

# **Photoschaltbare molekulare Pinzetten zur dynamischen Erkennung von Hot-Spots auf Proteinoberflächen**

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Naturwissenschaften

**- Dr. rer. nat. -**

vorgelegt von

**Antonio Luigi Figueroa Bietti**

Fakultät Chemie

Universität Duisburg-Essen

Essen, 2024



Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum von August 2020 bis Mai 2024 im Arbeitskreis von Prof. Dr. Thomas Schrader am Institut für Organische Chemie der Universität Duisburg Essen durchgeführt.

# DuEPublico

Duisburg-Essen Publications online

UNIVERSITÄT  
DUISBURG  
ESSEN

*Offen im Denken*

ub | universitäts  
bibliothek

Diese Dissertation wird via DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt und liegt auch als Print-Version vor.

**DOI:** 10.17185/duepublico/82368

**URN:** urn:nbn:de:hbz:465-20240911-082936-0

Alle Rechte vorbehalten.

von: Antonio Luigi Figueroa Bietti

Erstgutachter: Prof. Dr. Thomas Schrader

Zweitgutachter: Prof. Dr. Bart Jan Ravoo

Tag der mündlichen Prüfung: 16.08.2024



## I. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

„Photoschaltbare molekulare Pinzetten zur dynamischen Erkennung von Hot-Spots auf Proteinoberflächen“

selbstständig verfasst und ohne Bezug anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt, nur die angegebenen Quellen benutzt und die in den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Essen, den 29.05.2024

Unterschrift: .....

Antonio Luigi Figueroa Bietti



**„If you had one shot or one opportunity  
to seize everything you ever wanted in one moment  
Would you capture it or just let it slip?“**

**- Marshall Bruce Mathers III-**



## II. Inhaltsverzeichnis

I.	Eidesstattliche Erklärung.....	V
II.	Inhaltsverzeichnis.....	IX
1	Einleitung .....	1
1.1	Supramolekulare Chemie.....	1
1.1.1	Protein-Protein-Interaktionen .....	2
1.1.2	Threonin Aspartase 1 (Taspase 1).....	5
1.2	Molekulare Pinzetten.....	7
1.2.1	Weiterentwicklung der molekularen Pinzetten.....	9
1.2.2	<i>State of the Art</i> - Erkennung basischer Aminosäuren auf Proteinoberflächen .....	10
1.3	Dynamik und Licht in der supramolekularen Chemie und Biologie.....	14
1.3.1	Azobenzole.....	17
1.3.2	Arylazopyrazole .....	20
1.4	Photoschaltbare Proteinerkennung.....	26
1.4.1	Natürliche Beispiele .....	26
1.4.2	Synthetische Beispiele .....	29
2	Motivation und Zielsetzung .....	33
3	Ergebnisse und Diskussion .....	39
3.1	Synthese molekularer Pinzetten.....	39
3.1.1	Synthese des Pinzettengerüsts .....	39
3.1.2	Synthese der symmetrischen und asymmetrischen Pinzetten.....	43
3.2	Photoschalter: Azobenzolderivate.....	45
3.3	Photoschalter: Arylazopyrazolderivate.....	54
3.4	Photoschaltbare Pinzetten.....	58
3.4.1	Kupfer-Click-Reaktion .....	58
3.4.2	TWABs.....	65
3.4.3	TWAAPs.....	72
3.4.4	TWAAT .....	78

3.4.5	$^1\text{H}$ -NMR-Experimente zur Photoschaltbarkeit der Pinzetten .....	83
3.5	Biologische Anwendung.....	87
4	Zusammenfassung und Ausblick .....	102
5	Experimentalteil .....	109
5.1	Chemikalien und Analytische Methoden .....	109
5.2	Synthesevorschriften .....	111
5.2.1	Synthese des Grundgerüsts .....	111
5.2.2	Synthese von der symmetrischen Pinzette CLR01.....	121
5.2.3	Synthese der asymmetrischen Pinzette .....	126
5.2.4	Synthese der Azobenzol-Derivate.....	135
5.3	Arylazopyrazole.....	139
5.4	Synthese der photoschaltbaren molekularen Pinzetten .....	147
5.4.1	Monovalente Pinzetten .....	147
5.4.2	Bivalente Pinzetten .....	150
6	Appendix .....	XXI
III.	Abbildungsverzeichnis.....	LXXII
IV.	Tabellenverzeichnis.....	LXXXIV
V.	Abkürzungsverzeichnis.....	LXXXVI
VI.	Literaturverzeichnis.....	XC
VII.	Danksagung .....	C

# 1 Einleitung

## 1.1 Supramolekulare Chemie

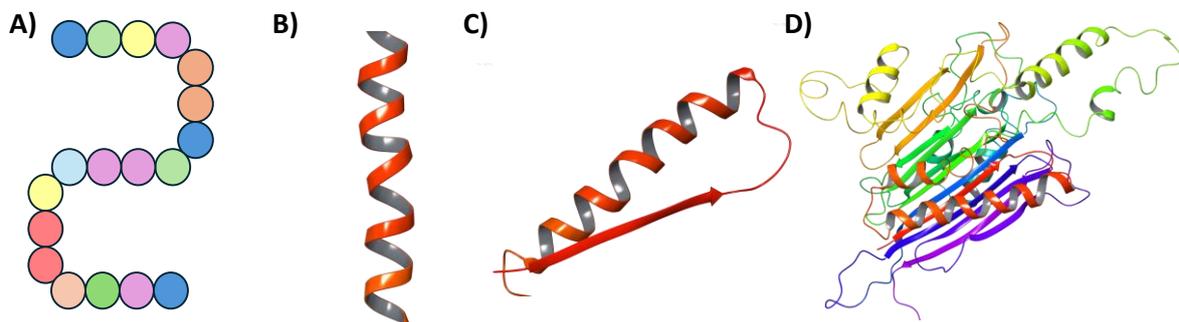
Seit seiner Entdeckung im 20. Jahrhundert hat das Gebiet der supramolekularen Chemie das Interesse zahlreicher Forschungsgruppen geweckt. Dieses Gebiet beschäftigt sich grundsätzlich mit dem Design, der Synthese und der Charakterisierung von molekularen Komplexen<sup>1</sup>. Die supramolekulare Chemie kann als „Chemie jenseits des Moleküls“ bezeichnet werden, da ihr Fokus auf intermolekularen Kräften liegt. Besonders multimolekulare, komplexe Systeme, bei denen die einzelnen funktionalen Komponenten durch nichtkovalente Wechselwirkungen zusammengehalten werden, prägen das Gebiet der supramolekularen Chemie<sup>2</sup>. Grundlegend hierbei ist der Strukturerthalt der einzelnen Komponenten, während sich ihre chemische Natur ändert<sup>3</sup>.

Supramolekulare Systeme spielen nicht nur im Bereich der Chemie eine große Rolle, sondern auch in der Biologie<sup>4</sup>. Supramolekulare Strukturen, die durch nichtkovalente Wechselwirkungen gebildet und zusammengehalten werden, treten in zahlreichen biologischen Systemen auf. Diese reichen von der DNS-Doppelhelix mit ihren Wasserstoffbrückenbindungen<sup>5</sup> über Zellwände durch Selbstassemblierung von Lipidschichten<sup>4</sup> bis hin zur molekularen Erkennung in Protein-Protein-Interaktionen (PPIs)<sup>6</sup>.

Proteine sind biologisch funktionelle, komplexe Makromoleküle, die essenziell für alle lebenden Systeme sind. Sie stellen wichtige Biomaterialien dar, die für die Zellstruktur, Regulierung von Signalprozessen<sup>7</sup>, Transport, Katalyse und Kommunikation inner- und außerhalb der Zelle erforderlich sind<sup>8</sup>. Insbesondere ihre Interaktionen untereinander (PPIs) spielen in fast allen physiologischen und pathologischen Prozessen eine zentrale Rolle<sup>9</sup>. Um diese komplexen biologischen Prozesse besser verstehen zu können, wurden in den vergangenen Jahrzehnten zahlreiche synthetische supramolekulare Architekturen, welche die natürliche Teilsysteme nachahmen oder von diesen inspiriert wurden, entwickelt und untersucht.

### 1.1.1 Protein-Protein-Interaktionen

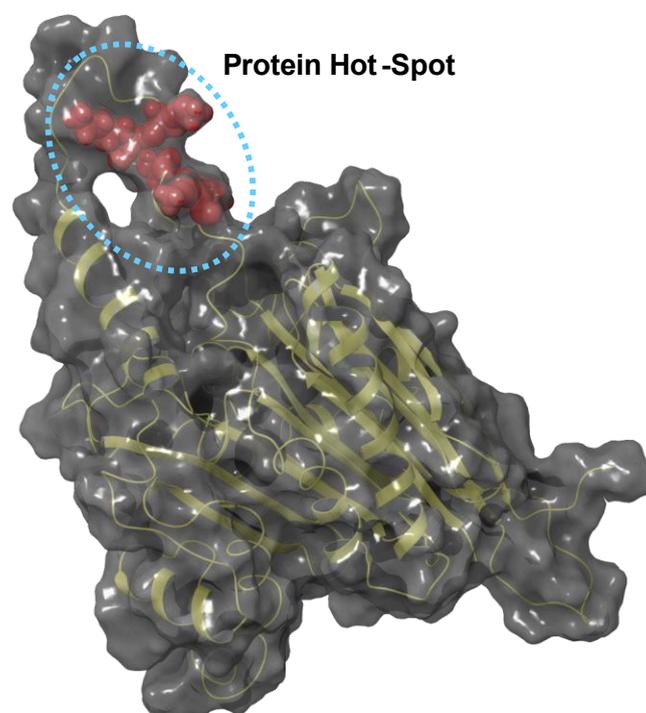
Proteine gelten als Bausteine des Lebens. Sie selbst bestehen ebenfalls aus einzelnen Bausteinen, den 20 natürlich vorkommenden Aminosäuren. Diese werden unter Bildung einer Peptidbindung aus der Carboxylgruppe einer Aminosäure mit der  $\alpha$ -Aminogruppe einer zweiten Aminosäure, verknüpft. Diese Verkettungen von Aminosäuren können eine Länge von bis zu mehreren tausend Einheiten erreichen. Bei Kettenlängen unter 100 Aminosäuren werden sie als Peptide bezeichnet. Erst ab einer größeren Kettenlänge werden diese als Proteine bezeichnet. Die molekulare Größe von Proteinen wird in der Regel in kilo-Dalton (kDa) angegeben. Ihre dreidimensionale Struktur kommt im Wesentlichen durch intramolekulare Wechselwirkungen zustande, die nach der Biosynthese eine kompakte Faltung zur thermodynamisch stabilsten Anordnung diktieren. Die Proteinstruktur lässt sich auf vier Ebenen beschreiben. Hierbei wird zwischen Primär-, Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur unterschieden. Als Primärstruktur wird die Abfolge bzw. Sequenz der einzelnen Aminosäureeinheiten bezeichnet. In der Sekundärstruktur werden die in der Proteinstruktur häufig vorkommenden begrenzten Struktur motive hervorgehoben. Diese Motive können in  $\alpha$ -Helices,  $\beta$ -Faltblätter,  $\beta$ -Schleifen und  $\beta$ -Helices unterteilt werden. Ihre Orientierung wird oft durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Peptidbindungen des Rückgrats festgelegt. Als Tertiärstruktur wird die übergeordnete räumliche Anordnung der gesamten Peptidkette bezeichnet. Diese wird zusätzlich stark von Wechselwirkungen zwischen den Seitenketten der Aminosäuren bestimmt. Daran sind z.B. Wasserstoffbrückenbindungen, elektrostatische und hydrophobe Wechselwirkungen so wie van-der-Waals Kräfte beteiligt. Schließlich wird von einer Quartärstruktur gesprochen, wenn sich mehrere Untereinheiten eines Proteins mit eigener Tertiärstruktur zu einer größeren Überstruktur zusammenlegen<sup>10</sup>.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der Proteinstrukturen: A) Primärstruktur, Reihenfolge der einzelnen Aminosäuren; B) Sekundärstruktur,  $\alpha$ -Helix; C) Tertiärstruktur, übergeordnete räumliche Anordnung der gesamten Peptidkette als  $\alpha$ -Helix und  $\beta$ -Faltblatt; D) Quartärstruktur; gesamt Überstruktur mehrerer Protein-Untereinheiten.

Die überwiegende Mehrheit der Proteine organisiert sich mit anderen Proteinen zusammen; sie bilden dabei Überstrukturen unterschiedlicher Stabilität und Dynamik, die Proteinkomplexe genannt werden. In der Natur liegen somit die meisten Proteine in solchen supramolekularen Komplexen vor, deren Funktionen über die Modulation ihrer Protein-Protein-Interaktion (PPI) gesteuert werden können. PPIs spielen in fast allen physiologischen und pathologischen Prozesse eine Rolle<sup>9</sup>, wie z.B. bei Zellproliferation, Zellwachstum, Signaltransduktion und Apoptose. Protein-Protein-Interaktionen können ebenfalls in Zusammenhang mit Krankheiten wie Krebs, neurodegenerative Erkrankungen und Infektionen durch Krankheitserreger gebracht werden<sup>11</sup>.

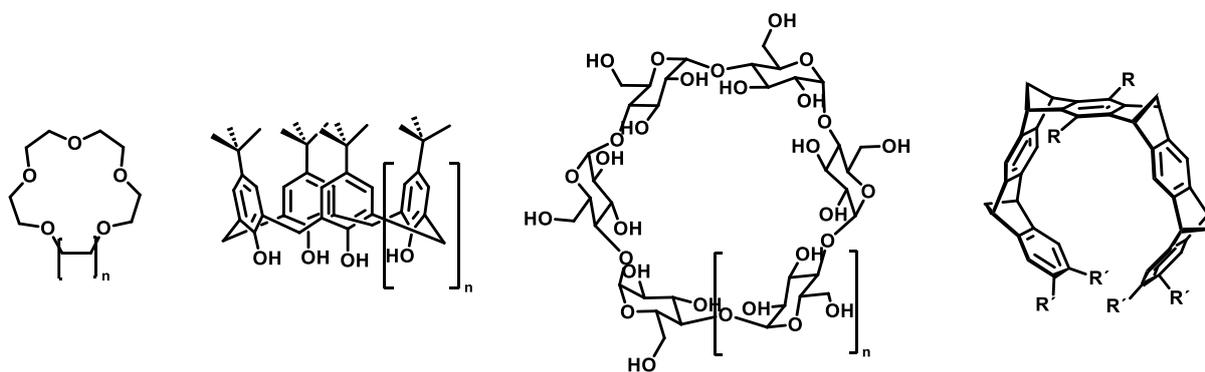
PPIs beruhen auf gut definierten Grenzflächen zwischen Partnerproteinen. Bei einer Interaktion werden die einzelnen Proteine häufig durch Wasserstoffbrücken, Salzbrücken, hydrophobe Kräfte und in einigen Fällen sogar durch kovalente Bindungen miteinander verknüpft. Die Kontaktfläche besitzt polare und/oder geladene Aminosäurereste<sup>12</sup>. Geladene Aminosäuren nehmen in vielen PPIs eine essenzielle Rolle ein, da sie weitreichende elektrostatische Wechselwirkungen ausüben, die in Kombination mit hydrophoben Kräften beim Kontakt mit unpolaren Proteinoberflächen zu einer starken und spezifischen Gesamtbindung beitragen. Kleinere definierte Areale tragen oft besonders viel zur Bindungsenergie bei und werden „Hot-Spots“ genannt. Sie sind begehrte Ziele für moderne Wirkstoffe.



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung eines Protein Hotspots am Beispiel von Taspase 1. Die Proteinstruktur wird gelb, die Proteinoberfläche grau und die Aminosäurereste eines „Hot-Spots“ des flexiblen Loops (im hellblauen gestrichelten Kreis) rot dargestellt.

Künstliche Inhibitoren für einzelne PPIs stehen seit einiger Zeit im Fokus der Wirkstoffforschung. Das Netzwerk aller bekannten PPIs wird auf eine Größe zwischen 130.000 und 650.000 unterschiedlicher Wechselwirkungen geschätzt<sup>13</sup>. Hot-Spots auf Proteinoberflächen mit maßgeschneiderten supramolekularen Erkennungsmotiven zu adressieren, bietet daher einen vielversprechenden Ansatz zum Studium von Proteinfunktionen und zum therapeutischen Eingriff. Daher ist die Entwicklung kleiner Moleküle, die sich als spezifische Liganden für die Grenzfläche zwischen den Partnerproteinen eignen, ein großes Anliegen moderner biomedizinischer Forschung<sup>14</sup>. Sie birgt ein enormes Potenzial für die chemische Biologie und die Arzneimittelentwicklung.

Supramolekulare Forscher haben Klassen künstlicher Wirtmoleküle entwickelt, die Aminosäuren auf Proteinoberflächen binden können. Dazu gehören Kronenether<sup>15</sup>, Calix[n]arene<sup>16</sup>, Cyclodextrine<sup>17</sup>, Curcubiturile<sup>18</sup> und molekulare Pinzetten<sup>19</sup> (Abbildung 3). Sie alle bilden Wirt-Gast-Komplexe mit einzelnen Aminosäureresten oder kleinen peptidischen Einheiten auf der Proteinoberfläche. Ein großer Teil der Triebkraft für die Bildung dieser Wirt-Gast-Komplexe beruht auf dem hydrophoben Effekt zwischen den unpolaren Regionen der Proteinoberfläche und den künstlichen Liganden, ähnlich wie bei PPIs. Wasserstoffbrückenbindungen und elektrostatische Komplementarität zwischen der interagierenden Proteinoberfläche und dem Liganden erhöhen meist die Spezifität der Bindung durch ihre Orientierung, tragen aber oft nur relativ wenig zur Bindungsenthalpie bei<sup>20</sup>. Ein geschicktes Design der Architektur künstlicher Liganden ermöglicht die gezielte Erkennung von einzelnen Aminosäuren, Peptidsequenzen und sogar von ganzen Arealen auf der Proteinoberfläche. Solche optimierten supramolekularen Binder können maßgeschneidert für die Schwächung/Inhibition oder auch für die Stärkung/Förderung von PPIs eingesetzt werden<sup>21</sup>.



**Abbildung 3:** Schematische Darstellung einiger grundlegender supramolekularer Wirtssysteme zur Erkennung von Aminosäuren auf Proteinoberflächen. Von links nach rechts: Kronenether, Calix[n]arene, Cyclodextrine, molekulare Pinzetten.

### 1.1.2 Threonin Aspartase 1 (Taspase 1)

Ein wichtiges Beispiel aus der aktuellen Forschung ist die Protease Threonin Aspartase 1 (Taspase 1). Proteasen fördern den Abbau von Proteinen, welches essenziell für die Lebensfähigkeit von menschlichen Zellen ist. Taspase 1 ist innerhalb der Typ II Asparaginase einzigartig, da es die einzige Protease dieser Familie darstellt. Taspase 1 wird im Wesentlichen im Laufe der Embryonalentwicklung exprimiert und spielt beispielsweise in der Entwicklung der Wirbelsäule und des Schädels eine wichtige Rolle, während sie im erwachsenen gesunden Gewebe kaum vorhanden ist. Hingegen tritt dieses Protein in verschiedenen Pathologien, wie zum Beispiel in der Entwicklung und dem Fortschreiten von Leukämien und soliden Tumoren, häufig auf. Aufgrund dessen gewinnt Taspase 1 immer mehr an Bedeutung in der medizinischen und pharmazeutischen Forschung<sup>22-24</sup>. Durch Untersuchung des Entzugs dieses Proteins konnte eine Verlangsamung der Zytokinese und die Einleitung der Apoptose erreicht werden. Des Weiteren konnte bei Untersuchungen in diesem Rahmen keine toxischen Auswirkungen festgestellt werden.

Mit 45 kDa ist Taspase 1 ein relativ kleines Protein, tritt jedoch mit insgesamt 27 unterschiedlichen Partnerproteinen in Wechselwirkung, unter anderem mit dem *mixed lineage leukemia* (MLL)<sup>25</sup> und dem Transkriptionsfaktor IIA (TFIIA)<sup>26</sup>. Für ihre Proteasefunktion verwendet Taspase 1 die Aminosäure Threonin (Thr234) als Nucleophil, um Peptidbindungen in Substraten zu hydrolysieren. Dabei handelt es sich um Substrate mit einer konservierten Sequenz [QXDG]<sup>25</sup>.

Um ihre proteolytische Aktivität voll entfalten zu können, muss Taspase 1 erst einen komplexen mehrstufigen Aktivierungsprozess durchlaufen<sup>27</sup>. Das Protein liegt ursprünglich als ein inaktives  $\alpha$ -/ $\beta$ -Monomer im Zytosol vor<sup>28</sup>. Das Proenzym ist daher zunächst auf einen Import in den Zellkern angewiesen, in welchem dann eine autoproteolytische Aktivierung stattfindet. Dabei wird Taspase 1 in ihre Untereinheiten gespalten, woraufhin diese zum aktiven Heterodimer wieder zusammengefügt werden. Dieser Prozess ist eine essenzielle Voraussetzung für die Proteaseaktivität des Proteins, um die *trans*-Spaltung seiner zellulären Substrate durchlaufen zu können<sup>22, 26</sup>.

Der Zugang zum Zellkern erfolgt über eine Interaktion mit dem Partnerprotein Importin  $\alpha$ . Die  $\alpha$ -Untereinheit des aktiven Heterodimers der Taspase 1 besitzt einen beweglichen Loop, also eine oberflächenexponierte und flexible Schleife. Dieser Loop besteht aus zwei  $\alpha$ -Helices mit jeweils einer Kernlokalisierungssequenz (*engl.: nuclear localization sequence, NLS*)<sup>29</sup>, wo sich mehrere basische Aminosäuren (Lysine und Arginine) befinden<sup>27</sup>. Diese Schleife gehört zu der  $\alpha$ -Untereinheit und interagiert mit dem intrazellulären Transportrezeptor Importin  $\alpha$ . Im inneren des Zellkerns findet zunächst die Autoproteolyse zwischen Aspartat 233 und Threonin 234 in die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Untereinheiten statt. Hierbei gewinnt der Loop an Flexibilität und gleichzeitig wird das aktive Zentrum (Thr234) freigelegt. Somit ist

Taspase 1 nach der Reorganisation zum Heterodimer im Zellkern proteolytisch aktiv und kann die Substratspaltung vorantreiben<sup>27</sup>. In der nachfolgenden Abbildung wird dieser Aktivierungsmechanismus schematisch dargestellt.

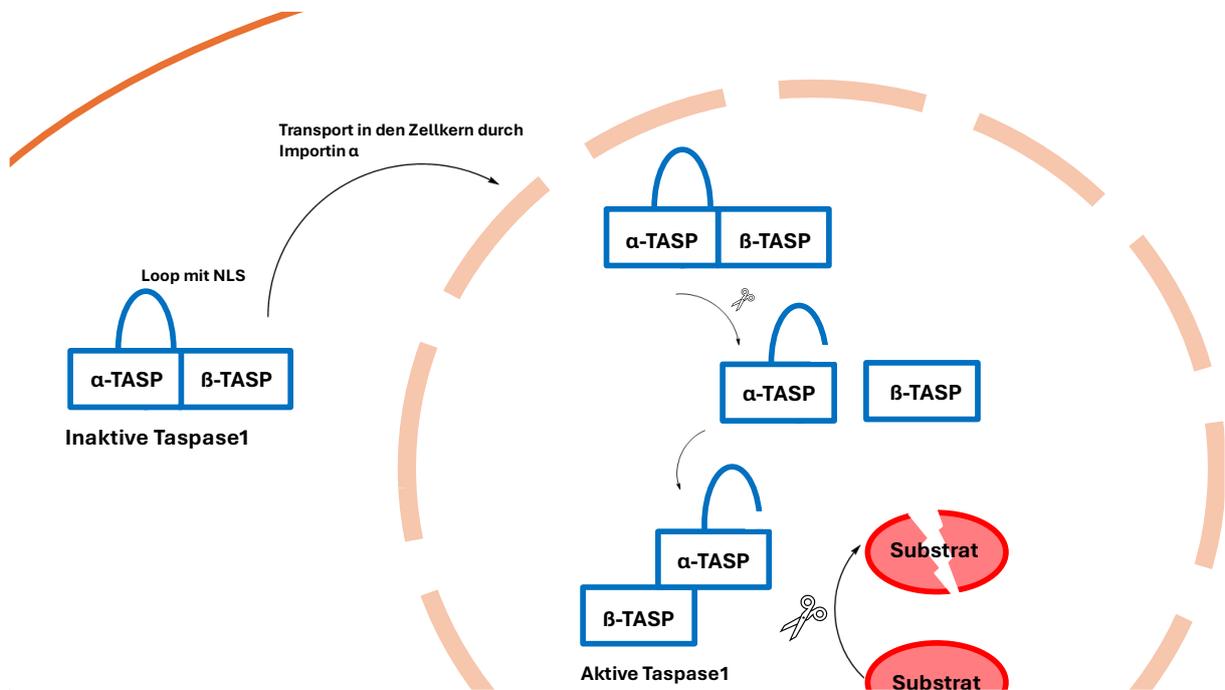


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Aktivierungsmechanismus von Taspase 1 und das weitere Geschehen im Zellkern.

Die Interaktion zwischen Taspase 1 und Importin  $\alpha$  ist für die intrazelluläre Proteaseaktivierung von wesentlicher Bedeutung. Zusätzlich befindet sich das katalytisch aktive Zentrum an der Basis der flexiblen Schleife und stellt selbst ein attraktives und vielversprechendes Ziel für eine externe Kontrolle ihrer Proteinfunktion dar. Durch das überwiegende Auftreten von basischen Aminosäuren, sowohl in den NLS-Regionen des *Loops* wie auch in der direkten Umgebung des aktiven Zentrums im Heterodimer, sind diese Stellen besonders attraktiv für einen supramolekularen Eingriff z.B. mit synthetischen anionischen Liganden. In den letzten Jahren wurden in diesem Sinne verschiedene maßgeschneiderte Inhibitoren für Taspase 1 synthetisiert<sup>27, 29-31</sup>.

## 1.2 Molekulare Pinzetten

Die Pioniere *Whitlock* und *Chen* bauten im Jahr 1978 die erste molekulare Pinzette, indem sie zwei Koffeinmoleküle über eine Diin-Brücke verknüpften<sup>32</sup>. Das Molekül besitzt somit eine starre Struktur mit zwei aromatischen und parallelen Seitenwänden, die über einen starren Spacer verbrückt sind. Sie beobachteten, dass dieses Molekül in der Lage ist, kleine aromatische Moleküle, wie z.B. 2,6-Dihydroxybenzoesäure, über  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen zwischen seinen Seitenwänden festzuhalten<sup>33</sup>. Somit legten sie die Grundbausteine für eine neue Art von Molekülen, welche als supramolekulare Wirte funktionieren können. Heutzutage werden molekulare Pinzetten als nichtzyklische Wirtmoleküle mit einer offenen Kavität definiert. Diese Kavität ermöglicht den molekularen Pinzetten ein Gastmolekül zu binden<sup>33</sup>. Folglich öffneten *Whitlock* und *Chen* die Türen in ein neues und vielversprechendes Forschungsfeld, in welchem seitdem viele molekulare Pinzetten maßgeschneidert synthetisiert wurden, um in ihrer Kavität ein gezieltes Gastmolekül einzuschließen.

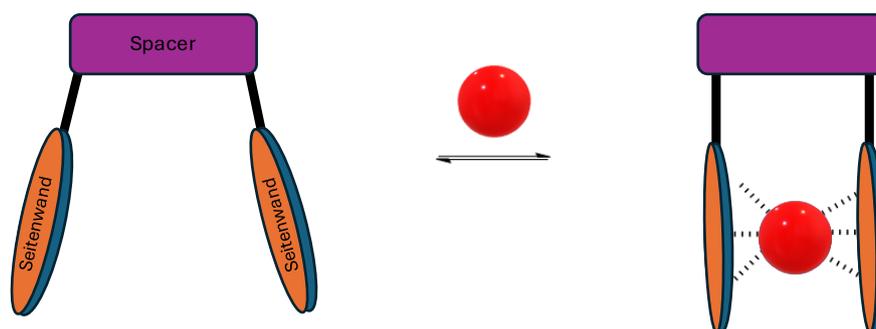
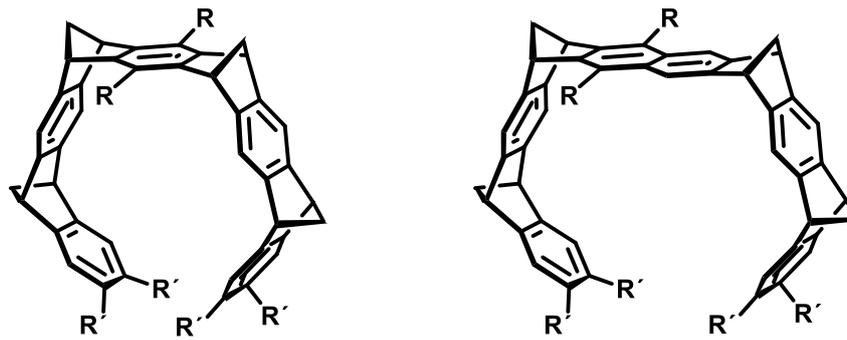


Abbildung 5: Schematische Darstellung einer molekularen Pinzette.

*Klärner et al.* entwickelten eine Art von molekularen Pinzetten, deren Struktur aus wechselnden aromatischen und Norbornadien-Einheiten besteht<sup>34</sup>. Diese Systeme weisen eine starre konkave Struktur auf. Während die Norbornadien-Einheiten für eine gewisse Flexibilität des Systems sorgen, sind die aromatischen Einheiten für die elektronenreiche und apolare Eigenschaften der Kavität verantwortlich. Somit sind diese molekularen Pinzetten speziell zugeschnitten, um über mehrfache  $\pi$ - $\pi$ - und  $\pi$ -CH-Wechselwirkungen kleine aromatische Moleküle in ihrer Kavität einzuschließen<sup>35</sup>.



- |  |                          |
|--|--------------------------|
| 1. R = OMe,                                | R' = OCO <sub>2</sub> Me |
| 2. R = OMe,                                | R' = OH                  |
| 3. R = OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Et | R' = OH                  |

Abbildung 6: Molekulare Pinzetten nach Klärner.

Klärner und seine Mitarbeiter untersuchten ihre Pinzetten hinsichtlich ihrer Bindung und dem Einschluss gegenüber kleineren aromatischen Gastmolekülen wie 1,4-Dicyanobenzol und 1,4-Benzochinon<sup>34</sup>. In späteren Arbeiten untersuchten sie über <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie die Bindung aliphatischer und aromatischer kationischer Substrate. Ein Beispiel dafür stellt das Dibutylammoniumtetrafluoroborat dar. Durch die Zugabe der molekularen Pinzette zu einer vorbereiteten Dibutylammoniumtetrafluoroborat-Lösung beobachteten sie eine drastische Hochfeldverschiebung der aliphatischen Signale des Substrates. So konnten Klärner und Mitarbeiter zeigen, dass das Substrat tatsächlich in die Kavität ihrer Pinzette hineingefädelt wird<sup>36</sup> (Abbildung 7).

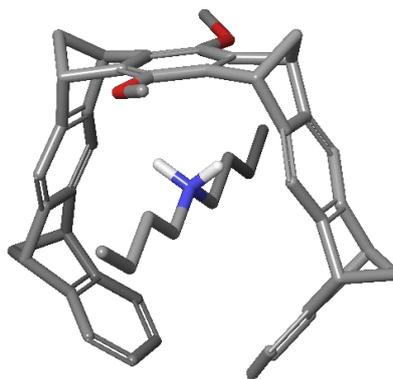


Abbildung 7: 3D-modelierte Darstellung der Pinzette nach Klärner. In der Kavität befindet sich das Dibutylammonium-Ion.

Durch die NMR-Experimente und die beobachteten Hochfeldverschiebungen der aliphatischen Signale der Substrate konnte belegt werden, dass Klärners Pinzette (engl. „Tweezer“) mit kationischen

Substraten in organischen Medien eine Wirt-Gast-Wechselwirkung selektiv eingehen kann<sup>34</sup>. Dies beruht auf den elektronischen und topologischen Eigenschaften des Tweezers, die den Einschluss des Substrats durch den hydrophoben Effekt begünstigen. Diese Art von Bindung an kationischen aliphatischen Resten spielte später in der Weiterentwicklung dieser molekularen Pinzetten eine entscheidende Rolle. Im Hinblick auf eine biologische Anwendung stellte nur noch die geringe Wasserlöslichkeit eine Herausforderung dar.

### 1.2.1 Weiterentwicklung der molekularen Pinzetten

*Klärners* Pinzetten dienten als *precursor* für eine unabdingbare Weiterentwicklung in der Forschung der molekularen Pinzetten. In Zusammenarbeit mit *Thomas Schrader* entwickelte *Klärner* im Jahr 2005 wasserlösliche Pinzetten, die bereits zahlreiche Anwendungen fanden<sup>37</sup>. Mit der Einführung polarer und ionischer Funktionalitäten, konnten sie die bislang wasserunlösliche molekulare Pinzette in Richtung der biologischen Anwendung vorantreiben.

Zunächst wurde die molekulare Pinzette symmetrisch funktionalisiert. Die Einführung von jeweils zwei Phosphonat-, Phosphat-, Sulfonat- und u.a. O-Methylencarboxylat-Gruppen erfolgte an der zentralen Spacer-Einheit<sup>37,38</sup>. Dadurch wurde die Pinzette wasserlöslich und zusätzlich wurde eine weitere Funktionalität für potenzielle elektrostatische Wechselwirkungen eingebaut. Dabei zeigten sich ebenfalls hohe Affinitäten zu primären und sekundären Ammoniumverbindungen. Bei sterisch anspruchsvolleren Verbindungen zeigte sich jedoch eher eine schwache Interaktion. Die Aminosäuren Lysin und Arginin stellen den besten Ansatz für eine Interaktion mit Biomolekülen wie Proteinen und somit eine biologische Anwendung dar. Lysin besitzt am Ende seiner Seitenkette eine Ammonium-, und Arginin eine Guanidiniumgruppe. Die weiterentwickelten molekularen Pinzetten zeigten sehr hohe Affinitäten gegenüber diesen beiden Aminosäuren. Im wässrigen Milieu zeigte sich eine etwa dreimal stärkere Affinität zu Lysin als zu Arginin<sup>37</sup>. Besonders starke Bindungsaffinitäten zeigte die Bisphosphat-Pinzette, später als CLR01 (clear 1) benannt. Diese hat Lysin gegenüber eine Dissoziationskonstante  $K_D$  von ca.  $62 \mu\text{M}$ <sup>38</sup>.

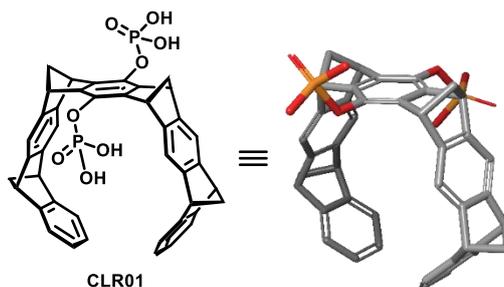


Abbildung 8: Die molekulare Pinzette CLR01.

Über NMR-Studien wurde ebenfalls nachgewiesen, dass die jeweiligen Alkyl-Seitenketten beider Aminosäuren sich in die elektronenreiche Kavität der Pinzette hineinfädeln. Dabei wurden die Hochfeldverschiebungen der aliphatischen Signale der Seitenketten festgestellt. Die Phosphatgruppen tragen über Salzbrücken mit einer Ammonium- bzw. Guanidiniumeinheit zur Stabilität der Bindung bei. Das Bindungsereignis wurde weiterhin mit verschiedenen Methoden untersucht. Eine wichtige Methode zur Charakterisierung ist die isothermale Titrationskalorimetrie (ITC). Die Untersuchungen ergaben die Komplexbildung eines 1:1 Systems zwischen beiden Molekülen. Diese Methode eignete sich als wichtiges Werkzeug hinsichtlich der Untersuchung der Reversibilität des Bindungsereignisses. Durch sie konnte festgestellt werden, dass Gastmoleküle in der Kavität der Pinzetten durch dipolare, aprotische Lösungsmittel-Moleküle verdrängt werden können. Als besonders geeignet stellten sich Dimethylsulfoxid und Acetonitril heraus<sup>37</sup>.

Diese Ergebnisse legten die Grundsteine für die biologische Anwendung der wasserlöslichen molekularen Pinzetten<sup>39-42</sup>. Das folgende Kapitel beschäftigt sich eingehender mit der Rolle von wasserlöslichen molekularen Pinzetten als supramolekulares Werkzeug, um Lysine und Arginine in Peptiden und auf Proteinoberflächen zu erkennen.

### 1.2.2 *State of the Art* - Erkennung basischer Aminosäuren auf Proteinoberflächen

Im Jahr 2018 führten *Schrader et al.* die asymmetrische molekulare Pinzette ein<sup>43</sup>. Diese wurde über eine Trichloroacetonitril-Reaktion an einer Phosphatgruppe mit einer Alkin-Funktionalität versehen<sup>43</sup>. Dies ermöglichte es, die Pinzetten durch eine Click-Reaktion mit Aziden mit weiteren Erkennungsmotiven, wie einzelnen Funktionalitäten, bis hin zu ganzen Peptidsequenzen, zu erweitern. Mit einer zusätzlichen Ausstattung konnte das Repertoire an verschiedenen spezifischen künstlichen Erkennungseinheiten erweitert werden.

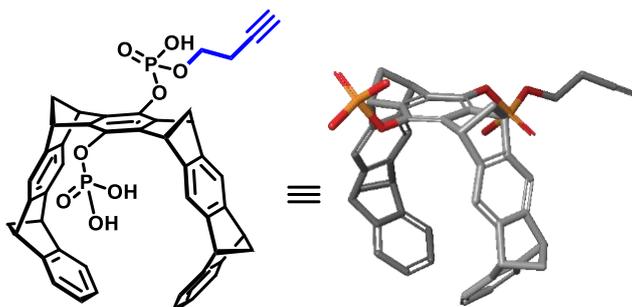


Abbildung 9: Die Monobutynylphosphatmonophosphat-Pinzette nach Schrader.

Über die Monobutynylphosphatmonophosphat-Pinzette kann eine höhere Spezifität und auch eine höhere Affinität in einer biologischen Anwendung erreicht werden. Mittels Kupfer(I)-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC) konnten bisher zahlreiche verschiedene Derivate hergestellt werden.

2020 führten *Meiners et al.* zwei strategische Ansätze ein, um die Eigenschaften des Tweezers hinsichtlich Bindungsspezifität und -affinität zu verbessern<sup>44</sup>. Im ersten Ansatz führten sie peptidische Motive und Fluorophore als rationales Design ein. Verschiedene Peptide lieferten ein zusätzliches Erkennungsmuster für die Proteinoberfläche und förderten die Spezifität der molekularen Pinzette<sup>21, 45, 46</sup>. Das Einführen von Fluorophoren (die entweder direkt an der Pinzette oder indirekt als Markierung auf einer Erkennungseinheit implementiert wurden) erleichterte die Nachverfolgung in Zellkulturexperimenten. Zudem wurde so die Durchführung von Bindungsstudien wie Fluoreszenzpolarisationstests ermöglicht. Dem zweiten strategischen Ansatz folgend, haben *Meiners et al.* multivalente Strukturen erzielt. Hierfür synthetisierten sie Azid-funktionalisierte ultrakleine Goldnanopartikel, die sie über Kupfer-Click-Reaktion mit Pinzetten versehen haben. Somit erhielten sie die erste multivalente Pinzettenstruktur mit definierter Geometrie und Größe<sup>47</sup>.

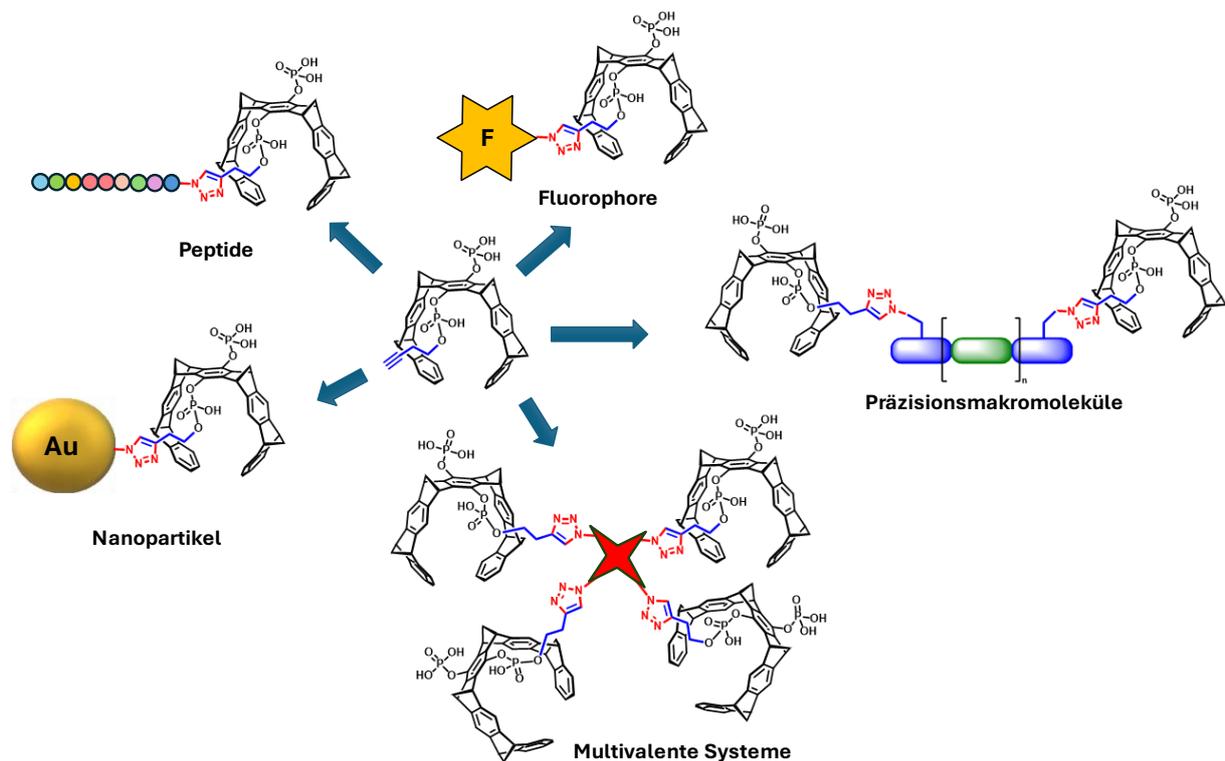
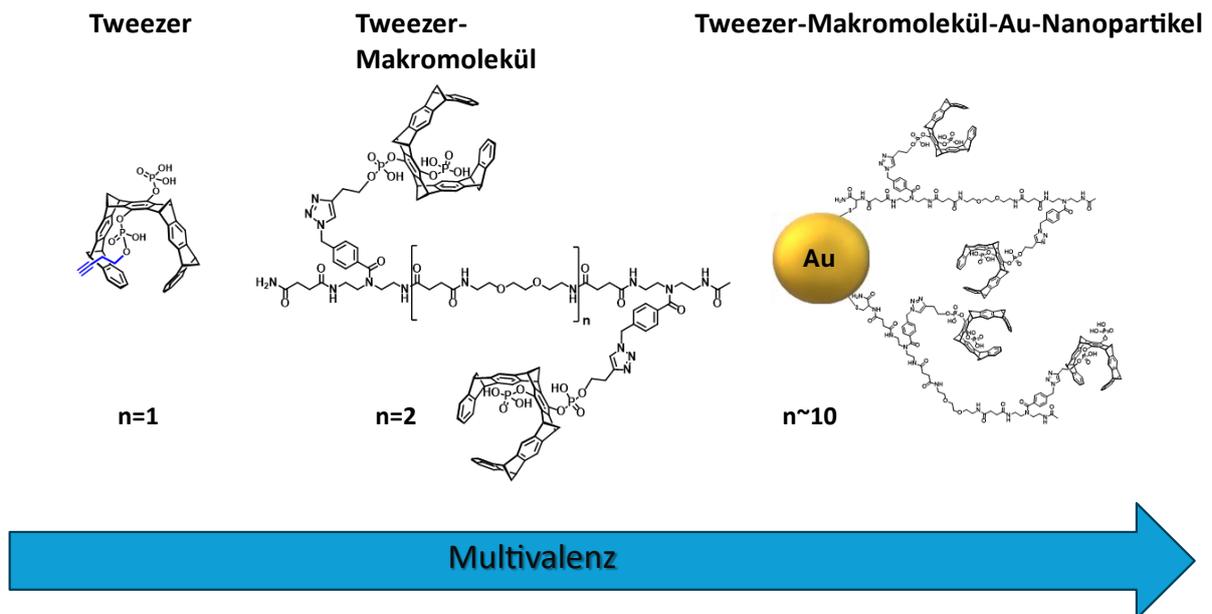


Abbildung 10: Erweiterung der molekularen Pinzette nach Schrader über verschiedene Ansätze für eine höhere Spezifität und Affinität der Bindung auf Proteinoberflächen.

Das Konzept der Multivalenz zusammen mit einer definierten Geometrie und Größe wurde von Seiler *et al.* weiter erforscht. Sie stellten zur Inhibierung der *Survivin*/CRM1-Interaktion, sechs spezifische und hochavide Tweezer-Derivate her. Dies gelang ihnen mit einer zweifachen Präsentation des Tweezer-motifs über sequenzdefinierte makromolekulare Gerüste. Die Synthese der sequenzdefinierten Peptidmimetika gelang über die von Hartmann *et al.* etablierte Festphasenpolymersynthese. Diese ermöglicht die individuelle Einstellung struktureller Parameter wie Interligandenabstand, Gesamtlänge des Makromoleküls und der Hydrophilie durch die Verwendung von maßgeschneiderten monomeren Bausteinen<sup>48</sup>. Die Anbringung der Tweezer-motive erfolgte ebenfalls mittels Kupfer-katalysierter Azid-Alkin-Cycloaddition. Ihnen gelang es ebenfalls die sequenzdefinierten makromolekularen Pinzetten auf ultrakleine Goldnanopartikel anzubringen, sie mit einem Fluorophor zu markieren und somit ihre Verbindungen in intrazellulären Experimenten nachzuverfolgen<sup>49</sup>.



**Abbildung 11:** Aufbau von multivalenten Tweezer-Systemen über Präzisionsmakromoleküle bis hin zu ultrakleinen Goldnanopartikeln in Anlehnung an Seiler<sup>14</sup>.

In den letzten Jahren wurden viele verschiedene Derivate der ursprünglichen molekularen Pinzette CLRO1 synthetisiert. Dabei wurden Hybridmoleküle hergestellt, die verschiedene Bindungsmotive trugen, von anderen Aminosäuren-Erkennungseinheiten bis hin zu ganzen Peptidsequenzen. Das Ziel einer höheren Affinität wurde über den Ansatz der Multivalenz erreicht. Zahlreiche multivalente Gerüste wurden hergestellt, wodurch weitere biologische Untersuchungen durchgeführt werden konnten, um einen potenten PPI-Inhibitor zu finden<sup>27, 50</sup>.

Diese Arbeit beschäftigt sich mit einer neuen Herausforderung in der Forschung der molekularen Pinzetten. Da in der Vergangenheit die Inhibition einer PPI als ein statisches Ereignis wahrgenommen wurde, fokussiert sich diese Arbeit auf das Einbringen einer Dynamik in den Erkennungsprozess eines Protein-Hot-Spots. In den folgenden Kapiteln wird näher darauf eingegangen.

### 1.3 Dynamik und Licht in der supramolekularen Chemie und Biologie

In den bisher genannten Arbeiten wurden erstaunliche Fortschritte auf dem Gebiet der supramolekularen Chemie von Proteinen erreicht. Dabei wurde der Fokus auf das Bindungsereignis zwischen Proteinen bzw. zwischen Ligand und Protein gelegt. Alle zellulären Prozesse sind jedoch hochdynamisch und werden durch vorübergehend auftretende Protein-Protein-Wechselwirkungen gesteuert, wodurch sie unter dem Begriff der Proteindynamik zusammengefasst werden können. Die Proteindynamik bezieht sich auf die Bewegungen und Veränderungen von Proteinen im Raum. Darunter fallen beispielsweise Konformationsänderungen oder molekulare Bewegungen, wie Proteinfaltung und Proteolyse<sup>51-54</sup>. Ein konsequenter nächster Schritt, um die Entwicklung der supramolekularen Chemie an Proteinen voranzutreiben, besteht daher in der Entwicklung von supramolekularen Liganden mit dynamischen Bindungsmotiven. Diese Liganden können dazu beitragen, die Dynamik biologischer Prozesse besser zu verstehen.

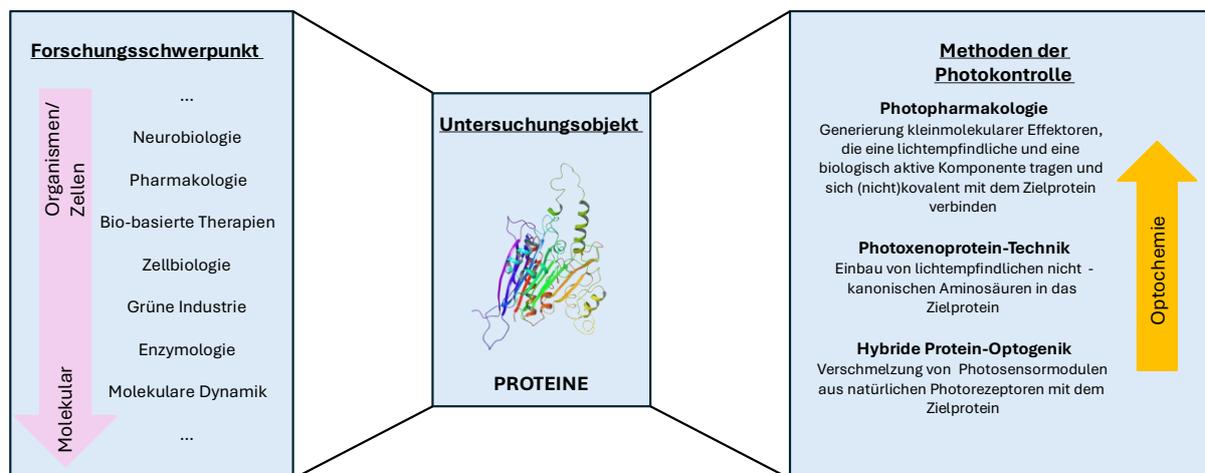
Eine große Herausforderung stellen Fortschritte in der molekularen und supramolekularen Organisation dar. In anderen Worten, es wurde eine Kontrolle über den molekularen bzw. supramolekularen Aufbau eines Systems erstrebt. Mit diesem Ziel wurden in dem letzten Jahrhundert die Einwirkung von Umgebungsfaktoren intensiv erforscht. Einige Beispiele dieser Faktoren sind: pH-Wert, Redoxpotential, elektromagnetische Felder und Licht.

Licht spielt in der Natur eine entscheidende Rolle, da es verschiedene wesentliche Prozesse in Organismen anregt<sup>55</sup>. Beispiele dafür sind die Phototaxis, also die Wanderung von Organismen in Richtung Licht<sup>56</sup>, Phototropismus, welches das Wachstum von Pflanzen in Richtung Licht darstellt, Photosynthese, die Umwandlung von Lichtenergie in chemische Energie<sup>57</sup> sowie das Sehen bei Tieren und Menschen<sup>58</sup>. Die wesentlichen Schritte dieser Reaktionen werden von Chromophoren vermittelt, die in eine Proteinumgebung integriert sind. Diese Chromophore und ihre Wirtsproteine unterliegen lichtinduzierten Konformationsänderungen, die spezifische zelluläre Reaktionen auslösen<sup>59</sup>. Inspiriert von diesen natürlichen Prozessen wurden verschiedene Strategien entwickelt, um beispielsweise Proteinaktivitäten, wie die Katalyse von Enzymen, unter die Kontrolle von Licht zu stellen. Diese Strategie bietet die Möglichkeit einer Regulierung biologischer Prozesse und hat eine Reihe von Vorteilen<sup>60</sup>. Einer davon ist, dass Licht nicht invasiv ist. Das bedeutet, dass es kaum Verunreinigungen hinterlässt. Zudem können die Wellenlänge und Intensität sehr präzise eingestellt werden, wodurch ein hohes Maß an Genauigkeit ermöglicht wird.

In der Literatur sind verschiedene photochemische Vorgänge beschrieben: E/Z-Isomerisierung, Tautomerisierung, Cyklisierungen, sowie heterolytische und homolytische Spaltungsreaktionen. Diese Reaktionen sind besonders interessant, da durch die Verwendung von Licht, diesen reversiblen

physikalischen Prozessen ganz ohne Verunreinigungen ablaufen können. Eines der bekanntesten Beispiele aus der Natur ist das Molekül Retinal<sup>61</sup>. Dies ist ein Chromophor, welcher an das G-Protein gekoppelten Rezeptor (GPCR) Rhodopsin im menschlichen Auge gebunden ist und auf Licht reagiert. Wenn Licht auf das Auge trifft, isomerisiert das Z-Retinal zu E-Retinal und der Rezeptor wird aktiviert<sup>62</sup>. Die nachgeschaltete Wirkung der Isomerisierung generiert ein neuronales Signal, das verarbeitet und als Sehkraft wahrgenommen wird<sup>63</sup>. Somit dienen die vielfältigen Architekturen natürlicher Strukturen und Funktionen natürlicher lichtabsorbierender kleiner Moleküle als Inspiration für künstliche, lichtresponsive Moleküle<sup>62</sup>.

Licht bietet eine dynamische Kontrolle mit einem hohen Maß an räumlicher und zeitlicher Auflösung, was für jeden dieser Prozesse von größter Wichtigkeit ist. In den letzten Jahren wurde diese Eigenschaft des Lichts ausgenutzt, um verschiedene biologische Systeme künstlich zu steuern<sup>64-66</sup>. Eines der wichtigsten Ziele für die Umsetzung der künstlichen Photokontrolle sind Proteine<sup>55</sup>, da sie Schlüssel-moleküle des Lebens sind. In der nachfolgenden Abbildung wird ein kurzer Überblick über einige Methoden zur Photokontrolle der biologischen Aktivität von Proteinen dargestellt.



**Abbildung 12: Übersicht von modernen Methoden zur Photokontrolle von biologischer Aktivität von Proteinen. (In Anlehnung an Kneuttinger<sup>55</sup>)**

Die künstliche Steuerung biologischer Prozesse über Bestrahlung mit Licht ist ein beliebtes Forschungsgebiet unserer Zeit<sup>67</sup>. Bisher wurden drei grundlegende Strategien für die Lichtregulierung biologischer Prozesse angegangen: Schlüsselpositionen wurden mit photolabilen Schutzgruppen funktionalisiert<sup>68</sup>, natürlich vorkommende Photorezeptoren wurden ausgenutzt und eingesetzt<sup>69</sup> und entworfene Moleküle, die durch Bestrahlung mit spezifischen Wellenlängen reversibel geschaltet werden können (Photoschalter), wurden zur Steuerung und Regulierung von Proteinfunktionen verwendet<sup>60</sup>. Ein Beispiel

stellen die erheblichen Fortschritte bei der Regulierung neuronaler Aktivitäten durch die Entwicklung photoschaltbarer Liganden für Ionenkanäle und Rezeptoren<sup>70, 71</sup> dar. Da die molekulare Erkennung spezifischer Ligandenanteile zu einer nichtlinearen Signalantwort neuronalen Systemen führt, beeinflussen selbst kleine Änderungen der Bindungseffizienz bei Lichteinstrahlung die zelluläre Leistung erheblich<sup>72-75</sup>. Im Gegensatz dazu muss für eine reversible Kontrolle der enzymatischen Aktivität das Schalten einer photosensitiven Gruppe das aktive Zentrum des Enzyms erheblich beeinflussen. Dies kann entweder durch den kovalenten Einbau eines Photoschalters in der Nähe des katalytischen Zentrums<sup>76</sup>, oder durch die Entwicklung eines nicht kovalent-gebundenen, lichtgesteuerten Inhibitor erfüllt werden<sup>77</sup>. Diese Liganden können so entworfen werden, dass sie in Abhängigkeit von Licht, zwischen Konfigurationen mit niedriger und hoher Affinität wechseln<sup>61</sup>. Es gibt zwei Hauptgruppen von Chromophoren die ihre Anwendung in diesem Bereich finden: das Diarylethengerüst, welches eine reversible konrotatorische Cyklisierungsreaktion eingeht<sup>78</sup>, und die Azoverbindungen, die zwischen *E*- und *Z*-Konfigurationen isomerisieren können<sup>79</sup>. In den folgenden Kapiteln wird auf die bereits erwähnten Azoverbindungen und ihre photophysikalischen Eigenschaften näher eingegangen.

### 1.3.1 Azobenzole

Azobenzol ist die einfachste aromatische Azoverbindung. Sie besteht aus zwei Phenylgruppen, die über eine Azobrücke miteinander verknüpft sind. Seit ihrer Entdeckung in den 1830er Jahren<sup>80</sup>, später in 1939 als *Hartley* die E-Z-Isomerisierung beschrieb<sup>81</sup> bis hin zur heutigen Zeit, wurden Azobenzol und seine Derivate als photoresponsive funktionelle Bauelemente verwendet, sowohl in der Forschung, wie auch in der Industrie<sup>82</sup>. Einige Beispiele dafür sind: als intelligente Polymere<sup>83</sup>, Flüssigkristalle<sup>84, 85</sup>, molekulare Schalter<sup>86</sup> und molekulare Maschinen<sup>87</sup>. Seit ihrer Entdeckung haben Azobenzol und seine Derivate eine große Aufmerksamkeit erhalten. Eine besondere Eigenschaft von Azobenzol besteht darin, dass es über den Einfluss von Licht, in zwei Isomeren Formen überführt werden kann. Aufgrund ihrer besonderen physikochemischen Eigenschaften und ihren vielfältigen Einsatzmöglichkeiten, sind Azobenzole die bisher meistuntersuchten Photoschalter<sup>86</sup>.

Im Jahr 1939 beobachtete *Hartley* einen Mangel an Reproduzierbarkeit bei Absorptionsmessungen, wenn Azobenzol Licht ausgesetzt wurde. Durch sorgfältige und aufwendige Extraktion gelang es ihm das Z-Isomer zu isolieren und zu untersuchen. Die Spektren der beiden Isomere sind trotz einer Überschneidung, deutlich unterschiedlich. Das *E*-Isomer zeigt eine schwache  $n-\pi^*$ -Bande bei 440 nm und einen starken  $\pi-\pi$ -Übergang bei 320 nm. Das Z-Azobenzol hat eine stärkere  $n-\pi^*$ -Bande ebenfalls bei 440 nm und kürzere Wellenlängen bei 280 nm und 250 nm<sup>86</sup>. Der Unterschied zwischen den beiden Isomeren wird am besten deutlich, wenn man die UV/Vis-Spektren und die Darstellung des Molekülorbitaldiagramms des unsubstituierten Azobenzols betrachtet. Abbildung 13 zeigt stellt die Isomerisierung des unsubstituierten Azobenzols, sowie die Orbitalabstände im MO-Diagramm und die Absorptionsspektren beider Isomeren bildlich dar.

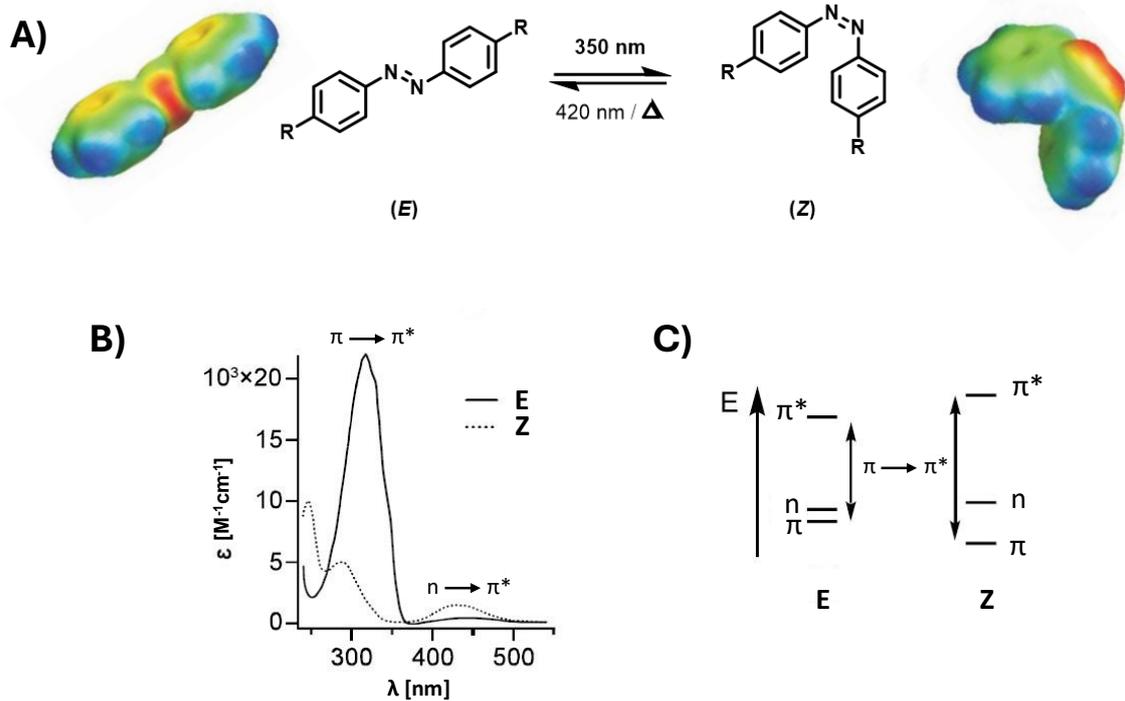


Abbildung 13: A) Unsubstituiertes Azobenzol schaltet mit 350 nm Licht E  $\rightarrow$  Z. Die Rückisomerisierung Z  $\rightarrow$  E kann mit 420 nm Licht erreicht werden. Die Elektronendichteverteilung von Azobenzol im E- und Z-Isomer zeigt die unterschiedlichen Eigenschaften der beiden Isomere. rote Bereiche zeigen eine hohe Elektronendichte an, blaue eine niedrige. Das Z-Isomer hat im Vergleich zum E-Isomer ein höheres Dipolmoment und einen geringeren End-zu-Ed-Abstand (In Anlehnung an Müller<sup>62</sup>). B) UV/Vis-Spektrum von Azobenzol in Ethanol, das den Unterschied in der Absorption zwischen den beiden Isomeren verdeutlicht (In Anlehnung an Müller<sup>62</sup>). C) MO-Schema zum Vergleich beider Isomere. Das E-Isomer hat einen geringeren  $\pi$ - $\pi^*$ -Abstand und einen größeren  $n$ - $\pi^*$ -Abstand. Die allgemeine Position der Orbitale auf der Energieskala liegt etwa zwischen -2 und -6 eV. (In Anlehnung an Beharry<sup>86</sup>, Hecht<sup>88</sup> und Müller<sup>62</sup>)

Das UV-/Vis-Absorptionsspektrum von E-Azobenzol ist durch drei Hauptbanden gekennzeichnet: 1) die Bande bei 228 nm stammt von  $\pi$ - $\pi^*$ -Übergängen, die an den Phenylgruppen lokalisiert sind; 2) die Bande bei 318 nm stammt von symmetrieerlaubten  $\pi$ - $\pi^*$ -Übergängen, die durch das Molekül einschließlich der beiden Stickstoffatome delokalisiert sind; und 3) die Bande bei 440 nm stammt von symmetrieverbotenen  $n$ - $\pi^*$ -Übergängen, die an den zentralen Stickstoffatomen auftreten<sup>79</sup>.

Das E-Isomer ist thermodynamisch um 50 kJ/mol stabiler als das Z-Isomer<sup>86</sup>. Folglich führen die unterschiedlichen räumlichen Anordnungen zu unterschiedlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften. Die E- zu Z-Photoisomerisierung von Azobenzol führt zu einer Änderung des Dipolmoments ( $\mu_{\text{E-Azobenzol}} = 0,5 \text{ D}$ ;  $\mu_{\text{Z-Azobenzol}} = 3,1 \text{ D}$ ), was wiederum die hydrophobe und hydrophile Natur der E- und Z-Isomere bestimmt<sup>79</sup>. Die Struktur des E-Azobenzols hat einen Flächenwinkel N,N,C,C von etwa 17,5°, während einer der Benzolringe des Z-Isomers eine Ebene einnimmt, die um 56° gegenüber der Ebene des anderen Rings geneigt ist. Somit betragen die Abstände zwischen den beiden Kohlenstoffatomen in der 4- und 4'-Position jeweils ca. 9 und ca. 5 Å für das E- bzw. Z-Isomer<sup>79</sup>. Abbildung 14 stellt die genannten strukturellen Unterschiede zwischen E beiden Isomeren bildlich dar.

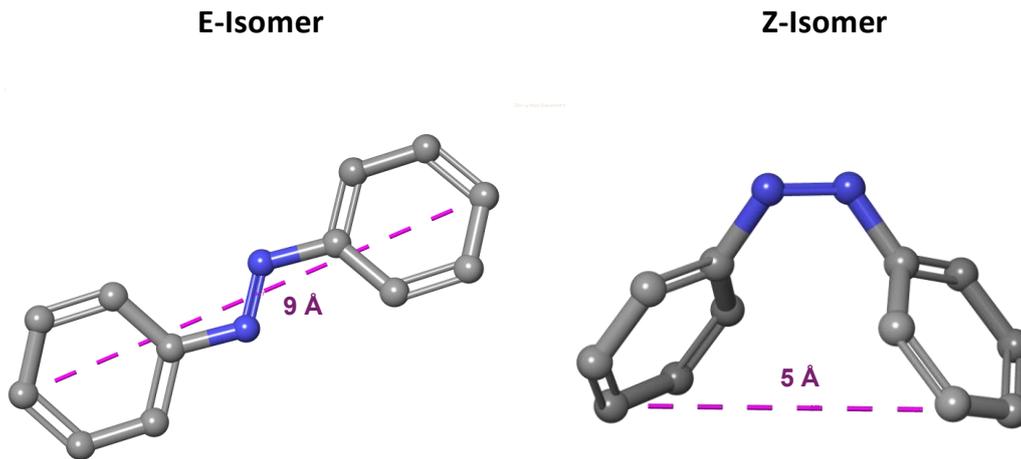


Abbildung 14: Darstellung der beiden isomeren Formen von Azobenzol.

In der Anwendung als Photoschalter sollten Azobenzole ihre Umgebung je nach ihrem isomeren Zustand unterschiedlich beeinflussen können. Das grundlegende Ziel, die E/Z-Isomerie als Schalter für "Ein" und "Aus"-Zustände auf Einzelmolekülebene zu nutzen, erfordert eine äußerst effiziente Isomerisierung, um tatsächliche Auswirkungen in der Praxis zu erzielen. Allerdings geht unsubstituiertes Azobenzol in Lösung bei Bestrahlung mit einer Wellenlänge von 340 nm nur zu etwa 80 % in das Z-Isomer und bei Bestrahlung in Lösung mit einer Wellenlänge von 440 nm nur zu etwa 70 % in das E-Isomer über<sup>62</sup>. Solche Isomerenverhältnisse, die unter sättigender Beleuchtung bei einer bestimmten Wellenlänge (d.h. im Gleichgewicht der Photoisomerisierungsarten in beide Richtungen) erreicht werden, werden als photostationäre Zustände<sup>89</sup> (engl. *photostationary state*, PSS) bezeichnet. Die PSS hängen vom Verhältnis der Extinktionskoeffizienten für die Isomere und den Quantenausbeuten der Isomerisierung ab. Die Effizienz und Vollständigkeit von E/Z-Isomerisierungen werden in praktischen Anwendungen auch durch weitere Parameter begrenzt. Die Z-Isomere des Azobenzols sind normalerweise metastabil, sodass die thermische Relaxation zu ihren E-Isomeren je nach Betriebstemperatur und der energetischen Barriere zwischen den beiden Zuständen ebenfalls berücksichtigt werden muss<sup>90</sup>. Auch die Bestrahlung von Proben kann Komplikationen mit sich bringen. Die Absorption und Streuung von Licht können die genaue Anwendung von Sättigungslichtintensitäten behindern, und nicht alle Umgebungen tolerieren eine Bestrahlung, insbesondere mit UV-Licht, ohne erhebliche Schäden wie Nebenreaktionen oder den Abbau bestimmter Komponenten zu erleiden. Insgesamt sind Strategien erforderlich, um die Absorptionseigenschaften der Isomere (und der PSS) sowie die thermische Halbwertszeit des metastabilen Isomers zu optimieren, um die volle Kontrolle über die Leistung des Azobenzols als Photoschalter zu verbessern<sup>91</sup>. Eine der einfachsten Methoden ist die Modifizierung des Substitutionsmusters eines Azobenzols, wobei Para- und Ortho-Substitutionen die effektivsten sind, da sie elektronisch am direktesten mit der Azobrücke interagieren.

Das grundlegende Ziel, die E/Z-Isomerie als Schalter für "Ein" und "Aus"-Zustände auf Einzelmolekülebene zu nutzen, erfordert eine äußerst effiziente Isomerisierung, um tatsächliche Auswirkungen in der Praxis zu erzielen. Mit diesem Ziel wurden nicht nur Azobenzole intensiv untersucht und optimiert. Ebenfalls wurden andere Verbindungsklassen erforscht, um bessere photoschaltbare Systeme für eine mögliche praktische Anwendung zu erzielen. Einige Beispiele dafür sind Arylazoisoxazole<sup>92</sup>, Arylazopyridine<sup>93</sup>, Diazocine<sup>94</sup> und Arylazopyrazole<sup>95</sup>.

### 1.3.2 Arylazopyrazole

Molekulare Photoschalter werden aufgrund ihrer chemischen und photophysikalischen Eigenschaften häufig in verschiedenen Bereichen der Chemie eingesetzt. Ein prominentes Beispiel sind die oben genannten Azobenzole, die leicht synthetisiert und funktionalisiert werden können. Sie besitzen hohe Quantenausbeuten sowie Extinktionskoeffizienten. Dies zusammen mit ihrer besonderen Eigenschaft, unter Lichteinwirkung ihre chemische Struktur von dem E-Isomer zum Z-Isomer verändern zu können, macht sie zu einem hervorragenden Grundbaustein für die Untersuchung dynamischer Systeme<sup>91</sup>. Bisher wurden Azobenzole erfolgreich für die photokontrollierte Faltung und Entfaltung von Proteinen und Peptiden<sup>96-98</sup>, als selbstorganisierende Monoschichten auf Gold und Silizium zur reversiblen Oberflächenbenetzung und Absorption<sup>99, 100</sup>, als auch als lichtresponsive Liganden für Nanopartikel<sup>101, 102</sup> eingesetzt.

Insgesamt wurde über eine Vielzahl an möglichen Anwendungen der Azobenzole berichtet, jedoch gibt es immer noch eine Reihe von Nachteilen, die ihre Verwendung für bestimmte Zwecke einschränken. Zum einen die unvollständige Photoschaltung in das jeweilige Isomer, aufgrund der Überschneidung der Absorptionsbanden in den Bestrahlungsbereichen. Zum anderen das metastabile Z-Isomer, welches eine kurze Halbwertszeit aufweist und sich relativ schnell thermisch in das E-Isomer zurückschaltet.

In den letzten 20 Jahren sind fünfgliedrige Azoheteroarene immer mehr in den Fokus der Forscher gerückt. Allerdings konzentrierte sich ein Großteil der Arbeiten über Azoheteroarene auf die Entwicklung von Donor-Akzeptor-Systemen mit starken nichtlinearen optischen und solvatochromen Eigenschaften<sup>103-106</sup>.

*Weston et al.* berichteten im Jahr 2014 über eine neue Klasse von vielversprechenden photoschaltbaren Azoheteroarene, den Arylazopyrazolen (AAPs) (Abbildung 15), die sie in ihren photophysikalischen Eigenschaften intensiv untersucht haben<sup>107</sup>.

Ihre Arylazopyrazole weisen eine ziemlich hohe thermische Stabilität in Lösung bei Raumtemperatur ( $t_{1/2}$  bis zu 1000 Tagen) auf. Der große Abstand zwischen den  $\lambda_{\max}$  der jeweiligen Isomere ermöglicht eine sehr gute bis quantitative Photoschaltung. Der fünfgliedrige aromatische Ring ermöglicht ebenso eine höhere Stabilität des Z-Isomers. Durch Substitution am heterocyclischen Ring kann entsprechend die Z-Konfiguration sterisch eingestellt werden, welches im Fall der Azobenzole nicht möglich ist. Diese strukturellen Eigenschaften wirken sich erheblich auf die Intensität der  $n-\pi^*$ -Absorption aus, so dass die photophysikalischen und photochemischen Eigenschaften denen der Azobenzole überlegen sind<sup>107</sup>. Abbildung 15 zeigt das von *Weston* synthetisierte Arylazopyrazol und die lichtinduzierte Isomerisierung dieser Verbindung.

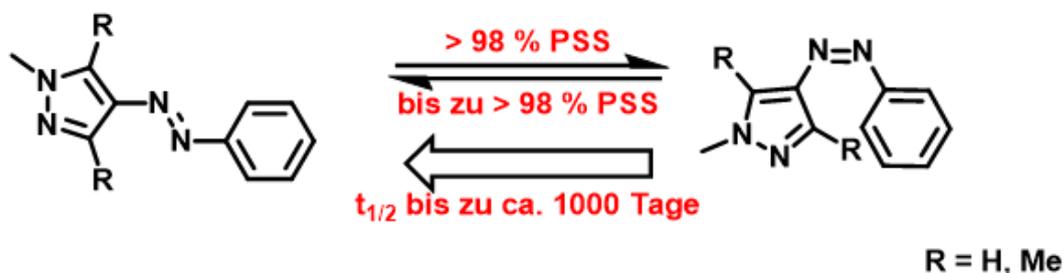


Abbildung 15: Schematische Darstellung von der Isomerisierung von Westons Arylazopyrazol. Die Verbindung konnte mit über 98 % in den jeweiligen photostationären Zuständen überführt werden. Die Halbwertszeit in Lösung bei Raumtemperatur betrug bis ca. 1000 Tage. (In Anlehnung zu *Weston*<sup>107</sup>) ("Reprinted (adapted) with permission from <sup>107</sup>. Copyright <sup>107</sup> American Chemical Society.").

Für ihre Untersuchungen entschieden sich *Weston et al.* dafür, zwei unterschiedliche Arylazopyrazol-Derivate herzustellen und miteinander zu vergleichen. In Abbildung 16 sind Arylazopyrazol **1** und **2** nach *Weston* dargestellt.

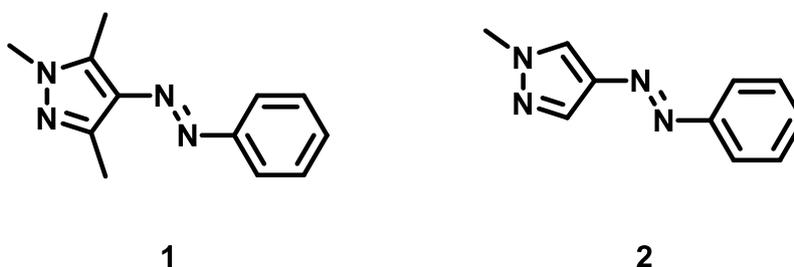


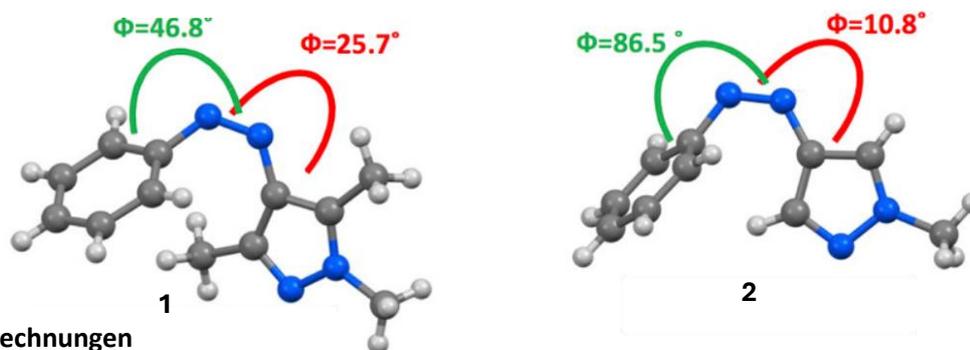
Abbildung 16: Darstellung von Arylazopyrazol **1** und **2** nach *Weston*<sup>107</sup>.

Als erstes betrachteten *Weston* und ihre Mitarbeiter die Anregung des  $\pi$ - $\pi^*$ -Übergangs beider Verbindungen. Sie beobachteten, dass bei einer Bestrahlung mit 355 nm eine vollständige Photoschaltung zum Z-Isomer (> 98 %) erreicht werden konnte. Das Z-Isomer von **1** zeigte eine stärkere  $n$ - $\pi^*$ -Extinktion (ca.  $0,23 \text{ } \epsilon/\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) als das E-Isomer (ca.  $0,096 \text{ } \epsilon/\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), während die  $n$ - $\pi^*$ -Extinktion von Z-**2** (ca.  $0,066 \text{ } \epsilon/\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) ähnlich wie die von E-**2** (ca.  $0,064 \text{ } \epsilon/\text{M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) war<sup>107</sup>. Durch Bestrahlung des Z-**1** mit  $\lambda = 532 \text{ nm}$  konnte wieder zu > 98 % in das E-Isomer zurückgeschaltet werden. So haben *Weston* und ihre Mitarbeiter gezeigt, dass Arylazopyrazol **1** quantitativ in beide Richtungen geschaltet werden kann<sup>107</sup>.

Weiterhin wurden ebenfalls „*Time-dependent density-functional theory*“-Berechnungen (TDDFT), zur Vorhersage der Auswirkungen des Flächenwinkels zwischen dem Pyrazolring und der Azobrücke auf die  $n$ - $\pi^*$ -Intensität, durchgeführt. Die Intensität zeigte für Arylazopyrazol **1** ein Minimum sowohl bei einer planaren Struktur, d.h.  $\Phi = 0, \pm 180^\circ$  als auch bei einer orthogonalen Konfiguration, d.h.  $\Phi = \pm 90^\circ$ <sup>107</sup>.

Zum Vergleich wurden ebenfalls Kristallstrukturaufnahmen beider Verbindungen im Z-Zustand angefertigt. Der Vergleich zwischen den TDDFT-Berechnungen und den Kristallstrukturaufnahmen wird in der nachfolgenden Abbildung dargestellt.

#### Kristallstrukturen



#### TDDFT-Berechnungen

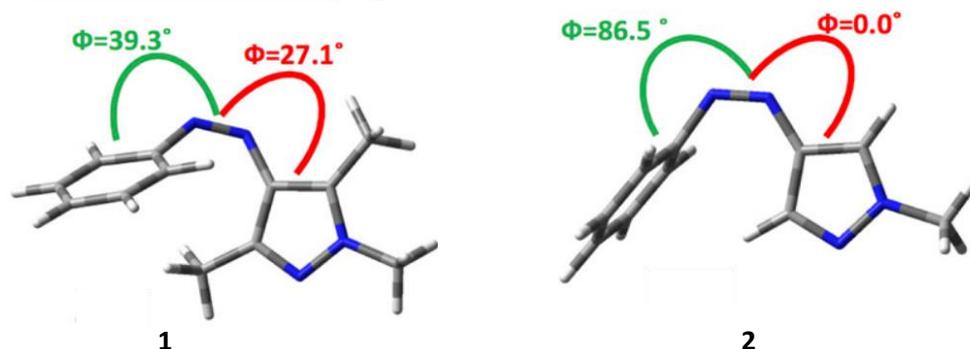


Abbildung 17: Vergleich der TDDFT-Berechnungen mit den erhaltenen Kristallstrukturen nach *Weston*<sup>107</sup> ("Reprinted (adapted) with permission from <sup>107</sup>. Copyright <sup>107</sup> American Chemical Society.").

In der Festkörperstruktur konnte ein  $\Phi_{(\text{NNhet})}$ -Dihedralwinkel von  $25,7^\circ$  für Z-1 beobachtet werden, welcher gut mit dem berechneten Wert von  $27,1^\circ$  übereinstimmte. Andererseits wurde ein  $\Phi_{(\text{NNhet})}$ -Dihedralwinkel von  $10,8^\circ$  für Z-2 beobachtet, während der errechnete Wert  $0,0^\circ$  ergab. Dieser Winkel zeigte trotzdem einen deutlichen Unterschied zum vorhergesagten Wert von Z-1<sup>107</sup>. Die Abstände zwischen dem Kohlenstoffatom in der 4-Position und der N-Methylgruppe betragen jeweils 9,91 und 7,11 Å für das E- bzw. Z-Isomer. In der nachfolgenden Abbildung werden die Abstände schematisch dargestellt.

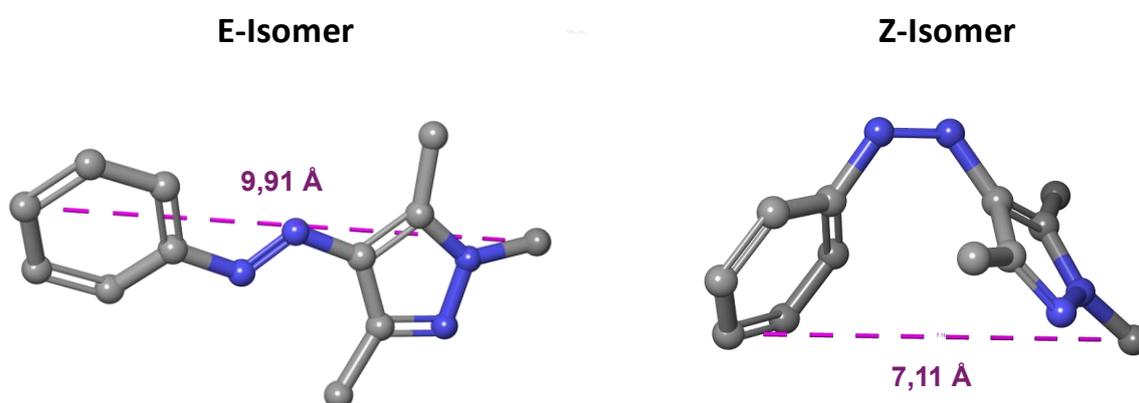


Abbildung 18: Darstellung der beiden isomeren Formen von Arylazopyrazol.

Das Hauptmerkmal der ausgezeichneten Schaltung von AAPs ist die erzwungene verdrehte Konfiguration des Z-Isomers durch die Methylgruppen am Pyrazol. Dies bricht die Symmetrie und erhöht die Intensität der  $n-\pi^*$ -Absorption. Dementsprechend absorbiert diese Bande bei Wellenlängen von  $\lambda > 500$  nm, bei denen das E-Isomer nicht absorbiert; dies ermöglicht eine exklusive  $n-\pi^*$ -Anregung<sup>108</sup>.

Ravoo und seine Mitarbeiter leisteten in den letzten Jahren ebenfalls hervorragende Arbeit in der Forschung der Arylazopyrazole. Ihnen gelang es eine Reihe an verschiedenen AAP-Derivaten herzustellen und systematisch ihre photophysikalischen Eigenschaften zu untersuchen. In der nachfolgenden Abbildung sind einige der ersten AAP-Derivate abgebildet, die von Ravoo *et al.* bereits erfolgreich synthetisiert wurden.

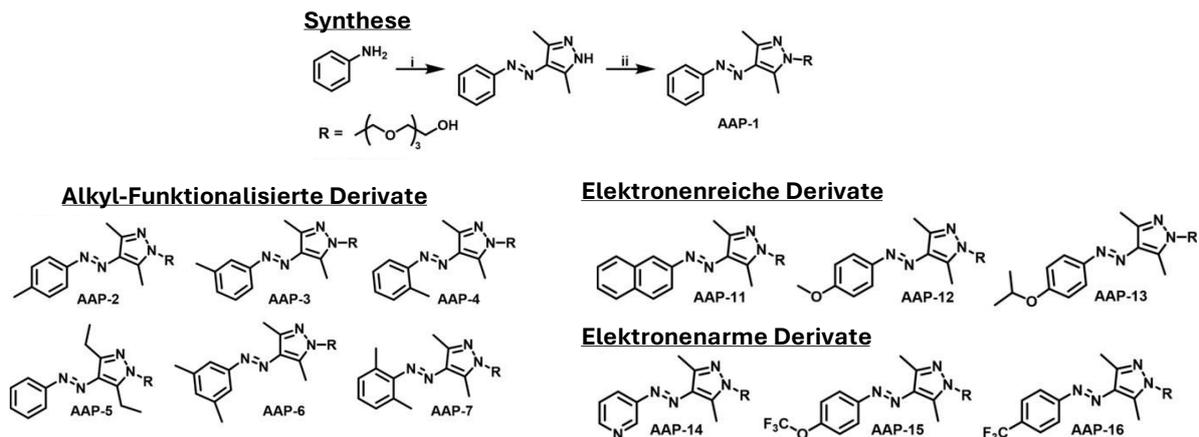
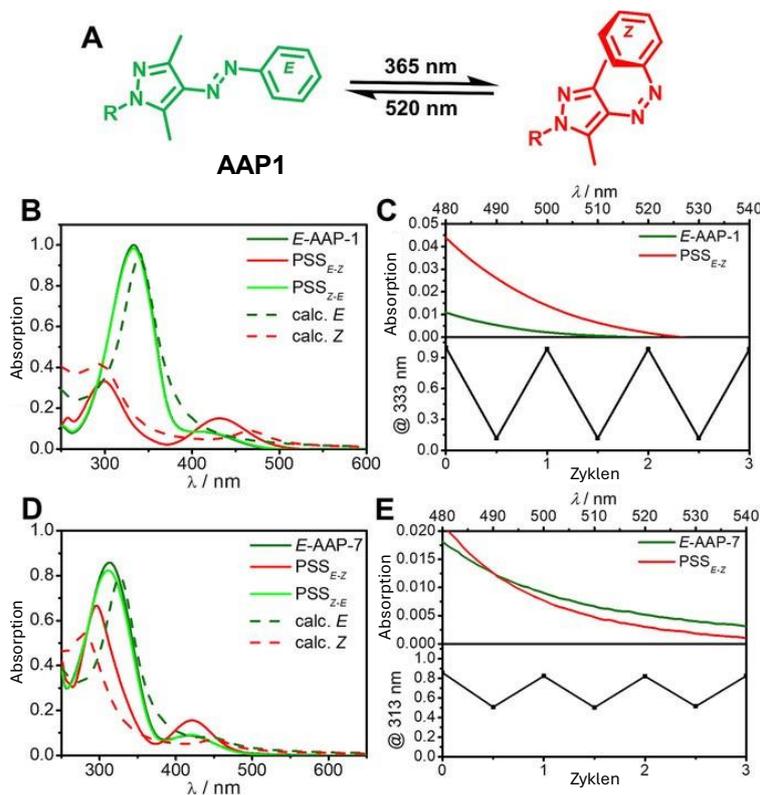


Abbildung 19: Schematische Darstellung der von *Ravoo et al.* synthetisierten AAP-Derivate. Links: AAPs mit Alkylresten; Rechts: AAPs mit elektronenreichen bzw. elektronenarmen Substituenten. (In Anlehnung an *Ravoo*<sup>108</sup>)

Sie untersuchten ihre AAPs mittels UV/Vis-Spektroskopie im Hinblick auf das Schaltverhalten und Absorptionsmaxima beider Isomere. In der nachfolgenden Abbildung wird die Isomerisierung von „AAP1“ dargestellt. Die erhaltenen Spektren wurden übereinandergelegt und entsprechen jeweils die Absorption des jeweiligen Isomers nach einer Photoschaltung über drei Zyklen (Abbildung 20 B). Zusätzlich sind ebenfalls die theoretischen Kurven aus DFT-Berechnungen (gestrichelte Linien) (Abbildung 20 C) zum Vergleich dargestellt.



**Abbildung 20:** Darstellung der Photoschaltung von „AAP1“ mittels UV/Vis-Spektroskopie. A) Licht-induzierte Isomerisierung von AAP1; B) Experimentelles normalisiertes und berechnetes UV/Vis-Spektrum der Photoisomerisierung von AAP-1; C) Oben: Absorption der beiden Isomere von AAP1 zwischen 480 und 540 nm. Unten: Schematische Darstellung der Zyklenabsorption von AAP1 bei 333 nm ( $c=35 \mu\text{mol}$ ). (In Anlehnung an *Ravoo*<sup>108</sup>)

Im Allgemeinen zeigten alle AAPs ein typisches Verhalten bei Bestrahlung mit UV-Licht ( $\lambda=365 \text{ nm}$ ) für die E-Z-Isomerisierung und grünem Licht ( $\lambda=520 \text{ nm}$ ) für die Z-E-Isomerisierung. Die UV-Bestrahlung führt zu einer Blauverschiebung und Intensitätsabnahme der  $\pi\text{-}\pi^*$ -Absorption, während die Intensität der  $n\text{-}\pi^*$ -Absorption zunimmt und für die meisten Verbindungen eine leichte Rotverschiebung aufweist, was für die Isomerisierung vom thermodynamisch stabilen E-Isomer zum Z-Isomer charakteristisch ist. Eine zweite Bestrahlung mit grünem Licht führt dazu, dass das ursprüngliche Spektrum mit mindestens 90 % der ursprünglichen Intensität wiederhergestellt wird.

Alle AAPs zeigten eine ausgezeichnete Photoisomerisierung, die für das Schalten in späteren multivalenten supramolekularen Systemen entscheidend ist. Darüber hinaus gelang es ihnen, die thermische Stabilität der AAPs über eine breite Zeitskala einzustellen, die von einigen Sekunden bis zu Tagen, Monaten und Jahren reicht. Alles in allem konnten sie die überlegenen Eigenschaften des molekularen Schalters auf AAP-Basis zeigen.

In dem nachfolgenden Kapitel wird auf das Vorkommen photoschaltbarer Proteinerkennung in der Natur und auf einige synthetische Beispiele, welche diese Prozesse nachahmen sollen, näher eingegangen.

## 1.4 Photoschaltbare Proteinerkennung

### 1.4.1 Natürliche Beispiele

In der Natur finden Wechselwirkungen auf mehreren Ebenen normalerweise an Grenzflächen statt<sup>109</sup>. Die Grenzflächenwechselwirkungen bei molekularer Erkennung und biologischen Funktionen sind jedoch sehr komplex<sup>110</sup>. Erkennungsereignisse auf molekularer Ebene, sowie physikalische und chemische Eigenschaften eines Systems zu verstehen und nachzuahmen, um spezielle Biofunktionen zu erreichen stellen eine große Herausforderung dar.

Das Leben hat im Laufe von Milliarden von Jahren der molekularen Erkennung und Evolution tausende von Systemen entwickelt und optimiert, um biologische Funktionen über nichtkovalente Wechselwirkungen anstelle von kovalenten Verbindungen zu erreichen. Diese basieren zum Beispiel auf Wasserstoffbrückenbindungen, welche eine entscheidende Rolle bei einer Reihe von Lebensprozessen, wie z.B. bei der Konformation und Aktivität von Proteinen oder der genetischen Expression, spielen. Chirale Wechselwirkungen treten an den Grenzflächen von Zellen, Geweben und Organen auf und regulieren so letztendlich Stoffwechselphänomene<sup>111, 112</sup>.

Des Weiteren haben stimuli-responsive Materialien, aufgrund der hervorragenden Reaktion ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften (z. B. chemische Zusammensetzung, topografische Struktur und Benetzbarkeit) auf externe Einflüsse (z. B. Temperatur, pH-Wert, Lösungsmittel, Licht, elektrisches Feld oder Adsorption und Freisetzung von Biomolekülen), großes Interesse bei biologischen Anwendungen geweckt<sup>113</sup>.

Ein wichtiges Beispiel aus der Natur für photoschaltbare Proteinerkennung findet sich bei den sogenannten „Lichtsensoren“, die Phytochrome. Diese sind Photorezeptoren, die in Pflanzen, Pilzen und Bakterien vorkommen und ein kovalent gebundenes Bilinmolekül als Chromophor enthalten. Das Bilin im photosensorischen Modul von Phytochromen existiert in rot- und fernrot-absorbierenden metastabilen Zuständen, zwischen denen das Licht reversibel umschalten kann. Die beiden Zustände korrespondieren mit unterschiedlichen Konformationszuständen des photosensorischen Moduls, die selektiv Proteine binden oder verknüpfte enzymatische Domänen aktivieren<sup>114</sup>. Bei *Arabidopsis thaliana*, auch als Acker-Schmalwand oder Gänserauke genannt, ist beispielsweise der rot-absorbierende Zustand der Grundzustand im Dunkeln, und der lichtinduzierte, weit rot-absorbierende Zustand ist der Signalzustand, der an Phytochrom-Interaktionsfaktoren (PIFs) bindet, die die Transkription bestimmter Gene aktivieren<sup>115</sup>. Dieser Prozess findet zum Beispiel bei der Samenkeimung vieler Pflanzen statt<sup>116</sup>. Phytochrome können in zwei verschiedenen Konfigurationen vorliegen: die aktive und die inaktive Form. Die inaktive Form besitzt ein Absorptionsmaximum bei 660 nm und die inaktive Form bei 730 nm. Die besonderen Absorptionseigenschaften des Proteins wurden bereits früh erkannt. Im Dunkeln

gewachsene Gewebe enthalten ausschließlich die physiologisch inaktive Form des Phytochroms. Wird das Gewebe mit hellrotem Licht bestrahlt, so geht das Phytochrom in die aktive Form über, wobei dieser Prozess sich ebenfalls durch Bestrahlung mit dunkelrotem Licht rückgängig machen lässt. Die biologischen Antworten der Proteinumgebung werden durch das Verhältnis von inaktiver Form/aktiver Form bestimmt. Die Konfigurationsänderung des Chromophors bei Bestrahlung erzeugt eine Strukturänderung des gesamten Proteins. Dabei wird die Kinase-Aktivität verändert. In Pflanzen werden dadurch z.B. aktive Domänen exponiert, die Signale für den Transport in den Zellkern und möglicherweise Interaktionsflächen für Partnerproteine tragen<sup>117</sup>. Das Phytochrom ist ein lineares Tetrapyrrol, welches über seine Ringe A, B und C an seine Umgebung fixiert ist. Nach Bestrahlung und Übergang in die aktive Form, kann eine Z/E-Isomerisierung der Doppelbindung zwischen C15 und C16 am D-Ring stattfinden. Durch die damit einhergehende Änderung der Konformation wird das gesamte Protein verändert und dadurch aktiviert. In der nachfolgenden Abbildung wird die Isomerisierung schematisch dargestellt<sup>118</sup>.

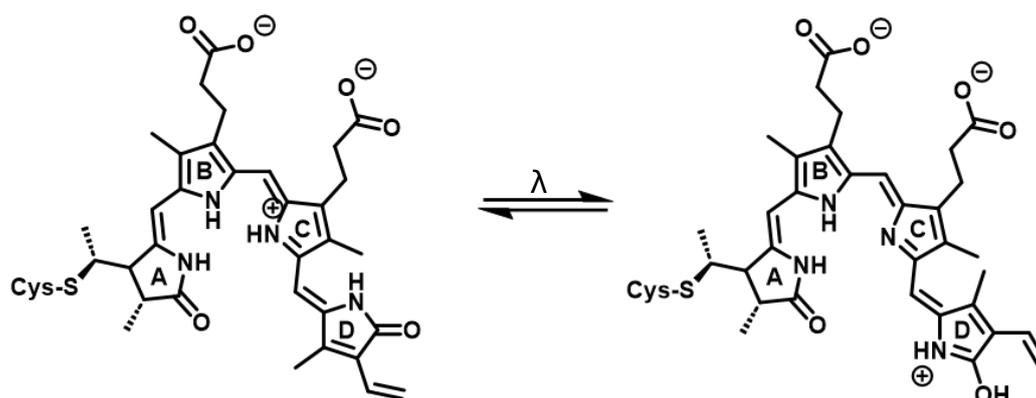
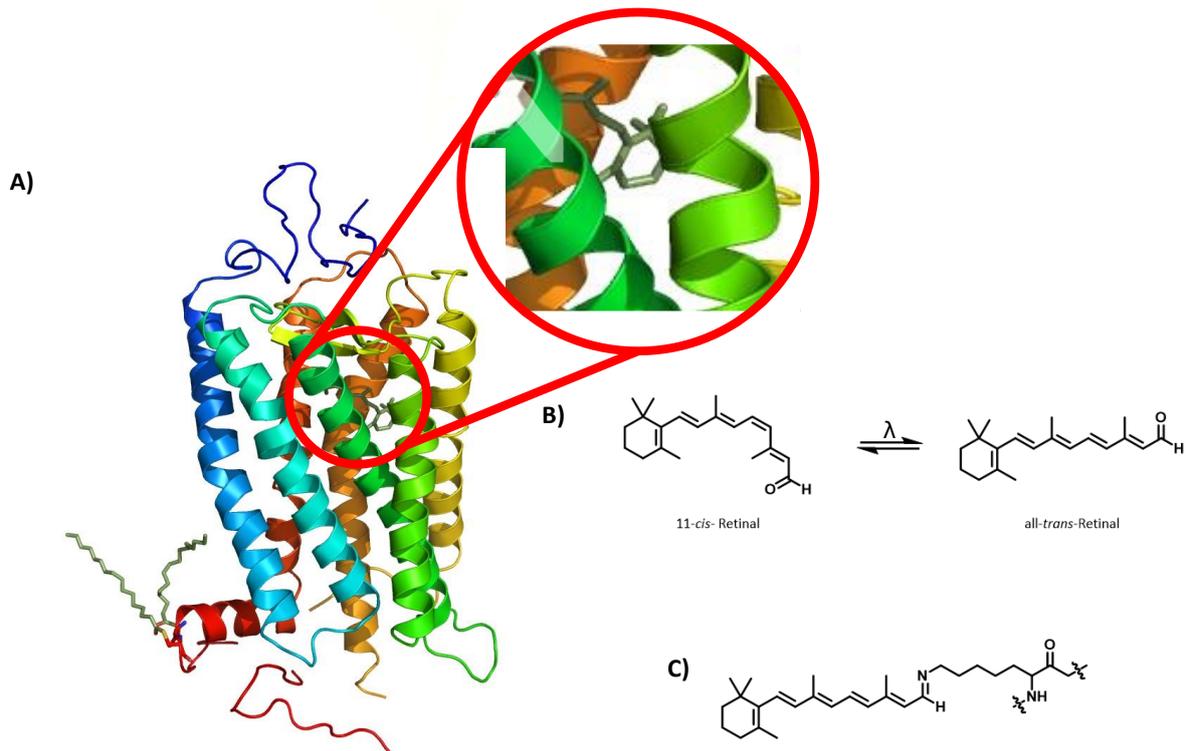


Abbildung 21: Schematische Darstellung der Z/E-Isomerisierung zwischen C15 und C16 und Aktivierung des Chromophors.

Ein weiteres Beispiel aus der Natur für photoschaltbare Proteinerkennung findet sich in den Augen von Wirbeltieren, insbesondere beim „Sehpurpur“, Rhodopsin. Dies ist ein lichtempfindliches Protein, welches in den Photorezeptorzellen der Netzhaut vorkommt. Rhodopsin besteht aus einem Proteinanteil, dem Stäbchen-Opisin (Skotopsin), einem Transmembranprotein, und dem kovalent gebundenen Chromophor 11-*cis*-Retinal<sup>119</sup>. Das Retinal ist als Imin an die  $\epsilon$ -Aminogruppe eines Lysin der 7. Transmembran-domäne gebunden. Rhodopsin ist jedoch nicht in die Zellmembran der Stäbchenzellen in der Netzhaut eingelagert, sondern befindet es sich in den Membranen scheibenförmiger Organellen im inneren der Zelle<sup>120</sup>. Die nachfolgende Abbildung stellt die Quartärstruktur von Rhodopsin und sein Chromophor 11-*cis*-Retinal bildlich dar.



**Abbildung 22:** A) Quartärstruktur von Rhodopsin. In der Mitte (hellgrau) ist das 11-*cis*-Retinal zu sehen. Dieser Bereich wurde zur besseren Veranschaulichung des Retinals vergrößert (nach PDB 1L9H). B) Photoisomerisierung des 11-*cis*-Retinals zu all-*trans*-Retinal. C) Retinal kovalent gebunden über Imin (Schiffsche Base) zum Lysin im Rückgrat des Proteins.

Rhodopsin besitzt, wie Phytochrome auch, eine aktive und eine inaktive Form. Das Absorptionsmaximum der inaktiven Form liegt bei 500 nm, und das der aktiven Form bei 530 nm<sup>121</sup>. Über die Absorption eines Photons innerhalb des richtigen Energiebereichs führt zu einer reversiblen Z/E-Isomerisierung zu all-*trans*-Retinal. Durch die Konfigurationsänderung des Retinals wird eine Reaktionskaskade ausgelöst, wobei intramolekulare Wechselwirkungen das gesamte Protein zu einer Konformationsänderung zwingen. So wird das Rhodopsin in einen „Meta II“-genannten metastabilen aktiven Zustand überführt. Dieser Prozess wird „Bleaching“ genannt, da das Protein über die Aktivierung seine rötliche Farbe verliert. Die veränderten funktionalen Eigenschaften von aktiviertem Rhodopsin sind die Basis für eine Reihe rasch stattfindender Veränderungen in der Zelle<sup>119</sup>. Durch diesen Prozess wird ebenfalls in der Netzhaut das G-Protein Transducin aktiviert. Dies löst die visuelle Signaltransduktion aus. Die Signaltransduktion bildet eine Reaktionskaskade, bei der die anfängliche Erregung moduliert und erheblich verstärkt wird. Dieser Prozess führt letztendlich zur Generierung eines elektrischen Signals, das über Nervenzellen bis zum visuellen Zentrum des Gehirns weitergeleitet wird<sup>122</sup>. Dieser Mechanismus der photoschaltbaren Proteinerkennung im Auge ermöglicht es Wirbeltieren, auf Lichtreize zu reagieren

und visuelle Informationen aus ihrer Umgebung zu verarbeiten. Es ist ein grundlegendes Beispiel dafür, wie Organismen Licht als Signal nutzen, um ihre Umgebung wahrzunehmen und darauf zu reagieren.

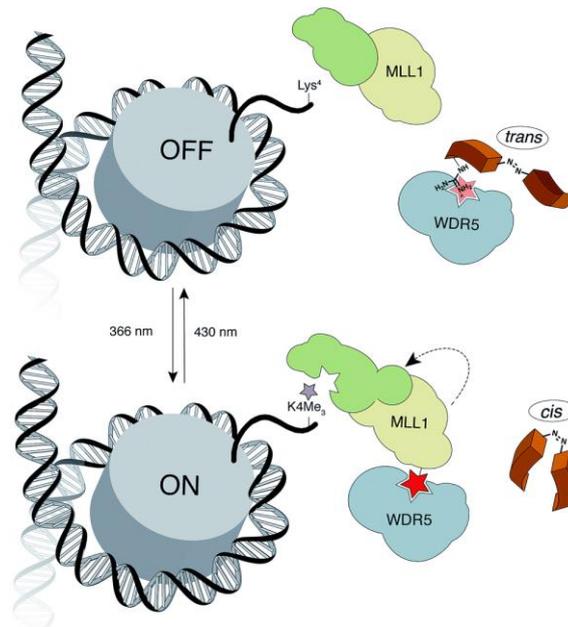
#### 1.4.2 Synthetische Beispiele

In der Natur gibt es zahlreiche biochemische Prozesse, die durch Licht beeinflusst werden, Beispiele dafür sind, wie oben genannt, die Wahrnehmung von Licht als Sehvermögen bei Wirbeltieren durch Rhodopsin und die Samenkeimung vieler Pflanzen durch Phytochrome. Diese Reaktionen werden hauptsächlich von Chromophoren vermittelt, die in Proteinen eingebettet sind. Diese Chromophore und ihre Trägerproteine erfahren lichtinduzierte Konformationsänderungen, die spezifische zelluläre Reaktionskaskaden auslösen. Inspiriert von diesen natürlichen Prozessen wurden verschiedenen Strategien, um Proteinaktivitäten unter die Kontrolle von Licht zu stellen, verfolgt<sup>60</sup>.

