

Neue Elektronentransfersysteme in DNA und Porphyrin-DNA-Konjugate

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

Fakultät für Chemie und Biowissenschaften
Karlsruher Institut für Technologie (KIT) – Universitätsbereich



genehmigte

DISSERTATION

von

Master of Science (M. Sc.)

Christian Wellner

aus Dorfbach, Niederbayern

KARLSRUHE 2014

Dekan: Prof. Dr. Peter Roesky

Referent: Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht

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

Tag der mündlichen Prüfung: 17. April 2014

für meine Liebsten



*"YOU MUST HAVE LONG-RANGE GOALS TO KEEP YOU FROM
BEING FRUSTRATED BY SHORT-RANGE FAILURES"*

CHARLES C. NOBLE

AMERIK. GENERALMAJOR UND INGENIEUR (1916 - 2003)

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde von Dezember 2010 bis März 2014 am Institut für Organische Chemie am Karlsruher Institut für Technologie unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht durchgeführt.

Ich möchte mich besonders bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht bedanken. Neben der ausgezeichneten Betreuung und Unterstützung, der wissenschaftlichen Freiheit, der sehr guten Arbeitsatmosphäre, bot er mir die Gelegenheit nach Karlsruhe ans KIT zu wechseln, um hier neue Dinge, Orte und Menschen kennen und schätzen zu lernen.

Bei folgenden Personen möchte ich mich im Speziellen bedanken:

- ❖ Bei Privatdozent Dr. Andreas-Neil Unterreiner vom Institut für Physikalische Chemie des KITs für die gute Zusammenarbeit und Durchführung der transienten Absorptionsmessungen. Im Einzelnen sind hier Dr. Yu Liang und Hanna Ernst zu nennen, die die Messungen durchgeführt haben.
- ❖ Bei Herrn Dr. Thomas Hirsch am Arbeitskreis Wolfbeis (Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik, Universität Regensburg) für die Bereitstellung von Upconversion Nanopartikel. Bei Stefan Wilhelm für die Synthese und Hilfe bei Fragen zu Nanopartikeln.
- ❖ Bei Prof. Dr. Annemieke Madder von der Universität Gent für die Bereitstellung einiger Proben für die ersten DACA-Versuche mit Porphyrinen.
- ❖ Bei Privatdozent Dr. Patrick Weis für die ESI-Messungen einiger Porphyrinproben.
- ❖ Bei Angelika Kernert und Karolin Niessner für die Messung meiner Massenspektren am KIT.

- ❖ Josef Kiermeier und Wolfgang Söllner aus der Zentralen Analytik der Universität Regensburg für die Anfertigung weiterer Massenspektren.
- ❖ Bei Pia Lang, Tanja Ohmer und Dr. Andreas Rapp für die Messung meiner NMR-Spektren am KIT.
- ❖ Bei Joachim Bürck und Bianca Posselt vom Institut für Biologische Grenzflächen (IBG-2) für die Hilfe bei der Messung meiner CD-Spektren.
- ❖ Bei Chen Cheng und Dr. Dania Kendziora von der Arbeitsgruppe Fruk für die Hilfe bei den Agarose-Gelen.
- ❖ Annette Hochgesand möchte ich für das Anfertigen zahlloser MALDI-Spektren danken. Ich weiß, dass es manchmal ein harter Kampf war, um ein verwertbares Signal zu bekommen. Du hast mir wahnsinnig viel Arbeit abgenommen. Danke dafür.
- ❖ Claudia Sommer für ihre Hilfe und Unterstützung bei allen organisatorischen Dingen bezüglich meiner Promotion. Darüber hinaus für die zahlreichen Plaudereien und ihr sonniges Gemüt.
- ❖ Bei meinen Bachelor- oder Vertiefenstudenten, die ich betreuen durfte, für ihre Hilfe bei der Synthese von Verbindungen, v. a. bei den Porphyrinen. Namentlich sind dies Hannah Gaiser, Ruben Garrecht, David Rombach und Eduard Spuling.
- ❖ Bei Tom und Damian für das Bereitstellen einiger Verbindungen oder DNA-Oligonukleotide.
- ❖ Bei meinen zahlreichen Kollegen: Dr. Christa Prunkl, Dr. Sina Berndl, Dr. Florian Menacher, Dr. Christoph Beyer, Dr. Thomas Ehenschwender, Dr. Moritz Rubner, Dr. Carolin Holzhauser, Dr. Michael Weinberger, Dr. Ulrike Wenige, Dr. Wolfgang Schmucker, Dr. Sabrina Sezi, Alexander Penner, Claudia Stubinitzky, Effi Bätzner, Sebastian Barrois, Martin Weiser, Peggy Bohländer, Andreas Dittmer, Celine Geiges,

Nikolai Bartnik, Philipp Ensslen, Markus Merkel, Stefanie Arndt, Heidi Walter, Nadine Gaß, Barbara Reiß, Krisana Peewasan und David Rombach.

- ❖ Bei den Bräses, die mir das Einleben sehr erleichtert haben. Danke für viele schöne Momente, ob am Schwarzwald-Wochenende, im Wildpark, in der Hackerei oder sonstigen Anlässen. Danke Andi, Lutz, Franzi und besonders Betse und Joshi.
- ❖ Bei meinen Laborkollegen aus Regensburg, Aylin und Wolle. Danke, dass ihr mich damals in eure „Mitte“ aufgenommen habt und für eure Hilfe, Unterstützung, Rat und Tat und den täglichen Spaß im Labor.
- ❖ Bei meinen Kollegen aus dem Großtechnikum. Danke für drei schöne, reibungslose, spaßige, kollegiale Jahre und die Mottopartys. Darüber hinaus für die Wahl zum Laborchef und dem mir entgegengebrachten Vertrauen. Ich hoffe ich war euch ein guter Chef.
- ❖ Bei der Regensburger Crew: Paul, Quirin, Role, Hosh, Denninger, Flori, Balko, Pocki, Flieso und Wuttke. Danke für den täglichen Laborchat, auch wenn es oft nur ums Mensaessen ging. Für den Kontakt und die Freundschaft über all die Jahre und euren Besuch bei mir in KA. Auf viele weitere gemeinsame Unternehmungen, Ausflüge und Abenteuer.
- ❖ Bei meiner DJK-Familie. Egal wie lange ich nicht mehr zu Hause war, ich war immer Teil von dir und du gibst mir das Gefühl daheim zu sein.
- ❖ Beim AKW-Sektion Regensburg. Wir haben damals die Reise zusammen begonnen. Danke für den gemeinsamen Weg und hoffentlich führt er uns noch weiter.
- ❖ Bei Baaabs und Sabrina für das Korrekturlesen meiner Arbeit.
- ❖ Ganz besonders bei meiner Familie für ihre immerwährende Unterstützung. Ihr steht seit meinem ersten Atemzug bedingungslos hinter mir. DANKE.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Themenstellung	3
3. Theoretischer Hintergrund	6
3.1 Anknüpfungsmethoden für Modifikationen an DNA	6
3.1.1 Einbau von Sonden während der Festphasensynthese	6
3.1.2 Postsynthetische Methoden der DNA-Modifikation	7
3.1.2.1 Anknüpfung mittels Thiol-Gruppen.....	8
3.1.2.2 Postsynthetische Modifikation mittels [4+2]-Cycloadditionen.....	9
3.1.2.3 Anknüpfung über HUISGEN-[2+3]-Cycloaddition (Klick-Reaktion)	10
3.2 Photoinduzierter Ladungstransfer in DNA	11
3.2.1 Mechanismen des Ladungstrfers in DNA.....	13
3.2.1.1 Superaustausch-Modell.....	14
3.2.1.2 HOPPING-Mechanismus	15
3.2.2 Einflussgrößen auf den Ladungstransfer in DNA	18
3.2.2.1 Elektronische Kopplung des Donors / Akzeptors mit DNA.....	18
3.2.2.2 Strukturelle Faktoren	18
3.2.2.3 Konformationelle Schaltung.....	19
3.2.2.4 Elektronenrücktransfer	20
3.2.2.5 Injektions- und Migrations-Effekte.....	21
3.2.2.6 Protonengekoppelter Elektronentransfer (PCET)	22
3.2.3 Untersuchungen zum photoinduzierten Ladungstransfer	23
3.2.3.1 Transiente Absorptionsspektroskopie	24
3.2.3.2 Fluoreszenzlöschung zur Untersuchung von Ladungstransferprozessen	26
3.2.3.3 Studien zum oxidativen Lochtransfer	27
3.2.3.4 Studien zum reduktiven Elektronentransfer.....	28
3.3 Porphyrine in DNA	31
3.3.1 Porphyrine – Moleküle des Lebens	31

3.3.1.1	Aufbau und Eigenschaften der Porphyrine.....	31
3.3.1.2	Vorkommen und Synthese von Porphyrinen	32
3.3.2	Anwendungsgebiete der Porphyrine.....	34
3.3.2.1	Photodynamische Therapie: Porphyrine als Photosensibilisatoren	35
3.3.2.2	Porphyrine als molekulare elektronische Komponenten in Bauelementen	39
3.3.3	Kovalent gebundene Porphyrine in DNA	42
4.	2,7-Diazapyrenium als Ladungstransfersonde in DNA	45
4.1	DAP²⁺ als nicht-kovalente Ladungstransfersonde.....	45
4.2	Optische Charakterisierung von 2,7-Diazapyrenium	47
4.3	Ladungstransferexperimente in DNA	52
4.3.1	Ladungstransferexperimente mit DIMAPdU.....	55
4.3.2	DIMAP als nicht-nukleosidische Elektronentransfersonde	67
4.3.3	Ladungstransfer-Untersuchungen mittels zeitaufgelöster Absorptionsspektroskopie	76
4.4	Zusammenfassung der Ergebnisse	83
5.	Photoinduzierter Interstrang-Ladungstransfer über Terpyridine.....	85
5.1	Terpyridin als Ligandosid für DNA-Architekturen.....	85
5.2	Untersuchungen zum Ladungstransfer über Terpyridine	87
5.3	Zusammenfassung der Ergebnisse	94
6.	Metall-DNA-Konjugate mit tetrakationischen Porphyrinen	95
6.1	Synthese eines neuen maleimidmodifizierten Uridins	95
6.2	Darstellung tetrakationischer Porphyrine für die Postsynthese.....	97
6.3	Charakterisierung tetrakationischer Porphyrine in DNA.....	99
6.4	Zusammenfassung der Resultate	107
7.	Zusammenfassung.....	110
8.	Experimenteller Teil	113

8.1	Verbrauchsmaterialien, Methoden und Geräte.....	113
8.2	Synthesevorschriften.....	118
8.2.1	Synthese der Elektronentransfersonden.....	118
8.2.2	Darstellung des furanmodifizierten Uridins	122
8.2.3	Synthese des maleimidmodifizierten tetrakationischen Porphyrins	128
8.2.4	Synthese des azidmodifizierten tetrakationischen Porphyrins	132
8.2.5	Darstellung der metallierten TMTPy- Porphyrine	135
8.3	Synthese, Charakterisierung und Postmodifikation von Oligonukleotiden ...	136
8.3.1	Verwendete Oligonukleotidsequenzen	136
8.3.2	Kupplungsprotokolle	140
8.3.3	Aufarbeitung und Reinigung von Oligonukleotiden	144
8.3.4	Postsynthetische DNA-Modifikation.....	145
8.3.4.1	Kupfer-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition („Klick“- Reaktion)	145
8.3.4.2	DIELS-ALDER-Cycloaddition.....	146
8.3.4.3	Metallinsertion.....	147
8.3.5	Vorgehensweisen bei Messungen.....	147
8.3.5.1	Titrationsexperimente.....	147
8.3.5.2	Komplexierungsexperimente	147
8.3.6	Charakterisierung der Hybridisierung der Oligonukleotide	148
9.	Literaturverzeichnis	150
10.	Appendix.....	168
10.1	Publikationsliste.....	168
10.2	Konferenzen und Posterbeiträge	168
10.3	Lehre	169
10.4	Lebenslauf	170

Abkürzungsverzeichnis

1PydU	5-(1-Pyrenyl)-2'-desoxyuridin
2PydU	5-(2-Pyrenyl)-2'-desoxyuridin
A	Adenin, 2'-Desoxyadenosin
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetat
AFM	atomic force microscopy (Rasterkraftmikroskopie)
ALA	5-Aminolävulinsäure
BuLi	Buthyllithium
bzw.	beziehungsweise
C	Cytosin, 2'-Desoxycytidin
CD	Circulardichroismus
cm	Zentimeter
CPA	chirped pulse amplification (Verstärkung gechirpter Pulse)
CPG	controlled pore glass
CuAAC	Kupferkatalysierte Azid-Alkin Cycloaddition („Klick“-Reaktion)
d	Duplett (NMR)
d	Tag(e)
DACA	DIELS-ALDER-Cycloaddition
DAP ²⁺	Diazapyrenium- Dikation
DC	Dünnschichtchromatographie
DCM	Dichlormethan
DIMAP	1-(<i>N,N</i> -Dimethylamino)-pyren
DIMAPbs	<i>N</i> -Pyrenyl- <i>N</i> -methyl-aminoessigsäure- <i>N'</i> -(2,3-dihydroxypropyl)amid
DIMAPdU	5-(6- <i>N,N</i> -Dimethylamino-2-pyrenyl)-2'-deoxyuridin
DIPEA	<i>Di</i> isopropylethylamin
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMT _r	Dimethoxytrityl

DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPC	Diphenylcarbonat
d.Th.	der Theorie
dU	2'-Desoxyuridin
E ₀₀	Singulett-Energie des HOMO-LUMO-Übergangs
EDC	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EET	excess electron transfer (reduktiver Elektronentransfer)
E _{Ox}	Oxidationspotential
E _{Ox} *	Oxidationspotential im angeregten Zustand
eq.	Äquivalent
E _{Red}	Reduktionspotential
E _{Red} *	Reduktionspotential im angeregten Zustand
ESA	excited state absorption (Absorption des angeregten Zustands)
ESI	Elektrosprayionisation
ESR	Elektronenspinresonanz
ET	Elektronentransfer
et al.	et alii (und andere)
EtOH	Ethanol
eV	Elektronenvolt
Exc	excitation (Anregung)
FAB	fast atom bombardement
FC	Flash- Säulenchromatographie
FDA	Food and Drug Administration
fP	Cycloadditionsprodukt aus fU und 5-Propyl-1H-pyrrol-2,5-dion-10,15,20-trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (23)
Fq	fraction quench (Fluoreszenzlöschung)
fs	Femtosekunde (1·10 ⁻¹⁵ s)
fU	2'-Desoxy-2'-[4-(2-furyl)butanamido)]uridin
g	Gramm
G	Guanin, 2'-Desoxyguanosin

G	GIBBS-Energie (freie Enthalpie)
ges.	gesättigt
HEG	Hexaethoxyglykol
HIV	Humanes Immundefizienz-Virus
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
HSAB	Hard and Soft Acid and Bases (PEARSON Konzept)
Hz	Hertz
IC	internal conversion
ISC	intersystem crossing
ITO	indium-tin-oxide (Indium-Zinn-Oxid)
J	Joule
<i>J</i>	Kopplungskonstante
Kap.	Kapitel
k	kilo
<i>kP</i>	Klickreaktions-Addukt aus <i>kU</i> und 5-(3-Azidopropyl)-10,15,20-trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (25)
<i>kU</i>	2'-O-Propargyluridin
L	Liter
LNA	locked nucleic acid
m	Multipllett
M	molar (mol / L); molare Masse, Metall
mbar	millibar
MeCN	Acetonitril
MeOH/ MeOD	Methanol
mg	Milligramm
MHz	Megahertz
min	Minute
MI-P	5-Propyl-1H-pyrrol-2,5-dion-10,15,20-trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (23)
mL	Milliliter
MLCT	metal-to-ligand charge-transfer (Metall zu Ligand Ladungstransfer)

mmol	Millimol
mRNA	messenger RNA (Boten-RNA)
MS	Massenspektrometrie
m / z	Masse zu Ladung
N ₃ -P	5-(3-Azidopropyl)-10,15,20-trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (25)
NHE	Normalwasserstoff-Elektrode
NHS	N-Hydroxysuccinimid
NMR	nuclear magnetic resonance (Kernspinnmagnetresonanz)
NOPA	non-collinear optical parametric amplifier
p. A.	analysenrein
PCET	proton coupled electron transfer (protonengekoppelter Elektronentransfer)
PD	Photodiode
PDT	photodynamische Therapie
PFP	Pentafluorphenol
ppm	parts per million
ps	Pikosekunde ($1 \cdot 10^{-12}$ s)
PS	Photosensibilisator
PT	Protonentransfer
quin	Quintett (NMR)
R _f	Retentionsfaktor
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	reactive oxygen species (reaktive Sauerstoffspezies)
rpm	rotations per minute (Umdrehungen pro Minute)
RT	Raumtemperatur
s	Sekunde, Singulett (NMR)
s.	siehe
SAM	self-assembled monolayer (selbst-asmemblierende Monoschicht)
SEC	size exclusion chromatography (Größenausschlusschromatographie), Spektroelektrochemie
SS	Sommersemester

STM	scanning tunneling microscope (Rastertunnelmikroskop)
t	Triplett (NMR)
T	Thymin, 2'-Desoxythymidin
TBAHFP	Tetrabutylammoniumhexafluorophosphat
TEA	Triethylamin
TEAA	Triethylammoniumacetat- Puffer
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TMEDA	Tetramethylethyldiamin
TMS	Trimethylsilan
TMTPyP	5,10,15,20-Tetramethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin
Tos	Tosylat
tpy	2,2':6',2''-Terpyridin-dU
usw.	und so weiter
UV	Ultraviolettes Lichtspektrum (190 - 380 nm)
V	Volt
v.a.	vor allem
vgl.	vergleiche
Vis	Sichtbares Lichtspektrum (380 - 800 nm)
vs.	gegen
WS	Wintersemester
z. B.	zum Beispiel

Symbole

Å	Ångström (10^{-10} m)
β	Distanzabhängigkeitsparameter
°C	Grad Celsius
δ	chemische Verschiebung
ε	Extinktionskoeffizient
μ	mikro
τ	zeitliche Verzögerung
τ_i	Zeitkonstante
λ	Wellenlänge
Ω	Ohm
®	eingetragener Warenname
™	unregistered trade mark (unregistrierte Handelsmarke)

Die in dieser Arbeit verwendete Nomenklatur orientiert sich an den CHEMICAL ABSTRACTS^a und an den von der IUPAC-IUB-Kommission^b empfohlenen Richtlinien. Fachausdrücke aus dem Englischen werden durch KAPITÄLCHEN dargestellt.

^a Chemical Abstracts, Index Guide, 77.

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

1. Einleitung

“The next major explosion is going to be when genetics and computers come together. I’m talking about an organic computer - about biological substances that can function like a semiconductor.”

ALVIN TOFFLER, von dem dieses Zitat stammt, ist ein amerikanischer Schriftsteller und Futurologe, der bekannt ist für seine Arbeiten zur digitalen Revolution, der technologischen Singularität und der Kommunikations-Revolution.^[1, 2] Unter technologischer Singularität versteht man überwiegend den Zeitpunkt, ab dem Maschinen in der Lage sind, sich mittels künstlicher Intelligenz selbst zu verbessern. Manche Anhänger dieser Theorie gehen davon aus, dass dieser Zeitpunkt bereits Mitte des 21. Jahrhunderts eintreffen wird. Wann und ob Maschinen eines Tages intelligenter als Menschen sein werden, darüber lässt sich nur spekulieren. Fest steht aber, dass Technik sich immer rascher weiterentwickelt. Schon heute werden elektronische Geräte in kürzester Zeit immer schneller, leistungsfähiger und günstiger.

Die Worte die TOFFLER vor über 30 Jahren sagte, mögen damals in den Menschen verschiedenste gegenläufige Gefühle ausgelöst haben. Optimismus, Begeisterung, Verwunderung aber auch Misstrauen und Angst dürften darunter gewesen sein. Zu unvorstellbar, zu abstrus, zu komplex und zu weit weg mag dies damals geklungen haben. Heute stehen wir bereits an der Schwelle dieser Technologie. Denn nicht nur die Technik hat sich rasant weiterentwickelt. In ihrem Sog haben auch die Naturwissenschaften neue Dimensionen aufgetan.

War vor gut 60 Jahren noch nicht einmal die Struktur der DNA bekannt, ist DNA heute ein leicht zugängliches Material.^[3] Dank der Entwicklung der Polymerasen-Kettenreaktion (PCR) und der automatisierten Festphasensynthese lassen sich beliebige Oligonukleotide schnell, einfach und kostengünstig herstellen. Dies ist die Voraussetzung um die Eigenschaften der DNA zu erforschen und im Hinblick auf Anwendungen in der Technologie zu modifizieren und zu verbessern.

Der erste Schritt in Richtung eines molekularen Computers ist bereits getan. In der Fachzeitschrift NATURE erschien im Februar 2013 ein aufsehenerregender Artikel.^[4] Den Wissenschaftlern um GOLDMAN et al. war gelungen, die bisher größte Datenmenge auf synthetischer DNA zu speichern, zu transportieren und wieder fehlerfrei auszulesen. Bei der

Datenmenge handelte es sich um 757 051 Bytes, die in 153 335 DNA-Strängen a 117 Nukleobasen gespeichert wurde. Um diese abstrakte Zahl besser veranschaulichen zu können, wählten die Wissenschaftler gängige Datenformate und bekannte Dateien für ihr Experiment. Bei den gespeicherten Informationen handelt es sich um alle 154 Sonette von SHAKESPEARE (ASCII-Text), eine wissenschaftliche Publikation (PDF), eine Farbfotographie des EUROPÄISCHEN BIOINFORMATIK INSTITUTS (JPEG 2000), einen 26 sekündigen Auszug von MARTIN LUTHER KINGS Rede „*I have a dream*“ (MP3) und einen HUFFMAN-Code (ASCII-Text) um in dieser Studie Bytes in ternäre Ziffern umzuwandeln. Neben der Speicherkapazität und der geringen Fehlerquote bietet DNA außerdem den Vorteil des geringen Wartungsaufwands. DNA bleibt über Jahrhunderte hinweg stabil, wenn man sie trocken, kühl und an einem dunklen Ort lagert.^[5,6]

Bis molekulare Computer zur Marktreife gelangen, werden noch einige Jahre vergehen. Aber die Anfänge dafür sind heute bereits gemacht. DNA ist nicht mehr bloß Träger der Erbinformation, vielmehr ist sie zum potentiellen biologischen Werkstoff geworden. Viele Möglichkeiten und Anwendungen liegen in ihr noch verborgen. Forscher versuchen jeden Tag aufs Neue diese ans Licht zu bringen und der Menschheit zum Vorteil zu machen.

2. Themenstellung

Im Rahmen dieser Arbeit sollen neue Ladungstransfersysteme entwickelt und untersucht werden. Darüber hinaus sollen neue Metall-DNA-Konjugate realisiert und charakterisiert werden. Dabei gliedert sich die Arbeit in folgende drei große Teilbereiche:

2,7-Diazapyrenium als Ladungstransfersonde in DNA

2,7-Diazapyrenium (DAP^{2+}) bietet den Vorteil, dass es dank seiner planaren Struktur in den DNA-Basenstapel interkalieren kann und somit lokal definiert vorliegt. Für den Einbau in DNA soll aufgrund der Basenlabilität des Chromophors ein postsynthetischer Ansatz mittels kupferkatalysierter Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) gewählt werden. DAP^{2+} soll als kovalenter Marker in DNA vollständig spektroskopisch charakterisiert und mit zwei verschiedenen Dimethylaminopyren-Derivaten als Ladungstransfersystem kombiniert werden (vgl. Abb. 2).

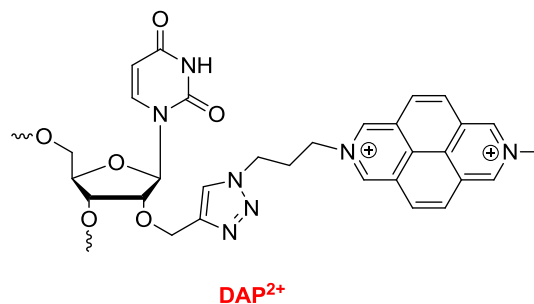


Abb. 1: Struktur des in DNA postsynthetisch eingebrachten 2,7-Diazapyreniums.

Die beiden Sonden unterscheiden sich in der Art des Einbaus in DNA. DIMAPdU wird als Basenmodifikation in DNA eingebracht und sollte am DNA-Rückgrat lokalisiert sein, wohingegen DIMAPbs als Basensurrogat im Basenstapel vorliegt.

Durch sowohl stationäre Absorptions- und Fluoreszenzmessungen als auch zeitaufgelöste transiente Absorptionsspektroskopie sollen auftretende Ladungstransferprozesse in diesem Donor-Akzeptor-System in DNA nachgewiesen werden.

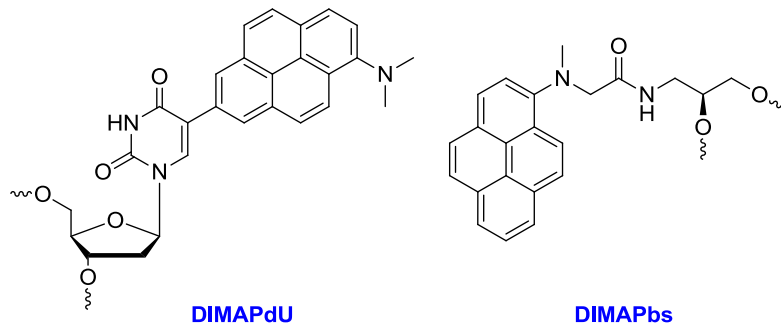


Abb. 2: Strukturen der korrespondierenden Ladungstransfersonden in DNA.

Photoinduzierter Interstrang-Ladungstransfer über Terpyridine

Im zweiten Teil soll ein Ladungstransferprozess zwischen zwei Doppelsträngen über metallierte Terpyridin-DNA-Konjugate mittels Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie untersucht werden. Dazu soll das bereits untersuchte System aus DAP^{2+} und DIMAPdU verwendet werden, welches über zwei Terpyridin-Einheiten „SIDE-ON“ miteinander verknüpft wird. Nach Photoanregung soll ein Elektron vom Donor in der ersten DNA über den ausgebildeten Terpyridin-Metallion-Komplex zum Ladungsakzeptor in der zweiten DNA transportiert werden.

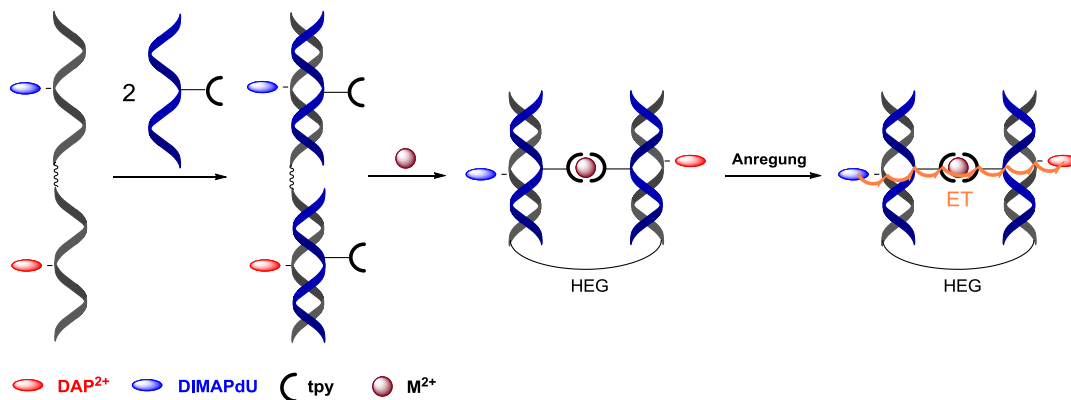


Abb. 3: Schematische Darstellung des Interstrang-Ladungstransfers gezeigt am Beispiel des reduktiven Elektronentransfers.

Metall-DNA-Konjugate mit tetrakationischen Porphyrinen

Im dritten Teil dieser Arbeit sollen neuartige Metall-DNA-Konjugate auf der Basis tetrakationischer Porphyrine realisiert werden. Dazu sollen alternative Wege der Postmodifikation von Oligonukleotiden eingeschlagen werden. Ein azidmodifiziertes

Porphyrin (**N₃-P**) soll mit 2'-O-Propargyluridin in Oligonukleotide mittels CuAAC verknüpft werden.

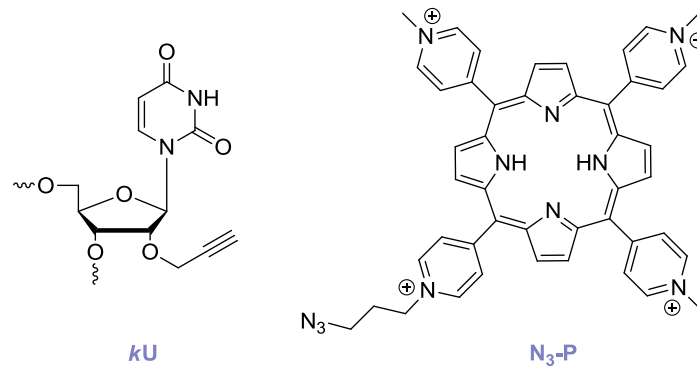


Abb. 4: Graphische Darstellung des kommerziell erhältlichen 2'-O-Propargyluridins (**kU**) und des dargestellten azidmodifizierten tetrakationischen Porphyrins (**N₃-P**).

Darüber hinaus soll ein bioorthogonales maleimidmodifiziertes Porphyrin (**MI-P**) in einer postsynthetischen DIELS-ALDER-Reaktion mit einem Nukleosid, das eine Furaneinheit an der 2'-Position von Uridin trägt (**fU**), in Oligonukleotide eingebracht werden. Anschließend soll das dargestellte Porphyrin metalliert werden. Beide Metall-DNA-Konjugate sollen optisch charakterisiert werden.

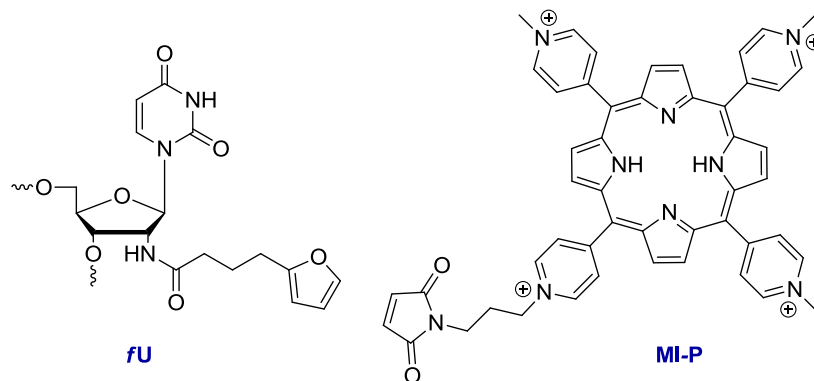


Abb. 5: Darstellung des synthetisierten 2'-furanmodifizierten Uridins (**fU**) und des maleimidmodifizierten tetrakationischen Porphyrins (**MI-P**).

3. Theoretischer Hintergrund

3.1 Anknüpfungsmethoden für Modifikationen an DNA

DNA weist eine Vielzahl von interessanten Eigenschaften auf. Um diese Eigenschaften zu verbessern und die Prozesse, die dahinter stehen besser zu verstehen, bedarf es Sonden, die dies möglich machen. Es gibt verschiedene Möglichkeiten, solch eine gewünschte Sonde in DNA einzubringen. So kann neben der chemischen Synthese der entsprechenden modifizierten Phosphoramidit-Bausteine und deren anschließender Einbau mittels Festphasensynthese in DNA auch ein postsynthetischer Ansatz zur Modifizierung von DNA gewählt werden.

3.1.1 Einbau von Sonden während der Festphasensynthese

Um Modifikationen während der Festphasensynthese einzubringen, gibt es prinzipiell vier Kategorien, die im Folgenden kurz erläutert werden.

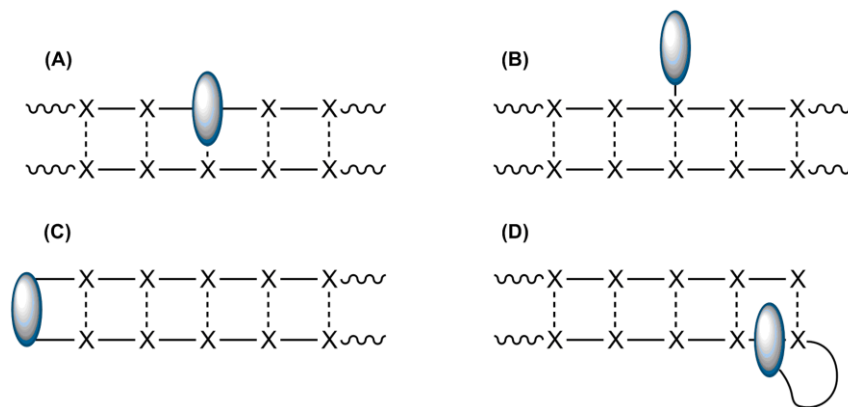


Abb. 6: Anknüpfungsmethoden für DNA-Modifikationen: (A) Einbau als Basensurrogat; (B) Modifikation eines Nucleosids; (C) Kopfgruppe einer Haarnadelstruktur; (D) Terminale Anknüpfung über flexiblen Linker.

❖ *Einbau als Basensurrogat*

Die Modifikation wird dabei über eine Linker- oder eine Desoxyriboseeinheit kovalent im DNA-Rückgrat verankert. Somit ersetzt sie eine natürliche Base in der Basensequenz

❖ *Kovalente Anknüpfung an ein natürliches Nukleosid*

Die gewünschte Modifikation wird kovalent an ein natürliches Nukleosid geknüpft. Dabei gibt es verschiedene Ansatzpunkte, wo die Modifikation erfolgt. So kann die Anknüpfung entweder an der 2'-OH-Position oder auch an der Base an sich erfolgen. Wichtig dabei ist, dass die Basenpaarung möglichst wenig gestört wird.

❖ *Platzierung als Kopfgruppe einer DNA-Haarnadel*

Die Modifikation wird über Linker in die Mitte einer komplementären DNA-Sequenz eingebracht. Nach Hybridisierung bildet die DNA eine Haarnadelstruktur aus, bei der die Modifikation die Kopfgruppe bildet.^[7, 8] Solche Strukturen sind sehr stabil und liegen meist in der B-Konformation vor.

❖ *Terminale Anknüpfung mittels eines flexiblen Linkers*

Die Sonde wird entweder an das 5'- oder das 3'-Ende eines Oligonukleotids mithilfe eines flexiblen Linkers kovalent angeknüpft. Dabei kann die Art und Länge des Linkers stark variieren. Somit lassen sich die Flexibilität und die konformelle Freiheit der Modifikation gewährleisten. Nachteilig an dieser Methode ist jedoch, dass durch diese Freiheit keine definierte Lokalisation der Modifikation möglich ist.

In dieser Arbeit wurden die ersten beiden Ansätze gewählt, um Modifikationen in DNA einzubringen. Dabei wurde DIMAPbs als Basensurrogat eingebracht. Das nukleosidische Analogon wurde über die 5-Position an 2'-dU geknüpft. Für die Entwicklung eines neuen Nukleosids zur Postmodifikation (*fU*) wurde dessen 2'-OH-Position modifiziert.

3.1.2 Postsynthetische Methoden der DNA-Modifikation

Gängige Probleme der Festphasensynthese mit modifizierten Phosphoramiditen stellen deren chemische Instabilität oder die teilweise geringen Ausbeuten dar. Diese Probleme lassen sich durch einen postsynthetischen Ansatz umgehen, indem man als erstes eine reaktive funktionelle Gruppe während der Festphasensynthese einbringt und anschließend das gewünschte Molekül an diese anknüpft. Die Herausforderung besteht hier, geeignete reaktive Gruppen und Reaktionen zu verwenden, um einen möglichst kompletten und chemoselektiven Umsatz unter milden Bedingungen zu finden. Darüber hinaus gibt es für

Anwendungen *in vivo* noch die Voraussetzung der Bioorthogonalität und der Nichttoxizität.^[9]

Mittlerweile haben sich einige Methoden für die postsynthetische Modifikation von Nucleinsäuren etabliert. Dabei ist zu beachten, dass die Reaktion in wässrigen Medien, mit relativ geringen Konzentrationen der Reaktanten und unter milden Bedingungen ablaufen muss. Es ist auch möglich, mehrere verschiedene Modifikationen selektiv an Oligonucleotide anzuknüpfen. Um Nucleotide und andere Biomoleküle zu modifizieren, werden Reaktionen und funktionelle Gruppen eingesetzt, die nicht mit biologischen Prozessen konkurrieren. Dieses Konzept ist unter dem Begriff der Bioorthogonalität bekannt.^[10] Einen guten und kurzen Überblick geben die Übersichtsartikel von MARX,^[9] BERTOZZI^[10] und LIN.^[11] Im Folgenden sollen drei Methoden genauer betrachtet werden, da sie Bestandteile der Experimente dieser Arbeit sind.

3.1.2.1 Anknüpfung mittels Thiol-Gruppen

Thiole stellen reaktive Moleküle dar, die mit mehreren funktionellen Gruppen reagieren können. Besonders in der Bioanalytik spielt diese Anknüpfungsmethode eine große Rolle. Man kann die Thiol-Gruppe der Cystein-Seitenkette nutzen, um daran selektiv gewünschte Modifikation anzuknüpfen. Analog kann man thiolmodifizierte Oligonucleotide verwenden. Die häufigsten verwendeten Reaktionen sind die Darstellung von gemischten Disulfiden^[12] und die Alkylierung mit α -Halogenacetylen^[13, 14] oder Michael-Systemen mit α,β -ungesättigten Carbonylfunktionen,^[15] um Thioether zu erhalten.

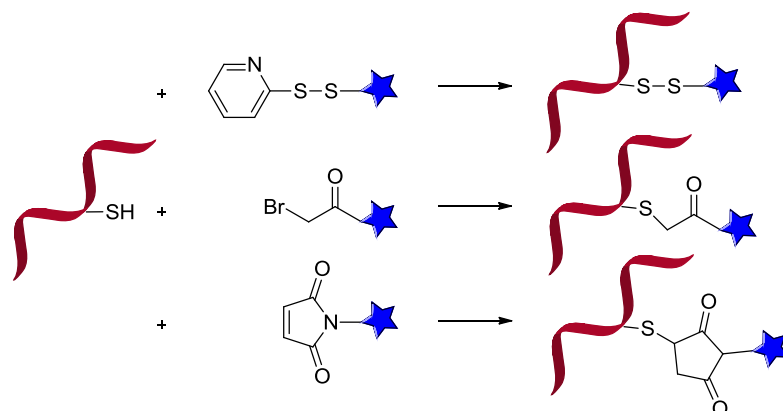


Abb. 7: Mögliche Anknüpfungsmethoden für thiolmodifizierte DNA.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die starke Gold-Schwefel-Bindung zu nutzen um thiolmodifizierte Oligonukleotide an Goldoberflächen oder Goldnanopartikel anzubringen.^[16] Ein Nachteil beim Einsatz von Thiolgruppen in Oligonukleotiden ist, dass die Thiolgruppe während der Festphasensynthese mit einer Schutzgruppe versehen und vor Anknüpfung erst reduziert werden muss.

3.1.2.2 Postsynthetische Modifikation mittels [4+2]-Cycloadditionen

Die DIELS-ALDER-[4+2]-Cycloaddition^[17] zwischen einem Dien und einem Dienophil ist eine nützliche C-C-Verknüpfungsreaktion, die unter milden Bedingungen abläuft. Die spezifische Reaktivität der beiden funktionellen Gruppen und die Beschleunigung der Reaktion in wässrigen Medien^[18, 19] machen sie so interessant für die kovalente Biokonjugation,^[20] obwohl die Reaktion prinzipiell reversibel ist. Ein weiterer Vorteil ist, dass viele maleimidfunktionalisierte Sonden kommerziell erhältlich sind, da sie in der Proteinmarkierung häufig Einsatz finden.^[21-24]

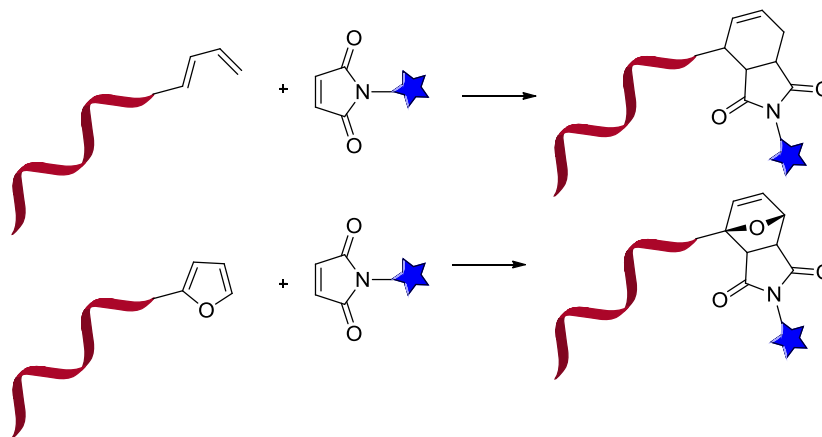


Abb. 8: [4+2]-Cycloadditionen an dienmodifizierten Oligonukleotiden.

Eine prinzipielle Verwendung für die postsynthetische Biokonjugation zeigten Versuche mit RNA.^[25, 26] Für die 5'-Postmodifikation wurden Cyclohexadien- und azyklische Hexadienphosphoramidite synthetisiert und in Oligonukleotide eingebracht. Die so modifizierten Oligonukleotide wurden mit verschiedenen maleimidmodifizierten Sonden umgesetzt und unter optimierten Reaktionsbedingungen (pH, Temperatur, Konzentration) konnte eine vollständige Konjugation innerhalb von 30 Minuten bis mehreren Stunden erzielt werden.^[27] Ebenso wurden Furanreste als Diene in Oligonukleotide eingebracht.^[28]

Fünf kommerziell erhältliche Fluoreszenzfarbstoffe wurden innerhalb von drei Stunden bei 40 °C oder vier Stunden bei Raumtemperatur an DNA angeknüpft. Weitere Furanreste wurden als Diene in DNA eingebracht, aber nur dürftig auf ihre Verwendung in DIELS-ALDER-Reaktionen untersucht.^[29, 30]

3.1.2.3 Anknüpfung über HUISGEN-[2+3]-Cycloaddition (Klick-Reaktion)

Eine weitere Anknüpfungsmethode kann über die Reaktion eines Azides mit einem Alkin in einer [3+2]-Cycloaddition erfolgen. Das Azid reagiert dabei als 1,3-Dipol.^[31] Da die Reaktion hohe Temperaturen oder Drücke benötigt um zu erfolgen, war die Anwendung in biologischen Systemen bisher nicht möglich.^[32] Die Arbeiten von SHARPLESS und MELDAL zeigten, dass die 1,3-dipolare Cycloaddition von Aziden mit terminalen Alkinen durch Cu(I) effektiv katalysiert werden kann und so 1,4-disubstituierte 1,2,3-Triazole erzeugt werden.^[33, 34] Die kupferkatalysierte Azid-Alkin 1,3-dipolare Cycloaddition (CuAAC) verläuft dadurch knapp sieben Größenordnungen schneller.^[35] Zusätzlich kann durch die Verwendung von spezifischen Liganden für Cu(I), wie TBTA, die Reaktion noch weiter beschleunigt werden.^[36, 37] Die CuAAC erfüllt alle Kriterien (Umsatz, Einfachheit, Selektivität) einer Klick-Reaktion, wie sie durch SHARPLESS definiert wurden.^[38] Allerdings weist die CuAAC einen drastischen Nachteil auf, der sie für den Einsatz in lebenden Systemen unmöglich macht, nämlich die Zelltoxizität von Cu(I).^[39]

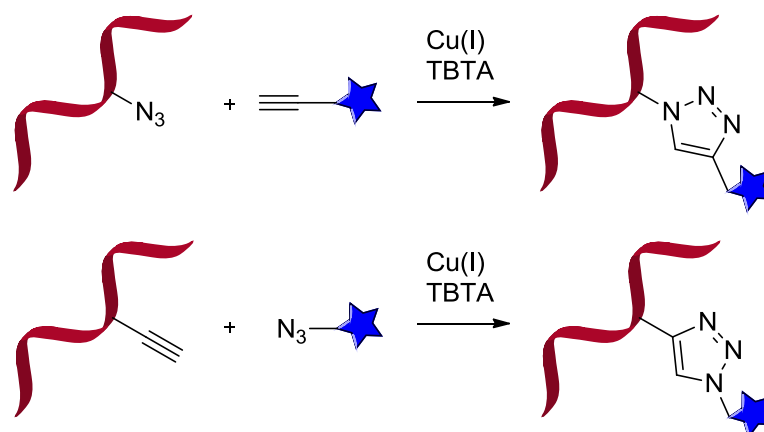


Abb. 9: Schematische Darstellung der CuAAC an DNA.

Um die Azid-Alkin-Cycloaddition in biologischen Systemen dennoch zu verwenden, entstand die Idee, die Reaktion nicht durch Kupfersalze zu katalysieren sondern durch Ringspannung zu forcieren.^[40-42] Als reaktive Partner werden dabei derivatisierte Cyclooctine verwendet (vgl. Abb. 10). Was den breiten Einsatz in der Biokonjugation jedoch bisher verhindert, ist die mangelnde kommerzielle Erhältlichkeit dieser Verbindungen.

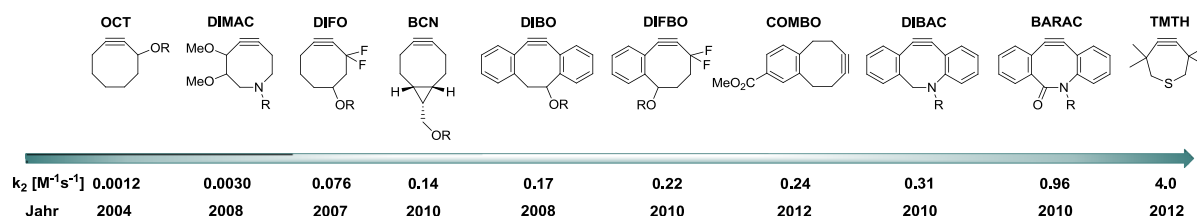


Abb. 10: Darstellung verschiedener gespannter Alkine für die kupferfreie Azid-Alkin-Cycloaddition mit ihren Geschwindigkeitskonstanten zweiter Ordnung (k_2) und dem Jahr ihrer Veröffentlichung.^[111] **Abkürzungen:** OCT = Cyclooctin,^[43] DIMAC = Aza-dimethoxycyclooctin,^[42] DIFO = Difluorocyclooctin,^[41] BCN = Bicyclo[6.1.0]nonin,^[44] DIBO = Dibenzocyclooctin,^[45] DIFBO = Difluorobenzocyclooctin,^[46] COMBO = Carboxymethylmonobenzocyclooctyne,^[47] DIBAC = Aza-dibenzocyclooctin,^[48] BARAC = Biarylazacyclooctin,^[49] TMTH = 3,3,6,6-Tetramethylthiacycloheptin.^[50]

3.2 Photoinduzierter Ladungstransfer in DNA

Seit Längerem rückt DNA immer mehr in den Fokus der Diskussion über molekulare elektronische Bauelemente. Um in diesem Feld Einsatz zu finden, bedarf es aber einer ausreichenden Fähigkeit, elektrische Ladungen effektiv zu transportieren. Bereits vor über 50 Jahren wurde aufgrund der strukturell bedingten, ausgeprägten π,π -Wechselwirkungen der aromatischen Nucleobasen die Möglichkeit des Ladungstransports entlang der DNA-Helixachse von ELEY et al. vorgeschlagen.^[51] In der Folgezeit wurde in der Fachwelt heftig darüber diskutiert, wie effektiv Ladungen durch DNA transportiert werden können und ob es sich bei DNA um einen molekularen Leiter, einen Halbleiter oder gar einen Isolator handelt.^[52-54] Warum es vergleichsweise lange dauerte, bis ELEYs Idee systematisch erforscht werden konnte, lag zum einen daran, dass beliebige DNA-Sequenzen erst durch die Entwicklung der automatisierten Festphasensynthese zugänglich wurden^[55-57]. Zum anderen wuchs das Interesse aufgrund der Erkenntnisse um die biologische Relevanz des Ladungstransfers in DNA. Auch im Bereich der Nanotechnologie erregten Veröffentlichungen über Ladungstransfer über längere Distanzen große Aufmerksamkeit.^[58] Heute ist es unumstritten, dass DNA Elektronen entlang ihrer Helixachse transportieren

kann. Dabei kann man prinzipiell zwischen zwei Arten von Ladungstransfer unterscheiden, dem reduktivem Elektronentransfer und dem oxidativem Lochtransfer. Der Unterschied liegt in der Art der beteiligten Molekülorbitale. Während reduktiver Elektronentransfer LUMO-kontrolliert verläuft (Abb. 11), handelt es sich bei oxidativen Lochtransfer um einen HOMO-kontrollierten Prozess (Abb. 12).^[59,60]

Diese Ladungsprozesse verlaufen in DNA äußerst schnell und können zu lokalen Schädigungen der DNA führen, die vom Injektionspunkt bis zu 200 Å entfernt liegen können.^[61, 62] Dies hat eine große biologische Relevanz, da oxidative Schäden der DNA bei Apoptose, Mutagenese und Karzinogenese eine entscheidende Rolle spielen.^[63-65] Aber auch andere Gebiete machen sich die leitenden Eigenschaften der DNA zu Nutze. Elektrochemisch lassen sich mithilfe von DNA-Chips Einzelbasenmutationen oder andere Läsionen detektieren. Im Bereich der Nanotechnologie lassen sich DNA-basierte elektronische Bauelemente aufbauen. Um die Anwendungsmöglichkeiten zu verbessern und noch weiter auszudehnen, liegt das Augenmerk nun besonders auf den mechanistischen Abläufen des Ladungstransfers. Besonders das Superaustausch-Prinzip und der HOPPING-Mechanismus stehen dabei im Vordergrund.^[66] Auf beide Mechanismen soll im Folgenden nun genauer eingegangen werden.

Erzeugung eines Überschusselektrons

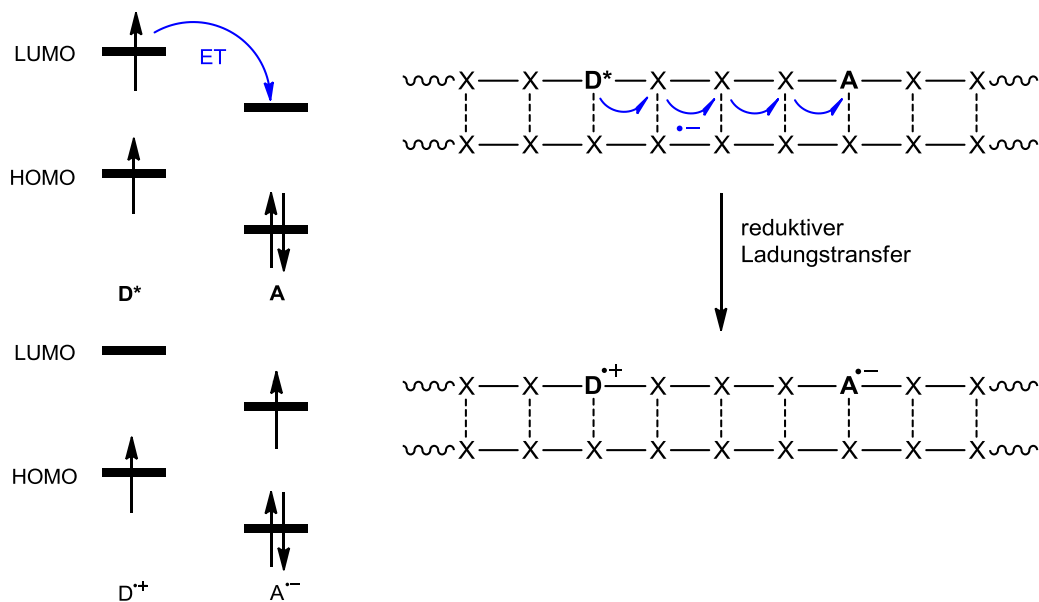


Abb. 11: Reduktiver Elektronentransfer: Ein Elektron wird aus dem LUMO des angeregten Elektronendonors auf den Akzeptor im Grundzustand übertragen.

Erzeugung eines Elektronenlochs

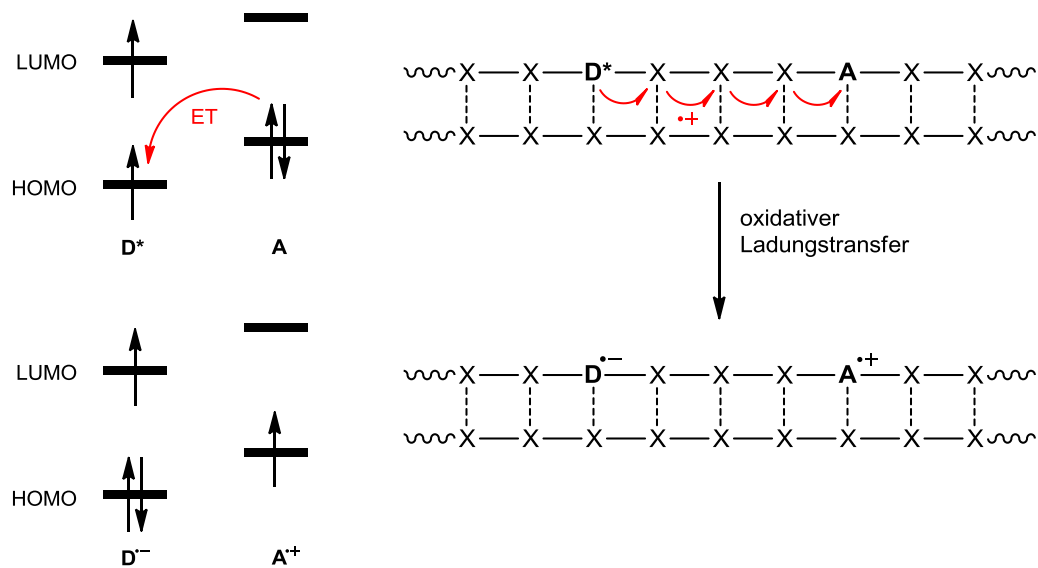


Abb. 12: Oxidativer Lochtransfer: HOMO-kontrollierter Lochtransfer eines angeregten Lochdonors auf einen Akzeptor im Grundzustand.

3.2.1 Mechanismen des Ladungstransfers in DNA

Die Gemeinsamkeit aller Ladungstransferprozesse besteht in der Übertragung eines Elektrons aus einem Molekülorbital des Donors in ein Molekülorbital des Akzeptors. Jedoch unterscheiden sich die beteiligten Orbitale und Mechanismen. Da DNA ein sehr großes Biomolekül ist, werden ablaufende Prozesse sehr komplex. Die zu Grunde liegenden Mechanismen können mit zwei Modellen beschrieben werden, als Superaustausch-Modell und HOPPING-Mechanismus.^[64]

Die Unterscheidung, wann welcher Mechanismus greift, hängt dabei nicht vom gewählten Donor-Akzeptor-System zusammen. Es scheint so zu sein, dass über kurze Distanzen Ladungstransferprozesse meist nach dem Superaustausch-Prinzip,^[67] während weitreichendere Elektronentransfer nach dem HOPPING-Modell verlaufen.

3.2.1.1 Superaustausch-Modell

Beim Superaustausch-Mechanismus erfolgt der Ladungstransfer vom Donor zum Akzeptor über einen Tunnelprozess der Elektronen durch die DNA-Brücke, d. h. es entstehen keine intermediären Ladungsträger innerhalb der DNA-Brücke. Die Wahrscheinlichkeit des Tunnelprozesses hängt von deren energetischen Lage und ihrer Länge ab.

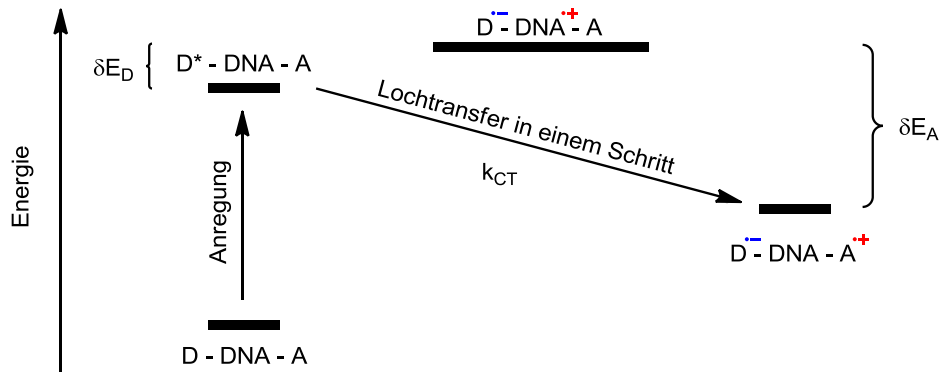


Abb. 13: Schematische Darstellung des Superaustausch -Mechanismus. Die Ladung wird vom Ladungsdonor (D) auf den Akzeptor (A) in einem Tunnelprozess übertragen.

Die Geschwindigkeitskonstante k_{CT} des Tunnelprozesses ist exponentiell von der Entfernung R zwischen Ladungsdonor und -akzeptor abhängig und lässt sich gemäß der Elektronentransfer-Theorie nach MARCUS beschreiben:^[68]

- mit:
- k_{CT} Ratenkonstante des Ladungstransfers
 - V^2 Matricelement der elektronischen Kopplung zwischen Donor und Akzeptor
 - Reorganisationsenergie
 - k_B Boltzmannkonstante
 - T Temperatur
 - ΔG_{ET} Triebkraft des Elektronentransfers

Das Matricelement der elektronischen Kopplung von Donor und Akzeptor hängt exponentiell vom Abstand derer ab:

- mit:
- Maximalwert von V^2
 - β Proportionalitätsfaktor
 - R Abstand zwischen Donor und Akzeptor

Aus diesen beiden Gleichungen erhält man die Abstandsabhängigkeit der Ladungstransferrate k_{CT} :

Der Superaustausch-Prozess ist aufgrund der starken Distanzabhängigkeit auf kurze Distanzen limitiert ($< 10 \text{ \AA}$). Somit ist dieser in DNA auf eine Entfernung von maximal drei Basenpaaren beschränkt. Weiterhin ist neben der Länge der DNA-Brücke auch die energetische Lage der Donor- und der Brückenorbitale entscheidend. Für steigende Energiedifferenzen nimmt der Proportionalitätsfaktor β nach folgender Gleichung zu:

$$\beta = \frac{V}{a \Delta \epsilon}$$

mit: a Distanz zwischen benachbarten Untereinheiten
 V Kopplung zwischen benachbarten Untereinheiten
 $\Delta \epsilon$ Energiedifferenz zwischen Donor und Brücke

Wenn $\Delta \epsilon$ kleiner als V wird, ist es auch möglich, dass eine direkte Injektion der Ladungsträger in die DNA-Brücke anstelle eines Tunnelprozesses erfolgt. Somit ist der Mindestwert von β auf etwa $0.2 - 0.3 \text{ \AA}^{-1}$ limitiert.^[69]

Allerdings zeigten Experimente, dass Ladungstransfer auch bei Distanzen bis zu 200 \AA möglich ist.^[61, 62] Zudem ergaben einige Versuche zum oxidativen Lochtransfer sehr geringe β -Werte ($< 0.2 \text{ \AA}^{-1}$)^[70-73] Diese Ergebnisse weisen auf eine deutlich geringere Distanzabhängigkeit hin, was mit dem Superaustausch-Modell nicht mehr zu erklären ist. GIESE et. al und JORTNER et al. schlugen deswegen den HOPPING-Mechanismus als Alternative dazu vor.^[66, 74]

3.2.1.2 HOPPING-Mechanismus

Beim HOPPING-Mechanismus besteht der gravierende Unterschied zum Superaustausch darin, dass die Elektronen in mehreren Schritten vom Ladungsdonor auf den -akzeptor übertragen werden. Im Gegensatz zum Superaustausch-Modell entstehen hier intermediäre Ladungsträger innerhalb der DNA. Die Distanzabhängigkeit der

Ladungstransfergeschwindigkeit k_{CT} ist dabei vernachlässigbar, da keine langen und langsamen Tunnelprozesse stattfinden. Entscheidend für die Effektivität ist in diesem Modell die Anzahl der HOPPING-Schritte, die für eine Ladungsübertragung nötig sind. Die Ladungstransfergeschwindigkeit ergibt sich dementsprechend zu:^[66, 75]

mit:

k_{CT}	Ladungstransfergeschwindigkeit
P	Wahrscheinlichkeit eines HOPPING-Schrittes
N	Gesamtzahl der HOPPING-Schritte
η	empirische Konstante ($1 \leq \eta \leq 2$)

Oxidativer Lochtransfer

Betrachtet man die Oxidationspotentiale der einzelnen DNA-Basen, so nehmen diese in der Reihenfolge $E_{Ox}(G/G^{•+}) < E_{Ox}(A/A^{•+}) < E_{Ox}(C/C^{•+}) \approx E_{Ox}(T/T^{•+})$ zu.^[76, 77] Somit lässt sich annehmen, dass es sich beim Guaninradikalkation $G^{•+}$ um den besten intermediären Ladungsträger handelt. Die Rate $k_{HOP(G)}$ für oxidativen Lochtransfer von G auf GG konnte von LEWIS et al. auf $k_{HOP(G)} = 5 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$ bestimmt werden.^[75]

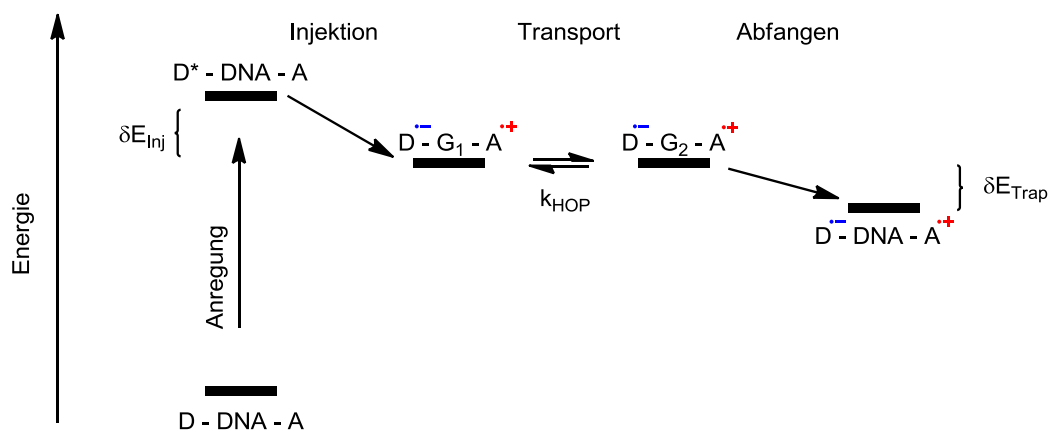


Abb. 14: Schematische Darstellung des HOPPING-Mechanismus: Die Ladung wird über intermediär gebildete Guaninradikalkationen auf den Akzeptor übertragen.

