

Oberflächenmodifikation von Goldnanopartikeln

vom Fachbereich Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern
zur Verleihung des akademischen Grades „Doktor der Naturwissenschaften“
genehmigte Dissertation

D 386



Datum der wissenschaftlichen Aussprache: 23.08.2012

vorgelegt von

Laura Gilberg

geboren in Bad Ems

Betreuer: Prof. Dr. S. Kubik

Kaiserslautern, 2012

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Prof. Dr. Stefan Kubik im Zeitraum von Juli 2008 bis Juni 2012 im Fachbereich Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern angefertigt.

Betreuer: Prof. Dr. S. Kubik

Prüfungskommission

Vorsitzender: Prof. Dr. Werner Thiel

1. Gutachter: Prof. Dr. Stefan Kubik

2. Gutachter: Prof. Dr. Lukas Gooßen

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine andere als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet, sowie Literaturzitate kenntlich gemacht habe. Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher noch in anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. S. Kubik für die Bereitstellung des interessanten und interdisziplinären Themas und die stetige Diskussionsbereitschaft, die zum Gelingen der Arbeit beitrug.

Im Weiteren danke ich allen ehemaligen und derzeitigen Mitarbeitern des Arbeitskreises Kubik Raquel Belda-Vidal, Eugenia Eugenieva-Ilieva, Thomas Fiehn, Alexander Ganß, Michaela Hamm, Martin Krause, Disha Mungalpara, Stefanie Noé, Johannes Pitsch, Luzian Porwol, Astrid Schaly, Fabian Sommer, Serap Yapar und Michael Zengerle für das harmonische Arbeitsatmosphäre, die Hilfsbereitschaft und die Unterstützung.

Der Staatsexamenskandidatin Tanja Steinmetz, dem Teilnehmer des RISE-Programms François Mathieu und den Forschungspraktikanten Matthias Amberg, Swen Ehnert und Fabian Sommer danke ich für die synthetischen Beiträge zu dieser Arbeit.

Den Mitarbeitern der Arbeitskreise von Prof. Dr. L. Gooßen und Prof. Dr. Ing. J. Hartung danke ich für die nette Zusammenarbeit und letzteren auch für die Nutzung des UV/Vis-Spektrophotometers.

Für die Möglichkeit zu DLS-Messungen danke ich Dr. Ing. Thomas Grein aus der Arbeitsgruppe Prof. Dr. Ing. S. Ripperger und Dr. Carolyn Vargas in der Arbeitsgruppe von Jun. Prof. Dr. S. Keller.

Außerdem bedanke ich mich bei Dr. A. Brodyanski am Institut für Oberflächen- und Schichtanalytik (IFOS) und Prof. Dr. S. Otto für die Aufnahmen der TEM-Bilder.

Für die zahlreichen NMR-Messungen danke ich Christiane Müller und der ganzen Abteilung der Analytik Dr. U. Bergsträßer, R. Bergsträßer, B. Dusch, E. Biehl und J. Elmer für die Elementaranalysen und die HR-MS-Messungen. Danke auch an Sandra Schäfer und Fabian Menges für die ESI-Messungen und natürlich danke ich den Mitarbeitern der Chemikalienausgabe Dipl. Chem. L. Napast, J. Rahm und F. Schrör für die Zusammenarbeit.

Nicht zuletzt möchte ich mich herzlichst bei meinen Eltern, meinem Lebensgefährten Jan Philipp Bielstein und meinen Freunden für die Unterstützung und den Zuspruch auch während meines Studiums bedanken.

Abkürzungsverzeichnis

AP	Methylpyridin-Ligand generiert aus <i>S</i> -11-(6-Methylpyridin-2-ylamino)-11-oxoundecylethanthioat 37
ATR	Abgeschwächte Totalreflexion (attenuated total reflection)
AuC8PYR_{Rot}	nach der Methode von Rotello synthetisierter Goldnanopartikel funktionalisiert mit C8- und PYR-Liganden
AuC8PYRDAP_{Rot}	nach der Methode von Rotello synthetisierter Goldnanopartikel funktionalisiert mit C8-, PYR- und DAP-Liganden
AuC12	Dodecanthiol-geschützte Goldnanopartikel
AuC12PYR_{Rot}	nach der Methode von Rotello synthetisierter Goldnanopartikel funktionalisiert mit C12- und PYR-Liganden
AuC12PYRDAP_{Rot}	nach Rotello synthetisierter Goldnanopartikel funktionalisiert mit C12-, PYR- und DAP-Liganden
AuC18	Octadecanthiol-geschützte Goldnanopartikel
AuC18DAP	Goldnanopartikel funktionalisiert mit C18- und DAP-Liganden
AuC18PYR_{Rot}	nach der Methode von Rotello synthetisierter Goldnanopartikel funktionalisiert mit C18- und PYR-Liganden
AuC18PYRDAP_{abs}	mit C18-, PYR- und DAP-Liganden funktionalisierter Goldnanopartikel, der in Abwesenheit eines Templats während der Ligandenaustauschreaktion hergestellt wurde
AuC18PYRDAP_{pre}	mit C18-, PYR- und DAP-Liganden funktionalisierter Goldnanopartikel, der in Anwesenheit eines Templats während der Ligandenaustauschreaktion hergestellt wurde
AuC18PYRDAP_{Rot}	nach der Methode von Rotello synthetisierter Goldnanopartikel funktionalisiert mit C18-, PYR- und DAP-Liganden
AuNP	Goldnanopartikel
ber.	Berechnet (CHNS)
BNZ	Benzol-Ligand generiert aus <i>S</i> -11-Phenylundecylethanthioat 40
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
d	Tag
C8	Octadecanthiol-Ligand
C12	Dodecanthiol-Ligand
C18	Octadecanthiol-Ligand
DAP	Diaminopyridin-Ligand generiert aus <i>S</i> -10-(6-Acetylamidopyridin-2-ylamino)-11-oxoundecylethanthioat 30
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dynamische kombinatorische Chemie
DCL	Dynamische kombinatorische Bibliothek
DCTB	2-(((2E)-3-4- ^t Butylphenyl)-2-methyl-2-propenyliden)malononitril
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DIEA	Diisopropylethylamin
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
ESI-MS	Elektrospray Ionisationsmassenspektrometrie
eq	Äquivalent
Flavin	7,8-Dimethyl-10-isobutylisoalloxazin 16
GC	Gaschromatographie

gef.	Gefunden (CHNS)
h	Stunde
HMDS	Hexamethyldisilazan
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IR	Infrarot
ITC	Isotherme Titrationskalorimetrie
KRO	Kronenether-Ligand generiert aus 11-Mercaptoundecanoyl-4-aminobenzo-18-krone-6 44
MALDI-MS	matrixunterstützte Laserdesorptions/Ionisationsmassenspektrometrie
Methylflavin	10-Isobutyl-3,7,8-trimethylisoalloxazin 20
min	Minute
MMPC	mixed-monolayer protected cluster
MPC	monolayer protected cluster
NMR	nuclear magnetic resonance
ppm	Parts per million
PyCloP	Chlorotripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
PYR	Pyren-Ligand generiert aus S-11-(Pyren-1-yl)undecylethanthioat 26
RP	Reversed phase
T3P	Propylphosphonanhydrid
TBTU	O-(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumtetrafluoroborat
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
THF	Tetrahydrofuran
THY	Thymin-Ligand generiert aus 1-(12-Acetylthiododecyl)-5-methylpyrimidin-2,4-dion 42
TOF	time of flight
Ts-	<i>p</i> -Toluolsulfonyl
v:v	Volume to volume

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
2. Stand der Forschung.....	11
2.1. Alkylthiol-geschützte Goldnanopartikel.....	11
2.2. Dynamische kombinatorische Chemie (DCC).....	16
3. Aufgabenstellung.....	25
4. Ergebnisse und Diskussion.....	29
4.1. Synthese und Charakterisierung von Alkylthiol-geschützten Goldnanopartikeln.....	29
4.2. Untersuchung der Flavinrezeptoren synthetisiert nach Rotello.....	37
4.2.1. Synthese der Flavinrezeptoren.....	38
4.2.2. Charakterisierung der Flavinrezeptoren.....	41
4.2.3. Flavinaffinität der Flavinrezeptoren.....	44
4.3. Synthesen zur Ligandenaustauschreaktion.....	52
4.3.1. Synthese weiterer Ligandenvorstufen.....	53
4.3.2. Synthese weiterer Template.....	55
4.3.3. Synthese weiterer Goldnanopartikel.....	57
4.4. Untersuchung der Ligandenaustauschreaktion.....	58
4.4.1. Generierung der Thiole.....	59
4.4.2. Verhältnis funktionalisierter Thiole zu gebundenen Liganden.....	59
4.4.3. Auswertung der Ligandenaustauschreaktionen.....	60
4.4.4. Untersuchungen zur Einstellung des Gleichgewichts.....	65
4.4.5. Untersuchungen zur Templatmenge.....	67
4.4.6. Untersuchungen zu den Alkylthiol-Liganden.....	69
4.4.7. Zusammenfassung zur Optimierung der Ligandenaustauschreaktion.....	71
4.5. Reversibilität der Ligandenaustauschreaktion.....	72
4.6. Bindungsstudien der durch Ligandenaustauschreaktionen synthetisierten Goldnanopartikel.....	74
4.7. Weiterführende Studien zum Konzept.....	78
4.7.1. Methylflavin als Templat.....	78
4.7.2. Bibliotheken mit vier funktionalisierten Thiolen.....	82
4.7.3. Abwandlung des Bindungsmotivs.....	85
4.7.4. Einführung einer zusätzlichen Bindungsstelle.....	86
5. Zusammenfassung und Ausblick.....	90
6. Experimenteller Teil.....	95
6.1. Apparatives.....	95
6.2. Chemikalien.....	96
6.3. Methoden.....	97
6.3.1. Wirt-Gast-Titrations.....	97
6.3.2. Verdünnungstitration.....	99
6.3.3. MALDI-TOF-MS.....	99
6.3.4. DLS-Messungen.....	99
6.3.5. TEM-Messungen.....	100
6.4. Allgemeine Synthesevorschriften.....	100
6.4.1. Allgemeine Vorschrift für Ligandenaustauschreaktionen mit vorangehender <i>in situ</i> -Entschützung der Thioacetate.....	100
6.4.2. Allgemeine Vorschrift für Ligandenaustauschreaktionen bei Verwendung von 2-(7,8-Dimethylisalloxazin-10-yl)ethylammonium Tosylat (21) als Templat.....	101
6.4.3. Allgemeine Vorschrift für Ligandenaustauschreaktionen mit vorangehender <i>in situ</i> -	

Entschützung der Thioacetate bei Verwendung von AuC18DAP	101
6.4.4. Allgemeine Vorschrift für den Iodabbau von C12 enthaltenden Goldnanopartikeln...	102
6.4.5. Allgemeine Vorschrift für den Iodabbau von C18 enthaltenden Goldnanopartikeln...	102
6.5. Synthesevorschriften.....	103
6.5.1. Ligandensynthesen.....	103
6.5.2. Templatsynthesen.....	116
6.5.3. Nanopartikelsynthesen.....	127
Anhang.....	138
Literatur.....	141

1. Einleitung

Die Grundlagen vieler lebenswichtiger Vorgänge beruhen auf molekularen Erkennungsprozessen zwischen Biomakromolekülen. Bei diesen Biomakromolekülen handelt es sich zumeist um Proteine, welche vielfältige Eigenschaften und Funktionen haben können. So katalysieren Enzyme chemische Reaktionen, Membranproteine regulieren als Pumpen und Kanäle den Ionen- und Proteinhaushalt der Zellen und Rezeptoren dienen der Einleitung von Signalübertragungsprozessen.¹

Emil Fischer führte im Jahr 1894 die Wechselwirkung von Enzymen mit ihren Substraten auf komplementäre Strukturen zurück, wobei er für dieses Modell die Analogie eines Schlüssels im Schloss verwendete.² Heutzutage weiß man, dass für die effiziente Bindung eines Rezeptors (Wirt) an sein Substrat (Gast) mehr Voraussetzungen erfüllt werden müssen, als eine gute Passform der beiden Moleküle zueinander.

Das Grundprinzip der molekularen Erkennung beruht im Allgemeinen auf der Bindung eines sogenannten Rezeptormoleküls über multiple nicht-kovalente Wechselwirkungen an ein Substrat, wodurch ein Rezeptor-Substrat-Komplex gebildet wird. Zu den wichtigsten nicht-kovalenten Wechselwirkungen gehören die elektrostatischen Wechselwirkungen, welche auf der Anziehung entgegengesetzter formaler, partieller oder induzierter Ladungen beruhen. Ein Sonderfall elektrostatischer Wechselwirkungen sind die Wasserstoffbrücken. Außerdem spielen bei der molekularen Erkennung in Wasser hydrophobe Wechselwirkungen eine Rolle.³

Es stellt sich die Frage, wie Moleküle allein unter Ausnutzung solcher nicht-kovalenter Wechselwirkungen eine hohe Bindungsaffinität sowie Substratspezifität erreichen. Mit solchen Fragestellungen befasst sich unter anderem die Supramolekulare Chemie. Ein Aspekt dieses Forschungsgebiets ist die Aufklärung biologischer Erkennungsprozesse unter Verwendung kleiner organischer Moleküle, die als Modellsysteme dienen. Die hierbei gewonnenen Erkenntnisse können zur Optimierung synthetischer Rezeptoren oder Entwicklung künstlicher Katalysatoren dienen, deren Funktionsweisen von Enzymen inspiriert wurden.⁴ Die Supramolekulare Chemie ist also bestrebt, in Anlehnung an natürliche Systeme, biologische Mechanismen zu imitieren. Unter Ausnutzung verschiedener Wechselwirkungsarten können Rezeptoren beispielsweise gezielt für ein bestimmtes Substrat entworfen werden, wobei man heutzutage auf eine Vielzahl von

Rezeptorgrundstrukturen zurückgreifen kann.⁵ Trotz aller Bemühungen erreichen synthetische Rezeptoren allerdings nur selten die Komplexbildungskonstanten und Selektivitäten von biologischen Systemen.⁶

Die Herausforderung in der Imitation der molekularen Erkennung von Biomakromolekülen liegt in deren struktureller Diversität. Für eine optimale Bindung ist es wichtig, zum einen eine möglichst große Kontaktfläche zwischen Rezeptor und Substrat zu schaffen und zum anderen eine möglichst spezifische Rezeptor-Oberfläche zu gestalten, die die elektronischen Verhältnisse, hydrophoben Eigenschaften und Oberflächenstruktur widerspiegelt.⁷ Diese Voraussetzungen erfüllen kleine organische Moleküle oft nicht, da die meisten Biomakromoleküle Größen im Nanobereich besitzen. Ein Vergleich der Größen ausgewählter Moleküle ist in Tabelle 1 dargestellt.

	Durchmesser/ nm
H ₂ O	0.2
Zucker, Aminosäuren, Nucleotide	0.5-1.0 ⁸
Globuläre Proteine	2.0-10.0 ⁸
Ribosom	30 ⁸
Mitochondrien	500-1500 ⁹

Tab. 1: Vergleich der Abmessungen einiger Biomoleküle.

Aufgrund der Dimensionen der zugrunde liegenden Moleküle kann man die Zellbiologie gewissermaßen als funktionierende Nanotechnologie betrachten, was die enge Beziehung der Biochemie zu den Nanowissenschaften gut verdeutlicht.¹⁰

Die Nanowissenschaft ist der Forschungsbereich, der sich vornehmlich mit synthetischen Objekten und Systemen in den Dimension zwischen 1 bis 100 nm beschäftigt.¹¹ Dieser Größenbereich markiert den Übergang, in dem sich die Eigenschaften eines Netzwerks von Atomen und Molekülen größenabhängig verhalten und sich somit von den Eigenschaften von Festkörpern unterscheiden.¹² Die Besonderheit von Nanopartikeln liegt in diesem Zusammenhang in ihrer sehr großen Oberfläche im Vergleich zu ihrer Größe. Dadurch werden die physikalischen und auch chemischen Eigenschaften durch die Oberfläche bestimmt. Beispielsweise steigt die chemische Reaktivität von pyrophorem Eisen mit abnehmendem Partikeldurchmesser aufgrund des gestiegenen Oberfläche/Volumen-Verhältnisses.¹²

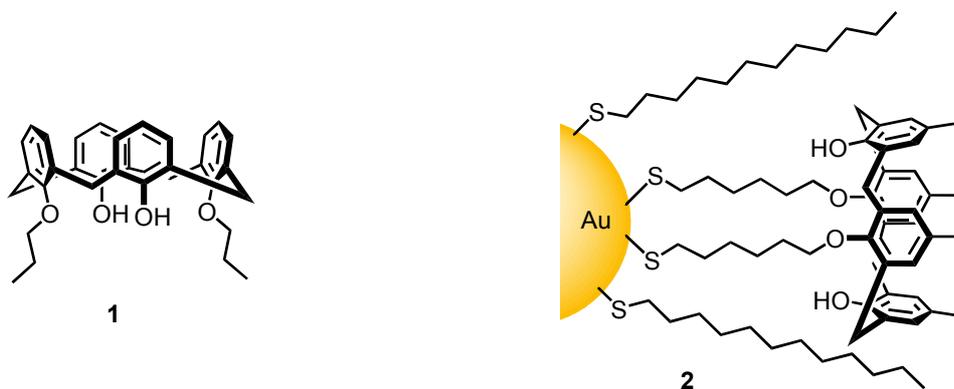
Der Teilbereich der Nanowissenschaften, der sich mit den Nanostrukturen von organischen und

metallorganischen Materialien befasst, ist die sogenannte „Soft Nanotechnologie“ oder auch Nanochemie.¹³ Diese umfasst die Synthese von neuen funktionellen Nanostrukturen und -elementen aus weicher Materie. Sie kann dadurch zum Verständnis der Eigenschaften von biologischen Systemen beitragen, wie etwa zur Fragestellung nach den Ursachen für die charakteristischen Eigenschaften von biologischen Nanoobjekten.¹⁴ Notwendig ist hierfür die gezielte Synthese von nanostrukturierten Materialien, um die molekularen Erkennungsprozesse der biologischen Systeme zu imitieren. Um dies zu erreichen, werden zwei verschiedene Ansätze verfolgt.¹⁵ Der erste Ansatz basiert auf dem Aufbau von Nanostrukturen durch kovalente Bindungen. Als Beispiele seien hier synthetische Enzyme, sogenannte „Synzyme“, genannt, die das aktive Zentrum eines Enzyms durch die Anordnung von mehreren funktionellen Gruppen in einem makromolekularen Rückgrat nachahmen.¹⁶ Außerdem werden auch geprägte Polymere synthetisiert, die eine dem Substrat komplementäre Bindungstasche enthalten, da die Polymerisation geeigneter Vorläufermonomere in Gegenwart dieses Substrats durchgeführt wurde.¹⁷ Der zweite Ansatz beruht auf der Verwendung von nicht-kovalenten Wechselwirkungen zum Aufbau der Nanostrukturen. Hierzu zählt beispielsweise die Selbstaggregation von Peptidlipiden zu Liposomen.¹⁸

Eine interessante Gruppe von Nanostrukturen bilden selbstorganisierte Oberflächen-funktionalisierte Goldnanopartikel, die eine Kern/Hüllen-Struktur besitzen. Den Kern bildet ein Goldcluster, der je nach Synthesemethode einen Durchmesser von 1 bis 50 nm aufweist. Darum ist eine selbstorganisierte organische Monoschicht aus geeigneten Liganden arrangiert.¹⁹ Eine der am häufigsten verwendeten Klasse von Liganden sind Alkylthiole, die unterschiedlichste funktionelle Gruppen tragen können. Die Ligandenschicht dient zum einen der Stabilisierung der Nanopartikel, um sie vor Agglomeration zu schützen, und zum anderen als eine strukturierte Plattform zur Anbringung von spezifischen Bindungsstellen.²⁰ Auf Basis von Oberflächen-funktionalisierten Goldnanopartikeln sind Rezeptorsysteme zugänglich, auf die wichtige Eigenschaften natürlicher Bindungssysteme, wie Vororganisation, Multivalenz und Kooperativität übertragen werden können. Diese Aspekte werden im Folgenden kurz erläutert und es wird anhand von Beispielen gezeigt, wie sie auf Goldnanopartikel übertragbar sind.

Man spricht von einer Vororganisation, wenn spezifische Erkennungselemente in einem Rezeptor komplementär zum Substrat angeordnet sind und eine Flexibilität des Rezeptors diese Anordnung nicht beeinträchtigt. Durch die konformative Fixierung des Rezeptors wird bei der Komplexbildung

des Substrats eine energetisch ungünstige strukturelle Reorganisation vermieden, wobei die Bindung entropisch günstiger wird. Die Natur bedient sich dieses Effekts, wenn das aktive Zentrum eines Proteins tatsächlich zum Substrat wie ein Schlüssel zum Schloss passt.² In der Supramolekularen Chemie prägte Cram den Begriff des „Principles of Preorganization“. Dieser besagt in diesem Zusammenhang, dass ein Wirt/Gast-Komplex umso stabiler ist, je besser die Konformationen von Wirt und Gast für eine Bindung vororganisiert sind und je schwächer solvatisiert die Bindungspartner vor der Komplexbildung sind.²¹ Bei Nanopartikeln bringt ein Fixieren von Erkennungseinheiten auf der Oberfläche eine Vororganisation, wodurch hohe Affinitäten resultieren.²² Beispielsweise sind Calix[4]arene, wie z.B. Verbindung **1** (Schema 1), in der Lage, quaternäre Ammoniumionen zu binden.²³ Pochini *et al.* synthetisierten den Goldnanopartikel **2** (Schema 1), dessen Oberfläche mit 15% Calix[4]arenen und 85% Dodecanthiolen belegt war, und untersuchten die Wechselwirkung dieses Nanopartikels mit *N*-Methylpyridiniumtosylat.²⁴ Dabei beruht die Wechselwirkung auf der Einlagerung der *N*-Methylpyridiniumgruppe in den Calixarenhohlraum, wodurch Kation- π -Wechselwirkungen mit den umgebenden aromatischen Gruppen ermöglicht werden.



Schema 1

Durch die Fixierung von **1** auf dem Goldnanopartikel erhöhte sich die Bindungskonstante um das sechsfache im Vergleich zu nicht immobilisiertem Calix[4]aren. Mit steigendem Calix[4]arenanteil konnte die Bindungskonstante sogar noch weiter gesteigert werden. Ähnliche Beispiele für eine Steigerung der Komplexbildungskonstante durch die Fixierung der Bindungsstelle an einen Goldnanopartikel sind bekannt.^{25,26} Die Verringerung der konformativen Beweglichkeit des Rezeptors auf der Goldoberfläche verbessert also die Vororganisation der Bindungsstelle und damit einhergehend die Koordination der Gastspezies.²² Zusätzlich wird ein positiver dendritischer Effekt diskutiert,²⁵ der die Zunahme der Bindungsaffinität aufgrund einer größeren Anzahl an

Bindungsstellen bzw. einer erhöhten Valenz erklärt.

Eine weitere Methode, um Bindungsaffinitäten von Wirt/Gast-Systemen zu erhöhen, stellt das Konzept der Multivalenz dar. In der anorganischen Chemie ist jenes auch unter dem Begriff „Chelateffekt“ bekannt.²⁷ Hierbei wird durch die Kombination mehrerer Bindungsstellen in einem Rezeptor, die alle gleichzeitig mit einem einzigen Substrat wechselwirken können, eine effizientere Bindung im Vergleich zu einem Rezeptor erreicht, der nur eine Bindungsstelle für das Substrat besitzt. Für die Dissoziation des Komplexes muss also nicht eine, sondern mehrere Bindungen gebrochen werden, wie es in Abbildung 1 gezeigt ist.

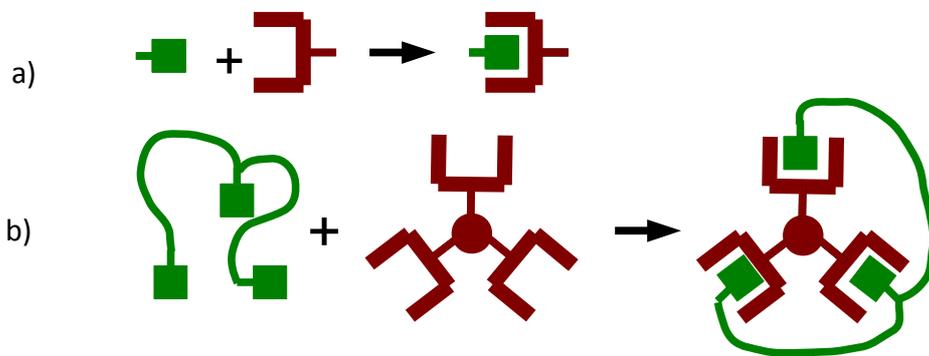
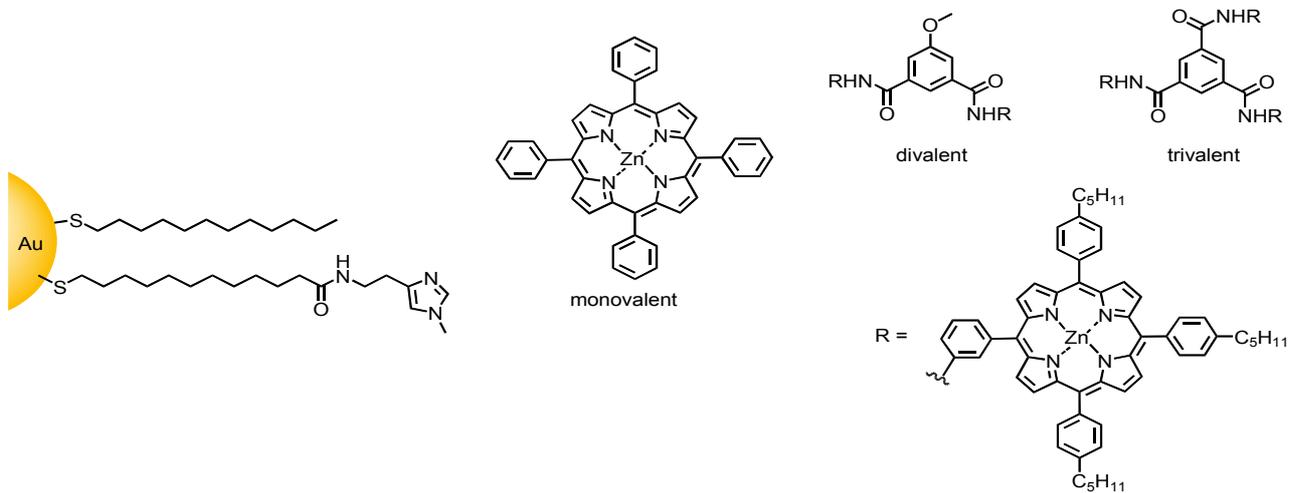


Abb. 1 : Vereinfachte Darstellung einer monovalenten a) und trivalenten b) Bindung.

Oftmals sind günstige entropische Effekte mitverantwortlich für die hohe Stabilität multivalenter Komplexe,²⁸ jedoch sind auch Beispiele bekannt, bei denen entropische Beiträge die Komplexstabilität ungünstig beeinflussen.²⁹

Pasquato und Scrimin konnten den stabilisierenden Effekt multivalenter Wechselwirkungen auch auf Goldnanopartikel-basierten Rezeptoren nachweisen.³⁰ Sie synthetisierten einen Dodecanthiolgeschützten Goldnanopartikel, der mit *N*-Methylimidazolen funktionalisiert wurde und bestimmten die Affinität dieses Goldnanopartikels zu den mono-, bi- und trivalenten Zink-Porphyrinderivate, die in Schema 2 gezeigt sind.



Schema 2

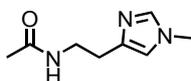
Es zeigte sich, dass die Bindungskonstante der Komplexe bei dem Übergang vom monovalenten zum trivalenten Zink-Porphyrinderivat um drei Größenordnungen zunahm. Dabei war der Effekt unabhängig von der Anzahl der an dem Goldnanopartikel gebundenen *N*-Methylimidazoleinheiten; Goldnanopartikel mit oberflächengebundenen Dodecanthiol- und *N*-Methylimidazol-Liganden im Verhältnis 4:1 wiesen die selbe Substrataffinität auf, wie solche, die beide Liganden in einem 1:1 Verhältnis enthielten.

Im Zusammenhang mit der Multivalenz ist der Begriff der Kooperativität zu nennen, die darauf zurückzuführen ist, dass sich multiple Bindungsvorgänge gegenseitig beeinflussen können.³¹ Man kann Kooperativität in drei Fälle unterteilen:³²

1. Positive oder synergistische Kooperativität; die Bindungskonstanten des zweiten und der folgenden Bindungsschritte sind jeweils höher als die des ersten (Cluster-Effekt).³³
2. Negative oder störende Kooperativität; die Bindungskonstanten sinken mit jedem Bindungsschritt.
3. Nicht kooperative oder additive Wechselwirkungen; die Bindungskonstanten sind in jedem Bindungsschritt identisch.

Vor allem in biologischen Systemen spielt Kooperativität häufig eine wichtige Rolle.³⁴ Für Goldnanopartikel wurde dieses Phänomen ebenfalls nachgewiesen. Die Bindung von Dibenzylammoniumionen an einen Goldnanopartikel, der mit Dibenzo[24]krone-8-einheiten funktionalisiert war, erfolgt positiv kooperativ.³⁵ Fitzmaurice *et al.* erklärten diesen Befund durch die progressive Zunahme der Hydrophilie der Oberfläche des Goldnanopartikels mit zunehmender Anzahl gebundener Dibenzylammoniumionen, wodurch deren Affinität zum Nanopartikel steigt.

Ebenfalls wurde ein positiver kooperativer Effekt bei *N*-Methylimidazol-funktionalisierten Goldnanopartikeln (Schema 2) beobachtet.³⁶ Synthetisiert wurden diese Nanopartikel mit der Absicht, Katalysatoren für die Spaltung von Carbonsäureestern zu erhalten. In Anwesenheit dieser Goldnanopartikel erfolgte die Hydrolyse des Modellsubstrats 2,4-Dinitrophenylacetat 30-mal schneller als mit der isolierten *N*-Methylimidazolverbindung (Schema 3).



Schema 3

Dies zeigt, dass durch das Fixieren und die Annäherung mehrerer *N*-Methylimidazoleinheiten auf einer Goldnanopartikeloberfläche ein katalytisch wirksames Zentrum resultieren kann, in dem die einzelnen funktionellen Gruppen positiv kooperativ wirken.

Analoge Effekte kooperativer Wechselwirkung wurden in verschiedenen Goldnanopartikel-basierten Katalysatoren nachgewiesen, was diesen Systemen den Namen „Nanozyme“ einbrachte,^{37,38} da sie enzymähnliche Funktionen aufwiesen. Nanozyme wurden beispielsweise zur Beschleunigung der DNA-Hydrolyse,³⁹ hydrolytischen Racematspaltung von Epoxiden⁴⁰ und Transphosphorylierung entwickelt. Sie stellen für ihre jeweiligen Substrate außerordentlich leistungsfähige Katalysatoren dar.⁴¹

Die hier vorgestellten Beispiele Goldnanopartikel-basierter Rezeptoren sind „proof-of-principle“ Modelle zur Untersuchung, ob Effekte aus der Supramolekularen Chemie auf solche Nanostrukturen angewendet werden können. Nach diesen ersten erfolgreichen Arbeiten wurden hochspezifische Rezeptoren auf Basis Oberflächen-funktionalisierter Goldnanopartikel für fast jede Klasse von Biomakromolekülen, wie DNA, Proteine und Kohlenhydrate entwickelt.^{42,43} Ausgewählte Beispiele zur Wechselwirkung von Goldnanopartikel mit Biomolekülen sollen hier kurz erläutert werden.

Rotello *et al.* synthetisierten einen Malonsäureester-funktionalisierten Goldnanopartikel, der als ein synthetisches Chaperon fungiert.⁴⁴ Dieser Nanopartikel war in der Lage, an thermisch denaturierte und somit nicht mehr funktionsfähige Enzyme, wie α -Chymotrypsin, Papain und Lysozym, zu binden. Die Bindung erfolgte über elektrostatische Wechselwirkung zwischen der negativ geladenen Malonsäure, die auf dem Nanopartikel gebunden war, und den positiv geladenen Aminosäureresten der Enzyme. Aggregierte fehlgefaltete Aminosäuresequenzen wurden durch die Komplexierung am Goldnanopartikel aufgebrochen. Bei der langsamen

Dekomplexierung der Enzyme, induziert durch Erhöhen der Salzkonzentration, falten die Enzyme in ihre korrekte native und funktionsfähige Struktur. Die Enzymaktivität konnte durch diese Methode zu 90% wiederhergestellt werden.

Einen einfachen Teststreifen zur qualitativen Detektion von Adenosin im Blutserum entwickelten Lu *et al.*⁴⁵ Dieser basiert auf Goldnanopartikeln, die ein Adenosin-Aptamer tragen. Dadurch agglomerieren die Nanopartikel in Abwesenheit von Adenosin und bilden einen blauen Fleck auf dem Teststreifen. Bei Anwesenheit von Adenosin dissoziieren die Agglomerate aufgrund der Bindung des Adenosins an die Aptamersequenz, worauf eine Farbänderung zu rot auftritt.

Mirkin *et al.* entwickelten mit dem sogenannten „bio-Barcode“ Assay ein leistungsfähiges Verfahren zur Amplifizierung und Detektion von Proteinen (Abbildung 2 a) und Nukleinsäuren (Abb. 2 b).⁴⁶

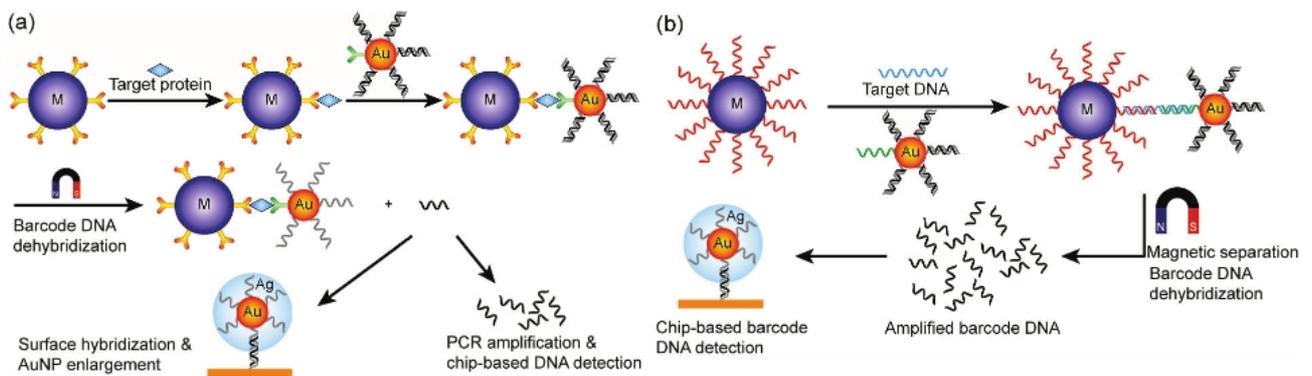


Abb. 2: Goldnanopartikel-basierter „bio-Barcode“ Assay für Proteine a) und Nukleinsäuren b).

Reprinted adapted with permission from K. Saha, S. S. Agasti, C. Kim, X. Li, V. M. Rotello, *Chem. Rev.* **2012**, 112, 2739.

Copyright 2012 American Chemical Society.

Bei diesem Verfahren wird das Substrat sandwich-artig zwischen einem magnetischen Nanopartikel und einem Goldnanopartikel, der Barcode-DNA-Liganden trägt, über spezifische Erkennungselemente gebunden. Durch Anlegen eines Magnetfelds können die magnetischen Nanopartikel als Komplexe mit dem Substrat und den Goldnanopartikeln aus der Lösung entfernt und gereinigt werden. Anschließend werden die Barcode-DNA-Liganden des Goldnanopartikel von der Goldoberfläche entfernt und in Lösung gebracht. Diese Barcode-DNA kann dann analysiert werden. Mit dieser Methode konnte eine hochselektive, parallele Detektionsmöglichkeit für drei unterschiedliche Tumormarker aus Blutserum entwickelt werden.⁴⁷

Gerade in den Bereichen Biologie und Medizin hat eine rasante Entwicklung bezüglich der

Verwendung von Goldnanopartikeln stattgefunden,⁴⁸ was zahlreiche Reviews über die verschiedenen Anwendungsmöglichkeiten solcher Systeme in diesen Disziplinen belegen.⁴⁹⁻⁵⁷ Dabei dienen Goldnanopartikel nicht nur als Gerüst für molekulare Erkennungselemente, sondern auch als Sensoren, als Bildgebungseinheiten oder zum Wirkstofftransport.

Gerade beim Einsatz als Sensoren kommen die besonderen physikalischen Eigenschaften der Goldnanopartikel zum Tragen. So liegt eine Besonderheit von Goldnanopartikeln in der Abhängigkeit ihrer physikalischen Eigenschaften von der Clustergröße. Die Farbigkeit einer Goldnanopartikellösung ist auf das Phänomen der Oberflächenplasmonenresonanz zurückzuführen, die durch eine kollektive Schwingung der freien Elektronen im Goldcluster entsteht und durch elektromagnetische Strahlung im sichtbaren Bereich des Spektrums angeregt wird. Die Lage und Intensität der entsprechenden Absorptionsbande ist dabei abhängig von der Anzahl der schwingenden Elektronen und korreliert wiederum mit der Goldnanopartikelgröße. Zahlreiche optische Methoden zur Detektion von organischen Verbindungen oder Biomolekülen sind bekannt,⁵⁸⁻⁶² die auf einer Farbänderung von Goldnanopartikellösungen, hervorgerufen durch deren Aggregation, beruhen. Dabei kann die Farbänderung mit bloßem Auge oder durch UV/Vis-Spektroskopie detektiert werden.

Eine weitere Methode, Goldnanopartikel als Sensoren zu verwenden, beruht auf ihrer Fluoreszenzlöschenden Eigenschaft. Die Fluoreszenz von Chromophoren, die sich in unmittelbarer Umgebung eines Goldnanopartikels befinden, wird gequencht, was wahrscheinlich auf einen Förster-Resonanz-Energie-Transfer zurückzuführen ist.⁶³ Die Fluoreszenz kann regeneriert werden, wenn z.B. ein Analyt den Fluorophor von der Oberfläche des Nanopartikels verdrängt.⁶⁴ Dabei kann der Fluorophor über einen Liganden kovalent an den Goldnanopartikel gebunden sein oder er kann aufgrund fehlender kovalenter Bindung zum Nanopartikel vollständig von seiner Oberfläche verdrängt werden.⁶⁵

Weitere Goldnanopartikel-basierende Sensoren nutzen die Oberflächen-verstärkte Raman-Streuung (SERS: surface enhanced raman scattering) zur ultrasensitiven Detektion von Molekülen.⁶⁶ Aufgrund der Plasmonenresonanz der Goldnanopartikel wird das elektrische Feld verstärkt und die Intensität des Ramansignals steigt um bis zu neun Größenordnungen.⁶⁷ Auch als elektrochemische Sensoren für Redoxreaktionen finden Goldnanopartikel Anwendung und können die Empfindlichkeit gegenüber dem Substrat steigern. Ein Amidoferrocenyl-funktionalisierter Goldnanopartikel, der von Astruc *et al.* synthetisiert wurde,⁶⁸ ist beispielsweise in der Lage,

Oxoanionen über die Amideinheit zu binden. Die Bindung der Oxoanionen an die Goldnanopartikel konnte anhand der Verschiebung der Oxidationswelle in cyclovoltametrischen Messungen verfolgt werden. Im Vergleich zum Amidoferrocenylalkylthiol ist die Empfindlichkeit dieses Sensors für die Oxoanionen tausendmal höher und die Verschiebung der Oxidationswelle zwei- bis fünffach verstärkt.²² Zudem ist es möglich, Goldnanopartikel auf Elektroden zu adsorbieren. Caruso *et al.* nutzten eine Indium-Titan-Oxide-Elektrode, die mit Goldnanopartikeln belegt war, um Stickstoffmonoxid (NO) cyclovoltametrisch nachzuweisen.⁶⁹ Die Goldnanopartikel dienten als „Elektronenantenne“, da eine unbeschichtete Elektrode kein Signal im Cyclovoltogramm in Anwesenheit von NO zeigte. Mit zunehmendem Belegungsgrad an Goldnanopartikeln konnte die Sensitivität gesteigert werden, was wiederum an der stärkeren Oxidationswelle im Cyclovoltogramm zu erkennen war.⁶⁹ Außerdem konnte in Gegenwart des Analyten NO eine Verstärkung der Leitfähigkeit und des Elektronentransfers beobachtet werden.⁷⁰

Das Potential der Goldnanopartikel ist jedoch nicht auf die Forschungsbereiche der Chemie, Biologie und Medizin beschränkt, sondern reicht bis in die Physik und Materialwissenschaften. Die Tendenz, selbstorganisierte geordnete Strukturen (dünne Filme auf Trägermaterialien oder Partikeln) zu bilden, die einfache Möglichkeit, die Größe und somit die physikalischen Eigenschaften zu kontrollieren und die leichte Funktionalisierbarkeit, machen Goldnanopartikel zu beliebten Bausteinen für die Nanotechnologie. Anwendungen in molekularen Maschinen, elektrooptischen Bauteilen, der Nanoelektronik und der Photographie sind denkbar.^{71,72}

2. Stand der Forschung

2.1. Alkylthiol-geschützte Goldnanopartikel

Fein verteiltes kolloidales Gold in Lösung ist bereits seit Faraday bekannt.⁷³ Faraday reduzierte wässrige Goldsalzlösungen mit Phosphor in Kohlenstoffdisulfid und erhielt dispergierte Goldpartikel. Turkevitch untersuchte verschiedene Synthesen von kolloidalem Gold,⁷⁴ um mehr über die dabei auftretende Keimbildung und den Wachstumsprozess herauszufinden. Er stellte die Hypothese auf, dass die Ursache für die Keimbildung nicht durch Verunreinigungen oder durch Fluktuationen in der Lösung zustande kommt, sondern durch die Bildung eines vororganisierten Komplexes aus dem reduzierenden Reagenz und dem Goldsalz. Das Reduktionsmittel fördert gleichzeitig den Wachstumsprozess. Die Durchmesser der von Turkevitch erhaltenen Goldpartikel lagen je nach Synthesebedingungen zwischen 2 nm und 50 nm. Solche Goldnanopartikel sind jedoch nur in Lösung stabil.⁷⁵

Führt man das Wachstum der Nanopartikel in Anwesenheit von geeigneten Liganden durch, z.B. wasserlöslichen Phosphanen wie $\text{H}_2\text{P}(\text{m-C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na})$, so bilden jene eine monomolekulare Schicht auf deren Oberfläche, welche die Partikel stabilisiert und als Feststoff („monolayer protected cluster“, MPC) isolierbar macht. Während Goldnanopartikel mit Phosphanen auf der Oberfläche nur eine begrenzte Stabilität besitzen, führt die Belegung von Goldpartikeln mit Thiolen zu stabilen Produkten. Eine einfache Synthese von Nanopartikeln mit einer Monoschicht aus Alkylthiolen wurde 1994 von Brust und Schiffrin beschrieben.⁷⁶ Das Wachstum der Metallcluster wird dabei in einem Zwei-Phasen-System durchgeführt. Durch einen Phasentransferkatalysator wird das eingesetzte Goldsalz in die organische Phase Toluol überführt, was als Schritt A in Abbildung 3 gezeigt ist. Neuere Studien zeigten, dass die Au^{3+} -Salze bereits bei Zugabe des Alkylthiols zu Au^{+1} -Salzen reduziert werden.⁷⁷ Diese stellen die eigentliche Vorläuferspezies in der Goldnanopartikelsynthese dar (Schritt B, Abb. 3) und nicht, wie lange angenommen, eine Polymerstruktur aus Gold und Thiol ($[\text{AuSR}]_n$).⁷⁸ Die zugegebene Thiolmenge beeinflusst die Größe und die Polydispersität der gebildeten Nanopartikel. Wird ein Überschuss des Thiols ($> 2\text{eq}$) zugegeben, so liegt während der Synthese neben dem Disulfid auch freies Thiol vor. Hierdurch wird die Polydispersität vergrößert, da beide Schwefelspezies unterschiedliche Kinetiken im Passivierungsprozess aufweisen.⁷⁹ Im letzten Schritt der Goldnanopartikelsynthese nach Brust und Schiffrin wird Au^+ zu Au^0 durch die Zugabe von NaBH_4 reduziert (Schritt C, Abb. 3).

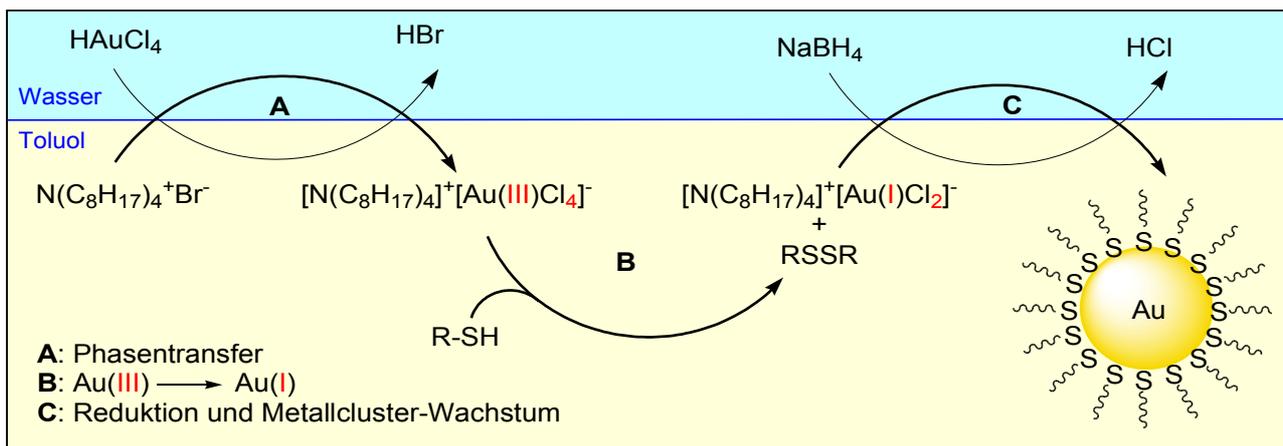


Abb. 3: Schematische Darstellung der verschiedenen Phasen der Brust-Schiffrin-Methode.

Der exakte Mechanismus des Reaktionsverlaufs ist bisher nicht im Detail geklärt, er ähnelt aber einer inversen Micellen-basierten Synthese.⁸⁰ Dabei wird davon ausgegangen, dass sich die Au^+ -Vorstufen in einer Micellenstruktur der Tetraoctylammoniumkationen befinden. Bei Zugabe von NaBH_4 entstehen in diesen Micellen zunächst ungeschützte Au^0 -Partikel. Die in Lösung vorhandenen Schwefelspezies passieren nun die Micellenschicht, bilden dann die Au-S-Bindungen aus und führen zu den Thiol-geschützten Goldnanopartikeln. Auf diese Weise können Goldcluster, die durch eine kompakte Alkanthiolmonoschicht passiviert und geschützt sind, mit einem Durchmesser von 1 bis 3 nm hergestellt werden. Die Größe der Partikel kann durch das Verhältnis von Goldsalz zu Thiol kontrolliert werden: Je größer der Goldsalzanteil, desto größere Partikel werden gebildet.⁸¹ Basierend auf dieser Methode wurden weiterentwickelte Verfahren ausgearbeitet, die sich z. B. milderer Reduktionsmitteln bedienen⁸² oder bei denen Goldnanopartikel mit einer polaren Thiolschicht in einer homogenen Phase erhalten werden.⁸³⁻⁸⁵

Einen Beitrag zum Verständnis der Struktur dieser Thiol-geschützten Goldnanopartikel leisteten Jadzinsky *et al.*⁸⁶ Sie erhielten die Kristallstruktur eines Goldnanopartikels, der mit *p*-Thiobenzoessäure (*p*-MBA) geschützt war und die Summenformel $\text{Au}_{102}(\text{p-MBA})_{44}$ aufwies. Diese Kristallstruktur zeigt, dass 79 Goldatome in diesem Nanopartikel einen decaedrischen Kern ausbilden, der bezüglich der Koordination der Goldatome und der Abstände zwischen ihnen metallischem Gold entspricht. Die restlichen 23 Goldatome sind jeweils linear mit zwei Liganden verbunden und bilden eine Heftklammer-artige Struktur aus, die um den Kern angeordnet ist.⁸⁷ Schematisch ist dies in Abbildung 4 an einem Clusterausschnitt angedeutet. Die Partialladungen betragen -0.16 eV auf den Schwefelatomen und $+0.15$ eV auf den peripheren Goldatomen, was zeigt, dass die äußeren Goldatome nicht als Au^+ vorliegen.⁸⁸ Die Au-S-Bindung hat demnach einen

kovalenten Charakter.

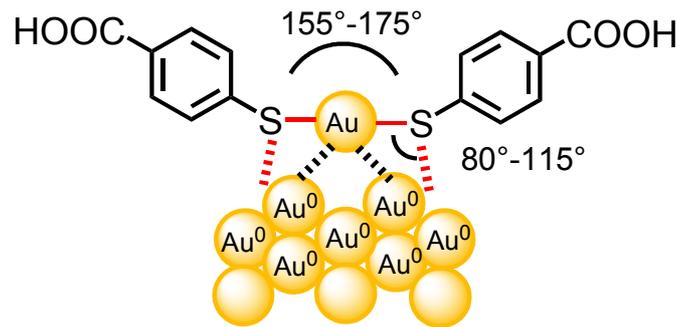


Abb. 4: Schematische Darstellung der Bindung von *p*-Thiobenzoessäure an eine Goldnanopartikeloberfläche.

Diese Ergebnisse untermauern Resultate aus DFT-Rechnungen, die auf ein „divide-and-protect“-Konzept hindeuteten.⁸⁹ Ein Teil der Goldatome bildet somit den inneren Cluster, während die restlichen zum Aufbau der schützenden passivierenden Ligandenschicht verwendet werden. Die Größe der Goldnanopartikel und damit einhergehend die Anzahl der Goldatome pro Partikel ist nicht kontinuierlich variierbar, sondern es existieren bevorzugte Strukturen mit abgeschlossenen atomaren Schalen („magische Zahlen“: 13, 55, 147, 309, usw.).⁹⁰

Aufgrund ihrer Größe zeigen die Nanopartikel Quanteneffekte.⁹¹ Das bedeutet, dass ihre physikalischen Eigenschaften weder denen der einzelnen Atome, noch denen des metallischen Golds entsprechen. So variieren die optischen und elektronischen Eigenschaften je nach Größe der Goldnanopartikel. Ab einer Größe von etwa 3 nm wird z.B. eine Oberflächenplasmonenresonanzbande beobachtet, d. h. ein intensives UV-Signal. Dabei kann man durch Veränderung der Form und Größe der Cluster nahezu jede Farbe des sichtbaren Spektrums erzeugen.⁹⁰ Unter einem Durchmesser von 4 nm beobachtet man eine stark verringerte elektrische Leitfähigkeit, die um den Faktor 10^7 kleiner ist als die von metallischem Gold.⁷³

Weiterhin hat die einfache Funktionalisierbarkeit über Ligandenaustauschreaktionen die Entwicklung von Sensoren und Rezeptoren auf Basis von Goldnanopartikeln für die Chemie und Biologie ermöglicht.⁹² Unter Ligandenaustauschreaktionen versteht man den Austausch der Alkylthiole auf den Goldnanopartikeln durch andere funktionalisierte Thiole (Abbildung 5). Man findet entsprechend die funktionellen Gruppen auf der Oberfläche der Goldnanopartikel wieder und erhält auf diese Weise sogenannte „mixed-monolayer protected cluster“ (MMPC).

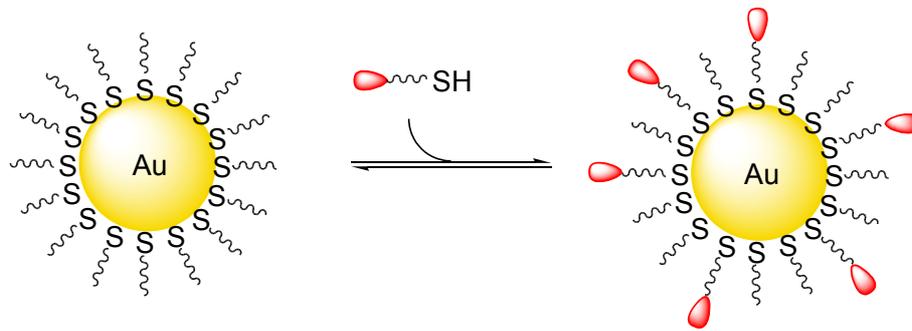


Abb. 5: Schematische Darstellung einer Ligandenaustauschreaktion für die Synthese eines MMPC.

Zahlreiche Effekte beeinflussen den Verlauf einer Ligandenaustauschreaktion. Einen entscheidenden Einfluss haben z.B. die Ketten-Ketten-Wechselwirkungen auf dem Metallcluster. So werden Thiole mit längeren Alkylketten auf der Oberfläche des Goldpartikels stärker gebunden, wodurch sie während der Austauschreaktion seltener ersetzt werden. Murray *et al.* beobachteten, dass in Ligandenaustauschreaktionen mit Butanthiol-geschützten Goldnanopartikeln $\frac{2}{3}$ der Alkylthiole ausgetauscht wurden, während bei Hexadecanthiol-geschützten MPC $\frac{7}{8}$ der Thiole auf dem Nanopartikel verblieben. Sie folgerten, dass kürzere Alkylketten thermodynamisch weniger stabile Monoschichten bilden.⁹³

Bei der Bindung der Alkylthiole spielen zudem strukturelle Faktoren der Goldnanopartikel und der Liganden eine Rolle. So sind einige Positionen der Goldcluster aufgrund ihrer sphärischen Gestalt besser zugänglich und weniger abgeschirmt als andere; hierzu zählen insbesondere die Eckpunkte und Kanten.⁹⁴ Auf den plateauartigen Regionen sind Liganden dagegen aufgrund der dichteren Belegung besser vor einem Austausch geschützt. Dieser Effekt wird deutlich, wenn man den Ligandenaustausch an einem Au₃₈-Cluster mit jenem an einem Au₁₄₀-Cluster vergleicht.⁹⁵ Ein kleinerer Cluster hat eine stärkere Oberflächenkrümmung und verfügt über weniger große Plateaubereiche. Deshalb können 75% der anfangs gebundenen Thiole ausgetauscht werden. Hingegen werden nur 40-50% der Thiole des Au₁₄₀-Clusters ausgetauscht.⁹⁵

Elektronische Effekte beeinflussen ebenfalls die Austauschrate. Bei elektrochemischer Aufladung der Goldcluster erhält man geladene Strukturen, die 85% ihrer Liganden austauschen können, während ungeladene Goldnanopartikel nur 43% austauschen.⁹⁶ Bei einem Vergleich des Austauschpotentials von Thiolen mit elektronenschiebenden und -ziehenden Eigenschaften zeigte sich, dass Thiole mit elektronenziehenden Substituenten schneller in die monomolekulare Schicht eingebaut werden, aber solche mit elektronenschiebenden Gruppen bei fortschreitender Reaktion

präferiert werden.⁹⁷

Mechanistische Untersuchungen zur Austauschreaktion sprechen für einen assoziativen Mechanismus, bei dem das eintretende Thiol an die Goldoberfläche gelangen muss, damit es zu einer Bindung und der Freisetzung eines bereits gebundenen Thiolmoleküls kommt.⁹⁴ Diese Hypothese wurde durch kinetische Untersuchungen bestätigt.