Die reversible Kontrolle der Konformation und Aktivität von Biomolekülen stellt eine faszinierende Herausforderung dar<sup>65, 123, 124</sup>, die ein ausgezeichnetes Potenzial für die Untersuchung und Beeinflussung komplexer Prozesse in lebenden Zellen birgt<sup>125</sup>. Die räumliche und zeitliche Steuerung zellulärer Prozesse könnte einzigartige Möglichkeiten für die Untersuchung der Organismenentwicklung oder des Krankheitsverlaufs bieten<sup>68</sup>. Die künstliche Steuerung biologischer Prozesse durch Licht ist ein sich rasch entwickelnder Bereich des Proteindesigns<sup>67</sup>. Diese Strategie ermöglicht eine räumliche und zeitliche Regulierung biologischer Prozesse und bietet eine Vielzahl von Vorteilen. Vor allem ist Licht nicht invasiv, hinterlässt keine Rückstände und seine Wellenlänge sowie Intensität können präzise gesteuert werden, was ein hohes Maß an Genauigkeit ermöglicht<sup>60</sup>. Diese einzigartigen Eigenschaften haben dazu geführt, dass Licht bei der Untersuchung von fluoreszenzmarkierten kleinen Molekülen<sup>126</sup> und Proteinen<sup>127</sup> in Zellen eingesetzt wird. Ebenso führte es zu den neuesten inspirierenden Entwicklungen im Bereich der bioorthogonalen Einführung von photoaktiven Verbindungen in Biomolekülen<sup>128</sup>. Eine der am weitesten verbreiteten Methoden zur Einführung von Lichtempfindlichkeit in biologischen Molekülen ist die Funktionalisierung mit bistabilen molekularen Photoschaltern. Dieser Ansatz wurde zur Photoregulierung einer Vielzahl wichtiger biologischer Prozesse verwendet<sup>60</sup>.

Die Epigenetik befasst sich mit kombinatorischen posttranslationalen Modifikationen (PTMs) an Histonen, die die Struktur von Chromatin und die Transkriptionstätigkeit beeinflussen<sup>129, 130</sup>. Eine wichtige PTM stellt die Methylierung an Lysin4 des Histon 3 (H3K4) dar, die durch *mixed lineage leukemia*, auch MLL1 genannte Enzyme vermittelt wird und bei der Regulierung der Genexpression eine wichtige Rolle spielt<sup>131</sup>. Die MLL1-Deregulierung ist mit Krankheiten wie Leukämie und Tumorerkrankungen eng verbunden<sup>132</sup>. Im Jahr 2017 befassten sich *Vázquez et al.* mit photoresponsiven Sonden auf der Basis von Azobenzol-haltigen Peptidomimetika, um die Aktivität von MLL1 reversibel steuern zu können<sup>133</sup>. Diese

Peptidomimetika erzielen die PPI des MLL1 mit WDR5, um die Komplexbildung<sup>134</sup> zu unterbinden. Die Peptidstruktur basiert auf der Aminosäuresequenz, die mit einer höheren Affinität an WDR5 bindet und somit eine Interaktion mit dem Partnerprotein MLL1 verhindert. Durch Einbringung einer Azobenzoleinheit wurden die Peptidomimetika in photoresponsive *molecular beacons* umgewandelt. Die nachfolgende Abbildung stellt die photoschaltbare Interaktion der Peptidomimetika und Proteine schematisch dar.



**Abbildung 23:** Schematische Darstellung der Strategie zur MLL1-Aktivitätskontrolle durch photoschaltbare Inhibitoren der MLL1-WDR5-Wechselwirkung nach Vázquez<sup>133</sup>. Das Z-Isomer des Peptids interagiert nicht mit WDR5 und erlaubt somit die PPI mit MLL1. Das E-Isomer ist im Gegensatz dazu in der Lage mit WDR5 zu interagieren und somit die PPI zu MLL1 zu unterbinden.

Die Peptidomimetika zeigten eine reversible Photoisomerisierung und wurden folglich auf ihre Bindungsaffinität, und somit auf ihre Fähigkeit, die MLL1-Aktivität zu hemmen und die Proliferation von Leukämiezellen zu kontrollieren, untersucht. Die Ergebnisse zeigten insgesamt eine höhere Affinität des E-Isomers, eine wirksame Hemmung der MLL1-Methyltransferaseaktivität und der Zellproliferation. Darüber hinaus wurden die Peptidomimetika auf ihre Fähigkeit, die Expression von MLL1-Zielgenen beeinflussen zu können, untersucht. Es wurde festgestellt, dass eines der Peptidomimetika (peptid-nachahmende Verbindungen) die Expression von MLL1-Zielgenen durch Reduktion der Deptor-Expression hemmt, was zur Hemmung der Zellproliferation beiträgt<sup>133</sup>. Dies unterstreicht das Potenzial der photoresponsiven Peptidomimetika als Werkzeug zur Untersuchung und Kontrolle von epigenetischen Prozessen.

Das Konzept von photoschaltbaren Peptidmimetika zur reversiblen Steuerung von PPIs untersuchten auch *Nevola et al.*<sup>135</sup> schon im Jahr 2013. Die Endozytose ist ein wesentlicher Prozess in eukaryotischen Zellen, bei dem Flüssigkeit und Partikel durch die Zellmembran aufgenommen werden. Es unterstützt eine Vielzahl von Funktionen, darunter die Regulierung der Oberflächenexpression von Proteinen, die Aufnahme von Nährstoffen, die Steuerung von Zellsignalen und den Umsatz von Membranbestandteilen<sup>136</sup>. *Nevola et al.* haben sich im Rahmen ihrer Arbeit besonders mit der clathrinvermittelte Endozytose (CME) befasst. Dabei übernimmt der AP2-Komplex die Hauptrolle in diesem Netzwerk an PPIs. Dieser Komplex vermittelt die Bildung von Clathrin an die Membran oder an Frachtrezeptoren mit Hilfe von Hilfsproteinen wie  $\beta$ -Arrestin, AP180 und Epsin<sup>136</sup>. *Nevola et al.* haben für ihre Untersuchungen „Verkehrsampel“-Peptide (*traffic light*, TL-Peptide) hergestellt. Diese TL-Peptide sollten an AP2 binden und so die Endozytose regulieren. Sie bauten photoresponsive Einheiten in die Peptide ein, sodass diese lichtabhängige, zellpermeable Inhibitoren der CME darstellen. Je nach Wellenlänge des einstrahlenden Lichts, erzeugen diese Peptide „Stopp“- und „Los“-Signale, und regulieren somit die räumliche und zeitliche Musterung der Membranrezeptorinternalisierung<sup>135</sup>. Die nachfolgende Abbildung stellt die Strategie der TL-Peptide und ihre „Stopp“- und „Los“-Signale für die Musterung der Membranrezeptorinternalisierung dar.

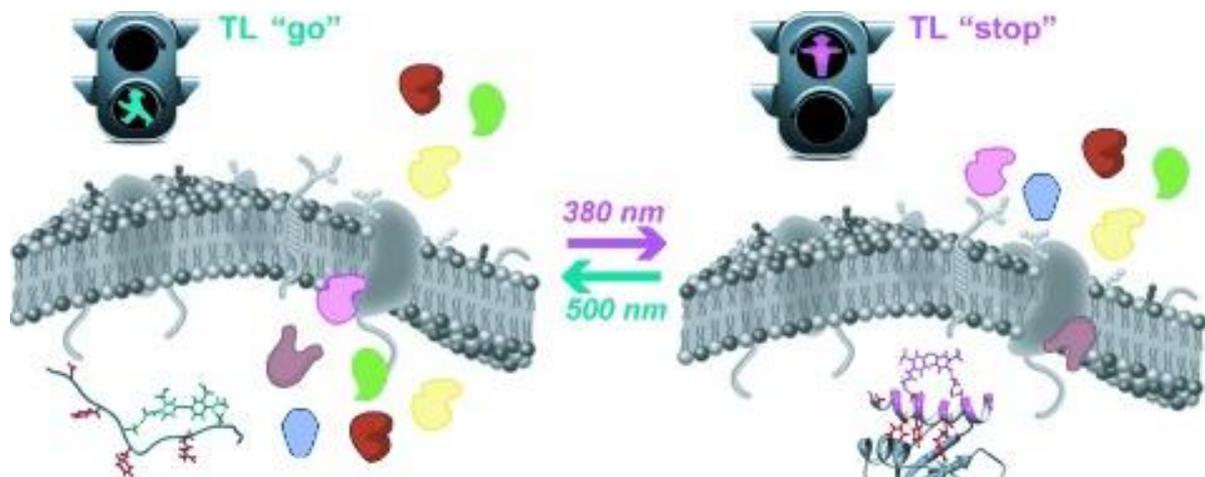


Abbildung 24: Schematische Darstellung von der Strategie der TL-Peptide und ihre „Stopp“- und „Los“-Signalisierung für die Musterung der Membranrezeptorinternalisierung nach *Nevola et al.*<sup>135</sup>

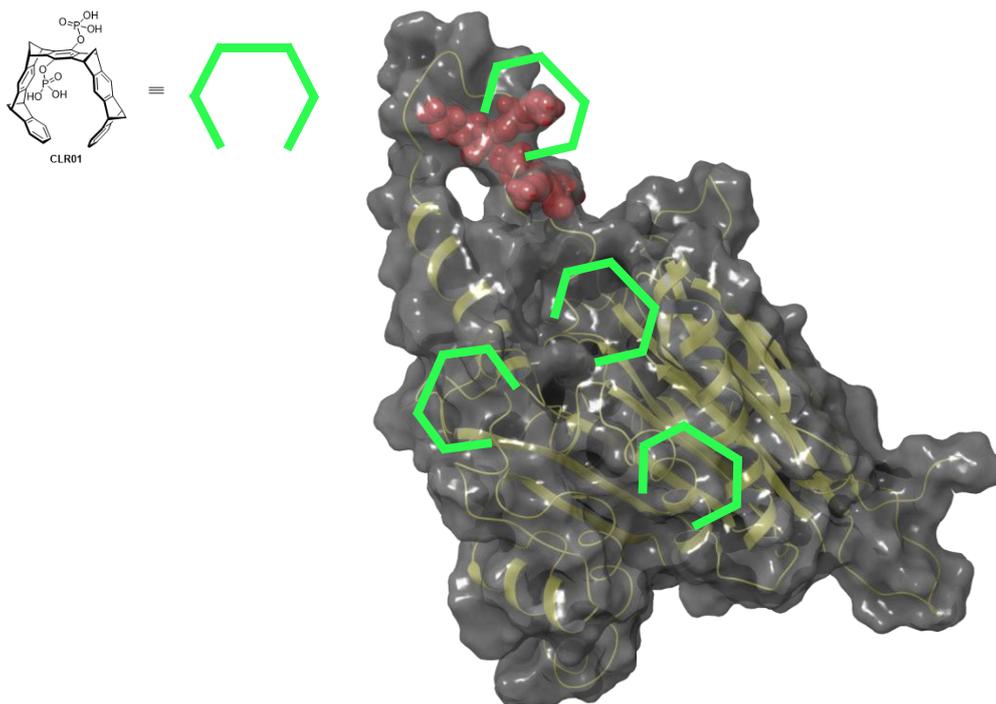
Das Design der Peptidstrukturen basierte auf der Struktur des  $\beta$ -Arrestin-C-terminalen Peptids, das an AP2 bindet<sup>137</sup>. Durch die Bindung an AP2 nimmt das Peptid eine  $\alpha$ -helikale Struktur an, wobei vier Aminosäuren entlang der Helix ausgerichtet sind. Die Stabilität der sekundären Struktur von helikalen Peptiden korreliert mit ihrer Fähigkeit, mit ihrem Partnerprotein zu interagieren<sup>138</sup>. Durch den Einbau der photoschaltbaren Einheit zwischen zwei Cysteinresten in der Peptidsequenz, konnte so die

Konformation des Peptids über Bestrahlung reguliert werden, wobei das E-Isomer die Peptidkette aus ihrer helikalen Konformation heraus zwang und das Z-Isomer die helikale Konformation stabilisierte. Somit wurden die TL-Peptide auf ihre Bindungsaffinität und auf ihre Fähigkeit in lebenden Zellen einzudringen und die Endozytose, je nach Konfiguration, zu inhibieren oder zu aktivieren, untersucht. Somit konnten *Nevola et al.* zeigen, dass ihre TL-Peptide, die Anzahl, Geschwindigkeit und Lebensdauer von clathrinbeschichteten Vesikeln regulieren können. Insgesamt zeigten ihre TL-Peptide geeignet zu sein, die Endozytose photoschaltbar steuern zu können. Somit stellten die Autoren die vielversprechende Möglichkeit der Regulierung zellulärer Prozesse in Abhängigkeit von Licht dar.

## 2 Motivation und Zielsetzung

In den letzten Jahren wurden erhebliche Fortschritte auf dem Gebiet der supramolekularen Chemie an Proteinen, mithilfe der von *Schrader et al.* entwickelten Diphosphatpinzette gemacht. Die symmetrische Pinzette CLR01 überzeugte mit ihrer Fähigkeit, toxische Proteinaggregate aufzulösen<sup>139</sup>, wie im Fall der Alzheimer<sup>44</sup>- und Parkinsonerkrankungen<sup>140</sup>.

Die molekulare Pinzette ist in der Lage selektiv und reversibel die Seitenketten von Lysin und Arginin auf (Protein-)Oberflächen zu binden. Ein Nachteil ist jedoch, dass diese nur spezifisch für die Seitenketten des Lysin und Arginin und nicht selektiv auf gezielte Bereiche der Proteinoberflächen angesteuert werden kann. Dies bedeutet, dass alle zugänglichen Lysine und Arginine auf einer Proteinoberfläche mit einer ähnlichen Affinität gebunden werden.



**Abbildung 25:** Schematische Darstellung der unspezifischen Bindung der molekularen Pinzette CLR01 auf einer Proteinoberfläche.

Die Entwicklung der asymmetrischen Monobutynylphosphatmonophosphat Pinzette sollte diese Problematik überwinden. Über die Alkin-Funktionalität konnten über Kupfer(I)-katalysierten Cycloadditionen (Click-Chemie) weitere Erkennungseinheiten angebracht werden, die die Selektivität und Bindungsaffinität erhöht haben. Als Erkennungseinheiten wurden maßgeschneiderte Peptidsequenzen

ausgewählt, die komplementär zur näheren Umgebung des angesteuerten Lysins synergetisch erkennen konnten.

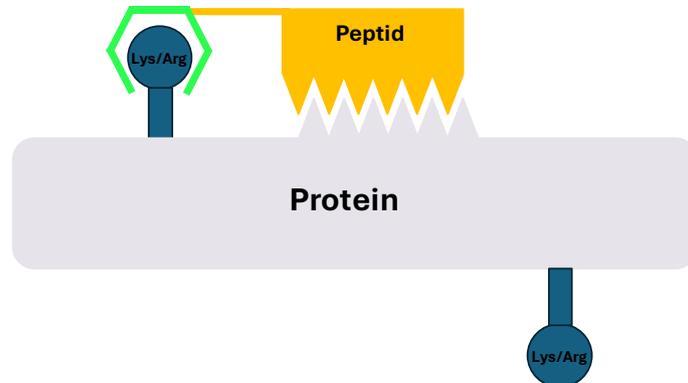


Abbildung 26: Schematische Darstellung einer hybriden Peptid-Pinzette, die eine spezifischere Bindung auf einer Protein-Oberfläche erreicht. (Angelehnt an *Hadrovic*<sup>141</sup>)

Ein weiterer Ansatz für die selektive Bindung der Lysine und/oder Arginine stellt die Multivalenz dar. Darüber können mehrere Lysine und/oder Arginine gleichzeitig von einem supramolekularen Liganden gebunden werden. Das Konzept wurde erstmals in Zusammenarbeit mit *Hartmann et al.* erarbeitet<sup>14</sup>. Hierfür wurden sequenzdefinierte Präzisionsmakromoleküle hergestellt, die eine definierte chemische Struktur aufwiesen. Diese verfügten über zwei Azidfunktionalitäten, sodass zwei Monobutanylphosphatmonophosphat Pinzetten über Click-Reaktionen angebracht werden konnten. Somit konnten Strukturen entworfen und hergestellt werden, die jeweils zwei Pinzetten trugen, jeweils in verschiedenen Abständen zueinander.

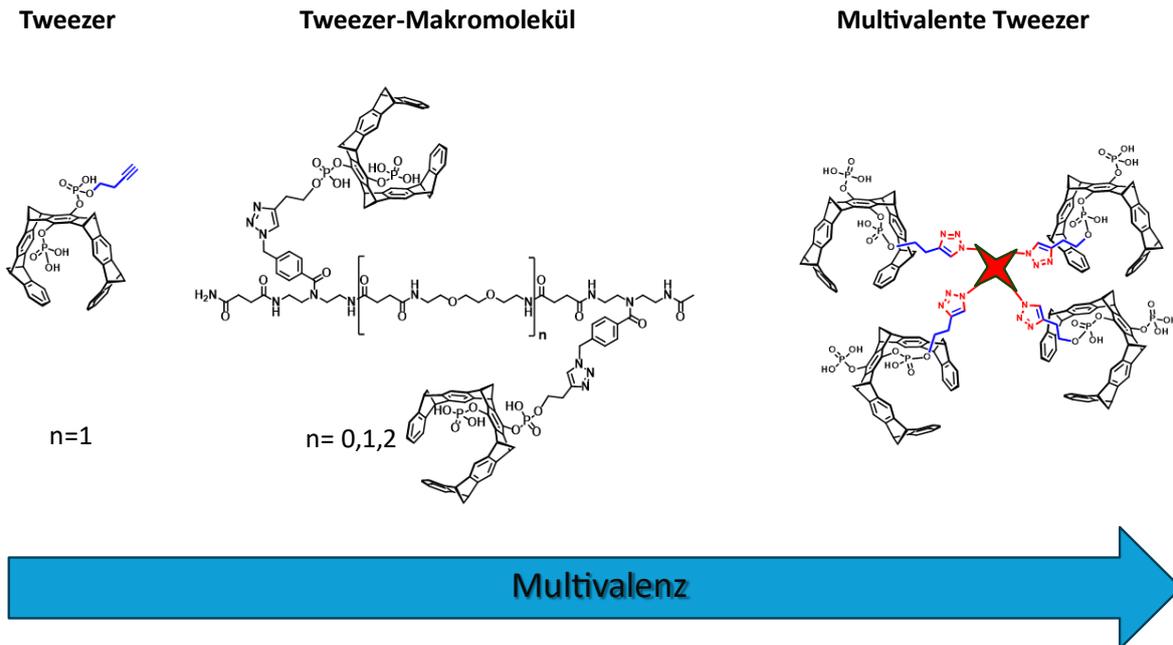


Abbildung 27: Schematische Darstellung der Erhöhung der Valenz der Pinzettenliganden.

Diese Verbindungen dienten als Grundbaustein für die Weiterentwicklung der multivalenten supramolekularen Pinzetten-Liganden, deren Fähigkeit, als Inhibitoren von Protein-Protein-Wechselwirkungen in den letzten Jahren tiefer erforscht wurde. Darauf basierend, wurden zahlreiche multivalente Pinzetten synthetisiert und auf ihre Bindungseigenschaften zu verschiedenen Forschungsrelevanten Proteinen wie Survivin<sup>14</sup>, Ndc80<sup>50</sup>, p97 und Taspase 1<sup>27</sup> untersucht.

In den bisherigen Arbeiten wurden beeindruckende Fortschritte auf dem Gebiet der supramolekularen Chemie von Proteinen erreicht, wobei der Schwerpunkt auf den Bindungsereignissen zwischen Proteinen oder zwischen Liganden und Proteinen lag. Dennoch sind sämtliche zelluläre Prozesse hochdynamisch und unterliegen der Regulation durch temporäre Protein-Protein-Interaktionen. Ein konsequenter nächster Schritt, um die Entwicklung der supramolekularen Chemie an Proteinen voranzutreiben, besteht daher darin, die Herausforderung der Proteindynamik anzugehen. Zu diesem Zweck müssen supramolekulare Erkennungsmotive entworfen und hergestellt werden, die dazu beitragen, biologische Prozesse zu entschlüsseln, die insbesondere die Dynamik und vorübergehende Wechselwirkungen beinhalten.

Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, eine neue Generation von photoschaltbaren molekularen Pinzetten herzustellen, die der Lage sind, dynamische bzw. flexible Protein-Epitope gezielt anzusteuern und damit ihre PPIs zu beeinflussen. Zur Verwirklichung dieses Ziels, muss zunächst die Kristallstruktur des Proteins untersucht werden und somit auch die gut zugänglichen Lysine und Arginine, die als Ankerpunkte für die Tweezermoleküle dienen. Somit können über die gesammelten Informationen der

Topologien in der Nähe der Ziel-Aminosäure, verschiedene Strukturen über ein rationales Design entworfen werden. Als Zielprotein für diese Studien wurde das bereits eingangs vorgestellte krebsrelevante Protein Taspase 1, aufgrund seiner Beteiligung an verschiedenen Pathologien, wie zum Beispiel an der Entwicklung und dem Fortschreiten von Leukämien und soliden Tumoren<sup>22-24</sup>, ausgewählt. Die photoschaltbaren Pinzetten-Strukturen sollen zudem dynamisch sein. Der dynamische Charakter dieser, in Form der Konfigurations- und Gesamtlängenänderung, wird in Bezug auf die Fähigkeit Proteine zu binden und wichtige PPIs zu inhibieren genauer untersucht. Dementsprechend werden in dieser Arbeit neuartige chemische Konzepte präsentiert, um dynamische supramolekulare Werkzeuge herzustellen. Weiterhin werden im Rahmen dieser Arbeit die photophysikalischen Eigenschaften der synthetisierten supramolekularen Liganden untersucht und biochemische und biologische Assays werden durchgeführt, um das Verständnis biologischer Prozesse rund um die Threonin Aspartase1 zu verbessern.

Im ersten Teil dieser Arbeit sollen photoschaltbare Template entworfen und synthetisiert werden, die später mit molekularen Pinzetten kovalent verknüpft werden. Diese photoschaltbaren Template sollen unterschiedliche chemische Zusammensetzungen, Größe und photophysikalischen Eigenschaften besitzen, um eine systematische Vergleichbarkeit der Bindungsaffinität und Selektivität zur topologischen Proteinoberfläche erschaffen zu können. Um mit diesen Pinzetten die verschiedenen Topologien und die Dynamik der Proteine ansteuern zu können, muss zunächst die Oberflächenbeschaffenheit und die Bewegung der Proteine betrachtet werden. Daraus kann abgeschätzt werden, wie flexibel die Liganden sein müssen. Auch die gut zugänglichen Lysine und/oder Arginine sowie deren Abstände zueinander müssen im Vorfeld bestimmt werden, um die Größe und chemischer Zusammensetzung der photoschaltbaren Pinzetten anzupassen. Zunächst wurden Azobenzole und Arylazopyrazole als photoschaltbare Einheiten, aufgrund ihrer hocheffektiven E/Z-Isomerisierung, ausgewählt. Über die Isomerisierung können somit die späteren photoschaltbaren Pinzetten ihre Konfiguration so verändern, dass die Pinzetteneinheiten nach Bestrahlung in unterschiedlichen Abständen zueinander stehen, wodurch sich ebenfalls ihr Bindungsverhalten ändert. Um diesen Zweck zu erfüllen, soll die chemische Struktur der Photoschalter möglichst gerade und starr sein, sodass bei einer E/Z-Isomerisierung der Azobrücke in der Mitte des Moleküls der Abstand der lysinbindenden Pinzetten möglichst verschieden ist. Mit dieser Randbedingung können so effektive und selektive Liganden entworfen und synthetisiert werden.

Die Click-Chemie erwies sich in den letzten Jahren als eine sehr gängige Methode, um weitere Einheiten an die Pinzetten anzubringen. Deshalb sollen zunächst die molekularen Pinzetten über CuAAC-Reaktionen an die Photoschalter kovalent gebunden werden, um so die divalenten photoschaltbaren Pinzetten-Liganden darzustellen. Die folgende Abbildung stellt das Konzept der E/Z-Isomerisierung der photoschaltbaren Pinzetten und die Wechselwirkung mit einer Proteinoberfläche dar.

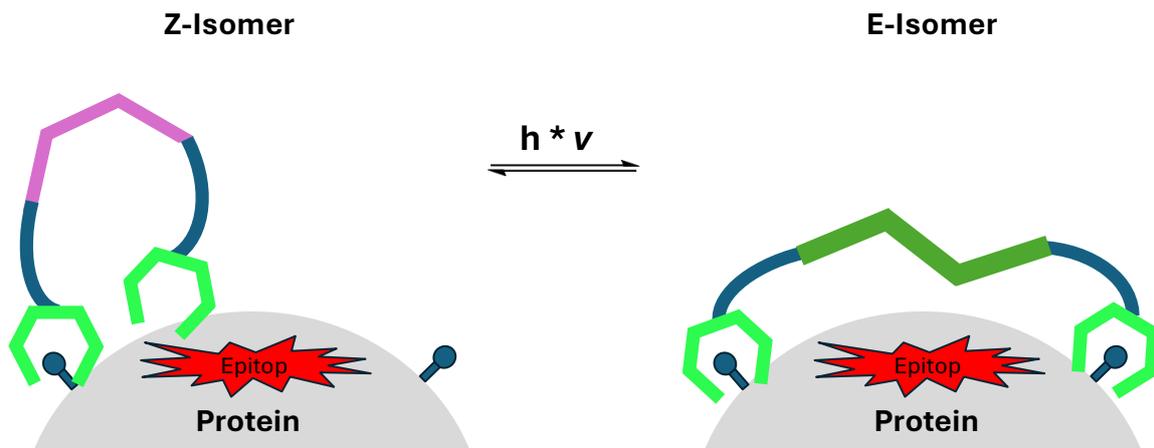


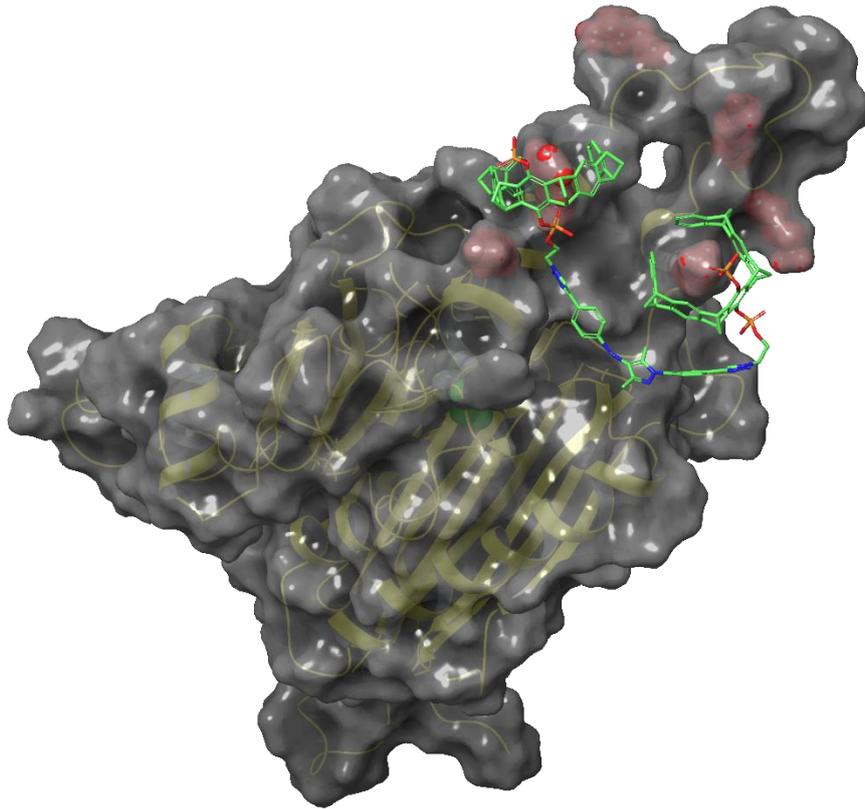
Abbildung 28: Schematische Darstellung des Konzepts der E/Z-Isomerisierung der photoschaltbaren Pinzetten und die Auswirkung dieser auf die Bindung zu zugänglichen Lysine/Arginine auf Proteinoberflächen.

Im zweiten Teil dieser Arbeit soll der Transport in den Zellkern von Taspase 1 und seine enzymatische Aktivität innerhalb des Zellkerns in Gegenwart der photoschaltbaren Pinzetten, in der jeweiligen E- und Z-Konfiguration, untersucht werden.

Es konnte bisher nachgewiesen werden, dass Tumorzellen die Expression von Taspase 1 hochregulieren, um ihre Proliferation zu fördern und dem apoptotischen Zelltod entgegenzuwirken. Aufgrund dessen stellt die Inhibition Taspase 1 ein interessanter Ansatz in der Krebsforschung dar.

Mechanistisch gesehen, muss Taspase 1 zuerst aus dem Zytoplasma in den Zellkern transportiert werden. Der Zugang zum Zellkern erfolgt über das zweiteilige NLS von Taspase 1. Die basische Aminosäurecluster sind auf zwei benachbarten  $\alpha$ -Helices angeordnet, die eine oberflächenexponierte Schleife bilden. Diese Schleife interagiert mit dem Transportrezeptor Importin  $\alpha$ . Somit stellt die PPI-Inhibition zwischen diesen Partnerproteinen den ersten Ansatz dieser Arbeit dar, um die Taspaseaktivität zu verhindern. Diese Interaktion soll in Gegenwart der verschiedenen photoschaltbaren Pinzetten untersucht werden. Des Weiteren wird untersucht, ob eine Konfigurationsänderung der Pinzetten über Bestrahlung eine Veränderung in der Bindungsaffinität und Selektivität der Liganden ermöglicht.

Im inneren des Zellkerns geht die Autoproteolyse der Dissoziation der Taspase 1 in zwei Untereinheiten  $\alpha$  und  $\beta$  voraus, die sich wieder zum Heterodimer zusammenfügen. Mit der Strukturänderung des Proteins wird das aktive Zentrum freigelegt und somit kann die Substratspaltung vorangetrieben werden. Um das aktive Zentrum herum, befinden sich ebenfalls zahlreiche basische Aminosäuren. Diese stellen ein weiteres Ziel zur Bindung mit molekularen Pinzetten dar, um das aktive Zentrum des Proteins zu blockieren und somit, die proteolytische Aktivität des Enzyms zu inhibieren.



**Abbildung 29: MD-Simulation einer photoschaltbaren Pinzette auf der flexiblen Schleife des Taspase1-Proteins.**

Mittels *molecular modeling* wird die Kristallstruktur von Taspase 1 genauer analysiert, besonders wird die genaue Umgebung der Schleife und des aktiven Zentrums unter die Lupe genommen. Dabei soll festgestellt werden, welche Lysine und Arginine gut zugänglich sind und in welchen Abständen sie zueinander stehen. Dies ermöglicht ein maßgeschneidertes Design der benötigten photoschaltbaren Pinzetten. Zum tieferen Verständnis der Ergebnisse aller Bindungsexperimente werden MD-Simulationen mit dem gesamten Protein und den angedockten Konfigurationsisomeren der Pinzetten durchgeführt.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Synthese molekularer Pinzetten

Die Synthese, der in dieser Arbeit benötigten, asymmetrischen molekularen Pinzette wurde in Anlehnung an der von *Heid*<sup>43</sup> etablierten Synthesevorschrift, durchgeführt. Die Synthese lässt sich in mehrere Teilbereiche aufteilen – die Synthese der *Bridge* (Brücke) und die der *Sidewall* (Seitenwand). Diese stellen die zwei Grundbausteine des Pinzettengerüsts dar. *Bridge* und *Sidewall* werden folglich über eine Diels-Alder-Reaktion zusammengefügt und nach einer anschließenden Oxidation über 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (DDQ) in die Diacetoxypinzette überführt. Aus dieser Pinzette kann in zwei weiteren Schritten die symmetrische Pinzette CLR01 hergestellt werden. Für die in dieser Arbeit relevanten Untersuchungen wird allerdings eine asymmetrische Pinzette benötigt, die eine Azid- bzw. Alkin-Funktionalität trägt, um über CuAAC-Reaktionen weiter entwickelt zu werden. Hierfür wird zunächst die Diacetoxypinzette selektiv einfach entschützt, phosphoryliert und über eine TCA-Reaktion mit 1-Butinol oder mit Azidoethanol umgesetzt. Die Reaktion liefert das Phosphorester der Pinzette als Produkt. Dieses kann im nächsten Schritt erneut entschützt und phosphoryliert werden, um die gewünschte „klickbare“ asymmetrische Pinzette darzustellen. Dies erfolgte ebenfalls in Anlehnung an den Synthesevorschriften von *Heid*<sup>43</sup>.

#### 3.1.1 Synthese des Pinzettengerüsts

Die Synthese des Grundgerüsts wurde in Anlehnung an die Vorschrift aus der Dissertation von *Christian Heid*<sup>43</sup> durchgeführt. Als erstes wurden die Grundbausteine *Bridge* (Abbildung 30) und *Sidewall* nach den in Abbildung 30 dargestellten Syntheseschritten hergestellt.

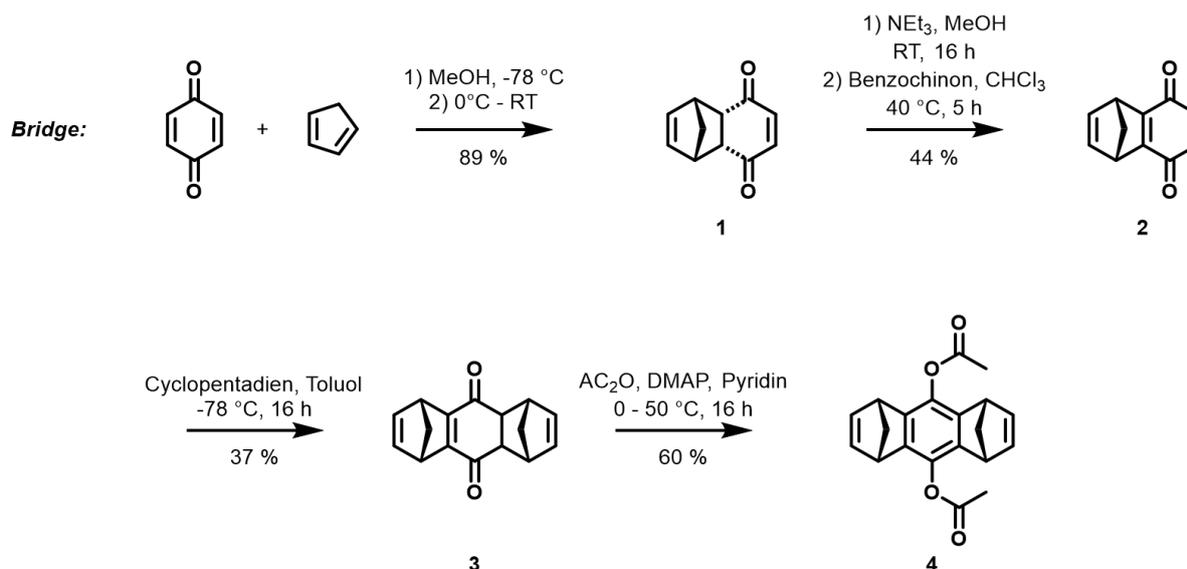


Abbildung 30: Synthese der *Bridge* in Anlehnung an Heid<sup>43</sup>.

Zunächst wurde **1** über eine Diels-Alder-Reaktion zwischen *p*-Benzochinon und frisch-destilliertem Cyclopentadien hergestellt. Das Cyclopentadien wurde über eine Retro-Diels-Alder Reaktion aus dem Dimer gewonnen und auf -78 °C gekühlt, um die Rückreaktion zu vermeiden. Bei dieser Temperatur wurde es zu einer methanolischen Lösung des *p*-Benzochinons hinzugegeben. Nach Umkristallisation wurde das Produkt in einer hervorragenden Ausbeute von 89 % erhalten. Als nächster Schritt wurde **1** mit Triethylamin reduziert und *in situ* mit *p*-Benzochinon zu **2** oxidiert. Das Produkt wurde mit einer Ausbeute von 44 % erhalten. In der Folgereaktion wurde **2** mit frisch-destilliertem und gekühltem Cyclopentadien in einer Diels-Alder-Reaktion umgesetzt. Nach der Aufarbeitung wurde ein ca. 1:1-Gemisch aus den *syn*- und *anti*-Produkten erhalten. Diese konnten über aufwendige Säulenchromatographie und anschließende wiederholte Umkristallisation voneinander getrennt werden, um das erwünschte *syn*-Produkt **3** in einer Ausbeute von 37 % zu erhalten. Im letzten Schritt wurde **3** in Pyridin vorgelöst und mittels 4-Dimethylaminophenol (DMAP) und Essiganhydrid mit Acetylschutzgruppen versehen. Die fertige *Bridge* **4** wurde mit einer Ausbeute von 60 % aus der Reaktion erhalten.

Als nächstes wurde die *Sidewall* über eine sechsstufige Synthese erfolgreich hergestellt (Abbildung 31).

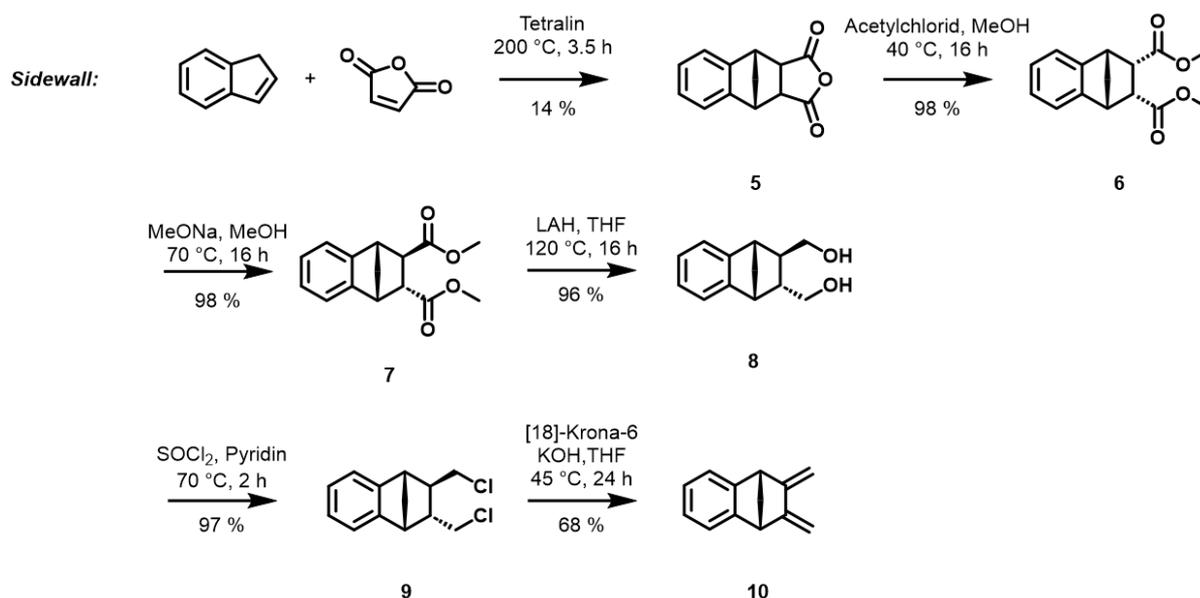


Abbildung 31: Synthese der *Sidewall* in Anlehnung an *Heid*.

Als erstes wurde Inden in Tetralin vorgelöst und auf 200 °C erhitzt, um dies über eine [1,5]-sigmatrope Umlagerung in das metastabile 2*H*-Inden<sup>142</sup> zu überführen. Dies wurde mit Maleinsäureanhydrid in einer Diels-Alder-Reaktion zum *endo*-Produkt **5** mit einer Ausbeute von 14 % umgesetzt. Als nächster Schritt wurde das Anhydrid mittels Acetylchlorid aufgebrochen, um das gewünschte *cis*-Diester als Produkt mit einer Ausbeute von 98 % zu erhalten. Folglich wurde **6** mit Natriummethanolat in eine Isomerisierungsreaktion zum *trans*-Diester **7** mit einer Ausbeute von 98 % umgesetzt. Die Reduktion der Esterfunktionalitäten zum Alkohol **8** wurde mittels Lithiumaluminiumhydrid mit einer hervorragenden Ausbeute von 96 % erreicht. Als vorletzter Schritt wurden die OH-Gruppen von **8** über Thionylchlorid mit Chloriden substituiert. Dies gelang mit einer sehr guten Ausbeute von 97 %. Die finale Reaktion zur fertigen *Sidewall* **10** erfolgte über Kaliumhydroxid und [18]-Krone-6 als Eliminierungsreaktion zum Dien mit einer Ausbeute von 68 %.

Der nächste Schritt der Synthese ist die zentrale Diels-Alder-Reaktion, um die beiden Grundbausteine *Bridge* und *Sidewall* zusammenzufügen. Dafür wurden beide Edukte in einer Glasampulle in Toluol und Acetonitril vorgelegt, Triethylamin wurde als Base hinzugegeben und anschließend wurde die Ampulle unter Vakuum bei -78 °C abgeschmolzen. Die Ampulle wurde für 4 Tage bei 170 °C in einem Ofen erhitzt. Das erhaltene Diels-Alder-Addukt **11** wurde nach Umkristallisation aus Cyclohexan mit einer Ausbeute von 69 % erhalten. Um die Pinzettenform zu erhalten, wurde anschließend mittels DDQ zweifach am Gerüst oxidiert, wodurch das erhaltene Produkt eine konkave und elektronenreiche Kavität erhält. Das Produkt wurde ebenfalls mit einer Ausbeute von 69 % erhalten (Abbildung 32).

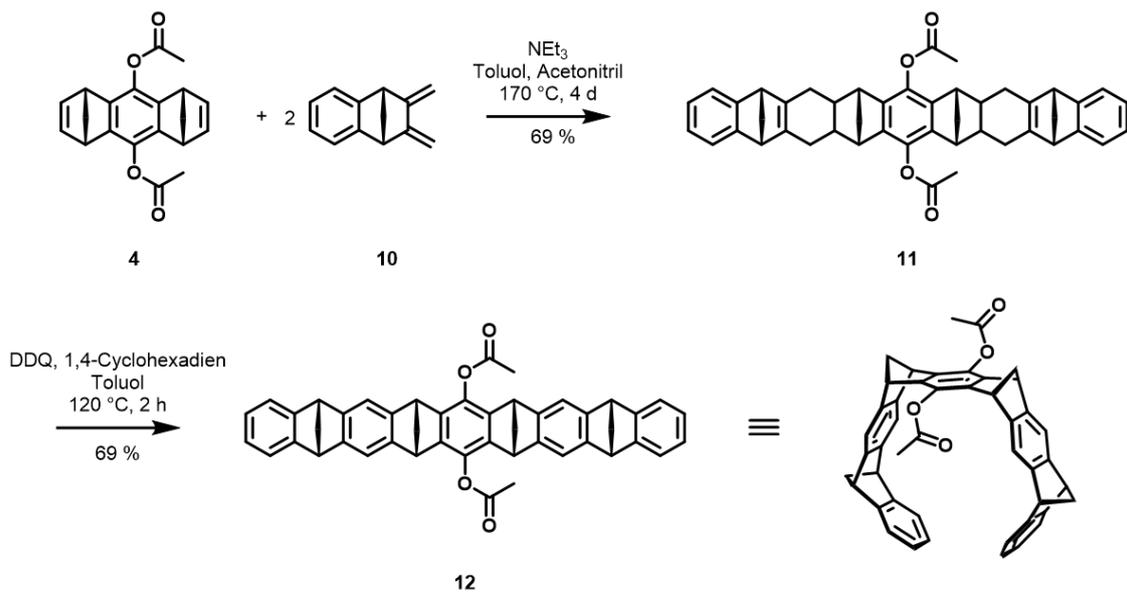


Abbildung 32: Diels-Alder Reaktion zwischen den zwei Grundbausteinen und nachfolgende DDQ-Oxidation zum Erhalt des Pinzettengerüsts.

### 3.1.2 Synthese der symmetrischen und asymmetrischen Pinzetten

Die Synthese der symmetrischen und asymmetrischen Pinzetten wurde im Rahmen dieser Arbeit, in Anlehnung an der von *Heid*<sup>43</sup> etablierten Synthesevorschrift, durchgeführt. Die Synthese der symmetrischen Pinzette CLR01 erfolgte nach der in Abbildung 33 abgebildeten Syntheseroute. Ausgehend von **12** wurden mittels Lithiumaluminium-Reduktion die Acetylschutzgruppen abgespalten. Die Dihydroxypinzette wurde mit einer sehr guten Ausbeute von 90 % erhalten. Als letzter Syntheseschritt, wurde die Dihydroxypinzette **13** über frisch-destilliertem Phosphoroxychlorid und Triethylamin phosphoryliert. Die symmetrische Pinzette CLR01 **14** wurde als weißer Feststoff mit einer Ausbeute von 86 % erhalten.

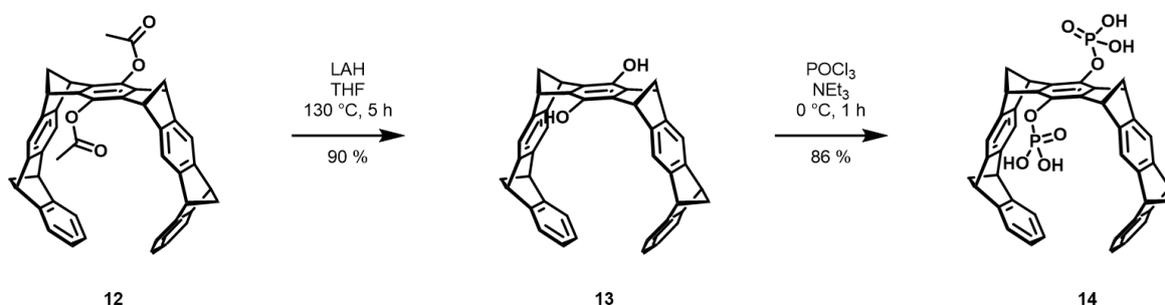


Abbildung 33: Synthese der symmetrischen Pinzette CLR01.

Im Gegensatz zu CLR01, benötigen asymmetrische Pinzetten eine längere und aufwändigere Syntheseroute. Hierfür wird Verbindung **12** mit 1 M NaOH zur einseitigen Entschützung der Acetylschutzgruppe umgesetzt. Dabei musste genau darauf geachtet werden, dass sowohl die Reaktionsapparatur als auch die einzelnen Reagenzien sauerstofffrei waren, um eine mögliche Oxidation zum Chinon der Pinzette zu vermeiden. Die Monoacetoxymonohydroxypinzette **15** konnte mit einer Ausbeute von 76 % erhalten werden. Als nächster Schritt wurde die Pinzette über frisch-destilliertem Phosphoroxychlorid und Triethylamin an der Hydroxygruppe phosphoryliert. Die Monoacetoxymonophosphatpinzette **16** wurde mit einer Ausbeute von 70 % erhalten. Als nächster Schritt wurde ein Phosphatester mittels TCA-Reaktion (Trichloroacetonitril-Reaktion) erzeugt. Hierfür wurden zwei unterschiedliche Reste ausgewählt, um eine spätere Kupfer-Klick-Reaktion durchführen zu können. Zu diesem Zweck wurden sowohl eine Alkinfunktionalität als auch eine Azidfunktionalität über die TCA-Reaktion eingeführt. Diese wurden in der nachfolgenden Abbildung zur einfacheren Darstellung als „R“ abgekürzt. Das Produkt wurde in einer Ausbeute von 75 % für die Monobutynylphosphatmonoacetoxy-pinzette und 86 % für die Monoazidophosphatmonoacetoxy-pinzette erhalten.

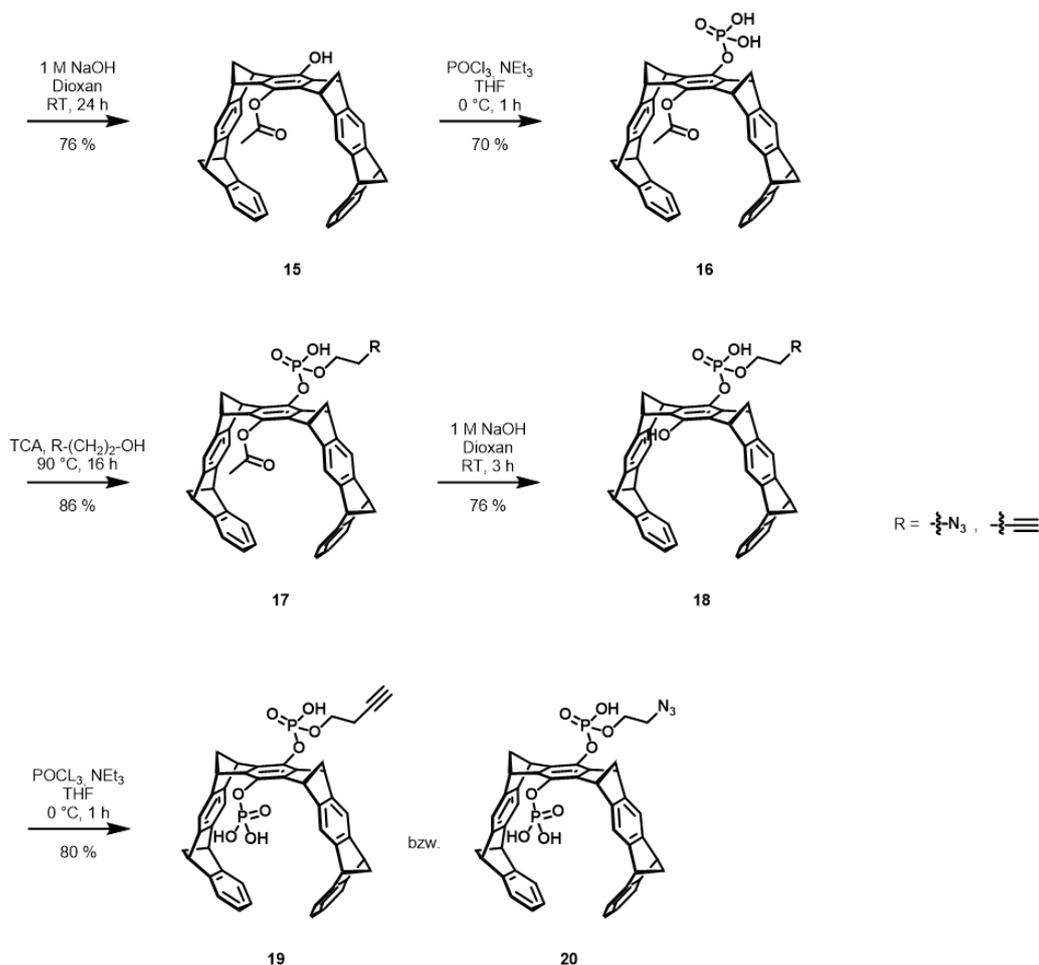
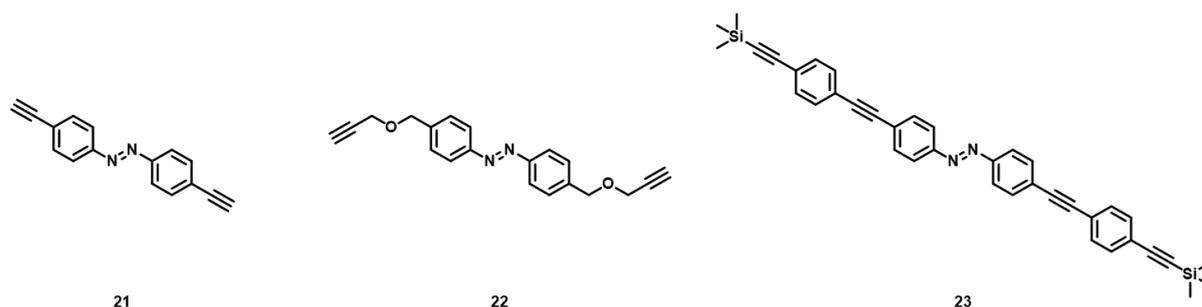


Abbildung 34: Synthese asymmetrischer Pinzetten. R steht für entweder eine Alkin- oder eine Azidfunktionalität.

Die zweite Acetylschutzgruppe wurde anschließend ebenfalls über NaOH in Dioxan abgespalten. Diese Reaktion ergab die Verbindung **18** in einer Ausbeute von 98 % für die Monobutinyolphosphatmonohydroxypinzette und 90 % für die Monoazidophosphatmonohydroxypinzette. Die abschließende Phosphorylierung zum Erhalt der fertigen asymmetrischen Pinzetten wurde ebenfalls mittels frisch-distilliertem Phosphoroxychlorid und Triethylamin durchgeführt. Die jeweiligen Produkte wurden mit einer Ausbeute von 79 % für die Monobutinyolphosphatmonophosphatpinzette und 80 % für die Monoazidophosphatmonophosphatpinzette erhalten.

### 3.2 Photoschalter: Azobenzolderivate

Um photoschaltbare Pinzetten herstellen und untersuchen zu können, musste ein Design ausgewählt werden, welches eine photoschaltbare Einheit in der Mitte der Struktur trug. Hierfür wurde die in der Literatur bekannte und gut untersuchte Azobenzolstruktur ausgewählt. Die Azobenzolderivate sollten symmetrisch, möglichst starr und an den 4- und 4'-Stellen eine Alkin-Funktionalität besitzen, um in eine Kupfer-Click-Reaktion eingesetzt zu werden. Diese Derivate unterscheiden sich ebenfalls in ihrer Größe und Flexibilität. Die in Abbildung 35 dargestellten Azobenzolderivate entsprechen den ausgewählten Strukturen, die nach einem rationalen Design entworfen wurden. Die starre Struktur der Azobenzol-Einheiten soll möglichst wenige Freiheitsgrade besitzen, damit die jeweiligen Isomere einen erkennbaren Unterschied in den Abständen der Endfunktionalitäten aufweisen. Die anschließenden UV/Vis-Experimente und die Messungen der Halbwertszeiten für die Azobenzolderivate wurden in der Universität Münster von der Kooperationspartnerin Alisa-Maite Kauth aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. Bart Jan Ravoo durchgeführt.



**Abbildung 35: Entworfenen Azobenzolderivate für spätere Anbindung von zwei Tweezermoleküle und Darstellung der photoschaltbaren Pinzetten.**

Verbindung **21** stellt das einfachere und kleinste Azobenzolderivat dar. Es verfügt in der 4- und 4'-Stellung über eine Alkineinheit, die direkt am Aromaten angebunden ist. Der Abstand zwischen beiden endständigen Alkinen wurde über MD-Simulation berechnet und beträgt 14,5 Å für das E-Isomer und 9,36 Å für das Z-Isomer. Die Synthese der Azoverbindungen erfolgte im Allgemeinen über eine Oxidative Azokupplung mittels Braunstein<sup>143</sup>. Die Reaktionslösung konnte anschließend über Filtration aufgereinigt werden und somit das Produkt in höchster Reinheit isoliert werden. Das gewünschte Produkt wurde in einer Ausbeute von 32 % erhalten. In der nachfolgenden Abbildung wird die Synthese von Verbindung **21** dargestellt.

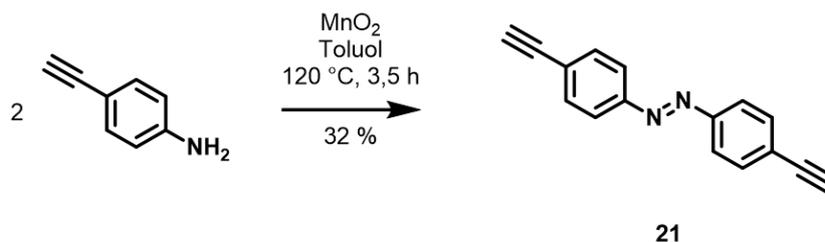


Abbildung 36: Synthese von Verbindung **21** über  $\text{MnO}_2$ .

Das erhaltene Produkt **21** wurde vor dem Einsatz in eine Kupfer-Click-Reaktion auf die Photoschaltbarkeit mittels UV/Vis-Spektroskopie und Halbwertszeit des Z-Isomers untersucht. Erwartet wurde, dass das Azobenzolderivat in seinem thermodynamisch stabileren E-Isomer vorliegt. Zur Überprüfung des Zustandes wurde zunächst ein Spektrum aufgenommen, bevor die Probe bestrahlt wurde (gestrichelte Kurve im linken Spektrum, Abbildung 37). Danach wurde die Probe für eine Minute mit einer Wellenlänge von 365 nm zur Überführung ins Z-Isomer bestrahlt und das Spektrum wurde direkt im Anschluss aufgenommen (lila Kurve im linken Spektrum, Abbildung 37). Für die Rückschaltung ins E-Isomer wurde die Probe für fünf Minuten mit einer Wellenlänge von 520 nm bestrahlt (grüne Kurve im linken Spektrum, Abbildung 37). Die nachfolgende Abbildung stellt die UV/Vis-Experimente dar.

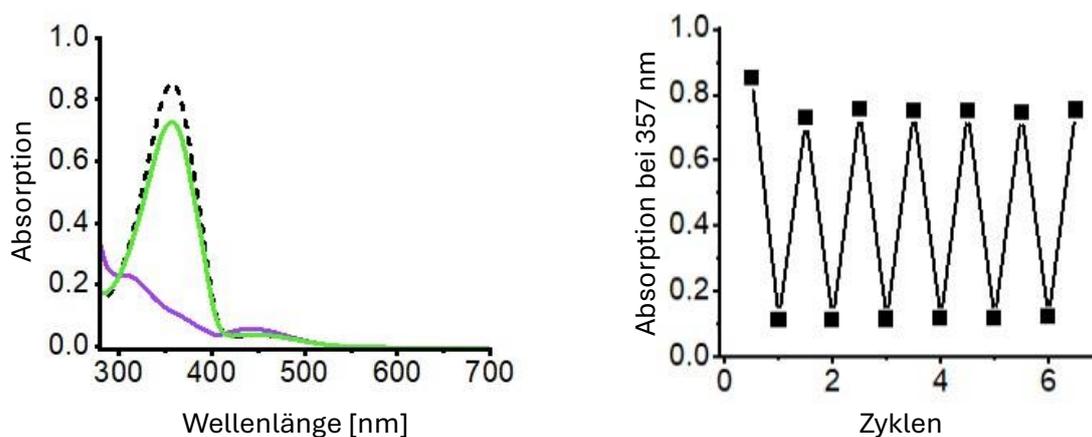


Abbildung 37: UV/Vis-Analyse der Photoschaltbarkeit von Verbindung **21**. Links das Absorptionsspektrum von 280 nm bis 700 nm. die gestrichelte Kurve entspricht die Absorption der Verbindung in unbestrahltem Zustand. Die lila Kurve entspricht die Absorption der Verbindung nach Bestrahlung mit 365 nm, also im Z-Zustand. Die grüne Kurve stellt die Absorption der Verbindung **21** nach Bestrahlung mit 520 nm, also im E-Zustand. Rechts wird die Absorption bei 357 nm über sieben Bestrahlungszyklen dargestellt.

Im UV/Vis-Spektrum werden die Absorptionskurven der Verbindung **21** in dem jeweiligen Zustand dargestellt. Die gestrichelte Kurve stellt die Absorption der Verbindung **21** in unbestrahltem Zustand dar. Diese Kurve zeigt ein Absorptionsmaximum bei 357 nm, welches nach Literaturangaben für eine

vorwiegende E-Konfiguration der Verbindung spricht. Die lila Kurve stellt die Absorption der Verbindung **21** nach Bestrahlung mit 365 nm dar. Dabei wird ersichtlich, dass das Absorptionsmaximum der unbestrahlten Probe nicht mehr vorhanden ist und dass ein neues schwaches Absorptionsmaximum bei ca. 445 nm zu sehen ist. Dies spricht für eine effektive E/Z-Isomerisierung der Verbindung. Die grüne Kurve stellt die Absorption der Verbindung **21** nach erneuter Bestrahlung, diesmal mit 520 nm dar. Hierbei wird das ursprüngliche Absorptionsmaximum bei 357 nm erneut detektiert, aber im Vergleich zur unbestrahlten Probe etwas kleiner. Dabei ist das Absorptionsmaximum bei ca. 445 nm noch zu erkennen. Dies deutet darauf hin, dass die Rückschaltung erfolgreich durchgeführt werden konnte. Die etwas schwächere Absorption bei 357 nm und das noch vorhandene Maximum bei ca. 445 nm ist jedoch ein deutlicher Hinweis darauf, dass die Rückschaltung nicht vollständig durchgeführt wurde. Dies könnte vermutlich mit einer längeren Bestrahlungszeit behoben werden. Die unvollständige Rückschaltung in die E-Konfiguration wird im rechten Graphen nochmal verdeutlicht. Der rechte Graph stellt die Absorption der Probe bei der Wellenlänge des E-Isomers. Dieser stellt graphisch dar, wie sich die Absorption der Probe nach jedem Bestrahlungszyklus ändert. Die Intensität der Absorption korreliert mit der Löslichkeit der Probe im Lösungsmittel und trifft keine quantitativen Aussagen über ein Isomerenverhältnis in der Probe. Dabei stellt jeder Messpunkt die Absorption bei 357 nm nach einer Bestrahlung mit abwechselnd 365 nm und 520 nm dar. Der erste Messpunkt bezieht sich auf die unbestrahlte Probe. Somit wurde die Absorption bei 357 nm gegen die Bestrahlungszyklen aufgetragen. Dabei wird ersichtlich, dass der erste Messpunkt der Reihe etwas höher liegt als die nachfolgenden Absorptionswerten nach Hin- und Rückschaltung. Diese Darstellung der Absorption lässt trotzdem erkennen, dass Verbindung **21** sich mit einem konstanten Umsatz in das Z- und zurück in das E-Isomer schalten lässt.

Verbindung **22** stellt ein Azobenzolderivat dar, welches die klickfähigen Alkineinheiten nicht direkt am Aromaten trägt, sondern diese über eine Etherbrücke an den 4- und 4'-Positionen verknüpft sind. Die zusätzlichen CH<sub>2</sub>-Gruppen und der Ether zwischen Aromat und Alkin bringen später eine höhere Flexibilität über die zusätzlichen Freiheitsgrade in das System ein, wodurch diese Verbindung einen interessanten Vergleich mit den starrereren photoschaltbaren Pinzetten darstellt. Als erstes wird 4-Aminobenzylalkohol über die oxidative Azokupplung zum Azobenzolderivat **24** umgesetzt. Die Reaktionslösung konnte über Filtration aufgereinigt werden und somit das Produkt in höchster Reinheit isoliert werden. Dies gelang mit einer Ausbeute von 11 %. Als nächster Schritt wurde an den beiden Hydroxygruppen über eine *Williamson Ethersynthese* mittels Natriumhydrid die Propargylfunktionalität angebracht. Das Produkt konnte in einer Ausbeute von 32 % isoliert werden. Der über MD-Simulation berechnete Abstand in der Energiesenke zwischen der Alkinfunktionalitäten beträgt 15,15 Å für das E-

Isomer und 9,18 Å für das Z-Isomer. Die nachfolgende Abbildung stellt die zweistufige Synthese des Azobenzolderivats **22** schematisch dar.

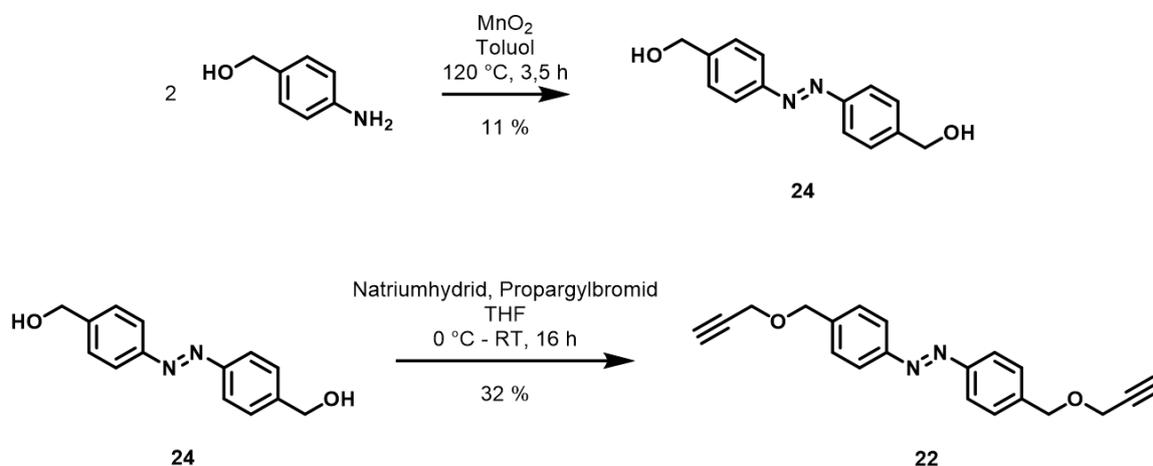
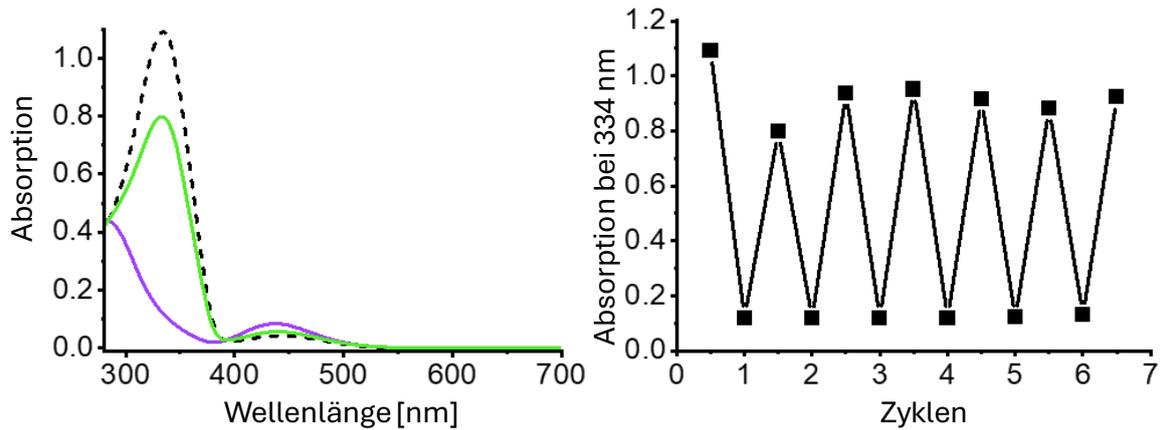


Abbildung 38: Zweistufige Synthese vom flexiblen Azobenzolderivat **22**. Die zusätzliche Freiheitsgrade zwischen Aromaten und Alkinfunktionalitäten erhöhen die freie Beweglichkeit der später anzubringenden Pinzetten.

Verbindung **22** wurde vor ihrem Einsatz in die Kupfer-Click-Reaktion ebenfalls auf ihre Photoschaltbarkeit und Halbwertszeit des Z-Isomers untersucht. Hier wurde zunächst ein Spektrum der unbestrahlten Probe aufgenommen, um den vorliegenden E- oder Z-Zustand bzw. das Verhältnis von den beiden vorliegenden Isomeren Zuständen zueinander festzustellen (gestrichelte Kurve im linken Spektrum, Abbildung 39). Anschließend wurde die Probe in das Z-Isomer über Bestrahlung mit 365 nm über eine Minute überführt (lila Kurve im linken Spektrum, Abbildung 39). Die Rückschaltung in das E-Isomer erfolgte über Bestrahlung mit 520 nm für fünf Minuten (grüne Kurve im linken Spektrum, Abbildung 39). In der nachfolgenden Abbildung sind die Absorptionskurven der beiden Isomeren zu sehen.



**Abbildung 39: UV/Vis-Analyse der Photoschaltbarkeit von Verbindung 22.** Links das Absorptionsspektrum von 280 nm bis 700 nm. Die gestrichelte Kurve entspricht die Absorption der Verbindung in unbestrahltem Zustand. Die lila Kurve entspricht die Absorption der Verbindung nach Bestrahlung mit 365 nm, also im Z-Zustand. Die grüne Kurve stellt die Absorption der Verbindung 22 nach Bestrahlung mit 520 nm, also im E-Zustand. Rechts wird die Absorption bei 334 nm über sieben Bestrahlungszyklen dargestellt.

Im UV/Vis-Spektrum werden die Absorptionskurven der Verbindung **22** in dem jeweiligen Zustand dargestellt. Die gestrichelte Kurve stellt die Absorption der Verbindung **22** in unbestrahltem Zustand dar. Diese Kurve zeigt ein Absorptionsmaximum bei 334 nm, welches nach Literaturangaben für eine vorwiegende E-Konfiguration der Verbindung spricht. Die lila Kurve stellt die Absorption der Verbindung **22** nach Bestrahlung mit 365 nm. Dabei wird erkennbar, dass das Absorptionsmaximum der unbestrahlten Probe nicht mehr vorhanden ist und dass ein neues schwaches Absorptionsmaximum bei ca. 445 nm zu sehen ist. Dies spricht für eine effektive E/Z-Isomerisierung der Verbindung. Die grüne Kurve stellt die Absorption der Verbindung **22** nach Bestrahlung mit 520 nm dar. Hierbei wird das ursprüngliche Absorptionsmaximum bei 334 nm erneut detektiert, aber im Vergleich zur unbestrahlten Probe etwas schwächer. Dabei ist das Absorptionsmaximum bei ca. 445 nm noch zu erkennen. Dies deutet darauf hin, dass die Rückschaltung erfolgreich durchgeführt werden konnte, jedoch wurde keine vollständige Rückschaltung erreicht. Dies könnte vermutlich auch hier mit einer längeren Bestrahlungszeit behoben werden. Die unvollständige Rückschaltung in die E-Konfiguration wird im rechten Graphen nochmal verdeutlicht. Der rechte Graph stellt die Absorption der Probe bei der Wellenlänge des E-Isomers. Dieser stellt graphisch dar, wie sich die Absorption der Probe nach jedem Bestrahlungszyklus ändert. Die Intensität der Absorption korreliert ebenfalls mit der Löslichkeit der Probe im Lösungsmittel und trifft keine quantitativen Aussagen über ein Isomerenverhältnis in der Probe. Dabei stellt jeder Messpunkt die Absorption bei 334 nm nach einer Bestrahlung mit abwechselnd 365 nm und 520 nm dar. Der erste Messpunkt bezieht sich auf die unbestrahlte Probe. Hierbei wurde die Absorption bei 334 nm gegen die Bestrahlungszyklen aufgetragen. Dabei wird beobachtet, dass der erste Messpunkt der Reihe etwas höher liegt als die nachfolgenden Absorptionswerten nach Hin- und Rückschaltung.

Diese Darstellung der Absorption lässt trotzdem erkennen, dass Verbindung **22** sich mit einem konstanten Umsatz in das Z- und zurück in das E-Isomer schalten lässt.

Verbindung **23** wurde ebenfalls über zwei Schritte hergestellt. Ausgehend von Verbindung **21** wurden zwei (4-Iodophenylethynyl)trimethylsilan-Einheiten über eine *Sonogashira-Kupplung* an den terminalen Alkinen angebracht. Die terminalen Silylschutzgruppen sind essenziell, um Verkettungen bis hin zu Polymerisationsreaktionen zu vermeiden. Diese Schutzgruppen konnten später, während der Kupfer-Click-Reaktion, *in situ* abgespalten werden. Hierauf wird in einem nachfolgenden Kapitel näher eingegangen. Somit kann ein Azobenzolderivat **21** höchstens mit zwei (Phenylethynyl)trimethylsilan-Einheiten versetzt werden. Die *Sonogashira-Kupplung* erfolgte mittels (Triphenylphosphin)Palladiumchlorid und Kupferiodid in Triethylamin bei Raumtemperatur über drei Tage<sup>144</sup>. Das erwünschte Produkt konnte nach säulenchromatographischer Aufreinigung mit einer Ausbeute von 15 % isoliert werden. Die nachfolgende Abbildung stellt die Syntheseroute von Verbindung **23** ausgehend von Verbindung **21** dar.

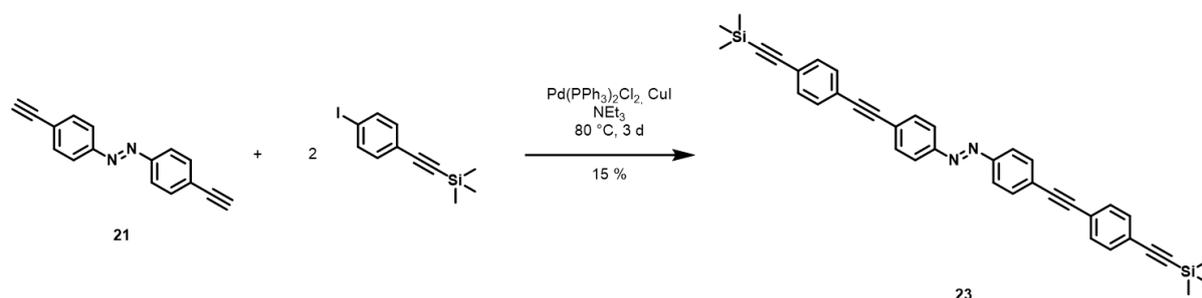


Abbildung 40: Synthese von Azobenzolderivat **23** über *Sonogashira-Kupplung*, ausgehend von Verbindung **21**.

Verbindung **23** wurde vor ihrem Einsatz in die Kupfer-Click-Reaktion ebenfalls auf ihre Photoschaltbarkeit und Halbwertszeit des Z-Isomers untersucht. Hier wurde zunächst ein Spektrum der unbestrahlten Probe aufgenommen, um den vorliegenden E- oder Z-Zustand bzw. das Verhältnis von den beiden vorliegenden Isomeren Zuständen zueinander festzustellen (gestrichelte Kurve im linken Spektrum, Abbildung 41). Folglich wurde die Probe in das Z-Isomer über Bestrahlung mit 365 nm über eine Minute überführt (lila Kurve im linken Spektrum, Abbildung 41). Die Rückschaltung in das E-Isomer erfolgte über Bestrahlung mit 520 nm für fünf Minuten (grüne Kurve im linken Spektrum, Abbildung 41). In der nachfolgenden Abbildung sind die Absorptionskurven der beiden Isomeren zu sehen.

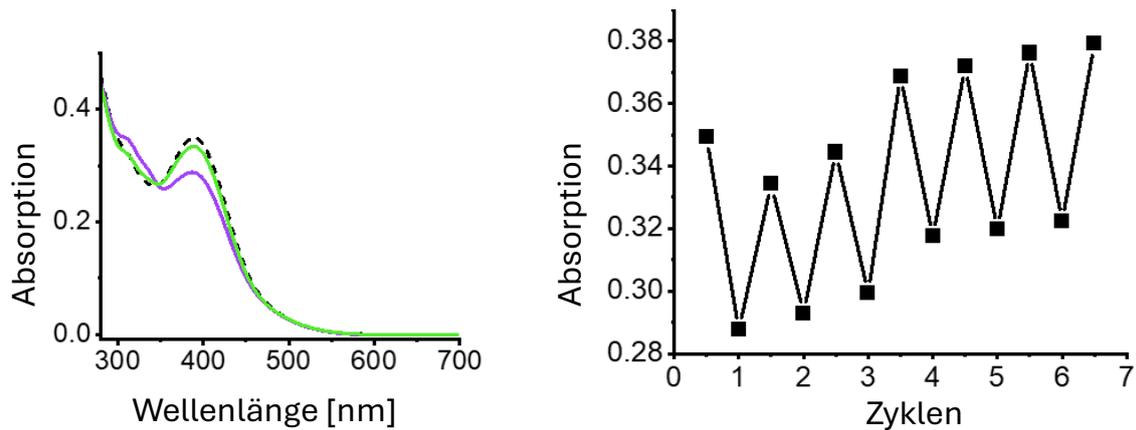


Abbildung 41: UV/Vis-Analyse der Photoschaltbarkeit von Verbindung **23**. Links das Absorptionsspektrum von 280 nm bis 700 nm. Die gestrichelte Kurve entspricht der Absorption der Verbindung in unbestrahltem Zustand. Die lila Kurve entspricht der Absorption der Verbindung nach Bestrahlung mit 365 nm, also im Z-Zustand. Die grüne Kurve stellt die Absorption der Verbindung **23** nach Bestrahlung mit 520 nm, also im E-Zustand. Rechts wird die Absorption bei 390 nm über sieben Bestrahlungszyklen dargestellt.

Im UV/Vis-Spektrum werden die Absorptionskurven der Verbindung **23** in dem jeweiligen Zustand dargestellt. Die gestrichelte Kurve stellt die Absorption der Verbindung **23** in unbestrahltem Zustand dar. Dabei wird beobachtet, dass im Vergleich zu den Verbindungen **21** und **22** die Absorptionsintensität sehr gering ist. Diese Kurve zeigt ein Absorptionsmaximum bei 390 nm, welches nach Literaturangaben auch hier für eine vorwiegende E-Konfiguration der Verbindung spricht. Die lila Kurve stellt die Absorption der Verbindung **23** nach Bestrahlung mit 365 nm dar. Dabei wird ersichtlich, dass das Absorptionsmaximum der unbestrahlten Probe noch vorhanden ist und dass kein neues schwaches Absorptionsmaximum bei ca. 445 nm zu sehen ist. Dies spricht für eine ineffektive E/Z-Isomerisierung der Verbindung. Die grüne Kurve stellt die Absorption der Verbindung **23** nach erneuter Bestrahlung, diesmal mit 520 nm dar. Hierbei wird das Absorptionsmaximum bei 390 nm erneut detektiert, aber im Vergleich zur unbestrahlten Probe etwas kleiner und im Vergleich zur lila Kurve etwas stärker. Dabei ist ebenfalls kein Absorptionsmaximum bei ca. 445 nm zu erkennen. Dies deutet darauf hin, dass die Isomerisierungsreaktion nur wenig bis gar nicht funktionierte. Die unvollständige Isomerisierung wird im rechten Graphen nochmal verdeutlicht. Der rechte Graph stellt die Absorption der Probe bei der Wellenlänge des E-Isomers dar und zeigt, wie sich die Absorption der Probe nach jedem Bestrahlungszyklus ändert. Die Intensität der Absorption korreliert mit der Löslichkeit der Probe im Lösungsmittel und trifft keine quantitativen Aussagen über ein Isomerenverhältnis in der Probe. Dabei stellt jeder Messpunkt die Absorption bei 390 nm nach einer Bestrahlung mit abwechselnd 365 nm und 520 nm dar. Der erste Messpunkt bezieht sich auf die unbestrahlte Probe. Somit wurde die Absorption bei 390 nm gegen die Bestrahlungszyklen aufgetragen. Dabei lässt sich eine sehr geringe Absorptionsintensität erkennen.

Dies liegt daran, dass die Probe eine sehr schlechte Löslichkeit im Lösungsmittel aufweist, wodurch vermutlich nur wenig Probe sich tatsächlich in Lösung befindet. Dies könnte vermutlich mit einem „ $\pi$ -Stacking“ der aromatischen Reste erklärt werden.  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen sind Kräfte, die zwischen  $\pi$ -Elektronen in Molekülen auftreten. Diese sind relativ schwache nichtkovalente Wechselwirkungen zwischen  $\pi$ -Systemen, insbesondere zwischen aromatischen Ringen<sup>145</sup>. Aufgrund der hohen Elektronendichte der aromatischen Ringe und den verknüpfenden Alkinresten der Verbindung **23** können intra- und intermolekularen  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen auftreten, die möglicherweise die Photochemie der Verbindungen über die Stapelung der aromatischen Einheiten verändern können. Dies könnte die geringe Absorptionsintensität der Verbindung **23** erklären. Ebenfalls könnte dadurch eine Konfigurationsänderung eingegrenzt werden, da jede  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkung eine Bindungsstärke von etwa 50 kJ/mol besitzt<sup>146</sup>. Treten die Art von Wechselwirkungen in einem System häufig ein, kann das Überwinden der aufsummierten Kräfte schwierig sein. Das Stapeln der aromatischen Einheiten ist vermutlich über eine sterische Hinderung vermeidbar, weshalb Verbindung **23**, trotz dieser UV/Vis-Ergebnisse, später mit Tweezereinheiten in einer Kupfer-Click-Reaktion umgesetzt wurde.

Zur besseren Übersicht wurden zunächst die Abstände der endständigen Alkinfunktionalitäten in beiden isomeren Formen des jeweiligen Azobenzol-Derivats tabellarisch aufgelistet. Die MD-Simulationen dieser Verbindungen befinden sich im Appendix.

**Tabelle 1: Tabellarische Darstellung der Abstände zwischen den beiden Alkinfunktionalitäten der Azobenzol-Derivate in beiden Konfigurationsisomeren. Die Abstände entsprechen jeweils der Distanz zwischen den beiden Alkin-Funktionalitäten.**

Verbindung	Abstand im E-Zustand [Å]	Abstand im Z-Zustand [Å]
<b>21</b>	15	9
<b>22</b>	15	10
<b>23</b>	28	12

Die Halbwertszeiten der Z-Isomere der Azobenzol-Derivate wurden ebenfalls von der Kooperationspartnerin Alisa-Maite Kauth bestimmt. Dabei wird bei diesen Derivaten jeweils eine Probe bestrahlt, um diese in ihr Z-Isomer zu überführen. Im Anschluss wird die Absorption der Probe bei der jeweiligen Wellenlänge, bei welcher das E-Isomer ein Absorptionsmaximum aufweist, stündlich vermessen. Die Absorption nimmt für alle Derivate mit der Zeit zu, da das instabile Z-Isomer thermisch zurück in das E-Isomer isomerisiert. Mit diesen Messpunkten lässt sich jeweils eine Kurve plotten, woraus die

Halbwertszeit abgelesen werden kann. Diese wurden zur übersichtlicheren Veranschaulichung tabellarisch aufgelistet.

Tabelle 2: Halbwertszeiten der Z-Isomere der jeweiligen Azobenzol-Derivaten.

Verbindung	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]	Temperatur [°C]
<b>21</b>	12	25
<b>22</b>	66	25
<b>23</b>	4	25

Die Halbwertszeiten der jeweiligen Z-Zustände der Azobenzol-Derivate wurde bei Raumtemperatur vermessen. Hierbei ist zu erkennen, dass die zwei starren Azobenzol-Derivate eine viel kürzere Halbwertszeit des Z-Zustandes aufweisen als Verbindung **22**. Die längere Halbwertszeit von Verbindung **22** kann mit dem wirkenden -I-Effekt der Ether-Einheiten erklärt werden. Durch diesen Effekt wird die Elektronendichte der Azo-Brücke verringert, wodurch die energetische Barriere zwischen den  $\pi$ - und  $\pi^*$ -Orbitalen erhöht wird<sup>147</sup>. Demzufolge kann eine Rückschaltung in das E-Isomer viel langsamer stattfinden als bei Verbindungen **21** und **23**.

### 3.3 Photoschalter: Arylazopyrazolderivate

Arylazopyrazole haben sich in den letzten Jahren als hervorragende Photoschalter erwiesen. In der aktuellen Literatur werden zahlreiche Beispiele gezeigt, aus welchen hervorgeht, dass sie eine ausgezeichnete Photoisomerisierung besitzen. Dies liegt daran, dass die Absorptionsmaxima der E- und Z-Isomere weit auseinander liegen (365 und 520 nm). Folglich kann ein viel höherer Umsatz von bis zu >98 % bei der Isomerisierung erreicht werden<sup>95</sup>. Diese ist für das Schalten in späteren multivalenten supramolekularen Systemen von hoher Bedeutung. Darüber hinaus besitzen AAPs eine hohe thermische Stabilität des Z-Isomers, die bis hin zu Jahren reicht. Alles in allem, zeigen AAPs überlegene Eigenschaften als molekulare Photoschalter. Aus diesem Grund wurde das AAP-Motiv für eine neue Reihe an supramolekularen photoschaltbaren Pinzetten ausgewählt. Die in der nachfolgenden Abbildung gezeigten Strukturen wurden von mir nach einem rationalen Design entworfen und in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Bart Jan Ravoo der Universität Münster von Alisa-Maite Kauth synthetisiert, auf ihre Photoschaltbarkeit mittels UV/Vis-Spektroskopie untersucht und die Halbwertszeiten der Z-Isomere bestimmt. Nach vollständiger Charakterisierung wurden sie mir zum Einsatz in die Kupfer-Click-Reaktionen mit den molekularen Pinzetten zur Verfügung gestellt.

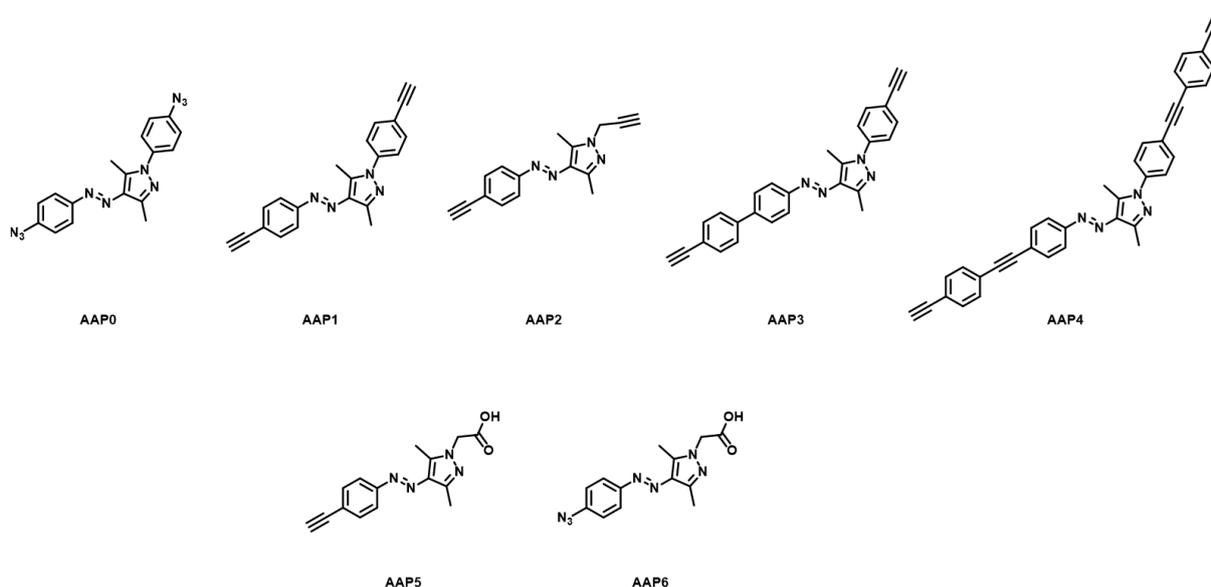


Abbildung 42: Arylazopyrazol-Derivate (Synthese von Alisa-Maite Kauth aus dem Arbeitskreis Ravoo, Universität Münster).

**AAP0** und **AAP1** ähneln sich sehr in ihrer chemischen Struktur. Der Unterschied besteht darin, dass **AAP0** zwei Azid-Funktionalitäten und **AAP1** zwei Alkin-Funktionalitäten an ihren Enden tragen. **AAP2** unterscheidet sich dazu in seiner Größe und Flexibilität. Zwischen dem Pyrazolring und der terminalen Alkin-Funktionalität befindet sich eine Methylengruppe statt eines Benzolrings. Diese Methylengruppe

bringt durch ihre Drehbarkeit mehr Freiheitsgrade in die gesamte Struktur ein und wodurch die Flexibilität des Gerüsts weiter erhöht wird. **AAP3** ähnelt der Struktur des **AAP1**. Der grundlegende Unterschied besteht darin, dass der Benzolring an der Azobrücke zu einer Biphenyl-Einheit verlängert wurde. **AAP4** ähnelt ebenfalls dem **AAP1**, jedoch wurde die AAP-Einheit symmetrisch über eine *Sonogashira Kupplung* um eine 4-Ethynylphenyl-Einheit symmetrisch verlängert. Dies liefert der Struktur einen viel größeren Abstand zwischen den beiden terminalen Alkin-Funktionalitäten.

In der nachfolgenden Tabelle werden die jeweiligen Abstände zwischen den terminalen funktionellen Gruppen beider Isomere, der oben gezeigten Verbindungen, aufgelistet. Hierfür wurden die Verbindungen mittels dem Programm *Schrödinger Maestro* gezeichnet, minimiert und die jeweiligen Abstände ermittelt. Die Abbildungen der MD-Simulationen dieser Verbindungen befinden sich im Appendix.

**Tabelle 3:** Abstände zwischen endständigen Funktionalitäten der Verbindungen AAP0 bis AAP6 in beiden Konfigurationsisomeren Formen. Die Abstände entsprechen jeweils der Distanz zwischen den beiden Alkin-Hs bzw. zwischen dem Alkin-H und C-Atom der Carbonsäure.

Verbindung	Abstand im E-Zustand [Å]	Abstand im Z-Zustand [Å]
<b>AAP0</b>	17	13
<b>AAP1</b>	18	12
<b>AAP2</b>	13	10
<b>AAP3</b>	22	15
<b>AAP4</b>	30	21
<b>AAP5</b>	13	8
<b>AAP6</b>	13	9

Am Beispiel von AAP1 werden in der nachfolgenden Abbildung die UV/Vis-Experimente zur Überprüfung der Photoschaltbarkeit der AAP-Derivate gezeigt.

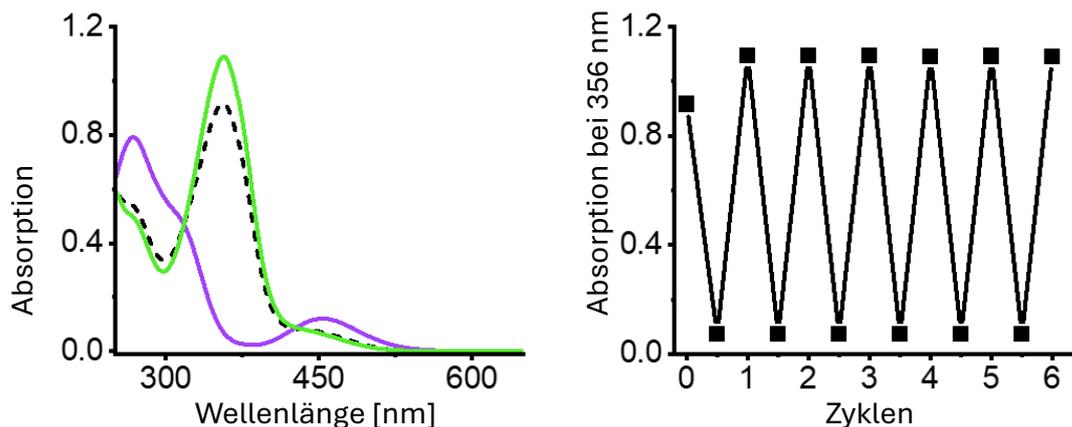


Abbildung 43: UV/Vis-Analyse der Photoschaltbarkeit von AAP1. Links das Absorptionsspektrum von 280 nm bis 620 nm, die gestrichelte Kurve entspricht der Absorption der Verbindung in unbestrahltem Zustand. Die lila Kurve entspricht der Absorption der Verbindung nach Bestrahlung mit 365 nm, also im Z-Zustand. Die grüne Kurve stellt die Absorption von AAP1 nach Bestrahlung mit 520 nm dar, also im reinen E-Zustand. Rechts wird die Absorption bei 390 nm über 7 Bestrahlungszyklen dargestellt.

Im UV/Vis-Spektrum werden die Absorptionskurven des **AAP1** in dem jeweiligen Zustand dargestellt. Die gestrichelte Kurve im linken Spektrum stellt die Absorption der **AAP1** in unbestrahltem Zustand dar. Diese Kurve zeigt ein Absorptionsmaximum bei 356 nm, welches nach Literaturangaben für eine vorwiegende E-Konfiguration der Verbindung spricht. Die lila Kurve im linken Spektrum stellt die Absorption der **AAP1** nach Bestrahlung mit 365 nm. Dabei wird deutlich, dass das Absorptionsmaximum der unbestrahlten Probe nicht mehr vorhanden ist und dass ein neues schwaches Absorptionsmaximum bei ca. 450 nm zu sehen ist. Dies spricht für eine effektive E/Z-Isomerisierung der Verbindung. Die grüne Kurve stellt die Absorption der **AAP1** nach erneuter Bestrahlung, diesmal mit 520 nm dar. Hierbei wird das ursprüngliche Absorptionsmaximum bei 356 nm erneut detektiert, aber im Vergleich zur unbestrahlten Probe deutlich stärker. Dabei ist das Absorptionsmaximum bei ca. 450 nm nicht mehr zu erkennen. Dies deutet darauf hin, dass die Rückschaltung erfolgreich durchgeführt werden konnte. Die etwas stärkere Absorption bei 356 nm und das nicht mehr vorhandene Maximum bei ca. 450 nm ist jedoch ein deutlicher Hinweis darauf, dass die Rückschaltung vollständig durchgeführt wurde. Die vollständige Rückschaltung in die E-Konfiguration wird im rechten Graphen nochmal verdeutlicht. Der rechte Graph stellt die Absorption der Probe bei der Wellenlänge des E-Isomers. Dieser stellt graphisch dar, wie sich die Absorption der Probe nach jedem Bestrahlungszyklus ändert. Die Intensität der Absorption korreliert mit der Löslichkeit der Probe im Lösungsmittel und trifft keine quantitativen Aussagen über ein Isomerenverhältnis in der Probe. Dabei stellt jeder Messpunkt die Absorption bei 356 nm nach einer Bestrahlung mit abwechselnd 365 nm und 520 nm dar. Der erste Messpunkt bezieht sich auf die unbestrahlte Probe. Somit wurde die Absorption bei 356 nm gegen die Bestrahlungszyklen aufgetragen. Dabei wird ersichtlich, dass der erste Messpunkt der Reihe etwas niedriger

liegt als die nachfolgenden Absorptionswerte nach Hin- und Rückschaltung, was darauf hindeutet, dass die unbestrahlte Probe aus einem Gemisch der beiden Isomeren bestand. Zusätzlich lässt sich erkennen, dass die Absorption nach Bestrahlung mit 365 nm sehr gering bis nicht mehr vorhanden ist. Dies deutet auf eine vollständige Schaltung in das Z-Isomer hin. Im Vergleich zu den Azobenzolderivaten lässt sich aus den erhaltenen Daten interpretieren, dass die Arylazopyrazolderivate eine effizientere Photoisomerisierung als die Azobenzole mit sich bringen und sich somit vollständig in das Z- bzw. in das E-Isomer schalten lassen.

Die Halbwertszeiten der Z-Isomere der AAP-Derivate wurden ebenfalls bestimmt. Dabei wird auch bei diesen Derivaten jeweils eine Probe bestrahlt, um diese in ihr Z-Isomer zu überführen. Dazu wird die Absorption der Probe bei der jeweiligen Wellenlänge, bei welcher das E-Isomer ein Absorptionsmaximum aufweist, stündlich vermessen. Die Absorption nimmt für alle Derivate mit der Zeit zu, da das instabile Z-Isomer thermisch zurück in das E-Isomer überführt wird. Mit diesen Messpunkten lässt sich jeweils eine Kurve plotten, woraus die Halbwertszeit abgelesen werden kann. Diese sind in der nachfolgenden Tabelle zur übersichtigen Darstellung aufgelistet. Aufgrund der lichtvermittelten Oxidation der Azid-Funktionalitäten von AAP0 und AAP6, konnten für diese Verbindungen keine Halbwertszeiten ermittelt werden.

**Tabelle 4: Halbwertszeiten der Z-Isomere der Verbindungen AAP0 bis AAP6.**

Verbindung	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]	Temperatur [°C]
AAP0	-	-
AAP1	6	25
AAP2	43	25
AAP3	38	25
AAP4	18	25
AAP5	36	25
AAP6	-	-

Die Halbwertszeiten der jeweiligen Z-Zustände der AAP-Derivate wurden ebenfalls bei Raumtemperatur vermessen. Allgemein lässt sich sagen, dass alle Z-Isomere der vermessenen **AAPs** über eine hohe Stabilität verfügen. Hierbei ist zu erkennen, dass das kürzere **AAP2** das stabilste Z-Isomer besitzt mit einer Halbwertszeit von 43 Stunden.

### 3.4 Photoschaltbare Pinzetten

In den vergangenen Jahren wurde vor allem die Kupfer(I)-katalysierte Click-Reaktion einer Alkin/Azid-Pinzette mit zahlreichen Aziden und Alkinen eingesetzt und führte zu sauberen Produkten in guten Ausbeuten. Es konnten zahlreiche hybride Peptid-Pinzetten-Motive wie auch multivalente Pinzetten-systeme hergestellt und untersucht werden. Deshalb wurde diese Methode ausgewählt, um die photoschaltbaren Pinzetten zu synthetisieren. Im nachfolgenden Kapitel wird näher auf die Kupfer(I)-katalysierte Click-Reaktion und deren Mechanismus eingegangen.

#### 3.4.1 Kupfer-Click-Reaktion

Im Jahr 2001 wurde die *Click-Chemie* erstmals von *Sharpless et al.*<sup>148</sup> erwähnt. Damit werden Reaktionen beschrieben, bei denen kleine Moleküle als Bausteine dienen, die unter milden Bedingungen hoch-effizient miteinander verknüpft werden. Dabei sollen größere Moleküle aus einfachen Fragmenten synthetisiert werden können. Anwendung kann dies unter anderem bei der Entwicklung und Synthese von Molekülen mit biologischer Aktivität finden.

Um eine chemische Reaktion als Click-Reaktion bezeichnen zu dürfen, müssen einige Bedingungen erfüllt werden. Zum einen muss diese modular und umfangreich anwendbar sein und gleichzeitig Produkte in sehr hohen Ausbeuten liefern. Die entstandenen Nebenprodukte sollten ohne Verwendung von chromatographischen Methoden einfach abtrennbar sein. Zum anderen sollten die Reaktionen stereospezifisch ablaufen und die Reaktionsbedingungen möglichst milde sein. Des Weiteren sind diese Reaktionen im Optimalfall nicht wasser- oder sauerstoffempfindlich<sup>149</sup>.

Seit einiger Zeit beschäftigen sich Forschungsgruppen weltweit intensiv mit Click-Reaktionen, da sie eine einfache und effektive Möglichkeit zur Synthese komplexerer Strukturen darstellen. Reaktionen, die diesen Anforderungen entsprechen, sind beispielsweise Cycloadditionen ungesättigter Verbindungen, wie die 1,3-dipolare Cycloadditionen und Diels-Alder-Reaktionen. Die 1,3-dipolare Cycloadditionen wurden schon in den 1960er Jahren von *Huisgen* untersucht und beschrieben<sup>149, 150</sup>.

Zwei Arbeitsgruppen entwickelten im Jahr 2002 unabhängig voneinander die Kupfer(I)-katalysierte Alkin-Azid-Cycloaddition (CuAAC). Dabei wird das 1,4-Regioisomer [1,2,3]-Triazol gebildet. *Meldal et al.*

führte seine Reaktion an der Festphase und konnte somit Peptideinheiten miteinander verknüpfen<sup>151</sup>. Zeitgleich führte *Sharpless* CuAAC-Reaktionen in Lösung mit Phenylpropargylether und Benzylazid<sup>152</sup>. In seinen Experimenten stellte *Sharpless* fest, dass die *in situ* Erzeugung der Kupfer(I)-Spezies effektiver als die Verwendung der kommerziell erwerblichen Kupfer(I)-Salze war. Dafür verwendeter er Kupfer(II)sulfat-pentahydrat, welches *in situ* über Natriumascorbat zu Kupfer(I) reduziert wurde. Durch die Verwendung dieses Katalysatoren-*Cocktails* konnten die Ausbeuten deutlich erhöht werden. Kupfer(I)-Salze werden leicht oxidiert und verlieren somit ihre katalytische Wirkung. Deshalb können keine Reaktionen in Wasser oder in Gegenwart von Wasser mit Kupfer(I)-Quellen durchgeführt werden. Somit stellten *Sharpless et al.* fest, dass tertiäre Amine als nicht-nucleophilen Basen notwendig für die Reaktionen sind. Deshalb legten *Sharpless et al.* ihren Fokus auf die *in situ* Erzeugung der Kupfer(I)-Spezies, welche in Gegenwart von Wasser und Sauerstoff gute Ausbeuten liefert<sup>153</sup>.

In der nachfolgenden Abbildung wird der von *Worrell et al.*<sup>154</sup> postulierte Mechanismus der Kupfer(I)-katalysierten Click-Reaktion schematisch dargestellt.

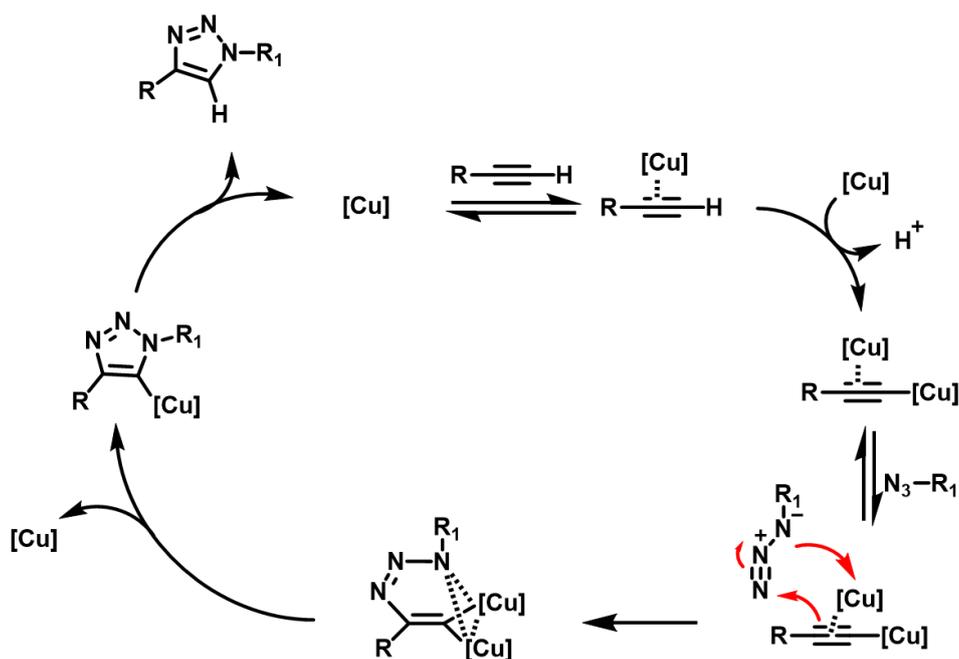


Abbildung 44: Schematische Darstellung des Mechanismus der Kupfer(I)-katalysierten Click-Reaktion (In Anlehnung zu *Worrell et al.*<sup>154</sup>).

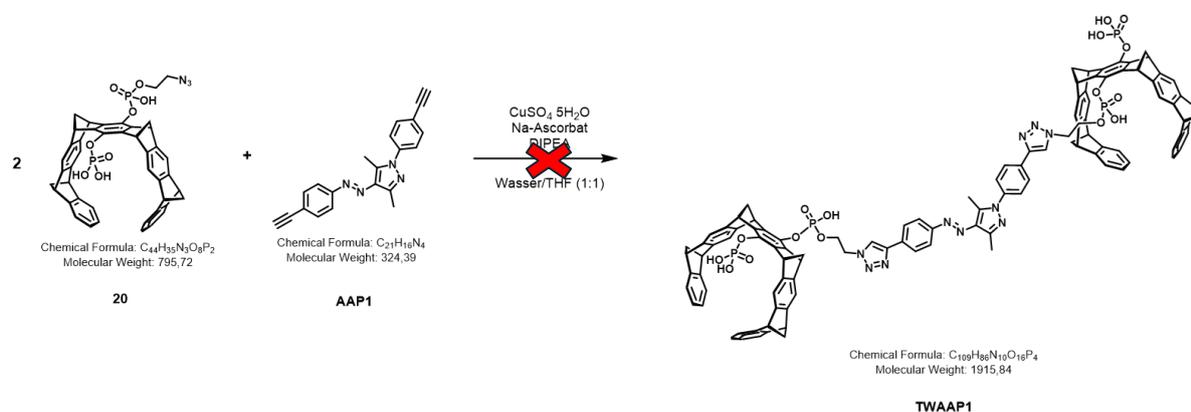
*Worrell et al.* stellten einen Reaktionsmechanismus zur CuAAC-Reaktion basierend auf ihrer Echtzeit-Überwachung eines repräsentativen Cycloadditionsprozesses mittels Wärmefluss-Reaktionskalorimetrie vor<sup>154</sup>. Dieser postulierte Mechanismus beginnt mit der Bildung eines  $\pi$ -Komplexes zwischen einem Kupfer-Atom und dem Alkin. Durch die Bildung dieses Komplexes wird das Acetylen-Proton stark azid.

