

FUNKTIONALE DNA-ARCHITEKTUREN

Synthese und optische Charakterisierung neuer Chromophor- und Fullerenkonjugate

Zur Erlangung des akademischen Grades einer
DOKTORIN DER NATURWISSENSCHAFTEN
(Dr. rer. nat.)

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



genehmigte
DISSERTATION
von
M.Sc. Sara Nina Müller

Karlsruhe, 2020

1. Referent: Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht
 2. Referent: Prof. Dr. Joachim Podlech
- Tag der mündlichen Prüfung: 07.12.2020

meiner Familie

„Phantasie ist wichtiger als Wissen, denn Wissen ist begrenzt“
-Albert Einstein

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Dezember 2017 bis Dezember 2020 unter der Leitung von Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht am Institut für Organische Chemie des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) angefertigt.

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

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Hans-Achim Wagenknecht für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis, die interessante Themenstellung und hervorragende Betreuung. Außerdem möchte ich mich für die sehr gute Arbeitsatmosphäre, Ihre stetige Ansprechbarkeit, Ihr Verständnis und Ihre Unterstützung bedanken.

Weiterhin möchte ich mich bei meinen Kollegen für die gute Zusammenarbeit, stetige Hilfsbereitschaft und eine unvergessliche Promotionszeit bedanken: Dr. Christoph Bickmann, Anke Culetto, Dr. Larissa Doll, Dorothee Ganz, Dr. Yannic Fritz, Julian Gebhard, Philipp Geng, Dennis Harijan, Dr. Sergej Hermann, Lara Hirsch, Annette Hochgesand, Dr. Robert Hofsäß, Arthur Kuhlmann, Katja Krell, Fabian Lang, Dr. Benjamin Lehmann, Rita Michenfelder, Michaela Mijic, Karen Möbius, Dr. Damian Ploschik, Dr. Barbara Reiß, Dr. David Rombach, Dr. Franziska Rönicke, Dr. Ulrike Reisacher, Daniel Sack, Dr. Christian Schwechheimer, Maximilian Seifermann, Nicola Seul, Fabienne Seyfert, Dr. Jeannine Steinmeyer, Desirée Steuernagel, Claudia Sommer, Hülya Ucar, Fabian Weick, Dr. Samantha Wörner.

Im Speziellen möchte ich mich bedanken bei:

- Felix Manger, Lorenz Graf von Reventlow und Dr. Alexander Colsmann vom Lichttechnischen Institut am KIT (LTI) für die gemeinsame Arbeit an DNA-basierten Solarzellen.
- Dr. Jacopo Tassarolo, Maike Wolters, Lukas Stratmann und Prof. Dr. Guido Clever der TU Dortmund für die Möglichkeit meines Aufenthaltes in Dortmund und die Hilfe bei den CPL-Messungen.
- Dr. Jochen Bürck und Bianca Posselt (IBG2, KIT) aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Anne Ulrich für die Bereitstellung des CD-Spektrometers und die

hervorragende Unterstützung bei allen offenen Fragen bezüglich der CD-Spektroskopie.

- Amrutha Prabodh und Dr. Frank Biedermann (INT, KIT) für die Unterstützung bei den FDCD-Messungen sowie die Gastfreundschaft am Campus Nord.
- Dem legendären Labor 322 (ITCP, KIT) für die Nutzung des Vakuum-Ofens.
- Annette Hochgesand für das mühsame MALDI-Messen meiner Proben, die zahlreichen (manchmal sehr absurden und spontanen) Bestellungen jeglicher Art und die leckere Marmelade.
- Claudia Sommer für die Unterstützung und Hilfsbereitschaft in allen organisatorischen Angelegenheiten – ohne dich wäre so manch einer im AK verloren!
- Dr. Andreas Rapp und Angelika Möhle für die Unterstützung in der Analyse meiner Proben, in Form von neuen NMR-Methoden oder abstrakten IR- und EI/FAB-Messungen.
- Lara Hirsch für die meist spontanen ESI-Messungen und das Nachziehen zahlreicher Zwischenstufen.
- Dr. Norbert Foitzik für die Unterstützung in den Praktika.
- Richard von Budberg für die Reparatur jeglicher Glasgeräte.
- Dr. Yannic Fritz, Hülya Ucar, Katja Krell und Sergej Baraban für das Korrekturlesen dieser Arbeit.
- Dave, Daniel, Fabse und Arthur für das Messen der NMR-Proben am 500 MHz-Spektrometer.
- Meinen Vertiefenstudenten Michaela Mijic und Sandro Schöner für die mühsamen PBI-Säulen und die wissenschaftliche sowie kreative Unterstützung meiner Arbeit.
- Meinem Azubi Benjamin Felker für die interessierte, begeisterte Mitarbeit an meiner Arbeit.
- Jeannine für die Aufnahme in den AKW und deine liebenswürdige, unterstützende Art.
- Fabse und Katschi dafür, dass wir den „Spaß“ zusammen begonnen und beendet haben. Danke für die zahlreichen Höhen und Tiefen der letzten drei Jahre, in denen wir uns (meist) liebevoll die Milch geteilt haben.
- Yannic für die geduldige Hilfe bei den Anlagerungsexperimenten und die Einführung in die Welt der Spektroskopie. Doch insbesondere für deine grenzenlose

Begeisterung für die Chemie (vorallem im Zusammenhang mit unseren meist eigenwilligen Projekten), die mich immer wieder motiviert und inspiriert hat.

- Samanthi für die zahlreichen Labor- und Schwimmbabende sowie sämtlichen Gefühlsausbrüchen vor dem Abzug, welche stets durch den Graf der Finsternis oder Trailerpark gerettet werden konnten. Danke, für alle Gespräche jeglicher Art, die wir geführt haben und mit Sicherheit noch führen werden.
- Lari dafür, dass du immer ein offenes Ohr für mich hattest und mich immer zum Lachen oder Weinen (PHIL-Konzert) bringen konntest. Von deinem Durchhaltevermögen und deinem Organisationstalent muss ich mir dringend noch eine Scheibe abschneiden. Ich bin froh, dass wir uns in der Promotion doch noch gefunden haben!
- Katschi dafür, dass ich bei allen Problemen, egal ob chemisch, technisch, bürokratisch, kreativ, einfach nur verplant oder privat immer auf dich zählen kann! Wir haben viel zusammen gelacht und viel zusammen geweint. Danke für deine aufbauende Art, das Einsammeln auf der Treppe, lustige Pool- und Grillabende (ich schulde dir immer noch eine Hose) und dafür, dass du immer für mich da warst/bist.
- Fabian für deine hilfsbereite Art, deine perfekt sitzende Frisur und so manchen Klatsch und Tratsch. Danke, dass du meine chaotische und verplante Art akzeptiert hast und wir viel Spaß zusammen hatten, obwohl wir doch sehr unterschiedlich sind. Du hast mich immer wieder überrascht und so manche Verdünnungsreihe wäre ohne dich verloren gewesen.
- Julian für deine kindlich, liebevolle aber vorallem ehrliche Art. Danke, dass du mich immer vertanden hast, immer für einen Sekt oder Wein zu haben warst und mir das Wunder des Kartoffelkuchens gezeigt hast. Ich freue mich auf unseren Fallschirmsprung!
- Hülya für deine trockene und humorvolle Art, für die gemeinsame Verzweiflung vor dem CD-Spektrometer und die guten Gespräche in Würzburg. Du bist die absolute Knetkönigin und hast es immer wieder geschafft mich mit deinen Sprüchen zum Lachen zu bringen.
- Fabse dafür, dass du die Liebe zum Fasching mit mir teilst, mit mir studenlang im Wartezimmer saßt und durch deine quirrlige und beständige Persönlichkeit gezeigt hast, dass man nicht immer alles persönlich nehmen und es nicht immer allen recht

machen muss. Danke, dass du mir eine Wohnung besorgt hast und mir auch in eurem Labor immer Zuflucht gewährt hast, wenn ich mal raus musste.

- Arthur für deine hilfsbereite Art, deine herausragende Leistung als Klassensprecher des AKWs und deine Muskelkraft - ohne dich wäre so manche Stickstoffflasche verschlossen geblieben.
- Fabian aka Pfabian aka Premium, für deine begeisterte und besserwissende Art, die jederzeit für einen (chemischen) Rat zur Verfügung stand. Danke, dass du immer für ein Bier zu haben warst, du hättest unser Sofa ruhig der Parkbank vorziehen können.
- Dem Masterandentrio Nicola, Rita und Max plus Michaela für so manch lustige Singstar- und Tanzabende in der Küche und Gespräche auf dem Balkon.
- Meinen Kommilitonen, insbesondere Nadini, welche mich durch die Studienzeit gebracht und immer unterstützt haben.

Ein herzliches Dankeschön geht an Sergej Baraban. Danke für das Korrekturlesen dieser Arbeit, sowie deine bedingungslose Unterstützung, deine unermüdliche Geduld und dein Verständnis während all meinen Höhen und Tiefen im gesamten Studium und der Promotion. Danke, dass du immer an mich geglaubt hast!

Zu guter Letzt möchte ich meiner Familie, insbesondere meiner Mutter Susanne und meinen Schwestern Ina und Marie, für die Unterstützung in jeder Lebenslage danken. Ohne euren Rückhalt und eure Ermutigungen wäre vieles in meinem Leben undenkbar gewesen und ich wäre heute nicht da wo ich jetzt bin. Danke, dass ich immer auf euch zählen kann!

Inhalt

| | | |
|------|--------------------------------------------------------------------|----|
| I. | EINLEITUNG UND THEMENSTELLUNG..... | 1 |
| II. | THEORETISCHER HINTERGRUND | 4 |
| 1 | DNA in der supramolekularen Chemie | 4 |
| 2 | Supramolekulare DNA-Multichromophorsysteme | 6 |
| 3 | Fulleren-DNA-Aggregate | 17 |
| 4 | PBI-DNA-Aggregate | 22 |
| 5 | Prinzip und Charakterisierung der Anlagerungsexperimente | 28 |
| III. | ORTHOgonALE ANLAGERUNG | 39 |
| 1 | Kovalenter Einbau in DNA..... | 41 |
| 2 | Selbstassemblierung von Py-DAP und Pe-dU | 45 |
| 3 | Zusammenfassung | 58 |
| IV. | FULLEREN-DNA-AGGREGATE..... | 60 |
| 1 | Synthese..... | 62 |
| 2 | Optische Charakterisierung der Fulleren-Konjugate | 64 |
| 3 | Wechselwirkung mit DNA | 65 |
| 4 | Untersuchung der Fulleren-Derivate als Fluoreszenzlöscher | 68 |
| 5 | Zusammenfassung | 70 |
| V. | FUNKTIONALE DNA-FARBSTOFF-AGGREGAT-SCHICHTEN..... | 71 |
| 1 | Charakterisierung der Schichten..... | 72 |
| 2 | DNA-Chromophor-Aggregat-Schichten in organischen Solarzellen | 75 |
| 3 | Zusammenfassung | 78 |
| VI. | PBI-DNA-AGGREGATE | 79 |
| 1 | Synthese..... | 80 |
| 2 | Optische Charakterisierung | 84 |

| | | |
|-------|-------------------------------------|-----|
| 3 | Wechselwirkung mit DNA | 86 |
| 4 | Zusammenfassung | 98 |
| VII. | ZUSAMMENFASSUNG | 101 |
| VIII. | Experimenteller Teil | 103 |
| 1 | Material, Methoden und Geräte | 103 |
| 2 | Synthesevorschriften | 109 |
| 3 | Anlagerungsexperimente..... | 126 |
| 4 | DNA-Synthese | 128 |
| IX. | Ergänzende Spektren | 135 |
| 1 | Orthogonale Anlagerung..... | 135 |
| 2 | Fulleren-DNA-Aggregate..... | 138 |
| 3 | Funktionale Schichten..... | 139 |
| 4 | PBI-DNA-Aggregate | 140 |
| X. | Literaturverzeichnis | 143 |
| XI. | Anhang | 149 |
| 1 | Veröffentlichungen | 149 |
| 2 | Konferenzen und Posterbeiträge..... | 149 |
| 3 | Lehre | 150 |
| 4 | Ehrenwörtliche Erklärung | 151 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| ε | Extinktionskoeffizient |
| Θ | Elliptizität |
| λ | Wellenlänge |
| λ_{em} | Emissionswellenlänge |
| λ_{exc} | Anregungswellenlänge |
| ν_0 | Schwingungsgrundzustand |
| ν_n | angeregter Schwingungszustand |
| Φ_F | Fluoreszenzquantenausbeute |
| A | Absorbanz/Absorption |
| A | Adenenin |
| AFM | Rasterkraftmikroskop (<i>atomic force microscopy</i>) |
| a.u. | willkürliche Einheit (<i>arbitrary unit</i>) |
| Äq. | Äquivalente |
| Bz | Benzoyl |
| C | Konzentration |
| C | Cytosin |
| CD | Circularer Dichroismus |
| CHCl ₃ | Chloroform |
| cm | Centimeter |
| CPL | Zurkular polarisierte Lumineszenz (<i>circularly polarized luminescence</i>) |
| CT-DNA | Kalbstymus-DNA (calf thymus DNA) |
| C ₆₀ -dU ₂ | Bis-2'-Desoxyuridin-C ₆₀ Fulleren |
| C ₆₀ -Pyr | C ₆₀ -Fulleren-Pyrrolidinium |
| dA | 2'-Desoxyadenosin |
| dA _n | Oligo-2'-desoxyadenosin |
| DAP | 2-Amino-2'-desoxyadenosin |

| | |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| dC | 2'-Desoxycytidin |
| dC _n | Oligo-2'-desoxycytidin |
| DCM | Dichlormethan |
| dG | 2'-Desoxyguanosin |
| dG _n | Oligo-2'-desoxyguanosin |
| DMF | <i>N,N</i> -Dimethylformamid |
| DMSO | Dimethylsulfoxid |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| <i>dsDNA</i> | <i>double stranded DNA</i> |
| dU | 2'-Desoxyuridin |
| E | Energie |
| EE | Essigsäureethylester |
| ET | Elektronentransfer |
| EnT | Energietransfer |
| EQE | Externe Quanteneffizienz |
| <i>et al.</i> | und andere (<i>et alii</i>) |
| FRET | FÖRSTER-Resonanzenergietransfer |
| FDCD | Floureszenz dedektierter Circularer Dichroismus |
| G | Guanin |
| g | Erdbeschleunigung |
| g _{lum} | Dissymmetriefaktor (CPL) |
| <i>hν</i> | elektromagnetische Strahlung |
| HOMO | höchstes besetztes Molekülorbital (<i>highest occupied molecular orbital</i>) |
| HPLC | Hochleistungsflüssig-chromatographie (<i>high performance liquid chromatography</i>) |
| I | Intensität |
| IC | innere Konversion (<i>internal conversion</i>) |
| ISC | Interkombination (<i>intersystem crossing</i>) |

| | |
|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| kJ | KiloJoule |
| LED | lichtemittierende Diode |
| LM | Lösungsmittel |
| LUMO | niedrigstes nichtbesetztes Molekülorbital (<i>lowest unoccupied molecular orbital</i>) |
| mdeg | <i>millidegree</i> |
| MeCN | Acetonitril |
| MeOH | Methanol |
| NaP _i | Natriumphosphat-Puffer |
| NBS | <i>N</i> -Bromsuccinimid |
| NIS | <i>N</i> -Iodsuccinimid |
| NMR | Kernspinresonanz (<i>nuclear magnetic resonance</i>) |
| Nr | Nilrot |
| Nr-dU | 5-(Nilrotethinyl)-2'-desoxyuridin |
| PCR | Polymerase-Kettenreaktion |
| PBI | Perylenbisimid |
| Pd(PPh ₃) ₄ | Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium |
| PdCl ₂ (PPh ₃) ₂ | Bis(triphenylphosphin)-dichlorpalladium |
| Pe | Perylen |
| Pe-dU | 5-(Perylen-3-ylethinyl)-2'-desoxyuridin |
| Pe-dU-PA | 5-(Perylen-3-ylethinyl)-2'-desoxyuridin-phosphoramidit |
| PTCDA | 3,4,9,10-Perylentetracarbonsäuredianhydrid |
| Py | Pyren |
| Py-dU | 5-(Pyren-1-ylethinyl)-2'-desoxyuridin |
| Py-DAP | 2-Amino-8-(pyren-1-yl-ethinyl)-2'-desoxyadenosin |
| Py-DAP-PA | 2-Amino-8-(pyren-1-yl-ethinyl)-2'-desoxyadenosin-phosphoramidit |
| quant. | Quantitativ |
| R | Rotationsstärke |

| | |
|------------------|---------------------------------------------------|
| R _{mon} | monomere Rotationsstärke |
| R _{ex} | excitonische Rotationsstärke |
| R _{e-m} | elektrisch-magnetische Rotationsstärke |
| R _f | Retentionsfaktor |
| RNA | Ribonukleinsäure |
| rpm | Umdrehung pro Minute (<i>rounds per minute</i>) |
| RT | Raumtemperatur |
| ssDNA | <i>single stranded DNA</i> |
| ssCD | <i>solid state CD</i> |
| S ₀ | elektronischer Grundzustand |
| S _n | elektronisch angeregter Singulettzustand |
| T | Thymin |
| T ₁ | erster elektronisch angeregter Triplettzustand |
| TBAF | Tetrabutylammoniumfluorid |
| TBDMS- | <i>tert</i> -Butyldimethylsilyl- |
| TEM | Transmissionselektronenmikroskop |
| THF | Tetrahydrofuran |
| TMS- | Trimethylsilyl- |
| UV | ultraviolette Strahlung |
| VIS | sichtbares Licht |
| zentr. | zentrifugiert |

I. EINLEITUNG UND THEMENSTELLUNG

Wissenschaftler sind seit je her von der Natur fasziniert und versuchen ihre optimierten Systeme zu imitieren. Dabei sticht beispielsweise Desoxyribonukleinsäure (DNS, engl. DNA) als Träger der Erbinformation durch ihre einfache, wie geniale Bauweise hervor: durch unterschiedliche Abfolgen von lediglich vier Basen wird der Code jedes Lebewesens auf dem Planeten gespeichert und weitergegeben. Die Einzigartigkeit dieser Bausteine, der Nukleotide, ist ihre gegenseitige Komplementarität, welche es erlaubt, spezifisch Paare auszubilden und somit die ursprünglich lineare Kette dreidimensional zu formen. Die dabei entstehende Form ist durch die sequenzierte Abfolge der Bausteine vorgegeben, wodurch sich unterschiedliche Doppelhelices (A-, B- und Z-DNA) ausbilden können. Davon inspiriert versuchten auch Chemiker in der Mitte des letzten Jahrhunderts, molekulare Systeme zu entwickeln, welche sich selbstständig durch schwache Wechselwirkungen zu geordneten, größeren Einheiten zusammensetzen. Diese Forschungen eröffneten seitdem ein ganz eigenes Feld: die supramolekulare Chemie. Die bedeutendsten Pioniere wurden hierfür bereits 1987 (CRAM, LEHN und PEDERSEN)^[1, 2] sowie 2016 (SAUVAGE, STODDART und FERINGA)^[3] mit Nobelpreisen geehrt. Dennoch lässt die strukturelle Kontrolle und vor allem die Funktion der synthetischen Systeme im Vergleich zur Natur zu wünschen übrig. Mit DNA gibt es neue Methoden, wie beispielsweise die automatisierte DNA-Synthese^[4], die Möglichkeit, DNA-Sequenzen nach Belieben zu gestalten. Dadurch konnten neue DNA-Sequenzen realisiert werden, welche durch Selbstassemblierung komplexe neue Strukturen, wie Würfel oder Sterne annahmen, wodurch der Begriff „DNA-Origami“^[5] entstand. Für die Materialwissenschaft ermöglichte dies die Synthese funktionaler Hybrid-Systeme, sodass wiederum das neue Feld der DNA-Architektur^[6, 7] entstand. Die Verbindung von DNA-Sequenzierung und chemischer Modifizierung von Nukleosiden und deren Selbstassemblierung ermöglichte die Realisierung von DNA-Maschinen,^[8-10] lichtemittierender DNA-Aggregate^[11, 12] und Lichtsammelsystemen^[13-15] für die Anwendung in der organischen Elektronik.^[16] Besonders letztere profitieren von der präzisen Anordnung der chromophormodifizierten Nukleoside entlang eines DNA-Stranges, wodurch die photophysikalischen bzw. spektroskopischen Eigenschaften der resultierenden Aggregate gesteuert werden können.^[15]

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Aufbau und der Kontrolle von supramolekularen DNA-Architekturen durch die Assemblierung von modifizierten Nucleosiden entlang eines DNA-Templats. Dabei dient DNA als strukturgebendes Element, um funktionelle Moleküle zu ordnen und dadurch ihre optischen Eigenschaften zu programmieren und zu optimieren. Die Charakterisierung der DNA-Aggregate erfolgte mittels optischer sowie chiroptischer Spektroskopie.

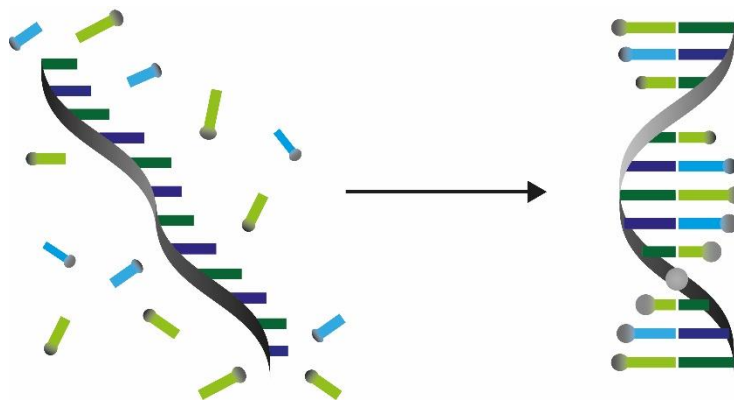


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Prinzips der Selbstassemblierung modifizierter Nucleoside entlang eines DNA-Templats.

Basierend auf der sequenzkontrollierten Anlagerung von nitro-modifiziertem 2'-Desoxyuridin (**Nr-dU**) und pyren-modifiziertem 2-Amino-2'-desoxyadenosin (**Py-DAP**) der Arbeitsgruppe WAGENKNECHT^[15] stand im ersten Teil dieser Arbeit die Entwicklung eines DNA-Chromophor-Aggregats im Fokus, dessen optische Eigenschaften sich durch die Templatsequenz steuern lassen. Dafür wurde **Nr-dU** durch das perylen-modifizierte 2'-Desoxyuridin **Pe-dU** ersetzt und zusammen mit **Py-DAP** hinsichtlich einer sequenzspezifischen Assemblierung untersucht.

Neben Chromophoren eignen sich auch andere Moleküle mit interessanten physikalischen Eigenschaften, wie beispielsweise Fullerene, als Konjugationspartner für funktionale, hybride DNA-Systeme. Deshalb wurde im zweiten Teil der Arbeit angestrebt, die Aggregation von Fullerenen mittels der kanonischen Basenpaarung nach WATSON-CRICK zu kontrollieren. Dafür wurde ein C₆₀-Fulleren mit 2'-Desoxyuridinen funktionalisiert und dessen Wechselwirkung mit DNA, verglichen mit dem literaturbekannten geladenen C₆₀-Pyr, untersucht.

Sowohl DNA-Chromophor-Aggregate als auch hybride DNA-Fulleren-Konjugate erlauben durch die Wahl des DNA-Templates eine präzise Kontrolle über die Struktur der Aggregate. Dies macht sie zu vielversprechenden Kandidaten für den Einsatz in der organischen Elektronik. Entsprechend wurden DNA-Farbstoff-Aggregat-Schichten spektroskopisch untersucht und in Kombination mit den Fulleren-Derivaten hinsichtlich ihrer Anwendung als aktive Schicht in DNA-basierten Solarzellen untersucht.

Im letzten Teil der Arbeiten sollten neue chromophormodifizierte Nucleoside synthetisiert werden. Neben den bereits untersuchten Farbstoffen wie Pyren, Perylen oder Nilrot, eignet sich die Strukturklasse der Perylenbisimide (PBIs) als Farbstoffklasse, da sie durch chemische Veränderungen die gesamte spektrale Bandbreite abdecken können.^[17] Um erste Einblicke in das Assemblierungsverhalten von PBIs entlang eines DNA-Templats zu erhalten, wurden vier verschiedene PBI-Derivate synthetisiert und deren Anlagerungsverhalten untersucht.

II. THEORETISCHER HINTERGRUND

1 DNA in der supramolekularen Chemie

Desoxyribonukleinsäure, kurz DNA (aus dem engl. *deoxyribonucleic acid*), fasziniert Naturwissenschaftler seit ihrer Entdeckung. Als genetisches Speichermedium bildet sie den Grundstein unseres Lebens und wird deshalb immer im Fokus der Wissenschaft stehen. Seit der strukturellen Aufklärung von JAMES WATSON und FRANCIS CRICK im Jahre 1953^[18] war es möglich, die Eigenschaften und Vorgänge der Replikation ausführlich zu studieren. Gleichzeitig begann damit auch die Erforschung neuer DNA-Technologien. Neben ihrer biologischen Funktion eignet sich DNA auch als Grundgerüst in der supramolekularen Chemie.^[19] Aufgrund ihrer hohen thermodynamischen Stabilität, der vielfältig programmierbaren Sequenz und durch die selbstassemblierende Organisation in eine geordnete, definierte Struktur eignet sie sich ideal, um organische Moleküle in funktionelle supramolekulare Systeme zu ordnen (Abbildung 2).

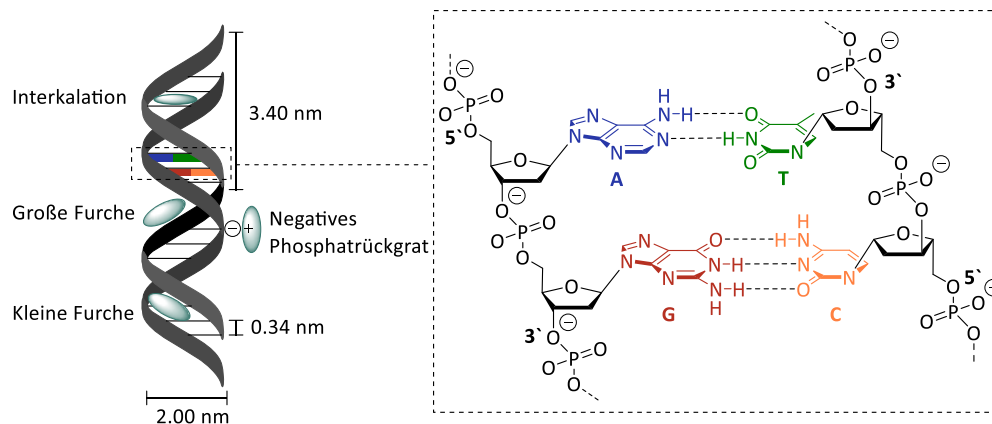


Abbildung 2: Aufbau der DNA und schematische Darstellung der Wechselwirkungen zwischen Chromophoren (grün) und DNA (links). WATSON-CRICK-Basenpaarung zwischen den natürlichen Nucleinbasen Adenin (A), Thymin (T), Guanin (G) und Cytosin (C) (rechts).^[20]

All diese Eigenschaften resultieren aus nur vier unterschiedlichen Nucleotiden, 2'-Desoxyadenosin (dA), Thymin (T), 2'-Desoxyguanosin (dG) und 2'-Desoxycytidin (dC), welche über ein Phosphatrückgrat zu einem Einzelstrang miteinander verknüpft sind (Abbildung 2). Diese Einzelstränge können mithilfe der WATSON-CRICK-Basenpaarung, A-T und G-C, zu spezifischen Doppelsträngen hybridisieren, welche schließlich durch die π - π -Wechselwirkungen der Nucleobasen stabilisiert werden. Die dabei ausgebildete Doppelhelix kann vorzugsweise eine natürliche rechtsgängige Struktur (B-DNA) oder eine

linksgängige Struktur (Z-DNA) aufweisen. Im Fall der B-DNA ergibt sich durch die Ausbildung einer solchen Doppelhelix eine geordnete Struktur mit einem Durchmesser von ca. 2 nm und definierten Abständen von 0.34 nm zwischen den Basenpaaren. Eine vollständige Windung wird nach 10 Basenpaaren, also 3.4 nm, erreicht. Dabei bilden sich sogenannte Furchen, an denen die Basen direkt an der Oberfläche liegen und so besser zugänglich sind. Es wird zwischen der kleinen (1.2 nm) und der großen (2.2 nm) Furche unterschieden (Abbildung 2).^[20]

Durch diese Eigenschaften und der einfachen präparativen Zugänglichkeit (Festphasensynthese, Polymerase-Kettenreaktion (PCR)), stellt DNA ein attraktives Templat für die Nanotechnologie dar. Dabei ist zwischen zwei prinzipiellen Strategien zu unterscheiden: zum einen kann DNA als Einzelstrang (*single-stranded*, *ssDNA*) und zum anderen als Doppelstrang (*double-stranded*, *dsDNA*) eingesetzt werden. Beim traditionellen Einsatz als *ssDNA* wird meist die WATSON-CRICK-Basenpaarung als Bindungsmotiv genutzt, um sequenzkontrollierte Architekturen zu organisieren. Neben den WATSON-CRICK-Basenpaaren^[20] sind allerdings auch ungewöhnliche Paarungen, wie beispielsweise die *Wobble*-^[21] und HOOGSTEEN-Paarung,^[22] bekannt. Soll ein System mit einem Doppelstrang templatiert werden, gibt es mehrere Strategien diesen einzusetzen. Zum einen können Moleküle durch hydrophobe Wechselwirkungen in den großen und kleinen Furchen binden, zum anderen können planare Verbindungen zwischen den Basenpaaren interkalieren. Eine weitere Möglichkeit ist die elektrostatische Bindung unterschiedlicher Kationen an das negativ geladene Phosphatrückgrat.

2 Supramolekulare DNA-Multichromophorsysteme

Die kontrollierte Stapelung von Chromophoren zu sogenannten Multichromophor-Systemen kann interessante, kollektive photophysikalische Eigenschaften mit sich bringen, welche sich von denen der Monomere unterscheiden. Diese hängen vom Chromophor selbst, aber auch von dessen Anzahl und Orientierung zueinander ab. Innerhalb solcher Systeme kann es zur Ausbildung von Excimeren (*excited dimer*) /Exciplexen (*excited complex*) sowie hocheffizienten Energie- (EnT) und/oder Elektronentransferprozessen (ET) entlang der Chromophorstapel kommen. Derartige Prozesse spielen eine wichtige Rolle in der Optoelektronik und finden beispielsweise in Lichtsammelsystemen,^[23] photovoltaischen Solarzellen^[24] oder organischen Halbleitern^[24] ihre Anwendung.^[25] Um solche Systeme zu generieren, wurden bereits zahlreiche Strategien verfolgt. Neben konjugierten Polymeren^[26] und funktionalisierten Polypeptiden^[25] kann auch DNA als strukturgebendes Gerüst genutzt werden, um solche Systeme konstruieren. Je nach Modifikation und Basensequenz kann die Lage der Chromophore sehr präzise kontrolliert werden. Dadurch können die Wechselwirkungen zwischen den Farbstoffen und deren Einfluss aufeinander untersucht werden. Die Chromophore können dafür mittels kovalenten Strategien oder auch durch supramolekulare Ansätze in das DNA-Gerüst eingebracht werden.

2.1 Kovalenter Ansatz

Es gibt zahlreiche kovalente Strategien, um Chromophore in DNA einzubauen. Da der Fokus dieser Arbeit jedoch auf den nicht-kovalenten Ansätzen liegt, soll im Folgenden für die kovalenten Strategien lediglich eine grobe Übersicht gegeben werden. Generell kann die Modifikation mit einem Farbstoff entweder postsynthetisch oder mittels automatisierter Festphasensynthese erfolgen. Innerhalb der Festphasensynthese können die Chromophore entweder als Basen-^[27] oder als vollständiges Zuckersurrogat^[28] in die DNA eingebracht werden. Weitere Möglichkeiten ergeben sich mit der direkten Modifizierung der Nukleobase^[29] oder einem vollständigen Ersatz des Nukleosids mit der direkten Einbringung des Farbstoffs in das DNA-Rückgrat.^[30] In Abbildung 3 ist eine Übersicht der beschriebenen Strategien am Beispiel von Pyren gegeben. Eine der ersten Strategien war die Verwendung eines Basensurrogates. Hierbei

wurde die natürliche Nucleobase vollständig durch den Farbstoff ersetzt, welcher mittels einer C-C-glykosidischen Bindung, anstelle einer C-N-glykosidischen Bindung, an das 2'-Desoxyribofuranosid geknüpft wurde, weshalb in diesem Zusammenhang oft die Rede von C-Nucleosiden ist.^[13, 27] In diesem Ansatz kann der Chromophor in die natürliche Basenstapelung interkalieren.^[13]

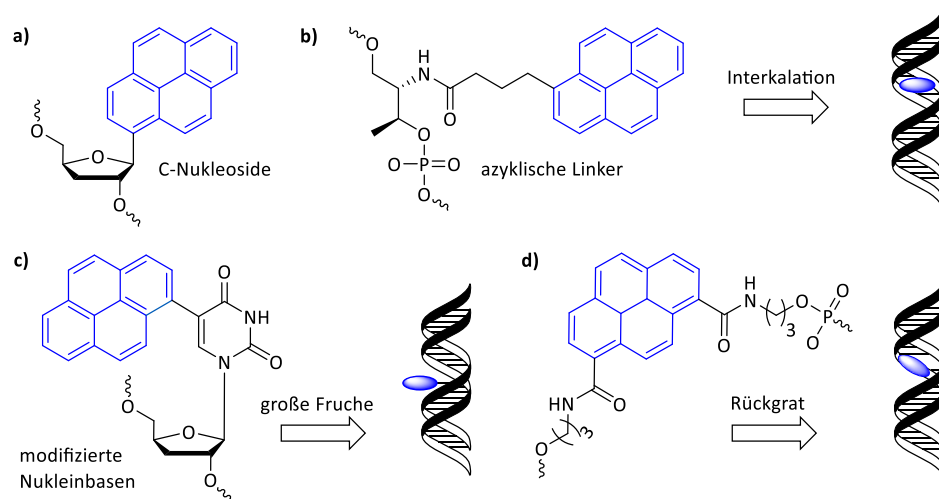


Abbildung 3: Übersicht der Strategien zum Einbau von Chromophoren in DNA am Beispiel des Pyrens. Einsatz als **a)** C- Nucleoside^[27] oder **b)** von azyklischen Linkern (D-Threosin),^[28] **c)** Kupplung an Nucleotide am Beispiel der 5-Position des 2'-Desoxyuridins^[29] oder **d)** Einbau in das Zucker-Phosphatrückgrat am Beispiel eines Carboxamid-Linkers.^[30]

Erfolgt die Einführung mithilfe eines Zuckersurrogats, können sowohl zyklische als auch azyklische Linker anstelle der 2'-Desoxyribose verwendet werden. Dafür wurden bisher chirale Linker wie D-Threosin^[28], (S)-Aminopropan-2,3-diol^[31] oder auf (R)/(S)-Glycerol^[32]-basierende Linker eingesetzt. Dieser Ansatz bringt den Vorteil mit sich, dass die Kohlenhydratchemie umgangen werden und somit oftmals auf aufwändige Synthesen verzichtet werden kann. Die Flexibilität der Linker ermöglicht ebenfalls eine effektive Interkalation der Farbstoffe in den natürlichen Basenstapel. Da die Zuckereinheit allerdings einen starken strukturellen Einfluss auf den DNA-Duplex hat, kann dessen natürliche Struktur beeinflusst werden.^[13] Eine weitere Strategie stellt die Modifizierung von natürlichen Nucleinbasen dar. Diese erfolgt meist an der 5-Position der Pyrimidin-Nucleoside (dU/T und dC) oder an der 8-Position der Purin-Nucleoside (dA und dG). In diesem Fall interkalieren die Chromophore nach der Hybridisierung nicht in den Basenstapel, sondern ordnen sich in der großen Furche parallel zur DNA-Doppelhelix an.^[13] Des Weiteren können Farbstoffe direkt in das

Zucker-Phosphat-Rückgrat der DNA integriert werden. Dafür wurden bifunktionelle Linker, welche beispielsweise auf Carboxamid-^[30] oder Tetraethylglycol-basieren,^[33] an den Chromophor geknüpft, wodurch interessante haarnadelförmige DNA-Strukturen und Foldamere beobachtet werden konnten.

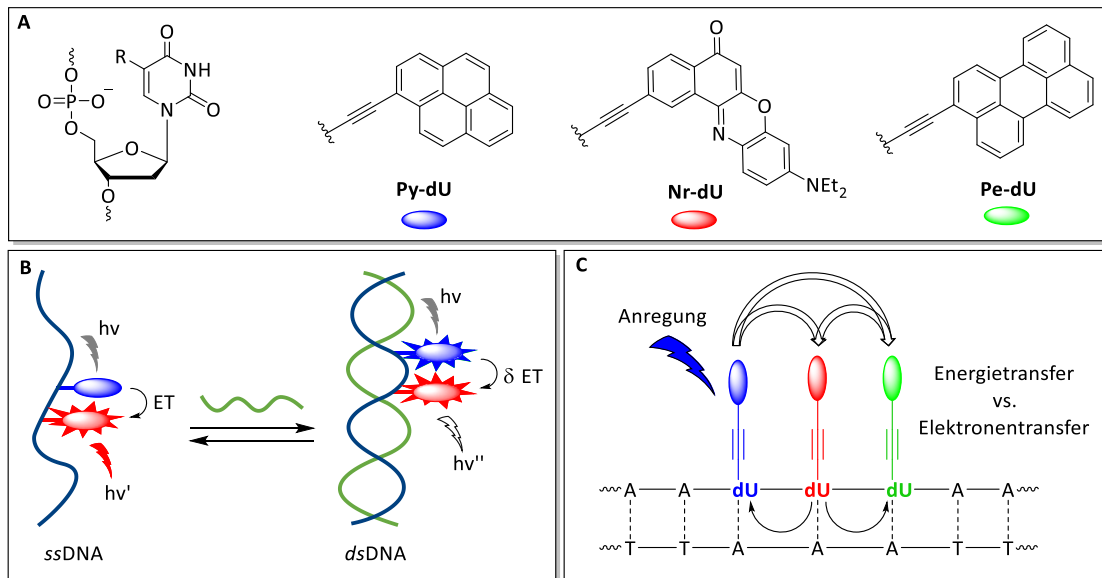


Abbildung 4: A. Modifikation der 5-Position von 2'-Desoxyuridin mit Ethynylpyren (**Py-dU**),^[35] Ethynylnilrot (**Nr-dU**)^[11] und Ethynylperylene (**Pe-dU**).^[12] B. Kovalenter Einbau von **Py-dU** und **Nr-dU** in einen DNA-Strang.^[11] C. Energie- und Elektronentransfer zwischen den kovalent eingebauten Chromophoren **Py-dU**, **Nr-dU** und **Pe-dU**.^[12]

Abbildung 4 zeigt eine Auswahl an chromophor-modifizierten 2'-Desoxyuridin-Konjugaten, welche innerhalb der Arbeitsgruppe WAGENKNECHT bereits erfolgreich in DNA eingebaut und deren optischen Eigenschaften untersucht wurden.^[11, 12, 35] Durch den benachbarten Einbau von Pyren-modifiziertem (**Py-dU**) und nilrotmodifiziertem (**Nr-dU**) 2'-Desoxyuridin war es möglich, eine weißlichtemittierende DNA zu generieren.^[11] Im Einzelstrang war bei einer selektiven Anregung des Pyrens ($\lambda_{\text{exc}} = 380 \text{ nm}$) ein Anstieg der Nilrotemission ($\lambda_{\text{em}} = 665 \text{ nm}$) zu beobachten, welcher aus einem Energietransfer von Pyren auf Nilrot resultierte. Durch die Hybridisierung eines unmodifizierten Gegenstranges änderte sich die räumliche Orientierung der beiden Farbstoffe zueinander, wodurch der Energietransfer nur noch partiell stattfinden konnte. Im Doppelstrang ergab sich ein Intensitätsverhältnis der Emissionen von $I_{440 \text{ nm}/615 \text{ nm}} = 0.96$, welches sich in einer weißen Fluoreszenz zeigte.

Um den sichtbaren Spektralbereich weiter abzudecken, wurde dieses System um das perylenmodifizierte 2'-Desoxyuridin (**Pe-dU**) erweitert.^[12] Dabei ergab sich ein System, dessen optische Eigenschaften über die Entfernung der Chromophore innerhalb des DNA-Stanges gesteuert werden konnte. Bei einem benachbarten Einbau war, entgegen den Erwartungen, bei einer Anregung des Pyrens eine vollständige Fluoreszenzlöschung anstelle eines Anstiegs zu beobachten. Diese lässt einen ladungstrennten Zustand vermuten, welcher aus einem Elektronentransfer von Nilrot über Perylen auf Pyren resultiert. Dieser Prozess konnte durch die Erweiterung des Abstands von zwei A-T-Paaren zwischen den Farbstoffen unterbunden werden. In diesem Fall konnte der erwartete EnT von Pyren über Perylen auf Nilrot durch eine steigende Nilrotfluoreszenz detektiert werden. Innerhalb dieses Systems war es also möglich, mittels der DNA-Sequenz ablaufende EnT- und ET-Prozesse zu kontrollieren und somit die optischen Eigenschaften zu kontrollieren.^[12]

2.2 Nicht-kovalenter Ansatz

Die Umsetzung der bisher beschriebenen kovalenten Strategien erfolgt meist durch den Einbau von modifizierten Phosphoramidit-Konjugaten mittels automatisierter DNA-Festphasensynthese. Diese liefert bei längeren Konjugaten jedoch meist schlechte Ausbeuten. Zudem nimmt die Löslichkeit der DNA-Stränge mit zunehmendem Farbstoffanteil drastisch ab, wodurch der Einbau auf 5 - 10 aufeinanderfolgende Chromophore limitiert ist.^[13] Aufgrund dieser Nachteile wurde eine alternative, nicht-kovalente Strategie zur Generierung solcher funktionaler Lichtsammelsysteme angestrebt. Eine vielversprechende Strategie stellt dabei die Selbstassemblierung von Chromophoren entlang eines ssDNA-Templats dar. Selbstassemblierende, supramolekulare Systeme basieren auf der spontanen Anordnung mehrerer Komponenten, welche durch hydrophobe oder elektrostatische Wechselwirkungen sowie Wasserstoffbrückenbindungen erfolgt. Dafür können Chromophore mit einer Nukleobase oder einem Nukleosid modifiziert werden und durch die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen (WATSON-CRICK-Basenpaarung) entlang der DNA binden. Dadurch können sich geordnete Strukturen bilden, welche auf der Erkennung der kanonischen Basenpaarung beruhen und somit eine Programmierbarkeit realisierbar wird. Die Stabilisierung solcher Systeme basiert jedoch nicht auf den

Wasserstoffbrückenbindungen, sondern wird durch π - π -Wechselwirkungen innerhalb des ausgebildeten Chromophorstapels begünstigt.^[13, 36] Auf diese Weise ist es möglich, die aufwändige Synthese von Phosphoramidit-Bausteinen und die oben genannten Nachteile der DNA-Festphasensynthese zu umgehen.

Eine der ersten Arbeiten auf diesem Gebiet lieferten SCHENNING *et al.*^[37-39] Ihnen gelang die erfolgreiche Anlagerung entlang eines DNA-Templats. Dafür wurde Naphthalin mit Diaminotriazin modifiziert (**NT1**) und entlang eines Oligothymidinstrangs (T_{40}) assembliert (Abbildung 5, **A**).^[37] Durch eine Reihe von theoretischen und spektroskopischen Experimenten wurde das Bindungsmotiv und die Ausbildung der Aggregate exakt untersucht. Die erfolgreiche Anlagerung der Monomere entlang der DNA konnte mithilfe von CD-Spektroskopie (Circulardichroismus) nachgewiesen werden, da sich die Chiralität der DNA auf die des Naphthalins übertrug. Konzentrationsabhängige Messungen zeigten den Einfluss der jeweils stattfindenden Wechselwirkungen. So hat sich gezeigt, dass eine Wechselwirkung zwischen dem Templatstrang und dem Chromophor, gegenüber der π - π -Wechselwirkung innerhalb der Chromophore, stark genug sein muss, um die Ausbildung von ungeordneten Chromophoraggregaten zu unterdrücken. Gleichzeitig ist eine gewisse Wechselwirkung zwischen den Chromophoren notwendig, um das ausgebildete DNA-Farbstoff-Aggregat zu stabilisieren. Im Fall von **NT1** war eine sehr starke Monomer-Monomer-Wechselwirkung zu beobachten, welcher durch die Einführung einer Hydroxy-Gruppe (**NT2**) entgegengewirkt werden sollte. Mithilfe von **NT2** wurde der Einfluss der Templatlänge auf das Anlagerungsverhalten untersucht. Dabei hat sich gezeigt, dass der Besetzungsgrad mit längeren Templaten höher ist als mit kürzeren. Mit zwölf Basen oder weniger konnte eine vollständige Besetzung des Templats lediglich mit erhöhter Monomer-Konzentration erreicht werden. Des Weiteren konnten SCHENNING *et al.* eine spezifische Wechselwirkung von Naphthalin-2,6-Diaminopurin-Konjugaten mit Oligothymidin-Templatsträngen (T_n) beobachten (Abbildung 5, **B**).^[38] Die Erweiterung des π -Systems begünstigte die Stabilität der Aggregate und ermöglichte es, die Helizität des supramolekularen Duplexes durch pH-Wert-Änderungen zu steuern. Wurde der pH-Wert kleiner als drei eingestellt, konnte eine linksgängige Helix beobachtet werden. Dahingegen begünstigt ein pH-Wert größer sieben die Ausbildung einer rechtsgängigen Helix. Diese Beobachtungen konnten darauf zurückgeführt werden, dass die

protonierten Formen der Naphthalin-Derivate mehr Raum in Anspruch nehmen, welcher in der Z-DNA gegeben ist.

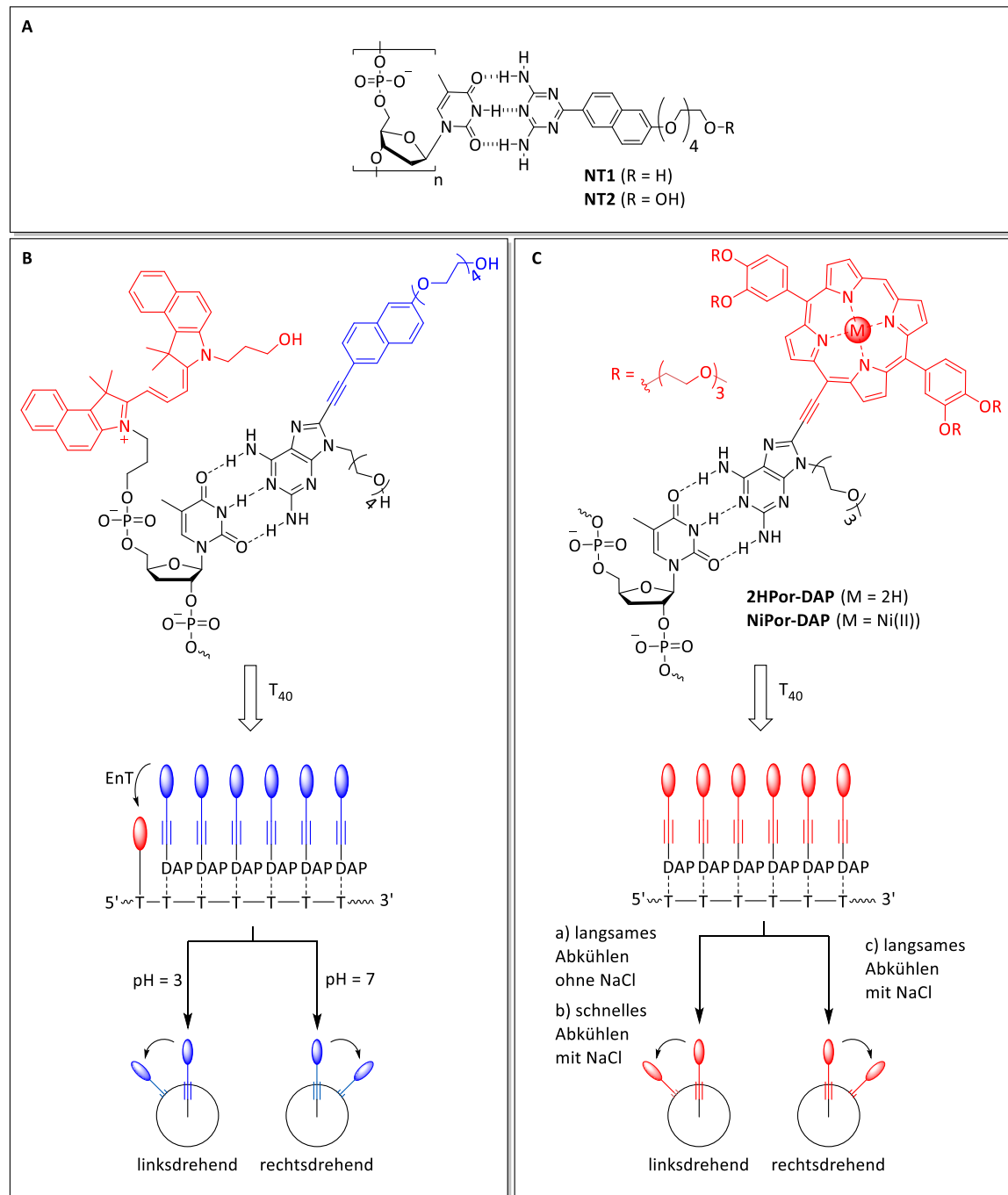


Abbildung 5: A. Prinzip der DNA-templierten Selbstassemblierung und des Bindungsmotivs von **NT1** und **NT2**. B. Selbstassemblierung eines Naphthalin-2,6-Diaminopurinkonjugats (links); Beobachtung eines EnT in Gegenwart eines 5'-terminalen Cyaninfarbstoffes (rot); Steuerung der Helizität des supramolekularen Duplexes durch den pH-Wert.^[37, 38] C. DNA-templierte Selbstassemblierung eines Porphyrin-2,6-Diaminopurin-Konjugates und Steuerung der Chiralität mittels Ionenstärke und langsamem bzw. schnellem Abkühlen nach Erhitzen auf 85 °C.^[40, 41]

Zusätzlich konnte durch die Anknüpfung eines Cyaninfarbstoffes (Abbildung 5, rot) am 5'-Terminus eines T₄₀-Templatstranges ein direkter EnT zwischen dem Naphthalin-Konjugat als Donor- und dem Cyaninfarbstoff als Akzeptormolekül nachgewiesen werden.^[39] Solche Energietransferprozesse sind von großem Interesse für die Entwicklung von Lichtsammelsystemen und konnten zuvor lediglich in kovalenten DNA-Chromophorsystemen beobachtet werden.^[12] Weitere Einblicke in die Steuerung der Helizität konnte die Arbeitsgruppe um BALAZ erhalten, indem sie porphyrinmodifizierte 2,6-Diaminopurinkonjugate an Oligothymidin-Templatsträngen assemblierte (Abbildung 5, C).^[40, 41] Dabei konnte die Helizität des ausgebildeten Duplexes durch die Ionenstärke sowie schnelles oder langsames Abkühlen der Proben kontrolliert werden. Ein langsames Abkühlen ohne NaCl führte zur Ausbildung eines linksdrehendes Duplexes, wohingegen durch die Anwesenheit von Salzen eine rechtsgängige Helix begünstigt wurde. Gleichzeitig konnte in Anwesenheit der NaCl-Ionen durch schnelles Abkühlen eine rechtsgängige helikale Anordnung der Chromophore beobachtet werden.

2.3 DNA-templierte Selbstassemblierung chromophormodifizierter Nukleoside

Basierend auf den oben beschriebenen nicht-kovalenten Ansätzen wurden bereits auch einige chromophormodifizierte Nukleoside hinsichtlich ihrer Anlagerungseigenschaften untersucht. Beispielsweise knüpften STULZ *et al.* Magnesium(II)-tetraazaporphyrin an ein 2'-Desoxyuridin (**Mg-TAP**) und untersuchten dessen Assemblierung entlang Oligo-2'-Desoxyadenosin-Strängen (dA_n) (Abbildung 6).^[42] Dabei konnte eine spezifische Wechselwirkung zwischen Monomer und komplementärem DNA-Strang mittels CD- und Fluoreszenz-Spektroskopie nachgewiesen werden. Während in Anwesenheit des nicht-komplementären DNA-Stranges Oligothymidin oder in Abwesenheit von DNA eine Fluoreszenzlöschung zu beobachten war, konnte in Gegenwart eines dA_n-Stranges ein deutlicher Anstieg der Emission beobachtet werden. Diese spezifische Erkennung konnte in der Bioanalytik zur Bestimmung der Anzahl an dA_n-Sequenzabschnitten innerhalb eines DNA-Stranges eingesetzt werden. Der Gruppe um WAGENKNECHT gelang es, den bereits oben beschriebenen kovalenten Ansatz mit Pyren-Nilrot-DNA-Architekturen auf einen nicht-kovalenten zu übertragen (Abbildung 6). Dafür wurde zunächst das Anlagerungsverhalten der beiden chromophormodifizierten Nukleoside **Py-dU** und

Nr-dU entlang unterschiedlicher DNA-Templates, getrennt voneinander, untersucht. Dabei konnte für beide Monomere jeweils eine selektive Wechselwirkung zwischen den komplementären Oligo-2'-Desoxyadenosin-Strängen (dA_n , $n = 17, 20$) und den dU-Derivaten nachgewiesen werden.