Der Austausch kann in zwei Phasen unterteilt werden.⁹⁵ Für die erste Phase ist ein schneller Austausch innerhalb der ersten 20 h charakteristisch, währenddessen etwa 25% der Thiole ausgetauscht werden. Darauf folgt die zweite langsamere Phase, die nach etwa 5-7 Tagen zum dynamischen Gleichgewicht führt.⁹⁵ Man führt dies darauf zurück, dass in der ersten Phasen zunächst die leichter zugänglichen Thiole ausgetauscht werden und in der zweiten Phase auch schwerer austauschbare Positionen auf Plateauregionen einbezogen werden.⁹⁴ Dabei folgt die Austauschgeschwindigkeit meistens einer Kinetik pseudo-erster Ordnung bezogen auf die Konzentration des freien Thiols. Bezüglich der Konzentration an Goldnanopartikeln, die als Konzentration der auf ihnen gebundenen Thiolen angegeben wurde, konnte ebenfalls eine Kinetik pseudo-erster Ordnung beobachtet werden.^{94,95,97} Somit wurde für die Gesamtreaktion eine Kinetik zweiter Ordnung abgeleitet.^{94,97} Bei der GC-MS-analytischen Untersuchung einer Ligandenaustauschreaktion bei der Nanopartikel-gebundene Decanthiole gegen Dodecanthiole ausgetauscht wurden, wurde von Lennox *et al.* jedoch eine diffusionskontrollierte Langmuir-Kinetik beobachtet. Die Kinetik besaß eine nullte Ordnung, war also unabhängig von der Konzentration der freien Thiole.⁹⁸ Dies zeigt, dass das freie Thiol, welches zum Austausch verwendet wird, bezüglich der Geschwindigkeit bzw. Kinetik der Reaktion eine nicht zu unterschätzende Rolle zu spielen scheint. Selbst kleine Änderungen in der Struktur können die Austauschgeschwindigkeit stark beeinflussen.^{99,97}

Interessanterweise ist die Position der Thiole auf der Oberfläche nicht fixiert. So kann es unabhängig von Ligandenaustauschreaktionen zur Migration der Moleküle auf der Partikeloberfläche kommen.¹⁰⁰ Dieser Prozess stellte sich bei Raumtemperatur als nahezu vernachlässigbar heraus. Höhere Temperaturen (>90°C) über längere Zeit führen allerdings zu einer Umorganisation der Monoschicht.¹⁰¹ Unterschiedliches Migrationsverhalten strukturell verschiedener Liganden kann nicht ausgeschlossen werden. Außerdem kann unter Umständen auch ein Austausch von Liganden zwischen Goldnanopartikeln beobachtet werden. Bei Raumtemperatur ist dieser Prozess jedoch vernachlässigbar und wird erst ab 70°C beobachtet.¹⁰²

Eine weitere Möglichkeit zur Funktionalisierung von Goldnanopartikeln ist die Verwendung von funktionalisierten Thiolen bereits während der Synthese (s. Schema 15, Kapitel 4.2.1.).¹⁰³ In diesem Fall muss jedoch beachtet werden, dass die funktionellen Gruppen unter den reduzierenden Bedingungen der Goldnanopartikelsynthese stabil sind. Schließlich können funktionalisierte Nanopartikel auch durch Modifikation der funktionellen Gruppen auf der Nanopartikeloberfläche z.B. im Sinne von Substitutionen,¹⁰⁴ Clickreaktionen¹⁰⁵ oder Polymerisationen¹⁰⁶ realisiert werden. Die Ligandenaustauschreaktion stellt allerdings die wohl mildeste, einfachste und effizienteste Möglichkeit dar, funktionelle Gruppen in die monomolekulare Schicht der Goldnanopartikel einzuführen. Sie wird dementsprechend auch am häufigsten verwendet, um Rezeptoren oder Sensoren basierend auf Thiol-geschützten Goldnanopartikeln darzustellen.

2.2. Dynamische kombinatorische Chemie (DCC)

Ein modernes, leistungsfähiges Verfahren zur Synthese synthetischer Rezeptoren ist die dynamische kombinatorische Chemie. Sie ist an der Schnittstelle aus dynamischer Templat-kontrollierter Synthese und kombinatorischer Chemie anzusiedeln.¹⁰⁷

In der dynamischen Templat-kontrollierten Synthese steuert ein Templat eine reversible Reaktion zu Gunsten eines bestimmten Produkts. Da das Templat die Produktbildung über nicht-kovalente Wechselwirkungen beeinflusst, spricht man auch von supramolekular unterstützter kovalenter Chemie („supramolecular assistance to covalent chemistry“)¹⁰⁸ oder auch dynamischer kovalenter Chemie.¹⁰⁹ Durch die Reversibilität der zugrunde liegenden Reaktionen ist die Produktbildung thermodynamisch gesteuert. Die Anwesenheit eines Templats stabilisiert das gewünschte Produkt, indem es daran selektiv bindet und führt dadurch zur Anreicherung dieses Produkts im Gleichgewicht.

Im Gegensatz dazu steht die kinetische Templat-kontrollierte Synthese. In diesem Fall beeinflusst das Templat eine irreversible Reaktion, indem es die Aktivierungsenergie der Bildung des gewünschten Produkts absenkt.¹¹⁰ Beide Templateffekte sind beliebte Hilfsmittel in der Synthesechemie zum kontrollierten Aufbau komplexer Molekülstrukturen, wie Makrocyclen, Rotaxanen und Catenanen.^{111,112} Eine schematische Darstellung der Templat-gesteuerten Synthese eines Makrocyclus ist in Abbildung 6 gezeigt.

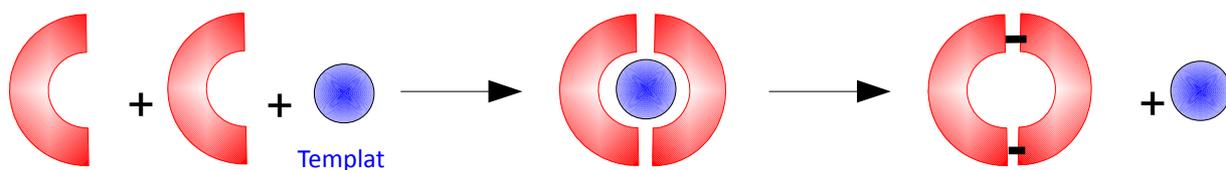


Abb. 6: Schematische Darstellung einer Templat-gesteuerten Makrocyclensynthese.

In der kombinatorischen Chemie wird gleichzeitig oder parallel eine Vielzahl von strukturell verwandten Verbindungen synthetisiert, wobei man die Gesamtheit der gebildeten Produkte als Bibliothek bezeichnet. In einem zweiten Schritt werden die Produkte der Bibliothek meist einzeln auf die gewünschten Eigenschaften hin untersucht.¹¹³ Gerade in der Wirkstoffsynthese wird dieses Verfahren häufig angewendet, um neue Leitstrukturen für potentielle Wirkstoffe zu identifizieren oder zu optimieren. Der Vorteil liegt in der Möglichkeit zum *de novo* Design neuartiger Wirkstoffe, ohne eine Vorkenntnis über die Struktur des gewünschten Targetmoleküls oder über eine Struktur-Wirkungs-Beziehung zu haben.¹¹⁴ Es ist also eine Versuchs- und Irrtumsmethode. Die schematische Darstellung einer kombinatorischen Synthese, bei der in zwei Schritten 18 verschiedene Verbindungen parallel gebildet werden, ist in Abbildung 7 gezeigt.

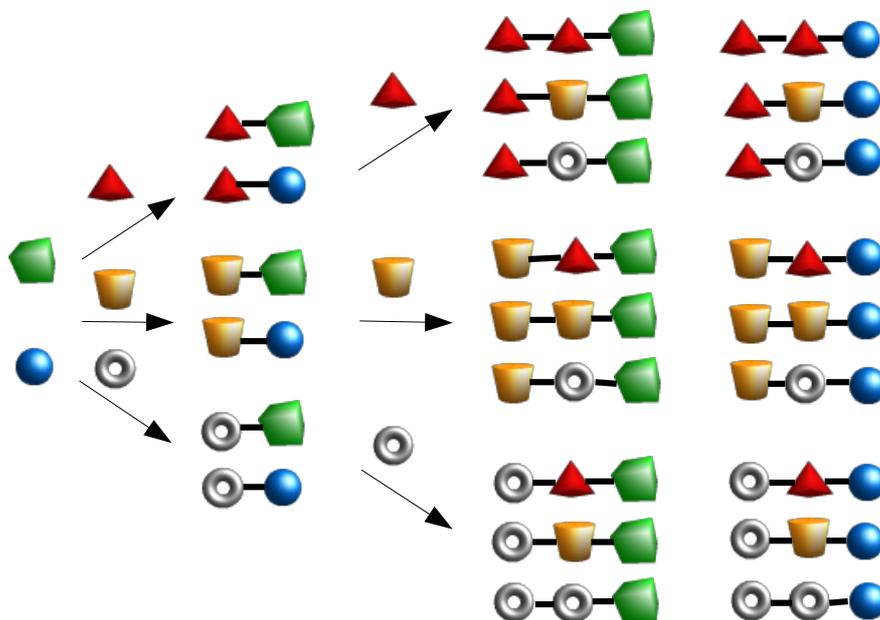


Abb. 7: Kombinatorische Synthese einer Bibliothek aus 18 verschiedenen Verbindungen.

Der Begriff dynamische kombinatorische Chemie bedeutet, dass die kombinatorische Chemie

unter thermodynamischer Kontrolle durchgeführt wird. Die verschiedenen Bibliotheksbestandteile, die in der kombinatorischen Chemie durch kovalente Bindungen zusammengesetzt werden, befinden sich in diesem Fall durch Bildung und Spaltung reversibler kovalenter oder nicht-kovalenter Bindungen in einem thermodynamischen Gleichgewicht. Diese Produktmischung wird als dynamische kombinatorische Bibliothek (DCL) bezeichnet.

Dynamische kombinatorische Bibliotheken stellen adaptive Systeme dar. Dabei kann die Gleichgewichtslage durch Templateffekte beeinflusst werden, was ebenfalls den Ausgangspunkt für thermodynamische Templat-gesteuerte Synthesen darstellt. Die Zugabe eines geeigneten Templats führt zu einer Veränderung des Gleichgewichtszustands, sofern das Templat mit einem Bibliotheksbaustein wechselwirkt. Dadurch verschiebt sich die Produktverteilung nach dem Prinzip von Le Chatelier zugunsten des entsprechenden Templatkomplexes, wie es in Abbildung 8 dargestellt ist, sofern dies das thermodynamisch stabilste Produkt darstellt.

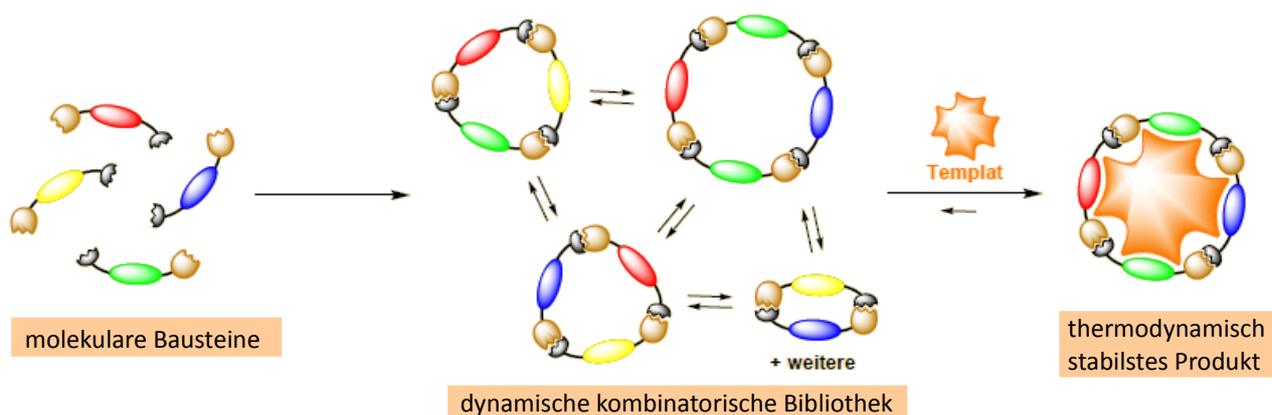


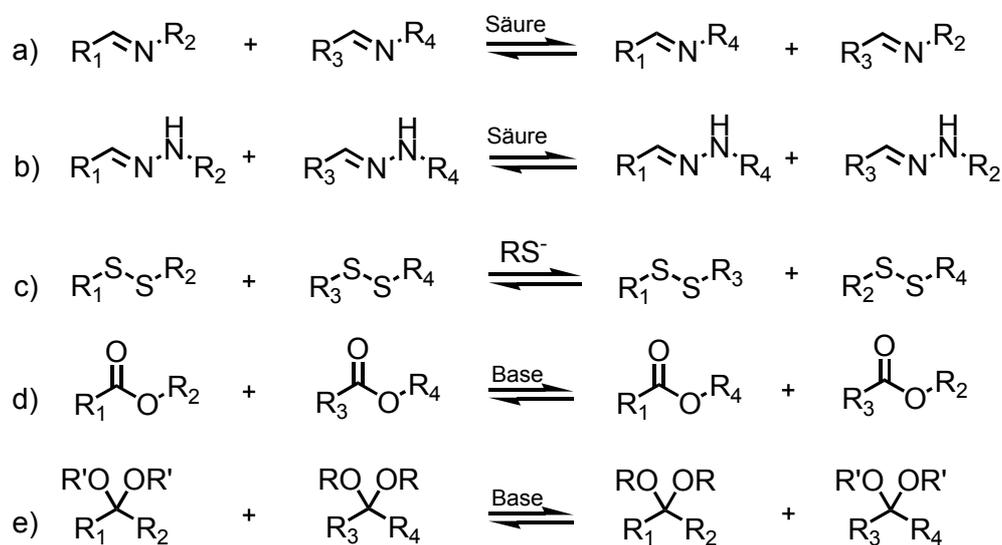
Abb. 8: Herstellung einer dynamischen kombinatorischen Bibliothek und die Verschiebung der Gleichgewichtslage durch Zugabe eines Templats.

Man kann je nach Templat zwei verschiedene Prozesse unterscheiden. Beim sogenannten *Casting* ist das Templat ein Substrat, welches aus der dynamischen kombinatorischen Bibliothek den am besten geeigneten Rezeptor selektiert. In Abb. 8 ist ein Casting-Prozess dargestellt. Ist das Templat ein Rezeptor, der aus der DCL das beste Substrat selektiert und amplifiziert, so spricht man von *Molding*.¹¹⁵

Der Vorteil der DCC ist, dass man nicht jeden Bibliotheksbestandteil einzeln synthetisieren und auf seine Eigenschaften testen muss, sondern dass das Templat den optimalen Bindungspartner aus

dem gesamten Pool an möglichen Verbindungen auswählt und amplifiziert. So einfach und effektiv sich dieses Konzept auch anhört, um eine leistungsfähige dynamische kombinatorische Bibliothek zu generieren, müssen einige Bedingungen erfüllt sein. Zum einen ist nicht jede reversible Reaktion zur Generierung einer DCL geeignet. So sollte der Gleichgewichtszustand in einem angemessenen Zeitraum erreichbar sein. Je schneller sich das Gleichgewicht einstellt, desto besser. Des Weiteren sind milde Bedingungen von Vorteil, um die nicht-kovalenten Wechselwirkungen zwischen Templat und Bindungspartner nicht zu schwächen. Außerdem sollte die Reaktion eine möglichst hohe Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen besitzen, insbesondere jenen, die für die nicht-kovalenten Wechselwirkungen wichtig sind. Schließlich sollte es möglich sein, die Gleichgewichtseinstellung zu unterbinden, damit die amplifizierten Bibliotheksbausteine nach der Entfernung des Templates nicht wieder im Gleichgewicht zerfallen. Die Bildung möglichst isoenergetischer Bibliotheksbestandteile hat den Vorteil, dass im Gleichgewicht alle möglichen Produkte vertreten sind und nicht eines aus thermodynamischen Gründen überwiegt.

Trotz dieser Einschränkungen existieren verschiedene reversible Reaktionen, die in der dynamischen kombinatorischen Chemie eingesetzt werden können.¹¹⁶ Hierbei haben sich die Transiminierung (Schema 4, a), der Hydrazonaustausch (b), der Disulfidaustausch (c), die Umesterung (d) und der Acetalaustausch (e) als besonders leistungsfähige Methoden erwiesen.



Schema 4

Ein weiterer wichtiger Parameter für die erfolgreiche Anwendung der dynamischen kombinatorischen Chemie ist die optimale Templatkonzentration. Theoretische Betrachtungen zeigten, dass unter der Einwirkung eines Templates auf eine dynamische Bibliothek nicht immer der

Bindungspartner mit der höchsten Bindungsaffinität amplifiziert wird.^{117,118} Belegt wurde dies anhand des in Abbildung 9 dargestellten Beispiels, bei dem die Dithiole **3** und **4** über Disulfidaustausch in Makrocyclen überführt wurden, welche an Kation **8** binden.¹¹⁹ Dabei steigt die Bindungsaffinität der Makrocyclen in der Reihenfolge Heterotrimer **5** < Homotrimer **6** << Tetramer **7**. Die Bibliothek wurde durch Umsetzung von **3** und **4** im Verhältnis 1:2 und mit einem doppelten Überschuss **8** versetzt. Die Analyse der Gleichgewichtszusammensetzung durch HPLC zeigte die Amplifizierung der Trimere, wobei **5** stärker angereichert wurde als **6**. Dieses Ergebnis steht nicht im Einklang mit den Bindungsaffinitäten der Rezeptoren und es wurde folglich nicht der Makrocyclus mit der höchsten Bindungskonstante angereichert.

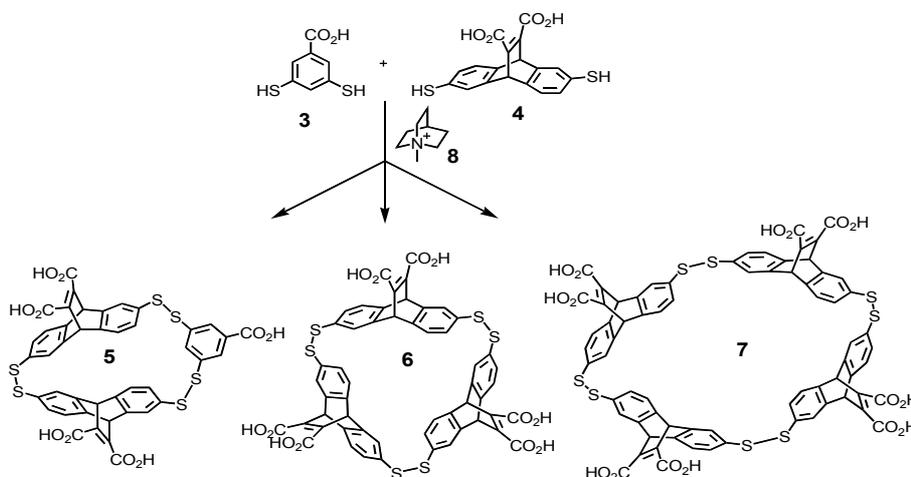


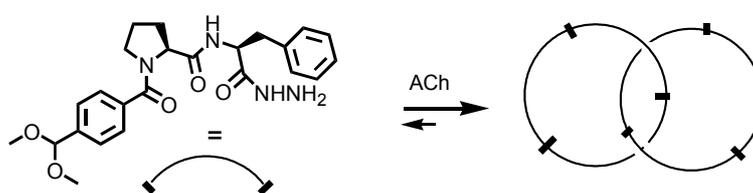
Abb. 9: Bibliothek zur Untersuchung des Einflusses der Templatkonzentration auf die Rezeptoramplifizierung.

Ein analoges Phänomen wurde von Saur und Severin beobachtet, die cyclische Lithiumionenrezeptoren durch Äquilibrierung zweier unterschiedlicher Ringuntereinheiten synthetisierten.¹²⁰ Eines der Homotrimere stellte den besten Rezeptor dar, doch bei einem großen Überschuss an Li^+ wurde stattdessen ein Heterotrimer amplifiziert.

Bei diesen Rezeptoren wurden die weniger effizienten Rezeptoren selektiert, weil das System insgesamt bestrebt ist, das absolute thermodynamische Minimum zu erreichen. Durch die Bildung der Trimere **5** und **6** (Abb. 9) liegen im Gleichgewicht insgesamt mehr Rezeptormoleküle vor. Obwohl sie schwächer als das Homotetramer **7** an das Substrat binden, ergibt sich für das Gesamtsystem auf diese Weise ein höherer Energiegewinn. Analoge Argumente erklären die von Severin und Saur beobachteten Ergebnisse. Die beobachteten Effekte hängen allerdings von der Templatkonzentration ab. Sie führen nur bei hoher Templatkonzentration zur Amplifizierung

weniger effizienter Rezeptoren. Durch Senken der Templatkonzentration kann man erreichen, dass wie gewünscht der beste Rezeptor amplifiziert wird. Ein Konzentrationsverhältnis von molekularen Bausteinen zu Templat von 10:1 ist häufig günstig.¹²¹ Wählt man die Templatkonzentration zu niedrig, wird der beste Rezeptor zwar amplifiziert aber möglicherweise in einer so geringen Konzentration, dass seine Bildung analytisch schwer nachweisbar ist.

Das folgende Beispiel soll das Potential der DCC veranschaulichen, sehr ungewöhnliche Verbindungen als hoch potente Rezeptoren zu identifizieren. Sanders *et al.* untersuchten eine DCL, welche aus dem in Schema 5 gezeigten molekularen Baustein bestand. Als reversible Reaktion wurde der Hydrazonaustausch eingesetzt und als Templat der Neurotransmitter Acetylcholin.¹²²



Schema 5

Überraschenderweise wurde als bester Rezeptor ein [2]-Catenan identifiziert, welches eine nanomolare Affinität zu Acetylcholin aufwies. Durch ein rationales Design wäre diese Verbindung höchstwahrscheinlich nicht als Acetylcholinrezeptor identifiziert worden.

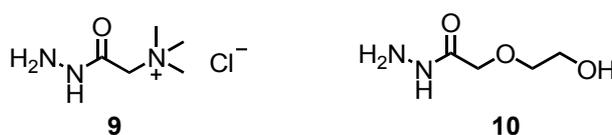
Die meisten bisherigen Beispiele über die Anwendung der DCC für die Selektion von Rezeptoren und Substraten waren auf kleine Bibliotheken beschränkt. Für eine erfolgreiche Anwendung dieser Strategie in der Wirkstoffforschung wird es möglicherweise nötig sein, große strukturell diverse Bibliotheken zu generieren.¹²³ Computergestützte Simulationen haben gezeigt, dass mit der Größe einer Bibliothek (bis 4828 Komponenten) die Wahrscheinlichkeit, einen guten Bindungspartner zu identifizieren, stärker ansteigt, als die Detektionswahrscheinlichkeit fällt.¹²⁴ Die Gruppe um Eliseev generierte unter Verwendung von 41 verschiedenen Ketonen und einem Diamin, welches der Struktur eines bekannten Neuroamidase-Hemmers nachempfunden wurde, eine Imin-Bibliothek.¹²⁵ Auf diese Weise konnten potentielle Neuroamidase-Hemmer identifiziert werden. Ludlow und Otto waren sogar in der Lage, aus einer Bibliothek aus 9000 Komponenten potentielle Ephedrin-Rezeptoren zu identifizieren.¹²⁶ Große Bibliotheken sind unter den richtigen Bedingungen somit handhabbar.

Bisher wurde die dynamische kombinatorische Chemie erfolgreich zur Identifikation von neuen

synthetischen Rezeptoren,¹²⁷ Katalysatoren¹²⁸ und Targets für Biomakromoleküle verwendet.¹²⁹ Großes Potential in der DCC liegt zudem in der Suche nach neuen Liganden für Biomoleküle und in der Wirkstoffforschung.^{130,131}

Inzwischen beschäftigen sich weltweit zahlreiche Gruppen mit der DCC. Zum einen wird zunehmend die Größe und Komplexität der Bibliotheken erhöht, um schneller und effizienter zu Wirkstoffen zu gelangen. Außerdem wird der Anwendungsbereich der DCC auf die Entwicklung funktioneller Systeme, z.B. Membrantransportsysteme¹³² oder selbstreplizierende Systeme,¹³³ ausgeweitet. Diese Entwicklungen sind im Grenzbereich zu einem neuen Forschungsgebiet einzuordnen, das als „Systems Chemistry“ bezeichnet wird. Man beschäftigt sich dabei mit den Effekten, die die Zugabe eines Templats auf das Netzwerk von miteinander im Gleichgewicht stehenden Molekülen einer DCL ausübt. Diese können komplex sein und zu Organisationsprozessen führen, welche man in einfachen Systemen nicht kennt.^{134,135}

Auch Polymere können in der dynamischen kombinatorischen Chemie eine Rolle spielen. Fulton *et al.* generierten z.B. ein dynamisches System aus einem mit Aldehydfunktionen versehenen Polyacrylamid und den in Schema 6 gezeigten Acylhydraziden **9** und **10** durch Hydrazonaustausch.¹³⁶

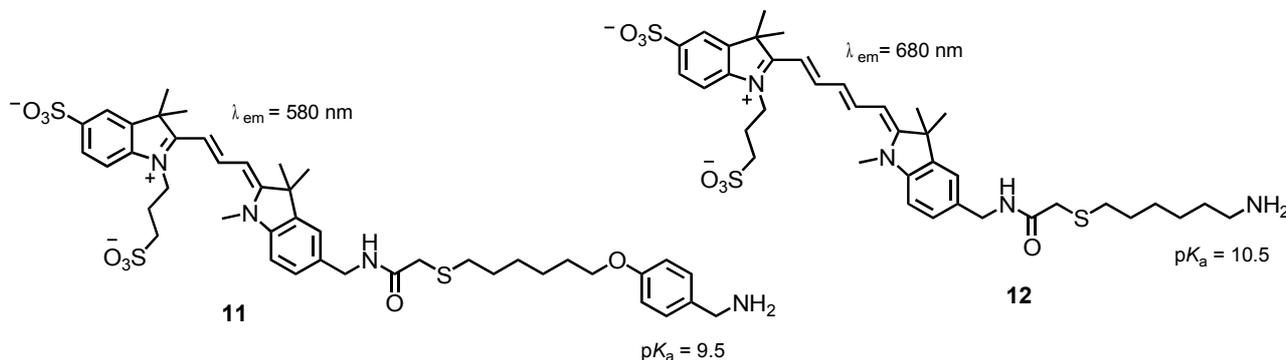


Schema 6

Ohne ein Templat wurden die Bausteine **9** und **10** statistisch ins Produkt eingebaut; das gebildete Polymer enthielt also beide Verbindungen im selben Verhältnis. Die Anwesenheit des anionischen Makromoleküls Poly(natrium 4-styrenesulfonat) als Templat veränderte das Verhältnis der an das Polymer gebundenen Hydrazone zugunsten von **9**. Im optimalen Fall wurde ein Verhältnis von **9** zu **10** im Produkt von 1.2:1.0 beobachtet. Hingegen förderte die Anwesenheit des Proteins Rinderserumalbumin, welches unter den sauren Bedingungen des Hydrazonaustauschs positiv geladen ist, den Einbau von **10**, vermutlich zur Minimierung von repulsiven Wechselwirkungen. Auf diesem Weg können also prinzipiell synthetische Rezeptoren für die selektive Proteinerkennung erhalten werden.

Giuseppone *et al.* verwendeten die dynamische kombinatorische Chemie auf Metalloberflächen, um sogenannte DynaSAMS (dynamische selbstaggregierende Monoschichten) zu generieren.¹³⁷ An der Grenzfläche einer Quarzoberfläche lagerten sie Aldehyde an und erhielten so die Möglichkeit,

durch Zugabe von funktionalisierten Aminen einen Imin austausch durchzuführen. Sie verwendeten die in Schema 7 gezeigten Amine, die sich in ihren pK_a -Werten und Emissionsmaxima unterscheiden.

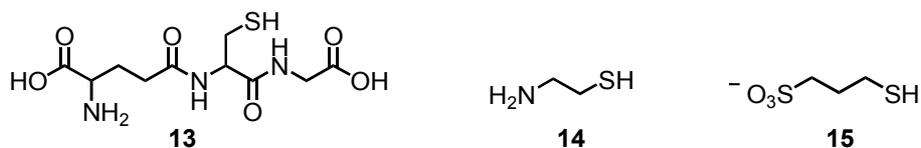


Schema 7

In diesem Fall wurde die Verschiebung des Gleichgewichts nicht durch Wechselwirkungen mit einem Templat herbeigeführt, sondern durch eine Veränderung des pH-Werts. Bei einem pH-Wert von 7 oder 12 war nahezu ausschließlich **12** auf der Oberfläche vorhanden, während **11** bei einem pH-Wert von 10 bevorzugt wurde. Dieser Trend folgte der Nukleophilie der Amine bzw. der entsprechenden Ammoniumionen. Die Bindung der unterschiedlichen Amine auf der Oberfläche konnte anhand ihrer Fluoreszenzspektren nachgewiesen werden. Wenn der Aldehyd-belegte Quarz kontinuierlich aus der Lösung herausgezogen und währenddessen der pH-Wert verändert wurde, war es möglich, die Oberflächenstruktur zu kontrollieren. Bei Verwendung von Fluoreszenz-gelabeltem Avidin und Streptavidin, die über basische Seitenketten in der Lage sind, Imine zu bilden, wurde mit der gleichen Methode Gradienten dieser Biomoleküle auf der Quarzoberfläche erhalten. So konnte gezeigt werden, dass mittels dynamischer Chemie kontrolliert Oberflächen modifiziert werden können.

Während es bisher keine Beispiele zur Anwendung von Goldnanopartikeln in der DCC gibt, wurden Goldnanopartikel in der „konventionellen“ kombinatorischen Chemie durchaus bereits eingesetzt. Beispielsweise beschrieb Feldheim *et al.* einen kombinatorischen Ansatz zur Identifizierung von Goldnanopartikeln mit antibiotischer Wirkung.¹³⁸ Hierfür wurde ein p-Thiobenzoessäure-geschützter Goldnanopartikel mit verschiedenen Thiolen, die entweder Wasserstoffbrückendonoren oder -akzeptoren enthielten oder sich in ihrer Hydrophobie bzw. -philie unterschieden, umgesetzt. Durch Ligandenaustauschreaktion entstanden auf diese Weise MMPC. Die erhaltenen Nanopartikel wurden bezüglich ihrer Wirkung auf *E. coli*-Bakterien untersucht. Ein Goldnanopartikel, der mit den

Thiolen **13**, **14** und **15** aus Schema 8 funktionalisiert war, konnte bei einer Konzentration von 0.5 μ M das *E. coli*-Wachstum um 99.9% inhibieren.



Schema 8

Ein Goldnanopartikel, der nur **13** und **15** enthielt, zeigte bei gleicher Konzentration eine inhibierende Wirkung von 20%. Bei Verwendung von **13** und **14** wurde eine Inhibierung von 90% beobachtet und 40% wenn ausschließlich **14** eingesetzt wurde. Die Kombination von **14** und **15** zeigte wiederum eine Inhibition von 99.9%. Die freien Thiole zeigten jedoch keine antibiotische Wirksamkeit. Die Aktivität hängt also eindeutig von der Art der Liganden und kooperativen Effekten zwischen ihnen ab.

Einen dynamischen Prozess auf Goldnanopartikeln beschrieben Rotello *et al.* Dieser als „Templating“ bezeichnete Effekt wurde an einem auf Goldnanopartikeln-basierten Flavinrezeptor beobachtet.¹³⁹ Dieses Beispiel wird in Kapitel 3 genauer beschrieben. Ein analoger Effekt wurde in einer Studie zur Bindungsfähigkeit eines Trimethylammonium-funktionalisierten Goldnanopartikels an α -helikale Peptidstrukturen beobachtet.¹⁴⁰ Hierbei wurde ein Modellpeptid untersucht, welches über Aspartatgruppen an die positiv geladenen peripheren Gruppen des Goldnanopartikels binden kann. Mittels Circular-Dichroismus-Titrations wurde gezeigt, dass durch Zugabe des Goldnanopartikels die helikale Struktur des Peptids von < 4% in Abwesenheit auf etwa 60% in Anwesenheit des Nanopartikels anstieg. Dies wurde auf eine spontane konformative Reorganisation des Peptids zurückgeführt. Nach diesem schnellen Vorgang wurde innerhalb von 22 h eine langsame weitere Zunahme der Helizität auf 70% beobachtet. Dieser Vorgang wurde auf die Reorganisation der Thiol-Liganden auf der Oberfläche der Nanopartikel zurückgeführt, welche zu einer Optimierung der Bindung des Peptids an die Oberfläche des Nanopartikels führt. Rotello verwendete für den Bindungspartner induzierten Prozess der Umorganisation der monomolekularen Thiole den Begriff „Templating“.

Die genannten Beispiele geben Hinweise darauf, dass Nanopartikel aufgrund ihres adaptiven Verhaltens und ihrer Rezeptoreigenschaften auch in der dynamischen kombinatorischen Chemie von Bedeutung sein können. Arbeiten zu dieser Fragestellung sind Bestandteil der vorliegenden Dissertationsarbeit.

3. Aufgabenstellung

Die Entwicklung neuer reversibler Reaktionen, die in der dynamischen kombinatorischen Chemie eingesetzt werden können, hilft, neue Einsatzmöglichkeiten für die DCC zu finden. Eine bisher in der dynamischen kombinatorischen Chemie ungenutzte reversible Reaktion ist der Ligandenaustausch an Thiol-geschützten Goldnanopartikeln. Wenn diese Reaktion zur Generierung von DCL geeignet wäre, könnte man hiermit die Nanotechnologie und die DCC verbinden und gegebenenfalls auf diese Weise neue Anwendungsgebiete erschließen. Die vorliegende Dissertationsarbeit befasst sich mit der systematischen Untersuchung dieser Reaktion für einen potentiellen Einsatz in der DCC.

Hierfür sollten zunächst geeignete Bedingungen zur Durchführung der Ligandenaustauschreaktionen identifiziert werden, um eine Methode zu entwickeln, auf denen weitere Untersuchungen basieren können. Diese Untersuchungen beinhalten die Herstellung von auf Goldnanopartikeln basierten DCL und die Untersuchung von Templateffekten auf die Produktverteilung in diesen Bibliotheken. Das Konzept ist in Abbildung 10 dargestellt.

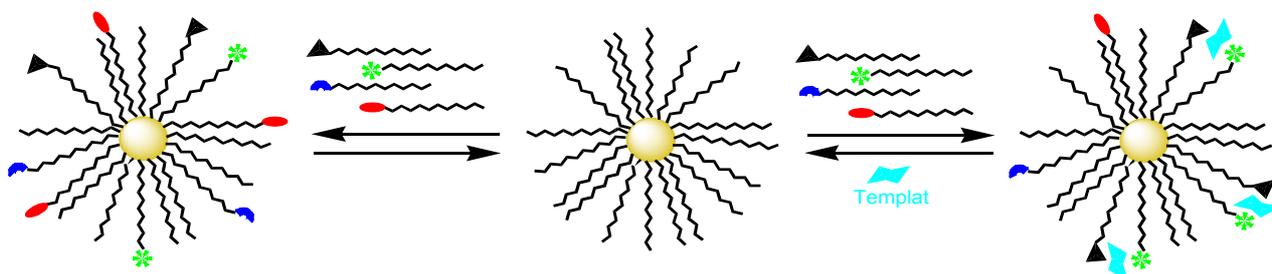


Abb. 10: Unterschiede in der Oberflächenbelegung einer Goldnanopartikeloberfläche bei Durchführung einer Ligandenaustauschreaktion in Abwesenheit (links) und in Anwesenheit (rechts) eines Templats.

Es ist zu erwarten, dass eine Ligandenaustauschreaktion in Abwesenheit eines Templats zu einer statistischen Verteilung der funktionalisierten Thiole in der Monoschicht führt. In Anwesenheit eines Templats wird dagegen in Folge des Templateffekts eine Anreicherung und optimale Organisation der funktionalisierten Thiole erfolgen, die kooperativ an das Template binden können. Diese Studien sollen Informationen liefern, ob dieser Ansatz die Optimierung der Bindungseigenschaften von synthetischen Rezeptoren auf Basis von Goldnanopartikeln erlaubt.

Für den Einstieg in dieses Thema wurde als Grundlage ein bekanntes System gewählt. Hierbei

handelte es sich um den von Rotello *et al.* beschriebenen Goldnanopartikel-basierten Flavinrezeptor, der in Abbildung 11 gezeigt ist.¹³⁹ Dieser Rezeptor stellte das erste Beispiel dar, an dem dynamische Prozesse und ein adaptives Verhalten bei Goldnanopartikeln beobachtet wurden.

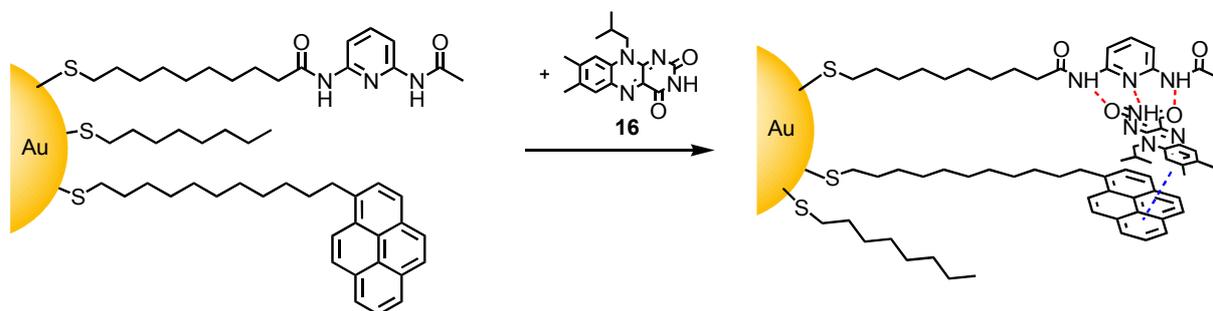
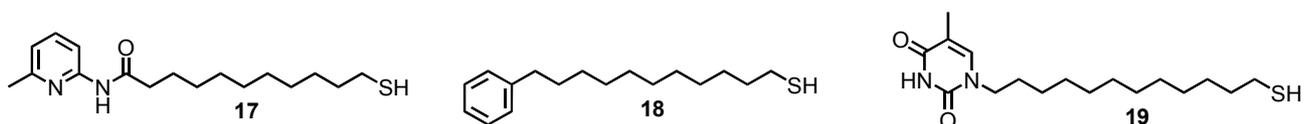


Abb. 11: Selbstorganisation der funktionalisierten Liganden durch Templatzugabe.

Als Bindungsstellen für das Substrat enthielt dieser Goldnanopartikel zwei unterschiedlich funktionalisierte Thiole. Eines verfügte über eine terminale Diaminopyridineinheit, die an Flavin **16** über drei Wasserstoffbrücken zu binden vermag. Der andere Ligand enthielt endständig eine Pyreneinheit, die π -Stacking Wechselwirkungen mit Flavin eingehen kann. Das Verhältnis der Liganden auf dem Goldnanopartikel wurde in den Arbeiten von Rotello nicht spezifiziert.¹³⁹ Zeitabhängige Bindungsstudien zeigten, dass die Affinität dieses Rezeptors zum Substrat mit der Zeit anstieg. Erklärt wurde diese Beobachtung durch eine langsame Migration der Liganden auf der Oberfläche, die zu einer Optimierung der räumlichen Anordnung der Bindungseinheiten für die Substraterkennung führte. Dieser Prozess wurde später als „Templating“ bezeichnet und erinnert an den *Molding*-Prozess in der dynamischen kombinatorischen Chemie, der in Kapitel 2.2 erläutert wurde.

Zunächst sollte im Rahmen dieser Arbeit die Synthese dieses Goldnanopartikels, die Bestimmung der Bindungskonstante seines Flavinkomplexes und die beobachteten dynamischen Prozesse genauer untersucht werden. In diesem Zusammenhang sollte auch der Einfluss der Kettenlänge der Alkylthiole auf die Bindungseigenschaften studiert werden. In einem zweiten Schritt mussten optimale Bedingungen für Ligandenaustauschreaktionen identifiziert werden, bei denen Alkylthiol-modifizierte Goldnanopartikel mit ω -funktionalisierten Thiolen, z.B. solchen mit einer Diaminopyridineinheit oder einer Pyreneinheit, umgesetzt werden. Hierbei müssen Parameter, wie Reaktionsdauer, Konzentration der Reaktanden oder Lösungsmittel berücksichtigt werden. Diese Ligandenaustauschreaktionen sollten in Anwesenheit und in Abwesenheit von Flavin als Templat

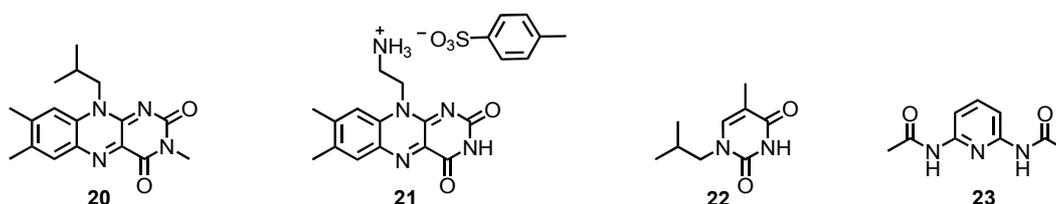
oder gegebenenfalls anderer Templatmoleküle durchgeführt werden. Um den Reaktionsverlauf zu verfolgen, war es notwendig, geeignete analytische Verfahren zur Charakterisierung der Oberflächenbelegung der Goldnanopartikel zu entwickeln. Auf Basis dieser Untersuchungen sollten anschließend vertiefende Experimente zur dynamischen kombinatorischen Chemie erfolgen. Hierbei sollten weitere funktionalisierte Thiole als potentielle Bindungsstellen für Flavin berücksichtigt werden. Beispiele für diese Liganden sind in Schema 9 gezeigt.



Schema 9

Diese Verbindungen enthalten ebenfalls Substituenten, die spezifisch mit Flavin **16** wechselwirken können, jedoch unterscheiden sich die Bindungsaffinität und -selektivität signifikant von den verwendeten Liganden im ursprünglichen Rotello-System.

Im Rahmen der Untersuchung zur DCC war weiterhin die Variation der Template geplant, wobei in diesem Zusammenhang die in Schema 10 gezeigten Verbindungen eingesetzt werden sollten. Diese Verbindungen besitzen im Vergleich zu Flavin eine unterschiedliche Größe der aromatischen Systeme bzw. ein unterschiedliches Arrangement der Wasserstoffbrückendonoren und -akzeptoren, was ihre Wechselwirkungen mit den funktionalisierten Thiolen ebenfalls beeinflusst.



Schema 10

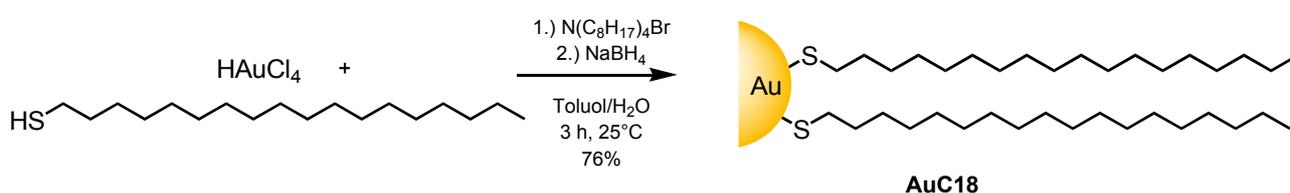
Letztlich sollte auf diese Weise überprüft werden, ob die Kombination eines geeigneten Templats und geeigneter funktionalisierter Thiole während der Ligandenaustauschreaktion die Bildung charakteristischer Oberflächenbelegungen der Goldnanopartikel induziert. Sollten Templateffekte beobachtet werden, muss im letzten Schritt überprüft werden, ob die in Gegenwart des Templats hergestellten Nanopartikel eine höhere Templataffinität besitzen als die in Abwesenheit des Templats hergestellten Nanopartikel. Auch für die Quantifizierung der Bindungseigenschaften der Nanopartikel mussten geeignete Verfahren etabliert werden.

Ein letzter wichtiger Aspekt der Arbeiten war der Nachweis, dass die Ligandenaustauschreaktionen tatsächlich unter thermodynamischer Kontrolle verlaufen. Wie in der DCC üblich, musste hierfür gezeigt werden, dass unterschiedliche Ausgangssituationen zu Beginn der Austauschreaktion, z.B. die Verwendung von Goldnanopartikeln mit unterschiedlicher Oberflächenbelegung, nach Einstellung des thermodynamischen Gleichgewichts dasselbe Produkt liefern. Die auf diese Weise erhaltenen Ergebnisse sollten am Ende der Arbeit Aussagen darüber zulassen, ob Ligandenaustauschreaktionen an Goldnanopartikeln eine neue Strategie darstellen, synthetische Rezeptoren mit Hilfe der dynamischen kombinatorischen Chemie zu synthetisieren.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1. Synthese und Charakterisierung von Alkylthiol-geschützten Goldnanopartikeln

Die Synthese von Goldnanopartikeln mit oberflächengebundenen 1-Dodecanthiolen (**AuC12**)^a erfolgte nach der Standardmethode von Brust und Schiffrin.⁷⁶ Bei der Aufarbeitung wurden die Nanopartikel allerdings nicht filtriert, sondern nach dem Ausfällen mit Ethanol durch Zentrifugieren gesammelt. Das so erhaltene Produkt wurde noch bis zu viermal mit Ethanol gewaschen, um adsorbierte Alkylthiole zu entfernen. Analog wurden auch die Goldnanopartikel mit oberflächengebundenen 1-Octadecanthiolen (**AuC18**) hergestellt (Schema 11).



Schema 11

Die Aufreinigung von **AuC18** war etwas langwieriger als die von **AuC12**. Möglicherweise werden aufgrund der längeren Alkylketten 1-Octadecanthiole stärker an die Monoschicht der MPC adsorbiert, insbesondere wenn es im Laufe des Aufreinigungsprozesses auch zur oxidativen Bildung von Disulfiden aus den nicht gebundenen Thiolen kommt.¹⁴¹ Aus diesem Grund wurden die Nanopartikel in diesem Fall unmittelbar nach dem Syntheseschritt in wenig Hexan aufgenommen, mit Ethylacetat ausgefällt und mit Ethylacetat gewaschen. So konnten die Thiolen und Disulfide im ersten Reinigungsschritt von **AuC18** abgetrennt werden, da sie in Ethylacetat löslich sind. Anschließend musste der überschüssige Phasentransferkatalysator durch mehrmaliges Waschen mit einem polaren Lösungsmittelgemisch (Aceton/Wasser 3:1 (v:v)) entfernt werden. Werden diese beiden Reinigungsschritte in umgekehrter Reihenfolge durchgeführt, können adsorbierte 1-Octadecanthiole nicht vollständig entfernt werden.

Beide erhaltenen MPC wurden nun sorgfältig charakterisiert. Die im Einzelnen verwendeten

a Im Folgenden werden die gebundenen Liganden bzw. deren Reste durch ein bis zu drei Zeichen bestehendes Kürzel dargestellt. Das Voranstellen eines „H“ (z.B. H-C18) symbolisiert das freie Thiol und das Voranstellen von „Ac“ das entsprechende Thioacetat. Den auf Goldnanopartikeln gebundenen Thiolen wird kein Zeichen vorangestellt. Als Abkürzungen für die funktionellen Gruppen werden verwendet: Octanthiol – C8; Dodecanthiol – C12; Octadecanthiol – C18; Diaminopyridin – DAP; Pyren – PYR; Aminopyridin – AP; Benzol – BNZ; Thymin – THY; Kronenether – KRO.

Methoden werden im Folgenden am Beispiel von **AuC18** beschrieben. Die entsprechenden Spektren zu **AuC12** sind im Anhang zu finden.

In Abbildung 12 ist das ^1H -NMR-Spektrum des aufgereinigten Nanopartikels **AuC18** in CDCl_3 dargestellt. Es sind keine Verunreinigungen durch 1-Octadecanthiol oder den Phasentransferkatalysator Tetraoctylammoniumbromid zu sehen. Diese wären anhand scharfer Signale im ^1H -NMR-Spektrum leicht zu identifizieren. Die typische Verbreiterung der Protonensignale aufgrund der eingeschränkten Translations- und Rotationsfreiheitsgrade der gebundenen Liganden, die eine Ausrichtung der Protonenspins im Magnetfeld behindern, ist klar zu erkennen. Um diese Bandenverbreiterung zu verdeutlichen, ist in Abb. 12 zum Vergleich auch das Spektrum von 1-Octadecanthiol gezeigt. Insbesondere das Protonensignal der Methylengruppe, die sich in direkter Nachbarschaft zum Schwefelatom befindet, ist im Spektrum von **AuC18** so stark verbreitert, dass es von der Basislinie nicht zu unterscheiden ist.

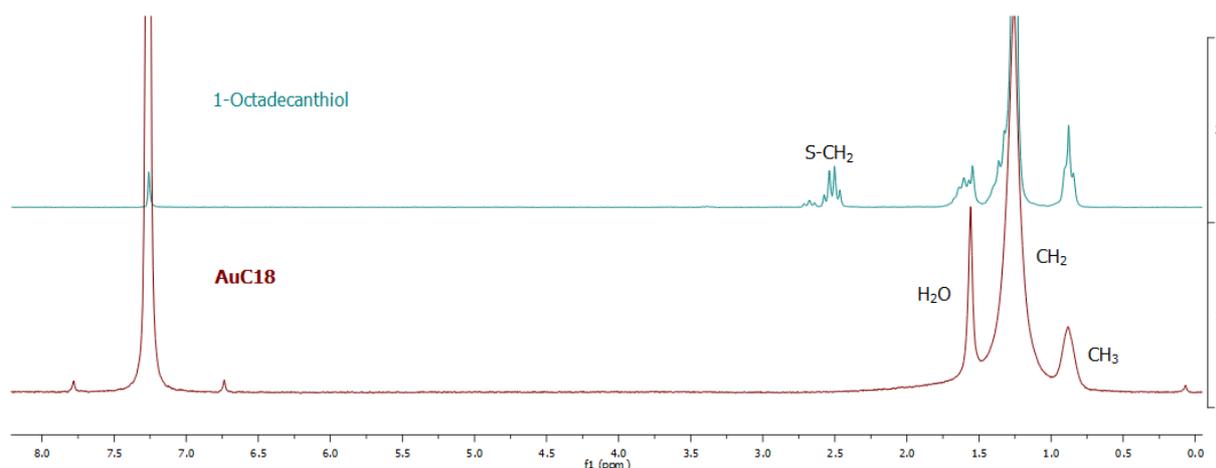


Abb. 12: ^1H -NMR-Spektren von **AuC18** (unten) und 1-Octadecanethiol (oben) in CDCl_3 .

Das ^{13}C -NMR-Spektrum von **AuC18** ist in Abbildung 13 gezeigt.

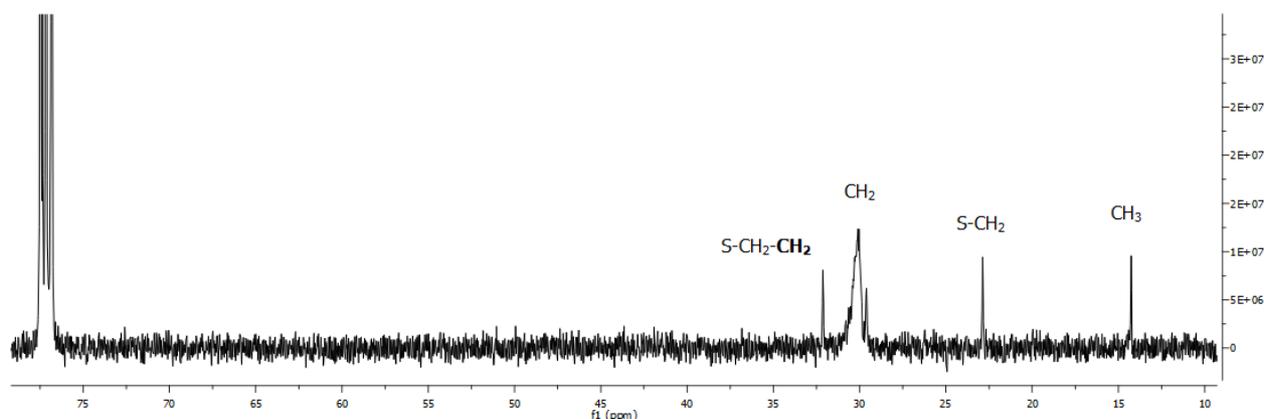
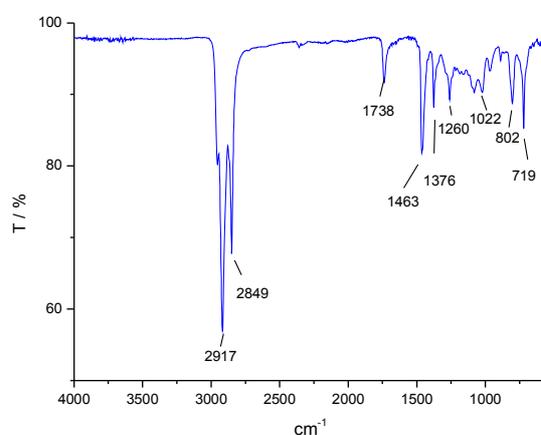


Abb. 13: ^{13}C -NMR-Spektrum von **AuC18** in CDCl_3 .

Alle charakteristischen Signale des Liganden sind in diesem Spektrum zu erkennen, wobei in diesem Fall keine signifikante Linienverbreiterung auftritt. Das im Bereich von 29.6 bis 30.1 ppm auftretende breite Signal ist 15 chemisch nicht äquivalenten C-Atomen zuzuordnen.

Das IR-Spektrum von **AuC18** (Abbildung 14) zeigt die typischen Banden von 1-Octadecanthiol. Die starken Banden bei 2917 cm^{-1} und 2849 cm^{-1} sind den C-H-Valenzschwingungen der Alkylketten zuzuordnen. Bei 1463 cm^{-1} tritt eine Bande für die Deformationsschwingung der Alkylkette auf. Eine S-H-Schwingungsbande ist, wie erwartet, nicht erkennbar. Allerdings ist das Signal der C-S-Valenzschwingung bei 719 cm^{-1} gut sichtbar. Charakteristische Schwingungen für die Au-S-Bindung treten bei Frequenzen unterhalb von 400 cm^{-1} auf und sind deshalb in diesem Spektrum nicht zu beobachten.¹⁴²



*Abb. 14: IR-Spektrum von **AuC18**. (Das Signal bei 1738 cm^{-1} ist auf Reste von Aceton in der Probe zurückzuführen.)*

NMR- und IR-spektroskopisch können also strukturelle Informationen über die Oberflächengebundene organische Monoschicht erhalten werden.

Bezüglich der Größe des Goldkerns liefert die UV/Vis-Spektroskopie (Abbildung 15) erste Informationen. Man erkennt im Bereich der Oberflächenplasmonenresonanzbande von 450 bis 600 nm keine ausgeprägte Bande. Das deutet auf einen Nanopartikeldurchmesser von $< 3\text{ nm}$ hin und ein Vergleich mit Literaturspektren lässt eine Einschränkung auf $< 2\text{ nm}$ zu.⁸¹ Außerdem deutet dieses Ergebnis an, dass größere Agglomerate von Goldnanopartikeln ausgeschlossen werden können, da diese zu einer Verstärkung der Plasmonenresonanz führen würden. Analoge Untersuchungen lieferten ein vergleichbares Ergebnis für **AuC12**.

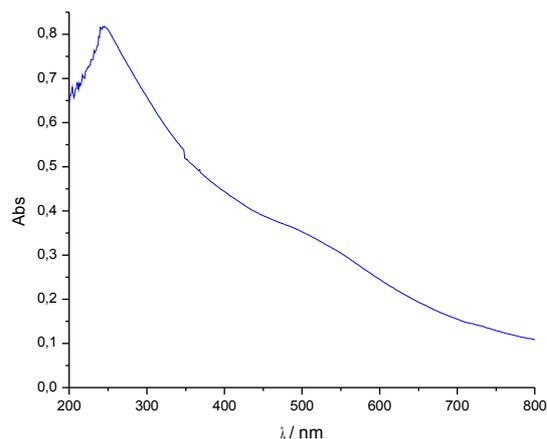


Abb. 15: UV/Vis-Spektrum von **AuC18** in CH_2Cl_2 .

Zur Charakterisierung von Goldclustern kann auch die Massenspektrometrie verwendet werden.¹⁴³ Beispielsweise ist MALDI/TOF-MS eine geeignete Methode, um die Masse von Goldclustern zu bestimmen. Dabei kommt es bei der Verwendung von 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) als Matrix oder ohne die Verwendung einer Matrix zur Desorption der schützenden Thiolschicht und nur der Goldkern wird detektiert.¹⁴⁴ Im negativen Modus konnte das in Abbildung 16 gezeigte Massenspektrum von **AuC18** erhalten werden.

