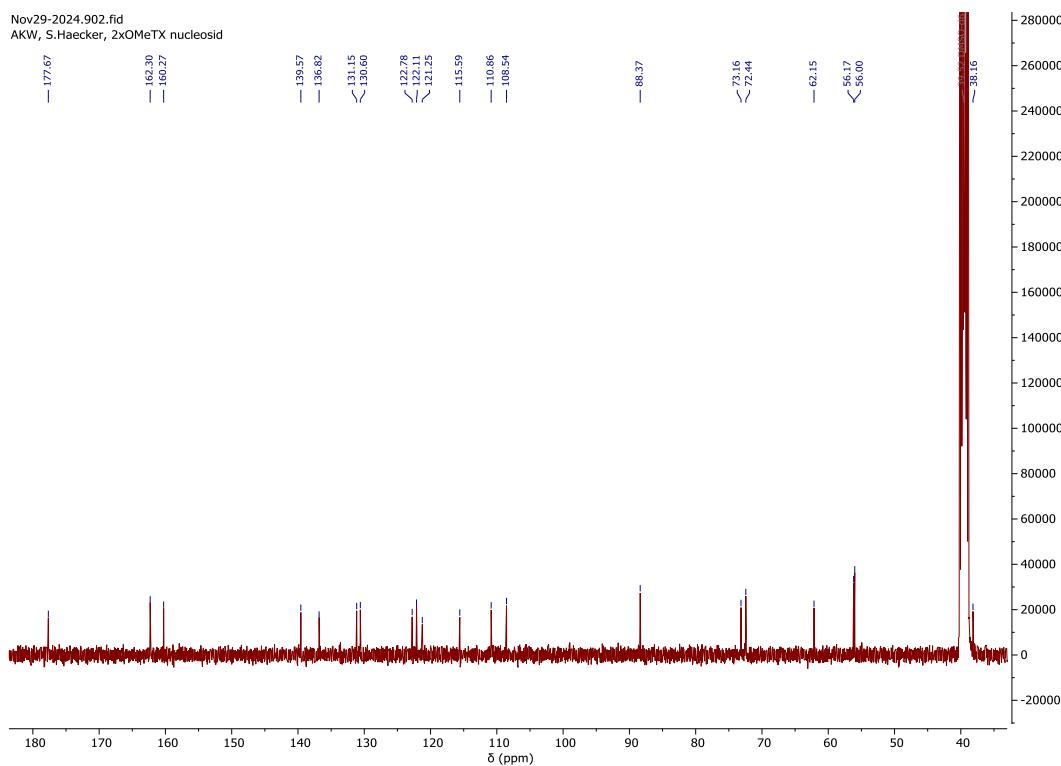


Abbildung S39: 101 MHz ^{13}C -NMR von **46** in DMSO-d6.

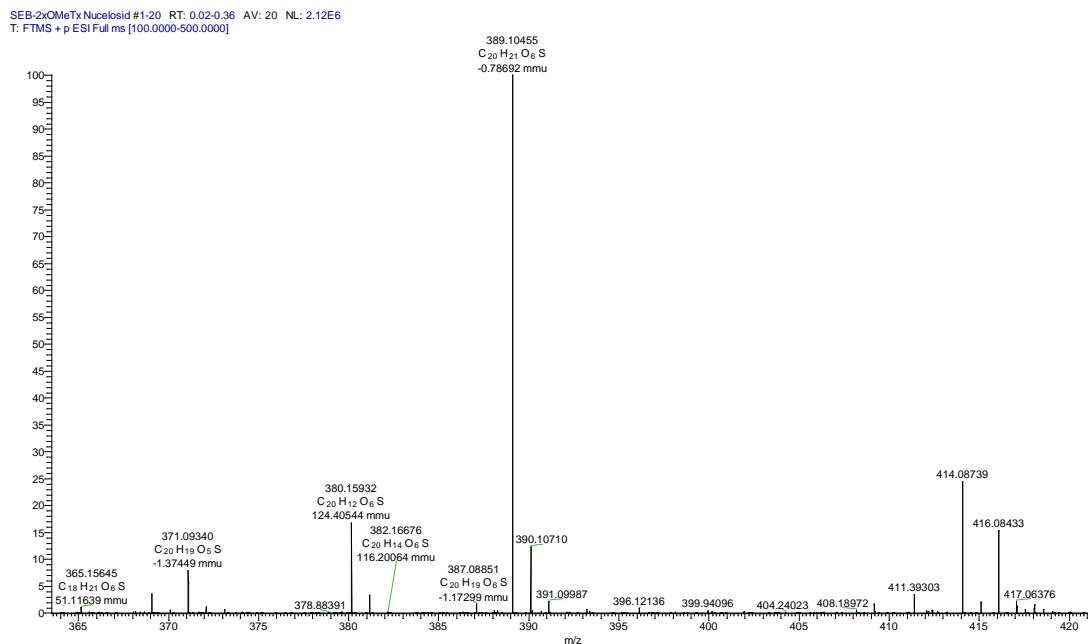


Abbildung S40: HR-ESI-MS von **46**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 47

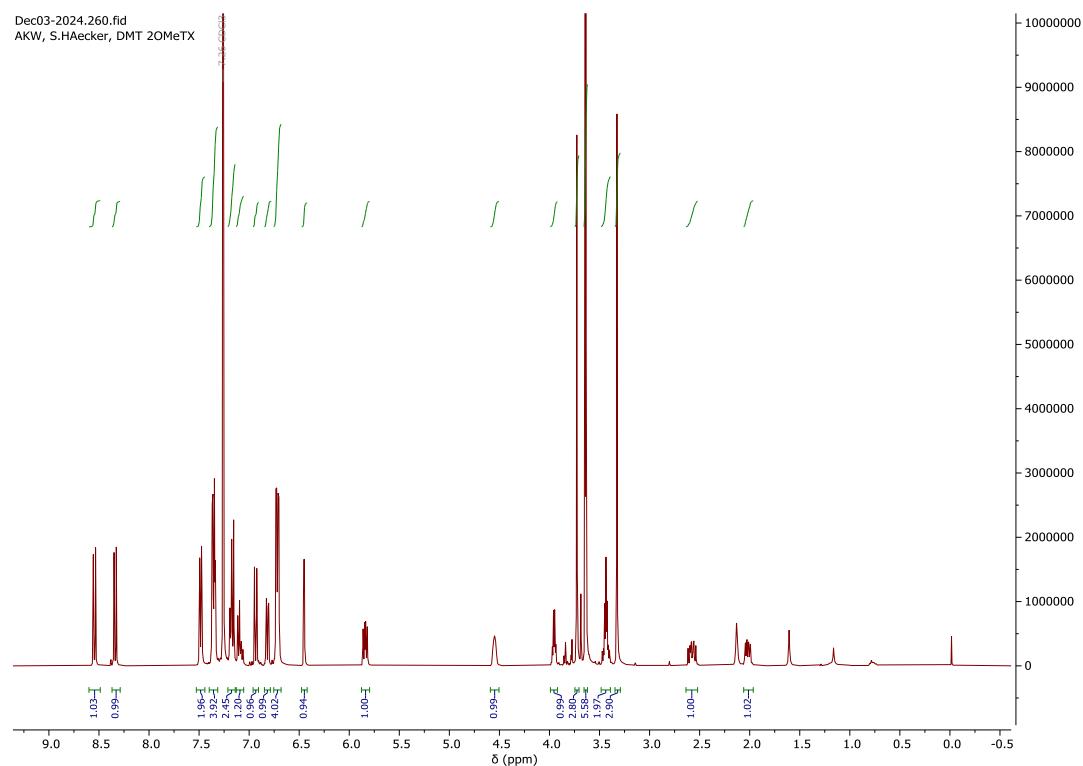
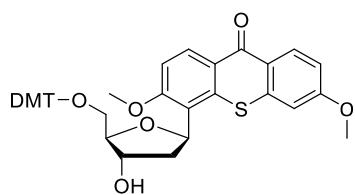


Abbildung S41: 400 MHz ^1H -NMR von 47 in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

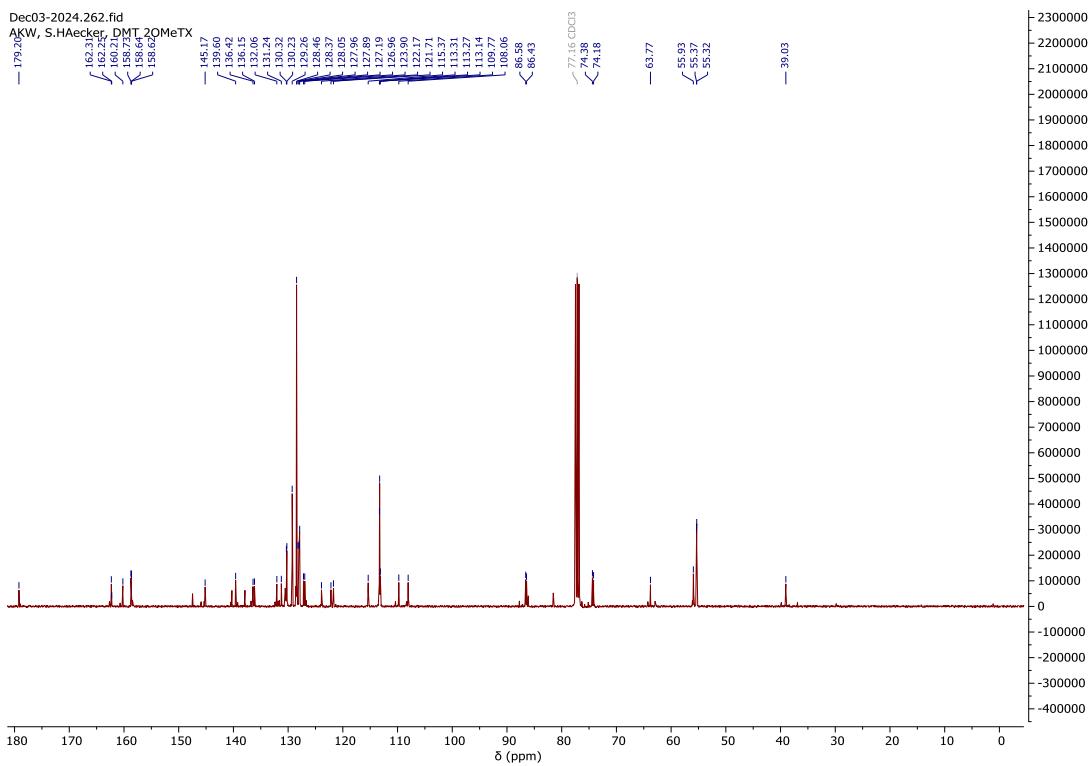


Abbildung S42: 101 MHz¹³C-NMR von **47** in CDCl₃.

SEB-DMTr-2xOMeTx:1 #1-20 RT: 0.02-0.35 AV: 20 NL: 9.65E3
T: FTMS + p ESI Full ms [650.0000-740.0000]

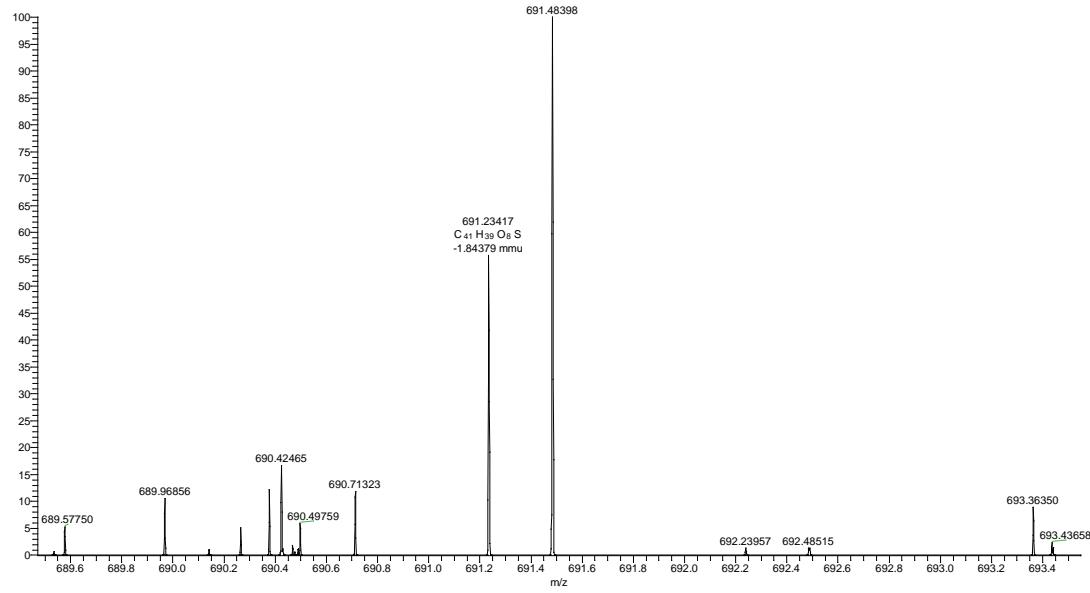


Abbildung S43: HR-ESI-MS von **47**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 48

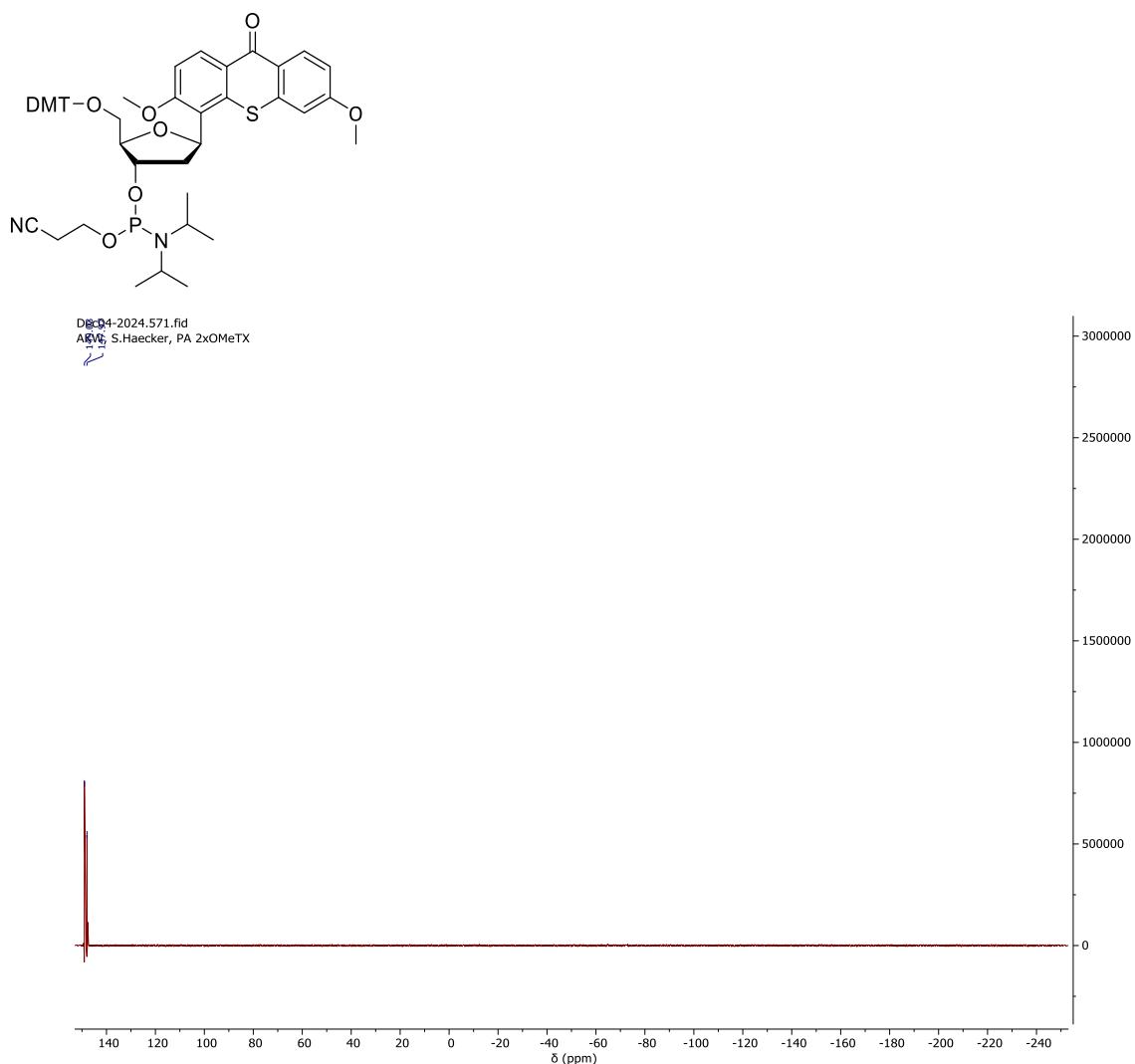


Abbildung S44: 162 MHz ^{31}P -NMR von **48** in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

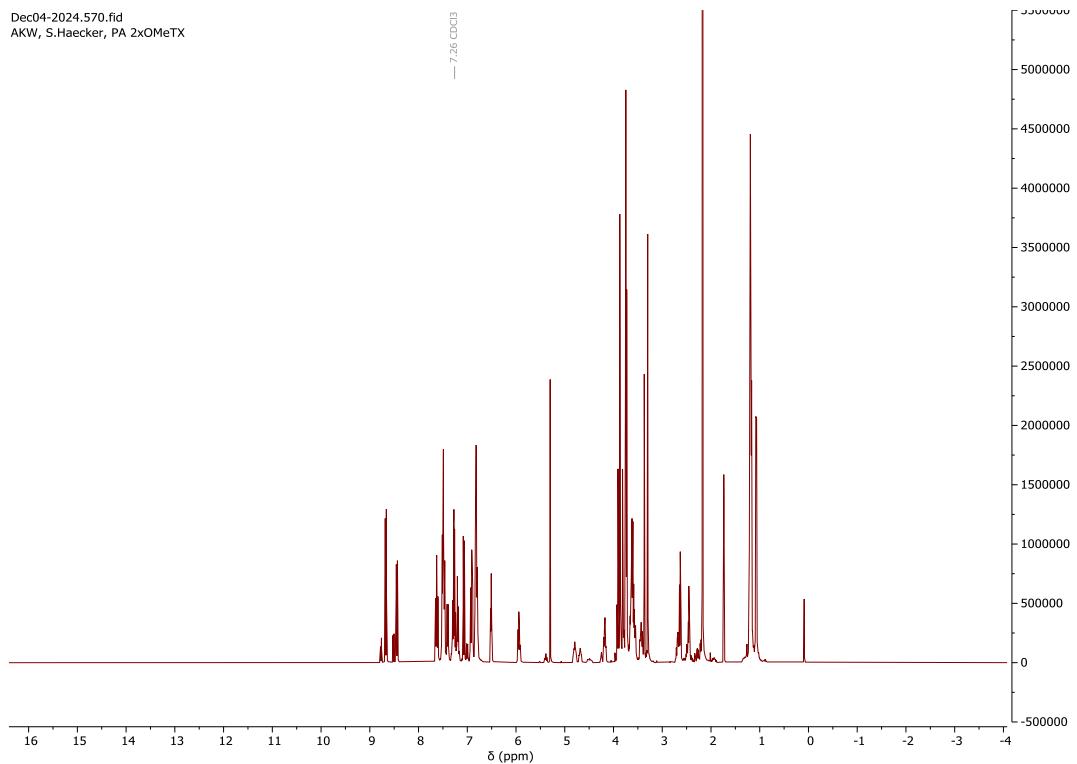


Abbildung S45: 400 MHz ¹H-NMR von **48** in CDCl₃.

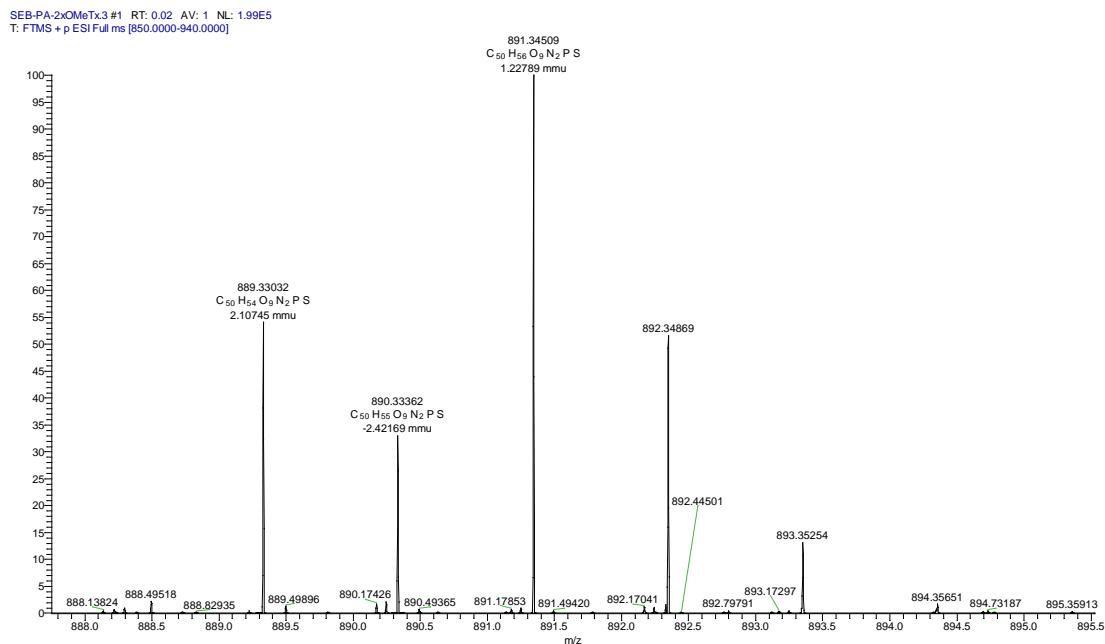
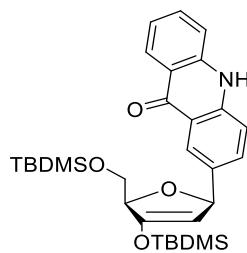


Abbildung S46: HR-ESI-MS von **48**.

Verbindung 29



Jun13-2022.810.fid
AKW, S.Haecker, SEB16

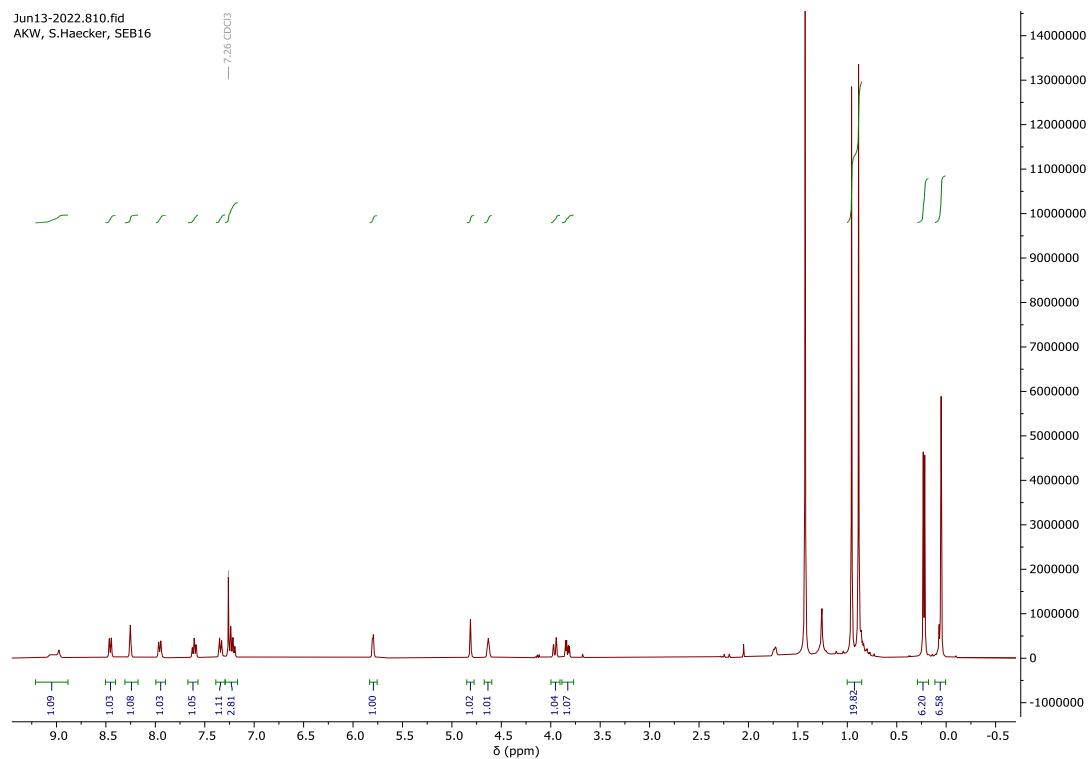


Abbildung S47: 400 MHz ^1H -NMR von **29** in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

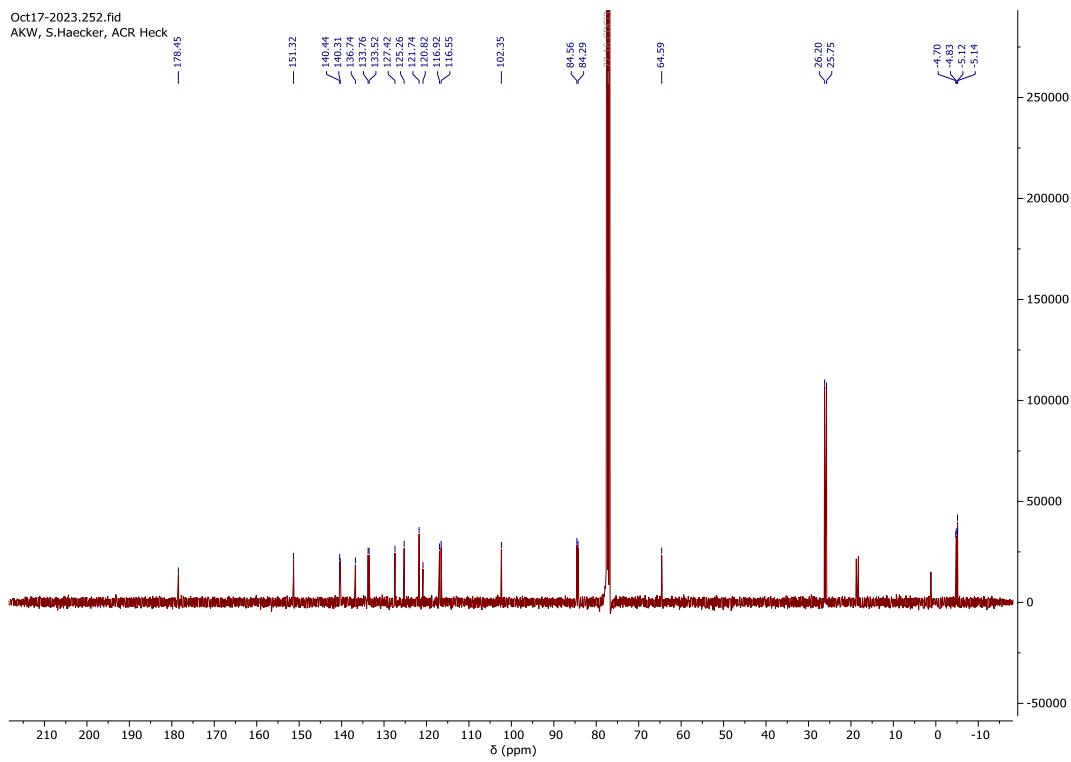


Abbildung S48: 101 MHz ^{13}C -NMR von **29** in CDCl_3 .

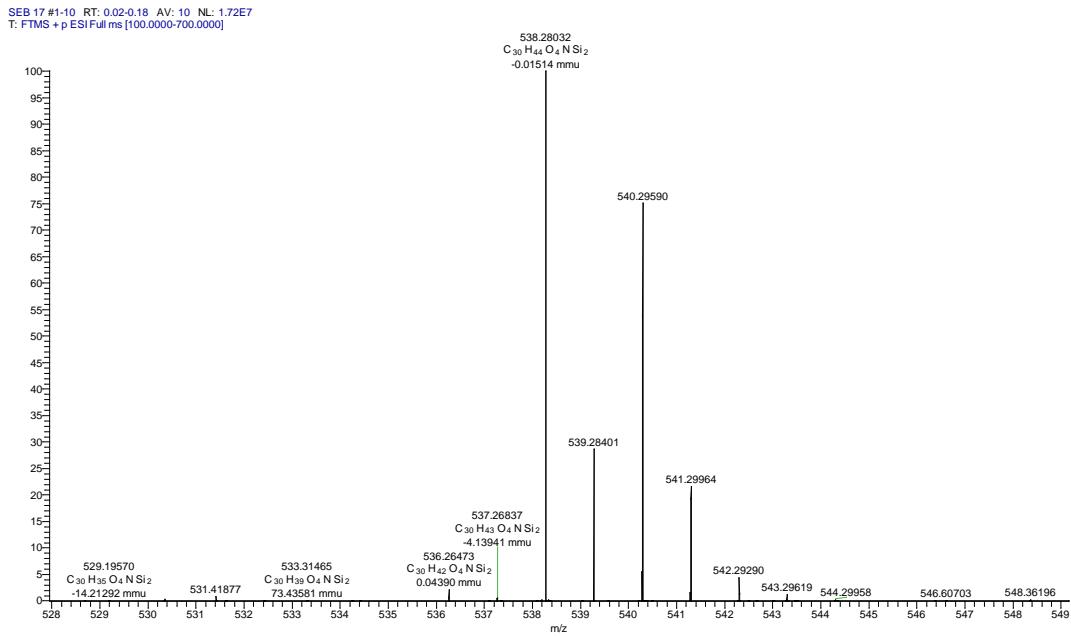


Abbildung S49: HR-ESI-MS von **29**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 30

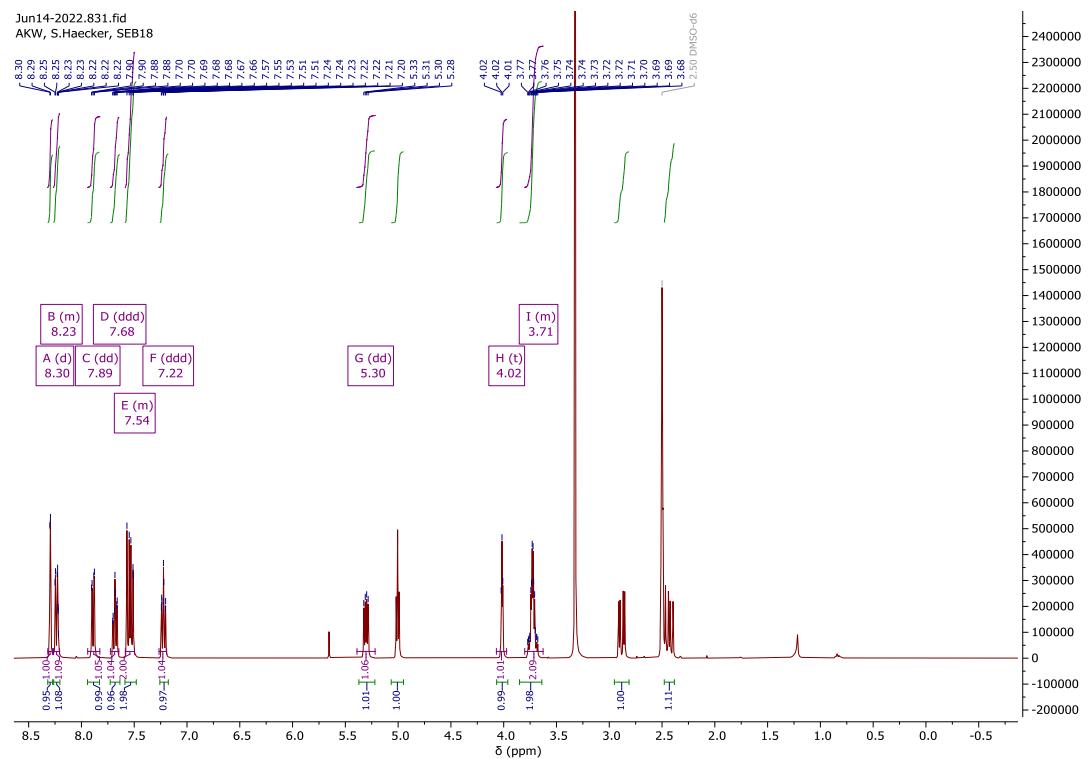


Abbildung S50: 400 MHz ^1H -NMR von **30** in DMSO-d₆.

