

Modulare DNA-Chromophor-Architekturen und deren potenzielle Anwendung als Lichtsammelsysteme

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. Andreas Jürgen Schmidt

aus Malsch

Karlsruhe, 2026

Dekan: Prof. Dr. Martin Bastmeyer

Referent: Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht

Korreferent: Prof. Dr. Michael Meier

Tag der mündlichen Prüfung: 21.07.2026

Für Ida Marie Schmidt

-die bedeutendste DNA-Architektur in meinem Leben-

*"Der Feind, unser wahrer Feind, ist nicht die Nachbarnation: es sind Hunger, Kälte, Armut,
Unwissenheit, Gewohnheit, Aberglaube und Vorurteile."*

-Henry Dunant-

Gründer des Internationalen Komitees vom Roten Kreuz (IKRK) und erster Friedensnobelpreisträger

Die vorgelegte Arbeit wurde unter der Leitung von Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht am Institut für organische Chemie (IOC) des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) im Zeitraum von Februar 2023 bis Juni 2026 angefertigt.

Kurzfassung

In dieser Arbeit wurde die Synthese modularer DNA-Chromophor-Architekturen und deren potenzielle Anwendung als Lichtsammelsystem untersucht. Zur sequenzspezifischen Darstellung wurde eine Assemblierung von clickfähigem 5-Pyren-2'-desoxyuridin an strukturgebende Template und eine Konjugation mittels kupferkatalysierter Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) durchgeführt. Im weiteren Verlauf wurde die Strategie zugunsten eines modularen Aufbaus unter Verwendung von ethinylmodifizierten DNA-Bausteinen und der Azide von Pyren, BODIPY sowie Porphyrin angepasst. Dadurch konnten definierte einfach- und doppelmodifizierte DNA-Chromophor-Architekturen erhalten werden. Weitere Erkenntnisse für einen möglichen postsynthetischen Zugang zu dreifachmodifizierten Oligonukleotiden wurde über eine CuAAC *vice versa* erhalten. Die spektroskopische Analyse zeigte einen distanzabhängigen Energie- und Ladungstransfer zwischen den Chromophoren. Im letzten Teil dieser Arbeit wurden pyrenmodifizierte Oligonukleotide als artifizielles Lichtsammelsystem in Kombination mit dem Rutheniumkomplex $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ untersucht. Dabei zeigte sich im Einzel- und Doppelstrang ein Energieübertrag ausgehend von Pyren. Die daraus erhaltenen Erkenntnisse dienen somit als Grundlage für eine zukünftige Anwendung der Oligonukleotide beispielsweise im Rahmen einer photokatalytischen Generierung von Wasserstoff.

Abstract

This work investigated the synthesis of modular DNA-chromophore-architectures and their potential application as light-harvesting-system. First, a sequence-specific approach using a clickable 5-pyrene-2'-deoxyuridine was tested, which involved the assembly onto a template followed by conjugation via copper-catalyzed-azide-alkyne cycloaddition (CuAAC). Subsequently, the strategy was adapted to facilitate a modular design using ethynylmodified DNA-building blocks and azides of pyrene, BODIPY and porphyrin. This enabled a precise preparation of singly and doubly modified DNA-chromophore-architectures. Further insights into a potential postsynthetic approach to triple modified oligonucleotides were obtained via a CuAAC *vice versa*. Spectroscopic analysis revealed distance-dependent energy- and charge transfer between the chromophores. Finally, pyrene-modified oligonucleotides were investigated as an artificial light-harvesting system in combination with a ruthenium complex. This revealed energy transfer originating from pyrene in single and double stranded DNA. These insights pave the way for utilizing DNA-chromophore-architectures in photocatalytic systems.

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	i
Abstract.....	ii
Inhaltsverzeichnis	iii
1. Einleitung und Themenstellung.....	1
2. Theoretischer Hintergrund	5
2.1 Desoxyribonukleinsäure (DNA)	5
2.2 Photophysikalische Prozesse eines Lichtsammelsystems.....	8
2.2.1 Energietransferprozesse	8
2.2.2 Ladungstransferprozesse	12
2.3 DNA-Chromophor-Architekturen.....	14
2.3.1 Nicht-kovalente Chromophor-DNA-Systeme	15
2.3.2 Kovalente Chromophor-DNA Systeme	25
3. Ergebnisse und Diskussion	35
3.1 Assemblierung zu Chromophor-DNA-Architekturen	35
3.1.1 Synthese clickfähiger Nukleosid-Chromophor Konjugate	36
3.1.2 Assemblierung des clickfähigen Konjugats an DNA-Template	40
3.1.3 Isolation der assemblierten Chromophor-DNA-Architekturen	47
3.2 Kovalenter Aufbau von Chromophor-DNA-Architekturen.....	51
3.2.1 Synthese der clickfähigen Oligonukleotide.....	52
3.2.2 Synthese der clickfähigen Chromophore.....	55
3.2.3 Synthese der DNA-Chromophor-Architekturen	63
3.2.4 Spektroskopische Analyse der DNA-Chromophor-Architekturen	72
3.2.5 Anwendung der DNA-Chromophor-Architekturen.....	81
4. Zusammenfassung und Ausblick	90
5. Experimentalteil	95
5.1 Materialien, Methoden und Geräte.....	95
5.2 Synthesevorschriften	111
6. Verzeichnisse	129
6.1 Abkürzungsverzeichnis.....	130
6.2 Abbildungsverzeichnis	135
6.3 Literaturverzeichnis	147

7. Anhang	155
7.1 NMR und HR-MS Spektren	155
7.2 sonstige Analytik	190
7.3 Danksagung	207
7.4 Publikationen	209
7.5 Konferenzen und Seminare	209
7.6 Lehrdeputat	210
8. Eidesstattliche Erklärung	212

1. Einleitung und Themenstellung

Die Sicherstellung einer lebenswerten Zukunft kommender Generationen ist die fundamentale Aufgabe unserer Zeit. Eine nachhaltige Energieversorgung und die damit verbundene Unabhängigkeit von fossilen Brennstoffen sind dabei zentrale Schlüsselfaktoren zum Erhalt unserer Lebensgrundlage und der Realisierung einer klimaneutralen Gesellschaft. In den vergangenen Jahren ist dabei die Erzeugung von „grünem“ Wasserstoff (H_2), bei dessen Verbrennung lediglich reines Wasser als Abfallprodukt anfällt, verstärkt in den Fokus von Politik und Wirtschaft gerückt.^[1] Ein Blick in den Himmel offenbart uns einen potentiellen Zugang zu diesem Element: unsere Sonne.^[2] Mit einer jährlichen Energiemenge von etwa $3,4 \cdot 10^{24}$ Joule strahlt unser Stern ein Vielfaches des globalen Jahresbedarfs von $4,5 \cdot 10^{20}$ Joule auf die Erdoberfläche.^[3, 4] Die Nutzung dieser fast unerschöpflichen Quelle wird durch die Menschheit in den vergangenen Jahrzehnten im Kontext zunehmender Ressourcenknappheit, politischer Unruhen und der aufkommenden Klimakrise vorangetrieben.

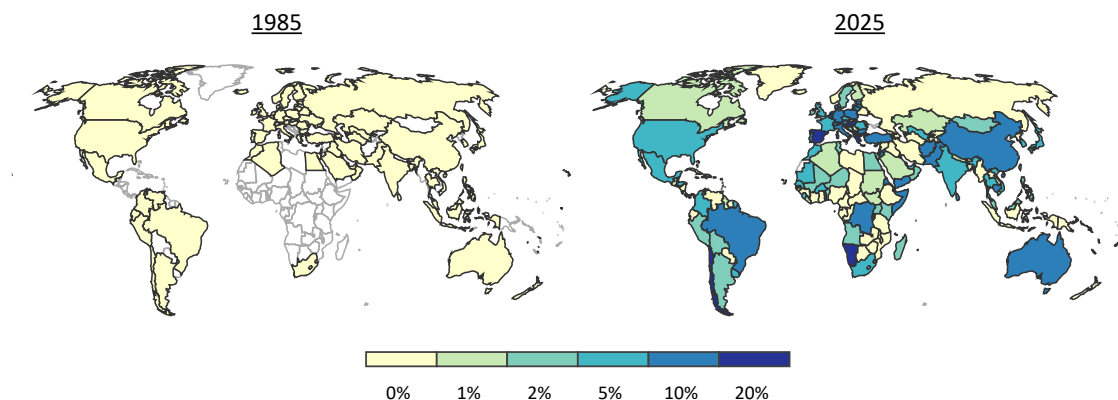


Abbildung 1 Die Entwicklung des solaren Anteils an der Erzeugung elektrischer Energie im globalen Vergleich zwischen 1985 (**links**) und 2025 (**rechts**).¹

Entscheidende Impulse für die technische Innovation gibt uns hierbei die Natur mit dem Lichtsammelsystem II der biologischen Photosynthese.^[5, 6]

¹ **Abbildung 1** abgeändert basierend auf: Ember (2026); Energy Institute Statistical Review of World Energy (2025) with major processing by Our World In Data, <https://archive.ourworldindata.org/20260518-090244/grapher/share-electricity-solar.html> (Abrufdatum: 2 Juni 2026). Lizenziert unter **CC BY**.

Chlorophylle und Carotinoide, die in definierter räumlicher Nähe zueinander angeordnet sind, werden hierbei als Antennenpigmente genutzt, um einstrahlende Sonnenenergie effizient zu bündeln und für die chemische Umwandlung im Reaktionszentrum bereitzustellen^[7, 8] Dadurch wird die Strahlungsenergie in ein chemisch nutzbares Reduktionspotential für nachgeschaltete Reaktionen bereitgestellt.^[9]

Das Design vergleichbarer artifizieller Systeme stellt ein vielseitiges und komplexes Forschungsfeld zahlreicher naturwissenschaftlicher und technischer Disziplinen dar. Dabei verfolgt man das Ziel möglichst viele Chromophore in räumlicher Nähe zueinander zu positionieren ohne den Verlust von absorbierter Energie beispielsweise durch aggregationsinduzierte Löschung zu provozieren.^[6, 10, 11] So kann eine effiziente Nutzung des gesamten UV/Vis-Spektrums zur Energiegewinnung ermöglicht werden, wobei die Steuerung der Energie- und Elektronentransferprozesse zwischen den Chromophoren im Wesentlichen durch die räumliche Anordnung geschieht.^[12]

Desoxyribonukleinsäure (DNA) bietet hierfür eine einzigartige und kostengünstige Grundlage aufgrund ihrer planbaren und repetitiven Geometrie.^[12-14] Die notwendigen Farbstoffe werden hierbei zum Beispiel als Phosphoramidit während der automatisierten Festphasensynthese oder postsynthetisch eingebracht.^[15-19] Dabei stellen die bekanntesten Methoden die Clickreaktionen dar, für deren Entdeckung der Nobelpreis für Chemie im Jahr 2022 an BERTOZZI, MELDAL und SHARPLESS verliehen wurde.^[18, 20, 21] Des Weiteren ist die Assemblierung von chromophormodifizierten Nukleosiden an komplementäre Oligonukleotide eine Möglichkeit zur Ausbildung definierter supramolekularer Strukturen. Diese Ansätze ermöglichen die synthetisch einfache und gleichzeitig präzise Kontrolle der optoelektronischen Eigenschaften.^[13, 14, 17, 22, 23]

Die vorliegende Arbeit thematisiert die Nutzung von DNA als Templat zur Synthese definierter Chromophorstrukturen. Diese sollen durch die kupferkatalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition, kurz CuAAC synthetisiert und anschließend mit Methoden der optischen Spektroskopie charakterisiert werden.

Im ersten Projekt soll die Synthese eines clickfähigen 5-Ethynylpyren-2'-desoxyuridins durchgeführt und eine sequenzspezifische Assemblierung an DNA-Template unterschiedlicher Sequenzlängen untersucht werden. Dabei soll das Konjugat gemäß der kanonischen WATSON-CRICK Basenpaarung zu sequenzdefinierten supramolekularen Architekturen anlagern. Durch eine abschließende Ligation der Assemblate mittels CuAAC soll die Sequenzinformation dauerhaft fixiert und die angestrebten supramolekularen Architekturen erhalten werden.

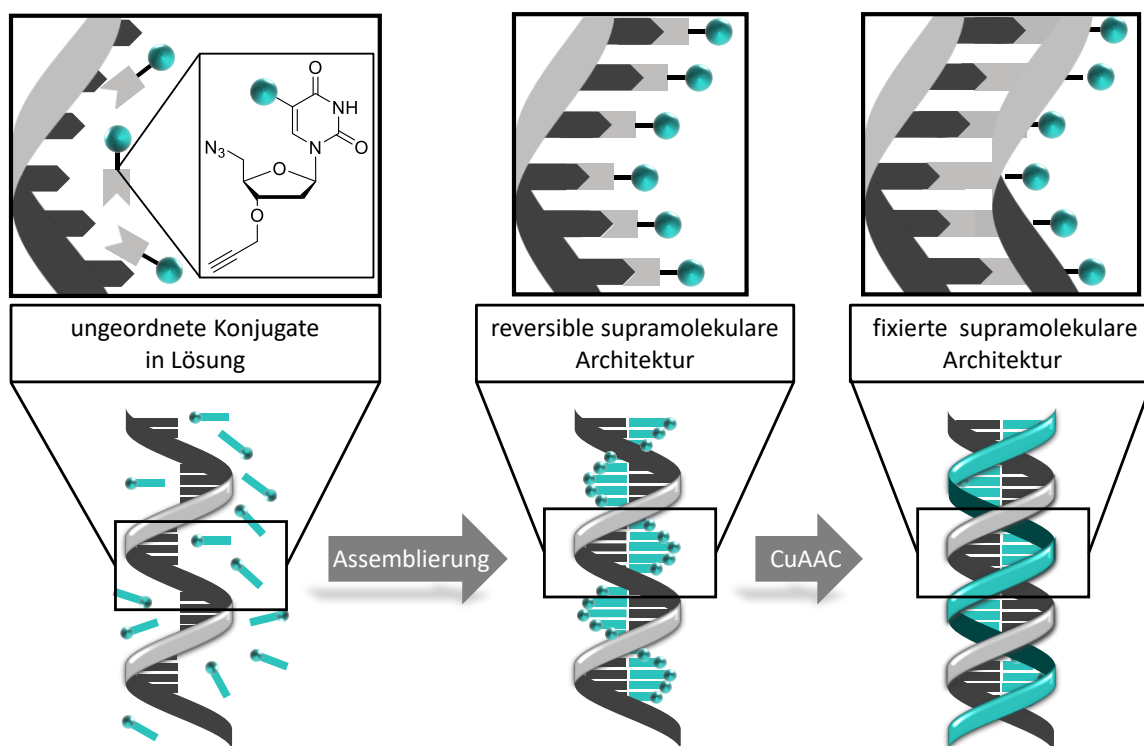


Abbildung 2 Assemblierung eines clickfähigen dU-Py-Konjugats an ein strukturgebendes Template sowie die Ligation mittels CuAAC zum Erhalt supramolekularer Architekturen.

Im zweiten Projekt soll ein kovalenter Ansatz verfolgt werden, wobei der Fokus auf der Verwendung ethinylmodifizierter 2'-Desoxyuridine innerhalb des Oligonukleotids liegt. Dabei sollen drei verschiedene Bausteine zum Einsatz kommen: das 5-Ethinyl-2'-desoxyuridin (EdU) sowie ein Trimethylsilyl- und ein Triisopropylsilylgeschütztes EdU-Derivat. Die Orthogonalität der Bausteine im Rahmen einer CuAAC mit den Aziden von Pyren, BODIPY und Porphyrin soll den schrittweisen Aufbau angestrebter DNA-Chromophor-Architekturen ermöglichen. Eine optische Charakterisierung soll im Kontext einer potenziellen Anwendung als künstliche Lichtsammelsysteme stattfinden.

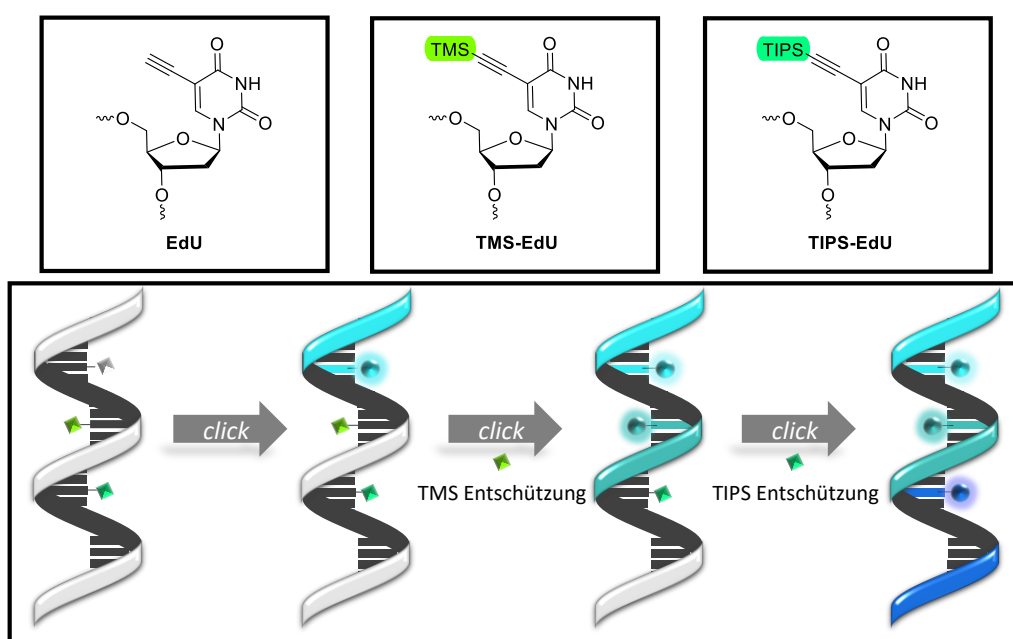


Abbildung 3 Schrittweiser Aufbau von DNA-Chromophor-Architekturen durch die Verwendung der orthogonalen Ethinylbausteinen **EdU**, **TMS-EdU** und **TIPS-EdU** in einer CuAAC.

2. Theoretischer Hintergrund

2.1 Desoxyribonukleinsäure (DNA)

Das bedeutendste Makromolekül lebender Zellen stellt die Desoxyribonukleinsäure (DNA) als Träger der genetischen Information dar. Sie besteht aus einer definierten Sequenz von 2'-Desoxyribonukleotiden, die über ein Phosphatrückgrat zwischen dem 5'- und 3'-Ende miteinander verknüpft sind. Jedes einzelne Nukleotid besteht dabei aus einer 2'-Desoxyribose mit einem Phosphatrest in 5'-Position sowie eine der vier Nukleobasen Adenin (A), Guanin (G), Thymin (T) und Cytosin (C), die über eine *N*-glykosidische Bindung an das C₁-Atom des Zuckers angeknüpft sind.^[24, 25] Eine antiparallele Anordnung von zwei Oligonukleotiden führt zu Bildung der charakteristischen Doppelhelix, deren genaue Struktur durch WATSON und CRICK im Jahr 1953 beschrieben wurde.^[26] Die Stabilität der Doppelhelix wird dabei im Wesentlichen durch $\pi\pi$ -Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Nukleobasen erreicht.^[27] Im Durchschnitt kommt es bei einer Hybridisierung zwischen AA, AT, TA und TT zu einem Enthalpiegewinn von $\Delta G_{AT} = -4,23 \text{ kJ/mol}$.^[28] Bei den analogen GC-Varianten fällt dieser mit $\Delta G_{GC} = -6,20 \text{ kJ/mol}$ noch höher aus.^[28] Die gebildete Doppelhelix kann dabei in verschiedenen Konformationen vorliegen. Bei der A- und B-Konformation liegt eine rechtsdrehende Helix vor, wobei die B-Form in wässrigem Milieu energetisch bevorzugt ist und somit die nativste Form darstellt.^[9] In wasserfreiem Zustand liegt die kompakte A-Konformation vor.^[25] Beide Strukturmodelle wurden durch FRANKLIN *et al.* im Jahr 1953 mittels Röntgenbeugung identifiziert.^[29] Eine weitere Konformation wurde durch POHL und JOVIN im Jahr 1972 vermutet. Durch Erhöhung der Salzkonzentration konnte eine Umwandlung der rechtsdrehenden B-DNA in eine bis dahin unbekannte linksgängige Konformation beobachtet werden.^[30] Die detaillierte Struktur wurde später von RICH *et al.* durch Kristallisation einer GC-reichen DNA und Röntgenbeugung aufgeklärt.^[31] Aufgrund der „Zickzack“-Struktur des Rückgrats wird diese Konformation als Z-DNA bezeichnet.^[31]

Im Gegensatz zur $\pi\pi$ -Wechselwirkung spielt die H -brückenvermittelte Basenpaarung eine untergeordnete Rolle für die Stabilität des DNA-Duplex. So zeigt sich bei GC-Paaren ein geringfügiger Enthalpiegewinn von $\Delta G_{GC} = -0,46 \text{ kJ/mol}$ und bei AT sogar eine Destabilisierung mit $\Delta G_{AT} = 1,93 \text{ kJ/mol}$ im Doppelstrang.^[32] Stattdessen kann eine korrekte Basenpaarung als Selektivitätsfilter für die Initiation einer sequenzspezifischen Hybridisierung verstanden werden.

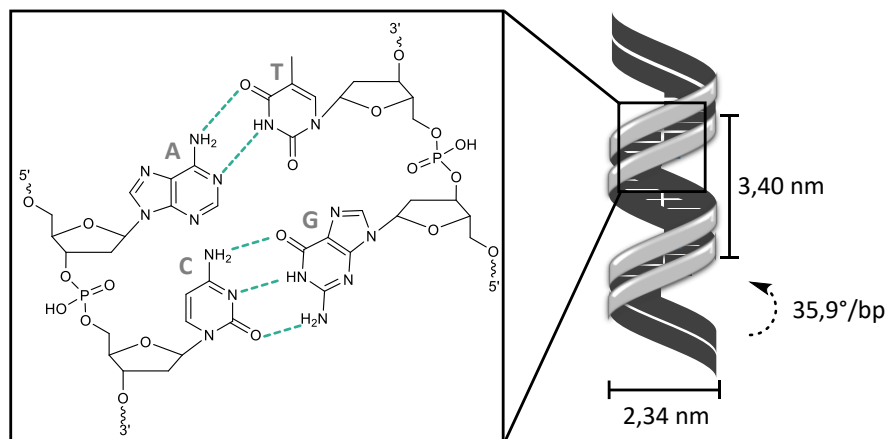


Abbildung 4 Kanonische WATSON-CRICK-Basenpaarung als gestrichelte Linie zwischen komplementärem Adenosin A und Thymin T bzw. Cytidin C und Guanosin G (**links**) sowie die schematische Darstellung einer DNA-Doppelhelix in der B-Konformation mit Angabe der Strukturdaten von Ganghöhe, Windung und Durchmesser (**rechts**).

Bei der kanonischen WATSON-CRICK-Basenpaarung binden Adenosin (A) und Thymin (T) über zwei Wasserstoffbrücken, Guanosin (G) und Cytidin (C) hingegen über drei aneinander. Mit einer Bindungsenergie von 6-10 kJ/mol pro Brücke ist die Hybridisierung zwischen einem GC-Paar damit stabiler als bei einem AT-Paar.^[33, 34] Als H -Donoren fungieren dabei die endocyclischen NH -Funktionen sowie die exocyclischen Aminogruppen, während die freien Elektronenpaare der Ketogruppen als Akzeptoren dienen.

Von dieser Regel abweichend sind auch nicht kanonische Basenpaarungen bekannt.^[35-37] Im Jahr 1962 wiesen HOOGSTEEN *et al.* ein alternatives Paarungsmotiv zwischen A-T und C-G nach.^[38] Der wesentliche Unterschied liegt in der räumlichen Anordnung der Purinbasen, die im Vergleich zu den Pyrimidinen eine veränderte Konformation einnehmen. Dies geschieht durch eine Rotation der Purinbase um 180° entlang der glykosidischen Bindung, wodurch neue Wasserstoffbrücken ausgebildet werden. Am Beispiel von Adenin und Thymin, wie in **Abbildung 5** zu sehen, wird die H -Brücke zwischen Adenin- N_1 und Thymin- N_3 aufgelöst und eine neue zwischen Adenin- N_7 und dem N_3 -Atom des Thymins ausgebildet. Die Basenpaarung zwischen der exocycli-

schen Aminfunktion von Adenin und der Ketogruppe von Thymin wird dabei nicht beeinflusst.^[38] Die Wobble-Basenpaarung ist ein zentrales Bindungsmotiv während der Translation von mRNA. Sie wurde im Jahr 1966 durch CRICK postuliert und erklärt, weshalb eine geringere Anzahl an tRNA-Spezies zur vollständigen Translation aller Codons ($n = 4^3 = 64$) notwendig ist. Die erhöhte Flexibilität ermöglicht dabei nicht-kanonische Basenpaarungen am 3'-Ende des Codons, wodurch eine einzelne tRNA mehrere synonyme Basentriplets erkennt.^[39]

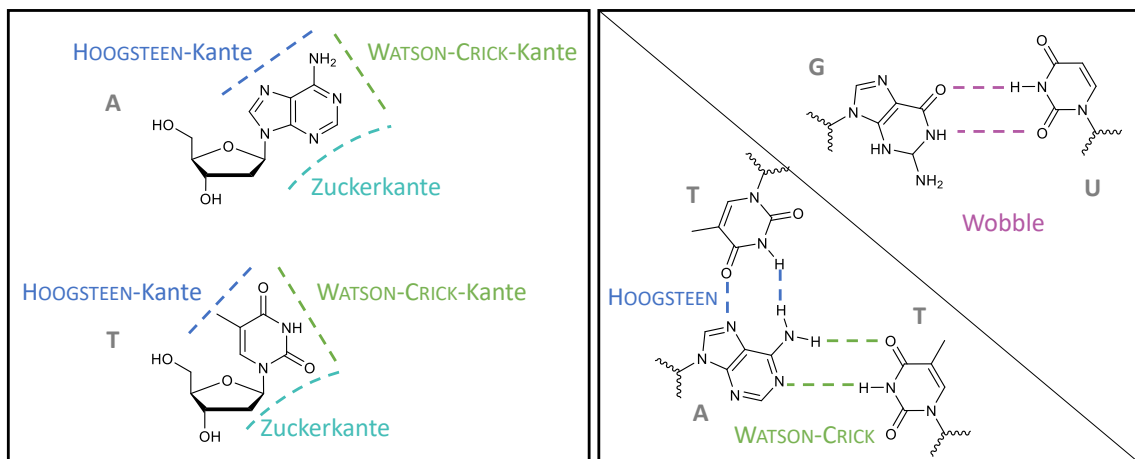


Abbildung 5 Die Interaktionskanten der Purin- und Pyrimidinbasen am Beispiel A und T (**links**), sowie die daraus resultierende WATSON-CRICK oder HOOGSTEEN-Basenpaarung (**rechts, unten**). Die bei RNA wichtige Wobble-Basenpaarung am Beispiel G und U (**rechts, oben**).

Die Assemblierung einzelner Nukleoside ermöglicht eine höhere Flexibilität aufgrund der Abwesenheit eines strukturgebenden Rückgrats. Dies lässt mehr Interaktionen zwischen den Nukleobasen zu, was durch die Unterteilung jeder Nukleobase in drei Kanten berücksichtigt wird. Dabei unterscheidet man in die WATSON-CRICK-Kante, die HOOGSTEEN-Kante und die Zuckerkante. Eine Basenpaarung zwischen den Nukleosiden kann an jeder Kante stattfinden, sodass sich unter Berücksichtigung einer *cis/trans*-Orientierung der Zuckerreste zwölf Struktur motive für eine Basenpaarung ergeben.^[35, 40]

2.2 Photophysikalische Prozesse eines Lichtsammelsystems

Ein genaues Verständnis über die photophysikalischen Abläufe innerhalb eines Lichtsammelsystems ist für dessen Aufbau und geplanten Einsatz unabdingbar. Nach der Absorption von Photonen agieren die beteiligten Chromophore entweder als Donor (D) oder als Akzeptor (A). Zwischen diesen Paaren können verschiedene Transfermechanismen parallel stattfinden, wobei grundlegend zwischen Energietransfer (EnT) und Ladungstransfer (LT) differenziert wird.^[41, 42] Die Entscheidung, welcher Prozess dominiert, lässt sich unter anderem über die Abstände und Orientierung der Chromophore zueinander steuern. Ein exakter Aufbau dieser Architekturen auf Basis von DNA nutzt dabei deren programmierbare Struktur, um diese Wechselwirkungen zu kontrollieren.^[41-43]

2.2.1 Energietransferprozesse

Der bekannteste Vertreter ist der FÖRSTER-Resonanzenergietransfer (FRET). Er wurde nach dem deutsche Chemiker THEODOR FÖRSTER benannt und beschreibt den strahlungslosen Energietransfer aufgrund von Dipol-Dipol-Wechselwirkung, wie in **Abbildung 6** zu sehen.^[10, 44]

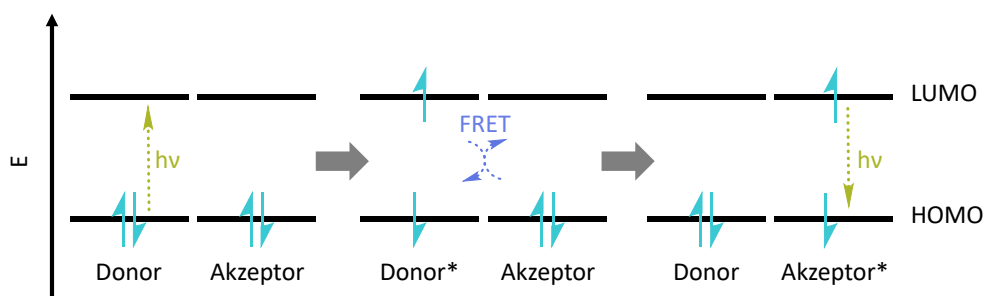


Abbildung 6 Schematische Darstellung des Försterresonanzenergietransfers (FRET) zwischen den beteiligten Grenzorbitalen von Donor und Akzeptor.

Im energetischen Grundzustand des Donor-Akzeptor Dimers (**links**) liegen die beiden beteiligten HOMO (*highest occupied molecular orbital*) vollbesetzt vor. Nach Anregung des Donors in den energiereicheren Singulettzustand S_1 liegt jeweils ein Elektron in dessen HOMO und LUMO (*lowest unoccupied molecular orbital*) vor, während der Akzeptor nicht beeinflusst wird (**Mitte**). Durch Energietransfer relaxiert der Donor wieder in seinen Grundzustand S_0 , während der Akzeptor in den angeregten Zustand S (**rechts**) überführt wird.^[45] Dieser Übergang findet als reiner Singulett-Singulett-Transfer unter Einhaltung des Gesamtspins statt. Handelt es

sich bei dem Akzeptor ebenfalls um ein Fluorophor wird bei Abnahme der Donoremission ein gleichzeitiger Anstieg der Akzeptorfluoreszenz beobachtet.^[44, 46]

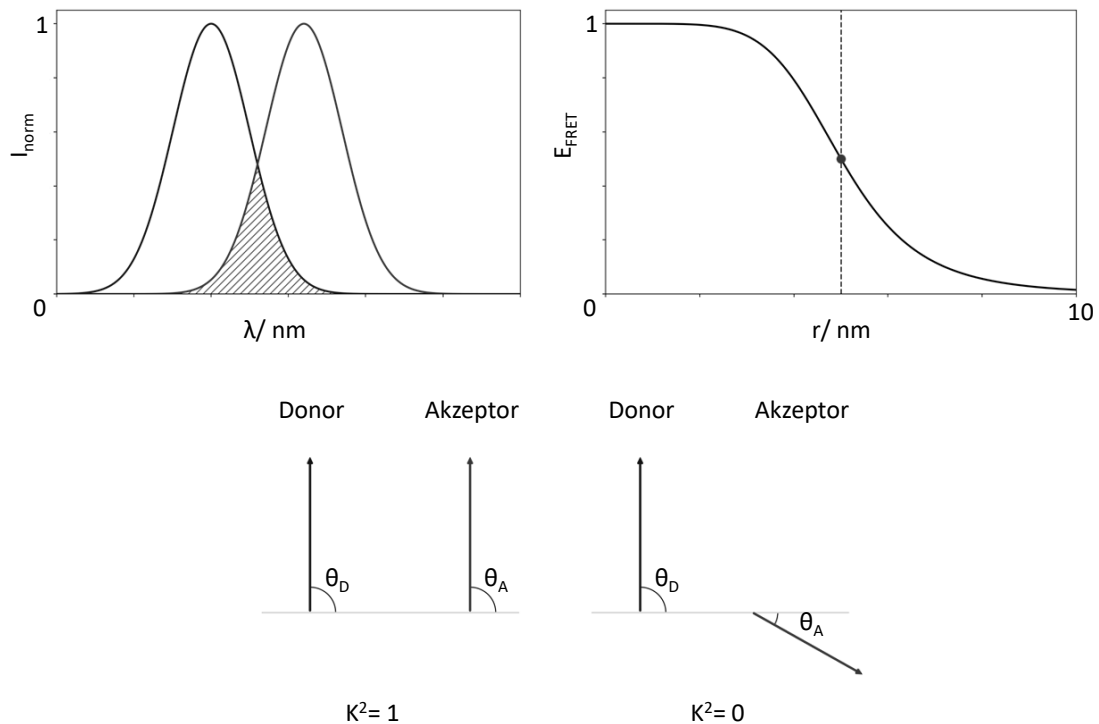


Abbildung 7 Übersicht der Einflussfaktoren des FÖRSTER-Resonanzenergietransfers (FRET): Überlappungsintegral J (schraffiert) zwischen der Emission des Donors und der Absorption des Akzeptors (**oben, links**), Distanzabhängigkeit des Energietransfers E_{FRET} (**oben, rechts**) mit FÖRSTER-Radius R_0 (gestrichelte Linie) sowie die Orientierungsabhängigkeit der Dipole in paralleler ($\vec{D} \parallel \vec{A}$) und orthogonaler ($\vec{D} \perp \vec{A}$) Ausrichtung mit den Faktoren κ^2 (**unten**).¹

Für einen effizienten Transfer müssen der Emissionsbereich des Donors und der Absorptionsbereich des Akzeptors überlappen. Das gebildete Überlappungsintegral J wirkt sich dabei proportional zur Effizienz des Energietransfers aus^[46] und kann im Wesentlichen durch die Wahl der Chromophore beeinflusst werden.

¹ **Abbildung 7** erstellt unter Verwendung von KI-generiertem Material durch Google Gemini. Lizenz: CC BY SA 3.0

Des Weiteren zeigt die FRET-Effizienz eine Distanzabhängigkeit zwischen Donor und Akzeptor.

Die distanzabhängige Effizienz E_{FRET} folgt **Gleichung 1**:

$$E_{FRET} = \frac{1}{1 + \left(\frac{r}{R_0}\right)^6} = 1 - \frac{F_{DA}}{F_D} \quad \text{Gl. 1}$$

wobei r der Abstand zwischen Donor und Akzeptor, R_0 der FÖRSTER-Radius (r bei $E_{FRET} = 50\%$) F_{DA} die Fluoreszenzintensität des Donors in Anwesenheit des Akzeptors und F_D die Fluoreszenzintensität des Donors in Abwesenheit des Akzeptors ist. Bei Distanzen über $r = 10$ nm findet kein FRET mehr statt.^[44, 46] Aufgrund der zugrundeliegenden Wechselwirkung zwischen den Dipolmomenten von D und A, hat deren Orientierung zueinander einen Einfluss auf den Energietransfer E_{FRET} . Dies wird durch den Orientierungsfaktor κ^2 ausgedrückt und folgt **Gleichung 2**:

$$E_{FRET} \propto \kappa^2 = (\cos \theta_{DA} - 3 \cos \theta_D \cos \theta_A)^2 \quad \text{Gl. 2}$$

wobei θ_{DA} der Winkel zwischen Donor- und Akzeptordipol, θ_D der Winkel zwischen Donordipol und der Ebene sowie θ_A der Winkel zwischen Akzeptordipol und der Ebene ist. Je nach Ausrichtung der Dipolmomente nimmt der Orientierungsfaktor κ^2 Werte zwischen 0 ($\vec{D} \perp \vec{A}$) und 4 ($\vec{D} \parallel \vec{A}$) an.^[44, 46]

Als Bindeglied zwischen reinem Energie- und Ladungstransfer kann der DEXTER-Prozess in **Abbildung 8** verstanden werden.^[47]

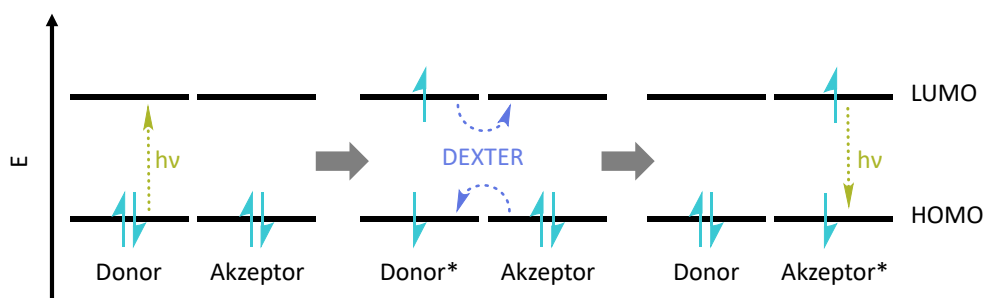


Abbildung 8 Schematische Darstellung des DEXTER-Transfers zwischen den beteiligten Orbitalen von Donor und Akzeptor.

Dieser basiert auf dem simultanen Austausch zweier Elektronen durch direkte Überlappung der Grenzorbitale von Donor und Akzeptor.^[47] Nach Anregung des Donors kommt es zur Besetzung seines LUMOs mit einem Elektron. Dieses migriert weiter in das LUMO des Akzeptors, wodurch es zu einem strahlungslosen Energietransfer kommt. Das gebildete Elektronenloch im HOMO

des Donors wird durch ein Elektron aus dem HOMO des Akzeptors gefüllt. Die Reichweite ist aufgrund der notwendigen Orbitalüberlappung auf 1-2 nm begrenzt. Der DEXTER-Prozess setzt damit eine unmittelbare räumliche Nähe, beispielsweise durch Stapelung zwischen direkt benachbarten Chromophoren voraus.^[47] Da der DEXTER-Mechanismus nicht auf einer Wechselwirkung zwischen den Dipolen basiert, ist dieser nicht auf Singulettzustände begrenzt und ermöglicht im Gegensatz zum FRET einen Triplett-Triplett-Energietransfer (TTET).^[47] Dieser Prozess ist wiederum die physikalische Grundlage für die Photonen-Aufkonversion (*photon upconversion*), bei der durch Fusion von zwei angeregten Triplettzuständen ein höherliegender Singulettzustand populierte wird. Damit kann niederenergetisches Licht ($\lambda > 800$ nm) in höherwertige UV-Vis Spektralbereiche verschoben werden.^[48, 49]

2.2.2 Ladungstransferprozesse

Nach Anregung eines Donor-Akzeptor-Systems kann es zur Bildung von ladungstrennten Zuständen kommen, wobei die freiwerdende Ladung innerhalb einer Gerüststruktur, wie z.B. DNA, transportiert wird.^[50] Dieser Prozess wird als photoinduzierter Elektronentransfer (PET) bezeichnet.^[45] Hierbei werden zwei mögliche Transferprozesse unterschieden: der oxidative Lochtransfer und der reduktive Elektronentransfer.^[50-53] Zu Beginn konzentrierte sich die Forschung aufgrund der biologischen Relevanz ausschließlich auf den oxidativen Ladungstransfer.^[54, 55] Bei diesem Mechanismus wird nach Anregung des Donors ein Elektron in dessen HOMO aufgenommen. Dieses stammt aus dem HOMO des Akzeptors. Bei einem reduktiven Elektronentransfer wird nach Anregung des Donors ein Elektron aus dessen LUMO an den Akzeptor übertragen. In beiden Fällen handelt es sich somit um Elektronentransferprozesse.^[51]

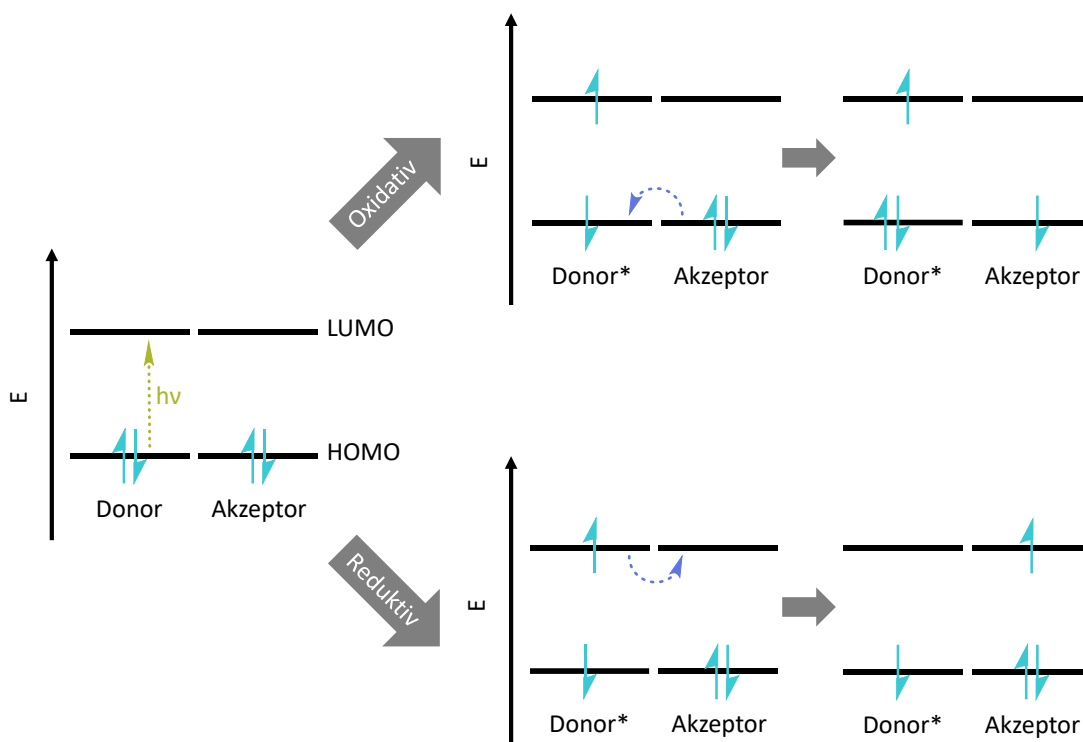


Abbildung 9 Schematische Darstellung des oxidativen Lochtransfers (**oben**) und des reduktiven Elektronentransfers (**unten**) zwischen dem angeregten Donor und Akzeptor.

Zuerst wurde angenommen, dass die intervenierenden Nukleobasen am Transfer unbeteiligt bleiben und die Ladung nur auf Donor und Akzeptor lokalisiert ist. Der zugrundeliegende Transfermechanismus wird als Superaustausch bezeichnet, wobei die DNA-Struktur als Brücke verstanden werden kann.^[51] Dieser Mechanismus kann jedoch nicht den Transport von Ladungen über größere Distanzen innerhalb einer Sequenz erklären.^[56, 57] Aufgrund der Oxidationspotentiale der Nukleobasen $E_{ox}(G/G^+) < E_{ox}(A/A^+) < E_{ox}(C/C^+) \approx E_{ox}(T/T^+)$ wurde von JORTNER *et al.* ein *G-Hopping* Mechanismus vorgeschlagen, der mittels intermediären Guaninradikalkationen die Ladung schrittweise transportiert.^[54, 58]

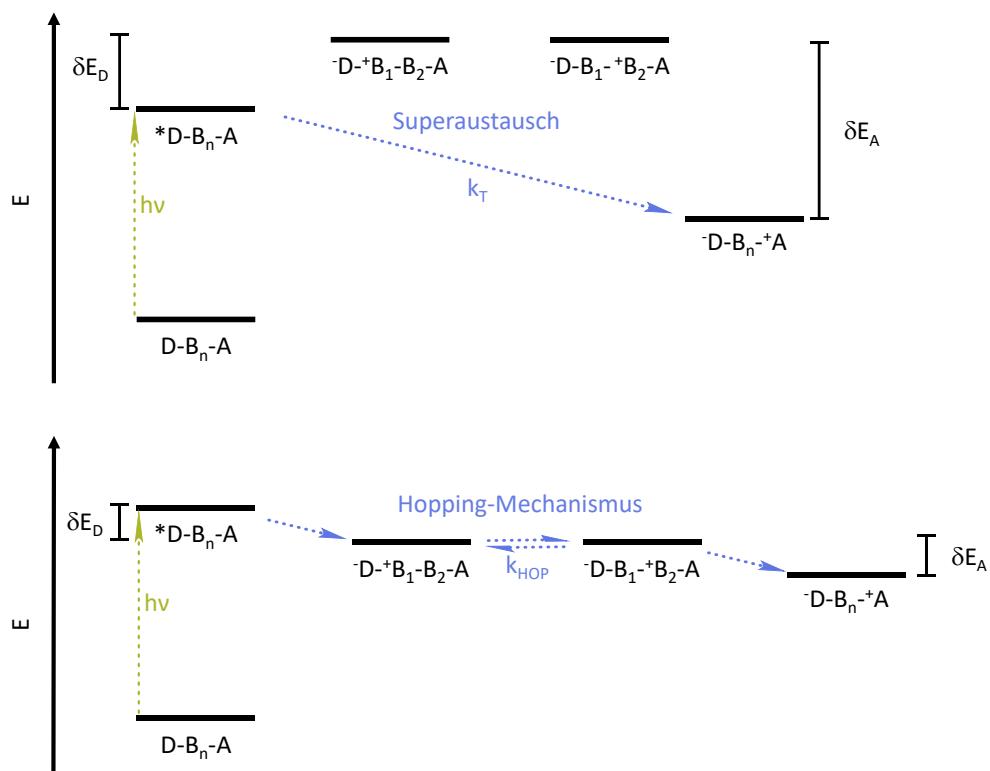


Abbildung 10 Schematische Darstellung des oxidativen Ladungstransfers zwischen angeregtem Donor (D) und Akzeptor (A) innerhalb einer DNA über den Superaustausch (**oben**) sowie der alternative *Hopping*-Mechanismus über Guanin- oder Adeninradikalkationen (**unten**).

Später zeigten BARTON *et al.*^[59-61], SCHUSTER *et al.*^[62, 63], GIESE *et al.*^[57, 64, 65] und SAITO *et al.*^[66, 67] dass ein Ladungstransport auch in AT-Sequenzen stattfindet. Diese Beobachtung führte zur Ergänzung mit dem *A-Hopping*-Mechanismus.

2.3 DNA-Chromophor-Architekturen

Aufgrund ihrer doppelhelikalen Struktur bietet DNA eine einzigartige repetitive Geometrie, die auf den kooperativen Wechselwirkungen zwischen den Nukleobasen und der selektiven Basenpaarung basiert. Diese strukturelle Planbarkeit ermöglicht es, Farbstoffe an genauen Positionen mit definierter Orientierung zu verankern. So lassen sich sowohl der Abstand entlang der Helixachse als auch der Winkel zueinander mit einer Präzision steuern, die kaum eine andere molekulare Architektur erreicht. Dadurch kann eine Vielzahl an Chromophoren räumlich nah angeordnet werden, ohne einen negativen Einfluss, wie z.B. aggregationsinduzierte Fluoreszenzlöschung, zu provozieren.^[68, 69] Dies stellt die Grundlage für effiziente artifizielle Lichtsammelsysteme dar.^[14]

Aufgrund der genannten Vorteile ist ein Zugang zu modifizierten Oligonukleotiden von großem Interesse für zahlreiche Forschungsdisziplinen. Im folgenden Kapitel werden nicht-kovalente und kovalente Strategien zum Aufbau von DNA-Chromophorstrukturen erläutert.^[22, 70]

2.3.1 Nicht-kovalente Chromophor-DNA-Systeme

Die Ausbildung nicht-kovalenter Chromophor-DNA-Systeme erfolgt auf unterschiedliche Weise.^[22] Zentrale Bindungsmotive stellen dabei die Interkalation in den Basenstapel sowie die Anlagerung in die außenliegenden Furchen des DNA-Duplex dar.^[22] Beispiele hierfür sind die kommerziellen Farbstoffe Ethidiumbromid^[71], SYBR GREEN I^[72] oder HOECHST 33342^[73], die als Fluoreszenzsonden in der optischen Spektroskopie verwendet werden. Durch elektrostatische Wechselwirkungen stehen kationischen Spezies, wie beispielsweise Kristallviolett am negativ geladenen Phosphatrückgrat ein weiteres Bindungsmotiv zur Verfügung.^[74]

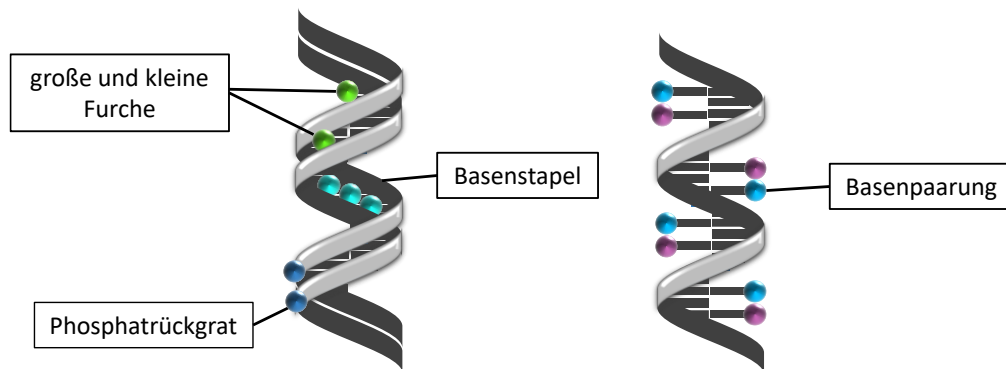


Abbildung 11 Ausbildung von nicht-kovalenten Chromophor-DNA Systemen über verschiedene Bindungsmotive an einem Doppelstrang (**links**) und über eine sequenzspezifische Basenpaarung am Einzelstrang (**rechts**).

ALBINSSON *et al.* publizierten eine Anwendung des interkalierenden **YO-PRO1** im Rahmen eines selbstassemblierten Lichtsammelsystems. Initial wurde ein an 5-Position modifiziertes Thymidin in einen DNA-Strang eingebaut und mit einem komplementären Strang hybridisiert. Die Modifikation, welche aus einem flexiblen Linker und einer terminalen Porphyrineinheit besteht, liegt dabei nicht innerhalb des Duplexes. Bei Anwesenheit von Liposomen migriert der hydrophobe Porphyrinzyklus aus der wässrigen Lösung in deren Doppelmembran. Durch diesen Assemblierungsprozess werden die Duplexe auf der Oberfläche der Liposomen verankert. Durch die Interkalation von **YO-PRO1** in den Duplex wird ein effizientes Lichtsammelsystem generiert, wobei die Energie durch die genaue Positionierung der Donorfarbstoffe auf den Porphyrinakzeptor übertragen wird. **YO-PRO1** dient dabei als Antennenpigment, das die absorbierte Energie über FRET zu einem örtlich getrennten Reaktionszentrum in die Lipidschicht transportiert.^[75] Bei einem Verhältnis von 20:1 zwischen **YO-PRO1** und Porphyrin konnte ein Maximum des Absorptionskoeffizients von $260000 \text{ mol/L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ erreicht werden. Dies entspricht einem 31-fachen Anstieg der Absorption im Vergleich zu **YO-PRO1** aufgrund der kooperativen Wechselwirkungen im Lichtsammelsystem.^[75]

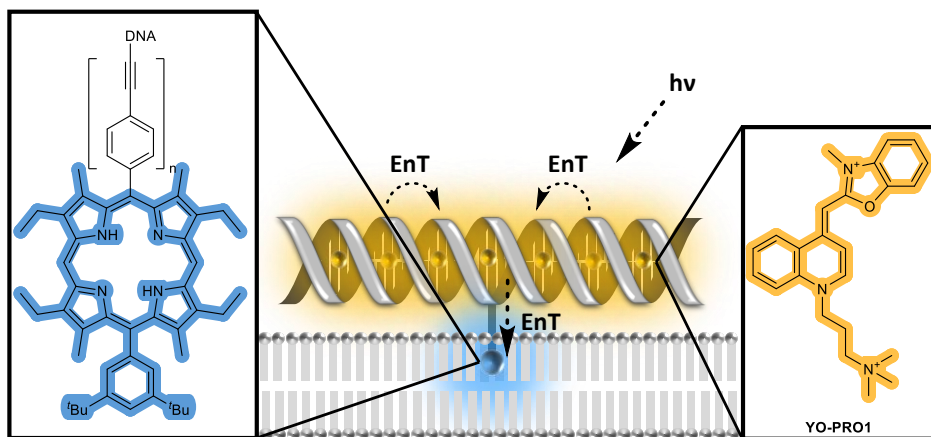


Abbildung 12 künstliches Lichtsammelsystem auf Basis eines DNA-Duplexes mit interkaliertem **YO-PRO1** (rechts), welcher über einen Porphyrinanker (links) in einer Lipidmembran verankert ist.

Die Anlagerung und Interkalation sind dabei nicht nur auf Chromophore beschränkt. In den vergangenen Jahrzehnten wurden unterschiedliche Substanzklassen in Kombination mit Oligonukleotiden untersucht. Beispiele hierfür sind Anthracyclinderivate^[76, 77] wie Doxorubicin^[76] oder Daunorubicin^[76], die in der Krebstherapie zum Einsatz kommen und Goldnanopartikel zur Ausbildung molekularer Drähte.^[78]

BARTON *et al.* zeigten die Interkalation des Rutheniumkomplexes $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ in verschiedene Doppelhelices. Dabei zeigt sich eine ausgeprägte Emission bei $\lambda=632\text{ nm}$, des ansonsten nicht lumineszenten Komplexes in wässriger Lösung. Diese Beobachtung ist auf den dppz-Liganden zurückzuführen, der durch Einbettung in den Duplex vom umgebenden wässrigen Medium abgeschirmt wird. Die strahlungslose Relaxation des angeregten Komplexes wird dadurch unterbunden und es kommt zur beobachteten Emission. Ableitend aus diesen Beobachtungen wurde der Begriff „DNA Light-Switch“ für diese Komplexart etabliert.^[79-81]

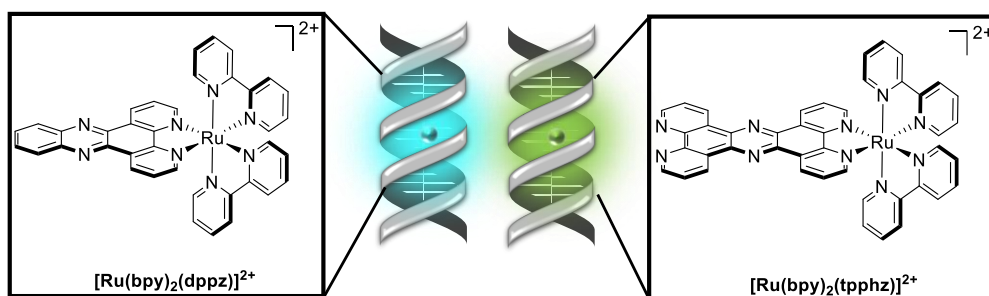


Abbildung 13 Strukturen der „DNA Light-Switch“ Komplexe $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ (links) und $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{tpphz})]^{2+}$ (rechts).^[80, 81]

Eine verbesserte Steuerung der Emissionseigenschaft wurde durch die Verwendung eines tpphz-Liganden durch LIU *et al.* erreicht.^[80] Die Phosphoreszenz des Komplexes nach Interkalation in den Duplex konnte durch divalente Übergangsmetallkationen (Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+}) abgeschaltet werden. Dieser Prozess ist durch Bindung der Metallkationen mittels EDTA reversibel.^[72, 80]

Die bis hierhin vorgestellten Ansätze haben eine geringe, bis keine Sequenzspezifität und können somit nicht zur Ausbildung von definierten DNA-Chromophor-Architekturen genutzt werden. Die geforderte Spezifität der zu assemblierenden Monomere kann über die korrekte Basenpaarung ermöglicht werden. Dazu muss das Chromophor mit einem passenden komplementären Baustein wie Nukleobasen, Nukleoside und deren Derivate versehen werden.^[82-84] Während die Selektivität der Assemblierung über die Wasserstoffbrückenbindung be-

stimmt wird, sind hauptsächlich die $\pi\pi$ -Stapelung der Nukleobasen und der hydrophobe Effekt für die Stabilität der Assemblate entscheidend.^[22] Aufgrund der im Vergleich zu kovalenten Bindungen schwachen Wechselwirkungen reagieren die gebildeten Assemblate hochsensibel auf ihre Umgebung. Daher haben Parameter wie Konzentration, Temperatur und Lösungsmittel einen großen Einfluss auf das Gleichgewicht zwischen assembliertem und freiem Zustand.^[85-87]

Experimentelle Erkenntnisse zur sequenzspezifischen Ausbildung von supramolekularen Architekturen wurden erstmals durch SCHENNING *et al.* publiziert. Im Jahr 2009 konnten sie die sequenzspezifische Assemblierung von Naphthalin-Diaminopurin Konjugaten (**Nt-DAP**) entlang eines komplementären T₄₀-Templats zeigen.^[88] Aufgrund der planaren, aromatischen Struktur von Naphthalin werden die gebildeten Assemblate effektiv über $\pi\pi$ -Wechselwirkungen stabilisiert, sodass eine quantitative Besetzung des Templates mit **Nt-DAP** erzielt werden konnte. Ein Beweis für die erfolgreiche Assemblierung lieferten die gemessenen CD-Spektren: Ein positiver COTTON-Effekt des achiralen Naphthalins zeigt, dass die helikale Chiralität des DNA-Templates auf die Assemblate übergeht.^[82]

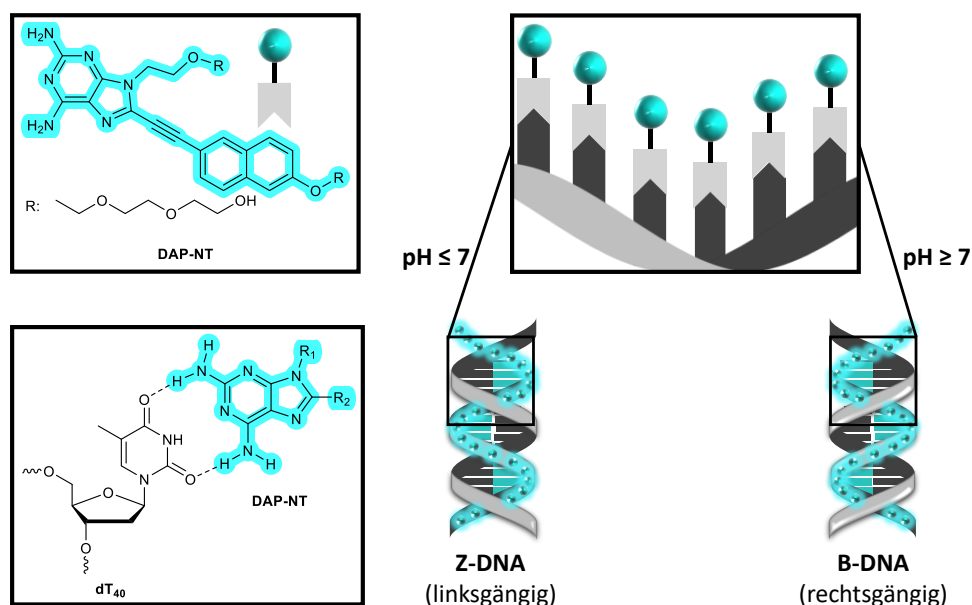


Abbildung 14 Struktur und Assemblierungsverhalten an ein komplementäres DNA Templat von **Nt-DAP (links)** und die pH-Wert abhängige Konformation der gebildeten Assemblate (**rechts**).

Bei der Assemblierung der **Nt-DAP** Konjugate zeigt sich eine ausgeprägte pH-Sensitivität der helikalen Orientierung. Dies ist auf die Protonierung der exocyclischen Aminfunktionen von Diaminopurin zurückzuführen. Liegt ein pH-Wert ≥ 7 vor, bilden die Assemblate eine rechtsgängige Helix entsprechend der B-Konformation aus, während bei einem pH-Wert ≤ 7 eine Z-Konforma-

tion der DNA und somit eine linksgängige Helix vorliegt. In letztgenanntem Fall ist die sterische Hinderung der protonierten Aminfunktionen von DAP erhöht, sodass eine Konformationsänderung und damit eine Erhöhung der Ganghöhe um 1 nm induziert wird.^[24, 88]

Inspiziert durch diese Arbeit untersuchten BALAZ *et al.* den Einfluss der Salzkonzentration und der Abkühlrate während der Assemblierung. Hierbei wurde das gleiche Strukturmotiv wie bei SCHENNING *et al.* verwendet, wobei lediglich das Chromophor zugunsten eines Porphyrins substituiert wurde.^[88-90]

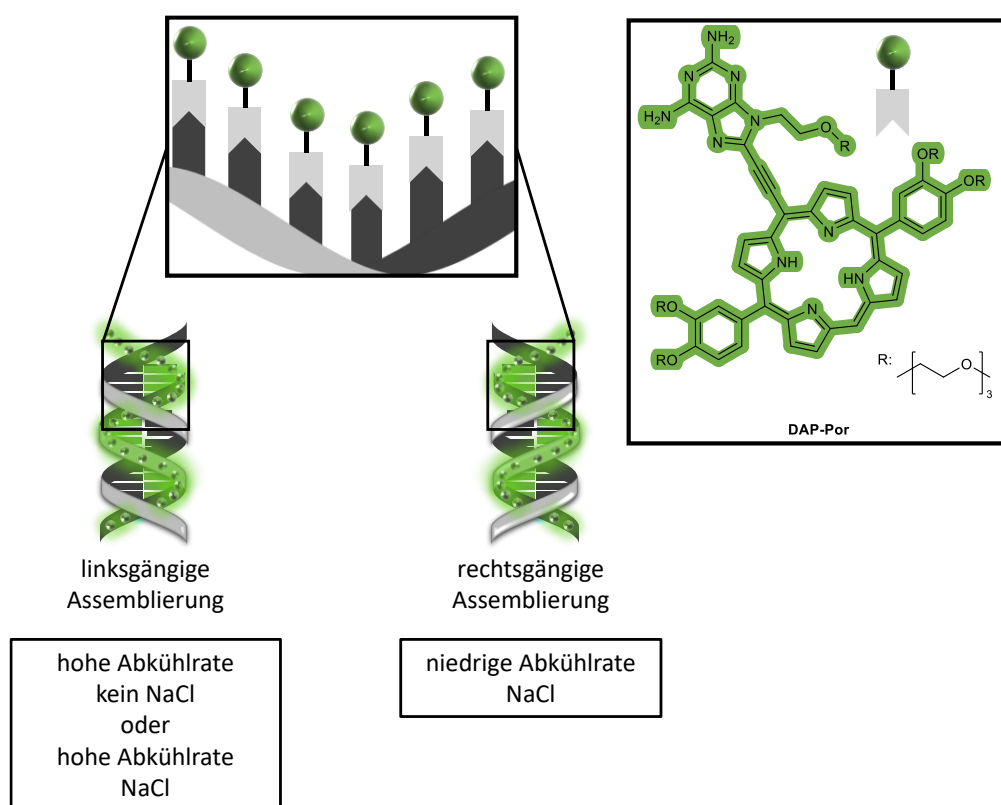


Abbildung 15 Struktur von **DAP-Por** (rechts) und programmierbare Helizität der gebildeten Assemblate (links).

Die Ergebnisse von BALAZ *et al* geben Einblicke in die Steuerung der Helizität durch das umliegende Medium, indem die Assemblate ausgebildet werden. Eine langsame Abkühlrate (0,5 °C/min) führt zur Ausbildung einer rechtsgängigen Helix, während eine schnelle Abkühlrate (≈ 13 °C/min) in der Bildung einer linksgängigen Helix von assemblierten **DAP-Por** resultiert. Beide Resultate werden in Anwesenheit von Natriumchlorid erzielt. Die dabei vorliegende Ionenkonzentration ist ein weiterer Parameter zur Einstellung der helikalen Orientierung.

So zeigt sich eine Umkehrung der Helizität zur linksgängigen Struktur bei niedrigen Abkühlraten in Abwesenheit des Salzadditives.^[89, 90]

Die herausragende Sequenzspezifität der Assemblierung freier Nukleosid-Chromophor Konjugate an komplementäre DNA wurde ebenfalls durch STULZ *et al.* gezeigt.^[83] Dazu wurde magnesiumbesetztes Tetraazaporphyrin (**MgTAP**) kovalent an die 5-Position von 2'-Desoxyuridin geknüpft. Die Assemblierungsversuche an Oligoadenosin (dA) und Oligothymidin (dT) zeigten einen klaren Fluoreszenzanstieg im Fall der Assemblate mit korrekter Basenpaarung. Da in den Proben ohne Templat bzw. in Anwesenheit des nicht komplementären Oligothymidins nur eine geringfügige Fluoreszenz zu detektieren war, konnte hier eine klare Selektivität basierend auf der korrekten Basenpaarung U-A nachgewiesen werden. Aufgrund des sequenzspezifischen Emissionsverhaltens ist eine potentielle Anwendung in der forensischen Analyse von Mikrosatelliten (*short tandem repeats*) denkbar.^[83]

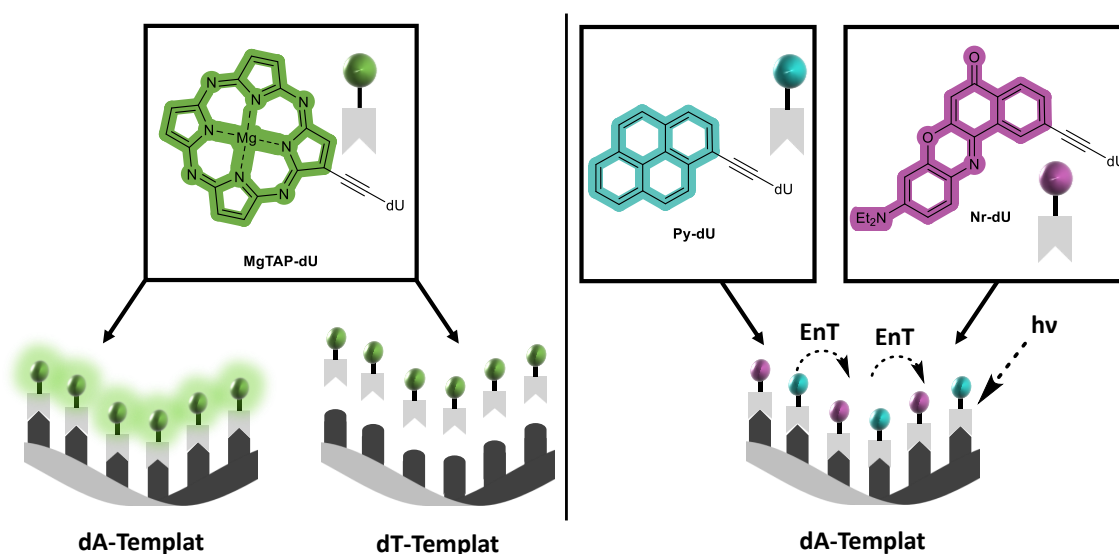


Abbildung 16 Fluoreszenzanstieg von **MgTAP-dU** bei Assemblierung an ein komplementäres dA-Templat (**links**) und gleichzeitige Assemblierung von **Py-dU** / **Nr-dU** sowie der stattfindende Energietransfer (**rechts**).

Im Jahr 2014 publizierten WAGENKNECHT *et al.* Erkenntnisse zur gleichzeitigen Assemblierung von Nilrot- und Pyren-modifizierten 2'-Desoxyuridinen an dA_n und dT_n-Oligonukleotiden.^[84, 91, 92] Beide Konjugate zeigten eine selektive Anlagerung an die komplementären A-Template, wobei **Nr-dU** im Vergleich zum Pyrenanalogon bessere Ergebnisse erzielte. Titrationsexperimente belegen eine quantitative Besetzung des Templats im Fall des Nilrotkonjugats. Es zeigte sich, dass die hydrophoben Monomere im Fall von nicht komplementären T-Templaten bzw. in

Abwesenheit eines Templats aus der Lösung ausfallen und nach Zentrifugation effektiv abgetrennt werden können. Bei den Assemblaten konnte unabhängig vom eingesetzten Farbstoff eine invertierte linksgängige helikale Orientierung mittels CD-Spektroskopie festgestellt werden. Diese Beobachtung steht im Kontrast zu den chromophormodifizierten Oligonukleotiden, die über den kovalenten Einbau mehrere **dU-Py** bzw. **dU-Nr** Nukleoside hergestellt wurden. Ein Vergleich weiterer optischen Eigenschaften zeigte ansonsten vergleichbare Ergebnisse.^[91, 93]

Bei gemeinsamer Assemblierung der Konjugate resultiert eine statistische Mischung, die abhängig vom eingesetzten Verhältnis zwischen **Py-dU** / **Nr-dU** (20:0-0:20) ist. Die generierten Lichtsammelsysteme zeigten interessante optische Eigenschaften. Nach selektiver Anregung des Pyren (**Py**) bei $\lambda = 380\text{nm}$ konnte ein Energietransfer auf Nilrot (**Nr**) beobachtet werden. Durch Vergleich der eingesetzten Verhältnisse konnte ein optimales Assemblierungsverhältnis von 6:14 (**Py-dU** / **Nr-dU**) für den Energietransfer bestimmt werden.^[84, 94] Weitere spektroskopische Untersuchungen zeigen, dass es zusätzlich zu einem Elektronentransfer von Pyren auf Nilrot kommt. In darauffolgenden Arbeiten von WAGENKNECHT *et al.* wurde die **Py-dU** / **Nr-dU** Kombination mit einem fullerenmodifizierten A₂₀-Templat genutzt, um eine photoaktive Schicht für die Anwendung in einer Solarzelle zu generieren.^[95, 96] Hierbei fungiert das 5'-terminale C₆₀-Fulleren als finaler Elektronenakzeptor, wodurch eine externe Quanteneffizienz (EQE) von 0,2% erreicht wurde. Aufgrund der geringen Konzentration des Fullerenakzeptor, kann jedoch ein Großteil der freien Ladung nicht genutzt werden. Daher wurde eine Erhöhung der lokalen Fullerenkonzentration in weiteren Arbeiten von WAGENKNECHT *et al.* angestrebt.^[95] So konnte zum Einen die Konzentration durch eine elektrostatische Bindung des kationischen C₆₀-Fulleren Pyrrolidinium (**C₆₀-Pyr**) an das Rückgrat des A₂₀-Templats erhöht werden, ohne dabei die Assemblierung zu stören. Zum anderen wurde neben **Py-dU** / **Nr-dU** als dritter Baustein **C₆₀-dU₂** entlang eines A₂₀-Templat assembliert. Basierend auf diesen Ansätzen wurde eine Verdopplung des EQE-Wert auf 0,4% erreicht.^[95] Diese Ergebnisse zeigen, das DNA-basierte Lichtsammelsysteme eine Konvertierung von Lichtenergie in ein elektrisches Potential ermöglichen und damit ein Anwendungspotential in der nachhaltigen Energieerzeugung besteht.^[96] Zur Optimierung der erwähnten Energie- und Ladungstransferprozesse setzen solche Systeme eine definierte Struktur voraus. Da beide Konjugate dasselbe Bindungsmotiv nutzen, ist bei diesem Ansatz eine präzise Steuerung der Chromophorabfolge nicht möglich. Durch die Einführung von 2-Amino-2'-des-

oxyadenosin (dAp) als weiteres Strukturmotiv kann der mangelnden Steuerung der Assemblierungsreihenfolge an AT-Templaten Sorge getragen werden.

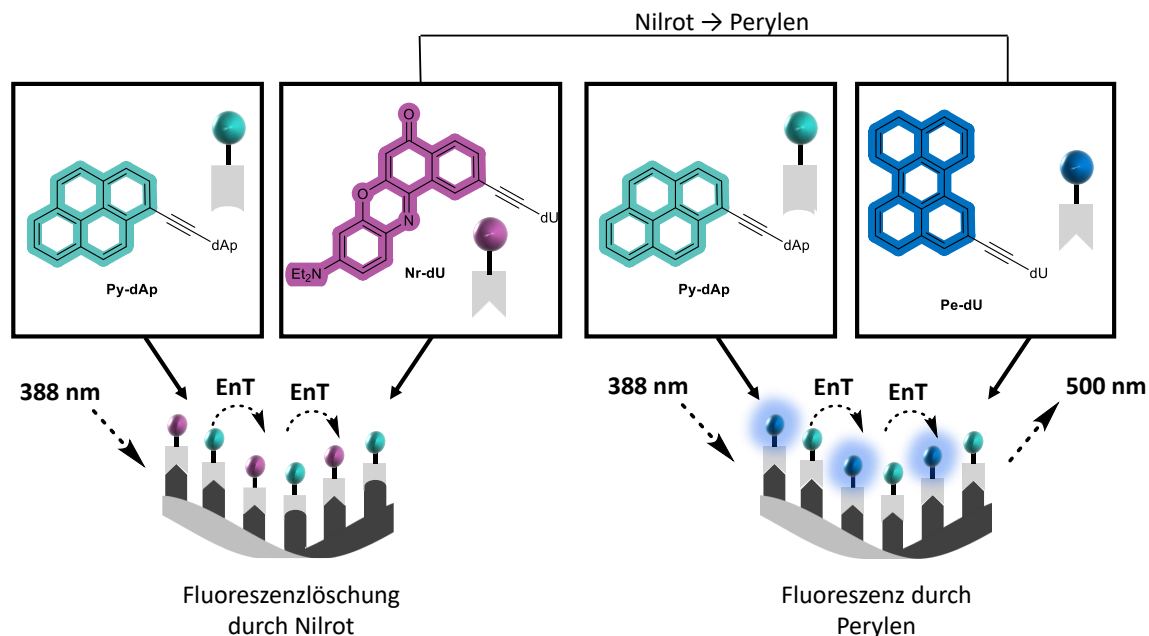


Abbildung 17 Schematische Darstellung der sequenzspezifischen Assemblierung entlang eines AT-Oligonukleotids von **Py-dAp** / **Nr-dU** (links) und **Py-dAp** / **Pe-dU** (rechts), sowie der unterschiedlichen optischen Eigenschaften bedingt durch den Energietransfer zwischen den Chromophoren.

Dadurch wurde erstmals eine orthogonale Anlagerung von zwei Nukleosid-Chromophor Konjugaten an verschiedene AT-Sequenzen durch WAGENKNECHT *et al.* realisiert. Hierbei wurden die Nilrot^[84, 97], Pyren^[84, 98] und Perylen^[98, 99] modifizierten Nukleoside von 2'-Desoxyuridin (dU) und 2-Amino-2'-desoxyadenosin (dAp) verwendet. Durch die zusätzliche Aminfunktion von dAp im Vergleich zu Adenosin bilden sich drei anstelle von zwei Wasserstoffbrücken zum komplementären Thymin aus. Dadurch wird die Selektivität der Assemblierung maßgeblich erhöht. Die Anordnung der verwendeten Chromophore konnte nun durch die Sequenzabfolge der Template definiert werden. Während die **Py-dAp** Assemblate am komplementären T₁₀ eine ausgeprägte Fluoreszenz bei $\lambda = 540\text{nm}$ aufgrund einer Exzimerbildung zeigen, kommt es bei der Assemblierung mehrerer **Nr-dU** Konjugate am A₁₀ zur vollständigen Löschung der Fluoreszenz. Aufgrund der bereits beschriebenen Transferprozesse ist eine Grenzflächenabhängigkeit der Pyrenemission bei Anwesenheit beider Konjugate in gemischten Templaten zu erkennen. Dabei verhält sich die Intensität der Pyrenfluoreszenz umgekehrt proportional zur Anzahl der Grenzflächen n mit Nilrot, das als Fluoreszenzlöcher fungiert. Die Assemblierung an einem [A₁₀T₁₀] Temp-

lat ($n=1$) resultierte in der höchsten Fluoreszenzintensität und nimmt signifikant bei den Templaten $[ATTT]_5$ ($n=5$) und $[AT]_{10}$ ($n=19$) ab.^[69] Die zweite Kombination aus **dAp-Py** und **Pe-dU** zeigte abweichende spektroskopische Ergebnisse unter Berücksichtigung der Grenzflächen. Im Gegensatz zum ersten System wird durch den Energietransfer von Pyren auf Perylen die Fluoreszenz nicht gelöscht. Aufgrund dessen zeigt das $[A_{10}T_{10}]$ Templat ($n=1$) die niedrigste Fluoreszenzintensität und nimmt bei den Templaten $[ATTT]_5$ ($n=5$) und $[AT]_{10}$ ($n=19$) schrittweise zu. Ein gemeinsames Merkmal aller vorgestellten nicht-kovalenten DNA-Chromophor-Systeme ist ihre geringe Stabilität gegenüber kovalent verknüpften Analoga. So besteht ein signifikanter Nachteil im Verlust der strukturellen Information, sobald die Chromophor-Assemblate von Templat getrennt werden. Zur Bewahrung der strukturellen Integrität in Abwesenheit des Templates ist eine kovalente Verknüpfung ein entscheidender Schritt für die Überführung dieser Systeme in die praktische Anwendungen.

Diese Forschungslücke wurden durch BROWN, SAGHEER und TAVASSOLI *et al.* mit einen Ansatz zur kovalenten Ligation mittels CuAAC von assemblierten Oligonukleotiden geschlossen.^[100-106]

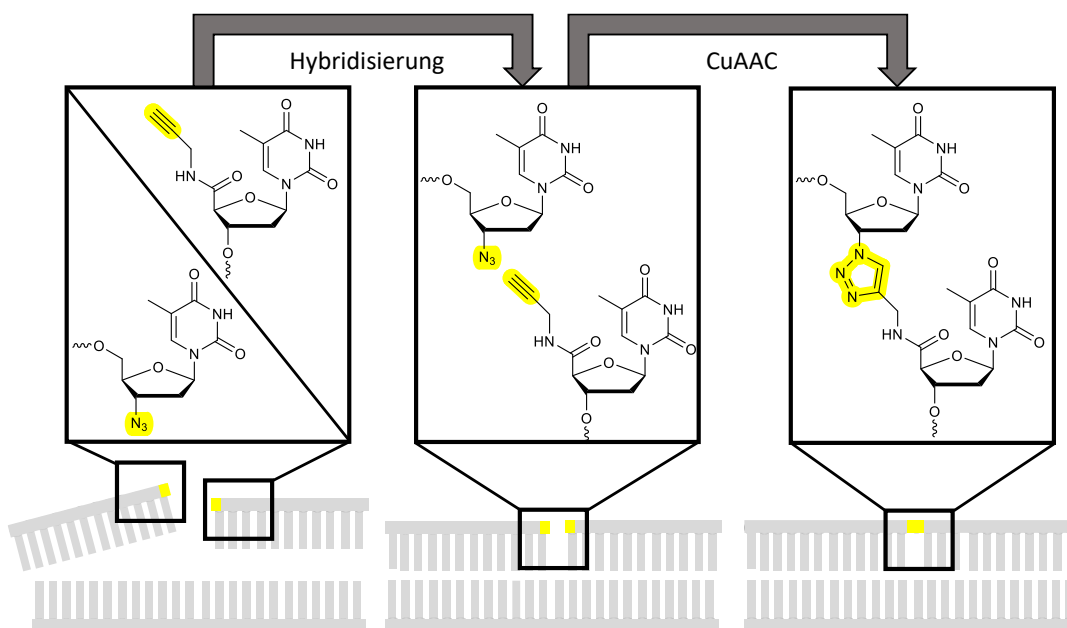


Abbildung 18 Die Hybridisierung von Oligonukleotiden mit Azid- bzw. Alkinmodifikationen an ein komplementäres Templat (**links**) resultiert in der korrekten Orientierung der clickfähigen Termini zueinander (**Mitte**). Nach CuAAC sind beide Oligonukleotide mit einem biokompatiblen Triazolrückenstück verbunden (**rechts**).