Durch Deprotonierung und wird die Anbindung eines zweiten Kupfer-Atoms zum Kupfer-Acetylid begünstigt. Als nächstes kann das Azid-Substrat zu einem füngliedrigen Ring als Übergangszustand koordiniert werden und durch eine nucleophile Substitution wird der Ring geschlossen und ein Kupfer-Atom eliminiert. Als letzter Schritt wird der Ring protoniert, das gewünschte Additionsprodukt entsteht und der Katalysator wird recycelt.

In dieser Arbeit lag der Fokus auf der wie von *Sharpless* beschriebenen Kupfer(I)-katalysierten Azid-Alkin-Cycloaddition, um molekulare Pinzetten mit den unterschiedlichen Photoschaltern zu verknüpfen.

### 3.4.1.1 Reaktionsoptimierung

Zur Synthese von photoschaltbaren Pinzetten wurden die im vorherigen Kapitel beschriebenen Azobenzol- und Arylazopyrazol-Derivate mit der Monoazidopinzette **20** einer Click-Reaktion unterworfen. Dabei wurde zunächst **20** mit dem **AAP1** nach der etablierten Vorschrift von *Christian Heid* mit Kupfer(II)sulfat, Diisopropylethylamin (DIPEA) und Natriumascorbat in Wasser/THF (1:1) umgesetzt. Dies führte aber nicht zum gewünschten Produkt (Abbildung 45). Die Bildung des gewünschten Produkts konnte weder massenspektrometrisch noch über NMR-Spektroskopie nachgewiesen werden.



**Abbildung 45:** Erster Versuch der Synthese einer photoschaltbaren Pinzette über die konventionelle Click-Reaktion nach *Heid*<sup>43</sup>.

Für eine Umsatzkontrolle der Reaktion wurde eine Probe entnommen und über eine analytische HPLC untersucht. Es wurden ca. 20  $\mu$ L aus der Reaktionsmischung entnommen und mit 200  $\mu$ L Wasser:Acetonitril (1:1) und 0.1% TFA verdünnt. Das HPLC-Spektrum zeigte nur ein Signal bei 15.34 min, welches der Monoazidopinzette **20** und ein Signal bei 26.80 min welches dem **AAP1** zuzuordnen werden

können (Abbildung 46). Aus diesem Grund wurden zunächst die Reaktionsparameter für die Click-Reaktion optimiert.

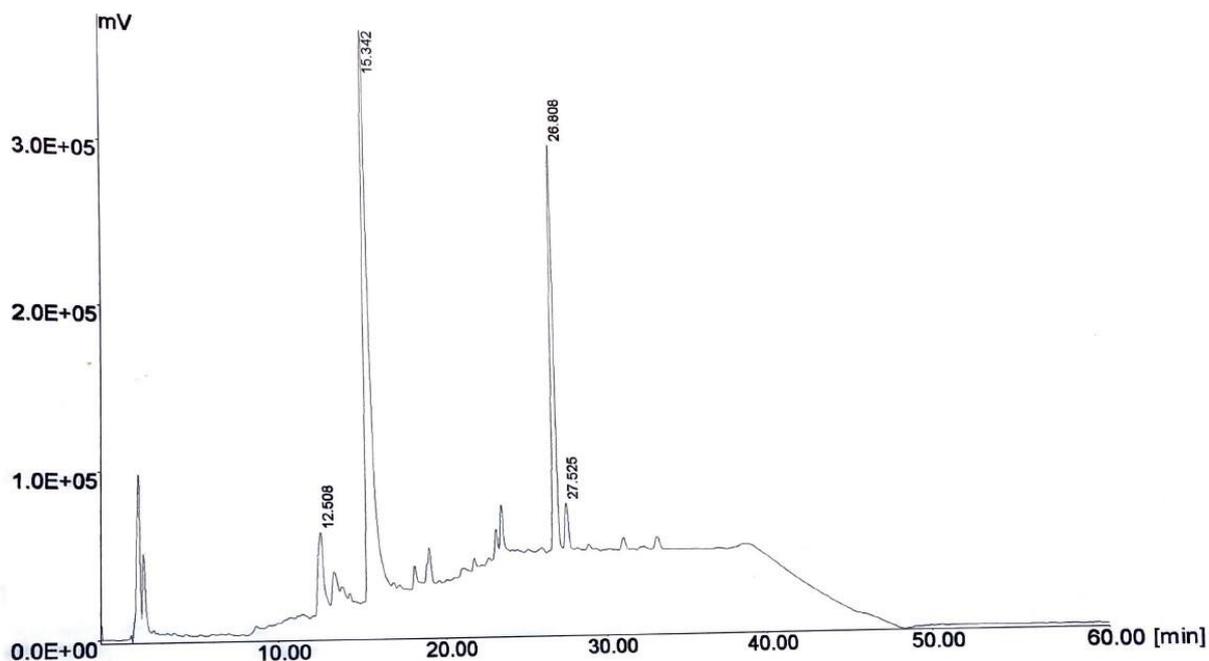


Abbildung 46: Analytischer HPLC-Lauf der Reaktionskontrolle des ersten Versuch einer Kupfer-Click-Reaktion zur Synthese einer photoschaltbaren Pinzette.

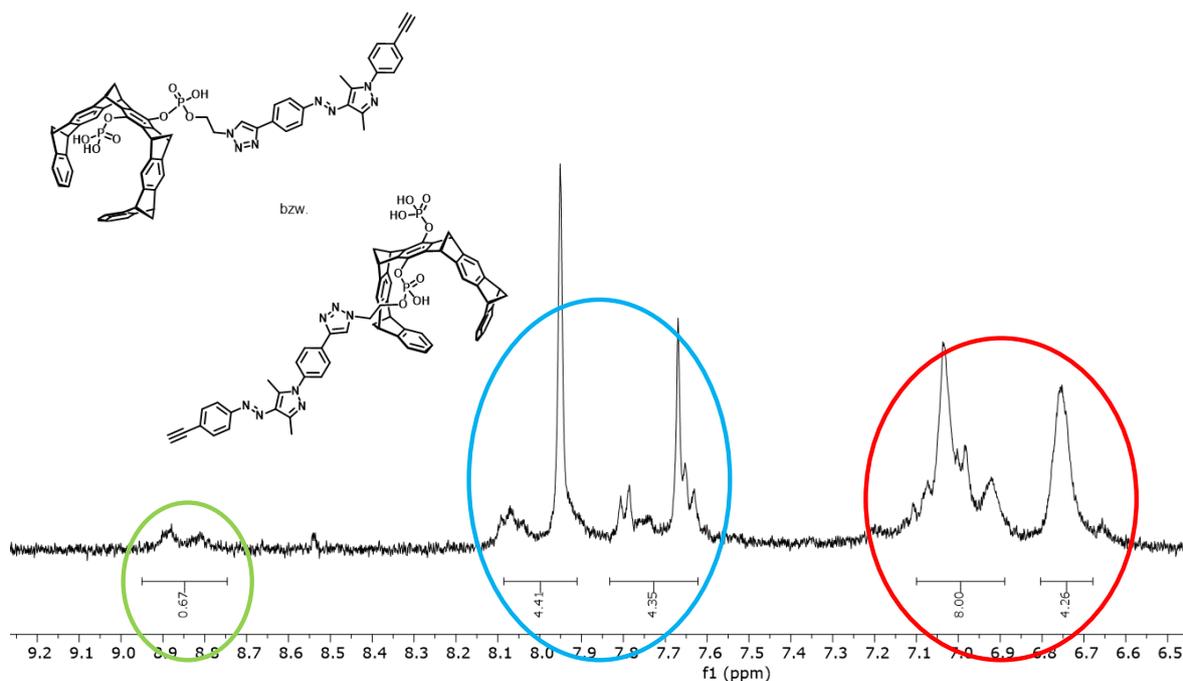
Für die Optimierung wurden mehrere Faktoren des Systems mitberücksichtigt, wie z.B. die Löslichkeit des **AAP1s** in (Gegenwart von) Wasser. Dabei wurden mehrere Parameter wie Lösungsmittel, Katalysator, Temperatur und Reaktionszeit variiert. Tabelle 5 zeigt eine Übersicht der durchgeführten Reaktionen mit unterschiedlichen Parametern. Die Reaktionen wurden mittels Massenspektrometrie und NMR-Spektroskopie überprüft. Auf eine Kontrolle über analytischer HPLC wurde im Laufe der Optimierung verzichtet, da ein Druckanstieg in der Anlage detektiert wurde als die Proben vermessen wurden.

Tabelle 5: Parameteroptimierung für die Kupfer-Click-Reaktion zur Synthese von photoschaltbaren Pinzetten.

Eintrag	Katalysator	Hilfsmittel	Lösungsmittel	Temperatur	Ergebnis
1	CuSO <sub>4</sub> 5 H <sub>2</sub> O / Na-Ascorbat (2,52/6,04 & 5.0/5.0 Äq.)	DIPEA (5.3 Äq.)	H <sub>2</sub> O:THF DMSO, DMF	RT, 60 °C, 80 °C	Kein Umsatz
2	CuI (2.0 Äq.)	DIPEA (5.3 Äq.)	DMSO, DMF	RT, 60 °C, 80 °C	Kein Umsatz
3	CuI (2.0 Äq.)	DIPEA (5.3 Äq.) THPTA (2.0 Äq.)	DMSO, DMF	RT, 60 °C, 80 °C	Kein Umsatz
4	CuBr (5.0 Äq.)	DIPEA (5.4 Äq.)	DMSO	RT, 60 °C, 80 °C	Bildung der Zwischenstufe
5	CuBr (5.0 Äq.)	DIPEA (5.4 Äq.)	DMF	40 °C	Produktbildung

Um eine erfolgreiche Synthese der photoschaltbaren Pinzetten mittels Kupfer-Click-Reaktion zu erreichen, mussten systematisch die Reaktionsparameter variiert und überprüft werden. Zunächst wurden die im Arbeitskreis etablierten Parameter (1) für die Synthese eingestellt. Für alle Click-Versuche wurde die iterative Zugabe der Komponenten nach Abschluss der Reaktionszeit für eine einzelne Click-Reaktion durchgeführt. Dabei wurde als Katalysator die Kombination aus CuSO<sub>4</sub> 5 H<sub>2</sub>O und Natriumascorbat verwendet, um *in situ* die aktive Kupfer(I)-Spezies zu erzeugen. Dies wurde im wässrigen Milieu durchgeführt. Es wurden unterschiedliche Wasser/THF-verhältnisse ausprobiert, um eine möglichst optimale Löslichkeit aller Reaktanden zu erreichen. Diese Parameter wurden bei Raumtemperatur, 60 °C und 80 °C durchgeführt und es wurden verschiedene Lösungsmittel ausprobiert. Darunter fallen reines Dimethylsulfoxid und reines Dimethylformamid, deren Variationen alle ergebnislos blieben. Als nächster Schritt (2) wurde die Kupferquelle verändert. Hierfür wurde Kupfer(I)iodid ausgewählt. Aufgrund der hohen Oxidationsempfindlichkeit des Kupfer(I)-Salzes wurde mit diesem Katalysator wasserfrei gearbeitet. So wurde die Reaktion in trockenem DMSO bzw. trockenem DMF bei verschiedenen

Temperaturen durchgeführt. Dies führte leider immer noch zu keiner Produktbildung, weshalb im nächsten Ansatz (**3**) einen Kupfer(I)-Stabilisator, das Tris[(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin (THPTA), mit eingesetzt wurde. Allerdings führte dies ebenfalls zu keiner Produktbildung. Als nächster Ansatz (**4**) wurde das Gegenion der Kupferquelle geändert. Kupferbromid ist in der Literatur als ein gut geeigneter Katalysator für Click-Reaktionen bekannt. Dabei wurden die Äquivalente des Katalysators und der Hilfsbase vergrößert und in DMSO bei verschiedenen Temperaturen zur Reaktion gebracht. Im Laufe der Reaktion wurde eine Trübung der Lösung beobachtet. Nach Ende der Reaktionszeit und Aufarbeitung konnte festgestellt werden, dass die Reaktion die einfach-geklickte Zwischenstufe ergab. Das  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum der isolierten Verbindung zeigte ein Verhältnis von 1:1 zwischen den Tweezer-Signalen und den **AAP1**-Signalen. Das gewünschte Produkt soll ein Verhältnis von 2:1 Tweezer-**AAP1** haben. Diese Beobachtung konnte massenspektrometrisch bestätigt werden. Ein Grund für die unvollständige Umsetzung zum gewünschten Produkt kann die schlechte Löslichkeit der Zwischenstufe in DMSO sein. Löst sich diese schlecht im Lösungsmittel und fällt aus der konzentrierten Lösung aus, so kann diese nicht an einer weiteren Click-Reaktion teilnehmen. Ein weiterer Grund könnte ebenfalls eine aggregationsbedingte sterische Hinderung sein. Die durchkonjugierten Aromaten der **AAP1**-Einheit könnten in der Lösung intermolekulare  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen eingehen und sich so ausrichten, dass der bereits geklickte Tweezer die freie Alkineinheit eines anderen Moleküls abschirmt. Diese Aggregation könnte ebenfalls zum Ausfallen aus der Reaktionslösung führen und somit eine weitere Umsetzung verhindern. Die beobachtete Trübung der Reaktionslösung ist ein deutlicher Hinweis auf eine Aggregation, wie auch auf eine schlechte Löslichkeit, des entstandenen Produktes. Aufgrund dessen wurde im letzten Schritt der Optimierung das Lösungsmittel erneut verändert.



**Abbildung 47:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum der isolierten Zwischenstufe. Im roten Kreis sind die Signale der aromatischen Protonen der Tweezer-Einheit zu erkennen, welche insgesamt eine Integration von 12 H-Atomen besitzen. Im blauen Kreis sind die Signale der Arylazopyrazol-Einheit zu erkennen, welche eine Integration von insgesamt 8 H-Atomen besitzen. Dies stellt die Einheiten in einem 1:1 Verhältnis und spricht für eine unvollständige doppelte Click-Reaktion. Im grünen Kreis sind schwache Signale des Triazol-Rings zu erkennen mit einer integrierten Fläche von 0.67.

Die Reaktion wurde daraufhin in DMF mit CuBr und DIPEA bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt. Dabei wurde keine Trübung der Reaktionslösung beobachtet. Hierbei konnte festgestellt werden, dass es unter diesen Reaktionsbedingungen bereits bei 40 °C zur Produktbildung kam (**5**) (Abbildung 48 und 49). Somit ermöglichte die Verwendung von Dimethylformamid als Lösungsmittel, Aggregationen und/oder Präzipitationen der gebildeten Zwischenstufen, zu umgehen. Nach aufwendigem Entfernen des Lösungsmittels und verschiedenen Waschzyklen mit 1 M Salzsäurelösung, Wasser, Wasser/Acetonitril (1:1) mit 0,1 % TFA und zuletzt mit etwas Diethylether konnte das erwünschte Produkt **TWAAP1** (Tweezer-Arylazopyrazol 1) in guter Ausbeute (50 %) erhalten werden. Dies konnte über NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie bestätigt werden. Die optimierten Reaktionsparameter konnten ebenfalls erfolgreich für die Synthese aller anderen photoschaltbaren Pinzetten übernommen werden.

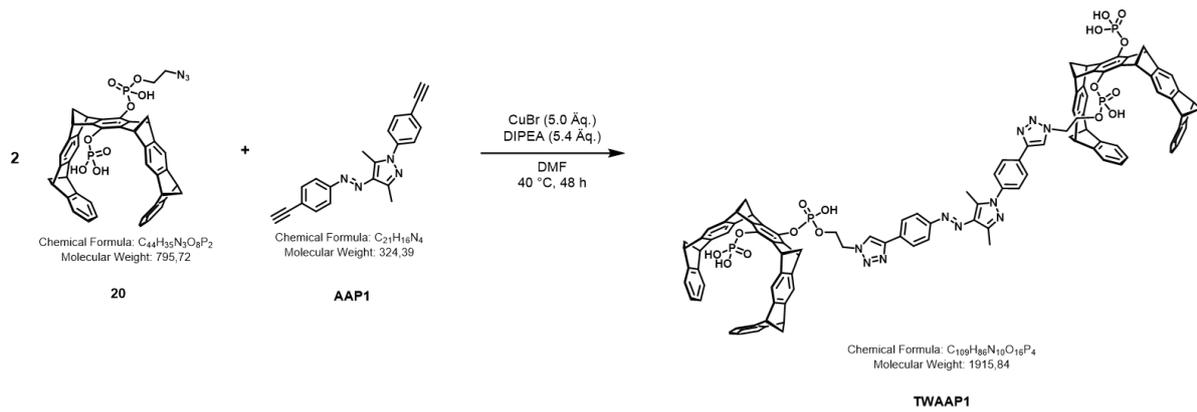


Abbildung 48: Optimierte Kupfer-Click-Reaktion zur Synthese von photoschaltbaren Pinzetten.

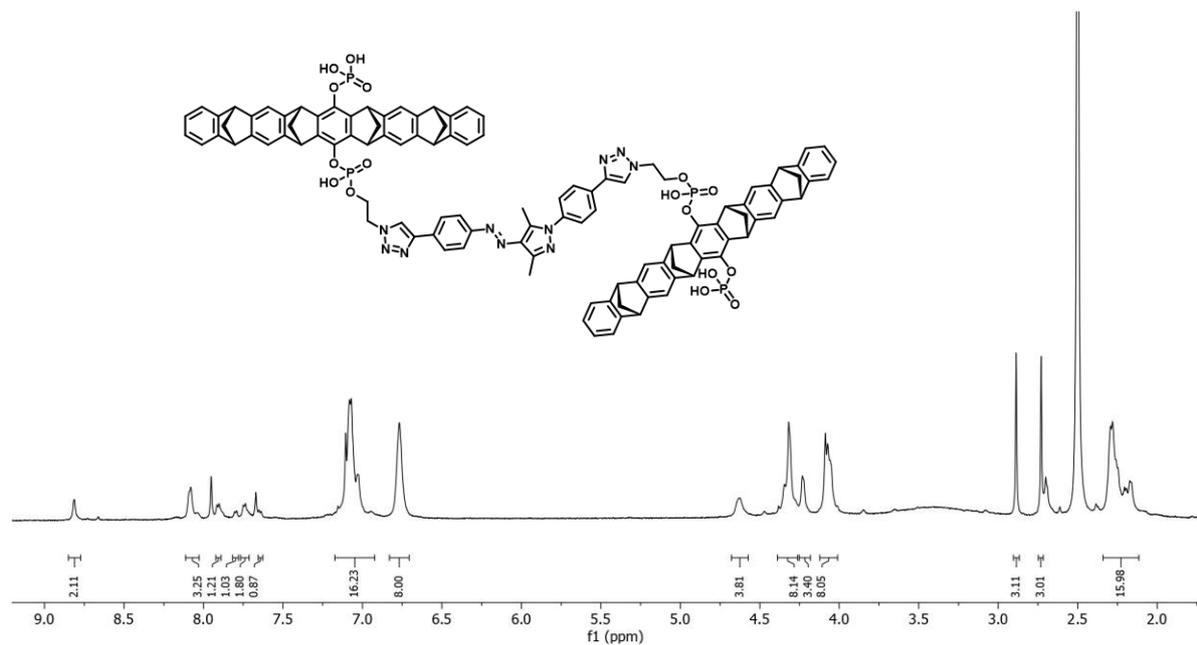


Abbildung 49:  $^1\text{H-NMR}$  der Verbindung TWAAP1 aufgenommen in  $\text{DMSO-d}_6$ . Im aromatischen Bereich stimmen die Verhältnisse Tweezer/AAP1 mit 2:1 überein. Das Signal bei ca. 8.8 ppm mit einer Integration von 2.11 entspricht dem Signal der beiden Triazol-Protonen. Die Singulets bei 2.7 und 2.9 ppm entsprechen die Signale der Protonen der Methyl-Gruppen am Pyrazolring.

### 3.4.2 TWABs

Nach erfolgreicher Optimierung der Reaktionsparameter für die Kupfer-Click-Reaktion am Beispiel von **TWAAP1**, wurden diese Parameter verwendet, um weitere photoschaltbaren Pinzetten herzustellen. Zu diesem Zweck wurden die jeweiligen Azobenzol-Derivate **21**, **22** und **23** mit jeweils zwei Äquivalenten an molekularer Pinzette in Reaktion gebracht. So konnten die photoschaltbaren Pinzetten **TWAB1**, **TWAB2** und **TWAB3** erfolgreich synthetisiert werden. Die Abkürzung „TWAB“ steht für Tweezer-Azobenzol. Die Verbindungen verfügen über eine unterschiedliche chemische Struktur,

unterschiedliche Abstände zwischen den zwei Tweezer-Einheiten und eine unterschiedliche Flexibilität. Die TWABs sind in Abbildung 50 dargestellt. Die erfolgreiche Synthese wurde mittels NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie nachgewiesen.

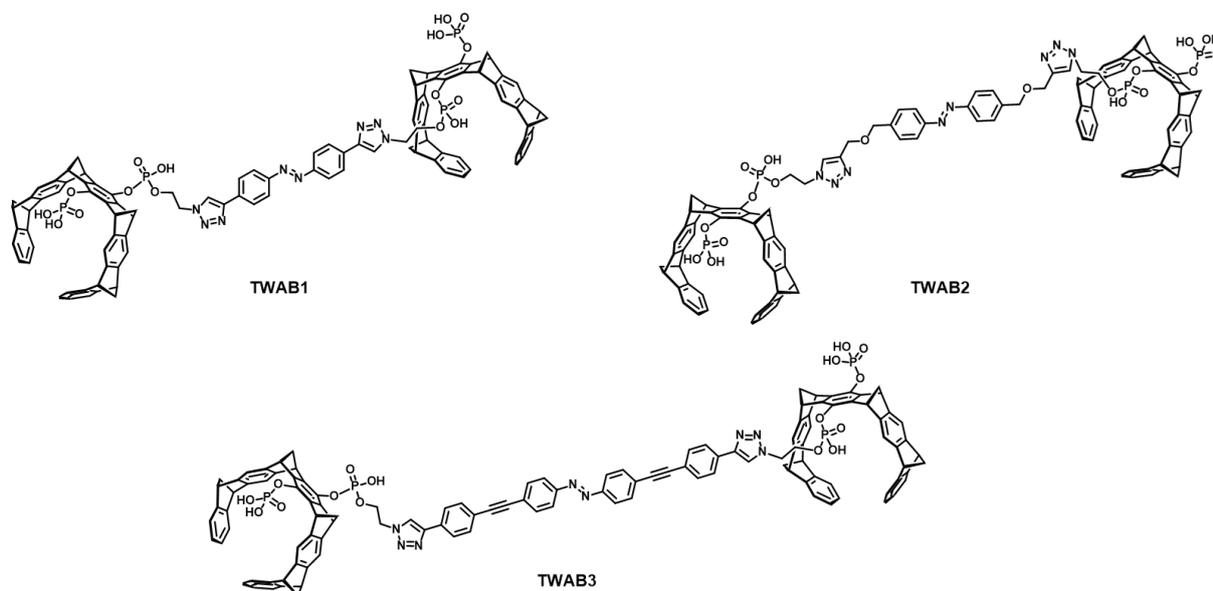


Abbildung 50: Synthetisierte photoschaltbare Pinzetten mit Azobenzol-Derivaten als photoschaltbare Einheit.

**TWAB1** und **TWAB3** verfügen, aufgrund der durchkonjugierten Aromaten rund um die Azobrücke, über eine sehr starre Topologie. Die starre Struktur der Azobenzol-Einheiten, die möglichst wenige Freiheitsgrade besitzt, hat einen maximalen Abstandsunterschied beider Tweezer-Einheiten bei der Photoisomerisierung zur Folge. Diese These wird von den durchgeführten MD-Simulationen, dieser Verbindungen gestützt. Die Synthese von **TWAB3** bildet eine Besonderheit, da hierbei Verbindung **23** *in situ* entschützt werden muss bevor die Click-Reaktion stattfinden kann. Diese wurde erst bei der Click-Reaktion *in situ* entschützt, da im vorherigen Versuch, Verbindung **23** zu entschützen, kein vollständiger Umsatz der Reaktion erreicht werden konnte.

Für die *in situ*-Entschützung wurden pro geschütztem Alkin 1.2 Äquivalente Tetrabutylammoniumfluorid zusammen mit den Click-Reaktanden hinzugegeben. In Kapitel 3.4.4 wird dies am Beispiel von **TWAAT** näher erklärt. Im Gegensatz dazu, verfügt **TWAB2** über zwei Methylenheiten zwischen seinen Benzolringen und den beiden Triazolringen. Diese beide Methylenbrücken ermöglichen eine höhere Flexibilität des gesamten Systems und liefern eine anschauliche Vergleichbarkeit zu den starren Systemen.

Die Abstände der Tweezer-Einheiten in beiden isomeren Zuständen wurden ebenfalls über MD-Simulation sowohl in der Energiesenke wie auch in dem maximalen bzw. minimalen Abstand berechnet. Die Abstände wurden in Tabelle 6 zur Übersicht aufgelistet. Die berechneten Abstände der E- bzw. Z-Konfiguration in der Energiesenke beziehen sich auf ein Beispiel einer möglichen Konfiguration des Moleküls und nicht auf eine universelle Energiesenke. Der maximale Abstand zwischen beiden Tweezer-Einheiten ist bezogen auf die gestreckte Form des Moleküls (E-Isomer) und der minimale Abstand bezieht sich auf den kleinsten möglichen Abstand zwischen den Tweezer-Einheiten. Diese Werte liefern Informationen darüber, ob die Liganden in der jeweiligen Konfiguration in der Lage sind, die NLS-Bereiche auf dem flexiblen *Loop* der Taspase 1 zu binden und ob diese einzeln oder überbrückend gebunden werden können. Die MD-Simulationen dieser Verbindungen befinden sich im Appendix.

**Tabelle 6: Abstände zwischen den Tweezer-Einheiten der Verbindungen TWAB1, TWAB2 und TWAB3 in beiden isomeren Zuständen berechnet in der Energiesenke, sowie maximaler und minimaler Abstand.**

Verbindung	Abstand im E-Zustand [Å]	Abstand im Z-Zustand [Å]	Maximaler Abstand [Å]	Minimaler Abstand [Å]
<b>TWAB1</b>	28	16	31	10
<b>TWAB2</b>	17	12	36	10
<b>TWAB3</b>	34	26	44	11

Aus Tabelle 6 lässt sich erkennen, dass bei **TWAB1** und **TWAB3** die Differenz zwischen den berechneten Abständen des E-Isomers in der Energiesenke und den maximalen Abständen sich wenig unterscheiden. Jedoch ist die Differenz zwischen dem berechneten Abstand des Z-Isomers in der Energiesenke und des minimalen Abstands deutlich unterschiedlich. Im Gegensatz dazu zeigt **TWAB2** die umgekehrte Vergleichbarkeit der Abstände. Dabei sind der minimale Abstand und der Abstand im Z-Zustand in der Energiesenke recht ähnlich, während der maximale Abstand und der Abstand im E-Zustand in der Energiesenke deutlich unterschiedlich sind. Die berechneten Abstände stützen die oben beschriebene These der starren Strukturen der Azobenzol-Einheiten. Die berechneten Abstände für das E- und Z-Isomer von **TWAB2** sind deutlich kleiner als die der Verbindungen **TWAB1** und **TWAB3**. **TWAB2** verfügt, über die Ether-Einheit und Methylengruppen, über mehr Freiheitsgrade zwischen der Azobenzol-Einheit und der Tweezer-Einheiten. Dadurch können sich die Tweezer-Einheiten im Raum frei drehen und entsprechend einen kleineren Abstand zueinander einnehmen.

Diese Berechnungen dienen zur Beurteilung, ob und wie das jeweilige E- oder Z-Isomer des supramolekularen Liganden an das Protein binden kann. Da die errechneten Werte im Bereich der Abstände zwischen den angesteuerten Lysininen auf der Proteinoberfläche liegen, deutet dies darauf hin, dass alle TWABs möglicherweise mit beiden Tweezer-Einheiten binden können. Der Effekt der E-/Z-Isomerisierung auf die Bindungsstärke des Liganden wird später in den biologischen Experimenten genauer betrachtet.

Mit dem Zweck, diese photoschaltbaren Pinzetten später in biologischen Experimenten untersuchen zu können, wurden die Phosphorsäuren mittels Natronlauge deprotoniert, um die Wasserlöslichkeit der Verbindungen zu erhöhen. Als Endverbindungen wurden die Natrium-Salze der TWABs erhalten. Diese wurden ebenfalls über NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie charakterisiert. In Abbildung 51 werden die erhaltenen Verbindungen dargestellt.

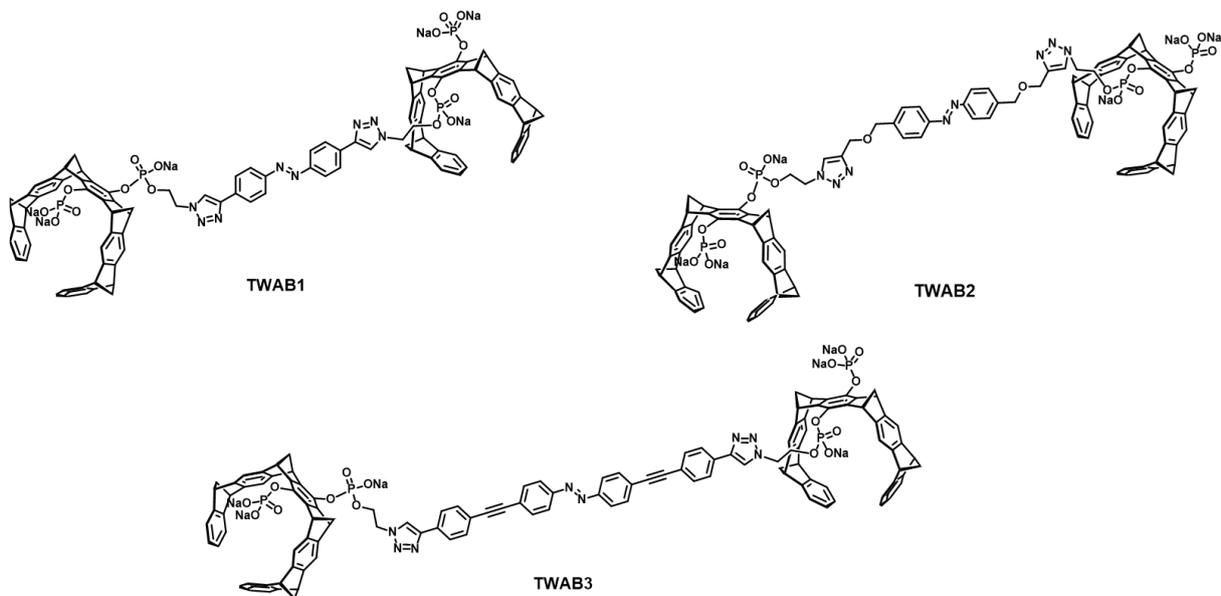


Abbildung 51: Schematische Darstellung der Natrium-Salze der Verbindungen TWAB1, TWAB2 und TWAB3.

Als nächster Schritt wurden die TWABs auf ihre Photoschaltbarkeit mittels UV/Vis-Spektroskopie untersucht. Diese Messungen wurden von der Kooperationspartnerin Alisa-Maite Kauth durchgeführt. Die erhaltenen Spektren sind in der folgenden Abbildung dargestellt.

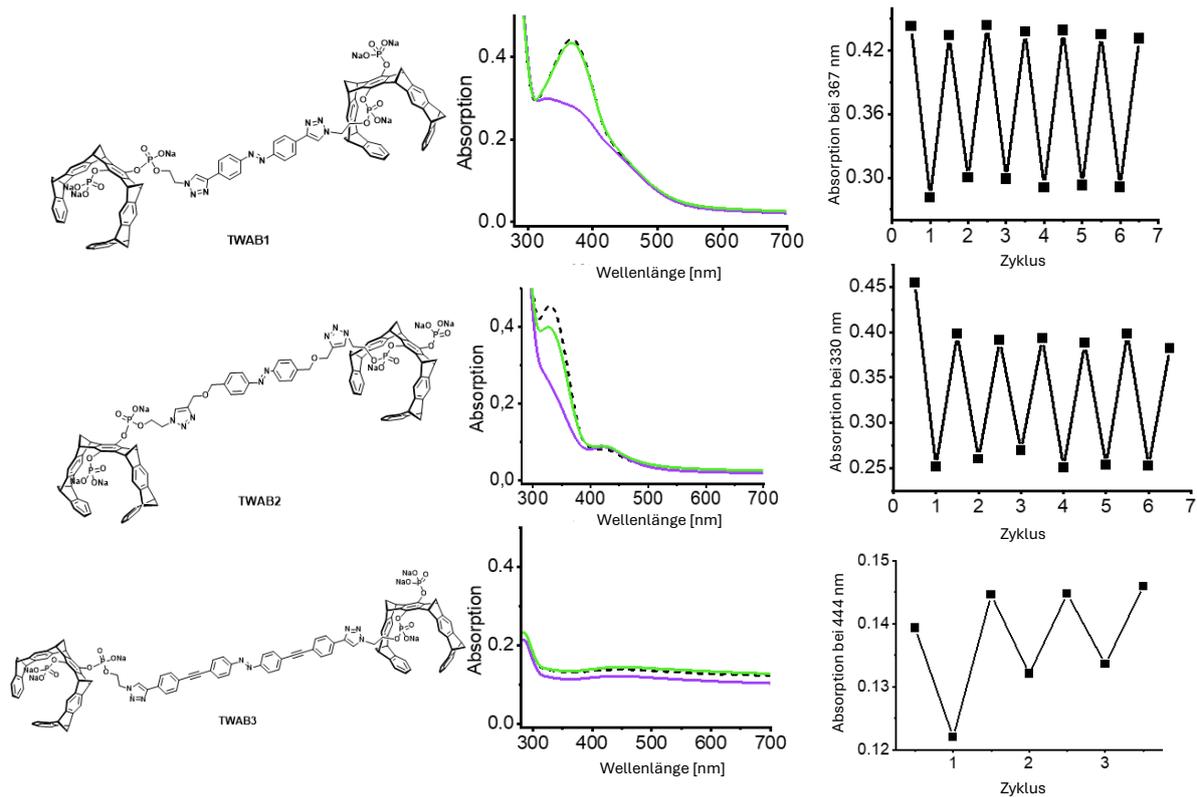


Abbildung 52: UV/Vis-Analyse der photoschaltbaren Pinzetten TWAB1, TWAB2 und TWAB3.

Abbildung 52 zeigt die UV/Vis-Experimente mit den photoschaltbaren Pinzetten **TWAB1**, **TWAB2** und **TWAB3**. In den UV/Vis-Spektren werden jeweils drei Kurven gezeigt. Die gestrichelte Kurven stellen die erste Messung dar. Dabei wurden die Proben unbestrahlt vermessen, um ein Bezugspunkt festzulegen, wie die Moleküle in der Lösung vorliegen. Zunächst wurden die Proben mit einer Wellenlänge von 365 nm für eine Minute bestrahlt, um die Moleküle in ihren Z-Zustand zu überführen, und direkt im Anschluss vermessen. Die lila Kurven in den UV/Vis-Spektren entsprechen somit dem Z-Zustand der jeweiligen Probe. Daraufhin wurden die Proben mit einer Wellenlänge von 520 nm für fünf Minuten bestrahlt, um diese in ihren E-Zustand zu überführen. Die grüne Kurven entsprechen den Messungen der Proben im E-Zustand. Die rechten Graphen stellen die Absorptionen der Proben bei der jeweiligen Wellenlänge des jeweiligen Absorptionsmaximums des E-Isomers. Diese stellen graphisch dar, wie sich die Absorption der Proben nach jedem Bestrahlungszyklus ändert. Die Intensität der Absorption korreliert mit der Löslichkeit der Probe im Lösungsmittel und trifft keine quantitative Aussagen über ein Isomerenverhältnis in der Probe.

**TWAB1** zeigt ein Absorptionsmaximum bei 367 nm. Im UV/Vis-Spektrum wird deutlich, dass nach Bestrahlung mit 365 nm, die Absorption abnimmt jedoch nicht verschwindet, wie es im UV/Vis-Spektrum des Linkers allein (Verbindung **21**) der Fall ist. Es ist eine leichte Schulter an der Absorptionskurve bei ca. 450 nm zu erkennen, welches mit dem Absorptionsmaximum der Z-Konfiguration der

Verbindung **21** übereinstimmen würde. Dies spricht für eine teilweise Isomerisierung des **TWAB1**. Im rechten Graphen wird die Absorption bei 367 nm nach der jeweiligen Bestrahlung schematisch dargestellt. Der erste Messpunkt entspricht der unbestrahlten Probe, mit einer relativen Absorption von ca. 0.45. Der zweite Messpunkt entspricht der Absorption der Probe nach Bestrahlung mit 365 nm, mit einer relativen Absorption von ca. 0.27. Der dritte Messpunkt entspricht die Absorption der Probe nach Bestrahlung mit 520 nm, mit einer relativen Absorption von ca. 0.44. Die Bestrahlungszyklen wurden wiederholt, um die Schaltbarkeit der Probe graphisch darzustellen. **TWAB1** zeigt somit eine gute Schaltbarkeit zwischen seine E- und Z-Zustände.

**TWAB2** zeigt ein Absorptionsmaximum bei 330 nm auf. Nach Bestrahlung mit 365 nm nimmt die Absorption in diesem Bereich stark ab und ein neues Maximum bei ca. 430 nm (lila Kurve) ist zu erkennen. Nach der Bestrahlung mit 520 nm wird erneut das Absorptionsmaximum bei 330 nm beobachtet, jedoch nicht mit der gleichen Intensität wie das von der unbestrahlten Probe. Zusätzlich ist immer noch eine Schulter der Kurve bei ca. 430 nm zu erkennen wie es im UV/Vis-Spektrum des Linkers allein (Verbindung **22**) der Fall ist. Im rechten Graphen wird die relative Absorption bei 330 nm (das Absorptionsmaximum des E-Isomers) nach den Bestrahlungszyklen aufgetragen. Die relative Absorption der unbestrahlten Probe bei 330 nm hat einen Wert von 0.45 und nach Bestrahlung mit 365 nm sinkt die relative Absorption drastisch zu 0.25. Nach Bestrahlung steigt diese bis ca. 0.4. Durch Wiederholung der Bestrahlungszyklen wird beobachtet, dass die relative Absorption bei 330 nm von **TWAB2** zwischen 0.4 und 0.25 bleibt. Dies deutet ebenfalls auf eine Photoschaltbarkeit des Liganden hin und stimmt mit den erhaltenen Graphen der Photoschaltbarkeit des Linkers allein (Verbindung **22**) überein.

**TWAB3** zeigt sehr breite, fast übereinander liegende Kurven im UV/Vis-Spektrum. Die Verbreitung der Absorption kann mit dem Erweiterten  $\pi$ -System im Vergleich zu den anderen TWABs erklärt werden. Die zusätzlichen Aromaten bringen eine eigene Absorption mit ins System ein, die bis in den nahen infraroten Bereich reicht. Dadurch gibt es kein deutliches Absorptionsmaximum, wie es im UV/Vis-Spektrum des Linkers allein (Verbindung **23**) zu sehen ist. Durch das erweiterte  $\pi$ -System absorbiert dieser Ligand im gesamten Lichtspektrum mit einer gleichbleibenden Intensität, wodurch ein Unterschied zwischen beiden Absorptionskurven nur schwer zu erkennen ist. Dennoch lässt sich eine kleine Erhebung der grünen Absorptionskurve bei 444 nm feststellen. Wird die Absorption der 444 nm der Probe nach den Bestrahlungszyklen betrachtet, sieht die Änderung der Absorption bei diesem Maximum sehr ähnlich zu der der Verbindung **23**. Es lässt sich dabei feststellen, dass das Molekül tatsächlich von der einen isomeren Form in die andere über Bestrahlung zu überführen.

Im Allgemeinen lässt sich sagen, dass alle hergestellten TWABs über Bestrahlung, ähnlich zu den jeweiligen Linkern, ihre Konfiguration ändern.

Die Halbwertszeiten der Z-Isomere der TWABs wurden ebenfalls von der Kooperationspartnerin Alisa-Maite Kauth bestimmt. Hierbei wird eine Probe des jeweiligen Derivats bestrahlt, um diese in ihren Z-Isomer zu überführen. Folglich wird die Absorption der Probe bei der jeweiligen Wellenlänge, bei welcher das E-Isomer ein Absorptionsmaximum aufweist, stündlich vermessen. Die Absorption nimmt mit der Zeit zu, da das instabile Z-Isomer thermisch zurück in das E-Isomer isomerisiert. Mit den Messpunkten wurde eine Kurve geplottet, woraus die Halbwertszeit abgelesen werden konnte. Diese wurden zur übersichtlicheren Veranschaulichung tabellarisch nachfolgend aufgelistet.

**Tabelle 7: Halbwertszeiten der Z-Isomeren der photoschaltbaren TWABs.**

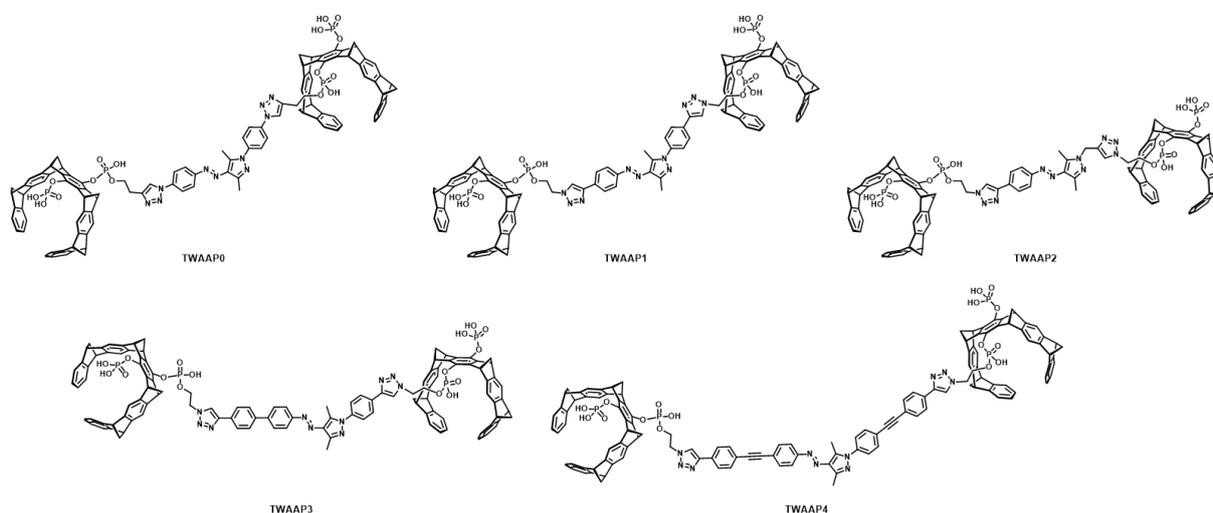
Verbindung	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]	Temperatur [°C]
<b>TWAB1</b>	1	40
<b>TWAB2</b>	14	40
<b>TWAB3</b>	6	40

Die Halbwertszeiten der jeweiligen Z-Zustände der TWABs wurde aufgrund ihrer hohen Stabilität bei 40 °C vermessen. Die höhere Temperatur im Vergleich zu den Azobenzol-Linkern alleine, dient dem schnelleren Zerfall der Z-Isomere in die thermodynamisch stabilere E-Konfiguration.

Hierbei ist zu erkennen, dass alle TWABs eine ausreichende Stabilität ihrer Z-Isomere aufweisen, um in biologischen Experimenten eingesetzt zu werden. Erwähnenswert ist das kürzere TWAB2 mit dem stabilsten Z-Isomer, der eine Halbwertszeit von 14 Stunden besitzt, welches mit der hohen Halbwertszeit des Linkers allein (Verbindung 22) mit 66 Stunden übereinstimmt. Dennoch ist eine Vergleichbarkeit im Allgemeinen zu den erhaltenen Halbwertszeiten der Linker alleine schwierig, da diese bei 25 °C vermessen wurden.

### 3.4.3 TWAAPs

Zunächst wurden die weiteren AAP-Derivate mit jeweils zwei Äquivalenten an molekularer Pinzette über eine Kupfer-Click-Reaktion umgesetzt. Die optimierten Reaktionsparameter am Beispiel von **TWAAP1** konnten erfolgreich auf die weiteren AAP-Derivate übertragen werden. So konnten die photoschaltbaren Pinzetten **TWAAP0**, **TWAAP1**, **TWAAP2**, **TWAAP3** und **TWAAP4** synthetisiert werden. Die Abkürzung „TWAAP“ steht für Tweezer-Arylazopyrazol. Die Verbindungen verfügen über eine unterschiedliche chemische Struktur, unterschiedliche Abstände zwischen den zwei Tweezer-Einheiten und eine unterschiedliche Flexibilität. Somit konnten insgesamt fünf TWAAPs hergestellt werden. Die erfolgreiche Synthese wurde mittels NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie überprüft. Die hergestellten TWAAP-Verbindungen sind in Abbildung 53 dargestellt.



**Abbildung 53:** Hergestellte photoschaltbare Pinzetten mit Arylazopyrazol-Derivaten als photoschaltbare Einheit.

Betrachtet man **TWAAP0** und **TWAAP1**, ähneln sich diese Verbindungen sehr in ihrer Struktur. Der Unterschied besteht darin, dass **TWAAP0** aus dem Monobutynylphosphatmonophosphatpinzette und dem Diazid-AAP-Derivat **AAP0** und **TWAAP1** aus der Monoazidophosphatmonophosphatpinzette und dem Dialkin-AAP-Derivat **AAP1** hergestellt wurden. Somit ist der grundlegende Unterschied in der Ausrichtung des Triazolrings im jeweiligen Gerüst. **TWAAP2** unterscheidet sich in der Größe und Flexibilität der AAP-Einheit. Zwischen dem Pyrazolring und dem mit der Tweezer-Einheit-verknüpfende Triazolring befindet sich eine Methylengruppe statt einem Benzolring. Diese Methylenebrücke bringt durch ihre Drehbarkeit mehr Freiheitsgrade in die gesamte Struktur ein und somit wird die Flexibilität des Gerüsts erhöht. **TWAAP3** ähnelt der Struktur des **TWAAP1**, der grundlegende Unterschied besteht darin, dass an der Azobrücke der Benzolring zu einer Biphenyl-Einheit verlängert wurde. **TWAAP4** ähnelt ebenfalls dem **TWAAP1**, jedoch wurde die AAP-Einheit symmetrisch über eine *Sonogashira Kupplung* um eine

4-Ethynylphenyl-Einheit verlängert. Dies liefert der Struktur einen viel größeren Abstand zwischen den beiden Tweezer-Einheiten.

Die Abstände der Tweezer-Einheiten in beiden isomeren Zuständen wurden ebenfalls über MD-Simulation sowohl in der Energiesenke wie auch in dem maximalen bzw. minimalen Abstand berechnet. Die Abstände wurden in Tabelle 8 zur Übersicht aufgelistet. Die berechneten Abstände in der Energiesenke beziehen sich auf ein Beispiel einer möglichen Konfiguration des Moleküls und nicht auf eine universelle Energiesenke. Der maximale Abstand zwischen beiden Tweezer-Einheiten ist bezogen auf die gestreckte Form des Moleküls (E-Isomer) und der minimale Abstand bezieht sich auf den kleinsten möglichen Abstand zwischen den Tweezer-Einheiten. Diese Werte liefern Informationen darüber, ob die Liganden in der jeweiligen Konfiguration in der Lage sind, die NLS-Bereiche auf dem flexiblen *Loop* der Taspase 1 zu binden und ob diese einzeln oder überbrückend gebunden werden können. Die MD-Simulationen dieser Verbindungen befinden sich im Appendix.

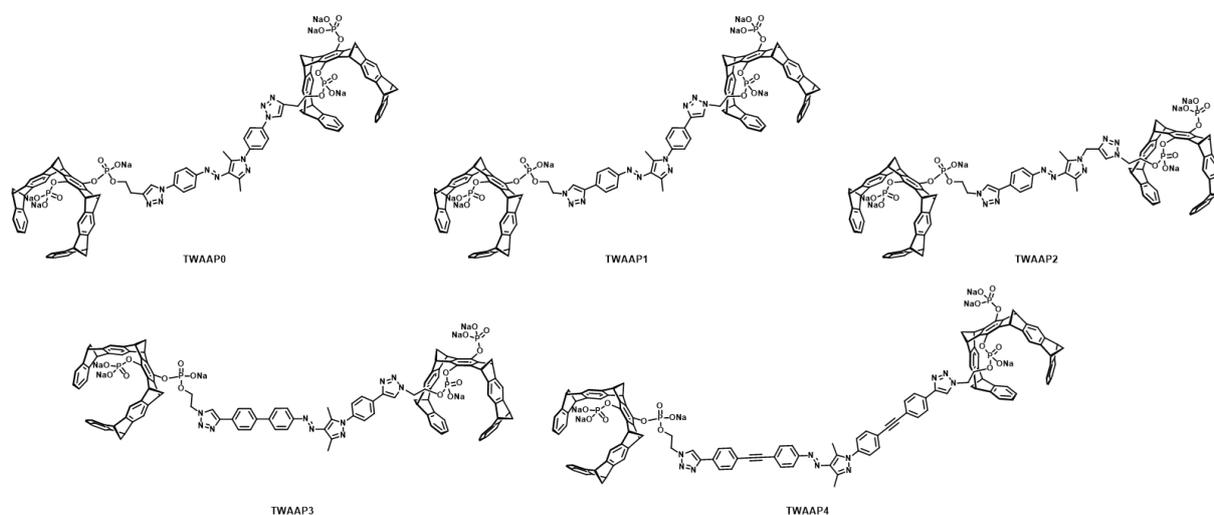
**Tabelle 8: Berechnete Abstände zwischen den Tweezer-Einheiten der beiden Konfigurationsisomeren der photoschaltbaren Pinzetten TWAAP0 bis TWAAP4 sowohl in der Energiesenke als auch im maximalen und minimalen Abstand.**

Verbindung	Abstand im E-Zustand [Å]	Abstand im Z-Zustand [Å]	Maximaler Abstand [Å]	Minimaler Abstand [Å]
TWAAP0	30	18	33	9
TWAAP1	30	20	33	10
TWAAP2	22	13	29	8
TWAAP3	32	15	36	8
TWAAP4	38	13	47	9

Aus der Tabelle 8 lässt sich erkennen, dass die errechneten Werte für eine Energiesenke sich nah an den Minima und Maxima befinden. Die Verbindungen wurden mit den entsprechenden möglichen Abständen zwischen den Tweezer-Einheiten so entworfen, um eine Vergleichbarkeit zu erschaffen, zwischen längeren und kürzeren, starren und flexiblen Liganden. Die Abstände der jeweiligen Konstrukte im E- und Z-Zustand geben Auskunft darüber, welcher Ligand sich am meisten eignet, um die angesteuerte Proteinoberfläche anzusteuern. Da die errechneten Werte im Bereich der Abstände zwischen den angesteuerten Lysininen auf der Proteinoberfläche liegen, deutet dies darauf hin, dass alle TWAAPs

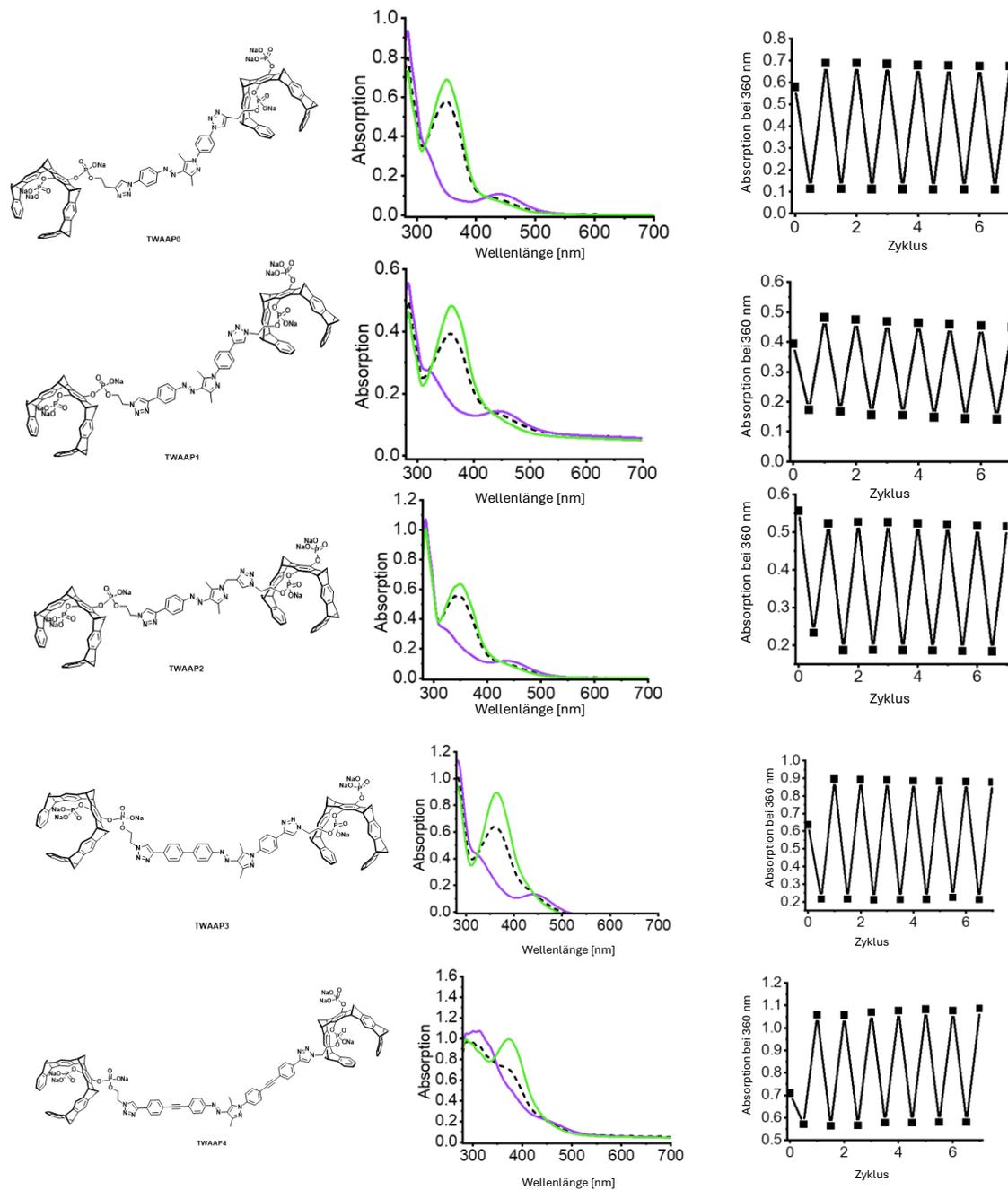
möglicherweise mit beiden Tweezer-Einheiten binden können. Der Effekt der Konfigurationsänderung auf die Bindungsstärke des Liganden wird später in den biologischen Experimenten näher beleuchtet.

Mit dem Zweck, diese photoschaltbaren Pinzetten später in biologischen Experimenten untersuchen zu können, wurden die Phosphorsäuren mit Hilfe von Natronlauge deprotoniert, um die Wasserlöslichkeit der Verbindungen zu erhöhen. Als Endverbindungen wurden die Natrium-Salze der TWAAPs erhalten. Diese wurden ebenfalls über NMR-Spektroskopie und Massenspektrometrie untersucht. In Abbildung 54 werden die erhaltenen Verbindungen dargestellt.



**Abbildung 54:** Schematische Darstellung der Natrium-Salze der Verbindungen TWAAP0, TWAAP1, TWAAP2, TWAAP3 und TWAAP4.

Als nächster Schritt wurden die TWAAPs auf ihre Photoschaltbarkeit mittels UV/Vis-Spektroskopie untersucht. Die Messungen wurden in Zusammenarbeit mit der Kooperationspartnerin Alisa-Maite Kauth durchgeführt. Die erhaltenen Spektren sind in der folgenden Abbildung dargestellt.



**Abbildung 55: UV-/Vis Experimente mit den photoschaltbaren TWAAPs.**

Abbildung 55 zeigt die UV/Vis-Experimente mit den photoschaltbaren Pinzetten **TWAAP0** bis **TWAAP4**. In den UV/Vis-Spektren werden jeweils drei Kurven gezeigt. Die gestrichelten Kurven stellen die erste Messung dar. Dabei wurden die Proben unbestrahlt vermessen, um einen Bezugspunkt festzulegen, wie die Moleküle in der Lösung nach der Synthese vorliegen. Zunächst wurden die Proben mit einer Wellenlänge von 365 nm für eine Minute bestrahlt, um die Moleküle in ihren Z-Zustand zu überführen. Die Proben wurden direkt im Anschluss vermessen. Die lila Kurven in den UV/Vis-Spektren entsprechen somit dem Z-Zustand der jeweiligen Probe. Anschließend wurden die Proben mit einer Wellenlänge

von 520 nm für fünf Minuten bestrahlt, um diese in ihren E-Zustand zu überführen. Die grüne Kurven entsprechen der Messung der Proben im E-Zustand. Die rechten Graphen stellen die Absorptionen der Proben bei der jeweiligen Wellenlänge des jeweiligen Absorptionsmaximums des E-Isomers dar.

Bei den UV/Vis-Spektren der photoschaltbaren Pinzetten aus der TWAAP-Reihe, wird beobachtet, dass die Isomerisierung sehr effizient abläuft. Insgesamt kann gesagt werden, dass bei allen Verbindungen in der gestrichelten Kurve ein deutliches Absorptionsmaximum zu erkennen ist. Durch die Bestrahlung der Proben mit 365 nm nimmt dieses drastisch ab und ein neues Absorptionsmaximum erscheint bei ca. 450 nm. Werden die Proben anschließend mit 520 nm bestrahlt, so verschwindet das Absorptionsmaximum bei 450 nm und das ursprüngliche Maximum ist erneut zu sehen. Die grüne Kurve besitzt im Vergleich zur Anfangsmessung (gestrichelte Kurve) im Bereich des Absorptionsmaximums eine stärkere Intensität. Dies deutet darauf hin, dass zu Anfang, als die Proben noch nicht bestrahlt wurden, in der Lösung ein Gemisch aus beiden isomeren Formen der jeweiligen Probe vorlag. Dann nach Bestrahlung mit UV-Licht wurde die Probe fast vollständig in den Z-Zustand überführt und anschließend mit der Bestrahlung mit 520 nm konnte somit eine nahezu vollständige Überführung in den E-Zustand erreicht werden. Dies wird in den rechten Graphen nochmal verdeutlicht. Diese Graphen stellen die Absorptionen der Proben bei der jeweiligen Wellenlänge des jeweiligen Absorptionsmaximums des E-Isomers (360 nm) dar. Am Beispiel von **TWAAP4** ist zu erkennen, dass die unbestrahlte Probe eine deutlich niedrigere Absorptionsintensität hat als nach dem Durchlaufen eines Bestrahlungszyklus. Diese Graphen zeigen, wie sich die Absorption der Proben nach jedem Bestrahlungszyklus ändert. Die relativ hohen Intensitäten deuten auf eine gute Löslichkeit der Proben im Lösungsmittel (Wasser) hin. Im Allgemeinen lässt sich sagen, dass alle hergestellten photoschaltbaren Pinzetten über Bestrahlung, im Vergleich zu den jeweiligen Linkern allein, sehr ähnlich ihre Konfiguration ändern können und sich entsprechend gut für die vorgesehenen biologischen Untersuchungen eignen.

Die Halbwertszeiten der Z-Isomere der TWAAPs wurden ebenfalls von der Kooperationspartnerin A-lisa-Maite Kauth bestimmt. Hierbei wird eine Probe des jeweiligen Derivats bestrahlt, um diese in ihren Z-Isomer zu überführen. Danach wird die Absorption der Probe bei der jeweiligen Wellenlänge, bei welcher das E-Isomer ein Absorptionsmaximum aufweist, stündlich vermessen. Die Absorption nimmt mit der Zeit zu, da das instabile Z-Isomer thermisch zurück in das E-Isomer überführt wird. Mit den Messpunkten wurde eine Kurve geplottet, woraus die Halbwertszeit abgelesen werden konnte. Diese wurden zur übersichtlicheren Veranschaulichung tabellarisch aufgelistet.

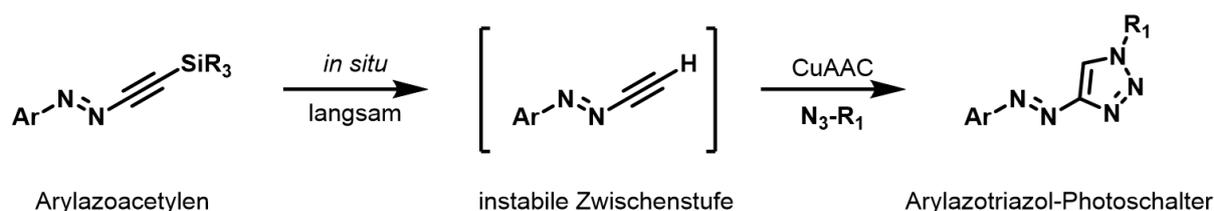
Tabelle 9: Halbwertszeiten der Z-Zustände der photoschaltbaren TWAAPs .

Verbindung	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]	Temperatur [°C]
TWAAP0	362	20
TWAAP1	120	20
TWAAP2	90	20
TWAAP3	118	20
TWAAP4	63	20

Die Halbwertszeiten der jeweiligen Z-Zustände der TWAAPs wurden bei 20 °C vermessen. Hierbei ist zu erkennen, dass alle TWAAPs eine ausreichende Stabilität ihrer Z- Isomere aufweisen, um in biologischen Experimenten eingesetzt zu werden. Erwähnenswert ist das kürzere TWAAP0 mit dem stabilsten Z- Isomer, der eine Halbwertszeit von 362 Stunden (15 Tage) besitzt. Aufgrund der unterschiedlichen Messtemperaturen zwischen den TWAAPs und den AAPs ist ein Vergleich der gemessenen Halbwertszeiten schwierig. Allerdings lässt sich aus den ermittelten Werten sagen, dass die Stabilität aller TWAAPs die Erwartungen übertroffen hat und sich entsprechend alle für die vorgesehenen biologischen Experimente eignen.

## 3.4.4 TWAAT

Neben den TWABs und den TWAAPs wurde ein weiteres Konzept für eine photoschaltbare Pinzette entworfen und hergestellt. Hierbei wurde statt den konventionellen Azobenzol- und Arylazopyrazol-Motiven ein etwas unkonventionelleres Motiv angestrebt, ein Arylazotriazol als photoschaltbare Einheit. Im Jahr 2021 veröffentlichten *Pfaff et al.* ihre Arbeit an Azoacetylene für die Synthese von Arylazotriazol-Photoschaltern<sup>155</sup>. Dabei verwendeten sie ein Silyl-geschütztes Arylazoacetylen, welches *in situ* entschützt und im Anschluss mit einem Azid über eine Kupfer-Click-Reaktion verknüpft wurde. Die Entschützung muss *in situ* durchgeführt werden aufgrund der kurzlebigen ungeschützten Spezies des Arylazoacetylens, welches hoch-oxidationsanfällig ist und schnell Dimerisierungsreaktionen eingeht. Durch diese Herangehensweise konnten sie einen kürzeren Photoschalter als die bisher gängigen und in dieser Arbeit verwendeten Azoverbindungen herstellen, der sich nahezu quantitativ in beide isomeren Formen überführen ließ und eine hohe Stabilität des Z- Isomers aufwies. Abbildung 56 stellt diese Syntheseroute dar.



**Abbildung 56:** *in situ* Entschützung eines terminalen Alkins an einer Azobrücke mit anschließender Kupfer-Click-Reaktion zur Synthese eines Arylazotriazol-Photoschalters (Angelehnt an *Pfaff*<sup>155</sup>).

Arylazotriazole sind bisher wenig untersucht, stellen aber eine weitere Möglichkeit dar, photoschaltbare Pinzetten herzustellen, die eine besonders kurze Struktur besitzen. Mit dem Zweck, ein größeres Arsenal an photoschaltbaren Pinzetten mit unterschiedlichen Größen und photoschaltbaren Einheiten herzustellen, wurde dieser Syntheseweg ebenfalls genutzt. Abbildung 57 stellt die durchgeführte Kupfer-Click-Reaktion mit dem Arylazoacetylen dar.



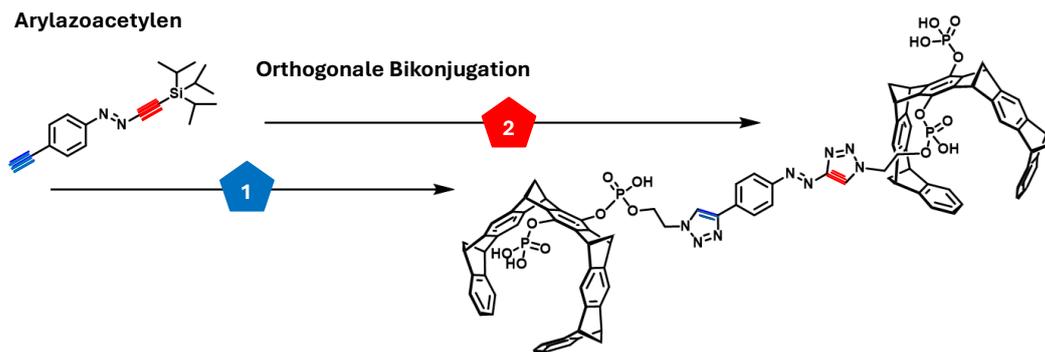


Abbildung 58: Strategie der orthogonalen Bikonjugation der Tweezer an das Arylazoacetylen (Angelehnt an *Pfaffl*<sup>155</sup>).

Im Anschluss wurden ebenfalls die Phosphorsäuren mittels NaOH deprotoniert, um die Natrium-Salze der Phosphorsäuren zu bilden und so die Wasserlöslichkeit des TWAATs zu erhöhen.

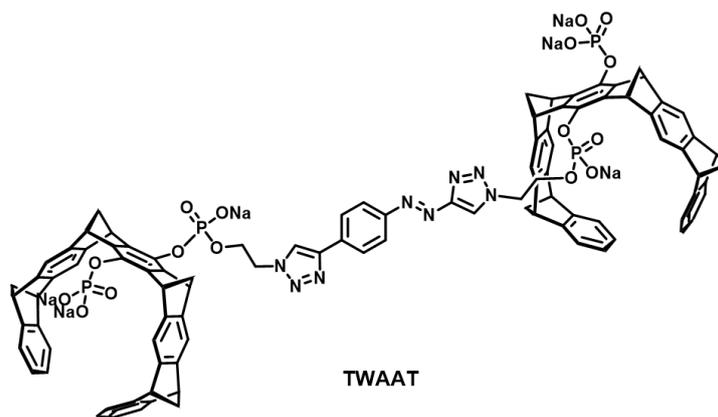


Abbildung 59: Struktur des photoschaltbaren TWAAT als Natrium-Salz.

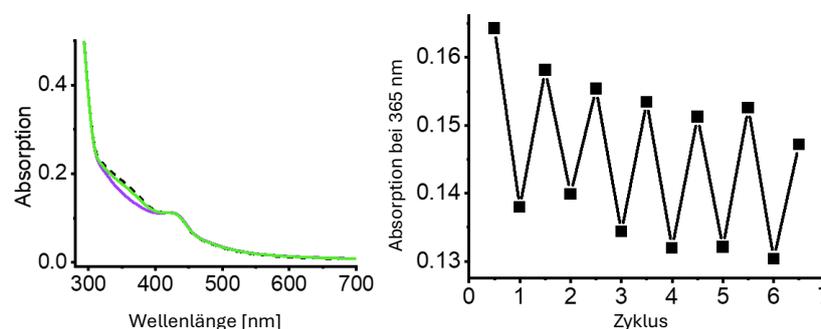
Die Abstände der Tweezer-Einheiten in beiden isomeren Zuständen wurden ebenfalls über MD-Simulation sowohl in der Energiesenke als auch im maximalen bzw. minimalen Abstand berechnet. Die Abstände wurden in Tabelle 10 zur Übersicht aufgelistet. Die MD-Simulationen dieser Verbindung befinden sich im Appendix.

**Tabelle 10: Berechnete Abstände zwischen der Tweezer-Einheiten der beiden Konfigurationsisomeren der photoschaltbaren Pinzette TWAAT sowohl in der Energiesenke als auch maximaler und minimaler Abstand.**

Verbindung	Abstand im E-Zustand [Å]	Abstand im Z-Zustand [Å]	Maximaler Abstand [Å]	Minimaler Abstand [Å]
<b>TWAAT</b>	23	20	25	8

Aus der Tabelle 10 lässt sich erkennen, dass der errechnete Wert für eine Energiesenke des E-Isomers sich nah an dem errechneten Maximum befindet. Im Vergleich zu den restlichen hergestellten photoschaltbaren Pinzetten sind diese Abstände deutlich kürzer, wodurch diese Struktur einen interessanten Vergleichspartner im Rahmen der biologischen Untersuchungen bietet. Hierbei handelt es sich dennoch noch um theoretisch errechnete Werte, welche keine universelle Energiesenke darstellen, sondern nur eine mögliche Konfiguration mit einer Energiesenke, wovon die tatsächlichen Abstände zwischen den Tweezer-Einheiten in wässriger Lösung abweichen können. Da die errechneten Werte im Rahmen der Abstände zwischen den angesteuerten Lysinen auf der Proteinoberfläche sind, deutet dies darauf hin, dass auch **TWAAT** möglicherweise mit beiden Tweezer-Einheiten an die gezielte Proteinoberfläche binden kann. Der Effekt der Konfigurationsänderung auf die Bindungsstärke des Liganden wird später in den biologischen Experimenten ebenfalls näher untersucht.

Als nächster Schritt wurde **TWAAT** auf seine Photoschaltbarkeit mittels UV/Vis-Spektroskopie untersucht. Die Messungen wurden von der Kooperationspartnerin Alisa-Maite Kauth durchgeführt. Die erhaltenen Spektren sind in der folgenden Abbildung dargestellt.



**Abbildung 60: UV/Vis-Analyse der photoschaltbaren Pinzette TWAAT.**

Abbildung 60 zeigt die UV/Vis-Messungen der photoschaltbaren Pinzette **TWAAT**. Im UV/Vis-Spektrum werden insgesamt drei Kurven dargestellt. Die gestrichelte Kurve stellt die Absorptionskurve de

unbestrahlten Probe dar. Zunächst wurde die Probe mit einer Wellenlänge von 365 nm für eine Minute bestrahlt, um die Moleküle in ihren Z-Zustand zu überführen und direkt im Anschluss zu vermessen. Die lila Kurve im Spektrum entspricht somit dem Z-Zustand des **TWAATs**. Anschließend wurde die Probe mit einer Wellenlänge von 520 nm für fünf Minuten bestrahlt, um diese in ihren E-Zustand zu überführen. Die grüne Kurve entspricht der Messung der Probe im E-Zustand. Im UV/Vis-Spektrum wird ein Absorptionsmaximum bei ca. 430 nm beobachtet. Die Absorptionsintensität ist bei beiden Isomeren sehr gering, welches auf eine schlechte Löslichkeit hindeutet. Zusätzlich ist kein erwähnenswerter Unterschied im Verlauf der Kurven der Isomeren zu erkennen. Der rechte Graph stellt die Absorptionen der Probe bei 430 nm dar, was die Wellenlänge des Absorptionsmaximums des E-Isomers entspricht. Dieser Graph zeigt, wie sich die Absorption der Probe nach jedem Bestrahlungszyklus ändert. Die Intensität der Absorption korreliert auch hier mit der Löslichkeit der Probe im Lösungsmittel und trifft keine quantitativen Aussagen über ein Isomerenverhältnis in der Probe. Im rechten Graphen ist ebenfalls zu sehen, dass die Absorptionsintensität der Probe sich ändert, je nachdem in welchem isomeren Zustand sie geschaltet wurde. Zusätzlich ist zu erkennen, dass die Absorptionsintensität des ersten Messpunktes deutlich höher ist als der Rest, was verschiedene Ursachen haben kann. Ein Grund dafür könnte die schlechte Löslichkeit des Z-Isomers im Lösungsmittel sein. Nach der Bestrahlung mit 365 nm wird **TWAAT** in die Z-Konfiguration überführt. Wenn dieses Isomer aufgrund des nicht mehr vorhandenen Dipols zu schlecht in Wasser gelöst bleibt und ausfällt, können die darauffolgenden Absorptionsintensitäten der Probe nicht mehr denen, der ersten Messung entsprechen, da sich in der Lösung mittlerweile weniger Moleküle befinden, die das Licht absorbieren können.

Des Weiteren wurde die Halbwertszeit des Z-Isomers ebenfalls von der Kooperationspartnerin Alisa-Maite Kauth bestimmt. Diese wurde zur übersichtlichen Veranschaulichung in Tabelle 11 dargestellt.

**Tabelle 11: Halbwertszeit der photoschaltbaren Pinzette TWAAT.**

Verbindung	Halbwertszeit $t_{1/2}$ [h]	Temperatur [°C]
<b>TWAAT</b>	8	40

Die Halbwertszeit des Z-Zustands wurde bei 40 °C vermessen. Dabei wird die Probe bestrahlt, um diese in ihren Z-Isomer zu überführen. Anschließend wird die Absorption der Probe bei der jeweiligen Wellenlänge, bei welcher das E-Isomer ein Absorptionsmaximum aufweist, stündlich vermessen. Die Absorption nimmt mit der Zeit zu, da das instabile Z- Isomer zurück in das E- Isomer überführt wird. Mit den Messpunkten lässt sich eine Kurve plotten, aus der die Halbwertszeit abgelesen werden kann.

Hierbei ist zu erkennen, dass das Z- Isomer des TWAATs eine ausreichende Stabilität aufweist (8 Stunden), um in biologischen Experimenten eingesetzt zu werden.

### 3.4.5 $^1\text{H}$ -NMR-Experimente zur Photoschaltbarkeit der Pinzetten

Im Allgemeinen stellte die Charakterisierung der einzelnen photoschaltbaren Pinzetten über NMR-Spektroskopie eine Herausforderung dar, da aufgrund schlechter Löslichkeit in verschiedenen deuterierten Lösungsmitteln, die erhaltenen Spektren nur teilweise bis gar nicht auswertbar waren. In einigen Spektren wurden Signalverbreitungen beobachtet, die ein Indiz auf Aggregation der Moleküle in der Lösung liefern. Nichtsdestotrotz konnte für einige der hergestellten photoschaltbaren Pinzetten gute Spektren erhalten werden. Dabei wurde die Gelegenheit genutzt, um Schalt-Experimente im Rahmen der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie durchzuführen.

Zuerst wird ein Spektrum der unbestrahlten Probe einer photoschaltbaren Pinzette aufgenommen. Danach wird die Probe für vier Minuten mit 365 nm bestrahlt, um die Pinzette in ihr Z-Isomer zu überführen und anschließend wird ein neues Spektrum aufgenommen. Danach wird die Probe für sechs Minuten mit 520 nm bestrahlt, um die Pinzette in ihr E-Isomer zurückzuschalten und ein neues Spektrum wird aufgenommen. Daraufhin werden alle Spektren übereinander gelegt und miteinander verglichen. Der Fokus dieses Experiments liegt auf den Signalen im aromatischen Bereich, die den jeweiligen Photoschaltern, Arylazopyrazol- bzw. Azobenzol-Derivat, zuzuordnen sind. Aufgrund der deutlichen Veränderung der chemischen und magnetischen Umgebung, die durch die Isomerisierung stattfindet, ist in diesem Bereich die größte Veränderung des Spektrums zu erwarten.

Im Spektrum der unbestrahlten Probe nach der Synthese wird vorerst eine Mischung aus den charakteristischen Signalen beider Isomeren erwartet. Es ist davon auszugehen, dass die Signale des E-Isomers eine deutlich höhere Intensität besitzen als die des Z-Isomers, da das Z-Isomer die thermodynamisch instabilere Form ist.

Nach einer Bestrahlung mit 365 nm und der dadurch stattfindenden Überführung in den Z-Zustand sind die Signale mit einer veränderten Aufspaltung und chemischen Verschiebung aufgrund der strukturellen Veränderung des Moleküls zu erwarten. Dies lässt sich durch die Änderung des chemischen und magnetischen Umfelds der Protonen erklären.

Nach einer Bestrahlung mit 520 nm und der dadurch stattfindenden Überführung in das E-Isomer, wird erwartet, dass dadurch der Signalsatz des Z-Isomers verschwindet und die entsprechenden Signale des E-Isomers deutlich zu erkennen sind.

Die nachfolgende Abbildung zeigt die NMR-Experimente zur Photoschaltbarkeit der Pinzetten am Beispiel des Natrium-Salzes des TWAAP1. Die restlichen NMR-Experimente für die anderen photoschaltbaren Pinzetten befinden sich im Appendix.

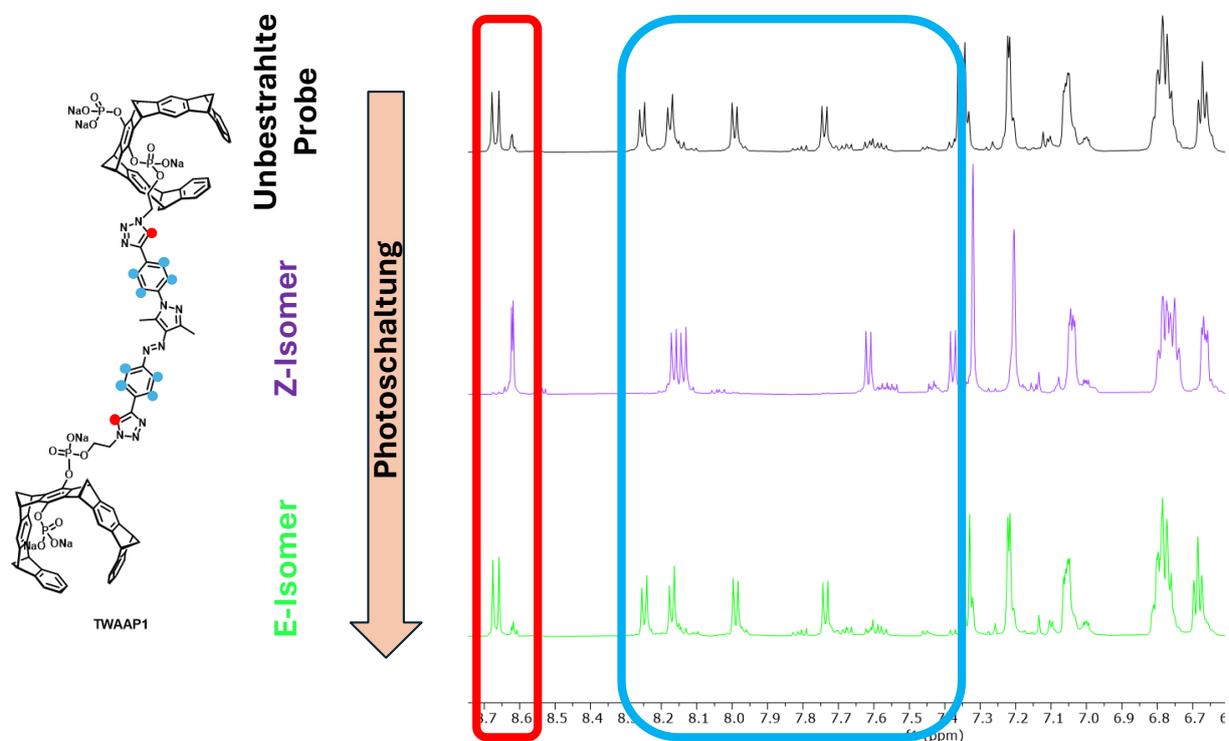


Abbildung 61:  $^1\text{H}$ -NMR-Experimente zur Photoschaltbarkeitsüberprüfung der hergestellten Pinzette TWAAP1. Ausschnitt aus dem aromatischen Bereich der jeweiligen Spektren. Das schwarze Spektrum (oben) stellt die unbestrahlte Probe nach der Synthese dar. Das lila Spektrum (Mitte) stellt die Signale der mit 365 nm bestrahlten Probe und damit das Z-Isomer dar und das grüne Spektrum (unten) stellt die Signale der mit 520 nm bestrahlten Probe und damit das E-Isomer dar.

Im oben gezeigten NMR-Experiment werden die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren der Pinzette **TWAAP1** gezeigt. Dabei liegt der Fokus auf dem aromatischen Bereich, da nur hier die Unterschiede zwischen beiden Konfigurationsisomeren gut zu erkennen sind. Weitere Signale überlagern sich in Multipletts der restlichen Verbindung und sind entsprechend schwierig auszuwerten. Das schwarze Spektrum entspricht dem der unbestrahlten Probe, das lila Spektrum entspricht dem des Z-Isomers und das grüne Spektrum entspricht dem des E-Isomers der Verbindung. Der Bereich im Fokus dieses Experiments entspricht dem Bereich zwischen 7.35 und 8.7 ppm. Der Signalsatz zwischen 8.6 und 8.7 ppm (roter Kasten) entspricht den Protonen der Triazol-Ringe der Verbindung. Im schwarzen Spektrum sind deutlich zwei Singulets zu erkennen. Nach Bestrahlung mit 365 nm (lila Spektrum) rücken diese Singulets etwas ins Tieffeld und das Signal erscheint mehr ein Dublett als zwei einzelne Singulets zu sein. Dies könnte vermutlich mit einer ähnlicheren chemischen und magnetischen Umgebung der Protonen der beiden Triazol-Ringe zusammenhängen. Dies wird dadurch hervorgerufen, dass diese Protonen über die

Isomerisierungsreaktion in räumlicher Nähe zusammengebracht werden. Nach Bestrahlung mit 520 nm (grünes Spektrum) wurde ein fast identischer Signalsatz erhalten, wie der der unbestrahlten Probe. Anschließend werden die Signale der Arylringe der Arylazopyrazol-Einheit beobachtet (hell-blauer Kasten). Im unbestrahlten Spektrum werden zwei Dublett-Sätze (8.25 und 7.99; 8.16 und 7.74 ppm) beobachtet. Diese Signale zeigen ebenfalls den typischen Dacheffekt, was für diese Art von Molekülen typisch ist.

Nach Bestrahlung mit 365 nm sind diese Signalsätze im lila Spektrum nicht mehr bei den gleichen chemischen Verschiebungen zu sehen. Stattdessen sind diese zwei Dublett-Sätze zueinander verschoben im Spektrum zu erkennen. Es sind insgesamt vier Dubletts, die keinen eindeutigen Dacheffekt mehr zeigen. Diese befinden sich bei 7.38, 7.62, 8.13 und 8.17 ppm. Dies ist darauf zurückzuführen, dass das Z-Isomer des Arylazopyrazols aufgrund der sterischen Hinderung durch die Methyl-Gruppen des Pyrazol-Rings eine etwas verdrehte Struktur aufweist und durch diese Verdrehung die einzelnen Protonen der Aryl-Ringe unterschiedliche chemische und magnetische Umfelder besitzen. Dementsprechend spiegelt sich dies im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum in der chemischen Verschiebung und dem fehlenden Dacheffekt der Signale wider (lila Spektrum).

Nach Bestrahlung mit 520 nm des Z-Isomers wird in diesem Bereich ein fast identischer Signalsatz zu dem der unbestrahlten Probe erhalten. Die Signale des Z-Isomers sind kaum bis gar nicht mehr zu erkennen. Dies deutet darauf hin, dass die unbestrahlte Probe bereits zu einem hohen Prozentsatz aus dem E-Isomer besteht. Ebenso kann hierdurch gezeigt werden, dass die Photoisomerisierung mit einem sehr hohen Umsatz durchführbar ist. Zusätzlich wird bestätigt, dass die Verbindung hin und wieder zurück isomerisiert werden kann, was mit den erhaltenen Ergebnissen der UV/Vis-Experimente übereinstimmt.

Die Isomerenverhältnisse der photoschaltbaren Pinzetten wurden im jeweiligen  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum mittels Integration der Signale der Aromaten ermittelt und tabellarisch aufgelistet. Die dazugehörigen Spektren (gemessen in  $\text{MeOD-d}_4$ , 2 mM, RT) befinden sich im Anhang.

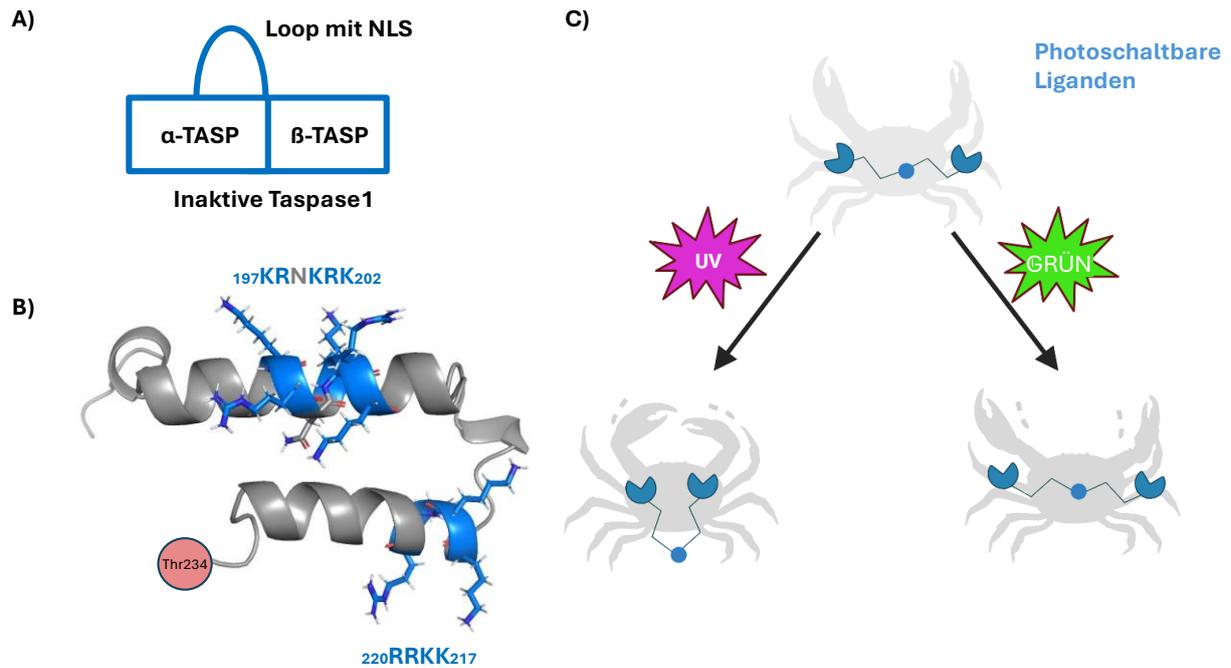
**Tabelle 12: Über  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie ermittelte Isomerenverhältnisse der photoschaltbaren Pinzetten.**

Verbindung	PSS <sub>E→Z</sub>	PSS <sub>Z→E</sub>
TWAAP0	87	89
TWAAP1	94	77
TWAAP2	67	97
TWAAP3	84	92
TWAAP4	90	70
TWAB1	63	61
TWAB2	59	56

### 3.5 Biologische Anwendung

Die hergestellten photoschaltbaren Pinzetten wurden nach der aufwendigen Synthese und Charakterisierung auf ihre Wirkung in biologischen Systemen untersucht, um neue Einblicke in zelluläre Prozesse zu ermöglichen. Diese Pinzetten wurden nach einem rationalen Design entworfen, um die Aktivität der Threonin Aspartase 1 (Taspase 1) zu unterbinden. Um die Aktivität des Proteins gezielt zu stören, können zwei Wege untersucht werden. Zum einen kann der Transport der inaktiven Taspase 1 in den Zellkern durch die Interaktion mit dem Partnerprotein Importin  $\alpha$  unterbunden werden. Taspase 1 wird zunächst im Zytosol in seiner inaktiven Form exprimiert, wodurch sie einen Aktivierungszyklus eingeht und ihre Proteasefunktionen danach im Zellkern entfaltet werden. Wird also die Interaktion mit dem Partnerprotein Importin  $\alpha$  gestört, so wird ebenfalls der Transport von Taspase 1 in den Zellkern unterbunden, wodurch ebenfalls die Entfaltung der Proteasefunktion unterbunden wird. Zum anderen kann die aktive Form der Taspase 1 im Zellkern angesteuert werden. Nach der Autoproteolyse und Bildung des aktiven Heterodimers wird das sogenannte aktive Zentrum des Proteins freigelegt, wodurch proteolytische Funktionen entfaltet werden. Wird aber das aktive Zentrum mit einem supra-molekularen Liganden blockiert, so können Substrate nicht mehr gebunden werden, wodurch deren Abbau gestört wird. Im Rahmen dieser Arbeit wurden in Kooperation mit Katrin Hommel aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Shirley Knauer der Universität Duisburg-Essen diese beiden Ansätze zur Unterbindung der Funktionen von Taspase 1 untersucht.

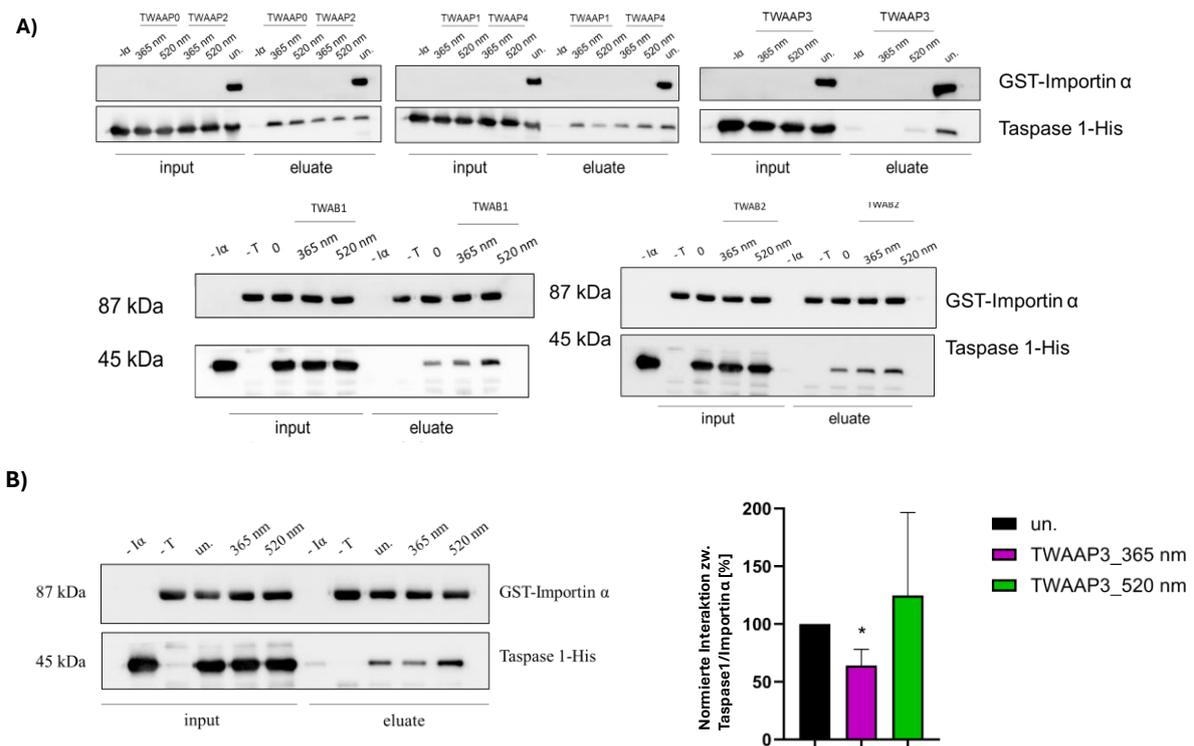
Zum ersten Ansatz und somit zur Hemmung der Interaktion der inaktiven Taspase 1 mit ihrem Partnerprotein Importin  $\alpha$  wurde der flexible *Loop* der Taspase 1 angesteuert. Abbildung 62 A) zeigt eine schematische Darstellung der inaktiven Taspase 1 mit dem flexiblen *Loop*. Dieser *Loop* verfügt über zwei NLS (Kernlokalisationsignale) die für die Wechselwirkung mit Importin  $\alpha$  zuständig sind. Diese NLS-Regionen befinden sich im *Loop* in zwei nebeneinander stehenden  $\alpha$ -Helices und weisen zahlreiche Lysine und Arginine auf (Abbildung 62 B). Die Abstände zwischen beiden NLS-Regionen wurden mittels MD-Simulation und dem Taspase 1-Modell von Johannes van den Boom bestimmt<sup>156</sup>. Die Abstände zwischen den angesteuerten Lysinen und Argininen betragen im Durchschnitt ca. 26 Å, welche ideale Abstände darstellen, um durch die hergestellten photoschaltbaren Pinzetten in E-Konfiguration verbrückt zu werden. Das Prinzip der Konfigurationsänderung der photoschaltbaren Pinzetten ist in Abbildung 62 C) schematisch dargestellt. Dabei wird der photoschaltbare Ligand als Krabbe illustriert, wobei die Tweezer-Einheiten als die Krabbenscheren dargestellt werden. Diese sind in ihrer ausgestreckten Konfiguration in der Lage beide NLS-Regionen zu „greifen“ und somit die Interaktion der Taspase 1 mit Importin  $\alpha$  unterbinden.



**Abbildung 62:** A) Schematische Darstellung der inaktiven Taspase 1 mit dem flexiblen Loop; B) Kristallstruktur des flexiblen Loops mit den wichtigen Lysinen und Argininen (Darstellung von Katrin Hommel, AK Knauer); C) schematische Darstellung eines photoschaltbaren Liganden als Scheren einer Krabbe, die ja nach Wellenlänge der Bestrahlung in unterschiedlichen Abständen zueinander stehen (Darstellung von Katrin Hommel, AK Knauer).

Somit wurden in Kooperation mit Katrin Hommel aus der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Shirley Knauer die photoschaltbaren Pinzetten auf ihre Bindung an Taspase 1 untersucht. Hierzu wurden Pull-Down Experimente durchgeführt. Die ersten Experimente wurden zusammen mit Katrin Hommel durchgeführt und die weiteren einzelnen Strukturen wurden von ihr allein vermessen.

Bei diesem Experiment wird Glutathion-S-Transferase-gekoppeltes (GST) Importin  $\alpha$  auf einer Säule mit einer Sepharosematrix fixiert. Anschließend wird eine präinkubierte Lösung aus Taspase 1 und einem Liganden in der jeweiligen Konfiguration auf die Säule gegeben. Hierbei findet eine Konkurrenzreaktion zwischen Importin  $\alpha$  und Ligand an Taspase 1 statt. Mittels Zentrifugation wurden darauffolgend sowohl ungebundene Taspase 1 als auch Ligand vom Säulenmaterial entfernt. Danach wurden gebundene Taspase 1 und Importin  $\alpha$  durch ionische Detergenzien und Hitze entfaltet, dadurch von der Säule gelöst und über SDS-PAGE sowie Western Blot untersucht. Je stärker ein Ligand die Interaktion zwischen Taspase 1 und Importin  $\alpha$  inhibiert, desto weniger Taspase 1 kann aus dem Säulenmaterial extrahiert werden. Dies spiegelt sich in der Schwächung der Bande im Western Blot wider.

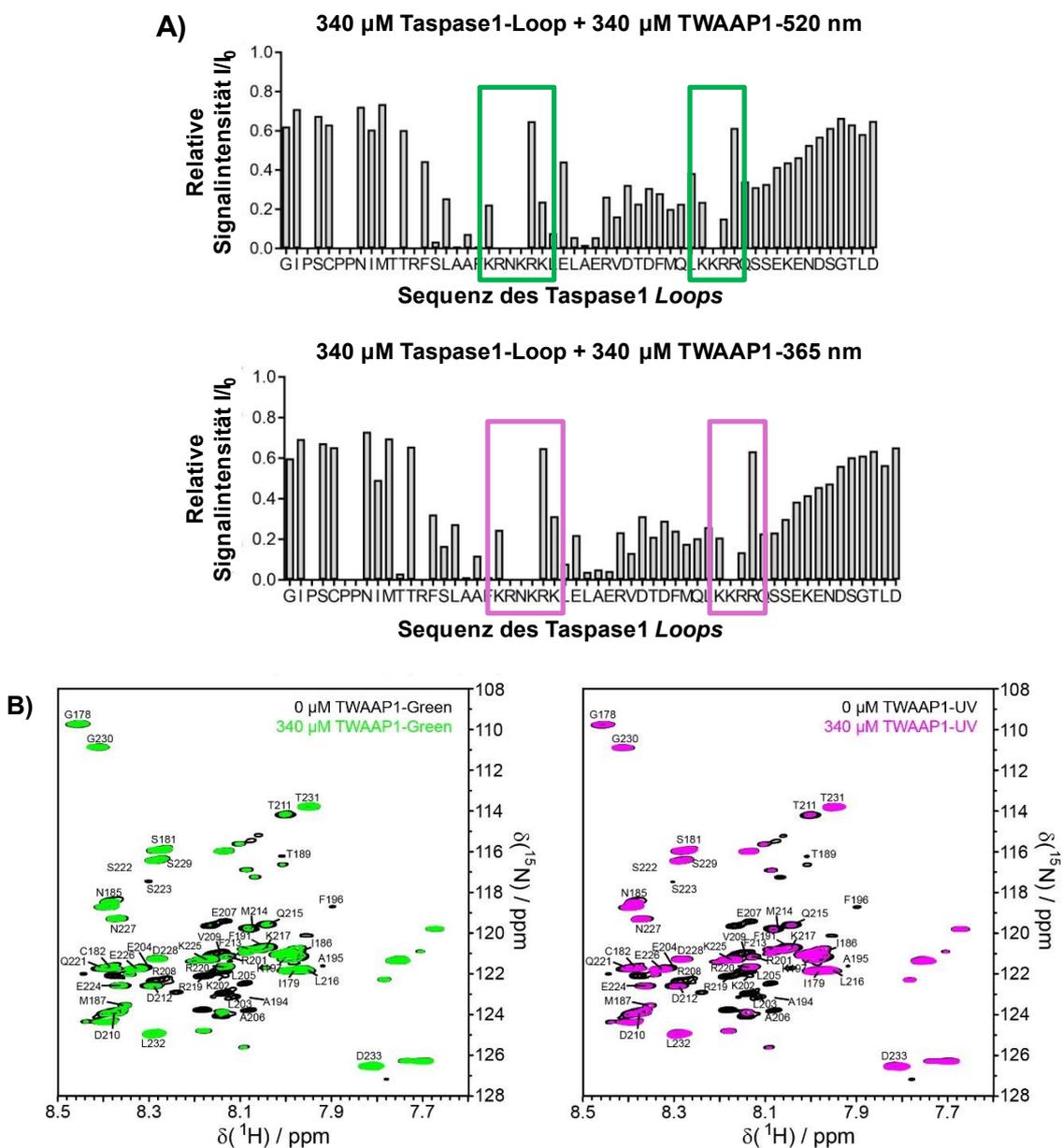


**Abbildung 63:** a) Alle Western Blots der Pull-Down Experimente zur Bestimmung der Bindung der photoschaltbaren Pinzetten an Taspase 1 im Vergleich zu Importin  $\alpha$  bei einer Konzentration von 100  $\mu$ M, „-I $\alpha$ “ steht für die Kontrolle ohne Importin  $\alpha$ , „-T“ steht für die Kontrolle ohne Taspase 1, „0“ und „un.“ stehen für die Kontroll-Experimente ohne Zugabe einer Probe des Liganden; b) Pull-Down Experiment mit TWAAP3, welcher als einzige eine Hemmung der Interaktion zwischen den Partnerproteinen bewirkt.

Abbildung 63 A) zeigt die durchgeführten Pull-Down Experimente mit den photoschaltbaren Pinzetten **TWAAP0**, **TWAAP1**, **TWAAP2**, **TWAAP3**, **TWAAP4**, **TWAB1** und **TWAB2** in beiden E- und Z-Konfigurationen in einer Konzentration von 100  $\mu$ M auf ihre Bindung zu Taspase 1 in Konkurrenz zum Partnerprotein Importin  $\alpha$ . Bei fast allen photoschaltbaren Liganden wurde leider keine starke Schwächung der Taspase 1-Bande gesehen. Im Abschnitt B) der Abbildung 63 ist das Pull-Down Experiment mit der photoschaltbaren Pinzette **TWAAP3** nochmal vergrößert dargestellt. Nur bei diesem Liganden in seiner Z-Konfiguration konnte eine deutlich geschwächten Taspase 1-Bande gesehen werden. Im rechten Balkengraphen wird die normierte Interaktion der beiden Partnerproteine dargestellt. Dabei ist nun der deutliche Unterschied zwischen den beiden isomeren Formen des Liganden **TWAAP3** zu sehen. Die E-Konfiguration des Liganden scheint keinerlei Inhibitionswirkung zu haben, während die Z-Konfiguration die Interaktion um ca. 40 % verringert. Dennoch wurde bei der Kontrolle des Experiments festgestellt, dass alle photoschaltbaren Pinzetten ebenfalls unspezifisch an die Säule gebunden haben. Das Experiment wurde anschließend ohne Zugabe von Importin  $\alpha$  durchgeführt und es konnte dennoch Taspase 1 detektiert werden. Dies deutet darauf hin, dass die Tweezer-Liganden sowohl an Taspase 1 als auch an das Säulenmaterial binden. Des Weiteren konnte eine leichte gelbe Färbung des Säulenmaterials erkannt werden, was auf die photoschaltbaren Liganden aufgrund ihrer gelben Farbe

zurückzuführen ist. Dies deutet auf eine Verfälschung der Ergebnisse der durchgeführten Experimente hin und macht es somit nicht möglich, die Inhibition der Interaktion der beiden Proteine auf diese Art zu untersuchen.

Für ein besseres Verständnis der Bindung der photoschaltbaren Pinzetten am *Loop* der Taspase 1 wurden NMR-Experimente in Kooperation mit Dr. Christine Beuck von der Universität Duisburg-Essen durchgeführt. Dabei wurde der  $^{15}\text{N}$ -markierte isolierte *Loop* in Gegenwart der photoschaltbaren Pinzette **TWAAP1** in HSQC-Experimenten vermessen (Abbildung 64).



**Abbildung 64:**  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ -HSQC Experiment: **A)** Änderungen der Signalintensitäten bei der Erkennung des Taspase 1 Loops (AS 178-233) mit den beiden NLS-Regionen (grüne bzw. lila Kästen) durch die photoschaltbare Pinzette TWAAP1 im E- (oben) und im Z-Zustand (unten) in PBS-Puffer (pH 6.5 und 25 °C); **B)**  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ -HSQC Spektren nach der Zugabe von E-TWAAP1 (links) und Z-TWAAP1 (rechts); Aufnahmen von Dr. Christine Beuck.

