

# **Kinetisch kontrollierte 1D- Selbstassemblierung von Porphyrin- Peptidamphiphilen in Wasser**

## **Inauguraldissertation**

zur Erlangung des Grades

“Doktor der Naturwissenschaften”

im Promotionsfach Chemie

am Fachbereich Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

**Oliver S. Stach**

geboren in Frankenthal (Pfalz)

Mainz, Februar 2024



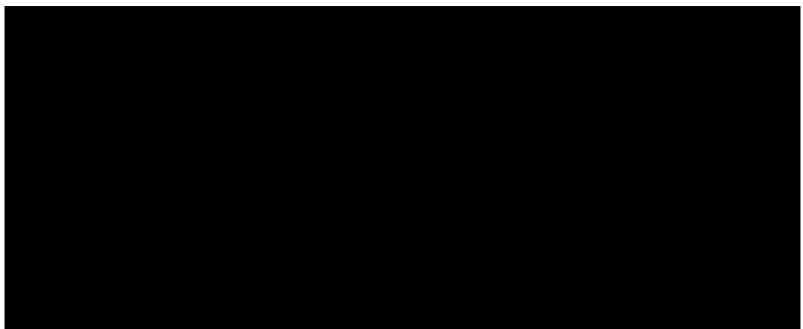
Dekanin:

Erster Berichtstatter:

Zweiter Berichtstatter:

Eingereicht am:

Tag der mündlichen Prüfung:





*„Das Wichtigste ist, dass man nicht aufhört zu fragen.“*

*– Albert Einstein*



*Für meine Familie und  
alle, die mir den Weg bis  
hierher ermöglicht haben.*



---

# Vorwort

---

Die vorliegende Arbeit ist im Zeitraum zwischen Juli 2020 und Februar 2024 in der Arbeitsgruppe von [REDACTED] am Department Chemie der Johannes Gutenberg-Universität (JGU) Mainz angefertigt und größtenteils in deutscher Sprache verfasst worden. Die Ausführungen zur experimentellen Vorgehensweise (Kapitel 8) wurden in englischer Sprache verfasst.

Teile dieser Arbeit sollen in internationalen wissenschaftlichen Journalen veröffentlicht werden. Entsprechende Manuskripte befinden sich in Vorbereitung.

D77 - Dissertation Johannes Gutenberg-Universität Mainz



---

# Inhaltsverzeichnis

---

## **Kapitel 1**

---

<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Supramolekulare Chemie .....	2
1.2 Komplexes Assemblierungsverhalten: <i>Pathway Complexity</i> .....	5
1.3 Selbstassemblierung Porphyrin-basierter Systeme .....	11
1.4 Selbstassemblierung amphiphiler Systeme in Wasser .....	20

## **Kapitel 2**

---

<b>Motivation und Ziele</b>	<b>31</b>
-----------------------------	-----------

## **Kapitel 3**

---

<b>Synthese und Selbstassemblierung wasserlöslicher Porphyrin-Peptidamphiphile</b>	<b>35</b>
3.1 Motivation und Konzept .....	36
3.2 Ergebnisse und Diskussion .....	38
3.2.1 Synthese der Porphyrin-Peptidamphiphile III-1 bis III-5.....	38
3.2.2 Optische Eigenschaften von III-1 bis III-5 in verdünnter Lösung .....	47
3.2.3 Löslichkeitsverhalten von III-1 bis III-5 in Wasser.....	47
3.2.4 Selbstassemblierung von III-2 bis III-5 in Wasser .....	49
3.2.5 Stabilität formanisotroper Nanostrukturen von III-2 und III-3 .....	61
3.2.6 Kinetische Untersuchung der Selbstassemblierung von III-3 und III-5 .....	66
3.2.7 Simulations-basierte Betrachtung des strukturabhängigen Assemblierungsverhaltens .....	69
3.3 Fazit.....	73

## **Kapitel 4**

---

<b>Selbstassemblierung Stimuli-responsiver Porphyrin-Peptidamphiphile</b>	<b>77</b>
4.1 Motivation und Konzept .....	78
4.2 Ergebnisse und Diskussion .....	80
4.2.1 Synthese des pH-responsiven Monomers IV-1 .....	80
4.2.2 Selbstassemblierung von IV-1 in Abhängigkeit von Temperatur und pH .....	82
4.3 Fazit.....	89

## **Kapitel 5**

---

<b>Selbstassemblierung von Porphyrin-Peptidamphiphilen in Abhängigkeit des Metallzentrums</b>	<b>91</b>
5.1 Motivation und Konzept.....	92
5.2 Ergebnisse und Diskussion .....	94
5.2.1 Synthese der Monomere V-1 bis V-4 .....	94
5.2.2 Selbstassemblierung der Monomere V-1 und V-2 in Wasser.....	100
5.2.3 Selbstassemblierung der Monomere V-3 und V-4 in Wasser.....	105
5.2.4 Effekt des Zentralatoms auf die Stabilität formanisotroper Nanostrukturen .....	109
5.3 Fazit.....	114

## **Kapitel 6**

---

<b>Ladungskontrollierte (Co-)Assemblierung von Porphyrin-Peptidamphiphilen</b>	<b>117</b>
6.1 Motivation und Konzept.....	118
6.2 Ergebnisse und Diskussion .....	120
6.2.1 Synthese Stimuli-responsiver (Co-)Monomere .....	120
6.2.2 Supramolekulare Homopolymerisation der Monomere VI-1 und VI-2 .....	123
6.2.3 Supramolekulare Homopolymerisation der Monomere VI-3 und VI-4 .....	128
6.2.4 Ladungskontrollierte supramolekulare Copolymerisation .....	134
6.3 Fazit.....	139

## **Kapitel 7**

---

<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>143</b>
-------------------------------------	------------

## **Kapitel 8**

---

<b>Experimental Procedures</b>	<b>153</b>
8.1 Instrumentation and Materials .....	154
8.2 Standard Operating Procedures.....	160
8.3 Synthetic Procedures of Chapter 3.....	162
8.4 Synthetic Procedures of Chapter 4.....	182
8.5 Synthetic Procedures of Chapter 5.....	186
8.6 Synthetic Procedures of Chapter 6.....	195

## **Anhang**

A	Zusätzliche Daten .....	213
B	Literaturverzeichnis.....	233
C	Abkürzungsverzeichnis.....	245
D	Publikationen & Präsentationen .....	253