Allerdings konnte von GIESE et al. in längeren AT-Sequenzen ($n = 4,5$) ebenfalls HOPPING nachgewiesen werden.^[78] Somit zeigte sich, dass auch Adeninradikalkationen $A^{•+}$ die Rolle des intermediären Ladungsträgers einnehmen können.^[79] Die Rate für einen A-HOPPING-Schritt konnte zu $k_{HOP(A)} = 1 \cdot 10^{10} \text{ s}^{-1}$ bestimmt werden.^[80] Damit erfolgt das A-HOPPING schneller als der eigentlich thermodynamisch bevorzugte Tunnelprozess zwischen $G^{•+}$

und G. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist die Oxidation eines Adenins durch ein Guaninradikalkation $G^{\bullet+}$. Die Anzahl an dazwischen liegenden AT- Basenpaaren ($n > 3$) beeinflusst die Rate des Lochtransfers allerdings nur geringfügig.^[59, 80]

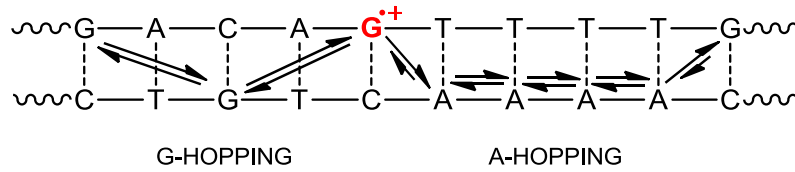


Abb. 15: Über längere AT-Sequenzen ändern sich die intermediären Ladungsträger von Guaninradikalkationen auf Adeninradikalkationen.

reduktiver Elektronentransfer

Betrachtet man die Reduktionspotentiale der Nucleobasen, so nehmen diese in der Reihenfolge $E_{\text{red}}(T/T^{\bullet-}) \approx E_{\text{red}}(dU/dU^{\bullet-}) < E_{\text{red}}(C/C^{\bullet-}) < E_{\text{red}}(A/A^{\bullet-}) < E_{\text{red}}(G/G^{\bullet-})$ zu.^[76] Somit ist anzunehmen, dass die beiden Pyrimidin-Radikalanionen als intermediäre Ladungsträger fungieren.^[59] Ein HOPPING-Schritt über $T^{\bullet-}$ funktioniert allerdings etwas besser, da zum einen T in DNA ein minimal geringeres Reduktionspotential als C aufweist. Zum anderen zeigen beide Pyrimidin-Radikalanionen stark unterschiedliche Basizitäten. Das Cytidinradikalanion $C^{\bullet-}$ ($pK_a(C(H)^{\bullet-}) \geq 13$) ist deutlich basischer als $T^{\bullet-}$ ($pK_a(T(H)^{\bullet-}) = 6.9$).^[81, 82] Zudem zeigte die Arbeitsgruppe WAGENKNECHT, dass Elektronentransfer durch auftretenden Protonentransfer stark beeinflusst werden kann.^[83-86]

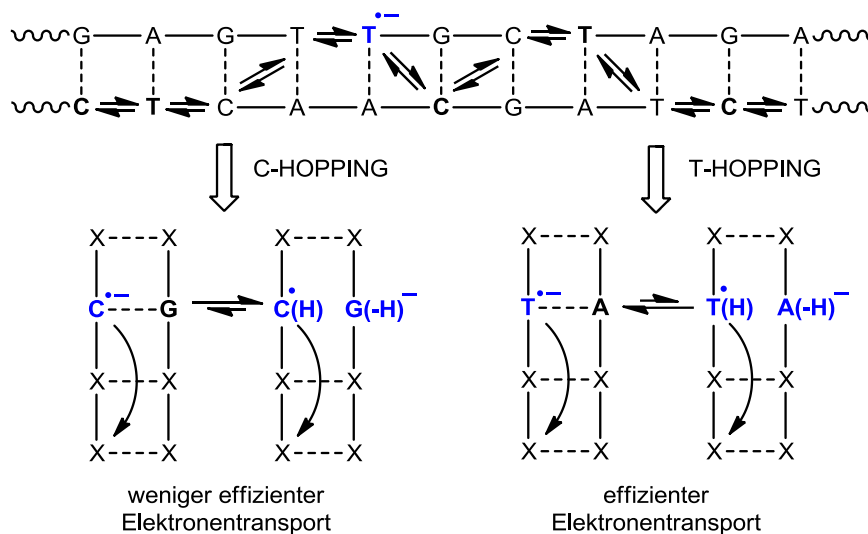


Abb. 16: Darstellung des HOPPINGs beim reduktiven Elektronentransfer. $T^{\bullet-}$ und $C^{\bullet-}$ können als intermediäre Ladungsträger fungieren. Dabei ist der Elektronentransfer über $T^{\bullet-}$ effizienter.

3.2.2 Einflussgrößen auf den Ladungstransfer in DNA

3.2.2.1 Elektronische Kopplung des Donors / Akzeptors mit DNA

In Photooxidationsexperimenten und in elektrochemischen Experimenten zum Ladungstransfer in DNA wurden Ladungstransferraten und Leitfähigkeiten gefunden, die um mehrere Zehnerpotenzen variierten.^[53, 87] In Experimenten mit anderen molekularen Brücken wurden diese Ergebnisse mittels Rastertunnelmikroskopie (STM) bestätigt.^[88] Für kurze molekulare Brücken bestimmt die elektronische Kopplung zwischen der Brücke und dem Donor / Akzeptor maßgeblich die Leitfähigkeit, was theoretisch und auch experimentell belegt werden konnte.^[88, 89] Hingegen wird eine mögliche elektronische Kopplung des Donors bzw. Akzeptors mit den π -Orbitalen der Nukleobasen und ob bzw. wie dabei die Raten und Ausbeuten des Ladungstransfers beeinflusst werden, kontrovers diskutiert.^[90-93]

3.2.2.2 Strukturelle Faktoren

DNA ist ein flexibles Biomolekül, das in vielen Konformationen vorliegen kann. Diese werden von Faktoren wie Hydratisierungsgrad, Temperatur, Salzgehalt, Basensequenz, Hybridisierungsgrad bestimmt. Deshalb liegt es auf der Hand, dass die Überstruktur der DNA die Ergebnisse der Ladungstransferexperimente beeinflusst. So weist A-DNA eine andere Leitfähigkeit als Z-DNA auf, da die π,π -Wechselwirkungen verändert sind. Folglich kommt der Probenvorbereitung und den Messbedingungen eine tragende Rolle zu, da diese die Struktur der DNA beeinflussen und somit zu abweichenden Ergebnissen führen können.^[87] Leitfähigkeitsmessungen, bei denen die native Struktur der DNA erhalten bleibt,^[94] und bei denen die Elektroden kovalent mit der DNA verknüpft ist, liefern sehr ähnliche und verlässliche Werte.^[95-97]

Ladungstransfer in DNA kann von Base zu Base des gleichen Stranges oder auch auf eine Base im Gegenstrang erfolgen. Vergleicht man die Geschwindigkeiten des Elektronentransfers innerhalb des gleichen Stranges in B-DNA, so ist diese um drei Zehnerpotenzen höher. In A-DNA erhält man vergleichbare Raten für beide Möglichkeiten.^[98] Der Grund liegt in den π,π -Wechselwirkungen. Findet man in A-DNA ähnlich ausgeprägte Wechselwirkungen zu den Basen des Gegenstranges, sind diese in B-

DNA deutlich intensiver mit Basen des gleichen Stranges; eine Ladungsübertragung in den Gegenstrang muss teilweise über H-Brücken erfolgen.

Wie gezeigt, können gewisse Faktoren die DNA-Struktur und somit die Ladungstransfereigenschaften beeinflussen. Allerdings können auch kleine, lokale Veränderungen der Basenstapelung bereits deutlichen Einfluss zeigen. Basenfehlpaarungen, ABASIC SITES und andere destabilisierende Defekte verringern die π,π -Wechselwirkungen und führen deshalb zu einer geringeren Ladungstransfereffizienz.^[99, 100] Diese Eigenschaft lässt sich praktisch nutzen. Basenfehlpaarungen können so detektiert werden.^[101-104] DNA-Schäden wie die Guaninoxidationsprodukte 8-Oxoguanin oder O⁶-Methylguanin verringern ebenfalls die Ladungstransferprozesse.^[100]

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine möglichst effektive π -Stapelung innerhalb der DNA-Helix optimale Bedingungen für Ladungstransferprozesse herstellt.

3.2.2.3 Konformationelle Schaltung

Geschwindigkeit und Effizienz des Ladungstransfers hängen von der Struktur der DNA ab, genauer gesagt von der Struktur der DNA zwischen Ladungsdonor und -akzeptor. Bei einem DNA-Duplex in Lösung handelt es sich um ein großes, flexibles, dynamisches Biomolekül, das seine Konformation ständig verändert. Eine Gleichgewichtsstruktur gibt nur einen gemittelten Wert über das Strukturensemble wieder. Laufen solche Strukturänderungen auf einer langsameren Zeitskala als die der Ladungstransferprozesse ab, so muss man die Dynamik und Raten für die verschiedenen Konformationen berücksichtigen.^[105] Durch solche strukturellen Veränderungen kann der Ladungstransfer je nach Konformation ermöglicht oder unterdrückt werden. Man spricht deshalb von einer konformationellen Schaltung („CONFORMATIONAL GATING“). Ein erstaunlicher Aspekt hierbei ist, dass eine beschleunigte Konformationsdynamik der DNA durch Temperaturerhöhung die Ladungstransferraten erhöht, anstatt sie wie in klassischen Leitern oder Halbleitern zu erniedrigen. In Experimenten mit photoangeregten 2-Aminopurin als Lochdonor und Guanin als Lochakzeptor konnte gezeigt werden, dass Ladungstransferprozesse nicht nur von der Distanz sondern auch stark von der dynamischen Struktur der DNA-Brücke abhängen.^[103, 106, 107] Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt kann dabei entweder die Reorientierung des

Ladungsdonors zur DNA für die Ausbildung der ladungstransferaktiven Konformation oder die Ausbildung dieser Konformation selbst sein.^[70, 108]

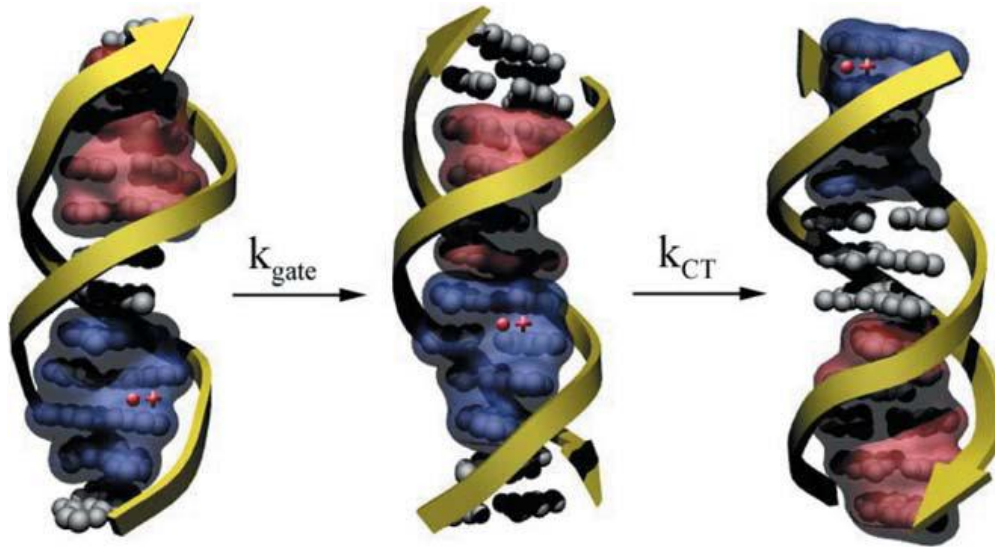


Abb. 17: Einfluss des CONFORMATIONAL GATINGS am Beispiel des oxidativen Lochtransfers von 2-Aminopurin auf Guanin.^[106]

3.2.2.4 Elektronenrücktransfer

Nach einer erfolgten Ladungstrennung folgt zwangsläufig auch eine Ladungsrekombination. Diese wird als Elektronenrücktransfer (BACK ELECTRON TRANSFER, BET) bezeichnet. Wie groß der Einfluss des BET ist, hängt vom untersuchten System ab. Betrachtet man den ladungstrennten Zustand anhand der relativ langsamen Oxidation des Guanin-Radikalkations, so erhält man Ladungstransferraten, die durch BET mitbestimmt werden. In Systemen mit 2-Aminopurin oder Thionin als Lochdonor konnte gezeigt werden, dass zwar eine effektive Ladungstrennung auftritt, allerdings aufgrund des BET es nicht zur Bildung von stabilen Guanin-Oxidationsprodukten kommt (Abb. 18).^[109, 110]

Da die Ladungsrekombination meist eine steilere Distanzabhängigkeit als die Ladungstrennung aufweist, spielen BET-Effekte bei Ladungstransferexperimenten über kürzere DNA-Brücken eine wesentlich größere Rolle.^[111-114]

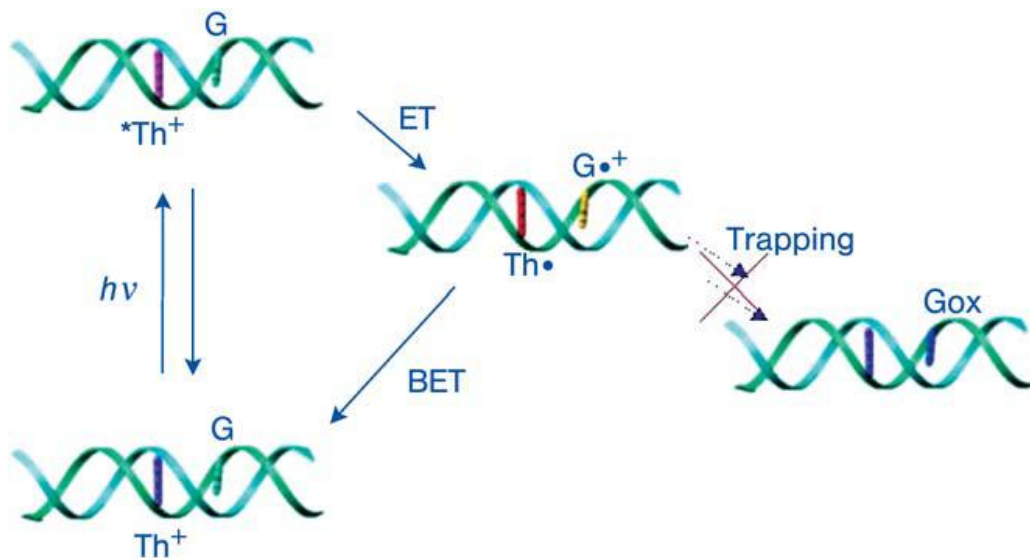


Abb. 18: Schematische Darstellung des Lochtransfers von Thionin auf Guanin. Aufgrund des BET kommt es zu keiner Bildung stabiler Oxidationsprodukte (G_{ox}).^[73]

3.2.2.5 Injektions- und Migrations-Effekte

Obwohl bei Experimenten elektronisch gut koppelnde Donoren und Akzeptoren verwendet wurden, wurden deutlich unterschiedliche Ladungstransfer-Ausbeuten und Geschwindigkeiten erhalten. So konnten für das System $\text{Ru}^{\text{II}*} / \text{Rh}^{\text{III}}$ - System, für die Oxidation von Deazaguanin mit photoangeregten Ethidium und für die Reduktion von Rh^{III} mit photoangeregten Ethidium, die schnellsten Raten erhalten werden.^[58, 115-117] Verwendet man photoangeregtes 2-Aminopurin oder Stilben als Lochdonor, verläuft die Oxidation von Guanin deutlich langsamer.^[118, 119] Die relative Stapelung der Donoren und Akzeptoren ist dafür ausschlaggebend. Um diese Ergebnisse allerdings richtig erklären zu können, muss man zusätzlich noch elektrostatische Effekte auf die Ladungswanderung in Betracht ziehen.^[105] Ladungsdonoren wie Ethidium können aufgrund ihrer lokalen Ladung starken Einfluss auf die Ladungstransferrate und die Elektronenrücktransferrate haben. Im Gegensatz zu ungeladenen Donoren wie 2-Aminopurin tritt nach der Ladungsinjektion keine Ladung mehr an der Injektionsstelle auf. Dementsprechend wird der Ladungstransport von der Injektionsstelle nicht durch Coulomb-Anziehung gestört.

3.2.2.6 Protonengekoppelter Elektronentransfer (PCET)

In biologischen Systemen findet man eine Vielzahl von redoxaktiven Gruppen, die protoniert bzw. deprotoniert werden können und deren pK_a -Wert von der Oxidationsstufe abhängt. Daher ist es wahrscheinlich, dass der Ladungstransfer an einen Protonentransfer gekoppelt ist (PROTON COUPLED ELECTRON TRANSFER, PCET).^[120] In der DNA-Doppelhelix ist jede Base über H-Brücken mit ihrer gegenüberliegenden Base verbunden. Somit liegt es auf der Hand, dass Ladungstransferprozesse in DNA protonengekoppelt ablaufen. Ausgelöst wird der PCET dadurch, dass die Injektion eines Elektrons bzw. Lochs zu stark veränderten pK_a -Werten führt.^[121, 122] Die Acidität der DNA-Basen wird erhöht, wenn sie oxidiert werden. Reduzierte DNA-Basen weisen einen deutlich basischeren pK_a -Wert auf.^[121]

Wird in einen DNA-Duplex ein Loch injiziert, bildet sich zunächst ein $G^{\bullet+}$ -C Basenpaar aus. Betrachtet man sich dieses Basenpaar, so stellt man fest, dass die pK_a -Werte des Guaninradikalkations $G^{\bullet+}$ ($pK_a \approx 3.9$) und der komplementären DNA-Base C ($pK_a = 4.3$)^[122] im selben Bereich liegen.^[81] Anschließend erfolgt ein Protonentransfer und es bildet sich ein Gleichgewicht aus $G^{\bullet+}$ -C und $G(N_1-H)^{\bullet}$ -C(+H⁺). Dieses Gleichgewicht ist leicht zugunsten der Protonentransfer-Spezies verschoben.^[122] Oxidativer Lochtransfer erfolgt aus der $G^{\bullet+}$ -C-Spezies heraus, dabei wird die Ladungstransfargeschwindigkeit durch den PT-Prozess verringert. Laut theoretischen Rechnungen sind PT-Prozesse in $A^{\bullet+}$ -T-Basenpaaren endergonsich.^[123] Hinzu kommt, dass es sich beim Adeninradikalkation $A^{\bullet+}$ um eine starke Base handelt ($pK_a \leq 1$), während Thymin jedoch eine geringe Basizität aufweist ($pK_a(T(H)^+) = -5$). Deswegen sollte sich hier nur ein sehr geringer Anteil der PT-Spezies im Gleichgewicht finden lassen.^[81] Demzufolge sind die Ladungstransfargeschwindigkeiten für das A-HOPPING auch größer als für das G-HOPPING (vgl. Abb. 19).

Wie bereits zuvor erwähnt, dienen beim reduktiven Elektronentransfer T^{\bullet} und C^{\bullet} als intermediäre Ladungsträger. Ein PT wurde allerdings nur für G- C^{\bullet} -Basenpaare z.B. mittels Pulsradiolyse in Lösung beobachtet^[124]. Hierbei erfolgt der Elektronentransfer aus der G- C^{\bullet} -Spezies heraus. Da das Gleichgewicht aber auf der PT-Komponente $G(N_1-H)^{\bullet}$ -C(H)[•] liegt, werden die Elektronentransferraten verringert.

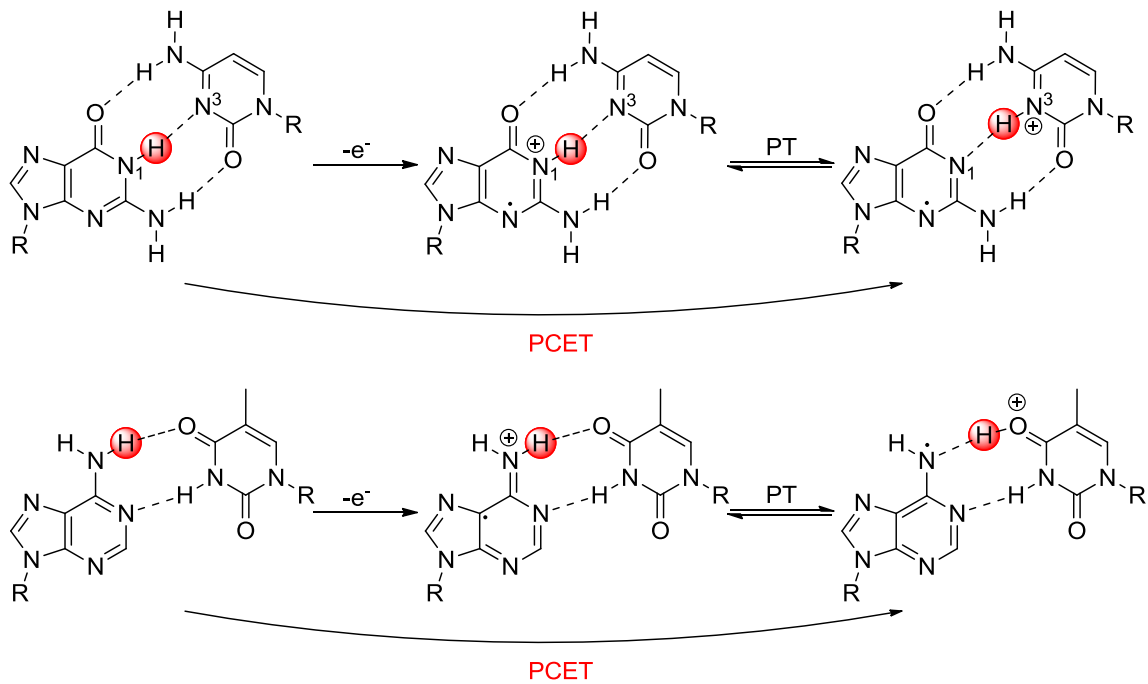


Abb. 19: Protonengekoppelter oxidativer Lochtransfer in GC (oben) und AT (unten) Basenpaaren.

3.2.3 Untersuchungen zum photoinduzierten Ladungstransfer

Um Ladungstransfer in DNA untersuchen zu können, muss die DNA mit photoanregbaren geeigneten Sonden modifiziert werden. Die Methode der Anknüpfung der Sonden richtet sich nach der Art der Sonden, der synthetischen Zugänglichkeit und der gewünschten Orientierung in der DNA. Welche grundlegenden Methoden es gibt, wurde bereits in Kap. 3.1.2 genauer beschrieben.

Mithilfe der REHM-WELLER-Gleichung lässt sich die Triebkraft der Ladungstransferprozesse abschätzen:^[125, 126]

mit:	ΔG_{CT}	freie Enthalpie des Ladungstransfers
	e	Elementarladung ($e = 1.602176565 \cdot 10^{19}$ C)
	E_{Ox}	Oxidationspotential des Grundzustands
	E_{Red}	Reduktionspotential des Grundzustands
	E_{00}	Singulett-Energie des HOMO-LUMO-Übergangs
	C	Änderung der COULOMB-Energie, hier näherungsweise $C = 0$

Die Singulett-Energie des HOMO-LUMO-Übergangs gibt die Energiedifferenz zwischen dem Schwingungsgrundzustand des elektronisch angeregten Zustands und dem Schwingungsgrundzustand des elektronischen Grundzustands wieder. Experimentell lässt sie sich aus den spektroskopischen Daten bestimmen, indem man die Lichtenergie am Schnittpunkt von Absorptions- und Emissionsspektrum bestimmt. Der COULOMB- Beitrag ist vergleichsweise klein und wird deswegen gleich Null gesetzt. Somit ergeben sich für den angeregten Zustand des Donors des jeweiligen Ladungstransfers folgende Potentiale:

für den oxidativen Lochtransfer

für den reduktiven Elektronentransfer

Daraus ergeben sich für die REHM-WELLER-Abschätzung folgende Gleichungen:

Um Ladungstransferprozesse in DNA nachzuweisen, gibt es mehrere Möglichkeiten. Neben der elektrochemischen Detektion^[127, 128] und der spektroskopischen Detektion^[129, 130] gibt es die Möglichkeit, irreversible DNA-Folgeprodukte^[85, 131-134], wie z.B. Strangbrüche, zu analysieren. Im Rahmen dieser Arbeit wurden für die Untersuchung der Ladungstransferprozesse in DNA transiente Absorptionsspektroskopie sowie Fluoreszenzlöschung verwendet. Auf beide Methoden wird im Folgenden nun kurz eingegangen.

3.2.3.1 Transiente Absorptionsspektroskopie

Mithilfe der transienten Absorptionsspektroskopie ist es möglich, kurzlebige Prozesse (fs – Bereich) in Molekülen in Echtzeit zu verfolgen. Dabei wird ein Teil der Probenmoleküle in den angeregten Zustand elektronisch angehoben (PUMP PULSE). Abhängig von der Art des Experiments liegt der Teil zwischen 0.1 % und mehreren 10 %. Anschließend wird ein schwacher Abfragepuls (PROBE PULSE) mit einer zeitlichen Verzögerung τ durch die Probe geschickt.^[135]

Aus den erhaltenen Absorptionsspektren des angeregten und des nicht angeregten Zustands wird ein Differenz-Spektrum errechnet (ΔA). Durch Variation von τ erhält man eine

Funktion von ΔA die abhängig von τ und der Wellenlänge λ ist ($\Delta A(\tau, \lambda)$). Diese Funktion enthält Informationen über die dynamischen Prozesse nach Anregung der Probe, wie z.B. Lebenszeiten des angeregten Zustands, Elektronen- bzw. Protonentransferprozesse, Isomerisierungen oder ISC.

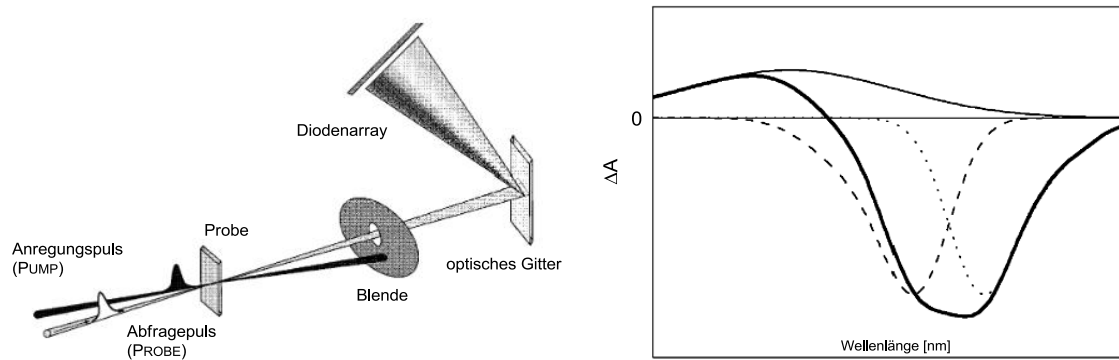


Abb. 20: Schematische Darstellung des Prinzips der transienten Absorptionsspektroskopie (links). Beiträge zu einem ΔA -Spektrum (rechts): Bleichen des Grundzustands (---), stimulierte Emission (···), Absorption des angeregten Zustands (-·-), Summe der Beiträge (—).^[135]

In einem ΔA -Spektrum sind generell folgende Signale beobachtbar:^[135]

❖ *Bleichen des Grundzustands*

Da ein Teil der Probenmoleküle in den angeregten Zustand überführt wurde, nimmt die Anzahl der Moleküle im Grundzustand ab. Dadurch ist die Grundzustandsabsorption in der angeregten Probe geringer als in der nicht angeregten Probe. Man erhält deswegen ein negatives Signal im ΔA -Spektrum.

❖ *Stimulierte Emission*

Für ein System mit zwei Zuständen sind die EINSTEIN-Koeffizienten für die Absorption aus dem Grundzustand (A_{12}) und stimulierter Emission aus dem angeregten Zustand (A_{21}) identisch. Daraus folgt, dass es beim Durchtritt des Abfragepulses durch die Probe zur stimulierten Emission aus dem besetzten angeregten Zustand kommt. Folglich steigt die Lichtintensität am Detektor, was wiederum zu einem negativen Signal führt.

❖ *Absorption des angeregten Zustands*

Durch den Anregungspuls kann es in gewissen Wellenlängenbereichen passieren, dass der angeregte Zustand in einen höher angeregten Zustand überführt wird und

es zur Absorption des Abfragepulses und somit zu einer Abnahme der Lichtintensität am Detektor kommt. Demzufolge erhält man ein positives Signal.

❖ *Produktabsorption*

Nach Anregung der Probe können transiente oder langlebige Prozesse auftreten, wie z.B. Triplett-Zustände oder ladungstrennte Zustände. Die Absorption solch eines (transienten) Produkts wird als positives Signal sichtbar.

3.2.3.2 Fluoreszenzlöschung zur Untersuchung von Ladungstransferprozessen

Betrachtet man Ladungstransferprozesse, so können diese entweder intermolekular aber auch intramolekular ablaufen. Dabei kommt es immer zur Ausbildung eines ladungstrennten Zustands, welcher in der Regel nichtstrahlend ist.

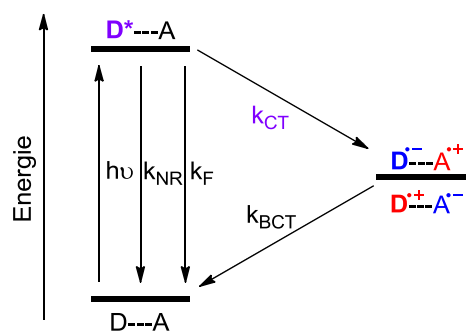


Abb. 21: Darstellung der photoinduzierten Fluoreszenzlöschung von Ladungstransferprozessen: k_F : Geschwindigkeitskonstante der Fluoreszenzemission, k_{NR} : Summe aller strahlungslosen Übergänge, k_{CT} : Geschwindigkeitskonstante des Ladungstransfers, k_{BCT} : Geschwindigkeitskonstante der Ladungsrekombination.

Da es einen zusätzlichen strahlungslosen Relaxationsweg gibt, nehmen die Fluoreszenzlebenszeiten τ_F und die Quantenausbeute Φ_F des Donors ab, was in einer Fluoreszenzlöschung resultiert (QUENCHING). Die Quantenausbeute lässt sich wie folgt bestimmen:

Dabei ist zu beachten, dass mit Zunahme der Geschwindigkeitskonstante für den Ladungstransfer die Emission des Donors zunehmend gelöscht wird. Wie bereits erwähnt (Kap. 3.2.2) hängt die Ladungstransfergeschwindigkeit von diversen Faktoren ab.

Experimentell lässt sie sich erhalten, indem man die unterschiedlichen Fluoreszenzlebenszeiten τ des fluoreszenten Ladungsdonors in An- und Abwesenheit des Ladungsakzeptors bestimmt. Daraus folgt:

$$\text{mit: } \tau_F \quad \text{Fluoreszenzlebenszeit des Donors in Anwesenheit des Akzeptors}$$

$$\tau_{F0} \quad \text{Fluoreszenzlebenszeit des Donors in Abwesenheit des Akzeptors}$$

3.2.3.3 Studien zum oxidativen Lochtransfer

Zu Beginn der Studien über Ladungstransfer in DNA konzentrierte sich das Interesse auf den oxidativen Lochtransfer, was vor allem seiner biologischen Relevanz bei DNA-Läsionen durch oxidativen Stress geschuldet war.^[65, 136-138]

In untenstehender Tabelle sind wichtige spektroskopische Studien zum oxidativen Lochtransfer der letzten Jahrzehnte zusammengefasst.

Tab. I: Übersicht wichtiger spektroskopischer Studien zum oxidativen Lochtransfer in DNA.

Ladungsdonor-/Akzeptor	β [\AA^{-1}]	k_{CT} [s^{-1}]	Arbeitsgruppe	Jahr
Et / MV	-	10^5	FROMHERZ ^[139]	1986
Et / MV, Ac / DAP	1.0	10^8	HARRIMAN ^[140]	1992
Ru(II) / Rh(III) Komplexe	0.2	10^9	BARTON ^[58, 71-73]	1993
Ru(II) / Rh(III) Komplexe	1.0 - 1.5	10^6	MEADE ^[141]	1995
St / G	0.64	$10^8 - 10^{12}$	LEWIS / WASIELEWSKI ^[119]	1997
Et / Rh(III) Komplexe	-	10^{10}	BARTON ^[117]	1997
Ac / G	1.4	$10^5 - 10^{10}$	TANAKA ^[142]	1998
Rf / GG	-	-	SAITO ^[143-145]	1998
Et / Z	-	10^{12}	BARTON / ZEWAIL ^[115]	1999
Ap / G	0.1 - 1.0	$10^9 - 10^{10}$	BARTON / ZEWAIL ^[90, 118]	1999
AQ / GG, AQ / OxoG	-	-	SCHUSTER ^[146]	1999
Ap / G	0.75	$10^6 - 10^7$	SHAFIROVICH ^[147]	2000
Ap / G	0.6	$10^9 - 10^{11}$	BARTON / ZEWAIL ^[118]	2000
AQ / GG	-	-	SCHUSTER ^[148]	2000
Ac / G, Ac / Z	0.8 - 2.0	$10^7 - 10^{12}$	MICHEL-BEYERLE ^[149]	2001
Py / G, Ptz / G	0.2 - 0.3	10^4	MAJIMA / KAWAJI ^[150]	2002
CNBPU / PhG	-	-	SAITO ^[151]	2002

Ru(II) Komplex / Me-In	-	$\geq 10^7$	BARTON ^[152]	2002
AQ / ^{CP} A	-	-	SAITO ^[110]	2003
Ap / G, Ap ^{CP} G	-	-	BARTON ^[107]	2004
AQ / GG	-	-	SCHUSTER ^[153]	2004
Rh(III) Komplex / ^{CP} C, AQ / ^{CP} C	-	-	BARTON ^[154]	2004
St / Sto	0.4	10^8	LEWIS / WASIELEWSKI ^[155]	2004
Sa / Sd	0.6	10^{10}	LEWIS / FIEBIG / SHAFIROVICH ^[67]	2006
Et / Z	0.4	$10^{10} - 10^{11}$	FIEBIG / WAGENKNECHT ^[70]	2006
AQ / G, NI / G, NDI / G	-	-	MAJIMA ^[156]	2010
Sa / Sd / zA	-	10^9	LEWIS / WASIELEWSKI ^[157]	2011
Sa / Sd	0.9	10^9	LEWIS / RATNER ^[158]	2013

Abkürzungen: Ac = Acridin, Ap = 2-Aminopurin, AQ = Anthrachinon, ^{CP}A = N²-Cyclopropyladenin, ^{CP}C = N²-Cyclopropylcytosin, DAP = N,N'-Dimethyl-2,7-diazapyren, Et = Ethidium, G = Guanin, ^{CP}G = N²-Cyclopropylguanin, ^{Ph}G = N²-Phenylguanin, Me-In = 4-Methylindol, NI = Naphtalimid, NDI = Naphtaldiimid, OxoG = 7,8-Dihydro-8-oxoguanin, Ptz = Phenothiazin, Py = Pyren, Sa = Stilbendicarboxamid, Sd = Stilbendiether, St = Stilbendicarboxamid, Sto = Stilbenether, ^{CNBP}U = Cyanobenophenon-substituiertes U, Z = 7-Deazaguanin, zA = 7-Deazaadenin.

3.2.3.4 Studien zum reduktiven Elektronentransfer

Für den reduktiven Elektronentransport durch die DNA-Helix benötigt man einen Ladungsdonor zur Injektion des Elektrons, sowie einen Ladungsakzeptor mit geeignetem Reduktionspotential zum Abfangen des Elektrons.

Der Nachweis der erfolgreichen Elektroneninjektion kann auf mehrere Arten erfolgen. Die ersten Erkenntnisse wurden durch ESR-Spektroskopie gewonnen.^[159-162] Durch Bestrahlung mit γ -Strahlen wurden solvatisierte Elektronen erzeugt, die in der Lage sind, DNA zu reduzieren. Als Ladungsakzeptoren wurden Aromaten verwendet, die in den Basenstapel der DNA-Helix interkalieren können. Als detektierbares Signal kann so die Abnahme der Intensität des primär entstehenden Nukleobasenradikalanions und die Intensitätszunahme des entstehenden Akzeptoranions verfolgt werden. Da allerdings weder die Elektroneninjektion noch das Elektronabfangen an einer definierten Stelle im DNA-Duplex erfolgt, lassen sich nur schwer Aussagen über den Mechanismus treffen. Deswegen wurden Elektronentransfersonden entwickelt, die kovalent und somit an definierter Stelle in die DNA eingebracht werden können. Neben Flavin (Fl),^[132, 133] wurden Naphtalendiamin (Nd),^[134, 163] Stilbendiether (SbE),^[164] ein Thyminderivat (Tx),^[165, 166] Phenothiazin-dU (Ptz-

dU)^[85] und die pyrenmodifizierten Uridine **1Py-dU**^[83, 167] und **2Py-dU**^[168] als photoanregbare Elektronendonoren verwendet. Die Redox Eigenschaften der einzelnen Sonden unterscheiden sich allerdings deutlich. Können Flavin und Naphtalendiamin im angeregten Zustand noch alle natürlichen DNA-Basen außer G reduzieren, können die anderen erwähnten Sonden Elektronen nur auf C und T übertragen (vgl. Abb. 22).

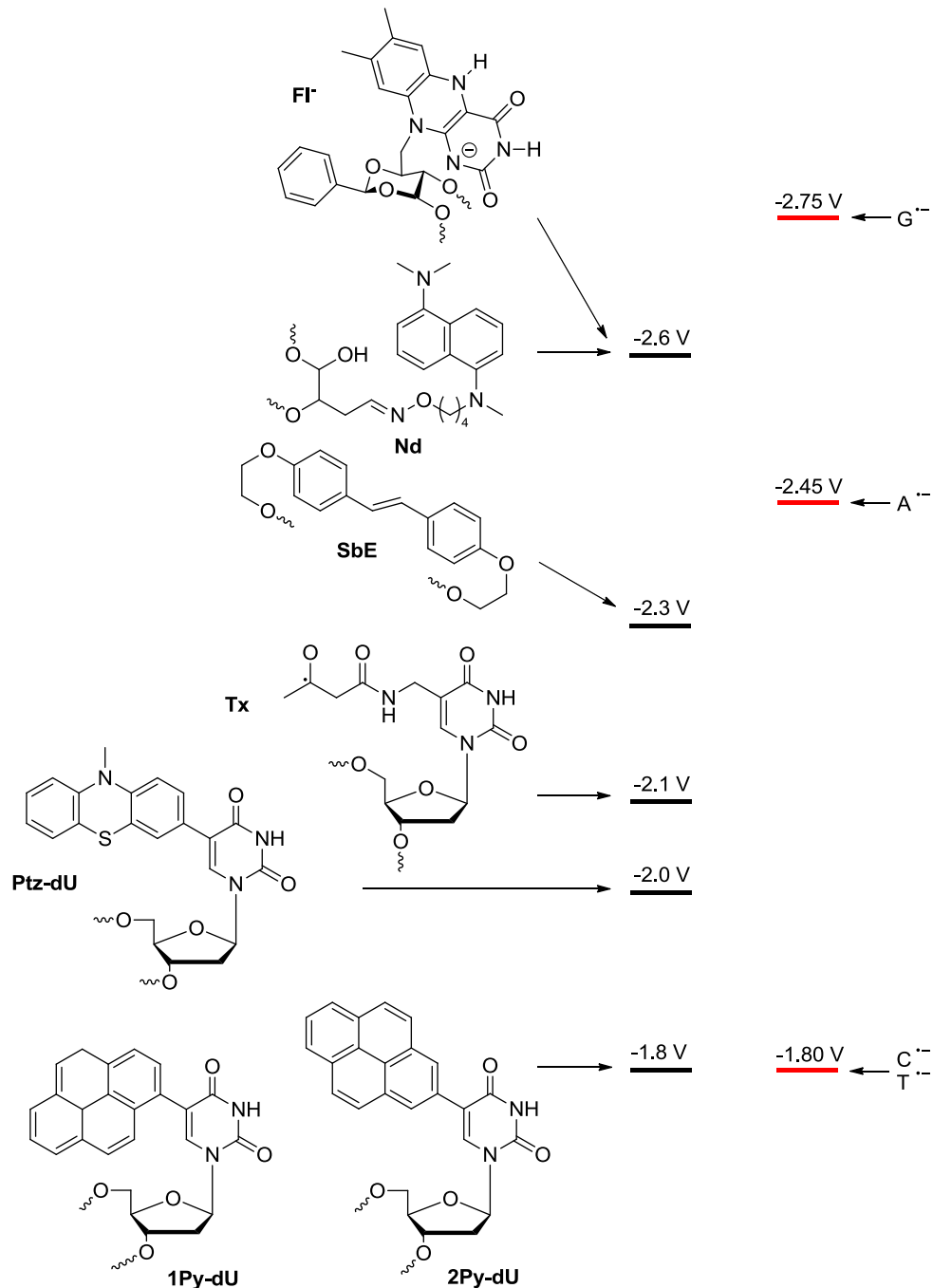


Abb. 22: Darstellung einiger ausgewählter Elektronendonoren und ihrer Reduktionspotentiale im angeregten Zustand im Vergleich zu den natürlichen Nucleobasen.

Einen Überblick über einige wichtige Experimente zum reduktiven Ladungstransfer in DNA gibt nachfolgende Tabelle (vgl. Tab. II).

Tab. II: Übersicht über einige wichtige Experimente zum reduktiven Elektronentransfer in DNA.

Ladungsdonor-/Akzeptor	β [\AA^{-1}]	Arbeitsgruppe	Jahr
E / V	-	FROMHERZ ^[139]	1986
E / V, Ac / DAP	1.0	HARRIMAN ^[140]	1992
Ru(II) / Rh(III)-Komplexe	\leq „0,2“ ^[a]	BARTON ^[58]	1993
Py / V	-	SHAFIROVICH ^[169]	1997
St / G	0.64	LEWIS ^[7, 119, 164, 170]	1997
Sd / C, T, BrdU	-	LEWIS ^[171-174]	1999
e _{aq.} / Nc, e _{aq.} / Nq	-	ANDERSON ^[175]	1999
e _{aq.} / Mx	0.9	SEVILLA ^[159-161, 176]	2000
Fl / T ⁺ T	„0,1“	CARELL ^[132, 177, 178]	2000
1Py-dU / C, T	-	WAGENKNECHT ^[84, 167]	2002
Nd / BrdU	0.3	ROKITA ^[134, 163, 179, 180]	2003
Tx / T ⁺ T	-	GIESE / CARELL ^[166]	2004
PtzdU / BrdU	-	WAGENKNECHT ^[85, 181]	2005
PedU / BrdU	-	NETZEL ^[182]	2005
PydU / BrdU	-	WAGENKNECHT ^[83]	2005
Et / NI	0.32	WAGENKNECHT ^[70]	2006
Ptz / Tg	-	ITO / NISHIMOTO ^[183]	2006
Fl / BrdU, BrdA, BrdG	-	CARELL ^[184]	2006
Fl / OxT, OxdU	-	CARELL ^[185]	2006
Ir(III)-Komplex / ^{cp} C	-	BARTON ^[186]	2007
TO / Ni	-	WAGENKNECHT ^[187]	2008
1Py-dU / Phen / BrdU	-	LEUMANN ^[188]	2008
Apy / BrdU, Apy / IdU	-	FIEBIG / LEWIS ^[189]	2009
2Py-dU / BrdU	-	WAGENKNECHT ^[131]	2012
1Py-dU / PhdU / BrdU	-	SAITO ^[190]	2012
Ptz / Phen / BrdU	-	LEUMANN ^[191]	2013
DN / AA / BrdU	-	ROKITA ^[192]	2013
1Py-dU / AQ	-	MAJIMA ^[193]	2013

[a] Angabe der β -Werte bei Ladungstransfer gemäß des HOPPING-Modells genau genommen nicht zulässig, da es sich um einen inkoherenten Prozess handelt, wodurch die MARCUS-Theorie nicht angewandt werden kann.

Abkürzungen: AA = Aminoanthracen, Ac = Acridin, Apy = Aminopyren, AQ = Anthraquinon, BrdA = Brom-dA, BrdG = Br-dG, BrdU = Br-dU, ^{cp}C = N²-Cyclopropylcytosin, DAP = N,N'-Dimethyl-2,7-diazapyren, DN = Diaminonaphthalin, E = Ethidium, Et = kovalent an DNA gebundenes Ethidium, e_{aq.} = solvatisierte Elektronen, Fl = Flavin, IdU = Iod-dU, Mx = Mitoxantron, Nc = Nitroacridin, Nd = Naphthalindiamid, NI = 5-Nitroindol,

Nq = Nitrochinolin, **OxdU** = Thyminoxetan-dU, **OxT** = Methylthyminoxetan, **PedU** = Perylen-dU, **PhdU** = (Phenylethynyl)-2'-desoxyuridin, **Phen** = Phenanthrenyl, **Ptz** = Phenothiazin, **Py** = Pyren, **1PydU** = 1-Pyren-dU, **2PydU** = 2-Pyren-dU, **PtzdU** = Phenothiazin-dU, **Sd** = Stilbendiether, **St** = Stilbendicarboxamid, **Tg** = Thymindiol, **TO** = Thiazol Orange, **Tx** = Dialkylketonmodifiziertes Thymin, **T[^]T** = Thymindimer, **V** = Methylviologen.

3.3 Porphyrine in DNA

3.3.1 Porphyrine – Moleküle des Lebens

3.3.1.1 Aufbau und Eigenschaften der Porphyrine

Porphyrine sind organische Verbindungen, die in großer Vielzahl natürlich vorkommen. Sie bestehen aus vier Pyrroleinheiten, die in der α -Position über Methinbrücken miteinander verknüpft sind. Alle Kohlenstoffatome im Porphyrin sind sp^2 -hybridisiert; ihre Struktur ist aromatisch. Natürliche Porphyrine folgen der HÜCKEL-Regel, d. h. sie besitzen $4n + 2\pi$ Elektronen, die über den Makrozyklus delokalisiert sind. Dieses große delokalisierte System hat zur Folge, dass Porphyrine eine intensive Absorptionsbande im sichtbaren Bereich zeigen und stark farbig sind. Die dominante Absorptionsbande bezeichnet man nach ihrem Entdecker als SORET-Bande,^[194] die weniger intensivere als Q-Bande. Ihrer Farbigkeit verdanken Porphyrine auch ihren Namen. Porphyrin stammt vom griechischen Wort „πορφύρα“ (porphyra) und bedeutet so viel wie „purpur“.^[195]

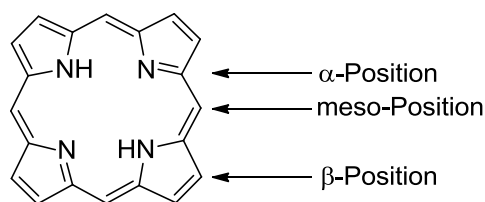


Abb. 23: Porphyn: Der einfachste Vertreter der Porphyrine.

Der Makrozyklus weist eine optimale Größe auf, um eine Vielzahl von Metallatomen im Inneren zu komplexieren. Besonders zwei- und dreiwertige Kationen werden bevorzugt eingelagert. Wie an der Struktur des einfachsten Porphyrins, Porphyn, gezeigt (vgl. Abb. 23), bieten meso- und β -Position optimale Anknüpfungspunkte für weitreichende Substitutionen mit organischen Gruppen oder Molekülen. Die Bandbreite der schier unendlichen Komplexierungs- und Substitutionsmöglichkeiten machen Porphyrine zu sehr interessanten Molekülen, deren Eigenschaften sich gezielt steuern und einstellen lassen und somit eine große Anzahl an Einsatzmöglichkeiten bieten.

3.3.1.2 Vorkommen und Synthese von Porphyrinen

Porphyrine sind Moleküle, ohne die das Leben auf der Erde nicht stattfinden könnte. Einige der wichtigsten Biomoleküle weisen Porphyrine als zentrales Strukturelement auf. Zu den wohl bekanntesten Vertretern gehören dabei Chlorophyll, Hämoglobin, Myoglobin und Vitamin B12. Dabei fungiert die funktionalisierte Tetrapyrrol-Einheit des Porphyrins als Vielzweckwaffe. Bei fundamentalen biologischen Prozessen wie Gastransport (O_2 , CO_2), Lichtabsorption und Elektronentransport sind Tetrapyrrole involviert. Genauso dienen sie als Kofaktoren für enzymatische Reaktionen oder Regulatoren bei der Proteinaktivität.^[196]

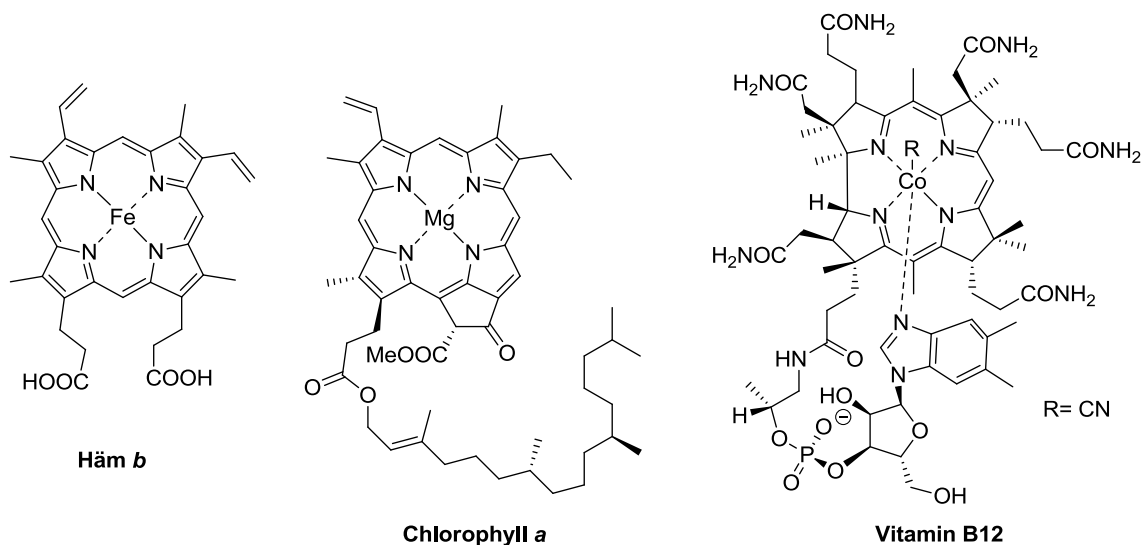


Abb. 24: Die fundamentalen Strukturelemente von Hämoglobin, Chlorophyll und Vitamin B12.

Häm *b* findet sich in Hämoglobin genauso wie im Muskelfarbstoff Myoglobin. Die Familie der Häme umfasst noch viele weitere funktionalisierte Eisen-Porphyrinkomplexe, die besonders in der Enzymfamilie der Cytochrome als funktionsgebendes Element zu finden sind. Chlorophylle zählen wahrscheinlich mit zu den häufigsten Biomolekülen unseres Planeten. Als Teil des Lichtsammelkomplexes in grünen Pflanzen sind sie für Photosynthese und somit für die Nutzbarmachung von Sonnenenergie verantwortlich. Vitamin B12 ist ein für den Menschen essentielles Vitamin, da es unser Körper nicht selbst herstellen kann. Es spielt im menschlichen Organismus eine wichtige Rolle bei der Zellteilung, Blutbildung und der Funktion des Nervensystems. Bei Vitamin B12-Mangel können verschiedene Krankheitsbilder auftreten. Eine der bekanntesten ist vermutlich die perniziöse Anämie, eine Form der Blutarmut.

Die Biosynthese dieser drei Strukturfamilien von Porphyrinen, Häm, Chlorophyll und Cobalamin, geht auf eine gemeinsame Ausgangsverbindung, die Aminosäure 5-Aminolävulinsäure (ALA), zurück.^[196] Acht Moleküle ALA werden in drei enzymatischen Schritten zu Uroporphyrinogen III (Urogen III) zusammengeführt.

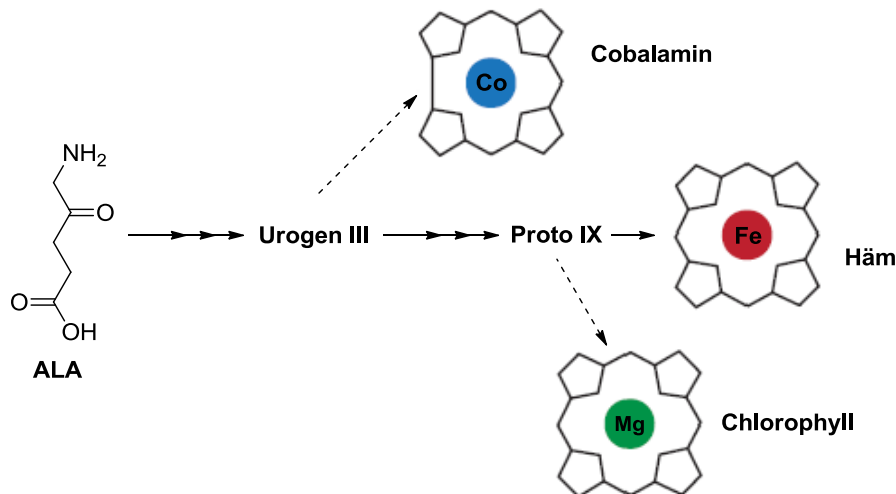


Abb. 25: Schematische Darstellung der Biosynthese der wichtigsten Porphyrinvorläufer. Abgeänderte Grafik aus Literatur.^[196]

Die weitere Synthese von Cobalamin ist ein langer und komplizierter metabolischer Prozess, der mehr als 15 Schritte umfasst. Dabei wird ein Kobaltkation als Zentralatom eingeführt, der Makrozyklus modifiziert und ein Nukleotidrest angebracht.^[197, 198] Der Vorläufer von Häm und Chlorophyll, Proto IX, wird in drei weiteren Schritten synthetisiert.^[199] Danach erfolgt jeweils die enzymatische Insertion der Zentralatome. Die Synthese des fertigen Chlorophylls umfasst dabei noch zahlreiche Schritte,^[200] während Häm insgesamt nur die Hälfte der enzymatisch katalysierten Syntheseschritte benötigt. Da Eisen ebenfalls viel leichter verfügbar ist als Magnesium oder Kobalt, lässt sich daraus schließen, dass die Häm-Synthese den wohl ursprünglichsten und zeitgeschichtlich ältesten der drei Wege darstellt.^[201, 202] Deswegen ist es auch nicht verwunderlich, dass Häme in allen Lebensformen vorkommen, während Chlorophylle und Cobalamine in nur bestimmten Lebensformen zu finden und ihre Funktionen weiter spezialisiert sind.^[197, 200, 203] So hat sich im Laufe der Evolution eine Bandbreite an Proteinen entwickelt, die verschieden modifizierte Tetrapyrrole binden können (vgl. Abb. 26).

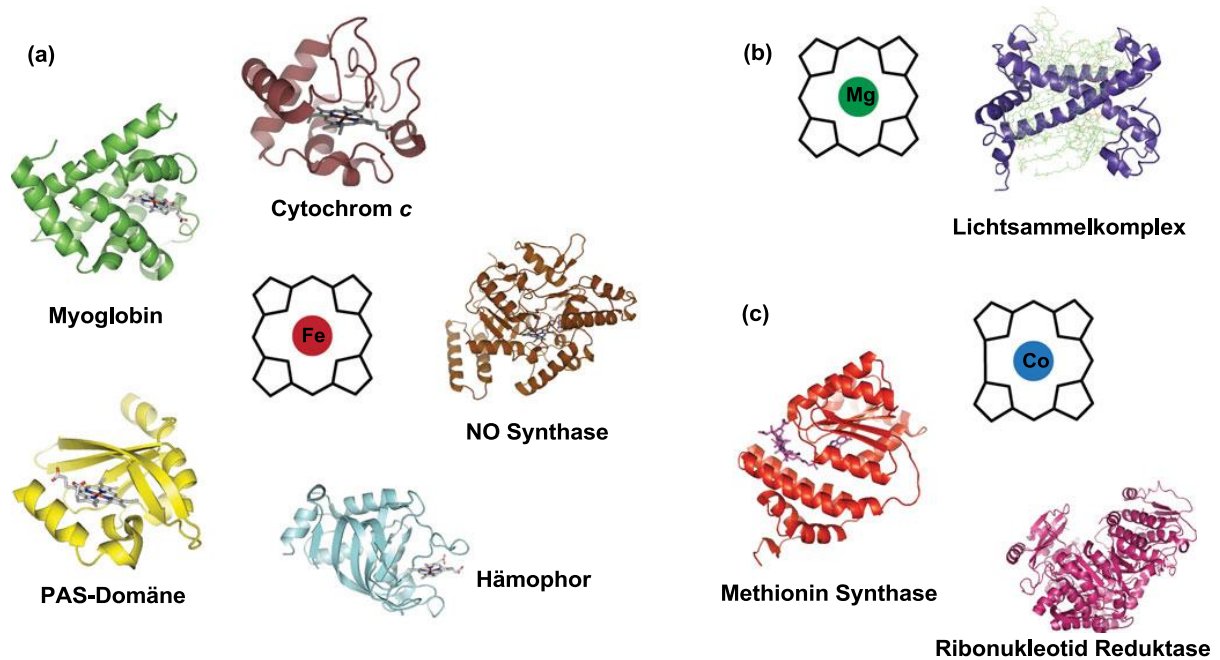


Abb. 26: Darstellung verschiedener Proteinstrukturen die unterschiedliche Tetrapyrrole binden können. (a) Häm-bindende Proteine, (b) Chlorophyll-beinhaltenes Protein, (c) Cobalamin-bindende Enzyme. Abgeänderte Grafik aus Literatur.^[196]

Nasschemisch lässt sich das Porphyrin-Gerüst auf mehrere Weisen synthetisieren. Dabei handelt es sich um Kondensationsreaktionen zwischen Aldehyden, Pyrrolen, Dipyrromethanen oder ähnlichen Verbindungen unter sauren Bedingungen mit anschließender Oxidation. Die erste veröffentlichte Synthese eines Porphyrins erfolgte 1936 durch ROTHEMUND.^[204] Porphyn wurde durch Kondensation von Pyrrol mit Formaldehyd dargestellt. Heute sind eine Vielzahl an Synthesevorschriften bekannt, um symmetrische Porphyrine,^[205-208] aber auch asymmetrisch funktionalisierte Porphyrine^[209-212] darzustellen.

3.3.2 Anwendungsgebiete der Porphyrine

Wie bereits gezeigt, weisen Porphyrine ein breites Spektrum an interessanten Eigenschaften auf. Ihre herausstechenden Eigenschaften in elektronischer, optischer, redoxaktiver und/oder katalytischer Hinsicht, die sie in Organismen und Natur vollbringen, möchte man sich auch in Forschung und Technik zu Nutze machen. Auf zwei Anwendungsgebiete der Porphyrine soll nun im Folgenden etwas genauer eingegangen werden.

3.3.2.1 Photodynamische Therapie: Porphyrine als Photosensibilisatoren

Die heilende Kraft von Sonnenlicht war bereits im Altertum bekannt. Ägypter und Griechen verabreichten Licht in therapeutischen Dosen, um verschiedene Hautkrankheiten zu heilen.^[213, 214] In der Moderne wurde dieses Phänomen der Heliotherapie wiederentdeckt und durch VON TAPPEINER und JESIONEK 1903 genutzt, um Hautkrebs mittels Eosin und sichtbaren Licht zu behandeln.^[215] Ebenso nutzte der Nobelpreisträger NIELS FINSEN zu dieser Zeit Licht, um das Hauterscheinungsbild Tuberkulosekranker zu therapieren.^[216]

Später wurde der Begriff der photodynamischen Therapie (PDT) geprägt. Bei diesem Prozess spielt neben Licht, ein Photosensibilisator (PHOTOSENSITIZER, PS) und reaktive Sauerstoffspezies (ROS) eine tragende Rolle. Der Photosensibilisator wird selektiv im gewünschten Gewebetyp (z.B. Tumorzellen) angereichert, dort mit einer niederenergetischen gewebedurchdringenden Lichtmenge bestrahlt und somit aktiviert.^[217] Dadurch werden verschiedene photophysikalische Prozesse ausgelöst, durch die reaktive Sauerstoffspezies entstehen, welche dann zum Zelltod führen (vgl. Abb. 27).^[218]

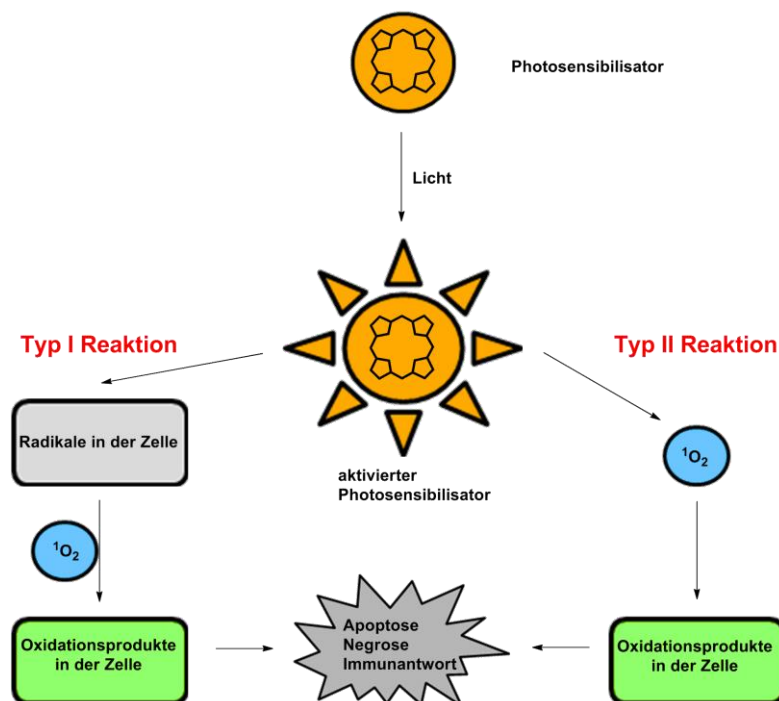


Abb. 27: Typ I und Typ II Reaktion in der PDT: Der aktivierte Photosensibilisator kann zwei Reaktionen eingehen. Entweder reagiert er mit dem Substrat (Zellmembran, Molekül o.ä.) zu Radikalen (Typ I Reaktion) oder erzeugt direkt Singulett- O_2 (Typ II Reaktion). Dadurch entstehen in der Zelle Oxidationsprodukte die den Zelltod auslösen.^[217]

Die intrazelluläre Lebenszeit von Singulett-Sauerstoff in einer metabolisch aktiven Zelle beträgt mit circa $3 \mu s$ ^[219] deutlich länger als bislang angenommen.^[220-222] Somit resultiert ein Diffusionskoeffizient von $2-4 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.^[223] Die kurze Lebenszeit und die lokale

Begrenzung der PDT machen sie zu einer selektiven Form der Krebstherapie. Anders als andere Behandlungsmethoden, wie invasive Eingriffe, Radio- oder Chemotherapie, schädigt man mittels PDT gesundes Gewebe deutlich weniger.^[224]

Einen idealen Photosensibilisator machen verschiedene Charakteristika (s. Tab. III) aus. Manche dieser Eigenschaften können sehr leicht modifiziert werden, wie die Absorptionswellenlänge, andere hingegen wie z. B. die Pharmakokinetik sind hingegen schwerer zu steuern.

Tab. III: Charakteristika eines idealen Photosensibilisators.^[225]

Eigenschaft	Beschreibung
Reinheit	möglichst reine, monomere, bei Raumtemperatur stabile Verbindung.
Toxizität	minimale Toxizität ohne Lichteinwirkung; erst durch gezielte Lichtaktivierung toxisch; keine toxischen Abbauprodukte.
ADME	optimaler Absorptions-, Distributions-, Metabolisierungs- und Ausscheidungsweg (ADME) für relevante Anwendung.
Aktivierung	Lichtabsorption bei $\lambda \sim 700$ nm bis 850 nm für maximale Gewebedurchdringung bei minimaler Lichtstreuung.
Quantenausbeuten	hohe Singulett-O ₂ Quantenausbeuten (Φ_{Δ}) für photochemische Prozesse.
Kosten und Verfügbarkeit	billige und käuflich erhältliche (Ausgangs-)Verbindungen um intensiven Einsatz zu gewährleisten.
Selektivität	bevorzugte Anreicherung im Tumorgewebe; Anreicherung in Zellorganellen um vorzugsweise apoptotischen Zelltod einzuleiten.
Mutagenität/ Karzinogenität	weder Mutagenität noch Karzinogenität sollte ein Photosensibilisator aufweisen.

Photosensibilisatoren lassen sich in zwei Kategorien einteilen: Porphyrine und Nicht-Porphyrine. Im weiteren Verlauf wird nur auf Porphyrine als Photosensibilisatoren eingegangen.