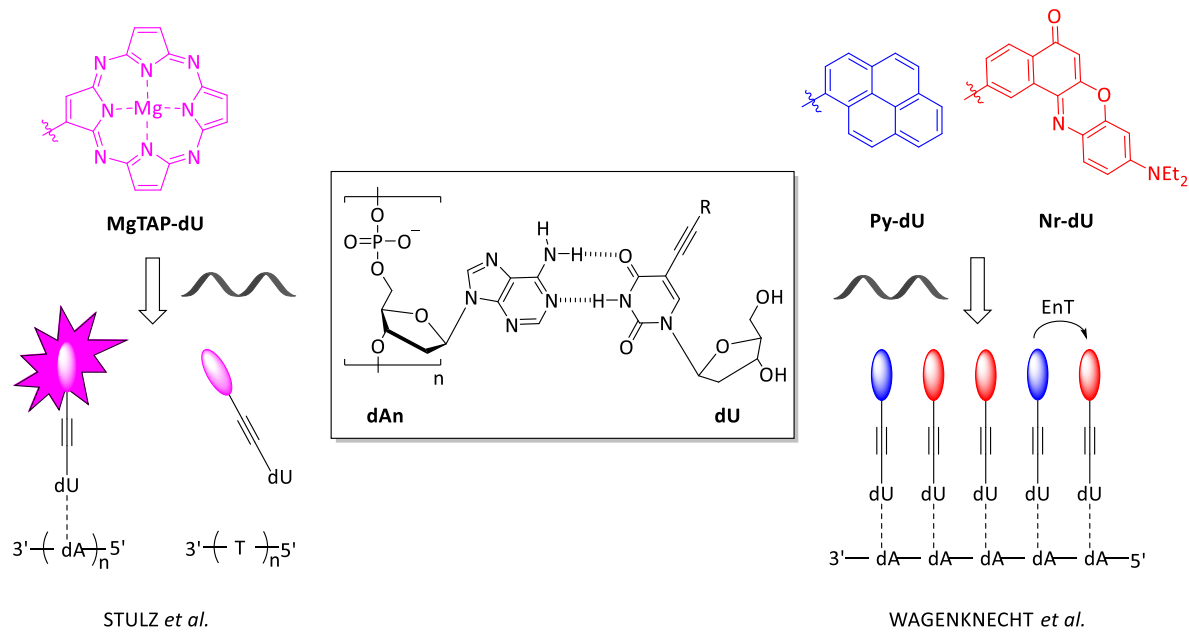


Abbildung 6: Schematische Darstellung des Bindungsmotivs von 2'-Desoxyuridins an ein Oligo-2'-Desoxyadenosin-Templat und die schematische Darstellung der Assemblierung von **MgTAP-dU**,^[42] **Py-dU** und **Nr-dU**.^[13]

Die in Wasser unlöslichen Monomere **Py-dU** und **Nr-dU** blieben in Gegenwart des nicht-komplementären T_n -Stranges und in Abwesenheit von DNA nicht in Lösung, sondern konnten durch einen einfachen Zentrifugierschritt abgetrennt werden. Lediglich in Anwesenheit eines komplementären dA_n -Stranges blieben die chromophormodifizierten Nukleoside in Lösung. Mit Hilfe von Titrationsexperimenten wurde im Fall von **Nr-dU** der Beladungsgrad des DNA-Templats untersucht. Dazu wurde der Chromophor im Überschuss zugegeben und überschüssige Monomere im Anschluss durch Zentrifugation abgetrennt, wobei eine volle Besetzung des Templats beobachtet werden konnte. Interessanterweise wurde für die helikale Anordnung beider Chromophore eine spiegelbildliche Helizität gegenüber der kovalenten Ansätze beobachtet. Sowohl **Py-dU** als auch **Nr-dU** assemblierten linksgängig entlang des Templats, während in den kovalenten Ansätzen eine rechtsgängige Anordnung der Chromophore beobachtet

werden konnte. Trotzdem unterschieden sich die DNA-Aggregate in ihren Absorptions- und Emissionseigenschaften nicht voneinander. Eine Kombination von **Py-dU** und **Nr-dU** führte zu einem selbstassemblierten Lichtsammelsystem mit interessanten optischen Eigenschaften. Auch in diesem nicht-kovalenten Ansatz konnte nach selektiver Anregung des Pyrens bei 380 nm der bereits oben beschriebene EnT von Pyren auf Nilrot innerhalb des Chromophorstapels beobachtet werden. Dieser konnte durch Variation der zugegebenen Nukleosid-Verhältnisse (20:0 → 0:20) empirisch optimiert werden. Der effizienteste EnT wurde bei einer Zusammensetzung von sechs **Py-dU** und 14 **Nr-dU** beobachtet.^[13] Durch die kovalente Anknüpfung eines C₆₀-Fullerens über einen C₆-Linker an das 5'-Ende des dA₂₀-Templats konnte dieses Chromophorsystem innerhalb einer DNA-basierten Solarzelle verbaut werden.^[16]

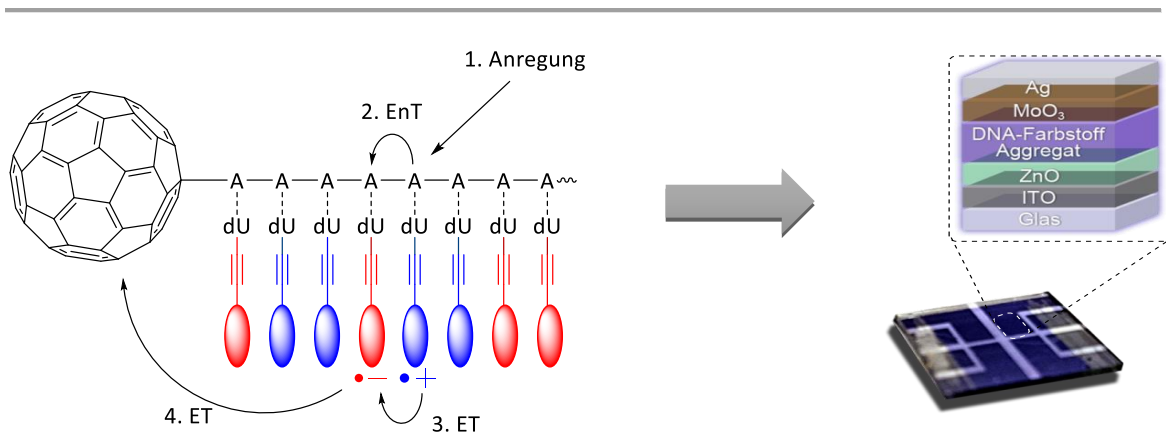


Abbildung 7: Schematische Darstellung des Fulleren-DNA-templierten Chromophor-Aggregats bestehend aus **Py-dU** (blau) und **Nr-dU** (rot) und die ablaufenden photochemischen Prozesse nach selektiver Anregung des Pyrens (links) als photoaktive Schicht in einer Solarzelle (rechts).^[16]

Spektroskopische Untersuchungen zeigten, dass nach dem ablaufenden EnT von **Py-dU** auf **Nr-dU** zusätzlich ein gerichteter Elektronentransfer stattfand, wodurch ein Exciton generiert wurde. Dieses war nicht lokalisiert, sondern dissoziierte durch den Farbstoffstapel, wodurch ein Elektron auf das gebundene Fulleren übertragen wurde. Durch diesen ladungstrennten Zustand war es möglich, das Farbstoff-DNA Aggregat als aktive Schicht in eine Solarzelle einzubringen, welche eine externe Quanteneffizienz (EQE) von 0.2 % lieferte. Zwar liegt dies noch deutlich unter den aktuell möglichen Wirkungsgraden organischer Solarzellen, zeigt jedoch, dass es prinzipiell möglich ist, solche DNA-basierten Nanosysteme in der organischen Elektronik zur Energiegewinnung einzusetzen. Dabei ist es von besonderer Bedeutung die optischen Eigenschaften

kontrollieren zu können. Diesen Fortschritt konnten WAGENKNECHT *et al.* erreichen, indem sie Ethinylpyren an ein 2-Amino-2'-desoxyadenosin (**Py-DAP**) knüpften.^[15] Durch die zusätzliche Aminogruppe ist **Py-DAP** in der Lage, eine dritte Wasserstoffbrücke auszubilden und somit stärker an das DNA-Templat zu binden. Anlagerungsexperimente von **Py-DAP** zeigten eine spezifische Wechselwirkung mit komplementären T_n -Templaten, welche unabhängig der Templatlänge einen Belegungsgrad von 90 % aufwiesen. Durch die Erweiterung der Bindungsmotive konnten in Kombination mit **Nr-dU** DNA-Aggregate generiert werden, deren optische Eigenschaften durch die Wahl der Templatssequenz programmiert werden konnten. Diese Programmierbarkeit wurde durch die Assemblierung entlang unterschiedlicher DNA-Templatstränge mithilfe von Absorptions-, Fluoreszenz- und CD-Spektroskopie nachgewiesen.

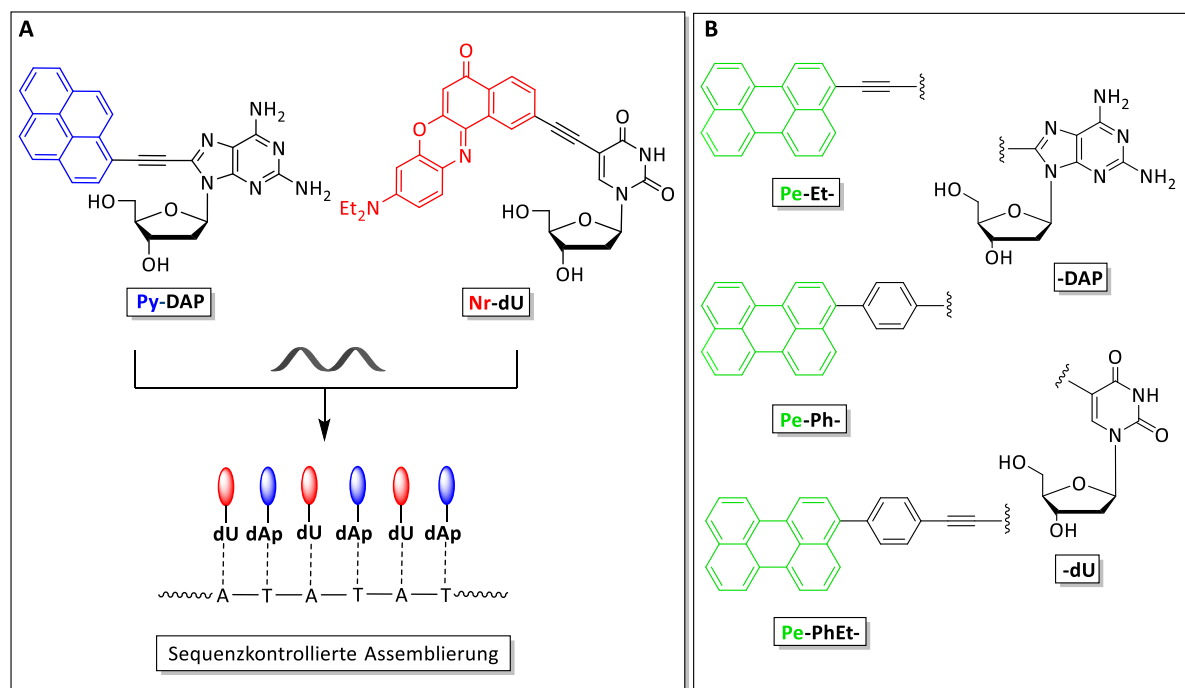


Abbildung 8: A. Schematische Darstellung der sequenzkontrollierten Assemblierung von **Py-DAP** und **Nr-dU** entlang eines alternierenden (AT)_n-Templatstrangs.^[15] B. Strukturen der Perylen-Nukleosid-Konjugate mit deren unterschiedlichen Linkern.^[43]

Um einen genaueren Einblick zu bekommen, welchen Einfluss die angeknüpfte Nukleobase selbst und der Linker zwischen Nukleobase und Chromophor ausüben, untersuchten WAGENKNECHT *et al.* unterschiedliche Perylen-Nukleosid-Konjugate bezüglich ihres Anlagerungsverhaltens.^[43] Dabei zeigte sich, dass sowohl die Wahl des

Linkers als auch die der Nukleobase das elektronische Gerüst des Chromophors beeinflussen, wodurch die optischen Eigenschaften in gewisser Weise eingestellt werden können. Es wurden zwei unterschiedliche Nukleobasen untersucht, welche jeweils durch drei unterschiedliche Linker (Ethinyl-, Phenylethinyl- und Phenyl-) an den Chromophor konjugiert wurden. Dabei hat sich gezeigt, dass unabhängig von der angeknüpften Nukleobase sowohl der Ethinyl- als auch der Phenyl-Linker gewisse Vorteile mit sich bringen und die Wahl eines Phenylethinyl-Linkers einen guten Kompromiss aus beiden Einheiten darstellt. Zwar konnten mit dem Ethinyl-Linker die selektivsten Anlagerungen beobachtet werden, jedoch zeigten die über eine Phenylbrücke angeknüpften Chromophore die besten Fluoreszenzquantenausbeuten und somit die besseren optischen Eigenschaften. Des Weiteren verliefen die Anlagerungen der DAP-Nukleoside entlang der T₂₀-Templaten gegenüber den dU-Nukleosiden entlang der dA₂₀-Stränge, aufgrund der dritten ausgebildeten Wasserstoffbrücke, deutlich stärker und selektiver. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass sowohl Temperatur als auch das Lösungsmittel enorme Einflüsse auf die Wechselwirkung zwischen den Nukleosid-Konjugaten und den DNA-Templaten ausüben.

3 Fulleren-DNA-Aggregate

3.1 Allgemeines

Fullerene sind, neben Graphit, Diamant, Kohlenstoffnanoröhren und Graphen, eine weitere Modifikation des Elements Kohlenstoff. Erstmals 1985 von KROTO *et al.* veröffentlicht,^[44] mündete diese Entdeckung aufgrund der speziellen physikalischen und elektronischen Eigenschaften des Stoffes, sowie die Entdeckung weiterer Vertreter dieser neuen Stoffklasse, zur Würdigung durch den Nobelpreis 1996.^[45] Im Gegensatz zu den Kohlenstoffmodifikationen Diamant und Graphit handelt es sich bei Fullerenen um sphärische Moleküle mit einem hohlen Innenraum, welche zwar auch sp^2 -hybridisiert vorliegen, deren σ -Bindungen jedoch etwas gekrümmt sind. Diese Krümmung ist auf die enthaltenen Fünfringe zurückzuführen.

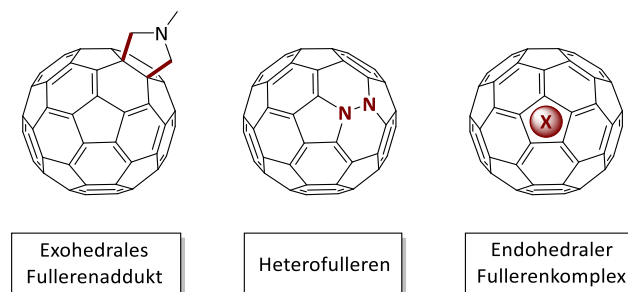


Abbildung 9: Schematische Darstellung der möglichen Fulleren-Modifikationen resultierend aus den drei beschriebenen Modifikationsmethoden am Beispiel eines C₆₀-Fullerens.

Die Grundstruktur von Fullerenen setzt sich aus kondensierten Fünf- und Sechsringen zusammen. Dabei können, nach dem Eulerschen Polyedersatz, jeweils 12 Fünf- und M Sechsringe ($2(10 + M)$) miteinander verknüpft sein.^[46] Die in sich geschlossene polyedrische Struktur konnte jedoch erst 1990 von KRÄTSCHMER *et al.* mittels Massenspektrometrie und ¹³C-NMR-Spektroskopie bestätigt werden.^[47] Eines der bekanntesten Vertreter der Fullerene ist das sogenannte BUCKMINSTER C₆₀-Fulleren. Dieses setzt sich aus 12 Fünf- und 20 Sechsringen zusammen, wodurch sich eine vollständige Delokalisierung der π -Elektronen über die gesamte Struktur ergibt. Strukturell erinnert das C₆₀ an einen Fußball, weshalb auch oft über eine Fußballstruktur gesprochen wird. Diese ist energetisch begünstigt, wodurch das C₆₀-Fulleren eine

besondere Stabilität aufweist, dementsprechend jedoch auch sehr reaktionsträge ist. Die chemische Modifikation von Fullerenen ist durch drei gängige Methoden realisierbar: Addition an Doppelbindung(en) (exohedrale Addukte), substitutionelles *Doping* (Ersatz von C-Atomen durch Heteroatome, Heterofullerene) sowie die Einbringung von Atomen oder Verbindungen in den hohlen Innenraum (endohedrale Komplexe). Durch ihre interessanten elektrochemischen und spektroskopischen Eigenschaften ist ihr Anwendungsgebiet breit gefächert. Großes Interesse besteht für den Einsatz in der organischen Elektronik. Dort eignen sie sich besonders zur Generierung von lichtinduzierten Energietransferprozessen innerhalb von Donor-Akzeptor-Systemen, da sie leicht angeregt werden und bis zu sechs Elektronen reversibel aufnehmen können. Dadurch ist es möglich, einen ladungstrennten Zustand zu erzeugen, welcher zur Energiegewinnung genutzt werden kann. Aufgrund dessen sind Fullerene mittlerweile nicht mehr aus der organischen Photovoltaik wegzudenken.^[48] Doch auch im Bereich der Biologie und Medizin finden Fullerene aufgrund ihrer biologischen Aktivität gegenüber Enzymen, Viren und DNA Anwendung. Dabei steht vor allem ihr Einsatz als Radikalfänger und ihre Fähigkeit, Singulett-Sauerstoff zu erzeugen, wodurch spezifische DNA-Strangbrüche generiert werden können, im Vordergrund.^[49, 50] Ein Hauptproblem in der Anwendung besteht jedoch in der schlechten Löslichkeit von Fullerenen im wässrigen Medium. Durch die Einführung polarer Gruppen konnte die Löslichkeit in den letzten Jahren zwar deutlich gesteigert werden, allerdings ist die Löslichkeit aufgrund des starken hydrophoben Effekts weiterhin unzureichend und deren Steigerung dementsprechend wünschenswert. Eine mögliche Verbesserung könnte durch supramolekulare Wechselwirkungen mit DNA erreicht werden.

3.2 Supramolekulare Wechselwirkung mit DNA

Wie bereits beschrieben, kann DNA auf unterschiedliche Arten als Templat genutzt werden. Bedingt durch die sphärische Struktur der Fullerene und deren ausgeprägten hydrophoben Charakter können sie auf sehr unterschiedliche Arten mit der DNA interagieren. Größentechnisch kann ein C₆₀-Molekül theoretisch an drei Basenabfolgen im Duplex binden (Abbildung 11) oder aufgrund des starken hydrophoben Effekts als Fulleren-Cluster, bestehend aus fünf oder acht Fullerenen, in die Furchen der DNA

binden. ZHAO *et al.* konnten durch dynamische Molekülsimulationen errechnen, dass ein C₆₀-Fulleren bevorzugt an die hydrophoben Enden oder in die kleine Furche der DNA bindet, wodurch deren Struktur stark beeinflusst werden kann. Zusätzlich konnten sie zeigen, dass die Wechselwirkung zwischen der DNA und den Fullerenen stärker ist als die zwischen zwei Fullerenen.^[51] HÉLÈNE *et al.* berichteten erstmals von einem bioaktiven DNA-Fulleren-Konjugat, indem sie ein Fulleren über einen Thioether an eine DNA-Sequenz (14-mer) anknüpften (Abbildung 10).^[52] Das Oligomer wurde an Einzel- und Doppelsträngen sowie einer DNA-Haarnadel untersucht. Befand sich das Fulleren in G-reichen Regionen, wurden photoinduzierte, sequenzspezifische Strangbrüche beobachtet, welche aus einem Elektronentransfer zwischen dem Fulleren und Guanosin resultieren.

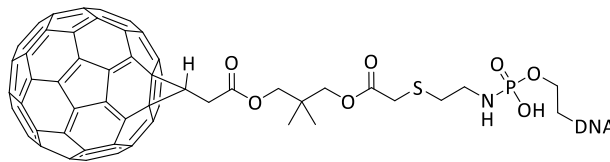


Abbildung 10: Struktur des thioetherverknüpften Fulleren-Oligomers von HÉLÈNE *et al.*^[52]

Bisher wurden in der Literatur jedoch hauptsächlich geladene Fulleren-Konjugate hinsichtlich ihrer Wechselwirkung mit DNA untersucht.^[53-55] Dies ist vor allem auf die gesteigerte Löslichkeit zurückzuführen, welche sich durch die Ladung ergibt. Dadurch kann einer Aggregation der Fullerene entgegengewirkt werden, sodass sie in monomerer Form und nicht als Cluster vorliegen. Zusätzlich werden durch den geladenen Zustand die elektrostatischen Wechselwirkungen im wässrigen Medium begünstigt. Dementsprechend wurden bisher insbesondere anionische und kationische Fullerene untersucht. Durch die Zugabe von geringen Anteilen organischer Lösungsmittel, wie DMF oder DMSO, konnten allerdings auch einige neutrale Konjugate untersucht werden.^[53, 56-58] JOSEPH *et al.* untersuchten die in Abbildung 11 dargestellten modifizierten Fullerene und deren Wechselwirkung mit CT-DNA.^[57, 59] Dabei konnten sie zeigen, dass die angeknüpften Endgruppen einen enormen Einfluss auf das Hydrophobie/Hydrophilie-Gleichgewicht ausüben, wodurch die Löslichkeit und somit die Ausbildung der Fulleren-Cluster stark beeinflusst werden. Mithilfe von

Titrationsexperimenten und Absorptionsspektroskopie hat sich gezeigt, dass lediglich im Fall von **F-An** eine Wechselwirkung mit DNA stattfand, welche zur Ausbildung geordneter Strukturen führte.

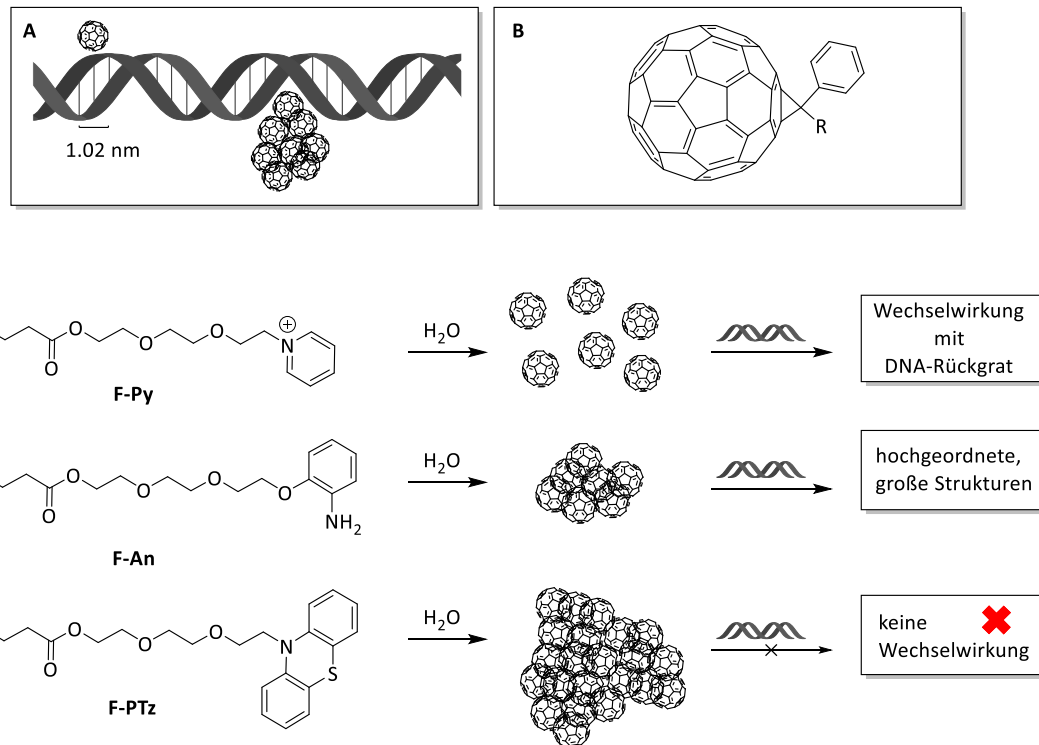


Abbildung 11: A. Schematische Darstellung der möglichen Wechselwirkungen zwischen Fullerenen und dsDNA. B. Fulleren-Konjugate **F-Py**, **F-An** und **F-PTz** und deren Aggregationsverhalten in Wasser und der daraus resultierenden Wechselwirkung mit dsDNA.^[57, 59]

Für die Titrationsexperimente mit der ionischen **F-Py**-Struktur konnte lediglich eine Präzipitation der Aggregate beobachtet werden, welche vermutlich aufgrund der Neutralisation durch elektrostatische Wechselwirkungen mit dem Rückgrat der DNA erfolgt. Im Fall von **F-PTz** konnten die Ausbildung von langen Nanoclustern beobachtet werden, welche aufgrund ihrer Größe keine Wechselwirkung mit der DNA eingehen konnten. Dahingegen bildete **F-An** 3–5 nm große Cluster aus, deren Interaktion mit doppelsträngiger DNA mittels CD-Spektroskopie erfolgreich belegt werden konnte. Des Weiteren konnten die Größe und Strukturen der Fulleren-DNA-Aggregate durch AFM-, TEM- und DLS-Messungen charakterisiert werden.

CASELL *et al.* lagerten das kationische C₆₀-N,N-dimethylpyrrolidinium-iodid **C₆₀-Pyr** entlang des Rückgrats von Plasmid-DNA an. Mithilfe von TEM-Messungen konnten

langkettige, geordnete Strukturen mit einem Durchmesser von rund 5–6 nm beobachtet werden.^[60]

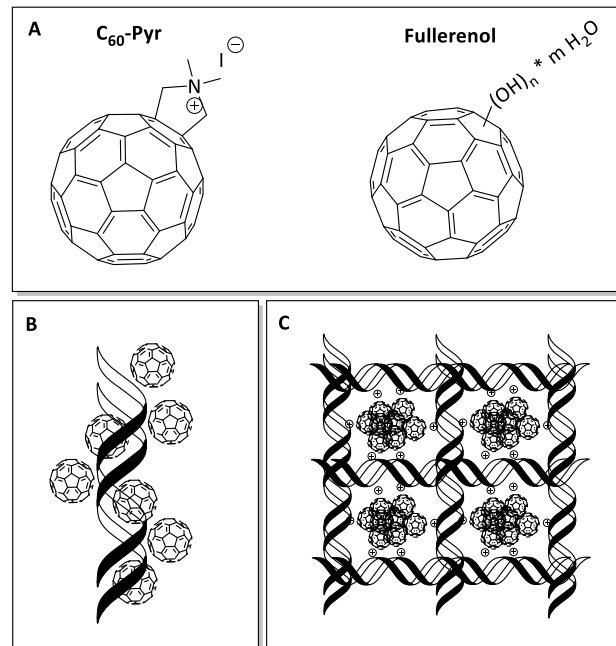


Abbildung 12: A. Strukturen der Fullerene-Konjugate **C₆₀-Pyr** und des Fullerenols. B. Assemblierung von **C₆₀-Pyr**-Monomeren entlang des negativ geladenem dsDNA-Rückgrats. C. **C₆₀-Pyr**-Vesikel in einem 2D-DNA-Netzwerk. ^[60, 61]

Dasselbe Fulleren verwendeten XIAO *et al.*, um es in Form von Vesikeln in ein 2D-DNA-Nanonetzwerk einzubringen.^[61] AN und JIN bildeten rund 10 nm große Partikel aus Fullerenol, welche in der Lage waren sowohl elektrostatisch mit dem DNA-Rückgrat zu interagieren als auch über die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen den Hydroxygruppen der Fullerene und der Aminogruppen der Nucleobasen an die DNA zu binden.^[19]

4 PBI-DNA-Aggregate

4.1 Allgemeines

Perylenbisimide (PBIs) sind polyzyklische, planare, aromatische Verbindungen und zeichnen sich vor allem durch ihre vielseitigen und einstellbaren optischen Eigenschaften aus.^[62, 63] Aufgrund ihrer schlechten Löslichkeit blieb ihr weitläufiges Potential allerdings nach ihrer Entdeckung unentdeckt. Zunächst fanden sie lediglich in der Textilindustrie Anwendung. Dort wurden sie aufgrund ihrer hohen chemischen und thermischen Stabilität sowie ihrer Licht- und Wasserfestigkeit als Küpenfarbstoffe eingesetzt. Erst 1959 wurde ihr Potential als Fluoreszenzfarbstoffe entdeckt. PBIs verfügen über eine ausgezeichnete Photostabilität, liefern hohe Fluoreszenzquantenausbeuten und können sehr effizient Elektronen leiten.^[63] Durch diese Eigenschaften eignen sie sich hervorragend zur Untersuchung lichtinduzierter Elektronentransferprozesse und finden Anwendung als neue Laserfarbstoffe,^[64] Lichtsammelsysteme^[65] und organische Halbleiter.^[66]

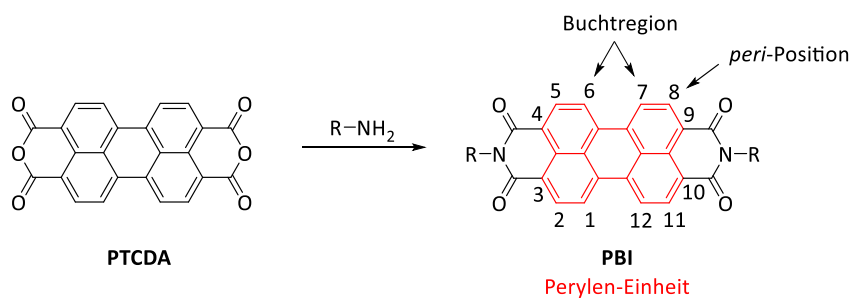


Abbildung 13: Schematische Übersicht zur Synthese von Perylenbisimiden (PBIs) ausgehend von PTCDA.

Synthetisch sind PBIs meist durch die Umsetzung 3,4,9,10-Perylen-tetracarbonsäure-dianhydrid (PTCDA) mit primären Aminen zugänglich (Abbildung 13). Ein großer Vorteil dieser Farbstoffklasse liegt darin, dass ihre optischen und physikalischen Eigenschaften durch die Einführung unterschiedlicher Substituenten programmierbar sind. Dabei spielt die Position der Substituenten eine große Rolle. Sie können entweder in der sogenannten Buchtregion oder der *peri*-Position eingeführt werden.^[63] Durch die Einführung sterisch anspruchsvoller Substituenten an der *peri*-Position (Imidfunktion), beispielsweise aromatische oder alkylkettentragende Amine, kann die Löslichkeit deutlich gesteigert werden. LANGHALS *et al.* untersuchen den Einfluss der Länge und der

Verzweigung der Alkylketten auf die Löslichkeit.^[67] Zudem konnten sie zeigen, dass Substituenten an der *peri*-Position lediglich einen sehr geringen bis nahezu keinen Einfluss auf die spektroskopischen Eigenschaften ausüben, da diese nicht mit dem aromatischen Chromophorsystem gekoppelt ist. Dahingegen beeinflussen Substituenten in der Buchtregion die Absorption und Emission der Chromophore enorm.^[68, 69] Dabei können sowohl elektronenziehende als auch –schiebende Substituenten an einer oder mehreren Positionen eingeführt und somit die spektroskopischen und elektrochemischen Eigenschaften programmiert werden. Zusätzlich führt eine Erweiterung des π -Systems zu einer noch stärkeren bathochromen Verschiebung der Absorptions- und Emissionsmaxima, wodurch jedoch die Löslichkeit wiederum verringert wird.

Aufgrund ihrer planaren Struktur und ihres großen π -Systems zeigen PBIs ein stark ausgeprägtes Aggregationsverhalten, wodurch supramolekulare, multichromophore Architekturen mit herausragenden photophysikalischen Eigenschaften zugänglich werden.^[63]

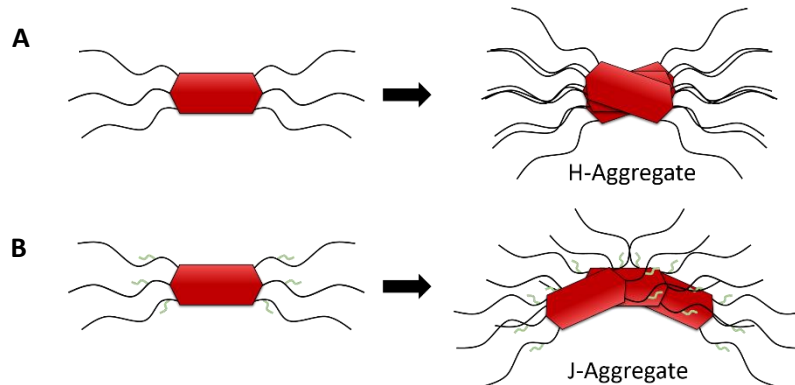


Abbildung 14: Schematische Darstellung der H- und J-Aggregate von Perylenbisimidfarbstoffen mit linearen Alkylsubstituenten (A) und verzweigten Alkylsubstituenten (B).^[63, 70]

Sowohl die Konzentration als auch die Temperatur nehmen einen starken Einfluss auf das Aggregationsverhalten. Des Weiteren kann dieses auch durch strukturelle Aspekte und der chemischen Umgebung beeinflusst werden.^[71] Die Arbeitsgruppe um WÜRTHNER studierte das Aggregationsverhalten unterschiedlicher PBIs in Lösung detailliert.^[63, 72, 73] Dabei gelang es ihnen die π - π -Stapelung mithilfe der eingeführten Alkylsubstituenten zu kontrollieren. Es zeigte sich, dass lineare Alkylsubstituenten die Ausbildung von

H-Aggregaten und verzweigte Alkylsubstituenten die von J-Aggregaten begünstigen (Abbildung 14).^[70] Ein weiterer entscheidender Faktor stellt die Wahl des Lösungsmittels und dessen Polarität dar. Während die Ausbildung der Aggregate mit zunehmender Polarität aprotischer Lösungsmittel reduziert werden konnte, nahm die Aggregation in protischen Lösungsmitteln mit zunehmender Polarität zu. Letztere Beobachtung ist auf die erhöhte intermolekulare Wechselwirkung der π -Systeme zurückzuführen, da der hydrophobe Effekt in Wasser am stärksten ausgeprägt ist.^[73]

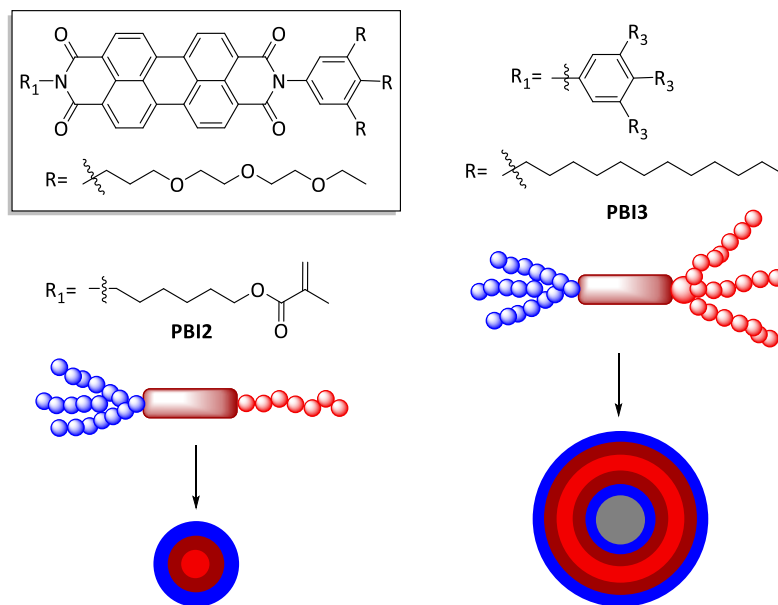


Abbildung 15: Schematische Übersicht der Strukturen der amphiphilen PBIs **PB12** (keilförmig) und **PB13** (hantelförmig) und deren ausgebildete Strukturen nach Aggregation in Wasser.^[74]

In Wasser wurden bereits hochgeordnete Molekülstrukturen von PBI-Konjugaten, die eine vielseitige Anwendung im Bereich der Materialwissenschaften versprechen, beobachtet.^[73] Auch diese können durch die Substituenten und deren hydrophoben bzw. hydrophilen Charakter der PBIs beeinflusst werden. WÜRTHNER *et al.* beobachteten die Ausbildung von mizellartigen Strukturen eines asymmetrischen, amphiphilen PBIs (Abbildung 15).^[74] Dafür wurde zum einen eine Methacrylsäurehexylesterkette als hydrophober Rest und zum anderen eine Triethylenglykolbenzylkette als hydrophile Einheit verwendet (**PB12**). Die keilförmige Struktur des Chromophors begünstigte die Ausbildung von Mizellen mit einem Durchmesser zwischen vier und sechs nm. Dabei bildeten die hydrophoben Reste den Kern, sodass eine hydrophile Oberfläche gebildet wurde, die mit dem umgebenen Wasser wechselwirken konnte. Mit der Einführung eines Tridodecylbenzylrestes anstelle der Methacrylsäurehexylesterkette wurde das

hantelförmige PBI-Derivat **PBI3** erhalten und führte in Kombination mit **PBI2** zur Ausbildung von Vesikeln mit einer Doppelschichtmembran (7 - 8 nm, ca. 2 PBI-Einheiten). Die Größe der Vesikel konnte durch den Anteil von **PBI3** kontrolliert werden, wodurch Strukturen mit einem Durchmesser bis zu 93 nm beobachtet werden konnten. Die Arbeitsgruppe um FAUL generierte superhelikale, rechtsdrehende Strukturen, welche einen Durchmesser bis zu 100 nm erreichten, indem sie eine Galaktosyleinheit als hydrophilen Rest einführten.^[75] Diese bildeten zunächst helikale Fasern, welche untereinander Wasserstoffbrücken ausbilden konnten, wodurch sich hochgeordnete Strukturen ergaben.

4.2 Perylenbisimide in DNA

Die oben beschriebenen Eigenschaften von PBIs und die Neigung zur Selbstassemblierung in Wasser, machen PBIs für die Anwendung in der DNA-Analytik und der DNA-Nanotechnologie interessant. Mehrere Strategien wurden verfolgt, um PBIs kovalent in ein DNA-Gerüst einzubringen und deren intra- sowie intermolekulare Wechselwirkungen auszunutzen. WAGENKNECHT *et al.* brachten beispielsweise ein PBI-Konjugat als Basensurrogat in DNA ein (Abbildung 16).^[76] Dafür wurde der Chromophor an einen azyklischen Glykol-Linker geknüpft (**PBI4**) und mittels Festphasensynthese in den DNA-Strang eingebaut. Der Einbau in die Oligonukleotide erfolgte dabei sowohl intern als auch terminal. Spektroskopische Untersuchungen der hybridisierten chromophormodifizierten DNA-Stränge lieferten einen Einblick in das Aggregationsverhalten. Beide DNA-Duplexe (intern und terminal) zeigten im Absorptionsspektrum eine starke excitonische π - π -Wechselwirkung und eine excimerartige Emission bei 660 nm. Interessanterweise war dies jedoch nur unterhalb der Schmelztemperatur und somit innerhalb einer intakten Doppelhelix zu beobachten. Die Absorptions- und Emissionsspektren oberhalb der Schmelztemperatur zeigten Feinstrukturen mit monomerem Charakter. Im Fall der terminal modifizierten DNA bedeutete dies, dass die Oligonukleotidstränge durch die hydrophoben Wechselwirkungen der PBI-Enden miteinander verbunden waren. Mithilfe dieser sogenannten molekularen Klebern war es möglich, ein Netzwerk aus triangelförmigen DNA-*three-way-junctions* (engl. Drei-Wege-Kreuzungen, DNA-3WJ) zu generieren.^[77, 78] Solche Strukturen beobachteten auch HÄNER *et al.*, indem sie **PBI4** in das

Zucker-Phosphat-Rückgrat von Oligonukleotiden einbauen (Abbildung 17).^[79]

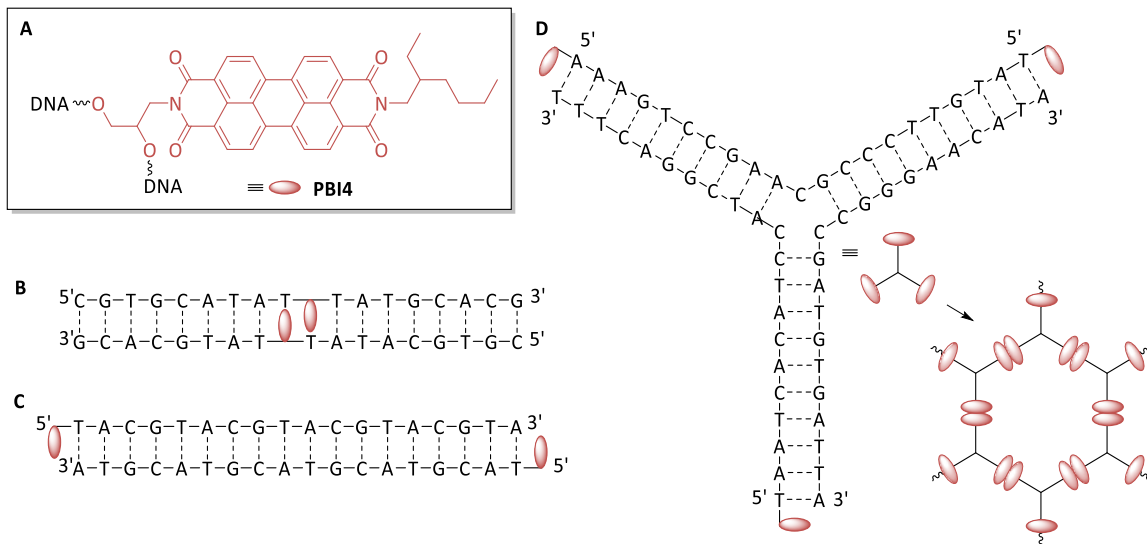


Abbildung 16: A. PBI-Baustein **PBI4** als Basensurrogat (A)^[76] für den kovalenten Einbau innerhalb (B) bzw. an den 5'-Enden von Oligonukleotidsträngen (C) sowie innerhalb einer DNA-3WJ (D).^[78]

Lewis et al. beobachteten DNA-Haarnadel-Strukturen, indem sie ein PBI in das Zucker-Phosphat-Rückgrat von Oligonukleotiden einbauten.^[80] Durch die π - π -Wechselwirkungen zwischen den PBI-„Köpfen“ konnten diese DNA-Haarnadeln zu DNA-Haarnadeldimeren assemblieren. Dieser Vorgang konnte durch die Salzkonzentration innerhalb der Lösung gesteuert werden. Während in reinem Wasser keine Assemblierung beobachtet werden konnte, wurde durch die Zugabe von NaCl eine Dimer-Bildung beobachtet.

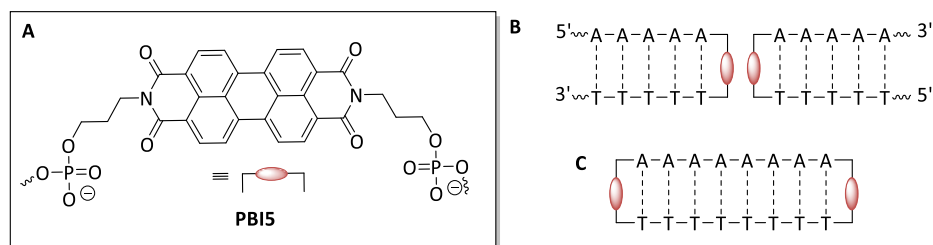


Abbildung 17: Struktur des in das Zucker-Phosphat-Rückgrat eingebauten PBI-Bausteins **PBI5** (A). Schematische Darstellung der Struktur der DNA-Haarnadeldimere (B) und DNA-Hanteln (C).^[81]

Basierend auf diesen Ergebnissen entwickelten *LEWIS et al.* das System weiter und untersuchten das Aggregationsverhalten von DNA-Hanteln. Diese bildeten bei hohen Salzkonzentrationen ein verzweigtes Netzwerk aus, welches mittels TEM- und AFM-

Messungen bildlich dargestellt werden konnte.^[81] Weitere interessante supramolekulare Strukturen, basierend auf der Selbstaggregation von Perylenbisimiden, konnten in Form von thermophilen Foldameren^[33] oder DNA-Tripelhelices^[82] generiert werden.

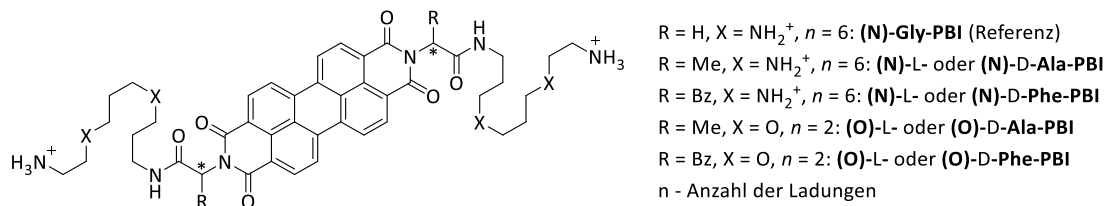


Abbildung 18: Struktur des mehrfach geladenen PBI-Derivats nach WÜRTHNER.^[83]

WÜRTHNER *et al.* untersuchten die Wechselwirkung von homochiralen, polykationischen aminosäuremodifizierten PBI-Derivaten mit Oligonukleotiden (*dsDNA* und *dsRNA*, Abbildung 18).^[83, 84] Dabei zeigte sich, dass die PBI-Derivate die *dsDNA/RNA* gegen thermische Denaturierung stabilisieren. Die PBI-Derivate ordneten sich in den Furchen der Oligonukleotide an, wodurch ein CD-Signal im PBI-Bereich induziert wurde.

5 Prinzip und Charakterisierung der Anlagerungsexperimente

Wie bereits erläutert, sind in der Literatur unterschiedliche Möglichkeiten beschrieben, um DNA-basierte supramolekulare Chromophorsysteme zu generieren. WAGENKNECHT *et al.* nutzen dafür den hydrophoben Charakter der Chromophore aus, indem sie die Farbstoffe an Nukleoside konjugieren und diese entlang eines DNA-Templat assemblieren. Die in Wasser unlöslichen chromophormodifizierten Nukleoside können lediglich durch die Wechselwirkung mit deren komplementären DNA-Strängen bzw. -Sequenzen in Lösung gehalten werden. Ein Musterbeispiel stellt dabei die Assemblierung des nitrotmodifiziertem 2'-Desoxyuridins **Nr-dU** entlang unterschiedlicher DNA-Templete dar (Abbildung 19).^[14]

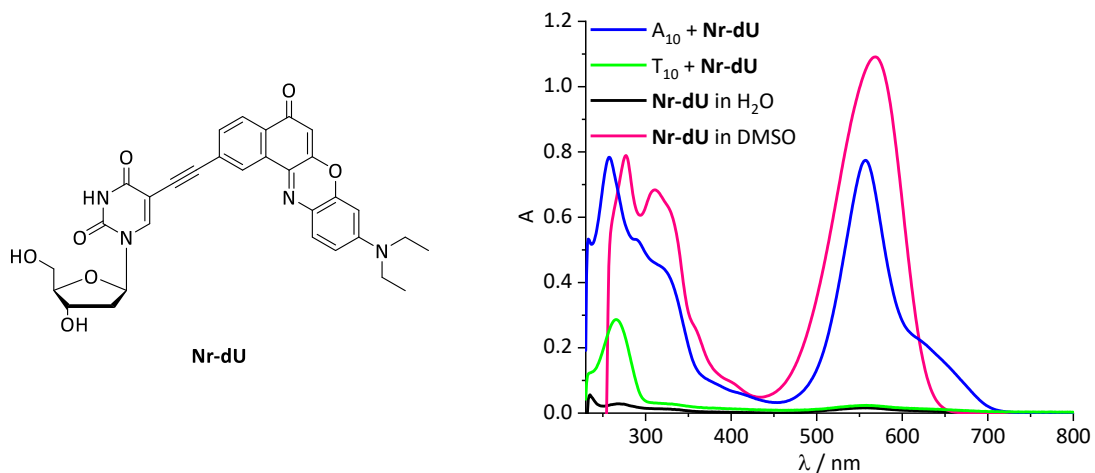


Abbildung 19: Struktur des nitrotmodifizierten 2'-Desoxyuridins **Nr-dU** (links) und die Absorptionsspektren der Anlagerungsexperimente von **Nr-dU** (rechts) entlang A₁₀ (blau) und T₁₀ (grün). Als Referenz **Nr-dU** in DMSO (pink) und in Wasser (schwarz).^[14]

Dafür wurde **Nr-dU** in einer DMSO-Stammlösung gelöst und anschließend zu einer wässrigen DNA-Lösung gegeben. Die Zugabe erfolgte einmal zum komplementären A₁₀-Strang und einmal zum nicht-komplementären T₁₀-Strang. Als Referenz diente eine Probe des Farbstoffs in einer wässrigen Lösung ohne DNA. Um eine bestmögliche Besetzung der potentiellen Bindungsmöglichkeiten zu erzielen, wurden die Chromophornukleoside im Überschuss zugegeben. Anschließend wurden nicht gebundene Nukleosid-Konjugate durch Zentrifugieren abgetrennt. Dabei hat sich gezeigt, dass **Nr-dU** lediglich in Anwesenheit des komplementären A₁₀-Stranges in Lösung bleibt und in Gegenwart des nicht-komplementären T₁₀-Strangs sowie in Abwesenheit eines DNA-

Templates (Negativprobe) vollständig abgetrennt wurde. Es handelt sich dabei um sehr sensible Systeme, in denen sich ein Gleichgewicht zwischen gebundenen und ungebunden Nucleosiden einstellt, welches durch eine Reihe von Parametern, wie Lösungsmittelpolarität, Temperatur, Inkubationszeit und Zentrifugationszeit, beeinflusst werden kann. Darüber hinaus ist jedes Chromophorsystem individuell, sodass alle Parameter spezifisch für das jeweilige System eingestellt werden müssen. Durch die Bindung der Nucleosid-Konjugate entlang der DNA können intermolekulare Wechselwirkungen wie Dipol-Dipol-, VAN-DEER-VAALS-, Wasserstoffbrückenbindungen und π - π -Stapelungen interessante supramolekulare Systeme generieren. Zur Aufklärung solcher Strukturen muss eine Reihe spektroskopischer Methoden genutzt und miteinander kombiniert werden, welche im Folgenden näher erläutert werden sollen.

5.1 UV/Vis- und Fluoreszenzspektroskopie

Um erste Annahmen über die ausgebildeten Strukturen treffen zu können, nutzt man die Absorptionseigenschaften der verwendeten Chromophore und bedient sich der UV/Vis-Spektroskopie. Diese basiert auf dem LAMBERT-BEERSCHEN-Gesetz und erlaubt die Messung der Absorption A einer Verbindung in Abhängigkeit der Wellenlänge λ . Wird dabei ein Photon einer geeigneten Frequenz absorbiert, kann das Molekül aus dem Grundzustand in einen energetisch höheren Zustand angeregt werden (Abbildung 20). Die einzelnen elektronischen Zustände besitzen jeweils mehrere Schwingungszustände (v_0, v_1, v_2 usw.), in welche der Übergang erfolgen kann. Dabei erfolgt der Übergang meist aus dem Singulett-Grundzustand S_0 ($v=0$) in einen energetisch höher gelegenen Singulett-Zustand (S_1, S_2 usw.). Die Wahrscheinlichkeit der ablaufenden Übergänge in die Schwingungszustände eines Moleküls wird durch das FRANCK-CONDON-Prinzip beschrieben. Demnach laufen bevorzugt zur Reaktionskoordinate bzw. zum Kernabstand senkrechte Übergänge ab, da innerhalb dieser, durch die schnellere Elektronenbewegung, keine Änderung des Kernabstands hervorgerufen wird.^[85, 86] Die Summe aller photoinduzierten Übergänge wird in einem Absorptionsspektrum dargestellt. Die Übergangsenergien zwischen den verschiedenen Schwingungsniveaus und somit das Absorptionsverhalten einer Verbindung hängt stark von deren elektronischen Umgebung ab. So kann die Absorption stark vom Lösungsmittel, der vorliegenden Orientierung der Chromophore und intermolekularen Wechselwirkungen

abhängen. Liegen die Farbstoffe einzeln als Monomer in Lösung vor, so können scharfe Banden mit einer charakteristischen Feinstruktur im Absorptionsspektrum detektiert werden.

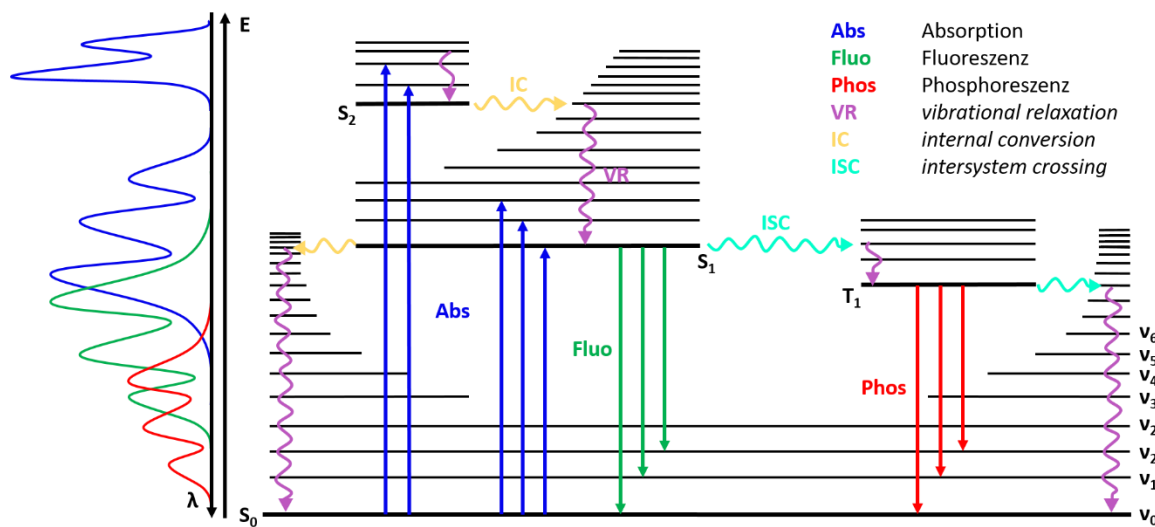


Abbildung 20: Vereinfachte Darstellung eines JABLONSKI-Diagramms zur Darstellung photophysikalischer Prozesse nach der Absorption (blau) elektromagnetischer Strahlung. Elektronische Zustände und Schwingungsniveaus sind als horizontale Linien, nicht strahlende Prozesse durch gewellte und strahlende mit glatten Pfeilen dargestellt.^[87, 88]

Befinden sich die Chromophore jedoch in räumlicher Nähe und in einer energetisch ungünstigen Orientierung zueinander, können starke Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Molekülen auftreten, welche zu einer ungerichteten Aggregation führen. Diese kann durch eine Verbreiterung des Absorptionsspektrums beobachtet werden, da die Energieniveaus der einzelnen Moleküle nicht mehr klar definiert vorliegen. Findet dahingegen eine kontrollierte Aggregation statt, ergibt sich nach vollständiger Aggregation für jedes Molekül die gleiche elektronische Umgebung, wodurch die energetischen Zustände wieder klar definiert werden und das Spektrum eine Feinstruktur zurückgewinnt. Diese unterscheidet sich jedoch deutlich von der monomeren Struktur, da meist ein lokales Absorptionsmaximum zu einem globalen Maximum wird und einer Verschiebung unterliegt. Ob eine bathochrome oder hypsochrome Verschiebung stattfindet, hängt davon ab, ob J- oder H-Aggregate ausgebildet werden (vgl. Kapitel 4.1). Je nach Anordnung zweier Chromophore überlappen deren Orbitale, wodurch zwischen den Übergangsdipolmomenten Dipol-Dipol-Wechselwirkungen stattfinden und sich sogenannte Excitone ausbilden können

(Abbildung 21). Diese excitonische Kopplung bedingt eine Aufspaltung (DAVYDOV-Aufspaltung) der höher liegenden Energieniveaus (α und β). Die räumliche Orientierung der Farbstoffe entscheidet darüber, ob ein Übergang in das energetisch niedrigere Niveau α oder in das höherliegende Niveau β erlaubt ist. Findet ein Übergang in α statt, wurde ein J-Aggregat ausgebildet, welches eine bathochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums bedingt. Innerhalb H-Aggregaten erfolgt der Übergang in β , wodurch das Spektrum hypsochrom verschoben wird. Nach Anregung in einen energetisch höheren Zustand, können eine Reihe photochemischer Prozesse ablaufen, um die aufgenommene Energie wieder abzugeben (Abbildung 20).

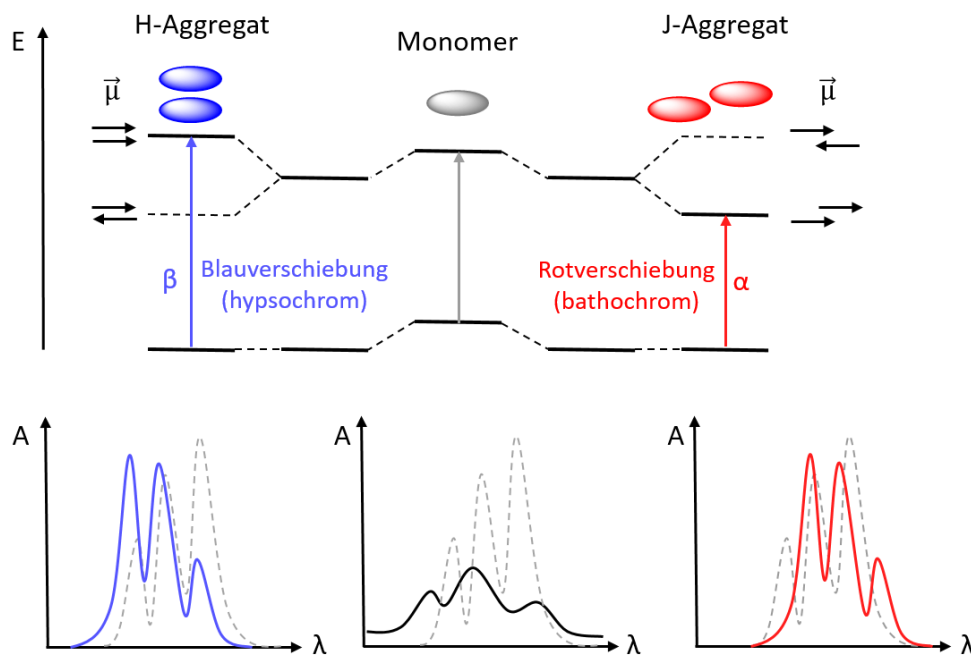


Abbildung 21: Vereinfachte Darstellung der energetischen Aufspaltung eines Exciton-gekoppelten Systems und der elektronischen Übergänge von H- (blau) und J-Aggregaten (rot) sowie der Einfluss ausgebildeter H-Aggregate (hypsochrome Verschiebung, blau). J-Aggregate (bathochrome Verschiebung, rot) und ungerichtete Aggregate (schwarz). Als Referenz dient dabei das Absorptionsspektrum des Monomers (grau).