In einer von BROWN *et al.* publizierten Arbeit aus dem Jahr 2009 wurden Oligonukleotidfragmente an dem 5'- bzw. 3'-Terminus mit Azid- und Alkinmodifikationen ausgestattet und mittels eines Templats korrekt zueinander ausgerichtet. Eine darauffolgende CuAAC führt zur Ligation der Fragmente durch einen artifiziellen Triazolyllinker. Bemerkenswert ist die Tatsache, dass das artifizielle Rückgrat an der Ligationsposition durch verschiedene Polymerasen akzeptiert und eine Amplifizierung des genutzten Templats mittels PCR möglich ist.^[106]

Zusammenfassend stellen nicht-kovalente DNA-Chromophor Systeme eine vielversprechende Herangehensweise für den Aufbau supramolekularer Lichtsammelsysteme dar. Die Vorteile der Strategie liegen im einfachen Zugang und der hohen Modularität der eingesetzten Monomere. Verschiedene Chromophore können ohne aufwendige chemische Modifikation kombiniert und sequenzspezifisch angeordnet werden. Des Weiteren werden Löslichkeitsbegrenzungen beim Aufbau von Multichromophorsystemen mittels der Festphasensynthese umgangen, womit die angestrebten Systeme deutlich umfangreicher ausfallen können. Unter Verwendung der kovalenten Methode wären vergleichbare Strukturen auf 5-10 Chromophore limitiert und müssten stabil gegenüber den zum Teil harschen Synthesebedingungen sein. Durch den nicht kovalenten Ansatz entfällt somit eine umfangreiche Syntheseplanung, die zeit- und kostenintensive Arbeitsschritte erfordert.^[94, 107] Ein signifikanter Nachteil dieses Ansatzes ist die strukturelle Stabilität: Da die Assoziation lediglich auf nicht-kovalenten intermolekularen Bindungen wie Wasserstoffbrückenbindung und $\pi\pi$ -Wechselwirkungen beruht, ist eine Dissoziation vom Templat bereits durch geringfügige Änderungen des umliegenden Milieus möglich. Dadurch geht die templatvermittelte Sequenzinformation verloren, was die Anwendung solcher Systeme und ihrer optischen Eigenschaften nach aktuellem Stand deutlich einschränkt.^[22, 107]

2.3.2 Kovalente Chromophor-DNA Systeme

Die verbreitetste Methodik zur Herstellung von Chromophor-DNA Systemen ist der kovalente Einbau von Farbstoffen. Ein entscheidender Schritt in der effizienten Synthese von Oligonukleotiden war die Etablierung der Phosphoramiditmethode von CARUTHERS *et al.* im Jahr 1981.^[15, 108-110] Diese hat sich aufgrund hoher Ausbeuten und kurzer Reaktionszeiten zur Standardmethode in der festphasengestützten Oligonukleotidsynthese entwickelt.^[111] Darüber hinaus können Bausteine auch als Phosphotriester^[112, 113] und *H*-Phosphonat^[114-116] in ein Oligonukleotid eingebaut werden.^[117]

Durch programmierte Kupplungsschritte wird die präzise Positionierung der Chromophore innerhalb einer Sequenz ermöglicht. Die dazu notwendigen Bausteine sind heutzutage in einer großen Auswahl kommerziell verfügbar oder können über etablierte Methoden der organischen Chemie hergestellt werden.^[118]

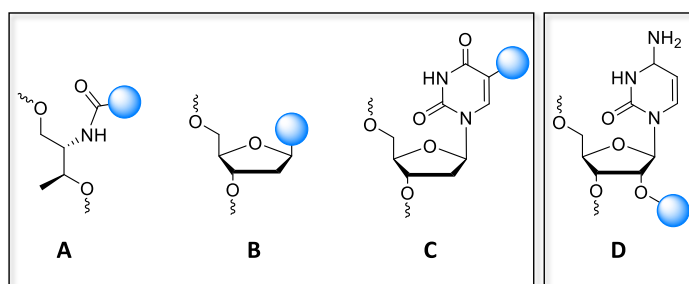


Abbildung 19 Strategien zur Integration von Chromophoren (blau) in Oligonukleotide: **A)** Verwendung azyklischer oder zyklischer Linker (hier: *D*-Threolinol), **B)** Substitution der nativen Nukleobase, **C)** Modifikation der Nukleobase (hier: 2'-Desoxyuridin) und im Fall von RNA durch **D)** Modifikation der 2'-Hydroxygruppe des Zuckers.

In **Abbildung 19** sind die verbreitetsten Methoden zur Anknüpfung der Chromophoren an die zu inkorporierenden Bausteine zu sehen. Diese sind die Substitution des Nukleosids durch einen Linker **A**, die Substitution der Nukleobase **B** und die Modifikation der Nukleobase **C**. Bei RNA ist darüber hinaus noch die Modifikation der 2'-Hydroxylfunktion **D** möglich.

Einbau als Nukleosidsurrogat

Der Einbau eines Chromophors in ein Oligonukleotid geschieht im einfachsten Fall über einen Linker, der das Nukleosid an der gewünschten Position ersetzt. Eine Verwendung von azyklischen Linkern als Surrogate hat mehrere Vorteile. Zum einen sind die in **Abbildung 20** dargestellten Linker synthetisch einfach zugänglich und bieten eine hohe Variabilität der Chromophoranbindung. Durch Änderung der Bindungslänge oder der Konfiguration können Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren und der DNA genau studiert werden. Zum anderen stören sie die helikale Struktur des modifizierten Oligonukleotids geringfügig, sodass die native Konformation erhalten bleibt.^[119, 120]

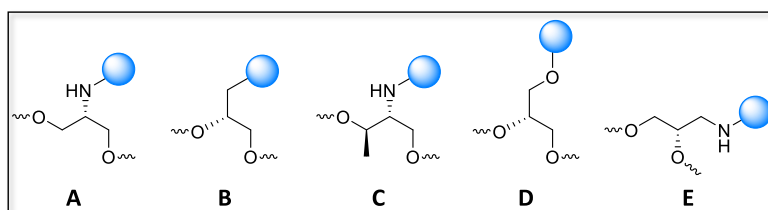


Abbildung 20 Strukturen gängiger azyklischer Linker zur Inkorporation von Farbstoffen (blau) in Oligonukleotide: **A)** S-Serinol, **B)** S-Glykolderivat, **C)** D-Threolinol, **D)** S-Glycerolderivat, **E)** S-Aminopropandiol.

Durch kurze Linker kann eine Interkalation von Chromophoren in den Duplex erzwungen werden.^[121, 122] SEITZ *et al* entwickelten daraus sogenannte *forced intercalation (FIT)-probes*. Aufgrund der definierten Positionierung von Thiazolorange **TO** durch einen kurzen Serinollinker kommt es nach Duplexbildung zur $\pi\pi$ -Stapelung mit den umliegenden Nukleobasen. Dadurch wird die Flexibilität des Chromophors eingeschränkt und eine strahlungsfreie Relaxation zugunsten eines Fluoreszenzanstiegs inhibiert.^[123-126]

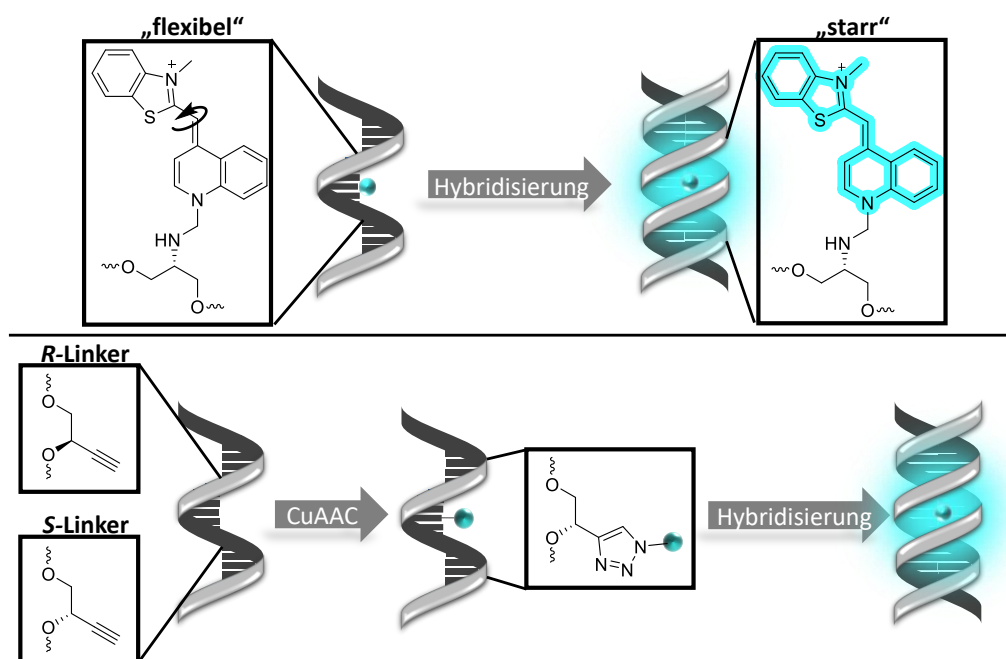


Abbildung 21 Hybridisierungssensitiver Fluoreszenzanstieg (*Light Up*) der Thiazolorange modifizierten FIT-Sonde von SEITZ *et al* (oben) und die R/S-Linker zur modularen postsynthetischen Markierung mittels CuAAC von WAGENKNECHT *et al.* (unten).^[126, 127]

WAGENKNECHT *et al.* entwickelten modulare hybridisierungssensitive Sonden durch Verwendung eines glykolbasierten Alkinlinkers, wie in **Abbildung 21** zu sehen. Die Linker wurden nicht als Phosphoramidite, sondern als *H*-Phosphonate in die Oligonukleotidsequenz eingebaut. Dies liegt darin begründet, dass das freie Elektronenpaar des trivalenten Phosphors im Fall der Phosphoramiditmethode mit der Alkinfunktion reagiert. Durch eine [2,3]-sigmatrope Umlagerung kommt es hierbei zur Bildung eines phosphorylierten Allens.^[128, 129] Die erhaltenen Oligonukleotide wurden postsynthetisch mit einer Auswahl an Cyaninstyrylaziden modifiziert und zeigen hybridisierungssensitive Eigenschaften, die eine potenzielle Anwendung in der Beobachtung zellulärer Vorgänge *in vivo* ermöglichen.^[127] Die notwendige Entfernung zelltoxischer Kupferreste erfolgt durch Waschschrte mit Natrium-EDTA. Eine postsynthetische Markierung mit Chromophoraziden hat den Vorteil, dass der zuvor eingebaute Alkinlinker vielseitig modifiziert werden kann und somit die aufwendige Synthese einzelner Phosphoramidite entfällt. Dadurch können auch Modifikationen eingebracht werden, die die harschen Bedingungen der Festphasensynthese, wie die Veränderung des pH-Wertes und Oxidationsschritte nicht überstehen.^[17, 130-132] ASANUMA *et al.* verwendeten *D*-Threoninollinker zur definierten Positionierung von Pyren und Perylen als Nukleosidsurrogate und untersuchten den FRET in Abhängigkeit von der sequenziel-

len Positionierung.^[133] Durch die Variation an trennenden AT-Basenpaaren ($n = 1-21$) zwischen Pyrenodonor und Perylenakzeptor wurde deren Distanz bzw. Orientierung zueinander eingestellt. Dabei zeigte sich ein deutlicher Abfall der FRET-Effizienz nach 3, 8 bzw. 13 intervenierenden Basenpaaren. Dies ist auf eine ungünstige Orientierung der beiden Farbstoffe zurückzuführen, die in einem periodischen Muster von fünf Basenpaaren auftritt. Bei der vorliegenden B-Konformation entspricht dies einer halben bzw. ganzen Windung der Helix. Das hier beschriebene Verhalten im Rahmen des Zylindermodells zeigt eindrucksvoll die Abhängigkeit des FRETs von der Distanz und Orientierung beider Partner zueinander.^[133, 134]

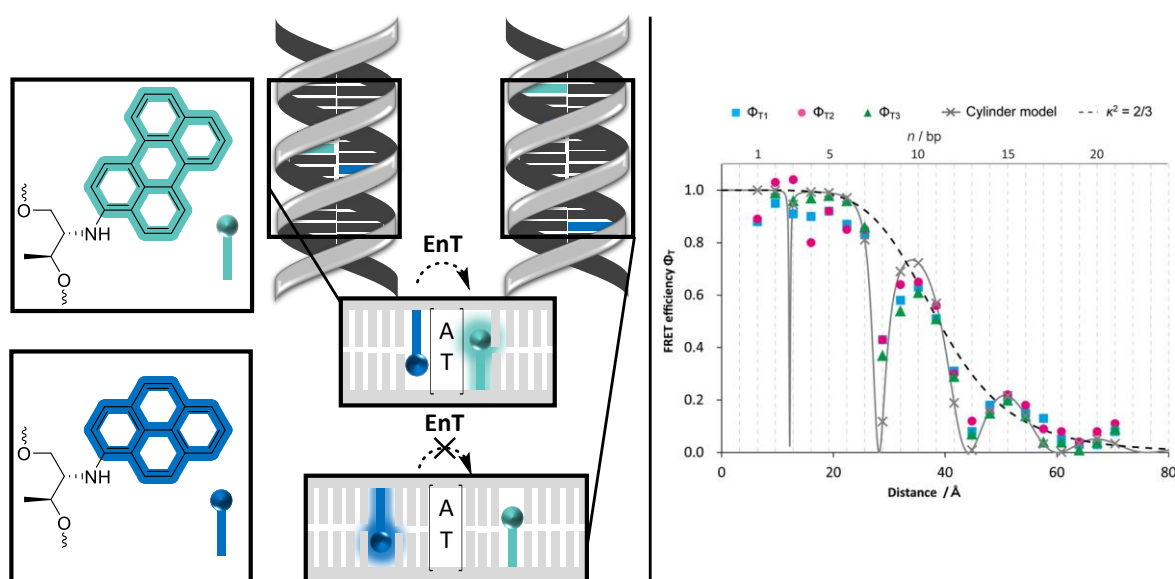


Abbildung 22 Schematische Darstellung der untersuchten DNA-Sequenzen, welche mit Pyren und Perylen modifiziert wurden. Die Oligonukleotide unterscheiden sich in der Anzahl intervenierender AT-Basenpaaren, um die Distanz- und Orientierungsabhängigkeit des Energietransfers zu untersuchen (**links**). Ein Vergleich zwischen stationärer (blau/pink) und zeitaufgelöster Fluoreszenzspektroskopie (grün), sowie theoretischen Werten des Zylindermodells (**rechts**).²

Ähnliche Ergebnisse konnten auch durch WILHELMSSON *et al.* im Jahr 2009 gezeigt werden. Dabei wurden als FRET-Paar Phenoxazin- und Phenothiazinderivate als C-Nukleoside in Oligonukleotide verbaut.^[135]

²**Abbildung 22 (rechts):** Nachdruck mit Genehmigung von [133]T. Kato, H. Kashida, H. Kishida, H. Yada, H. Okamoto, H. Asanuma, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 741-750. Copyright 2013 American Chemical Society
Lizenznummer: 6247700030649, Abrufdatum: 14. April 2026

Einbau als Nukleobasensurrogat

Ein weiteres Strukturmotiv stellt die Substitution der Nukleobase dar. Hierbei werden Chromophore über eine glykosidische Bindung direkt am anomeren C₁-Zentrum des Zuckers gebunden. Vor allem planare, aromatische Modifikationen erhöhen die Duplexstabilität durch $\pi\pi$ -Wechselwirkungen mit benachbarten Nukleobasen.^[22, 27, 136]

KOOL *et al.* konnten durch die Anknüpfung unpolarer Modifikationen zeigen, dass die *H*-Brücken zwischen den Basen nicht den entscheidenden Faktor für die Duplexstabilität darstellen.^[27, 137] Dazu wurden Benzol, Naphthalin, Phenanthren und Pyren als C-Nukleoside an den 5'-Terminus von selbstkomplementären Oligonukleotidsequenzen eingebaut. Im Vergleich zum unmodifizierten Referenzstrang zeigte sich ein Anstieg der Schmelzpunkte T_m mit zunehmendem π -System der Modifikation am 5'-Terminus. Dabei wies das pyrenmodifizierte Oligonukleotid die höchste Schmelztemperatur von $T_m = 64,1^\circ\text{C}$ auf. Dies entspricht einem Anstieg um $\Delta T_m = 23,1^\circ\text{C}$ im Vergleich zur Referenz.^[27]

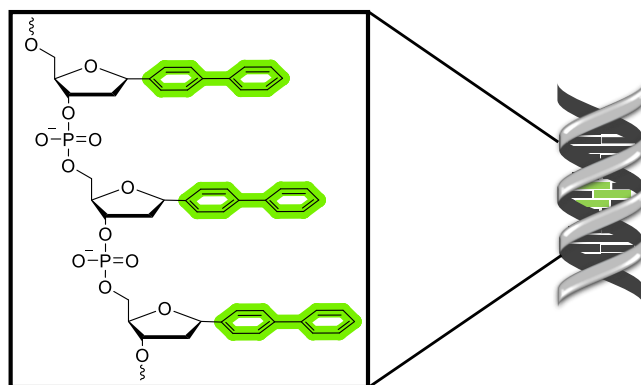


Abbildung 23 Schematische Darstellung eines Biphénylstapels aufgrund von $\pi\pi$ -Stapelung im Inneren eines Duplex.

Später zeigten LEUMANN *et al.* ebenfalls den positiven Einfluss auf die Duplexstabilität durch den Einbau von bis zu vier Biphényleinheiten. Dabei ordnen sich die planaren Biphényle im Inneren des Duplex reißverschlussartig an und erhöhen dessen Schmelztemperatur. CD-Spektren belegen dabei, dass der erhöhte Platzbedarf durch die Chromophorstapel nicht die native Konformation der DNA stört.^[138, 139]

Ein Kompendium zahlreicher Multichromophorsysteme generierten Kool *et al* auf Basis verschiedener chromophormodifizierter Bausteine innerhalb eines Oligonukleotids. Durch Kombination der Chromophore und ihrer Anordnung wurden Oligodesoxyfluoroside (ODF) erhalten. Zuerst wurden vier verschiedene Chromophore verwendet, was in 256 ODFs resultierte.^[140] Diese unterscheiden sich zum Teil deutlich in ihren optischen Eigenschaften von den einzelnen Chromophoren, was den Einfluss der DNA als strukturgebendes Gerüst unterstreicht. Anstatt die Eigenschaften der isolierten Bausteine lediglich zu addieren, agieren die ODFs eher als ein zusammenhängendes, großes Chromophor.^[140]

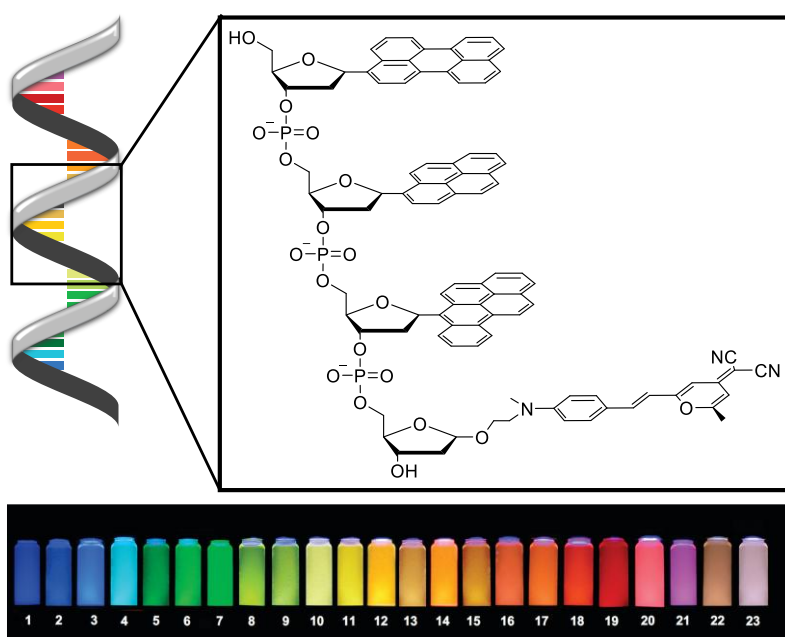


Abbildung 24 Beispielhafte Anordnung von verschiedenen Chromophoren zu einem Oligodesoxyfluorosid (ODF) (**oben**) und die Emissionsfarben von 23 verschiedenen ODFs nach Anregung bei $\lambda_{\text{exc}} = 354 \text{ nm}$ (**unten**).³

Durch Etablierung weiterer Chromophore konnte die Bibliothek schließlich auf 14000 ODFs erweitert werden.^[142] Aufgrund der hohen Modularität dieses Systems kann die Emission über einen breiten Spektralbereich eingestellt werden. So zeigt eine Auswahl von 23 ODFs nach Anregung bei $\lambda = 354 \text{ nm}$ eine Emission über den gesamten visuellen Bereich.

³**Abbildung 24** Nachdruck mit Genehmigung von [141]Y. N. Teo, J. N. Wilson, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 3923-3933. Copyright 2013 American Chemical Society, Lizenznummer: 6250060516730 Abrufdatum: 15. April 2026

Eine möglich Anwendung der ODFs in der zellulären Bildgebung wäre denkbar, da der apparative Aufwand zur Detektion verschiedener Emissionen nach Anregung bei der gleichen Wellenlänge erheblich geringer ist.^[141]

Einbau als Nukleobasenmodifikation

Die Modifikation der Nukleobase stellt eine weitere Möglichkeit dar. Ein großer Vorteil im Vergleich zu den vorherigen Methoden ist die Erhaltung der WATSON-CRICK-Basenpaarung. Dabei ist die Wahl der Modifikationsposition entscheidend: Eine Konjugation an der 5-Position von Pyrimidinen beziehungsweise an der 7-Position von 7-Deazapurinen resultiert in einer nativen *anti*-Konformation. Eine Konjugation an der 8-Position bei den Purinbasen führt zur *syn*-Konformation und die WATSON-CRICK-Basenpaarung wird negativ beeinflusst.^[143-146] Zur Anbringung der Chromophore werden meist kurze Acetylenlinker verwendet. Diese ermöglichen eine elektronische Kopplung mit der Nukleobase, sodass die optischen Eigenschaften der Chromophore beeinflusst werden.^[147] Diese Motive werden meist über palladiumkatalysierte Kreuzkupplungen nach SONOGASHIRA oder SUZUKI-MIYAUURA aufgebaut. Eine direkte Anbindung des Chromophors an die Nukleobase ist ebenfalls möglich, wobei die sterische Hinderung zwischen den Kupplungspartnern einen negativen Einfluss auf die Reaktion haben kann.^[22, 148]

Neben den bereits erwähnten Ergebnissen zur Selbstassemblierung von Porphyrin an DNA, zeigten STULZ *et al.* den Aufbau definierter DNA-Porphyrin-Architekturen über einen kovalenten Ansatz. Die erforderlichen Bausteine wurden durch SONOGASHIRA-Kupplung der ethinylmodifizierten Diphenyl- und Tetraphenylporphyrine an 5-Iod-2'-desoxyuridin erhalten.^[149-151] Durch Inkorporation als Phosphoramidite konnten Oligonukleotide mit bis zu elf Porphyrineinheiten erhalten werden. Aufgrund der definierten Chromophoranordnung wurden sehr stabile Duplexe erhalten, bei denen sich die Porphyrine in die große Furche schieben. Dabei ordneten sich diese in einer reißverschlussartigen Stapelung an, die bereits durch LEUMANN *et al* beschrieben wurde.^[138]

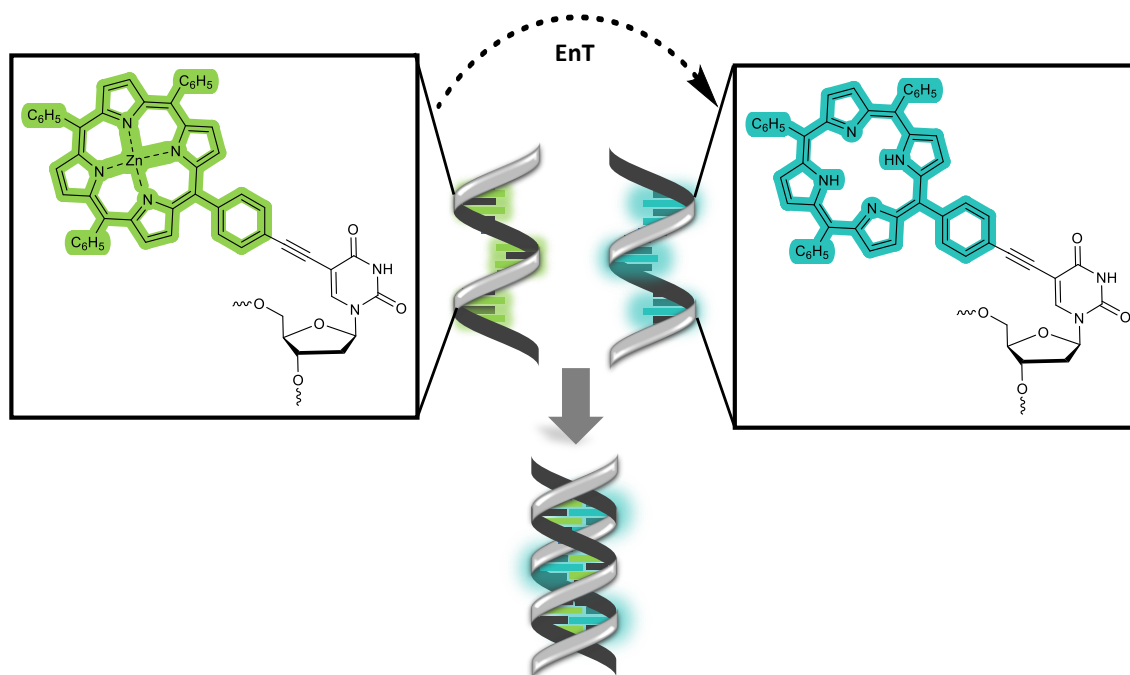


Abbildung 25 Modifizierte Einzelstränge zeigen bei Hybridisierung zum Duplex eine reißverschlussartige Stapelung der zwei Chromophore. Durch räumliche Nähe kommt es zu einem Energietransfer zwischen metallierten (**links**) und unbesetzten Porphyrinen (**rechts**).

Durch Besetzung der Porphyrine eines Einzelstrangs mit Zink konnten gemischte Duplexe erhalten werden. In den alternierenden Stapeln aus metallierten und unbesetzten Porphyrinen konnten Energietransferprozesse durch Änderung der Emissionseigenschaften detektiert werden. Die räumliche Nähe resultiert dabei in einer Fluoreszenzlöschung der metallierten Porphyrine bei gleichzeitigem Fluoreszenzanstieg der unbesetzten Spezies.^[149-151]

Ein weiteres Anwendungsbeispiel von Nukleobasenmodifikationen für den Aufbau von definierten Multichromophorsystemen zeigten WAGENKNECHT *et al.* im Jahr 2015.^[14] Dabei gelang es erstmals ein weißlichtemittierendes Oligonukleotid mit Pyren (**Py-dU**) und Nilrot (**Nr-dU**) modifizierten 2'-Desoxyuridinen herzustellen.^[152] Im Einzelstrang konnte nach selektiver Anregung von **Py-dU** bei $\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$ ein Fluoreszenzanstieg von **Nr-dU** bei $\lambda = 665 \text{ nm}$ aufgrund eines Energietransfers beobachtet werden. Dabei konnte eine Energietransferrate von $k_{\text{ET}} = 5,20 \cdot 10^9 \text{ s}^{-1}$ bestimmt werden. Die Hybridisierung mit einem komplementären Gegenstrang verändert die räumliche Orientierung beider Chromophore zueinander, wodurch der Energietransfer partiell gestört wird. Dies lässt sich in einer Abnahme der Energietransferrate auf $k_{\text{ET}} = 1,70 \cdot 10^9 \text{ s}^{-1}$ quantifizieren. Die Abnahme der Transfereffizienz in Abhängigkeit von der

relativen Orientierung deckt sich mit den von ASANUMA *et al.* beschriebenen Ergebnissen im Rahmen des Zylindermodells.^[133]

Im Doppelstrang zeigte sich daher ein Anstieg der Pyrenemission bei $\lambda = 440$ nm und ein daraus resultierendes Intensitätsverhältnis von $I = 0,96$. Dieses Verhältnis ergibt in der Wahrnehmung eine weiße Fluoreszenzfarbe.^[152] In einer weiteren Studie wurde das Donor-Akzeptor-Paar mit einem perylenmodifizierten 2'-Desoxyuridin (**Pe-dU**) ergänzt. Dadurch wurde die spektrale Lücke zwischen **Py-dU** und **Nr-dU** verringert, um den Energietransfer zu verbessern.^[14] Durch Steuerung der Abstände zwischen den eingebauten Chromophoren konnten die optischen Eigenschaften der Oligonukleotide gesteuert werden. Bei Vorhandensein eines trennenden Adenosins zeigt sich nach Anregung von Pyren $\lambda_{\text{exc}} = 380$ nm eine ausgeprägte Nilrotemission bei $\lambda = 668$ nm, bedingt durch einen Energietransfer über das dazwischengeschaltete Perylen. Durch direkten Einbau der drei modifizierten Bausteine nacheinander, kommt es zu einer vollständigen Löschung der Nilrotfluoreszenz. Grund hierfür ist ein entgegengesetzter Ladungstransfer (LT) der nur bei geringen Abständen abläuft.^[51]

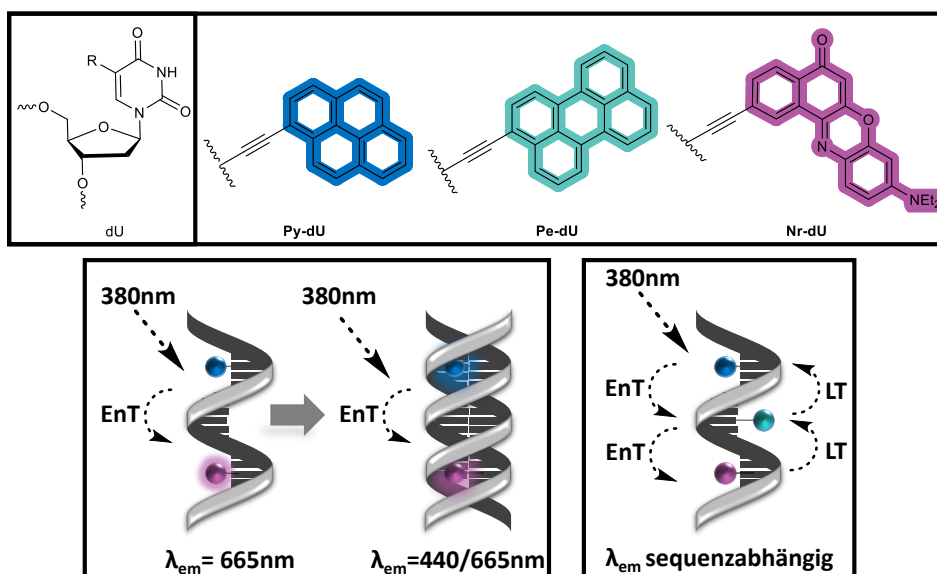


Abbildung 26 Strukturen der pyren-, perylen- und nilrotmodifizierten 2'-Desoxyuridine (**oben**) und die resultierenden Chromophor-Oligonukleotid Systeme (**unten**): Die Kombination von **Py-dU** / **Nr-dU** zum Erhalt einer weißlichtemittierenden DNA (**links**) und eine Ergänzung zum Trichromophorsystem mittels **Pe-dU** (**rechts**).

In Analogie zu den modularen hybridisierungssensitiven Sonden von WAGENKNECHT *et al.* konnten CARELL *et al.* einen Zugang zu Trichromophorsystemen mittels postsynthetischer CuAAC zeigen.^[127, 153]

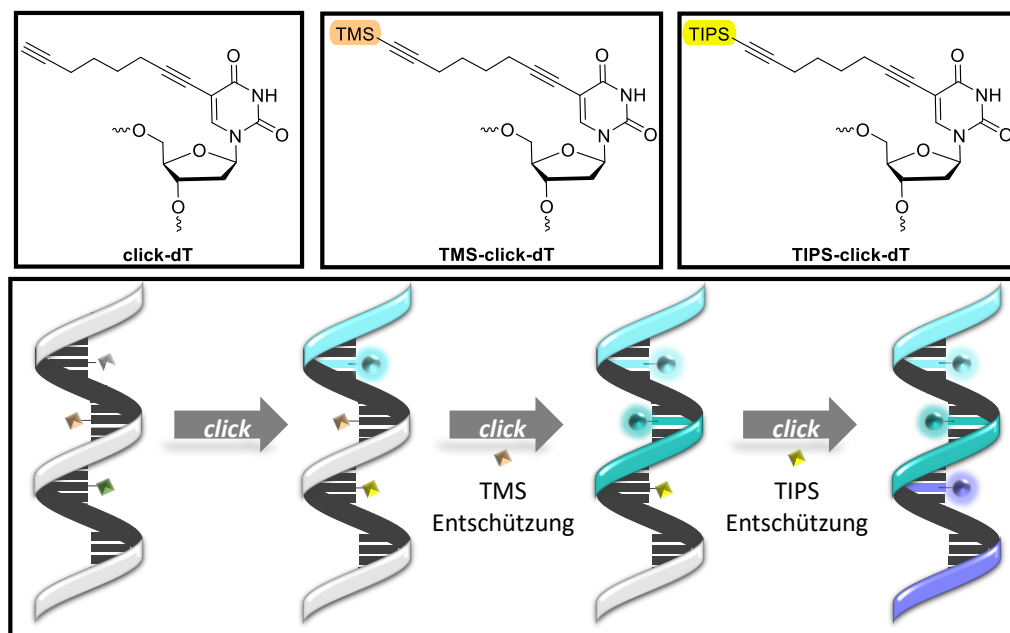


Abbildung 27 Strukturen der clickfähigen Bausteine (**oben**) und Synthesestrategie zum Trichromophorsystem (**unten**) nach CARELL *et al.*

Dabei wurden Oligonukleotide mit bis zu drei orthogonalen Clickpositionen unter Verwendung von 5'-Octadiinyl-2'-desoxythymidin und die mit TMS bzw. TIPS geschützten Analoga hergestellt. Die modulare Synthesemethode basiert auf folgenden Beobachtungen: Nach der Festphasensynthese ist die erste Alkinfunktion des ungeschützten Thymidinderivats direkt zugänglich und kann mit einem ersten Chromophorazid umgesetzt werden. Die TMS-Schutzgruppe des zweiten Bausteins ist stabil unter den Bedingungen der Festphasensynthese und der ersten Clickreaktion. Simultan zur ammoniakalischen Abspaltung des Oligonukleotids von der Festphase wird der TMS-modifizierte Baustein desilyliert, wodurch die zweite Clickposition zugänglich wird. Während der ammoniakalischen Abspaltung des Oligonukleotids und der zweiten Clickreaktion ist das TIPS-geschützte Alkinderivat stabil. Aufgrund der deutlich höheren Stabilität der TIPS-Schutzgruppe erfolgt eine quantitative Entschützung erst durch Zugabe von Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF), wodurch der Zugang zu einer weiteren Alkinfunktion eröffnet wird. Basierend auf dieser Strategie konnten dreifachmodifizierte Oligonukleotide in einer hohen Variabilität und Ausbeute erhalten werden.

3. Ergebnisse und Diskussion

Im ersten Projekt wurde ein Assemblierungsansatz verfolgt, der durch nicht kovalente Wechselwirkungen einen Aufbau von supramolekularen Strukturen ermöglicht. Das zweite Projekt untersucht den Aufbau funktioneller Strukturen über einen kovalenten Ansatz. Die Charakterisierung der erhaltenen DNA-Chromophor-Architekturen wurde im Kontext einer potenziellen Anwendung als artifizielles Lichtsammelsystem durchgeführt.

3.1 Assemblierung zu Chromophor-DNA-Architekturen

Basierend auf den Erkenntnissen von WAGENKNECHT *et al.* zum Aufbau supramolekularer Strukturen wurde in diesem Projekt die Synthese und Anwendung eines clickmodifizierten 5-Pyren-2'-desoxyuridins (**Py-dU-click**) untersucht.

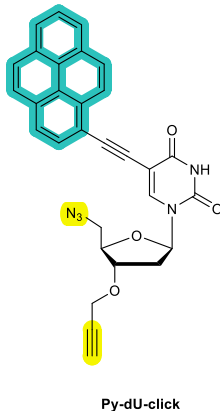
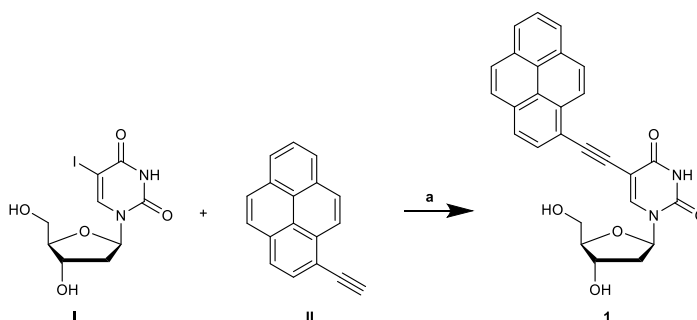


Abbildung 28 Struktur des clickfähigen Derivats von 5-Pyren-2'-desoxyuridin (**Py-dU-click**)

Durch Einführung von clickfähigen Funktionen soll eine Ligation mittels kupferkatalysierter Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) der Assemblate ermöglicht und damit die gewünschten sequenzkontrollierten Architekturen erhalten werden. Nach Abtrennung des strukturgebenden Templats bleibt dadurch die Sequenzinformation vorhanden, was ein entscheidender Fortschritt zum bisherigen Forschungsstand bedeutet.

3.1.1 Synthese clickfähiger Nukleosid-Chromophor Konjugate

Zu Beginn wurde die Synthese des pyrenmodifizierten 2'-Desoxyuridins **1** durchgeführt. Dazu wurde eine SONOGASHIRA-Kreuzkupplung zwischen 5-Iod-2'-desoxyuridin und 1-Ethynylpyren in trockenem DMF nach **Schema 1** durchgeführt.



Schema 1 Synthese des Chromophor-Nukleosid-Konjugats **1**:

a) 0.20 Äq. $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 0.20 Äq. CuI , 1.0 Äq. I/II, 2.50 Äq. NEt_3 , abs. DMF, 60 °C, 21 h.

Nach Ablauf der Reaktion zeigte eine DC-Kontrolle die Bildung mehrere Produkte bei vollständigem Umsatz der Edukte an. Eine Trennung dieser Produkte mittels Säulenchromatografie war nur unzureichend möglich, sodass nur eine geringfügige Menge (< 10mg) von unreinem Produkt **1** isoliert werden konnte. Aus diesem Grund wurde eine Optimierung der Kupplungsreaktion versucht, um die Bildung von Nebenprodukten zu unterbinden und damit die Aufreinigung zu erleichtern. Die Optimierung umfasste verschiedene Reaktionsparameter. So wurde das vorliegende Lösungsmittel, die Art und Beladung des Palladiumkatalysators sowie die Temperatur und die Reaktionszeit variiert. Der vollständige Austausch der Reaktionsatmosphäre wurde durch die Freeze-Pump-Thaw-Methode (F-P-T) sichergestellt. Dabei wurde die Reaktionslösung zu Beginn mit flüssigem Stickstoff eingefroren und durch Anlegen eines Vakuums von der Gasphase befreit. Durch langsames Auftauen der Reaktionslösung im statischen Vakuum wurden gelöste Gase aus der flüssigen Phase ausgetrieben. Die finale Argonbegasung stellte eine hochwertige Reaktionsatmosphäre bereit.

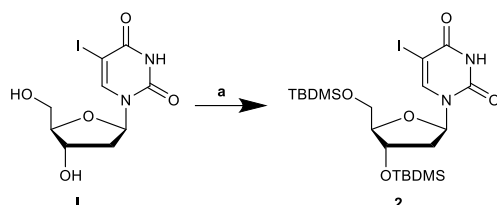
Die Optimierung der genannten Parameter wie in **Tabelle 1** zu sehen, konnte jedoch keine signifikante Verbesserung der erhaltenen Ausbeute und Reinheit erzielen.

Tabelle 1 Optimierung der SONOGASHIRA-Kreuzkupplung zur Synthese von **Py-dU**.

Parameter	Test A	Test B	Test C	Test D
Temperatur	40°C	60°C	60°C	60°C
Katalysator	0.6 Äq. Pd(PPh ₃) ₄ / CuI	0.2 Äq. Pd(PPh ₃) ₄ / CuI	0.2 Äq. PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ / CuI	0.2 Äq. PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ / CuI
Lösungsmittel	DMF/NEt ₃	THF/NEt ₃ (3:1)	NEt ₃	THF/NEt ₃ (3:1)
Entgasung	F-P-T	F-P-T	F-P-T	F-P-T
Zeit	21 h	21 h	8 h	21 h
Änderung	Temperatur ↓ Katalysator ↑ Entgasung	Lösungsmittel Entgasung	Pd-Katalysator Lösungsmittel Entgasung Reaktionszeit ↓	Pd-Katalysator Lösungsmittel Entgasung

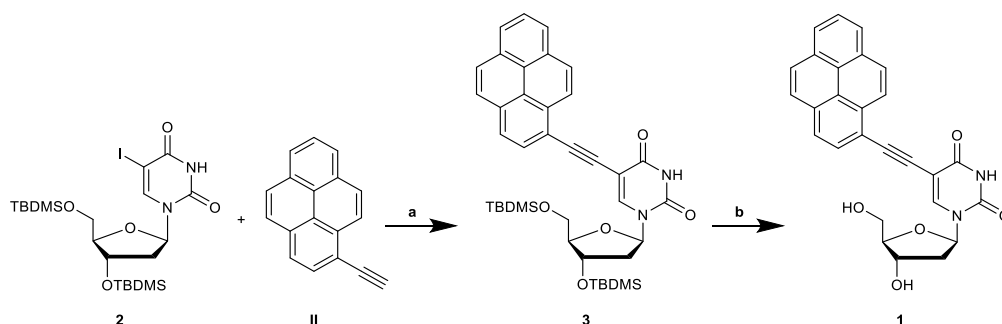
In Übereinstimmung mit früheren Forschungsergebnissen der Arbeitsgruppe WAGENKNECHT zur Synthese ähnlicher Zielverbindungen wurde eine Maskierung der freien Hydroxylfunktionen an der 2'-Desoxyribose als vielversprechend angesehen.^[147] Die Schützung hat mehrere positive Effekte: Zum einen wird die Löslichkeit von **II** in organischen Lösungsmitteln erhöht und zum anderen kann eine mögliche störende Koordinierung der Hydroxylgruppen an den Palladiumkatalysator unterbunden werden.^[148] Des Weiteren soll durch die Absättigung der Hydroxylfunktionen eine einfachere Aufreinigung mittels Säulenchromatografie erreicht werden. Für die temporäre Maskierung wurde die Einführung von *tert*-Butyldimethylsilylgruppen (TBDMS) bevorzugt. Ein entscheidender Vorteil dieser Schutzgruppe ist die milde Abspaltung unter Verwendung von Fluoridquellen, wie Tetrabutylammoniumfluorid (TBAF).^[154] Das Auftreten von sauren, basischen oder oxidierenden Bedingungen, die für die Abspaltung von gängigen Schutzgruppen wie Dimethoxytrityl (DMTr) oder Acetyl (Ac) erforderlich sind, werden dadurch vermieden.^[154-156]

Ausgehend von kommerziell verfügbarem 5-Iod-2'-desoxyuridin **1** wurde in einem ersten Syntheseschritt beide Hydroxylfunktionen nach einer Methode von KOBAYASHI *et al.* (**Schema 2**) silyliert.^[157]



Schema 2 Synthese des geschützten Nukleosids **2**: a) 3.50 Äq. TBDMSCl, 5.00 Äq. Imidazol, abs. DMF, RT, 3 h, 95 %.

Anschließend wurde **2** in einer palladiumkatalysierten Kreuzkupplung nach SONOGASHIRA *et al.* mit Ethinylpyren **II** umgesetzt. Durch Verwendung des geschützten Nukleosids **2** konnte ein deutlicher Anstieg der Ausbeute und eine verbesserte säulenchromatografische Aufreinigung der Zielverbindung **3** festgestellt werden. Durch Entschützung von **3** konnte die angestrebte Verbindung **1** in quantitativer Ausbeute erhalten werden.

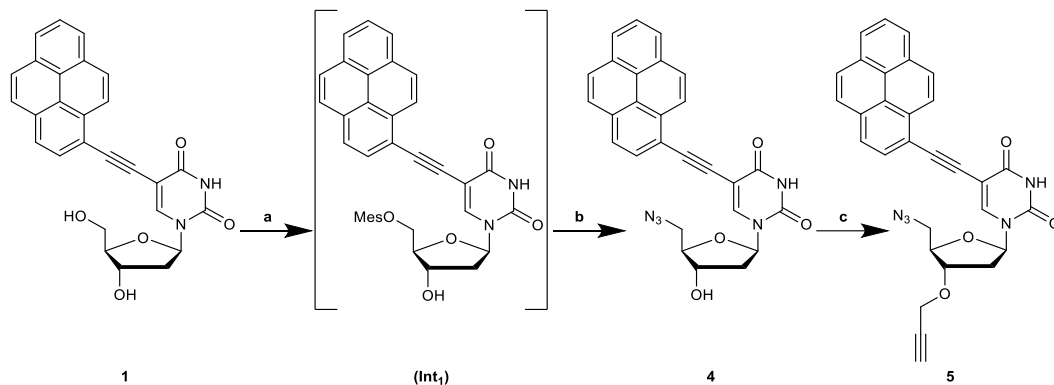


Schema 3 Synthese des dU-Pyren-Konjugats **1**:

a) 0.10 Äq. Pd(PPh₃)₄, 0.50 Äq. CuI, 1.10 Äq. Ethinylpyren, 2.50 Äq. NEt₃, abs. DMF, 60 °C, 18 h, 48 %; b) 6.00 Äq. NEt₃·3HF, RT, 18 h, quant.

Zur nachfolgenden Einführung der Clickmodifikationen wurde in einem ersten Schritt die 5'-Hydroxylfunktion von **1** mit Mesylchlorid verestert. Dadurch wurde die reaktionsträge Funktion in eine gute Abgangsgruppe für die nachgeschaltete Substitution mit Natriumazid überführt. Durch diese Strategie konnte in quantitativer Ausbeute das Azid als erste Clickmodifikation an der 5'-Position eingeführt werden. Im letzten Schritt wurde an der 3'-Position von Verbindung **4** durch Deprotonierung mit Natriumhydrid und anschließender Umsetzung mit Propargylbromid quantitativ eine Alkinfunktion als zweite Clickmodifikation eingeführt. Die clickfä-

hige Zielverbindung **5** wurde mit einer Gesamtausbeute von 36% über sechs Synthesestufen erhalten.



Schema 4 Synthese des clickfähigen dU-Pyren-Konjugats **5**: **a)** 1.00 Äq. Mesylchlorid, abs. Pyridin, RT, 18 h; **b)** 2.00 Äq. NaN₃, abs. DMF, 50 °C, 18 h, 84 %; **c)** 1.00 Äq. NaH, abs. THF, 1.00 Äq. Propargylbromid, 0 °C, 18 h, quant.

Aufgrund mangelnder Stabilität wurden die Produkte **4-5** durch Flüssig-Flüssig Extraktion und kurze Filtersäulen aufgereinigt. Die Anwesenheit von leicht sauren Bedingungen führte zu einer Zersetzung, wobei vermutlich die glykosidische Bindung als Schwachstelle zu identifizieren ist. Bereits bei natürlichen Nukleosiden lässt sich unter Einwirkung von sauren Bedingungen eine langsame Hydrolyse der *N*-glykosidischen Bindung erkennen. Dies ist vor allem bei Adenin und Guanin zu beobachten.^[158] Durch Anbindung eines elektronenreichen Chromophors wie Pyren, sollte die Stabilität dieser Bindung zwar nicht nachteilig beeinflusst werden, kann jedoch als mögliche Ursache nicht vollständig ausgeschlossen werden.

3.1.2 Assemblierung des clickfähigen Konjugats an DNA-Template

Nach erfolgreicher Synthese des clickfähigen Chromophor-Nukleosid-Konjugats **5** wurde dessen Assemblierung an verschiedenen DNA-Templaten untersucht. Dazu wurden komplementäre Oligo-A_n-Stränge zunehmender Länge (A₁₀, A₂₀) und ein nichtkomplementärer Oligo-T₂₀-Strang verwendet.

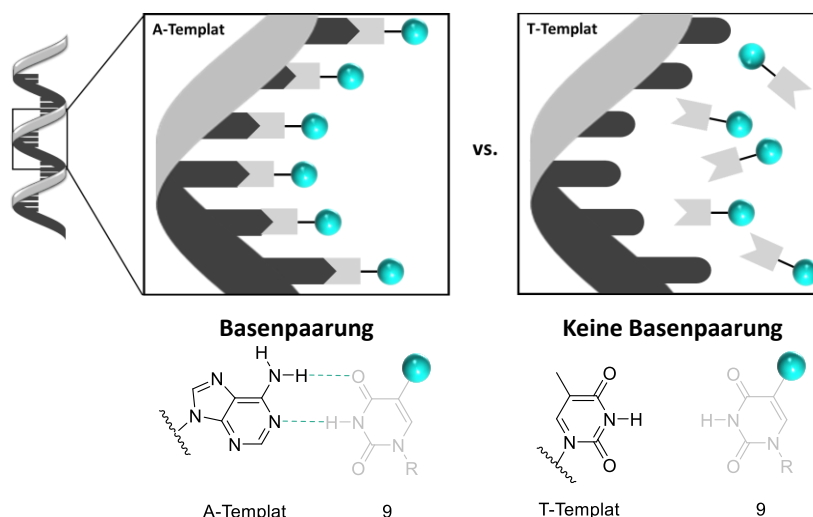


Abbildung 29 Idealisiertes Assemblierungsverhalten über *H*-brückenvermittelte WATSON CRICK-Basenpaarung des clickfähigen dU-Py-Konjugats **5** an ein komplementäres A-Templat (**links**) und an ein nicht komplementäres T-Templat (**rechts**).

Gemäß der *H*-Brücken vermittelten Basenpaarung nach WATSON-CRICK bildet das Konjugat **5** deutlich stabilere Assemblate mit komplementären A-Templaten. Durch Ausbildung von zwei Wasserstoffbrücken kommt es zu einem Energiegewinn von 17 kJ/mol bei korrekter Basenpaarung.^[33, 34] Da die Stabilität der Assemblate, wie bereits erwähnt durch $\pi\pi$ -Wechselwirkung gewährleistet wird, wirkt sich die Anbindung des planaren Pyren positiv auf die Ausbildung dieser aus.^[27, 32]

Da der Assemblierungsprozess auf einem empfindlichen Gleichgewicht zwischen angelagerten und im Medium gelösten Konjugaten beruht, kann bereits eine geringfügige Änderung äußerer Faktoren einen drastischen Einfluss haben. Eine genaue Kontrolle über die Rahmenbedingungen ist daher elementar, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Durch Vorarbeiten von WAGENKNECHT *et al.* sind die wichtigsten Parameter bekannt und in **Abbildung 30** zu sehen.

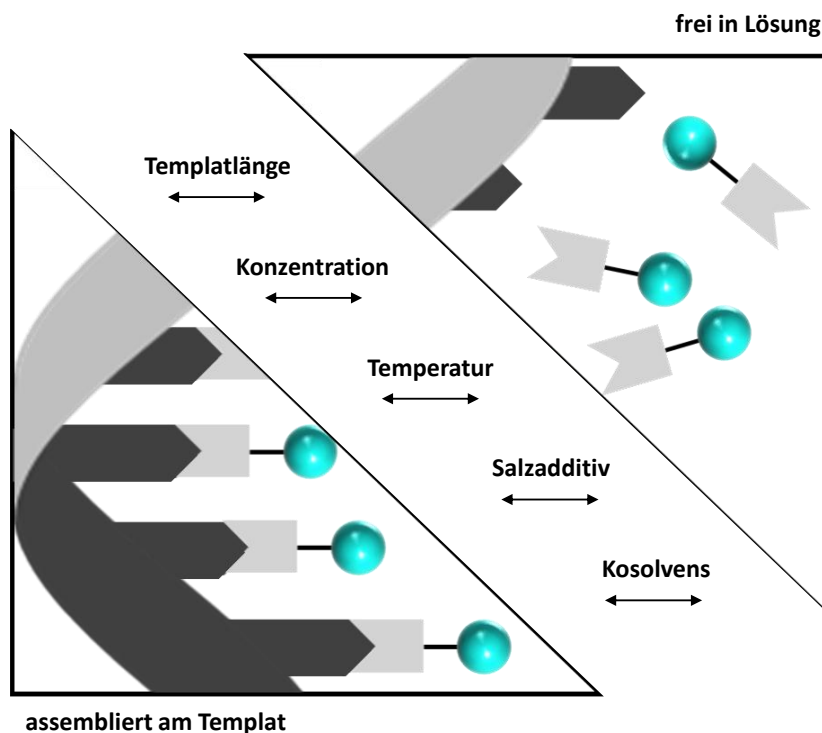


Abbildung 30 Auswahl der wichtigsten Einflussfaktoren auf das dynamische Gleichgewicht zwischen assemblierten und gelösten „freien“ Konjugaten in wässriger Lösung.

Ein wichtiger Parameter zur Optimierung der Assemblierung von **5** ist die Wahl des geeigneten Lösungsmittels, in dem **5** solvatisiert wird. Da Nukleoside in der Regel eine geringe Löslichkeit in Wasser zeigen, ist der Einsatz eines organischen Kosolvens notwendig. Dieses muss im Wesentlichen zwei gegensätzliche Anforderungen erfüllen: Zum einen muss die Löslichkeit des Konjugats **5** in wässriger Lösung ausreichend hoch sein, damit eine vorzeitige Präzipitation aus der Lösung verhindert wird. Zum anderen muss die Löslichkeit von **5** begrenzt sein, damit eine Abtrennung der assemblierten Konjugate von den in Lösung frei vorliegenden möglich ist. Des Weiteren darf das Lösungsmittel keinen oder nur einen geringfügigen Einfluss auf die spezifischen *H*-Brückenbindungen der Basenpaarung haben, um eine definierte Assemblierung zu gewährleisten. Basierend auf Vorarbeiten von WAGENKNECHT *et al.* mit strukturell ähnlichen Konjugaten

wurden als mögliche Lösungsmittel Methanol und Dimethylsulfoxid (DMSO) untersucht.^[69, 92] Dazu wurde eine Stammlösung von **5** aus dem jeweiligen Lösungsmittel hergestellt, wobei die Konzentration so angepasst wurde, dass durch Zugabe des notwendigen Aliquotes ein finaler Kosolvensanteil unter 2% vorlag.^[159, 160] Dies ist notwendig, weil DMSO bei höheren Anteilen die *H*-Brücken vermittelte Basenpaarung stört und somit eine Ausbildung stabiler Assemblaten unterbindet.^[159-161] Für den Vergleich wurden 75 μM **5** zu den wässrigen Proben gegeben und für eine Stunde auf einem Horizontalschüttler (450 u/min) homogenisiert.

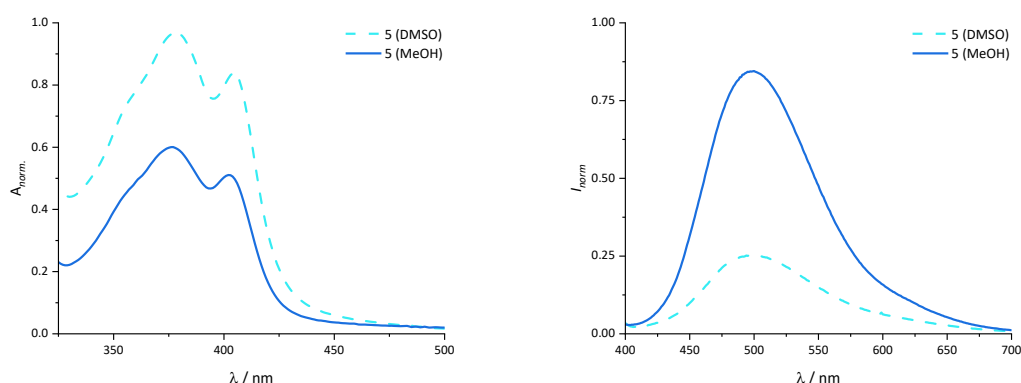


Abbildung 31 Normierte UV/Vis-Absorptions- und Fluoreszenzspektren zur Abschätzung der Löslichkeit von Verbindung **5** in wässrigem Medium unter Verwendung von Methanol oder DMSO als Kosolvent. ($c = 75 \mu\text{M}$; ddH_2O ; $\lambda_{\text{exc}} = 385 \text{ nm}$; 20°C)

Die spektroskopischen Daten in **Abbildung 31** zeigen einen signifikanten Einfluss des Kosolvens. So zeigt sich eine deutlich höhere Absorption des DMSO-haltigen Ansatzes, was eine gesteigerte Löslichkeit von **5** im wässrigen Medium nahelegt. Während in Methanol mögliche Aggregationsprozesse oder Präzipitation von **5** die Extinktion mindern, stabilisiert ein geringer DMSO-Anteil das Konjugat besser in Wasser. Ein entgegengesetzter Trend zeigt sich jedoch in der Interpretation der Emission (**Abbildung 31, rechts**): Hier weist die methanolhaltige Probe eine deutlich höhere Fluoreszenzintensität auf. Die für Pyren typische vibronische Feinstruktur der Fluoreszenz im Bereich zwischen $\lambda = 385\text{-}450 \text{ nm}$ ist aufgrund von Aggregationseffekten nicht zu sehen. Stattdessen ist eine strukturlose bathochrom verschobene Emissionsbande im Bereich zwischen $\lambda_{\text{em}} = 400\text{-}650 \text{ nm}$ gegeben.^[162] Dies deutet eindeutig auf die Aggregation mehrerer hydrophober Pyreneinheiten in wässriger Lösung und der damit verbundenen Bildung von Exzimeren hin.^[162] Da die Fluoreszenz im Gegensatz zur Absorption deutlich sensitiver auf Wechselwirkungen mit dem umgebenden Medium reagiert, ist sie für die Quantifizierung der Solubilisierung von **5**

weniger belastbar. So können verschiedene Phänomene, wie zum Beispiel eine aggregationsinduzierte Intensitätsänderung auftreten, die das detektierte Signal von der vorliegenden Stoffmenge entkoppeln.^[42] Aus diesem Grund wurde der Absorption eine höhere Gewichtung in der qualitativen Beurteilung gegeben und DMSO als das geeignetere Lösungsmittel für Konjugat **5** festgelegt. Ein weiterer Parameter ist die Ionenstärke des Mediums. Aufgrund des geladenen Phosphatrückgrats handelt es sich bei DNA um ein Polyanion, welches bei gegenseitigem Kontakt in Lösung eine elektrostatische Abstoßung erfährt. Die Zugabe von Salzen wie Natriumchlorid führt zur Kompensation dieser Kräfte durch Na⁺-Kationen und resultiert in einer Erhöhung der Duplexstabilität.^[163] Dabei wird als Nebeneffekt die Polarität der wässrigen Lösung erhöht. Aufgrund der Tatsache, dass das Konjugat **5** im Vergleich zu einem Oligonukleotid über kein geladenes Rückgrat verfügt, entfällt der positive Einfluss von Salzen im wässrigen Medium. Vielmehr führt eine Erhöhung der Polarität des Mediums zu einer Verschlechterung der Löslichkeit von **5**. Daher wurde auf die Zugabe von Salzen zu den Assemblierungslösungen verzichtet.^[69] Aus Vorarbeiten hat sich eine Templatkonzentration von 2,50 µM und ein 1,5-facher Überschuss des zu assemblierenden Konjugats pro Bindungsstelle als vorteilhaft erwiesen.^[68, 69, 84, 164] Die Template wurden in der angegebenen Konzentration vorgelegt und mit den entsprechenden Volumina einer 10 mM Stammlösung von **5** in DMSO versetzt.

Tabelle 2 Übersicht der hergestellten Proben für die Assemblierungsversuche.

Templat	c (Templat) [µM]	V (Stammlösung) [µL]	c (Konjugat 5) [µM]
oT^x	-	7,50	75,0
A₁₀	2,50	3,75	37,5
A₂₀	2,50	7,50	75,0
T₂₀	2,50	7,50	75,0

^xhier wurde ein theoretisches N₂₀-Templat zur Berechnung herangezogen.

Durch Erwärmen auf 90 °C für 10 min wurden die Template linearisiert und damit die Bindungsstellen für eine Assemblierung von **5** zugänglich gemacht. Eine langsame Abkühlrate von ca. 1 °C/min stellte dabei sicher, dass eine sequenzspezifische Assemblierung erfolgen konnte.

In **Abbildung 32** ist die spektroskopische Analyse der Assemblierung von **5** an verschiedene Template zu sehen.

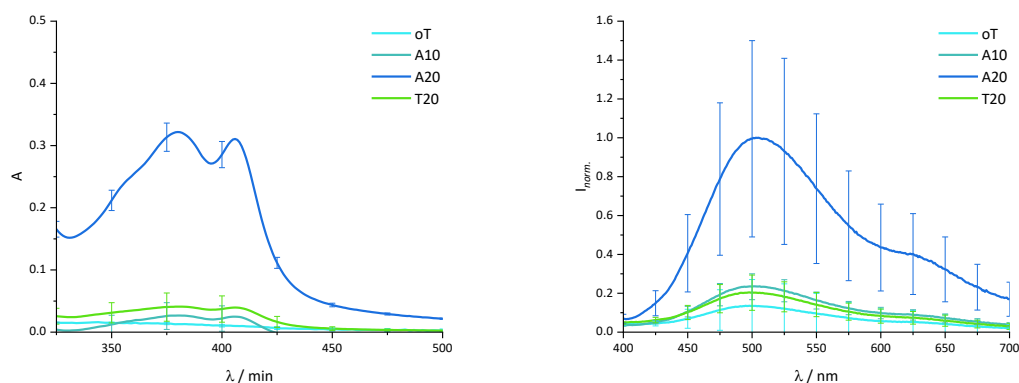


Abbildung 32 UV/Vis-Absorptions- (**links**) und normierte Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Assemblierungen von **5** an verschiedene Template ($c_{\text{Templat}} = 2,5 \mu\text{M}$, $c_5 = 37,5\text{--}75 \mu\text{M}$; ddH₂O; $\lambda_{\text{exc}} = 385$ nm; 20 °C).

In den UV/Vis-Absorptionsspektren ist die charakteristische Feinstruktur des Pyrens mit zwei Maxima bei $\lambda = 380$ nm und $\lambda = 405$ nm zu erkennen. Das Fehlen der Feinstruktur im Emissionsspektrum deutet auf eine Assemblierung mehrerer Konjugate **5** an den vorliegenden Templaten hin. Die daraus resultierende räumliche Nähe führt zur Bildung von Exzimeren, wobei ein angeregtes Pyrenmolekül seine Energie auf ein benachbartes Pyren überträgt.^[165, 166] Dadurch kommt es zur charakteristischen, bathochrom verschobenen Fluoreszenz ohne die typische Feinstruktur im Bereich zwischen $\lambda = 400\text{--}650$ nm ($\lambda_{\text{max}} = 505$ nm) und einer deutlichen STOKES-Verschiebung von $\Delta\lambda = 4829 \text{ cm}^{-1}$.^[167, 168] Darüber hinaus ist bei **A₂₀** eine zweite Fluoreszenzbande bei $\lambda > 625$ nm zu erkennen, welche vermutlich auf die Ausbildung von *J*-Aggregaten zurückzuführen ist.^[166, 169] Diese bilden sich bei einer linearen Anordnung der Pyreneinheiten aus und geben somit Rückschlüsse auf die Anordnung im assemblierten Zustand. Reine Pyrenstapel, die sich durch ihren hydrophoben Charakter in wässrigen Medien ausbilden, können als Ursache aufgrund der nicht vorhandenen Absorption beim Assemblierungsansatz ohne Templat **oT** ausgeschlossen werden. Im Fall des längsten komplementären **A₂₀**-Templats zeigt sich die höchste Absorptions- und Emissionsintensität des assemblierten Konjugats **5**. Gemäß der Erwartung führt das **A₂₀**-Templat zur Ausbildung der stabilsten Assemblate, weil die Anzahl an Bindungsstellen mit korrekter Basenpaarung am höchsten und eine Anlagerung von **5** über $\pi\pi$ -Wechselwirkungen stabilisiert ist. Der Einfluss der korrekten Basenpaarung ist bei einem direkten Vergleich zwi-

schen **A**₂₀ und **T**₂₀ zu erkennen. Es zeigt sich ein deutlicher Unterschied in den ermittelten spektroskopischen Intensitäten bei gleicher zugegebener Stoffmenge von **5**. Das nicht komplementäre **T**₂₀-Templat ist entgegen der Erwartung in der Lage, einen geringen Anteil von **5** in Lösung zu halten. Dies geschieht vermutlich über bereits erwähnte unspezifische $\pi\pi$ -Wechselwirkungen, die aufgrund der zunehmenden Templatlänge verstärkt zum Tragen kommen. Hier wird der energetische Gewinn durch die $\pi\pi$ -Wechselwirkung und die damit verbundene stabile Assemblierung von **5** so dominant, dass der energetische Nachteil einer Basenfehlpaarung kompensiert wird. Somit verliert die korrekte Basenpaarung mit zunehmender Templatlänge ihre Rolle als primärer Selektivitätsfaktor der Assemblierung. Außerdem ist ein räumlicher Versatz zwischen der Nukleobase von assembliertem Konjugat **5** und dem **T**₂₀-Templat denkbar, was in der Bildung einer Pseudobasenpaarung resultiert. Solche Abweichungen zur regulären Basenpaarung wurden durch CRICK im Jahr 1966 im Rahmen der Wobble-Hypothese vermutet.^[39]

Obwohl eine korrekte Basenpaarung beim **A**₁₀-Templat vorliegt, zeigt dieser Ansatz die geringsten Intensitäten. Aus dieser Beobachtung lässt sich offenbar eine Mindestlänge der Template zwischen 10-20 Nukleotiden ableiten, um stabile sequenzspezifische Assemblate bei den vorliegenden Parametern mit den pyrenmodifizierten 2'-Desoxyuridinen zu erhalten. Diese Vermutung deckt sich mit publizierten Ergebnissen von WAGENKNECHT *et al.* zur Assemblierung ähnlicher Derivate.^[68, 69] Aus thermodynamischer Sicht reicht der Enthalpiegewinn, der durch die korrekte Basenpaarung und kooperative Wechselwirkungen zwischen den assemblierten Konjugaten zustande kommt, bei kurzen Sequenzen wie **A**₁₀ nicht aus, um die Assemblate zu stabilisieren und der Hydrophobizität des freien **5** entgegenzuwirken. Eine Ausnahme davon stellen die nilrotmodifizierten 2'-Desoxyuridine dar, die auch beim kurzen **A**₁₀-Templat stabil assemblieren.^[84]

Durch eine Erhöhung der Templatkonzentration auf $3,75\ \mu\text{M}$ wurde daher versucht, auch mit kürzeren Templaten stabile Assemblate auszubilden. Die UV/Vis-Absorptions- und Fluoreszenzspektren sind in **Abbildung 33** zu sehen.

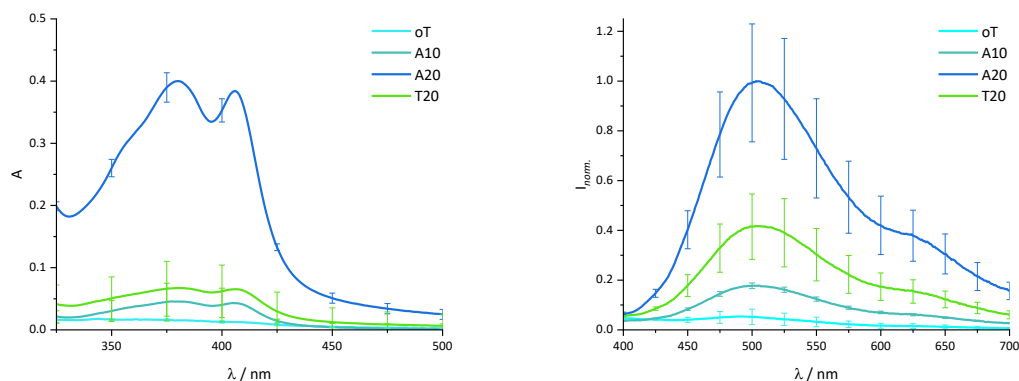


Abbildung 33 UV/Vis-Absorptions- (links) und normierte Fluoreszenzspektren (rechts) der Assemblierungen von Verbindung **5** an verschiedene Template ($c_{\text{Templat}} = 3,75\ \mu\text{M}$, $c_5 = 56,25\text{--}112,5\ \mu\text{M}$; ddH₂O; $\lambda_{\text{exc}} = 385\ \text{nm}$; $20\ ^\circ\text{C}$).

In Übereinstimmung mit den vorherigen Assemblierungsexperimenten liegt bei Vorhandensein eines **A₂₀** Templats die höchsten Intensitäten und beim Fehlen eines Templats die niedrigsten Intensitäten vor. Im Fall des **A₁₀**-Templats ist es gelungen, ein höheren Anteil von **5** in Lösung zu halten. Die gleichzeitige Intensitätszunahme beim Vorhandensein eines nicht komplementären **T₂₀** legt jedoch den Schluss nahe, dass eine Erhöhung der Templatkonzentration einen negativen Effekt auf die Assemblierungsselektivität hat. Dies ist auf eine unspezifische $\pi\pi$ -Wechselwirkung zurückzuführen.

Im Allgemeinen lässt sich die Reproduzierbarkeit der Assemblierungsansätze als nicht zufriedenstellend einordnen, wie anhand der grafisch dargestellten Standardabweichungen in **Abbildung 32** und **Abbildung 33** zu sehen ist. Dieses Ergebnis ist auf das dynamische Gleichgewicht zwischen assemblierten und freien Konjugaten **5** sowie dessen Abhängigkeit von einer Vielzahl an äußeren Einflussfaktoren zurückzuführen. Diese Faktoren lassen sich nicht isoliert voneinander betrachten, sondern liegen als komplexes Zusammenspiel vor, was die Optimierung der Assemblierung von **5** an die vorliegenden DNA-Templates deutlich erschwert.

3.1.3 Isolation der assemblierten Chromophor-DNA-Architekturen

Der Zugang zu definierten Produkten setzt eine vorherige Isolation der korrekt ausgebildeten Assemblate in Lösung voraus. Bei Vorarbeiten von WAGENKNECHT *et al.* wurde die Abtrennung freier, nicht assemblierter Nukleosid-Chromophor-Konjugate durch Zentrifugation aus der Lösung erreicht.^[69, 84] Hierbei wurde der ausreichende Unterschied in der Löslichkeit zwischen assemblierten und in der Lösung frei vorliegenden Konjugaten ausgenutzt. Während assemblierte Konjugate durch die Wechselwirkungen mit der hydrophilen DNA in Lösung gehalten wurden, fielen die nicht stabilisierten amphiphilen Konjugate aus der Lösung und bildeten einen festen Niederschlag.

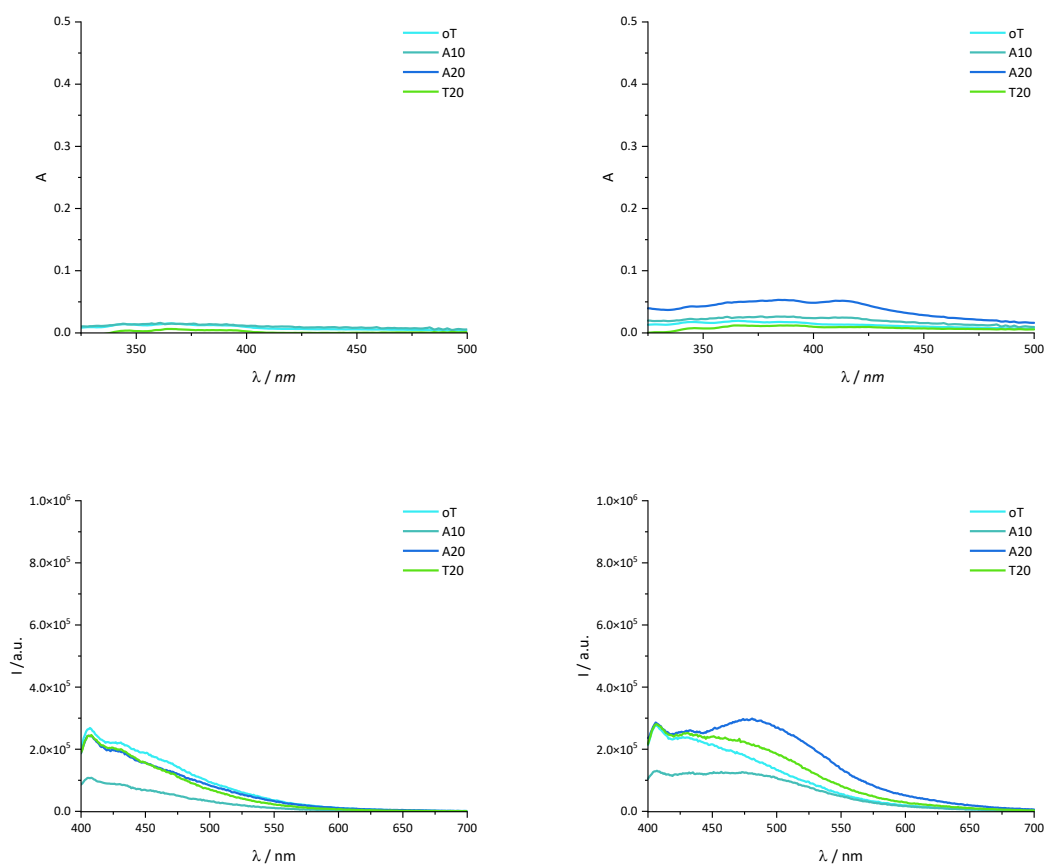


Abbildung 34 Spektroskopische Analyse der Isolierungsversuche durch Zentrifugation für 10 min (**rechts**) und für 1 min (**links**) bei 13 000rpm.

($c_{\text{Templat}} = 2,5 \mu\text{M}$, $c_5 = 37,5\text{--}75 \mu\text{M}$; ddH₂O; $\lambda_{\text{exc}} = 385 \text{ nm}$; 20 °C).

Die Ergebnisse der Isolationsversuche von assembliertem **5** an verschiedenen Templaten sind in **Abbildung 34** zu sehen. Entgegen der Erwartung konnte durch die Zentrifugation keine Isolation

möglicher Assemblate erreicht werden. Nach Zentrifugation bei 13 000 u/min für die Dauer von 10 min wurde eine vollständige Präzipitation des clickfähigen Konjugats **5** beobachtet, was an der fehlenden Absorption und geringfügigen Fluoreszenz (**Abbildung 34, links**) zu erkennen ist. Die Verringerung der Zentrifugationsdauer auf 1 min führte ebenfalls zum vollständigen Ausfallen des Konjugats **5** aus der wässrigen Assemblierungslösung. Lediglich der Ansatz unter Verwendung des **A₂₀**-Templats zeigt eine ausgeprägte Exzimerbande und somit das Vorhandensein von aggregiertem Pyren in Lösung. Dies unterstreicht die Bedeutung der Mindestlänge des Templats zur Ausbildung isolationsfähiger Assemblate. Daher liegt der Schluss nahe, dass das hier untersuchte Trennprinzip zu keinem verwertbaren Ergebnis führt. Der Löslichkeitsunterschied zwischen in Lösung vorliegendem „freien“ und assembliertem Konjugat **5** ist hierbei nicht ausreichend genug ausgeprägt, um eine selektive Trennung zu ermöglichen. In vorangegangenen Experimenten von WAGENKNECHT *et al.* verfügten die eingesetzten Nukleosid-Konjugate über freie Hydroxylgruppen in der 5'- und 3'-Position der 2'-Desoxyribose, wie in **Abbildung 35, links** zu sehen.^[69, 164]

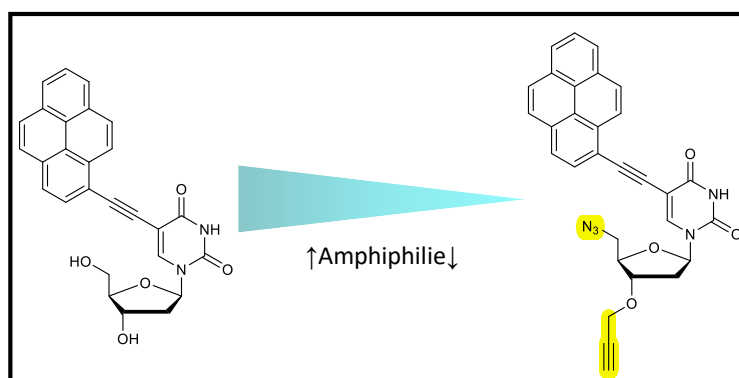


Abbildung 35 Verringerung des amphiphilen Charakters von dU-Py (**links**) durch Modifikation der Hydroxylfunktionen bei **5** (**rechts**)

Diese funktionellen Gruppen verleihen den Konjugaten einen ausgeprägten amphiphilen Charakter, der offensichtlich eine Schlüsselrolle bei der Bildung und Isolation stabiler Assemblate spielt. Die vorgenommene Substitution beider Hydroxylgruppen durch die unpolaren Azid- und Alkinfunktionen führt zu einem Verlust des amphiphilen Charakters, was die Löslichkeit und damit auch die Assemblierung maßgeblich schwächt. Infolgedessen überwiegt der hydrophobe Charakter der Pyrenmodifikation, was zum Ausfallen von **5** aus den Assemblierungsansätzen während der Isolationsversuche führt.

Da eine Isolierung der Assemblate nicht realisiert werden konnte, ist eine selektive Umsetzung zu definierten Clickprodukten deutlich erschwert. Dennoch wurden Ligationsversuche mittels CuAAC durchgeführt. Ein möglicher Templateffekt, wie in **Abbildung 36** zu sehen, sollte hierbei ausgenutzt werden.

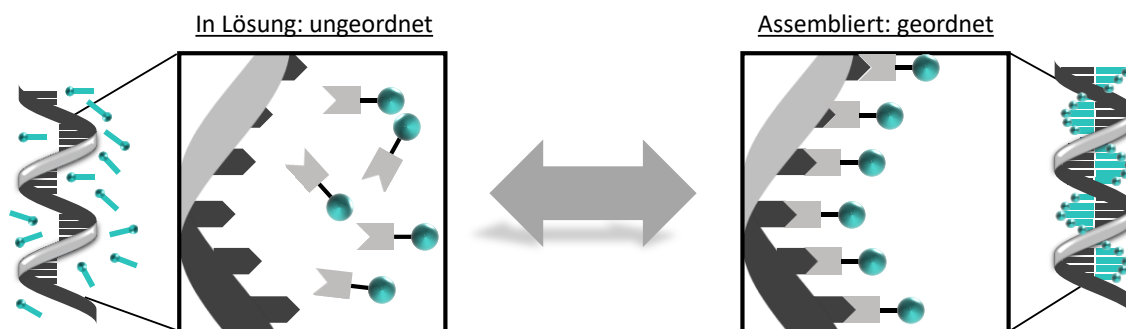


Abbildung 36 Statistische Orientierung der Konjugate in Lösung (**links**) und deren Vororganisation bei Anwesenheit eines strukturgebenden Templates (**rechts**).

Durch Vororientierung der assemblierten Konjugate **5** liegen diese in definierter Ausrichtung zueinander vor. Die daraus resultierende räumliche Nähe und korrekte Orientierung zwischen den funktionellen Gruppen kann somit einen positiven Effekt auf die CuAAC zur kovalenten Verknüpfung von **5** haben. Damit wird ein möglicher Zugang zu definierten Reaktionsprodukten über eine kinetische Reaktionsführung der CuAAC eröffnet.

Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden die Assemblierungsansätze mit einer frisch angesetzten Lösung der verschiedenen Clickreagenzien homogenisiert. Dabei wurde sich an Vorarbeiten von BROWN *et al.* und TAVASSOLI *et al.* orientiert.^[100, 101] Nach definierten Zeitintervallen wurden Aliquote entnommen und mit Natrium-EDTA versetzt. Dieses fungiert als Komplexbildner, der die Kupferkationen aus der Lösung entfernt und damit den katalytischen Zyklus unterbricht.^[170] Eine Analyse mittels ESI-MS und MALDI-MS konnte keinen Nachweis für definierte Produkte erbringen, was sich vermutlich auf die geringfügige Stabilität der Assemblate zurückführen lässt. Durch Zugabe der Reagenzien wurde die Polarität des Mediums signifikant verändert, was in einer Störung der schwachen Assemblierung zwischen Konjugat **5** und Template resultiert. Diese Destabilisierung begünstigte den Zerfall der geordneten Strukturen noch vor der kovalenten Verknüpfung der einzelnen Konjugate **5**. Die notwendige räumliche Orientierung für definierte Produkte war damit vermutlich bereits vor der Clickreaktion nicht mehr vorhanden.