---

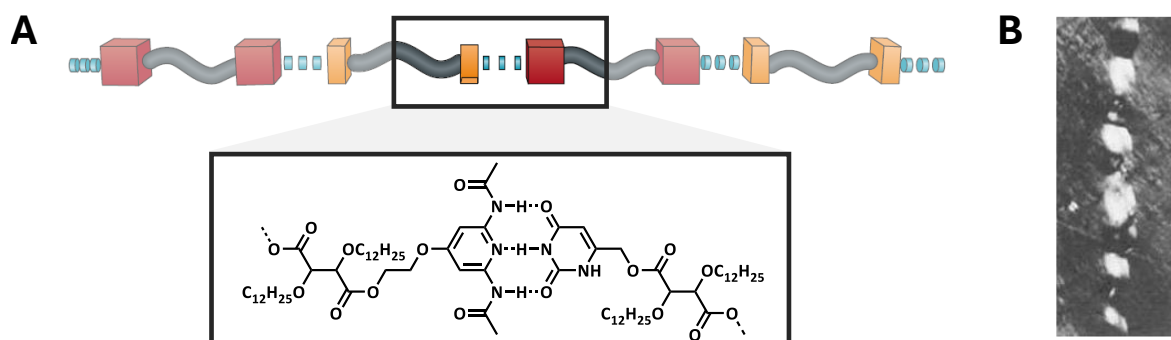
# **Kapitel 1**

Einleitung

---

## 1.1 Supramolekulare Chemie

Supramolekulare Polymere stellen einen Grenzfall zwischen den grundlegenden makromolekularen sowie supramolekularen Prinzipien dar. Die empfohlene Definition charakterisiert supramolekulare Polymere als den Zusammenschluss monomerer Einheiten, die über schwache, reversible gerichtete Wechselwirkungen in Lösung auf dynamische Art zusammengehalten werden.<sup>[1-4]</sup> Verdeutlicht wird dies anhand der von FOUQUEY und LEHN im Jahr 1990 vorgestellten Diacylaminopyridin- und Uracil-Derivate als bifunktionelle Monomere, welche über die komplementäre Ausbildung multipler Wasserstoffbrücken lineare, flüssig-kristalline Aggregate ausbilden.<sup>[5]</sup> Dieses Beispiel, oftmals als „erstes supramolekulares Hauptketten-Polymer“ zitiert, markiert einen Paradigmenwechsel des allgemeinen chemischen Verständnisses, insbesondere hinsichtlich der allmählichen Abgrenzung supramolekularer von klassisch makromolekularer Chemie. In kurzer Folge ist deutlich geworden, dass viele der zuvor ausschließlich kovalenten Polymeren zugeschriebenen Materialeigenschaften von ihren supramolekularen Gegenstücken imitiert werden können und dass supramolekulare Polymere aufgrund ihrer dynamischen Natur die Erschaffung funktionaler Materialien ermöglichen die weitaus komplexere Eigenschaften wie Adaptivität, Prozessierbarkeit und *self-healing* aufweisen.<sup>[3,4,6,7][8-11]</sup>

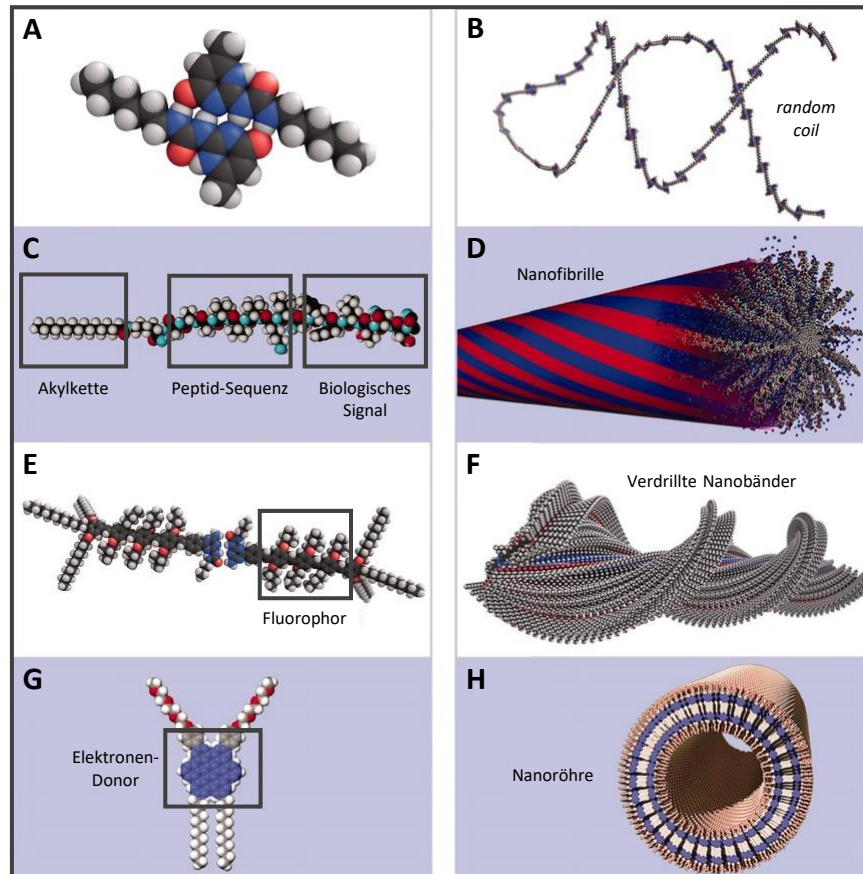


**Abbildung 1.1:** **A:** Schematische Darstellung des von LEHN *et. al.* postulierten linearen supramolekularen Ketten-Polymers ausgehend von bifunktionellen komplementären Monomeren<sup>[12]</sup>; **B:** Polarisationsmikroskopische Aufnahme des supramolekularen Polymers in flüssig-kristalliner Phase.<sup>[5]</sup> Nachdruck mit Genehmigung nach Referenz [5] (Copyright © 1990, Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim) und [12] (Copyright © 2019, Springer Nature Limited).