Dabei sind sowohl strahlungsfreie als auch strahlende Prozesse denkbar, um in den Grundzustand S_0 zurückzugelangen.^[86, 89, 90] Der Energieausgleich erfolgt innerhalb der strahlungslosen Prozesse durch die Abgabe von Schwingungsenergie oder Wärme, während in strahlenden Prozessen Photonen in Form von Licht abgegeben werden. In allen drei Prozessen erfolgt eine Schwingungsrelaxation (*vibrational relaxation*, VR, 10^{-12} s) des Elektrons in den niedrigsten Schwingungszustand ($v = 0$) des elektronischen

Zustandes. Generell werden die strahlenden Übergänge als Lumineszenz bezeichnet. Dabei kann je nach ablaufendem Prozess zusätzlich nochmals zwischen Fluoreszenz und Phosphoreszenz unterschieden werden. Fluoreszenz kann dann beobachtet werden, wenn zunächst das Elektron in das niedrigste Schwingungsniveau des angeregten Singulett-Zustands S_1 relaxiert und anschließend ein spinerlaubter Übergang von S_1 in den Singulett-Grundzustand S_0 stattfindet. Dabei wird Strahlung emittiert, welche eine geringere Energie besitzt, als zuvor absorbiert wurde. Die resultierende Emission erfolgt also bei Wellenlängen geringerer Energie, wodurch eine sogenannte STOKES-Verschiebung des Spektrums resultiert. Das Emissionsspektrum sollte nach der Regel von KASHA und VAVILOV, unabhängig der Anregungswellenlänge, immer identisch sein, da die Schwingungsrelaxation mit 10^{-12} s deutlich schneller abläuft als die Fluoreszenz mit 10^{-8} s. Während das Absorptionsspektrum die Schwingungseigenschaften des angeregten Zustandes wiedergibt, stellt das Emissionsspektrum die Schwingungsstruktur des Grundzustands dar, weshalb spiegelbildliche Spektren detektiert werden. Neben der Fluoreszenz kann zum einen ein strahlungsfreier Übergang von einem höheren in einen niedrigeren elektronischen Zustand mit gleicher Multiplizität (interne Konversion, *internal conversion*, IC) stattfinden. Zum anderen kann unter Spin-Umkehr ein Übergang, ausgehenden von einem höheren Schwingungsniveau des angeregten Singulett-Zustands S_1 , in einen energieärmeren Triplett-Zustand T_1 (Interkombination, *intersystem crossing*, ITC), erfolgen. Beim Übergang aus dem Triplett-Zustand T_1 in den elektronischen Singulett-Zustand S_0 wird ebenfalls Strahlung abgegeben, die Emission wird als Phosphoreszenz bezeichnet. Verglichen mit der zuvor beschriebenen Fluoreszenz läuft dieser Prozess aufgrund der erforderlichen Spin-Umkehr deutlich langsamer ab (10^{-4} - 10^{-9} s) und besitzt folglich eine längere Lebenszeit. Die beschriebenen strahlenden Prozesse können mithilfe der stationären Fluoreszenzspektroskopie beobachtet und detektiert werden. Auch hier spielt die elektronische Umgebung eine wichtige Rolle und beeinflusst die Fluoreszenzeigenschaften eines Stoffes enorm, wodurch eine Aussage bezüglich supramolekularer Systeme möglich wird. Somit können mithilfe der Fluoreszenzspektroskopie auch Aussagen über den strukturellen Aufbau von Chromophorsystemen getroffen werden. Durch die Beobachtungen verschiedener Phänomene, wie Fluoreszenzlöschung, Energietransfer oder die Bildung von sogenannten Excimeren oder Exciplexen können Rückschlüsse auf die räumliche

Orientierung der Chromophore geschlossen werden. So kann es durch IC und ITC zu einer Löschung der Fluoreszenz kommen. Durch die Ausbildung von H-Aggregaten kann ebenfalls eine Fluoreszenzlöschung beobachtet werden. J-Aggregate verursachen gesteigerte Fluoreszenzquantenausbeuten.^[91]

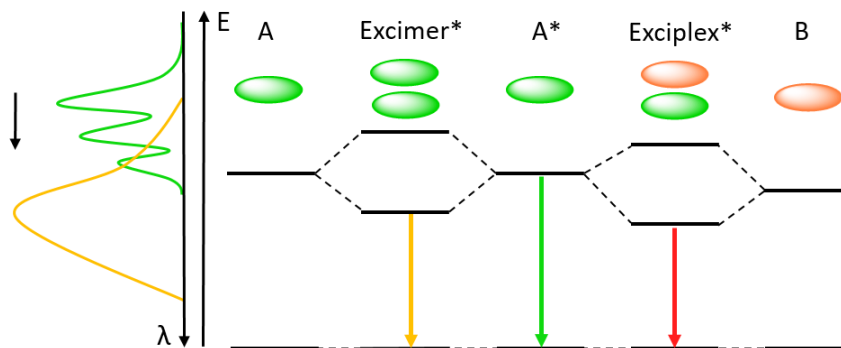


Abbildung 22: Schematische Darstellung eines Energiediagramms für die Ausbildung von *Excimeren* resultierend aus zwei gleichen Chromophoren (A) und *Exciplexen* aus zwei verschiedenen Chromophoren (A und B) anhand eines vereinfachten JABLONSKI-Diagramms sowie deren Auswirkung auf das Emissionsspektrum.

Des Weiteren kann es zu Wechselwirkungen eines angeregten Chromophors mit einem nicht angeregten Chromophor kommen, wodurch sogenannte angeregte Dimere (*excited dimer*) entstehen. Dabei wird unterschieden, ob die Aggregation zwischen zwei gleichen Molekülen (Excimer) oder zwischen zwei unterschiedlichen Molekülen (Exciplex, *excited complex*) stattfindet (Abbildung 22). Die durch die Wechselwirkung bedingte Aufspaltung der Energieniveaus resultiert in einer Verschiebung und/oder Verformung des Emissionsspektrums. Zusätzlich können Prozesse wie IC und ITC durch die Aufspaltung begünstigt werden. Darüber hinaus können Energie- und Elektronentransferprozesse beobachtet werden. Diese Prozesse laufen zwischen zwei unterschiedlichen Molekülen ab, wobei eines als Akzeptor und das andere als Donor fungiert. Je nach System kann es dabei entweder zu einer Fluoreszenzlöschung oder deren Steigerung kommen. Damit ein effizienter Elektronentransfer ablaufen kann, wird eine Überlappung der Orbitale von Akzeptor und Donor vorausgesetzt. Des Weiteren kann im Fall einer Orbitalüberlappung auch ein Energietransfer nach DEXTER ablaufen, innerhalb welchem es zu einem zweifachen Elektronenaustausch zwischen Donor und Akzeptor kommt. Dabei geht das angeregte Elektron aus dem LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) des Donors in das LUMO des Akzeptors über.

Gleichzeitig erfolgt ein Übergang eines Elektrons aus dem HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) des Akzeptors in das HOMO des Donors.^[92] Diese Elektronentransferprozesse können lediglich über geringe Abstände erfolgen (0.1-1.0 nm), da die Chromophore miteinander in Kontakt stehen müssen. Dahingegen ist ein Energietransfer nach FÖRSTER (FÖRSTER-Resonanzenergietransfer, FRET) bis über 10 nm zu beobachten, da dieser keine Orbital-Überlappung voraussetzt, sondern auf Dipol-Dipol-Wechselwirkungen basiert (Abbildung 23).^[93]

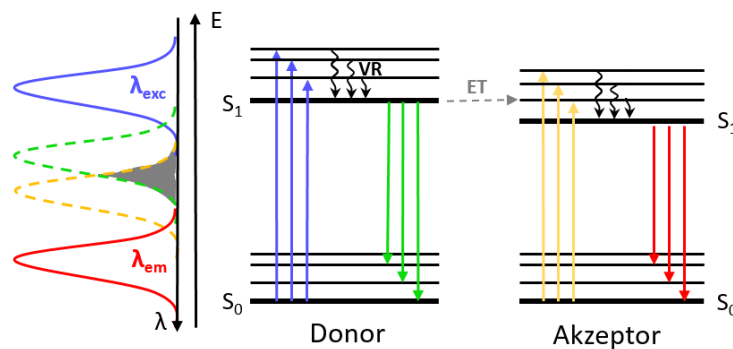


Abbildung 23: Schematische Darstellung eines Elektronentransfers (grauer Pfeil) und eines Energietransfers nach FÖRSTER zwischen Donor und Akzeptor anhand eines vereinfachten JABLONSKI-Diagramms sowie die die Absorption und Emission von Donor und Akzeptor mit eingezeichnetem Überlappungsintegral (grau) der Donorfluoreszenz und Akzeptorabsorption.

Innerhalb dieses Prozesses wird die Energie durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen des angeregten Zustandes des Donors strahlungslos auf den Grundzustand des Akzeptors übertragen. Für einen effizient ablaufenden EnT wird lediglich eine Überlappung des Absorptionsbereichs des Akzeptors mit dem Emissionsbereich des Donors vorausgesetzt (Abbildung 23, grau) . Nach selektiver Anregung des Donors wird dessen Energie strahlungslos auf den Akzeptor übertragen. Dabei wird dieser in einen energetisch höheren Zustand angeregt, währenddessen der Donor in seinen Grundzustand relaxiert, wodurch lediglich die Emission des Akzeptors beobachtet werden kann.

5.2 Chiroptische Spektroskopie

Durch die Assemblierung chromophormodifizierter Nukleoside entlang eines DNA-Strangs besteht die Möglichkeit, dass der chirale Charakter der DNA auf die gebundenen Chromophor-Nukleosid-Konjugate übertragen wird. Verbindungen, die

nicht mit ihrem Spiegelbild zur Deckung gebracht werden können, werden als chiral bezeichnet. Um nähere Einblicke in solch optisch aktive Systeme zu bekommen, wird deren zirkularen Dichroismus (Circulardichroismus, CD) mittels der CD-Spektroskopie gemessen.^[94, 95] Unter zirkularem Dichroismus wird die Eigenschaft chiraler Moleküle verstanden, zirkular polarisiertes Licht unterschiedlich stark zu absorbieren. Sie besitzen also zwei unterschiedliche Absorptionskoeffizienten für links- (L) und rechtsgängig (R) polarisiertes Licht. Der zirkulare Dichroismus $\Delta\varepsilon$ bildet sich aus der Differenz beider Absorptionskoeffizienten: $\Delta\varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R$. Durch das LAMBERT-BEERSCHE-Gesetz kann dies auch auf die Absorptionsdifferenz $\Delta A = A_L - A_R$ übertragen werden. Zu dieser Absorptionsdifferenz ΔA ist die sogenannte Elliptizität Θ direkt proportional.

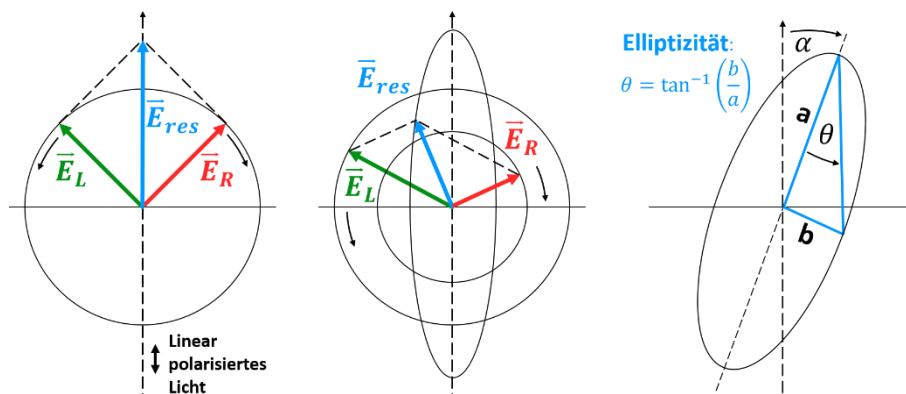


Abbildung 24: Vektorielle Darstellung des E-Vektors für linear (links) und zirkular (mittig) polarisiertes Licht sowie der geometrische Zusammenhang der Elliptizität Θ (rechts).^[94]

Linear polarisiertes Licht wird durch einen E-Vektor beschrieben, der sich aus rechtsdrehendem (R) und linksdrehendem (L) Licht zusammensetzt (Abbildung 24). Dabei haben R und L jeweils die gleiche Intensität. Oszilliert dieser Vektor auf einer Linie und trifft auf eine chirale Verbindung, werden L und R unterschiedlich beeinflusst. Dadurch oszilliert der E-Vektor nun nicht mehr auf einer Kreisbahn, sondern auf einer Ellipse. Das elliptisch polarisierte Licht kann nun durch die große und kleine Achse sowie deren räumliche Neigung α definiert werden. Der resultierende Winkel θ wird Elliptizität genannt und ist direkt proportional zur oben beschriebenen Absorptionsdifferenz ΔA . Aufgrund dessen wird sie in der CD-Spektroskopie genutzt und stellt deren Maß dar. Bei der Aufnahme eines CD-Spektrums wird eine Probe abwechselnd mit links- und rechts-polarisiertem Licht bestrahlt und die Elliptizität Θ in Abhängigkeit der Wellenlänge

gemessen.^[96] Um CD-Spektren besser interpretieren zu können, ist ein genaueres Verständnis der Elliptizität notwendig. Einen starken Einfluss auf diese nimmt dabei die Rotationsstärke R . Diese setzt sich aus der monomeren (R_{mon}), der elektrisch-magnetischen ($R_{\text{e-m}}$) und der excitonischen Rotationsstärke (R_{ex}) zusammen. Liegen Moleküle/Chromophore als Monomere vor, so wird die Elliptizität θ lediglich von R_{mon} beeinflusst. Dabei kann das CD-Spektrum zwar dem Absorptionsspektrum ähneln, es kann jedoch kein Nulldurchgang der y -Achse beobachtet werden, wodurch die Ausbildung optisch aktiver Aggregate ausgeschlossen werden kann. Befinden sich zwei Chromophore jedoch in räumlicher Nähe und treten miteinander in Wechselwirkung, hängt R und somit auch θ nicht mehr von R_{mon} sondern von $R_{\text{e-m}}$ und R_{ex} ab. Da beide mit unterschiedlichen Vorzeichen beitragen, resultiert die Wechselwirkung der Chromophore in einer charakteristischen Aufspaltung des CD-Signals. Wie ausgeprägt das zweiphasige CD-Signal ist, hängt von der räumlichen Orientierung und der Distanz der Chromophore ab.^[97]

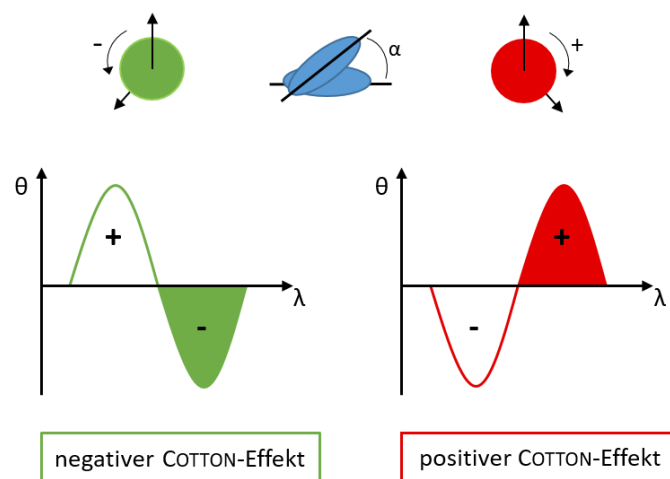


Abbildung 25: Draufsicht zweier, um den Rotationswinkel α verdrehter, Chromophore (oben, mittig) und deren möglichen Drehrichtungen (linksdrehend: grün; rechtsdrehend: rot) sowie die schematische Darstellung der resultierenden CD-Spektren (unten) mit einem negativen (links) und einem positiven (rechts) COTTON-Effekt.

Der Nulldurchgang wird meist im Bereich des Absorptionsmaximums beobachtet. Bei dem dabei auftretenden Vorzeichenwechsel wird zwischen einem positiven ($+ \rightarrow -$) und einem negativen ($- \rightarrow +$) COTTON-Effekt unterschieden (Abbildung 25). Dabei erfolgt die Betrachtung ausgehend von den höheren zu den geringeren Wellenlängen. Je nach ausgebildetem CD-Effekt im charakteristischen Absorptionsbereich eines Farbstoffes

kann nach der Exciton-Chiralitäts-Regel^[98] eine Aussage über deren räumliche Orientierung getroffen werden. So lässt die Detektion eines negativen Cotton-Effekts auf eine linksgängige und eines positiven COTTON-Effekt auf eine rechtsgängige Anordnung der Chromophore schließen. Dadurch ist durch die CD-Spektroskopie die Möglichkeit gegeben, Informationen bezüglich der Struktur und Orientierung chiraler Moleküle zu erhalten. Die häufigste Anwendung findet sie als empirische Methode in der Polypeptidchemie zur Strukturaufklärung, indem die erhaltenen Spektren mit Referenzspektren verglichen werden. Da aber auch excitonische Kopplungen und die Ausbildung von π -Stapeln detektiert werden können, kommt sie mittlerweile immer häufiger in der supramolekularen Chemie zum Einsatz. Auch die unterschiedlichen Formen der DNA (A, B, und Z) können mithilfe der CD-Spektroskopie unterschieden werden. Zusätzlich können strukturelle Änderungen der Aggregate durch die Einführung neuer Funktionalitäten oder Moleküle in ein DNA-Gerüst anhand der CD-Spektren analysiert und charakterisiert werden. In DNA-basierten supramolekularen Systemen kann die Chiralität der DNA auf die angelagerten Chromophore übertragen werden, wodurch eine erfolgreiche Anlagerung bestätigt werden kann und mithilfe der CD-Spektren Rückschlüsse auf das Anlagerungsverhalten verschiedener Moleküle getroffen werden können.

Eine weitere Spektroskopie-Methode die den zirkularen Dichroismus nutzt, stellt die FDCD-Spektroskopie (*Fluorescence-Detected Circular Dichroism*) dar.^[99] Diese kann zwar lediglich für fluoreszierende Moleküle bzw. Systeme angewandt werden, bringt jedoch gegenüber der herkömmlichen CD-Spektroskopie den Vorteil mit sich, dass sie deutlich sensitiver und spezifischer ist. So können CD-Effekte schon bei deutlich geringeren Konzentrationen beobachtet und auf bestimmte Moleküle zurückgeführt werden, auch wenn diese sich zwischen nicht-fluoreszierenden, aber chiralen Molekülen befinden. Innerhalb der FDCD-Spektroskopie wird die Probe mit zirkular polarisiertem Licht einer bestimmten Wellenlänge angeregt. Für chirale Moleküle ergeben sich dabei je nach Wellenlänge unterschiedliche Fluoreszenzintensitäten, welche in Abhängigkeit der Wellenlänge detektiert werden. Das resultierende FDCD-Spektrum entspricht also einem CD-abhängigen Anregungsspektrum.

Während innerhalb der CD- und FDCD-Spektroskopie der chirale Charakter des Grundzustands untersucht wird, stellt die CPL-Spektroskopie (*Circularly Polarized*

Luminescence) eine ergänzende Methode dar, die angeregten Zustände eines oder mehrerer Moleküle hinsichtlich ihrer optischen Aktivität zu untersuchen. Analog dem CD-Effekt wird unter CPL die Intensitätsdifferenz ΔI von links (I_L) und rechts (I_R) zirkular polarisierter Emission einer Verbindung verstanden.^[95] Innerhalb der CPL-Spektroskopie erfolgt die Anregung der Probe jedoch nicht mit zirkular polarisiertem Licht, sondern es wird gemessen, ob die Probe selbst in der Lage ist, zirkular polarisiertes Licht zu emittieren. Dabei wird während der Messung die Gesamtintensität ($I = I_L + I_R$) und die Intensitätsdifferenz ($\Delta I = I_L - I_R$) gleichzeitig bestimmt. Ein Maß dafür, wie groß der zirkular polarisierte Anteil des emittierten Lichts ist, wird durch den sogenannten Luminiszenz-Dissymmetriefaktor g_{lum} quantifiziert. Unter diesem wird die relative Intensitätsdifferenz zwischen rechts und links zirkular polarisierter Emission in Bezug auf die Gesamtintensität ($2g_{lum} = 2\Delta I/I$) verstanden.

Sowohl die FDCD- als auch die CPL-Spektroskopie stellen praktische Methoden dar, um einen fluoreszenten Chromophor in einem DNA-basierten supramolekularen System zu untersuchen. Dabei zeichnet sich die FDCD-Spektroskopie besonders durch ihre hohe Sensitivität aus, um eine implizierte helikale Anordnung eines Fluorophors in einer nicht-fluoreszierenden Umgebung zu untersuchen. Durch CPL-spektroskopische Untersuchungen kann eine Aussage darüber getroffen werden, ob die angeregten Zustände der ausgebildeten Strukturen ebenfalls optisch aktiv und somit in der Lage sind, CPL zu erzeugen.

III. ORTHOGONALE ANLAGERUNG

Nach wie vor stellt Sequenzkontrolle innerhalb DNA-templierten Selbstassemblierungen eine Herausforderung dar. Wie bereits erwähnt, gelang WAGENKNECHT *et al.* erstmals eine orthogonale Anlagerung der beiden chromophormodifizierten Nucleoside **Py-DAP** und **Nr-dU**.^[15] Innerhalb dieses Systems fand zunächst ein Energietransfer von Pyren auf Nilrot statt, welcher sich je nach Templatsequenz und somit der Chromophorabfolge in einer unterschiedlich ausgeprägten Löschung der Emission zeigte. Mithilfe dieser Fluoreszenzlöschung konnte eine selektive, programmierbare Anlagerung nachgewiesen und ein supramolekulares DNA-Chromophor-System generiert werden. Basierend auf diesen Ergebnissen wurden im Rahmen dieser Arbeit DNA-Farbstoffaggregate entwickelt, die einen gezielten Energietransfer erlauben, der die Emission steigert anstatt zu löschen. Dafür wurden das oben beschriebene **Py-DAP**-Nucleosid und das literaturbekannte perylenmodifizierte 2'-Desoxyuridin **Pe-dU**^[43, 100] als Donor-Akzeptor-Paar eingesetzt.

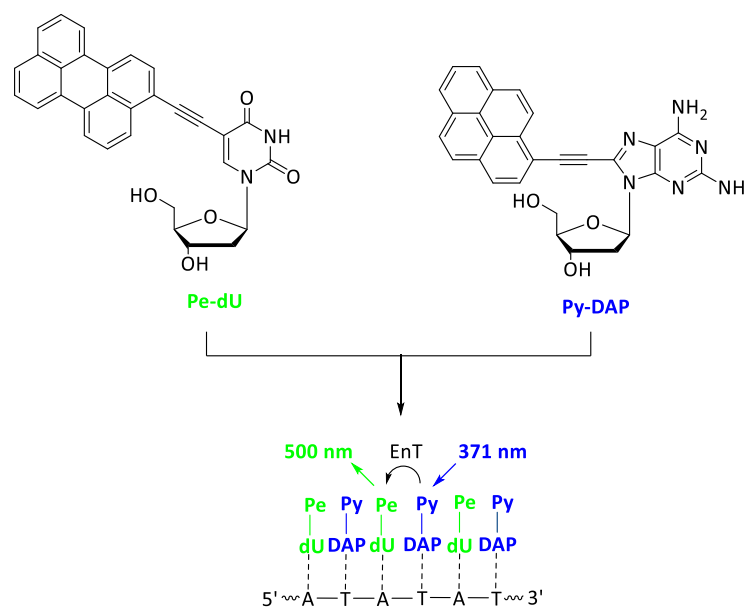


Abbildung 26: Strukturen der modifizierten Nucleosid-Konjugate **Pe-dU** und **Py-DAP** sowie die schematische Darstellung ihrer orthogonalen Anlagerung entlang eines gemischten AT-DNA-Templates.

Um zu untersuchen, welchen Einfluss die strukturellen Eigenschaften der DNA auf einen Energietransfer zwischen Pyren und Perylen haben, erfolgte zunächst der kovalente Einbau beider Nucleoside in DNA. Anschließend wurde in einem nicht-kovalenten Ansatz das Verhalten von **Py-DAP** und **Pe-dU** hinsichtlich ihrer orthogonalen Assemblierung

entlang unterschiedlicher DNA-Template untersucht (Abbildung 26). So konnte ein System entwickelt werden, innerhalb dessen die Energietransfer-Prozesse ebenfalls durch die DNA-Sequenz gesteuert werden können. Durch das neu gewählte Donor-Akzeptor-Paar konnten interessante optische Eigenschaften beobachtet und programmiert werden.

1 Kovalenter Einbau in DNA

Um zu überprüfen ob ein effizienter Energietransfer zwischen Pyren und Perylen innerhalb eines DNA-Duplexes stattfindet, erfolgte zunächst der kovalente Einbau von **Py-DAP** und **Pe-dU** in DNA mittels der Phosphoramidit-Methode. Dafür musste der **Py-DAP-Phosphoramidit-Baustein Py-DAP-PA** synthetisiert werden, während der Phosphoramidit-Baustein des **Pe-dUs (Pe-dU-PA)** kommerziell erworben wurde (Abbildung 27).

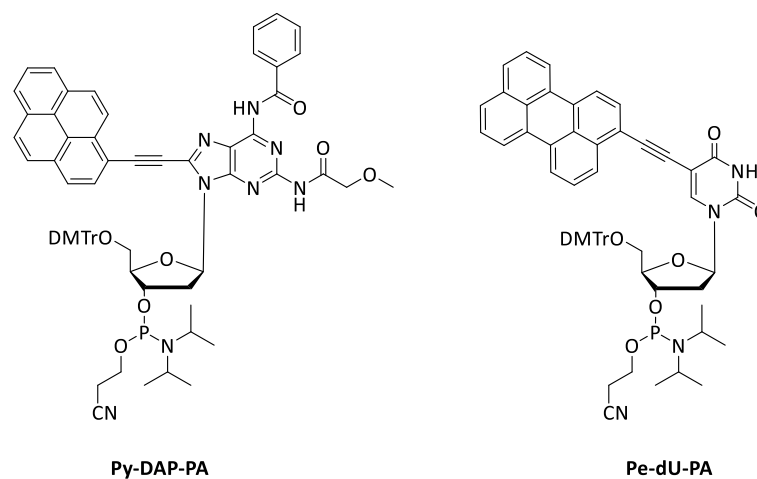


Abbildung 27: Strukturen der beiden Phosphoramidit-Bausteine **Py-DAP-PA** und **Pe-dU-PA**.

1.1 Synthese von Py-DAP-PA und kovalenter Einbau in DNA

Für die Synthese des Phosphoramidit-Bausteins **Py-DAP-PA** wurde zunächst die Dimethoxytrityl (DMT)-Schutzgruppe an der 5'-Hydroxygruppe der Zuckereinheit eingeführt. Dabei war mit 1.5 Äquivalenten DMT-Cl ein sehr geringer Umsatz des **Py-DAPs** zu beobachten, was vermutlich auf eine sterische Hinderung durch die bereits angeknüpfte Ethinylpyren-Einheit zurückzuführen ist. Weitere Ansätze mit einer gesteigerten Temperatur (30 – 60 °C) und/oder einer Erhöhung der Äquivalente (2 – 5) lieferten ebenfalls keine zufriedenstellenden Ausbeuten. Neben einem schlechten Umsatz konnten zusätzlich weitere Nebenprodukte beobachtet werden: zum einen das 3'-geschützte und das doppelt geschützte Produkt. Zum anderen wurde, besonders bei erhöhten Temperaturen, die Amino-Gruppe an der 6-Position des Purins geschützt.

Aufgrund dieser Beobachtungen wurde eine alternative Syntheseroute verfolgt, bei der zunächst die funktionellen Gruppen des Nucleosids geschützt wurden und erst im Anschluss die Anknüpfung der Chromophor-Einheit erfolgte (Abbildung 28).

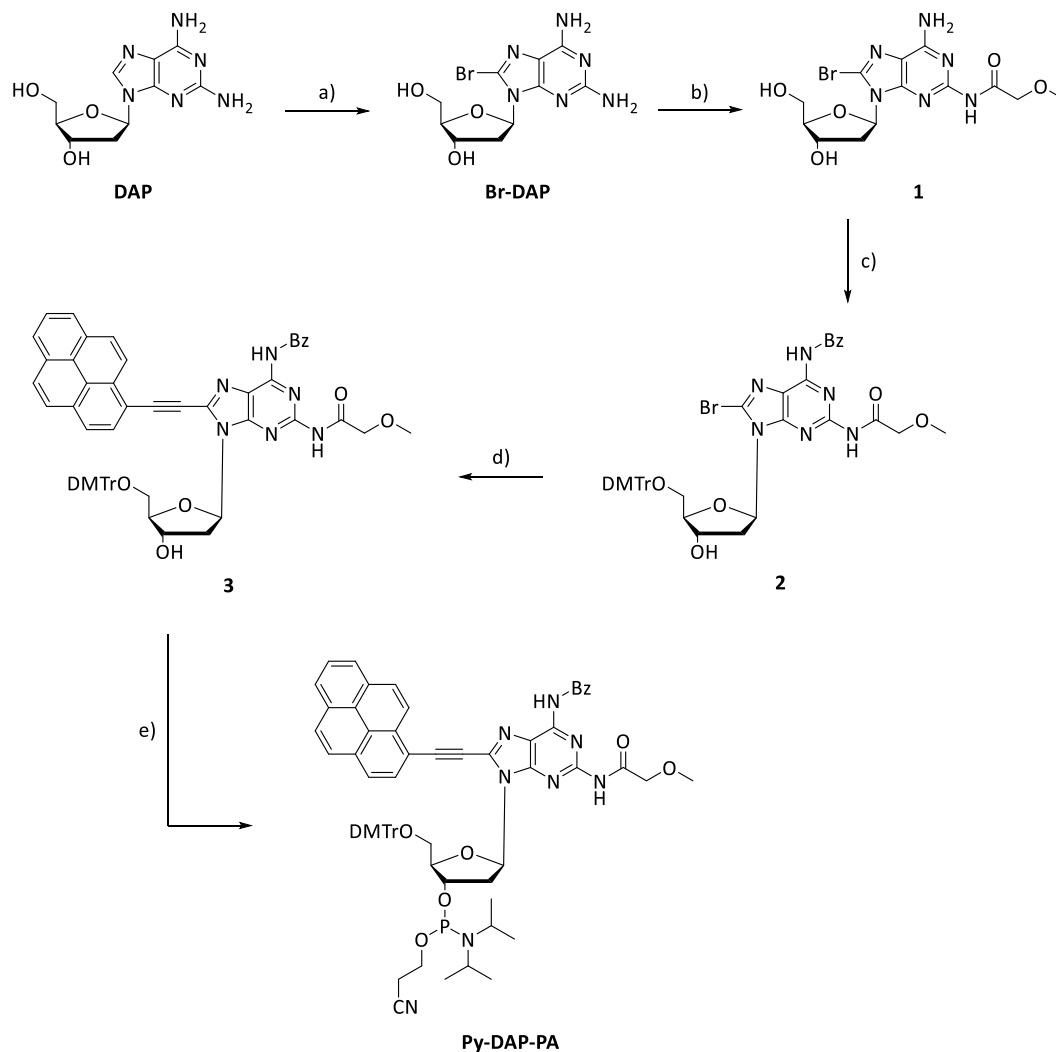


Abbildung 28: Synthese des Phosphoramidit-Bausteins **Py-DAP-PA**. a) NBS, DMF, 0 °C, 2 h, **64 %**; b) 1. TMS-Cl, Pyridin, 0 °C, 30 min, 2. Methoxyacetyl-Cl, Pyridin/MeCN, 0 °C, 40 min, 3. 28 % aq. NH₃/MeOH/THF (1/1/1), RT, 1 h, **79 %**; c) 1. DMT-Cl, NEt₃, Pyridin, RT, 4 h, 2. TMS-Cl, Pyridin, RT, 1 h, 3. Bz-Cl, Pyridin, RT, 2 h, 3. 28 % aq. NH₃, 0 °C-RT, 1 h, **28 %**; d) Pd(PPh₃)₄, CuI, NEt₃, DMF, 60 °C, 3 h, **68 %**, e) PA-Cl, DIPEA, DCM, RT, 4 h, **71 %**. Gesamtausbeute **7 %**.

Nach dieser Route erfolgte die Synthese von **Py-DAP-PA** ausgehend vom kommerziell erhältlichen 2-Amino-2'-desoxyadenosin (**DAP**) über fünf Stufen mit einer Gesamtausbeute von 7 %. Zunächst wurde, nach einer Vorschrift von ROBERT HOFÄR^[15] mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) an der 8-Position bromiert. Um Nebenreaktionen innerhalb der Festphasensynthese zu vermeiden, mussten die Aminogruppen des Purins geschützt

werden. Angelehnt an SEELA *et al.* wurde die 2-Aminogruppe durch eine Methoxyacetylen-Gruppe geschützt.^[101] Im Anschluss wurden die 5'-Hydroxygruppe der 2'-Desoxyribose und die 6-Aminogruppe des Purins in einem Syntheseschritt geschützt. Dabei wurde zunächst die 5'-Hydroxygruppe mit einer DMT-Schutzgruppe und nach vollständigem Umsatz temporär die 3'-Position durch die Umsetzung mit Trimethylsilylchlorid (TMS-Cl) geschützt. Für die 6-Aminogruppe wurde die für Adenosin übliche Benzoylschutzgruppe (Bz) gewählt. Darauf folgend wurde die TMS-Schutzgruppe selektiv mit Ammoniumhydroxid abgespalten. Das Produkt **2** konnte in einer Ausbeute von 28 % erhalten werden. Ethinylpyren wurde mittels einer SONOGASHIRA-Kupplung eingeführt. Dabei konnte durch die Verwendung von Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0) (Pd(PPh₃)₄) und Kupferiodid (CuI) als Katalysator-System sowie einer Reaktionsführung bei 60 °C für Verbindung **3** eine Ausbeute von 68 % erzielt werden. Die abschließende Umsetzung mit 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidit (PA-Cl) zum entsprechenden Phosphoramidit-Baustein **Py-DAP-PA** erfolgte in einer Ausbeute von 71 %.

Die beiden Bausteine **Py-DAP-PA** und **Pe-dU-PA** wurden anschließend mittels automatisierter Festphasensynthese in die in Abbildung 29 dargestellten DNA-Sequenz eingebaut.

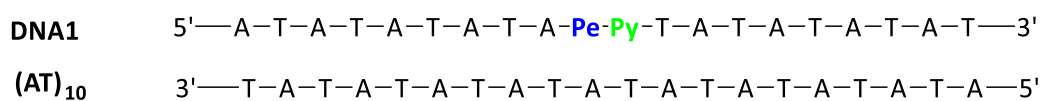


Abbildung 29: Pyren- und Perylen-modifizierte Sequenz **DNA1** sowie der komplementäre Gegenstrang.

1.2 Spektroskopische Untersuchungen von DNA1

Die zuvor synthetisierte **DNA1** wurde anschließend mittels Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopie charakterisiert (Abbildung 30). Dabei konnte im Absorptionsspektrum ein Signal im DNA-typischen Bereich von 240 – 300 nm sowie ein breites Signal von 340 – 520 nm detektiert werden, welches aus der Überlappung der Absorptionsbanden beider Chromophore resultiert. Basierend auf vorangegangenen

Arbeiten ist das Signal bei 325 nm der Diaminopurin (**DAP**)-Einheit des **Py-DAPs** zuzuordnen.^[15, 43]

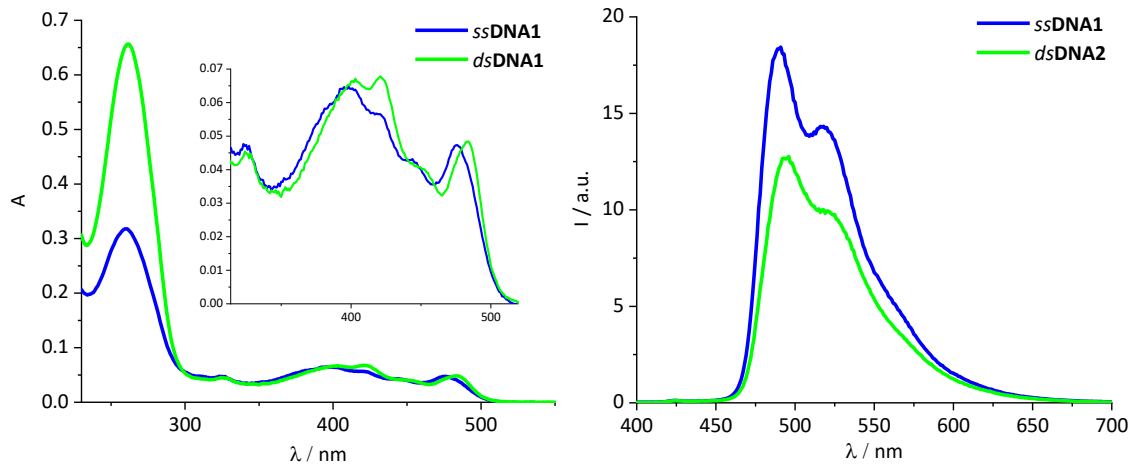


Abbildung 30: Absorptions- (links) und Emissionsspektren (rechts) von *ssDNA1* (blau) und *dsDNA1* (grün). (2,5 μM in NaPi (10 mM) + NaCl 250 mM), $\lambda_{\text{exc}} = 370$ nm).

Nach Hybridisierung von **DNA1** mit der komplementären (AT)₁₀-Sequenz konnte sowohl ein Anstieg der Absorption bei 421 nm als auch eine bathochrome Verschiebung des Maximums bei 476 nm auf 484 nm detektiert werden. Die Fluoreszenzspektren deuten sowohl für *ssDNA1* als auch für *dsDNA1* auf einen Energietransfer vom Pyren auf das Perylen, da nach selektiver Anregung des Pyrens ($\lambda_{\text{exc}} = 370$ nm) lediglich Perylenemission beobachtet wurde. Dies wird ebenfalls durch die Anregungsspektren unterstützt (vgl. Kapitel IX.1).

2 Selbstassemblierung von Py-DAP und Pe-dU

Angelehnt an die Arbeit von ROBERT HOFSAß wurden die beiden chromophormodifizierten Monomere **Py-DAP** und **Pe-dU** orthogonal an DNA angelagert. Dafür wurden die Bausteine jeweils aus einer 2 mM DMSO-Stammlösung zu unterschiedlichen DNA-Templaten gegeben, wodurch sich ein Gesamt-DMSO-Gehalt von 2 % ergab. Die sequenzspezifische Bindung der Nukleoside wurde spektroskopisch charakterisiert. Innerhalb der Anlagerungsexperimente wurden die Chromophor-Nukleoside in 1.5-fachem Überschuss eingesetzt, um eine möglichst hohe Besetzung der DNA-Template zu erreichen. Ungebundene Nukleoside wurden durch Zentrifugation entfernt. Eine Übersicht der verwendeten DNA-Sequenzen ist in Abbildung 31 gegeben.

| | | |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------|--------|
| A₁₀ | 5'—A-A-A-A-A-A-A-A-A-A—3' | n = 0 |
| T₁₀ | 5'—T-T-T-T-T-T-T-T-T-T—3' | n = 0 |
| A₁₀T₁₀ | 5'—A-A-A-A-A-A-A-A-A-A-T-T-T-T-T-T-T-T-T-T—3' | n = 1 |
| (AATT)₅ | 5'—A-A-T-T-A-A-T-T-A-A-T-T-A-A-T-T-A-A-T-T—3' | n = 9 |
| (AT)₁₀ | 5'—A-T-A-T-A-T-A-T-A-T-A-T-A-T-A-T-A-T-A-T—3' | n = 19 |
| (ATTT)₅ | 5'—A-T-T-T-A-T-T-T-A-T-T-T-A-T-T-T-A-T-T-T—3' | n = 9 |

Abbildung 31: Sequenzabfolgen der verwendeten DNA-Template und deren Grenzflächen n zwischen Pyren und Perylen innerhalb einer Sequenz.

Zunächst wurden die Wechselwirkungen gegenüber den Templaten A₁₀ und T₁₀ untersucht, um die Selektivität von **Pe-dU** und **Py-DAP** aufzuzeigen und als Referenz zu nutzen. Die dabei ausgebildeten **Pe-dU/Py-DAP**-Aggregate konnten jedoch nicht, wie im Fall von **Py-DAP** und **Nr-dU**, mittels einminütiger Zentrifugation abgetrennt werden, sondern blieben auch nach längeren Zentrifugationen in Lösung. Deshalb wurde ein weiterer Zentrifugationsschritt eingeführt, um überschüssige Monomere aus der Lösung zu entfernen und somit die Bildung von **Pe-dU/Py-DAP**-Aggregaten zu unterdrücken. Für die Anlagerungsexperimente ergab sich folgendes Protokoll: Zunächst wurde das entsprechende DNA-Templat in wässrigem Medium vorgelegt und im Anschluss das erste Chromophor-Nukleosid zugegeben. Dieses wurde für eine Stunde inkubiert und anschließend zentrifugiert (16000 g). Danach erfolgte die Zugabe des zweiten

Chromophors. Nachdem erneut für eine Stunde inkubiert wurde, wurde die Probe für weitere 10 min zentrifugiert (16000 g). Die Zugabe der Reihenfolge von **Py-DAP** und **Pe-dU** spielte dabei keine Rolle, es unterschied sich lediglich die Zentrifugationsdauer zwischen den einzelnen Schritten (**Pe-dU** 10 min; **Py-DAP** 40 min). Im Folgenden werden die Ergebnisse anhand des in Abbildung 32 dargestellten Beispiels erläutert, die ergänzenden Spektren sind dem Anhang zu entnehmen (vgl. Kapitel IX.1).

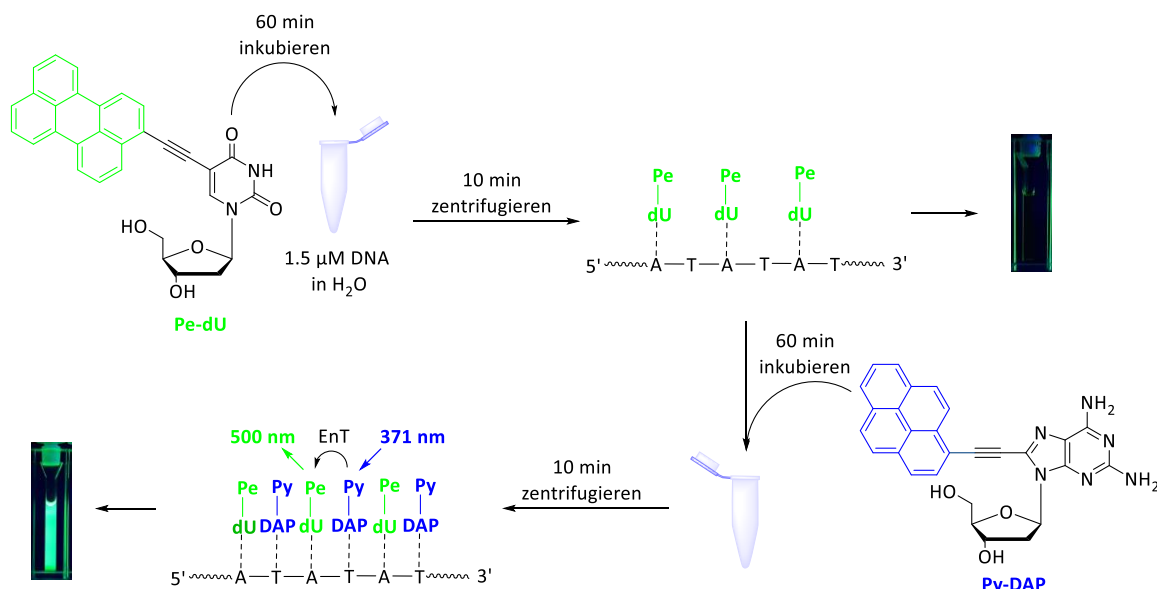


Abbildung 32: Schematische Darstellung des verwendeten Protokolls zur orthogonalen Anlagerung von **Pe-dU** und **Py-DAP**. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[102]

Die Anlagerungen wurden zunächst mithilfe der Absorptionsspektroskopie untersucht. Die Absorptionsbanden der beiden Chromophore überlappen weitgehend (Abbildung 33), jedoch zeigte sich durch die Anlagerung an A₁₀ und T₁₀ ein charakteristisches Signal für **Py-DAP** bei 383 nm und bei 497 nm für **Pe-dU**. Als Referenzmessungen erfolgten die Assemblierungen entlang A₁₀ und T₁₀ zunächst jeweils nur mit einem Monomer und anschließend in Anwesenheit beider Nukleoside. Die Anlagerungsexperimente an das T₁₀-Templat zeigen eine selektive Bindung des **Py-DAPs** (Abbildung 33, links). Während in den Experimenten mit **Pe-dU** keine Absorption im Chromophorbereich detektiert wurde, ist für **Py-DAP** eine deutliche Absorptionsbande bei 383 nm zu erkennen. Auch in Anwesenheit beider Chromophor-Nukleoside konnte bei 497 nm nahezu kein Signal detektiert werden, wodurch davon ausgegangen werden kann, dass **Pe-dU** durch den

Zentrifugationsschritt größtenteils abgetrennt wurde. Dementgegen zeigen die Anlagerungsexperimente entlang des A_{10} -Templats auch nach Zugabe des nicht-komplementären **Py-DAPs** eine deutliche Absorption bei 383 nm (Abbildung 33, rechts). Dabei fällt auf, dass sich die Feinstruktur von **Py-DAP** in Anwesenheit von A_{10} deutlich von der Probe mit T_{10} unterscheidet.

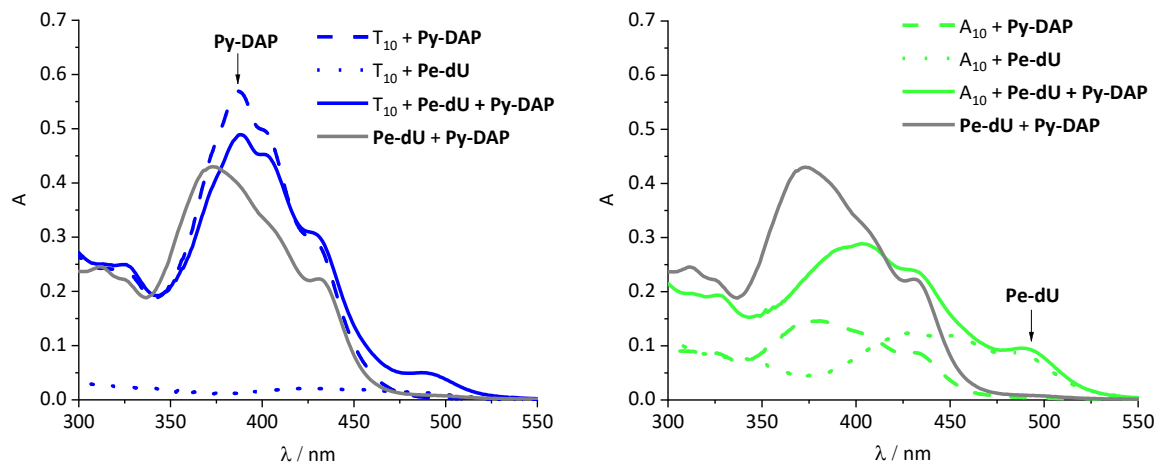


Abbildung 33: Absorptionsspektren der Selbstassemblierung von **Pe-dU** und **Py-DAP** entlang T_{10} (links) und A_{10} (rechts) sowie ohne DNA in Wasser + 2 % DMSO ($1.5 \mu\text{M}$ DNA + jeweils 15 Äq. Nukleosid). Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[102]

Bei der Selbstassemblierung handelt es sich um ein Gleichgewicht zwischen gebundenen und ungebundenen Monomeren, weshalb davon ausgegangen werden muss, dass sich auch freie Monomere in Lösung halten können. Dadurch können Fehlpaarungen zwischen einem Nukleosid und dessen nicht-komplementären Strang sowie Wechselwirkungen zwischen den Monomeren selbst nicht vollständig ausgeschlossen werden. Da der Hauptanteil an überschüssigen freien **Pe-dU**-Nukleosiden hier jedoch abzentrifugiert wurde, ist die Ausbildung von **Pe-dU/Py-DAP**-Aggregaten sehr unwahrscheinlich. Zusätzlich wurde ohne DNA (graue Kurve) eine deutliche höhere Absorption für Pyren beobachtet als mit A_{10} (grüne Kurve). Vermutlich fällt **Py-DAP** in Anwesenheit des nicht-komplementären A_{10} -Templats, infolge der gesteigerten Polarität der Umgebung, aus. Trotzdem konnte **Py-DAP**, aufgrund der erhöhten Löslichkeit durch die zwei Aminogruppen, nicht vollständig abgetrennt werden. Die Experimente ohne DNA zeigen die gleiche Absorption wie **Py-DAP** mit A_{10} . Dadurch kann angenommen werden, dass keine Wechselwirkung zwischen **Py-DAP** und A_{10} stattfindet, sondern sich

aufgrund der guten Löslichkeit von **Py-DAP** Chromophor-Aggregate bilden, die neben der DNA in Lösung vorliegen. Diese Vermutungen konnten zusätzlich durch Löslichkeitsstudien bestätigt werden. Dabei ergab sich für **Py-DAP** eine maximale Konzentration von 540 μM und für **Pe-dU** eine von 40 μM .

Um die Selektivität in Anwesenheit beider Nukleoside und den Einfluss der Templatsequenz hinsichtlich des Energietransfers zu untersuchen, wurde die Selbstassemblierung entlang der gemischten DNA-Templates $A_{10}T_{10}$, $(AATT)_5$, $(ATTT)_5$ und $(AT)_{10}$ untersucht (Abbildung 34).

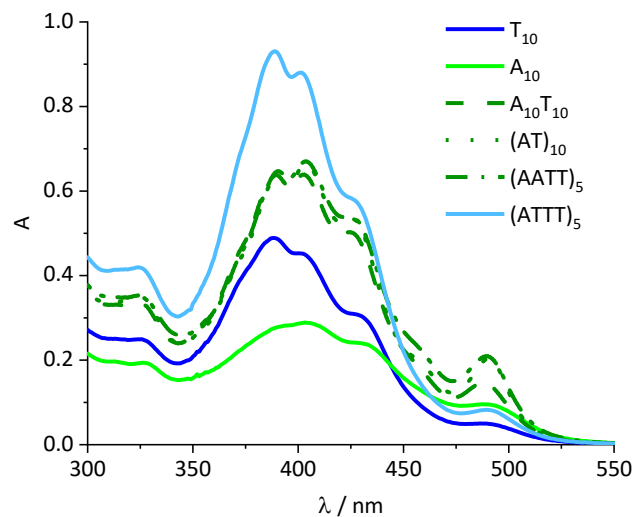


Abbildung 34: Absorptionsspektren der gemischten Aggregate von **Pe-dU** und **Py-DAP** mit den DNA-Templaten $A_{10}T_{10}$, $(AATT)_5$, $(AT)_{10}$ und $(ATTT)_5$ (rechts). (1.5 μM DNA) in Wasser + 2 % DMSO). Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[102]

Dabei wurden die Sequenzen so gewählt, dass die Anzahl der Grenzflächen zwischen den Chromophoren zunimmt während die Länge der **Py-DAP**-T- und **Pe-dU**-A-Abfolgen abnimmt. Besonders auffällig dabei ist, dass die Absorptionen im charakteristischen Pyrenbereich (383 nm) bei den Anlagerungen an $A_{10}T_{10}$, $(AATT)_5$ und $(AT)_{10}$ nahezu identisch sind. Alle drei Stränge verfügen über zehn Bindungsstellen für **Pe-dU** und zehn Bindungsstellen für **Py-DAP**. Da die Absorption bei 383 nm die gleiche Intensität aufweist, kann davon ausgegangen werden, dass nach der Zentrifugation in allen drei Proben gleich viele Bindungsstellen mit **Py-DAP** besetzt waren. Gleichzeitig fällt auf, dass das Signal bei 497 nm im Fall von $(AT)_{10}$ und $(AATT)_5$ intensiver ist als bei $A_{10}T_{10}$ und A_{10} .

Die Bindung von **Pe-dU** als Monomer ((AT)₁₀) oder Dimer ((AATT)₅) an das Templat ist vermutlich stärker, da sie durch die benachbarten Pyrene stabilisiert wird, wodurch eine erhöhte Absorption resultiert. Zusätzlich bestätigt die gesteigerte Absorption im Pyrenbereich und die verringerte Absorption im Perylenbereich innerhalb der Assemblierung entlang des (ATTT)₅-Templats für die spezifische Bindung der Nukleosid-Konjugate.

Die Emissionsspektren weisen ebenfalls auf eine sequenzspezifische Anlagerung hin. Dabei erfolgte die Anregung aller gemischten Aggregate mit der selektiven Wellenlänge des Pyrens (370 nm). Nahezu alle Proben zeigen eine Perylenfluoreszenz mit den Maxima bei 503 nm und 537 nm, obwohl für die reinen **Pe-dU/A**₁₀-Aggregate keine Emission detektiert werden konnte (Abbildung 35).

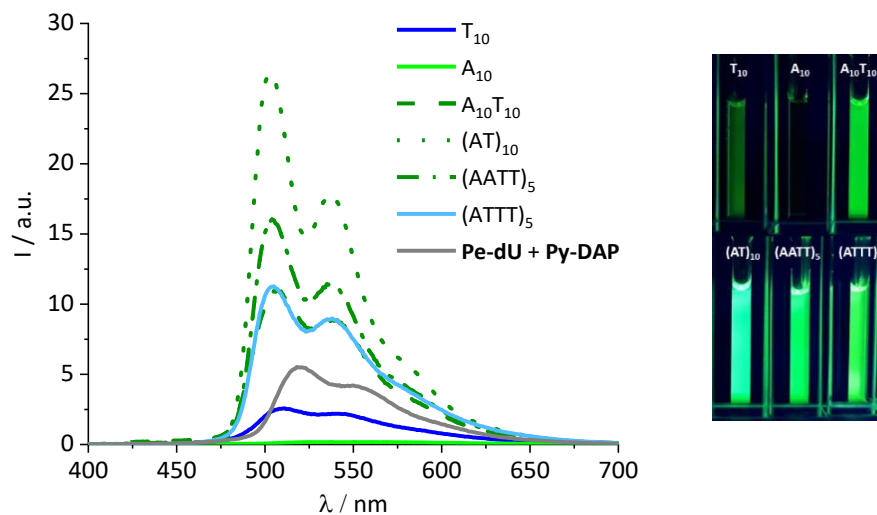


Abbildung 35: Emissionsspektren der **Pe-dU/Py-DAP**-Aggregate in Abwesenheit der DNA und entlang der DNA-Templates T₁₀, A₁₀, A₁₀T₁₀, (AT)₁₀, (AATT)₅ und (ATTT)₅. (1.5 μM DNA in Wasser + 2 % DMSO, λ_{exc} = 370 nm) sowie ein Foto der assemblierten Proben. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[102]

Demnach ist davon auszugehen, dass in den gemischten Aggregaten ein Energietransfer von Pyren auf Perylen stattfindet. Die Assemblierung entlang des T₁₀-Templats sollte lediglich Pyrenemission zeigen, jedoch wurde auch hier ein geringes Perylensignal detektiert. Die Anwesenheit von freien **Pe-dU**-Nukleosiden wurde bereits zuvor in den Absorptionsspektren beobachtet. Entweder handelt es sich um Fehlpaarungen entlang des DNA-Templats entgegen der kanonischen Basenpaarung oder einem Energietransfer

zwischen **Py-DAP**/ T_{10} -Aggregaten auf restlich gelöste **Pe-dU**-Monomere. Genauere Untersuchungen der Wechelswirkung zwischen **Pe-dU** und **Py-DAP** ergaben, dass innerhalb eines -Aggregats ohne DNA kein effizienter Energietransfer abläuft. Demnach liegt vermutlich ein geringer Anteil an **Pe-dU** wieder gelöst vor, welcher sich für einen Energietransfer eignet. Verglichen mit den Signalintensitäten der anderen DNA-Template, kann davon ausgegangen werden, dass die Anzahl der Fehlpaarungen oder des freien **Pe-dUs** sehr gering ist. Die Assemblierung entlang des A_{10} -Templats zeigt nahezu keine Emission, obwohl eine Absorption bei 383 nm sowie bei 497 nm beobachtet wurde. Die gelöschte Fluoreszenz kann darin begründet sein, dass **Pe-dU** am Templatstrang gebunden ist und **Py-DAP** frei in Lösung vorliegt. Vermutlich wird die Emission von freiem **Py-DAP** gelöscht, während dessen freies **Pe-dU** in Lage ist zu emittieren. Dies würde ebenfalls die Emission der T_{10} -Probe erklären.

Im Fall der gemischten DNA-Template nimmt die Intensität der Emission mit steigender Anzahl der Grenzflächen n (Abbildung 31) zwischen **Pe-dU** und **Py-DAP** zu. So wurde bei $n = 19$ (AT_{10}) die stärkste Emission beobachtet, welche über $n = 9$ ($AATT$)₅ bis zu $n = 1$ ($A_{10}T_{10}$) weiter abnimmt, obwohl in allen Templaten die gleiche Menge Farbstoff gebunden ist. Auffällig ist, dass $(ATTT)_5$, obwohl weniger **Pe-dU** (Akzeptor) gebunden wird, die gleiche Fluoreszenzintensität wie für $A_{10}T_{10}$ zeigt. Dies kann auf die erhöhte Anzahl der Grenzflächen zwischen den Chromophoren zurückgeführt werden und stärkt erneut die Annahme einer spezifischen Anlagerung der Nukleoside. Basierend auf diesen Ergebnissen ist davon auszugehen, dass der Energietransfer und somit die Emissionsintensität der gemischten Aggregate durch die Sequenzabfolge des DNA-Templats bestimmt wird, wodurch sich deren optische Eigenschaften vorhersagen und anwendungsspezifisch programmieren lassen.