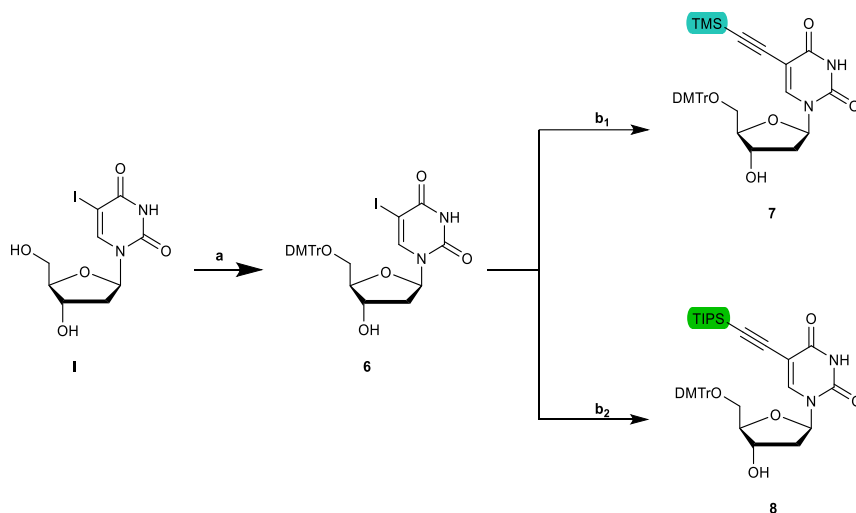
In den Studien von BROWN *et al.* und TAVASSOLI *et al.* konnten erfolgreich Clickprodukte generiert werden, da diese Oligonukleotide mit einer bestimmten Sequenzlänge verwendeten.^[100, 101] Diese weisen deutlich höhere Assemblierungsstabilitäten auf, wodurch die strukturelle Information bis zum Reaktionsabschluss erhalten bleibt. Aufgrund eines fehlenden Produktnachweises wurde der Fokus auf den Nachweis des eingesetzten Konjugats **5** gelegt. Ein analytischer Beleg für das Vorhandensein des Eduktes war entgegen der Erwartung ebenfalls negativ. Die bereits beobachtete, schlechte Detektion von **5** mittels ESI-MS ist hier ein plausibler Grund. Durch Anwesenheit von CuAAC-Reagenzien kann hier eine Ionensuppression eintreten, was die erfolgreiche Detektion zusätzlich erschwert.^[171, 172] Eine mögliche Präzipitation aus der Lösung des eingesetzten Konjugats **5** oder die Bildung undefinierter Polymere stellt auch eine Möglichkeit dar. Daher wurde eine massenspektroskopische Analyse des Rückstandes durchgeführt, welche ebenfalls nicht das gewünschte Ergebnis lieferte.

Chemical structures of Edu-PA, TMS-Edu-PA, and TIPS-Edu-PA are shown. Each structure consists of a nucleoside core with a DMTro group at the 5' position and a phosphoramidite group at the 3' position. The Edu-PA structure has a hydrogen atom (H) at the 2' position. The TMS-Edu-PA structure has a trimethylsilyl (TMS) group at the 2' position. The TIPS-Edu-PA structure has a triisopropylsilyl (TIPS) group at the 2' position.

Das nachfolgende Kapitel befasst sich mit der Synthese clickfähiger Oligonukleotide sowie der Arylazide von Pyren, Perylen, BODIPY, Nilrot und Porphyrin. Darauf aufbauend werden der schrittweise Aufbau von DNA-Chromophor-Architekturen mittels CuAAC sowie die optische Charakterisierung beschrieben. Eine potenzielle Eignung der erhaltenen pyrenmodifizierten Oligonukleotide als artifizielles Lichtsammelsystem wird durch die Kombination mit einem literaturbekannten Rutheniumkomplex im letzten Teil dieses Projekts untersucht.

3.2.1 Synthese der clickfähigen Oligonukleotide

Im Hinblick auf die orthogonale Funktionalisierung wurden zwei silylgeschützte 5-Ethynyl-2'-desoxyuridine synthetisiert, um eine präzise Kontrolle über die postsynthetische Modifizierung zu ermöglichen.

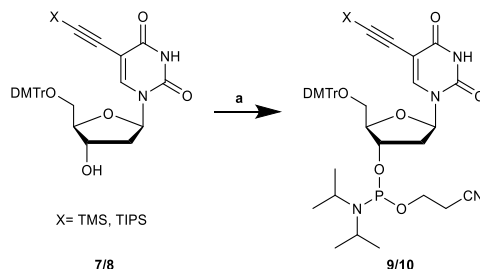


Schema 5 Synthese des 5-TMS-Ethynyl-2'-desoxyuridins **7** und des TIPS-Analogons **8**:

a) 1.10 Äq. DMTrCl, abs. Pyridin, -10°C, 4h, 65 %; **b₁)** 0.10 Äq. Pd(PPh₃)₄, 0.25 Äq. CuI, 1.40 Äq. TMSA, abs. THF/NEt₃ (4:1), 50°C, 18 h, 86 %; **b₂)** 0.10 Äq. Pd(PPh₃)₄, 0.25 Äq. CuI, 1.40 Äq. TIPSA, abs. THF/NEt₃ (4:1), 50°C, 18 h, 74 %.

Zur Synthese der beschriebenen Nukleoside wurde als Ausgangsmaterial kommerzielles 5-Iod-2'-desoxyuridin **I** verwendet. Dieses wurde in einem ersten Syntheseschritt a mit DMTrCl in trockenem Pyridin umgesetzt. Aufgrund der angepassten Reaktionsparameter wird in diesem Syntheseschritt regioselektiv die 5'-Hydroxygruppe mit einer Schutzgruppe versehen. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung konnte das Produkt **6** als farbloser, schaumiger Feststoff in einer Ausbeute von 65 % erhalten werden. Zur Einführung der clickfähigen Ethynylfunktion wurde in einem darauffolgenden Syntheseschritt b das Nukleosid **6** mittels einer palladiumkatalysierten Kreuzkupplung nach SONOGASHIRA *et al.* funktionalisiert. Zur Darstellung des TMS-geschützten 5-Ethynyl-2'-desoxyuridins **7** wurde Trimethylsilylacetylen (TMSA) verwendet. Das Produkt **7** konnte in einer Ausbeute von 86% erhalten werden. Analog wurde zur Darstellung des TIPS-geschützten Analogons **8** als Kupplungspartner Triisopropylsilylacetylen (TIPSA) verwendet. Hierbei konnte ebenfalls eine sehr gute Ausbeute von 74 % erreicht werden.

Zum Einbau in ein Oligonukleotid wurden die Verbindungen **7-8** anschließend in das entsprechende Phosphoramidit **9** bzw. **10** nach **Schema 6** überführt.



Schema 6 Synthese der silylierten 5-Ethynyl-2'-desoxyuridinphosphoramidite **9 / 10**:

a) 3.60 Äq. DIPEA, 1.20 Äq. PA-Cl, abs. DCM, RT, 4h, 74 % (**9**) / 90 % (**10**).

Dazu wurde die Verbindung **7** bzw. **8** in trockenem DCM gelöst und mit DIPEA versetzt. Durch Zugabe von Phosphoramiditchlorid (PA-Cl) wurde die freie 3'-Hydroxylfunktion von **7 / 8** in ein kupplungsfähiges Derivat überführt. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung und anschließender Lyophilisierung aus Benzol konnte das TMS-modifizierte Derivat **9** in einer Ausbeute von 74 % und das TIPS-modifizierte Derivat **10** in einer Ausbeute von 90 % erhalten werden. Die Verbindungen **9 / 10** und das kommerzielle EdU-Phosphoramidit wurde anschließend zur Festphasensynthese der Oligonukleotide eingesetzt.

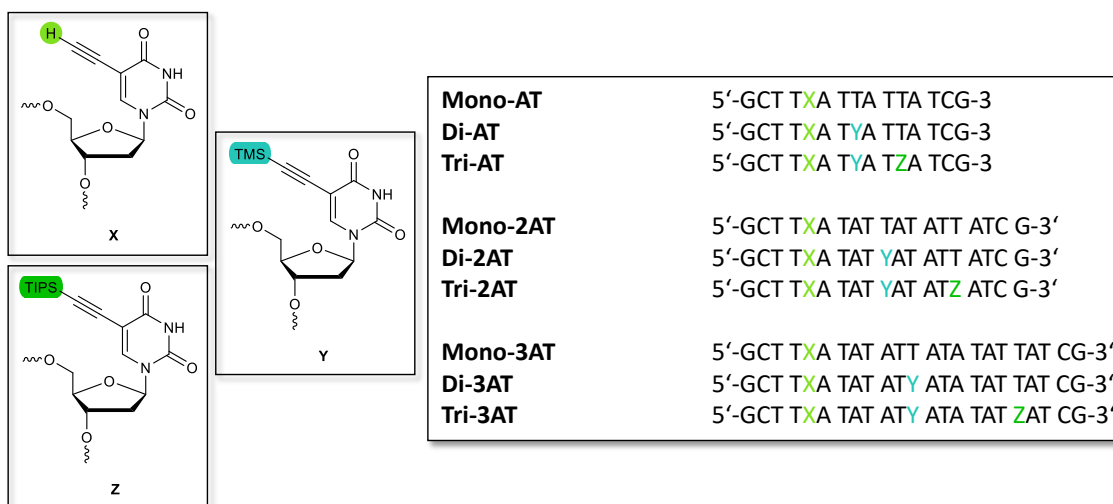


Abbildung 38 Übersicht der synthetisierten Oligonukleotide (**rechts**) mit den eingebauten Modifikationspositionen **X**, **Y** und **Z** (**links**).

Die Modifikationspositionen **X**, **Y** und **Z** wurden mit definierten Abständen von einem, zwei oder drei AT-Basenpaar/en zueinander positioniert. Dadurch sollen distanzabhängige Mechanismen

wie Energie- oder Ladungstransfer zwischen den Modifikationen beeinflusst werden. Die Wahl einer AT-reichen Sequenz erfolgte aufgrund der photophysikalischen Eigenschaften der Nukleobasen: Im Gegensatz zu Guanosin (G), welches aufgrund seines Oxidationspotenzials von $E_{\text{Ox}} = 1,05 \text{ eV}$ (vs. SCE)^[173, 174] durch photoinduzierten Elektronentransfer zu einer Löschung der Fluoreszenz führen kann, verhalten sich AT-Strukturen in dieser Hinsicht weitgehend unproblematisch.^[173] Dadurch wird sichergestellt, dass sich im Oligonukleotid keine fluoreszenzlöschenden Nukleotide in unmittelbarer Nähe zu den Modifikationspositionen befinden.

Nach erfolgreicher Synthese der Oligonukleotide sollen diese an den entsprechenden Positionen **X-Z** mit einer Auswahl an Chromophoraziden modifiziert werden.

3.2.2 Synthese der clickfähigen Chromophore

Nach erfolgreicher Synthese der clickfähigen Oligonukleotide rückt in diesem Kapitel die Darstellung geeigneter Chromophorazide in den Fokus. Eine breite spektrale Abdeckung, beginnend im UV-A Bereich (400-320 nm)^[175] bis in den visuellen Bereich (750-400 nm)^[175] des elektromagnetischen Spektrums, ist für die Anwendung als künstliches Lichtsammelsystem von Vorteil.^[176]

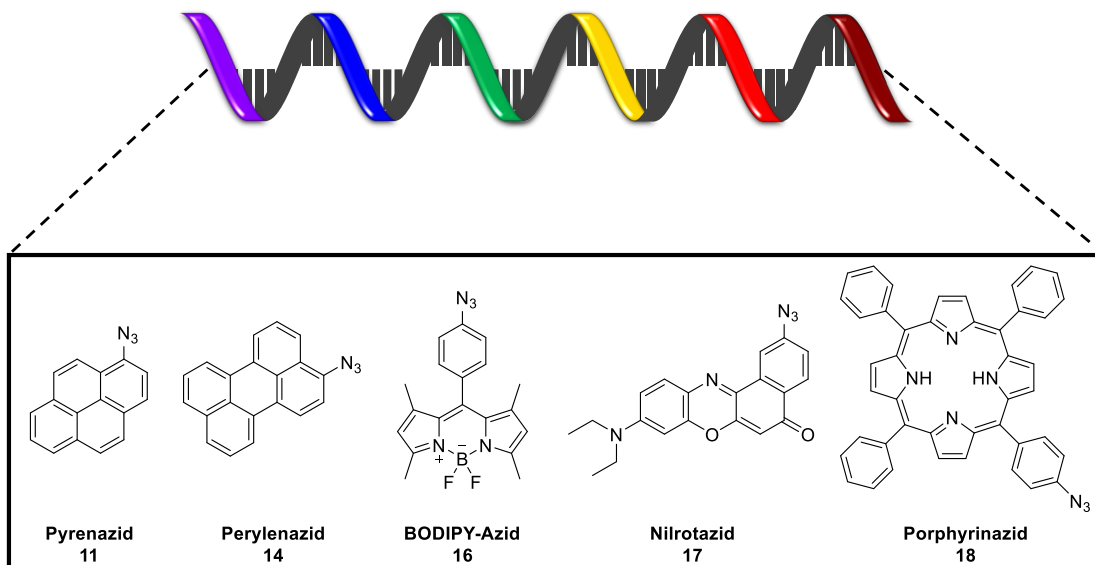
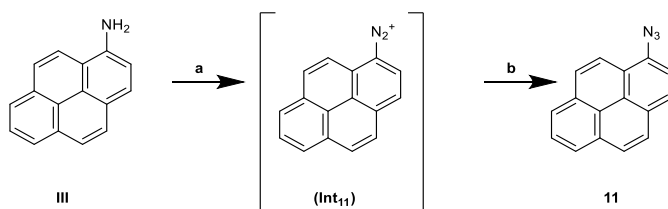


Abbildung 39 Übersicht der zu synthetisierenden Chromophorazide zum angestrebten Aufbau von modifizierten Oligonukleotiden mittels CuAAC.

Bei der Planung der zu synthetisierenden Chromophorazide wurde auf die im Arbeitskreis etablierten Struktur motive des Pyrens, Perylens und Nilrots zurückgegriffen.^[14, 69, 84, 92, 95, 98] Zur Vergrößerung der Bandbreite wurden darüber hinaus BODIPY und Porphyrin als weitere Farbstoffe aufgenommen.

Synthese des Pyrenazids **11**

Ausgehend von kommerziell verfügbarem 1-Pyrenamin **III** wurde das gewünschte Derivat **11** über eine Diazotierung und anschließender nukleophiler Substitution gemäß **Schema 7** erhalten.

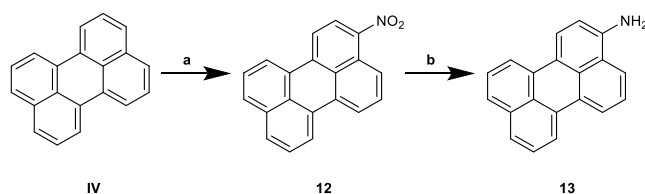


Schema 7 Synthese von Pyrenazid **11**: **a)** 1.25 Äq. NaNO₂, THF/5 N HCl_{aq.}, 0 °C, 30 min; **b)** 2.50 Äq. NaN₃, THF/5N HCl_{aq.}, 0 °C-RT, 30 min, 96 %.

Dazu wurde das Edukt **IV** in THF gelöst und mit 5N Salzsäure versetzt. Im ersten Schritt **a** wurde die Aminfunktion von **III** mit Natriumnitrit in das entsprechende Diazoniumsalz (**Int₁₁**) überführt. Das Intermediat (**Int₁₁**) wurde anschließend durch Zugabe einer wässrigen Natriumazidlösung zum gewünschten Produkt **11** umgesetzt. Aufgrund der Verwendung wasserlöslicher Reaktanden und dem quantitativen Umsatz konnte das hydrophobe Pyrenazid **11** durch Flüssig-Flüssig-Extraktion in guter Reinheit erhalten werden.

Synthese des Perylenazids **14**

In früheren Arbeiten von WAGENKNECHT *et al.* konnte eine effiziente Energietransferkaskade von pyren-, über perylen- auf nilrotmodifizierte 2'-Desoxyuridine nachgewiesen werden.^[14] Auf diesen Ergebnissen basierend wurde die Darstellung des Perylenazids angestrebt. Hierbei wurde die Synthesestrategie von **11** auf das strukturell vergleichbare Perylen übertragen. Das notwendige Amin **13** wurde ausgehend von Perylen **V** über zwei Synthesestufen gemäß **Schema 8** hergestellt.



Schema 8 Synthese von Perylenamin **13**: **a)** 12.0 Äq. konz. HNO₃, Dioxan, 80 °C, 30 min, 48 %; **b)** 0.10 Äq. FeCl₃, 2.50 Äq. C, 20.00 Äq. N₂H₄·H₂O, EtOH/Toluol (1:1), 80 °C, 4 h, 88 %.

In einem ersten Syntheseschritt wurde Perylen **IV** nitriert. Dazu wurde das Edukt in Dioxan gelöst und bei 80 °C mit konzentrierter Salpetersäure versetzt. Aufgrund der mangelnden Regioselektivität der Nitrierung entsteht eine Mischung aus dem 1- und 3-Regioisomer. Durch eine säulenchromatografische Trennung konnten zwei Produkte isoliert werden. In **Abbildung 40** ist das gemessene ^1H -NMR des Hauptprodukts im Vergleich zum Perylen **IV** zu sehen.

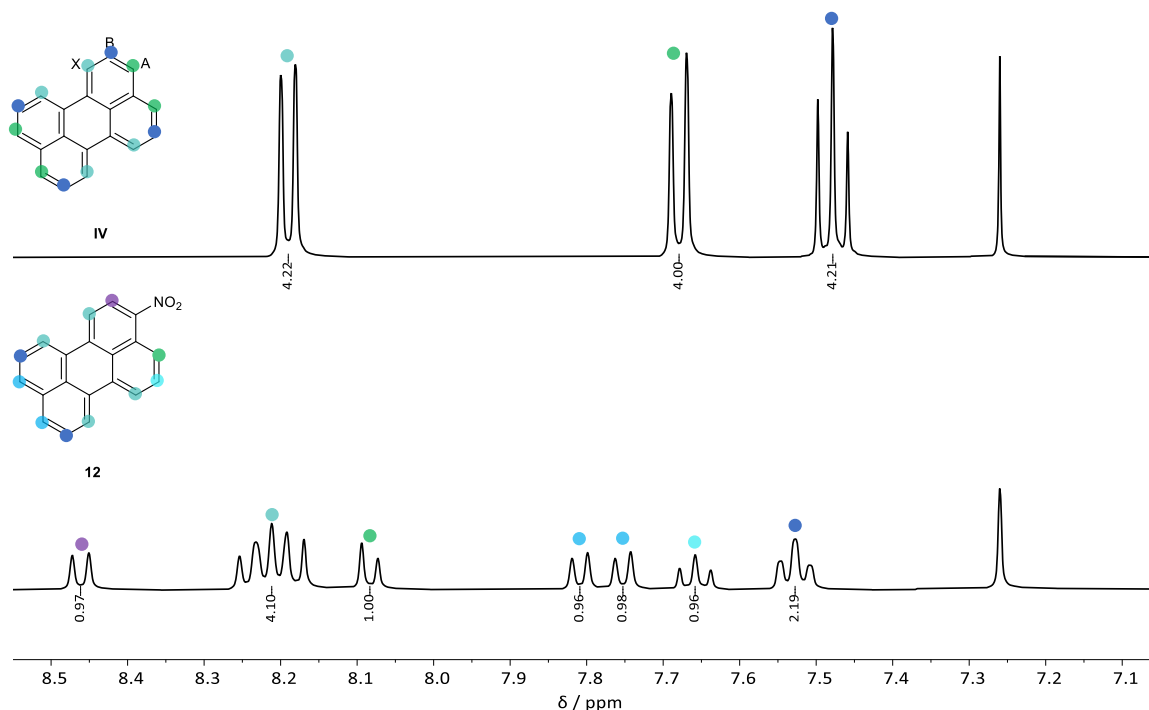
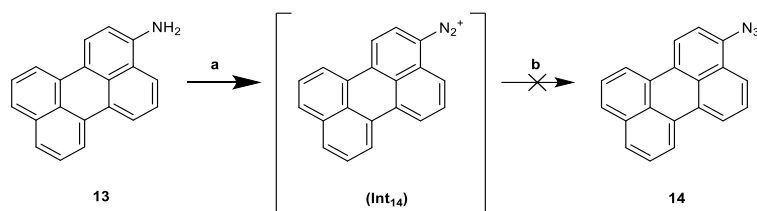


Abbildung 40 Vergleich der ^1H -NMR Spektren (400 MHz, CDCl_3) von Perylen **IV** (**oben**) und 3-Nitroperylen **12** (**unten**).

Bei dem Hauptprodukt handelt es sich um das gewünschte 3-Regioisomer wie nachfolgend begründet werden kann: Aufgrund seiner Molekülgeometrie liegt bei unmodifiziertem Perylen **IV** ein ABX-Spinsystem vor. Die NMR-Analyse von **IV** (**Abbildung 40, oben**) zeigt eine klare Aufteilung in zwei Signalbereiche: Die vier H_X -Protonen der Bay-Region von **IV** erscheinen bei einer chemischen Verschiebung von $\delta > 8.0$ ppm, während die acht H_A/H_B Protonen bei höheren Feldstärken von $\delta < 8.0$ ppm zu sehen sind. Durch Einführung einer Nitrofunktion in 3-Position von **12** verändert sich nun die chemische Verschiebung δ signifikant (**Abbildung 40, unten**). Im Bereich von $\delta > 8.0$ ppm finden sich nun sechs statt der ursprünglichen vier H_X -Protonen, während die H_A/H_B -Gruppe bei $\delta < 8.0$ ppm, nur noch fünf anstatt sieben Protonen aufweist. Aufgrund des negativen mesomeren Effekts der 3-Nitrofunktion wird die Elektronendichte in 2-Position (**Abbildung 40, unten, lila**) und 4-Position (**Abbildung 40, unten, grün**) verringert. Daraus resul-

tierend wirkt auf die Protonen in diesen Positionen eine ausgeprägte Entschirmung und es kommt zur Tieffeldverschiebung zu $\delta > 8.0$ ppm der entsprechenden Signale. Die chemische Verschiebung δ ist somit ein sicherer Beweis für die Anwesenheit des korrekten Regioisomers.^[177-179] In einem zweiten Reaktionsschritt b wurde das gewünschte Perylenamin **13** durch Reduktion mit Hydrazin-Monohydrat in einer Ausbeute von 88% erhalten.^[178] Anschließend wurde das Aminderivat **13** in einer Diazotierung gemäß **Schema 9** umgesetzt.



Schema 9 Synthesestrategie für Perylenazid **14**: a) 1.25 Äq. NaNO_2 , THF/5N HCl_{aq} , 0 °C, 30 min; b) 2.50 Äq. NaN_3 , THF/5N HCl_{aq} , 0 °C-RT, 30 min.

Im Gegensatz zum Pyrenazid **11** führte diese Synthesestrategie nicht zum gewünschten Perylen-derivat **14**. Nach Zugabe von Natriumnitrit färbte sich die gelbe Suspension innerhalb kurzer Zeit dunkelblau. Darüber hinaus konnte die Bildung eines schwarzen, hochviskosen Feststoffes unter Gasentwicklung beobachtet werden.

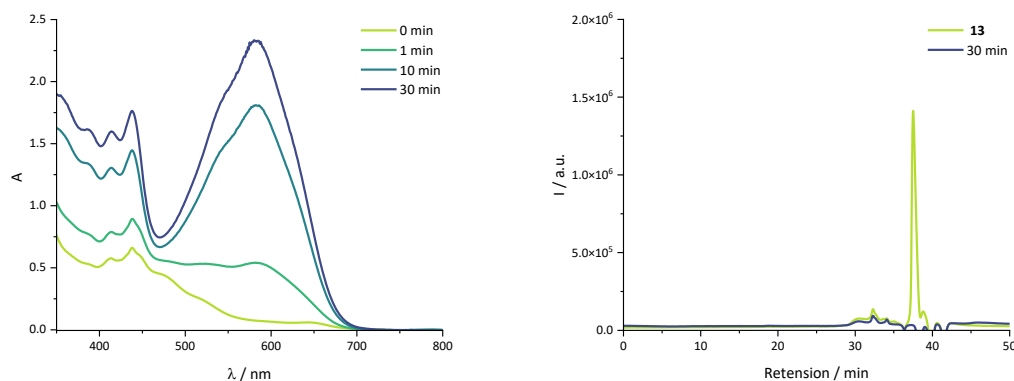
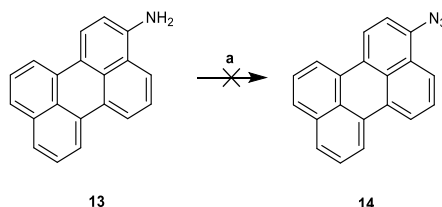


Abbildung 41 Zeitabhängige UV/Vis-Absorptionsmessung der Synthese von **14** (**links**) und eine GPC-Messung des Edukts **13** bzw. des viskosen Feststoffes nach der Reaktion (**rechts**). (1mg/mL in THF, SEC column: 300x8mm, 5 μm , 1000Å, Flussrate: 1mL/min)

Aufgrund der beobachteten Gasentwicklung ist die erfolglose Synthese des Perylenazids **14** vermutlich auf eine Dediazotierung zurückzuführen.^[180] Durch Abspaltung von Stickstoff entsteht dabei aus (**Int₁₄**) ein Arylradikal, das weiterführend eine undefinierte Polymerstruktur ausbildet. Durch die Vergrößerung des delokalisierten Systems kommt es dabei zu einer bathochrom verschobenen Absorptionsbande bei $\lambda = 600$ nm, wie in **Abbildung 41** zu sehen ist. Der vollständige Umsatz des Monomers **13**, wie anhand der GPC-Analyse zu sehen ist, stärkt diese Hypothese.^[180] Im Vergleich zu Pyren, bei dem das Diazoniumkation (**Int₁₅**) während der Synthese ausreichend stabil ist, verhindert die elektronenreiche Struktur des Perylens ein gezieltes Abfangen der reaktiven Spezies (**Int₁₄**) mit Natriumazid. Aus diesem Grund wurde eine Synthesestrategie für arylische Azide nach TOR *et al.* versucht.^[181] Ausgehend von **13** wurde der Substitutionsansatz in **Schema 10** durchgeführt.



Schema 10 adaptierte Synthese nach TOR *et al.* zur Darstellung von Perylenazid **14**:

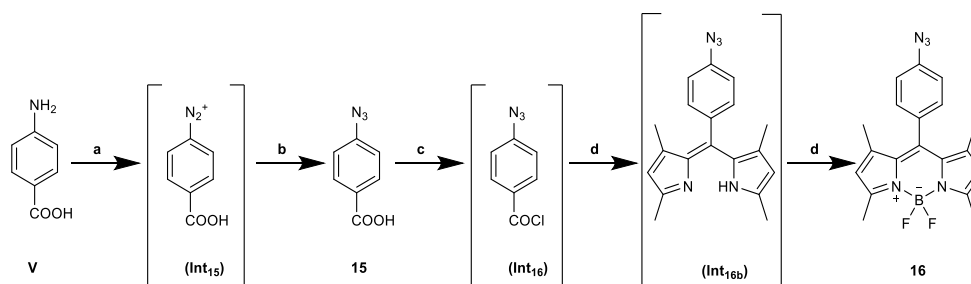
a) 3.00 Äq. NEt₃, 6.00 Äq. TfN₃, 0.05 Äq. CuSO₄, THF/DCM, RT, 8 h.

Dabei wurde **13** mit frisch hergestellter Triflylazidlösung versetzt und bei Raumtemperatur für 8 h gerührt. Die Synthesestrategie führte auch nach längerer Reaktionszeit zu keinem Umsatz von **13** und dementsprechend nicht zur Isolierung des gewünschten Produkts **14**. In einem weiteren Syntheserversuch wurde eine Substitution mit 3-Bromperylen als Edukt durchgeführt. Dieser Ansatz führte ebenfalls nicht zur Umsetzung des Edukts, sodass die Synthese des arylischen Perylenazids **14** verworfen wurde. Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wurde BODIPY als Alternative gewählt.

Synthese des BODIPY-Azids **16**

In vorangegangenen Forschungsarbeiten von WAGENKNECHT *et al.* wurden BODIPYs erfolgreich als Modifikation innerhalb eines Oligonukleotids eingesetzt.^[182] Die bisherigen Arbeiten innerhalb der Arbeitsgruppe haben sich dabei auf den Einbau von farbstoffmodifizierten Bausteinen fokussiert, sodass die Forschung auf dem Gebiet der postsynthetischen Modifizierung mit BODIPY-Aziden weniger gut entwickelt ist.

Ausgehend von 4-Aminobenzoesäure **V** wurde das clickfähige BODIPY-Derivat **16** in einer mehrstufigen Synthese nach DINOLFO *et al.* hergestellt.^[183] Gemäß **Schema 11** wurde im Initialschritt **a** durch Diazotierung von **V** und anschließender Substitution mit Natriumazid, das Benzoesäurederivat **15** in quantitativer Ausbeute erhalten.

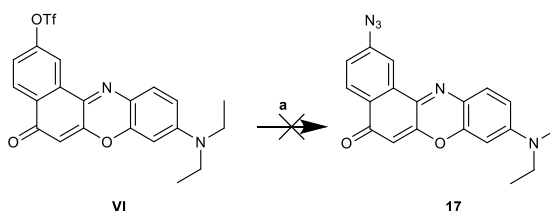


Schema 11 Synthese von BODIPY-Azid **16**: **a)** 1.5 Äq. NaNO_2 , 5N HCl_{aq} , 0 °C, 30 min; **b)** 3.00 Äq. NaN_3 , 5N HCl_{aq} , 0 °C-RT, 30 min, 93 %; **c)** 1.70 Äq. Oxalylchlorid, 0.25 Äq. Pyridin, abs. DCM, RT, 3 d; **d)** 2.00 Äq. 2,4-Dimethylpyrrol, abs. DCM, RT, 12 h; **e)** 6.25 Äq. NEt_3 , 8.05 Äq. $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, abs. DCM, RT, 4 h, 9 %.

Zur Aktivierung der Carboxylfunktion wurde eine milde Chlorierung in Syntheseschritt c mit Oxalylchlorid über mehrere Tage durchgeführt. Die Verwendung von Oxalylchlorid als Halogenierungsreagenz hat den Vorteil, dass die Azidfunktion nicht negativ beeinflusst wird. Harschere Reaktionsbedingungen, die bei der Verwendung von Phosphoryl- oder Sulfurylchlorid auftreten, würden die chemische Stabilität der Azidfunktion nicht gewährleisten.^[184, 185] Das Säurechlorid (**Int₁₆**) wurde ohne vorherige Aufreinigung zum 2,2'-Dipyrromethenderivat (**Int_{16b}**) umgesetzt. In einem letzten Schritt wurde durch Einsatz von Bortrifluoridetherat ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) unter basischen Bedingungen das azidmodifizierte BODIPY **16** erhalten. Die säulenchromatographische Aufreinigung und eine abschließende Umkristallisation aus *n*-Hexan führte zu einem reinen Produkt.

Synthese des Nilrotazids **17**

Aus präparativen Arbeiten stand Triflylnilrot **VI** zur Verfügung. Aufgrund der sehr guten Nukleofugqualität von Triflaten wurde dieses in einer Substitutionsreaktion zur Synthese des Nilrotazids **17** eingesetzt.^[186]



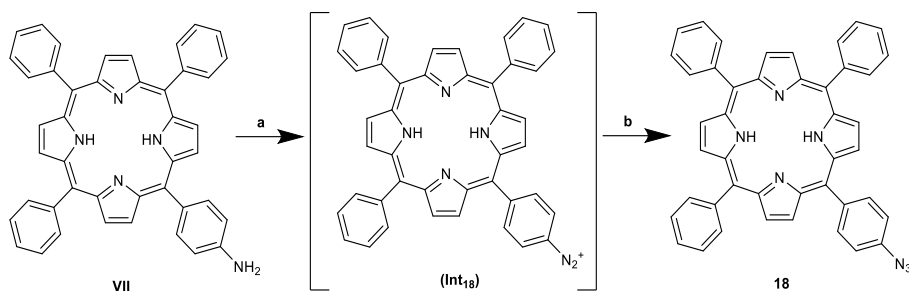
Schema 12 Synthesestrategie für Nilrotazid **17**: **a**₁) 2.00 Äq. NaN₃, THF, 60 °C, 12 h; **a**₂) 2.00 Äq. NaN₃, 0.50 Äq. NaAsc, 2.00 Äq. CuSO₄·5H₂O, 2.00 Äq. Na₂CO₃, DMF/H₂O (2:1), 85 °C, 12 h.

Nach **Schema 12** wurde **VI** in THF gelöst und direkt mit Natriumazid versetzt. Auch nach längerer Reaktionszeit konnte kein Umsatz des Edukts beobachtet werden. JIANG *et al.* konnten durch die Verwendung spezifischer Additive erfolgreich eine Auswahl an Arylbromiden in die korrespondierenden Azide überführen.^[187] Diese Synthesestrategie wurde ebenfalls zur Erzeugung von **17** versucht, wobei kein Umsatz beobachtet wurde. Das Misslingen beider Synthesen legt nahe, dass das Nilrotderivat **VI** unter den gewählten Bedingungen nicht ausreichend für eine nukleophile aromatische Substitution (S_NAr) aktiviert ist. Hierbei ist ein elektronenarmes System von Vorteil, um den Angriff eines Nukleophils energetisch zu begünstigen. Das elektronenreiche Phenoxazingerüst von **VI** verhindert, nach Angriff eines Nukleophils, die Ausbildung eines stabilen σ -Komplexes. Dies stellt vermutlich unter den gegebenen Reaktionsbedingungen eine zu hohe energetische Barriere dar.^[188]

Darüber hinaus wurde ein alternativer Zugang über 2-Amininilrot und eine Diazotierung untersucht. Das Produkt **17** konnte dabei nur in Spuren und mit schlechter Reinheit erhalten werden. Aufgrund dessen wurde die Verwendung von Nilrot als roter Emitter verworfen und die Strategie zugunsten von Porphyrinen neu ausgerichtet. Die Wahl basiert auf Arbeiten von DINOLFO *et al.*, die zeigen konnten, dass Porphyrine einen effizienten FRET mit BODIPYs eingehen.^[183]

Synthese des Porphyrinazids **18**

Die Synthese von **18** erfolgte ausgehend von Verbindung **VII**. Hierzu wurde das Aminderivat zunächst diazotiert und das resultierende Diazoniumsalz (**Int₁₈**) durch Umsetzung mit Natriumazid zum Zielprodukt **18** substituiert.^[183]



Schema 13 Synthese von Porphyrinazid **18**: **a)** 1.20 Äq. NaNO_2 , THF/5N HCl_{aq} , 0 °C, 30 min; **b)** 3.60 Äq. NaN_3 , THF/5N HCl_{aq} , 0 °C-RT, 30 min, 95 %.

Das Produkt **18** wurde nach Flüssig-Flüssig-Extraktion in einer quantitativen Ausbeuten erhalten.

3.2.3 Synthese der DNA-Chromophor-Architekturen

Nach erfolgreicher Synthese der ethynylmodifizierten Oligonukleotide und einer Auswahl an Chromophoraziden wird in diesem Kapitel die Synthese der DNA-Chromophor-Architekturen beschrieben. Hierbei wurde eine modifizierte Strategie von CARELL *et al.* verwendet.^[153]

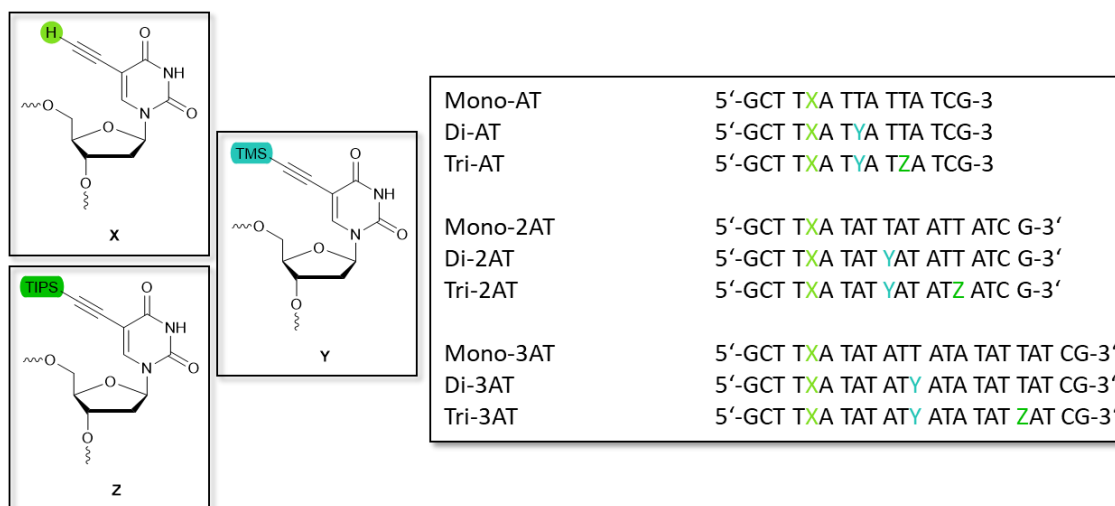


Abbildung 42 Übersicht der Oligonukleotide mit den clickfähigen Nukleotiden **X**, **Y**, **Z**.

Zu Beginn wurde die Synthese einfach modifizierter Oligonukleotid-Chromophor-Architekturen verfolgt. Die Stränge **Mono-AT**, **Mono-2AT** und **Mono-3AT** mit dem clickfähigen EdU-Baustein **X** innerhalb der Sequenz wurden nach der Synthese auf dem CPG-Träger belassen und postsynthetisch mittels CuAAC modifiziert. Dazu wurden die in **Tabelle 3** aufgelisteten Clicklösungen angesetzt und zusammen mit dem gewünschten Chromophorazid **11**, **16** oder **18** zugegeben.

Tabelle 3 Verwendete Reagenzien für die Clickreaktion mit **X**.

Reagenz	Konzentration	Volumen	Äquivalente
CuBr ^x	0.10 M	200 µL	20
TBTA ^{xx}	0.10 M	400 µL	40
Natriumascorbat ^{xx}	1.00 M	50 µL	50
11 ^{xxx}	0.1 M	100 µL	10
16 ^{xxx}	0.1 M	100 µL	10
18 ^{xxx}	0.1 M	100 µL	10

^xDMSO/*t*-BuOH (3:1); ^{xx}demineralisiertes Wasser; ^{xxx}DMSO

Nach Ablauf der Reaktionszeit wurden die Clickreagenzien durch mehrmaliges Spülen des CPGs mit organischen Lösungsmitteln quantitativ entfernt. Die Verwendung von Pyren **11** und Porphyrin **18** führte zu sehr guten Ausbeuten der korrespondierenden **Mono-Py** und **Mono-Po** Oligonukleotide. Ein kritischer Punkt stellte die ammoniakalische Abspaltung der BODIPY modifizierten Oligonukleotide **Mono-Bo** vom Trägermaterial dar. Während bei **Mono-Py** und **Mono-Po** keine optische Veränderung wahrgenommen wurde, kam es bei **Mono-Bo** zum Verlust der Brillanz und Emissionseigenschaft. Nach ammoniakalischer Abspaltung lag eine braune, nicht fluoreszierende Lösung vor. Obwohl die Clickreaktion mit **16** auf der Festphase funktioniert, erweist sich die chemische Stabilität des Chromophors als inkompatibel mit dem basischen Milieu der CPG-Abspaltung und erzwingt somit eine Anpassung der Synthesestrategie. Interessanterweise zeigt ein ähnliches BODIPY-Derivat bei Anbindung über ein Phenyllinker eine ausreichende chemische Stabilität unter den Bedingungen der ammoniakalischen Abspaltung.^[189] Aus diesem Grund wurde für die Herstellung von **Mono-Bo** zuerst das Oligonukleotid von der Festphase abgespalten und anschließend mit **16** in einer CuAAC modifiziert. Hierbei konnten die verschiedenen **Mono-Bo** Oligonukleotide nur in geringen Ausbeuten erhalten werden, was vermutlich auf die Hydrolyse der Ethinylfunktion von **X** zurückzuführen ist. Zur Erhöhung der Ausbeute wurde daher der TMS-geschützte Baustein **Y** verwendet. Durch simultane Entschützung von Baustein **Y** während der ammoniakalischen Oligonukleotidabspaltung wird die clickfähige Ethinylfunktion erst verzögert frei und hydrolysiert daher in geringerem Maße. Auf diese Weise konnte die Ausbeute der Oligonukleotide **Mono-Bo** deutlich verbessert werden. Neben der beschriebenen Methodik ist auch ein angepasstes Syntheseprotokoll und die Verwendung einer milden Abspaltungsmethode, wie zum Beispiel Kaliumcarbonat in Methanol möglich.^[190]

Unter Verwendung von **X** bzw. **Y** und den Chromophoraziden **11**, **16**, **18** konnten die in **Tabelle 4** abgebildeten einfach modifizierten Oligonukleotide erhalten werden.

Tabelle 4 Übersicht der hergestellten einfach modifizierten Oligonukleotide.

Bezeichnung	Sequenz (5' nach 3')	Modifikation an X/Y
Mono-AT-Py	GCT TTA TTA TXA TCG	11
Mono-AT-Bo	GCT TTA TTA TYA TCG	16
Mono-AT-Po	GCT TTA TTA TXA TCG	18
Mono-2AT-Py	GCT TTA TAT TAT ATX ATC G	11
Mono-2AT-Bo	GCT TTA TAT TAT ATY ATC G	16
Mono-2AT-Po	GCT TTA TAT TAT ATX ATC G	18
Mono-3AT-Py	GCT TTA TAT ATT ATA TAT XAT CG	11
Mono-3AT-Bo	GCT TTA TAT ATT ATA TAT YAT CG	16
Mono-3AT-Po	GCT TTA TAT ATT ATA TAT XAT CG	18

Anschließend wurde die Synthese der zweifachmodifizierten Oligonukleotide durchgeführt. Dazu wurden die in **Abbildung 42** zu sehenden Oligonukleotide **Di-AT**, **Di-2AT** und **Di-3AT** verwendet. Neben einem EdU-Baustein **X** ist bei diesen Oligonukleotiden als zweite Modifikationsposition der TMS-geschützte Baustein **Y** vorhanden. Ein schrittweiser Aufbau der verschiedenen Dichromophorsysteme gemäß **Abbildung 43** erfolgte durch zwei orthogonale Clickreaktionen: Zuerst wurde der Baustein **X** mit Pyren **11** bzw. Porphyrin **18** modifiziert und das modifizierte Oligonukleotid mittels Ammoniak von der CPG-Phase abgespalten. Die dadurch freiwerdende Ethinylfunktion von **Y** wurde anschließend in einer zweiten CuAAC mit BODIPY **16** modifiziert.

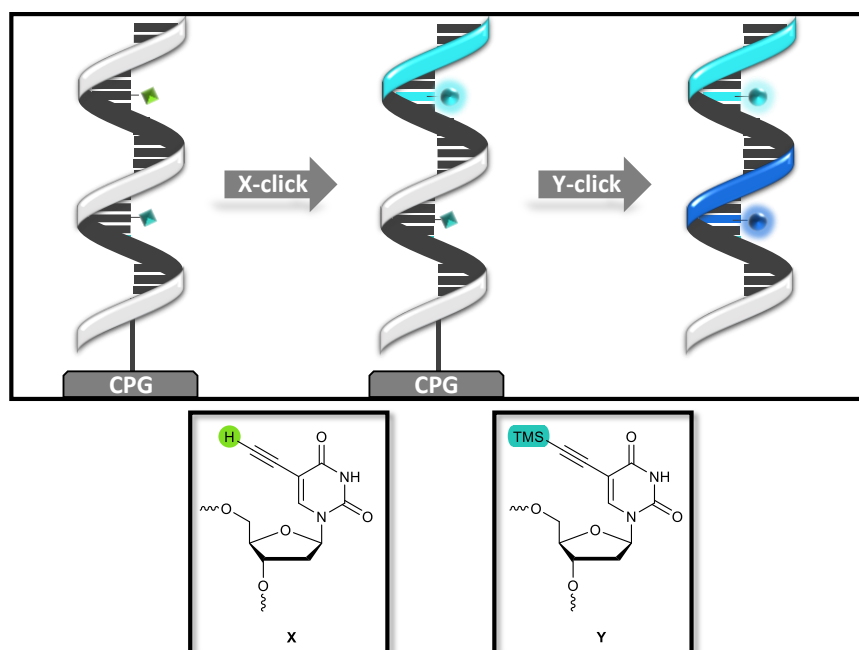


Abbildung 43 Zweistufige Synthesestrategie nach CARELL *et al.* für ein Dichromophorsystem unter Verwendung von EdU **X** und TMS-EdU **Y**: (**X-click**) Clickreaktion mit **X** auf der Festphase; (**Y-click**) Abspaltung von der Festphase, simultane Entschützung von **Y** und Clickreaktion in Lösung.

Dabei verlief die Einführung der ersten Modifikation ohne Probleme. Die Einführung des zweiten Chromophors unter Verwendung des TMS-geschützten Bausteins **Y** war nicht erfolgreich. Am Beispiel der Modifikation mit Pyrenazid **11** konnte ein Produkt nachgewiesen werden, das einem zweifach modifizierten Oligonukleotid entspricht. Dies belegt, dass die TMS-Schutzgruppe bereits während der ersten CuAAC abgespalten wurde, wodurch **Y** ebenfalls zu Konjugation mit dem eingesetzten Pyrenazid zur Verfügung stand.^[191] Die unzureichende Stabilität der TMS-Funktion unter den vorliegenden CuAAC-Bedingungen steht somit in Konflikt mit der angestrebten Orthogonalität der Bausteine **X** und **Y**. Die von CARELL *et al.* publizierte Synthesemethode, die anstelle eines 5-TMS-Ethynyl-2'-desoxyuridins, die ähnlichen Thymidin- und Cytidinderivate mit 1-TMS-1,7-Octadiinlinker verwendet, kann ohne Modifikation somit nicht auf das hier untersuchte System angewendet werden.^[153]

Die deutlich herabgesetzte Schutzgruppenstabilität von **Y** kann vermutlich auf den Einsatz des kurzen Ethynyllinkers zurückgeführt werden. Eine kurze Anbindung an die Nukleobase, führt dazu, dass die benachbarte Carbonylfunktion die Elektronendichte der C-Si Bindung verringert, wodurch diese anfälliger für einen nukleophilen Angriff wird. Im Gegensatz dazu wirkt der längere 1,7-Octadiinlinker von CARELL *et al.* isolierend und damit positiv auf die Stabilität der end-

ständigen Silylgruppe. Außerdem zeigt der längere aliphatische Linker einen ausgeprägteren induktiven Effekt, der einen nukleophilen Angriff als Initialschritt der Entschützung benachteiligt.^[154] Um die gewünschte Orthogonalität zwischen beiden Modifikationspositionen zu gewährleisten, wurde daher ein Wechsel auf den TIPS-geschützten Baustein **Z** erforderlich. Durch Verwendung der sterisch anspruchsvolleren TIPS-Gruppe wird die C-Si-Bindung effektiver gegenüber einem nukleophilen Angriff abgeschirmt und damit die Stabilität drastisch erhöht.^[154, 156] Die angepasste Methode unter Verwendung von EdU **X** und TIPS-EdU **Z** ist in **Abbildung 44** zu sehen.

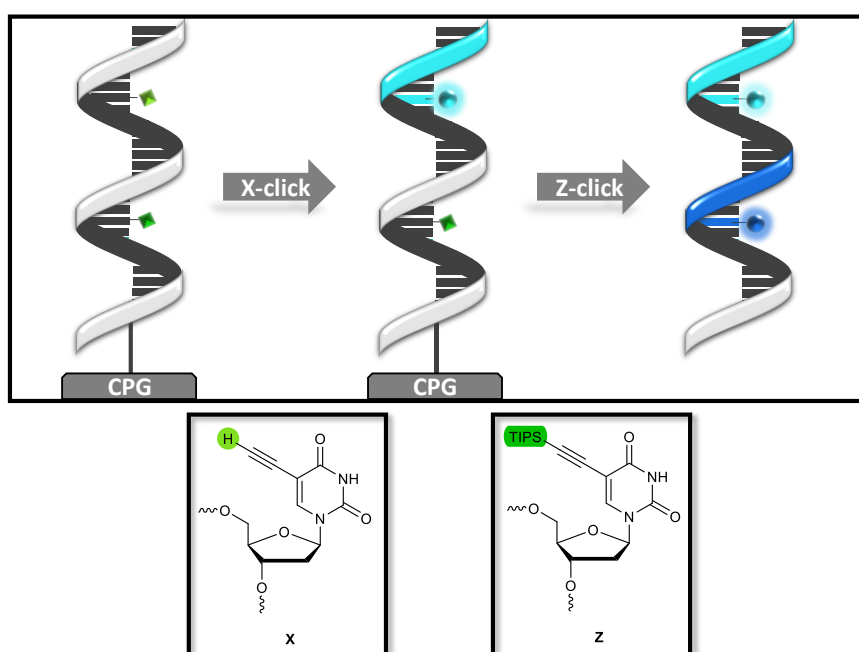


Abbildung 44 Modifizierte Synthesestrategie für ein Dichromophorsystem unter Verwendung von EdU **X** und TIPS-EdU **Z**: (**X-click**) Clickreaktion mit **X** auf der Festphase; (**Z-click**) Abspaltung von der Festphase, folgende Entschützung von **Z** mit TBAF und Clickreaktion in Lösung.

Durch Verwendung der TIPS-Schutzgruppe wurde eine vorzeitige Entschützung und Reaktion des zweiten Ethinylbausteins während der ersten CuAAC verhindert. Erst durch Zugabe von Tetrabutylammoniumfluorid wurde der Baustein **Z** von der TIPS-Schutzgruppe befreit und für eine zweite Modifizierung zugänglich gemacht. Nach Aufreinigung mittels alkoholischer Präzipitation und RP-HPLC wurden die in **Tabelle 5** aufgelisteten zweifach modifizierten Oligonukleotide erhalten.

Tabelle 5 Übersicht der hergestellten zweifach modifizierten Oligonukleotide.

Bezeichnung	Sequenz (5' → 3')	Modifikation an X	Modifikation an Z
Di-AT-PyBo	GCT TTA TZA TXA TCG	11	16
Di-AT-PyPo	GCT TTA TZA TXA TCG	11	18
Di-AT-BoPo	GCT TTA TZA TXA TCG	18	16
Di-2AT-PyBo	GCT TTA TAT ZAT ATX ATC G	11	16
Di-2AT-PyPo	GCT TTA TAT ZAT ATX ATC G	11	18
Di-2AT-BoPo	GCT TTA TAT ZAT ATX ATC G	18	16
Di-3AT-PyBo	GCT TTA TAT ATZ ATA TAT XAT CG	11	16
Di-3AT-PyPo	GCT TTA TAT ATZ ATA TAT XAT CG	11	18
Di-3AT-BoPo	GCT TTA TAT ATZ ATA TAT XAT CG	18	16

Damit bleibt der synthetische Zugang zu angestrebten Trichromophorarchitekturen unter Verwendung der drei gezeigten Ethynylnukleoside verschlossen. Zur Überwindung dieses synthetischen Nachteils wurde die *in-situ*-Strategie von WAGENKNECHT *et al.* angewandt.^[192] Dabei wird aus einem mit 5-Iod-2'-desoxyuridin (**IdU**) modifizierten Oligonukleotid durch Einwirken von Natriumazid ein mit 5-Azid-2'-desoxyuridin (**AdU**) modifiziertes Oligonukleotid generiert. Dieser Baustein kann anschließend mit einem ethynylmodifizierten Chromophor in einer CuAAC *vice versa* modifiziert werden.^[192] Auf diese Weise konnten WAGENKNECHT *et al.* die ethynylmodifizierten Derivate von Perylen und Nilrot im Rahmen einer postsynthetischen Modifikation nutzen, die als Azide synthetisch unzugänglich sind.^[192] Ein direkter Einbau von 5-Azid-2'-desoxyuridin (**AdU**) als Phosphoramidit erweist sich als problematisch, da die Azidfunktion gegenüber der eingesetzten Phosphor-(III)-Verbindung chemisch instabil ist.^[193] Die Kombination dieses Ansatzes mit einem ethynylmodifizierten Baustein **X** innerhalb des Oligonukleotids stellt die notwendige orthogonale Funktion ohne den Einsatz einer weiteren Schutzgruppe dar. Die Durchführung von zwei unabhängigen Clickreaktionen auf der Festphase hat darüber hinaus den präparativen Vorteil, dass überschüssige Reagenzien abgespült werden können.

In **Abbildung 45** ist die geplante Synthese eines Dichromophorsystems auf Basis von EdU **X** und *in situ* generiertem (**AdU**) zu sehen. Die Strategie soll auf ein Dichromophorsystem angewandt werden, um die generelle Realisierbarkeit experimentell zu bestätigen und einen möglichen Weg für die Synthese höherwertiger Systeme eröffnen.

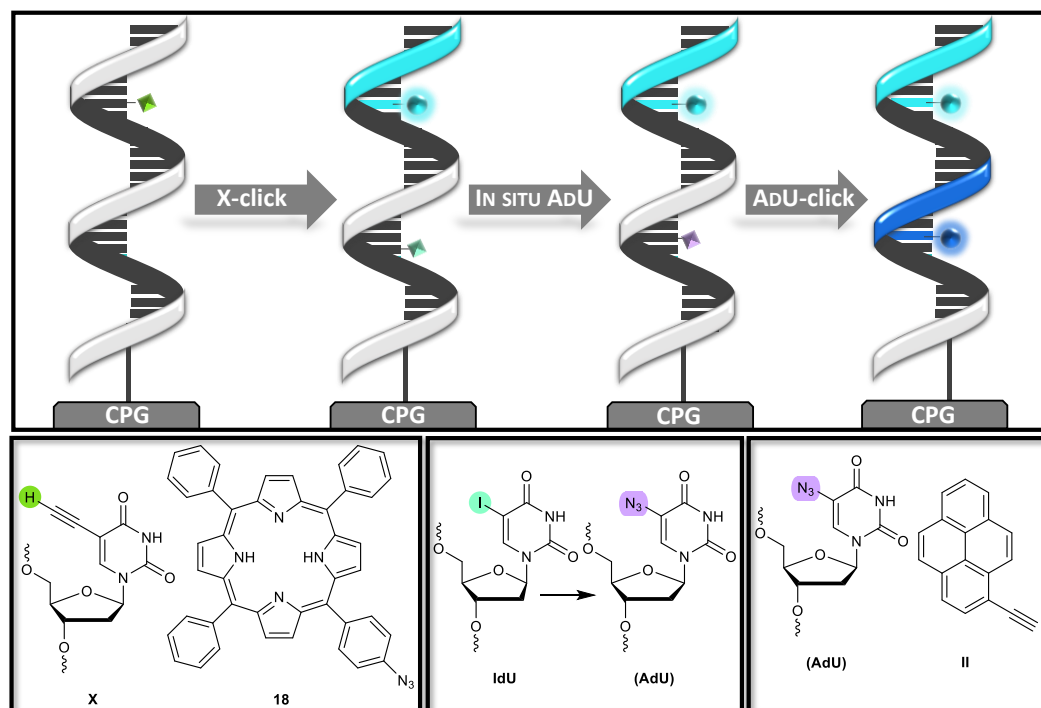
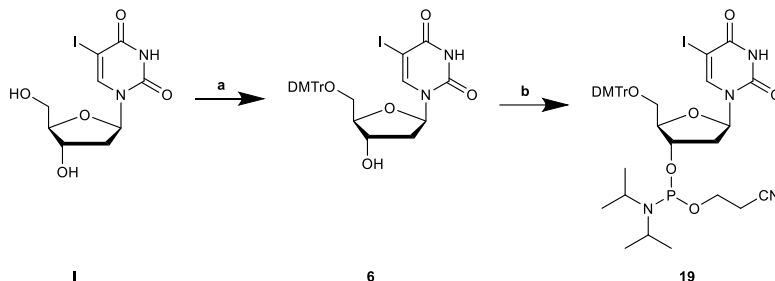


Abbildung 45 Synthesestrategie für ein Dichromophorsystem unter Verwendung von EdU **X** und **IdU** als Vorläufer: (**X-click**) Clickreaktion mit **X** und einem Chromophorazid; (**in situ AdU**) Bildung von (**AdU**) *in situ* aus **IdU**; (**AdU-click**) Clickreaktion mit (**AdU**) und einem Ethinylchromophor.

Zu Beginn wurde die Synthese eines 5-Iod-2'-desoxyuridinphosphoramidits **19** gemäß **Schema 14** durchgeführt.



Schema 14 Synthese des 5-Iod-2'-desoxyuridinphosphoramidits **19**:

a) 1.10 Äq. DMTr-Cl, abs. Pyridin, -10 °C, 4 h, 65 %; **b)** 3.60 Äq. DIPEA, 1.20 Äq. PA-Cl, abs. DCM, RT, 4 h, 85 %.

Als Ausgangsmaterial wurde kommerziell verfügbares 5-Iod-2'-desoxyuridin **I** verwendet. In einem initialen Syntheseschritt **a** wurde **I** mit DMTrCl, an der 5'-Position geschützt und zuletzt durch Phosphitylierung der freien 3'-Position zum Zielmolekül **19** umgesetzt. Durch Einbau der beiden Phosphoramidite **EdU-PA** und **19** wurden die in **Abbildung 46** dargestellten Oligonukleotide mit den Positionen **X** und **IdU** erhalten.

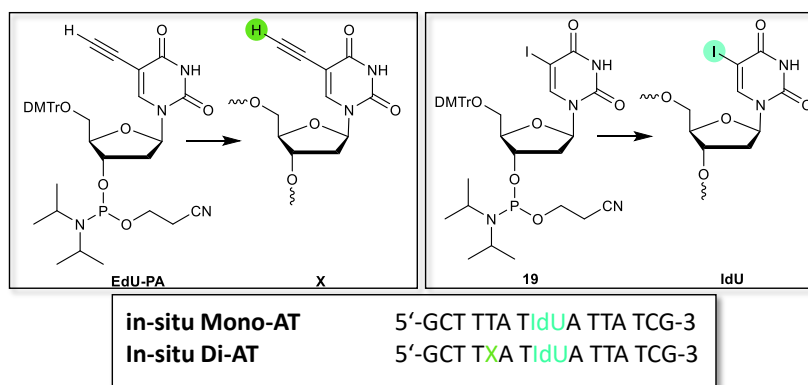


Abbildung 46 Die Phosphoramidite **EdU-PA** und **19** (oben) zur Generierung der Clickposition **X** bzw. des Vorläufers **IdU** in den untersuchten Oligonukleotidsequenzen (unten).

Die erste Modifizierung an **X** erfolgte unter Verwendung von Porphyrinazid **18** nach den bereits beschriebenen Bedingungen. Zur Einführung von 1-Ethynylpyren **II** als erste (*in-situ* Mono-AT) oder zweite Modifikation (*in-situ* Di-AT) wurde im nächsten Schritt die Azidgruppe von (**AdU**) *in situ* generiert. Dazu wurde das IdU modifizierte Oligonukleotid mit Natriumazid versetzt und für eine Stunde bei 50 °C inkubiert. Dabei wurden sämtliche Arbeitsschritte unter Ausschluss von Licht durchgeführt, um eine unerwünschte Photolyse von (**AdU**) zu vermeiden.^[192, 194] Nach

Ablauf der Zeit wurde das modifizierte Oligonukleotid mit 1-Ethynylpyren **II** in einer zweiten Clickreaktion umgesetzt. Nach Aufreinigung mittels RP-HPLC zeigte sich, dass die angestrebten Oligonukleotide **in-situ Mono-AT-Py** und **in-situ Di-AT-PyPo** erfolgreich synthetisiert werden konnten. Im Vergleich zum vorherigen Ansatz unter der Verwendung von EdU **X** und TIPS-EdU **Z** sind die Ausbeuten der daraus erhaltenen Strukturen jedoch deutlich geringer. Dies ist auf mehrere Gründe zurückzuführen, die im Folgenden erläutert werden: So zeigt die Synthese des intermediären (**AdU**)s aus dem iodhaltigen Vorläufer **IdU** einen nicht quantitativen Umsatz. Ein entscheidender Faktor für die Reaktivität bei der nukleophilen aromatischen Substitution (S_NAr) ist die Qualität des Nukleofugs. Während Iodid aufgrund seiner hohen Polarisierbarkeit und geringen Bindungsenergie eine exzellente Abgangsgruppe für klassische Substitutionen wie S_N1 oder S_N2 darstellt, erweist es sich für diese Reaktion lediglich als ausreichend gut.^[195] Iod verfügt über die geringste Elektronegativität im Vergleich zu den anderen Halogenen, wodurch der induktive Effekt auf das benachbarte Kohlenstoffatom geringer ausfällt.^[196] Dies führt dazu, dass die Reaktionsposition nur bedingt elektrophil wird, um den nukleophilen Angriff des Azids zu begünstigen.^[195, 197] Im Gegensatz dazu führt ein Wechsel auf Fluor (**FdU**) aufgrund der stärkeren Polarisierung der Halogen-Kohlenstoffbindung, zu einer Steigerung der Reaktivität.^[198] Diese begünstigt einen nukleophilen Angriff des Azidanions und senkt gleichzeitig die Energie des entstehenden Übergangszustands (MEISENHEIMER-Komplex).^[197] Nach der Bildung des (**AdU**)s ist dessen begrenzte Stabilität in Lösung ein weiterer Einflussfaktor auf die beobachtete Ausbeute. Aufgrund eines geringen Wassergehalts, bedingt durch die Zugabe einer wässrigen Natrium-ascorbatlösung, während der CuAAC, kann eine Hydrolyse nicht ausgeschlossen werden. Bei 37 °C zeigt (**AdU**) in wässrigen Medien eine Halbwertszeit von $t_{1/2} = 4\text{ h}$.^[199] Zusätzlich ist die Reinheit des im Überschuss (50 Äq.) eingesetzten Ethynylfarbstoffs **II** entscheidend. Bereits geringe Mengen an Verunreinigungen, wie zum Beispiel $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ aus der vorangegangenen SONOGASHIRA-Kupplung, setzten die Azidfunktion des (**AdU**)s in einer STAUDINGER-Reduktion zum Amin um.^[200] Unter Berücksichtigung dieser Gründe ist eine geringe Ausbeute des gewünschten Produkts nicht ungewöhnlich.

3.2.4 Spektroskopische Analyse der DNA-Chromophor-Architekturen

Nach erfolgreicher Darstellung wurden die Mono- und Di-modifizierten Oligonukleotide mit Methoden der optischen Spektroskopie charakterisiert. Dazu wurden wässrige Lösungen der modifizierten Oligonukleotide mit einer Endkonzentration von 2,50 μM hergestellt.

Die UV/Vis-Absorptions- und Emissionsspektren der einfach modifizierten Oligonukleotide **Mono-Py**, **Mono-Bo** und **Mono-Po** sowie der entsprechenden Chromophorazide (**11**, **16**, **18**) sind nachfolgend in den **Abbildung 47-49** zu sehen. Aufgrund der mangelnden Löslichkeit der Chromophorazide in wässrigem Medium wurden diese in DMSO (*Cut-off* $\lambda \leq 300$ nm) vermessen.

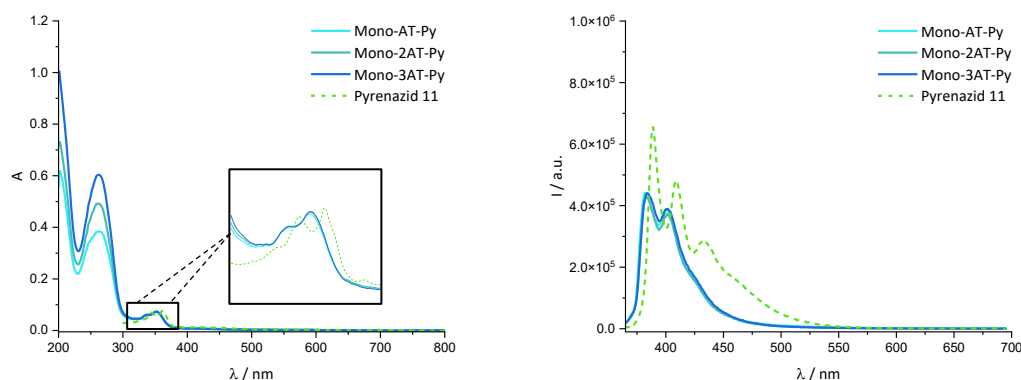


Abbildung 47 UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Oligonukleotide **Mono-Py** (2,50 μM , 10 mM NaPi-Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 350 nm) sowie das korrespondierende Chromophorazid **11** (2,50 μM , DMSO, λ_{exc} = 350 nm).

Die UV/Vis-Absorptionsspektren in **Abbildung 47, links** zeigen das charakteristische globale Maximum für Oligonukleotide bei λ_{DNA} = 260 nm. Davon abgegrenzt ist die Absorption der Pyreneinheit im UV-A Bereich zwischen λ = 300-400 nm. Hierbei handelt es sich um einen π - π^* Übergang in den angeregten Singulettzustand S_1 . Dieser weist eine charakteristische vibronische Feinstruktur mit mehreren lokalen Maxima bei λ = 335 nm und λ = 350 nm auf.^[201, 202] Im Fall des Chromophorazids **11** ist zusätzlich noch eine schwache Bande bei λ = 325 nm zu erkennen.^[201, 202] Dabei beruht die Intensitätsverteilung auf der Besetzungswahrscheinlichkeit der entsprechenden vibronische Zustände v .^[176, 201-203] Die Fluoreszenzspektren zeigen ebenfalls die vibronische Feinstruktur mit zwei lokalen Maxima bei λ = 383 nm und λ = 400 nm, die auf die Relaxation des angeregten Singulettzustands S_1 in den Grundzustand S_0 zurückzuführen sind. Im Fall von **11** ist auch im Fluoreszenzspektrum eine weitere Bande bei λ = 433 nm ersichtlich.^[176, 201, 202] Unter Be-

rücksichtigung der intensivsten Absorption ($\lambda = 350$ nm) und Fluoreszenz ($\lambda = 383$ nm) ergibt sich eine STOKES-Verschiebung von $\Delta\lambda_{\text{Pyren}} = 2462 \text{ cm}^{-1}$. Die Fluoreszenzquantenausbeute Φ_F beträgt für **Mono-AT-Py** 3,4 %, für **Mono-2AT-Py** 3,2 % und für **Mono-3AT-Py** 3,3 %. Im Vergleich zu isoliertem Pyren ist dieser Wert deutlich geringer. Dies kann durch die photoinduzierte Bildung eines ladungsgetrennten Zustands zwischen Pyren und Nukleobase erklärt werden.^[204]

Die BODIPY-modifizierten Oligonukleotide in **Abbildung 48** zeigen eine ansteigende Absorptionsbande bei $\lambda_{\text{DNA}} = 260$ nm gemäß der zunehmenden Sequenzlänge von **Mono-AT** bis **Mono-3AT**. Das Extinktionsmaximum der Farbstoffmodifikation liegt bei $\lambda_{\text{BODIPY}} = 505$ nm. Im Vergleich zum BODIPY-Azid **16** ist diese aufgrund des wässrigen Mediums um $\Delta\lambda = 5$ nm bathochrom verschoben.

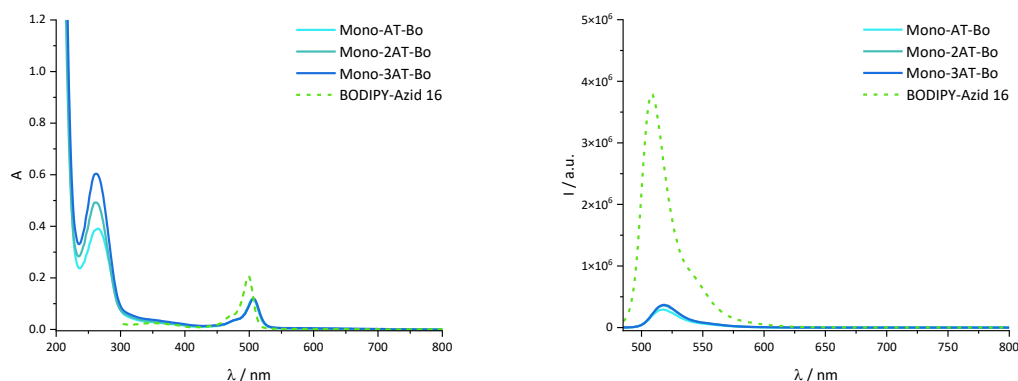


Abbildung 48 UV/Vis-Absorptions- (links) und Fluoreszenzspektren (rechts) der Oligonukleotide **Mono-Bo** in Lösung (2,50 μM , 10 mM NaP_i -Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, $\lambda_{\text{exc}} = 470$ nm) sowie das korrespondierende Chromophorazid **16** (2,50 μM , DMSO, $\lambda_{\text{exc}} = 470$ nm).

Nach Anregung bei $\lambda_{\text{exc}} = 470$ nm zeigt sich eine intensive grüne Fluoreszenz mit einem Maximum bei $\lambda_{\text{BODIPY}} = 520$ nm. Damit ergibt sich eine, für BODIPY große STOKES-Verschiebung von $\Delta\lambda_{\text{BODIPY}} = 571 \text{ cm}^{-1}$.^[205] Die Fluoreszenzquantenausbeute Φ_F beträgt für **Mono-AT-Bo** 24,0 %, **Mono-2AT-Bo** 28,2 % und für **Mono-3AT-Bo** 29,2 %.

In **Abbildung 49** sind die spektroskopischen Daten der Oligonukleotide **Mono-AT-Po**, **Mono-2AT-Po** und **Mono-3AT-Po** zu sehen. Im Vergleich zu den BODIPY- und pyrenmodifizierten Oligonukleotiden fällt die deutlich ausgeprägte Absorption bei $\lambda = 420$ nm des Porphyrins im Vergleich zur DNA auf.

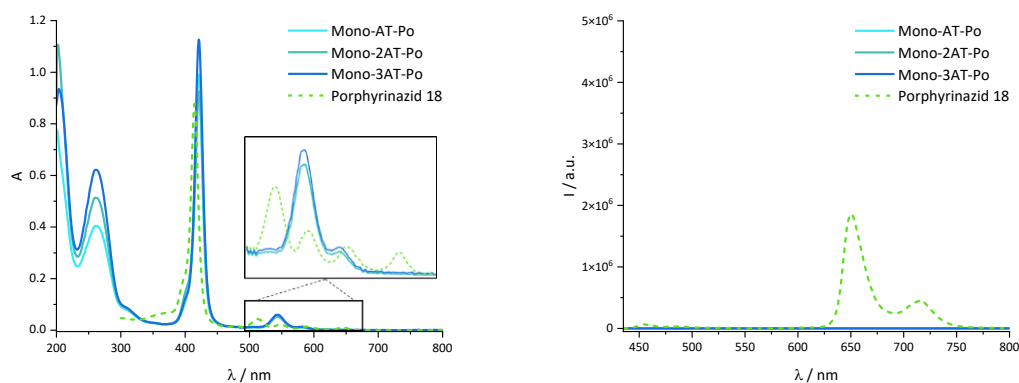


Abbildung 49 UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Oligonukleotide **Mono-Po** in Lösung (2,50 μ M, 10 mM NaP_i-Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 420 nm) sowie das korrespondierende Chromophorazid **18** (2,50 μ M, DMSO, λ_{exc} = 420 nm).

Die spektroskopische Charakterisierung der Oligonukleotide **Mono-Po** liefert eindeutige Beweise über den Zustand des Porphyrinzyklus. Neben der intensiven Soret-Bande bei $\lambda_{\text{Soret}} = 420$ nm, die aus mehreren übereinanderliegenden B-Banden besteht, zeigen die UV/Vis-Absorptionsspektren der **Mono-Po** Stränge zwei signifikanten Q_y-Banden bei $\lambda_{\text{Qy } 1 \leftarrow 0} = 543$ nm und $\lambda_{\text{Qy } 0 \leftarrow 0} = 583$ nm. Im direkten Vergleich zeigt das Porphyrinazid **18** mit vier Banden ($\lambda_{\text{Qy } 1 \leftarrow 0} = 513$ nm, $\lambda_{\text{Qy } 0 \leftarrow 0} = 548$ nm, $\lambda_{\text{Qx } 1 \leftarrow 0} = 590$ nm, $\lambda_{\text{Qx } 0 \leftarrow 0} = 645$ nm) ein komplexeres Absorptionsmuster auf.^[206] Des Weiteren ist eine vollständige Löschung der Fluoreszenz in **Abbildung 49, rechts** zu erkennen. Der Grund für diese spektralen Veränderungen liegt an der Insertion von Kupfer in den Porphyrinzyklus während der CuAAC. Aufgrund der Substitution von zwei Protonen gegen das divalente Kupferkation (Cu^{2+}) erhöht sich die Symmetrie des Makrozyklus, wie in **Abbildung 50** zu sehen ist.

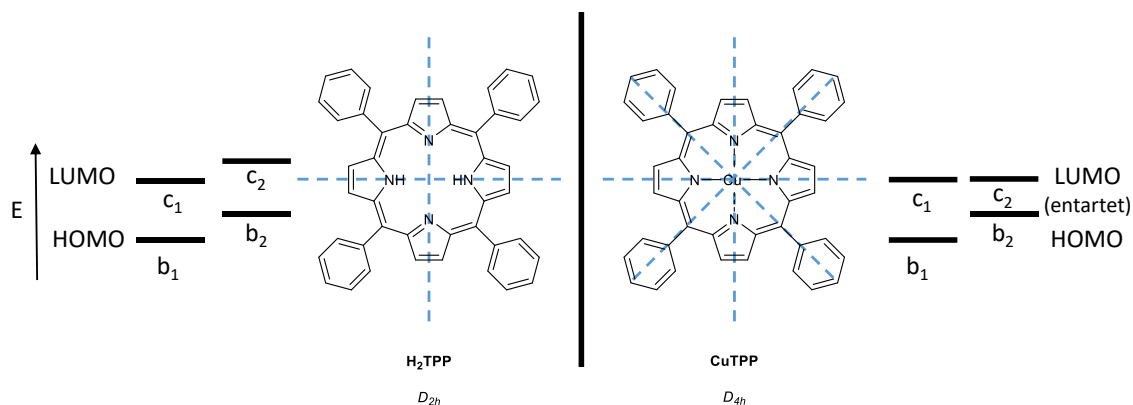


Abbildung 50 Einfluss der Kupferinsertion auf die Symmetrieeigenschaften und die energetische Lage der beteiligten Grenzorbitale von Tetraphenylporphyrin TPP.

Mit Hilfe des Vier-Orbital-Modells nach GOUTERMAN kann die daraus resultierende Veränderung der optischen Eigenschaft erklärt werden.^[207, 208] Als Modellsysteme dienen das unbesetzte **H₂TPP** (für **18**) und das kupferbesetzte **CuTPP** (für **Mono-Po**) unter Vernachlässigung weiterer Substituenten. Bei dieser vereinfachten Betrachtung werden nur die höchstbesetzten Molekülorbitale (b_1/b_2) und die niedrigsten unbesetzten Molekülorbitale (c_1/c_2) berücksichtigt. Der Unterschied zwischen einem unbesetzten **H₂TPP** und dem besetzten **CuTPP** liegt in der räumlichen Symmetrie und der daraus resultierenden energetischen Aufspaltung der beteiligten Orbitale. Bei **H₂TPP** sitzen zwei Protonen an gegenüberliegenden Stickstoffatomen, was zu einem Symmetriebruch führt. Die daraus resultierende Punktgruppe ist D_{2h} . Die vier beteiligten Orbitale sind dabei in ihrer energetischen Lage nicht äquivalent zueinander. Da aus jedem HOMO (b_1/b_2) ein Übergang in jedes LUMO (c_1/c_2) stattfindet, erscheinen vier Q-Banden im Absorptionsspektrum, wie im Fall von **18** zu sehen ist.^[206-209] Durch Insertion des divalenten Kupferkations liegen alle vier Stickstoffatome bei **CuTPP** gleich koordiniert vor und es liegt die symmetrische Punktgruppe D_{4h} vor. Dadurch liegen die beiden LUMOs entartet vor, was zu energetisch äquivalenten Übergängen zwischen LUMO und HOMO führt. Infolgedessen sind nur noch zwei Q-Banden wie im Fall der **Mono-Po** Oligonukleotide zu sehen.^[206-209] Ein weiterer spektroskopischer Beleg ist die vollständige Löschung der Fluoreszenz wie in **Abbildung 49** zu sehen. Aufgrund der Wechselwirkung des paramagnetischen Kupferkations ($[Ar] 3d^9$) mit dem Porphyrin kommt es zu einem Intersystem Crossing (ISC) und der Besetzung von energetisch tieferliegenden Triplettzuständen T_1 aus dem angeregten Singulettzustand S_1 .^[210, 211] Eine Relaxation zurück in den Grundzustand S_0 geschieht entweder strahlungslos oder durch Emission von Phosphoreszenz, wobei unter den gegebenen Bedingungen der strahlungslose Prozess bevorzugt wird.^[210, 211]

Nachdem die Oligonukleotide **Mono-Py**, **Mono-Bo** und **Mono-Po** spektroskopisch interpretiert wurden, rücken nun die doppelmodifizierten **Di-Systeme** in den Fokus der optischen Charakterisierung. Ziel hierbei war die Analysen von Wechselwirkungen zwischen den Chromophoren innerhalb des Oligonukleotids. Ein besonderes Augenmerk liegt dabei auf Energie- und Ladungstransferprozessen zwischen beiden Chromophormodifikationen.

In **Abbildung 51** sind die UV/Vis-Absorptions- und Fluoreszenzspektren der Oligonukleotide **Di-PyBo** zu sehen.

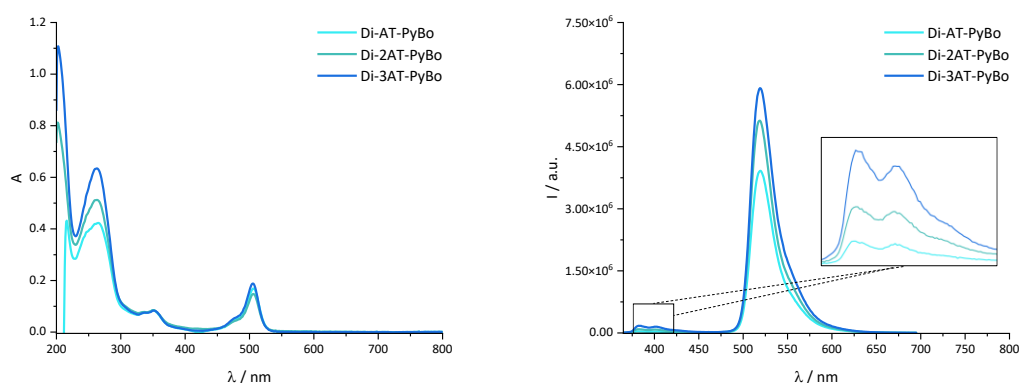


Abbildung 51 UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Oligonukleotide **Di-PyBo** in Lösung (2,50 μ M, 10 mM NaP_i-Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 350 nm).