Über dieses Experiment konnte gezeigt werden, an welchen Stellen des Taspase 1-*Loops* die Tweezer-Einheiten des Liganden **TWAAP1** bevorzugt binden. Dabei handelt es sich wie erwartet um die NLS-Regionen mit dem Lysin/Arginin-Clustern. K197 bis R201 und K217 bis R220 zeigen eine starke Abnahme in der Intensität der Signale. Für das Experiment wurden 340  $\mu\text{M}$  des Taspase 1-*Loops* in Gegenwart von 340  $\mu\text{M}$  des **TWAAP1** in jeweils seiner E- und Z-Form vermessen. Dabei wurde ein erkennbarer Unterschied der beiden isomeren Formen in ihrer Bindung an den *Loop* erwartet. Diese Erwartung konnte über das Experiment nicht erfüllt werden. Es kann kein erwähnenswerter Unterschied zwischen beiden Experimenten erkannt werden. Dies deutet darauf hin, dass beide Isomere des **TWAAP1** in der Lage sind, die bevorzugten Lysine bzw. Arginine zu binden und dass der Abstand zwischen den Tweezer-Einheiten der beiden Isomeren nicht verschieden genug ist, um eine bedeutsame Wirkung auf die Bindung zu haben. Möglicherweise befinden sich zu viele Lysin- bzw. Arginin-Reste im flexiblen und anpassbaren *Loop*, an die die Tweezer, unabhängig von ihrem isomeren Zustand, binden können. Eine Veranschaulichung der möglichen Bindungsarten des Liganden **TWAAP1** am Taspase 1-*Loop* werden in der nachfolgenden Abbildung dargestellt. Das E-Isomer könnte überbrückend beide NLS-Regionen binden (Abbildung 65 A), während das Z-Isomer an einen einzigen NLS-Bereich binden könnte (Abbildung 65 C). Zusätzlich möglich wäre eine Bindung einer einzelnen Tweezer-Einheit an eine NLS-Region (Abbildung 65 D). Zudem wäre eine überbrückende Bindung beider NLS-Regionen durch das Z-Isomers möglich (Abbildung 65 B). Die verbrückende Bindung des Z-Isomers würde mit den Ergebnissen der NMR-Titration übereinstimmen. Aufgrund des Abstands zwischen den beiden NLS-Bereichen und der zahlreichen gut zugänglichen Lysin- und Argininreste auf der flexiblen Schleife besteht die Möglichkeit, dass der Ligand in beiden Konfigurationen die NLS-Regionen überbrückend binden kann. (Abbildung 65 A und B).

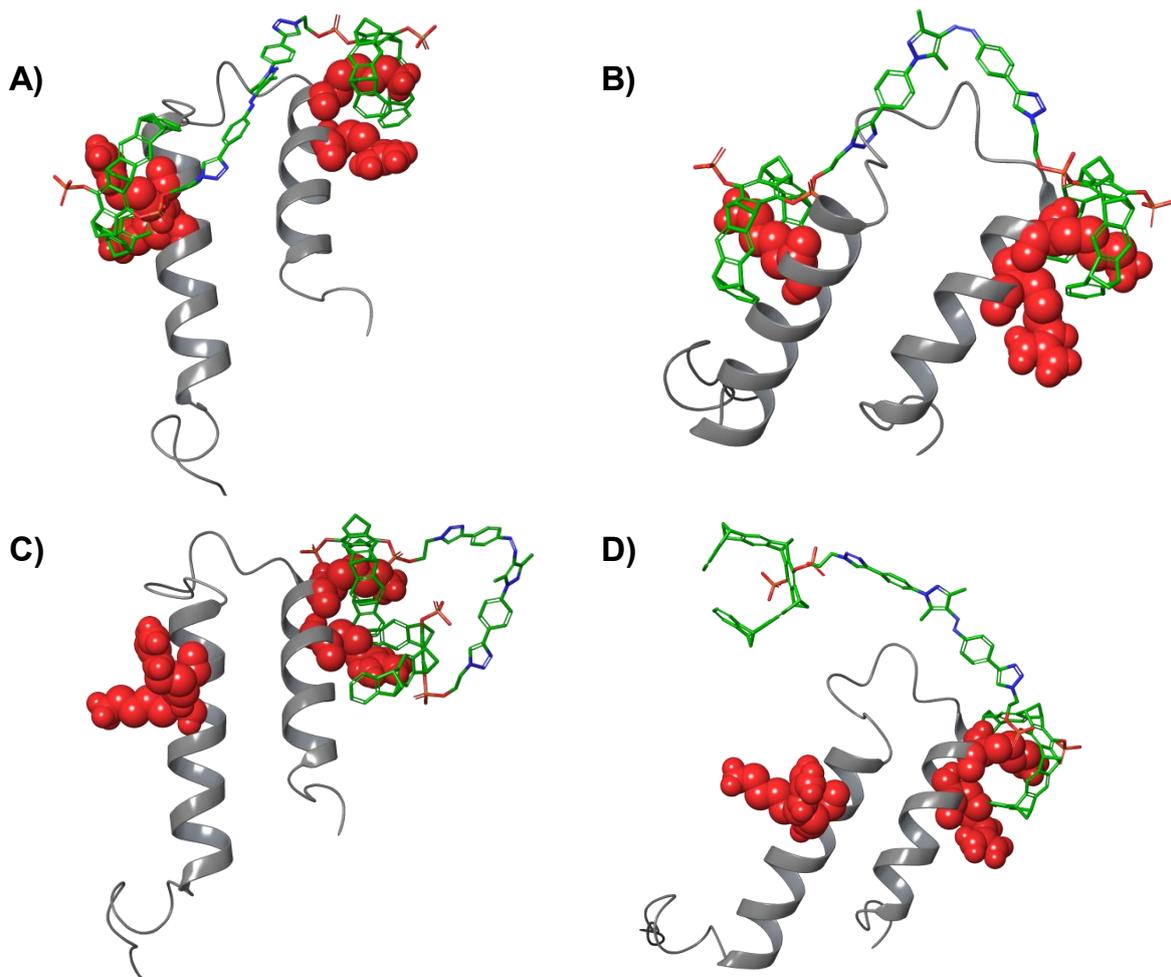


Abbildung 65: Vergleich von möglichen Bindungsarten der E- und Z-Isomere am Beispiel der photoschaltbaren Pinzette TWAAP1. A) Bindung des E-Isomers von TWAAP1 an K200 und K217, überbückend zwischen beiden  $\alpha$ -Helices; B) Bindung des Z-Isomers von TWAAP1 an K200 und K217, überbückend zwischen beiden  $\alpha$ -Helices; C) Bindung des Z-Isomers von TWAAP1 an nur einer der beiden  $\alpha$ -Helices (K217 und R220); D) Bindung des E-Isomers von TWAAP1 an K217 mit nur einer Pinzetten-Einheit.

In Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Bart Jan Ravoo wurden die Bindungsaffinitäten der Liganden **TWAAP0** und **TWAAP3** zur gesamten Taspase 1 bestimmt. Die Bindungsaffinität wird üblicherweise mit der Gleichgewichtsdissoziationskonstante ( $K_D$ ) gemessen und angegeben, die zur Beurteilung und Klassifizierung der Stärke bimolekularer Wechselwirkungen herangezogen wird. Je kleiner der  $K_D$ -Wert ist, desto größer ist die Bindungsaffinität des Liganden an sein Ziel. Um die  $K_D$ -Werte der photoschaltbaren Pinzetten gegenüber Taspase 1 zu bestimmen, führte Alisa-Maite Kauth Oberflächenplasmonenresonanz-Experimente (engl. *Surface Plasmon Resonance* – SPR) mit immobilisierter Taspase 1 durch.

Zur Untersuchung wurde Taspase 1 auf einem Goldchip immobilisiert und die divalenten photoschaltbaren Pinzetten in steigenden Konzentrationen in der sogenannten Multizyklus-Methode injiziert. Die resultierenden SPR-Sensogramme zeigen eine direkte Bindung aller Tweezer-Liganden an Taspase 1 mit starken Response Units (Abbildung 66).

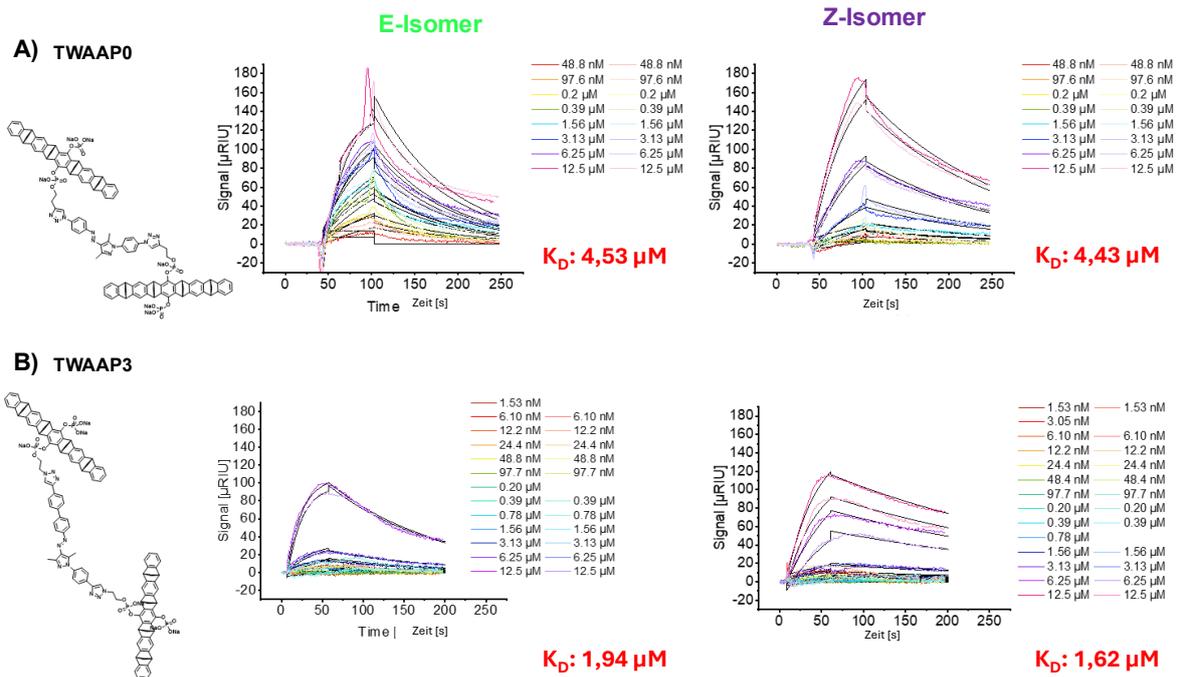


Abbildung 66: SPR-Messungen der photoschaltbaren Pinzetten TWAAP0 (A) und TWAAP3 (B) zur Bestimmung der Bindungsaffinitäten an die Taspase 1 in Konzentrationen von 0,0488; 0,097; 0,2; 0,39; 1,56; 3,13; 6,25 und 12,5  $\mu\text{M}$ , durchgeführt von Alisa-Maite Kauth

Die Bestimmung des  $K_D$ -Wertes kann durch Auftragen der RUs im Gleichgewichtszustand gegen die Konzentration als entsprechende Kurve, welche sich als Sättigungskurve zeigt, für die Verdünnungsreihe erhalten werden. Aus dieser Kurve kann der jeweilige  $K_D$ -Wert, aus der Konzentration bei halbem Maximum, erhalten werden. Alle Messungen wurden in Triplikaten ausgeführt.

Hierbei ist anzumerken, dass die Einstellung eines Gleichgewichtszustandes dem Langmuir Modell folgt. Dieses Modell beschreibt die Sättigung von Oberflächenbindungsstellen bei konstanter Konzentration des Bindungsreaktanten und legt eine 1:1 Bindung zu Grunde. Dadurch wird der reale Zustand nur begrenzt widerspiegelt, dennoch erlaubt es eine Abschätzung der Affinitäten der Liganden zum Protein und einen Vergleich der Strukturen untereinander.

Die untersuchten photoschaltbaren Pinzetten zeigen eine Bindungsaffinität im  $\mu\text{M}$  Bereich, diese setzt sich als Durchschnitt der Dreifachmessungen zusammen. Die erhaltenen  $K_D$ -Werte für die photoschaltbaren Pinzetten TWAAP0 und TWAAP3 unterscheiden sich jedoch, anders als erwartet, nur wenig zwischen den jeweiligen isomeren Formen. Mit 4,53  $\mu\text{M}$  für E-TWAAP0 und 4,43  $\mu\text{M}$  für Z-TWAAP0 und 1,94  $\mu\text{M}$  für E-TWAAP3 und 1,62  $\mu\text{M}$  für Z-TWAAP3 zeigen die jeweiligen Bindungsaffinitäten keine erwähnenswerte Differenz zwischen beiden isomeren Formen. Dies spiegelt die Ergebnisse der NMR-Experimente wider. Zwar wurde dabei Taspase 1 in Gegenwart von TWAAP1 vermessen, jedoch ähneln die theoretisch errechneten Abstände zwischen den Tweezer-Einheiten in der jeweiligen isomeren

Form sehr den Abständen der beiden **TWAAP0** und **TWAAP3** Liganden. Diese Werte deuten darauf hin, dass die Liganden eine sehr gute Bindungsaffinität gegenüber Taspase 1 besitzen, jedoch konnte bisher kein Effekt durch die Konfigurationsänderung der Moleküle nachgewiesen werden.

Zur Visualisierung eines möglichen Komplexes zwischen einer photoschaltbaren Pinzette (in diesem Beispiel **TWAAP1**) und Taspase 1 wurden abschließend MD-Simulationen am ganzen Protein durchgeführt. In diesem Beispiel wurde **TWAAP1** auf ausgewählten Lysinen und Argininen platziert, die im NMR-Experiment in den beiden basischen Clustern des *Loops* gebunden wurden. Der gesamte Komplex wurde mit den Parametern des Kraftfelds OPLS2005 über 100 ns bei RT im Wasserkasten berechnet. Hierfür wurde das E-Isomer mit einer Pinzetten-Einheit auf jeweils eine NLS-Region platziert und das Z-Isomer wurde mit beiden Pinzetten-Einheiten auf einer einzigen NLS-Region platziert. So konnte untersucht werden ob beide Konfigurationsisomere eine stabile Bindung an den flexiblen *Loop* eingehen können. Ausschnitte der MD-Simulationen sind in der nachfolgenden Abbildung dargestellt.

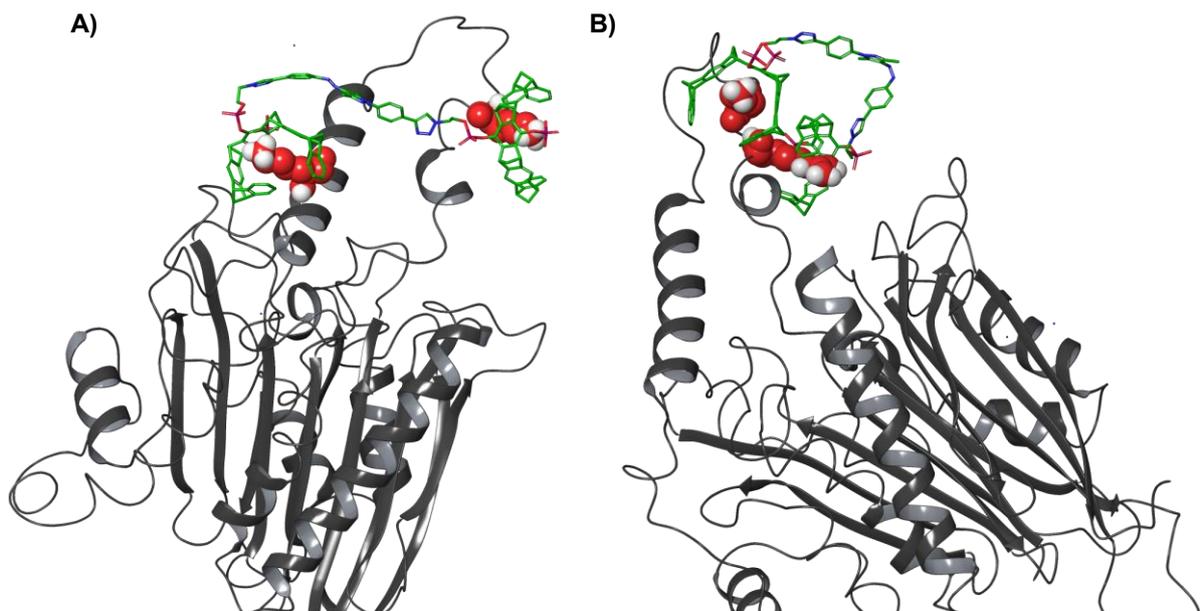
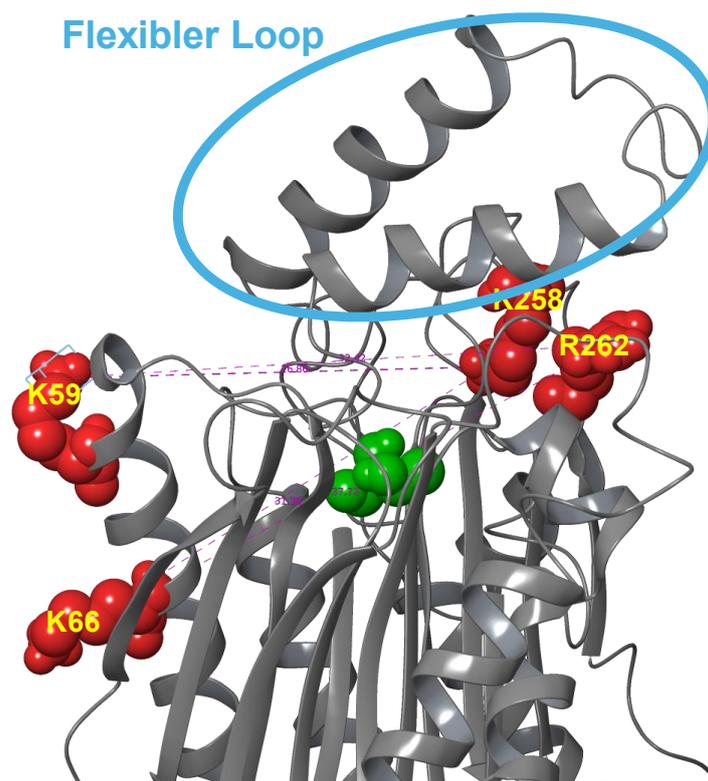


Abbildung 67: MD-Simulation von TWAAP1 auf Taspase 1. A) Das E-Isomer von TWAAP1 bindet an K200 und K217, überbückend zwischen beiden Helices; B) Das Z-Isomer von TWAAP1 bindet nur an einer der beiden Helices an K217 und R220.

Das Ansteuern des flexiblen *Loops* der Taspase 1 entspricht dem ersten strategischen Ansatz, um die Aktivität der Taspase 1 in Tumorzellen zu hemmen. Der zweite Ansatz basiert im Gegensatz dazu auf der Ansteuerung der bereits aktivierten Taspase 1 im Zellkern. Dazu wird das Andocken auf Lysin- bzw. Argininen in der räumlichen Nähe des aktiven Zentrums angestrebt, so dass der Eingang zum aktiven Zentrum sterisch blockiert wird. Dadurch wird es für Substrate abgeschirmt und das Enzym deaktiviert. Dadurch, dass es in der Literatur keine Angaben zur Struktur der aktiven Taspase 1 vorliegen, wurde auf die Kristallstruktur der inaktiven Taspase 1 zurückgegriffen. Diese wurde auf vorhandenen Lysin- und Argininreste um das aktive Zentrum genauer untersucht. Hierbei wurde beobachtet, dass die Reste der Aminosäuren Lysin258 und Arginin 262 ebenfalls das aktive Zentrum des Proteins flankieren und oberflächenexponiert vorliegen, wenn der *Loop* nicht mehr geschlossen ist. Dies stellt eine vielversprechende Möglichkeit zur Bindung der Pinzetten und somit zum Abschirmen des aktiven Zentrums dar. In der nachfolgenden Abbildung wird die Kristallstruktur der Taspase 1 dargestellt. Lysin- und Arginin-Reste sind rot und Threonin234 (das aktive Zentrum) ist grün dargestellt.



**Abbildung 68:** Kristallstruktur der Taspase 1. Rechts vom aktiven Zentrum T234 (grün) sind K258 und R262 als rote Reste dargestellt. Links vom aktiven Zentrum sind K59 und K66 als rote Reste dargestellt.

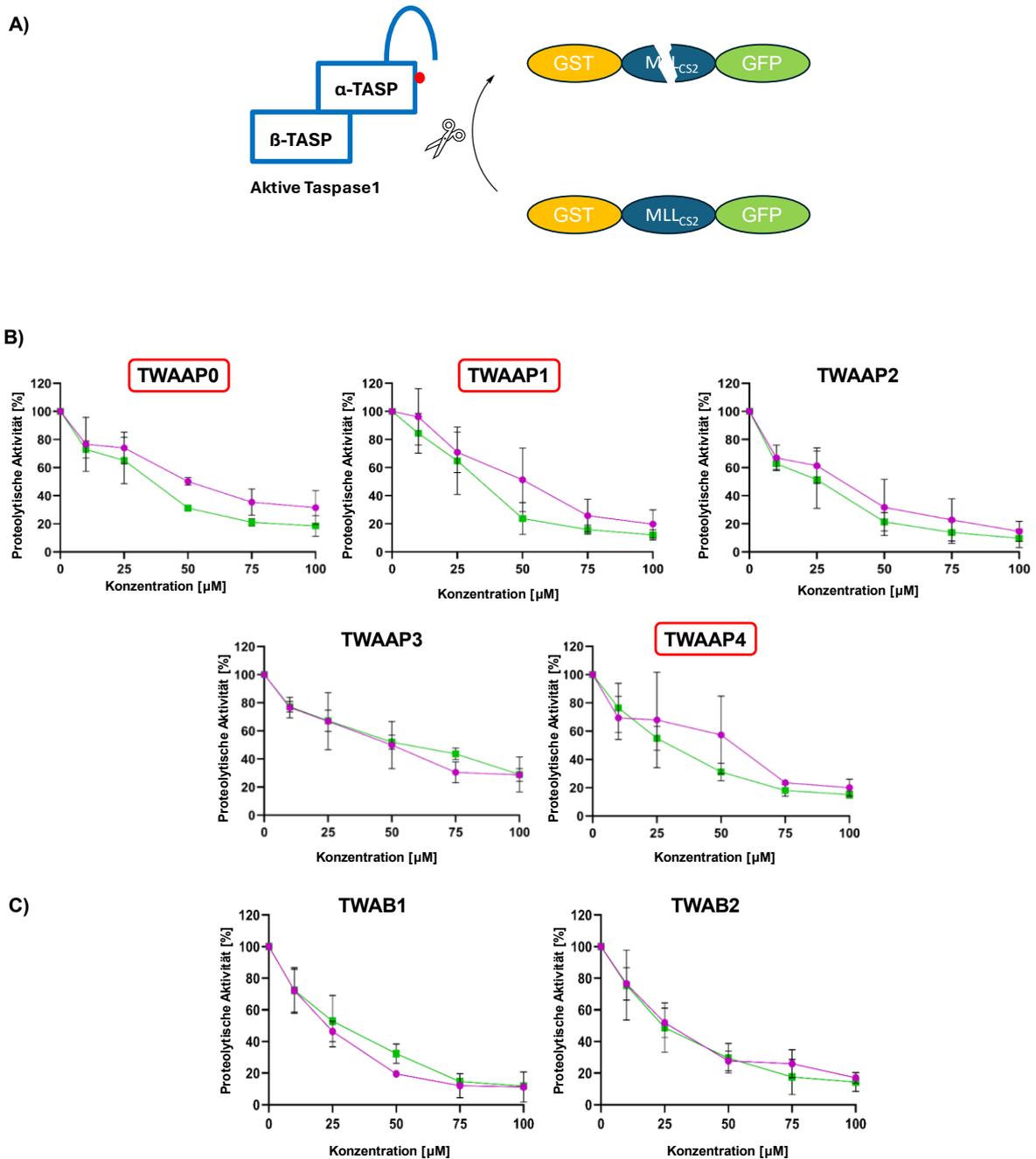
Die Abstände der basischen Aminosäurereste um das aktive Zentrum wurden über MD-Simulation ermittelt und in der nachfolgenden Tabelle aufgelistet.

**Tabelle 13: Berechnete Abstände zwischen der einzelnen Aminosäuren Resten der beiden basischen Cluster. „Cluster links“ und Cluster rechts“ beziehen sich auf die oben gezeigte Cluster in der Abbildung, jeweils links und rechts des aktiven Zentrums.**

Cluster links	Cluster rechts	Abstand [Å]
K59	K258	27
K59	R262	32
K66	K258	31
K66	R262	38

Die berechneten Abstände sind im Bereich des Umfangs der photoschaltbaren Pinzetten und stellen einen vielversprechenden Ansatz dar, um den Eingang zum aktiven Zentrum mit einem Liganden zu blockieren.

Um diesem Ansatz zu überprüfen und die Hemmung der proteolytischen Aktivität der Taspase 1 nachzuweisen wurde ein Spaltungsassay durchgeführt. Hierzu wurde die aktive Taspase 1 mit den photoschaltbaren Pinzetten und einem bakteriell hergestellten Substrat mit der Schnittstelle CS2 aus dem bekannten Taspase 1 Substrat MLL gemischt. Danach wurden die Proben über SDS-PAGE sowie Western Blot untersucht und die jeweiligen IC<sub>50</sub>-Werte der E- und Z- Isomere der photoschaltbaren Liganden **TWAAP0**, **TWAAP1**, **TWAAP2**, **TWAAP3**, **TWAAP4**, **TWAB1** und **TWAB2** ermittelt. Der IC<sub>50</sub>-Wert bezieht sich auf die Konzentration des zugegebenen Liganden, bei welcher die enzymatische Aktivität auf 50 % herabgesenkt wird. Die ermittelte enzymatische Aktivität wird gegen die Konzentration des zugegebenen Liganden aufgetragen. Die Konzentration bei halbmaximaler Inhibierung entspricht somit dem IC<sub>50</sub>-Wert. Die proteolytische Aktivität wurde bei verschiedenen Konzentrationen des zugegebenen Liganden zwischen 0 und 100 µM bestimmt und aufgetragen (Abbildung 69).



**Abbildung 69: Untersuchung der Inhibition der proteolytischen Aktivität der Taspase 1:** A) Schematische Darstellung der proteolytischen Aktivität der aktiven Taspase 1. Das Protein liegt als Heterodimer vor, der flexible *Loop* wurde auf einer Seite abgespalten um das aktive Zentrum (roter Punkt) freizulegen; B) Auftragung der Änderung der Proteolytischen Aktivität mit steigender Konzentration an vorhandenen photoschaltbaren Pinzetten der Reihe TWAAP in E- (grüne Kurve) und Z- Konfiguration (lila Kurve); C) Auftragung der Änderung der Proteolytischen Aktivität mit steigender Konzentration an vorhandenen photoschaltbaren Pinzetten der Reihe TWAB in E- (grüne Kurve) und Z- Konfiguration (lila Kurve); Durchgeführt von Katrin Hommel.

Abbildung 70 A) stellt die proteolytische Aktivität der Taspase 1 schematisch dar. Zur Untersuchung wurde die aktive Form der Taspase 1 mit den photoschaltbaren Pinzetten im jeweiligen E- oder Z-Zustand vorgelegt und dazu wurde das bekannte Substrat MLLL mit der Schnittstelle CS2 hinzugegeben. Über SDS-PAGE und Western Blot konnten die Abbauprodukte aus der Reaktion zwischen der aktiven

Taspase 1 und ihrem Substrat optisch detektiert werden. Mit steigender Tweezer-Konzentration wurde die Intensität der Spaltprodukte geringer, bis diese nicht mehr zu sehen waren. Aus diesen Daten wird eine Kurve erstellt und der  $IC_{50}$ -Wert kann aus dem Graphen abgelesen werden. Abbildung 70 B) und C) zeigen die Auftragungen der proteolytischen Aktivität der Taspase 1 gegen die Konzentration der zugegebenen **TWAAPs** bzw. **TWABs** auf. Es ist aus den Graphen zu entnehmen, dass die  $IC_{50}$ -Werte aller Verbindungen sich in einem ähnlichen Bereich von etwa 15 bis 50  $\mu\text{M}$  befinden, welches für divalente Liganden der literaturbekannten Größenordnung spricht<sup>27</sup>. Zur besseren Übersicht wurden die ermittelten  $IC_{50}$ -Werte tabellarisch aufgelistet.

**Tabelle 14: Ermittelte  $IC_{50}$ -Werte der E- und Z- Isomere der photoschaltbaren Pinzetten der Reihen TWAAP und TWAB gegenüber der proteolytischen Aktivität von Taspase 1.**

Verbindung	$IC_{50}$ E-Isomer [ $\mu\text{M}$ ]	$IC_{50}$ Z-Isomer [ $\mu\text{M}$ ]
<b>TWAAP0</b>	28	49
<b>TWAAP1</b>	25	45
<b>TWAAP2</b>	17	25
<b>TWAAP3</b>	49	42
<b>TWAAP4</b>	24	38
<b>TWAB1</b>	22	18
<b>TWAB2</b>	22	25

Bei den Verbindungen **TWAAP0**, **TWAAP1** und **TWAAP4** ist ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden isomeren Konfigurationen zu erkennen. Diese Unterschiede werden balkengraphisch in Abbildung 70 dargestellt.

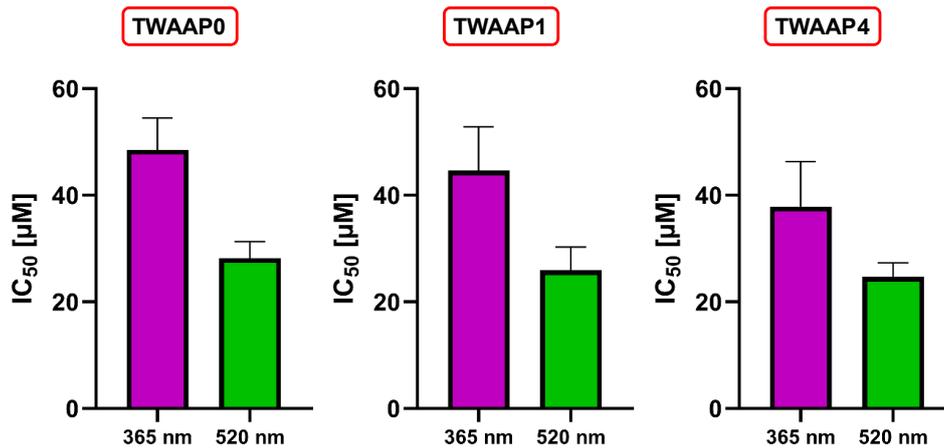


Abbildung 70: Balkengraphische Darstellung der ermittelten  $IC_{50}$ -Werte für die proteolytische Aktivität von Taspase 1 der Liganden TWAAP0, TWAAP1 und TWAAP4; Durchgeführt von Katrin Hommel.

Das Ergebnis dieser Untersuchung bestätigt die Hypothese, dass eine Konfigurationsänderung der supramolekularen Liganden eine bedeutsame Wirkung auf die biologische Aktivität hat. Die Pinzetten **TWAAP0**, **TWAAP1** und **TWAAP4** zeigen den größten Unterschied zwischen ihren E- und Z-Isomeren. Das Z-Isomer von **TWAAP0** zeigt einen  $IC_{50}$ -Wert von 48,51  $\mu\text{M}$  während sein E-Isomer einen Wert von 28,15  $\mu\text{M}$  besitzt. Dies bedeutet, dass die benötigte Menge des E-Isomers, um die proteolytische Aktivität der Taspase 1 auf die Hälfte zu reduzieren, nur halb so groß ist, wie die des Z-Isomers. Dieser Effekt ist bei **TWAAP1** (mit 25  $\mu\text{M}$  für das E- und mit 45  $\mu\text{M}$  für das Z-Isomer) und **TWAAP4** (mit 24  $\mu\text{M}$  für das E- und 38  $\mu\text{M}$  für das Z-Isomer) ebenfalls zu sehen.

Die berechneten Abstände der ausgestreckten E-Isomere (ca. 30 Å für **TWAAP0** und **TWAAP1** und ca. 38 Å für **TWAAP4**) stimmen mit den berechneten Abständen zwischen den Aminosäuren K59 bzw. R66 und K258 bzw. R262 überein. Dadurch können die photoschaltbaren Pinzetten in der E-Konfiguration an beiden flankierenden Clustern, um das aktive Zentrum, überbrückend binden und den Zugang dazu blockieren (Abbildung 72 B). Das jeweilige Z-Isomer hingegen verfügt nicht über eine ausreichende Länge um verbrückend zu binden. Zwei Z-Isomere jedoch könnten jeweils mit beiden Tweezern eine Flanke binden. Dadurch ist anzunehmen, dass sich die Brückeneinheiten der photoschaltbaren Pinzetten, aufgrund des hydrophoben Effekts, dem aktiven Zentrum nähern und dieses ebenfalls sterisch blockieren, wodurch die ermittelten  $IC_{50}$ -Werte zu erklären wären (Abbildung 72 A). Diese Annahme wird durch die Tatsache gestützt, dass die doppelte Konzentration der Z-Isomere notwendig ist, um die enzymatische Aktivität der Taspase 1 um die Hälfte zu reduzieren.

Obwohl eine Konzentration von 28  $\mu\text{M}$  des Z-Isomers von **TWAAP0** für eine effektive Inhibierung nicht ausreichend ist, könnte durch Bestrahlung mit grünem Licht die Struktur in ihren effektiven Binder, das E-Isomer, überführt werden. Durch die Konfigurationsänderung wird somit eine Bindung des 2.

Tweezers an die andere Flanke des aktiven Zentrums ermöglicht, wodurch folglich die ausgestreckte Verbindung den Eingang zum Thr234 blockiert (Abbildung 71 C).

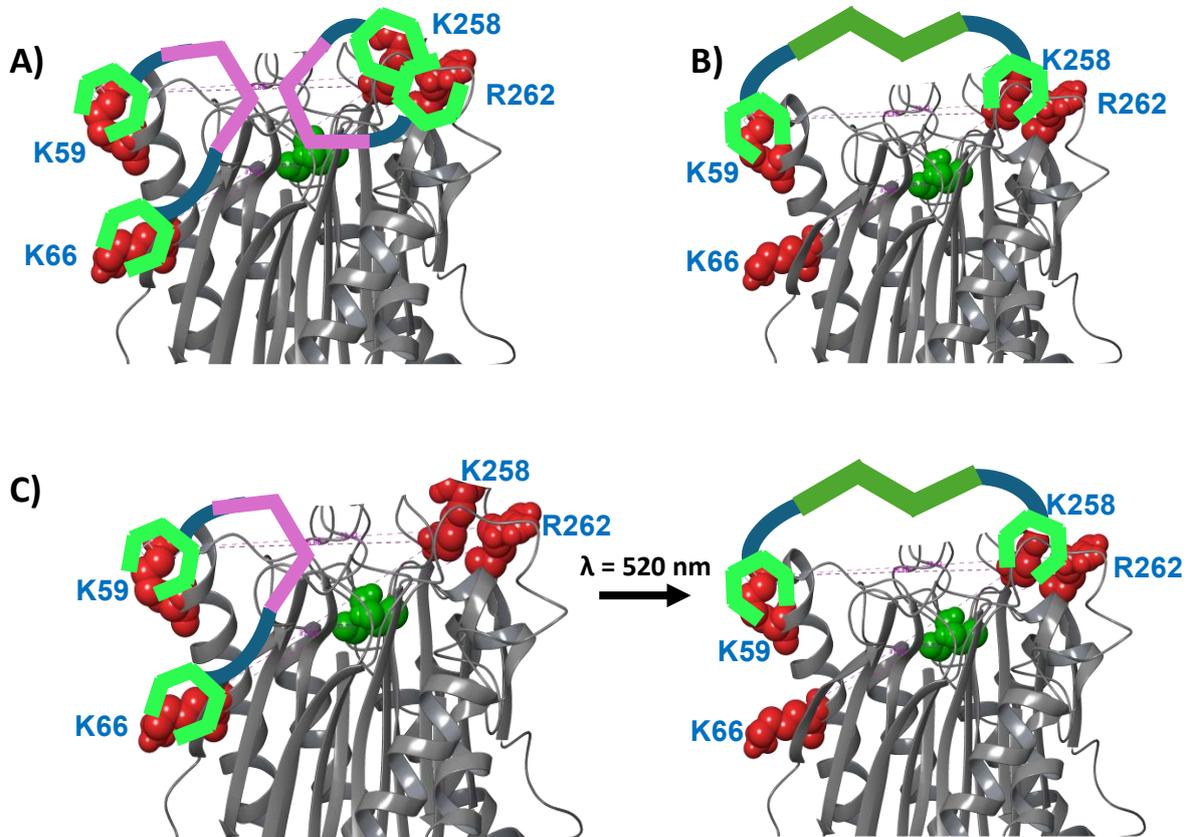


Abbildung 71: Kristallstruktur der Taspase 1. Rechts vom aktiven Zentrum T234 (grün) sind K258 und R262 als rote Reste dargestellt. Links vom aktiven Zentrum sind K59 und K66 ebenfalls als rote Reste dargestellt; A) Zwei Z-Isomere einer photoschaltbaren Pinzette binden jeweils eine Flanke des aktiven Zentrums und blockieren den Eingang zu diesem; B) Das E-Isomer einer photoschaltbaren Pinzette bindet beide Flanken und blockiert so den Eingang zum aktiven Zentrum; C) Ein Z-Isomer einer photoschaltbaren Pinzette bindet eine Flanke und ist für die Inhibierung der enzymatischen Aktivität nicht ausreichend. Durch Bestrahlung mit grünem Licht wird die Struktur in ihr E-Isomer überführt, wodurch eine Bindung des zweiten Tweezers an die andere Flanke des aktiven Zentrums ermöglicht wird. Folglich blockiert die ausgestreckte Verbindung den Eingang zu Thr234.

Im Vergleich zu den Untersuchungen zur Hemmung der Interaktion zwischen Taspase 1 und Importin  $\alpha$  handelt es sich bei der Untersuchung der enzymatischen Aktivität um ein gut definiertes und starres System. Dieses System umfasst vier Lysine und Arginine, die einen definierten Abstand zueinander haben. Dadurch werden eindeutige Unterschiede der Liganden und jeweiligen Isomere in den Ergebnissen des biologischen Assays beobachtet.

Im Gegensatz dazu zeigen die Ergebnisse der Inhibierung der Taspase 1-Importin  $\alpha$ -Interaktion keine signifikanten Unterschiede zwischen den jeweiligen Isomeren. Zum einen befinden sich zahlreiche zugängliche Lysin- bzw. Argininreste auf dem *Loop*, wodurch zwar die Bindungswahrscheinlichkeit erhöht wird, aber keine spezifische Bindung vorliegt. Zum anderen kann sich der flexible *Loop* durch einfache

Drehungen um Einfachbindungen leicht an die Topologie des Liganden anpassen. Aufgrund der hohen Flexibilität des *Loops* wird die Unterscheidung zwischen der Bindung der E- und Z-Isomere erschwert.

## 4 Zusammenfassung und Ausblick

Im Fokus dieser Arbeit steht die Kombination aus bekannten Bindungsmotiven für Proteine, genauer gesagt, die von *Schrader et al.* entwickelte molekulare Pinzette, mit dem innovativen Konzept der Dynamik, um dynamische supramolekulare Binder herzustellen. Diese sollen in der Lage sein, ihre Fähigkeit an Proteinen zu binden, durch äußere Wirkung ändern zu können.

Zu diesem Zweck wurden im Rahmen dieser Arbeit zunächst asymmetrische molekulare Pinzetten hergestellt, die mit einer Azid- bzw. Alkin-Funktionalität versehen waren, um später in Kupfer-Click-Reaktionen eingesetzt zu werden. Dies entsprach eine aufwendigen 18-Stufen-Synthese, mit RP-Säulenchromatographischen Aufreinigungen in den letzten Schritten.

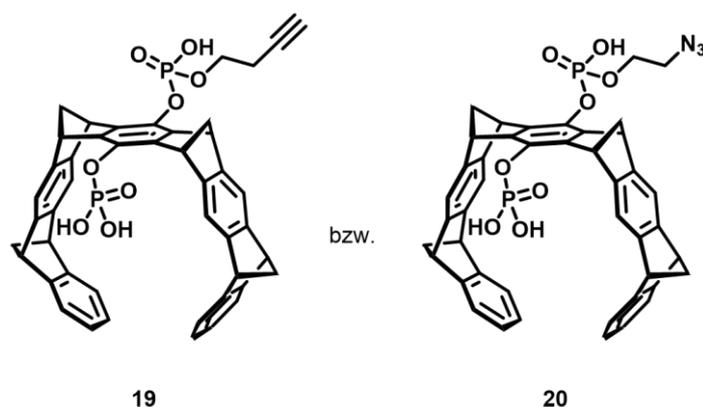
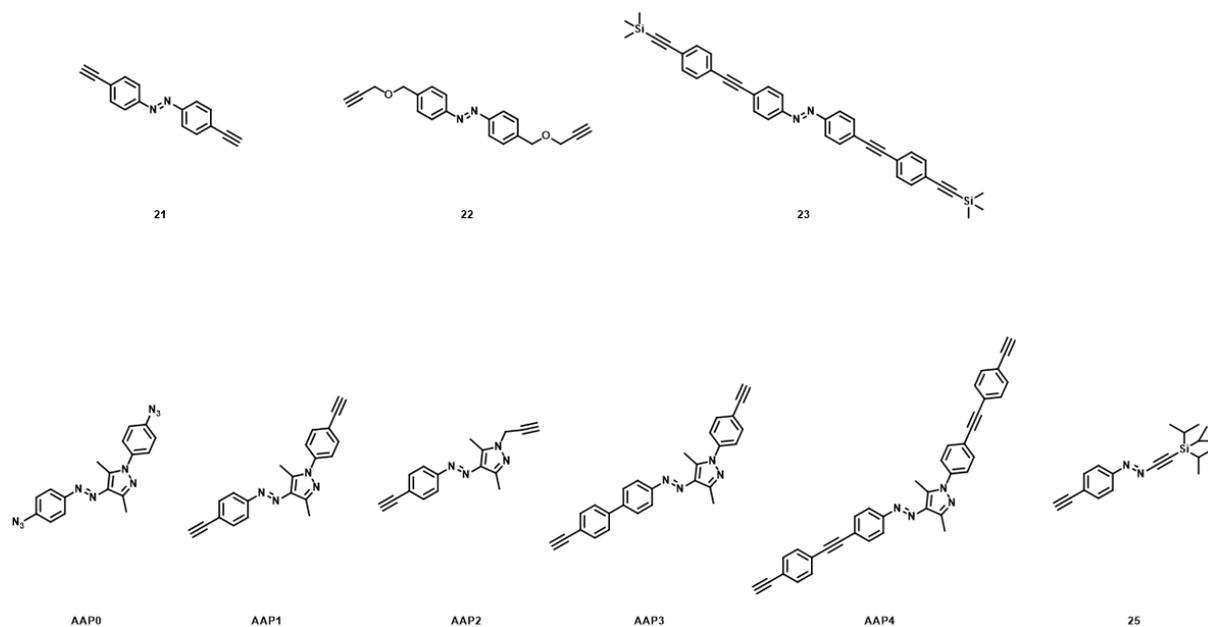


Abbildung 72: Synthetisierte asymmetrische Pinzetten für einen späteren Einsatz in Kupfer-Click-Reaktionen.

Es wurden photoschaltbare Motive entworfen, die als Brücke zwischen zwei molekularen Pinzetten dienen sollten. Diese sollten über Kupfer-Click-Reaktionen mit den Pinzetten verknüpft werden und nach Bestrahlung mit einer bestimmten Wellenlänge ihre Konfiguration so ändern, dass die Abstände zwischen den Pinzetten-Einheiten je nach Konfiguration sich deutlich voneinander unterscheiden. Somit sollte ein Isomer in der Lage sein, zwei benachbarte Lysin- oder Arginin-Reste auf einer Proteinoberfläche gut binden zu können, während das andere Isomer dazu nicht verfügt. Hierzu wurden das Motiv der Azobenzole und das Motiv der in den letzten Jahren gut erforschten Arylazopyrazole<sup>95, 108</sup> ausgewählt. Diese lichtempfindlichen Strukturen gehen eine E/Z-Isomerisierung bei Bestrahlung mit bestimmten Wellenlängen ein. Diese Isomerisierung stellt die gewünschte Konfigurationsänderung für das zu untersuchende Konzept der Photodynamik ein.

Die von mir entworfenen Strukturen wurden nach teilweiser Zurverfügungstellung einiger Photoschalter zu den finalen Liganden synthetisiert. Die Azobenzol-Photoschalter wurden selbst erfolgreich

synthetisiert, während die Arylazopyrazol-Photoschalter sowie das Arylazoacetylen **25** in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Bart Jan Ravoo von Alisa-Maite Kauth synthetisiert wurden. Alle Photoschalter sind in der nachfolgenden Abbildung dargestellt.



**Abbildung 73:** Ausgewählte Azobenzol- und Arylazopyrazol-Photoschalter zur Synthese von photoschaltbaren Pinzetten zur dynamischen Proteinerkennung.

Als nächstes konnte die Synthese der photoschaltbaren Pinzetten-Liganden angegangen werden. Aufgrund des hohen molekularen Gewichts der Zwischenstufen und Produkten und entsprechend schlechter Löslichkeit in den konventionellen Lösungsmitteln der Kupfer-Click-Reaktionen, mussten die Reaktionsparameter zuerst optimiert werden. Dabei wurden verschiedene Lösungsmittel, Temperaturen, Kupferquellen und Hilfsreagenzien getestet, bis die optimalen Reaktionsbedingungen gefunden wurden. Abbildung 71 stellt die erfolgreiche Synthese mit optimierten Parametern einer photoschaltbaren Pinzette dar.

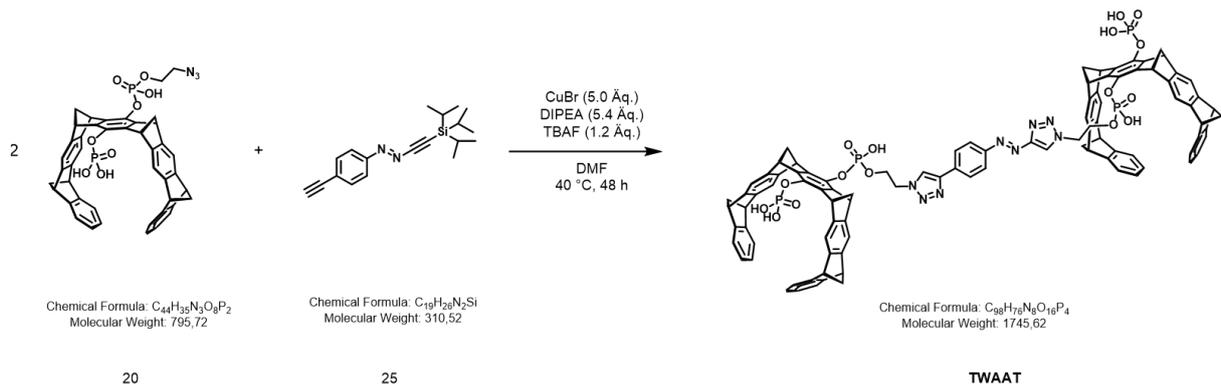


Abbildung 74: Optimierte Kupfer-Click-Reaktion zur Synthese von photoschaltbaren Pinzetten.

Die optimierten Reaktionsbedingungen konnten erfolgreich auf die Synthese der weiteren photoschaltbaren Pinzetten übertragen werden. Somit wurden insgesamt neun divalente photoschaltbare Pinzetten hergestellt, die nach der Aufreinigung auf ihre photophysikalischen Eigenschaften untersucht wurden. Mittels UV/Vis-Spektroskopie und NMR-Spektroskopie konnte die Photoschaltbarkeit der Verbindungen überprüft werden. Anschließend konnten ebenfalls über UV/Vis-Spektroskopie die Halbwertszeiten der Z-Isomere ermittelt werden, um ihre Fähigkeit, in biologischen Assays eingesetzt zu werden, zu bestimmen. Die Untersuchung der photophysikalischen Eigenschaften und Halbwertszeiten wurden in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Bart Jan Ravoo von Alisa-Maite Kauth durchgeführt. Abbildung 75 stellt die Photoisomerisierung der photoschaltbaren Pinzetten am Beispiel von **TWAAP1** dar.

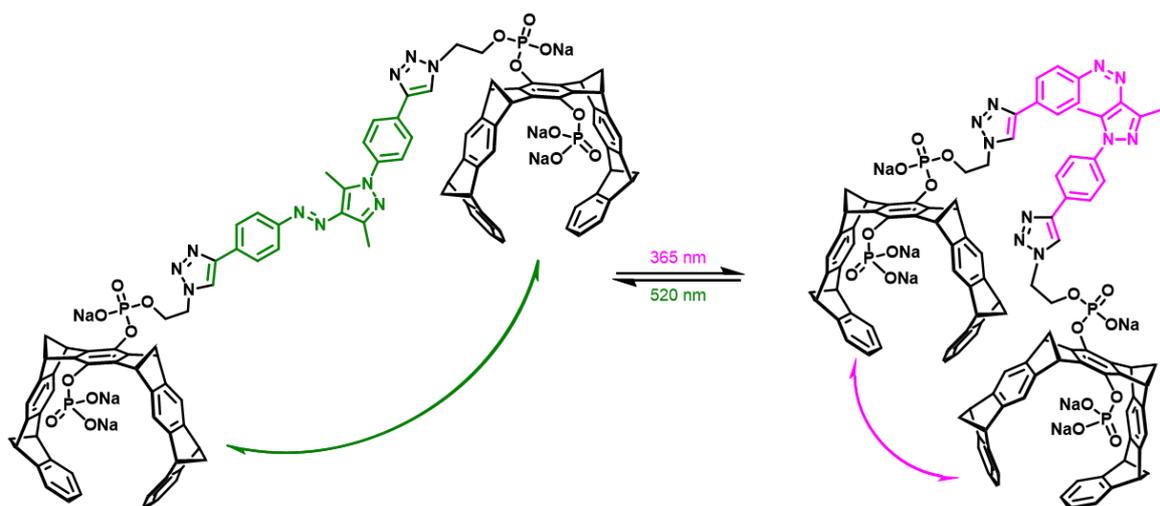


Abbildung 75: Schematische Darstellung der Photoisomerisierung des TWAAP1.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurde der Fokus auf die biologischen Untersuchungen gelegt. Dafür wurde die Threonin Aspartase 1 (Taspase 1) als Ziel ausgewählt. Die Inhibierung der Funktionen von Taspase 1 stellt aufgrund ihrer wichtigen Rolle in der Zellproliferation der Tumorzellen einen vielversprechenden Ansatz in der Krebsforschung dar. Die Untersuchungen an der Taspase 1 wurden in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Shirley Knauer von Katrin Hommel durchgeführt. Zunächst wurde die Fähigkeit der photoschaltbaren Pinzetten untersucht, die Wechselwirkung zwischen Taspase 1 und ihrem Partnerprotein Importin  $\alpha$  zu inhibieren. Die Ergebnisse der Pull-Down-Experimente haben keine signifikante Auskunft über diese Inhibition ergeben, da die Pinzetten an das Säulenmaterial gebunden haben, statt an der Taspase 1.

Daraufhin wurde über NMR-Experimente untersucht, ob der photoschaltbare Ligand **TWAAP1** an die gezielten Bindestellen der Taspase 1 bindet und ob Unterschiede in der Bindung zwischen den beiden isomeren Formen zu erkennen sind. Die NMR-Experimente wurden von Dr. Christine Beuck durchgeführt. Die Untersuchungen deuteten auf eine gute Bindung an die NLS-Bereiche auf dem flexiblen *Loop* der Taspase 1, jedoch konnte kein deutlicher Unterschied bei der Bindung zwischen den beiden Isomeren festgestellt werden.

Die Bindungsaffinität der Liganden auf die Taspase 1 wurde ebenfalls in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Bart Jan Ravoo von Alisa-Maite Kauth untersucht. Um diese zu bestimmen, wurde die Methode der Oberflächenplasmonenresonanz (SPR) ausgewählt. Dabei wurde Taspase 1 auf einem Goldchip immobilisiert und die divalenten photoschaltbaren Pinzetten in steigenden Konzentrationen injiziert. Die resultierenden SPR-Sensogramme zeigten eine Bindung aller Tweezer-Liganden an Taspase 1 mit starken Response Units. Erwähnenswert sind die auffällig niedrigen  $K_D$ -Werte der beiden untersuchten photoschaltbaren Pinzetten im niedrigen mikromolaren Bereich. Die erhaltenen  $K_D$ -Werte für die photoschaltbaren Pinzetten **TWAAP0** und **TWAAP3** unterscheiden sich jedoch, anders als erwartet, nur wenig zwischen den jeweiligen isomeren Formen. Nichtsdestotrotz sind die ermittelten  $K_D$ -Werte für **TWAAP0** und **TWAAP3** deutlich niedriger als alle bisher gemessenen Tweezer-Liganden auf Taspase 1<sup>27</sup>.

Zuletzt wurden die photoschaltbaren Pinzetten auf ihre Fähigkeit, die proteolytische Aktivität der Taspase 1 zu inhibieren und den Einfluss des jeweiligen E- und Z-Isomers untersucht. Die Experimente wurden ebenfalls in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Shirley Knauer von Katrin Hommel durchgeführt. Dabei zeigten alle Liganden  $IC_{50}$ -Werte, die im literaturbekannten Bereich für divalente Pinzetten liegen<sup>27</sup>. **TWAAP0**, **TWAAP1** und **TWAAP4** zeigten bei diesen Untersuchungen einen deutlichen Unterschied zwischen den beiden isomeren Formen, wobei die  $IC_{50}$ -Werte der Z-Isomere in etwa doppelt so groß sind wie die der E-Isomere. Das Ergebnis dieser Untersuchung bestätigt

die Hypothese, dass eine Konfigurationsänderung der supramolekularen Liganden eine bedeutsame Wirkung auf die biologische Aktivität hat.

Aufbauend auf den durch diese Arbeit gewonnenen Erkenntnissen, können in der Forschung im Bereich der photodynamischen Proteinerkennung weitere Fortschritte realisiert werden. Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten photoschaltbaren Pinzetten können auf ihre Bindung, auf andere forschungsrelevante Proteine wie zum Beispiel *Survivin*, untersucht werden. *Survivin* ist ein wichtiges Mitglied der Familie der Apoptose-Inhibitoren<sup>157</sup>, reguliert zudem die Zellproliferation und wird in fast allen menschlichen Krebszellen überreguliert. Seine Funktionen werden durch den Exportrezeptor CMR1 vermittelt, somit stellt die Inhibierung der Interaktion ein attraktives Ziel, besonders im Hinblick auf die Entwicklung von Therapeutika dar. *Survivin* besitzt in seinem *nuclear export signal* zwei oberflächenexponierte Lysine, die in Vorarbeiten bereits gut untersucht wurden<sup>45</sup>. Diese befinden sich in einem Abstand von ca. 20 Å voneinander<sup>158</sup> und fallen somit in den Bereich der im Rahmen dieser Arbeit hergestellten photoschaltbaren Pinzetten im E-Zustand.

Die in dieser Arbeit hergestellten photoschaltbaren Pinzetten verfügen über ein durchkonjugiertes  $\pi$ -System zwischen beiden Tweezer-Einheiten. Diese Strukturen wurden so entworfen und hergestellt, um die chemische Struktur möglichst starr zu gestalten. Eine starre Struktur mit möglichst wenig Freiheitsgraden war notwendig, um die größtmögliche Veränderung der Abstände zwischen den Tweezer-Einheiten bei der E/Z-Isomerisierung zu bewirken. Allerdings bringt die durchkonjugierte Struktur ebenso eine schwere Wasserlöslichkeit mit sich, welche für die biologischen Untersuchungen von größter Wichtigkeit ist. Entsprechend sollte nach einer Alternative gesucht werden, um diese Strukturen einfacher in Wasser zu lösen. Eine Möglichkeit dazu bieten polare Funktionalitäten, wie Hydroxygruppen, die an den aromatischen Ringen rund um die Azo-Brücke eingebaut werden können. Eine weitere Möglichkeit eröffnet sich durch den Austausch der aromatischen Ringe der Photoschalter, durch Alkin-Einheiten. Die nachfolgende Abbildung stellt die entworfenen Strukturen dar.

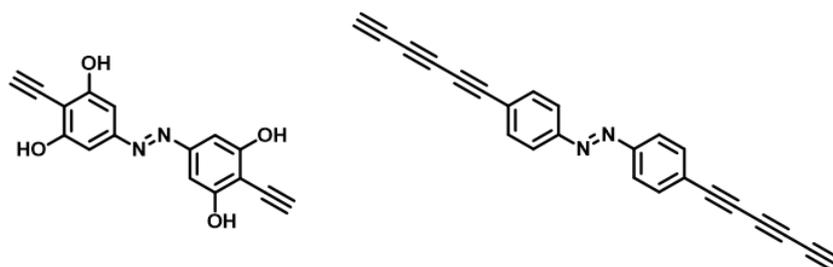


Abbildung 76: Entwurf von wasserlösliche Alternativen für photoschaltbare Azo-Verbindungen.

Einen weiteren Ansatz, um neue Erkenntnisse in dem Bereich der photodynamischen Proteinerkennung zu gelangen, stellt die Erhöhung der Valenz der Tweezer-Einheiten dar. Die in dieser Arbeit hergestellten Strukturen trugen jeweils zwei Tweezer-Einheiten pro Molekül. Vielversprechende Vorarbeiten haben gezeigt, dass, je mehr Tweezer-Einheiten ein Ligand besitzt, umso wahrscheinlicher eine Bindung der basischen Cluster resultiert. Entsprechend könnten in Zukunft neue photoschaltbare Template hergestellt werden, an welchen drei oder mehr Tweezer-Einheiten angebracht werden können. Zwei Beispiele für solche Strukturen werden in der nachfolgenden Abbildung dargestellt.

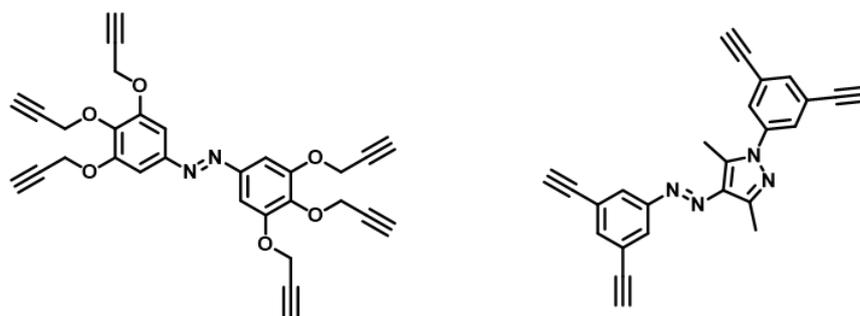


Abbildung 77: Template für multivalente photoschaltbare Pinzetten.

Ein weiterer Ansatz, um die Selektivität der photoschaltbaren Liganden zu erhöhen, beruht auf einer möglichen Kombination aus den photoschaltbaren Pinzetten mit Peptiden, die komplementär zur Umgebung der angezielten Lysin- bzw. Arginin-Reste binden. Hierzu könnten die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten monovalenten photoschaltbaren Pinzetten zum Einsatz kommen (Abbildung 78). Diese verfügen über eine freie Carbonsäure, die über eine einfache Peptidkupplung mit einer Peptidsequenz umgesetzt werden kann. Somit könnte ein Tweezer-Peptid-Ligand hergestellt und diese photoschaltbare synergetische Bindung an Proteinoberflächen untersucht werden.

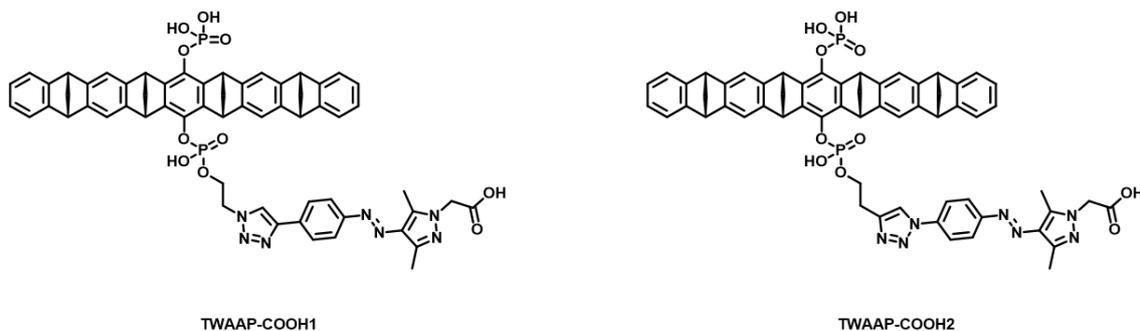


Abbildung 78: Monovalente photoschaltbare Pinzetten mit einer terminalen Carbonsäure-Funktionalität.

Aufbauend auf dem Prinzip einer synergetischen Bindung der Pinzetten und Peptiden auf Proteinoberflächen, könnte mit Hilfe der Peptidfestphasensynthese eine photoschaltbare Aminosäure in der Mitte einer peptidischen Struktur implementiert werden. Durch das Einbringen von Alkin- bzw. Azid-Funktionalitäten am Anfang (z.B. durch 5-Azido-ornithin) und am Ende (z.B. durch Azidoessigsäure) der Peptidsequenz können über Kupfer-Click-Reaktionen zwei Tweezer-Einheiten angebunden werden. Durch peptidische Arme an beiden Seiten der photoschaltbaren Brücke, könnte es in Z- Konfiguration eventuell sogar zu einer  $\beta$ -Faltblatt-Bildung kommen, welche die Z- Konfiguration gut stabilisieren könnte und möglicherweise eine Bindung an einem Protein sogar verhindern könnte. Durch das Bestrahlen und die Überführung in E- Konfiguration, würde sich das  $\beta$ -Faltblatt wie ein Taschenmesser öffnen und somit würde der Ligand in der Lage sein, an spezifische Proteinoberflächen zu binden. Dies würde das Prinzip eines sogenannten *molecular beacons* entsprechen. Eine schematische Darstellung dieses Konzeptes wird in der nachfolgenden Abbildung gezeigt.

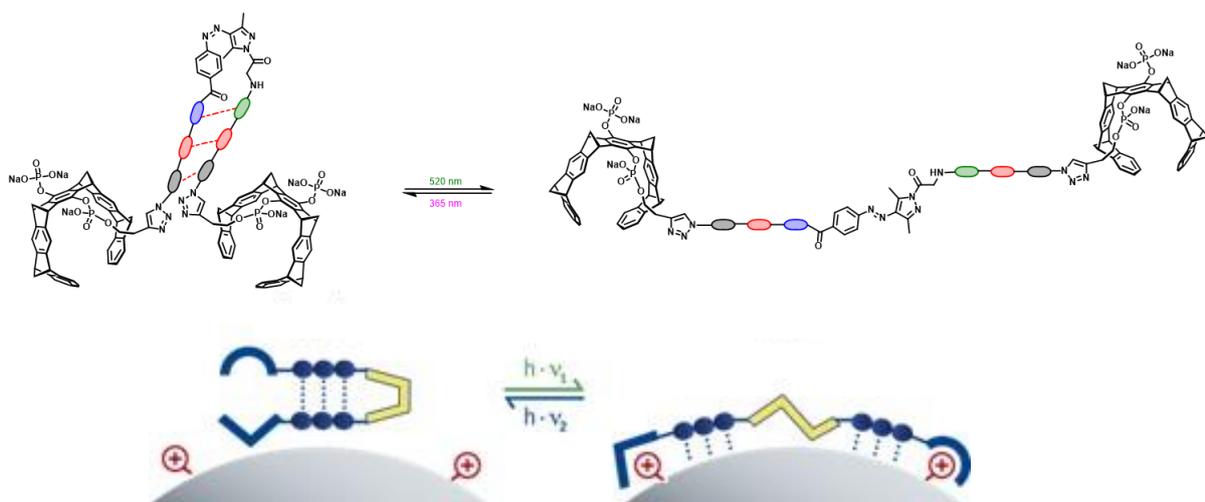


Abbildung 79: Konzept eines *molecular beacons* aufbauend auf einem photoschaltbaren peptidischen Templat mit zwei endständigen Tweezer-Einheiten.

## 5 Experimentaltteil

### 5.1 Chemikalien und Analytische Methoden

#### Chemikalien

Alle verwendeten Chemikalien wurden von kommerziellen Anbietern wie Acros Organics, abcr, Merck, Sigma Aldrich und Merck in höchster Reinheit erworben und wenn nicht anders erwähnt, ohne weitere Aufreinigung verwendet. Für die Synthese der molekularen Pinzette wurden Lösungsmittel der HPLC-Klasse von *Fischer Scientific*, *Merck* und *Sigma Aldrich* sowie Milli-Q Reinstwasser (Typ 1) verwendet. Wenn benötigt, wurden die eingesetzten Lösungsmittel über Molekularsieb 4 Å getrocknet. Die Lösungsmittel für jeweils Reaktionen und Aufarbeitungen wurden in der p.a. Reinheit bezogen. Die Säulenchromatographie erfolgte mit destillierten Lösungsmitteln. Das verwendete THF wurde entweder bereits Stabilisator- und wasserfrei von der Firma Sigma-Aldrich bezogen oder frisch über Natrium destilliert.

Zur Charakterisierung und Aufreinigung der synthetisierten Produkte wurden folgende analytische Methoden verwendet:

#### Chromatographie

Es wurden Aluminium DC-Platten (SIL ALU/UV254), und Aluminium DC-Platten (RP-18/UV254) mit Umkehrphase, von der Firma Macherey-Nagel verwendet. Die Verbindungen auf den DC-Platten wurden unter UV-Licht kontrolliert. Von der gleichen Firma wurde auch Kieselgel für die fallende Säule (Merck Kieselgel 60, 230-400 mesh) bezogen.

Die Qualitative Analyse von Reaktionen wurden auch mit Hilfe von Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) von Jasco mit einem UV /Vis Detektor (UV- 975, DG-2080-53 Entgaser, LG-980-02S 3-Kanal Mischer) mit einer Messdauer von 60 min durchgeführt. Die Säule der analytischen HPLC ist von Phenomenex (Model Luna® 5µM C18 (2) 100, Å 100/10 mm) und als mobile Phase wurde ein Gradient mit den Lösungsmittel Milli-Q H<sub>2</sub>O mit 0.1% TFA sowie ACN mit 0.1% TFA als 1:1 Gemisch verwendet.

#### Nuclear Magnetic Resonance (<sup>1</sup>H-NMR)

<sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C und <sup>31</sup>P-NMR-Spektren wurden an einem *AV NEO 400* (400 MHz), *Bruker Advance DRX500* (500 MHz) und *Bruker Advance DRX600* (600 MHz) bei Raumtemperatur aufgenommen. Die Daten wurden bei der Analyse wie folgt angegeben: (Frequenz in MHz, Lösungsmittel), chemische Verschiebung wurde in Bezug auf das Signal des Lösungsmittels als internen Standard kalibriert (<sup>1</sup>H in ppm: CDCl<sub>3</sub>:

7.26, DMSO-d<sub>6</sub>: 2.55, MeOD-d<sub>4</sub>: 3.31). Die Multiplizität wurde wie gefolgt angegeben: s für Singulett, bs für breites Singulett, d für Dublett, dd für Dublett von einem Dublett, t für Triplett, dt für Dublett vom Triplett, q für Quartett und m für Multipllett. Die Analyse und Interpretation der Spektren erfolgte mithilfe der Software MESTRENOVA von MESTRELAB RESEARCH.

### Electrospray Ionisations – Massenspektrometrie (ESI-MS)

Die niedrigaufgelösten (engl. *low resolution*) ESI-MS-Messungen wurden am Gerät amaZon SL von der Firma Bruker durchgeführt. Für die *high resolution* Messungen wurde das Gerät maXis 4G mit Ionenquellen ebenfalls von der Firma Bruker verwendet.

### Freeze-drying / Gefriertrocknung

Die Gefriertrocknung der Proben, die Wasser oder DMSO enthielten, erfolgte an einem Alpha 2-4 LSC-Gerät der Firma Christ.

### Molekulares Modeling

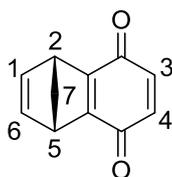
Für die Visualisierung der Molekülstrukturen, Proteinstrukturen und postulierten Wirt-Gast-Systeme wurde die Software *Maestro Software Suits 2019.4* von der Firma Schrödinger verwendet. Der Komplex wurde dann für die MD-Simulation mit der Schrödinger-Software vorbereitet. Das System wurde in orthorhombischen Boxen aus TIP3P-Wassermolekülen aufgebaut, mit einem Pufferabstand von 10 Å. Die Parameter des Kraftfelds OPLS 2005 wurden angewandt, und die MD-Simulation wurde über 100 ns unter Standardbedingungen durchgeführt (300 K, 1013.25 mbar).

### UV/Vis-Spektroskopie

Die UV/Vis-Spektren wurden an einem Spektrometer V-770 der Firma Jasco aufgenommen. Die Quarzküvetten, die für die Aufnahmen benötigt wurden, haben eine Schichtdicke von 1 cm. Es wurden immer Lösungen mit einer Konzentration von 50 µM erstellt. Als Lösungsmittel wurde Wasser für die photoschaltbaren Pinzetten und DMSO für die Azobenzol- und Arylazopyrazol-Derivate verwendet.



(1R,4S)-1,4-Dihydro-1,4-Methanonaphthalen-5,8-dion

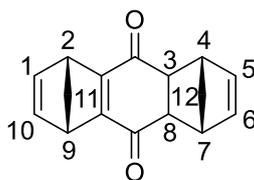


Chemical Formula:  $C_{11}H_8O_2$

Molecular Weight: 172,18

In einem 1 Liter Einhalskolben wurden 101,96 g des Diels-Alder Adduktes (0,585 mol, 1 Äq.) in 600 mL Methanol gelöst und auf 0 °C abgekühlt. Die Reaktionslösung wurde mit 1,38 mL Triethylamin (13,6 mmol, 0,02 Äq) versetzt und unter Rührung über Nacht auf Raumtemperatur erwärmt. Anschließend wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand in 800 mL Chloroform suspendiert. Dazu wurden 64,22 g *p*-Benzochinon hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für 4 Stunden bei 50 °C und eine Stunde bei 40 °C gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Lösung über Nacht weitergerührt. Das ausgefallene Hydrochinon wurde über eine D3-Fritte abfiltriert und mit 100 mL Chloroform gewaschen. Die vereinigten organische Phasen wurden mit einer 1 %-NaOH Lösung und abschließend mit Wasser gewaschen. Abschließend wurde über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Es wurden 44,78 g des erwünschten Produktes (0,257 mol, 44 %) als brauner Feststoff erhalten.

$^1H$  NMR (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 6.86 (t,  $J$  = 1.9 Hz, 2H, H-1, H-6), 6.57 (s, 2H, H-3, H-4), 4.12 – 4.06 (m, 2H, H-2, H-5), 2.32 (dt,  $J$  = 7.1, 1.5 Hz, 1H, H-7), 2.26 (dt,  $J$  = 7.1, 1.5 Hz, 1H, H-7) ppm

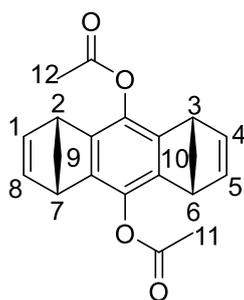
(1R,4S,5R,8S)-1,4,4a,5,8,9a-Hexahydro-1,4:5,8-Dimethanoanthracen-9,10-dionChemical Formula: C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>

Molecular Weight: 238,29

In einem 1 L-Einhalsskolben wurden 34,87 g (0,202 mol, 1 Äq.) des Chinonderivats 300 mL Toluol vorgelegt und mittels eines Trockeneis/Isopropanol-Bads auf -78 °C abgekühlt. Dazu wurden 19,4 mL frisch destilliertes Cyclopentadien (0,232 mol, 1,15 Äq.) über einen kühlbaren Tropftrichters, der mit einem Trockeneis/Isopropanol-Bad auf -78 °C gekühlt wurde, innerhalb von 30 Minuten hinzugegossen. Nach vollständiger Zugabe wurde die Reaktionslösung über Nacht weiter gerührt und langsam auf Raumtemperatur erwärmt. Anschließend wurde die Lösung auf ca. 100 mL eingeeengt und für weitere 3 h gerührt. Der ausgefallene gelbe Feststoff wurde über eine D4-Fritte abfiltriert und mit 50 mL Toluol gewaschen. Der Feststoff wurde an der Hochvakuumlinie getrocknet und mittels Säulenchromatographie (Cyclohexan/ Ethylacetat 20:1) konnte das Gemisch aus beiden Isomeren zu einem Verhältnis von ca. 12:1 *syn/anti* gebracht werden. Als weitere Aufreinigung wurde jeweils zweifache aus Toluol und dann aus Methanol umkristallisiert. Es wurden 17,81 g (0,074 mol, 37 %) des erwünschten *syn*-Produktes erhalten.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-d): δ = 6.76 (t, J = 2.0 Hz, 2H, H-1, H-10), 5.77 (t, J = 1.9 Hz, 2H, H-5, H-6), 3.96 (tt, J = 3.6, 2.0 Hz, 2H, H-2, H-9), 3.45 (hept, J = 1.6 Hz, 2H, H-3, H-8), 3.23 (dd, J = 2.5, 1.6 Hz, 2H, H-4, H-7), 2.16 (dt, J = 7.2, 1.5 Hz, 1H, H-11), 2.13 (dt, J = 7.2, 1.5 Hz, 1H, H-11), 1.44 (dt, J = 8.7, 1.9 Hz, 1H, H-12), ppm

(1R,4S,5R,8S)-1,4,5,8-Tetrahydro-1,4:5,8-Dimethanoanthracen-9,10-diyl diacetat (Bridge)

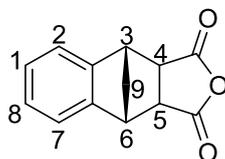


Chemical Formula:  $C_{20}H_{18}O_4$

Molecular Weight: 322,36

In einem ausgeheiztem 1 L Dreihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter wurde das *syn*-Addukt (1,88 g, 7,9 mmol, 1 Äq.) in trockenem Pyridin vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurden 0,11 g 4-(Dimethylamino)pyridin (0,9 mmol, 0,11 Äq.) hinzugegeben und 4,73 mL Essigsäureanhydrid (4,99 mmol, 0,63 Äq.) langsam hinzuge tropft. Die Reaktionslösung wurde über drei Stunden auf Raumtemperatur gebracht und anschließend für 16 Stunden bei 50 °C gerührt. Folglich wurde die Reaktionslösung auf Eis-Wasser gegeben, abfiltriert und mit Wasser gewaschen, bis das Filtrat klar wurde. Der erhaltene Feststoff wurde aus 50 mL Chloroform/Ethanol (4:1) umkristallisiert. Das Produkt wurde als farbloser Feststoff erhalten (1,52 g, 4,74 mmol, 60 %).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*):  $\delta$  = 6.75 (t,  $J$  = 1.9 Hz, 4H, H-1, H-5, H-6, H-9), 3.81 (dp,  $J$  = 2.8, 1.4 Hz, 4H, H-2, H-4, H-7, H-8), 2.34 (s, 6H, H-12, H-13), 2.30 – 2.16 (m, 4H, H-10, H-11) ppm

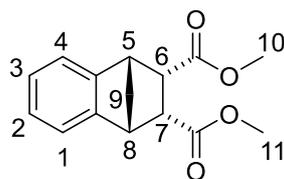
5.2.1.2 Synthese der *Sidewall*3a,4,9a-Tetrahydro-4,9-Methanonaphtho[2,3-c]furan-1,3-Dion 36Chemical Formula:  $C_{13}H_{10}O_3$ 

Molecular Weight: 214,22

In einem ausgeheiztem 500 mL-Dreihalskolben mit Rückflusskühler wurden 70,7 g Maleinsäureanhydrid (0,7 mol, 1 Äq.), 90,9 mL Inden (0,7 mol, 1 Äq.) und 6,2 g 1,4-Hydrochinon (0,06 mol, 0,1 Äq.) in 102 mL 1,2,3,4-Tetrahydronaphthalin gelöst und für 3,5 Stunden bei 200 °C gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 80 °C abgekühlt und in auf 60 °C erwärmtes Toluol (500 mL) hinzugegeben und für 15 Minuten gerührt. Die Lösung wurde über eine D3-Fritte abfiltriert und der Rückstand erneut in Toluol für 15 Minuten bei 60 °C gekocht. Diese Prozedur wurde insgesamt 4-mal durchgeführt. Die erste organische Phase wurde separat von den restlichen verarbeitet. Die Lösungen wurden eingengt und zum Auskristallisieren über Nacht im Kühlschrank gelagert. Anschließend wurde der ausgefallene Feststoff aus 100 mL Chloroform/Ethylacetat (1:1) umkristallisiert. Das erwünschte Produkt wurde als gelbe Nadeln (22,82 g, 0,1 mol, 14,3 %) erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta = 7.29 - 7.25$  (m, 2H, H-1, H-7),  $7.24 - 7.20$  (m, 2H, H-2, H-7),  $3.93 - 3.89$  (m, 2H, H-3, H-6),  $3.80 - 3.76$  (m, 2H, H-4, H-5),  $2.15$  (dt,  $J = 9.5, 1.6$  Hz, 1H, H-9),  $1.95$  (dt,  $J = 9.5, 1.5$  Hz, 1H, H-9) ppm

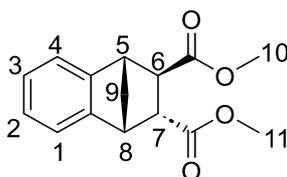
Dimethyl(2R,3S)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen-2,3-Dicarboxylat



Chemical Formula:  $C_{15}H_{16}O_4$   
 Molecular Weight: 260,29

In einem ausgeheiztem 500 mL Dreihalskolben wurden 22,54 g (0,11 mol, 1 Äq.) des Anhydrid-Derivats in 350 mL Methanol vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurden 1,57 mL Acetylchlorid (0,022 mol, 0,2 Äq.) über ein Septum hinzugegeben und anschließend wurde die Reaktionslösung über Nacht bei 40 °C gerührt. Am nächsten Tag wurde das Lösungsmittel entfernt und das Produkt wurde als gelbliches Öl (28 g, 0,1078 mol, 98 %) erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta = 7.41 - 7.35$  (m, 2H, H-2, H-3),  $7.27 - 7.22$  (m, 2H, H-1, H-4), 3.75 (p,  $J = 1.6$  Hz, 2H, H-6, H-7), 3.60 (m, 2H, H-5, H-8), 3.58 (m, 6H, H-10, H-11), 2.00 (dt,  $J = 9.1, 1.8$  Hz, 1H, H-9), 1.86 (dt,  $J = 9.1, 1.4$  Hz, 1H, H-9) ppm

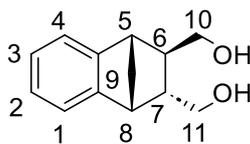
Dimethyl (2R,3R)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen-2,3-dicarboxylatChemical Formula: C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

Molecular Weight: 260,29

In einem ausgeheiztem 1 L Schlenkkolben wurde das *cis*-Diester (61,5 g, 236,4 mol, 1 Äq.) in 450 mL trockenem Methanol vorgelegt (gelbe Färbung) und dazu wurden 25,54 g Natriummethanolat (472,8 mmol, 2 Äq.) hinzugegeben, dabei färbte sich die Lösung orange. Anschließend wurde die Reaktionslösung über Nacht bei 70 °C gerührt. Die Lösung erhielt mit der Zeit eine dunkel-grüne Farbe. Folglich wurde das Methanol entfernt und der Rückstand in 400 mL Diethylether aufgenommen. Es wurde ein Mal mit 200 mL 2M HCl ausgeschüttelt und anschließend drei Mal mit Wasser gewaschen. Die wässrigen Phasen wurden anschließend mit Diethylether extrahiert und folglich wurden die vereinigten organische Phasen über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und von Lösungsmittel befreit. Das Produkt wurde als farblos-er Feststoff (60,2 g, 231,4 mmol, 98 %) erhalten.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-d): δ = 7.40 – 7.21 (m, 4H, H-1, H-2, H-3, H-4), 3.90 (s, 3H, H-11), 3.87 – 3.84 (m, 1H, H-6, H-7), 3.80 – 3.75 (m, 2H, H-5, H-8), 3.68 (s, 3H, H-10), 3.00 (dd, J = 4.6, 1.7 Hz, 1H, H-6, H-7), 2.10 (dt, J = 9.4, 1.4 Hz, 1H, H-9), 1.98 (dq, J = 9.4, 1.8 Hz, 1H, H-9) ppm;

((2R,3R)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen-2,3-diyl)dimethanol

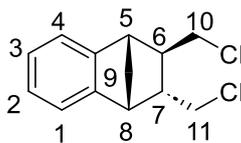


Chemical Formula:  $C_{13}H_{16}O_2$

Molecular Weight: 204,27

In einem ausgeheiztem 1 L-Dreihalskolben mit Metallrückflusskühler und Tropftrichter wurden 2,49 g (0,065 mol, 2,4 Äq.) Lithiumaluminiumhydrid in 150 mL trockenem THF vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Das *trans*-Diester (7 g, 0,027 mol, 1 Äq.) wurde in 50 mL trockenem THF gelöst und über den Tropftrichter langsam hinzugegeben. Nach vollendeter Zugabe wurde die Reaktionslösung über Nacht zum Rückfluss erhitzt. Am nächsten Tag wurde erneut auf 0 °C abgekühlt und die Reaktion durch Zugabe von 60 mL einer gesättigten  $MgSO_4$ -Lösung abgebrochen. Die ausgefallene Li- und Al-Salze wurden über eine D4-Fritte abfiltriert und drei Mal in Diethylether ausgekocht und erneut filtriert. Die vereinigten organische Phasen wurden in ein Scheidetrichter überführt und von der wässrigen Phase getrennt. Folglich wurde über  $MgSO_4$  getrocknet und abschließend wurde das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff (5,25 g, 0,026 mol, 96 %) erhalten.

$^1H$  NMR (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.23 – 6.95 (m, 4H, H-1, H-2, H-3, H-4), 3.89 (dd,  $J$  = 9.8, 5.9 Hz, 1H, H-5), 3.57 (t,  $J$  = 9.8 Hz, 1H, H-6), 3.48 (dd,  $J$  = 9.8, 5.6 Hz, 1H, H-8), 3.31 (s, 1H, OH), 3.12 (s, 1H, OH), 2.70 (t,  $J$  = 9.7 Hz, 1H, H-7), 2.20 – 2.13 (m, 1H, H-10), 1.99 – 1.96 (m, 2H, H-10, H-11), 1.83 (m, 2H, H-9), 1.43 – 1.35 (m, 1H, H-11) ppm

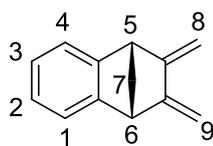
(2R,3R)-2,3-Bis(chloromethyl)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-MethanonaphthalenChemical Formula: C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>

Molecular Weight: 241,16

In einem ausgeheiztem 500 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler (mit Gasableitung zu drei Waschflaschen, die zwei hinteren halbgefüllt mit einer 6 M KOH-Lösung) und Tropftrichter wurden 22,5 g des Diols (110 mmol, 1 Äq.) in Pyridin (18,5 mL, 229 mmol, 2,08 Äq.) vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurde langsam Thionylchlorid (120 mL, 1,65 mol, 15 Äq.) hinzugegeben und im Anschluss wurde die Reaktionslösung für zwei Stunden bei 70 °C gerührt. Nach Beendigung der Reaktionszeit wurde das Überschüssige Thionylchlorid unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in 500 mL Chloroform aufgenommen und mit Wasser (3x300 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde über Säulenchromatographie Cyclohexan/Ethylacetat (3:1) aufgereinigt. Das Produkt wurde als rötliches Öl (26 g, 107 mmol, 97 %) erhalten.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-d): δ = 7.45 – 7.21 (m, 4H, H-1, H-2, H-3, H-4), 3.86 – 3.72 (m, 2H, H-5, H-11), 3.51 (m, 1H, H-11), 3.30 (m, 1H, H-8), 3.25 (dd, J = 10.6, 6.0 Hz, 1H, H-10), 2.78 (t, J = 10.4 Hz, 1H, H-10), 2.45 – 2.36 (m, 1H, H-6), 2.07– 1.95 (m, 2H, H-9), 1.56 – 1.48 (m, 1H, H-7) ppm

2,3-Dimethylene-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen (Side-wall)



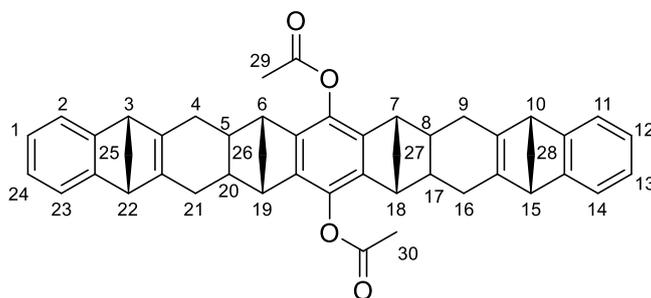
Chemical Formula:  $C_{13}H_{12}$

Molecular Weight: 168,24

In einem ausgeheiztem 1 L Dreihalskolben mit Rückflusskühler und Blasenähler wurde das *trans*-Dichlorid (26 g, 107 mmol, 1 Äq.) in 300 mL frisch destilliertem THF vorgelegt und mittels eines Eisbades auf 0 °C abgekühlt. Zu dieser Lösung wurden 7,1 g (26,8 mmol, 0,21 Äq.) 18-Krone-6 hinzugegeben und anschließend wurde die Reaktionslösung für 24 Stunden bei 45 °C gerührt. Folglich wurden 300 g Eiswasser in einem Scheidetrichter vorgelegt und die Reaktionslösung vorsichtig dazugegeben. Es wurde mit 300 mL n-Hexan nachgespült und die Phasen getrennt. Anschließend wurde die wässrige Phase (2x200 mL) mit n-Hexan extrahiert und die vereinigten organische Phasen wurden mit (2x200 mL) Wasser und (1x100 mL) gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt wurde abschließend mittels Säulenchromatographie (Cyclohexan) aufgereinigt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff (13,5 g, 80,2 mmol, 68 %) erhalten.

$^1H$  NMR (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.41 – 7.37 (m, 2H, H-2, H-3), 7.27 – 7.22 (m, 2H, H-1, H-4), 5.37 (s, 2H, H-9), 5.23 (s, 2H, H-8), 4.01 (bs, 2H, H-5, H-8), 2.29 (dt,  $J$  = 8.7, 1.6 Hz, 1H, H-9), 2.11 (dt,  $J$  = 8.6, 1.6 Hz, 1H, H-9) ppm

## 5.2.2 Synthese von der symmetrischen Pinzette CLR01

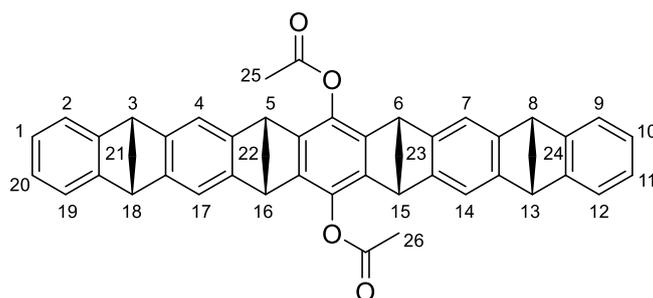
Diels-Alder-AdduktChemical Formula:  $C_{46}H_{42}O_4$ 

Molecular Weight: 658,84

In einer speziell angefertigten Glasampulle wurden (0,22 cm Wandstärke, ca. 50 mL Fassungsvermögen) wurde die Bridge (1 g, 3,1 mmol, 1 Äq.), die Side-wall (1,25 g, 7,4 mol, 2,4 Äq.) in 20 mL Acetonitril und 10 mL Toluol vorgelegt und mit 400  $\mu$ L Triethylamin (2,8 mmol, 0,9 Äq.) versetzt. Die Reaktionslösung wurde mittels eines Trockeneis/Isopropanol-Bads eingefroren und folglich drei Mal an der Hochvakuumlinie abwechselnd evakuiert und mit Argon geflutet. Anschließend wurde unter Vakuum die Ampulle abgeschmolzen. Insgesamt wurden sechs Ampullen vorbereitet und folglich jeweils in ein Stahlrohr überführt. Dabei wurden die Ampullen mit Glaswolle an den Enden geschützt. Die Stahlrohre wurden somit in einem GC-Ofen für 4 Tage bei 170 °C geheizt. Nach dem Abkühlen wurden die Ampullen mittels eines Glasschneiders geöffnet und die Lösungen in ein 500 mL Einhalskolben vereint. Die Lösung wurde eingeeengt und der Rückstand wurde mit 250 mL Cyclohexan im Ultraschallbad für 45 min. behandelt. Der ausgefallene weiße Feststoff wurde über eine D4-Fritte abfiltriert und mehrmals mit kaltem Cyclohexan gewaschen. Der Rückstand wurde unter Vakuum getrocknet und somit wurde das Produkt als weißer Feststoff (8,3 g, 12,6 mmol, 69 %) erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.14 – 7.10 (m, 4H, H-2, H-11, H-14, H-23), 6.85 – 6.79 (m, 4H, H-1, H-12, H-13, H-24), 3.57 – 3.52 (m, 4H, H-6, H-7, H-18, H-19), 2.89 – 2.83 (m, 4H, H-3, H-10, H-15, H-22), 2.36 – 2.06 (m, 18H, H-4, H-5, H-8, H-9, H-16, H-17, H-20, H-21, H-29, H-30), 1.70 - 1.60 (m, 6H, H-25, H-26, H-28), 1.43 (s, 2H, H-27) ppm

Diacetoxypinzette

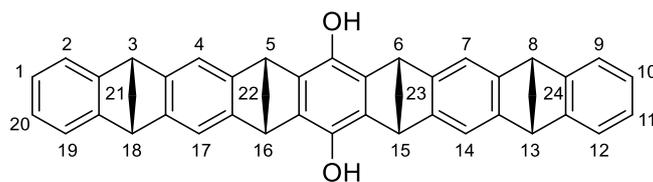


Chemical Formula:  $C_{16}H_{22}O_4$

Molecular Weight: 278,34

In einem ausgeheiztem 1 L Dreihalskolben mit Rückflusskühler wurden 8,78 g (13,3 mmol, 1 Äq.) des Diels-Alder-Addukts in 330 mL Toluol vorgelegt und auf 120 °C erhitzt. Bei dieser Temperatur wurden 21,97 g (96,82 mmol, 7,28 Äq.) DDQ hinzugegeben. Die rot gefärbte Lösung wurde für zwei Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Nach Reaktionskontrolle mittels Dünnschichtchromatographie wurde die Lösung auf 60 °C abgekühlt. Bei dieser Temperatur wurden 6,6 mL (70,75 mmol, 5,32 Äq.) 1,4-Cyclohexadien hinzugegeben, um die Reaktion abubrechen. Anschließend wurde die Reaktionslösung über eine D4-Fritte filtriert. Der Rückstand wurde in 250 mL Dichlormethan suspendiert und erneut filtriert. Die vereinigten Filtrate wurden eingeeengt und der Rückstand wurde in 150 mL frisch destilliertem THF aufgenommen und erneut filtriert. Das Filtrat wurde von Lösungsmittel befreit und der erhaltene Feststoff (8,75 g) wurde zwei Mal aus 30 mL Toluol (120 °C) umkristallisiert. Das erwünschte Produkt (6 g, 9,2 mmol, 69 %) wurde als weißer Feststoff erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.25 (s, 4H, H-4, H-7, H-14, H-17), 7.07 (dd,  $J$  = 5.2, 3.1 Hz, 4H, H-2, H-9, H-12, H-19), 6.75 (dd,  $J$  = 5.2, 3.1 Hz, 4H, H-1, H-10, H-11, H-20), 4.18 (bs, 4H, H-5, H-6, H-15, H-16), 4.11 (bs, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18), 2.65 – 2.60 (dt,  $J$  = 7.5, 1.6 Hz, 2H, H-22, H-23), 2.58 – 2.51 (m, 4H, H-21, H-24), 2.48 (s, 6H, H-29, H-30), 2.47 – 2.44 (m, 2H, H-26, H-27) ppm

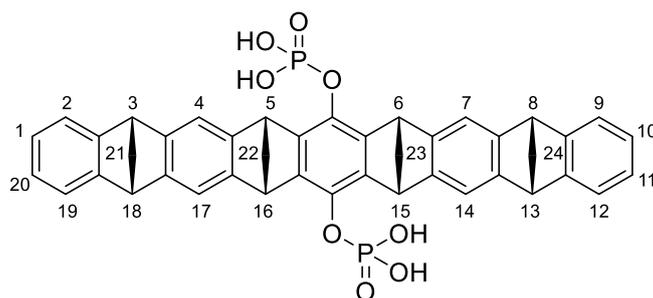
DihydroxypinzetteChemical Formula:  $C_{42}H_{30}O_2$ 

Molecular Weight: 566,70

In einem ausgeheiztem 100 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler, Blasenähler und Tropftrichter wurden 0,25 g (6,58 mmol, 8,2 Äq.) Lithiumaluminiumhydrid in 30 mL trockenem THF vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurde eine Lösung aus 0,522 g (0,8 mmol, 1 Äq.) die Diacetoxypinzette in 30 mL trockenem THF langsam hinzuge tropft. Nach vollendeter Zugabe des Eduktes, wurde die Reaktionslösung für fünf Stunden zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf 0 °C gekühlt und 30 mL einer gesättigten Ammoniumchlorid-Lösung gefolgt von 20 mL einer 1 M Salzsäurelösung wurden vorsichtig hinzuge tropft. Folglich wurde die Reaktionslösung mit (3x60 mL) Chloroform extrahiert. Die vereinigten organische Phasen wurden mit dest. Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Abschließend wurde mittels  $MgSO_4$  getrocknet und das Chloroform wurde entfernt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten (0,408 g, 0,72 mol, 90 %).

$^1H$  NMR (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.26 (s, 4H, H-4, H-9, H-16, H-21), 7.19 (dd,  $J$  = 5.2, 3.1 Hz, 4H, H-2, H-11, H-14, H-23), 6.87 (dd,  $J$  = 5.2, 3.0 Hz, 4H, H-1, H-12, H-13, H-24), 4.40 – 4.26 (m, 4H, H-6, H-7, H-18, H-19), 4.18 (d,  $J$  = 1.6 Hz, 4H, H-3, H-10, H-15, H-22), 2.59 – 2.38 (m, 8H, H-25, H-26, H-27, H-28) ppm

Diphosphatpinzette (CLR01)

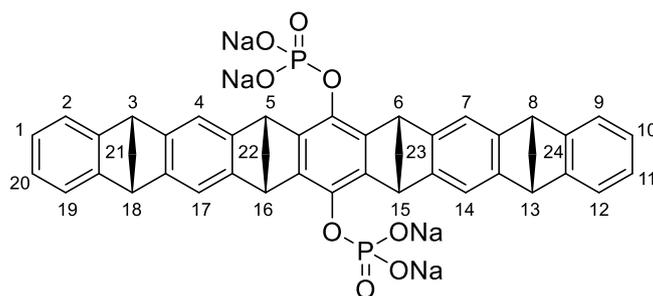


Chemical Formula:  $C_{42}H_{32}O_8P_2$

Molecular Weight: 726,66

In einem ausgeheiztem 100 mL Schlenkcolben wurden 200 mg (0,35 mmol, 1 Äq.) der Dihydroxypinzette in 50 mL trockenem THF vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurden 0,435 mL (4,77 mmol, 13,6 Äq.) Phosphoroxchlorid und 0,13 mL (0,94 mmol, 2,7 Äq.) trockenes Triethylamin hinzugegeben und für zwei Stunden gerührt. Die ausgefallenen Phosphor- und Ammonium-Salze wurden anschließend abfiltriert und die Lösung wurde an der Hochvakuumline getrocknet. Der Rückstand wurde für 2x15 min. mit 30 mL 1 M HCl im Ultraschallbad behandelt und abfiltriert. Der Feststoff wurde mit 20 mL 1 M HCl und 20 mL Wasser gewaschen. Folglich wurde der Feststoff mit 30 mL THF aus der Fritte gespült und mit 30 mL Wasser versetzt. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Am nächsten Tag wurde das THF entfernt und das Wasser lyophilisiert. Das Produkt wurde als weißer, fluffiger Feststoff erhalten (0,22 g, 0,2 mmol, 86 %)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 7.11 (s, 4H, H-4, H-9, H-16, H-21), 7.07 (dd,  $J$  = 5.2, 3.1 Hz, 4H, H-2, H-11, H-14, H-23), 6.77 (dd,  $J$  = 5.2, 3.1 Hz, 4H, H-1, H-12, H-13, H-24), 4.33 (d,  $J$  = 1.6 Hz, 4H, H-6, H-7, H-18, H-19), 4.07 (d,  $J$  = 1.7 Hz, 4H, H-3, H-10, H-15, H-22), 2.35 – 2.12 (m, 8H, H-25, H-26, H-27, H-28) ppm

Natriumsalz der Diphosphatpinzette (CLR01)Chemical Formula:  $C_{42}H_{28}Na_4O_8P_2$ 

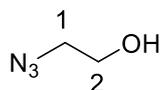
Molecular Weight: 814,58

In einem 50 mL Einhalskolben wurde die Diphosphatpinzette (0,22 g, 0,2 mmol, 1 Äq.) in 20 mL MQ-Wasser gelöst und dazu wurde 1 mL (1 mmol, 5 Äq.) einer 1 M NaOH hinzugegeben. Die Lösung wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und wurde abschließend lyophilisiert. Das Produkt wurde als weißer Feststoff (0,23 g, 0,2 mmol, quantitativ) erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Deuteriumoxid- $d_2$ ):  $\delta$  = 7.28 (s, 4H, H-4, H-9, H-16, H-21), 7.14 (dd,  $J$  = 5.2, 3.1 Hz, 4H, H-2, H-11, H-14, H-23), 6.80 (s, 4H, H-1, H-12, H-13, H-24), 4.54 – 4.49 (m, 4H, H-6, H-7, H-18, H-19), 4.17 (t,  $J$  = 1.6 Hz, 4H, H-3, H-10, H-15, H-22), 2.67 – 2.22 (m, 8H, H-25, H-26, H-27, H-28) ppm

### 5.2.3 Synthese der asymmetrischen Pinzette

#### Azidoethanol

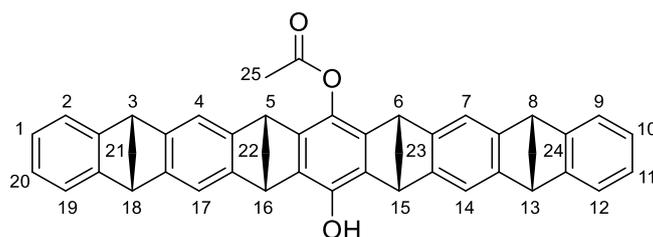


Chemical Formula: C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>N<sub>3</sub>O

Molecular Weight: 87,08

In einem 100 mL Einhalskolben wurden 6,54 mL (92,3 mmol, 1 Äq.) des Bromethanols zusammen mit 8 g (123 mmol, 1,33 Äq.) Natriumazid in 80 mL Wasser gelöst. Die Reaktionslösung wurde für 20 Stunden bei 80 °C gerührt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung mit (3x40 mL) Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Produkt wurde als Farbloses Öl (5 g, 57,4 mmol, 62 %) erhalten.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-d): δ = 3.84 – 3.67 (m, 2H, H-1), 3.43 (dd, J = 5.8, 4.3 Hz, 2H, H-2) ppm

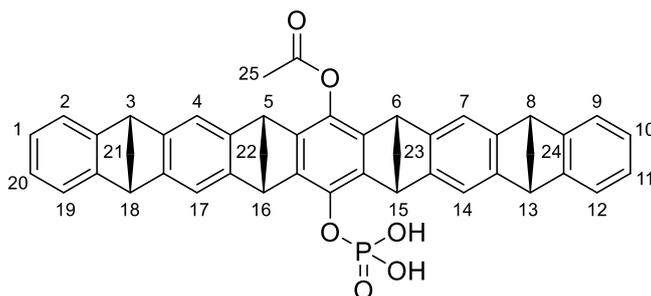
MonoacetoxymonohydroxypinzetteChemical Formula:  $C_{44}H_{32}O_3$ 

Molecular Weight: 608,74

In einem 500 mL Schlenkkolben mit Septum wurden 3 g (4,6 mmol, 1 Äq.) in 300 mL trockenem Dioxan vorgelegt und für eine Stunde entgast. Parallel dazu wurde eine 1 M NaOH-Lösung ebenfalls für eine Stunde entgast. 4,6 mL (4,6 mmol, 1 Äq.) der Natronlauge wurden zur Reaktionslösung hinzugegeben und es wurde für 24 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung auf eine Mischung aus 125 mL gesättigter Ammoniumchlorid-Lösung und 125 mL 6 M HCl-Lösung gegeben. Das Produkt wurde mit (3x125 mL) Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über  $MgSO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Rohprodukt (3 g) wurde aus 25 mL Diethylether umkristallisiert. Das Produkt wurde als weißer Feststoff erhalten (2,15 g, 3,5 mmol, 76 %).

$^1H$  NMR (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.15 – 7.11 (m, 4H, H-4, H-7, H-14, H-17), 7.10 – 7.03 (m, 4H, H-2, H-9, H-12, H-19), 6.77 – 6.71 (m, 4H, H-1, H-10, H-11, H-20), 4.18 (bs, 2H, H-15, H-16), 4.08 – 4.03 (m, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18), 4.00 - 3.94 (m, 2H, H-5, H-6), 2.52 – 2.34 (m, 11H, H-21, H-22, H-23, H-24), 2.33(s, 6H, H-25) ppm

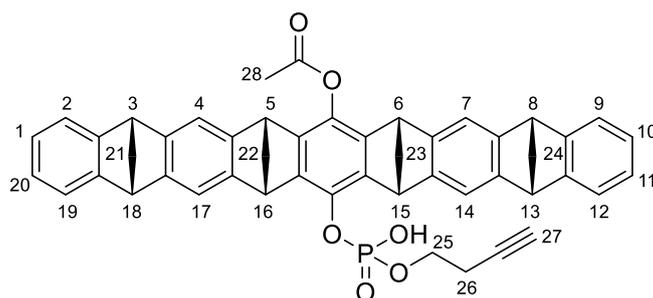
Monoacetoxymonophosphatpinzette



Chemical Formula:  $C_{44}H_{33}O_6P$   
 Molecular Weight: 688,72

In einem ausgeheiztem 250 mL Schlenkcolben wurde die Monoacetoxymonohydroxypinzette (1 g, 1,66 mmol, 1 Äq.) in 125 mL frisch destilliertem THF vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurden 1,51 mL (16,6 mmol, 10 Äq.) Phosphoroxchlorid und 2,53 mL (18,26 mmol, 11 Äq.) trockenes Triethylamin hinzugegeben und für eine Stunde gerührt. Die ausgefallenen Phosphor- und Ammonium-Salze wurden anschließend abfiltriert und die Lösung wurde an der Hochvakuumlinie getrocknet. Der Rückstand wurde für 2x15 min. mit 30 mL 1 M HCl im Ultraschallbad behandelt und abfiltriert. Der Feststoff wurde mit 20 mL 1 M HCl und 20 mL Wasser gewaschen. Folglich wurde der Rückstand mit 30 mL THF aus der Fritte gespült und mit 30 mL Wasser versetzt. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Am nächsten Tag wurde das THF entfernt und das Wasser lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde über RP-Säulenchromatographie über Wasser/Acetonitril (4:1 → 2:1) aufgereinigt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff (800 mg, 1,16 mmol, 70 %) erhalten.