Um die Struktur der gemischten Aggregate besser verstehen zu können wurden die DNA-Farbstoff-Aggregate zusätzlich mittels CD-Spektroskopie untersucht. Die Assemblierung von **Py-DAP** entlang des T_{10} -Templats zeigt eine starke excitonische Kopplung im Pyrenbereich (Abbildung 36, links). Aufgrund der positiven Elliptizität bei 409 nm, dem Nulldurchgang bei 385 nm und dem darauffolgenden negativen Signal bei 396 nm ist anzunehmen, dass die Chiralität des DNA-Templats erfolgreich auf die Chromophore übertragen wurde und von einer rechtsgängigen helikalen Anordnung der

Chromophorstapel ausgegangen werden kann. Auffällig ist, dass für die Probe ohne DNA, trotz hoher Absorption, kein COTTON-Effekt detektiert wurde, wodurch eine helikale Anordnung der Chromophore ausgeschlossen werden kann. Gleichzeitig zeigt das CD-Signal von **Py-DAP** mit A_{10} einen abgeschwächten, aber identischen Kurvenverlauf wie die Probe ohne DNA. Dadurch kann die auf den Absorptionsspektren basierende Annahme, dass die **Py-DAP**-Nukleoside ungebunden neben dem nicht-komplementärem A_{10} -Strang in Lösung vorliegen, nochmals bestätigt werden (Abbildung 36, rechts). Generell zeigen die Proben mit A_{10} lediglich sehr schwache CD-Effekte. Insbesondere die Anlagerung von **Pe-dU** alleine lieferte nahezu kein Signal, was eine schlechte excitonische Kopplung zwischen den Perylen-Einheiten vermuten lässt. Dahingegen konnte in Anwesenheit beider Nukleoside und A_{10} ein Nulldurchgang bei 403 nm detektiert werden. Auch wenn dies auf eine regelmäßige Stapelwechselwirkung zwischen **Py-DAP** und A_{10} deutet, konnte diese bereits durch die Absorptions- und Emissionsspektren ausgeschlossen werden.

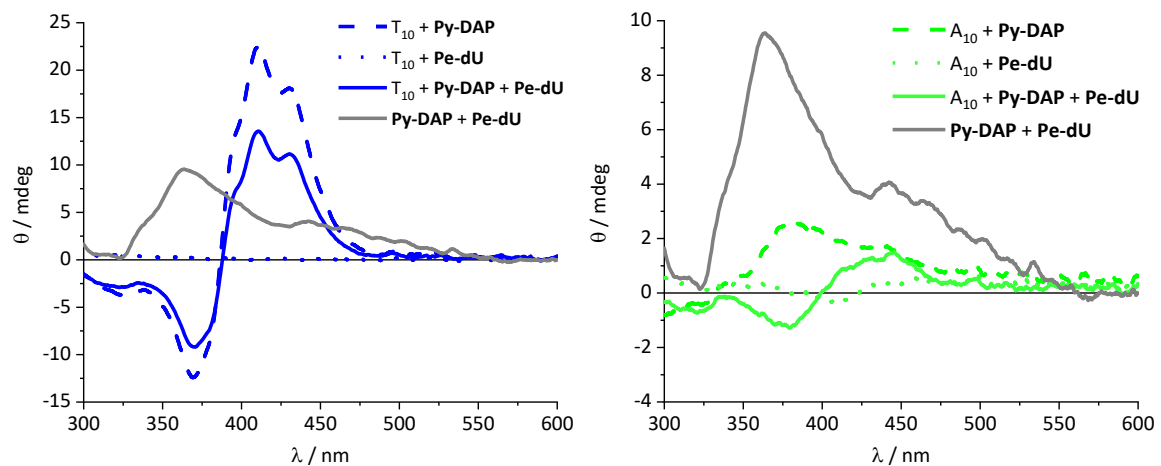


Abbildung 36: CD-Spektren der Selbstassemblierung von **Pe-dU** und **Py-DAP** entlang T_{10} (links) und A_{10} (rechts) sowie ohne DNA (graue Kurve) in Wasser + 2 % DMSO ($1.5 \mu\text{M}$ DNA). Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[102]

Allgemein lässt sich sagen, dass die excitonische Wechselwirkung zwischen benachbarten Pyrenen deutlich stärker ist als die der Perylen-Farbstoffe und der CD-Effekt hauptsächlich aus den Pyren-Einheiten resultiert. Demnach zeigen alle gemischten **Pe-dU/Py-DAP**-Aggregate unterschiedlich stark ausgeprägte CD-Signale. Diese nehmen mit steigender Anzahl an benachbarten Pyren-Einheiten zu, wodurch eine

sequenzspezifische Anlagerung erneut bestätigt wird (Abbildung 37). Zudem konnte in allen gemischten Aggregaten die rechtsgängige Orientierung der DNA auf die Chromophorstapel übertragen werden, was an einen positiven COTTON-Effekt mit bei 400 nm zu erkennen ist. Verglichen mit dem CD-Spektrum des reinen **Py-DAP-T₁₀**-Aggregats ist der Nulldurchgang der gemischten Aggregate rotverschoben, in Richtung Perylen-Absorption. Dies bestätigt die helikale Anordnung der Perylen-Farbstoffe, trotz derer schwach ausgeprägten excitonischen Kopplung. Auch die gesteigerten Signale bei 420 nm in mit (AT)₁₀ und (AATT)₅ kräftigen die Annahme, dass die Perylen-Farbstoffe als Monomere bzw. Dimere zwischen den Pyrenen stärker gebunden und in eine gesteigerte helikale Verdrehung gezwungen werden.

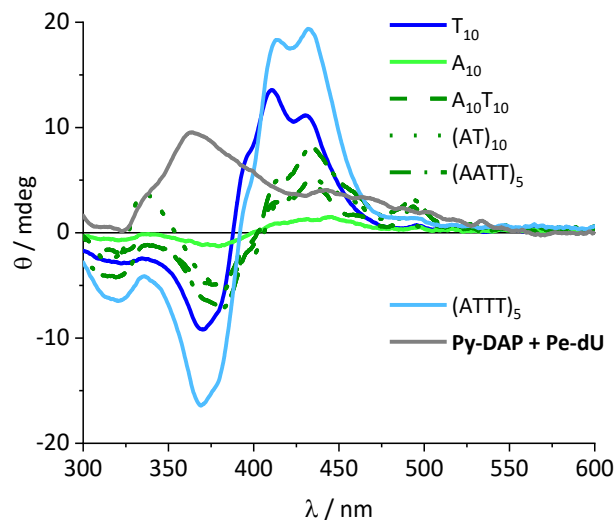


Abbildung 37: CD-Spektren der gemischten **Pe-dU/Py-DAP**-Aggregate in Abwesenheit der DNA und entlang der DNA-Template (1.5 μ M) T_{10} , A_{10} , $A_{10}T_{10}$, $(AT)_{10}$, $(AATT)_5$ und $(ATTT)_5$ in Wasser + 2 % DMSO. Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[102]

Es kann also davon ausgegangen werden, dass die Aggregate sich aufgrund der unterschiedlichen Chromophorabfolgen strukturell voneinander unterscheiden. Das CD-Spektrum der Assemblierung entlang des $(AT)_{10}$ -Templats zeigt insgesamt das geringste Signal. Zusätzlich kann ein weiterer Nulldurchgang bei 326 nm detektiert werden, welcher im Absorptionsbereich des Diamopurins (**DAP**) liegt und somit auf eine excitonische Kopplung der Nukleobasen der **Py-DAP**-Nukleoside schließen lässt. Denkbar wäre, dass die Umstrukturierung der Farbstoffe innerhalb des $(AT)_{10}$ -Aggregats eine stärker ausgeprägten helikalen Orientierung der **DAP**-Einheiten erzwingt, wodurch

deren excitonische Kopplung gesteigert wird. Die Assemblierung entlang des $A_{10}T_{10}$ -Templats zeigt im Perylenbereich ebenfalls ein gesteigertes Signal. Dies deutet darauf hin, dass der stabil ausgebildete Pyrenstapel die Struktur des Aggregats vorgibt und die Perylene auch entlang des $A_{10}T_{10}$ -Templats in eine Orientierung zwingt, die ihre excitonische Kopplung begünstigt. Das stärkste Signal konnte aufgrund des höchsten Pyrengehaltes im Fall des $(ATTT)_5$ -Templats detektiert werden. Insgesamt konnte durch die erhaltenen CD-Spektren die orthogonale Assemblierung von **Pe-dU** und **Py-DAP** sowie der Einfluss der Chromophore auf den strukturellen Aufbau der Aggregate aufgezeigt werden.

Neben der CD-Spektroskopie eignet sich die FDCD-Spektroskopie, um die chirale Orientierung fluoreszenter Proben zu untersuchen. Dabei hängen die FDCD-Spektren stark von der Emissionsintensität ab und eignen sich somit vor allem für die Charakterisierung der gemischten DNA-Templates.

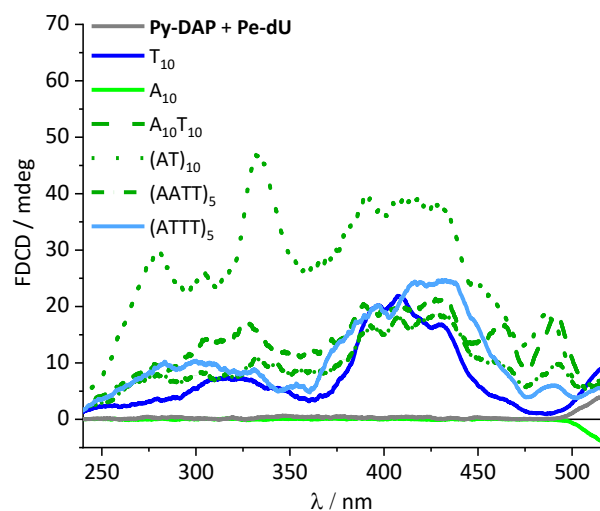


Abbildung 38: CD- (links) und FDCD-Spektren (rechts) der **Pe-dU/Py-DAP**-Aggregate in Abwesenheit der DNA und entlang der DNA-Templates T_{10} , A_{10} , $A_{10}T_{10}$, $(AT)_{10}$, $(AATT)_5$ und $(ATTT)_5$. ($1.5 \mu\text{M}$ DNA in Wasser + 2 % DMSO, $\lambda_{\text{exc}} = 370 \text{ nm}$).

Die erhaltenen FDCD-Spektren können als CD-abhängige Anregungsspektren verstanden werden, wodurch Aussagen bezüglich des CD-Beitrags eines bestimmten Moleküls getroffen werden können. Für die Anlagerung entlang A_{10} wurde somit, wie erwartet, kein Signal detektiert (Abbildung 38). Zudem zeigen die Proben ohne DNA ebenfalls kein Signal, obwohl zuvor Absorption und Emission detektiert wurde. Dies unterstützt die

Annahme, dass die **Pe-dU/Py-DAP**-Paare keine chiralen Aggregate ausbilden. Die Assemblierung entlang des T₁₀-Templats zeigt deutlich, dass lediglich **Py-DAP** gebunden ist, da ausschließlich im Pyrenbereich ein Signal detektiert wurde. Die FDCD-Spektren der gemischten DNA-Stränge zeigen ebenfalls den Trend der gesteigerten Signalintensität mit zunehmender Anzahl der Grenzflächen zwischen den Chromophoren. Demnach verfügt das gemischte (AT)₁₀-Aggregat über das Signal mit der stärksten Intensität. Zudem fällt innerhalb dieses Aggregats auch hier ein verstärktes Signal im Bereich der **DAP**-Einheit auf, wodurch die Annahme, dass die Nukleobasen aufgrund der Templatsequenz in eine stärker ausgeprägte helikale Anordnung gezwungen werden, nochmals gestützt wird. Des Weiteren kann durch das im Perylenbereich erhöhte Signal im Fall der (AT)₁₀-, (AATT)₅- und A₁₀T₁₀-Aggregate die Annahme, dass die Perylen-Farbstoffe innerhalb dieser Sequenzen einen gesteigerten helikalen Charakter aufweisen, nochmals bekräftigt werden.

Alle gemischten fluoreszenten DNA-Aggregate wurden zusätzlich mittels CPL-Spektroskopie unter Anleitung von DR. JACOPO TESSAROLO und LUKAS STRATMANN (Arbeitsgruppe DR. GUIDO CLEVER TU Dortmund) untersucht.

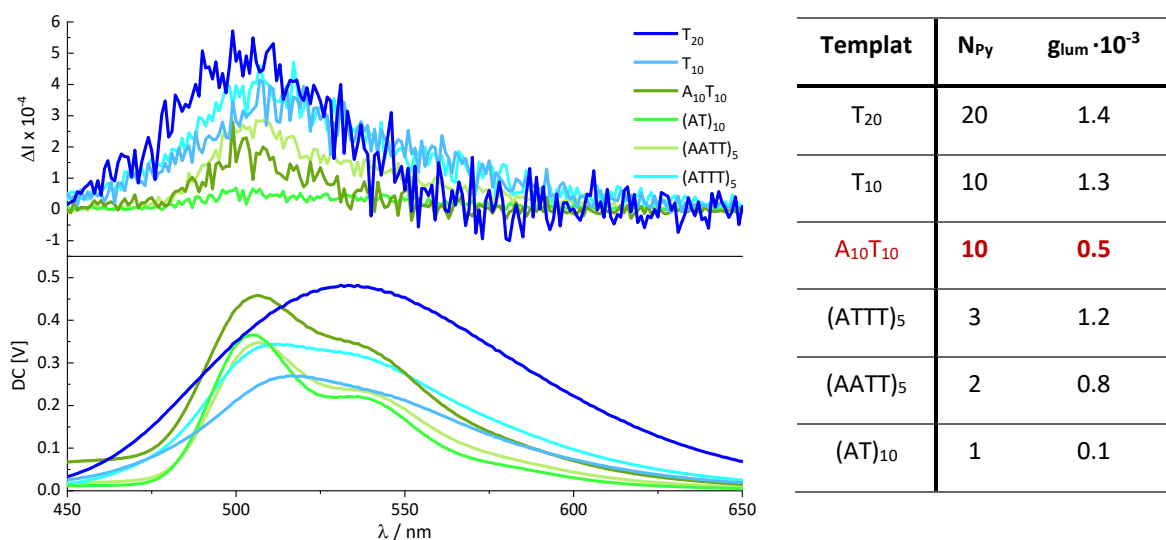


Abbildung 39: Tabellarische Zusammenfassung der erhaltenen g_{lum}-Werte der unterschiedlichen Template. Zur Veranschaulichung sind ebenfalls die Anzahl N_{Py} an benachbarten Pyrenen innerhalb des entsprechenden Templates aufgelistet (rechts). Emissions- und CPL-Spektren der **Pe-dU/Py-DAP**-Aggregate in Abwesenheit der DNA und entlang der DNA-Template T₁₀, A₁₀, A₁₀T₁₀, (AT)₁₀, (AATT)₅ und (ATTT)₅. (1.5 μM DNA in Wasser + 2 % DMSO, λ_{exc} = 370 nm) (links).

Dabei zeigen alle Aggregate einen CPL-Effekt, jedoch war dieser generell sehr schwach ausgeprägt (Abbildung 39). Übereinstimmend mit den CD-Spektren wurde das intensivste CPL-Signal im Fall der reinen T_n -Templatsträngen ($n=10,20$) detektiert, welches mit abnehmender Anzahl an benachbarten Pyren-Farbstoffen N_{Py} schwächer wird. Dabei zeigt das $(AT)_{10}$ -Aggregat, trotz der intensivsten Emission, analog den CD-Spektren das schwächste CPL-Signal mit dem geringsten g_{lum} -Faktor. Außerdem stellt auch hier das $A_{10}T_{10}$ -Aggregat eine Ausnahme dar: trotz einer Pyren-Blocklänge von zehn aufeinanderfolgenden Farbstoffen, wurde das zweit schwächste CPL-Signal detektiert. Dies stützt die zuvor getroffene Annahme, dass der Einfluss des **Pe-dUs** auf die Chiralität der gemischten Aggregate lediglich sehr gering ist, da dieses der helikalen Orientierung der Pyren-Konjugate entgegenwirkt. Sowohl der CD- als auch der CPL-Effekt basieren nach der Assemblierung beider chromophormodifizierter Nucleoside vermutlich auf der Wechselwirkung der Pyren-Farbstoffe. Dabei kann zwar die Chiralität des DNA-Templats auf die assemblierten Nucleoside und deren angeknüpften Chromophore übertragen werden, die Stabilisierung und letztendliche strukturelle Orientierung ist jedoch auf die Pyrene zurückzuführen. Bei Betrachtung des g_{lum} -Faktors fällt auf, dass dieser ab einer Anzahl von drei benachbarten Pyren-Einheiten kaum noch zunimmt und in eine Art Sättigung übergeht (Abbildung 39, rechts).

Zusätzlich fällt auf, dass im Fall des reinen T_{20} -Templats die Verschiebung des CPL-Signals nicht mit der des Emissionsmaximums übereinstimmt, sondern hypsochrom verschoben ist. Während das CPL-Signal stets bei 505 nm detektiert wurde, lag das Emissionsmaximum der T_{20} -Probe bei 534 nm. Nach vorangegangenen Untersuchungen von DNA-**Py-DAP**-Aggregaten, kann dieses Emissionsmaximum Pyren-Excimeren zugeordnet werden.^[15] Demnach resultiert das CPL-Signal nicht aus der Ausbildung von Excimeren, sondern muss auf anderen Wechselwirkungen bzw. Effekten der angeregten Zustände basieren. Das Signal wurde eher im Bereich der beobachteten Dimer-Fluoreszenz detektiert. Um nachzuweisen, ob das CPL-Signal tatsächlich auf die Ausbildung von Pyren-Dimeren zurückzuführen ist, wurden zusätzliche CPL-Messungen durchgeführt, die zum einen kein **Pe-dU** enthalten und zum anderen keine DNA (Abbildung 40). Den erhaltenen Spektren ist zu entnehmen, dass **Py-DAP** auch in Abwesenheit von DNA einen CPL-Effekt mit einem g_{lum} -Faktor von $0,9 \cdot 10^{-3}$ aufweist. Verglichen mit den Proben, die DNA enthalten, ist das Signal jedoch bathochrom

verschoben, wodurch sich ein Einfluss der DNA auf das CPL-Signal zeigt. Zusätzlich konnte für die Assemblierung von **Py-DAP** entlang des (AATT)₅-Templats in Abwesenheit von **Pe-dU** ein g_{lum} -Faktor von $1,0 \cdot 10^{-3}$ ermittelt werden.

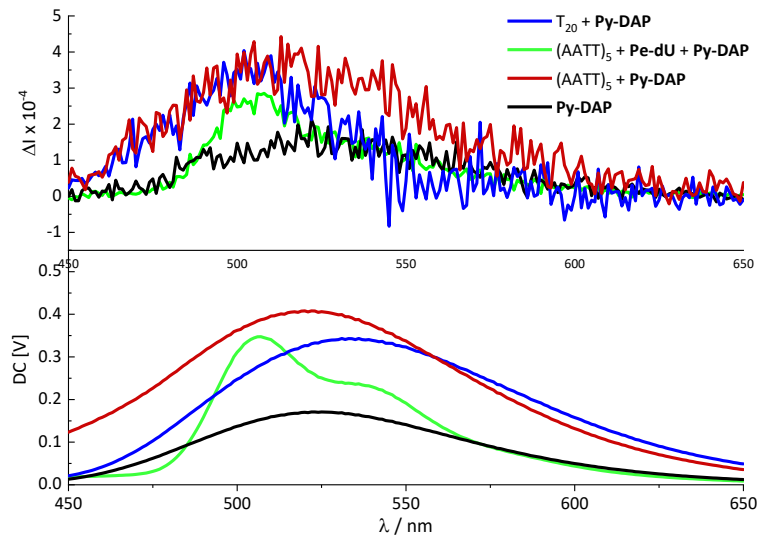


Abbildung 40: CPL-Spektren von **Py-DAP** und dessen Assemblierung entlang eines T₂₀- und eines (AATT)₅-Templats in An- und Abwesenheit von **Pe-dU** in Wasser + 2 % DMSO (1.5 μM DNA; $\lambda_{exc} = 370$ nm).

Dieser ist höher als der Wert der gemischten Aggregate mit den benachbarten Perylen-Blöcken und bestätigt erneut die Annahme, dass die Anwesenheit von Perylen die Orientierung und Kopplung der Pyrene negativ beeinflusst. Trotzdem ist er im Vergleich zum g_{lum} -Wert der Probe mit dem T₁₀-Templat ($g_{lum} = 1,3 \cdot 10^{-3}$) geringer, obwohl die gleiche Anzahl an **Py DAP**-Nukleosiden gebunden sein sollte. Vermutlich kann sich durch die Halbbesetzung von (AATT)₅ keine optimale Helix ausbilden, wodurch die Pyrene nicht in eine Verdrehung gezwungen werden, sondern sich eher parallel anordnen und somit das Signal herabgesetzt wird. Demnach kann die Ausbildung des CPL-Effekts nicht eindeutig auf die Dimer-Ausbildung zurückzuführen sein, sondern es müssen andere ablaufende Prozesse berücksichtigt werden, die anhand der Spektren jedoch nicht aufgeklärt werden können. Des Weiteren fiel im Rahmen der CPL-Messungen auf, dass die Emissionsintensität aller Proben während der dauerhaften Anregung drastisch abnahm (Abbildung 41 + Kapitel IX.1). Diese Fluoreszenzänderungen können zum einen auf photochemische Reaktionen innerhalb eines oder mehrerer Moleküle zurückzuführen sein. Gemessene Absorptionsspektren nach den Messungen

wiesen keine Änderungen auf, die dies belegen. Zum anderen sind strukturelle Änderungen der Aggregate und somit Orientierungen der Farbstoffe durch die zugeführte Energie denkbar, wodurch die Emission gelöscht wird. Diese Beobachtungen können mit den aktuellen Ergebnissen jedoch nicht vollständig erklärt werden, weshalb es weitergehenden Untersuchungen bedarf.

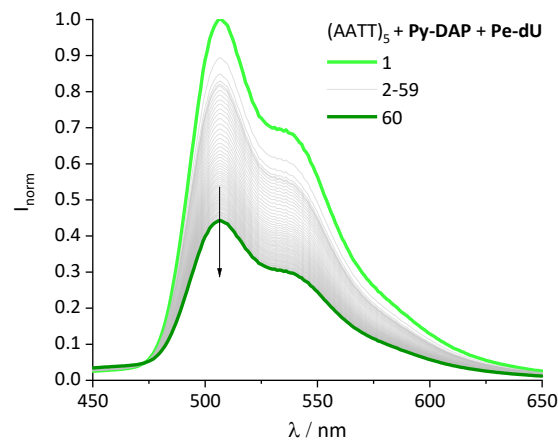


Abbildung 41: Exemplarisch gewählte Emissionsspektren der Assemblierung von **Py-DAP** und **Pe-dU** entlang eines (AATT)₅-Templats. (Wasser + 2 % DMSO; 1,5 μM DNA; λ_{exc} = 370 nm, 60 Akkumulationen).

Zusammenfassend konnte die sequenzspezifische Assemblierung der chromophormodifizierten Nukleoside **Py-DAP** und **Pe-dU** nachgewiesen werden. Durch die Kombination dieses Donor-Akzeptor-Paares konnten funktionale DNA-Farbstoffaggregate mit interessanten, programmierbaren optischen Eigenschaften generiert werden. Insbesondere die Kontrolle über die Emissionsintensitäten der Chromophore ist im Bereich der Materialwissenschaften von großem Interesse.

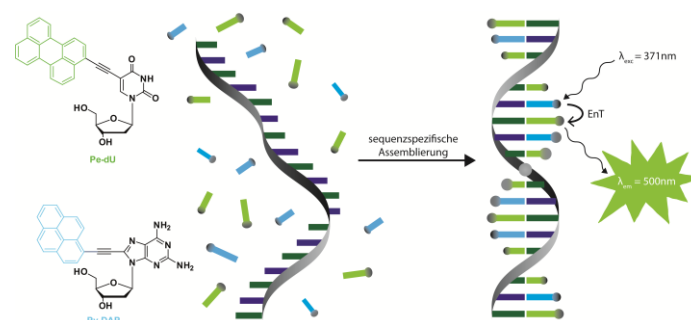


Abbildung 42: Schematische Darstellung der sequenzkontrollierten Anlagerung von **Py-DAP** und **Pe-dU** entlang eines gemischten AT-Templats und des daraus resultierenden Energietransfers von Pyren auf Perylen bei einer selektiven Anregung des Pyrens bei 371 nm.^[102]

3 Zusammenfassung

In diesem Kapitel der vorliegenden Arbeit sollte aus dem Energietransferpaar Pyren (Donor) und Perylen (Akzeptor) ein DNA-basiertes supramolekulares Multichromophorsystem entwickelt werden. Dafür wurden die literaturbekannten chromophormodifizierten Nucleoside **Py-DAP** und **Pe-dU** zunächst mittels automatisierter Festphasensynthese kovalent in DNA eingebaut. Der benötigte **Py-DAP**-Phosphoramidit-Baustein **Py-DAP-PA** wurde über eine fünfstufige Syntheseroute dargestellt und anschließend gemeinsam mit dem kommerziell erhältlichen **Pe-dU-PA** in eine DNA-Sequenz eingebaut. Spektroskopische Untersuchungen zeigten, dass sowohl im DNA-Einzelstrang als auch im Doppelstrang bei selektiver Anregung des Pyrens bei 370 nm ein Energietransfer von Pyren auf Perylen abläuft. Da die DNA-Synthese bereits nach dem Einbau von zwei Chromophor-modifizierten Nucleosiden vollständig einbrach, zeigte sich nochmal deutlich der Vorteil von supramolekularen gegenüber kovalenten Ansätzen zur Generierung solcher multichromophorer Systeme. Zudem war die zuvor notwendige Synthese von **Py-DAP-PA** sehr zeitaufwändig und verlief mit einer geringen Gesamtausbeute von 7 %.

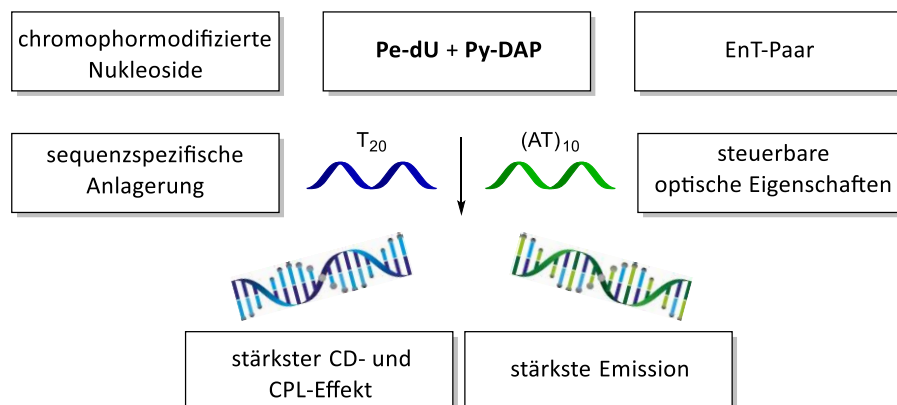


Abbildung 43: Zusammenfassende Darstellung des Konzepts der orthogonalen Anlagerung an DNA sowie interessante erhaltene optische Eigenschaften.

Anschließend wurde das Energietransfer-Paar hinsichtlich der orthogonalen Assemblierung entlang unterschiedlicher DNA-Sequenzen untersucht. Durch die selektive Bindung von **Py-DAP** an Thymin sowie **Pe-dU** an Adenosin, konnte ein

supramolekulares System generiert werden, dessen optische Eigenschaften mithilfe der DNA-Sequenz gesteuert werden kann. Durch unterschiedliche Abfolgen der Chromophore entlang der Template, konnten die ablaufenden Energietransferprozesse zwischen Pyren und Perylen kontrolliert und somit die Emissionsintensitäten gezielt eingestellt werden. Dabei zeigte das (AT)₁₀-Templat mit den meisten Grenzflächen (19) zwischen den Chromophoren die stärkste Fluoreszenz und die T_n-Template (n = 10, 20) den stärksten CPL-Effekt. Der Nachweis der sequenzkontrollierten Anlagerung erfolgte zunächst mit Absorptions- und Emissionsspektroskopie. Um weitere Einblicke in die strukturelle Zusammensetzung der erhaltenen DNA-Farbstoffaggregate zu erhalten, wurden CD-, FDCD- und CPL-Messungen durchgeführt. Mithilfe dieser chiroptischen Spektroskopiemethoden konnte nachgewiesen werden, dass der chirale Charakter der DNA auf die ausgebildeten Chromophorstapel übertragen wurde. Zusätzlich konnte für alle Aggregate ein CPL-Effekt nachgewiesen werden. Dabei hat sich gezeigt, dass der konjugierte Farbstoff die ausgebildeten Strukturen enorm beeinflusst. Während Pyren eine stark helikale Stapelung entlang des DNA-Templats begünstigt, wirkt Perylen dem eher entgegen.

IV. FULLEREN-DNA-AGGREGATE

Fullerene weisen sehr interessante elektrochemische Eigenschaften auf, weshalb deren Einsatz in der organischen Elektronik von großem Interesse ist. Besonders vertreten sind Fullerene in der organischen Photovoltaik. Dort werden sie oftmals als Elektronen-Akzeptoren eingesetzt, um einen ladungsgetrennten Zustand zu erzeugen. Im Jahr 2015 gelang es WAGENKNECHT *et al.*, ein DNA-basiertes Lichtsammelsystem zu generieren, indem sie ein C₆₀-Fulleren kovalent an einen A₂₀-Templatstrang knüpften und chromophormodifizierte Nucleoside daran assemblierten. Dabei konnte ein Elektronentransfer von den Farbstoffen auf das Fulleren festgestellt werden. Im Anschluss wurde dieses System als aktive Schicht in eine organische Solarzelle eingebracht.^[16] Zur Weiterentwicklung solcher Systeme wurden in dieser Arbeit Fullerenderivate hergestellt, welche zusammen mit DNA-Farbstoff-Aggregaten ein supramolekulares Donor-Akzeptor-System bilden.

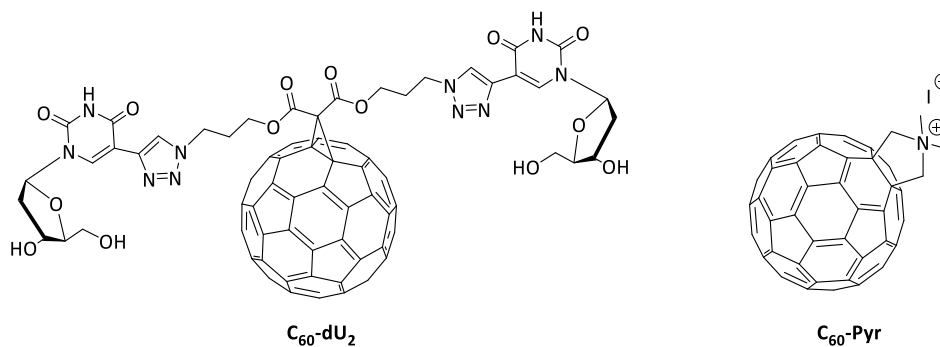


Abbildung 44: Strukturen der Fulleren-Konjugate **C₆₀-dU₂** und **C₆₀-Pyr**.

In Kapitel II.3 wurden bereits einige Fullerenderivate beschrieben, die mit DNA wechselwirken können. Dabei lag der Fokus bisher eher auf elektrostatischen und hydrophoben Wechselwirkungen, wobei zusätzlich eine Interaktion über die Ausbildung von Wasserstoffbrücken beobachtet werden konnte. Derzeit sind allerdings noch keine Fullerene in der Literatur beschrieben, welche die WATSON-CRICK-Basenpaarung zur Assemblierung nutzen. Aufgrund dessen wurde ein C₆₀-Fulleren mit 2'-Desoxyuridinen modifiziert und dessen Assemblierungsverhalten entlang DNA untersucht (Abbildung 44). Weitere Anlagerungsstudien erfolgten mit dem literaturbekannten Fulleren-Derivat **C₆₀-Pyr**, um die unterschiedlichen Bindungsmotive

miteinander zu vergleichen. Beide Fulleren-Derivate **C₆₀-Pyr** und **C₆₀-dU₂** wurden anschließend hinsichtlich ihrer Anwendung als Elektronenakzeptoren in DNA-Farbstoff-Aggregaten untersucht.

1 Synthese

Die Synthese des Fulleren-nukleosids **C₆₀-dU₂** erfolgte in einer siebenstufigen Route ausgehend von kommerziell erhältlichem 3-Chlorpropan-1-ol (**4**) (Abbildung 45). Dieses wurde zunächst mit Natriumazid quantitativ zum Azid **5** umgesetzt.

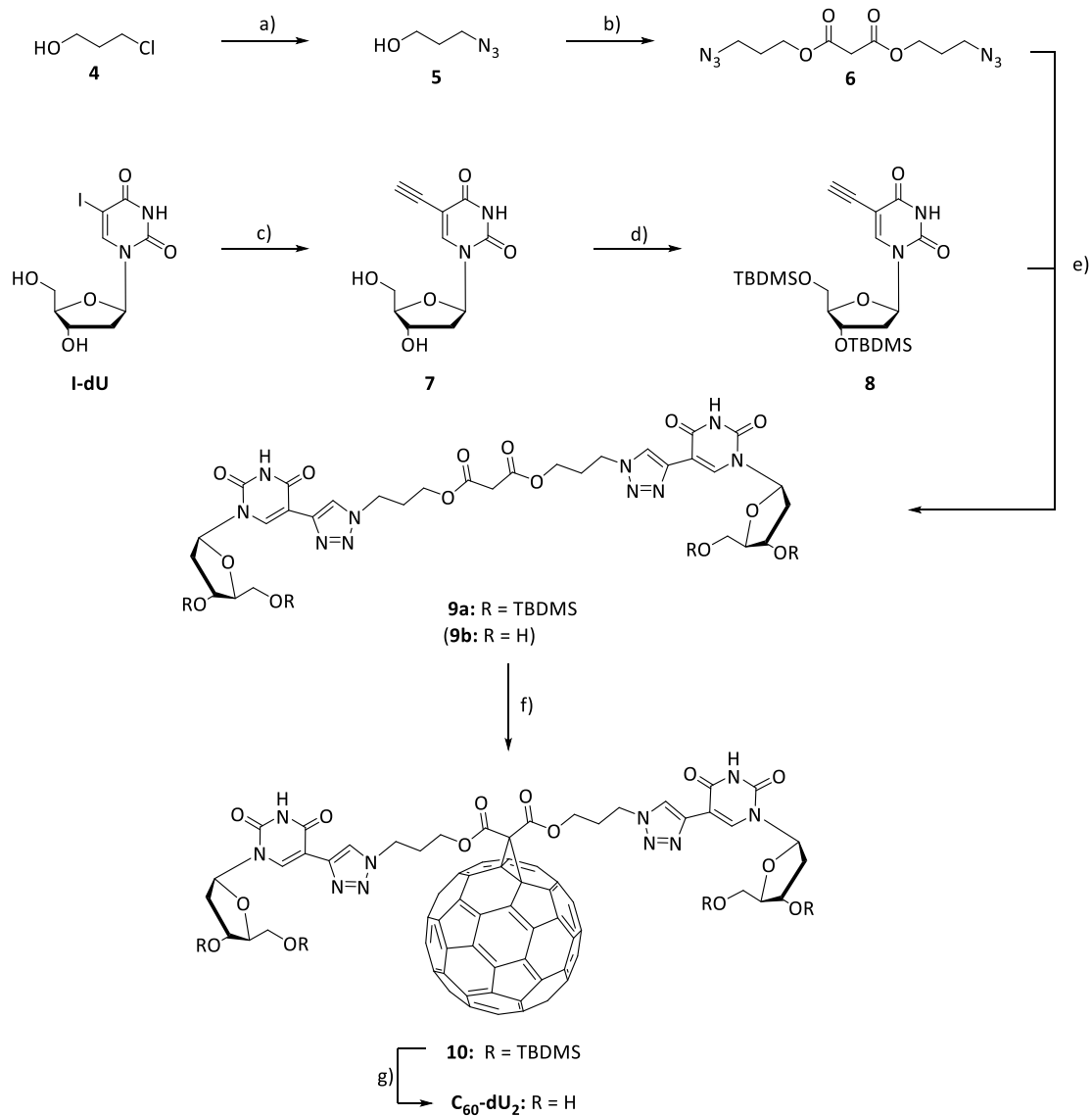


Abbildung 45: Syntheseroute des Fulleren-Nukleosid-Konjugats **C₆₀-dU₂**: a) NaN₃, H₂O, reflux, 16 h, **quant.** b) Malonylchlorid, Et₃N, DCM, 0 °C, 1 h, RT, 12 h, **64 %**. c) 1. TMS-Acetylen, Pd(PPh₃)₄, CuI, MeCN, 40 °C, 4 h. 2. KF, THF/MeOH, RT, 1 h, **65 %**. d) TBDMS-Cl, Imidazol, DMF, RT, 16 h, **94 %**. e) NaAsc, TBTA, Cu(MeCN)₄PF₆, DCM/DMF, RT, 16 h, **92 %**, f) C₆₀, DBU, I₂, Toluol, RT, 16 h, **26 %**. g) Et₃N·3 HF, DMF, RT, 16 h, **75 %**. Gesamtausbeute **7 %**. Die Synthese wurde bereits publiziert.^[103]

Angelehnt an eine Synthesevorschrift von HESSE *et al.* wurde das Diazid **6** durch die Umsetzung von **5** mit Malonylchlorid in einer Ausbeute von 64 % erhalten.^[104] Um das Diazid **6** in einer *Click*-Reaktion weiter umzusetzen, wurde 5-Iodo-2'-desoxyuridin (**I-dU**) mittels einer SONOGASHIRA-Kupplung an der 5-Position mit einer Acetylen­gruppe funktionalisiert (**7**). Nach der Schützung der 3'- und 5'-Hydroxygruppen mit *tert*-Butyldimethylsilychlorid (TBDMS-Cl) wurde **8** mit dem Diazid **6** in einer *Click*-Reaktion zum geschützten Dinukleosid **9a** umgesetzt. Dabei wurde **9a** in einer Ausbeute von 92 % erhalten. Durch die Einführung der TBDMS-Gruppen konnte die Löslichkeit des Nukleosids **8** sowie die des *Click*-Produkts **9a** gesteigert werden, wodurch deutlich höhere Ausbeuten der *Click*-Reaktion erhalten wurden. Die direkte Umsetzung von Acetylen-dU **7** mit dem Diazid **6** lieferte das entsprechende *Click*-Produkt **9b** lediglich in einer Ausbeute von 24 %, welches zudem in der nachfolgenden Reaktion keinen Umsatz zeigte.

Im nächsten Schritt erfolgte die Addition des Nukleosids **9a** an ein C₆₀-Fulleren mittels einer BINGEL-Reaktion unter Verwendung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) als Base und Iod als Halogenierungsmittel. Die Ausbeuten für das Fulleren-Addukt **10** variierten sehr stark (2 - 26 %). Dies ist darauf zurückzuführen, dass bis zu sechs Additionen an einem Fulleren ablaufen können, welche nicht unterdrückt werden konnten. Aus diesem Grund konnten die Ausbeuten durch Temperaturerhöhung (30 - 50 °C) oder längeren Reaktionslaufzeiten (24 - 72 h) nicht gesteigert werden. Neben Iod in Toluol wurden auch Tetrabrommethan (CBr₄) als Halogenierungsreagenz sowie Chlortoluol als Lösungsmittel getestet, wodurch jedoch keine höheren Ausbeuten erzielt werden konnten.

Die anschließende Entschützung der 3'- und 5'-Hydroxygruppen von **10** mit Triethylamintrihydrofluorid (Et₃N·3 HF) und lieferte das gewünschte Produkt in einer Ausbeute von 75 %. Die Gesamtausbeute der Syntheseroute lag bei 7 %.

2 Optische Charakterisierung der Fulleren-Konjugate

Das neu synthetisierte **C₆₀-dU₂** und das nach CASSEL *et al.* synthetisierte **C₆₀-Pyr**^[60] wurden zunächst mittels Absorptions- und CD-Spektroskopie optisch charakterisiert.

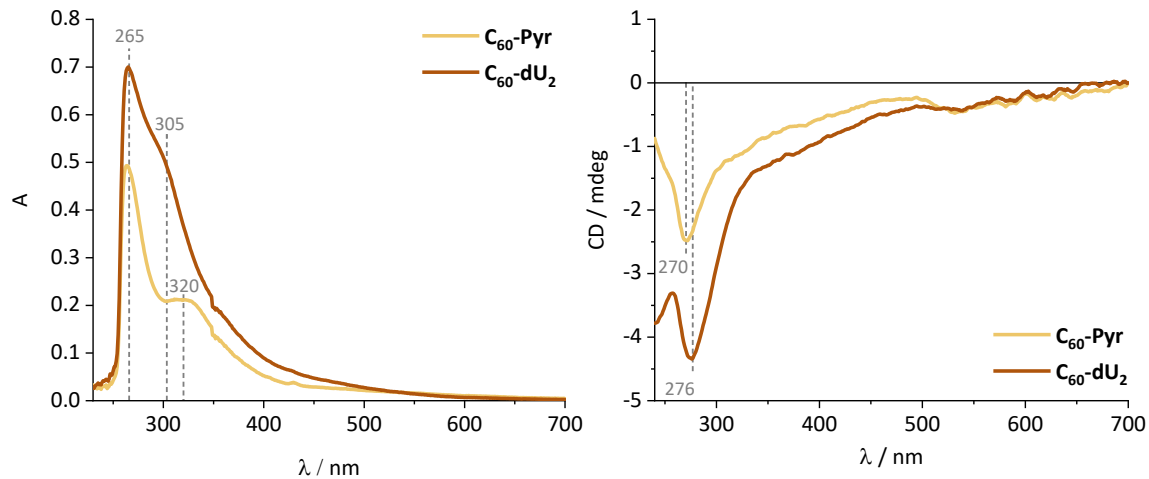


Abbildung 46: Absorptions- (links) und CD-Spektren (rechts) der beiden Fulleren-Konjugate **C₆₀-dU₂** (20 μM, braun) und **C₆₀-Pyr** (20 μM, gelb) in DMSO.

Beide Fullenderivate zeigen in DMSO ein Absorptionsmaximum bei 265 nm und eine sehr breit auslaufende Absorptionsbande zwischen 300 und 600 nm (Abbildung 46). Im Absorptionsspektrum von **C₆₀-Pyr** wurde zusätzlich ein lokales Maximum bei 323 nm detektiert. **C₆₀-dU₂** zeigt kein weiteres Absorptionsmaximum, dafür konnte eine Schulter um 305 nm detektiert werden. Generell zeigt **C₆₀-dU₂** gegenüber **C₆₀-Pyr** eine gesteigerte Extinktion, welche aus der Überlappung des Absorptionsbereichs des Fulleren und der angeknüpften 2'-Desoxyuridine resultiert. Die breite Absorption beider Fullenderivate findet sich ebenfalls in den CD-Spektren wieder. Diese zeigen für beide eine negative Elliptizität, welche in für **C₆₀-Pyr** bei 270 nm und für **C₆₀-dU₂** bei 276 nm ein Minimum erreicht.

3 Wechselwirkung mit DNA

Die beiden Fulleren-Derivate **C₆₀-dU₂** und **C₆₀-Pyr** binden unterschiedlich an ein DNA-Templat. Während **C₆₀-dU₂** mittels der kanonischen Basenpaarung über Wasserstoffbrücken an bis zu zwei DNA-Einzelstränge (ssDNA) binden kann, zeigten CASSEL *et al.*, dass das geladene **C₆₀-Pyr** über elektrostatische Wechselwirkungen an das Rückgrat der DNA-Doppelhelix (dsDNA) bindet (Abbildung 47).^[60] Die Wechselwirkung beider Fullerene wurde sowohl mit ssDNA als auch mit dsDNA untersucht.

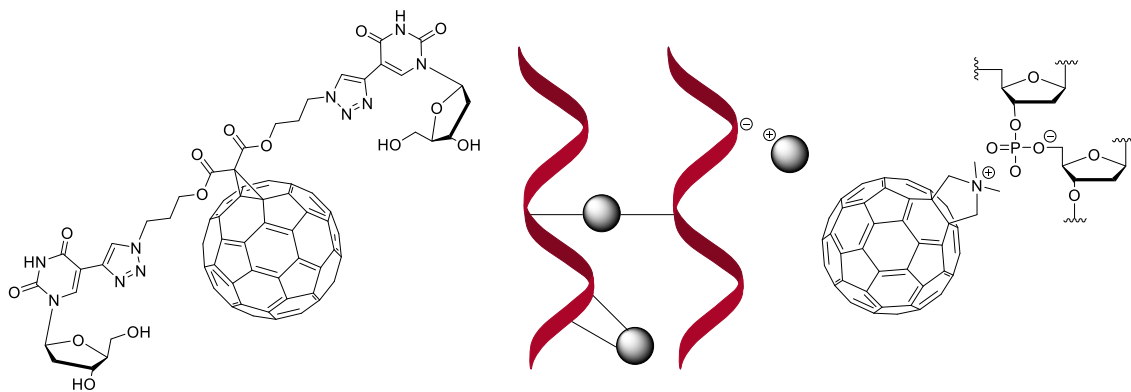


Abbildung 47: Strukturen der Fulleren-Konjugate **C₆₀-dU₂** und **C₆₀-Pyr** und deren Bindungsmotive an DNA.

Da die elektrostatischen Wechselwirkungen von **C₆₀-Pyr** einer Zentrifugation nicht standhielten, wurden **C₆₀-Pyr** und **C₆₀-dU₂** nicht im Überschuss, sondern in einer zur Anzahl der im Templat enthaltenen Bindungsstellen äquivalenten Menge, zugegeben. Zusätzlich wurde der Einfluss der Temperatur untersucht, indem die Proben zum einen für zehn Minuten bei 20 °C und zum anderen für zehn Minuten bei 90 °C inkubiert wurden. Die Messungen der erwärmten Proben erfolgten nach langsamer Abkühlung auf Raumtemperatur.

Die Absorptionen von **C₆₀-dU₂** ergaben sowohl für ssDNA als auch für dsDNA keine Aussagen hinsichtlich einer Assemblierung oder Aggregation zu (vgl. Kapitel IX.2). Dagegen weist der CD auf die Wechselwirkung mit ssDNA hin (Abbildung 48, links). Bei 20 °C zeigt **C₆₀-dU₂** eine breit auslaufende negative Elliptizität mit zwei definierten Minima bei 242 nm und 280 nm. Nach Inkubation bei 90 °C ist das Signal insgesamt schwächer und das Minimum bei 280 nm leicht rotverschoben (8 nm). Das macht eine unkontrollierte Aggregation der Fullerene bei höheren Temperaturen wahrscheinlich.

Zudem ist für die Probe mit A₂₀ bei 90 °C kaum eine Änderung des Signals zu erkennen, wodurch angenommen werden kann, dass die Aggregation unabhängig der DNA stattfindet. Dementgegen hat sich ein deutlicher Einfluss des A₂₀-Stranges auf die chirale Umgebung des Fulleren bei 20 °C gezeigt, welcher sich durch die Zunahme des Signals zeigt. Dadurch kann eine Wechselwirkung mit A₂₀ angenommen werden. In weiteren Assemblierungsexperimenten von **C₆₀-dU₂** entlang des nicht-komplementären T₂₀-Strangs konnte nahezu keine Änderung im CD-Spektrum festgestellt werden, sodass mit ssDNA eine kanonische Basenpaarung wahrscheinlich ist.

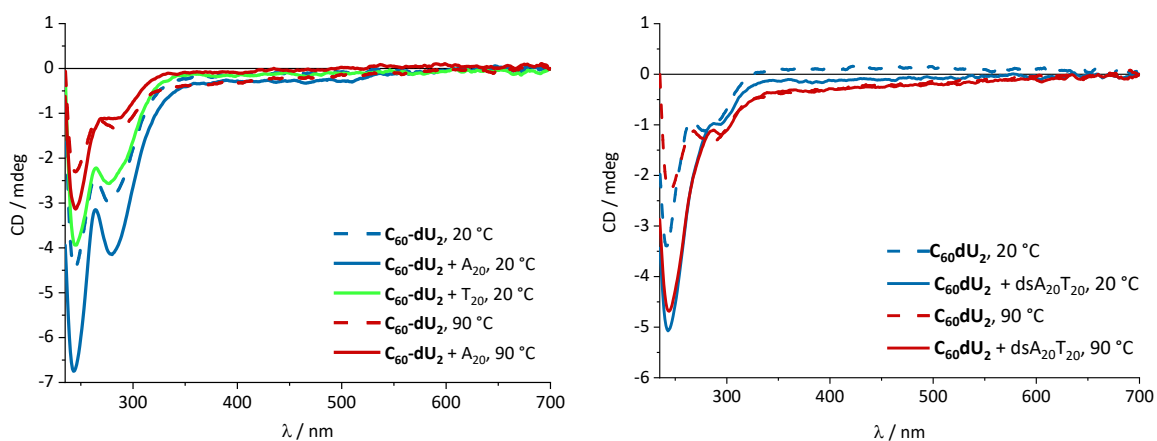


Abbildung 48 CD-Spektren von **C₆₀-dU₂** (7.5 µM) nach Inkubation bei 20 °C (blau) und 90 °C (rot) ohne DNA (gestrichelt), mit A₂₀ und T₂₀ (links, durchgezogen, 0.75 µM) sowie einem dsDNA (rechts, durchgezogen, 0.75 µM). Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[103]

Die Untersuchungen in Gegenwart doppelsträngiger DNA zeigen bei 20 °C und 90 °C einen nahezu identischen CD (Abbildung 48, rechts) und es wurde keine Änderung im Fullerenbereich festgestellt. Dadurch ist eine Interaktion zwischen **C₆₀-dU₂** und dsDNA unwahrscheinlich.

Im Gegensatz zu **C₆₀-dU₂** hat sich die Wechselwirkung von **C₆₀-Pyr** und DNA lediglich in den Absorptionen gezeigt. Dabei entspricht die Absorbanz bei 20 °C der erhaltenen Feinstruktur in DMSO (vgl. Kapitel IV.2), weshalb davon auszugehen ist, dass **C₆₀-Pyr** in Wasser gelöst vorliegt (Abbildung 49). Die Inkubation bei 90 °C lässt **C₆₀-Pyr** unkontrolliert aggregieren, was die Absorption verringert. Lediglich in Anwesenheit des A₂₀-Templats konnte Fulleren in Lösung gehalten werden. Dies wurde sowohl für einzelsträngige DNA (Abbildung 49, links) als auch doppelsträngige DNA (Abbildung 49, rechts) beobachtet, wobei dieser Effekt für den Doppelstrang ausgeprägter ist, da mehr

Bindungsstellen zur Verfügung stehen.

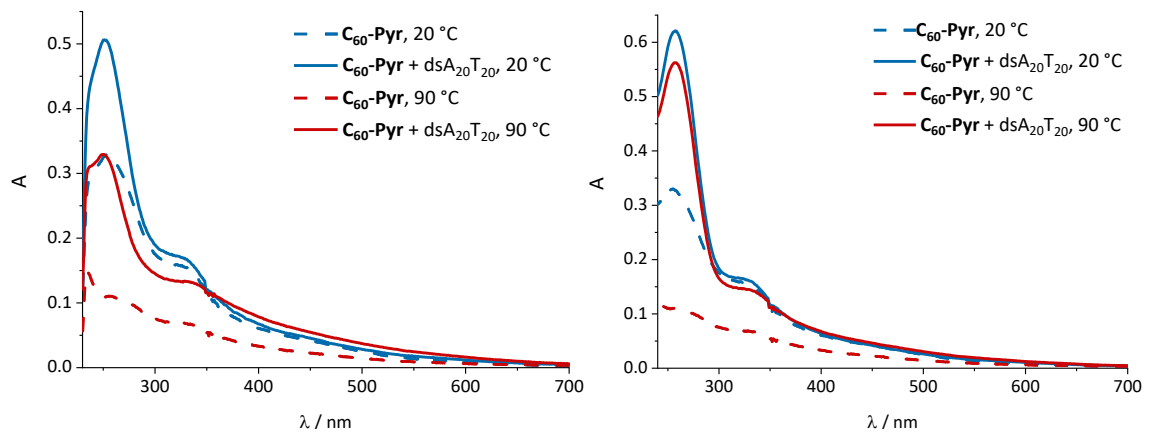


Abbildung 49: Absorptionsspektren von C_{60} -Pyr (7.5 μ M) nach Inkubation bei 20 °C (blau) und 90 °C (rot) ohne DNA (gestrichelt) und mit A_{20} (links, durchgezogen, 0.75 μ M) sowie dsDNA (rechts, durchgezogen, 0.75 μ M). Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[103]

Zudem fällt auf, dass bei 90 °C mit ssDNA die Absorbanz im überlappenden Bereich von Fulleren und DNA prozentual stärker abnimmt als im Bereich des Fulleren. Diese Abnahme resultiert vermutlich daraus, dass durch die Wechselwirkung zwischen C_{60} -Pyr und dem DNA-Rückgrat die Ladung ausgeglichen wird, wodurch der hydrophobe Charakter des gebildeten Aggregats gesteigert wird und es präzipitiert. Da die Inkubationstemperatur in Gegenwart der dsDNA kaum einen Einfluss zeigt, kann angenommen werden, dass die Hybridisierung der DNA-Stränge durch die Anwesenheit von C_{60} -Pyr nicht gestört wird und die Anlagerung an das DNA-Rückgrat erst anschließend erfolgt.

4 Untersuchung der Fulleren-Derivate als Fluoreszenzlöcher

Um die Funktion als Akzeptormoleküle zu prüfen, wurden beide Fulleren-Derivate zusammengenommen mit DNA-Farbstoff-Aggregaten untersucht. Dies erfolgte durch Titrationsexperimenten, innerhalb welcher die Fluoreszenzlöschung abhängig vom Fullergehalt beobachtet wurde, indem C_{60} -dU₂ und C_{60} -Pyr jeweils in fünf Äquivalent-Schritten zu einem DNA-Farbstoff-Aggregat titriert wurden. Dafür wurde das bereits von PHILIPP ENSSLEN beschriebene **Py-dU/Nr-dU-A₂₀**-Aggregat ausgewählt. Sowohl für C_{60} -dU₂ (vgl. Anhang) als auch für C_{60} -Pyr (Abbildung 50, links) wurde die Fluoreszenz bereits nach zehn Äquivalenten vollständig gelöscht. CD-spektroskopische Untersuchungen weisen darauf hin, dass die Struktur des ausgebildeten Farbstoff-DNA-Aggregats auch nach Zugabe des Fulleren erhalten bleibt (vgl. Anhang).

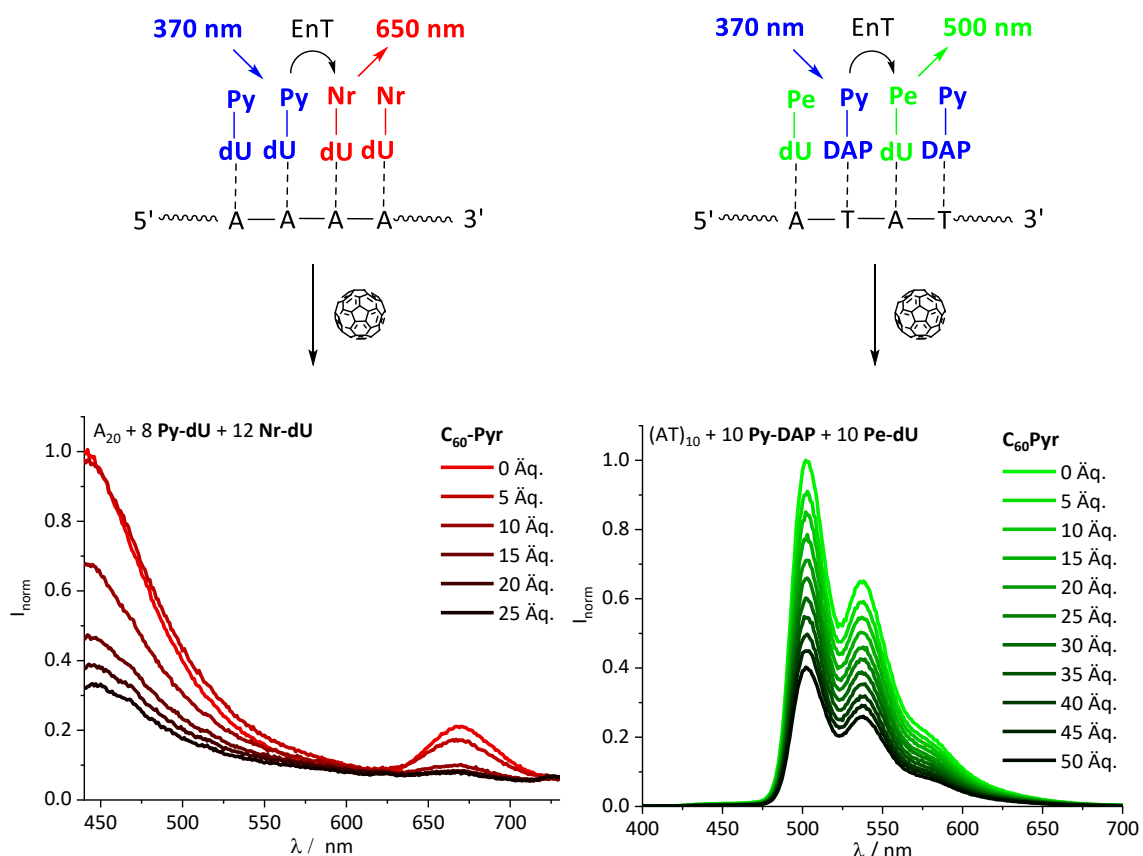


Abbildung 50: Schematische Darstellung der verwendeten DNA-Farbstoff-Aggregate (oben) **Py-dU/Nr-dU-A₂₀** (links) und **Pe-dU/Py-DAP-(AT)₁₀** (rechts) und die Emission (λ_{exc} = 370 nm) der Titrationsexperimente von C_{60} -Pyr zu beiden Aggregat in Wasser (1.5 μM DNA, C_{60} -Pyr in 5 Äq.-Schritten).