Tatsächlich ist der Fortschritt der letzten Jahrzehnte bemerkenswert und Beispiele wie die der verzahnten, makrozyklischen molekularen Maschinen, für welche SAUVAGE, STODDART und FERINGA 2016 mit dem Nobelpreis für Chemie ausgezeichnet worden sind, erwecken den Eindruck, dass der architektonischen Kreativität ambitionierter Forscher keine Grenzen gesetzt sind.<sup>[13,14]</sup> Und dennoch: Trotz der Tatsache, dass bereits viele Erkenntnisse zum Prozess der Selbstassemblierung gewonnen werden konnten, stellt die gezielte Kontrolle von Polymerisationsgrad, Polydispersität oder maßgeschneiderten Eigenschaften weiterhin eine Herausforderung dar, die es anhand expliziter Untersuchungen grundlegenden Assemblierungsverhaltens zu meistern gilt.

Entsprechend fokussiert sich das zentrale Interesse supramolekularer Chemie auf die Erforschung und gezielten Nutzung der involvierten nicht-kovalenten Interaktionen wie hydrophobe

Wechselwirkungen<sup>[1,4]</sup>, Wasserstoffbrückenbindungen<sup>[15]</sup>,  $\pi$ -Stapelung<sup>[16-18]</sup>, Metall-Ligand-Koordination<sup>[19]</sup> und COULOMB-Interaktionen<sup>[20]</sup>. Allein im Kontext eindimensionaler (1D) supramolekularer Polymere sind die im Zuge wissenschaftlicher Bemühungen entstandenen Architekturen vielfältig. Diese können, ausgehend vom zugrundeliegenden Ausgangsmaterial, ein morphologisches Spektrum abbilden, welches von statistischen netzwerkartigen Verbrückungen bis hin zu organisierten Band- und Faserstrukturen reicht (Abbildung 1.2).<sup>[3]</sup>



**Abbildung 1.2:** Repräsentation vier unterschiedlicher Monomere und der korrespondierenden supramolekularen 1D-Polymere; **a & b:** Ureidopyrimidinon-Monomere bauen über vierfache Wasserstoffbrückenbindung wenig strukturierte lineare supramolekulare Polymere (engl.: *random coil*) aus; **c & d:** Peptidamphiphile bestehend aus drei Segmenten (hydrophobe Alkylkette, Peptidsequenz zur Ausbildung  $\beta$ -Faltblatt-artiger Sekundärstrukturen, biologisch aktive Signal-Sequenz) bilden zylindrische Nanofasern; **e & f:** Oligophenylvinyl (OPV)-basierte Monomere schließen sich zu chiralen Helices zusammen; **g & h:** Hexabenzocoronene formt doppelschichtige Nanoröhren.<sup>[3]</sup> Nachdruck frei nach Referenz [3] mit CC-BY-NC Lizenz (Copyright © 2012, *The American Association for the Advancement of Science*).

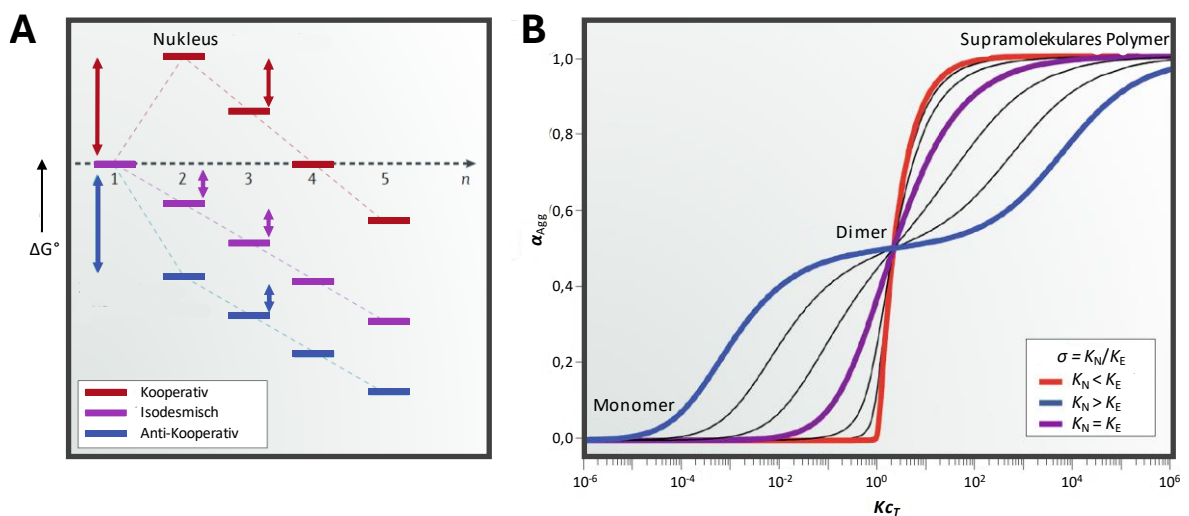
Der bei weitem größte Anteil der Studien, die sich der Aufklärung eindimensionaler supramolekularer Polymerisationsprozesse und -mechanismen widmen, geht auf die Selbstassemblierung konjugierter  $\pi$ -Systeme und Farbstoffe zurück.<sup>[21]</sup> Entgegen aliphatischer hydrophober Assoziationsmotive bieten rigide  $\pi$ -Systeme, allen voran Porphyrine<sup>[22-27]</sup>, Oligophenylvinylene (OPV)<sup>[28-31]</sup>, Perylenbisimide (PBI)<sup>[32-38]</sup> oder 1,3,5-Benzoltricarboxamide (BTA)<sup>[39-43]</sup>, den Vorteil eines intrinsischen Bestrebens zur 1D-Stapelung.<sup>[18]</sup> Die Kombination mit weiteren sekundären Bindungsmotiven bietet die Möglichkeit, Direktionalität und Nahordnung

resultierender anisotroper Strukturen zu steuern. Die Eigenschaft konjugierte  $\pi$ -Systeme, Licht im UV/Vis- und IR-Bereich zu absorbieren lässt zudem die Quantifizierung der zugrunde liegenden Polymerisationsprozesse zu, da die spektralen Eigenschaften empfindlich gegenüber Aggregationsabläufen sind und mitunter die Klassifikation in unterschiedliche Stapelmotive zulassen, worauf im späteren Verlauf dieses Kapitels näher eingegangen wird (siehe Kapitel 1.3).<sup>[17,44]</sup>

Im nachfolgenden Abschnitt sollen generelle Gesichtspunkte supramolekularer Polymerisation beleuchtet werden, um einen Überblick über die grundlegenden mechanistischen Prozesse eindimensionaler Selbstassemblierung zu geben. Hierbei liegt besonderes Augenmerk auf den thermodynamischen und kinetischen Aspekten komplexen Assemblierungsverhaltens, welche in den letzten Jahren vermehrt im Kontext sogenannter *pathway complexity* diskutiert werden.