$^1H$  NMR (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 7.20 – 6.97 (m, 8H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19), 6.84 – 6.72 (m, 4H, H-1, H-10, H-11, H-20), 4.53 – 4.30 (m, 2H, H-5, H-6), 4.22 – 4.12 (m, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18), 4.11 - 4.01 (m, 2H, H-15, H-16), 2.37 – 2.04 (m, 11H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-25) ppm

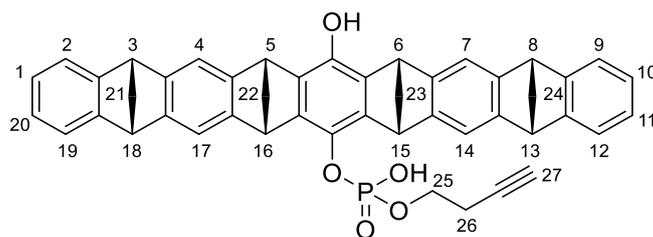
Monoacetoxymonobutinyolphosphatpinzette

Chemical Formula:  $C_{48}H_{37}O_6P$   
 Molecular Weight: 740,79

In einem ausgeheiztem 50 mL Schlenkcolben wurde die Monoacetoxymonophosphatpinzette (150 mg, 0,217 mmol, 1 Äq.) in 10 mL Pyridin vorgelegt. Dazu wurden 430  $\mu$ L (5,7 mmol, 27,1 Äq.) 3-Butin-1-ol und 217  $\mu$ L (2,17 mmol, 10 Äq.) Trichloroacetonitril hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde auf 90 °C erhitzt und für 16 Stunden gerührt. Am nächsten Tag wurde die Lösung über die Hochvakuumlinie getrocknet. Der Rückstand wurde für 2x15 min. mit 30 mL 1 M HCl im Ultraschallbad behandelt und abfiltriert. Der Feststoff wurde mit 20 mL 1 M HCl und 20 mL Wasser gewaschen. Folglich wurde der Rückstand mit 30 mL THF aus der Fritte gespült und mit 30 mL Wasser versetzt. Das THF wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Wasser lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde über RP-Säulenchromatographie über Wasser/Acetonitril (4:1  $\rightarrow$  2:1) aufgereinigt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff (120 mg, 0,161 mmol, 75 %) erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 7.12 – 7.02 (m, 8H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19), 6.82 – 6.75 (m, 4H, H-1, H-10, H-11, H-20), 4.30 – 4.22 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 2H, H-5, H-6, H-15, H-16), 4.07 (s,  $J$  = 8.6, 1.6 Hz, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18), 3.43 (q,  $J$  = 7.0, 4.7 Hz, 2H, H-25), 2.95 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 1H, H-27), 2.33 – 1.97 (m, 11H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-28) ppm

Monohydroxymonobutinyolphosphatpinzette

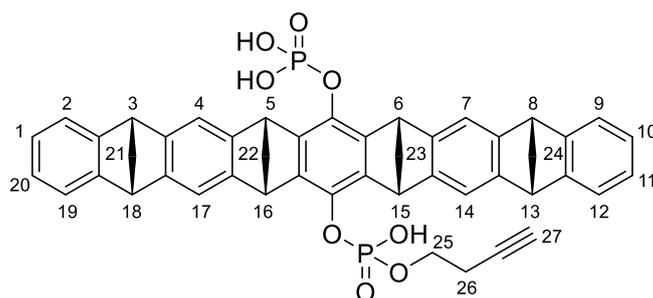


Chemical Formula:  $C_{46}H_{35}O_5P$

Molecular Weight: 698,75

In einem 50 mL Schlenkkolben mit Septum wurden 180 mg (0,242 mmol, 1 Äq.) der Monobutinyolphosphatmonoacetoxypinzette in 30 mL trockenem Dioxan vorgelegt und für eine Stunde entgast. Parallel dazu wurde eine 1 M NaOH-Lösung ebenfalls für eine Stunde entgast. 1,87 mL (1,87 mmol, 7,7 Äq.) der Natronlauge wurden zur Reaktionslösung hinzugegeben und es wurde für drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung über die Hochvakuumlinie getrocknet. Der Rückstand wurde für 2x15 min. mit 30 mL 1 M HCl im Ultraschallbad behandelt und abfiltriert. Der Feststoff wurde mit 20 mL 1 M HCl und 20 mL Wasser gewaschen. Folglich wurde der Rückstand mit 30 mL THF aus der Fritte gespült und mit 30 mL Wasser versetzt. Das THF wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Wasser lyophilisiert. Das Produkt wurde als weißer Feststoff (166 mg, 0,237 mmol, 98 %).

$^1H$  NMR (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 7.13 – 7.02 (m, 8H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19), 6.84 – 6.74 (m, 4H, H-1, H-10, H-11, H-20), 4.35 – 4.19 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 4H, H-5, H-6, H-15, H-16), 4.07 (s,  $J$  = 8.6, 1.6 Hz, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18), 3.45 (q,  $J$  = 7.0, 4.7 Hz, 2H, H-25), 2.93 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 1H, H-27), 2.33 – 2.16 (m, 8H, H-21, H-22, H-23, H-24) ppm

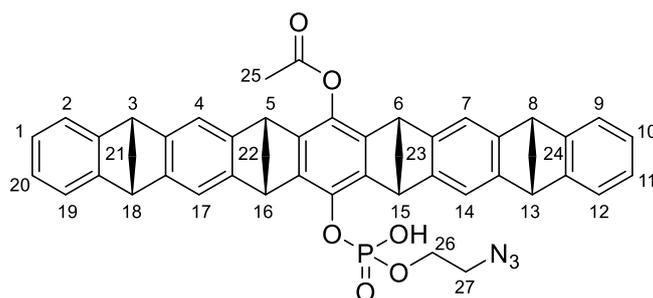
MonobutinyldiphosphatpinzetteChemical Formula:  $C_{46}H_{36}O_8P_2$ 

Molecular Weight: 778,73

In einem ausgeheiztem 50 mL Schlenkcolben wurde die Monobutinyldiphosphatmonohydroxypinzette (166 mg, 0,237 mmol, 1 Äq.) in 25 mL frisch destilliertem THF vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurden 358  $\mu$ L (2,34 mmol, 10 Äq.) Phosphoroxchlorid und 492  $\mu$ L (3,55 mmol, 15 Äq.) trockenes Triethylamin hinzugegeben und für eine Stunde gerührt. Die ausgefallenen Phosphor- und Ammonium-Salze wurden anschließend abfiltriert und die Lösung wurde an der Hochvakuumline getrocknet. Der Rückstand wurde für 2x15 min. mit 30 mL 1 M HCl im Ultraschallbad behandelt und abfiltriert. Der Feststoff wurde mit 20 mL 1 M HCl und 20 mL Wasser gewaschen. Folglich wurde der Rückstand mit 30 mL THF aus der Fritte gespült und mit 30 mL Wasser versetzt. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Am nächsten Tag wurde das THF entfernt und das Wasser lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde über RP-Säulenchromatographie über Wasser/Acetonitril (4:1  $\rightarrow$  2:1) aufgereinigt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff (146 mg, 0,187 mmol, 79 %) erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 7.17 – 7.01 (m, 8H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19), 6.82 – 6.72 (m, 4H, H-1, H-10, H-11, H-20), 4.37 – 4.29 (s, 4H, H-5, H-6, H-15, H-16), 4.11 – 4.03 (m, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18), 3.77 (q,  $J$  = 7.0, 4.7 Hz, 2H, H-25), 2.97 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 1H, H-27), 2.37 – 2.16 (m, 10H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-26) ppm

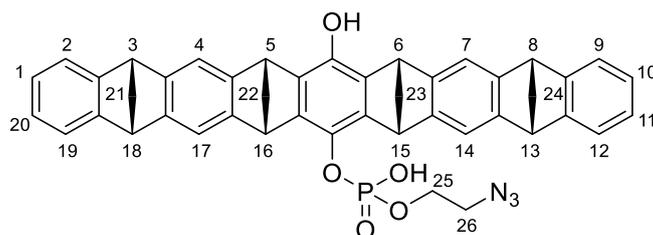
Monoacetoxymonoethylazidophosphatpinzette



Chemical Formula:  $C_{46}H_{36}N_3O_6P$   
 Molecular Weight: 757,78

In einem ausgeheiztem 50 mL Schlenkcolben wurde die Monoacetoxymonophosphatpinzette (150 mg, 0,217 mmol, 1 Äq.) in 10 mL Pyridin vorgelegt. Dazu wurden 448  $\mu$ L (5,9 mmol, 27,2 Äq.) Azidoethanol und 217  $\mu$ L (2,17 mmol, 10 Äq.) Trichloroacetonitril hinzugegeben. Die Reaktionslösung wurde auf 90 °C erhitzt und für 16 Stunden gerührt. Am nächsten Tag wurde die Lösung über die Hochvakuumlinie getrocknet. Der Rückstand wurde für 2x15 min. mit 30 mL 1 M HCl im Ultraschallbad behandelt und abfiltriert. Der Feststoff wurde mit 20 mL 1 M HCl und 20 mL Wasser gewaschen. Folglich wurde der Rückstand mit 30 mL THF aus der Fritte gespült und mit 30 mL Wasser versetzt. Das THF wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Wasser lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde über RP-Säulenchromatographie über Wasser/Acetonitril (4:1  $\rightarrow$  2:1) aufgereinigt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff (143 mg, 1,88 mmol, 86 %) erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 7.18 – 7.02 (m, 8H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19), 6.82 – 6.74 (m, 4H, H-1, H-10, H-11, H-20), 4.41 (s, 2H, H-5, H-6), 4.07 (s, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18), 3.98 (s, 2H, H-15, H-16), 3.56 (q,  $J$  = 7.0, 4.7 Hz, 2H, H-26), 2.98 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 2H, H-27), 2.36 (s, 3H, H-25), 2.32 – 2.17 (m, 8H, H-21, H-22, H-23, H-24) ppm

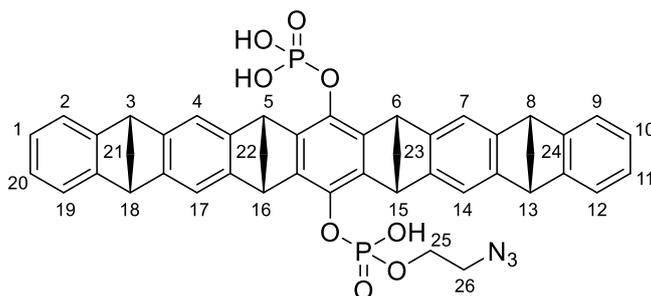
MonohydroxymonoethylazidophosphatpinzetteChemical Formula:  $C_{44}H_{34}N_3O_5P$ 

Molecular Weight: 715,75

In einem 50 mL Schlenk Kolben mit Septum wurden 291 mg (0,384 mmol, 1 Äq.) der Monoazidophosphatmonoacetoxypinzette in 30 mL trockenem Dioxan vorgelegt und für eine Stunde entgast. Parallel dazu wurde eine 1 M NaOH-Lösung ebenfalls für eine Stunde entgast. 3 mL (3 mmol, 7,8 Äq.) der Natronlauge wurden zur Reaktionslösung hinzugegeben und es wurde für drei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Abschließend wurde die Lösung über die Hochvakuumlinie getrocknet. Der Rückstand wurde für 2x15 min. mit 30 mL 1 M HCl im Ultraschallbad behandelt und abfiltriert. Der Feststoff wurde mit 20 mL 1 M HCl und 20 mL Wasser gewaschen. Folglich wurde der Rückstand mit 30 mL THF aus der Fritte gespült und mit 30 mL Wasser versetzt. Das THF wurde unter vermindertem Druck entfernt und das Wasser lyophilisiert. Das Produkt wurde als weißer Feststoff (246 mg, 0,345 mmol, 90 %).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta = 7.18 - 7.02$  (m, 8H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19),  $6.82 - 6.74$  (m, 4H, H-1, H-10, H-11, H-20),  $4.41$  (s, 2H, H-5, H-6),  $4.07$  (s, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18),  $3.98$  (s, 2H, H-15, H-16),  $3.56$  (q,  $J = 7.0, 4.7$  Hz, 2H, H-25),  $2.98$  (t,  $J = 4.8$  Hz, 2H, H-26),  $2.32 - 2.17$  (m, 8H, H-21, H-22, H-23, H-24) ppm

Monoethylazidodiphosphatpinzette

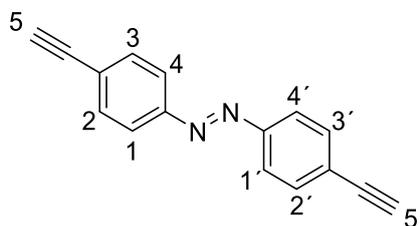


Chemical Formula:  $C_{44}H_{35}N_3O_8P_2$   
 Molecular Weight: 795,72

In einem ausgeheiztem 50 mL Schlenkcolben wurde die Monoazidophosphatmonohydroxypinzette (336 mg, 0,469 mmol, 1 Äq.) in 30 mL frisch destilliertem THF vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurden 428  $\mu$ L (4,69 mmol, 10 Äq.) Phosphoroxychlorid und 976  $\mu$ L (7,04 mmol, 15 Äq.) trockenes Triethylamin hinzugegeben und für eine Stunde gerührt. Die ausgefallenen Phosphor- und Ammonium-Salze wurden anschließend abfiltriert und die Lösung wurde an der Hochvakuumline getrocknet. Der Rückstand wurde für 2x15 min. mit 30 mL 1 M HCl im Ultraschallbad behandelt und abfiltriert. Der Feststoff wurde mit 20 mL 1 M HCl und 20 mL Wasser gewaschen. Folglich wurde der Rückstand mit 30 mL THF aus der Fritte gespült und mit 30 mL Wasser versetzt. Die Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Am nächsten Tag wurde das THF entfernt und das Wasser lyophilisiert. Das Rohprodukt wurde über RP-Säulenchromatographie über Wasser/Acetonitril (4:1  $\rightarrow$  2:1) aufgereinigt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff (298 mg, 0,375 mmol, 80 %) erhalten.

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 7.18 – 7.02 (m, 8H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19), 6.82 – 6.74 (m, 4H, H-1, H-10, H-11, H-20), 4.41 (s, 2H, H-5, H-6), 4.07 (s, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18), 3.98 (s, 2H, H-15, H-16), 3.56 (q,  $J$  = 7.0, 4.7 Hz, 2H, H-25), 2.98 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 2H, H-26), 2.32 – 2.17 (m, 8H, H-21, H-22, H-23, H-24) ppm

## 5.2.4 Synthese der Azobenzol-Derivate

4,4'-DiethinylazobenzolChemical Formula: C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>

Molecular Weight: 230,27

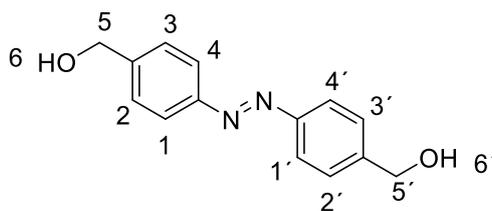
In einem 250 mL Einhalskolben wurden 2,5 g (21 mmol, 1 Äq.) 4-Ethynylanilin in 150 mL Toluol vorgelegt und gerührt. Dazu wurden 42 g (483 mmol, 23 Äq.) MnO<sub>2</sub> hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für 3,5 h bei 120 °C gerührt. Anschließend wurde die Lösung über eine D4-Fritte filtriert und das Filtrat wurde von Lösungsmittel befreit. Das Produkt wurde als rötlich glänzender Feststoff erhalten (0,8 g, 3,4 mmol, 32 %).

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Chloroform-d): δ = 7.91 - 7.86 (dt, 4H, H-1, H-1', H-4, H-4'), 7.66 – 7.61 (dt, J = 5.8, 4.3 Hz, 2H, H-2, H-2', H-3, H-3'), 3.24 (s, 2H, H-5, H-5') ppm

<sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, Chloroform-d): δ = 152.24, 133.36, 132.99, 125.18, 123.23, 123.16, 123.06, 83.46, 83.27, 80.29, 79.39 ppm

**HR ESI-MS:** Berechnet: 230,27 g/mol, gefunden: 230,27 g/mol

4,4'-Dibenzylalkoholazobenzol



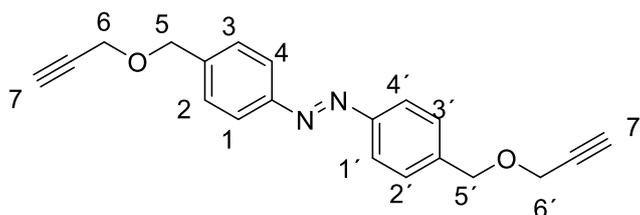
Chemical Formula:  $C_{14}H_{14}N_2O_2$   
 Molecular Weight: 242,28

In einem 250 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter wurde unter Argon-Atmosphäre das 4-Nitrobenzylalkohol (3 g, 19,5 mmol, 1 Äq.) in 30 mL Ethanol vorgelegt. NaOH (12,5 g, 310 mmol, 16 Äq. in 75 mL  $H_2O$ ) wurde hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für 30 min. bei 50 °C gerührt. Anschließend wurde eine Glucose-Lösung (19,6 g, 110 mmol, 5,55 Äq. in 40 mL  $H_2O$ ) hinzugetropft und die Lösung wurde für eine weitere Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Im Anschluss wurde die Argonzufuhr entfernt und die Lösung wurde weiter an der Luft über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde mittels Essigsäure pH5 eingestellt und die Lösung wurde über eine D4-Fritte filtriert. Abschließend wurde das Filtrat lyophilisiert und das Produkt als orangene Nadeln (260 mg, 1,07 mmol, 11 %) erhalten.

$^1H$ -NMR (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 9.75 (s, 2H, H-6, H-6'), 7.69 (d, J = 6.9 Hz, 2H, H-1, H-1', H-4, H-4'), 6.70 (d, J = 8.9 Hz, 2H, H-2, H-2', H-3, H-3'), 4,22 (bs, 4H, H-5, H-5') ppm

$^{13}C$ -NMR (151 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 190.55, 152.42, 133.99, 132.48, 127.85, 114.60, 114.23, 77.36.

**HR ESI-MS:** Berechnet: 230,27 g/mol, gefunden: 230,27 g/mol

4,4'-Bis((Prop-2-in-1-yloxy)methyl)azobenzolChemical Formula: C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Molecular Weight: 318,38

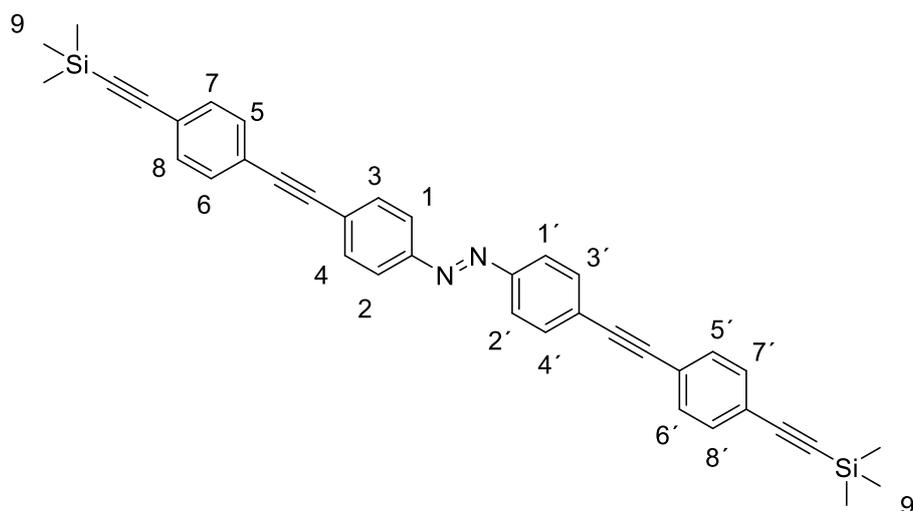
In einem 250 mL Rundkolben wurden 1,27 g (5,2 mmol, 1 Äq.) des Edukts in frisch destilliertem THF vorgelegt und auf 0 °C abgekühlt. Dazu wurden 0,302 g (12,58 mmol, 2,4 Äq.) Natriumhydrid vorsichtig hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für 10 min. gerührt. Anschließend wurden 1,4 mL (12,58 mmol, 2,4 Äq.) Propargylbromid hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde über Nacht auf Raumtemperatur langsam aufgewärmt. Nach Reaktionskontrolle über Dünnschichtchromatographie wurde die Reaktion durch vorsichtige Zugabe von 20 mL Wasser abgebrochen. Folglich wurde mit (3x50 mL) Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen wurden mit (3x50 mL) gesättigter NaCl-Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wurde entfernt. Das Produkt wurde abschließend mittels Säulenchromatographie (Cyclohexan/Ethylacetat 10:1) aufgereinigt und als gelber Feststoff (0,527 g, 1,65 mmol, 32 %) erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Chloroform-d): δ = 7.88 (d, 4H, H-1, H-1', H-4, H-4'), 7.54 (d, J = 5.8, 4.3 Hz, 2H, H-2, H-2', H-3, H-3'), 4.63 (s, 4H, H-5, H-5'), 4.60 (m, 4H, H-5, H-5'), 4.28 – 4.21 (m, 4H, H-6, H-6'), 3.51 (t, 2H, H-7, H-7') ppm

<sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, Chloroform-d): δ = 152.37, 140.57, 128.67, 123.09, 79.57, 75.03, 71.14, 57.47 ppm

HR ESI-MS: [M-H]<sup>+</sup> Berechnet: 319,1441 g/mol, gefunden: 319,1442 g/mol

4,4'-Bis(((4-Trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)ethynyl)azobenzol



Chemical Formula:  $C_{38}H_{34}N_2Si_2$   
Molecular Weight: 574,87

In einem ausgeheizten 100 mL Schlenk Kolben wurden das 4,4'-Diethynylazobenzol (100 mg, 0,43 mmol, 1 Äq.),  $Pd(PPh)_3Cl_2$  (241 mg, 0,34 mmol, 0,8 Äq.) und Kupferiodid (65 mg, 0,34 mmol, 0,8 Äq.) in 30 mL Triethylamin vorgelegt. Dazu wurde (4-Iodphenylethynyl)trimethylsilan (387 mg, 1,29 mmol, 3 Äq.) langsam hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für drei Tage bei 80 °C gerührt. Anschließend wurde das Triethylamin über die Schlenkline entfernt und der Rückstand mit 50 mL Chloroform aufgenommen. Die organische Phase wurde drei Mal mit 30 mL 1 M HCl und drei Mal mit 30 mL Wasser gewaschen. Abschließend wurde die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und abfiltriert. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurden 103 mg Rohprodukt als orangener Feststoff erhalten. Nach Säulenchromatographischer Aufreinigung (Cyclohexan/Ethylacetat 6:1) wurde das Produkt als orangener Feststoff (37 mg, 0,065 mmol, 15 %) erhalten.

$^1H$ -NMR (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.99 – 7.89 (m, 4H, H-2, H-4, H-1', H-3'), 7.72 – 7.67 (m, 4H, H-1, H-3, H-2', H-4'), 7.59 – 7.42 (m, 8H, H-5, H-6, H-7, H-8, H-5', H-6', H-7', H-8'), 0.26 (s, 18H, H-9, H-9')

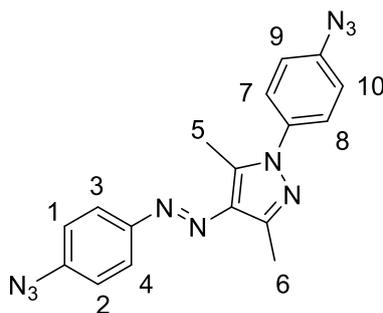
$^{13}C$ -NMR (151 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 133.06, 132.44, 132.11, 123.65, 54.47, 54.20, 53.93, 1.34

HR ESI-MS:  $[M-H]^+$  Berechnet: 575,2333 g/mol, gefunden: 575,2325 g/mol

### 5.3 Arylazopyrazole

Die photoschaltbaren Arylazopyrazole wurden von mir strukturell erarbeitet und in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Bart Jan Ravoo aus der Universität Münster von Alisa-Maite Kauth synthetisiert und mir zur Verfügung gestellt. Die von Frau Kauth synthetisierten Verbindungen wurden vor Verwendung nach ihrer Reinheit über  $^1\text{H-NMR}$  Spektroskopie und Massenspektrometrie überprüft.

#### (0) (E)-1-(4-azidophenyl)-4-((4-azidophenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole

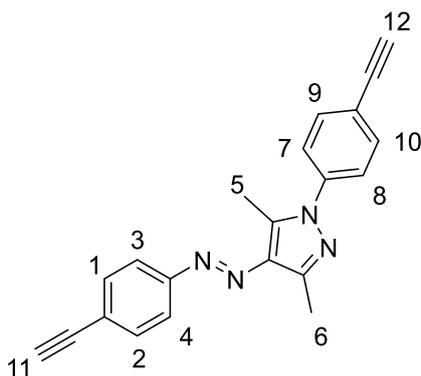


Chemical Formula:  $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_{10}$   
Molecular Weight: 358,37

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, Chloroform-*d*):  $\delta$  = 7.86 – 7.81 (m, 2H, H-1, H-2), 7.52 – 7.47 (m, 2H, H-9, H-10), 7.18 – 7.10 (m, 4H, H-3, H-4, H-7, H-8), 2.64 (s, 3H, H-6), 2.58 (s, 3H, H-5) ppm

**HR ESI-MS:** Berechnet: 331,1394 g/mol  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , gefunden: 331,1456 g/mol  $[\text{M}+\text{H}]^+$

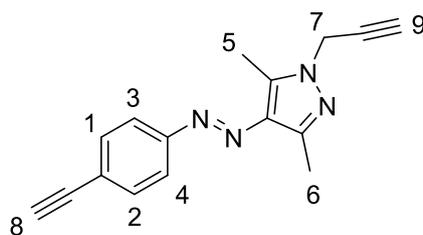
(1) (E)-1-(4-ethynylphenyl)-4-((4-ethynylphenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole



Chemical Formula:  $C_{21}H_{16}N_4$   
Molecular Weight: 324,39

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.81 – 7.75 (m, 2H, H-1, H-2), 7.65 – 7.58 (m, 4H, H-3, H-4, H-7, H-8), 7.52 – 7.46 (m, 2H, H-9, H-10), 3.20 (s, 1H, H-12), 3.17 (s, 1H, H-11), 2.68 (s, 3H, H-6), 2.58 (s, 3H, H-5) ppm

**HR ESI-MS:** Berechnet: 325,1468 g/mol  $[M+H]^+$ , gefunden: 325,1427 g/mol  $[M+H]^+$

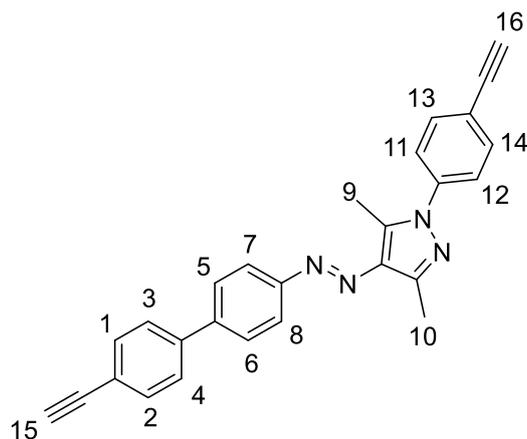
(2) (E)-3-(4-(4-ethynylphenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)propyne

Chemical Formula: C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>  
Molecular Weight: 262,32

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.79 – 7.71 (m, 2H, H-1, H-2), 7.61 – 7.54 (m, 2H, H-3, H-4), 4.86 (d,  $J$  = 2.6 Hz, 2H, H-7), 3.18 (s, 1H, H-8), 2.67 (s, 3H, H-6), 2.50 (s, 3H, H-7), 2.43 (t,  $J$  = 2.5 Hz, 1H, H-9) ppm

**HR ESI-MS:** Berechnet: 263,1291 g/mol [M+H]<sup>+</sup>, gefunden: 263,1298 g/mol [M+H]<sup>+</sup>

(3) (E)-4-((4'-ethynyl-[1,1'-biphenyl]-4-yl)diazenyl)-1-(4-ethynylphenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole



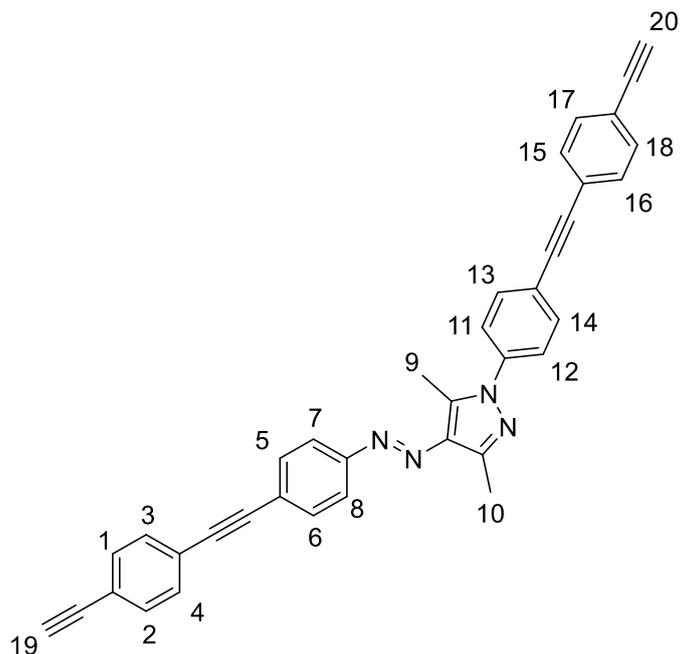
Chemical Formula: C<sub>27</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>

Molecular Weight: 400,49

**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.93 – 7.88 (m, 2H, h-1, H-2), 7.74 – 7.68 (m, 2H, H-5, H-6), 7.66 – 7.58 (m, 6H, H-3, H-4, H-7, H-8, H-11, H-12), 7.53 – 7.49 (m, 2H, H-13, H-14), 3.17 (s, 1H, H-15), 3.16 (s, 1H, H-16), 2.71 (s, 3H, H-10), 2.61 (s, 3H, H-9) ppm

**HR ESI-MS:** Berechnet: g/mol [M+H]<sup>+</sup>, gefunden: 401,3213 g/mol [M+H]<sup>+</sup>

(4) (E)-1-(4-((4-ethynylphenyl)ethynyl)phenyl)-4-((4-((4-ethynylphenyl)ethynyl)phenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole

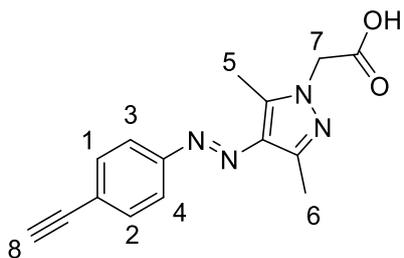


Chemical Formula:  $C_{37}H_{24}N_4$   
Molecular Weight: 524,63

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta$  = 7.85 – 7.80 (m, 2H, H-1, H-2), 7.68 – 7.62 (m, 4H, H-3, H-4, H-15, H-16), 7.55 – 7.47 (m, 10H, H-5, H-6, H-7, H-8, H-11, H-12, H-13, H-14, H-17, H-18), 3.19 (m, 2H, H-19, H-20), 2.71 (s, 3H, H-10), 2.60 (s, 3H, H-9) ppm

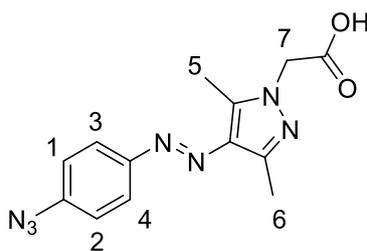
**HR ESI-MS:** Berechnet: g/mol, gefunden: 525,3652 g/mol  $[M+H]^+$

(5) (E)-2-(4-((4-ethynylphenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)acetic acid



Chemical Formula: C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>  
Molecular Weight: 282,30

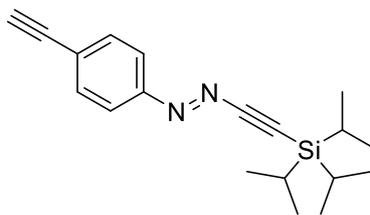
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Chloroform-d): δ = 7.78 – 7.72 (m, 2H, H-1, H-2), 7.62 – 7.57 (m, 2H, H-3, H-4), 4.88 (s, 2H, H-7), 3.19 (s, 1H, H-8), 2.60 (s, 3H, H-6), 2.53 (s, 3H, H-5) ppm

(6) (E)-2-(4-((4-azidophenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)acetic acid

Chemical Formula:  $C_{13}H_{13}N_7O_2$   
Molecular Weight: 299,29

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, Chloroform-d):  $\delta = 7.84 - 7.78$  (m, 2H, H-1, H-2),  $7.14 - 7.09$  (m, 2H, H-3, H-4), 4.89 (s, 2H, H-7), 2.59 (s, 3H, H-6), 2.53 (s, 3H, H-5) ppm

(8) (E)-1-(4-ethylphenyl)-2-((triisopropylsilyl)ethynyl)diazene



Chemical Formula: C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>Si  
Molecular Weight: 310,52

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Chloroform-d): δ = 7.84 – 7.78 (m, 2H, H-1, H-2), 7.14 – 7.09 (m, 2H, H-3, H-4), 4.89 (s, 2H, H-7), 2.59 (s, 3H, H-6), 2.53 (s, 3H, H-5) ppm

## 5.4 Synthese der photoschaltbaren molekularen Pinzetten

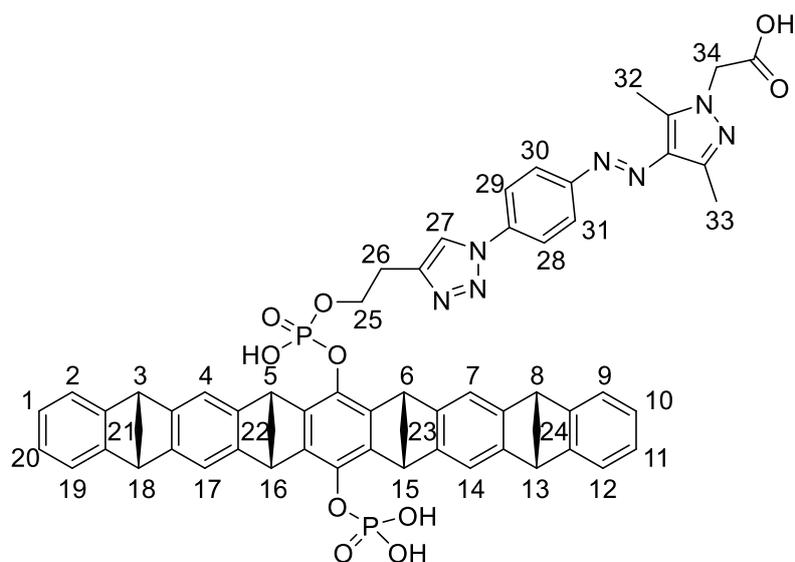
Folgende Versuchsdurchführungen wurden für die jeweilige Zielverbindung verwendet und entsprechend wurden die Edukte für die Kupfer-Click Reaktion gewählt.

### 5.4.1 Monovalente Pinzetten

In einem ausgeheiztem 10 mL Schlenkkolben wurden unter Argon-Gegenstrom 5 mg (6,28  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) der asymmetrischen Pinzette zusammen mit einem Arylazopyrazol (6,28  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) in 3 mL trockenem Dimethylformamid vorgelegt. Dazu wurden 5,7  $\mu\text{L}$  (33,9  $\mu\text{mol}$ , 5,4 Äq.) DIPEA hinzugegeben und die Lösung wurde für 5 min gerührt. Anschließend wurden 4,5 mg (31,4  $\mu\text{mol}$ , 5 Äq.) CuBr hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für 16 h bei 60 °C gerührt. Folglich wurde das DMF entfernt und der Rückstand wurde in 10 mL 1 M HCl suspendiert und für 20 min im Ultraschallbad behandelt. Anschließend wurde die Suspension in ein Zentrifugenrohr überführt und abzentrifugiert. Der Überstand wurde abdekantiert und die Prozedur wurde zwei Mal mit 1 M HCl, einmal mit 1 mL Aceton und einmal mit 10 mL Wasser wiederholt. Danach wurde der Feststoff in ein 10 mL Spitzkolben mit Wasser überführt und lyophilisiert.

Zur Deprotonierung wurde die jeweilige photoschaltbare Pinzette in einer Wasser/THF-Mischung (1:1) vorgelegt und mit 1 M NaOH (1.1 Äq. pro Säureeinheit) versetzt. Die Lösung wurde immer eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurde das THF entfernt und das Wasser lyophilisiert.

TWAAP-COOH1



Chemical Formula:  $C_{59}H_{49}N_7O_{10}P_2$

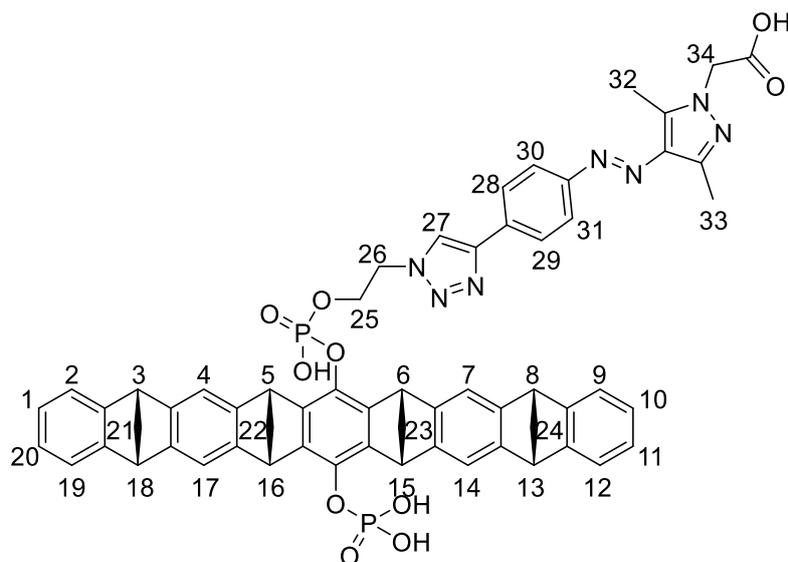
Molecular Weight: 1078,03

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta = \delta$  8.86 (s, 1H, H-27), 8.09 (d,  $J = 8.4$  Hz, 2H, H-28, H-29), 7.96 (d,  $J = 7.8$  Hz, 2H, H-30, H-31), 7.17 – 6.97 (m, 8H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19), 6.76 (m, 4H, H-1, H-10, H-11, H-20), 4.97 (s, 2H; H-34), 4.32 (m, 4H, H-5, H-6, H-15, H-16), 4.19 (s, 2H, H-25), 4.10 – 4.00 (m, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18), 3.04 (s, 2H, H-26), 2.54 (s, 3H, H-32), 2.40 (s, 3H, H-33), 2.31 – 2.13 (m, 8H, H-20, H-21, H-22, H-23).ppm

$^{13}\text{C NMR}$  (151 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ) $\delta$  169.11, 152.32, 150.29, 150.25, 146.88, 146.82, 146.77, 141.39, 141.06, 140.99, 137.07, 134.78, 124.45, 122.90, 121.48, 121.41, 120.49, 116.80, 116.64, 68.95, 67.75, 53.53, 50.54, 50.28, 50.25, 48.00, 47.93, 40.05, 28.72, 26.93, 18.08, 16.73, 13.97, 13.91, 12.47, 9.43.

**HR ESI-MS:** Berechnet: 1078,3089 g/mol, gefunden: 1078,3083 g/mol

**Ausbeute:** 3,1 mg (2,9  $\mu\text{M}$ , 47 %)

TWAAP-COOH2Chemical Formula:  $C_{59}H_{49}N_7O_{10}P_2$ 

Molecular Weight: 1078,03

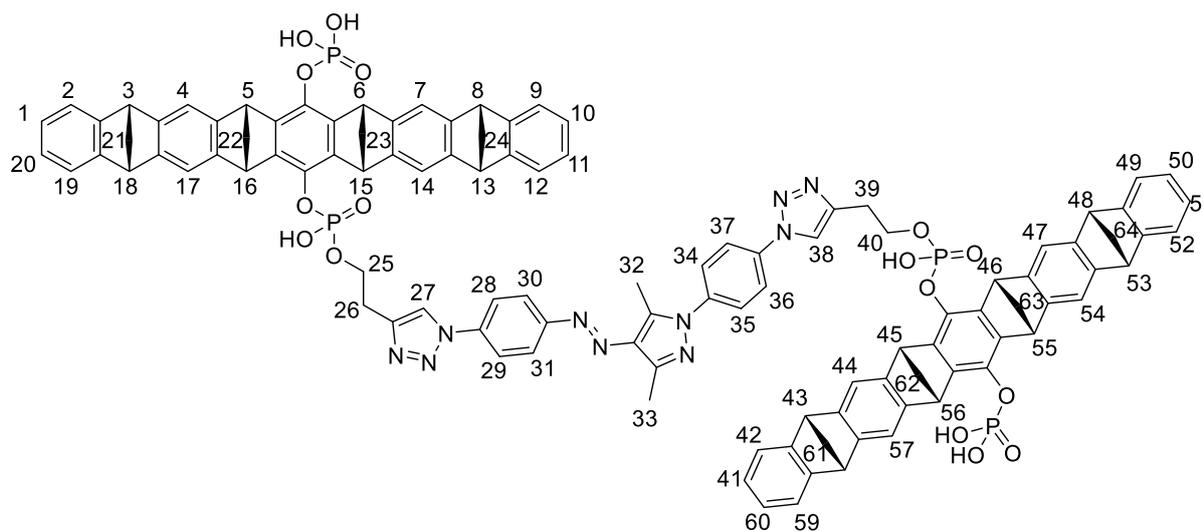
**$^1H$ -NMR** (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 8.11 – 7.71 (m, 3H), 7.16 – 6.96 (m, 8H), 6.83 – 6.70 (m, 4H), 4.97 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 1H), 4.58 (s, 1H), 4.28 (dd,  $J$  = 27.0, 10.2 Hz, 5H), 4.06 (t,  $J$  = 10.1 Hz, 4H), 2.89 (s, 1H), 2.73 (s, 1H), 2.39 (s, 3H), 2.33 – 2.10 (m, 9H) ppm

**HR ESI-MS:** Berechnet: 1078,3089 g/mol, gefunden: 1078,3079 g/mol

**Ausbeute:** 2,87 mg (2,67  $\mu$ M, 43 %)

#### 5.4.2 Bivalente Pinzetten

In einem ausgeheiztem 10 mL Schlenkkolben wurden unter Argon-Gegenstrom 5 mg (6,28  $\mu\text{mol}$ , 1 Äq.) der asymmetrischen Pinzette zusammen mit einem Photoschalter (6,28  $\mu\text{mol}$ , 1Äq.) in 3 mL trockenem Dimethylformamid vorgelegt. Dazu wurden 5,7  $\mu\text{L}$  (33.9  $\mu\text{mol}$ , 5,4 Äq.) DIPEA hinzugegen und die Lösung wurde für 5 min gerührt. Anschließend wurden 4,5 mg (31,4  $\mu\text{mol}$ , 5 Äq.) CuBr hinzugegeben und die Reaktionslösung wurde für 16 h bei 60 °C gerührt. Die Umsatzkontrolle der Reaktion konnte über Negativkontrolle mittels analytischer HPLC erfolgen. Sobald das charakteristische Signal der Asymmetrischen Pinzette verschwunden war, wurde ein zweites Äquivalent der asymmetrischen Pinzette zusammen mit 5,4 Äq. DIPEA, 5 Äq. CuBr und 2 mL trockenem DMF zur Reaktionslösung hinzugegeben. Die Lösung wurde weiterhin 72 Stunden bei 60 °C gerührt. Folglich wurde die Reaktionslösung über eine D4-Fritte entfernt und der Rückstand wurde in 10 mL 1 M HCl suspendiert, in ein Zentrifugenrohr überführt und für 20 min im Ultraschallbad behandelt. Anschließend wurde die Suspension abzentrifugiert. Der Überstand wurde abdekantiert und die Prozedur wurde zwei Mal mit 1 M HCl, zweimal mit 1 mL Aceton und einmal mit 10 mL Wasser wiederholt. Danach wurde der Feststoff in ein 10 mL Spitzkolben mit Wasser überführt und lyophilisiert.

TWAAPOChemical Formula: C<sub>109</sub>H<sub>86</sub>N<sub>10</sub>O<sub>16</sub>P<sub>4</sub>

Molecular Weight: 1915,84

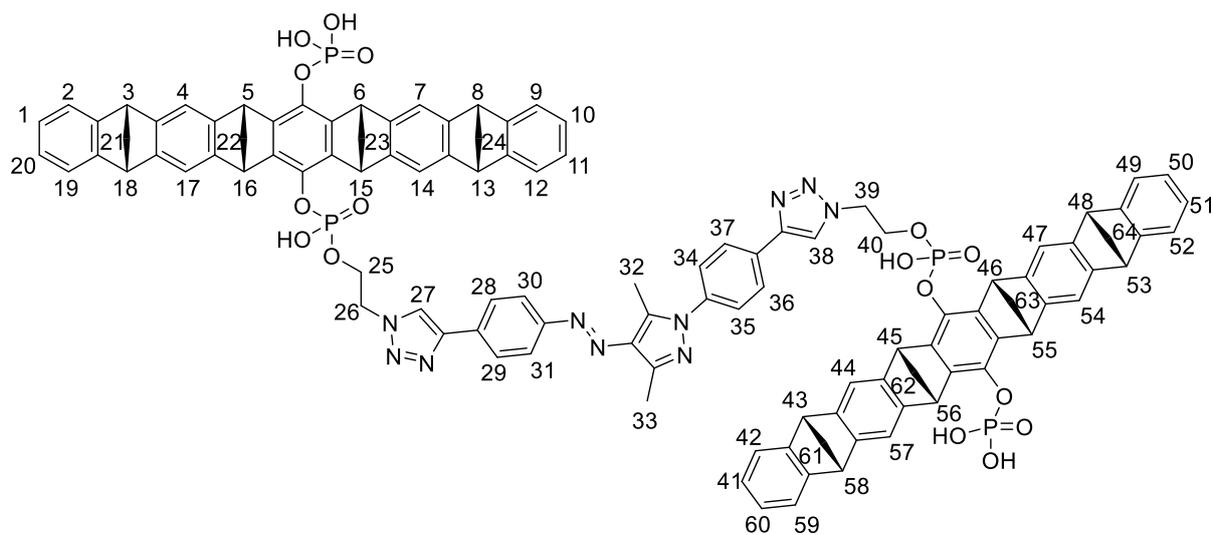
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Dimethylsulfoxid-d<sub>6</sub>): δ = δ 8.87 (s, 2H, H-27, H-38), 8.12 (m, 4H, H-28, H-29, H-37, H-36), 8.01 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H-28, H-30, H-31), 7.87 (d, J = 8.4 Hz, 2H, H-34, H-35), 7.17 – 6.94 (m, 16H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19, H-42, H-44, H-47, H-49, H-52, H-54, H-57, H-59), 6.76 (m, 8H, H-1, H-10, H-11, H-20, H-41, H-50, H-51, H-60), 4.36 – 4.26 (m, 8H, H-5, H-6, H-15, H-16), 4.21 (m, 4H, H-26, H-39), 4.06 (m, 8H, H-3, H-8, H-13, H-18), 3.06 (m, 4H, H-25, H-40), 2.74 (s, 3H, H-32), 2.52 (s, 3H, H-33), 2.34 – 2.11 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-61, H-62, H-63, H-64) ppm

**<sup>31</sup>P-NMR** (243 MHz, Dimethylsulfoxid-d<sub>6</sub>): δ = -3.76, -4.15 ppm

**HR ESI-MS:** Berechnet: [M-H]<sup>2+</sup> 958,7676 g/mol, gefunden: 958,7654 g/mol

**Ausbeute:** 4,85 mg (2,51 μM, 40 %)

TWAAP1



Chemical Formula:  $C_{109}H_{86}N_{10}O_{16}P_4$   
 Molecular Weight: 1915,84

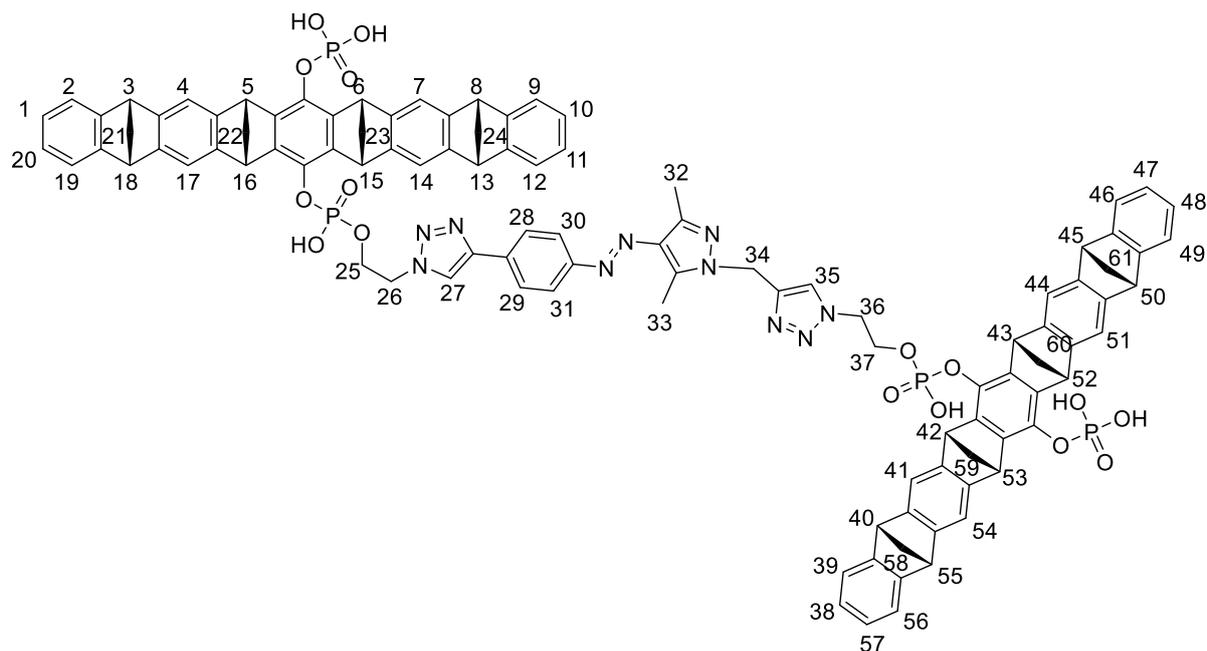
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 8.76 (s, 2H), 8.10 – 7.69 (m, 8H), 7.06 (m, 16H H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19, H-42, H-44, H-47, H-49, H-52, H-54, H-57, H-59), 6.76 (m, 8H, H-1, H-10, H-11, H-20, H-41, H-50, H-51, H-60), 4.62 (s, 4H H-26, H-39), 4.37 – 4.17 (m, 12H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-25, H-40), 4.12 – 4.01 (m, 8H H-3, H-8, H-13, H-18), 2.68 (d,  $J$  = 20.4 Hz, 6H, H-32, H-33), 2.32 – 2.15 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-61, H-62, H-63, H-64) ppm

$^{31}\text{P-NMR}$  (243 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = -5.43, -6.0 ppm

**HR ESI-MS:**  $[\text{M-H}^+]^{2+}$  Berechnet: 958,7676 g/mol, gefunden: 958,7660 g/mol

**Ausbeute:** 4,53 mg (2,32  $\mu\text{M}$ , 37 %)

## TWAAP2



Chemical Formula:  $C_{104}H_{84}N_{10}O_{16}P_4$   
 Molecular Weight: 1853,77

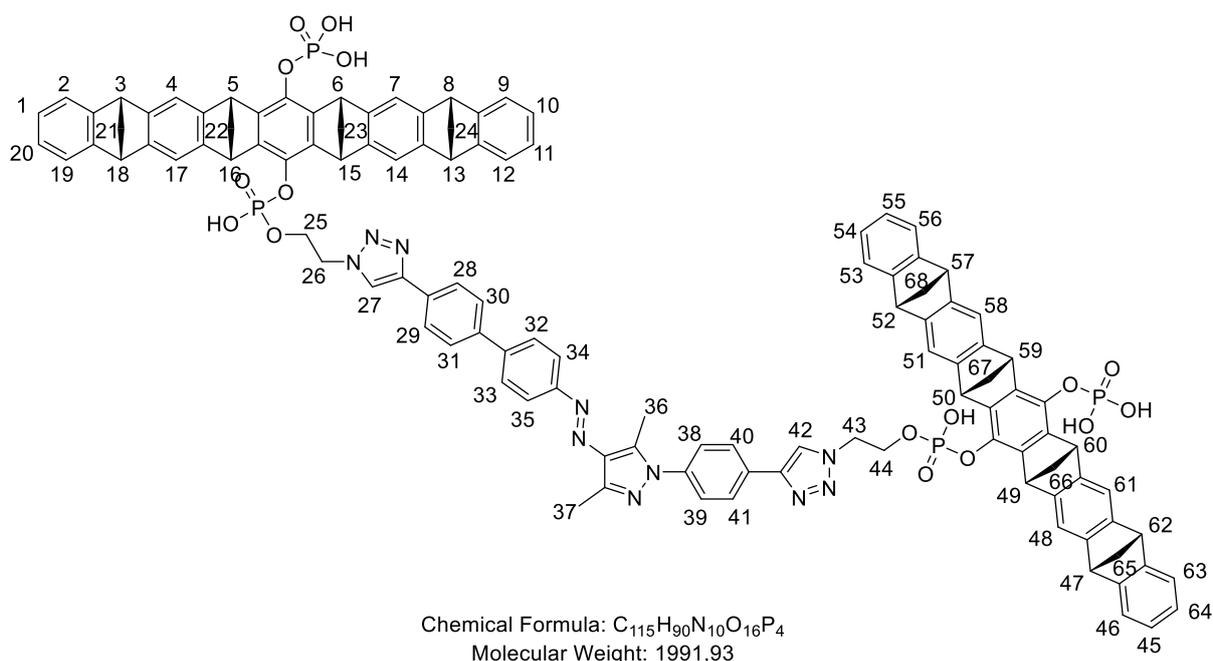
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta = 8.79$  (s, 2H, H-27, H-35), 8.20 – 7.78 (m, 4H, H-28, H-29, H-30, H-31), 7.17 – 6.97 (m, 16H H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19, H-39, H-41, H-44, H-46, H-49, H-51, H-54, H-56), 6.82 – 6.69 (m, 8H, H-1, H-10, H-11, H-20, H-38, H-47, H-48, H-57), 5.45 (s, 2H, H-34), 4.63 (s, 2H, H-26), 4.50 (s, 2H, H-36), 4.37 – 4.27 (m, 8H, H-5, H-6, H-15, H-16), 4.25 – 4.20 (m, 4H, H-25, H-37), 4.10 – 4.03 (m, 8H; H-3, H-8, H-13, H-18, H-40, H-45, H-50, H-55), 2.75 – 2.66 (s, 3H, H-32), 2.38 (s, 3H, H-33), 2.33 – 2.13 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-58, H-59, H-60, H-61) ppm

**$^{31}\text{P-NMR}$**  (243 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta = -5.49, -5.98$  ppm

**HR ESI-MS:**  $[\text{M-H}]^{2+}$  Berechnet: 927,7597 g/mol, gefunden: 927,7595 g/mol

**Ausbeute:** 4,42 mg (2,38  $\mu\text{M}$ , 38 %)

TWAAP3



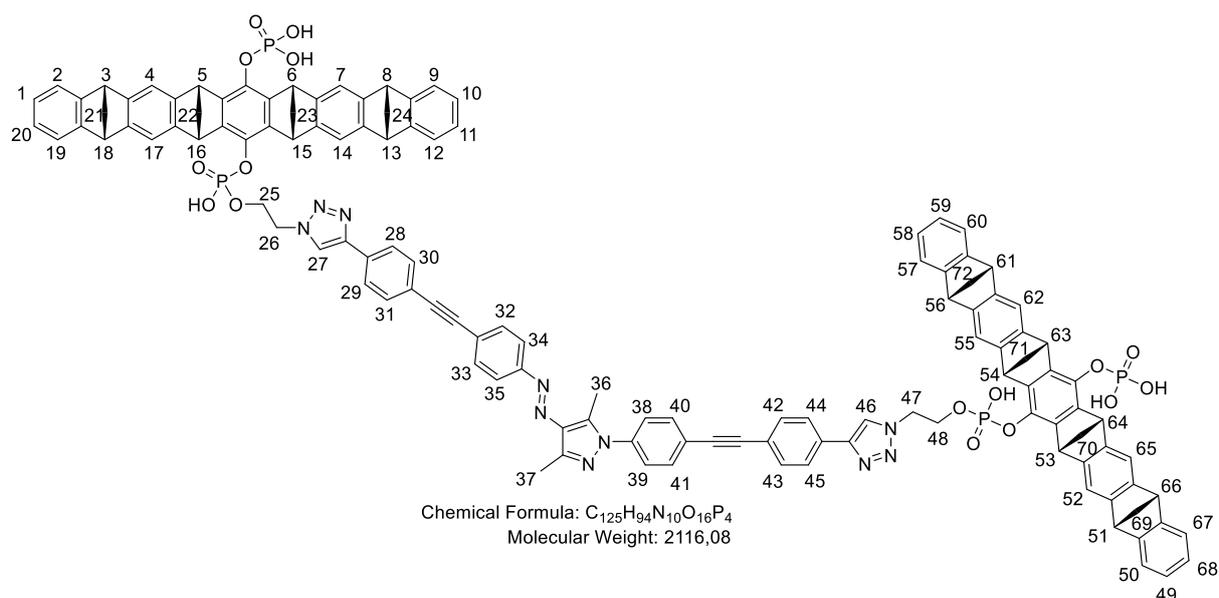
$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 8.79 (m, 2H, H-27, H-42), 8.12 – 7.79 (m, 12H, H-28, H-29, H-30, H-31, H-32, H-33, H-34, H-35, H-38, H-39, H-40, H-41), 7.12 – 6.96 (m, 16H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19, H-46, H-48, H-51, H-53, H-56, H-58, H-61, H-63), 6.76 (m, 8H, H-1, H-10, H-11, H-20, H-45, H-54, H-55, H-64), 4.58 (s, 4H, H-26, H-43), 4.33 – 4.19 (m, 12H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-25, H-44, H-49, H-50, H-59, H-60), 4.05 (m, 8H, H-3, H-8, H-13, H-18, H-47, H-52, H-57, H-62), 2.89 (s, 3H, H-36), 2.73 (s, 3H, H-37), 2.29 – 2.12 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-65, H-66, H-67, H-68).ppm

$^{31}\text{P-NMR}$  (243 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = -5.44, -5.93 ppm

**HR ESI-MS:**  $[\text{M-H}^+]^{2+}$  Berechnet: 996,7832 g/mol, gefunden: 996,7830 g/mol

**Ausbeute:** 4,25 mg (2,13  $\mu\text{M}$ , 34 %)

## TWAAP4



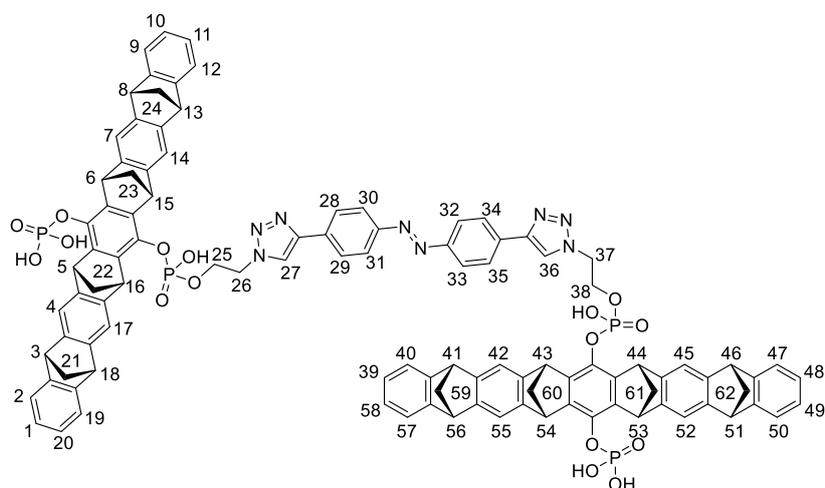
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, Dimethylsulfoxid-d<sub>6</sub>): δ = 8.80 (s, 2H, H-27, H-46), 7.97 (m, 4H, H-28, H-29, H-44, H-45), 7.77 – 7.59 (m, 12H, H-30, H-31, H-32, H-33, H-34, H-35, H-38, H-39, H-40, H-41, H-42, H-43), 7.10 – 6.98 (m, 16H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19, H-50, H-52, H-55, H-57, H-60, H-62, H-65, H-67), 6.76 (m, 8H, H-1, H-10, H-11, H-20, H-49, H-58, H-59, H-68), 4.51 (s, 4H, H-26, H-47), 4.28 (m, 8H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-53, H-54, H-63, H-64), 4.14 (s, 4H, H-25, H-48), 4.05 (m, 8H, H-3, H-8, H-13, H-18, H-51, H-56, H-61, H-66), 2.89 (s, 3H, H-36), 2.72 (s, 3H, H-37), 2.29 – 2.12 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-69, H-70, H-71, H-72).ppm

<sup>31</sup>P-NMR (243 MHz, Dimethylsulfoxid-d<sub>6</sub>): δ = -1.17, -5.39 ppm

HR ESI-MS: [M-H<sup>+</sup>]<sup>2+</sup> Berechnet: 1058,7989 g/mol, gefunden: 1058,7990 g/mol

Ausbeute: 3,8 mg (1,82 μM, 29 %)

TWAB1



Chemical Formula: C<sub>104</sub>H<sub>80</sub>N<sub>8</sub>O<sub>16</sub>P<sub>4</sub>  
 Molecular Weight: 1821,72

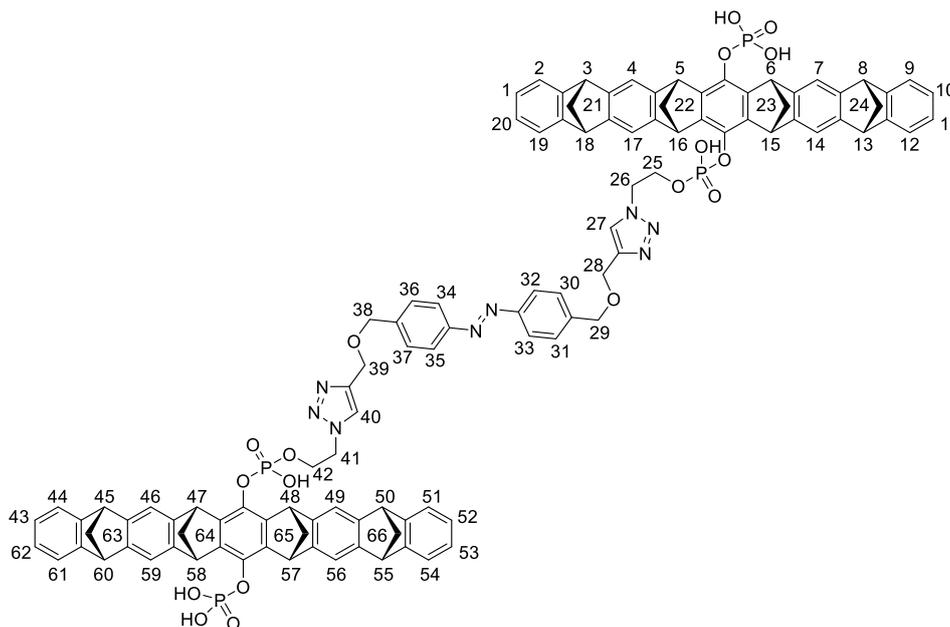
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, Dimethylsulfoxid-d<sub>6</sub>): δ = 8.87 (s, 2H, H-27, H-36), 8.14 (m, 2H, H-28, H-29), 8.03 (m, 2H, H-34, H-35), 7.95 (s, 2H, H-30, H-33), 7.93 – 7.90 (m, 1H, H-31), 7.71 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-32), 7.18 – 7.00 (m, 16H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19, H-40, H-42, H-45, H-47, H-50, H-52, H-55, H-57), 6.77 (m, 8H, H-1, H-10, H-11, H-20, H-39, H-48, H-49, H-58), 4.63 (s, 2H, H-26,), 4.48 (s, 2H, H-37), 4.31 (m, 8H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-43, H-44, H-53, H-54), 4.23 (s, 2H, H-25, H-38), 4.10 – 4.01 (m, 8H, H-3, H-8, H-13, H-18, H-41, H-46, H-51, H-56), 2.32 – 2.13 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-59, H-60, H-61, H-62) ppm

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, Dimethylsulfoxid-d<sub>6</sub>): δ = 162.30, 150.27, 146.91, 146.85, 146.76, 146.65, 141.29, 140.95, 133.01, 126.11, 124.43, 123.42, 122.99, 121.45, 116.77, 67.79, 50.28, 48.00, 47.88, 40.06, 35.78, 30.77 ppm

**HR ESI-MS:** [M-H]<sup>2+</sup> Berechnet: 911,7410 g/mol, gefunden: 911,7384 g/mol

**Ausbeute:** 4,8 mg (2,63 μM, 42 %)

## TWAB2



Chemical Formula:  $C_{108}H_{88}N_8O_{18}P_4$   
Molecular Weight: 1909,83

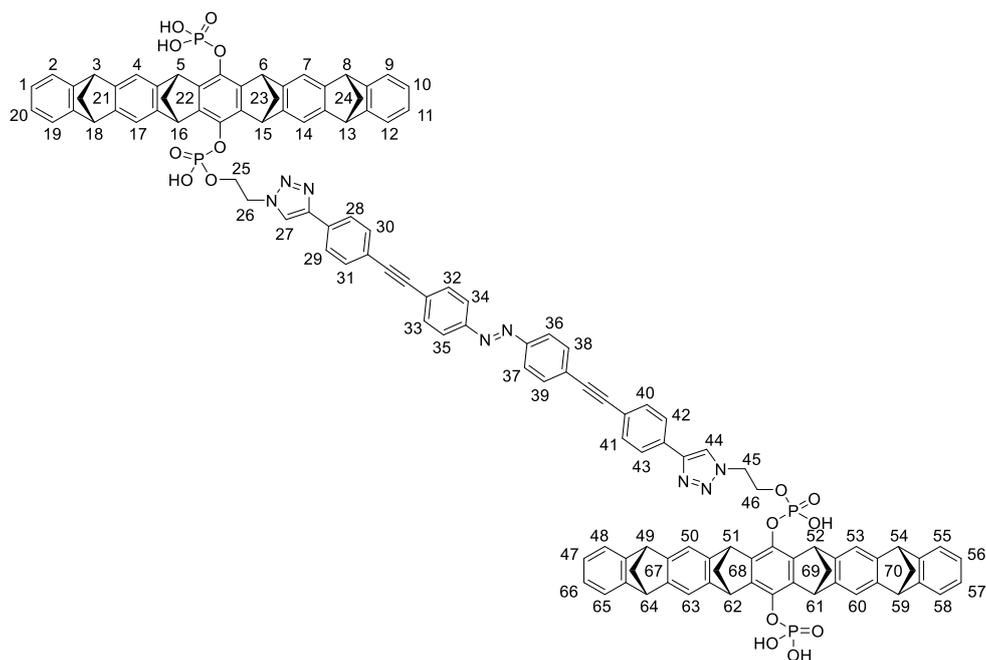
**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta = 8.44 - 8.07$  (m, 2H, H-27, H-40),  $8.03 - 7.42$  (m, 8H, H-30, H-31, H-32, H-33, H-34, H-35, H-36, H-37),  $7.22 - 6.93$  (m, 16H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19, H-44, H-46, H-49, H-51, H-54, H-56, H-59, H-61),  $6.77$  (m, 8H, H-1, H-10, H-11, H-20, H-43, H-52, H-53, H-62),  $4.71 - 4.49$  (m, 8H, H-28, H-29, H-38, H-39),  $4.32$  (m, 4H, H-5, H-6, H-57, H-58),  $4.27 - 4.21$  (m, 4H, H-15, H-16, H-47, H-48),  $4.12 - 4.01$  (m, 8H, H-3, H-8, H-13, H-18, H-45, H-50, H-55, H-60),  $2.34 - 2.12$  (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-63, H-64, H-65, H-66) ppm

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (151 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta = 151.26, 150.29, 147.46, 146.97, 146.94, 146.91, 146.87, 146.78, 146.70, 146.66, 143.89, 141.90, 141.75, 141.62, 141.30, 140.98, 140.18, 136.62, 136.30, 135.99, 128.58, 128.37, 127.13, 124.59, 124.53, 124.46, 122.58, 122.55, 122.50, 122.44, 121.51, 121.47, 121.37, 119.91, 116.83, 116.78, 116.58, 116.19, 116.13, 70.71, 70.66, 69.09, 68.99, 68.21, 67.80, 65.01, 63.16, 62.45, 57.68, 53.55, 50.30, 50.25, 49.97, 48.01, 47.92, 47.83, 47.72, 46.76, 46.70, 40.06, 18.08, 13.97, 1.15$  ppm

**HR ESI-MS:**  $[\text{M-H}^+]$  Berechnet: 1910,5272 g/mol, gefunden: 1910,5244 g/mol

**Ausbeute:** 4,43 mg (2,32  $\mu\text{M}$ , 37 %)

TWAB3



Chemical Formula:  $C_{120}H_{88}N_8O_{16}P_4$   
 Molecular Weight: 2021,96

**$^1H$ -NMR** (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 8.82 (s, 2H, H-27, H-44), 8.47 – 7.15 (m, 16H, H-28, H-29, H-30, H-31, H-32, H-33, H-34, H-35, H-36, H-37, H-38, H-39, H-40, H-41, H-42, H-43), 7.13 – 6.69 (m, 24H, H-1, H-2, H-4, H-7, H-9, H-10, H-11, H-12, H-14, H-17, H-19, H-20, H-47, H-48, H-50, H-53, H-55, H-56, H-57, H-58, H-59, H-60, H-63, H-65, H-66), 4.81 – 4.59 (m, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18), 4.39 – 4.19 (m, 8H, H-26, H-45, H-49, H-54, H-59, H-64), 4.13 – 3.99 (m, 8H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-51, H-52, H-61, H-62), 3.20 – 3.10 (m, 4H, H-25, H-46), 2.34 – 2.07 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-67, H-68, H-69, H-70) ppm

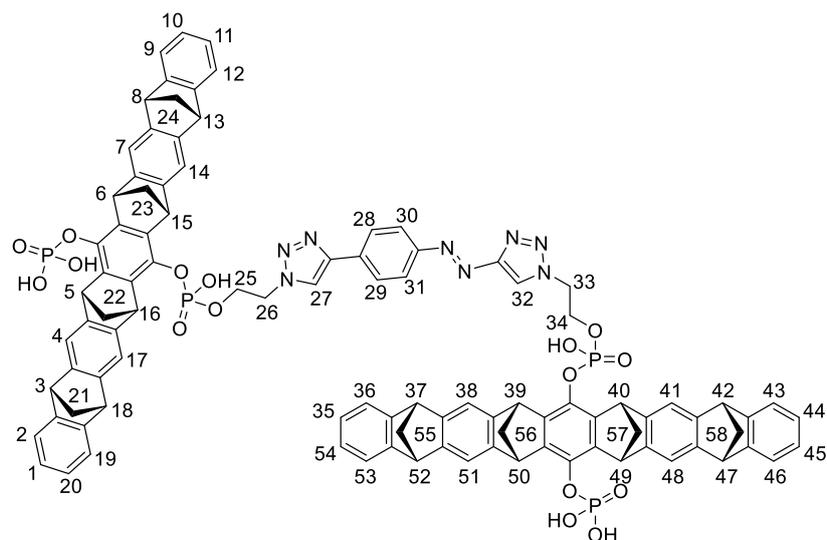
**$^{13}C$ -NMR** (151 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = 150.29, 146.83, 141.29, 141.00, 136.30, 132.64, 132.22, 131.45, 125.42, 124.45, 123.14, 121.45, 121.34, 116.77, 69.07, 67.78, 57.50, 50.29, 48.00, 40.06, 23.05, 19.21, 13.49 ppm

**$^{31}P$ -NMR** (243 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta$  = -5.05, -5.36 ppm

**HR ESI-MS:**  $[M-H^+]^{2+}$  Berechnet: 1011,7723 g/mol, gefunden: 1011,7703 g/mol

**Ausbeute:** 2,66 mg (1,31  $\mu$ M, 21 %)

## TWAAT



Chemical Formula:  $C_{98}H_{76}N_8O_{16}P_4$   
 Molecular Weight: 1745,62

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta = 8.74 - 8.29$  (m, 2H, H-27, H32),  $7.23 - 6.95$  (m, 16H, H-2, H-4, H-7, H-9, H-12, H-14, H-17, H-19, H-36, H-38, H-41, H-43, H-46, H-48, H-51, H-53),  $6.86 - 6.67$  (m, 8H, H-1, H-10, H-11, H-20, H-35, H-44, H-45, H-54),  $4.30$  (m, 7H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-39, H-40, H-49, H-50),  $4.13 - 4.00$  (m, 8H, H-3, H-8, H-13, H-18, H-37, H-42, H-47, H-52),  $3.64 - 3.56$  (m, 4H, H-26, H-33),  $3.16$  (s, 4H, H-25, H-34),  $2.36 - 1.91$  (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-55, H-56, H-57, H-58) ppm

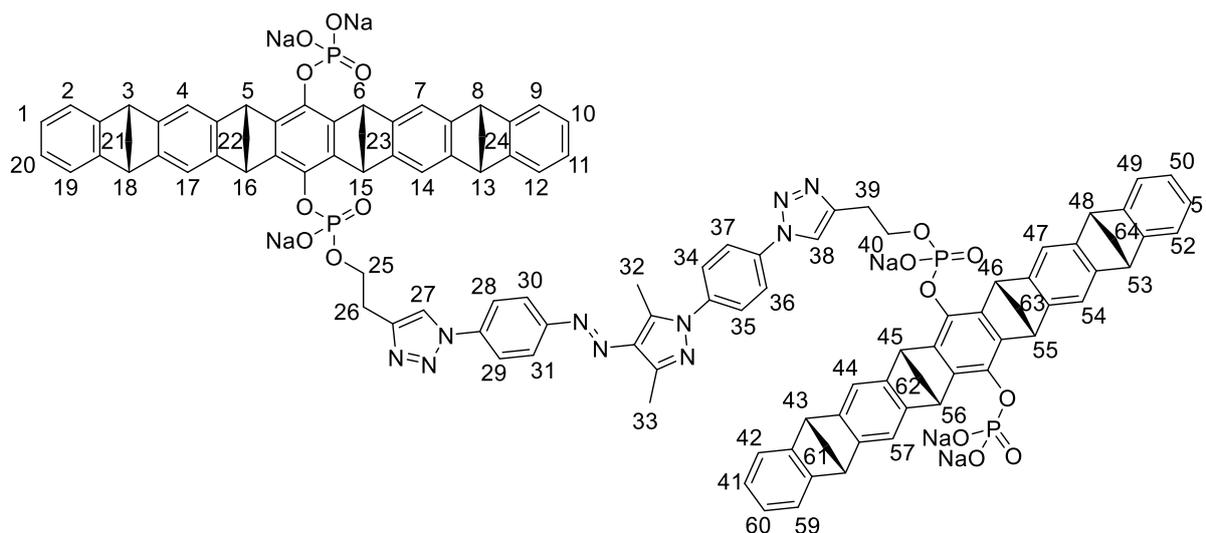
$^{31}\text{P-NMR}$  (243 MHz, Dimethylsulfoxid- $d_6$ ):  $\delta = 1.06, 0.95, -3.45, -4.1$  ppm

**HR ESI-MS:**  $[M-H]^+^{2+}$  Berechnet: 873,7254 g/mol, gefunden: 873,7238 g/mol

**Ausbeute:** 3,28 mg (1,88  $\mu\text{M}$ , 30 %)

Zur Deprotonierung wurde die jeweilige photoschaltbare Pinzette in einer Wasser/THF-Mischung (1:1) vorgelegt und mit 1 M NaOH (1.1 Äq. pro Säureeinheit) versetzt. Die Lösung wurde immer eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wurde das THF entfernt und das Wasser lyophilisiert. Das Produkt wurde als weißer Feststoff in der Natriumsalz-Form (quantitativ) erhalten.

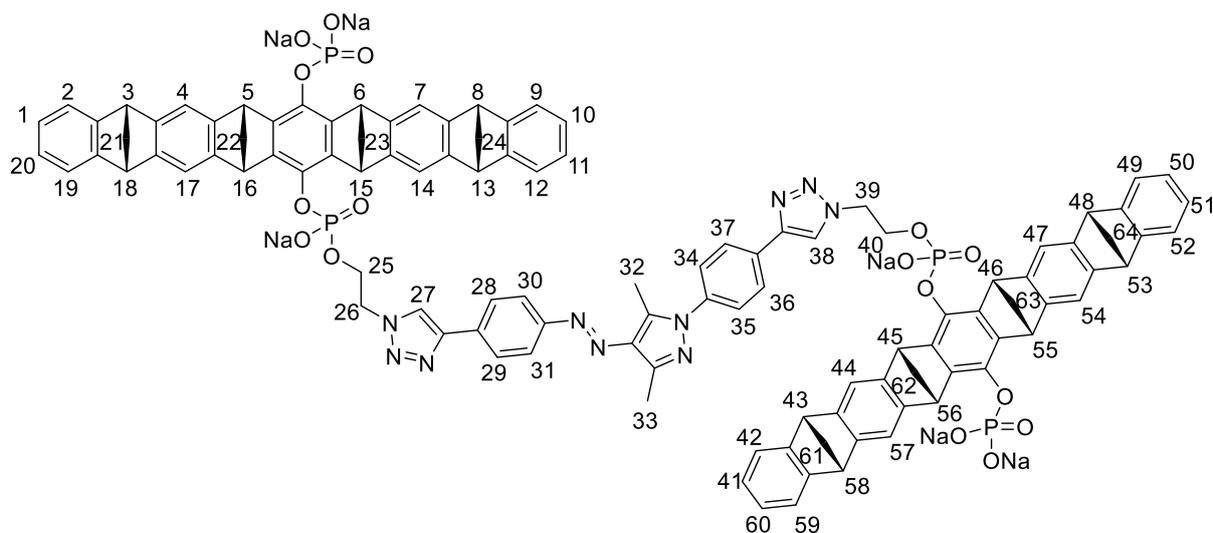
TWAAPO



Chemical Formula:  $C_{109}H_{80}N_{10}Na_6O_{16}P_4$   
 Molecular Weight: 2047,73

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 8.65 (s, 2H, H-27, H-38), 8.19 – 7.87 (m, 5H, H-28, H-29, H-36, H-37, H-30), 7.85 – 7.69 (m, 3H, H-31, H-34, H-35), 7.24 – 6.71 (m, 24H, H-1, H-2, H-4, H-7, H-9, H-10, H-11, H-12, H-14, H-17, H-19, H-20, H-42, H-44, H-47, H-49, H-52, H-54, H-57, H-59), 4.51 – 4.41 (m, 8H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-45, H-46, H-55, H-56), 4.03 – 3.90 (m, 8H, H-26, H-39), 3.69 – 3.60 (m, 8H, H-3, H-8, H-13, H-18, H-43, H-48, H-53, H-58), 2.85 – 2.70 (m, 3H, H-32), 2.66 – 2.58 (m, 3H, H-33), 2.40 – 2.16 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-61, H-62, H-63, H-64).ppm

$^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 127.49, 125.97, 125.89, 124.62, 122.87, 122.80, 122.56, 122.43, 122.37, 122.14, 118.26, 117.81, 117.49, 117.47, 117.15, 68.76, 68.61, 68.47, 68.36, 68.20, 68.05, 52.68, 52.66, 50.15, 50.10, 50.02, 49.93, 49.87, 49.67, 49.53, 49.37, 49.23, 49.08, 48.93, 26.21, 26.08, 25.94, 25.56, 14.80, 11.78 ppm

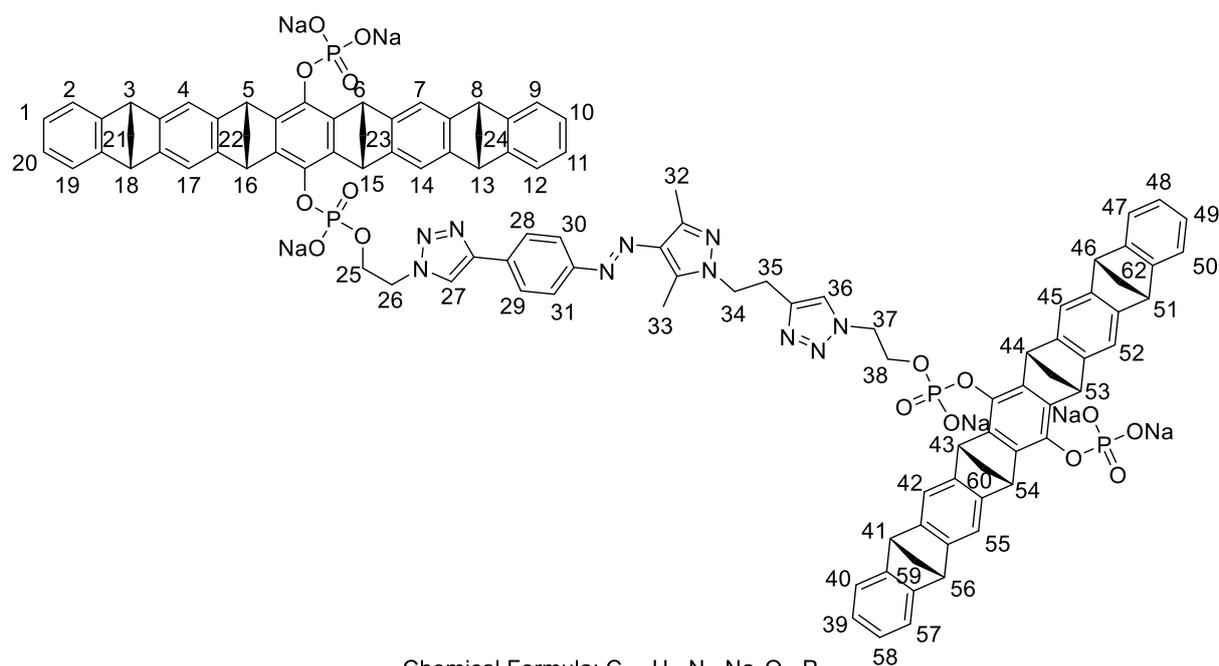
TWAAP1

Chemical Formula:  $C_{109}H_{80}N_{10}Na_6O_{16}P_4$   
 Molecular Weight: 2047,73

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 8.70 – 8.62 (m, 2H), 8.27 – 8.22 (m, 1H), 8.16 (td,  $J$  = 7.0, 3.1 Hz, 2H), 8.02 – 7.96 (m, 2H), 7.75 – 7.68 (m, 2H), 7.37 – 6.65 (m, 24H), 4.86 (d,  $J$  = 4.7 Hz, 7H), 4.72 (s, 4H), 4.43 (d,  $J$  = 10.5 Hz, 3H), 4.04 – 3.93 (m, 8H), 2.78 (s, 2H), 2.64 (s, 3H), 2.52 – 2.17 (m, 17H) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 170.34, 161.51, 154.58, 152.27, 152.06, 150.09, 149.95, 149.93, 148.44, 148.04, 147.95, 147.53, 144.97, 143.57, 141.62, 139.72, 138.22, 137.30, 134.11, 133.91, 133.51, 132.47, 127.85, 127.60, 126.83, 126.17, 126.14, 125.85, 123.94, 123.86, 123.64, 122.98, 122.09, 117.93, 117.90, 117.32, 69.41, 68.95, 65.40, 52.42, 52.35, 51.39, 49.86, 49.81, 49.58, 39.70, 39.55, 39.41, 39.28, 30.79, 30.34, 28.13, 14.44, 14.23, 11.41 ppm

TWAAP2

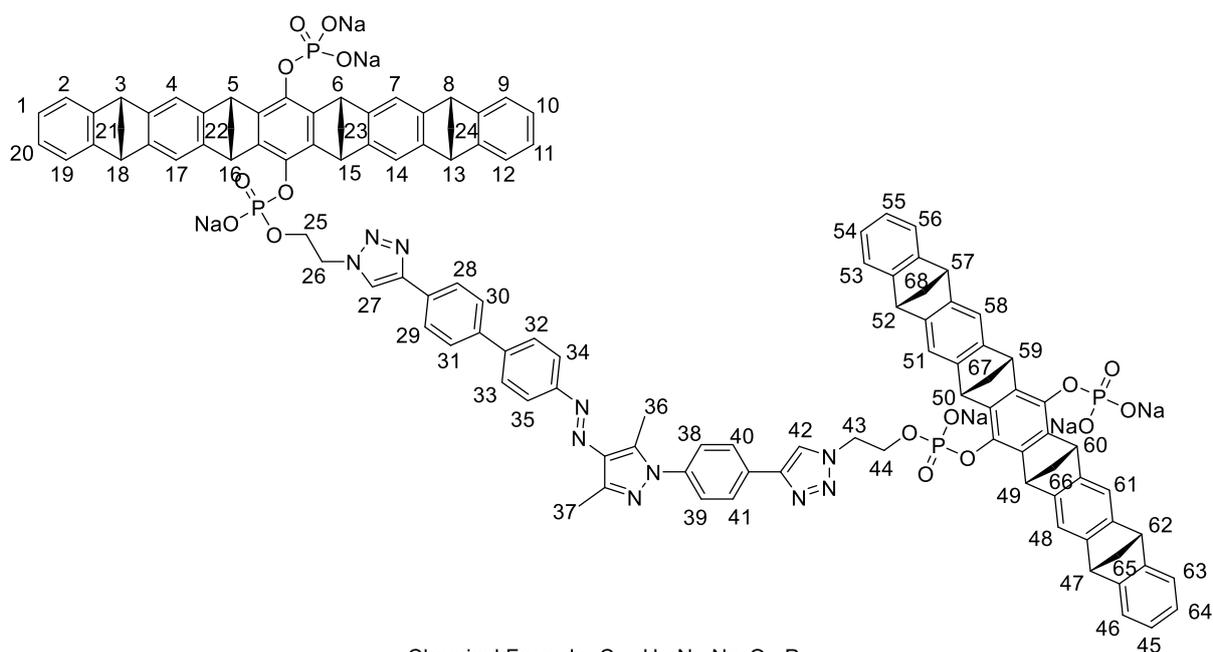


Chemical Formula:  $C_{105}H_{80}N_{10}Na_6O_{16}P_4$   
 Molecular Weight: 1999,68

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 8.58 (d,  $J$  = 35.4 Hz, 1H), 8.17 (d,  $J$  = 4.1 Hz, 1H), 8.12 – 8.05 (m, 1H), 7.93 – 7.82 (m, 1H), 7.32 (d,  $J$  = 3.4 Hz, 1H), 7.29 – 6.46 (m, 24H), 5.57 – 5.32 (m, 2H), 4.87 – 4.78 (m, 8H), 4.66 (d,  $J$  = 66.7 Hz, 3H), 4.48 – 4.34 (m, 3H), 4.02 – 3.90 (m, 7H), 2.89 (s, 2H), 2.48 (s, 3H), 2.46 – 2.16 (m, 16H) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 170.50, 161.64, 154.74, 152.37, 152.35, 152.33, 152.18, 152.11, 150.52, 150.18, 150.08, 150.03, 148.61, 148.57, 148.46, 148.40, 148.23, 148.12, 148.07, 144.05, 143.71, 142.97, 141.76, 141.65, 141.20, 138.35, 136.85, 136.80, 133.26, 131.01, 127.64, 126.28, 126.19, 126.03, 125.98, 125.95, 125.92, 123.90, 123.61, 122.24, 122.20, 122.13, 122.10, 122.05, 118.09, 118.00, 117.44, 117.37, 117.20, 116.69, 69.55, 69.36, 69.14, 69.10, 65.56, 65.39, 52.55, 52.47, 52.34, 51.57, 51.24, 50.00, 49.93, 49.82, 49.72, 49.68, 45.37, 39.98, 39.84, 39.70, 39.56, 39.42, 36.69, 33.21, 30.93, 30.74, 30.64, 30.59, 30.48, 30.45, 28.27, 27.06, 23.88, 14.59, 14.47, 10.45 ppm

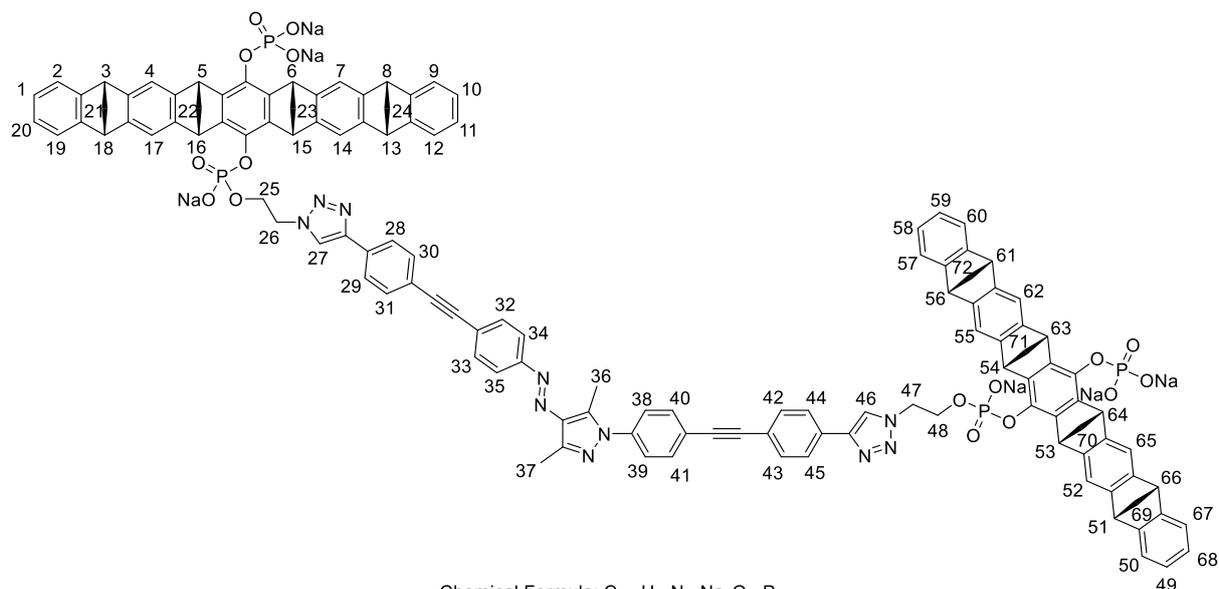
## TWAAP3



$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 8.71 – 8.53 (m, 2H), 8.25 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 8.17 – 8.10 (m, 1H), 8.00 – 7.94 (m, 2H), 7.93 – 7.80 (m, 4H), 7.77 – 7.68 (m, 2H), 7.37 – 6.65 (m, 24H), 4.86 – 4.80 (m, 8H), 4.75 (s, 3H), 4.49 – 4.35 (m, 4H), 4.04 – 3.92 (m, 8H), 2.81 – 2.74 (m, 3H), 2.63 (d,  $J$  = 2.8 Hz, 3H), 2.52 – 2.17 (m, 17H) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 161.65, 154.35, 152.42, 152.36, 152.19, 150.65, 150.31, 150.17, 148.57, 148.37, 148.15, 148.03, 147.65, 145.08, 143.76, 141.67, 139.86, 138.29, 137.44, 132.63, 128.73, 128.69, 128.00, 127.66, 126.97, 126.33, 125.97, 124.10, 123.73, 122.23, 122.04, 118.12, 117.38, 117.12, 69.58, 69.09, 65.54, 52.57, 52.50, 50.00, 49.97, 49.82, 49.72, 49.70, 30.93, 30.48, 28.27, 23.88, 14.34, 11.53 ppm

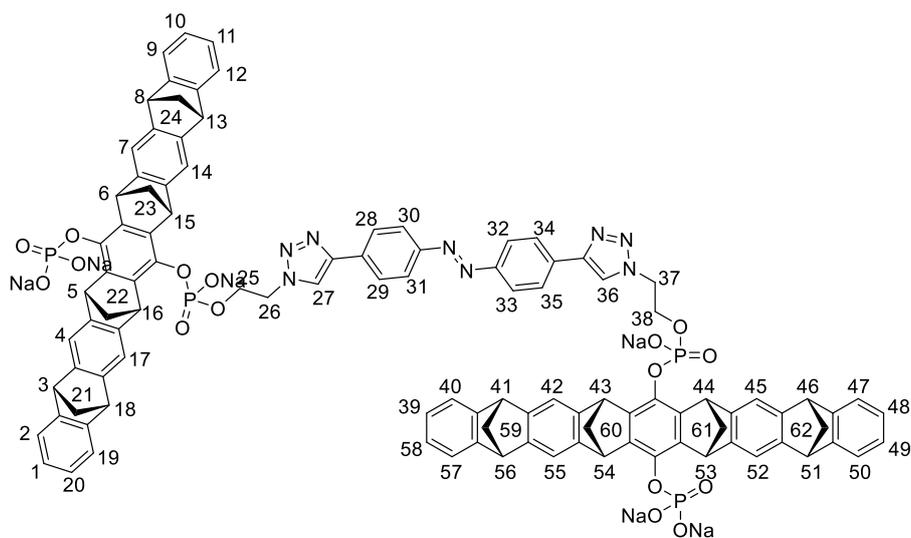
TWAAP4



$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 8.73 – 8.42 (m, 2H, H-27, H-47), 8.12 – 7.19 (m, 16H, H-28, H-29, H-30, H-31, H-32, H-33, H-34, H-35, H-38, H-39, H-40, H-41, H-42, H-43, H-44, H-45), 7.17 – 6.63 (m, 24H, H-1, H-2, H-4, H-7, H-9, H-10, H-11, H-12, H-14, H-17, H-19, H-20, H-49, H-50, H-52, H-55, H-57, H-58, H-59, H-60, H-62, H-65, H-67, H-68), 4.75 – 4.57 (m, 4H, H-26, H-47), 4.50 – 4.36 (m, 4H, H-25, H-48), 4.04 – 3.94 (m, 8H, H-3, H-8, H-13, H-18, H-51, H-56, H-61, H-66), 2.59 (s, 3H, H-36), 2.49 (s, 3H, H-37), 2.27 – 2.00 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-69, H-70, H-71, H-72). ppm

$^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 176.83, 170.48, 161.64, 152.76, 150.81, 148.67, 143.64, 142.84, 138.81, 137.63, 133.87, 130.98, 125.98, 124.01, 122.21, 118.24, 117.24, 73.99, 69.14, 66.48, 64.55, 63.46, 61.79, 52.56, 52.50, 49.30, 49.27, 43.06, 37.27, 33.22, 30.93, 30.91, 30.87, 30.77, 30.62, 30.60, 30.46, 30.38, 27.15, 23.88, 14.59.ppm

## TWAB1



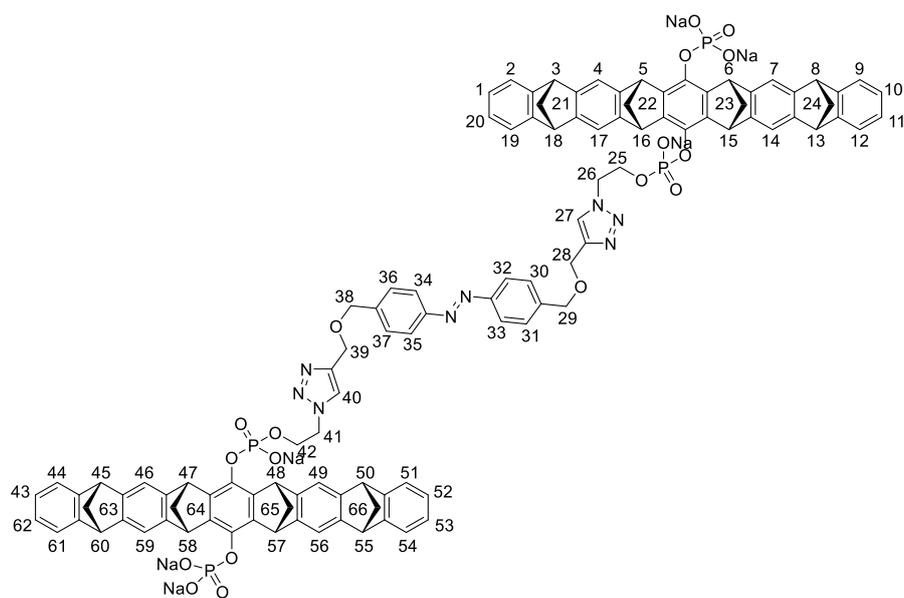
Chemical Formula:  $C_{104}H_{74}N_8Na_6O_{16}P_4$   
 Molecular Weight: 1953,61

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 8.72 – 8.53 (m, 2H, H-27, H-36), 8.27 – 8.04 (m, 4H, H-28, H-29, H-34, H-35), 7.93 – 7.63 (m, 2H, H-30, H-32), 7.38 – 7.26 (m, 2H, H-31, H-33), 7.20 – 6.63 (m, 24H, H-1, H-2, H-4, H-7, H-9, H-10, H-11, H-12, H-14, H-17, H-19, H-20, H-39, H-40, H-42, H-45, H-47, H-48, H-49, H-50, H-52, H-54, H-57, H-58), 4.63 (s, 4H, H-26, H-37), 4.41 (m, 3H, H-25, H-38), 4.04 – 3.94 (m, 8H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-43, H-44, H-53, H-54), 3.70 – 3.56 (m, 8H, H-3, H-8, H-13, H-18, H-41, H-46, H-51, H-56), 2.45 – 2.10 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-59, H-60, H-61, H-62) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$  (151 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta$  = 134.20, 127.84, 126.33, 126.01, 125.98, 125.96, 125.89, 124.83, 124.32, 124.17, 122.25, 122.20, 122.15, 122.08, 122.05, 118.53, 118.11, 117.38, 117.17, 117.13, 116.88, 116.66, 69.70, 52.57, 52.54, 52.50, 50.00, 49.93, 49.87, 49.72, 49.63, 49.38, 49.24, 49.09, 49.06, 48.97, 48.93, 48.78, 48.61, 21.79 ppm

$^{31}\text{P-NMR}$  (243 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta$  = 2.64, 1.85, -4.45, -4.9 ppm

TWAB2



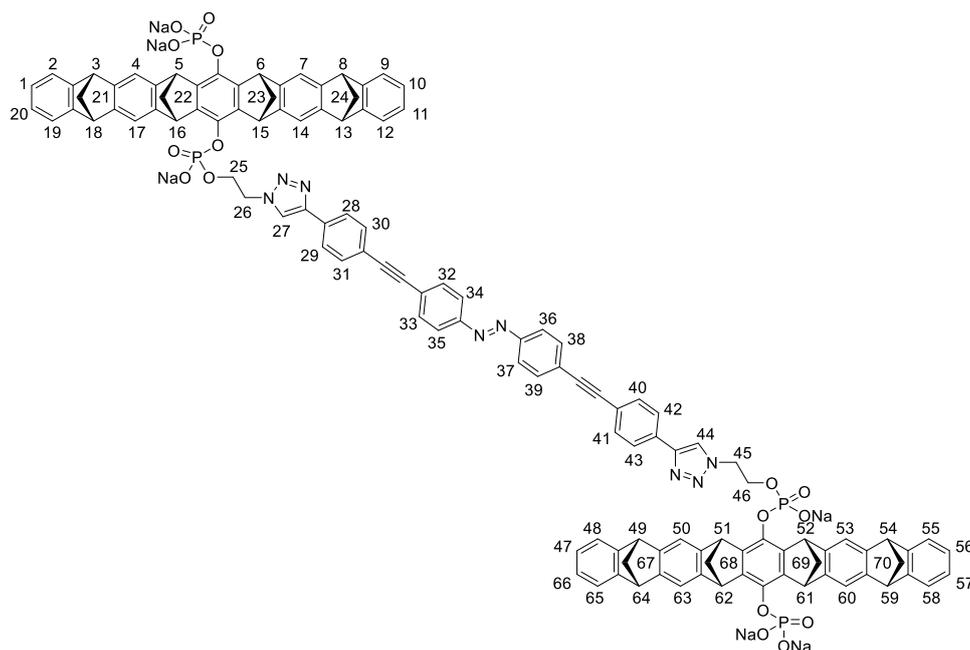
Chemical Formula: C<sub>108</sub>H<sub>82</sub>N<sub>8</sub>Na<sub>6</sub>O<sub>18</sub>P<sub>4</sub>  
 Molecular Weight: 2041,72

**<sup>1</sup>H-NMR** (600 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 8.27 – 7.97 (m, 2H, H-27, H-40), 7.94 – 7.24 (m, 8H, H-30, H-31, H-32, H-33, H-34, H-35, H-36, H-37), 7.23 – 6.61 (m, 24H, H-1, H-2, H-4, H-7, H-9, H-11, H-12, H-14, H-17, H-19, H-20, H-43, H-44, H-46, H-49, H-51, H-52, H-53, H-54, H-56, H-59, H-61, H-62), 4.85 – 4.76 (m, 8H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-47, H-48, H-57, H-58), 4.73 (m, 4H, H-29, H-38), 4.59 (s, 2H, H-28), 4.42 (s, 2H, H-39), 4.02 – 3.91 (m, 8H, H-3, H-8, H-13, H-18, H-45, H-50, H-55, H-60), 2.50 – 2.16 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-63, H-64, H-65, H-66) ppm

**<sup>13</sup>C-NMR** (151 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 162.5, 152.3, 150.1, 146.9, 141.5, 137.1, 135.8, 124.3, 121.1, 116.5, 67.8, 67.1, 64.0, 57.9, 50.4, 47.7, 29.4ppm

**<sup>31</sup>P-NMR** (243 MHz, MeOD-d<sub>4</sub>): δ = 1.67, 1.28, -4.73, -5.1 ppm

## TWAB3



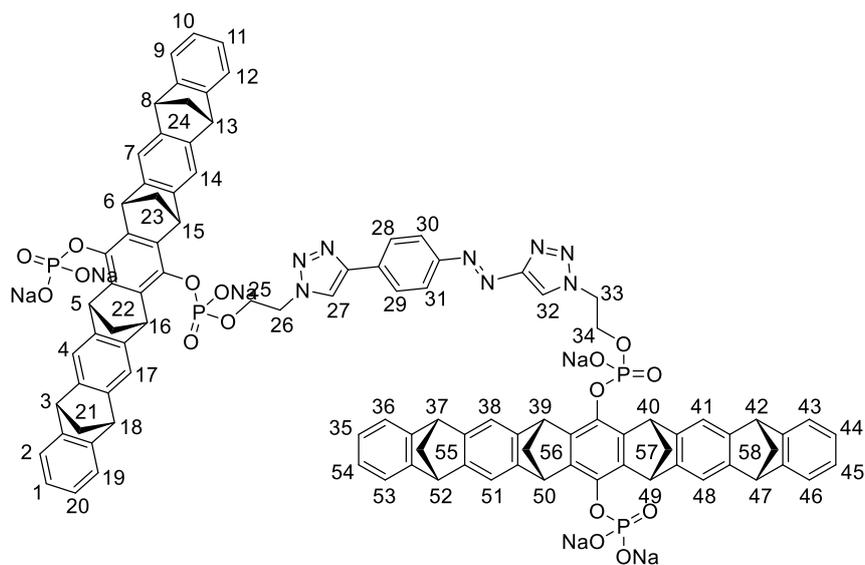
Chemical Formula:  $C_{120}H_{82}N_8Na_8O_{16}P_4$   
Molecular Weight: 2153,85

**$^1\text{H-NMR}$**  (600 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 8.75 - 8.44$  (m, 2H, H-27, H-44),  $8.13 - 7.17$  (m, 16H, H-28, H-29, H-30, H-31, H-32, H-33, H-34, H-35, H-36, H-37, H-38, H-39, H-40, H-41, H-42, H-43),  $7.15 - 6.69$  (m, 24H, H-1, H-2, H-4, H-7, H-9, H-10, H-11, H-12, H-14, H-17, H-19, H-20, H-47, H-48, H-50, H-53, H-55, H-56, H-57, H-58, H-59, H-60, H-63, H-65, H-66),  $4.81 - 4.59$  (m, 4H, H-3, H-8, H-13, H-18),  $4.49 - 4.31$  (m, 4H, H-49, H-54, H-59, H-64),  $4.17 - 3.88$  (m, 10H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-51, H-25, H-52, H-61, H-62),  $3.77 - 3.52$  (m, 2H, H-46),  $2.18 - 1.56$  (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-67, H-68, H-69, H-70) ppm