Es war naheliegend, dass die ersten Porphyrine in der PDT von Derivaten bereits bekannter, natürlicher extrahierbarer Tetrapyrrolen stammten. Aus Hämoglobin konnte Hämatoporphyrin (Hp) isoliert werden,^[226] welches bereits PDT-aktive Wirkung zeigt. Die Reinigung dieses Extrakts führte über das Hämatoporphyrin-Derivat (HpD)^[227, 228]

schließlich zu PORFIMER-NATRIUM (PHOTOFRIN®)^[229] mit deutlich verbesserten Eigenschaften. Dabei handelt es sich allerdings um keine reine Verbindung, sondern vielmehr um ein komplexes Gemisch aus Monomeren, Dimeren, Oligomeren und Verunreinigungen.^[230, 231] Die Nachteile an HpD und PHOTOFRIN® liegen in der verursachten langen Lichtempfindlichkeit der Haut der Patienten (4-6 Wochen) und bei einer geringen Gewebeeindringtiefe aufgrund der Aktivierung durch Anregung bei $\lambda = 630 \text{ nm}$.^[231]

Um diese Nachteile auszugleichen, wurde eine zweite Generation an Photosensibilisatoren entwickelt. Da es aber keinen idealen Kandidaten für alle Anwendungen in der Onkologie gibt, ist eine Vielzahl an Pharmazeutika auf dem Markt.^[232] Wie bereits erwähnt (vgl. 3.3.1.2) ist ALA die Ausgangsverbindung bei der Biosynthese von Porphyrinoiden. Interessanterweise lässt sich ALA auch in der PDT einsetzen (Handelsname: LEVULAN®). Seit 1999 ist LEVULAN® von der FDA für die Behandlung von aktinischer Keratose zugelassen. Eigentlich wird ALA zu Protoporphyrin IX (PpIX) umgesetzt. Der therapeutische Trick dabei ist, dass ALA sich in Tumorzellen stärker anreichert als in gesundem Gewebe.^[233] Zudem findet man in einem Neoplasma aufgrund eines aktiveren Metabolismus eine 2-10 fache PpIX-Produktion. Somit übersteigt die Rate der PpIX-Produktion die der Häm-Produktion, was zur Folge hat, dass sich PpIX im Tumorgewebe anreichert.^[234] Einige Faktoren begünstigen zudem die Anreicherung von PpIX,^[235, 236] darunter die schwankende Konzentration an Häm-bildenden Enzymen und die deutlich geringere Eisenkonzentration in Tumorzellen.^[237] Das Absorptionsmaximum von PpIX liegt bei $\lambda = 410 \text{ nm}$. Darüber hinaus besitzt es noch weitere schwächere Absorptionsbanden im Bereich von $\lambda = 510 - 635 \text{ nm}$.^[238] Bei $\lambda = 635 \text{ nm}$ liegt der molare Extinktionskoeffizient noch bei $\epsilon < 5 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.^[232] Der Vorteil von LEVULAN® liegt neben der Wirksamkeit in der einfachen Zugänglichkeit, der Verträglichkeit und der einfachen Verabreichung. Ein Nachteil ist die geringe Behandlungstiefe von gerade mal einem Millimeter bei nekrotischem Gewebe. Deswegen wurden Derivate, wie METVIX®, BENZVIX® oder HEXVIX® entwickelt, die eine tiefere Behandlungstiefe zulassen.^[239]

Als Photosensibilisatoren der dritten Generation bezeichnet man Konjugate aus Photosensibilisator und einem Trägermolekül, wie z. B. Proteinen, Oligonukleotiden, monoklonalen Antikörpern, Kohlenhydraten, Wachstumsfaktoren oder hydrophilen Polymeren.^[224]

Tab. IV: Eigenschaften ausgewählter Porphyrin-Photosensibilisatoren.^[225]

PS	PHOTOFRIN®	TOOKAD®	LEVULAN®	METVIX®
Absorption [nm]	630	763	635	635
Lokalisation	Golgi-Apparat, Plasmamembran	Blutgefäße	Mitochondrien, Cytosol, Cytosolische Membran	Mitochondrien, Cytosol, Cytosolische Membran
Primärmechanismus	Gefäßschaden, ischämische Tumorzell-Nekrose	Gefäßschaden	direkte Cytotoxizität	direkte Cytotoxizität
verabreichte Bestrahlungsdauer	24 - 48 h	15 min	4 - 6 h	3 h
Anwendungsgebiet	Speiseröhrenkrebs, Lungenkrebs, Endobronchialkrebs, Magen- und Blasenkrebs, Gebärmutterhalskrebs	Prostatakrebs	Aktinische Keratose	Aktinische Keratose, Basalzellen- Karzinom
lokale und allgemeine Nebenwirkungen	Hautrötung, Lichtempfindlichkeit, Verstopfung		Stechen, Brennen, Juckreiz, Hautrötung	Brennen, Rötung, Schuppenbildung
klinische Zulassung	JA	NEIN	JA	JA

Die Rolle der Porphyrine und Metalloporphyrine als Therapeutika hat zugenommen, nicht nur bei der Bekämpfung von Krebs. Abkömmlinge von Meso-tetrakis(*N*-methylpyridiniumyl)porphyrin (TMTPyP) zeigen therapeutische Aktivität gegenüber HIV.^[240, 241]

Porphyrine sind sehr wirkungsvolle und leicht zugängliche Verbindungen, die sich für den Einsatz in der PDT hervorragend eignen. Im Verbund mit anderen Behandlungsmethoden stellen sie eine vielversprechende Möglichkeit dar um Krankheiten, insbesondere Krebs, erfolgreich zu behandeln.

3.3.2.2 Porphyrine als molekulare elektronische Komponenten in Bauelementen

Die Leistungsfähigkeit integrierter Schaltkreise entwickelt sich rasant. Das MOOREsche Gesetz beschreibt diese Entwicklung. Es besagt, dass sich die Anzahl der Komponenten auf einem Chip alle 12-24 Monate verdoppelt.^[242] Allerdings werden viele elektronische Komponenten in naher Zukunft an ihr Limit geraten, was Leistung oder Miniaturisierung anbelangt, denn traditionelle anorganische Materialien und Komponenten sind bis zum Maximum der theoretischen Leistungsfähigkeit bereits ausgelotet.^[243] Hinzu kommt, dass die heute angewendeten Techniken für die Massenproduktion von siliziumbasierten elektronischen Komponenten energieaufwendig, teuer, teilweise giftig sind und zudem viel Abfall produzieren. Deswegen besteht die Motivation die Entwicklung molekularer elektronischer Bauelemente voranzutreiben. Dadurch könnte zum einen die Leistungsdichte erhöht, zum anderen die Nebeneffekte verringert werden.^[244, 245]

Dabei dient wiederum die Natur als Vorbild. So sind Ionenkanäle selbst-assemblierte elektronische Komponenten in biologischen Membranen, die entweder nur im „An“ oder im „Aus“-Modus vorliegen und eine spezifische Leitfähigkeit besitzen.^[246] Ein weiteres Beispiel sind die verantwortlichen Reaktionszentren bei der Photosynthese, die in der Lage sind Elektronen sehr effizient über eine Distanz von etwa acht Nanometern zu transportieren.^[243]

Für die Anwendung in der Technik bedarf es Moleküle, deren HOMO-LUMO-Energieabstand in einem operativen Bereich liegt. Dies ist bei Porphyrinen und ihren verwandten Makrozyklen der Fall. Ihr großes, stabiles aromatisches System erfüllt diese Voraussetzung. Zudem weisen sie unter gewissen Bedingungen ein reversibles Redox-Verhalten auf. Mit ihrer Fähigkeit, fast jedes Metall des Periodensystems im Inneren zu komplexieren, besitzen Porphyrinoide attraktive elektrochemische und photophysikalische Eigenschaften.^[247, 248]

Eine der frühen interessanten Arbeiten ist die Fertigung von porphyrinbasierten beschreibbaren Datenspeichern von BARD und FOX (vgl. Abb. 28).^[249, 250] In eine Photozelle wurde ein dünner Film aus Flüssigkristallen (ZnODEP) zwischen zwei Elektroden aus lichtdurchlässigem Indium-Zinn Oxid (ITO) eingebracht. Dieses Porphyrin besitzt eine hohe Photoleitfähigkeit. Bestrahlt man nun die Photozelle mit $\lambda = 550 \text{ nm}$ und legt gleichzeitig ein negatives Potential an, so wird ein positiver Kathodenstrom erzeugt und Elektronen werden in die zuvor freien Stellen (ELECTRON TRAPS) der Porphyrinschicht eingelagert. Dieser Schritt kommt einem Beschreiben gleich. Da ZnODEP einen sehr hohen spezifischen Leitungswiderstand ($\geq 10^{14} \Omega \cdot \text{cm}$) besitzt, bleiben die Elektronen bei offenen Schaltkreis oder

Kurzschluss eingelagert, wenn die Bestrahlung eingestellt wird. Um die Information wieder auszulesen, wird während des Kurzschließens der angelegten Spannung erneut mit $\lambda = 550 \text{ nm}$ belichtet. Die Elektroden werden wieder freigegeben und erzeugen einen Anodenstrom.

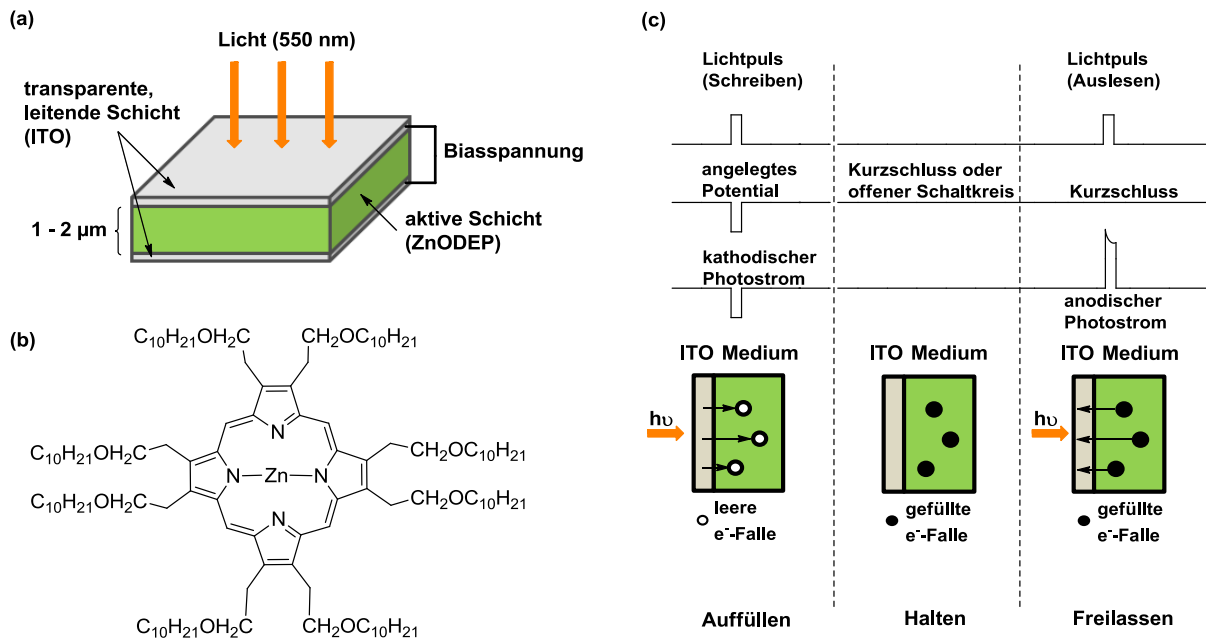


Abb. 28: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Speichermediums.^[249, 250] (a) Schematischer Aufbau der Photozelle, (b) Struktur des verwendeten Zink-Porphyrins (ZnODEP), (c) Darstellung der lichtinduzierten Funktionsweise des Speichermediums.

Dabei lassen sich die Ausschläge des kathodischen bzw. anodischen Photostroms als „1“ bzw. „0“ ansehen, analog zu einem Chip auf anorganischer Basis. Erstaunlich dabei ist, dass der Vorgang des Beschreibens und Auslesens nach 1.5 Milliarden mal immer noch exakt und fehlerfrei funktioniert. Die Speicherdichte dieser Photozelle beträgt ungefähr 80 GByte / cm². Dieser knapp 20 Jahre alte Wert ist bemerkenswert, vergleicht man ihn mit heutigen Speicherdichten. Moderne Festplatten haben eine Speicherdichte von knapp 50 GByte / cm².^[251]

Porphyrine werden aber nicht nur als Datenspeicher eingesetzt. So gibt es Bestrebungen, sie auch in anderen elektronischen Bauelementen vermehrt einzusetzen. Als Beispiele hierfür sind porphyrinoidbasierte Photovoltaik,^[252-256] molekulare Drähte,^[257-262] Transistoren,^[263] Logikgatter oder andere Systeme ^[264] zu nennen.

Bevor Porphyrine in der Elektrotechnik eingesetzt werden können, müssen ihre spezifischen elektronischen Eigenschaften charakterisiert werden. Die Eigenschaften einzelner Moleküle

oder kleiner Ensembles davon können mithilfe von elektronischen oder mechanischen Bruchkontakten,^[265-269] Verbindungsdrahtkontakten,^[270] Nanoporen,^[271] Quecksilbertropfelektroden,^[272] Cyclovoltammetrie,^[273, 274] CONDUCTING-PROBE-Rasterkraftmikroskopie (CP-AFM)^[275, 276] und Rastertunnelmikroskopie (STM)^[269, 277, 278] bestimmt werden. Unter diesen Methoden bieten STM und CP-AFM die Möglichkeit, einzelne Moleküle auf der Oberfläche zu untersuchen. Zusätzlich zu strukturellen Details liefern STM-Bilder Informationen über lokale Tunnelwahrscheinlichkeiten und lokale Elektronendichten der Molekülorbitale. Die Delokalisation der Porphyrin- π -Orbitale führt zu niedriger liegenden Injektionsbarrieren und somit effizienteren Tunnel- bzw. Elektronentransfer-Prozessen. Beides sind wichtige Eigenschaften hinsichtlich der Verwendung in elektrischen Bauelementen.^[279, 280]

Ebenso wichtig ist die Orientierung der Moleküle zueinander. Durch intermolekulare Wechselwirkungen, beruhend z. B. auf exozyklische Substituenten oder Wasserstoffbrücken, lassen sich verschiedene supramolekulare Materialien generieren. Durch Selbstassemblierung oder Selbstorganisation können so Nanostrukturen wie Filme,^[281, 282] Kristalle,^[257, 283-285] Röhren,^[286, 287] Drähte und Stäbe,^[288] Nanopartikel,^[289-291] komplexe fraktalähnliche oder chirale Strukturen^[292, 293] erzeugt werden. Für viele Bauelemente müssen Porphyrinoide auf eine definierte Art und Weise auf Oberflächen organisiert werden. Dafür gibt es grundsätzlich zwei verschiedene Methoden: zum einen selbst-assemblierende Monoschichten (SAMs) zum anderen gerichtete Adsorption.^[294-300] Bei SAMs werden die Moleküle kovalent auf der Oberfläche angebunden. Dafür wird an das Porphyrinoid über einen Linker eine reaktive Anknüpfstelle angebracht, welche mit der Oberfläche spezifisch reagiert (vgl. Abb. 29 (a)). Eine beliebte Methode ist die Anknüpfung von thiolmodifizierten Porphyrinen auf Goldoberflächen.^[299, 301, 302]

Die zweite Möglichkeit ist die selbst-organisierte Anordnung in zweidimensionale Filme durch Adsorption auf Oberflächen.^[296, 297, 300] Ein Beispiel hierfür sind die Arbeiten von HECHT et al.^[303] Mit bromierten Porphyrinoiden ist es gelungen, durch Abscheiden aus der Dampfphase zweidimensionale Filme auf Goldoberflächen darzustellen. Diese geordneten supramolekularen Bereiche können bis zu 100 nm² groß sein. Durch Variation des Substitutionsmusters ist es möglich, auch Ketten zu erhalten (vgl. Abb. 29 (b)-(d)). In beiden Anlagerungsmethoden spielen die Oberflächenchemie, energetische Faktoren sowie die Organisation der Moleküle eine entscheidende Rolle für die endgültige Struktur und Anordnung des photonischen Materials.^[273, 304, 305]

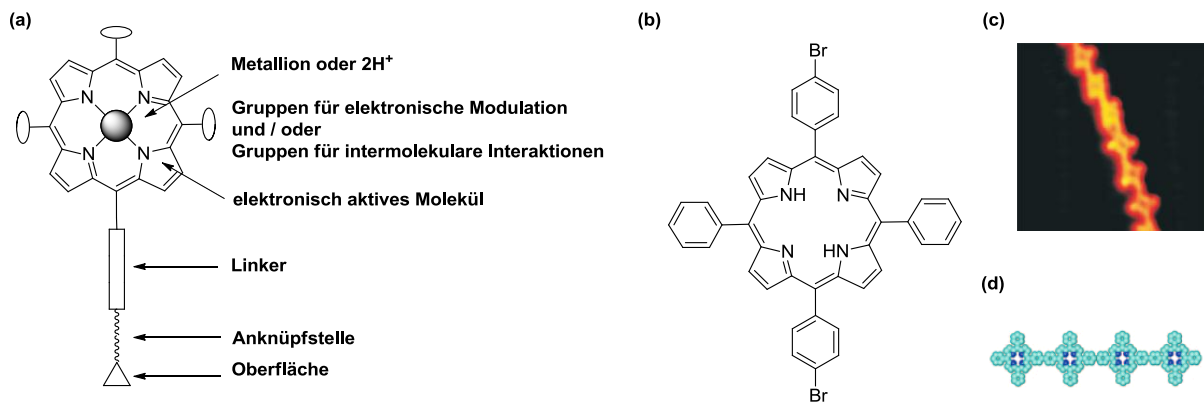


Abb. 29: Schematische Darstellung von Porphyrinoiden auf Oberflächen. (a) wichtige Bestandteile eines Porphyrinoids für die Anknüpfung an Oberflächen (SAMs). (b) chemische Struktur der verwendeten Porphyrinoide für adsorbierte Makrostrukturen. (c) STM-Aufnahme ($10 \times 10 \text{ nm}^2$). (d) dazugehörige chemische Struktur der Makrostruktur.^[303]

Porphyrine besitzen ein großes Potential als molekulare elektronische Bauteile für den Einsatz in Zukunft. Ihre vielseitigen elektrischen Eigenschaften und ihre Fähigkeit, geordnete zwei- und dreidimensionale Struktur auszubilden, machen sie zu interessanten Werkstoffen. Allerdings bedarf es noch intensiver Forschung und Arbeit, um den Schritt vom Labor in den alltäglichen Umgang zu schaffen.

3.3.3 Kovalent gebundene Porphyrine in DNA

In der supramolekularen Chemie ebenso wie in der Nanotechnologie und den Materialwissenschaften ist es von entscheidender Bedeutung, funktionelle Moleküle auf eine definierte Art und Weise anzuordnen.^[306, 307] DNA ist aufgrund ihrer Eigenschaften, wie der Programmierbarkeit, der definierten Geometrie und den möglichen Werkzeugen für Modifikation dafür bestens geeignet. Deswegen liegt es nahe, die Eigenschaften von DNA mit den Anwendungsmöglichkeiten der Porphyrine zu kombinieren.

Intensive Arbeiten auf dem Gebiet der DNA-Porphyrin-Interaktionen konzentrierten sich zunächst auf synthetische kationische, wasserlösliche Porphyrine. Abhängig von deren Struktur und dem koordinierten Metallatom, können Porphyrine auf drei verschiedenen Arten mit DNA interagieren. So können sie als Interkalatoren, als Furche-Binder oder am Rückgrat gebunden durch Selbststapelung mit DNA wechselwirken.^[308] Der Grund für das Anbinden der Porphyrine an DNA liegt primär in den elektrostatischen Anziehungskräften des negativ

geladenen DNA-Rückgrats mit den positiv geladenen Porphyrinsubstituenten. Diese unspezifischen Wechselwirkungen erlauben allerdings keine Kontrolle über die Geometrie, Größe und Struktur der DNA-Porphyrin-Konjugate.^[309-312]

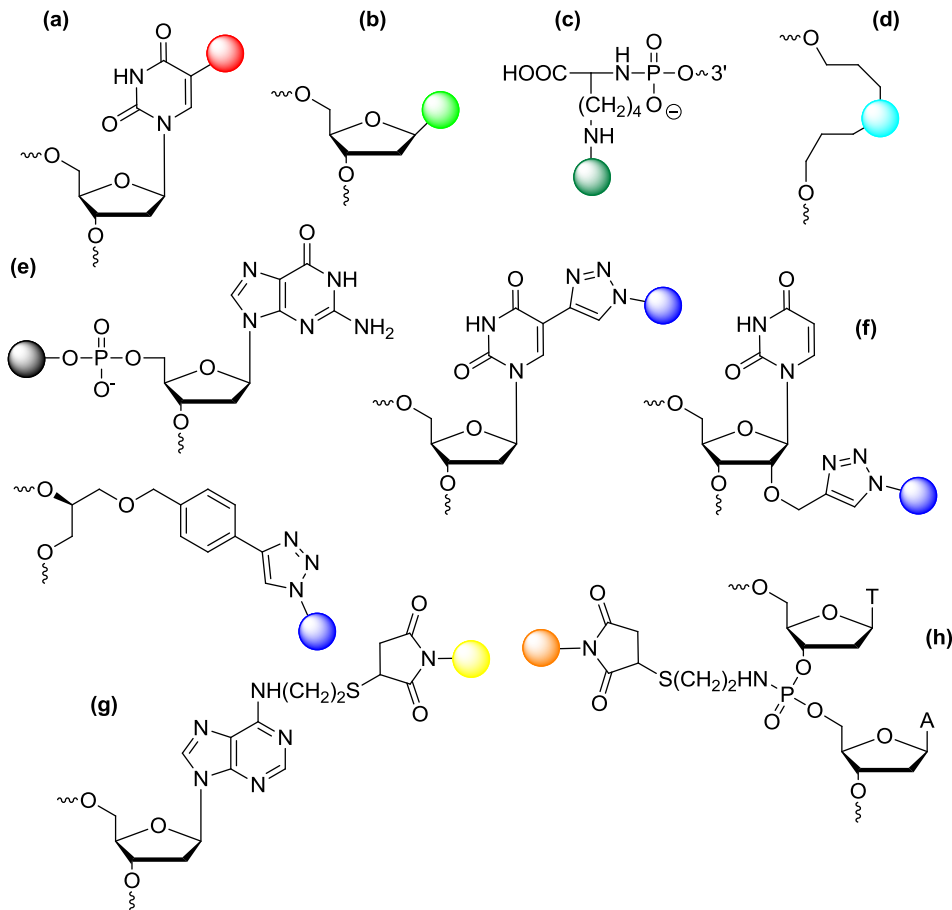


Abb. 30: Darstellung der kovalenten Anknüpfungsmethoden für Porphyrine in DNA. (a) an der 5-Position von 2'-dU. (b) als C-Nukleosid. (c) über einen Linker am 3'-Ende. (d) intern als Basenersatz. (e) über die Phosphatgruppe am 5'Ende. (f) mittels CuAAC. Postsynthetisch mittels Thiol-Maleimid-Reaktion an der Base (g) oder am Phosphatrückgrat (h).

Um eine definierte Anlagerung der Porphyrine an DNA zu erhalten, kann zum einen ein Ansatz gewählt werden, bei dem Porphyrine über Wasserstoffbrücken an eine DNA-Vorlage assembliert werden.^[313] Zum anderen können Porphyrine kovalent an DNA gebunden werden. Das wurde bisher auf folgende Arten realisiert (vgl. Abb. 30). So kann eine DNA-Base über die 5-Position von 2'-Desoxyuridin und Ethinylbrücke modifiziert werden.^[314, 315] Ebenso können sie als C-Nukleoside in DNA eingebracht werden.^[316] Auch können sie an das 3'-Ende über flexible Linker angebracht^[317] oder intern als Basenersatz eingebracht werden.^[318] Über die Phosphatgruppe am 5'-Ende wurden Porphyrine als molekulare Kappen angeknüpft.^[319] Auch intern gelang es, die Phosphatgruppe des DNA-Rückgrats mit

Porphyrinen zu modifizieren.^[320] Die Arbeitsgruppe FILICHEV modifizierte DNA postsynthetisch mittels CuAAC. Es gelang, Porphyrine an die 5-Position von 2'-Desoxyuridin, an die 2'-Position und an einen internen Linker zu klicken.^[321] Ebenfalls postsynthetisch wurden Porphyrine über eine Thiol-Maleimid-Kupplung an ein modifiziertes Adenin angebunden.^[322]

Mit diesen DNA-Porphyrin-Konjugaten lassen sich definierte programmierbare Anordnungen darstellen, deren Anwendung in mehreren Richtungen sinnvoll erscheint, z. B. bei der Darstellung von biomimetischen Strukturen,^[264] supramolekularen Bauteilen und Materialien,^[323] Sensoren,^[324] Lichtsammelfallen^[264] oder Sonden für Elektronentransfer^[90] in DNA.

Zwar zählen tetrakationische wasserlösliche Porphyrine zu den bestuntersuchten Verbindungen als nicht-kovalente DNA-Binder,^[312, 325-327] interessanterweise gibt es bisher nur eine einzige Veröffentlichung, in der solche tetrakationischen Porphyrine kovalent an DNA gebunden wurden.^[328] Um die Beziehung zwischen Struktur und Nukleaseaktivität von Metalloporphyrinen aufzuklären, wurde Diaquamangan(III)*meso*-tetrakis(4-*N*-methylpyridiniumyl)porphyrin (MnTMTPyP) über einen variablen Linker an ein Oligonukleotid angeknüpft. MnTMTPyP ist, wenn mit KHSO_5 als Sauerstoffdonor assoziiert, eine effiziente künstliche Endonuklease. Das Metalloporphyrin wird dabei durch KHSO_5 zu einer hochvalenten Oxo-Spezies aktiviert. Dieser Komplex führt zu oxidativen Schäden im Oligonukleotid und letztendlich zum Einzelstrangbruch.^[329, 330] Solche DNA-Porphyrin-Konjugate können für DNA-Strangbrüche *in vitro*, zum Zerstören viraler DNA oder zur Inhibition der mRNA-Translation eingesetzt werden.^[331, 332]

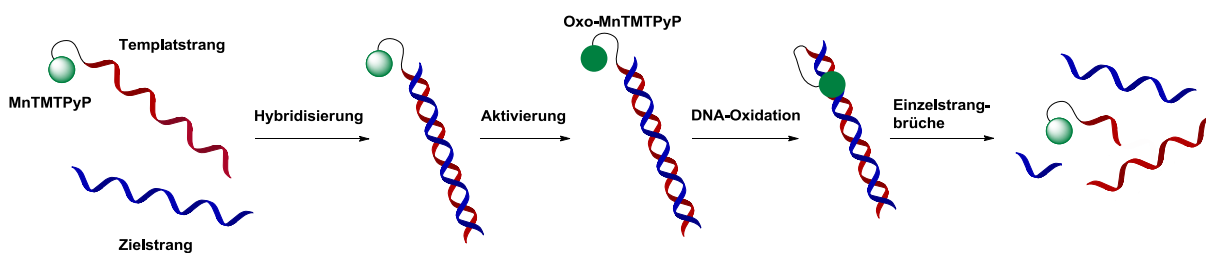


Abb. 31: Schematische Darstellung der Endonuklease-Aktivität von kovalent gebundenem MnTMTPyP. Der Templatstrang hybridisiert mit dem Zielstrang. Nach Aktivierung mittels KHSO_5 führt das Oxo-Metalloporphyrin zu oxidativen Schäden der DNA und schließlich zum Strangbruch.

4. 2,7-Diazapyrenium als Ladungstransfersonde in DNA

4.1 DAP²⁺ als nicht-kovalente Ladungstransfersonde

Diazapyrenium-Derivate stellen attraktive Moleküle für die Untersuchung von Elektronentransferprozessen in DNA dar, da sie Eigenschaften von Pyrenen, Methylviologen und DNA-Interkalatoren kombiniert in sich vereinen.^[333] Somit können sie als elektrochemischaktive, photoaktive und fluoreszente Sonden eingesetzt werden. Die elektrochemische und photochemische Anregung des 2,7-Dimethyl-2,7-diazapyreniums führt zu einer Einelektronreduktion, wobei ein stabiles Monoradikalkation gebildet wird.^[334, 335]

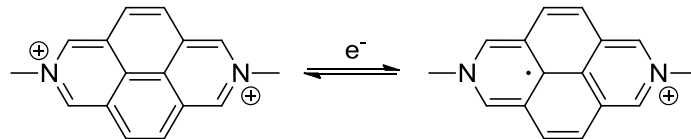


Abb. 32: Schematische Darstellung der reversiblen Einelektronreduktion. Dabei entsteht ein stabiles Monoradikalkation.

Eine polarographische Studie offenbarte, dass die Reduktion von DAP²⁺ in zwei Schritten abläuft. Dabei wird das erste Elektron reversibel aufgenommen. In aprotischen Lösungsmitteln (DMF, MeCN) ist auch der zweite Schritt reversibel, wohingegen dies für Wasser nicht zutrifft. Ebenso konnte gezeigt werden, dass Diazapyrenium sehr niedrige Reduktionspotentiale ($E_{\text{red1}} \approx -0.3 \text{ V vs. NHE}$, $E_{\text{red2}} \approx -0.4 \text{ V vs. NHE}$) besitzt.^[335] In wässriger Lösung weist DAP²⁺ eine starke Fluoreszenz mit einer Quantenausbeute von $\Phi_F = 0.63$ und einer Fluoreszenzlebenszeit von $\tau_F = 9.0 \text{ ns}$ auf.^[333, 334] Interkalation in doppelsträngige DNA geht mit einer großen Rotverschiebung und Hypochromizität der Absorption und einer drastischen Abnahme der Fluoreszenz-Quantenausbeute und -Lebenszeit einher.^[333, 336] Der Grund liegt in der photoinduzierten Oxidation der Nucleobasen durch das Diazapyrenium.^[337, 338] Bei Belichtung ist der Chromophor in der Lage, Nucleobasen und Oligonucleotide reversibel zu oxidieren, also reversible Elektronentransfer-Reaktionen auszulösen.^[336] In einer weiteren Studie mit Ethidium als zusätzlichen Interkalator konnte gezeigt werden, dass photoinduzierter Ladungstransfer stattfindet. Auch konnte der Rückelektronentransfer nachgewiesen werden, der allerdings deutlich langsamer verläuft. Zudem konnte das Monoradikalkation als Produkt des Elektronentransfers spektroskopisch

Um den Baustein dennoch mit DNA zu verknüpfen, wurde ein postsynthetischer Ansatz gewählt. Mittels CuAAC wurde DAP²⁺ an Oligonukleotide geklickt, da diese Methode im Arbeitskreis WAGENKNECHT bereits etabliert ist.^[343] Während der Synthese und der Postmodifikation wurde stets in Ammoniumacetat-Puffer gearbeitet, um ein neutrales Milieu zu garantieren und eine Zerfallsreaktion zu vermeiden.

4.2 Optische Charakterisierung von 2,7-Diazapyrenium

DAP²⁺ wurde mittels einer CuAAC in Oligonukleotide eingebracht. Einige Charakteristika davon wurden bereits im Rahmen der Masterarbeit bestimmt und werden im Folgenden nur nochmals kurz aufgezeigt.

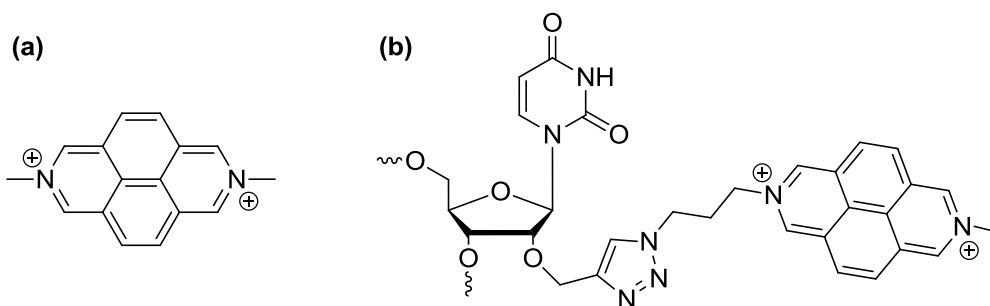


Abb. 34: Darstellung der Strukturformeln von (a) 2,7-Dimethyl-2,7-Diazapyrenium und DAP²⁺, der dazu analogen Struktur in DNA (b). Die Modifikation wurde postsynthetisch mittels einer CuAAC an Oligonukleotide angeknüpft.

Während der Masterarbeit wurde untersucht, ob die eingebrachte Modifikation die Ausbildung der B-Konformation der DNA stört. Dazu wurden CD-Messungen von unmodifizierten und einfach modifizierten Doppelsträngen angefertigt. Es zeigte sich, dass die Struktur der DNA nicht signifikant gestört wird.^[341]

Betrachtet man die Schmelzpunkte der einfach modifizierten Oligonukleotide (vgl. Abb. 42) mit AT als benachbartem Basenpaar, so liegen diese im Vergleich zu den entsprechenden unmodifizierten Duplexen um etwa 1 °C niedriger. Aufgrund der planaren Struktur interkaliert das Dikation in den Basenstapel und stabilisiert durch π - π -Wechselwirkungen mit den benachbarten Nucleobasen den Duplex.^[339] Im Falle benachbarter GC-Basenpaare

sind die π - π -Wechselwirkungen stärker ausgeprägt, was letztendlich zu einer Stabilisierung des Duplexes um knapp 2 °C führt.

Tab. V: Übersicht der Schmelztemperaturen der einfach modifizierten DNA-Duplexe. Als Gegenstrang wurde stets das komplementäre unmodifizierte Oligonukleotid verwendet. Bei dazwischen liegenden AT-Basenpaaren wirkt die Modifikation leicht destabilisierend, wohingegen bei GC-Basenpaaren die Duplexe etwas stabilisiert werden.

Duplex	AT-bp	ΔT [°C]	Duplex	GC-bp	ΔT [°C]
DAP1	1	-1.2	DAP2	1	+0.7
DAP3	2	-0.7	DAP4	2	+1.8
DAP5	3	-0.9	DAP6	3	+1.6
DAP7	4	-1.3	DAP8	4	+1.9
DAP9	5	-1.1	DAP10	5	+1.6
DAP11	6	-1.0	DAP12	6	+1.7
DAP13	7	-1.2	DAP14	7	+1.8

Vergleicht man die Absorption des Monomers in Lösung mit der kovalent angeknüpften Modifikation, sieht man, dass die Grundstruktur der Absorptionsbanden erhalten bleibt. Wie bereits literaturbekannt,^[333, 336] geht eine Interkalation des DAP²⁺ mit Rotverschiebung und Hypochromizität einher. Dabei verschieben sich die beiden Maxima bei kovalenter Inkorporation in DNA von 335 nm auf 339 nm bzw. von 418 nm auf 424 nm. Die Absorptionsbande im Bereich von $\lambda = 300 - 350$ nm rührt vom erlaubten $S_0 - S_2$ -Übergang her. Die zweite Absorptionsbande im Bereich von $\lambda = 370 - 430$ nm kann dem im Pyren verbotenen $S_0 - S_1$ -Übergang zugeordnet werden.^[338]

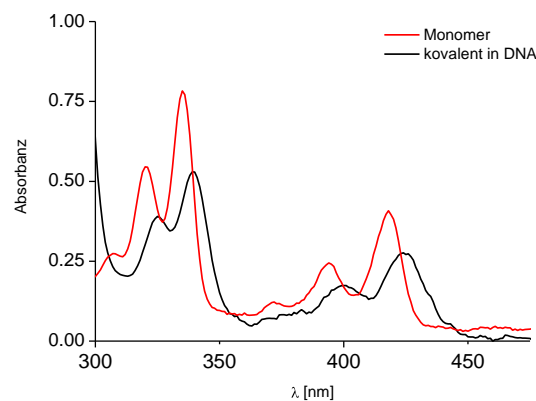


Abb. 35: Darstellung der normierten Absorptionsspektren von 2,7-Dimethyl-2,7-diazapyrenium (rot) und von kovalent mittels CuAAC in DNA eingebrachten DAP²⁺ (schwarz). Bedingungen: $c = 2.5 \mu\text{M}$ in 10 mM NaP_i-Puffer mit 250 mM NaCl.

Um zu zeigen, dass die Modifikation an der 2'-Position die korrekte Basenpaarung nicht stört, wurden Absorptions- und Emissionsspektren mit alternierenden Gegenbasen aufgenommen. Dazu wurden folgende zwei DNA-Duplexe synthetisiert:

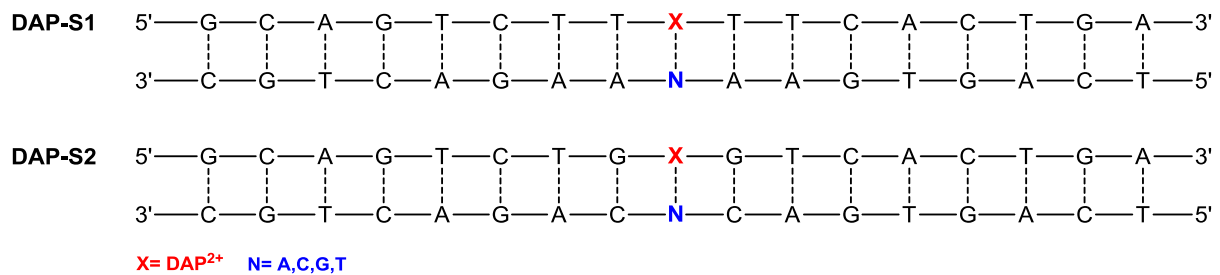


Abb. 36: Die DNA-Duplexsequenzen für die Versuche mit variierender Gegenbase (N = A,C,G und T). Für die Struktur von DAP²⁺ s. **Abb. 34**.

Als Nachbarbasen von DAP²⁺ in **DAP-S1** finden sich Thymidine, während bei **DAP-S2** Guanosine als Nachbarbasen der Modifikation fungieren. Der komplementäre Gegenstrang variiert die Nukleobase nur an der Stelle gegenüber von DAP²⁺.

Um den Einfluss der Gegenbase zu untersuchen, wurden Schmelztemperaturen aller acht DNA-Duplexe aufgenommen. Die Schmelztemperaturen der Duplexe mit T als Nachbarbase zur Modifikation liegen um 8 °C unter denen mit G als Nachbarbase. Dabei zeigte sich, dass A als Gegenbase jeweils die höchste Schmelztemperatur aufweist und damit den stabilsten Duplex ausbildet. Die anderen Gegenbasen destabilisieren den Duplex um 4 - 6 °C (vgl. Tab. VI).

Tab. VI: Tabellarische Übersicht der Schmelztemperaturen der DNA-Duplexe mit variierender Gegenbase.

Duplex	T [°C]	ΔT [°C]	Duplex	T [°C]	ΔT [°C]
DAP-S1-A	60.5		DAP-S2-A	68.0	
DAP-S1-C	55.0	-5.5	DAP-S2-C	63.9	-4.1
DAP-S1-G	55.2	-5.3	DAP-S2-G	63.4	-4.6
DAP-S1-T	54.2	-6.3	DAP-S2-T	64.2	-3.8

Betrachtet man die Absorptionsspektren, so unterscheiden sich die Spektren mit A als Gegenbase zu DAP²⁺ von denen mit C, G oder T. Die Absorptionsbanden mit der korrekten Gegenbase A sind jeweils leicht hypsochrom verschoben. Durch die Basenfehlpaarung ist die optimale Anordnung der einzelnen DNA-Basen und des Interkalators zueinander nicht

mehr gegeben, somit werden die π - π -Wechselwirkungen abgeschwächt. Dies bewirkt eine veränderte Absorption.

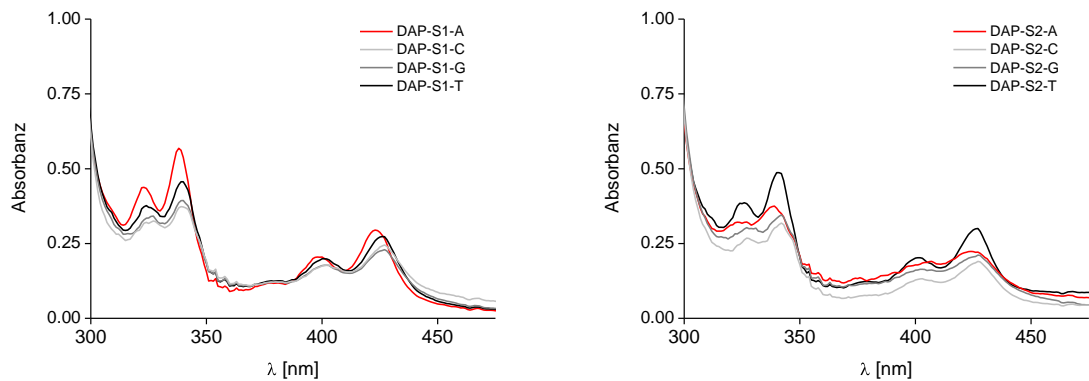


Abb. 37: normierte Absorptionsspektren von **DAP-S1** und **DAP-S2** mit alternierenden Gegenbasen.

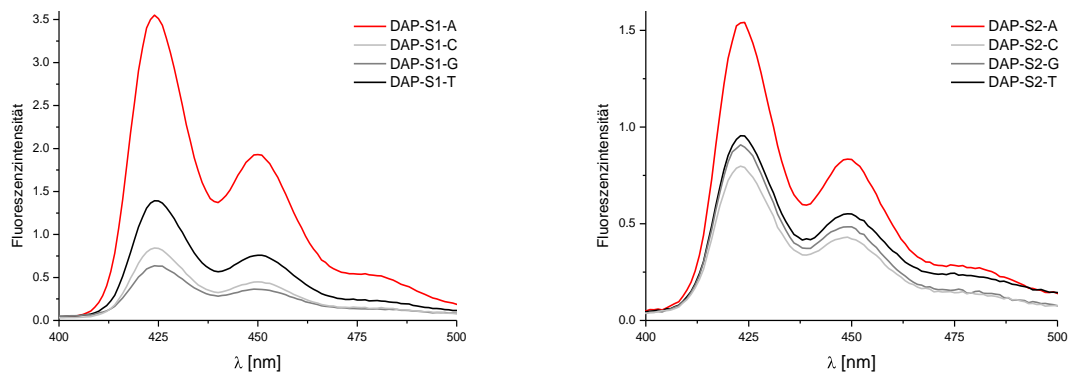


Abb. 38: Emissionsspektren von **DAP-S1** und **DAP-S2** mit alternierenden Gegenbasen. Die Anregung erfolgte bei $\lambda = 339 \text{ nm}$.

Betrachtet man die Emissionsspektren, zeigt sich dieser Effekt noch deutlicher. Man sieht eine strukturierte Emissionsbande im Wellenlängenbereich von $\lambda = 410 - 500 \text{ nm}$ mit einem Maximum bei $\lambda = 424 \text{ nm}$ und zwei Schultern bei $\lambda = 450 \text{ nm}$ und bei $\lambda = 477 \text{ nm}$. Die Fluoreszenzintensität wird deutlich gelöscht, wenn DAP^{2+} im Gegenstrang nicht mit der korrekten Nukleobase paart. Im Falle von **DAP-S1** beläuft sich die Löschung auf $> 60 \%$. Dieser Wert sinkt auf circa 40% ab, wenn es sich bei den Nachbarbasen um Guanosine handelt. Dies rührt daher, dass DAP^{2+} in der Lage ist, benachbarte Nukleobasen zu oxidieren.^[336] Da G die Base mit dem geringsten Oxidationspotential ist,^[111] wird Fluoreszenzlöschung beobachtet

Durch die beschriebenen Experimente konnte gezeigt werden, dass die Modifikation an der 2'-Position die Stabilität der DNA nicht bzw. nur geringfügig beeinträchtigt und dass kovalent angeknüpftes DAP^{2+} in den Basenstapel interkaliert. Dies ist für eine gute elektronische Kopplung und einen damit verbundenen schnellen und effizienten Elektronentransfer bedeutend.

Wie bereits erwähnt, entsteht nach Anregung von DAP^{2+} ein stabiles Monoradikalkation.^[334, 335] Dieses langlebige Radikal lässt sich spektroskopisch nachweisen. Um die Absorptionseigenschaften des Monoradikalkations zu studieren, wurde 2-(3-Iodopropyl)-7-(methyl)-2,7-diazapyrenium, die Vorstufe des klickbaren Azids, spektroelektrochemisch untersucht.

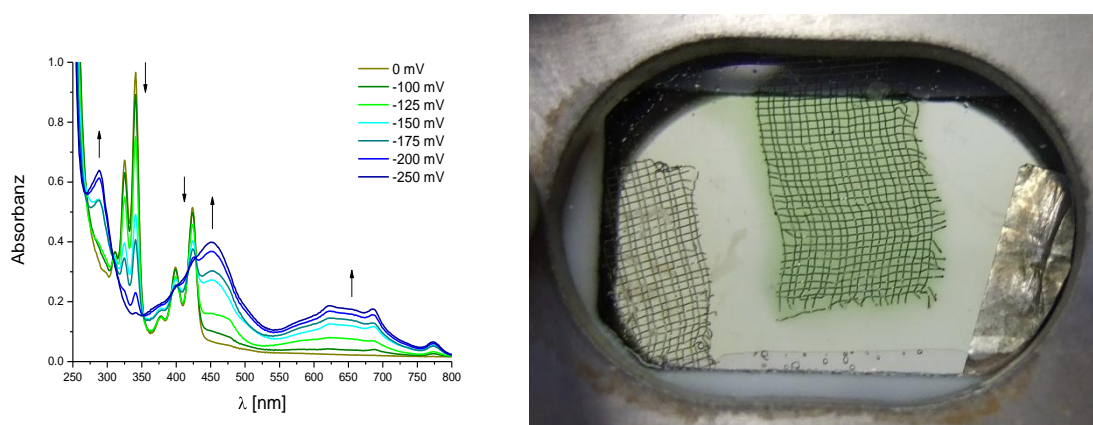


Abb. 39: SEC-Spektrum des 2,7-Diazapyrenium-Derivats (2 mM in 0.1 M TBAHFP /DMF) (links). Die verwendete SEC-Zelle bei maximal angelegtem Potential (-250 mV) (rechts).

Bei Anlegen eines negativen Potentials werden beide ausgeprägten Absorptionsbanden kontinuierlich abgesenkt. Dafür entstehen drei neue Banden des Monoradikalkations; die Erste bei $\lambda = 290$ nm. Die zweite neu entstehende Absorptionsbande überlagert die Bande des Ausgangszustands. Ihr Maximum liegt bei $\lambda = 450$ nm. Eine weitere sehr breite Bande entsteht im Bereich von $\lambda = 550 - 750$ nm. Die Feinstruktur der Absorptionsbanden geht dabei verloren. Das Entstehen des Monoradikalkations lässt sich auch mit bloßem Auge verfolgen. Deutlich zu beobachten ist eine Grünfärbung der Messlösung an der Elektrode bei maximal angelegtem Potential von -250 mV (vgl. Abb. 39 rechts). Nach Entladung der spektroelektrochemischen Zelle entfärbte sich die Lösung wieder und das ursprüngliche Absorptionsspektrum wurde erhalten. Dies stellt den experimentellen Beweis der Reversibilität der Reduktion von DAP^{2+} dar.

4.3 Ladungstransferexperimente in DNA

Für einen funktionierenden und effektiven Ladungstransfer in DNA benötigt man eine zweite und passende Sonde als Elektroninjektor bzw. als Lochakzeptor. Dafür sollten pyrenmodifizierte Nucleoside geeignet sein. Zahlreiche Pyren-Derivate wurden in den vergangenen Jahren in DNA eingebracht.^[344-352] Es konnte gezeigt werden, dass benachbarte DNA-Basen einen Einfluss auf die Fluoreszenzlebenszeiten des angeregten Pyren-Chromophors haben.^[353] Zudem konnte nachgewiesen werden, dass photoangeregtes Pyren in C- und T-Umgebung als Elektronendonator und in G-Umgebung als Elektronenakzeptor fungieren kann. Somit können Pyren-Chromophore sowohl als Sonden für reduktiven als auch oxidativen Ladungstransfer dienen. In der Arbeitsgruppe WAGENKNECHT wurden die vier natürlichen Nucleoside A, G, C und dU an der 5- bzw. 8-Position der Nucleobase mit einem Pyrenchromophor modifiziert und optisch charakterisiert.^[354, 355] In Arbeiten zum Redoxverhalten von 1Py-dU und 2Py-dU zeigte sich, dass die Potentiale denen von Pyren sehr ähnlich sind (vgl. Tab. VII).^[356]

Tab. VII: Tabellarische Übersicht über die Redoxpotentiale von 1Py-dU, 2Py-dU und Pyren im Vergleich zu den Potentialen von G und T. Die Potentiale sind gegen NHE angegeben.^[356]

	$E_{00}(\text{Py})$ [eV]	$E_{\text{Red}}(\text{Py}/\text{Py}^{\bullet-})$ [V]	$E_{\text{Red}}^*(\text{Py}^*/\text{Py}^{\bullet-})$ [V]	$E_{\text{Ox}}^*(\text{G}/\text{G}^{\bullet+})$ [V] ^[77]
1Py-dU	+3.30	-2.02	+1.28	
2Py-dU	+3.33	-2.08	+1.25	ca. +1.30
Pyren	+3.25 ^[357]	-1.90 ^[357]	+1.35	
	$E_{00}(\text{Py})$ [eV]	$E_{\text{Ox}}(\text{Py}/\text{Py}^{\bullet+})$ [V]	$E_{\text{Ox}}^*(\text{Py}^*/\text{Py}^{\bullet+})$ [V]	$E_{\text{Red}}^*(\text{T}/\text{T}^{\bullet-})$ [V] ^[358, 359]
1Py-dU	+3.30	+1.55	-1.75	
2Py-dU	+3.33	+1.53	-1.80	ca. -1.80
Pyren	+3.25 ^[357]	+1.52 ^[357]	-1.73	

Photoangeregtes Pyren ist ein guter Elektronendonator, der inter- und intramolekularen Ladungstransfer induzieren kann. Nimmt man das ermittelte Reduktionspotential von Thymin $E_{\text{Red}}(\text{T}/\text{T}^{\bullet-}) = -1.8 \text{ V}$,^[358] so erhält man für eine Reduktion der DNA-Basen eine Triebkraft von annähernd gleich Null. In der Literatur finden sich allerdings stark abweichende Werte für die Redoxpotentiale der DNA-Basen. Mit dem von STEENKEN et al. ermittelten Reduktionspotential von $E_{\text{Red}} = -1.1 \text{ V}$ für T bzw. dU erhält man eine Triebkraft von $\Delta G = -0.63 \text{ eV}$.^[82] Der große Unterschied in den Literaturwerten liegt in der

Irreversibilität im Reduktions- und Oxidationsverhalten der natürlichen Nucleoside und dem Einfluss von Stapelwechselwirkungen der Nucleobasen auf die Potentiale.^[76, 360]

Die Anknüpfungsstelle spielt eine entscheidende Rolle für die Elektronentransfereigenschaften der Moleküle. Bei reduktivem Elektronentransfer handelt es sich um einen LUMO-kontrollierten Prozess (vgl. Kap. 3.2). Betrachtet man die Elektronendichten der berechneten LUMOs von 1Py-dU und 2Py-dU, sieht man, dass es im Falle von 1Py-dU zu einer starken elektronischen Kopplung und einer Delokalisierung der Elektronen zwischen Chromophor und Nucleobase kommt. Das ist bei der Elektronendichte von 2Py-dU nicht der Fall. Diese ist sehr gering und führt damit zu einem deutlich stärker lokalisierten aromatischen System.^[168] Aufgrund der starken elektronischen Kopplung in 1Py-dU kann es zu einem intermolekularen Ladungstransfer von Pyren auf Uridin kommen. Diese Ladungstransferprozesse weisen eine strukturlose, lösemittelabhängige Emission auf und können als Exciplexe angesehen werden.^[351] Exciplexe enthalten Beiträge sowohl des lokal angeregten Zustands als auch des ladungsgetrenten Zustands. Für 2Py-dU sind die Beiträge des ladungsgetrenten Zustandes sehr gering und die Emission zeigt die typische Feinstruktur des lokal angeregten Pyrens.^[356] Ein Problem bei der Verwendung von 2Py-dU als Elektronentransfersonde stellt das Potential im angeregten Zustand dar. Das Potential liegt jeweils im Grenzbereich für einen reduktiven Elektronentransfer aus dem photoangeregten Zustand auf T oder C, als auch für einen oxidativen Lochtransfer auf G (vgl. Tab. VII). Dies erschwert eine Beurteilung welcher Ladungstransferprozess für die Löschung der Pyrenfluoreszenz verantwortlich ist. Deswegen wurde von THOMAS EHRENSCHWENDER ein elektronenreiches 2Py-dU-Derivat (DIMAPdU) synthetisiert und charakterisiert (vgl. Abb. 40). Damit werden die Redoxpotentiale des angeregten Zustands so verändert, dass die Reduktion benachbarte T-Nucleobasen mit einer größeren Triebkraft abläuft und die Oxidation von G nicht mehr stattfindet.^[361] Durch die Modifikation an der 5-Position von 2'-dU befindet sich das Chromophor allerdings nicht im Basenstapel, sondern außen am DNA-Rückgrat. Um die strukturelle Unsicherheit zu umgehen, wurde ein zusätzliches nicht-nucleosidisches DIMAP-Derivat (DIMAPbs) von DAMIAN PLOSCHIK im Rahmen der Bachelorarbeit synthetisiert. Dieses wird anstelle einer Nucleobase über das azyklische Linkersystem (S)-3-Amino-1,2-propandiol in die DNA eingebracht und befindet sich damit im Inneren des Basenstapels.

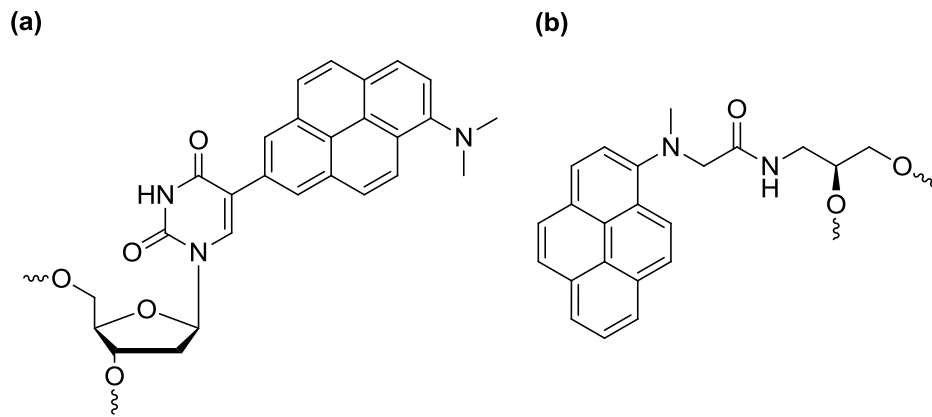


Abb. 40: Die beiden verwendeten DIMAP-Derivate. (a) als Modifikation an der 5-Position von 2'-dU (DIMAPdU) und (b) als nicht-nukleosidische Elektronentransfersonde (DIMAPbs).

Vergleicht man das Reduktionspotential von DAP^{2+} ($E_{\text{red}1} \approx -0.3 \text{ V}$)^[336] mit dem Oxidationspotential von DIMAPdU im angeregten Zustand ($E_{\text{Ox}}^* = -2.2 \text{ V}$), erhält man eine Triebkraft von $\Delta G = -1.9 \text{ eV}$ für den reduktiven Elektronentransfer von photoangeregtem DIMAP*dU auf DAP^{2+} . Für den oxidativen Lochtransfer von photoangeregtem DAP^{2+} auf DIMAPdU bestimmt sich die Triebkraft aus dem Oxidationspotential von DIMAPdU im Grundzustand ($E_{\text{Ox}} = 0.9 \text{ V}$) und des genäherten Reduktionspotentials von DAP^{2+} im angeregten Zustand ($E_{00} \sim 3.0 \text{ eV}$; $E_{\text{red}1}^* = -2.7 \text{ V}$). Somit ergibt sich eine sehr große Triebkraft von $\Delta G = -1.8 \text{ eV}$.

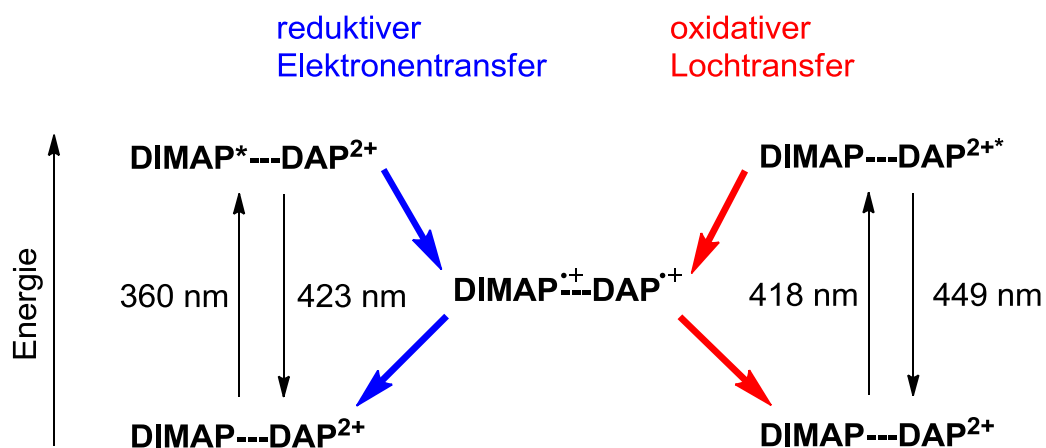


Abb. 41: Schematische Darstellung der Ladungstransferprozesse im System $\text{DAP}^{2+}/\text{DIMAP}$. Nach Anregung von DAP^{2+} wird oxidativer Lochtransfer induziert. Reduktiver Elektronentransfer wird durch Anregung von DIMAP ausgelöst. In beiden Fällen entstehen Monoradikalkationen.

Deswegen sollte das Elektronentransfersystem aus 2,7-Diazapyrenium und DIMAP sowohl für den reduktiven Elektronentransfer als auch für den oxidativen Lochtransfer geeignet sein. Nach Photoanregung von DIMAP wird ein reduktiver Elektronentransfer auf DAP^{2+} induziert. Ein oxidativer Lochtransfer kann durch Anregung von DAP^{2+} ausgelöst werden. Da sich dabei jeweils nur Radikalkationen, nämlich die stabilen Monoradikalkationen $\text{DAP}^{\bullet+}$ und $\text{DIMAP}^{\bullet+}$ bilden, sollten keine attraktiven Coulombkräfte existieren und der ladungstrennte Zustand sollte langlebig sein, was den spektroskopischen Nachweis erleichtert.

4.3.1 Ladungstransferexperimente mit DIMAPdU

Für die Ladungstransferexperimente mit DIMAPdU wurden folgende Oligonukleotide verwendet (vgl. Abb. 42). Die DIMAPdU-modifizierten DNA-Einzelstränge wurden zum Teil von THOMAS EHRENSCHWENDER synthetisiert und vollständig charakterisiert.

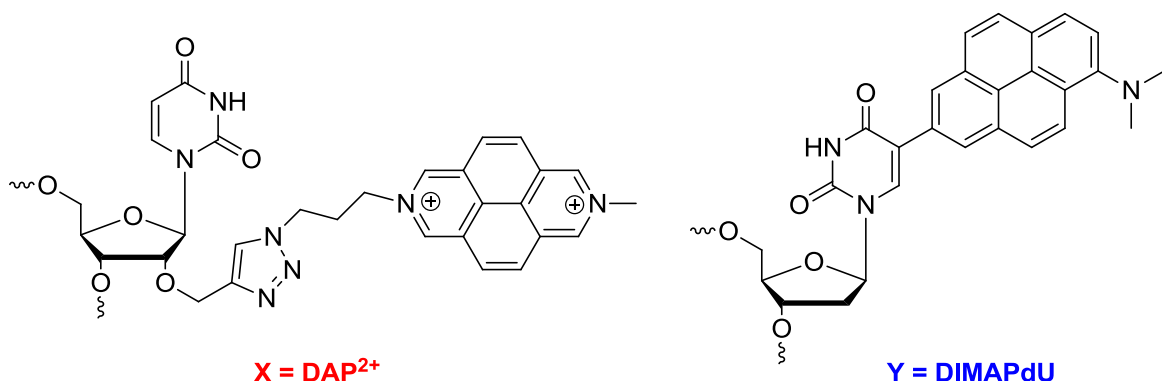
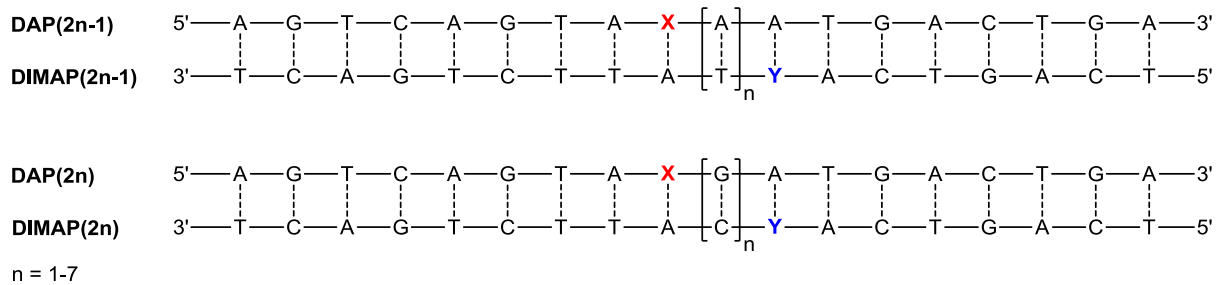


Abb. 42: Darstellung der synthetisierten DNA-Duplexe und der verwendeten Elektronentransfersonden. Die Anzahl der zwischen DAP^{2+} und DIMAPdU liegenden AT- bzw. GC-Basenpaaren variiert von $n = 1 - 7$.

Die folgenden Messungen wurden stets an DNA-Duplexen durchgeführt. Wird kein Gegenstrang angegeben, dann wurden komplementäre Oligonukleotide mit A als Gegenbase zur Modifikation verwendet. Auf einfach, mit DAP²⁺ modifizierte DNA-Stränge wird im Folgenden nicht mehr extra eingegangen. Die wesentlichen Eigenschaften wurden bereits in Kap. 4.2 gezeigt.

Die Absorption der DIMAPdU-modifizierten Stränge ist hier exemplarisch an **DIMAP9** gezeigt. DIMAPdU zeigt in DNA im Bereich von $\lambda = 310 - 410$ nm eine breite strukturlose Absorptionsbande. Das Absorptionsmaximum liegt in einem Bereich von $\lambda = 357 - 360$ nm. Dabei handelt es sich um den $S_0 - S_2$ -Übergang. Aufgrund der breiten Bande lässt sich nicht ausschließen, dass auch ein Anteil des stark verbotenen $S_0 - S_1$ -Übergangs enthalten ist.^[361]

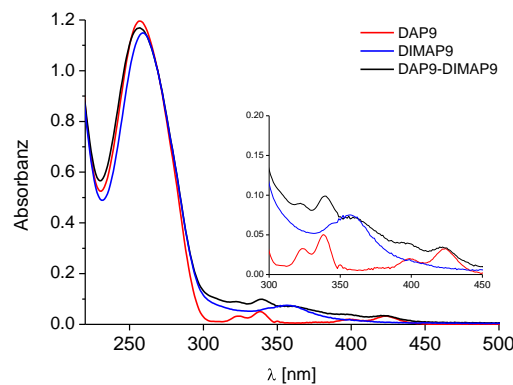


Abb. 43: Absorptionsspektren der einfach modifizierten DNA-Duplexe **DAP9** und **DIMAP9**, sowie des Ladungstransferduplexes **DAP9-DIMAP9**.

Betrachtet man die Absorptionsmaxima von DAP²⁺ bzw. DIMAPdU, so fällt auf, dass bei $\lambda = 339$ nm DAP²⁺ sein Absorptionsmaximum besitzt, allerdings DIMAPdU hier nahezu gleich stark absorbiert. Daraus folgt, dass hier keine selektive Anregung möglich ist und beide Chromophore nahezu im Verhältnis 1 : 1 angeregt werden. Beim Absorptionsmaximum des $S_0 - S_1$ -Übergangs von DAP²⁺ bei $\lambda \sim 420$ nm ist eine relativ selektive Anregung möglich, da die DIMAPdU-Absorption nahezu Null ist. Das Maximum der Absorption von DIMAPdU liegt bei $\lambda = 357 - 360$ nm. Da hier die DAP²⁺-Absorption annähernd gleich Null ist, sollte hier ebenfalls eine selektive Anregung möglich sein. Damit sind zwei selektive Wellenlängen vorhanden, bei denen die Chromophore angeregt und entweder reduktiven Elektronentransfer ($\lambda_{\text{Exc}} = 357 - 360$ nm) oder oxidativen Lochtransfer ($\lambda_{\text{Exc}} \sim 420$ nm) induziert werden kann. Die Absorption des Elektronentransfer-Duplexes **DAP9-DIMAP9** im

Bereich von $\lambda = 300 - 450 \text{ nm}$ ist nahezu additiv aus den einzelnen Absorptionsbeiträgen von **DAP9** und **DIMAP9**. Dies lässt sich aber erst ab einer Distanz von $n \geq 4$ beobachten. Bei geringeren Abständen der Sonden zueinander liegt die Absorption der **DAP-DIMAP**-Duplexe unterhalb der Beiträge der einzelnen Sonden (vgl. Abb. 44).^[341] Daraus lässt sich schließen, dass es eine direkte Wechselwirkung der Chromophore gibt. Obwohl DAP^{2+} in den Basenstapel interkaliert und DIMAPdU am DNA-Rückgrat lokalisiert sein sollte, kommen sie augenscheinlich bei kurzen DNA-Brücken in direkten Kontakt.

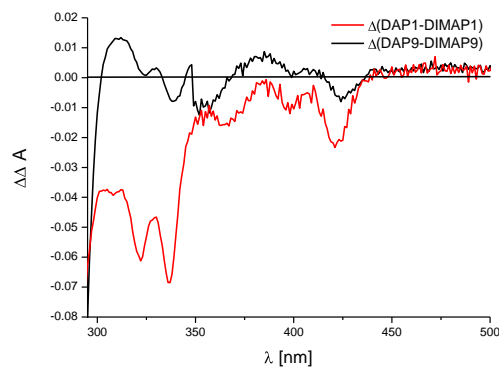


Abb. 44: Graphische Darstellung der Differenzen aus Absorption des Ladungstransferduplexes und der Summe der Absorptionen der einfach modifizierten Oligonukleotide. Bei kurzen Distanzen treten die beiden Ladungstransfersonden in Wechselwirkung und verringern die Absorption.