## 1.2 Komplexes Assemblierungsverhalten: *Pathway Complexity*

Supramolekulare 1D-Polymerisationen lassen sich anhand zwei grundlegender Konzepte klassifizieren. Relativ simpel verhält sich der Fall einer kontinuierlichen Assoziation von Monomeren an das wachsende Kettenende, mit konstant bleibender Affinität der Bausteine zueinander. Das sogenannte isodesmische Modell zeichnet sich durch die gleichbleibende Assoziationskonstante  $K$  eines Prozesses aus (Abbildung 1.3 A, violett), bei welchem die Reaktivität der Monomere nicht von zunehmenden sterischen Faktoren oder *crowding*-Effekten betroffen ist.<sup>[4,45,46]</sup> Während in der Vergangenheit einem großen Teil supramolekularer Systeme isodesmisches Polymerisationsverhalten zugeschrieben worden ist, wird mittlerweile vermehrt die Ansicht vertreten, dass dieses Modell als Ausnahme anzusehen ist und die getroffenen Zuweisungen oftmals auf technische Limitierung und methodische Fehler zurückzuführen sind.<sup>[12]</sup>



**Abbildung 1.3:** Supramolekulare Polymerisationsmechanismen eindimensionaler Selbstassemblierung. **A:** Qualitatives 2D Energiediagramm isodesmischer (violett), kooperativer (rot) und anti-kooperativer (blau) supramolekularer Polymerisation; **B:** Auftragung des relativen Aggregationsgrades  $\alpha_{\text{Agg}}$  gegen die normalisierte Konzentration  $Kc_T$  für unterschiedliche Polymerisationsmechanismen. Nachdruck mit Genehmigung nach Referenz [12] (Copyright © 2019, Springer Nature Limited).

Für Systeme basierend auf mehreren nicht-kovalenten Interaktionen ist kooperatives Verhalten zu erwarten. Im Gegensatz zu Annahmen des isodesmischen Modells verlaufen kooperative Mechanismen zweiphasig und werden entsprechend synonym als Nukleations-Elongations-Mechanismen bezeichnet. Den Anfang markiert die Ausbildung oftmals spektroskopisch nicht detektierbarer Nuklei in Form von Dimeren und Oligomeren. In Abhängigkeit systemspezifischer Parameter wie einer kritischen Nukleus-Größe oder aber einer Elongationskonzentration oder -temperatur erfolgt der Eintritt in die Phase stattfindender Strukturbildung (Abbildung 1.3 A, rot).<sup>[4,47–49]</sup>

Bei klassischen Nukleations-Elongations-Mechanismen bedingen kooperative Effekte eine höhere Elongations- als Nukleationskonstante ( $K_E > K_N$ ), was die charakteristischen Beobachtungen nicht-sigmoidaler Kurvenverläufe kinetischer Messungen kooperativer supramolekularer Polymerisationen erklärt (Abbildung 1.3 B). Dabei nimmt der Verlauf von Nukleations- und Elongationsphase maßgeblich auf Parameter wie Morphologie, Dispersität oder Molekulargewicht

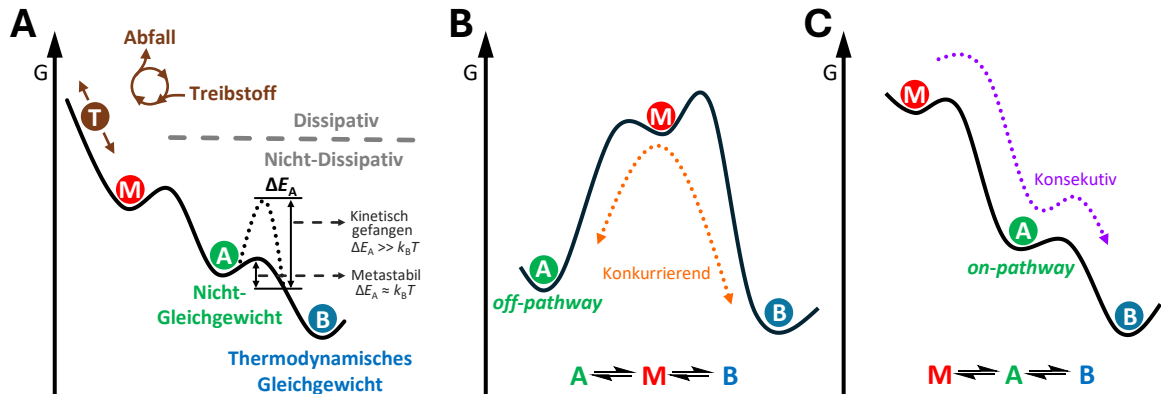
Einfluss.<sup>[46]</sup> Einen Sonderfall stellt Anti-kooperatives Verhalten dar, das durch eine favorisierte Nukleation gegenüber der Elongation ( $K_N > K_E$ ) definiert wird. Solches Verhalten kann für Systeme angenommen werden, bei denen zunächst attraktive Wechselwirkungen durch Dimerisierung kompensiert<sup>[50]</sup> oder die Elongation durch den wachsenden sterischen Anspruch der Aggregate gehemmt wird.<sup>[51,52]</sup> Es sei darauf hingewiesen, dass die beschriebenen Modelle Grenzfälle darstellen und die tatsächlichen Vorgänge in der Regel komplexer sind. Für die Entschlüsselung spezifischer Polymerisationsprozesse werden mathematische Modelle immer relevanter, die sich der Vorgänge im Spektrum zwischen den Grenzfällen widmen. Für tiefere Einblicke in die Grundlagen dieser Modelle wird auf entsprechende Fachliteratur und Reviews verwiesen.<sup>[51,53][45-47,49,51]</sup>

In Sachen komplexen Assemblierungsverhaltens beschäftigt sich die rezente Literatur vermehrt mit dem Auftreten multipler Polymerisationsmechanismen und Polymorphismen ausgehen von einzelnen Monomer-Spezies. Diese immer häufiger für kooperative Systeme identifizierten Phänomene gehen auf Vorgänge zurück, die sich der klassischen Auffassung rein thermodynamischer Gleichgewichtsprozesse entziehen.<sup>[12,54,55]</sup> 2005 berichteten RYU *et. al.* von der hierarchischen Co-Assemblierung  $\pi$ -konjugierter Bolaamphiphile, die in Wasser gelöst zunächst sphärische Mizellen ausbilden.<sup>[56]</sup> Überraschenderweise unterlagen diese Mizellen einer vollständigen Transformation in zylindrische Nanostrukturen auf einer Zeitskala von mehreren Wochen, wie mittels dynamischer Lichtstreuung (engl.: *dynamic light scattering*, DLS) und Transmissionselektronenmikroskopie (engl.: *transmission electron microscopy*, TEM) gezeigt werden konnte. Dieses frühe Beispiel fasst die Idee mehrerer möglicher Aggregationsausgänge in Abhängigkeit der experimentellen Bedingungen treffend zusammen, in welchem die allmähliche Ausbildung der zylindrischen Nanostrukturen als Übergang eines kinetischen hin zum thermodynamisch günstigen Zustand interpretiert werden kann und die Relevanz des Parameters Zeit deutlich wird.