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (151 MHz, Methanol- $d_4$ ):  $\delta = 170.30, 161.50, 152.24, 152.16, 152.04, 150.55, 150.06, 148.17, 147.95, 147.83, 147.63, 142.65, 133.61, 133.34, 133.12, 133.06, 130.80, 130.03, 129.95, 127.02, 126.17, 125.81, 124.21, 122.08, 121.90, 118.38, 117.25, 116.99, 69.63, 69.43, 69.31, 69.08, 68.98, 68.86, 59.54, 57.76, 57.62, 57.48, 57.33, 57.19, 52.43, 52.36, 49.69, 49.57, 36.54, 30.76, 30.34, 28.13, 26.92, 26.50, 24.80, 23.74, 20.71, 17.54, 17.41, 17.29, 17.16, 17.03, 14.44, 13.92$ .ppm

**$^{31}\text{P-NMR}$**  (243 MHz, MeOD- $d_4$ ):  $\delta = 2.54, 1.87, -4.49, -5.04$ .ppm

TWAAT



Chemical Formula: C<sub>98</sub>H<sub>70</sub>N<sub>8</sub>Na<sub>6</sub>O<sub>16</sub>P<sub>4</sub>  
 Molecular Weight: 1877,51

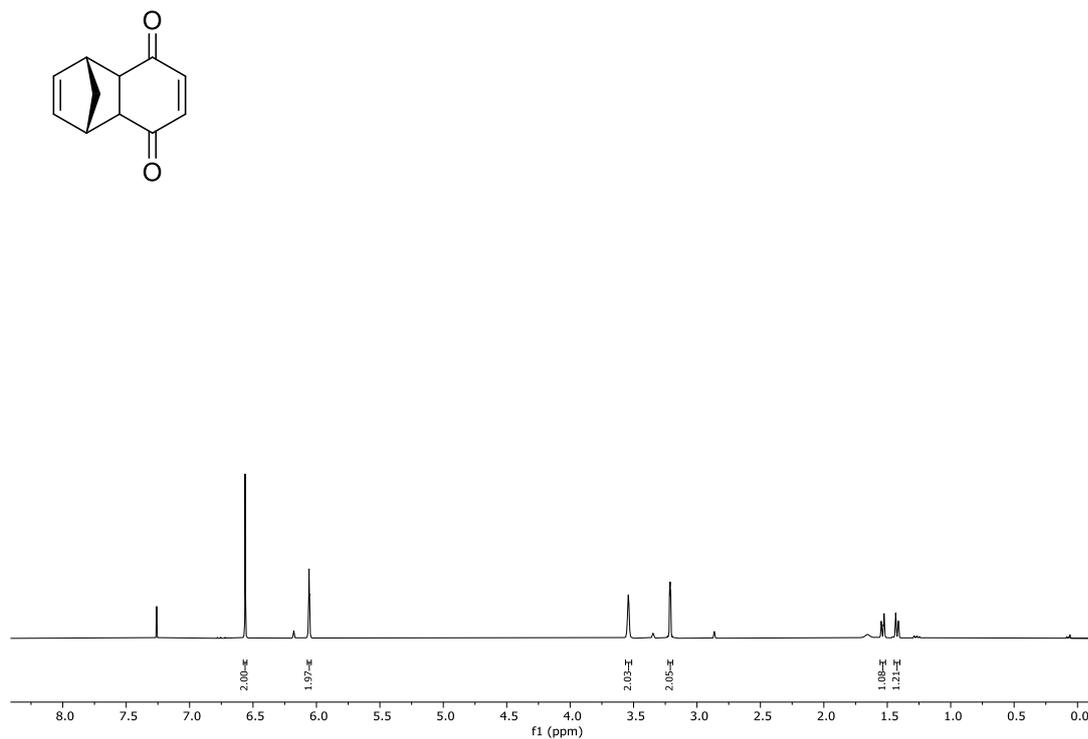
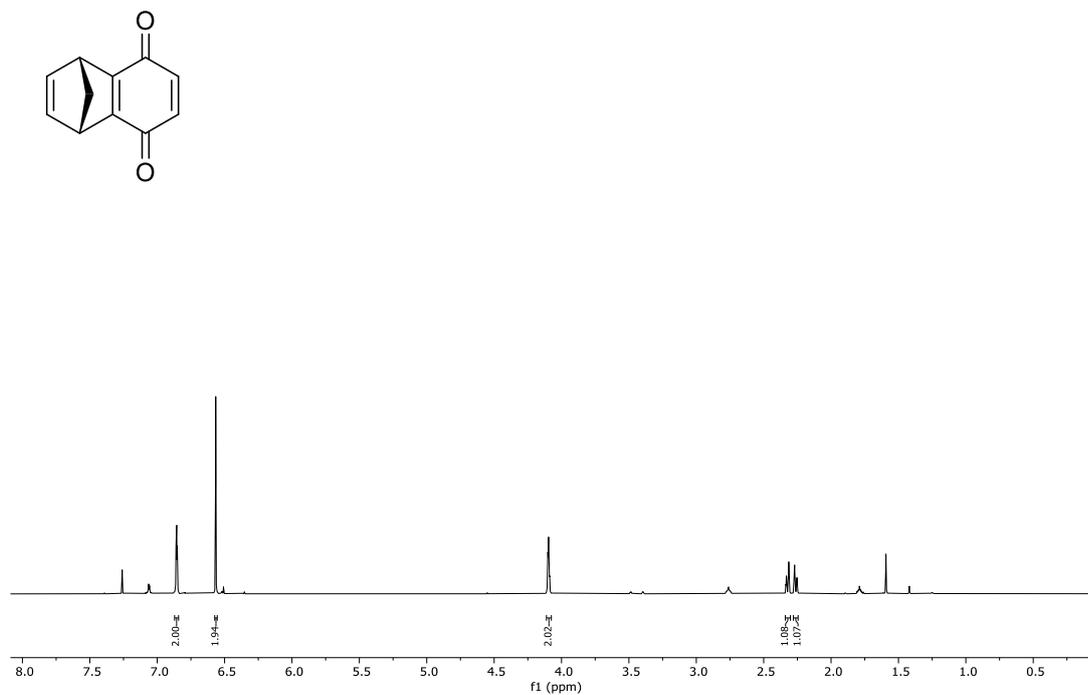
<sup>1</sup>H-NMR (600 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 8.43 (s, 2H, H-27, H-32) 7.37 – 6.81 (m, 24H, H-1, H-2, H-4, H-7, H-9, H-10, H-11, H-12, H-14, H-17, H-19, H-20, H-35, H-36, H-38, H-41, H-43, H-44, H-45, H-46, H-48, H-51, H-53, H-54), 4.53 (m, 12H, H-5, H-6, H-15, H-16, H-26, H-33, H-39, H-40, H-49, H-50), 4.17 (s, 12H, H-3, H-8, H-13, H-18, H-25, H-34, H-37, H-42, H-47, H-52), 2.43 – 2.16 (m, 16H, H-21, H-22, H-23, H-24, H-55, H-56, H-57, H-58) ppm

<sup>13</sup>C-NMR (151 MHz, Methanol-d<sub>4</sub>): δ = 125.11, 124.98, 121.30, 121.21, 117.61, 116.43, 116.05, 50.74, 48.22, 48.18 ppm





## 6 Appendix

Abbildung 80: <sup>1</sup>H-NMR von (1R,4S,4aR,8aS)-1,4,4a,8a-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen-5,8-dionAbbildung 81: <sup>1</sup>H-NMR von (1R,4S)-1,4-Dihydro-1,4-Methanonaphthalen-5,8-dion

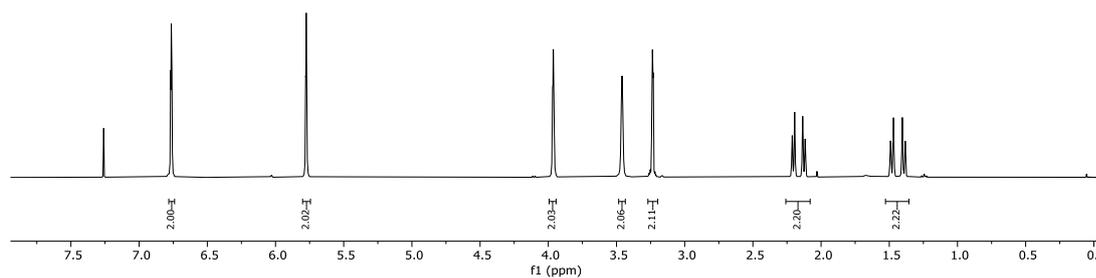
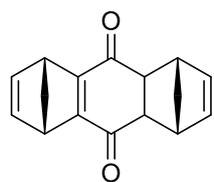


Abbildung 82:  $^1\text{H-NMR}$  von (1R,4S)-1,4-Dihydro-1,4-Methanonaphthalen-5,8-dion

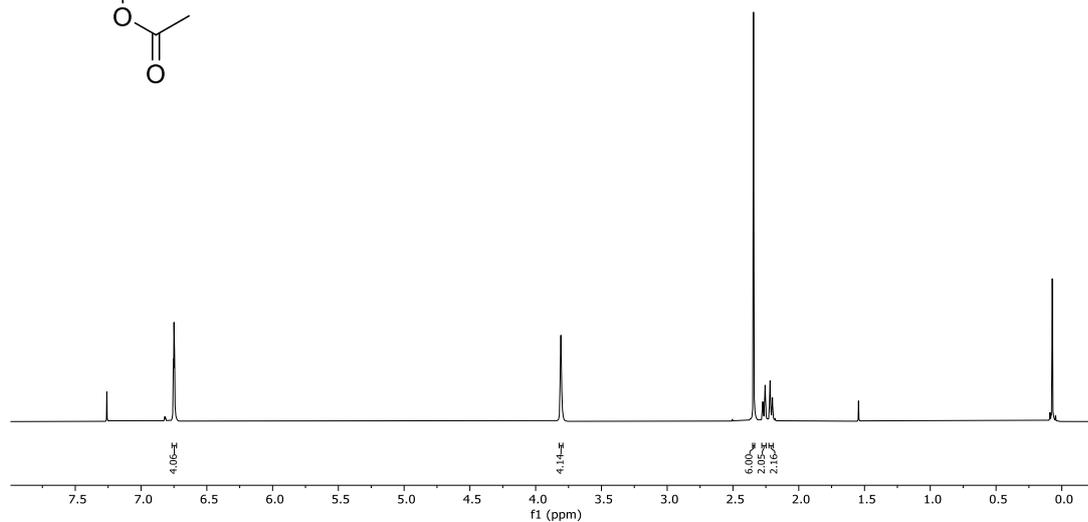
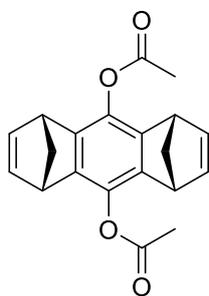


Abbildung 83:  $^1\text{H-NMR}$  von (1R,4S,5R,8S)-1,4,5,8-Tetrahydro-1,4:5,8-Dimethanoanthracen-9,10-diyl diacetat

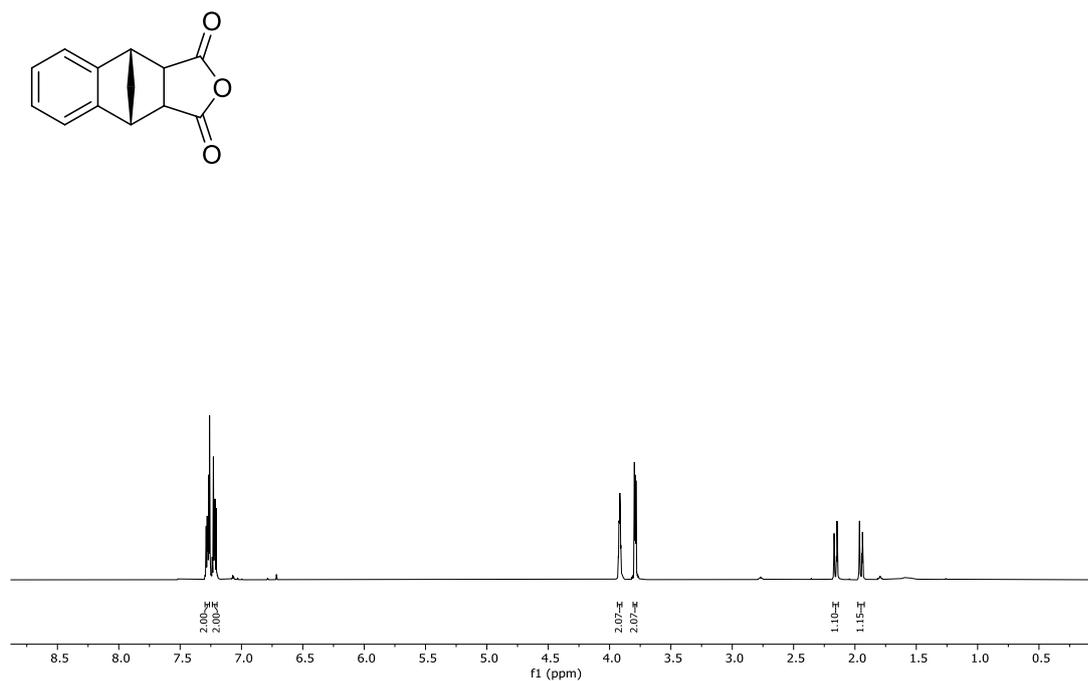


Abbildung 84: <sup>1</sup>H-NMR von 3a,4,9,9a-Tetrahydro-4,9-Methanonaphtho[2,3-c]furan-1,3-Dion 36

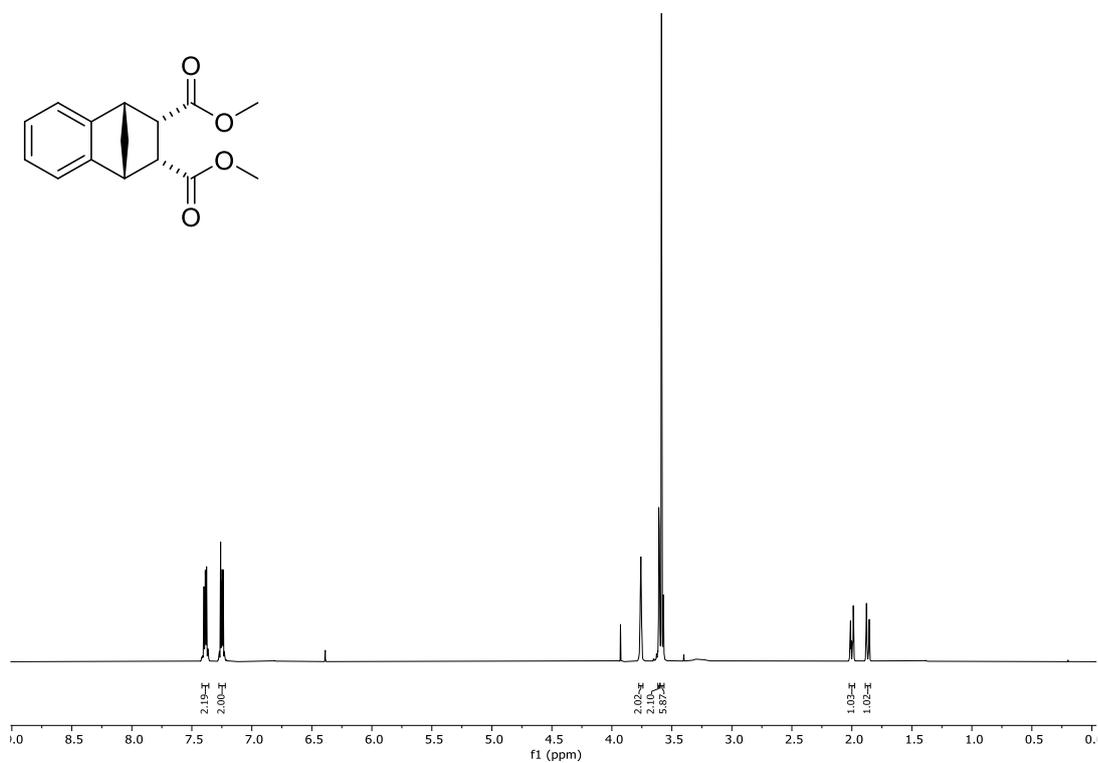


Abbildung 85: <sup>1</sup>H-NMR von Dimethyl (2R,3S)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen-2,3-Dicarboxylat

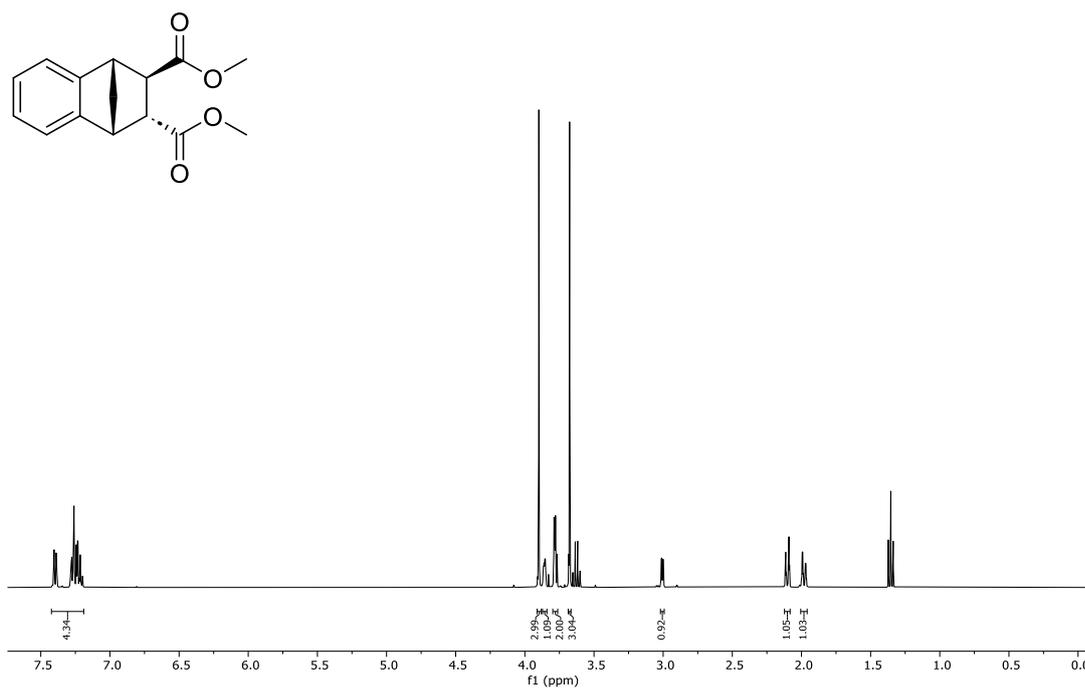


Abbildung 86: <sup>1</sup>H-NMR von Dimethyl (2R,3R)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen-2,3-dicarboxylat

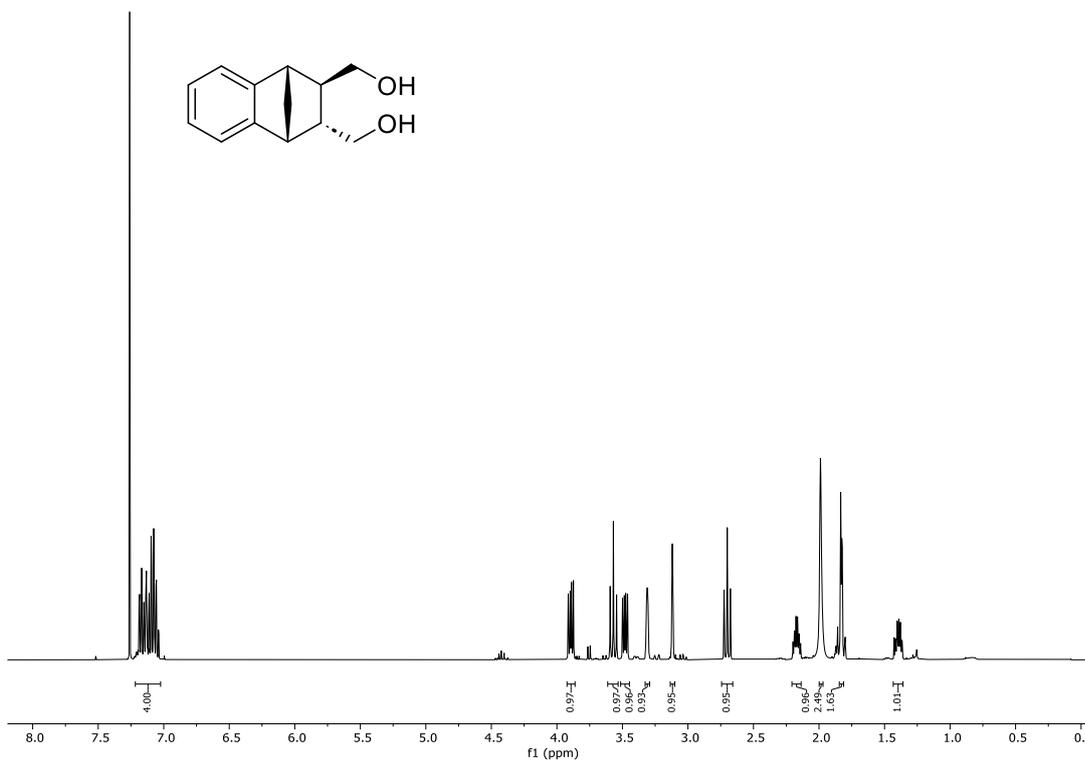


Abbildung 87: <sup>1</sup>H-NMR von ((2R,3R)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen-2,3-diol)dimethanol

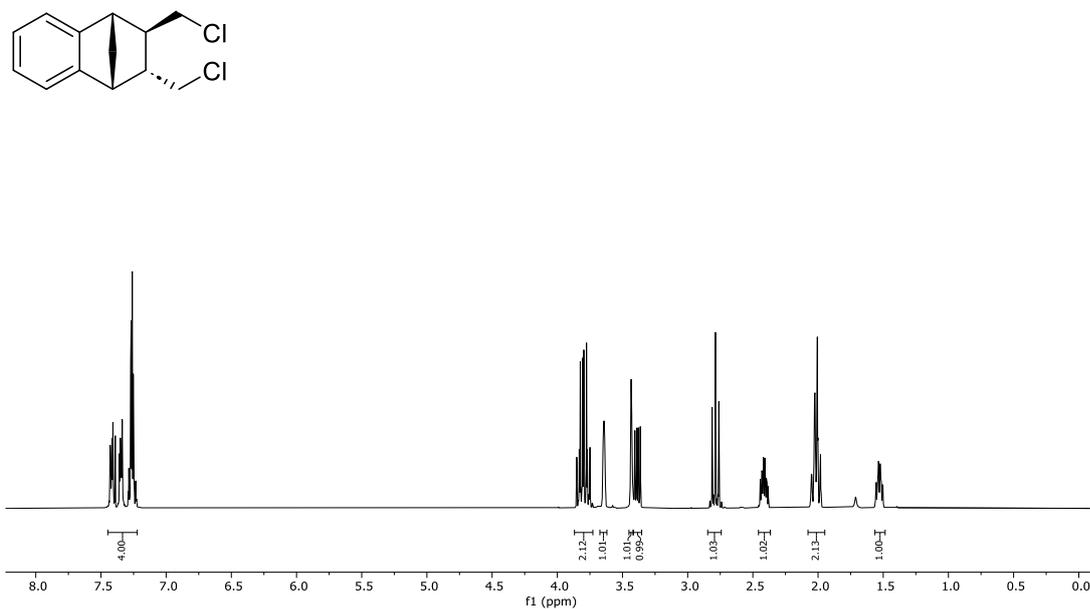


Abbildung 88: <sup>1</sup>H-NMR von (2R,3R)-2,3-Bis(chloromethyl)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen

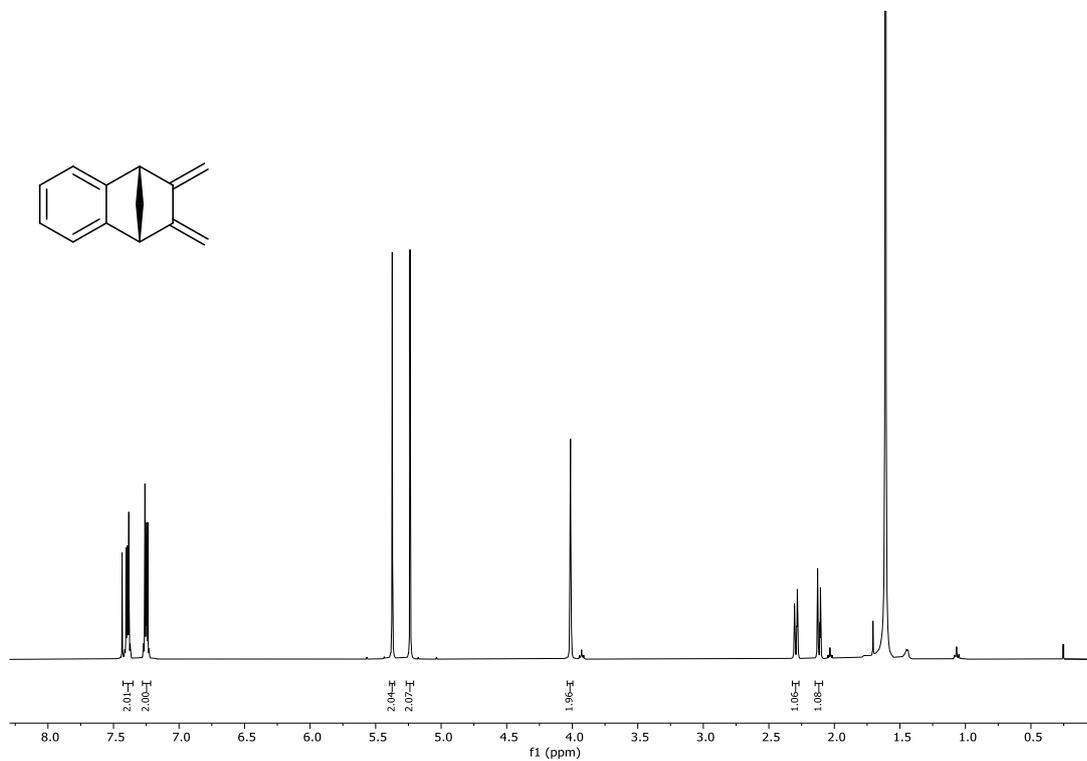


Abbildung 89: <sup>1</sup>H-NMR von 2,3-Dimethylene-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen

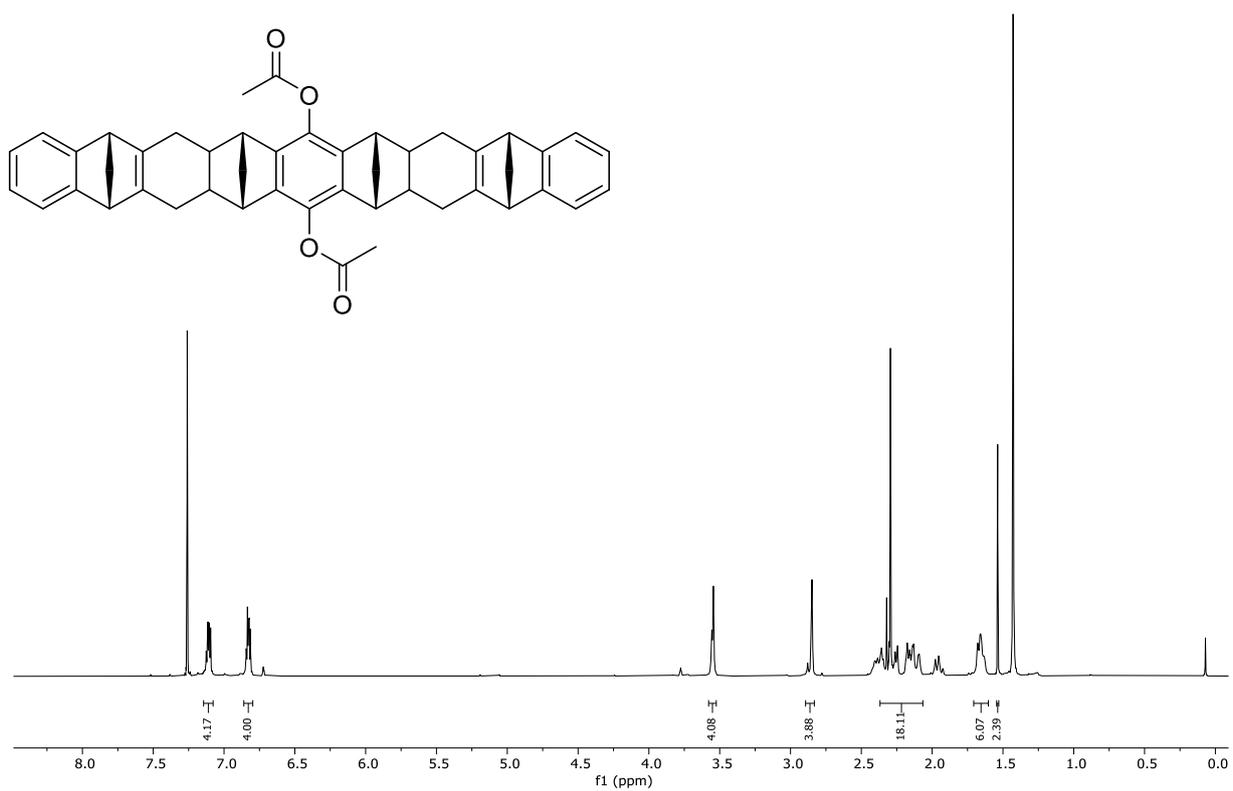
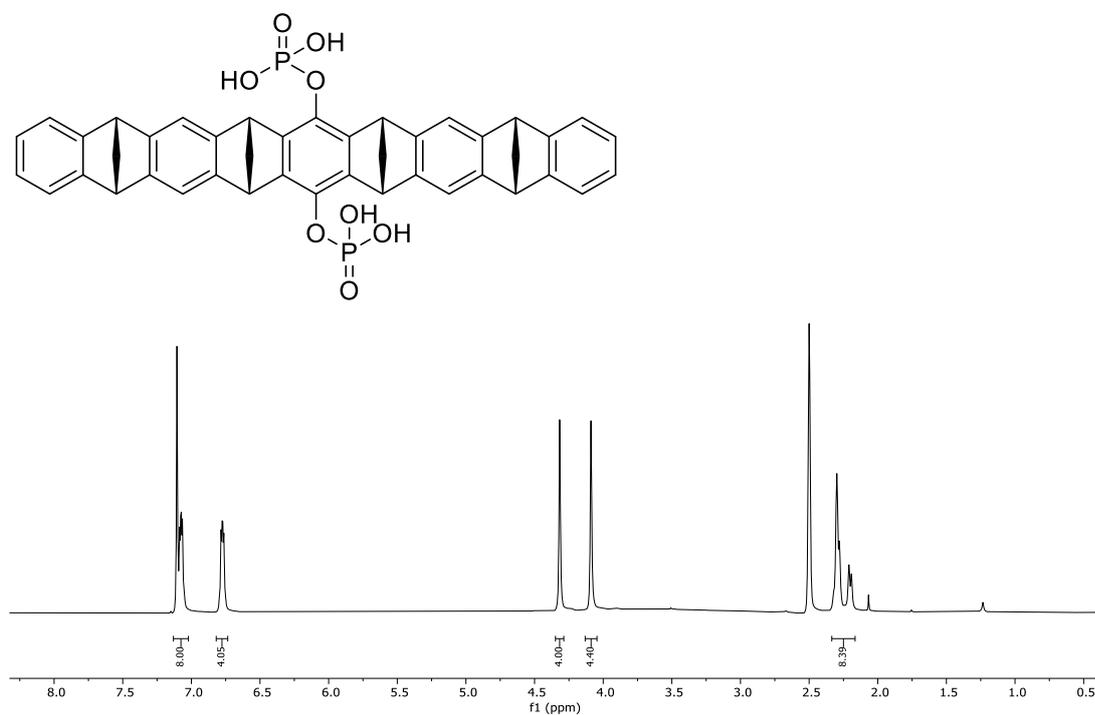


Abbildung 90: <sup>1</sup>H-NMR vom Diels-Alder-Addukt

Abbildung 91: <sup>1</sup>H-NMR von der DiacetoxyphenazineAbbildung 92: <sup>1</sup>H-NMR von CLR01

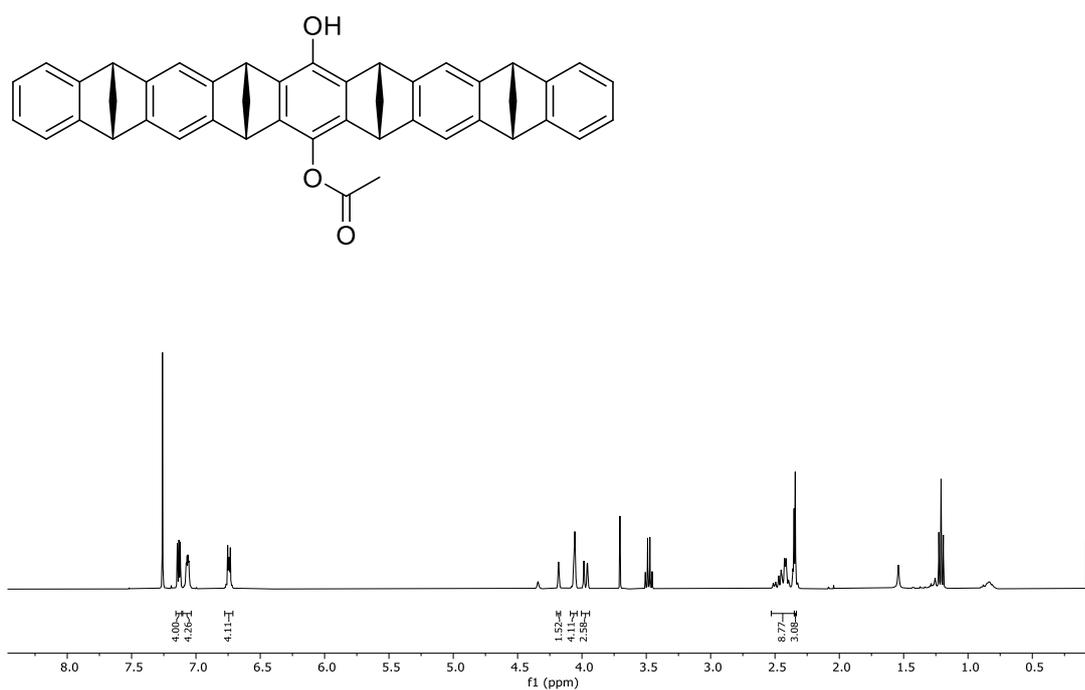


Abbildung 93: <sup>1</sup>H-NMR von Monoacetoxyhydroxypinazette

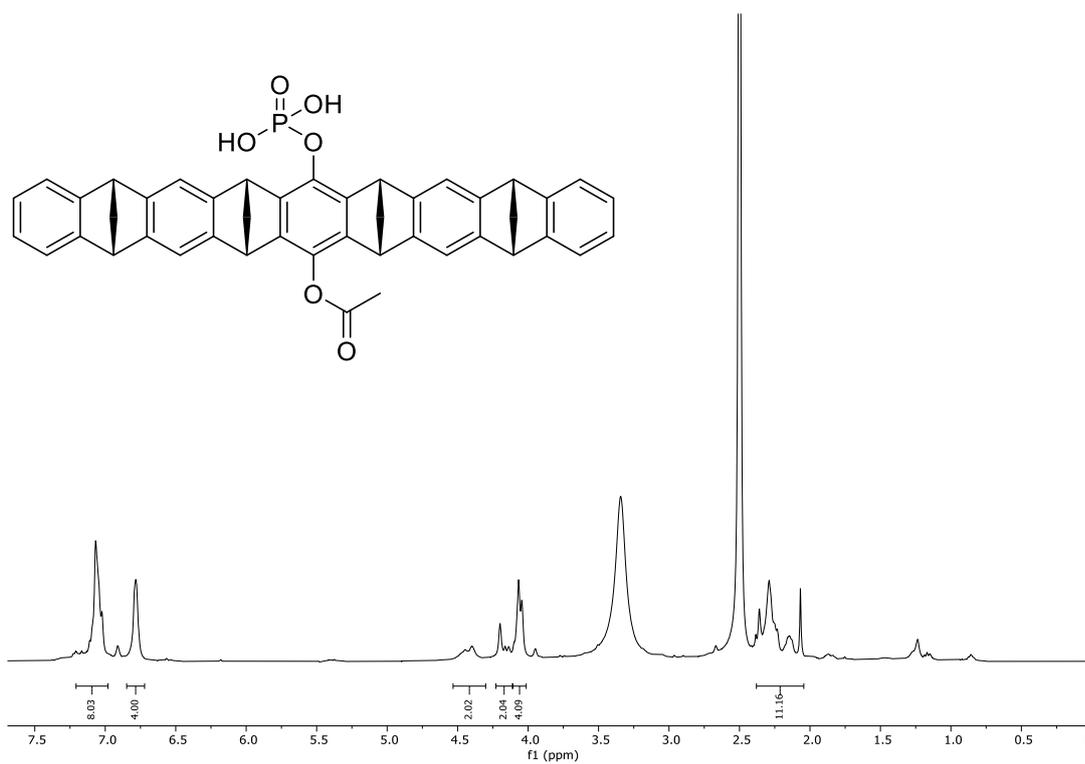


Abbildung 94: <sup>1</sup>H-NMR von der Monoacetoxyphosphatpinazette

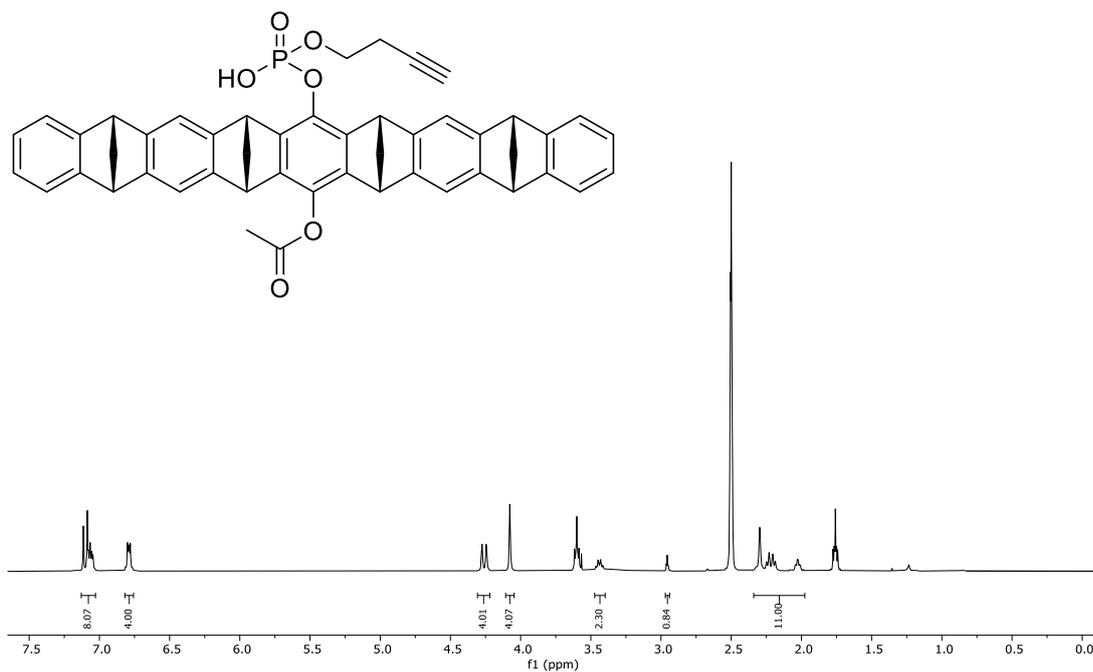


Abbildung 95: <sup>1</sup>H-NMR von der Monoacetoxymonobutynylphosphatpinzette

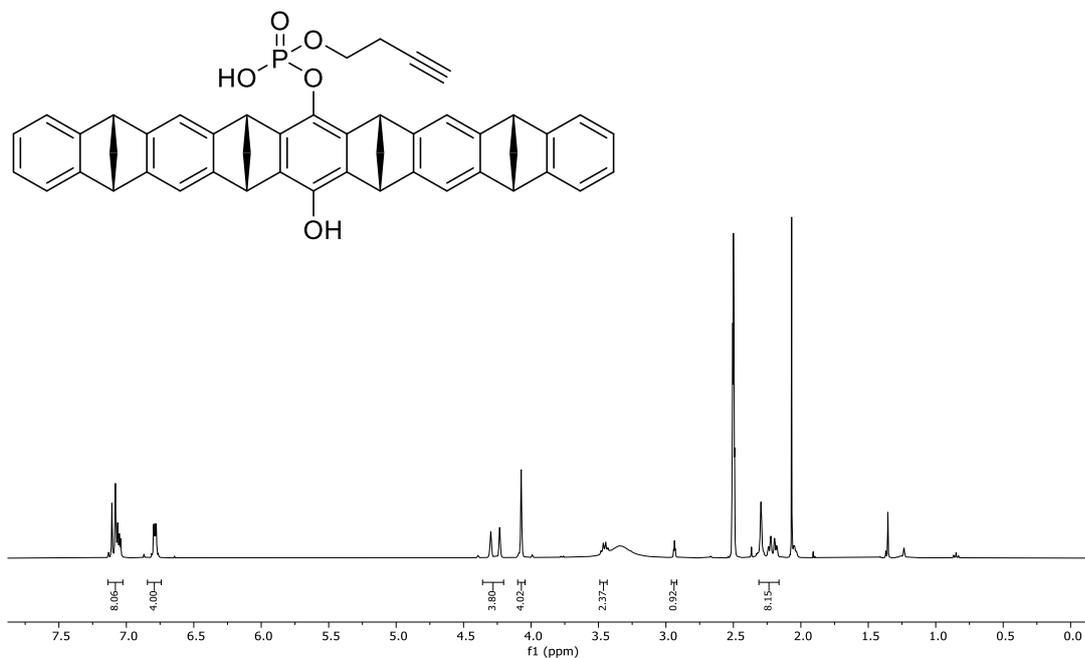


Abbildung 96: <sup>1</sup>H-NMR von der Monohydroxymonobutynylphosphatpinzette

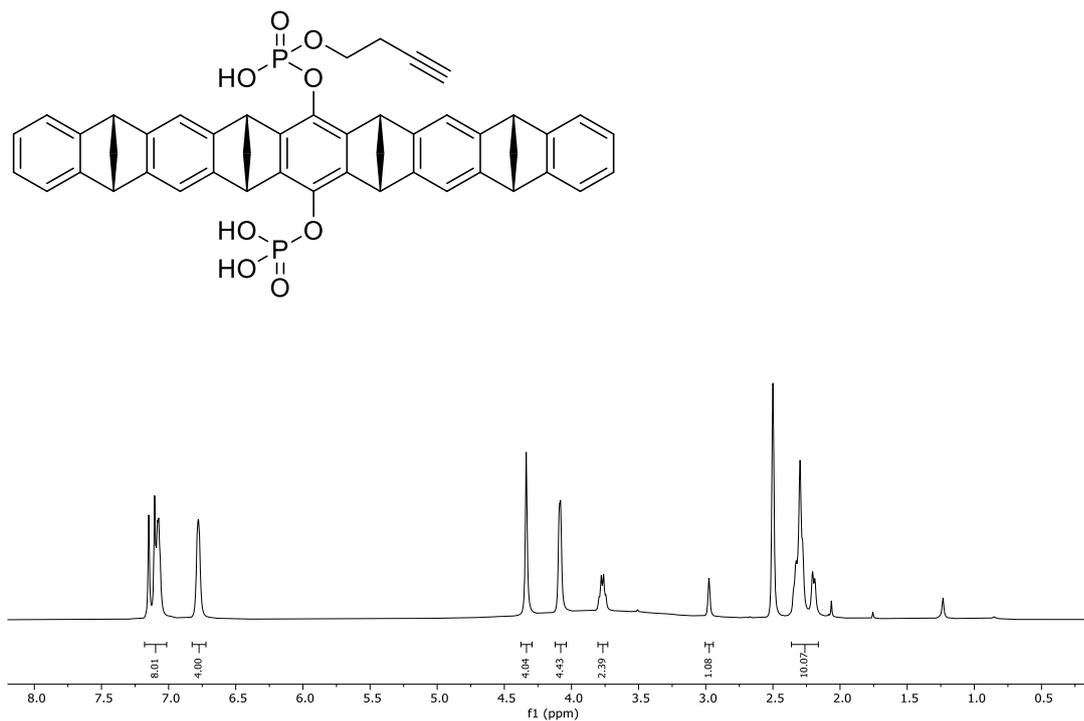


Abbildung 97:  $^1\text{H-NMR}$  von der Monobutinyldiphosphatpinzette

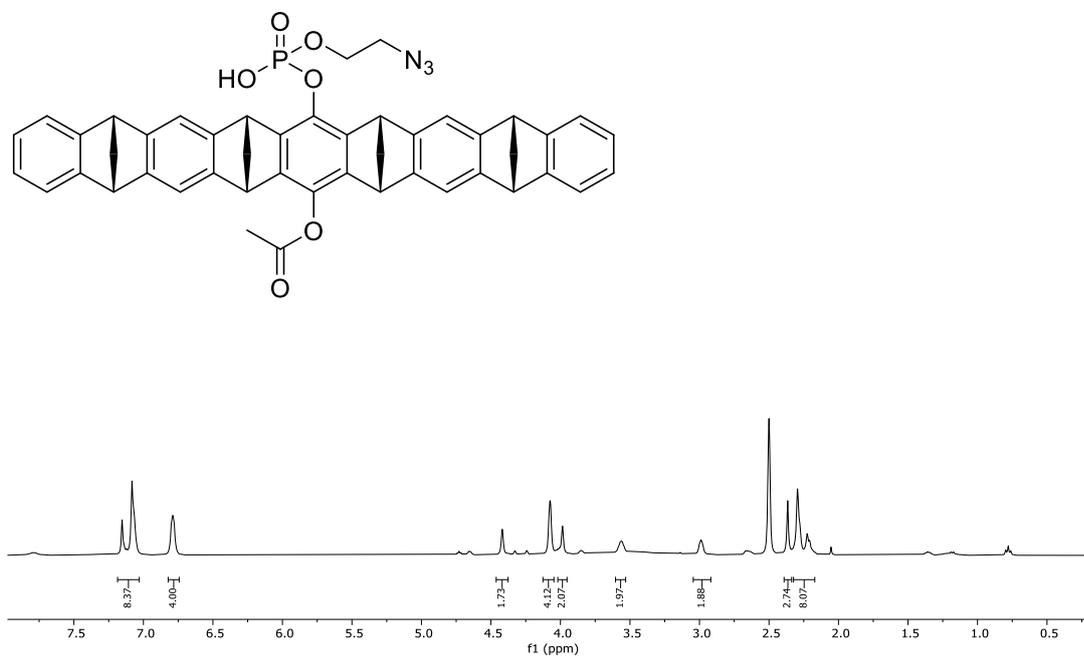


Abbildung 98:  $^1\text{H-NMR}$  von der Monoacetoxymonoazidophosphatpinzette

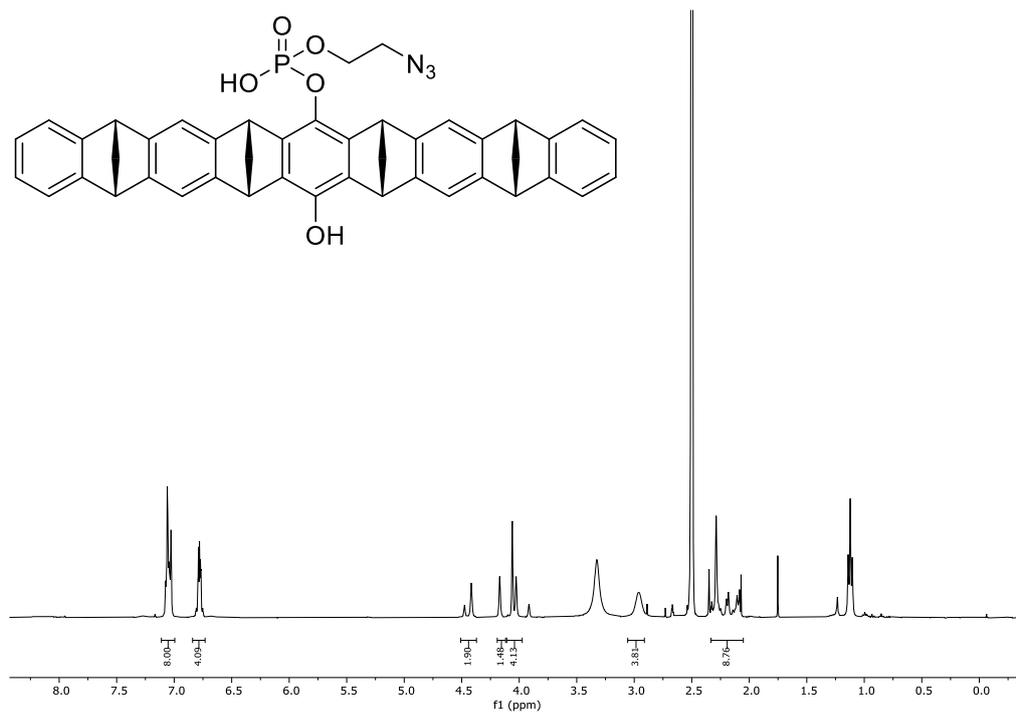


Abbildung 99: <sup>1</sup>H-NMR von der Monohydroxymonoazidophosphatpinzette

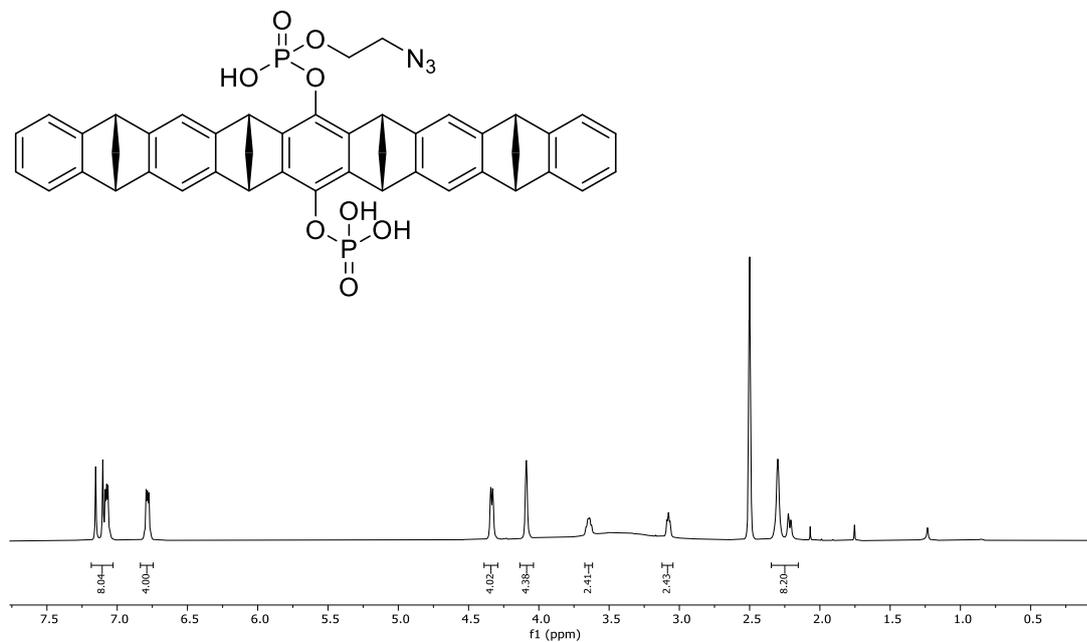


Abbildung 100: <sup>1</sup>H-NMR von der Monoazidodiphosphatpinzette

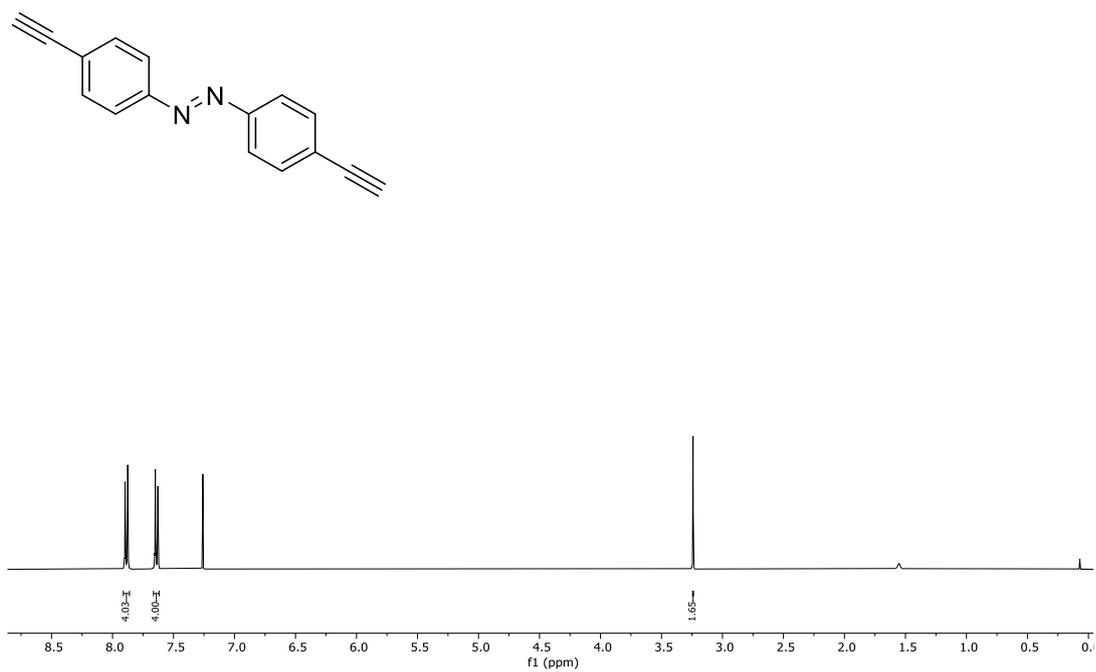


Abbildung 101:  $^1\text{H}$ -NMR von 4,4'-Diethynylazobenzol

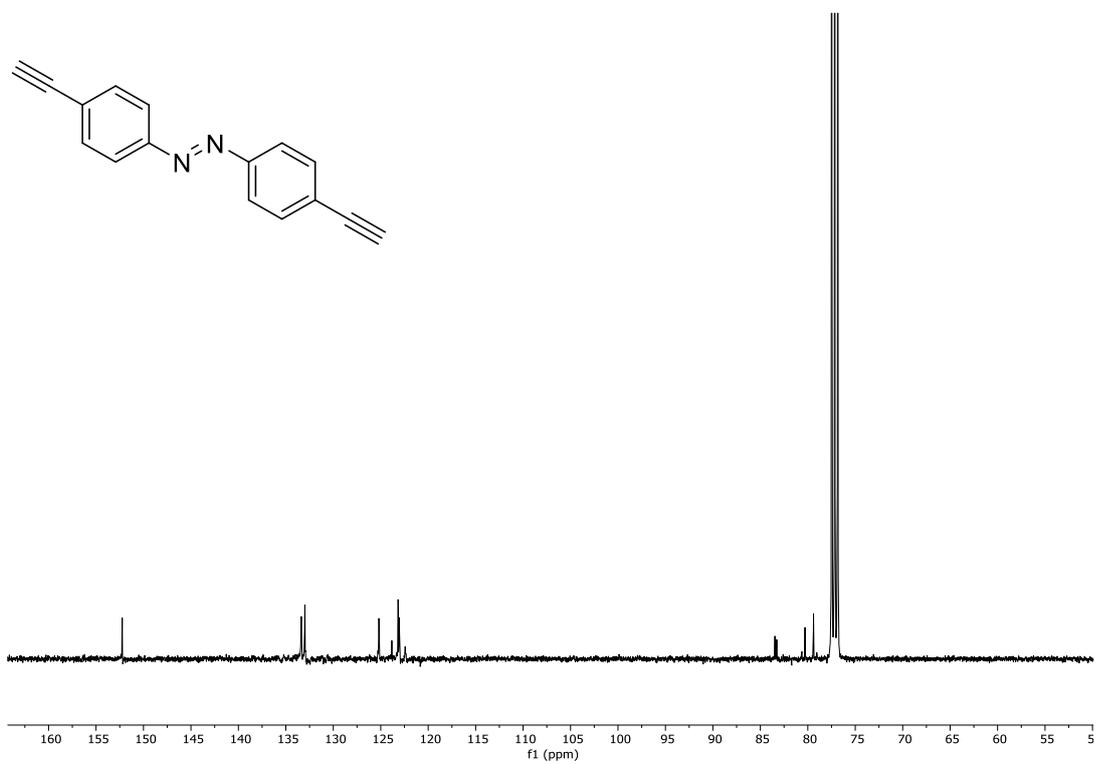


Abbildung 102:  $^{13}\text{C}$ -NMR von 4,4'-Diethynylazobenzol

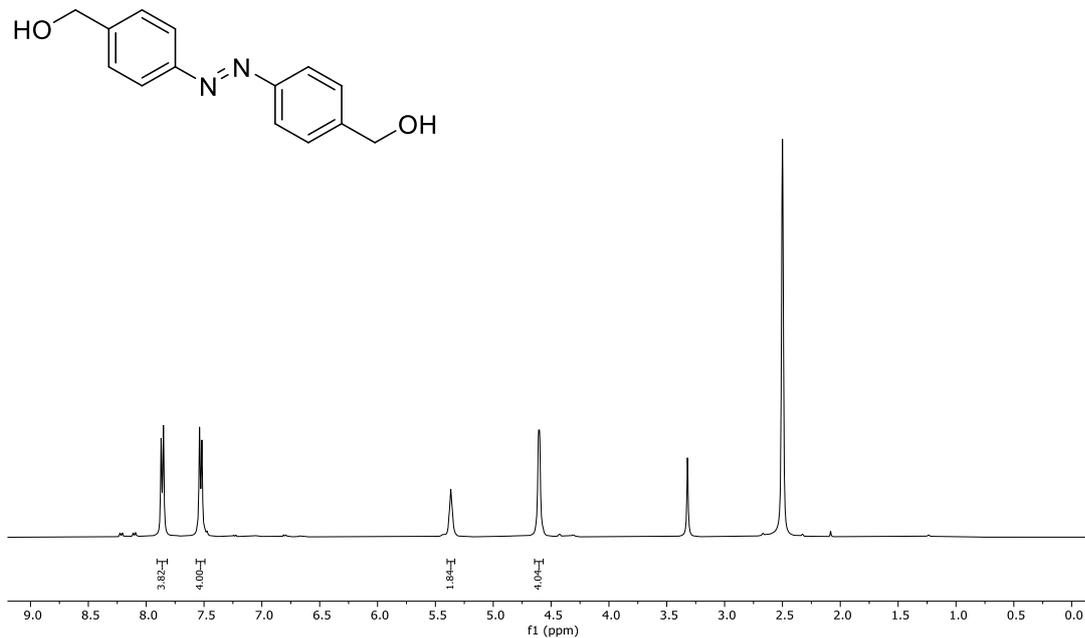


Abbildung 103: <sup>1</sup>H-NMR von 4,4'-Dibenzylalcoholazobenzol

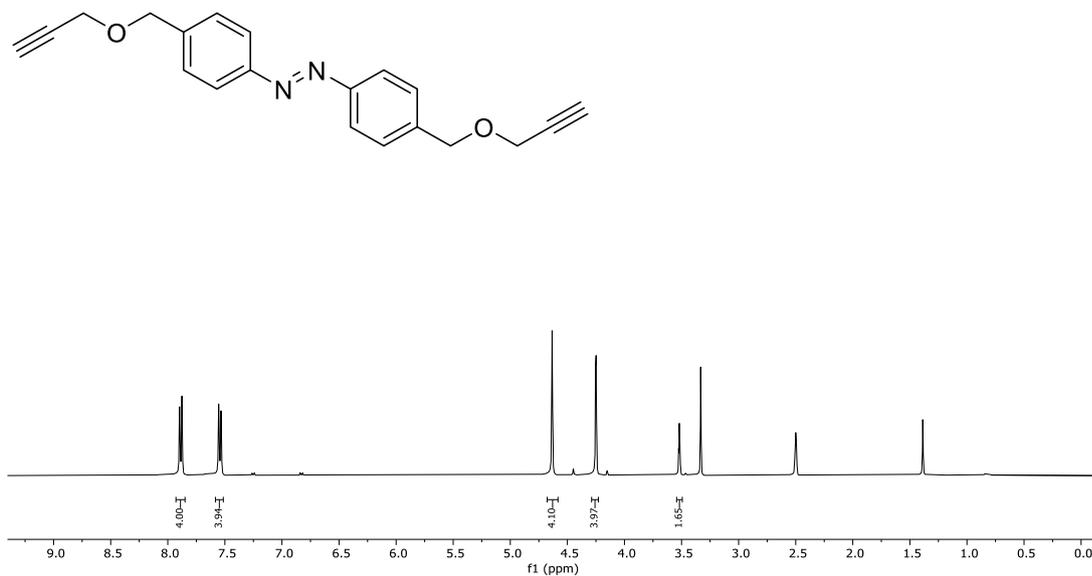


Abbildung 104: <sup>1</sup>H-NMR von 4,4'-Bis((Prop-2-in-1-yloxy)methyl)azobenzol

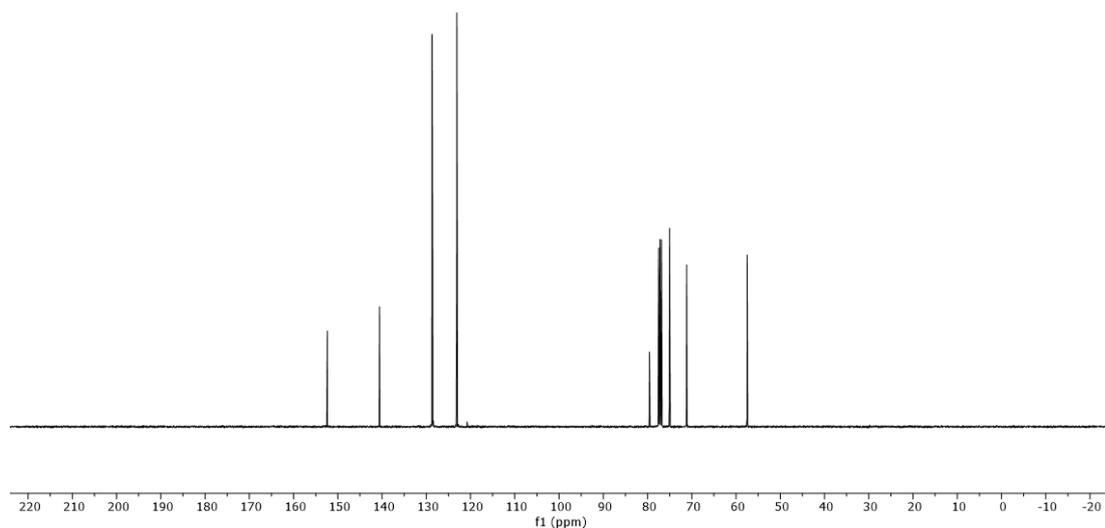


Abbildung 105:  $^{13}\text{C}$ -NMR von 4,4'-Bis((Prop-2-in-1-yloxy)methyl)azobenzol

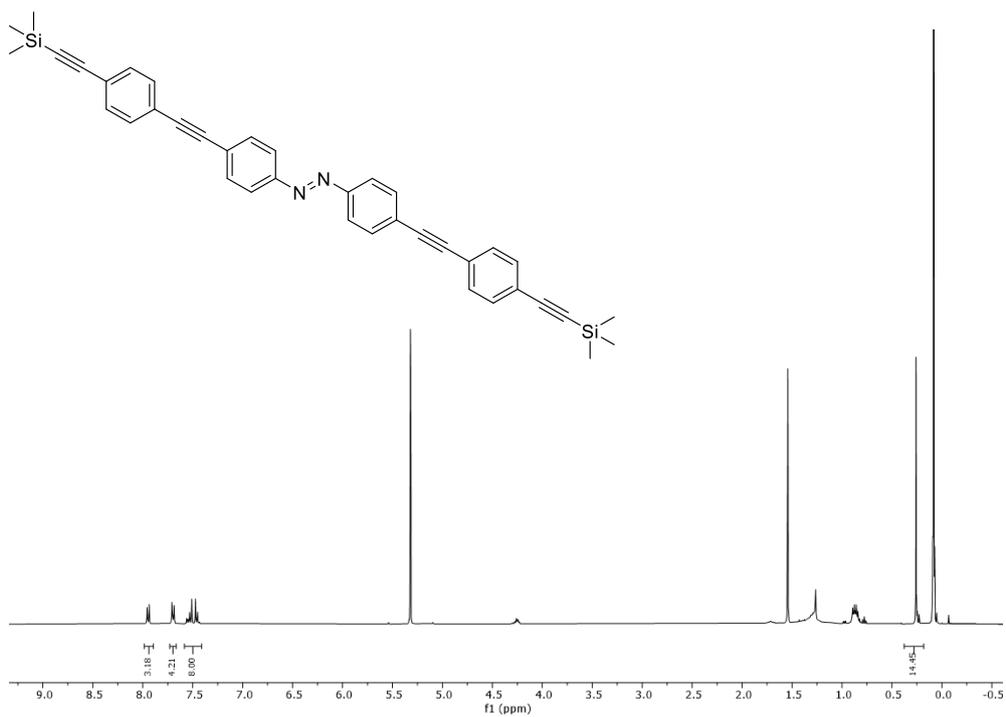


Abbildung 106:  $^1\text{H}$ -NMR von 4,4'-Bis(((4-trimethylsilyl)ethynyl)phenyl)ethynyl)azobenzol

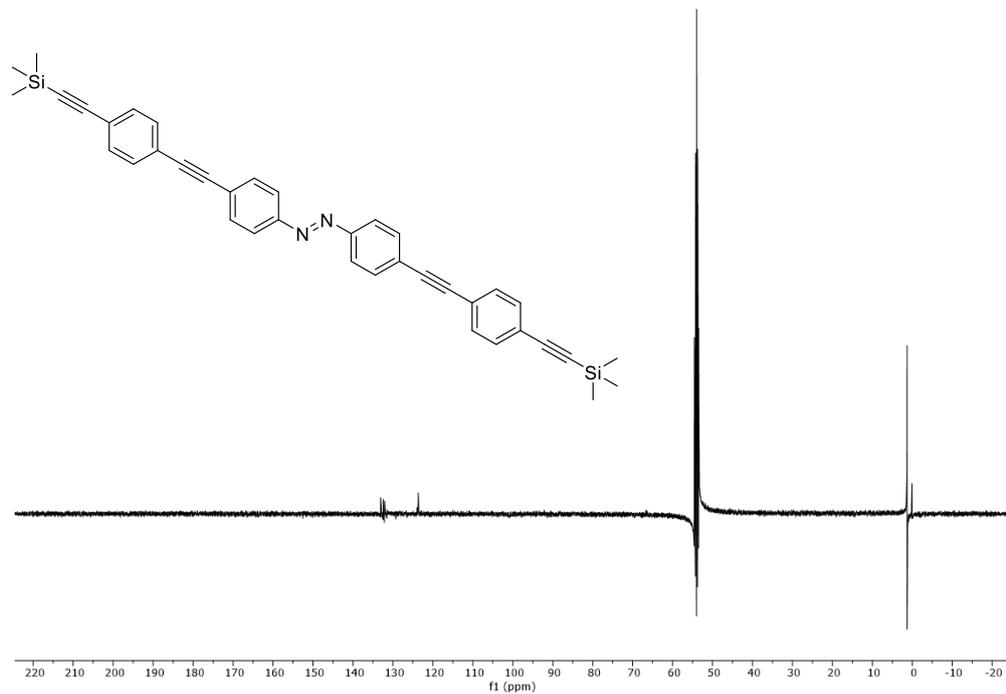


Abbildung 107:  $^{13}\text{C}$ -NMR von 4,4'-Bis((4-Trimethylsilyl)ethynylphenyl)ethynyl)azobenzol

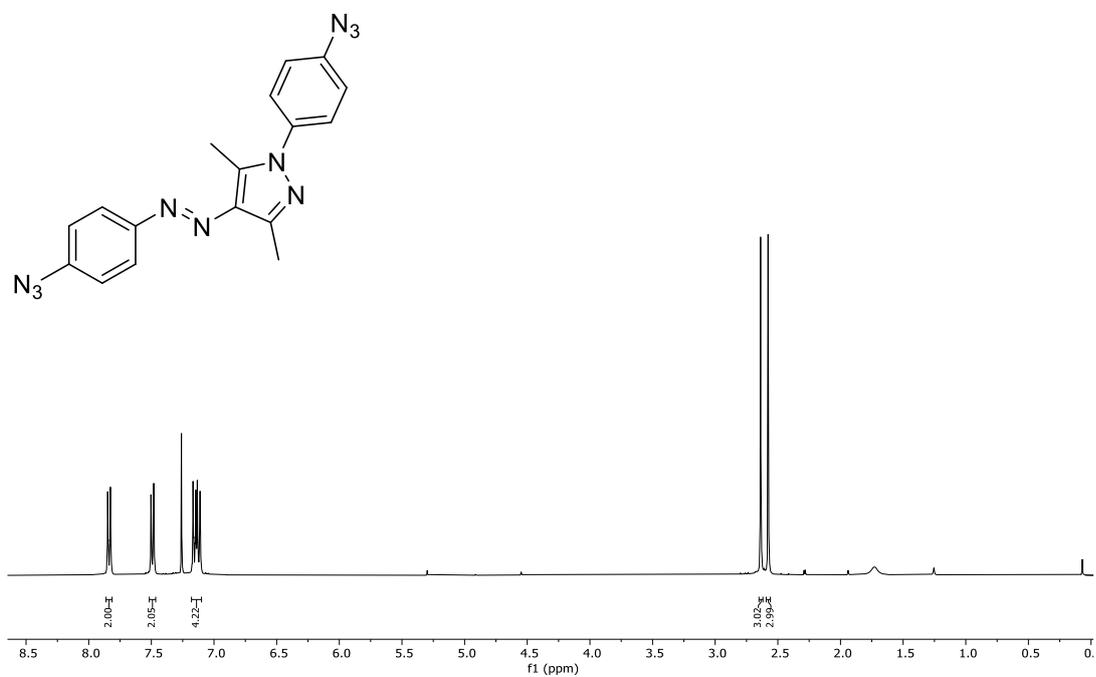


Abbildung 108:  $^1\text{H}$ -NMR von (E)-1-(4-azidophenyl)-4-((4-azidophenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole

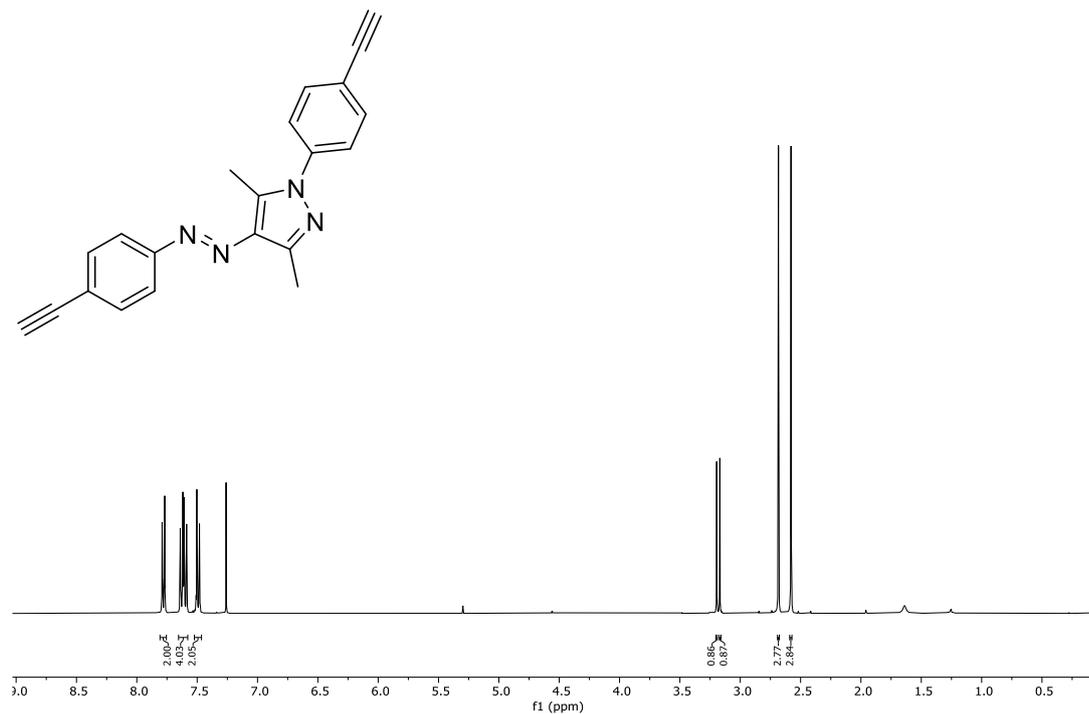


Abbildung 109: <sup>1</sup>H-NMR von (E)-1-(4-ethynylphenyl)-4-((4-ethynylphenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole

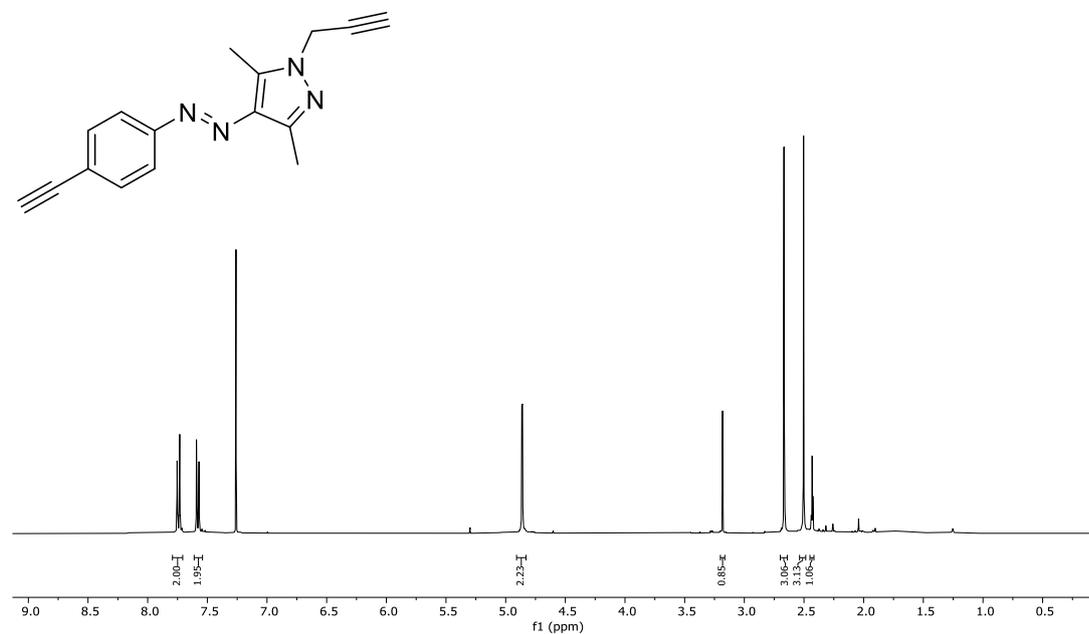


Abbildung 110: <sup>1</sup>H-NMR von (E)-3-(4-((4-ethynylphenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)propyne

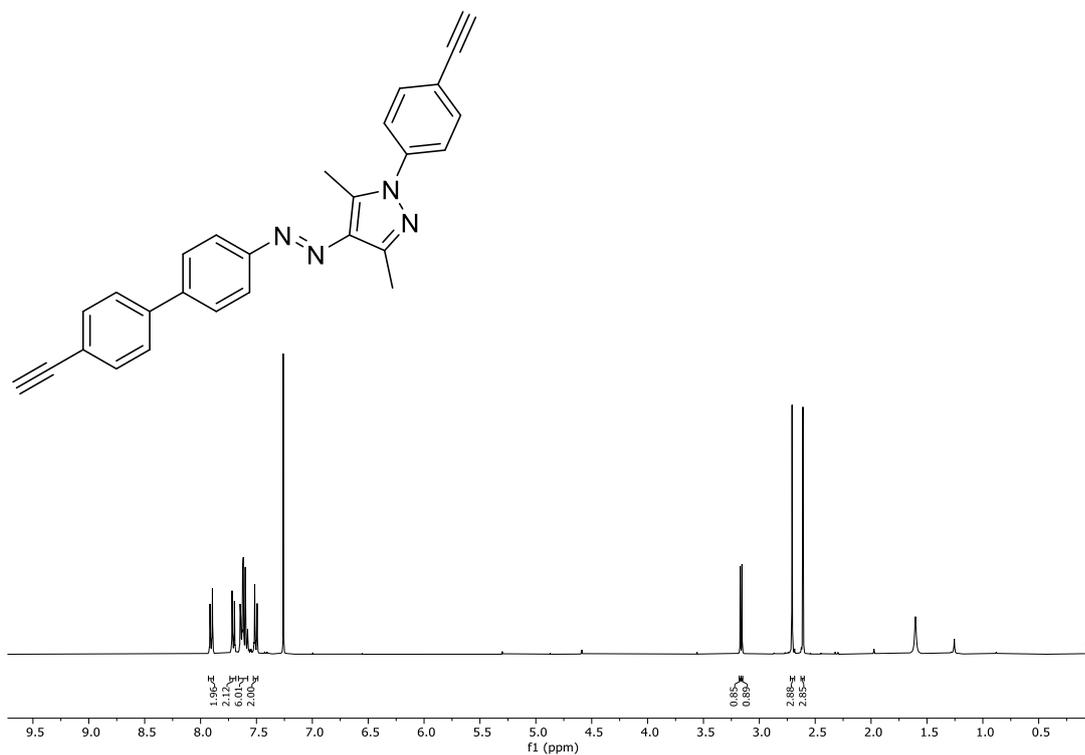


Abbildung 111:  $^1\text{H-NMR}$  von (E)-4-((4'-ethynyl-[1,1'-biphenyl]-4-yl)diazenyl)-1-(4-ethynylphenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole

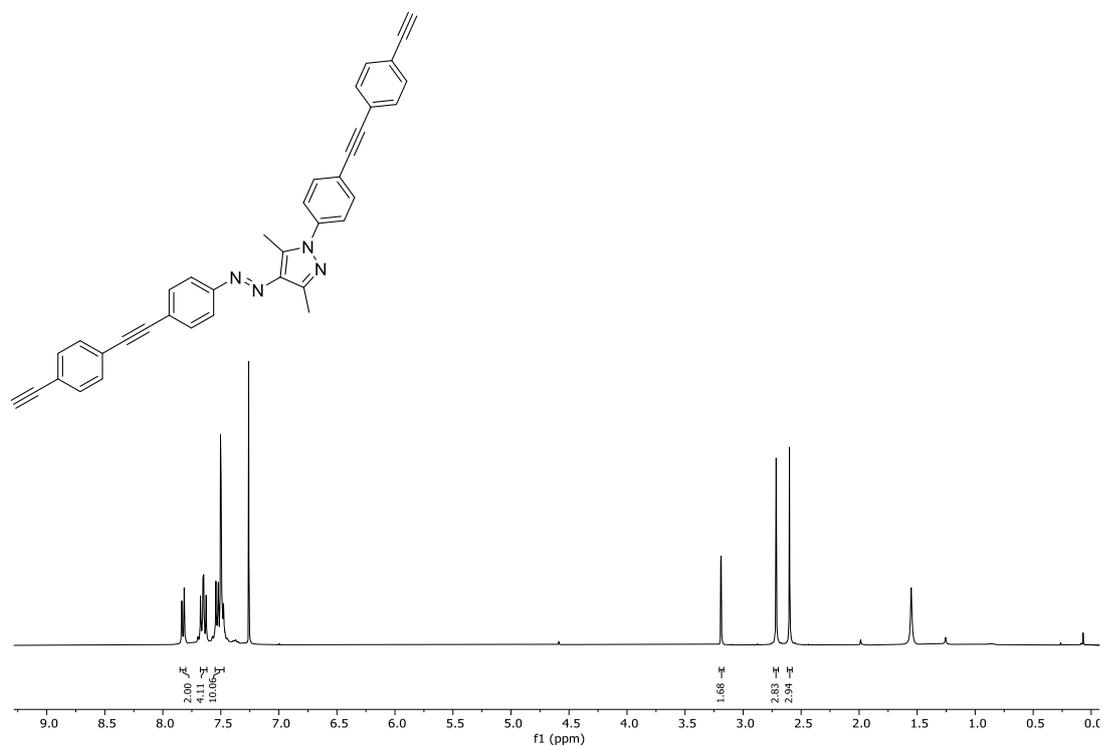


Abbildung 112:  $^1\text{H-NMR}$  von (E)-1-(4-((4-ethynylphenyl)ethynyl)phenyl)-4-((4-((4-ethynylphenyl)ethynyl)phenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole

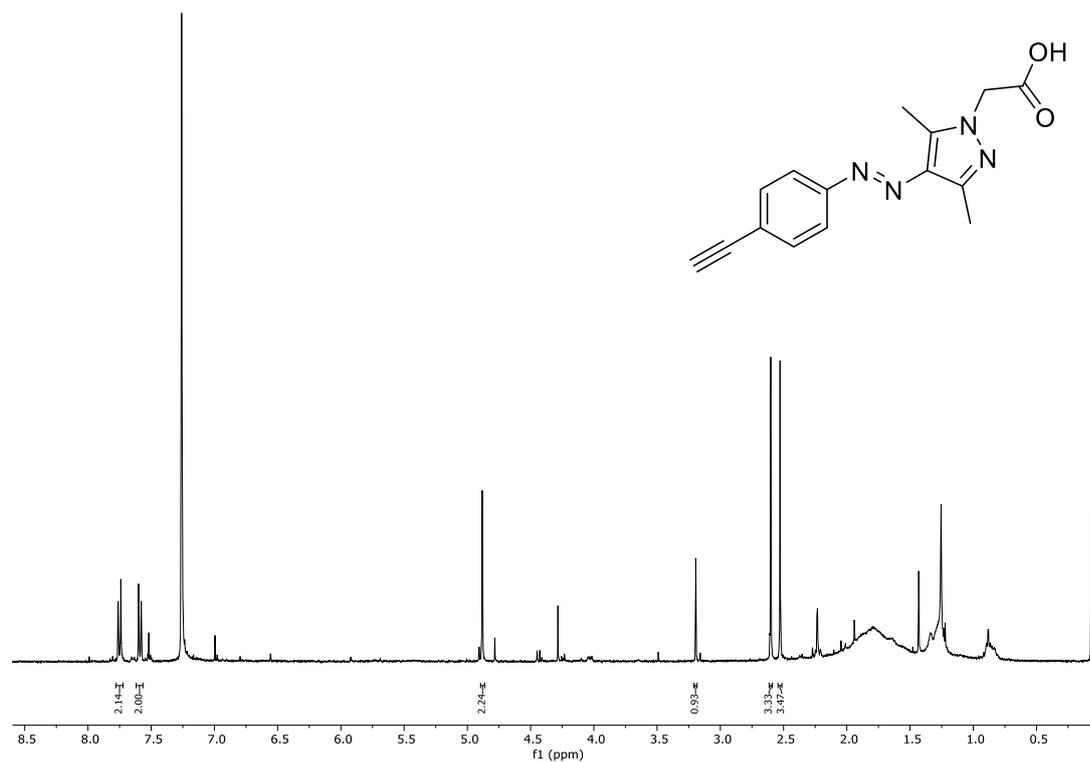


Abbildung 113:  $^1\text{H-NMR}$  von (E)-2-(4-((4-ethynylphenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)acetic acid

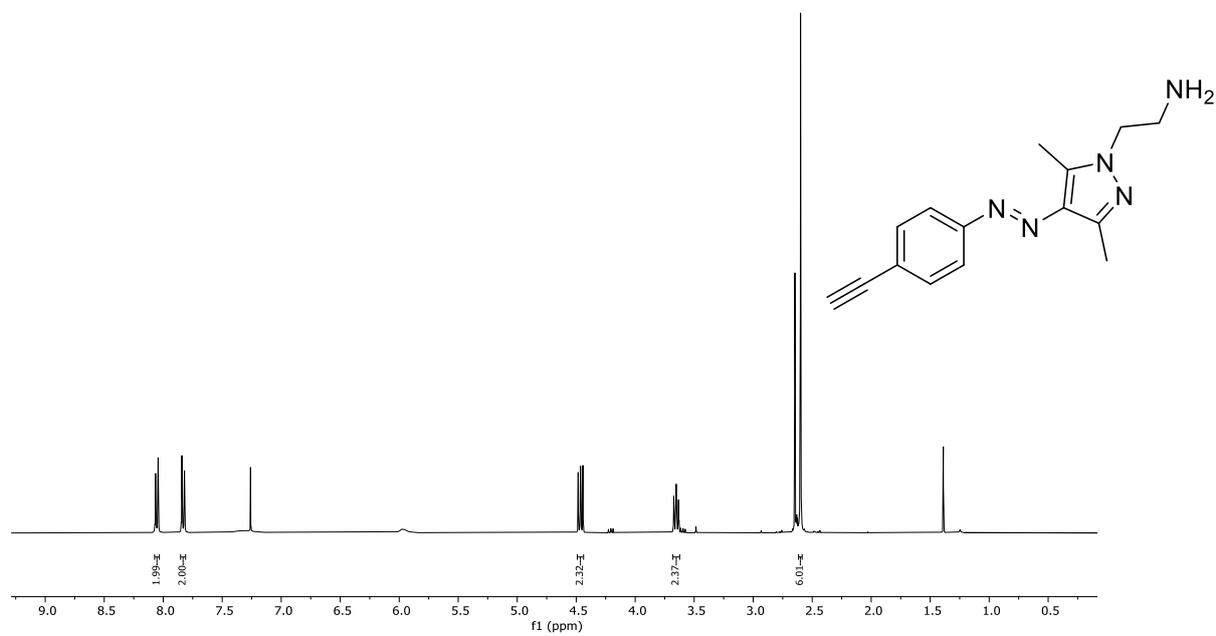


Abbildung 114:  $^1\text{H-NMR}$  von (E)-2-(4-((4-azidophenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)ethylamine

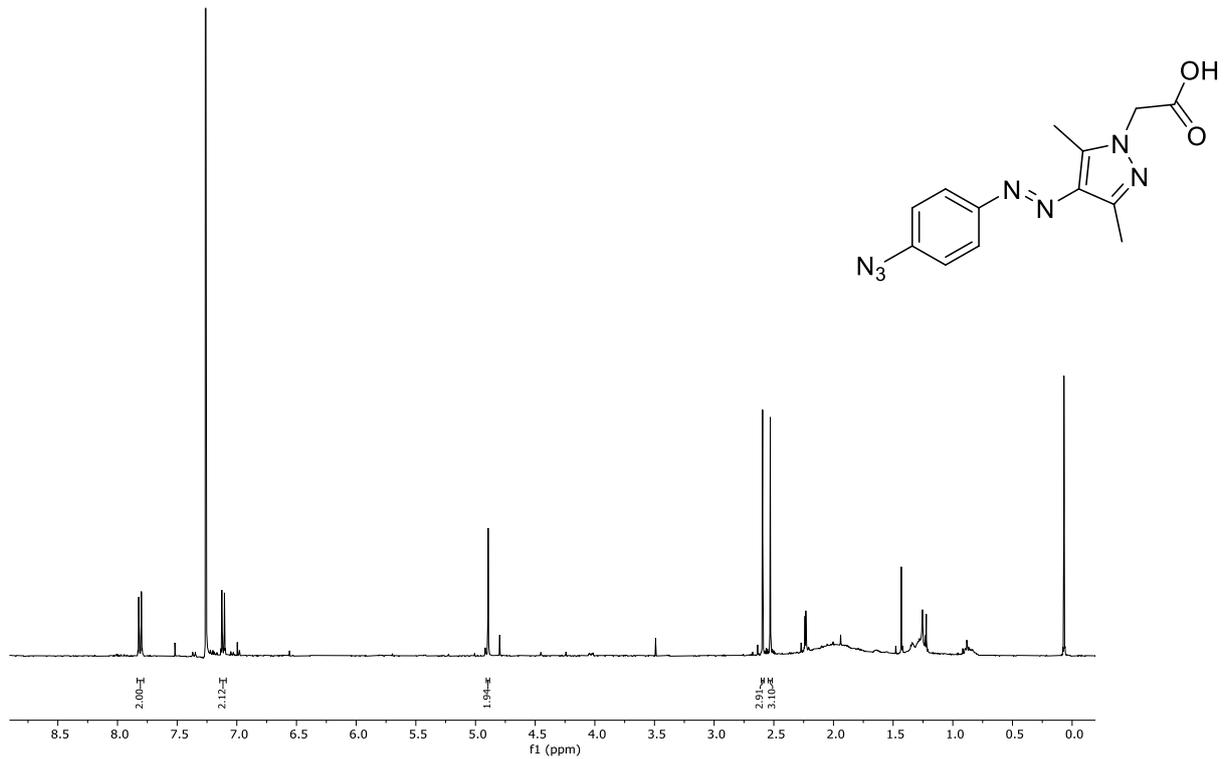


Abbildung 115: <sup>1</sup>H-NMR von (E)-2-(4-((4-azidophenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)acetic acid

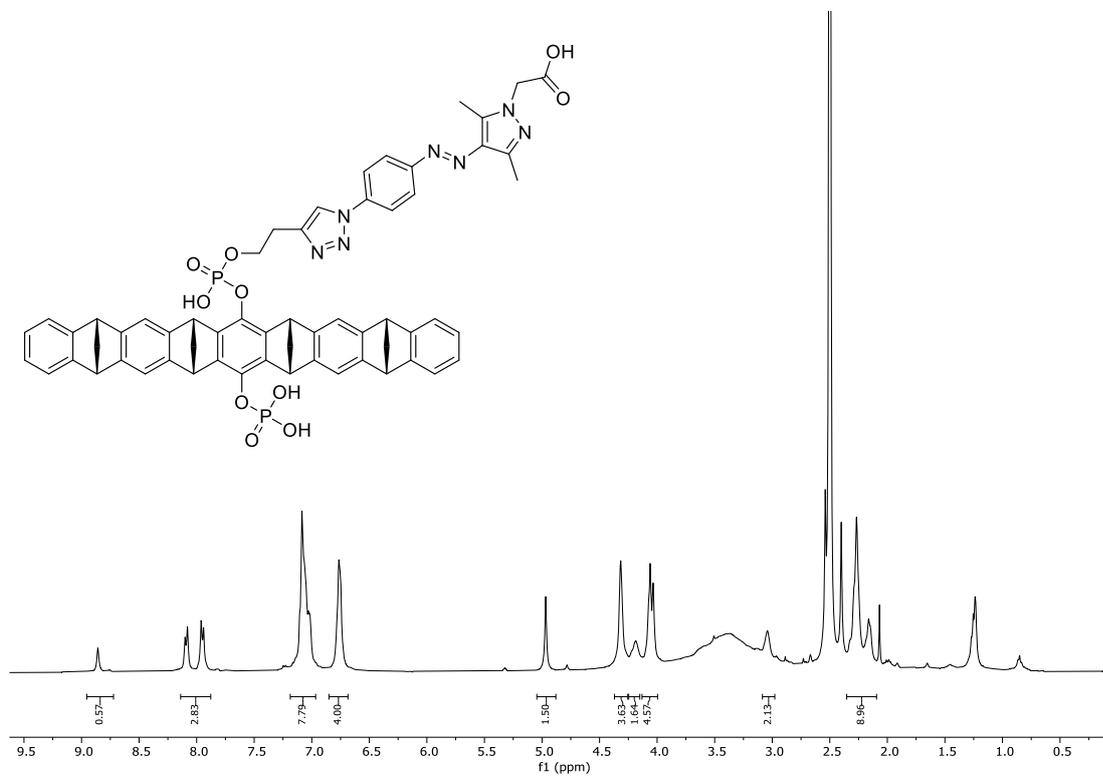


Abbildung 116: <sup>1</sup>H-NMR Spektrum von TWAAP-COOH1

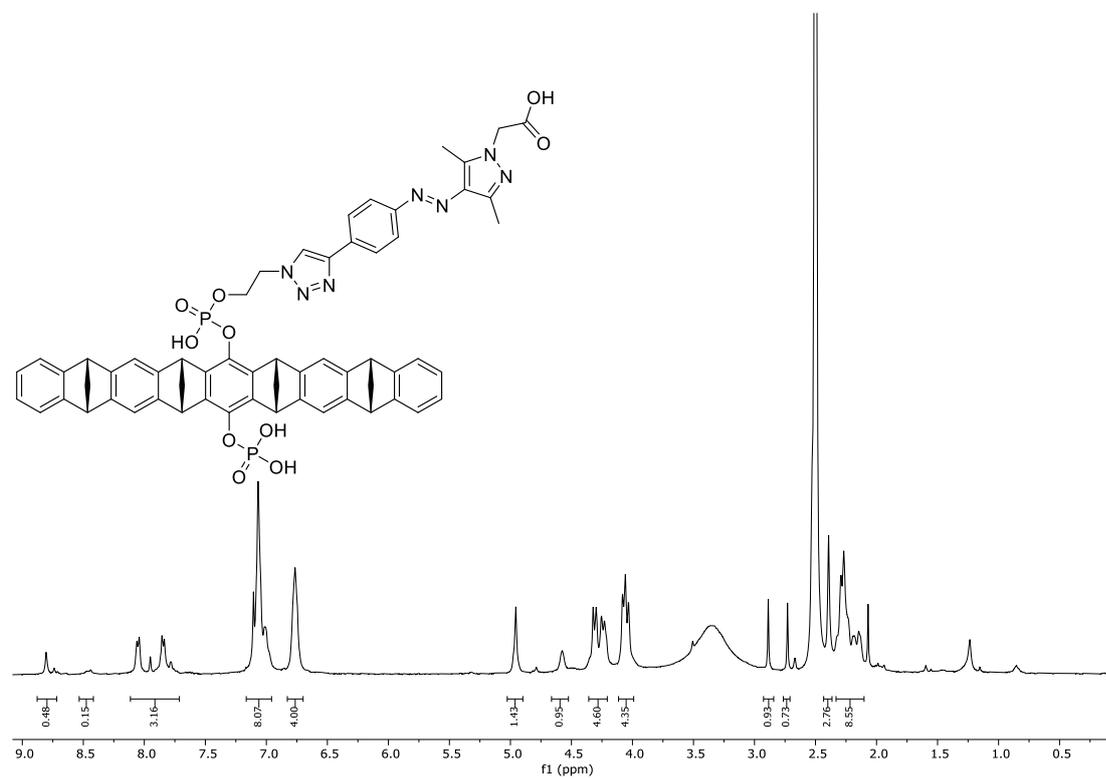


Abbildung 117: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von TWAAP-COOH2

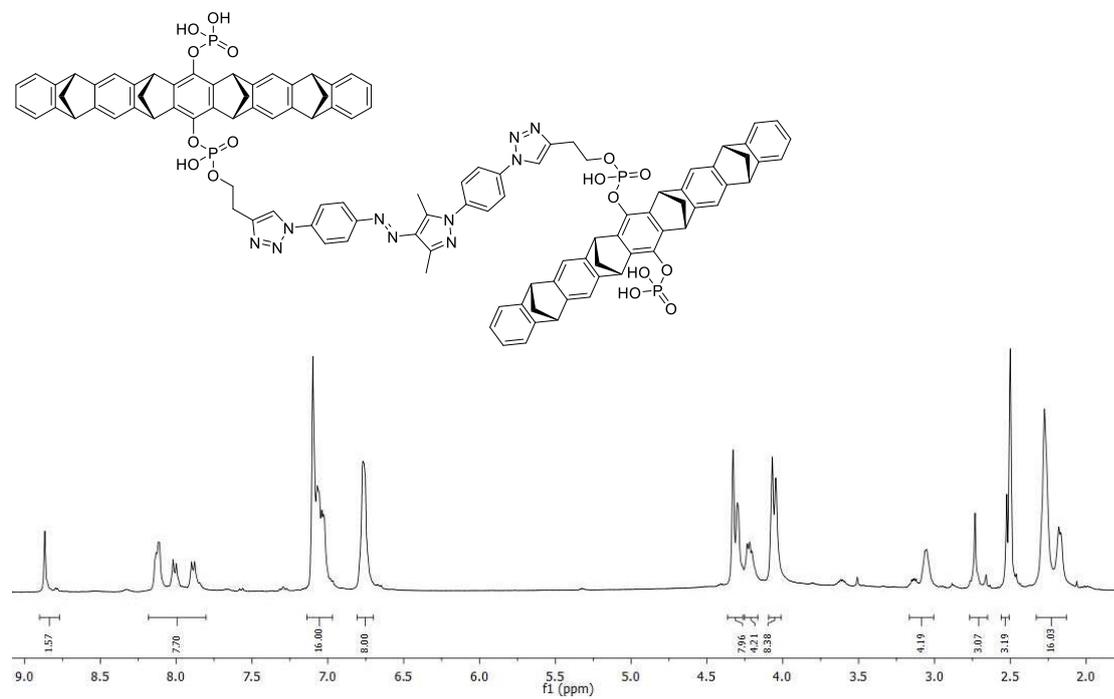
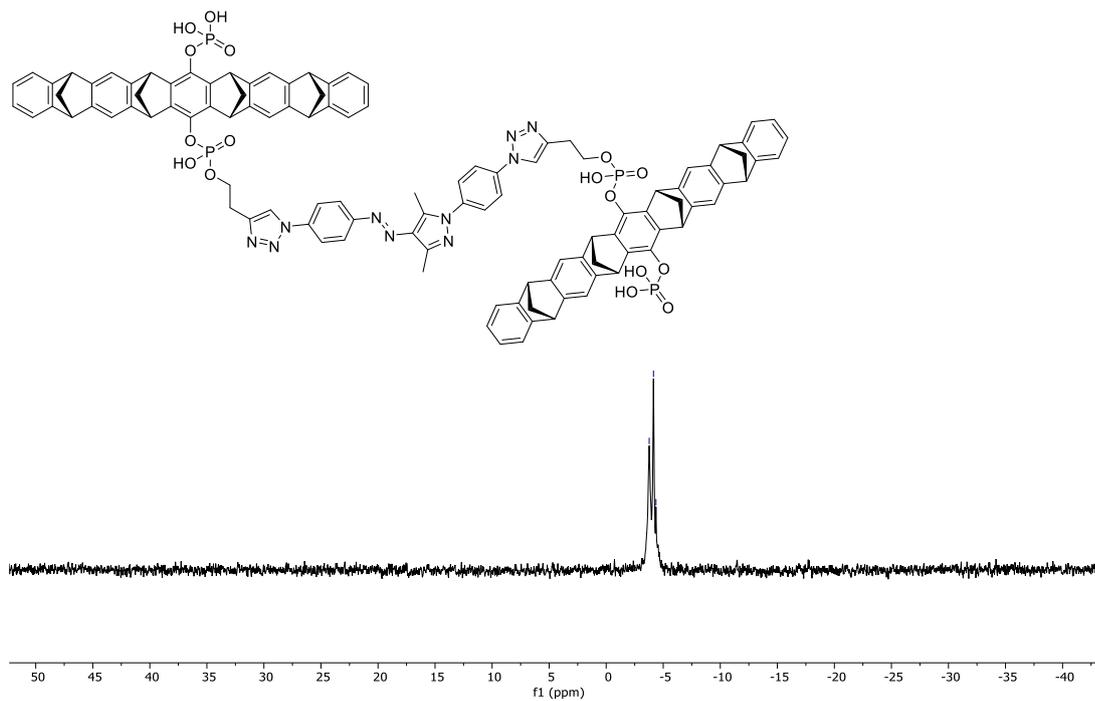
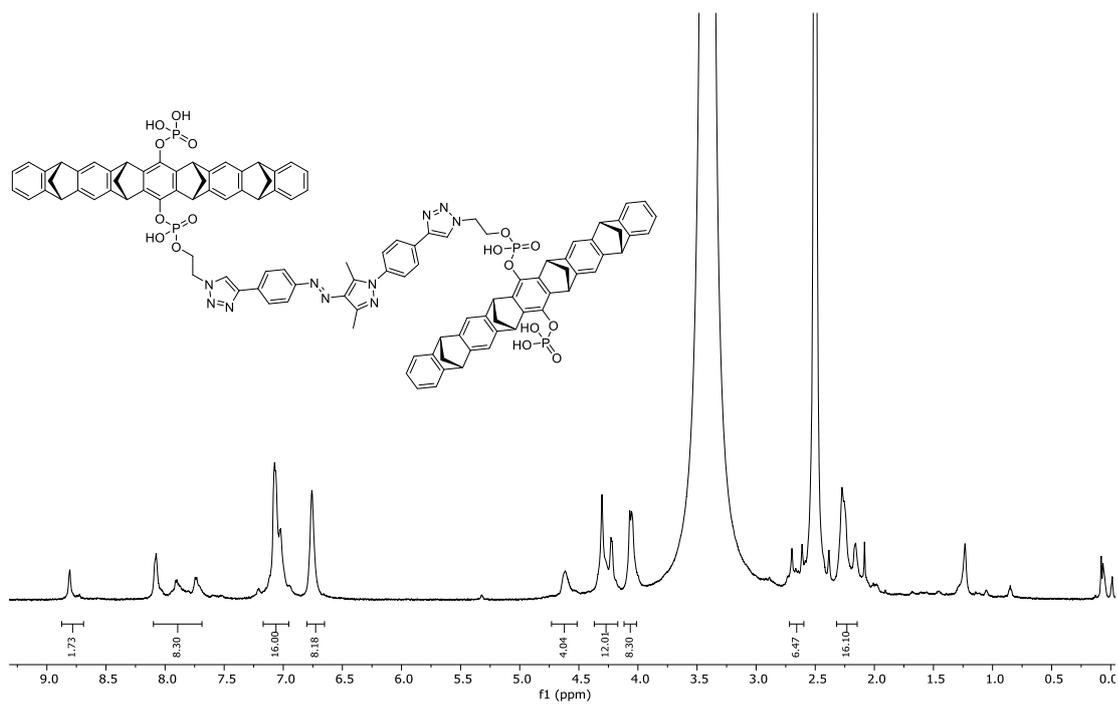


Abbildung 118: <sup>1</sup>H-NMR Spektrum von TWAAP0

Abbildung 119:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum von TWAAP0Abbildung 120:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAAP1