Für die Studien zum Ladungstransfer wurden die Emissionen der Duplexe **DAP1 - DAP14**, **DIMAP1 - DIMAP14** und **DAP1-DIMAP1 - DAP14-DIMAP14** gemessen. Alle Oligonukleotide wurden bei $\lambda_{\text{Exc}} = 339 \text{ nm}$, 360 nm und 418 nm angeregt. Dabei sollte bei den beiden letztgenannten Wellenlängen eine selektive Anregung der einzelnen Chromophore möglich sein. Leider waren aufgrund der geringen Quantenausbeute von DIMAPdU große Spaltbreiten zur Anregung bei $\lambda_{\text{Exc}} = 360 \text{ nm}$ nötig, um eine messbare Emission zu erhalten, was die Selektivität verringert.

Im Folgenden werden zunächst die Emissionsspektren von DNA-Doppelsträngen mit AT-Basenpaaren zwischen den beiden Elektronentransfersonden gezeigt und diskutiert. Die DNA-Duplexe mit den Distanzen $n = 1-3$ wurden bereits im Rahmen der Masterarbeit aufgenommen und diskutiert. Sie werden der Vollständigkeit halber und zu Diskussionszwecken nur bei $\lambda_{\text{Exc}} = 339 \text{ nm}$ nochmals gezeigt. Für die Darstellung der jeweils einfach und doppelt modifizierten Duplexe in einer Grafik werden aus Gründen der Übersichtlichkeit nur die Distanzen $n = 1,3,5$ und 7 gezeigt.

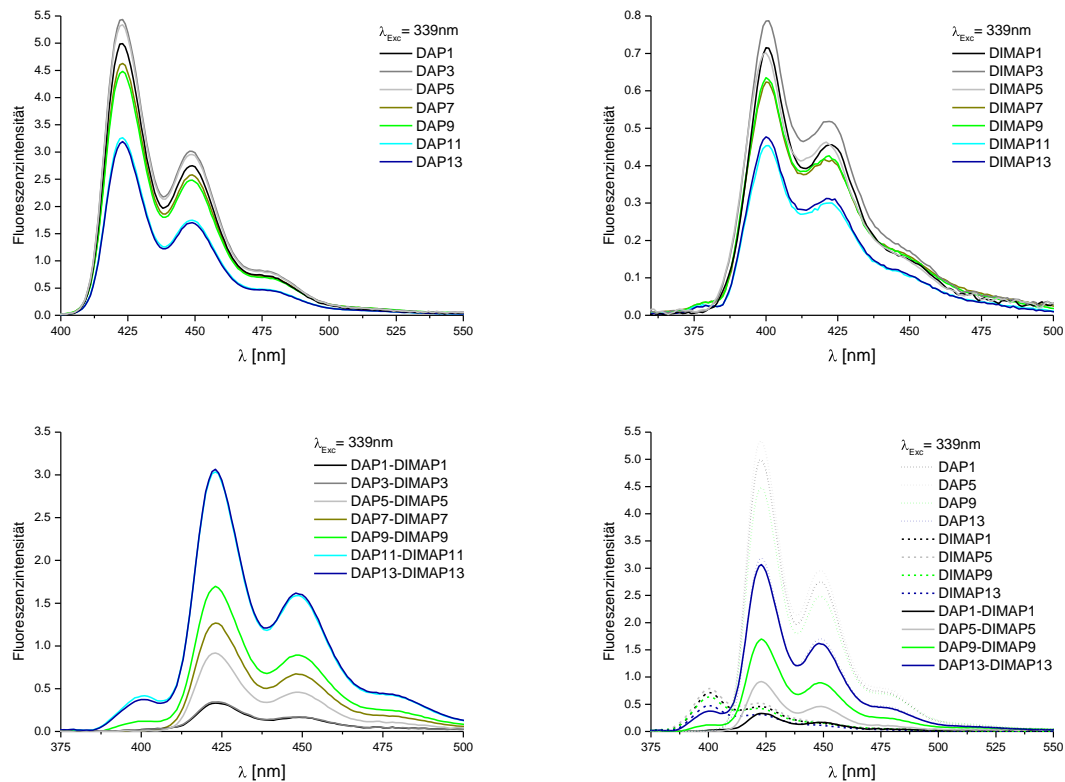


Abb. 45: Emissionsspektren der einfach modifizierten Oligonukleotide **DAP1 - DAP13** und **DIMAP1 - DIMAP13**, sowie der Ladungstransferduplexe **DAP1-DIMAP1 - DAP13-DIMAP13** bei einer Anregung bei $\lambda_{Exc} = 339$ nm.

Die Spektren der Duplexe **DAP1 - 13** entsprechen denen bereits im Kap. 4.2 erläuterten Ergebnissen. Die **DIMAP**-Duplexe zeigen im Bereich von $\lambda = 380 - 500$ nm eine strukturierte Emissionsbande mit einem Emissionsmaximum bei $\lambda = 400$ nm und zwei Schultern, einer ausgeprägten bei $\lambda = 422$ nm und einer im Bereich bei $\lambda = 450$ nm. Trotz der breiten Spaltbreiten zeigen die **DIMAP**-Duplexe eine geringe Fluoreszenzintensität. Vergleicht man die Ladungstransferduplexe **DAP1-DIMAP1 - DAP13-DIMAP13** mit den einfach modifizierten Duplexen, so fällt auf, dass die **DIMAPdU**-Fluoreszenz ($\lambda_{max} = 400$ nm) bis zu vier dazwischen liegenden AT-Basenpaaren komplett gelöscht wird und erst ab fünf AT-Basenpaaren geringfügig ansteigt. Die Fluoreszenzlöschung von **DIMAPdU** weist dabei eine sehr geringe Distanzabhängigkeit auf. Dies lässt sich auf die große Triebkraft des reduktiven Elektronentransfers ($\Delta G_{EET} = -1.9$ eV) zurückzuführen. Die **DAP²⁺**-Fluoreszenz wird bis zu einer AT-Brücke von fünf Basen stark gelöscht. Der oxidative Lochtransfer scheint auch über Distanzen von fünf Basenpaaren sehr effektiv zu erfolgen. Die zugehörigen F_q-Werte sind in Tab. VIII wieder gegeben. Zu beachten ist hier allerdings, dass bei $\lambda = 339$ nm eine sehr

unselektive Anregung erfolgt und durch die nicht quantitative Löschung von DIMAPdU kein spezifischer Fq-Wert beim Absorptionsmaximum von DAP²⁺ angegeben werden kann.

Bei der Anregung der **DAP**-Duplexe bei $\lambda = 360$ nm entsteht im Bereich von $\lambda = 500 - 600$ nm eine unstrukturierte Emission. Wodurch diese Bande hervorgerufen wird, konnte nicht geklärt werden. Aus der Literatur ist allerdings bekannt, dass bei Anregung bei $\lambda = 355$ nm ein nicht zu vernachlässigbarer Anteil des 2,7-Diazapyreniums in den Triplett-Zustand übergeht.^[336] Möglicherweise rührt diese langwellige Bande aus der Emission des Triplett-Zustands. Die Emission der **DIMAP**-Duplexe ändert sich ebenfalls mit der Anregungswellenlänge. Die strukturierte Emissionsbande geht verloren. Dafür entsteht eine scharfe Emissionsbande mit einer breiten Schulter im Bereich von $\lambda = 450 - 550$ nm. Das Emissionsmaximum verschiebt sich auf $\lambda = 409$ nm. Damit liegt die DIMAP-Emission unterhalb der DAP²⁺- und der Ladungstransfer-Emission, was eine Deutung der Ergebnisse erschwert.

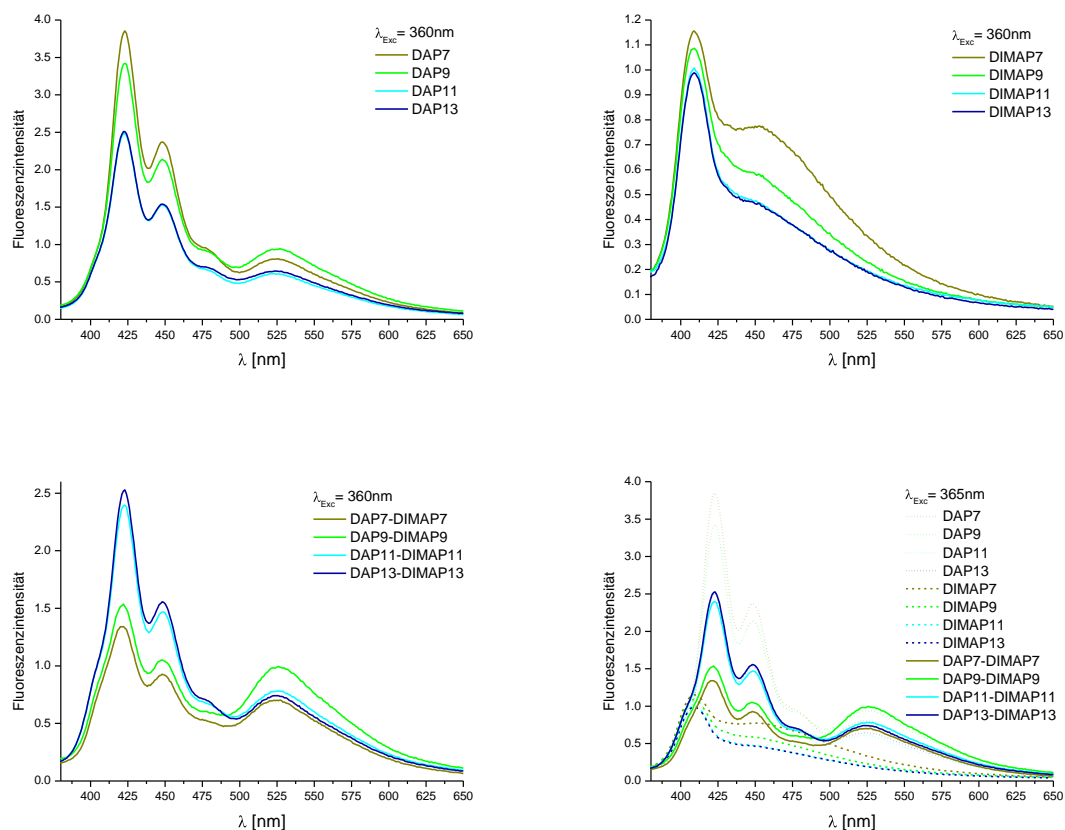


Abb. 46: Emissionsspektren der einfach modifizierten Oligonukleotide **DAP7-DAP13** und **DIMAP7-DIMAP13**, sowie der Ladungstransferduplexe **DAP7-DIMAP7-DAP13-DIMAP13** bei einer Anregung bei $\lambda_{Exc} = 360$ nm.

Werden die Ladungstransferduplexe mit einbezogen, so lassen sich die Ergebnisse wie folgt interpretieren. Durch die Überlagerung der DIMAP-Emission mit den Emissionen der DAP²⁺-modifizierten Duplexe und der Ladungstransferduplexe lassen sich die Resultate der Masterarbeit für die Löschung von DIMAPdU nicht weiter verfolgen. Auf eine Berechnung der F_q-Werte wird deswegen in diesem Fall verzichtet. Die Fluoreszenz der **DAP**-Duplexe wird bis zu einer Länge der DNA-Brücke von fünf AT-Basenpaaren noch deutlich gelöscht. Die induzierten Ladungstransferprozesse weisen ebenfalls eine geringe Distanzabhängigkeit auf und erfolgen auch über mehrere AT-Basen hinweg effektiv. Die errechneten F_q-Werte dafür finden sich in Tab. VIII. Zwar ist die Selektivität bei $\lambda = 360$ nm sehr hoch ($\sim 13 : 1$) für die Anregung von DIMAPdU, allerdings wird durch die verwendeten großen Spaltbreiten diese negativ beeinflusst und somit werden die F_q-Werte für die Löschung von DAP²⁺ unspezifischer.

Da DIMAPdU keine Emission bei Anregung mit $\lambda = 418$ nm zeigt, wurden bei dieser Wellenlänge nur **DAP**-Duplexe und Ladungstransferduplexe untersucht. Die DAP²⁺-Fluoreszenz wird auch noch mit sieben dazwischen liegenden AT-Basenpaaren teilweise gelöscht. Interessanterweise scheint es so, dass ab sechs AT-Basenpaaren die Effizienz konstant bleibt. Diese Tendenz deckt sich mit den Ergebnissen von GIESE. Bei längeren AT-Brücken kann auch A als intermediärer Ladungsträger dienen und die Effizienz des Ladungstransfers wird nahezu distanzunabhängig.^[59]

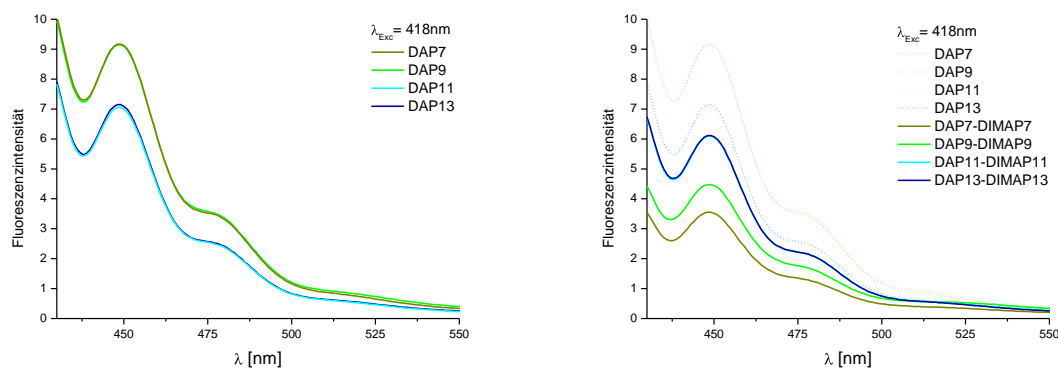


Abb. 47: Graphische Darstellung der Emissionsspektren DAP-modifizierter Duplexe und der Ladungstransferduplexe bei $\lambda = 418$ nm.

Die Emissionsspektren der DNA-Duplexe mit GC-Brücke unterscheiden sich von den bisher gezeigten AT-Duplexen in einigen Aspekten. Generell ist die Fluoreszenzintensität aller Oligonukleotide deutlich verringert. Dies lässt sich damit erklären, dass DAP²⁺ in der Lage

ist, Nukleobasen reversibel zu oxidieren, wobei G das geringste Oxidationspotential der Nukleobasen aufweist. Für mehrere benachbarte Guanine sinkt dieses nochmals weiter ab.^[111, 362] Dadurch wird die Emission stärker gelöscht. Interessant ist, dass die DAP²⁺-Fluoreszenz ab vier GC-Basenpaaren nicht mehr weiter absinkt. Die gleiche Tendenz zeigt sich auch in den **DAP-DIMAP-Duplexen**.

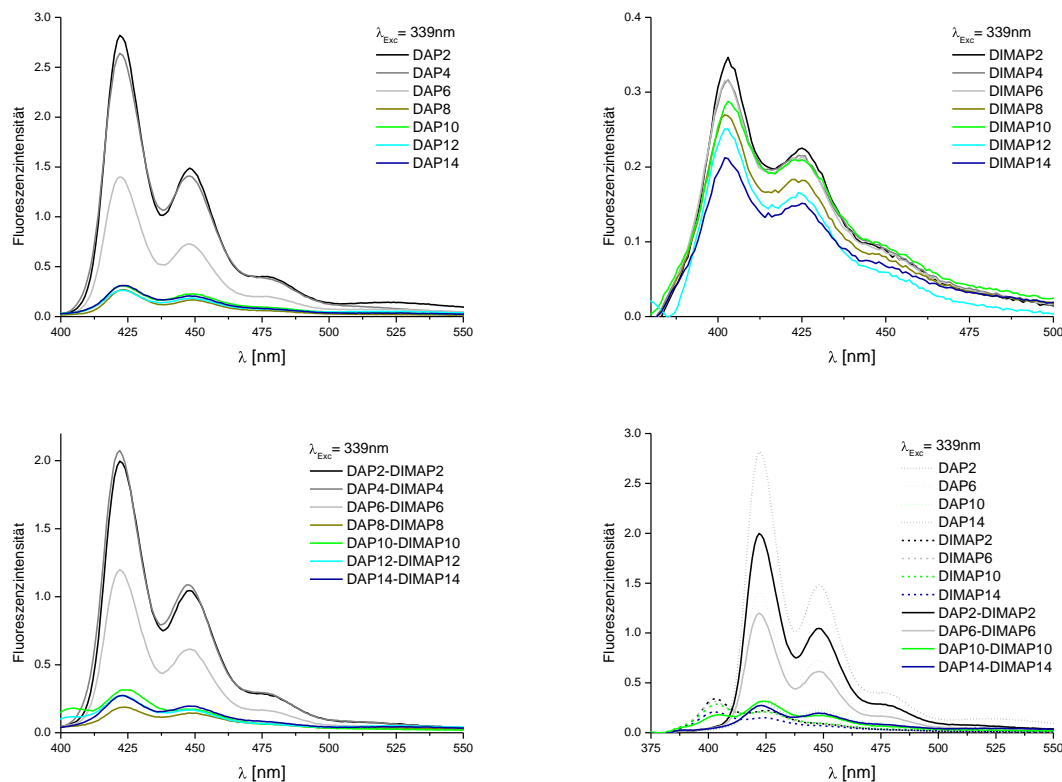


Abb. 48: Emissionsspektren der einfach modifizierten Oligonukleotide **DAP2 - DAP14** und **DIMAP2 - DIMAP14**, sowie der Ladungstransferduplexe **DAP2-DIMAP2 - DAP14-DIMAP14** bei einer Anregung bei $\lambda_{Exc} = 339 \text{ nm}$.

Wird bei $\lambda = 360 \text{ nm}$ angeregt, so entsteht für die **DAP-** und **DAP-DIMAP-Duplexe** erneut eine langwellige Emissionsbande im Bereich von $\lambda = 500 - 600 \text{ nm}$. Diese scheint dem Einfluss der zunehmend benachbarten Guanine nicht zu unterliegen. Bemerkenswert ist die deutliche hypsochrome Verschiebung (8 - 11 nm) der Emission beim Übergang von drei auf vier GC-Basenpaare. Wie bereits erwähnt wurde, scheinen die beiden Chromophore über geringe Distanzen direkt miteinander in Wechselwirkung zu treten. Ab einer DNA-Brücke von vier Basenpaaren wird die Distanz zu groß, die Chromophore werden deutlich separiert und die direkte Wechselwirkung durchbrochen. Unklar bleibt, warum die Verschiebung bei den gezeigten AT-Oligonukleotiden nicht beobachtet werden kann. Eine Vermutung ist, dass die Interkalation in GC-reiche Sequenzen effektiver erfolgt und dadurch energetisch günstiger

ist. Dadurch nimmt der Einfluss der DIMAPdU-Komponente zu und bewirkt die Verschiebung hin zu dessen Absorptionsmaximum.

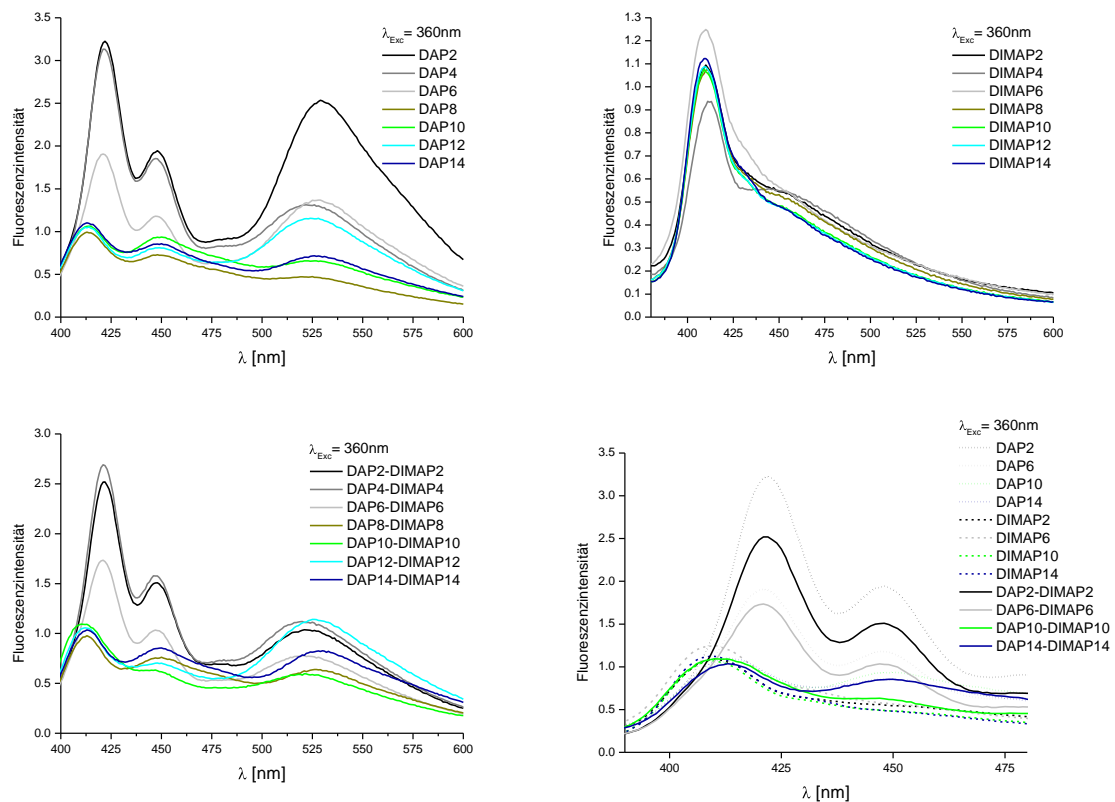


Abb. 49: Graphische Darstellung der Emissionsspektren der einfach modifizierten Oligonukleotide **DAP2 - DAP14** und **DIMAP2 - DIMAP14**, sowie der Ladungstransferduplexe **DAP2-DIMAP2 - DAP14-DIMAP14** bei einer Anregung bei $\lambda_{Exc} = 360\text{nm}$.

Für die Anregung bei $\lambda = 418\text{nm}$ ergibt sich für alle Ladungstransferduplexe eine geringe Fluoreszenzlöschung. Hier zeigt sich eine schwache bathochrome Verschiebung (1 - 2 nm) beim Übergang von drei auf vier GC-Basenpaare.

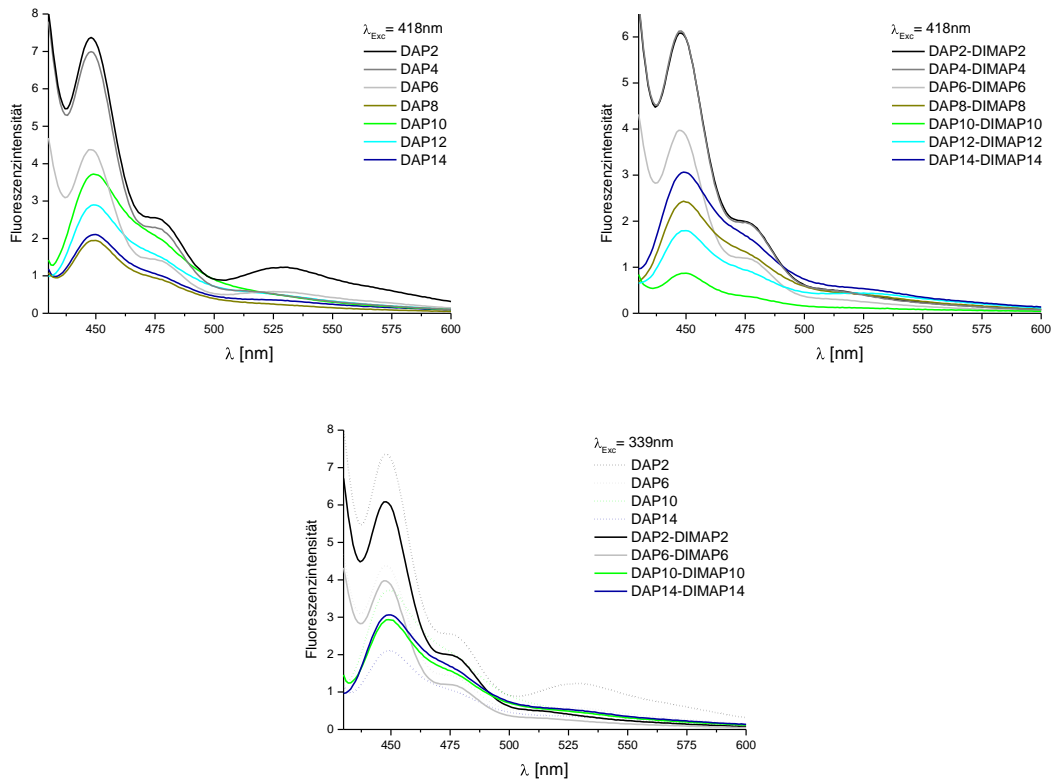


Abb. 50: Graphische Darstellung der Emissionsspektren DAP-modifizierter Duplexe und der Ladungstransferduplexe mit GC-Basenpaaren bei $\lambda = 418 \text{ nm}$.

Die Fq-Werte wurden wie folgt berechnet:

mit:	$E_{ms}(\text{DAPDIMAP})$	Fluoreszenzintensität der DAP-DIMAP-Duplexe beim Maximum von X bzw. Y
	$E_{ms}(\text{DAP})$	Fluoreszenzintensität der DAP-Duplexe beim Maximum von X bzw. Y
	$E_{ms}(\text{DIMAP})$	Fluoreszenzintensität der DIMAP-Duplexe beim Maximum von X bzw. Y
	λ	Wellenlänge bei maximaler Fluoreszenzintensität
	X	DAP ²⁺
	Y	DIMAPdU

Bei den angegebenen Fq-Werten (vgl. Tab. VIII) ist zu beachten, dass sie die Effizienz der Ladungstransferprozesse nur andeuten, keinesfalls nachweisen. Der Fq-Wert ist auch von anderen Einflussgrößen (vgl. Kap. 3.2.2) und dem Grad der selektiven Anregung abhängig.

Tab. VIII: Tabellarische Übersicht der Fq-Werte für DAP²⁺ und DIMAPdU. Die Fq-Werte für DAP1-DIMAP1, DAP3-DIMAP3, DAP5-DIMAP5 wurden im Rahmen der Masterarbeit bestimmt.^[341]

Duplex	Fq [%] (DAP ²⁺)	Fq [%] (DIMAPdU) ^[a]	Fq [%](DAP ²⁺)	Fq [%](DAP ²⁺) ^[b]
	$\lambda_{\text{Exc}}=339 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{Exc}}=339 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{Exc}}=360 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{Exc}}=418 \text{ nm}$
DAP1-DIMAP1	92	100	77	n.b.
DAP3-DIMAP3	92	100	74	n.b.
DAP5-DIMAP5	83	100	71	n.b.
DAP7-DIMAP7	75	100	72	61
DAP9-DIMAP9	65	81	64	51
DAP11-DIMAP11	15	9	23	13
DAP13-DIMAP13	12	22	20	15
DAP2-DIMAP2	34	100	37	17
DAP4-DIMAP4	27	100	30	12
DAP6-DIMAP6	26	100	33	9
DAP8-DIMAP8	45	80	48	--- ^[c]
DAP10-DIMAP10	39	43	38	73
DAP12-DIMAP12	36	22	30	38
DAP14-DIMAP14	40	11	46	----

Erläuterungen: [a]: Ems(DAP) = 0; [b]: Ems(DIMAP) = 0 [c]: Fq > 100.

Zusammenfassend hat sich bei den stationären spektroskopischen Experimenten zum reduktiven Elektronentransfer und zum oxidativen Lochtransfer gezeigt, dass Ladungstransferprozesse im System DAP²⁺-DIMAPdU wahrscheinlich stattfinden. Diese verlaufen mit dazwischen liegenden AT-Basenpaaren effektiver als mit GC-Brücke. Über welche Distanz allerdings Ladungstransferprozesse erfolgen und wie effektiv, ließ sich mit stationären Fluoreszenzmessungen nicht aufklären. Deswegen wurde dieses System intensiv mit transientser Absorptionsspektroskopie untersucht (s. Kap. 4.3.3). Daneben wurde festgestellt, dass es zu direkten Interaktionen der Ladungstransfersonden bei kurzen DNA-Brücken (n = 1 - 3) kommt. Eigentlich sollte DAP²⁺ in den Basenstapel interkaliert vorliegen und DIMAPdU am Rückgrat lokalisiert sein, somit sollten beide Chromophore lokal separiert sein. Allerdings sprechen Absorptions- und Fluoreszenzmessungen dafür, dass die

tatsächliche Anordnung anders aussieht und sich die Ladungstransferproben in direkter räumlicher Nähe zueinander befinden. Welche der gezeigten Anordnungen in DNA vorliegt, konnte nicht näher bestimmt werden (vgl. Abb. 51).

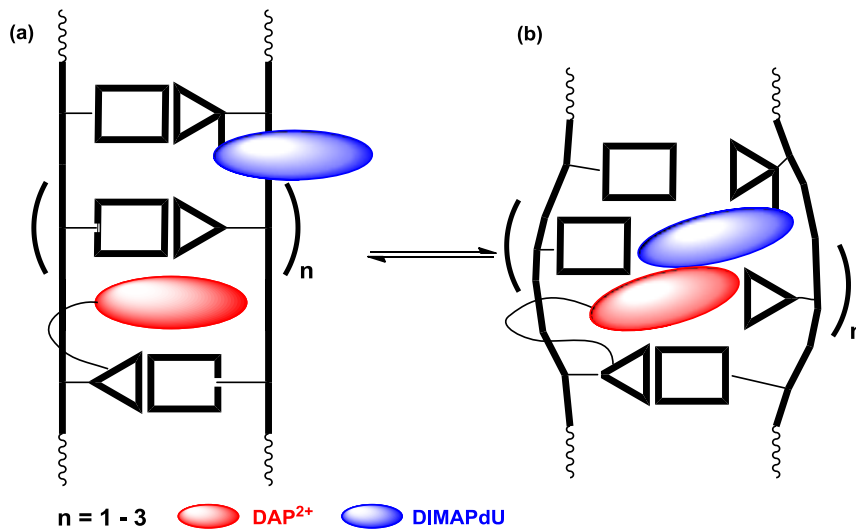


Abb. 51: Schematische Darstellung der möglichen Anordnungen der Ladungstransferproben für kurze DNA-Brücken ($n = 1 - 3$). (a) ideale Vorstellung; DAP^{2+} liegt interkaliert vor und $DIMAPdU$ am DNA-Rückgrat. (b) eine mögliche alternative Konformation mit direktem Kontakt der beiden Ladungstransferproben.

Neben den Messungen bei 20 °C wurden auch temperaturabhängige Fluoreszenzspektren im Bereich von 20 - 90 °C aufgenommen. Die Emissionsintensitäten der einfach modifizierten Duplexe sind bei erhöhten Temperaturen deutlich verringert. Als Beispiel sind die Abnahme der Emissionsintensität von $DAP7$ und $DIMAP7$ in Abb. 52 dargestellt.

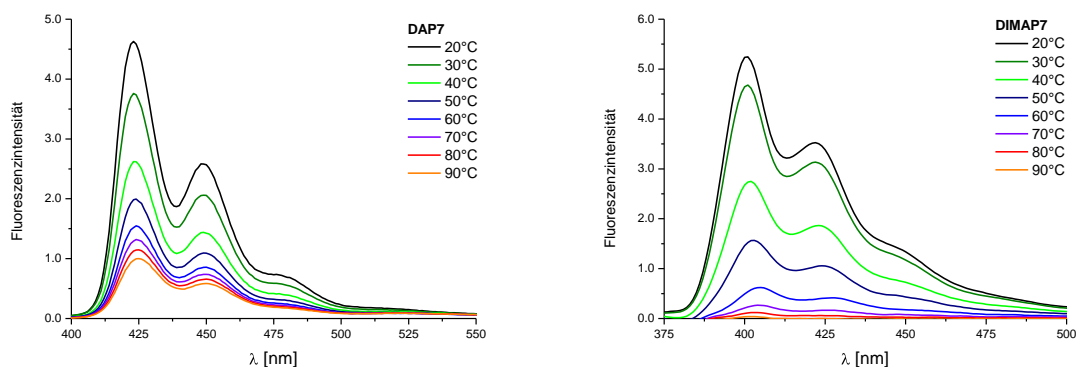


Abb. 52: Emissionsspektren der einfach modifizierten Duplexe $DAP7$ und $DIMAP7$ bei unterschiedlichen Temperaturen. Die Anregung erfolgte bei $\lambda_{Exc} = 339$ nm.

Hingegen zeigt sich für die Ladungstransferduplexe eine andere Temperaturabhängigkeit. Mit steigender Temperatur verringert sich zunächst die Emission, allerdings wird dieser Effekt durch Wegfall des Ladungstransferanteils bei der Dehybridisierung der Duplexe deutlich kompensiert (70 °C). Es kommt zunächst zu einem Anstieg der Fluoreszenzintensität aufgrund des Wegfalls der Ladungstransferkomponente und erst oberhalb der Schmelztemperatur zu einem temperaturbedingten Absinken der Fluoreszenz. Dies kann aber wegen der sehr geringen Emissionsintensität von DIMAPdU und den sich überlagernden Emissionen der Sonden nur für die Emission von DAP²⁺ gut beobachtet werden.

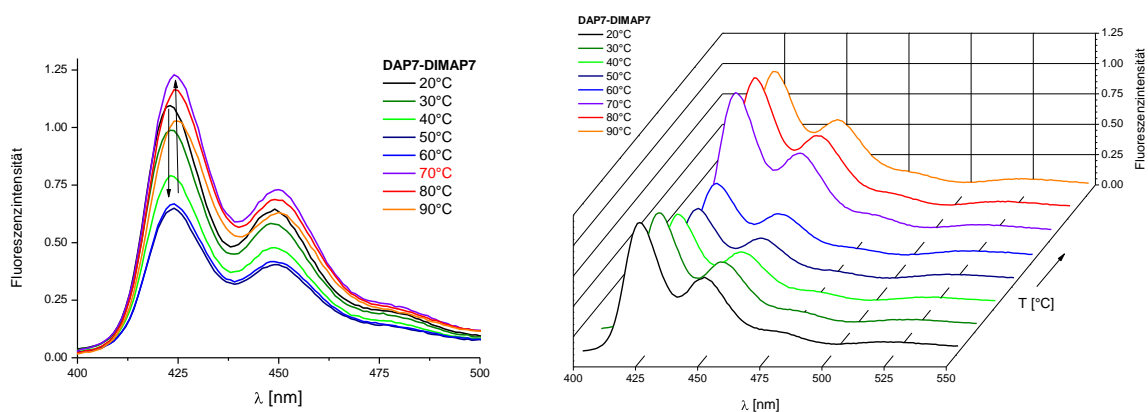


Abb. 53: Emissionsspektren des Ladungstransferduplexes **DAP7-DIMAP7** bei unterschiedlichen Temperaturen. Die Anregung erfolgte bei $\lambda_{Exc} = 339 \text{ nm}$.

Um die Duplexstabilitäten zu bestimmen, wurden von allen **DAP-**, **DIMAP-** und den Ladungstransferduplexen Schmelztemperaturen aufgezeichnet. Die erhaltenen Werte für die DAP-Duplexe wurden dabei bereits im Kap. 4.2 gezeigt. Als Referenzduplexe dienten unmodifizierte Oligonukleotide (vgl. Tab. IX).

Das Einbringen von DIMAPdU führt in allen untersuchten Oligonukleotiden zu einer Destabilisierung. Wie bereits erwähnt, stabilisiert DAP²⁺ Duplexe nur mit zunehmender GC-Brücke. Deswegen werden Duplexe mit AT-Brücke weiter destabilisiert, während bei GC-Duplexe zunehmend der stabilisierende Einfluss von DAP²⁺ eintritt.

Tab. IX: Tabellarische Darstellung der Schmelztemperaturen der DIMAPdU-modifizierten und der Ladungstransferduplexe.

Duplex	AT-bp	ΔT [°C]	Duplex	GC-bp	ΔT [°C]
DIMAP7	4	-5.5	DIMAP2	1	-4.5
DIMAP9	5	-5.6	DIMAP4	2	-4.4
DIMAP11	6	-4.6	DIMAP6	3	-3.6
DIMAP13	7	-4.8	DIMAP8	4	-4.5
			DIMAP10	5	-4.0
			DIMAP12	6	-3.9
			DIMAP14	7	-3.1
DAP7-DIMAP7	4	-2.0	DAP2-DIMAP2	1	-4.9
DAP9-DIMAP9	5	-4.7	DAP4-DIMAP4	2	-3.5
DAP9-DIMAP9	6	-4.2	DAP6-DIMAP6	3	-3.0
DAP9-DIMAP9	7	-6.8	DAP8-DIMAP8	4	-2.3
			DAP10-DIMAP10	5	-2.5
			DAP12-DIMAP12	6	-1.8
			DAP14-DIMAP14	7	-1.7

4.3.2 DIMAP als nicht-nukleosidische Elektronentransfersonde

Bringt man DIMAPdU an der 5-Position von 2'-dU in DNA ein, so befindet sich die Elektronentransfersonde am Rückgrat der DNA. Allerdings kann DIMAPdU in DNA auch eine andere Konformation einnehmen (vgl. Abb. 51). Für einen noch effektiveren Elektronentransfer wär es wünschenswert, wenn sich die Elektronentransfersonde im Inneren des Basenstapels befindet. Deswegen wurde von DAMIAN PLOSCHIK im Rahmen der Bachelorarbeit ein nicht-nukleosidisches DIMAP-Derivat (DIMAPbs, Basensurrogat, 7) synthetisiert und charakterisiert (vgl. Abb. 61).

Die Synthese orientierte sich an einer Literaturvorschrift von MAJIMA.^[363] Ausgehend von 1-Aminopyren wurde in vier Schritten ein reaktiver NHS-Ester dargestellt. Zunächst wurde mittels zweier reduktiver Aminierungen (**a,b**) *N*-Pyrenyl-*N'*-methylglycinethylester (**2**)

dargestellt. Durch eine basische Esterspaltung **(c)** wurde die freie Carbonsäure **(3)** synthetisiert die anschließend in den NHS-Ester überführt wurde **(d)**. An diesen wurde der in der Arbeitsgruppe WAGENKNECHT etablierte Linker (2S)-1-Amino-3-dimethoxytrityl-propan-2-ol gekoppelt **(e)**. Für den Einbau wurde das Phosphoramidit des DIMAP-Bausteins **(6)** synthetisiert **(f)**. Für die optische Charakterisierung des nicht-nukleosidischen Bausteins musste die DMTr-Schutzgruppe abgespalten werden **(g)**.

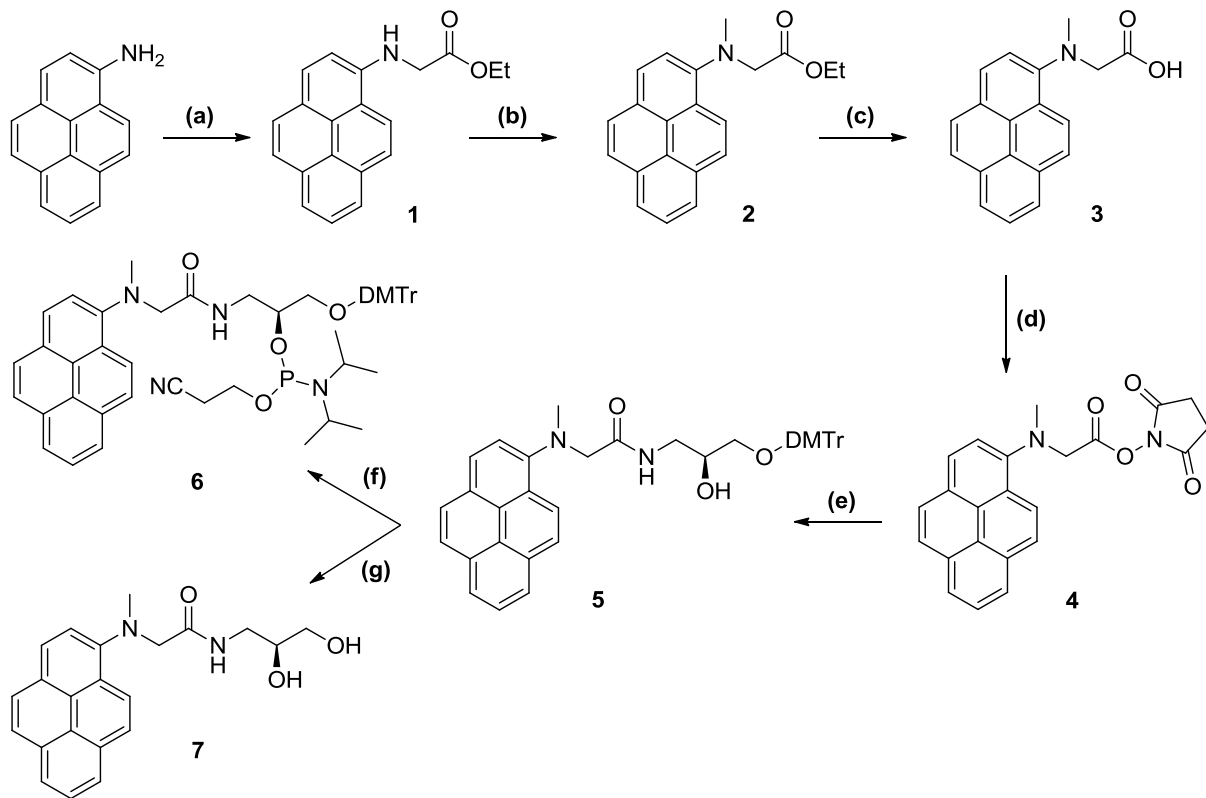


Abb. 54: Synthese des nicht-nukleosidischen DIMAP-Bausteins für die Festphasensynthese **6** und für die optische Charakterisierung **7**: **(a)** NaBH_3CN , HCl , Ethylglyoxylat in EtOH , RT, 2 h, 71 %; **(b)** NaBH_3CN , HCl , HCHO in EtOH , RT, 1 h, -; **(c)** LiOH in $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), RT, 16 h, 73 %; **(d)** EDC, NHS in DMF , RT, 16 h, -; **(e)** (2S)-1-Amino-3-dimethoxytrityl-propan-2-ol in DMF , RT, 3 h, 44 %; **(f)** DIPEA, 2-Cyanoethyl-diisopropyl-chlorophosphoramidit in abs. DCM , RT, 3 h, 38 %; **(g)** DCA in abs. DCM , RT, 10 min, 95 %.

Für die optische Charakterisierung wurden zunächst Absorptions- und Emissionsspektrum des Bausteins **7** in Methanol aufgenommen.

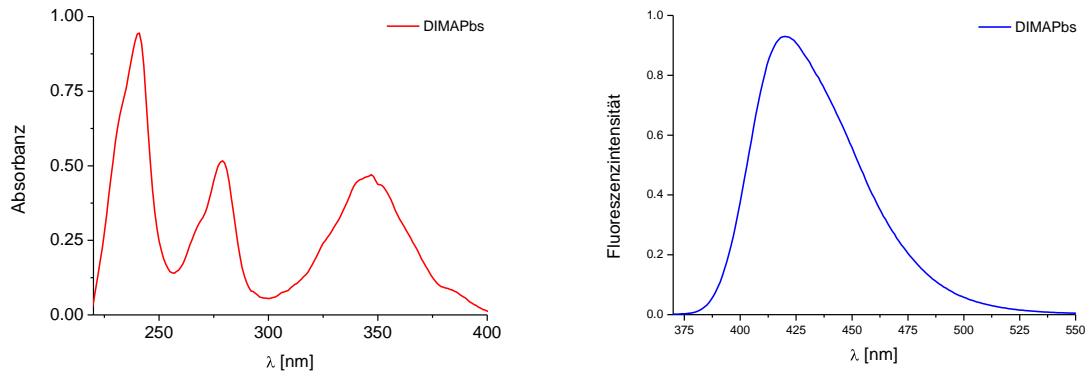


Abb. 55: Normiertes Absorptions- und Emissionsspektrum des DIMAP-Bausteins aufgenommen in MeOH.

Im Absorptionsspektrum zeigen sich drei Maxima bei $\lambda = 241$ nm, 279 nm und 348 nm. Diese sind sehr ähnlich zum Absorptionsspektrum des monomeren DIMAPs in protischen Lösungsmitteln.^[361] Die für Pyren typische Feinstrukturierung der Absorptionsbanden lässt sich auch hier nicht beobachten. Im Bereich von $\lambda = 300 - 400$ nm erscheint die Bande des $S_0 - S_2$ -Übergangs. Die Banden bei geringeren Wellenlängen entsprechen den jeweiligen $S_0 - S_3$ und $S_0 - S_4$ -Übergängen. Das Emissionsspektrum zeigt eine unstrukturierte Bande im Bereich von $\lambda = 375 - 525$ nm mit einem Maximum bei $\lambda = 420$ nm.

Die Stabilität der DNA-Duplexe mit DIMAPbs wurde anhand der Schmelztemperaturen analysiert. Als Gegenbase zur Modifikation wurde aus Gründen der Analogie zu den Experimenten mit DIMAPdU A gewählt. Als Referenzstränge wurden komplementäre unmodifizierte Oligonukleotide verwendet. Es zeigte sich, dass die Modifikation zu einer starken Destabilisierung von 5-6 °C des DNA-Duplexes führt (vgl. Tab. X). Dies lässt sich durch die fehlende Möglichkeit zur Basenpaarung mit A erklären. Ebenso zeigt sich, dass es so gut wie keinen Unterschied zwischen AT- und GC-Basenpaaren gibt. Die Wechselwirkung von DIMAPbs mit benachbarten GC- oder AT-Basenpaaren sind annähernd gleich.

Tab. X: Tabellarische Darstellung der Schmelztemperaturen der DIMAPbs-modifizierten DNA-Duplexe. Als Referenzduplexe dienten komplett unmodifizierte Oligonukleotide.

Duplex	AT-bp	ΔT [°C]	Duplex	GC-bp	ΔT [°C]
DIMAP15	1	-4.9	DIMAP16	1	-6.0
DIMAP17	2	-6.1	DIMAP18	2	-6.0
DIMAP19	3	-5.6	DIMAP20	3	-6.4

Für die Ladungstransferexperimente wurden folgende DNA-Oligonukleotide synthetisiert:

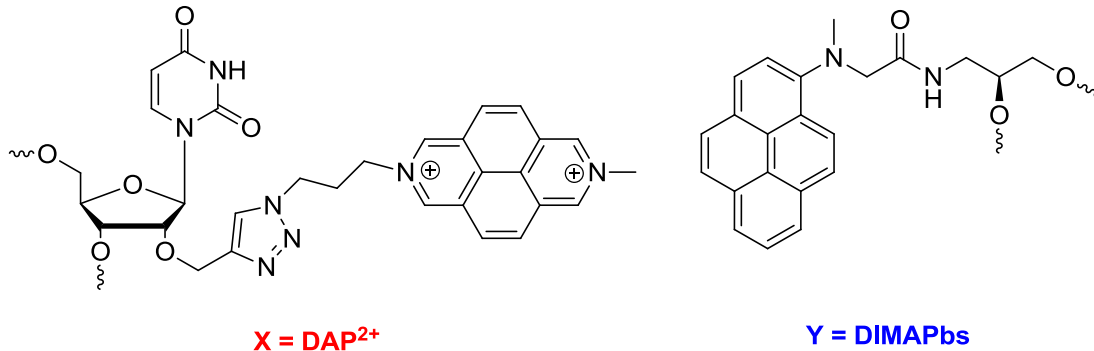
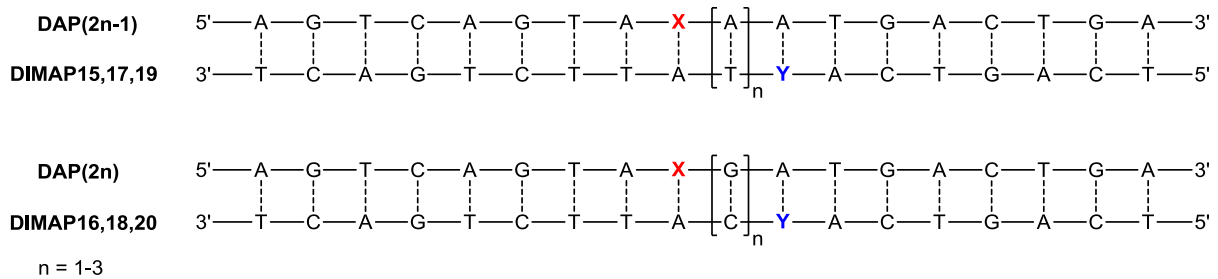


Abb. 56: Darstellung der synthetisierten DNA-Duplexe und der verwendeten Elektronentransfersonden. Die Anzahl der zwischen DAP²⁺ und DIMAPbs liegenden AT- bzw. GC-Basenpaaren variiert von n = 1 – 3.

Die folgenden Messungen wurden stets an DNA-Duplexen durchgeführt. Wird kein Gegenstrang angegeben, dann wurden komplementäre Oligonukleotide mit A als Gegenbase zur Modifikation verwendet. Auf ausschließlich mit DAP²⁺ modifizierte DNA-Stränge wird im Folgenden nicht mehr extra eingegangen. Die wesentlichen Eigenschaften wurden bereits in Kap. 4.2 gezeigt.

Die Absorption der DIMAPbs-modifizierten Stränge ist hier exemplarisch an **DIMAP15** gezeigt. DIMAPbs zeigt in DNA im Bereich von $\lambda = 310 - 400$ nm eine breite strukturlose Absorptionsbande. Das Absorptionsmaximum liegt in einem Bereich von $\lambda = 356 - 360$ nm. Dabei handelt es sich um den S₀ - S₂-Übergang. Aufgrund der breiten Bande lässt sich nicht ausschließen, ob auch ein Anteil des stark verbotenen S₀ - S₁-Übergangs enthalten ist.^[361]

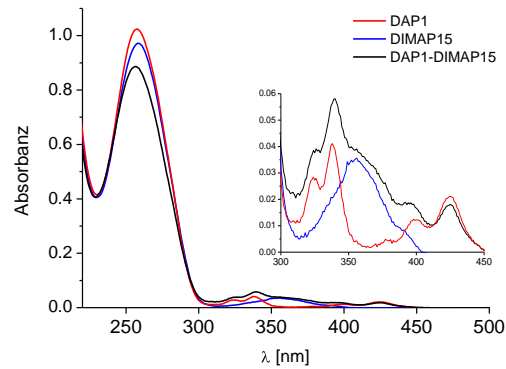


Abb. 57: Absorptionsspektren der einfach modifizierten DNA-Duplexe **DAP1** und **DIMAP15**, sowie des Ladungstransferduplexes **DAP1-DIMAP15**.

Ansonsten sind die dargestellten Absorptionsspektren analog zu denen mit DIMAPdU (vgl. Kap. 4.3.1) Die Absorption des Elektronentransfer-Duplexes **DAP1-DIMAP15** im Bereich von $\lambda = 300 - 450$ nm ist nahezu additiv aus den einzelnen Absorptionsbeiträgen von **DAP1** und **DIMAP15**. Im Vergleich zu den DIMAPdU-modifizierten DNA-Proben besteht ein wesentlicher Unterschied. Die ausschließlich additive Absorption der beiden Chromophore ist bereits mit einem dazwischenliegenden Basenpaar zu sehen. Dies ist ein Indiz, dass es zu keinen direkten Wechselwirkungen der Chromophore untereinander kommt. Bei dieser Versuchsanordnung sollten sich beide Elektronentransfersonden von einander getrennt im Basenstapel befinden.

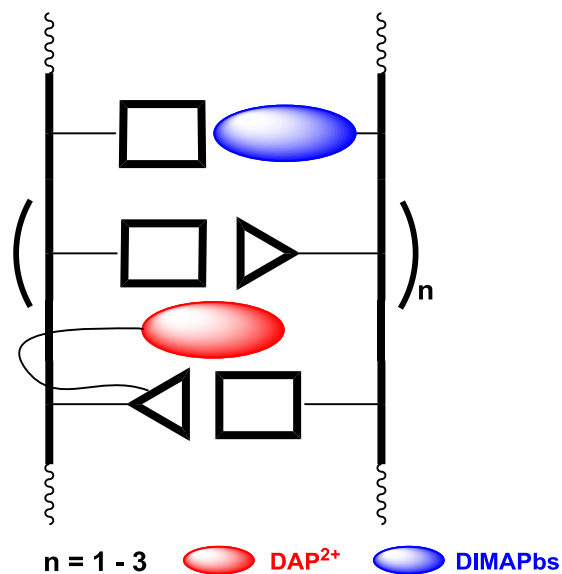


Abb. 58: Darstellung der Anordnung der Ladungstransfersonden **DAP²⁺** und **DIMAPbs**. Durch die Verwendung eines azyklischen Linkers befindet sich der Chromophor im Inneren des Basenstapels.

Für die Ladungstransferexperimente wurde, wie zuvor erklärt, bei drei verschiedenen Wellenlängen angeregt ($\lambda = 339 \text{ nm}$, 365 nm und 425 nm). Die Emissionsspektren der DIMAPbs-modifizierten Oligonukleotide unterscheiden sich von denen mit DIMAPdU. Während man bei DIMAPdU bei einer Bestrahlung bei $\lambda = 339 \text{ nm}$ noch eine strukturierte Emissionsbande erhält, so entsteht im Falle von DIMAPbs stets eine unstrukturierte Emissionsbande im Bereich von $\lambda = 375 - 550 \text{ nm}$. Darüber hinaus verschiebt sich das Maximum um mehr als 20 nm auf $\lambda = 422 - 424 \text{ nm}$ (vgl. Abb. 59). Dies erschwert die folgende Diskussion erheblich, da nun die Emissionsmaxima der **DAP**-, **DIMAPbs**- und **DAP-DIMAPbs**-Duplexe übereinander liegen.

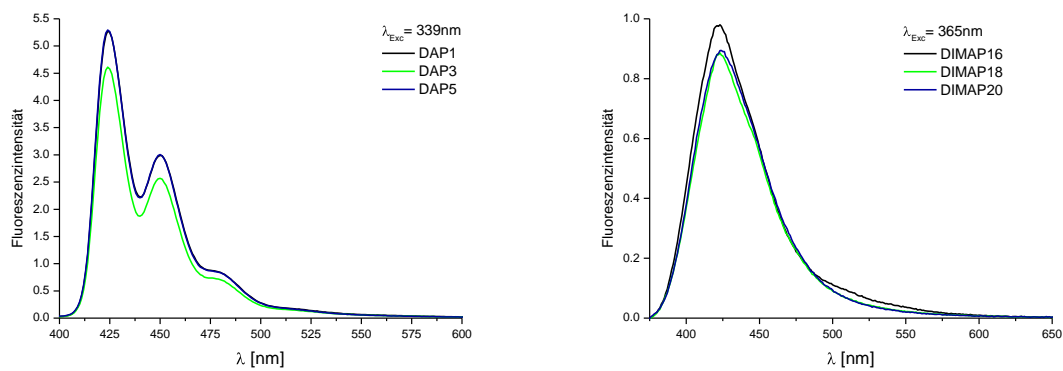


Abb. 59: Beispielhafte Darstellung der Emissionsspektren von DAP^{2+} -modifizierten DNA-Duplexe und DIMAPbs-modifizierte Duplexe. Die Anregung erfolgte bei $\lambda = 339 \text{ nm}$ und 365 nm .

Generell lässt sich bei den Emissionsspektren festhalten, dass die Fluoreszenzintensitäten der DNA-Duplexe mit GC-Brücke geringer ausfallen. Dies lässt sich durch die bessere Stapelung und der daraus folgenden effizienteren π, π -Wechselwirkung erklären. Die Fluoreszenzintensität der Ladungstransferduplexe ist in allen Fällen stark gelöscht. Würde es keine Interaktion zwischen Ladungs-Donor und -Akzeptor geben, so müsste die Fluoreszenzintensität aus den additiven Beiträgen der einfachmodifizierten Oligonukleotiden resultieren. Dies ist hier aber in keinem Fall gegeben (vgl. Abb. 60).

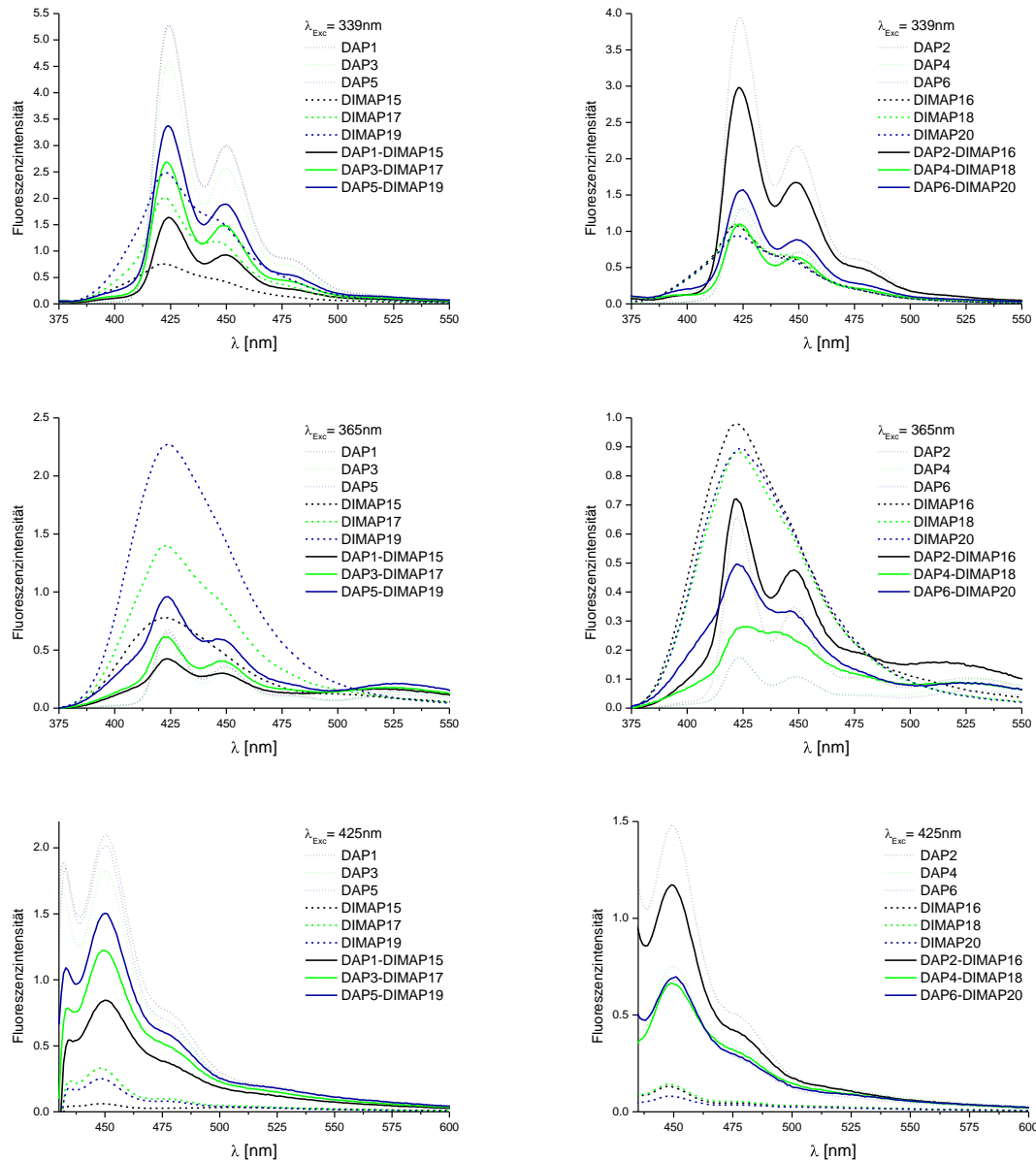


Abb. 60: Graphische Darstellung der einfach- und doppelt-modifizierten Duplexe *DAP1-6*, *DIMAP15-20* und *DAP1-6-DIMAP15-20*. Die Anregung erfolgte bei $\lambda = 339 \text{ nm}$, 365 nm und 425 nm .

Um einigermaßen abschätzen zu können, ob und wie gut ein Ladungstransfer erfolgt, wurden Fluoreszenzlöschungen (F_q-Werte) nach bereits gezeigter Formel berechnet (vgl. Kap. 4.3.1).

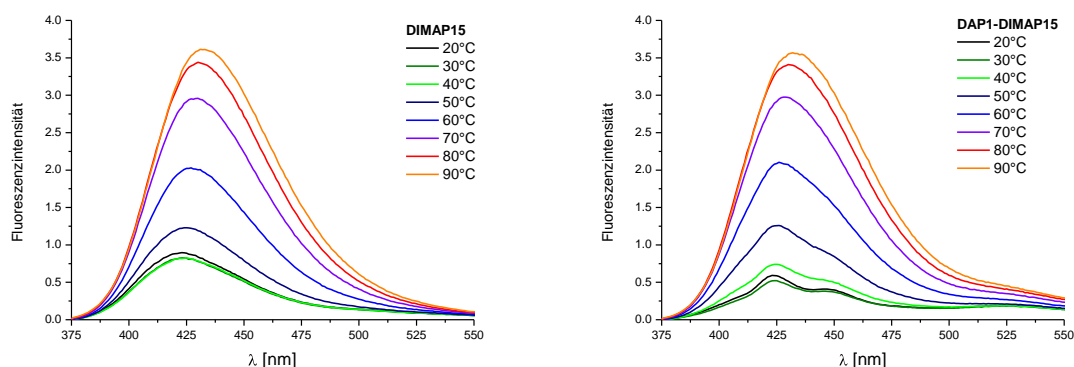
Daraus ergibt sich, dass Ladungstransferprozesse, wie zu erwarten, über AT-Sequenzen effektiver erfolgen als über GC-Sequenzen. Bei einer Anregung von $\lambda = 339 \text{ nm}$ erfolgt eine relativ unselektive Anregung beider Chromophore. Welche Prozesse ablaufen bzw. dominieren, lässt sich durch stationäre Absorptions- und Fluoreszenzmessungen nicht

weiter aufklären. Erfolgt die Anregung bei $\lambda = 365$ nm, wird sehr selektiv DIMAPbs angeregt. Dabei wird reduktiver Elektronentransfer induziert. Bemerkenswert dabei ist die geringe Distanzabhängigkeit der Emissionslöschung. Oxidativer Lochtransfer wird durch Anregung bei $\lambda = 425$ nm induziert. Hier zeigt DIMAPbs so gut wie keine Absorption und somit kann DAP²⁺ selektiv angeregt werden.

Tab. XI: Tabellarische Übersicht der berechneten Fq-Werte für die Ladungstransferduplexe.

Duplex	Fq [%]	Fq [%]	Fq [%]
	$\lambda_{\text{Exc}} = 339$ nm	$\lambda_{\text{Exc}} = 365$ nm	$\lambda_{\text{Exc}} = 425$ nm
DAP1-DIMAP15	73	71	61
DAP3-DIMAP17	59	69	43
DAP5-DIMAP19	57	67	33
DAP2-DIMAP16	41	56	27
DAP4-DIMAP18	55	74	26
DAP6-DIMAP20	31	53	10

Zu den Ladungstransferuntersuchungen im gezeigten System wurden auch temperaturabhängige Fluoreszenzmessungen aufgenommen. Im Gegensatz zu DIMAPdU weist DIMAPbs eine andere Temperaturabhängigkeit auf.



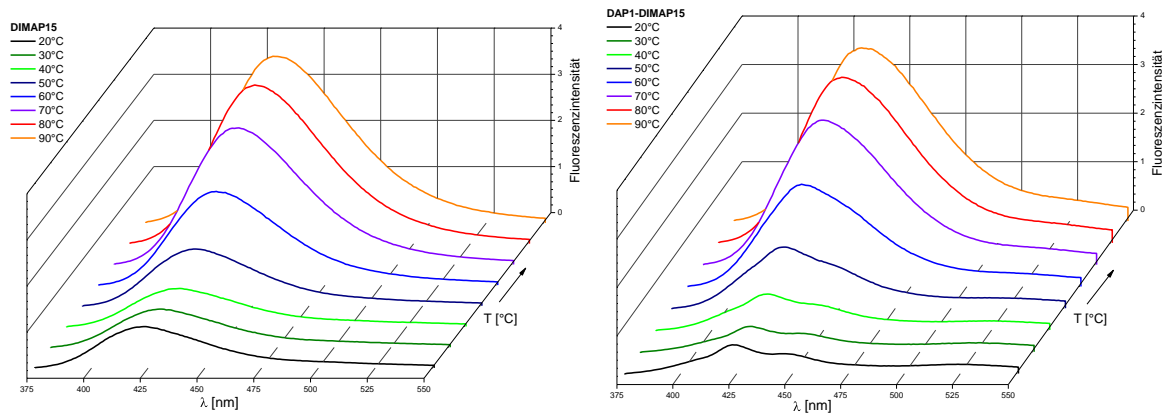


Abb. 61: Darstellung der temperaturabhängigen Messungen der Fluoreszenzintensität im Bereich von 20 - 90 °C von **DIMAP15** und **DAP1-DIMAP15**. Die Anregung erfolgte bei $\lambda = 365$ nm.