Neben dem thermodynamischen Gleichgewicht, in welchem Supramoleküle wohlgernekt in dynamischem Austausch mit freien Monomeren stehen, lassen sich für supramolekulare Spezies in Abhängigkeit des energetischen Polymerisationsprofils zwei weitere Zustände definieren.<sup>[54,55]</sup> Die Erläuterung erfolgt am besten anhand der dabei durchlaufenen Energielandschaften (Abbildung 1.4), in welchen jedes Minimum einen innerhalb experimenteller Zeitskalen observierbaren Zustand darstellt und jeder Übergang durch eine Energiebarriere gemäß der Aktivierungsenergie  $E_A$  charakterisiert wird.<sup>[54]</sup>

Dissipative Systeme zeichnen sich nicht durch signifikante Energiebarrieren aus, sondern finden fernab des thermodynamischen Gleichgewichts statt. Zur Aufrechterhaltung gebildeter Strukturen ist die kontinuierliche Zufuhr von Energie, sei es in Form chemischer Reaktanden oder auch Licht, und das Ableiten von Nebenprodukten nötig (Abbildung 1.4 A, T). Solche dissipativen nicht-Gleichgewicht-Zustände bestehen vorübergehend und relaxieren nach Verbrauch des chemischen Treibstoffs in ihre Einzelkomponenten.<sup>[57-61]</sup> Die Komplexität lebender Organismen basiert insofern auf dissipativen Prinzipien, als dass deren Existenz nur durch stetige Energiezufuhr erhalten werden kann.<sup>[62]</sup> Doch auch nicht-biologische Systeme zeigen eine beeindruckende Vielfalt zu denen unter anderem dissipative Hydrogele<sup>[63,64]</sup> oder die Kontrolle von Assemblierungspfaden durch chemische Energiezufuhr zählen.<sup>[65]</sup> Für weitere Einblicke in die Grundlagen und Hintergründe dissipativer Systeme wird auf die Reviews von BOEKHOVEN<sup>[60]</sup>, KLAJN<sup>[66]</sup> und HERMANS<sup>[61]</sup> verwiesen. Alle Spezies,

die auf dem Weg zum globalen Energieminimum (Abbildung 1.4 A, B) durchlaufen werden können, werden als nicht-dissipative nicht-Gleichgewichts-Zustände bezeichnet (Abbildung 1.4 A, A).<sup>[55]</sup>



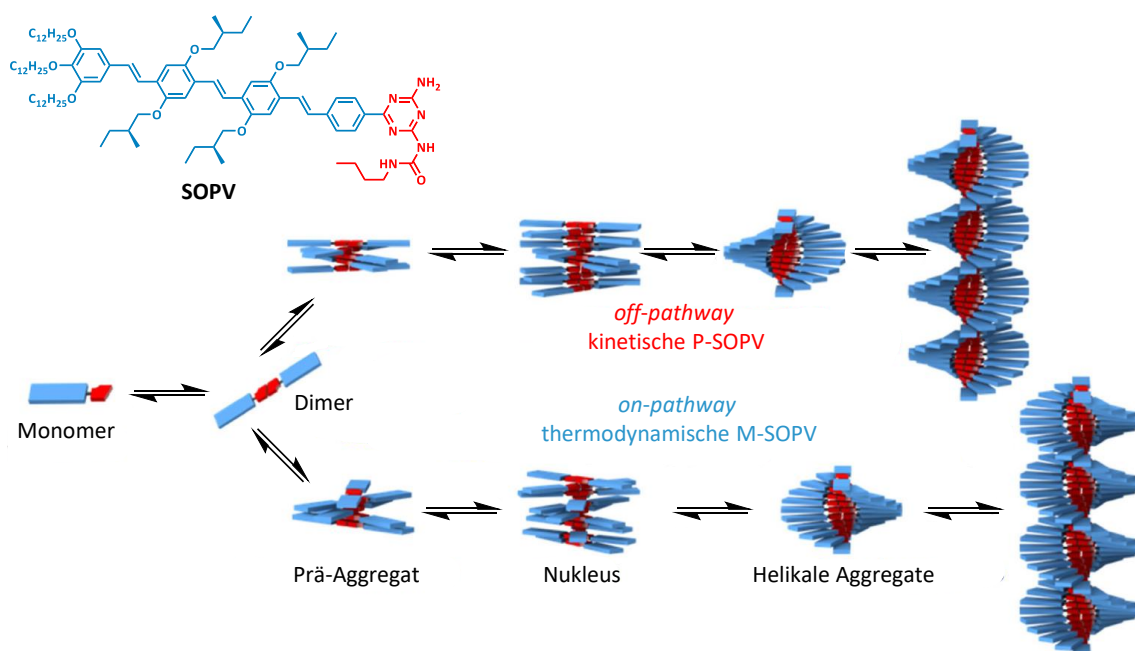
**Abbildung 1.4:** 2D Energiediagramme zur Zuordnung unterschiedlicher Aggregationspfade und -spezies. **A:** Dissipative und nicht-dissipative sowie Gleichgewichts- und nicht-Gleichgewichts-Zustände; **B:** Konkurrierende Aggregationspfade; **C:** Konsekutive Aggregationspfade.<sup>[54]</sup> Nachdruck frei nach Referenz [54] mit CC-BY-NC Lizenz (Copyright © 2019 The Authors. Published by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim).