Die UV/Vis-Absorptionsspektren zeigen neben der charakteristischen DNA-Bande bei $\lambda_{\text{DNA}} = 260$ nm die Banden von **Py** ($\lambda_{\text{Pyren}} = 335$ nm; $\lambda_{\text{Pyren}} = 350$ nm) und **Bo** ($\lambda_{\text{BODIPY}} = 505$ nm). Ein genaueres Verständnis über die photophysikalischen Prozesse nach der Anregung der Pyrenmodifikation bei $\lambda_{\text{exc}} = 350$ nm liefert die Interpretation des gemessenen Fluoreszenzspektrums in **Abbildung 51, rechts**. Hierbei zeigt sich eine fast quantitative Löschung der Pyrenemission bei $\lambda_{\text{Pyren}} = 383$ nm und $\lambda_{\text{Pyren}} = 400$ nm im Vergleich zu den korrespondierenden Oligonukleotiden **Mono-Py** in **Abbildung 47**. Parallel dazu ist eine Erhöhung der Fluoreszenzintensität des BODIPY bei $\lambda_{\text{BODIPY}} = 520$ nm erkennbar. Dies deutet primär auf einen FRET hin.^[46]

Eine Erklärung, die lediglich auf einem Energietransfer zwischen Pyren und BODIPY basiert, stößt jedoch bei der Betrachtung der Abstandsabhängigkeit (**AT-3AT**) unter Vernachlässigung des Orientierungsfaktors κ an seine Grenzen: Hier müsste mit zunehmender Distanz zwischen den Chromophoren die FRET-Effizienz sinken, wodurch die Intensität der BODIPY-Fluoreszenz bei $\lambda_{\text{BODIPY}} = 520 \text{ nm}$ abnehmen und des Pyrensignals bei $\lambda_{\text{Pyren}} = 383 \text{ nm}$ bzw. $\lambda_{\text{Pyren}} = 400 \text{ nm}$ wieder ansteigen sollte.^[46] Im Experiment zeigt sich jedoch ein gegenteiliger Effekt, da mit zunehmendem Abstand beide Fluoreszenzintensitäten ansteigen (vgl. **Di-AT-PyBo**/ **Di-3AT-PyBo**). Diese Beobachtung lässt sich durch die Berücksichtigung eines zweiten, zu FRET konkurrierenden Prozesses, erklären: der photoinduzierte Elektronentransfer (PET).^[212] Bei geringen Abständen führt ein Elektronentransfer von Pyren auf BODIPY zur Bildung eines ladungsgetrennten Zustands, wodurch die Fluoreszenz beider Farbstoffe effektiv gelöscht wird. Da dieser Prozess aufgrund der abnehmenden Orbitalüberlappung mit steigender Distanz exponentiell einbricht, entfällt diese dominante Löschkomponente bei zunehmendem Abstand wie bei **Di-3AT-PyBo**, was die beobachtete Intensitätszunahme beider Fluoreszenzsignale begründet.^[51]

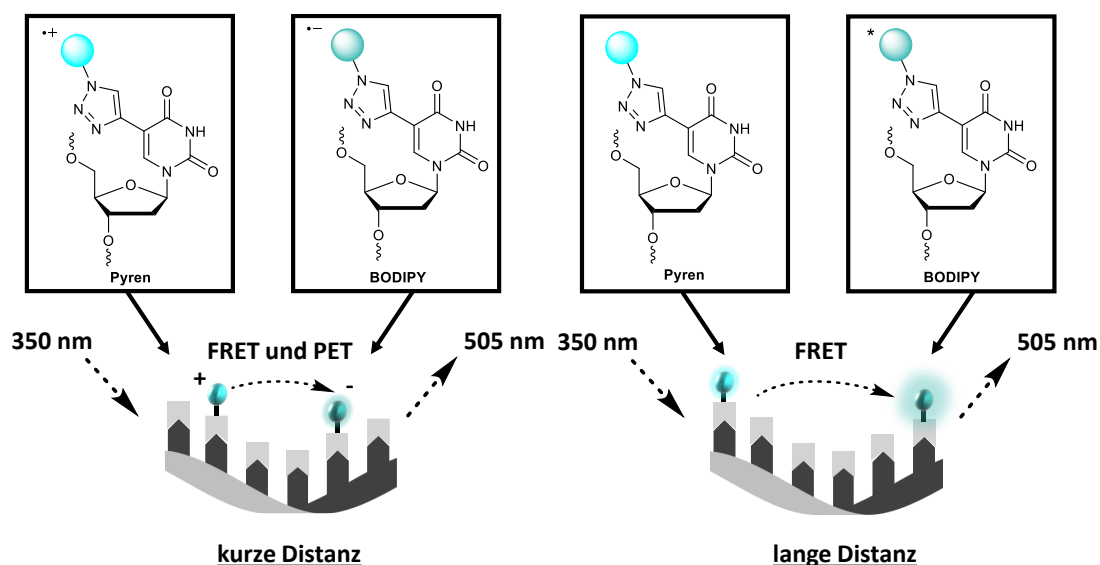


Abbildung 52 Schematische Darstellung der konkurrierenden distanzabhängigen Transferprozesse zwischen Pyren und BODIPY innerhalb der Oligonukleotide **Di-PyBo**. Bei kurzen Distanzen kommt es zur Bildung eines schwach fluoreszierenden ladungsgetrennten Zustands aufgrund der Kombination von FRET und PET (**links**). Eine längere Distanz unterdrückt den Elektronentransfer und es resultiert ein reiner Energietransfer (**rechts**).

Eine qualitative Abschätzung gemäß der REHM-WELLER **Gleichung 4** bestätigt die thermodynamische Möglichkeit eines photoinduzierten Ladungstransfers (PET).^[213, 214]

$$\Delta G_{PET} = E_{Ox} - E_{Red} - E_{0,0} - \frac{e^2}{\epsilon \times r_{DA}} \quad \text{Gl. 4}$$

In der Anwendung kann der letzte Summand (COULOMB-Term) vernachlässigt werden, wenn ein polares Lösungsmittel mit einer relativen Permittivität $\epsilon \geq 30$ vorliegt. Reines Wasser hat bei einer Temperatur von 20 °C eine relative Permittivität von $\epsilon_{H_2O} \approx 80,37$ und lässt somit eine Vereinfachung von **Gleichung 4** zu.^[215, 216] Basierend auf dem Reduktionspotential von BODIPY mit $E_{Red}(Bo/Bo^-) = -1,19 \text{ eV vs. SCE}$ ^[174, 217, 218], der Anregungsenergie von Pyren mit einem Wert von $E_{00} = 3,34 \text{ eV}$ ^[214] und dessen Oxidationspotential mit $E_{Ox}(Py^+/Py) = 1,28 \text{ eV vs. SCE}$ ^[219, 220] ergibt sich nach **Gleichung 4** eine freie Enthalpie von $\Delta G_{PET} = -0,85 \text{ eV}$ für einen reduktiven Ladungstransfer. Der photoinduzierte Elektronentransfer (PET) und der Försterresonanzenergietransfer (FRET) können somit als konkurrierende photophysikalische Prozesse nach Anregung innerhalb der **Di-PyBo** Stränge stattfinden.

In **Abbildung 53** sind die UV/Vis-Absorptions- und Fluoreszenzspektren von **Di-PyPo** zu sehen.

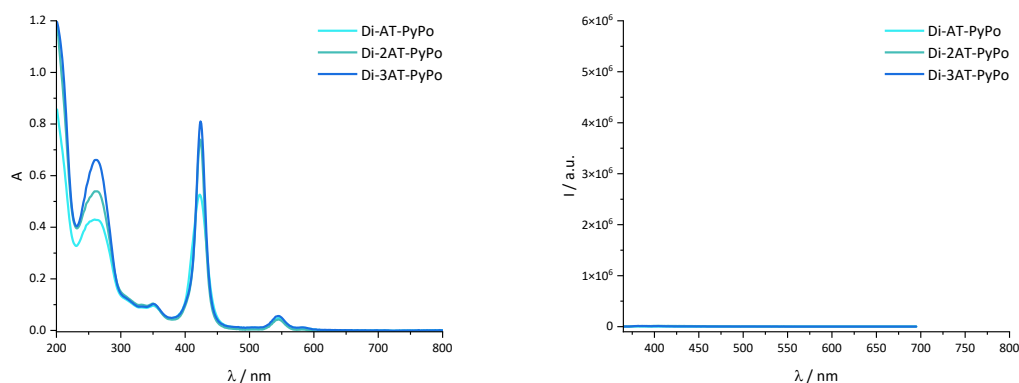


Abbildung 53 UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Oligonukleotide **Di-PyPo** in Lösung (2,50 μM , 10 mM NaP_i -Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, $\lambda_{\text{exc}} = 350 \text{ nm}$).

Die UV/Vis-Absorptionsspektren der modifizierten Oligonukleotide **Di-PyPo** zeigen neben der DNA-Bande bei $\lambda_{\text{DNA}} = 260 \text{ nm}$ die Absorptionen der vorhandenen Chromophore Pyren ($\lambda = 335 \text{ nm}$; $\lambda = 350 \text{ nm}$) und Porphyrin ($\lambda_{\text{Soret}} = 420 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{QY } 1 \leftarrow 0} = 543 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{QY } 0 \leftarrow 0} = 583 \text{ nm}$). Im Gegensatz zu den zuvor untersuchten Oligonukleotiden **Di-PyBo** zeigen die Oligonukleotide **Di-PyPo** keine Emissionseigenschaft. Dies liegt an den bereits beschriebenen Energie- und Ladungs-

transferprozessen, die eine vollständige Löschung der Emission zur Folge haben. Ein effizienter Energietransfer beruht hierbei auf der spektralen Überlappung zwischen der Pyrenfluoreszenz ($\lambda_{\text{Pyren}} = 383 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{Pyren}} = 400 \text{ nm}$) und der Soret-Bande ($\lambda_{\text{Porphyrin}} = 420 \text{ nm}$) des Porphyrins im UV/Vis-Spektrum. Die übertragene Energie dissipiert anschließend über die beschriebene strahlungsfreie Relaxation des angeregten Porphyrins, sodass keine Emission ersichtlich ist. Darüber hinaus fungiert das kupferbesetzte Porphyrin aufgrund seiner Redoxeigenschaften als effektiver Elektronenakzeptor, was ein weiterer Grund für die beobachtete Löschung der Emission darstellt.

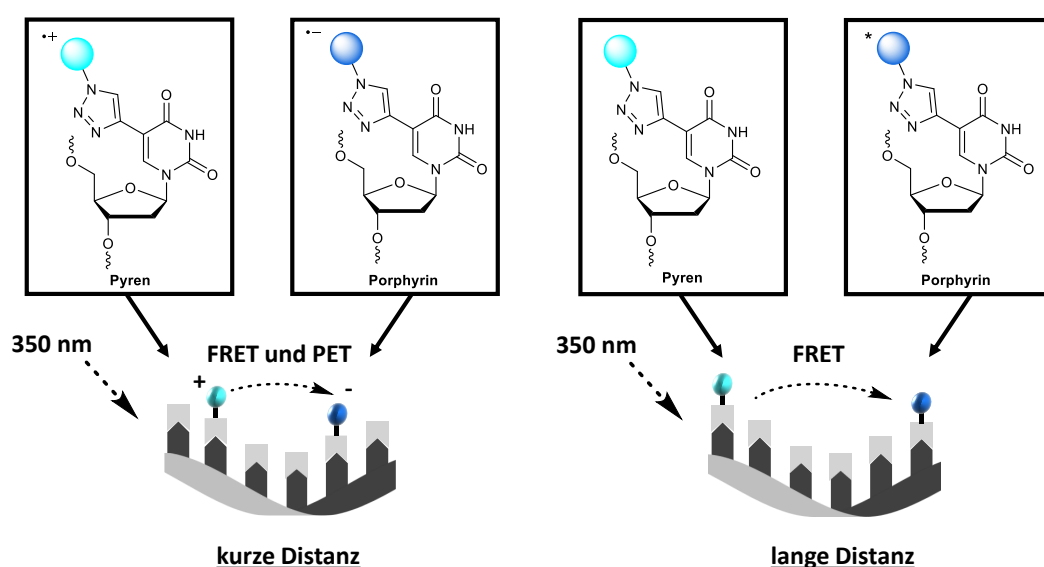


Abbildung 54 Schematische Darstellung der konkurrierenden distanzabhängigen Transferprozesse zwischen Pyren und Porphyrin innerhalb der Oligonukleotide **Di-PyPo**. Bei kurzen Distanzen kommt es zur Bildung eines ladungsgetrennten Zustands aufgrund der Kombination von FRET und PET (**links**). Eine längere Distanz unterdrückt den Elektronentransfer und es resultiert ein reiner Energietransfer (**rechts**).

Nach **Gleichung 4** ergibt eine freie Enthalpie von $\Delta G_{\text{PET}} = -0,99 \text{ eV}$ aus den Redoxpotentialen von Pyren $E_{\text{Ox}}(\text{Py}^+/\text{Py}) = 1,28 \text{ eV vs. SCE}^{[219, 220]}$ und Porphyrin $E_{\text{Red}}(\text{Po}/\text{Po}^-) = -1,05 \text{ eV vs. SCE}^{[221]}$ sowie der Anregungsenergie von $E_{00} = 3,34 \text{ eV}^{[214]}$. In Analogie zu **Di-AT-PyBo** zeigt sich auch hier ein reduktiver Elektronentransfer ausgehend von Pyren.^[222]

In **Abbildung 55** sind die spektroskopischen Daten der Oligonukleotide **Di-BoPo** zu sehen.

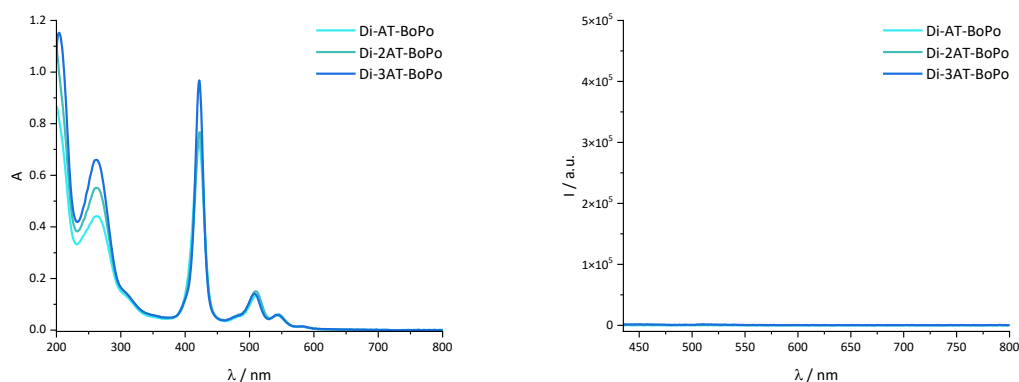


Abbildung 55 UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Oligonukleotide **Di-BoPo** in Lösung (2,50 μ M, 10 mM NaP_i-Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 470 nm).

In den UV/Vis-Absorptionsspektren (**links**) der modifizierten Oligonukleotide **Di-BoPo** erkennt man die Signale der beiden eingebauten Chromophore: Neben der DNA-Bande $\lambda_{\text{DNA}} = 260$ nm zeigt sich die BODIPY-Absorption bei $\lambda_{\text{BODIPY}} = 505$ nm und das Porphyrin mit der Soret-Bande bei $\lambda_{\text{Soret}} = 420$ nm. Darüber hinaus sind die weniger intensiven Q-Banden bei $\lambda_{\text{Qy } 1 \leftarrow 0} = 543$ nm und $\lambda_{\text{Qy } 0 \leftarrow 0} = 583$ nm des Porphyrins zu sehen. In Übereinstimmung mit den anderen porphyrinmodifizierten Oligonukleotiden ist auch hier keine Emission zu beobachten. Durch Kombination von Energie- und Ladungstransfer wird die Fluoreszenz von BODIPY, nach dessen Anregung bei $\lambda_{\text{exc}} = 470$ nm, vollständig gelöscht. Im Vergleich zu **Di-PyPo**, bei dem Porphyrin als Elektronenakzeptor fungierte, ändert sich nun dessen Rolle im Ladungstransfer zwischen den Chromophoren. Aufgrund der Tatsache, dass Porphyrin mit $E_{\text{Red}}(\text{Po}/\text{Po}^-) = -1,05$ eV vs. SCE ein geringeres Reduktionspotential im Vergleich zu BODIPY mit $E_{\text{Red}}(\text{Bo}/\text{Bo}^-) = -1,19$ eV vs. SCE aufweist, dient dieses nun als Elektronendonator. Nach **Gleichung 4** ergibt sich für den PET eine freie Enthalpie von $\Delta G_{\text{PET}} = -0,29$ eV bei Berücksichtigung der Potentiale von Porphyrin $E_{\text{Ox}}(\text{Po}^+/\text{Po}) = -0,95$ eV vs. SCE^[221, 223], BODIPY $E_{\text{Red}}(\text{Bo}/\text{Bo}^-) = -1,19$ eV vs. SCE^[174, 217, 218] und $E_{00} = 2,43$ eV. Im Gegensatz zu den pyrenmodifizierten Oligonukleotiden, bei denen ein reduktiver Elektronentransfer auf BODIPY bzw. Porphyrin stattfindet, liegt in diesem Fall ein HOMO kontrollierter oxidativer Lochtransfer vor.^[51] Die Oligonukleotidstruktur fungiert dabei als ein molekularer Draht, wie bereits durch SPIVEY *et al.* beschrieben.^[224]

3.2.5 Anwendung der DNA-Chromophor-Architekturen

Die folgenden Ergebnisse wurden im Rahmen einer Kooperation mit dem Arbeitskreis RAU am Institut für Anorganische Chemie der Universität Ulm erarbeitet. Die Titrationsexperimente wurden von MONA FARHADI RODBARI (AK RAU) und JONAS SCHMID (AK WAGENKNECHT) durchgeführt.

Eine mögliche Anwendung der hergestellten DNA-Chromophor-Architekturen als artifizielle Lichtsammelsysteme ist von großem Interesse. Die Kombination des pyrenmodifizierten Oligonukleotids **Mono-AT-Py** mit dem in **Kapitel 2** bereits erwähnten „Light Switch“-Komplex $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ stellt in diesem Kontext ein vielversprechendes Forschungsobjekt zur photokatalytischen Wasserstoffgenerierung dar.^[225] Aufgrund der ausgeprägten spektralen Überlappung zwischen der Absorptionsbande des Übergangsmetallkomplexes und der Emission des Pyrens ist ein effizienter FRET möglich. Daher wurden Titrationsexperimente mit einer wässrigen Lösung von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ($c = 2,5 \mu\text{M}$) und dem modifizierten **Mono-AT-Py** durchgeführt. Die Verwendung von **Mono-AT** als Referenzsystem dient dazu, den Einfluss der DNA-Struktur auf die Emissionseigenschaften von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ zu berücksichtigen.

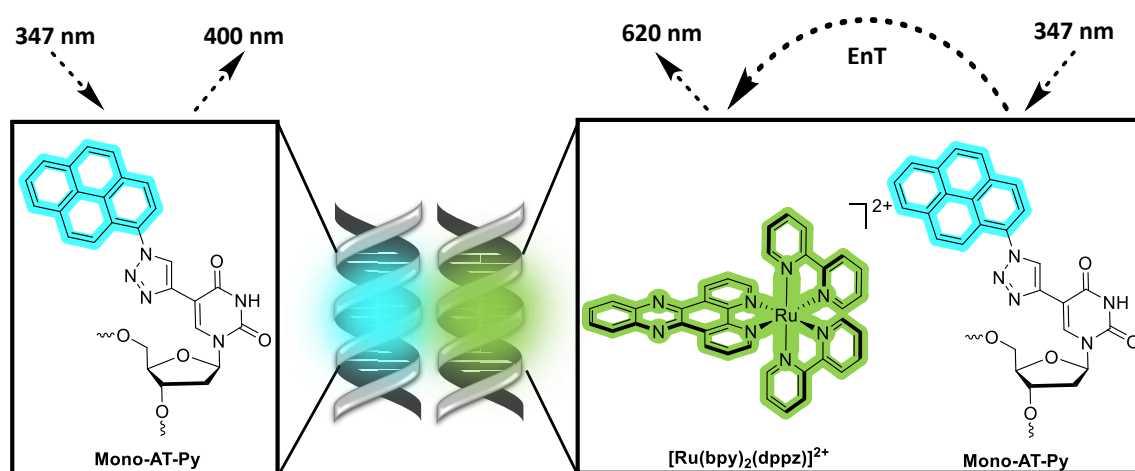


Abbildung 56 Schematische Darstellung des Energietransfers zwischen **Mono-AT-Py** und $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ sowie die resultierende Veränderung der Emission.

Zuerst wurde die Interaktion von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ mit dem einzelsträngigen **Mono-AT** untersucht. Die entsprechenden spektroskopischen Daten sind in **Abbildung 57** zu sehen.

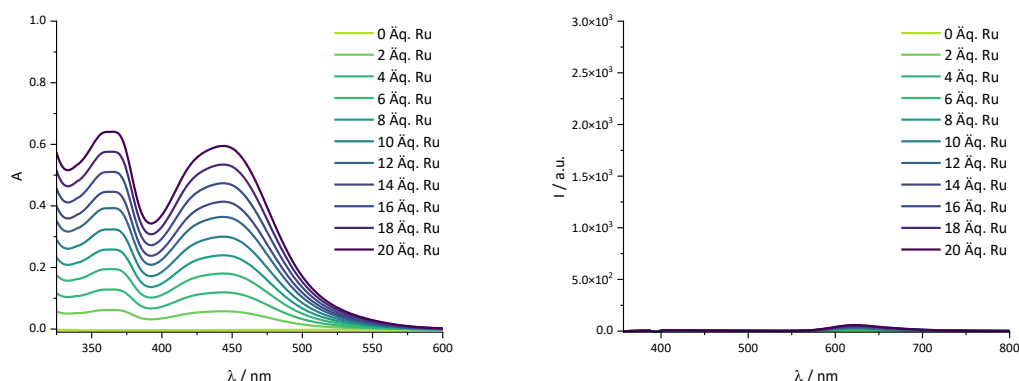


Abbildung 57 UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Emissionsspektren (**rechts**) der Titrationsansätze unter Verwendung von **Mono-AT** (2,5 μM , 10 mM NaP_i -Puffer, 250 mM NaCl , $\lambda_{\text{exc}} = 347 \text{ nm}$)

Erwartungsgemäß zeigt sich bei fortschreitender Zugabe von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ein Anstieg in dessen Absorption. Das lokale Maximum bei $\lambda = 357 \text{ nm}$ ist auf einen $\pi\pi^*$ -Übergang des dppz-Ligands zurückzuführen, während die Absorptionsbande bei $\lambda = 444 \text{ nm}$ aufgrund eines Ladungstransfers zwischen Ruthenium und Ligandsystem (MLCT-Übergang) zustande kommt.^[222, 226-229] Durch direkten Kontakt des dppz-Liganden mit dem wässrigen Medium zeigt $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ nur eine schwache Phosphoreszenz bei $\lambda = 620 \text{ nm}$.^[230] Dies liegt an der begünstigten Population eines strahlungsfreien $^3\text{MLCT}$ -Zustandes.^[227] Aufgrund der Aggregation mehrere $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ an den Einzelstrang **Mono-AT** kommt es dennoch zu einer geringfügigen Abschirmung und somit zu einer Besetzung des strahlenden $^3\text{MLCT}$ -Zustandes.^[81, 231] Bei Verwendung des pyrenmodifizierten Oligonukleotids **Mono-AT-Py** zeigt sich ein vergleichbares Absorptionsspektrum, wobei die Pyrenbanden durch den intensiven LC-Übergang des Rutheniumkomplexes bei $\lambda = 357 \text{ nm}$ im Verlauf der Titration überdeckt werden. Die Auswertung der Emissionsspektren zeigt eine Intensitätsabnahme der Pyrenfluoreszenz. Darüber hinaus verändert sich auch das Intensitätsverhältnis der Feinstruktur mit fortschreitender Zugabe von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$. Dies liegt daran, dass durch Anlagerung der Rutheniumkomplexe an **Mono-AT-Py** die lokale Polarität verändert wird. Dadurch nimmt die Intensität des Übergangs bei $\lambda = 383 \text{ nm}$ ab, wohingegen der Übergang bei $\lambda = 400 \text{ nm}$ kaum beeinflusst wird.^[42, 232] Dieser solvatochrome Effekt ist für Pyren charakteristisch und wird als III/I-Verhältnis bezeichnet.^[233]

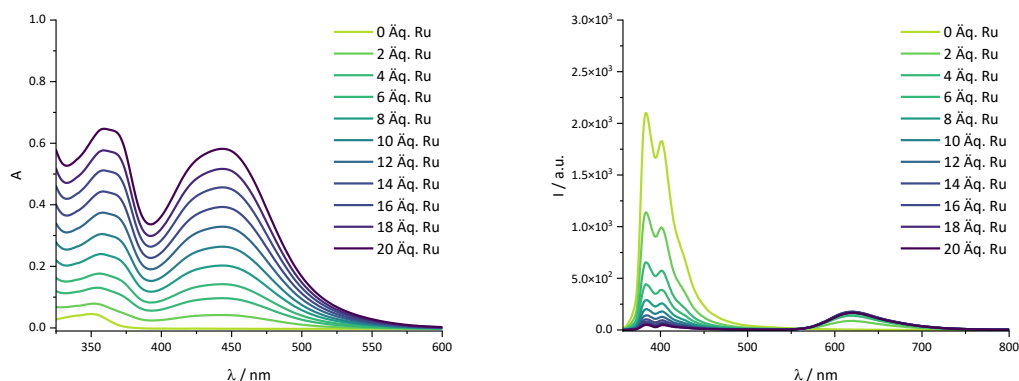


Abbildung 58 UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Emissionsspektren (**rechts**) der Titrationsansätze unter Verwendung von **Mono-AT-Py** (2,5 μM , 10 mM NaP_i-Puffer, 250 mM NaCl, $\lambda_{\text{exc}} = 347 \text{ nm}$)

Im Vergleich zum unmodifizierten Oligonukleotid **Mono-AT** zeigt sich bei **Mono-AT-Py** mit zunehmender $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ -Konzentration ein ausgeprägter Intensitätsanstieg der Phosphoreszenzbande bei $\lambda = 620 \text{ nm}$. Die entgegengesetzte Intensitätsänderung von Pyren und Rutheniumkomplex ist auf einen Energietransfer wie in **Abbildung 59** zurückzuführen.^[46]

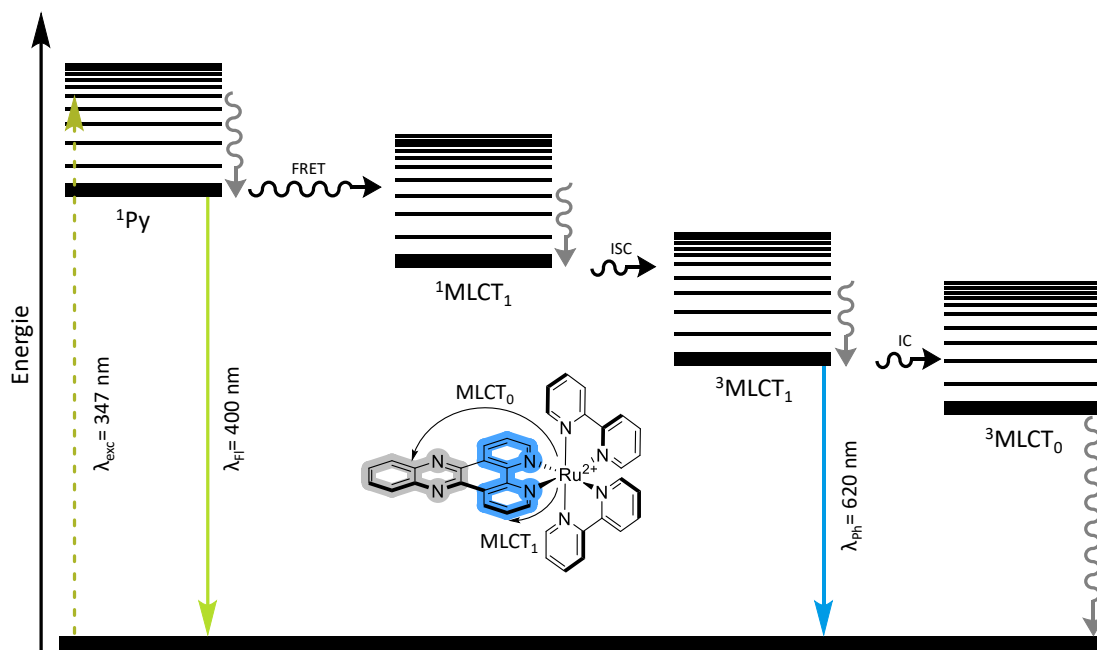


Abbildung 59 Vereinfachtes JABLONSKI-Schema der beteiligten Zustände von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ und Pyren nach Anregung bei $\lambda_{\text{exc}} = 347 \text{ nm}$.

Dabei findet der FRET aus dem ersten angeregten Singulettzustand S_1 von Pyren in den $^1\text{MLCT}$ -Zustand des Rutheniumkomplexes statt. Durch *intersystem crossing* kommt es anschließend zur

Besetzung des $^3\text{MLCT}$ Zustandes.^[234] Vermutlich fördert eine π - π -Wechselwirkung mit dem planaren Chromophor eine koplanare Ausrichtung von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ und damit die Abschirmung des dppz-Liganden. Dadurch wird die Population des strahlenden $^3\text{MLCT}$ -Zustandes begünstigt.^[137, 235, 236] Die Änderung der Emissionsintensität während der Zugabe von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ zu den Oligonukleotiden **Mono-AT** und **Mono-AT-Py** wird in **Abbildung 60** deutlich hervorgehoben. Die Datenpunkte wurden durch Integration der Emissionsbanden von Pyren und $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ in **Abbildung 57** bzw. **Abbildung 58** erhalten.

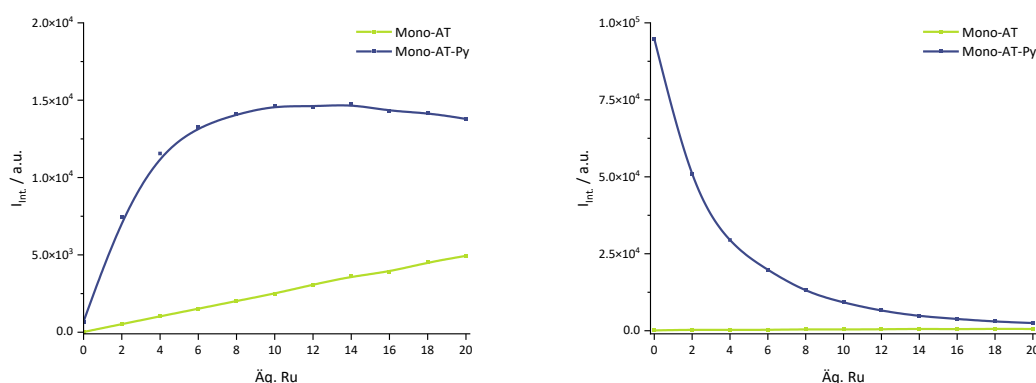


Abbildung 60 Intensitätsänderung der Emission von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ (links) und Pyren (rechts) im Verlauf der Titration zu **Mono-AT** und **Mono-AT-Py**. ($c_{\text{DNA}} = 2,50 \mu\text{M}$, $c_{\text{Ru}} = 0\text{--}25,0 \mu\text{M}$, 10 mM NaP_i -Puffer, 250 mM NaCl , $\text{pH}=7$, $\lambda_{\text{exc}} = 347 \text{ nm}$)

Im Vergleich zum unmodifizierten **Mono-AT** zeigt sich bei **Mono-AT-Py** ein deutlicher Anstieg der Phosphoreszenz von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ bei gleichzeitiger Abnahme der Pyrenfluoreszenz. Die Differenz beider Systeme ergibt sich aus dem Energietransfer von Pyren auf $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$, was eine potenzielle Anwendung als Lichtsammelsystem im UV-A Bereich unterstreicht. Dabei zeigt sich nach Anlagerung von zehn Äquivalenten $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ein Emissionsplateau im Fall des pyrenmodifizierten Oligonukleotids **Mono-AT-Py**. Das Plateau spricht für eine vollständige Besetzung des Oligonukleotids, wodurch überschüssiges $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ aufgrund des direkten Kontakts zum wässrigen Medium nicht zur Erhöhung der Signalintensität beiträgt. Stattdessen ist eine geringfügige Abnahme bei weiterer Zugabe des Rutheniumkomplexes zu beobachten, was vermutlich auf eine Wechselwirkung mit assemblierten $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ und eine daraus resultierende strahlungsfreie Relaxation zurückzuführen ist. Eine vollständige Löschung der Pyrenfluoreszenz wird bei 20 Äquivalenten $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ erreicht, was zum einen an dem beschriebenen FRET und zum anderen auf eine verringerte Anregung des Pyrens zurückzuführen ist. Aufgrund des überlappenden Absorp-

tionsbereichs kann dabei der signifikante Überschuss an $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ die spektrale Anregung des Chromophors innerhalb des Oligonukleotids **Mono-AT-Py** verhindern.

Im Anschluss wurden die korrespondierende Doppelstrangsysteme (**ds**) untersucht. Dazu wurde **Mono-AT** bzw. **Mono-AT-Py** mit einem komplementären Gegenstrang (1.00 Äq.) versetzt und durch Erhitzen auf 90 °C für 10 min hybridisiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurden die Titrationsen mit $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ durchgeführt. Die entsprechenden spektroskopischen Daten von **Mono-AT-ds** sind in **Abbildung 61** zu sehen.

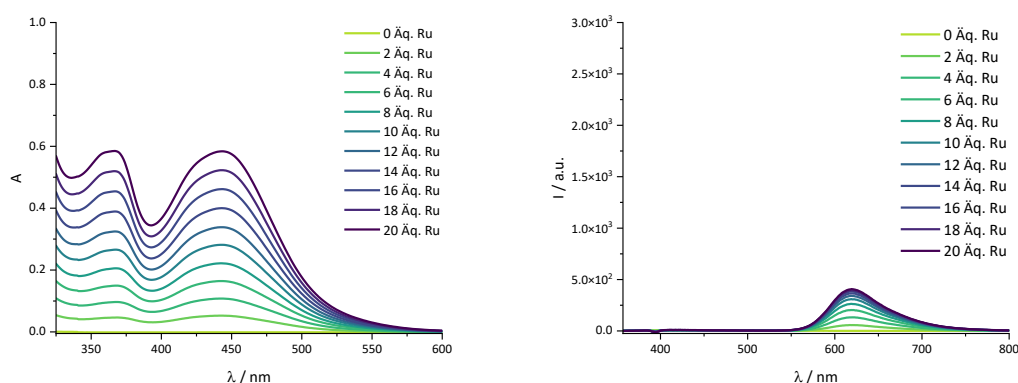


Abbildung 61 UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Emissionsspektren (**rechts**) der Titrationsexperimente mit **Mono-AT-ds**

($c_{\text{DNA}} = 2,50 \mu\text{M}$, $c_{\text{Ru}} = 0-25,0 \mu\text{M}$, 10 mM NaP_i-Puffer, 250 mM NaCl, pH=7, $\lambda_{\text{exc}} = 347 \text{ nm}$).

Aufgrund der Interkalation des Rutheniumkomplexes in die Duplexstruktur von **Mono-AT-ds** zeigt sich hier eine leichte Abschwächung der Absorption bei $\lambda = 357 \text{ nm}$ und $\lambda = 444 \text{ nm}$ im Vergleich zum Einzelstrang **Mono-AT** in **Abbildung 57**. Die erhöhte Abschirmung des dppz-Liganden aufgrund der Interkalation in den Doppelstrang führt zu einer Zunahme der Phosphoreszenz wie in **Abbildung 62** zu sehen.^[79]

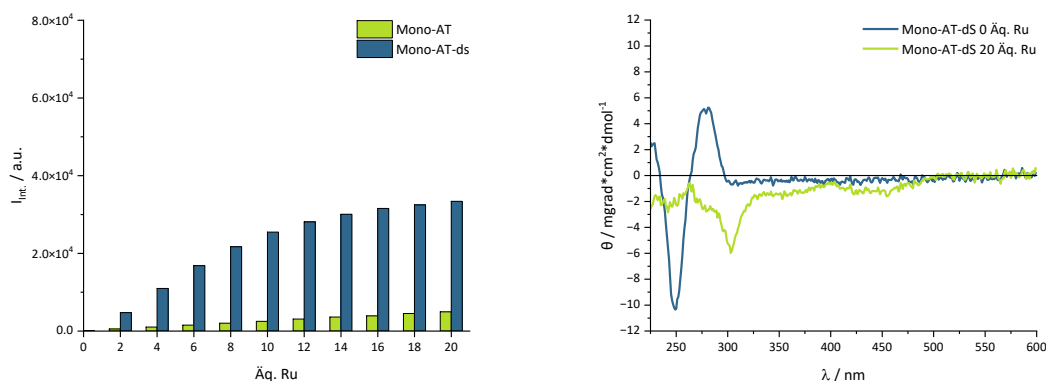


Abbildung 62 Vergleich der Phosphoreszenzintensitäten ($\lambda_{\text{exc}} = 347 \text{ nm}$) von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ im Einzel- und Doppelstrang von **Mono-AT (links)** und die dazugehörigen CD-Absorptionsspektren (**rechts**).

Durchgeführte CD-Messungen zeigen den Einfluss der Interkalation auf die Sekundärstruktur des Oligonukleotids. In **Abbildung 62** ist vor der Zugabe von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ein negatives Signal bei $\lambda = 248 \text{ nm}$ und ein positives Signal bei $\lambda = 280 \text{ nm}$ zu sehen. Dieses Absorptionmuster ist charakteristisch für eine B-Konformation des DNA-Duplexes.^[237] Durch Interkalation des Komplexes $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ wird eine Entwindung der DNA erzwungen, was zu einer Konformationsänderung und zum Fehlen der charakteristischen COTTON-Signale im CD-Spektrum von **Mono-AT-ds 20 $\text{\AA q. Ru}$** führt.^[79, 238-240] Die neue negative Bande bei $\lambda = 303 \text{ nm}$ kann vermutlich auf die bevorzugte Interkalation eines Enantiomers zurückgeführt werden. Eine analoge Änderung der optischen Eigenschaften von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ist ebenfalls bei dem pyrenmodifizierten Duplex **Mono-AT-Py-ds** in **Abbildung 63** festzustellen.

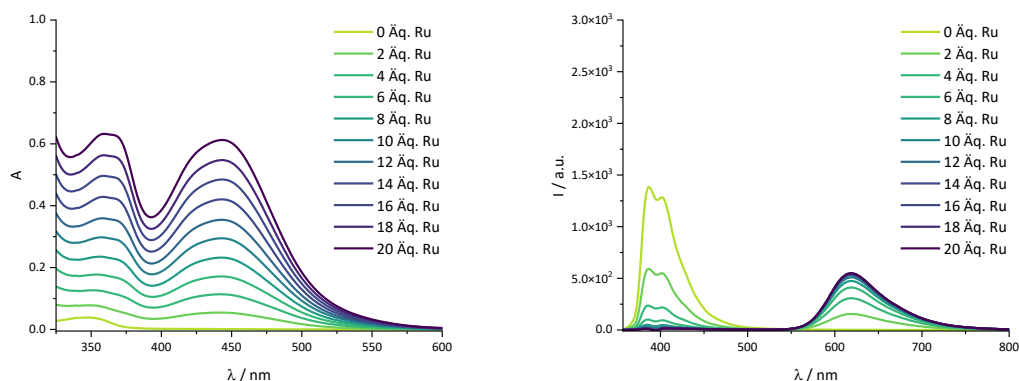


Abbildung 63 UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Emissionsspektren (**rechts**) der Titrationsexperimente mit **Mono-AT-Py-ds**

($c_{\text{DNA}} = 2,50 \mu\text{M}$, $c_{\text{Ru}} = 0-25,0 \mu\text{M}$, 10 mM NaPi-Puffer, 250 mM NaCl, pH=7, $\lambda_{\text{exc}} = 347 \text{ nm}$)

Das Absorptionsspektrum zeigt die zwei lokalen Maxima des $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ bei $\lambda = 357 \text{ nm}$ und $\lambda = 444 \text{ nm}$. Die Chromophorabsorption von **Mono-AT-Py-ds** ist im Vergleich deutlich schwächer und zeigt nicht die typische Feinstruktur, sondern eine breite Bande zwischen $\lambda = 330-375 \text{ nm}$. Ein Vergleich zum Einzelstrang **Mono-AT-Py** in **Abbildung 64** zeigt auch hier eine intensivere Phosphoreszenz bei $\lambda = 620 \text{ nm}$ aufgrund der erhöhten Abschirmung des dppz-Liganden vom umliegenden wässrigen Medium.^[230]

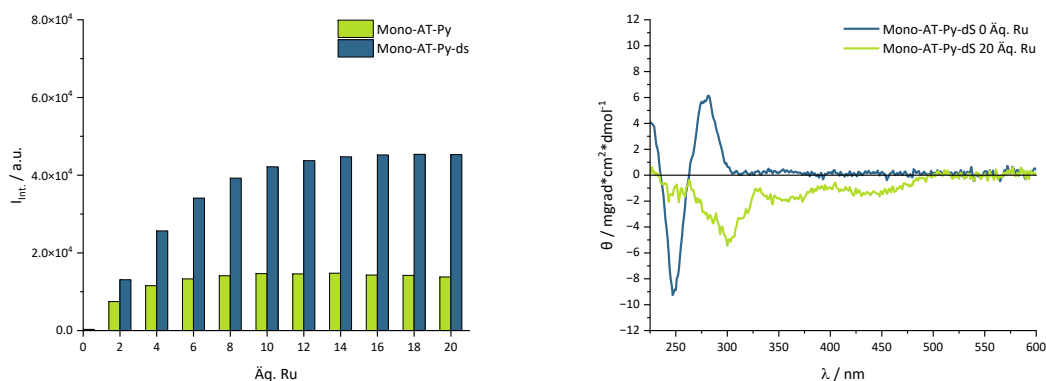


Abbildung 64 Vergleich der Phosphoreszenzintensitäten ($\lambda_{\text{exc}} = 347 \text{ nm}$) von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ im Einzel- und Doppelstrang von **Mono-AT-Py** (**links**) und die CD-Spektren (**rechts**).

Darüber hinaus ist auch hier eine Änderung der Konformation bei den pyrenmodifizierten Oligonukleotiden durch die Interkalation des Rutheniumkomplexes zu beobachten. Ein Einfluss der Hybridisierung zeigt sich auch bei der Fluoreszenzintensität von Pyren im Einzel- und Doppelstrang. Vor der Zugabe von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ zeigt sich im Einzelstrang (**Abbildung 58, rechts**)

eine höhere Intensität als beim Duplex in **Abbildung 63**. Diese Beobachtung resultiert aus der reduzierten Absorption bei $\lambda_{\text{exc}} = 347 \text{ nm}$ im hybridisierten Zustand ($A = 0,038$) gegenüber dem Einzelstrang ($A = 0,044$). Ursache hierfür ist die Einbettung des Pyrens in den Nukleobasenstapel. Die geringere Differenz zwischen den Intensitäten der Pyrenfeinstruktur bei $\lambda = 383 \text{ nm}$ und $\lambda = 400 \text{ nm}$ spricht ebenfalls für eine Einbettung in den Doppelstrang.^[233] In Übereinstimmung mit den Einzelstrangexperimenten in **Abbildung 58** zeigt sich auch im Duplex ein Energietransfer zwischen Pyren und dem interkalierten Rutheniumkomplex. Dies wird an den unterschiedlichen Kurvenverläufen von **Mono-AT** und **Mono-AT-Py** in **Abbildung 65** ersichtlich.

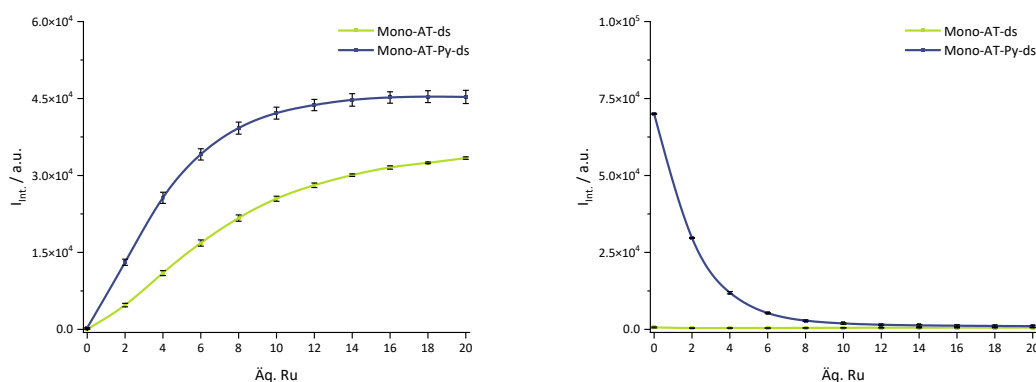


Abbildung 65 Intensitätsänderung der Emission von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ (links) und Pyren (rechts) im Verlauf der Titration zu **Mono-AT-ds** und **Mono-AT-Py-ds**. ($c_{\text{DNA}} = 2,50 \mu\text{M}$, $c_{\text{Ru}} = 0\text{--}25,0 \mu\text{M}$, 10 mM NaP_i -Puffer, 250 mM NaCl , $\text{pH} = 7$, $\lambda_{\text{exc}} = 347 \text{ nm}$)

Bei **Mono-AT-Py-ds** bildet sich nach circa 16 Äquivalenten $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ein Intensitätsplateau der Phosphoreszenz aus. Im Vergleich zum Einzelstrang, bei dem ein Überschuss von 20 Äq. $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ für eine vollständige Löschung der Pyrenemission bei $\lambda = 383 \text{ nm}$ und $\lambda = 400 \text{ nm}$ notwendig war, zeigt sich hier bereits nach zehn Äquivalenten $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ kein verbleibendes Signal des Pyrens. Diese Beobachtung lässt sich primär durch einen effektiveren Energietransfer im Doppelstrang erklären. Durch die Hybridisierung werden Pyren und $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ innerhalb des Basenstapels besser zueinander ausgerichtet, was einen positiven Einfluss auf den FRET hat. Im Einzelstrang hingegen liegt eine deutlich flexiblere Struktur vor, was einen deutlichen Überschuss von 20 Äquivalenten erfordert. Darüber hinaus muss die von Beginn an niedrigere Fluoreszenzintensität des Pyrens im Doppelstrang berücksichtigt werden, was ebenfalls für einen geringeren Überschuss an $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ zum Erreichen der vollständigen Löschung spricht. Ein weiterer Hinweis für den Energietransfer liefern die Anre-

gungsspektren bei $\lambda_{em}=620\text{ nm}$ der Oligonukleotide **Mono-AT-ds** und **Mono-AT-Py-ds**. So zeigt sich bei dem pyrenmodifizierten Oligonukleotid **Mono-AT-Py-ds** eine Bande bei $\lambda=350\text{ nm}$ im Vergleich zum Referenzstrang **Mono-AT**, wie in **Abbildung 66** zu sehen.

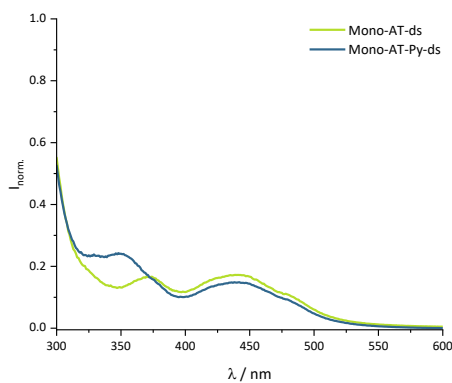


Abbildung 66 Vergleich der normierten Anregungsspektren der Oligonukleotide **Mono-AT-ds** und **Mono-AT-Py**.

($c_{\text{DNA}}=2,50\text{ }\mu\text{M}$, $c_{\text{Ru}}=5,0\mu\text{M}$, 10 mM NaP_i -Puffer, 250 mM NaCl, pH=7, $\lambda_{em}=620\text{ nm}$)

4. Zusammenfassung und Ausblick

Zuerst wurde der Aufbau einer supramolekularen Chromophor-DNA-Architektur, basierend auf der Assemblierung eines clickfähigen 5-Ethynylpyren-2'-desoxyuridins, an strukturgebende Template untersucht.

Zu Beginn wurde eine Syntheseroute für das angestrebte clickfähigen Derivat **5** erfolgreich entwickelt. Durch die Absättigung der Hydroxylfunktionen mit TBDMS-Schutzgruppen konnten präparative Schwierigkeiten während der SONOGASHIRA-Kreuzkupplung gelöst werden. Im Vergleich zur bisherigen Methode von WAGENKNECHT *et al.* konnte so eine signifikant gesteigerte Ausbeute sowie eine vereinfachte Aufreinigung erreicht werden. Die folgenden Syntheseschritte zur Einführung der Clickmodifikationen an der 3'- und 5'-Position zeigten quantitative Ausbeuten. Das clickfähige 5-Pyren-2'-desoxyuridinderivat **5** wurde über sechs Synthesestufen in einer Gesamtausbeute von 36% erhalten. Weiterführende Experimente zeigten eine sequenzspezifische Assemblierung an das komplementäre **A**₂₀-Templat im Vergleich zum nicht komplementären **T**₂₀-Templat. Bei Fehlen eines Templats oder einem kürzeren **A**₁₀ wurde ein Ausfallen der clickfähigen Konjugate aus der wässrigen Lösung beobachtet. Ein direkter Vergleich der Messreihen zeigte dabei eine erhebliche Abweichung, was auf eine schlechte Reproduzierbarkeit der Assemblierung schließen lässt. Dies stellt einen elementaren Nachteil für den Zugang zu definierten supramolekularen Architekturen dar. Als Ursache ist die Einführung der Clickmodifikationen und der damit verbundene Verlust des amphiphilen Charakters der Konjugate anzuführen. Aus diesem Grund konnte in vorangegangenen Assemblierungen mit dem unmodifizierten dU-Py **1** eine deutlich bessere Reproduzierbarkeit erzielt werden.^[68, 69, 84, 98] Der beschriebene Verlust der Amphiphilie und die damit deutlich herabgesetzte Löslichkeit des clickfähigen Konjugats **5** in wässriger Lösung stellte ebenfalls ein zentrales Problem bei der Isolierung der gebildeten Assemblate dar. Im Gegensatz zu früheren Ergebnissen von WAGENKNECHT *et al.* konnten die überschüssigen Monomere nicht durch Zentrifugation abgetrennt werden. Im Folgenden wurde die Ausnutzung eines Templateffekts im Rahmen einer kinetischen CuAAC angestrebt, um dennoch einen Zugang zu definierten supramolekularen Architekturen zu erhalten. Eine massenspektroskopische Analyse mittels ESI-MS und MALDI-MS konnte keine angestrebten Produkte beziehungsweise das eingesetzte Monomer **5** nachweisen, wobei als primärer Grund die unzu-

reichende Ionisierbarkeit der Analyten angeführt werden kann. Daher muss die hier beschriebene Methodik zum Aufbau definierter supramolekularer Architekturen ausgehend von Verbindung **5** nach den aktuellen Erkenntnissen als nicht erfolgreich einstufung werden.

Ein Aufbau supramolekularer DNA-Chromophorarchitekturen ausgehend von clickfähigen Oligonukleotiden, wie in **Abbildung 67**, ist deutlich vielversprechender.

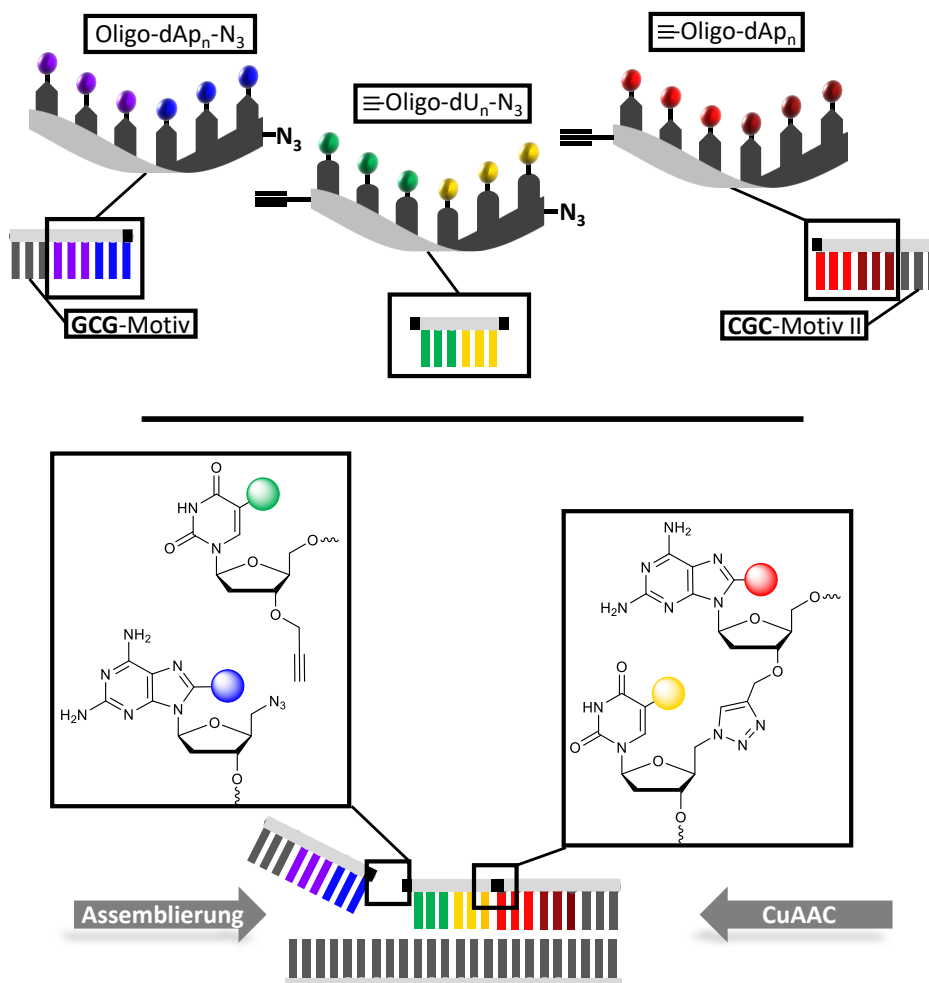


Abbildung 67 Schematische Darstellung der clickfähigen Oligonukleotide mit modifizierten Termini (**oben**) und der Aufbau einer supramolekularen DNA-Chromophorarchitektur durch eine sequenzspezifische Assemblierung und Konjugation mittels CuAAC (**unten**).

Durch Verwendung komplementärer Sequenzen zwischen den clickfähigen Oligonukleotiden und dem strukturgebenden Templat ist eine sequenzspezifische Assemblierung möglich. Die Verwendung von Oligonukleotiden basierend auf den zwei orthogonalen Bausteinen 2-Amino-2'-desoxyadenosin (dAp) und 2'-Desoxyuridin (dU) ermöglicht die sequenzspezifische Positionierung am komplementären Templatabschnitt.^[69] Dem angenommenen Zusammenbruch

der Assemblierung während der CuAAC-Reaktion wird durch die Verwendung längerer Oligonukleotide mit erhöhter Stabilität entgegengewirkt. Damit bleibt die essenzielle Strukturinformation bis zur Konjugation erhalten und der Zugang zu definierten supramolekularen Strukturen wird ermöglicht. Dabei folgt man den Erkenntnissen von BROWN *et al.* zum Aufbau eines funktionsfähigen Gens aus sequenzspezifisch assemblierten Oligonukleotiden.^[100, 101] Darüber hinaus bietet dieses Projekt weitere Lösungsansätze für die ermittelten Schwachstellen. Durch das geladene Phosphatrückgrat, welches nur an den Konjugationstellen zwischen den Oligonukleotiden mit einem ungeladenen Triazolrückgrat substituiert wird, ist eine Gelelektrophorese als effiziente Aufreinigungsmethode möglich. Darüber hinaus wird ein massenspektroskopischer Nachweis aufgrund einer deutlich verbesserten Ionisierbarkeit erleichtert. Die notwendigen clickfähigen Oligonukleotide werden über eine konservative Festphasensynthese unter Verwendung von chromophormodifizierten Bausteinen hergestellt. Nach einer Vorschrift von BROWN *et al.* wird dabei die notwendige Clickfunktion am 3'- bzw. 5'-Terminus der Oligonukleotide angebracht.^[100] Ein modularer Aufbau nach CARELL *et al.* durch postsynthetische Modifikation von clickfähigen Bausteinen mit einer Auswahl an Aziden ist ebenfalls denkbar, wodurch das Modifikationsspektrum deutlich erweitert wird.^[153] Eine Variation der eingebauten Chromophore und ihrer sequenziellen Abfolge ermöglicht eine spektrale Vielfältigkeit in Anlehnung an die von KOOL *et al.* entworfenen Oligodesoxyfluoroside (ODF).^[140, 141] Die beschriebene Variabilität dieser Architekturen ermöglicht ein genaues Abstimmen der optischen Eigenschaften, was die Grundvoraussetzung für eine potenzielle Anwendung als Lichtsammelsystem darstellt.

Als Konsequenz der Problematik des supramolekularen Aufbaus funktionaler Architekturen, wurde im weiteren Verlauf ein postsynthetischer Ansatz verfolgt. Die clickfähigen Oligonukleotide wurden unter Einsatz dreier Phosphoramidite erhalten: dem ungeschützten 5-Ethynyl-2'-desoxyuridin (**EdU-PA**) sowie den zwei silylgeschützten Derivaten **TMS-EdU-PA** und **TIPS-EdU-PA**. Eine schrittweise Modifizierung der generierten Bausteine **X (EdU)**, **Y (TMS-EdU)** und **Z (TIPS-EdU)** mit den arylischen Aziden von Pyren **11**, BODIPY **16** bzw. Porphyrin **18** erfolgte anhand einer publizierten Vorschrift von CARELL *et al.*.^[153]

Die kovalente Modifizierung mit dem ersten Chromophor erfolgte auf der Festphase durch eine Clickreaktion zwischen dem EdU-Baustein **X** und dem entsprechenden Azid **11** bzw. **18**. Eine Ausnahme stellt dabei die einfache Modifizierung der Oligonukleotide mit BODIPY **16** unter Verwendung von **Y** nach ammoniakalischer Abspaltung von der Festphase dar. Beim Aufbau der Dichromophorsysteme zeigte sich eine eingeschränkte Anwendbarkeit der Synthesevorschrift von CARELL *et al.* auf die Verwendung der kürzeren Ethynyllinker.^[153] Aufgrund der unzureichenden Schutzgruppenstabilität des TMS-Bausteins **Y** verhielt sich dieser während der ersten Clickreaktion an **X** nicht inert. Dabei wurde eine unerwünschte Doppelmodifikation an **X** und **Y** beobachtet. Durch Verwendung des TIPS-geschützten Bausteins **Z** konnte die geforderte Orthogonalität wieder hergestellt werden, wodurch jedoch der geplante Zugang zu dreifachmodifizierten DNA-Chromophorsystemen verwehrt wurde. Aus diesem Grund wurden weitere experimentellen Erkenntnisse für einen alternativen Zugang über eine Clickstrategie *vice versa* erarbeitet, wobei 5-Azid-2'-desoxyuridin (**AdU**) *in situ* aus einem IdU-Vorläufer generiert und mit einem Ethinylfarbstoff umgesetzt wurde.^[192, 241]

Die spektroskopische Analyse der einfachmodifizierten Oligonukleotide **Mono-Py**, **Mono-Bo** und **Mono-Po** zeigte die entsprechenden UV/Vis-Absorptions- und Emissionsbanden der eingesetzten Chromophore. Bei den porphyrinmodifizierten Oligonukleotiden wurde eine vollständige Löschung der Fluoreszenz aufgrund der Insertion von Kupfer während der CuAAC beobachtet. Die spektroskopischen Daten der Oligonukleotide **Di-PyBo**, **Di-PyPo** und **Di-BoPo** lassen auf zwei zueinander konkurrierenden Transfermechanismen zwischen den Chromophoren schließen. Neben einem FRET erscheint auch ein photoinduzierter Elektronentransfer (PET) in allen Fällen möglich. Letzterer kommt dabei nur bei kurzen Abständen zwischen den Chromophoren zum Tragen, wohingegen der reine Energietransfer auch über lange Distanzen effizient bleibt. Eine thermodynamische Durchführbarkeit des postulierten Ladungstransfers wurde in allen Dichromophorsystemen mittels einer REHM-WELLER-Abschätzung bestätigt. Bei den Oligonukleotiden **Di-PyBo** und **Di-PyPo** kommt es nach Anregung des Pyrens zu einem reduktiven Elektronentransfer auf BODIPY ($\Delta G_{\text{PET}} = -0,85$ eV) bzw. Porphyrin ($\Delta G_{\text{PET}} = -0,99$ eV). Im Gegensatz dazu kommt es bei den Oligonukleotiden **Di-BoPo** nach Anregung des BODIPYs zu einem oxidativen Lochtransfer ($\Delta G_{\text{PET}} = -0,29$ eV), wobei ein Elektron vom Porphyrin auf das BODIPY übertragen wird. Je nach Partner fungiert BODIPY somit entweder als Elektronendonator oder -akzeptor. Ein eindeutiger spektroskopischer Beweis für die ladungstrennten Zustände zwischen den Chromophoren muss beispielsweise durch transiente Absorptionsspektroskopie erbracht werden.

Im letzten Teil dieses Projekts wurde eine Anwendung der DNA-Chromophorarchitekturen als potenzielle Lichtsammelsysteme im Rahmen einer Kooperation mit der Arbeitsgruppe RAU untersucht. Als Modellsysteme wurden die Oligonukleotide **Mono-AT-Py** und **Mono-AT** in Kombination mit dem Rutheniumkomplex $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ gewählt, da deren spektroskopische Eigenschaften für einen effizienten Energietransfer ideal aufeinander abgestimmt sind. Aufgrund einer hohen Phosphoreszenzintensität von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ in Kombination mit **Mono-AT-Py** im Vergleich zu **Mono-AT** konnten Rückschlüsse auf mögliche Energiebeiträge des Chromophors gemacht werden. Diese Hypothese wurde durch Vergleich der Anregungsspektren ebenfalls bestätigt. Ein positiver Einfluss mehrerer Pyrene und ihrer Anordnung innerhalb der Sequenz sollte im Rahmen weiterer Experimente untersucht werden. Der beobachtete Energietransfer eröffnet weitere Forschungsthematiken hinsichtlich einer potenziellen Anwendung von $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ mit **Mono-Py** in der Photokatalyse. Die Ergänzung mit einem platinhaltigen Reaktionszentrum könnte den Weg zur photokatalytischen Generierung von Wasserstoff (H_2) ebnen.^[225, 242] Darüber hinaus ist die Kombination mit einem Nickelkatalysator zur photokatalytischen Reduktion von Kohlenstoffdioxid in Wasser denkbar.^[243] Hier bietet Porphyrin den Vorteil, dass notwendige Metalle in den Makrozyklus inseriert werden können, woraus sich ein breites Anwendungsspektrum ergibt.^[244-246] So zeigten SAKAI *et al.*^[247, 248] die Anwendung von Cobaltporphyrinen in der oxidativen Hydrolyse, während WANG *et al.*^[249] und MASAOKA *et al.*^[250] die erfolgreiche Nutzung von Kupferporphyrinen in der photokatalytischen Reduktion von Kohlenstoffdioxid demonstrierten. Auch jenseits der Katalyse ist eine Anwendung der chromophor-modifizierten Oligonukleotide beispielsweise im Aufbau organischer Solarzellen^[95, 251] oder in der zellulären Bildgebung denkbar.^[127]

5. Experimentalteil

5.1 Materialien, Methoden und Geräte

Reagenzien und Lösungsmittel

Für die experimentelle Arbeit im Rahmen dieser Dissertation wurden Chemikalien von den Firmen:

ABCR, Acros Organics, Alfa Aesar, BLDPharm, Carbolution, Carl Roth, Fisher Scientific, Fluka, Merck, Sigma-Aldrich, Tokyo-Chemical-Industry, Thiemen, VWR

bezogen und ohne weitere Aufreinigung eingesetzt. Dabei wurde mindestens die Qualitätsstufe „zur Synthese“ verwendet. Zur Synthese verwendete trockene Lösungsmittel entsprachen der Qualitätsstufe „pro analysis“ und wurden über Molekularsieb sowie Inertgasatmosphäre gelagert. Für die Aufreinigung der dargestellten Verbindungen wurden Lösungsmittel in technischer Qualität verwendet. Bei präparativen Aufreinigungen mittels RP-HPLC wurden ausschließlich hochreine organische Lösungsmittel mit der Qualitätsstufe „HPLC-Grade“ und hochreines Wasser eingesetzt, welches mit einer MERCK Millipore Q8 Anlage aufbereitet wurde.

Reaktionsführung

Oxidations- und hydrolyseempfindliche Reaktionen wurden unter Inertgasatmosphäre (Argon 5.0, 99.999% Reinheit) gemäß der SCHLENK-Technik durchgeführt. Die dazu verwendeten Reaktionsapparaturen wurden mehrmals unter Hochvakuum ($1 \cdot 10^{-3}$ mbar) gesetzt, mit einem Heißluftföhn (500°C) erhitzt und nach Abkühlen auf Raumtemperatur mit Inertgas geflutet. Zur Erzeugung eines stabilen Vakuums wurde eine Drehschieberpumpe der Firma *Edwards* verwendet. Bei Bedarf wurden die verwendeten Lösungsmittel mittels der Freeze-Pump-Thaw Methode entgast. Für chemische Reaktionen, die eine Durchführung unter Kühlung erforderten, wurden folgende Kältemischungen verwendet:

Wasser/Eis (0°C), Eis/NaCl (-20°C), Isopropanol/Trockeneis (-78°C).

Dünnschichtchromatographie (DC)

Zur Kontrolle des Reaktionsfortschritts wurden Dünnschichtchromatographien durchgeführt. Dabei wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumplatten der Firma *Merck* verwendet (Kieselgel 60 F254; 0,25 mm Schichtdicke). Die Detektion erfolgte mittels UV-Lampen mit einer Emissionswellenlänge von $\lambda = 254$ nm sowie $\lambda = 366$ nm. Falls keine Eigenfluoreszenz der Verbindungen zur Auswertung herangezogen werden konnte, wurde entweder mit Kaliumpermanganatlösung (1.50 g KMnO_4 , 10.0 g K_2CO_3 , 1.85 mL 10%ige NaOH, 200 mL ddH_2O) oder schwefelsaurem Methanol (3% H_2SO_4) angefärbt.

Flash-Säulenchromatographie (FC)

Für die Aufreinigung mittels Säulenchromatographie wurde als stationäre Phase Silica der Firma *Sigma Aldrich* (Porengröße 60 Å, Partikelgröße 40–60 μm) verwendet. Dieses wurde in dem jeweiligen Laufmittel aufgeschlämmt und unter Überdruck gepackt. Das Rohprodukt wurde entweder in wenig Laufmittel gelöst (*wet load*) oder auf Kieselgel adsorbiert (*dry load*) aufgetragen. Der notwendige Überdruck wurde mithilfe einer Handpumpe erzeugt.

Lyophilisierung

Zu lyophilisierende chemische Verbindungen wurden in Benzol (*HPLC-Grade*) gelöst, in flüssigem Stickstoff eingefroren und anschließend am Hochvakuum ($1 \cdot 10^{-3}$ mbar) getrocknet. Zur Lyophilisierung von modifizierten Oligonukleotiden wurde eine Alpha-RVC-Vakuumzentrifuge der Firma *Christ* verwendet. Die Proben wurden dafür in Eppendorf Gefäße überführt und unter reduziertem Druck ($1 \cdot 10^{-1}$ mbar) getrocknet.

Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)

Die ^1H -, ^{13}C -, ^{31}P -NMR-Spektren wurden an einem *Bruker Avance 400* FT-NMR-Spektrometer oder ein *Bruker Avance 500* FT-NMR-Spektrometer aufgenommen. Sofern nicht anders angegeben wurden alle Kernspinresonanzspektren bei einer Temperatur von 298 K aufgenommen und sind im Anhang zu finden. Die zu analysierenden Substanzen wurden in ca. 0,5 mL deuteriertem Lösungsmittel der Firma *Eurisotop* gelöst.

Folgende deuterierte Lösungsmittel wurden im Rahmen dieser Arbeit verwendet:

CDCl ₃ -d ₁	¹ H-NMR: δ= 7,26 ppm; ¹³ C-NMR: δ= 77,16 ppm
DMSO-d ₆	¹ H-NMR: δ= 2,50 ppm; ¹³ C-NMR: δ= 39,52 ppm
THF-d ₈	¹ H-NMR: δ= 3,58 ppm; ¹³ C-NMR: δ= 67,57 ppm
MeOD-d ₄	¹ H-NMR: δ= 3,31 ppm; ¹³ C-NMR: δ= 49,00 ppm

Die chemische Verschiebung δ wurde in *parts per million* (ppm) angegeben, dabei diente als interne Referenz das jeweilige Lösungsmittelrestsignal. Sämtliche Kopplungskonstanten J wurden als Betrag in Hertz (Hz) angegeben. Zur Beschreibung der Signalmultiplizität wurden die gängigen Abkürzungen verwendet, welche im Abkürzungsverzeichnis aufgelistet sind.

Assemblierungsexperimente von dU-Py-click 5 an DNA-Template

Die Assemblierungsansätze wurden wie folgt hergestellt:

1. Es wurde ein definiertes Volumen demineralisiertes Wasser vorgelegt.
 $V_{\text{H}_2\text{O}} = 1000 - V_{\text{Templat}} - V_{\text{dU-Py-click 9}} \mu\text{L}$
2. Es wurde ein definiertes Volumen der Templatlösung zugegeben, um eine Konzentration von 2,5 bzw. 3,75 μM zu erreichen.
 $V_{\text{A10}} = 10,25 \mu\text{L} / 15,38 \mu\text{L} \quad V_{\text{A20}} = 10,52 \mu\text{L} / 15,78 \mu\text{L} \quad V_{\text{T20}} = 10,97 \mu\text{L} / 16,46 \mu\text{L}$
3. Es wurde ein definiertes Volumen einer 10mM dU-Py-click 9 (DMSO) zugegeben. Die zugegebene Stoffmenge entspricht dem 1,5-fachen der vorhandenen Bindungsstellen
 $V_{\text{A10}} = 3,75 \mu\text{L} / 5,63 \mu\text{L} \quad V_{\text{A20/T20/OT}} = 7,50 \mu\text{L} / 11,25 \mu\text{L}$
4. Es wurde für 5s homogenisiert und anschließend für 10 min in einem Heizblock bei 90 °C temperiert. Anschließend wurden die Proben im Heizblock langsam auf Raumtemperatur abgekühlt.
5. Die präparierten Proben wurden in Küvetten überführt und spektroskopisch vermessen.

Die Isolationsversuche wurden durch Zentrifugation der Proben bei 16000 g durchgeführt. Anschließend wurde die überstehende Lösung vorsichtig abgenommen und spektroskopisch vermessen.

Ligation der Assemblierungsansätze mittels CuAAC

Von der Assemblierungslösung wurden 300µL entnommen und mit frisch hergestellten CuAAC-Lösungen versetzt. Durch mehrmaliges Invertieren wurde die Probe schonend homogenisiert. Die Lösungen wurden aus wässrigen Stammlösungen der Einzelkomponenten gemäß **Tabelle 6** hergestellt:

Tabelle 6 eingesetzte Lösungen zur Ligation der Assemblierungsansätze.

Reagenz	Einwaage [mg]	Volumen [µL]	Konzentration [mM]	Reaktionsvolumen [µL]
THPTA ^a	21,7	500	100,0	37,5
Natriumascorbat ^a	39,6	500	400,0	13,4
CuSO ₄ *5H ₂ O ^a	24,9	1000	100,0	5,36
NaEDTA ^b	149,0	1000	400,0	13,4

^addH₂O ^bEtOH

Die Negativkontrollen wurden mit demineralisiertem Wasser versetzt. Nach zuvor festgelegten Zeitpunkten wurde durch Zugabe von NaEDTA-Lösung die CuAAC gestoppt und die Proben zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde in 100µL demineralisiertem Wasser aufgenommen, um eine massenspektroskopische Analyse mittels ESI-MS und MALDI durchzuführen. Um den negativen Einfluss von Salzen auszuschließen wurde ein Teil der wässrigen Lösung mit Ethylacetat extrahiert und eine Analyse der organischen Phase durchgeführt.

DNA-Festphasensynthese

Zur Synthese der zu untersuchenden Oligonukleotide wurde ein DNA/RNA-Synthesizer H6 der Firma *K&A Laborgeräte GbR* verwendet.

Die Phosphoramidite der natürlichen Nukleotide (dA, dT, dC, dG) wurden in trockenem Acetonitril gelöst, sodass eine Endkonzentration von 0,067 mol/L vorlag. Das kommerzielle Phosphoramidit von EdU bzw. **9** und **10** wurde in trockenem Acetonitril gelöst, sodass eine Endkonzentration von 0,1 mol/L vorlag. Als stationäre Phase wurde *controlled pore glass* (CPG) verwendet.

Die Synthese der Oligonukleotide erfolgte im Modus DMTr-On unter Verwendung der Protokolle in **Tabelle 7-Tabelle 9**.

Dabei wurden folgende Abkürzungen verwendet:

AMD Phosphoramidit

COL CPG-Säule

CP_A/B Capping Reagenz A/B

GAS-Argon

M_W Lösungsmittelabfall

MeCN Acetonitril

OXI Oxidationslösung für Phosphoramidite

TCA Trichloressigsäure

TET Tetrazolaktivator für Phosphoramidite

TRM Tritylmonitor

WTH Wartezeit

Tabelle 7 Standardkupplungsprotokoll für die Oligonukleotidsynthese.

	Zeit [0.1 s]	Reagenz A	Reagenz B	Zielort	S. Col. PTr.	Totzeit	Branch
<u>Entschützung</u>							
1	4	TCA		COL			
2	30	TCA		TRM	ON		
3					ON		
4						15	
5	20	TCA		TRM	ON		
6					ON		
7						15	
8	20	TCA		TRM	ON		
9					ON		
10						15	
11	20	TCA		TRM	ON		
12					ON		
13						15	
14	20	TCA		TRM	ON		
15					ON		
16						15	
17	30	GAS		TRM			
18	10	MeCN		M_W			
19	20	MeCN		COL	ON		
20					ON		
21						4	
22	30	GAS		COL			

23	2	MeCN	M_W				
24	20	MeCN	COL	ON			
25				ON			
<u>Kupplung</u>							
1	15	GAS	COL				
2					1	1	
3	10	MeCN	M_W		50		
4	10	MeCN	COL	ON			
5				ON			
6	35	GAS	COL				
7	20	GAS	M_W				
<u>Capping</u>							
1	2	GAS	COL				
2					1	2	
3	2	GAS	COL		1		
<u>Oxidation</u>							
1	20	OXI	COL	ON			
2				ON			
3	10	MeCN	M_W		9		
4					9		
5		WTH			150		
6		WTH			150		
7	30	GAS	COL				
8	2	MeCN	M_W				
9	16	MeCN	COL	ON			

10				ON
11	20			
12	30	GAS	COL	
13	2	MeCN	M_W	
14	15	MeCN	COL	ON
15				ON
16	40			

Tabelle 8 Branch für die Kupplung der Phosphoramidite.

	Zeit [0.1 s]	Reagenz A	Reagenz B	Zielort	S. Col. PTr.	Totzeit	Branch
<u>Branch-Kupplung</u>							
1	4	TET		COL	ON		
2	8	AMD	TET	COL			
3					ON		
4						24	
5	8	AMD	TET	COL	ON		
6					ON		
7						24	
8	10	MeCN		M_W			
9	10	GAS		M_W			

Tabelle 9 Branch für das Capping der Phosphoramidite.

	Zeit [0.1 s]	Reagenz A	Reagenz B	Zielort	S. Col. PTr.	Totzeit	Branch
<u>Branch-Capping</u>							
1	20	CP_A	CP_B	COL	ON		
2					ON		
3						15	
4	3	CP_A	CP_B	COL	ON		
5					ON		
6						15	
7	20	GAS		COL			
8	2	MeCN		M_W			
9	12	MeCN		COL	ON		

10				ON	
11	10	GAS	M_W		2
12	30	GAS	COL		

Schrittweiser Aufbau von DNA-Chromophor Architekturen mittels CuAAC

CuAAC auf der Festphase

Nach der Festphasensynthese wurde das CPG im Vakuum für 30 min getrocknet und anschließend in ein Reaktionsgefäß (*Eppendorf*) überführt. Zur Modifikation des freien EdU-Bausteins **X** mittels CuAAC wurden die Click-Lösungen und das entsprechende Chromophorazid in **Tabelle 10** zugegeben. Eine Modifikation mit BODIPY-Azid **16** erfolgte in Lösung unter Verwendung des TIPS-geschützten Bausteins **Z**.

Tabelle 10 eingesetzte Lösungen zur Modifikation des Baustein **X** mittels CuAAC.

Reagenz	Einwaage [mg]	Volumen [μL]	Konzentration [mM]	Reaktionsvolumen [μL]
CuBr ^a	14,35	1000	100	200
TBTA ^a	26,50	500	100	400
Natriumascorbat ^b	99,00	500	1	50
Pyrenazid 11 ^c	2,44	100	100	100
Porphyrinazid 18 ^c	6,55	100	100	100

^a(DMSO/*t*BuOH 3:1) ^b(ddH₂O) ^c(DMSO)

Der Ansatz wurde für 30 min bei 40 °C erwärmt und anschließend auf einem Horizontalschüttler für 8h bei Raumtemperatur homogenisiert. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die überstehende Lösung durch Zentrifugation für 2 min (13 000 u/min) abgetrennt und das CPG-Pellet durch Zugabe von Lösungsmittel mehrmals gewaschen. Dabei wurden folgende Lösungsmittel verwendet: 3x 1 mL DCM, 3x 1 mL DMSO, 3x 1 mL ddH₂O, 3x 1 mL EtOH.

Folgte keine weitere Modifikation wurden zur Entfernung von Kupfer weitere Waschschrte durchgeführt: 3x 300μL Na-EDTA (0,1M) / 500μL NaOAc (0,3M), 3x 1 mL ddH₂O, 3x 1 mL EtOH.

Das gereinigte CPG wurde unter reduziertem Druck getrocknet und in ein Reaktionsgefäß mit Safe-Lock-Deckel (*Eppendorf*) überführt.

AdU Generierung *In situ* und CuAAC auf der Festphase

Das modifizierte Oligonukleotid wurde auf dem CPG belassen und im Vakuum für 30 min getrocknet. Es wurde 1 mL einer frisch hergestellten Natriumazid-Lösung (200mM, DMSO) zugegeben und für eine Stunde bei 55 °C unter Ausschluss von Licht inkubiert. Nach Ablauf der Zeit wurde das CPG je viermal mit 1 mL DMSO und MeCN gewaschen. Das CPG wurde nicht getrocknet und sofort mit den frisch hergestellten Lösungen in **Tabelle 11** versetzt.

Tabelle 11 eingesetzte Lösungen zur Modifikation des *in-situ* generierten (**AdU**) Bausteins.

Reagenz	Einwaage [mg]	Volumen [μL]	Konzentration [mM]	Reaktionsvolumen [μL]
$[(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{Cu}]\text{PF}_6^{\text{a}}$	10,60	200	142	200
TBTA ^a	5,75	400	27	400
Natriumascorbat ^b	9,90	50	1000	50
Ethynylpyren II ^c	3,40	300	50	300

^a(DMSO/*t*BuOH 3:1) ^b(ddH₂O) ^c(DMSO)

Abspaltung von der CPG-Phase und Entschützung

Die Abspaltung von der CPG-Festphase und die Entschützung des Oligonukleotids erfolgte durch Zugabe von 1 mL wässriger Ammoniaklösung (w= 25%) und anschließender Inkubation bei 55°C für mindestens 12 h. Anschließend wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und der ammoniakalische Anteil mithilfe eines Alpha 2-4 LSCbasic Vakuumkonzentrators der Firma *Christ* (30 min, 34°C, 100 mbar) entfernt. Die verbleibende Lösung wurde in ein weiteres Reaktionsgefäß überführt und das CPG dreimal mit je 200 μL Wasser gewaschen.

Voraufreinigung mittels Affinitätschromatografie

Nach der Abspaltung lag das Oligonukleotid in ca. 1 mL wässriger Lösung vor. Diese wurde mit 1 mL Natriumchlorid-Lösung (100 mg/mL) versetzt.

Zur Voraufreinigung wurden DMTr-Affinitätssäulen *Glen-Pak™ DNA Purification Cartridges* bei einer Tropfrate von 1-2 Tropfen/s verwendet. Die stationäre Phase wurde zuerst mit 0,5 mL Acetonitril und anschließend mit 1 mL Triethylammoniumacetat-Puffer äquilibriert. Danach wurde die Probe aufgetragen. Das auf der Säule gebundene Oligonukleotid wurde zweimal mit 1 mL wässriger Salzwäsche (100 mg/mL, 5% MeCN) gewaschen, um unvollständig synthetisierte

Oligonukleotidstränge zu entfernen. Durch darauffolgende Auftragung von zweimal 1 mL Tri-fluoroessigsäure-Lösung (2 %) und zweimal 1 mL demineralisiertem Wasser, wurde die DMTr-Schutzgruppe ausgewaschen. Zuletzt wurde das aufgereinigte Oligonukleotid mit 1,5 mL Elutionslösung (0.5 % NH_4OH in MeCN / Wasser 1:1) von der Säule gespült und die Lösung bis zur Trockene am Vakuumkonzentrator eingeeengt.

Folgte keine weitere Modifikation am Oligonukleotid, wurde anschließend eine Aufreinigung mittels RP-HPLC durchgeführt.

Abspaltung der TIPS-Schutzgruppe

Der Rückstand wurde in 1 mL eines Lösungsmittelgemisches aus trockenem MeCN und DMF (4:1) aufgenommen. Es wurden 2 Tropfen TBAF-Lösung (1.0M in THF) zugegeben und die Lösung bei 40°C für 2h im Ultraschallbad homogenisiert. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde durch Zugabe von 10 μL MeOTMS überschüssiges Fluorid gebunden. Die Proben wurden an einem Vakuumkonzentrator fast zur Trockene eingedampft und der verbleibende Rückstand in 1 mL demineralisiertem Wasser aufgenommen. Anschließend wurden die Proben mit flüssigem Stickstoff eingefroren und am Vakuumkonzentrator lyophilisiert.

CuAAC in Lösung

Der erhaltene Rückstand nach der TIPS-Entschützung wurde in 25 μL demineralisiertem Wasser aufgenommen und mit frisch hergestellten Lösungen in **Tabelle 12** versetzt.

Tabelle 12 eingesetzte Lösungen zur Modifikation des entschützten Bausteins **Z** mittels CuAAC.