Die DNA-Duplexe **DIMAP15** und **DAP1-DIMAP15** zeigen die gleiche Tendenz. Zunächst verringert sich die Fluoreszenzintensität, da durch zunehmende Temperatur vermehrt Schwingungen und Rotationen angeregt werden. Ab etwa 40 °C beginnen die Duplexe langsam zu dehybridisieren, was den Ladungstransfer unterbricht.

Zur vollständigen Charakterisierung wurden die Schmelztemperaturen der Ladungstransferduplexe aufgenommen. Die Differenzen beziehen sich auf unmodifizierte komplementäre DNA-Duplexe, welche anstelle der Elektronentransferproben T in der Basensequenz aufweisen. Es zeigt sich, dass die Ladungstransferduplexe durchgehend destabilisiert werden. Es konnte bereits gezeigt werden, dass DAP^{2+} in Oligonukleotiden mit AT-Brücke leicht destabilisierend und mit GC-Brücke leicht stabilisierend wirkt (vgl. Tab. V). Ebenso wurde bereits gezeigt, dass DIMAPs Duplexe aufgrund der fehlenden Basenpaarung stark destabilisiert (vgl. Tab. XII). Diese enorme Destabilisierung kann von DAP^{2+} nicht kompensiert werden. Daraus folgt, dass DNA-Duplexe mit GC-Brücke um etwa 4 °C und mit AT-Brücke um 5 - 6 °C destabilisiert werden.

Tab. XII: Tabellarische Übersicht der Schmelztemperaturen der Ladungstransferduplexe **DAP-DIMAP**.

Duplex	AT-bp	ΔT [°C]	Duplex	GC-bp	ΔT [°C]
DAP1-DIMAP15	1	-4.5	DAP2-DIMAP16	1	-3.9
DAP3-DIMAP17	2	-6.4	DAP4-DIMAP18	2	-4.0
DAP5-DIMAP19	3	-6.2	DAP6-DIMAP20	3	-4.6

Wie in den Versuchen gezeigt wurde, stellt DIMAPs eine neue Ladungstransfersonde dar, die für reduktiven Elektronentransfer als auch oxidativen Lochtransfer verwendet werden kann. Die Fluoreszenzlöschung deutet darauf hin, dass Ladungstransferprozesse effektiv und über mindestens drei Basenpaare verlaufen. Leider überschneiden sich die Emissionen von **DIMAP**-, **DAP**- und Ladungstransferduplexe, so dass keine spezifischeren Aussagen mit stationärer Fluoreszenz-Spektroskopie getroffen werden können.

4.3.3 Ladungstransfer-Untersuchungen mittels zeitaufgelöster Absorptionsspektroskopie

Wie in den vorangegangenen Kapiteln gezeigt, können mittels stationärer Absorptions- bzw. Fluoreszenzspektroskopie keine eindeutigen Aussagen über die Effektivität und Dynamik auftretender Ladungstransferprozesse im Elektronentransfersystem DAP^{2+} -DIMAPdU getroffen werden. Deswegen wurde mit zeitaufgelöster Absorptionsspektroskopie das System detaillierter untersucht. Die gezeigten Messungen wurden in der Arbeitsgruppe UNTERREINER am KIT durchgeführt.

Für die Untersuchungen musste die Konzentration der verwendeten Oligonukleotide (vgl. Abb. 62) auf 0.3 mM (250 μL , in 10 mM NaP_i -Puffer mit 250 mM NaCl) erhöht werden. Als Referenzen dienten jeweils einfach modifizierte DNA-Duplexe (**DAP** bzw. **DIMAP**).

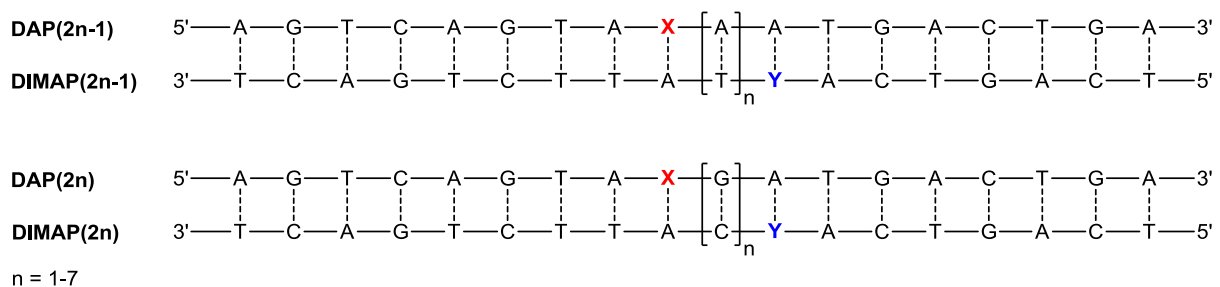


Abb. 62: Die untersuchten DNA-Duplexe **DAP1-DIMAP1-DAP14-DIMAP14** für die zeitaufgelöste Absorptionsspektroskopie.

Für die Experimente wurde ein Femtosekundenlaser-System^[364] verwendet (vgl. Abb. 63). Dabei wird der verstärkte Laserstrahl (CPA 2210) mit einer Wiederholungsrate von 1 kHz in gleiche Anteile aufgespalten, um zwei NOPAs (NON-COLLINEAR OPTICAL PARAMETRIC

AMPLIFIER) zu pumpen. Davon dient einer der erzeugten Pulse der Summenfrequenzerzeugung (SFG, 340 nm). Dies erfolgt mittels eines Summenfrequenzmischungsprozesses der Fundamentalwellenlänge des CPA von 775 nm. Die Pulsdauer beträgt dabei ungefähr 150 fs (Halbwertsbreite). Durch einen weiteren NOPA wurde die gewünschte PROBE-Wellenlänge von 510 nm erzeugt. Die PUMP-Energie liegt bei 0.9 μJ und die PROBE-Energie bei einem Wert kleiner als 0.2 μJ . Die Polarisation des PROBE-Pulses wurde mit einem einstellbaren $\lambda/2$ -Plättchen auf den magischen Winkel (54.7°) justiert.

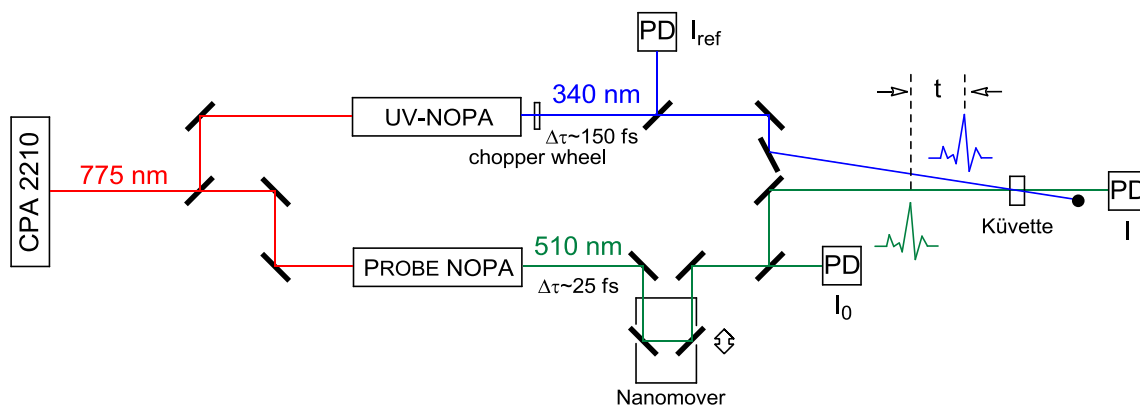


Abb. 63: Vereinfachte Skizze des experimentellen Aufbaus für die durchgeführte PUMP-PULSE-Spektroskopie.^[365]

Wie bereits erwähnt, gibt es in diesem Ladungstransfersystem drei interessante Wellenlängenbereiche ($\lambda = 339, 360$ und 418 nm). Im Folgenden wurde das Augenmerk besonders auf Untersuchungen zum reduktiven Elektronentransfer gelegt. Deswegen wurde sowohl beim Absorptionsmaximum von DIMAPdU ($\lambda = 360$ nm) als auch bei $\lambda = 340$ nm, die Wellenlänge bei der beide Chromophore nahezu gleich stark absorbieren, angeregt. Als Detektionswellenlänge (PROBE-Wellenlänge) wurde $\lambda = 510$ nm gewählt. Bei dieser Wellenlänge absorbieren die beiden entstehenden Monoradikalkationen DIMAP^{•+} und DAP^{•+} (s. Kap. 4.2, SEC). Somit können Ladungstransferprozesse spektroskopisch detektiert werden.

Betrachtet man die DNA-Duplexe mit AT-Brücke bei Anregung mit $\lambda = 340$ nm, so zeigt sich, dass der Beitrag (Anstieg und Abklingen des Signals) von **DAP** bei kurzen Zeitskalen (bis 20 ps) vernachlässigbar klein ist und erst bei längeren Zeiten der Einfluss zunimmt. Die Ladungstransferduplexe **DAP1-DIMAP1 – DAP9-DIMAP9** zeigen eine andere Dynamik als jene Duplexe mit 6 bzw. 7 AT-Basenpaaren. Letztere gleichen sich zunehmend der Dynamik

des **DIMAP**-Referenzstranges an. Dadurch lässt sich zum einen ablesen, dass reduktiver Elektronentransfer induziert wird, zum anderen, dass dieser distanzabhängig ist.

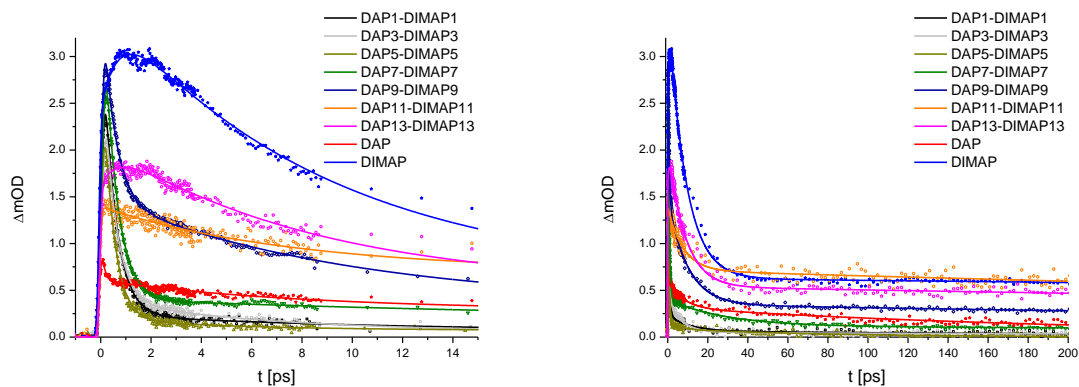


Abb. 64: Darstellung der zeitaufgelösten Absorptionsspektren von **DAP1-DIMAP1** – **DAP13-DIMAP13** und der Referenz-Duplexe **DAP** bzw. **DIMAP** (pump: 340 nm, probe: 510 nm).

Mithilfe der folgenden Formel lassen sich Aussagen über die Effektivität (A_i) und Geschwindigkeit (τ_i) der ablaufenden Prozesse treffen:

mit:	ΔOD	Änderung der optischen Dichte
	t	Zeit
	A_i	Amplitude; Maß für die Quantität des jeweiligen Prozesses
	τ_i	Abklingzeit des jeweiligen Prozesses
	τ_p	Zeitauflösung

Der Anstieg der Signale (τ_0) erfolgt innerhalb einer Pikosekunde, d.h. die Ladungstrennung der beiden Chromophore erfolgt äußerst schnell. Diese sehr schnelle Ladungstransfergeschwindigkeit lässt sich auf die extrem hohe Triebkraft des gezeigten Systems zurückführen, welche $\Delta G = -1.9$ eV beträgt. Die Ladungsrekombination (τ_1) ist für alle Ladungstransferduplexe annähernd gleich und beträgt ca. 500 fs (vgl. Tab. XIII). Unterschiede gibt es für die Effektivität (A_1) des reduktiven Elektronentransfers. Diese ist bis zu 4 AT-Basenpaaren annähernd gleich hoch mit ca. 90 %. Erst ab einer Länge von fünf nimmt die Amplitude A_1 ab und ist bei **DAP13-DIMAP13** gar nicht mehr vorhanden. Die zweite Zeitkonstante (τ_2) beschreibt die Dynamik von DIMAPdU. Dabei handelt es sich um

die Absorption des angeregten Zustands S_1 (EXCITED STATE ABSORPTION, ESA). Die Abklingzeit liegt im Rahmen des experimentellen Fehlers bei 10 ps. Der Anteil der ESA nimmt mit zunehmender DNA-Brücke zu, was nicht weiter verwunderlich ist. Mit zunehmender DNA-Brücke wird der Ladungstransfer erschwert und ein größerer Energieanteil steht für Konkurrenzprozesse zur Verfügung. Eine dritte Zeitkonstante τ_3 beschreibt das Verhalten beider Chromophore bei längeren Zeiten ($\gg 200$ ps). Hier kommen Beiträge beider Sonden zu tragen und somit lassen sich über die zugrunde liegenden Prozesse nur Mutmaßungen treffen. Der Anteil dieser dritten Dynamik nimmt mit abklingendem Elektronentransfer zu, was z.B. durch Prozesse wie ISC hervorgerufen werden kann.

Tab. XIII: Tabellarische Übersicht über Abklingzeiten (τ_i) und Amplituden (A_i) der Ladungstransferduplexe mit AT-Brücke.

Duplex	τ_1 [fs]	A_1	τ_2 [ps]	A_2	τ_3 [ps]	A_3
DAP1-DIMAP1	498 \pm 36	0.93	11 \pm 1.9	0.05	\gg 200	0.02
DAP3-DIMAP3	476 \pm 27	0.87	7.2 \pm 0.6	0.11	\gg 200	0.01
DAP5-DIMAP5	474 \pm 32	0.91	10 ^[a]	< 0.01	\gg 200	0.09
DAP7-DIMAP7	492 \pm 41	0.88	14.1 \pm 6.2	0.07	\gg 200	0.05
DAP9-DIMAP9	483 \pm 57	0.62	10.2 \pm 2.0	0.24	\gg 200	0.13
DAP11-DIMAP11	502 \pm 51	0.14	9.9 \pm 0.7	0.41	\gg 200	0.45
DAP13-DIMAP13	-	0	8.7 \pm 0.5	0.65	\gg 200	0.35
DAP	-	0	-	0	\gg 200	1
DIMAP	-	0	7.9 \pm 0.3	0.53	\gg 200	0.47

[a] Der Wert wurde im Vergleich zu den anderen Resultaten als 10 ps angenommen, da die Amplitude A_2 zu klein ist, um einen genauen Wert für τ_2 zu ermitteln.

Die gezeigten Resultate lassen sich auch für die Ladungstransferduplexe mit GC-Brücke bestätigen. Allerdings gibt es kleine Unterschiede im Hinblick auf Effizienz und Geschwindigkeit der Prozesse.

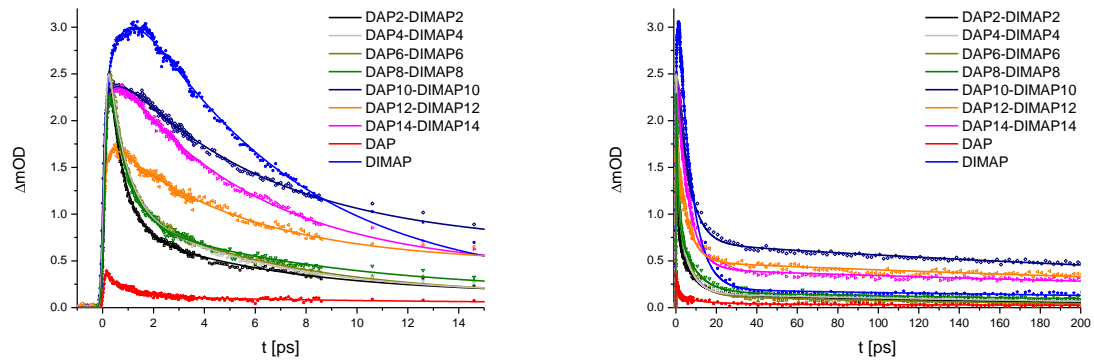


Abb. 65: Darstellung der zeitaufgelösten Absorptionsspektren von **DAP2-DIMAP2** – **DAP14-DIMAP14** und der Referenzen **DAP** bzw. **DIMAP** (pump: 340 nm, probe: 510 nm).

Die Ladungsrekombination erfolgt mit ca. 600 - 700 fs langsamer als in den DNA-Duplexen mit AT-Brücke. Ebenso verringert sich die Effizienz (A_1) des Ladungstransfers. Allerdings ist sie bis zu 4 GC-Basenpaaren mit 63 - 70 % nahezu konstant. Die Geschwindigkeit des ESA-Prozesses ist deutlich schneller. Ebenso sind die Ausbeuten (A_2) hierfür stark erhöht. Augenscheinlich begünstigt eine GC-Brücke die Absorption des angeregten Zustands. Der Anteil der Prozesse auf der längeren Zeitskala wird dadurch ebenso eingeschränkt.

Tab. XIV: Tabellarische Übersicht über Abklingzeiten (τ_i) und Amplituden (A_i) der Ladungstransferduplexe mit GC-Brücke.

Duplex	τ_1 [fs]	A_1	τ_2 [ps]	A_2	τ_3 [ps]	A_3
DAP2-DIMAP2	578 \pm 19	0.70	6.0 \pm 0.2	0.25	>> 200	0.05
DAP4-DIMAP4	643 \pm 21	0.63	5.6 \pm 0.3	0.32	>> 200	0.05
DAP6-DIMAP6	622 \pm 31	0.64	6.2 \pm 0.1	0.32	>> 200	0.04
DAP8-DIMAP8	718 \pm 34	0.65	7.9 \pm 0.5	0.29	>> 200	0.06
DAP10-DIMAP10	-	0	6.0 \pm 0.8	0.74	>> 200	0.26
DAP12-DIMAP12	-	0	5.3 \pm 0.8	0.73	>> 200	0.27
DAP14-DIMAP14	-	0	5.6 \pm 0.6	0.84	>> 200	0.16
DAP	-	0	-	0	>> 200	1
DIMAP	-	0	6.4 \pm 0.7	0.95	>> 200	0.05

Der auffallendste Unterschied liegt in der Distanz, über die der reduktive Elektronentransfer stattfindet. In den DNA-Duplexen mit AT-Brücke erfolgt ein Ladungstransfer über fünf Basenpaare hinweg noch effektiv (62 %), während bei einer vorliegenden GC-Brücke von fünf Basenpaaren kein Elektronentransfer mehr beobachtet werden kann. Zeigt **DAP9-DIMAP9** noch klar die Dynamik des Elektronentransfers, geht bei **DAP10-DIMAP10** die Ladungstransferkomponenten (τ_1 und A_1) verloren und gleicht der Dynamik von **DIMAP**. Die Ladungsrekombination kann prinzipiell über zwei Wege erfolgen, entweder in einem Schritt oder über intermediäre Ladungsträger (vgl. Kap. 3.2.1). Im Falle des reduktiven Elektronentransfers können sowohl C^\bullet - als auch T^\bullet - als solche auftreten. Da allerdings DAP^{2+} mit einem Reduktionspotential von $E_{red} \approx -0.3 \text{ V}^{[336]}$ nicht in der Lage ist, weder C noch T zu reduzieren, erfolgt eine Ladungsrekombination vermutlich in einem Schritt. Eine genauere Aussage kann im Rahmen dieser Arbeit aber nicht getroffen werden.

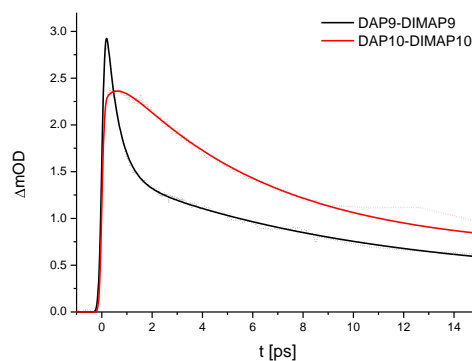


Abb. 66: Graphische Darstellung der zeitaufgelösten Spektren von **DAP9-DIMAP9** und **DAP10-DIMAP10** (pump: 340 nm, probe: 510 nm). Bei einer Distanz von fünf Basenpaaren erfolgt reduktiver Elektronentransfer nur noch bei einer AT-Brücke.

Diese qualitativen Tendenzen zeigen sich auch bei der Anregung mit $\lambda = 360 \text{ nm}$ (PUMP). Allerdings lassen sich daraus keine quantitativen Resultate erhalten, da das Signal-Rausch-Verhältnis zu schwach ist. Dies ist dem apparativen Aufbau geschuldet. Wie bereits beschrieben (vgl. Abb. 63), beträgt die Fundamentalwellenlänge des verwendeten Lasers $\lambda = 775 \text{ nm}$, welche durch die Verwendung eines $\lambda/2$ -Plättchen in einer effektiven Wellenlänge von $\lambda = 388 \text{ nm}$ resultiert. Diese ist bereits so nahe an der gewünschten Wellenlänge, dass wegen der auftretenden Lichtartefakte keine exakte Anregung mehr gewährleistet werden kann. Dadurch werden unerwünschte Prozesse angeregt, die alle eine eigene Dynamik aufweisen und somit zu einem großen Fehler führen.

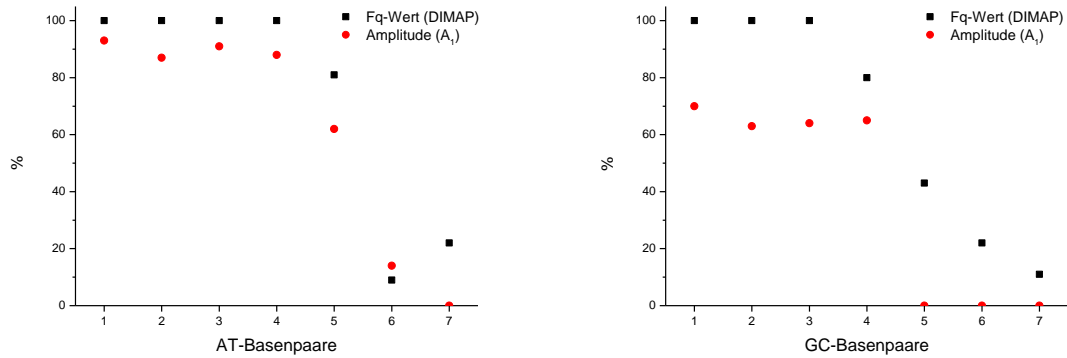


Abb. 67: Darstellung der Korrelation der Fq-Werte von DIMAPdU und der Amplitude A_1 für AT- und GC-Basenpaare.

Vergleicht man die erhaltenen Werte für die Ladungsrekombination (A_1) mit den ermittelten Fq-Werten für DIMAPdU (s. Tab. VIII) so zeigt sich, dass die Werte qualitativ übereinstimmen. Allerdings sind die A_1 -Werte etwas geringer als die Fluoreszenzlöschwerte Fq (vgl. Abb. 67). Dies kann an zwei Gründen liegen. Zum einen liefert das untersuchte Einwellenlängenexperiment (340nm @ 510nm) keine exakten Werte für die Amplituden, da die PROBE-Wellenlänge nicht scharf abgegrenzt ist, sondern eine Halbwertsbreite von ca. 10 nm aufweist. Dies kann durch die Auswertung eines transienten Spektrums über alle Wellenlängen umgangen werden. Zum anderen können andere elektronische Übergänge eine Rolle spielen.

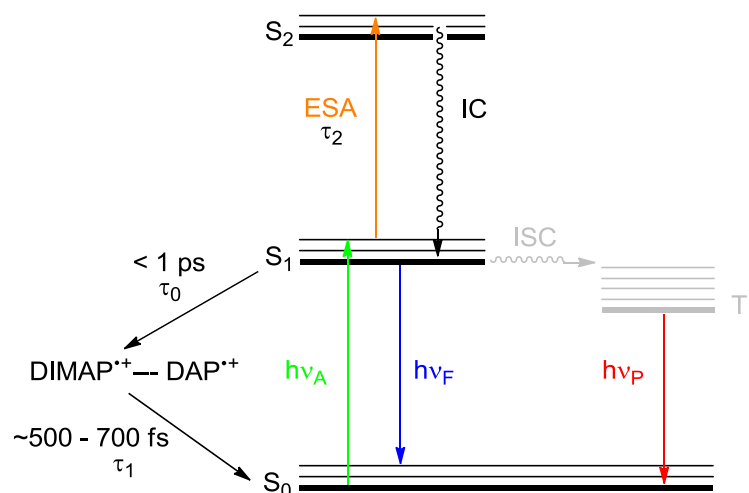


Abb. 68: Vereinfacht dargestelltes JABLOŃSKI-Diagramm für die energetischen Übergänge im gezeigten Ladungstransfersystem. Erläuterungen: A = Absorption, F = Fluoreszenz, P = Phosphoreszenz, ISC = Intersystem crossing, IC = Internal conversion, S = Singulett-Zustand, T = Triplett-Zustand.

So wäre es denkbar, dass vom angeregten Zustand S_1 ein ISC in ein schwingungsangeregtes Energieniveau des Triplett-Zustands erfolgt. Es ist z.B. bekannt, dass DAP^{2+} bei Anregung mit $\lambda = 360$ nm eine Emission aus dem Triplettzustand im Bereich von 500 - 600 nm zeigt.^[336] Damit würde ein Teil der Energie für den Ladungstransferprozess nicht mehr zur Verfügung stehen und somit die Effizienz erniedrigen. Woher genau die Diskrepanz stammt, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter aufgeklärt werden. Dazu müsste neben der bereits erwähnten Auswertung eines transienten Absorptionsspektrums auch eine Korrelation mit dem Beitrag von DAP^{2+} erfolgen, da dieser bislang vernachlässigt wurde.

In den stationären Absorptions- und Fluoreszenzmessungen wurde postuliert, dass bei einer DNA-Brücke bis zu drei Basenpaaren beide Chromophore in ausreichender Nähe treten, um direkt miteinander zu wechselwirken. Es bildet sich sozusagen eine Art CHARGE-TRANSFER-Komplex aus elektronenreichen DIMAPdU und elektronenarmen DAP^{2+} . Das kann mittels zeitaufgelöster Absorptionsspektroskopie nicht beobachtet werden, was auf der rapiden Zeitauflösung des Ladungstransfersystems beruht. Innerhalb einer Pikosekunde erfolgt die Ladungsseparation und erzeugt zwei Monoradikalkationen. Durch die entstehende Repulsion der positiven Ladungen wird der CHARGE-TRANSFER-Komplex möglicherweise aufgebrochen und beide Chromophore ausreichend weit voneinander getrennt.

Abschließend lässt sich sagen, dass mit den durchgeführten Experimenten der reduktive Ladungstransfer im untersuchten System DAP^{2+} -DIMAPdU eindeutig belegt werden kann. Aufgrund der großen Triebkraft erfolgt die Ladungsseparation unter einer Pikosekunde. Die Ladungsrekombination geht in AT-Brücken etwas schneller als bei einer GC-Brücke. Ein effektiver Ladungstransfer lässt sich über fünf AT-Basenpaare nachweisen, während bei GC-Basenpaaren dies nur bis zu vier möglich ist. Um genauere Aussagen bezüglich der Effizienz und der Korrelation mit den ermittelten F_q -Werten zu treffen, bedarf es einer noch genaueren Analyse.

4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

DAP^{2+} wurde postsynthetisch via CuAAC in Oligonukleotide eingebracht und vollständig charakterisiert. Es zeigte sich, dass die Modifikation in DNA-Sequenzen mit AT-Brücke leicht destabilisierend und in DNA-Duplexen mit GC-Basenpaaren leicht stabilisierenden

Einfluss aufweist. In Basenfehlpaarungs-Experimenten wurde gezeigt, dass A die Gegenbase ist, bei der die stabilsten DNA-Duplexe ausgebildet werden. Mittels SEC konnte das Monoradikalkation $\text{DAP}^{\bullet+}$ spektroskopisch charakterisiert werden.

Ladungstransferexperimente mit DIMAPdU ergaben, dass es deutliche Hinweise gibt, dass beide Chromophore bei DNA-Brücken bis zu drei Basenpaaren in ausreichende räumliche Nähe kommen, um direkt miteinander in Wechselwirkung zu treten. Mit stationärer Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie ($\lambda_{\text{Exc}} = 339, 360, 418 \text{ nm}$) konnten eindeutige Tendenzen für auftretende Ladungstransferprozesse nachgewiesen werden. Allerdings konnte so keine verlässliche Aussage über Art und Effizienz der induzierten Prozesse getroffen werden. In temperaturabhängigen Fluoreszenzmessungen konnte eine Abnahme der Emission für die einfach modifizierten Duplexe beobachtet werden. Bei Dehybridisierung des Ladungstransferduplexes kommt es durch Wegfall der Ladungstransferkomponente zu einem Anstieg der Emission und erst danach erneut zu einem temperaturbedingten Absinken.

Um sicher zu gehen, dass beide Chromophore in DNA räumlich getrennt vorliegen, wurde ein nicht-nukleosidisches DIMAP-Derivat (DIMAPbs) entwickelt, welches über einen azyklischen Linker in DNA eingebracht wurde. Aufgrund der fehlenden Basenpaarung zeigt DIMAPbs einen destabilisierenden Effekt der DNA-Duplexe. Es konnten ebenfalls Hinweise gefunden werden, dass Ladungstransferprozesse stattfinden.

Um eindeutige Aussagen bezüglich der Art und der Effizienz der Ladungstransferprozesse zu treffen, wurde das System DAP^{2+} -DIMAPdU mittels zeitaufgelöster Absorptionsspektroskopie untersucht. Durch Anregung bei $\lambda = 340 \text{ nm}$ und Detektion bei $\lambda = 510 \text{ nm}$ konnte reduktiver Elektronentransfer nachgewiesen werden. So konnte in DNA-Duplexen mit AT-Brücke ein effektiver Ladungstransfer über fünf Basenpaare und bei GC-Basenpaaren über vier detektiert werden. Darüber hinaus, konnte eine äußerst schnelle Ladungsseparation beobachtet werden, welche sich durch die große Triebkraft des reduktiven Elektronentransfers des untersuchten Systems erklären lässt.

Um dieses Projekt abzuschließen, bedarf es noch einer detaillierten Auswertung eines transienten Absorptionsspektrums um die bestimmten A_i -Werte exakt zu quantifizieren. Ebenso wären Experimente mit DIMAPbs als Elektronendonator noch angebracht.

5. Photoinduzierter Interstrang-Ladungstransfer über Terpyridine

5.1 Terpyridin als Ligandosid für DNA-Architekturen

Im Bereich der Nanotechnologie wird DNA als funktionelles Molekül zunehmend interessanter. Das liegt daran, dass DNA als Gerüst dienen kann, um Moleküle und Materialien in komplexe dreidimensionale Strukturen anzuordnen. Gründe liegen in den einmaligen Eigenschaften der DNA, wie dem einfachen Vier-Buchstaben-Code (A-T, C-G), der reproduzierbaren Hybridisierung, der doppelhelikalen Geometrie und Größe, der einfachen Zugänglichkeit mittels automatisierter Festphasensynthese und den vorhandenen biochemischen Werkzeugen zur Modifikation von DNA.^[366-368] Mittlerweile lassen sich ausschließlich durch geschicktes Sequenz-Design und Hybridisierung, aus unmodifizierten Oligonukleotiden faszinierende und komplexe Strukturen darstellen.^[368] Was diesen Strukturen allerdings fehlt, sind funktionsgebende Modifikationen.

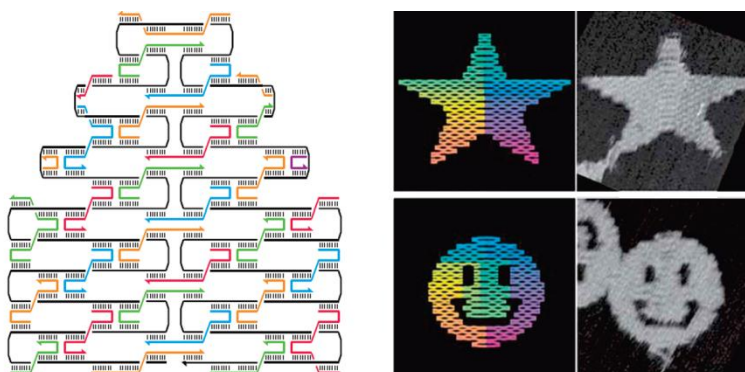


Abb. 69: Darstellung des Prinzips von DNA-Origami (links). Durch DNA-Strangdesign lassen sich komplexe Strukturen darstellen. Die erwartete Struktur in Farbe und die tatsächliche mittels AFM bestätigte Struktur (rechts).^[369]

Eine gewünschte Funktionalität kann die Elektronenleitfähigkeit solcher Strukturen sein. Für den Einsatz in elektronischen Komponenten reicht die intrinsische Elektronenleitfähigkeit der DNA nicht aus. Eine Möglichkeit, diese zu verbessern, stellt die Modifikation der DNA mit Übergangsmetallkomplexen dar. Neben den besseren elektronischen Eigenschaften bieten diese weitere Vorteile. Eine erhöhte Stabilität und / oder Steifheit, Reversibilität durch Metallzugabe oder neue Verzweigungspunkte für DNA-Strukturen sind hierbei zu nennen.^[366]

Ein Ligand für solche Übergangsmetallkomplexe stellt 2,2':6',2''-Terpyridin (tpy) dar. Es ist bekannt, dass er mit verschiedenen Metallen stabile Komplexe formt.^[370-375] Zum ersten Mal wurde eine Konjugation zweier Oligonukleotide über terminale tpy-Liganden und deren Komplexierung mit Ru(II) von MCLAUGHLIN et al. erreicht.^[376] Mithilfe von bis(tpy)Fe(II)-Komplexen konnten Dreiecke aus Oligonukleotiden realisiert werden. Dies ist das erste Beispiel für geordnete räumliche Metallkomplex-DNA-Addukte.^[377] Allosterische Kontrolle der Hybridisierung wurde mit tpy-DNA-Konjugaten erzielt, die auf Fe²⁺ und Zn²⁺-Ionen ansprechen. Durch Zugabe von einem Äquivalent M²⁺ konnte eine Zyklisierung eines beidseitig modifizierten DNA-Strangs erzielt werden. Eine weitere Zugabe führt zur Öffnung des Ringschlusses.^[378] In einem doppelt intern tpy-modifizierten DNA-LNA-Duplex konnte gezeigt werden, dass die Schmelztemperatur nach Zugabe von Metallionen zunimmt und wieder sinkt, wenn ein Überschuss zugegeben wird (vgl. Abb. 70).^[379]

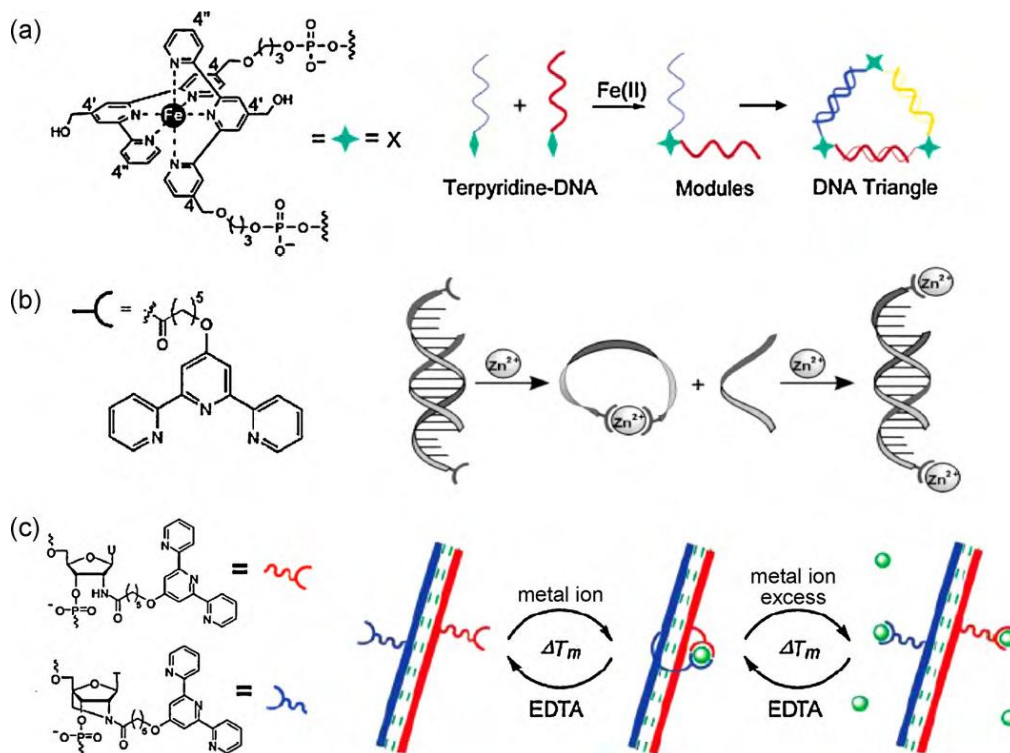


Abb. 70: Übersicht zu tpy-DNA-Konjugate: (a) Darstellung von DNA-Dreiecken mit bis(tpy)Fe(II)-Komplexen als Verzweigungspunkte.^[377] (b) endständig modifizierte Duplexe lassen sich durch Metallzugabe zyklisieren und wieder öffnen.^[378] (c) die Schmelztemperatur von DNA-LNA-Duplexen lässt sich mithilfe von eingebrachten tpy-Liganden durch Metallzugabe steuern.^[379]

In den gezeigten Versuchen wurde der tpy-Ligand stets über einen langen flexiblen Linker in die DNA eingebracht. Auf diese Weise konnte keine „SIDE-ON“-Verknüpfung zweier Oligonukleotide realisiert werden. Deswegen wurde von THOMAS EHRENSCHWENDER im Rahmen seiner Dissertation ein modifiziertes 2'-Desoxyuridin synthetisiert, das an der 5-

Position der Base über eine Ethinylbrücke mit dem tpy-Ligand modifiziert ist.^[361] Die Synthese des Ligandosids erfolgte analog zu einer von HOCEK publizierten Synthese,^[380, 381] allerdings erfolgte die Inkorporation in DNA mittels automatisierter Festphasensynthese. Es konnte gezeigt werden, dass Oligonukleotide ohne Verwendung eines zusätzlichen Linkers sowohl „END-ON“ als auch „SIDE-ON“ zu Dimeren verknüpft werden können. Auch die Ausbildung größerer Aggregate konnte für die endständige Modifikation nachgewiesen werden. Dabei lässt sich die Bindungsstärke und Reversibilität der Komplexbildung durch Wahl des Zentralions steuern. Somit können größere DNA-Strukturen über einen rigiden Liganden aufgebaut werden. Ein weiterer Vorteil dieser Anknüpfungsart ist, dass die elektronische Kopplung zwischen Ligand und DNA-Basenstapel erhalten bleibt. Dadurch sollte es möglich sein, eine photoinduzierte elektronische Ladung von einem Strang über den tpy-Liganden in einen zweiten DNA-Duplex zu transportieren. Dies wäre für Anwendungen im Bereich der Nanoelektronik ein wichtiges Etappenziel.

5.2 Untersuchungen zum Ladungstransfer über Terpyridine

Durch die Verknüpfung des tpy-Liganden über die Acetylenbrücke mit der DNA bleibt eine, für die Anwendung in der Nanoelektronik erforderliche, elektronische Kopplung erhalten. Um dies weiter zu untersuchen, wurde ein Versuchsaufbau gewählt, bei dem zwei DNA-Duplexe über einen flexiblen HEG-Linker verknüpft sind, um eine räumliche Nähe der beiden modifizierten Oligonukleotide zu gewährleisten. Dabei wurde ein DNA-Duplex mit einem Ladungsdonor und der zweite mit einem Ladungsakzeptor versehen. Als Donor-Akzeptor-System diente das bereits vorgestellte System DAP²⁺-DIMAPdU. Zusätzlich wurde im jeweiligen Gegenstrang, ein Basenpaar neben der Ladungstransfersonde, ein tpy-Ligand eingebracht. Durch Metallzugabe bildet sich ein tpy-Metallkomplex aus, der beide DNA-Duplexe „SIDE-ON“ miteinander verknüpft. Durch Anregung des Ladungsdonors wird eine Ladung in den DNA-Basenstapel injiziert, die über den gebildeten tpy-Komplex in den zweiten DNA-Duplex zum Ladungsakzeptor übertragen wird und spektroskopisch detektiert werden soll.

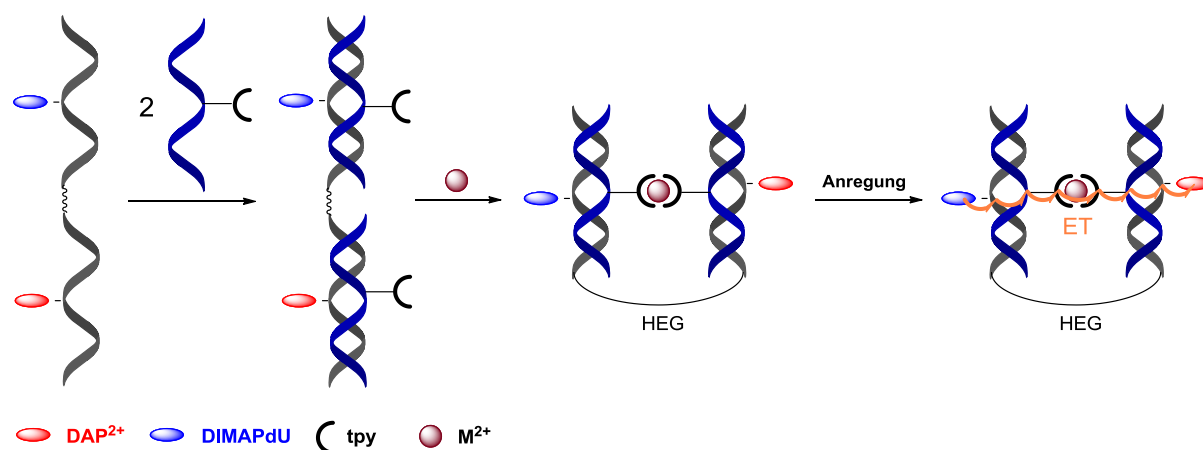
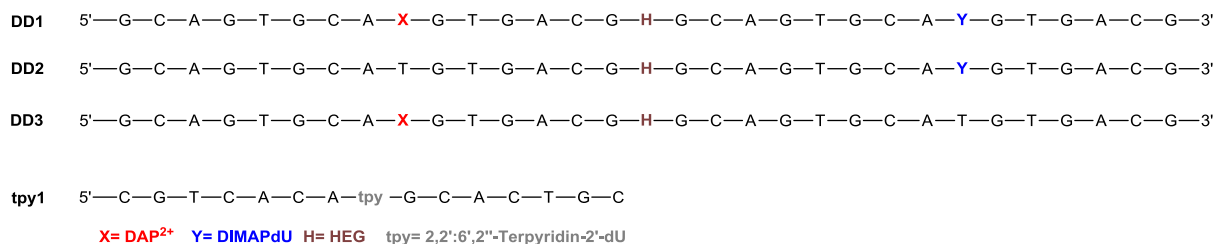


Abb. 71: Schematische Darstellung des Experimentaufbaus zum photoinduzierten Interstrang-Ladungstransfer. Hier am Beispiel des reduktiven Elektronentransfers gezeigt. Durch Anregung von DIMAPdU wird ein Elektron injiziert, das über den gebildeten tpy-Metallkomplex auf DAP²⁺ im anderen DNA-Duplex übertragen wird.

Für die Untersuchungen zum Interstrang-Ladungstransfer wurden folgende Oligonukleotide synthetisiert. Die tpy-modifizierten Oligonukleotide wurden von THOMAS EHRENSCHWENDER bereitgestellt.



Die folgenden Messungen wurden stets an DNA-Duplexen durchgeführt. Wird kein Gegenstrang angegeben, dann wurden komplementäre Oligonukleotide mit A als Gegenbase zu den Ladungstransferenden verwendet. Um eine vollständige Metallinsertion zu gewährleisten, wurde nach Zugabe von 1.1 Äquivalenten an Metallionen vier Stunden lang gewartet. Um sicher zu gehen, dass die optischen Eigenschaften der metallfreien DNA-Duplexe nicht durch Spuren von Metallionen verfälscht werden, wurden die Proben mit EDTA (c = 100 µM) versetzt und ebenfalls vier Stunden inkubiert.

In den Duplexen ohne tpy findet man die jeweiligen Absorptionsbanden der Elektronentransferenden (vgl. Kap. 4.3.1). Bei **DD1** erkennt man eine additive Absorption aus den Beiträgen von DAP²⁺ und DIMAPdU. Bringt man zwei tpy-Modifikationen in den Gegenstrang ein, so entsteht eine neue dominante unstrukturierte Absorptionsbande im Bereich von $\lambda = 300 - 350$ nm, die die Absorption der Elektronentransferenden in diesem Bereich überlagert. Wie THOMAS EHRENSCHWENDER zeigen konnte, wird diese

Absorptionsbande durch die Ausbildung eines hydrophoben Terpyridin-Basenpaares hervorgerufen.^[361]

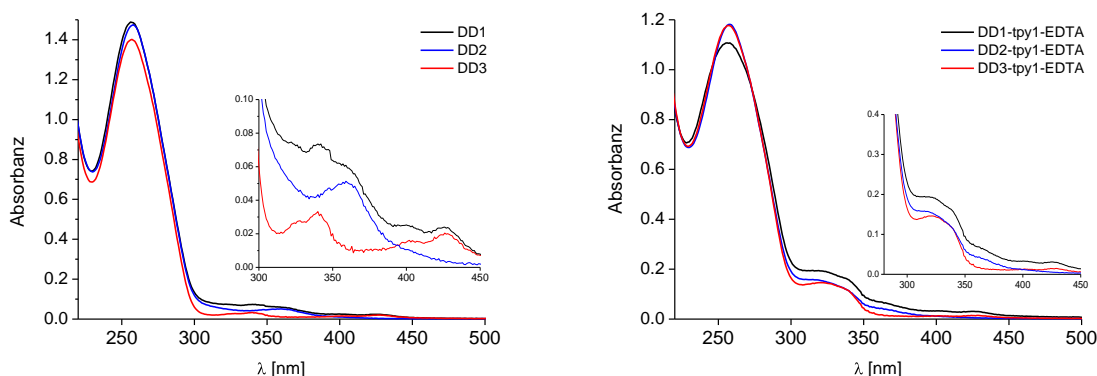


Abb. 72: Graphische Darstellung der Absorptionsspektren von *DD1 - DD3* und der *tpy-modifizierten Duplexe DD1-tpy1-EDTA - DD3-tpy1-EDTA*.

Durch das Einbringen von Metallionen (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+}) wird das hydrophobe Basenpaar aufgebrochen. Die *tpy*-Absorptionsbande verschiebt sich bathochrom und es entsteht ein Maximum bei $\lambda = 342 \text{ nm}$. Außerdem nimmt die Intensität zu. Wird Fe(II) komplexiert, so kann man eine weitere Absorptionsbande im Bereich von $\lambda = 550 - 610 \text{ nm}$ mit einem Maximum bei $\lambda = 584 \text{ nm}$ beobachten. Dabei handelt es sich um die charakteristische MLCT-Bande der Fe(tpy)_2 -Komplexe.^[382]

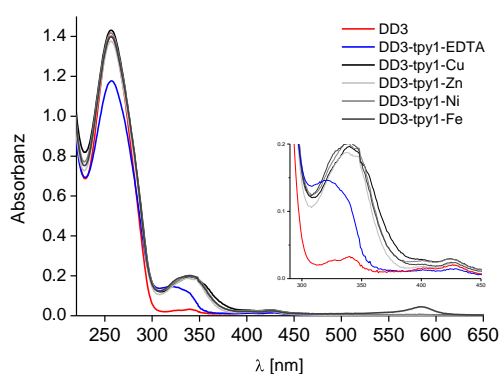


Abb. 73: Graphische Darstellung der Absorptionsspektren von *DD3* und der *tpy-modifizierten Duplexe* nach Metallzugabe.

In den Fluoreszenzspektren der Duplexe ohne *tpy* im Gegenstrang zeigt sich, dass die Emission des Ladungstransferduplexes im Rahmen des experimentellen Fehlers aus den additiven Beiträgen der einfach modifizierten Oligonukleotiden besteht. Im Bereich von

$\lambda = 380 - 530 \text{ nm}$ findet sich eine Emissionsbande mit drei Maxima. Das erste Maximum liegt bei $\lambda = 405 \text{ nm}$ und wird durch DIMAPdU hervorgerufen. Das zweite liegt bei $\lambda = 424 \text{ nm}$ und wird durch die Überlagerung beider Elektronentransfersonden ausgelöst. Das dritte Maximum liegt bei $\lambda = 449 \text{ nm}$ und wird größtenteils durch DAP^{2+} verursacht. Im Falle der Anregung bei $\lambda = 360 \text{ nm}$ entsteht bei den DAP^{2+} -modifizierten DNA-Duplexen wieder die breite unstrukturierte Emissionsbande im Bereich von $\lambda = 475 - 600 \text{ nm}$. Diese wird der Emission aus dem Triplettzustand zugeschrieben.^[336]

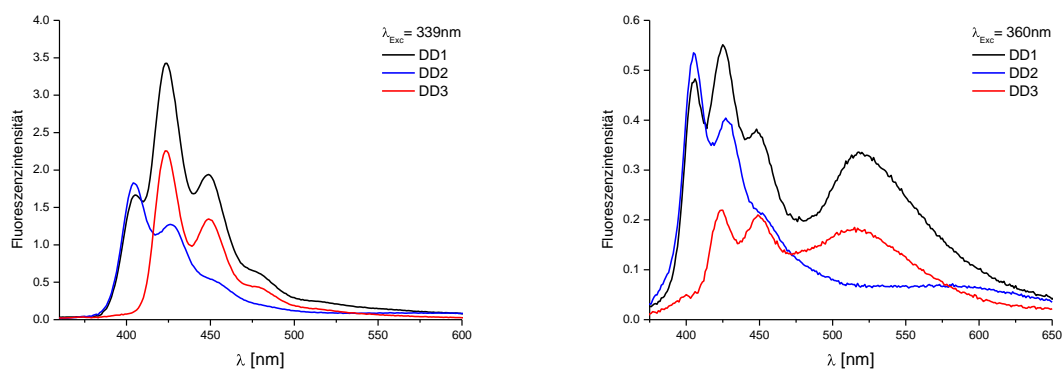


Abb. 74: Graphische Darstellung der Emissionsspektren der DNA-Duplexe **DD1- DD3**. Die Anregung erfolgte bei $\lambda = 339 \text{ nm}$ und $\lambda = 360 \text{ nm}$.

Werden *tpy*-Einheiten in den Gegenstrang eingebracht, bildet sich ein hydrophobes *tpy*-Basenpaar aus und verknüpft die Duplexe „SIDE-ON“.^[361] Die Fluoreszenzintensitäten ist bei **DD1-*tpy*1-EDTA – DD3-*tpy*1-EDTA** erniedrigt. Durch Photoanregung bei den gewählten Wellenlängen ($\lambda = 339 \text{ nm}$ und 360 nm) wird neben den Elektronentransfersonden auch immer der *tpy*-Ligand mitangeregt. Vermutlich kommt es zu einer Fluoreszenzlöschung durch die Photooxidation der natürlichen Nukleobasen durch angeregtes Terpyridin. Mithilfe der REHM-WELLER-Gleichung lässt sich das Oxidationspotential von *tpy* im angeregten Zustand ($E_{\text{Ox}}^*(\text{tpy})$) abschätzen. Verwendet man das Reduktionspotential im Grundzustand von $E_{\text{Red}}(\text{tpy}) = -1.7 \text{ V vs. Ag/AgCl}^{[383]}$ (ca. -1.5 V vs. NHE) und eine E_{00} -Energie von 3.5 eV erhält man einen Wert von $+1.8 \text{ V}$. Obwohl es sich dabei nur um einen genäherten Wert handelt, steht sicherlich fest, dass photoangeregtes Terpyridin in der Lage ist, die natürliche Basen G und auch A zu oxidieren.^[361] Bei Anregung mit $\lambda = 339 \text{ nm}$ wird in **DD1-*tpy*1-EDTA** die Emissionsbande, die von DIMAPdU hervorgerufen wird, stark gelöscht. Die Löschung der Fluoreszenz ist im Falle der Anregung bei $\lambda = 360 \text{ nm}$ deutlich ausgeprägter. Hier lässt sich ein Absinken der Fluoreszenz der kompletten Emissionsbande

beobachten. Zudem geht die Struktur der Emissionsbande der einfach modifizierten Duplexe **DD2-tpy1-EDTA** und **DD3-tpy1-EDTA** nahezu verloren.

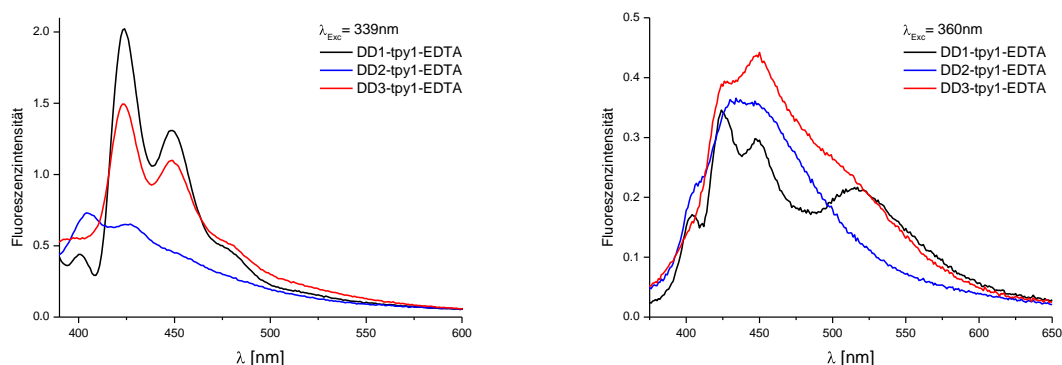
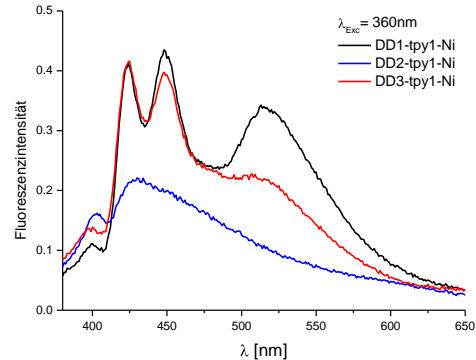
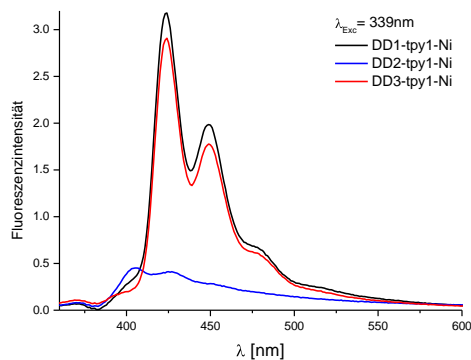
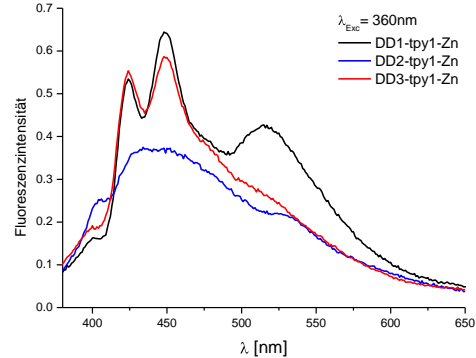
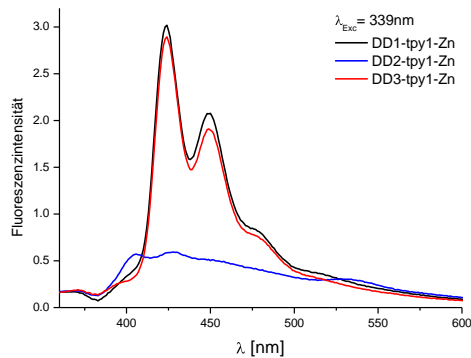
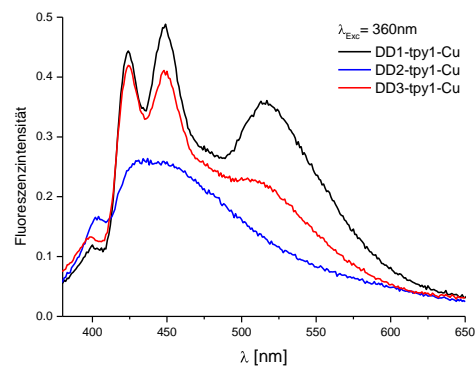
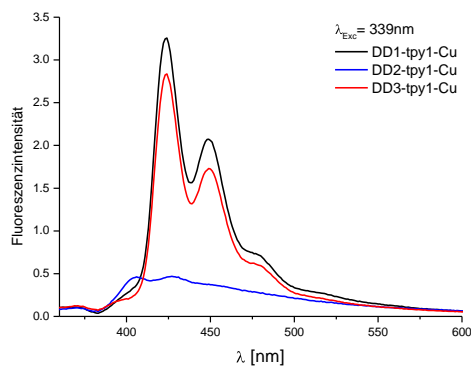


Abb. 75: Graphische Darstellung der Emissionsspektren der DNA-Duplexe **DD1-tpy1-EDTA** - **DD3-tpy1-EDTA**. Die Anregung erfolgte bei $\lambda = 339 \text{ nm}$ und $\lambda = 360 \text{ nm}$.

Durch Zugabe zweiwertiger Metallionen wird das hydrophobe tpy-Basenpaar getrennt und es bildet sich ein tpy-Metallkomplex aus. Dabei zeigen sich für alle Metallionen ($M = \text{Cu}^{2+}$, Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+}) die gleichen Tendenzen, lediglich die Fluoreszenzintensitäten unterscheiden sich geringfügig untereinander. Die Intensitäten der Emission steigen nach Metallzugabe wieder an. Werden die DNA-Duplexe bei $\lambda = 339 \text{ nm}$ angeregt, so ist die Emission der Ladungstransferduplexe **DD1-tpy1-M** ($M = \text{Cu}^{2+}$, Zn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{2+}) nahezu deckungsgleich mit den DAP^{2+} -modifizierten Duplexen **DD3-tpy1-M**. Die Struktur der Emissionsbande von **DD2-tpy1-M** geht fast komplett verloren und es bildet sich eine langgestreckte Emissionsbande im Bereich von $\lambda = 390 - 600 \text{ nm}$. Sehr ähnlich zeigt sich das Emissionsverhalten nach Anregung bei $\lambda = 360 \text{ nm}$. Die Beziehung von **DD1-tpy1-M** und **DD3-tpy1-M** ist hier analog zu der Anregung bei $\lambda = 339 \text{ nm}$. Ein Unterschied ergibt sich für die langwellige Emissionsbande des Triplett-Zustands. Ist diese bei den metallfreien DAP^{2+} -modifizierten Duplexe gleich intensiv, wird nach Metallzugabe die Fluoreszenzintensität dieser langwelligen Emissionsbande bei **DD1-tpy1-M** erhöht. Anscheinend führt eine Komplexierung zu einer erhöhten Population des Triplettzustands. Die Struktur der Emissionsbande von **DD2-tpy1-M** ist auch hier aufgelöst (vgl. Abb. 76).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch Ausbildung einer „SIDE-ON“-Verknüpfung der Duplexe die Emissionsintensität abnimmt. Vermutlich wird dies durch photoangeregtes tpy verursacht, das in der Lage sein sollte, benachbarte Guanine und Adenosine zu oxidieren. Nach Metallzugabe steigen die Fluoreszenzintensitäten wieder etwas an.

Fluoreszenzlöschung und die Strukturveränderung v.a. der DIMAPdU Emissionsbanden deuten auf Wechselwirkungen im untersuchten System hin. Welche Prozesse im Einzelnen genau erfolgen, kann durch stationäre Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie nicht aufgeklärt werden, da sich die Absorption- bzw. Emissionsbanden von DAP²⁺, DIMAPdU und tpy überlagern und somit nicht selektiv angeregt werden können. Um genauere Aussagen treffen zu können, wäre es nötig, das gezeigte System mittels transientser Absorptionsspektroskopie genauer zu untersuchen.



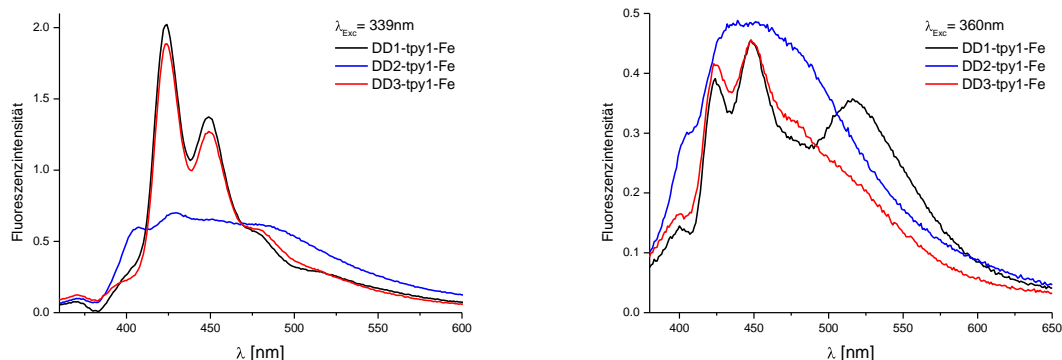


Abb. 76: Graphische Darstellung der Emissionsspektren der DNA-Duplexe *DD1-tpy1-M* - *DD3-tpy1-M*. Die Anregung erfolgte bei $\lambda = 339 \text{ nm}$ und $\lambda = 360 \text{ nm}$.

Um die Stabilität der untersuchten DNA-Duplexe abschätzen zu können, wurden Schmelztemperaturen gemessen. Es zeigte sich, dass die Ausbildung einer „SIDE-ON“-Verknüpfung zu einer Destabilisierung der Duplexe führt. Durch die Bildung eines hydrophoben tpy-Basenpaares, wird vermutlich die Basenpaarung des Ligandosids mit der Gegenbase im DNA-Duplex gestört. Interessanterweise liegen die Schmelztemperaturen der DAP²⁺-modifizierten Duplexe nochmals um 2 °C niedriger. Durch das Einbringen eines Metallions verändern sich die Schmelztemperaturen nochmals. In den DIMAPdU-modifizierten Strängen führt dies zu einer leichten Stabilisierung im Vergleich zu **DD2-tpy-EDTA**. Bei den übrigen DNA-Duplexen bleibt die Destabilisierung vergleichsweise konstant. Die Schmelztemperaturen korrelieren mit der Stabilität der gebildeten M(tpy)₂-Komplexe.^[373] Ni(II) weist dabei die höchste Stabilität auf, gefolgt von Fe(II) und Zn(II). Die Komplexierung von Cu(II) führt zur größten Destabilisierung.

Tab. XV: Tabellarische Übersicht der Schmelztemperaturen der Ladungstransferduplexe *DD1*, *DD1-tpy1-EDTA*, *DD1-tpy1-M*, sowie der Duplexe *DD2*, *DD2-tpy1-EDTA*, *DD2-tpy1-M*, *DD3*, *DD3-tpy1-EDTA* und *DD3-tpy1-M*.

Duplex	T [°C]	ΔT [°C]	Duplex	T [°C]	ΔT [°C]	Duplex	T [°C]	ΔT [°C]
DD1	65.5		DD2	64.7		DD3	68.2	
DD1-tpy1-EDTA	62.8	-2.7	DD2-tpy1-EDTA	62.1	-2.6	DD3-tpy1-EDTA	63.6	-4.6
DD1-tpy1-Cu	62.1	-3.4	DD2-tpy1-Cu	62.9	-1.8	DD3-tpy1-Cu	63.4	-4.8
DD1-tpy1-Zn	62.4	-3.1	DD2-tpy1-Zn	63.5	-1.2	DD3-tpy1-Zn	64.1	-4.1
DD1-tpy1-Ni	64.5	-1.0	DD2-tpy1-Ni	64.7	± 0	DD3-tpy1-Ni	64.5	-3.7
DD1-tpy1-Fe	63.5	-2.0	DD2-tpy1-Fe	63.3	-1.4	DD3-tpy1-Fe	64.3	-3.9

5.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Aufbauend auf den Ergebnissen von THOMAS EHRENSCHWENDER sollte in ersten Versuchen gezeigt werden, dass ein Interstrang-Ladungstransfer über Metall-Komplexe möglich ist. Dazu wurden DNA-Duplexe synthetisiert, die mit den bereits untersuchten Donor-Akzeptor-System DAP²⁺-DIMAPdU modifiziert waren. Im Gegenstrang befand sich ein kovalent eingebrachtes Terpyridin. Durch Ausbildung eines M(tpy₂)-Komplexes werden die beiden Ladungstransferduplexe miteinander verknüpft. In den Fluoreszenzspektren zeigte sich, dass dadurch die Emissionsintensität stark gelöscht wird. Durch Zugabe von zweiwertigen Metallionen (M = Cu²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Fe²⁺) wurden M(tpy)₂-Komplexe realisiert, die gleiches Emissionsverhalten untereinander zeigten. Die Fluoreszenzintensität nimmt durch die Metallkomplexierung allerdings wieder zu. Dadurch, dass die Absorptionsbanden der verwendeten Ladungstransfersonden mit der von tpy überlagern, ist keine selektive Anregung möglich. Daraus folgt, dass Ladungstransferprozesse im untersuchten System nur vermutet werden können, aber mit den durchgeführten stationären Messmethoden nicht näher untersucht werden konnten. Für eine Aufklärung der genauen Prozesse sind weitere Arbeiten mit anderen Methoden, wie transientser Absorptionsspektroskopie, nötig.