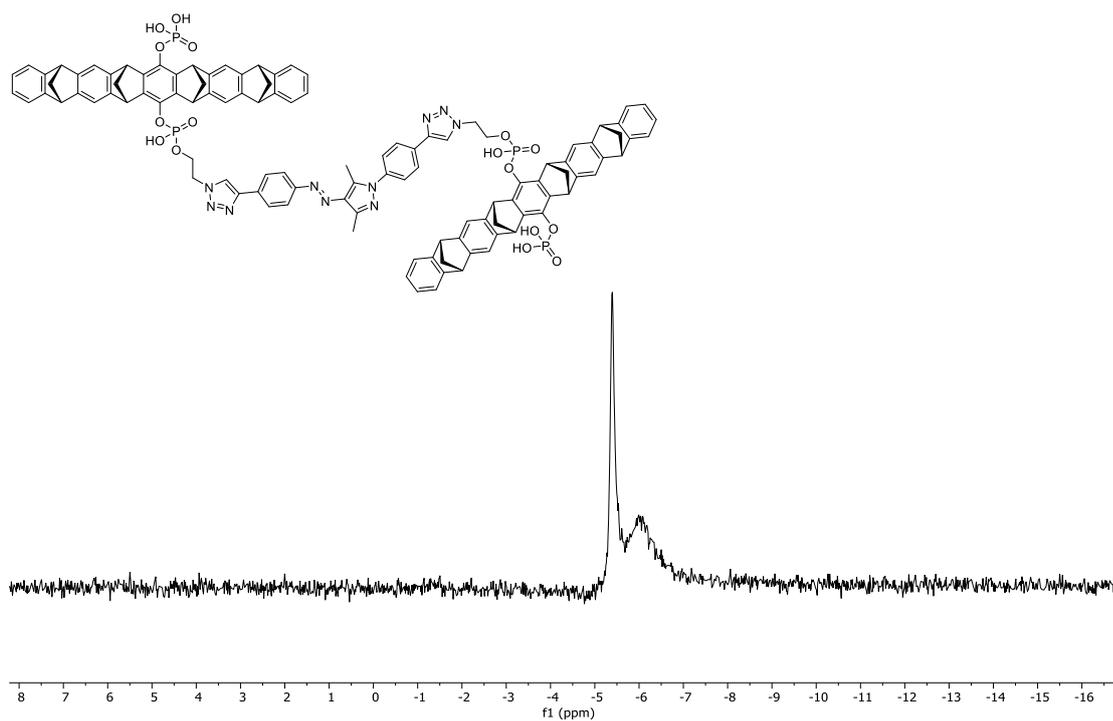


Abbildung 121:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum von TWAAP1

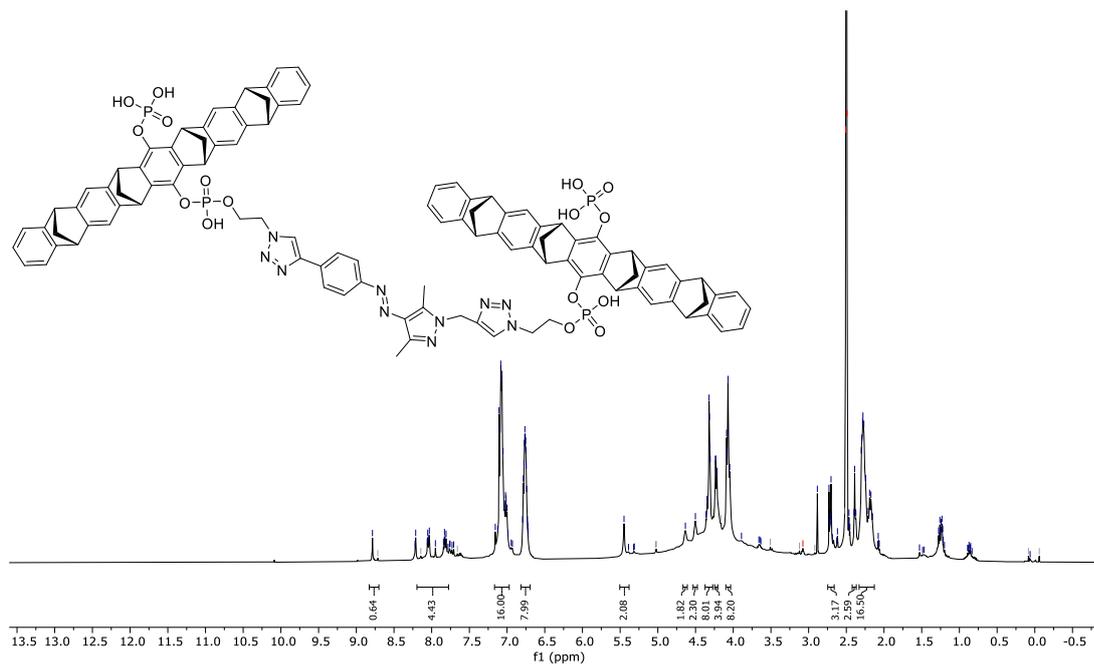
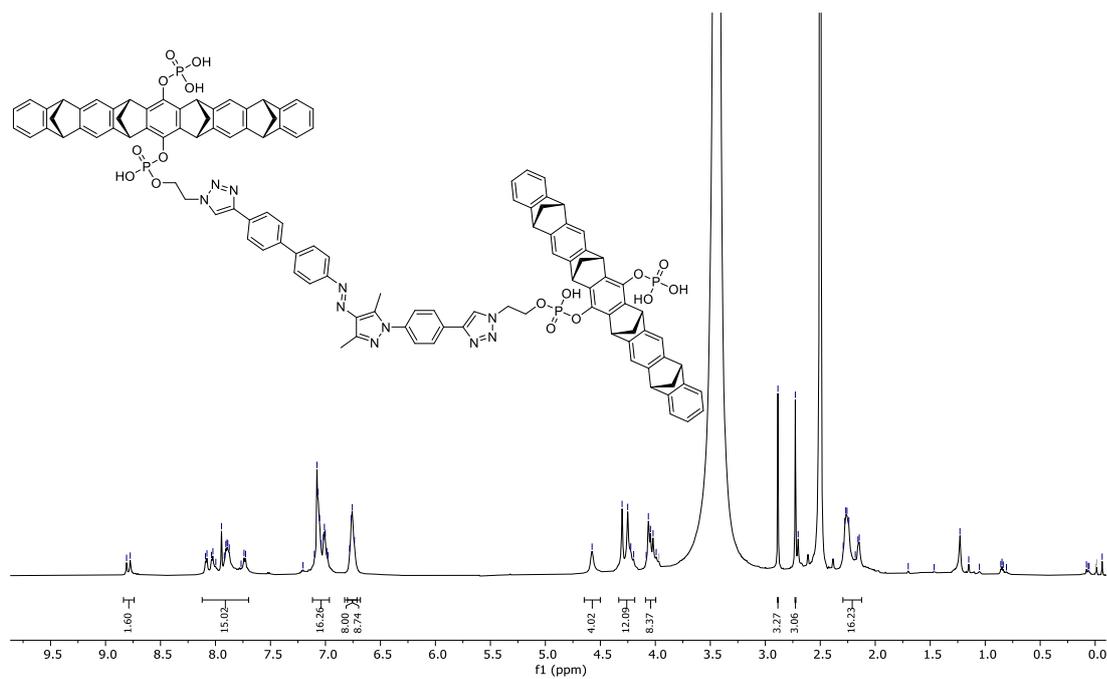
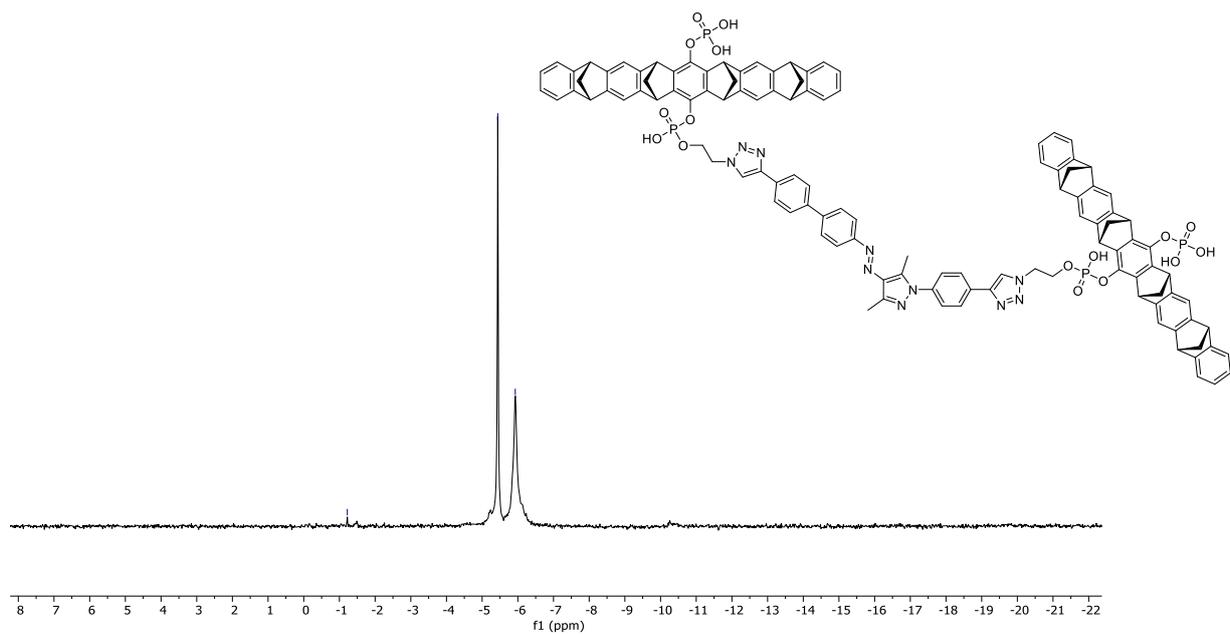
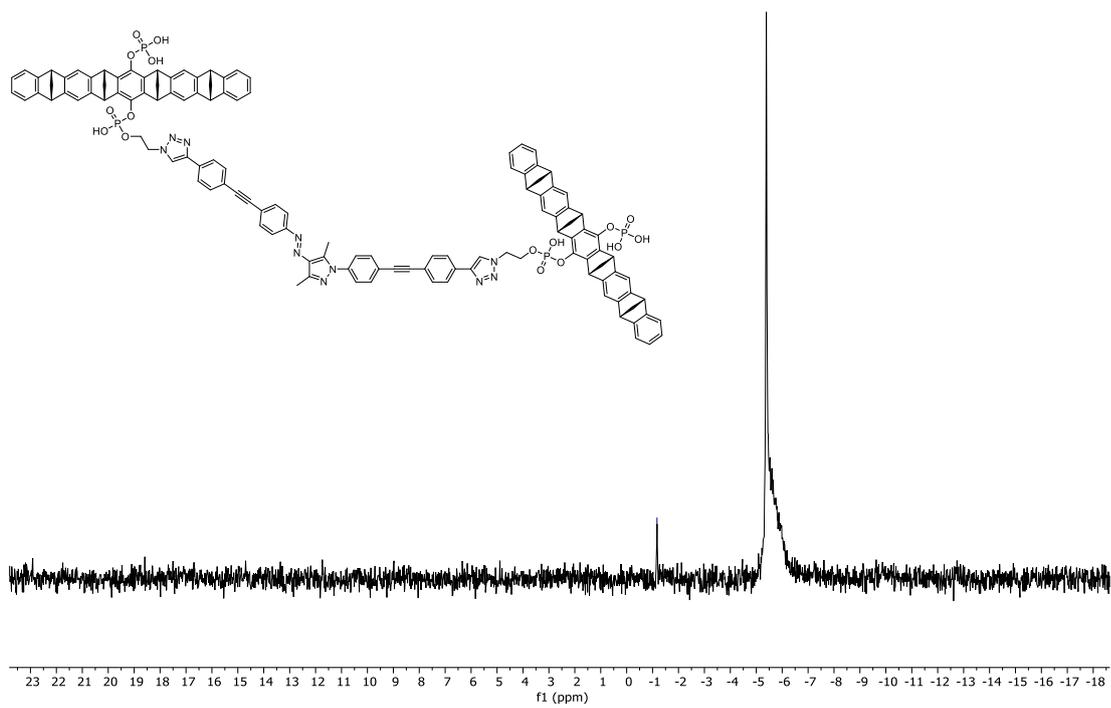
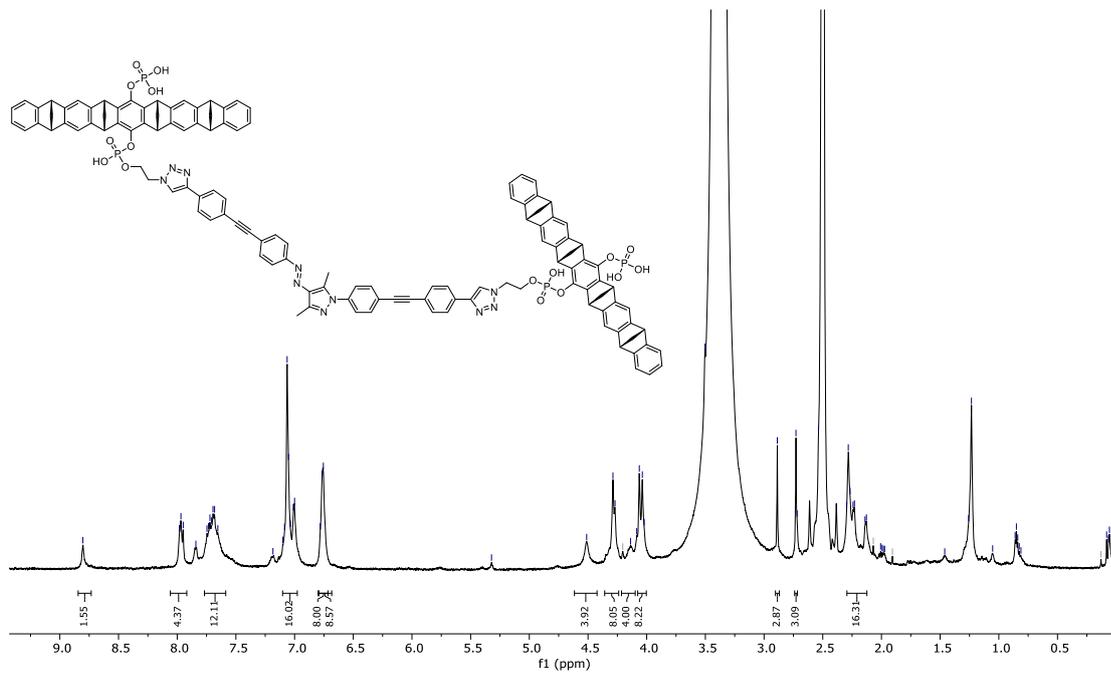
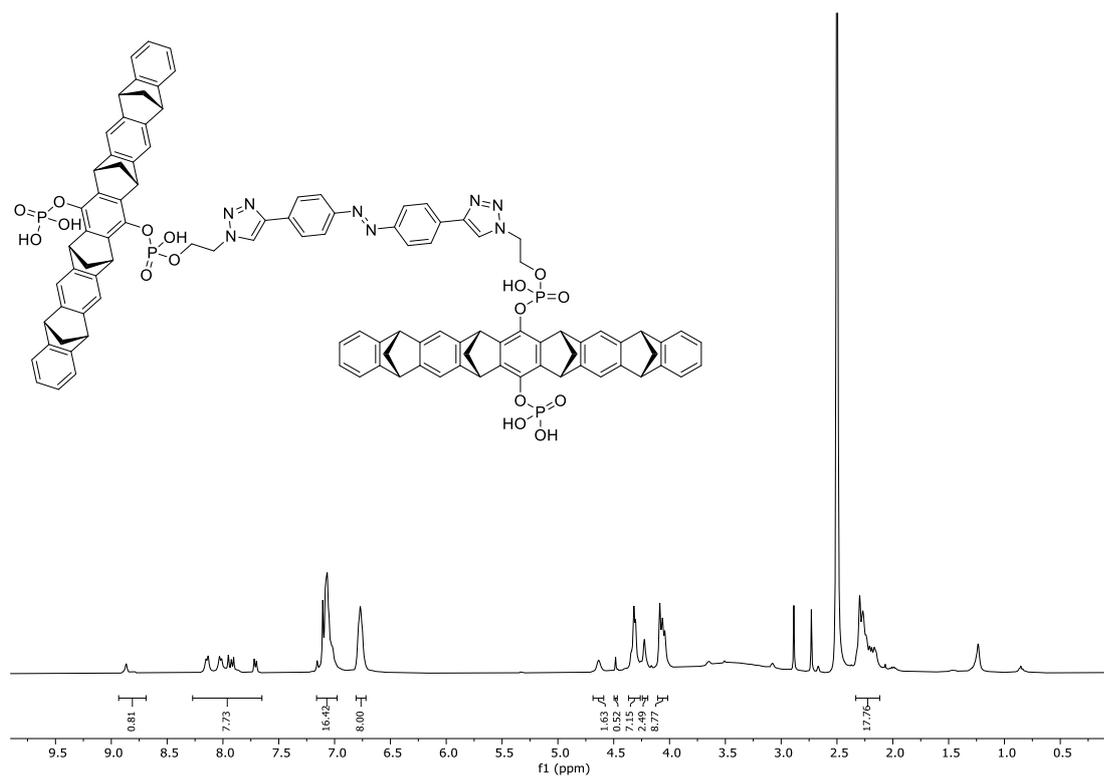
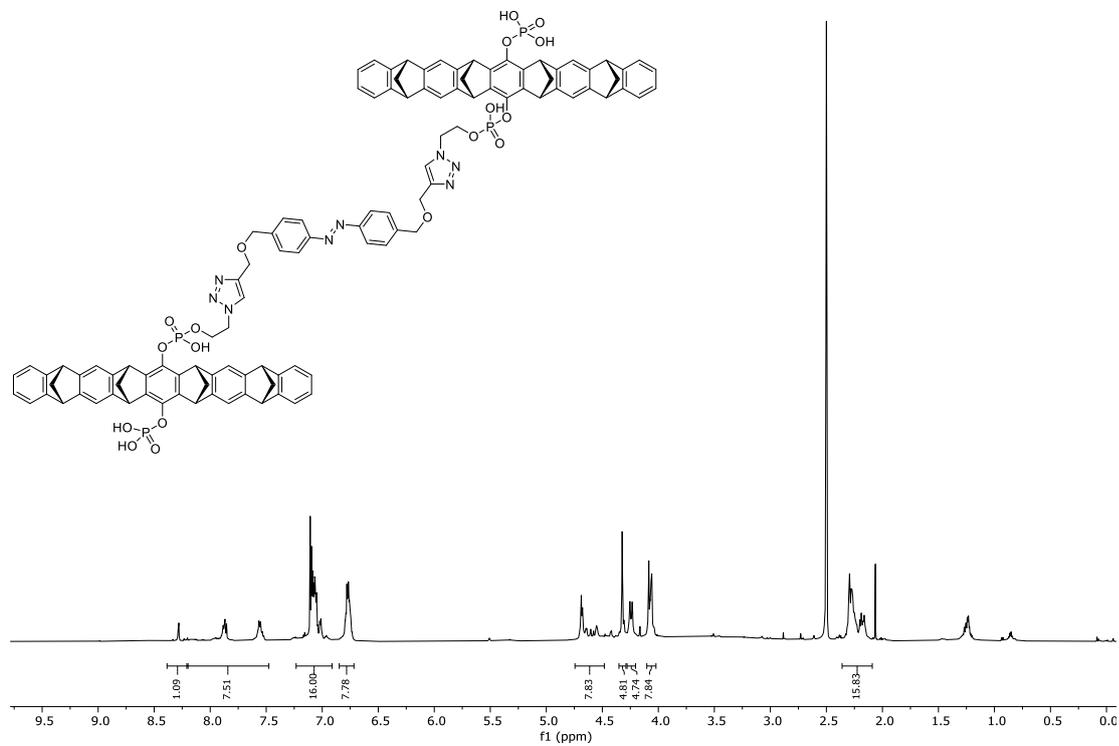


Abbildung 122:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAAP2

Abbildung 123:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von TWAAP3Abbildung 124:  $^{31}\text{P-NMR}$ -Spektrum von TWAAP3



Abbildung 127: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von TWAB1Abbildung 128: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von TWAB2

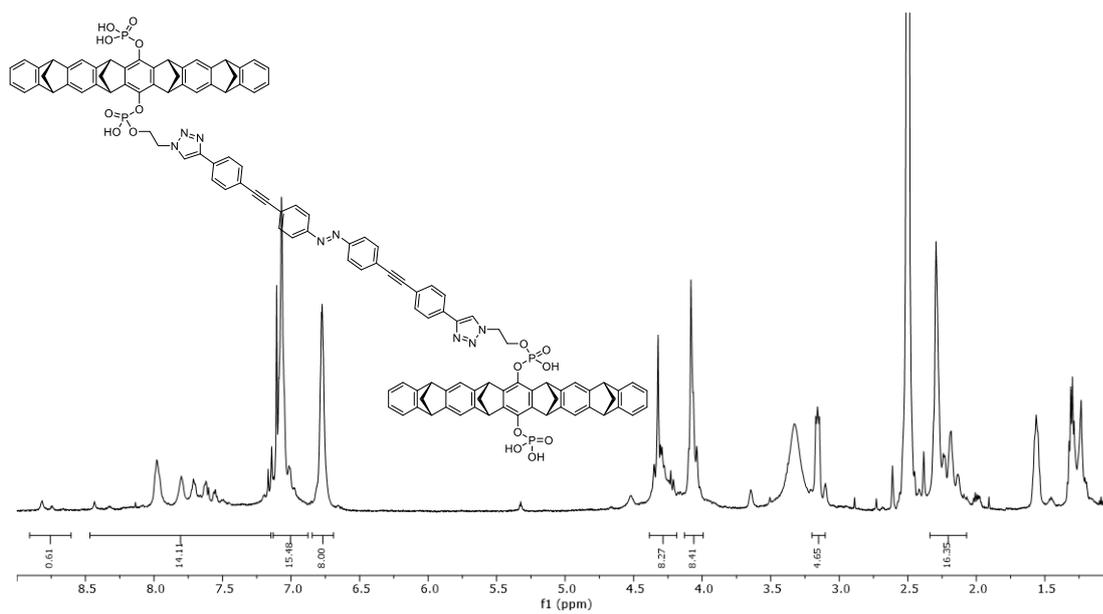


Abbildung 129:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAB3

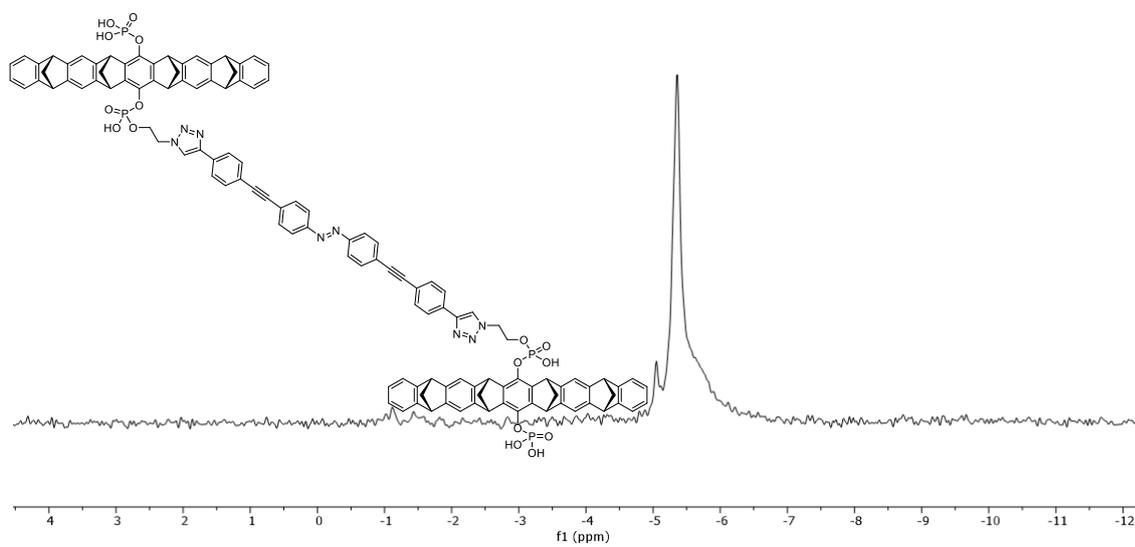
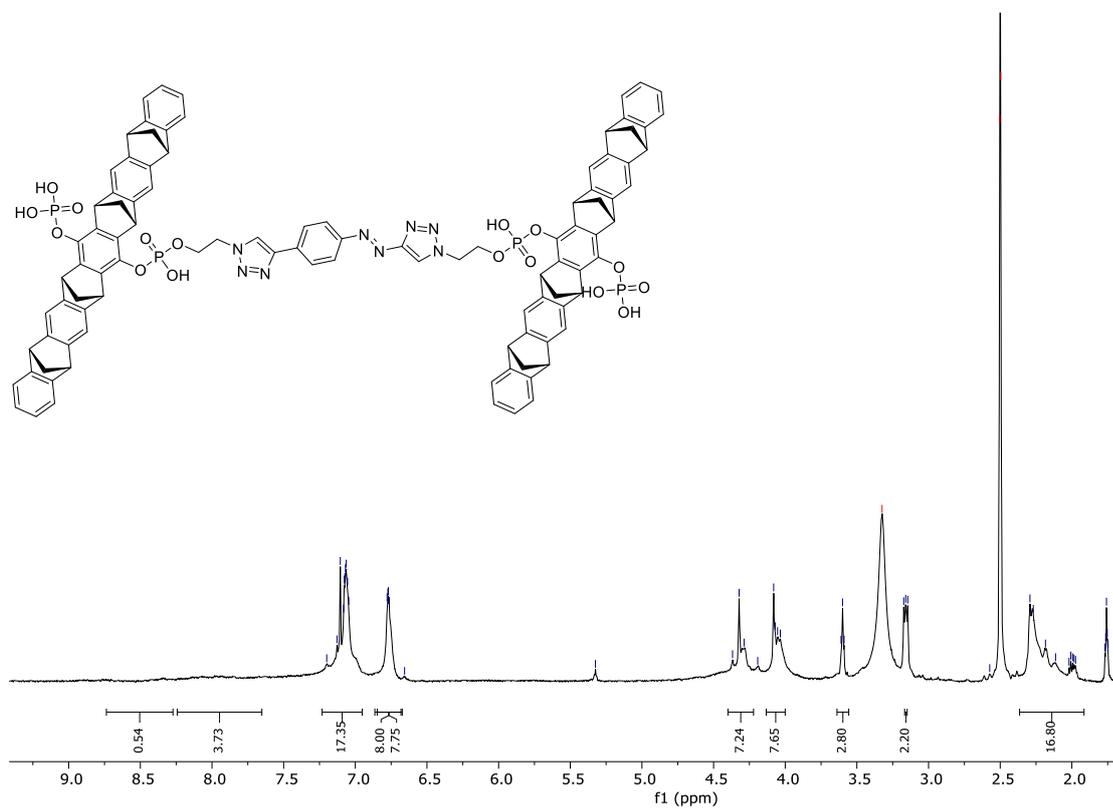
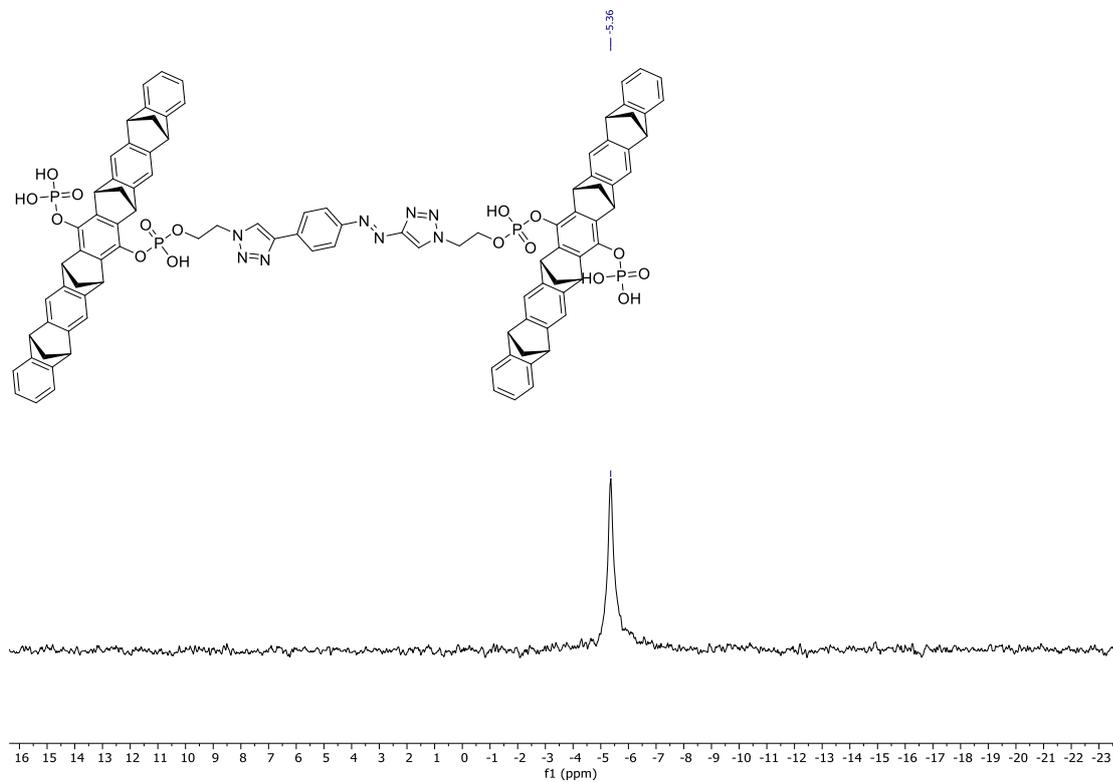
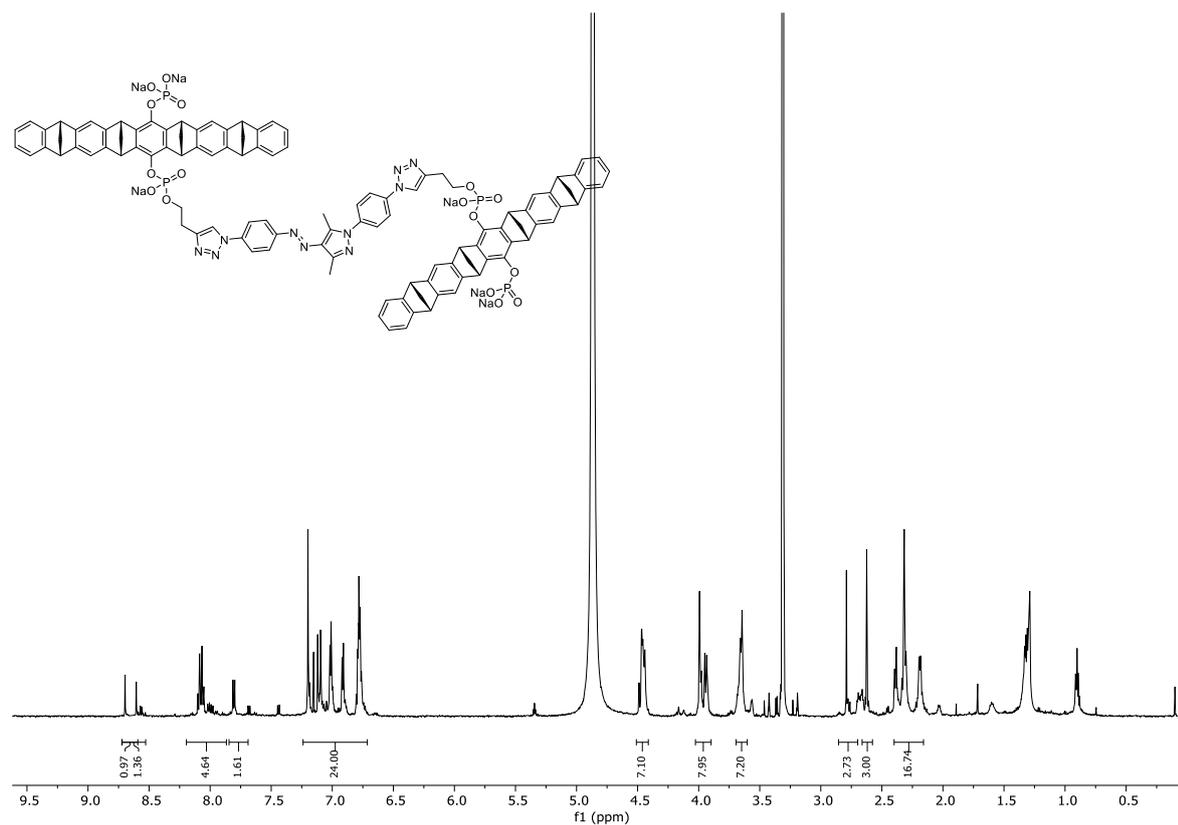
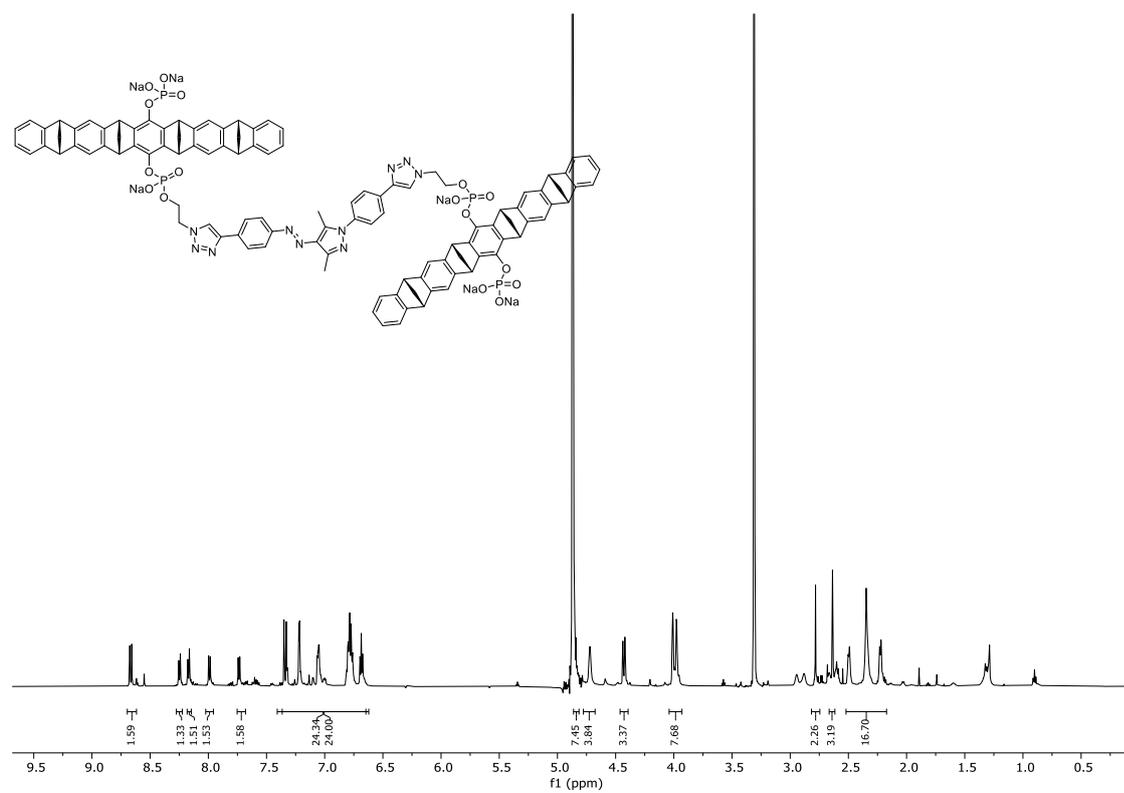
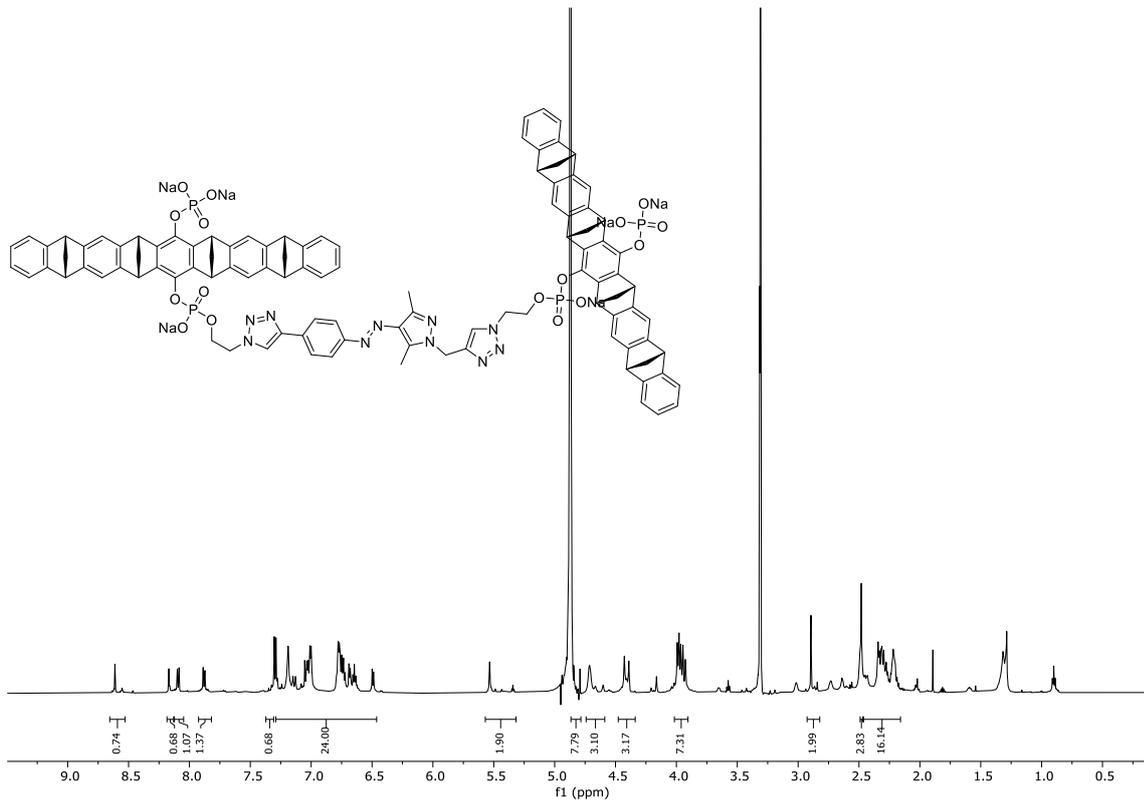
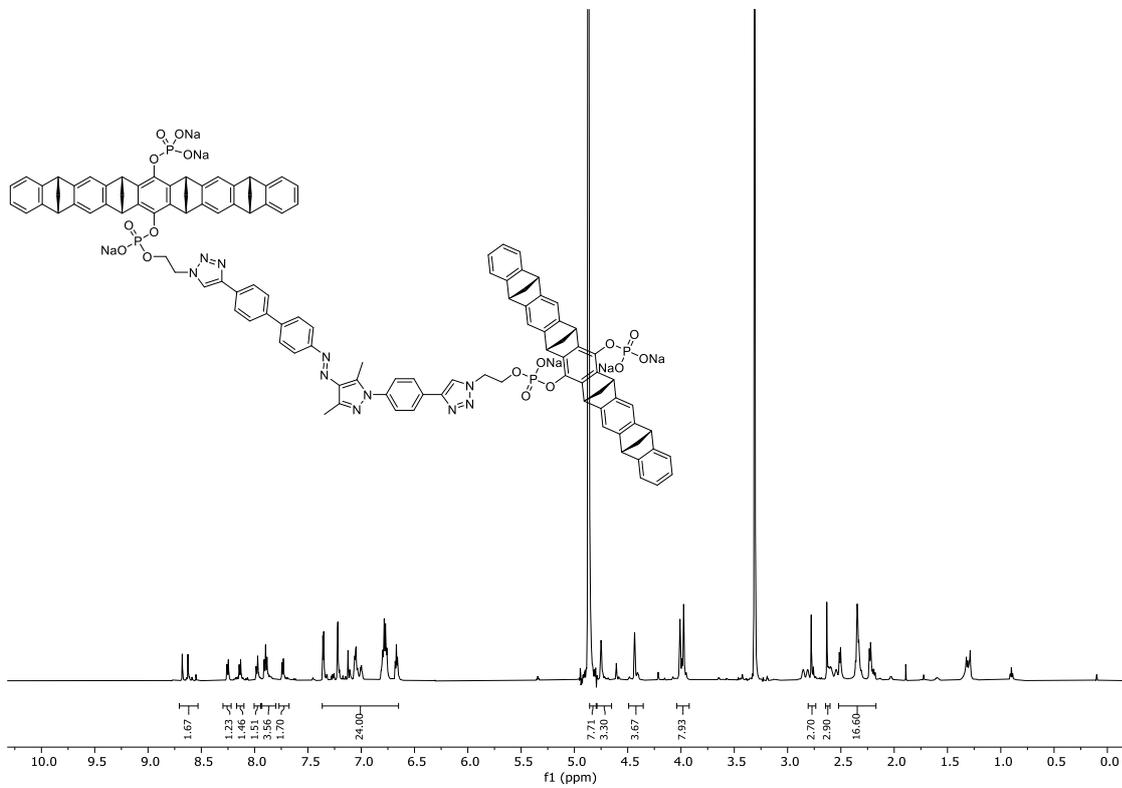


Abbildung 130:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum von TWAB3

Abbildung 131:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von TWAATAbbildung 132:  $^{31}\text{P-NMR}$ -Spektrum von TWAAT

Abbildung 133:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAP0Abbildung 134:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAP1

Abbildung 135:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAP2Abbildung 136:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAP3

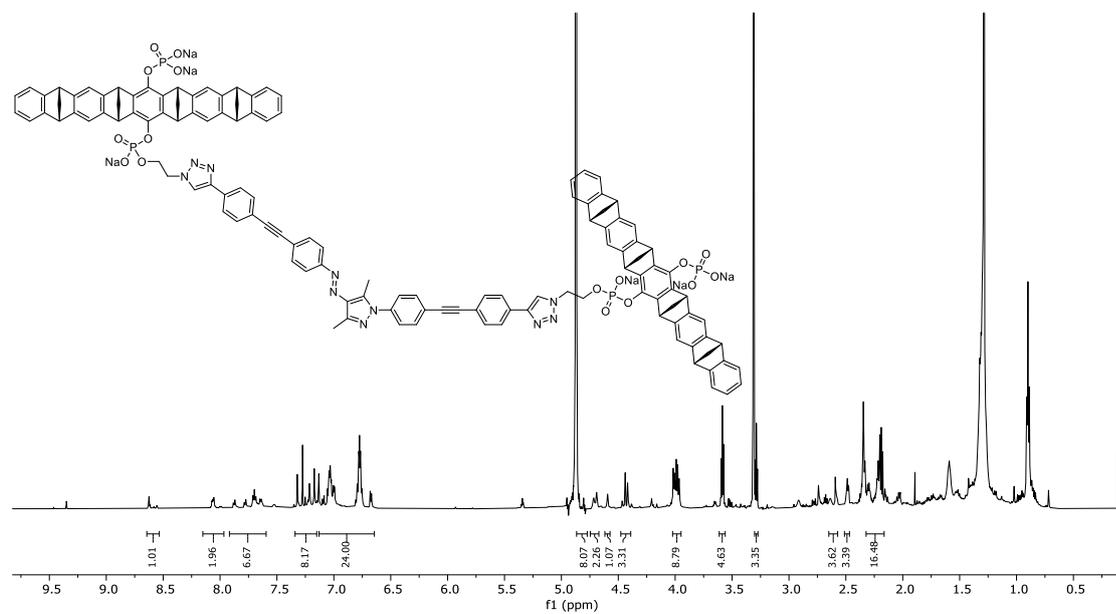


Abbildung 137:  $^1\text{H}$ -NMR vom natrium-Salz von TWAAP4

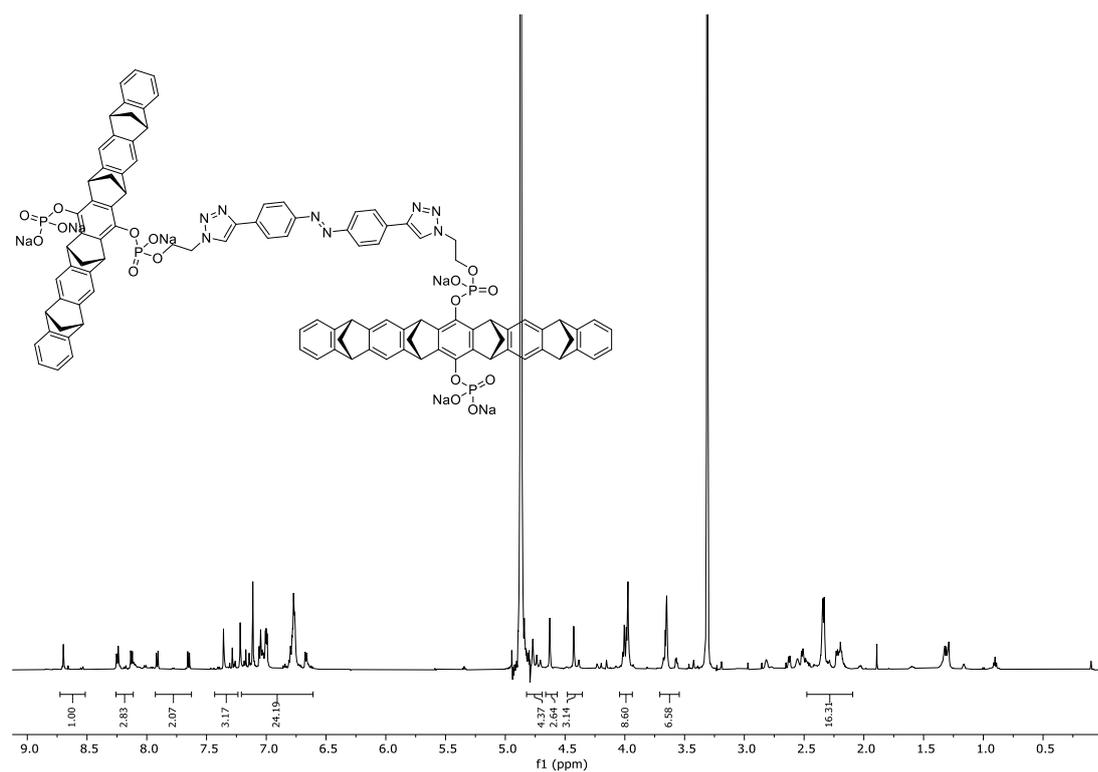
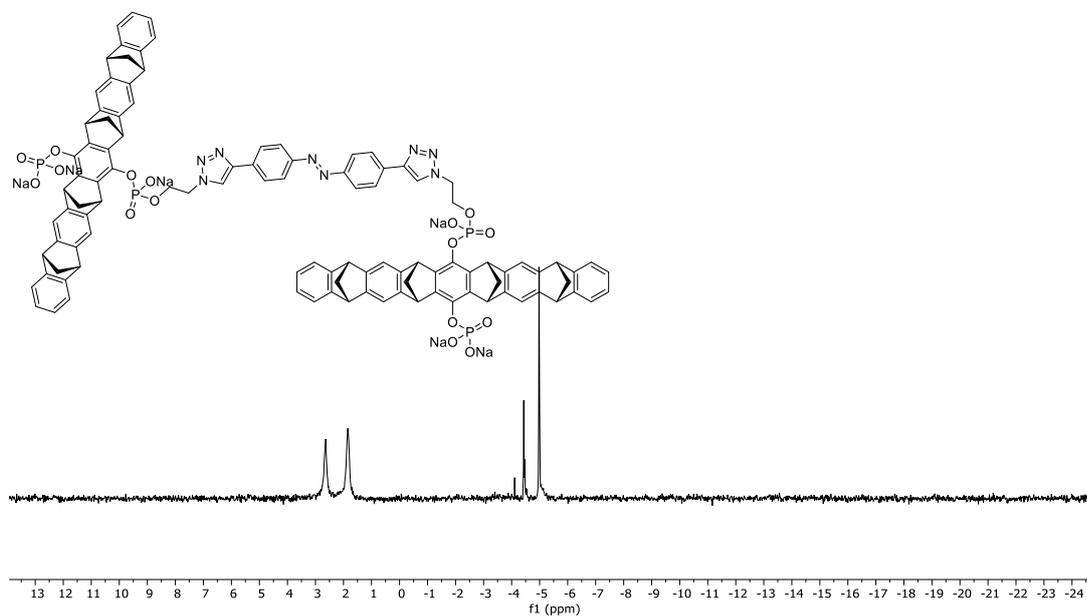
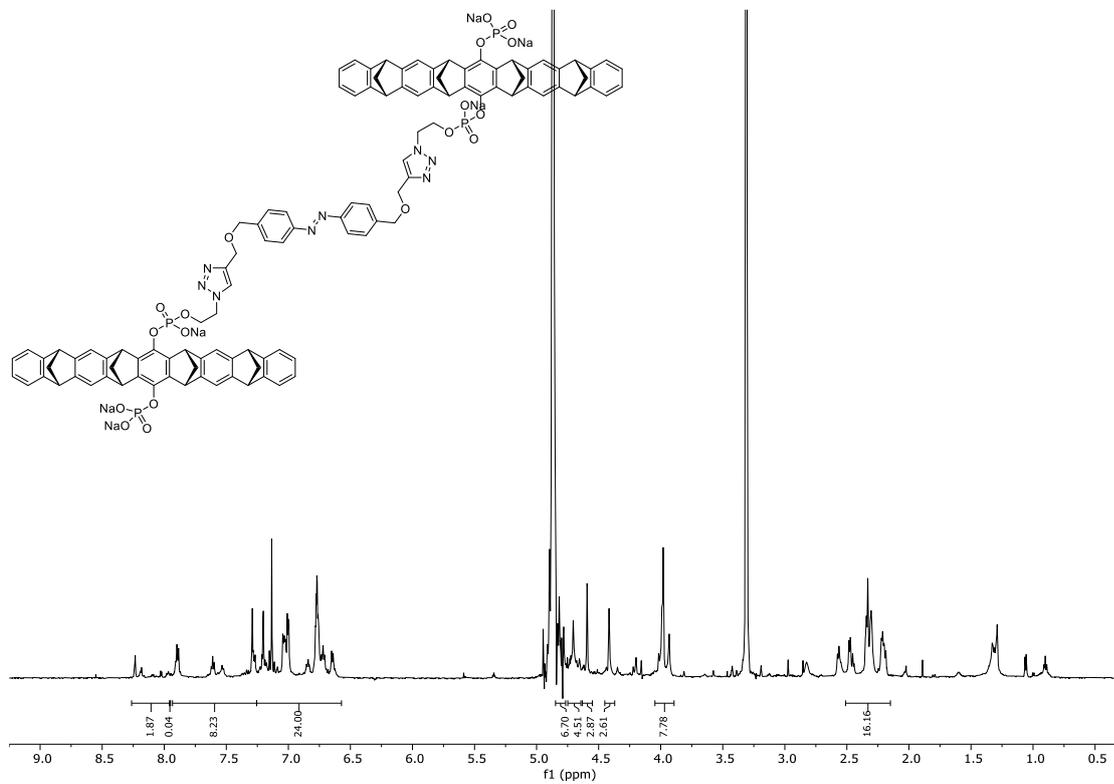
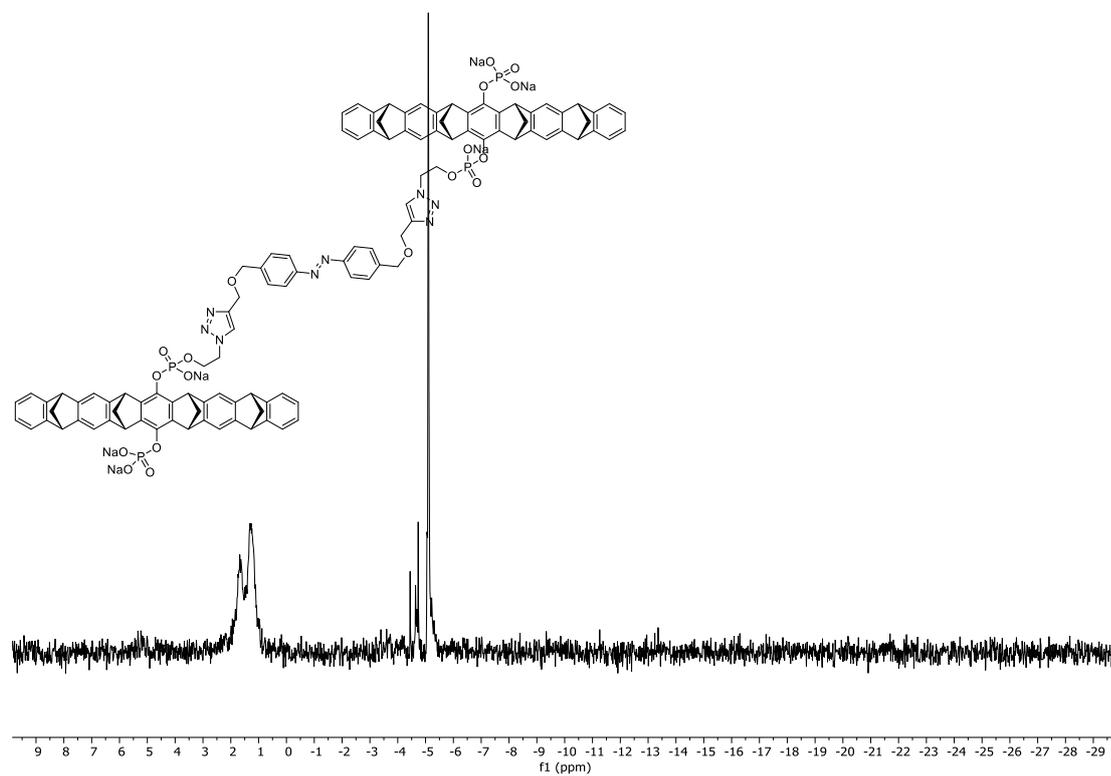
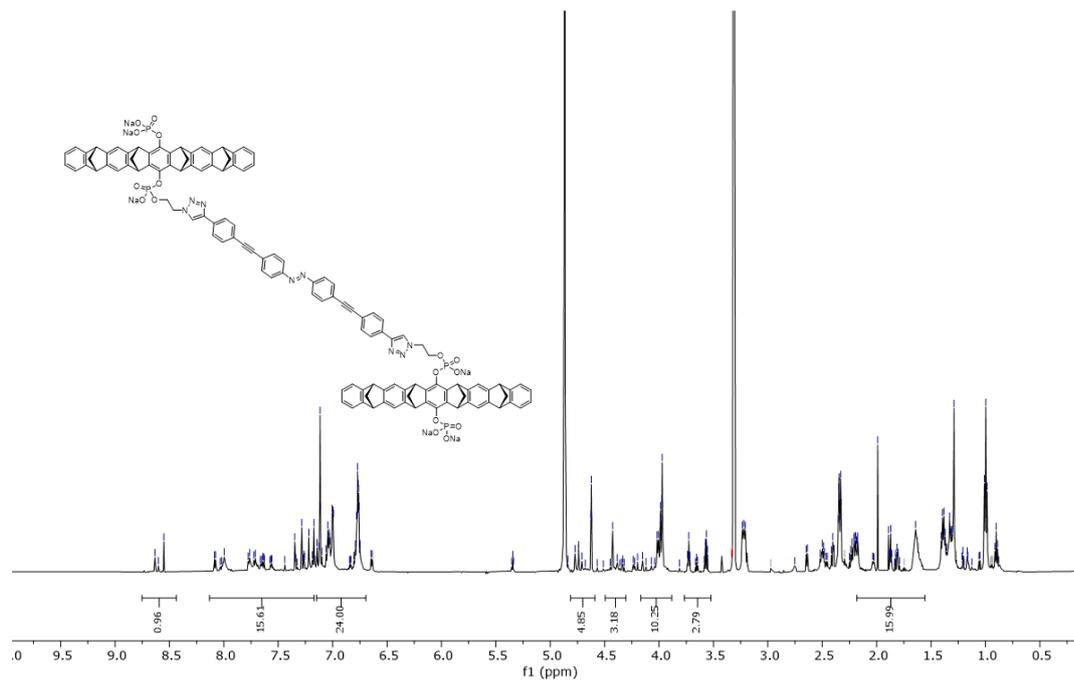
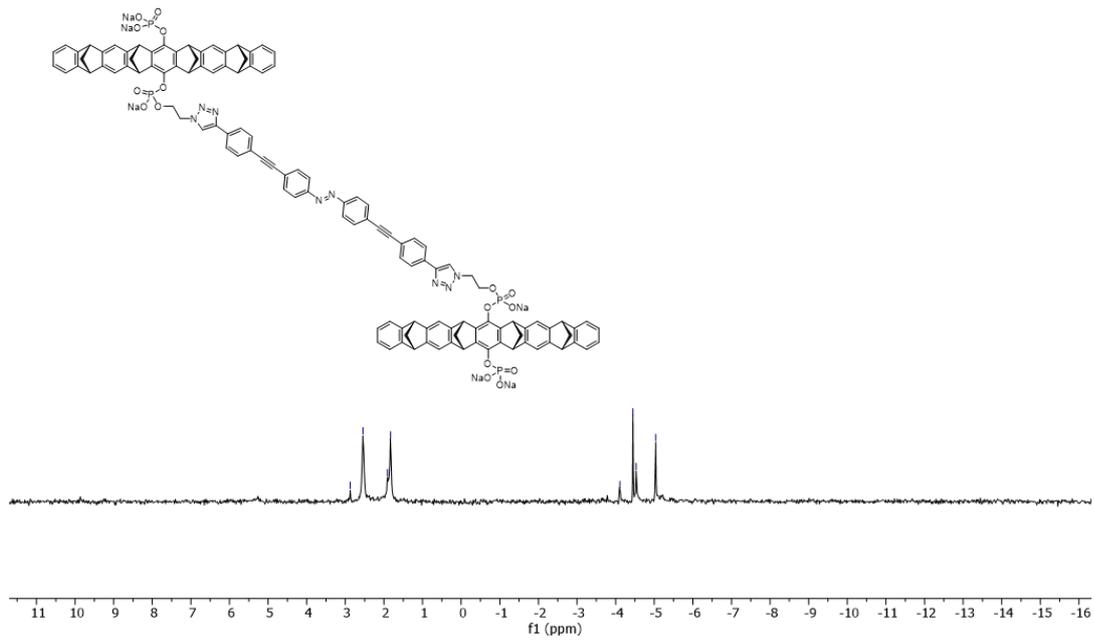
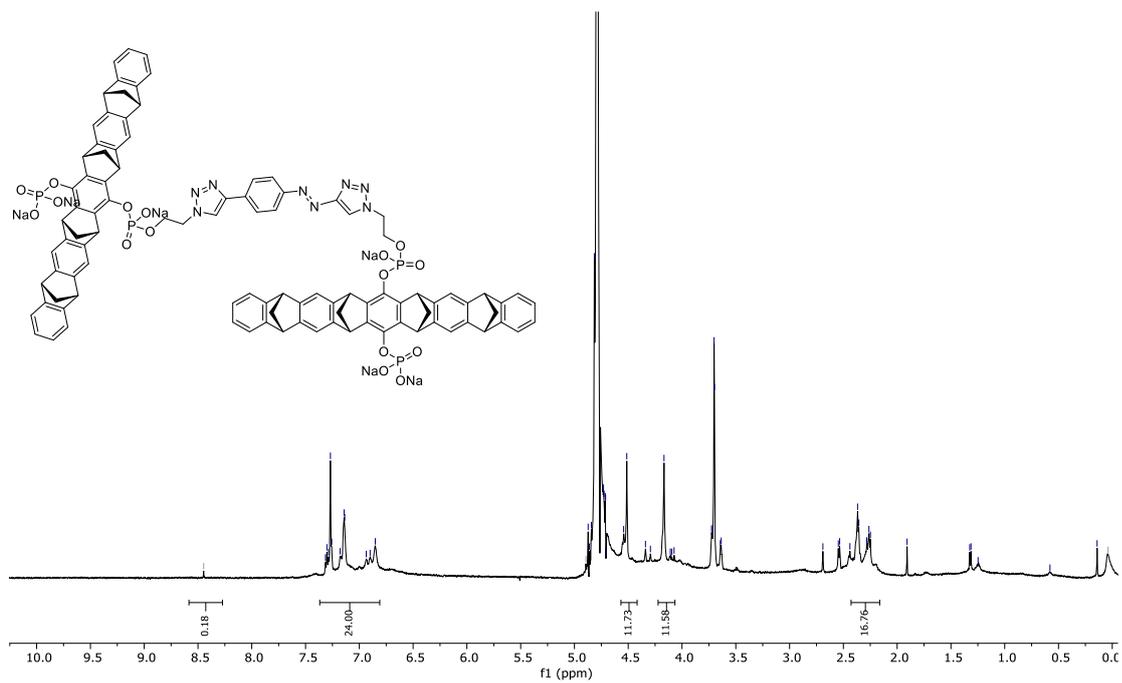


Abbildung 138:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB1

Abbildung 139:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB1Abbildung 140:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB2

Abbildung 141:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB2Abbildung 142:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB3.

Abbildung 143:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB3.Abbildung 144:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAT.

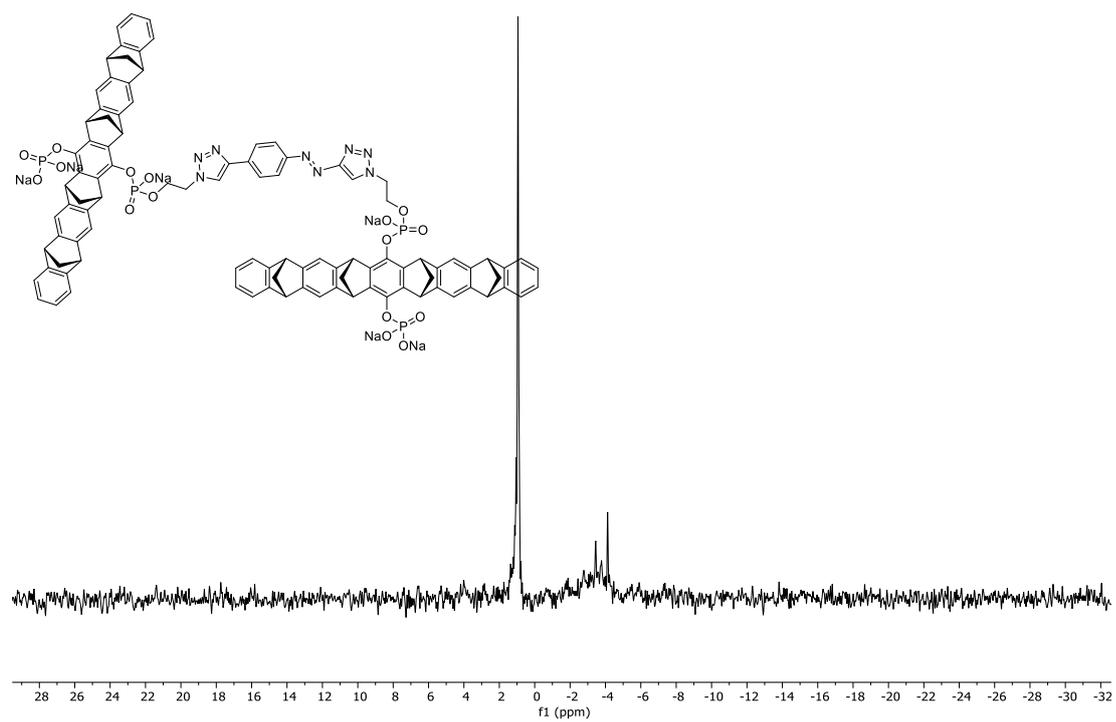


Abbildung 145:  $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAT

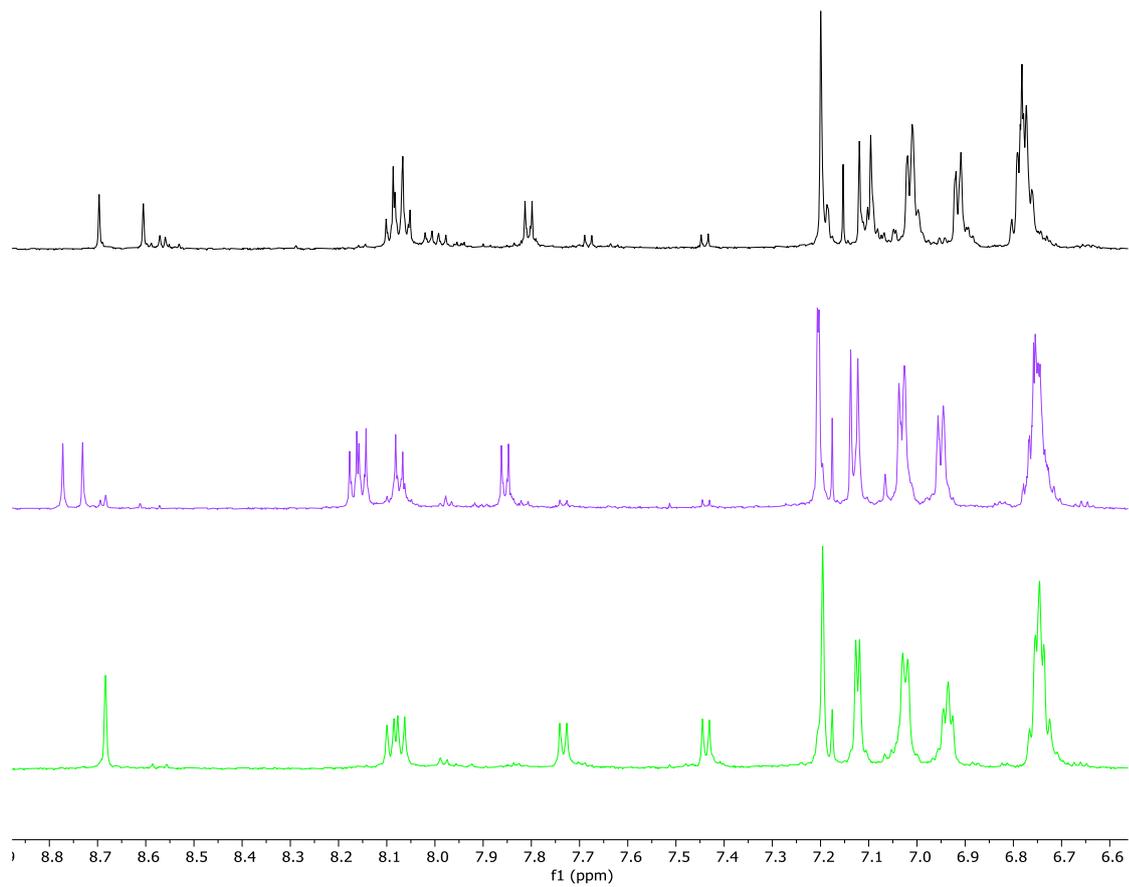


Abbildung 146:  $^1\text{H-NMR}$ -Experimente zur Schaltung von TWAAP0

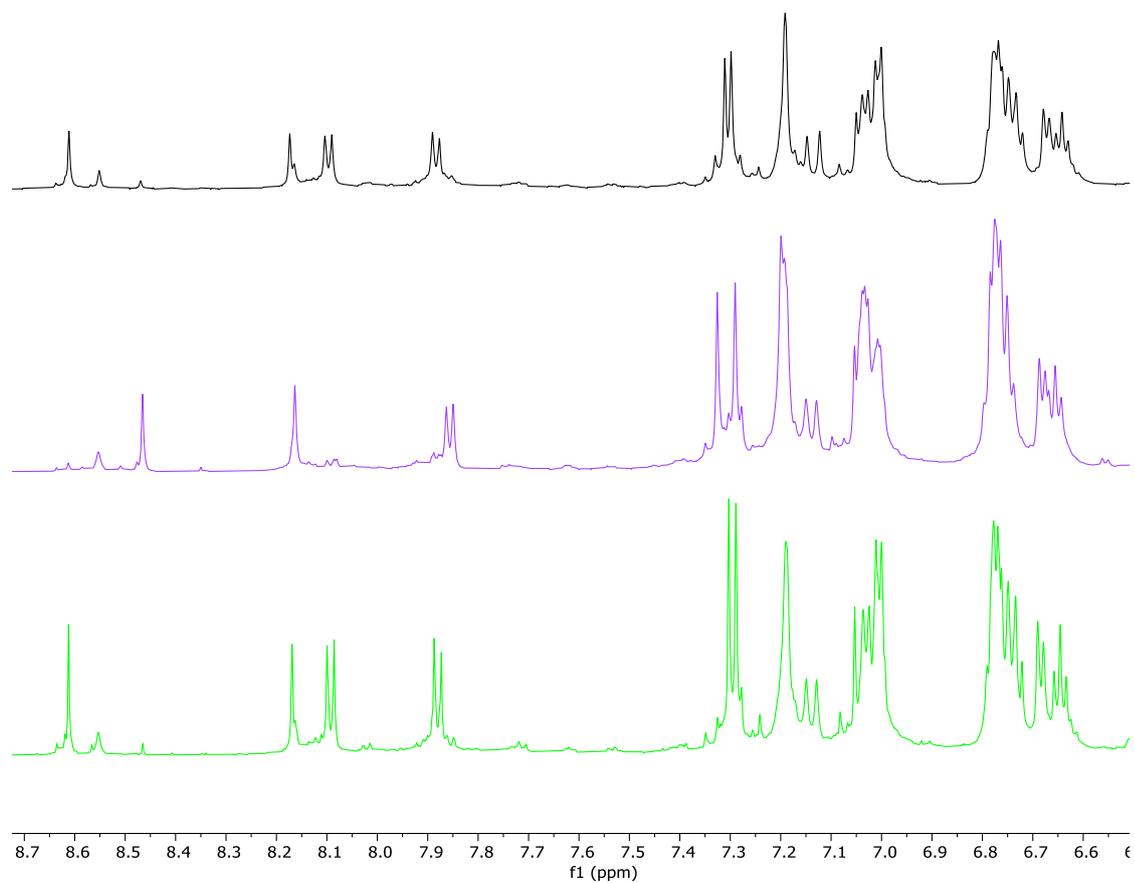


Abbildung 147: <sup>1</sup>H-NMR-Experimente zur Schaltung von TWAAP2

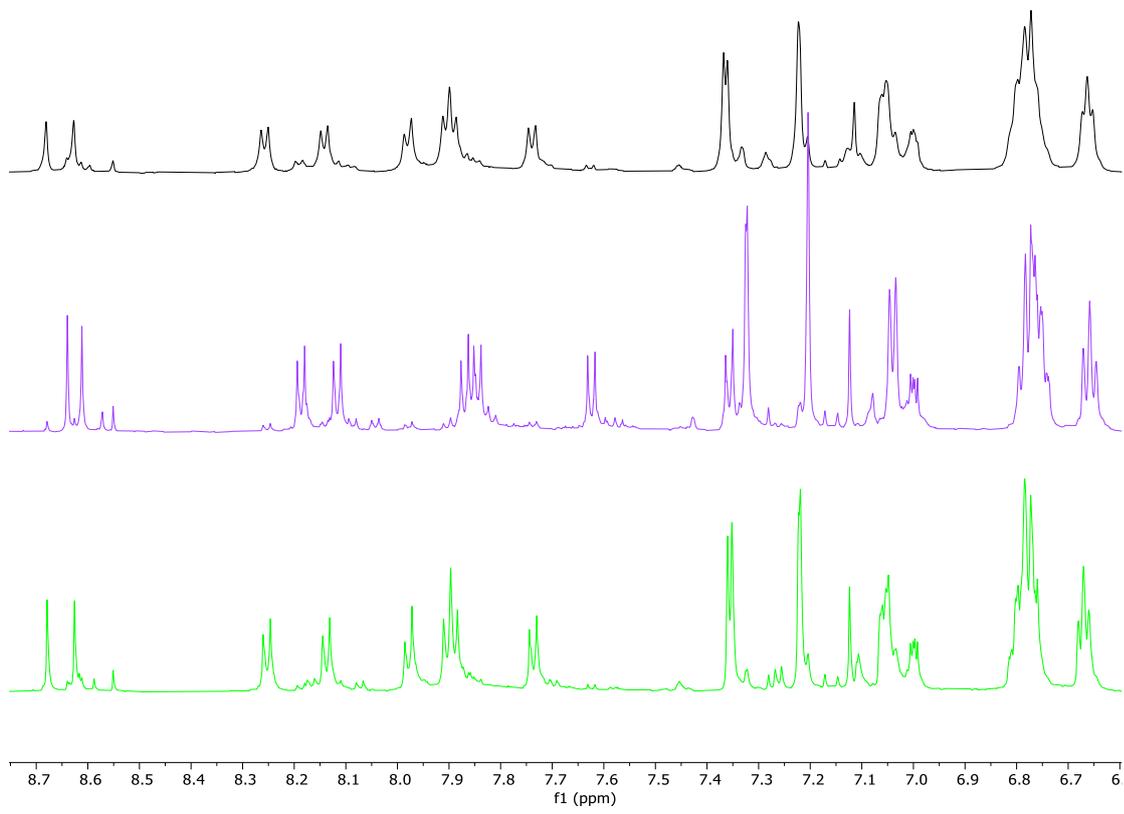


Abbildung 148:  $^1\text{H-NMR}$ -Experimente zur Schaltung von TWAAP3

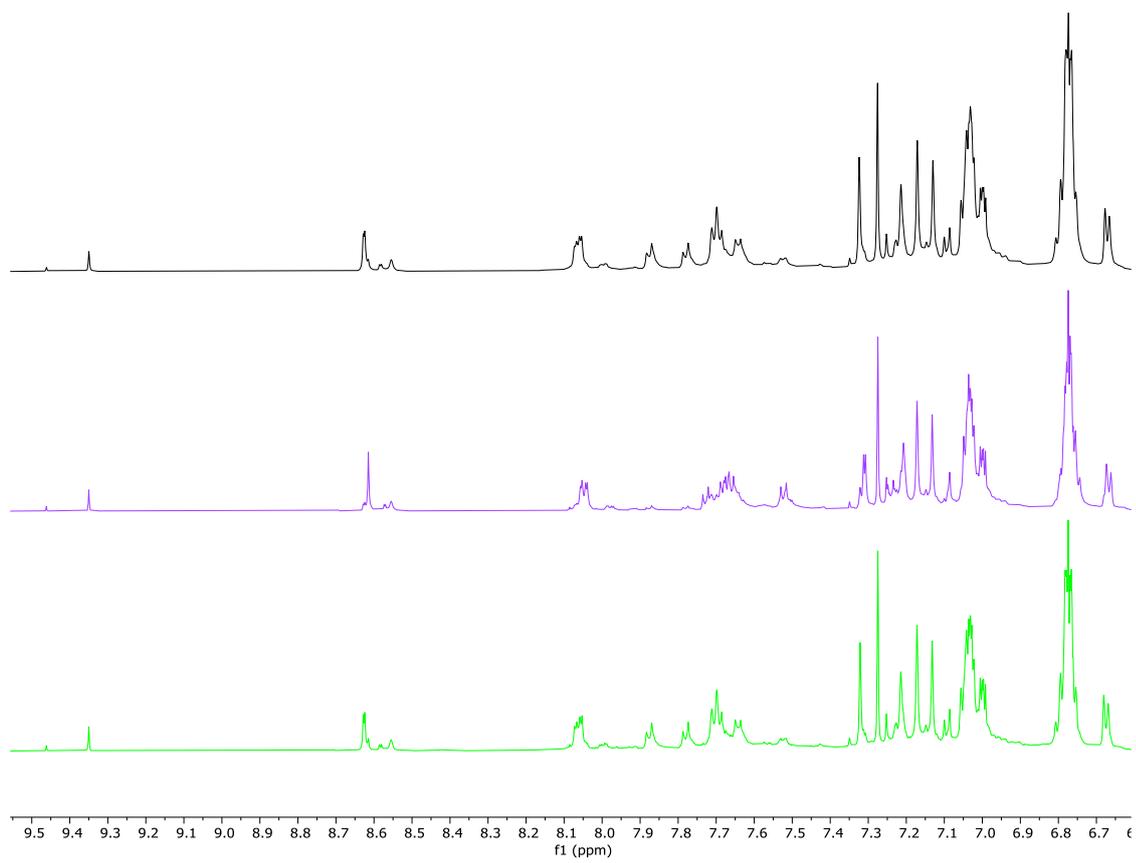


Abbildung 149: <sup>1</sup>H-NMR-Experimente zur Schaltung von TWAAP4

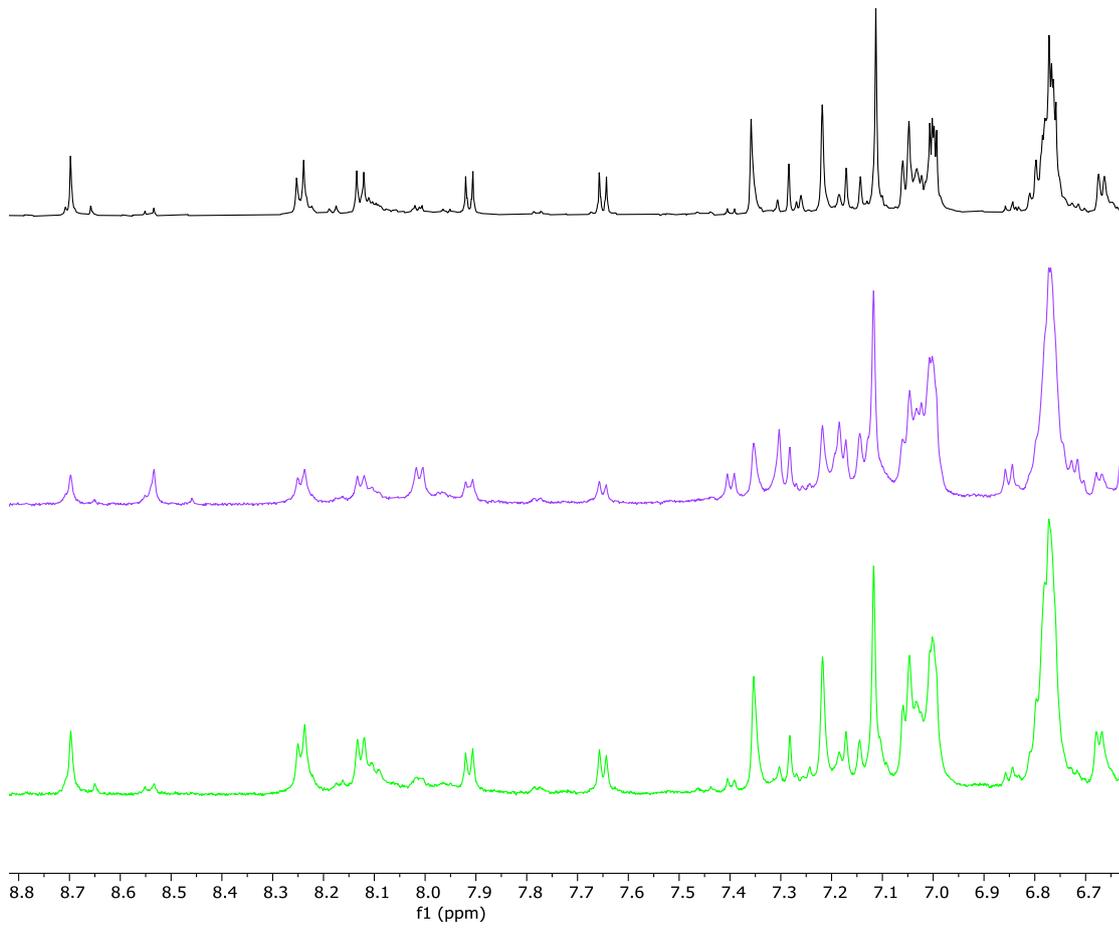


Abbildung 150:  $^1\text{H-NMR}$ -Experimente zur Schaltung von TWAB1

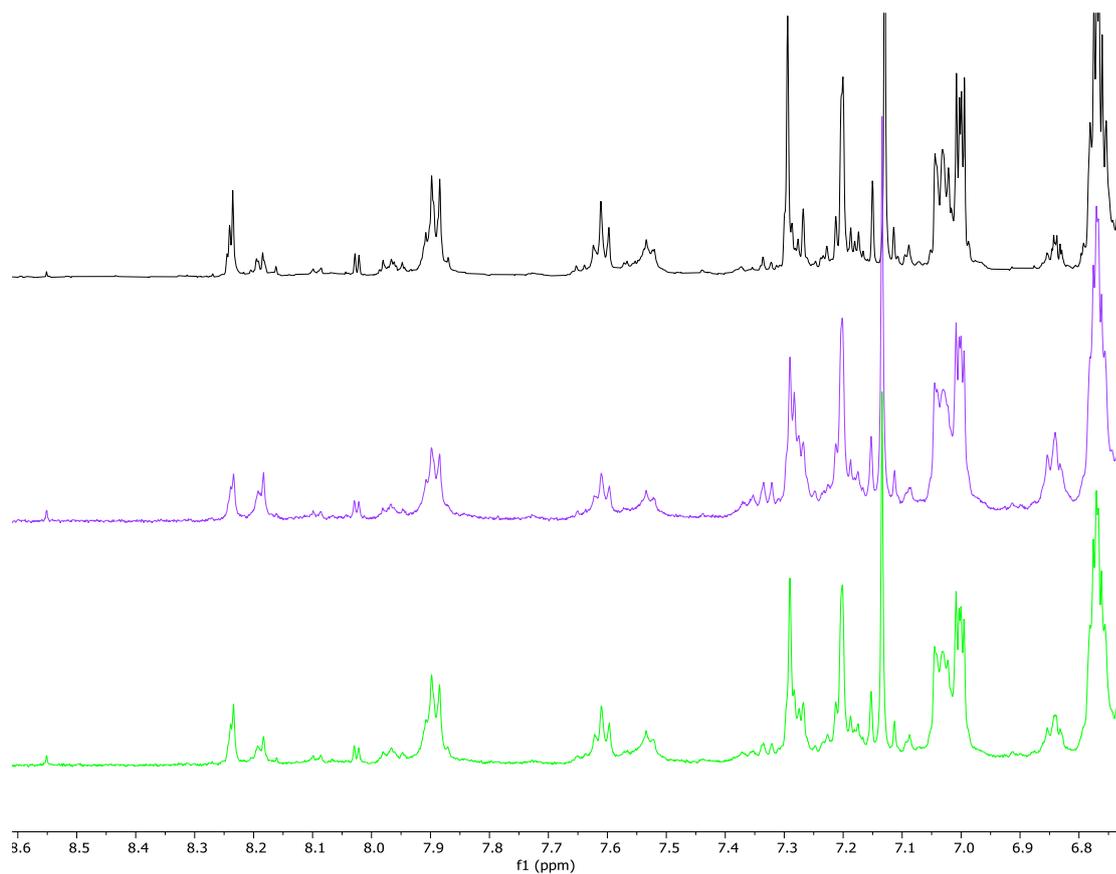


Abbildung 151: <sup>1</sup>H-NMR-Experimente zur Schaltung von TWAB2

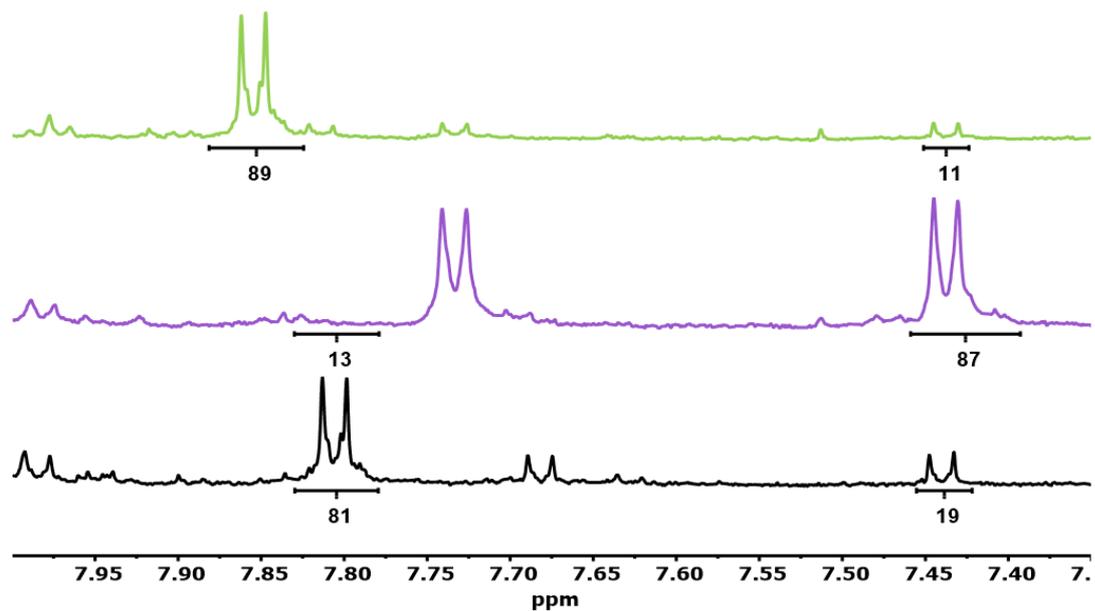


Abbildung 152: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAAP0.

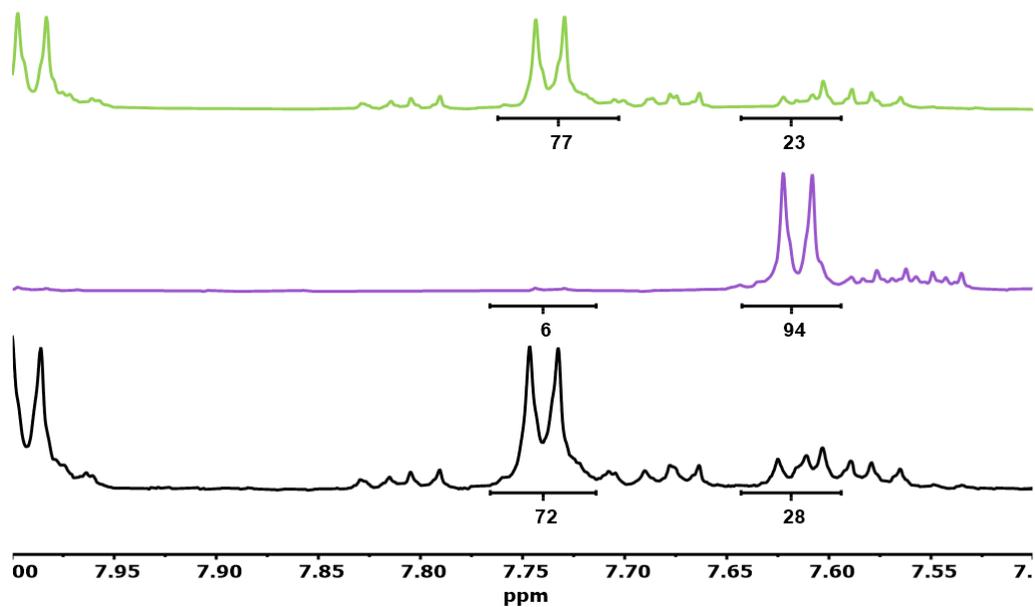


Abbildung 153: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAAP1.

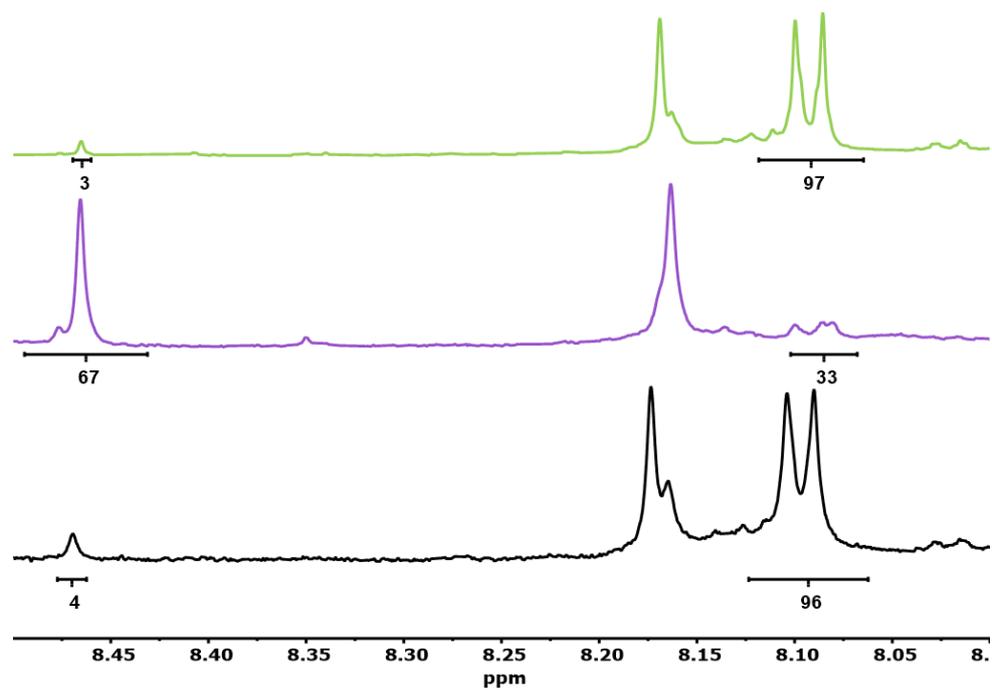


Abbildung 154: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAAP2.

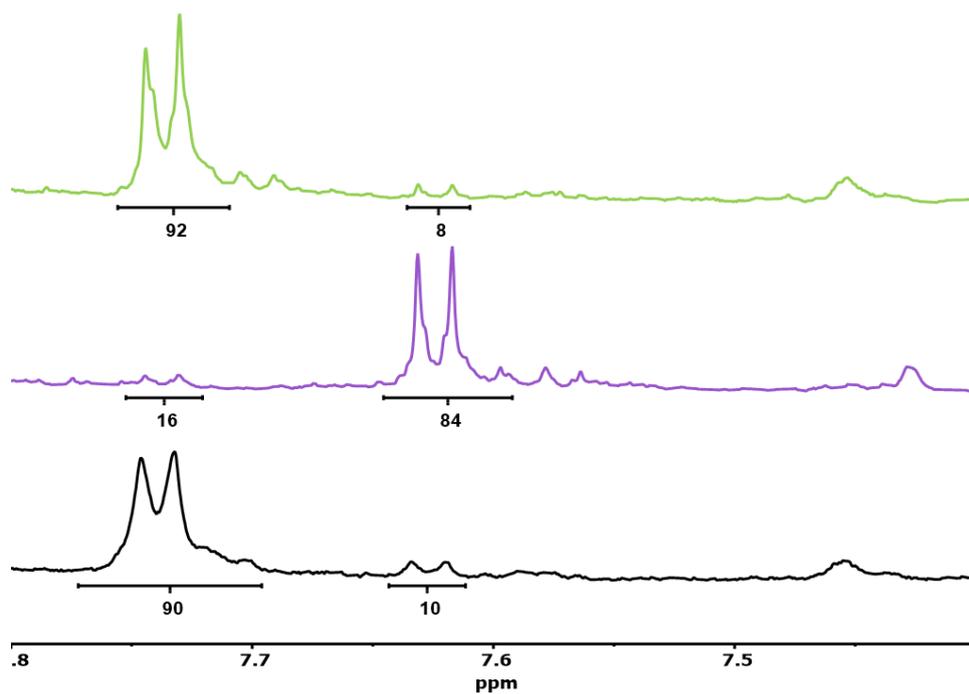


Abbildung 155:: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAAP3.

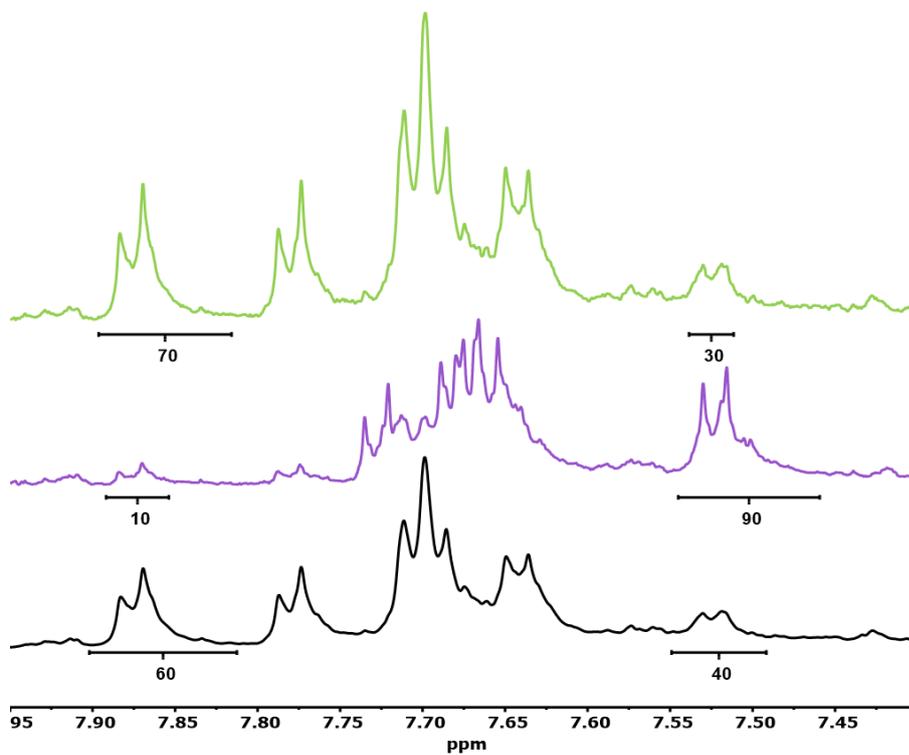


Abbildung 156: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAAP4.

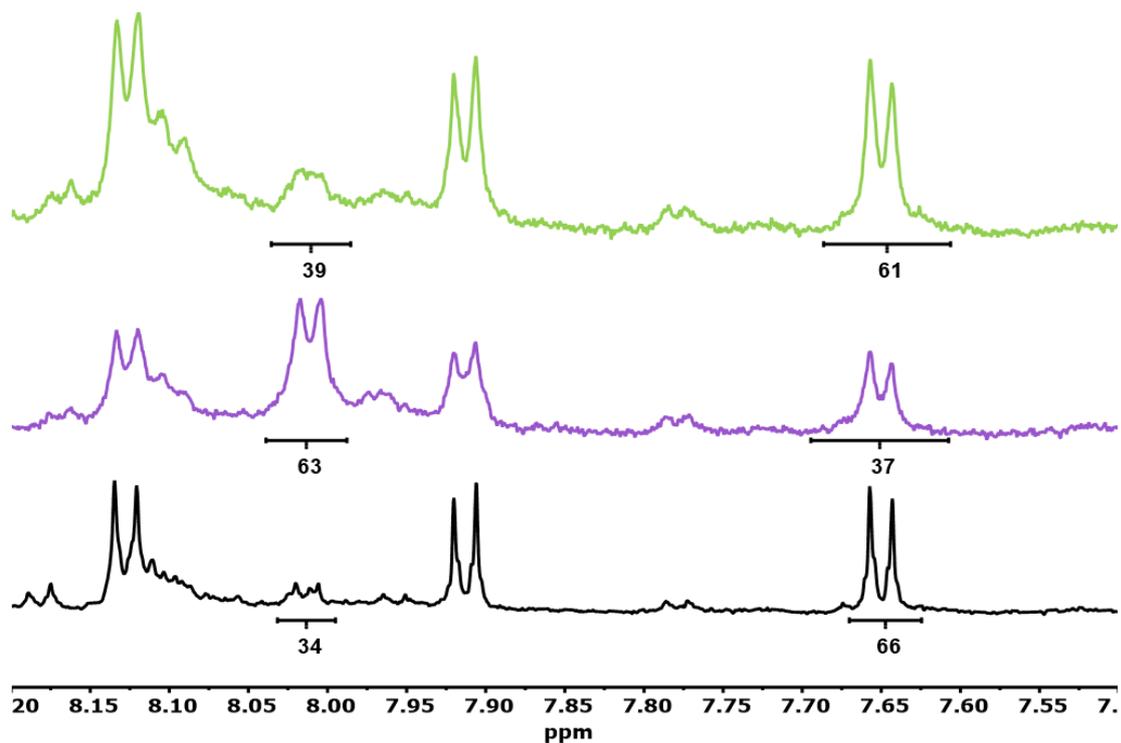


Abbildung 157: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAB1.

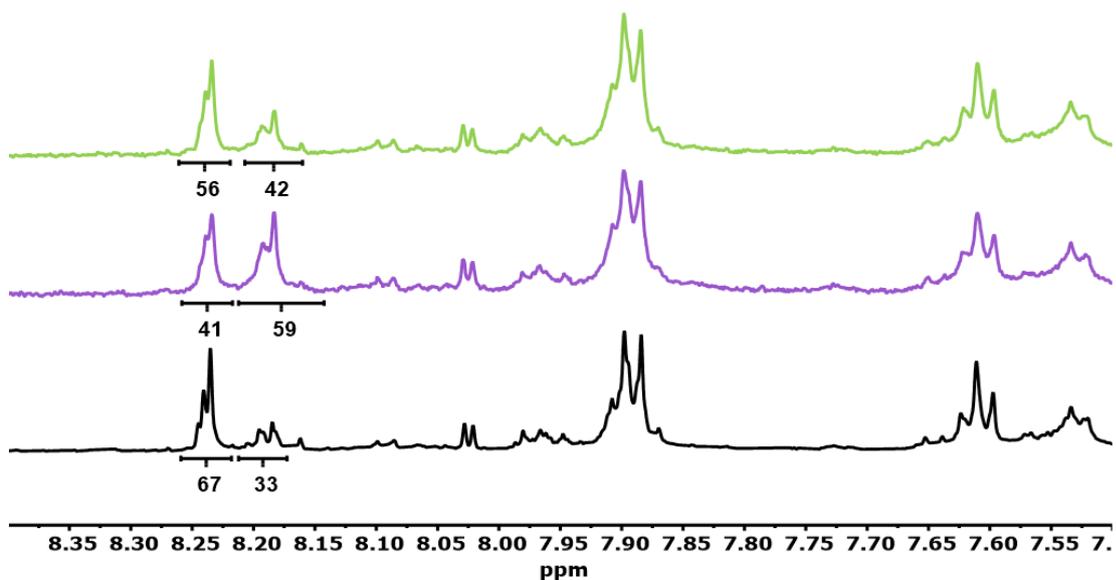


Abbildung 158: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAB2.