Reagenz	Einwaage [mg]	Volumen [μL]	Konzentration [mM]	Reaktionsvolumen [μL]
CuBr^{a}	14,35	1000	100	200
TBTA ^a	26,50	500	100	400
Natriumascorbat ^b	99,00	500	1	50
Pyrenazid 11 ^c	2,44	100	100	100
BODIPY-Azid 16 ^c	3,66	100	100	100
Porphyrinazid 18 ^c	6,55	100	100	100

^a(DMSO/*t*BuOH 3:1) ^b(ddH₂O) ^c(DMSO)

Der Ansatz wurde für 30 min bei 40 °C temperiert und anschließend auf einem Horizontalschüttler für 8h bei Raumtemperatur homogenisiert. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde die Lösung mit 100µL Natrium-EDTA-Lösung (0,1 M) sowie 500µL NaOAc-Lösung (0,3 M) versetzt und anschließend auf ein geringes Volumen eingengt. Der Rückstand wurde mit Ethanol auf 1 mL aufgefüllt und über Nacht bei -28 °C gelagert. Der gebildete Feststoff wurde für 2 min bei 13000 u/min abzentrifugiert und zweimal mit kalter Ethanollösung (w= 70%) gewaschen. Der Rückstand wurde im Vakuum getrocknet und anschließend mit 300µL demineralisiertem Wasser im Ultraschallbad suspendiert. Die unlöslichen Bestandteile wurden abzentrifugiert und die überstehende Lösung mittels RP-HPLC aufgereinigt.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Zur Aufreinigung der modifizierten Oligonukleotidstränge wurde eine Trennung über semipräparative RP-HPLC durchgeführt. Die Trennung erfolgte an einer *Dionex Ultimate3000* mit Autosampler, Pumpenmodul, Säulenofen, Multidiodenarray (DAD) und RS-Fluoreszenzdetektor (FLD) der Firma *Thermo Fisher Scientific*. Zur Bedienung wurde die Software Chromeleon 7 von *Thermo Fisher Scientific* genutzt. Zur semipräparativen Trennung wurde eine *VDSphere OptiBio PUR 300 C18 SE-Säule* (250x10 mm, 5 µm) der Firma *VDS OPTILAB* mit einer Flussrate von 2.5-3.5 mL/min bei einer Temperatur von 60°C verwendet. Dabei diente ein Gradient aus 0-40% Acetonitril über 40 min mit anschließendem Plateau bei 40% für 15 min in 50 mM Ammoniumacetatpuffer (pH= 6.5) als mobile Phase. Das modifizierte Oligonukleotid wurde in 300 µL demineralisiertem Wasser aufgenommen und injiziert. Bei einer Wellenlänge von $\lambda = 260$ nm und der charakteristischen Absorptionswellenlänge des jeweiligen Chromophors konnte das modifizierte Oligonukleotid detektiert und fraktionsweise gesammelt werden. Für eine analytische Trennung wurde eine *VDSphere OptiBio PUR 300 C18-SE Säule* (250x4.6 mm, 5 µm) mit einer Flussrate von 1.15 mL/min verwendet.

Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS)

Die chromatographische Auftrennung erfolgte an einer *Dionex Ultimate3000* der Firma *Thermo Fisher Scientific*. Die Trennungen wurden mit Chromatographiesäulen der Firma *VDS OPTILAB* entsprechend den im vorherigen Absatz angegebenen Gradienten für die jeweilige Probe durchgeführt. Das Trennsystem wurde mit einem *Q Exactive Plus* Massenspektrometer der Firma *Thermo Fisher Scientific* mit Elektronensprayionisation (ESI) gekoppelt.

Hochauflösende-Elektronensprayionisation Massenspektrometrie

Massenspektrometrische Messungen wurden von der analytischen Abteilung des Instituts für organische Chemie (IOC) und des Instituts für physikalische Chemie (IPC) des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) durchgeführt. Die hochauflösenden Massenspektren wurde mit einem *Q Exactive Plus* Massenspektrometer von *Thermo Fisher Scientific* unter Verwendung der Elektrosprayionisation (ESI) aufgenommen. Die Charakterisierung der Signale erfolgte anhand des Masse-zu-Ladungsverhältnisses (m/z), wobei der Molekülionenpeak mit [M] abgekürzt wurde.

Matrix assistierte Laser Desorption Ionisierung (MALDI)

Zur Überprüfung der Reinheit der gesammelten Fraktionen wurde das Lösungsmittel unter reduziertem Druck evaporiert und der Rückstand in 50 μL hochreinem Wasser aufgenommen. Anschließend wurden die Proben mittels Matrix assistierter Laser Desorption Ionisierung mit Flugzeitbestimmung-Massenspektrometrie (MALDI-TOF-MS) analysiert. Die Messungen erfolgten dabei an einem *Axima Confidence* Massenspektrometer der Firma *Shimadzu* mit verschiedenen Matrizen. Folgende Matrizen wurden im Rahmen dieser Arbeit verwendet:

3-Hydroxypicolinsäure (ges. Lösung in MeCN/ddH₂O 1:1)/ Ammoniumhydrogencitrat (0.44 M in ddH₂O) 9:1

UV/VIS Spektroskopie

UV/VIS-Absorptionsspektren der modifizierten Oligonukleotide sowie deren Schmelzpunkte wurden an einem *Cary3500* Spektralphotometer der Firma *Agilent Technologies* aufgenommen. Die Oligonukleotide wurden in 10mm Quartzglasküvetten von *Starna* mit einem Volumen von 1 mL bei 25°C vermessen. Zur Bestimmung des Extinktionskoeffizienten ϵ der Chromophore wurden Stammlösungen angesetzt und daraus mindestens fünf Standardlösungen verschiedener Konzentration hergestellt. Die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten beruht auf der Linearität des LAMBERT-BEERSCHEN Gesetz im Extinktionsbereich zwischen 0-1,5.

Fluoreszenzspektroskopie

Die Bestimmung der Fluoreszenz wurde an einem *Fluoromax Plus* mit Peltierelement der Firma *Horiba Jobin Yvon* durchgeführt. Vor jeder Messung wurden das Lampenspektrum und die Detektorempfindlichkeit überprüft. Falls notwendig wurde das Gerät justiert, um reproduzierbare Messbedingungen zu gewährleisten. Zur Datenverarbeitung wurde die Software *Fluorescence V3.5* genutzt. Falls nicht explizit angegeben wurden folgende Messparameter eingestellt:

Integrationszeit 100 ms, Schrittweite 1.0 nm, Inkrementzeit 200 ms

Die Anregungswellenlänge sowie die Spaltbreiten wurden spezifisch angepasst.

Fluoreszenzquantenausbeuten

Die Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeute Φ_F erfolgte anhand der gemessenen UV/Vis-Absorptions- und Emissionsspektren. Dazu wurden Referenzverbindungen bei identischen Parametern vermessen. Die Fluoreszenzquantenausbeute wurde mittels **Gleichung 6** und **Gleichung 7** bestimmt.^[252]

$$\Phi_F = \Phi_R \cdot \frac{f_R}{f_P} \cdot \frac{\int F_P(\lambda) d\lambda}{\int F_R(\lambda) d\lambda} \cdot \frac{\eta_P^2}{\eta_R^2} \quad \text{Gl. 6}$$

$$f_x = 1 - 10^{-OD_x} \quad \text{Gl. 7}$$

Als Referenz wurden **Rhodamin G6** (in EtOH) und **Cumarin 102** (in MeCN) verwendet.

CD-Spektroskopie

Die Bestimmung der chiralen Eigenschaften synthetisierter Oligonukleotide wurde an einem *Jasco J-810* Spektropolarimeter mit einem Peltier-Element *PTC-423S* und einem *AC 200* Thermostat der Firma *Thermo Scientific* durchgeführt. Dazu wurde die Software *Spectra Manager* verwendet. Falls nicht explizit angegeben, wurden folgende Messparameter eingestellt:

Scangeschwindigkeit: 100 nm/min, Akkumulation: 4, Integration: 4 s, Bandbreite: 1 nm

Konzentrationsbestimmung der modifizierten Oligonukleotide

Zur Bestimmung der Konzentration wurde die Absorption bei $\lambda = 260\text{ nm}$ mit einem *Cary3500* Spektralphotometer der Firma *Agilent Technologies* gemessen. Es wurden Referenzwerte festgelegt, die sich aus dem jeweiligen Extinktionskoeffizienten des Oligonukleotids gemäß **Gleichung 8** ergeben.

$$\varepsilon_{260} = (A \cdot \varepsilon_A + T \cdot \varepsilon_T + G \cdot \varepsilon_G + C \cdot \varepsilon_C) \cdot 0.9 + F \cdot \varepsilon_F \quad \text{Gl. 8}$$

Die Extinktionskoeffizienten ε_{260} der natürlichen Nukleotide und der entsprechenden Chromophorazide F sind in **Tabelle 13** aufgelistet.

Tabelle 13 Extinktionskoeffizienten der verwendeten Nukleotide bzw. der Chromophorazide.

Nukleotid/Modifikation	Extinktionskoeffizient [L·mol ⁻¹ ·cm ⁻¹]
A	15400
T	8800
C	7300
G	11700
U	9900
Pyrenazid 11	13100
BODIPY-Azid 16	13700
Porphyrinazid 18	21400

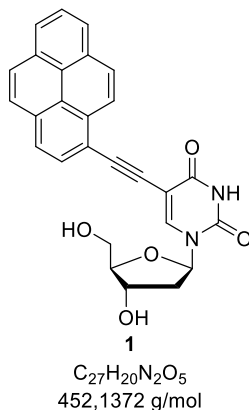
Gelpermeationschromatographie

Das GPC-System wurde durch den Arbeitskreis MEIER am Institut für organische Chemie (IOC) des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) zur Verfügung gestellt.

Es wurde ein *PSS SECcurity2* GPC-System auf Basis einer *Agilent Infinity 1260 II* verwendet. Das System ist mit einem Brechungsindexdetektor *SECcurity² RI*, einem Säulenofen (*Bio*)*SECcurity²*, mit Fach *TCC6500*, einem Standard *SECcurity²*-Autosampler und einer isokratischen Pumpe *SECcurity²* ausgestattet. Als mobile Phase wurde THF (1 ml/min) bei 40 °C verwendet. Die Analyse wurde mit folgendem Säulensystem durchgeführt: Zwei Säulen *PSS SDV analytical* (3 μm , 300 $\times$ 8,0 mm², 1000 Å) mit einer *PSS SDV analytical* Vorsäule (3 μm , 50 $\times$ 8,0 mm²).

5.2 Synthesevorschriften

5-(2-Ethynylpyren)-2'-desoxyuridin **1**



In einem Schlenkcolben wurden 600 mg Verbindung **3** (1,00 Äq.; 0,88 mmol) in trockenem THF gelöst und im Eisbad auf 0°C abgekühlt. Nach 15 min wurden 0,70 mL Triethylamintrihydrofluorid (6,00 Äq.; 5,29 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde ein Spatel Silika zugegeben und für 10 min gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck evaporiert und das erhaltene Rohprodukt mittels Säulenchromatografie (Silika, CH:EE 1:0-0:1) aufgereinigt. Zuletzt wurde aus Benzol lyophilisiert.

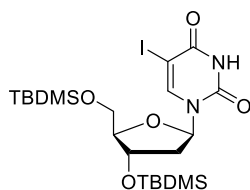
Es wurde ein hellgelber, kristalliner Feststoff in einer Ausbeute von 96% (383 mg; 0,85 mmol) erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 11.82 (s, 1H), 8.65 (d, 1H), 8.61 (m, 1H), 8.27 (m, 8H), 6.20 (t, ³*J*_{H,H}= 6.4 Hz, 1H), 5.29 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 3.87 (q, ³*J*_{H,H}= 3.4 Hz, 2H), 3.70 (m, 2H), 2.25 (m, 2H).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 162.10, 149.97, 144.32, 131.41, 131.27, 131.01, 129.47, 129.22, 128.76, 127.72, 127.25, 126.40, 125.44, 124.14, 123.87, 117.45, 98.91, 91.63, 89.00, 85.49, 70.33, 61.31.

HR-MS (ESI): 452,1364 [M]

5-Iod-3',5'-Bis-(*tert*-butyl-di-methylsilyl)-2'-desoxyuridin **2**



2

C₂₁H₃₉IN₂O₅Si₂
582,6265 g/mol

Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von KOBAYASHI *et al.* synthetisiert.^[157]

In einem Schlenk Kolben wurden 1,50 g 5-Iod-2'-desoxyuridin (1,00 Äq.; 4,24 mmol), 1,44 g Imidazol (5,00 Äq.; 21,2 mmol) und 2,28 g TBDMSCl (3,50 Äq., 14,8 mmol) in trockenem DMF gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gelöscht. Die wässrige Phase wurde mehrmals mit Diethylether extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Es wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck evaporiert. Das erhaltene Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatografie (Silika, CH:EE 4:1) aufgereinigt. Zuletzt wurde das Produkt aus Benzol lyophilisiert.

Es wurde ein farbloser, pulveriger Feststoff in einer Ausbeute von 95% (225 mg; 0,26 mmol) erhalten.

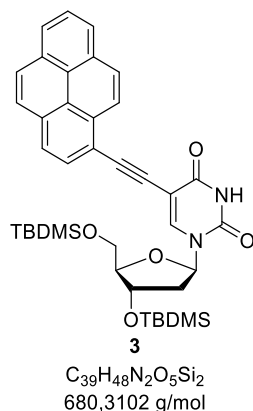
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃-d₁): δ= 9.03 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 6.26 (dd, ³J_{H,H}=8.0 Hz, ³J_{H,H}=5.6 Hz 1H), 4.41-4.34 (m, 1H), 4.00 - 3.94 (m, 1H), 3.81 (ddd, ³J_{H,H}=11.5, ⁵J_{H,H}=2.4 Hz, 1H), 2.30 (ddd, ³J_{H,H}=13.1, ⁵J_{H,H}=2.3 Hz, 1H), 2.03-1.92 (m, 1H), 0.93 (s, 9H), 0.88 (s, 9H), 0.14 (d, ³J_{H,H}= 4.4 Hz, 6H), 0.06 (d, ³J_{H,H}=3.4 Hz, 6H).

¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃-d₁): δ= 160.15, 150.02, 144.57, 88.58, 85.96, 72.71, 68.50, 63.20, 42.15, 26.30, 25.87, 18.65, 18.14, -4.52, -4.71, -4.97, -5.12.

HR-MS (ESI): 581,1359 [M-H]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

5-(2-Ethynylpyren)-3',5'-Bis-(*tert*butyldimethylsilyl)-2'-desoxyuridin **3**



In einem Schlenkkolben wurden 1,95 g Verbindung **2** (1,00 Äq.; 3,35 mmol), 833 mg 1-Ethynylpyren (1,10 Äq.; 3,68 mmol), 387 mg Tetrakis(triphenylphosphin)palladium (0,10 Äq.; 0,35 mmol) und 319 mg Kupfer(I)-iodid (0,5 Äq.; 1,67 mmol) in trockenem DMF gelöst. Anschließend wurde 1,59 mL trockenes Triethylamin (2,50 Äq.; 8,37 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch dreimal mittels der Freeze-Pump-Thaw-Methode entgast. Es wurde über Nacht bei 60°C gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde das Lösungsmittel unter reduziertem Druck evaporiert. Das erhaltene Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatografie (Silika, CH:EE 1:0-2:1) aufgereinigt und zuletzt aus Benzol lyophilisiert.

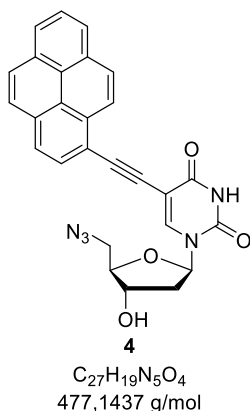
Es wurde ein hellgelber, kristalliner Feststoff in einer Ausbeute von 48% (1,09 g; 1,61 mmol) erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 11.89 (s, 1H), 8.66 (d, 1H), 8.23 (m, 9H), 6.19 (t, ³J_{H,H}= 6.6 Hz, 1H), 4.42 (dt, ³J_{H,H}= 6.3 Hz, ⁵J_{H,H}=3.3 Hz, 1H), 3.87 (m, 2H), 3.76 (m, 1H), 2.26 (m, 2H), 0.87 (d, 18H), 0.16-0.09 (m, 12H).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ= 170.90, 153.69, 151.92, 137.18, 132.04, 131.50, 131.40, 130.90, 129.79, 129.40, 128.80, 128.69, 127.28, 126.38, 125.99, 125.66, 125.38, 124.10, 122.80, 122.59, 120.83, 107.05, 106.42, 88.63, 87.65, 73.82, 62.78, 25.68, 25.49, 17.76, 17.71, -4.82, -4.87, -5.98, -6.09.

HR-MS (ESI): 679,3016 [M-H]

5-(2-Ethynylpyren)-5'-Azid-2'-desoxyuridin **4**

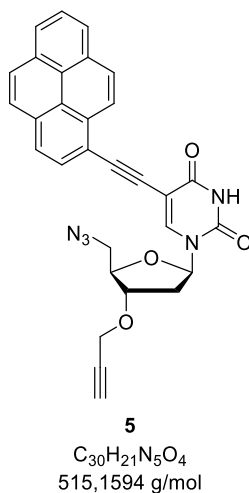


In einem Schlenkkolben wurden 383 mg Verbindung **1** (1,00 Äq.; 0,85 mmol) in trockenem Pyridin gelöst und im Eisbad auf 0°C abgekühlt. Es wurden 66 µL Mesylchlorid (1,00 Äq.; 0,85 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde mit Ethylacetat verdünnt und mit gesättigter NaHCO₃-Lösung sowie demineralisiertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck evaporiert. Der Rückstand wurde mit 110 mg Natriumazid (2,00 Äq., 1,70 mmol) in trockenem DMF suspendiert und bei 50°C über Nacht gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde das Lösungsmittel im Vakuum evaporiert und das Intermediat ohne weitere Aufreinigung umgesetzt.

Es wurde ein hellgelber, kristalliner Feststoff in einer Ausbeute von 84% (340 mg; 0,71 mmol) erhalten.

HR-MS (ESI): 477,1425 [M]

5-(2-Ethynylpyren)-5'-Azid-3'-Propargyl-2'-desoxyuridin 5



In einem Schlenkkolben wurden 340 mg Verbindung **4** (1,00 Äq.; 0,71 mmol) und 30 mg Natriumhydrid (1,00 Äq.; 0,71 mmol) in trockenem THF gelöst. Anschließend wurde auf 0°C abgekühlt und für 10 min unter Kühlung gerührt. Es wurde für weitere 20 min im Ultraschall homogenisiert und 80 µL Propargylbromid (1,00 Äq.; 0,71 mmol) zugetropft. Nach 8h wurde mit Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen und das Rohprodukt aus Benzol lyophilisiert.

Es wurde ein hellgelber, kristalliner Feststoff in einer quantitativen Ausbeute (367 mg; 0,71 mmol) erhalten.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 11.91 (s, 1H), 8.67 (d, ³*J*_{H,H}= 9.1 Hz, 1H), 8.25 (m, 8H), 7.60 (m, 1H), 6.19 (m, 1H), 4.26 (m, 1H), 4.13 (m, 1H), 3.73 (m, 1H), 3.52 (t, ³*J*_{H,H}= 9.0 Hz, 1H), 2.36 (m, 1H), 1.23 (m, 4H).

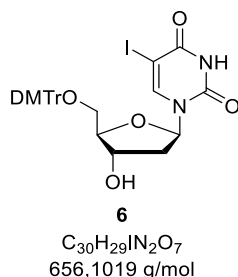
¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 133.09, 132.07, 131.53, 131.45, 130.85, 130.80, 130.53, 128.83, 128.73, 128.36, 127.26, 126.81, 125.96, 124.99, 123.67, 123.39, 116.88, 98.98, 85.46, 82.43, 80.09, 78.55, 77.62, 56.37, 41.59.

HR-MS (ESI): 514,1520 [M-H] **HR-MS** (FAB): 515,1590 [M]

Weitere Informationen sind in der elektronische Datenbank *Chemotion Repository* zu finden:

<https://dx.doi.org/10.14272/reaction/SA-FUHFF-UHFFFADPSC-XBSSBIALMA-UHFFFADPSC-NUHFF-NJLTU-NUHFF-ZZZ>

5-Iod-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridin **6**



Die Verbindung wurde nach einer internen Vorschrift von WAGENKNECHT *et al.* synthetisiert.

In einem Schlenkkolben wurden 1,50 g 5-Iod-2'-desoxyuridin (1,00 Äq.; 4,24 mmol) in trockenem Pyridin gelöst und auf -10°C abgekühlt. Anschließend wurden 1,44 g DMTrCl (1,00 Äq.; 4,24 mmol) portionsweise über 30 min zugegeben. Das Kältebad wurde nach 4h entfernt und die Reaktion mit Methanol gelöscht. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck evaporiert und das erhaltene Rohprodukt mittels Säulenchromatografie (Silika, DCM:MeOH 100:0-96:4+ 0,1% NEt₃) aufgereinigt. Zuletzt wurde das Produkt aus Benzol lyophilisiert.

Es wurde ein farbloser, pulveriger Feststoff in einer Ausbeute von 65% (1,82 g; 2,77 mmol) erhalten.

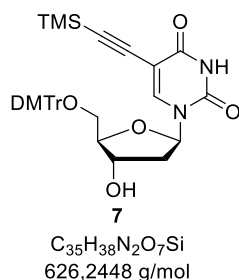
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 11.48 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.32 (m, 9H), 6.90 (m, 4H), 6.10 (t, ³J_{H,H}=6.8 Hz, 1H), 5.31 (s, 1H), 4.23 (d, ³J_{H,H}= 6.0 Hz, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.17 (m, 2H), 2.21 (m, 2H).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ= 160.51, 158.10, 150.03, 149.61, 144.75, 144.25, 135.46, 135.38, 113.29, 85.80, 84.87, 70.49, 69.82, 63.71, 45.62, 39.86.

HR-MS (ESI): 655,0934 [M-H]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

5-(Trimethylsilylethynyl)-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridin **7**



Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von RODRIGUEZ *et al.* synthetisiert.^[253]

In einem Schlenkcolben wurden 2,00 g Verbindung **10** (1,00 Äq.; 3,05 mmol), 145 mg Kupfer(I)-iodid (0,25 Äq.; 0,76 mmol) und 352 mg Tetrakis(triphenylphosphin)palladium (0,10 Äq.; 0,30 mmol) in trockenem THF gelöst. Anschließend wurden 0,6 mL Ethynyltrimethylsilan (1,40 Äq.; 4,27 mmol) und 6,4 mL Triethylamin (15,00 Äq.; 45,70 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 20 min mit Argon durchspült. Es wurde über Nacht bei 50°C gerührt und nach erfolgreicher Reaktionskontrolle das Lösungsmittel unter reduziertem Druck evaporiert. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatografie (Silika, DCM:MeOH 100:0-98:2) aufgereinigt.

Es wurde ein farbloser, schaumiger Feststoff in einer Ausbeute von 86% (1,65 g; 2,63 mmol) erhalten.

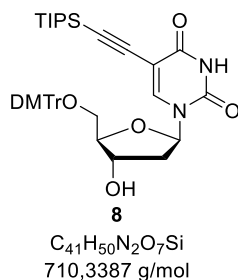
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 11.69 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.33 (m, 9H), 6.90 (m, 4H), 6.10 (t, ³*J*_{H,H}= 6.7 Hz, 1H), 5.30 (d, ³*J*_{H,H}= 4.4 Hz, 1H), 4.22 (m, 1H), 3.92 (m, 1H), 3.73 (s, 6H), 3.16 (m, 2H), 2.21 (m, 2H), 0.01 (s, 9H).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 161.40, 158.04, 149.24, 144.66, 143.58, 135.57, 135.39, 129.68, 129.60, 128.31, 127.89, 127.63, 126.63, 113.23, 98.61, 97.16, 85.96, 85.80, 85.10, 70.43, 63.60, 55.00, 45.77, 8.67, -0.31.

HR-MS (ESI): 627,2361 [M+H], 625,2203 [M-H]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

5-(Triisopropylsilylethynyl)-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridin **8**



Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von SEELA *et al.* synthetisiert.^[254]

In einem Schlenkcolben wurden 2,00 g Verbindung **10** (1,00 Äq.; 3,05 mmol), 145 mg Kupfer-(I)-iodid (0,25 Äq.; 0,76 mmol) und 352 mg Tetrakis(triphenylphosphin)palladium (0,10 Äq.; 0,30 mmol) in trockenem THF gelöst. Es wurden 1,10 mL Ethynyltriisopropylsilan (1,40 Äq.; 4,27 mmol) und 6,40 mL Triethylamin (15,00 Äq.; 45,70 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 20 min mit Argon durchspült. Es wurde über Nacht bei 50°C gerührt und nach erfolgreicher Reaktionskontrolle das Lösungsmittel unter reduziertem Druck evaporiert. Das Rohprodukt wurde mittels Säulenchromatografie (Silika, DCM:MeOH 100:0-98:2) aufgereinigt.

Es wurde ein farbloser, schaumiger Feststoff in einer Ausbeute von 74% (1,61 g; 2,27 mmol) erhalten.

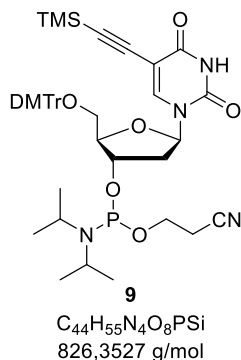
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 11.66 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.30 (m, 9H), 6.86 (m, 4H), 6.08 (t, ³*J*_{H,H}= 6.7 Hz, 1H), 5.29 (d, ³*J*_{H,H}= 4.5 Hz, 1H), 4.16 (m, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.72 (s, 6H), 3.16 (m, 2H), 2.21 (m, 2H), 0.09 (s, 21H).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ= 161.41, 158.06, 158.02, 149.25, 144.64, 143.20, 135.63, 135.40, 129.64, 129.51, 127.81, 127.61, 126.59, 113.14, 98.90, 98.83, 93.76, 85.81, 85.67, 85.35, 70.45, 63.67, 54.95, 18.35, 10.66.

HR-MS (ESI): 710,3392 [M]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

5-(Trimethylsilylethynyl)-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridinphosphoramidit **9**



Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von HERRMANN *et al.* synthetisiert.^[255]

In einem Schlenkkolben wurden 100 mg Verbindung **11** (1,00 Äq.; 0,16 mmol) in trockenem DCM gelöst und mit 100 µL DIPEA (3,60 Äq.; 0,57 mmol) versetzt. Anschließend wurden 43 µL 2-Cyanoethyl-*N,N*-Diisopropylchlorphosphoramidit (1,20 Äq.; 0,19 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung gelöscht. Anschließend wurde die wässrige Phase mehrmals mit DCM extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit demineralisiertem Wasser gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck evaporiert und das erhaltene Rohprodukt mittels Säulenchromatografie (Silika, DCM:Aceton 9:1) aufgereinigt. Zuletzt wurde das Produkt aus Benzol lyophilisiert.

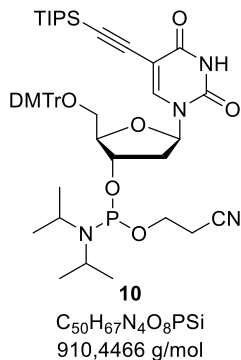
Es wurde ein farbloser, schaumiger Feststoff in einer Ausbeute von 73% (93 mg; 0,12 mmol) erhalten.

³¹P-NMR (162 MHz, THF- d_8): δ = 148.50(d)

HR-MS (ESI): 826,2251 [M]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

5-(Triisopropylsilylethynyl)-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridinphosphoramidit **10**



Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von SEELA *et al.* synthetisiert.^[254]

In einem Schlenkkolben wurden 100 mg Verbindung **12** (1,00 Äq.; 0,14 mmol) in trockenem DCM gelöst und mit 88 µL DIPEA (3,60 Äq.; 0,51 mmol) versetzt. Anschließend wurden 39 µL 2-Cyanoethyl-*N,N*-Diisopropylchlorphosphoramidit (1,20 Äq.; 0,17 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung gelöscht. Anschließend wurde die wässrige Phase mehrmals mit DCM extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit demineralisiertem Wasser gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck evaporiert und das erhaltene Rohprodukt mittels Säulenchromatografie (Silika, DCM:Aceton 9:1) aufgereinigt. Zuletzt wurde das Produkt aus Benzol lyophilisiert.

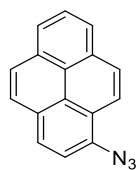
Es wurde ein farbloser, schaumiger Feststoff in einer Ausbeute von 90% (115 mg; 0,13 mmol) erhalten.

^{31}P -NMR (162 MHz, THF- d_8): δ = 149.14, 148.59.

HR-MS (ESI): 910,4410 [M]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

1-Azidopyren 11



11
C₁₆H₉N₃
243,0796 g/mol

Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von ORITA *et al.* synthetisiert.^[256]

In einem Rundkolben wurde 1,00 g 1-Aminopyren (1,00 Äq.; 4,60 mmol) in 5N Salzsäure suspendiert und im Eisbad auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurden 397 mg Natriumnitrit (1,25 Äq.; 5,75 mmol) gelöst in 1 mL demineralisiertem Wasser langsam zugetropft. Nach 30 min wurden 748 mg Natriumazid (2,50 Äq.; 11,5 mmol) gelöst in 3 mL demineralisiertem Wasser langsam zugetropft und nach vollständiger Zugabe das Kühlbad entfernt. Es wurde für weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde die Reaktion mit Ethylacetat verdünnt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinte organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck evaporiert.

Es wurde ein hellbrauner, pulveriger Feststoff in einer Ausbeute von 96% (1,08 g; 4,44 mmol) erhalten.

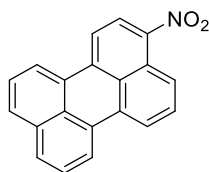
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 8.34 (d, ³J_{H,H}=8.3 Hz, 1H), 8.29 (dd, 2H), 8.20 (d, ⁵J_{H,H}=1.8 Hz, 2H), 8.14 (d, ³J_{H,H}= 5.6 Hz, 2H), 8.08 (t, ³J_{H,H}= 7.6 Hz, 1H), 8.08 (d, ³J_{H,H}=8.3 Hz, 1H).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ= 132.70, 131.02, 130.70, 127.85, 127.72, 127.17, 126.82, 126.68, 126.03, 125.46, 125.20, 124.61, 123.62, 121.47, 120.98, 116.34.

HR-MS (ESI): 243,05623 [M]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

3-Nitroperylene 12



12

$C_{20}H_{11}NO_2$
297,3130 g/mol

Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von KOBAYASHI *et al.* synthetisiert.^[257]

In einem Rundkolben wurde 1,00 g Perylen (1,00 Äq.; 3,96 mmol) in Dioxan gelöst und auf 80°C erhitzt. Es wurden 2,00 mL konzentrierte Salpetersäure (12,00 Äq.; 47,5 mmol) zugetropft und für 30 min gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde auf Eis gegossen und der gebildete Feststoff abfiltriert. Es wurde mehrmals mit heißem Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck evaporiert und das erhaltene Rohprodukt mittels Säulenchromatografie (Silika, Hexan:DCM 100:0-96:4 +10% Benzol) aufgereinigt.

Es wurde ein roter, pulveriger Feststoff in einer Ausbeute von 48% (0,56 g; 1,88 mmol) erhalten.

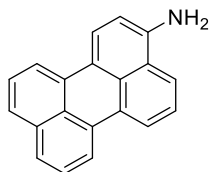
^1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$ - d_1): δ = 8.46 (d, $^3J_{H,H}$ = 8.6 Hz, 1H), 8.28-8.15 (m, 4H), 8.08 (d, $^3J_{H,H}$ = 8.4 Hz, 1H), 7.81 (d, $^3J_{H,H}$ = 8.1 Hz 1H), 7.75 (d, $^3J_{H,H}$ = 8.1 Hz, 1H), 7.66 (t, $^3J_{H,H}$ = 8.1 Hz, 1H), 7.53 (m, 2H).

^{13}C -NMR (101 MHz, $DMSO$ - d_6): δ = 137.69, 134.40, 131.74, 130.47, 130.24, 129.68, 129.60, 129.40, 129.01, 128.02, 127.17, 126.87, 125.23, 123.09, 122.81, 122.06, 121.43, 118.42.

HR-MS (ESI): 298,0862 [M+H]; 297,082 [M]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

3-Aminoperylen 13



13
C₂₂H₁₃N
267,1048 g/mol

Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von HUO *et al.* synthetisiert.^[178]

In einem Rundkolben wurden 266 mg Verbindung **16** (1,00 Äq.; 0,89 mmol), 16 mg Eisen(III)chlorid (0,10 Äq.; 0,09 mmol) und 27 mg Aktivkohle (2,50 Äq.; 2,24 mmol) in einem gleichteiligen Gemisch aus Toluol und Ethanol suspendiert. Es wurden 1,4 mL Hydrazin-Monohydrat Lösung (20,0 Äq.; 17,9 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 4h bei 80°C gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde über Celite filtriert. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck evaporiert.

Es wurde ein orangener, pulveriger Feststoff in einer Ausbeute von 88% (210 mg; 0,79 mmol) erhalten.

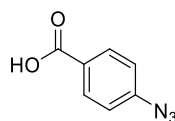
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 8.27 (q, ³J_{H,H}= 7.5 Hz, 1H), 8.20 (d, ³J_{H,H}= 7.5 Hz, 1H), 8.08 (d, ³J_{H,H}= 8.3 Hz, 1H), 7.98 (dd, 2H), 7.64 (d, ³J_{H,H}= 8.1 Hz, 1H), 7.51 (d, ³J_{H,H}= 8.1 Hz, 1H), 7.47-7.35 (m, 3H), 6.75 (d, ³J_{H,H}= 8.3 Hz, 1H), 6.12 (s, 2H).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ= 145.55, 134.68, 132.33, 131.38, 130.52, 128.97, 127.78, 127.12, 126.96, 126.60, 124.61, 124.47, 122.84, 122.78, 122.70, 121.00, 119.43, 118.01, 117.11, 108.85.

HR-MS (ESI): 267,1043 [M], 268,1077 [M+H].

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

4-Azidobenzoessäure 15



15

$C_7H_5N_3O_2$
163,0382 g/mol

Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von TOYOTA *et al.* synthetisiert.^[258]

In einem Rundkolben wurden 3,00 g 4-Aminobenzoessäure (1,00 Äq.; 21,4 mmol) in 5N Salzsäure suspendiert und im Eisbad auf 0°C abgekühlt. Anschließend wurden 2,22 g Natriumnitrit (1,50 Äq.; 32,2 mmol) in demineralisiertem Wasser langsam zugetropft. Nach 30 min wurden 4,18 g Natriumazid (3,00 Äq.; 64,4 mmol) in demineralisiertem Wasser langsam zugetropft. Nach vollständiger Zugabe wurde das Kühlbad entfernt und für weitere 30 min bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde die Reaktion mit Ethylacetat verdünnt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinte organische Phase mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter reduziertem Druck evaporiert.

Es wurde ein farbloser, pulveriger Feststoff in einer Ausbeute von 93% (3;26 g, 20,0 mmol) erhalten.

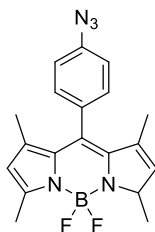
¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 12.96 (s, 1H), 7.96 (d, 2H), 7.22 (d, 2H).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ = 166.58, 143.96, 131.23, 127.32, 119.17.

HR-MS (ESI): 162,0299 [M-H]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

8-(4-Azidophenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-4,4-Difluor-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen 16



16

C₁₉H₁₈BF₂N₅
366,1702 g/mol

Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von DINOLFO *et al.* synthetisiert.^[183]

In einem Schlenkkolben wurden 100 mg Verbindung **19** (1,00 Äq.; 6,00 mmol) in trockenem DCM suspendiert und 900 µL Oxalylchlorid (1,70 Äq.; 10,3 mmol) sowie 0,1 mL trockenes Pyridin (0,25 Äq.; 0,25 mmol) zugegeben. Es wurde für 3 Tage gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck evaporiert und der Rückstand in trockenem DCM gelöst. Es wurden 1,28 mL 2,4-Dimethylpyrrol (2,00 Äq.; 12,1 mmol) zugetropft und über Nacht gerührt. Anschließend wurden 5,3 mL trockenes Triethylamin (6,25 Äq.; 37,8 mmol) zugegeben. Nach 30 min wurden 6,0 mL Bortrifluoriddiethyletherat (8,05 Äq.; 48,7 mmol) zugegeben und für 4 h gerührt. Es wurde mit gesättigter NaHCO₃-Lösung gelöscht und mit DCM extrahiert. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck evaporiert. Das Rohprodukt wurde über Säulenchromatografie (Silika, CH:DCM 100:0-70:30) aufgereinigt und anschließend aus *n*-Hexan umkristallisiert.

Es wurde ein orangener, pulveriger Feststoff in einer Ausbeute von 21% (207 mg; 0,57 mmol) erhalten.

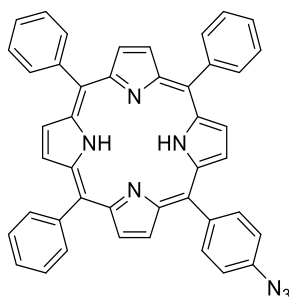
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 7.33 (d, ³J_{H,H}= 8.6 Hz, 2H), 7.22 (d, ³J_{H,H}= 8.3 Hz, 2H), 6.05 (s, 2H), 2.61 (s, 6H), 1.48 (s, 6H).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ= 155.89, 143.06, 141.19, 140.71, 131.65, 129.80, 121.50, 119.89, 14.76, 14.72.

HR-MS (ESI): 366,1696 [M]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

5-(4-Azidophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin **18**



18

C₄₄H₂₉N₇
655,2484 g/mol

Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von GIORDANI *et al.* synthetisiert.^[259]

In einem Rundkolben wurden 145 mg 5-(4-aminophenyl)-10,15,20-triphenyl-porphyrin **19** (1,00 Äq.; 0,23 mmol) in THF gelöst und mit 5N Salzsäure verdünnt. Die Lösung wurde im Eisbad auf 0°C gekühlt und nach 15 min mit 19 mg Natriumnitrit (1,20 Äq.; 0,28 mmol) versetzt. Es wurde für weitere 30 min unter Kühlung gerührt. Anschließend wurden 54 mg Natriumazid (3,60 Äq.; 0,83 mmol), gelöst in 3 mL demineralisiertem Wasser, zugetropft und für 1 h gerührt. Nach Ablauf der Reaktionszeit wurde das Eisbad entfernt und für eine weitere Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Es wurde mehrmals mit DCM extrahiert und die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck evaporiert.

Es wurde ein violetter, pulveriger Feststoff in einer Ausbeute von 95% (145 mg; 0,22 mmol) erhalten.

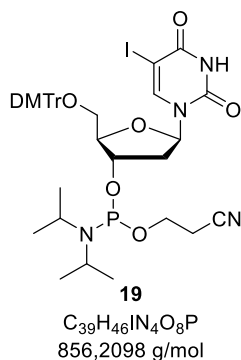
¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ= 8.84 (q, ³J_{H,H}= 4.8 Hz, 8H), 8.26-8.17 (m, 8H), 7.79-7.71 (m, 10H), 7.47-7.40 (m, 1H), -2.77 (s, 2H).

¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ= 142.15, 135.73, 134.57, 127.77, 126.71, 120.27, 117.46.

HR-MS (ESI): 656,2566 [M+H]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

5-Iod-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridinphosphoramidit **19**



Die Verbindung wurde nach einer publizierten Vorschrift von MOGGRIDGE *et al.* synthetisiert.^[260]

In einem Schlenkkolben wurden 100 mg Verbindung **10** (1,00 Äq.; 0,14 mmol) in trockenem DCM gelöst und mit 88 µL DIPEA (3,60 Äq.; 0,51 mmol) versetzt. Anschließend wurden 39 µL 2-Cyanoethyl-*N,N*-Diisopropylchlorphosphoramidit (1,20 Äq.; 0,17 mmol) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach erfolgreicher Reaktionskontrolle wurde mit gesättigter $NaHCO_3$ -Lösung gelöscht. Anschließend wurde die wässrige Phase mehrmals mit DCM extrahiert. Die vereinte organische Phase wurde mit demineralisiertem Wasser gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter reduziertem Druck evaporiert und das erhaltene Rohprodukt mittels Säulenchromatografie (Silika, DCM:Aceton 9:1) aufgereinigt. Zuletzt wurde das Produkt aus Benzol lyophilisiert.

Es wurde ein farbloser, schaumiger Feststoff in einer Ausbeute von 85% (111 mg; 0,13 mmol) erhalten.

³¹P-NMR (162 MHz, THF-*d*₈): δ = 149.14, 148.59.

HR-MS (ESI): 855,2019 [M-H], 856,2051 [M], 857,2081 [M+H]

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

6. Verzeichnisse

6.1 Abkürzungsverzeichnis

A	Adenin
AdU	5-Azid-2'-desoxyuridin
Å	Angström
ar.	Aromatisch
AT	Adenin-Thymin Basenpaar
a.u.	Willkürliche Einheit (<i>arbitrary unit</i>)
Bo	BODIPY
C	Cytosin/ Cytidin
°C	Celsius
CH	Cyclohexan
CPG	Poröses Glas (<i>controlled pore glass</i>)
CuAAC	Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition
Cu	Kupfer
d	Dublett
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMTr	Dimethoxytrityl
DNA	Desoxyribonukleinsäure (<i>desoxyribonucleic acid</i>)

dU	2-Desoxyuridin
E	Energie
EE	Ethylacetat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EnT	Energietransfer
ET	Elektronentransfer
<i>et al.</i>	<i>et alia</i>
Et ₃ N	Triethylamin
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
FRET	FÖRSTER-Resonanzenergietransfer
Fl	Fluoreszenz
G	Guanin
h	Stunde
HCl	Salzsäure
HF	Flusssäure
HR	Hochauflösend
hν	Photonenenergie
Hz	Hertz
IC	Innere Umwandlung (<i>internal conversion</i>)
IdU	5'-Iod-2-desoxyuridin
Int.	Intermediat

ISC	Interkombination (<i>intersystem crossing</i>)
J	Kopplungskonstante
K	Kelvin
kJ	Kilojoule
L	Liter
LT	Ladungstransfer
M	Molar
m	Multiplett
MALDI	Matrix-unterstützte Laser-Desorptions/Ionisation
mdeg	Milligrad
MeCN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MHz	Megahertz
min	Minuten
mmol	Millimol
mol	Mol
MS	Massenspektrometrie
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaOH	Natriumhydroxid
NaP _i	Natriumphosphat-Puffer
NH ₄ OAc	Ammoniumacetat

nm	Nanometer
NMR	Kernspinresonanz (<i>nuclear magnetic resonance</i>)
ns	Nanosekunde
PET	Photoinduzierter Elektronentransfer
pH	<i>Pondus Hydrogenii</i>
Po	Porphyrin
ppm	parts per million
Py	Pyren
quant.	quantitativ
R ₀	Försterabstand
r	Abstand
RP-HPLC	Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde
s	Singulett (NMR)
S	Singulett-Zustände
SCE	gesättigte Kalomelelektrode (<i>saturated calomel electrode</i>)
SiO ₂	Kieselgel
Smp	Schmelzpunkt
T	Thymin/ Thymidin
T	Triplett-Zustände
t	Zeit

t	Triplett
TBDMS	<i>tert</i> -Butyldimethylsilan
TIPS	Triisopropylsilan/ Triisopropylsilylschutzgruppe
TIPSA	Triisopropylsilylacetylen
TMS	Trimethylsilan
TMSA	Trimethylsilylacetylen/ Trimethylsilylschutzgruppe
T _M	Schmelztemperatur (DNA)
TPP	Tetraphenylporphyrin
v	Schwingungsniveau
UV	ultraviolett
Vis	sichtbares Licht
VR	vibronische Relaxation
μs	Mikrosekunde
δ	chemische Verschiebung
ε	molarer Extinktionskoeffizient
λ	Wellenlänge

6.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Die Entwicklung des solaren Anteils an der Erzeugung elektrischer Energie im globalen Vergleich zwischen 1985 (links) und 2025 (rechts).....	1
Abbildung 2 Assemblierung eines clickfähigen dU-Py-Konjugats an ein strukturgebendes Templat sowie die Ligation mittels CuAAC zum Erhalt supramolekularer Architekturen.	3
Abbildung 3 Schrittweiser Aufbau von DNA-Chromophor-Architekturen durch die Verwendung der orthogonalen Ethinylbausteinen EdU , TMS-EdU und TIPS-EdU in einer CuAAC.	4
Abbildung 4 Kanonische WATSON-CRICK-Basenpaarung als gestrichelte Linie zwischen komplementärem Adenosin A und Thymin T bzw. Cytidin C und Guanin G (links) sowie die schematische Darstellung einer DNA-Doppelhelix in der B-Konformation mit Angabe der Strukturdaten von Ganghöhe, Windung und Durchmesser (rechts).....	6
Abbildung 5 Die Interaktionskanten der Purin- und Pyrimidinbasen am Beispiel A und T (links), sowie die daraus resultierende WATSON-CRICK oder HOOGSTEEN-Basenpaarung (rechts, unten). Die bei RNA wichtige Wobble-Basenpaarung am Beispiel G und U (rechts, oben).	7
Abbildung 6 Schematische Darstellung des Försterresonanzenergietransfers (FRET) zwischen den beteiligten Grenzorbitale von Donor und Akzeptor.	8
Abbildung 7 Übersicht der Einflussfaktoren des FÖRSTER-Resonanzenergietransfers (FRET): Überlappungsintegral J (schraffiert) zwischen der Emission des Donors und der Absorption des Akzeptors (oben, links), Distanzabhängigkeit des Energietransfers E_{FRET} (oben, rechts) mit FÖRSTER-Radius R_0 (gestrichelte Linie) sowie die Orientierungsabhängigkeit der Dipole in paralleler ($D\parallel A$) und orthogonaler ($D\perp A$) Ausrichtung mit den Faktoren κ^2 (unten).	9
Abbildung 8 Schematische Darstellung des DEXTER-Transfers zwischen den beteiligten Orbitalen von Donor und Akzeptor.	10
Abbildung 9 Schematische Darstellung des oxidativen Lochtransfers (oben) und des reduktiven Elektronentransfers (unten) zwischen dem angeregten Donor und Akzeptor.	12
Abbildung 10 Schematische Darstellung des oxidativen Ladungstransfers zwischen angeregtem Donor (D) und Akzeptor (A) innerhalb einer DNA über den Superaustausch (oben) sowie der alternative <i>Hopping</i> -Mechanismus über Guanin- oder Adeninradikalkationen (unten).	13

- Abbildung 11** Ausbildung von nicht-kovalenten Chromophor-DNA Systemen über verschiedene Bindungsmotive an einem Doppelstrang (**links**) und über eine sequenzspezifische Basenpaarung am Einzelstrang (**rechts**). 15
- Abbildung 12** künstliches Lichtsammelsystem auf Basis eines DNA-Duplexes mit interkaliertem **YO-PRO1** (**rechts**), welcher über einen Porphyrinanker (**links**) in einer Lipidmembran verankert ist. 16
- Abbildung 13** Strukturen der „DNA Light-Switch“ Komplexe **[Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺** (**links**) und **[Ru(bpy)₂(tpphz)]²⁺** (**rechts**).^[80, 81] 17
- Abbildung 14** Struktur und Assemblierungsverhalten an ein komplementäres DNA Templat von **Nt-DAP** (**links**) und die pH-Wert abhängige Konformation der gebildeten Assemblate (**rechts**). 18
- Abbildung 15** Struktur von **DAP-Por** (**rechts**) und programmierbare Helizität der gebildeten Assemblate (**links**). 19
- Abbildung 16** Fluoreszenzanstieg von **MgTAP-dU** bei Assemblierung an ein komplementäres dA-Templat (**links**) und gleichzeitige Assemblierung von **Py-dU** / **Nr-dU** sowie der stattfindende Energietransfer (**rechts**). 20
- Abbildung 17** Schematische Darstellung der sequenzspezifischen Assemblierung entlang eines AT-Oligonukleotids von **Py-dAp** / **Nr-dU** (**links**) und **Py-dAp** / **Pe-dU** (**rechts**), sowie der unterschiedlichen optischen Eigenschaften bedingt durch den Energietransfer zwischen den Chromophoren. 22
- Abbildung 18** Die Hybridisierung von Oligonukleotiden mit Azid- bzw. Alkinmodifikationen an ein komplementäres Templat (**links**) resultiert in der korrekten Orientierung der clickfähigen Termini zueinander (**Mitte**). Nach CuAAC sind beide Oligonukleotide mit einem biokompatiblen Triazolrückgrat verbunden (**rechts**). 23
- Abbildung 19** Strategien zur Integration von Chromophoren (blau) in Oligonukleotide: **A)** Verwendung azyklischer oder zyklischer Linker (hier: *D*-Threolinal), **B)** Substitution der nativen Nukleobase, **C)** Modifikation der Nukleobase (hier: 2'-Desoxyuridin) und im Fall von RNA durch **D)** Modifikation der 2'-Hydroxygruppe des Zuckers. 25
- Abbildung 20** Strukturen gängiger azyklischer Linker zur Inkorporation von Farbstoffen (**blau**) in Oligonukleotide: **A)** *S*-Serinol, **B)** *S*-Glykolderivat, **C)** *D*-Threolinal, **D)** *S*-Glycerolderivat, **E)** *S*-Aminopropandiol. 26
- Abbildung 21** Hybridisierungssensitiver Fluoreszenzanstieg (*Light Up*) der Thiazolorange modifizierten FIT-Sonde von SEITZ *et al* (oben) und die *R/S*-Linker zur modularen postsynthetischen Markierung mittels CuAAC von WAGENKNECHT *et al.* (**unten**).^[126, 127] 27
- Abbildung 22** Schematische Darstellung der untersuchten DNA-Sequenzen, welche mit Pyren und Perylen modifiziert wurden. Die Oligonukleotide

unterscheiden sich in der Anzahl intervenierender AT-Basenpaaren, um die Distanz- und Orientierungsabhängigkeit des Energietransfer zu untersuchen (links). Ein Vergleich zwischen stationärer (blau/pink) und zeitaufgelöster Fluoreszenzspektroskopie (grün), sowie theoretischen Werten des Zylindermodells (rechts).....	28
Abbildung 23 Schematische Darstellung eines Biphenylstapels aufgrund von $\pi\pi$ -Stapelung im Inneren eines Duplex.....	29
Abbildung 24 Beispielhafte Anordnung von verschiedenen Chromophoren zu einem Oligodesoxyfluorid (ODF) (oben) und die Emissionsfarben von 23 verschiedener ODFs nach Anregung bei $\lambda_{\text{exc}} = 354 \text{ nm}$ (unten).....	30
Abbildung 25 Modifizierte Einzelstränge zeigen bei Hybridisierung zum Duplex eine reißverschlussartige Stapelung der zwei Chromophore. Durch räumliche Nähe kommt es zu einem Energietransfer zwischen metallierten (links) und unbesetzten Porphyrinen (rechts).	32
Abbildung 26 Strukturen der pyren-, perylen- und nilrotmodifizierten 2'-Desoxyuridine (oben) und die resultierenden Chromophor-Oligonukleotid Systeme (unten): Die Kombination von Py-dU / Nr-dU zum Erhalt einer weißlichtemittierenden DNA (links) und eine Ergänzung zum Trichromophorsystem mittels Pe-dU (rechts).....	33
Abbildung 27 Strukturen der clickfähigen Bausteine (oben) und Synthesestrategie zum Trichromophorsystem (unten) nach CARELL <i>et al.</i>	34
Abbildung 28 Struktur des clickfähigen Derivats von 5-Pyren-2'-desoxyuridin (Py-dU-click)	35
Abbildung 29 Idealisiertes Assemblierungsverhalten über <i>H</i> -brückenvermittelte WATSON CRICK-Basenpaarung des clickfähigen dU-Py-Konjugats 5 an ein komplementäres A-Templat (links) und an ein nicht komplementäres T-Templat (rechts).....	40
Abbildung 30 Auswahl der wichtigsten Einflussfaktoren auf das dynamische Gleichgewicht zwischen assemblierten und gelösten „freien“ Konjugaten in wässriger Lösung.....	41
Abbildung 31 Normierte UV/Vis-Absorptions- und Fluoreszenzspektren zur Abschätzung der Löslichkeit von Verbindung 5 in wässrigem Medium unter Verwendung von Methanol oder DMSO als Kosolvent. ($c = 75 \mu\text{M}$; ddH_2O ; $\lambda_{\text{exc}} = 385 \text{ nm}$; 20°C)	42
Abbildung 32 UV/Vis-Absorptions- (links) und normierte Fluoreszenzspektren (rechts) der Assemblierungen von 5 an verschiedene Template ($c_{\text{Templat}} = 2,5 \mu\text{M}$, $c_5 = 37,5\text{-}75 \mu\text{M}$; ddH_2O ; $\lambda_{\text{exc}} = 385 \text{ nm}$; 20°C).	44
Abbildung 33 UV/Vis-Absorptions- (links) und normierte Fluoreszenzspektren (rechts) der Assemblierungen von Verbindung 5 an verschiedene Template ($c_{\text{Templat}} = 3,75 \mu\text{M}$, $c_5 = 56,25\text{-}112,5 \mu\text{M}$; ddH_2O ; $\lambda_{\text{exc}} = 385 \text{ nm}$; 20°C)..	46

Abbildung 34 Spektroskopische Analyse der Isolierungsversuche durch Zentrifugation für 10 min (rechts) und für 1 min (links) bei 13 000rpm. ($c_{\text{Templat}} = 2,5 \mu\text{M}$, $c_5 = 37,5\text{--}75 \mu\text{M}$; ddH ₂ O; $\lambda_{\text{exc}} = 385 \text{ nm}$; 20 °C).	47
Abbildung 35 Verringerung des amphiphilen Charakters von dU-Py (links) durch Modifikation der Hydroxylfunktionen bei 5 (rechts).....	48
Abbildung 36 Statistische Orientierung der Konjugate in Lösung (links) und deren Vororganisation bei Anwesenheit eines strukturgebenden Templats (rechts).....	49
Abbildung 37 Strukturen der eingesetzten ethinylmodifizierten Phosphoramiditbausteine EdU-PA (links), TMS-EdU-PA (Mitte) und TIPS-EdU-PA (rechts) zum Aufbau kovalenter Chromophor-DNA-Architekturen.	51
Abbildung 38 Übersicht der synthetisierten Oligonukleotide (rechts) mit den eingebauten Modifikationspositionen X , Y und Z (links).	53
Abbildung 39 Übersicht der zu synthetisierenden Chromophorazide zum angestrebten Aufbau von modifizierten Oligonukleotiden mittels CuAAC.	55
Abbildung 40 Vergleich der ¹ H-NMR Spektren (400 MHz, CDCl ₃) von Perylen IV (oben) und 3-Nitroperylene 12 (unten).	57
Abbildung 41 Zeitabhängige UV/Vis-Absorptionsmessung der Synthese von 14 (links) und eine GPC-Messung des Edukts 13 bzw. des viskosen Feststoffes nach der Reaktion (rechts). (1mg/mL in THF, SEC column: 300x8mm, 5μm, 1000Å, Flussrate: 1mL/min).....	58
Abbildung 42 Übersicht der Oligonukleotide mit den clickfähigen Nukleotiden X , Y , Z	63
Abbildung 43 Zweistufige Synthesestrategie nach CARELL <i>et al.</i> für ein Dichromophorsystem unter Verwendung von EdU X und TMS-EdU Y : (X-click) Clickreaktion mit X auf der Festphase; (Y-click) Abspaltung von der Festphase, simultane Entschützung von Y und Clickreaktion in Lösung.....	66
Abbildung 44 Modifizierte Synthesestrategie für ein Dichromophorsystem unter Verwendung von EdU X und TIPS-EdU Z : (X-click) Clickreaktion mit X auf der Festphase; (Z-click) Abspaltung von der Festphase, folgende Entschützung von Z mit TBAF und Clickreaktion in Lösung.	67
Abbildung 45 Synthesestrategie für ein Dichromophorsystem unter Verwendung von EdU X und IdU als Vorläufer: (X-click) Clickreaktion mit X und einem Chromophorazid; (in situ AdU) Bildung von (AdU) <i>in situ</i> aus IdU ; (AdU-click) Clickreaktion mit (AdU) und einem Ethinylchromophor...	69

- Abbildung 46** Die Phosphoramidite **EdU-PA** und **19 (oben)** zur Generierung der Clickposition **X** bzw. des Vorläufers **IdU** in den untersuchten Oligonukleotidsequenzen (**unten**). 70
- Abbildung 47** UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Oligonukleotide **Mono-Py** (2,50 μ M, 10 mM NaPi-Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 350 nm) sowie das korrespondierende Chromophorazid **11** (2,50 μ M, DMSO, λ_{exc} = 350 nm). 72
- Abbildung 48** UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Oligonukleotide **Mono-Bo** in Lösung (2,50 μ M, 10 mM NaPi-Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 470 nm) sowie das korrespondierende Chromophorazid **16** (2,50 μ M, DMSO, λ_{exc} = 470 nm). 73
- Abbildung 49** UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Oligonukleotide **Mono-Po** in Lösung (2,50 μ M, 10 mM NaPi-Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 420 nm) sowie das korrespondierende Chromophorazid **18** (2,50 μ M, DMSO, λ_{exc} = 420 nm). 74
- Abbildung 50** Einfluss der Kupferinsertion auf die Symmetrieeigenschaften und die energetische Lage der beteiligten Grenzorbitale von Tetraphenylporphyrin TPP. 75
- Abbildung 51** UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Oligonukleotide **Di-PyBo** in Lösung (2,50 μ M, 10 mM NaPi-Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 350 nm). 76
- Abbildung 52** Schematische Darstellung der konkurrierenden distanzabhängigen Transferprozesse zwischen Pyren und BODIPY innerhalb der Oligonukleotide **Di-PyBo**. Bei kurzen Distanzen kommt es zur Bildung eines schwach fluoreszierenden ladungsgetrennten Zustands aufgrund der Kombination von FRET und PET (**links**). Eine längere Distanz unterdrückt den Elektronentransfer und es resultiert ein reiner Energietransfer (**rechts**). 77
- Abbildung 53** UV/Vis-Absorptions- (**links**) und Fluoreszenzspektren (**rechts**) der Oligonukleotide **Di-PyPo** in Lösung (2,50 μ M, 10 mM NaPi-Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 350 nm). 78
- Abbildung 54** Schematische Darstellung der konkurrierenden distanzabhängigen Transferprozesse zwischen Pyren und Porphyrin innerhalb der Oligonukleotide **Di-PyPo**. Bei kurzen Distanzen kommt es zur Bildung eines ladungsgetrennten Zustands aufgrund der Kombination von FRET und PET (**links**). Eine längere Distanz unterdrückt den Elektronentransfer und es resultiert ein reiner Energietransfer (**rechts**). 79

Abbildung 55 UV/Vis-Absorptions- (links) und Fluoreszenzspektren (rechts) der Oligonukleo-tide Di-BoPo in Lösung (2,50 μ M, 10 mM NaP _i -Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 470 nm).	80
Abbildung 56 Schematische Darstellung des Energietransfers zwischen Mono-AT-Py und [Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺ sowie die resultierende Veränderung der Emission.	81
Abbildung 57 UV/Vis-Absorptions- (links) und Emissionsspektren (rechts) der Titrationsansätze unter Verwendung von Mono-AT (2,5 μ M, 10 mM NaP _i -Puffer, 250 mM NaCl, λ_{exc} = 347 nm)	82
Abbildung 58 UV/Vis-Absorptions- (links) und Emissionsspektren (rechts) der Titrationsansätze unter Verwendung von Mono-AT-Py (2,5 μ M, 10 mM NaP _i -Puffer, 250 mM NaCl, λ_{exc} = 347 nm)	83
Abbildung 59 Vereinfachtes JABLONSKI-Schema der beteiligten Zustände von [Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺ und Pyren nach Anregung bei λ_{exc} = 347 nm.	83
Abbildung 60 Intensitätsänderung der Emission von [Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺ (links) und Pyren (rechts) im Verlauf der Titration zu Mono-AT und Mono-AT-Py . (c_{DNA} = 2,50 μ M, c_{Ru} = 0-25,0 μ M, 10 mM NaP _i -Puffer, 250 mM NaCl, pH=7, λ_{exc} = 347 nm)	84
Abbildung 61 UV/Vis-Absorptions- (links) und Emissionsspektren (rechts) der Titrationsexperimente mit Mono-AT-ds (c_{DNA} = 2,50 μ M, c_{Ru} = 0-25,0 μ M, 10 mM NaP _i -Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 347 nm).	85
Abbildung 62 Vergleich der Phosphoreszenzintensitäten (λ_{exc} = 347 nm) von [Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺ im Einzel- und Doppelstrang von Mono-AT (links) und die dazugehörigen CD-Absorptionsspektren (rechts).	86
Abbildung 63 UV/Vis-Absorptions- (links) und Emissionsspektren (rechts) der Titrationsexperimente mit Mono-AT-Py-ds (c_{DNA} = 2,50 μ M, c_{Ru} = 0-25,0 μ M, 10 mM NaP _i -Puffer, 250 mM NaCl, pH= 7, λ_{exc} = 347 nm).	87
Abbildung 64 Vergleich der Phosphoreszenzintensitäten (λ_{exc} = 347 nm) von [Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺ im Einzel- und Doppelstrang von Mono-AT-Py (links) und die CD-Spektren (rechts).	87
Abbildung 65 Intensitätsänderung der Emission von [Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺ (links) und Pyren (rechts) im Verlauf der Titration zu Mono-AT-ds und Mono-AT-Py-ds . (c_{DNA} = 2,50 μ M, c_{Ru} = 0-25,0 μ M, 10 mM NaP _i -Puffer, 250 mM NaCl, pH=7, λ_{exc} = 347 nm)	88
Abbildung 66 Vergleich der normierten Anregungsspektren der Oligonukleotide Mono-AT-ds und Mono-AT-Py . (c_{DNA} = 2,50 μ M, c_{Ru} = 5,0 μ M, 10 mM NaP _i -Puffer, 250 mM NaCl, pH=7, λ_{em} = 620 nm)	89

- Abbildung 67** Schematische Darstellung der clickfähigen Oligonukleotide mit modifizierten Termini (**oben**) und der Aufbau einer supramolekularen DNA-Chromophorarchitektur durch eine sequenzspezifische Assemblierung und Konjugation mittels CuAAC (**unten**). 91
- Abbildung 68** $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung **1**:
 δ = 11.82 (s, 1H), 8.65 (d, 1H), 8.61 (m, 1H), 8.27 (m, 8H), 6.20 (t, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.4 Hz, 1H), 5.29 (m, 1H),
4.33 (m, 1H), 3.87 (q, $^3J_{\text{H,H}}$ = 3.4 Hz, 2H), 3.70 (m, 2H), 2.25 (m, 2H). . 156
- Abbildung 69** $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6): von Verbindung **1**:
 δ = 162.10, 149.97, 144.32, 131.41, 131.27, 131.01, 129.47, 129.22, 128.76, 127.72, 127.25,
126.40, 125.44, 124.14, 123.87, 117.45, 98.91, 91.63, 89.00, 85.49, 70.33, 61.31..... 157
- Abbildung 70** HR-MS (ESI) von Verbindung **1**: 452,1364 [M] 157
- Abbildung 71** $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 - d_1) von Verbindung **2**:
 δ = 9.03 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 6.26 (dd, $^3J_{\text{H,H}}$ =8.00 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ =5.6 Hz 1H), 4.41-4.34 (m, 1H),
4.00-3.94 (m, 1H), 3.81 (ddd, $^3J_{\text{H,H}}$ =11.5, $^5J_{\text{H,H}}$ =2.4 Hz, 1H), 2.30 (ddd, $^3J_{\text{H,H}}$ =13.1, $^5J_{\text{H,H}}$ =2.3 Hz, 1H) 2.03-1.92 (m, 1H), 0.93 (s, 9H), 0.88 (s, 9H), 0.14 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.4 Hz, 6H), 0.06 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ =3.4 Hz, 6H). 158
- Abbildung 72** $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, CDCl_3 - d_1) von Verbindung **2**:
 δ = 160.15, 150.02, 144.57, 88.58, 85.96, 72.71, 68.50, 63.20, 42.15, 26.30, 25.87, 18.65, 18.14, -4.52, -4.71, -4.97, -5.12. 159
- Abbildung 73** HR-MS (ESI) von Verbindung **2**: 581,13586 [M-H] 159
- Abbildung 74** $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung **3**:
 δ = 11.89 (s, 1H), 8.66 (d, 1H), 8.23 (m, 9H), 6.19 (t, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.6 Hz, 1H),
4.42 (dt, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.3 Hz, $^5J_{\text{H,H}}$ =3.3 Hz, 1H), 3.87 (m, 2H), 3.76 (m, 1H), 2.26 (m, 2H), 0.87 (d, 18H), 0.16-0.09 (m, 12H). 160
- Abbildung 75** $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung **3**:
 δ = 170.90, 153.69, 151.92, 137.18, 132.04, 131.50, 131.40, 130.90, 129.79, 129.40, 128.80,
128.69, 127.28, 126.38, 125.99, 125.66, 125.38, 124.10, 122.80, 122.59, 120.83, 107.05,
106.42, 88.63, 87.65, 73.82, 62.78, 25.68, 25.49, 17.76, 17.71, -4.82, -4.87, -5.98, -6.09. 161
- Abbildung 76** HR-MS (ESI) von Verbindung **3**: 679,30155 [M-H]. 161
- Abbildung 77** HR-MS (ESI) von Verbindung **4**: 477,1425 [M]. 162
- Abbildung 78** $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung **5**:
 δ = 11.91 (s, 1H), 8.67 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 9.1 Hz, 1H), 8.25 (m, 8H), 7.60 (m, 1H),
6.19 (t, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.2 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 6.3 Hz, 1H), 4.26 (d, $^5J_{\text{H,H}}$ = 2.1 Hz, 1H), 4.13 (

m, 1H), 3.73 (dd, $^3J_{H,H}=9.0$ Hz, $^5J_{H,H}=5.3$ Hz, 1H), 3.52 (dt, $^3J_{H,H}=9.0$ Hz, $^5J_{H,H}=2.5$ Hz, 1H), 2.36 (m, 1H), 1.23 (s, 3H), 1.17 (m, 1H).	163
Abbildung 79 $^{13}\text{C-NMR}$ (126 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 5: $\delta=133.09, 132.07, 131.53, 131.45, 130.85, 130.80, 130.53, 128.83, 12$ $8.73, 128.36, 127.26,$ $126.81, 125.96, 124.99, 123.67, 123.39, 116.88, 98.98, 85.46, 82.43, 80$ $.09, 78.55, 77.62, 56.37, 41.59.$	164
Abbildung 80 HR-MS (ESI) von Verbindung 5: 514,1520 [M-H].	164
Abbildung 81 HR-MS (FAB) von Verbindung 5: 515,1590 [M].	165
Abbildung 82 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 6: $\delta=11.48$ (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.32 (m, 9H), 6.90 (m, 4H), 6.10 (t, $^3J_{H,H}=6.$ 8 Hz, 1H), 5.31 (s, 1H), 4.23 (d, $^3J_{H,H}=6.0$ Hz, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.17 (m, 2H), 2.21 (m, 2H).	166
Abbildung 83 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 6: $\delta=160.51, 158.10, 150.03, 149.61, 144.75, 144.25, 135.46, 135.38, 11$ $3.29, 85.80, 84.87, 70.49, 69.82, 63.71, 45.62, 39.86.$	167
Abbildung 84 HR-MS (ESI) von Verbindung 6: 655,09340 [M-H]	167
Abbildung 85 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 7: $\delta=11.69$ (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.33 (m, 9H), 6.90 (m, 4H), 6.10 (t, $^3J_{H,H}=6$ $.7$ Hz, 1H), 5.30 (d, $^3J_{H,H}=4.4$ Hz, 1H), 4.22 (m, 1H), 3.92 (m, 1H), 3.73 (s, 6H), 3.16 (m, 2H), 2.21 (m, 2H), 0.01 (s, 9H).	168
Abbildung 86 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 7: $\delta=161.40, 158.04, 149.24, 144.66, 143.58, 135.57, 135.39, 129.68, 12$ $9.60, 128.31, 127.89,$ $127.63, 126.63, 113.23, 98.61, 97.16, 85.96, 85.80, 85.10, 70.43, 63.60,$ $55.00, 45.77, 8.67, 0.31$	169
Abbildung 87 HR-MS (ESI) von Verbindung 7: 627,2361 [M+H], 625,2203 [M-H].	169
Abbildung 88 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 8: $\delta=11.66$ (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.30 (m, 9H), 6.86 (m, 4H), 6.08 (t, $^3J_{H,H}=6$ $.7$ Hz, 1H), 5.29 (d, $^3J_{H,H}=4.5$ Hz, 1H), 4.16 (m, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.72 (s, 6H), 3.16 (m, 2H), 2.21 (m, 2H), 0.09 (s, 21H).	170
Abbildung 89 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 8: $\delta=161.41, 158.06, 158.02, 149.25, 144.64, 143.20, 135.63, 135.40, 12$ $9.64, 129.51, 127.81, 127.61, 126.59, 113.14, 98.90, 98.83, 93.76, 85.8$ $1, 85.67, 85.35, 70.45, 63.67, 54.95, 18.35, 10.66.$	171
Abbildung 90 HR-MS (ESI) von Verbindung 8: 710.3392 [M].	171

Abbildung 91 ^{31}P -NMR (162 MHz, THF- d_8) von Verbindung 9 : $\delta = 148.50(\text{d})$	172
Abbildung 92 HR-MS (ESI) von Verbindung 9 : 826,2251 [M].	173
Abbildung 93 ^{31}P -NMR (162 MHz, THF- d_8) von Verbindung 10 : $\delta = 149.14, 148.59$. ..	174
Abbildung 94 HR-MS (ESI) von Verbindung 10 : 910.4410 [M].	175
Abbildung 95 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 11 : $\delta = 8.34$ (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.3$ Hz, 1H), 8.29 (dd, 2H), 8.20 (d, $^5J_{\text{H,H}} = 1.8$ Hz, 2H), 8.1 4 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 5.6$ Hz, 2H), 8.08 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, 1H), 8.08 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.3$ Hz, 1H).	176
Abbildung 96 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 11 : $\delta = 132.70, 131.02, 130.70, 127.85, 127.72, 127.17, 126.82, 126.68, 12$ 6.03, 125.46, 125.20, 124.61, 123.62, 121.47, 120.98, 116.34.	177
Abbildung 97 HR-MS (ESI) von Verbindung 11 : 241,0901 [M-2H], 243,0562, 244,0766 [M+H].	177
Abbildung 98 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl $_3$ - d_1) von Verbindung 12 : $\delta = 8.46$ (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.6$ Hz, 1H), 8.28-8.15 (m, 4H), 8.08 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.4$ Hz, 1H) , 7.81 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.1$ Hz 1H), 7.75 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.1$ Hz, 1H), 7.66 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 8.1$ Hz , 1H), 7.53 (m, 2H).	178
Abbildung 99 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 12 : $\delta = 137.69, 134.40, 131.74, 130.47, 130.24, 129.68, 129.60, 129.40, 12$ 9.01, 128.02, 127.17, 126.87, 125.23, 123.09, 122.81, 122.06, 121.43, 118.42.	179
Abbildung 100 HR-MS (ESI) von Verbindung 12 : 298,0862 [M+H]; 297,082 [M].	179
Abbildung 101 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 13 : $\delta = 8.27$ (q, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, 1H), 8.20 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 7.5$ Hz, 1H), 8.08 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8$ 3 Hz, 1H), 7.98 (dd, 2H), 7.64 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.1$ Hz, 1H), 7.51 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.1$ Hz, 1H), 7.47-7.35 (m, 3H), 6.75 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.3$ Hz, 1H), 6.12 (s, 2H).	180
Abbildung 102 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 13 : $\delta = 145.55, 134.68, 132.33, 131.38, 130.52, 128.97, 127.78, 127.12, 12$ 6.96, 126.60, 124.61, 124.47, 122.84, 122.78, 122.70, 121.00, 119.43, 118.01, 117.11, 108.85.	181
Abbildung 103 HR-MS (ESI) von Verbindung 13 : 267,1043, 268,1077 [M+H].	181
Abbildung 104 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 15 : $\delta = 12.96$ (s, 1H), 7.96 (d, 2H), 7.22 (d, 2H).	182
Abbildung 105 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 15 : $\delta = 166.58, 143.96, 131.23, 127.32, 119.17$	183
Abbildung 106 HR-MS (ESI) von Verbindung 15 : 162,0299 [M-H].	183

Abbildung 107 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 16 : δ = 7.33 (d, $^3J_{H,H}$ = 8.6 Hz, 2H), 7.22 (d, $^3J_{H,H}$ = 8.3 Hz, 2H), 6.05 (s, 2H), 2.61 (s, 6H), 1.48 (s, 6H).....	184
Abbildung 108 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 16 : δ = 155.89, 143.06, 141.19, 140.71, 131.65, 129.80, 121.50, 119.89, 14. 76, 14.72.	185
Abbildung 109 HR-MS (ESI) von Verbindung 16 : 366,1696 [M]	185
Abbildung 110 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 18 : δ = 8.84 (q, $^3J_{H,H}$ = 4.8 Hz, 8H), 8.26-8.17 (m, 8H), 7.79-7.71 (m, 10H), 7.4 7-7.40 (m, 1H), -2.77 (s, 2H).	186
Abbildung 111 $^{13}\text{C-NMR}$ (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 18 : δ = 142.15, 135.73, 134.57, 127.77, 126.71, 120.27, 117.46.	187
Abbildung 112 HR-MS (ESI) von Verbindung 18 : 656,25665 [M+H].....	187
Abbildung 113 $^{31}\text{P-NMR}$ (162 MHz, THF- d_8) von Verbindung 19 : δ = 149.14, 148.59..	188
Abbildung 114 HR-MS (ESI) von Verbindung 19 : 855,2019 [M- H], 856,2051, 857,2081 [M+H].	189
Abbildung 115 CD-Spektren der Mono- und Di-modifizierten Oligonukleotide (2,50 μM , 10 mM NaP_i -Puffer, 250 mM NaCl, pH=7).	190
Abbildung 116 Analytische HPLC-Läufe der modifizierten Oligonukleotide (λ_{abs} = 260 nm).....	191
Abbildung 117 Analytische HPLC-Läufe der modifizierten Oligonukleotide (λ_{abs} = 260 nm).....	192
Abbildung 118 Analytische HPLC-Läufe der modifizierten Oligonukleotide (λ_{abs} = 260 nm).....	193
Abbildung 119 HR-MS (ESI) von Mono-AT- Py (berechnet $\text{C}_{165}\text{H}_{197}\text{N}_{50}\text{O}_{93}\text{P}_{14}$: 4799.86 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: 4800.86 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-7\text{H}]^{-7}$, 4800.86 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-6\text{H}]^{-6}$, 4800.86 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-5\text{H}]^{-5}$, 4800.86 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-4\text{H}]^{-4}$	194
Abbildung 120 HR-MS (ESI) von Mono-2AT- Py (berechnet $\text{C}_{205}\text{H}_{246}\text{N}_{64}\text{O}_{117}\text{P}_{18}$: 6033.05 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: 6035.07 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-8\text{H}]^{-8}$, 6036.07 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-7\text{H}]^{-7}$, 6036.07 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-6\text{H}]^{-6}$, 6035.07 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-5\text{H}]^{-5}$	194
Abbildung 121 HR-MS (ESI) von Mono-3AT- Py (berechnet $\text{C}_{245}\text{H}_{297}\text{N}_{78}\text{O}_{141}\text{P}_{22}$: 7268.27 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: 7270.28 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-10\text{H}]^{-10}$, 7270.28 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-9\text{H}]^{-9}$, 7270.28 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-8\text{H}]^{-8}$, 7270.28 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[\text{M}-7\text{H}]^{-7}$	195

Abbildung 122 HR-MS (ESI) von Mono-AT-Bo

(berechnet $C_{168}H_{205}BF_2N_{52}O_{93}P_{14}$: $4920.93 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $4921.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$ 195

Abbildung 123 HR-MS (ESI) von Mono-2AT-Bo

(berechnet $C_{208}H_{255}BF_2N_{66}O_{117}P_{18}$: $6155.18 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $6157.16 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$ 196

Abbildung 124 HR-MS (ESI) von Mono-3AT-Bo

(berechnet $C_{248}H_{305}BF_2N_{80}O_{141}P_{22}$: $7389.34 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: $7392.36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$ 196

Abbildung 125 HR-MS (ESI) von Mono-AT-

Po (berech. $C_{193}H_{215}CuN_{54}O_{93}P_{14}$: $5272.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $5274.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $5274.97 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $5274.95 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $5274.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$ 197

Abbildung 126 HR-MS (ESI) von Mono-2AT-

Po (berech. $C_{233}H_{265}CuN_{68}O_{117}P_{18}$: $6507.15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $6510.15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $6510.15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $6509.15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$, $6509.15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-5H]^{-5}$, $6509.14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-4H]^{-4}$ 197

Abbildung 127 HR-MS (ESI) von Mono-3AT-

Po (berech. $C_{273}H_{315}CuN_{82}O_{141}P_{22}$: $7743.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $7744.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $7744.36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $7744.36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $7744.36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $7744.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$ 198

Abbildung 128 HR-MS (ESI) von Di-AT-

PyBo (berechnet $C_{185}H_{212}BF_2N_{55}O_{93}P_{14}$: $5173.99 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $5176.02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $5176.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $5176.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $5176.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$, $5176.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-5H]^{-5}$ 198

Abbildung 129 HR-MS (ESI) von Di-AT-

PyPo (berechnet $C_{210}H_{223}CuN_{57}O_{93}P_{14}$: $5527.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$ 199

Abbildung 130 HR-MS (ESI) von Di-AT-

BoPo (berech. $C_{213}H_{230}BF_2N_{59}O_{93}P_{14}Cu$: $5647.08 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $5650.10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $5650.10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $5650.10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $5650.10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $5650.10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$ 199

Abbildung 131 HR-MS (ESI) von Di-2AT-

PyBo (berech. $C_{225}H_{262}BF_2N_{69}O_{117}P_{18}$: $6408.20 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);

gefunden: 6411.22 g·mol ⁻¹ aus [M-10H] ⁻¹⁰ , 6411.22 g·mol ⁻¹ aus [M-9H] ⁻⁹ , 6411.22 g·mol ⁻¹ aus [M-8H] ⁻⁸ , 6411,21 g·mol ⁻¹ aus [M-7H] ⁻⁷	200
Abbildung 132 HR-MS (ESI) von Di-2AT-PyPo (berech. C ₂₄₀ H ₂₇₁ CuN ₇₁ O ₁₁₇ P ₁₈ : 6759.20 g·mol ⁻¹); gefunden: 6763.23 g·mol ⁻¹ aus [M-11H] ⁻¹¹ , 6763.23 g·mol ⁻¹ aus [M-10H] ⁻¹⁰ , 6762.22 g·mol ⁻¹ aus [M-9H] ⁻⁹ , 6763.21 g·mol ⁻¹ aus [M-8H] ⁻⁸ . 200	
Abbildung 133 HR-MS (ESI) von Di-2AT-BoPo (berechnet C ₂₅₃ H ₂₈₀ BF ₂ N ₇₃ O ₁₁₇ P ₁₈ Cu: 6881.28 g·mol ⁻¹); gef.: 6884.30 g·mol ⁻¹ aus [M-11H] ⁻¹¹ , 6884.30 g·mol ⁻¹ aus [M-10H] ⁻¹⁰ , 6884.30 g·mol ⁻¹ aus [M-9H] ⁻⁹	201
Abbildung 134 HR-MS (ESI) von Di-3AT-PyBo (berech. C ₂₆₅ H ₃₁₅ BF ₂ N ₈₃ O ₁₄₁ P ₂₂ : 7645.43 g·mol ⁻¹); gef.: 7645.43 g·mol ⁻¹ aus [M-12H] ⁻¹² , 7645.43 g·mol ⁻¹ aus [M-11H] ⁻¹¹ , 7645.43 g·mol ⁻¹ aus [M-10H] ⁻¹⁰ , 645,43 g·mol ⁻¹ aus [M-9H] ⁻⁹	201
Abbildung 135 HR-MS (ESI) von Di-3AT-PyPo (berech. C ₂₉₀ H ₃₂₃ CuN ₈₅ O ₁₄₁ P ₂₂ : 7995.42 g·mol ⁻¹); gefunden: 7996.43 g·mol ⁻¹ aus [M-10H] ⁻¹⁰	202
Abbildung 136 HR-MS (ESI) von Di-3AT-BoPo (ber. C ₂₉₃ H ₃₃₃ BCuF ₂ N ₈₇ O ₁₄₁ P ₂₂ : 8118.51 g·mol ⁻¹); gefunden: 8119.51.43 g·mol ⁻¹ aus [M-10H] ⁻¹⁰	202
Abbildung 137 HR-MS (ESI) von in situ Mono-AT-Po (berechnet für C ₁₉₃ H ₂₁₅ CuN ₅₄ O ₉₃ P ₁₄ : 5272.938 g·mol ⁻¹); gefunden: 5274.94 g·mol ⁻¹ aus [M-9H] ⁻⁹ , 5274.94 g·mol ⁻¹ [M-8H] ⁻⁸ , 5274.94 g·mol ⁻¹ [M-7H] ⁻⁷ , 5274.94 g·mol ⁻¹ [M-6H] ⁻⁶).	203
Abbildung 138 HR-MS (ESI) von in situ Mono-AT-Py (berechnet für C ₁₆₅ H ₁₉₇ N ₅₀ O ₉₃ P ₁₄ : 4799.855 g·mol ⁻¹); gefunden: 4800.86 g·mol ⁻¹ [M-8H] ⁻⁸ , 4800.86 g·mol ⁻¹ [M-7H] ⁻⁷ , 4800.86 g·mol ⁻¹ [M-6H] ⁻⁶ , 4800.86 g·mol ⁻¹ [M-5H] ⁻⁵).	203
Abbildung 139 HR-MS (ESI) von in situ Di-AT-PyPo (berechnet für C ₂₁₀ H ₂₂₂ CuN ₅₇ O ₉₃ P ₁₄ : 5526,002 g·mol ⁻¹); gefunden: 5528.01 g·mol ⁻¹ [M-9H] ⁻⁹ , 5528.01 g·mol ⁻¹ [M-8H] ⁻⁸ , 5528.01 g·mol ⁻¹ [M-7H] ⁻⁷ , 5528.01 g·mol ⁻¹ [M-6H] ⁻⁶).	204
Abbildung 140 UV/Vis-Absorptions- und Fluoreszenzspektren von Cumarin 102 (oben) und Rhodamin G6 (unten) zur Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeuten Φ_F.	204
Abbildung 141 Bestimmung der Extinktionskoeffizienten von Pyrenazid 11, BODIPY-Azid 16 und Porphyrinazid 18 bei λ= 260 nm.	205
Abbildung 142 Fluoreszenzspektren der Insertionsversuche von Kupfer in Porphyrinazid 18.	205
Abbildung 143 Schmelzpunktbestimmung von Mono-AT-ds (oben) und Mono-AT-Py (unten).	206

6.3 Literaturverzeichnis

- [1] Die Bundesregierung, in *Fortschrittsbericht zur Umsetzung der Nationalen Wasserstoffstrategie*, Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz, Berlin, **2022**.
- [2] International Renewable Energy Agency (IRENA), *Geopolitics of the Energy Transformation: The Hydrogen Factor*, Abu Dhabi, **2022**.
- [3] World Energy Council, in *World Energy Resources 2013 Survey*, London, **2013**.
- [4] A. Clerici, G. Alimonti, in *EPJ Web of Conferences*, Vol. 98, EDP Sciences, **2015**.
- [5] D. G. Nocera, *Acc. Chem. Res.* **2012**, 45, 767-776.
- [6] I. Lowe, in *Artificial Photosynthesis: From Basic Biology to Industrial Application* (Eds.: A. F. Collings, C. Critchley), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, **2005**, pp. 1-12.
- [7] H.-Q. Peng, L.-Y. Niu, Y.-Z. Chen, L.-Z. Wu, C.-H. Tung, Q.-Z. Yang, *Chem. Rev.* **2015**, 115, 7502-7542.
- [8] T. Polívka, H. A. Frank, *Acc. Chem. Res.* **2010**, 43, 1125-1134.
- [9] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, G. J. Gatto jr , L. Stryer, in *Stryer Biochemie* (Eds.: L. Stryer, J. M. Berg), Springer, Berlin, **2018**.
- [10] A. S. Klymchenko, D. S. Biswas, P. Didier, *Adv. Mater.* **2025**, 37, e01237.
- [11] B. Green, W. W. Parson, *Light-harvesting antennas in photosynthesis*, Vol. 13, Springer Science & Business Media, **2003**.
- [12] M. Heilemann, R. Kasper, P. Tinnefeld, M. Sauer, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 16864-16875.
- [13] M. R. Wasielewski, *Acc. Chem. Res.* **2009**, 42, 1910-1921.
- [14] P. Ensslen, F. Brandl, S. Sezi, R. Varghese, R.-J. Kutta, B. Dick, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2015**, 21, 9349-9354.
- [15] S. L. Beaucage, M. H. Caruthers, *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 1859-1862.
- [16] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2596-2599.
- [17] S. H. Weisbrod, A. Marx, *Chem. Commun.* **2008**, 5675-5685.
- [18] J. Gierlich, G. A. Burley, P. M. E. Gramlich, D. M. Hammond, T. Carell, *Org. Lett.* **2006**, 8, 3639-3642.
- [19] K. Gutsmedl, C. T. Wirges, V. Ehmke, T. Carell, *Org. Lett.* **2009**, 11, 2405-2408.
- [20] P. M. E. Gramlich, C. T. Wirges, A. Manetto, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 8350-8358.
- [21] P. Wu, *ACS Chem. Biol.* **2022**, 17, 2959-2961.
- [22] Y. N. Teo, E. T. Kool, *Chem. Rev.* **2012**, 112, 4221-4245.
- [23] P. G. A. Janssen, J. Vandenbergh, J. L. J. van Dongen, E. W. Meijer, A. P. H. J. Schenning, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 6078-6079.
- [24] J. L. Wilson, *Biochemistry; (Stryer, Lubert)*, ACS Publications, **1988**.
- [25] W. Müller-Esterl, *Biochemie: Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 2 ed., Springer, Berlin, **2017**.
- [26] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, 171, 737-738.
- [27] K. M. Guckian, B. A. Schweitzer, R. X. F. Ren, C. J. Sheils, P. L. Paris, D. C. Tahmassebi, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 8182-8183.
- [28] M. Mandel, J. Marmur, in *Methods Enzymol.*, Vol. 12 (Eds.: L. Grossman, K. Moldave), Academic Press, **1968**, pp. 195-206.