Die Titration wurde ebenfalls mit dem im vorangegangenen Kapitel III beschriebenen **Py-DAP/Pe-dU-(AT)₁₀**-Aggregat durchgeführt (Abbildung 50, rechts). Wegen der stärkeren Fluoreszenz im Vergleich zum **Py-dU/Nr-dU-A₂₀**-Aggregat, konnte weder mit 50 Äquivalenten **C₆₀-Pyr** noch mit 50 Äquivalenten **C₆₀-dU₂** die Fluoreszenz vollständig gelöscht werden. Wurden mehr als 50 Äquivalente **C₆₀-Pyr** zugegeben, präzipitierte das Gemisch.

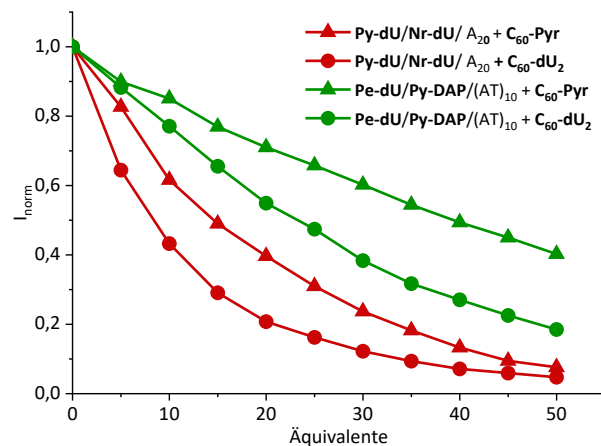


Abbildung 51: Vergleich der Fluoreszenzlöschung des **Py-dU/Nr-dU/A₂₀**-Aggregats (rot) und des **Pe-dU/Py-DAP/(AT)₁₀**-Aggregats (grün) in Abhängigkeit der zugegebenen Äquivalente an **C₆₀-dU₂** (Kreis) und **C₆₀-Pyr** (Dreieck). Teile dieser Abbildung wurden bereits publiziert.^[103]

Ein direkter Vergleich der fluoreszenzlöschenden Wirkung beider Fulleren-Derivate gegenüber der beiden Farbstoff-DNA-Aggregate **Py-dU/Nr-dU/A₂₀** und **Pe-dU/Py-DAP/(AT)₁₀** zeigt in beiden Experimenten eine stärkere Fluoreszenzlöschung mit dem nukleosidmodifizierten Fulleren **C₆₀-dU₂** (Abbildung 51). Im Fall des **Pe-dU/Py-DAP/(AT)₁₀**-Aggregats konnte die Emission mit **C₆₀-Pyr** um 60 % und mit **C₆₀-dU₂** um 82 %ige vermindert werden.

Basierend auf diesen Ergebnissen wurden beide Fullerene-Derivate anschließend als Elektronenakzeptoren in DNA-basierten Solarzellen untersucht (vgl. Kapitel V.2)

5 Zusammenfassung

Das neue Fulleren-Derivat **C₆₀-dU₂** wurde im Rahmen einer siebenstufigen Synthese mit einer Gesamtausbeute von 7 % dargestellt. Durch die angeknüpften 2'-Desoxyuridine wurde erstmalig ein Fulleren-Derivat synthetisiert, welches mittels der WATSON-CRICK-Basenpaarung mit einzelsträngiger DNA wechselwirken kann und einen strukturellen Einfluss durch die DNA erfährt. Für **C₆₀-Pyr** konnte zwar kein struktureller Einfluss der DNA nachgewiesen werden, dafür wirkte sich die Wechselwirkung sowohl mit ssDNA als auch mit dsDNA positiv auf dessen Löslichkeit aus. Um weitere Rückschlüsse auf die ausgebildeten Strukturen beider Fulleren-Derivate treffen zu können, sind bildgebende Analysemethoden, wie AFM oder TEM, notwendig.

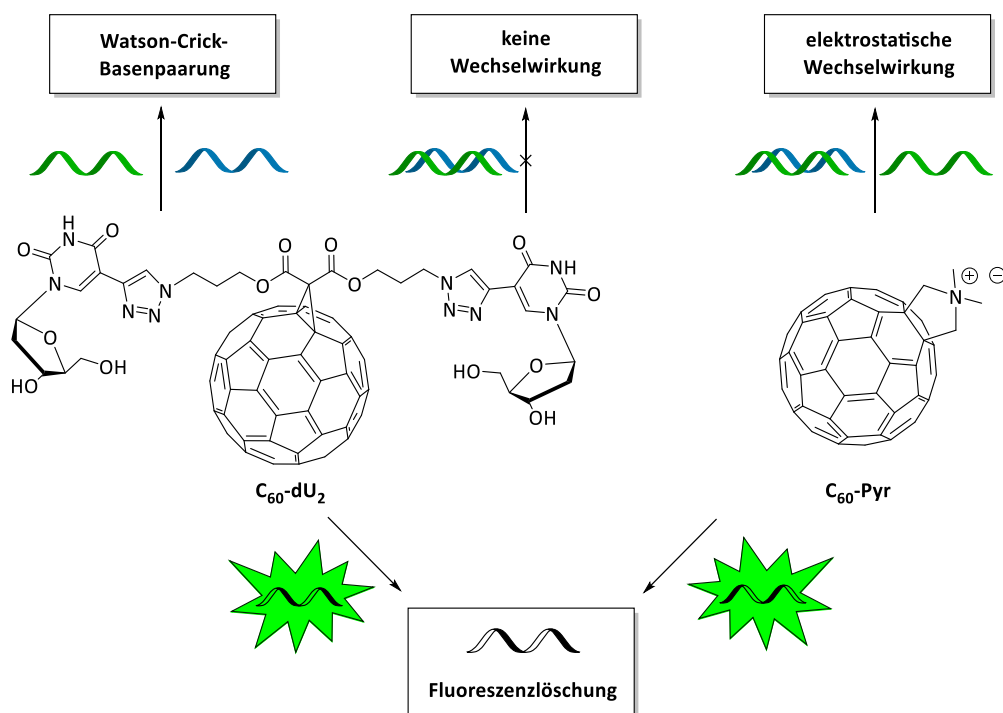


Abbildung 52: Zusammenfassende Darstellung der erhaltenen Ergebnisse hinsichtlich der Wechselwirkung von **C₆₀-dU₂** (links) und **C₆₀-Pyr** (rechts) mit ssDNA sowie dsDNA und deren fluoreszenzlöschende Eigenschaften.

Beide Fulleren-Addukte bewirken in Gegenwart unterschiedlicher DNA-Farbstoff-Aggregate eine Fluoreszenzlöschung. Dabei hat sich gezeigt, dass diese Wirkung für **C₆₀-dU₂** stärker ist.

V. FUNKTIONALE DNA-FARBSTOFF-AGGREGAT-SCHICHTEN

In vorangegangenen Arbeiten konnte bereits gezeigt werden, dass sich DNA-Farbstoff-Aggregate durch ihre optoelektronischen Eigenschaften zur Anwendung in der organischen Elektronik eignen. So konnte bereits ein **Py-dU-A₂₀**-Aggregat als aktive Schicht in einer OLED sowie ein **Py-dU/Nr-dU-C₆₀A₂₀**-Aggregat in einer DNA-basierten Solarzelle verwendet werden.^[16] Allerdings konnte die strukturelle Anordnung der Chromophore entlang des DNA-Templats innerhalb der Schicht bisher lediglich vermutet werden. Aufgrund dessen wurden Schichten aus unterschiedlichen DNA-Farbstoff-Aggregaten hergestellt und spektroskopisch untersucht.

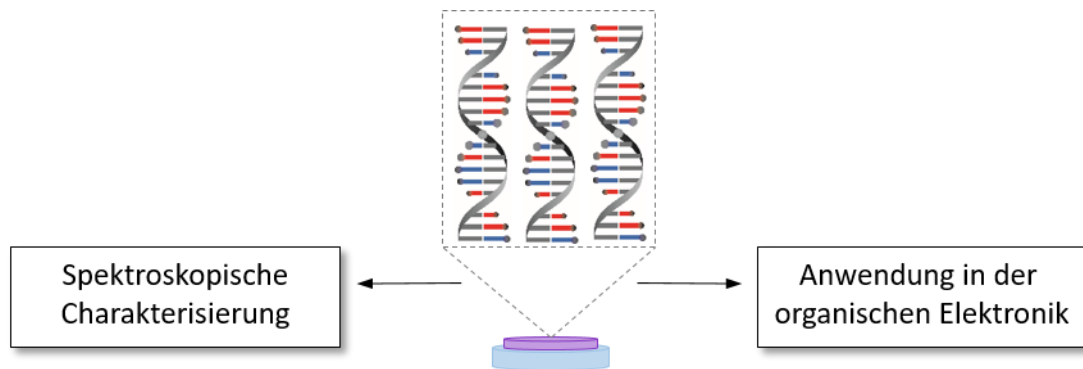


Abbildung 53: Schematische Darstellung der optischen Untersuchung von DNA-Farbstoff-Aggregaten.

Aus den DNA-Farbstoff-Aggregaten **Py-dU/Nr-dU/A₂₀**, **Pe-dU/Py-DAP-(AT)₁₀** und den Fulleren-Derivaten **C₆₀-dU₂** und **C₆₀-Pyr** wurden Schichten hergestellt und in deren Anwendung in der organischen Elektronik untersucht.

1 Charakterisierung der Schichten

1.1 Festkörper-CD-Messungen (ss-CD)

Die Charakterisierung der DNA-Chromophor-Aggregate, die bereits in aktiven Schichten eingesetzt wurden, erfolgte bisher lediglich in einer wässrigen Lösung mit 2 % DMSO. Dabei lag die Konzentration der Chromophore bei 45 μM und die des DNA-Templats bei 1.5 μM . Zur Anwendung der DNA-Chromophor-Aggregate in aktiven Schichten sind jedoch weitaus höhere Farbstoff- und DNA-Konzentrationen notwendig. Da die Löslichkeit der Farbstoffe in Wasser begrenzt ist, werden zur Prozessierung höhere DMSO-Anteile benötigt. Die bereits verwendete Schicht aus einem **Py-dU/Nr-dU-C₆₀A₂₀**-Aggregat wurde aus einer 80 %igen DMSO-Lösung hergestellt. In Lösung kann bei diesem DMSO-Gehalt jedoch eine Anlagerung der chromophormodifizierten Nucleoside an das DNA-Templat ausgeschlossen werden. Trotzdem konnte der Einfluss des Chromophorstapels auf die Erzeugung des Photostroms in der Solarzelle aufgezeigt werden, weshalb eine Anlagerung während des Trocknungsprozess vermutet wurde. Zur Untersuchung, ob sich die Nucleoside tatsächlich während des Trocknungsprozesses gemäß der WATSON-CRICK-Basenpaarung ordnen und innerhalb der Schicht gebunden am DNA-Templat vorliegen, wurden die Schichten mit Festkörper-CD-Spektroskopie (ss-CD) analysiert. Die Messungen erfolgten im Arbeitskreis ULRICH am IBG II (KIT). Zur Herstellung der Schichten wurden die Aggregate in einer 80 %-igen DMSO-Lösung mit einer Konzentration von 40 mg/mL mittels *Drop-Casting* auf Quarzglasplatten aufgetragen und für 72 Stunden bei 60 °C im Hochvakuum getrocknet. Um spektrale Artefakte zu minimieren, erfolgten insgesamt acht Messungen in unterschiedlichen Winkeln (45° Rotation). Die für das **Py-dU/Nr-dU-A₂₀**-Aggregat erhaltenen Spektren sind Abbildung 54 dargestellt. Der ss-CD (links) zeigt einen deutlichen Unterschied mit der DNA, welcher dem CD in Lösung sehr ähnelt. Es konnten sowohl die charakteristischen Signale des Nilrots bei 500 nm als auch die des Pyrens bei 400 nm detektiert werden. Daher wurde angenommen, dass die in Lösung beobachteten Strukturen der DNA-Farbstoff-Aggregate auch innerhalb der hergestellten Schichten vorliegen und die chromophormodifizierten Nucleoside während der Trocknung an das DNA-Templat binden.

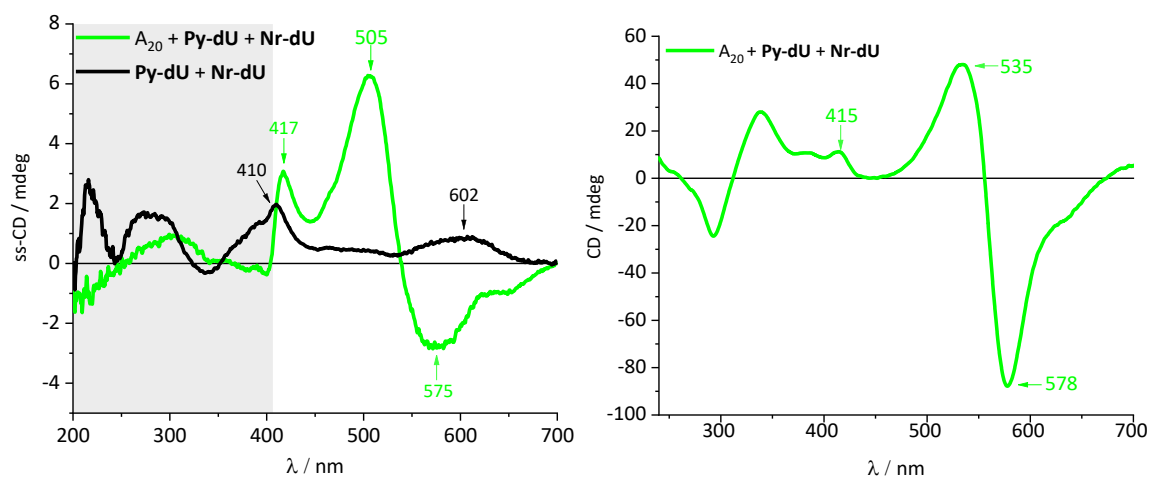


Abbildung 54: SS-CD-Spektren der **Py-dU/Nr-dU-A₂₀**-Schicht aus einer 80 %igen DMSO-Lösung (links) und CD-Spektren des **Py-dU/Nr-dU-A₂₀**-Aggregats in Wasser + 2 % DMSO (rechts). Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[103]

Auch für das in Kapitel III beschriebene Aggregat bestehend aus **Py-DAP** und **Pe-dU** entlang eines (AT)₁₀-Strangs wurde ein struktureller Einfluss der DNA innerhalb der Schicht mittels ss-CD-Spektroskopie nachgewiesen (vgl. Kapitel IX.3). Da der CD dieses Aggregats bereits in Lösung sehr schwach ausgeprägt war, zeigte auch der ss-CD schwache Signale.

1.2 Sequenzkontrolle in Schicht

Da die orthogonale Anlagerung von **Py-DAP** und **Pe-dU** in Lösung über die Emission charakterisiert werden kann, wurde in Kooperation mit FELIX MANGER der Arbeitsgruppe COLSMANN (KIT) die Fluoreszenz der **Pe-dU/Pe-DAP**-DNA-Schichten mit unterschiedlichen DNA-Templaten gemessen und deren Quantenausbeuten bestimmt, um einen weiteren Nachweis bezüglich der Nukleosid-Bindung entlang der DNA innerhalb der Schicht zu erhalten. Entgegen der Untersuchungen in Lösung (Abbildung 35) wurde allerdings für alle Schichten eine Excimer-Fluoreszenz des Perylens detektiert, welche in Anwesenheit der DNA, unabhängig von der Sequenz, die gleiche geringe hypsochrome Verschiebung zeigt (Abbildung 55). Die Fluoreszenzquantenausbeuten wurden mit DNA bis um das Dreifache gesteigert, dabei wurde ebenfalls kein Einfluss der Sequenzabfolge festgestellt.

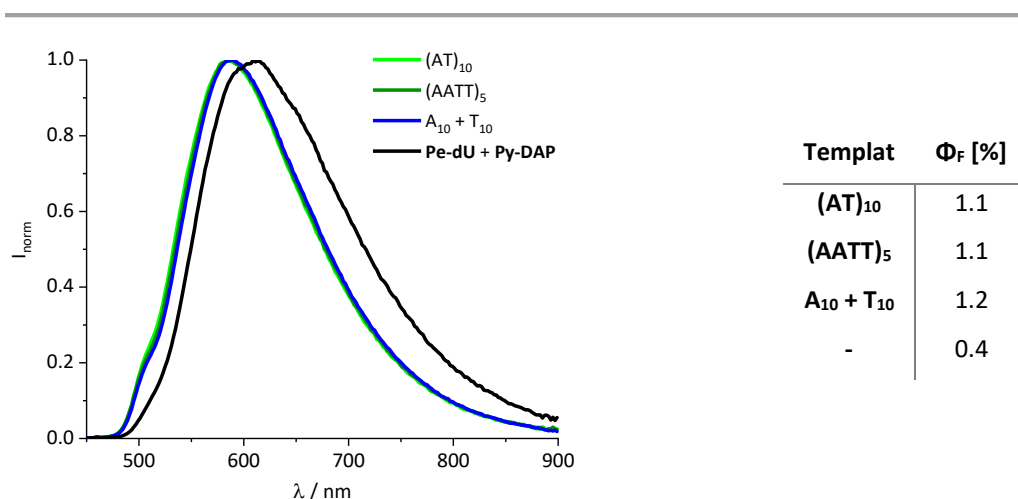


Abbildung 55: Normierte Emissionsspektren der **Pe-dU/Py-DAP**-DNA Schichten mit unterschiedlichen DNA-Sequenzen und in Abwesenheit von DNA (links) sowie die tabellarische Zusammenfassung der Fluoreszenzquantenausbeuten der einzelnen Schichten (rechts).

Emissionsänderungen wurden erst bei Verwendung von zwei Äquivalenten DNA festgestellt. Vermutlich resultiert die gemessene Emission aus der Überlagerung der Fluoreszenzen von gebundenen Aggregaten und freien Farbstoff-Nukleosiden, sodass nicht alle chromophormodifizierten Nukleoside beim Trocknungsprozess entlang der DNA gebunden werden.

2 DNA-Chromophor-Aggregat-Schichten in organischen Solarzellen

Die geringe externe Quanteneffizienz (EQE) von 0.2 % der **Py-dU/Nr-dU-A₂₀**-Schichten, ist vermutlich auf den prozentual sehr geringen Anteil des Fullerenes (3.5 %w) zurückzuführen.

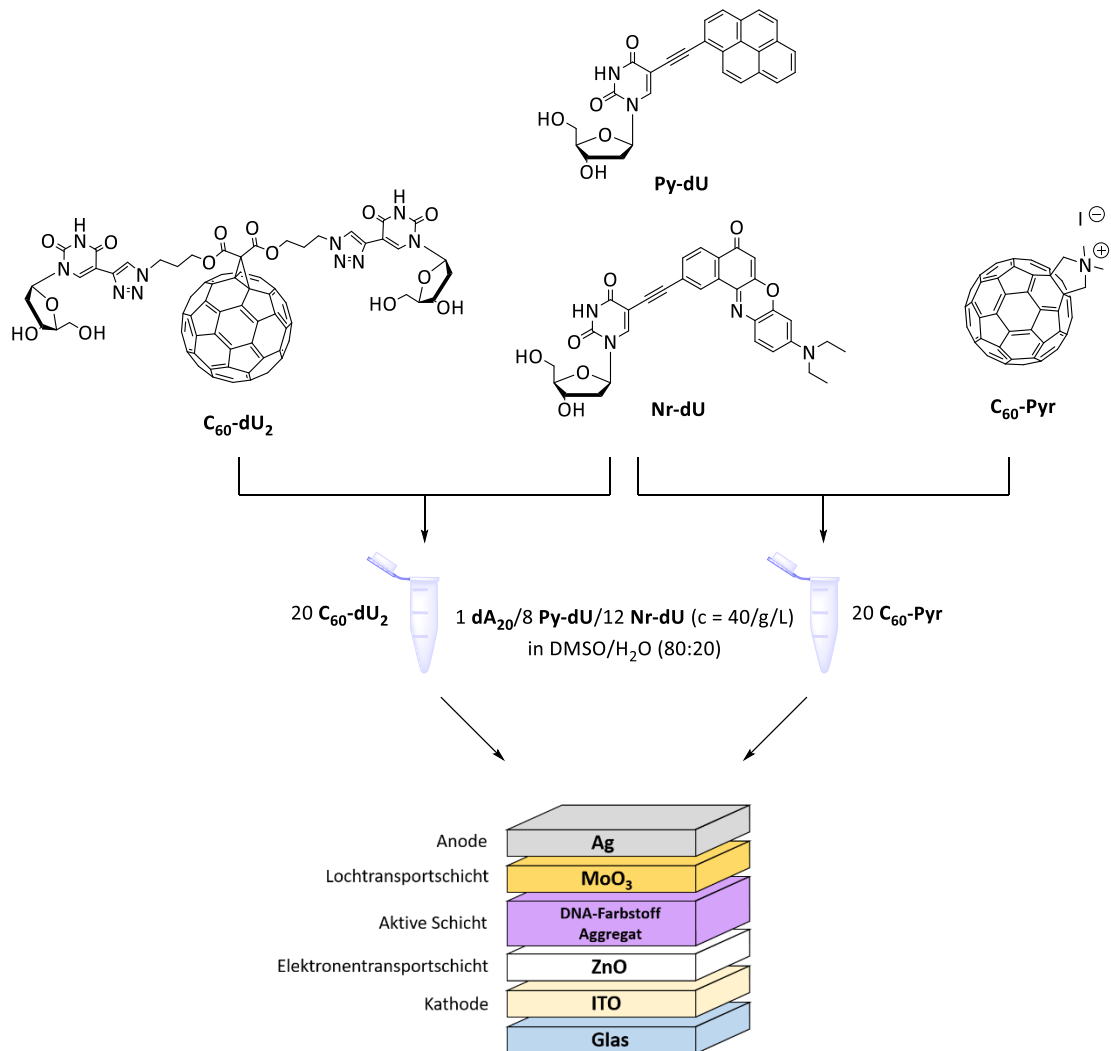


Abbildung 56: Schematische Übersicht der verwendeten Verbindungen und der Solarzellenarchitektur.

Der Fullergehalt dieser Schicht wurde in Kooperation mit FELIX MANGER aus der Arbeitsgruppe von ALEXANDER COLSMANN durch die Verwendung der Fulleren-Derivate **C₆₀-dU₂** und **C₆₀-Pyr** (vgl. Kapitel IV) gesteigert (Abbildung 56). Die Prozessierung der Solarzellen erfolgte dabei zunächst analog der von PHILIPP ENSSLEN beschriebenen Solarzelle.^[16] Es wurde eine invertierte Architektur verwendet, bestehend aus sechs

Schichten (Abbildung 56). Diese wurden auf ein Glassubstrat aufgebracht, das mit Indiumzinnoxid (ITO, engl. *inium tin oxide*) beschichtet war. Zusammen mit einer Zinkoxid-Schicht (ZnO) bildet ITO die Kathode, wobei ZnO den Elektronentransport zur Elektrode begünstigt. Darauf wurde die aktive Schicht, bestehend aus dem DNA-Farbstoff-Aggregat und eines Fulleren-Derivats aufgebracht. Die Anode setzt sich aus einer Lochtransportschicht aus Molybdänoxid (MnO_3) und Silber zusammen. Für die aktive Schicht wurden A_{20} , **Py-dU** und **Nr-dU** zunächst in einem Verhältnis von 1:8:12 in einer DMSO-Wasser-Gemisch (80:20) gelöst. Dabei lag die DNA-Farbstoff-Konzentration bei 40 mg/mL. Danach wurde das Fulleren äquivalent zur Farbstoffmenge (20 Äq.) zugegeben.

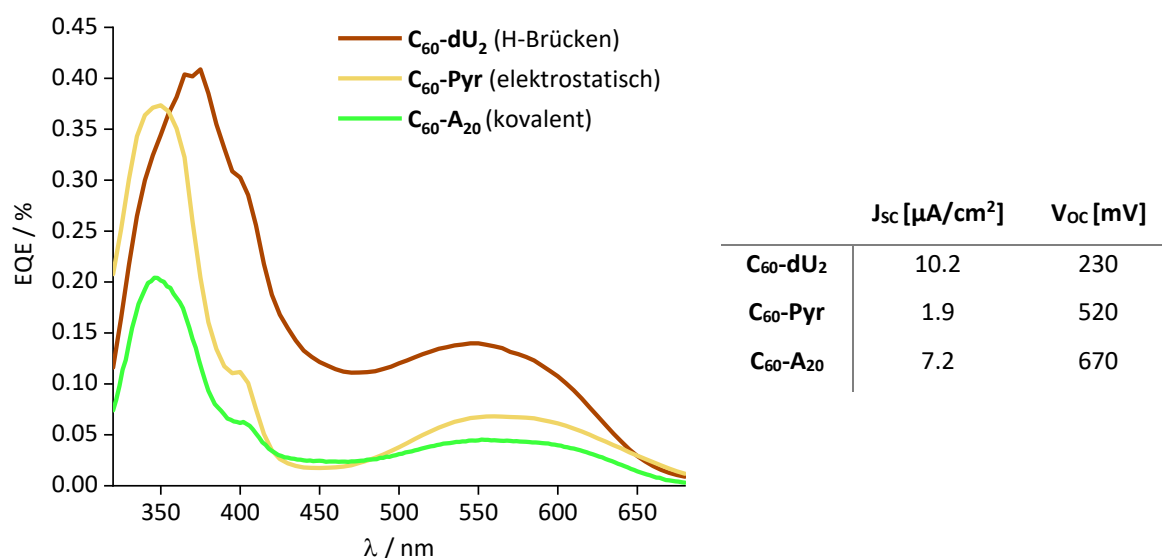


Abbildung 57: Externe Quanteneffizienzen (EQE) der neuen Solarzellen mit dem **Py-dU/Nr-dU**- A_{20} -Aggregat mit $\text{C}_{60}\text{-dU}_2$ (braun) bzw. $\text{C}_{60}\text{-Pyr}$ (gelb) im Vergleich zur EQE der Solarzelle mit dem fullerenmodifizierten A_{20} -Templat von PHLLIP ENSSLEN (grün). Die Abbildung wurde zuvor publiziert.^[103]

Die Solarzellen wurden durch die EQE charakterisiert. Diese entspricht dem Verhältnis der freigesetzten Elektronen zu den absorbierten Photonen und wurde in Abhängigkeit der Wellenlänge bestimmt (Abbildung 57). Daraus geht hervor, dass für beide Fulleren-Konjugate leistungsfähige Solarzellen erhalten wurden. Verglichen mit der externen Quanteneffizienz von nur 0,2 % mit dem A_{20} -Fullerenkonjugat von PHILIPP ENSSLEN konnte diese sowohl mit $\text{C}_{60}\text{-dU}_2$ (0,41 %) als auch mit $\text{C}_{60}\text{-Pyr}$ (0,37 %) deutlich gesteigert werden. Allerdings wurden wesentlich geringere Spannungen erzeugt (vgl. Tabelle,

Abbildung 57). Diese resultieren vermutlich aus Kurzschlüssen, die auf inhomogene Schichten aufgrund der geringen Löslichkeit und der ausgeprägten Neigung zur Aggregation der Fullerene zurückzuführen sind. Weitere Optimierungsversuche der Prozessierung, wie die Variation der Farbstoff-, Fulleren- und/oder DNA-Konzentration, die Architektur der Solarzelle sowie der Einsatz eines anderen DNA-Farbstoff-Aggregats (**Pe-dU/Py-DAP**-(AT)₁₀) brachten keine leistungsfähigen Solarzellen hervor.

3 Zusammenfassung

In diesem Teil der vorliegenden Arbeit wurden DNA-Farbstoff-Aggregat-Schichten hergestellt, durch deren spektroskopische Untersuchungen weitere Einblicke in die strukturelle Anordnung der Chromophore innerhalb einer Schicht erhalten wurden. Dafür wurden die Schichten erstmals mittels Festkörper-CD-Spektroskopie (*ss*-CD) charakterisiert. Für das **Py-dU/Nr-dU-A₂₀**-Aggregat wurde dabei eine Übertragung der Chiralität durch die DNA auf die Chromophore auch innerhalb der Schicht nachgewiesen.

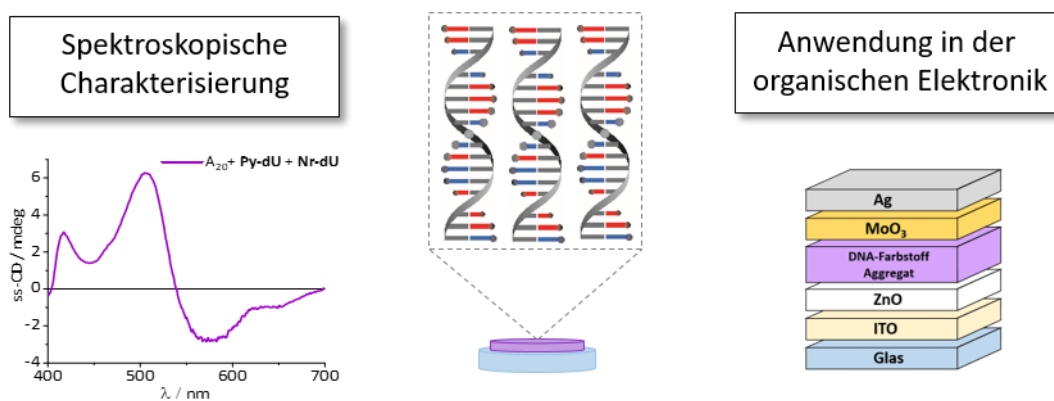


Abbildung 58: Zusammenfassung der in diesem Teil der Arbeit verwendeten Methoden zur Untersuchung und Anwendung funktionaler DNA-Farbstoff-Aggregat-Schichten.

Zusätzlich wurde mit der Fluoreszenz und den Quantenausbeuten der Einfluss von DNA innerhalb der Schichten nachgewiesen. Des Weiteren wurde durch die Kombination eines **Py-dU/Nr-dU-A₂₀**-Aggregats und der Fulleren-Derivate **C₆₀-dU₂** und **C₆₀-Pyr** die EQE innerhalb DNA-basierter Solarzellen gesteigert.

VI. PBI-DNA-AGGREGATE

Eine erfolgreiche Assemblierung nukleosidmodifizierter Farbstoffe entlang eines DNA-Templats wird auch durch die Wahl des Chromophors beeinflusst. So konnten im Arbeitskreis WAGENKNECHT bereits mit Pyren-, Nilrot- und Perylen-Nukleosiden unterschiedliche DNA-Aggregate erzeugt und weitgehend untersucht werden.^[14, 15, 43, 105]

Um die spektrale Bandbreite zu erweitern, wurden in diesem Teil der Arbeit weitere chromophormodifizierte Nucleoside synthetisiert und deren Assemblierung entlang unterschiedlicher DNA-Templates untersucht. Aufgrund ihrer vielfältigen photophysikalischen Eigenschaften und ihrer relativ einfachen synthetischen Zugänglichkeit fiel dabei die Wahl auf den Perylenbisimid-Farbstoff **PBI1** (Abbildung 59).

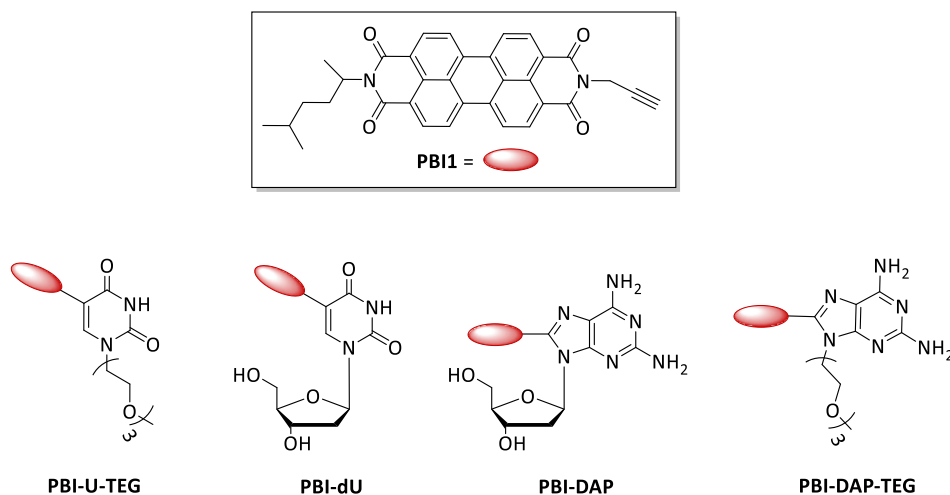


Abbildung 59: Strukturen des verwendeten Chromophors **PBI1** und dessen Konjugate **PBI-U-TEG**, **PBI-dU**, **PBI-DAP** und **PBI-DAP-TEG**.

Es wurden vier verschiedene PBI-Konjugate hergestellt und deren Assemblierungsverhalten entlang verschiedener DNA-Templates miteinander verglichen. Dafür wurde **PBI1** zum einen an 2'-Desoxyuridin (**PBI-dU**) und zum anderen an 2'-Desoxy-2-aminoadenosin (**PBI-DAP**) geknüpft, um den Einfluss der konjugierten Nucleobase zu untersuchen. Des Weiteren wurde der Einfluss der 2'-Desoxyribose untersucht, indem die Zuckereinheit jeweils durch einen Triethylenglycol (**TEG**)-Einheit ersetzt wurde (**PBI-U-TEG**, **PBI-DAP-TEG**).

1 Synthese

Die Synthese des asymmetrischen **PBI1** erfolgte in einem Syntheseschritt ausgehend von kommerziell erhältlichen Perylentetracarbonsäuredianhydrid (**PTCDA**).

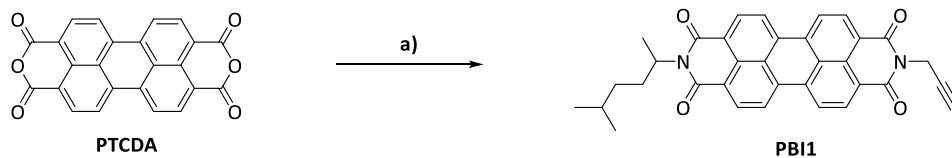


Abbildung 60: Synthese des asymmetrischen **PBI1** ausgehend von **PTCDA**: a) Propargylamin, 2-Amino-5-Methylhexan, $\text{Zn}(\text{OAc})_2$, Pyridin, reflux, 72 h, **42 %**.

Um eine gesteigerte Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln zu erhalten, wurde an einer der beiden *peri*-Positionen eine 5-Methylhexylkette eingeführt. Die andere *peri*-Position wurde mit einem Propargylrest funktionalisiert, um das **PBI1** anschließend in SONOGAHIRA-Kupplungen weiter umzusetzen. Beide Substituenten wurden in einem Reaktionsschritt durch die Umsetzung von **PTCDA** mit 5-Amino-5-methylhexan und Propargylamin in Anwesenheit von Zinkacetat ($\text{Zn}(\text{OAc})_2$) eingeführt. Trotz der zwangsläufig ablaufenden Nebenreaktionen zu den zwei symmetrischen PBI-Derivaten, konnte **PBI1** in einer Ausbeute von 42 % erhalten werden. Ausgehend von **PBI1** erfolgte die Synthese aller weiteren PBI-Konjugate mittels SONOGASHIRA-Kupplung (Abbildung 64). Dafür wurden zunächst die vier Halogen-Vorstufen **12**, **Br-DAP**, **15** und **17** synthetisiert. Die Synthese von **Br-DAP** wurde bereits in Kapitel III.1 beschrieben.

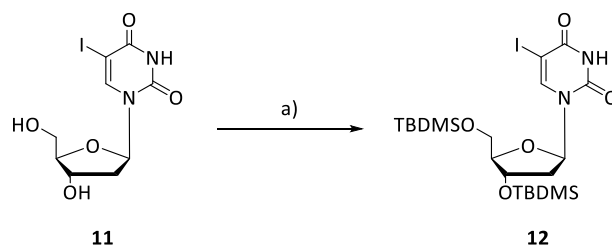


Abbildung 61: Synthese von I-TBDMS-dU: a) TBDMS-Cl, Imidazol, DMF, RT, 4 h, **quant.**

Da die direkte Umsetzung des kommerziell erhältlichen 5-Iodo-2'-Desoxyuridins (**11**), aufgrund dessen schlechter Löslichkeit, mit **PBI1** sehr geringe Ausbeuten lieferte, wurden die 3'- und 5'-Hydroxygruppen in den weiteren Ansätzen geschützt (Abbildung

61). Dafür wurde **11** mit *tert*-Butyldimethylsilylchlorid (TBDMS-Cl) und Imidazol in DMF umgesetzt, wodurch **12** in quantitativer Ausbeute erhalten werden konnte.^[106] Die Synthese der beiden TEG-Derivate **14** und **16** erfolgte angelehnt an SCHENNING *et al.*^[38] Bei der Synthese von **15** erfolgte die Einführung der TEG-Einheit ausgehend von Diaminopurin **13**. Dieses wurde zunächst zu **14** umgesetzt, indem das Diaminopurin durch Natriumhydrid (NaH) an der 9-Position deprotoniert wurde. Infolgedessen wurde der TEG-Rest nach Zugabe von Triethylenglycol-monomethylethertosylat (TEG-Tos) in einer nukleophilen Substitution angeknüpft. **14** konnte dabei in einer Ausbeute von 55 % erhalten werden. Die anschließende Bromierung der 8-Position erfolgte mithilfe von NBS, wodurch das gewünschte Halogen-Derivat **15** in einer Ausbeute von 84 % erhalten wurde.

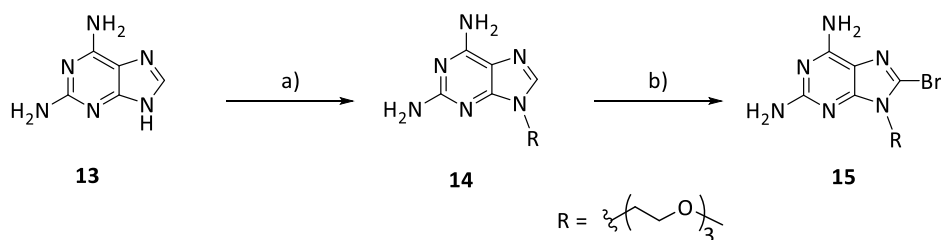


Abbildung 62: Synthese von **Br-DAP-TEG**: a) 1. NaH, DMF, 60 °C, 3 h, 2. TEG-Tos, DMF, -5 °C, 22 h, 55 %; b) NBS, MeCN, RT, 1 h, 84 %.^[38]

Angelehnt an diese Synthesevorschrift wurde **17** ausgehend von Ioduracil (**16**) synthetisiert (Abbildung 63). Die Funktionalisierung mit der TEG-Einheit sollte dabei an der N¹-Position von **16** erfolgen. Durch die Umsetzung mit NaH und TEG-Tos wurde **17** lediglich in Ausbeuten von 20 % erhalten. Die geringe Ausbeute ist auf Nebenreaktionen an der N³-Position zurückzuführen. Während der Reaktion konnten jeweils die N¹-Position, die N³-Position sowie beide Positionen mit TEG-Tos reagieren. Die Reaktionsführung bei höheren Temperaturen (20 – 60 °C) begünstigte die Bildung aller drei potentiellen Reaktionsprodukte. Zusätzlich konnte in einigen Ansätzen eine Dehalogenierung der 5-Position beobachtet werden.

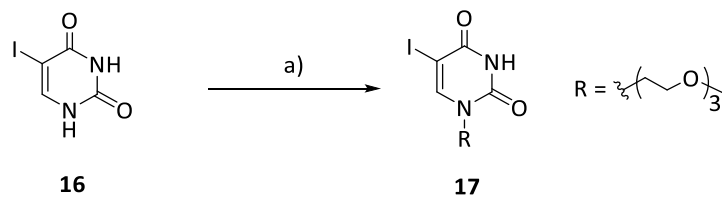


Abbildung 63: Synthese von I-U-TEG: **a)** 1. NaH, DMF, 60° C, 2 h, 2. TEG-Tos, DMF, 0 °C, 7 h, **20 %**.

Die SONOGASHIRA-Kupplungen aller vier PBI-Konjugate erfolgten nach den gleichen Reaktionsbedingungen (Abbildung 64) aus Tetrakis(triphenylphosphin)-palladium(0) ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$) und Kupferiodid (CuI) als Katalysator-System, ein Lösungsmittelgemisch bestehend aus DMF und Et_3N (1/1) sowie eine Reaktionstemperatur von 90 °C und eine Laufzeit von vier Stunden. Die Reaktionen unterschieden sich lediglich in den erhaltenen Ausbeuten.

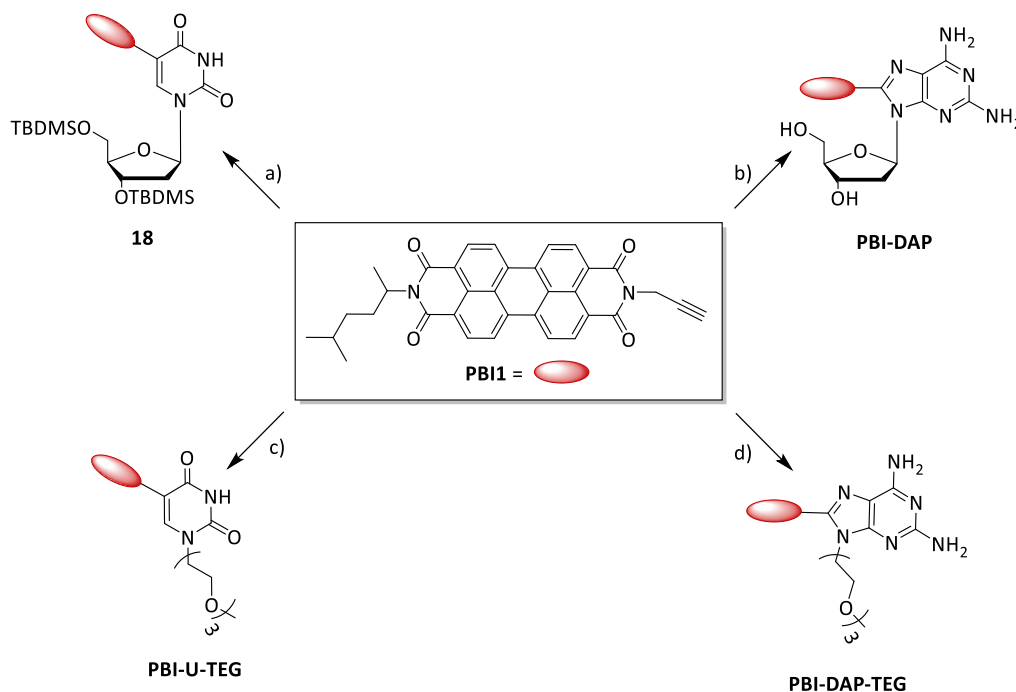


Abbildung 64: Übersicht der durchgeführten SONOGASHIRA-Kupplungen ausgehend von **PBI1** zu den gewünschten PBI-Konjugaten **18**, **PBI-dAp**, **PBI-U-TEG** und **PBI-DAP-TEG**: **a)** **12** (**77 %**), **b)** **Br-DAP** (**38 %**), **c)** **17** (**16 %**), **d)** **15** (**23 %**), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, CuI , Et_3N , DMF, 90 °C, 4 h.

In allen Fällen konnten die Reaktionsausbeuten durch vorheriges Lyophilisieren aller Edukte sowie Entgasen der Reaktionslösung mit Argon gesteigert werden. Trotzdem fällt

auf, dass die Ausbeuten der Kupplungen generell sehr schlecht sind, obwohl in allen Fällen ein vollständiger Umsatz des **PBI1** beobachtet werden konnte. Eine Ausnahme stellt dabei **18** mit einer Ausbeute von 77 % dar, wodurch der positive Einfluss der eingeführten Schutzgruppen nochmals deutlich wird. Die geringen Ausbeuten von **PBI-DAP** (38 %), **PBI-DAP-TEG** (23 %) und **PBI-U-TEG** (16 %) sind vor allem auf die schlechte Löslichkeit der gewonnenen PBI-Derivate und der daraus resultierenden erschwerten Aufreinigung zurückzuführen. Für alle vier Verbindungen war die säulenchromatographische Aufreinigung aufgrund geringer Trennschärfe mit hohem Zeit- und Lösungsmittelaufwand verbunden und führte lediglich für **18** zum Erfolg. Alle anderen PBI-Konjugate konnten erst nach einem zusätzlichen Waschschrift mit Methanol isoliert werden, was allerdings zu hohen Ausbeuteverlusten führte.

Die zuvor eingeführten TBDMS-Schutzgruppen von **18** wurden nach erfolgreicher SONOGASHIRA-Kupplung von **12** an **PBI1** durch die Umsetzung mit $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3 \text{ HF}$ wieder entfernt. Dabei konnte **PBI-dU** in einer Ausbeute von 91 % erhalten werden.

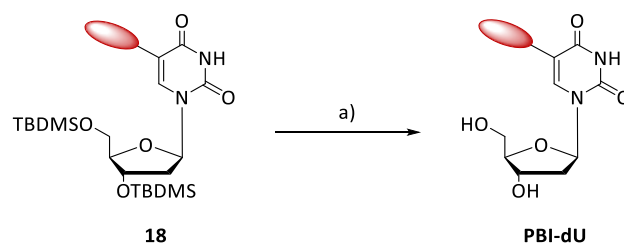


Abbildung 65: Entschützung der Hydroxygruppen von **PBI-TBDMS-dU**: a) $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3 \text{ HF}$, DMF, RT, 16 h, 91 %.

2 Optische Charakterisierung

Die optische Charakterisierung der zuvor synthetisierten Monomere **PBI-dU**, **PBI-U-TEG**, **PBI-DAP** und **PBI-DAP-TEG** erfolgte in DMSO mittels UV/VIS-Absorptions-, Fluoreszenz- und CD-Spektroskopie. Die UV/Vis-Spektren aller vier PBI-Derivate (Abbildung 66) zeigen Banden zwischen 260 und 350 nm, wobei das Signal bei 290 nm dem Uracil und bei 317 nm dem Diaminopurin zuzuordnen ist. Alle vier PBI-Konjugate zeigen die typische Absorption (450 – 550 nm) von Perylenbisimid-Farbstoffen mit Feinstruktur und Absorptionsmaxima bei 460 nm, 490 nm und 529 nm. Offensichtlich beeinflusst keine der beiden Nucleobasen das elektronische Grundgerüst des Chromophors, da diese durch die Methylengruppe nicht mit dem π -System des Perylenbisimids gekoppelt sind.

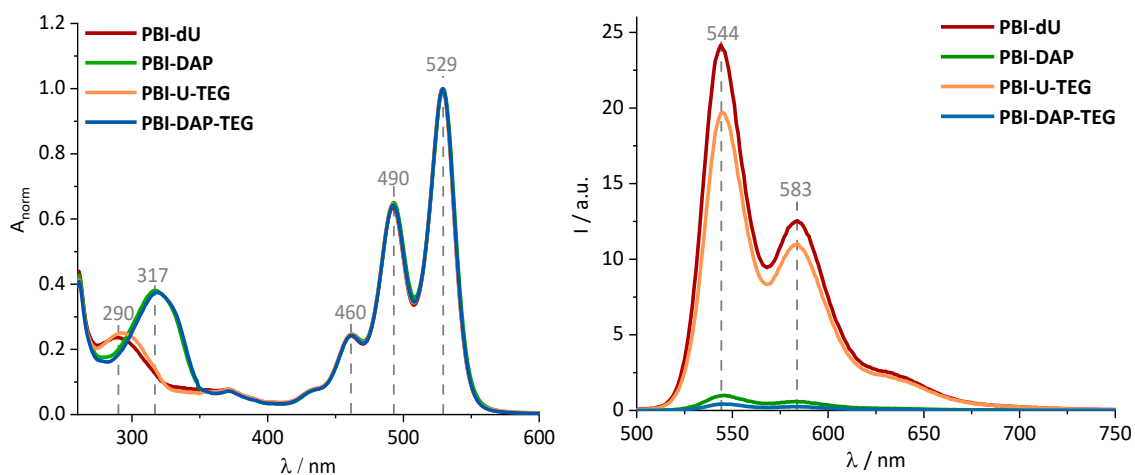


Abbildung 66: Absorptionsspektren (links) und Emissionsspektren (rechts) der PBI-Derivate in DMSO. ($20 \mu\text{M}$, $\lambda_{\text{exc}} = 490 \text{ nm}$).

Dementgegen zeigt sich ein starker Einfluss der Nucleobase auf die Fluoreszenz. Diese ist bei beiden DAP-Konjugaten, wie bereits bei **Py-DAP** und **Pe-DAP** (vgl. Kapitel II), nahezu vollständig gelöscht ($\phi_{\text{F}}(\text{DMSO}) < 1 \%$). Diese Fluoreszenzlöschung ist vermutlich auf Elektronentransferprozesse zwischen **PBI1** und des angeknüpften DAP zurückzuführen. Die Uracil-Konjugate zeigen beide Fluoreszenz ($\phi_{\text{F}}(\text{DMSO}) = 9 \%$), welche sich mit einem Intensitätsmaximum bei 544 nm, einem lokalen Maximum bei 582 nm und einer Schulter im Bereich von 625 – 650 nm spiegelbildlich zum Absorptionsspektrum verhält.

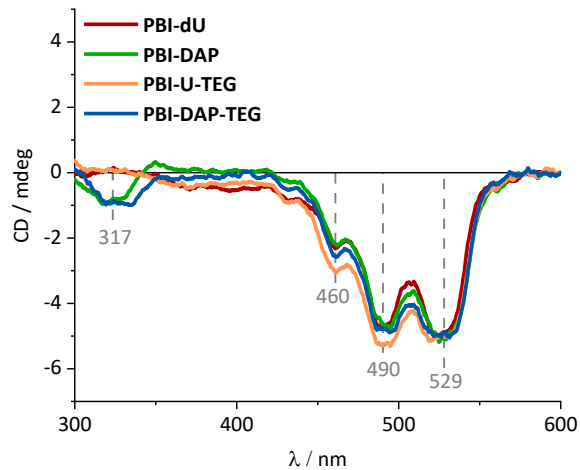


Abbildung 67: CD-Spektren der PBI-Derivate **PBI-dU**, **PBI-U-TEG**, **PBI-DAP** und **PBI-DAP-TEG** in DMSO. (20 µM).

Die CD-Spektren (Abbildung 67) aller vier Konjugate zeigen eine negative Elliptizität, welche mit der Absorptionsfeinstruktur und deren Maxima übereinstimmt. Für die DAP-Konjugate konnte ein zusätzliches Signal bei 317 nm detektiert werden, welches vom Purin-Gerüst stammt. Wie zu erwarten, ist für keines der vier Monomere ein COTTON-Effekt zu beobachten, wodurch davon ausgegangen werden kann, dass in DMSO keine Aggregation stattfindet, welche eine excitonische Wechselwirkung zwischen den Chromophoren erlaubt.

3 Wechselwirkung mit DNA

Es gibt eine Reihe von Parametern (LM, c (Stammlösung), c (DNA), Temperatur, Zentrifugationszeit, Inkubationszeit, etc.), die das Gleichgewicht zwischen gebundenen und ungebundenen Nukleosiden beeinflussen, wodurch für jedes System individuell die optimalen Parameter gefunden werden müssen. Um allerdings den Einfluss der Nukleobase und des Zuckergerüsts auf das Anlagerungsverhalten der PBI-Konjugate untersuchen zu können, muss ein einheitliches Protokoll verfolgt werden. Hierfür wurden die Parameter zunächst für **PBI-dU** optimiert und im Anschluss die Selektivität aller vier Bausteine gegenüber unterschiedlicher DNA-Template untersucht.

3.1 Anlagerung von PBI-dU

Einen sehr großen Einfluss auf die Assemblierung eines Farbstoff-Konjugats hat das Lösungsmittel der Stammlösung. Da **PBI-dU** lediglich in DMSO eine ausreichende Löslichkeit aufwies, erfolgten alle weiter beschriebenen Messungen aus einer DMSO-Stammlösung. Zusätzlich spielt die Konzentration der Stammlösung und der damit resultierende DMSO-Anteil in der wässrigen Lösung eine große Rolle. Ist das chromophormodifizierte Nukleosid im DMSO-Wasser-Gemisch zu gut löslich, ist die Wechselwirkung mit der DNA zweitrangig und der Baustein bleibt in Lösung. Ist das Nukleosid zu schlecht löslich, ist es möglich, dass die Monomere direkt aus der Lösung ausfallen, bevor sie eine Wechselwirkung mit der DNA eingehen können. Aufgrund dessen wurden zunächst 1 mM, 2 mM und 3 mM Stammlösungen angesetzt und erste Assemblierungsexperimente entlang des komplementären A₂₀-Stranges sowie des nicht komplementären T₂₀-Stranges (Abbildung 68) durchgeführt. Als Referenz erfolgten zusätzlich Messungen in Abwesenheit eines DNA-Templats (Negativprobe). Dabei hat sich gezeigt, dass die Reproduzierbarkeit der Daten deutlich gesteigert werden konnte, wenn die **PBI-dU**-Stammlösung vor Zugabe für 10 min im Ultraschallbad homogenisiert, die Probe nach der Zugabe für 10 min inkubiert und anschließend für 20 min zentrifugiert (16000 g) wurde.

Unabhängig davon, ob und welches DNA-Templat vorhanden war, ergab sich die gleiche Feinstruktur der Absorption, welche sich lediglich in der Intensität unterscheidet (Abbildung 68). Verglichen zu den monomeren Absorptionseigenschaften

(vgl. Kapitel IV.2) wurde eine bathochrome Verschiebung des Spektrums mit veränderter Feinstruktur mit einem globalen Maximum bei 470 nm und einer Schulter bei 505 nm sowie einem lokalen Maximum bei 550 nm und einer weiteren Schulter um die 580 nm detektiert. Demnach ist davon auszugehen, dass sich geordnete Strukturen ausbilden, über deren strukturellen Aufbau an dieser Stelle jedoch noch keine Aussage getroffen werden kann.

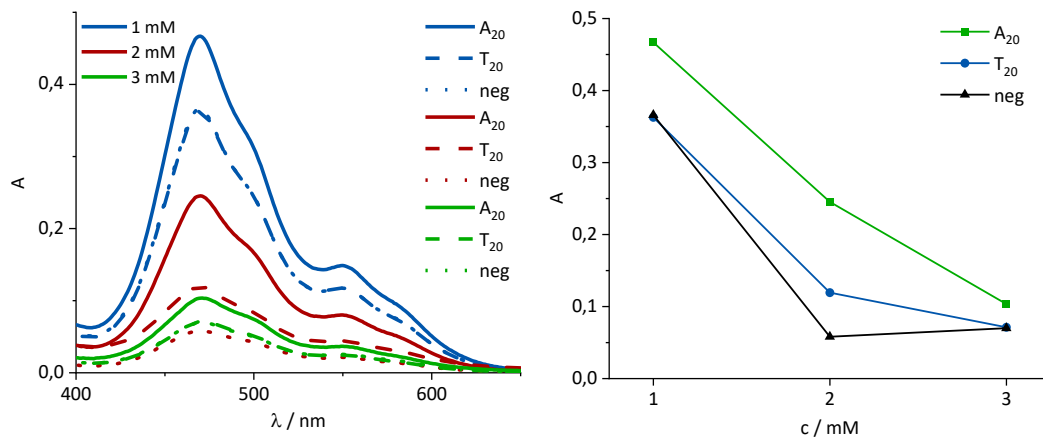


Abbildung 68: UV/VIS-Spektren der Assemblierungsversuche der zentrifugierten Proben von **PBI-dU** entlang eines A₂₀-Templats (durchgezogen) und eines T₂₀-Stranges (gestrichelt) sowie Referenzmessungen ohne DNA (gepunktet) aus einer 1 mM (blau), 2 mM (rot) und einer 3 mM (grün) Stammlösung (links). Auftragung der für die unterschiedlichen DNA-Template (A₂₀: grün, T₂₀: blau, ohne DNA: schwarz) erhaltenen Absorptionsmaxima gegen die Konzentration (rechts).