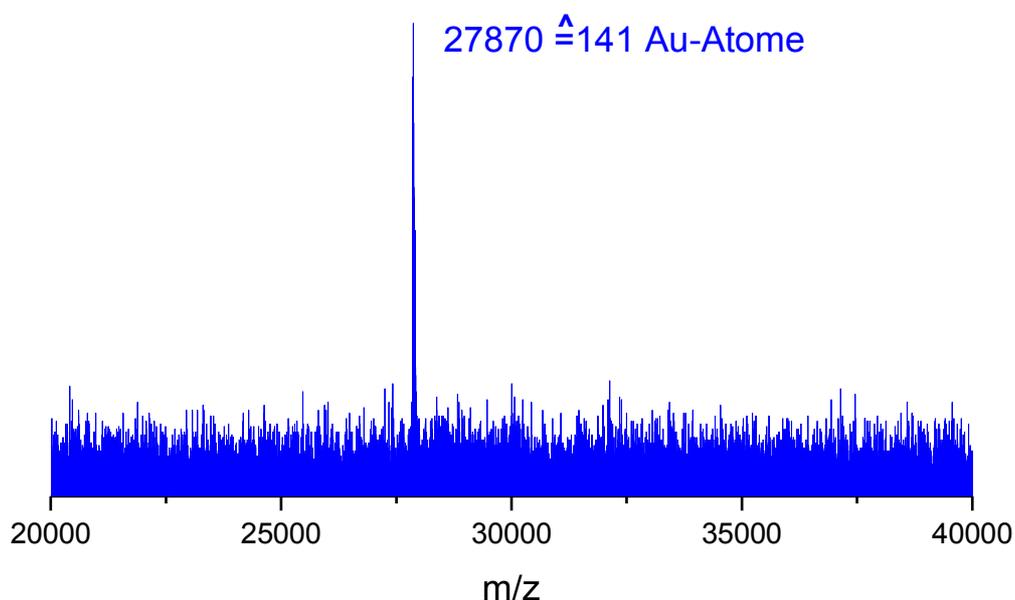
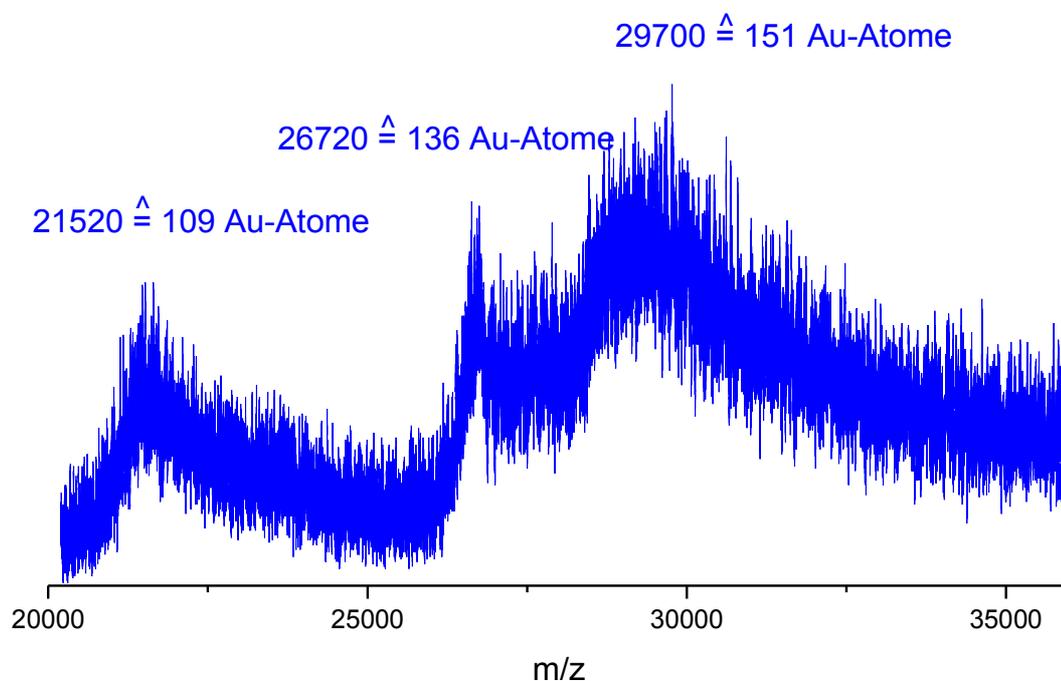


Abb. 16: MALDI/TOF-MS-Spektrum von **AuC18** im negativen Modus bei Verwendung der DHB-Matrix.

Im Spektrum ist ein einzelnes Signal bei ca. 27800 m/z erkennbar, was im Falle eines einfach geladenen Ions der Masse von 141 Goldatomen entspricht. Auffällig ist, dass dieses Signal sehr schmal ist, was auf eine enge Massenverteilung hindeutet. Auch unter Berücksichtigung, dass die Kalibrierung des Massenspektrometers in diesem Massenbereich nicht genau ist, entspricht die beobachtete Masse gut der des bekannten thermodynamisch stabilen Goldcluster mit 144 Goldatomen, welcher im weiteren Verlauf dieses Kapitels noch genauer beschrieben wird.

Bei Verwendung der 2-(((2E)-3-4-^tButylphenyl)-2-methyl-2-propenyliden)-malononitril-Matrix (DCTB) können unter geeigneten Bedingungen auch intakte Nanopartikel mit gebundenen Thiol-Liganden detektiert werden.¹⁴⁵⁻¹⁴⁷ Im positiven Modus konnten von **AuC18** mit dieser Matrix das in Abbildung 17 gezeigte Spektrum erhalten werden.



*Abb. 17: MALDI/TOF-MS-Spektrum von **AuC18** im positiven Modus bei Verwendung der DCTB-Matrix.*

Dieses Spektrum zeigt stark verbreiterte Signale, die auf eine breitere Größenverteilung schließen lassen. Man erkennt drei Maxima bei 21520 (109 Au-Atome), 26720 (136 Au-Atome) und 29700 (151 Au-Atome). Im entsprechenden Spektrum für **AuC12** ist ein intensives Maximum bei 21870 (111 Au-Atome) zu erkennen. Kleinere Signale treten bei 26700 (136 Au-Atome) und 32820 (167

Au-Atome) auf, was auf eine etwas einheitlichere Größenverteilung von **AuC12** im Vergleich zu **AuC18** hindeutet. Die erhaltenen Spektren deuten an, dass auch unter diesen Bedingungen nur der Goldkern bzw. Fragmente davon detektiert wurden und nicht Nanopartikel mit vollständiger Monoschicht, welche bei der zu erwartenden Größe der Nanopartikel erheblich höhere Massen aufweisen würden. Bezogen auf die Größe der Goldcluster geben diese Massenspektren ebenfalls Hinweise darauf, dass **AuC18** aus 109-151 Au-Atomen besteht und damit einen Durchmesser von ca. 2 nm besitzt.

Eine weitere Methode, die zur Größenbestimmung von Goldnanopartikeln verwendet werden kann, ist die dynamische Lichtstreuung (dynamic light scattering, DLS).¹⁴⁸⁻¹⁵⁰ Bei diesem Verfahren wird ein Lichtstrahl durch die Probenlösung geleitet und an den Partikeln gestreut. Durch Interferenzen im Streulicht und durch die Brown'sche Bewegung der Partikel kommt es zu Schwankungen in der Intensität des gestreuten Lichts. Die Geschwindigkeit der Intensitätsänderung wird in einem Korrelationsdiagramm, wie es in Abbildung 18 a gezeigt ist, dargestellt. Je schneller die Fluktuationen in der Streuintensität, desto kleiner sind die Diffusionskoeffizienten und die Partikel. Die Diffusionskoeffizienten korrelieren über die Stokes-Einstein-Gleichung mit entsprechenden hydrodynamischen Radien, welche im Fall der Goldnanopartikel die gebundenen Liganden mit einschließen. Für **AuC18** wird ein Durchmesser von etwa 6.4 nm erwartet, wenn die Goldkerne etwa 2 nm groß sind und die gestreckten C18-Ketten eine Ausdehnung von ca. 2.2 nm besitzen.

Bei Berechnungen, der mittels DLS für **AuC18** erhaltenen statistischen Größenverteilung bezüglich des Volumens, erhält man das in Abbildung 18 b gezeigte Diagramm. Daraus ergibt sich für **AuC18** eine bimodale Größenverteilung mit Maxima bei Durchmessern von 38–122 nm und 190–615 nm. Diese Werte liegen Größenordnungen über dem erwarteten Durchmesser und deuten auf prinzipielle Probleme bei der Charakterisierung von **AuC18** mittels DLS hin. Sollten die Nanopartikel von **AuC18** tatsächlich diese Durchmesser besitzen, wäre mit einer deutlichen Oberflächenplasmonenresonanz und mit einer blauen Farbe der Lösung zu rechnen, die nicht beobachtet wurde (Abb. 15).

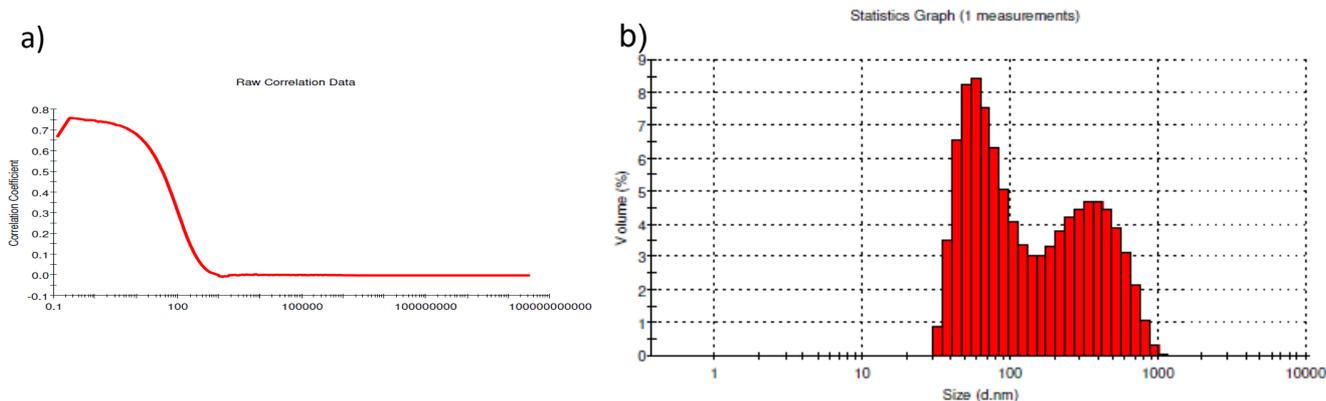


Abb. 18: Dynamische Lichtstreuung von **AuC18** Korrelationsdiagramm a) und statistische Auswertung bezüglich des Volumens b).

Im Fall von **AuC18** deutet das Ergebnis auf eine Aggregation der Nanopartikel in Lösung hin. Dass DLS aber prinzipiell geeignet ist, die Größe von Goldnanopartikeln zu ermitteln, zeigen die für **AuC12** erhaltenen Ergebnisse. In diesem Fall ergibt sich für diese Nanopartikel ein mittlerer hydrodynamischer Radius von 5 nm, was sehr gut mit dem erwarteten Wert für Partikel mit einem 2 nm großen Goldcluster und 1.5 nm langen C12-Ketten übereinstimmt.

Als letzte Methode zur Charakterisierung der Nanopartikel wurde die Transmissions-Elektronen-Mikroskopie (TEM) verwendet, mit der man Goldnanopartikel direkt sichtbar machen kann und die daher ebenfalls zur Größenbestimmung herangezogen wird. Diese Methode lieferte auch Hinweise auf die Aggregation von **AuC18**. Die erhaltenen TEM-Aufnahmen sind in Abbildung 19 dargestellt. Das Bild für **AuC18** (Abb. 19 b) zeigt, dass die Nanopartikel inselartige Strukturen ausbilden, die auf eine Aggregation hindeuten. Diese Aggregation könnte auf eine Verzahnung der Alkylketten verschiedener Nanopartikel zurückzuführen sein, die auch schon von Lennox *et al.* für Nanopartikel mit Alkylketten mit mehr als 16 C-Atomen beobachtet wurde.¹⁵¹ Anhand dieser Bilder konnte der Durchmesser der im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen Partikel im Einklang mit den Ergebnissen anderer Methoden schließlich eindeutig auf 2.0 ± 0.5 nm bestimmt werden.

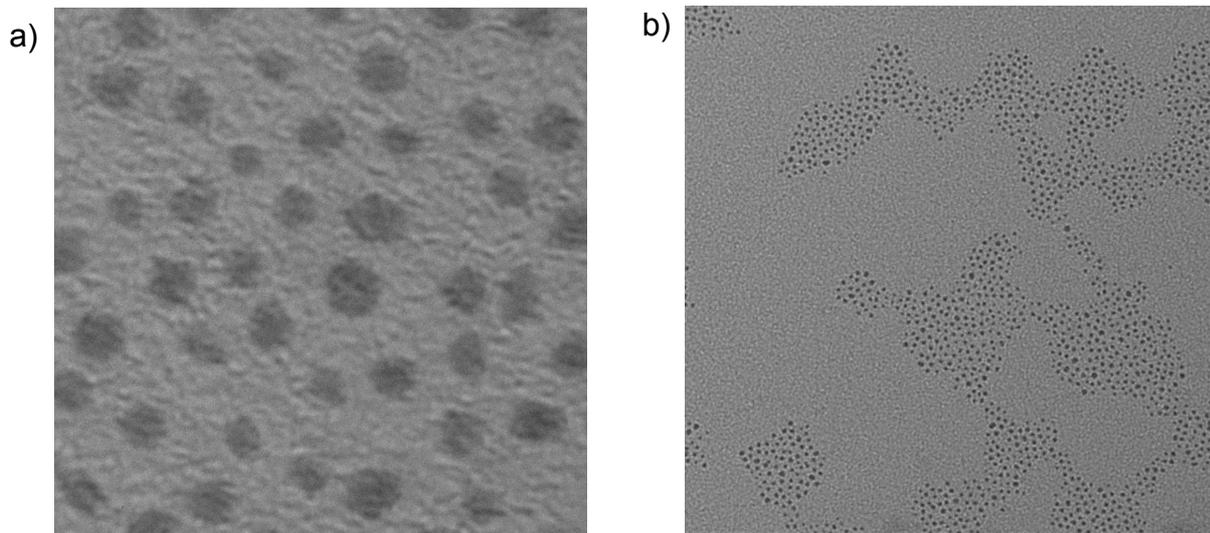


Abb. 19: TEM-Aufnahmen von **AuC18** in verschiedenen Vergrößerungen 750000-fach a) und 75000-fach b).

Im Gegensatz dazu lieferten die TEM-Aufnahmen von **AuC12** keine Hinweise auf eine Aggregation, was im Einklang mit den DLS-Messungen steht (Abbildung 20). Die Größe dieser Partikel betrug 1.9 ± 0.3 nm. Sowohl **AuC18** als auch **AuC12** sind relativ monodispers.

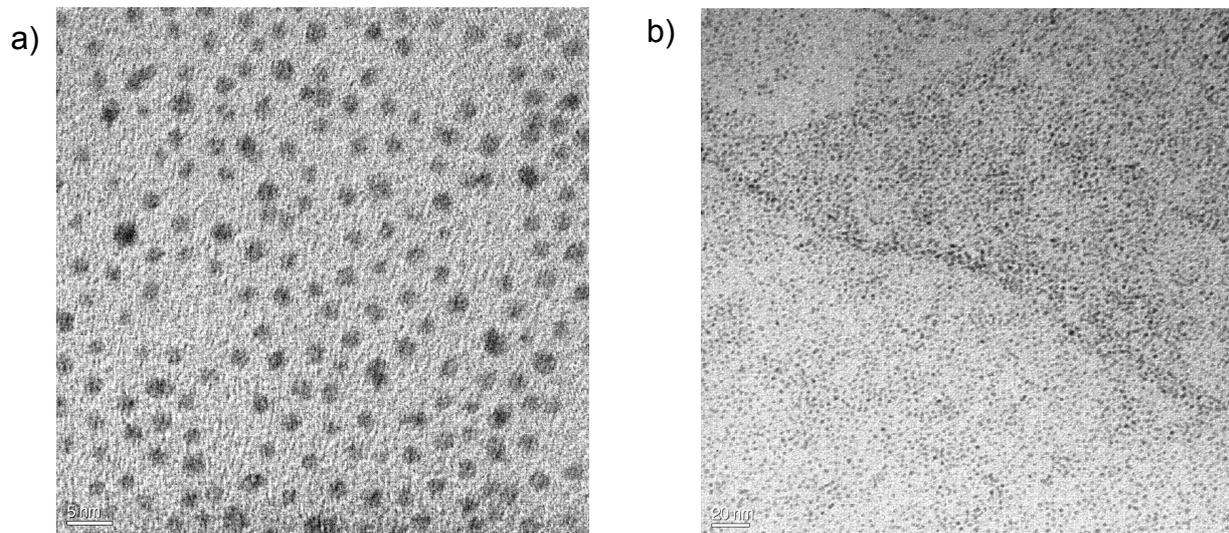


Abb. 20: TEM-Aufnahmen von **AuC12** in verschiedenen Vergrößerungen 300000-fach a) und 60000-fach b).

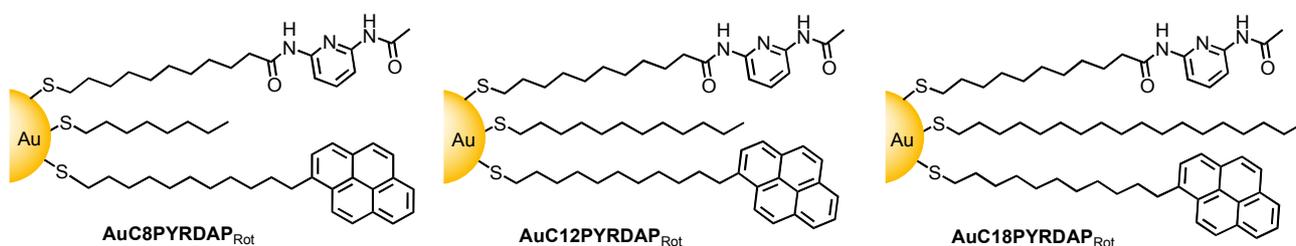
Aus den so erhaltenen Ergebnissen kann man durch Literaturvergleich eine Struktur für die erhaltenen Goldnanopartikel ableiten.^{81,152} Goldcluster mit Massen von 29 kDa enthalten laut Literatur zwischen 140 und 150 Goldatome und 50-60 Liganden.^{153,154} Der Durchmesser dieser

Goldnanopartikel wurde meist mit 1.7-2.0 nm angegeben. Durch ESI-MS-Untersuchungen konnten für diese Goldnanopartikelspezies die Summenformeln $\text{Au}_{144}\text{SR}_{60}$ und $\text{Au}_{146}\text{SR}_{59}$ ermittelt werden.¹⁵⁵ Nach DFT-Rechnungen ist die stabilere Struktur diejenige mit der Summenformel $\text{Au}_{144}\text{SR}_{60}$.¹⁵⁶ Jin *et al.* gelang es sogar, monodisperse Goldnanopartikel mit der Summenformel $\text{Au}_{144}(\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{Ph})_{60}$ zu synthetisieren, die über diskrete Energieniveaus verfügen.¹⁵⁷ Die erhaltenen Daten für die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Nanopartikel stimmen sehr gut mit denen der Goldcluster mit einer Masse von 29 kDa und einem Durchmesser <2 nm überein, weshalb für die weiteren Untersuchungen davon ausgegangen wurde, dass im Mittel die oben genannte Summenformel zutrifft.

4.2. Untersuchung der Flavinrezeptoren synthetisiert nach Rotello

Im ersten Schritt der Arbeit wurden zur Etablierung der notwendigen synthetischen und analytischen Methoden zunächst der von Rotello beschriebene auf Goldnanopartikeln-basierte Flavinrezeptor (Abb. 11) synthetisiert und bezüglich seiner Bindungseigenschaften charakterisiert. Außerdem wurden zu Vergleichszwecken analoge Nanopartikel dargestellt, die anstelle der von Rotello verwendeten 1-Octanthiole, 1-Dodecan- bzw. 1-Octadecanthiole enthielten. Die Verlängerung der Alkylketten an diesen Nanopartikeln bei gleichbleibendem Abstand zwischen Goldkern und funktionellen Gruppen in den funktionalisierten Thiole führt dazu, dass der Bindungsvorgang mehr und mehr im Inneren der Monoschicht und damit abgeschirmt vom umgebenden Lösungsmittel stattfinden muss, was Einflüsse auf die Bindungsstärke haben sollte.

Insgesamt wurden drei verschiedene Flavinrezeptoren nach der Synthesemethode von Rotello hergestellt,¹³⁹ deren Strukturen in Schema 12 gezeigt sind.



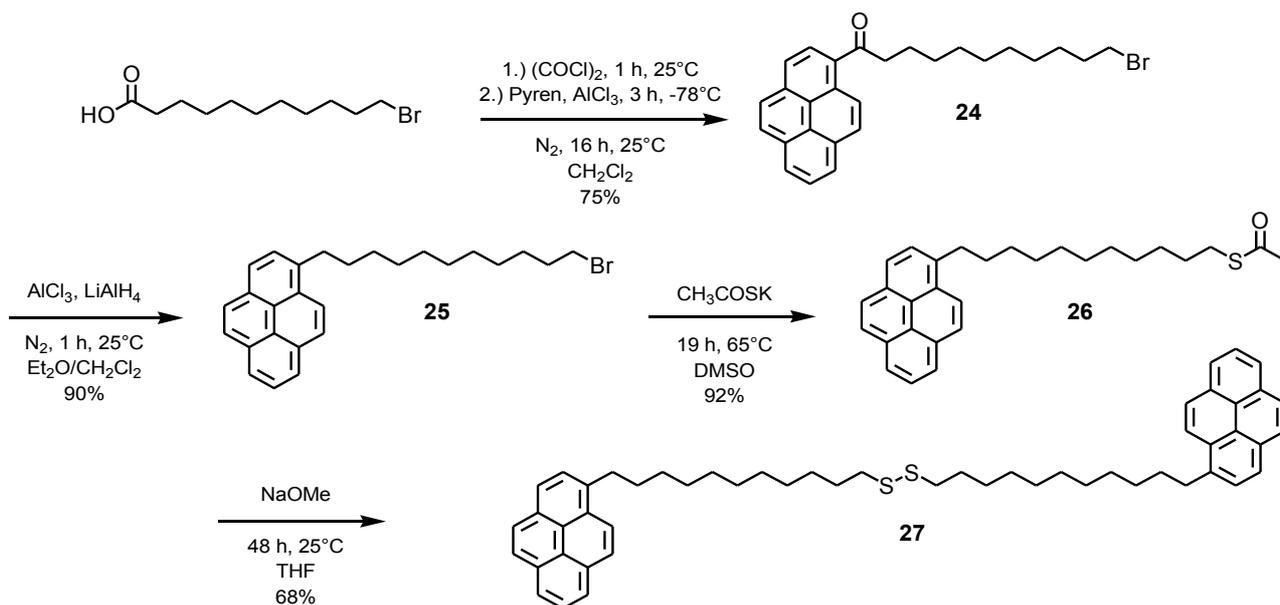
Schema 12

Von Rotello wurde bisher nur der Nanopartikel mit den Octanthiolen beschrieben. Da Rotello in

seinem System eine Migration der Thiol-Liganden beobachtete, durch die die Flavinaffinität mit der Zeit zunahm, sollte in diesem Zusammenhang auch überprüft werden, ob die Verlängerung der Alkylthiolketten einen Einfluss auf dieses adaptive Verhalten besitzt.

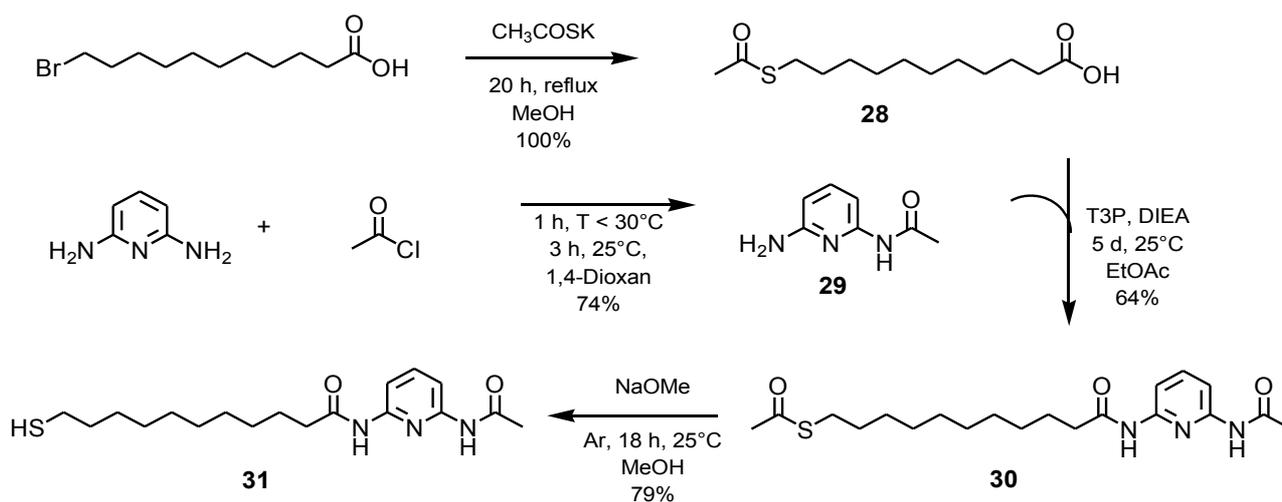
4.2.1. Synthese der Flavinrezeptoren

Die Synthese des Flavinrezeptors erfolgte analog der Literaturvorschrift nach Rotello *et al.*¹³⁹ Zunächst mussten die Vorstufen der Liganden, welche für die Nanopartikelsynthese eingesetzt werden, dargestellt werden. Dabei wurde die Vorstufe des Pyren-Liganden gemäß Schema 13 nach der Literaturvorschrift synthetisiert.¹³⁹ Kommerziell erhältliches Pyren wurde mit 11-Bromundecansäure in 1-Position zu **24** acyliert. Anschließend wurde die Carbonylgruppe von **24** mit Lithiumaluminiumhydridlösung in Anwesenheit der Lewisäure Aluminiumtrichlorid zu **25** reduziert. Eine analoge Umsetzung mit Lithiumaluminiumhydridpulver führte nicht zum gewünschten Produkt **25**. Durch nukleophile Substitution des Bromids durch Kaliumthioacetat erhielt man anschließend **26**, welches mit Natriummethanolat zunächst zum freien Thiol umgeestert und dann durch Luftsauerstoff weiter zum Disulfid **27** oxidiert wurde.



Schema 13

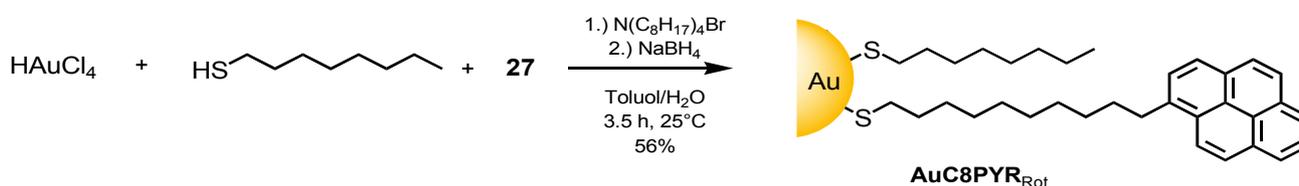
Der Diaminopyridin-Ligand **31** wurde wie in Schema 14 gezeigt hergestellt.



Schema 14

Diese Synthese wurde im Vergleich zur Literatur etwas modifiziert.¹⁵⁸ 2,6-Diaminopyridin wurde zunächst mit Acetylchlorid monoacetyliert und das erhaltene Produkt **29** mit S-Acetyl-11-thioundecansäure **28**, die durch Umsetzung von Kaliumthioacetat mit 11-Bromundecansäure dargestellt wurde,⁸³ in Gegenwart des käuflichen Kupplungsreagenz Propylphosphonanhydrid (T3P) zu **30** gekuppelt. Es wurde T3P verwendet, da es **30** in einer besseren Ausbeute lieferte als O-(1H-Benzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumtetrafluoroborat (TBTU) und die säulenchromatographische Reinigung des Produkts im Vergleich zur Verwendung von Chlorotripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyCloP) einfacher war. Schließlich erfolgte die Freisetzung der Thiofunktion mit Natriummethanolat unter einer Argonatmosphäre zu Verbindung **31**.

Die Darstellung des funktionalisierten Goldnanopartikels erfolgte in zwei Stufen, wobei die beiden funktionellen Gruppen nacheinander eingeführt wurden. Als erstes wurden die Goldnanopartikel nach der Literaturvorschrift synthetisiert (Schema 15).¹³⁹ Als passivierende Schwefelspezies diente eine Mischung aus Verbindung **27** und 1-Octanthiol.



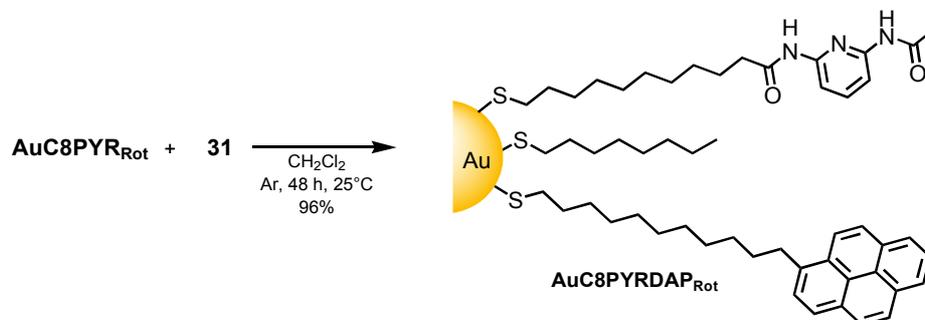
Schema 15

Auf diese Weise erhielt man den Nanopartikel **AuC8PYR_{Rot}**^{a,b}, der bereits Octanthiol- und

b Der Index „Rot“ symbolisiert, dass der Goldnanopartikel nach der Literatur von Rotello synthetisiert wurde.¹³⁹

Pyrengruppen auf der Oberfläche enthielt. Dieser Nanopartikel wurde durch wiederholtes Ausfällen und Zentrifugieren gereinigt. Die Größenausschlusschromatographie erwies sich als ungeeignet für die Aufreinigung, da dieser Nanopartikel eine starke Neigung zur Agglomeration aufweist.

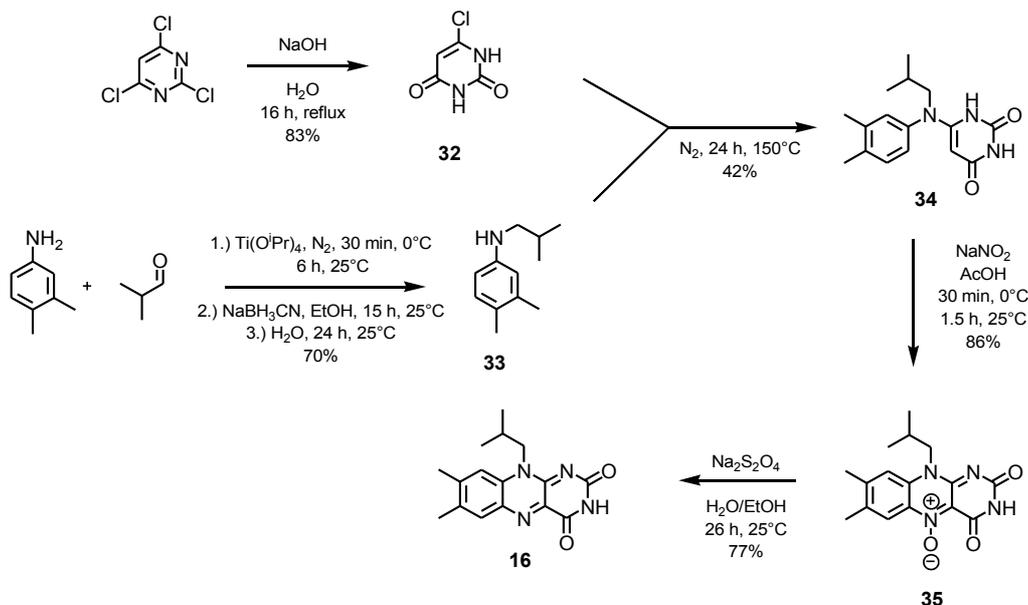
Im zweiten Schritt erfolgte die Einführung der Diaminopyridinfunktion nach Schema 16 durch Ligandenaustauschreaktion mit **31**.¹³⁹



Schema 16

Durch Suspendieren und Zentrifugieren mit anschließendem Trocknen wurden die entsprechenden Nanopartikel sauber erhalten, so dass sie direkt in den Bindungsstudien mit Flavin eingesetzt werden konnten. Auf dem analogen zweistufigen Syntheseweg wurden die beiden anderen Flavinrezeptoren **AuC12PYRDAP_{Rot}^a**, der anstatt Octanthiol-Liganden Dodecanthiole enthält und **AuC18PYRDAP_{Rot}**, der Octadecanthiole enthält, dargestellt. Diese erwiesen sich als stabiler als **AuC8PYRDAP_{Rot}**, was die Darstellung und Reinigung vereinfachte.

Die Synthese des benötigten Substrats Flavin erfolgte nach einer Literaturvorschrift von Yoneda *et al.* und ist in Schema 17 dargestellt.¹⁵⁹ Zunächst wurde 2,4,6-Trichlorpyrimidin basisch zu 6-Chloruracil **32** hydrolysiert, welches dann mit **33**, erhalten aus der reduktiven Aminierung von Isobutyraldehyd mit 3,4-Dimethylanilin, umgesetzt wurde. Das erhaltene Produkt **34** wurde in Gegenwart von Natriumnitrit zum Isoalloxazinring cyclisiert und das gebildete *N*-Oxid **35** mit Natriumdithionit zu **16** reduziert. Alle Syntheseschritte liefen mit guten Ausbeuten ab. Nur die Synthese von **34** war problematisch. Wenn die Reaktion in einem größeren Ansatz durchgeführt wurde, in dem **33** als Lösungsmittel diente, konnte eine akzeptable Ausbeute von 42% erhalten werden, die nahe an der Literatursausbeute von 60% lag.¹⁶⁰



Schema 17

Bei Versuchen die Ausbeute in dieser Stufe zu verbessern, wurden DMSO, DMF und Ethanol als Lösungsmittel getestet, wobei aber in allen Fällen neben einer schlechteren Ausbeute auch vermehrt die Bildung von Nebenprodukten beobachtet wurde, wodurch sich die Reinigung des Produkts erschwerte. Mikrowellensynthesen liefern oft gute Ergebnisse bei Kondensationsreaktionen, die hohe Temperaturen erfordern.¹⁶¹ Bei dieser Reaktion konnte durch Verwendung von Mikrowellenbedingungen aber keine Ausbeutesteigerung beobachtet werden. Auf weitere Optimierungsversuche der Reaktion wurde verzichtet, da genug Material für die weiteren Untersuchungen zur Verfügung stand.

4.2.2. Charakterisierung der Flavinrezeptoren

Die Charakterisierung der Flavinrezeptoren soll am Beispiel von **AuC12PYRDAP_{Rot}** erläutert werden und wurde für **AuC8PYRDAP_{Rot}** und **AuC18PYRDAP_{Rot}** analog durchgeführt.

Zunächst wurde die Reinheit der Goldnanopartikel ¹H-NMR-spektroskopisch überprüft, um eine Verunreinigung durch Thiol- bzw. Disulfidreste auszuschließen. Abbildung 21 zeigt das ¹H-NMR-Spektrum von **AuC12PYRDAP_{Rot}** in CDCl₃. In diesem Spektrum sind keine freien Thiole erkennbar, die sich durch scharfe Signale bemerkbar machen würden. Zum Vergleich sind die ¹H-NMR-Spektren der freien Thiole ebenfalls abgebildet.

Der Vergleich der Spektren von **AuC12PYR_{Rot}** und **AuC12PYRDAP_{Rot}** zeigt klar den erfolgreichen

Einbau der Diaminopyridin-Liganden anhand der Signale im Bereich von 2.0-2.5 ppm und 7.3-7.6 ppm. Da diese Signale teilweise von den Pyren-Signalen überlagert sind, ist die Bestimmung der relativen Anteile aller drei Liganden auf der Nanopartikeloberfläche durch einfache Signalintegration nicht möglich.

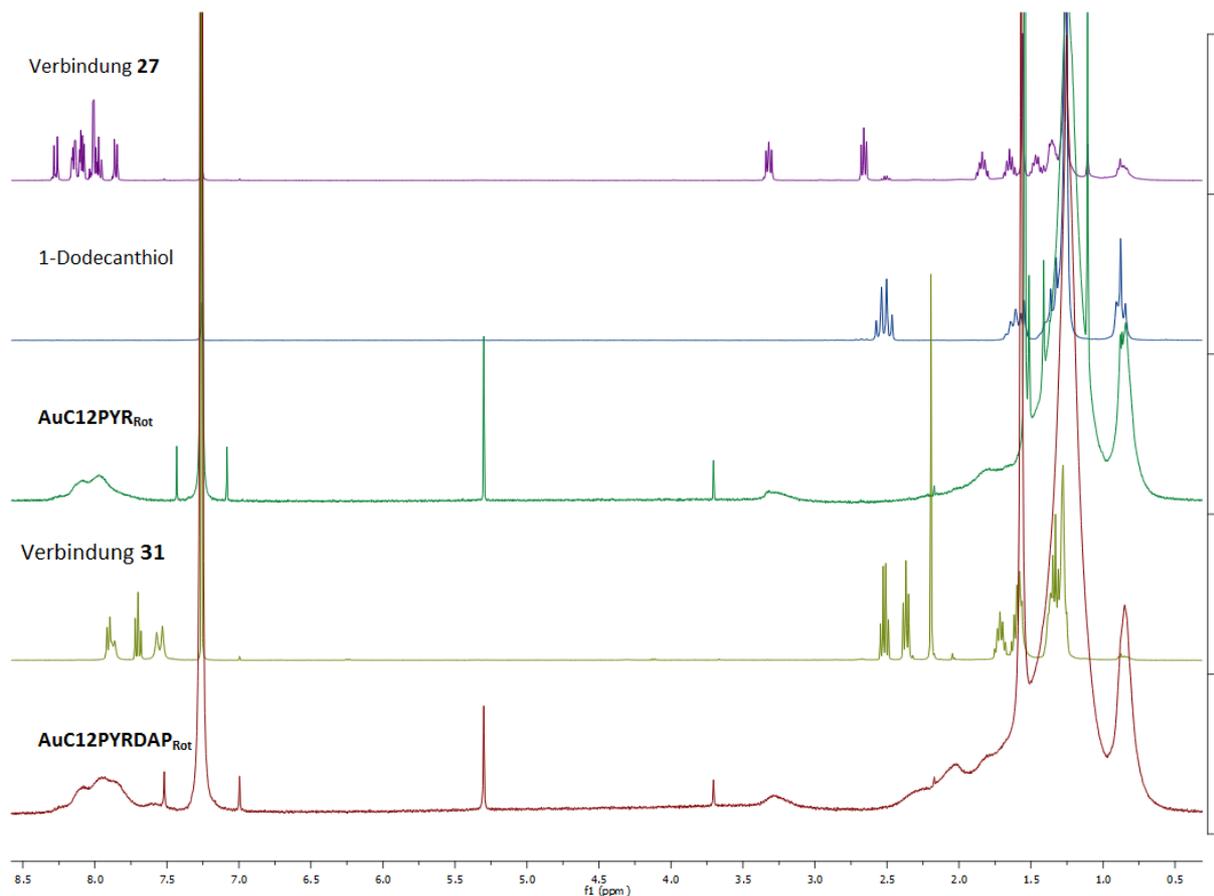


Abb. 21: ¹H-NMR-Spektren von **AuC12PYR_{Rot}**, **AuC12PYRDAP_{Rot}** und von 1-Dodecanthiol, **27** und **31** in CDCl₃. (Die Signale bei 5.3 ppm und 3.7 ppm sind auf Reste von Dichlormethan bzw. 1,2-Dichlorethan zurückzuführen.)

Das UV/Vis-Spektrum von **AuC12PYRDAP_{Rot}** in Methylenchlorid (Abbildung 22) erlaubte eine Abschätzung der Größe dieser Nanopartikel. Zwischen 450 und 600 nm ist keine ausgeprägte Oberflächenplasmonenresonanzbande zu erkennen. Eine leichte Schulter in diesem Wellenlängenbereich lässt auf eine Partikelgröße von < 3 nm schließen. Durch Vergleich mit dem Spektrum des unfunktionalisierten Goldnanopartikels **AuC12** erkennt man, dass alle Nanopartikel in etwa die gleiche Größe von ca. 2 nm besitzen. Während der Ligandenaustauschreaktion im Syntheseschritt von **AuC12PYR_{Rot}** zu **AuC12PYRDAP_{Rot}** hat sich die Größe der Nanopartikel also nicht geändert, wie es bei Ligandenaustauschreaktionen üblich ist.¹⁶² Das Spektrum deutet außerdem an, dass keine

Agglomerate vorliegen.

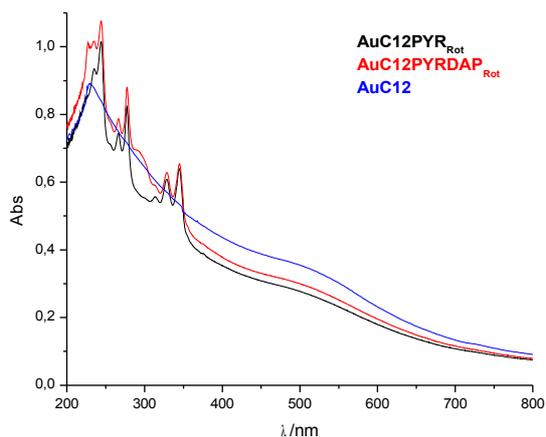


Abb. 22: UV/Vis-Spektren von **AuC12**, **AuC12PYR_{Rot}** und **AuC12PYRDAP_{Rot}** in CH_2Cl_2 .

In den UV/Vis-Spektren sind außerdem die charakteristischen Absorptionsbanden der gebundenen Liganden zu erkennen. So ist sowohl im Spektrum von **AuC12PYR_{Rot}** als auch im Spektrum von **AuC12PYRDAP_{Rot}** das typische Bandenmuster der Pyrenfunktion zwischen 345 und 314 nm sowie zwischen 277 und 244 nm sichtbar. Zusätzlich zeigt sich im Spektrum von **AuC12PYRDAP_{Rot}** bei 290 nm eine Schulter, die der Diaminopyridingruppe zugeordnet werden kann. Auch ein IR-Spektrum (Abbildung 23) wurde zur Charakterisierung herangezogen.

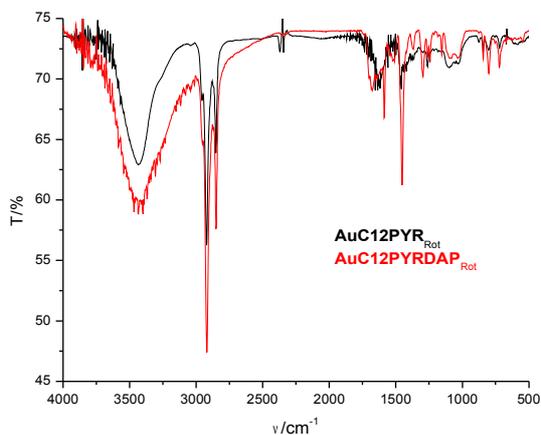


Abb. 23: IR-Spektren von **AuC12PYR_{Rot}** und **AuC12PYRDAP_{Rot}**. (Die breite Bande bei 3500 cm^{-1} ist auf Reste von Wasser zurückzuführen.)

Im Spektrum sind die typischen Signale der Liganden zu erkennen. Besonders intensiv sind die Deformationsschwingungen der Alkylgruppen bei 2850 und 2920 cm^{-1} . Die Amidbande I bei

1673 cm⁻¹ und die Amidbande II bei 1587 cm⁻¹ im Spektrum von **AuC12PYRDAP_{Rot}** zeigen die Anwesenheit der Diaminopyridineinheit. Eine N-H-Valenzschwingungsbande im Bereich von 3200 cm⁻¹ wird wahrscheinlich durch eine breite O-H-Valenzschwingungsbande überlagert, die auf Reste von Wasser in der Probe zurückzuführen ist.

Um das Verhältnis der oberflächengebundenen Liganden zu ermitteln, wurde ein Iodabbau der Nanopartikel durchgeführt. Hierbei wird eine Lösung der Goldnanopartikel mit Iod versetzt, wodurch die gebundenen Thiol-Liganden quantitativ als Disulfide freigesetzt werden und die Nanopartikel als elementares Gold agglomerieren und ausfallen.¹⁶³ Das Verhältnis der Disulfide in Lösung entspricht folglich dem Verhältnis der Thiole, die auf dem Nanopartikel gebunden waren. Die Quantifizierung der relativen Verhältnisse der Disulfide erfolgt über ¹H-NMR-Spektroskopie. Eine ausführliche Beschreibung der Auswertung ist in Kapitel 4.4.3. zu finden. Das Ergebnis des Iodabbaus der verschiedenen Nanopartikel ist in Tabelle 2 zusammengefasst.

	AuC8PYRDAP_{Rot}	AuC12PYRDAP_{Rot}	AuC18PYRDAP_{Rot}
Alkylthiol/ %	67	72	79
PYR/ %	15	7	3
DAP/ %	18	21	18

Tab. 2: Relatives Verhältnis der einzelnen Liganden der Flavinrezeptoren nach Iodabbau.

Aus diesen Daten lässt sich deutlich ein Trend ablesen. Mit zunehmender Kettenlänge des Alkylthiols steigt auch dessen prozentualer Anteil auf der Goldnanopartikeloberfläche. Dies kann darauf zurückzuführen sein, dass ein Ligandenaustausch bei Goldnanopartikeln mit längeren Alkylketten erschwert ist. Die Zunahme an Alkylthiolen verringert die Menge der anderen beiden Liganden nicht im gleichen Maß. Während der prozentuale Anteil an Diaminopyridineinheit bei allen Rezeptoren nahezu konstant bleibt, nimmt der Anteil an Pyren auf der Oberfläche von fast 15% in Anwesenheit von Octanthiol auf 3% bei Octadecanthiol stetig ab. Diese Abnahme deutet an, dass der Einbau der sterisch anspruchsvollen Pyren-Liganden in die Monoschicht der Nanopartikel umso schwieriger ist, je länger die gleichzeitig gebundenen Alkylthiole sind. Als letzter Schritt der Charakterisierung wurde nun die Flavinaffinität der einzelnen Rezeptoren mittels Wirt-Gast-Titrationen bestimmt.

4.2.3. Flavinaffinität der Flavinrezeptoren

Wirt-Gast-Titrationen gehören zu den am häufigsten verwendeten Methoden zur Bestimmung von

Gleichgewichtskonstanten bzw. Bindungskonstanten in der Supramolekularen Chemie.¹⁶⁴ Hierbei wird die Veränderung einer charakteristischen physikalischen Eigenschaft von Wirt oder Gast bei sukzessiver Zugabe des jeweiligen Bindungspartners verfolgt. Bei dieser Eigenschaft kann es sich z.B. um die Lage oder Intensität von Banden im UV/Vis- oder Fluoreszenz-Spektrum handeln oder um die chemische Verschiebung einzelner Signale im NMR. Bei Gleichgewichten, die schnell auf der NMR-Zeitskala sind, beobachtet man bei der Komplexbildung gemittelte NMR-Spektren der freien Bindungspartner und ihres Komplexes. Es kommt also zu einer kontinuierlichen Verschiebung von Signalen, die durch die Komplexbildung beeinflusst werden, vom Signal der unkomplexierten Spezies zum Signal des Komplexes, wenn während der Titration 100%ige Komplexbildung erreicht wird.

Unter Zugrundelegung der Komplexstöchiometrie, des Massenwirkungsgesetzes und der jeweiligen Massenbilanzen kann man aus den erhaltenen Bindungsisothermen die Komplexbildungskonstante durch eine nicht-lineare Regression bestimmen.

Für die Wirt-Gast-Titrations von Flavin mit den Nanopartikeln wurde eine Serie von Lösungen mit konstanter Flavinkonzentration und steigenden Konzentrationen an Goldnanopartikeln angesetzt. Die zugefügten Mengen an Goldnanopartikeln wurden auf die Anzahl der gebundenen Diaminopyridineinheiten (DAP) bezogen. Auf diese Weise wird erreicht, dass man für die Auswertung ein 1:1 Bindungsmodell zugrunde legen kann. Die Anzahl der auf den einzelnen Nanopartikeln gebundenen DAP-Gruppen wurde ausgehend von den Ergebnissen des Iodabbaus berechnet (Tab. 2) und sind in Tabelle 3 aufgelistet.

	AuC8PYRDAP_{Rot}	AuC12PYRDAP_{Rot}	AuC18PYRDAP_{Rot}
Anzahl Alkylthiol-Liganden	40	43	48
Anzahl PYR-Liganden	9	5	2
Anzahl DAP-Liganden	11	12	10

Tab. 3: Oberflächenzusammensetzung der Flavinrezeptoren nach Iodabbau.

Als Grundlage für die Summenformel der Nanopartikel diente die in Kapitel 4.1 abgeleitete Zusammensetzung Au₁₄₄SR₆₀. In Abbildung 24 sind exemplarisch die ¹H-NMR-Spektren einer Titration von Flavin mit **AuC12PYRDAP_{Rot}** gezeigt.

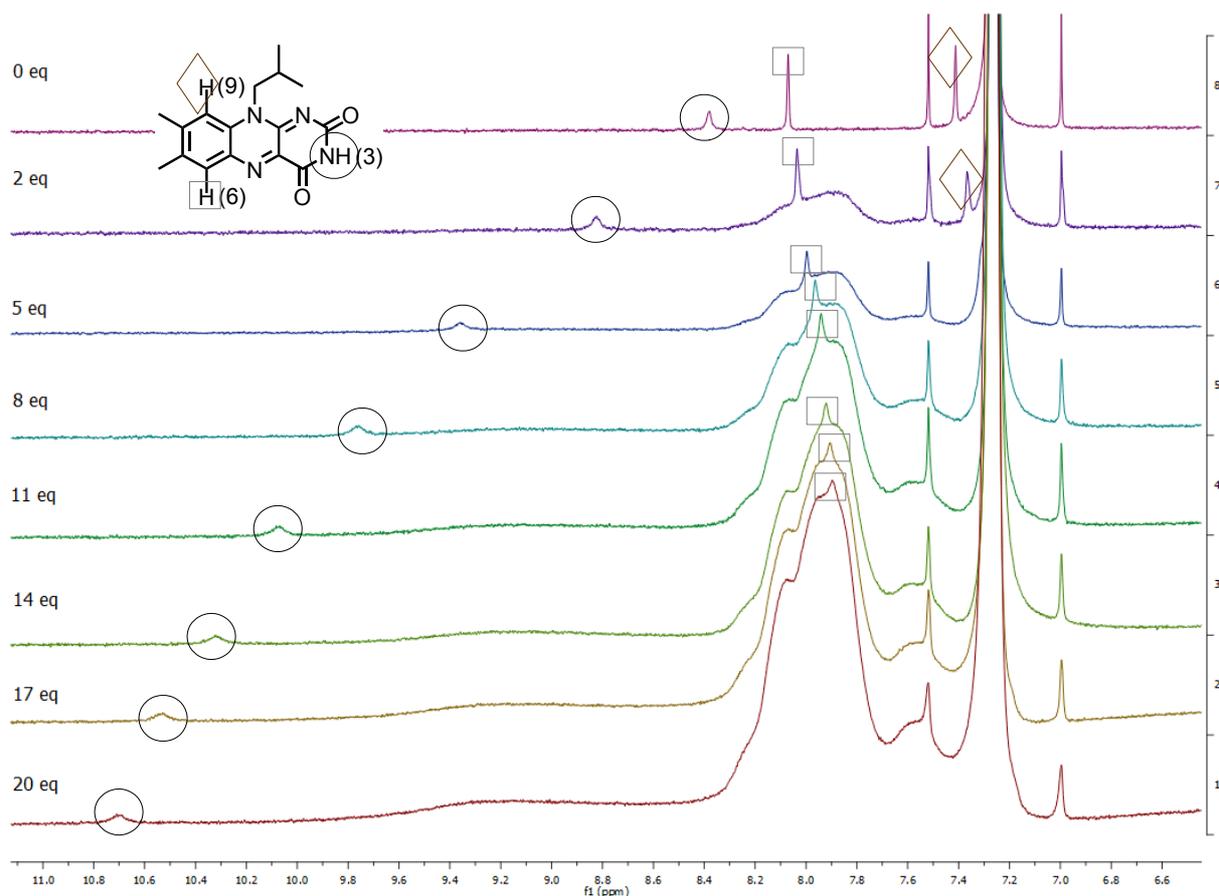


Abb. 24 : ^1H -NMR-Spektren ($\delta = 6.6\text{-}11.0$ ppm) der Titration von Flavin mit $\text{AuC}_{12}\text{PYRDAP}_{\text{Rot}}$ in CDCl_3 .

Die in Abb. 24 dargestellten NMR-Spektren zeigen klar, dass sich mit zunehmender Konzentration an Goldnanopartikeln die Lage der Protonensignale des Flavins verschieben. Eine besonders starke Entschirmung ist für das Signal des NH-Protons an 3-Position des Flavins erkennbar (als Kreis in Abb. 24 gekennzeichnet), was für eine Wasserstoffbrückenbindung an die oberflächengebundenen Diaminopyridinreste des Nanopartikels im Einklang mit dem von Rotello postulierten Bindungsmotiv spricht. Die aromatischen Signale H(6) und H(9) werden dagegen hochfeldverschoben (als Quadrat und Raute in Abb. 24 gekennzeichnet). Dies spricht für das postulierte π -Stacking des Flavinmoleküls und der Pyreneinheit, wodurch die Flavinprotonen in den abschirmenden Bereich des aromatischen π -Systems der Pyrenmoleküle gelangen. Dieses Bindungsmodell ist in Abbildung 25 verdeutlicht.

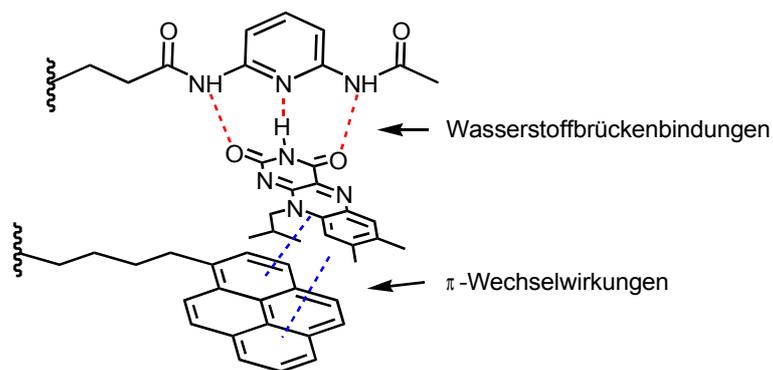


Abb. 25: Kooperative Bindung der DAP- und PYR-Liganden an Flavin.

Zur Auswertung der Daten wurden die chemischen Verschiebungen der Signale der markierten Protonen gegen das Konzentrationsverhältnis DAP/Flavin aufgetragen. Abbildung 26 zeigt die Sättigungskurven, die durch Verfolgen der Tieffeldshifts der NH(3)-Protonensignale für die drei Nanopartikel erhaltenen wurden. Die entsprechenden Kurven, die die Verschiebung der Signale der ArH(6)- und ArH(9)-Protonen zeigen, sind in Abbildung 27 gezeigt.