Unterstützende Informationen

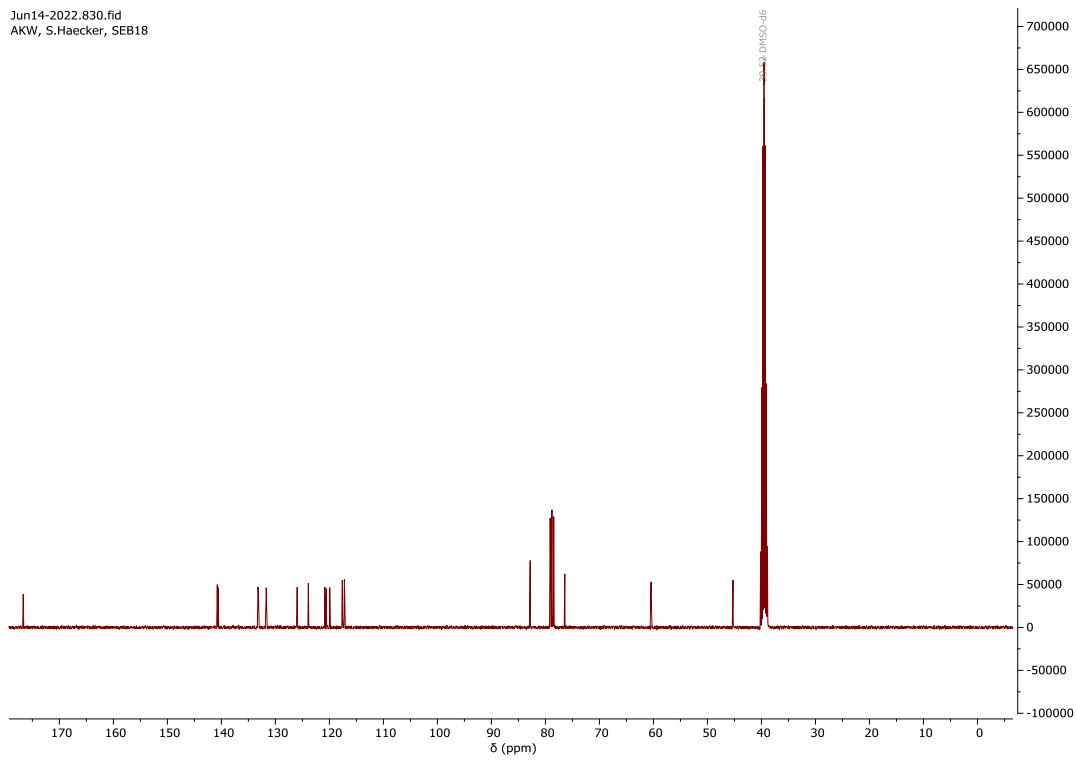


Abbildung S51: 101 MHz ^{13}C -NMR von **30** in DMSO-d6.

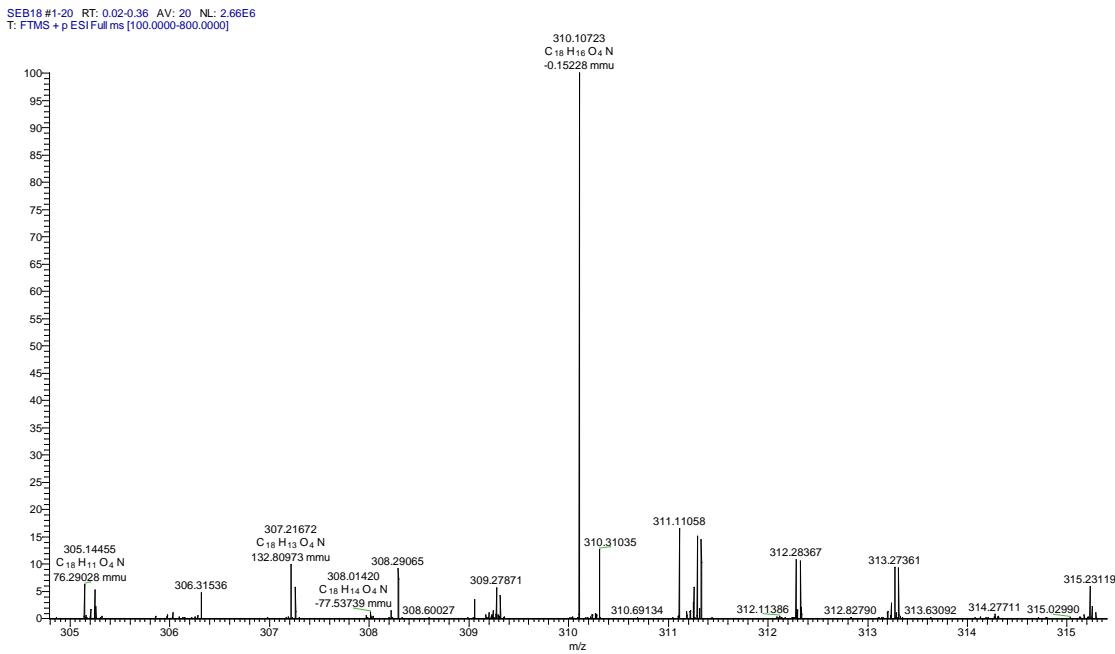
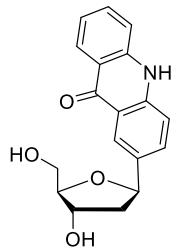


Abbildung S52: HR-ESI-MS von **30**.

Verbindung 31



Jun20-2022.210.fid
AKW, S.Haecker, SEB19

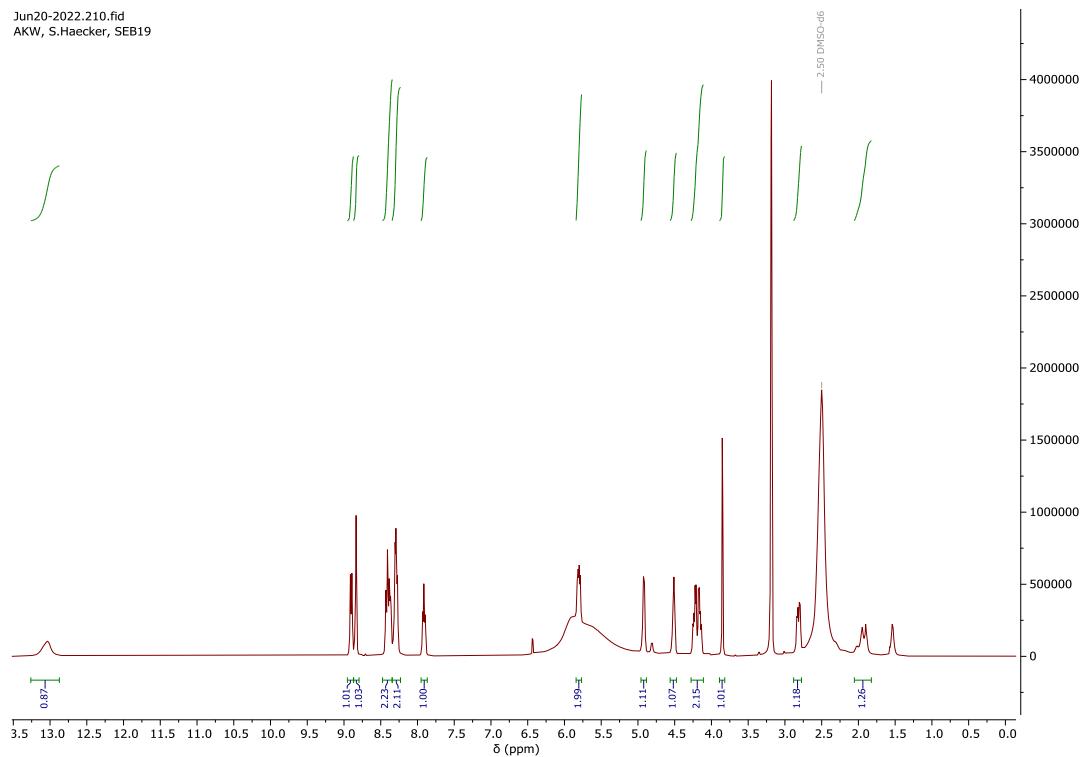


Abbildung S53: 400 MHz ^1H -NMR von **31** in DMSO-d6.

Unterstützende Informationen

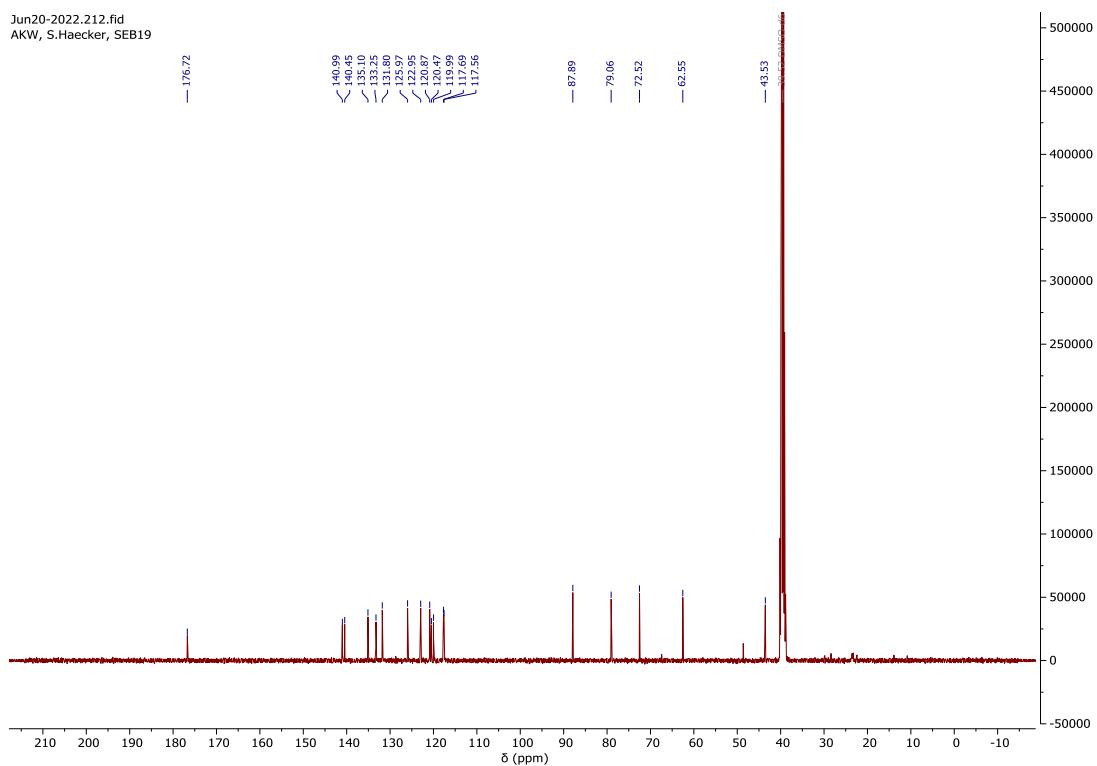


Abbildung S54: 101 MHz ^{13}C -NMR von **31** in DMSO-d_6 .

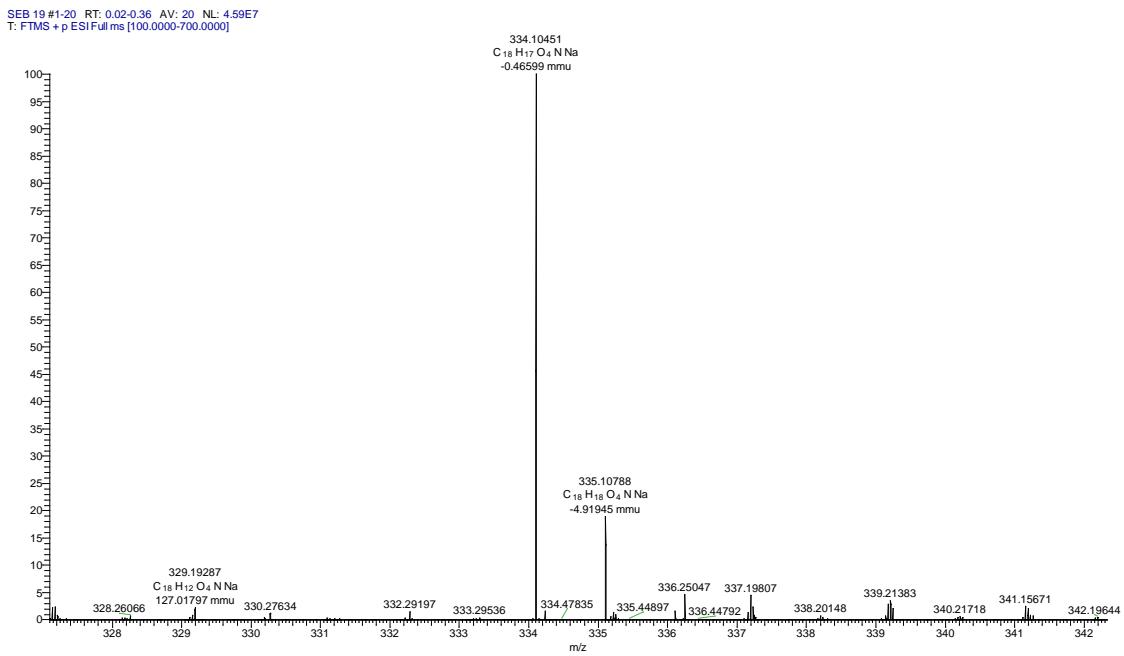


Abbildung S55: HR-ESI-MS von **31**.

Verbindung 32

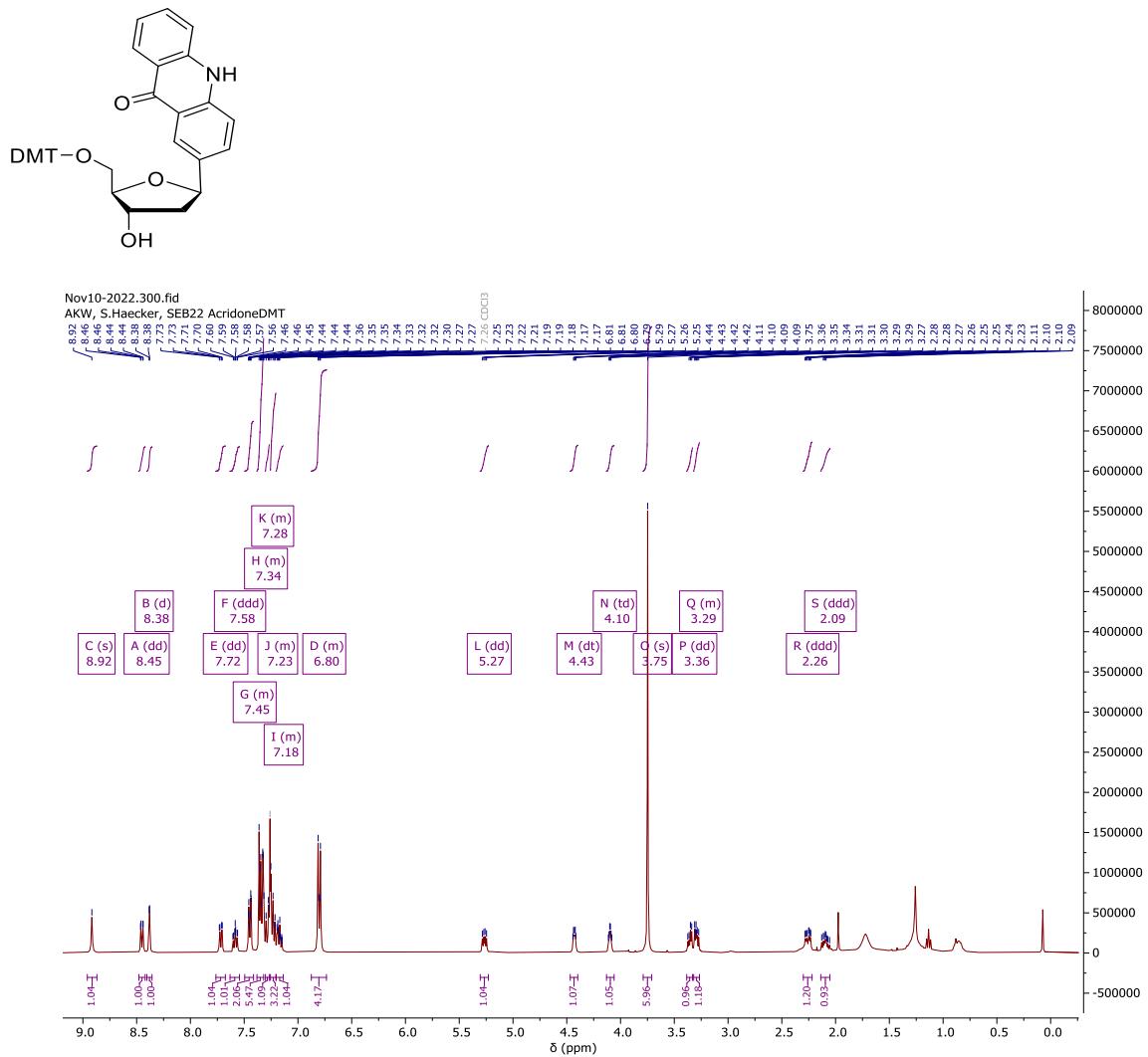


Abbildung S56: 400 MHz ^1H -NMR von 32 in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

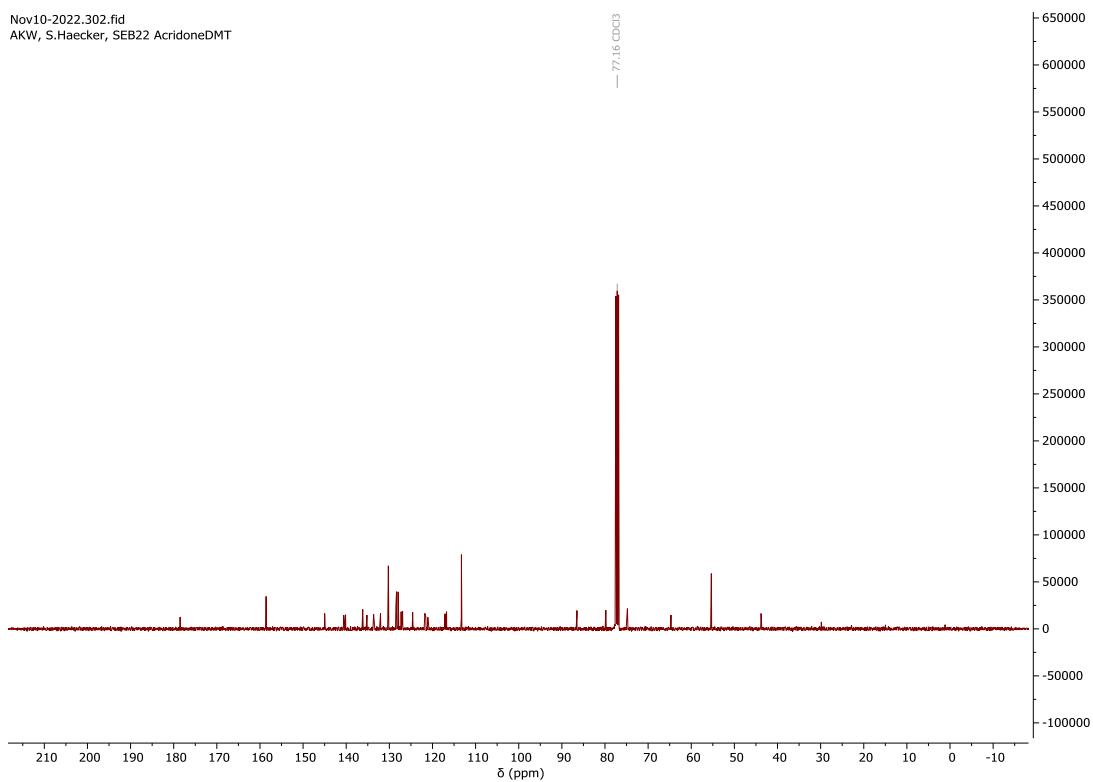


Abbildung S57: 101 MHz ¹³C-NMR von **32** in CDCl₃.

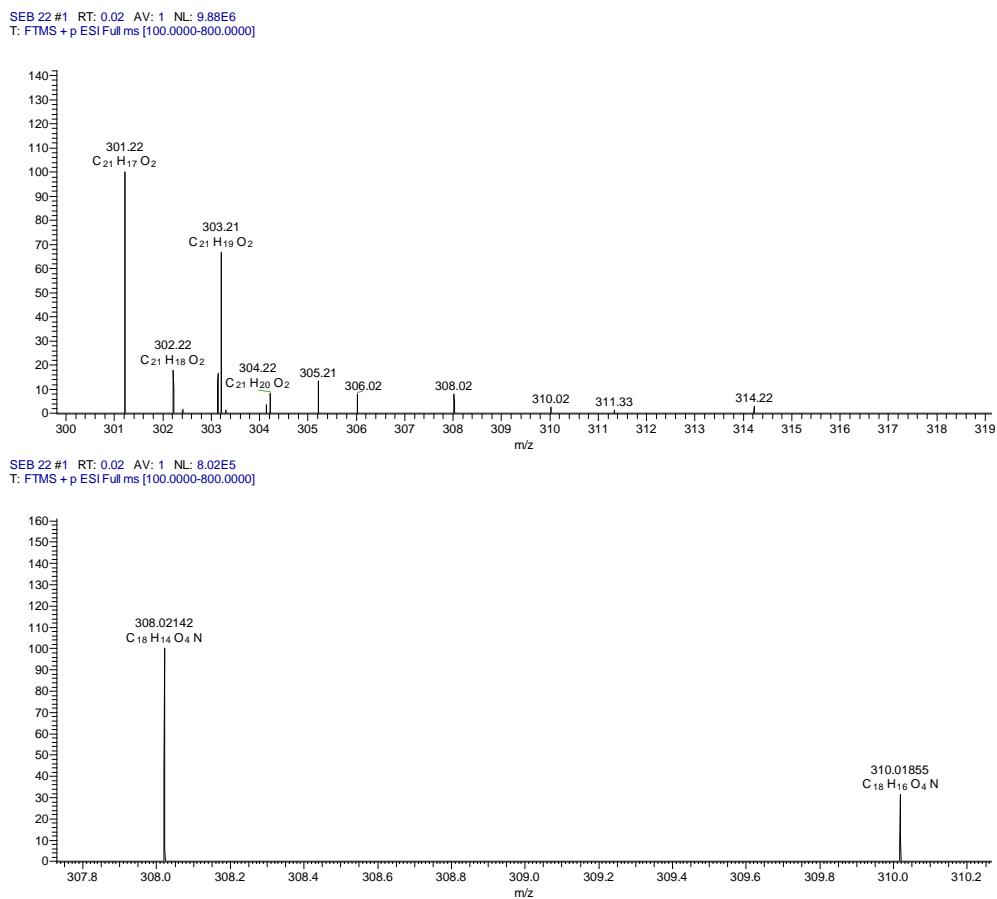


Abbildung S58: HR-ESI-MS von **32**.

Verbindung 33

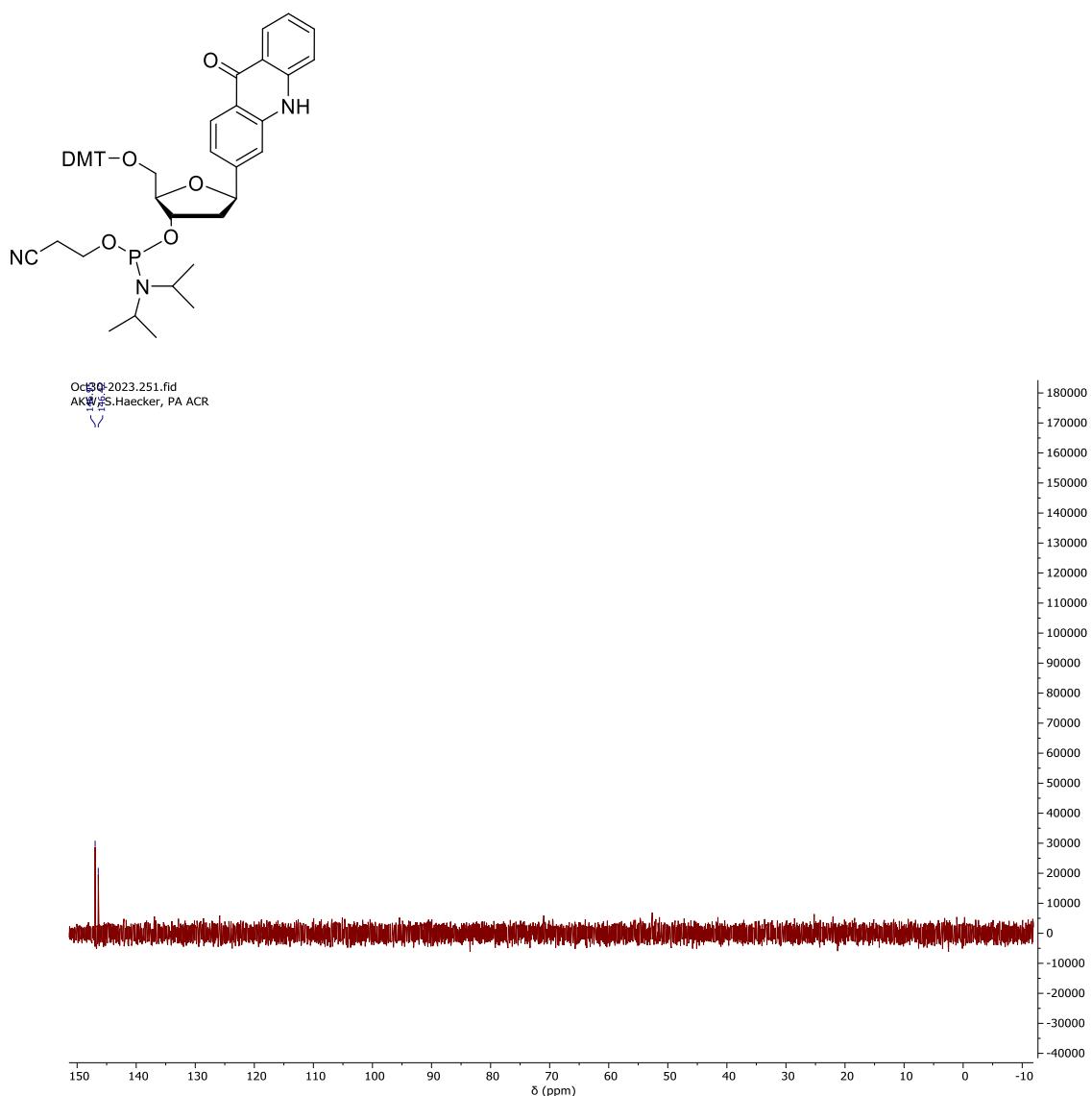


Abbildung S59: 162 MHz ^{31}P -NMR von **33** in DMSO-d_6 .

Unterstützende Informationen

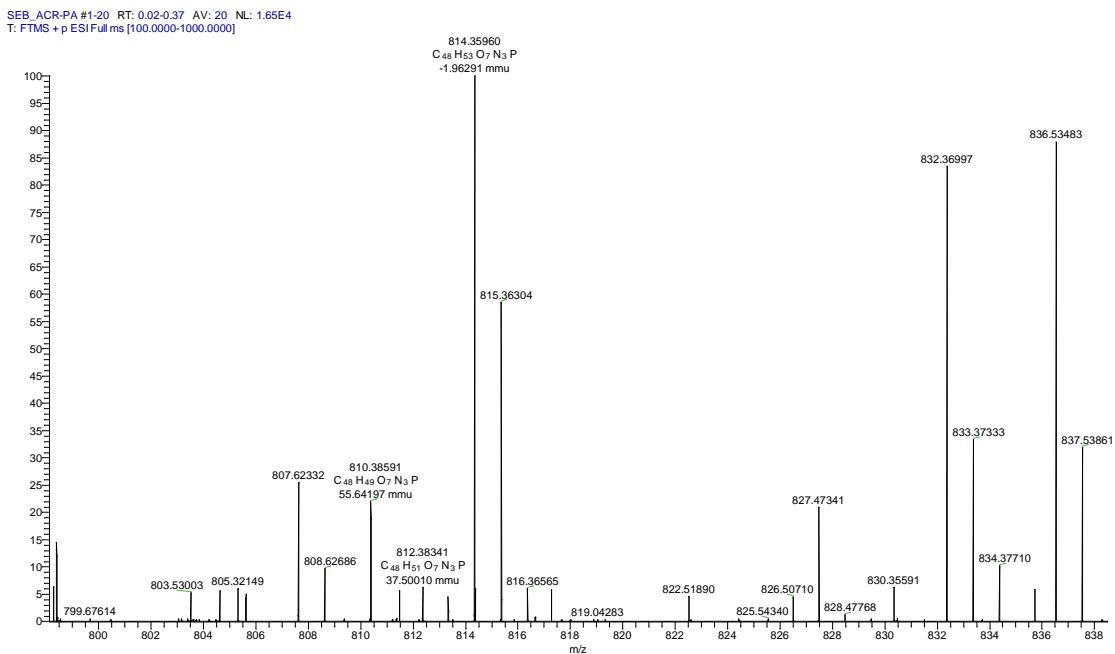


Abbildung S60: HR-ESI-MS von 33.