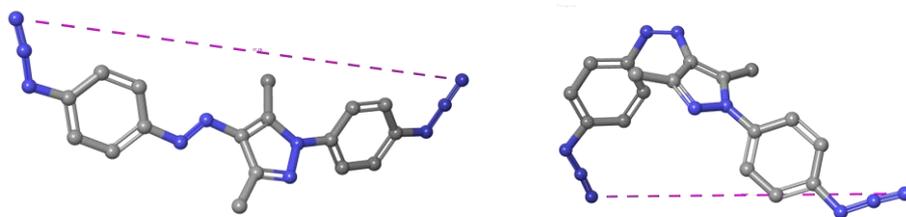


Abbildung 159: MD-Simulation von AAP0. E- Konfiguration (links) und Z-Konfiguration (rechts)

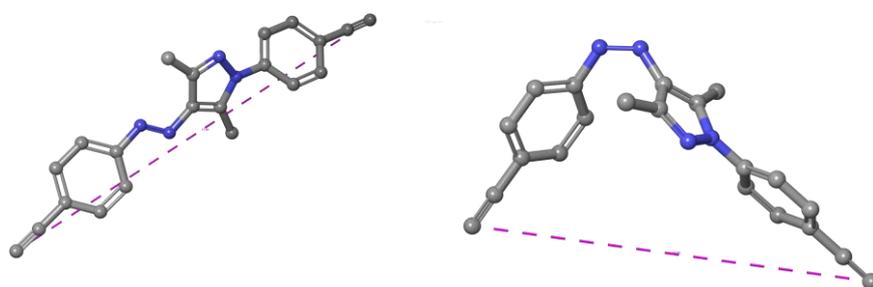


Abbildung 160: MD-Simulation von AAP1. E-Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts)

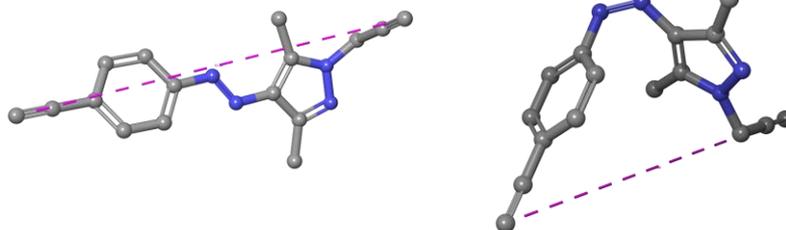


Abbildung 161: MD-Simulation von AAP2. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts)

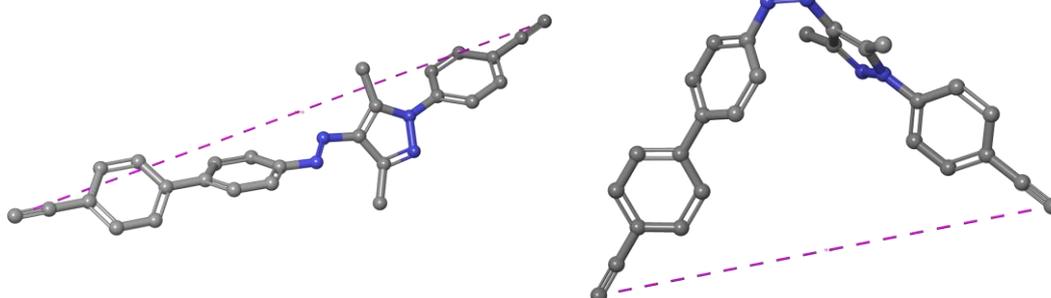


Abbildung 162: MD-Simulation von AAP3. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts)

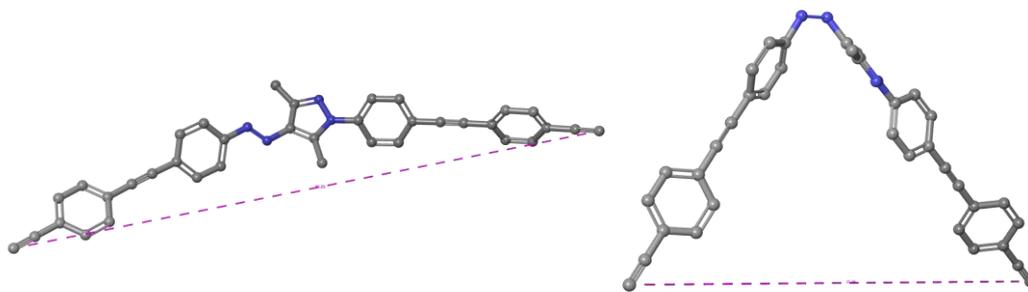


Abbildung 163: MD-Simulation von AAP4. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts)

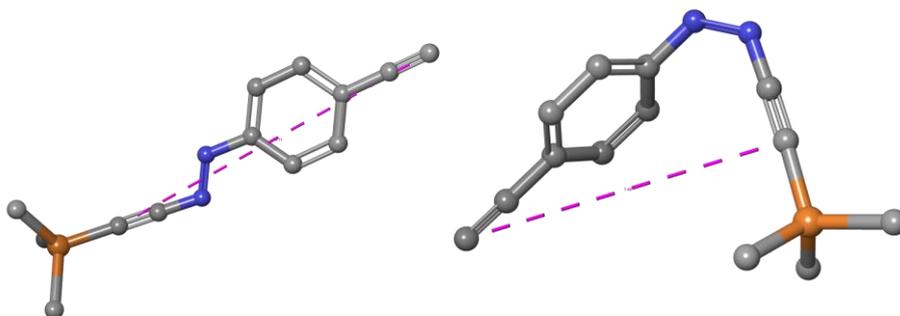


Abbildung 164: MD-Simulation vom Arylazoacetylen. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts)

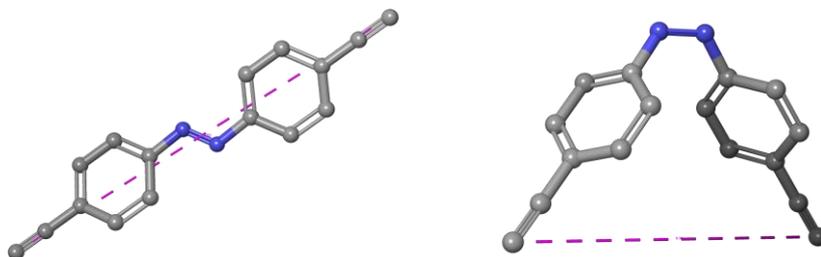


Abbildung 165: MD-Simulation von AB1. E-Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts)

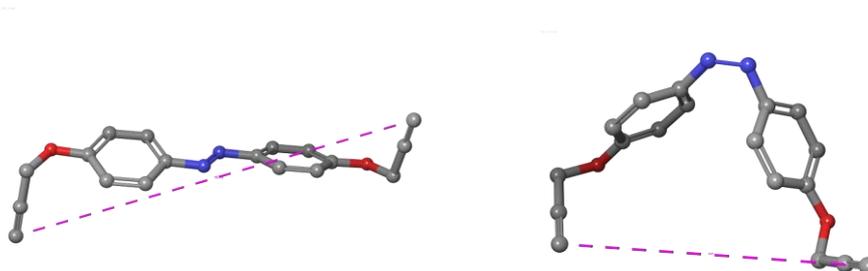


Abbildung 166: MD-Simulation von AB2. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts)

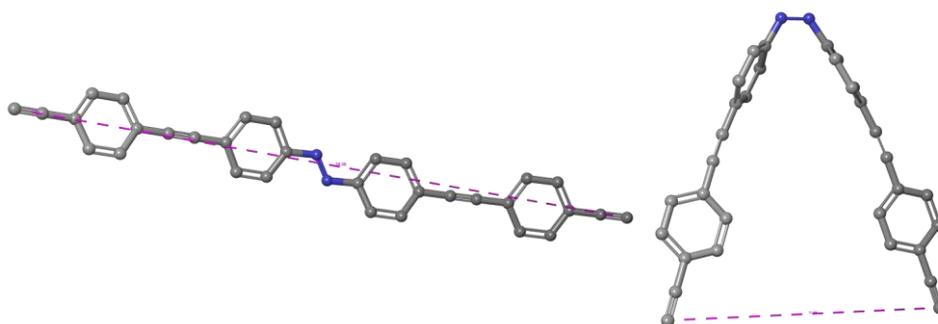


Abbildung 167: MD-Simulation von AB3. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts)

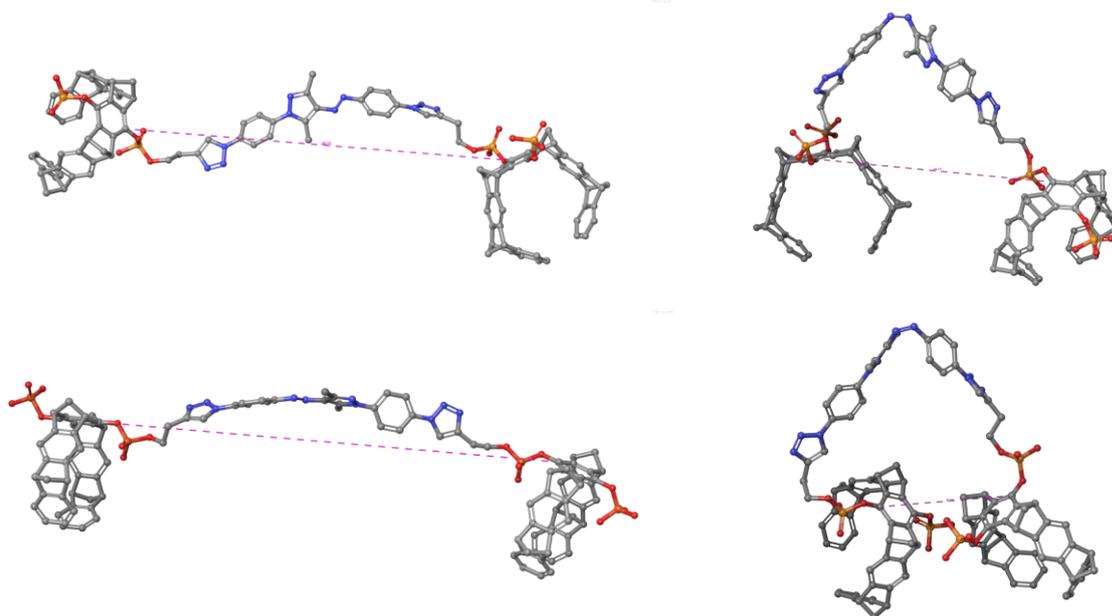


Abbildung 168: MD-Simulation von TWAAP0. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)

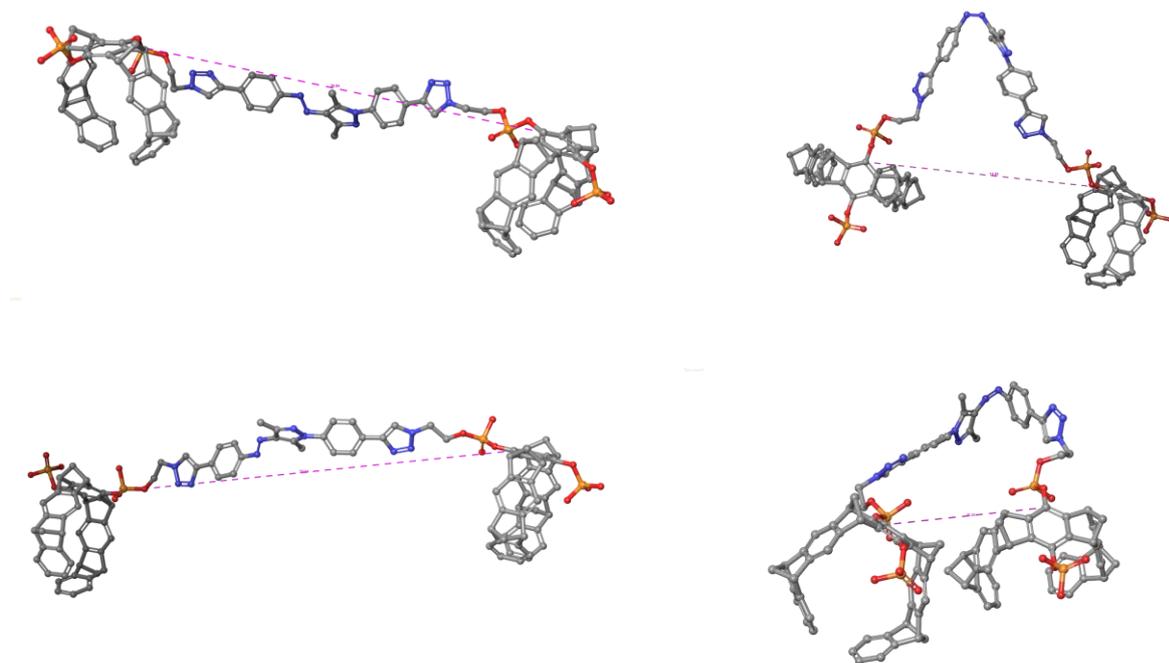


Abbildung 169: MD-Simulation von TWAAP1. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)

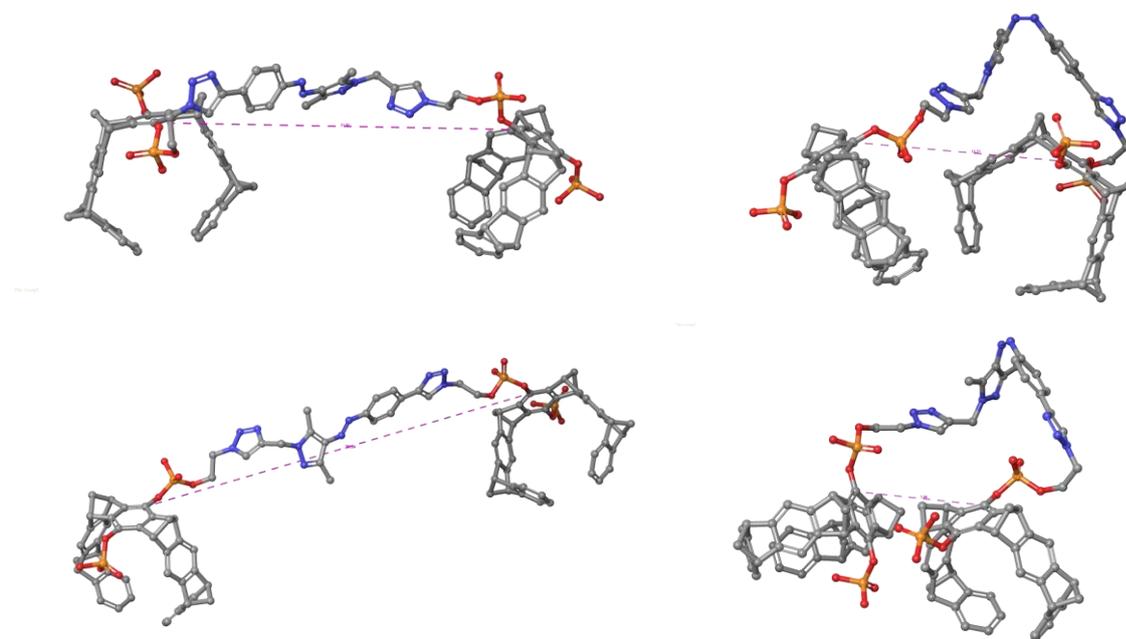


Abbildung 170: MD-Simulation von TWAAP2. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)

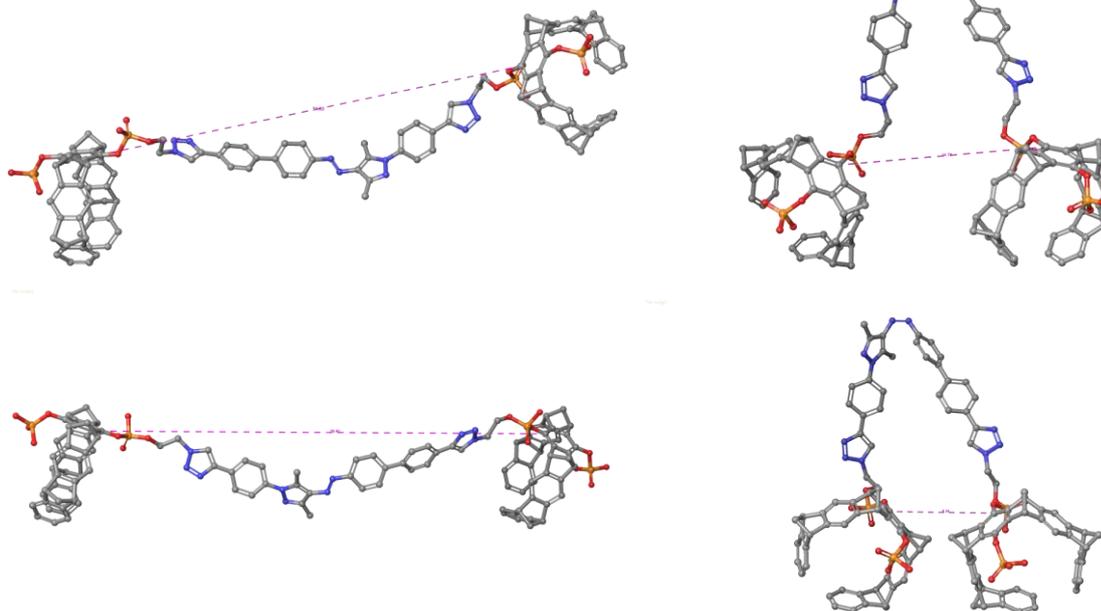


Abbildung 171: MD-Simulation von TWAAP3. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)

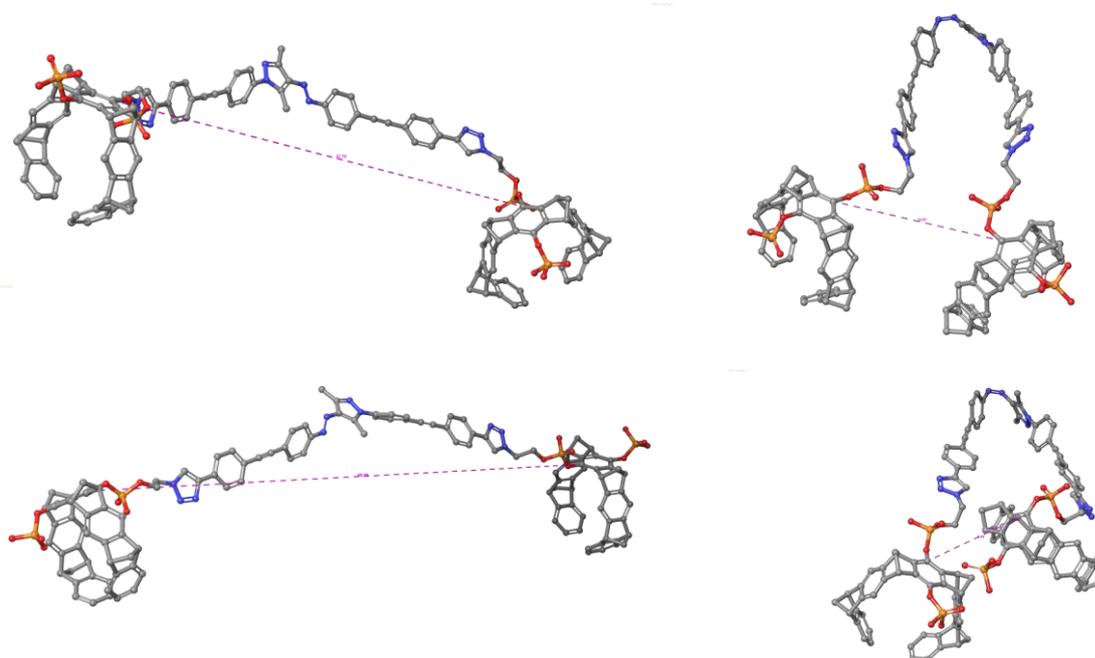


Abbildung 172: MD-Simulation von TWAAP4. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)

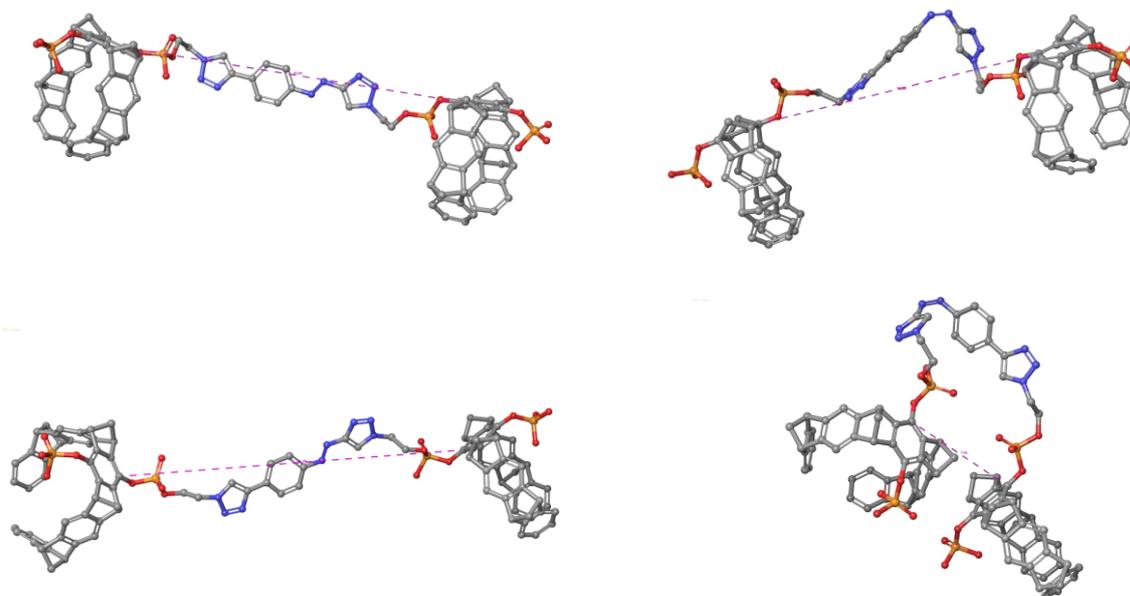


Abbildung 173: MD-Simulation von TWAAT. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)

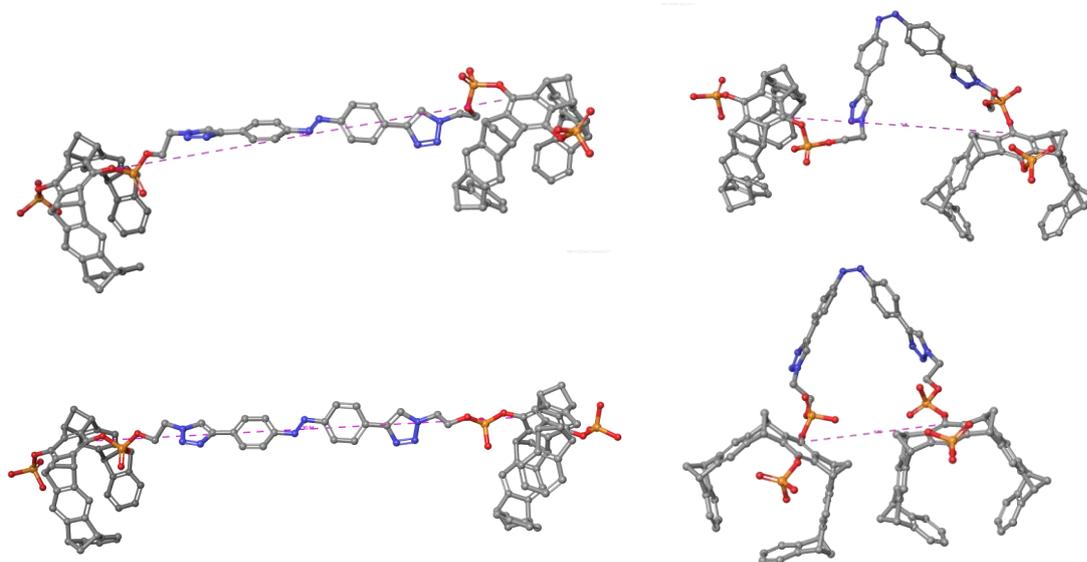


Abbildung 174: MD-Simulation von TWAB1. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)

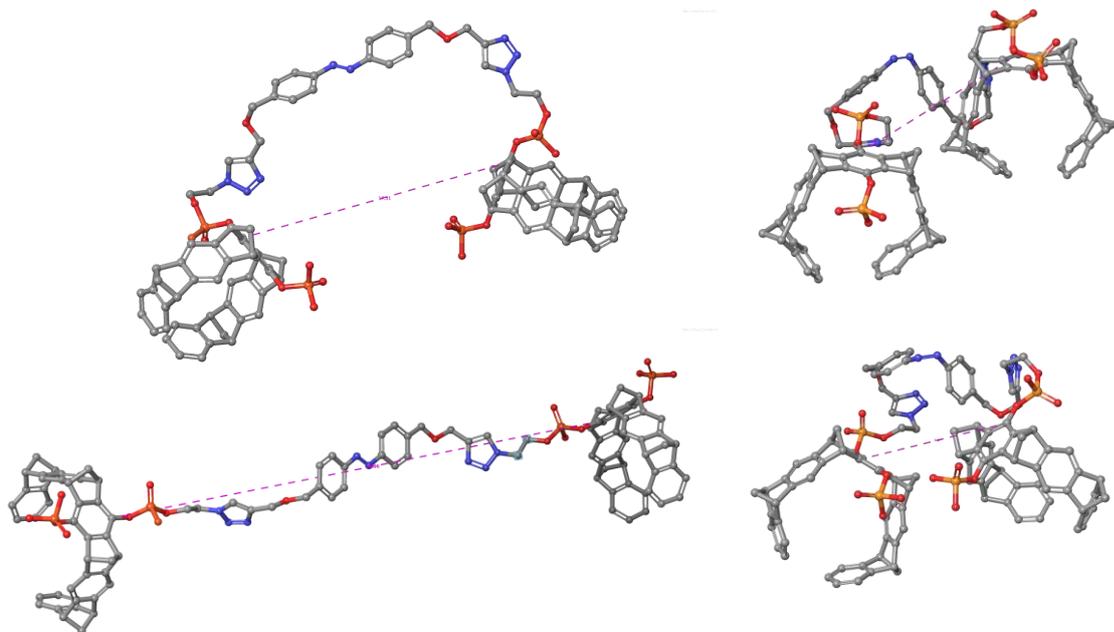


Abbildung 175: MD-Simulation von TWAB2. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)

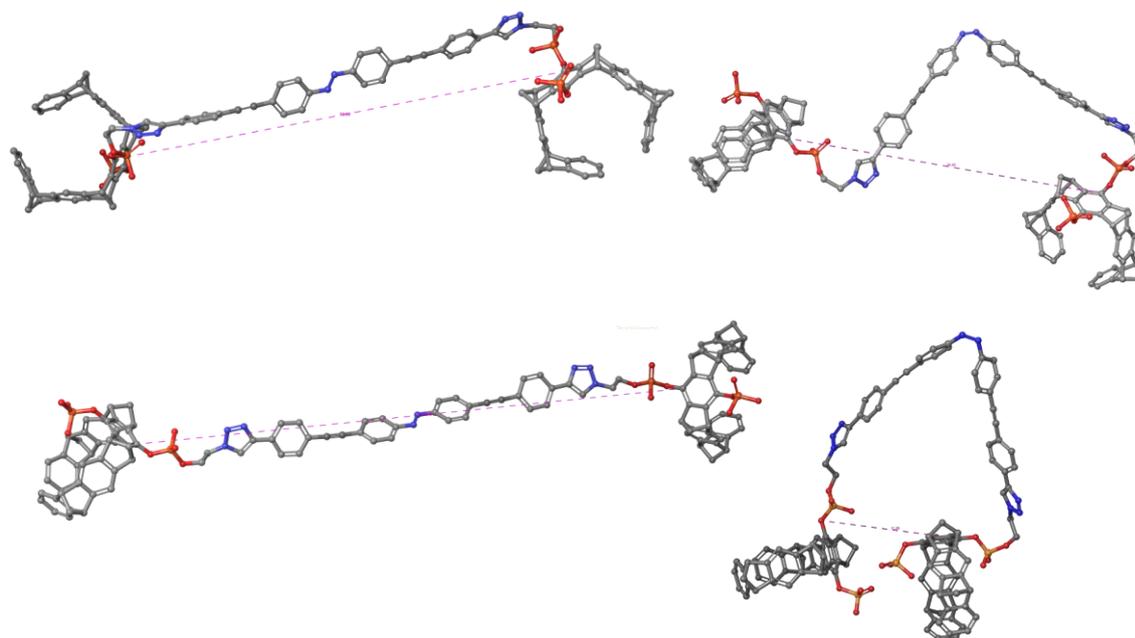


Abbildung 176: MD-Simulation von TWAB3. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)



### III. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Proteinstrukturen: A) Primärstruktur, Reihenfolge der einzelnen Aminosäuren; B) Sekundärstruktur, $\alpha$ -Helix; C) Tertiärstruktur, übergeordnete räumliche Anordnung der gesamten Peptidkette als $\alpha$ -Helix und $\beta$ -Faltblatt; D) Quartärstruktur; gesamt Überstruktur mehrerer Protein-Untereinheiten. ....	2
Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Protein Hotspots am Beispiel von Taspase 1. Die Proteinstruktur wird gelb, die Proteinoberfläche grau und die Aminosäurereste eines „Hot-Spots“ des flexiblen <i>Loops</i> (im hellblauen gestrichelten Kreis) rot dargestellt. ....	3
Abbildung 3: Schematische Darstellung einiger grundlegender supramolekularer Wirtssysteme zur Erkennung von Aminosäuren auf Proteinoberflächen. Von links nach rechts: Kronenether, Calix[n]arene, Cyclodextrine, molekulare Pinzetten. ....	4
Abbildung 4: Schematische Darstellung des Aktivierungsmechanismus von Taspase 1 und das weitere Geschehen im Zellkern. ....	6
Abbildung 5: Schematische Darstellung einer molekularen Pinzette. ....	7
Abbildung 6: Molekulare Pinzetten nach <i>Klärner</i> . ....	8
Abbildung 7: 3D-modelierte Darstellung der Pinzette nach <i>Klärner</i> . In der Kavität befindet sich das Dibutylammonium-Ion. ....	8
Abbildung 8: Die molekulare Pinzette CLR01. ....	10
Abbildung 9: Die Monobutylphosphatmonophosphat-Pinzette nach <i>Schrader</i> . ....	11
Abbildung 10: Erweiterung der molekularen Pinzette nach <i>Schrader</i> über verschiedene Ansätze für eine höhere Spezifität und Affinität der Bindung auf Proteinoberflächen. ....	12
Abbildung 11: Aufbau von multivalenten Tweezer-Systemen über Präzisionsmakromoleküle bis hin zu ultrakleinen Goldnanopartikeln in Anlehnung an <i>Seiler</i> <sup>14</sup> . ....	13
Abbildung 12: Übersicht von modernen Methoden zur Photokontrolle von biologischer Aktivität von Proteinen. (In Anlehnung an <i>Kneutinger</i> <sup>55</sup> ).....	15
Abbildung 13: A) Unsubstituiertes Azobenzol schaltet mit 350 nm Licht E --> Z. Die Rückisomerisierung Z--> E kann mit 420 nm Licht erreicht werden. Die Elektronendichteverteilung von Azobenzol im E- und Z-Isomer zeigt die unterschiedlichen Eigenschaften der beiden Isomere. rote Bereiche zeigen eine hohe Elektronendichte an, blaue eine niedrige. Das Z-Isomer hat im Vergleich zum E-Isomer ein höheres Dipolmoment und einen geringeren End-zu-Ed-Abstand (In Anlehnung an <i>Müller</i> <sup>62</sup> ). B) UV/Vis-Spektrum von Azobenzol in Ethanol, das den Unterschied in der Absorption zwischen den beiden Isomeren verdeutlicht (In Anlehnung an <i>Müller</i> <sup>62</sup> ). C) MO-Schema zum Vergleich beider Isomere. Das E-Isomer hat einen geringeren $\pi$ - $\pi^*$ -Abstand und einen größeren	

n- $\pi^*$ -Abstand. Die allgemeine Position der Orbitale auf der Energieskala liegt etwa zwischen -2 und -6 eV. (In Anlehnung an Beharry<sup>86</sup>, Hecht<sup>88</sup> und Müller<sup>62</sup>) ... 18

Abbildung 14: Darstellung der beiden isomeren Formen von Azobenzol. .... 19

Abbildung 15: Schematische Darstellung von der Isomerisierung von Westons Arylazopyrazol.  
Die Verbindung konnte mit über 98 % in den jeweiligen photostationären Zuständen überführt werden. Die Halbwertszeit in Lösung bei Raumtemperatur betrug bis ca. 1000 Tage. (In Anlehnung zu Weston<sup>107</sup>) ("Reprinted (adapted) with permission from <sup>107</sup>. Copyright <sup>107</sup> American Chemical Society.")..... 21

Abbildung 16: Darstellung von Arylazopyrazol 1 und 2 nach Weston<sup>107</sup>. .... 21

Abbildung 17: Vergleich der TDDFT-Berechnungen mit den erhaltenen Kristallstrukturen nach Weston<sup>107</sup> ("Reprinted (adapted) with permission from <sup>107</sup>. Copyright <sup>107</sup> American Chemical Society.")..... 22

Abbildung 18: Darstellung der beiden isomeren Formen von Arylazopyrazol. .... 23

Abbildung 19: Schematische Darstellung der von Ravoo *et al.* synthetisierten AAP-Derivate.  
Links: AAPs mit Alkylresten; Rechts: AAPs mit elektronenreichen bzw. elektronenarmen Substituenten. (In Anlehnung an Ravoo<sup>108</sup>)..... 24

Abbildung 20: Darstellung der Photoschaltung von „AAP1“ mittels UV/Vis-Spektroskopie. A) Licht-induzierte Isomerisierung von AAP1; B) Experimentelles normalisiertes und berechnetes UV/Vis-Spektrum der Photoisomerisierung von AAP-1; C) Oben: Absorption der beiden Isomeren von AAP1 zwischen 480 und 540 nm. Unten: Schematische Darstellung der Zyklen Absorption von AAP1 bei 333 nm (c=35  $\mu$ mol). (In Anlehnung an Ravoo<sup>108</sup>) ..... 25

Abbildung 21: Schematische Darstellung der Z/E-Isomerisierung zwischen C15 und C16 und Aktivierung des Chromophors. .... 27

Abbildung 22: A) Quartärstruktur von Rhodopsin. In der Mitte (hellgrau) ist das 11-*cis*-Retinal zu sehen. Dieser Bereich wurde zur besseren Veranschaulichung des Retinals vergrößert (nach PDB 1L9H). B) Photoisomerisierung des 11-*cis*-Retinals zu all-*trans*-Retinal. C) Retinal kovalent gebunden über Imin (Schiffsche Base) zum Lysin im Rückgrat des Proteins. .... 28

Abbildung 23: Schematische Darstellung der Strategie zur MLL1-Aktivitätskontrolle durch photoschaltbare Inhibitoren der MLL1-WDR5-Wechselwirkung nach Vázquez<sup>133</sup>. *Das Z-Isomer des Peptids interagiert nicht mit WDR5 und erlaubt somit die PPI mit MLL1. Das E-Isomer ist im Gegensatz dazu in der Lage mit WDR5 zu interagieren und somit die PPI zu MLL1 zu unterbinden.*..... 30

Abbildung 24: Schematische Darstellung von der Strategie der TL-Peptide und ihre „Stopp“- und „Los“-Signalisierung für die Musterung der Membranrezeptorinternalisierung nach Nevola *et al.*<sup>135</sup> ..... 31

Abbildung 25: Schematische Darstellung der unspezifischen Bindung der molekularen Pinzette CLR01 auf einer Proteinoberfläche. .... 33

Abbildung 26: Schematische Darstellung einer hybriden Peptid-Pinzette, die eine spezifischere Bindung auf einer Proteinoberfläche erreicht. (Angelehnt an <i>Hadrovic</i> <sup>141</sup> ).....	34
Abbildung 27: Schematische Darstellung der Erhöhung der Valenz der Pinzettenliganden. ....	35
Abbildung 28: Schematische Darstellung des Konzepts der E/Z-Isomerisierung der photoschaltbaren Pinzetten und die Auswirkung dieser auf die Bindung zu zugänglichen Lysine/Arginine auf Proteinoberflächen.....	37
Abbildung 29: MD-Simulation einer photoschaltbaren Pinzette auf der flexiblen Schleife des Taspase1-Proteins.....	38
Abbildung 30: Synthese der <i>Bridge</i> in Anlehnung an <i>Heid</i> <sup>43</sup> .....	40
Abbildung 31: Synthese der <i>Sidewall</i> in Anlehnung an <i>Heid</i> .....	41
Abbildung 32: Diels-Alder Reaktion zwischen den zwei Grundbausteinen und nachfolgende DDQ-Oxidation zum Erhalt des Pinzettengerüsts.....	42
Abbildung 33: Synthese der symmetrischen Pinzette CLR01.....	43
Abbildung 34: Synthese asymmetrischer Pinzetten. R steht für entweder eine Alkin- oder eine Azidfunktionalität. ....	44
Abbildung 35: Entworfenen Azobenzolderivate für spätere Anbindung von zwei Tweezermoleküle und Darstellung der photoschaltbaren Pinzetten.....	45
Abbildung 36: Synthese von Verbindung 21 über MnO <sub>2</sub> . ....	46
Abbildung 37: UV/Vis-Analyse der Photoschaltbarkeit von Verbindung 21. Links das Absorptionsspektrum von 280 nm bis 700 nm. die gestrichelte Kurve entspricht die Absorption der Verbindung in unbestrahltem Zustand. Die lila Kurve entspricht die Absorption der Verbindung nach Bestrahlung mit 365 nm, also im Z-Zustand. Die grüne Kurve stellt die Absorption der Verbindung 21 nach Bestrahlung mit 520 nm, also im E-Zustand. Rechts wird die Absorption bei 357 nm über sieben Bestrahlungszyklen dargestellt.....	46
Abbildung 38: Zweistufige Synthese vom flexiblen Azobenzolderivat 22. Die zusätzliche Freiheitsgrade zwischen Aromaten und Alkinfunktionalitäten erhöhen die freie Beweglichkeit der später anzubringenden Pinzetten.....	48
Abbildung 39: UV/Vis-Analyse der Photoschaltbarkeit von Verbindung 22. Links das Absorptionsspektrum von 280 nm bis 700 nm. die gestrichelte Kurve entspricht die Absorption der Verbindung in unbestrahltem Zustand. Die lila Kurve entspricht die Absorption der Verbindung nach Bestrahlung mit 365 nm, also im Z-Zustand. Die grüne Kurve stellt die Absorption der Verbindung 22 nach Bestrahlung mit 520 nm, also im E-Zustand. Rechts wird die Absorption bei 334 nm über sieben Bestrahlungszyklen dargestellt.....	49
Abbildung 40: Synthese von Azobenzolderivat 23 über <i>Sonogashira-Kupplung</i> , ausgehend von Verbindung 21. ....	50

- Abbildung 41: UV/Vis-Analyse der Photoschaltbarkeit von Verbindung 23. Links das Absorptionsspektrum von 280 nm bis 700 nm. die gestrichelte Kurve entspricht die Absorption der Verbindung in unbestrahltem Zustand. Die lila Kurve entspricht die Absorption der Verbindung nach Bestrahlung mit 365 nm, also im Z-Zustand. Die grüne Kurve stellt die Absorption der Verbindung 23 nach Bestrahlung mit 520 nm, also im E-Zustand. Rechts wird die Absorption bei 390 nm über sieben Bestrahlungszyklen dargestellt..... 51
- Abbildung 42: Arylazopyrazol-Derivate (Synthese von Alisa-Maite Kauth aus dem Arbeitskreis Ravoo, Universität Münster). ..... 54
- Abbildung 43: UV/Vis-Analyse der Photoschaltbarkeit von AAP1. Links das Absorptionsspektrum von 280 nm bis 620 nm. die gestrichelte Kurve entspricht der Absorption der Verbindung in unbestrahltem Zustand. Die lila Kurve entspricht der Absorption der Verbindung nach Bestrahlung mit 365 nm, also im Z-Zustand. Die grüne Kurve stellt die Absorption von AAP1 nach Bestrahlung mit 520 nm dar, also im reinen E-Zustand. Rechts wird die Absorption bei 390 nm über 7 Bestrahlungszyklen dargestellt. .... 56
- Abbildung 44: Schamtische Darstellung des Mechanismus der Kupfer(I)-katalysierten Click-Reaktion (In Anlehnung zu *Worrell et al.*<sup>154</sup>). ..... 59
- Abbildung 45: Erster Versuch der Synthese einer photoschaltbaren Pinzette über die konventionelle Click-Reaktion nach *Heid*<sup>43</sup> ..... 60
- Abbildung 46: Analytischer HPLC-Lauf der Reaktionskontrolle des ersten Versuch einer Kupfer-Click-Reaktion zur Synthese einer photoschaltbaren Pinzette..... 61
- Abbildung 47: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der isolierten Zwischenstufe. Im roten Kreis sind die Signale der aromatischen Protonen der Tweezer-Einheit zu erkennen, welche insgesamt eine Integration von 12 H-Atomen besitzen. Im blauen Kreis sind die Signale der Arylazopyrazol-Einheit zu erkennen, welche eine Integration von insgesamt 8 H-Atomen besitzen. Dies stellt die Einheiten in einem 1:1 Verhältnis und spricht für eine unvollständige doppelte Click-Reaktion. Im grünen Kreis sind schwache Signale des Triazol-Rings zu erkennen mit einer integrierten Fläche von 0.67..... 64
- Abbildung 48: Optimierte Kupfer-Click-Reaktion zur Synthese von photoschaltbaren Pinzetten..... 65
- Abbildung 49: <sup>1</sup>H-NMR der Verbindung TWAAP1 aufgenommen in DMSO-d<sub>6</sub>. Im aromatischen Bereich stimmen die Verhältnisse Tweezer/AAP1 mit 2:1 überein. Das Signal bei ca. 8.8 ppm mit einer Integration von 2.11 entspricht dem Signal der beiden Triazol-Protonen. Die Singulets bei 2.7 und 2.9 ppm entsprechen die Signale der Protonen der Methyl-Gruppen am Pyrazolring. .... 65
- Abbildung 50: Synthetisierte photoschaltbare Pinzetten mit Azobenzol-Derivaten als photoschaltbare Einheit. .... 66

Abbildung 51: Schematische Darstellung der Natrium-Salze der Verbindungen TWAB1, TWAB2 und TWAB3. ....	68
Abbildung 52: UV/Vis-Analyse der photoschaltbaren Pinzetten TWAB1, TWAB2 und TWAB3. ....	69
Abbildung 53: Hergestellte photoschaltbare Pinzetten mit Arylazopyrazol-Derivaten als photoschaltbare Einheit. ....	72
Abbildung 54: Schematische Darstellung der Natrium-Salze der Verbindungen TWAAP0, TWAAP1, TWAAP2, TWAAP3 und TWAAP4.....	74
Abbildung 55: UV/-Vis Experimente mit den photoschaltbaren TWAAPs.....	75
Abbildung 56: <i>in situ</i> Entschützung eines terminalen Alkins an einer Azobrücke mit anschließender Kupfer-Click-Reaktion zur Synthese eines Arylazotriazol-Photoschalters (Angelehnt an Pfaff <sup>155</sup> ).....	78
Abbildung 57: Kupfer-Click-Reaktion von zwei Monoazidophosphatmonophosphatpinzetten mit einem Arylazoacetylen. ....	79
Abbildung 58: Strategie der orthogonalen Bikonjugation der Tweezer an das Arylazoacetylen (Angelehnt an Pfaff <sup>155</sup> ).....	80
Abbildung 59: Struktur des photoschaltbaren TWAAT als Natrium-Salz. ....	80
Abbildung 60: UV/Vis-Analyse der photoschaltbaren Pinzette TWAAT. ....	81
Abbildung 61: <sup>1</sup> H-NMR-Experimente zur Photoschaltbarkeitsüberprüfung der hergestellten Pinzette TWAAP1. Ausschnitt aus dem aromatischen Bereich der jeweiligen Spektren. Das schwarze Spektrum (oben) stellt die unbestrahlte Probe nach der Synthese dar. Das lila Spektrum (Mitte) stellt die Signale der mit 365 nm bestrahlten Probe und damit das Z-Isomer dar und das grüne Spektrum (unten) stellt die Signale der mit 520 nm bestrahlten Probe und damit das E-Isomer dar.....	84
Abbildung 62: A) Schematische Darstellung der inaktiven Taspase 1 mit dem flexiblen Loop; B) Kristallstruktur des flexiblen <i>Loops</i> mit den wichtigen Lysinen und Argininen (Darstellung von Katrin Hommel, AK Knauer); C) schematische Darstellung eines photoschaltbaren Liganden als Scheren einer Krabbe, die je nach Wellenlänge der Bestrahlung in unterschiedlichen Abständen zueinander stehen (Darstellung von Katrin Hommel, AK Knauer). ....	88
Abbildung 63: a) Alle Western Blots der Pull-Down Experimente zur Bestimmung der Bindung der photoschaltbaren Pinzetten an Taspase 1 im Vergleich zu Importin $\alpha$ bei einer Konzentration von 100 $\mu$ M, „- $\alpha$ “ steht für die Kontrolle ohne Importin $\alpha$ , „-T“ steht für die Kontrolle ohne Taspase 1, „0“ und „un.“ stehen für die Kontroll-Experimente ohne Zugabe einer Probe des Liganden; b) Pull-Down Experiment mit TWAAP3, welcher als einzige eine Hemmung der Interaktion zwischen den Partnerproteinen bewirkt. ....	89
Abbildung 64: <sup>1</sup> H- <sup>15</sup> N-HSQC Experiment: A) Änderungen der Signalintensitäten bei der Erkennung des Taspase 1 <i>Loops</i> (AS 178-233) mit den beiden NLS-Regionen	

- (grüne bzw. lila Kasten) durch die photoschaltbare Pinzette TWAAP1 im E- (oben) und im Z-Zustand (unten) in PBS-Puffer (pH 6.5 und 25 °C); B)  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ -HSQC Spektren nach der Zugabe von E-TWAAP1 (links) und Z-TWAAP1 (rechts); Aufnahmen von Dr. Christine Beuck..... 90
- Abbildung 65: Vergleich von möglichen Bindungsarten der E- und Z-Isomere am Beispiel der photoschaltbaren Pinzette TWAAP1. A) Bindung des E-Isomers von TWAAP1 an K200 und K217, überbückend zwischen beiden  $\alpha$ -Helices; B) Bindung des Z-Isomers von TWAAP1 an K200 und K217, überbückend zwischen beiden  $\alpha$ -Helices C) Bindung des Z-Isomers von TWAAP1 an nur einer der beiden  $\alpha$ -Helices (K217 und R220); D) Bindung des E-Isomers von TWAAP1 an K217 mit nur einer Pinzetten-Einheit..... 92
- Abbildung 66: SPR-Messungen der photoschaltbaren Pinzetten TWAAP0 (A) und TWAAP3 (B) zur Bestimmung der Bindungsaffinitäten an die Taspase 1 in Konzentrationen von 0,0488; 0,097; 0,2; 0,39; 1,56; 3,13; 6,25 und 12,5  $\mu\text{M}$ , durchgeführt von Alisa-Maite Kauth ..... 93
- Abbildung 67: MD-Simulation von TWAAP1 auf Taspase 1. A) Das E-Isomer von TWAAP1 bindet an K200 und K217, überbückend zwischen beiden Helices; B) Das Z-Isomer von TWAAP1 bindet nur ein einer der beiden Helices an K217 und R220... 94
- Abbildung 68: Kristallstruktur der Taspase 1. Rechts vom aktiven Zentrum T234 (grün) sind K258 und R262 als rote Reste dargestellt. Links vom aktiven Zentrum sind K59 und K66 als rote Reste dargestellt..... 95
- Abbildung 69: Untersuchung der Inhibition der proteolytischen Aktivität der Taspase 1: A) Schematische Darstellung der proteolytischen Aktivität der aktiven Taspase 1. Das Protein liegt als Heterodimer vor, der flexible *Loop* wurde auf einer Seite abgespalten um das aktive Zentrum (roter Punkt) freizulegen; B) Auftragung der Änderung der Proteolytischen Aktivität mit steigender Konzentration an vorhandenen photoschaltbaren Pinzetten der Reihe TWAAP in E- (grüne Kurve) und Z- Konfiguration (lila Kurve); C) Auftragung der Änderung der Proteolytischen Aktivität mit steigender Konzentration an vorhandenen photoschaltbaren Pinzetten der Reihe TWAB in E- (grüne Kurve) und Z- Konfiguration (lila Kurve); Durchgeführt von Katrin Hommel..... 97
- Abbildung 70: Balkengraphische Darstellung der ermittelten  $\text{IC}_{50}$ -Werte für die proteolytische Aktivität von Taspase 1 der Liganden TWAAP0, TWAAP1 und TWAAP4; Durchgeführt von Katrin Hommel. .... 99
- Abbildung 71: Kristallstruktur der Taspase 1. Rechts vom aktiven Zentrum T234 (grün) sind K258 und R262 als rote Reste dargestellt. Links vom aktiven Zentrum sind K59 und K66 ebenfalls als rote Reste dargestellt; A) Zwei Z-Isomere einer photoschaltbaren Pinzette binden jeweils eine Flanke des aktiven Zentrums und blockieren den Eingang zu diesem; B) Das E-Isomer einer photoschaltbaren Pinzette bindet beide Flanken und blockiert so den Eingang zum aktiven Zentrum; C) Ein Z-Isomer einer photoschaltbaren Pinzette bindet eine Flanke

und ist für die Inhibierung der enzymatischen Aktivität nicht ausreichend. Durch Bestrahlung mit grünem Licht wird die Struktur in ihr E-Isomer überführt, wodurch eine Bindung des zweiten Tweezers an die andere Flanke des aktiven Zentrums ermöglicht wird. Folglich blockiert die ausgestreckte Verbindung den Eingang zu Thr234.....	100
Abbildung 72: Synthetisierte asymmetrische Pinzetten für einen späteren Einsatz in Kupfer- Click-Reaktionen. ....	102
Abbildung 73: Ausgewählte Azobenzol- und Arylazopyrazol-Photoschalter zur Synthese von photoschaltbaren Pinzetten zur dynamischen Proteinerkennung. ....	103
Abbildung 74: Optimierte Kupfer-Click-Reaktion zur Synthese von photoschaltbaren Pinzetten. ....	104
Abbildung 75: Schematische Darstellung der Photoisomerisierung des TWAAP1. ....	104
Abbildung 76: Entwurf von wasserlösliche Alternativen für photoschaltbare Azo- Verbindungen. ....	106
Abbildung 77: Template für multivalente photoschaltbare Pinzetten. ....	107
Abbildung 78: Monovalente photoschaltbare Pinzetten mit einer terminalen Carbonsäure- Funktionalität.....	107
Abbildung 79: Konzept eines <i>molecular beacons</i> aufbauend auf einem photoschaltbaren peptidischen Templat mit zwei endständigen Tweezer-Einheiten. ....	108
Abbildung 80: <sup>1</sup> H-NMR von (1R,4S,4aR,8aS)-1,4,4a,8a-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen- 5,8-dion.....	XXI
Abbildung 81: <sup>1</sup> H-NMR von (1R,4S)-1,4-Dihydro-1,4-Methanonaphthalen-5,8-dion .....	XXI
Abbildung 82: <sup>1</sup> H-NMR von(1R,4S)-1,4-Dihydro-1,4-Methanonaphthalen-5,8-dion .....	XXII
Abbildung 83: <sup>1</sup> H-NMR von (1R,4S,5R,8S)-1,4,5,8-Tetrahydro-1,4:5,8-Dimethanoanthracen- 9,10-diyl diacetat .....	XXII
Abbildung 84: <sup>1</sup> H-NMR von3a,4,9,9a-Tetrahydro-4,9-Methanonaphtho[2,3-c]furan-1,3-Dion 36 .....	XXIII
Abbildung 85: <sup>1</sup> H-NMR von Dimethyl (2R,3S)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen-2,3- Dicarboxylat .....	XXIII
Abbildung 86: <sup>1</sup> H-NMR von Dimethyl (2R,3R)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen-2,3- dicarboxylat .....	XXIV
Abbildung 87: <sup>1</sup> H-NMR von ((2R,3R)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen-2,3- diyl)dimethanol.....	XXIV
Abbildung 88: <sup>1</sup> H-NMR von (2R,3R)-2,3-Bis(chloromethyl)-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4- Methanonaphthalen.....	XXV
Abbildung 89: <sup>1</sup> H-NMR von 2,3-Dimethylene-1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-Methanonaphthalen .....	XXV
Abbildung 90: <sup>1</sup> H-NMR vom Diels-Alder-Addukt.....	XXVI

Abbildung 91: $^1\text{H}$ -NMR von der Diacetoxy-pinzette .....	XXVII
Abbildung 92: $^1\text{H}$ -NMR von CLR01.....	XXVII
Abbildung 93: $^1\text{H}$ -NMR von Monoacetoxy-monohydroxy-pinzette .....	XXVIII
Abbildung 94: $^1\text{H}$ -NMR von der Monoacetoxy-monophosphat-pinzette.....	XXVIII
Abbildung 95: $^1\text{H}$ -NMR von der Monoacetoxy-monobutinyldiphosphat-pinzette .....	XXIX
Abbildung 96: $^1\text{H}$ -NMR von der Monohydroxy-monobutinyldiphosphat-pinzette .....	XXIX
Abbildung 97: $^1\text{H}$ -NMR von der Monobutinyldiphosphat-pinzette.....	XXX
Abbildung 98: $^1\text{H}$ -NMR von der Monoacetoxy-monoazidophosphat-pinzette .....	XXX
Abbildung 99: $^1\text{H}$ -NMR von der Monohydroxy-monoazidophosphat-pinzette.....	XXXI
Abbildung 100: $^1\text{H}$ -NMR von der Monoazidodiphosphat-pinzette .....	XXXI
Abbildung 101: $^1\text{H}$ -NMR von 4,4'-Diethinylazobenzol .....	XXXII
Abbildung 102: $^{13}\text{C}$ -NMR von 4,4'-Diethinylazobenzol.....	XXXII
Abbildung 103: $^1\text{H}$ -NMR von 4,4'-Dibenzylalkoholazobenzol .....	XXXIII
Abbildung 104: $^1\text{H}$ -NMR von 4,4'-Bis((Prop-2-in-1-yloxy)methyl)azobenzol .....	XXXIII
Abbildung 105: $^{13}\text{C}$ -NMR von 4,4'-Bis((Prop-2-in-1-yloxy)methyl)azobenzol .....	XXXIV
Abbildung 106: $^1\text{H}$ -NMR von 4,4'-Bis(((4-Trimethylsilyl)ethynylphenyl)ethynyl)azobenzol .....	XXXIV
Abbildung 107: $^{13}\text{C}$ -NMR von 4,4'-Bis(((4-Trimethylsilyl)ethynylphenyl)ethynyl)azobenzol .....	XXXV
Abbildung 108: $^1\text{H}$ -NMR von (E)-1-(4-azidophenyl)-4-((4-azidophenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole.....	XXXV
Abbildung 109: $^1\text{H}$ -NMR von (E)-1-(4-ethynylphenyl)-4-((4-ethynylphenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole .....	XXXVI
Abbildung 110: $^1\text{H}$ -NMR von (E)-3-(4-((4-ethynylphenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)propyne.....	XXXVI
Abbildung 111: $^1\text{H}$ -NMR von (E)-4-((4'-ethynyl-[1,1'-biphenyl]-4-yl)diazenyl)-1-(4-ethynylphenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole .....	XXXVII
Abbildung 112: $^1\text{H}$ -NMR von (E)-1-(4-((4-ethynylphenyl)ethynyl)phenyl)-4-((4-((4-ethynylphenyl)ethynyl)phenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazole.....	XXXVII
Abbildung 113: $^1\text{H}$ -NMR von (E)-2-(4-((4-ethynylphenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)acetic acid .....	XXXVIII
Abbildung 114: $^1\text{H}$ -NMR von (E)-2-(4-((4-azidophenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)ethylamine .....	XXXVIII
Abbildung 115: $^1\text{H}$ -NMR von (E)-2-(4-((4-azidophenyl)diazenyl)-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)acetic acid .....	XXXIX
Abbildung 116: $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von TWAAP-COOH1.....	XXXIX

Abbildung 117: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAAP-COOH2 .....	XL
Abbildung 118: $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von TWAAP0.....	XL
Abbildung 119: $^{31}\text{P}$ NMR-Spektrum von TWAAP0.....	XLI
Abbildung 120: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAAP1 .....	XLI
Abbildung 121: $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum von TWAAP1 .....	XLII
Abbildung 122: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAAP2 .....	XLII
Abbildung 123: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAAP3 .....	XLIII
Abbildung 124: $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum von TWAAP3 .....	XLIII
Abbildung 125: $^1\text{H}$ -NMR von TWAAP4 .....	XLIV
Abbildung 126: $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum von TWAAP4 .....	XLIV
Abbildung 127: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAB1.....	XLV
Abbildung 128: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAB2.....	XLV
Abbildung 129: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAB3.....	XLVI
Abbildung 130: $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum von TWAB3.....	XLVI
Abbildung 131: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von TWAAT .....	XLVII
Abbildung 132: $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum von TWAAT.....	XLVII
Abbildung 133: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAP0.....	XLVIII
Abbildung 134: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAP1.....	XLVIII
Abbildung 135: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAP2.....	XLIX
Abbildung 136: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAP3.....	XLIX
Abbildung 137: $^1\text{H}$ -NMR vom natrium-Salz von TWAAP4 .....	L
Abbildung 138: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB1.....	L
Abbildung 139: $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB1 .....	LI
Abbildung 140: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB2.....	LI
Abbildung 141: $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB2 .....	LII
Abbildung 142: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB3.....	LII
Abbildung 143: $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAB3. ....	LIII
Abbildung 144: $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAT.....	LIII
Abbildung 145: $^{31}\text{P}$ -NMR-Spektrum vom Natrium-Salz von TWAAT .....	LIV
Abbildung 146: $^1\text{H}$ -NMR-Experimente zur Schaltung von TWAAP0.....	LV
Abbildung 147: $^1\text{H}$ -NMR-Experimente zur Schaltung von TWAAP2.....	LVI
Abbildung 148: $^1\text{H}$ -NMR-Experimente zur Schaltung von TWAAP3.....	LVII

---

Abbildung 149: $^1\text{H}$ -NMR-Experimente zur Schaltung von TWAAP4.....	LVIII
Abbildung 150: $^1\text{H}$ -NMR-Experimente zur Schaltung von TWAB1.....	LIX
Abbildung 151: $^1\text{H}$ -NMR-Experimente zur Schaltung von TWAB2.....	LX
Abbildung 152: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAAP0.....	LX
Abbildung 153: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAAP1.....	LXI
Abbildung 154: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAAP2.....	LXI
Abbildung 155:: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAAP3.....	LXII
Abbildung 156: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAAP4.....	LXII
Abbildung 157: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAB1.....	LXIII
Abbildung 158: Isomerenverhältnisbestimmung von TWAB2.....	LXIII
Abbildung 159: MD-Simulation von AAP0. E- Konfiguration (links) und Z-Konfiguration (rechts)	LXIV
Abbildung 160: MD-Simulation von AAP1. E-Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts)	LXIV
Abbildung 161: MD-Simulation von AAP2. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts).....	LXIV
Abbildung 162: MD-Simulation von AAP3. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts).....	LXIV
Abbildung 163: MD-Simulation von AAP4. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts).....	LXV
Abbildung 164: MD-Simulation vom Arylazoacetylen. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts).....	LXV
Abbildung 165: MD-Simulation von AB1. E-Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts) ..	LXV
Abbildung 166: MD-Simulation von AB2. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts) .	LXV
Abbildung 167: MD-Simulation von AB3. E- Konfiguration (links) und Z- Konfiguration (rechts)	LXVI
Abbildung 168: MD-Simulation von TWAAP0. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten).....	LXVI
Abbildung 169: MD-Simulation von TWAAP1. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten).....	LXVII
Abbildung 170: MD-Simulation von TWAAP2. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten).....	LXVII

Abbildung 171: MD-Simulation von TWAAP3. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)..... LXVIII

Abbildung 172: MD-Simulation von TWAAP4. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten)..... LXVIII

Abbildung 173: MD-Simulation von TWAAT. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten).....LXIX

Abbildung 174: MD-Simulation von TWAB1. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten).....LXIX

Abbildung 175: MD-Simulation von TWAB2. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten).....LXX

Abbildung 176: MD-Simulation von TWAB3. E- Konfiguration in einer Energiesenke (links oben), Z- Konfiguration in einer Energiesenke (rechts oben), E- Konfiguration gestreckt zum maximalen Abstand (links unten) und Z- Konfiguration im minimalen Abstand (rechts unten).....LXX



## IV. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Tabellarische Darstellung der Abstände zwischen den beiden Alkinfunktionalitäten der Azobenzol-Derivate in beiden Konfigurationsisomeren. Die Abstände entsprechen jeweils der Distanz zwischen den beiden Alkin-Funktionalitäten. ....	52
Tabelle 2: Halbwertszeiten der Z-Isomere der jeweiligen Azobenzol-Derivaten.....	53
Tabelle 3: Abstände zwischen endständigen Funktionalitäten der Verbindungen AAP0 bis AAP6 in beiden Konfigurationsisomeren Formen. Die Abstände entsprechen jeweils der Distanz zwischen den beiden Alkin-Hs bzw. zwischen dem Alkin-H und C-Atom der Carbonsäure.....	55
Tabelle 4: Halbwertszeiten der Z-Isomere der Verbindungen AAP0 bis AAP6. ....	57
Tabelle 5: Parameteroptimierung für die Kupfer-Click-Reaktion zur Synthese von photoschaltbaren Pinzetten. ....	62
Tabelle 6: Abstände zwischen den Tweezer-Einheiten der Verbindungen TWAB1, TWAB2 und TWAB3 in beiden isomeren Zuständen berechnet in der Energiesenke, sowie maximaler und minimaler Abstand. ....	67
Tabelle 7: Halbwertszeiten der Z-Isomeren der photoschaltbaren TWABs.....	71
Tabelle 8: Berechnete Abstände zwischen den Tweezer-Einheiten der beiden Konfigurationsisomeren der photoschaltbaren Pinzetten TWAAP0 bis TWAAP4 sowohl in der Energiesenke als auch im maximalen und minimalen Abstand.....	73
Tabelle 9: Halbwertszeiten der Z-Zustände der photoschaltbaren TWAAPs .....	77
Tabelle 10: Berechnete Abstände zwischen der Tweezer-Einheiten der beiden Konfigurationsisomeren der photoschaltbaren Pinzette TWAAT sowohl in der Energiesenke als auch maximaler und minimaler Abstand.....	81
Tabelle 11: Halbwertszeit der photoschaltbaren Pinzette TWAAT.....	82
Tabelle 12: Über $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie ermittelte Isomerenverhältnisse der photoschaltbaren Pinzetten. ....	86
Tabelle 13: Berechnete Abstände zwischen der einzelnen Aminosäuren Resten der beiden basischen Cluster. „Cluster links“ und Cluster rechts“ beziehen sich auf die oben gezeigte Cluster in der Abbildung, jeweils links und rechts des aktiven Zentrums.....	96
Tabelle 14: Ermittelte $\text{IC}_{50}$ -Werte der E- und Z- Isomere der photoschaltbaren Pinzetten der Reihen TWAAP und TWAB gegenüber der proteolytischen Aktivität von Taspase 1. ....	98



## V. Abkürzungsverzeichnis

<b>Abkürzung</b>	<b>Definition</b>
et al.	und andere (et alii)
Äq	Äquivalent
NLS	Kernlokalisierungssignal ( <i>engl. nuclear localization sequence</i> )
PPI	Protein-Protein-Interaktion
PSS	photostationärer Zustand ( <i>engl. photostationary state</i> )

<b>Chemikalien</b>	<b>Trivialname und IUPAC</b>
AAP	Arylazopyrazol
CDCl <sub>3</sub>	Deuteriertes Chloroform
CHCl <sub>3</sub>	Chloroform
CLR01	Clear 1
CuSO <sub>4</sub>	Kupfersulfat
CuBr	Kupferbromid
CuI	Kupferiodid
DCM	Dichlormethan
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMAP	4-Dimethylaminophenol
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMSO-d <sub>6</sub>	deuteriertes Dimethylsulfoxid

Et <sub>2</sub> O	Diethylether
GFP	grünfluoreszierendes Protein
GPCR	G-Protein gekoppelten Rezeptor
GST	Glutathion-S-Transferase
HCl	Salzsäure
H <sub>2</sub> O	Wasser
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Kaliumcarbonat
KOH	Kaliumhydroxid
ACN	Acetonitril
MeOH	Methanol
MQ-Wasser	Milli-Q-Wasser
MnO <sub>2</sub>	Mangandioxid
MgSO <sub>4</sub>	Magnesiumsulfat
NaCl	Natriumchlorid
NaH	Natriumhydrid
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumhydrogencarbonat
NaOH	Natriumhydroxid
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Natriumsulfat
NEt <sub>3</sub>	Triethylamin
POCl <sub>3</sub>	Phosphorylchlorid
Taspase1	Threonin Aspartase 1
TBAF	Tetrabutylammoniumfluorid
TCA	Trichloroacetonitril

TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
THPTA	Tris[(1-benzyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin

**Methoden**

**Definition**

CuAAC	Kupfer(I) katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition
DC	Dünnschichtchromatographie
ESI-MS	Elektrosprayionisation Massenspektrometrie
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie ( <i>engl. High Performance Liquid Chromatography</i> )
ITC	Isothermale Titrationskalorimetrie
MD-Simulation	Moleküldynamik-Simulation
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie ( <i>engl. nuclear magnetic resonance</i> )
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (engl. sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)
SPR	Oberflächenplasmonenresonanz ( <i>engl. surface plasmon resonance</i> )
TDDFT	Zeitabhängige dichtefunktionaltheorie ( <i>engl. Time-dependent density-functional theory</i> )

**Einheiten und Symbole**

**Definition**

°C	Grad Celsius
$\delta$	Chemische Verschiebung
g	Gramm
g/mol	Gramm pro Mol

Hz	Hertz
J	Kupplungskonstante
kDa	Kilo-Dalton
M	Molarität
mbar	Millibar
MHz	Megahertz
mM	Millimolar
mmol	Millimol
m/z	Verhältnis Masse zu Ladung
$\mu$ M	Mikromolar
$\mu$ mol	Mikromol
nm	Nanometer
ns	Nanosekunden
ppm	<i>parts per million</i>
RT	Raumtemperatur
t	Zeit
h	Stunde
min	Minute
UV	Ultraviolett

## VI. Literaturverzeichnis

In chronologischer Reihenfolge:

- (1) Supramolekulare Chemie. *Physik Online*.  
<https://www.degruyter.com/database/PHYSIKO/entry/physiko.38.46/html> (accessed 2018).
- (2) Lehn, J.-M. Supramolekulare Chemie – Moleküle, Übermoleküle und molekulare Funktionseinheiten (Nobel-Vortrag). *Angewandte Chemie* **1988**, *100* (1), 91-116. DOI: <https://doi.org/10.1002/ange.19881000110>.
- (3) Lehn, J.-M. *Supramolecular chemistry*; Vch, Weinheim New York, 1995.
- (4) Petkau-Milroy, K.; Brunsveld, L. Supramolecular chemical biology; bioactive synthetic self-assemblies. *Organic & biomolecular chemistry* **2013**, *11* (2), 219-232.
- (5) Polonius, F. A.; Müller, J. Ein durch Wasserstoffbrücken und Metallionenbindung vermitteltes, künstliches Basenpaar. *Angewandte Chemie* **2007**, *119* (29), 5698-5701.
- (6) Nooren, I. M.; Thornton, J. M. Diversity of protein–protein interactions. *The EMBO journal* **2003**, *22* (14), 3486-3492.
- (7) Keskin, O.; Gursoy, A.; Ma, B.; Nussinov, R. Principles of protein–protein interactions: what are the preferred ways for proteins to interact? *Chemical reviews* **2008**, *108* (4), 1225-1244.
- (8) van Dun, S.; Ottmann, C.; Milroy, L.-G.; Brunsveld, L. Supramolecular Chemistry Targeting Proteins. *Journal of the American Chemical Society* **2017**, *139* (40), 13960-13968. DOI: 10.1021/jacs.7b01979.
- (9) Melo, R.; Ribeiro, C.; Murray, C.; Veloso, C.; da Silveira, C.; Neshich, G.; Meira Jr, W.; Carceroni, R.; Santoro, M. Finding protein-protein interaction patterns by contact map matching. *Genet. Mol. Res* **2007**, *6* (4), 946-963.
- (10) Christen, P.; Jaussi, R.; Benoit, R. *Biochemie und Molekularbiologie*; Springer, 2016.
- (11) Iralde-Lorente, L.; Cau, Y.; Clementi, L.; Franci, L.; Tassone, G.; Valensin, D.; Mori, M.; Angelucci, A.; Chiariello, M.; Botta, M. Chemically stable inhibitors of 14-3-3 protein–protein interactions derived from BV02. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2019**, *34* (1), 657-664. DOI: 10.1080/14756366.2019.1574779.
- (12) Scott, D. E.; Bayly, A. R.; Abell, C.; Skidmore, J. Small molecules, big targets: drug discovery faces the protein–protein interaction challenge. *Nature Reviews Drug Discovery* **2016**, *15* (8), 533-550.
- (13) Venkatesan, K.; Rual, J.-F.; Vazquez, A.; Stelzl, U.; Lemmens, I.; Hirozane-Kishikawa, T.; Hao, T.; Zenkner, M.; Xin, X.; Goh, K.-I. An empirical framework for binary interactome mapping. *Nature methods* **2009**, *6* (1), 83-90.
- (14) Seiler, T.; Lennartz, A.; Klein, K.; Hommel, K.; Figueroa Bietti, A.; Hadrovic, I.; Kollenda, S.; Sager, J.; Beuck, C.; Chlosta, E. Potentiating tweezer affinity to a protein interface with sequence-defined macromolecules on nanoparticles. *Biomacromolecules* **2023**, *24* (8), 3666-3679.
- (15) Zheng, B.; Wang, F.; Dong, S.; Huang, F. Supramolecular polymers constructed by crown ether-based molecular recognition. *Chemical Society Reviews* **2012**, *41* (5), 1621-1636.
- (16) Zadmand, R.; Alavijeh, N. S. Protein surface recognition by calixarenes. *RSC Advances* **2014**, *4* (78), 41529-41542.
- (17) Aachmann, F. L.; Otzen, D.; Larsen, K. L.; Wimmer, R. Structural background of cyclodextrin–protein interactions. *Protein Engineering* **2003**, *16* (12), 905-912.
- (18) Hou, C.; Zeng, X.; Gao, Y.; Qiao, S.; Zhang, X.; Xu, J.; Liu, J. Cucurbituril as a versatile tool to tune the functions of proteins. *Israel Journal of Chemistry* **2018**, *58* (3-4), 286-295.

- (19) Schrader, T.; Bitan, G.; Klärner, F.-G. Molecular tweezers for lysine and arginine—powerful inhibitors of pathologic protein aggregation. *Chemical communications* **2016**, 52 (76), 11318-11334.
- (20) Guo, W.; Wisniewski, J. A.; Ji, H. Hot spot-based design of small-molecule inhibitors for protein–protein interactions. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2014**, 24 (11), 2546-2554.
- (21) Hadrovic, I.; Rebmann, P.; Klärner, F.-G.; Bitan, G.; Schrader, T. Molecular lysine tweezers counteract aberrant protein aggregation. *Frontiers in Chemistry* **2019**, 7, 657.
- (22) Wünsch, D.; Hahlbrock, A.; Jung, S.; Schirmeister, T.; Van Den Boom, J.; Schilling, O.; Knauer, S.; Stauber, R. Taspase1: a'misunderstood'protease with translational cancer relevance. *Oncogene* **2016**, 35 (26), 3351-3364.
- (23) Chen, D. Y.; Liu, H.; Takeda, S.; Tu, H.-C.; Sasagawa, S.; Van Tine, B. A.; Lu, D.; Cheng, E. H.; Hsieh, J. J. Taspase1 functions as a non-oncogene addiction protease that coordinates cancer cell proliferation and apoptosis. *Cancer research* **2010**, 70 (13), 5358-5367.
- (24) Gribko, A.; Hahlbrock, A.; Strieth, S.; Becker, S.; Hagemann, J.; Deichelbohrer, M.; Hildebrandt, A.; Habtemichael, N.; Wünsch, D. Disease-relevant signalling-pathways in head and neck cancer: Taspase1's proteolytic activity fine-tunes TFIIA function. *Scientific reports* **2017**, 7 (1), 14937.
- (25) Hsieh, J. J.-D.; Cheng, E. H.-Y.; Korsmeyer, S. J. Taspase1: a threonine aspartase required for cleavage of MLL and proper HOX gene expression. *Cell* **2003**, 115 (3), 293-303.
- (26) Bier, C.; Knauer, S. K.; Klapthor, A.; Schweitzer, A.; Reikik, A.; Krämer, O. H.; Marschalek, R.; Stauber, R. H. Cell-based analysis of structure-function activity of threonine aspartase 1. *Journal of Biological Chemistry* **2011**, 286 (4), 3007-3017.
- (27) Höing, A.; Kirupakaran, A.; Beuck, C.; Pörschke, M.; Niemeyer, F. C.; Seiler, T.; Hartmann, L.; Bayer, P.; Schrader, T.; Knauer, S. K. Recognition of a Flexible Protein Loop in Taspase 1 by Multivalent Supramolecular Tweezers. *Biomacromolecules* **2022**, 23 (11), 4504-4518.
- (28) Bier, C.; Knauer, S. K.; Docter, D.; Schneider, G.; Krämer, O. H.; Stauber, R. H. The importin- $\alpha$ /nucleophosmin switch controls taspase1 protease function. *Traffic* **2011**, 12 (6), 703-714.
- (29) Pasch, P.; Höing, A.; Ueclue, S.; Killa, M.; Voskuhl, J.; Knauer, S. K.; Hartmann, L. PEGylated sequence-controlled macromolecules using supramolecular binding to target the Taspase1/Importin  $\alpha$  interaction. *Chemical Communications* **2021**, 57 (25), 3091-3094.
- (30) Lee, J. T.; Chen, D. Y.; Yang, Z.; Ramos, A. D.; Hsieh, J. J.-D.; Bogyo, M. Design, syntheses, and evaluation of Taspase1 inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2009**, 19 (17), 5086-5090.
- (31) Chen, D. Y.; Lee, Y.; Van Tine, B. A.; Searleman, A. C.; Westergard, T. D.; Liu, H.; Tu, H.-C.; Takeda, S.; Dong, Y.; Piwnica-Worms, D. R. A pharmacologic inhibitor of the protease Taspase1 effectively inhibits breast and brain tumor growth. *Cancer research* **2012**, 72 (3), 736-746.
- (32) Chen, C.; Whitlock Jr, H. Molecular tweezers: a simple model of bifunctional intercalation. *Journal of the American Chemical Society* **1978**, 100 (15), 4921-4922.
- (33) Hardouin–Lerouge, M.; Hudhomme, P.; Sallé, M. Molecular clips and tweezers hosting neutral guests. *Chemical Society Reviews* **2011**, 40 (1), 30-43.
- (34) Klärner, F. G.; Benkhoff, J.; Boese, R.; Burkert, U.; Kamieth, M.; Naatz, U. Molecular Tweezers as Synthetic Receptors in Host–Guest Chemistry: Inclusion of Cyclohexane and Self-Assembly of Aliphatic Side Chains. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1996**, 35 (10), 1130-1133.
- (35) Klärner, F.-G.; Kahlert, B. Molecular tweezers and clips as synthetic receptors. Molecular recognition and dynamics in receptor– substrate complexes. *Accounts of chemical research* **2003**, 36 (12), 919-932.

- (36) Kamieth, M.; Klärner, F. G. Molecular tweezers as synthetic receptors: molecular recognition of cationic substrates; an insight into the mechanism of complexation. *Journal für praktische Chemie* **1999**, *341* (3), 245-251.
- (37) Fokkens, M.; Schrader, T.; Klärner, F.-G. A molecular tweezer for lysine and arginine. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127* (41), 14415-14421.
- (38) Dutt, S.; Wilch, C.; Gersthagen, T.; Talbiersky, P.; Bravo-Rodriguez, K.; Hanni, M.; Sanchez-Garcia, E.; Ochsenfeld, C.; Klärner, F.-G.; Schrader, T. Molecular tweezers with varying anions: a comparative study. *The Journal of organic chemistry* **2013**, *78* (13), 6721-6734.
- (39) Lump, E.; Castellano, L. M.; Meier, C.; Seeliger, J.; Erwin, N.; Sperlich, B.; Stürzel, C. M.; Usmani, S.; Hammond, R. M.; von Einem, J. A molecular tweezer antagonizes seminal amyloids and HIV infection. *Elife* **2015**, *4*, e05397.
- (40) Bier, D.; Mittal, S.; Bravo-Rodriguez, K.; Sowislok, A.; Guillory, X.; Briels, J.; Heid, C.; Bartel, M.; Wettig, B.; Brunsveld, L. The molecular tweezer CLR01 stabilizes a disordered protein–protein interface. *Journal of the American Chemical Society* **2017**, *139* (45), 16256-16263.
- (41) Vöpel, T.; Bravo-Rodriguez, K.; Mittal, S.; Vachharajani, S.; Gnutt, D.; Sharma, A.; Steinhof, A.; Fatoba, O.; Ellrichmann, G.; Nshanian, M. Inhibition of huntingtin exon-1 aggregation by the molecular tweezer CLR01. *Journal of the American Chemical Society* **2017**, *139* (16), 5640-5643.
- (42) Röcker, A. E.; Müller, J. A.; Dietzel, E.; Harms, M.; Krüger, F.; Heid, C.; Sowislok, A.; Riber, C. F.; Kupke, A.; Lippold, S. The molecular tweezer CLR01 inhibits Ebola and Zika virus infection. *Antiviral research* **2018**, *152*, 26-35.
- (43) Heid, C. Molekulare Pinzetten zur Proteinoberflächenerkennung. Universität Duisburg-Essen, 2018.
- (44) Hadrović M. Sc., I. Designed monomeric and dimeric molecular tweezers for functional protein targeting. 2021. [https://duepublico2.uni-due.de/receive/duepublico\\_mods\\_00074090](https://duepublico2.uni-due.de/receive/duepublico_mods_00074090)  
[https://duepublico2.uni-due.de/servlets/MCRFileNodeServlet/duepublico\\_derivate\\_00073863/Diss\\_Hadrovic.pdf](https://duepublico2.uni-due.de/servlets/MCRFileNodeServlet/duepublico_derivate_00073863/Diss_Hadrovic.pdf)  
<https://doi.org/10.17185/duepublico/74090>.
- (45) Meiners, A.; Bäcker, S.; Hadrović, I.; Heid, C.; Beuck, C.; Ruiz-Blanco, Y. B.; Mieres-Perez, J.; Pörschke, M.; Grad, J.-N.; Vallet, C. Specific inhibition of the Survivin–CRM1 interaction by peptide-modified molecular tweezers. *Nature Communications* **2021**, *12* (1), 1505.
- (46) Guillory, X.; Hadrovic, I.; de Vink, P. J.; Sowislok, A.; Brunsveld, L.; Schrader, T.; Ottmann, C. Supramolecular enhancement of a natural 14–3–3 protein ligand. *Journal of the American Chemical Society* **2021**, *143* (34), 13495-13500.
- (47) van der Meer, S. B.; Hadrovic, I.; Meiners, A.; Loza, K.; Heggen, M.; Knauer, S. K.; Bayer, P.; Schrader, T.; Beuck, C.; Epple, M. New tools to probe the protein surface: ultrasmall gold nanoparticles carry amino acid binders. *The Journal of Physical Chemistry B* **2020**, *125* (1), 115-127.
- (48) Hill, S. A.; Gerke, C.; Hartmann, L. Recent Developments in Solid-Phase Strategies towards Synthetic, Sequence-Defined Macromolecules. *Chemistry – An Asian Journal* **2018**, *13* (23), 3611-3622. DOI: <https://doi.org/10.1002/asia.201801171>.
- (49) Klein, K. Kovalente Oberflächenfunktionalisierung von ultrakleinen metallischen Nanopartikeln. 2022. [https://duepublico2.uni-due.de/receive/duepublico\\_mods\\_00077372](https://duepublico2.uni-due.de/receive/duepublico_mods_00077372)  
[https://duepublico2.uni-due.de/servlets/MCRFileNodeServlet/duepublico\\_derivate\\_00076999/Diss\\_Klein.pdf](https://duepublico2.uni-due.de/servlets/MCRFileNodeServlet/duepublico_derivate_00076999/Diss_Klein.pdf)  
<https://doi.org/10.17185/duepublico/77372>.

- (50) Neblik, J.; Kirupakaran, A.; Beuck, C.; Mieres-Perez, J.; Niemeyer, F.; Le, M.-H.; Telgheder, U.; Schmuck, J. F.; Dudziak, A.; Bayer, P. Multivalent Molecular Tweezers Disrupt the Essential NDC80 Interaction with Microtubules. *Journal of the American Chemical Society* **2023**, *145* (28), 15251-15264.
- (51) Henzler-Wildman, K.; Kern, D. Dynamic personalities of proteins. *Nature* **2007**, *450* (7172), 964-972.
- (52) Frauenfelder, H.; Sligar, S. G.; Wolynes, P. G. The energy landscapes and motions of proteins. *Science* **1991**, *254* (5038), 1598-1603.
- (53) Williams, D. H. Enzyme catalysis from improved packing in their transition-state structures. *Current opinion in chemical biology* **2010**, *14* (5), 666-670.
- (54) Karplus, M.; McCammon, J. A. Molecular dynamics simulations of biomolecules. *Nature structural biology* **2002**, *9* (9), 646-652.
- (55) Kneutinger, A. C. A guide to designing photocontrol in proteins: methods, strategies and applications. *Biological Chemistry* **2022**, *403* (5-6), 573-613. DOI: doi:10.1515/hsz-2021-0417 (accessed 2024-03-13).
- (56) Jékely, G. Evolution of phototaxis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **2009**, *364* (1531), 2795-2808.
- (57) Hall, D. O.; Rao, K. *Photosynthesis*; Cambridge University Press, 1999.
- (58) Osorio, D.; Vorobyev, M. Photoreceptor spectral sensitivities in terrestrial animals: adaptations for luminance and colour vision. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **2005**, *272* (1574), 1745-1752.
- (59) Kneutinger, A. C.; Winter, M.; Simeth, N. A.; Heyn, K.; Merkl, R.; König, B.; Sterner, R. Artificial Light Regulation of an Allosteric Bienenzyme Complex by a Photosensitive Ligand. *ChemBioChem* **2018**, *19* (16), 1750-1757. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbic.201800219>.
- (60) Szymański, W.; Beierle, J. M.; Kistemaker, H. A. V.; Velema, W. A.; Feringa, B. L. Reversible Photocontrol of Biological Systems by the Incorporation of Molecular Photoswitches. *Chemical Reviews* **2013**, *113* (8), 6114-6178. DOI: 10.1021/cr300179f.
- (61) Feringa, B. L. The art of building small: from molecular switches to molecular motors. *The Journal of organic chemistry* **2007**, *72* (18), 6635-6652.
- (62) Müller-Deku, A. P. Azobenzene photoswitches: synthetic methodology and biological applications. LMU München, 2022. <http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bvb:19-310507>.
- (63) Wensel, T. G. Molecular biology of vision. In *Basic Neurochemistry*, Elsevier, 2012; pp 889-903.
- (64) Yazawa, M.; Sadaghiani, A. M.; Hsueh, B.; Dolmetsch, R. E. Induction of protein-protein interactions in live cells using light. *Nature biotechnology* **2009**, *27* (10), 941-945.
- (65) Mayer, G.; Heckel, A. Biologically Active Molecules with a "Light Switch". *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45* (30), 4900-4921. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.200600387>.
- (66) Levskaya, A.; Weiner, O. D.; Lim, W. A.; Voigt, C. A. Spatiotemporal control of cell signalling using a light-switchable protein interaction. *Nature* **2009**, *461* (7266), 997-1001.
- (67) Brieke, C.; Rohrbach, F.; Gottschalk, A.; Mayer, G.; Heckel, A. Lichtgesteuerte Werkzeuge. *Angewandte Chemie* **2012**, *124* (34), 8572-8604.
- (68) Deiters, A. Principles and Applications of the Photochemical Control of Cellular Processes. *ChemBioChem* **2010**, *11* (1), 47-53. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbic.200900529>.
- (69) Krauss, U.; Drepper, T.; Jaeger, K.-E. Enlightened Enzymes: Strategies to Create Novel Photoresponsive Proteins. *Chemistry – A European Journal* **2011**, *17* (9), 2552-2560. DOI: <https://doi.org/10.1002/chem.201002716>.

- (70) Fehrentz, T.; Schönberger, M.; Trauner, D. Optochemische Genetik. *Angewandte Chemie* **2011**, *123* (51), 12362-12390.
- (71) Tochitsky, I.; Banghart, M. R.; Mourot, A.; Yao, J. Z.; Gaub, B.; Kramer, R. H.; Trauner, D. Optochemical control of genetically engineered neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Nature chemistry* **2012**, *4* (2), 105-111.
- (72) Banghart, M. R.; Mourot, A.; Fortin, D. L.; Yao, J. Z.; Kramer, R. H.; Trauner, D. Photochrome Liganden für spannungsgesteuerte Kaliumkanäle. *Angewandte Chemie* **2009**, *121* (48), 9261-9265.
- (73) Kaufman, H.; Vratisanos, S.; Erlanger, B. Photoregulation of an enzymic process by means of a light-sensitive ligand. *Science* **1968**, *162* (3861), 1487-1489.
- (74) Wainberg, M. A.; Erlanger, B. F. Investigation of the active center of trypsin using photochromic substrates. *Biochemistry* **1971**, *10* (21), 3816-3819.
- (75) Harvey, A. J.; Abell, A. D. Azobenzene-containing, peptidyl  $\alpha$ -ketoesters as photobiological switches of  $\alpha$ -chymotrypsin. *Tetrahedron* **2000**, *56* (50), 9763-9771.
- (76) Muramatsu, S.; Kinbara, K.; Taguchi, H.; Ishii, N.; Aida, T. Semibiological molecular machine with an implemented "AND" logic gate for regulation of protein folding. *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128* (11), 3764-3769.
- (77) Herre, S.; Schadendorf, T.; Ivanov, I.; Herrberger, C.; Steinle, W.; Rück-Braun, K.; Preissner, R.; Kuhn, H. Photoactivation of an inhibitor of the 12/15-Lipoxygenase Pathway. *ChemBioChem* **2006**, *7* (7), 1089-1095.
- (78) Irie, M.; Sakemura, K.; Okinaka, M.; Uchida, K. Photochromism of dithienylethenes with electron-donating substituents. *The Journal of Organic Chemistry* **1995**, *60* (25), 8305-8309.
- (79) Hamon, F.; Djedaini-Pilard, F.; Barbot, F.; Len, C. Azobenzenes—synthesis and carbohydrate applications. *Tetrahedron* **2009**, *65* (49), 10105-10123. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tet.2009.08.063>.
- (80) Noble, A. III. Zur Geschichte des Azobenzols und des Benzidins. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1856**, *98* (2), 253-256.
- (81) Hartley, G.; Le Fevre, R. 119. The dipole moments of cis-and trans-azobenzenes and of some related compounds. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **1939**, 531-535.
- (82) Sasaki, T.; Tour, J. M. Synthesis of a new photoactive nanovehicle: a nanoworm. *Organic Letters* **2008**, *10* (5), 897-900.
- (83) Jochum, F. D.; Theato, P. Temperature-and light-responsive smart polymer materials. *Chemical Society Reviews* **2013**, *42* (17), 7468-7483.
- (84) Ichimura, K.; Suzuki, Y.; Seki, T.; Hosoki, A.; Aoki, K. Reversible change in alignment mode of nematic liquid crystals regulated photochemically by command surfaces modified with an azobenzene monolayer. *Langmuir* **1988**, *4* (5), 1214-1216.
- (85) Pang, X.; Lv, J. a.; Zhu, C.; Qin, L.; Yu, Y. Photodeformable azobenzene-containing liquid crystal polymers and soft actuators. *Advanced Materials* **2019**, *31* (52), 1904224.
- (86) Beharry, A. A.; Woolley, G. A. Azobenzene photoswitches for biomolecules. *Chemical Society Reviews* **2011**, *40* (8), 4422-4437.
- (87) Choi, Y.-J.; Kim, J.-T.; Yoon, W.-J.; Kang, D.-G.; Park, M.; Kim, D.-Y.; Lee, M.-H.; Ahn, S.-k.; Jeong, K.-U. Azobenzene molecular machine: Light-induced wringing gel fabricated from asymmetric macrogelator. *ACS Macro Letters* **2018**, *7* (5), 576-581.
- (88) Bléger, D.; Schwarz, J.; Brouwer, A. M.; Hecht, S. o-Fluoroazobenzenes as readily synthesized photoswitches offering nearly quantitative two-way isomerization with visible light. *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134* (51), 20597-20600.

- (89) Mahimwalla, Z.; Yager, K. G.; Mamiya, J.-i.; Shishido, A.; Priimagi, A.; Barrett, C. J. Azobenzene photomechanics: prospects and potential applications. *Polymer bulletin* **2012**, *69*, 967-1006.
- (90) Dokic, J.; Gothe, M.; Wirth, J.; Peters, M. V.; Schwarz, J.; Hecht, S.; Saalfrank, P. Quantum chemical investigation of thermal cis-to-trans isomerization of azobenzene derivatives: substituent effects, solvent effects, and comparison to experimental data. *The Journal of Physical Chemistry A* **2009**, *113* (24), 6763-6773.
- (91) Bandara, H. D.; Burdette, S. C. Photoisomerization in different classes of azobenzene. *Chemical Society Reviews* **2012**, *41* (5), 1809-1825.
- (92) Höglspurger, F.; Larik, F. A.; Bai, C.; Seyfried, M. D.; Daniliuc, C.; Klaasen, H.; Thordarson, P.; Beves, J. E.; Ravoo, B. J. Water-Soluble Arylazoisoxazole Photoswitches. *Chemistry* **2023**, *29* (65), e202302069. DOI: 10.1002/chem.202302069 From NLM.
- (93) Liss, T. A. The preparation and alkylation of arylazopyridine 1-oxides. *The Journal of Organic Chemistry* **1967**, *32* (4), 1146-1150.
- (94) Moormann, W. Synthese von funktionalisierten Diazocinen für die Photopharmakologie, Molekularbiologie und für responsive Materialien. 2020.
- (95) Stricker, L.; Fritz, E.-C.; Peterlechner, M.; Doltsinis, N. L.; Ravoo, B. J. Arylazopyrazoles as light-responsive molecular switches in cyclodextrin-based supramolecular systems. *Journal of the American Chemical Society* **2016**, *138* (13), 4547-4554.
- (96) Beharry, A. A.; Wong, L.; Tropepe, V.; Woolley, G. A. Fluorescence imaging of azobenzene photoswitching in vivo. *Angewandte Chemie International Edition* **2011**, *50* (6), 1325-1327.
- (97) Schrader, T. E.; Schreier, W. J.; Cordes, T.; Koller, F. O.; Babitzki, G.; Denschlag, R.; Renner, C.; Löweneck, M.; Dong, S.-L.; Moroder, L. Light-triggered  $\beta$ -hairpin folding and unfolding. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2007**, *104* (40), 15729-15734.
- (98) Schierling, B.; Noël, A.-J.; Wende, W.; Hien, L. T.; Volkov, E.; Kubareva, E.; Oretskaya, T.; Kokkinidis, M.; Römpf, A.; Spengler, B. Controlling the enzymatic activity of a restriction enzyme by light. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2010**, *107* (4), 1361-1366.
- (99) Han, M.; Ishikawa, D.; Honda, T.; Ito, E.; Hara, M. Light-driven molecular switches in azobenzene self-assembled monolayers: effect of molecular structure on reversible photoisomerization and stable cis state. *Chemical communications* **2010**, *46* (20), 3598-3600.
- (100) Dietrich, P.; Michalik, F.; Schmidt, R.; Gahl, C.; Mao, G.; Breusing, M.; Raschke, M.; Priewisch, B.; Elsässer, T.; Mendelsohn, R. An anchoring strategy for photoswitchable biosensor technology: azobenzene-modified SAMs on Si (111). *Applied Physics A* **2008**, *93*, 285-292.
- (101) Lee, J.-W.; Klajn, R. Dual-responsive nanoparticles that aggregate under the simultaneous action of light and CO<sub>2</sub>. *Chemical communications* **2015**, *51* (11), 2036-2039.
- (102) Manna, D.; Udayabhaskararao, T.; Zhao, H.; Klajn, R. Cover Picture: Orthogonal Light-Induced Self-Assembly of Nanoparticles using Differently Substituted Azobenzenes (Angew. Chem. Int. Ed. 42/2015). *Angewandte Chemie International Edition* **2015**, *54* (42), 12179-12179.
- (103) Raposo, M. M. M.; Ferreira, A. M.; Amaro, M.; Belsley, M.; Moura, J. C. The synthesis and characterization of heterocyclic azo dyes derived from 5-N, N-dialkylamino-2, 2'-bithiophene couplers. *Dyes and pigments* **2009**, *83* (1), 59-65.
- (104) Coelho, P. J.; Carvalho, L. M.; Moura, J. C. V. P.; Raposo, M. M. M. Novel photochromic 2,2'-bithiophene azo dyes. *Dyes and Pigments* **2009**, *82* (2), 130-133. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2008.12.005>.
- (105) Raposo, M. M. M.; Castro, M. C. R.; Belsley, M.; Fonseca, A. M. C. Push-pull bithiophene azo-chromophores bearing thiazole and benzothiazole acceptor moieties: Synthesis and evaluation of their

redox and nonlinear optical properties. *Dyes and Pigments* **2011**, *91* (3), 454-465. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2011.05.007>.

(106) Crespi, S.; Simeth, N. A.; König, B. Heteroaryl azo dyes as molecular photoswitches. *Nature Reviews Chemistry* **2019**, *3* (3), 133-146. DOI: 10.1038/s41570-019-0074-6.

(107) Weston, C. E.; Richardson, R. D.; Haycock, P. R.; White, A. J. P.; Fuchter, M. J. Arylazopyrazoles: Azoheteroarene Photoswitches Offering Quantitative Isomerization and Long Thermal Half-Lives. *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136* (34), 11878-11881. DOI: 10.1021/ja505444d.

(108) Stricker, L.; Böckmann, M.; Kirse, T. M.; Doltsinis, N. L.; Ravoo, B. J. Arylazopyrazole Photoswitches in Aqueous Solution: Substituent Effects, Photophysical Properties, and Host–Guest Chemistry. *Chemistry – A European Journal* **2018**, *24* (34), 8639-8647. DOI: <https://doi.org/10.1002/chem.201800587>.

(109) Nel, A. E.; Mädler, L.; Velegol, D.; Xia, T.; Hoek, E. M.; Somasundaran, P.; Klaessig, F.; Castranova, V.; Thompson, M. Understanding biophysicochemical interactions at the nano–bio interface. *Nature materials* **2009**, *8* (7), 543-557.

(110) Stevens, M. M.; George, J. H. Exploring and engineering the cell surface interface. *Science* **2005**, *310* (5751), 1135-1138.

(111) Deamer, D. W.; Dick, R.; Thiemann, W.; Shinitzky, M. Intrinsic asymmetries of amino acid enantiomers and their peptides: A possible role in the origin of biochirality. *Chirality: The Pharmacological, Biological, and Chemical Consequences of Molecular Asymmetry* **2007**, *19* (10), 751-763.

(112) Rikken, G.; Raupach, E. Enantioselective magnetochiral photochemistry. *Nature* **2000**, *405* (6789), 932-935.

(113) Chang, B.; Zhang, M.; Qing, G.; Sun, T. Dynamic Biointerfaces: From Recognition to Function. *Small* **2015**, *11* (9-10), 1097-1112. DOI: <https://doi.org/10.1002/sml.201402038>.

(114) Li, J.; Li, G.; Wang, H.; Deng, X. W. Phytochrome signaling mechanisms. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists* **2011**, *9*.

(115) Franklin, K. A.; Quail, P. H. Phytochrome functions in Arabidopsis development. *Journal of experimental botany* **2010**, *61* (1), 11-24.

(116) Shinomura, T. Phytochrome regulation of seed germination. *Journal of Plant Research* **1997**, *110*, 151-161.

(117) Chen, M.; Chory, J. Phytochrome signaling mechanisms and the control of plant development. *Trends in cell biology* **2011**, *21* (11), 664-671.

(118) Sackmann, E.; Schaffner, K.; Schaffner, K. Zur Photophysik und Photochemie von Phytochrom, einem photomorphogenen Regler in grünen Pflanzen. *Biomembranen: Physikalische Prinzipien der Selbstorganisation und Funktion als integrierte Systeme zur Signalerkennung,-verstärkung und-übertragung auf molekularer Ebene. Zur Photophysik und Photochemie von Phytochrom, einem photomorphogenetischen Regler in grünen Pflanzen* **1988**, 47-78.

(119) Müller, W. A.; Frings, S.; Möhrlein, F. *Tier-und humanphysiologie: Eine einföhrung*; Springer, 2009.

(120) Khorana, H. G. Rhodopsin, photoreceptor of the rod cell. An emerging pattern for structure and function. *Journal of Biological Chemistry* **1992**, *267* (1), 1-4. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)48444-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)48444-X).

(121) Nathans, J. Rhodopsin: structure, function, and genetics. *Biochemistry* **1992**, *31* (21), 4923-4931.

(122) Baylor, D. How photons start vision. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **1996**, *93* (2), 560-565.

- (123) Willner, I.; Rubin, S. Control of the Structure and Functions of Biomaterials by Light. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1996**, *35* (4), 367-385. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.199603671>.
- (124) Dugave, C.; Demange, L. Cis– trans isomerization of organic molecules and biomolecules: implications and applications. *Chemical reviews* **2003**, *103* (7), 2475-2532.
- (125) Gorostiza, P.; Isacoff, E. Y. Optical switches for remote and noninvasive control of cell signaling. *Science* **2008**, *322* (5900), 395-399.
- (126) Gonçalves, M. S. T. Fluorescent Labeling of Biomolecules with Organic Probes. *Chemical Reviews* **2009**, *109* (1), 190-212. DOI: 10.1021/cr0783840.
- (127) Newman, R. H.; Fosbrink, M. D.; Zhang, J. Genetically Encodable Fluorescent Biosensors for Tracking Signaling Dynamics in Living Cells. *Chemical Reviews* **2011**, *111* (5), 3614-3666. DOI: 10.1021/cr100002u.
- (128) Sletten, E. M.; Bertozzi, C. R. From Mechanism to Mouse: A Tale of Two Bioorthogonal Reactions. *Accounts of Chemical Research* **2011**, *44* (9), 666-676. DOI: 10.1021/ar200148z.
- (129) Holliday, R. Epigenetics: a historical overview. *Epigenetics* **2006**, *1* (2), 76-80. DOI: 10.4161/epi.1.2.2762 From NLM.
- (130) Su, Z.; Denu, J. M. Reading the Combinatorial Histone Language. *ACS Chemical Biology* **2016**, *11* (3), 564-574. DOI: 10.1021/acscchembio.5b00864.
- (131) Guenther, M. G.; Levine, S. S.; Boyer, L. A.; Jaenisch, R.; Young, R. A. A chromatin landmark and transcription initiation at most promoters in human cells. *Cell* **2007**, *130* (1), 77-88.
- (132) Cosgrove, M. S.; Patel, A. Mixed lineage leukemia: a structure–function perspective of the MLL1 protein. *The FEBS Journal* **2010**, *277* (8), 1832-1842. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07609.x>.
- (133) Albert, L.; Xu, J.; Wan, R.; Srinivasan, V.; Dou, Y.; Vázquez, O. Controlled inhibition of methyltransferases using photoswitchable peptidomimetics: towards an epigenetic regulation of leukemia. *Chemical Science* **2017**, *8* (6), 4612-4618.
- (134) Dharmarajan, V.; Lee, J.-H.; Patel, A.; Skalnik, D. G.; Cosgrove, M. S. Structural basis for WDR5 interaction (Win) motif recognition in human SET1 family histone methyltransferases. *Journal of Biological Chemistry* **2012**, *287* (33), 27275-27289.
- (135) Nevola, L.; Martín-Quirós, A.; Eckelt, K.; Camarero, N.; Tosi, S.; Llobet, A.; Giral, E.; Gorostiza, P. Light-regulated stapled peptides to inhibit protein–protein interactions involved in clathrin-mediated endocytosis. *Angewandte Chemie International Edition* **2013**, *52* (30), 7704-7708.
- (136) McMahon, H. T.; Boucrot, E. Molecular mechanism and physiological functions of clathrin-mediated endocytosis. *Nature reviews Molecular cell biology* **2011**, *12* (8), 517-533.
- (137) Edeling, M. A.; Mishra, S. K.; Keyel, P. A.; Steinhäuser, A. L.; Collins, B. M.; Roth, R.; Heuser, J. E.; Owen, D. J.; Traub, L. M. Molecular switches involving the AP-2  $\beta$ 2 appendage regulate endocytic cargo selection and clathrin coat assembly. *Developmental cell* **2006**, *10* (3), 329-342.
- (138) Walensky, L. D.; Kung, A. L.; Escher, I.; Malia, T. J.; Barbuto, S.; Wright, R. D.; Wagner, G.; Verdine, G. L.; Korsmeyer, S. J. Activation of apoptosis in vivo by a hydrocarbon-stapled BH3 helix. *science* **2004**, *305* (5689), 1466-1470.
- (139) Hutchison, M. T.; Bellomo, G.; Cherepanov, A.; Stirnal, E.; Fürtig, B.; Richter, C.; Linhard, V.; Gurewitsch, E.; Lelli, M.; Morgner, N. Modulation of A $\beta$ 42 Aggregation Kinetics and Pathway by Low-Molecular-Weight Inhibitors. *ChemBiochem* **2023**, *24* (7), e202200760.

- (140) Bengoa-Vergniory, N.; Faggiani, E.; Ramos-Gonzalez, P.; Kirkiz, E.; Connor-Robson, N.; Brown, L. V.; Siddique, I.; Li, Z.; Vingill, S.; Cioroch, M. CLR01 protects dopaminergic neurons in vitro and in mouse models of Parkinson's disease. *Nature communications* **2020**, *11* (1), 4885.
- (141) Hadrovic, I. Designed Monomeric and Dimeric Molecular Tweezers for Functional Protein Targeting. Universität Duisburg-Essen, 2020.
- (142) Alder, K.; Pascher, F.; Vagt, H. The accumulation of malein acid-anhydride. *Chemische Berichte* **1942**, *75*, 1501-1514.
- (143) Lüdtke-Buzug, K.; Lüdtke-Buzug, K. Azosubstituierte Benzolderivate. *Azosubstituierte Porphyrine: Anwendungen in Technik und Medizin* **2017**, 13-27.
- (144) Natarajan, A.; Chan, K. P.; Jean-Gilles, R. P.; Perry, R. J.; Ostroverkhov, V. P.; Kim, E. M.; Lee, J. L.; Boden, E. P.; McCloskey, P. J.; Lawrence, B. L. Compositions, optical data storage media and methods for using the optical data storage media. Google Patents: 2013.
- (145) Sherrill, C. D. Energy component analysis of  $\pi$  interactions. *Accounts of chemical research* **2013**, *46* (4), 1020-1028.
- (146) Hunter, C. A.; Sanders, J. K. The nature of  $\pi$ - $\pi$  interactions. *Journal of the American Chemical Society* **1990**, *112* (14), 5525-5534.
- (147) Dudek, M.; Pokładek, Z.; Deiana, M.; Matczyszyn, K. Molecular design and structural characterization of photoresponsive azobenzene-based polyamide units. *Dyes and Pigments* **2020**, *180*, 108501. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108501>.
- (148) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angewandte Chemie International Edition* **2001**, *40* (11), 2004-2021. DOI: [https://doi.org/10.1002/1522-3773\(20010601\)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1522-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5).
- (149) Fuchs, P. Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition zur Modifikation von Kohlenhydraten. Georg-August-Universität Göttingen, 2020.
- (150) Huisgen, R.; König, H.; Binsch, G.; Sturm, H. 1,3-Dipolare Additionen der Ketocarbene. *Angewandte Chemie* **1961**, *73* (11), 368-371.
- (151) Tornøe, C. W.; Christensen, C.; Meldal, M. Peptidotriazoles on solid phase: [1, 2, 3]-triazoles by regioselective copper (I)-catalyzed 1, 3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *The Journal of organic chemistry* **2002**, *67* (9), 3057-3064.
- (152) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. A stepwise huisgen cycloaddition process: copper (I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. *Angewandte Chemie International Edition* **2002**, *41* (14), 2596-2599.
- (153) Díaz, D. D.; Punna, S.; Holzer, P.; McPherson, A. K.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V.; Finn, M. Click chemistry in materials synthesis. 1. Adhesive polymers from copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2004**, *42* (17), 4392-4403.
- (154) Worrell, B. T.; Malik, J.; Fokin, V. V. Direct evidence of a dinuclear copper intermediate in Cu (I)-catalyzed azide-alkyne cycloadditions. *Science* **2013**, *340* (6131), 457-460.
- (155) Pfaff, P.; Anderl, F.; Fink, M.; Balkenhohl, M.; Carreira, E. M. Azoacetylenes for the synthesis of arylazotriazole photoswitches. *Journal of the American Chemical Society* **2021**, *143* (36), 14495-14501.
- (156) van den Boom, J.; Trusch, F.; Hoppstock, L.; Beuck, C.; Bayer, P. Structural characterization of the loop at the alpha-subunit C-terminus of the mixed lineage leukemia protein activating protease taspase1. *PLoS One* **2016**, *11* (3), e0151431.
- (157) Li, F.; Ambrosini, G.; Chu, E. Y.; Plescia, J.; Tognin, S.; Marchisio, P. C.; Altieri, D. C. Control of apoptosis and mitotic spindle checkpoint by survivin. *Nature* **1998**, *396* (6711), 580-584.

(158) Engelsma, D.; Rodriguez, J. A.; Fish, A.; Giaccone, G.; Fornerod, M. Homodimerization antagonizes nuclear export of survivin. *Traffic* **2007**, *8* (11), 1495-1502.

## VII. Danksagung

Als erstes muss ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Thomas Schrader bedanken, der mir ein spannendes Projekt anvertraut hat und mir dabei stets genügend Freiraum für meine Kreativität gelassen hat. Ich bedanke mich für die durchgehende Unterstützung, die ständige Bereitschaft zur fachlichen Diskussion, seine Geduld und seinen Glauben an mich – im Besonderen in den schwierigen Phasen meiner Promotion. Vielen Dank dafür!

Ein besonderer Dank geht an Prof. Dr. Bart Jan Ravoo, nicht nur für die Übernahme des zweiten Gutachtens, sondern vor allem für die schöne Kooperation und seine Unterstützung während meiner Promotionszeit.

Frau Prof. Dr. Shirley Knauer danke ich ebenfalls für die schöne Zusammenarbeit und ihre Unterstützung – im Besonderen beim fachlichen Austausch und Diskussion über unsere spannenden Experimente.

Ein großer Dank geht an meine Kooperationspartnern Alisa-Maite Kauth und Katrin Hommel für die großartige Zusammenarbeit, die guten Ergebnisse, die spannenden Diskussionen und Anregungen rund um das Projekt. Besonders möchte ich Alisa-Maite Kauth für ihr offenes Ohr und das gemeinsame und lustige Brainstormen für unser Projekt danken.

Der gesamten AK Schrader Gruppe möchte ich für die Jahre voller unvergesslicher Momente danken!

Insbesondere meinen Kollegen Dr. Álvaro Serrano Fariñas, Dr. Vanessa Redondo Garrosa, Dr. My-Hue Le, Dr. Nahid Sadeghi, Dr. Estelle Taghuo Kaptom und Sebastian Theisen möchte ich für ihr offenes Ohr, das Teilen schöner und nicht so schöner Momente während meiner Promotionszeit herzlichst danken!

Ein großer Dank geht an meinem Laborpartner Sebastian Theisen für seine ständige Unterstützung, den fachlichen Austausch und seine Freundschaft. Ohne dich wäre der Alltag im Labor nicht so voller Lachen, guter Musik und schönen farbigen Lösungen gewesen!

Herrn Dr. Torsten Schaller und Herrn Dr. Felix Niemeyer danke ich für die Aufnahme der NMR-Spektren und die freundliche Hilfsbereitschaft bei fachlichen Fragen.

Herrn Dr. Florian Uteschil und Frau Gudrun Heinrich danke ich für die Aufnahme von Massenspektren.

Auch der Gruppe von Prof. Dr. Haberhauer möchte ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre danken.

Ich möchte mich ebenfalls besonders bei Theresa Seiler, Lucas und Sandra Ibers für das Korrekturlesen meiner Arbeit bedanken. Besonders der gesamten Familie Ibers möchte ich für ihre Unterstützung seit meiner Ankunft in Deutschland herzlichst danken!

Außerdem möchte ich mich bei meiner Schwester Monica Kommer und meinem Schwager Tobias Kommer für ihre Unterstützung über die gesamte Zeit herzlichst bedanken!

Ganz besonders möchte ich meiner Freundin Theresa Seiler danken. Du warst immer für mich da, hast mich unterstützt und verstanden, vor allem wenn alles nicht so lief, wie geplant. Du hast mir gezeigt, dass ich alles schaffen kann, was ich mir vornehme und dafür bin ich dir unendlich dankbar! Ich liebe dich und ich freue mich auf die Zukunft mit dir!

Por último quiero agradecerle a mis padres Mayra Bietti y Alberto Figueroa por haber luchado por mí y darme esta oportunidad de hacer mi vida en Alemania y poder salir adelante. Ustedes me han apoyado desde pequeño, enviándome al colegio alemán, hasta hoy que estoy concluyendo mi doctorado. Sin ustedes nunca hubiera podido llegar tan lejos. ¡Todo lo que he logrado hasta ahora y todo lo que vendrá en el futuro es gracias a ustedes! ¡Los amo!