Diese Zustände können weiter anhand der benötigten Aktivierungsenergie für den Übergang in das nächste Minimum unterschieden werden. Liegt die Aktivierungsenergie etwa im Bereich von  $k_B T$  ( $k_B$  = Boltzmann-Konstante,  $T$  = Temperatur) ( $E_A \approx k_B T$ ), wird von metastabilen Zuständen gesprochen, die spontan innerhalb experimenteller Zeiträume relaxieren können. Liegt die Aktivierungsenergie hingegen weitaus höher als  $k_B T$  ( $E_A \gg k_B T$ ), ist eine eigenständige Transformation nicht ohne weiteres möglich. Solche kinetisch gefangenen Zustände erfordern für eine Zustandsrelaxation den Einfluss externen Stimuli wie Ultraschall<sup>[22,67]</sup> oder Bestrahlung.<sup>[68]</sup> Beide Formen kinetischer Zustände werden oftmals synonym verwendet, da sich eine strikte Zuweisung methodisch schwierig gestaltet. Dies liegt mitunter auch daran, dass die Ausprägung der Energielandschaft je nach experimentellen Parametern wie Temperatur, Konzentration oder der Zusammensetzung des Lösungsmittels bis auf die letztliche Lage und Struktur des globalen Minimums variieren kann.<sup>[28,29,59,69–71]</sup>

Mechanistisch hat sich die Einordnung von Spezies gemäß ihres Assemblierungspfad nach *on-* und *off-pathway* Aggregate als Erweiterung der ursprünglichen Definition kinetischer und thermodynamischer Produkte etabliert und erlaubt die Unterscheidung komplexer Assemblierungsverläufe. Ein konsekutiver Prozess beschreibt den simpelsten Fall einer Transformation und umfasst die Ausweitung oder Neuordnung bestehender kinetischer *on-pathway* Aggregate (Abbildung 1.4 C). Damit assoziiert ist häufig das Prinzip hierarchischer Selbstassemblierung, womit die schrittweise Entwicklung makroskopischer Architekturen, wie etwa für Proteinfaltung von Primär- zu Sekundär- und Tertiärstrukturen, gemeint ist. Ist eine Spezies hingegen nur über den Weg freier Monomere, das heißt durch Depolymerisation, in die thermodynamische Endstruktur zu überführen, handelt es sich um das kinetische *off-pathway* Produkt eines konkurrierenden Assemblierungspfad (Abbildung 1.4 B, A). Hieran zeigt sich die Unzulänglichkeit der ursprünglichen Definition, da sowohl *on-* als auch *off-pathway* Aggregate als

kinetische Produkte betrachtet werden können. Das Auftreten von *off-pathway* Aggregaten setzt jedoch zwangsläufig einen konkurrierenden Assemblierungspfad voraus.<sup>[54]</sup>

Die erste systematisch angelegte Studie zur Wechselbeziehung kinetischer und thermodynamischer Selbstassemblierung ist von der Gruppe um MEIJER aufbauend auf Arbeiten zur hierarchischen Selbstassemblierung (S)-chiraler Oligophenylvinylen (SOPV)-Derivate durchgeführt worden, welche nach Dimerisierung über vierfache Wasserstoffbrückebindung 1D-Aggregate in Methylcyclohexan (MCH) ausbilden (Abbildung 1.5).<sup>[28,29,31]</sup>

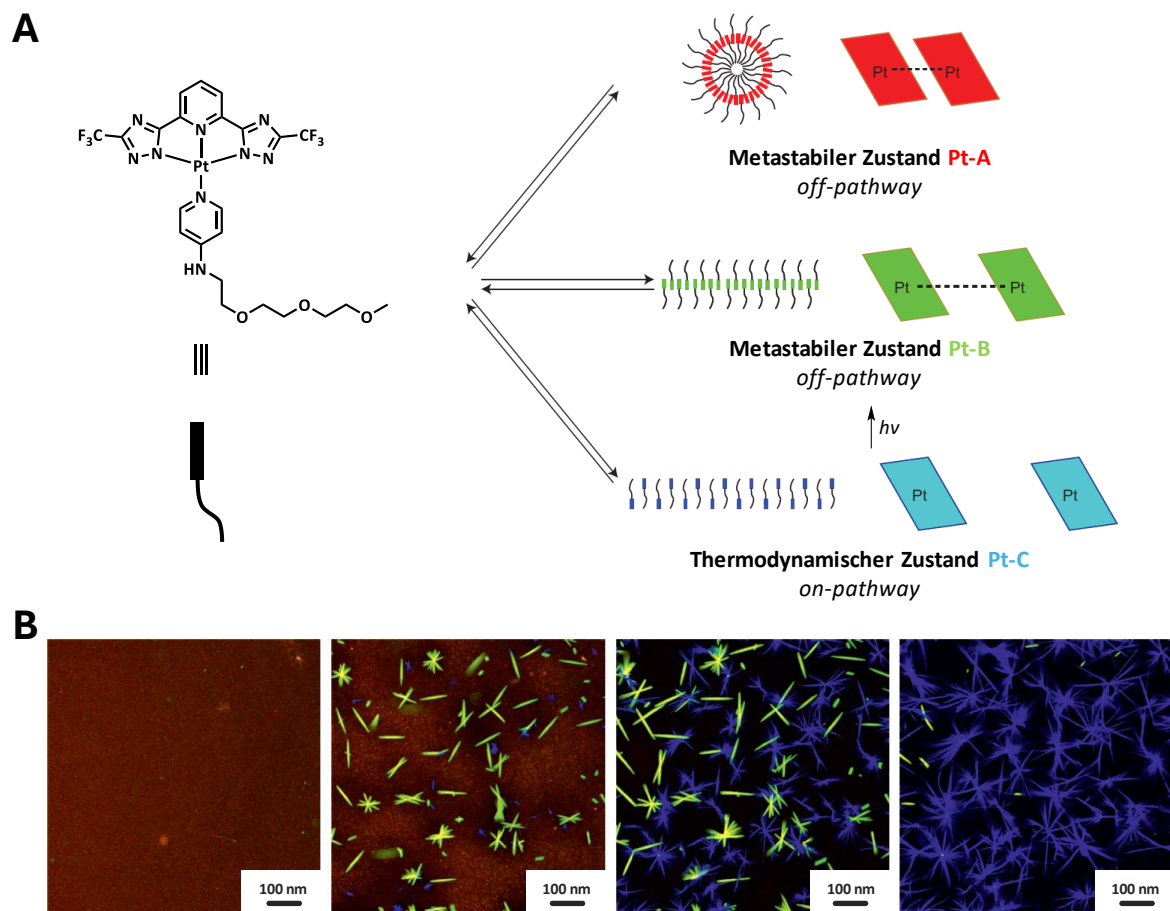


**Abbildung 1.5:** **A:** Chemische Struktur des (S)-chiralen Oligophenylvinylens (SOPV)-Derivats; **B:** CD-Spektren der *stoppen-flow* Kinetik-Experimente bei unterschiedlichen Konzentrationen; **C:** Schematische Darstellung der Selbstassemblierung von SOPV nach konkurrierenden Assemblierungspfaden.<sup>[29]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [29] (Copyright © 2012, Springer Nature Limited).