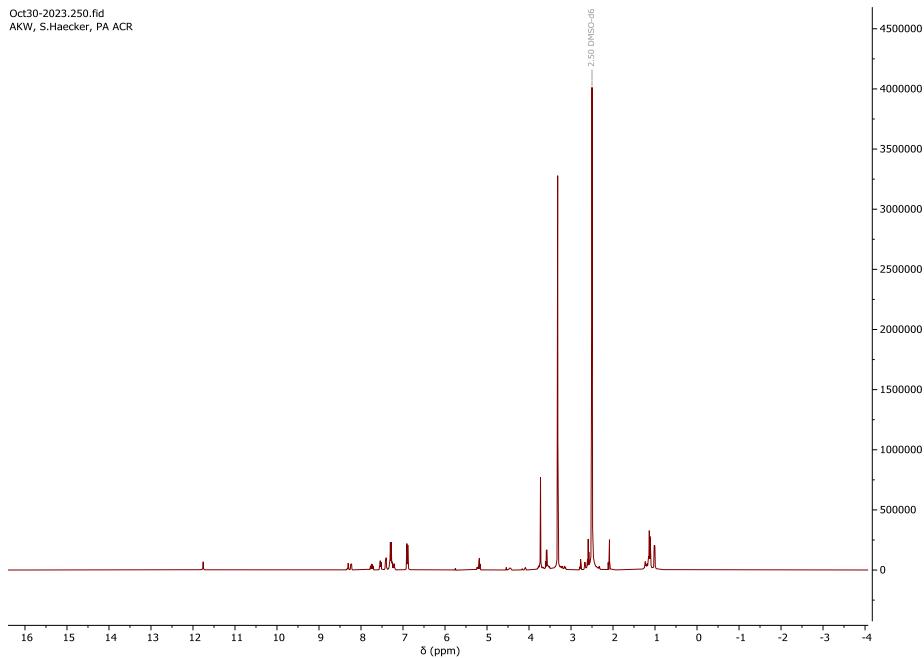


Abbildung S61: 400 MHz 1H -NMR von 33 in DMSO-d6.

Unterstützende Informationen

Verbindung 49a

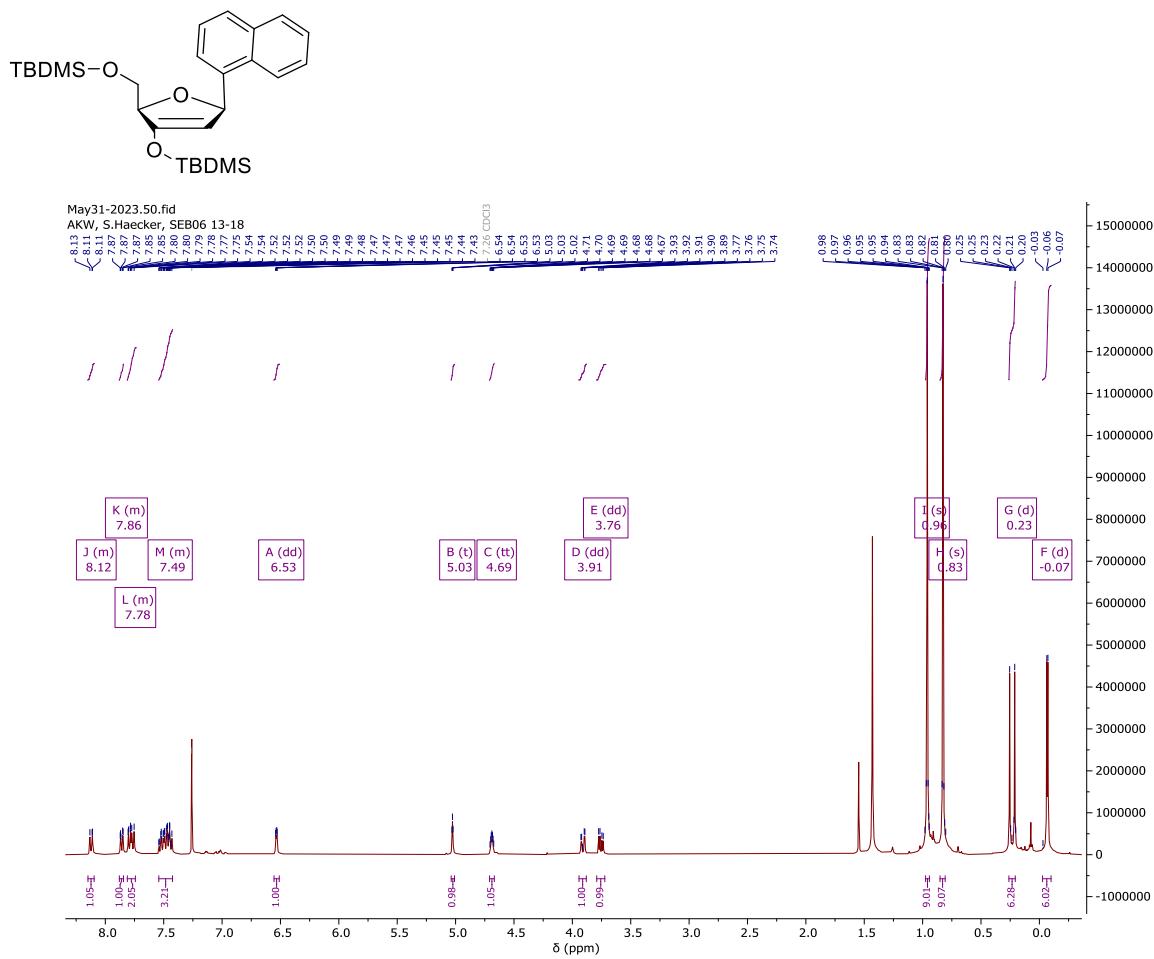


Abbildung S62: 400 MHz ¹H-NMR von 49a in CDCl₃.

Unterstützende Informationen

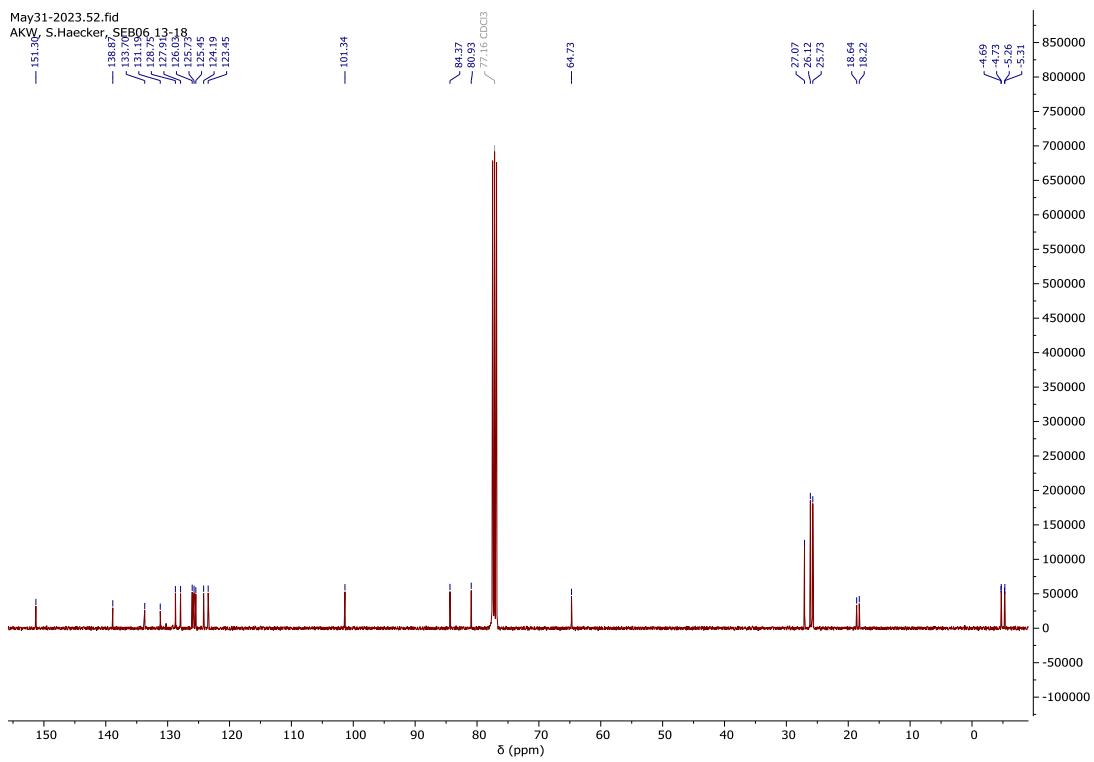


Abbildung S63: 101 MHz ¹³C-NMR von **49a** in CDCl₃.

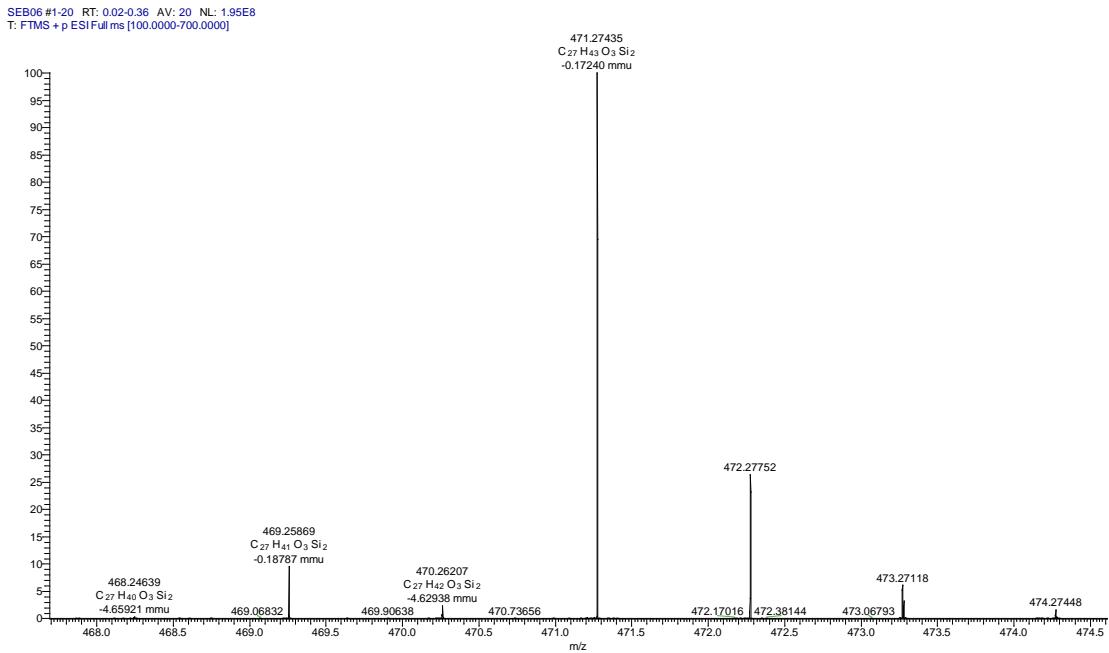


Abbildung S64: HR-ESI-MS von **49a**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 49b

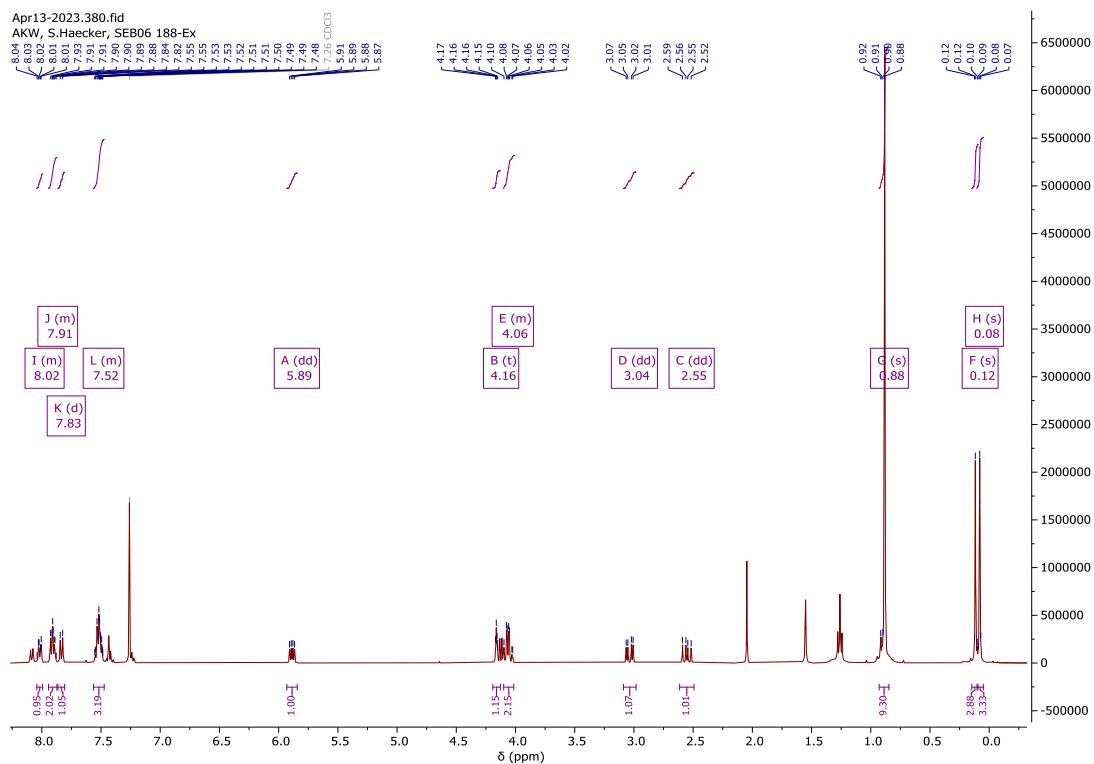
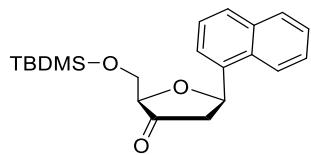


Abbildung S65: 400 MHz ^1H -NMR von **49b** in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

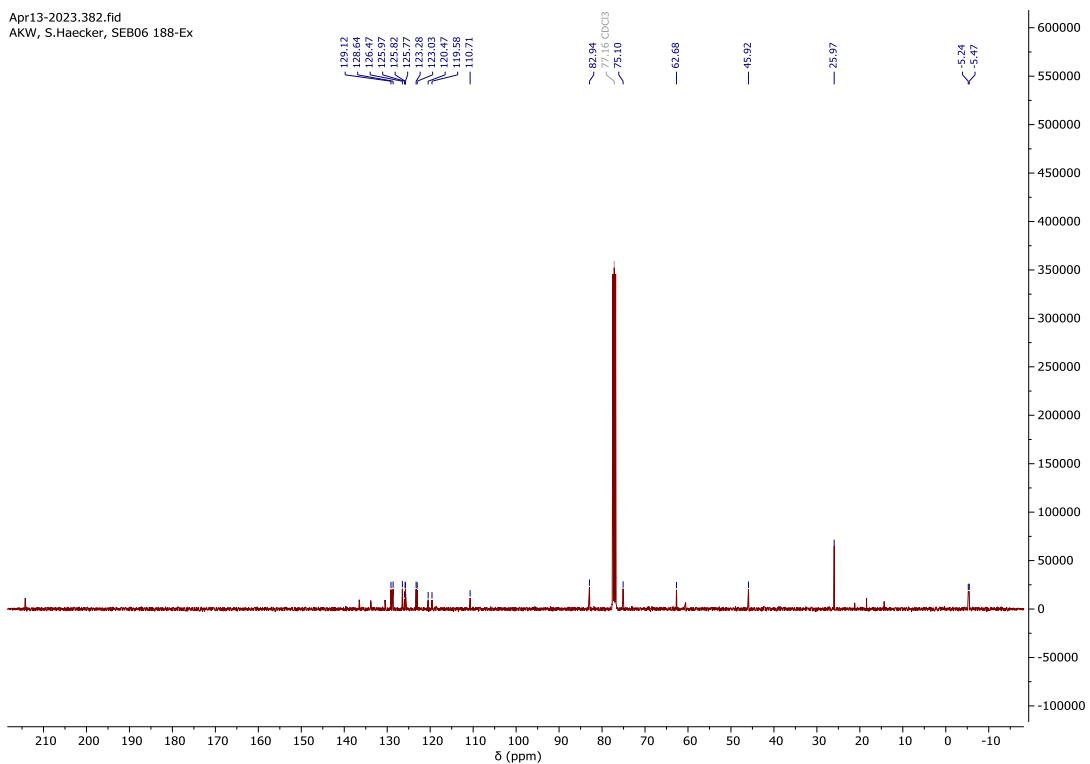


Abbildung S66: 101 MHz ^{13}C -NMR von **49b** in CDCl_3 .

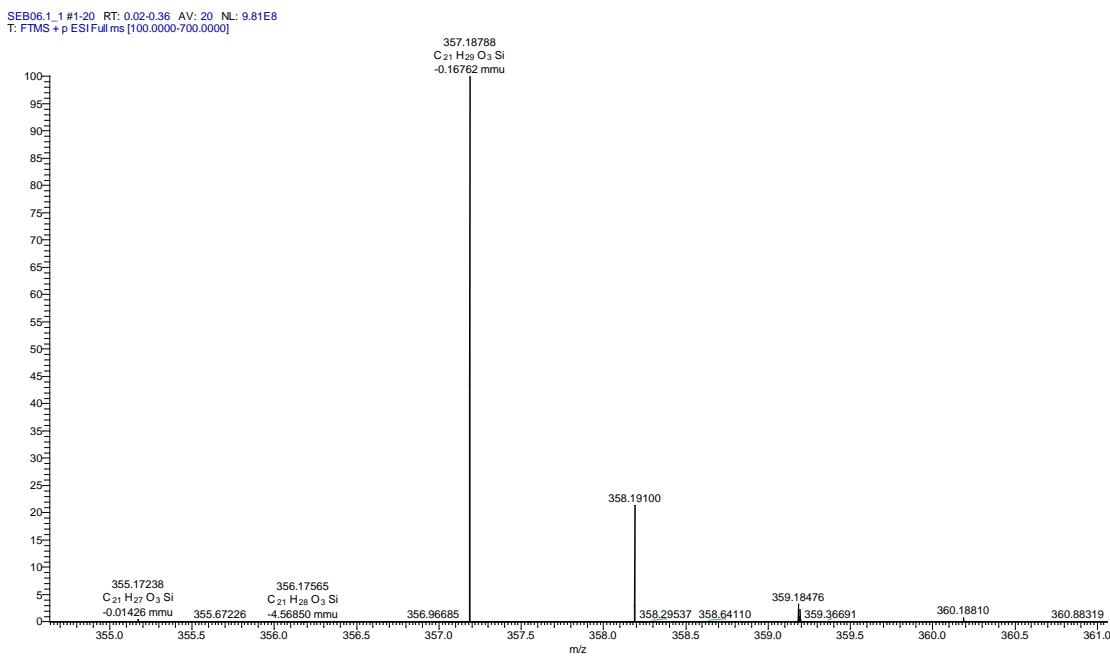


Abbildung S67: HR-ESI-MS von **49b**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 50

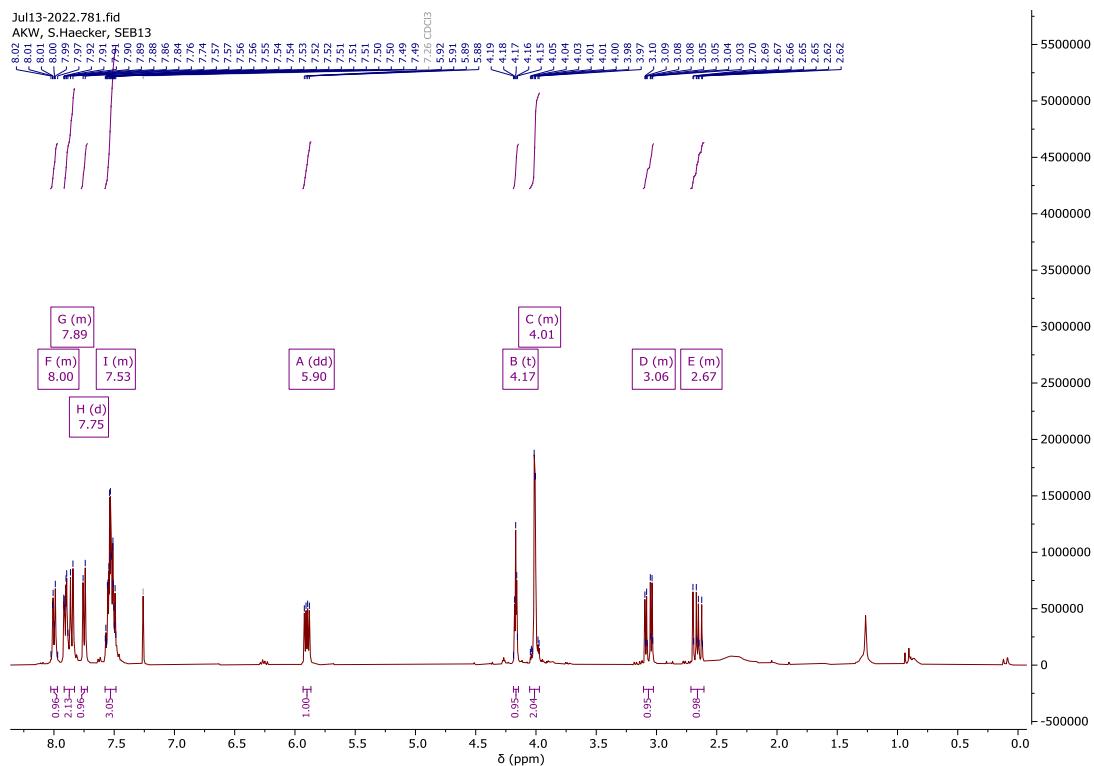
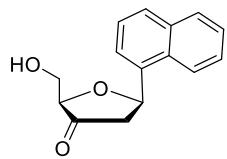


Abbildung S68: 400 MHz ^1H -NMR von **50** in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

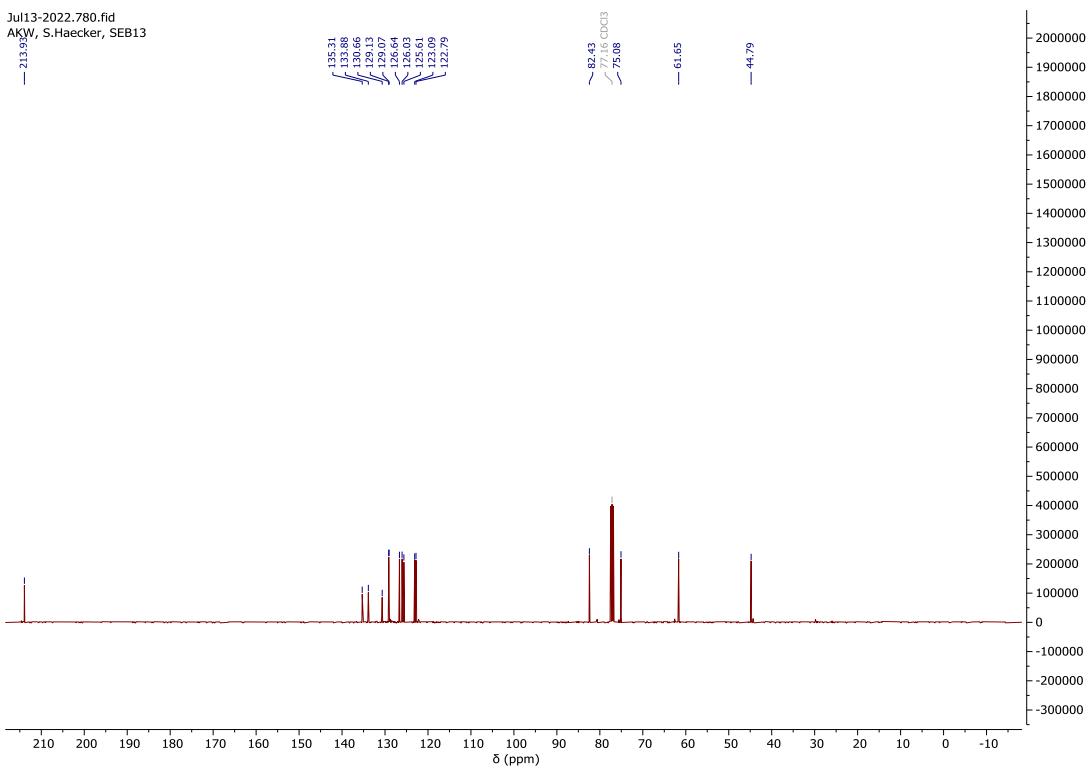


Abbildung S69: 101 MHz ^{13}C -NMR von **50** in CDCl_3 .

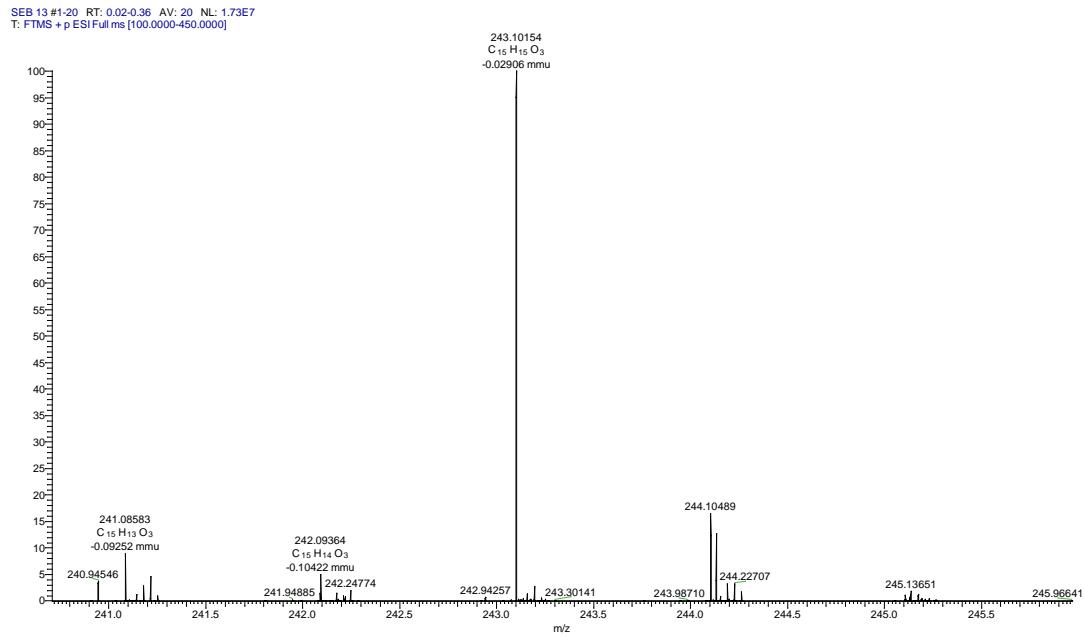


Abbildung S70: HR-ESI-MS von **50**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 51

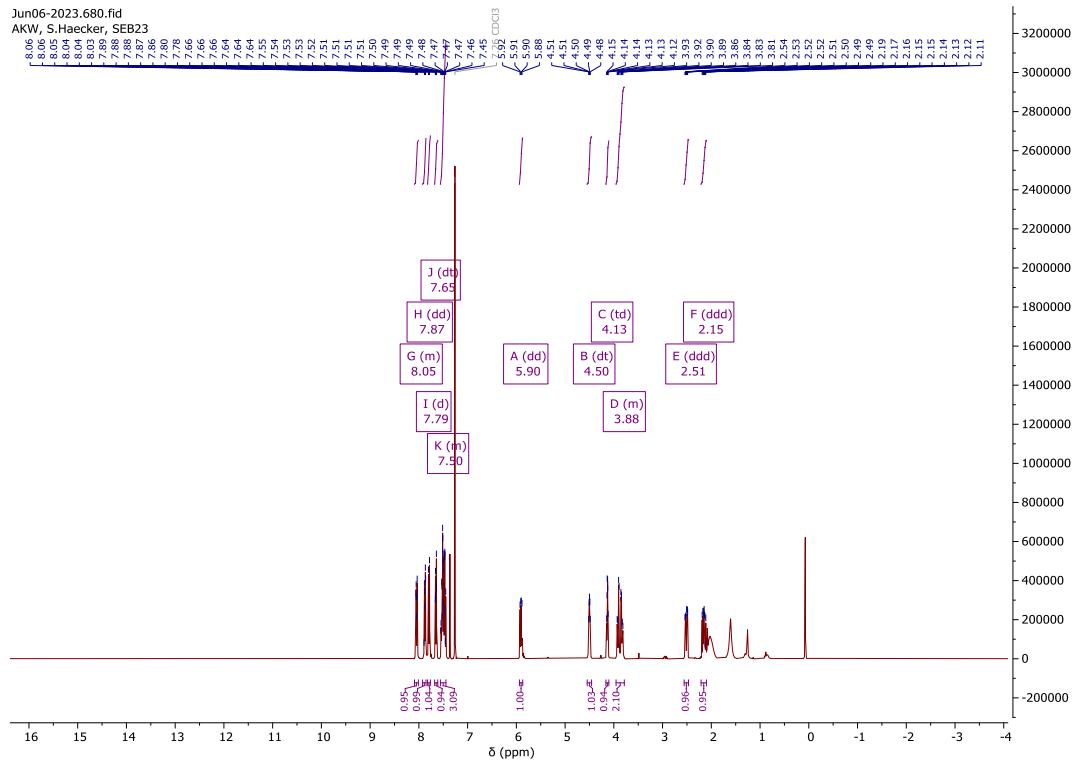
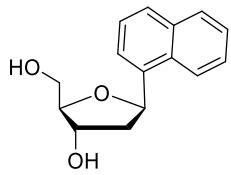


Abbildung S71: 400 MHz ^1H -NMR von **51** in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

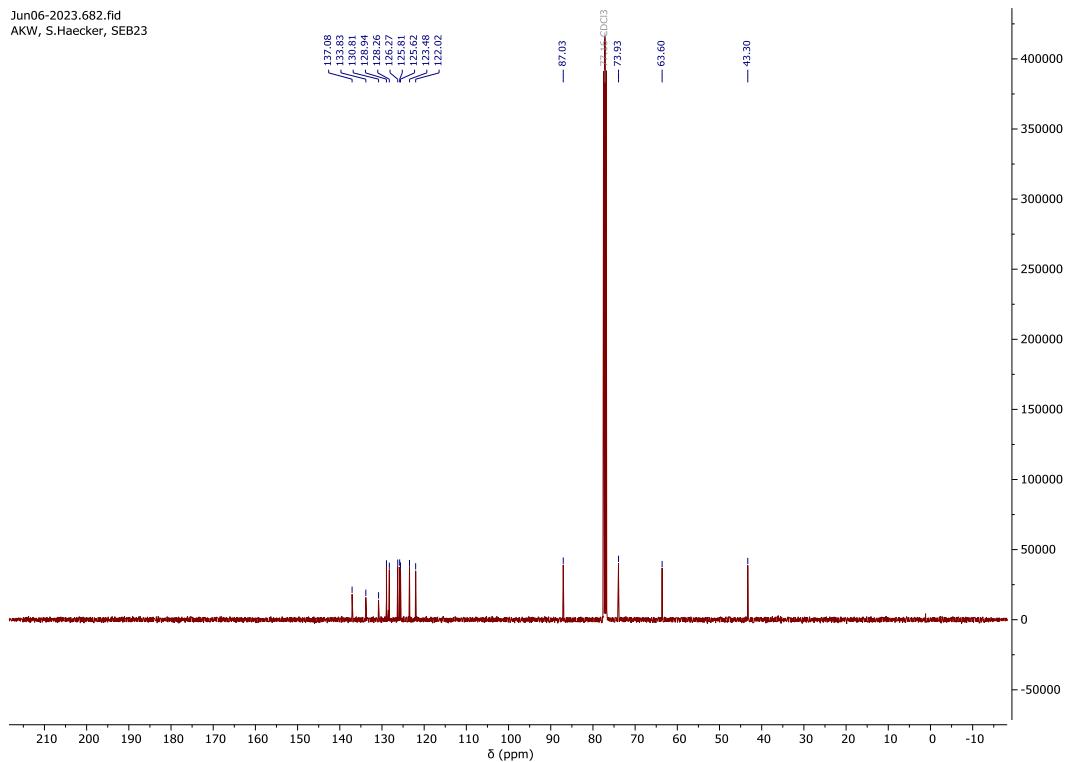


Abbildung S72: 101 MHz ^{13}C -NMR von **51** in CDCl_3 .