Unabhängig von der Konzentration der Stammlösung blieb **PBI-dU** mit dem komplementären A₂₀-Templat am besten in Lösung, wodurch eine Wechselwirkung gemäß der kanonischen Basenpaarung vermutet werden kann. Auffällig ist, dass **PBI-dU** ohne DNA lediglich in den Proben aus der 2 mM Stammlösung nahezu vollständig abgetrennt wurde. Da folglich der DMSO-Anteil (1.5 %) nach Zugabe aus einer 3 mM Stammlösung zu gering ist, um die Selbstaggregation der PBIs hinreichend zu unterdrücken und **PBI-dU** in einer 4.5 %igen DMSO-Lösung (1 mM) zu gut löslich ist, erwies sich eine 2 mM Stammlösung bzw. ein DMSO-Anteil von 3 % für die Assemblierung von **PBI-dU** am geeignetsten.

3.2 Assemblierung unterschiedlicher PBI-Konjugate

Im Folgenden soll die Assemblierung aller vier PBI-Konjugate untersucht und miteinander verglichen werden. Dementsprechend wurden alle Anlagerungsexperimente nach dem in Kapitel IV.3.1 ermittelten Protokoll durchgeführt und mit der Assemblierung von **PBI-dU** verglichen. Die dabei nacheinander durchgeführten Schritte sind zusammenfassend in Abbildung 69 dargestellt.

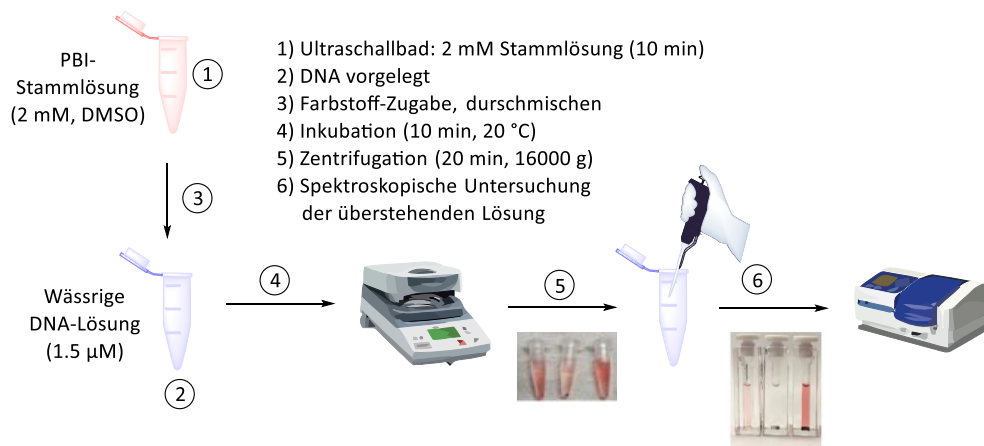


Abbildung 69: Schematische Übersicht des Versuchsprotokolls der Assemblierungsexperimente von **PBI-dU**, **PBI-U-TEG**, **PBI-DAP** und **PBI-DAP-TEG** entlang unterschiedlicher DNA-Template. Aufnahmen der Lösungen nach dem Zentrifugieren (Schritt 5) in Eppendorfgefäßen und in Küvetten (Schritt 6) am Beispiel von **PBI-dU** (von links nach rechts: **PBI-dU** + T₂₀, **PBI-dU** (Negativprobe), **PBI-dU** + A₂₀).

Die spezifische Erkennung des komplementären A₂₀-Templates von **PBI-dU** wurde ergänzend zu den Absorptionsspektren mittels Fluoreszenz- und CD-Spektroskopie nachgewiesen (Abbildung 70, rot). Für **PBI-U-TEG** (orange) konnte weder für den nicht-komplementären DNA-Strang noch für die Negativprobe ein Absorptionsunterschied gegenüber dem A₂₀-Strang detektiert werden. Demnach bildet sich ein Aggregat, dessen Löslichkeit ausreicht, um nicht durch Zentrifugation abgetrennt zu werden. Generell zeigen die Absorptionsspektren in Abwesenheit der DNA eine gesteigerte Löslichkeit für **PBI-U-TEG** gegenüber **PBI-dU**. Die chemische Struktur beider PBI-Konjugate unterscheiden sich lediglich in der Ribose- und TEG-Einheit, sodass diese Beobachtungen aus deren Einflüsse resultieren müssen.

Da die Feinstruktur der Absorption der **PBI-U-TEG**-Proben und die der **PBI-dU**-Proben sehr ähnlichen ist, liegt auf den ersten Blick die Vermutung nahe, dass sich strukturell sehr ähnliche Aggregate ausbilden. Trotzdem ist im Fall von **PBI-dU** ein deutlicher

Absorptionsunterschied mit dem A₂₀-Templat zu erkennen, was auf eine spezifische Erkennung gemäß der WATSON-CRICK-Basenpaarung hindeutet. Zusätzlich fällt auf, dass die Absorption bei 470 nm im Fall des **PBI-dU** stärker ist, obwohl die Intensitäten bei 550 nm nahezu identisch sind. Auch die Emission zeigt unterschiedliche Aggregate. Gegenüber den Messungen der Monomere in DMSO, konnte für beide PBI-Konjugate eine rotverschobene, breite Excimerfluoreszenz detektiert werden.

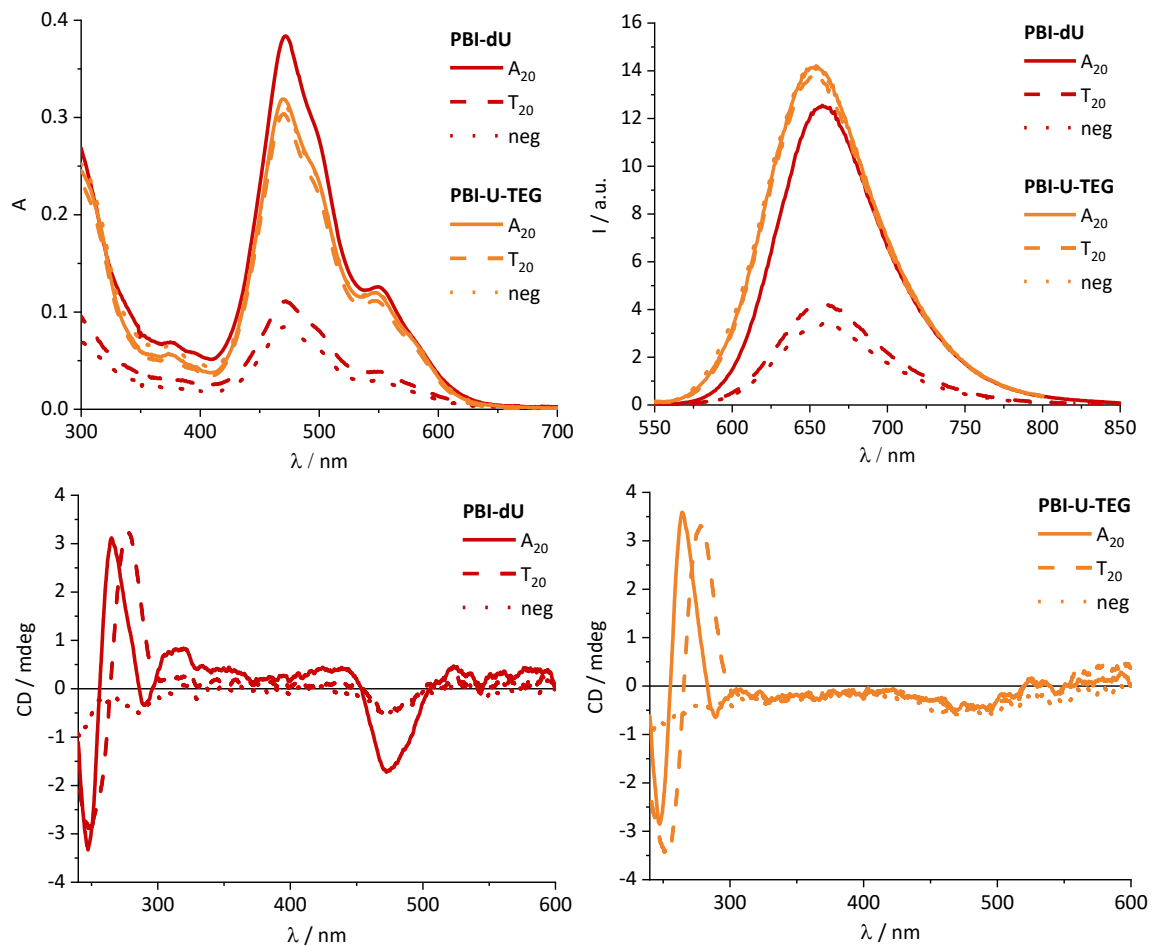


Abbildung 70: Absorptions- (oben links), Emissions- (oben rechts, $\lambda_{\text{exc}} = 470 \text{ nm}$) und CD-Spektren (unten) der zentrifugierten Proben von **PBI-dU** (rot, 45 μM) und **PBI-U-TEG** (orange, 45 μM) in Anwesenheit von A₂₀ (durchgezogen, 1,5 μM) und T₂₀ (gestrichelt, 1,5 μM) sowie in Abwesenheit eines DNA-Templats (gepunktet).

Des Weiteren fällt auf, dass **PBI-U-TEG**, trotz geringerer Absorption nach der Aggregatausbildung und geringerer Emission als Monomer in DMSO, eine breitere und insbesondere höhere Fluoreszenzintensität zeigt. Die unterschiedlichen Extinktionen bei 470 nm und die Emissionseigenschaften zeigen, dass die elektronische Umgebung der Chromophoreinheiten nicht vollständig identisch ist, wodurch strukturell

unterschiedliche Aggregate wahrscheinlich sind. Diese Hypothese konnte auch durch CD-spektroskopische Untersuchungen gestützt werden. Während für **PBI-U-TEG**, sowohl in An- als auch in Abwesenheit eines DNA-Templats, nahezu kein Signal im charakteristischen Absorptionsbereich des PBIs detektiert wurde, ist im Fall von **PBI-dU** ein deutliches Signal mit dem komplementären A₂₀-Strang zu erkennen. Für **PBI-dU** konnte sowohl im Farbstoff- (505 nm) als auch im DNA-Bereich (295 nm) eine excitonische Kopplung mit einem positiven Cotton-Effekt beobachtet werden, sodass sowohl für den Farbstoff als auch die DNA eine rechtsdrehende helikale Orientierung angenommen werden kann. Durch die spezifische Erkennung des komplementären A₂₀-Stranges von **PBI-dU** wird die Löslichkeit des gebildeten Aggregats in Wasser positiv beeinflusst.

Basierend auf diesen Experimenten kann weder für **PBI-U-TEG** oder **PBI-dU** eine sichere Aussage bezüglich des strukturellen Aufbaus der ausgebildeten Aggregate getroffen werden. Verglichen mit in der Literatur beschriebenen ausgebildeten Aggregaten von amphiphilen PBI-Bausteinen sind zwei Strukturen denkbar. WÜRTHNER *et al.* beschrieben die Ausbildung von Mizellen und Vesikeln für strukturell ähnliche PBI-Konjugate wie das hier untersuchte **PBI-U-TEG**, die ähnliche Absorptions- und Emissionseigenschaften zeigten.^[74] Innerhalb dieser mizellartigen Strukturen bildet der hydrophobe Rest den Kern, so dass die hydrophilen Reste nach außen zeigen und mit der wässrigen Umgebung wechselwirken können. Durch die hydrophilen TEG-Einheiten an der Oberfläche der mizellartigen **PBI-U-TEG**-Aggregate könnte die Löslichkeit gesteigert werden, dass diese auch ohne die Wechselwirkung mit einem DNA-Templat in Lösung bleiben (Abbildung 71). Zudem ist denkbar, dass die Uracil-Einheit an der Oberfläche je nach Ausrichtung der TEG-Kette abgeschirmt wird, wodurch diese für die DNA-Stränge nicht zugänglich ist und somit keine Wechselwirkung mit dieser stattfinden kann. Solch eine ausgebildete Struktur würde erklären, dass die Absorptions-, Emissions- und die CD-Spektren von **PBI-U-TEG** sowohl in Anwesenheit als auch in Abwesenheit von DNA identisch sind.

Auch für den **PBI-dU**-Baustein ist eine Ausbildung solcher mizellartigen Strukturen denkbar. Dabei könnte die beobachtete spezifische Erkennung des A₂₀-Stranges durch den geringeren sterischen Anspruch der 2'-Desoxyribose erklärt werden. Da die 2'-Desoxyribose deutlich kürzer ist, ragt diese nicht so weit aus der Oberfläche raus,

wodurch die Uracile für die DNA zugänglich werden. Durch die kanonische Basenpaarung könnte das A₂₀-Templat an der Mizelle binden und diese dadurch in Lösung halten.

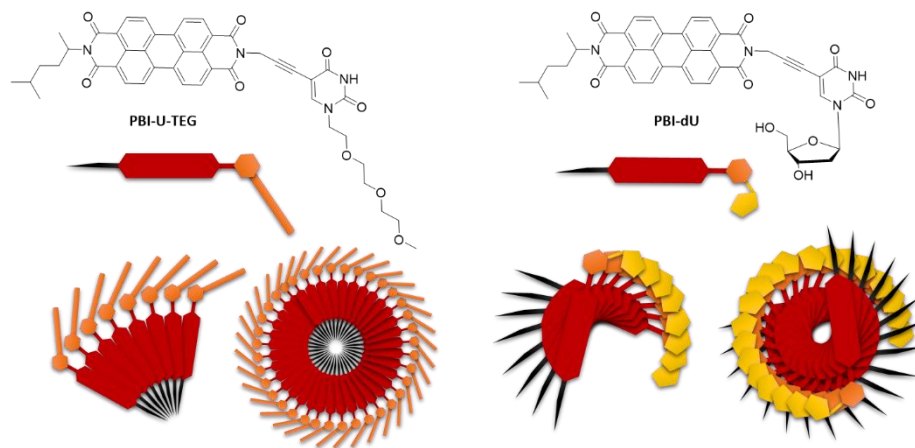


Abbildung 71: Vereinfachte Darstellung des vermuteten strukturellen Aufbaus der ausgebildeten Aggregate von **PBI-U-TEG** (links, Querschnitt Mizelle) und **PBI-dU** (rechts, Draufsicht Helix).

Da im Fall der **PBI-dU**-Aggregate jedoch im CD-Spektrum ein deutliches Signal mit einem Vorzeichenwechsel detektiert werden konnte, ist die Ausbildung einer helikalen Struktur wahrscheinlicher. Solche Strukturen wurden bereits von FAUL *et al.* für amphiphile PBI-Derivate mit einer Galaktose als hydrophilen Rest beobachtet.^[75] Da die Absorptionsspektren aller Proben sich jedoch lediglich in den Intensitäten und nicht in der Feinstruktur unterscheiden, liegt die Vermutung nahe, dass nicht die DNA sondern der **PBI-dU**-Baustein das Templat der ausgebildeten Aggregate darstellt. Somit würde sich ein Aggregat ergeben, dessen Kern sich aus helikal angeordneten **PBI-dU**-Bausteinen zusammensetzt, sodass sich der komplementäre A₂₀-Strang um die durch die Farbstoffe gebildete Helix winden kann. Dadurch würde das negativ geladene Rückgrat der DNA nach außen zeigen und den hydrophoben Chromophorstapel abschirmen, wodurch das sonst schlechter lösliche Aggregat in Lösung gehalten werden kann.

Auch für die DAP-Derivate **PBI-DAP** und **PBI-DAP-TEG** konnte eine Aggregatbildung beobachtet werden. Da die Fluoreszenz für beide PBI-Konjugate in Wasser vollständig gelöscht ist, konnten keine Emissionsspektren zur Aufklärung der Struktur hinzugezogen werden. Verglichen mit den erhaltenen Absorptionsspektren der Monomere in DMSO (vgl. Kapitel V.2) sind die Spektren ebenfalls rotverschoben. Auffällig ist die besser

aufgelöste Feinstruktur im Fall von bei **PBI-DAP** gegenüber den **PBI-DAP-TEG**-Aggregaten. Die Absorptionsspektren der **PBI-DAP-TEG**-Aggregate zeigen eine deutlich stärker ausgeprägte Schulter bei 495 nm, welche eher einem zweiten Maximum entspricht. Ein weiteres Absorptionsmaximum konnte bei 544 nm detektiert werden (Abbildung 72).

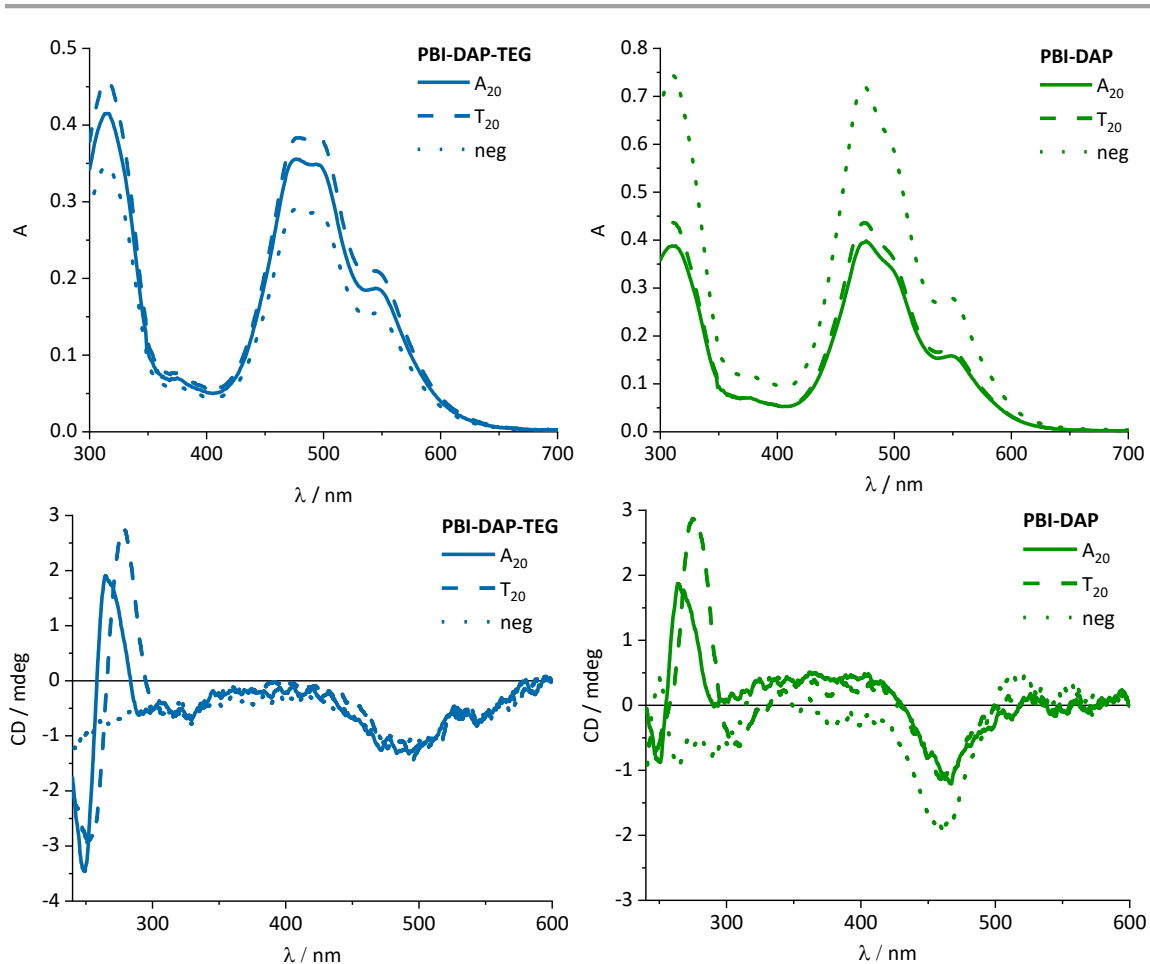


Abbildung 72: Absorptions- (oben) und CD-Spektren (unten) der zentrifugierten Proben von **PBI-DAP-TEG** (blau, 45 μM) und **PBI-DAP** (grün, 45 μM) und in Anwesenheit von A_{20} (durchgezogen, 1,5 μM) und T_{20} (gestrichelt, 1,5 μM) sowie in Abwesenheit eines DNA-Templats (gepunktet) in Wasser + 2 % DMSO.

Weder die Absorptions- noch die CD-Spektren der Assemblierungsversuche von **PBI-DAP-TEG** lassen auf eine spezifische Erkennung des komplementären T_{20} -Templates oder eine chirale Orientierung der Chromophore schließen. Analog zu den **PBI-U-TEG**-Aggregaten scheint die Aggregatausbildung unabhängig von der DNA stattzufinden. Auch für die **PBI-DAP-TEG** Bausteine ist die Ausbildung von Mizellen oder Vesikeln denkbar.

Die Absorptionsspektren der Assemblierungsversuche von **PBI-DAP** zeigen ein absolutes Maximum bei 473 nm mit einer Schulter um die 500 nm und einem lokalen Maximum bei 546 nm (Abbildung 72). Die Negativprobe von **PBI-DAP** zeigt die stärkste Absorption. In Anwesenheit von DNA, jedoch unabhängig von der Sequenz, wird eine Abtrennung der PBI-Konjugate begünstigt. Dafür können zwei Möglichkeiten in Betracht gezogen werden: Entweder die Löslichkeit der Aggregate wird durch die erhöhte Polarität nach Zugabe der DNA herabgesetzt, sodass diese ausfallen oder es findet eine unspezifische Anlagerung an beide DNA-Template statt, wodurch sich DNA-**PBI-DAP**-Aggregate bilden, in denen die hydrophoben PBI-Einheiten nach außen ragen und die Löslichkeit dadurch vermindert wird. In den CD-Spektren ist mit T_{20} im DAP-Bereich ein sehr schwacher COTTON-Effekt zu erkennen, welcher auf eine Anlagerung deuten könnte, durch welche jedoch nur wenig chirale Information auf das PBI übertragen wird bzw. diese kaum excitonisch koppeln. Die Annahme einer DNA-templierten Assemblierung wurde auch durch Anlagerungsexperimente in einem gepufferten System gestützt (vgl. Kapitel IX.4). Dabei konnte eine spezifische Erkennung des komplementären T_{20} -Stranges festgestellt werden. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass bei Fehlpaarungen mit dem A_{20} -Strang lediglich zwei Wasserstoffbrücken ausgebildet werden. Durch die gesteigerte Polarität der Umgebung reichen vermutlich zwei Wasserstoffbrückenbindungen nicht aus, um die DNA-Farbstoff-Aggregate in Lösung zu halten.

Aus dem CD-Spektren der **PBI-DAP**-Bausteine kann im Experiment ohne DNA eine Aggregation angenommen werden, die den **PBI-dU**-Aggregaten strukturell ähnelt. Auch hier zeigen die beiden freien Aminogruppen einen positiven Effekt die Löslichkeit der ausgebildeten **PBI-DAP**-Aggregate, sodass diese gegenüber der **PBI-dU**-Aggregate ohne DNA in Lösung gehalten werden können. Aufgrund der sehr schwach ausgeprägten Signale können diese allerdings nicht eindeutig interpretiert werden.

Zusammenfassend konnte lediglich für die 2'-Desoxyribose-Derivate eine Wechselwirkung mit DNA nachgewiesen werden (Abbildung 73). Dabei ist je nach angeknüpftem Nukleosid die Ausbildung strukturell unterschiedlicher Aggregate denkbar. Im Fall der TEG-Derivate konnte weder für **PBI-U-TEG** noch für **PBI-DAP-TEG**

ein Einfluss der DNA festgestellt werden. Für beide PBI-Konjugate sind mizellartige Strukturen wahrscheinlich.

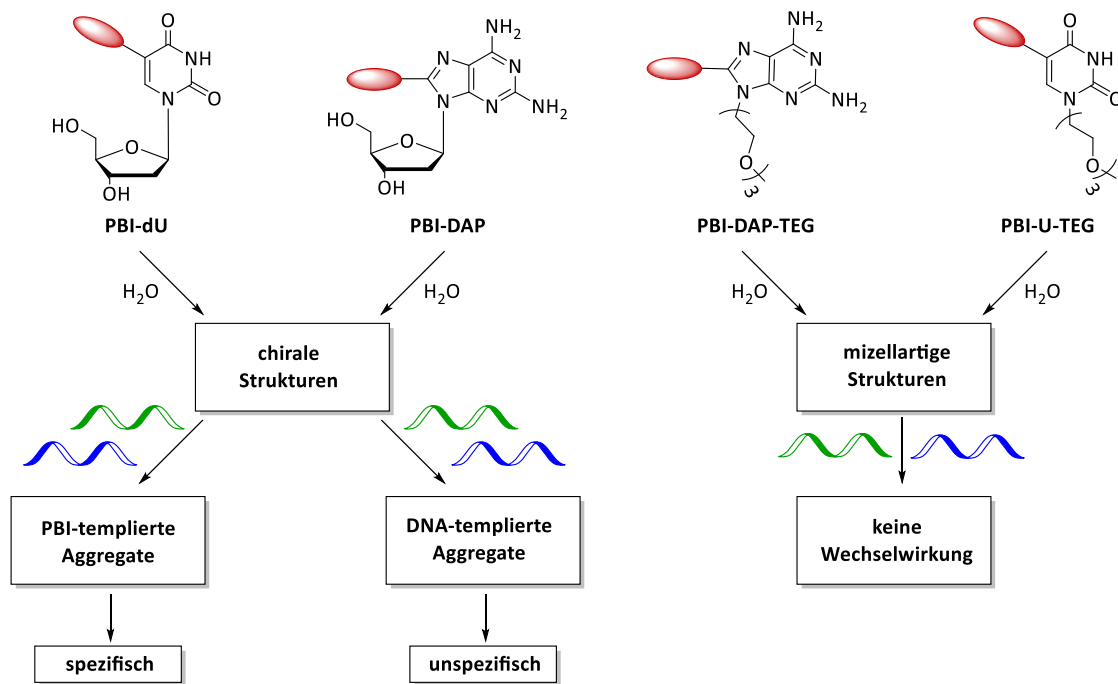


Abbildung 73: Übersicht der detektierten Wechselwirkungen zwischen den PBI-Derivaten mit unterschiedlichen DNA-Templaten (A_{20} : grün, T_{20} : blau) in Wasser.

Aufgrund der geringeren Löslichkeit der **PBI-dU**-Bausteine sind Aggregate anzunehmen, in denen die Chromophore den Kern bilden und die DNA um die ausgebildete Struktur bindet, während für **PBI-DAP** eine DNA-templierte Assemblierung denkbar ist. Durch die bessere Löslichkeit aufgrund der zwei freien Aminogruppen des DAPs, können die **PBI-DAP**-Bausteine nach der Zugabe zunächst als Monomere vorliegen und mit der DNA interagieren, bevor die wässrige Umgebung eine Aggregation erzwingt. Da die Bindungsenthalpie durch die Wasserstoffbrücken zwischen den Nucleobasen gegenüber den hydrophoben Wechselwirkungen (π - π -Stapelung) zwischen den Farbstoffen vermutlich größer ist, ist die Ausbildung von DNA-Farbstoffaggregaten begünstigt. Des Weiteren kann durch die zusätzlich eingeführte Aminogruppe eine dritte Wasserstoffbrücke ausgebildet werden, welche einen weiteren Beitrag zur Bindungsenthalpie liefert.

Einfluss der Temperatur

Da bereits gezeigt wurde, dass sich direkt nach der Zugabe in Wasser lösliche PBI-Aggregate bilden, wurden die Proben erhitzt, um diese Aggregate aufzubrechen und so ggf. eine geordnete Assemblierung entlang des DNA-Templats zu erreichen. Dafür wurden die Proben zunächst für 10 min bei 90 °C inkubiert und im Anschluss langsam über Nacht auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Durchführung der Experimente erfolgte sowohl in Wasser als auch in PBS-Puffer. Da jedoch in beiden Fällen die gleichen Resultate beobachtet wurden, sind im Folgenden lediglich die Spektren in Puffer dargestellt. Die aufgenommenen Spektren in Wasser sind dem Anhang zu entnehmen. Für alle abgekühlten Proben konnte eine vollständige Präzipitation festgestellt werden. Deswegen wurde nicht zentrifugiert und die Äquivalente der zugegebenen PBI-Bausteine den 20 Bindungsstellen des Templats angepasst. Alle Proben wurden direkt vor den Messungen gut durchmischt, um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten.

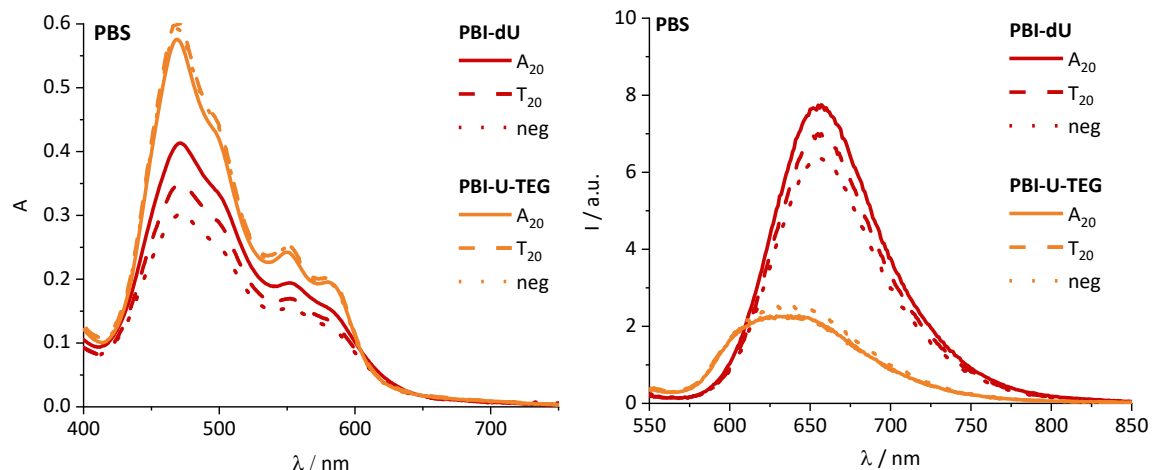


Abbildung 74: Absorptions- (links) und Emissionsspektren ($\lambda_{\text{exc}} = 470 \text{ nm}$) von **PBI-dU** (rot, $30 \mu\text{M}$) und **PBI-U-TEG** (orange, $30 \mu\text{M}$) in Anwesenheit von A_{20} (durchgezogen, $1.5 \mu\text{M}$) und T_{20} (gestrichelt, $1.5 \mu\text{M}$) sowie in Abwesenheit eines DNA-Templats (gepunktet) in PBS-Puffer (10 mM) + 2 % DMSO.

Verglichen mit den aufgenommenen Spektren der zuvor beschriebenen Assemblierungsversuche, wurde eine Änderung der Feinstrukturen in den Absorptionsspektren beobachtet. Die Absorption der **PBI-dU**- und **PBI-U-TEG**-Aggregate ist verbreitert und die Schulter bei 580 nm deutlich ausgeprägter (Abbildung 74). Verglichen mit den Experimenten in Wasser ist die Emission im gepufferten System geringer (vgl. Kapitel IX.4). Auffällig ist, dass die Proben mit **PBI-U-TEG** eine schwächere und nicht wie zuvor bei 20 °C eine gesteigerte Fluoreszenzintensität gegenüber den

PBI-dU-Aggregaten aufweisen. Demnach ist anzunehmen, dass die Chromophore eine Nahordnung aufweisen, wodurch die excitonische Kopplung zwischen den **PBI-dU**-Bausteinen stärker ausgeprägt ist. Die CD-Spektren stärken diese Annahme (Abbildung 75). Diese zeigen ein deutlich ausgeprägtes CD-Signal im Farbstoffbereich mit einem Nulldurchgang bei 460 nm und 527 nm sowie einem stark ausgeprägtem negativen COTTON-Effekt, der auf eine linksdrehende helikale Struktur hinweist. Da dieser Kurvenverlauf jedoch unabhängig der DNA-Sequenz bzw. deren Anwesenheit ist, ist dieses Signal auf reine **PBI-dU**-Aggregate zurückzuführen. Auch die CD-Spektren der **PBI-U-TEG**-Aggregate zeigen alle einen identischen Verlauf. Dabei konnte durch die erhöhte Temperatur ebenfalls weder eine helikale Anordnung der Chromophore noch eine DNA-Erkennung erreicht werden.

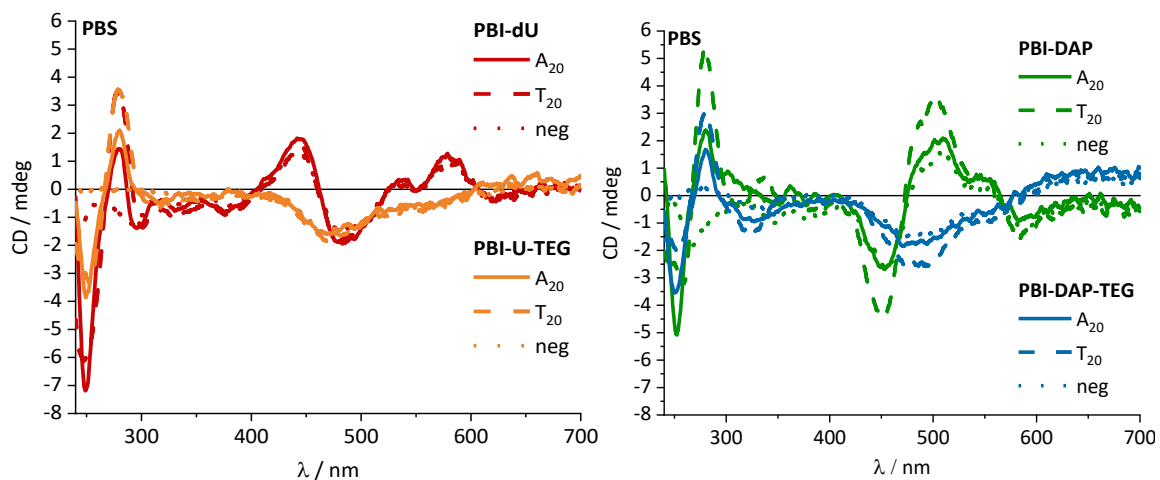


Abbildung 75: CD-Spektren von **PBI-dU** (rot, 30 μ M) und **PBI-U-TEG** (orange, 30 μ M) (links) sowie von **PBI-DAP** (grün, 30 μ M) und **PBI-DAP-TEG** (blau, 30 μ M) (rechts) in Anwesenheit von **A₂₀** (durchgezogen, 1,5 μ M) und **T₂₀** (gestrichelt, 1,5 μ M) sowie in Abwesenheit eines DNA-Templats (gepunktet) in PBS-Puffer (10 mM +2 % DMSO).

Für die beiden DAP-Derivate **PBI-DAP** und **PBI-DAP-TEG** kann ebenfalls eine DNA-unabhängige Aggregation angenommen werden (Abbildung 75). Dabei ergibt sich für **PBI-DAP**, analog dem 2'-Desoxyribose-Derivat **PBI-dU**, eine chirale Orientierung der Farbstoffe.

Interessanterweise deuten die CD-Messungen, entgegen der linksgängigen Struktur der **PBI-dU**-Nucleoside, für die **PBI-DAP**-Bausteine auf eine rechtsgängige Orientierung hin (Abbildung 76). Diese strukturellen Unterschiede können lediglich auf die angeknüpften

Nukleoside zurückgeführt werden und verdeutlichen deren Einfluss auf das Aggregationsverhalten der PBI-Farbstoffe. Somit kann durch einfaches Anknüpfen unterschiedlicher Nukleoside der unkontrollierten Aggregation der PBIs entgegengewirkt werden und zusätzlich die Chiralität der ausgebildeten Strukturen gesteuert werden, ohne dass ein Templat benötigt wird. Durch die Kontrolle solcher Chromophorstapel ist die Möglichkeit gegeben, deren optischen Eigenschaften zu optimieren. Dies ist deutlich am Beispiel der Uracil-Konjugate zu erkennen. Durch die Ausbildung eines geordneten Aggregats konnte für **PBI-dU** eine deutliche Emissionssteigerung gegenüber der ungeordneten **PBI-U-TEG**-Aggregate beobachtet werden.

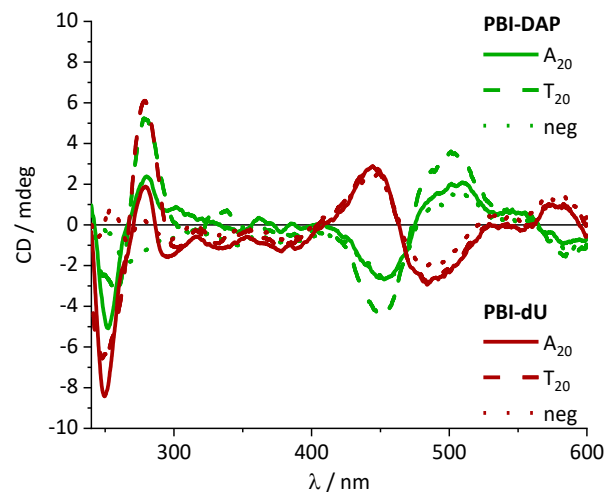


Abbildung 76: CD-Spektren von **PBI-dU** (rot, 30 μ M) und **PBI-DAP** (grün, 30 μ M) in Anwesenheit von A₂₀ (durchgezogen, 1,5 μ M) und T₂₀ (gestrichelt, 1,5 μ M) sowie in Abwesenheit eines DNA-Templats (gepunktet) in PBS-Puffer (10 mM +2 % DMSO).

Diese Experimente zeigen die stark ausgeprägte Neigung zur Aggregation der PBI-Derivate deutlich und der damit einhergehenden schwer kontrollierbaren Assemblierung entlang eines DNA-Templats.

Basierend auf diesen Ergebnissen wurden weitere Anlagerungsexperimente mit den L-konfigurierten DNA-Templaten (IA₂₀ und IT₂₀) durchgeführt, um zu überprüfen, ob neben der WATSON-CRICK-Basenpaarung eine chirale Erkennung aufgrund der bevorzugten Stapelrichtung des Chromophors stattfindet und einen Einfluss auf die Assemblierung bzw. Interaktion mit der DNA hat. Dabei konnte jedoch weder für **PBI-dU** noch für **PBI-DAP** ein Einfluss der Konfiguration des DNA-Templats nachgewiesen werden.

4 Zusammenfassung

Es wurden vier unterschiedliche PBI-Konjugate, **PBI-dU**, **PBI-DAP**, **PBI-U-TEG** und **PBI-DAP-TEG** synthetisiert und deren Assemblierungsverhalten entlang von DNA-Templaten untersucht.

Dafür wurden zunächst die optischen Eigenschaften der vier PBI-Derivate optisch charakterisiert. Die Absorptions- und CD-Eigenschaften der PBI-Einheit werden durch keine der angeknüpften Nucleobasen beeinflusst. Allerdings wurde die Fluoreszenz der DAP-Derivate nahezu vollständig gelöscht.

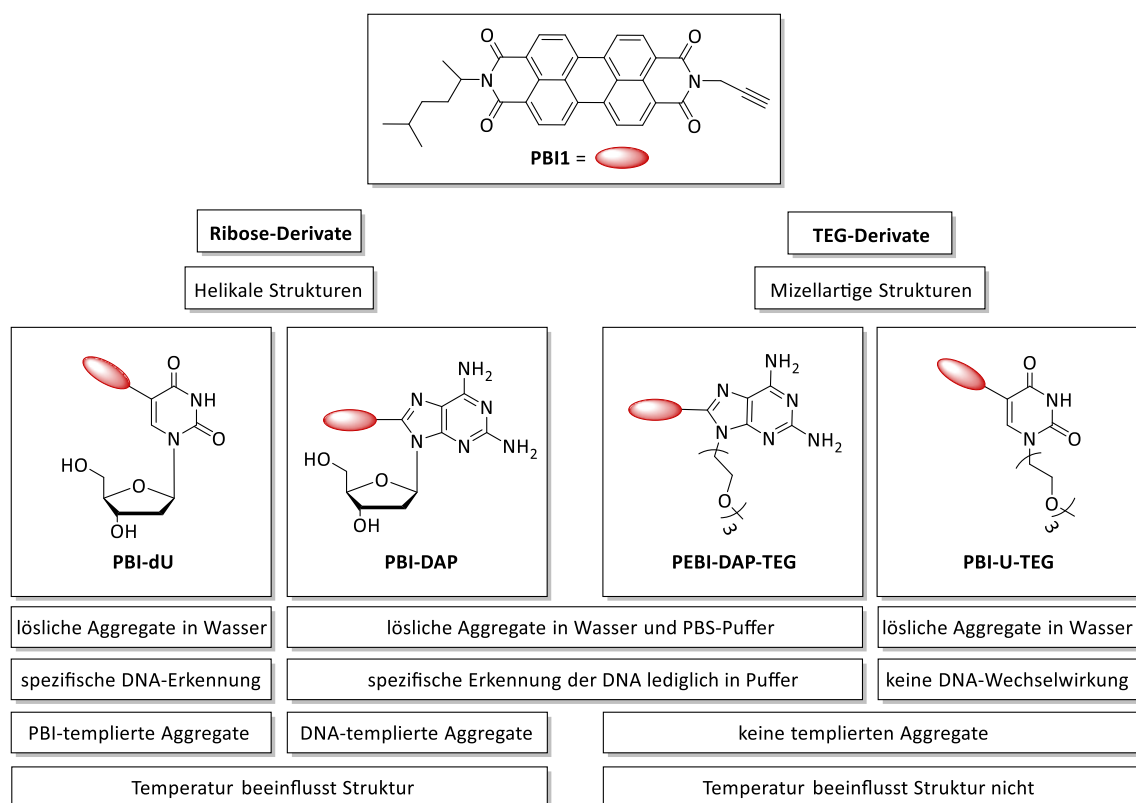


Abbildung 77: Darstellung der chemischen Strukturen des synthetisierten **PBI1** und dessen Derivate **PBI-dU**, **PBI-U-TEG**, **PBI-DAP** und **PBI-DAP-TEG** sowie eine schematische Zusammenfassung der erhaltenen Ergebnisse bezüglich des Assemblierungsverhaltens und der daraus resultierenden Strukturen der jeweiligen Bausteine.

Die Assemblierung entlang A_{20} und T_{20} als DNA-Templat wurde mittels Absorptions-, Fluoreszenz- und CD-Spektroskopie untersucht. Dafür wurde zunächst ein für **PBI-dU** optimiertes Protokoll verfolgt. Lediglich für **PBI-dU** wurde eine spezifische Erkennung des komplementären A_{20} -Stranges nachgewiesen, weshalb weitere Einflüsse, wie die

Inkubations-Temperatur, die Lösungsmittelpolarität und die Konfiguration des DNA-Templats untersucht wurden. In Abbildung 77 ist eine Übersicht der synthetisierten PBI-Konjugate und der erhaltenen Ergebnisse bezüglich des jeweiligen Anlagerungsverhalten und der angenommenen Strukturen gegeben. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass für beide Ribose-Derivate **PBI-dU** und **PBI-DAP** eine chirale Anordnung der PBI-Einheit bevorzugt wird, während die TEG-Derivate **PBI-DAP-TEG** und **PBI-U-TEG** vermutlich mizellartige Strukturen ausbilden. Dabei waren bis auf das **PBI-dU**-Aggregat alle ausgebildeten Aggregate auch ohne DNA in Wasser löslich.

Bei einer Inkubations-Temperatur von 90 °C hat sich für alle PBI-Derivate gezeigt, dass eine Aggregation unabhängig von der DNA stattfindet. Für die 2'-Desoxyribose-Derivate konnten spiegelbildliche Anordnungen der PBI-Einheiten beobachtet werden, deren Drehrichtung vom angeknüpften Nukleosid abhängt. Für **PBI-dU** war die Anordnung linksgängig, für **PBI-DAP** rechtsgängig.

Die Strukturaufklärung der gebildeten Aggregate ist sehr komplex, sodass lediglich Annahmen bezüglich des strukturellen Aufbaus getroffen werden konnten, die aus einer Gesamtbetrachtung aller aufgenommenen spektroskopischen Daten resultieren. Um die beschriebenen Strukturen vollständig aufzuklären, bedarf es zusätzlicher bildgebender Untersuchungen, wie beispielsweise Atomkraftmikroskopie (*atomic force microscopy*, AFM) oder Transmissionselektronenmikroskopie (TEM).

Im Allgemeinen konnte durch die Anlagerungsexperimente der vier verschiedenen PBI-Derivate gezeigt werden, dass die 2'-Desoxyribose-Einheit des Nukleosids einen deutlichen Einfluss auf das Aggregationsverhalten der Farbstoffe nimmt und für die Ausbildung chiraler Aggregate essentiell ist. Dabei hat sich gezeigt, dass **DAP** durch die Ausbildung einer dritten Wasserstoffbrücke zwar stabilere Aggregate bildet, jedoch dazu neigt, Fehlpaarungen einzugehen. Obwohl sowohl für **PBI-dU** als auch für **PBI-DAP** eine Erkennung der DNA nachgewiesen wurde, kann lediglich für das **DAP**-Derivat eine DNA-templatierte Anlagerung angenommen werden. Demnach scheint das Hydrophilie/Hydrophobie-Verhältnis für **PBI-DAP** am geeignetsten für die Anlagerung entlang eines DNA-Stranges zu sein, während **PBI-dU** eine zu geringe und die TEG-Derivate eine zu starke Löslichkeit aufwiesen. Doch auch die Wahl des

Chromophors selbst trägt zu einem großen Teil zu diesem Verhältnis bei. Verglichen mit anderen Chromophoren, wie Perylen und Pyren, die bereits erfolgreich durch die Anknüpfung an ein Nukleosid an ein DNA-Templat angelagert wurden, verfügen PBIs über ein deutlich größeres konjugiertes π -System.

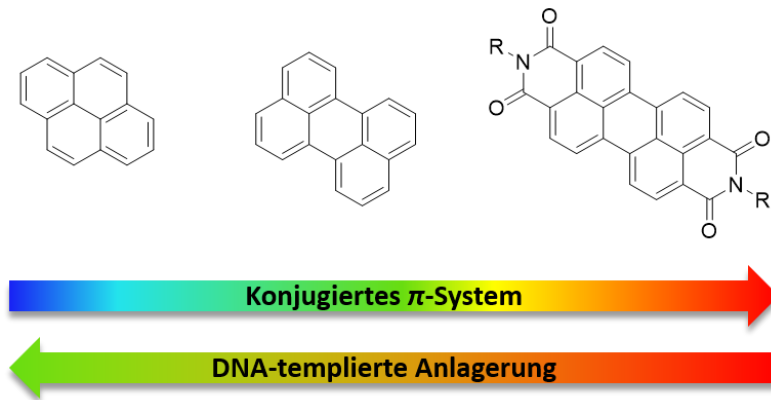


Abbildung 78: Schematische Darstellung des gegenläufigen Verhältnisses von π -Ringsystemgröße und der kontrollierten DNA-templierten Anlagerung polycyclischer Chromophore.

Bei Betrachtung ihres Anlagerungsverhaltens lässt sich ein gewisser Trend erkennen: Je größer das konjugierte π -System, desto schlechter ist die DNA-templierte Assemblierung kontrollierbar. Mit zunehmender Größe des aromatischen Ringsystems, stellt die Wechselwirkung zwischen dem π -System die dominierende Bindungskraft dar und legt somit die Struktur fest. Dadurch kann durch eine geschickte Wahl der Größe des Chromophors und der angeknüpften hydrophilen Einheit das Aggregationsverhalten beeinflusst und kontrolliert werden.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen dieser Arbeit wurden unterschiedliche supramolekulare DNA-Architekturen hergestellt, die mithilfe der kanonischen Basenpaarung nach WATSON-CRICK aufgebaut wurden. Die Aggregate wurden durch optische und chiroptische Spektroskopie charakterisiert.

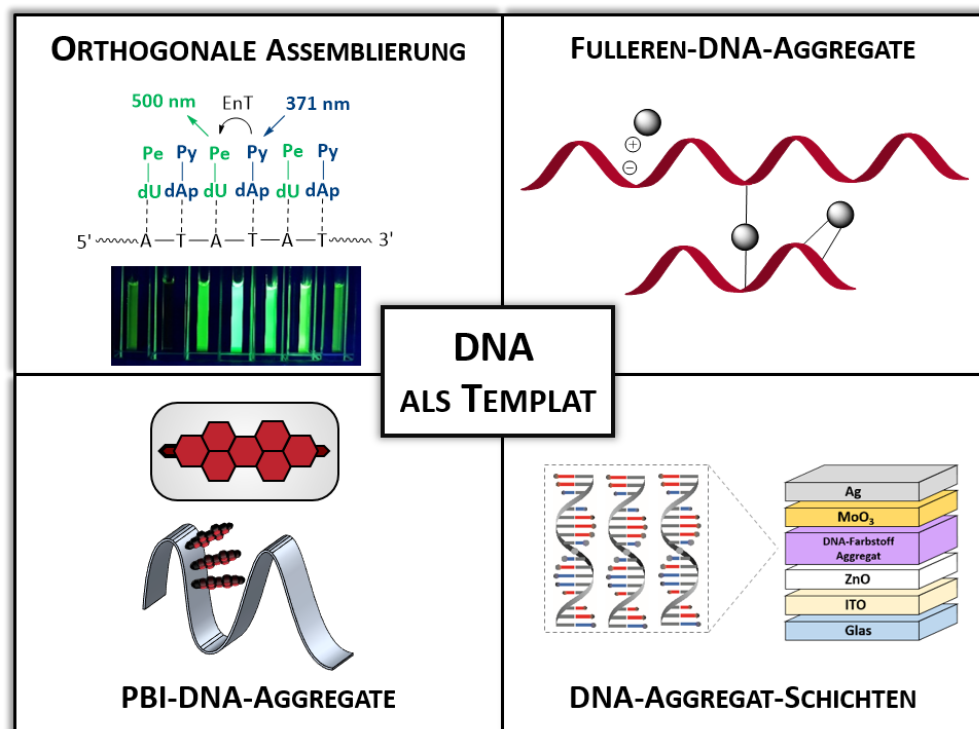


Abbildung 79: Zusammenfassende Darstellung der in dieser Arbeit bearbeiteten Projekte.

Durch die orthogonale Assemblierung von **Pe-dU** und **Py-DAP** wurden DNA-Chromophor-Aggregate erhalten, deren optische Eigenschaften durch die Templatsequenz programmierbar sind. Die Selektivität konnte dabei insbesondere über die Emissionseigenschaften nachgewiesen werden. Zudem war es erstmals möglich, einen CPL-Effekt solcher DNA-templierten Chromophorstapel zu detektieren.

Des Weiteren wurde die DNA-templierte Assemblierung von Fulleren untersucht. Dafür wurde das neue Fulleren-Derivat **C₆₀-dU₂** synthetisiert und dessen Wechselwirkung mit DNA spektroskopisch untersucht sowie mit dem literaturbekannten, geladenen Fulleren **C₆₀-Pyr** verglichen. In Kombination mit DNA-Chromophor-Aggregaten wurde für beide

Derivate eine fluoreszenzlöschende Wirkung nachgewiesen, woraufhin diese Systeme hinsichtlich ihrer Anwendung als aktive Schicht in einer DNA-basierten Solarzelle untersucht wurden. Dabei wurde eine Steigerung der EQE gegenüber vorherigen Solarzellen erzielt, allerdings lieferten die neuen Solarzellen geringere Spannungen. Zusätzlich wurden die funktionalen Schichten spektroskopisch untersucht, wodurch Rückschlüsse auf die strukturelle Anordnung der Chromophore in festen Schichten getroffen werden konnten.

Um das Farbspektrum zu erweitern und einen tieferen Einblick in das Assemblierungsverhalten von chromophormodifizierten Nucleosiden zu erhalten, wurden vier PBI-Derivate (**PBI-dU**, **PBI-U-TEG**, **PBI-DAP** und **PBI-DAP-TEG**) synthetisiert und deren DNA-templierte Anlagerung untersucht. Dadurch konnte gezeigt werden, dass ein geeignetes Hydrophilie/Hydrophobie-Verhältnis des modifizierten Nucleosids notwendig ist, um eine DNA-templierte Assemblierung zu erreichen. Zudem konnte gezeigt werden, dass die 2'-Desoxyribose-Einheit des Nucleosids für die Ausbildung chiraler Aggregate essentiell ist und die Drehrichtung der Aggregate von der angeknüpften Nucleobase abhängt. Durch geschickte Wahl der Nucleobase kann somit die Chiralität der entstehenden Aggregate gesteuert werden.

VIII. EXPERIMENTELLER TEIL

1 Material, Methoden und Geräte

Reagenzien

Die innerhalb der Synthese und Analytik verwendeten Chemikalien wurden von den Firmen ABCR, ACROS ORGANICS (THERMO FISCHER), ALFA AESAR, CARL ROTH, FLUKA, MERCK, SIGMA ALDRICH (MERCK), TCI und VWR bezogen. Es wurden Qualitätsstufen von mindestens „zur Synthese“ verwendet. Die Chemikalien wurden bei Bedarf unter Argonatmosphäre und niedrigen Temperaturen gelagert.

Lösungsmittel

Für die Synthesen und Analytik wurden Lösemittel der Qualitätsstufe p.A. (*pro analysi*) oder höher verwendet. Absolute Lösungsmittel wurden von ACROS ORGANICS bezogen und unter Argonatmosphäre sowie über Molekularsieb aufbewahrt. Zur Aufarbeitung der Reaktionen wurden technische Lösungsmittel verwendet, sofern nicht anders angegeben. Für die Aufreinigung mittels HPLC wurden hochgereinigte organische Lösungsmittel (*HPLC grade*) der Firma MERCK, sowie entionisiertes, ultrafiltriertes Wasser aus einer *Millipore-Entsalzungsanlage Q8* (MERCK) verwendet. Dieses Wasser wurde ebenfalls für alle spektroskopischen Untersuchungen verwendet. Die deuterierten Lösungsmittel wurden in einer Reinheit von 99,8 % von der Firma EURISO-TOP bezogen.

Kommerzielle Oligonukleotide

Die unmodifizierten Oligonukleotide wurden von der Firma METABION bezogen. Für die Anlagerungsexperimente wurden mittels HPLC gereinigte und für die Solarzellen entsalzte DNA-Stränge verwendet. Diese wurden zunächst in *MilliQ*-Wasser gelöst und die Konzentrationsbestimmung erfolgte über die Absorption bei $\lambda = 260$ nm.

Reaktionsführung

Reaktionen, die unter Luft- und Feuchtigkeitsausschluss geführt werden mussten, wurden unter Argonatmosphäre (Schweißargon 4.6, 99.999 % Reinheit) der Firma ALPHAGAZ durchgeführt. Alle dafür verwendeten Glasapparaturen wurden vor Gebrauch mindestens drei Mal am Hochvakuum evakuiert, ausgeheizt und mit Argon geflutet.

Wasser- und luftempfindliche Verbindungen, sowie absolute Lösungsmittel, wurden nach der Standard-SCHLENK-Technik gehandhabt. Die Überführung von Flüssigkeiten erfolgte dabei mithilfe von Kunststoffspritzen und Teflon-Kanülen. Bei Bedarf wurden die verwendeten Lösungsmittel mittels der *Freeze-Pump-Thaw*-Methode oder durch das Einleiten von Argon entgast. Lichtempfindliche Reaktionen erfolgten entweder in Braunglaskolben oder wurden durch Verkleiden des Reaktionsaufbaus mit Aluminiumfolie vor Licht geschützt. Die benötigten tiefen Temperaturen wurden mit flüssigem Stickstoff oder mit folgenden Kältemischungen erreicht: Isopropanol/Trockeneis (-78 °C), Wasser/Eis (0 °C), Eis/NaCl (-21 °C).

Zentrifugation

Für die Anlagerungsexperimente wurde eine *Biofuge Pico* Zentrifuge von HERAEUS mit *24-place microliter roto* verwendet. Sofern nicht anders angegeben, wurden die Proben mit einer Geschwindigkeit von 13 000 rpm und somit einer relativen Zentrifugalbeschleunigung von 16 000 g zentrifugiert.

Dünnschichtchromatographie (DC)

Es wurden mit Kieselgel beschichtete Aluminiumplatten mit Fluoreszenzindikator der Firma MERCK (Kieselgel 60, F₂₅₄, Schichtdicke 0.25 nm) für die DC verwendet. UV-aktive Substanzen wurden mit UV-Licht, durch Fluoreszenzlöschung bei $\lambda = 254$ nm bzw. Fluoreszenzanregung bei $\lambda = 366$ nm, detektiert. Die visuelle Auswertung von UV-inaktiven Verbindungen erfolgte mit Hilfe einer Kaliumpermanganat-Lösung (1.50 g KMnO₄, 10 g K₂CO₃, 1.25 mL 10 % NaOH-Lösung, 200 mL H₂O), zuckerhaltige Verbindungen wurden mit einer Lösung aus Schwefelsäure in Methanol (3 % H₂SO₄) angefärbt.