Die Ausbildung eines tpy₂-Komplexes, führt zu einer Destabilisierung der DNA-Struktur. Durch eine Metallinsertion verändern sich die Schmelztemperaturen nur unwesentlich, dabei folgen die metallierten Metall-DNA-Konjugate der Stabilität der gebildeten M(tpy)₂-Komplexe.

Für den Einsatz in DNA-basierten elektronischen Bauelementen wäre es vorteilhaft, Ladungen effizient von Duplex zu Duplex zu transportieren. Das gezeigte System weist interessante Tendenzen auf, dass solche Ladungstransferprozesse tatsächlich erfolgen, allerdings müssen in weiteren Experimenten mittels transientser Absorptionsspektroskopie diese noch zweifelsfrei nachgewiesen werden.

6. Metall-DNA-Konjugate mit tetrakationischen Porphyrinen

6.1 Synthese eines neuen maleimidmodifizierten Uridins

Für Anwendungen von Oligonukleotiden in der Nanotechnologie bedarf es kovalent angebrachter Modifikationen. Die gängigsten Methoden dazu wurden bereits in Kap. 3.1 vorgestellt. Dabei bietet die Modifikation der 2'-Position der Nucleoside eine interessante Möglichkeit, funktionelle Gruppen einzuführen. Ein Anwendungsgebiet für 2'-modifizierte Nucleoside stellt die Antisense-Technologie dar, da solche Modifikationen einerseits die Stabilität gegen Endonucleasen deutlich erhöhen können, andererseits eine WATSON-CRICK-Basenpaarung nicht behindern.^[384, 385] Nucleoside, die an der 2'-Position eine Furaneinheit tragen, wurden von der Arbeitsgruppe MADDER verwendet, um zwei DNA-Stränge kovalent zu verknüpfen. Durch Oxidation des Furans entsteht in einer Folgereaktion ein sog. INTER-STRAND-CROSSLINK. Diese induzierten Transkriptionshemmer wurden verwendet, um die Reparaturmechanismen solcher DNA-Läsionen zu untersuchen.^[386-388] Darüber hinaus bietet eine Furaneinheit in der DNA die Möglichkeit, postsynthetisch über eine DIELS-ALDER-Cycloaddition (DACA) Sonden einzuführen. Vorteile dieser Reaktion sind neben der kommerziellen Verfügbarkeit zahlreicher maleimidfunktionalisierter Chromophore für die Biokonjugation, die sehr milden Bedingungen unter denen die Reaktion erfolgt und die Bioorthogonalität zu anderen Reaktionen. Ein weiterer Vorteil im Vergleich zu der im Arbeitskreis WAGENKNECHT etablierten [3+2]-Cycloaddition ist, dass die DACA ohne Zusatz eines Kupferkatalysators erfolgt und somit auch die Anwendung in Zellen möglich wäre. In Analogie zu einer Literaturvorschrift wurde deswegen ein modifiziertes Uridin für die Festphasensynthese dargestellt, welches an der 2'-Position eine Furaneinheit trägt.^[386] Damit lassen sich Oligonucleotide intern postsynthetisch modifizieren, wobei zusätzlich die DNA-Basenpaarung erhalten bleibt.

Zunächst wurde die Furaneinheit ausgehend von Furan in vier Stufen synthetisiert. Als erstes wurde mit Dibrompropan 2-(3-Bromopropyl)furan (**8**) dargestellt (**a**).^[389] In zwei weiteren Schritten wurde über das intermediäre Nitril (**9**), durch Hydrolyse im Basischen, die Carbonsäure (**10**) dargestellt (**b, c**).^[390] Mittels Pentafluorphenol wurde diese dann in einen Aktivester (**11**) umgesetzt, welcher anschließend in einer STAUDINGER-Ligation mit 2'-Azido-2'-desoxyuridin zu **14** reagierte (**g**). Das Nucleosid wurde zuvor in zwei Schritten aus

Uridin dargestellt (e, f). Die 5'-OH-Gruppe wurde für die Festphasensynthese mit einer DMTr-Schutzgruppe versehen (h), bevor **15** in das Phosphoramidit überführt wurde (i).

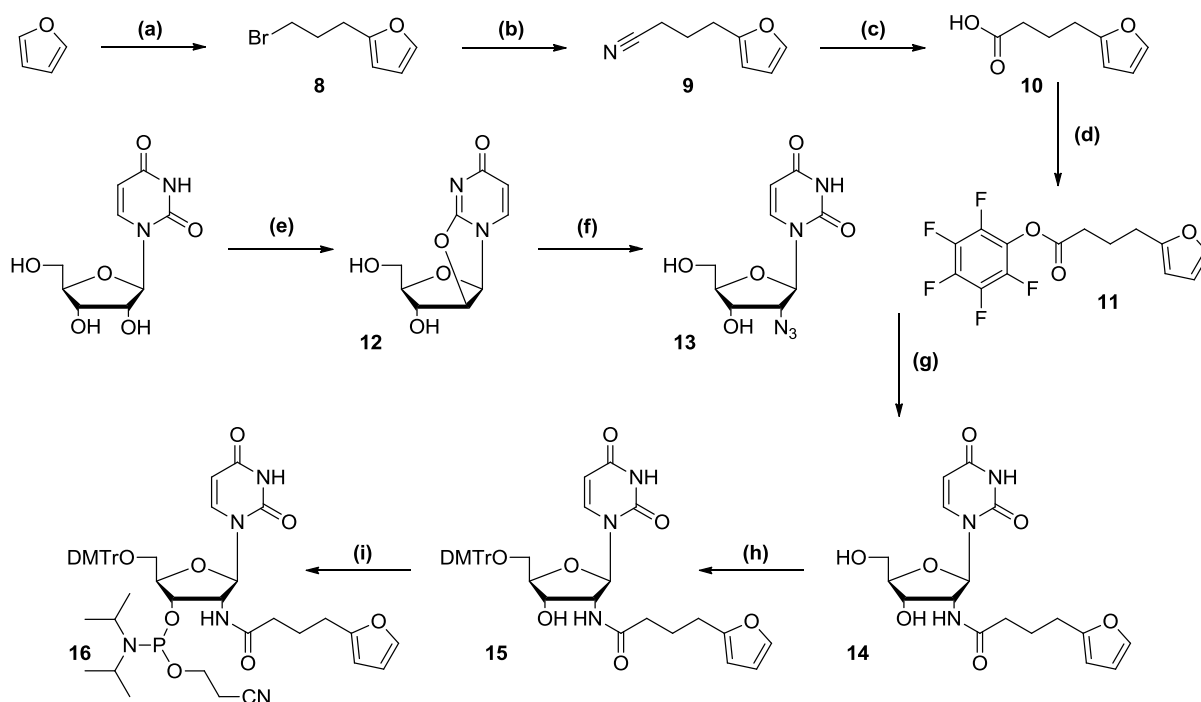


Abb. 77: Syntheschema für die Darstellung des 2'-furanmodifizierten Uridins für die Festphasensynthese **16**: (a) *n*-BuLi, Dibrompropan in THF, -20 °C (4 h), RT, 18 h, 95%; (b) KCN in DMSO, 70 °C, 18 h, 82%; (c) KOH in EtOH/H₂O, 90 °C, 24 h, 90%; (d) PFP, EDC, TEA in THF, RT, 18 h, 73%; (e) DPC, NaHCO₃ in DMF, 115 °C, 4 h, 87%; (f) LiF, TMEDA, Azido(trimethyl)silan in DMF, 105 °C, 64 h, 84%; (g) PPh₃ in Pyridin, 40 °C, 18 h, 64%; (h) DMTr-Cl in Pyridin, RT, 24 h, 61%; (i) DIPEA, 2-Cyanoethyl-diisopropyl-chlorophosphoramidit in abs. DCM, RT, 3 h, 77%.

Mittels der gezeigten Synthese ließ sich ein neues 2'-furanmodifiziertes Uridin darstellen, das die Bandbreite der Nukleoside für die postsynthetische Biokonjugation erweitert. Dabei konnte die Furaneinheit mit einer Ausbeute von 51% in vier Schritten aus Furan synthetisiert werden. Ausgehend von Uridin wurde **13** mit einer Ausbeute von 73% dargestellt. Der Baustein für die Festphasensynthese konnte in neun Stufen mit einer Gesamtausbeute von 11% erhalten werden.

Die Reaktivität in DNA wurde in einem Experiment mit *N*-Ethylmaleimid als Dienophil untersucht. Das entstandene Cycloadditionsprodukt wurde mittels MALDI-MS und HPLC analysiert. Dabei zeigte sich, dass unter literaturbekannten Reaktionsbedingungen keine Reaktion erfolgte.^[28, 391] Erst durch Erhöhung der Temperatur von 40°C auf 55°C und verlängerten Reaktionszeiten konnte die erfolgreiche Konjugation nachgewiesen werden. Ein Grund hierfür liegt vermutlich in der Lage der Modifikation. Während in der Literatur Oligonukleotide nur endständig mit Furaneinheiten für die Biokonjugation modifiziert

wurden, wurden hier Oligonukleotide intern modifiziert. Dadurch ist die reaktive Gruppe an der 2'-Position sehr stark durch die DNA elektronisch als auch sterisch abgeschirmt, und somit erfolgt die Reaktion verlangsamt. Dieses Problem konnte durch Temperaturerhöhung und Verlängerung der Reaktionszeiten erfolgreich gelöst werden.

6.2 Darstellung tetrakationischer Porphyrine für die Postsynthese

Tetrakationische wasserlösliche Porphyrine zählen zu den bestuntersuchten DNA-Bindern. Dies liegt an den interessanten Eigenschaften und Anwendungsgebiete der Porphyrine (s. Kap. 3.3.1.1). Tetrakationische Porphyrine werden häufig als spektroskopische Sensoren für DNA-Konformationsstudien^[312, 392-395] oder als potente organische Nukleasen^[396-398] eingesetzt. Bei den bisherigen Studien wurden tetrakationische Porphyrine immer als nicht-kovalente Sonden verwendet. Nur in einer Studie zur Beziehung von Struktur und Nukleaseaktivität von kationischen Metalloporphyrinen wurden kationische Porphyrine postsynthetisch an das 5'-Ende eines Oligonukleotids angeknüpft.^[328] Für Anwendungen in DNA-basierten elektronischen Bauteilen wäre es wünschenswert, mehrere Porphyrine an definierten Stellen in die DNA einzubringen. Um verschiedene Porphyrine in DNA einzubringen, wurden zwei tetrakationische Porphyrine entwickelt, die sich postsynthetisch an DNA anknüpfen lassen. Zum einen ein maleimidmodifiziertes Porphyrin (MI-P, **23**), welches in einer [4+2]-Cycloaddition mit dem gezeigten 2'-furanmodifizierten Uridin (fU) reagiert. Zum anderen ein azidmodifiziertes Porphyrin (N₃-P, **25**), welches mittels einer kupferkatalysierten Azid-Alkin-Kupplung in DNA eingebracht wird.

Die Synthese des maleimidmodifizierten Porphyrins **23** startete mit der Darstellung des alkylierten Maleimids **20**.^[399, 400] Zunächst wurde 3-Amino-1-propanol mit Exo-3,6-epoxy-1,2,3,6-tetrahydrophthalanhydrid umgesetzt (**a**). Die OH-Gruppe wurde im nächsten Schritt mit einer Tosylat-Schutzgruppe versehen (**b**). In einer Retro-DIELS-ALDER-Reaktion wurde Furan abgespalten (**c**) wobei sich das geschützte Maleimid **19** bildete, welches in einer nukleophilen Substitution (**d**) mit LiI zu 1-(3-Iodopropyl)-1*H*-pyrrol-2,5-dion (**20**) umgesetzt wurde.

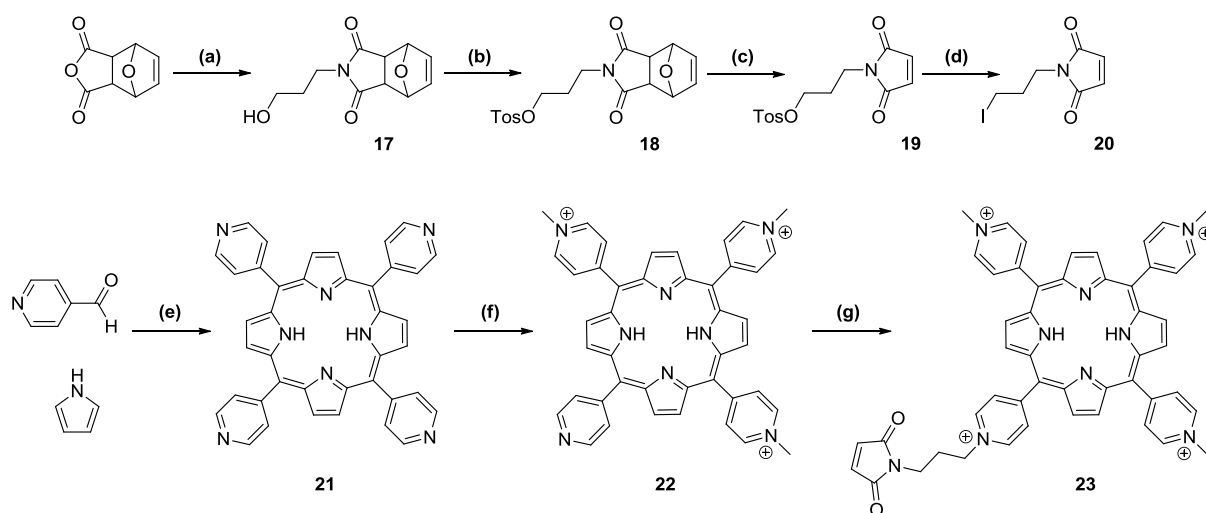


Abb. 78: Schematische Darstellung der Synthese des maleimidmodifizierten tetrakationischen Porphyrins **23**: (a) 3-Amino-1-propanol in MeOH, 60 °C, 3 d, 47 %; (b) *p*-TosCl, Pyridin in CHCl₃, RT, 18 h, 71 %; (c) in Toluol, 120 °C, 12 h, 92 %; (d) LiI in Aceton, 70 °C, 18 h, 90 %; (e) Salicylsäure in Xylol, 150 °C, 3 h, 9 %; (f) MeI in DMF, 160 °C, 30 min, -; (g) **20** in MeCN, 90 °C, 6 d, 94 %.

In einer Kondensationsreaktion wurde 5,10,15,20-Tetra(4-pyridyl)porphyrin (**21**) aus Pyrrol und Pyridin-4-carbaldehyd erhalten. In einer stufenweisen Reaktion wurde **21** dreifach methyliert (f). Abschließend wurde das maleimidmodifizierte Porphyrin **23** mit **20** umgesetzt.

Die Darstellung des azidmodifizierten Porphyrins **25** erfolgte ausgehend von **22**. Zuerst wurde mittels Diiodpropan ein Iodpropylrest eingeführt (a), welcher durch eine Substitutionsreaktion (b) in das Azid überführt wurde.

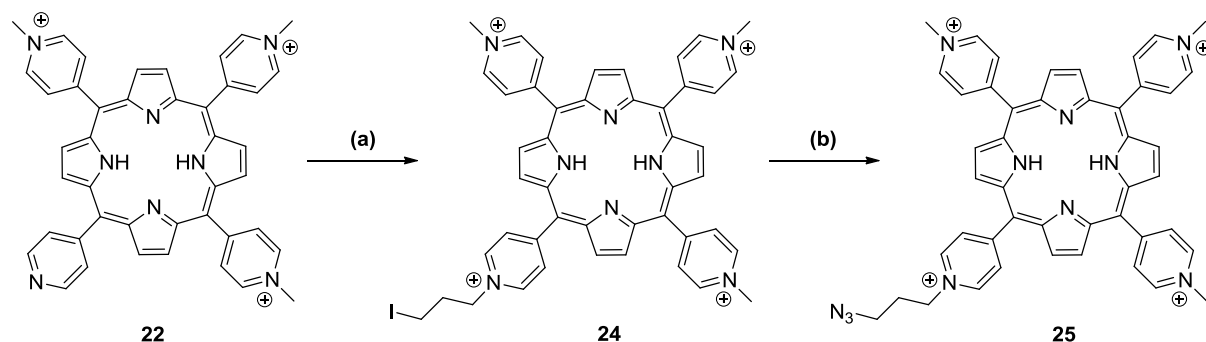


Abb. 79: Reaktionsschema zur Synthese des klickbaren Porphyrins **25**: (a) Diiodpropan in DME, 120 °C, 8 h, 68 %; (b) NaN₃ in MeCN, 90 °C, 7 h, 89 %.

Porphyrine haben die optimale Größe, um viele Metallatome des Periodensystems zu komplexieren. Für die CuAAC ist es nötig, das gewünschte Metallatom bereits vor der

Postmodifikation einzubringen, da sonst Kupfer, welches als Katalysator dient, während der Klick-Reaktion insertiert. Für die Synthese von Gold(III)-modifizierter Porphyrin-DNA wurde **25** zunächst mit KAuCl_4 umgesetzt. Um die katalytische Aktivität aufrechtzuerhalten, wurde für die Darstellung von kupferhaltigen Porphyrin-DNA-Konjugaten die Menge an Kupfersalz erhöht. Bei der DACA ist es möglich, Zentralatome vor oder nach der Postmodifikation einzuführen.

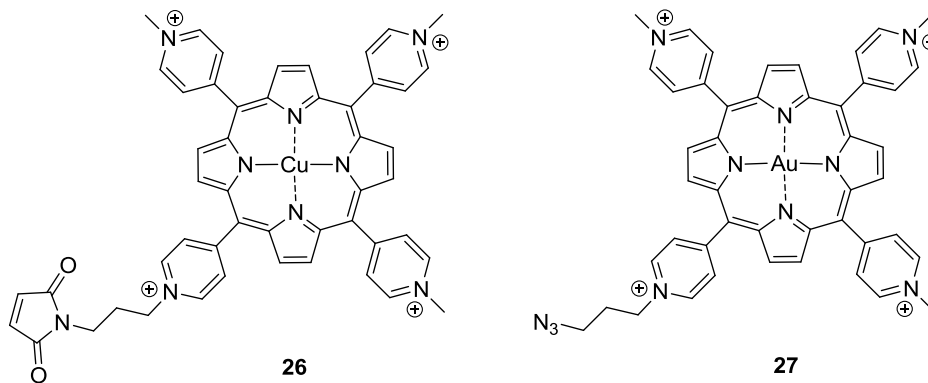


Abb. 80: Graphische Darstellung der beiden metallierten Porphyrinderivate.

6.3 Charakterisierung tetrakationischer Porphyrine in DNA

Tetrakationische Porphyrine wurden intern an DNA angeknüpft. Dies wurde auf folgende zwei Arten realisiert. Zum einen war dies mittels DACA und zum anderen mittels CuAAC möglich. Um Auswirkungen und Effekte beider Methoden besser miteinander vergleichen zu können, wurden die gleichen DNA-Sequenzen synthetisiert. Für die Charakterisierung von porphyrinmodifizierter DNA wurden folgende Oligonukleotide verwendet:

M-fP-DNA1 5'—G—C—A—G—T—C—T—T—fP—T—T—C—A—C—T—G—A—3'

M-kP-DNA1 5'—G—C—A—G—T—C—T—T—kP—T—T—C—A—C—T—G—A—3'

M = Au^{III}, Cu^I

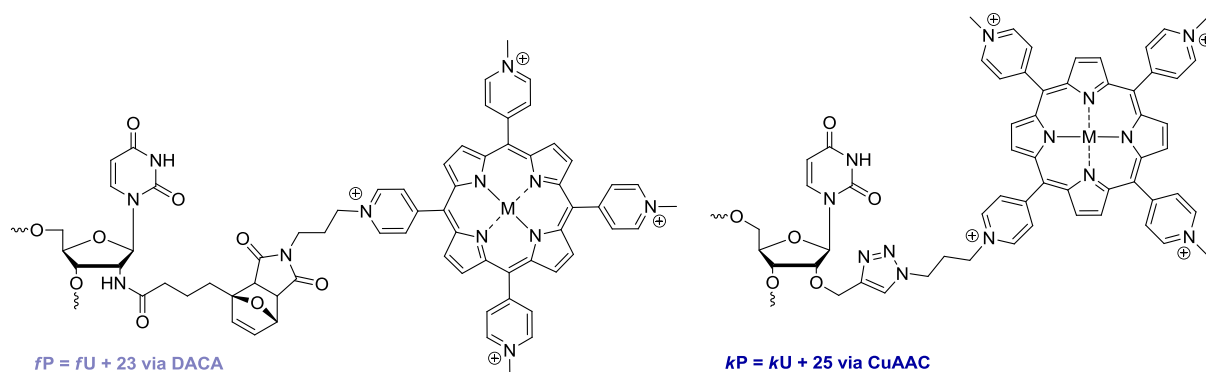


Abb. 81: Graphische Darstellung der synthetisierten porphyrinmodifizierten Oligonukleotide *M-fP-DNA1* und *M-kP-DNA1* sowie der Postmodifikationen *fP* und *kP*.

Die Interaktionen von vierfach methylierten Pyridylporphyrinen (TMTPyP) mit DNA wurden in zahlreichen Studien bereits erforscht.^[312, 395, 401, 402] Mittels Titrationsexperimenten wurde das spektroskopische Verhalten nicht-kovalenter metallierter TMTPyP mit DNA vorab untersucht. Dabei wurde entweder unmodifizierte DNA zu einer konstanten Menge TMTPyP in 0.2 Äquivalentschritten oder umgekehrt gegeben. Für die Titrationsexperimente wurde folgender unmodifizierte DNA-Duplex verwendet:

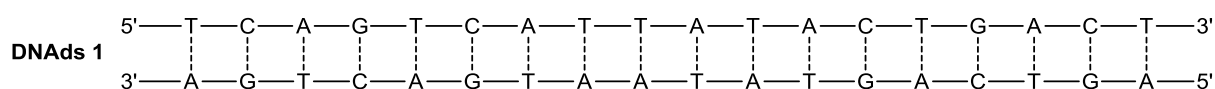


Abb. 82: Graphische Darstellung des unmodifizierten DNA-Duplexes *DNAds 1* für die Titrationsexperimente mit TMTPyP.

Zuerst wurde AuTMTPyP und CuTMTPyP schrittweise zum Duplex gegeben. Dabei konnten jeweils drei Maxima beobachtet werden. Bei $\lambda = 260$ nm befindet sich die Absorptionsbande der Nucleobasen. Die anderen beiden stammen von der jeweiligen Porphyrinspezies. Die sehr ausgeprägte Bande im Bereich von $\lambda = 400 - 450$ nm bezeichnet man als SORET- oder B-Bande. Das Maximum befindet sich für AuTMTPyP bei $\lambda = 408$ nm und für CuTMTPyP bei $\lambda = 430$ nm. Das Maximum der schwächeren Bande, auch als Q-Bande bezeichnet, findet sich bei AuTMTPyP bei $\lambda = 524$ nm und im Falle des CuTMTPyPs bei $\lambda = 550$ nm.

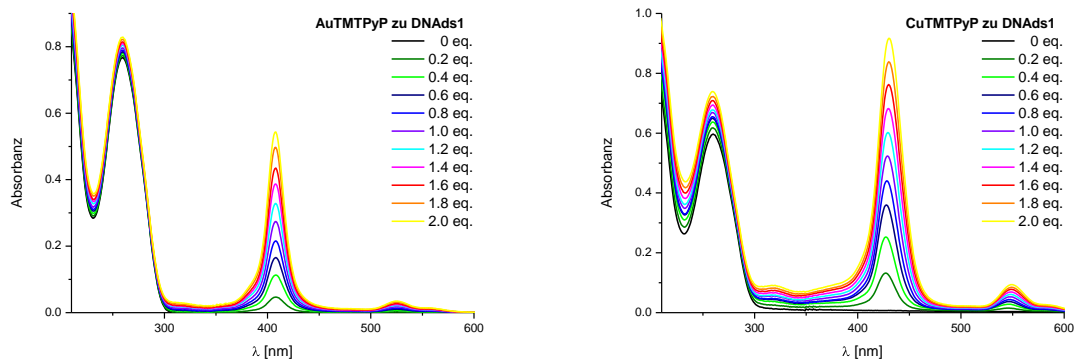


Abb. 83: Graphische Darstellung der Titrationsspektren von AuTMTPyP und CuTMTPyP zu DNAds1. Es wurden 2.5 nmol an DNA vorgelegt.

Bei der schrittweisen Zugabe von DNAds1 zu den Porphyrinspezies zeigt sich ein Unterschied (vgl. Abb. 84). Logischerweise steigt bei beiden Experimenten die Intensität der Absorptionsbande bei $\lambda = 260$ nm. Im Bereich der Soret-Bande unterscheiden sich die beiden Ansätze. Im Falle von AuTMTPyP nimmt die Intensität der Soret-Bande bis zu einer Zugabe von einem Äquivalent an Porphyrin schrittweise ab. Zudem erfolgt eine bathochrome Verschiebung um 3 nm. Eine weitere Zugabe von DNAds1 hat keine Auswirkung auf die Soret-Bande. Im Fall von CuTMTPyP ist die maximale Hypochromizität und Rotverschiebung (4 nm) bereits nach der Zugabe von 0.2 Äquivalenten erreicht. Bei weiterer Zugabe bis ein Äquivalent steigt die Intensität der Soret-Bande wieder an und übersteigt sogar den Ausgangswert. Ebenso verschiebt sich das Maximum hypsochrom um 2 nm. In beiden Fällen wird nach einem Äquivalent DNAds1 die maximale Interaktion erreicht. Somit lässt sich annehmen, dass sich pro DNA-Duplex nur ein Porphyrin einlagert. Dies deckt sich mit den Beobachtungen von PASTERNAK.^[403] In der Literatur werden Interkalatoren eindeutig durch eine starke Hypochromizität und eine Rotverschiebung von ungefähr 20 nm definiert. ^[402, 404-406] Dies lässt sich hier nur bedingt beobachten. Der Grund liegt in der verwendeten DNA-Sequenz. Die literaturbekannten Experimente wurden mit GC-reichen Sequenzen durchgeführt, während hier ein AT-reiches Oligonukleotid verwendet wurde. Dies führt zu schwächer ausgeprägten π,π -Wechselwirkungen des Interkalators mit den Nucleobasen und somit zu geringeren Ausprägungen von Hypochromizität und Rotverschiebung.

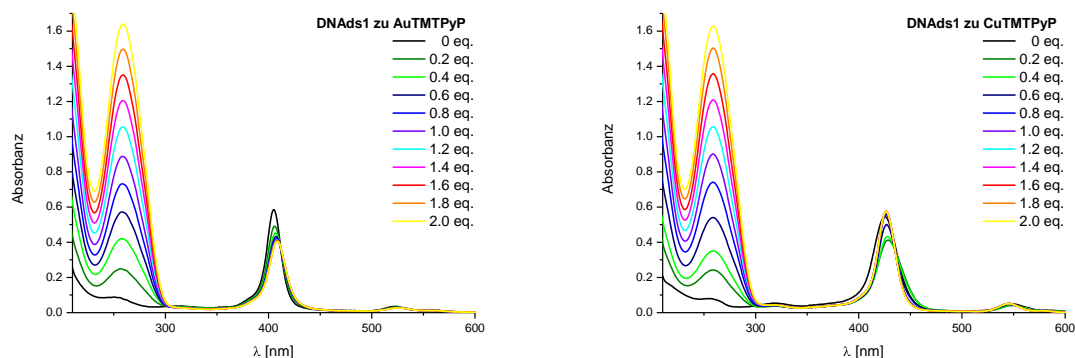


Abb. 84: Darstellung der Absorptionsspektren für die durchgeführten Titrations von DNAds1 zu den Porphyrinspezies. Die Konzentration der vorgelegten TTPyP betrug 2.5 μ M.

Für die optische Charakterisierung wurden zunächst Absorptionsspektren der beiden Monomere **23** und **25** aufgenommen. Diese zeigen eine deckungsgleiche Absorption. Die Soret-Bande hat ihr Maximum bei $\lambda = 422$ nm und die Q-Bande bei $\lambda = 519$ nm. Beim kovalenten Einbau von *fP* befindet sich die Soret-Bande bei $\lambda = 437$ nm und die dazugehörige Q-Bande bei $\lambda = 526$ nm. Somit hat kovalentes Anknüpfen der Modifikation eine bathochrome Verschiebung von 15 nm zur Folge (vgl. Tab. XVI).

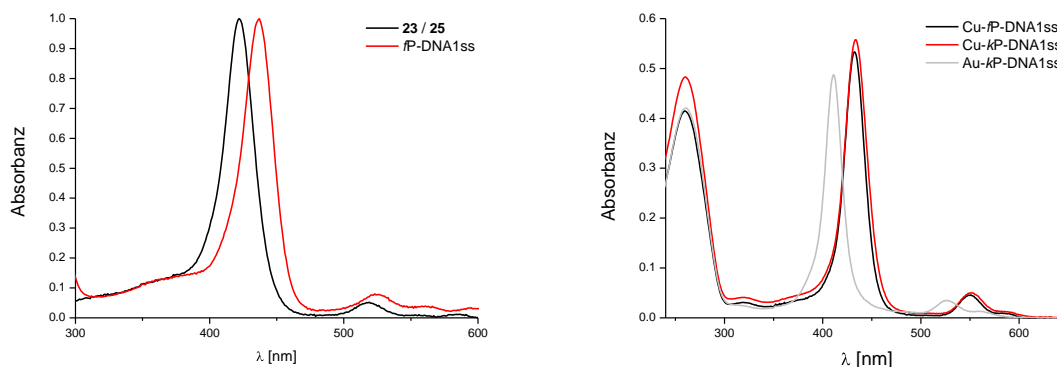


Abb. 85: Graphische Darstellung der normierten Absorptionsspektren der Monomere **23** bzw. **25** und *fP*-DNA1ss (links). Die Absorptionsspektren der kovalent modifizierten Einzelstränge Cu-*fP*-DNA1ss, Cu-*kP*-DNA1ss und Au-*kP*-DNA1ss (rechts).

Die Einzelstränge der kupfermodifizierten Porphyrin-DNA-Konjugate zeigen nahezu identische Absorptionsspektren. Durch Insertion von Cu(II) verschiebt sich die Soret-Bande hypsochrom um 3 bzw. 5 nm. Bei der Q-Bande wird eine deutliche Rotverschiebung um 25 nm sichtbar. Der interessantere Fall ist die Insertion von Gold(III). Hier verschiebt sich die

SORET-Bande deutlich um 26 nm auf $\lambda = 411$ nm, während die Q-Bande nicht verschoben wird. Diese starke Blauverschiebung ist ein deutliches Indiz für die ausgeprägten Wechselwirkungen zwischen den π -Elektronen des Porphyrin-Ringsystems und der Elektronen des Zentralatoms und eventuell vorhandener axialer Liganden.^[407] Diese starke Interaktion führt zu einer ungewöhnlichen axialen Ligandenbindung sowie redox- und photochemischen Eigenschaften der Gold(III)-Porphyrine.^[403] In pH-Studien konnte gezeigt werden, dass sich weder Wasser noch Hydroxid als axialer Ligand an das Zentralatom anlagert. Dies würde zu einer Verschiebung der SORET-Bande führen, wie es für andere M(III)-TMTPyP (M= Fe, Co) gezeigt werden konnte. Durch Zugabe von Chlorid konnte die SORET-Bande zwar leicht verschoben werden, dies beruht aber nicht auf einer axialen Ligandenbindung, sondern auf der Zunahme der Ionenstärke. Gold(III) gilt als weiche LEWIS-Säure. Das stark ungesättigte Porphyrin verstärkt den „weichen“ Charakter des Zentralatoms nochmals.^[408, 409] Gemäß dem HSAB-Prinzip binden Liganden, die nur harte Donoren bereitstellen, nicht effektiv an Gold(III) im Porphyrin. Die Koordinationszahl von Gold(III) kann zwar vier übersteigen, allerdings nur wenn weiche Donoren vorhanden sind. Chlorid, Phosphat und Hydroxid, welche unter den verwendeten Experimentbedingungen vorhanden sind, stellen harte Donoren dar. Somit sind keine „weichen“ Donoren vorhanden. Dies ist entscheidend, denn ein axialer Ligand würde einen größeren räumlichen Anspruch haben und somit eine Interkalation des Gold(III)-Porphyrins verhindern.

Tab. XVI: Tabellarische Übersicht der Wellenlängen für SORET- und Q- Bande der beiden Monomere **23** und **25**, sowie der untersuchten Einzelsträngen.

Spezies	SORET-Bande	Q-Bande
	[nm]	[nm]
23 / 25	422	519
<i>fP</i> -DNA1ss	437	526
Au- <i>kP</i> -DNA1ss	411	527
Cu- <i>fP</i> -DNA1ss	432	551
Cu- <i>kP</i> -DNA1ss	434	551

Um zu untersuchen, ob die korrekte Basenpaarung aufrechterhalten wird, wurden **M-*kP*-DNA1** bzw. **M-*fP*-DNA1** mit komplementären Oligonukleotiden hybridisiert, die verschiedene Basen gegenüber der Modifikation trugen. Den größten und eindeutigsten Effekt kann man bei **Cu-*kP*-DNA1** beobachten. Die korrekte Gegenbase weist neben der stärksten Hypochromizität auch die größte Rotverschiebung auf. Da tetrakationische

Porphyrine bevorzugt in GC-reiche DNA interkalieren,^[312] erhält man bei den nicht komplementären Gegenbasen C und G trotzdem Indizien für eine erfolgte Interkalation. Somit lassen sich auch die Hypochromizität und die Rotverschiebung von **Cu-kP-DNA1-C** und **Cu-kP-DNA1-G** erklären.

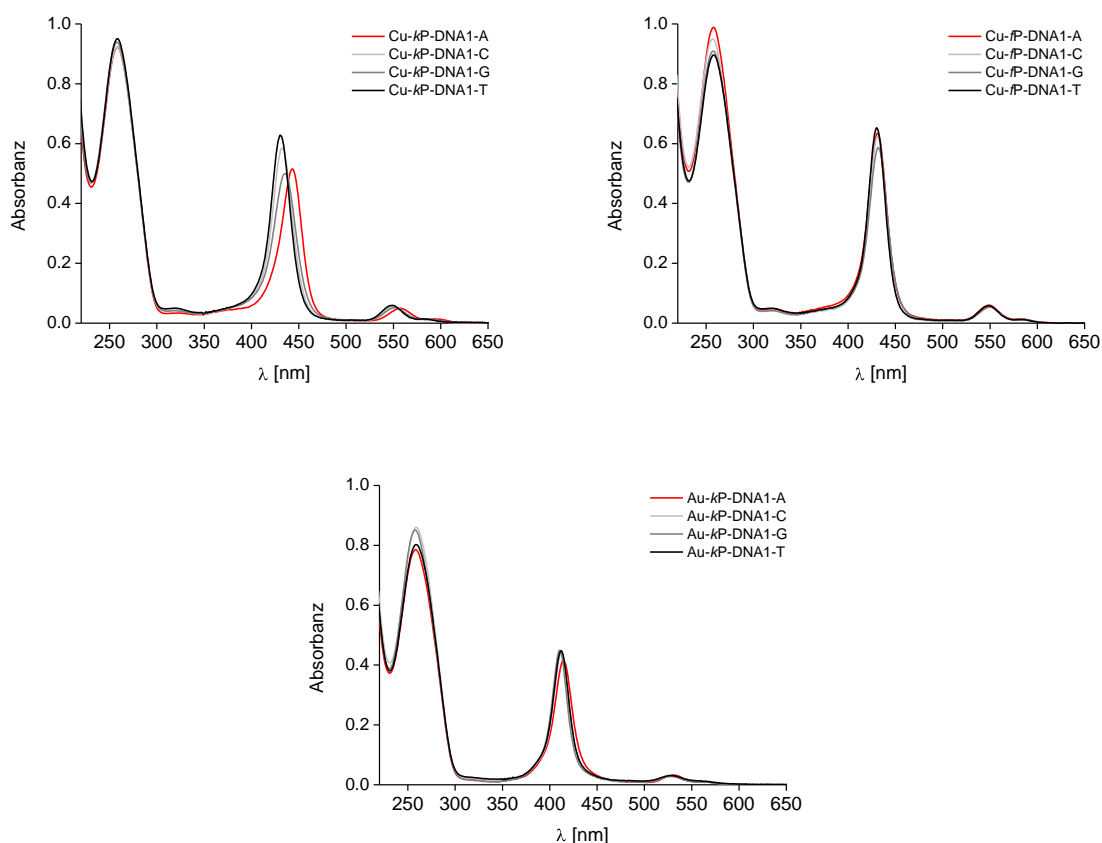


Abb. 86: Darstellung der Absorptionsspektren von **Cu-kP-DNA1**, **Cu-fP-DNA1** und **Au-kP-DNA1** mit unterschiedlichen Gegenbasen zur Modifikation.

Obwohl das Einbringen von Kupfer die Struktur des Porphyrins ebnet und somit eine Interkalation erleichtert,^[410] lassen sich keine Anzeichen für eine Interkalation bei **Cu-fP-DNA1** finden. Es gibt keine sichtbare Diskriminierung bei der korrekten Gegenbase. Betrachtet man Hypochromizität und Rotverschiebung, scheint die eigentlich korrekte Gegenbase A schlechter zu passen als G und C. Bei **Au-kP-DNA1** zeigt sich, dass A die Gegenbase mit der eindeutigen Tendenz zur Interkalation ist. Zwar sind die beiden Bestimmungskriterien hier schwächer ausgeprägt, doch deutlich sichtbar. Der Grund für die schwache Rotverschiebung und die geringe Hypochromizität liegt vermutlich in der nicht ganz planaren Anordnung des Gold(III)porphyrins. Dadurch ist die räumliche Struktur

leicht aufgeweitet und die Modifikation braucht mehr Platz für die Interkalation, was die DNA-Struktur stört.

Tab. XVII: Tabellarische Darstellung der Wellenlängen für Soret- und Q- Bande, sowie den Schmelztemperaturen von *Cu-kP-DNA1*, *Cu-fP-DNA1* und *Au-kP-DNA1*.

Duplex	Soret-Bande [nm]	Q-Bande [nm]	T _m [°C]
Cu-kP-DNA1-A	443	558	62.1
Cu-kP-DNA1-C	432	552	58.4
Cu-kP-DNA1-G	436	552	54.1
Cu-kP-DNA1-T	430	549	59.1
Cu-fP-DNA1-A	431	548	57.1
Cu-fP-DNA1-C	431	548	56.9
Cu-fP-DNA1-G	432	549	54.4
Cu-fP-DNA1-T	430	549	59.1
Au-kP-DNA1-A	414	431	58.6
Au-kP-DNA1-C	412	528	55.1
Au-kP-DNA1-G	410	528	54.8
Au-kP-DNA1-T	412	528	54.7

Um zu testen, wie sich die eingebrachten Modifikationen auf die Stabilität der DNA-Duplexe auswirken, wurden Schmelztemperaturen aufgenommen (vgl. Tab. XVII). Wie vermutet, bewirkt die korrekte Gegenbase die höchsten Schmelztemperaturen. Für die **M-kP-DNA1**-Duplexe zeigt sich eine deutliche Destabilisierung mit den nicht komplementären Gegenbasen. Zudem liegen die Schmelztemperaturen für **Cu-kP-DNA1** etwas höher als für die entsprechenden Gold-Porphyrin-DNA-Addukte. Dies ist ein weiteres Indiz, dass die Interkalation **Cu-kP-DNA1** am besten erfolgt, da sich hier die aufgrund der besseren π,π -Wechselwirkungen des Porphyrinmakrozyklus mit den Nukleobasen die stabilsten Duplexe bilden. Ein anderer Trend ergibt sich für **Cu-fP-DNA1**, wo wiederum keine Diskriminierung erhalten werden kann. Hier weist **Cu-fP-DNA1-T** sogar die höchste Schmelztemperatur auf. Der bei der DACA entstandenen Trizyklus hindert neben der korrekten Basenpaarung auch die Interkalation des tetrakationischen Porphyrins stark. In Tab. XVII sind die Wellenlängen

der SORET- und Q-Bande sowie die Schmelztemperaturen von **Cu-kP-DNA1**, **Au-kP-DNA1** und **Cu-fP-DNA1** gezeigt.

Um eindeutig den Bindungsmodus der Porphyrine in DNA nachzuweisen, wurden CD-Spektren aufgenommen. Die Intensität und das Vorzeichen des CD-Signals hängen von einigen Faktoren, wie räumliche Nähe, der Größe und der relativen Orientierung der Chromophore zu den Nucleobasen ab. Da die Orientierung des Übergangsdipolmoments der Porphyrine weder durch Metallinsertion noch angebrachte Substituenten stark beeinflusst wird, lassen sich generelle Voraussagen bezüglich des Bindungsverhaltens treffen.^[312, 411] Dabei gibt es prinzipiell drei Möglichkeiten für die SORET-Bande: Ein negatives Signal wird durch Interkalatoren hervorgerufen. Ein positives Signal entsteht, wenn sich Chromophore am DNA-Rückgrat anlagern. Binden Porphyrine am Rückgrat und stapeln zusätzlich mit sich selbst, erhält man ein bisignates Signal,^[393, 412, 413] denn dabei treten elektronische Kopplungen durch den Raum von zwei oder mehreren Chromophoren in chiralen Substraten auf.^[394]

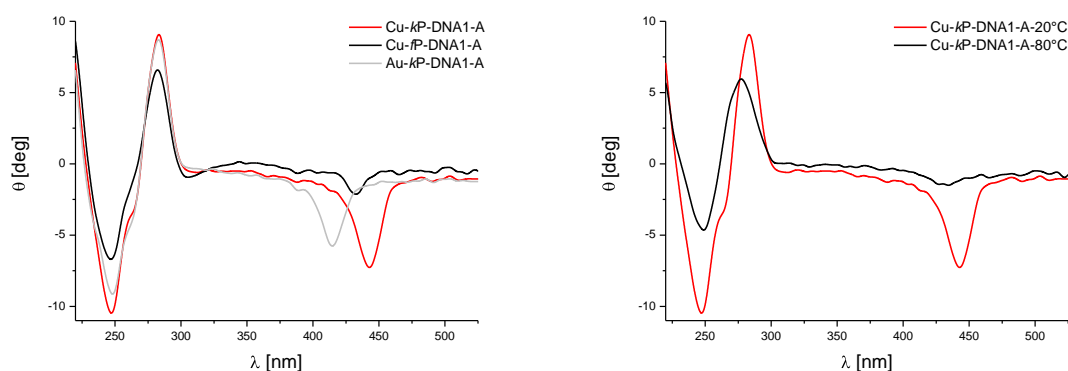


Abb. 87: CD-Spektren der porphyrinmodifizierte Duplexe **Cu-kP-DNA1-A**, **Cu-fP-DNA1-A** und **Au-kP-DNA1-A** und Darstellung von **Cu-kP-DNA1** bei verschiedenen Temperaturen.

In den erhaltenen CD-Spektren sieht man für alle untersuchten Systeme ein bisignates CD-Signal im Bereich von $\lambda = 230 - 300$ nm. Dieses wird bei $\lambda \approx 250$ nm durch die Helikalität der DNA und bei $\lambda \approx 280$ nm durch die Nucleobasen hervorgerufen. Dies ist charakteristisch für die rechtsgängige B-Form der DNA.^[414] Das interessante Signal ist das der SORET-Bande im Bereich von $\lambda = 380 - 470$ nm. Alle drei Signale sind negativ, aber es gibt einen deutlichen Unterschied in der Intensität. Daraus folgt, dass alle drei Porphyrinmodifikationen in den DNA-Basenstapel interkalieren. Am Ausgeprägtesten ist das Signal von **Cu-kP-DNA1-A**, gefolgt von **Au-kP-DNA1-A** und **Cu-fP-DNA1-A**. Dies folgt dem Trend, dass Cu-kP in DNA

am besten interkaliert. Die Interkalation von Au-*kP* ist vergleichbar. Die Interkalation von Cu-*fP* ist gehindert. Neben den CD-Messungen bei 20 °C wurde von Cu-*kP-DNA1-A* auch eine Messung bei 80 °C durchgeführt. Bei dieser Temperatur ist der DNA-Duplex dehybridisiert und liegt als zwei separierte Einzelstränge vor. Es zeigt sich, dass die Intensität auf annähernd Null zurückgeht, da nun keine Möglichkeit mehr zur Interkalation besteht.

In den vorangegangenen Versuchen konnte gezeigt werden, dass es deutliche Unterschiede beim Grad der Interkalation zwischen den einzelnen Postmodifikationen, aber auch den eingebrachten Zentralatomen gibt. Während der entstehende Trizyklus bei der DACA eine Interkalation hindert, stört der Triazolring der CuAAC nicht. Kupfermodifizierte Porphyrine interkalieren besser in den DNA-Duplex als goldmodifizierte. Dies lässt sich durch die planarere Anordnung der Kupfer(II)-Porphyrine und der damit erleichterten Interkalation erklären. Damit konnte gezeigt werden, dass es sehr wohl eine Rolle spielt, welche Art der Postmodifikation gewählt wird.

6.4 Zusammenfassung der Resultate

Dem speziellen Aufbau und ihrer Struktur verdanken Porphyrine weitreichende denkbare Einsatzgebiete. Ob als künstliche Lichtsammelkomplexe,^[252, 415] in der PDT oder als Komponenten in elektronischen Bauteilen (s. Kap. 3.3.2). Allerdings ist es für derartige technische Anwendungen nötig, Chromophore und Sonden definiert und räumlich exakt anzuordnen. Dabei kann DNA als supramolekulare Architektur helfen. Durch ihre räumliche Struktur, Programmierbarkeit und den vorhandenen Modifikationsmöglichkeiten stellt sie eine attraktive Architektur für die Anordnung im Nanobereich dar.^[416-418]

Um dies zu nutzen, wurde zunächst ein neues Nukleosid entwickelt. Mittels einer DIELS-ALDER-Cycloaddition können so Porphyrine kovalent und vor allem intern in Oligonukleotide eingebaut werden. Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass diese Reaktion bioorthogonal zu etablierten Reaktionen wie der CuAAC ist und dabei ebenfalls unter milden Bedingungen aber ohne Verwendung von zelltoxischen Kupfersalzen abläuft. Die Synthese orientierte sich an einer Literaturvorschrift von MADDER^[386] und der Baustein für die Festphasensynthese konnte in neun Stufen mit einer Gesamtausbeute von 11 % erhalten

werden. Die Reaktivität wurde in einem Versuch mit *N*-Ethylmaleimid bestätigt und die Reaktionsbedingungen optimiert.

Darüber hinaus wurde ein tetrakationisches, maleimidmodifiziertes Porphyrin entwickelt, welches mittels DACA an furanmodifizierte Oligonukleotide kovalent angeknüpft werden kann. Nach Literaturbedingungen wurde dazu ein *N*-Iodoalkylmaleimid (**20**) synthetisiert und an dreifach methyliertes Porphyrin (**22**) geknüpft. Um den Vergleich mit etablierten Postmodifikationen zu erhalten, wurde ebenso ein klickbares tetrakationisches Porphyrin (**25**) entwickelt. In beide Porphyrine wurden Metallatome (Cu^{II} bzw. Au^{III}) eingebracht und erfolgreich postsynthetisch an DNA angeknüpft.

Um den Bindungsmodus der Porphyrine in DNA zu untersuchen wurden verschiedene optische Spektroskopiearten und Experimente angewendet. Es zeigte sich, dass es einen deutlichen Unterschied zwischen den Methoden der Postmodifikation gibt. Obwohl der jeweilige Linker nicht zur Interkalation beitragen sollte, beeinflusst er dennoch den Grad der Interaktion. Durch die DACA entsteht in der Postmodifikation ein Trizyklus. Da dieser nicht planar ist, scheint eine Interkalation des Porphyrins in den DNA-Basenstapel gehindert zu sein. Der Triazol-Ring, der durch die CuAAC entsteht, ist planar. Zusätzlich fördert das Einbringen von Kupfer als Zentralatom die Planarität des Porphyrins.^[410] Daraus ergeben sich optimale Voraussetzungen für eine Interkalation, die mittels CD-Spektroskopie eindeutig nachgewiesen werden konnte. Im Vergleich dazu wurde ein goldmodifiziertes Porphyrin mittels CuAAC in DNA eingebracht. Denn das Zentralatom des Porphyrins spielt ebenfalls eine tragende Rolle. Es zeigte sich, dass auch das Gold(III)-Porphyrin in den DNA-Basenstapel interkaliert. Allerdings lassen Titrationsexperimente, Basenfehlpaarungs-Experimente und CD-Spektroskopie darauf schließen, dass die Interkalation etwas gestörter als beim analogen Kupferderivat erfolgt. Der Grund liegt in der Struktur der metallierten Porphyrine. Eine Insertion von Kupfer bewirkt, dass sich die Struktur des Porphyrins noch weiter ebnet, dies kann bei Gold(III)-Porphyrinen nicht beobachtet werden. Durch den größeren Platzbedarf des Zentralatoms und des Porphyrins ist eine Interkalation energetisch ungünstiger.

Diese Arbeit stellt die erste flexible und sequenzunabhängige Methode für die kovalente Anknüpfung tetrakationischer Porphyrine an DNA dar. Durch die erfolgreiche Postmodifikation lassen sich tetrakationische Porphyrine in DNA einbringen. Dadurch dass zwei biorthogonale Reaktionen zur Postmodifikation realisiert werden konnten, ist es möglich, verschiedene Metalloporphyrine definiert anzuknüpfen. Damit lassen sich in

Zukunft Porphyrin-DNA-Architekturen realisieren, die interessante elektronische, redoxaktive und optische Eigenschaften für z.B. elektronische Bauteile aufweisen. Darüber hinaus ist auch ein Einsatz in der PDT oder als künstliche Endonuklease v.a. der Gold(III)-Addukte denkbar. Zum einen wird durch die DNA der Transport in biologische Systeme erleichtert, zum anderen ist eine sequenzspezifische photoinduzierbare Spaltung von DNA oder RNA in vivo möglich.

7. Zusammenfassung

2,7-Diazapyrenium als Ladungstransfersonde in DNA

2,7-Diazapyrenium konnte in DNA vollständig optisch charakterisiert werden. Ladungstransferprozesse wurden durch Kombination mit einer weiteren Ladungstransfersonde (DIMAPdU bzw. DIMAPbs) mit stationärer Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie untersucht. Es konnten eindeutige Hinweise gefunden werden, dass sowohl reduktiver als auch oxidativer Ladungstransfer induziert werden kann. Aufgrund der Überlagerung der Absorptions- bzw. Emissionsbanden der untersuchten Chromophore, konnten keine genauen Angaben über Art und Effizienz der Ladungstransferprozesse gegeben werden. Um dieses Problem zu lösen, wurde das System mittels zeitaufgelöster Absorptionsspektroskopie untersucht. Dabei wurde zunächst das Augenmerk auf Untersuchungen zum reduktiven Elektronentransfer gelegt, der eindeutig bei Anregung mit $\lambda = 340$ nm induziert und quantifiziert werden konnte. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Ladungsseparation aufgrund der großen Triebkraft des Systems äußerst schnell (< 1 ps) erfolgt. Ein effektiver Ladungstransfer konnte über fünf AT- bzw. vier GC-Basenpaaren gezeigt werden.

Photoinduzierter Interstrang-Ladungstransfer über Terpyridine

Im zweiten Abschnitt wurde der photoinduzierte Interstrang-Ladungstransfer über Terpyridine untersucht. Dazu wurde das Ladungstrfersystem DAP^{2+} -DIMAPdU verwendet. Die Elektronentransferenden befanden sich dabei in zwei flexibel miteinander verbundenen DNA-Duplexen. Über zwei tpy-Einheiten konnte eine „SIDE-ON“-Verknüpfung der Oligonukleotide realisiert werden. Nach Metallinsertion (Cu^{II} , Fe^{II} , Ni^{II} , Zn^{II}) wurden Metall-DNA-Konjugate geschaffen, welche mittels stationärer Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie untersucht wurden (vgl. Abb. 3). Die Stabilitäten der geschaffenen Metall-DNA-Konjugate folgten dabei der Stabilitäten der isolierten Metall-tpy-Komplexen. Es konnte gezeigt werden, dass nach Photoanregung der Ladungstransferenden Änderungen der Fluoreszenzintensitäten und Struktur der Emissionsbanden auftraten. Dies wurde als Wechselwirkungen gedeutet, die einen erfolgreichen Interstrang-Ladungstranfer vermuten lassen. Da allerdings die Absorptionsbanden der drei verwendeten Modifikationen sich überlagerten, war keine genauere qualitative und quantitative Analyse

der Ladungstransferprozesse möglich. Dies muss durch weitere Experimente und Verwendung transients Absorptionsspektroskopie näher untersucht werden.

Metall-DNA-Konjugate mit tetrakationischen Porphyrinen

Der abschließende Teil befasste sich mit neuen Metall-DNA-Konjugaten. Es wurden zwei modifizierte tetrakationische Porphyrine dargestellt, welche postsynthetisch an DNA angeknüpft wurden.

Zunächst wurde ein azidmodifiziertes Porphyrin synthetisiert, das anschließend mittels CuAAC an Oligonukleotide angeknüpft wurde. Dabei war es entscheidend, dass ein anderes Metall als Kupfer, wie gezeigt am Beispiel von Au(III), vor der Postmodifikation als Zentralatom eingebracht wurde, da sonst eine Kupferinsertion während der kupferkatalysierten Reaktion erfolgen würde. Die beiden so dargestellten Metall-DNA-Konjugate wurden vollständig optisch charakterisiert. Bei beiden konnte eine Interkalation der metallierten Porphyrinspezies eindeutig nachgewiesen werden. Dabei zeigte sich, dass **Cu-kP** besser interkaliert als **Au-kP**. Kupfer ebnet das Porphyrin zusätzlich und erleichtert somit eine Interkalation in den Basenstapel. Zwar weist **Au-kP** keinen axialen Liganden auf, allerdings fehlt der positive Einfluss des Kupferatoms und erschwert damit die Interkalation.

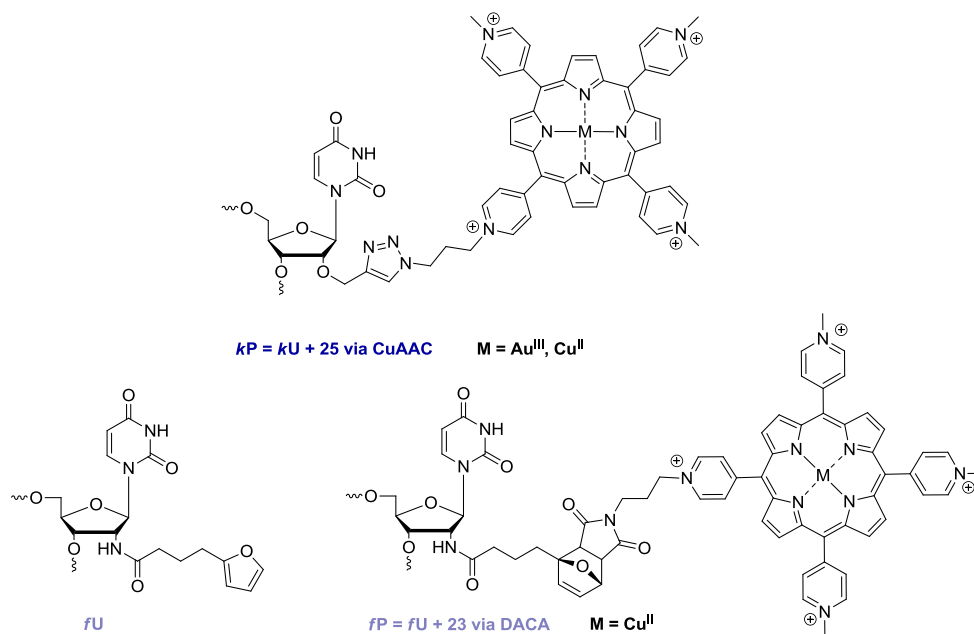


Abb. 88: Strukturen des dargestellten neuen Nucleosids **fU** und der neuen porphyrinoiden Metall-DNA-Konjugate.

Des Weiteren wurde ein maleimidmodifiziertes Porphyrin (**23**), für eine Postmodifikation mittels DACA synthetisiert. Dazu wurde ein furanmodifiziertes neues Nucleosid (**fU**) synthetisiert und die Reaktionsbedingungen für die gewünschte DIELS-ALDER-Cycloaddition

optimiert. Anschließend wurde das Porphyrin kovalent an Oligonukleotide geknüpft und optisch charakterisiert. Eine Metallinsertion konnte dabei vor oder nach der Postmodifikation erfolgreich realisiert werden. Dabei zeigte sich, dass das dargestellte **Cu-fP** ebenfalls interkaliert. Allerdings erfolgte dies deutlich schlechter als beim analogen **Cu-kP**. Somit konnte gezeigt werden, dass die Methode der Postmodifikation durchaus Einfluss auf die Anknüpfung selbst hat. Darüber hinaus stellt diese Arbeit den ersten erfolgreichen kovalenten Einbau tetrakationischer Porphyrine dar.

8. Experimenteller Teil

8.1 Verbrauchsmaterialien, Methoden und Geräte

Reagenzien und Lösungsmittel

Die bei der Reaktion verwendeten Reagenzien wurden von den Firmen SIGMA-ALDRICH, ACROS ORGANICS, ALFA-AESAR, MERCK und ABCR bezogen. Diese hatten mindestens die Qualitätsstufe „zur Synthese“. Die verwendeten Lösungsmittel besaßen mindestens die Qualitätsstufe p.A. Trockene Lösungsmittel wurden entweder nach Literaturvorschrift^[419] getrocknet oder von ACROS ORGANICS bezogen. Diese wurden entweder unter Stickstoff oder Argon aufbewahrt. Für die HPLC wurden hochreine organische Lösungsmittel (LICHROSOLV, MERCK) sowie entionisiertes Wasser aus einer MILLIPORE-Anlage verwendet.

Reaktionsführung

Falls nötig wurden Reaktionen zum Luft- und Feuchtigkeitsausschluss unter Argon-Atmosphäre (AIR LIQUIDE, Schweißargon 4.6, 99,999 % rein) durchgeführt. Die dafür verwendeten Glasapparaturen wurden vorher im Hochvakuum ausgeheizt.

Sublimationstrocknung

Wässrige Lösungen wurden an einer CHRIST ALPHA 1-2 LD PLUS Lyophilisierungsanlage nach Schockfrieren in flüssigem Stickstoff getrocknet.

Chromatographie

Dünnschichtchromatographie

Verwendet wurden fertig beschichtete Aluminiumfolien der Firma MERCK. Die Beschichtung bestand aus Kieselgel 60 F254 mit einer Schichtdicke von 0.25 mm. Die visuelle Auswertung erfolgte über Fluoreszenzanregung bei $\lambda = 366$ nm bzw. Fluoreszenzlöschung bei $\lambda = 254$ nm. Eine chemische Auswertung erfolgte durch Anfärben mit Schwefelsäure (5 % v/v) in Methanol oder einer Vanillinlösung (3 g Vanillin in 100 Ethanol und 0.5 mL Schwefelsäure) und anschließendem Erhitzen durch Heißluft. Ebenso wurden organische Substanzen mittels elementaren Iods in einer Entwicklungskammer angefärbt.

Flash-Säulenchromatographie

Als stationäre Phase wurde Kieselgel der Firma SIGMA-ALDRICH (Korngröße von 40 – 63 μm) verwendet. Die Säule wurde nass gepackt und nach dem Verfahren von W. C. STILL^[420] bei einem Überdruck von etwa 0.3 bar chromatographiert. Dazu wurde die zu reinigende Substanz im Lösungsmittel gelöst. Substanzen, die im Lösungsmittel nur schwerlöslich waren, wurden auf Kieselgel aufgezogen („DRYLOAD“).

Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie

REVERSED-PHASE HPLC wurde an einem SHIMADZU HPLC-System durchgeführt (Autosampler SIL-10AD, Pumpenmodul, LC-10AT, Steuereinheit SCL-10A, Multidiodenarray SPD-M10A, Fluoreszenzdetektor RF-10A XL). Die Auswertung erfolgte mit der Software CLASS VP. Analytische Trennläufe wurden mit einer SUPELCOSIL LC-318-Säule (25 cm x 4.6 mm, 5 μm , SUPELCO) durchgeführt. Für die semipräparativen Trennläufe wurde eine SUPELCOSIL LC-318 Säule (25 cm x 10 mm, 5 μm , SUPELCO) oder eine DISCOVERY® BIO WIDE PORE C18-5 (25 cm x 10 mm, 5 μm , SUPELCO) verwendet. Die Säulen wurden mit 50 mM Ammoniumacetat-Puffer (pH = 6.5, Laufmittel A) equilibriert. Die Elution erfolgte mit einem Acetonitril-Gradienten (Laufmittel B). Für die analytische Säule wurde eine Fließgeschwindigkeit von 1 mL / min und für die semipräparative Säule 2.5 mL / min gewählt. Die Detektion der Oligonukleotide erfolgte bei 260 nm, 290 nm und der entsprechenden Wellenlänge des Absorptionsmaximums des Chromophors.

Größenausschlusschromatographie (SEC)

Zum Entsalzen der Klickreaktion wurden fertig gepackte ILLUSTRAPAP™-5-Säulen (SEPHADEX™ G-25 DNA Grade) der Firma GE-HEALTHCARE verwendet. Es wurde mit 5 mM Ammoniumacetatpuffer equilibriert und chromatographiert.

Kommerzielle Oligonukleotide

Unmodifizierte Oligonukleotide wurden von METABION bezogen. Diese waren bereits über HPLC aufgereinigt und lyophilisiert. Die Stoffmenge betrug 1.0 μmol . Vor ihrer Verwendung wurde die DNA in entionisiertem Wasser gelöst und die Konzentration über UV/Vis-Spektroskopie an einem ND-1000 Spectrophotometer von NANODROP TECHNOLOGIES bestimmt.

DNA-Festphasensynthese

Oligonukleotide wurden an einem EXPEDITE 8909 NUCLEIC ACID SYNTHESIZER System von APPLIED BIOSYSTEMS synthetisiert. Als feste Phase diente CPG (CONTROLLED PORE GLASS) mit einer Belegung von 1 μmol (500 Å). Phosphoramidite der DNA-Basen, des 2'-O-Propargyl-Uridins und sowie alle SYNTHESIZER Chemikalien und CPG-Säulen stammten von ABI, GLEN RESEARCH, PROLIGO und CHEMGENES. Kommerzielle Basen wurden als 0.067 M Lösungen in MeCN verwendet. Synthetisierte Phosphoramidite wurden als 0.1 M Lösung in MeCN eingesetzt. Die Kupplungseffizienz wurde durch die Absorption des Dimethoxytritylkations bei $\lambda = 470 \text{ nm}$ nach jedem Kupplungsschritt verfolgt.

DNA Aufreinigung

Oligonukleotide, die am 5'-Ende nach der Festphasensynthese noch eine DMTr-Schutzgruppe enthielten, wurden mittels GLENPAK™-Säulen von GLENRESEARCH entschützt und aufgereinigt. Alle dazu benötigten Lösungen wurden wie vom Hersteller angegeben hergestellt und verwendet. Ebenso wurden Oligonukleotide von überschüssigen Metallsalzen via GLENPAK™-Säulen gereingt.^[421]

Kernspinresonanzspektroskopie (NMR- Spektroskopie)

Kernspinresonanzspektren wurden an einem BRUKER AVANCE 300 oder BRUKER AVANCE 400 gemessen. Dazu wurden etwa 10 mg der zu vermessenden Substanz in etwa 0.5 mL deuteriertem Lösungsmittel gelöst und in ein NMR Probenröhrchen (Durchmesser 5 mm) abgefüllt. Die chemischen Verschiebungen wurden in δ angegeben und beziehen sich auf Trimethylsilan (TMS) als Referenznullpunkt. Für unvollständig deuterierte Lösungsmittel gelten die folgenden Referenzwerte (bezogen auf ihre chemische Verschiebung)^[422]:

CDCl_3 : $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 7.26 \text{ ppm}$ $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 77.2 \text{ ppm}$

CD_3CN : $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 1.94 \text{ ppm}$ $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 1.3, 118.3 \text{ ppm}$

MeOD : $^1\text{H-NMR}$: $\delta = 3.31 \text{ ppm}$ $^{13}\text{C-NMR}$: $\delta = 49.0 \text{ ppm}$

Die Kopplungskonstanten J wurden in Hz angegeben. Die Multiplizität der ^1H -Signale wurde wie folgt abgekürzt: s (Singulett), d (Dublett), t (Triplet), q (Quartett), qu (Quintett), dd (Dublett von Dublett) und m (Multiplet).