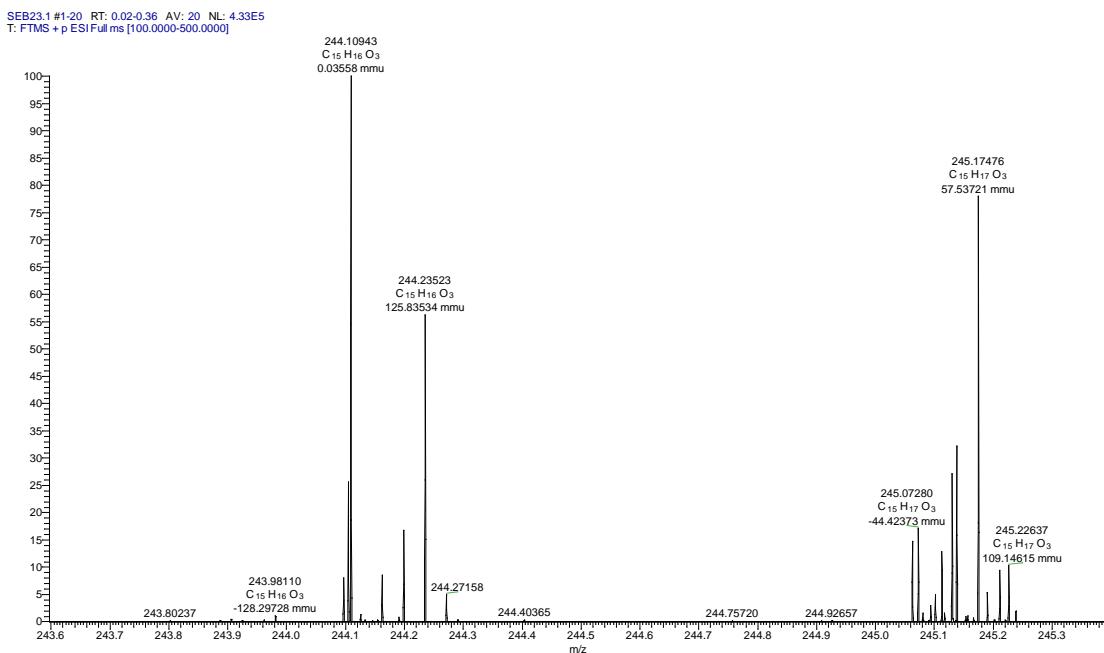


Abbildung S73: HR-ESI-MS von **51**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 52

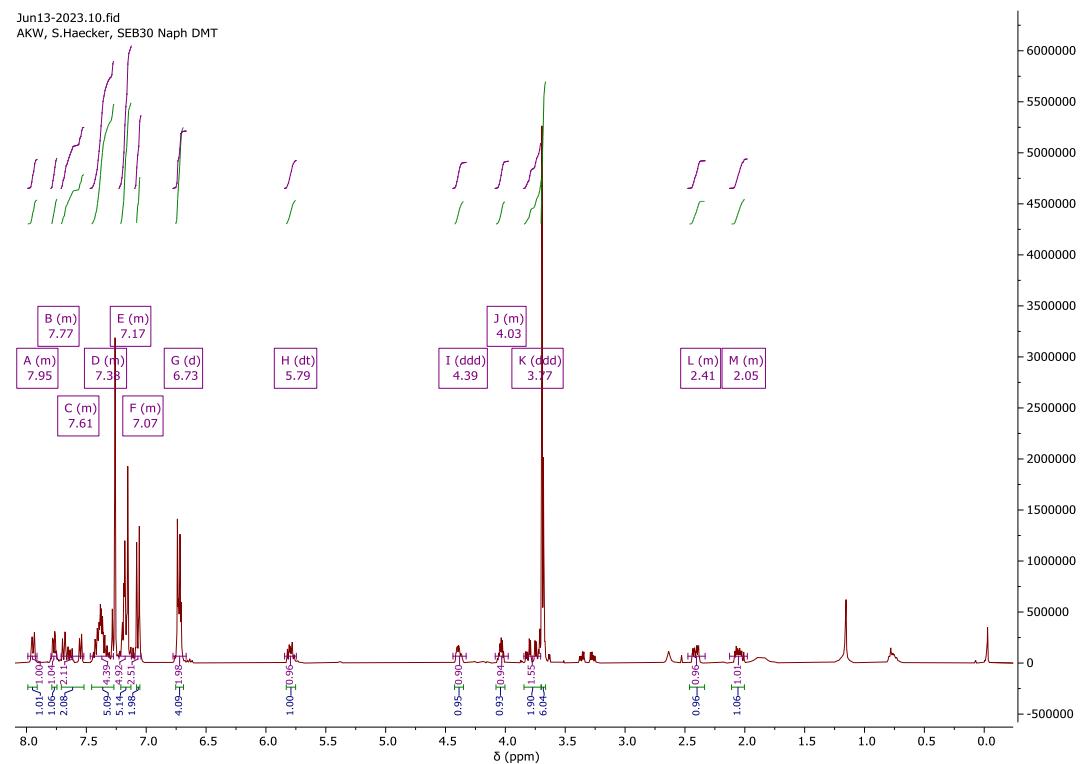
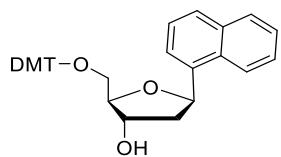


Abbildung S74: 400 MHz ^1H -NMR von 52 in CDCl_3 .

Unterstützende Informationen

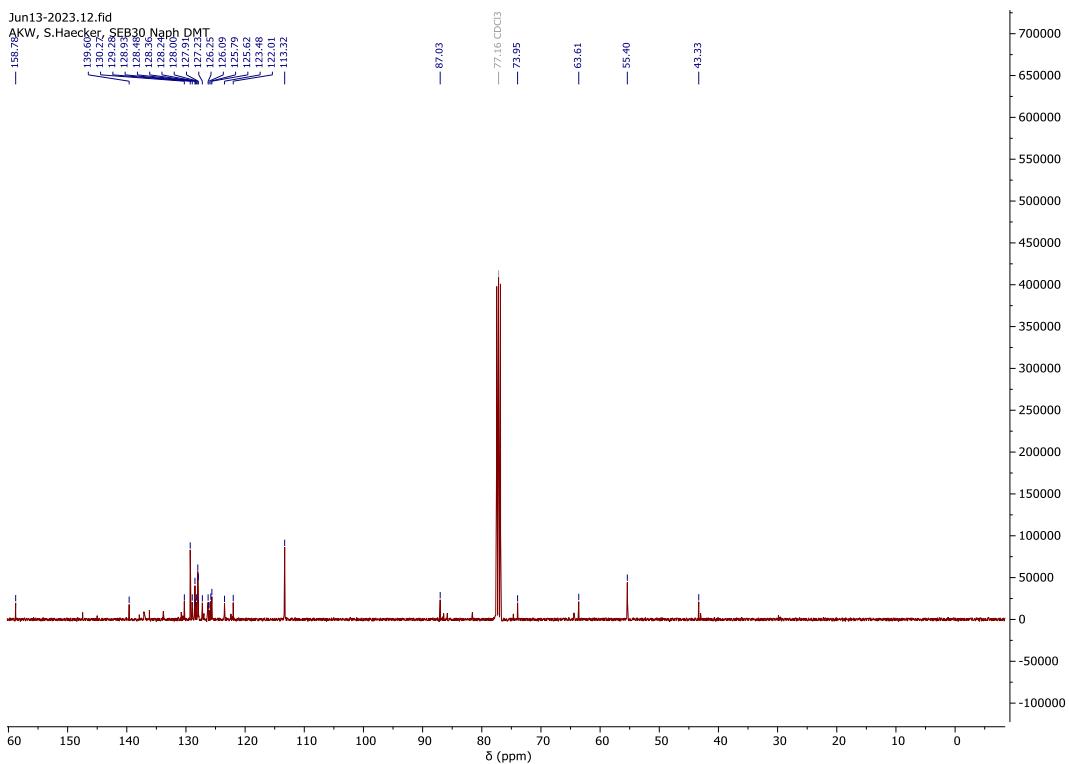


Abbildung S75: 101 MHz ¹³C-NMR von **52** in CDCl₃.

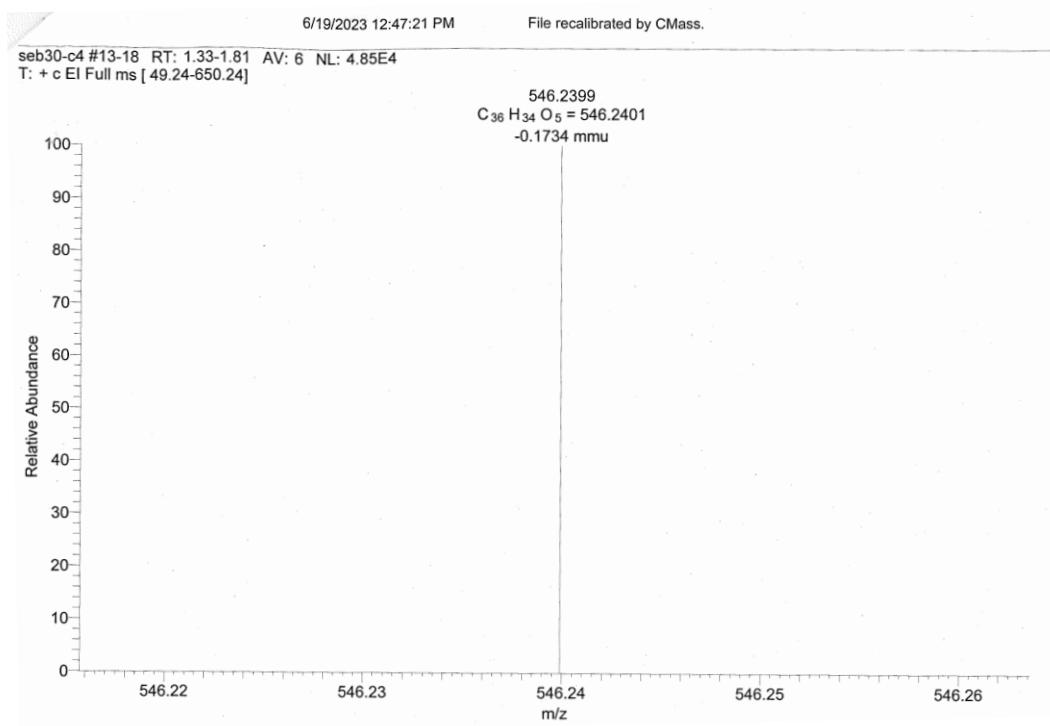


Abbildung S76: HR-EI-MS von **52**.

Unterstützende Informationen

Verbindung 53

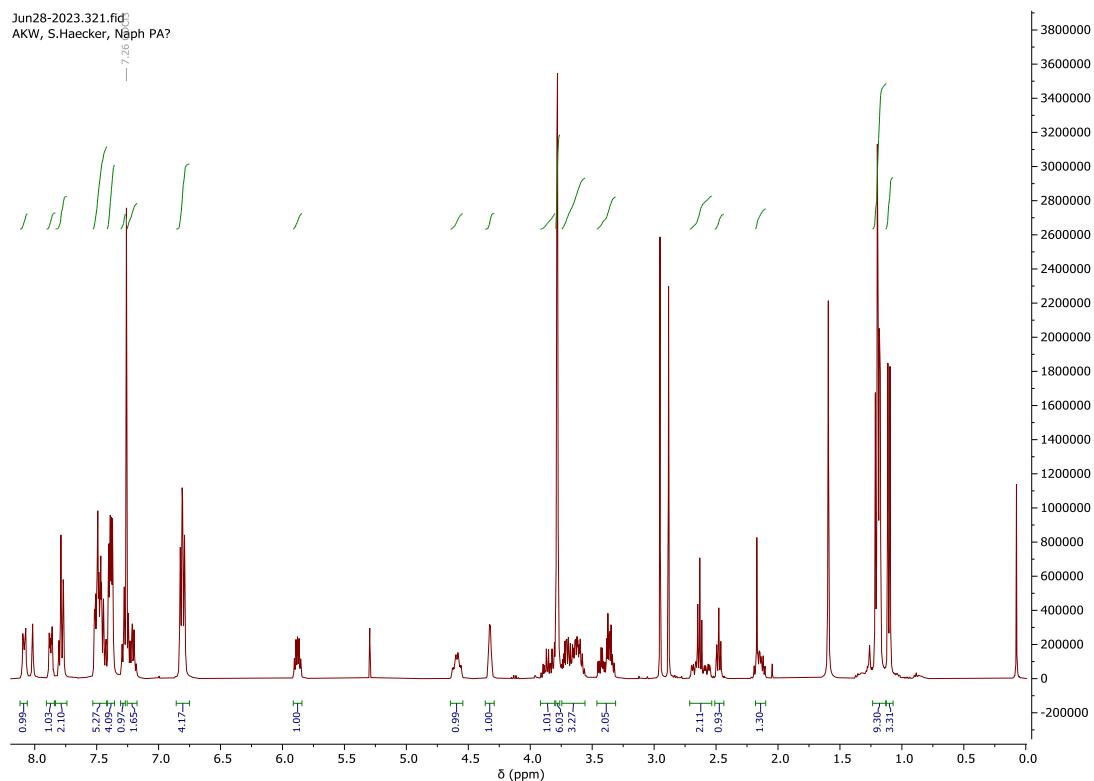
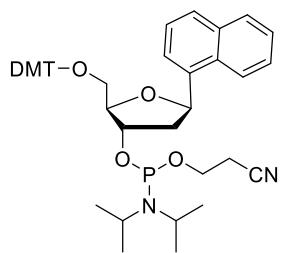


Abbildung S77: 400 MHz ¹H-NMR von 53 in CDCl₃.

Unterstützende Informationen

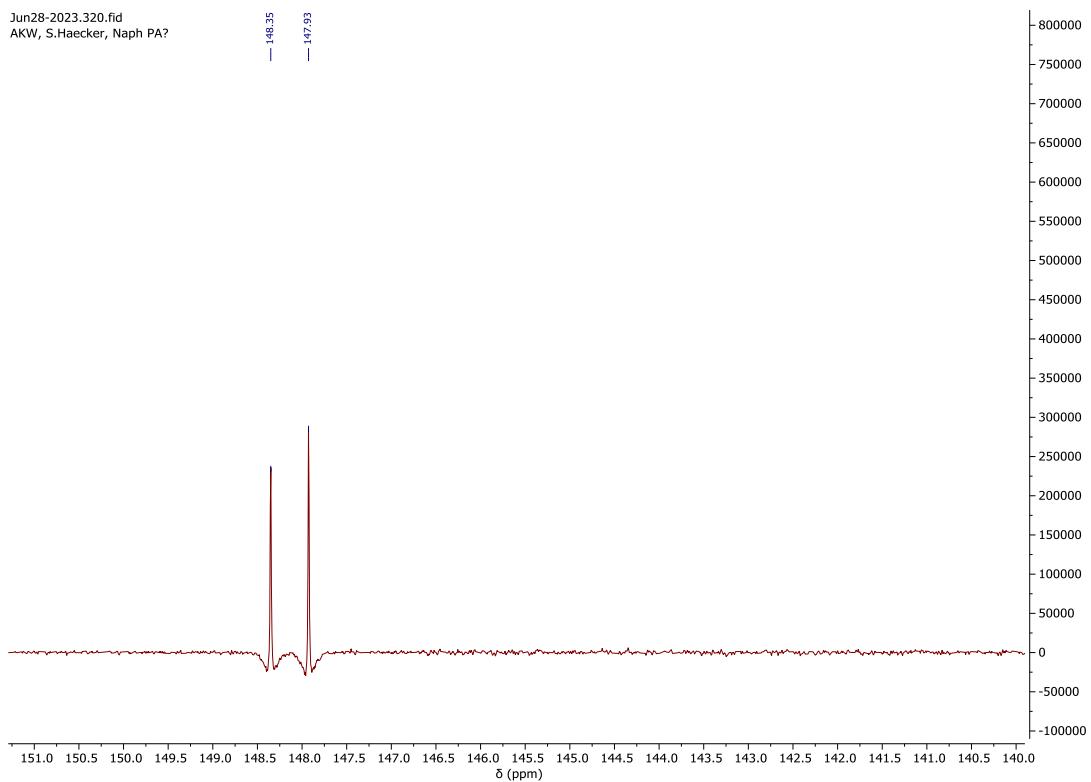


Abbildung S78: 162 MHz ^{31}P -NMR von **53** in CDCl_3 .

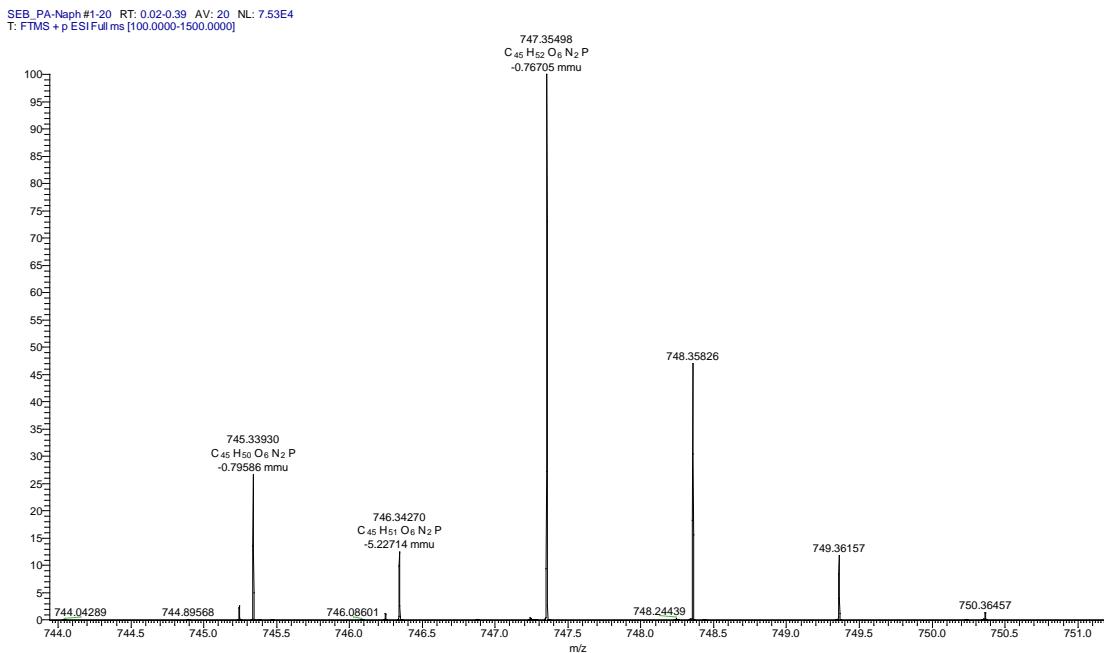


Abbildung S79: HR-ESI-MS von **53**.

Charakterisierung der Oligonukleotide

Die Charakterisierung der Oligonukleotide **DNAI-0-3** und **DNAII-0-3** wurden zuvor veröffentlicht und sind in der Literatur zu finden.^[108]

DNAI-4

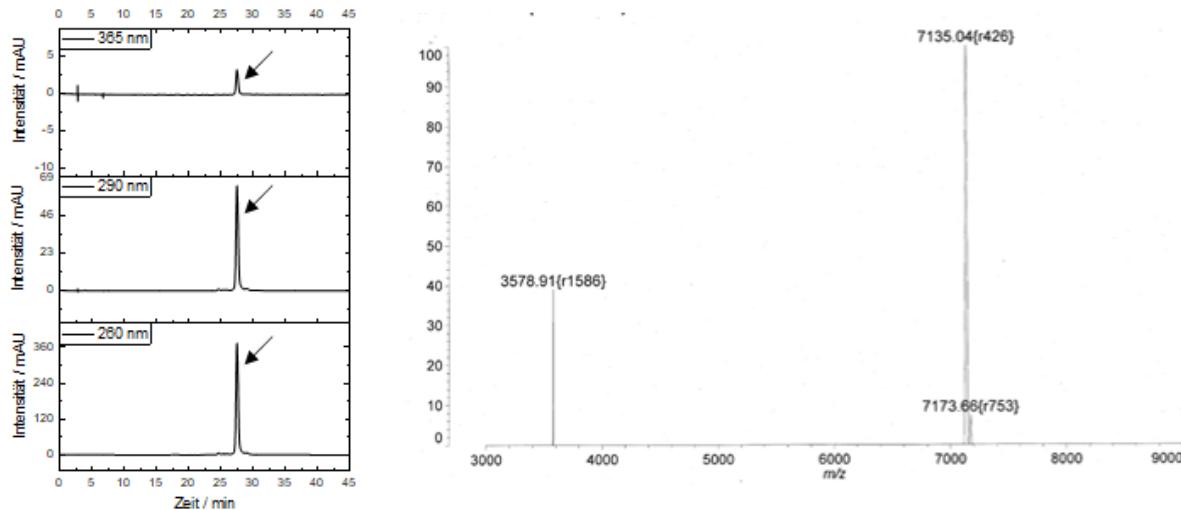


Abbildung S80: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAI-4** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365 \text{ nm}$, 290 nm und 260 nm . Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAI-4**.

DNAI-5

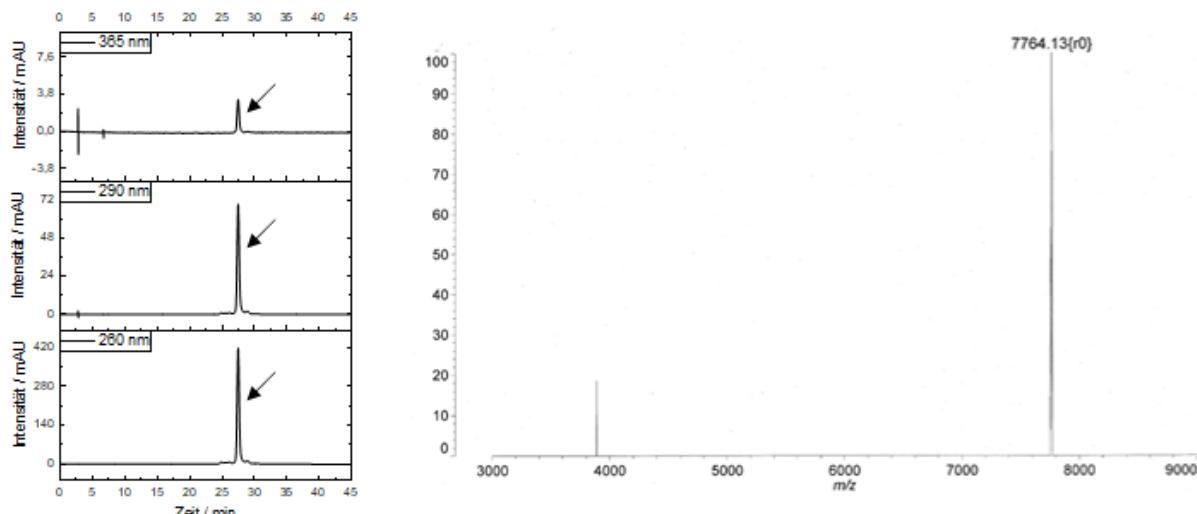


Abbildung S81: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAI-5** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365 \text{ nm}$, 290 nm und 260 nm . Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAI-5**.

Unterstützende Informationen

DNAII-4

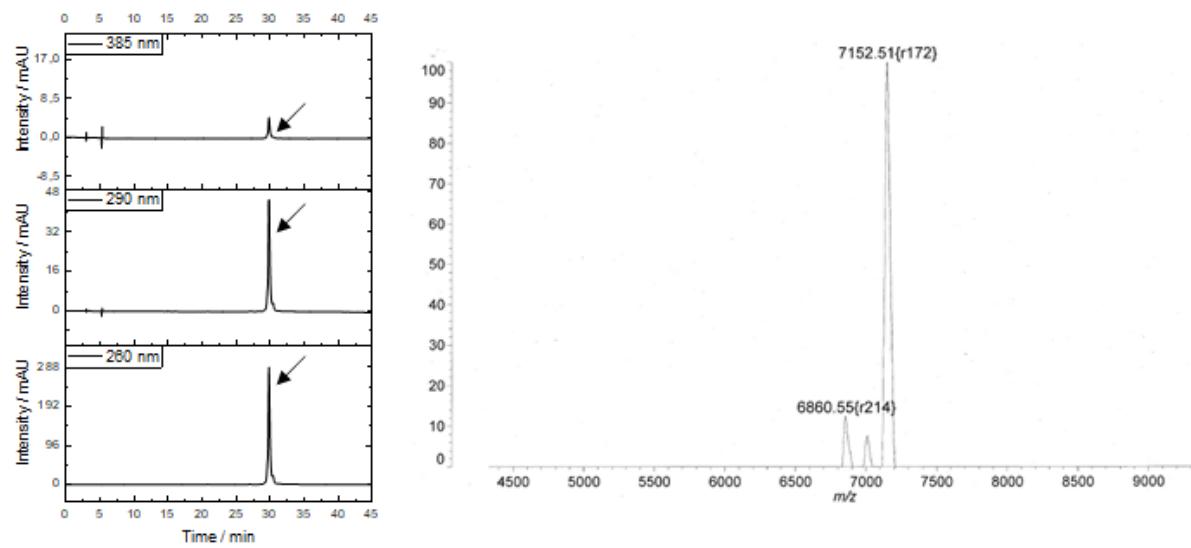


Abbildung S82: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAII-4** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 385 \text{ nm}$, 290 nm und 260 nm . Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAII-4**.

DNAII-5

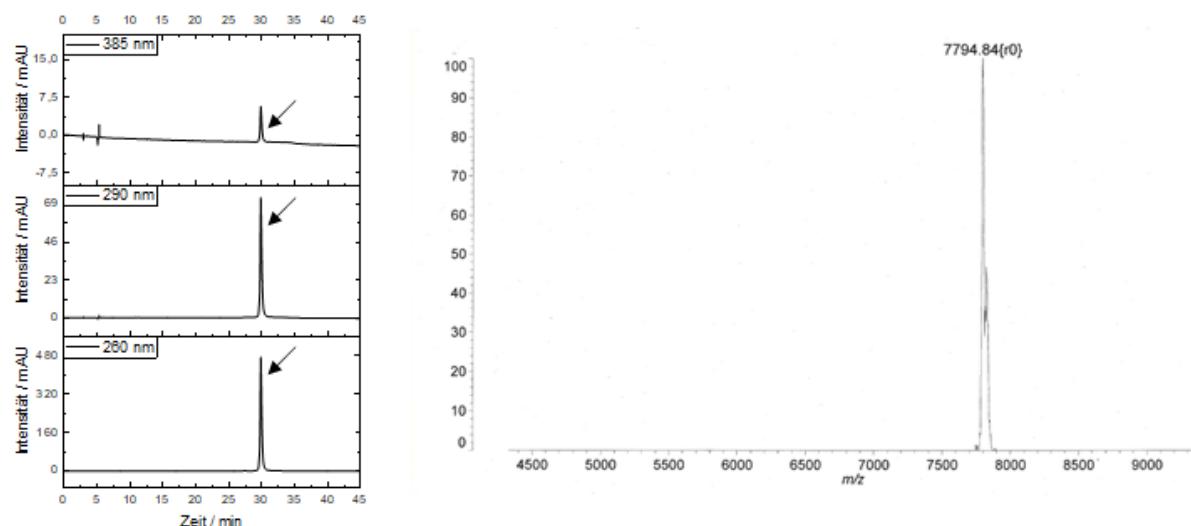


Abbildung S83: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAII-5** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 385 \text{ nm}$, 290 nm und 260 nm . Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAII-5**.