- [29] R. E. Franklin, R. G. Gosling, *Nature* **1953**, *171*, 740-741.
- [30] F. M. Pohl, T. M. Jovin, *J. Mol. Biol.* **1972**, *67*, 375-396.
- [31] A. H. J. Wang, G. J. Quigley, F. J. Kolpak, J. L. Crawford, J. H. van Boom, G. van der Marel, A. Rich, *Nature* **1979**, *282*, 680-686.
- [32] P. Yakovchuk, E. Protozanova, M. D. Frank-Kamenetskii, *Nucleic Acids Res.* **2006**, *34*, 564-574.
- [33] E. Stofer, C. Chipot, R. Lavery, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9503-9508.
- [34] D. H. Turner, N. Sugimoto, R. Kierzek, S. D. Dreiker, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3783-3785.
- [35] S. Halder, D. Bhattacharyya, *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **2013**, *113*, 264-283.
- [36] E. N. Nikolova, E. Kim, A. A. Wise, P. J. O'Brien, I. Andricioaei, H. M. Al-Hashimi, *Nature* **2011**, *470*, 498-502.
- [37] K. R. Hoogsteen, *Acta Crystallogr.* **1963**, *16*, 907-916.
- [38] K. Hoogsteen, *Acta Crystallogr.* **1963**, *16*, 907-916.
- [39] F. H. Crick, *J. Mol. Biol.* **1966**, *19*, 548-555.
- [40] N. B. Leontis, E. Westhof, *RNA* **2001**, *7*, 499-512.
- [41] B. Valeur, M. N. Berberan-Santos, *Molecular fluorescence: principles and applications*, 2 ed., John Wiley & Sons, Weinheim, **2013**.
- [42] J. R. Lakowicz, *Principles of fluorescence spectroscopy*, Springer, **2006**.
- [43] J.-L. Mergny, A. S. Boutevine, T. Garestier, F. Belloc, M. Rougee, N. Bulychiev, A. Koshkin, J. Bourson, A. V. Lebedev, B. Valeur, *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 920-928.
- [44] T. Förster, *Ann. Phys.* **1948**, *437*, 55-75.
- [45] G. J. Kavarnos, N. J. Turro, *Chem. Rev.* **1986**, *86*, 401-449.
- [46] I. L. Medintz, N. Hildebrandt, *FRET-Förster resonance energy transfer: from theory to applications*, John Wiley & Sons, Weinheim, **2013**.
- [47] D. L. Dexter, *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 836-850.
- [48] P. Bharmoria, H. Bildirir, K. Moth-Poulsen, *Chem. Soc. Rev.* **2020**, *49*, 6529-6554.
- [49] H.-C. Chen, C.-Y. Hung, K.-H. Wang, H.-L. Chen, W. S. Fann, F.-C. Chien, P. Chen, T. J. Chow, C.-P. Hsu, S.-S. Sun, *Chem. Commun.* **2009**, 4064-4066.
- [50] H.-A. Wagenknecht, *Nat. Prod. Rep.* **2006**, *23*, 973-1006.
- [51] H. B. Gray, *Charge Transfer in DNA: From Mechanism to Application*, John Wiley & Sons, Weinheim, **2006**.
- [52] B. Giese, *Annu. Rev. Biochem.* **2002**, *71*, 51-70.
- [53] H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2454-2460.
- [54] R. A. Marcus, N. Sutin, *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* **1985**, *811*, 265-322.
- [55] H.-A. Wagenknecht, *Nat. Prod. Rep.* **2006**, *23*, 973-1006.
- [56] J. Jortner, M. Bixon, T. Langenbacher, M. E. Michel-Beyerle, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1998**, *95*, 12759-12765.
- [57] B. Giese, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 631-636.
- [58] C. A. Seidel, A. Schulz, M. H. Sauer, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 5541-5553.
- [59] M. Pascaly, J. Yoo, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9083-9092.
- [60] M. A. O'Neil, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11471-11483.
- [61] M. E. Núñez, D. B. Hall, J. K. Barton, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, 85-97.
- [62] D. Ly, L. Sanii, G. B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9400-9410.
- [63] G. B. Schuster, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 253-260.
- [64] B. Giese, J. Amaudrut, A.-K. Köhler, M. Spormann, S. Wessely, *Nature* **2001**, *412*, 318-320.
- [65] B. Giese, S. Wessely, *Chem. Commun.* **2001**, 2108-2109.

- [66] K. Nakatani, I. Saito, in *Long-Range Charge Transfer in DNA I* (Ed.: G. B. Schuster), Springer, **2004**, pp. 163-183.
- [67] C. Dohno, A. Ogawa, K. Nakatani, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10154-10155.
- [68] H. Ucar, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Sci.* **2021**, *12*, 10048-10053.
- [69] R. Hofsäß, S. Sinn, F. Biedermann, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 16257-16261.
- [70] W. Schmucker, H.-A. Wagenknecht, *Synlett* **2012**, *23*, 2435-2448.
- [71] B. Li, H. Wei, S. Dong, *Chem. Commun.* **2007**, 73-75.
- [72] B. Liu, *Biosens. Bioelectron.* **2008**, *24*, 756-760.
- [73] Z. Zhu, C. Yang, X. Zhou, J. Qin, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 3192-3194.
- [74] O. Nuñez, B. Chavez, R. Shaktah, P. P. Garcia, T. Minehan, *Bioorg. Chem.* **2019**, *83*, 297-302.
- [75] J. G. Woller, J. K. Hannestad, B. Albinsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 2759-2768.
- [76] G. Minotti, P. Menna, E. Salvatorelli, G. Cairo, L. Gianni, *Pharmacol. Rev.* **2004**, *56*, 185-229.
- [77] K. Mross, U. Massing, F. Kratz, in *Drugs Affecting Growth of Tumours* (Eds.: H. M. Pinedo, C. H. Smorenburg), Birkhäuser Basel, Basel, **2006**, pp. 19-81.
- [78] F. Patolsky, Y. Weizmann, O. Lioubashevski, I. Willner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2323-2327.
- [79] J.-P. Sauvage, N. J. Turro, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *11*, 4960-4962.
- [80] Y. Liu, A. Chouai, N. N. Degtyareva, D. A. Lutterman, K. R. Dunbar, C. Turro, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10796-10797.
- [81] R. M. Hartshorn, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 5919-5925.
- [82] P. G. A. Janssen, S. Jabbari-Farouji, M. Surin, X. Vila, J. C. Gielen, T. F. A. de Greef, M. R. J. Vos, P. H. H. Bomans, N. A. J. M. Sommerdijk, P. C. M. Christianen, P. Leclère, R. Lazzaroni, P. van der Schoot, E. W. Meijer, A. P. H. J. Schenning, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1222-1231.
- [83] M. V. Ishutkina, A. R. Berry, R. Hussain, O. G. Khelevina, G. Siligardi, E. Stulz, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, *2018*, 5054-5059.
- [84] P. Ensslen, Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 487-492.
- [85] T. F. A. de Greef, E. W. Meijer, *Nature* **2008**, *453*, 171-173.
- [86] T. F. A. De Greef, M. M. J. Smulders, M. Wolffs, A. P. H. J. Schenning, R. P. Sijbesma, E. W. Meijer, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5687-5754.
- [87] L. Brunsveld, B. J. B. Folmer, E. W. Meijer, R. P. Sijbesma, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 4071-4098.
- [88] P. G. Janssen, A. Ruiz-Carretero, D. González-Rodríguez, E. Meijer, A. Schenning, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8103-8106.
- [89] G. Sargsyan, B. M. Leonard, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 1878-1892.
- [90] G. Sargsyan, A. A. Schatz, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1020-1022.
- [91] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 9040-9046.
- [92] S. Sezi, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9257-9259.
- [93] J. Barbaric, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2088-2090.
- [94] P. Ensslen, H.-A. Wagenknecht, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 2724-2733.
- [95] S. Müller, F. Manger, L. Graf von Reventlow, A. Colsmann, H.-A. Wagenknecht, *Front. Chem.* **2021**, *Volume 9 - 2021*.
- [96] P. Ensslen, S. Gärtner, K. Glaser, A. Colsmann, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1904-1908.
- [97] R. Varghese, H. A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 9040-9046.

- [98] S. Müller, Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *ChemistryOpen* **2020**, *9*, 389-392.
- [99] Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *Front. Chem.* **2019**, *7*, 659.
- [100] M. Kukwikila, N. Gale, A. H. El-Sagheer, T. Brown, A. Tavassoli, *Nat. Chem.* **2017**, *9*, 1089-1098.
- [101] R. Kumar, A. El-Sagheer, J. Tumpene, P. Lincoln, L. M. Wilhelmsson, T. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6859-6864.
- [102] A. H. El-Sagheer, T. Brown, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 10700-10702.
- [103] L. Taemaitree, A. Shivalingam, A. H. El-Sagheer, T. Brown, *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 1610.
- [104] A. H. El-Sagheer, T. Brown, *Acc. Chem. Res.* **2012**, *45*, 1258-1267.
- [105] A. H. El-Sagheer, A. P. Sanzone, R. Gao, A. Tavassoli, T. Brown, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2011**, *108*, 11338-11343.
- [106] A. H. El-Sagheer, T. Brown, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3958-3964.
- [107] R. Hofsäß, H.-A. Wagenknecht, in *Templated DNA nanotechnology: functional DNA nanoarchitectonics* (Ed.: T. Govindaraju), Pan Stanford, Singapore, **2019**, pp. 1-24.
- [108] M. H. Caruthers, A. D. Barone, S. L. Beaucage, D. R. Dodds, E. F. Fisher, L. J. McBride, M. Matteucci, Z. Stabinsky, J. Y. Tang, in *Methods Enzymol.*, Vol. 154, Academic Press, **1987**, pp. 287-313.
- [109] M. H. Caruthers, *Science* **1985**, *230*, 281-285.
- [110] C. B. Reese, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3851-3868.
- [111] S. Roy, M. Caruthers, *Molecules* **2013**, *18*, 14268-14284.
- [112] C. B. Reese, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 3143-3179.
- [113] R. L. Letsinger, K. K. Ogilvie, *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 3350-3355.
- [114] B. C. Froehler, P. G. Ng, M. D. Matteucci, *Nucleic Acids Res.* **1986**, *14*, 5399-5407.
- [115] P. J. Garegg, I. Lindh, T. Regberg, J. Stawinski, R. Strömberg, C. Henrichson, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4051-4054.
- [116] P. J. Garegg, I. Lindh, T. Regberg, J. Stawinski, R. Strömberg, C. Henrichson, *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 4055-4058.
- [117] C. B. Reese, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 3851-3868.
- [118] A. A. Mohammed, D. AlShaer, O. Al Musaimi, *Med. Chem. Res.* **2024**, *33*, 2204-2220.
- [119] J. Barbaric, C. Wanninger-Weiß, H.-A. Wagenknecht, *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, *2009*, 364-370.
- [120] H. Kashida, X. Liang, H. Asanuma, *Curr. Org. Chem.* **2009**, *13*, 1065-1084.
- [121] O. Köhler, D. V. Jarikote, O. Seitz, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 69-77.
- [122] E. Socher, A. Knoll, O. Seitz, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 7363-7371.
- [123] L. Bethge, I. Singh, O. Seitz, *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 2439-2448.
- [124] F. Hövelmann, L. Bethge, O. Seitz, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 2072-2081.
- [125] A. Knoll, S. Kankowski, S. Schöllkopf, J. C. Meier, O. Seitz, *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 14817-14820.
- [126] J. Chamiolo, G.-M. Fang, F. Hövelmann, D. Friedrich, A. Knoll, A. Loewer, O. Seitz, *ChemBioChem* **2019**, *20*, 595-604.
- [127] J. Gebhard, L. Hirsch, C. Schwechheimer, H.-A. Wagenknecht, *Bioconjug. Chem.* **2022**, *33*, 1634-1642.
- [128] V. C. Christov, J. G. Ivanova, *Synth. Commun.* **2006**, *36*, 2231-2244.
- [129] H. Collet, P. Calas, A. Commeyras, *Chem. Commun.* **1984**, 1152-1153.
- [130] M. D. Best, *Biochem.* **2009**, *48*, 6571-6584.
- [131] K. Krell, D. Harijan, D. Ganz, L. Doll, H.-A. Wagenknecht, *Bioconjug. Chem.* **2020**, *31*, 990-1011.

- [132] P. M. Gramlich, C. T. Wirges, A. Manetto, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8350-8358.
- [133] T. Kato, H. Kashida, H. Kishida, H. Yada, H. Okamoto, H. Asanuma, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 741-750.
- [134] R. M. Clegg, A. I. Murchie, A. Zechel, D. M. Lilley, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1993**, *90*, 2994-2998.
- [135] K. Börjesson, S. Preus, A. H. El-Sagheer, T. Brown, B. Albinsson, L. M. Wilhelmsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4288-4293.
- [136] V. L. Malinovskii, D. Wenger, R. Häner, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 410-422.
- [137] R. X. F. Ren, N. C. Chaudhuri, P. L. Paris, Rumney, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7671-7678.
- [138] C. Brotschi, C. J. Leumann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 1655-1658.
- [139] Z. Johar, A. Zahn, C. J. Leumann, B. Jaun, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 1080-1086.
- [140] J. Gao, C. Strässler, D. Tahmassebi, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11590-11591.
- [141] Y. N. Teo, J. N. Wilson, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3923-3933.
- [142] J. Gao, S. Watanabe, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12748-12749.
- [143] F. Seela, M. Zulauf, *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1878-1898.
- [144] H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2838-2841.
- [145] Y. Taniguchi, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8836-8844.
- [146] L. Valis, E. Mayer-Enthart, H.-A. Wagenknecht, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3184-3187.
- [147] Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *Front. Chem.* **2019**, *Volume 7 - 2019*.
- [148] K. H. Shaughnessy, *Molecules* **2015**, *20*, 9419-9454.
- [149] L.-A. Fendt, I. Bouamaied, S. Thöni, N. Amiot, E. Stulz, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15319-15329.
- [150] I. Bouamaied, T. Nguyen, T. Rühl, E. Stulz, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 3888-3891.
- [151] T. Nguyen, A. Brewer, E. Stulz, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 2008-2011.
- [152] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9307-9310.
- [153] P. M. E. Gramlich, S. Warncke, J. Gierlich, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 3442-3444.
- [154] P. G. Wuts, T. W. Greene, *Greene's protective groups in organic synthesis*, John Wiley & Sons, New York, **1999**.
- [155] M. Schelhaas, H. Waldmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *35*, 2056-2083.
- [156] K. Jarowicki, P. Kocienski, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2001**, 2109-2135.
- [157] Y. Yamada, K. Matsuura, K. Kobayashi, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1913-1922.
- [158] T. Lindahl, B. Nyberg, *Biochem.* **1972**, *11*, 3610-3618.
- [159] K. R. Storm, C. Körösy, E. Skoruppa, S. D. Pritzl, P. J. Kolbeck, W. Vanderlinden, H. Schiessel, J. Lipfert, *Biophys. J.* **2025**, *124*, 2639-2654.
- [160] N. Dave, J. Liu, *J. Phys. Chem. B.* **2010**, *114*, 15694-15699.
- [161] M. Xu, T. Dai, Y. Wang, G. Yang, *RSC Advances* **2022**, *12*, 23356-23365.
- [162] G. K. Bains, S. H. Kim, E. J. Sorin, V. Narayanaswami, *Biochem.* **2012**, *51*, 6207-6219.
- [163] R. Owczarzy, Y. You, B. G. Moreira, J. A. Manthey, L. Huang, M. A. Behlke, J. A. Walder, *Biochem.* **2004**, *43*, 3537-3554.
- [164] R. Hofsäß, P. Ensslen, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2019**, *55*, 1330-1333.
- [165] E. Manandhar, K. J. Wallace, *Inorg. Chim. Acta.* **2012**, *381*, 15-43.
- [166] X. Feng, X. Wang, C. Redshaw, B. Z. Tang, *Chem. Soc. Rev.* **2023**, *52*, 6715-6753.
- [167] Deepika, S. Juneja, S. Pandey, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2023**, *25*, 11998-12012.
- [168] Q. Li, Z. Li, *Adv. Sci* **2017**, *4*, 1600484.

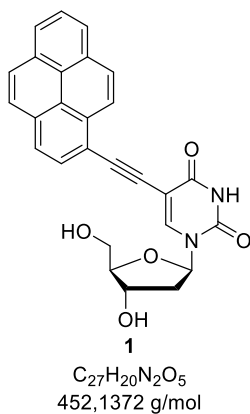
- [169] B. Heyne, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2016**, *15*, 1103-1114.
- [170] L. Zhou, Q. Shen, P. Zhao, B. Xiang, Z. Nie, Y. Huang, S. Yao, *Methods* **2013**, *64*, 299-304.
- [171] T. M. Annesley, *Clin. Chem.* **2003**, *49*, 1041-1044.
- [172] A. Furey, M. Moriarty, V. Bane, B. Kinsella, M. Lehane, *Talanta* **2013**, *115*, 104-122.
- [173] S. Steenken, S. V. Jovanovic, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 617-618.
- [174] V. V. Pavlishchuk, A. W. Addison, *Inorg. Chim. Acta.* **2000**, *298*, 97-102.
- [175] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag, **2005**.
- [176] P. W. Atkins, J. De Paula, *Physikalische chemie*, John Wiley & Sons, **2013**.
- [177] J. J. Looker, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3379-3381.
- [178] Q. He, F. Dong, L. Xing, H. He, X. Chen, H. Wang, S. Ji, Y. Huo, *Tetrahedron* **2022**, *104*, 132565.
- [179] N. Jonathan, S. Gordon, B. P. Dailey, *J. Chem. Phys.* **1962**, *36*, 2443-2448.
- [180] H. Zollinger, *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 151-160.
- [181] Q. Liu, Y. Tor, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2571-2572.
- [182] T. Ehrenschwender, C. Wanninger-Weiß, H.-A. Wagenknecht, *Nucleic Acids Symp. Ser.* **2008**, *52*, 349-350.
- [183] M. J. Leonardi, M. R. Topka, P. H. Dinolfo, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 13114-13122.
- [184] L. Mohammadkhani, M. M. Heravi, *ChemistrySelect* **2019**, *4*, 6309-6337.
- [185] R. Adams, L. H. Ulich, *J. Am. Chem. Soc.* **1920**, *42*, 599-611.
- [186] I. L. Baraznenok, V. G. Nenajdenko, E. S. Balenkova, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 3077-3119.
- [187] Y. Liu, Q. Xiao, Y. Liu, Z. Li, Y. Qiu, G.-B. Zhou, Z.-J. Yao, S. Jiang, *Eur. J. Med. Chem* **2014**, *78*, 248-258.
- [188] P. Y. Bruice, *Organische Chemie: studieren kompakt*, Pearson Deutschland GmbH, **2011**.
- [189] C. Wanninger-Weiß, F. Di Pasquale, T. Ehrenschwender, A. Marx, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2008**, 1443-1445.
- [190] W. H. A. Kuijpers, J. Huskens, L. H. Koole, C. A. A. van Boeckel, *Nucleic Acids Res.* **1990**, *18*, 5197-5205.
- [191] I. E. Valverde, A. F. Delmas, V. Aucagne, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 7597-7602.
- [192] C. Beyer, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 2230-2231.
- [193] R. K. Evans, B. E. Haley, *Biochem.* **1987**, *26*, 269-276.
- [194] H. Bayley, J. R. Knowles, in *Methods Enzymol.*, Vol. 46, Elsevier, **1977**, pp. 69-114.
- [195] S. Rohrbach, A. J. Smith, J. H. Pang, D. L. Poole, T. Tuttle, S. Chiba, J. A. Murphy, *Angew. Chem.* **2019**, *131*, 16518-16540.
- [196] J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, *Organische Chemie*, 2 ed., Springer Spektrum, Heidelberg, **2012**.
- [197] N. A. Senger, B. Bo, Q. Cheng, J. R. Keeffe, S. Gronert, W. Wu, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 9535-9540.
- [198] J. F. Bunnett, *Quart. Rev. Chem. Soc.* **1958**, *12*, 1-16.
- [199] F. Muggenburg, S. Müller, *Chem. Rec.* **2022**, *22*, e202100322.
- [200] J. E. Leffler, R. D. Temple, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 5235-5246.
- [201] M. Baba, M. Saitoh, Y. Kowaka, K. Taguma, K. Yoshida, Y. Semba, S. Kasahara, T. Yamanaka, Y. Ohshima, Y.-C. Hsu, S. H. Lin, *J. Chem. Phys.* **2009**, *131*.
- [202] S. G. Schulman, A. Sharma, *Introduction to fluorescence spectroscopy*, John Wiley and Sons, New York, **1999**.
- [203] J. R. Lakowicz, in *Principles of fluorescence spectroscopy* (Ed.: J. R. Lakowicz), Springer, Boston, **1999**, pp. 1-23.
- [204] M. Rist, N. Amann, H.-A. Wagenknecht, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *2003*, 2498-2504.

- [205] X.-Y. Zhu, H.-W. Yao, Y.-J. Fu, X.-F. Guo, H. Wang, *Anal. Chim. Acta* **2019**, *1048*, 194-203.
- [206] P. Spellane, M. Gouterman, A. Antipas, S. Kim, Y. Liu, *Inorg. Chem.* **1980**, *19*, 386-391.
- [207] M. Gouterman, *J. Mol. Spectrosc.* **1961**, *6*, 138-163.
- [208] J. Kincaid, K. Kadish, K. Smith, R. Guillard, **2000**, 225-291.
- [209] K. Kadish, K. M. Smith, R. Guillard, *The Porphyrin Handbook, Volume 3, Vol. 3*, Elsevier, **2000**.
- [210] A. Harriman, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1* **1981**, *77*, 369-377.
- [211] A. Das, T. P. Mohammed, M. Sankaralingam, *Coord. Chem. Rev.* **2024**, *506*, 215661.
- [212] A. Dietrich, V. Buschmann, C. Müller, M. Sauer, *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, *82*, 211-231.
- [213] R. Lincoln, L. E. Greene, K. Krumova, Z. Ding, G. Cosa, *J. Phys. Chem. A* **2014**, *118*, 10622-10630.
- [214] D. Rehm, A. Weller, *Isr. J. Chem.* **1970**, *8*, 259-271.
- [215] U. Grigull, **1983**.
- [216] R. Weast, *Handbook of Chemistry and Physics, Vol. 64*, CRC Press, Boca Raton, **1983**.
- [217] T. Koczorowski, J. Kujawski, S. Callaghan, M. A. Filatov, K. Urbanska, M. O. Senge, *J. Mol. Struct.* **2025**, *1341*, 142609.
- [218] Y. Gabe, T. Ueno, Y. Urano, H. Kojima, T. Nagano, *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386*, 621-626.
- [219] T. L. Netzel, M. Zhao, K. Nafisi, J. Headrick, M. S. Sigman, B. E. Eaton, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9119-9128.
- [220] N. Amann, E. Pandurski, T. Fiebig, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2978-2980.
- [221] J. R. Diers, C. Kirmaier, M. Taniguchi, J. S. Lindsey, D. F. Bocian, D. Holten, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2021**, *23*, 19130-19140.
- [222] D. Ambrosek, P.-F. Loos, X. Assfeld, C. Daniel, *J. Inorg. Biochem.* **2010**, *104*, 893-901.
- [223] P. Bhyrappa, M. Sankar, B. Varghese, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 4136-4149.
- [224] D. Eley, D. Spivey, *Trans. Faraday Soc.* **1962**, *58*, 411-415.
- [225] S. Rau, D. Walther, J. G. Vos, *Dalton Trans.* **2007**, 915-919.
- [226] M. Fumanal, S. Vela, H. Gattuso, A. Monari, C. Daniel, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 14425-14435.
- [227] C. G. Coates, P. L. Callaghan, J. J. McGarvey, J. M. Kelly, P. E. Kruger, M. E. Higgins, *J. Raman Spectrosc.* **2000**, *31*, 283-288.
- [228] A. A. Cullen, C. Long, M. T. Pryce, *J. Photochem. Photobiol. A* **2021**, *410*, 113169.
- [229] M. Atsumi, L. González, C. Daniel, *J. Photochem. Photobiol. A* **2007**, *190*, 310-320.
- [230] Y. Sun, S. N. Collins, L. E. Joyce, C. Turro, *Inorg. Chem.* **2010**, *49*, 4257-4262.
- [231] E. J. C. Olson, D. Hu, A. Hörmann, A. M. Jonkman, M. R. Arkin, E. D. A. Stemp, J. K. Barton, P. F. Barbara, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11458-11467.
- [232] K. Kalyanasundaram, J. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 2039-2044.
- [233] K. Kalyanasundaram, J. K. Thomas, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 2039-2044.
- [234] D. S. Tyson, K. B. Henbest, J. Bialecki, F. N. Castellano, *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 8154-8161.
- [235] M. E. Østergaard, P. J. Hrdlicka, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5771-5788.
- [236] C. Lou, A. Dallmann, P. Marafini, R. Gao, T. Brown, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 3836-3844.
- [237] J. Kypr, I. Kejnovská, D. Renčiuk, M. Vorlíčková, *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, 1713-1725.
- [238] H. Song, J. T. Kaiser, J. K. Barton, *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 615-620.
- [239] P. Lincoln, A. Broo, B. Nordén, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 2644-2653.
- [240] H. Niyazi, J. P. Hall, K. O'Sullivan, G. Winter, T. Sorensen, J. M. Kelly, C. J. Cardin, *Nat. Chem.* **2012**, *4*, 621-628.
- [241] A. J. Schmidt, A. M. L. Knispel, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2026**, *62*, 7111-7113.

- [242] W. T. Eckenhoff, R. Eisenberg, *Dalton Trans.* **2012**, 41, 13004-13021.
- [243] M. F. Kuehnel, K. L. Orchard, K. E. Dalle, E. Reisner, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, 139, 7217-7223.
- [244] H. He, Z.-Y. Qiu, Z. Yin, J. Kong, J.-S. Dang, H. Lei, W. Zhang, R. Cao, *Chem. Commun.* **2024**, 60, 5916-5919.
- [245] L. Yang, Y. Cheng, D. Fan, Z. Li, *Energy Fuels* **2022**, 36, 11292-11307.
- [246] A. Charisiadis, V. Nikolaou, E. Nikoloudakis, K. Ladomenou, G. Charalambidis, A. G. Coutsolelos, *Chem. Commun.* **2025**, 61, 4630-4646.
- [247] T. Nakazono, A. R. Parent, K. Sakai, *Chem. Eur. J.* **2015**, 21, 6723-6726.
- [248] T. Nakazono, A. R. Parent, K. Sakai, *Chem. Commun.* **2013**, 49, 6325-6327.
- [249] L. Wang, P. Jin, J. Huang, H. She, Q. Wang, *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2019**, 7, 15660-15670.
- [250] K. Kosugi, H. Kashima, M. Kondo, S. Masaoka, *Chem. Commun.* **2022**, 58, 2975-2978.
- [251] M. J. Griffith, K. Sunahara, P. Wagner, K. Wagner, G. G. Wallace, D. L. Officer, A. Furube, R. Katoh, S. Mori, A. J. Mozer, *Chem. Commun.* **2012**, 48, 4145-4162.
- [252] K. Rurack, M. Spieles, *Anal. Chem.* **2011**, 83, 1232-1242.
- [253] S. Romero-Pérez, I. López-Martín, M. C. Martos-Maldonado, Á. Somoza, D. González-Rodríguez, *Org. Lett.* **2020**, 22, 41-45.
- [254] S. A. Ingale, H. Mei, P. Leonard, F. Seela, *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 11271-11282.
- [255] K.-O. Brenske, M. Emondts, S. T. Hörnig, S. Panitz, M. I. Pieper, A. Ligor, A. Schacht, J. Henkel, J. Klankermayer, A. Herrmann, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2023**, 62, e202300531.
- [256] L. Peng, Y. Zhao, Y. Okuda, L. Le, Z. Tang, S.-F. Yin, R. Qiu, A. Orita, *J. Org. Chem.* **2023**, 88, 3089-3108.
- [257] G. Kawai, Y. Nagai, K. Tsuji, Y. Okayasu, J. Abe, Y. Kobayashi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2024**, 63, e202404140.
- [258] M. Yamashina, H. Suzuki, N. Kishida, M. Yoshizawa, S. Toyota, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 17915-17919.
- [259] K. Flavin, M. N. Chaur, L. Echegoyen, S. Giordani, *Org. Lett.* **2010**, 12, 840-843.
- [260] A. Rospigliosi, R. Ehlich, H. Hoerber, A. Middelberg, G. Moggridge, *Langmuir* **2007**, 23, 8264-8271.

7. Anhang

7.1 NMR und HR-MS Spektren

5-(2-Ethynylpyren)-2'-desoxyuridin 1

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

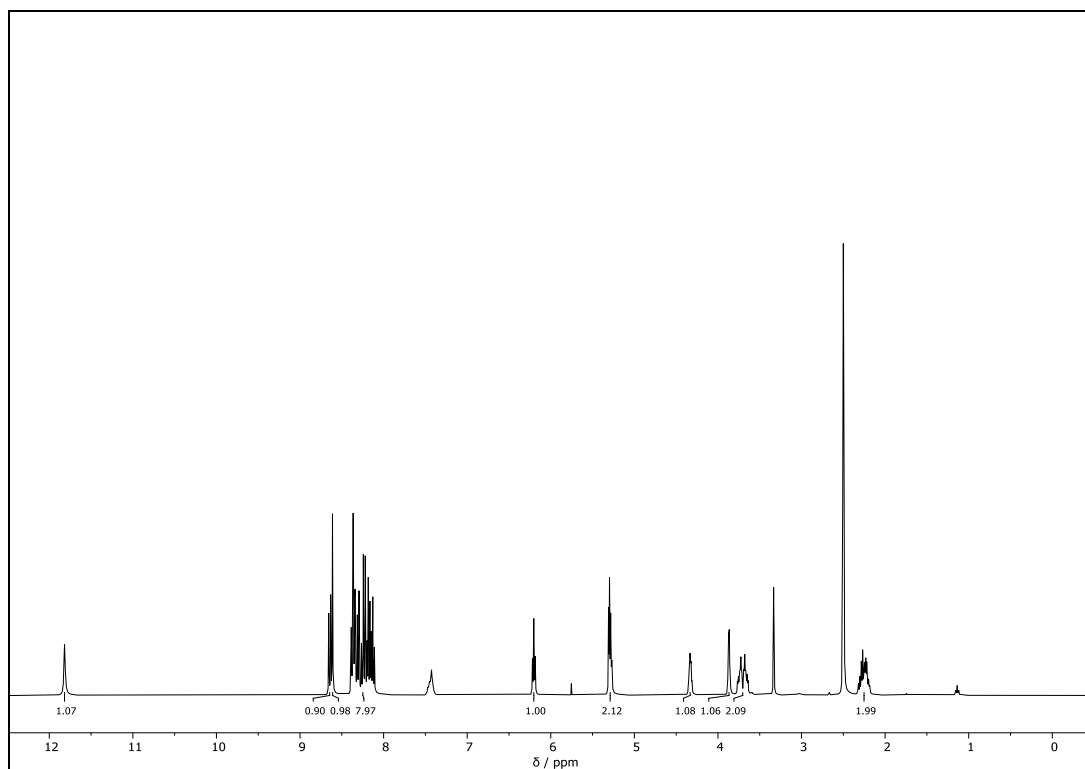


Abbildung 68 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **1**:

$\delta = 11.82$ (s, 1H), 8.65 (d, 1H), 8.61 (m, 1H), 8.27 (m, 8H), 6.20 (t, $^3J_{H,H} = 6.4$ Hz, 1H), 5.29 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 3.87 (q, $^3J_{H,H} = 3.4$ Hz, 2H), 3.70 (m, 2H), 2.25 (m, 2H).

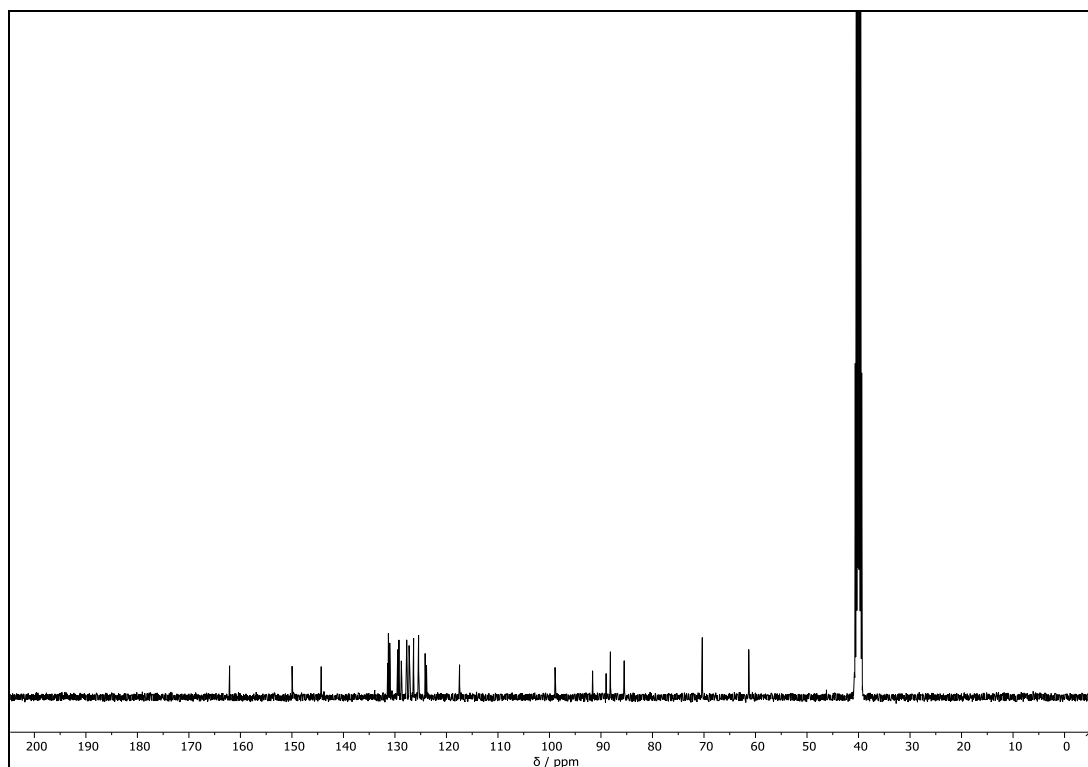


Abbildung 69 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO-d_6): von Verbindung 1:

$\delta = 162.10, 149.97, 144.32, 131.41, 131.27, 131.01, 129.47, 129.22, 128.76, 127.72, 127.25, 126.40, 125.44, 124.14, 123.87, 117.45, 98.91, 91.63, 89.00, 85.49, 70.33, 61.31.$

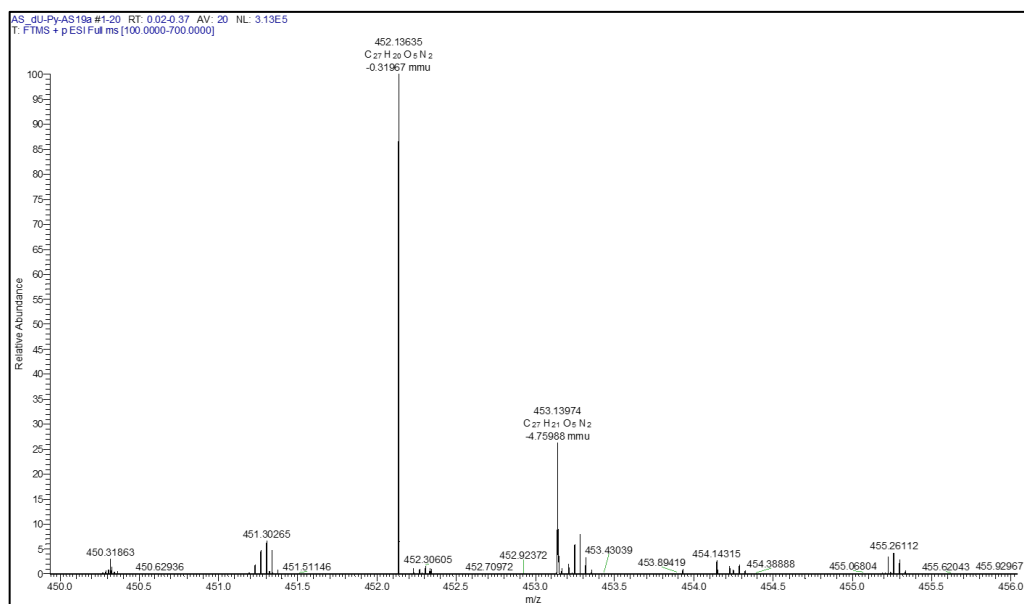
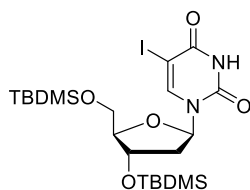


Abbildung 70 HR-MS (ESI) von Verbindung 1: 452,1364 [M]

5-Iod-3',5'-Bis-(tertbutyldimethylsilyl)-2'-desoxyuridin 2



2

$C_{21}H_{39}IN_2O_5Si_2$
582,6265 g/mol

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

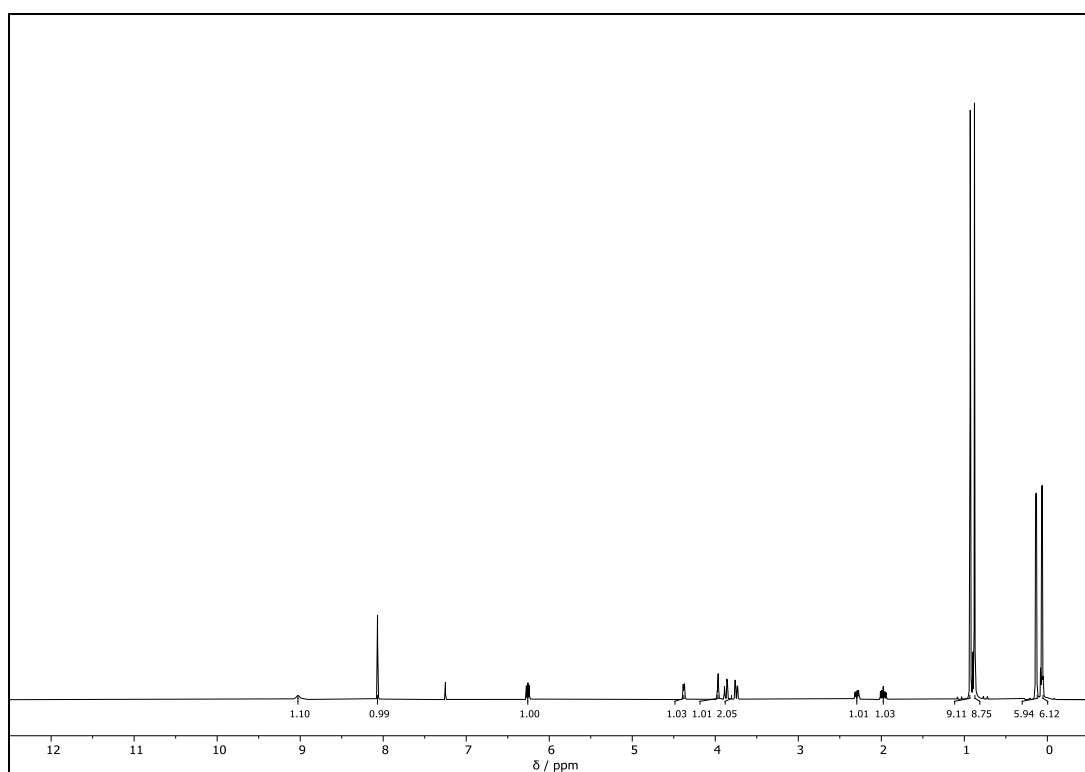


Abbildung 71 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) von Verbindung **2**:

δ = 9.03 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 6.26 (dd, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.00 Hz, $^3J_{\text{H,H}}$ = 5.6 Hz, 1H), 4.41-4.34 (m, 1H), 4.00-3.94 (m, 1H), 3.81 (ddd, $^3J_{\text{H,H}}$ = 11.5, $^5J_{\text{H,H}}$ = 2.4 Hz, 1H), 2.30 (ddd, $^3J_{\text{H,H}}$ = 13.1, $^5J_{\text{H,H}}$ = 2.3 Hz, 1H), 2.03-1.92 (m, 1H), 0.93 (s, 9H), 0.88 (s, 9H), 0.14 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 4.4 Hz, 6H), 0.06 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 3.4 Hz, 6H).

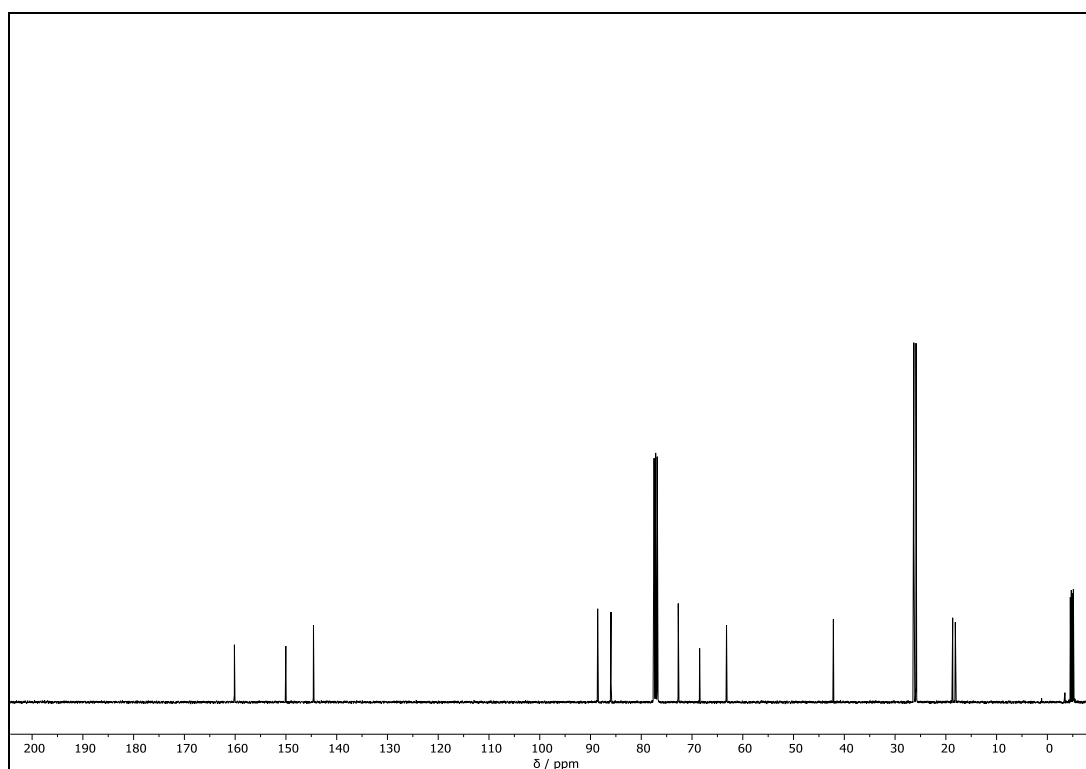


Abbildung 72 ^{13}C -NMR (101 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) von Verbindung 2:

$\delta = 160.15, 150.02, 144.57, 88.58, 85.96, 72.71, 68.50, 63.20, 42.15, 26.30, 25.87, 18.65, 18.14, -4.52, -4.71, -4.97, -5.12$.

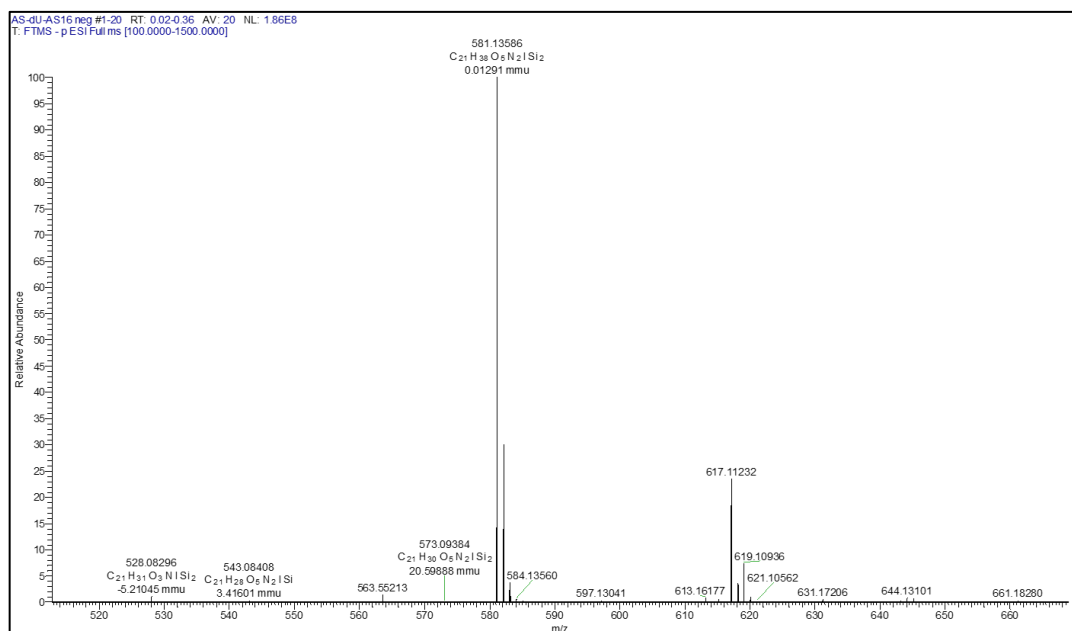
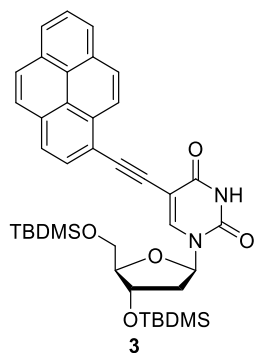


Abbildung 73 HR-MS (ESI) von Verbindung 2: 581,13586 [M-H]

5-(2-Ethynylpyren)-3',5'-Bis-(*tert*butyldimethylsilyl)-2'-desoxyuridin **3**



3
 $C_{39}H_{48}N_2O_5Si_2$
 680,3102 g/mol

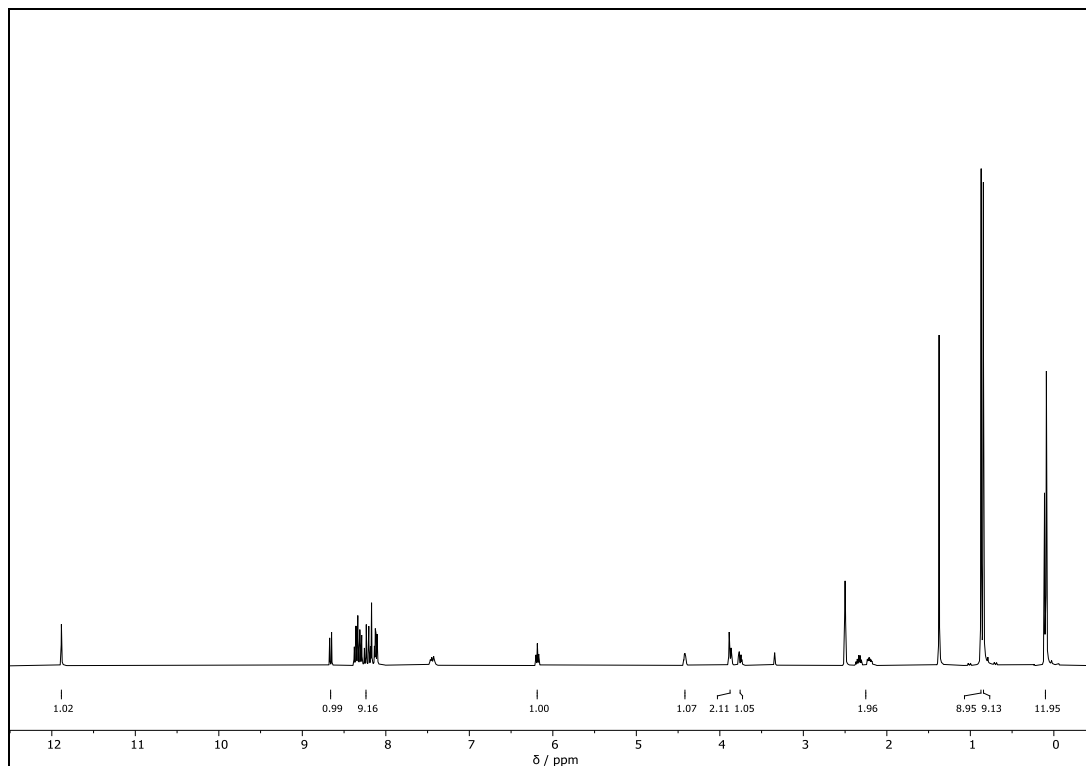


Abbildung 74 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **3**:

$\delta = 11.89$ (s, 1H), 8.66 (d, 1H), 8.23 (m, 9H), 6.19 (t, $^3J_{H,H} = 6.6$ Hz, 1H),
 4.42 (dt, $^3J_{H,H} = 6.3$ Hz, $^5J_{H,H} = 3.3$ Hz, 1H), 3.87 (m, 2H), 3.76 (m, 1H), 2.26 (m, 2H),
 0.87 (d, 18H), $0.16-0.09$ (m, 12H).

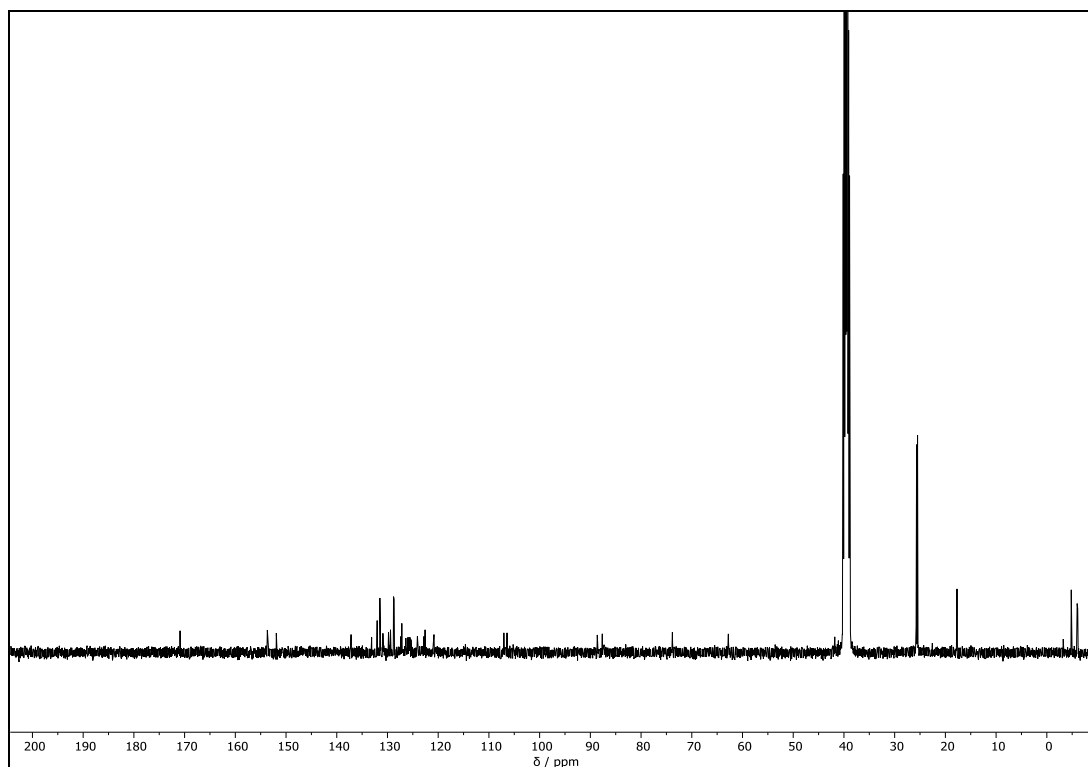


Abbildung 75 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **3**:

$\delta = 170.90, 153.69, 151.92, 137.18, 132.04, 131.50, 131.40, 130.90, 129.79, 129.40, 128.80, 128.69, 127.28, 126.38, 125.99, 125.66, 125.38, 124.10, 122.80, 122.59, 120.83, 107.05, 106.42, 88.63, 87.65, 73.82, 62.78, 25.68, 25.49, 17.76, 17.71, -4.82, -4.87, -5.98, -6.09$.

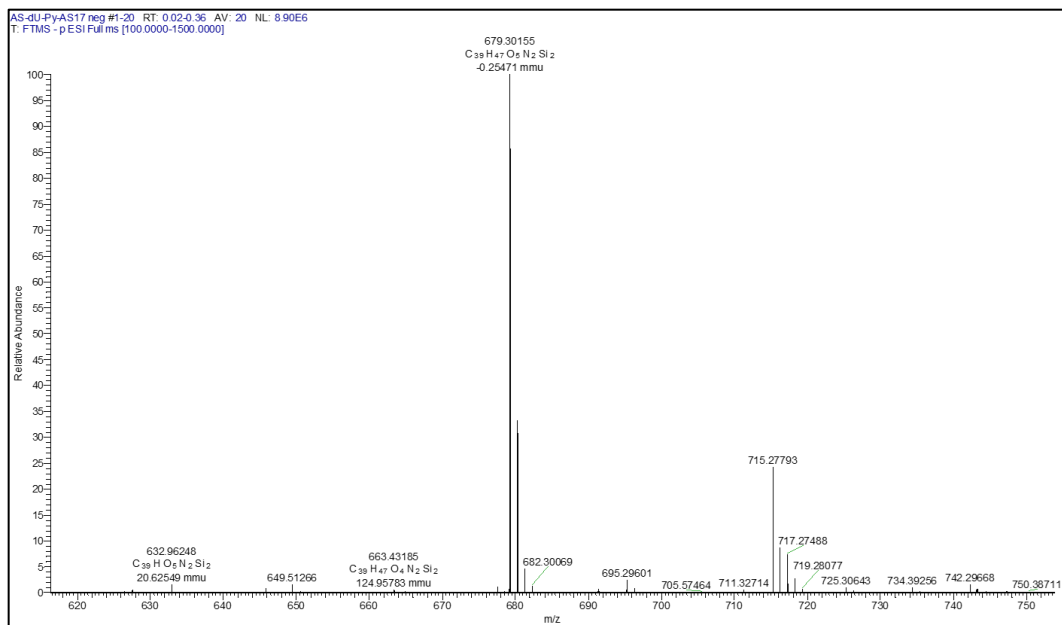
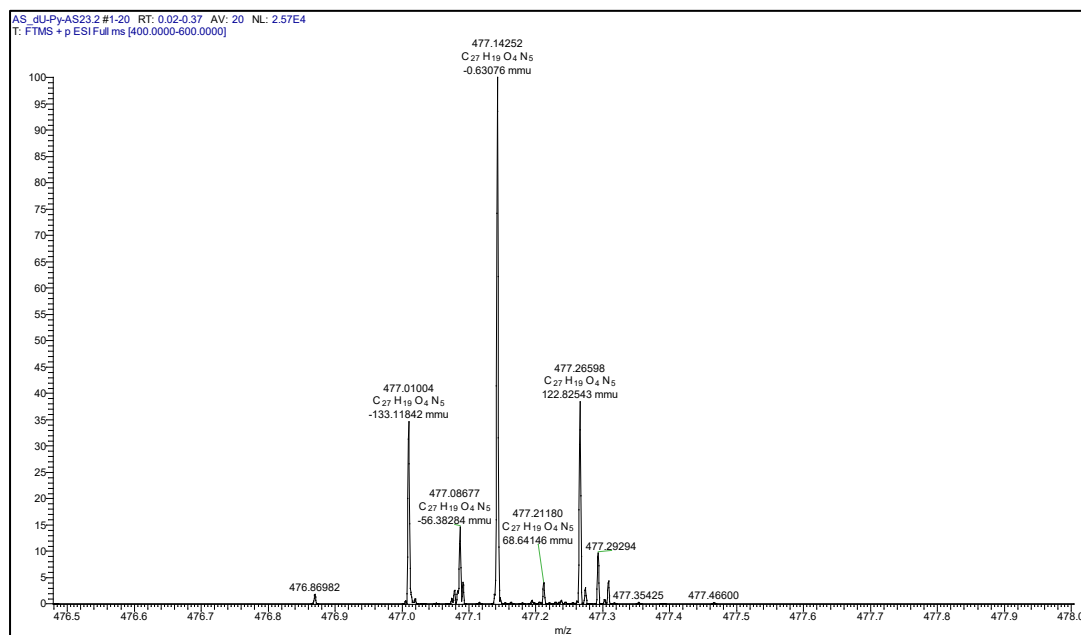
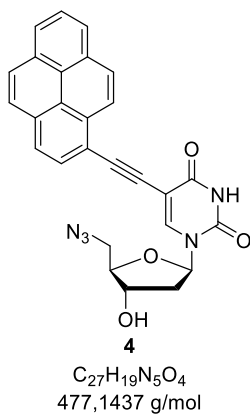
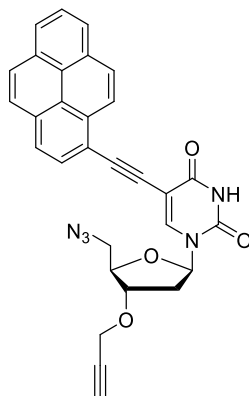


Abbildung 76 HR-MS (ESI) von Verbindung **3**: 679,30155 [M-H].

5-(2-Ethynylpyren)-5'-Azid-2'-desoxyuridin 4**Abbildung 77** HR-MS (ESI) von Verbindung **4**: 477,1425 [M].

5-(2-Ethynylpyren)-5'-Azid-3'-Propargyl-2'-desoxyuridin 5



5

$C_{30}H_{21}N_5O_4$
515,1594 g/mol

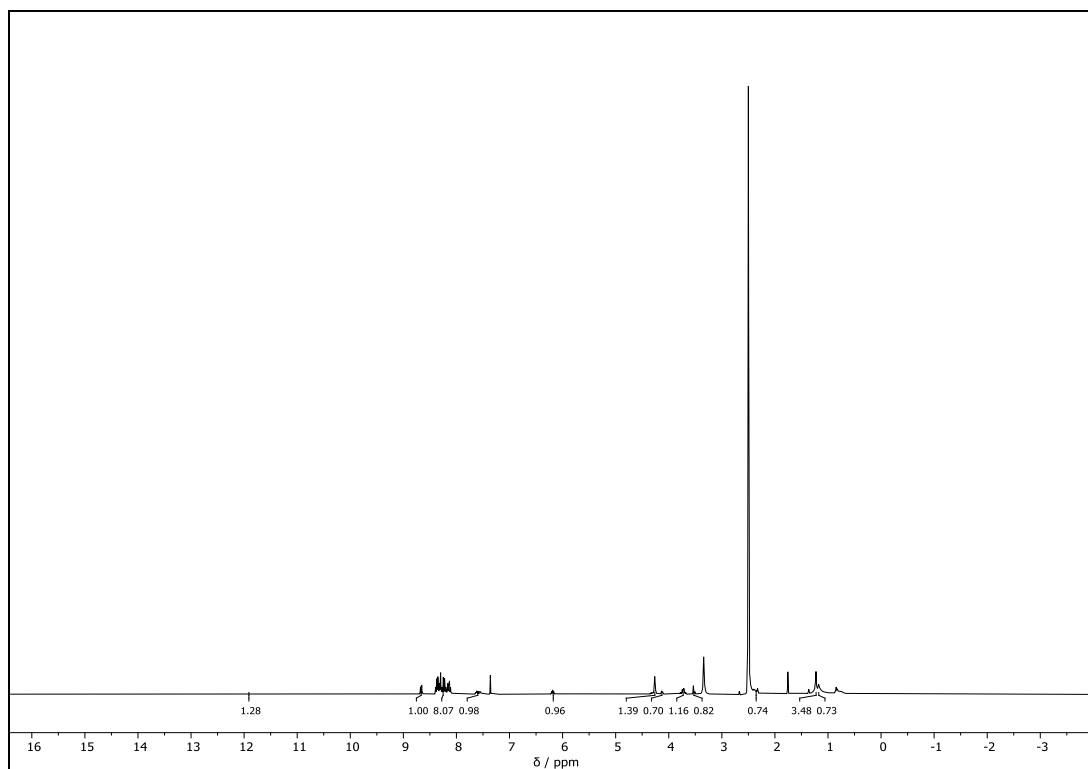


Abbildung 78 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung 5:

δ = 11.91 (s, 1H), 8.67 (d, $^3J_{H,H}$ = 9.1 Hz, 1H), 8.25 (m, 8H), 7.60 (m, 1H), 6.19 (t, $^3J_{H,H}$ = 8.2 Hz, $^3J_{H,H}$ = 6.3 Hz, 1H), 4.26 (d, $^5J_{H,H}$ = 2.1 Hz, 1H), 4.13 (m, 1H), 3.73 (dd, $^3J_{H,H}$ =9.0 Hz, $^5J_{H,H}$ =5.3 Hz, 1H), 3.52 (dt, $^3J_{H,H}$ = 9.0 Hz, $^5J_{H,H}$ = 2.5 Hz, 1H), 2.36 (m, 1H), 1.23 (s, 3H), 1.17 (m, 1H).

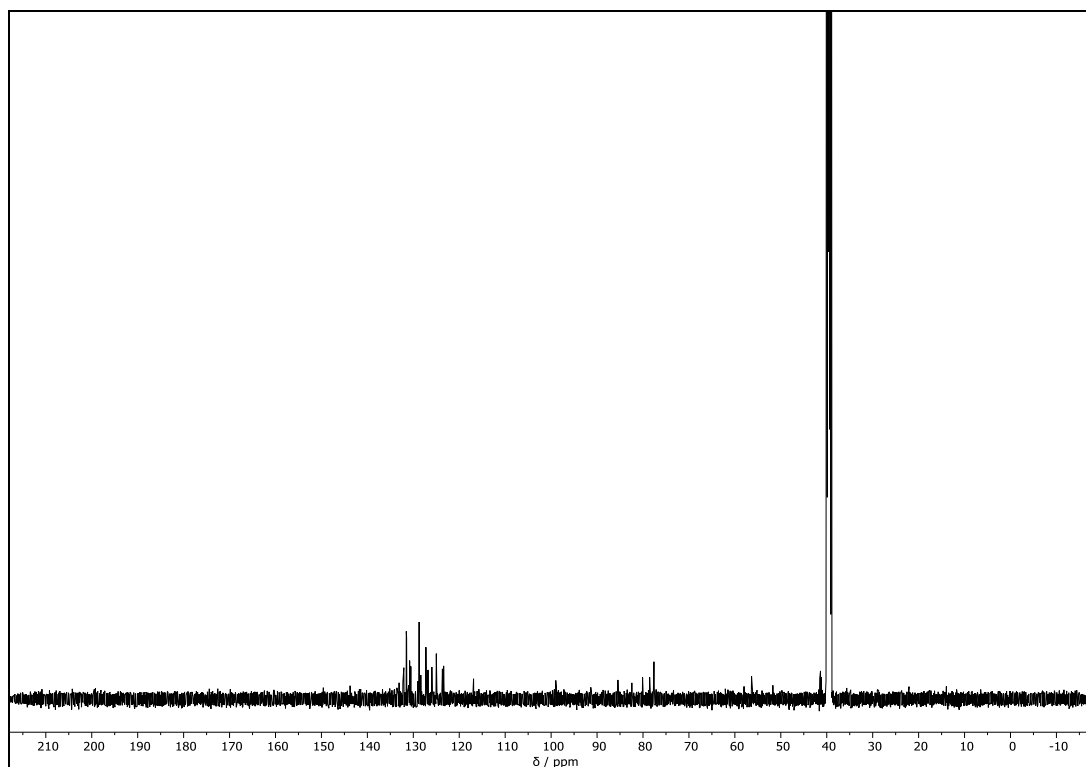


Abbildung 79 ^{13}C -NMR (126 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung 5:

$\delta = 133.09, 132.07, 131.53, 131.45, 130.85, 130.80, 130.53, 128.83, 128.73, 128.36, 127.26, 126.81, 125.96, 124.99, 123.67, 123.39, 116.88, 98.98, 85.46, 82.43, 80.09, 78.55, 77.62, 56.37, 41.59.$

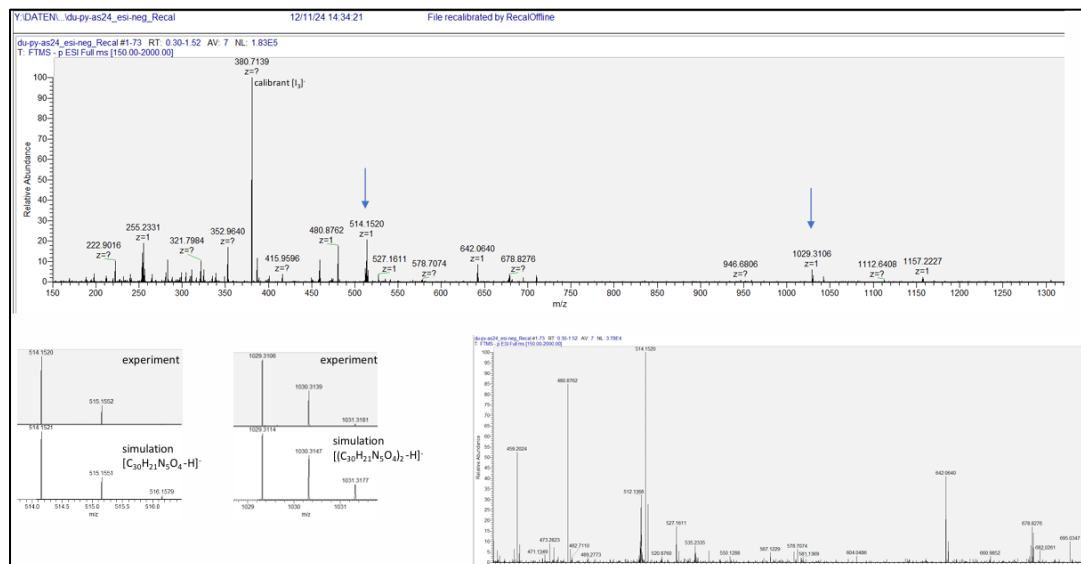


Abbildung 80 HR-MS (ESI) von Verbindung 5: 514,1520 $[\text{M-H}]$.

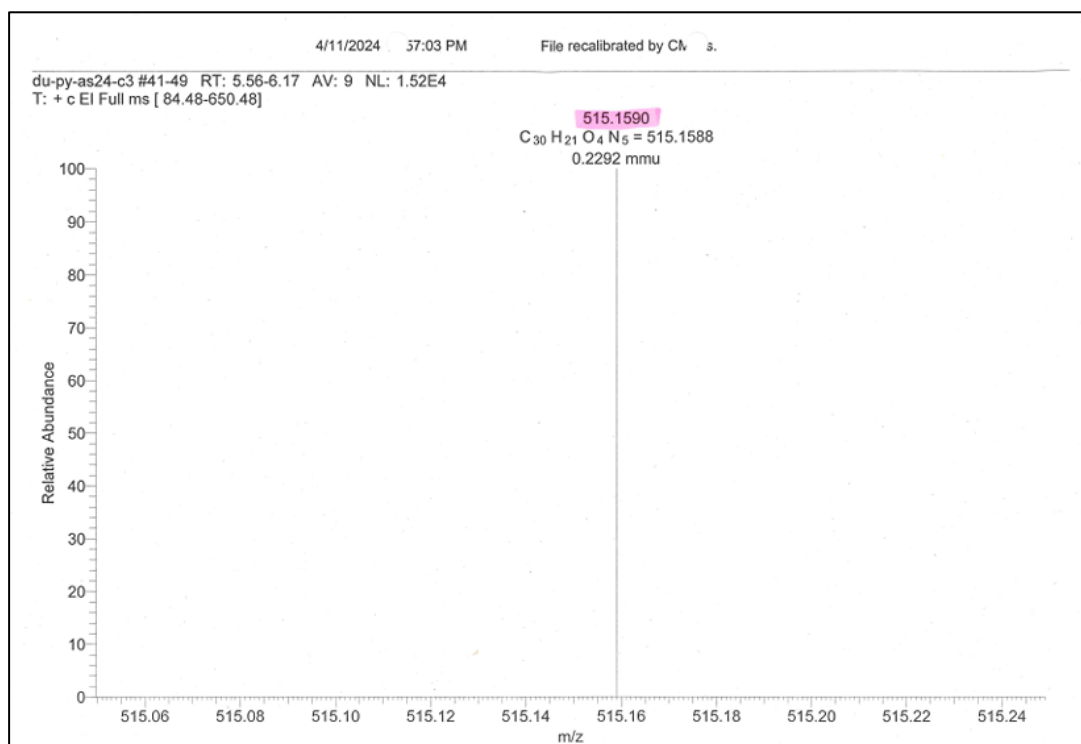
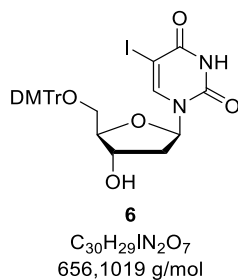


Abbildung 81 HR-MS (FAB) von Verbindung 5: 515,1590 [M].

5-Iod-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridin **6**



Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

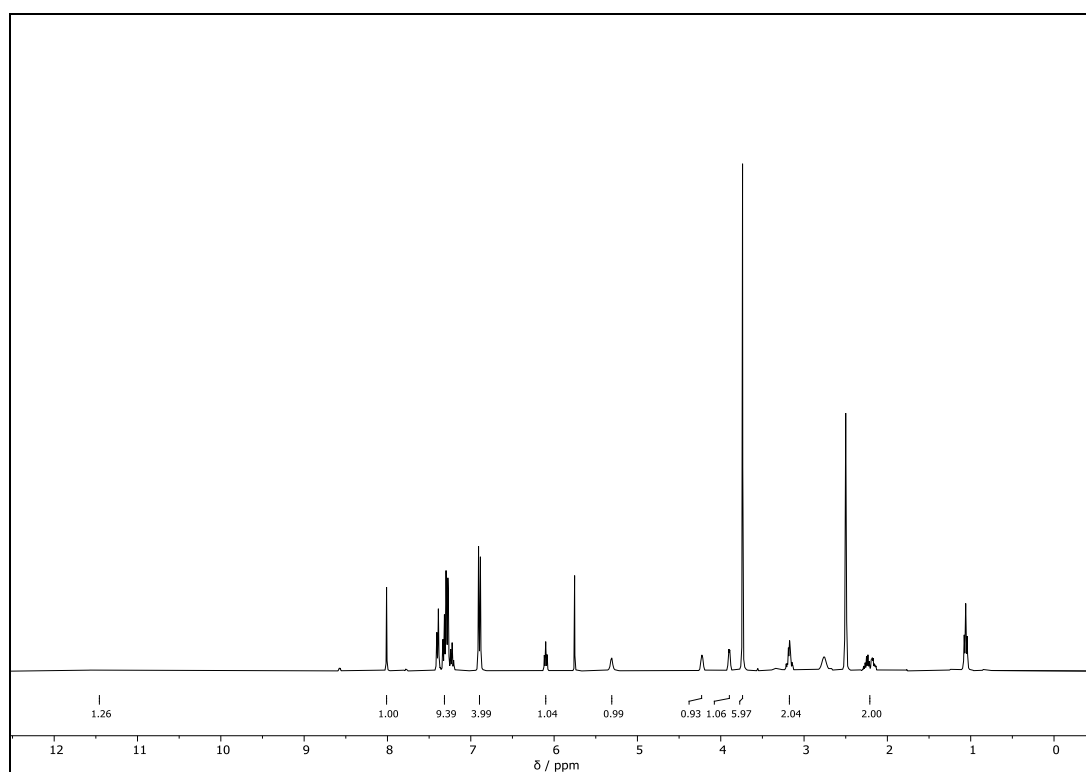


Abbildung 82 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **6**:

δ = 11.48 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.32 (m, 9H), 6.90 (m, 4H), 6.10 (t, $^3J_{H,H}$ =6.8 Hz, 1H), 5.31 (s, 1H), 4.23 (d, $^3J_{H,H}$ = 6.0 Hz, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.17 (m, 2H), 2.21 (m, 2H).

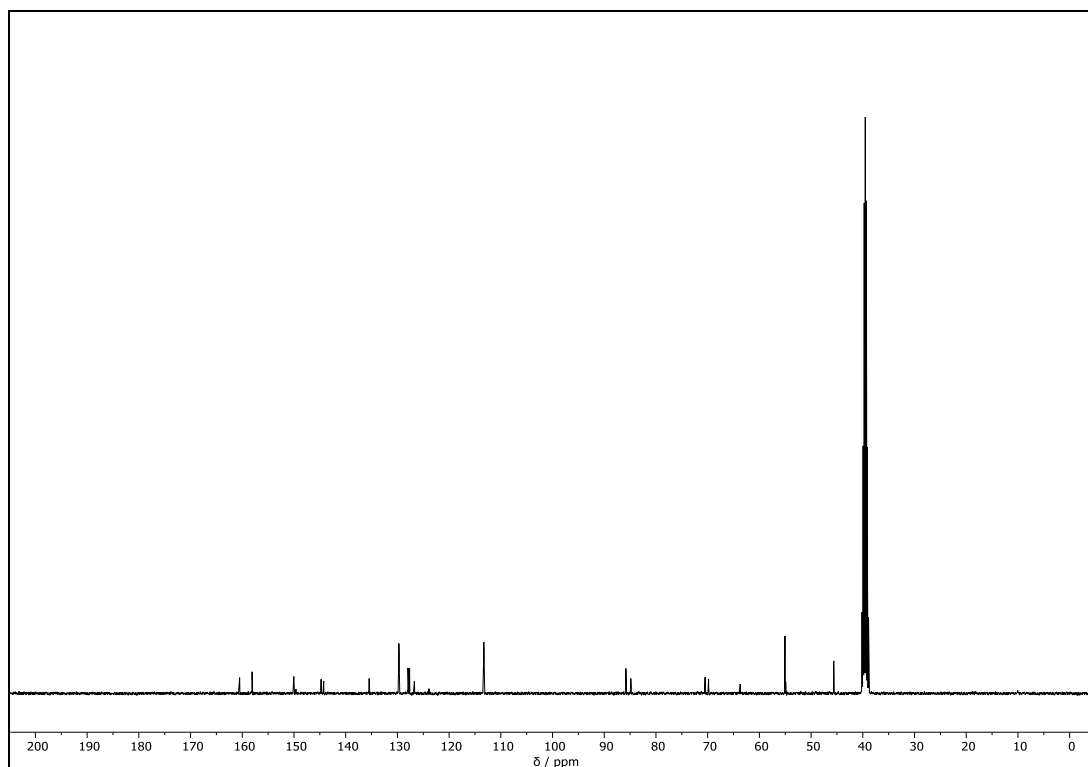


Abbildung 83 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **6**:

$\delta = 160.51, 158.10, 150.03, 149.61, 144.75, 144.25, 135.46, 135.38, 113.29, 85.80, 84.87, 70.49, 69.82, 63.71, 45.62, 39.86$.