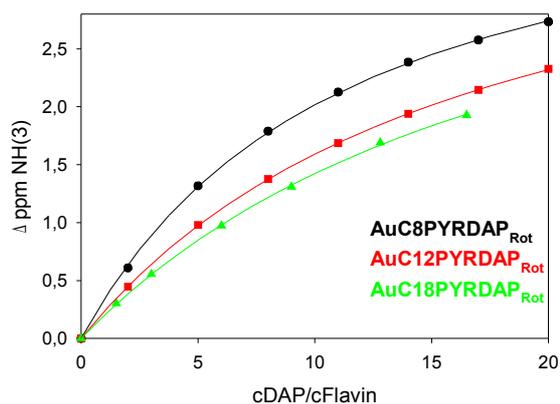


Abb. 26: Bindungsisothermen, die sich bei Titration von Flavin mit **AuC8PYRDAP_{Rot}**,

AuC12PYRDAP_{Rot} und **AuC18PYRDAP_{Rot}** ergeben, wenn die chemische Verschiebung des Flavin NH(3)-Signals verfolgt wird.

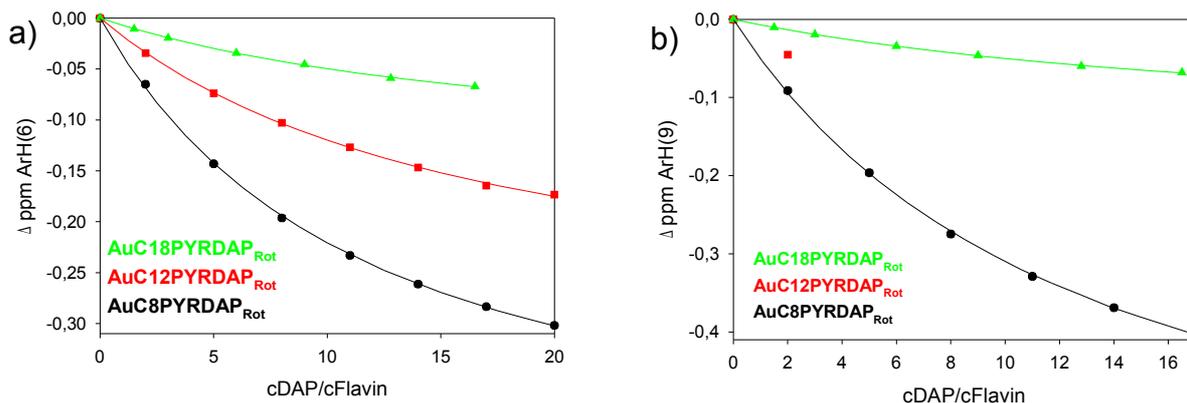


Abb. 27: Bindungsisothermen, die sich bei Titration von Flavin mit **AuC8PYRDAP_{Rot}**

AuC12PYRDAP_{Rot} und **AuC18PYRDAP_{Rot}** ergeben, wenn die chemischen Verschiebungen der Flavin ArH(6) Signale a) und ArH(9) Signale b) verfolgt werden.

Es zeigte sich, dass das maximale Ausmaß der Signalverschiebung aller verfolgten Protonensorten in der Reihenfolge **AuC18PYRDAP_{Rot}** < **AuC12PYRDAP_{Rot}** < **AuC8PYRDAP_{Rot}** zunimmt. In Abb. 27 b) sind für **AuC12PYRDAP_{Rot}** nur zwei Datenpunkte und keine Kurve gezeigt. Der Grund hierfür ist die Überlagerung der betreffenden Signale mit dem des Lösungsmittels. Dieser Sachverhalt ist gut in Abb. 24 zu erkennen.

Durch nicht-lineare Regression wurden aus diesen Bindungsisothermen die in Tabelle 4 gezeigten Werte für die Bindungskonstanten K_a und die maximalen Shifts $\Delta\delta_{\max}$ erhalten.

	AuC8PYRDAP_{Rot}	AuC12PYRDAP_{Rot}	AuC18PYRDAP_{Rot}	
K_a/M^{-1}	NH(3)	289±7	189±2	140±2
	ArH(6)	276±9	189±9	148±4
	ArH(9)	253±9	-	118±5
$\Delta\delta_{\max}/\text{ppm}$	NH(3)	4.21±0.05	4.22±0.02	4.25±0.04
	ArH(6)	-0.47±0.01	-0.32±0.01	-0.15±0.01
	ArH(9)	-0.70±0.01	-	-0.18±0.01

Tab. 4: Bindungskonstanten der Flavinkomplexe von **AuC8PYRDAP_{Rot}**, **AuC12PYRDAP_{Rot}** und **AuC18PYRDAP_{Rot}** in $CDCl_3$ und maximale Shifts der für die Auswertung verwendeten Protonensignale.

Die Bindungskonstanten aller Rezeptoren liegen in der gleichen Größenordnung wie der von Rotello für **AuC8PYRDAP_{Rot}** angegebene Wert ($168 M^{-1}$).¹³⁹ Von den hier untersuchten

Nanopartikeln besitzt **AuC8PYRDAP_{Rot}** mit einem K_d von 280 M^{-1} die höchste Flavinaffinität. Mit zunehmender Länge der passivierenden Alkylketten nehmen die Bindungskonstanten ab. Dabei scheint die direkte Wechselwirkung zwischen Flavin und DAP bei allen Rezeptoren ähnlich zu sein, was die praktisch identischen Werte für die maximale chemische Verschiebung des Flavin NH(3)-Protonensignals bei vollständiger Komplexbildung andeutet. Die kontinuierliche Verschlechterung der Flavinaffinität von **AuC8PYRDAP_{Rot}** über **AuC12PYRDAP_{Rot}** zu **AuC18PYRDAP_{Rot}** ist also auf die Verlängerung der Alkylketten des Alkylthiol-Liganden in dieser Reihenfolge und/oder die Abnahme der Anzahl der Pyreneinheiten zurückzuführen. Wahrscheinlich spielt beides eine Rolle. Durch die Verlängerung der Alkylketten erfolgt der Bindungsvorgang mehr und mehr im Inneren der Monoschicht. Auch wenn dadurch potentiell Wasserstoffbrückenbindungen verstärkt werden, können sterische Effekte die Bindung negativ beeinflussen. Weiterhin besitzen die Pyreneinheiten nach dem von Rotello vorgeschlagenen Bindungsmodell ebenfalls einen großen Einfluss auf die Komplexstabilität, da sie aromatische Wechselwirkungen mit dem gebundenen Flavin eingehen. Je weniger Pyren-Liganden sich auf dem Nanopartikel befinden, desto weniger stark ist der stabilisierende Effekt dieser Liganden ausgeprägt, was die Komplexstabilität senkt.

Die Verifizierung dieser Ergebnisse durch die Bestimmung der Bindungsaffinität mit einer komplementären Methode, nämlich der isothermen Titrationskalorimetrie, ist aus technischen Gründen leider nicht gelungen.

Ein weiterer wichtiger Aspekt des von Rotello beschriebenen Flavinrezeptors war dessen zeitabhängige Veränderung der Substrataffinität. Dieses Phänomen wurde mit einer Migration der Liganden auf der Nanopartikeloberfläche erklärt, wodurch die Oberflächenstruktur für das gegebene Substrat optimiert wird und es zu einer effektiveren Bindung kommt (vgl. Kapitel 2.2.). Um dieses Ergebnis zu überprüfen, wurden die in den NMR-Titrationsversuchen verwendeten Proben nach sieben Tagen ein weiteres Mal vermessen. Die Sättigungskurven von **AuC12PYRDAP_{Rot}** direkt nach Substratzugabe im Vergleich zu den Sättigungskurven nach 7 d sind in Abbildung 28 und 29 gezeigt.

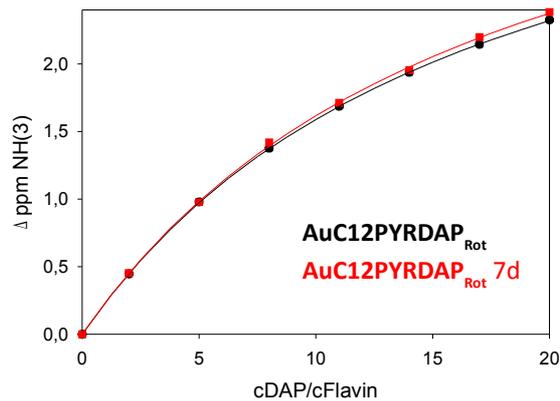


Abb. 28: Bindungsisothermen, die sich beim Verfolgen des NH(3)-Signals von Flavin bei Titration mit **AuC12PYRDAP_{Rot}** bei sofortiger Messung (schwarz) und bei Messung der Proben nach 7 d (rot) ergeben.

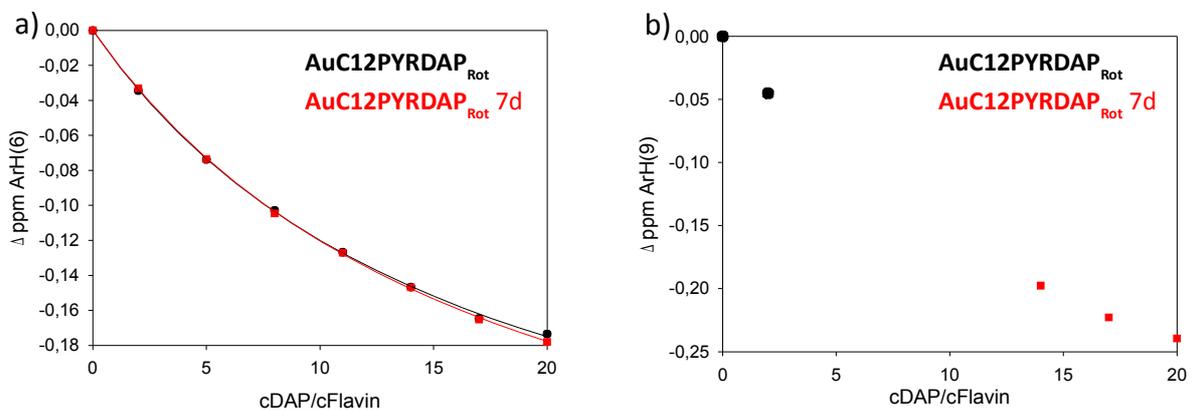


Abb. 29: Bindungsisothermen, die sich beim Verfolgen des a) ArH(6)- und b) ArH(9)-Signals von Flavin bei Titration mit **AuC12PYRDAP_{Rot}** bei sofortiger Messung (schwarz) und bei Messung der Proben nach 7 d (rot) ergeben.

Die Überlagerung der Kurven zeigt qualitativ, dass bei diesen Rezeptoren im Rahmen dieser Messungen keine zeitabhängige Zunahme der Flavinaffinität zu beobachten ist. Dies belegen quantitativ auch die in Tabelle 5 enthaltenen Bindungskonstanten, die sich nicht nennenswert von denen in Tab. 4 unterscheiden.

		AuC8PYRDAP_{Rot} (4 d)	AuC12PYRDAP_{Rot} (7 d)	AuC18PYRDAP_{Rot} (4 d)
K_a/M^{-1}	NH(3)	294±12	181±7	140±8
	ArH(6)	278±11	176±5	145±9
	ArH(9)	270±12	-	134±8
$\Delta\delta_{\max}/\text{ppm}$	NH(3)	4.22±0.08	4.40±0.10	4.28±0.15
	ArH(6)	-0.48±0.01	-0.32±0.01	-0.15±0.01
	ArH(9)	-0.68±0.01	-	-0.16±0.01

*Tab. 5: Bindungskonstanten der Flavinkomplexe von **AuC8PYRDAP_{Rot}**, **AuC12PYRDAP_{Rot}** und **AuC18PYRDAP_{Rot}** in $CDCl_3$ und maximale Shifts der für die Auswertung verwendeten Protonensignale. Die Messungen erfolgten in diesem Fall nicht wie in Tab. 4 unmittelbar nach Mischen der Komponenten, sondern nach 4 d bzw. bei **AuC12PYRDAP_{Rot}** nach 7 d.*

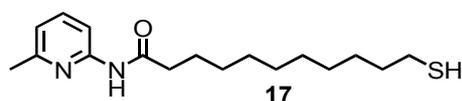
Auch wenn die bei den Titrations bestimmten Bindungskonstanten in einer ähnlichen Größenordnung liegen, wie jene, die Rotello angibt, konnte sein Ergebnis bezüglich der zeitabhängigen Bindungsverstärkung nicht verifiziert werden. Die Ursache hierfür ist unklar. Es ist denkbar, dass Rotello andere Bedingungen für die Titration wählte. Leider lassen die Angaben zur Wirt-Gast-Titration im Experimentellen Teil des betreffenden Artikels von Rotello keine detaillierten Aussagen über die Unterschiede in den Messbedingungen zu. Bei den von Rotello nicht untersuchten Nanopartikeln mit den längeren Alkylketten **AuC12PYRDAP_{Rot}** und **AuC18PYRDAP_{Rot}** kann das Ausbleiben einer zeitabhängigen Zunahme der Substrataffinität auf eine geringere Mobilität der Liganden auf der Nanopartikeloberfläche hindeuten, die bei Zunahme der Kettenlänge der Liganden im Allgemeinen beobachtet wird.¹⁶⁵

Für das hier verfolgte Konzept ist das Ausbleiben einer zeitabhängigen Veränderung der Bindungsaffinität von Vorteil. Dynamische Prozesse, wie die zeitabhängige Migration von Liganden auf der Nanopartikeloberfläche, könnten Templat-induzierte optimierte Oberflächenstrukturen auf Goldnanopartikeln zerstören. Die im Rahmen dieser Arbeit erhaltenen Ergebnisse zeigen, dass Ligandenmigrationen wahrscheinlich, zumindest bei Raumtemperatur, keine Vorgänge darstellen, die die Bindungsaffinität eines Goldnanopartikel-basierten Rezeptors signifikant beeinflussen. Analoge Befunde gibt es an anderer Stelle auch in der Literatur.^{166,167} Auf Basis der erhaltenen Ergebnisse erschien es darum vielversprechend, das Konzept Goldnanopartikel-basierte Rezeptoren durch Ausnutzen von Templateffekten während der Ligandenaustauschreaktion weiter zu verfolgen.

4.3. Synthesen zur Ligandenaustauschreaktion

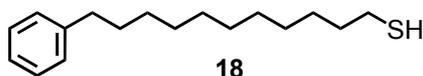
Im Rahmen der weiteren Arbeiten sollten Flavinrezeptoren auf Basis von Goldnanopartikeln synthetisiert werden, indem Alkylthiol-modifizierte Goldnanopartikel mit funktionalisierten Thiolen in Gegenwart von Flavin als Templat synthetisiert werden. Als funktionalisierte Liganden sollen neben dem Diaminopyridin-haltigen Liganden **30** und dem Pyren-haltigen Liganden **26** auch Liganden mit anderen funktionellen Gruppen eingesetzt werden, um den Einfluss der Ligandenstruktur auf Templateffekte bzw. Bindungseigenschaften der Produkte zu untersuchen. Konkret wurden folgende Thiole in die Untersuchung einbezogen:

- Thiol **17** (Schema 18) enthält eine Methylpyridinfunktion, die an Flavin **16** nur über zwei Wasserstoffbrücken binden sollte. Somit ist eine geringere Affinität zum Templat im Vergleich zur Diaminopyridingruppe von **30** zu erwarten.



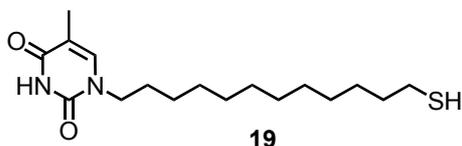
Schema 18

- Das aromatische Thiol **18** (Schema 19) verfügt über ein kleineres aromatisches System als die Pyrengruppe. Damit sinkt die Fähigkeit zur Ausbildung von π -Stacking Wechselwirkungen.



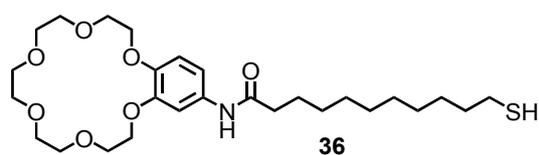
Schema 19

- Thiol **19** (Schema 20) kann zu einem Templat, welches eine Diaminopyridinfunktion enthält, drei Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden. Hingegen ist eine schwache bis keine Wechselwirkung mit Flavin zu erwarten.



Schema 20

- Thiol **36** (Schema 21) verfügt über eine Kronenetherfunktion, die es ermöglicht, mit Templaten, die eine Ammoniumgruppe enthalten, in Wechselwirkung zu treten.

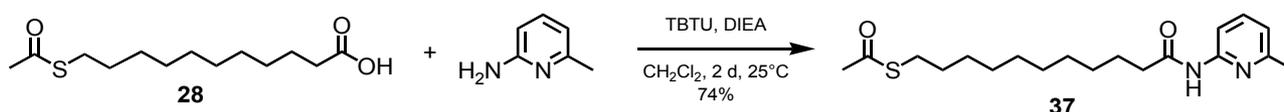


Schema 21

Alle dargestellten Liganden wurden in acetylgeschützter Form isoliert. Die Freisetzung der freien Thiolgruppen erfolgte erst unmittelbar vor Durchführung der Ligandenaustauschreaktionen.

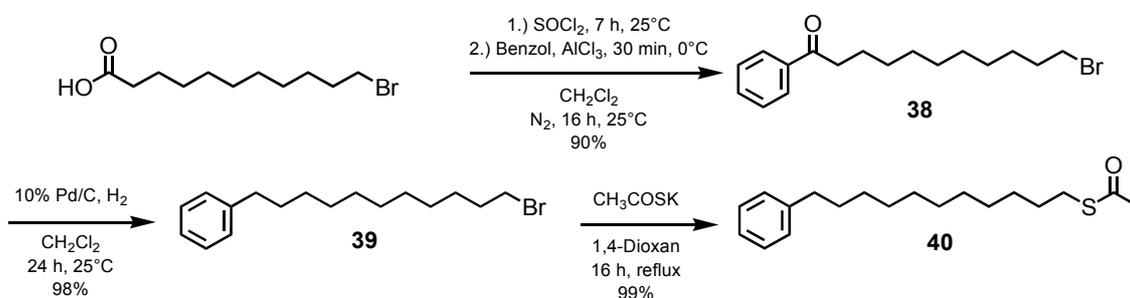
4.3.1. Synthese weiterer Ligandenvorstufen

Der acetylgeschützte Aminopyridinligand **37** wurde nach Schema 22 mit einer Standardmethode zur Knüpfung von Amidbindungen synthetisiert. Kommerziell erhältliches 2-Amino-6-methylpyridin und **28** wurden mit TBTU in basischem Milieu zu **37** gekuppelt.



Schema 22

Der Ligand mit endständiger Benzolgruppe wurde gemäß Schema 23 synthetisiert.

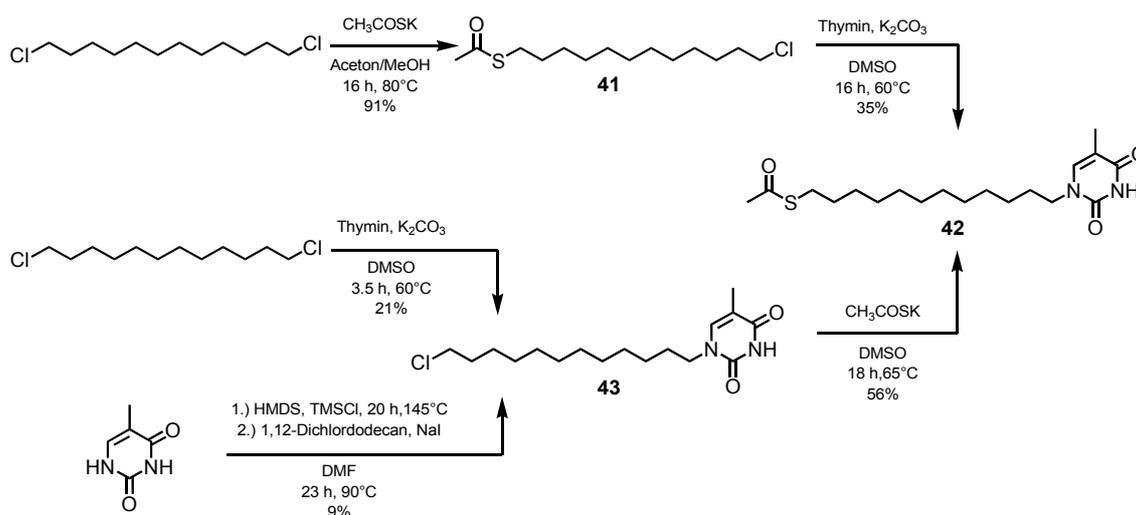


Schema 23

Die erste Stufe erfolgte angelehnt an eine Literatursynthese von Engberts.¹⁶⁸ Zunächst wurde 11-Bromundecansäure mit Thionylchlorid in das entsprechende Säurechlorid überführt und dieses ohne weitere Aufreinigung mit Benzol im Sinne einer Friedel-Crafts-Acylierung zu **38** umgesetzt. Die Carbonylgruppe in **38** wurde hydrogenolytisch reduziert. Schließlich folgte die nucleophile Substitution an **39** mit Kaliumthioacetat zu dem gewünschten acetylgeschützten Thiol **40**.

Für die Darstellung des Thyminderivats **19** wurden die in Schema 24 dargestellten Syntheserouten getestet. Bei der ersten Syntheseroute wurde 1,12-Dichlordodecan nach einer Literaturvorschrift

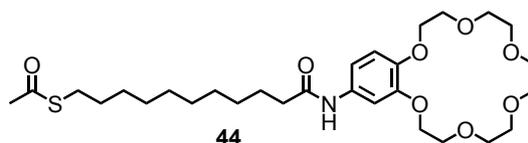
durch Zugabe von Kaliumthioacetat einfach zu **41** thioacetyliert.¹⁶⁹ Darauf folgte eine weitere Substitution mit Thymin unter basischen Bedingungen zu **42**. Die Ausbeute lag mit 35% im Rahmen der Literaturlausbeute.¹⁷⁰ Da der Schritt der Thioacetylierung schlecht reproduzierbar war und auch der zweite Syntheseschritt unbefriedigende Ausbeuten lieferte, wurden alternative Syntheserouten getestet. So wurde die Reihenfolge der Reaktionsschritte umgekehrt und zuerst Thymin mit 1,12-Dichlordodecan zu **43** umgesetzt. Die Reaktionsbedingungen wurden dabei an die einer bekannten Vorschrift für die Umsetzung von Dodecylbromid mit Uracil angelehnt.¹⁷¹



Schema 24

Auch unter optimierten Bedingungen konnte **43** allerdings nur mit 21% Ausbeute erhalten werden. Die Verwendung des bis(trimethylsilylierten) Derivats von Thymin lieferte nur eine Ausbeute von 9%. Die weitere Umsetzung von **43** mit Kaliumthioacetat gelang mit einer Ausbeute von 56%. Somit ist die Syntheseroute über **41** der günstigere Weg zu **42**. Von einer weiteren Optimierung der Reaktion wurde abgesehen, da auf diesem Weg genügend Material für die Ligandenaustauschreaktionen erhalten werden konnte.

Das Thioacetat **44** in Schema 25, welches eine Kronenetherfunktion enthält, wurde bereits während meiner Diplomarbeit synthetisiert.¹⁷²

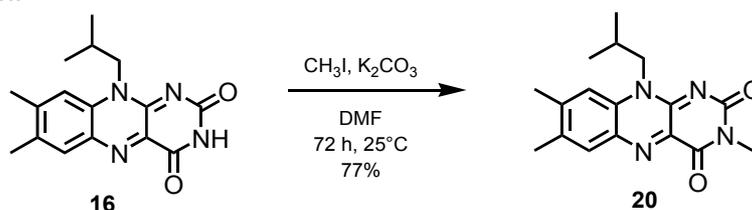


Schema 25

4.3.2. Synthese weiterer Template

In weiterführenden Untersuchungen sollten neben Flavin **16** weitere Template in Ligandenaustauschreaktionen eingesetzt werden. Diese Reaktionen sollten Informationen zum Einfluss der Templatstruktur auf die Oberflächenzusammensetzung des erhaltenen Goldnanopartikels liefern. Des weiteren sollten diese Reaktionen Hinweise geben, ob die beobachteten Templateffekte während der Ligandenaustauschreaktion geeignet sind, um neue Rezeptoren basierend auf Goldnanopartikeln für das verwendete Templat zu synthetisieren.

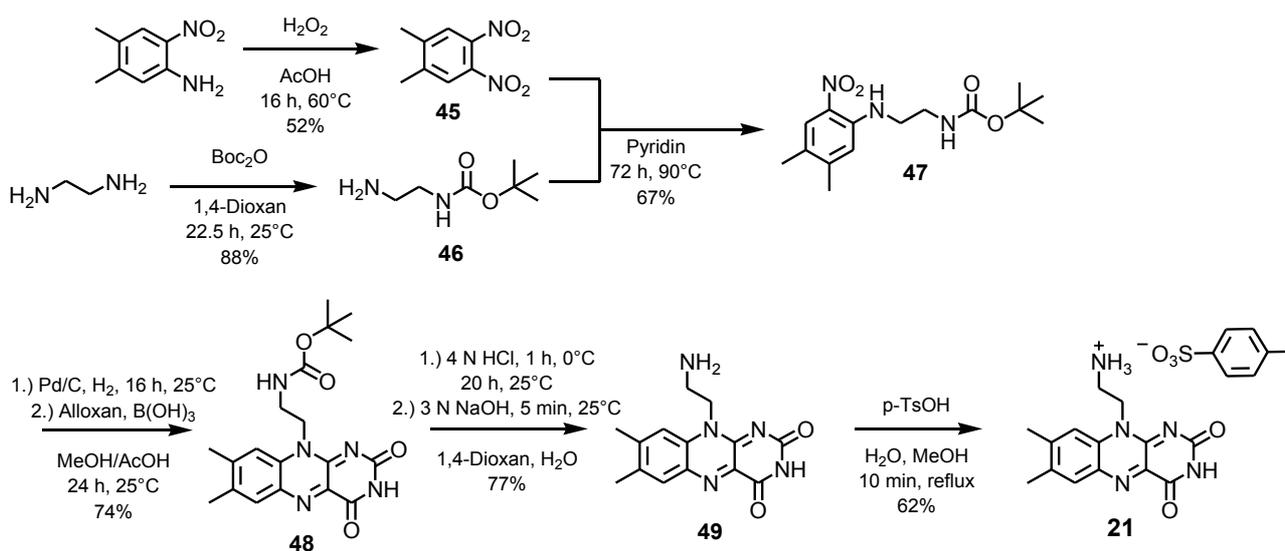
Das *N*-methylierte Derivat **20** von **16** wurde nach Schema 26 durch Umsetzung von **16** mit Methyljodid erhalten.¹⁶⁰



Schema 26

Durch Blockierung der NH-Gruppe sollte **20** nicht mehr in der Lage sein, an DAP zu binden. Aromatische Wechselwirkungen mit Pyren sind weiterhin möglich.

Ein Flavinderivat, das eine Ammoniumgruppe als weitere Bindungsstelle erhält, wurde nach Schema 27 auf Basis einer Literaturvorschrift hergestellt.¹⁷³



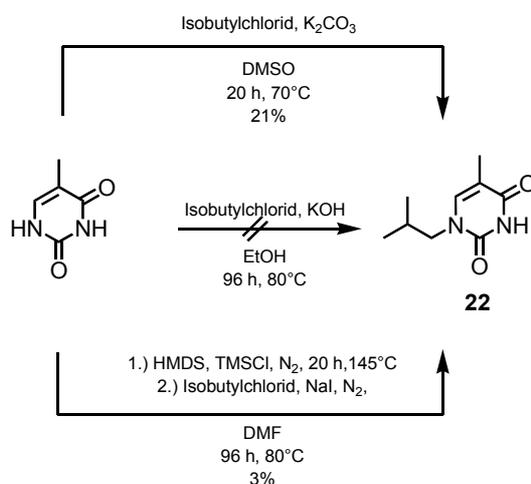
Schema 27

Zunächst wurde 4,5-Dimethyl-2-nitroanilin mit Wasserstoffperoxid in Essigsäure zu 4,5-Dimethyl-

1,2-dinitrobenzol oxidiert.¹⁷⁴ Das Produkt **45** wurde mit einfach Boc-geschütztem Ethylendiamin **46** in Pyridin zu **47** umgesetzt. Die Nitrogruppe von **47** wurde zunächst unter einer Wasserstoffatmosphäre bei Raumtemperatur reduziert. Ohne Isolierung des Zwischenprodukts wurde dann mit Alloxan-Monohydrat unter Bildung des Isoalloxazinsystems zu **48** umgesetzt. Das Produkt **48** konnte nur durch präparative HPLC analysenrein erhalten werden, was die Reinigung recht aufwendig machte. Die Boc-Schutzgruppe wurde schließlich sauer mit 4 N HCl in 1,4-Dioxan zu **49** abgespalten.

In der Literatur wurde durch Verwendung von Trifluoressigsäure für die Boc-Spaltung das Ammoniumflavin als Trifluoracetat erhalten. Hier wurde dagegen das Chloridsalz dargestellt, da sich der Anionenaustausch mit jenem als einfacher herausstellte. Für einen erfolgreichen Einsatz dieses Ammoniumions in Ligandenaustauschreaktionen ist die Wahl des Gegenions sehr wichtig. Zum einen muss das Gegenion die Löslichkeit des Salzes in Chloroform ermöglichen. Zum andern sollte es sich um ein möglichst nicht-kordinierendes Anion handeln, das die Wechselwirkung der Flavinuntereinheit mit entsprechenden Bindungspartnern über Wasserstoffbrücken nicht behindert, in dem es z.B. selbst an Wasserstoffbrückendonatoren bindet. Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene Gegenionen getestet (I^- , NO_3^- , BF_4^- , PF_6^- , BPh_4^-), wobei sich Tosylat als günstigster Kompromiss herausstellte. Das entsprechende Tosylatsalz **21** wurde nach Neutralisation der entschützten Verbindung von **48** mit NaOH und Zugabe einer äquimolaren Mengen p-Toluolsulfonsäure erhalten. Das Produkt fiel dabei leider nicht analysenrein an, war aber für die Ligandenaustauschreaktionen sauber genug.

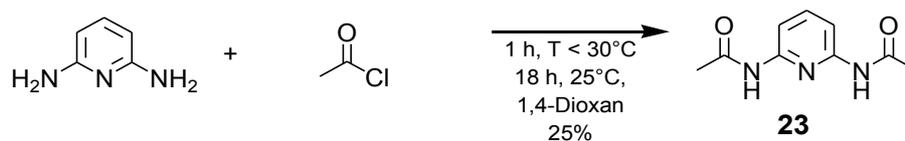
Die Darstellung eines auf Thymin basierenden Templat **22** wurde über die in Schema 28 gezeigten Synthesewege versucht.



Schema 28

Diese Synthesewege entsprechen denen, die für die Synthese von **42** verwendet wurden, mit dem Unterschied, dass Isobutylchlorid monofunktionell ist. Die Synthese in DMSO mit Kaliumcarbonat erwies sich mit 21% Ausbeute als die erfolgreichste.¹⁷¹

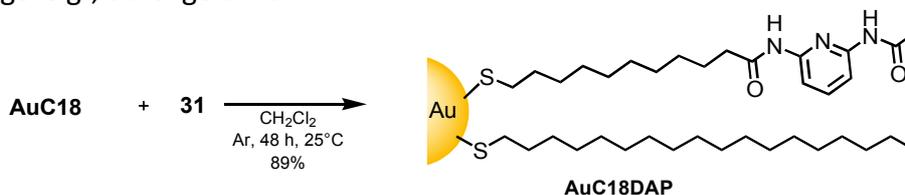
Die Synthese des diacetylierten 2,6-Diaminopyridins von **23** wurde an die Synthese des entsprechenden monoacetylierten Derivats angelehnt und ist in Schema 29 gezeigt. Der Umsatz dieser Reaktion war nahezu quantitativ, jedoch traten hohe Verluste bei der Aufreinigung zum analysenreinen Produkt auf.



Schema 29

4.3.3. Synthese weiterer Goldnanopartikel

Die Synthese eines Goldnanopartikels mit Octadecanthiol- und Diaminopyridin-Liganden wurde analog zur Vorschrift für die Herstellung der funktionalisierten Goldnanopartikel nach Rotello, wie in Schema 30 gezeigt, durchgeführt.¹³⁹



Schema 30

AuC18 wurde mit **31** in Methylenchlorid unter einer Argonatmosphäre gerührt. Der so funktionalisierte Goldnanopartikel **AuC18DAP** konnte sauber und in guten Ausbeuten erhalten werden.

4.4. Untersuchung der Ligandenaustauschreaktion

Im Hinblick auf das konkrete Projekt dieser Dissertation sollte nun untersucht werden, ob man Flavinrezeptoren auf Basis von Goldnanopartikeln durch Templat-kontrollierte Ligandenaustauschreaktionen erhalten kann. Hierzu sollten Alkylthiol-passivierte Goldnanopartikel mit den entsprechenden Thiolen der Thioacetate **26** und **30** äquilibriert werden, wobei es zum Einbau der Diaminopyridin- und Pyrenreste in die Monoschicht des Nanopartikels kommt. Wird die Reaktion

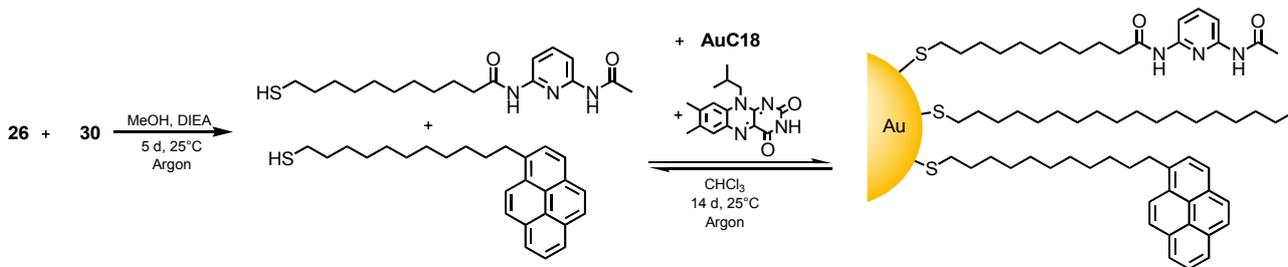
in Gegenwart von Flavin durchgeführt, kann dieses als Templat Anordnungen der drei Liganden auf der Oberfläche der Nanopartikel stabilisieren, die für eine Substratbindung besonders gut geeignet sind. Solche Nanopartikel sollten somit eine andere Oberflächenstruktur aufweisen als Nanopartikel, die in Abwesenheit des Templats hergestellt wurden.

Für die systematische Überprüfung der Realisierbarkeit dieses Konzepts mussten verschiedene Parameter die Ligandenaustauschreaktionen betreffend optimiert werden. Daneben mussten Methoden entwickelt werden, die Oberflächenstruktur der Nanopartikel zu charakterisieren. Schließlich musste in Bindungsstudien die Flavinaffinität von Nanopartikeln bestimmt werden, die in An- und Abwesenheit des Templats hergestellt wurden.

Für die Ligandenaustauschreaktion sind folgende Aspekte von Bedeutung:

- Die praktische Durchführung der Ligandenaustauschreaktion. In diesem Zusammenhang muss ein Verfahren erarbeitet werden, das es gestattet, die verwendeten Thiole in kontrollierten und reproduzierbaren Mengen zur Reaktionsmischung zuzugeben. Hierbei ist die Oxidationsempfindlichkeit der Thiole zu berücksichtigen.
- Das Verhältnis zwischen Alkylthiolen auf der Oberfläche der eingesetzten Goldnanopartikel zu zugesetzten Thiolen in Lösung.
- Die Verfolgung des zeitabhängigen Einbaus von zugesetzten Thiolen in die Monoschicht bzw. Freisetzung von gebundenen Thiolen.
- Die Charakterisierung der Oberflächenstruktur.
- Die Dauer der Reaktionen.
- Die Entwicklung eines Assays, der belegt, dass die Reaktionen unter thermodynamischer Kontrolle abläuft.
- Die Charakterisierung der Bindungseigenschaften.

Die einzelnen Arbeitsschritte werden nun am Beispiel der Grundstruktur des von Rotello untersuchten Systems mit den Liganden **26** und **30** und C12- und C18-passivierten Goldnanopartikeln erläutert. Schema 31 zeigt verallgemeinert die Durchführung einer Ligandenaustauschreaktion in Anwesenheit von Flavin **16** zur Evaluierung der obengenannten Parameter.



Schema 31

Im Folgenden werden dann weiterführende Untersuchungen beschrieben, die die Variation der eingesetzten Ligandenstruktur und des Templats beinhalten.

4.4.1. Generierung der Thiole

Für die Ligandenaustauschreaktionen werden freie Thiole benötigt. Thiole sind jedoch oxidationsempfindlich und reagieren in Gegenwart von Sauerstoff leicht zu den entsprechenden Disulfiden,¹⁴¹ die in Ligandenaustauschreaktionen aber nahezu unreaktiv sind.⁹⁴ Daher wurden alle Ligandenaustauschreaktionen unter einer Argonschutzgasatmosphäre durchgeführt und die freien Thiole erst unmittelbar vor der Reaktion durch basische Hydrolyse der entsprechenden Thioacetate freigesetzt. Als optimale Reaktionsbedingungen für die Entschützung erwies sich die Behandlung der Thioacetate in entgastem Methanol mit einem Überschuss an DIEA. Unter diesen Bedingungen kommt es zur Umesterung der Acetylgruppe, wodurch Lösungsmittel, Base und Hydrolyseprodukte bei der Aufarbeitung leicht im Vakuum entfernt werden können. Der Fortschritt der Reaktion wurde MALDI-massenspektrometrisch verfolgt.

4.4.2. Verhältnis funktionalisierter Thiole zu gebundenen Liganden

Bei einer Ligandenaustauschreaktion bestimmt die Konzentration der freien Thiole in Lösung die Austauschrate.⁹⁸ Je mehr Thiole in Lösung vorhanden sind, desto mehr gebundene Liganden werden ersetzt. In der Literatur wurde beschrieben, dass mit einem zweifachen Überschuss an Thiolen in Lösung, bezogen auf die insgesamt auf dem Nanopartikel befindlichen Thiole, etwa die Hälfte der gebundenen Liganden ausgetauscht werden.⁹⁴ Diese Austauschrate stellt einen geeigneten Ausgangspunkt für die Untersuchungen der Templat-kontrollierten Ligandenaustauschreaktionen dar. Deshalb wurde im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls ein 2:1 Verhältnis von freiem Thiol zu gebundenem gewählt. Unter Berücksichtigung eines im Verlauf dieser Arbeit publizierten Artikels zur Zusammensetzung von Nanopartikeln aus 144 Goldatomen, ergab sich später ein

exaktes Verhältnis von 1.8:1. Es wurde während der Untersuchungen nicht verändert. Eine Variation dieses Parameters könnte Gegenstand zukünftiger Arbeiten sein.

4.4.3. Auswertung der Ligandenaustauschreaktionen

Um einen Templateffekt erkennen zu können, ist es wichtig, die Ligandenaustauschreaktionen bezüglich der resultierenden Zusammensetzung der Goldnanopartikeloberfläche zu verfolgen. Für die Auswertung der Ligandenaustauschreaktionen sind drei Möglichkeiten denkbar. Die erste Möglichkeit ist eine kontinuierliche Kontrolle der Zusammensetzung der Reaktionslösung. Mit dieser Methode kann indirekt die Oberflächenbelegung des Goldnanopartikels während der Reaktion über die abnehmenden Konzentrationen der funktionalisierten Thiole und die gleichzeitige Zunahme der Alkylthiole in Lösung ermittelt werden. Die zweite Möglichkeit ist eine kontinuierliche Charakterisierung der Goldnanopartikel, mit der man die zeitliche Veränderung der Oberflächenzusammensetzung bestimmen kann. Die dritte Möglichkeit ist die Charakterisierung der isolierten Endprodukte über verschiedene Analyseverfahren nach beendeter Ligandenaustauschreaktion. Alle Möglichkeiten wurden im Verlauf der Arbeiten evaluiert und die Ergebnisse werden im Folgenden diskutiert.

Aus der zeitabhängigen Verfolgung der Abnahme der Konzentration der zugesetzten Thiole in Lösung und der gleichzeitigen Zunahme der Konzentration an gebundenen Thiolen während einer Ligandenaustauschreaktion lassen sich wichtige Informationen über deren Verlauf und Geschwindigkeit erhalten. So kann aus den relativen Verhältnissen der Thiole in Lösung am Ende der Reaktion indirekt die Oberflächenbelegung der Goldnanopartikel berechnet werden. Darüber hinaus lässt sich auch der Zeitpunkt des Erreichens des thermodynamischen Gleichgewichts leicht ermitteln.

Die Bestimmung der Thiolkonzentration in Lösung kann z.B. mittels HPLC erfolgen. Hierfür wurden während einer Ligandenaustauschreaktion in regelmäßigen Zeitabständen Proben entnommen und chromatographiert. Die Abnahme der Konzentration der funktionalisierten Thiole in Lösung konnte qualitativ verfolgt werden. Aufgrund stark streuender Messwerte waren allerdings keine quantitativen Daten erhältlich. Gründe für die Streuung der Messwerte könnten in der Probenvorbereitung liegen. Die entnommene Probe kam zwangsläufig vor der Messung mit Sauerstoff in Kontakt, wodurch ein Teil der Thiole zu Disulfiden oxidiert wurde. Dadurch erhält man

eine komplexe Mischung der unterschiedlichsten Disulfide, die eine Auswertung erschwert. Eine weitere Fehlerquelle war die fehlende UV/Vis-Aktivität der unfunktionalisierten Alkylthiole, die mit Hilfe dieses Verfahrens also nicht detektierbar waren.

Alternativ wurde auch eine Reaktionskontrolle mittels GC-MS getestet. In der Literatur ist ein Beispiel für die Verfolgung einer Ligandenaustauschreaktion mittels GC-MS beschrieben.¹⁴³ Bei den hier durchgeführten Messungen konnte die thioacetylierte Ligandenvorstufe Ac-PYR allerdings nicht detektiert werden, worauf diese Analysemethoden nicht weiter untersucht wurde.

Eine Methode zur kontinuierlichen Verfolgung der Zusammensetzung der Nanopartikel während der Ligandenaustauschreaktion besteht in der Bestimmung der Masse eines intakten Goldnanopartikels über MALDI/TOF-MS.¹⁷⁵ Da die Charakterisierung der unfunktionalisierten intakten Goldnanopartikels allerdings nicht gelungen ist (s. Kap. 4.1.), konnte diese Methode nicht zur Charakterisierung der Goldnanopartikeloberfläche verwendet werden.

Für die Charakterisierung der Goldnanopartikel nach Abschluss der Ligandenaustauschreaktion sind mehrere Methoden denkbar.

So eignet sich die Elementaranalyse z.B. zur Bestimmung der Oberflächenzusammensetzung von Goldnanopartikeln.¹⁷⁶ Diese Methode beschränkt sich jedoch auf Liganden, die über unterschiedliche Heteroatome verfügen. Bei Verwendung von vielen ähnlichen Liganden ist diese Methode ungeeignet.

Die Charakterisierung der Zusammensetzung von Goldnanopartikeloberflächen mittels ¹H-NMR-Spektroskopie ist eine der am häufigsten verwendeten Methoden. Zur Auswertung werden charakteristische Protonensignale der gebundenen Liganden integriert und die Integrale ins Verhältnis gesetzt.⁹⁷ Um eine korrekte Integration zu gewährleisten, müssen die zur Auswertung herangezogenen Signale allerdings Basislinien-getrennt sein. Bei dem hier untersuchten System überlagerten sich die Signale des PYR- und DAP-Liganden und eine verlässliche Integration zur Bestimmung der Verhältnisse dieser beiden Liganden war nicht möglich.

Schließlich besteht auch die Möglichkeit, die Oberflächenzusammensetzung von Goldnanopartikeln durch Iodabbau gefolgt von ¹H-NMR-spektroskopischer Charakterisierung zu bestimmen. Hierbei wird elementares Iod zu einer Lösung der Goldnanopartikel gegeben. Unter diesen Bedingungen wird die passivierende Thiolschicht quantitativ in die entsprechenden Disulfide überführt, die Goldcluster agglomerieren zu elementarem Gold und fallen aus.¹⁶³ In der Lösung

verbleiben die freien Disulfide, die im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum scharfe Signale aufweisen, welche nun einfach integriert werden können.

Auf Basis der in der Literatur beschriebenen Methode des Iodabbaus wurde das Verfahren für das hier untersuchte Modellsystem optimiert.¹⁶³ Im optimierten Verfahren wurde der Iodabbau direkt in einem deuterierten Lösungsmittelgemisch aus $\text{CD}_2\text{Cl}_2/\text{DMSO-d}_6$ durchgeführt. Die Goldnanopartikelagglomerate wurden nach einer Reaktionszeit von 3 h abzentrifugiert, die überstehende Lösung in ein NMR-Röhrchen überführt und das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum vermessen. Dieses Verfahren ist schneller und effizienter als das Literaturverfahren.¹⁶³ Die Zugabe von DMSO-d_6 erhöhte die Qualität der erhaltenen Spektren.

Die Quantifizierung der Zusammensetzung der Goldnanopartikel soll am Beispiel eines $^1\text{H-NMR}$ -Spektrums, das nach Iodabbau eines Nanopartikels mit C12-, PYR- und DAP-Liganden erhalten wurde, erläutert werden (Abbildung 30).

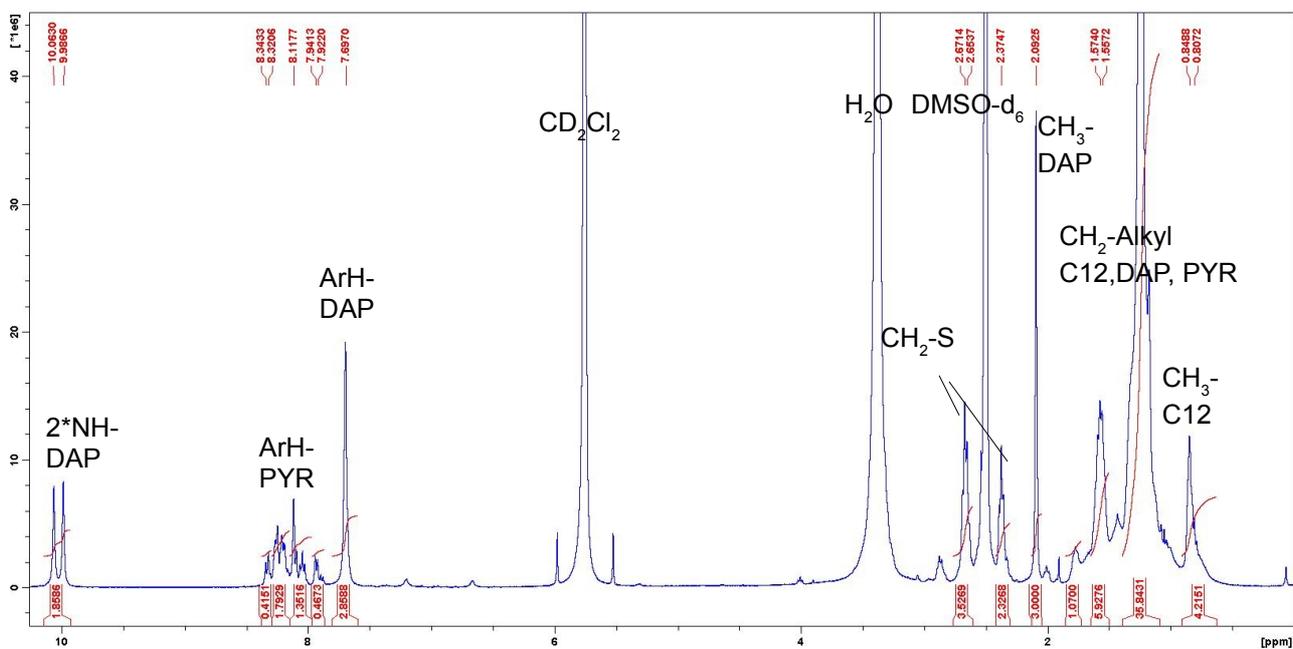


Abb. 30: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum, das nach Iodabbau eines funktionalisierten Goldnanopartikels erhalten wurde. Das Lösungsmittel ist $\text{CD}_2\text{Cl}_2/\text{DMSO-d}_6$.

In Abb. 30 sind deutlich die scharfen Signale der verschiedenen Liganden zu erkennen. Im Bereich zwischen 7.5 ppm und 8.5 ppm sieht man außerdem, dass sich die aromatischen Signale von PYR und DAP nicht überlagern.

Für die Bestimmung der Oberflächenzusammensetzung wurden die charakteristischen Signale der verschiedenen Liganden zunächst zugeordnet und integriert (DAP: 2.09 ppm, C12: 0.84 ppm und

Templat mehr enthalten, da diese die Auswertung stören. Zudem muss von jedem Liganden ein separates Protonensignal im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum auftreten. Bei strukturell zu ähnlichen Liganden kann dies ein Problem darstellen. So wäre es beispielsweise nicht möglich, die Verhältnisse von Dodecanthiol- und Octadecanthiol-Liganden nebeneinander zu bestimmen, da die NMR-Spektren beider Verbindungen nahezu identisch sind. Auch der Vorgang der Integration ist mit einem Fehler behaftet, den man mit etwa 5% abschätzen kann und es müssen Wägefehler bei Standard und Goldnanopartikeln berücksichtigt werden. Diese Fehler beeinflussen die Genauigkeit jeder einzelnen Reaktion und entsprechend die Reproduzierbarkeit der Daten. Nicht zu vernachlässigen ist weiterhin, dass die Ergebnisse bei Verwendung verschiedener Nanopartikelchargen Schwankungen unterworfen sein können.⁹⁸ Da Goldnanopartikel Alterungsprozessen unterliegen, die zu einer veränderten Kinetik des Ligandenaustauschs führen können,¹⁷⁷ sollten die verwendeten Goldnanopartikel möglichst frisch hergestellt werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden nie Nanopartikel eingesetzt, die älter als drei Monate waren.

Um diese systematischen Fehler bei den qualitativen Untersuchungen zu minimieren, wurden stets parallel mindestens zwei Ligandenaustauschreaktionen durchgeführt und der Mittelwert berechnet. In einzelnen Fällen wurden Ligandenaustauschreaktionen in einer unabhängigen Messreihe wiederholt. Die Abweichungen der gemittelten Messergebnisse sind durch Fehlerbalken gekennzeichnet.¹⁷⁷

4.4.4. Untersuchungen zur Einstellung des Gleichgewichts

Da das Fortschreiten einer Ligandenaustauschreaktion nicht kontinuierlich verfolgt werden konnte, wurde ein anderes Experiment konzipiert, um zu bestimmen, nach welchem Zeitpunkt das thermodynamische Gleichgewicht erreicht ist. Hierfür wurde eine Ligandenaustauschreaktion mit **AuC12** in Anwesenheit des Templats Flavin unter den in Tabelle 6 angegebenen Bedingungen angesetzt.

Die Stoffmenge an **AuC12** wurde unter der Annahme, dass im Mittel ein Goldcluster mit 144 Goldatomen (Kap. 4.1) vorliegt, welcher eine Summenformel von $\text{Au}_{144}\text{C}_{12}_{60}$ (MW = 40423.68 g/mol) aufweist, berechnet. Folglich ergibt sich die Stoffmenge an gebundenem Ligand C12 durch Multiplikation der verwendeten Stoffmenge an Goldnanopartikeln mit 60. Die freien Thiole wurden in einem 1.8-fachen Überschuss eingesetzt (Kap. 4.4.2.), wobei gleiche Stoffmengen beider Thiole verwendet wurden. Das Templat wurde in äquimolaren Mengen zur Diaminopyridinverbindung eingesetzt.

Ligandenaustauschreaktion	
H-DAP	121.0 μmol
H-PYR	121.0 μmol
AuC12	2.22 μmol
↳ entspricht C12	133.4 μmol
Flavin	121.0 μmol
Gesamtvolumen (CHCl_3)	32.7 ml

CCCCCCCCCCCCS
H-DAP

CCCCCCCCCCCCS
H-PYR

Cc1c[nH]c2c(=O)[nH]c(=O)c12
Flavin

Tab. 6: Bedingungen in der Ligandenaustauschreaktion, die zur Untersuchung der zeitlichen Veränderung der Oberflächenbelegung verwendet wurde.

Diese Mischung wurde bei Raumtemperatur inkubiert und es wurden in kontinuierlichen Zeitabständen Proben entnommen. Nach Aufarbeitung der Nanopartikel wurden diese durch Iodabbau analysiert. Das Ergebnis ist in Abbildung 32 gezeigt.

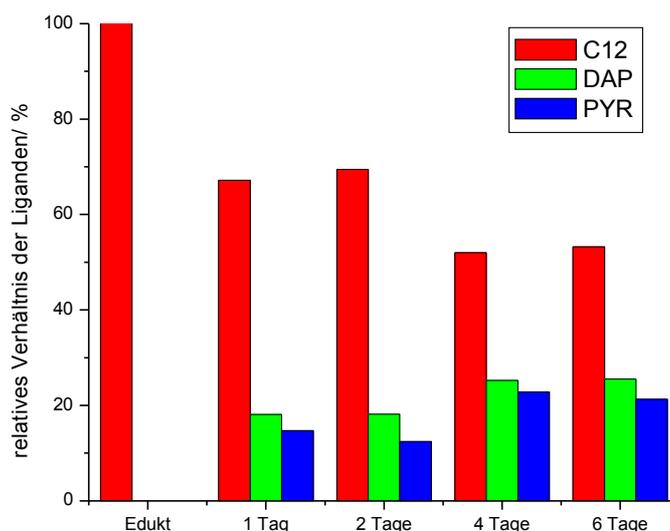


Abb. 32: Zeitliche Entwicklung der Oberflächenbelegung eines Goldnanopartikels während einer Ligandenaustauschreaktion unter den in Tab. 6 angegebenen Bedingungen.

Nach 2 d waren etwa 30% der C12-Liganden durch funktionalisierte Liganden ersetzt worden, deren Anzahl nach 4 d auf insgesamt etwa 50% stieg. Dies entspricht dem typischen Wert für Nanopartikel dieser Größe.⁹⁵ Nach 6 d veränderte sich dieses Verhältnis nicht mehr, was für das Erreichen des Gleichgewichtszustands spricht. Angaben in der Literatur zur Geschwindigkeit des Ligandenaustauschs bewegen sich in einer analogen Größenordnung. Der überwiegende

Austausch wird nach einem Tag beobachtet und die Oberflächenbelegung verändert sich danach nur noch langsam.⁹⁵

Da das vollständige Erreichen des thermodynamischen Gleichgewichts ein wichtiger Aspekt für die in dieser Arbeit behandelte Fragestellung darstellt, wurden die Ligandenaustauschreaktionen in allen folgenden Experimenten sicherheitshalber für 14 d gerührt.

4.4.5. Untersuchungen zur Templatmenge

Wie schon in Kapitel 2.2. erwähnt, kann die Templatmenge das Gelingen einer Reaktion in der dynamischen kombinatorischen Chemie entscheidend beeinflussen.^{119,120} Daher war es für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen außerordentlich wichtig, die für die Austauschreaktionen günstige Templatmenge zu identifizieren. Diese musste einerseits hoch genug sein, um Templateffekte erkennen zu können. Andererseits führt eine zu hohe Templatkonzentration dazu, dass auch Wechselwirkungen des Templats mit Liganden in Lösung das Gleichgewicht beeinflussen. Die Wirkung des Templats soll aber auf Wechselwirkungen an der Nanopartikeloberfläche beschränkt sein.

Zur Optimierung der Templatkonzentration wurde eine Serie von Austauschreaktionen angesetzt, bei denen nur die zugesetzte Flavinmenge variiert wurde. Die Bedingungen der einzelnen Reaktionen sind in Tabelle 7 gezeigt.

	0.0eq	0.5eq	1.0eq	1.5eq	2.0eq	3.0eq	6.0eq
	Flavin						
H-DAP/ μmol	13.5	13.5	13.5	13.5	13.5	13.5	13.5
H-PYR/ μmol	13.5	13.5	13.5	13.5	13.5	13.5	13.5
AuC12 / μmol	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
↳ entspricht C12/ μmol	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Flavin/ μmol	0	6.75	13.5	20.3	27.0	40.5	81.0
Gesamtvolumen (CHCl_3)/ ml	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63

Tab. 7: Bedingungen in den Ligandenaustauschreaktionen, die zur Untersuchung der Abhängigkeit der Oberflächenzusammensetzung von Goldnanopartikeln von der Templatmenge verwendet wurden.