Unterstützende Informationen

DNAIII-0

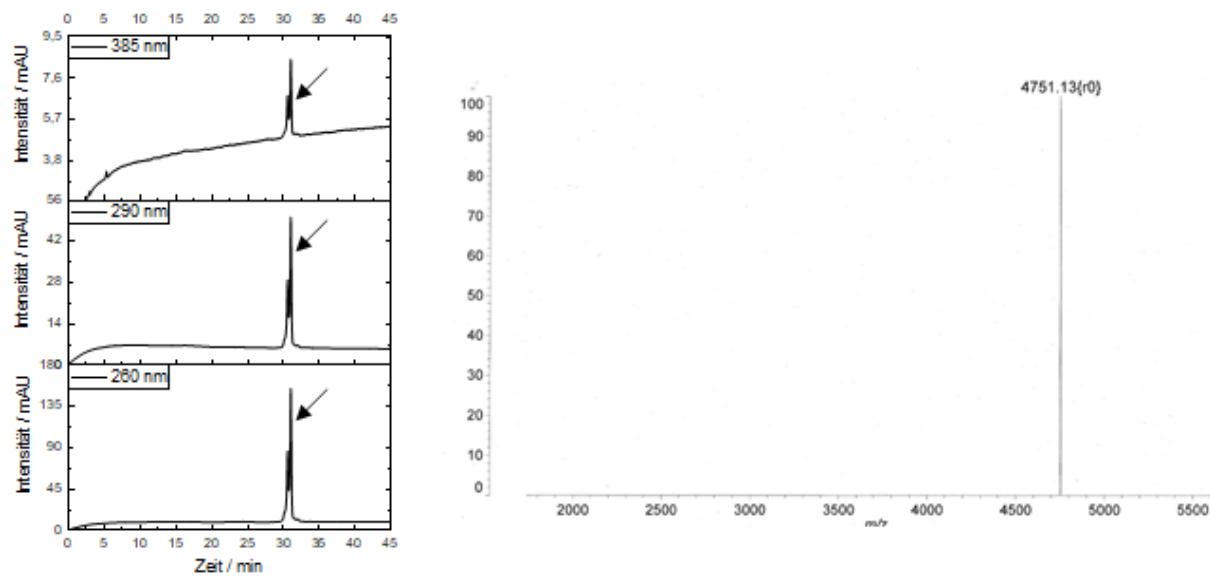


Abbildung S84: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAIII-0** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 385 \text{ nm}$, 290 nm und 260 nm . Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAIII-0**.

DNAIII-1

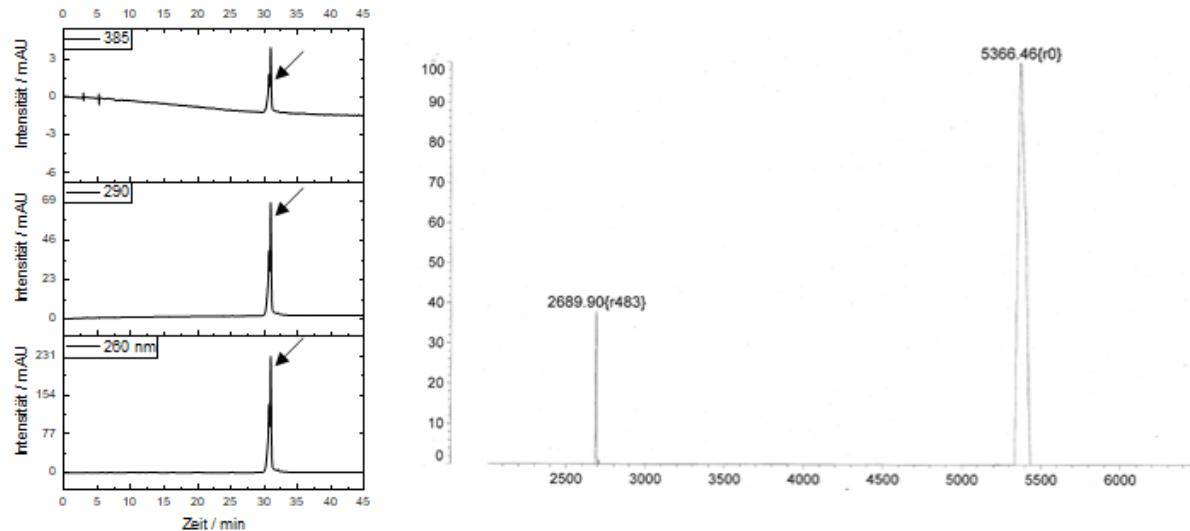


Abbildung S85: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAIII-1** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 385 \text{ nm}$, 290 nm und 260 nm . Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAIII-1**.

Unterstützende Informationen

DNAIV-0

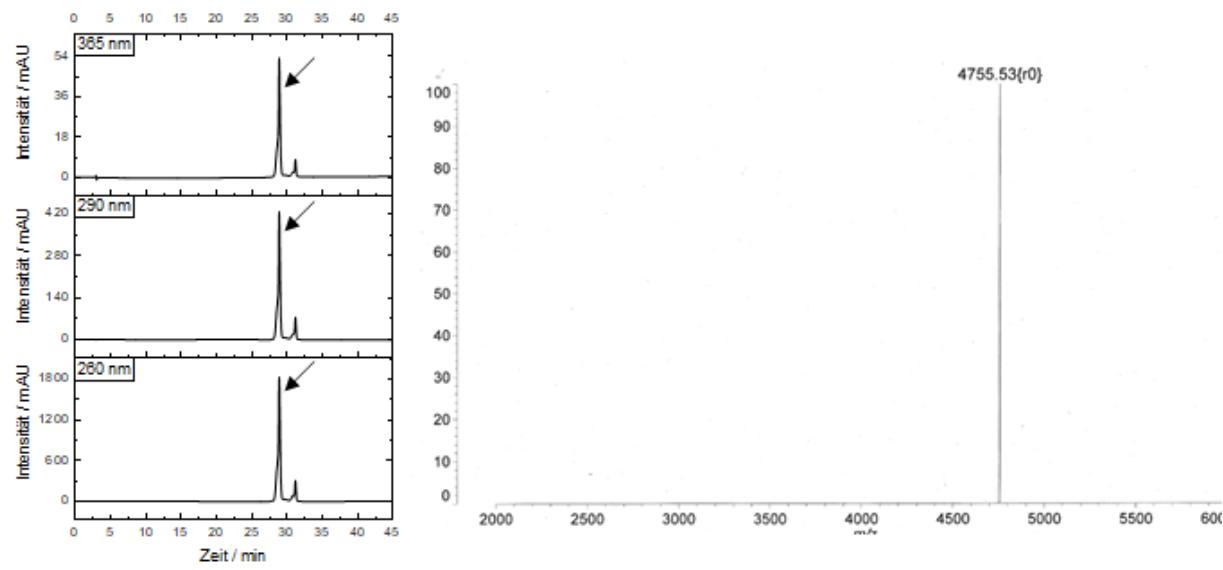


Abbildung S86: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAIV-0** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365\text{ nm}$, 290 nm und 260 nm . Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAIV-0**.

DNAIV-1

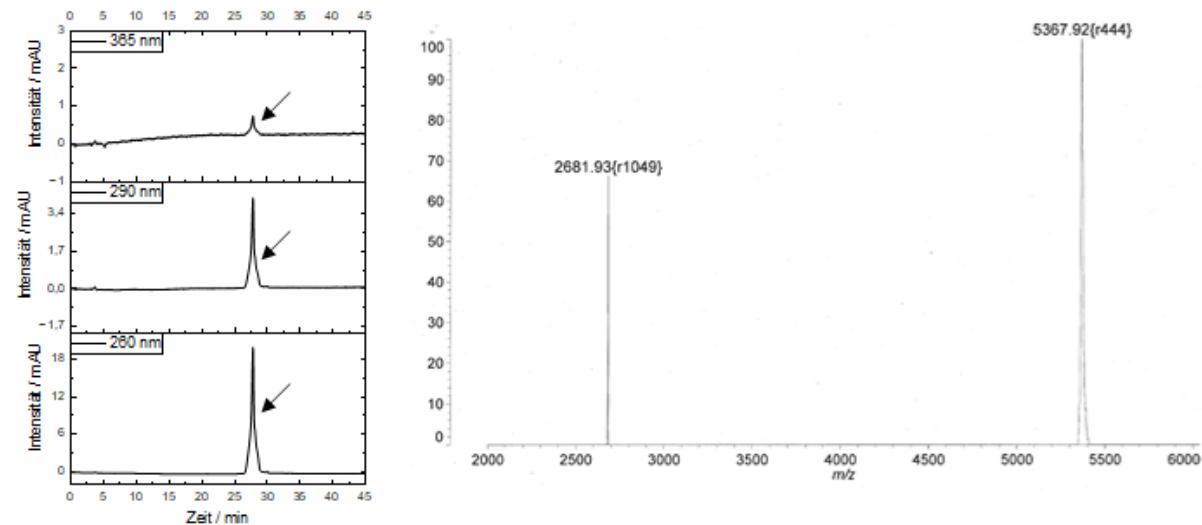


Abbildung S87: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAIV-1** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365\text{ nm}$, 290 nm und 260 nm . Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAIV-1**.

Unterstützende Informationen

DNAIV-2

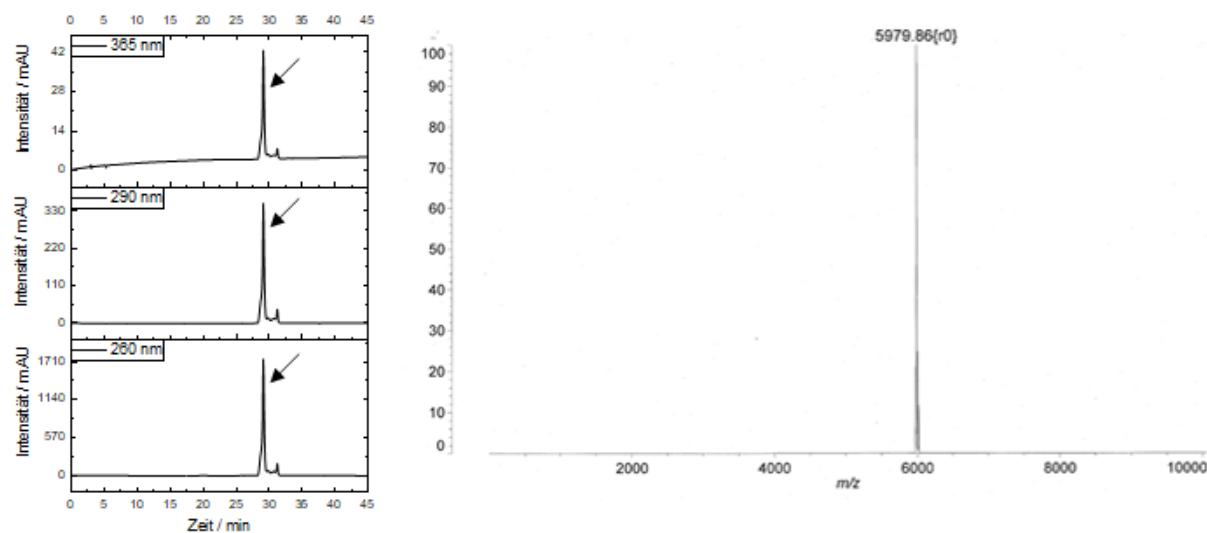


Abbildung S88: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAIV-2** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365$ nm, 290 nm und 260 nm. Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAIV-2**.

DNAIV-3

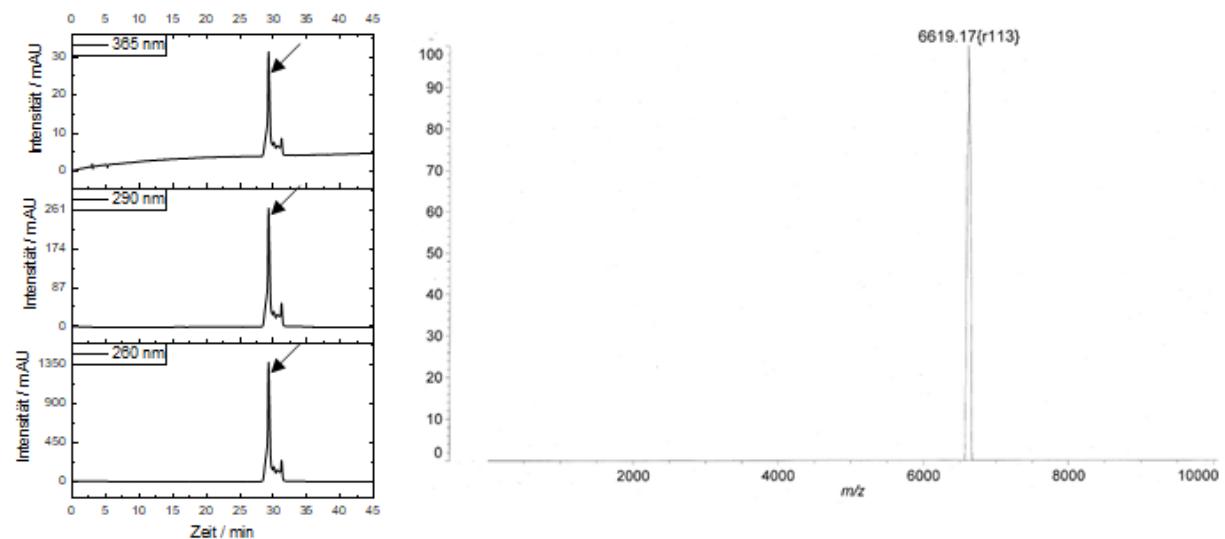
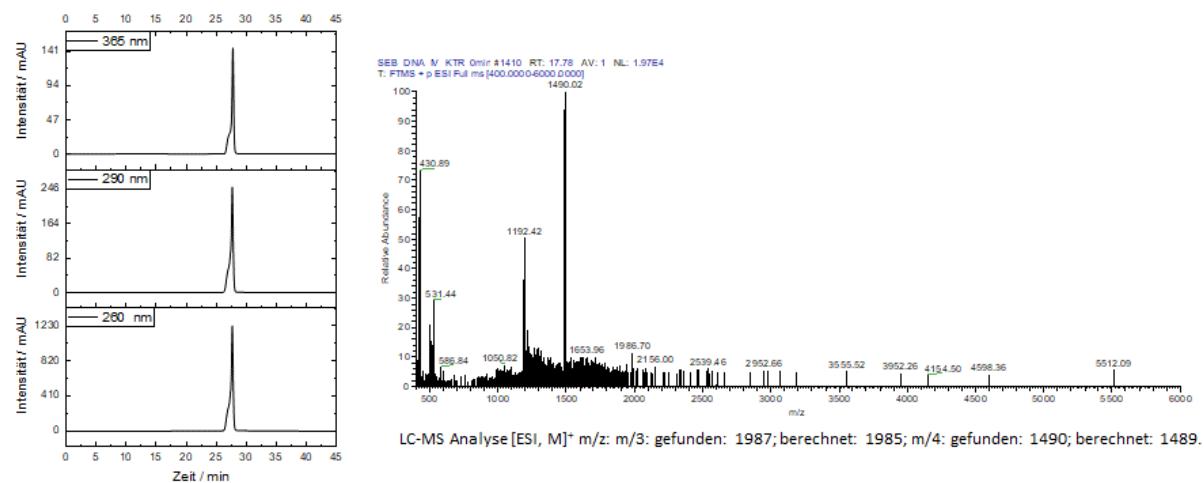


Abbildung S89: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAIV-3** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365$ nm, 290 nm und 260 nm. Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAIV-3**.

Unterstützende Informationen

DNAIV_{KtrG/c-2}



DNAV-0

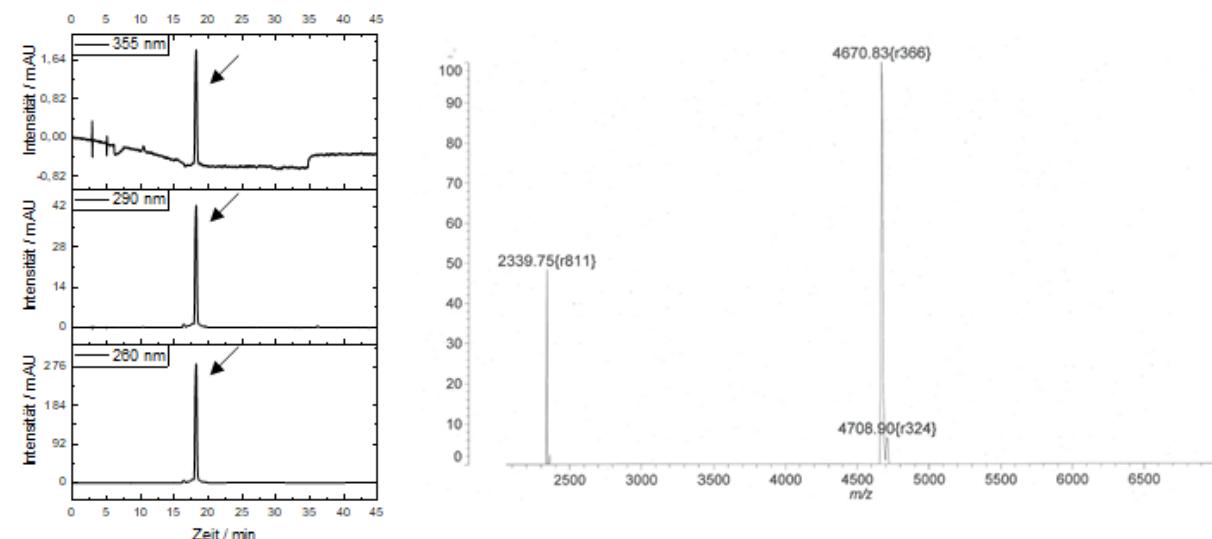


Abbildung S90: Links: analytischer HPLC-Lauf von DNAV-0 mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365$ nm, 290 nm und 260 nm. Rechts: MALDI-TOF-MS von DNAV-0.

Unterstützende Informationen

DNAV-1

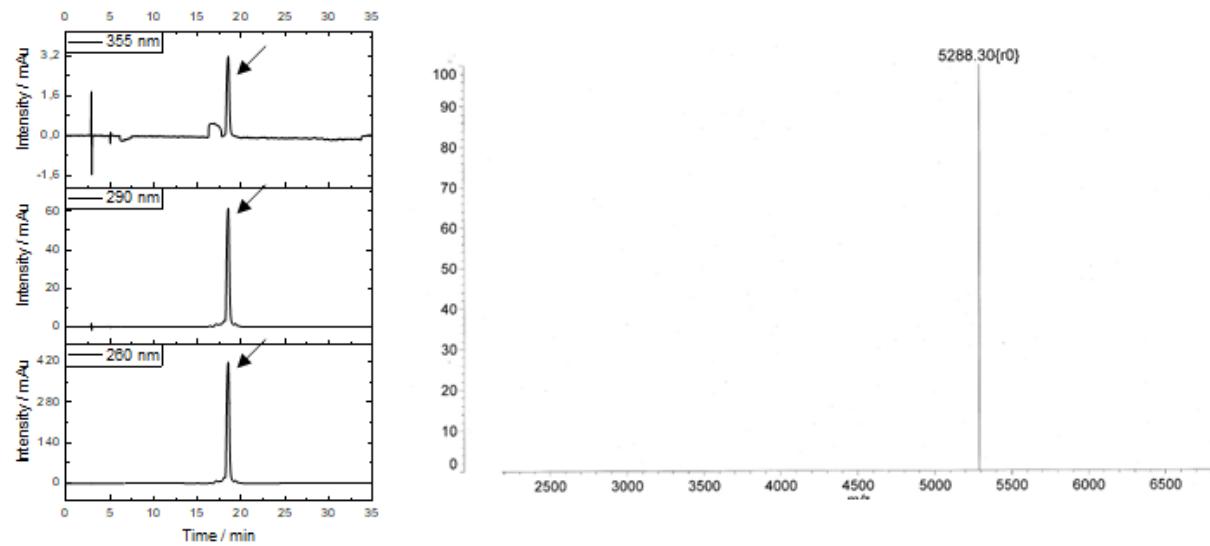


Abbildung S91: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAV-1** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365\text{ nm}$, 290 nm und 260 nm. Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAV-1**.

DNAV-2

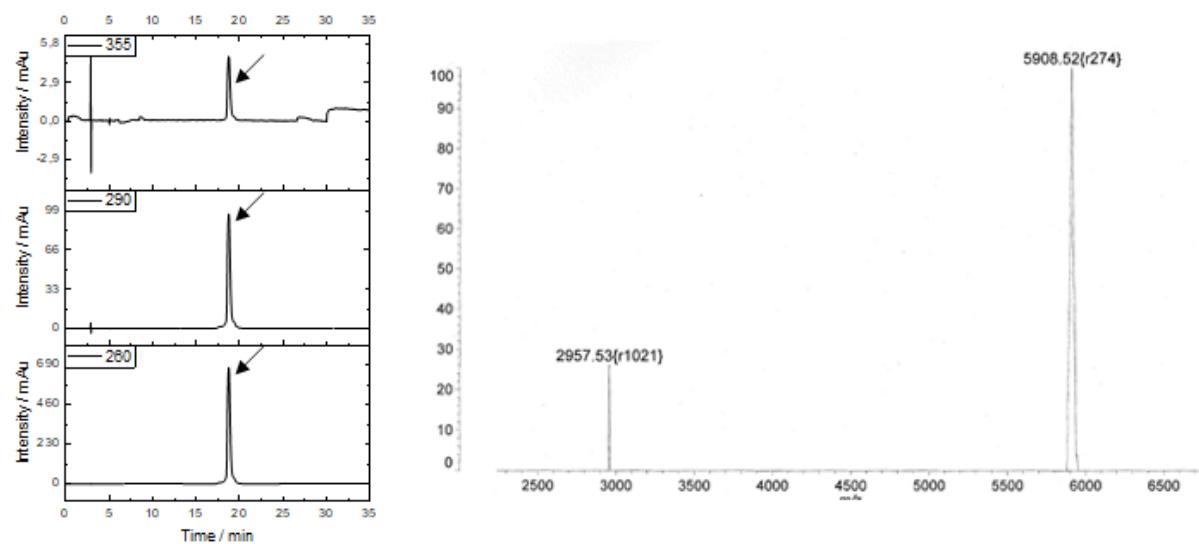


Abbildung S92: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNAV-1** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365\text{ nm}$, 290 nm und 260 nm. Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNAV-1**.

Unterstützende Informationen

DNANtl-0

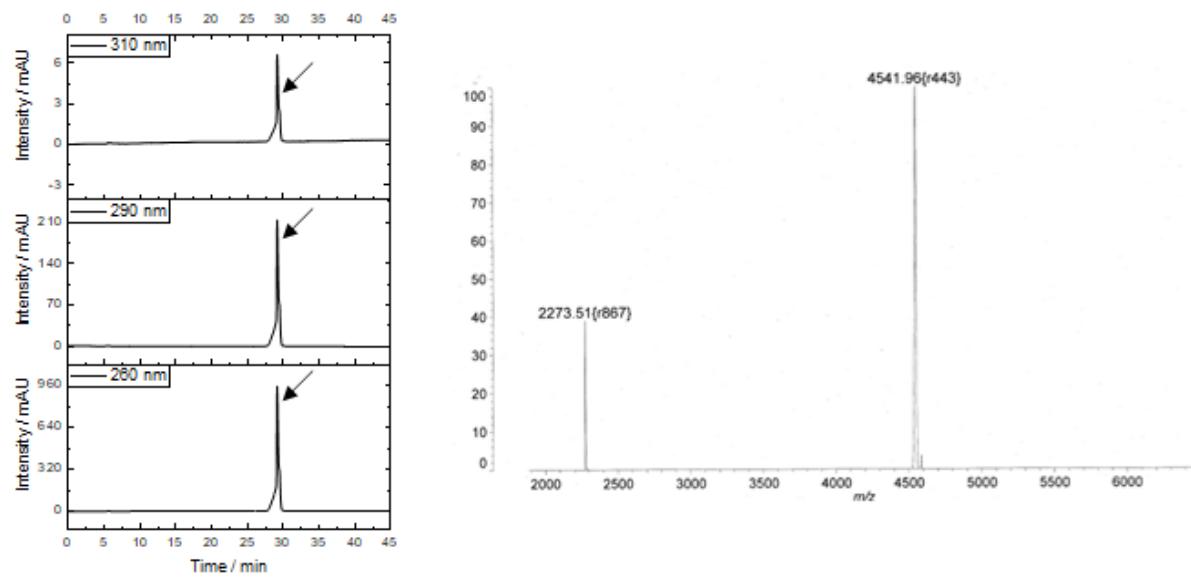


Abbildung S93: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNANtl-0** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365$ nm, 290 nm und 260 nm. Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNANtl-0**.

DNANtl-1

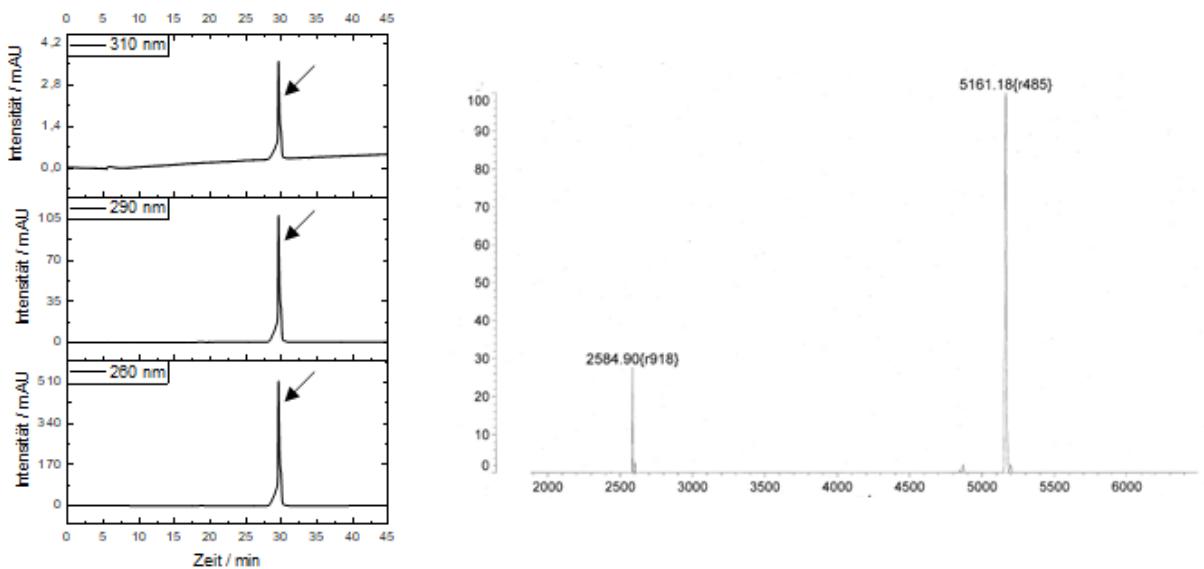


Abbildung S94: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNANtl-1** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365$ nm, 290 nm und 260 nm. Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNANtl-1**.

Unterstützende Informationen

DNANtl-2

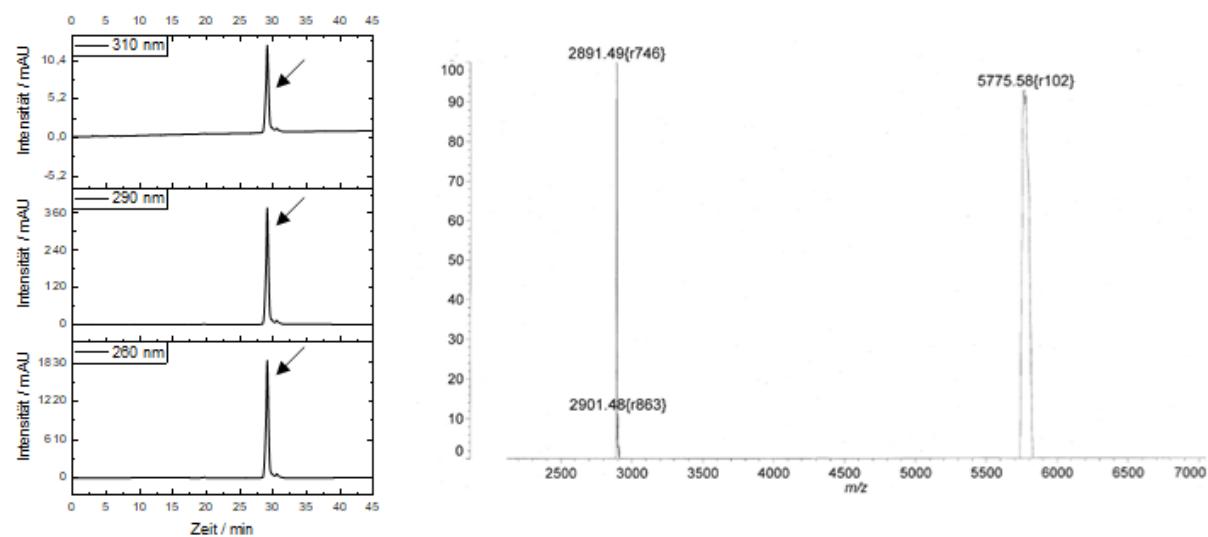


Abbildung S95: Links: analytischer HPLC-Lauf von **DNANtl-2** mit Detektion bei den Wellenlängen: $\lambda = 365\text{ nm}$, 290 nm und 260 nm . Rechts: MALDI-TOF-MS von **DNANtl-2**.

HPLC-Analyse der Belichtungsexperimente

Als Negativkontrolle wurde anstelle des Photosensibilisators die Gegenbase Thymin verwendet und die DNA-Architektur **DNA0-0** jeweils mit einer 385 nm und 365 nm LED belichtet. Dabei wurden keine DNA-Schäden beobachtet.