Nach Zugabe des in Chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) molekular gelöst vorliegenden **SOPV** in einen Überschuss von MCH, konnten nach kurzer Zeit linkshändige M-Typ Helices beobachtet werden. Bei Variation der Konzentration zeigte sich mit steigender Molarität der Probenlösung die zunehmende Aggregation in rechtshändige P-Typ Helices nach Injektion in MCH, welche mit zeitlicher Verzögerung zu M-Typ Helices transformierten. Untersuchungen der zugrundeliegenden Assemblierungskinetik mittel *stoppen-flow* Circular Dichroismus (CD)-Spektroskopie ergaben, dass mit steigender Konzentration der  $t_{50}$ -Wert, also die benötigte Zeit zum Konsumieren von 50% der freien Monomere, zunimmt. Die Schlussfolgerung dieser Messreihe war somit, dass es sich bei den temporär zu beobachtenden P-Typ Helices um kinetisch gebildete *off-pathway* Aggregate im Gegensatz zum thermodynamischen M-Typ Produkt handeln musste. Die Tatsache, dass die Monomer-Konzentration einen maßgeblichen Einfluss auf den Polymerisationsverlauf zu nehmen schien, ließ einen Zusammenhang mit der Transformation von P-Helices in M-Helices über die Depolymerisation in freie Monomere annehmen. Entsprechende Simulationsdaten legten dabei die erhöhte Stabilität von P-Typ Nuklei gegenüber M-Helix Aggregaten nahe, was zusammen zur

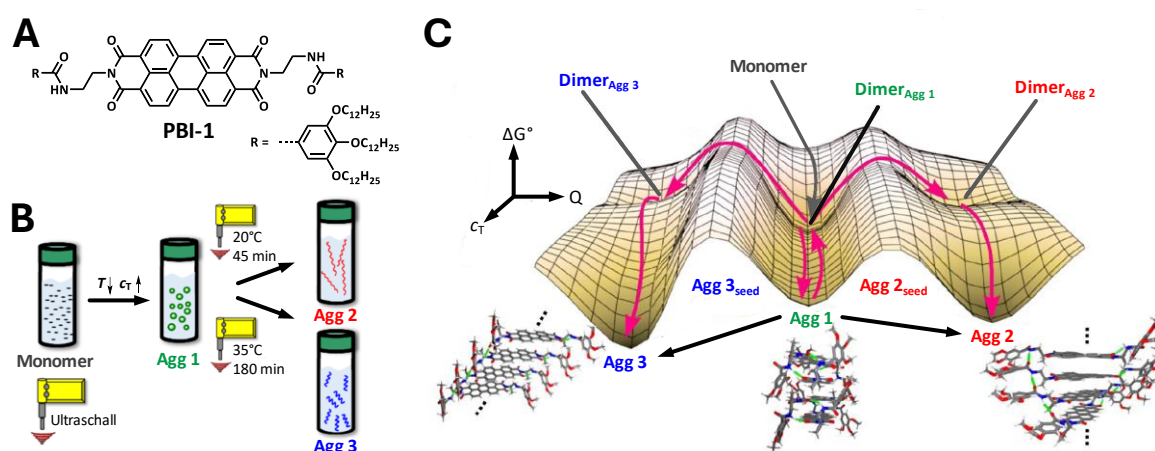
Entschlüsselung des vorliegenden kompetitiven Mechanismus und darauf aufbauend zur Etablierung des Ausdrucks *pathway complexity* im Kontext synthetischer selbstassemblierender Systeme beitrug.

Die Gruppe um DE COLA zeigte die kinetisch kontrollierte Ausbildung von Polymorphismen quadratisch-planarer lumineszierender Platin(II)-Komplexe. Infolge der Injektion von in 1,4-Dioxan molekular gelöst vorliegender Monomere in Wasser ließ sich über DLS und Rasterelektronenmikroskopie (engl. *scanning electron microscopy*, SEM) initial die Selbstassemblierung in rot-emittierende Nanopartikel **Pt-A** beobachten, welche binnen drei Wochen in blau-emittierende, thermodynamische anisotrope Fasern **Pt-C** relaxierten, wobei die Transformationskinetik durch Variation des Wasser-Dioxan-Verhältnisses beeinflusst und ein weiterer grün-emittender, metastabiler Zustand **Pt-B** beobachtet werden konnte.<sup>[72]</sup> Zudem erfolgte durch die Bestrahlung eine nahezu quantitative Umwandlung der thermodynamischen Spezies in den metastabilen Zustand **Pt-B**, was aufgrund der unterschiedlichen Fluoreszenzeigenschaften in Echtzeit mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie verfolgt werden konnte (Abbildung 1.6). ROBINSON *et. al.* zeigten darauffolgend, dass die Zustandsübergänge strukturell verwandter Pt(II)-Komplexe zudem durch Zugabe von Volumenfraktionen der thermodynamischen Spezies zur metastabilen Spezies induziert werden können.<sup>[73,74]</sup>



**Abbildung 1.6:** **A:** Chemische Struktur des Pt(II)-Komplex und schematische Darstellung der Selbstassemblierung in Polymorphe über unterschiedliche Assemblierungspfade; **B:** Konfokal Fluoreszenzmikroskopie-Aufnahmen im zeitlichen Verlauf der Assemblierung von **Pt-A** über **Pt-B** hin zu **Pt-C** (v.l.n.r.).<sup>[72]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [72] (Copyright © 2015, Springer Nature Limited).