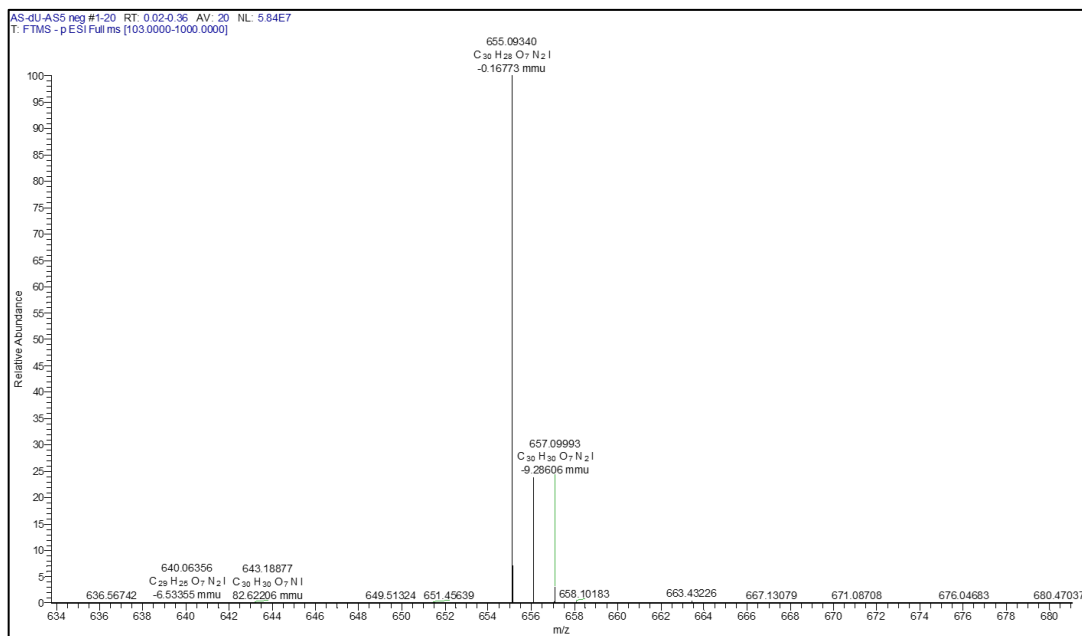
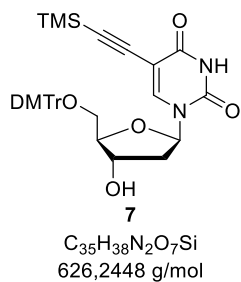


Abbildung 84 HR-MS (ESI) von Verbindung **6**: 655,09340 [M-H]

5-(Trimethylsilylethynyl)-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridin **7**



Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

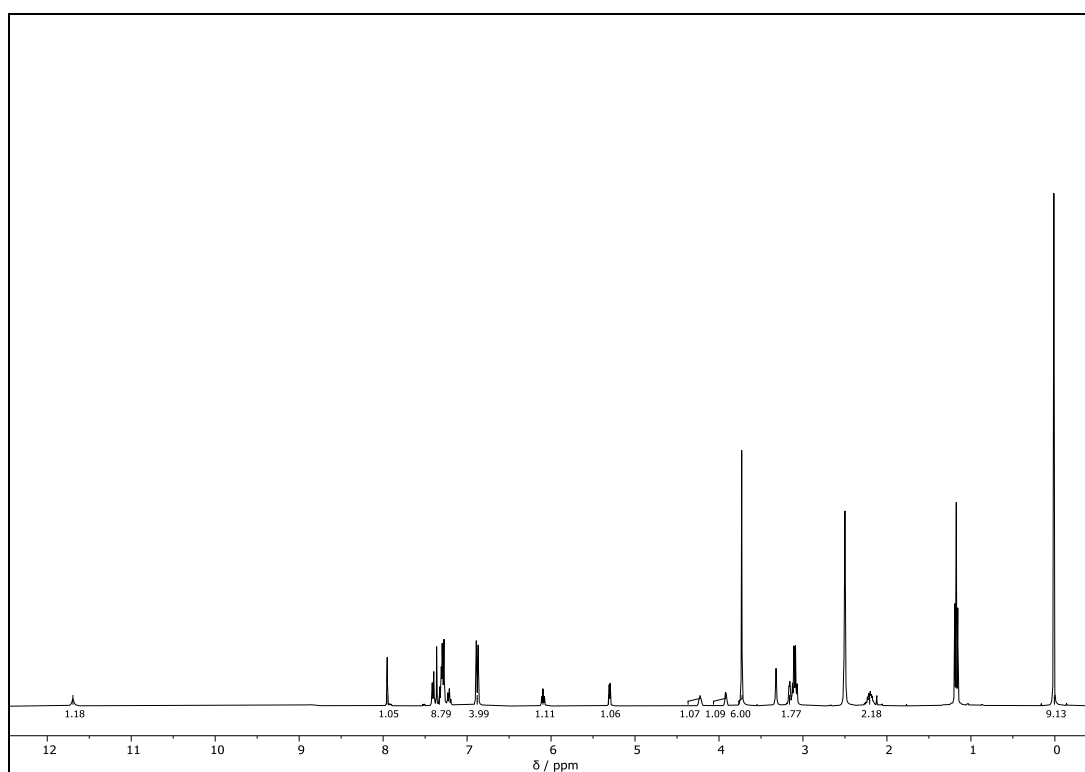


Abbildung 85 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung **7**:

δ = 11.69 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.33 (m, 9H), 6.90 (m, 4H), 6.10 (t, $^3J_{H,H}$ = 6.7 Hz, 1H), 5.30 (d, $^3J_{H,H}$ = 4.4 Hz, 1H), 4.22 (m, 1H), 3.92 (m, 1H), 3.73 (s, 6H), 3.16 (m, 2H), 2.21 (m, 2H), 0.01 (s, 9H).

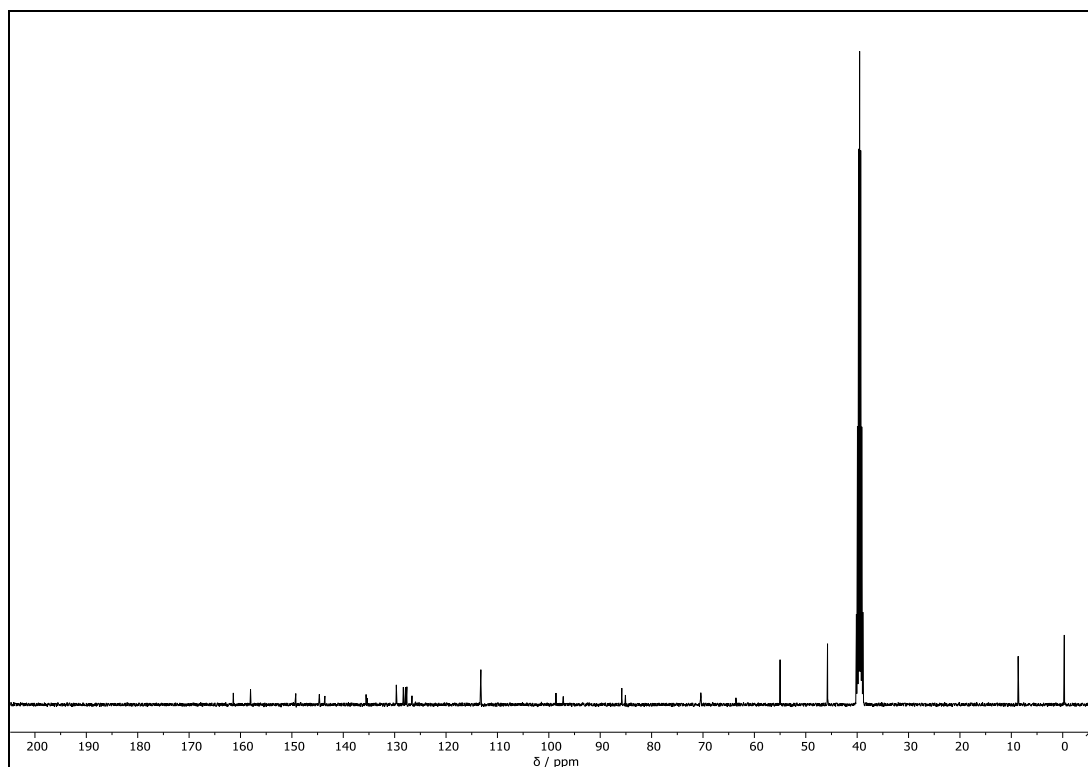


Abbildung 86 ^{13}C -NMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) von Verbindung 7:

$\delta = 161.40, 158.04, 149.24, 144.66, 143.58, 135.57, 135.39, 129.68, 129.60, 128.31, 127.89, 127.63, 126.63, 113.23, 98.61, 97.16, 85.96, 85.80, 85.10, 70.43, 63.60, 55.00, 45.77, 8.67, 0.31$

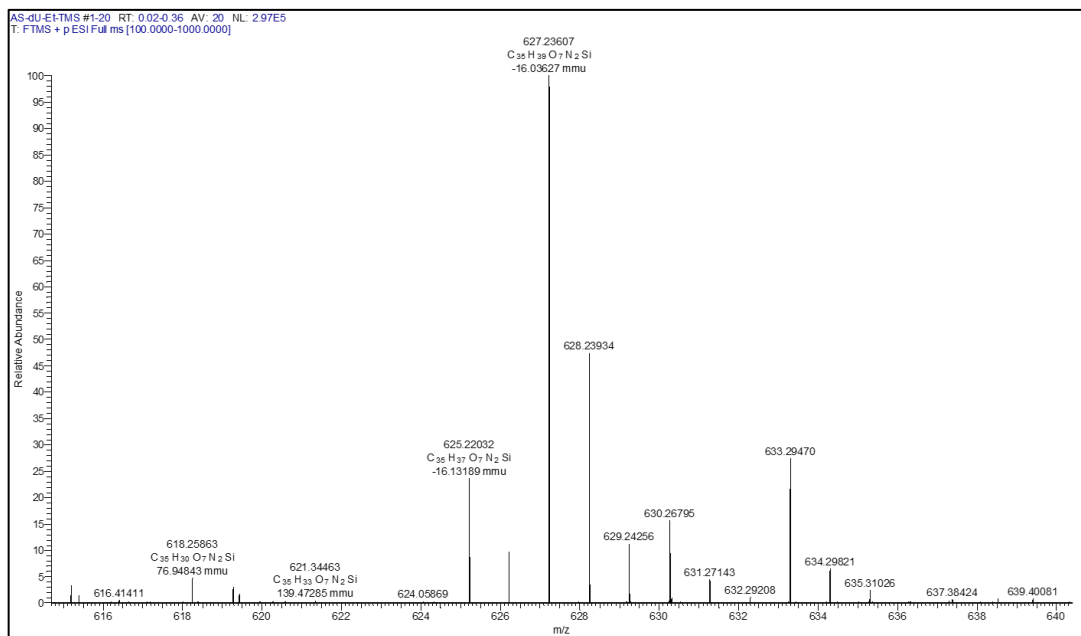
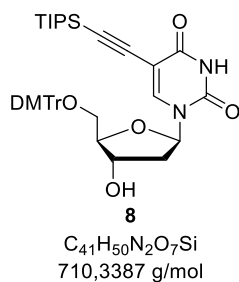


Abbildung 87 HR-MS (ESI) von Verbindung 7: 627,2361 $[\text{M}+\text{H}]$, 625,2203 $[\text{M}-\text{H}]$.

5-(Triisopropylsilylethynyl)-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridin **8**



Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

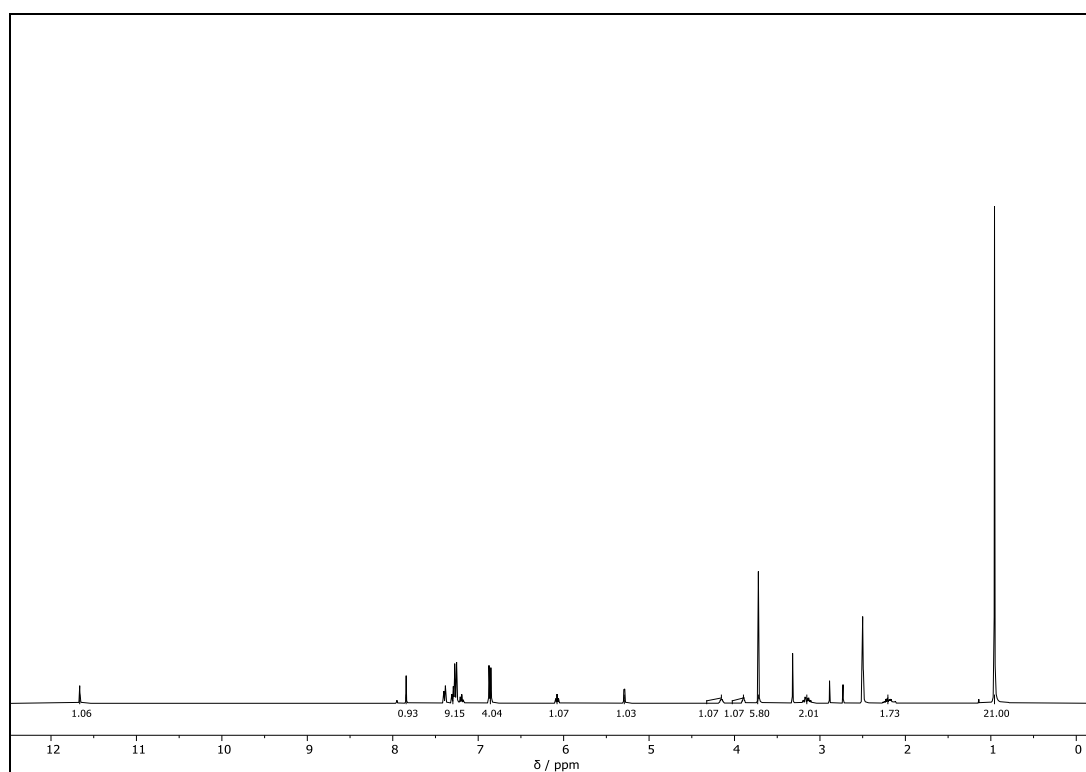


Abbildung 88 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung **8**:

δ = 11.66 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.30 (m, 9H), 6.86 (m, 4H), 6.08 (t, $^3J_{H,H}$ = 6.7 Hz, 1H), 5.29 (d, $^3J_{H,H}$ = 4.5 Hz, 1H), 4.16 (m, 1H), 3.90 (m, 1H), 3.72 (s, 6H), 3.16 (m, 2H), 2.21 (m, 2H), 0.09 (s, 21H).

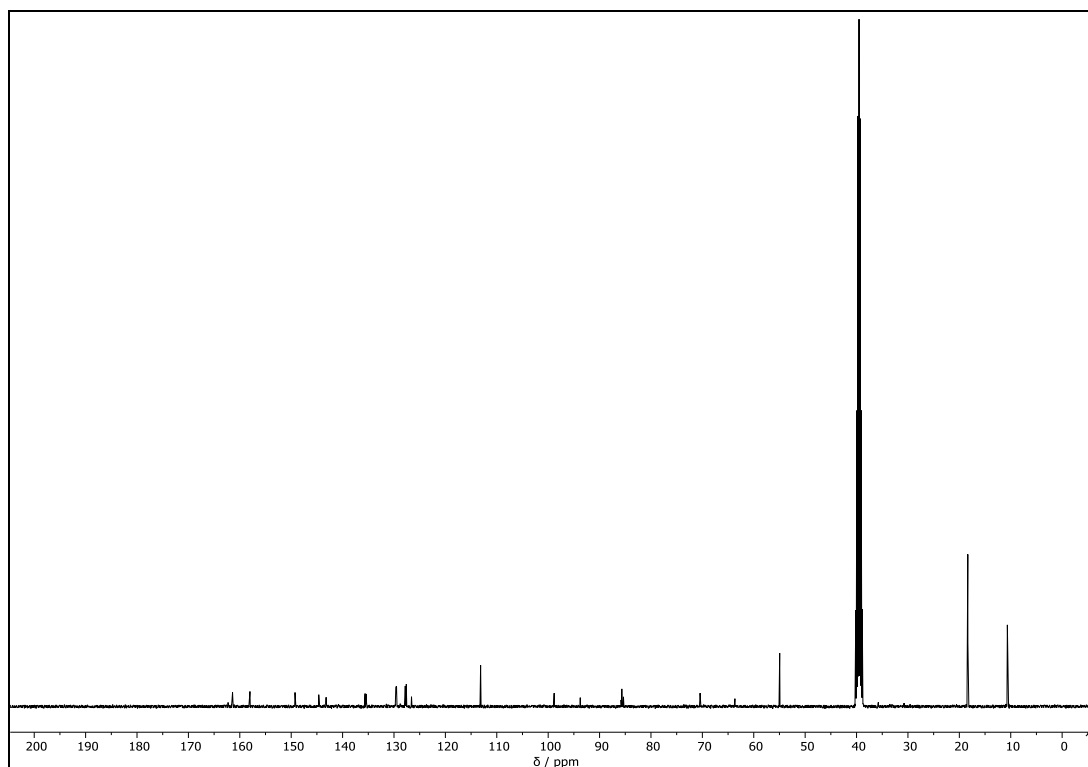


Abbildung 89 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **8**:

$\delta = 161.41, 158.06, 158.02, 149.25, 144.64, 143.20, 135.63, 135.40, 129.64, 129.51, 127.81, 127.61, 126.59, 113.14, 98.90, 98.83, 93.76, 85.81, 85.67, 85.35, 70.45, 63.67, 54.95, 18.35, 10.66.$

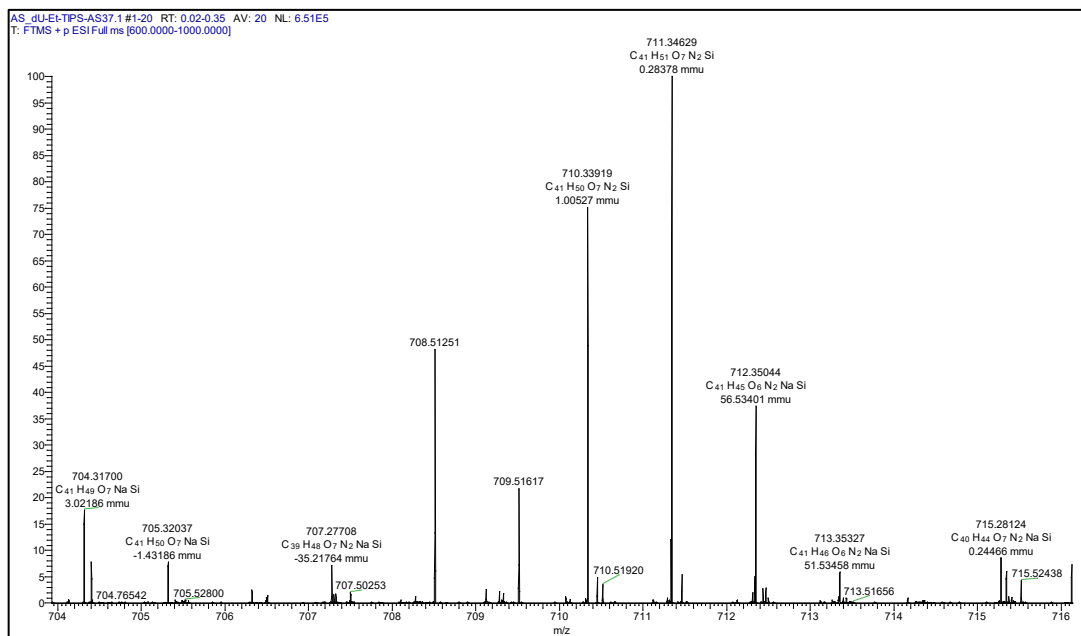
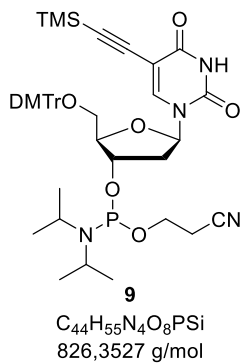


Abbildung 90 HR-MS (ESI) von Verbindung **8**: 710.3392 [M].

5-(Trimethylsilylethynyl)-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridinphosphoramidit **9**



Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein

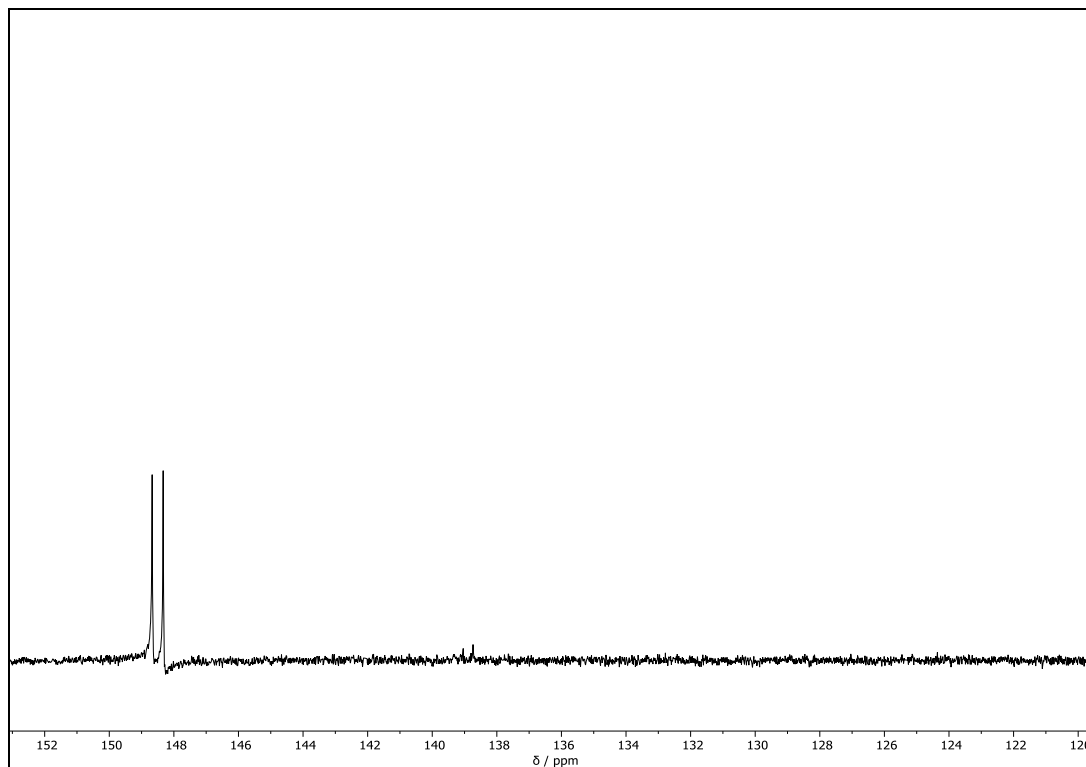


Abbildung 91 ^{31}P -NMR (162 MHz, THF- d_8) von Verbindung **9**: $\delta = 148.50(d)$

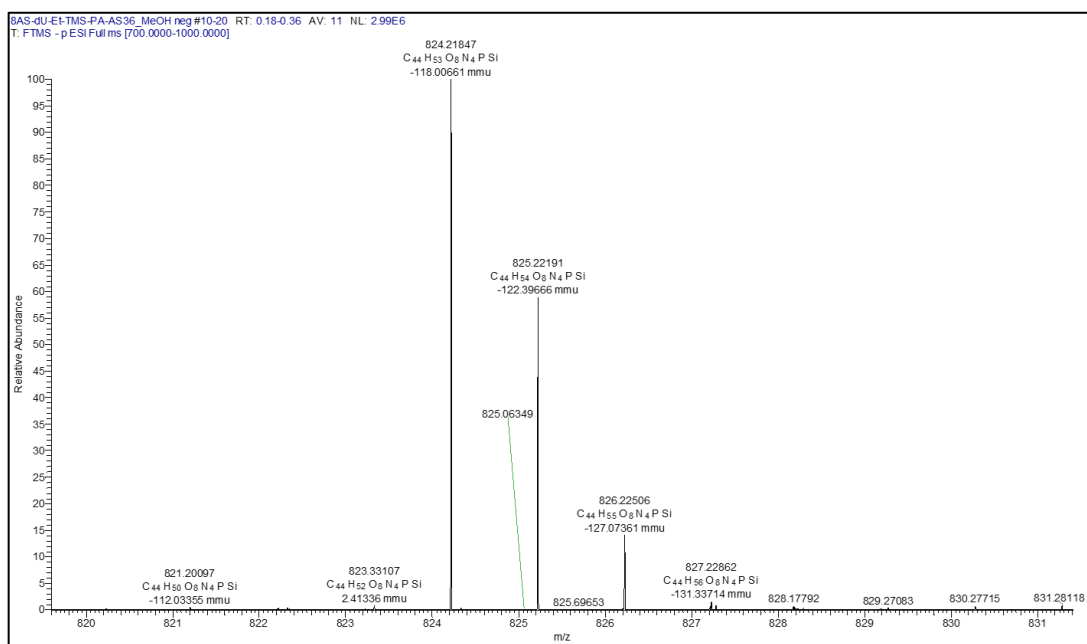
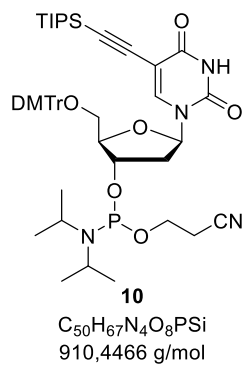


Abbildung 92 HR-MS (ESI) von Verbindung 9: 826,2251 [M].

5-(Triisopropylsilylethynyl)-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridinphosphoramidit **10**



Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein

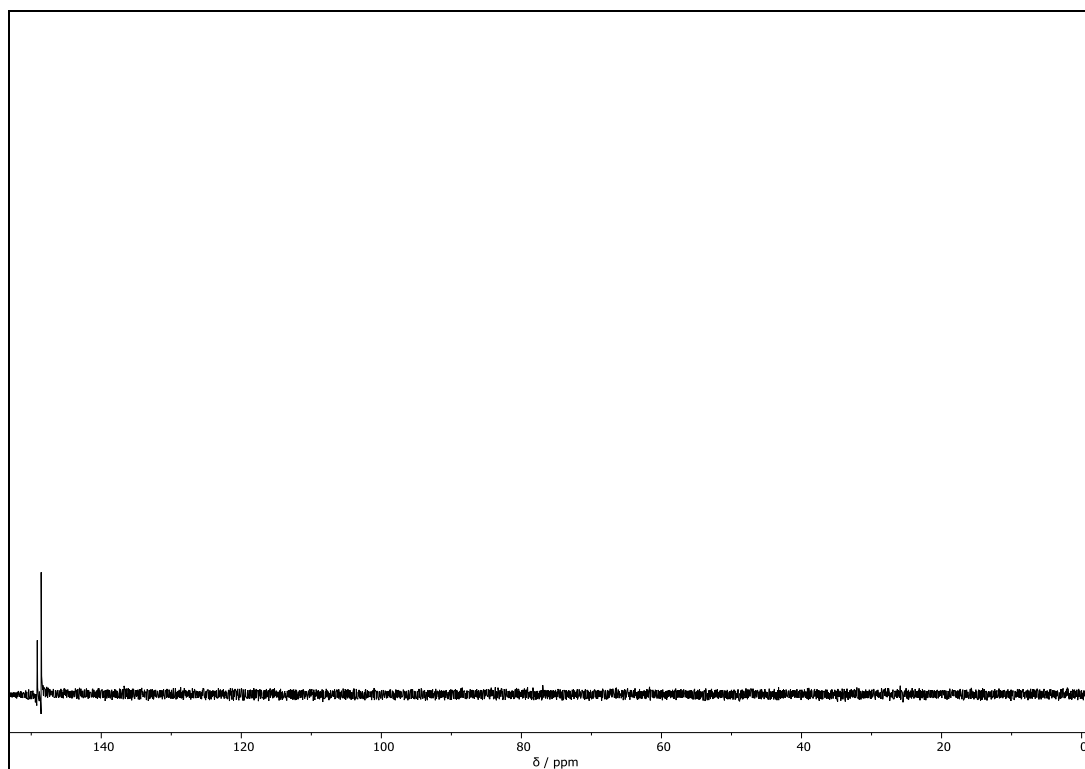


Abbildung 93 ^{31}P -NMR (162 MHz, THF- d_8) von Verbindung **10**: $\delta = 149.14, 148.59$.

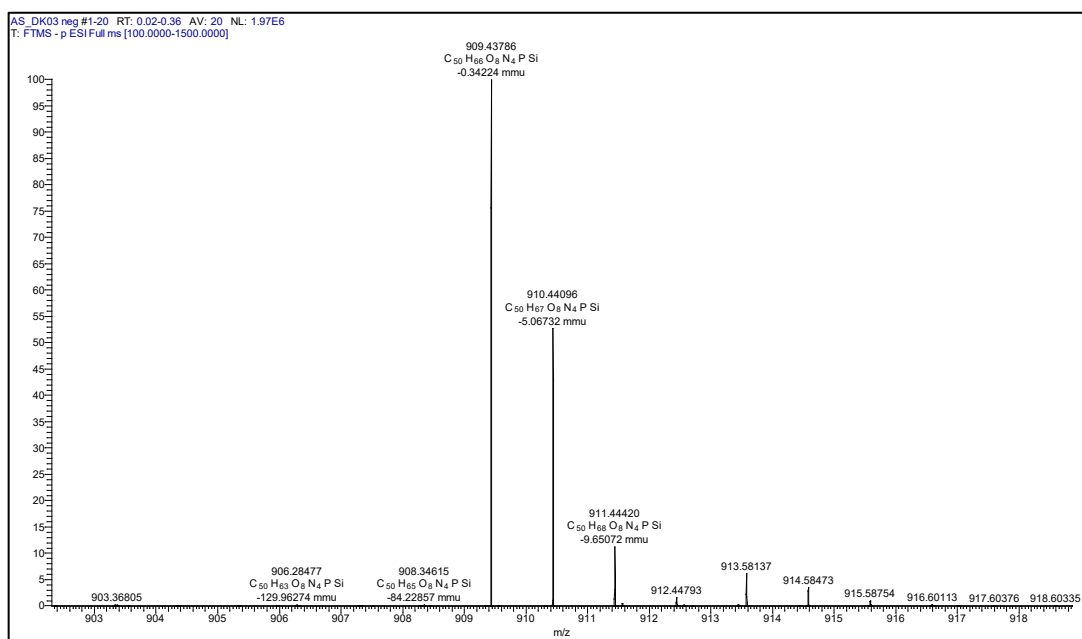
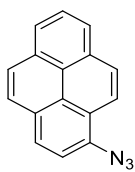


Abbildung 94 HR-MS (ESI) von Verbindung 10: 910.4410 [M].

1-Azidopyren 11



11
 $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{N}_3$
243,0796 g/mol

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

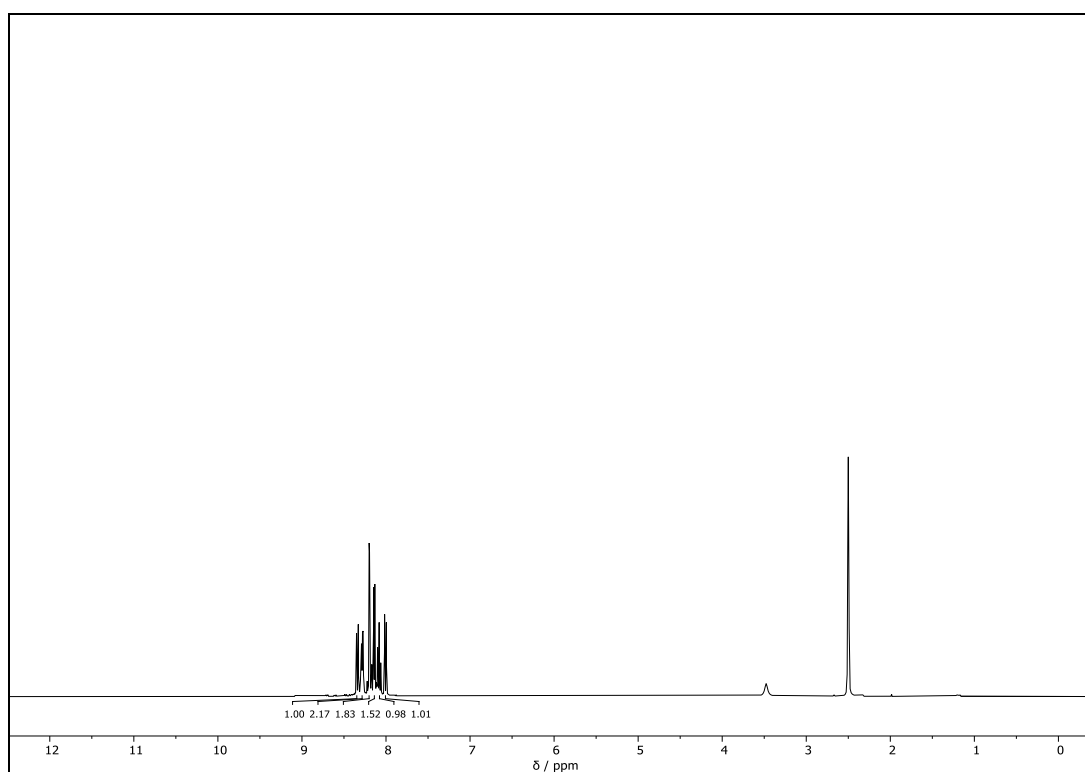


Abbildung 95 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **11**:

$\delta = 8.34$ (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.3$ Hz, 1H), 8.29 (dd, 2H), 8.20 (d, $^5J_{\text{H,H}} = 1.8$ Hz, 2H), 8.14 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 5.6$ Hz, 2H), 8.08 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 7.6$ Hz, 1H), 8.08 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.3$ Hz, 1H).

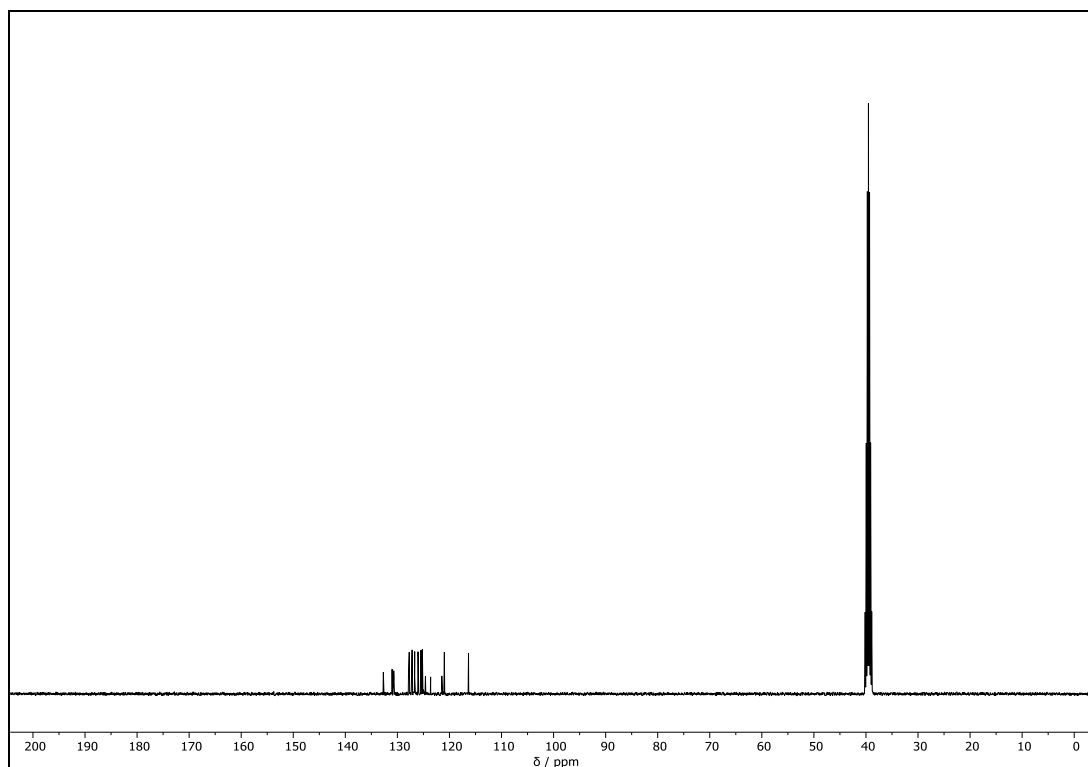


Abbildung 96 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung **11**:

$\delta = 132.70, 131.02, 130.70, 127.85, 127.72, 127.17, 126.82, 126.68, 126.03, 125.46, 125.20, 124.61, 123.62, 121.47, 120.98, 116.34$.

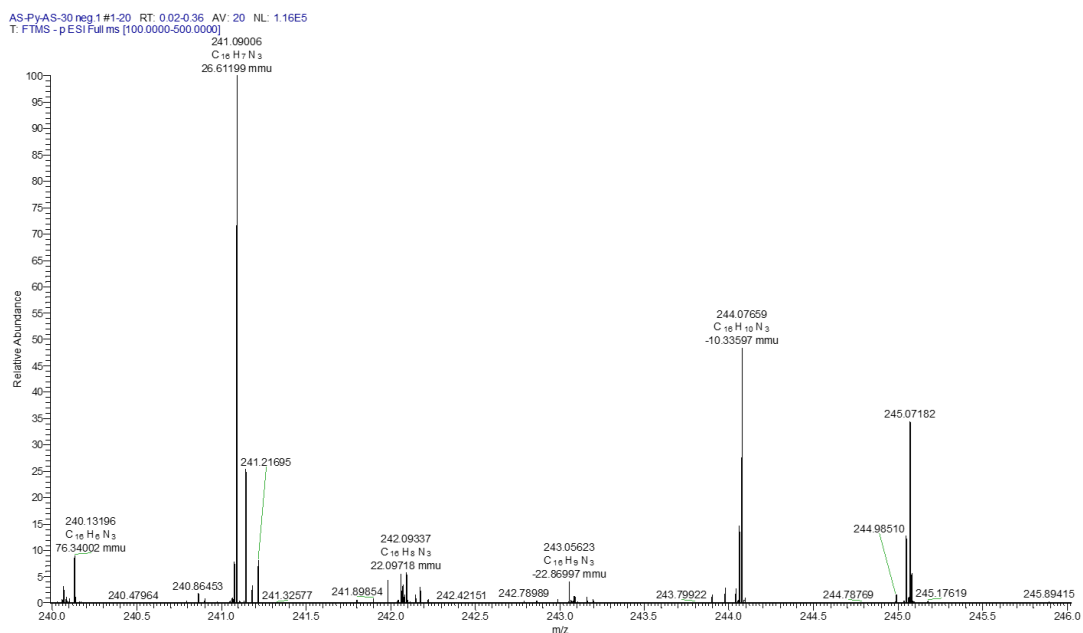
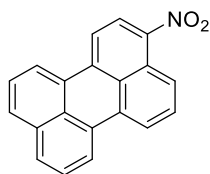


Abbildung 97 HR-MS (ESI) von Verbindung **11**: 241,0901 [M-2H], 243,0562, 244,0766 [M+H].

3-Nitroperylene 12

**12**

$C_{20}H_{11}NO_2$
297,3130 g/mol

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

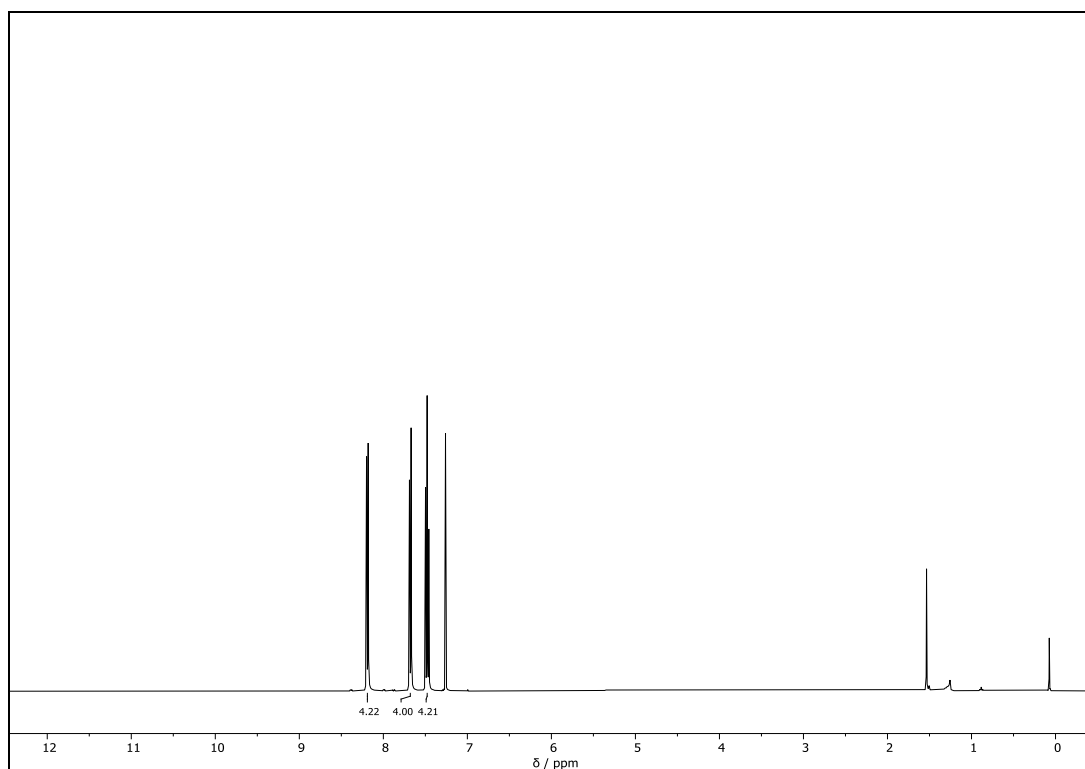


Abbildung 98 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$) von Verbindung **12**:

$\delta = 8.46$ (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.6$ Hz, 1H), 8.28-8.15 (m, 4H), 8.08 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.4$ Hz, 1H), 7.81 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.1$ Hz, 1H), 7.75 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.1$ Hz, 1H), 7.66 (t, $^3J_{\text{H,H}} = 8.1$ Hz, 1H), 7.53 (m, 2H).

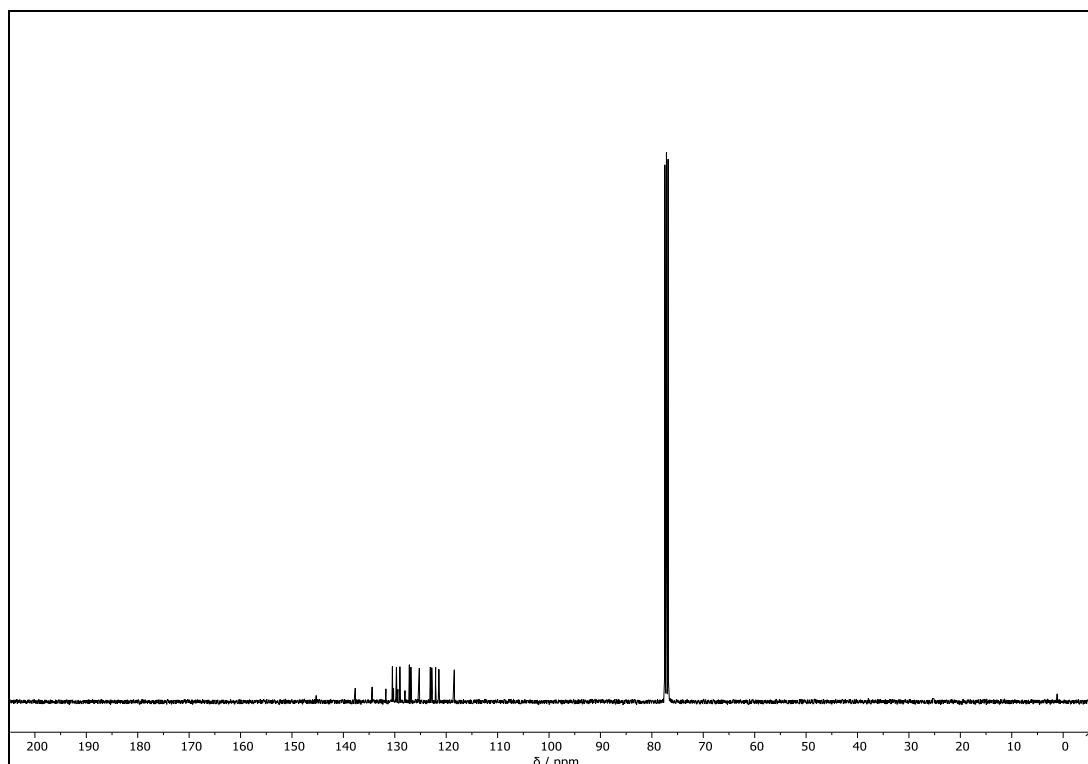


Abbildung 99 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **12**:

$\delta = 137.69, 134.40, 131.74, 130.47, 130.24, 129.68, 129.60, 129.40, 129.01, 128.02, 127.17, 126.87, 125.23, 123.09, 122.81, 122.06, 121.43, 118.42$.

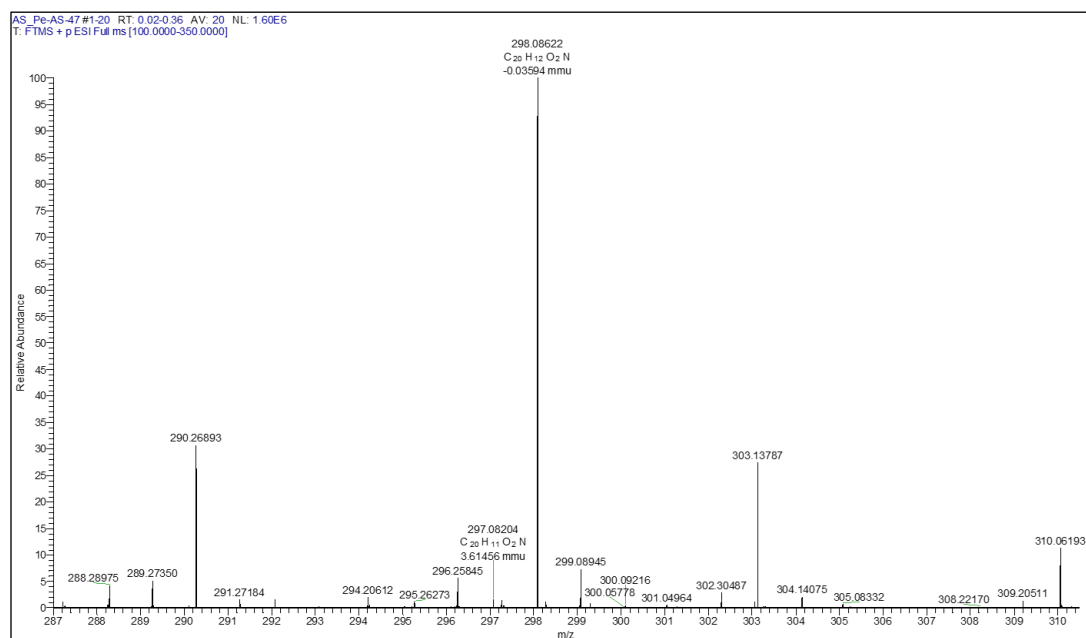
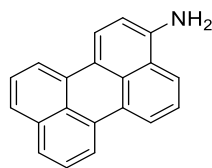


Abbildung 100 HR-MS (ESI) von Verbindung **12**: 298,0862 [M+H]⁺; 297,082 [M].

3-Aminoperylen 13



13
 $\text{C}_{22}\text{H}_{13}\text{N}$
267,1048 g/mol

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

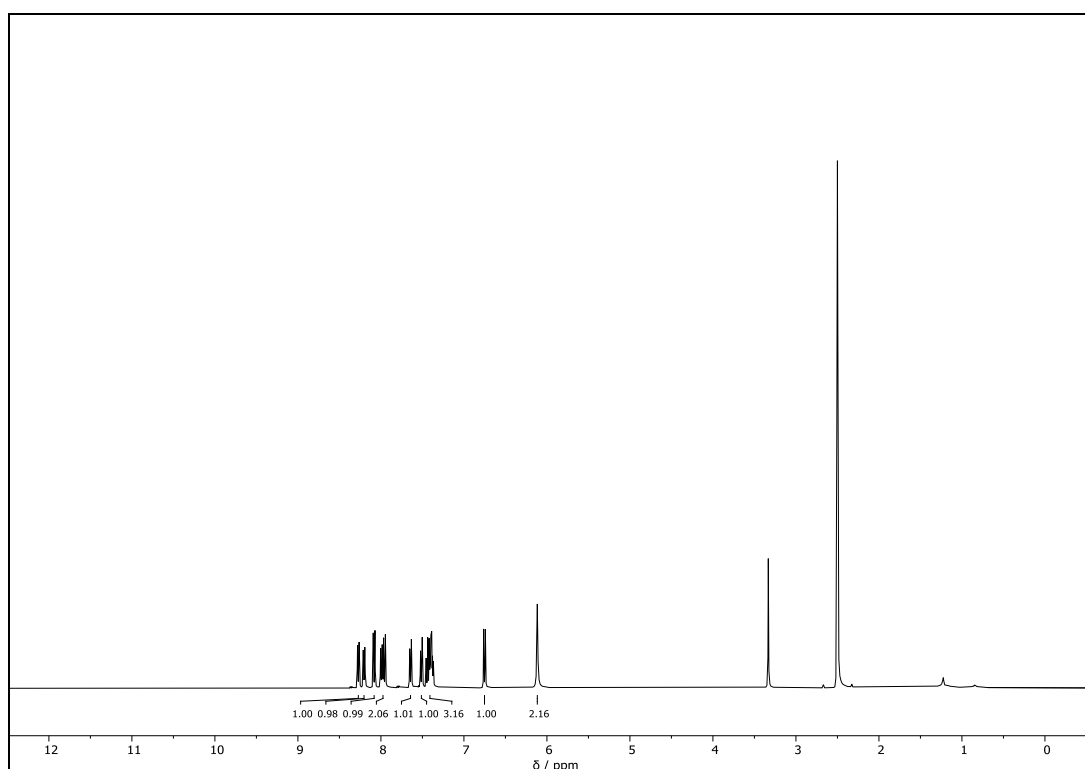


Abbildung 101 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **13**:

δ = 8.27 (q, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.5 Hz, 1H), 8.20 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 7.5 Hz, 1H), 8.08 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.3 Hz, 1H), 7.98 (dd, 2H), 7.64 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.1 Hz, 1H), 7.51 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.1 Hz, 1H), 7.47-7.35 (m, 3H), 6.75 (d, $^3J_{\text{H,H}}$ = 8.3 Hz, 1H), 6.12 (s, 2H).

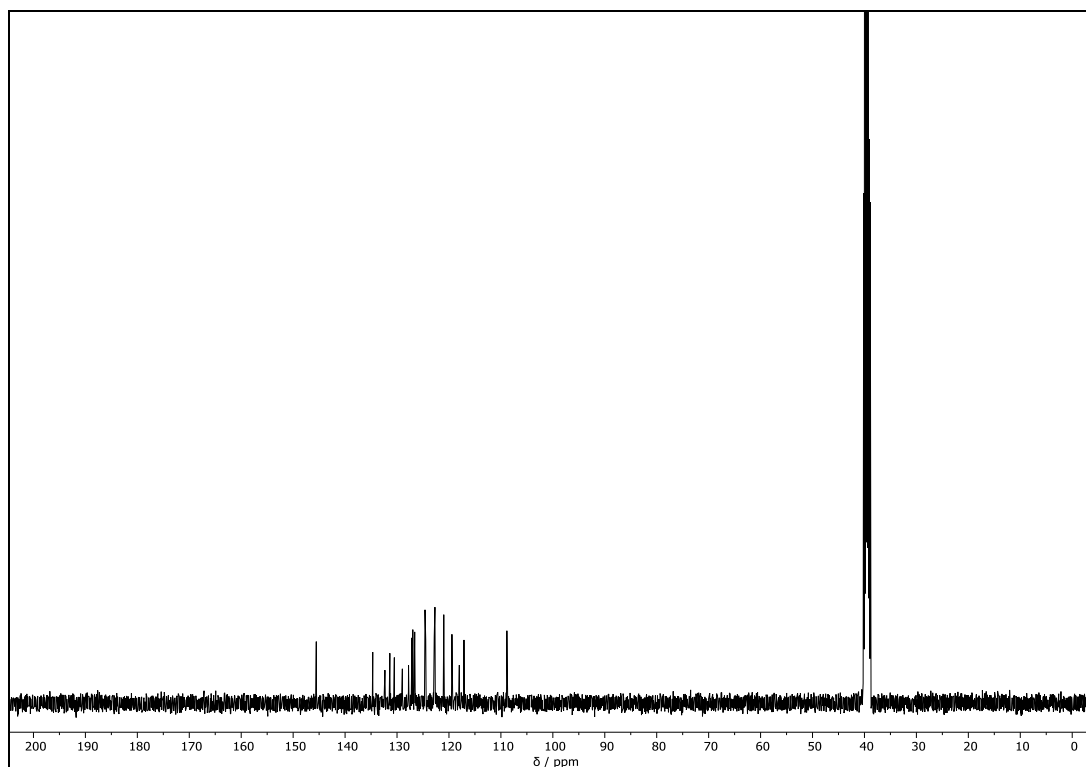


Abbildung 102 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung **13**:

$\delta = 145.55, 134.68, 132.33, 131.38, 130.52, 128.97, 127.78, 127.12, 126.96, 126.60, 124.61, 124.47, 122.84, 122.78, 122.70, 121.00, 119.43, 118.01, 117.11, 108.85$.

AS_Pe-AS-49.1 #1-20 RT: 0.02-0.36 AV: 20 NL: 3.57E8
T: FTMS + p ESIFul.ms [100.0000-500.0000]

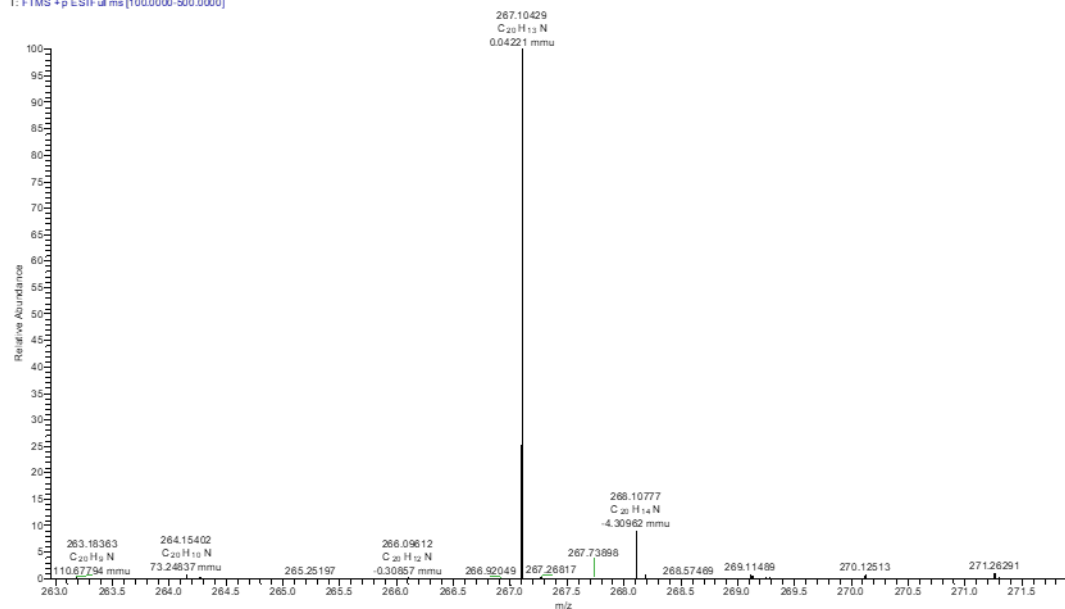
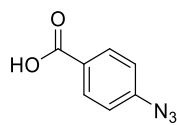


Abbildung 103 HR-MS (ESI) von Verbindung **13**: 267,1043, 268,1077 [M+H].

4-Azidobenzoesäure 15**15** $C_7H_5N_3O_2$
163,0382 g/mol

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

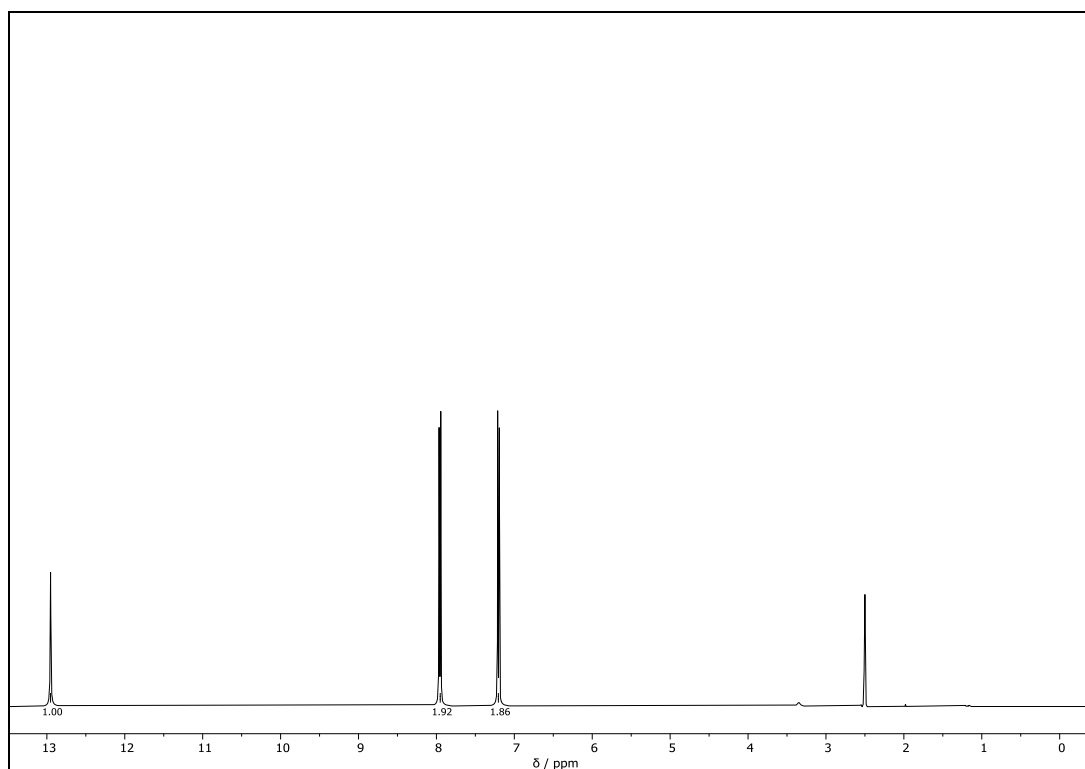


Abbildung 104 ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) von Verbindung **15**:

δ = 12.96 (s, 1H), 7.96 (d, 2H), 7.22 (d, 2H).

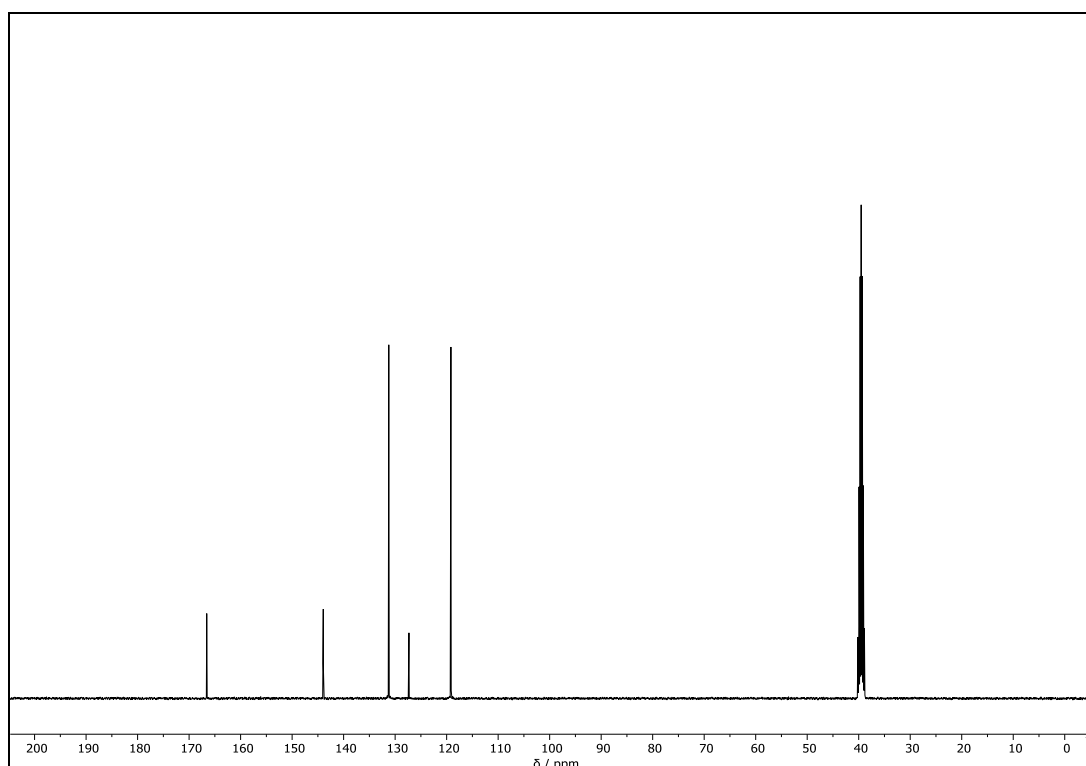


Abbildung 105 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **15**:
 $\delta = 166.58, 143.96, 131.23, 127.32, 119.17$.

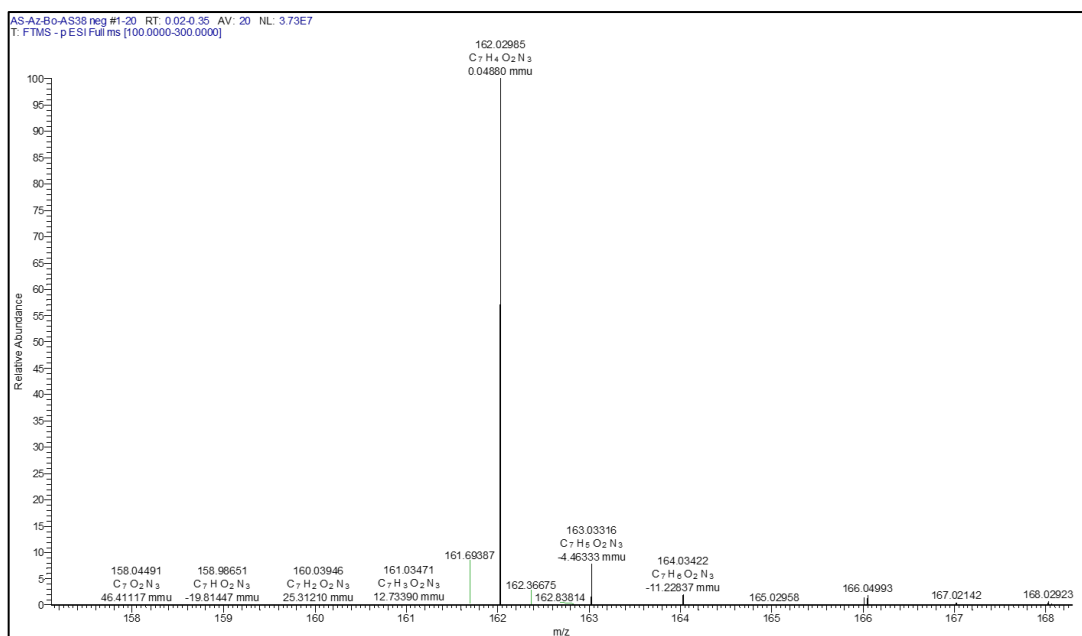
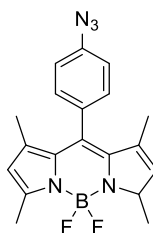


Abbildung 106 HR-MS (ESI) von Verbindung **15**: 162,0299 [M-H].

8-(4-azidophenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-BODIPY 16**16** $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{BF}_2\text{N}_5$
366,1702 g/mol

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

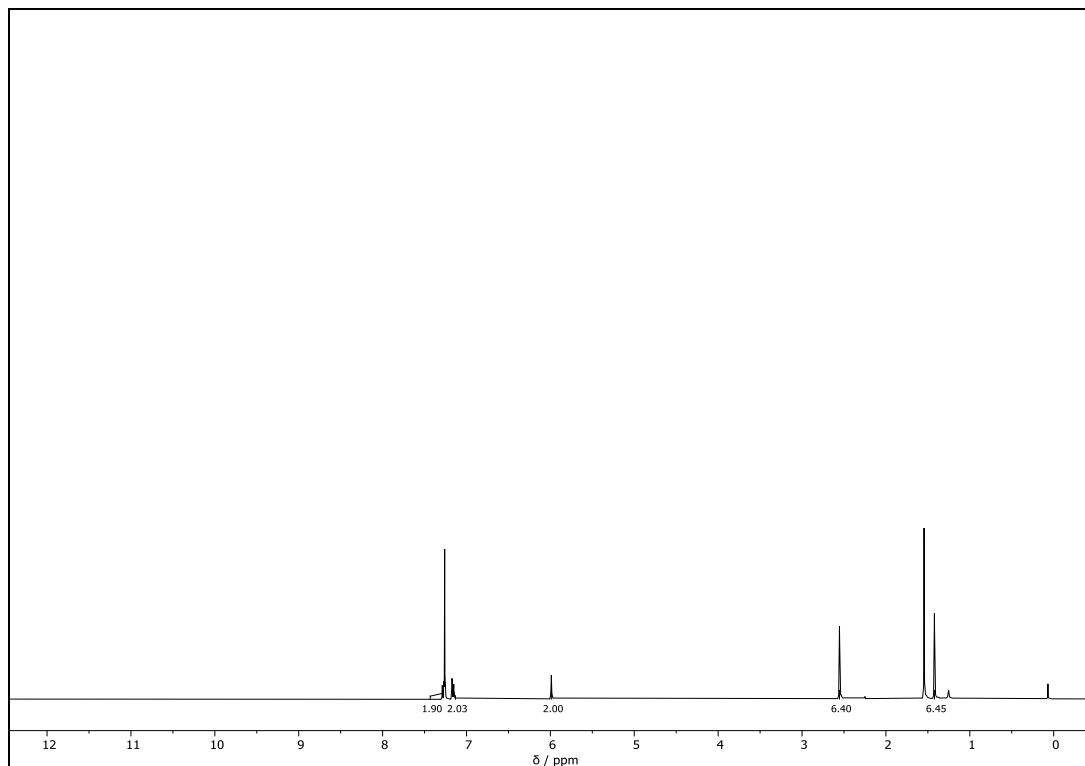


Abbildung 107 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO-d_6) von Verbindung **16**:

$\delta = 7.33$ (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.6$ Hz, 2H), 7.22 (d, $^3J_{\text{H,H}} = 8.3$ Hz, 2H), 6.05 (s, 2H), 2.61 (s, 6H), 1.48 (s, 6H).

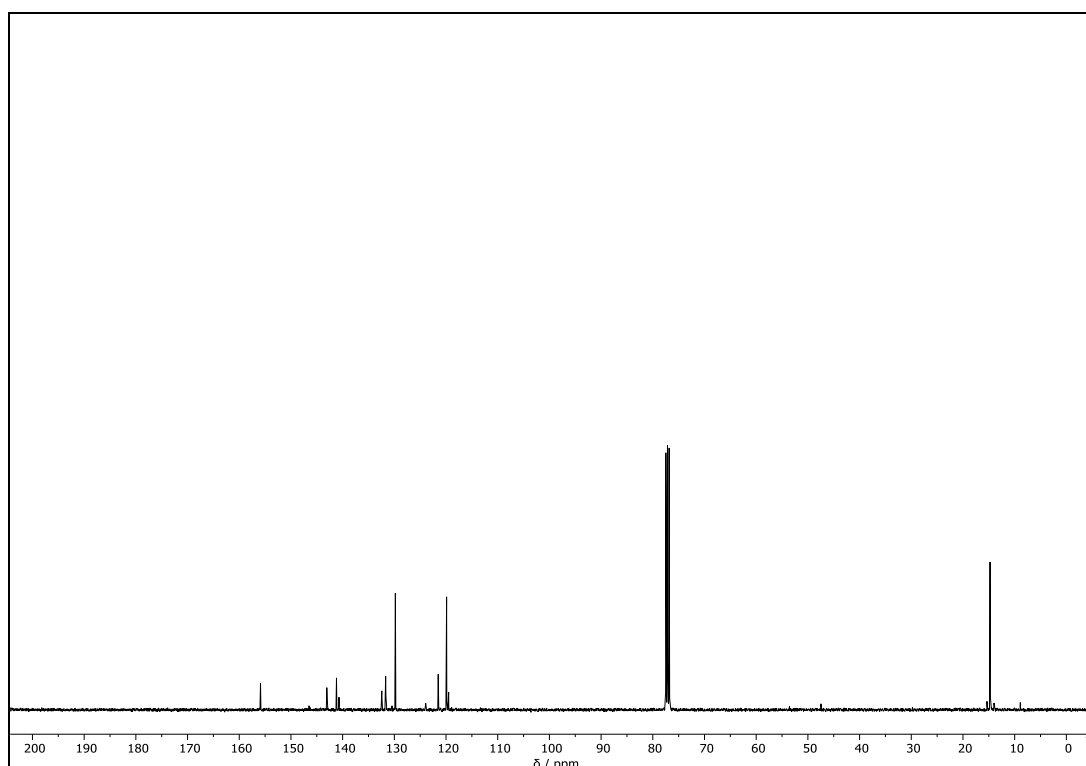


Abbildung 108 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung 16:
 $\delta = 155.89, 143.06, 141.19, 140.71, 131.65, 129.80, 121.50, 119.89, 14.76, 14.72.$

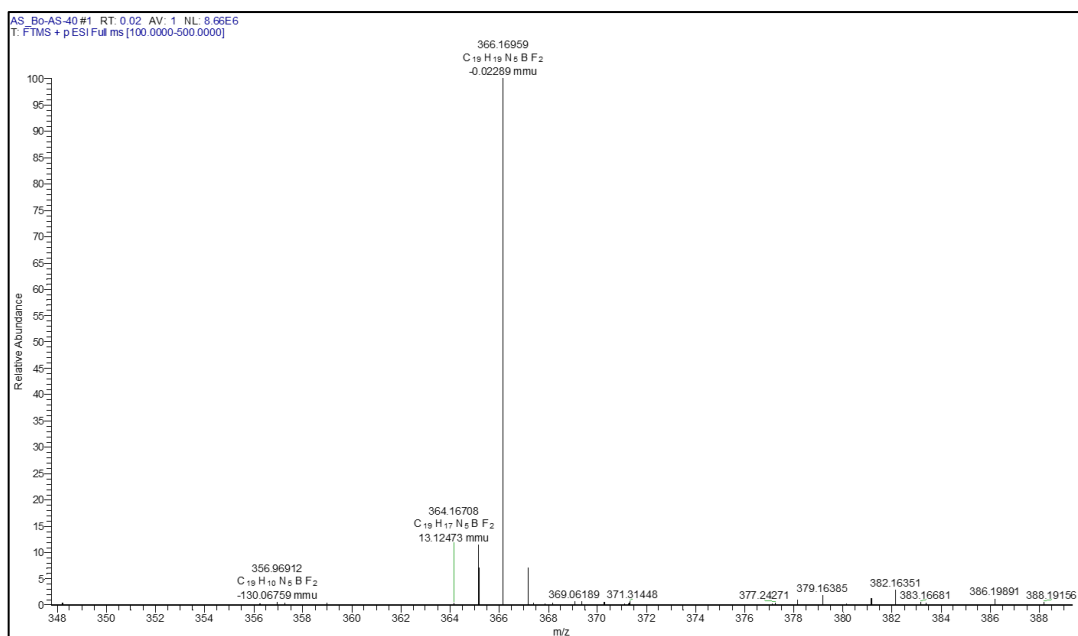
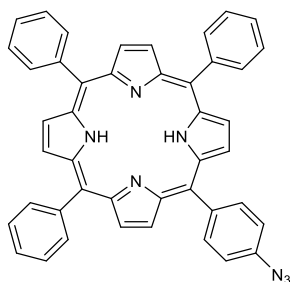


Abbildung 109 HR-MS (ESI) von Verbindung 16: 366,1696 [M]

5-(4-azidophenyl)-10,15,20-triphenylporphyrin 18

18
 $C_{44}H_{29}N_7$
655,2484 g/mol

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

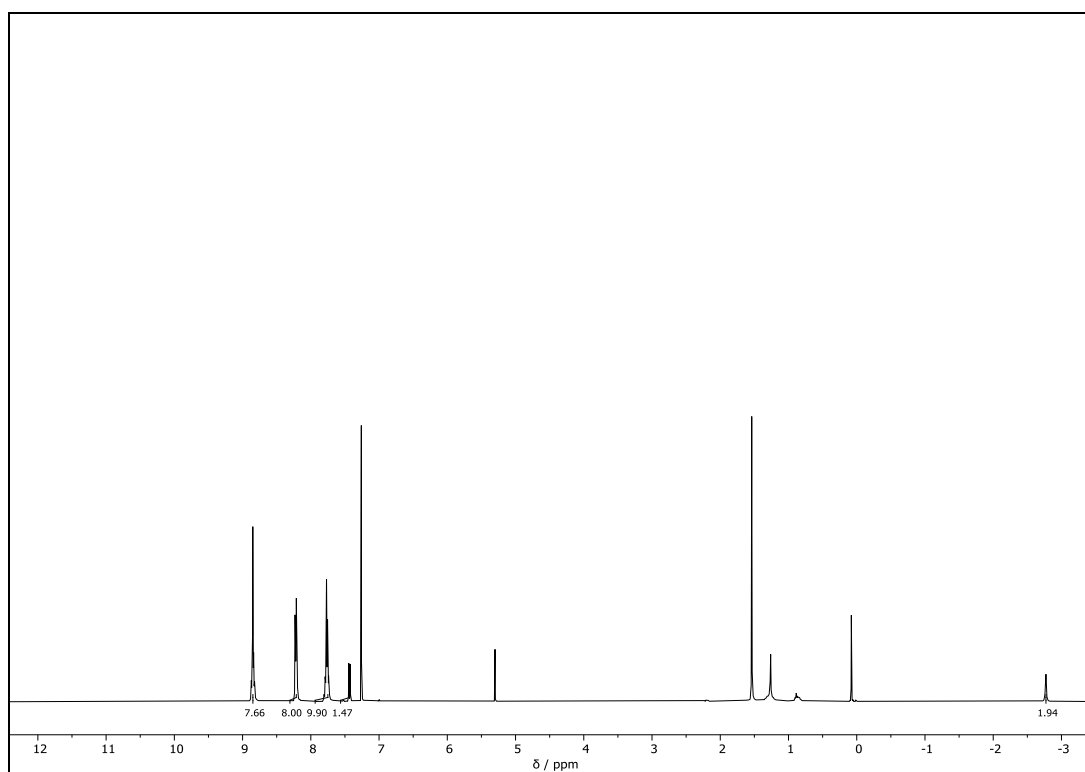


Abbildung 110 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung **18**:

δ = 8.84 (q, $^3J_{H,H}$ = 4.8 Hz, 8H), 8.26-8.17 (m, 8H), 7.79-7.71 (m, 10H), 7.47-7.40 (m, 1H), -2.77 (s, 2H).

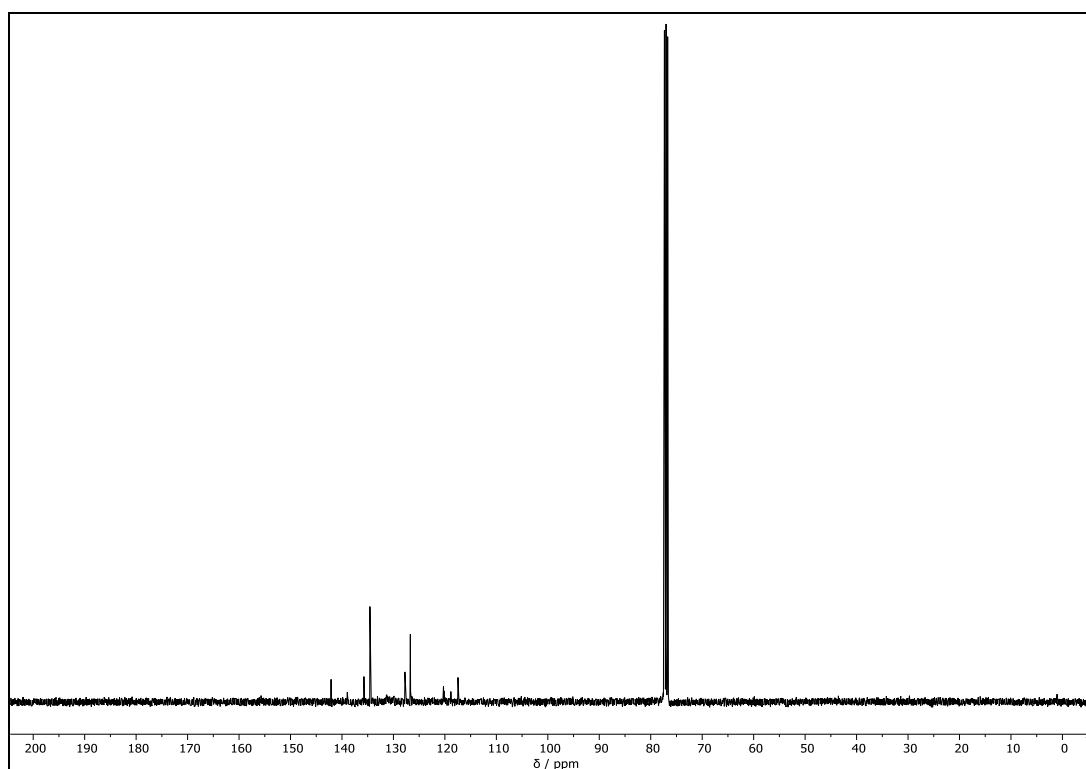


Abbildung 111 ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) von Verbindung **18**:
 δ = 142.15, 135.73, 134.57, 127.77, 126.71, 120.27, 117.46.

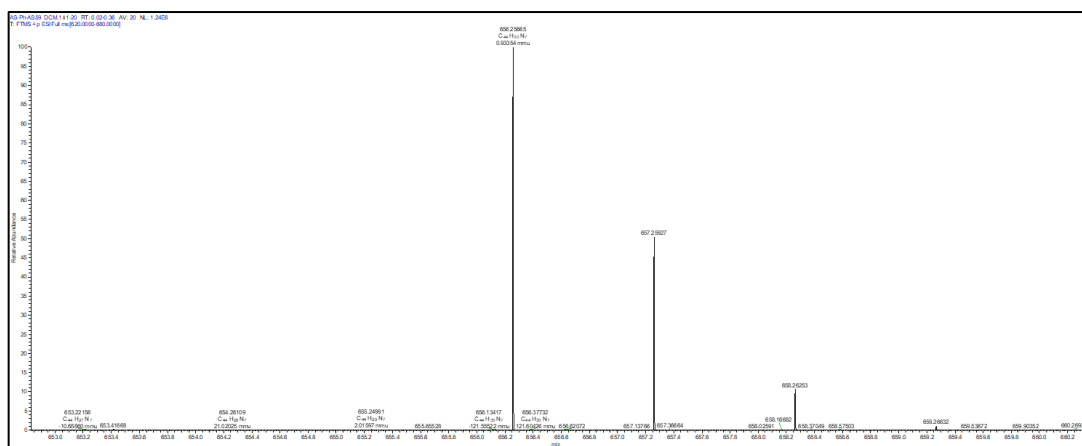
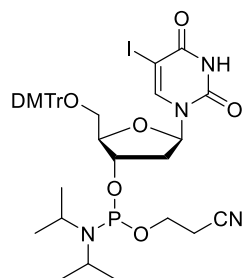


Abbildung 112 HR-MS (ESI) von Verbindung **18**: 656,25665 [M+H].

5-Iod-5'-dimethoxytrityl-2'-desoxyuridinphosphoramidit 19



19

$C_{39}H_{46}IN_4O_8P$
856,2098 g/mol

Die analytischen Daten stimmen mit der Literatur überein.