DNA0-0

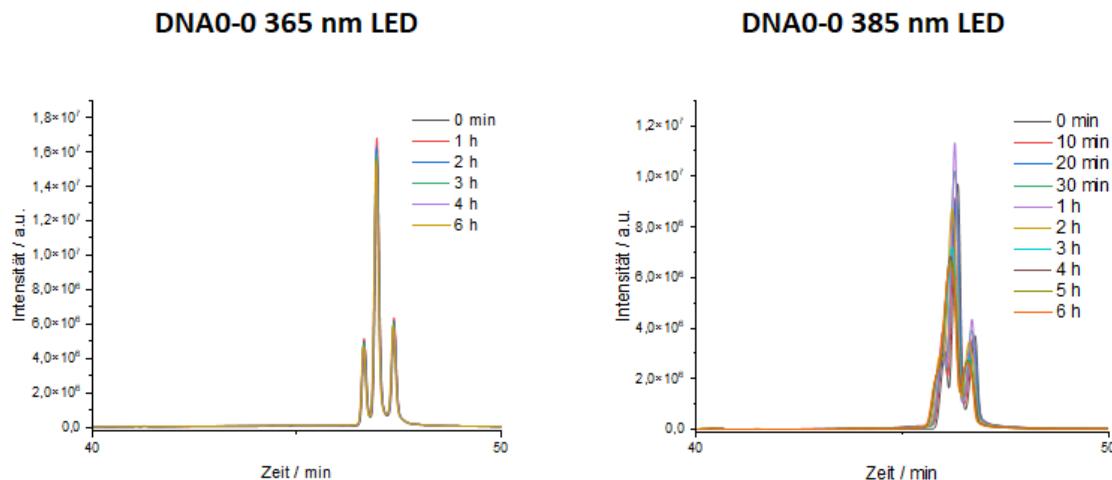


Abbildung S96: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNA0-0** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten mit einer 365 nm LED. Rechts: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNA0-0** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten mit einer 385 nm LED.

Die RP-HPLC-Analysen der **DNAI-0-3** und **DNAII-n** wurden zuvor veröffentlicht und sind in der Literatur vorzufinden.^[108] Die **CPD**- und **ICL**-Ausbeuten wurden als Verhältnis der Integrale im HPLC-Emissionsspektrum bestimmt: **CPD (%)** = [Integral (blau) / Integral (blau + rot + grün)] * 100.

$$\text{ICL} (\%) = [\text{Integral (grün)} / \text{Integral (grün + blau + rot)}] * 100.$$

DNAI-4

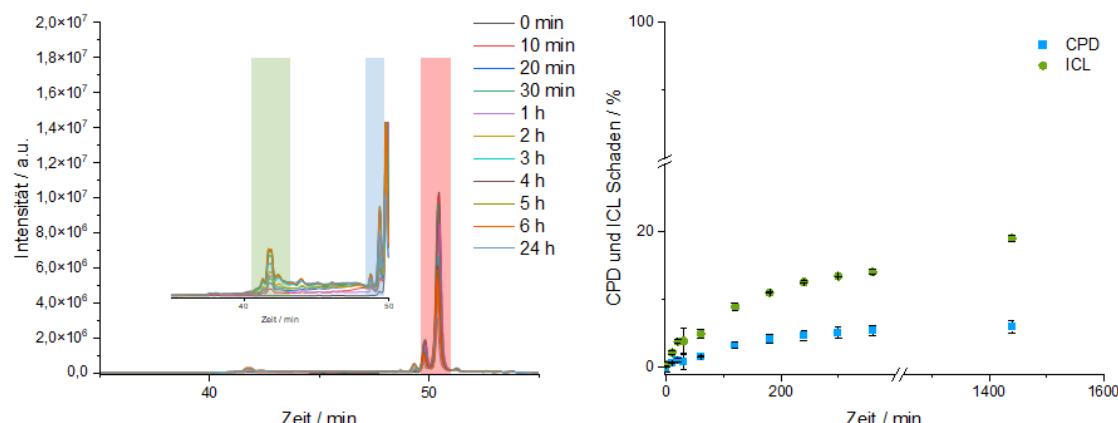


Abbildung S97: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAI-4** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD**- (blau) und **ICL**- (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

DNAI-5

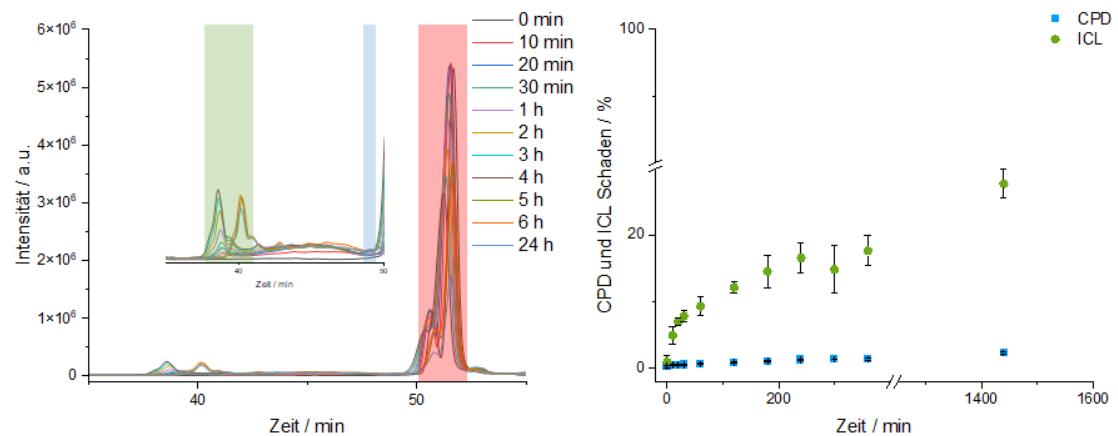


Abbildung S98: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAI-5** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD**- (blau) und **ICL**- (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

Unterstützende Informationen

Kontrolle-A DNAI-2

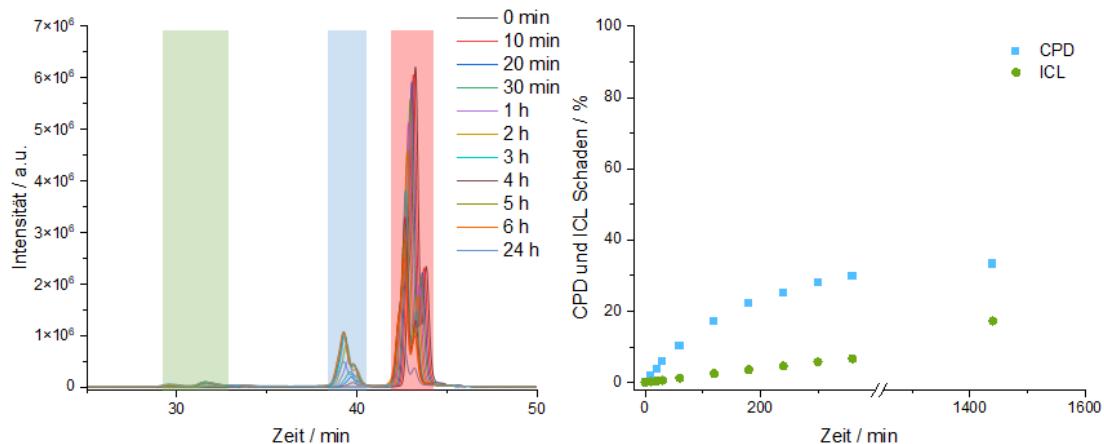


Abbildung S99: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAI-2_{Ktra}** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD-** (blau) und **ICL-** (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

Kontrolle-G DNAI-2

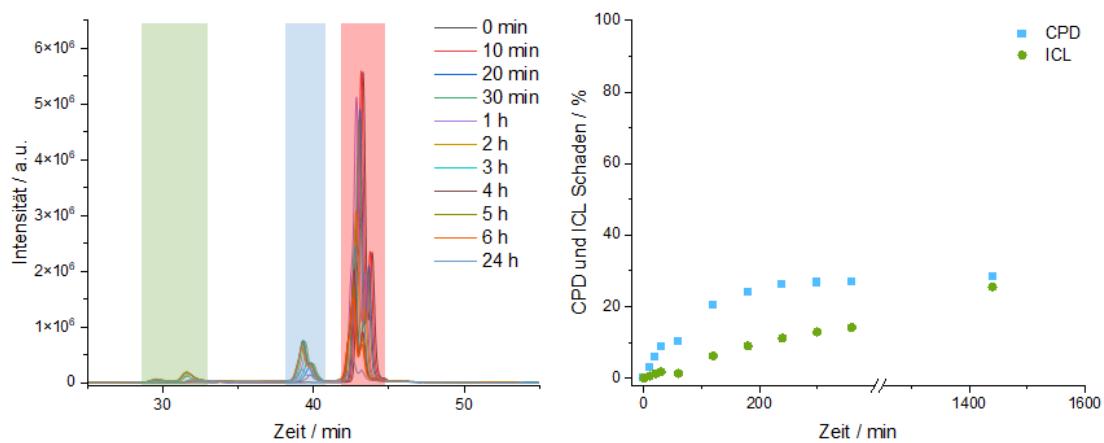


Abbildung S100: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAI-2_{Ktra}** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD-** (blau) und **ICL-** (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

Unterstützende Informationen

Kontrolle-C DNAI-2

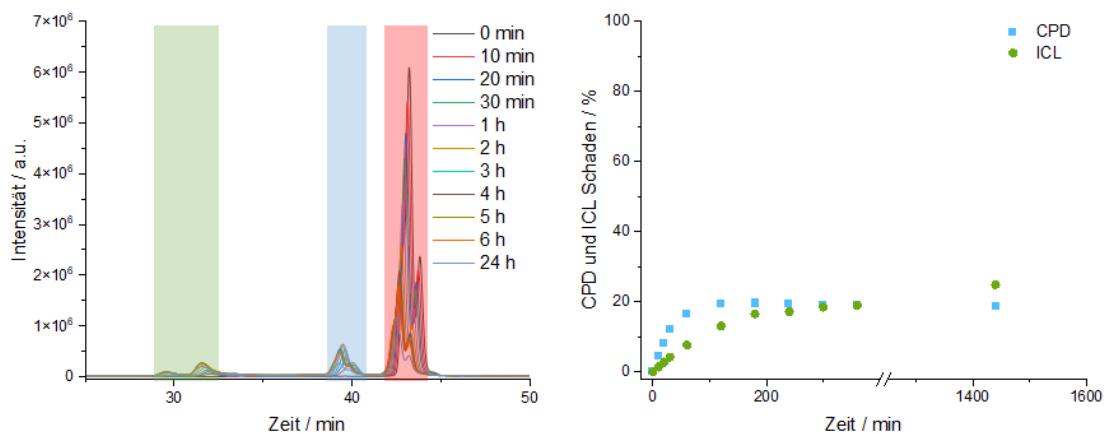


Abbildung S101: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAI-2_{Krc}** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD**- (blau) und **ICL**- (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

DNAIII-0

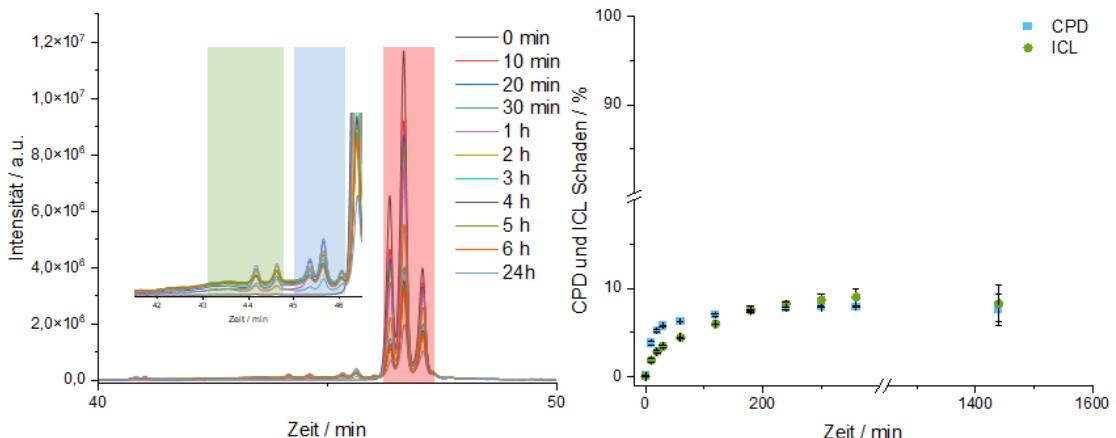


Abbildung S102: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAIII-0** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD**- (blau) und **ICL**- (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

Unterstützende Informationen

DNAIII-1

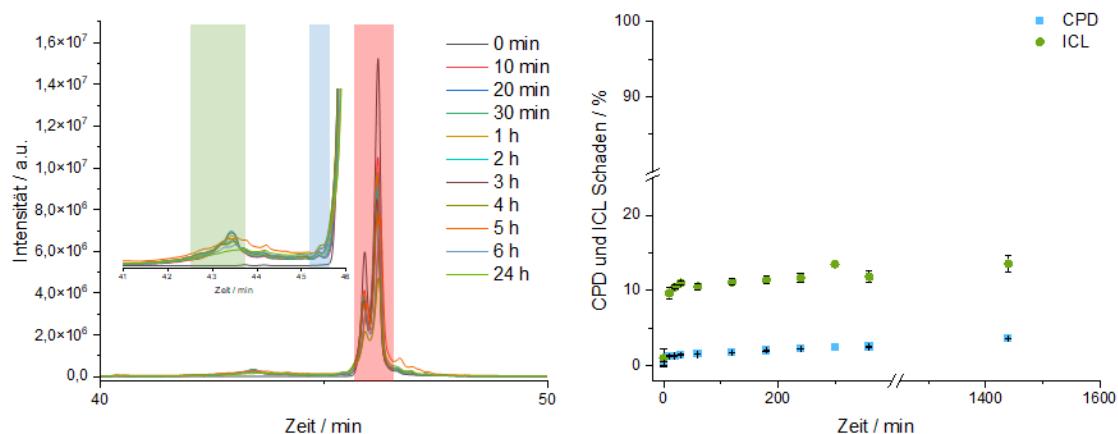


Abbildung S103: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAIII-1** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD-** (blau) und **ICL-** (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

DNAIV-0

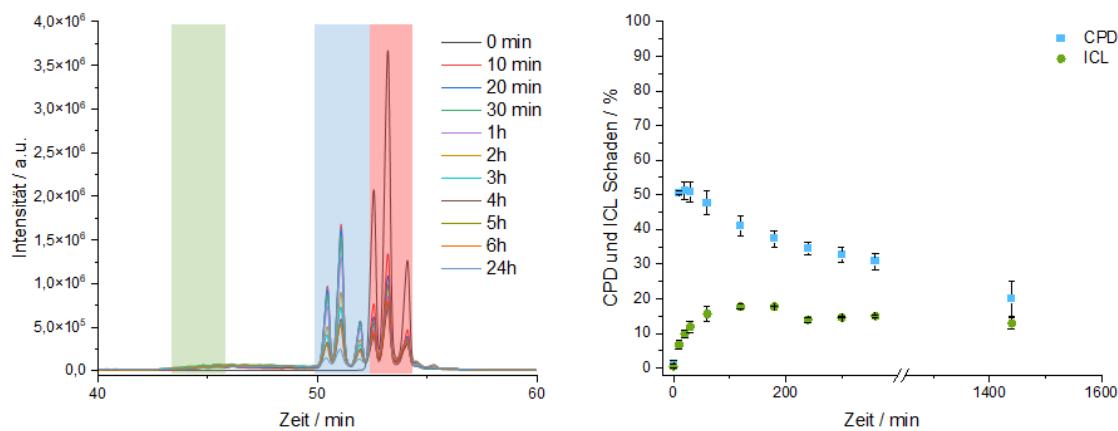


Abbildung S104: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAIV-0** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD-** (blau) und **ICL-** (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

Unterstützende Informationen

DNAIV-1

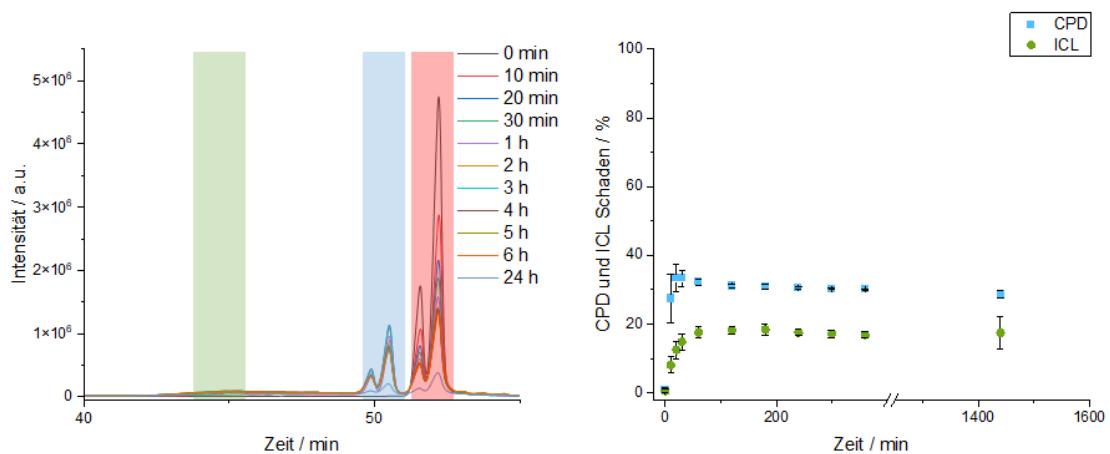


Abbildung S105: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAIV-1** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD**- (blau) und **ICL**- (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

DNAIV-2

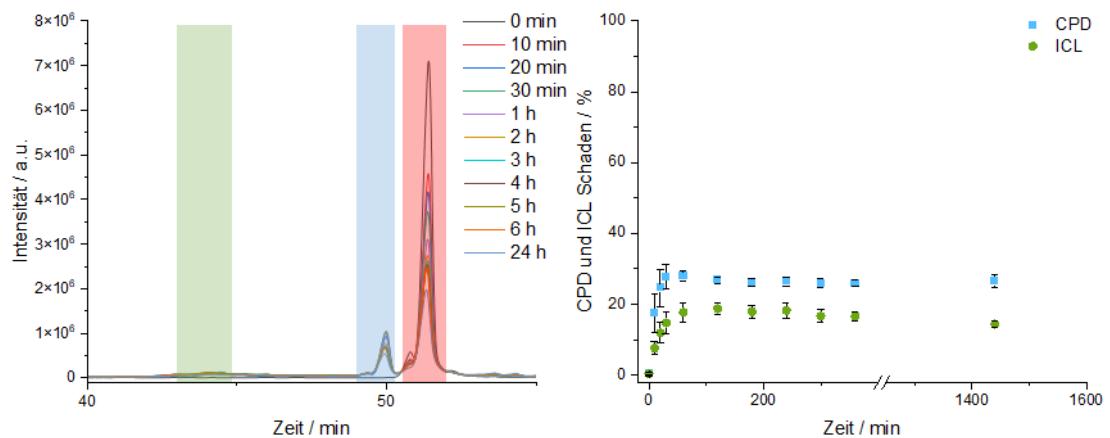


Abbildung S106: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAIV-2** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD**- (blau) und **ICL**- (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

Unterstützende Informationen

DNAIV-3

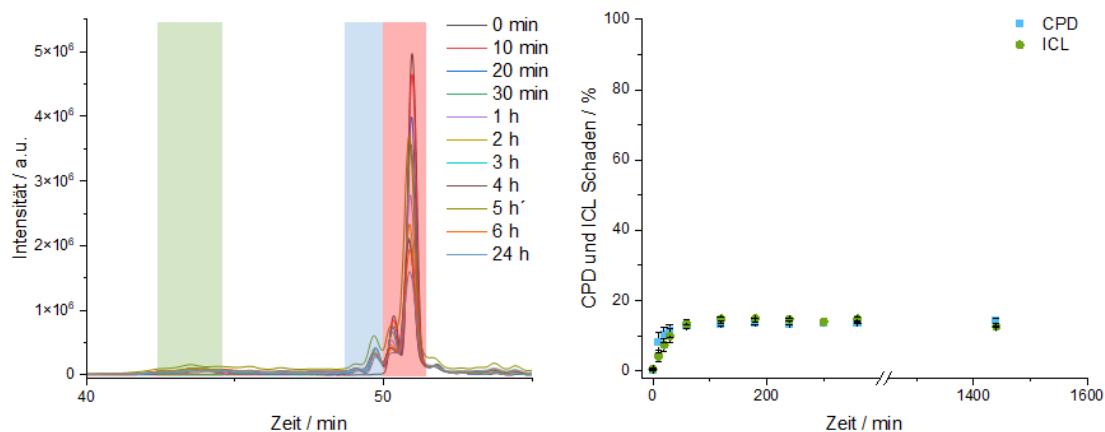


Abbildung S107: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAIV-3** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD**- (blau) und **ICL**- (grün) Ausbeuten in Prozent über die Zeit.

DNAIV-2_{KtrG/C}

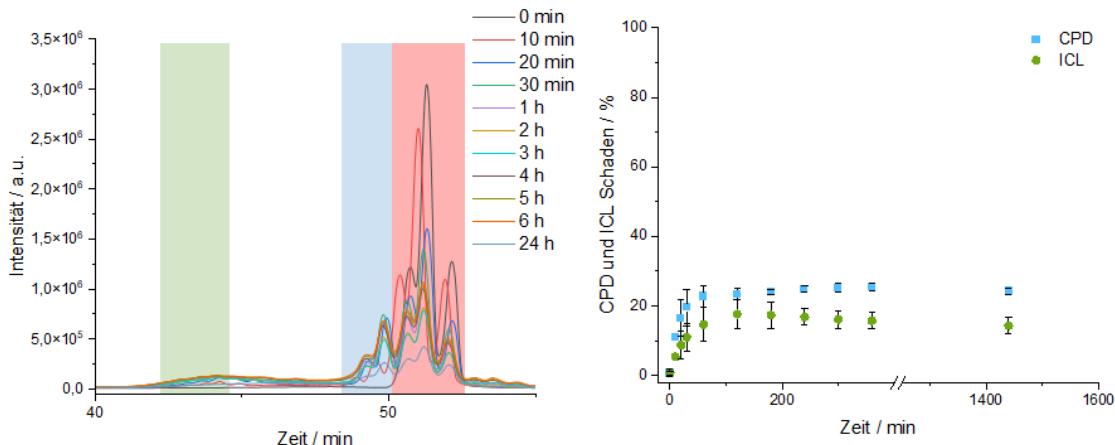


Abbildung S108: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAIV-0** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: **CPD**- (blau) und **ICL**- (grün) Ausbeute in Prozent über die Zeit.

DNAV-0 und DNAV-1

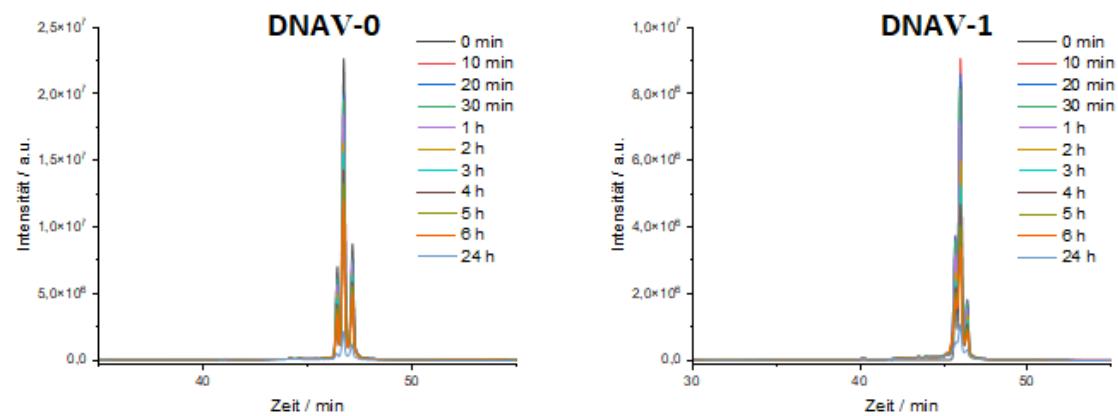


Abbildung S109: Links: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAV-0** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten. Rechts: HPLC-Emissionsspektrum der DNA-Architektur **DNAV-1** nach unterschiedlichen Belichtungszeiten.

Unterstützende Informationen

LC ESI-MS

Die LC ESI-MS Daten zu **DNAI-n** und **DNAII-n** wurden zuvor veröffentlicht und sind in der Literatur zu finden.^[108]

DNAIII-0 nach 0 min Belichtung:

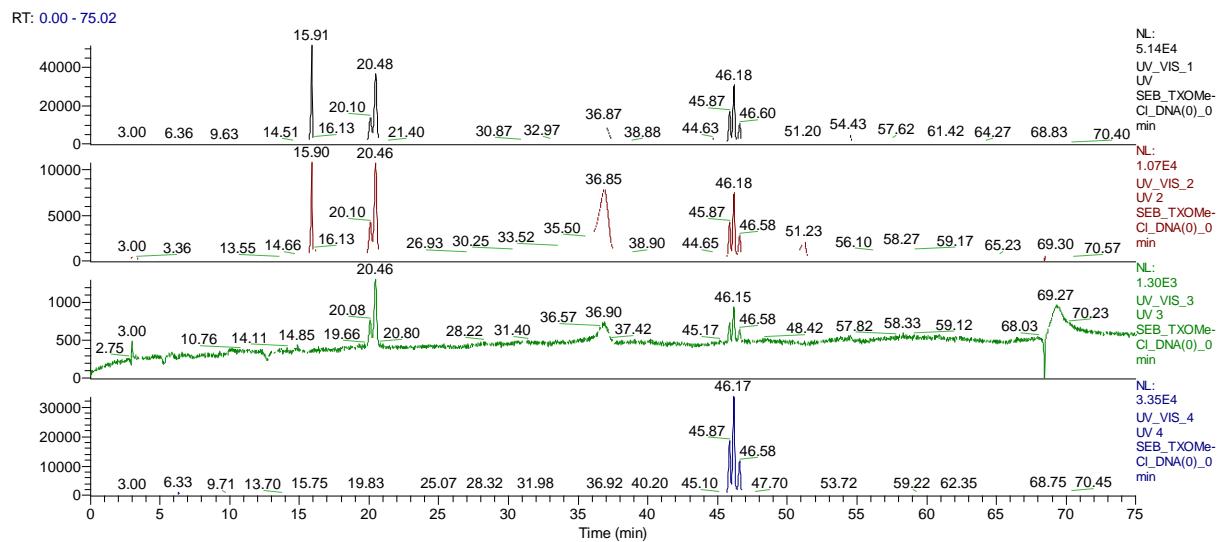


Abbildung S110: Übersicht über das LC-MS Chromatogramm bei verschiedenen Wellenlängen (260 nm, 290 nm, 365 nm und 554 nm) nach 0 min Belichtungszeit.

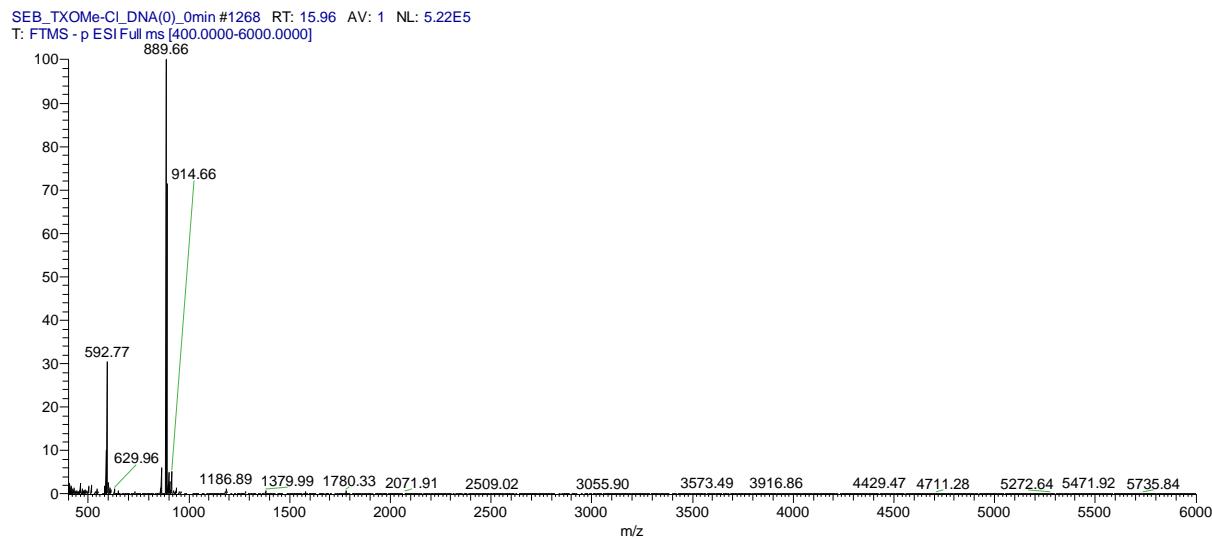


Abbildung S111: LC-MS Analyse des Gegenstrangs (GS). RT = 15,96 min: [ESI, M]⁺ m/z: gefunden: 1780; berechnet: 1781; m/z: gefunden: 890; berechnet: 891.

Unterstützende Informationen

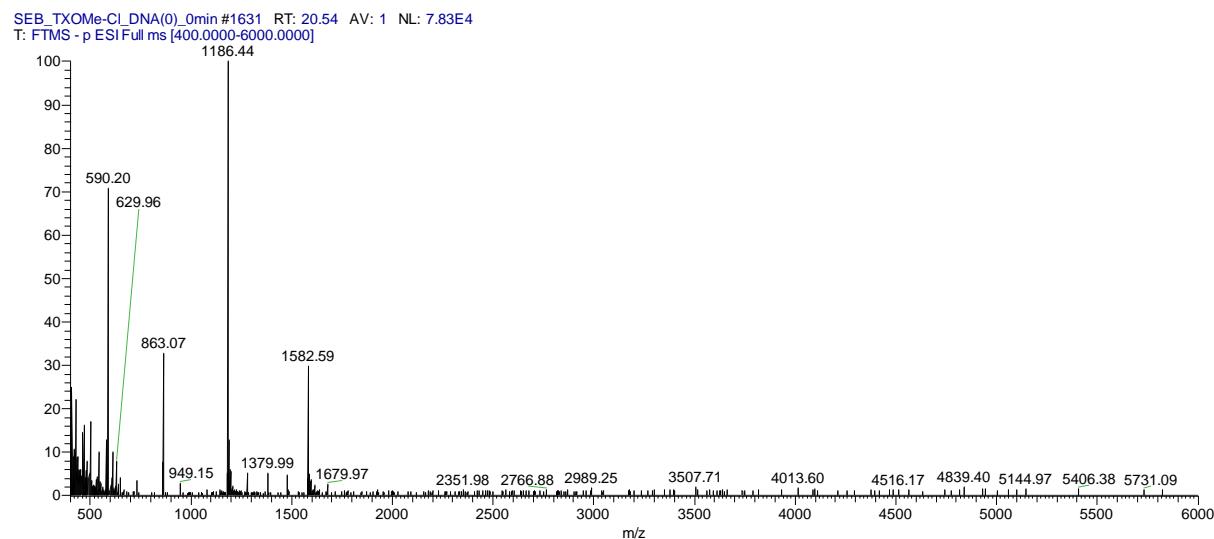


Abbildung S112: LC-MS Analyse des Templatstrangs (TS). RT = 20,54 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/3: gefunden: 1583; berechnet: 1583; m/4: gefunden: 1186; berechnet: 1187.