Säulenchromatographie

Für die Säulenchromatographie wurde Kieselgel 60 (Porengröße 60 Å, Partikelgröße 40 – 63 µm) der Firma SIGMA ALDRICH als stationäre Phase verwendet. Die Auftragung der zu reinigenden Proben erfolgte entweder durch Lösen der Substanz in der mobilen Phase oder an Kieselgel adsorbiert, als *Dryload*. Die Elution erfolgte mit Überdruck von 0.2 – 0.3 bar, welcher mit einer Handpumpe aufgebaut wurde.

Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Auftrennung der Oligonukleotide mittels Umkehrphase erfolgte an einem THERMO SCIENTIFIC Gerät (*Dionex UltiMate3000* Autosampler, Pumpenmodul, Säulenofen, Multidiodenarray, RS Fluoreszenzdetektor, Fraktionssammler, Software *Chromeleon 7*). Zur analytischen Chromatographie wurde eine *VDSpher OptiBio PUR 300 S18-SE*-Säule (250 x 4.6 mm, 5 µm) mit einer Flussgeschwindigkeit von 1.0 mL/min verwendet. Die semipräparative Trennung erfolgte unter Verwendung einer *VDSpher OptiBio PUR 300 S18-SE*-Säule (250 x 10 mm, 5 µm) mit einer Flussrate von 2.5 mL/min. Als mobile Phase für die Aufreinigung von DNA diente ein 50 mM Ammoniumacetat-Puffer (pH = 6.5, Komponente A). Die Probe wurde mit steigendem Acetonitril-Gradienten (Komponente B) eluiert.

Sublimationstrocknung

Wässrige Proben wurden in einem CHRIST *Alpha RVC* Vakuumkonzentrator oder nach Einfrieren in Stickstoff an einer CHRIST *Alpha 1-2 LD Plus* Lyophilisierungsanlage getrocknet.

DNA Synthese

Die Synthese der Oligonukleotide erfolgte unter Argon als Schutzgas an einem K&A *H-6 DNA/RNA Synthesizer*. Als feste Phase wurde *Controlled Pore Glass* (CPG) mit einer Belegung von 1 µmol (500 Å) verwendet. Alle Reagenzien, Phosphoramidite und CPG-Säulen wurden von GLEN RESEARCH, CHEMGENES, PROLIGO und SIGMA ALDRICH bezogen.

Kernspinresonanzspektroskopie (NMR)

Die Kernspinresonanzspektroskopie wurde an einem BRUKER *Advance 400* (400 MHz ¹H-NMR bzw. 101 MHz ¹³C-NMR) oder BRUKER *Advance 500* (500 MHz ¹H-NMR bzw. 126 MHz ¹³C-NMR) durchgeführt. Es wurden Probenröhrchen mit 5 mm Durchmesser verwendet, in welchen je 5 - 10 mg der zu untersuchenden Substanz in ca. 0.5 mL deuteriertem Lösungsmittel gelöst waren. Je nach Löslichkeit der Substanz wurde [*d*6]-DMSO), [*d*4]-MeOD, [*d*1]-CDCl₃ oder [*d*5]-Pyridin als Lösungsmittel verwendet. Die

chemische Verschiebung (δ) wurde in *parts per million* (ppm) angegeben und bezieht sich auf Tetramethylsilan als Nullpunkt. Als Referenzwerte wurden folgende Signale, der nicht vollständig deuterierten Lösungsmittel verwendet:

| | | |
|--------------------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| [d6]-DMSO: | $^1\text{H-NMR: } \delta = 2.50 \text{ ppm}$ | $^{13}\text{C-NMR: } \delta = 39.52 \text{ ppm}$ |
| [d4]-MeOD: | $^1\text{H-NMR: } \delta = 3.31 \text{ ppm}$ | $^{13}\text{C-NMR: } \delta = 49.00 \text{ ppm}$ |
| [d1]-CDCl ₃ : | $^1\text{H-NMR: } \delta = 7.26 \text{ ppm}$ | $^{13}\text{C-NMR: } \delta = 77.16 \text{ ppm}$ |
| [d5]-Pyridin: | $^1\text{H-NMR: } \delta = 8.74 \text{ ppm}$ | $^{13}\text{C-NMR: } \delta = 150.35 \text{ ppm}$ |

Die Kopplungskonstante J wurde in Hz angegeben. Zur Kennzeichnung der Multiplizität wurden folgende Abkürzungen verwendet: s (Singulett), d (Dublett), dd (Dublett von Dublett), t (Triplet), q (Quartett), quin (Quintett) und m (Multipllett).

Hochauflösende Massenspektrometrie (HRMS)

MALDI-TOF-Messungen erfolgten an einem *AXIMA Confidence* Spektrometer von SHIMADZU. Abhängig von der Substanz dienten folgende Matrices:

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

Weitere Massenspektren wurden an einem THERMOFISHER *Scientific Q Exactive (Orbitrap)* mit der Ionisierungsmethode ESI (*electron spray ionisation*) aufgenommen. EI (Elektronenstoßionisation)- oder FAB (*fast atom bombardement*)-Spektren wurden an einem FINNIGAN *MAT 95* Spektrometer gemessen. Dabei wurden in die Signale im Masse/Ladungsverhältnis dargestellt. Das Molekülion wurde entweder als $[\text{M}^+]$, oder als protonierte Form $[\text{MH}^+]$ angegeben.

Probenvorbereitung für die optische Spektroskopie

Alle Messungen in Lösung erfolgten in 1,5 mL Quarzglasküvetten der Firma STARNA (26-F/Q/10 mm). Sofern nicht anders angeben, betrug die Messtemperatur 20 °C.

Für die Festkörper-CD-Messungen wurde ein 50 μL Aliquot, mit einer Konzentration von 40 g/L in DMSO/H₂O (80/20), auf einer Quarzglasplatte mit einem Durchmesser von 20 mm aufgetragen. Die Probe wurde für 3 Tage bei 60 °C in einem Hochvakuumofen

der Firma THERMO SCIENTIFIC™ (51014539, Mantelheizung VT 6060 M) vollständig getrocknet.

Alle Spektren wurden gegen die Absorption des Lösungsmittels bzw. der Quarzglasplatte basislinienkorrigiert.

UV/VIS- Absorptionsspektroskopie

Die UV/VIS-Absorptionsspektroskopie wurde an einem *Cary 100 Scan* Spektrophotometer von VARIAN mit Temperaturregler (*Cary 100 Temperature Controller*), mit Hilfe der Steuersoftware *Cary WinUV Scan Application*, durchgeführt. Für alle Messungen wurden folgende Parameter verwendet: *Slit bandwidth (SBW)* 2.0 nm, *Average time* 0.1 s, *Data interval* 1.0, *Scan rate* 600 nm/min, *Light source changeover* 350 nm.

Nanodrop

Die Konzentrationsbestimmung der Oligonukleotide erfolgte an einem NANODROP *ND-1000* Spektrometer im Nukleinsäure-Modus über Absorption bei $\lambda = 260$ nm.

Circulardichroismus (CD)

Die CD-Messungen in Lösung wurden an einem *JASCO J-810 Spectropolarimeter* mit einem *Peltier-Element PTC-423S* und einem *AC 200* Thermostat von THERMO SCIENTIFIC aufgenommen. Die Steuerung erfolgte mit Hilfe der Software *SpectraManager*. Sofern nicht anders beschrieben, wurden folgende Messparameter verwendet: *Scanning speed*: 100 nm/min, *Accumulations*: 4, *D.I.T.*: 4 s, *Band width*: 1.00 nm.

Die *ss*-CD-Spektren wurden in der Arbeitsgruppe von DR. ANNE ULRICH am Institut für Biologische Grenzflächen II (*KIT, Campus Nord*) an einem *JASCO J-810 Spectropolarimeter* aufgenommen. Die Aufnahme der Spektren erfolgte in 45 °-Rotationen der Quarzglasplatte. Insgesamt wurde in acht verschiedenen Winkeln gemessen, um spektrale Artefakte zu minimieren. Das finale Spektrum ergibt sich aus den gemittelten Spektren. Die Messungen erfolgten bei 25 °C mit folgenden Parametern: *Scanning speed*: 50 nm/min, *Accumulations*: 1, *D.I.T.*: 4 s, *Band width*: 8.00 nm.

Fluoreszenz-Detektierter Circular dichroismus (FDCD)

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

Fluoreszenzspektroskopie

Die Emissions- und Anregungsspektren wurden an einem HORIBA JOBIN-YVON *Fluoromax-3* Spektrofluorometer mit *LFI-3751* Peltier-Element von WAVELENGTH ELECTRONICS gemessen. Die Steuerung erfolgte mit Hilfe der Software *FluorEssence V3.5* mit den folgenden Einstellungen: *Increment* 1.0 nm, *Increment time* 0.1 s, $\Delta T = 0.1$ °C, *Equilibration time*: 0 min. Die Belichtungsbandbreiten wurden je nach Probe angepasst und sind für jede Messung separat angegeben.

Fluoreszenzquantenausbeuten

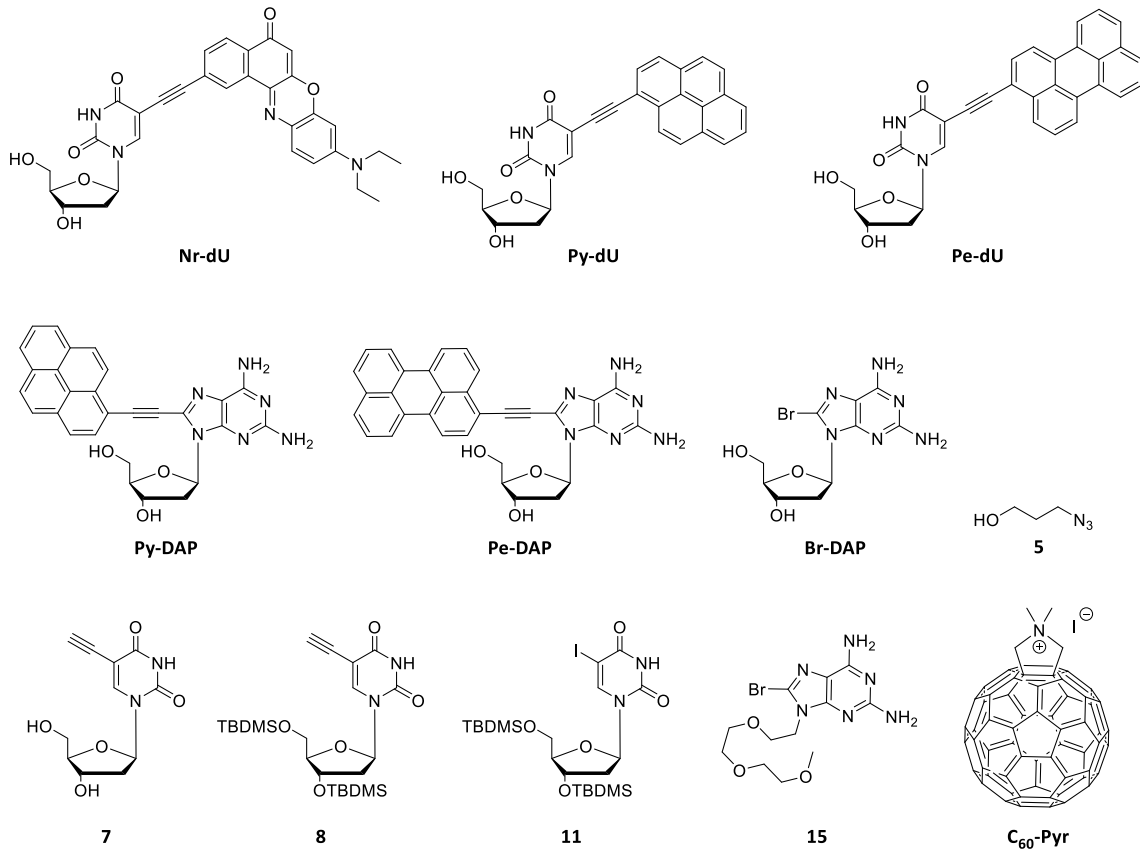
Absolute Fluoreszenzquantenausbeuten wurden an einem *Quantaaurus QY C11347* von HAMAMATSU in 5 mL Quarzglasküvetten bestimmt.

CPL-Spektroskopie

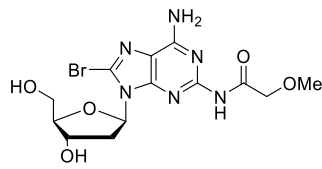
Die CPL-Messungen (*circular polarized luminescence*) erfolgten in der Arbeitsgruppe von DR. GUIDO CLEVER am Institut für Anorganische Chemie (*TU Dortmund*) in Kooperation mit LUKAS STRATMANN und DR. JACOPO TESSAROLO. Die Spektren wurden an einem *CPL-300*-Spektrometer von JASCO mit einem *PTC-517* Peltier-Element gemessen. Die Steuerung erfolgte mit Hilfe der Software *Spectra Manager* mit folgenden Einstellungen: 20 °C, $\lambda_{ex} = 370$ nm, *Ex and Em bandwidth* 20.0 nm, *Data pitch* 1.0 nm, *Data integration time* 1 s, *Scanning mode*: step, *Accumulation* 60 times.

2 Synthesevorschriften

Die Synthesen der chromophormodifizierten Nucleoside **Nr-dU**,^[107-109] **Py--dU**,^[110, 111] **Pe-dU**^[43], **Py-DAP**^[15] und **Pe-DAP**^[43] erfolgten nach den in der Literatur beschriebenen Syntheserouten. Des Weiteren wurde das geladene Fulleren **C₆₀-Pyr**^[60] sowie die Vorstufen **Br-DAP**,^[15] **5**,^[104] **7**,^[112] **8**,^[113] **11**^[106] und **15**^[38] nach bereits bekannter Literatur synthetisiert. Die analytischen Daten aller Moleküle stimmen mit der Literatur überein.



Verbindung 1



1

$C_{13}H_{17}BrN_6O_5$
416.0444 g/mol

Es wurden 1.00 g **Br-dAp** (2.90 mmol, 1.00 Äq.) unter Argon in trockenem Pyridin gelöst und auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurden 3.69 mL Trimethylsilylchlorid (TMS-Cl) (29.0 mmol, 10. Äq.) zugegeben und für eine Stunde gerührt. Danach wurden 12 mL MeCN und 1.06 mL Methoxyacetylchlorid (11.6 mmol, 4.00 Äq.) zugegeben und für weitere 40 min bei 0 °C gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde in 30 mL DCM aufgenommen, drei Mal mit Wasser gewaschen und die organische Phase über Na_2SO_4 getrocknet. Der Rückstand wurde drei Mal mit Toluol coevaporiert, anschließend in 18 mL eines NH_3 (28 % aq.)/MeOH/THF-Gemisches (1:1:1) gelöst und für eine Stunde bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (DCM/MeOH = 12:1 → 8:1) gereinigt. Das Produkt **1** wurde als weißer Feststoff in einer Ausbeute von 79 % erhalten.

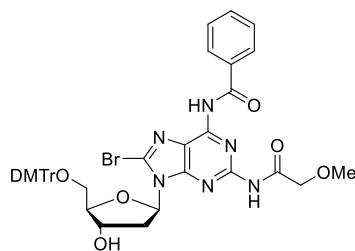
DC (DCM/MeOH = 8:1): R_f = 0.40.

1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ (ppm) = 9.56 (s, 1H), 7.44 (s, 2H), 6.22 (t, J = 7.1 Hz, 1H), 5.24 (d, J = 4.3 Hz, 1H), 4.72 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 4.54 (dq, J = 6.8, 3.4 Hz, 1H), 4.15 (s, 2H), 3.80 (td, J = 5.7, 3.2 Hz, 1H), 3.63 (dt, J = 11.2, 5.5 Hz, 1H), 3.57 – 3.36 (m, 2H), 3.35 (s, 3H), 2.15 (ddd, J = 13.1, 6.8, 3.3 Hz, 1H).

^{13}C -NMR (101 MHz, $DMSO-d_6$): δ (ppm) = 168.2, 155.1, 151.9, 150.8, 125.4, 116.8, 88.1, 85.5, 71.8, 70.89, 62.0, 58.5, 36.2.

HRMS-FAB (m/z): berechnet für $C_{13}H_{17}BrN_5O_5$ [MH^+]: 417.0517; gefunden [MH^+]: 417.0517.

Verbindung 2



2

 $C_{41}H_{39}BrN_6O_8$
 822.2013 g/mol

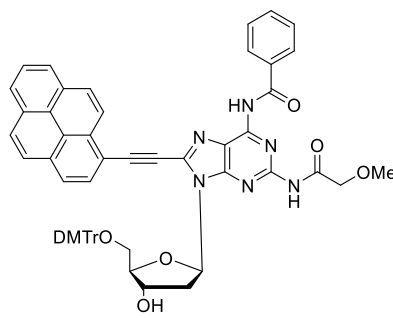
Es wurden 284 mg **1** (0.683 mmol, 1.00 Äq.) lyophilisiert und anschließend unter Argon 346 mg (1.02 mmol, 1.50 Äq.) 4,4'-Dimethoxytritylchlorid zugegeben. Das Gemisch wurde in 10 mL trockenem Pyridin gelöst, mit 144 μ L (104 mg, 1.02 mmol, 1.50 Äq.) trockenem Et₃N versetzt und anschließend unter Lichtausschluss für 4 h bei RT gerührt. Es wurden zunächst 500 μ L (342 mg, 3.15 mmol, 5.00 Äq.) Trimethylsilylchlorid und nach einer weiteren Stunde 366 μ L (443 mg, 3.15 mmol, 5.00 Äq.) Benzoylchlorid zugegeben. Die Lösung wurde für weitere 2 h gerührt, anschließend auf 0 °C abgekühlt und mit 900 μ L H₂O versetzt. Nach 5 min wurden 1.60 mL 25%ige NH₃-Lösung zugegeben und für eine Stunde bei RT gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 50 mL DCM aufgenommen und dreimal mit je 50 mL gesättigter NaHCO₃-Lösung gewaschen. Die organischen Phasen wurden vereinigt, über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel entfernt. Nach säulenchromatischer Aufreinigung (DCM/Aceton 8:1 → 1:1 + 0.1% Et₃N) konnte **2** als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 28 % erhalten werden.

DC (DCM/MeOH 30:1): R_f = 0.42.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) = 11.17 (s, 1H), 10.03 (s, 1H), 8.06 – 7.97 (m, 2H), 7.70 – 7.62 (m, 1H), 7.56 (ddd, J = 8.1, 6.5, 1.3 Hz, 2H), 7.27 – 7.21 (m, 2H), 7.16 – 7.06 (m, 7H), 6.78 – 6.72 (m, 2H), 6.71 – 6.65 (m, 2H), 6.39 (dd, J = 7.8, 5.1 Hz, 1H), 5.23 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 4.75 (dt, J = 10.0, 5.0 Hz, 1H), 4.23 – 4.10 (m, 2H), 3.98 (ddd, J = 7.8, 4.7, 2.9 Hz, 1H), 3.69 (d, J = 5.4 Hz, 6H), 3.41 – 3.36 (m, 3H), 3.12 – 2.08 (m, 1H), 2.41 – 2.36 (m, 1H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ (ppm) = 166.1, 158.4, 158.3, 153.5, 151.6, 149.9, 145.4, 136.4, 136.0, 133.8, 131.1, 130.1, 130.1, 129.0, 128.9, 128.1, 127.9, 126.9, 122.8, 113.3, 113.2, 86.5, 85.6, 72.3, 71.1, 59.0, 55.4, 55.4, 37.3.

HRMS-FAB (m/z): berechnet für $C_{41}H_{39}BrN_6O_8$ [MH⁺]: 823.2086; gefunden [MH⁺]: 823.2084.

Verbindung **3****3**

$C_{59}H_{48}N_6O_8$
968.3534 g/mol

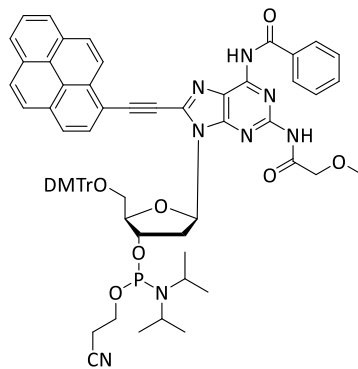
Es wurden 74.0 mg (0.325 mmol, 1.20 Äq.) Ethinylpyren, 223 mg **2** (0.271 mmol, 1.00 Äq.), 10.0 mg (0.0540 mmol, 0.200 Äq.) Kupferiodid und 31.0 mg (0.0270 mmol, 0.100 Äq.) Pd(PPh₃)₄ unter Argon in 10 mL trockenem DMF und 5 mL trockenem Et₃N gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde für 20 min mit Argon entgast und anschließend für 3 h bei 60 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand in 20 mL DCM aufgenommen und dreimal mit je 20 mL H₂O gewaschen. Die organischen Phasen wurden vereinigt und über Na₂SO₄ getrocknet. Das Lösungsmittel wurde entfernt und das Rohprodukt mittels Säulenchromatographie (DCM/Aceton 6:1 + 0.1 % Et₃N) aufgereinigt, wodurch **3** in einer Ausbeute von 68 % als gelber Feststoff erhalten wurde.

DC (DCM/Aceton 5:1): $R_f = 0.49$.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) = 11.30 (s, 1H), 10.16 (s, 1H), 8.60 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.49 – 8.27 (m, 7H), 8.19 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 8.12 – 8.06 (m, 2H), 7.72 – 7.65 (m, 1H), 7.63 – 7.55 (m, 2H), 7.27 – 7.19 (m, 2H), 7.13 – 7.02 (m, 7H), 6.85 (dd, $J = 7.6, 5.2$ Hz, 1H), 6.65 – 6.56 (m, 4H), 5.33 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 4.77 (p, $J = 5.2$ Hz, 1H), 4.35 – 4.20 (m, 2H), 4.11 (ddd, $J = 7.9, 4.9, 2.8$ Hz, 1H), 3.61 (d, $J = 4.7$ Hz, 6H), 3.55 – 3.39 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 3.09 (dd, $J = 10.4, 2.9$ Hz, 1H), 2.59 – 2.41 (m, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ (ppm) = 168.7, 165.7, 157.8, 152.3, 152.2, 150.6, 144.9, 136.0, 135.9, 135.5, 133.5, 132.6, 132.2, 132.0, 131.0, 130.3, 130.2, 129.6, 129.5, 128.7, 128.5, 127., 127.41, 127.2, 127.0, 126.5, 126.4, 125.0, 124.3, 123.5, 123.2, 122.1, 113.7, 112.8, 112.7, 95.0, 86.8, 85.2, 84.9, 84.4, 72.0, 70.9, 64.7, 58.6, 56.7, 54.8, 45.7.

HRMS-FAB (m/z): berechnet für C₅₉H₄₈N₆O₈ [MH⁺]: 969.3606; gefunden [MH⁺]: 969.3609.

Verbindung **Py-DAP-PA****Py-dAp-PA**C₆₈H₆₅N₈O₉P

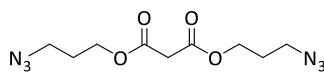
1168.4612 g/mol

Es wurden 330 mg **3** (0.341 mmol, 1.00 Äq.) lyophilisiert und unter Argon in trockenem DCM gelöst. Anschließend wurden 174 µL DIPEA (132 mg, 1.02 mmol, 3.00 Äq.) und 152 µL 2-Cyanoethyl-*N,N*-diisopropylchlorophosphoramidit (161 mg, 0.681 mmol, 2.00 Äq.) zugegeben und für vier Stunden bei RT gerührt. Das Rohprodukt wurde direkt säulenchromatographisch (DCM/Aceton = 6:1 + 0.1 % Et₃N) aufgereinigt und **Py-dAp-PA** in einer Ausbeute von 71 % als gelben Feststoff erhalten.

DC (DCM/Aceton = 5:1): *R_f* = 0.75.

³¹P-NMR (162 MHz, CD₂Cl₂): δ (ppm) = 149.05, 148.79.

Verbindung 6



6

 $C_9H_{14}N_6O_4$
270.11 g/mol

In einem Rundkolben wurden 1.94 g **5** (19.2 mmol, 2.50 Äq.) und 2.66 mL trockenes Et_3N (19.2 mmol, 1.94 g, 2.50 Äq.) in 15 mL trockenem DCM gelöst und auf 0 °C gekühlt. Es wurden 740 μ L Malonylchlorid (7.68 mmol, 1.08 g, 1.00 Äq.), gelöst in 10 mL trockenem DCM, langsam zugetropft, für eine Stunde bei 0 °C und anschließend über Nacht bei RT gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde drei Mal mit 50 mL H_2O gewaschen und die organische Phase über Na_2SO_4 getrocknet. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (DCM/Hexan = 9:1 \rightarrow 1:0) aufgereinigt. Das Produkt wurde als gelbes Öl mit einer Ausbeute von 64 % (1.33 g, 4.92 mmol) erhalten.

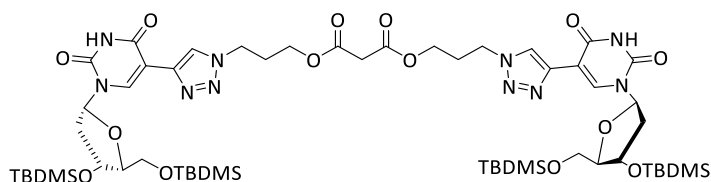
DC (DCM): $R_f = 0.59$.

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 4.25 (t, $J = 6.2$ Hz, 4H); 3.43 – 3.37 (m, 6H); 1.93 (p, $J = 6.4$ Hz, 4H).

^{13}C -NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 166.4 (C_q), 62.6 (CH_2), 48.1 (CH_2), 41.5 (CH_2), 28.1 (CH_2).

HRMS-FAB (m/z): berechnet für $C_9H_{14}N_6O_6$ [MH^+]: 270.1155; gefunden [MH^+]: 271.1151.

Verbindung 9a



9a

C₅₅H₉₄N₁₀O₁₄Si₄
1230.6028 g/mol

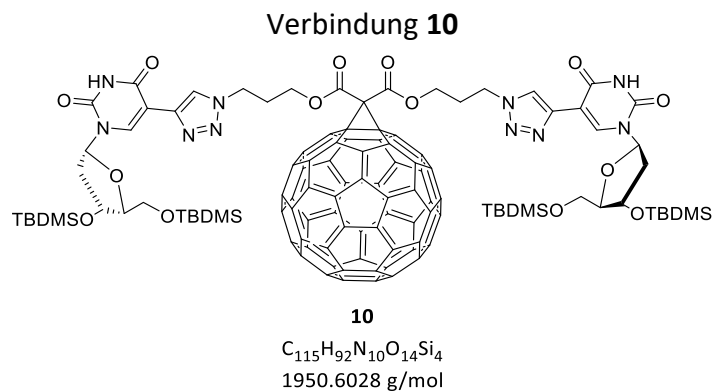
Unter Argonatmosphäre wurden 391 mg **8** (0.810 mmol, 2.20 Äq.) und 118 mg Tris((1-benzyl-4-triazolyl) methyl)amin (TBTA, 0.22 mmol, 0.600 Äq.) in trockenem DMF gelöst. Nacheinander wurden 41.4 mg Tetrakis(acetonitril)kupfer(I) hexafluorophosphat (Cu(MeCN)₄PF₆, 1.11 mmol, 0.300 Äq.) und 7.66 mg Natriumascorbat (1.11 mmol, 0.300 Äq.) zugeben. Nachdem alle Substanzen vollständig gelöst waren, wurden 100 mg **6** (0.372 mmol, 1.00 Äq.), gelöst in DCM, langsam zutropft. Das Reaktionsgemisch wurde für 16 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in DCM aufgenommen und drei Mal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (Hex/EE = 1:1 → 0:1) aufgereinigt und das Produkt als weißer Schaum mit einer Ausbeute von 92 % (419 mg, 0.34 mmol) erhalten.

DC (EE): $R_f = 0.75$.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.54 (s, 2H), 8.52 (s, 2H), 8.32 (s, 2H), 6.34 (dd, $J = 7.9, 5.8$ Hz, 2H), 4.51 (t, $J = 6.8$ Hz, 4H), 4.45 (dt, $J = 4.9, 2.2$ Hz, 2H), 4.19 (t, $J = 5.9$ Hz, 4H), 4.01 (q, $J = 3.7$ Hz, 2H), 3.87 – 3.75 (m, 4H), 3.47 (s, 2H), 2.37 (dd, $J = 5.8, 2.3$ Hz, 1H), 2.36 – 2.28 (m, 4H), 2.15 (ddd, $J = 13.5, 8.0, 5.9$ Hz, 2H), 0.90 (s, 18H), 0.85 (s, 18H), 0.10 (d, $J = 1.9$ Hz, 12H), 0.09 (s, 6H), 0.08 (s, 6H).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 166.5, 161.7, 149.7, 139.2, 136.5, 123.0, 106.1, 88.5, 86.2, 72.9, 63.4, 62.2, 46.9, 41.3, 41.3, 29.3, 26.1, 25.9, 18.6, 18.2, -4.5, -4.7, -5.2, -5.40.

HRMS-ESI (m/z): berechnet für C₅₅H₉₅N₁₀O₁₄Si₄ [MH⁺]: 1231.6101; gefunden [MH⁺]: 1231.6100.



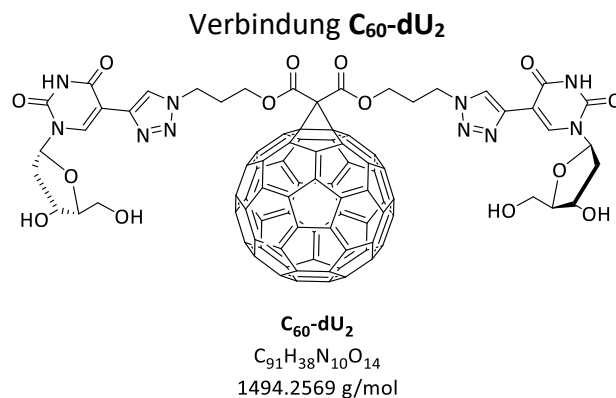
In einem Rundkolben wurden unter Argonatmosphäre 200 mg **9a** (0.16 mmol, 1.00 Äq.) in Toluol gelöst. Es wurden 117 mg C₆₀-Fulleren (0.16 mmol, 1.00 Äq.) und 82.5 mg Iod (0.33 mmol, 2.00 Äq.) zugeben und bis zum vollständigen Lösen bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurden 49.1 mL 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU, 50.1 mg, 0.33 mmol, 2.00 Äq.) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 16 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (DCM/MeOH = 1/0 → 40/1) aufgereinigt. Das Produkt konnte als dunkelbrauner Feststoff mit einer Ausbeute von 34 % (0.05 mmol, 106 mg) erhalten werden.

DC (EE/Hex = 3:1): $R_f = 0.51$.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 9.54 (s, 2H, NH), 8.52 (s, 2H), 8.42 (s, 2H), 6.38 – 6.25 (m, 2H), 4.61 (dt, $J = 12.2$ Hz, 6.3 Hz, 8H), 4.48 – 4.29 (m, 2H), 4.01 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H), 3.82 (d, $J = 3.2$ Hz, 4H), 2.54 (p, $J = 6.5$ Hz, 4H), 2.35 (ddd, $J = 12.8, 5.4, 1.8$ Hz, 2H), 2.28 – 2.14 (m, 2H), 0.88 (d, $J = 12.6$ Hz, 36 H), 0.09 (dd, $J = 3.5, 2.3$ Hz, 24 H).

¹³C-NMR (126 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 163.5 (C_q), 161.6.1 (C_q), 149.6 (C_q), 145.5 (C₆₀), 145.4 (C₆₀), 145.2 (C₆₀), 145.0 (C₆₀), 144.8 (C₆₀), 144.0 (C₆₀), 143.2 (C₆₀), 143.1 (C₆₀), 142.3 (C₆₀), 141.1 (C₆₀), 139.5 (C₆₀), 139.1 (C_q), 136.3 (4CH_{arom}), 133.0 (C₆₀), 127.3 (C₆₀), 126.4 (C₆₀), 122.3 (CH_{arom}), 106.2 (C_q), 88.4 (4'CH), 86.3 (1'CH), 72.9 (3'CH), 63.4 (5'CH), 61.02 (CH₂), 55.9 (C_q), 46.8 (CH₂), 41.3 (2'CH₂ + CH₂), 29.5 (CH₂), 26.2 (CH₃), 25.9 (CH₃), 18.6 (C_q), 18.0 (C_q), -4.5 (CH₃), -4.6 (CH₃), -5.2 (CH₃), -5.6 (CH₃).

HRMS-ESI (m/z): berechnet für C₁₁₅H₉₂N₁₀O₁₄Si₄ [M⁺]: 1950.6028; gefunden [M⁺]: 1950.5966.



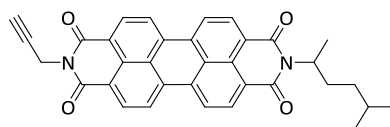
In einem dicht verschlossenen Reaktionsgefäß wurden 226 mg **10** (0.116 mmol, 1.00 Äq.) in DMF gelöst, mit 190 µL Et₃N·3HF (187 mg, 1.16 mmol, 10.00 Äq.) und für 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und Rückstand mit kaltem MeOH gewaschen. Das Produkt konnte in einer Ausbeute von 75 % als brauner Feststoff erhalten werden.

DC (DCM/MeOH 10:1): $R_f = 0.44$.

¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 11.63 (s, 2H), 8.51 (s, 2H), 8.46 (s, 2H), 6.22 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 5.28 (d, $J = 4.1$ Hz, 2H), 5.00 (t, $J = 4.9$ Hz, 2H), 4.63 (t, $J = 6.5$ Hz, 4H), 4.57 – 4.53 (m, 4H), 4.27 (s, 2H), 3.92 – 3.80 (m, 2H), 3.62 – 3.53 (m, 4H), 2.43 – 2.38 (m, 4H), 2.17 (s, 4H).

¹³C-NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm) = 162.5, 162.2, 161.1, 149.6, 145.0, 144.7, 144.6, 144.3, 144.2, 144.1, 144.0, 143.3, 142.5, 142.4, 141.6, 141.6, 141.3, 141.2, 140.3, 138.9, 138.4, 138.4, 136.0, 128.3, 122.6, 105.4, 87.6, 84.7, 71.2, 70.8, 64.9, 61.5, 51.7, 46.8, 35.8, 30.8, 28.8.

HRMS-ESI (m/z): berechnet für C₉₁H₃₈N₁₀O₁₄ [M⁺]: 1494.2569; gefunden [M⁺]: 1494.2526.

Verbindung **PBI1****PBI1**

$C_{34}H_{26}N_2O_4$
526.59 g/mol

Eine Suspension aus 1.05 g Perlyentetracarbonsäuredianhydrid (**PTCDA**) (2.68 mmol, 1.00 Äq.) und 0.308 g Zinkacetatdihydrat (1.40 mmol, 0.520 Äq.) in 20 mL trockenem Pyridin wurde eine Stunde bei 128 °C refluxiert. Anschließend wurden zeitgleich 400 µL 2-Amino-5-Methylhexan (99 %, 0.304 g, 2.64 mmol, 1.00 Äq.) und 170 µL Propargylamin (0.146 g, 2.65 mmol, 1.00 Äq.) zugegeben und das Reaktionsgemisch für weitere 74 h refluxiert. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand über Kieselgel (DCM/MeOH = 3:1) filtriert und mittels Säulenchromatographie (DCM/Aceton = 100:1) aufgereinigt. Das Produkt **PBI1** wurde als roter Feststoff in einer Ausbeute von 42 % erhalten.

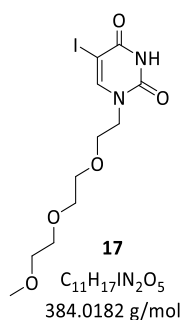
DC (DCM/Aceton = 97:3): $R_f = 0.67$.

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.63 (ddd, $J = 14.0, 10.8, 7.0$ Hz, 8H), 5.26 (ddd, $J = 15.1, 13.5, 6.6$ Hz, 1H), 5.00 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 2.23 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 2.25 – 2.17 (m, 1H), 1.96 (dddd, $J = 13.5, 11.7, 6.8, 5.1$ Hz, 2H), 1.62 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H), 1.15 (dddd, $J = 13.1, 11.6, 6.6, 5.1$ Hz, 2H), 0.87 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H).

^{13}C -NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 162.7, 135.3, 134.3, 131.9, 129.6, 129.5, 126.7, 126.4, 123.5, 123.1, 122.9, 70.9, 50.5, 36.4, 31.6, 29.8, 28.1, 22.8, 22.7, 18.5.

HRMS-FAB (m/z): berechnet für $C_{34}H_{26}N_2O_4$ [MH^+]: 527.1971; gefunden [MH^+]: 527.1963.

Verbindung 17



In einem ausgeheizten Reaktionsgefäß wurden 500 mg Iodouracil (2.10 mmol, 1.00 Äq.) unter Argon in 10 mL trockenem DMF suspendiert und auf 65°C erhitzt. Anschließend wurden 401.6 mg Natriumhydrid (60% Suspension in Paraffinöl, 2.53 mmol, 1.20 Äq.) zugegeben und das Reaktionsgemisch für 2 h bei 65°C gerührt. Im Anschluss wurde das Reaktionsgemisch auf 0 °C gekühlt und eine Lösung aus Triethylglycolmonomethylethertosylat (TEG-Tos) (90%, 669 mg, 3.46 mmol, 1.10 Äq.) in 10 mL trockenem DMF langsam zugetropft und das Reaktionsgemisch 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, das Rohprodukt säulenchromatographisch (EE) aufgereinigt und Produkt (161 mg, 0.42 mmol) in einer Ausbeute von 20 % als hellgelbe Flüssigkeit erhalten.

DC (EE): $R_f = 0.23$.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.82 (s, 1H), 7.8 (s, 1H), 3.97 – 3.90 (m, 2H), 3.62 - 3.58 (m, 2H), 3.58 – 3.53 (m, 6H), 3.49 – 3.45 (m, 2H), 3.29 (s, 3H).

^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 160.5, 150.7, 150.5, 72.1, 70.9, 70.8, 70.7, 68.9, 66.7, 59.2, 48.7.

HRMS-FAB (m/z): berechnet für $C_{11}H_{17}N_2O_5I$ $[MH^+]$: 385.0255; gefunden $[MH^+]$: 385.02491.

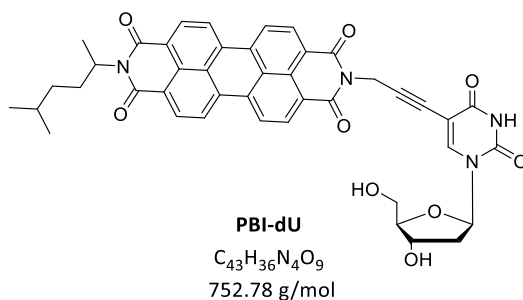
Allgemeine Vorschrift der SONOGASHIRA-Kupplung der PBI-Derivate

Alle verwendeten Edukte wurden vor Durchführung der Reaktion lyophilisiert.

In einem ausgeheizten und unter Argon stehenden Reaktionsgefäß wurde das Halogenid (1.10 Äq.), **PBI 1** (1.00 Äq.), CuI (0.200 Äq.) und Pd(PPh₃)₄ (0.200 Äq.) vorgelegt und in einem trockenen Lösungsmittelgemisch (2:1) aus DMF und Et₃N gelöst. Die Reaktionslösung wurde für 20 min mit Argon entgast und anschließend für 4 h bei 90 °C gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie aufgereinigt. Die eingesetzten Halogenide und erhaltenen Ausbeuten sind in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

| Produkt | Halogenid | Ausbeute [%] |
|--------------------|------------------|---------------------|
| PBI-dU | 12 | 71* |
| PBI-DAP | Br-DAP | 38 |
| PBI-U-TEG | 17 | 16 |
| PBI-DAP-TEG | 15 | 23 |

*Ausbeute über zwei Stufen

Verbindung **PBI-dU**

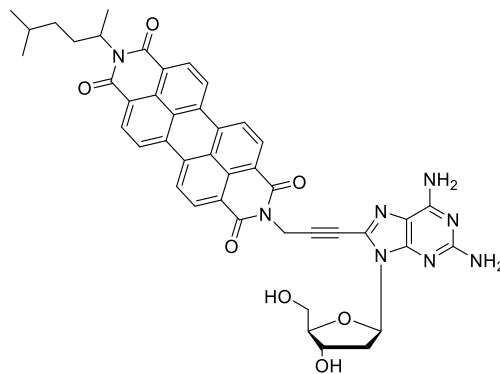
Das Kupplungsprodukt wurde säulenchromatischer (DCM/MeOH = 100:1 → 20:1, **DC**(DCM/Aceton = 9:1): $R_f = 0.31$.) aufgereinigt. Der Rückstand wurde in einem dicht verschlossenen in DMF gelöst, mit 100 μ L $Et_3N \cdot 3HF$ (99.0 mg, 0.611 mmol, 6.00 Äq.) und für 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch (DCM/MeOH 30:1 → 17:1) aufgereinigt. **PBI-dU** wurde als dunkelroter Feststoff in einer Ausbeute von 71 % über zwei Stufen erhalten.

DC (DCM/MeOH = 10:1): $R_f = 0.57$.

1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 11.68 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.90 (d, $J = 53.0$ Hz, 4H), 7.63 (d, $J = 27.5$ Hz, 4H) 6.12 (t, $J = 6.5$ Hz, 1H), 5.23 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 5.08 – 5.04 (m, 2H), 4.82 (s, 2H), 4.22 (s, 1H), 3.81 – 3.77 (m, 1H), 3.60 – 3.56 (m, 2H), 2.15 – 2.08 (m, 3H), 1.94 (s, 1 H), 1.59 (s, 4 H), 1.25 – 1.19 (m, 2H), 0.91 (d, $J = 6.0$ H, 6 H).

^{13}C -NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 162.6, 161.6, 161.08, 149.5, 144.1, 132.9, 132.2, 129.9, 129.8, 127.4, 126.9, 123.9, 123.2, 123.0, 120.7, 97.9, 87.6, 87.4, 84.8, 74.3, 70.6, 61.1, 49.2, 39.6, 35.8, 30.9, 29.7, 27.5, 22.6, 22.5, 17.8.

HRMS-FAB (m/z): berechnet für $C_{43}H_{36}N_4O_9$ [MH^+]: 753,2561; gefunden [MH^+]:753,2561.

Verbindung **PBI-DAP****PBI-dAp**

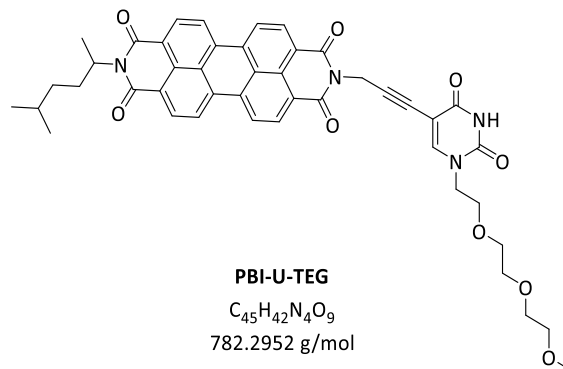
$C_{44}H_{38}N_8O_7$
790.2863 g/mol

Das Produkt wurde nach säulenchromatographischer Aufreinigung (DCM/MeOH = 15:1 → 5:1) und anschließendem Waschen mit MeOH als dunkelroter Feststoff erhalten.

DC (DCM/MeOH = 5:1): $R_f = 0.61$.

1H NMR (400 MHz, DMF) $\delta = 8.65 - 8.12$ (m, 8H), 7.55 (s, 2H), 6.64 – 6.38 (m, 1H), 6.25 (s, 2H), 5.40 (s, 2H), 5.28 – 5.16 (m, 3H), 4.62 (s, 1H), 4.05 (s, 1H), 3.89 – 3.63 (m, 2H), 3.19 – 3.05 (m, 1H), 2.33– 2.19 (m, 2H), 2.01 (d, $J=7.0$, 2H), 1.77 – 1.49 (m, 3H), 1.39 - 1.11 (m, 2H), 1.04 – 0.67 (m, 6H).

HRMS-FAB (m/z): berechnet für $C_{44}H_{38}N_8O_7$ $[MH^+]$: 791.2936; gefunden $[MH^+]$: 791.2939.

Verbindung **PBI-U-TEG**

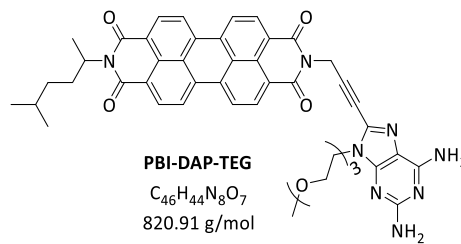
Das Produkt wurde nach säulenchromatischer Aufreinigung (DCM/MeOH 50:1 → 30:1) und anschließendem Waschen mit MeOH als roter Feststoff erhalten.

DC (DCM/MeOH = 20:1): $R_f = 0.24$.

1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.58 – 8.56 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 8.47 – 8.41 (m, 4H), 8.37 – 8.33 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 8.28 (s, 1H), 5.30 – 5.20 (m, 1H), 5.15 (s, 2H), 3.92 (t, $J = 4.4$ Hz, 2H), 3.70 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H), 3.63 – 3.60 (m, 6H), 3.55 – 3.51 (m, 2H), 3.35 (s, 3H), 2.26 – 2.14 (m, 1H), 2.03 – 1.92 (m, 1H), 1.63 – 1.65 (m, 3H), 1.34 – 1.22 (m, 2H), 1.21 – 1.09 (m, 1H), 0.89 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H), 0.87 (d, $J = 5.8$ Hz, 3H).

^{13}C -NMR (101 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 163.8, 162.33, 161.8, 149.8, 149.6, 134.6, 133.8, 131.4, 129.2, 129.0, 125.9, 123.2, 122.8, 122.6, 98.6, 88.4, 73.6, 72.1, 70.9, 70.8, 70.67, 68.75, 59.2, 50.5, 49.0, 36.4, 31.6, 30.6, 28.2, 22.8, 22.8, 18.4.

HRMS-FAB (m/z): berechnet für $C_{45}H_{42}N_4O_9$ $[MH^+]$: 783.3025; gefunden $[MH^+]$: 783.3027.

Verbindung **PBI-DAP-TEG**

Das Produkt wurde nach säulenchromatischer Aufreinigung (DCM/MeOH 50:1 → 30:1 + 5 % Toluol) als roter Feststoff erhalten.

DC (DCM/MeOH = 9:1): $R_f = 0.34$.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 8.81 – 8.43 (m, 8H), 5.45 (s, 2H), 5.30 – 5.22 (m, 3H), 4.76 (s, 2H), 4.31 (t, $J = 5.6$ Hz, 2H), 3.85 (t, $J = 5.8$ Hz, 2H), 3.64 – 3.59 (m, 2H), 3.54 (dd, $J = 10.1, 5.6$ Hz, 4H), 3.47 (dd, $J = 5.6, 3.5$ Hz, 2H), 3.33 (s, 3H), 2.25 – 2.15 (m, 1H), 1.97 (dd, $J = 13.0, 6.5$ Hz, 2H), 1.62 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H), 1.14 (ddd, $J = 18.3, 12.0, 6.1$ Hz, 2H), 0.87 (dd, $J = 9.1, 4.7$ Hz, 6H).

HRMS-FAB (m/z): berechnet für $C_{46}H_{45}O_7N_8$ $[\text{MH}^+]$: 821.3406; gefunden $[\text{MH}^+]$: 821.3405.

3 Anlagerungsexperimente

Für alle Anlagerungsexperimente wurden aus den modifizierten Chromophoren bzw. Fullerenen Stammlösungen in DMSO mit einer Konzentration von 2 mM angesetzt. Der Gesamt-DMSO-Anteil lag in allen Experimenten bei 2 %. Zusätzlich wurden jeweils Kontrollexperimente durchgeführt, welche keine DNA enthielten.

Orthogonale Anlagerung von Pe-dU und Py-DAP

In allen Experimenten wurden 1.5 μ M DNA vorgelegt. Die chromophormodifizierten Nukleoside wurden mit 1.5 Äquivalenten zur Anzahl an Bindungsstellen im Templat zugegeben, wodurch sich eine Endkonzentration von 45 μ M für die Chromophore ergab. Der Farbstoffüberschuss wurde gewählt, um die höchstmögliche Besetzung zu erreichen. Die Probenpräparation erfolgte nach folgendem Protokoll:

1. Das DNA-Templat wurde in Wasser gelöst (1.5 μ M).
2. Chromophor 1 wurde zugegeben, gut durchmischt und für eine Stunde bei RT inkubiert.
3. Die Probe wurde für 10min zentrifugiert (16000 g).
4. Der Überstand wurde abpipettiert, Chromophor 2 zugegeben und die Probe für eine weitere Stunde bei RT inkubiert.
5. Die Probe wurde für weitere 10 min zentrifugiert (16000 g).
6. Der Überstand wurde abpipettiert und spektroskopisch untersucht.

Anlagerungsexperiment 1: Chromophor 1 = **Pe-dU**
Chromophor 2 = **Py-DAP**

Anlagerungsexperiment 2: Chromophor 1 = **Py-DAP**
Chromophor 2 = **Pe-dU**

Für die Löslichkeitsuntersuchungen wurden die chromophormodifizierten Nukleoside in einer DMSO-Stammlösung mit einer Konzentration von 30 mM gelöst.

Fulleren-DNA-Aggregate

Für alle Messungen wurden sowohl ssDNA als auch dsDNA in einer Konzentration von 0.75 μM vorgelegt. Die Zugabe der Fulleren-Derivate erfolgte stöchiometrisch zu den vorhandenen Bindungsstellen im Templat. Somit ergab sich für die 20mer-Templates eine Fulleren-Konzentration von 15 μM . Die Proben bei 20 °C wurden für 10 min im Küvettenhalter inkubiert und anschließend spektroskopisch untersucht. Die Proben bei 90 °C wurden ebenfalls für 10 min inkubiert und anschließend langsam über Nacht auf RT abgekühlt. Vor der spektroskopischen Untersuchung wurden diese Proben nochmals gut durchmischt.

Für die Titrationsexperimente wurden zunächst die DNA-Farbstoff-Aggregate (1.5 μM DNA), gemäß dem entsprechenden Assemblierungsprotokoll, in Wasser mit 2 % DMSO vorgelegt. Anschließend erfolgte die Zugabe des Fulleren-Derivats direkt aus der 2 mM Stammlösung.

PBI-DNA-Aggregate

Im Vorfeld wurden alle Stammlösungen der vier PBI-Derivate für 10 min im Ultraschallbad homogenisiert. In allen Experimenten wurde das DNA-Templat in einer Konzentration von 1.5 μM vorgelegt.

Für die Assemblierungsversuche mit Zentrifugation wurden die Chromophore im Überschuss zugegeben. Die Zugabe erfolgte 1.5 äquivalent zur Anzahl an Bindungsstellen im Templat, wodurch sich eine Endkonzentration von 45 μM für die PBI-Derivate ergab. Die Proben wurden für 10 min bei RT inkubiert und anschließend für 20 min (16000 g) zentrifugiert. Die überstehende Lösung wurde vorsichtig abpipettiert und anschließend spektroskopisch untersucht.

Für die Experimente bei erhöhter Temperatur erfolgte die Zugabe der PBI-Derivate in einer zu den vorhandenen Bindungsstellen im Templat stöchiometrischen Menge. Somit lag die PBI-Konzentration für die 20mer-Templates bei 30 μM . Die Proben wurden für 10 min bei 90 °C inkubiert, über Nacht auf RT abgekühlt und vor den spektroskopischen Messungen gut durchmischt.

4 DNA-Synthese

Das synthetisierte **Py-DAP-PA** wurde unter Verwendung der Standard-Phosphoramidit-Methode über einen *H-6 DNA/RNA Synthesizer* der Firma K&A in die Oligonukleotide eingebaut. Die natürlichen Phosphoramidite von SIGMA ALDRICH wurden in Acetonitril (0.067 M) gelöst. Das kommerziell erhältliche **Pe-dU-PA** und **Py-DAP-PA** wurden in einem MeCN/DCM-Gemisch (1:1, 0.1 M) gelöst und in den Synthesizer eingesetzt. Als feste Phase dienten CPG-Säulchen von SIGMA ALDRICH mit einer Belegungsdichte von 1 μ M. Die DNA-Synthese erfolgte im *DMT-on* Modus, um die spätere Aufreinigung zu vereinfachen.

Die Synthesezyklen erfolgten nach folgendem Kopplungsprotokoll:

Tabelle1: Entschützung

| Schritt | Zeit [0.1s] | Reagenz | Zielort | S.C.Ptr | Totzeit [s] | Branch |
|---------|-------------|---------|---------|---------|-------------|--------|
| 1 | 4 | TCA | COL | | | |
| 2 | 20 | TCA | TRM | ON | | |
| 3 | | | | ON | | |
| 4 | | | | | 15 | |
| 5 | 15 | TCA | TRM | ON | | |
| 6 | | | | ON | | |
| 7 | | | | | 15 | |
| 8 | 15 | TCA | TRM | ON | | |
| 9 | | | | ON | | |
| 10 | | | | | 15 | |
| 11 | 15 | TCA | TRM | ON | | |
| 12 | | | | ON | | |
| 13 | | | | | 15 | |
| 14 | 15 | TCA | TRM | ON | | |
| 15 | | | | ON | | |
| 16 | | | | | 15 | |
| 17 | 30 | GAS | TRM | | | |

| | | | | | |
|----|----|-----|-----|----|---|
| 18 | 10 | ACN | M_W | | |
| 19 | 20 | ACN | COL | ON | |
| 20 | | | | ON | |
| 21 | | | | | 4 |
| 22 | 30 | GAS | COL | | |
| 23 | 2 | ACN | M_W | | |
| 24 | 20 | ACN | COL | ON | |
| 25 | | | | ON | |

Tabelle 2: Kupplung

| Schritt | Zeit [0.1s] | Reagenz | Zielort | S.C.Ptr | Totzeit [s] | Branch |
|---------|-------------|---------|---------|---------|-------------|--------|
| 1 | 15 | GAS | COL | | 2 | |
| 2 | 2 | TET | COL | ON | | |
| 3 | | | | ON | | |
| 4 | | | | | 2 | 1 |
| 5 | 10 | ACN | M_W | | 50 | |
| 6 | | WMO | | | 90 | |
| 7 | | WMO | | | 90 | |
| 8 | 10 | ACN | COL | ON | | |
| 9 | | | | ON | | |
| 10 | 35 | GAS | COL | | | |
| 11 | 20 | GAS | M_W | | | |

Tabelle 3: Branch

| Schritt | Zeit [0.1s] | Reagenz | Zielort | S.C.Ptr | Totzeit [s] | Branch |
|---------|-------------|---------|---------|---------|-------------|--------|
| 1 | 4 | TET | COL | ON | | |
| 2 | 8 | AMD+TET | COL | | | |
| 3 | | | | ON | | |
| 4 | | | | | 8 | |
| 5 | 4 | AMD+TET | COL | ON | | |

| | | | | |
|---|----|-----|-----|----|
| 6 | | | | ON |
| 7 | 10 | ACN | M_W | |
| 8 | 10 | GAS | M_W | |

Tabelle 4: Capping

| Schritt | Zeit [0.1s] | Reagenz | Zielort | S.C.Ptr | Totzeit [s] | Branch |
|---------|-------------|-----------|---------|---------|-------------|--------|
| 1 | 20 | CP_A+CP_B | COL | ON | | |
| 2 | | | | ON | | |
| 3 | | | | | 15 | |
| 4 | 3 | CP_A+CP_B | COL | ON | | |
| 5 | | | | ON | | |
| 6 | | | | | 15 | |
| 7 | 20 | GAS | COL | | | |
| 8 | 2 | ACN | M_W | | | |
| 9 | 12 | AC | COL | ON | | |
| 10 | | | | ON | | |
| 11 | 10 | GAS | M_W | | 2 | |
| 12 | 30 | GAS | COL | | | |

Tabelle 5: Oxidation

| Schritt | Zeit [0.1s] | Reagenz | Zielort | S.C.Ptr | Totzeit [s] | Branch |
|---------|-------------|---------|---------|---------|-------------|--------|
| 1 | 20 | OXI | COL | ON | | |
| 2 | | | | ON | | |
| 3 | 10 | ACN | M_W | | 9 | |
| 4 | | | | | 9 | |
| 5 | | WTH | | | 150 | |
| 6 | | WTH | | | 150 | |
| 7 | 30 | GAS | COL | | | |
| 8 | 2 | ACN | M_W | | | |
| 9 | 16 | ACN | COL | ON | | |

| | | | | |
|----|----|-----|-----|----|
| 10 | | | | ON |
| 11 | 20 | | | |
| 12 | 30 | GAS | COL | |
| 13 | 2 | ACN | M_W | |
| 14 | 15 | ACN | COL | ON |
| 15 | | | | ON |
| 16 | 40 | | | |
| 17 | 15 | ACN | COL | ON |
| 18 | | | | ON |
| 19 | 50 | | | |
| 20 | 10 | GAS | M_W | |
| 21 | 30 | GAS | COL | |

Für das artifizielle Nukleosid **Py-DAP-PA** wurde folgendes Kollpungprotokoll verwendet:

Tabelle 6: *Branch 1*

| Schritt | Zeit [0.1s] | Reagenz | Zielort | S.C.Ptr | Totzeit [s] | Branch |
|---------|-------------|---------|---------|---------|-------------|--------|
| 1 | 4 | TET+DCM | COL | ON | | |
| 2 | 4 | AMD+TET | COL | | | |
| 3 | | | | ON | | |
| 4 | | | | | 99 | |
| 5 | | | | | 99 | |
| 6 | | | | | 99 | |
| 7 | | | | | 99 | |
| 8 | 5 | AMD+TET | COL | | | |
| 9 | | | | ON | | |
| 10 | | | | | 99 | |
| 11 | | | | | 99 | |
| 12 | | | | | 99 | |
| 13 | | | | | 99 | |
| 14 | 20 | DCM | COL | ON | | |

| | | | | |
|----|----|-----|-----|----|
| 15 | 20 | ACN | COL | ON |
|----|----|-----|-----|----|

Verglichen mit den natürlichen Phosphoramiditen wurde ein weiterer AMD+TET-Schritt eingefügt, die Kupplungszeit auf 13 min erhöht und anschließend ein weiterer Waschschritt mit DCM durchgeführt.