Die in Tab. 7 angegebenen Templatmengen beziehen sich auf die Menge an der Diamino-

pyridinverbindung **30**. Das Ergebnis dieses Experiments ist in Abbildung 33 gezeigt.

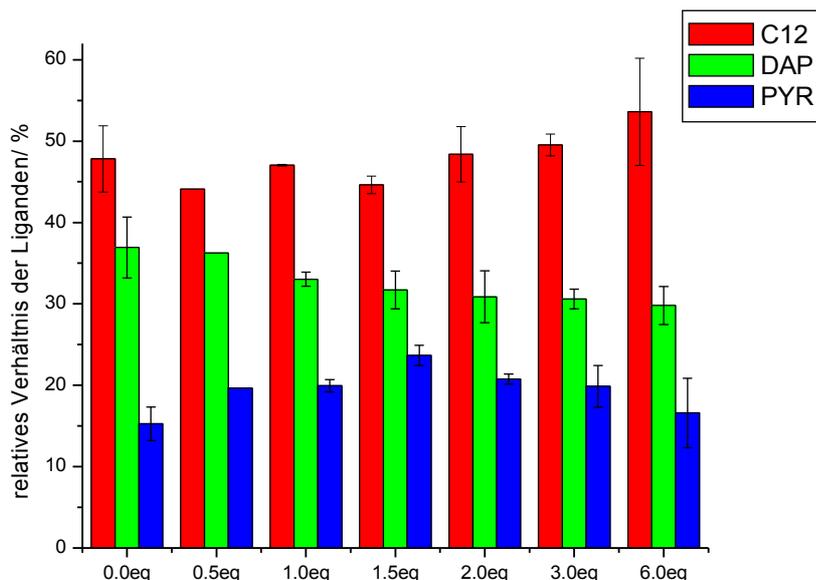


Abb. 33: Abhängigkeit der Oberflächenbelegung der Goldnanopartikel von der zugesetzten Flavinmenge während der Ligandenaustauschreaktion (Fehlerbalken entsprechen der Abweichung von mindestens zwei Reaktionen).

Ohne Templat enthält der Nanopartikel nach zwei Wochen 48% C12-Liganden, 37% DAP- und 15% PYR-Liganden an der Oberfläche. Mit steigender Templatmenge sinkt der Anteil an DAP bis auf 30%. Die Menge an C12 bleibt nahezu konstant und steigt bei Zusatz von mehr als 6 Äquivalenten Flavin auf 54% an. Interessant ist die Entwicklung des PYR-Anteils. Dieser steigt zunächst an und erreicht mit 32% ein Maximum bei den Experimenten, die 1.5 bis 2.0 Äquivalente Flavin enthalten. Dann sinkt der PYR Anteil wieder auf 17%. Einerseits belegt dieses Experiment sehr schön den Templateffekt des Flavins, da die Zusammensetzung der Goldnanopartikeloberfläche sich durch die Zugabe des Templats klar verändert. Andererseits zeigt sich aber auch, dass der signifikanteste Effekt auf den Pyrenanteil bei Zugabe von 1.5 Äquivalenten Flavin auftritt.

Es ist weiterhin bemerkenswert, dass sich bei den Reaktionen mit dem stärksten Templateffekt das Verhältnis der DAP- und PYR-Liganden einem 1:1-Verhältnis nähert. Dieses Verhältnis wäre, gemäß der von Rotello postulierten Komplexstruktur (Abb. 25), für die Bindung von Flavin ideal.

Aufgrund dieses vielversprechenden Ergebnisses wurde für die Ligandenaustauschreaktionen generell ein zweifacher Überschuss des Templats bezogen auf H-DAP eingesetzt. Der doppelte Überschuss wurde gewählt, obwohl der Templateffekt bei Anwesenheit von 1.5 Äquivalenten

Templat noch deutlicher war, da sich bei Wiederholung der Reaktion in Gegenwart von 2.0 Äquivalenten Flavin eine bessere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ergab.

4.4.6. Untersuchungen zu den Alkylthiol-Liganden

Um den Einfluss der Länge der Alkylthiolketten auf den Templateffekt zu untersuchen, wurden auch Ligandenaustauschreaktionen mit **AuC18** durchgeführt. Die Reaktionszeit und Templatmenge wurden auf Basis der in den vorangegangenen Versuchen erhaltenen Ergebnisse gewählt. In Tabelle 8 sind die Bedingungen dieser Ligandenaustauschreaktionen zusammengefasst. Für die Berechnung der Stoffmenge an freien Thiolen wurde für **AuC18** eine Summenformel von $\text{Au}_{144}\text{C}_{18}_{60}$ (MW = 45496.91 g/mol) zugrunde gelegt.

	ohne Templat	Flavin
H-DAP	13.5 μmol	13.5 μmol
H-PYR	13.5 μmol	13.5 μmol
AuC18	0.25 μmol	0.25 μmol
↳ entspricht C18	15 μmol	15 μmol
Flavin	0 μmol	27.0 μmol
Gesamtvolumen (CHCl_3)	3.63 ml	3.63 ml

Tab. 8: Bedingungen in den Ligandenaustauschreaktionen, die zur Untersuchung des Einflusses der Struktur der Alkylthiol-Liganden durchgeführt wurden.

Abbildung 34 zeigt die Ergebnisse des Iodabbaus dieser Messungen im Vergleich zu den für **AuC12** erhaltenen Ergebnissen. In Tabelle 9 sind die zugehörigen relativen Verhältnisse angegeben.

	AuC12		AuC18	
	ohne Templat	Flavin	ohne Templat	Flavin
Alkylthiol/ %	48 \pm 4	48 \pm 3	56 \pm 6	58 \pm 5
DAP/ %	37 \pm 4	31 \pm 3	28 \pm 6	18 \pm 1
PYR/ %	15 \pm 2	21 \pm 1	16 \pm 2	24 \pm 4

*Tab. 9: Oberflächenbelegung der Nanopartikel, die durch Austauschreaktionen an **AuC12** und **AuC18** erhalten wurden.*

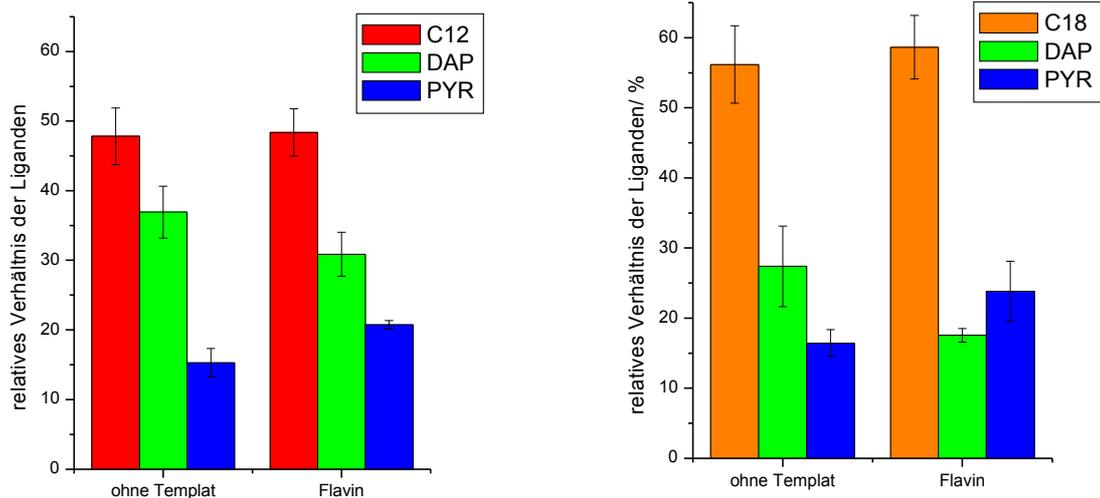


Abb. 34: Vergleich der Oberflächenbelegungen von Goldnanopartikeln, die in Austauschreaktionen an **AuC12** (links) und **AuC18** (rechts) erhalten wurden.

Man erkennt einen deutlichen Einfluss der Länge der Alkylthiolketten auf die Oberflächenbelegung der Goldnanopartikel. Mit zunehmender Kettenlänge steigt der Anteil an Alkylthiol-Liganden nach der Ligandenaustauschreaktion, während der DAP-Anteil sinkt und der PYR-Anteil nahezu konstant bleibt. Die Anwesenheit von Flavin während der Ligandenaustauschreaktionen an **AuC18** bewirkt eine Abnahme der DAP-Liganden auf dem Goldnanopartikel mit gleichzeitiger Zunahme der PYR-Liganden. Diese Tendenzen entsprechen denen, die in Austauschreaktionen an **AuC12** beobachtet wurden. Der PYR-Anteil steigt sogar soweit an, dass er den DAP-Anteil überwiegt, so dass ein DAP/PYR-Verhältnis von 1:1.3 entsteht. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass in diesen Nanopartikeln zu einem gewissen Grad eventuell eine zweite Pyrengruppe für eine zusätzliche kooperative Stabilisierung des Flavinkomplexes sorgt.

Bei diesen Messungen zeigte sich außerdem, dass der Einfluss des Templats auf die relativen Verhältnisse der Liganden bei Verwendung der **AuC18**-Nanopartikel deutlicher ist. Der DAP-Anteil sinkt um 10% und der PYR-Anteil steigt um 8%, wenn die Reaktion in Gegenwart von Flavin durchgeführt wird, während sich bei **AuC12** die Oberflächenanteile der einzelnen Liganden nur um 6% verändern.

Weiterhin ist auffallend, dass der aus **AuC18** erhaltene funktionalisierte Goldnanopartikel einen viel höheren PYR-Anteil aufweist (bis 24%), als der Goldnanopartikel, der nach der Synthesemethode nach Rotello hergestellt wurde und die gleichen funktionellen Gruppen trägt (3%, Tab. 2, Kap. 4.2.2.). Dies zeigt, dass die Einführung von funktionellen Gruppen in die

passivierende Thioischiht über die Ligandenaustauschreaktion Vorteile gegenüber der Einführung während der Nanopartikelsynthese besitzen kann.

4.4.7. Zusammenfassung zur Optimierung der Ligandenaustauschreaktion

An dieser Stelle können die Ergebnisse der Untersuchungen zu den Ligandenaustauschreaktionen folgendermaßen zusammengefasst werden.

1. Die Freisetzung der Thiol-Liganden unter basischen Bedingungen aus den entsprechenden Thioacetaten unter einer Argonschutzatmosphäre unmittelbar vor der Ligandenaustauschreaktion ist ein geeignetes Verfahren, um die unerwünschte Bildung von Disulfiden zu vermeiden.
2. Die Verwendung eines 1.8:1 Verhältnisses der funktionalisierten Thiole zu den gebundenen Alkylthiol-Liganden führt zu einem etwa 50%igen Austausch der Alkylthiol-Liganden.
3. Über den Iodabbau ist es möglich, die Oberflächenzusammensetzung des funktionalisierten Goldnanopartikels nach der Ligandenaustauschreaktion zu charakterisieren. Die Verwendung eines internen Standards führt zu einer besseren Reproduzierbarkeit der Messwerte.
4. Innerhalb von 14 d stellt sich bei einer Ligandenaustauschreaktion das thermodynamische Gleichgewicht ein.
5. Bei Verwendung von 2 Äquivalenten Flavin in Bezug auf den Diaminopyridin-haltigen Liganden wird ein signifikanter Templateffekt beobachtet, der sich in einer Abnahme des DAP-Anteils und einer Zunahme des PYR-Anteils auf der Goldnanopartikeloberfläche äußert, bis nahezu ein 1:1-Verhältnis erreicht wird.
6. Dieser Templateffekt ist bei der Verwendung von **AuC18** während der Austauschreaktion deutlich ausgeprägter.

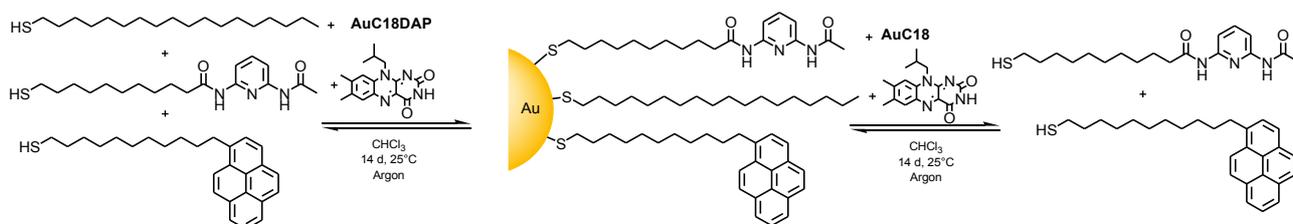
4.5. Reversibilität der Ligandenaustauschreaktion

Ein wichtiges Kriterium von dynamischen kombinatorischen Bibliotheken niedermolekularer Verbindungen ist, dass die Zusammensetzung im Gleichgewichtszustand unter ansonsten identischen Bedingungen unabhängig von der Bibliothekszusammensetzung zu Beginn der

Reaktion ist.¹⁷⁸ Stört man beispielsweise den Gleichgewichtszustand einer dynamischen Bibliothek durch Temperaturerhöhung, so stellt sich ein neuer Gleichgewichtszustand ein und bei Abkühlung auf die Anfangstemperatur wird der ursprüngliche Gleichgewichtszustand wieder regeneriert. Das bedeutet folglich, dass unabhängig von der Temperatur, bei der die Bibliothek angesetzt wurde, sie im Gleichgewicht bei einer definierten Temperatur immer die gleiche Zusammensetzung aufweist. Typischerweise wird überprüft, ob eine DCL tatsächlich einer thermodynamischen Kontrolle unterliegt, indem man in einem Ansatz die Edukte einer Reaktion und in einem zweiten Ansatz die Produkte derselben Reaktion einsetzt. Die Mengen der Einzelkomponenten in beiden Reaktionen müssen dabei identisch sein. Nach Erreichen des Gleichgewichtszustands müssen beide Reaktionen dieselbe Zusammensetzung besitzen.

Eine analoge Strategie wurde im Rahmen dieser Arbeit angewendet, um zu zeigen, dass auch Ligandenaustauschreaktionen der thermodynamischen Kontrolle unterliegen. Dies stellt eine wichtige Voraussetzung für einen Einsatz von Ligandenaustauschreaktionen an Goldnanopartikeln in der DCC dar.

Als erste Ligandenaustauschreaktion wurde für dieses Experiment die Reaktion von **AuC18** mit H-DAP und H-PYR unter dem Einfluss von Flavin als Templat gewählt. Für die zweite Reaktion wurde als Ausgangsmaterial ein Goldnanopartikel verwendet, der neben C18- schon Diaminopyridineinheiten enthielt. Die Synthese dieses Goldnanopartikels **AuC18DAP** ist in Schema 30 gezeigt. Das Konzept des Experiments verdeutlicht Schema 33.



Schema 33

Ergebnisse zu der Ligandenaustauschreaktion von **AuC18** liegen schon vor. Die Bedingungen der Ligandenaustauschreaktionen, die mit **AuC18DAP** durchgeführt wurden, sind in Tabelle 10 gezeigt. Um eine analoge Zusammensetzung dieser Reaktionen und den mit **AuC18** durchgeführten Reaktionen zu realisieren, wurde die Menge an zugegebenen H-DAP um den Betrag reduziert, der bereits auf **AuC18DAP** gebunden war. Die zugesetzte Menge an H-PYR musste nicht verändert werden.

	ohne Templat	Flavin
H-DAP	11.8 μmol	11.8 μmol
H-PYR	13.5 μmol	13.5 μmol
H-C18	1.8 μmol	1.8 μmol
AuC18DAP	0.22 μmol	0.22 μmol
↳ entspricht C18	11.6 μmol	11.6 μmol
↳ entspricht DAP	1.8 μmol	1.8 μmol
Flavin	0 μmol	27.0 μmol
Gesamtvolumen (CHCl_3)	3.63 ml	3.63 ml

Tab. 10: Bedingungen in den Ligandenaustauschreaktionen ausgehend von **AuC18DAP**, die zur Untersuchung der Reversibilität der Austauschreaktionen verwendet wurden.

Die Stoffmenge an DAP und C18, die auf **AuC18DAP** gebunden war, wurde mit Hilfe des Iodabbaus bestimmt und durch Aufnahme eines ^1H -NMR-Spektrums des unzersetzten Nanopartikels sowie einer CHNS-Analyse bestätigt. Ausgehend davon konnten die für die Reaktion von **AuC18DAP** notwendigen Ligandenmengen berechnet werden. Alle anderen Reaktionsparameter und auch die Aufarbeitung wurden nicht verändert. Nach Aufarbeitung erfolgte der Iodabbau. Die Zusammensetzungen der erhaltenen Produkte sind in Tabelle 11 angegeben und in Abbildung 35 graphisch dargestellt.

	AuC18		AuC18DAP	
	ohne Templat	Flavin	ohne Templat	Flavin
C18/ %	56 \pm 6	58 \pm 5	56 \pm 1	56 \pm 5
DAP/ %	28 \pm 6	18 \pm 1	28 \pm 2	21 \pm 3
PYR/ %	16 \pm 2	24 \pm 4	16 \pm 1	23 \pm 2

Tab. 11: Oberflächenbelegung der Goldnanopartikel, die ausgehend von den unterschiedlichen Edukten **AuC18** und **AuC18DAP** erhalten wurden.

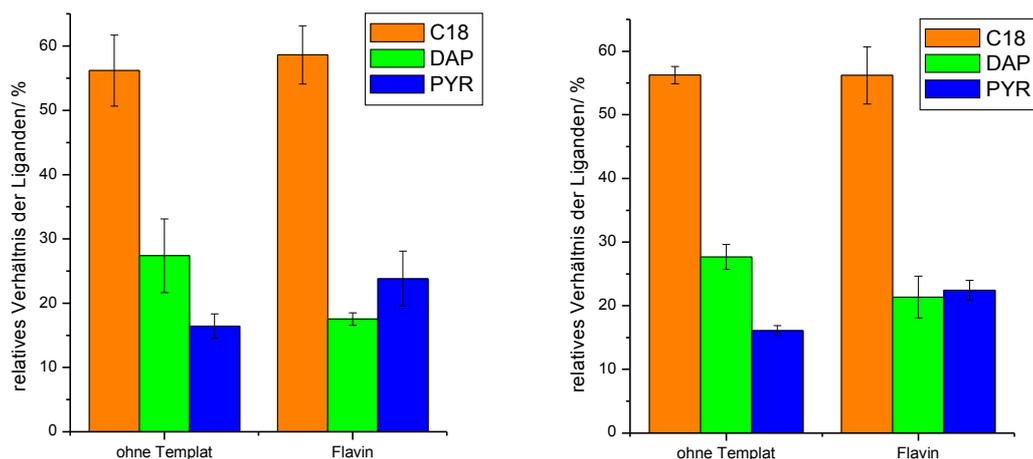


Abb. 35: Vergleich der Oberflächenbelegungen von Goldnanopartikeln, die ausgehend von den unterschiedlichen Edukten **AuC18** (links) und **AuC18DAP** (rechts) erhalten wurden.

Die Oberflächen der Goldnanopartikel enthielten nach der Ligandenaustauschreaktion 56% C18-, 28% DAP- und 16% PYR-Liganden bei Einsatz von **AuC18DAP** als Edukt. Bei Durchführung der Reaktion in Gegenwart von Flavin verringerte sich der DAP-Anteil auf 21%, dagegen stieg der PYR-Anteil auf 23% an. Somit war in Anwesenheit des Templats nahezu ein 1:1-Verhältnis erreicht. Diese Tendenz ist dieselbe, die bei der Durchführung der Reaktion ausgehend von **AuC18** beobachtet wurde. Auch in absoluten Werten wurde eine ausgezeichnete Übereinstimmung der Oberflächensammensetzung der Goldnanopartikel beobachtet, die ausgehend von **AuC18** bzw. **AuC18DAP** synthetisiert wurden (Tab. 11). Dies galt für die Reaktion in Anwesenheit des Templats gleichermaßen wie für die Reaktion in Abwesenheit des Templats. Dieses Ergebnis ist also ein starker Hinweis darauf, dass bei ansonsten gleichen Bedingungen, der Endpunkt einer Ligandenaustauschreaktion unabhängig von der gewählten Ausgangssituation ist, wie es für die dynamische kombinatorische Chemie notwendig ist.

4.6. Bindungsstudien der durch Ligandenaustauschreaktionen synthetisierten Goldnanopartikel

Im nächsten Schritt sollte nun überprüft werden, ob die Nanopartikel, die in Anwesenheit und in Abwesenheit von Flavin als Templat synthetisiert wurden, auch unterschiedliche Flavinaffinitäten aufweisen. Hierfür wurde eine größere Menge an Goldnanopartikeln benötigt, damit Wirt-Gast-Titrations durchgeföhrt werden konnten. Die Bedingungen der Ligandenaustauschreaktionen im großen Maßstab sind in Tabelle 12 gezeigt.

	AuC18PYRDAP_{abs}^c	AuC18PYRDAP_{pre}^c
H-DAP	97.0 µmol	97.0 µmol
H-PYR	97.0 µmol	97.0 µmol
AuC18	1.8 µmol	1.8 µmol
↳ entspricht C18	106.2 µmol	106.2 µmol
Flavin	0 µmol	194.0 µmol
Gesamtvolumen (CHCl ₃)	26.33 ml	26.33 ml

Tab. 12: Bedingungen der Ligandenaustauschreaktionen, die im großen Maßstab synthetisiert wurden.

Die Durchführung der Reaktionen und die Aufreinigung erfolgten analog der Reaktionen im kleinen Maßstab. Tabelle 13 zeigt die Oberflächenzusammensetzung der beiden Produkte.

	AuC18PYRDAP_{abs}	AuC18PYRDAP_{pre}
C18/ %	48	64
PYR/ %	16	19
DAP/ %	36	17

Tab. 13: Oberflächenbelegung der Goldnanopartikel, die im großen Maßstab synthetisiert wurden.

Die Zusammensetzungen der Goldnanopartikel, die im großen Maßstab synthetisiert wurden, spiegeln im Rahmen des Fehlers sowohl tendenziell als auch absolut die Ergebnisse wider, die bei den Reaktionen im kleinen Maßstab beobachtet wurden.

Auf Grundlage der Summenformel Au₁₄₄SR₆₀ wurde für beide Nanopartikel auf Basis der bestimmten Ligandenverhältnisse die Anzahl der gebundenen Liganden berechnet. Diese Werte sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

	AuC18PYRDAP_{abs}	AuC18PYRDAP_{pre}
Anzahl C18	29	38
Anzahl PYR	9	11
Anzahl DAP	22	11

Tab. 14: Anzahl der einzelnen Liganden auf den Goldnanopartikel, die im großen Maßstab synthetisiert wurden.

^c Der Index „abs“ symbolisiert die Abwesenheit eines Templats während der Ligandenaustauschreaktion, der Index „pre“ symbolisiert die Anwesenheit eines Templats.

Vergleicht man diese Werte mit denen, die für den nach der Methode von Rotello synthetisierten Flavinrezeptor **AuC18PYRDAP_{Rot}** erhalten wurden, zeigt sich, dass bei der Ligandenaustauschreaktion eine höhere Anzahl funktionalisierter Liganden resultiert. Insbesondere die Anzahl an PYR-Liganden liegt mit 9 bzw. 11 im Vergleich zu 2 deutlich höher. Durch diese Ligandenaustauschreaktionen wurde genug Material erhalten, um auf Basis von Wirt-Gast-Titrations Bindungskonstanten bestimmen zu können.

Die Durchführung und Auswertung der NMR-Titrations erfolgte analog zur Bestimmung der Bindungskonstante der nach Rotello synthetisierten Flavinrezeptoren, die in Kapitel 4.2.3. beschrieben ist. Abbildung 36 zeigt die für beide Nanopartikel erhaltenen Bindungsisothermen.

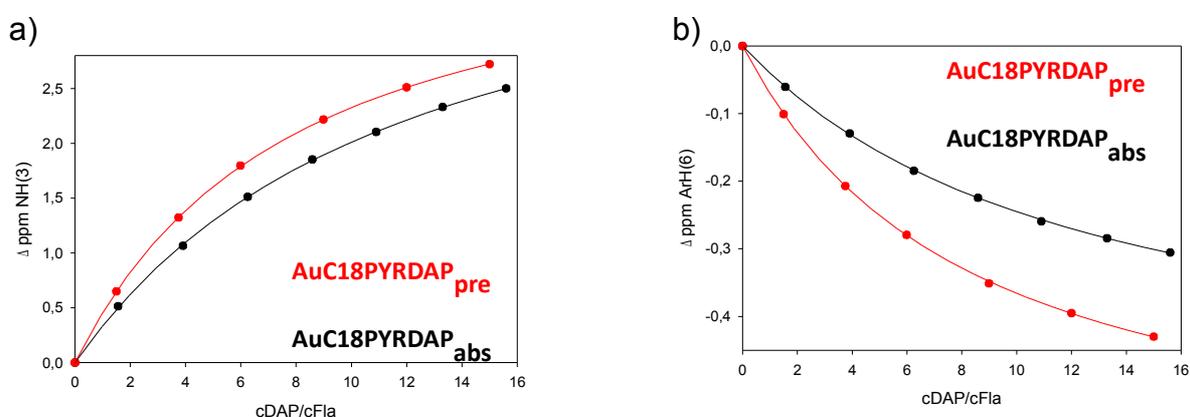


Abb. 36: Bindungsisothermen für die Bindung von Flavin an **AuC18PYRDAP_{abs}** bzw.

AuC18PYRDAP_{pre}, wobei der Shift des NH(3)-Signals a) und ArH(6)-Signals b) von Flavin gegen das DAP/Flavin-Verhältnis aufgetragen wurde.

Man erkennt deutlich, dass die Bindungsisothermen des Nanopartikels, der in Anwesenheit von Flavin erhalten wurde, einen steileren Verlauf haben, was auf eine höhere Bindungskonstante hindeutet. Durch nicht-lineare Regression wurden aus den Bindungsisothermen, die in Tabelle 15 angegebenen Werte für die Bindungskonstanten K_d und die maximalen Shifts $\Delta\delta_{\max}$ berechnet.

		AuC18PYRDAP_{abs}	AuC18PYRDAP_{pre}
K_a/M^{-1}	NH(3)	272±6	425±3
	ArH(6)	263±5	409±7
	ArH(9)	246±6	406±10
$\Delta\delta_{\max}/\text{ppm}$	NH(3)	4.34±0.05	4.07±0.01
	ArH(6)	-0.54±0.01	-0.65±0.01
	ArH(9)	-0.73±0.01	-0.89±0.01

Tab. 15: Bindungskonstanten der Flavinkomplexe von **AuC18PYRDAP_{abs}** und **AuC18PYRDAP_{pre}** in CDCl_3 und maximale Shifts der für die Auswertung verwendeten Protonensignale.

Die Betrachtung der maximalen Shifts zeigt keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu jenen, die für die nach Rotello synthetisierten Flavinrezeptoren beobachtet wurden. Dies deutet an, dass die Bindungsmotive beider Arten von Nanopartikeln vergleichbar sind.

Der Goldnanopartikel, der in Abwesenheit von Flavin synthetisiert wurde, besitzt eine Flavinaffinität von etwa 260 M^{-1} , während der Goldnanopartikel, der in Gegenwart von Flavin synthetisiert wurde, eine Affinität von 410 M^{-1} besitzt. Dies entspricht einer Erhöhung der Bindungskonstante um 58%. Somit hat der Templateffekt nicht nur zu einer veränderten Oberflächenzusammensetzung geführt, sondern auch zu einer Oberflächenbelegung, die für die Bindung des Templats Flavin optimiert ist. Dieses Experiment belegt also den Templateffekt auch quantitativ in Bezug auf die Bindungseigenschaften der Nanopartikel.

Sowohl **AuC18PYRDAP_{abs}** als auch **AuC18PYRDAP_{pre}** weisen eine eindeutig höhere Bindungsaffinität zu Flavin auf als **AuC18PYRDAP_{Rot}** ($K_a = 140 \text{ M}^{-1}$), welcher nach der Synthese von Rotello hergestellt wurde und die gleichen Liganden enthält (Tab. 4, Kap. 4.2.3.). Dieses Ergebnis liefert weitere Hinweise für die Bedeutung der kooperativen Bindung des Flavins durch PYR- und DAP-Liganden. Der Nanopartikel **AuC18PYRDAP_{pre}** verfügt über die höchste Flavinaffinität aller in dieser Arbeit untersuchten Goldnanopartikel-basierten Flavinrezeptoren und übertrifft somit auch die Modellverbindung von Rotello **AuC8PYRDAP_{Rot}**, die eine Bindungskonstante von 290 M^{-1} besitzt (Tab. 4, Kap. 4.2.3.).

Die NMR-Proben der Wirt-Gast-Titrations wurden nochmals nach 4 d vermessen, um die Zeitabhängigkeit der Bindungskonstante zu untersuchen. Wie in den vorangegangenen Bindungsstudien konnte eine Erhöhung der Bindungskonstanten nach 4 d allerdings nicht beobachtet werden. Wiederum ergeben sich also keine Hinweise auf eine Migration der Liganden auf der

Nanopartikeloberfläche.

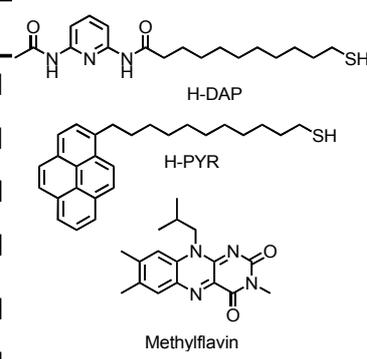
4.7. Weiterführende Studien zum Konzept

Die vorangegangenen Untersuchungen haben gezeigt, dass der von Rotello beschriebene Flavinrezeptor ein gutes Modellsystem darstellt, um das übergeordnete Konzept dieser Arbeit zu untersuchen. So wurden Effekte geeigneter Template auf die Oberflächenbelegung von Nanopartikeln beobachtet, die durch Ligandenaustauschreaktionen hergestellt wurden. Es wurde gezeigt, dass die Ligandenaustauschreaktion unter thermodynamischer Kontrolle abläuft und dass Nanopartikel, die in Anwesenheit des Templates synthetisiert wurden, eine höhere Templateaffinität besitzen als solche, bei denen das Template während der Reaktion nicht anwesend war. In weiteren Untersuchungen sollte das Konzept nun auf komplexere Systeme und andere Bindungsmotive übertragen werden, um die allgemeinere Anwendbarkeit zu überprüfen.

4.7.1. Methylflavin als Template

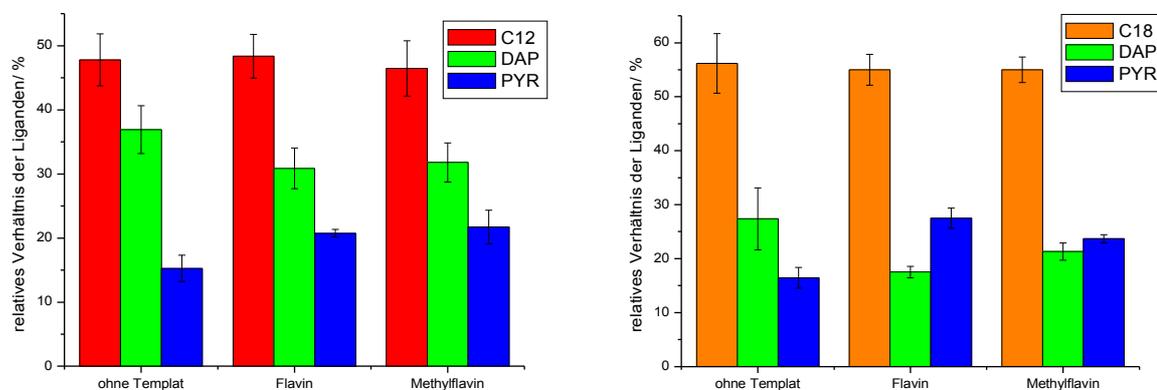
Um zu überprüfen, ob der beobachtete Templateffekt auf spezifische Wechselwirkungen des Flavins mit den Liganden zurückzuführen ist, wurde in den Ligandenaustauschreaktionen als Referenztemplate auch Methylflavin **20** eingesetzt. Methylflavin kann zwar noch über π -Stacking Wechselwirkungen mit den Pyrenresten interagieren, aber keine Wasserstoffbrücken zu den Diaminopyridineinheiten ausbilden, da die Methylgruppe am N(3)-Stickstoff des Methylflavins eine Komplexbildung mit DAP verhindert. Tabelle 16 zeigt die in diesem Experiment verwendeten Bedingungen.

	ohne Template	Flavin	Methylflavin
H-DAP	13.5 μ mol	13.5 μ mol	13.5 μ mol
H-PYR	13.5 μ mol	13.5 μ mol	13.5 μ mol
AuC12	0.25 μ mol	0.25 μ mol	0.25 μ mol
↳ entspricht C12	15.0 μ mol	15.0 μ mol	15.0 μ mol
Template	0 μ mol	27.0 μ mol	27.0 μ mol
Gesamtvolumen	3.63 ml	3.63 ml	3.63 ml
(CHCl ₃)			



Tab. 16: Bedingungen der Ligandenaustauschreaktionen, die zur Überprüfung des Einflusses der Templatestruktur auf die Oberflächenbelegung verwendet wurden.

Die Ligandenaustauschreaktionen von **AuC12** mit H-DAP und H-PYR zeigten überraschenderweise, dass der Templateffekt von Methylflavin auf die Reaktion recht ausgeprägt ist und zur selben Oberflächenbelegung führt wie Flavin. Dies ist in Abbildung 37 verdeutlicht.



*Abb. 37: Oberflächenbelegungen von Goldnanopartikeln, die in Abwesenheit eines Templats und in Anwesenheit von Flavin bzw. Methylflavin bei Ligandenaustauschreaktionen an **AuC12** (links) und **AuC18** (rechts) erhalten wurden.*

Wird die gleiche Ligandenaustauschreaktion mit **AuC18** anstatt **AuC12** Nanopartikeln durchgeführt, ist das gleiche Ergebnis zu beobachten (Abb. 37). Auch hier besitzt Methylflavin einen signifikanten Einfluss auf die Oberflächenbelegung der Nanopartikel.

Es wurden verschiedene Kontrollexperimente durchgeführt, um die Ursache des Templateffekts von Methylflavin aufzuklären. Zunächst wurde überprüft, ob Methylflavin tatsächlich nicht mit Diaminopyridin über Wasserstoffbrücken wechselwirkt. Hierzu wurde eine Wirt-Gast-Titration von Ac-DAP mit Methylflavin durchgeführt. Die Verschiebung einzelner Signale in den $^1\text{H-NMR}$ -Spektren von Ac-DAP und Methylflavin, die während der Titration auftraten, waren hierbei so gering, dass keine Bindungskonstante berechnet werden konnte. Damit ist eine spezifische Wechselwirkung von Methylflavin und Diaminopyridin sehr unwahrscheinlich.

Weiterhin wurde überprüft, ob der Goldnanopartikel, der in Anwesenheit von Flavin synthetisiert wurde, eine Affinität zu Methylflavin aufweist. Das erhaltene Ergebnis ist in Abbildung 38 gezeigt. Auch bei dieser Titration sprechen die extrem kleinen Shifts, die sich bei Zusatz von **AuC18PYRDAP_{pre}** für die Protonensignale von Methylflavin ergeben dafür, dass kein spezifischer Komplex gebildet wird.

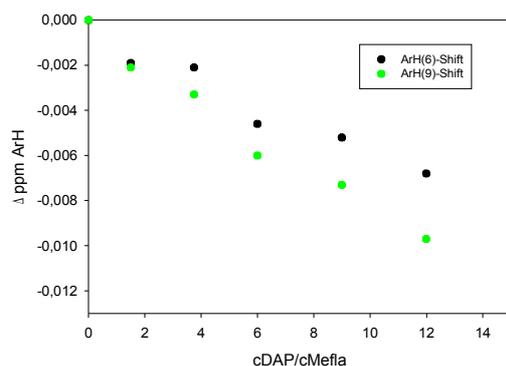


Abb. 38: Auftragung der Veränderung der chemischen Verschiebung der ArH(6) und ArH(9)-Signale von Methylflavin im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bei Titration mit **AuC18PYRDAP_{pre}** in CDCl_3 .

Eine Erklärung des Templateffekts von Methylflavin wäre, dass dieses Templat durch die in Abbildung 39 angedeutete sandwich-artige Bindung an zwei Pyrenmoleküle gebunden werden kann.

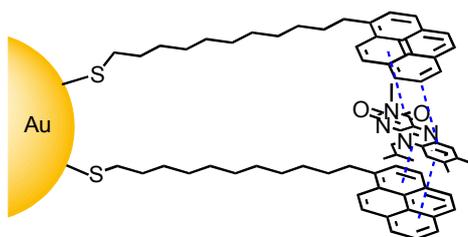
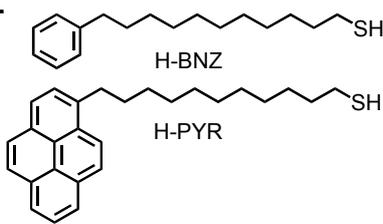


Abb. 39: Mögliche Komplexierung eines Methylflavins durch zwei Pyrenreste.

Aus diesem Grund wurde geprüft, ob Templateffekte in einer Ligandenaustauschreaktion auftreten, bei der kein Diaminopyridin zugesetzt wird. Anstelle von Diaminopyridin wurde ein Ligand mit einer Benzoleinheit verwendet, welche im Vergleich zu Pyren schwächere π - π -Wechselwirkungen ausbilden sollte. Die Bedingungen der Ligandenaustauschreaktionen, die ausschließlich aromatische Liganden enthielt, sind in Tabelle 17 dargestellt.

	ohne Templat	Flavin	
H-BNZ ^a	13.5 μ mol	13.5 μ mol	
H-PYR	13.5 μ mol	13.5 μ mol	
AuC12	0.25 μ mol	0.25 μ mol	
↳ entspricht C12	15.0 μ mol	15.0 μ mol	
Flavin	0 μ mol	27.0 μ mol	
Gesamtvolumen (CHCl ₃)	3.63 ml	3.63 ml	

Tab. 17: Bedingungen in den Ligandenaustauschreaktionen mit Liganden, die aromatische Substituenten tragen.

Das Ergebnis dieser Reaktion ist in Abbildung 40 gezeigt.

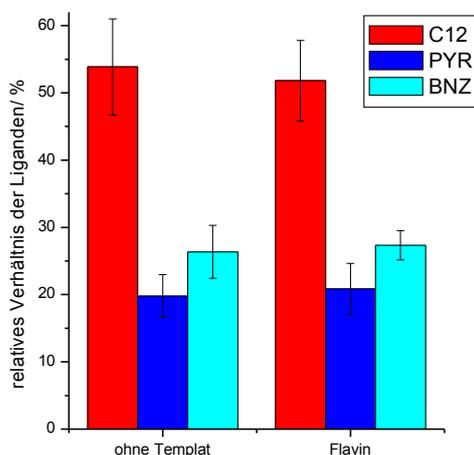


Abb. 40: Vergleich der Oberflächenbelegung der Goldnanopartikel, die in Gegenwart aromatischer Liganden synthetisiert wurden.

Der Nanopartikel, der in Abwesenheit von Flavin erhalten wurde, enthält etwa 55% C12-Liganden. Der BNZ-Anteil auf der Oberfläche des Goldnanopartikels überwiegt mit 25% den PYR-Anteil von 20%. Die Bevorzugung von BNZ könnte seine Ursache in der geringeren Größe dieses Liganden haben.

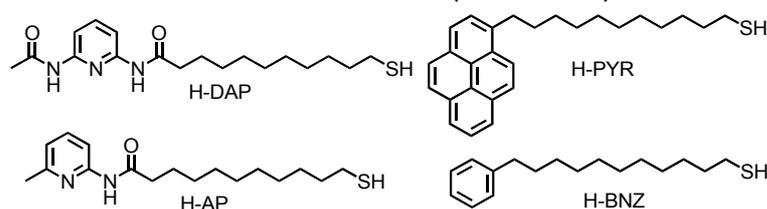
Die Anwesenheit von Flavin zeigt keinen Einfluss auf die Oberflächenzusammensetzung der Nanopartikel. Die Verwendung von Diaminopyridineinheiten ist anscheinend für das Auftreten von Templateffekten notwendig. Damit liefert auch dieses Experiment keine Erklärung für den Templateffekt des Methylflavins. Auf eine Wiederholung dieser Ligandenaustauschreaktion mit **AuC18** wurde verzichtet, da in diesem Fall nicht mit einem anderen Ergebnis gerechnet wurde und

dieser Versuch daher keine neuen Erkenntnisse liefern würde. Keines der Kontrollexperimente lieferte also eine befriedigende Erklärung für den bei den Ligandenaustauschreaktionen beobachteten Templateffekt von Methylflavin. Dies ist ein kritischer Punkt, da er Zweifel aufwirft, inwieweit der bei Flavin beobachtete Templateffekt auf spezifische Wechselwirkungen des Templats mit den funktionellen Gruppen an den Liganden während der Austauschreaktionen zurückzuführen ist. Die relativ effiziente Wechselwirkung der synthetisierten Nanopartikel mit Flavin gibt hierauf zwar Hinweise, ist aber kein direkter Beweis.

Im Rahmen dieser Arbeit konnten aus Zeitgründen leider keine Arbeiten zu diesem Punkt mehr durchgeführt werden. Daher ist die Ursache für den Templateffekt von Methylflavin noch ungeklärt. Weitere Untersuchungen hierzu werden Gegenstand zukünftiger Arbeiten sein.

4.7.2. Bibliotheken mit vier funktionalisierten Thiolen

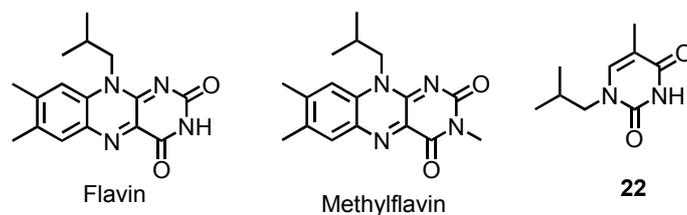
Bisher wurden in den Ligandenaustauschreaktionen nur zwei funktionalisierte Thiole eingesetzt. Um eine höhere strukturelle Diversität zu realisieren, sollte die Anzahl der funktionalisierten Liganden in den Austauschreaktionen nun erhöht werden. Neben den bereits verwendeten Liganden H-DAP und H-PYR wurden zur Generierung der dynamischen Bibliotheken darum zusätzlich die Liganden H-AP^a und H-BNZ verwendet (Schema 34).



Schema 34

Die funktionellen Gruppen in beiden Liganden binden voraussichtlich schwächer an Flavin als die jeweiligen Analoga H-DAP und H-PYR. So enthält H-AP einen Wasserstoffbrückendonator weniger als H-DAP und kann nur zwei und nicht drei Wasserstoffbrücken zu Flavin ausbilden. H-BNZ stellt ein kleineres aromatisches System dar als H-PYR. Die aromatischen Wechselwirkungen von H-BNZ mit Flavin sollten dementsprechend im Vergleich zu H-PYR schwächer ausfallen. Andererseits handelt es sich bei beiden Liganden um solche mit relativ kleinen endständigen Gruppen, deren Einbau in die Monoschicht an der Oberfläche möglicherweise leichter sein könnte als der von H-DAP bzw. H-PYR.

Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde zusätzlich das Templat variiert, wobei neben Flavin und Methylflavin auch das Thyminderivat **22** verwendet wurde (Schema 35).



Schema 35

Dieses enthält das gleiche Bindungsmotiv wie Flavin und kann deshalb auf analoge Weise an DAP binden. Andererseits ist das aromatische System kleiner als das von Flavin, so dass schwächere Wechselwirkungen mit PYR zu erwarten sind. Die Bedingungen der einzelnen Austauschreaktionen sind in Tabelle 18 zusammengefasst.

	ohne Templat	Flavin	Methylflavin	22
H-DAP/ μmol	6.7	6.7	6.7	6.7
H-PYR/ μmol	6.7	6.7	6.7	6.7
H-BNZ/ μmol	6.7	6.7	6.7	6.7
H-AP/ μmol	6.7	6.7	6.7	6.7
AuC18 / μmol	0.25	0.25	0.25	0.25
↳ entspricht C18/ μmol	15.0	15.0	15.0	15.0
Templat/ μmol	0	27.0	27.0	27.0
Gesamtvolumen (CHCl_3)/ ml	3.63	3.63	3.63	3.63

Tab. 18: Bedingungen der Ligandenaustauschreaktionen, in denen vier verschiedene funktionalisierte Liganden eingesetzt wurden.

Die Ergebnisse des Iodabbaus der einzelnen Produkte zeigt Abbildung 41.

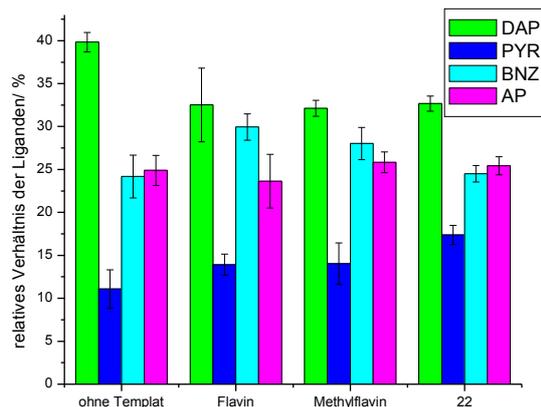


Abb. 41: Oberflächenbelegung von Nanopartikeln (ohne C18), die durch Ligandenaustauschreaktionen in Gegenwart von vier verschiedenen funktionalisierten Liganden und unter dem Einfluss verschiedener Template erhalten wurden.

Die Auswertung dieses Experiments erfolgte, bevor die Problematik des Iodabbaus mit Octadecanthal-funktionalisierten Nanopartikeln erkannt wurde. Als Lösungsmittel wurde entsprechend ein $\text{CD}_2\text{Cl}_2/\text{DMSO-d}_6$ Gemisch verwendet, das zwar für die Charakterisierung von Goldnanopartikeln mit Dodecanthiolen geeignet ist, bei Goldnanopartikeln mit Octadecanthiolen aber immer zu einer Unterbewertung des Octadecanthalanteils führt. In Abb. 41 sind die relativen Anteile der funktionalisierten Liganden auf den unter den Bedingungen von Tab. 18 synthetisierten Goldnanopartikeln angegeben. Wobei diese Werte unter der Annahme richtig sind, dass diese Liganden unter den ursprünglichen Bedingungen des Iodabbaus korrekt quantifiziert werden konnten.

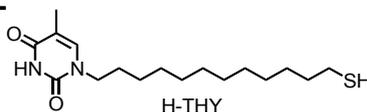
Man erkennt, dass die Gegenwart der Template zu einer Veränderung in der Oberflächensammensetzung führt. Wiederum scheint sich der Templateffekt insbesondere auf die Anteile der DAP und PYR-Liganden auszuwirken. Wie bei den vorangegangenen Experimenten führen die Template zu einer Erhöhung des PYR-Anteils und einer Verminderung des DAP-Anteils. Weiterhin sind Unterschiede in den Templateeffekten der einzelnen Template zu erkennen, die sich auch auf den Gehalt der AP- bzw. BNZ-Liganden auswirken. Ohne eine genauere Charakterisierung der Oberflächenbelegung, die auch die Anteile der Octadecanthiole und Bindungsstudien einschließen, sind die einzelnen Effekte aber gegenwärtig noch schwer interpretierbar. So ist z.B. nicht ersichtlich, warum es in Gegenwart von Templat **22**, das eine kleinere aromatische Oberfläche als Flavin besitzt, zu einer Anreicherung der Pyrenliganden kommt. Aus Zeitgründen

konnten mit diesem System keine weiteren Untersuchungen mehr durchgeführt werden. An dieser Stelle werden zukünftige Arbeiten wieder ansetzen.

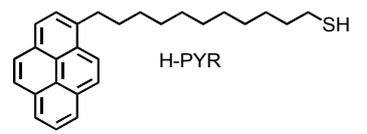
4.7.3. Abwandlung des Bindungsmotivs

Bisher wurden nur Flavinrezeptoren synthetisiert. Jedoch sollen auf Basis von Ligandenaustauschreaktionen auch Rezeptoren für andere Substrate hergestellt werden können. Eine einfache Möglichkeit, dies zu überprüfen, ohne sich zu weit von dem gewählten Modellsystem zu entfernen, bestand in dem Einbau des Flavin-Bindungsmotivs in den Liganden und des Diaminopyridin-Bindungsmotivs in das Templat. Entsprechend wurden der Thymin-Ligand H-THY^a und das Templat *N,N'*-Diacetyl-2,6-pyridindiamin **23** (Tabelle 19) in den Ligandenaustauschreaktionen eingesetzt. Die Bedingungen dieser Reaktionen sind in Tabelle 19 zusammengefasst.

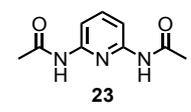
	ohne Templat	Flavin	23
H-THY	13.5 µmol	13.5 µmol	13.5 µmol
H-PYR	13.5 µmol	13.5 µmol	13.5 µmol
AuC18	0.25 µmol	0.25 µmol	0.25 µmol
↳ entspricht C18	15.0 µmol	15.0 µmol	15.0 µmol
Templat	0 µmol	27.0 µmol	27.0 µmol
Gesamtvolumen (CHCl ₃)	3.63 ml	3.63 ml	3.63 ml



H-THY



H-PYR



23

Tab. 19: Bedingungen in den Ligandenaustauschreaktionen mit invertierten Bindungsmotiven.

Auch bei diesen Reaktionen wurde die Oberflächenbelegung noch mit dem Iodabbau mit CD₂Cl₂/DMSO-d₆ ermittelt. Bei Vergleich der relativen Verhältnisse des THY- und PYR-Liganden auf der Oberfläche der erhaltenen Nanopartikel wurde jedoch kein Unterschied gefunden, wenn die Nanopartikel in Anwesenheit oder in Abwesenheit von **23** synthetisiert wurden. Auch Flavin hatte keinen Einfluss auf die Oberflächenbelegung. Faktoren, die bei Verwendung von **23** als Templat für das Ausbleiben eines Templateffekts verantwortlich sein könnten, sind einerseits eine geringe Stabilität des Komplexes zwischen THY und **23**. Durch eine Wirt-Gast-Titration wurde die Bindungskonstante dieses Komplexes allerdings zu 933 M⁻¹ in CDCl₃ bestimmt.

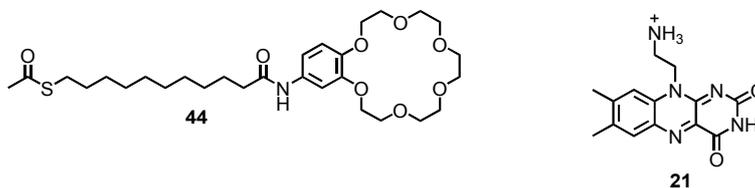
Andererseits könnte auch eine Selbstassoziation der THY-Liganden das Ausbleiben eines Templateffekts erklären. Hier zeigte jedoch eine Verdünnungstitration, dass die Selbstassoziation von Ac-THY in CDCl₃ mit einer Aggregationskonstante von < 10 M⁻¹ verbunden ist. Damit kann eine

Selbstaggregation von H-THY nicht das Fehlen eines Templateffekts erklären. Möglicherweise ist also eine zu schwache π - π -Wechselwirkung zwischen **23** und PYR für das Ausbleiben des Templateffekts verantwortlich, wodurch keine kooperative Bindung des Templats durch zwei Liganden erfolgt.

4.7.4. Einführung einer zusätzlichen Bindungsstelle

Die Betrachtung der Flavinaffinität des Goldnanopartikels **AuC18PYRDAP_{pre}**, der in Anwesenheit dieses Templats synthetisiert wurde, zeigt, dass die Bindungskonstante trotz wahrscheinlich optimierter Oberflächenbelegung immer noch relativ klein ist. Es ist zu erwarten, dass Wechselwirkungsarten, die mit höheren Bindungskonstanten verbunden sind, auch größere Templateffekte verursachen. Da das weitgehend erfolgreiche Bindungsmotiv im Rahmen dieser Arbeit aber nicht völlig verändert werden sollte, wurde für die Verstärkung der Wechselwirkung zwischen Flavin und einem funktionalisierten Nanopartikel die Einführung einer zusätzlichen funktionellen Gruppe in das Flavinmolekül sowie die Verwendung der entsprechenden komplementären Bindungseinheit in einem Liganden erwogen. Die zugrunde liegende Wechselwirkung sollte nicht mit den Wasserstoffbrücken zwischen Flavin und Diaminopyridin bzw. dem π -Stacking zu Pyren konkurrieren.

Auch im Hinblick auf die synthetische Zugänglichkeit der entsprechenden Zielverbindung wurde das literaturbekannte Flavinderivat **21**, das eine zusätzliche Ammoniumgruppe enthält, eingesetzt.¹⁷³ Die Ammoniumgruppe kann in organischen Lösungsmitteln stabile Komplexe mit Kronenethern eingehen.²⁷ Während meiner Diplomarbeit wurde bereits das Thioacetat **44**, das mit einem Kronenether funktionalisiert war (Schema 36), synthetisiert. Diese Kombination aus einem Kronenether und einer Ammonium-Gruppe sollte die dritte Wechselwirkungsart in dem geplanten Flavinrezeptor darstellen.



Schema 36

Aufgrund der Unlöslichkeit von **21** in reinem Chloroform musste für die Ligandenaustauschreaktionen ein Chloroform/DMSO-Gemisch verwendet werden. Dabei wurde der DMSO-Anteil im Gemisch so gering wie möglich gewählt, um die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Flavin und

DAP möglichst wenig zu schwächen. Die Verwendung dieses Lösungsmittelgemischs und des geladenen, polaren Templats machten es darüber hinaus notwendig, auch die Aufarbeitung der Nanopartikel entsprechend anzupassen und für die Größenausschlusschromatographie anstelle von CH₂Cl₂/DMSO 100:1 (v:v) das Lösungsmittelgemisch CHCl₃/MeOH 3:1 (v:v) zu verwenden. Die Bedingungen der Ligandenaustauschreaktionen sind in Tabelle 20 zusammengefasst.

	ohne Templat	Flavin	21
H-DAP	9.0 µmol	9.0 µmol	9.0 µmol
H-PYR	9.0 µmol	9.0 µmol	9.0 µmol
H-KRO	9.0 µmol	9.0 µmol	9.0 µmol
AuC18	0.25 µmol	0.25 µmol	0.25 µmol
↳ entspricht C18	15.0 µmol	15.0 µmol	15.0 µmol
Templat	0 µmol	18.0 µmol	18.0 µmol
Gesamtvolumen (CHCl ₃ +7% DMSO)	3.63 ml	3.63 ml	3.63 ml

Tab. 20: Bedingungen in den Ligandenaustauschreaktionen, die zur Untersuchung der Abhängigkeit der Oberflächenbelegung der Nanopartikel bei Verwendung eines Templats mit drei Bindungsstellen verwendet wurden.

Das Ergebnis der Charakterisierung der Oberflächenszusammensetzung der einzelnen Nanopartikel zeigen Abbildung 42 und Tabelle 21.

	ohne Templat	Flavin	21
C18/ %	57±1	57±2	50±2
DAP/ %	17±1	15±1	20±1
PYR/ %	11±1	13±1	14±1
KRO/ %	15±1	15±1	16±1

*Tab. 21: Oberflächenbelegung der Goldnanopartikel, die in Abwesenheit eines Templats und in Anwesenheit von Flavin bzw. **21** erhalten wurden.*

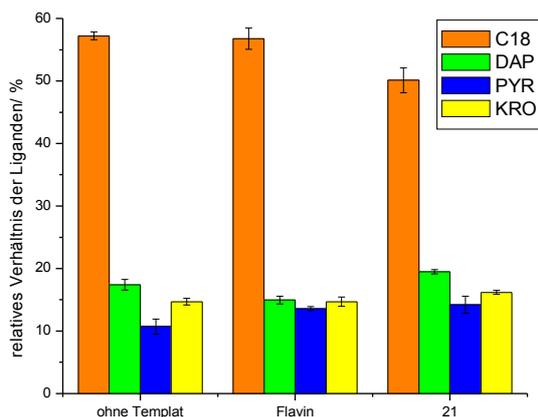


Abb. 42: Oberflächenbelegung von Goldnanopartikeln, die durch Ligandenaustauschreaktionen bei Verwendung eines Templats mit drei Bindungsstellen erhalten wurden.