Attostrang (AS-0)

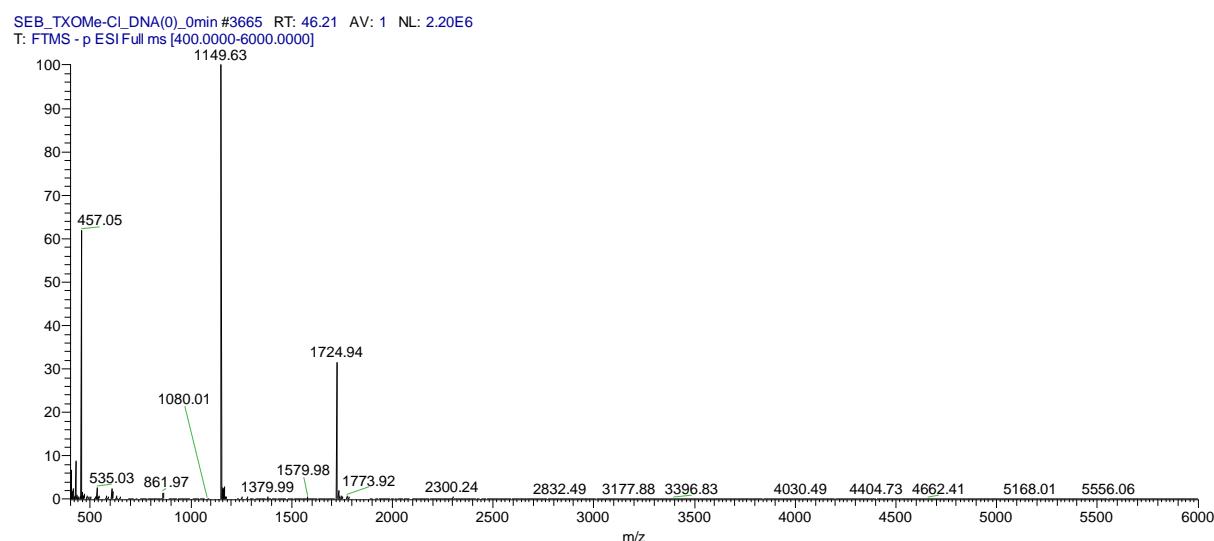


Abbildung S113: LC-MS Analyse des Attostrangs (AS). RT = 46,21 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/2: gefunden: 1725; berechnet: 1726; m/3: gefunden: 1150; berechnet: 1151; m/4: gefunden: 862; berechnet: 863.

Unterstützende Informationen

DNAIII-0 nach 6 h Belichtung

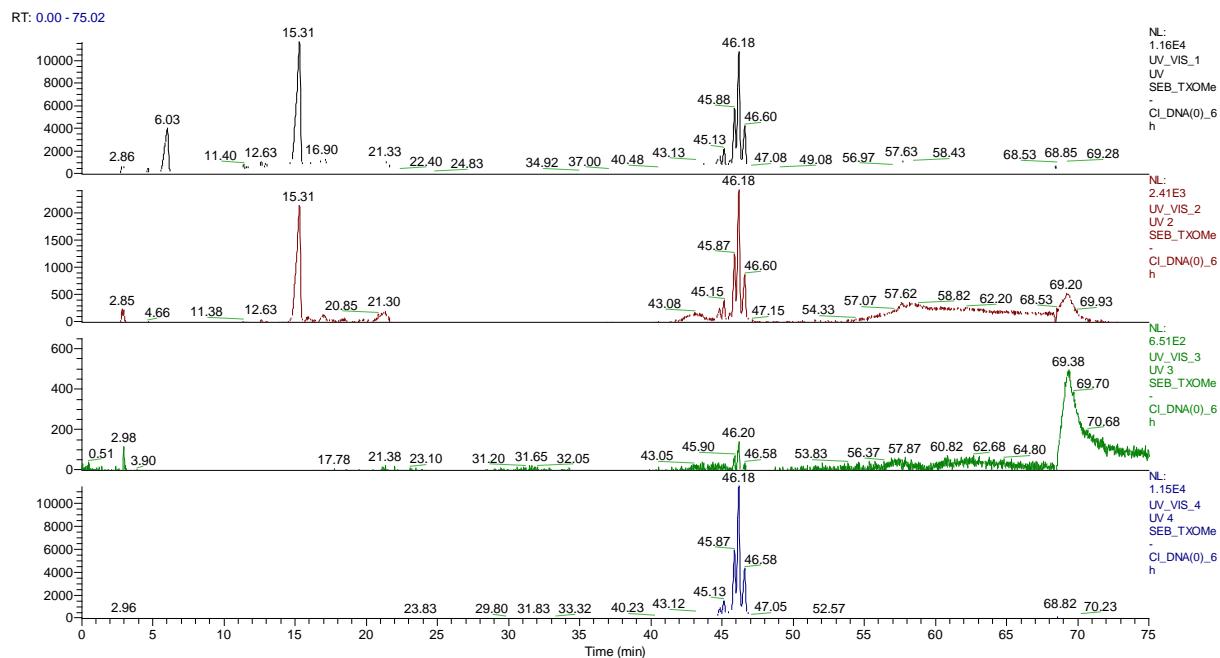


Abbildung S114: Übersicht über das LC-MS Chromatogramm bei verschiedenen Wellenlängen (260 nm, 290 nm, 365 nm und 554 nm) nach 6 h Belichtungszeit.

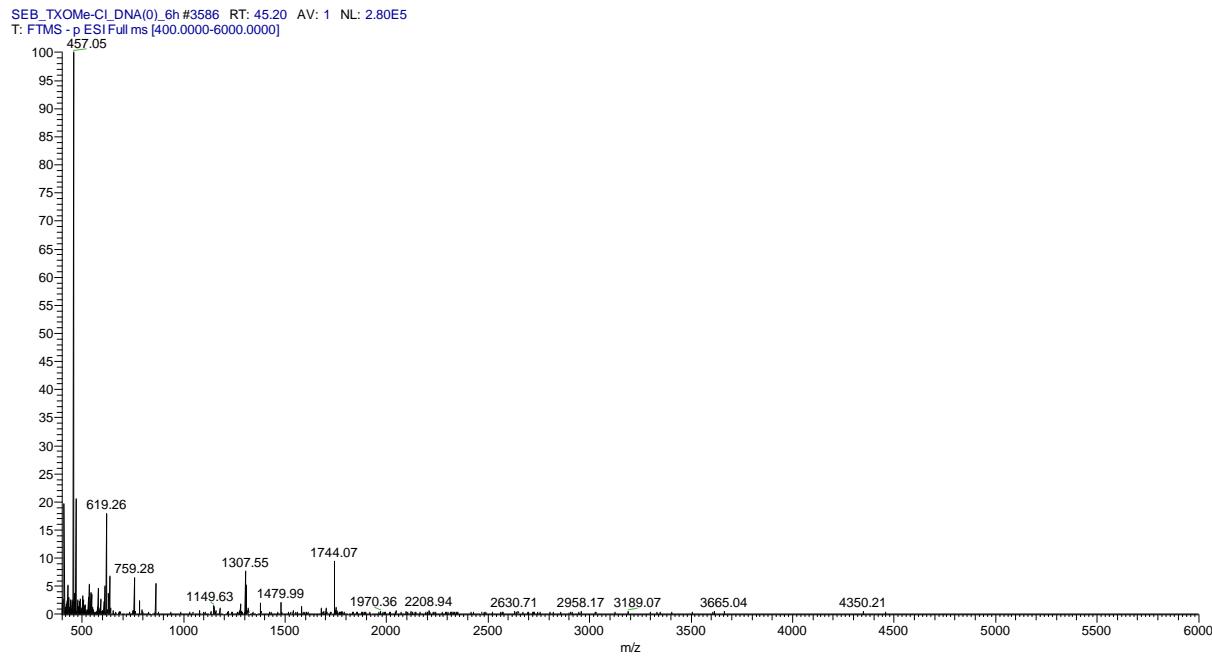


Abbildung S115: LC-MS Analyse des CPD-Schadens. RT = 45,20 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/3: gefunden: 1744; berechnet: 1744; m/4: gefunden: 1308; berechnet: 1308.

Unterstützende Informationen

SEB_TXOME-CL_DNA(0)_6h #3446 RT: 43.43 AV: 1 NL: 8.71E2
T: FTMS - p ESI Full ms [400.0000-6000.0000]

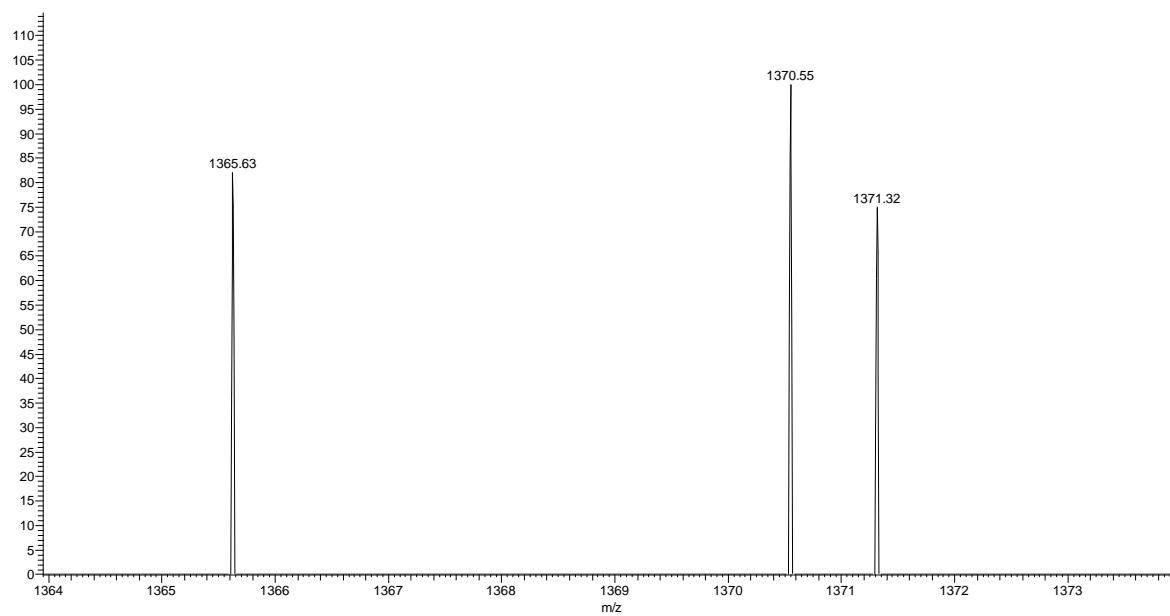


Abbildung S116: LC-MS Analyse des ICL-Schadens. RT = 43,43 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/6: gefunden: 1366; berechnet: 1367.

DNAIV-2 nach 0 min Belichtung

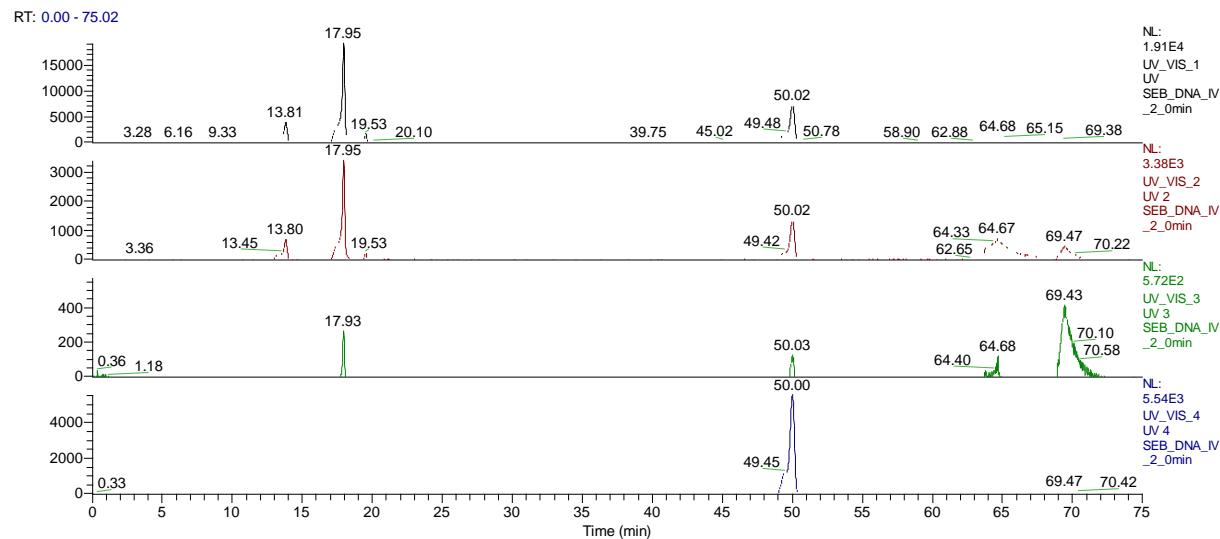


Abbildung S117: Übersicht über das LC-MS Chromatogramm bei verschiedenen Wellenlängen (260 nm, 290 nm, 365 nm und 554 nm) nach 0 min Belichtungszeit.

Unterstützende Informationen

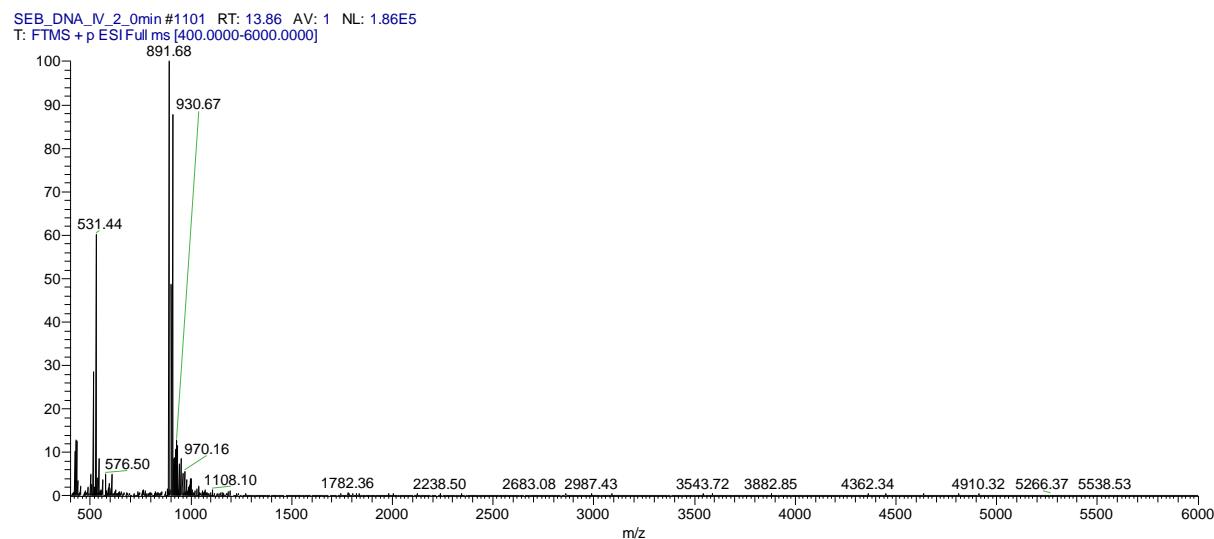


Abbildung S118: LC-MS Analyse des Gegenstrangs (**GS**). RT = 13,86 min: [ESI, M]⁺ m/z: gefunden: 1782; berechnet: 1781; m/2: gefunden: 892; berechnet: 891.

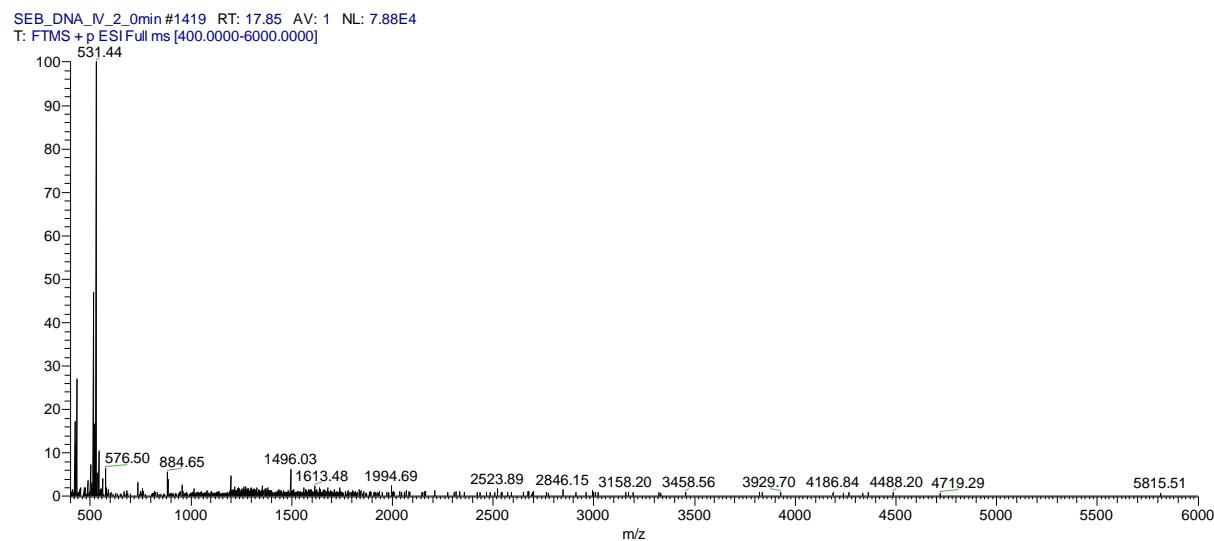


Abbildung S119: LC-MS Analyse des Templatstrangs (**TS**). RT = 17,85 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/3: gefunden: 1995; berechnet: 1993; m/4: gefunden: 1496; berechnet: 1495.

Unterstützende Informationen

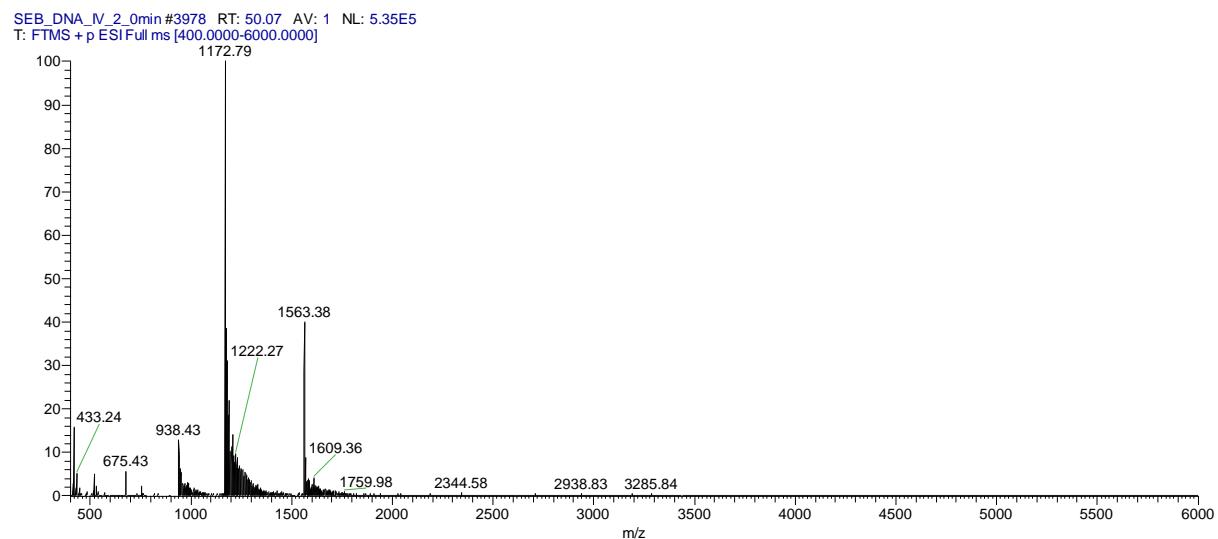


Abbildung S120: LC-MS Analyse des Attostrangs (AS). RT = 50,07 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/2: gefunden: 2345; berechnet: 2344; m/3: gefunden: 1563; berechnet: 1562; m/4: gefunden: 1173; berechnet: 1172.

DNAIV-2 30 min Belichtung

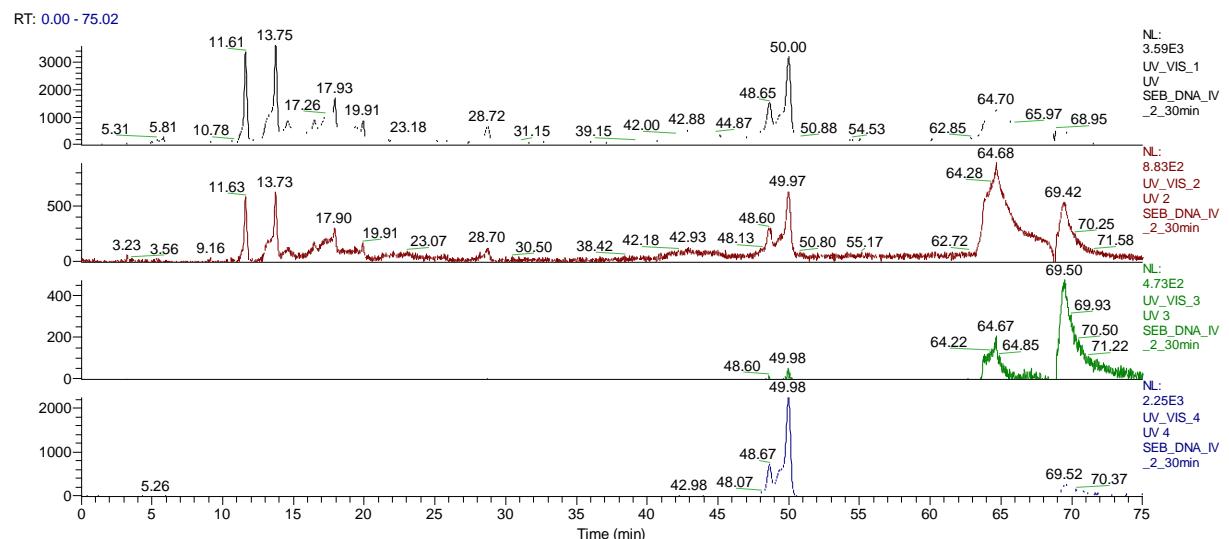


Abbildung S121: Übersicht über das LC-MS Chromatogramm bei verschiedenen Wellenlängen (260 nm, 290 nm, 365 nm und 554 nm) nach 30 min Belichtungszeit.

Unterstützende Informationen

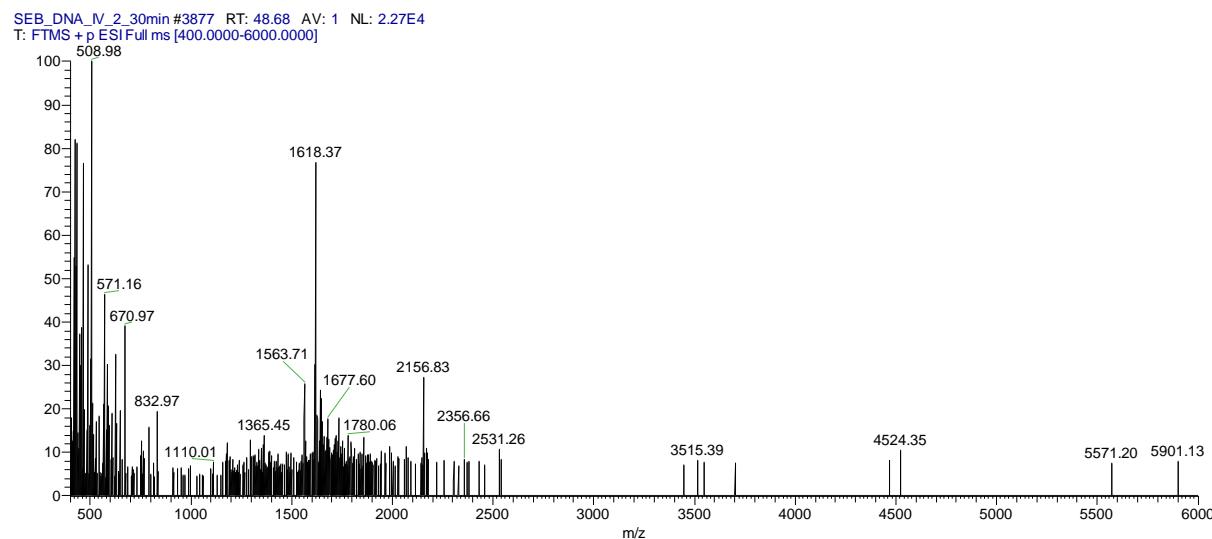


Abbildung S122: LC-MS Analyse des CPD-Schadens. RT = 48,68 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/3: gefunden: 2157; berechnet: 2156; m/4: gefunden: 1618; berechnet: 1617.

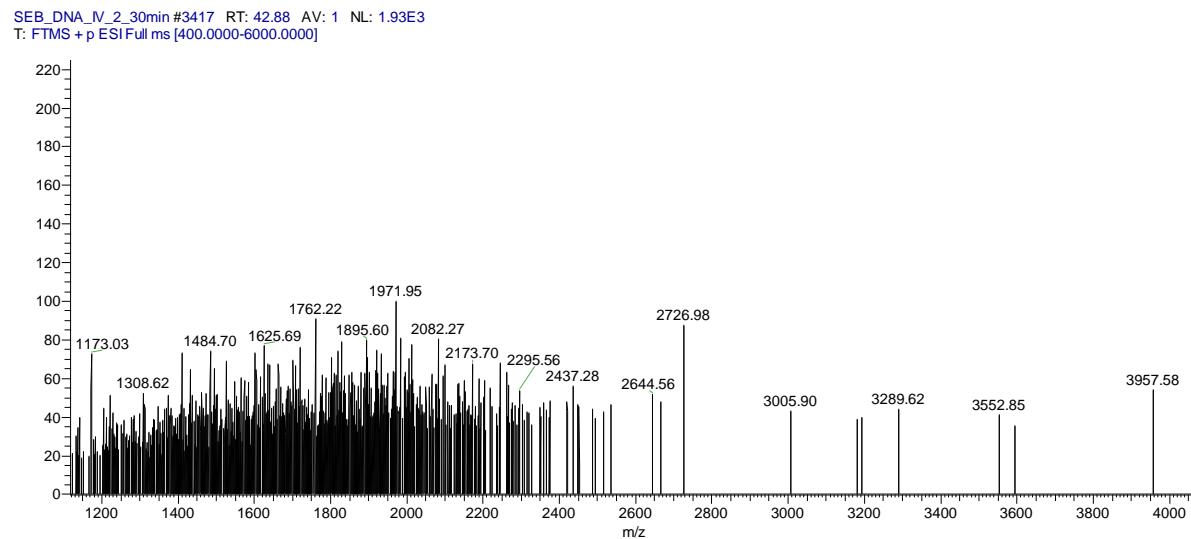


Abbildung S123: LC-MS Analyse des ICL-Schadens. RT = 42,88 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/3: gefunden: 3553; berechnet: 3555; m/4: gefunden: 2665; berechnet: 2666; m/5: gefunden: 2134; berechnet: 2133; m/6: gefunden: 1779; berechnet: 1778.

Unterstützende Informationen

SEB_DNA_IV_2_30min #3417 RT: 42.88 AV: 1 NL: 9.98E2
T: FTMS + p ESI Full ms [400.0000-6000.0000]

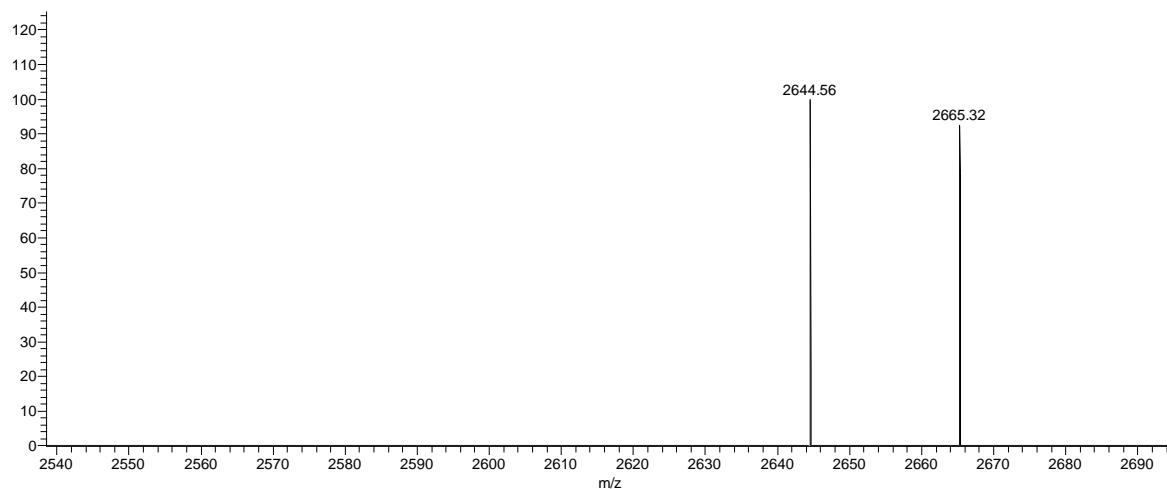


Abbildung S124: Vergrößerung: LC-MS Analyse des ICL-Schadens. RT = 42,88 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/4: gefunden: 2665; berechnet: 2666.