Aufarbeitung

Nach beendeter Synthese wurden die CPG-Säulen im Hochvakuum getrocknet. Um die DNA-Stränge vom CPG abzuspalten, wurde das Säulenmaterial in ein Eppendorf-Gefäß überführt, mit 700 µL Ammoniumhydroxid-Lösung (>25 %, *trace select*, FLUKA) versetzt und die Suspension für 16 h bei 55 °C erhitzt. Anschließend wurden die Proben auf Raumtemperatur abgekühlt und im Vakuumkonzentrator vom Ammoniak (60 min, 35 °C, 100 mbar) befreit. Die überstehende Lösung wurde abfiltriert, das CPG zweimal mit je 200 µL *MilliQ*-Wasser gewaschen und die vereinigten Filtrate anschließend lyophilisiert (25 °C, 0.1 mbar).

Aufreinigung

Der *DMT-on* synthetisierte DNA-Strang wurde zunächst mit *Glen-Pak™ DNA Purification Cartridges* von GLEN RESEARCH aufgereinigt. Dabei wurde das vom Hersteller empfohlene Reinigungsprotokoll verwendet. Die entsprechenden Lösungen wurden langsam mit 1 mL-Spritzen von BRAUN über die Säulen gedrückt, da kein Vakuum-Röhrenkollektor zur Verfügung stand. Zunächst wurde der DNA-Strang in 2.0 mL einer 50 mg/mL NaCl-Lösung aufgenommen und die Säule mit 0.5 mL MeCN sowie 1.0 mL TEAA-Puffer (Triethylammoniumacetat, 2 M, pH 7) äquilibriert. Anschließend wurde die Säule mit je 1.0 mL DNA-Lösung beladen und zweimal mit einer Salz-Wasch-Lösung (5 % Acetonitril in 100 mg/mL NaCl-Lösung) gewaschen, um die Abbruchstränge abzutrennen. Anschließend erfolgte die Abspaltung der *DMT*-Schutzgruppe durch die Zugabe von 2 × 1.0 mL TFA-Lösung (2 % Trifluoressigsäure in Wasser). Abgespaltene TFA- und Salzreste wurden mit 2 × 1.0 mL *MilliQ*-Wasser entfernt. Der gereinigte DNA-Strang wurde mit 1.0 mL Elutionslösung (0.5 % Ammoniumhydroxid in Acetonitril/Wasser = 1:1) eluiert und anschließend lyophilisiert

Anschließend erfolgte zusätzlich die Reinigung mittels einer semipräparativen *reversed-phase* HPLC (SPELCO *Discovery*[®] *BIO Wide Pore* C18-Säule 250 × 10 mm, 5 μm). Dazu wurden die vorgereinigten Proben in 300 μL *MilliQ*-Wasser angelöst und injiziert. Der gewünschte DNA-Strang wurde über die charakteristischen Absorptionswellenlängen der beiden Farbstoffe (Py: 370 nm, Pe: 490 nm) detektiert und fraktionsweise gesammelt. Dafür wurde ein Gradient von 0-30% MeCN in 40 min bei 40 °C gefahren.

Charakterisierung

Die Reinheit der einzelnen gesammelten Fraktionen wurde mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie (Kapitel IX.1) bestimmt. Anschließend wurden alle reinen Fraktionen vereinigt.

Konzentrationsbestimmung

Die Konzentration der DNA-Proben wurden mithilfe des LAMBERT-BEER Gesetzes berechnet. Dafür wurde die optische Dichte bei $\lambda = 260$ nm an einem *ND-1000 Spektrophotometer* von NANODROP (im Nukleinsäure-Modus) bestimmt. Der molare Extinktionskoeffizient ϵ_{260} bei 260 nm in Wasser ergibt sich dabei aus der Formel:

$$\epsilon_{260} = (dA \cdot \epsilon_{dA} + T \cdot \epsilon_T + \mathbf{Pe-dU} \cdot \epsilon_{\mathbf{Pe-dU}} + \mathbf{Py-DAP} \cdot \epsilon_{\mathbf{Py-DAP}}) \cdot 0.9$$

Dabei entsprechen dA und T der Anzahl der im Strang enthaltenen natürlich Nukleoside, **Pe-dU** und **Py-DAP** der Anzahl der Sonderbausteine sowie ϵ_{dA} , ϵ_T , $\epsilon_{\mathbf{Pe-dU}}$ und $\epsilon_{\mathbf{Py-DAP}}$ den molaren Extinktionskoeffizienten. Die Basenstapelung im Strang bedingt eine Abnahme der Absorbanz der einzelnen Bausteine. Diese sogenannte Hypochromizität wird durch die Multiplikation mit dem Faktor 0.9 berücksichtigt.

Tabelle 7: Extinktionskoeffizienten der verwendeten Bausteine.

| Baustein | ϵ_{260} [mM ⁻¹ cm ⁻¹] |
|---------------|-------------------------------------------------------|
| dA | 15.4 |
| T | 8.8 |
| Pe-dU | 12.4 |
| Py-DAP | 9.9 |

Hybridisierung

Die Hybridisierung des synthetisierten DNA-Stranges mit 1.0 eq. des komplementären Stranges erfolgte in 10 mM Natriumphosphat-Puffer (NaP_i; pH 7) und 250 mM Natriumchlorid-Lösung. Dafür wurden die DNA-Stränge für 10 Minuten bei 90 °C erhitzt und anschließend langsam auf Raumtemperatur abgekühlt.

IX. Ergänzende Spektren

1 Orthogonale Anlagerung

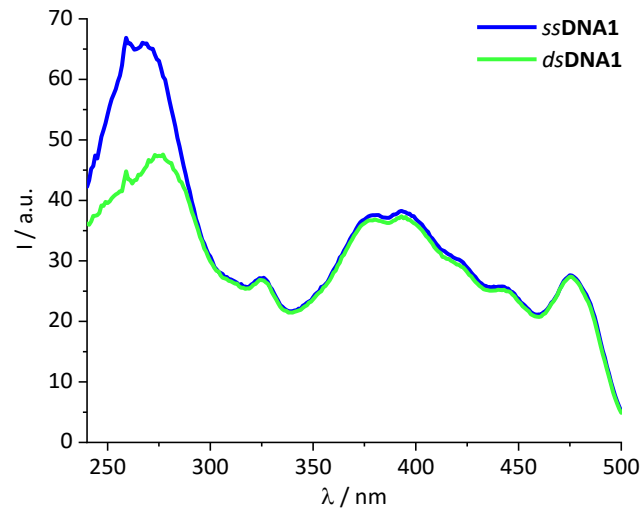


Abbildung 80: Anregungsspektren ($\lambda_{em} = 519 \text{ nm}$) von **ssDNA1** (blau) und **dsDNA1** (grün) ($2.5 \mu\text{M}$ in NaPi (10 mM) + NaCl (250 mM)).

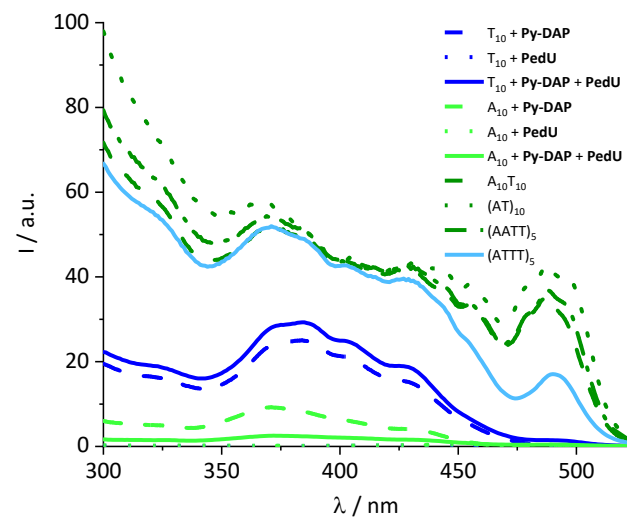


Abbildung 81: Anregungsspektrum ($\lambda_{em} = 537 \text{ nm}$) der Anlagerungsversuche von **Py-DAP** und **Pe-dU** entlang T_{10} , A_{10} , $A_{10}T_{10}$, $(AT)_{10}$, $(AATT)_5$ und $(ATTT)_5$ ($1.5 \mu\text{M}$ DNA in Wasser + 2% DMSO).

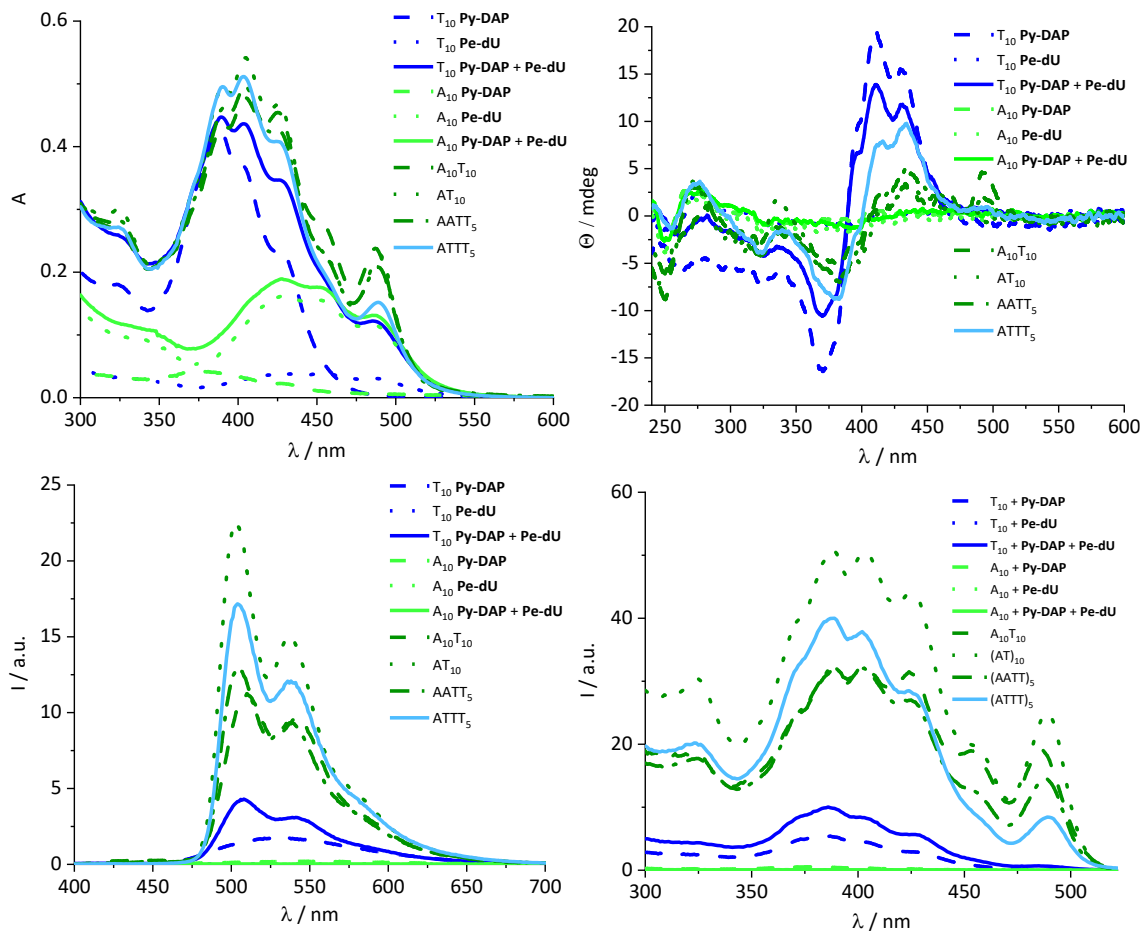


Abbildung 82: Absorptions-, CD-, Fluoreszenz ($\lambda_{exc}=371$ nm)- und Anregungsspektren ($\lambda_{em} = 537$ nm) der Py-DAP/Pe-dU-Aggregate mit T_{10} , A_{10} , $A_{10}T_{10}$, $(AATT)_5$, $(AT)_{10}$ and $(ATTT)_5$ als DNA Templat (1.5 μ M DNA in water + 2% DMSO) in umgekehrter Zugabe (1. Py-DAP, 2. Pe-dU).

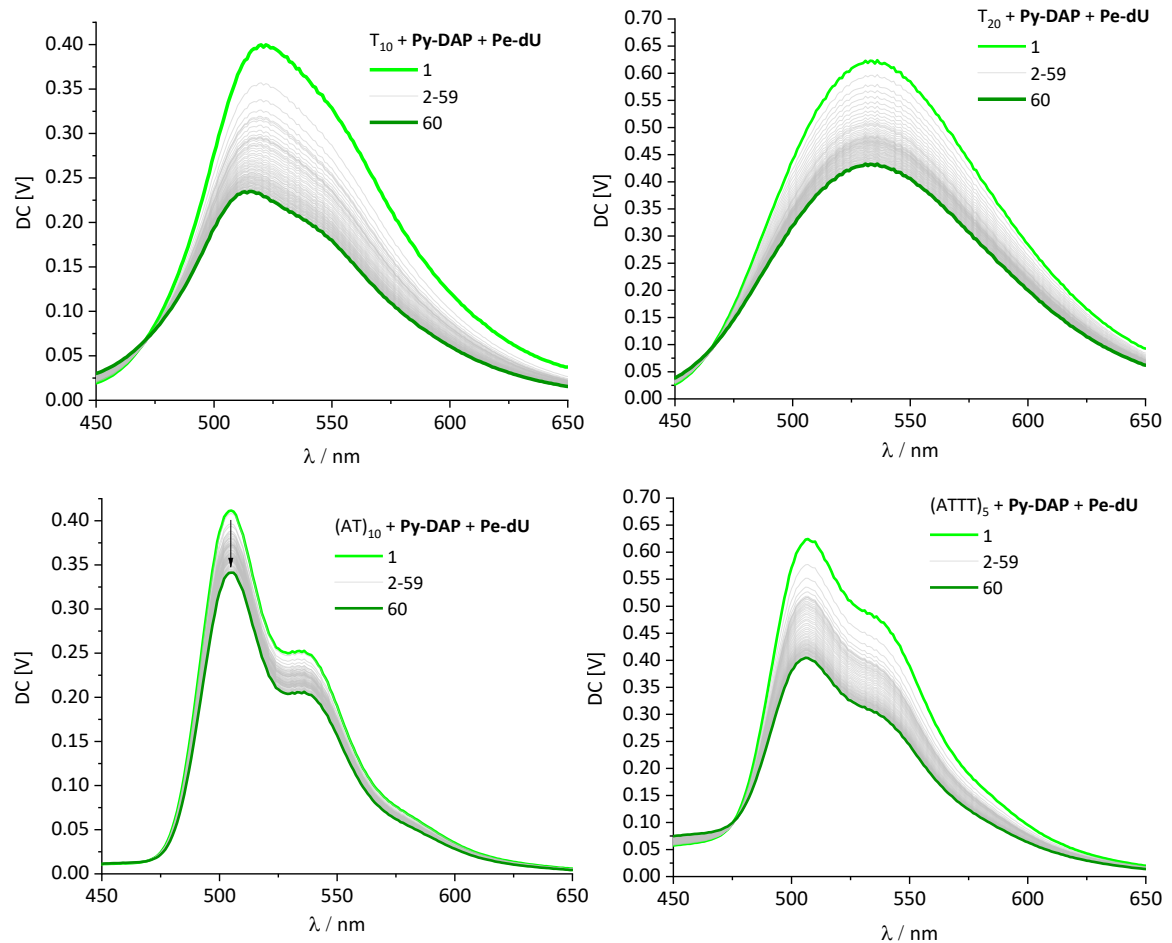


Abbildung 83: Emissionsspektren der Assemblierung von **Py-DAP** und **Pe-dU** entlang T₁₀, T₂₀, A₁₀T₁₀ und (AT)₁₀, (1.5 μM DNA) zur Veranschaulichung des Emissionsverlustes während der CPL-Messung (60 Akkumulationen). (Wasser + 2 % DMSO; 1.5 μM DNA; λ_{exc} = 370 nm).

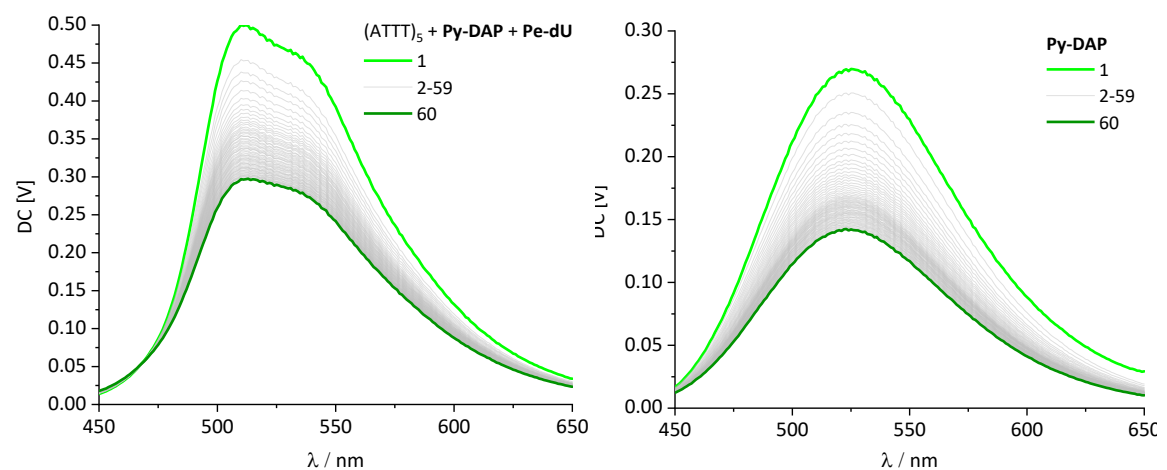


Abbildung 84: Emissionsspektren der Assemblierung von **Py-DAP** und **Pe-dU** entlang (ATTT)₅ (1.5 μM) und **Py-DAP** zur Veranschaulichung des Emissionsverlustes während der CPL-Messung (60 Akkumulationen). (Wasser + 2 % DMSO; 1.5 μM DNA; λ_{exc} = 370 nm).

2 Fulleren-DNA-Aggregate

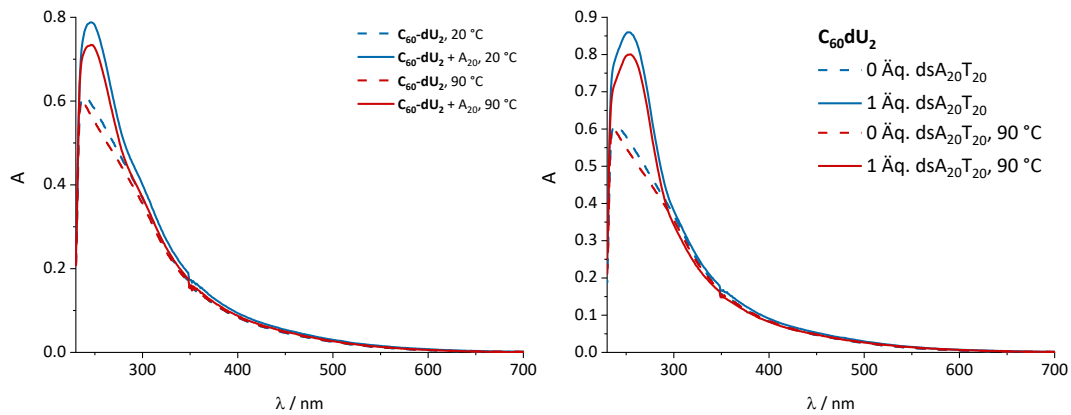


Abbildung 85: Absorptionsspektren von $C_{60}\text{-dU}_2$ ($7.5 \mu\text{M}$) nach Inkubation bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (blau) und $90 \text{ }^\circ\text{C}$ (rot) ohne DNA (gestrichelt) und mit A_{20} (links, durchgezogen, $0.75 \mu\text{M}$) sowie einem dsDNA (rechts, durchgezogen, $0.75 \mu\text{M}$).

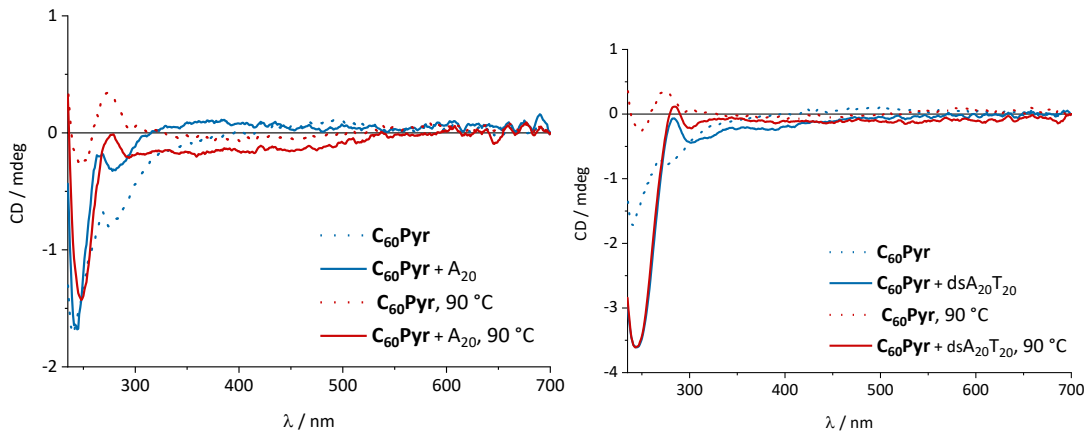


Abbildung 86: CD-Spektren von $C_{60}\text{-Pyr}$ ($7.5 \mu\text{M}$) nach Inkubation bei $20 \text{ }^\circ\text{C}$ (blau) und $90 \text{ }^\circ\text{C}$ (rot) ohne DNA (gestrichelt), mit A_{20} (links, durchgezogen, $0.75 \mu\text{M}$) sowie einem dsDNA (rechts, durchgezogen, $0.75 \mu\text{M}$).

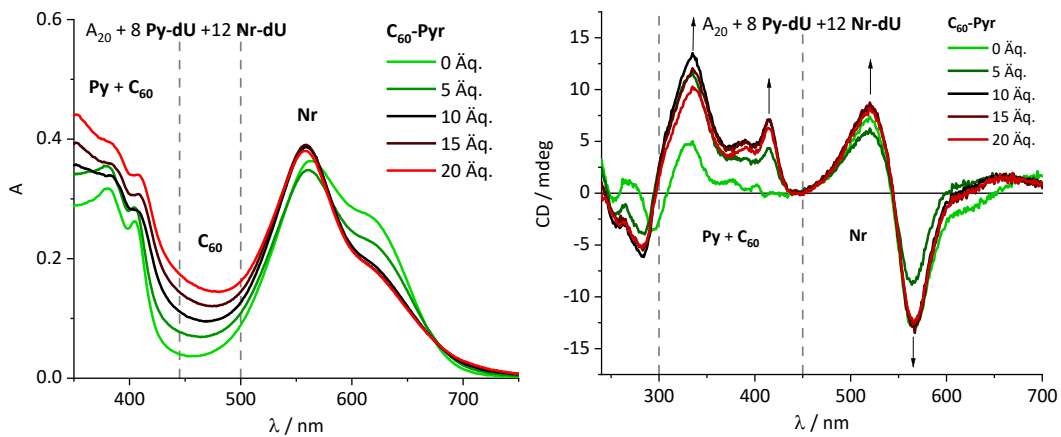


Abbildung 87: Absorptions-(links) und CD-Spektren (rechts) der Titrationsexperimente von $C_{60}\text{-Pyr}$ zum $\text{Py-dU/Nr-dU-A}_{20}$ -Aggregat in Wasser ($1.5 \mu\text{M}$ DNA, $C_{60}\text{-Pyr}$ in 5 Äq.-Schritten).

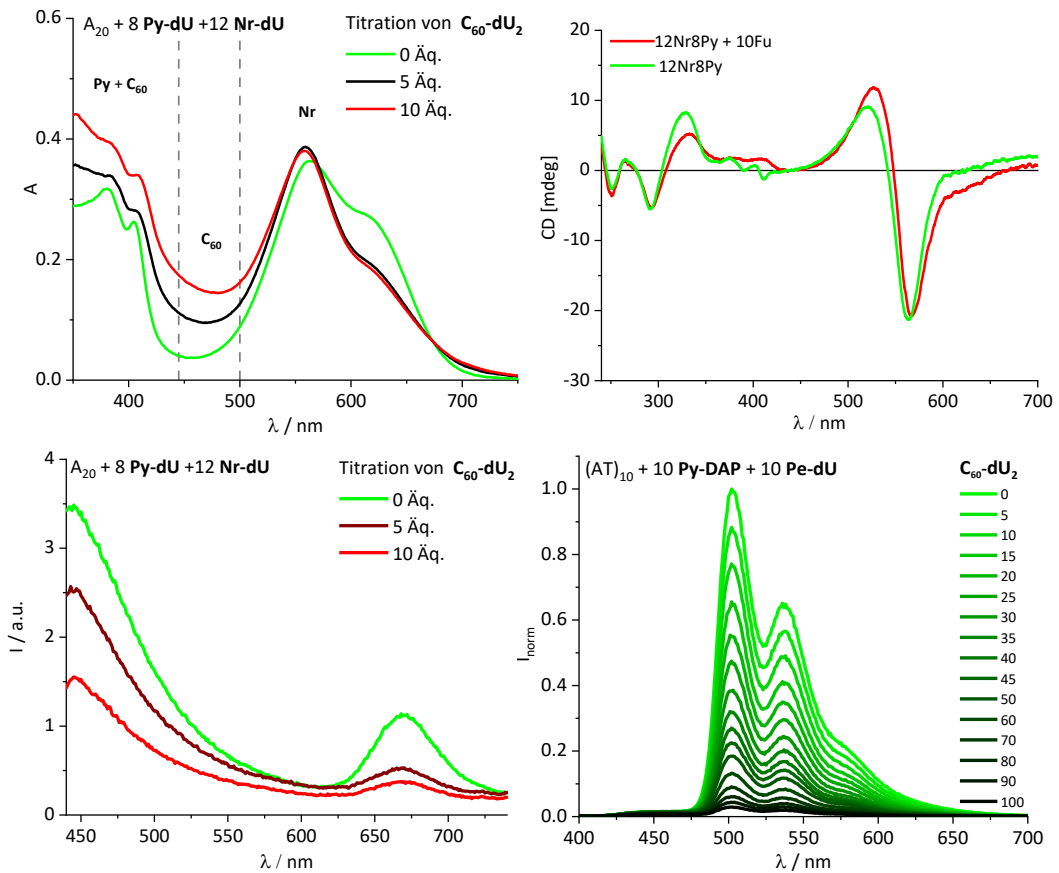


Abbildung 88: Absorptions-(oben, links), CD- (oben, rechts) und Emissionsspektren (unten, links) der Titrationsexperimente von $\text{C}_{60}\text{-dU}_2$ zum $\text{Py-dU/Nr-dU-A}_{20}$ -Aggregat sowie Emissionsspektren der Titrationsexperimente von $\text{C}_{60}\text{-dU}_2$ zum $\text{Pe-dU/Py-DAP-(AT)}_{10}$ -Aggregat in Wasser ($1.5 \mu\text{M}$ DNA, $\text{C}_{60}\text{-dU}_2$ in 5 Äq.-Schritten).

3 Funktionale Schichten

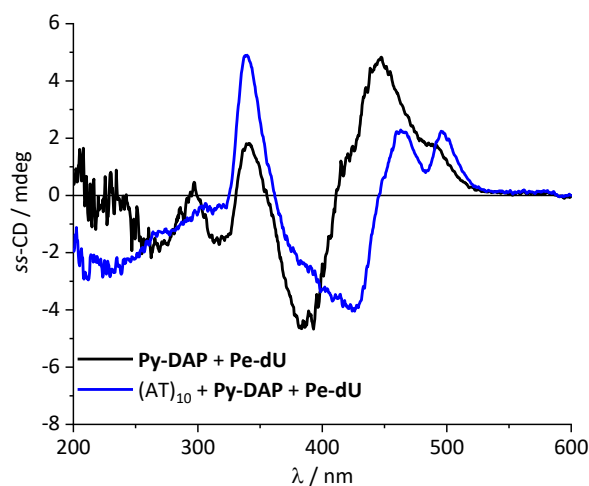


Abbildung 89: ss-CD-Spektren der $\text{Pe-dU/Py-DAP-(AT)}_{10}$ -Schicht aus einer 80 %igen DMSO-Lösung (links) und Emissionsspektren der Pe-dU/Py-DAP-DNA Schichten mit unterschiedlichen DNA-Sequenzen und in Abwesenheit von DNA (links) mit 1 Äq. DNA sowie deren Fluoreszenzquantenausbeuten

4 PBI-DNA-Aggregate

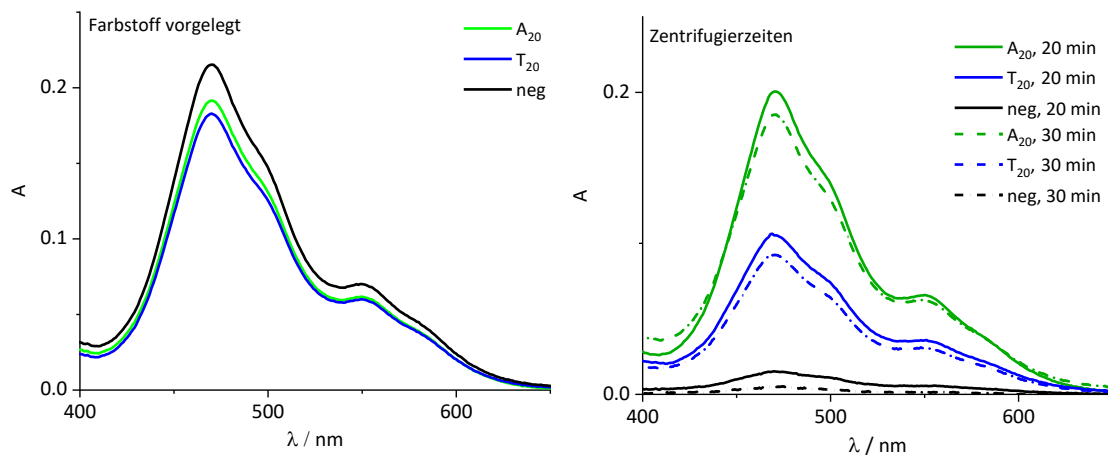


Abbildung 90: Ergänzende Absorptionsspektren der Optimierung der Anlagerungsversuche von **PBI-dU**.

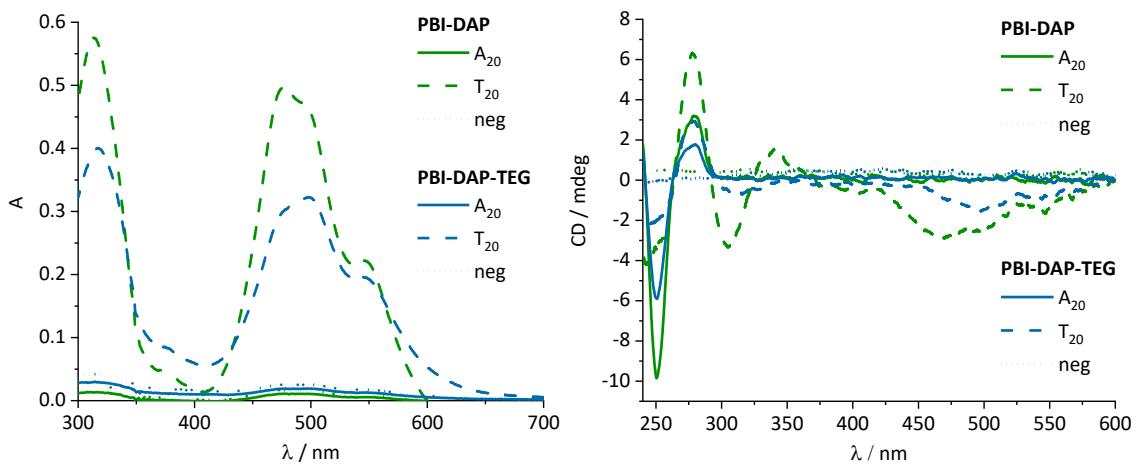


Abbildung 91: Absorptions- (links) und CD-Spektren (rechts) der zentrifugierten Proben von **PBI-DAP** (grün, 45 μ M) und **PBI-DAP-TEG** (blau, 45 μ M) in Anwesenheit von A₂₀ (durchgezogen, 1.5 μ M) und T₂₀ (gestrichelt, 1.5 μ M) sowie in Abwesenheit eines DNA-Templats (gepunktet) in PBS-Puffer (10 mM) + 2 % DMSO.

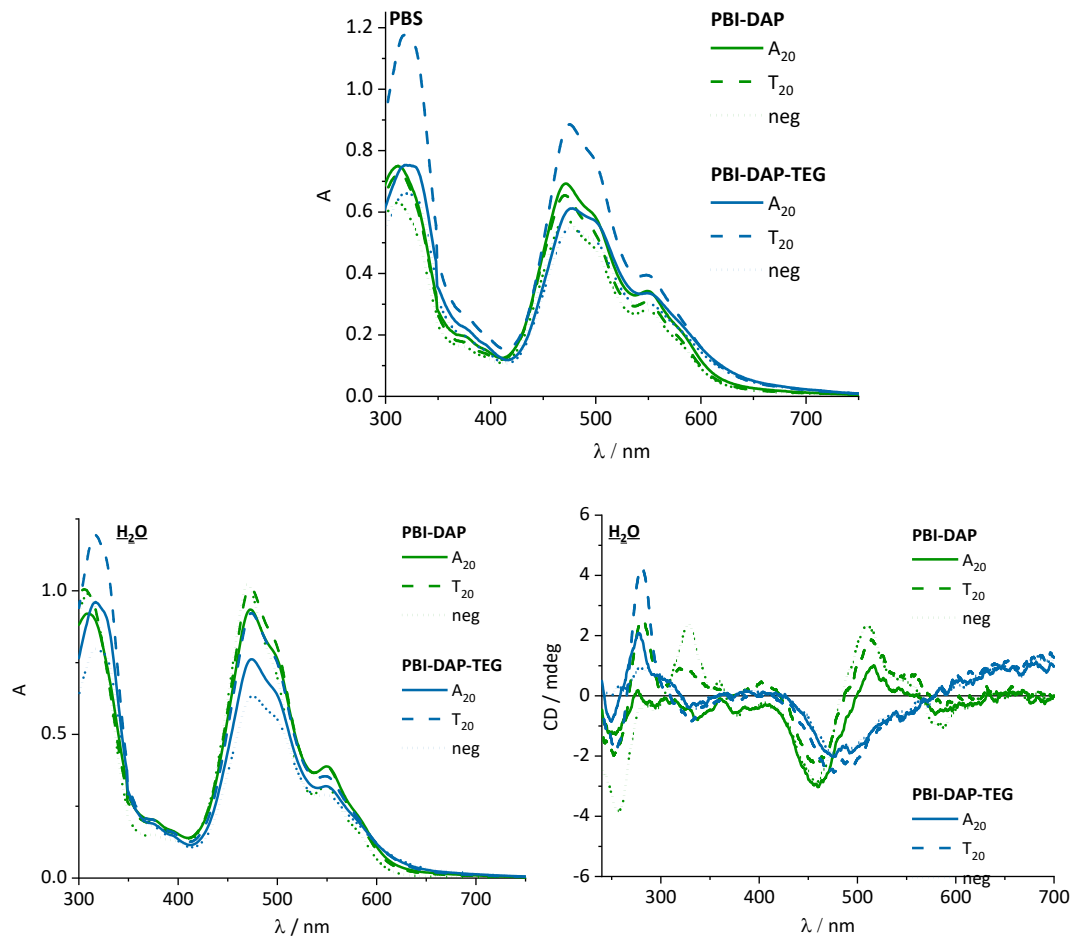


Abbildung 92: Absorptionsspektren und CD-Spektrum (unten, links) von **PBI-DAP** (grün, 30 μ M) und **PBI-DAP-TEG** (blau, 30 μ M) nach dem Erhitzen auf 90 °C in Anwesenheit von A₂₀ (durchgezogen, 1.5 μ M) und T₂₀ (gestrichelt, 1.5 μ M) sowie in Abwesenheit eines DNA-Templats (gepunktet) in PBS-Puffer (10 mM, oben) sowie in Wasser (unten)+ 2 % DMSO.

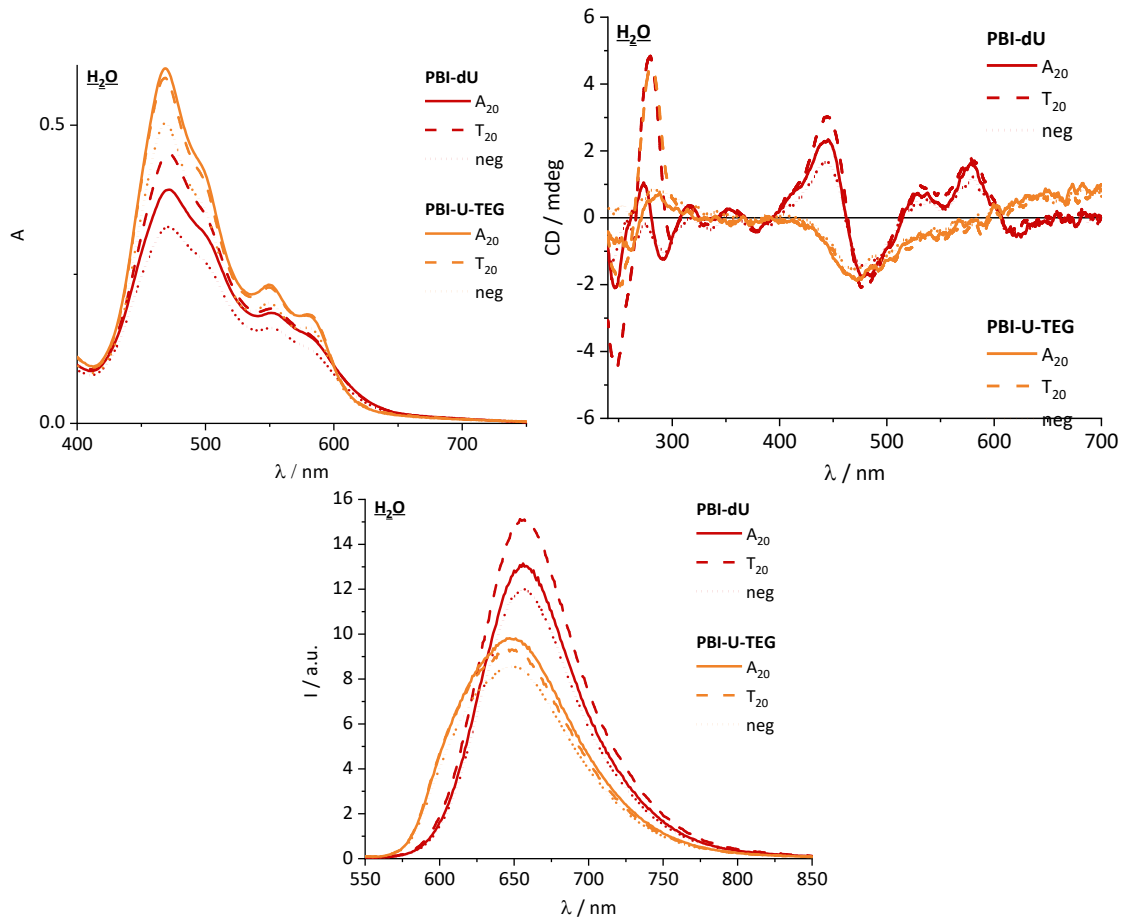


Abbildung 93: Absorptions- (oben, links), CD- (oben, rechts) und Emissionsspektren (unten, $\lambda_{exc} = 470$ nm) von **PBI-dU** (rot, 30 μ M) und **PBI-U-TEG** (orange, 30 μ M) in Anwesenheit von A₂₀ (durchgezogen, 1.5 μ M) und T₂₀ (gestrichelt, 1.5 μ M) sowie in Abwesenheit eines DNA-Templats (gepunktet) in Wasser + 2 % DMSO.

X. LITERATURVERZEICHNIS

- [1] C. J. Pedersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 7017-7036.
- [2] J.-M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 89-112.
- [3] J.-P. Sauvage, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 11080-11093.
- [4] S. L. Beaucage, R. P. Iyer, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 2223-2311.
- [5] P. W. K. Rothmund, *Nature* **2006**, *440*, 297-302.
- [6] L. Jaeger, A. Chworos, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2006**, *16*, 531-543.
- [7] D. Ghosh, L. P. Datta, T. Govindaraju, *Beilstein J. Nanotechnol.* **2020**, *11*, 124-140.
- [8] B. Yurke, A. J. Turberfield, A. P. Mills, F. C. Simmel, J. L. Neumann, *Nature* **2000**, *406*, 605-608.
- [9] H. Yan, X. Zhang, Z. Shen, N. C. Seeman, *Nature* **2002**, *415*, 62-65.
- [10] I. K. Astakhova, K. Pasternak, M. A. Campbell, P. Gupta, J. Wengel, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 2423-2426.
- [11] R. Varghese, H. A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9307-9310.
- [12] P. Ensslen, F. Brandl, S. Sezi, R. Varghese, R. J. Kutta, B. Dick, H. A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 9349-9354.
- [13] P. Ensslen, H.-A. Wagenknecht, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 2724-2733.
- [14] P. Ensslen, Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 487-492.
- [15] R. Hofsäß, S. Sinn, F. Biedermann, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 16257-16261.
- [16] P. Ensslen, S. Gärtner, K. Glaser, A. Colsmann, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1904-1908.
- [17] A. Nowak-Król, F. Würthner, *Org. Chem. Front.* **2019**, *6*, 1272-1318.
- [18] J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature* **1953**, *171*, 737-738.
- [19] C. K. McLaughlin, G. D. Hamblin, H. F. Sleiman, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5647-5656.
- [20] W. Müller-Esterl, *Vol. 3. Auflage*, Berlin, Heidelberg, **2018**.
- [21] F. H. C. Crick, *J. Mol. Biol.* **1966**, *19*, 548-555.
- [22] K. Hoogsteen, *Acta Crystallog.* **1963**, *16*, 907-916.
- [23] G. M. Stewart, M. A. Fox, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4354-4360.
- [24] S. Günes, H. Neugebauer, N. S. Sariciftci, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 1324-1338.

-
- [25] Y. N. Teo, E. T. Kool, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 4221-4245.
- [26] F. Hide, M. A. Díaz-García, B. J. Schwartz, A. J. Heeger, *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 430-436.
- [27] R. X. F. Ren, N. C. Chaudhuri, P. L. Paris, Rumney, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7671-7678.
- [28] H. Asanuma, K. Shirasuka, T. Takarada, H. Kashida, M. Komiyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 2217-2223.
- [29] E. Mayer, L. Valis, C. Wagner, M. Rist, N. Amann, H.-A. Wagenknecht, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 865-868.
- [30] P. Daublain, K. Siegmund, M. Hariharan, J. Vura-Weis, M. R. Wasielewski, F. D. Lewis, V. Shafirovich, Q. Wang, M. Raytchev, T. Fiebig, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2008**, *7*, 1501-1508.
- [31] C. Wagner, H.-A. Wagenknecht, *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4191-4194.
- [32] U. B. Christensen, E. B. Pedersen, *Nucleic Acids Res* **2002**, *30*, 4918-4925.
- [33] W. Wang, W. Wan, H.-H. Zhou, S. Niu, A. D. Q. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5248-5249.
- [34] J. Barbaric, H. A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2088-2090.
- [35] J. Barbaric, H.-A. Wagenknecht, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 2088-2090.
- [36] D. Paolantoni, S. Cantel, P. Dumy, S. Ulrich, *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 3609-3625.
- [37] P. G. A. Janssen, S. Jabbari-Farouji, M. Surin, X. Vila, J. C. Gielen, T. F. A. de Greef, M. R. J. Vos, P. H. H. Bomans, N. A. J. M. Sommerdijk, P. C. M. Christianen, P. Leclère, R. Lazzaroni, P. van der Schoot, E. W. Meijer, A. P. H. J. Schenning, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1222-1231.
- [38] P. G. A. Janssen, A. Ruiz-Carretero, D. González-Rodríguez, E. W. Meijer, A. P. H. J. Schenning, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 8103-8106.
- [39] A. L. Stevens, P. G. A. Janssen, A. Ruiz-Carretero, M. Surin, A. P. H. J. Schenning, L. M. Herz, *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 10550-10560.
- [40] G. Sargsyan, B. M. Leonard, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Eur. J* **2014**, *20*, 1878-1892.
- [41] G. Sargsyan, A. A. Schatz, J. Kubelka, M. Balaz, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1020-1022.
-

-
- [42] M. V. Ishutkina, A. R. Berry, R. Hussain, O. G. Khelevina, G. Siligardi, E. Stulz, *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 2018, 5054-5059.
- [43] Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *Front. Chem.* **2019**, 7.
- [44] H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien, R. F. Curl, R. E. Smalley, *Nature* **1985**, 318, 162-163.
- [45] A. Maelicke, *Nachr. Chem. Tech. Lab.* **1996**, 44, 1070-1071.
- [46] D. E. Manolopoulos, J. C. May, S. E. Down, *Chem. Phys. Lett.* **1991**, 181, 105-111.
- [47] R. Taylor, J. P. Hare, A. a. K. Abdul-Sada, H. W. Kroto, *Chem. Commun.* **1990**, 1423-1425.
- [48] D. M. Guldi, B. M. Illescas, C. M. Atienza, M. Wielopolski, N. Martín, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 1587-1597.
- [49] D. M. Guldi, M. Prato, *Acc. Chem. Res.* **2000**, 33, 695-703.
- [50] H. Tokuyama, S. Yamago, E. Nakamura, T. Shiraki, Y. Sugiura, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 7918-7919.
- [51] X. Zhao, A. Striolo, P. T. Cummings, *Biophys. J.* **2005**, 89, 3856-3862.
- [52] A. S. Boutorine, M. Takasugi, C. Hélène, H. Tokuyama, H. Isobe, E. Nakamura, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 33, 2462-2465.
- [53] S. k.v, S. K Saraswathi, J. Joseph, **2019**, pp. 271-300.
- [54] H. Isobe, S. Sugiyama, K.-i. Fukui, Y. Iwasawa, E. Nakamura, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3364-3367.
- [55] Q. Ying, J. Zhang, D. Liang, W. Nakanishi, H. Isobe, E. Nakamura, B. Chu, *Langmuir* **2005**, 21, 9824-9831.
- [56] E. Nakamura, H. Isobe, N. Tomita, M. Sawamura, S. Jinno, H. Okayama, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 4254-4257.
- [57] S. K. Vittala, S. K. Saraswathi, J. Joseph, *Chem. Eur. J.* **2017**, 23, 15759-15765.
- [58] Y. N. Yamakoshi, T. Yagami, S. Sueyoshi, N. Miyata, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 4885-4885.
- [59] S. Kulala Vittala, J. Joseph, *Faraday Discuss.* **2018**, 207, 459-469.
- [60] A. M. Cassell, W. A. Scrivens, J. M. Tour, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 1528-1531.
- [61] C. Song, Y.-Q. Chen, S.-J. Xiao, L. Ba, Z.-Z. Gu, Y. Pan, X.-Z. You, *Chem. Mater.* **2005**, 17, 6521-6524.
-

- [62] P. U. Osswald, **2007**.
- [63] F. Würthner, *Chem. Commun.* **2004**, 1564-1579.
- [64] R. Gvishi, R. Reisfeld, Z. Burshtein, *Chem. Phys. Lett.* **1993**, *213*, 338-344.
- [65] X. Li, L. E. Sinks, B. Rybtchinski, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10810-10811.
- [66] C. D. Dimitrakopoulos, P. R. L. Malenfant, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 99-117.
- [67] H. Langhals, S. Demmig, H. Huber, *Spectrochimica acta. Part A* **1988**, *44*, 1189-1193.
- [68] T. Weil, T. Vosch, J. Hofkens, K. Peneva, K. Müllen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9068-9093.
- [69] L. Chen, C. Li, K. Müllen, *J. Mater. Chem. C.* **2014**, *2*, 1938-1956.
- [70] S. Ghosh, X.-Q. Li, V. Stepanenko, F. Würthner, *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 11343-11357.
- [71] F. Fennel, S. Wolter, Z. Xie, P.-A. Plötz, O. Kühn, F. Würthner, S. Lochbrunner, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18722-18725.
- [72] Z. Chen, B. Fimmel, F. Würthner, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 5845-5855.
- [73] D. Görl, X. Zhang, F. Würthner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 6328-6348.
- [74] X. Zhang, Z. Chen, F. Würthner, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4886-4887.
- [75] Y. Huang, J. Hu, W. Kuang, Z. Wei, C. F. J. Faul, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 5554-5556.
- [76] D. Baumstark, H.-A. Wagenknecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2612-2614.
- [77] C. Stubinitzky, A. Bijeljanin, L. Antusch, D. Ebeling, H. Hölscher, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 12009-12014.
- [78] F. Menacher, V. Stepanenko, F. Würthner, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 6683-6688.
- [79] M. Probst, D. Wenger, S. M. Biner, R. Häner, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 755-759.
- [80] M. Hariharan, Y. Zheng, H. Long, T. A. Zeidan, G. C. Schatz, J. Vura-Weis, M. R. Wasielewski, X. Zuo, D. M. Tiede, F. D. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5920-5929.
- [81] P. P. Neelakandan, Z. Pan, M. Hariharan, Y. Zheng, H. Weissman, B. Rybtchinski, F. D. Lewis, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 15808-15813.

-
- [82] Y. Zheng, H. Long, G. C. Schatz, F. D. Lewis, *Chem. Commun.* **2006**, 3830-3832.
- [83] J. Gershberg, M. Radić Stojković, M. Škugor, S. Tomić, T. H. Rehm, S. Rehm, C. R. Saha-Möller, I. Piantanida, F. Würthner, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 7886-7895.
- [84] T. H. Rehm, M. R. Stojković, S. Rehm, M. Škugor, I. Piantanida, F. Würthner, *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 3393-3397.
- [85] P.W. Atkins, *Physikalische Chemie, Vol. 3*, Wiley-VHC, Weinheim, **2001**.
- [86] A. G. Griesbeck, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4671-4672.
- [87] A. Jablonski, *Nature* **1933**, *131*, 839-840.
- [88] A. Jabłoński, *Z. Phys.* **1935**, *94*, 38-46.
- [89] M. Kasha, *Discuss. Faraday Soc.* **1950**, *9*, 14-19.
- [90] M. Henningsen, *Chemie Unserer Zeit* **1999**, *33*, 175-176.
- [91] M. Kasha, H. R. Rawls, M. A. El-Bayoumi, *Pure Appl. Chem.* **1965**, *11*, 371-392.
- [92] D. L. Dexter, *J. Chem. Phys.* **1953**, *21*, 836-850.
- [93] T. Förster, *Ann. Phys.* **1948**, *437*, 55-75.
- [94] W. Schmidt, *Optische Spektroskopie: eine Einführung, Vol. 2*, Wiley-VHC, Weinheim, **2000**.
- [95] H. Tanaka, Y. Inoue, T. Mori, *ChemPhotoChem* **2018**, *2*, 386-402.
- [96] N. B. K. Nakanishi, R.W. Woody, *Ber. Bunsenges. Physik. Chem.* **1995**, *99*, 230-230.
- [97] F. D. Lewis, Y. Wu, L. Zhang, X. Zuo, R. T. Hayes, M. R. Wasielewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 8206-8215.
- [98] N. Harada, K. Nakanishi, *Acc. Chem. Res.* **1972**, *5*, 257-263.
- [99] D. H. Turner, I. Tinoco, M. Maestre, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 4340-4342.
- [100] M. V. Skorobogaty, A. D. Malakhov, A. A. Pchelintseva, A. A. Turban, S. L. Bondarev, V. A. Korshun, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 810-816.
- [101] S. S. Pujari, P. Leonard, F. Seela, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 4423-4437.
- [102] S. Müller, Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *ChemistryOpen* **2020**, *9*, 389-392.
- [103] S. Müller, F. Manger, L. Graf von Reventlow, A. Colsmann, H.-A. Wagenknecht, *Front. Chem.* **2021**, *9*.
- [104] J. K. Pak, M. Hesse, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8200-8204.
- [105] S. Sezi, H.-A. Wagenknecht, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 9257-9259.
-

-
- [106] Y. Yamada, K. Matsuura, K. Kobayashi, *Bioorgan. Med. Chem.* **2005**, *13*, 1913-1922.
- [107] R. Varghese, P. K. Gajula, T. K. Chakraborty, H.-A. Wagenknecht, *Synlett* **2009**, *2009*, 3252-3257.
- [108] J. Han, J. Jose, E. Mei, K. Burgess, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1684-1687.
- [109] M. S. J. Briggs, I. Bruce, J. N. Miller, C. J. Moody, A. C. Simmonds, E. Swann, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1997**, 1051-1058.
- [110] I. V. Astakhova, A. D. Malakhov, I. A. Stepanova, A. V. Ustinov, S. L. Bondarev, A. S. Paramonov, V. A. Korshun, *Bionconjugate Chem.* **2007**, *18*, 1972-1980.
- [111] A. D. Malakhov, E. V. Malakhova, S. V. Kuznitsova, I. V. Grechishnikova, I. A. Prokhorenko, M. V. Skorobogatyj, V. A. Korshun, Y. A. Berlin, *Russ. J. Bioorg. Chem.* **2000**, *26*, 34-44.
- [112] G. T. Crisp, B. L. Flynn, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6614-6619.
- [113] M. Hornum, P. Kumar, P. Podsiadly, P. Nielsen, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 9592-9602.

XI. ANHANG

1 Veröffentlichungen

S. Müller, Y. Fritz, H.-A. Wagenknecht, *ChemistryOpen* **2020**, *9*, 389.

S. Müller, F. Manger, L. Graf von Reventlow, A. Colsmann, H.-A. Wagenknecht, *Front. Chem.* **2021**, *9*.

2 Konferenzen und Posterbeiträge

09/2018 IV. Doktorandenseminar Nucleinsäurechemie (Bad Herrenalb, Deutschland)

Synthesis and Assembly of DNA templated Chromophore – Fullerene – Aggregates for Light Harvesting (Poster)

07/2019 Summer School 2019 - Nucleic acid chemistry and synthetic biology, Würzburg, **2019**

DNA templated Chromophore – Fullerene – Aggregates for Light Harvesting (Poster)

09/2019 IX. Nucleinsäurechemietreffen (Saarbrücken, Deutschland)

DNA templated Chromophore – Fullerene – Aggregates for Light Harvesting (Poster)

3 Lehre

WS17/18 Betreuung des organisch-chemischen Grundpraktikums für Studierende der Fachrichtungen Chemie, chemische Biologie und Lebensmittelchemie am KIT.

WS18/19 Betreuung des organisch-chemischen Fortgeschrittenenpraktikums für Studierende der Chemie, chemischen Biologie und Lebensmittelchemie am KIT.

SS19 Betreuung des organisch-chemischen Grundpraktikums für Studierende der Fachrichtungen Chemie, chemische Biologie und Lebensmittelchemie am KIT.

Betreuung des organisch-chemischen Fortgeschrittenenpraktikums für Studierende der Chemie, chemischen Biologie und Lebensmittelchemie am KIT.

Betreuung des Vertiefpraktikums Michaela Mijic

Betreuung des Auszubildenden Benjamin Felker

WS19/20 Betreuung des organisch-chemischen Fortgeschrittenenpraktikums für Studierende der Chemie, chemischen Biologie und Lebensmittelchemie am KIT.

Betreuung des Vertiefpraktikums Sandro Schöner

SS20 Betreuung des organisch-chemischen Fortgeschrittenenpraktikums für Studierende der Fachrichtungen Chemie, chemische Biologie und Lehramt Chemie am KIT.

4 Ehrenwörtliche Erklärung

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

Karlsruhe, den 30. April 2021

Sara Nina Müller