Ein signifikanter Templateffekt war bei diesen Reaktionen leider nicht zu beobachten. Wie man aus Tab. 21 entnehmen kann, sind kaum Unterschiede in den Strukturen der drei Nanopartikel zu erkennen.

Die Goldnanopartikel, die in Abwesenheit eines Templats synthetisiert wurden, enthielten 57% C18- und 43% funktionalisierte Liganden. Dieses Verhältnis entspricht dem der vorhergehenden Ligandenaustauschreaktionen (s. Tab. 9). Es fällt auf, dass der zusätzliche Kronenether-Ligand nur auf Kosten des Diaminopyridin-Liganden eingebaut wurde. Dies führt zu einer Reduktion des DAP-Anteils auf 17%, anstelle der sonst üblichen 28%. Der prozentuale Anteil an PYR lag bei 15%, was dem der Ligandenaustauschreaktionen in reinem Chloroform entspricht.

Bei den Nanopartikeln, die in Anwesenheit von Flavin synthetisiert wurden, ist die ansonsten üblicherweise sichtbare Reduktion des DAP-Anteils kaum erkennbar. Allerdings enthalten die Nanopartikel, die in Abwesenheit des Templats hergestellt wurden, ebenfalls bereits deutlich weniger DAP-Liganden als Nanopartikel bei denen der Kronenether nicht verwendet wurde. Auch auf die Anteile an PYR und KRO hat Flavin praktisch keinen Einfluss.

Die Durchführung der Reaktion in Gegenwart von **21** führte zu einer leichten Verringerung des C18-Anteils von 57% auf 50%. Davon profitieren alle funktionalisierten Liganden zu einem gewissen Anteil. Eindeutige Tendenzen sind aber nicht erkennbar.

Verschiedene Gründe können dafür verantwortlich gemacht werden, dass aus diesem Experiment keine eindeutigen Ergebnisse im Hinblick auf die Einflüsse des Templats **21** auf die Oberflächenbelegung der Nanopartikel abgeleitet werden können. So scheint zum einen auch in

Abwesenheit des Templats eine Oberflächenstruktur der Goldnanopartikel bevorzugt zu werden, die schon erhebliche Mengen des Kronenethers enthält. Bei Bindung von **21** besteht also möglicherweise keine Notwendigkeit dazu, KRO weiter anzureichern. Zudem sind die drei funktionalisierten Liganden auf dem in Abwesenheit eines Templats hergestellten Nanopartikel praktisch gleichwertig verteilt. Unter der Annahme, dass tatsächlich alle drei funktionellen Gruppen dieser Liganden gleichzeitig an **21** binden können, würde man für einen strukturell optimal komplementären Nanopartikel ein analoges Ligandenverhältnis erwarten. Dies macht ausgeprägte Templateffekt unwahrscheinlich.

Bedenken muss man allerdings, dass nicht nur das Verhältnis der Liganden auf der Nanopartikeloberfläche, sondern auch deren räumliche Anordnung zueinander die Bindungseigenschaften beeinflussen. Bei einer Ligandenaustauschreaktion in Abwesenheit eines Templats ist eine eher statistische Verteilung auf der Goldoberfläche zu erwarten, während ein Templat spezifische Oberflächenstrukturen, die für die Bindung besonders gut geeignet sind, induzieren kann. Dieser Effekt kann durch ausschließliche Bestimmung der Anzahl der Liganden auf der Goldoberfläche nicht erkannt werden. Er ist aus Bindungsstudien gegebenenfalls ableitbar, die jedoch für die Kronenether-haltigen Nanopartikel aus Zeitgründen nicht durchgeführt wurden.

Die im letzten Teil der Arbeit dargestellten Studien belegen klar, dass dynamische Bibliotheken auf Basis von Goldnanopartikeln ebenso komplex auf strukturelle Veränderungen der Liganden und der Template reagieren, wie Bibliotheken in homogener Lösung. Bei den Goldnanopartikeln kommt erschwerend hinzu, dass die exakte Oberflächenstruktur, die die Bindungseigenschaften kontrolliert, nicht auf einfache Weise ermittelt werden kann. So bleiben Erklärungsversuche, die Veränderung der Oberflächenzusammensetzung bei Variation der experimentellen Parameter zu interpretieren, bislang spekulativ.

Dennoch konnte im Rahmen dieser Arbeit erstmals ein adaptives Verhalten von funktionalisierten Alkylthiol-passivierten Goldnanopartikeln bei Ligandenaustauschreaktionen nachgewiesen werden. Damit legen diese Arbeiten entscheidende Grundlagen für weitere Arbeiten in diesem Gebiet, in denen das Verständnis der Templateffekte verbessert werden muss, in denen weitere Bindungsstudien durchgeführt und in denen neue nanoskalige Rezeptoren für andere Substrate entwickelt werden sollten.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Das Ziel meiner Arbeit war die Synthese von Nanorezeptoren basierend auf Goldnanopartikeln unter Verwendung von reversiblen Ligandenaustauschreaktionen. Dabei sollte überprüft werden, ob Templateffekte geeigneter Substrate für die Synthese bzw. Optimierung der Bindungseigenschaften dieser Rezeptoren ausgenutzt werden können.

Als Modellsystem wurde der Flavinrezeptor von Rotello gewählt, der als Grundlage für die ersten Untersuchungen diente. Deshalb wurde die Synthese dieses Rezeptors zunächst reproduziert. In diesem Zusammenhang wurden zwei weitere Flavinrezeptoren dargestellt, die sich in der Länge der passivierenden Alkylkette unterschieden (Abbildung 43).

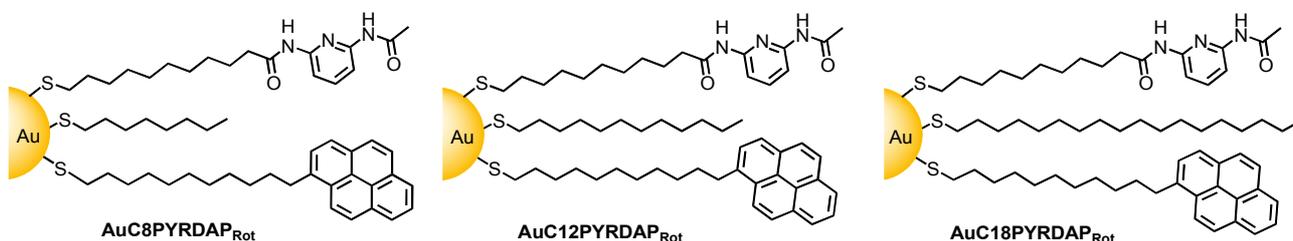


Abb. 43: Synthetisierte Flavinrezeptoren mit unterschiedlich langen Alkylthiolketten.

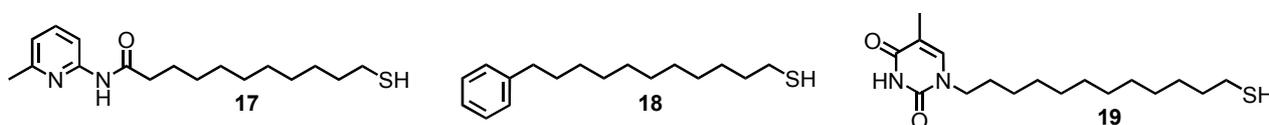
Die Bindung von Flavin an diese Rezeptoren erfolgt zum einen an die Diaminopyridineinheit durch Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen. Zum anderen ermöglicht die Pyreneinheit die Ausbildung von π - π -Wechselwirkungen zu Flavin. Durch Variation der Kettenlänge der passivierenden Alkylthiole konnte erreicht werden, dass der Bindungsvorgang eher außerhalb der Monoschicht in Lösung (C8) an der Oberfläche der Monoschicht (C12) oder im Inneren der Monoschicht (C18) stattfindet.

Diese Nanopartikel wurden mittels des von Rotello beschriebenen Verfahrens dargestellt und die Zusammensetzung ihrer Oberflächenbelegung wurde durch Iodabbau analysiert. Die Oberflächenzusammensetzung unterschied sich dabei vor allem in der Anzahl der gebundenen Pyreneinheiten, die mit zunehmender Kettenlänge der Alkylthiole sank. Im Gegenzug stieg die Anzahl der gebundenen Alkylthiole. Dieser Trend ist vermutlich auf die verstärkte Ketten-Ketten-Wechselwirkung in Nanopartikeln mit längeren Alkylketten zurückzuführen, die in einer kompakteren Oberflächenstruktur resultiert. Dies erschwert den Einbau der sterisch anspruchsvollen Pyreneinheiten. Die Menge der Diaminopyridinfunktionen blieb bei allen

Flavinrezeptoren nahezu konstant.

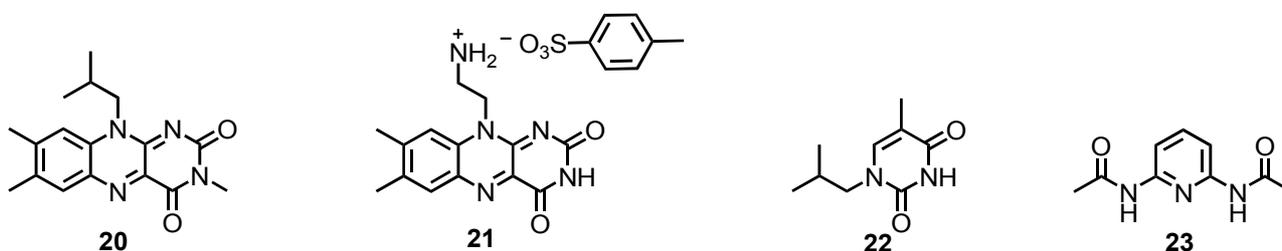
Die Charakterisierung der Flavinaffinität dieser Rezeptoren zeigte eine Zunahme der Bindungskonstanten mit zunehmender Anzahl an gebundenen Pyren-Liganden. Dementsprechend verfügte **AuC8PYRDAP_{Rot}** über die größte Bindungskonstante. Die erhaltene Bindungskonstante von $289 \pm 7 \text{ M}^{-1}$ war in einer ähnlichen Größenordnung, wie der Literaturwert von 168 M^{-1} .¹³⁹ Eine Zunahme der Bindungsaffinität mit der Zeit, wie sie von Rotello beschrieben wurde und auf eine Migration der Liganden auf der Oberfläche der Nanopartikel zurückgeführt wurde, konnte ich in meinen Untersuchungen nicht beobachten.

Die funktionellen Einheiten dieser Flavinrezeptoren stellten die Grundlage für die systematische Entwicklung eines Verfahrens zur Synthese von funktionalisierten Goldnanopartikeln durch Ligandenaustauschreaktion dar. Als Ausgangsverbindungen wurden die Alkylthiol-geschützten Goldnanopartikel **AuC12** und **AuC18** verwendet. Die Charakterisierung dieser Liganden unter Berücksichtigung von literaturbekannten Daten machte eine Summenformel von $\text{Au}_{144}(\text{SR})_{60}$ sehr wahrscheinlich. Neben den beiden Liganden DAP und PYR, die für die Synthese des Flavinrezeptors nach Rotello benötigt wurden, wurden weitere funktionalisierte Liganden hergestellt, die in Ligandenaustauschreaktionen angewendet wurden (Schema 37).



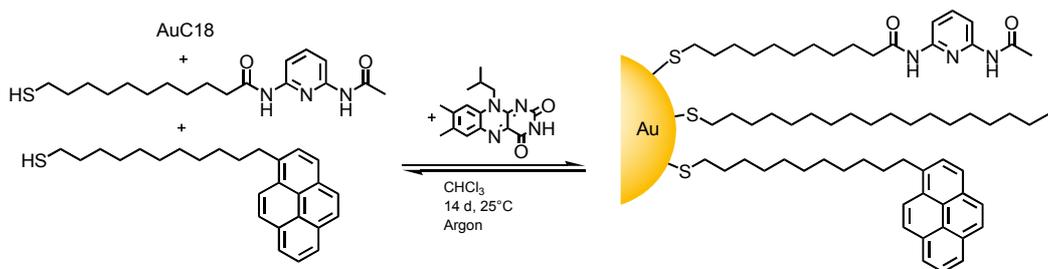
Schema 37

Die Bindungsmotive in diesen Liganden sind verwandt mit denen in PYR und DAP, allerdings sollte sich die Stärke der Wechselwirkung deutlich unterscheiden. Außerdem wurden vier weitere Template dargestellt (Schema 38) und deren Einfluss auf die Ligandenaustauschreaktion untersucht.



Schema 38

Schema 39 zeigt ein allgemeines Syntheseprotokoll der von mir untersuchten Ligandenaustauschreaktionen.



Schema 39

Die systematische Variation der Reaktionsbedingungen bzw. der Struktur der Liganden und Template ergab folgende Ergebnisse:

- Die Äquilibrierung von **AuC12** und **AuC18** mit einem Gemisch von H-PYR und H-DAP liefert Nanopartikel, die alle drei Liganden enthalten.
- Die Oberflächenzusammensetzung dieser Nanopartikel kann mittels Iodabbau in Kombination mit $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie quantifiziert werden.
- Der Gleichgewichtszustand ist nach 6 d erreicht, zur Sicherheit wurden alle Ligandenaustauschreaktionen 14 d lang durchgeführt.
- Die Zugabe von Flavin während der Austauschreaktion führt zu einer Veränderung der Oberflächenzusammensetzung. Dabei ist eine Zugabe von 1.5 bis 2.0 Äquivalenten an Flavin bezogen auf H-DAP ideal.
- Die Zusammensetzung der Nanopartikel ist unabhängig von dem Ausgangszustand der Reaktion, was zeigt, dass der Ligandenaustausch unter thermodynamischer Kontrolle verläuft.
- Die Veränderung der relativen Verhältnisse der Liganden zueinander war bei Verwendung von **AuC18** anstelle von **AuC12** ausgeprägter.
- Nanopartikel, die in Gegenwart von Flavin synthetisiert wurden, haben eine höhere Substrataffinität ($K_a = 410 \text{ M}^{-1}$) als solche, bei denen Flavin während der Synthese abwesend war ($K_a = 260 \text{ M}^{-1}$). Dies entspricht einer Steigerung der Affinität um 58%.

Zusammengenommen geben diese Ergebnisse starke Hinweise darauf, dass die Synthese von auf Goldnanopartikel-basierten Rezeptoren und die Optimierung ihrer Bindungseigenschaften durch Templat-kontrollierte Ligandenaustauschreaktionen möglich ist.

Im Verlaufe der weiteren Arbeiten wurde dieses Konzept nun auf Synthesen übertragen, in denen die Ligandenstruktur und/oder Templatstruktur variiert wurde.

Bei Ligandenaustauschreaktionen, in denen z.B. DAP-Liganden durch BNZ-Liganden ersetzt wurden, wurden keine Templateffekte beobachtet, was zeigt, dass die Wechselwirkung des Flavins mit den DAP-Gruppen über Wasserstoffbrücken für die Bindung an die Nanopartikel essentiell ist.

Bisher ungeklärt ist der Effekt auf die Oberflächenzusammensetzung der Nanopartikel, der bei Verwendung von Methylflavin als Templat beobachtet wurde. Kontrollexperimente zeigten, dass diese Verbindung nicht an Ac-DAP bindet, dass aber π - π -Stacking Wechselwirkungen für die Bindung von Methylflavin an Goldnanopartikel alleine nicht verantwortlich sein können.

Die Einführung eines weiteren Bindungsmotivs durch Verwendung eines Kronenether-funktionalisierten Liganden und eines Flavinderivats mit einer Ammoniumgruppe ließ keine signifikanten Templateffekte erkennen. Die Ursache hierfür könnte allerdings sein, dass die Nanopartikel, die in Abwesenheit des Templats hergestellt wurden, bereits eine für die Templatbindung gut geeignetes Ligandenverhältnis besaßen. Ein detailliertes Verständnis dieses Systems, unter Berücksichtigung der Komplexität aller beteiligten Wechselwirkungsarten, war im Zeitraum dieser Doktorarbeit nicht möglich.

Nachfolgende Arbeiten sollten darauf abzielen, Kombinationen von Bindungspartnern zu identifizieren, deren Einsatz aufgrund von stärkeren zugrunde liegenden Wechselwirkungen zu ausgeprägteren Templateffekten führt. Dadurch könnte die Deutung der Resultate möglicherweise einfacher werden. Dass es schwierig ist, auf Basis schwacher bis mittelstarker Bindungsvorgänge Templateffekte in der dynamischen kombinatorischen Chemie zu realisieren, beobachteten auch Prins, Scrimin und Mitarbeiter.¹⁷⁹ Sie umgingen dieses Problem durch Verwendung des „Covalent Capture“-Verfahrens, bei dem das Templat kovalent an die Bindungseinheit gebunden wurde. Eventuell wäre dies auch eine interessante Strategie zu Synthese von Goldnanopartikel-basierten Rezeptoren mittels DCC.

Auch wenn mit diesen Arbeiten ein grundlegend neues Konzept für die Synthese Goldnanopartikel-basierter Rezeptoren etabliert werden konnte, sind noch Fragen offen bzw. besteht weiterer Optimierungsbedarf. So ist die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse nicht immer befriedigend, insbesondere wenn Nanopartikel aus unterschiedlichen Chargen eingesetzt werden. Zudem wäre eine Methode, den Verlauf der Ligandenaustauschreaktionen kontinuierlich zu verfolgen, sehr hilfreich. Schließlich können bisher nur die relativen Verhältnisse der Liganden auf der Nanopartikeloberfläche quantifiziert werden. Die Bindungsaffinität hängt aber maßgeblich auch von der Positionierung der Liganden ab. Bisher sind in der Literatur nur sehr wenige Methoden

beschrieben, die Aufschlüsse über die Oberflächenstruktur von funktionalisierten Nanopartikeln geben.^{167,180} Hiervon wären wichtige Informationen über strukturelle Details des zugrunde liegenden Konzepts dieser Arbeit zu erwarten.

Diese Fragestellungen sollten Gegenstand weiterer Untersuchungen sein. Hier konnte zunächst gezeigt werden, dass die dynamische kombinatorische Chemie prinzipiell um eine weitere reversible Reaktion, nämlich die Ligandenaustauschreaktion auf Goldnanopartikeln, erweitert werden kann. Diese Reaktion liefert neuartige nanoskalige Rezeptoren, die aufgrund ihrer mit Proteinen vergleichbaren Dimensionen und ihrer Stabilität prinzipiell für biologische Anwendungen von Interesse sein können. Eines der wichtigsten Ziele zukünftiger Arbeiten muss dementsprechend die Übertragung des Konzepts auf wasserlösliche Systeme sein, um den Zugang zu interessanten Substraten wie Aminosäuren, Peptide und anderen Biomakromolekülen zu öffnen. Entsprechende Goldnanopartikel, deren Wasserlöslichkeit auf oberflächengebundenen Oligoethylglykolketten beruht, sind als Rezeptoren und Katalysatoren bereits bekannt.^{42,41,181}

6. Experimenteller Teil

6.1. Apparatives

¹H-NMR-Spektroskopie

Bruker Avance 600 (600 MHz)

Bruker Avance DPX 400 (400 MHz)

Bruker Avance DPX 200 (200 MHz)

¹³C-NMR-Spektroskopie

Bruker Avance 600 (150 MHz)

Als Bezug für die chemische Verschiebung [ppm] dienen die Restprotonen des verwendeten deuterierten Lösungsmittels:

¹H: $\delta(\text{CDCl}_3) = 7.26$; $\delta(d_6\text{-DMSO}) = 2.50$

¹³C: $\delta(\text{CDCl}_3) = 77.16$; $\delta(d_6\text{-DMSO}) = 39.52$

Abkürzungen: s = Singulett, d = Duplett, dd = dupliertes Duplett, t = Triplett, q = Quartett, qn = Quintett, sp = Septett, m = Multiplett, br = breites Signal

Massenspektrometrie

Bruker Ultraflex TOF/TOF (MALDI/TOF)

Bruker-Quadropol-MS: Esquire 3000

IR-Spektroskopie

FT-IR System Spectrum BX, Perkin-Elmer

MIRacle[®]-ATR Diamant/ZnSe-Kristallplatte,

Pike Technologies

Abkürzungen: w = schwach, m = mittelstark, s = stark,

br = breit

UV/Vis-Spektrophotometrie

VarianCary 100 Conc

CHNS-Analyse

Perkin-Elmer 2400 CHN Elemental Analyzer

Elementar vario Micro cube

Schmelzpunktbestimmung	Müller SPM-X300
Transmissions-Elektronen-Mikroskopie	JEOL 2010 F Philips CM12
Dynamische Lichtstreuung	Malvern Zetasizer S90 Malvern Zetasizer S
HPLC	Dionex: P680 HPLC Pumpe, ASI-100 Autosampler, TCC-100 Säulenofen, UVD 170U UV/Vis Detektor, Chromeleon V6.70 Software, Zorbax® Eclipse XDB-C8 (4.6*50 mm, 5 µm) Säule, Acclaim® 120 C18 (4.6*150 mm, 5µm) 120 Å Säule
Präparative HPLC	Dionex Ultimate 3000: Pumpe, Autosampler, variabler Wellenlängendetektor, Fraktionensammler
Säulenchromatographie	Kieselgelsäulen: Kieselgel 60 (230-400 Mesh ASTM) von Merck RP-Säulen: Lobar® Fertigsäule von Merck, Größe B (310-25) Lichroprep® RP-8 (40-63 mm) Sephadexsäule: Sephadex® LH-20 (27-163 µm) von GE Healthcare
Dünnschichtchromatographie	Kieselgel 60 F ₂₅₄ auf Aluminiumträger (Merck) RP-8 F _{254s} auf Glasträger (Merck)

6.2. Chemikalien

ABCR	3,4-Dimethylanilin 1-Octadecanthiol Tetrachlorgoldsäure Thymin
Acros	1,12-Dichlordodecan

Alfa-Aesar	4-Nitrobenzo-18-krone-6
	4,5-Dimethyl-2-nitroanilin
	1-Octanthiol
Aldrich	1,3,5-Triazin
	Alloxan-Monohydrat
	11-Bromundecansäure
	2,6-Diaminopyridin
	1-Dodecanthiol
	Kaliumthioacetat
	Lithiumaluminiumhydrid-Lösung (1 M in Diethylether)
	Pyren
	Tetraoctylammoniumbromid
	2,4,6-Trimethoxytriazin

Alle Chemikalien wurden, wenn nicht anders vermerkt, wie erhalten eingesetzt. Das Trocknen der Lösungsmittel erfolgte nach Standardmethoden. Entgaste Lösungsmittel wurden durch Einleiten von Stickstoff erhalten. Die zur Entschützung notwendige 6 N HCl in 1,4-Dioxan Lösung wurde durch Einleiten von Chlorwasserstoff in trockenes 1,4-Dioxan unter Eiskühlung hergestellt. Es wurde so lange Gas eingeleitet, bis die Lösung eine Konzentration von mindestens 6 N hatte. Dies wurde durch eine Titration überprüft.

6.3. Methoden

6.3.1. Wirt-Gast-Titrationsen

Die Stammlösungen für die Titrationsen wurden in deuteriertem Chloroform angesetzt. Deuteriertes Chloroform zum Lösen der Goldnanopartikel wurde vor der Verwendung 48 h über Kaliumcarbonat gerührt und anschließend abdestilliert. Dadurch werden Reste an Salzsäure entfernt, die ansonsten eine Agglomeration der Goldnanopartikel verursachen.¹⁸² Die Bindungskonstanten wurden durch einen nicht-linearen Kurvenfit mit dem Programm SigmaPlot2001 unter Annahme eines 1:1 Bindungsverhältnisses berechnet.

Zur Bestimmung der Affinität des Rezeptors 5-10-(6-Acetylamidopyridin-2-ylamino)-11-oxoundecylethanthioat **30** zu den Templaten *N*(10)-Isobutylflavin **16** und *N*(3)-Methyl-*N*(10)-isobutylflavin **20** wurde eine 16 mM Stammlösung des Rezeptors und eine 2 mM Stammlösung der Template angesetzt. In elf NMR-Röhrchen wurde nun jeweils 100 µl Templatlösung vorgelegt. Dann

wurden steigende Volumina an Rezeptorlösung zugegeben (0 μl bis 500 μl in 50 μl Intervallen). Jedes Röhrchen wurde mit CDCl_3 auf ein Gesamtvolumen von 600 μl aufgefüllt. Nach Aufnahme der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren wurden die chemische Verschiebung der $\text{NH}(3)$, $\text{ArH}(6)$ und $\text{ArH}(9)$ Signale des Templats verfolgt.

Zur Bestimmung der Bindungskonstanten der Komplexe zwischen 1-(12-Acetylthiododecyl)-5-methylpyrimidin-2,4-dion **42** und *N*(10)-Isobutylflavin **16** und *N,N'*-Diacetyl-2,6-pyridindiamin **23** wurde eine 3 mM Rezeptorlösung in CDCl_3 und eine 30 mM Templatlösung in CDCl_3 angesetzt. Es wurde in elf NMR-Röhrchen jeweils 100 μl Rezeptorlösung vorgelegt, zu denen steigende Volumina an Templatlösung (0 μl bis 500 μl in 50 μl Intervallen) gegeben und schließlich alle Röhrchen mit Lösungsmittel auf 600 μl aufgefüllt wurden. Nach Aufnahme der $^1\text{H-NMR}$ -Spektren wurde das $\text{NH}(3)$ -Protonensignal des Rezeptors und das $\text{NH}(3)$ -Signal des Flavins verfolgt. In diesem Fall sollte durch die konstant gehaltene Rezeptorkonzentration eine mögliche Selbstaggregation vermieden werden.

Für die Bestimmung der Bindungskonstante der Goldnanopartikel-basierten Rezeptoren wurden Templatlösungen mit einer Konzentration von 2 mM bzw. 4 mM angesetzt. Die Konzentrationen der Goldnanopartikel-Stammlösungen wurden auf die gebundenen Diaminopyridineinheiten bezogen. Sie lagen zwischen 5 mM bis 8 mM, was bedeutet, dass in 100 μl dieser Lösung 0.5 bzw. 0.8 μmol Diaminopyridingruppen enthielten. Die Konzentrationsunterschiede in den Stammlösungen sind auf die schwankende Anzahl an auf dem Goldnanopartikel gebundenen Diaminopyridineinheiten zurückzuführen. Zusätzlich musste die vollständige Löslichkeit der Goldnanopartikel beachtet werden. Diese war bis 30 mg/ml gegeben. Beim Ansetzen der NMR-Proben wurde die Templatlösung erst kurz vor der eigentlichen Messung zugegeben, um einen Einfluss einer möglichen Migration der Nanopartikel-gebundenen Liganden auf die Bindungskonstante ausschließen zu können. Um diesen Effekt zu überprüfen wurden die Proben nach 4 d nochmals vermessen. In diesem Zeitraum kam es trotz größter Sorgfalt zum Verdunsten des CDCl_3 und in Folge dessen zu Konzentrationsunterschieden zwischen den Proben der Messung direkt nach Zugabe und den Proben der Messung nach 4 d. Bei der Bestimmung der Bindungskonstante wurde die erhöhte Konzentration durch Abschätzen des verdunsteten Lösungsmittelvolumens berücksichtigt.

Beispiel: Titration von Flavin mit **AuC18PYRDAP_{Rot}**

Es wurde eine 4 mM Lösung von Flavin in CDCl_3 (neutralisiert über K_2CO_3) angesetzt. Mit Hilfe der im Iodabbau bestimmten molare Menge an gebundenen Diaminopyridin wurde eine

Nanopartikellösung in CDCl_3 (neutralisiert über K_2CO_3) hergestellt, die eine Konzentration von 6 mM bezogen auf die vorhandenen Diaminopyridingruppen hatte. Tabelle 22 zeigt nun die Zusammensetzung der sieben NMR-Proben.

Probe	cDAP/cFlavin	$V_{\text{AuNP}}/\mu\text{l}$	$V_{\text{Fla}}/\mu\text{l}$	$V_{\text{CDCl}_3}/\mu\text{l}$
1	0.00	0	50	550
2	1.50	50	50	500
3	3.00	100	50	450
4	6.00	200	50	350
5	9.00	300	50	250
6	12.75	425	50	125
7	16.50	550	50	0

Tab. 22: Mischungsverhältnisse in den Einzelproben der Wirt-Gast-Titration von Flavin mit **AuC18PYRDAP_{Rot}**.

6.3.2. Verdünnungstitration

Zur Bestimmung der Aggregationskonstante von 1-(12-Acetylthiododecyl)-5-methylpyrimidin-2,4-dion **42** wurde eine 0.7 M Lösung des Rezeptors in CDCl_3 in einem NMR-Röhrchen angesetzt. Es wurden das ^1H -NMR-Spektrum gemessen und die Lage des NH-Protonensignals ermittelt. Nach jeder NMR-Messung wurde die Lösung mit einer definierten Menge CDCl_3 verdünnt. Nach der 17. Messung und einem Volumen von insgesamt 1.999 ml wurden von dieser Lösung 100 μl entnommen und mit 300 μl CDCl_3 verdünnt. Diese Probe wurde nochmal nach und nach auf ein Gesamtvolumen von 1.9 ml verdünnt. Insgesamt wurden 21 Proben vermessen und damit ein Konzentrationsbereich von 0.7 M bis 6.45 mM abgedeckt.

6.3.3. MALDI-TOF-MS

Für die MALDI-TOF-Massenspektrometrie der organischen Verbindungen wurde 2,5-Dihydroxybenzoesäure (DHB) als Matrix verwendet. Die Spektren wurden bei einer Spannung von 25 kV im positiven Modus bzw. bei 20 kV im negativen Modus aufgenommen. Zusätzlich wurde für die Goldnanopartikel die Matrix 2-(((2E)-3-4-^tButylphenyl)-2-methyl-2-propenylidene)malononitril (DCTB) getestet.

6.3.4. DLS-Messungen

Eine maximal 5 μM Lösung der Goldnanopartikel in Chloroform wurde in einer Glasküvette bei 25 °C vermessen. Für Chloroform wurde ein Brechungsindex von 1.445 und eine dynamische Viskosität von 0.537 mPa*s berücksichtigt.

6.3.5. TEM-Messungen

Ein 200 Maschen Kupfernetz wurde in eine Lösung der Goldnanopartikel mit einer Konzentration von 0.5 mg/ml in Methylenchlorid getaucht. Es wurde gewartet bis das Lösungsmittel verdunstet war. Dann konnte die Probe im Mikroskop untersucht werden.

6.4. Allgemeine Synthesvorschriften

6.4.1. Allgemeine Vorschrift für Ligandenaustauschreaktionen mit vorangehender *in situ*-Entschützung der Thioacetate

Unter Argonatmosphäre wurde eine Mischung der gewünschten Thioacetate angesetzt. Von jedem Thioacetat wurde eine Stammlösung mit $c = 0.1 \text{ M}$ (entgastem Methylenchlorid p.A./ Methanol p.A. 1:1 (v:v)) angesetzt. Diese Stammlösungen wurden im gewünschten Verhältnis unter Argonatmosphäre gemischt, mit entgastem DIEA (16-facher Überschuss zur Summe der Thioacetate) und entgastem Methanol (167 ml/mmol) 5 d bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (MALDI/TOF MS-Kontrolle und DC-Kontrolle) wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand ohne weitere Aufreinigung für die darauf folgende Ligandenaustauschreaktionen verwendet.

Unter Argonatmosphäre wurde zu den Thiolen die gewünschte Menge an Goldnanopartikel-Stammlösung ($c = 0.27 \text{ mM}$ in entgastem Chloroform), Templatstammlösung ($c = 0.05 \text{ M}$ in entgastem Chloroform) und Chloroform (13 ml/mmol Thioacetate) gegeben. Dann wurde 14 d bei Raumtemperatur gerührt. Nach 5 bis 7 d mussten die Deckel der Reaktion gewechselt werden. Nach 14 d wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der schwarz-braune Rückstand durch Größenausschlusschromatographie über Sephadex LH20 mit Methylenchlorid/DMSO 100:1 (v:v) als Eluens gereinigt. Der Rückstand wurde in Methylenchlorid aufgenommen und zweimal mit Wasser gewaschen. Das Lösungsmittel wurde entfernt, die Nanopartikel in sehr wenig

Methylenchlorid aufgenommen und je nach Löslichkeit mit Aceton oder Acetonitril ausgefällt und abzentrifugiert. Der Feststoff wurde noch dreimal in Aceton bzw. Acetonitril suspendiert, abzentrifugiert und schließlich getrocknet. Mittels $^1\text{H-NMR}$ und DC wurde nochmals kontrolliert, ob alle freien Thiole entfernt wurden, bevor die Nanopartikel für den Iodabbau eingesetzt wurden.

Beispiel einer Standardreaktion mit 2 eq Templat:

Eine 0.1 M Lösung von *S*-10-(6-Acetylamidopyridin-2-ylamino)-11-oxoundecylethanthioat **30** in Methylenchlorid/Methanol 1:1 (135 μl), eine 0.1 M Lösung von *S*-11-(Pyren-1-yl)undecylethanthioat **26** in Methylenchlorid/Methanol 1:1 (135 μl), DIEA (71 μl) und Methanol (4.3 ml) wurden gemischt und nach der allgemeinen Vorschrift zur Entschützung der Thioacetate umgesetzt. Das Lösungsmittel wurde entfernt und der Rückstand direkt im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt.

Zu den frisch entschützten Thiolen wurde eine 0.27 mM Lösung von **AuC18** in Chloroform (906 μl), eine 0.05 M Templatlösung in Chloroform (540 μl) und Chloroform (2.18 ml) gegeben und nach der allgemeinen Vorschrift für die Ligandenaustauschreaktionen umgesetzt und aufgearbeitet.

Ausbeute: 7 mg schwarz-brauner Feststoff.

6.4.2. Allgemeine Vorschrift für Ligandenaustauschreaktionen bei Verwendung von 2-(7,8-Dimethylisalloxazin-10-yl)ethylammonium Tosylat (21) als Templat

Die *in situ*-Entschützung verlief analog der allgemeinen Vorschrift in Kapitel 6.4.1. Für die Ligandenaustauschreaktionen musste die Stammlösung von **21** in DMSO/ CHCl_3 im Verhältnis 2:1 (v:v) angesetzt werden. Die Austauschreaktion verlief dementsprechend in CHCl_3 mit 7% DMSO als Lösungsmittel. Die Aufreinigung erfolgte über Größenausschlusschromatographie mit $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ 3:1 (v:v) als Eluens, wodurch der Reinigungsschritt des Waschens mit Wasser entfallen konnte. Alle anderen Parameter wurden nicht verändert.

6.4.3. Allgemeine Vorschrift für Ligandenaustauschreaktionen mit vorangehender *in situ*-Entschützung der Thioacetate bei Verwendung von AuC18DAP

Unter einer Argonatmosphäre wurde eine Lösung von **26** (135 μl , 0.1 M Lösung in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:1 (v:v)), **30** (118 μl , 0.1 M Lösung in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:1 (v:v)) und 1-Octadecanthiol (18 μl , 0.1 M Lösung in $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1:1 (v:v)) mit entgastem DIEA (73 μl , 446 μmol) und entgastem Methanol

(4.3 ml) versetzt. Es wurde für 5 d bei Raumtemperatur gerührt. Nach beendeter Reaktion (MALDI/TOF MS-Kontrolle und DC-Kontrolle) wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der Rückstand ohne weitere Aufreinigung für die darauf folgenden Ligandenaustauschreaktionen verwendet. Unter einer Argonatmosphäre wurde zu den Thiolen eine **AuC18DAP**-Stammlösung (1 ml, $c = 102.5 \text{ mg} / 10.25 \text{ ml}$), eine Templatstammlösung (540 μl , $c = 0.05 \text{ M}$ in entgastem Chloroform) und entgastes Chloroform (2.09 ml) gegeben. Danach wurde bei Raumtemperatur gerührt. Nach 6 d wurden die Deckel der Reaktion gewechselt werden. Nach 14 d wurde das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der schwarz-braune Rückstand durch Größenausschlusschromatographie über Sephadex LH-20 mit Methylenchlorid/DMSO 100:1 (v:v) als Eluens gereinigt. Der Rückstand wurde in Methylenchlorid aufgenommen und zweimal mit Wasser gewaschen. Das Lösungsmittel wurde entfernt, die Nanopartikel in Methylenchlorid (100 μl) aufgenommen und mit Acetonitril (50 ml) ausgefällt und abzentrifugiert. Der Feststoff wurde noch dreimal in Acetonitril suspendiert, abzentrifugiert und schließlich getrocknet. Mittels $^1\text{H-NMR}$ und DC wurde nochmals kontrolliert, ob alle freien Thiole entfernt wurden, bevor die Nanopartikel für den Iodabbau eingesetzt wurden.

6.4.4. Allgemeine Vorschrift für den Iodabbau von C12 enthaltenden Goldnanopartikeln

Die gewünschte Menge Nanopartikel wurde in einem für die Zentrifuge geeigneten Gefäß vorgelegt. Dann wurde so viel CD_2Cl_2 zugegeben, dass das Gesamtvolumen an CD_2Cl_2 zusammen mit der späteren Menge Iodlösung 170 μl betrug. Es wurden 430 μl DMSO- d_6 und schließlich 0.06 Massenäquivalente an Iod in Form einer 0.02 M-Lösung in CD_2Cl_2 zugegeben. Dann wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt bis die braune Lösung eine farblose bis hellgelbe Suspension geworden war. Anschließend wurde der ausgefallene Feststoff abzentrifugiert, die überstehende Lösung wurde direkt in ein NMR-Röhrchen gefüllt und vermessen.

Beispiel einer Standardreaktion:

Nanopartikel (8 mg) wurden in 75 μl CD_2Cl_2 und 430 μl DMSO- d_6 in einem Eppendorfgefäß gelöst und mit 95 μl 0.02 M I_2 -Lösung versetzt. Nach 3 h wurde der Feststoff abzentrifugiert und die überstehende Lösung NMR-spektroskopisch analysiert.

6.4.5. Allgemeine Vorschrift für den Iodabbau von C18 enthaltenden Goldnanopartikeln

In einem NMR-Röhrchen wurden die Nanopartikel vorgelegt und in Tetrachlorkohlenstoff (200 μl)

gelöst. Dann wurde so viel CD_2Cl_2 zugegeben, dass das Gesamtvolumen an CD_2Cl_2 zusammen mit der späteren Menge I_2 -Lösung 250 μl betrug. Es wurde MeOD (60 μl) und eine 0.1 M Lösung des Standards 2,4,6-Trimethoxytriazin in MeOD (90 μl) zugesetzt und schließlich 0.06 Massenäquivalente Iod in Form einer 0.02 M-Lösung in CD_2Cl_2 zugegeben. Dann wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt bis die braune Lösung eine orange Suspension geworden war. Die ausgefallenen Goldagglomerate setzten sich selbstständig ab, was eine direkt NMR-Messung ermöglichte.

Beispiel einer Standardreaktion:

Nanopartikel (6.3 mg) wurden in Tetrachlorkohlenstoff (200 μl), CD_2Cl_2 (175 μl) und MeOD (60 μl) in einem NMR-Röhrchen gelöst und zuerst mit einer 0.01 M 2,4,6-Trimethoxytriazin-Lösung in MeOD (90 μl) versetzt und dann mit einer 0.02 M I_2 -Lösung in CD_2Cl_2 (75 μl). Nach 3 h wurde die überstehende Lösung NMR-spektroskopisch analysiert.

Alternativ wurde 1,3,5-Triazin als Standard verwendet, wenn die NMR-Signale der freigesetzten Disulfide das Signal des 2,4,6-Trimethoxytriazin überlagerten.

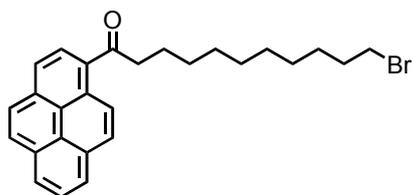
6.5. Synthesevorschriften

6.5.1. Ligandensynthesen

Darstellung von 11-Brom-1-(pyren-1-yl)undecan-1-on (24)¹³⁹

Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde zu einer Lösung von 11-Bromundecansäure (2.65 g, 10 mmol) in trockenem Methylenchlorid (10 ml) Oxalylchlorid (858 μl , 10 mmol) gegeben, gefolgt von einem Tropfen *N,N*-Dimethylformamid. Es wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt bis die Gasentwicklung beendet war. Diese Lösung wurde zu einer auf $-78\text{ }^\circ\text{C}$ gekühlten Lösung von Pyren (1.01 g, 5.0 mmol) und Aluminiumchlorid (1.33 g, 10 mmol) in trockenem Methylenchlorid (20 ml) gegeben. Es wurde 3 h bei dieser Temperatur gerührt und anschließend für 16 h bei Raumtemperatur. Dann wurde die Reaktion mit 1 M HCl (10 ml) gequenchet. Die organische Phase wurde einmal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (SiO_2 , Methylenchlorid/Hexan 1:1 (v:v)) und anschließend getrocknet.

Ausbeute: 1.69 g (3.76 mmol, 75% d. Th.) gelber Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3]: δ = 1.28-1.47 (m, 12H; CH_2 -Alkyl), 1.79-1.89 (m, 4H, CH_2 - CH_2Br + CH_2 - CH_2COPyr); 3.21 (t, 3J = 7.4 Hz, 2H; CH_2CO); 3.39 (t, 3J = 6.9 Hz, 2H; CH_2 -Br); 8.04-8.32 (m, 8H, Pyr); 8.86(d, 3J = 9.3 Hz, 1H; PyrH ortho zu CO) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ [100 MHz, 25 °C, CDCl_3]: δ = 25.1 (CH_2 - CH_2COPyr), 28.3, 28.9, 29.5, 29.6 (CH_2 -Alkyl), 33.0 (CH_2 - CH_2Br), 34.2 (CH_2 -Br), 42.8 (CH_2 -COPyr), 124.2, 124.5, 125.0, 125.2, 126.1, 126.1, 126.3, 126.5, 127.2, 129.4, 129.5, 129.6, 130.7, 131.3, 133.1, 133.7 (Pyr), 205.6 (CO) ppm

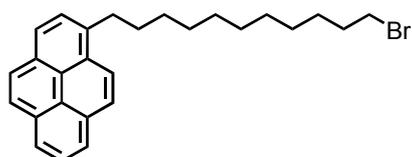
MS (MALDI/TOF) m/z : 449 (100%, Br^{79} -Isotop), 451 (92%, Br^{81} -Isotop) [$\text{M}+\text{H}^+$] 471 (7%, Br^{79} -Isotop), 473 (7%, Br^{81} -Isotop) [$\text{M}+\text{Na}^+$]

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 637(w), 716(m), 759(w), 847(s), 957(w), 1123(w), 1208(m), 1223(m), 1275(w), 1379(w), 1469(m), 1506(w), 1593(m), 1673(s), 2849(m), 2917(s), 3435(m) cm^{-1}

Darstellung von 1-(11-Bromoundecyl)pyren (25)¹³⁹

Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde zu einer Lösung von Aluminiumchlorid (1.25 g, 9.40 mmol) in Diethylether (20 ml) eine 1 M Lithiumaluminiumhydridlösung in Diethylether (8.27 ml, 8.27 mmol) gegeben. Anschließend wurde eine Lösung von 11-Brom-1-(pyren-1-yl)undecan-1-on (1.69 g, 3.76 mmol) in trockenem Methylenchlorid (35 ml) so zugetropft, dass das Lösungsmittel leicht am Sieden blieb. Nach beendeter Zugabe wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und dann die Reaktion durch die Zugabe von Wasser gequencht. Die organische Phase wurde einmal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch gereinigt (SiO_2 , Methylenchlorid/Hexan 1:20 (v:v)) und anschließend getrocknet.

Ausbeute: 1.47 g (3.38 mmol, 90% d. Th.) weißer Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3]: δ = 1.28-1.50 (m, 14H; CH_2 -Alkyl), 1.80-1.87 (m, 4H; CH_2 - CH_2Br + CH_2 - CH_2Pyr), 3.32-3.41 (m, 4H; CH_2 -Br + CH_2 -Pyr), 7.87 (d, 3J = 7.7 Hz, 1H), 7.97-8.17 (m, 7H), 8.28 (d, 3J = 9.2 Hz, 1H; alle PyrH) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ [100 MHz, 25 °C, CDCl_3]: δ = 28.3, 28.9, 29.6, 29.7, 29.7, 29.9, 29.9 (CH_2 -Alkyl), 32.1, 33.0 (CH_2 - CH_2Pyr + CH_2 - CH_2Br), 123.7, 124.7, 124.9, 125.2, 125.9, 126.6, 127.2, 127.4, 127.7, 128.7, 129.8, 131.1, 131.6, 137.5 (Pyr) ppm

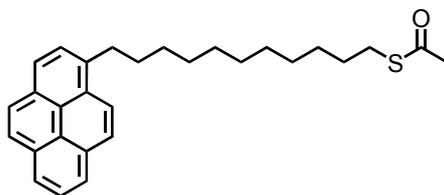
MS MALDI/TOF m/z : 434 (100%, Br^{79} -Isotop), 436 (94%, Br^{81} -Isotop) [$\text{M}+\text{H}^+$]

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 644(w), 711(m), 738(w), 842(s), 1094(w), 1183(w), 1206(w), 1243(w), 1412(w), 1432(w), 1464(m), 1508(w), 1601(w), 2845(s), 2921(s), 3034(w) cm^{-1}

Darstellung von S-11-(Pyren-1-yl)undecylethanthioat (26)¹³⁹

Zu einer Suspension von 1-(11-Bromundecyl)pyren (340 mg, 781 μmol) in DMSO (20 ml) wurde Kaliumthioacetat (170 mg, 1.49 mmol) gegeben und die Reaktionsmischung anschließend für 19 h auf 65 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Lösung mit Methylenchlorid und Wasser verdünnt. Die wässrige Phase wurde dann zweimal mit Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und anschließend wurde das Lösungsmittel destillativ entfernt. Der ölige Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (SiO_2 , Methylenchlorid/Hexan 1:1 (v:v)), das Produkt daraufhin aus Methanol/Methylenchlorid umkristallisiert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 309 mg (717 μmol , 92% d. Th.) feine weiße Nadeln.



Schmelzpunkt: 54-56°C

$^1\text{H-NMR}$ [600 MHz, 25 °C, CDCl_3]: δ = 1.27-1.38 (m, 12H; CH_2 -Alkyl), 1.45-1.57 (m, 4H; CH_2 - CH_2Pyr + CH_2 - CH_2S), 1.85 (qn, 3J = 7.7 Hz, 2H; CH_2 - CH_2Pyr), 2.32 (s, 3H, CH_3 -COS), 2.85 (t, 3J = 7.4 Hz, 2H; CH_2 -S), 3.33 (t, 3J = 7.9 Hz, 2H; CH_2 -Pyr), 7.87 (d, 3J = 7.7 Hz, 1H, PyrH ortho zu Alkylkette); 7.97-8.17 (m, 7H; PyrH), 8.29 (d, 3J = 9.2 Hz, 1H; PyrH) ppm

^{13}C -NMR [150 MHz, 25 °C, CDCl_3]: δ = 28.9 ($\text{CH}_2\text{-S}$), 29.2, 29.3, 29.6, 29.6, 29.7, 30.0 ($\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 30.8 ($\text{CH}_3\text{-COS}$), 32.1 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{Pyr}$), 33.8 ($\text{CH}_2\text{-Pyr}$), 123.7, 124.7, 124.9, 125.2, 125.9, 126.6, 127.2, 127.4, 127.7, 128.7, 129.8, 131.1, 131.6, 137.5 (Pyr), 196.2 (CO) ppm

MS (MALDI/TOF) m/z : 430 (100%) [$\text{M}+\text{H}^+$], 453 (6%) [$\text{M}+\text{Na}^+$], 469 (1%) [$\text{M}+\text{K}^+$]

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 586(w), 635(s), 708(s), 734(w), 754(m), 841(s), 957(m), 1112(m), 1140(m), 1183(m), 1240(w), 1354(m), 1426(m), 1466(m), 1601(m), 1685(s), 1783(w), 2845(s), 2927(s), 3040(w) cm^{-1}

CHNS-Analyse

$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{OS}$

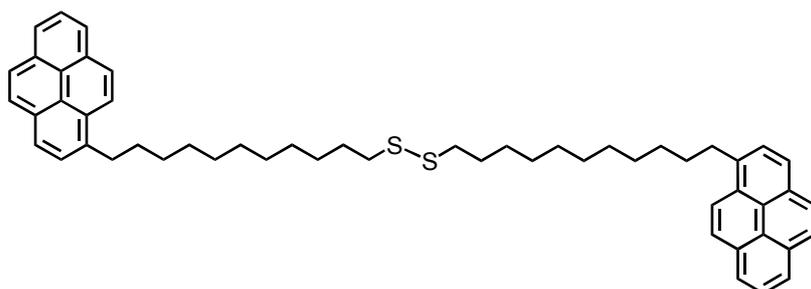
ber.: C: 80.88% H: 7.96% S: 7.45%

gef.: C: 80.64% H: 8.10% S: 7.21%

Darstellung von 1,2-Bis(11-(Pyren-1-yl)undecyl)disulfan (27)¹³⁹

Zu einer Lösung von S-11-(Pyren-1-yl)undecylethanthioat (200 mg, 0.46 mmol) in trockenem Tetrahydrofuran (20 ml) wurde Natriummethanolat (74 mg, 1.37 mmol) gegeben und das Gemisch 48 h gerührt. Dann wurde die Reaktionsmischung mit gesättigter Ammoniumchloridlösung in Wasser (11 ml) versetzt und anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (SiO_2 , Methylenchlorid/Hexan 1:5 (v:v)). Beim Einrotieren der Produktfraktionen fiel ein weißer Feststoff aus, der abfiltriert, mit Hexan gewaschen und anschließend getrocknet wurde.

Ausbeute: 122 mg (188 μmol , 68% d. Th.) weißer Feststoff.



Schmelzpunkt: 75-78 °C

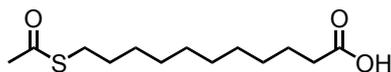
^1H -NMR [600 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 1.27-1.36 (m, 24H), 1.44-1.49 (m, 4H; alle $\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 1.65 (qn, 3J = 7.4 Hz, 4H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{S}$), 1.84 (qn, 3J = 7.7 Hz, 4H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{Pyr}$), 2.66 (t, 3J = 7.4 Hz, 4H; $\text{CH}_2\text{-S}$), 3.32 (t, 3J = 7.9 Hz, 4H; $\text{CH}_2\text{-Pyr}$), 7.85 (d, 3J = 7.7 Hz, 2H), 7.96-8.16 (m, 14H), 8.27 (d, 3J = 9.2 Hz; alle Pyr-H) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ [50 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 28.7, 29.5, 29.6, 29.8, 30.1 ($\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 32.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{Pyr}$), 39.5 ($\text{CH}_2\text{-S}$), 123.7, 124.8, 124.9, 125.2, 125.9, 126.6, 127.2, 127.4, 127.7, 128.8, 129.9, 131.1, 131.6, 137.5 (Pyr-C) ppm

Darstellung von S-Acetyl-11-thioundecansäure (28)⁸³

Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde zu einer Lösung von Kaliumthioacetat (2.28 g, 20.0 mmol) in trockenem Methanol (100 ml) 11-Bromundecansäure (2.65 g, 10.0 mmol) gegeben und das Gemisch anschließend für 20 h unter Rühren refluxiert. Die Reaktionslösung wurde auf Eis gegeben und mit 6 M HCl auf einen pH-Wert von 3 eingestellt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Methylchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (SiO_2 , Ethylacetat/Pentan 3:1 (v:v)) und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 2.61 g (10.0 mmol, 100% d. Th.) hellgelbes Pulver.



$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3]: δ = 1.24–1.32 (m, 12H; $\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 1.52–1.66 (m, 4H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{S}$ + $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CO}$), 2.32–2.36 (m, 5H; $\text{CH}_2\text{-COOH}$ + $\text{CH}_3\text{-CO}$), 2.86 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 2H; S- CH_2)

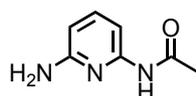
$^{13}\text{C-NMR}$ [100 MHz, 25 °C, CDCl_3]: δ = 24.8, 28.9, 29.2, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6 ($\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 30.7 (CH_3), 34.1 ($\text{CH}_2\text{-CO}$), 179.7 (COOH), 196.2 (CO-S)

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 631(m), 723(w), 950(w), 1105(m), 1139(m), 1236(m), 1290(m), 1356(w), 1409(m), 1432(m), 1464(m), 1697(s), 2850(s), 2920(s), 3039(m), 3369(w) cm^{-1}

Darstellung von N-Acetyl-2,6-diaminopyridin (29)¹⁸³

Eine Lösung von Acetylchlorid (1.78 ml, 25.0 mmol) in Dioxan (4 ml) wurde langsam zu einer Lösung von 2,6-Diaminopyridin (5.46 g, 50.0 mmol) in Dioxan (25 ml) getropft, so dass die Reaktionstemperatur unter 30 °C blieb. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert, das Filtrat im Vakuum vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (SiO_2 , Ethylacetat). Das Produkt wurde schließlich im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 2.78 g (18.4 mmol, 74% d. Th.) weiße Kristalle.



$^1\text{H-NMR}$ [200 MHz, 25 °C, CDCl_3]: δ = 2.16 (s, 3H; CH_3), 4.26 (br, 2H; NH_2), 6.22 (d, 3J = 8.6 Hz, 1H; APH(5)), 7.40-7.53 (m, 3H; APH(3) + APH(4) + NH)

$^{13}\text{C-NMR}$ [50 MHz, 25 °C, DMSO-d_6]: δ = 23.9 (CH_3), 100.7, 103.2 (APC(3)+APC(5)), 138.2 (APC(4)), 150.5 (APC(2)), 158.4 (APC(6)), 168.7 (CO)

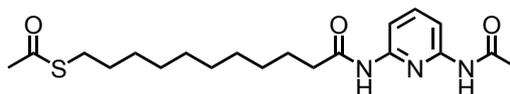
MS (MALDI/TOF) m/z : 151 (100%) [$\text{M}+\text{H}^+$], 174 (99%) [$\text{M}+\text{Na}^+$], 190 (58%) [$\text{M}+\text{K}^+$]

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 549(w), 570(w), 740(w), 793(s), 869(w), 990(m), 1076(w), 1164(m), 1242(m), 1304(s), 1370(s), 1463(s), 1542(s), 1633(s), 1673(s), 3022(m), 3227(s), 3358(s), 3439(s) cm^{-1}

Darstellung von S-10-(6-Acetylamidopyridin-2-ylamino)-11-oxoundecylthioat (30)¹⁵⁸

Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde eine Suspension von *N*-Acetyl-2,6-diaminopyridin (227 mg, 1.50 mmol), *S*-Acetyl-11-thioundecansäure (391 mg, 1.50 mmol) und DIEA (1.3 ml, 3.75 mmol) in trockenem Ethylacetat (25 ml) im Eisbad abgekühlt. Dann wurde unter Rühren eine 50%-ige T3P-Lösung in Ethylacetat (1.0 g, 1.50 mmol) zugetropft. Es wurde eine Stunde unter Eisbadkühlung und anschließend 6 d bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde durch Zugabe von Wasser (10 ml) gequenchet. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit 10%iger Natriumhydrogencarbonatlösung, einmal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (SiO_2 , Ethylacetat/Pentan 1:1 (v:v)). Der weiße Feststoff wurde anschließend aus Hexan/Ethylacetat umkristallisiert und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 378 mg (0.96 mmol, 64% d. Th.) weißer Feststoff.