SEB_DNA_IV_2_30min #3417 RT: 42.88 AV: 1 NL: 1.10E3
T: FTMS + p ESI Full ms [400.0000-6000.0000]

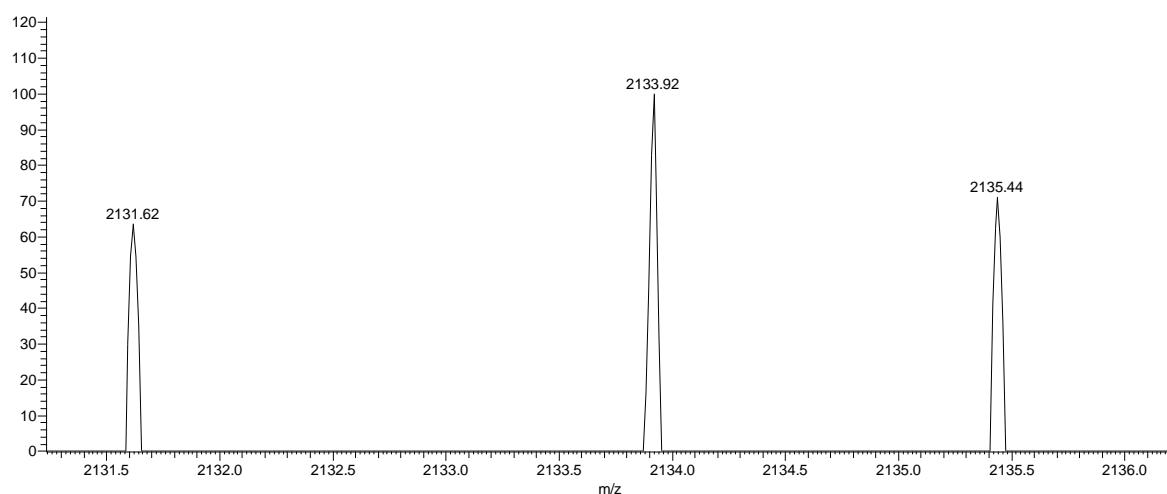


Abbildung S125: Vergrößerung: LC-MS Analyse des ICL-Schadens. RT = 42,88 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/5: gefunden: 2134; berechnet: 2133.

Unterstützende Informationen

SEB_DNA_IV_2_30min #3417 RT: 42.88 AV: 1 NL: 1.19E3
T: FTMS + p ESI Full ms [400.0000-6000.0000]

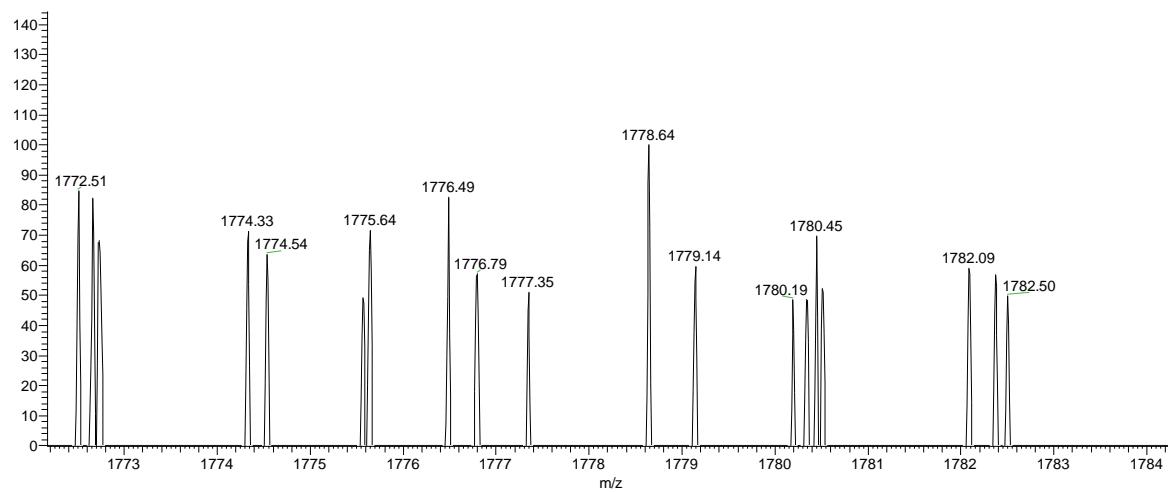


Abbildung S126: Vergrößerung: LC-MS Analyse des ICL-Schadens. RT = 42,88 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/6: gefunden: 1779; berechnet: 1778.

DNAIV-2_{KtrG/C} nach 0 min Belichtung

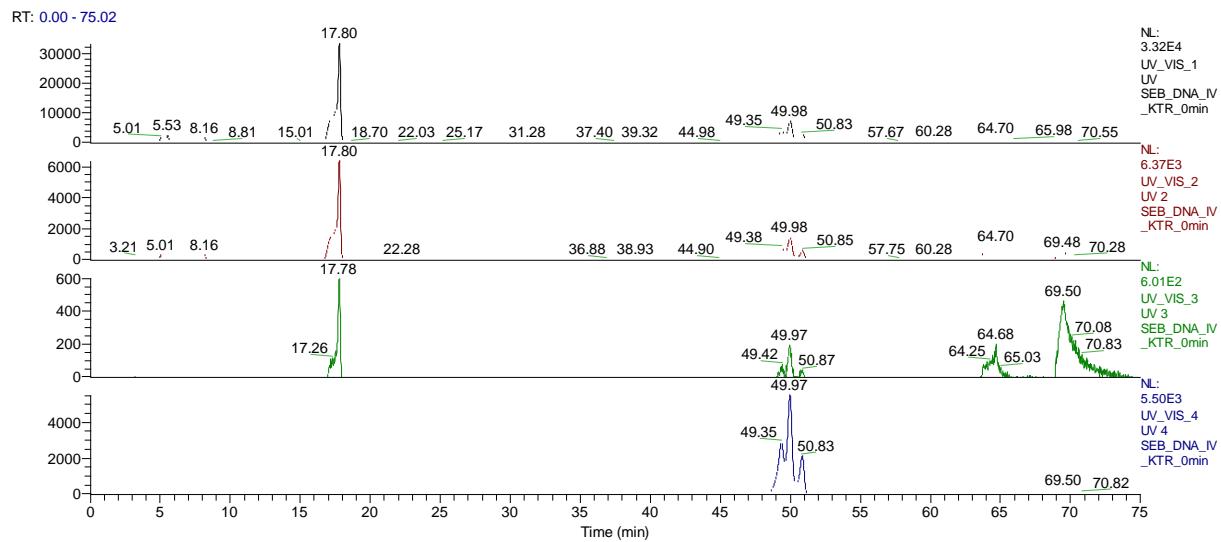


Abbildung S127: Übersicht über das LC-MS Chromatogramm bei verschiedenen Wellenlängen (260 nm, 290 nm, 365 nm und 554 nm) nach 0 min Belichtungszeit.

Unterstützende Informationen

SEB_DNA_IV_KTR_0min #1185 RT: 14.94 AV: 1 NL: 5.54E2
T: FTMS + p ESI Full ms [400.0000-6000.0000]

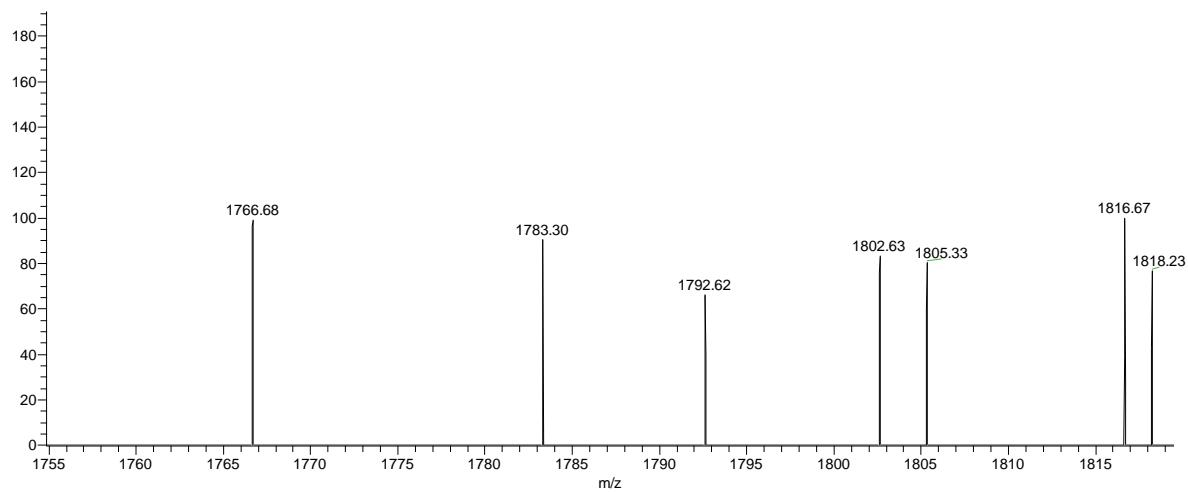


Abbildung S128: LC-MS Analyse des Gegenstrangs (**GS**). RT = 14,94 min: [ESI, M]⁺ m/z: gefunden: 1783; berechnet: 1781.

SEB_DNA_IV_KTR_0min #1410 RT: 17.78 AV: 1 NL: 1.97E4
T: FTMS + p ESI Full ms [400.0000-6000.0000]

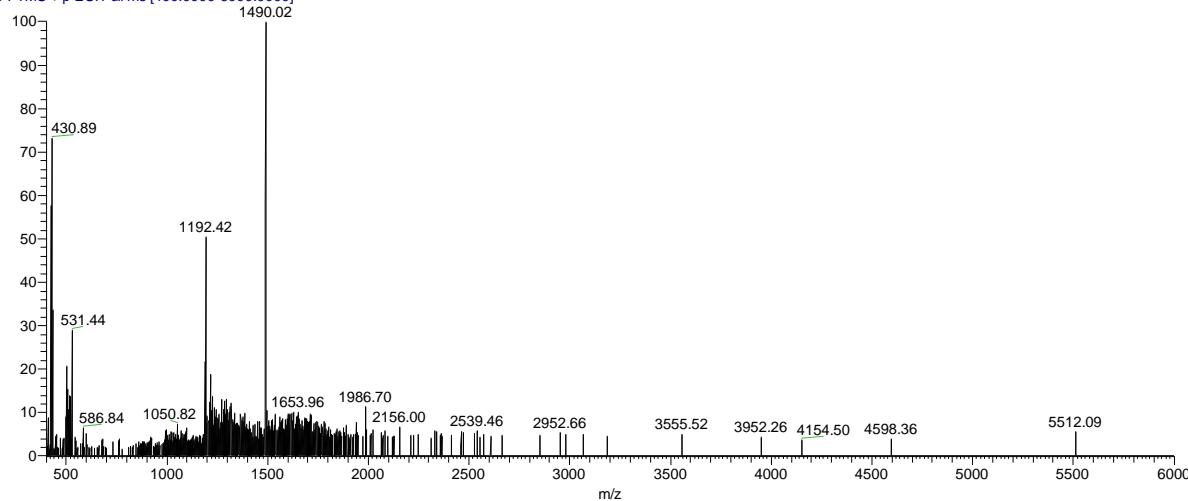


Abbildung S129: LC-MS Analyse des Templatstrangs (**TS**). RT = 17,78 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/3: gefunden: 1987; berechnet: 1985; m/4: gefunden: 1490; berechnet: 1489.

Unterstützende Informationen

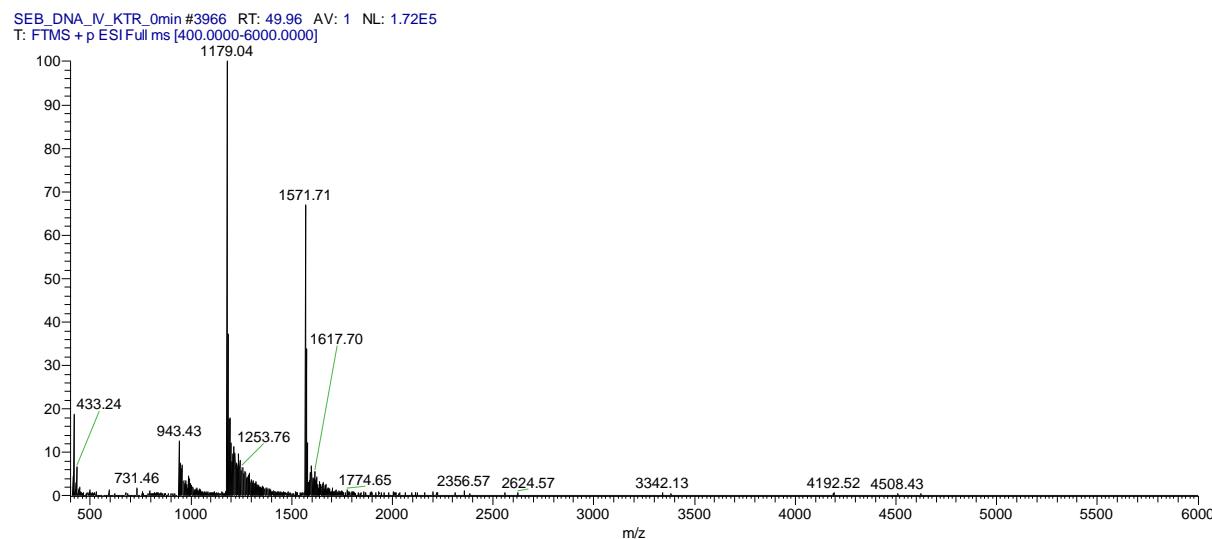


Abbildung S130: LC-MS Analyse des Attostrangs (AS). RT = 49,96 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/2: gefunden: 2357; berechnet: 2356; m/3: gefunden: 1572; berechnet: 1571; m/4: gefunden: 1179; berechnet: 1178.

DNAIV-2_{KtrG/C} nach 1 h Belichtung

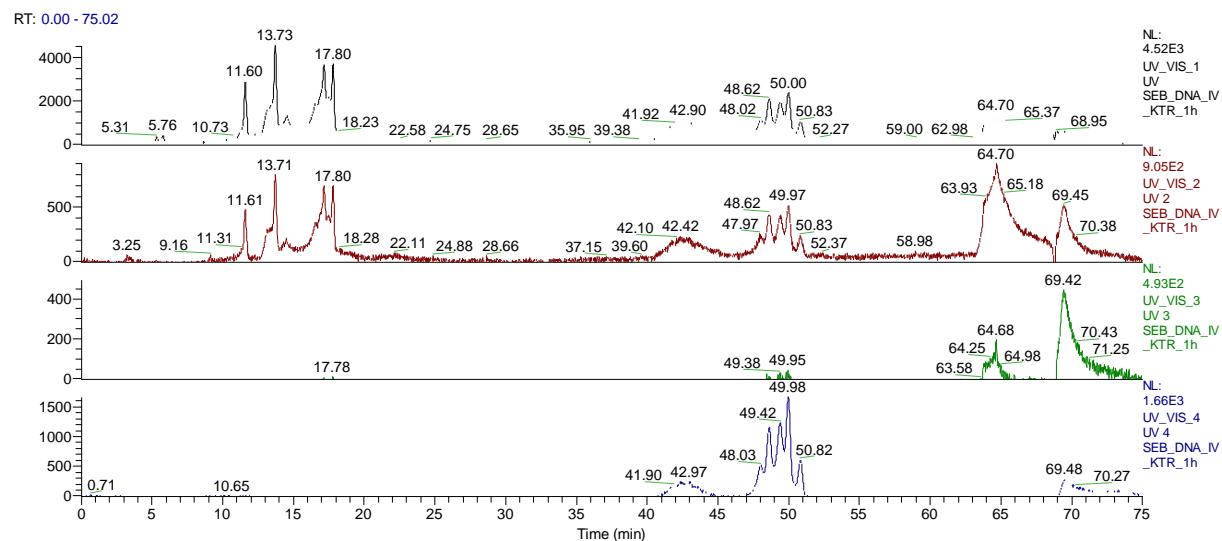


Abbildung S131: Übersicht über das LC-MS Chromatogramm bei verschiedenen Wellenlängen (260 nm, 290 nm, 365 nm und 554 nm) nach 1 h Belichtungszeit.

Unterstützende Informationen

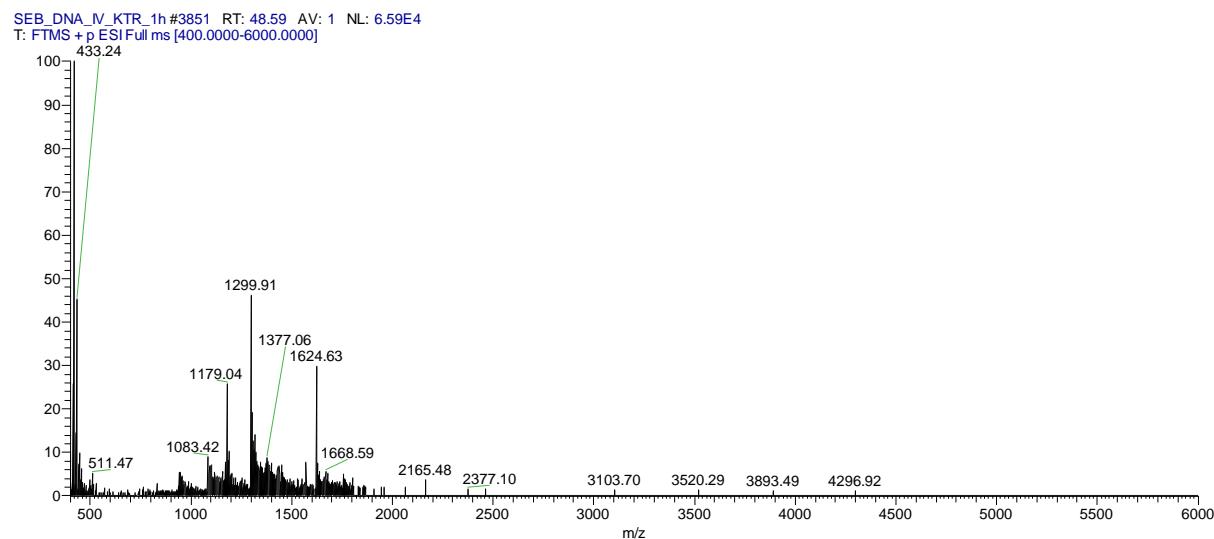


Abbildung S132: LC-MS Analyse des CPD-Schadens. RT = 48,59 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/3: gefunden: 2165; berechnet: 2164; m/4: gefunden: 1624; berechnet: 1623.

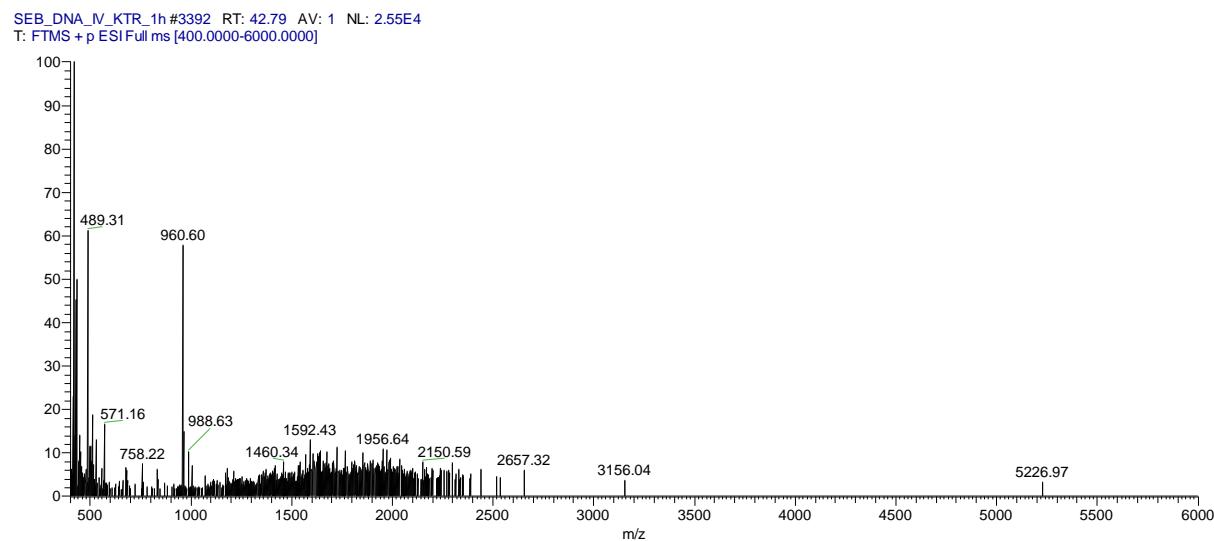


Abbildung S133: LC-MS Analyse des ICL-Schadens. RT = 42,79 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/6: gefunden: 1777; berechnet: 1778; m/7: gefunden: 1524; berechnet: 1524; m/8: gefunden: 1333; berechnet: 1333.

Unterstützende Informationen

SEB_DNA_IV_KTR_1h #3392 RT: 42.79 AV: 1 NL: 2.68E3
T: FTMS + p ESI Full ms [400.0000-6000.0000]

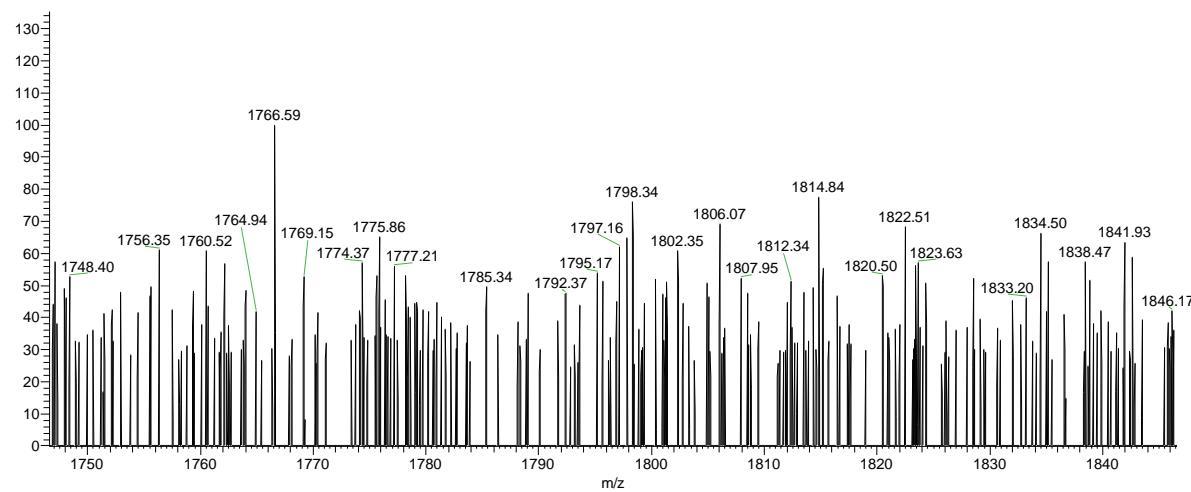


Abbildung S134: Vergrößerung: LC-MS Analyse des ICL-Schadens. RT = 42,79 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/6: gefunden: 1777; berechnet: 1778.

SEB_DNA_IV_KTR_1h #3392 RT: 42.79 AV: 1 NL: 1.02E3
T: FTMS + p ESI Full ms [400.0000-6000.0000]

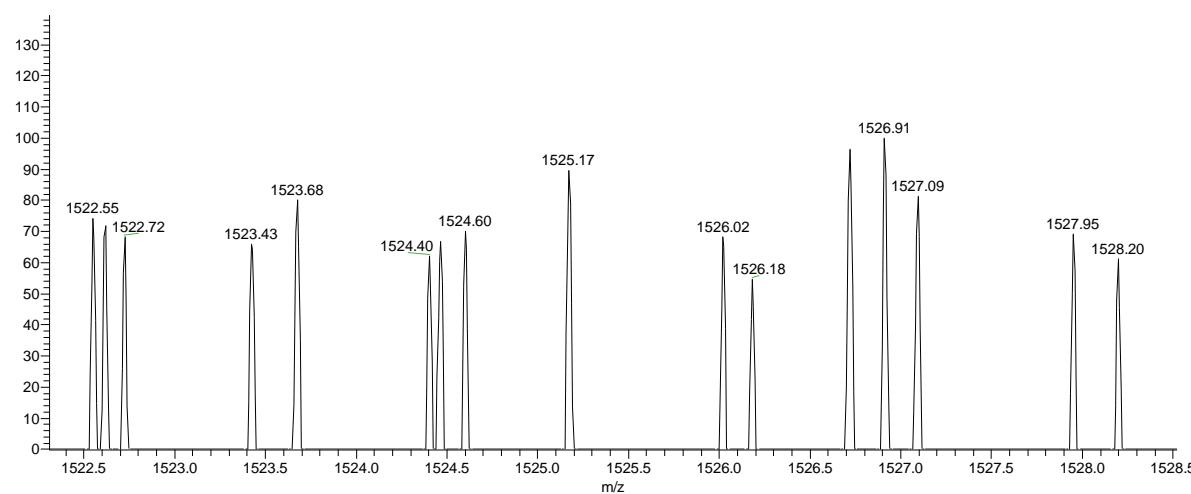


Abbildung S 135: Vergrößerung: LC-MS Analyse des ICL-Schadens. RT = 42,79 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/7: gefunden: 1524; berechnet: 1524.

Unterstützende Informationen

SEB_DNA_IV_KTR_1h #3392 RT: 42.79 AV: 1 NL: 1.22E3
T: FTMS + p ESI Full ms [400.0000-6000.0000]

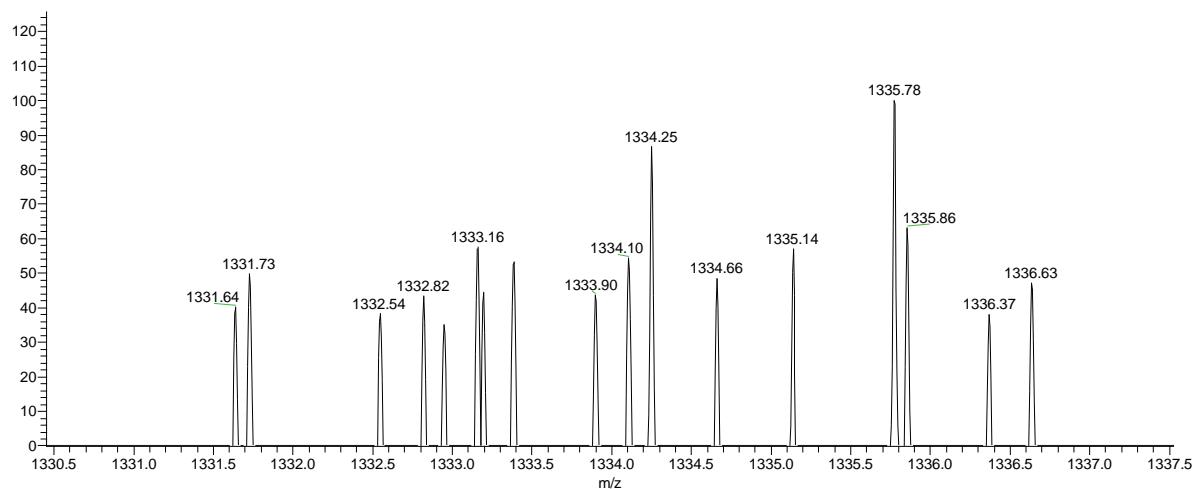


Abbildung S136: Vergrößerung: LC-MS Analyse des ICL-Schadens. RT = 42,79 min: [ESI, M]⁺ m/z: m/8: gefunden: 1333; berechnet: 1333.

9 Appendix

9.1 Publikationen

„Probing of DNA Photochemistry with C-Nucleosides of Xanthones and Triphenylene as Photosensitizers To Study the Formation of Cyclobutane Pyrimidine Dimers“

S. Häcker, M. Schrödter, A. Kuhlmann, H.-A. Wagenknecht, *JACS Au* **2023**, 4 1843-1850.

DOI: [10.1021/jacsau.3c00167](https://doi.org/10.1021/jacsau.3c00167)

„Direct Observation of Triplet-Triplet Energy Transfer Between C-Nucleotides of Thioxanthone and Naphthalene in DNA“

S. Häcker, T. J. B. Zähringer, H.-A. Wagenknecht, C. Kerzig, *ChemRxiv* **2025**.

DOI: [10.26434/chemrxiv-2025-nrzhp](https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2025-nrzhp)

9.2 Konferenzen mit Poster-Präsentation

03/2023, Gießen: JCF Frühjahrssymposium

05/2023, Mulhouse: Photophysics and Photosciences

09/2023, Leipzig: GDCh-Wissenschaftsforum

09/2023, Würzburg: Deutsche Nucleinsäurechemie Gemeinschaft (DNG)

09/2024, Tokyo: XXV IRT on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids (IS3NA Travel award)

09-10/2024, Dortmund: GDCh Biochemistry

9.3 Lehre

05-06/2022	Betreuung des organisch-chemischen Fortgeschrittenen Praktikums für Studierende der Chemie, Chemische Biologie und M. Ed. Chemie
05-06/2022	Betreuung einer Vertieferarbeit im Rahmen des Masterstudiums Chemie
08-09/2022	Betreuung des organisch-chemischen Grundpraktikums für Studierende der Biologie, Geoökologie und des Lehramts Chemie
08/2022-08/2023	Betreuung Auszubildender (Azubi)
11/2022	Betreuung des organisch-chemischen Fortgeschrittenen Praktikums für Studierende der Chemie, Chemische Biologie und M. Ed. Chemie
05/2023	Betreuung des organisch-chemischen Fortgeschrittenen Praktikums für Studierende der Chemie, Chemische Biologie und M. Ed. Chemie
11/2023	Betreuung des organisch-chemischen Fortgeschrittenen Praktikums für Studierende der Chemie, Chemische Biologie und M. Ed. Chemie
01-02/2024	Betreuung des organisch-chemischen Grundpraktikums für Chemiker, Chemische Biologen und Lebensmittelchemiker
06/2024	Betreuung des organisch-chemischen Fortgeschrittenen Praktikums für Studierende der Chemie, Chemische Biologie und M. Ed. Chemie
10-11/2024	Betreuung einer Vertieferarbeit im Rahmen des Masterstudiums Chemie
11-01/2024-25	Betreuung des organisch-chemischen Fortgeschrittenen Praktikums für Studierende der Chemie, Chemische Biologie und M. Ed. Chemie

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen sind als solche kenntlich gemacht. Ich habe die Satzung des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis in der jeweils gültigen Fassung beachtet. Zudem bestätige ich, dass die elektronische Version der Arbeit mit der eingereichten schriftlichen Version übereinstimmt und die Abgabe sowie Archivierung der Primärdaten gemäß Abs. A (6) der Regeln zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis des KIT am Institut gewährleistet ist.

Karlsruhe, den

Sebastian Häcker