Massenspektrometrie

Massenspektren wurden in der Abteilung Massenspektrometrie des Instituts für Organische Chemie am KARLSRUHER INSTITUT FÜR TECHNOLOGIE, sowie im Arbeitskreis Bräse am KARLSRUHER INSTITUT FÜR TECHNOLOGIE gemessen. Die dafür benutzten Spektrometer sind im Folgenden zusammengefasst:

EI-MS: FINNIGAN MAT SSQ 710 A, FINNIGAN MAT 95

ESI-MS: AGILENT TECHNOLOGIES 6230 TOF LC/MS

FAB-MS: FINNIGAN MAT 95

MALDI-TOF-Massenspektren der DNA-Oligonukleotide wurden im linearen negativen Modus an einem BIFLEX-IV-Spektrometer von BRUKER DALTONICS am KARLSRUHER INSTITUT FÜR TECHNOLOGIE vermessen. Als Matrix wurde eine Mischung aus Diammoniumcitrat (0.1 M in Wasser) und 2,4,6-Trihydroxyacetophenon (THAP, 0.3 M in Ethanol) im Volumenverhältnis 1:2 oder 3-Hydroxypicolinsäure (3-HPA, ges. Lösung in 50 % MeCN) und Diammoniumcitrat (0.1 M in Wasser) im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

Die Angabe der Signale erfolgte bei allen MS-Analysen in m / z-Verhältnissen mit Angabe der Intensität in % des Basispeaks.

Optische Spektroskopie

Für alle spektroskopischen Messungen wurden Quarzglasküvetten der Firma STARNA mit einer Schichtdicke von 1 cm verwendet. Für die Messungen wurden hochgereinigte organische Lösungsmittel (UVASOL®, MERCK) bzw. entionisiertes Wasser aus einer MILLIPORE-Entsalzungsanlage verwendet. Soweit nicht anders angegeben, enthielten alle Oligonukleotid-Lösungen folgende Konzentrationen und wurden bei 20 °C spektroskopisch untersucht:

$c(\text{DNA}) = 2.5 \mu\text{M}$

$c(\text{NaP}_i) = 10 \text{ mM}$

$c(\text{NaCl}) = 250 \text{ mM}$

UV/Vis-Absorptionsmessungen

Die UV/Vis-Absorptionsspektren wurden in einem CARY 100 BIO der Firma VARIAN mit temperierbarem Küvettenhalter aufgenommen. Die Spektren wurden gegen die UV / Vis-Absorption des Lösungsmittels basislinienkorrigiert. Folgende Messparameter wurden verwendet: SBW: 2.0 nm, Average time 0.1 s, Data interval 1.0, Light source change over 350 nm.

Schmelztemperaturmessungen

Die Schmelztemperaturmessungen erfolgten analog den UV / Vis-Absorptionsmessungen über einen Temperaturbereich von 20 °C – 90 °C. Die Temperatur am Start- bzw. Endpunkt wurde jeweils 10 min konstant gehalten. Die Heiz- bzw. Kühlrate betrug 0.7 °C / min; Die Messdaten wurden in 0.5 °C-Abständen erfasst. Die Schmelztemperaturmessungen der porphyrinmodifizierten Oligonukleotide wurden an einem LAMBDA 750 der Firma PERKIN ELMER mit PELTIERE-Element PTP 6+6 PELTIERE SYSTEM und einem Thermostaten F4391 der Firma HAAKE gemessen.

Fluoreszenzmessungen

Die Fluoreszenzmessungen wurden entweder an einem FLUOROMAX-3 Fluorimeter von JOBIN-YVON mit einem PELTIERE-Element LFI-3751 zur Temperatursteuerung von WAVELENGTH ELECTRONICS oder an einem FLUOROMAX-4 Fluorimeter von JOBIN-YVON mit einer Temperatursteuerung HAAKE A 25 von THERMO SCIENTIFIC durchgeführt. Die Spektren wurden gegen die Ramanstreuung des Lösungsmittels basislinienkorrigiert. Folgende Messparameter wurden verwendet: Increment: 1.0 nm, Increment time: 0.2 s.

Temperaturabhängige Fluoreszenzmessungen

Die Fluoreszenzspektren wurden über einen Temperaturbereich von 20 °C – 90 °C aufgenommen. Vor jeder Messung wurde die Temperatur mit einer Toleranz von 1.0 °C 5 min konstant gehalten.

Zeitaufgelöste Absorptionsmessungen

Zeitaufgelöste Absorptionsmessungen wurden durch die Arbeitsgruppe UNTERREINER am Institut für Physikalische Chemie am KIT durchgeführt.

Spektroelektrochemie, Radikalspektroskopie (SEC)

Für die SEC-Messungen wurde eine spezielle Zelle aus Calciumfluorid-Platten mit einer Drei-Elektroden-Anordnung verwendet. Als Arbeitselektrode diente ein Platinnetz. Die entsprechende Gegen- bzw. Referenzelektrode bestand aus Platin bzw. Silber. Die Messungen wurden in einem VARIAN CARY 50 mit speziellem Probenhalter in trockenen Lösungsmitteln und mit TBAHFP als Leitsalz (0.1 M) durchgeführt. Es wurden die Absorptionsänderungen bei steigendem Potential aufgezeichnet. Das Potential wurde durch einen Potentiostaten (Cubepot) erzeugt, der mit der Software MASTERCONTROL angesteuert werden konnte. Die Potentiale wurden nicht gegen einen internen Standard kalibriert und sind daher keine Absolutwerte.

Circulardichroismus (CD)

CD-Spektren wurden am Institut für Biologische Grenzflächen (IBG-2) am KIT aufgenommen. Dazu wurde ein J-815 CD-Spektrometer der Firma JASCO verwendet. Es wurden folgende Parameter verwendet: Messrate: 20 nm / min; Daten Pitch: 0.1 nm; Temperatur 20 °C bzw. 80 °C.

8.2 Synthesevorschriften

Im folgenden Abschnitt werden Synthesevorschriften zu literaturunbekannten Stufen dargestellt. Für Verbindungen, die bereits literaturbekannt sind, aber nach geänderten Synthesevorschriften dargestellt wurden, wird bei den spektroskopischen Daten auf die entsprechende Literaturstelle verwiesen.

8.2.1 Synthese der Elektronentransferendon

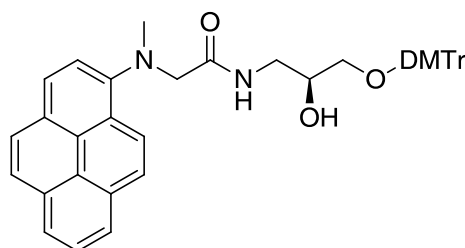
Die Darstellung des Phosphoramidits von 5-(6-*N,N*-Dimethylamino-2-pyrenyl)-2'-desoxyuridin (DIMAPdU) und aller Vorstufen erfolgte in Analogie zur Dissertation von THOMAS EHRENSCHWENDER.^[361]

Die Synthese von 2-(3-Azidopropyl)-7-(methyl)-2,7-diazapyrenium wurde bereits während der Masterarbeit ausgearbeitet und durchgeführt.^[341] Die Ausbeute bei der Darstellung von 2-(3-Iodopropyl)-7-(methyl)-2,7-diazapyrenium konnte auf 89 % gesteigert werden.

Die Synthese des terpyridinmodifizierten Uridins, sowie dessen Inkorporation in DNA wurde von THOMAS EHRENSCHWENDER durchgeführt.^[361]

Die Darstellung von *N*-Pyrenyl-*N*-methyl-aminoessigsäure-*N*-hydroxysuccinimid-ester (4) erfolgte nach Literaturbedingungen.^[363]

(S)-*N*-Pyrenyl-*N*-methyl-aminoessigsäure-*N'*-((2-hydroxy-3-dimethoxy-trityl)-propyl)amid (5)



$C_{43}H_{40}N_2O_5$

M: 664.2937

337 mg 4 (0.87 mmol) wurden unter Argon in absolutem DMF gelöst. Zu dieser Lösung wurde zunächst 0.6 mL DIPEA (0.96 mmol) und danach 376 mg (2*S*)-1-Amino-3-dimethoxytrityl-propan-2-ol (0.96 mmol) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 15 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel abdestilliert. Der ölige Rückstand wurde mit 100 mL DCM extrahiert und mit 75 mL destilliertem H₂O und 75 mL gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Es wurde über Na₂SO₄ getrocknet und über FC (1.: DCM : Methanol 100 : 3 + 0.5 Vol-% Et₃N; 2.: DCM : Aceton 100 : 3 + 0.5 Vol-% Et₃N) gereinigt. Das Produkt wurde am Hochvakuum getrocknet. Es wurde ein gelber Schaum erhalten (189 mg; 0.28 mmol; 44 % d. Th.).

DC: DCM : MeOH 10 : 1 + 0.5 Vol-% Et₃N (R_f: 0.32)

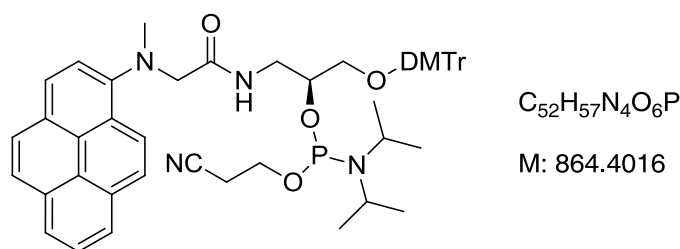
¹H-NMR: (300 MHz, MeOD) δ 8.35 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 8.00 (t, *J* = 6.7 Hz, 3H), 7.92 - 7.94 (m, 4H), 7.77 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.39 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 7.10 - 7.24 (m, 8H), 6.68 (d, *J* = 8.8 Hz,

3H), 3.91 (t, $J = 5.2$ Hz, 1H), 3.73 (s, 2H), 3.58 (s, 6H), 3.52 (dd, $J = 13.6, 5.9$ Hz, 2H), 3.02 - 3.07 (m, 2H), 2.79 (s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (75 MHz, MeOD) δ 173.2, 160.2, 148.3, 146.6, 137.4, 137.4, 133.1, 132.7, 131.4, 129.5, 129.4, 128.9, 128.5, 128.4, 127.9, 127.4, 127.2, 126.7, 126.3, 126.1, 126.0, 125.9, 123.7, 119.2, 114.2, 87.6, 70.4, 66.7, 62.7, 55.7, 44.6, 43.5

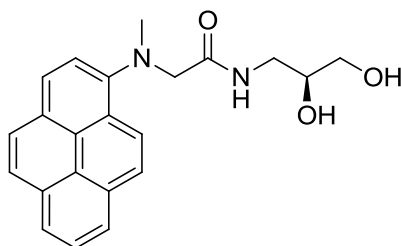
FAB-MS: berechnet für $\text{C}_{43}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_5$ m/z 664.29, gefunden m/z 665.2 [(M-H) $^+$]

N-Pyrenyl-N-methyl-aminoessigsäure-N'-((2-hydroxy-3-dimethoxy-trityl)propylamino)-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropyl)-phosphoramidit (6)



151 mg **5** (0.23 mmol) wurden zunächst mehrere Stunden im Hochvakuum getrocknet und anschließend unter Argonatmosphäre in absolutem DCM gelöst. Anschließend wurden 155 μL DIPEA (0.91 mmol) zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Im nächsten Schritt wurden 153 μL 2-Cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidit (0.68 mmol) langsam zugetropft. Nach drei Stunden wurde die Reaktionsmischung über FC (DCM : Aceton = 20 : 1 + 1 mL Et_3N pro 0.5 L Laufmittelgemisch) gereinigt. Das Produkt wurde im Hochvakuum für 16 Stunden getrocknet. Es wurde ein blass-gelber Schaum erhalten (74.2 mg; 85.8 μmol ; 38 % d. Th.).

DC: DCM : Aceton 20 : 1 (R_f : 0.4)

(S)-N-Pyrenyl-N-methyl-aminoessigsäure-N'-(2,3-dihydroxypropyl)amid (7)C₂₂H₂₂N₂O₃

M: 362.1630

113 mg **5** (0.17 mmol) wurden in 9 mL absolutem DCM gelöst. Anschließend wurden unter Argonatmosphäre 0.9 mL Dichloressigsäure (0.34 mmol) in Form einer 0.36 M Lösung (in absolutem Toluol; DCA Deblock von SIGMA ALDRICH für DNA-Synthesizer) tropfenweise zugegeben. Nach 30 min wurden erneut 0.3 mL der DCA-Lösung (0.11 mmol) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde in DCM aufgenommen, zuerst mit 50 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung entsäuert und anschließend mit 50 mL Wasser gewaschen. Die vereinten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und über FC (DCM:MeOH = 100:3) gereinigt. Das Produkt wurde als hellgelber Schaum erhalten (58.3 mg; 0.16 mmol; 95 % d. Th.).

DC: DCM : MeOH 100 : 3 + 0.5 Vol-% Et₃N (R_f: 0.37)

¹H-NMR: (300 MHz, MeOD) δ 8.79 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 8.37 - 8.43 (m, 4H), 8.19 - 8.34 (m, 3H), 8.08 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 5.23 (s, 3H), 4.19 (s, 1H), 4.07 - 4.15 (m, 1H), 3.90 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H), 3.84 - 3.87 (m, 2H), 3.63 - 3.75 (m, 2H)

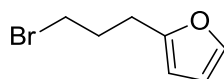
¹³C-NMR: (75 MHz, MeOD) δ 173.5, 148.4, 133.0, 132.6, 129.4, 128.4, 128.2, 127.3, 127.3, 127.1, 126.6, 126.3, 126.1, 126.0, 125.8, 123.7, 119.0, 71.9, 65.4, 62.7, 44.5, 43.3

FAB-MS: berechnet für C₂₂H₂₂N₂O₃ m/z 362.1630, gefunden m/z 363.2 [(M-H)⁺]

8.2.2 Darstellung des furanmodifizierten Uridins

Die Synthese von 2-(3-Bromopropyl)furan erfolgte analog zu einer Literaturvorschrift von BARANCELLI.^[389]

2-(3-Bromopropyl)furan (8)



C₇H₉BrO

M: 189.0498

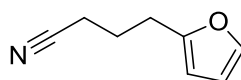
32 mL n-Butyllithium (51.8 mmol) (1.6 M Lösung in Hexan) wurden unter Argonatmosphäre in 60 mL absolutem THF auf -20 °C gekühlt, mit 3.76 mL frisch destillierten Furan (51.8 mmol) versetzt und 4 Stunden bei -20 °C gerührt. Tropfenweise wurden 4.4 mL 1,3-Dibrompropan (43.2 mmol) zugegeben und 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch Zugabe von 50 mL gesättigter Ammoniumchloridlösung beendet und dreimal mit 50 mL Ethylacetat extrahiert. Anschließend wurde über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt wurde über FC (Hexan) gereinigt. Es wurde eine leicht gelbliche Flüssigkeit erhalten (7.75 g, 41.0 mmol, 95 % d. Th.).

DC: Hexan (R_f: 0.41)

Die spektroskopischen Daten stimmten mit der Literatur überein.^[361, 389]

Ausgehend von 2-(3-Bromopropyl)furan (8) wurde 4-(2-Furyl)butansäure (10) analog nach einer Literaturvorschrift von NADLER dargestellt.^[390]

4-(2-Furyl)butyronitril (9)



C₈H₉NO

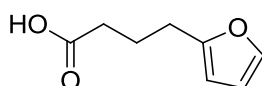
M: 135.1632

2.50 g 2-(3-Bromopropyl)furan (**8**) (13.2 mmol) wurden unter Argonatmosphäre in 12.5 mL DMSO gelöst. Anschließend wurden 1.12 g Kaliumcyanid (17.2 mmol) zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde 18 Stunden bei 70 °C gerührt. Danach wurde auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 2 mL H₂O die Reaktion beendet. Das Reaktionsgemisch wurde mit insgesamt 150 mL Diethylether extrahiert und mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Anschließend wurde über Na₂SO₄ getrocknet, abfiltriert und vom Lösungsmittel befreit. Das Produkt wurde als gelbe Flüssigkeit erhalten (1.46 g, 10.8 mmol, 82 % d. Th.).

DC: Hexan : DEE 5 : 1 (R_f: 0.37)

Die spektroskopischen Daten stimmten mit der Literatur überein.^[390]

4-(2-Furyl)butansäure (**10**)



C₈H₁₀O₃

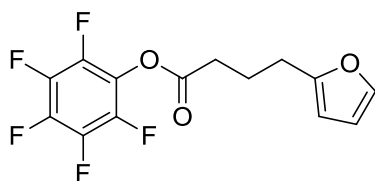
M: 154.1632

1.94 g 4-(2-Furyl)butyronitril (**9**) (14.4 mmol) wurden in 25 ml Ethanol-Wasser-Gemisch (1 : 1) gelöst und 6.05 g KOH (107.9 mmol) zugegeben. Es wurde 24 Stunden unter Rückfluss erhitzt und Ethanol danach im Vakuum abdestilliert. Die wässrige Lösung wurde mit 6 M HCl angesäuert und 3-mal mit je 50 mL Diethylether extrahiert. Die organischen Phasen wurden vereint und über Na₂SO₄ getrocknet. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wurde als dunkelgelbe Flüssigkeit erhalten (1.99 g, 12.9 mmol, 90 % d. Th.).

DC: Hexan : Diethylether 3 : 1 (R_f: 0.23)

Die spektroskopischen Daten stimmten mit der Literatur überein.^[390]

4-(2-Furyl)butansäurepentafluorphenylester (11)

 $C_{14}H_9F_5O_3$

M: 320.2115

500 mg 4-(2-Furyl)butansäure (10) (3.25 mmol) wurden unter Argonatmosphäre in 4 mL absolutem THF und 0.5 mL Triethylamin gelöst und auf 0 °C gerührt. Anschließend wurden 657 mg Pentafluorophenol (3.57 mmol) in 1 mL abs. THF gelöst und zugegeben. Innerhalb von 30 Minuten wurden 671 mg EDC (3.50 mmol) portionsweise hinzugegeben und anschließend das Reaktionsgemisch 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Das Rohprodukt wurde im Rotationsverdampfer aufkonzentriert und im Anschluss mittels FC (Hexan : Ethylacetat 100 : 5) gereinigt. Das Produkt wurde als gelbliche Flüssigkeit erhalten (757 mg, 2.37 mmol, 73 % d. Th.).

DC: Hexan : Ethylacetat 100 : 5 (R_f : 0.63)

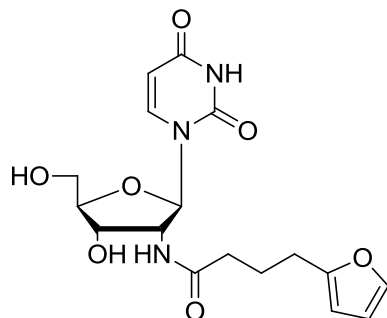
1H -NMR: (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7.36 (dd, $J = 1.9, 0.9$ Hz, 1H), 6.33 (dd, $J = 3.1, 1.8$ Hz, 1H), 6.06 - 6.12 (m, 1H), 2.80 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.73 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.14 (qu, $J = 7.3$ Hz, 2H)

^{13}C -NMR: (101 MHz, $CDCl_3$) δ 169.3, 154.4, 142.5, 141.5, 140.9, 140.1, 139.2, 138.4, 136.8, 110.3, 106.0, 32.5, 27.0, 23.3

HR-ESI-MS: berechnet für $C_{14}H_9F_5O_3$ m/z 320.21, gefunden m/z 321.0558 [(M+H) $^+$]

Die Synthese von 2,2'-O-Anhydro-1-(β -D-arabinofuranosyl)uracils (**12**) und 2'-Azido-2'-desoxyridins (**13**) erfolgte nach Literaturbedingungen.^[423, 424] Die weitere Synthese des furanmodifizierten Uridins erfolgte in Analogie zur Literaturvorschrift.^[386]

2'-Desoxy-2'-[4-(2-furyl)butanamido]uridin (**14**)



$C_{17}H_{21}N_3O_7$

M: 379.3645

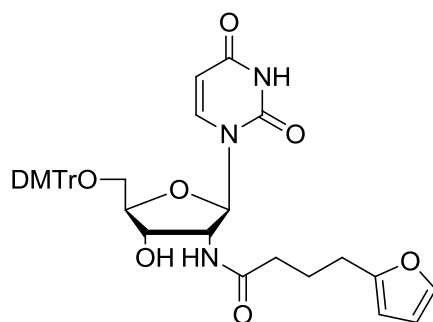
1.15 g 4-(2-Furyl)butansäurepentafluorophenylester (**10**) (3.58 mmol) und 1.03 g Triphenylphosphin (3.93 mmol) wurden in 30 mL trockenem Pyridin unter Argonatmosphäre gelöst. Anschließend wurden 808 mg 2'-Azido-2'-desoxyuridin (**13**) (3.58 mmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 18 Stunden bei 40 °C gerührt. Durch Zugabe von 0.5 mL Wasser wurde die Reaktion beendet. Unter vermindertem Druck wurde das Rohprodukt vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde auf Kieselgel aufgezogen und säulenchromatographisch mit Ethylacetat : Methanol (100 : 5) gereinigt. Es wurde am Hochvakuum getrocknet. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten (870 mg, 2.29 mmol, 64 % d. Th.).

DC: Ethylacetat : Methanol 100 : 5 (R_f : 0.2)

1H -NMR: (300 MHz, MeOD) δ 8.01 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.25 (dt, $J = 4.4$, 2.2 Hz, 1H), 5.94 – 6.10 (m, 2H), 5.71 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 4.58 (dd, $J = 8.4$, 5.5 Hz, 1H), 4.22 (dd, $J = 5.5$, 1.7 Hz, 1H), 3.97 – 4.05 (m, 1H), 3.75 (t, $J = 3.0$ Hz, 2H), 2.59 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.25 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.78 - 1.96 (m, 2H)

^{13}C -NMR: (75 MHz, MeOD) δ 176.2, 166.1, 156.5, 152.7, 142.6, 142.2, 111.1, 106.3, 103.2, 88.7, 88.1, 72.2, 63.2, 56.9, 35.9, 28.1, 25.4

ESI-MS: berechnet für $C_{17}H_{21}N_3O_7$ m/z 380.15, gefunden m/z 380.1468 [(M+H)⁺]

2'-Desoxy-2'-[4-(2-furyl)butanamido]-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-uridin (15) $C_{38}H_{39}N_3O_9$

M: 681.7310

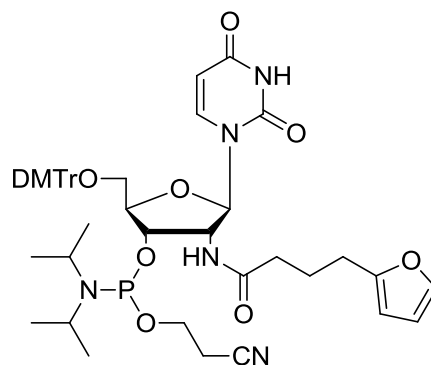
870 mg 2'-Desoxy-2'-[4-(2-furyl)butanamido]uridin (14) (2.29 mmol) wurden unter Argonatmosphäre in trockenem Pyridin gelöst. Bei 0 °C wurden 1.17 g 4,4'-Dimethoxytritylchlorid (3.45 mmol) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde 1 mL Methanol zugegeben und mit 30 mL Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser, gesättigter NaHCO_3 - und NaCl -Lösung gewaschen (jeweils 20 mL) und über Na_2SO_4 getrocknet. Es wurde über FC (DCM : Methanol 100 : 5) gereinigt. Das Produkt wurde als weißer bis schwach gelblicher Schaum erhalten (950 mg, 1.39 mmol, 61 % d. Th.).

DC: Dichlormethan : Methanol 100 : 5 (Rf: 0.47)

$^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, MeOD) δ 7.87 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.42 - 7.46 (m, 2H), 7.32 (dt, $J = 8.2$, 3.3 Hz, 7H), 7.21 - 7.27 (m, 1H), 6.86 - 6.92 (m, 4H), 6.27 (dd, $J = 3.1$, 1.9 Hz, 1H), 6.08 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 6.05 (dd, $J = 3.2$, 1.1 Hz, 1H), 5.31 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.35 (dd, $J = 5.8$, 1.6 Hz, 1H), 4.13 (q, $J = 2.4$ Hz, 1H), 3.77 (s, 6H), 3.35 - 3.48 (m, 2H), 2.63 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 2.31 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.95 (m, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (101 MHz, MeOD) δ 176.4, 165.9, 160.3, 156.5, 152.6, 145.7, 142.4, 142.2, 136.8, 136.5, 131.4, 131.4, 129.5, 129.0, 128.1, 114.3, 111.1, 106.3, 103.0, 88.5, 87.7, 87.4, 72.4, 65.1, 57.1, 55.7, 36.0, 28.2, 25.4

ESI-MS: berechnet für $C_{38}H_{39}N_3O_9$ m/z 681.73, gefunden m/z 680.2629 [(M-H)-]

2'-Desoxy-2'-[4-(2-furyl)butanamido]-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-uridin-3'-(2-cyanoethyl-N,N-diisopropylphosphoramidit (16) $C_{47}H_{56}N_5O_{10}P$

M: 881.9488

100 mg 2'-Desoxy-2'-[4-(2-furyl)butanamido]-5'-O-(4,4'-dimethoxytrityl)-uridin (**15**) (0.15 mmol) wurden zweimal mit Benzol lyophilisiert und unter Hochvakuum über Nacht getrocknet. Anschließend wurde **15** unter Argonatmosphäre in 1.5 mL trockenem MeCN gelöst und 50 μ L DIPEA (291 μ mol) sowie 49 μ L 2-Cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidit (221 μ mol) zugegeben. Es wurde 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und nach DC-Kontrolle weitere 50 μ L DIPEA (291 μ mol) und 33 μ L 2-Cyanoethyl-N,N-diisopropylchlorophosphoramidit (148 μ mol) zugegeben. Nach einer weiteren Stunde wurde das Rohprodukt über FC (DCM (p.A.) : Aceton (p.A.) 4 : 1) gereinigt. Es wurde aus Benzol lyophilisiert. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten. (100 mg, 113 μ mol, 77 % d. Th.).

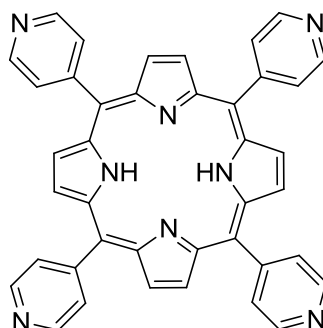
DC: DCM : Aceton 4 : 1 (R_f : 0.7 - 0.79 (charakteristischer Doppelspot))

^{31}P -NMR: (243 MHz, DMSO) δ 151.6, 150.1

8.2.3 Synthese des maleimidmodifizierten tetrakationischen Porphyrins

Die Synthese von 1-(3-Iodopropyl)-1*H*-pyrrol-2,5-dion (20) erfolgte nach Literaturbedingungen.^[399, 400] 5,10,15,20-Tetra(4-pyridyl)porphyrin (21) wurde in Analogie zu einer von LU veröffentlichten Synthesevorschrift^[425] dargestellt.

5,10,15,20-Tetra(4-pyridyl)porphyrin (21)

 $C_{40}H_{26}N_8$

M: 618.6880

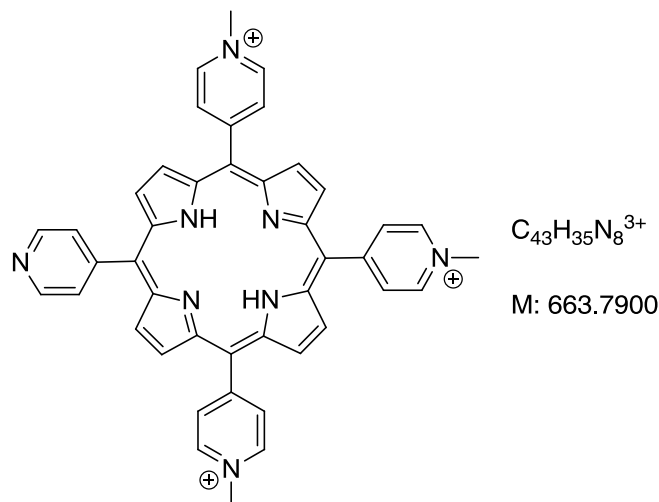
5.0 g Salicylsäure (36.2 mmol) und 8.3 g Pyridin-4-carbaldehyd (77.5 mmol) wurden in Xylol gelöst und zum Sieden erhitzt. Portionsweise wurden über 40 Minuten hinweg 5.2 g Pyrrol (77.5 mmol) hinzugegeben. Nach weiteren drei Stunden wurde die Reaktionslösung abgekühlt, 50 mL Methanol hinzugegeben und über Nacht weiter gerührt. Der ausgefallene Niederschlag wurde isoliert und mit Methanol so lange nachgewaschen bis violette Kristalle zurückblieben. Es konnten 1.12 g (1.81 mmol, 9 % d. Th.) erhalten werden.

Die spektroskopischen Daten stimmten mit der Literatur überein.^[425]

5,10,15-Trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (22) wurde in Analogie zu einer Literaturvorschrift von SCHNEIDER^[426] dargestellt. Da anfallendes einfach und zweifach methyliertes 5,10,15,20-Tetra(4-pyridyl)porphyrin zusammen isoliert und einer erneuten

Methylierung unterworfen wurde, wird eine allgemeine Synthesevorschrift angegeben und auf die Bestimmung einer Ausbeute verzichtet.

5,10,15-Trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (**22**)

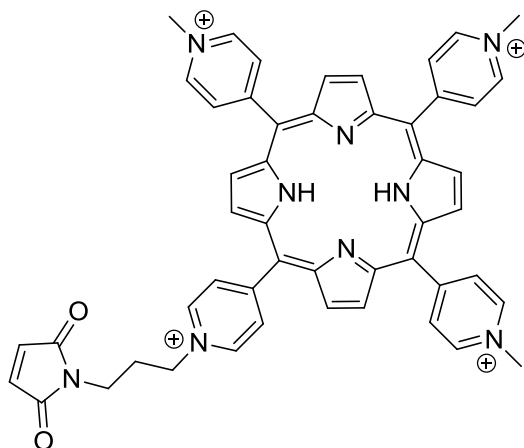


500 mg eingesetzte Porphyrinmischung wurden in 400 mL DMF gelöst. Dazu wurden fünf Äquivalente Methyljodid (ausgehend von 500 mg **21**) gegeben und die Reaktionslösung drei Stunden lang gerührt. Anschließend wurde zum Sieden erhitzt und die Reaktion mittels Dünnschichtchromatographie ständig verfolgt. Die Reaktionslösung wurde rasch abgekühlt, auf das 1.5-fache Volumen eines Aceton / DEE-Gemisch (1 : 2) gegossen und über Nacht stehengelassen. Der Niederschlag wurde isoliert und mit DEE nachgewaschen. Die Aufreinigung erfolgte über FC (MeCN : H₂O : KNO₃ (ges.) 8 : 1 : 1). Die erhaltenen Fraktionen wurden zur Trockene eingedampft und einer zweiten FC (MeCN : H₂O + NH₄PF₆ 1 : 1; pro 10 mL H₂O 0.15 g NH₄PF₆) unterzogen um überschüssiges Salz zu entfernen. MeCN wurde im Vakuum abgedampft und der ausfallende Niederschlag isoliert. Es konnten violette Kristalle als PF₆-Salz erhalten werden.

Um das Chloridsalz zu erhalten, wurde **22** in wenig einer Aceton / Methanol-Mischung (1 : 3) zusammen mit etwas DOWEX 1-8-200 Cl⁻ gelöst und über eine kurze Filtersäule mit Methanol eluiert. Mit DEE wurde das Porphyrin in Chloridform gefällt und der ausfallende Niederschlag wurde isoliert.

DC: MeCN : H₂O : KNO₃ (ges.) 8 : 1 : 1 (R_f: 0.33)

Die spektroskopischen Daten stimmten mit der Literatur überein.^[426]

5-Propyl-1H-pyrrol-2,5-dion-10,15,20-trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (23) $C_{50}H_{43}N_9O_2^{4+}$

M: 801.9333

260 mg (0.21 mmol) des dreifach methylierten Porphyrins (**22**) als PF_6^- -Salz wurden in 5 mL MeCN gelöst. Dazu wurden 1.25 g (4.72 mmol) 1-(3-Iodopropyl)-1H-pyrrol-2,5-dion (**20**) gegeben und mehrere Tage refluxiert. Nach Beendigung der Reaktion wurde, um überschüssiges **20** zu entfernen mittels DEE gefällt. Der erhaltene Niederschlag wurde zusammen mit etwas DOWEX 1-8-200 Cl⁻ in wenig einer Aceton / Methanol-Mischung (1 : 3) gelöst und über eine Filtersäule mit Methanol eluiert. Das Chloridsalz wurde mit DEE erneut gefällt und der Niederschlag isoliert. Es wurden 150 mg bräunlicher Kristalle erhalten (0.16 mmol, 76 % d. Th.).

DC: MeCN : H₂O : KNO₃ (ges.) 8 : 1 : 1 (R_f: 0.29)

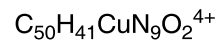
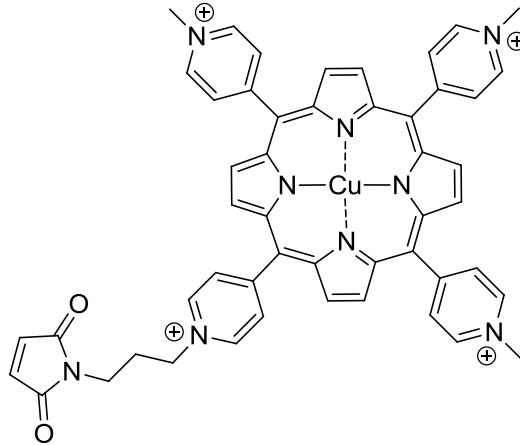
¹H-NMR: (500 MHz, MeOD) δ 9.54 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 9.47 (d, *J* = 6.0 Hz, 6H), 9.19 (d, *J* = 24.9 Hz, 8H), 9.01 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 8.98 (d, *J* = 6.0 Hz, 6H), 7.18 (s, 2H), 4.96 (t, *J* = 8.0 Hz, 2H), 4.72 (s, 9H), 3.77 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.56 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), -3.11 (s, 2H)

¹³C-NMR: (126 MHz, MeOD) δ 171.4, 156.6, 156.2, 144.3, 143.6, 134.9, 132.5, 132.1, 115.9, 58.4, 47.9, 34.3, 30.4

ESI-MS: berechnet für C₅₀H₄₃N₉O₂⁴⁺ m/z 801.93, gefunden m/z 806.3437 [(M+Na)⁺-H₂O]

Die Metallinsertion erfolgte in Anlehnung an die Literatur.^[427]

Kupfer(II)-5-Propyl-1*H*-pyrrol-2,5-dion-10,15,20-trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (26)



M: 863.4634

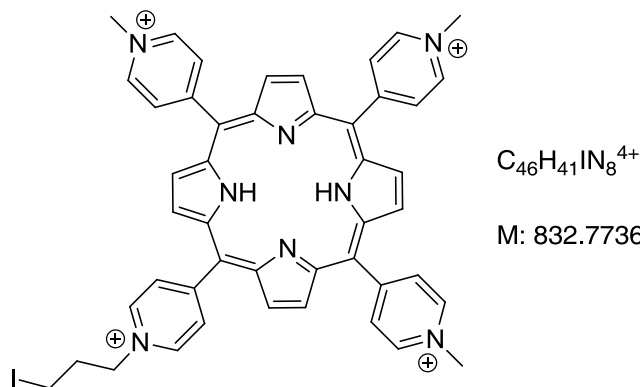
40 mg (28.8 μmol) des maleimidmodifizierten Porphyrins (**23**) als PF_6 -Salz wurden in 2.5 mL DMF gelöst. Dazu wurden 31 mg (156 μmol) $\text{Cu(II)(OAc)}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ gegeben und zwei Stunden bei 80 °C erhitzt. Danach wurde die Lösung mittels DEE gefällt. Der Niederschlag wurde isoliert und mithilfe einer wässrigen NH_4PF_6 -Lösung erneut in das PF_6 -Salz überführt um überschüssige Kupfersalze zu entfernen. Der erhaltene Niederschlag wurde isoliert und zusammen mit etwas DOWEX 1-8-200 *Cl*⁻ in wenig einer Aceton / Methanol-Mischung (1 : 3) gelöst und über eine Filtersäule mit Methanol eluiert. Das Chloridsalz wurde mit DEE erneut gefällt und der Niederschlag isoliert. Es wurden 39 mg (27 μmol , 94 % d. Th.) rötlich violetter Kristalle erhalten.

Die Reaktionskontrolle erfolgte stets durch UV / Vis-Spektroskopie.

ESI-MS: berechnet für $\text{C}_{50}\text{H}_{41}\text{CuN}_9\text{O}_2^{4+}$ m/z 863.46, gefunden m/724.19 [$\text{M}-(\text{C}_7\text{H}_8\text{NO}_2)$]

8.2.4 Synthese des azidmodifizierten tetrakationischen Porphyrins

5-(3-Iodopropyl)-10,15,20-trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (24)



90 mg (72.4 μ mol) des dreifach methylierten Porphyrins (**22**) als PF_6^- -Salz wurden zusammen mit 0.19 mL (1.66 mmol) Diiodpropan in 5 mL DMF gelöst und acht Stunden bei 120 °C erhitzt. Die Lösung wurde vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand mittels FC (MeCN:H₂O:KNO₃ (ges.) 8:1:1) aufgereinigt. Um das überschüssige Salz zu entfernen, wurde eine weitere FC (MeCN:H₂O+ NH₄PF₆ 1:1; pro 10 mL H₂O 0.15 g NH₄PF₆) durchgeführt. Nach Abdampfen des MeCN wurde der Niederschlag mit Eiswasser nachgewaschen und isoliert. Es wurden 70 mg (49.0 μ mol, 68 % d. Th.) purpur schimmernder Kristalle als PF_6^- -Salz erhalten.

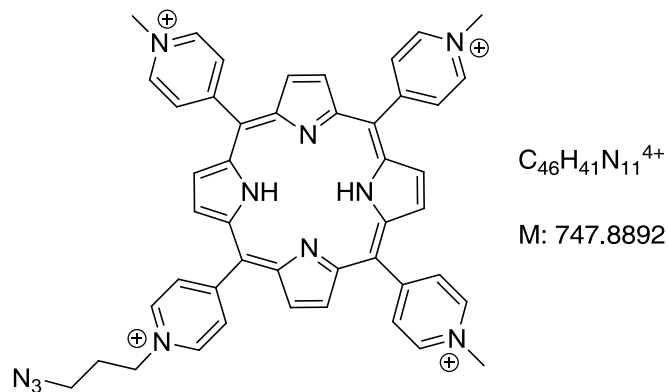
DC: MeCN:H₂O:KNO₃ (ges.) 8:1:1 (R_f: 0.36)

¹H-NMR: (500 MHz, CD₃CN) δ 8.52-9.22 (m, 18H), 8.79 (dd, J = 19.8, 7.0 Hz, 6H), 4.92 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 4.64 (s, 9H), 3.41-3.54 (m, 2H), 2.70-2.86 (d, 2H), -3.10 (s, 2H)

¹³C-NMR: (126 MHz, CD₃CN) δ 159.3, 158.7, 149.5, 145.1, 144.5, 134.2, 133.7, 130.1, 116.7, 63.1, 49.4, 35.5

ESI-MS: berechnet für $C_{46}H_{41}IN_8^{4+}$ m/z 832.77, gefunden m/z 325.74 [(M+PF₆⁻)]³⁺

5-(3-Azidopropyl)-10,15,20-trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (25)



73 mg (52.6 μmol) des Iodoalkylporphyrins (**24**) als PF_6 -Salz und 103 mg (1.58 mmol) Natriumazid wurden zusammen in 5 mL MeCN für sieben Stunden refluxiert. Anschließend wurde **25** mittels DEE präzipitiert. Der Niederschlag wurde in MeOH mit etwas DOWEX 1-8-200 Cl^- aufgenommen und kurz gerührt. Die Lösung wurde vom DOWEX 1-8-200 Cl^- befreit und eingedampft. Um überschüssiges Natriumazid zu entfernen, wurde der Niederschlag in wenig Wasser aufgenommen und mit einer wässrigen NH_4PF_6 -Lösung gefällt. Der Niederschlag wurde isoliert, mit Eiswasser nachgewaschen und getrocknet. Der Rückstand wurde aus Benzol lyophilisiert. Es konnten 62 mg (46.7 μmol , 89 % d. Th.) violetter Kristalle erhalten werden.

DC: MeCN : H_2O : KNO_3 (ges.) 8 : 1 : 1 (R_f : 0.23)

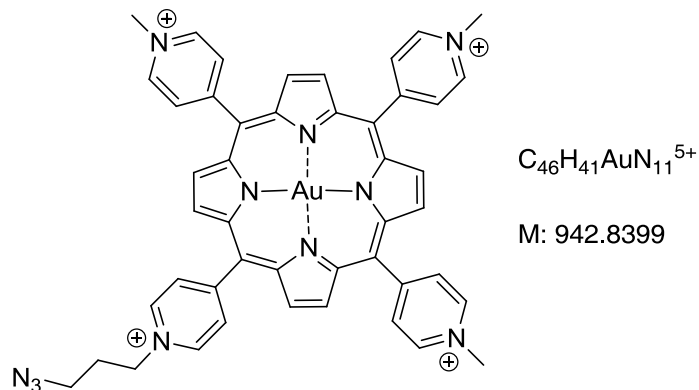
$^1\text{H-NMR}$: (400 MHz, CD_3CN) δ 9.16 (d, $J = 6.2$ Hz, 2H), 9.02 - 9.10 (m, 8H), 8.83 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 8.80 (d, $J = 6.2$ Hz, 8H), 4.96 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 4.67 (s, 9H), 3.74 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.55 (qu, $J = 6.9$ Hz, 2H), -3.08 (s, 2H)

$^{13}\text{C-NMR}$: (101 MHz, CD_3CN) δ 159.1, 158.6, 145.0, 144.4, 134.1, 133.6, 116.6, 116.5, 60.3, 49.3, 31.1

ESI-MS: berechnet für $C_{46}H_{41}N_{11}^{4+}$: m/z 747.89, gefunden: m/z 248.79 $[\text{M-H}]^{3+}$

Die Synthese für **27** orientierte sich an einer Veröffentlichung von HARRIMAN.^[428]

Gold(III) 5-(3-Azidopropyl)-10,15,20-trimethyl-5,10,15,20-tetra(4-pyridyl)porphyrin (27)



50 mg (37.7 μ mol) **25** wurden zusammen mit 0.50 g (11.8 mmol) LiCl in 12.5 mL Wasser und 2.5 mL Pyridin gelöst und auf 80 °C erhitzt. Danach wurde 0.10 g KAu(III)Cl₄ in 5 mL Wasser hinzugegeben und bei 80 °C über Nacht weiter gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde eingedampft und überschüssige Goldsalze mittels Aceton extrahiert. Das Metalloporphyrin wurde mittels Methanol extrahiert, mit etwas DOWEX 1-8-200 Cl⁻ versetzt und kurz gerührt. Die Lösung wurde vom DOWEX 1-8-200 Cl⁻ befreit, nachgewaschen und eingedampft. Es konnten 36 mg (33.2 μ mol, 88 % d. Th.) an rötlich violetten Kristallen erhalten werden.

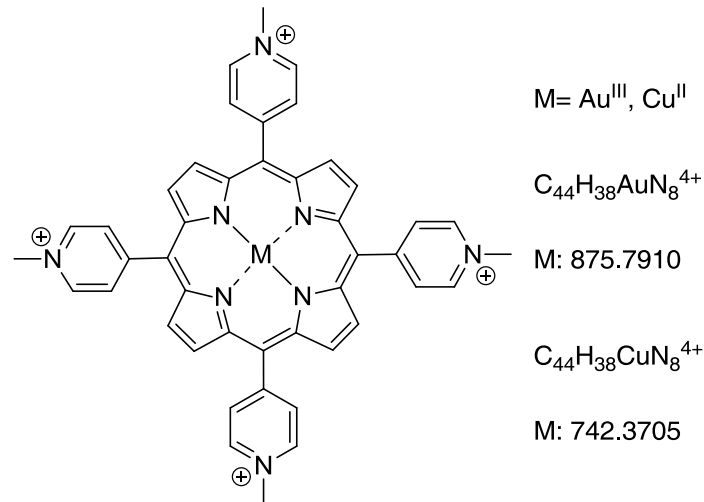
Die Reaktionskontrolle erfolgte stets durch UV/ Vis-Spektroskopie.

ESI-MS: berechnet für C₄₆H₄₁AuN₁₁⁵⁺ m/z 942.84, gefunden m/z 286.09 [M-C₃H₈N₃]³⁺

8.2.5 Darstellung der metallierten TMTPy- Porphyrine

Die Synthese für Au-TMTPyP orientierte sich an einer Veröffentlichung von HARRIMAN.^[428]

Die Darstellung für Cu-TMTPyP erfolgte nach Literaturbedingungen.^[427]



Die Reaktionskontrolle erfolgte stets durch UV / Vis-Spektroskopie.

Um jeweils das Chloridsalz zu erhalten, wurde das metallierte TMTPyP in wenig MeOH gelöst und mit etwas DOWEX 1-8-200 Cl⁻ versetzt und kurz gerührt. Die Lösungen wurden vom DOWEX 1-8-200 Cl⁻ befreit, nachgewaschen und eingedampft.

Die spektroskopischen Daten stimmten mit der Literatur überein.^[427-429]

8.3 Synthese, Charakterisierung und Postmodifikation von Oligonukleotiden

8.3.1 Verwendete Oligonukleotidsequenzen

Im Folgenden sind die Basensequenzen der synthetisierten modifizierten Oligonukleotide, sowie deren molare Extinktionskoeffizienten und ihre MS-Analytik angegeben.

Oligonukleotide für Ladungstransferuntersuchungen

DAP²⁺-modifizierte Oligonukleotide

X = DAP²⁺

DAP-S1	5'-	GCA-GTC-TT X -TTC-ACT-GA	-3'
DAP-S2	5'-	GCA-GTC-TG X -GTC-ACT-GA	-3'
DAP1:	5'-	AGT-CAG-TA X -AAT-GAC-TGA	-3'
DAP2:	5'-	AGT-CAG-TA X -GAT-GAC-TGA	-3'
DAP3:	5'-	AGT-CAG-TA X -AAA-TGA-CTG-A	-3'
DAP4:	5'-	AGT-CAG-TA X -GGA-TGA-CTG-A	-3'
DAP5:	5'-	AGT-CAG-TA X -AAA-ATG-ACT-GA	-3'
DAP6:	5'-	AGT-CAG-TA X -GGG-ATG-ACT-GA	-3'
DAP7:	5'-	AGT-CAG-TA X -AAA-AAT-GAC-TGA	-3'
DAP8:	5'-	AGT-CAG-TA X -GGG-GAT-GAC-TGA	-3'
DAP9:	5'-	AGT-CAG-TA X -AAA-AAA-TGA-CTG-A	-3'
DAP10:	5'-	AGT-CAG-TA X -GGG-GGA-TGA-CTG-A	-3'
DAP11:	5'-	AGT-CAG-TA X -AAA-AAA-ATG-ACT-GA	-3'
DAP12:	5'-	AGT-CAG-TA X -GGG-GGG-ATG-ACT-GA	-3'
DAP13:	5'-	AGT-CAG-TA X -AAA-AAA-AAT-GAC-TGA	-3'
DAP14:	5'-	AGT-CAG-TA X -GGG-GGG-GAT-GAC-TGA	-3'

Tab. XVIII: Tabellarische Übersicht über die DAP²⁺-modifizierte Oligonukleotide.

Oligonukleotid	berechnete Masse [g/mol]	gefundene Masse [g/mol]	ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
DAP-S1	5492.4	2745.7, 5493.8	201.7
DAP-S2	5542.4	2769.1, 5540.2	199.0
DAP1	5886.5	2943.3, 5888.5	207.4
DAP2	5902.5	2952.1, 5903.9	204.0
DAP3	6199.6	3100.3, 6200.5	221.3
DAP4	6231.6	3116.0, 6232.4	214.6
DAP5	6512.6	3256.7, 6513.2	235.1
DAP6	6560.6	3281.3, 6560.9	225.1
DAP7	6826.7	3415.2, 6828.7	248.6
DAP8	6890.7	3447.6, 6892.4	235.6
DAP9	7139.8	3571.6, 7140.2	262.8
DAP10	7219.7	3611.0, 7220.3	246.2
DAP11	7452.8	3727.6, 7452.9	276.7
DAP12	7548.8	3775.3, 7548.6	256.7
DAP13	7765.9	3884.8, 7766.5	290.5
DAP14	7877.9	3941.2, 7878.4	267.2

DIMAP-modifizierte Oligonukleotide

Y = DIMAPdU, Z = DIMAPbs

DIMAP1:	5'-	TCA-GTC-AYT-ATA-CTG-ACT	-3'
DIMAP2:	5'-	TCA-GTC-AYC-ATA-CTG-ACT	-3'
DIMAP3:	5'-	TCA-GTC-AYT-TAT-ACT-GAC-T	-3'
DIMAP4:	5'-	TCA-GTC-AYC-CAT-ACT-GAC-T	-3'
DIMAP5:	5'-	TCA-GTC-AYT-TTA-TAC-TGA-CT	-3'
DIMAP6:	5'-	TCA-GTC-AYC-CCA-TAC-TGA-CT	-3'
DIMAP7:	5'-	TCA-GTC-AYT-TTT-ATA-CTG-ACT	-3'
DIMAP8:	5'-	TCA-GTC-AYC-CCC-ATA-CTG-ACT	-3'
DIMAP9:	5'-	TCA-GTC-AYT-TTT-TAT-ACT-GAC-T	-3'
DIMAP10:	5'-	TCA-GTC-AYC-CCC-CAT-ACT-GAC-T	-3'
DIMAP11:	5'-	TCA-GTC-AYT-TTT-TTA-TAC-TGA-CT	-3'

Experimenteller Teil

DIMAP12:	5'-	TCA-GTC-AYC-CCC-CCA-TAC-TGA-CT	-3'
DIMAP13:	5'-	TCA-GTC-AYT-TTT-TTT-ATA-CTG-ACT	-3'
DIMAP14:	5'-	TCA-GTC-AYC-CCC-CCC-ATA-CTG-ACT	-3'
DIMAP15:	5'-	TCA-GTC-AZT-ATA-CTG-ACT	-3'
DIMAP16:	5'-	TCA-GTC-AZC-ATA-CTG-ACT	-3'
DIMAP17:	5'-	TCA-GTC-AZT-TAT-ACT-GAC-T	-3'
DIMAP18:	5'-	TCA-GTC-AZC-CAT-ACT-GAC-T	-3'
DIMAP19:	5'-	TCA-GTC-AZT-TTA-TAC-TGA-CT	-3'
DIMAP20:	5'-	TCA-GTC-AZC-CCA-TAC-TGA-CT	-3'

Tab. XIX: Tabellarische Übersicht über die DIMAP-modifizierten Oligonukleotide.

Oligonukleotid	berechnete Masse	gefundene Masse	ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
	[g/mol]	[g/mol]	
DIMAP1	5675.4	2838.7, 5678.2	207.4
DIMAP2	5660.4	2831.2, 5662.4	204.0
DIMAP3	5979.4	2991.3, 5981.3	221.3
DIMAP4	5949.4	2975.7, 5950.9	214.6
DIMAP5	6283.5	3143.4, 6285.3	235.1
DIMAP6	5238.5	3120.6, 6240.7	225.1
DIMAP7	6587.5	3294.0, 6587.8	224.1
DIMAP8	6527.5	3265.0, 6528.1	218.7
DIMAP9	6891.6	3445.4, 6890.9	232.0
DIMAP10	6816.6	3408.5, 6817.2	225.3
DIMAP11	7195.6	3597.8, 7195.4	240.0
DIMAP12	7105.6	3553.8, 7106.0	231.9
DIMAP13	7499.7	3749.4, 7498.8	247.9
DIMAP14	7394.7	3698.2, 7394.5	238.4
DIMAP15	5566.3	2784.9, 5569.9	174.2
DIMAP16	5551.3	2776.5, 5553.3	172.8
DIMAP17	5870.4	2935.9, 5872.6	182.1
DIMAP18	5840.4	2920.5, 5842.0	179.4
DIMAP19	6174.4	3090.0, 6177.4	190.0
DIMAP20	6129.4	3065.5, 6131.3	185.9

DAP²⁺/DIMAPdU-modifizierte Oligonukleotide **X** = DAP²⁺, **Y** = DIMAPdU, **H** = HEG

DD1: 5'- GCA-GTG-CAX-GTG-ACG-HGC-AGT-GCA-YGT-GAC-G -3'

DD2: 5'- GCA-GTG-CAT-GTG-ACG-HGC-AGT-GCA-YGT-GAC-G -3'

DD3: 5'- GCA-GTG-CAX-GTG-ACG-HGC-AGT-GCA-TGT-GAC-G -3'

Tab. XX: Tabellarische Übersicht über die DAP²⁺-DIMAPdU modifizierten Oligonukleotide.

Oligonukleotid	berechnete Masse [g/mol]	gefundene Masse [g/mol]	ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
DD1	10240.2	5119.6, 10238.2	340.0
DD2	9897.3	9892.3	324.7
DD3	10011.4	5004.5, 10009.2	311.9

terpyridinmodifizierte Oligonukleotide **tpy** = 2,2':6',2''-Terpyridin-2'-dU

tpy1: 5'- CGT-CAC-AtpyG-CAC-TGC -3'

Tab. XXI: Eigenschaften des tpy-modifizierten Oligonukleotids.

Oligonukleotid	berechnete Masse [g/mol]	gefundene Masse [g/mol]	ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
Tpy1	4752.2	2409.5, 4817.5 (+Cu)	144.3

porphyrinmodifizierte Oligonukleotide

porphyrinmodifizierte Oligonukleotide mittels Diels- Alder Cycloaddition

fP-DNA1: 5'- GCA-GTC-TTfP-TTC-ACT-GA -3' **fP** = fU mit 23

Cu fP-DNA1: 5'- GCA-GTC-TTfP-TTC-ACT-GA -3'

Tab. XXII: Tabellarische Übersicht über die porphyrinmodifizierte Oligonukleotide mittels DACA.

Oligonukleotid	berechnete Masse [g/mol]	gefundene Masse [g/mol]	ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
fP-DNA1	6088.1	3043.9, 6089.0	166.7
Cu-fP-DNA1	6149.6	3074.4, 6148.0	180.0

porphyrinmodifizierte Oligonukleotide mittels CuAAC- „Klick“ Reaktion

Au kP-DNA1: 5'- GCA-GTC-TT**kP**-TTC-ACT-GA -3' **kP = kU mit 25**

Cu kP-DNA1: 5'- GCA-GTC-TT**kP**-TTC-ACT-GA -3'

Tab. XXIII: Tabellarische Übersicht über die porphyrinmodifizierte Oligonukleotide mittels CuAAC.

Oligonukleotid	berechnete Masse [g/mol]	gefundene Masse [g/mol]	ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
Au-kP-DNA1	6131.9	3067.1, 6131.7	176.4
Cu-kP-DNA1	5998.5	3001.6, 6000.4	179.5

8.3.2 Kupplungsprotokolle

Kupplungsprotokolle dienen zur Programmierung der einzelnen Kupplungsschritte während der automatisierten DNA-Festphasensynthese. Dabei lassen sich die zu fördernde Substanz, die Anzahl der Förderschritte (Pulse) und die Verweildauer genau einstellen. Der EXPEDITE 8909 NUCLEIC ACID SYNTHESIZER fördert die einzelnen Lösungen in 16 μ L-Schritten aus ihren Reservoirs über die installierte CPG-Säule. Eine Verweildauer von 0 s bedeutet eine schnellst mögliches Durchlaufen des Einzelschrittes ohne zusätzlicher Reaktionszeit auf der CPG-Säule. Kommerziell erhältliche Phosphoramidite wurden nach einem Standardprotokoll in Oligonukleotide eingebaut. Ein Kupplungsprotokoll für die Standardbasen A, C, G und T ist beispielhaft in folgender Tabelle (vgl. Tab. XXIV) gegeben.

Tab. XXIV: Standardprotokoll zur Kupplung der natürlichen Phosphoramidite von A, G, C, T. Erläuterungen: Dblk: 3 % Dichloressigsäure in Dichlormethan, Wsh: Acetonitril, Act: 0.45 M Tetrazol in Acetonitril, Caps: Acetanhydrid in THF/Pyridin (Cap A), N-Methylimidazol in THF/Pyridin (Cap B) Ox: Iod in Wasser/THF/Pyridin.

Codierung	Funktion	Modus	Menge	Zeit
\$Deblocking				
144	Index Fract. Coll.	NA	1	0
0	Default	WAIT	0	1.5
141	Trityl Mon. On/Off	NA	1	1
16	Dblk	PULSE	10	0
16	Dblk	PULSE	50	49
38	Diverted Wsh A	PULSE	40	0
141	Trityl Mon. On/Off	NA	0	1
38	Diverted Wsh A	PULSE	40	0
144	Index Fract. Coll.	NA	2	0
\$Coupling				
1	Wsh	PULSE	5	0
2	Act	PULSE	5	0
21	B + Act	PULSE	6	0
21	B + Act	PULSE	1	8
2	Act	PULSE	4	32
1	Wsh	PULSE	7	56
1	Wsh	PULSE	8	0
\$Capping				
12	Wsh A	PULSE	20	0
13	Caps	PULSE	12	0
12	Wsh A	PULSE	6	22
12	Wsh A	PULSE	14	0
\$Oxidizing				
15	Ox	PULSE	15	0
12	Wsh A	PULSE	15	0
\$Capping				
13	Caps	PULSE	7	0
12	Wsh A	PULSE	30	0

Artifizielle Basen wurden als 0.1 M Lösungen in absolutem MeCN gelöst und in den DNA Synthesizer eingebracht. Die Kupplungsprotokolle wurden dabei nur im Bereich „\$Coupling“ verändert. Im Folgenden werden die veränderten Fördermengen und Kupplungszeiten für die Sonderbausteine aufgezeigt. X bezeichnet jeweils den Sonderbaustein.

2'-O-Propargyluridin (kU)

Tab. XXV: Der veränderte Kupplungsschritt für 2'-O-Propargyluridin.

\$Coupling				
1	Wsh	PULSE	5	0
2	Act	PULSE	5	0
21	X + Act	PULSE	5	0
21	X + Act	PULSE	2	84
2	Act	PULSE	4	84
1	Wsh	PULSE	7	56
1	Wsh	PULSE	8	0

DIMAPdU

Tab. XXVI: Die veränderten Kupplungsparameter für DIMAPdU.

\$Coupling				
1	Wsh	PULSE	5	0
2	Act	PULSE	5	0
21	X + Act	PULSE	6	0
21	X + Act	PULSE	3	120
2	Act	PULSE	4	180
1	Wsh	PULSE	7	180
1	Wsh	PULSE	8	0

DIMAPbs

Tab. XXVII: Die veränderten Kupplungseinstellungen für DIMAPbs.

\$Coupling				
1	Wsh	PULSE	5	0
2	Act	PULSE	5	0
21	X + Act	PULSE	6	0
21	X + Act	PULSE	3	120
2	Act	PULSE	4	180
1	Wsh	PULSE	7	180
1	Wsh	PULSE	8	0

fU

Tab. XXVIII: fU wurde nach folgenden Kupplungsbedingungen in DNA eingebracht.

\$Coupling				
1	Wsh	PULSE	5	0
2	Act	PULSE	5	0
21	X + Act	PULSE	5	0
21	X + Act	PULSE	3	900
2	Act	PULSE	7	900
1	Wsh	PULSE	7	300
1	Wsh	PULSE	8	0

HEG

Tab. XXIX: Der HEG- Linker wurde nach folgenden Parametern in DNA eingebracht.

\$Coupling				
1	Wsh	PULSE	5	0
2	Act	PULSE	5	0
21	X + Act	PULSE	5	0
21	X + Act	PULSE	3	300
2	Act	PULSE	7	300
1	Wsh	PULSE	7	56
1	Wsh	PULSE	8	0

8.3.3 Aufarbeitung und Reinigung von Oligonukleotiden

Nach erfolgter Festphasensynthese wurden die CPG-Säulen im Hochvakuum getrocknet und anschließend geöffnet. Das CPG-Granulat wurde in ein EPPENDORF-Gefäß überführt und mit 700 μ L konzentrierter Ammoniumhydroxid-Lösung (>25 %, *traceSELECT*, FLUKA) inkubiert. Die Oligonukleotide wurden bei 55 °C für 15 h vollständig entschützt und von der festen Phase abgespalten. Nach dem Abkühlen wurde an einem Vakuumkonzentrator CHRIST ALPHA RVC (35 min., Heizung 30 min., 35 °C, 100 mbar) Ammoniak abgedampft. Der Überstand wurde abgenommen und das CPG zweimal mit jeweils 300 μ L MILLIPORE-Wasser nachgewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden in flüssigen Stickstoff tiefgefroren und lyophilisiert.

Zur Reinigung mittels REVERSED-PHASE-HPLC wurden die Oligonukleotide in 300 μ L MILLIPORE-Wasser aufgenommen. Oligonukleotide die postsynthetisch modifiziert wurden, wurden zunächst über eine ILLUSTRAPTM-5-Säule der Firma GE HEALTHCARE entsalzt. Oligonukleotide, die nach erfolgter Festphasensynthese noch mit einer 5'-DMTr-Schutzgruppe versehen waren, wurden über eine GLENPAKTM-Säule vorgereinigt. Ebenso wurden Metallsalze mittels GLENPAKTM Säulen von modifizierten Oligonukleotiden abgetrennt.

Zur Analytik und semipräparativen HPLC-Trennungen wurden folgende HPLC-Säulen, Laufmittelgradienten und Detektionswellenlängen verwendet:

Tab. XXX: Übersicht über die verwendeten Bedingungen für die Aufreinigung modifizierter Oligonukleotide.

Sequenzen	Modifikation	HPLC- Säule	Gradient	Detektion
DAP1-DAP14	DAP ²⁺	SUPELCOSIL TM LC-318	0-15 % MeCN (60 min)	$\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm},$ 339 nm, 418 nm
DIMAP1-DIMAP20	DIMAPdU	SUPELCOSIL TM LC-318	0-15 % MeCN (60 min)	$\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm},$ 358 nm
	DIMAPbs			
DD1-DD3	DAP ²⁺	SUPELCOSIL TM LC-318	0-15 % MeCN (60 min)	$\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm},$ 358 nm, 418 nm
	DIMAPdU			
M- β P- DNA1	β P	DISCOVERY [®] BIO	5-12 % MeCN	$\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm},$
		WIDE PORE C18-5	(60 min)	435 nm
M- k P- DNA1	k P	DISCOVERY [®] BIO	5-12 % MeCN	$\lambda_{\text{abs}} = 260 \text{ nm},$
		WIDE PORE C18-5	(60 min)	435 nm

8.3.4 Postsynthetische DNA-Modifikation

8.3.4.1 Kupfer-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition („Klick“- Reaktion)

DAP²⁺-modifizierte Oligonukleotide

Nach der Abspaltung vom CPG wurden die gefriergetrockneten DNA-Oligonukleotide mit je 34 μL (3.40 μmol) TBTA-Lösung (0.1 M in DMSO:*t*BuOH 3:1), 17 μL (1.70 μmol) Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)-hexafluorophosphat-Lösung (0.1 M in DMSO:*t*BuOH 3:1) und 228 μL (1.14 μmol) einer Azidlösung (5 mM in DMSO:H₂O 1:1) versetzt und 18 Stunden bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wurde die Reaktionslösung zur Trockene eingedampft (40 °C, 0.1 mbar) und der Rückstand in 100 μL 5 mM Ammoniumacetat-Puffer aufgenommen. Die DNA wurde durch Zugabe von 1 mL Ethanol bei -38 °C für 18 h gefällt. Nach Zentrifugation (15 min bei 13 000 rpm) wurde das Pellet mit 700 μL 70%-igen EtOH nachgewaschen und der Überstand abgenommen. Der Rückstand wurde in 500 μL Wasser aufgenommen.