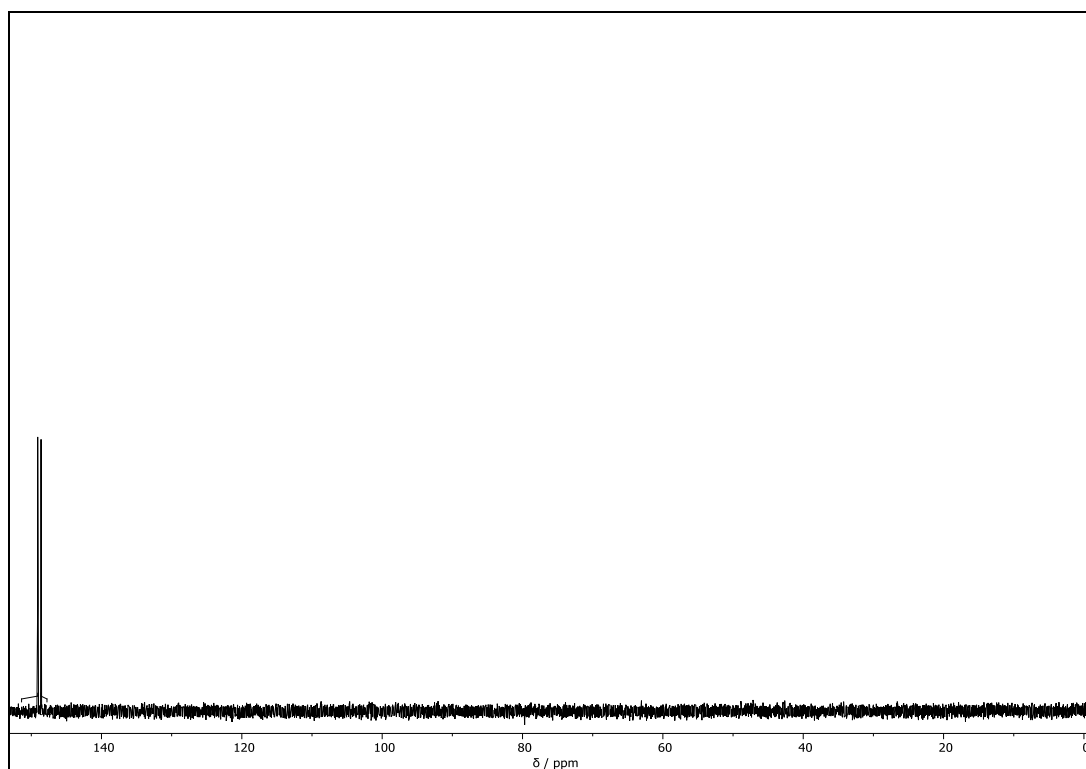


Abbildung 113 ^{31}P -NMR (162 MHz, THF- d_8) von Verbindung **19**: δ = 149.14, 148.59.

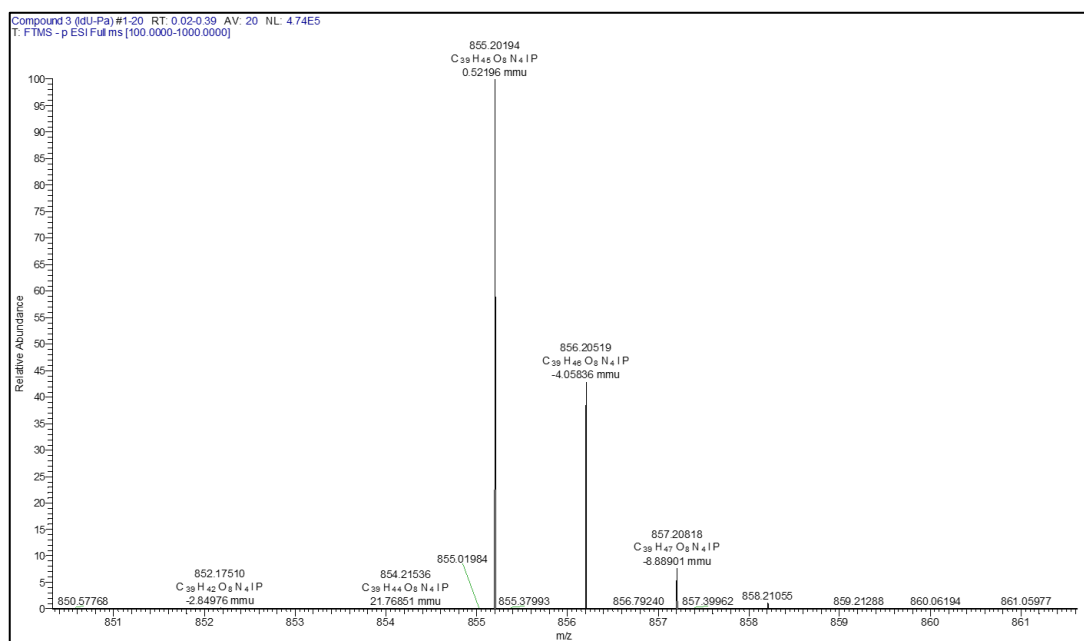


Abbildung 114 HR-MS (ESI) von Verbindung 19: 855,2019 [M-H], 856,2051, 857,2081 [M+H].

7.2 sonstige Analytik

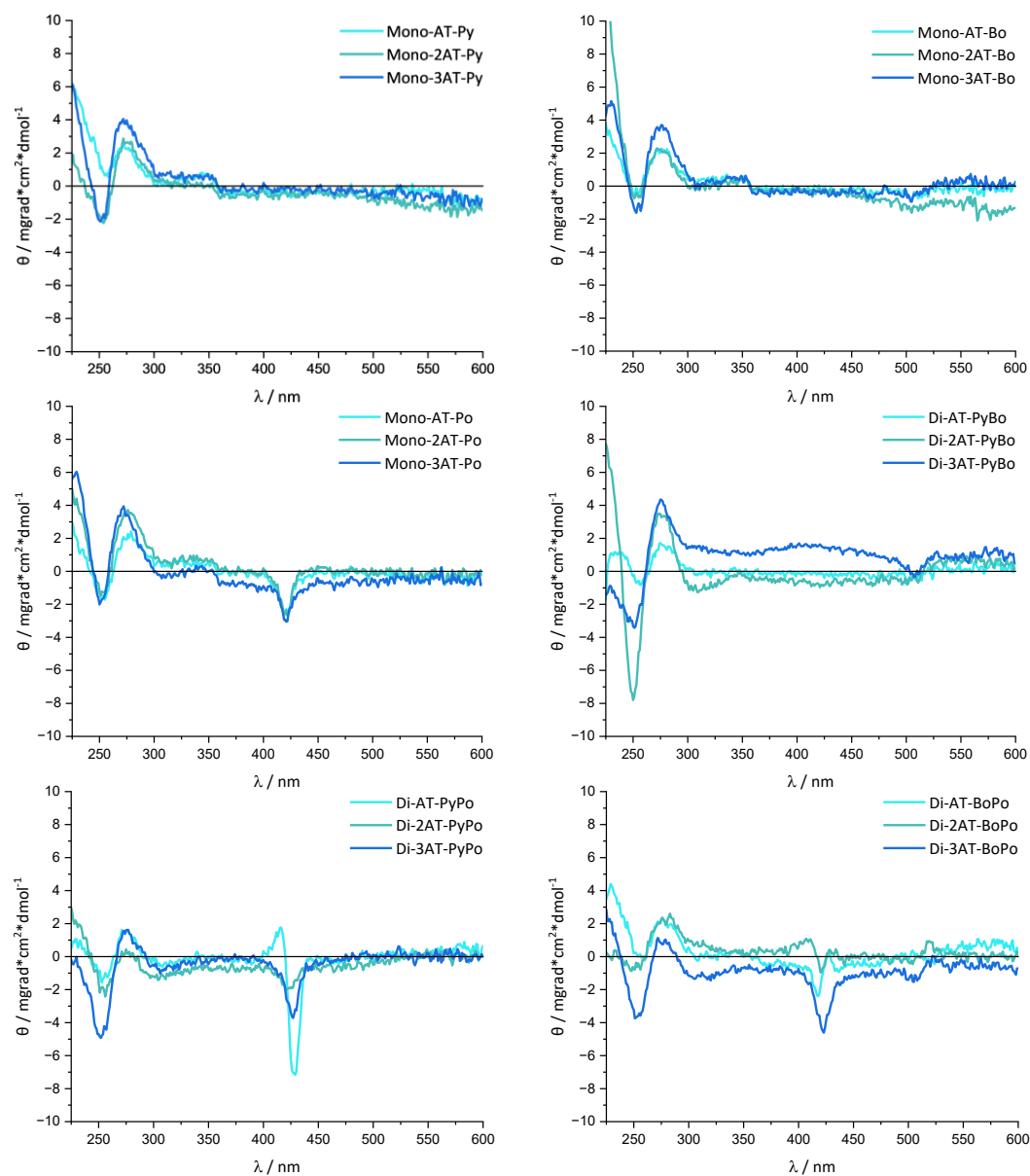


Abbildung 115 CD-Spektren der Mono- und Di-modifizierten Oligonukleotide (2,50 μM , 10 mM NaP_i -Puffer, 250 mM NaCl, pH=7).

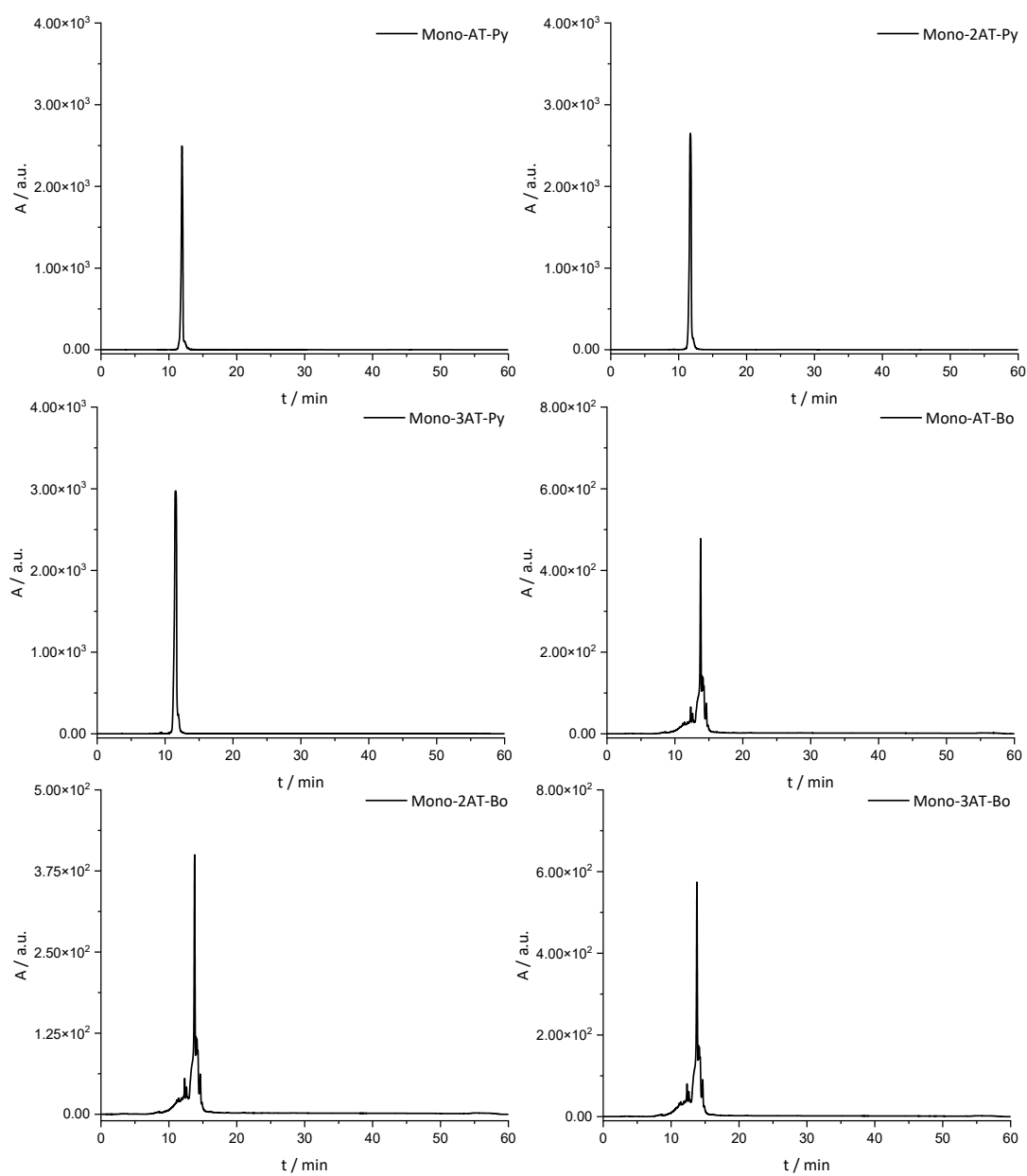


Abbildung 116 Analytische HPLC-Läufe der modifizierten Oligonukleotide ($\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm}$).

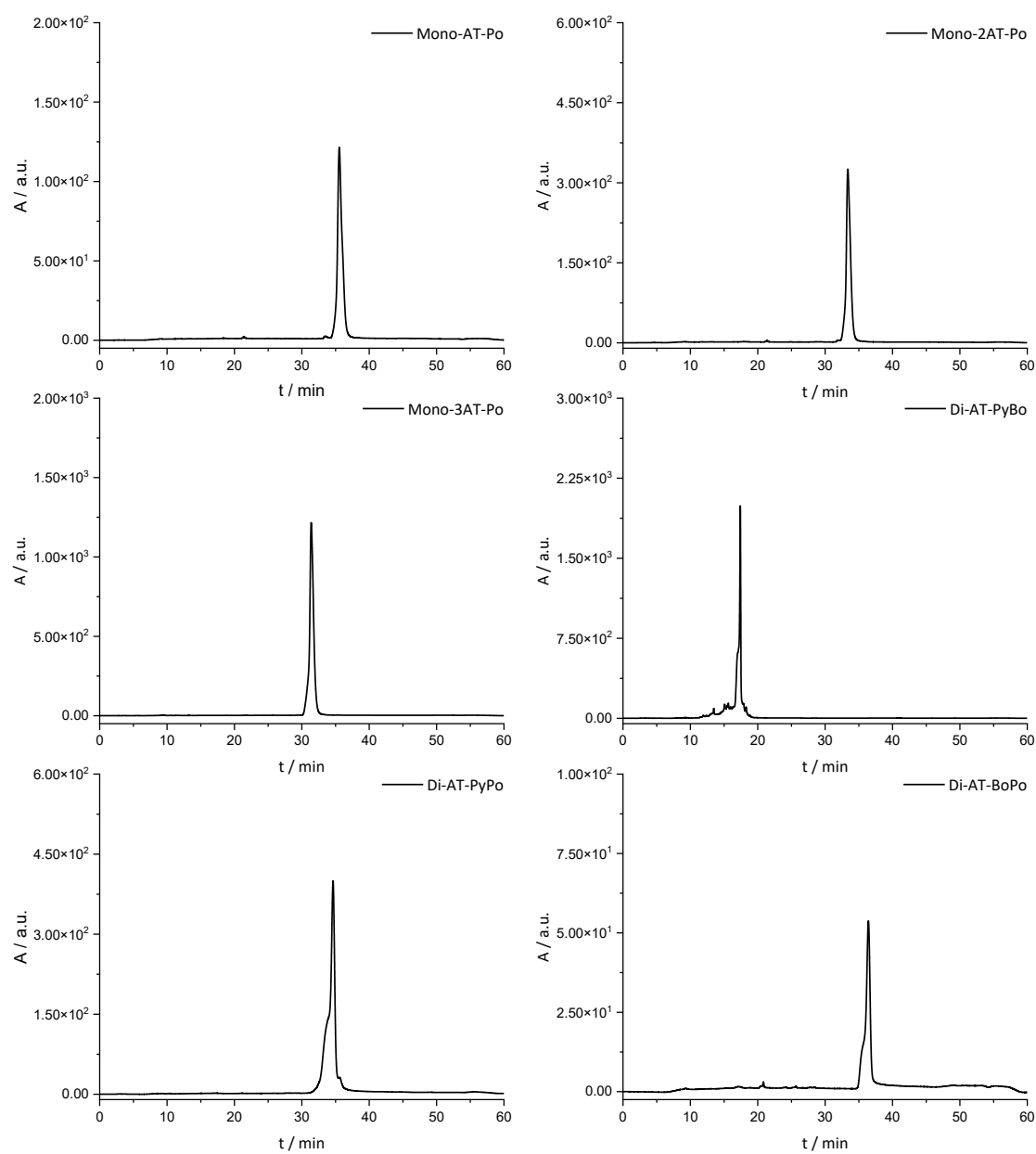


Abbildung 117 Analytische HPLC-Läufe der modifizierten Oligonukleotide ($\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm}$).

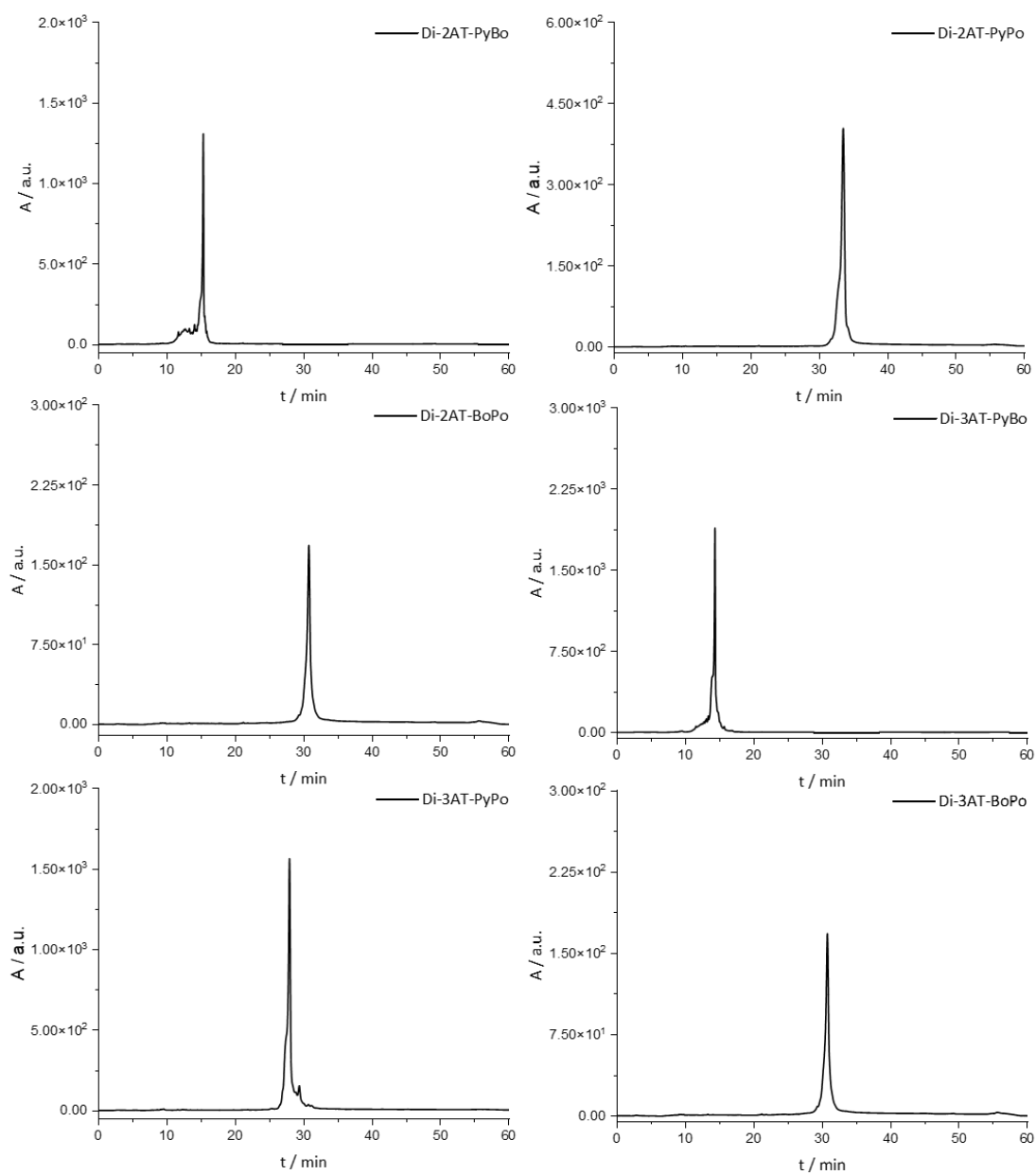


Abbildung 118 Analytische HPLC-Läufe der modifizierten Oligonukleotide ($\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm}$).

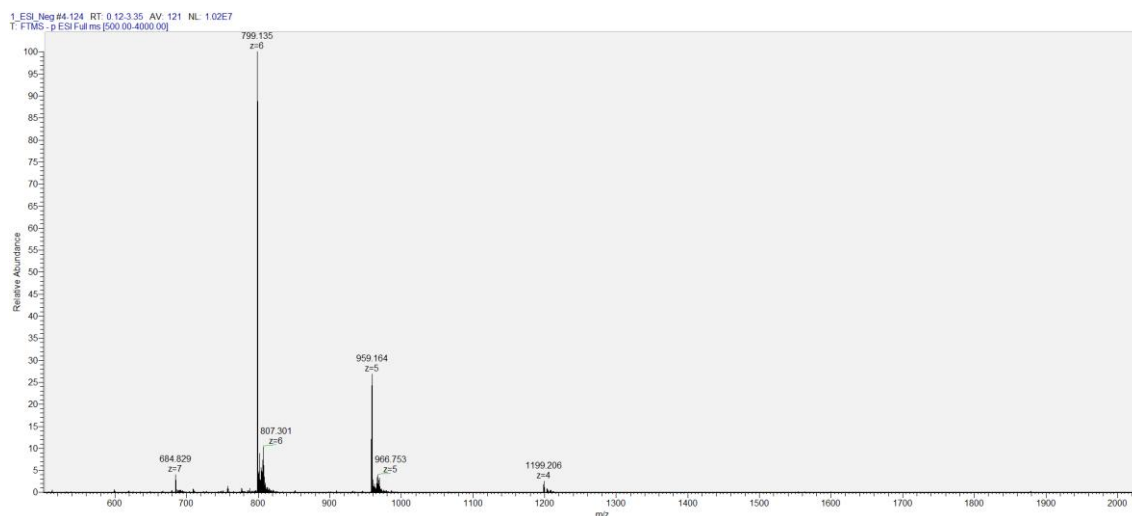


Abbildung 119 HR-MS (ESI) von Mono-AT-Py (berechnet $C_{165}H_{197}N_{50}O_{93}P_{14}$: $4799.86 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $4800.86 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $4800.86 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$, $4800.86 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-5H]^{-5}$, $4800.86 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-4H]^{-4}$.

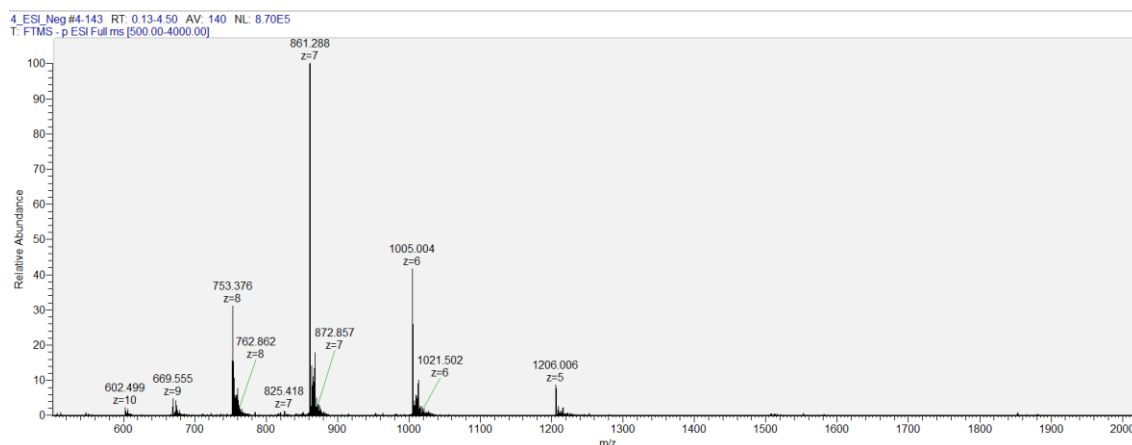


Abbildung 120 HR-MS (ESI) von Mono-2AT-Py (berechnet $C_{205}H_{246}N_{64}O_{117}P_{18}$: $6033.05 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $6035.07 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $6036.07 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $6036.07 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$, $6035.07 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-5H]^{-5}$.

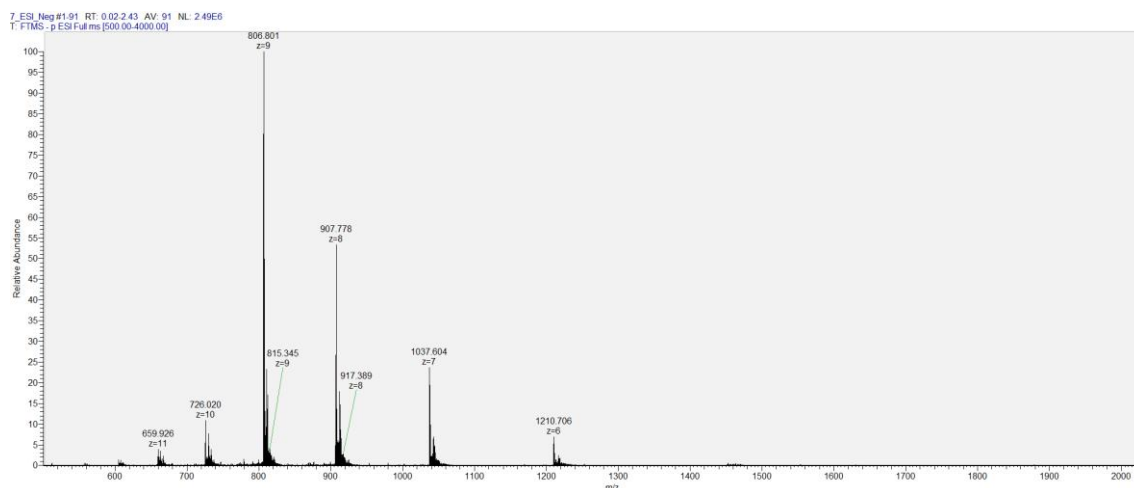


Abbildung 121 HR-MS (ESI) von Mono-3AT-Py (berechnet $C_{245}H_{297}N_{78}O_{141}P_{22}$: $7268.27 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: $7270.28 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $7270.28 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $7270.28 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $7270.28 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$.

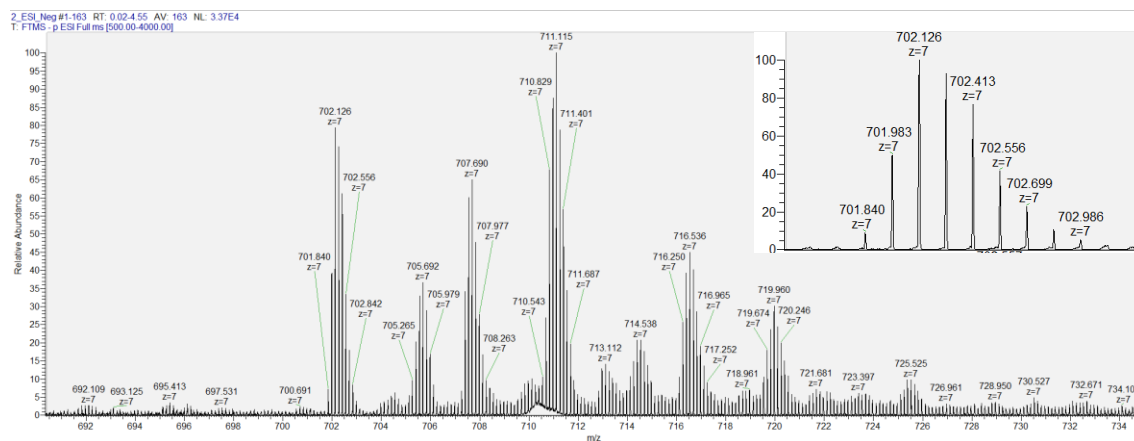


Abbildung 122 HR-MS (ESI) von Mono-AT-Bo (berechnet $C_{168}H_{205}BF_2N_{52}O_{93}P_{14}$: $4920.93 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: $4921.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$.

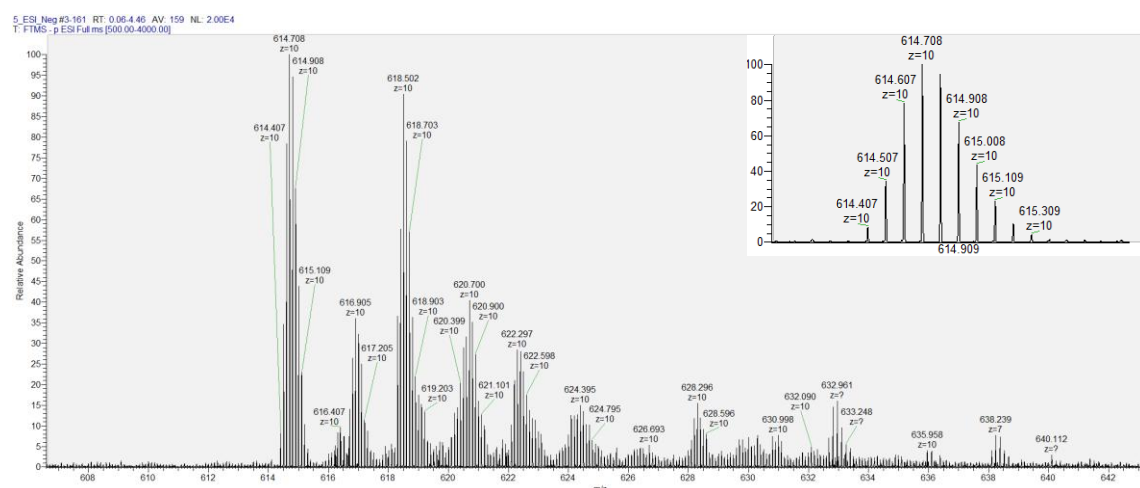


Abbildung 123 HR-MS (ESI) von Mono-2AT-Bo

(berechnet $C_{208}H_{255}BF_2N_{66}O_{117}P_{18}$: $6155.18 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: $6157.16 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$.

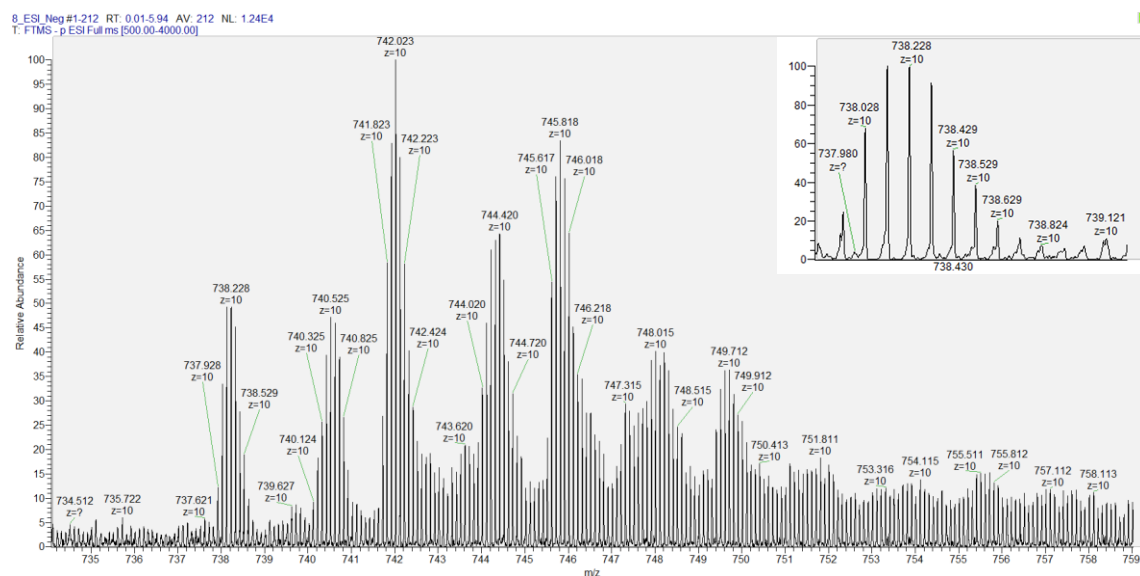


Abbildung 124 HR-MS (ESI) von Mono-3AT-Bo

(berechnet $C_{248}H_{305}BF_2N_{80}O_{141}P_{22}$: $7389.34 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: $7392.36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$.

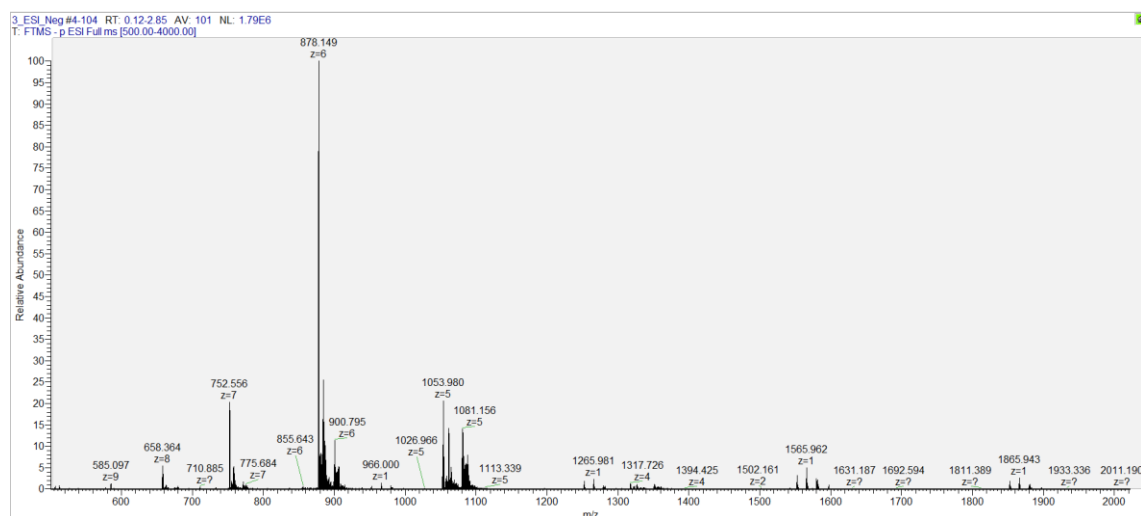


Abbildung 125 HR-MS (ESI) von Mono-AT-Po (berech. $C_{193}H_{215}CuN_{54}O_{93}P_{14}$: $5272.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $5274.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $5274.97 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $5274.95 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $5274.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$.

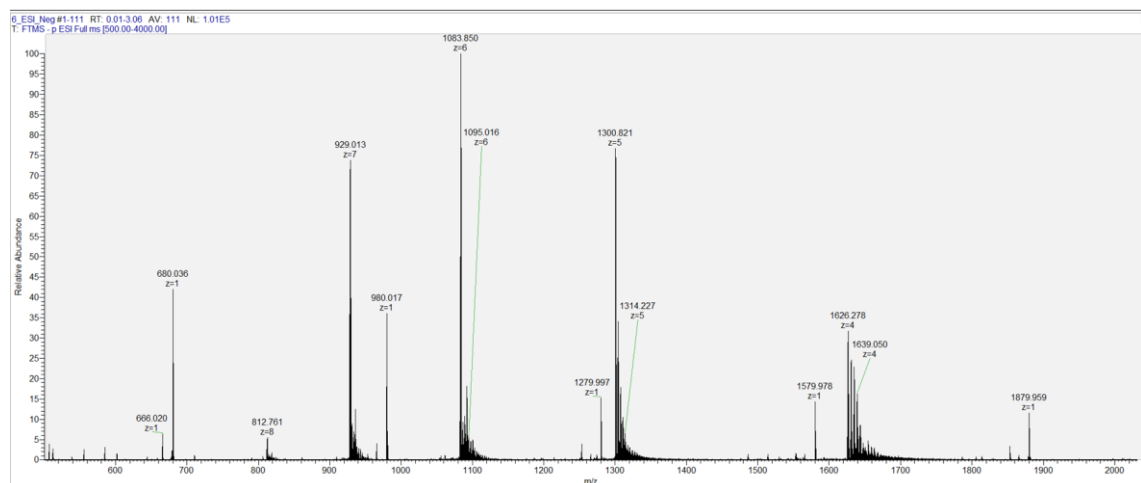


Abbildung 126 HR-MS (ESI) von Mono-2AT-Po (berech. $C_{233}H_{265}CuN_{68}O_{117}P_{18}$: $6507.15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $6510.15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $6510.15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $6509.15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$, $6509.15 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-5H]^{-5}$, $6509.14 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-4H]^{-4}$.

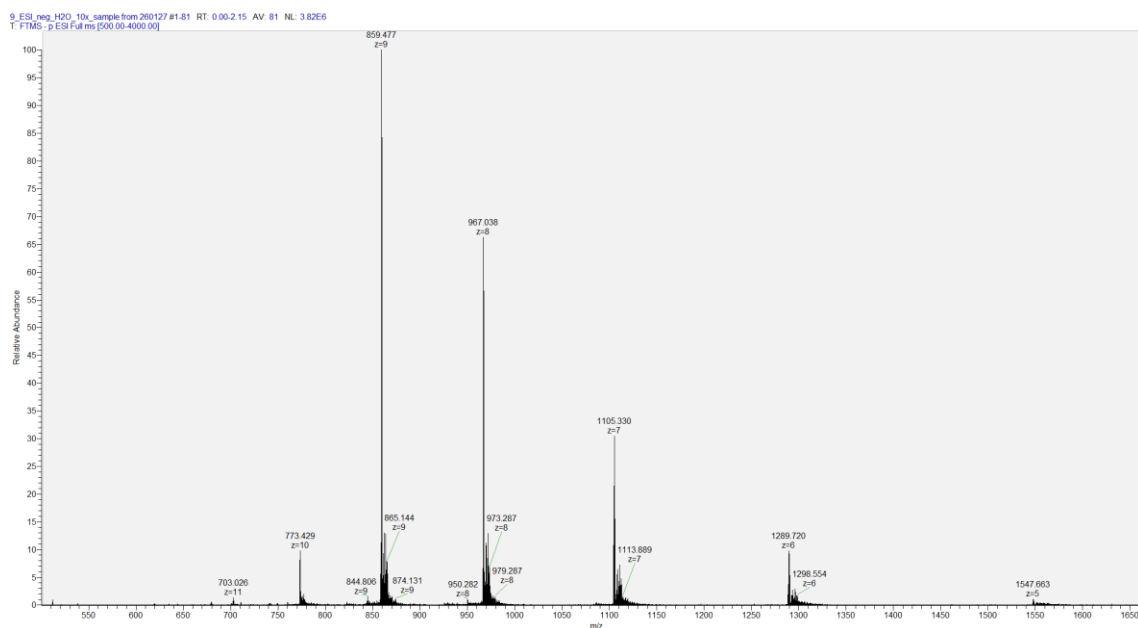


Abbildung 127 HR-MS (ESI) von Mono-3AT-Po (berech. $C_{273}H_{315}CuN_{82}O_{141}P_{22}$: $7743.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $7744.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $7744.36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $7744.36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
 ^{1} aus $[M-8H]^{-8}$, $7744.36 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $7744.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$.

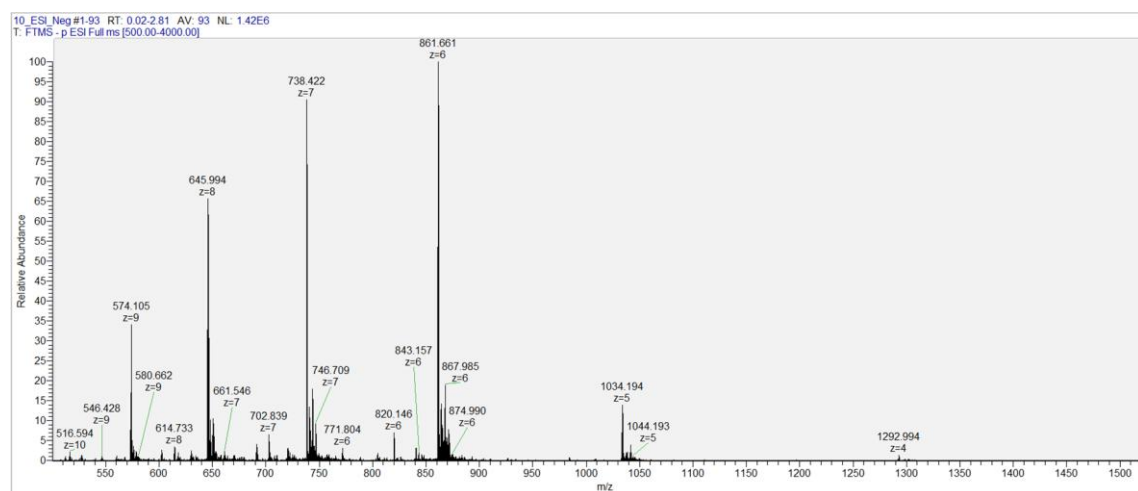


Abbildung 128 HR-MS (ESI) von Di-AT-PyBo (berechnet $C_{185}H_{212}BF_2N_{55}O_{93}P_{14}$: $5173.99 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $5176.02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $5176.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$, $5176.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$,
 $5176.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$, $5176.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-5H]^{-5}$.

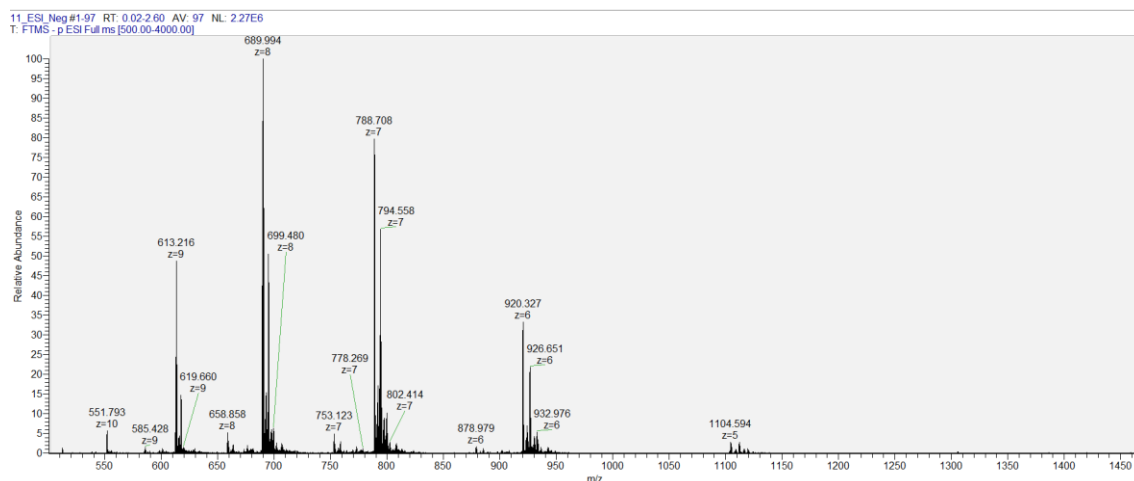


Abbildung 129 HR-MS (ESI) von Di-AT-PyPo (berechnet $C_{210}H_{223}CuN_{57}O_{93}P_{14}$: $5527.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
aus $[M-8H]^{-8}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$.

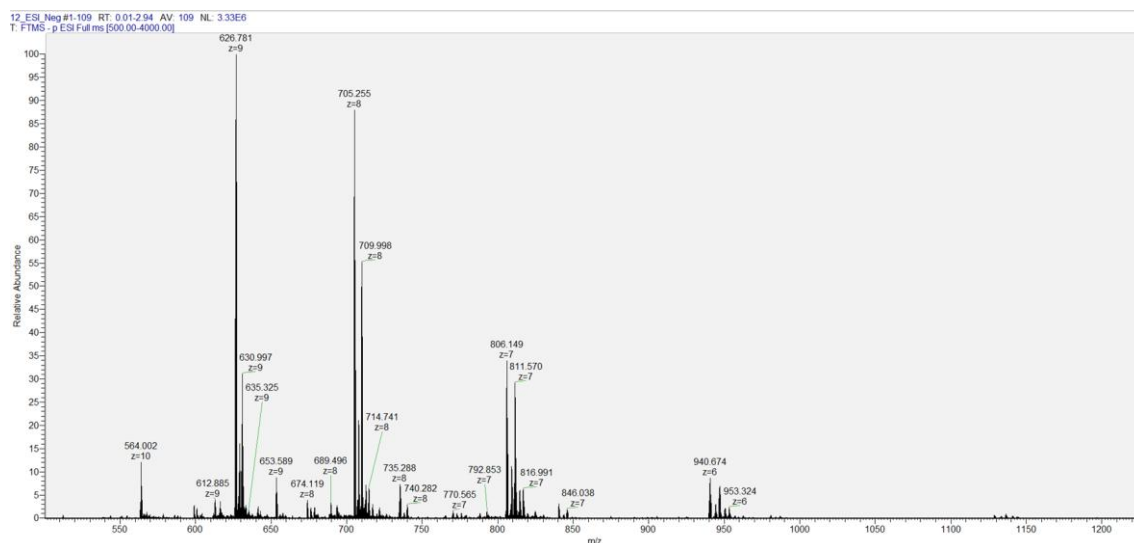


Abbildung 130 HR-MS (ESI) von Di-AT-BoPo (berech. $C_{213}H_{230}BF_2N_{59}O_{93}P_{14}Cu$: $5647.08 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $5650.10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $5650.10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $5650.10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
aus $[M-8H]^{-8}$, $5650.10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$, $5650.10 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-6H]^{-6}$.

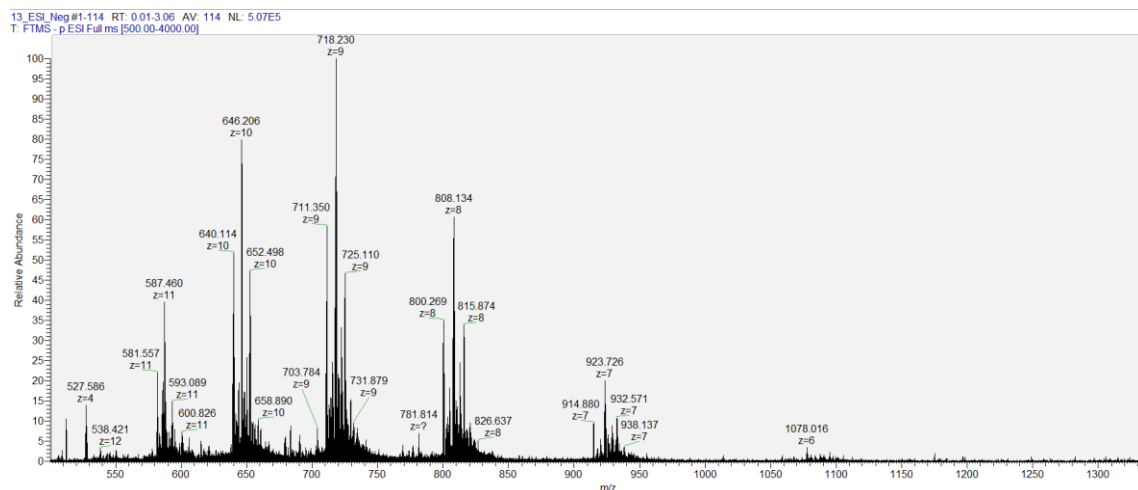


Abbildung 131 HR-MS (ESI) von Di-2AT-PyBo (berech. $C_{225}H_{262}BF_2N_{69}O_{117}P_{18}$: $6408.20 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $6411.22 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $6411.22 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $6411.22 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
aus $[M-8H]^{-8}$, $6411.21 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-7H]^{-7}$.

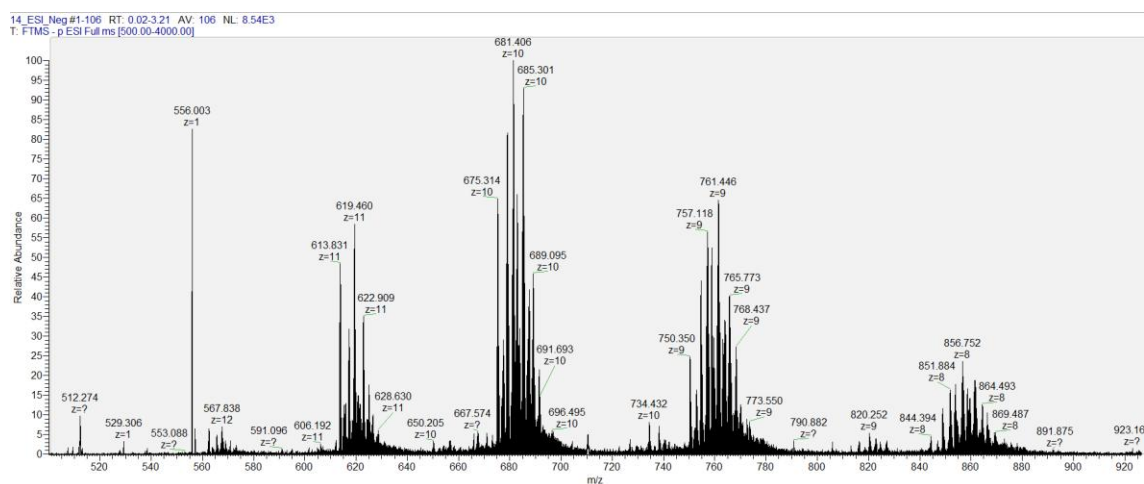


Abbildung 132 HR-MS (ESI) von Di-2AT-PyPo (berech. $C_{240}H_{271}CuN_{71}O_{117}P_{18}$: $6759.20 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);
gefunden: $6763.23 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-11H]^{-11}$, $6763.23 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $6762.22 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
aus $[M-9H]^{-9}$, $6763.21 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-8H]^{-8}$.

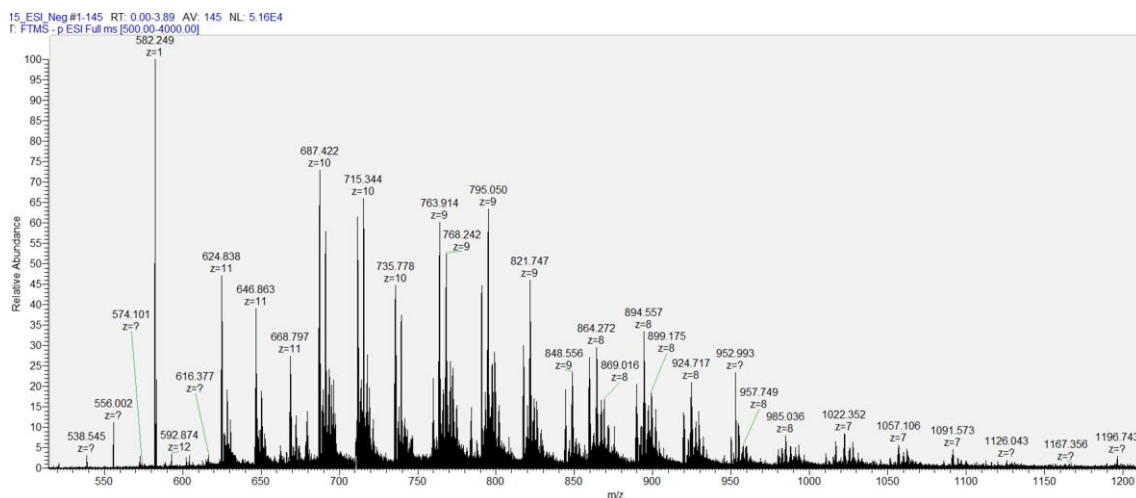


Abbildung 133 HR-MS (ESI) von Di-2AT-BoPo

(berechnet $C_{253}H_{280}BF_2N_{73}O_{117}P_{18}Cu$: $6881.28 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gef.: $6884.30 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-11H]^{-11}$, $6884.30 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $6884.30 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$.

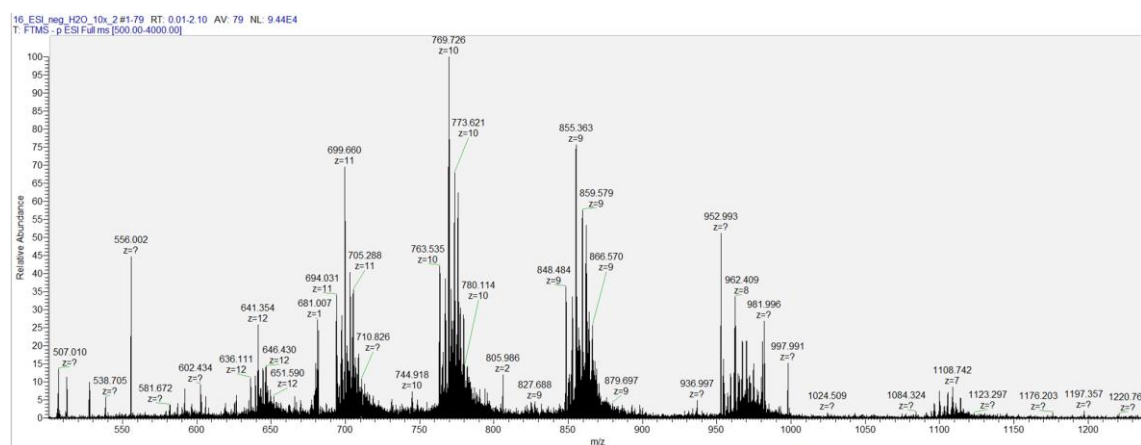


Abbildung 134 HR-MS (ESI) von Di-3AT-PyBo (berech. $C_{265}H_{315}BF_2N_{83}O_{141}P_{22}$: $7645.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$);

gef.: $7645.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-12H]^{-12}$, $7645.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-11H]^{-11}$, $7645.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$, $645.43 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$.

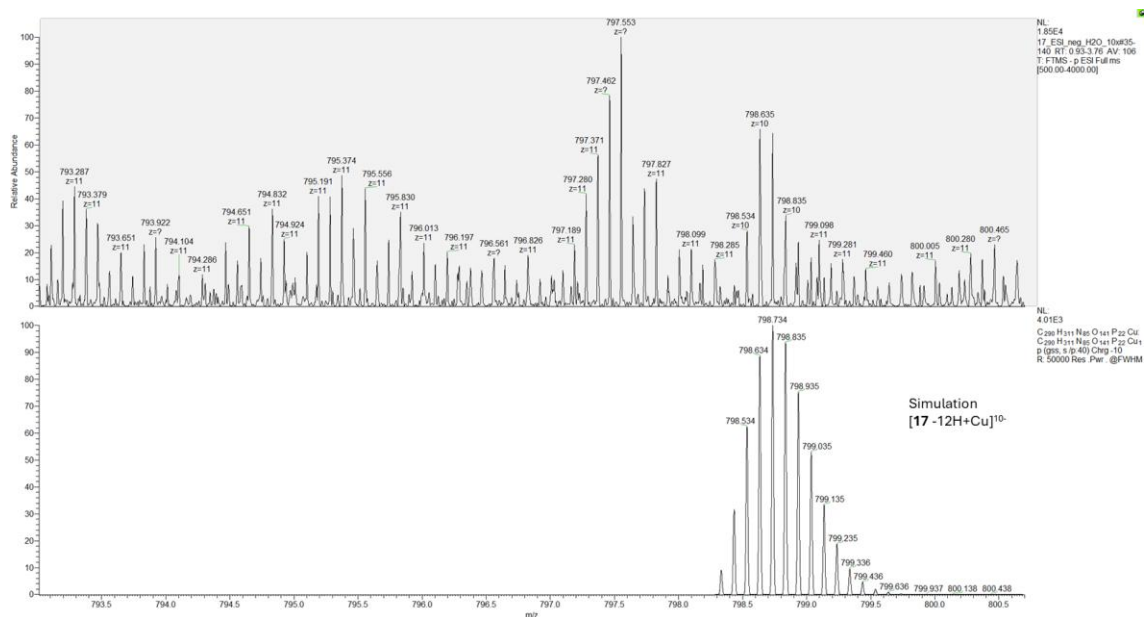


Abbildung 135 HR-MS (ESI) von Di-3AT-PyPo (berech. $C_{290}H_{323}CuN_{85}O_{141}P_{22}$: $7995.42 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$); gefunden: $7996.43 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$.

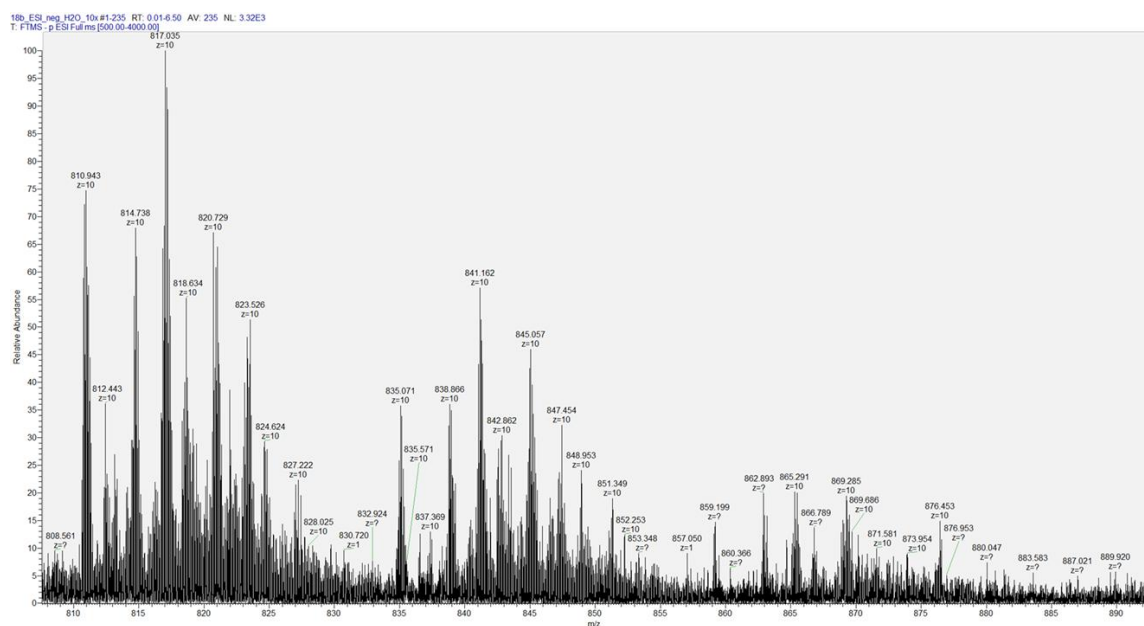


Abbildung 136 HR-MS (ESI) von Di-3AT-BoPo (ber. $C_{293}H_{333}BCuF_2N_{87}O_{141}P_{22}$: $8118.51 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$); gefunden: $8119.51.43 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ aus $[M-10H]^{-10}$.

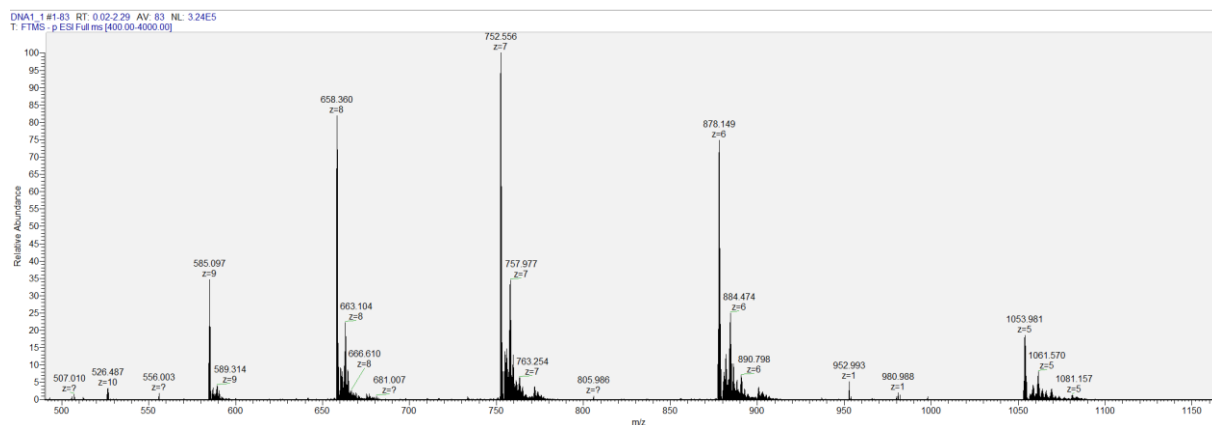


Abbildung 137 HR-MS (ESI) von in situ Mono-AT-Po (berechnet für $C_{193}H_{215}CuN_{54}O_{93}P_{14}$: $5272.938 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: $5274.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ aus $[M-9H]^{-9}$, $5274.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-8H]^{-8}$, $5274.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-7H]^{-7}$, $5274.94 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-6H]^{-6}$).

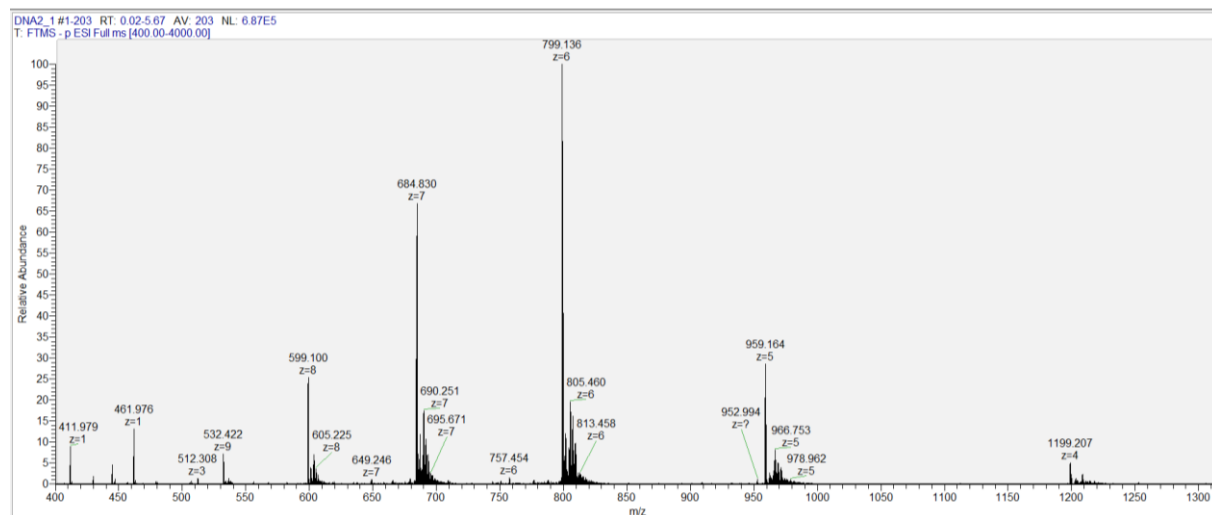


Abbildung 138 HR-MS (ESI) von in situ Mono-AT-Py (berechnet für $C_{165}H_{197}N_{50}O_{93}P_{14}$: $4799.855 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: $4800.86 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-8H]^{-8}$, $4800.86 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-7H]^{-7}$, $4800.86 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-6H]^{-6}$, $4800.86 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-5H]^{-5}$).

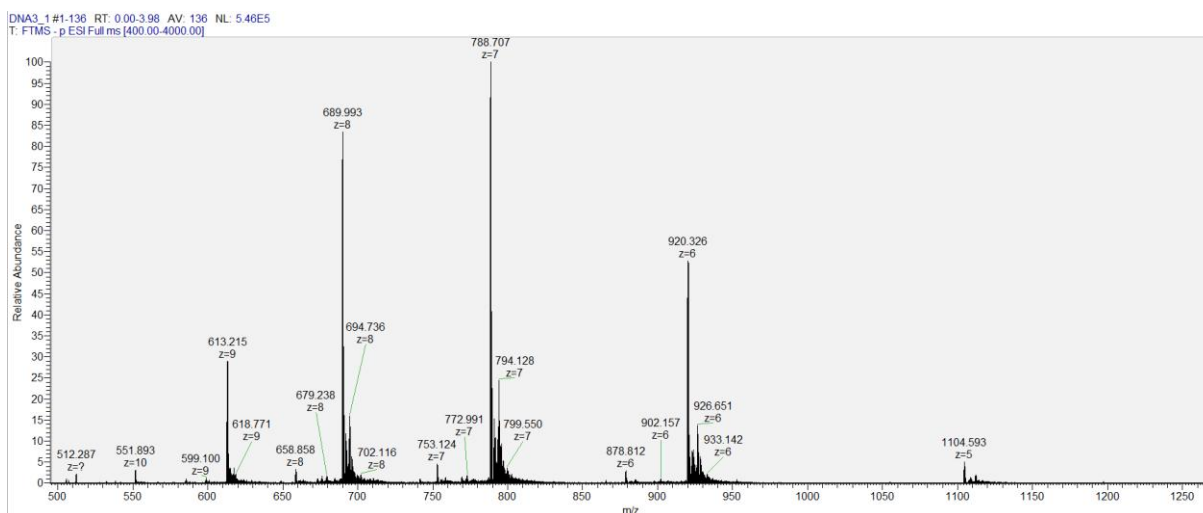


Abbildung 139 HR-MS (ESI) von in situ Di-AT-PyPo (berechnet für $C_{210}H_{222}CuN_{57}O_{93}P_{14}$: $5526,002 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$); gefunden: $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-9H]^{-9}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-8H]^{-8}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-7H]^{-7}$, $5528.01 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ $[M-6H]^{-6}$.

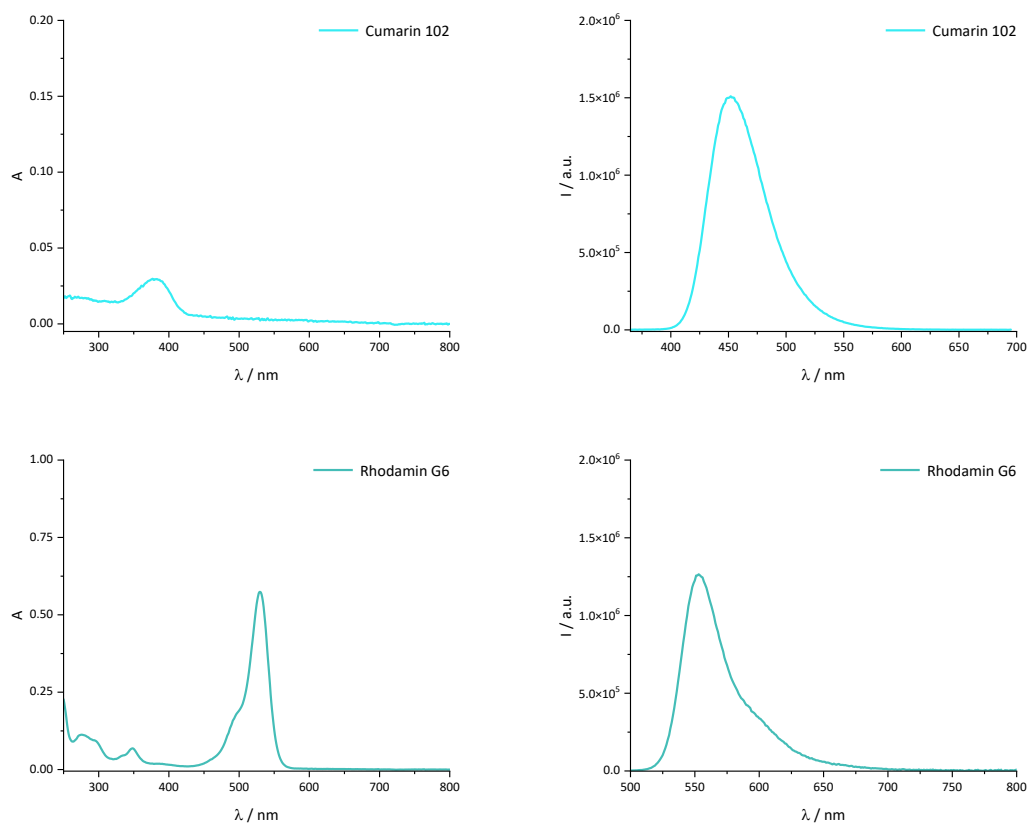


Abbildung 140 UV/Vis-Absorptions- und Fluoreszenzspektren von **Cumarin 102** (oben) und **Rhodamin G6** (unten) zur Bestimmung der Fluoreszenzquantenausbeuten Φ_F .

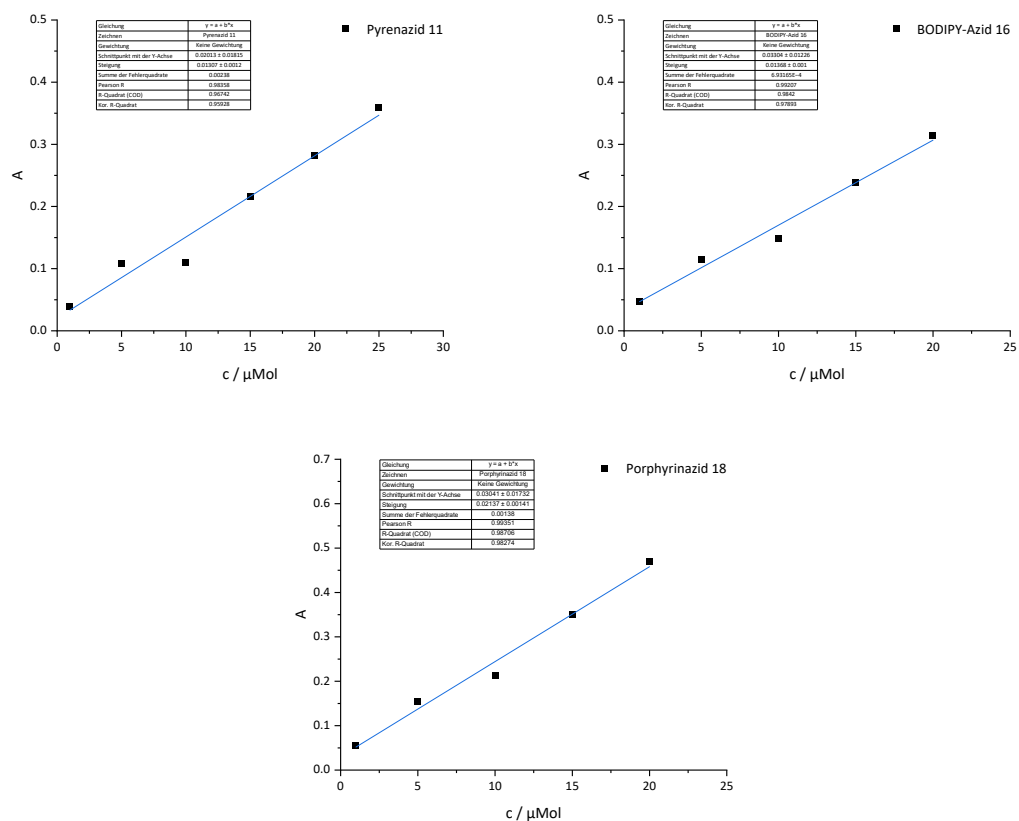


Abbildung 141 Bestimmung der Extinktionskoeffizienten von Pyrenazid **11**, BODIPY-Azid **16** und Porphyrinazid **18** bei $\lambda = 260$ nm.

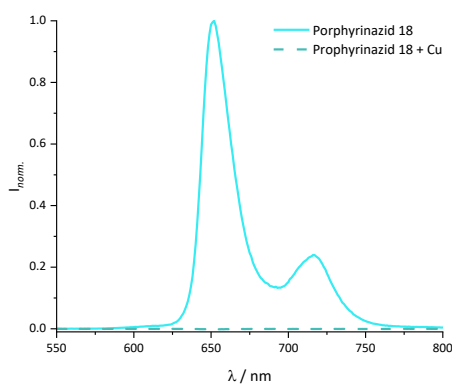


Abbildung 142 Fluoreszenzspektren der Insertionsversuche von Kupfer in Porphyrinazid **18**.

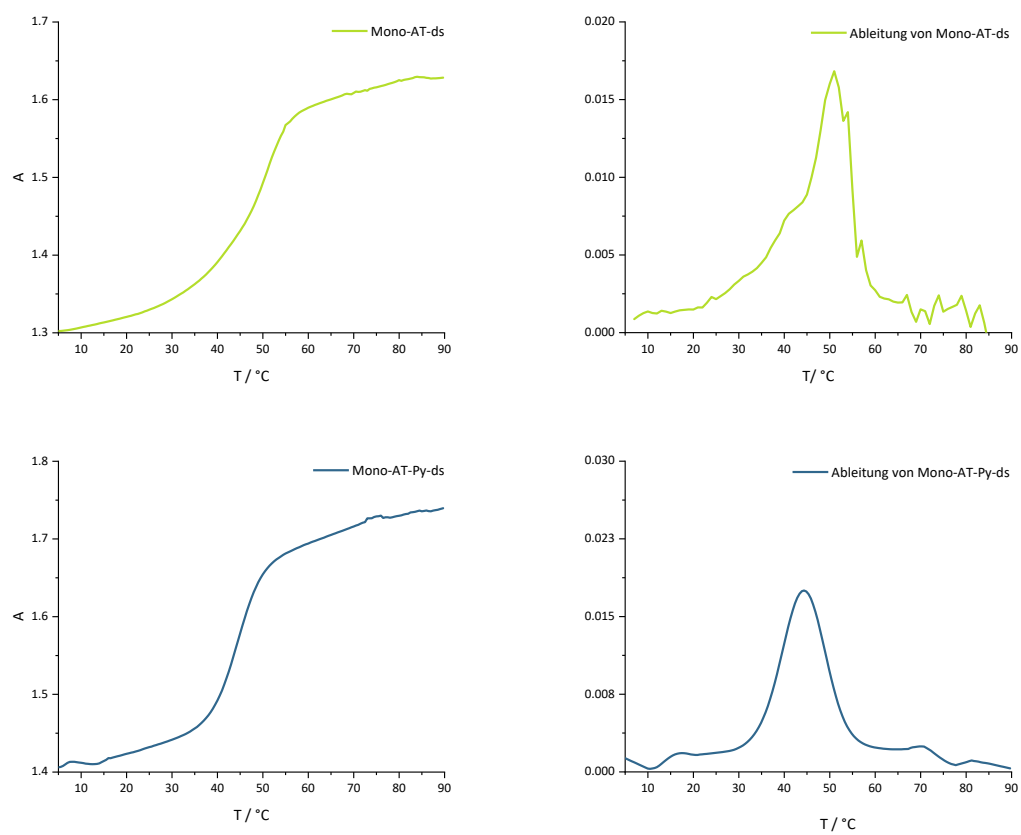


Abbildung 143 Schmelzpunktbestimmung von **Mono-AT-ds** (oben) und **Mono-AT-Py** (unten).

7.3 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht für die wertvolle Unterstützung während meiner Promotion und seiner stets offene Bürotür. Vielen Dank für die zahlreichen Gespräche über die Wissenschaft und darüber hinaus, in denen Sie mir stets ihr Verständnis und Vertrauen entgegengebracht haben. Ihre rücksichtsvolle Art in Hinblick auf meine Lebenssituation wird meiner kleinen Familie immer in bester Erinnerung bleiben.

Vielen Dank an Prof. Dr. Michael Meier für die Übernahme des Korreferats und den daraus resultierenden wissenschaftlichen Austausch.

Ich möchte mich beim Verband der chemischen Industrie (VCI) für die finanzielle Förderung im Rahmen des Kekulé-Stipendiums bedanken.

Danke an alle aktuellen und ehemaligen Mitglieder des Arbeitskreis Wagenknecht und darüber hinaus. Im Speziellen möchte ich mich bedanken bei:

Claudia Sommer und Ariane Kahl für die Unterstützung bei allen organisatorischen Problemen sowie ihrer herzlichen Art. Danke, dass ihr stets eine vertraute Anlaufstelle für mich wart.

Annette Hochgesandt, Lara Hirsch und Silas Leidenheimer für das Messen meiner Proben, das Bestellen zahlreicher Chemikalien und viele amüsante Gespräche.

Dr. Christin Bednarek für deine empathische Art und für die zahlreichen Gespräche über so ziemlich jedes Thema. Dr. Andreas Rapp für das schnelle Beheben aller NMR- und IT-Probleme. Dr. Patrick Weis für den wissenschaftlichen Austausch und seine ESI-Expertise.

Ein besonderer Dank gilt Lukas Frey für die jahrelange Freundschaft, das sorgfältige Korrekturlesen und die gemeinsamen Erlebnisse. Vielen Dank für die zahlreichen Momente, in denen wir uns gegenseitig vertraut und geholfen haben. Jonas Schmid möchte ich für die Übernahme einiger experimenteller Arbeiten während meiner Schreibphase, den wissenschaftlichen Austausch und das gewissenhafte Korrekturlesen danken. Gianna Jäger und Markus Bächt möchte ich von Herzen dafür danken, das ihr alte Strukturen aufgebrochen und frischen Wind in das Labor 204 gebracht habt.

Vielen Dank an meinen Auszubildenden Peter Mosur, meinen Vertiefestudenten Daniel Krauth und meine Bachelorandin Annabel Knispel für eure Mithilfe und das Interesse an den Projekten, die wir zusammen bearbeitet haben.

Ich danke meiner Familie und Freunden, die mir im Privaten und im Studium stets mit Rat und Tat zur Seite stehen. Vor allem möchte ich meinem besten Freund Armin Dedic, der mit seiner inneren Zufriedenheit und positiven Art stets ein Vorbild für mich ist danken.

Vielen Dank meiner Mutter, die mich in allen Lebenslagen unterstützt und gefördert hat. Danke für deine Liebe und ein unvergleichbares Vorbild. Es erfüllt mich mit Freude zu sehen, dass du anfängst das Leben zu genießen und die Sorgenfalten aus deinem Gesicht verschwinden.

Danke an meine Frau Stephanie für ihre Liebe, Verständnis und Unterstützung in allen Momenten unseres Lebens. Du hast mir gezeigt, dass hinter jedem starken Mann eine noch stärkere Frau steht. Ich freue mich auf alle kleinen und großen gemeinsamen Abenteuer.

Meiner kleinen Ida: Durch dich wird mir bewusst, dass ich der reichste Mensch auf dieser Welt bin. Ich liebe dich so sehr und hoffe, dass ich dich auf deinem Lebensweg so lange wie möglich begleiten darf!

7.4 Publikationen

Andreas J. Schmidt, Annabel M. L. Knispel, Hans-Achim Wagenknecht, „A *solid-phase click² strategy for chromophore–DNA conjugates and their application as a light harvesting system*“, *Chemical Communications*, **2026**, 62, 7111-7113.

7.5 Konferenzen und Seminare

- | | |
|---------|--|
| 09/2023 | XI. Nucleinsäurechemietreffen der DNG e.V. , Würzburg (Deutschland) |
| | Poster: <i>Synthesis of a hybridization-sensitive DNA base surrogate with dual fluorescence</i> |
| 05/2024 | XII. KOPO-Workshop , Bad Honnef (Deutschland) |
| | Poster: <i>Sequence specific synthesis of DNA-chromophore architectures as light harvesting systems</i> |
| 09/2024 | XXV. International Round Table der IS3NA , Tokio (Japan) |
| | Poster: <i>Sequence specific synthesis of DNA-chromophore architectures as light harvesting systems</i> |
| 09/2025 | XII. Nucleinsäurechemietreffen der DNG e.V. , Hamburg (Deutschland) |
| | Poster: <i>Design of DNA-chromophore architectures and their application as light harvesting systems</i> |
| 12/2025 | VCI-Workshop „Führungsethik“ , Lutherstadt Wittenberg (Deutschland) |

7.6 Lehrdeputat

SS23	organisch-chemisches Fortgeschrittenenpraktikum für Studierende der Chemie, Lebensmittelchemie, Biologie und Lehramt
WS23/24	organisch-chemisches Grundpraktikum für Studierende der Chemie, Lebensmittelchemie, Biologie und Lehramt
WS23/24	organisch-chemisches Fortgeschrittenenpraktikum für Studierende der Chemie, Lebensmittelchemie, Biologie und Lehramt
SS24	organisch-chemisches Fortgeschrittenenpraktikum für Studierende der Chemie, Lebensmittelchemie, Biologie und Lehramt
WS24/25	organisch-chemisches Grundpraktikum für Studierende der Chemie, Lebensmittelchemie, Biologie und Lehramt
WS24/25	organisch-chemisches Fortgeschrittenenpraktikum für Studierende der Chemie, Lebensmittelchemie, Biologie und Lehramt
SS25	organisch-chemisches Fortgeschrittenenpraktikum für Studierende der Chemie, Lebensmittelchemie, Biologie und Lehramt
WS25/26	organisch-chemisches Fortgeschrittenenpraktikum für Studierende der Chemie, Lebensmittelchemie, Biologie und Lehramt
SS26	organisch-chemisches Grundpraktikum für Studierende der Chemie, Lebensmittelchemie, Biologie und Lehramt
SS26	organisch-chemisches Fortgeschrittenenpraktikum für Studierende der Chemie, Lebensmittelchemie, Biologie und Lehramt

- SS25 Vertiefungspraktikum von Daniel Krauth:
 *„Untersuchungen von TIPS-EdU als orthogonaler DNA-Baustein für die
Click-Chemie“*
- SS25 Bachelorthesis von Annabel Knispel:
 „Design neuer DNA-Chromophor-Architekturen mittels Click-Chemie“
- 09/24-09/25 betriebliche Ausbildung (Chemielaborant) von Peter Mosur

8. Eidesstattliche Erklärung

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

Karlsruhe, den 10. Juni 2026

(Andreas Jürgen Schmidt)