Schmelzpunkt: 91-93 °C

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 1.27-1.35 (m, 12H; CH_2 -Alkyl), 1.53-1.75 (m, 4H; CH_2 - CH_2S + CH_2 - CH_2CO), 2.21 (s, 3H; CH_3 -CON), 2.32-2.41 (m, 5H; CH_2 -CO+ CH_3 -COS), 2.86 (t, 3J = 7.1 Hz, 2H; CH_2 -S), 7.53 (bs, 2H; NH + NH), 7.69 (t, 3J = 8.0 Hz, 1H; APH(4))* , 7.84-7.92 (m, 2H; APH(3) + APH(5))*

ppm

*in DMSO-d₆ fallen die Signale zu einem Singulett bei 7.70 ppm zusammen

¹³C-NMR [150 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 24.9 (CH₃-CON), 25.4 (CH₂-CH₂CO), 28.9, 28.9, 29.2, 29.2, 29.3, 29.4, 29.4, 29.5, 29.5, 29.6 (CH₂-Alkyl), 30.8 (CH₃-COS), 37.0 (CH₂-CON), 109.5, 109.6 (APC(3) + APC(5)), 141.1 (APC(4)), 149.4, 149.6 (APC(2) + APC(5)), 168.6 (CH₃-CO-N), 171.7 (NH-CO-CH₂), 196.3 (S-CO) ppm

MS (MALDI/TOF) *m/z* : 394 (95%) [M+H⁺], 416 (100%) [M+Na⁺], 432 (91%) [M+K⁺]

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 592(w), 633(m), 723(w), 801(s), 960(w), 1006(w), 1141(m), 1180(w), 1242(m), 1306(s), 1368(m), 1412(s), 1470(s), 1526(s), 1587(s), 1670(s), 1697(s), 2849(s), 2919(s), 3320(s) cm⁻¹

CHNS-Analyse

C₂₀H₃₁N₃O₃S

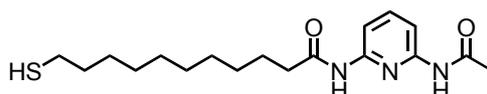
ber.: C: 61.04% H: 7.94% N: 10.68% S: 8.15%

gef.: C: 61.04% H: 7.92% N: 10.58% S: 8.07%

Darstellung von N-(6-Acetamidopyridin-2-yl)-11-mercaptoundecanamide (31)¹⁵⁸

Unter einer Argonatmosphäre wurde S-10-(6-Acetylamidopyridin-2-ylamino)-11-oxoundecylethanthioat (100 mg, 254 μmol) in entgastem Methanol (10 ml) gelöst und Natriummethanolat (160 mg, 2.96 mmol) zugegeben. Es wurde noch 1 h Argon durch die Lösung geleitet und bei Raumtemperatur 24 h lang gerührt. Dann wurde gesättigte Ammoniumchloridlösung (10 ml) zugegeben und anschließend das Methanol unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit Ethylacetat und Wasser verdünnt und nach Abtrennen der organischen Phase wurde die wässrige Phase ein weiteres Mal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (SiO₂, Ethylacetat/Methylenchlorid 9:1 (v:v)) und das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 70.0 mg (198 μmol, 79% d. Th.) weißer Feststoff.



¹H-NMR [400 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 1.25-1.38 (m, 13H; CH₂-Alkyl + SH), 1.56-1.75 (m, 4H; CH₂-CH₂S + CH₂-CH₂CO), 2.20 (s, 3H; CH₃), 2.37 (t, ³J = 7.5 Hz, 2H; CH₂-CO), 2.52 (q, ³J = 7.4 Hz, 2H; CH₂-S),

7.53-7.57 (m, 2H; NH + NH), 7.70 (t, $^3J = 8.1$ Hz, 1H; APH(4)), 7.86-7.92 (m, 2H; APH(3) + APH(5)) ppm

^{13}C -NMR [100 MHz, 25 °C, CDCl_3] $\delta = 24.8, 24.8$ ($\text{CH}_3+\text{CH}_2\text{-S}$), 25.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CO}$), 28.5, 29.2, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6 ($\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 34.2 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{S}$), 38.0 ($\text{CH}_2\text{-CON}$), 109.5, 109.7 (APC(3) + APC(5)), 141.0 (APC(4)), 149.6 (APC(2)+APC(5)), 168.4 ($\text{CH}_3\text{-CO-N}$), 171.5 (NH-CO-CH_2) ppm

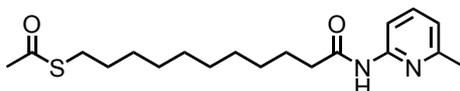
MS (MALDI/TOF) m/z : 352 (100%) [$\text{M}+\text{H}^+$], 374 (6%) [$\text{M}+\text{Na}^+$]

IR (KBr): $\tilde{\nu} = 669(\text{w}), 802(\text{w}), 1241(\text{w}), 1305(\text{m}), 1368(\text{w}), 1411(\text{w}), 1496(\text{s}), 1525(\text{s}), 1587(\text{s}), 1668(\text{s}), 2848(\text{m}), 2920(\text{s}), 3312(\text{m}) \text{ cm}^{-1}$

Darstellung von S-11-(6-Methylpyridin-2-ylamino)-11-oxoundecylethanthioat (37)

Zu einer Lösung von 2-Amino-6-methylpyridin (270 mg, 2.5 mmol), S-Acetyl-11-thioundecansäure (617 mg, 2.4 mmol) und TBTU (883 mg, 2.75 mmol) wurde unter Rühren bei Raumtemperatur DIEA (775 mg, 1 ml, 6.00 mmol) gegeben, so dass der pH-Wert zwischen 9 und 10 lag. Nach 2 d wurde das Lösungsmittel destillativ entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (SiO_2 , Ethylacetat/Pentan 1:5 (v:v)). Das erhaltene Rohprodukt wurde aus Hexan/Ethylacetat umkristallisiert und anschließend im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 208 mg (1.77 mmol, 74% d. Th.) weißer Feststoff.



Schmelzpunkt: 46-49 °C

^1H -NMR [400 MHz, 25 °C, CDCl_3] $\delta = 1.27\text{-}1.36$ (m, 12H; $\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 1.52-1.59 (m, 2H; $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO} + \text{H}_2\text{O}$), 1.72 (q, $^3J = 7.4$ Hz, 2H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{S}$), 2.32-2.38 (m, 5H; $\text{CH}_2\text{-CO} + \text{CH}_3\text{-S}$), 2.44 (s, 3H; $\text{CH}_3\text{-AP}$), 2.86 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 2H; $\text{CH}_2\text{-S}$), 6.88 (d, $^3J = 7.5$ Hz, 1H; APH(5)), 7.58 (t, $^3J = 7.9$ Hz, 1H; APH((4))), 8.01 (d, $^3J = 8.2$ Hz, 1H; APH(3)) ppm

^{13}C -NMR [100 MHz, 25 °C, CDCl_3] $\delta = 24.1$ (CH_3), 25.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{CO}$), 28.9, 29.2, 29.3, 29.3, 29.4, 29.4, 29.5, 29.6 ($\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 30.8 ($\text{CH}_3\text{-COS}$), 38.0 ($\text{CH}_2\text{-CON}$), 110.8 (APC(3)), 119.2 (APC(5)), 138.8 (APC(4)), 150.8 (APC(6)), 156.8 (APC(2)), 171.8 (CO-N), 196.2 (CO-S) ppm

MS MALDI/TOF (m/z): 351 (100%) [$\text{M}+\text{H}^+$], 373 (87%) [$\text{M}+\text{Na}^+$], 389 (77%) [$\text{M}+\text{K}^+$]

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 557(w), 636(s), 715(w), 790(s), 957(w), 1129(m), 159(s), 1234(w), 1301(m), 1396(m), 1459(s), 1520(s), 1579(s), 1695(s), 2854(s), 2925(s), 3387(s) cm^{-1}

CHNS-Analyse $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$

ber.: C: 65.10% H: 8.63% N: 7.99%

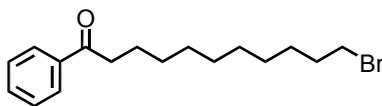
gef.: C: 65.22% H: 8.68% N: 7.80%

Die Elementaranalyse erfolgte am Perkin-Elmer 2400 CHN Elemental Analyzer, mit dem die Schwefelmenge nicht bestimmt werden konnte.

Darstellung von 11-Brom-1-phenylundecan-1-on (38)¹⁶⁸

Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde eine Lösung von 11-Bromundecansäure (1.32 g, 5.0 mmol) in Thionylchlorid (1.43 g, 900 μl , 12.0 mmol) 7 h gerührt und dann auf 0 °C abgekühlt. Benzol (1.76 g, 2 ml, 22.2 mmol) wurde zugegeben, dann portionsweise Aluminiumchlorid (960 mg, 7.2 mmol) und anschließend wurde etwa 30 min bei 0 °C gerührt bis das Aluminiumchlorid vollständig gelöst war. Anschließend wurde 16 h bei Raumtemperatur gerührt und die Lösung dann auf Eiswasser gegossen. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen je einmal mit 10%iger Natriumhydrogencarbonatlösung, Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2 , Methylchlorid/Hexan 1:1 (v:v)) gereinigt. Schließlich wurde das Produkt im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 1.46 g (4.49 mmol, 90% d. Th.) weißer Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [600 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 1.29-1.43 (m, 12H; CH_2 -Alkyl), 1.73 (qn, 3J = 7.4 Hz, 2H; CH_2 - CH_2CO), 1.85 (qn, 3J = 7.2 Hz, 2H; CH_2 - CH_2Br), 2.96 (t, 3J = 7.4 Hz, 2H; CH_2 -CO), 3.40 (t, 3J = 6.8 Hz, 2H; CH_2 -Br), 7.45-7.47 (m, 2H; ArH(3)), 7.54 (m, 1H; ArH(4)), 7.96 (dd, 3J = 8.3 Hz, 4J = 1.2 Hz, 2H; ArH(2)) ppm

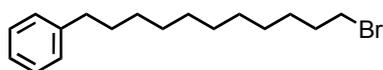
$^{13}\text{C-NMR}$ [150 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 24.5 (CH_2 - CH_2CO), 28.3, 28.9, 29.5, 29.5, 29.6 (CH_2 -Alkyl), 33.0 (CH_2 - CH_2Br), 34.2 (CH_2 -Br), 38.7 (CH_2 -CO), 128.2 (ArC(2)), 128.7 (ArC(3)), 133.0 (ArC(4)), 137.2 (ArC(1)) ppm

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 570(w), 646(w), 686(m), 732(m), 757(w), 699(w), 1026(w), 1223(m), 1279(w), 1377(w), 1445(w), 1474(w), 1596(w), 1679(s) 2849(s), 2916(s) cm^{-1}

Darstellung von (11-Bromundecyl)benzol (39)¹⁸⁴

11-Brom-1-phenylundecan-1-on (1.29 g, 3.97 mmol) wurde in Methylenchlorid (50 ml) gelöst. Dann wurde eine Suspension von 10% Palladium auf Kohle (422 mg) in Methylenchlorid (50 ml) zugegeben und 24 h bei Normaldruck und Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde der Katalysator über Celite abfiltriert und das Lösungsmittel destillativ entfernt. Das farblose ölige Produkt wurde ohne weitere Reinigung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt.

Ausbeute: 1.21 g (3.90 mmol, 98% d. Th.) farbloses Öl.



¹H-NMR [400 MHz, 25 °C, DMSO-d₆] δ = 1.24-1.56 (m, 14H; CH₂-Alkyl), 1.77 (qn, ³J = 7.0 Hz, 2H; CH₂-CH₂Ar), 2.55 (t, ³J = 7.6 Hz, 2H; CH₂-Ar), 3.51 (t, ³J = 6.7 Hz, 2H; CH₂-Br), 7.13-7.18 (m, 3H; ArH(2) + ArH(4)), 7.24-7.28 (m, 2H; ArH(3)) ppm

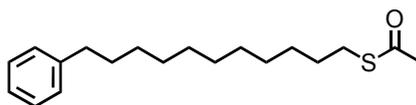
¹³C-NMR [100 MHz, 25 °C, DMSO-d₆] δ = 27.5, 28.1, 28.6, 28.8, 28.9, 28.9, 31.0 (CH₂-Alkyl), 32.2 (CH₂-CH₂Br), 35.1, 35.2 (CH₂-Br + CH₂-Ar), 125.5 (ArC(4)), 128.2, 128.2 (ArC(3) + ArC(2)), 142.3 (ArC(1)) ppm

IR (NaCl) $\tilde{\nu}$ = 645(w), 698(s), 746(m), 1030(w), 1250(w), 1368(w), 1453(s), 1495(m), 1603(w), 1800(w), 2851(s), 2923(s), 3025(m), 3084(w) cm^{-1}

Darstellung von S-11-Phenylundecylethanthioat (40)

Eine Suspension von (11-Bromundecyl)benzol (1.21 g, 3.90 mmol) und Kaliumthioacetat (980 mg, 8.58 mmol) in trockenem Dioxan (70 ml) wurde unter einer Stickstoffatmosphäre 16 h refluxiert. Das Lösungsmittel wurde destillativ entfernt und der Rückstand mit einem Ethylacetat/Wasser-Gemisch versetzt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde säulenchromatographisch (SiO₂, Methylenchlorid/Hexan (1:1 (v:v))) gereinigt. Der Rückstand wurde in wenig Hexan gelöst. In der Kälte fiel das Produkt als weiße Nadeln aus, die im Ölpumpenvakuum getrocknet wurden.

Ausbeute: 1.18 g (3.85 mmol, 99% d. Th.) weiße Nadeln.



Schmelzpunkt: 24-26 °C

¹H-NMR [400 MHz, 25 °C, DMSO-d₆] δ = 1.22-1.26 (m, 14H; CH₂-Alkyl), 1.44-1.56(m, 4H; CH₂-CH₂Ar + CH₂-CH₂S), 2.31 (s, 3H; CH₃), 2.55 (t, ³J = 7.7 Hz, 2H; CH₂-Ar), 2.81 (t, ³J = 7.2 Hz, 2H; CH₂-S), 7.31-7.18 (m, 3H; ArH(2) + ArH(4)), 7.24-7.28 (m, 2H; ArH(3)) ppm

¹³C-NMR [100 MHz, 25 °C, DMSO-d₆] δ = 29.0, 29.2, 29.3, 29.5, 29.6, 29.6, 29.7 (CH₂-Alkyl), 30.8 (CH₃-COS), 31.7 (CH₂-CH₂Ar), 36.1 (CH₂-Ar), 125.7 (ArC(4)), 128.3, 128.5 (ArC(3) + ArC(2)), 143.1 (ArC(1)), 196.2 (CO) ppm

IR (NaCl) $\tilde{\nu}$ = 626(m), 698(m), 747(w), 954(m), 1107(m), 1133(s), 1353(m), 1453(m), 1495(w), 1603(w), 1693(s), 2853(s), 2925(s), 3026(w) cm⁻¹

CHNS-Analyse

C₁₉H₃₀OS

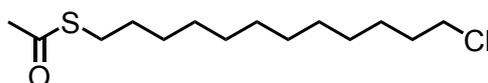
ber.: C: 74.45% H: 9.87% S: 10.46%

gef.: C: 74.45% H: 9.70% S: 10.64%

Darstellung von S-Acetyl-1-thio-12-chlordodecan (41)¹⁶⁹

1,12-Dichlordodecan (500 mg, 2.08 mmol) wurde in Aceton (5 ml) gelöst und refluxiert. Dann wurde eine Lösung von Kaliumthioacetat (239 mg, 2.08 mmol) in Methanol (8 ml) zugetropft und unter Rühren über Nacht refluxiert. Anschließend wurde filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in Methylchlorid aufgenommen und dreimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel erneut am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch über Kieselgel mit einem Gradienten von reinem Hexan zu reinem Ethylacetat gereinigt. Das erhaltene gelbe Öl wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 522 mg (1.87 mmol, 91% d. Th.) gelbes Öl.



¹H-NMR [400 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 1.26-1.43 (m, 14H; CH₂-Alkyl), 1.52-1.59 (m, 4H; CH₂-CH₂-Cl),

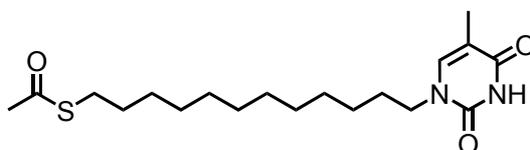
1.76 (qn, $^3J = 7.1$ Hz, 2H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S}$), 2.32 (s, 3H; CH_3), 2,86 (t, $^3J = 7.3$ Hz, 2H; $\text{CH}_2\text{-S}$), 3,53 (t, $^3J = 6.8$ Hz, 2H; $\text{CH}_2\text{-Cl}$) ppm

^{13}C -NMR [100 MHz, 25 °C, CDCl_3] $\delta = 29.0, 29.2, 29.3, 29.6, 29.7$ ($\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 30.7 ($\text{CH}_3\text{-COS}$), 32.8 ($\text{CH}_2\text{-S}$), 45.2 ($\text{CH}_2\text{-Cl}$), 196.0 (COS) ppm

Darstellung von 1-(12-Acetylthiododecyl)-5-methylpyrimidin-2,4-dion (42)¹⁷⁰

Eine Suspension von S-Acetyl-1-thio-12-chlordodecan (671 mg, 2.4 mmol), Thymin (912 mg, 7.2 mmol) und Kaliumcarbonat (1.00 g, 7.2 mmol) in DMSO (150 ml) wurde für 18 h bei 60 °C gerührt. Die erhaltene Lösung wurde nach Abkühlen auf Raumtemperatur mit Ethylacetat und Wasser verdünnt. Die organische Phase wurde zweimal mit Wasser und einmal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO_2 , Ethylacetat/Hexan 1:1 (v:v)) gereinigt. Der erhaltene weiße Rückstand wurde aus Hexan mit wenig Ethylacetat umkristallisiert und schließlich im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 311 mg (0.84 mmol, 35% d. Th.) weißer Feststoff.



Schmelzpunkt: 93-95 °C

^1H -NMR [400 MHz, 25 °C, DMSO-d_6]: $\delta = 1.17\text{-}1.32$ (m, 16H; $\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 1.44-1.58 (m, 4H; $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{S}$ + $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{N}$), 1.74 (s, 3H; CH_3), 2.31 (s, 3H; $\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 2.78-2.83 (m, 2H; $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.56-3.62 (m, 2H; $\text{CH}_2\text{-S}$), 7.52 (s, 1H; CH), 11.19 (s, 1H; NH) ppm

^{13}C -NMR [150 MHz, 25 °C, DMSO-d_6]: $\delta = 12.3$ (CH_3), 14.5 ($\text{CH}_3\text{-Acetyl}$), 26.2-30.7 ($\text{CH}_2\text{-Alkyl}$), 47.5 ($\text{CH}_2\text{-N}$), 108.7 (C(5)), 141.9 (C(6)), 151.3 (CO(2)), 164.7 (CO(4)), 195.7 (CO-Acetyl) ppm

MS (MALDI/TOF) m/z : 369 (100%) [$\text{M}+\text{H}^+$], 391 (59%) [$\text{M}+\text{Na}^+$], 407 (30%) [$\text{M}+\text{K}^+$]

IR (KBr) $\tilde{\nu} = 566(\text{w}), 629(\text{m}), 721(\text{w}), 764(\text{s}), 954(\text{w}), 1004(\text{m}), 1136(\text{m}), 1220(\text{m}), 1353(\text{m}), 1427(\text{m}), 1466(\text{s}), 1683(\text{br, s}), 2849(\text{s}), 2920(\text{s}), 3172(\text{m}), 3408(\text{m}) \text{ cm}^{-1}$

CHNS-Analyse $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$

ber.: C: 61.92% H: 8.75% N: 7.60% S: 8.70%

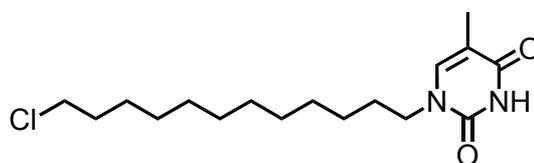
gef.: C: 61.75% H: 8.62% N: 7.47% S: 8.45%

Alternativ kann **42** über folgende zweistufige Synthese erhalten werden.

Darstellung von 1-(12-Chlordodecyl)-5-methylpyrimidin-2,4-dion (43**)¹⁷¹**

1,12-Dichlordodecan (239 mg, 1 mmol) und Kaliumcarbonat (139 mg, 1 mmol) wurden in DMSO (13 ml) gelöst. Zu dieser Lösung wurde eine Lösung aus Thymin (126 mg, 1 mmol) in DMSO (7 ml) innerhalb von 15 min zugetropft. Anschließend wurde auf 60 °C erhitzt und 3.5 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde mit Wasser und Ethylacetat verdünnt. Die organische Phase wurde noch zweimal mit Wasser und einmal mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen wurden schließlich noch einmal mit Ethylacetat extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO₂, Ethylacetat/ Hexan 1:1 (v:v)) gereinigt. Der erhaltene weiße Feststoff wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 67.3 mg (205 µmol, 21% d. Th.) weißer Feststoff.



Schmelzpunkt: 112-113 °C

¹H-NMR [600 MHz, 25 °C, DMSO-d₆]: δ = 1.24-1.37 (m, 16H; CH₂-Alkyl), 1.54 (qn, ³J = 7.2 Hz, 2H; CH₂-CH₂Cl), 1.69 (qn, ³J = 6.8 Hz, 2H; CH₂-CH₂N), 1.74 (s, 3H; CH₃), 3.58-3.62 (m, 4H; CH₂-N + CH₂-Cl), 6.51 (s, 1H; CH), 11.17 (s, 1H; NH) ppm

¹³C-NMR [150 MHz, 25 °C, DMSO-d₆]: δ = 12.0 (CH₃), 25.8-32.1 (CH₂-Alkyl), 45.5 (CH₂-Cl), 47.2 (CH₂-N), 108.4 (C(5)), 141.5 (C(6)), 150.9 (CO(2)), 164.3 (CO(4)) ppm

MS (MALDI/TOF) *m/z*: 329 (100%) [M+H⁺], 351 (86%) [M+Na⁺], 368 (10%) [M+K⁺]

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 570(s), 727(s), 764(m), 911(m), 1006(m), 1105(m), 1152(m), 1220(m), 1245(m), 1266(m), 1351(s), 1430(s), 1472(s), 1654(br, s), 2848(m), 2917(m), 3074(m), 3152(w) cm⁻¹

CHNS-Analyse C₁₇H₂₉ClN₂O₂

ber.: C: 62.08% H: 8.89% N: 8.52%

gef.: C: 61.91% H: 8.81% N: 8.44%

Alternativer Weg zur Darstellung von 1-(12-Acetylthiododecyl)-5-methylpyrimidin-2,4-dion (42)

Kaliumthioacetat (143 mg, 1.25 mmol) und 1-(12-Chlordodecyl)-5-methylpyrimidin-2,4-dion (215 mg, 654 μ mol) wurden in DMSO (20 ml) gelöst, auf 65 °C erhitzt und 18 h gerührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde mit Wasser und Ethylacetat verdünnt und die wässrige Phase noch zweimal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO₂, Ethylacetat/Hexan 1:1 (v:v)) gereinigt.

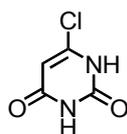
Ausbeute: 123 mg (334 μ mol, 51% d. Th.) weißer Feststoff.

6.5.2. Templatsynthesen

Darstellung von 6-Chloruracil (32)^{159,160}

Zu einer Lösung von Natriumhydroxid (2.35 g, 58.7 mmol) in Wasser (24 ml) wurde 2,4,6-Trichlorpyrimidin (1.70 ml, 14.7 mmol) gegeben und die Reaktionsmischung anschließend 16 h refluxiert. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde konzentrierte Salzsäure (2.4 ml) zugegeben, der ausgefallene weiße Niederschlag abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Das so erhaltene Produkt wurde im Exsikkator getrocknet.

Ausbeute: 1.77 g (12.1 mmol, 83% d. Th.) weißer Feststoff.



¹H-NMR [400 MHz, 25 °C, DMSO-d₆] δ = 5.75 (s, 1H; CH(5)), 11.30 (s, 1H; NH(1)), 12.06 (s, 1H; NH(3)) ppm

¹³C-NMR [50 MHz, 25 °C, DMSO-d₆] δ = 99.8 (C(5)), 144.7 (C(6)), 150.3 (C(2)), 162.6 (C(4)) ppm

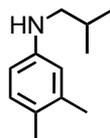
IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 548(m), 758(w), 841(m), 999(m), 1129(m), 1335(w), 1413(s), 1438(s), 1493(m), 1600(s), 1654(s), 1732(s), 2807(m), 3000(m), 3437(w) cm⁻¹

Darstellung von N-Isobutyl-3,4-dimethylanilin (33)^{159,160}

Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde zu einer Suspension von 3,4-Dimethylanilin (2.42 g,

20.0 mmol) in Isobutyraldehyd (1.80 ml, 20.0 mmol) bei 0 °C innerhalb von 30 min Titanisopropoxid (7.4 ml, 25.0 mmol) zugetropft. Es wurde 6 h bei Raumtemperatur gerührt und anschließend eine Lösung von Natriumcyanoborhydrid (850 mg, 13.5 mmol) in Ethanol (20 ml) zügig zugetropft. Nach 15 h wurde Wasser (4 ml) zugegeben und 24 h an der Luft gerührt. Der ausgefallene Niederschlag wurde über Celite abfiltriert, das Ethanol aus dem Filtrat destillativ entfernt und der Rückstand mit Wasser und Diethylether verdünnt. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden jeweils einmal mit 10%iger Natriumhydrogencarbonatlösung, Wasser und gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wurde durch Vakuumdestillation und Säulenchromatographie (SiO₂, Methylchlorid/Hexan 1:1 (v:v)) gereinigt.

Ausbeute: 2.44 g (13.9 mmol, 70% d. Th.) gelbes Öl.



Siedepunkt: 90-95 °C (p = 0.11 mbar)

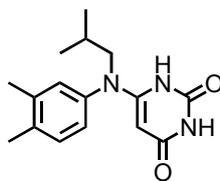
¹H-NMR [400 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 0.98 (d, ³J = 6.6 Hz, 6H; Isobutyl-CH₃), 1.80 (sp, ³J = 6.7 Hz, 1H; Isobutyl-CH), 2.16 (s, 3H; ArCH₃(3)), 2.21 (s, 3H; ArCH₃(4)), 2.92 (d, ³J = 6.8 Hz, 2H; CH₂), 3.58 (br, 1H; NH), 6.40 (dd, ³J = 8.0 Hz, ⁴J = 2.3 Hz, 1H; ArH(6)), 6.45 (d, ⁴J = 1.9 Hz, 1H; ArH(2)), 6.94 (d, ³J = 8.0 Hz, 1H; ArH(5)) ppm

¹³C-NMR [100 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 18.8 (ArCH₃(3)), 20.2 (ArCH₃(4)), 20.6 (Isobutyl-CH₃), 28.1 (Isobutyl-CH), 52.4 (CH₂), 110.3 (Ar-C(2)), 114.8 (Ar-C(6)), 125.1 (Ar-C(4)), 130.4 (Ar-C(5)), 137.4 (Ar-C(3)), 146.9 (Ar-C(1)) ppm

Darstellung von 6-(N-Isobutyl-3,4-dimethylanilin)uracil (34)^{159,160}

Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde eine Suspension von 6-Chloruracil (1.01 g, 6.88 mmol) und N-Isobutyl-3,4-dimethylanilin (2.44 g, 13.75 mmol) 24 h auf 150 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde ein Ethanol/Hexan-Gemisch (1:2 (v:v)) (40 ml) zugegeben und der Feststoff abfiltriert. Das Filtrat wurde im Vakuum eingeeengt und der Rückstand säulenchromatographisch (SiO₂, Aceton) gereinigt. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mit dem Filterkuchen vereinigt, aus Ethanol/Ethylacetat umkristallisiert und getrocknet.

Ausbeute: 838 mg (2.92 mmol, 42% d. Th.) beiger Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [600 MHz, 25 °C, DMSO- d_6] δ = 0.87 (d, 3J = 5.8 Hz, 6H; Isobutyl- CH_3), 1.67-1.69 (m, 1H; Isobutyl-CH), 2.23 (s, 6H; ArCH_3 (3) + (4)), 3.49 (d, 3J = 6.7 Hz, 2H; CH_2), 4.09 (s, 1H; Uracil-CH), 6.99 (d, 3J = 7.0 Hz, 1H; ArH (6)), 7.06 (s, 1H; ArH (2)), 7.22 (d, 3J = 7.5 Hz, 1H; ArH (5)), 10.04 (s, 1H; NH (1)), 10.35 (s, 1H; NH (3)) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ [150 MHz, 25 °C, DMSO- d_6] δ = 19.0 (ArCH_3), 19.3 (Isobutyl- CH_3), 19.4 (ArCH_3), 26.6 (Isobutyl-CH), 56.9 (CH_2), 77.1 (Uracil-CH), 124.9 (Ar-C (2)), 128.5 (Ar-C (6)), 130.7 (Ar-C (5)), 135.8 (Ar-C (4)), 138.0(Ar-C (3)), 139.8 (Ar-C (1)), 151.2 (Uracil-C(2)), 154.9 (Uracil-C(5)), 163.6 (Uracil-C(4)) ppm

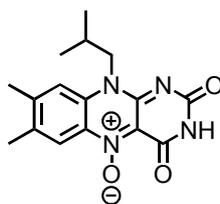
IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 474(w), 353(w), 722(w), 814(w), 1099(s), 1145(s), 1223(s), 1338(m), 1384(m), 1501(s), 1593(s), 1641(s), 1697(s), 2959(m), 3139(m), 3409(w) cm^{-1}

MS (MALDI/TOF) m/z : 288 (15%) [$\text{M}+\text{H}^+$], 310 (100%) [$\text{M}+\text{Na}^+$], 326 (12%) [$\text{M}+\text{K}^+$]

Darstellung von *N*(10)-Isobutylflavin-*N*(5)-oxid (7,8-Dimethyl-10-isobutyl-*N*(5)-oxyisalloxazin) (35)^{159,160}

Zu einer Lösung von 6-(*N*-Isobutyl-3,4-dimethylanilin)uracil (838 mg, 2.92 mmol) in Essigsäure (30 ml) wurde bei 0 °C portionsweise Natriumnitrit (604 mg, 8.76 mmol) innerhalb von etwa 30 min gegeben. Anschließend wurde 1.5 h bei Raumtemperatur gerührt und der orange Feststoff abfiltriert. Das Filtrat wurde auf etwa 10 ml eingengt und mit Wasser versetzt, wobei weiteres Produkt ausfiel. Dieses wurde mit dem Filterkuchen vereinigt, mit Wasser und Ethanol gewaschen und getrocknet. Das Produkt konnte ohne weitere Aufreinigung im nächsten Reaktionsschritt eingesetzt werden.

Ausbeute: 789 mg (2.51 mmol, 86% d. Th.) oranger Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, DMSO- d_6] δ = 0.96 (d, 3J = 6.4 Hz, 6H; Isobutyl- CH_3), 2.29-2.32 (m, 1H; Isobutyl-CH), 2.38 (s, 3H; $\text{ArCH}_3(7)$), 2.47 (s, 3H; $\text{ArCH}_3(8)$), 4.45 (br, 2H; CH_2), 7.83 (s, 1H; $\text{ArH}(9)$), 8.09 (s, 1H; $\text{ArH}(6)$), 11.02 (s, 1H; NH) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ [100 MHz, 25 °C, DMSO- d_6] δ = 19.0 (ArCH_3), 19.7 (Isobutyl- CH_3), 20.1 (ArCH_3), 26.8 (Isobutyl-CH), 49.9 (CH_2), 117.6 ($\text{Ar-C}(9)$), 119.9 ($\text{Ar-C}(6)$), 125.0 ($\text{Ar-C}(5a)$), 132.4, 132.5 ($\text{Ar-C}(7) + (8)$), 135.7 ($\text{Ar-C}(9a)$), 146.4 ($\text{C}(4a)$), 153.2 ($\text{C}(10a)$), 154.5 ($\text{C}(2)$), 156.8 ($\text{C}(4)$) ppm

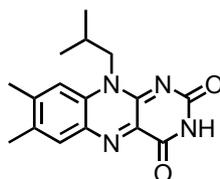
IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 534(m), 721(w), 821(w), 1023(w), 1145(m), 1224(m), 1250(m), 1340(m), 1384(s), 1447(m), 1501(s), 1594(s), 1637(s), 1664(s), 1695(s), 2874(m), 2959(m), 3140(m) cm^{-1}

MS (MALDI/TOF) m/z : 315 (47%) [$\text{M}+\text{H}^+$], 337 (38%) [$\text{M}+\text{Na}^+$], 353 (14%) [$\text{M}+\text{K}^+$]

Darstellung von *N(10)*-Isobutylflavin (7,8-Dimethyl-10-isobutylisoalloxazin) (16)^{159,160}

Eine Suspension von *N(10)*-Isobutylflavin-*N(5)*-oxid (789 mg, 2.51 mmol) in einem Wasser/Ethanol-Gemisch (1:1 (v:v)) (30 ml) wurde mit Natriumdithionit (1.75 g, 10.0 mmol) versetzt und 26 h bei Raumtemperatur rühren gelassen. Dann wurde filtriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in Methylenchlorid aufgenommen und nochmals filtriert. Das Filtrat wurde über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt aus Ethanol/Methylenchlorid umkristallisiert. Das Produkt wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 577 mg (1.93 mmol, 77% d. Th.) gelber Feststoff.



Schmelzpunkt: > 300 °C

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 1.03 (d, 3J = 6.7 Hz, 6H; Isobutyl- CH_3), 2.44 (m, 1H; Isobutyl-CH + $\text{ArCH}_3(7)$), 2.55 (s, 3H; $\text{ArCH}_3(8)$), 4.63 (br, 2H; CH_2), 7.40 (s, 1H; $\text{ArH}(9)$), 8.04 (s, 1H; $\text{ArH}(6)$), 8.76 (s, 1H; NH) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ [100 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 19.6 (ArCH_3), 20.1 (Isobutyl- CH_3), 21.8 (ArCH_3), 27.7 (Isobutyl-CH), 50.1 (CH_2), 116.0 ($\text{Ar-C}(9)$), 131.6 ($\text{Ar-C}(7)$ oder (8)), 133.0 ($\text{Ar-C}(6)$), 135.0 ($\text{Ar-C}(7)$ oder (8)), 136.3, 137.1 ($\text{Ar-C}(5a)+(9a)$), 148.1 ($\text{C}(4a)$), 150.9 ($\text{C}(10a)$), 155.4 ($\text{C}(4)$), 156.8 ($\text{C}(2)$) ppm

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 471(m), 586(m), 736(w), 851(m), 1104(w), 1167(w), 1250(s), 1399(m), 1452(m), 1513(s), 1542(s), 1581(s), 1658(s), 1717(s), 2817(w), 2957(m), 3041(m), 3115(w), 3159(w) cm^{-1}

MS (MALDI/TOF) m/z : 299 (100%) $[\text{M}+\text{H}^+]$, 321 (43%) $[\text{M}+\text{Na}^+]$, 338 (43%) $[\text{M}+\text{K}^+]$

CHNS-Analyse $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$

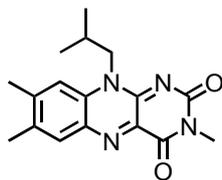
ber.: C: 64.41% H: 6.08% N: 18.78%

gef.: C: 64.14% H: 6.07% N: 18.60%

Darstellung von *N*(3)-Methyl-*N*(10)-isobutylflavin (10-Isobutyl-3,7,8-trimethylisoalloxazin) (20)¹⁶⁰

Unter einer Stickstoffatmosphäre wurde zu einer Lösung von *N*(10)-Isobutylflavin (172 mg, 0.58 mmol) in *N,N*-Dimethylformamid (14 ml) Kaliumcarbonat (318 mg, 2.30 mmol) und Methyljodid (143 μl , 2.30 mmol) gegeben. Es wurde 72 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde unter vermindertem Druck entfernt, der Rückstand mit Wasser (15 ml) versetzt und die Lösung mit 1 M Salzsäure (3 ml) neutralisiert. Die wässrige Phase wurde dreimal mit Methylenchlorid extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Natriumsulfat getrocknet, das Lösungsmittel destillativ entfernt und das Rohprodukt aus Dioxan/Wasser umkristallisiert. Das Produkt wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 114 mg (365 μmol , 63% d. Th.) oranger Feststoff.



Schmelzpunkt: 239-244 °C

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 1.03 (d, 3J = 6.6 Hz, 6H; Isobutyl- CH_3), 2.44 (m, 1H; Isobutyl-CH + ArCH_3 (7)), 2.54 (s, 3H; ArCH_3 (8)), 3.52 (s, 3H; N- CH_3), 4.64 (br, 2H; CH_2), 7.38 (s, 1H; ArH (9)), 8.07 (s, 1H; ArH (6)) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ [100 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 19.6 (ArCH_3 (7)), 20.1 (Isobutyl- CH_3), 21.8 (ArCH_3 (8)), 27.7 (Isobutyl-CH), 28.9 (N- CH_3), 50.9 (CH_2), 115.8 (Ar-C (9)), 131.5 (Ar-C (7) oder (8)), 133.0 (Ar-C (6)), 135.1 (Ar-C (7) oder (8)), 135.9, 136.6 (Ar-C (5a) + (9a)), 147.5 (C(4a)), 149.4 (C(10a)), 156.2 (C(4)), 160.4 (C(2)) ppm

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 579(w), 691(w), 770(w), 804(m), 975(m), 1040(m), 1107(m), 1237(m), 1262(m),

1451(m), 1546(s), 1585(s), 1652(s), 1700(s), 2866(w), 2955(w), 3435(w) cm⁻¹

MS (MALDI/TOF) *m/z*: 314 (100%) [M+H⁺], 336 (8%) [M+Na⁺], 352 (10%) [M+K⁺]

CHNS-Analyse C₁₇H₂₀N₄O₂

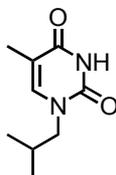
ber.: C: 65.37% H: 6.45% N: 17.94%

gef.: C: 65.32% H: 6.40% N: 17.81%

Darstellung von N(1)-Isobutylthymin (22)

Eine Suspension von Thymin (1.89 g, 15.0 mmol), Kaliumcarbonat (2.07 g, 15.0 mmol) und Isobutylchlorid (524 µl, 5.00 mmol) in Dimethylsulfoxid (312 ml) wurde 20 h auf 70 °C erhitzt. Dann wurde mit Ethylacetat und Wasser verdünnt und die wässrige Phase fünfmal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden einmal mit wenig Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch (SiO₂, Ethylacetat) gereinigt. Das Rohprodukt wurde in siedendem Hexan/Ethylacetat gelöst. Es wurde heiß abfiltriert. Beim Abkühlen der Lösung fiel das Produkt aus. Es wurde abfiltriert und getrocknet.

Ausbeute: 192 mg (1.05 mmol, 21% d. Th.) weißer Feststoff.



Schmelzpunkt: 188-191 °C

¹H-NMR [400 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 0.94 (d, ³J = 6.7 Hz, 6H; Isobutyl-CH₃), 1.92 (s, 3H; CH₃(5)), 2.06 (sp, ³J = 6.9 Hz, 1H; Isobutyl-CH), 3.50 (d, ³J = 7.5 Hz, 2H; CH₂), 6.94 (s, 1H; CH(6)), 8.90 (b, 1H; NH) ppm

¹³C-NMR [100 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 12.5 (CH₃(5)), 19.8 (Isobutyl-CH₃), 28.3 (Isobutyl-CH), 55.7 (CH₂), 110.3 (C(5)), 141.0 (C(6)), 151.2 (C(2)), 164.3 (C(4)) ppm

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 570(m), 715(w), 1098(m), 1223(w), 1253(m), 1341(m), 1375(m), 1427(m), 1474(m), 1637(s), 1654(s), 1673(s), 1695(s), 2833(m), 2958(m), 3032(m), 3158(m), 3394(w) cm⁻¹

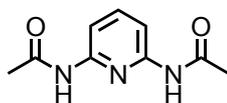
MS (MALDI/TOF) *m/z*: 183 (100%) [M+H⁺]

CHNS-Analyse:	$C_9H_{14}N_2O_2$		
	ber.: C: 59.37%	H: 7.74%	N: 15.37%
	gef.: C: 59.43%	H: 7.55%	N: 15.67%

Darstellung von *N,N'*-Diacetyl-2,6-pyridindiamin (23)¹⁸³

Zu einer Lösung von 2,6-Diaminopyridin (2.74 g, 25.1 mmol) in 1,4-Dioxan (40 ml) wurde eine Lösung von Acetylchlorid (1.8 ml, 25.2 mmol) in 1,4-Dioxan (5 ml) so zugetropft, dass die Reaktionstemperatur 32°C nicht überschritt. Es wurde für 1 h bei Raumtemperatur gerührt und zur Vervollständigung der Reaktion nochmal Acetylchlorid (1.8 ml, 25.2 mmol) nachdosiert. Nach 1 h Rühren bei Raumtemperatur wurde Triethylamin (7 ml, 50.5 mmol) zugegeben und 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen und der unlösliche Feststoff abfiltriert. Das Filtrat wurde unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand aus Chloroform/Aceton umkristallisiert. Der erhaltene Feststoff wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 1.21 g (6.28 mmol, 25% d. Th.) weißer Feststoff.



Schmelzpunkt: 207-208 °C

¹H-NMR [400 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 2.19 (s, 6H; CH₃), 7.59 (bs, 2H; NH), 7.70 (t, ³J = 8.1 Hz, 1H; ArH(4)), 7.88 (d, ³J = 5.8 Hz, 2H; ArH(3)) ppm

¹³C-NMR [100 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 24.9 (CH₃), 109.6 (ArC(3)), 141.0 (ArC(4)), 149.5 (ArC(2)), 168.9 (CO) ppm

MS (MALDI/TOF) *m/z*: 194 (100%) [M+H⁺], 216 (65%) [M+Na⁺], 232 (55%) [M+K⁺]

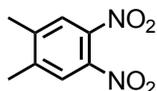
CHNS-Analyse	$C_9H_{11}N_3O_2$		
	ber.: C: 55.95%	H: 5.74%	N: 21.75%
	gef.: C: 55.78%	H: 5.82%	N: 21.57%

Darstellung von 4,5-Dimethyl-1,2-dinitrobenzol (45)¹⁷⁴

Zu einer Lösung von 4,5-Dimethyl-2-nitroanilin (8.31 g, 50 mmol) in Essigsäure (200 ml) wurde

35%ige Wasserstoffperoxidlösung (40 ml) gegeben und für 16 h auf 60 °C erhitzt. Die Lösung wurde tropfenweise auf Eiswasser (500 ml) gegeben, wobei das Produkt als hellgelber Niederschlag ausfiel. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 5.13 g (26.2 mmol, 52% d. Th.) gelb-oranger Feststoff.



Schmelzpunkt: 104-110 °C

¹H-NMR [400 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 2.42 (s, 6H; CH₃), 7.68 (s, 2H; ArH) ppm

¹³C-NMR [150 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 20.1 (CH₃), 125.9 (ArC-H), 140.9 (ArC-NO₂), 143.7 (ArC-CH₃) ppm

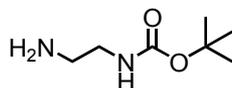
IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 584(w), 659(w), 751(w), 807(m), 859(m), 895(w), 1025(w), 1338(s), 1379(s), 1395(m), 1485(w), 1529(s), 1551(s), 3045(w), 3104(w), 3437(br, w) cm⁻¹

MS (ESI/TOF) *m/z*: 197 (48%) [M], 225 (100%) [M+½Acetat], 423 (86%) [M+Acetat], 451 (82%) [2M+Acetat]

Darstellung von tert-Butyl-2-aminoethylcarbammat (46)¹⁷³

Zu einer Lösung von Ethylendiamin (10 ml, 150 mmol) in trockenem 1,4-Dioxan (54 ml) wurde innerhalb von 1.5 h bei Raumtemperatur eine Lösung von Di-tert-butylidicarbonat (11 g, 50 mmol) in trockenem 1,4-Dioxan (36 ml) zugetropft. Nach 21 h Rühren bei Raumtemperatur wurde der ausgefallene weiße Feststoff durch Filtrieren entfernt. Das Filtrat wurde zunächst am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit und anschließend wurde das Produkt im Vakuum destilliert. Das Produkt wurde als hellgelbes Öl erhalten, das später kristallisierte.

Ausbeute: 7.00 g (43.8 mmol, 88% d. Th.) hellgelber Feststoff.



Schmelzpunkt: 93-96 °C

Siedepunkt: 69 °C (p = 5*10⁻³ mbar)

¹H-NMR [200 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 1.13 (bs, 2H; NH₂), 1.44 (s, 9H; CH₃), 2.79 (t, ³J = 5.9 Hz, 2H; CH₂-NH₂), 3.16 (q, ³J = 5.9 Hz, 2H; CH₂-NH) ppm

^{13}C -NMR [150 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 28.5 (CH_3), 41.9 ($\text{CH}_2\text{-NH}_2$), 43.5 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 72.6 (C-O), 156.3 (CO) ppm

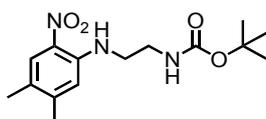
IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 630(w), 817(w), 870(w), 1177(s), 1253(s), 1278(s), 1309(m), 1368(s), 1391(m), 1466(s), 1535(s), 1596(s), 1641(m), 1687(s), 2937(m), 2986(m), 3365(s) cm^{-1}

MS (MALDI/TOF) m/z : 161 (100%) [$\text{M}+\text{H}^+$], 183 (6%) [$\text{M}+\text{Na}^+$], 199 (3%) [$\text{M}+\text{K}^+$]

Darstellung von tert-Butyl-2-(4,5-dimethyl-2-nitrophenylamino)-ethylcarbammat (47)¹⁷³

Zu einer Lösung von 4,5-Dimethyl-1,2-dinitrobenzol (1.40 g, 7.16 mmol) in Pyridin (14 ml) wurde langsam innerhalb von 30 min eine Lösung von tert-Butyl-2-aminoethylcarbammat (1.72 g, 10.74 mmol) in Pyridin (4 ml) zugetropft. Es wurde für 72 h auf 90 °C erhitzt und anschließend das Lösungsmittel einkondensiert. Der Rückstand wurde in der Siedehitze aus Ethanol umkristallisiert. Aus der Mutterlauge konnte säulenchromatographisch (SiO_2 , Toluol/Ethylacetat 10:1 (v:v)) weiteres Produkt isoliert werden.

Ausbeute: 1.49 g (4.82 mmol, 67% d. Th.) oranger Feststoff.



Schmelzpunkt: 119-122 °C

^1H -NMR [600 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 1.44 (s, 9H; C- CH_3), 2.17 (s, 3H; ArC(4)- CH_3), 2.26 (s, 3H; ArC(5)- CH_3), 3.42-3.46 (m, 4H; CH_2), 4.82 (br s, 1H; ArC(1)-NH), 6.69 (s, 1H; ArH(6)), 7.92 (s, 1H; ArH(3)), 8.06 (br, 1H; Boc-NH) ppm

^{13}C -NMR [150 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 18.7 (ArC(4)- CH_3), 20.9 (ArC(5)- CH_3), 28.5 (C- CH_3), 39.9 (ArNH- CH_2), 43.1 (Boc-NH- CH_2), 79.9 (C- CH_3), 114.2 (ArC(6)), 125.0 (ArC(4)), 126.7 (ArC(3)), 130.2 (ArC(2)), 144.1 (ArC(1)), 147.5 (ArC(5)), 156.2 (CO) ppm

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 669(w), 763(w), 863(w), 1032(m), 1148(s), 1172(m), 1194(s), 1220(s), 1247(m), 1401(m), 1509(s), 1526(s), 1571(s), 1638(m), 1683(s), 2937(w), 2983(m), 3355(m), 3378(s) cm^{-1}

MS (ESI/TOF) m/z : 310 (22%) [$\text{M}+\text{H}^+$], 332 (10%) [$\text{M}+\text{Na}^+$], 348 (6%) [$\text{M}+\text{K}^+$], 619 (9%) [$2\text{M}+\text{H}^+$], 641 (100%) [$2\text{M}+\text{Na}^+$]

CHNS-Analyse $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4$

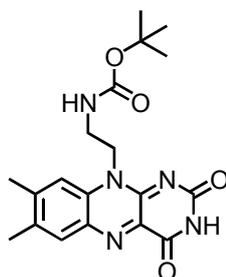
ber.: C: 58.24% H: 7.49% N: 13.58%

gef.: C: 58.32% H: 7.51% N: 13.47%

Darstellung von 10-(2-N-Boc-Aminoethyl)-7,8-dimethylisalloxazin (48)¹⁷³

Zu einer Lösung von tert-Butyl-2-(4,5-dimethyl-2-nitrophenylamino)-ethylcarbammat (300 mg, 0.97 mmol) in Methanol (15 ml) wurde eine Suspension von Palladium auf Aktivkohle (10 mg) in Essigsäure (3 ml) gegeben. Dann wurde für 16 h bei Raumtemperatur und Normaldruck unter einer Wasserstoffatmosphäre gerührt. Die bräunliche Suspension wurde über Celite filtriert und das Filtrat mit Alloxan-Monohydrat (776 mg, 4.85 mmol) und Borsäure (1.42 g, 23.0 mmol) versetzt. Nach 24 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die gelbe Reaktionsmischung mit Chloroform verdünnt und dreimal mit Wasser gewaschen. Anschließend wurde die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet und säulenchromatographisch (SiO₂, Chloroform/Methanol 15:1 (v:v)) gereinigt. Das Produkt konnte durch präparative HPLC (mobile Phase: Wasser/Acetonitril-Gradient von 0-100%, 10 ml/min, stationäre Phase: Säule Thermofisher BetaBasic-18, Dim 250*21.2 mm, Partikelgröße 5 µm) analysenrein erhalten werden.

Ausbeute: 276 mg (715 µmol, 74% d. Th.) oranger Feststoff.



Schmelzpunkt: 240-242 °C

¹H-NMR [600 MHz, 25 °C, DMSO-d₆] δ = 1.23 (s, 9H; C-CH₃), 2.40 (s, 3H; ArC(8)-CH₃), 2.49 (s, 3H; ArC(7)-CH₃), 3.53 (q, ³J = 6.0 Hz, 2H; CH₂-NH), 4.64 (t, ³J = 5.7 Hz, 2H; CH₂-N), 6.98 (t, ³J = 6.1 Hz, 1H; NH-Boc), 7.84 (s, 1H; ArH(9)), 7.90 (s, 1H; ArH(6)), 11.35 (s, 1H; NH) ppm

¹³C-NMR [150 MHz, 25 °C, DMSO-d₆] δ = 18.8, 20.8 (Ar-CH₃), 28.0 (C-CH₃), 36.9 (CH₂-NHBoc), 44.2 (CH₂-N), 77.9 (C-CH₃), 116.2 (ArC(9)), 131.0, 131.5, 133.9 (ArC(7) + ArC(6) + ArC(8)), 135.7, 136.9 (ArC(9a) + ArC(5a)), 146.3 (ArC(4a)), 150.4 (ArC(10a)), 155.6 (ArC(4)), 155.8 (COBoc), 160.0 (ArC(2)) ppm

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 601(w), 736(w), 807(w), 1163(m), 1248(m), 1310(w), 1400(w), 1435(w), 1461(w), 1508(m), 1544(s), 1581(s), 1678(s), 1696(m), 2853(w), 2982(w), 3168(w), 3417(m) cm⁻¹

MS (MALDI/TOF) *m/z*: 387 (100%) [M+H⁺], 409 (54%) [M+Na⁺], 425 (50%) [M+K⁺]

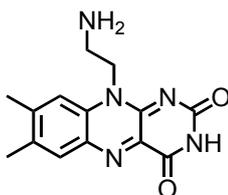
CHNS-Analyse	$C_{19}H_{23}N_5O_4$		
	ber.: C: 59.21%	H: 6.01%	N: 18.17%
	gef.: C: 58.61%	H: 6.02%	N: 18.37%

HR-MS (EI⁺/TOF) *m/z*: 385.1787 (1%) [M], 312.1165 (6%) [M⁺-(OC(CH₃)₃)], 256.0998 (10%) [M⁺-(CH₂-NH-Boc)], 243.0898 (100%) [M⁺-(CH₂-CH₂-NH-Boc)]

Darstellung von 10-(2-Aminoethyl)-7,8-dimethylisoalloxazin (49)

Zu einer Suspension von 10-(2-N-Boc-Aminoethyl)-7,8-dimethylisoalloxazin (300 mg, 0.78 mmol) in trockenem 1,4-Dioxan (16 ml) wurde unter Eisbadkühlung innerhalb von 1 h eine 6 N Lösung von Chlorwasserstoff in trockenem 1,4-Dioxan (32 ml) zugetropft. Es wurde 1 h unter Eisbadkühlung und anschließend für 20 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel vollständig am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in wenig Wasser aufgenommen und mit 3 N Natriumhydroxidlösung in Wasser zunächst basisch eingestellt und dann mit 1 N Salzsäure neutralisiert. Das Wasser wurde unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde in der Siedehitze in Methanol/Wasser gelöst. Das Lösungsmittel wurde bis auf etwa 4 ml am Rotationsverdampfer entfernt, wobei ein orange-brauner Feststoff ausfiel. Dieser wurde abfiltriert, mit Aceton gewaschen und im Exsikkator getrocknet. Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung im nächsten Schritt eingesetzt.

Ausbeute: 171 mg (0.6 mmol, 77% d. Th.) orange-braunes Pulver.



¹H-NMR [400 MHz, 25 °C, DMSO-d₆] δ = 2.40 (s, 3H; ArC(8)-CH₃), 2.53 (s, 3H; ArC(7)-CH₃), 3.16 (t, ³J = 6.8 Hz, 2H; CH₂-NH), 4.87 (t, ³J = 6.6 Hz, 2H; CH₂-N), 7.92 (s, 1H; ArH(9)), 8.15 (br, 3H; ArH(6) + NH₂), 11.41 (s, 1H; NH) ppm

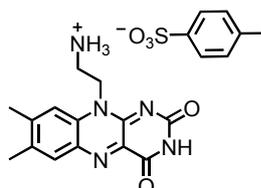
¹³C-NMR [150 MHz, 25 °C, DMSO-d₆] δ = 18.7, 20.4 (Ar-CH₃), 35.9 (CH₂-N), 41.3 (CH₂-NH₂), 116.0 (ArC(9)), 130.6, 131.1, 133.9 (ArC(7) + (ArC(6) + ArC(8))), 136.0, 137.2 (ArC(9a) + ArC(5a)), 147.0 (ArC(4a)), 150.9 (ArC(10a)), 155.5 (ArC(4)) 159.9 (ArC(2)) ppm

MS (MALDI/TOF) *m/z*: 287 (100%) [M+H⁺], 309 (41%) [M+Na⁺], 325 (12%) [M+K⁺]

Darstellung von 2-(7,8-Dimethylisalloxazin-10-yl)ethylammonium Tosylat (21)

Eine Suspension von 10-(2-Aminoethyl)-7,8-dimethylisalloxazin (54 mg, 189 μmol) in Wasser (10 ml) wurde zum Sieden erhitzt. Dann wurde Methanol (10 ml) hinzugefügt und eine Lösung von p-Toluolsulfonsäure Monohydrat (17.7 mg, 93 μmol) in Methanol (5 ml) zugegeben. Die Lösung wurde unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 53.6 mg (117 μmol , 62% d. Th.) orange-braunes Pulver.



Schmelzpunkt: 261-264 °C

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, DMSO- d_6] δ = 2.28 (s, 3H; CH_3 -Tosylat), 2.41 (s, 3H; ArC(8)- CH_3), 2.52 (s, 3H; ArC(7)- CH_3), 3.21 (q, 3J = 5.6 Hz, 2H; CH_2 -NH), 4.87 (t, 3J = 6.3 Hz, 2H; CH_2 -N), 7.11 (d, 3J = 7.9 Hz, 2H; ArH(2)-Tosylat), 7.47 (d, 3J = 8.0 Hz, 2H; ArH(3)-Tosylat), 7.92-7.95 (m, 2H; ArH(9) + ArH(6)), 8.02 (s, 3H; NH_3), 11.44 (s, 1H; NH) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ [150 MHz, 25 °C, DMSO- d_6] δ = 18.8, 20.8 (Ar- CH_3), 20.6 (Tosylat- CH_3), 36.3 (CH_2 - NH_3), 41.3 (CH_2 -N), 116.0 (ArC(9)), 125.5 (ArC(2)-Tosylat), 128.1 (ArC(3)-Tosylat), 130.6, 131.2, 133.9 (ArC(7) + (ArC(6) + ArC(8))), 136.0, 137.2 (ArC(9a) + ArC(5a)), 137.7 (ArC(1)-Tosylat), 145.7 (ArC(4)-Tosylat), 147.0 (ArC(4a)), 151.1 (ArC(10a)), 155.6 (ArC(4)), 159.9 (ArC(2)) ppm

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 569(w), 687(w), 1012(m), 1174(m), 1265(m), 1349(m), 1399(m), 1545(s), 1578(s), 1647(m), 1727(s), 3042(m), 3172(m), 3431(m) cm^{-1}

MS (MALDI/TOF) m/z : 287 (100%) [$\text{M}+\text{H}^+$], 309 (41%) [$\text{M}+\text{Na}^+$], 325 (12%) [$\text{M}+\text{K}^+$]

CHNS-Analyse $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_5\text{S} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$

ber.: C: 47.63% H: 5.90% N: 13.22% S: 6.05%

gef.: C: 47.35% H: 4.95% N: 13.84% S: 4.68%

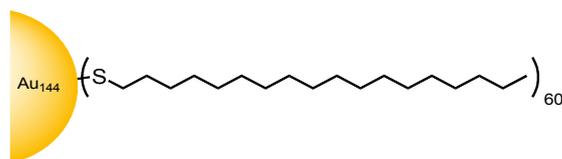
Das Produkt konnte nicht analysenrein erhalten werden. Nach $^1\text{H-NMR}$ war eine genügende Reinheit für einen ersten Testversuch zur Verwendung als Templat gegeben.