Um die Oligonukleotide von überschüssigen Kupfersalzen zu befreien, wurden die Oligonukleotidlösungen vor der HPLC-Reinigung mittels ILLUSTRAPTM-5-Säulen entsalzt. Dazu wurden die Säulen zunächst mit 10 mL Ammoniumacetat-Puffer (5 mM) äquilibriert. Die DNA-Lösungen wurden aufgetragen und anschließend mit je 1 mL des Puffers eluiert. Die erhaltenen Fraktionen wurden schockgefroren und lyophilisiert.

porphyrinmodifizierte Oligonukleotide

Für die Postsynthese mit tetrakationischen Porphyrinen wurden 5'-DMTr-geschützte Oligonukleotide verwendet. Nach dem Abspalten vom CPG wurden zum Lyophilisat je 34 μL (3.40 μmol) TBTA-Lösung (0.1 M in DMSO:*t*BuOH 3:1), 17 μL (1.70 μmol) Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)-hexafluorophosphat-Lösung (0.1 M in DMSO:*t*BuOH 3:1), 25 μL (10 μmol) Natriumascorbat-Lösung (0.4 M in H₂O) und 114 μL (1.14 μmol) der entsprechenden metallierten Azidlösung (**Au-25**, 10 mM in DMSO:H₂O 1:1) versetzt und 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt.

Um kupfermodifizierte Oligonukleotide zu erhalten, wurden 114 μL einer unmetallierten Azidlösung (**25**, 10 mM in DMSO:H₂O 1:1) verwendet und die Menge an Klickreagenzien

angepasst. Es wurden 60 μL (6.00 μmol) TBTA-Lösung (0.1 M in $\text{DMSO} : t\text{BuOH}$ 3 : 1), 30 μL (3.00 μmol) Tetrakis(acetonitril)kupfer(I)-hexafluorophosphat-Lösung (0.1 M in $\text{DMSO} : t\text{BuOH}$ 3 : 1) und 44 μL (17.6 μmol) Natriumascorbat-Lösung (0.4 M in H_2O) zum Lyophilisat gegeben.

Die Reaktionsmischung wurde 18 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Anschließend wurde das Lösungsmittel eingedampft (40 $^\circ\text{C}$, 0.1 mbar) und der Rückstand in 100 μL 5 mM Ammoniumacetat-Puffer aufgenommen. Die DNA wurde durch Zugabe von 1 mL Ethanol bei -38 $^\circ\text{C}$ für 18 h gefällt. Nach Zentrifugation (15 min bei 13 000 rpm) wurde das Pellet mit 700 μL 70%-igen EtOH nachgewaschen und der Überstand abgenommen. Das Pellet wurde in 500 μL einer Kochsalz-Lösung (50 mg / mL) aufgenommen und über eine GLENPAKTM-Säule aufgereinigt.^[421]

Dazu wurde die GLENPAKTM-Säule zunächst mit 0.5 mL MeCN und anschließend mit 1 mL TEAA (2 M) äquilibriert. Die gelöste DNA-Lösung wurde aufgetragen und mithilfe einer Einmalspritze durchgedrückt. Anschließend wurden Fehlsequenzen mit 2 mL SALT WASH SOLUTION (5% MeCN in 100 mg / mL NaCl-Lösung) von der Säule gewaschen. Mittels 2 mL 2 %-iger TFA wurde die finale DMTr-Schutzgruppe abgespalten und mit 2 mL MILLIPORE-Wasser entfernt. Die entschützten Oligonukleotide wurden mit 1 mL 50%-igen MeCN, welches zusätzlich 0.5% NH_4OH enthielt, eluiert. Die erhaltene Fraktion wurde schockgefroren und lyophilisiert.

8.3.4.2 DIELS-ALDER-Cycloaddition

Für die DIELS-ALDER-Cycloaddition wurden bereits HPLC-gereinigte Oligonukleotide eingesetzt. Ein Äquivalent an *f*U-DNA wurde zusammen mit drei Äquivalenten Porphyrinlösung (**23** als Chloridsalz, in H_2O) in 25 mM NaP_i -Puffer für 18 h bei 55 $^\circ\text{C}$ inkubiert. Die Lösung wurde auf ca. 300 μL eingedampft.

8.3.4.3 Metallinsertion

Die Metallinsertion in porphyrinmodifizierte Oligonukleotide erfolgte in Analogie zur Literatur.^[418]

Die DNA-Lösung (4 nmol) wurde mit 2 μ mol (500 eq.) einer wässrigen Metallsalz-Lösung (CuCl_2 , KAuCl_4) versetzt und 1 min mit Argon überschichtet. Die Reaktionslösung wurde 6 min bei 85 °C im Heizblock temperiert. Anschließend wurde die Probe auf Raumtemperatur abgekühlt und mit 300 μ L einer 0.5 M EDTA-Lösung (pH 8, 75 eq. bzgl. M) 15 min lang inkubiert. Die Probe wurde auf eine vorher konditionierte GLENPAK™-Säule (0.5 mL MeCN, 1 mL 0.1 M TEAA) aufgetragen. Zunächst wurde mit 3 mL TEAA (0.1 M) gewaschen und anschließend zweimal mit 1 mL MeCN / H_2O (1:1) eluiert. Die erhaltenen Fraktionen wurden lyophilisiert.

8.3.5 Vorgehensweisen bei Messungen

8.3.5.1 Titrationsexperimente

Für die Titrationsexperimente wurden entweder Einzel- oder Doppelstränge verwendet. Als Porphyrinquelle dienten wässrige Stammlösungen der entsprechenden Porphyrine. Die Konzentration dieser wurde mittels UV / Vis-Spektroskopie bestimmt. Es wurde immer zu einer konstanten 2.5 μ M Lösung titriert. Pro Schritt wurden 4 μ L der Titrationslösung zugesetzt, was 0.2 eq. (0.5 mol) der vorgelegten Lösung entsprach. Zwischen den einzelnen Schritten wurde jeweils fünf Minuten gewartet. Die Titrationsexperimente erfolgten stets bei 20 °C.

8.3.5.2 Komplexierungsexperimente

Für die Versuche zum photoinduzierten Interstrang-Ladungstransfer wurden frisch bereitete Salzlösungen der entsprechenden Metalle (Cu(II) , Fe(II) , Ni(II) , Zn(II)) hergestellt. Zunächst wurden die entsprechenden Mengen an Oligonukleotiden zusammen mit 62.5 μ L NaCl-Lösung (4 M), 100 μ L NaP_i -Puffer (100 mM) und 100 μ L entionisiertes Wasser hybridisiert. Danach wurden 1.1 Äquivalente der Metall- bzw. EDTA-Lösung hinzugegeben und 4 h

gewartet. Zuletzt wurde auf das Endvolumen mit entionisiertem Wasser aufgefüllt und die Proben vermessen.

8.3.6 Charakterisierung der Hybridisierung der Oligonukleotide

HPLC-gereinigte Oligonukleotide wurden mittels Massenspektrometrie (MALDI-TOF) untersucht und entsprechend vereinigt. Als Matrix wurde entweder eine Mischung aus Diammoniumcitrat (0.1 M in Wasser) und 2,4,6-Trihydroxyacetophenon (THAP, 0.3 M in Ethanol) im Volumenverhältnis 1:2 oder 3-Hydroxypicolinsäure (3-HPA, ges. Lösung in 50 % MeCN) und Diammoniumcitrat (0.1 M in Wasser) im Volumenverhältnis 9:1 verwendet.

Die Konzentrationen der Oligonukleotide wurden über das LAMBERT-BEERSche-Gesetz mittels der optischen Dichte bei $\lambda = 260$ nm an einem ND-1000 Spectrophotometer von NANODROP TECHNOLOGIES bestimmt.^[430] Dabei kann der Extinktionskoeffizient ϵ_{260} eines unmodifizierten Oligonukleotids durch folgende Formel berechnet werden:

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

Hierbei steht A, G, C, T für die entsprechende Anzahl der Nukleobasen. Der Faktor 0.9 berücksichtigt die Hypochromizität. ϵ beschreibt die Extinktionskoeffizienten der einzelnen DNA-Basen bei $\lambda = 260$ nm. Für die entsprechenden modifizierten Oligonukleotide muss zur Konzentrationsbestimmung der Extinktionskoeffizient der Modifikation addiert werden.

Tab. XXXI: Die Extinktionskoeffizienten der natürlichen und der artifiziellen Nukleoside bei $\lambda = 260$ nm.

natürliche Nukleoside	Extinktionskoeffizient ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]	artifizielle Nukleoside	Extinktionskoeffizient ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹]
A	15.4	DAP ²⁺	24.4
C	7.3	DIMAPdU	36.2
G	11.7	DIMAPbs	10.1
T	8.8	fU	8.6
		Au-kP	19.3
		Cu-kP	22.4
		fP	11.1
		Cu-fP	24.4

Zur Hybridisierung zweier komplementärer modifizierter Oligonukleotide wurde jeweils ein Äquivalent der Einzelstränge in 10 mM Natriumphosphatpuffer (NaP_i) und 250 mM NaCl für 10 min auf 90 °C erhitzt und anschließend langsam auf Raumtemperatur abgekühlt. Im Falle der Hybridisierung mit einem komplementären unmodifizierten Gegenstrang wurde in einem Verhältnis von 1 : 1.2 hybridisiert.

9. Literaturverzeichnis

- [1] A. Toffler, *Der Zukunftsschock : Strategien für d. Welt von morgen*, Goldmann, München, **1983**.
- [2] A. Toffler, *Die dritte Welle, Zukunftschance : Perspektiven für d. Gesellschaft d. 21. Jh.*, Goldmann, München, **1983**.
- [3] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, *171*, 737-738.
- [4] N. Goldman, P. Bertone, S. Chen, C. Dessimoz, E. M. LeProust, B. Sipos, E. Birney, *Nature* **2013**, *494*, 77-80.
- [5] J. Bonnet, M. Colotte, D. Coudy, V. Couallier, J. Portier, B. Morin, S. Tuffet, *Nucleic Acids Res.* **2010**, *38*, 1531.
- [6] T. J. Anchordoquy, M. C. Molina, *Cell Preserv. Technol.* **2007**, *5*, 180.
- [7] F. D. Lewis, R. L. Letsinger, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, *3*, 215-221.
- [8] F. D. Lewis, L. Zhang, R. F. Kelley, D. McCamant, M. R. Wasielewski, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3457-3464.
- [9] S. H. Weisbrod, A. Marx, *Chem. Commun.* **2008**, 5675-5685.
- [10] E. M. Sletten, C. R. Bertozzi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6974-6699.
- [11] C. P. Ramil, Q. Lin, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 11007-11022.
- [12] S. B. Rajur, C. M. Roth, J. R. Morgan, M. L. Yarmush, *Bioconjugate Chem.* **1997**, *8*, 935-940.
- [13] D. S. Jones, P. A. Barstad, M. J. Feild, J. P. Hachmann, M. S. Hayag, K. W. Hill, G. M. Iverson, D. A. Livingston, M. S. Palanki, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 2138-2144.
- [14] D. S. Jones, J. P. Hachmann, S. A. Osgood, M. S. Hayag, P. A. Barstad, G. M. Iverson, S. M. Coutts, *Bioconjugate Chem.* **1994**, *5*, 390-399.
- [15] S. S. Ghosh, P. M. Kao, A. W. McCue, H. L. Chappelle, *Bioconjugate Chem.* **1990**, *1*, 71-76.
- [16] B. Bornemann, S.-P. Liu, A. Erbe, E. Scheer, A. Marx, *ChemPhysChem* **2008**, *9*, 1241-1244.
- [17] O. Diels, K. Alder, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1928**, *460*, 98-122.
- [18] D. C. Rideout, R. Breslow, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7816-7817.
- [19] S. Otto, F. Bertocin, J. B. F. N. Engberts, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7702-7707.
- [20] D. Graham, A. Enright, *Curr. Org. Synth.* **2006**, *3*, 9-17.
- [21] K. Maeda, C. Finnie, B. Svensson, *Biochem. J.* **2004**, *378*, 497-507.

- [22] O. H. Griffith, H. M. McConnell, *Proc. Natl. Sci. U.S.A.* **1966**, *55*, 8-11.
- [23] B. de Bruin, B. Kuhnast, F. Hinnen, L. Yaouancq, M. Amessou, L. Johannes, A. Samson, R. Boisgard, B. Tavitian, F. Dollé, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 406-420.
- [24] K. Di Gleria, H. A. O. Hill, L. L. Wong, *FEBS Lett.* **1996**, *390*, 142-144.
- [25] B. Seelig, A. Jäschke, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, 167-176.
- [26] T. M. Tarasow, S. L. Tarasow, B. E. Eaton, *Nature* **1997**, *389*, 54-57.
- [27] K. W. Hill, J. Taunton-Rigby, J. D. Carter, E. Kropp, K. Vagle, W. Pieken, D. P. C. McGee, G. M. Husar, M. Leuck, D. J. Anziano, D. P. Sebesta, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5352-5358.
- [28] D. Graham, A. Grondin, C. McHugh, L. Fruk, W. E. Smith, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4785-4788.
- [29] K. Stevens, A. Madder, *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids* **2007**, *26*, 1359-1362.
- [30] E. Anderson, D. Picken, *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids* **2005**, *24*, 761-765.
- [31] R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1962**, *2*, 565-598.
- [32] L. W. Hartzel, F. R. Benson, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, *76*, 667-670.
- [33] V. V. Rostovstev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
- [34] C. W. Tornoe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
- [35] F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V. V. Rostovtsev, L. Noodleman, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *127*, 210-216.
- [36] V. O. Rodionov, S. I. Presolski, D. Díaz Díaz, V. V. Fokin, M. G. Finn, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12705-12712.
- [37] T. R. Chan, R. Hilgraf, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 2853-2855.
- [38] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- [39] F. Wolbers, P. ter Braak, S. Le Gac, R. Luttmann, H. Andersson, I. Vermes, A. van den Berg, *Electrophoresis* **2006**, *27*, 5073-5080.
- [40] N. J. Agard, J. M. Baskin, J. A. Prescher, A. Lo, C. R. Bertozzi, *ACS Chem. Biol.* **2006**, *1*, 644-648.
- [41] J. A. Codelli, J. M. Baskin, N. J. Agard, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11486-11493.
- [42] E. M. Sletten, C. R. Bertozzi, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3097-3099.
- [43] N. J. Agard, J. A. Prescher, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15046-15047.
- [44] J. Dommerholt, S. Schmidt, R. Temming, L. J. A. Hendriks, F. P. J. T. Rutjes, J. C. M. van Hest, D. J. Lefeber, P. Friedl, F. L. van Delft, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9422-9425.

- [45] X. Ning, J. Guo, M. A. Wolfert, G.-J. Boons, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2253-2255.
- [46] E. M. Sletten, H. Nakamura, J. C. Jewett, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 11799-11805.
- [47] B. R. Varga, M. Kallay, K. Hegyi, S. Beni, P. Kele, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 822-828.
- [48] M. F. Debets, S. S. van Berkel, S. Schoffelen, F. P. J. T. Rutjes, J. C. M. van Hest, F. L. van Delft, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 97-99.
- [49] J. C. Jewett, E. M. Sletten, C. R. Bertozzi, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3688-3690.
- [50] G. de Almeida, E. M. Sletten, H. Nakamura, K. K. Palaniappan, C. R. Bertozzi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2443-2447.
- [51] D. D. Eley, R. B. Leslie, *Nature* **1963**, *197*, 898.
- [52] S. Priyadarshy, S. M. Risser, D. N. Beratan, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 17678-17682.
- [53] N. J. Turro, J. K. Barton, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1998**, *3*, 201-209.
- [54] Y. A. Berlin, A. L. Burin, M. A. Ratner, *Superlattices Microstructures* **2000**, *28*, 241-252.
- [55] R. L. Letsinger, V. Mahadevan, *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 3526-3527.
- [56] S. L. Beaucage, M. H. Caruthers, *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 1859-1862.
- [57] 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, *Meth. Enzymol.* **1987**, *154*, 287-313.
- [58] C. J. Murphy, M. R. Arkin, Y. Jenkins, N. D. Ghatlia, S. H. Bossmann, N. J. Turro, J. K. Barton, *Science* **1993**, *262*, 1025-1029.
- [59] B. Giese, *Annu. Rev. Biochem.* **2002**, *71*, 51-70.
- [60] H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2454-2460.
- [61] M. E. Núñez, D. B. Hall, J. K. Barton, *Chem. Biol.* **1999**, *6*, 85-97.
- [62] P. T. Henderson, D. Jones, G. Hampikian, Y. Kan, G. B. Schuster, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 8353-8358.
- [63] P. O'Neill, M. Fielden, *Adv. Radiation Biol.* **1993**, *17*, 53-120.
- [64] J. H. J. Hoeijmakers, *Nature* **2001**, *411*, 366-374.
- [65] D. Wang, D. A. Kreutzer, J. M. Essigmann, *Mutation Res.* **1998**, *400*, 99-115.
- [66] J. Jortner, M. Bixon, T. Langenbacher, M. Michel-Beyerle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 12759-12765.
- [67] F. D. Lewis, H. Zhu, P. Daublain, T. Fiebig, M. Raytchev, Q. Wang, V. Shafirovich, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 791-800.
- [68] R. A. Marcus, N. Sutin, *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, *811*, 265-322.
- [69] Y. A. Berlin, F. C. Grozema, L. D. A. Siebbeles, M. A. Ratner, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 10988-11000.

- [70] L. Valis, Q. Wang, M. Raytchev, I. Buchvarov, H.-A. Wagenknecht, T. Fiebig, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 10192-10195.
- [71] R. E. Holmlin, P. J. Dandliker, J. K. Barton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, *36*, 2714-2730.
- [72] M. A. O'Neill, J. K. Barton, *Top. Curr. Chem.* **2004**, *236*, 67-115.
- [73] M. A. O'Neill, J. K. Barton, in *Charge Transfer in DNA - From Mechanism to Application* (Ed.: H.-A. Wagenknecht), Wiley-VCH, Weinheim, **2005**, pp. 27-76.
- [74] E. Meggers, M. E. Michel-Beyerle, B. Giese, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12950-12955.
- [75] F. D. Lewis, X. Liu, J. Liu, S. E. Miller, R. T. Hayes, M. R. Wasielewski, *Nature* **2000**, *406*, 51-53.
- [76] C. A. M. Seidel, A. Schulz, M. H. M. Sauer, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 5541-5553.
- [77] S. Steenken, S. V. Jovanovic, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 617-618.
- [78] B. Giese, M. Spichy, *ChemPhysChem* **2000**, *1*, 195-198.
- [79] B. Giese, J. Amaudrut, A.-K. Köhler, M. Spormann, S. Wessely, *Nature* **2001**, *412*, 318-320.
- [80] T. Takada, K. Kawai, X. Cai, A. Sugimoto, M. Fujitsuka, T. Majima, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1125-1129.
- [81] S. Steenken, *Free Rad. Res. Comms.* **1992**, *16*, 349-379.
- [82] S. Steenken, J. P. Telo, H. M. Novais, L. P. Candeias, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 4701-4709.
- [83] P. Kaden, E. Mayer-Enthart, A. Trifonov, T. Fiebig, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 1637-1639.
- [84] M. Raytchev, E. Mayer, N. Amann, H.-A. Wagenknecht, T. Fiebig, *ChemPhysChem* **2004**, *5*, 706-712.
- [85] C. Wagner, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 1871-1876.
- [86] R. Huber, T. Fiebig, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2003**, 1878-1879.
- [87] R. G. Endres, D. L. Cox, R. R. P. Singh, *Rev. Mod. Phys.* **2004**, *76*, 195-214.
- [88] F. Chen, J. Hihath, Z. F. Huang, X. L. Li, N. J. Tao, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **2007**, *58*, 535-564.
- [89] K. H. Müller, *Phys. Rev. B* **2006**, *73*, 45403.
- [90] S. O. Kelley, J. K. Barton, *Science* **1999**, *283*, 375-381.
- [91] K. E. Augustyn, J. C. Genereux, J. K. Barton, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5731-5733.
- [92] A. A. Gorodetsky, O. Green, E. Yavin, J. K. Barton, *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 1434-1441.
- [93] T. Tada, M. Kondo, K. Yoshizawa, *ChemPhysChem* **2003**, *4*, 1256-1260.
- [94] M. Wolter, M. Elstner, T. Kubař, *J. Chem. Phys.* **2013**, *139*, -.

- [95] X. Guo, A. A. Gorodetsky, J. Hone, J. K. Barton, C. Nuckolls, *Nature Nanotechnol.* **2008**, *3*, 163-167.
- [96] H. Cohen, C. Noguez, R. Naaman, D. Porath, *Proc. Natl. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 11589-11593.
- [97] X. Zhang, L. Tao, *Nano Lett.* **2004**, *4*, 1105-1108.
- [98] J. Genereux, J. K. Barton, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1642-1662.
- [99] M. C. Buzzeo, J. K. Barton, *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 2110-2112.
- [100] A. K. Boal, J. K. Barton, *Bioconjugate Chem.* **2005**, *16*, 312-321.
- [101] T. Takada, M. Fujitsuka, T. Majima, *Proc. Natl. Sci. U.S.A.* **2007**, *104*, 11179-11183.
- [102] A. Okamoto, T. Kamei, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *126*, 658-662.
- [103] M. A. O'Neill, H.-C. Becker, C. Wan, J. K. Barton, A. H. Zewail, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5896-5900.
- [104] L. Valis, N. Amann, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 36-38.
- [105] F. C. Grozema, S. Tonzani, Y. A. Berlin, G. C. Schatz, L. D. A. Siebbeles, M. A. Ratner, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5157-5166.
- [106] M. A. O'Neill, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 11471-11483.
- [107] M. A. O'Neill, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 13234-13235.
- [108] C. Wan, T. Fiebig, S. O. Kelley, C. R. Treadway, J. K. Barton, A. H. Zewail, *Proc. Natl. Sci. U.S.A.* **1999**, *96*, 6014-6019.
- [109] C. Dohno, E. D. A. Stemp, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 9586-9587.
- [110] C. Dohno, A. Ogawa, K. Nakatani, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10154-10155.
- [111] K. Kawai, Y. Osakada, T. Takada, M. Fujitsuka, T. Majima, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12843-12846.
- [112] K. Kawai, Y. Osakada, M. Fujitsuka, T. Majima, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 3721-3726.
- [113] K. Kawai, T. Takada, T. Nagai, X. Cai, A. Sugimoto, M. Fujitsuka, T. Majima, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 16198-16199.
- [114] K. Kawai, Y. Osakada, M. Fujitsuka, T. Majima, *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 2144-2149.
- [115] C. Wan, T. Fiebig, S. O. Kelley, C. Treadway, J. K. Barton, A. H. Zewail, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 6014-6019.
- [116] M. R. Arkin, E. D. A. Stemp, R. E. Holmlin, J. K. Barton, A. Hörmann, E. J. C. Olson, P. F. Barbara, *Science* **1996**, *273*, 475-480.
- [117] S. O. Kelley, R. E. Holmlin, E. D. A. Stemp, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9861-9870.
- [118] C. Wan, T. Fiebig, O. Schiemann, J. K. Barton, A. H. Zewail, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 14052-14055.

- [119] F. D. Lewis, T. Wu, Y. Zhang, R. L. Letsinger, S. R. Greenfield, M. R. Wasielewski, *Science* **1997**, *277*, 673-676.
- [120] M. H. V. Huynh, T. J. Meyer, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5004-5064.
- [121] S. Steenken, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 503-520.
- [122] A. Kumar, M. D. Sevilla, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 7002-7023.
- [123] J. Bertran, A. Oliva, L. Rodriguez-Santiago, M. Sodupe, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8159-8167.
- [124] R. Yamagami, K. Kobayashi, S. Tagawa, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14772-14777.
- [125] A. Weller, *J. Phys. Chem* **1982**, *133*, 93-98.
- [126] K. Kumar, I. V. Kurnikov, D. N. Beratan, D. H. Waldeck, M. B. Zimmt, *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102*, 5529-5541.
- [127] T. G. Drummond, M. G. Hill, J. K. Barton, *Nature Biotechnol.* **2003**, *21*, 1192-1199.
- [128] T. G. Drummond, M. G. Hill, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15010-15011.
- [129] N. Amann, R. Huber, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1845-1847.
- [130] C. Prunkl, S. Berndl, C. Wanninger-Weiß, J. Barbaric, H.-A. Wagenknecht, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *2*, 32-43.
- [131] U. Wenge, J. Wengel, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 10026-10029.
- [132] C. Behrens, L. T. Burgdorf, A. Schwögler, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1763-1766.
- [133] C. Haas, K. Kräling, M. Cichon, N. Rahe, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1842-1844.
- [134] T. Ito, S. E. Rokita, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1839-1842.
- [135] R. Berera, R. Grondelle, J. M. Kennis, *Photosynth. Res.* **2009**, *101*, 105-118.
- [136] B. Armitage, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1171-1200.
- [137] C. J. Burrows, J. G. Muller, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1109-1151.
- [138] S. Kawanishi, Y. Hiraku, S. Oikawa, *Mutation Res.* **2001**, *488*, 65-76.
- [139] P. Fromherz, B. Rieger, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5361-5362.
- [140] A. M. Brun, A. Harriman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 3656-3660.
- [141] T. J. Meade, J. F. Kayyem, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, *34*, 352-354.
- [142] K. Fukui, K. Tanaka, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 158-161.
- [143] K. Kino, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7373-7374.
- [144] H. Ikeda, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10836-10837.
- [145] K. Nakatani, I. Saito, *Top. Curr. Chem.* **2004**, *236*, 163-186.
- [146] D. Ly, L. Sanii, G. B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9400-9410.

- [147] V. Shafirovich, A. Dourandin, W. Huang, N. P. Luneva, N. E. Geacintov, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2000**, *2*, 4399-4408.
- [148] G. B. Schuster, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 253-260.
- [149] S. Hess, M. Götz, W. B. Davis, M.-E. Michel-Beyerle, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10046-10055.
- [150] K. Kawai, T. Takada, S. Tojo, T. Majima, *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 89-91.
- [151] K. Nakatani, C. Dohno, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6802-6803.
- [152] M. Pascaly, J. Yoo, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9083-9092.
- [153] C.-S. Liu, R. Hernandez, G. B. Schuster, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2877-2884.
- [154] F. Shao, M. A. O'Neill, J. K. Barton, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 17914-17919.
- [155] F. D. Lewis, Y. Wu, L. Zhang, X. Zuo, R. T. Hayes, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8206-8215.
- [156] K. Kawai, Y. Osakada, E. Matsutani, T. Majima, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 10195-10199.
- [157] A. K. Thazhathveetil, A. Trifonov, M. R. Wasielewski, F. D. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 11485-11487.
- [158] N. Renaud, Y. A. Berlin, F. D. Lewis, M. A. Ratner, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 3953-3963.
- [159] Z. Cai, Z. Gu, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 10406-10411.
- [160] Z. Cai, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 6942-6949.
- [161] A. Messer, K. Carpenter, K. Forzley, J. Buchanan, S. Yang, Y. Razskazovskii, Z. Cai, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 1128-1136.
- [162] Z. Cai, X. Li, M. D. Sevilla, *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 2755-2762.
- [163] T. Ito, S. E. Rokita, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11480-11481.
- [164] F. D. Lewis, X. Liu, S. E. Miller, R. T. Hayes, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11280-11281.
- [165] O. Schiemann, E. Feresin, T. Carl, B. Giese, *ChemPhysChem* **2004**, *5*, 270-274.
- [166] B. Giese, B. Carl, T. Carl, T. Carell, C. Behrens, U. Hennecke, O. Schiemann, E. Feresin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1848-1851.
- [167] N. Amann, E. Pandurski, T. Fiebig, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 4877-4883.
- [168] C. Wanninger-Weiß, H.-A. Wagenknecht, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 64-71.
- [169] V. Y. Shafirovich, A. Dourandin, N. P. Luneva, N. E. Geacintov, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 5863-5868.

- [170] F. D. Lewis, T. Wu, X. Liu, R. L. Letsinger, S. R. Greenfield, S. E. Miller, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2889-2902.
- [171] F. D. Lewis, M. R. Wasielewski, *Top. Curr. Chem.* **2004**, *236*, 45-65.
- [172] F. D. Lewis, Y. Wu, X. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12165-12173.
- [173] F. D. Lewis, X. Liu, Y. Wu, S. E. Miller, M. R. Wasielewski, R. L. Letsinger, R. Sanishvili, A. Joachimiak, V. Tereshko, M. Egli, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9905-9906.
- [174] F. D. Lewis, M. R. Wasielewski, in *Charge Transfer in DNA - From Mechanism to Application* (Ed.: H.-A. Wagenknecht), Wiley-VCH, Weinheim, **2005**, pp. 93-116.
- [175] R. F. Anderson, G. A. Wright, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **1999**, *1*, 4827-4831.
- [176] Z. Cai, M. D. Sevilla, *Top. Curr. Chem.* **2004**, *237*, 103-127.
- [177] C. Behrens, T. Carell, *Chem. Commun.* **2003**, 1632-1633.
- [178] A. Schwögler, L. T. Burgdorf, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3918-3920.
- [179] S. E. Rokita, T. Ito, in *Charge Transfer in DNA - From Mechanism to Application* (Ed.: H.-A. Wagenknecht), Wiley-VCH, Weinheim, **2005**, pp. 133-152.
- [180] T. Ito, S. E. Rokita, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15552-15559.
- [181] C. Wagner, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 48-50.
- [182] S. T. Gaballah, J. D. Vaught, B. E. Eaton, T. L. Netzel, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 5927-5934.
- [183] T. Ito, A. Kondo, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10934-10942.
- [184] A. Manetto, S. Breeger, C. Chatgililoglu, T. Carell, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 318-321.
- [185] S. Breeger, M. v. Meltzer, U. Hennecke, T. Carell, *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6469-6477.
- [186] F. Shao, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14733-14738.
- [187] F. Menacher, M. Rubner, S. Berndl, H.-A. Wagenknecht, *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 4263-4266.
- [188] N. A. Grigorenko, C. J. Leumann, *Chem. Commun.* **2008**, 5417-5419.
- [189] P. Daublain, A. K. Thazhathveetil, Q. Wang, A. Trifonov, T. Fiebig, F. D. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16790-16797.
- [190] M. Tanaka, K. Oguma, Y. Saito, I. Saito, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 9394-9396.
- [191] P. Roethlisberger, F. Wojciechowski, C. J. Leumann, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 11518-11521.
- [192] F. Fakhari, Y.-Y. K. Chen, S. E. Rokita, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 7073-7075.
- [193] J. Choi, A. Tanaka, D. W. Cho, M. Fujitsuka, T. Majima, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 12937-12941.
- [194] J.-L. Soret, *CR Acad Sci* **1883**, *97*, 1269-1270.

- [195] V. Král, J. Králová, R. Kaplánek, T. Bříza, P. Martásek, *Physiol. Res.* **2006**, *55*, S3-S26.
- [196] L. Yin, C. E. Bauer, *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B* **2013**, 368.
- [197] J. R. Roth, J. G. Lawrence, T. A. Bobik, *Annu. Rev. Microbiol.* **1996**, *50*, 137-181.
- [198] A. R. Battersby, *Science* **1994**, *264*, 1551-1557.
- [199] S. Zappa, K. Li, C. E. Bauer, in *Recent Advances in Phototrophic Prokaryotes, Vol. 675* (Ed.: P. C. Hallenbeck), Springer New York, **2010**, pp. 229-250.
- [200] R. D. Willows, A. M. Kriegel, in *The purple Phototrophic Bacteria Advances in Photosynthesis an Respiration* (Eds.: N. Hunter, F. Daldal, M. C. Thurnauer, J. T. Beatty), Springer Science, Berlin, **2009**, pp. 57-79.
- [201] D. E. Canfield, S. W. Poulton, A. H. Knoll, G. M. Narbonne, G. Ross, T. Goldberg, H. Strauss, *Science* **2008**, *321*, 949-952.
- [202] J. W. Morgan, E. Anders, *Proc. Natl. Sci. U.S.A.* **1980**, *77*, 6973-6977.
- [203] N. Mochizuki, R. Tanaka, B. Grimm, T. Masuda, M. Moulin, A. G. Smith, A. Tanaka, M. J. Terry, *Trends Plant Sci* **2010**, *15*, 488-498.
- [204] P. Rothmund, *J. Am. Chem. Soc.* **1936**, *58*, 625-627.
- [205] A. D. Adler, F. R. Longo, J. D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff, *J. Org. Chem.* **1967**, *32*, 476-476.
- [206] O. Bortolini, B. Meunier, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* **1984**, 1967-1970.
- [207] M. Onaka, T. Shinoda, Y. Izumi, E. Nolen, *Chem. Lett.* **1993**, *22*, 117-120.
- [208] M. Cornia, G. Casiraghi, S. Binacchi, F. Zanardi, G. Rassa, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 1226-1230.
- [209] J. L. Sessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1348-1350.
- [210] M. R. Johnson, J. L. Sessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 678-680.
- [211] J. W. Genge, A. Urbach, P. Sansom, J. L. Sessler, *Synlett* **1996**, *1996*, 187-188.
- [212] K. Berlin, C. Steinbeck, E. Breitmaier, *Synthesis* **1996**, *1996*, 336-340.
- [213] P. Sudha, R. Nayak, *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* **2005**, *71*, 155-160.
- [214] R. Edelson, *Sci. Am.* **1988**, *68*, 68-75.
- [215] H. Jesionek, H. A. v. Tappeiner, *Munch Med. Wochenschr.* **1903**, *47*, 2042-2044.
- [216] L. M. Moreira, F. V. d. Santos, J. P. Lyon, M. Maftoum-Costa, C. Pacheco-Soares, N. S. d. Silva, *Aust. J. Chem.* **2008**, *61*, 741-754.
- [217] D. E. J. G. J. Dolmans, D. Fukumura, R. K. Jain, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 380-387.
- [218] S. D. R. M. Ferreira, A. C. Tedesco, G. Sousa, R. A. Zângaro, N. S. Silva, M. T. T. Pacheco, C. Pacheco-Soares, *Lasers Med. Sci.* **2004**.
- [219] S. Hatz, J. D. C. Lambert, P. R. Ogilby, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2007**, *6*, 1106-1116.
- [220] J. Moan, *J. Photochem. Photobiol. B* **1990**, *6*, 343-344.

- [221] J. Moan, K. Berg, *Photochem. Photobiol.* **1991**, *53*, 549-553.
- [222] M. Niedre, M. S. Patterson, B. C. Wilson, *Photochem. Photobiol.* **2002**, *75*, 382-391.
- [223] S. Hatz, L. Poulsen, P. R. Ogilby, *Photochem. Photobiol.* **2008**, *84*, 1284-1290.
- [224] M. Sibrian-Vazquez, T. J. Jensen, M. G. H. Vicente, *J. Photochem. Photobiol. B* **2007**, *86*, 9-21.
- [225] A. E. O'Connor, W. M. Gallagher, A. T. Byrne, *Photochem. Photobiol.* **2009**, *85*, 1053-1074.
- [226] A. Juzeniene, J. Moan, *Photodiag. Photodyn. Ther.* **2007**, *4*, 3-11.
- [227] S. K. Schwartz, K. Absolon, H. Vermund, *X-Rays and Tumours* **1955**, *27*, 78.
- [228] R. L. Lipson, E. J. Baldes, A. M. Olsen, *Natl Cancer Inst.* **1961**, *26*, 1.
- [229] T. J. Dougherty, W. R. Potter, K. R. Weishaupt, *Prog. Clin. Biol. Res.* **1984**, *170*, 301.
- [230] O. David, L. Bourré, Y. Krika, M. Durand, T. Patrice, *Photodiag. Photodyn. Ther.* **2005**, *2*, 25-33.
- [231] S. Banfi, E. Caruso, L. Buccafurni, R. Ravizza, M. Gariboldi, E. Monti, *J. Organomet. Chem.* **2007**, *692*, 1269-1276.
- [232] W. M. Sharman, C. M. Allen, J. E. v. Lier, *Drug Discovery Today* **1999**, *4*, 507-517.
- [233] R. V. Hillegersberg, J. W. V. d. Berg, W. J. Kort, O. T. Terpstra, J. H. Wilson, *Gastroenterology* **1992**, *103*, 647-651.
- [234] J. E. Blume, A. R. Oseroff, *Dermatol. Clin* **2007**, *25*, 5-14.
- [235] J. J. Schuitmaker, P. Baas, H. L. L. M. v. Leengoed, F. W. v. d. Meulen, W. M. Star, N. v. Zandwijk, *J. Photochem. Photobiol. B* **1996**, *34*, 3-12.
- [236] C. Abels, P. Heil, M. Dellian, G. E. Kuhnle, R. Baumgartner, A. E. Goetz, *Br. J. Cancer* **1994**, *70*, 826-833.
- [237] T. Kormeili, P. S. Yamauchi, N. J. Lowe, *Br. J. Dermatology* **2004**, *150*, 1061-1069.
- [238] C. A. Morton, C. Whitehurst, J. V. Moore, R. M. Mackie, *Br. J. Dermatol.* **2000**, *143*, 767-772.
- [239] D. Nowis, M. Makowski, T. Stoklose, M. Legat, T. Issat, J. Golab, *Acta Biochim. Pol.* **2005**, *52*, 339-352.
- [240] A. M. del C. Battle, *J. Photochem. Photobiol. B* **1993**, *20*, 5-22.
- [241] R. Bonnett, *Chem. Soc. Rev.* **1995**, *24*, 19-33.
- [242] G. E. Moore, *Electronics* **1965**, *38*, 114-117.
- [243] M. Jurow, A. E. Schuckman, J. D. Batteas, C. M. Drain, *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 2297-2310.
- [244] A. Aviram, M. A. Ratner, *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *29*, 277-283.
- [245] C. A. Mirkin, M. A. Ratner, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **1992**, *43*, 719-754.

- [246] B. Hille, *Biophys. J.* **1978**, *22*, 283–294.
- [247] K. M. Smith, *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Elsevier, Amsterdam, **1972**.
- [248] K. Kadish, K. M. Smith, R. Guiard, *The Porphyrin Handbook, Vol. 1-20*, Academic Press, New York, **2003**.
- [249] C.-y. Liu, H.-l. Pan, M. A. Fox, A. J. Bard, *Science* **1993**, *261*, 897-899.
- [250] C.-y. Liu, H.-l. Pan, M. A. Fox, A. J. Bard, *Chem. Mat.* **1997**, *9*, 1422-1429.
- [251] <http://www.itwissen.info/definition/lexikon/Speicherdichte-storage-density.html>, **2012, letzter Zugriff 07.01.2014**.
- [252] W. M. Campbell, A. K. Burrell, D. L. Officer, K. W. Jolley, *Coord. Chem. Rev.* **2004**, *248*, 1363-1379.
- [253] M. Grätzel, *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.* **2003**, *4*, 145-153.
- [254] D. M. Guldi, *Chem. Soc. Rev.* **2002**, *31*, 22-36.
- [255] V. Sgobba, G. Giancane, S. Conoci, S. Casilli, G. Ricciardi, D. M. Guldi, M. Prato, L. Valli, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 3148-3156.
- [256] F. Yang, S. R. Forrest, *ACS Nano* **2008**, *2*, 1022-1032.
- [257] H. Ozawa, M. Kawao, H. Tanaka, T. Ogawa, *Chem. Lett.* **2009**, *38*, 542-543.
- [258] G. Sedghi, K. Sawada, L. J. Esdaile, M. Hoffmann, H. L. Anderson, D. Bethell, W. Haiss, S. J. Higgins, R. J. Nichols, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8582-8583.
- [259] M. Koepf, A. Trabolsi, M. Elhabiri, J. A. Wytko, D. Paul, A. M. Albrecht-Gary, J. Weiss, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 1279-1282.
- [260] M. Koepf, J. A. Wytko, J.-P. Bucher, J. Weiss, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9994-10001.
- [261] E. Iengo, E. Zangrando, R. Minatel, E. Alessio, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1003-1013.
- [262] A. Ambroise, C. Kirmaier, R. W. Wagner, R. S. Loewe, D. F. Bocian, D. Holten, J. S. Lindsey, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3811-3826.
- [263] C. Li, J. Ly, B. Lei, W. Fan, D. Zhang, J. Han, M. Meyyappan, M. Thompson, C. Zhou, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 9646-9649.
- [264] A. K. Burrell, D. L. Officer, P. G. Plieger, D. C. W. Reid, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 2751-2796.
- [265] M. A. Reed, C. Zhou, C. J. Muller, T. P. Burgin, J. M. Tour, *Science* **1997**, *278*, 252-254.
- [266] X. Li, J. He, J. Hihath, B. Xu, S. M. Lindsay, N. Tao, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2135-2141.
- [267] J. Park, A. N. Pasupathy, J. I. Goldsmith, C. Chang, Y. Yaish, J. R. Petta, M. Rinkoski, J. P. Sethna, H. D. Abruna, P. L. McEuen, D. C. Ralph, *Nature* **2002**, *417*, 722-725.
- [268] L. Venkataraman, J. E. Klare, C. Nuckolls, M. S. Hybertsen, M. L. Steigerwald, *Nature* **2006**, *442*, 904-907.

- [269] T. D. Dunbar, M. T. Cygan, L. A. Bumm, G. S. McCarty, T. P. Burgin, W. A. Reinert, L. Jones, J. J. Jackiw, J. M. Tour, P. S. Weiss, D. L. Allara, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 4880-4893.
- [270] J. G. Kushmerick, J. Naciri, J. C. Yang, R. Shashidhar, *Nano Lett.* **2003**, *3*, 897-900.
- [271] J. Chen, M. A. Reed, *Chem. Phys.* **2002**, *281*, 127-145.
- [272] E. A. Weiss, R. C. Chiechi, G. K. Kaufman, J. K. Kriebel, Z. Li, M. Duati, M. A. Rampi, G. M. Whitesides, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4336-4349.
- [273] S. Yoshimoto, K. Itaya, *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2007**, *11*, 313.
- [274] Z. Liu, A. A. Yasseri, J. S. Lindsey, D. F. Bocian, *Science* **2003**, *302*, 1543-1545.
- [275] T. Morita, S. Lindsay, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 7262-7263.
- [276] D. J. Wold, C. D. Frisbie, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5549-5556.
- [277] Z. J. Donhauser, B. A. Mantooth, K. F. Kelly, L. A. Bumm, J. D. Monnell, J. J. Stapleton, D. W. Price, A. M. Rawlett, D. L. Allara, J. M. Tour, P. S. Weiss, *Science* **2001**, *292*, 2303-2307.
- [278] S. Paolo, P. R. Jürgen, *J. Phys. Condens. Matter* **2002**, *14*, 9955.
- [279] F. Chen, N. J. Tao, *Acc. Chem. Res.* **2009**, *42*, 429-438.
- [280] F. Chen, J. Hihath, Z. Huang, X. Li, N. J. Tao, *Ann. Rev. Phys. Chem.* **2007**, *58*, 535-564.
- [281] F. Nishiyama, T. Yokoyama, T. Kamikado, S. Yokoyama, S. Mashiko, *Appl. Phys. Lett.* **2006**, *88*.
- [282] G. Bazzan, W. Smith, L. C. Francesconi, C. M. Drain, *Langmuir* **2008**, *24*, 3244-3249.
- [283] S. J. Lee, K. L. Mulfort, J. L. O'Donnell, X. Zuo, A. J. Goshe, P. J. Wesson, S. T. Nguyen, J. T. Hupp, D. M. Tiede, *Chem. Commun.* **2006**, 4581-4583.
- [284] B. Liu, D.-J. Qian, H.-X. Huang, T. Wakayama, S. Hara, W. Huang, C. Nakamura, J. Miyake, *Langmuir* **2005**, *21*, 5079-5084.
- [285] S. Muniappan, S. Lipstman, S. George, I. Goldberg, *Inorg. Chem.* **2007**, *46*, 5544-5554.
- [286] Z. Wang, C. J. Medforth, J. A. Shelnut, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15954-15955.
- [287] Z. Wang, C. J. Medforth, J. A. Shelnut, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 16720-16721.
- [288] S. J. Lee, J. T. Hupp, S. T. Nguyen, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 9632-9633.
- [289] W. Zhongchun, E. L. Leslie, W. Weishi, J. M. Craig, E. M. James, A. S. John, *Nanotechnology* **2008**, *19*, 395604.
- [290] C. M. Drain, G. Smeureanu, S. Patel, X. Gong, J. Garno, J. Arijeloye, *New J. Chem.* **2006**, *30*, 1834-1843.
- [291] X. Gong, T. Milic, C. Xu, J. D. Batteas, C. M. Drain, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14290-14291.
- [292] Y. Zhang, P. Chen, Y. Ma, S. He, M. Liu, *Appl. Mater. Interfaces* **2009**, *1*, 2036-2043.

- [293] H. Ozawa, H. Tanaka, M. Kawao, S. Uno, K. Nakazato, *Chem. Commun.* **2009**, 7411-7413.
- [294] X. Lu, K. W. Hipps, X. D. Wang, U. Mazur, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7197-7202.
- [295] X. Lu, K. W. Hipps, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 5391-5396.
- [296] A. Ogunrinde, K. W. Hipps, L. Scudiero, *Langmuir* **2006**, *22*, 5697-5701.
- [297] W. Deng, K. W. Hipps, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 10736-10740.
- [298] L. Scudiero, D. E. Barlow, K. W. Hipps, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *106*, 996-1003.
- [299] K. W. Hipps, L. Scudiero, D. E. Barlow, M. P. Cooke, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2126-2127.
- [300] L. Scudiero, D. E. Barlow, K. W. Hipps, *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 11899-11905.
- [301] S. D. Ha, B. R. Kaafarani, S. Barlow, S. R. Marder, A. Kahn, *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 10493-10497.
- [302] R. K. Smith, P. A. Lewis, P. S. Weiss, *Prog. Surf. Sci.* **2004**, *75*, 1-68.
- [303] L. Grill, M. Dyer, L. Lafferentz, M. Persson, M. V. Peters, S. Hecht, *Nat Nano* **2007**, *2*, 687-691.
- [304] M. P. Nikiforov, U. Zerweck, P. Milde, C. Loppacher, T.-H. Park, H. T. Uyeda, M. J. Therien, L. Eng, D. Bonnell, *Nano Lett.* **2007**, *8*, 110-113.
- [305] J. Visser, N. Katsonis, J. Vicario, B. L. Feringa, *Langmuir* **2009**, *25*, 5980-5985.
- [306] J.-M. Lehn, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 2097-2102.
- [307] L. Brunsveld, B. J. B. Folmer, E. W. Meijer, R. P. Sijbesma, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 4071-4098.
- [308] R. F. Pasternack, A. Giannetto, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7799-7800.
- [309] A. D'Urso, A. Mamma, M. Balaz, A. E. Holmes, N. Berova, R. Lauceri, R. Purrello, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2046-2047.
- [310] R. Lauceri, R. Purrello, S. J. Shetty, M. G. H. Vicente, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5835-5836.
- [311] D. R. McMillin, A. H. Shelton, S. A. Bejune, P. E. Fanwick, R. K. Wall, *Coord. Chem. Rev.* **2005**, *249*, 1451-1459.
- [312] R. F. Pasternack, *Chirality* **2003**, *15*, 329-332.
- [313] G. Sargsyan, A. A. Schatz, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1020-1022.
- [314] L.-A. Fendt, I. Bouamaied, S. Thöni, N. Amiot, E. Stulz, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15319-15329.
- [315] T. Nguyen, A. Brewer, E. Stulz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 1974-1977.
- [316] H. Morales-Rojas, E. T. Kool, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 4377-4380.

- [317] L. D. Napoli, S. D. Luca, G. D. Fabio, A. Messere, D. Montesarchio, G. Morelli, G. Piccialli, D. Tesauero, *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 2000, 1013-1018.
- [318] K. Berlin, R. K. Jain, M. D. Simon, C. Richert, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 1527-1535.
- [319] M. Balaz, B. C. Li, S. Jockusch, G. A. Ellestad, N. Berova, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3530-3533.
- [320] M. Endo, T. Shiroyama, M. Fujitsuka, T. Majima, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 7468-7472.
- [321] A. W. I. Stephenson, A. C. Partridge, V. V. Filichev, *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 6227-6238.
- [322] M. Endo, M. Fujitsuka, T. Majima, *Tetrahedron* **2008**, 64, 1839-1846.
- [323] S. Takagi, H. Inoue, in *Molecular and Supramolecular Photochemistry, Vol. 4* (Eds.: V. Ramamurthy, K. S. Scharze), Marcel Dekker, New York, **1999**, pp. 215-342.
- [324] N. A. Rakow, K. S. Suslick, *Nature* **2000**, 406, 710-713.
- [325] R. F. Pasternack, E. J. Gibbs, J. J. Villafranca, *Biochemistry* **1983**, 22, 2406-2414.
- [326] R. F. Pasternack, E. J. Gibbs, P. J. Collings, J. C. dePaula, L. C. Turzo, A. Terracina, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 5873-5878.
- [327] A. M. Brun, A. Harriman, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 10383-10393.
- [328] B. Mestre, A. Jakobs, G. Pratviel, B. Meunier, *Biochemistry* **1996**, 35, 9140-9149.
- [329] J. Bernadou, A.-S. Fabiano, A. Robert, B. Meunier, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 9375-9376.
- [330] M. Pitie, J. Bernadou, B. Meunier, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 2935-2936.
- [331] P. B. Dervan, *Nature* **1992**, 359, 87-88.
- [332] D. S. Sigman, T. W. Bruice, A. Mazumder, C. L. Sutton, *Acc. Chem. Res.* **1993**, 26, 98-104.
- [333] A. J. Blacker, J. Jazwinski, J.-M. Lehn, *Helv. Chim. Acta* **1987**, 70, 1-12.
- [334] S. Hünig, J. Groß, E. F. Lier, H. Quast, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1973**, 1973, 339-358.
- [335] S. Hünig, J. Groß, *Tetrahedron Lett.* **1968**, 9, 2599-2604.
- [336] A. M. Brun, A. Harriman, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 8153-8159.
- [337] H.-C. Becker, A. Broo, B. Nordén, *J. Phys. Chem. A* **1997**, 101, 8853-8860.
- [338] H.-C. Becker, B. Nordén, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 5798-5803.
- [339] H. Ikeda, K. Fuji, K. Tanaka, Y. Iso, F. Yoneda, *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, 47, 1455-1463.
- [340] H. Ikeda, K. Fuji, K. Tanaka, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, 6, 101-104.
- [341] C. Wellner, *Masterarbeit* **2010**, Universität Regensburg.
- [342] E. Mayer-Enthart, *Dissertation* **2006**, TU München.
- [343] S. Berndl, N. Herzig, P. Kele, D. Lachmann, X. Li, O. S. Wolfbeis, H.-A. Wagenknecht, *Bioconjugate Chem.* **2009**, 20, 558-564.
- [344] E. T. Kool, *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 936-943.

- [345] J. Gao, C. Strässler, D. Tahmassebi, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11590-11591.
- [346] E. T. Kool, J. C. Morales, K. M. Guckian, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 990-1009.
- [347] K. M. Guckian, B. A. Schweitzer, R. X.-F. Ren, C. J. Sheils, D. C. Tahmassebi, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2213-2222.
- [348] J. Frazer, S. M. Horner, S. A. Woski, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 1279-1282.
- [349] I. A. Prokhorenko, V. A. Korshun, A. A. Petrov, S. V. Gontarev, Y. A. Berlin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2081-2084.
- [350] U. B. Christensen, E. B. Pedersen, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 2090-2097.
- [351] T. L. Netzel, M. Zhao, K. Nafisi, J. Headrick, M. S. Sigman, B. E. Eaton, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 9119-9128.
- [352] T. L. Netzel, K. Nafisi, M. Zhao, J. R. Lenhard, I. Johnson, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 17936-17947.
- [353] M. Manoharan, K. L. Tivel, M. Zhao, K. Nafisi, T. L. Netzel, *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 17461-17472.
- [354] E. Mayer, L. Valis, R. Huber, N. Amann, H.-A. Wagenknecht, *Synthesis* **2003**, 2335-2340.
- [355] N. Amann, H.-A. Wagenknecht, *Synlett* **2002**, 687-691.
- [356] C. Wanninger-Weiß, *Dissertation* **2008**, Universität Regensburg.
- [357] T. Kubota, K. Kano, T. Konse, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1987**, *60*, 3865-3877.
- [358] T. Fiebig, C. Wan, A. H. Zewail, *ChemPhysChem* **2002**, *3*, 781-788.
- [359] H.-A. Wagenknecht, *Charge Transfer in DNA: From Mechanism to Application*, Wiley-VCH, Weinheim, **2006**.
- [360] A. A. Voityuk, M.-E. Michel-Beyerle, N. Rösch, *Chem. Phys. Lett.* **2001**, *342*, 231-238.
- [361] T. Ehrenschwender, *Dissertation* **2011**, Universität Regensburg.
- [362] H. Sugiyama, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7063-7068.
- [363] K. Tainaka, M. Fujitsuka, T. Takada, K. Kawai, T. Majima, *J. Phys. Chem. B* **2010**, *114*, 14657-14663.
- [364] T. J. A. Wolf, D. Voll, C. Barner-Kowollik, A.-N. Unterreiner, *Macromolecules* **2012**, *45*, 2257-2266.
- [365] Y. Liang, *Dissertation* **2013**, Karlsruher Institut für Technologie (KIT).
- [366] H. Yang, K. L. Metera, H. F. Sleiman, *Coord. Chem. Rev.* **2010**, *254*, 2403-2415.
- [367] A. Ajayaghosh, S. J. George, A. P. H. J. Schenning, *Top. Curr. Chem.* **2005**, *258*, 83-118.
- [368] C. Lin, Y. Liu, H. Yan, *Biochemistry* **2009**, *48*, 1663-1674.
- [369] P. W. K. Rothmund, *Nature* **2006**, *440*, 297-302.

- [370] S. Leininger, B. Olenyuk, P. J. Stang, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 853-907.
- [371] L. Zapata, K. Bathany, J. M. Schmitter, S. Moreau, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 1022-1028.
- [372] R. B. Martin, J. A. Lissfelt, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 938-940.
- [373] R. H. Holyer, C. D. Hubbard, S. F. A. Kettle, R. G. Wilkins, *Inorg. Chem.* **1966**, *5*, 622-625.
- [374] R. Cali, E. Rizzarelli, S. Sammartano, G. Siracusa, *Transition Met. Chem.* **1979**, *4*, 328-332.
- [375] G. U. Priimov, P. Moore, L. Helm, A. E. Merbach, *Inorg. React. Mech.* **2001**, *3*, 1-23.
- [376] K. M. Stewart, L. W. McLaughlin, *Chem. Commun.* **2003**, 2003, 2934-2935.
- [377] J. S. Choi, C. W. Kang, K. Jung, J. W. Yang, Y.-G. Kim, H. Han, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8606-8607.
- [378] M. Göritz, R. Krämer, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 18016-18017.
- [379] M. Kalek, A. S. Madsen, J. Wengel, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9392-9400.
- [380] L. Kalachova, R. Pohl, M. Hocek, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 49-55.
- [381] L. Kalachova, R. Pohl, M. Hocek, *Synthesis* **2009**, 105-112.
- [382] P. S. Braterman, J. I. Song, R. D. Peacock, *Inorg. Chem.* **1992**, *31*, 555-559.
- [383] K. Hutchison, J. C. Morris, T. A. Nile, J. L. Walsh, D. W. Thompson, J. D. Petersen, J. R. Schoonover, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 2516-2523.
- [384] D. Bumcrot, M. Manoharan, V. Koteliansky, D. W. Y. Sah, *Nat Chem Biol* **2006**, *2*, 711-719.
- [385] D. D. Paula, M. V. L. B. Bentley, R. I. Mahato, *RNA* **2007**, *13*, 431-456.
- [386] M. O. d. Beeck, A. Madder, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 796-807.
- [387] A. M. Jawalekar, M. O. d. Beeck, F. L. v. Delft, A. Madder, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 2796-2798.
- [388] K. Stevens, A. Madder, *Nucleic Acids Res.* **2009**, *37*, 1555-1565.
- [389] D. A. Barancelli, A. C. Mantovani, C. Jesse, C. W. Nogueira, G. Zeni, *J. Nat. Prod.* **2009**, 857-860.
- [390] A. Padwa, D. L. Hertzog, W. R. Nadler, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 7072-7084.
- [391] D. Graham, L. Fruk, W. Ewen Smith, *Analyst* **2003**, *128*, 692-699.
- [392] J. Manono, P. A. Marzilli, L. G. Marzilli, *Inorg. Chem.* **2009**, *48*, 5636-5647.
- [393] R. F. Pasternack, E. J. Gibbs, *J. Inorg. Organomet. Polym.* **1993**, *3*, 77-88.
- [394] M. Balaz, K. Bitsch-Jensen, A. Mammana, G. A. Ellestad, K. Nakanishi, N. Berova, *Pure Appl. Chem.* **2007**, *79*, 801-809.
- [395] D. L. Banville, L. G. Marzilli, J. A. Strickland, W. D. Wilson, *Biopolymers* **1986**, *25*, 1837-1858.

- [396] R. W.-Y. Sun, C. K.-L. Li, D.-L. Ma, J. J. Yan, C.-N. Lok, C.-H. Leung, N. Zhu, C.-M. Che, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 3097-3113.
- [397] M. Haeubl, L. M. Reith, B. Gruber, U. Karner, N. Müller, G. Knör, W. Schoefberger, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2009**, *14*, 1037-1052.
- [398] C.-M. Che, R. W.-Y. Sun, W.-Y. Yu, C.-B. Ko, N. Zhu, H. Sun, *Chem. Commun.* **2003**, 1718-1719.
- [399] B. J. Neubert, B. B. Snider, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 765-768.
- [400] F. He, Y. Tang, M. Yu, S. Wang, Y. Li, D. Zhu, *Adv. Func. Mater.* **2007**, *17*, 996-1002.
- [401] B. Ward, A. Skorobogaty, J. C. Dabrowiak, *Biochemistry* **1986**, *25*, 7827-7833.
- [402] J.-O. Kim, Y.-A. Lee, B. H. Yun, S. W. Han, S. T. Kwag, S. K. Kim, *Biophys. J.* **2004**, *86*, 1012-1017.
- [403] E. J. Gibbs, M. C. Maurer, J. H. Zhang, W. M. Reiff, D. T. Hill, M. Malicka-Blaszkiewicz, R. E. McKinnie, H. Q. Liu, R. F. Pasternack, *J. Inorg. Biochem.* **1988**, *32*, 39-65.
- [404] A. B. Guliaev, N. B. Leontis, *Biochemistry* **1999**, *38*, 15425-15437.
- [405] R. K. Wall, A. H. Shelton, L. C. Bonaccorsi, S. A. Bejune, D. Dubé, D. R. McMillin, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 11480-11481.
- [406] M. J. Carvlin, R. J. Fiel, *Nucleic Acids Res.* **1983**, *11*, 6121-6139.
- [407] A. Antipas, D. Dolphin, M. Gouterman, E. C. Johnson, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 7705-7709.
- [408] R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3533-3539.
- [409] K. L. Brown, D. Chernoff, D. J. Keljo, R. G. Kallen, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6697-6704.
- [410] T. Uno, K. Aoki, T. Shikimi, Y. Hiranuma, Y. Tomisugi, Y. Ishikawa, *Biochemistry* **2002**, *41*, 13059-13066.
- [411] M. Kubista, B. Aakerman, B. Norden, *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 2352-2356.
- [412] L. G. Marzilli, *New J. Chem.* **1990**, *14*, 409-420.
- [413] R. J. Fiel, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **1989**, *6*, 1259-1274.
- [414] S. Moradi, D. Ajloo, T. Lashkarbolouki, R. Alizadeh, A. Saboury, *Monatsh. Chem.* **2013**, *144*, 1499-1505.
- [415] J. G. Woller, J. K. Hannestad, B. Albinsson, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 2759-2768.
- [416] R. Varghese, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2009**, 2615-2624.
- [417] V. L. Malinowski, D. Wenger, R. Häner, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 410-422.
- [418] A. Brewer, G. Siligardi, C. Neylon, E. Stulz, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 777-782.

-
- [419] S. Hünig, P. Kreitmeier, G. Märkl, J. Sauer, *Arbeitsmethoden in der Organischen Chemie*, **2007**.
- [420] W. C. Still, M. Kahn, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.
- [421] http://www.glenresearch.com/Technical/GlenPak_UserGuide.pdf, **letzter Zugriff 14.02.2014**
- [422] C. Brieke, F. Rohrbach, A. Gottschalk, G. Mayer, A. Heckel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 8446-8476.
- [423] D. P. C. McGee, A. Vaughn-Settle, C. Vargeese, Y. Zhai, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 781-785.
- [424] G. P. Kirschenheuter, Y. Zhai, W. A. Pieken, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8517-8520.
- [425] Y. Liu, H.-J. Zhang, Y.-Q. Cai, H.-H. Wu, X.-L. Liu, Y. Lu, *Chem. Lett.* **2007**, *36*, 848-849.
- [426] V. Malinovski, L. Tumir, I. Piantanida, M. Zinic, H.-J. Schneider, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 3785-3795.
- [427] K. Groves, A. J. Wilson, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12833-12842.
- [428] Z. Abou-Gamra, A. Harriman, P. Neta, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2* **1986**, *82*, 2337-2350.
- [429] S. S. Erdem, *J. Porphyrins Phthalocyanines* **1998**, *2*, 61-68.
- [430] J. D. Puglisi, J. Ignacio Tinoco, *Meth. Enzymol.* **1989**, *180*, 304-325.

10. Appendix

10.1 Publikationsliste

“Development of a metal ion-mediated base pair for electron transfer in DNA”

T. Ehrenschwender, W. Schmucker, C. Wellner, T. Augenstein, P. Carl, J. Harmer, F. Breher, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 12547-12552.

“Chemically modified DNA as functional architectures: From metal-ion ligand complexes to perylenebisimides”

C. Wellner, C. Stubinitzky, H.-A. Wagenknecht, in *DNA in supramolecular chemistry and nanotechnology*, (Ed.: E. Stulz, G. Clever), John Wiley & Sons Limited, Chichester UK, in press.

“Synthesis of DNA conjugates with metallated tetracationic porphyrins by postsynthetic cycloadditions.”

C. Wellner, H.-A. Wagenknecht, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1692-1695.

10.2 Konferenzen und Posterbeiträge

- | | |
|----------------|--|
| 11/2011 | 5 th Nucleic Acid Chemistry Meeting, Frankfurt/ Main |
| Posterbeitrag: | <i>“Synthesis and Characterization of 2,7-Diazapyrenium as Electron Acceptor in DNA”</i> |
| 07/2012 | FB ³ - Fluorescent Biomolecules and their Building Blocks – Design and Applications, Göteborg, Schweden |
| Posterbeitrag: | <i>“Study of DNA-mediated Electron Transfer with Diazapyrenium as new fluorescent DNA Modification”</i> |
| 09/2013 | GDCh Wissenschaftsforum Chemie 2013, Darmstadt |

-
- Posterbeitrag: *“Internal covalent 2'- Modification of DNA with tetracationic pyridyl Porphyrins”*
- 09/2013 6th Nucleic Acid Chemistry Meeting, Greifswald
- Posterbeitrag: *“Internal covalent 2'- Modification of DNA with tetracationic pyridyl Porphyrins”*

10.3 Lehre

- WS 10/2011 Betreuung des organisch chemischen Grundpraktikums für Studierende der Chemie, der chemischen Biologie und der Lebensmittelchemie, *KIT*
- WS 11/2012 Betreuung des organisch chemischen Grundpraktikums für Studierende der Chemie, der chemischen Biologie und der Lebensmittelchemie, *KIT*
- SS 2012 Betreuung der Bachelorarbeit von Eduard Spuling
- WS 12/2013 Betreuung des organisch chemischen Grundpraktikums für Studierende der Chemie, der chemischen Biologie und der Lebensmittelchemie, *KIT*
- Betreuung des organisch chemischen Grundpraktikums für Studierende der Biologie, der Geoökologie und des Lehramts Chemie, *KIT*
- Betreuung der Bachelorarbeit von Hannah Gaiser
- SS 2013 Betreuung des Vertiefpraktikums von Ruben Garrecht
- WS 13/2014 Betreuung des organisch chemischen Grundpraktikums für Studierende der Chemie, der chemischen Biologie und der Lebensmittelchemie, *KIT*

10.4 Lebenslauf

Name: Christian Alois Wellner

Geburtsdatum: 09. Februar 1985

Geburtsort: Passau

Staatsangehörigkeit: deutsch

Familienstand: ledig, keine Kinder

Bildungsweg: 2010 – 2014: Promotion bei Prof. Dr. Hans- Achim Wagenknecht am
KIT.

„Neue Elektronentransfersysteme in DNA und Porphyrin-DNA-Konjugate“

2009 - 2010: Masterstudiengang Chemie an der Universität
Regensburg. Masterarbeit bei Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht.

Abschluss: Master of Science (M. Sc.)

„Synthese von 2,7-Diazapyrenium als Elektronenakzeptor in DNA“

2005 - 2009: Bachelorstudium (Chemie) an der Universität Regensburg.

Abschluss: Bachelor of Science (B. Sc.)

2004 - 2005: Magister-Studium der Politik-, Wirtschafts- und
Rechtswissenschaften an der Universität Passau

1995 - 2004: Maristengymnasium Fürstenzell

Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

1991 - 1995: Grundschule Ortenburg

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Karlsruhe, den 28. Juli 2014

Christian Wellner