6.5.3. Nanopartikelsynthesen

Darstellung von AuC18⁷⁶

Zu einer Lösung von Tetrachlorgoldsäure (148 mg, 435 μmol) in Wasser (13 ml) wurde eine Lösung von Tetraoctylammoniumbromid (951 mg, 1.74 mmol) in Toluol (35 ml) gegeben und etwa 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und verworfen. Dann wurde 1-Octadecanthiol (117 mg, 409 μmol) zur organischen Phase gegeben. Nach 10 minütigem Rühren wurde eine Lösung von Natriumborhydrid (183 mg, 4.83 mmol) in Wasser (11 ml) langsam innerhalb von etwa 15 min zugetropft. Es wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt, die wässrige Phase abgetrennt und verworfen. Das Lösungsmittel der organischen Phase wurde am Rotationsverdampfer entfernt (Temperatur des Wasserbades $< 35\text{ }^\circ\text{C}$). Der Rückstand wurde in Hexan aufgenommen (5 ml) und dann mit Ethylacetat (300 ml) versetzt. Über Nacht fiel ein schwarzer Feststoff aus, der abzentrifugiert wurde. Das Produkt wurde noch dreimal zur Reinigung in Ethylacetat, zweimal in Aceton und zweimal in Wasser suspendiert und wieder abzentrifugiert. Die Nanopartikel wurden in Hexan aufgenommen, über Glaswolle filtriert, das Lösungsmittel aus dem Filtrat entfernt und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet.

Ausbeute: 105 mg (2.31 μmol , 76% bezogen auf eingesetztes Gold) schwarz-brauner Feststoff.



¹H-NMR [200 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 0.88 (br, 3H; CH₃), 1.11-1.55 (br, 22H; CH₂-Alkyl + H₂O) ppm

¹³C-NMR [150 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 14.3 (CH₃), 22.9 (CH₂-CH₃), 29.6, 30.1, 32.1 (br, CH₂-Alkyl) ppm

ATR-IR (C, ZnSe) $\tilde{\nu}$ = 719 (w), 802 (w), 1022 (w), 1260 (w), 1376 (w), 1463 (m), 1738 (w), 2849 (m), 2917 (s) cm⁻¹

MS (MALDI/TOF) m/z : 28120 [Au₁₄₃⁻]

26748-31120 [Au₁₃₆⁺ - Au₁₅₈⁺]

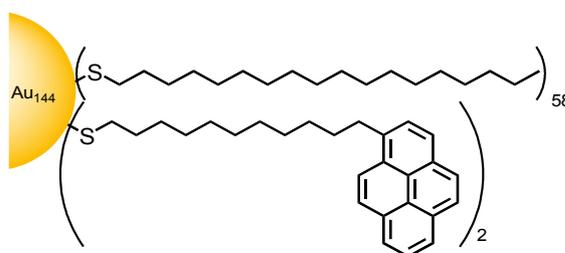
UV/Vis (Hexan) λ_{max} : 242 nm

Darstellung von AuC18PYR_{Rot}¹³⁹

Zu einer Lösung von Tetrachlorgoldsäure (170 mg, 500 μmol) in Wasser (29.4 ml) wurde eine

Lösung von Tetraoctylammoniumbromid (273 mg, 500 μmol) in Toluol (50 ml) gegeben und 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde 1,2-Bis(11-(pyren-1-yl)undecyl)disulfan (24.5 mg, 31.0 μmol) und 1-Octadecanethiol (163 mg, 569 μmol) zugegeben. Nach 15 min wurde eine Lösung von Natriumborhydrid (189 mg, 5.00 mmol) in Wasser (3 ml) langsam innerhalb von etwa 15 min zugetropft. Es wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt, die wässrige Phase abgetrennt und verworfen. Das Lösungsmittel der organischen Phase wurde bis auf etwa 5 ml am Rotationsverdampfer entfernt (Temperatur des Wasserbades $< 35\text{ }^\circ\text{C}$) und dann mit Acetonitril (200 ml) versetzt. Über Nacht fiel ein schwarzer Feststoff aus, der abzentrifugiert wurde. Das Produkt wurde noch mehrmals in Ethylacetat suspendiert und wieder abzentrifugiert bis laut ^1H -NMR-Spektrum keine freien Thiole mehr vorhanden waren. Das Produkt wurde schließlich im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 93.8 mg (2.92 μmol , 59% bezogen auf eingesetztes Gold) schwarz-brauner Feststoff.



^1H -NMR [400 MHz, 25 $^\circ\text{C}$, CDCl_3] δ = 0.88 (br, 3H; CH_3), 1.25 (br, 21H; CH_2 -Alkyl), 1.57 (br; H_2O), 3.32 (br, 0.08H; CH_2 -PYR), 8.00-8.12 (br, 0.32H; H-PYR) ppm

^{13}C -NMR [150 MHz, 25 $^\circ\text{C}$, CDCl_3] δ = 14.3 (CH_3), 22.8 (CH_2 - CH_3), 29.9, 30.1, 32.1 (CH_2 -Alkyl) ppm

ATR-IR (C, ZnSe) $\tilde{\nu}$ = 667(w), 719(m), 756(s), 843(w), 1101(w), 1215(m), 1377(w), 1466(m), 2847(s), 2914(s), 2954(m) cm^{-1}

MS (MALDI/TOF) m/z : 27894 [Au_{142}^-]

26548-31181 [Au_{139}^+ - Au_{154}^+]

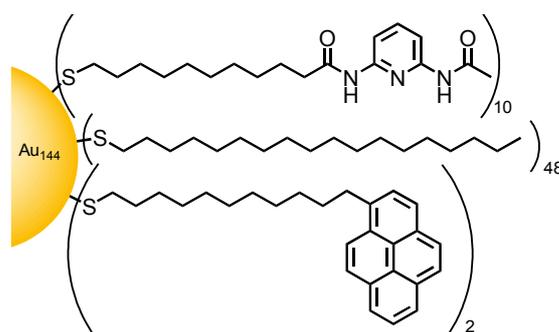
UV/Vis (CHCl_3) λ_{max} : 345, 328, 278, 244 nm

Darstellung von AuC18PYRDAP_{Rot}¹³⁹

Zu einer Lösung von AuC18PYR_{Rot} (72.8 mg, 1.57 μmol) in Methylenchlorid (3.6 ml) wurde *N*-(6-Acetamidopyridin-2-yl)-11-mercaptoundecanamid (9.1 mg, 25.9 μmol) gegeben, danach wurde

20 min unter Rühren Argon in die Lösung geleitet. Anschließend wurde im verschlossen Kolben 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Der schwarze Rückstand wurde in wenig Methylenchlorid (1 ml) gelöst und mit Acetonitril (100 ml) versetzt. Der ausgefallene schwarze Niederschlag wurde abzentrifugiert, zur Reinigung noch dreimal in Acetonitril suspendiert und abzentrifugiert und schließlich im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 66.3 mg (1.43 μmol , 91% d. Th.) schwarz-brauner Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 0.85-0.88 (br, 3H; CH_3 -Octadecanethiol), 1.25 (br, 16.6H; CH_2 -Alkyl), 1.59 (s; H_2O), 2.05-2.22 (br, 2.36H; CH_3 -DAP + CH_2 -DAP), 3.50 (br, 0.88H; CH_2 -Pyr), 7.48-7.84 (br, 2.1H; ArH-DAP + ArH-PYR) ppm

ATR-IR (C, ZnSe) $\tilde{\nu}$ = 720(w), 801(s), 1020(m), 1094(m), 1260(m), 1294(w), 1375(w), 1450(s), 1513(w), 1586(w), 1679(w), 2849(m), 2917(s), 2954(w) cm^{-1}

MS (MALDI/TOF) m/z : 27928 [Au_{142}^-]

27145-33058 [Au_{138}^+ - Au_{168}^+]

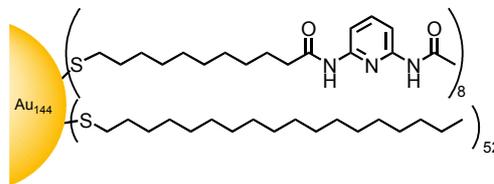
UV/Vis (CHCl_3) λ_{max} : 345, 278, 244 nm

Darstellung von AuC18DAP¹³⁹

Zu einer Lösung von **AuC18** (135 mg, 2.97 μmol) in Methylenchlorid (9 ml) wurde unter Rühren *N*-(6-Acetamidopyridin-2-yl)-11-mercaptoundecanamid (16.9 mg, 48.1 μmol) gegeben. Es wurde 30 min lang Argon durch die Lösung geleitet und anschließend 48 h im verschlossenen Kolben bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel vollständig am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wurde in Chloroform (2 ml) aufgenommen, das Produkt durch Zugabe von Acetonitril (250 ml) ausgefällt und abzentrifugiert. Es wurde wiederholt in Acetonitril suspendiert

und abzentrifugiert, bis laut $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum keine freien Thiole mehr vorhanden waren (etwa dreimal). Der schwarz-braune Feststoff wurde im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 121 mg (2.63 μmol , 89 % d. Th.) schwarz-brauner Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [200 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 0.88 (br, 3H; CH_3 -Octadecanthiol), 1.26 (br, 22H; CH_2 -Alkyl), 2.05-2.22 (br, 1H; CH_3 -DAP + CH_2 -CO), 7.78 (br, 0.45H; ArH) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ [150 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 14.3 (CH_3 -Octadecanthiol), 22.9 (CH_2 - CH_3), 28.7, 29.6, 29.8, 30.1, 32.1 (CH_2 -Alkyl), 109.6 (ArC(3)-DAP) ppm

ATR-IR (C, ZnSe) $\tilde{\nu}$ = 719(m), 801(w), 1153(w), 1243(w), 1294(m), 1368(w), 1450(s), 1511(w), 1587(w), 1680(w), 1703(w), 2848(s), 2916(s), 2954(w) cm^{-1}

MS (MALDI/TOF) m/z : 27819 [Au_{141}^-]

20451-22286 [$\text{Au}_{104}^+ - \text{Au}_{113}^+$], 26734-28990 [$\text{Au}_{136}^+ - \text{Au}_{147}^+$]

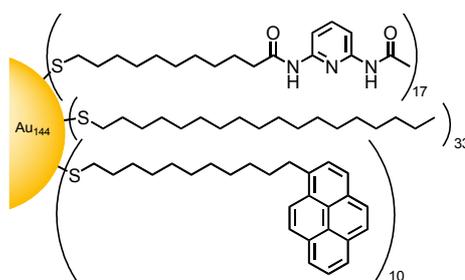
UV/Vis (CHCl_3) λ_{max} : 286, 242 nm

Darstellung eines Flavinrezeptors durch Ligandenaustauschreaktion (ohne Templat)

AuC18PYRDAP_{abs}

S-10-(6-Acetylamidopyridin-2-ylamino)-11-oxoundecylethanthioat (97.0 μmol) und S-11-(Pyren-1-yl)undecylethanthioat (97.0 μmol) wurden nach der allgemeinen Vorschrift für Ligandenaustauschreaktionen mit vorangehender *in situ*-Entschützung mit **AuC18** (1.79 μmol) umgesetzt.

Ausbeute: 63.8 mg (1.34 μmol , 75% d. Th.) schwarz-brauner Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 0.83-0.88 (br, 3H; CH_3 -Octadecanthiol), 1.21-1.25 (br, 27H; CH_2 -Alkyl), 2.00-2.22 (br, 3.67H; CH_3 -DAP + CH_2 -DAP), 3.18-3.21 (br, 0.6H; CH_2 -PYR), 7.52 (br, 0.84H; ArH-DAP (unter CDCl_3 -Satellit)), 7.72-8.05 (br, 3.45H; ArH-PYR) ppm

$^{13}\text{C-NMR}$ [600 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 14.1 (CH_3 -Octadecanthiol), 22.7 (CH_2 - CH_3), 29.9, 31.9 (CH_2 -Alkyl), 109.5 (ArC(3)-DAP), 124.7, 127.0 (ArC-PYR), 149.9 (ArC(2)-DAP) ppm

ATR-IR (C, ZnSe) $\tilde{\nu}$ = 720(m), 755(m), 800(s), 842(m), 1019(w), 1084(w), 1153(w), 1242(m), 1293(m), 1368(w), 1449(s), 1511(w), 1586(m), 1679(w), 2849(m), 2918(s), 3040(w) cm^{-1}

MS (MALDI/TOF) m/z : 27959 [Au_{142}^-]

26598-30359 [Au_{140}^+ - Au_{154}^+]

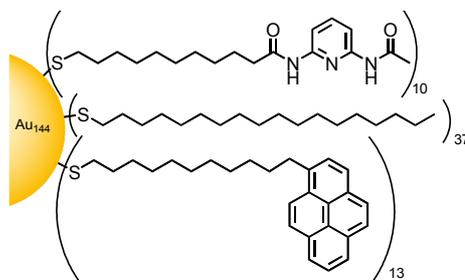
UV/Vis (CHCl_3) λ_{max} : 346, 329, 278, 267, 244 nm

Darstellung eines Flavinrezeptors durch Ligandenaustauschreaktion (mit Templat)

AuC18PYRDAP_{pre}

S-10-(6-Acetylamidopyridin-2-ylamino)-11-oxoundecylethanthioat (97.0 μmol) und S-11-(Pyren-1-yl)undecylethanthioat (97.0 μmol) wurden nach der allgemeinen Vorschrift für Ligandenaustauschreaktionen mit vorangehender *in situ*-Entschützung mit **AuC18** (1.79 μmol) und Flavin (194 μmol) umgesetzt.

Ausbeute: 59.4 mg (1.25 μmol , 70% d. Th.) schwarz-brauner Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 0.83-0.84 (br, 3H; CH_3 -Octadecanthiol), 1.20-1.25 (br, 24.6H; CH_2 -Alkyl), 1.94-2.03 (br, 2.3H; CH_3 -DAP + CH_2 -DAP), 3.19-3.23 (br, 1.1H; CH_2 -PYR), 7.52 (br, 0.54H; ArH-DAP (unter CDCl_3 -Satellit)), 7.85-7.87 (br, 3.8H; ArH-PYR) ppm

ATR-IR (C, ZnSe) $\tilde{\nu}$ = 720(m), 756(s), 800(s), 842(m), 1019(m), 1087(m), 1153(w), 1260(m), 1294(m), 1368(w), 1450(s), 1586(m), 1678(w), 2850(s), 2919(s), 3040(m) cm^{-1}

MS (MALDI/TOF) m/z : 27968 [Au_{142}^-]

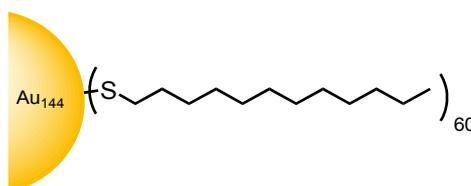
27364-30414 [Au₁₃₉⁺-Au₁₅₄⁺]

UV/Vis (CHCl₃) λ_{max}: 346, 329, 315, 278, 267, 244 nm

Darstellung von AuC12⁷⁶

Zu einer Lösung von Tetrachlorgoldsäure (262 mg, 772 μmol) in Wasser (24 ml) wurde eine Lösung von Tetraoctylammoniumbromid (1.69 g, 3.09 mmol) in Toluol (61 ml) gegeben und etwa 20 min bei Raumtemperatur gerührt. Die wässrige Phase wurde abgetrennt und verworfen. Dann wurde Dodecanthiol (174 μl, 725 μmol) zur organischen Phase gegeben. Nach 10 minütigem Rühren wurde eine Lösung von Natriumborhydrid (324 mg, 8.57 mmol) in Wasser (20 ml) langsam innerhalb von etwa 30 min zugetropft. Es wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt, die wässrige Phase abgetrennt und verworfen. Das Lösungsmittel der organischen Phase wurde bis auf etwa 5 ml am Rotationsverdampfer entfernt (Temperatur des Wasserbades < 35 °C) und dann mit Ethanol (350 ml) versetzt. Über Nacht fiel ein schwarzer Feststoff aus, der abzentrifugiert wurde. Das Produkt wurde noch dreimal zur Reinigung in Aceton suspendiert und wieder abzentrifugiert.

Ausbeute: 184 mg (4.55 μmol, 85% bezogen auf eingesetztes Gold) schwarz-brauner Feststoff.



¹H-NMR [200 MHz, 25 °C, CDCl₃] δ = 0.88 (br, 3H; CH₃), 1.25-1.57 (br, 13H; CH₂-Alkyl + H₂O) ppm

ATR-IR (C, ZnSe) $\tilde{\nu}$ = 719(m), 800(m), 1019(m), 1259(m), 1464(m), 2848(m), 2916(s) cm⁻¹

MS (MALDI/TOF) *m/z* : 28144 [Au₁₄₃⁻]

21197-23429 [Au₁₀₈⁺-Au₁₁₉⁺]

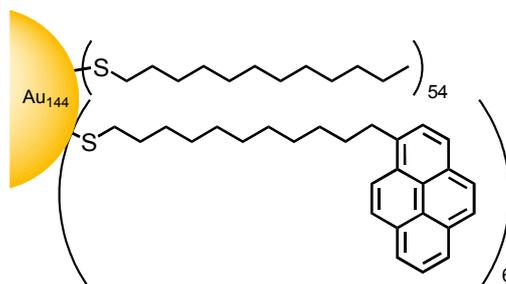
UV/Vis (CH₂Cl₂) λ_{max}: 229 nm

Darstellung von AuC12Pyr¹³⁹

Zu einer Lösung von Tetrachlorgoldsäure (146 mg, 430 μmol) in Wasser (20 ml) wurde eine Lösung von Tetraoctylammoniumbromid (235 mg, 430 μmol) in Toluol (42 ml) gegeben und 0.5 h bei Raumtemperatur gerührt. Dann wurde 1,2-Bis(11-(pyren-1-yl)undecyl)disulfan (20.5 mg, 26.4 μmol) und 1-Dodecanthiol (117 μl, 486 μmol) zugegeben. Anschließend wurde eine Lösung

von Natriumborhydrid (163 mg, 4.30 mmol) in Wasser (3 ml) langsam innerhalb von etwa 10 min zugetropft. Es wurde 3 h bei Raumtemperatur gerührt, die wässrige Phase abgetrennt und verworfen. Das Lösungsmittel der organischen Phase wurde bis auf etwa 5 ml am Rotationsverdampfer entfernt (Temperatur des Wasserbades < 35 °C) und dann mit Acetonitril (200 ml) versetzt. Über Nacht fiel ein schwarzer Feststoff aus, der abzentrifugiert wurde. Das Produkt wurde noch dreimal zur Reinigung in Acetonitril suspendiert und wieder abzentrifugiert.

Ausbeute: 101 mg (2.43 μmol , 81% bezogen auf eingesetztes Gold) schwarz-brauner Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [600 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 0.84-0.88 (br, 3H; CH_3), 1.11-1.55 (br, 19H; CH_2 -Alkyl + H_2O), 3.21-3.32 (br, 0.21H; CH_2 -Pyr), 7.90-8.09 (br, 0.96H; PyrH) ppm

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 719(w), 802(w), 841(w), 1096(w), 1260(w), 1458(w), 1636(w), 1654(w), 2851(m), 2921(s), 3434(m) cm^{-1}

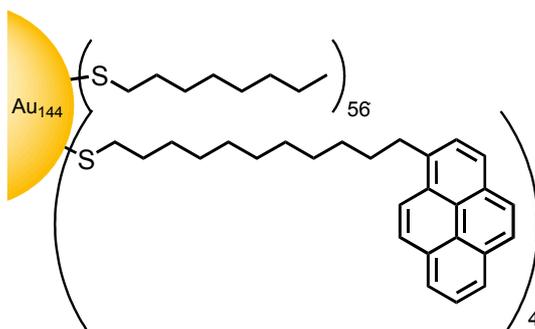
MS (MALDI/TOF) m/z : 28028 [Au_{142}^-]-28088 [Au_{143}^-]

UV/Vis (CH_2Cl_2) λ_{max} : 345, 328, 314, 277, 266, 244, 235 nm

Darstellung von AuC12PYRDAP_{Rot}¹³⁹

Durch eine Lösung von **AuC12PYR_{Rot}** (92.2 mg, 2.22 μmol) und *N*-(6-Acetamidopyridin-2-yl)-11-mercaptoundecanamid (11.6 mg, 33.0 μmol) in Methylenchlorid (5 ml) wurde 20 min unter Rühren Argon geleitet. Anschließend wurde im verschlossen Kolben 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Der schwarze Rückstand wurde in wenig Methylenchlorid (1 ml) gelöst und mit Acetonitril (100 ml) versetzt. Der ausgefallene schwarze Niederschlag wurde abzentrifugiert und zur Reinigung noch dreimal in Acetonitril suspendiert und abzentrifugiert.

Ausbeute: 88 mg (2.03 μmol , 91% d. Th.) schwarz-brauner Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 0.88 (br, 3H; CH_3), 1.25 (br, 9.28H; CH_2 -Alkyl + H_2O), 3.23 (br, 0.33H; CH_2 -Pyr), 7.95 (br, 1.81H; ArH-Pyr) ppm

IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 720(w), 803(w), 842(w), 1029(w), 1098(w), 1261(w), 1458(w), 1636(w), 1654(w), 2850(m), 2920(s), 3433(m) cm^{-1}

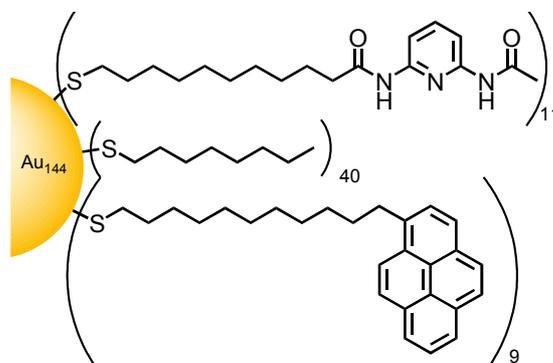
MS (MALDI/TOF) m/z : 28152-28245 [Au_{143}^-]

UV/Vis (CHCl_3) λ_{max} : 346, 329, 315, 278, 267, 244 nm

Darstellung von AuC8PYRDAP_{Rot}¹³⁹

Durch eine Lösung von **AuC8PYR_{Rot}** (88.3 mg, 2.32 μmol) und *N*-(6-Acetamidopyridin-2-yl)-11-mercaptoundecanamid (11 mg, 31.3 μmol) in Methylenchlorid (5 ml) wurde 20 min unter Rühren Argon geleitet. Anschließend wurde im verschlossenen Kolben 48 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt. Der schwarze Rückstand wurde in wenig Methylenchlorid (1 ml) gelöst und mit Acetonitril (100 ml) versetzt. Der ausgefallene schwarze Niederschlag wurde abzentrifugiert und zur Reinigung noch dreimal in Acetonitril suspendiert und abzentrifugiert. Schließlich wurde der Rückstand in Methylenchlorid gelöst, über Glaswolle filtriert, eingengt und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

Ausbeute: 92 mg (2.22 μmol , 96% d. Th.) schwarz-brauner Feststoff.



$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, 25 °C, CDCl_3] δ = 0.84-0.88 (br, 3H; CH_3 -Octanthiol), 1.25-2.27 (br, 21H; CH_2 -Alkyl + H_2O), 3.20-3.27 (br, 0.6H; CH_2 -Pyr), 7.56 (br, 0.12H; ArH-DAP) 7.89 (br, 0.89H; ArH-Pyr) ppm

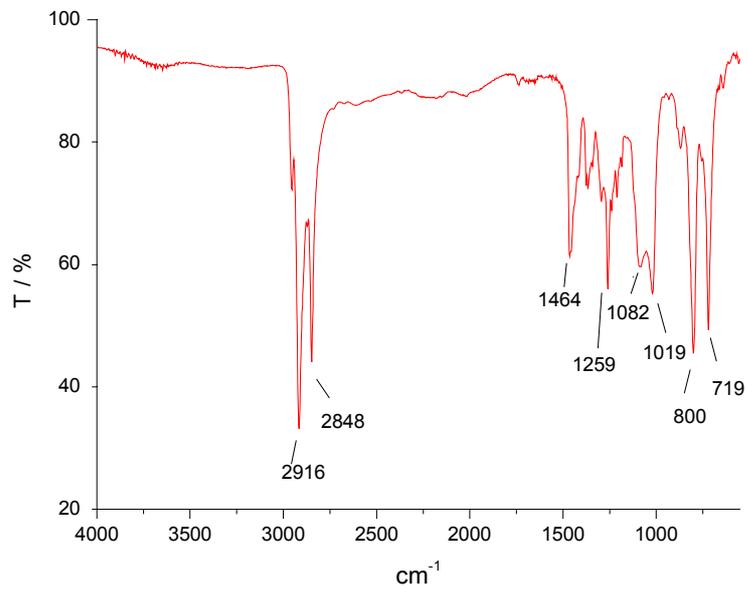
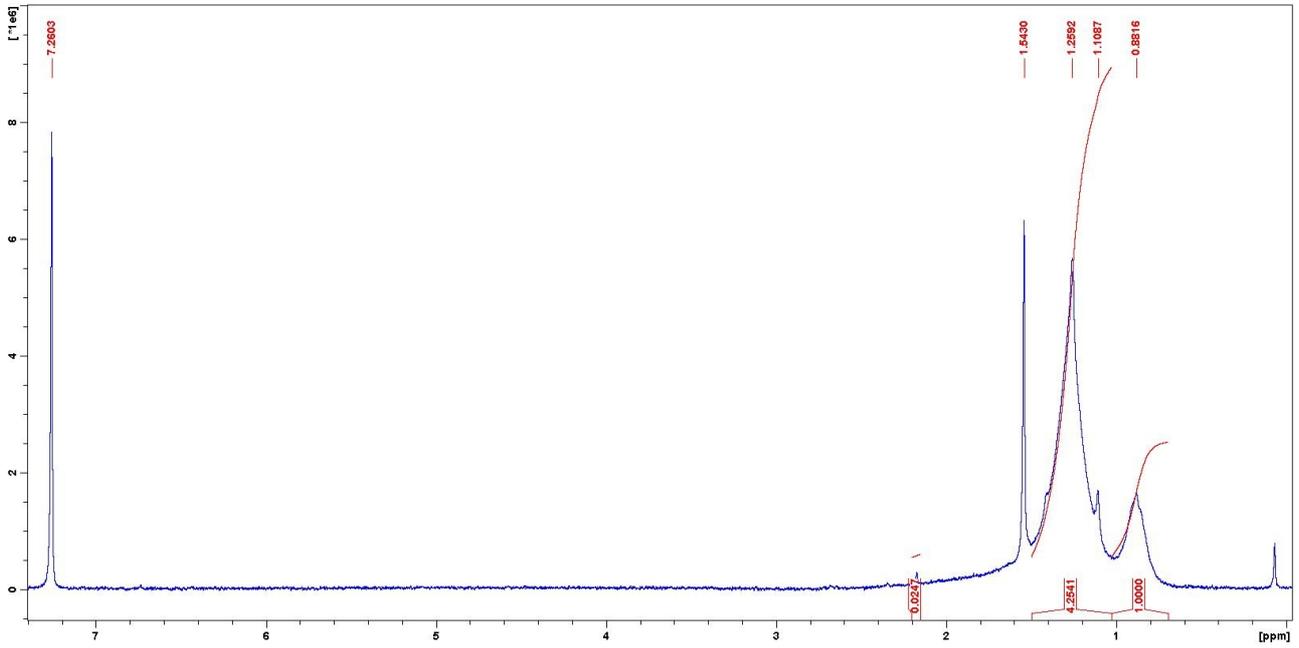
IR (KBr) $\tilde{\nu}$ = 801(w), 841(w), 1094(w), 1153(w), 1241(w), 1262(w), 1293(w), 1450(s), 1585(m), 1673(w), 2848(m), 2917(s), 3434(s) cm^{-1}

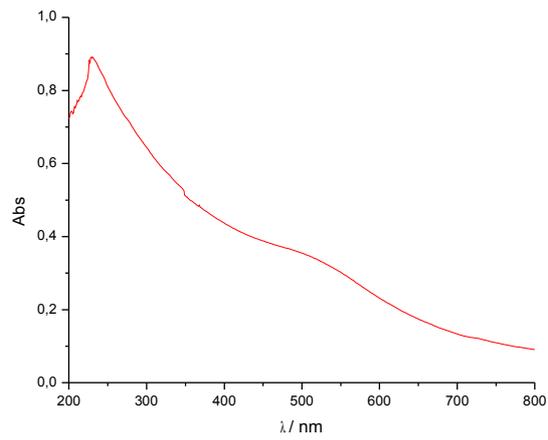
MS (MALDI/TOF) m/z : 28058 [Au_{142}^-]-28118 [Au_{143}^-]

UV/Vis (CH_2Cl_2) λ_{max} : 345, 329, 277, 266, 244, 235, 227 nm

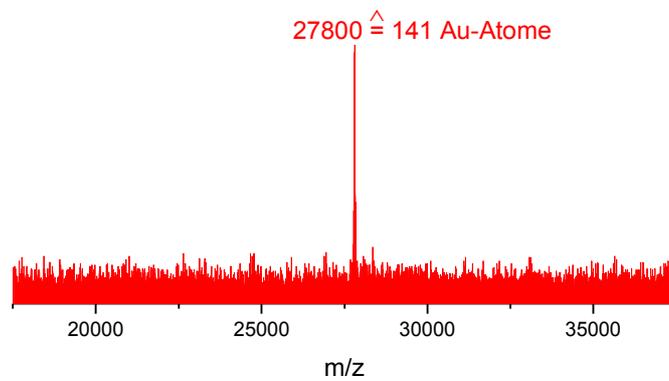
Anhang

Charakterisierung von AuC12

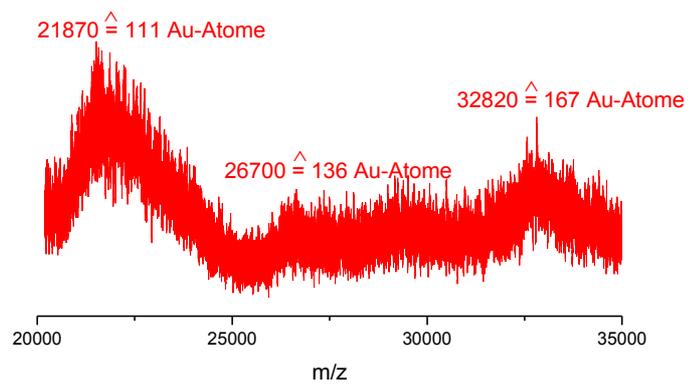




UV/Vis-Spektrum von **AuC12** in CH_2Cl_2 .

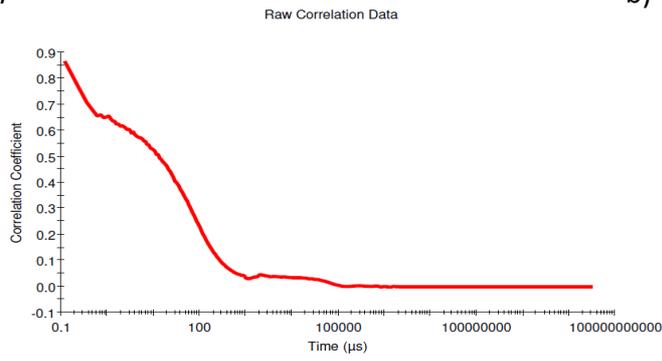


MALDI-TOF-MS-Spektrum von **AuC12** im negativen Modus bei Verwendung der DHB-Matrix.

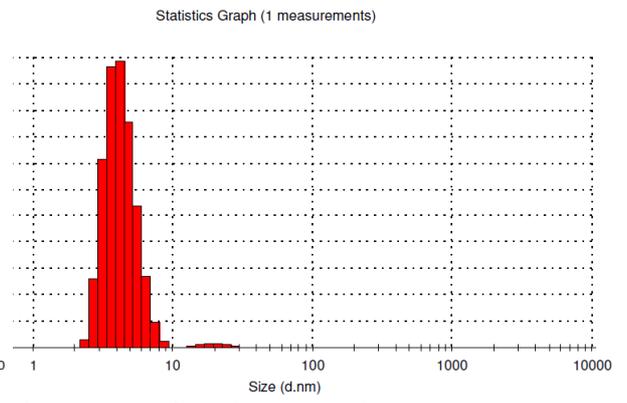


MALDI-TOF-MS-Spektrum von **AuC12** im positiven Modus bei Verwendung der DCTB-Matrix.

a)



b)



*Dynamische Lichtstreuung von **AuC12** Korrelationsdiagramm a) und statistische Auswertung bezüglich des Volumens b).*

Literatur

- ¹ L. Stryer, „Biochemie“, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, **1999**.
- ² E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, *27*, 2987.
- ³ H.-J. Schneider, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 3982; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 3924 – 3977.
- ⁴ M. J. Wiester, P. A. Ulmann, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 118; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 114.
- ⁵ J. H. Hartley, T. D. James, C. J. Ward, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2000**, 3155.
- ⁶ K.N. Houk, A. G. Leach, S. P. Kim, X. Zhang, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 5020; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4872.
- ⁷ A. Verma, V. M. Rotello, *Chem. Commun.* **2005**, 303.
- ⁸ B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, J. D. Watson, „Molekularbiologie der Zelle“, Wiley-VCH, **1995**.
- ⁹ D. Nelson, M. Cox, A. Held, „Lehninger Biochemie“, Springer-Verlag, **2001**.
- ¹⁰ R. A. L. Jones, *Faraday Discuss.* **2009**, *143*, 9.
- ¹¹ J. C. Love, L. A. Estroff, J. K. Kriebel, R. G. Nuzzo, G. M. Whitesides, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1103.
- ¹² H. Goessmann, C. Feldmann, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 1402; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 1362.
- ¹³ G. M. Whitesides D. J. Lipomi, *Faraday Discuss.* **2009**, *143*, 373.
- ¹⁴ S. Mann, *Angew. Chem.* **2008**, *29*, 5386; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 5306.
- ¹⁵ L. Pasquato, P. Pengo, P. Scrimin, *J. Mater. Chem.* **2004**, *14*, 3481.
- ¹⁶ J. Suh, *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 562.
- ¹⁷ G. Wulff, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1.
- ¹⁸ Y. Murakami, J.-I. Kikuchi, Y. Hisaeda, O. Hayashida, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 721.
- ¹⁹ R. Shenhar, V. M. Rotello, *Acc. Chem. Res.* **2003**, *36*, 549.
- ²⁰ U. Drechsler, B. Erdogan, V. M. Rotello, *Chem. - Eur. J.* **2004**, *10*, 5570.
- ²¹ D. J. Cram, *Angew. Chem.* **1988**, *100*, 1041; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1988**, *27*, 1009.
- ²² A. B. Descalzo, R. Martínez-Mañez, F. Sancenón, K. Hoffmann, K. Rurack, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 6068; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5924.
- ²³ P. Lhoták, S. Shinkai, *J. Phys. Org. Chem.* **1997**, *10*, 273.
- ²⁴ A. Arduini, D. Demuru, A. Pochini, A. Secchi, *Chem. Commun.* **2005**, 645.
- ²⁵ P. D. Beer, D. P. Cormode, J. J. Davis, *Chem. Commun.* **2004**, 414.
- ²⁶ A. Labande, D. Astruc, *Chem. Commun.* **2000**, 1007.
- ²⁷ F. Vögtle, „Supramolekulare Chemie“, Teubner Studienbücher Chemie **1989**.
- ²⁸ M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whiteside, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754.
- ²⁹ A. Mulder, J. Huskens, D. N. Reinhoudt, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 3409.
- ³⁰ G. Fantuzzi, P. Pengo, R. Gomila, P. Ballester, C. A. Hunter, L. Pasquato, P. Scrimin, *Chem. Commun.* **2003**, 1004.
- ³¹ G. Ercolani, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 16097.
- ³² J. D. Badjić, A. Nelson, S. J. Cantrill, W. B. Turnbull, J. F. Stoddart, *Acc. Chem. Res.* **2005**, *38*, 723.
- ³³ J. J. Lundquist, E. J. Toone, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 555.
- ³⁴ A. Whitty, *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4*, 435.
- ³⁵ D. Fitzmaurice, S. N. Rao, J. A. Preece, J. F. Stoddart, S. Wenger, N. Zaccheroni, *Angew. Chem.* **1999**, *111*, 1220; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, *38*, 1147.
- ³⁶ L. Pasquato, F. Rancan, P. Scrimin, F. Mancin, C. Frigeri, *Chem. Commun.* **2000**, 2253.
- ³⁷ F. Manea, F. B. Houillon, L. Pasquato, P. Scrimin, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6291; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6165.

- ³⁸ L. Pasquato, P. Pengo, P. Scrimin, *Supramol. Chem.* **2005**, *17*, 163.
- ³⁹ R. Bonomi, F. Selvestrel, V. Lombardo, C. Sissi, S. Polizzi, F. Mancin, U. Tonellato, P. Scrimin, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 15744.
- ⁴⁰ T. Belser, E. N. Jacobson, *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 967.
- ⁴¹ G. Zaupa, C. Mora, R. Bonomi, L. J. Prins, P. Scrimin, *Chem. - Eur. J.* **2011**, *17*, 4879.
- ⁴² M. Zheng, X. Huang, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12047.
- ⁴³ C.-C. You, A. Verma, V. M. Rotello, *Soft Matter* **2006**, *2*, 190.
- ⁴⁴ M. De, V. M. Rotello, *Chem. Commun.* **2008**, 3504.
- ⁴⁵ J. Liu, D. Mazumdar, Y. Lu, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 8123; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 7955.
- ⁴⁶ J.-M. Nam, C. S. Thaxton, C. A. Mirkin, *Science* **2003**, *301*, 1884.
- ⁴⁷ S. I. Stoeva, J.-S. Lee, J. E. Smith, S. T. Rosen, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 8378.
- ⁴⁸ G. J. Hutchings, M. Brust, H. Schmidbauer, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1759.
- ⁴⁹ E. Katz, I. Willner, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6166; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6042.
- ⁵⁰ N. L. Rosi, C. A. Mirkin, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1547.
- ⁵¹ R. Wilson, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 2028.
- ⁵² Z. Wang, L. Ma, *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253*, 1607.
- ⁵³ D. A. Giljohann, D. S. Seferos, W. L. Daniel, M. D. Massich, P. C. Patel, C. A. Mirkin, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3352; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3280.
- ⁵⁴ S. S. Agasti, S. Rana, M.-H. Park, C. K. Kim, C.-C. You, V. M. Rotello, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2010**, *62*, 316.
- ⁵⁵ H. Jans, Q. Huo, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2849.
- ⁵⁶ E. C. Dreaden, A. M. Alkilany, X. Huang, C. J. Murphy, M. A. El-Sayed, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2740.
- ⁵⁷ K. Saha, S. S. Agasti, C. Kim, X. Li, V. M. Rotello, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 2739.
- ⁵⁸ Y. Kubo, S. Uchida, Y. Kemmochi, T. Okubo, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 4369.
- ⁵⁹ K. Ai, Y. Liu, L. Lu, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9496.
- ⁶⁰ W. L. Daniel, M. S. Han, J.-S. Lee, C. A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6362.
- ⁶¹ H. X. Li, L. J. Rothberg, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10958.
- ⁶² R. de la Rica, R. M. Fratila, A. Szarpak, J. Huskens, A. H. Velders, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 5822; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 5704.
- ⁶³ U. H. F. Bunz, V. M. Rotello, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 3338; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 3268.
- ⁶⁴ C.-C. You, O. R. Miranda, B. Gider, P. S. Ghosh, I.-B. Kim, B. Erdogan, S. A. Krovi, U. H. F. Bunz, V. M. Rotello, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, *2*, 318.
- ⁶⁵ B. Dubertret, M. Calame, A. J. Libchaber, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 365.
- ⁶⁶ R. A. Sperling, P. R. Gil, F. Zhang, M. Zanella, W. J. Park, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1896.
- ⁶⁷ S. S. R. Dasary, A. K. Singh, D. Senapati, H. Yu, P. C. Ray, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13806.
- ⁶⁸ A. Labande, J. Ruiz, D. Astruc, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1782.
- ⁶⁹ A. Yu, Z. Liang, J. Cho, F. Caruso, *Nano. Lett.* **2003**, *3*, 1203.
- ⁷⁰ M. De, P. S. Ghosh, V. M. Rotello, *Adv. Mater.* **2008**, *20*, 4225.
- ⁷¹ A. C. Templeton, W. P. Wuelfing, R. W. Murray, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 27.
- ⁷² M.-C. Daniel, D. Astruc, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 293.
- ⁷³ P. P. Edwards, J. M. Thomas, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 5576; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5480.
- ⁷⁴ J. Turkevitch, P. C. Stevensson, J. Hillier, *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, *11*, 55.
- ⁷⁵ G. Schmid, *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 1709.

- ⁷⁶ M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D. Schiffrin, R. Whyman, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 801.
- ⁷⁷ P. J. G. Goulet, R. B. Lennox, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 9582.
- ⁷⁸ R. Sardar, A. M. Funston, P. Mulvaney, R. W. Murray, *Langmuir* **2009**, *25*, 13840.
- ⁷⁹ Y. Li, O. Zaluzhna, Y. J. Tong, *Chem. Commun.* **2011**, 6033.
- ⁸⁰ Y. Li, O. Zaluzhna, B. Xu, Y. Gao, J. M. Modest, Y. J. Tong, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 2092.
- ⁸¹ M. J. Hostetler, J. E. Wingate, C.-J. Zhong, J. E. Harris, R. W. Vachet, M. R. Clark, J. D. Londono, S. J. Green, J. J. Stokes, G. D. Wignall, G. L. Glish, M. D. Porter, N. D. Evans, R. W. Murray, *Langmuir* **1998**, *14*, 17.
- ⁸² R. Sardar, J. S. Shumaker-Parry, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 8179.
- ⁸³ P. Pengo, S. Polizzi, M. Battagliarin, L. Pasquato, P. Scrimin, *J. Mater. Chem.* **2003**, *13*, 2471.
- ⁸⁴ O. Uzun, Y. Hu, A. Verma, S. Chen, A. Centrone, F. Stelacci, *Chem. Commun.* **2008**, 196.
- ⁸⁵ E. Oh, K. Susumu, R. Goswami, H. Mattoussi, *Langmuir* **2010**, *26*, 7604.
- ⁸⁶ P. D. Jadzinsky, G. Calero, C. J. Ackerson, D. A. Bushnell, R. D. Kornberg, *Science* **2007**, 430.
- ⁸⁷ R. L. Whetten, R. C. Pierce, *Science* **2007**, *318*, 407.
- ⁸⁸ D. Jiang, M. L. Tiago, W. Luo, S. Dai, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2777.
- ⁸⁹ H. Häkkinen, M. Walter, H. Grönbeck, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 9927.
- ⁹⁰ R. Jin, Y. Zhu, H. Qian, *Chem - Eur. J.* **2011**, *17*, 6584.
- ⁹¹ R. Jin, *Nanoscale* **2010**, *2*, 343.
- ⁹² U. Drechsler, B. Erdogan, V. M. Rotello, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 5570.
- ⁹³ R. S. Ingram, M. J. Hostetler, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 9175.
- ⁹⁴ M. J. Hostetler, A. C. Templeton, R. W. Murray, *Langmuir* **1999**, *15*, 3782.
- ⁹⁵ R. Guo, Y. Song, G. Wang, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2752.
- ⁹⁶ Y. Song, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 7096.
- ⁹⁷ R. L. Donkers, Y. Song, R. W. Murray, *Langmuir* **2004**, *20*, 4703.
- ⁹⁸ A. Kassam, G. Bremner, B. Clark, G. Ulibarri, R. B. Lennox, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 3476.
- ⁹⁹ R. Hong, J. M. Fernández, H. Nakade, R. Arvizo, T. Emrick, V. M. Rotello, *Chem. Commun.* **2006**, 2347.
- ¹⁰⁰ M. C. Wood, S. J. Stranick, S. V. Atre, A. N. Parikh, D. L. Allara, N. Winograd, P. S. Weiss, *Nanotechnol.* **1996**, *7*, 438-442
- ¹⁰¹ P. Ionita, A. Volkov, G. Jeschke, V. Chechik, *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 95.
- ¹⁰² M. Zachary, V. Chechik, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 3368; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3304.
- ¹⁰³ Y.-S. Shon, C. Mazzitelli, R. W. Murray, *Langmuir* **2001**, *17*, 7735.
- ¹⁰⁴ A. C. Templeton, M. J. Hostetler, E. K. Warmoth, S. Chen, C. M. Hartshorn, V. M. Krishnamurthy, M. D. E. Forbes, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4845.
- ¹⁰⁵ E. Boisselier, L. Salmon, J. Ruiz, D. Astruc, *Chem. Commun.* **2008**, 5788.
- ¹⁰⁶ C. Krüger, S. Agarwal, A. Greiner, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2710.
- ¹⁰⁷ J. N. H. Reek, S. Otto, „Dynamic Combinatorial Chemistry“ Wiley-VCH, **2010**.
- ¹⁰⁸ C. D. Meyer, C. S. Joiner, J. F. Stoddart, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1705.
- ¹⁰⁹ S. J. Rowan, S. J. Cantrill, G. R. L. Cousins, J. K. M. Sanders, J. F. Stoddart, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 938; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 1460.
- ¹¹⁰ S. Anderson, H. L. Anderson, J. K. M. Sanders, *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 469.
- ¹¹¹ R. Hoss, F. Vögtle, *Angew. Chem.* **1994**, *106*, 389; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 375.
- ¹¹² D. Schultz, J. R. Nitschke, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 11191.
- ¹¹³ O. Ramström, T. Bunyapaiboonsri, S. Lohmann, J.-M. Lehn, *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1572*, 178.

- ¹¹⁴ J. Eicher „Kombinatorische Chemie-Konzepte und Strategien“ Teubner Studienbücher Chemie **2003**.
- ¹¹⁵ J.-M. Lehn, *Chem. - Eur. J.* **1999**, *5*, 2455.
- ¹¹⁶ P. T. Corbett, J. Leclaire, L. Vial, K. R. West, J.-L. Wietor, J. K. M. Sanders, S. Otto, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3652.
- ¹¹⁷ K. Severin, *Chem. - Eur. J.* **2004**, *10*, 2565.
- ¹¹⁸ P. T. Corbett, S. Otto, J. K. M. Sanders, *Chem. - Eur. J.* **2004**, *10*, 3139.
- ¹¹⁹ P. T. Corbett, J. K. M. Sanders, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9390.
- ¹²⁰ I. Saur, K. Severin, *Chem. Commun.* **2005**, 1471.
- ¹²¹ B. de Bruin, P. Hauwert, J. N. H. Reek, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2726; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2660.
- ¹²² R. T. S. Lam, A. Belenguer, S. L. Roberts, C. Naumann, T. Jarrosson, S. Otto, J. K. M. Sanders, *Science* **2005**, *308*, 667.
- ¹²³ S. Ladame, *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 219.
- ¹²⁴ R. F. Ludlow, S. Otto, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 5984.
- ¹²⁵ M. Hochgürtel, R. Biesinger, H. Kroth, D. Piecha, M. W. Hofmann, S. Krause, O. Schaaf, C. Nicolau, A. V. Eliseev, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 356.
- ¹²⁶ R. F. Ludlow, S. Otto, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12218.
- ¹²⁷ S. Otto, *Curr. Opin. Drug Discovery Dev.* **2003**, *6*, 509.
- ¹²⁸ G. Gasparini, M. Dal Molin, L. J. Prins, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2429.
- ¹²⁹ A. Herrmann, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 3195.
- ¹³⁰ B. L. Miller „Dynamic Combinatorial Chemistry - in Drug Discovery, Bioorganic Chemistry, and Materials Science“ Wiley-VCH, **2010**.
- ¹³¹ C. Karan, B. L. Miller, *Drug Discovery Today* **2000**, *5*, 67.
- ¹³² V. Saggiomo, C. Goeschen, R. Herges, R. Quesada, U. Lüning, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 2337.
- ¹³³ J. M. A. Carnall, C. A. Waudby, A. M. Belenguer, M. C. A. Stuart, J. J.-P. Peyralans, S. Otto, *Science* **2010**, *327*, 1502.
- ¹³⁴ R. F. Ludlow, S. Otto, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 101.
- ¹³⁵ R. A. R. Hunt, S. Otto, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 847.
- ¹³⁶ C. S. Mahon, A. W. Jackson, B. S. Murray, D. A. Fulton, *Chem. Commun.* **2011**, 7209.
- ¹³⁷ L. Tauk, A.P. Schröder, G. Decher, N. Giuseppone, *Nat. Chem.* **2009**, *1*, 649.
- ¹³⁸ J. Bresee, K. E. Maier, C. Melander, D. L. Feldheim, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 7516.
- ¹³⁹ A. K. Boal, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 734.
- ¹⁴⁰ A. Verma, H. Nakade, J. M. Simard, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10806.
- ¹⁴¹ H. G. O. Becker, R. Beckert, G. Domschke, E. Faughänel, W. D. Habicher, P. Metz, D. Paverl, K. Schwetlick, „Organikum“ Wiley-VCH **2001**
- ¹⁴² M. J. Hostetler, J. J. Stokes, R. W. Murray, *Langmuir* **1996**, *12*, 3604.
- ¹⁴³ K. M. Harkness, D. E. Cliffl, J. A. McLean, *Analyst* **2010**, *135*, 868.
- ¹⁴⁴ R. L. Whetten, J. T. Khoury, M. M. Alvarez, S. Murthy, I. Vezmar, Z. L. Wang, P. W. Stephens, C. L. Cleveland, W. D. Luedtke, U. Landmann, *Adv. Mater.* **1996**, *8*, 428.
- ¹⁴⁵ A. Dass, A. Stevenson, G. R. Dubay, J. B. Tracy, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5940.
- ¹⁴⁶ A. Dass, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 11666.
- ¹⁴⁷ H. Tsunoyama, T. Tsukuda, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 2009.
- ¹⁴⁸ H. Jans, X. Liu, L. Austin, G. Maes, Q. Huo, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 9425.
- ¹⁴⁹ M. Mahmoudi, I. Lynch, M. R. Ejtehadi, M. P. Monopoli, F. B. Bombelli, S. Laurent, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5610.
- ¹⁵⁰ J. P. Wilcoxon, P. Provencio, *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 12949.

- ¹⁵¹ A. Badia, S. Singh, L. Demers, L. Cuccia, G. R. Brown, R. B. Lennox, *Chem. - Eur. J.* **1996**, *2*, 359.
- ¹⁵² T. G. Schaaff, M. N. Shafigullin, J. T. Houry, I. Vezmar, R. L. Whetten, W. G. Cullen, P. N. First, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 7885.
- ¹⁵³ T. G. Schaaff, M. N. Shafigullin, J. T. Houry, I. Vezmar, R. L. Whetten, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 8785.
- ¹⁵⁴ N. K. Chaki, Y. Negishi, H. Tsunoyama, Y. Shichibu, T. Tsukuda, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8608.
- ¹⁵⁵ C. A. Fields-Zinna, R. Sardar, C. A. Beasley, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16266.
- ¹⁵⁶ O. Lopez-Alcedo, J. Akola, R. L. Whetten, H. Gronbeck, H. Hakkinen, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 5035.
- ¹⁵⁷ H. Qian, R. Jin, *Nano Lett.* **2009**, *9*, 4083.
- ¹⁵⁸ A. K. Boal, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 4914.
- ¹⁵⁹ F. Yoneda, Y. Sakuma, M. Ichiba, K. Shinomura, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *89*, 830.
- ¹⁶⁰ A. Niemz, J. Imbriglio, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 887.
- ¹⁶¹ C. O. Kappe, *Angew. Chem.* **2004**, *116*, 6408; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 6250.
- ¹⁶² M. J. Hostetler, S. J. Green, J. S. Stokes, R.W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4212.
- ¹⁶³ A. C. Templeton, M. J. Hostetler, C. T. Kraft, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1906.
- ¹⁶⁴ L. Fielding, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 6151.
- ¹⁶⁵ V. Chechik, H. J. Wellsted, A. Korte, B. C. Gilbert, H. Caldararu, P. Ionita, A. Caragheorgheopol, *Faraday Discuss.* **2004**, *125*, 279.
- ¹⁶⁶ R. K. Smith, S. M. Reed, P. A. Lewis, J. D. Monnell, R. S. Clegg, K. F. Kelly, L. A. Bumm, J. E. Hutchison, P. S. Weiss, *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 1119.
- ¹⁶⁷ K. M. Harkness, A. Balinski, J. A. McLean, D. E. Cliffel, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 10742; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 10554.
- ¹⁶⁸ I. Visscher, M. C. A. Stuart, J. B. F. N. Engberts, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, *4*, 707.
- ¹⁶⁹ H. Böhme, B. Mencke, *Arch. Pharm.* **1960**, *65*, 54.
- ¹⁷⁰ A. K. Boal, M. Gray, F. Ilhan, G. M. Clavier, L. Kapitzky, V. M. Rotello, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 765.
- ¹⁷¹ G. M. Credo, A. K. Boal, K. Das, T. H. Galow, V. M. Rotello, D. L. Feldheim, C. B. Gorman, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9037.
- ¹⁷² L. Gilberg „Untersuchungen zur Oberflächenmodifikation von Goldnanopartikeln mit Aminosäurederivaten“, TU Kaiserslautern **2008**
- ¹⁷³ J. Butenandt, R. Epple, E.-U. Wallenborn, A. P. M. Eker, V. Gramlich, T. Carrell, *Chem. - Eur. J.* **2000**, *6*, 62.
- ¹⁷⁴ J. Svoboda, H. Schmaderer, B. König, *Chem. - Eur. J.* **2008**, *14*, 1854.
- ¹⁷⁵ A. Dass, K. Holt, J. F. Parker, S. W. Feldberg, R. W. Murray, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 20276.
- ¹⁷⁶ D. Aherne, S. N. Rao, D. Fitzmaurice, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 1821.
- ¹⁷⁷ V. Chechik, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7780.
- ¹⁷⁸ P. A. Brady, R. P. Bonar-Law, S. J. Rowan, C. J. Suckling, J. K. M. Sanders, *Chem. Commun.* **1996**, 319.
- ¹⁷⁹ M. Martin, G. Gasparini, M. Graziani, L. J. Prins, P. Scrimin, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3858.
- ¹⁸⁰ A. Centrone, Y. Hu, A. M. Jackson, G. Zerbi, F. Stellacci, *Small* **2007**, *3*, 814.
- ¹⁸¹ E. E. Foos, A. W. Snow, M. E. Twigg, M. G. Ancona, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 2401.
- ¹⁸² A. K. Boal, V. M. Rotello, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 5019.
- ¹⁸³ J. Bernstein, B. Stearns, E. Shaw, W. A. Lott, *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 1151.
- ¹⁸⁴ A. J. Hubert, *J. Chem. Soc. C* **1967**, 235.

Lebenslauf

Laura Gilberg

Schulbildung:

Juli 1988- Juli 1992

Freiherr-vom-Stein Grundschule Bad Ems

Juli 1992- März 2001

Erwerb der allgemeinen Hochschulreife am Goethe Gymnasium Bad Ems

Hochschulausbildung:

April 2001- Mai 2008

Studium der Chemie an der Technischen Universität Kaiserslautern mit Erreichen des Abschlusses Diplom-Chemiker

Juli 2008-August 2012

Promotion im Fachbereich Chemie der Technischen Universität Kaiserslautern im Arbeitskreis von Prof. Dr. S. Kubik mit Erreichen des akademischen Grades „Doktor der Naturwissenschaft“