Neben vielen weiteren Beispielen selbstassemblierender Systeme unter Einflussnahme kinetischer Effekte<sup>[75-77]</sup> präsentierte die Gruppe um WÜRTHNER eins der bis *dato* komplexesten supramolekularen Systeme (Abbildung 1.7).<sup>[67]</sup> Ausgehend von dem symmetrisch substituierten Perylenbisimid **PBI-1** konnte die Ausbildung von insgesamt drei unterschiedlichen polymorphen 1D-Aggregaten unter denselben experimentellen Bedingungen beobachtet werden. Dabei zeigte sich, dass freie Monomere zu Beginn metastabile Dimere (**Dimer<sub>Agg1</sub>**) formen, die sich anti-kooperativ zu Oligomeren organisieren (**Agg 1**). Erst durch die Einwirkung mechanischer Kräfte in Form von Ultraschall konnte der Übergang zu unterschiedlichen Nanofasern in Abhängigkeit von Stärke und Expositionsdauer des Ultraschalls initiiert werden, was mit der Umstrukturierung des Wasserstoffbrückenmusters der Dimere begründet wurde (**Dimer<sub>Agg2</sub>** → **Agg 2**; **Dimer<sub>Agg3</sub>** → **Agg 3**).

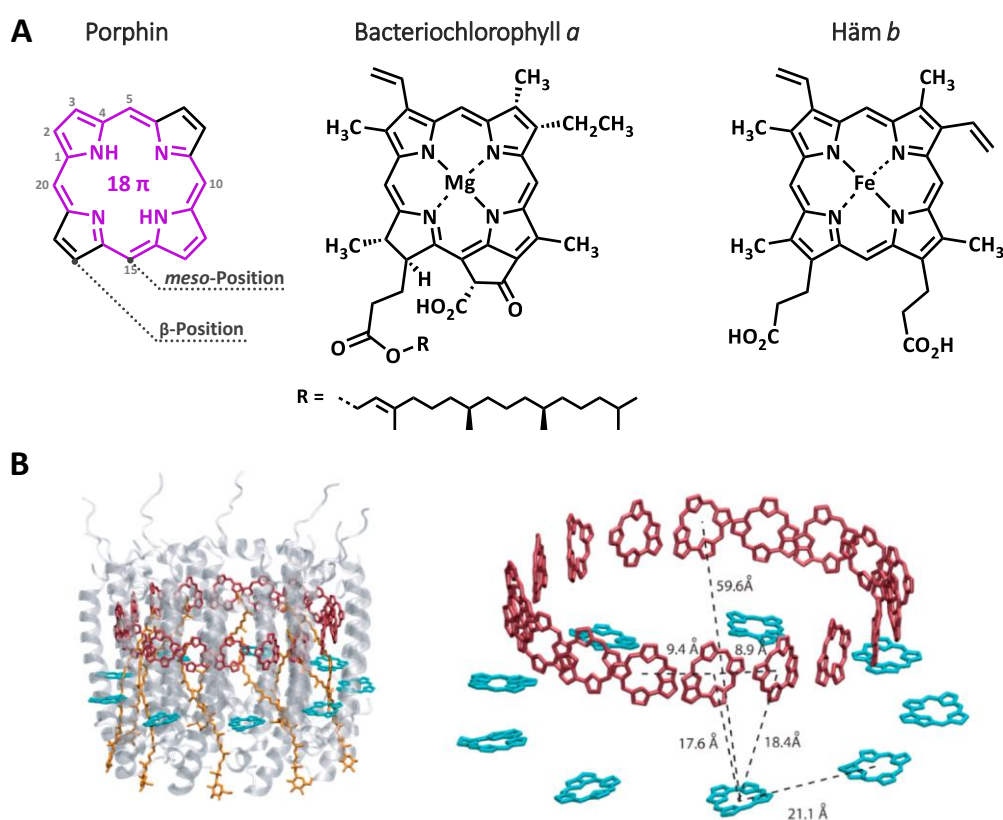


**Abbildung 1.7:** A: Chemische Struktur von **PBI-1**; B: Supramolekulare Polymerisation in drei verschiedene 1D-Polymorphe (**Agg 1**, **Agg 2**, **Agg 3**); C: Qualitative 3D Energielandschaft der supramolekularen Polymerisation von **PBI-1** in die drei Polymorphe **Agg 1**, **Agg 2** und **Agg 3**.<sup>[67]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [67] (Copyright © 2019, American Chemical Society).

Darüber hinaus konnte durch Zugabe von Keimen in Form thermodynamisch gebildeter supramolekularer Polymere (**Agg 2<sub>seed</sub>**; **Agg 3<sub>seed</sub>**) zum metastabilen Zustand die Elongation ohne das Einwirken mechanischer Kräfte induziert werden, was einen zusätzlichen Weg zur Regulation der Selbstorganisation in Form externer Stimuli darstellt. Dieses Beispiel eignet sich besonders gut, um die zuvor diskutierten Konzepte kinetischer und thermodynamischer Aspekte komplexen Assemblierungsverhaltens anzuwenden. Es gibt einen Einblick in die Tiefe des Forschungsfeldes und verdeutlicht die Vielfältigkeit möglicher Ansätze zur kontrollierten supramolekularen Polymerisation.

## 1.3 Selbstassemblierung Porphyrin-basierter Systeme

Die Lichtsammelkomplexe Photosynthese-betreibender Bakterien und grüner Pflanzen zählen zu den faszinierendsten supramolekularen Architekturen, die die Natur hervorbringen konnte. Dabei bilden in Protein-Matrizes eingebettete Chromophore, sogenannte Chlorophylle, nicht-kovalente Netzwerke aus, die durch die effiziente Konversion von Lichtenergie in chemische Energie das Leben wie wir es kennen ermöglichen.<sup>[78-80]</sup> Das gewaltige Potential das supramolekulare Porphyrin-basierte Systeme im Hinblick auf die Entwicklung synthetischer Photo-aktiver Materialien und Technologien bergen, veranlasste die intensiven Forschungsbemühungen zur Aufklärung der Funktionsweise und Organisation der Porphyrin-Derivate innerhalb der Lichtsammelkomplexe.<sup>[81,82]</sup>



**Abbildung 1.8:** A: Chemische Struktur des **Porphin**-Grundkörpers mit Nomenklatur nach IUPAC<sup>[83]</sup> und der Naturstoffe **Bacteriochlorophyll *a*** und **Häm *b*** (v.l.n.r.)<sup>[79,84]</sup>; B: Strukturelles Modell des Lichtsammel-Komplex 2 (LH2) von *Rhodospseudomonas acidophila* (links) und räumliche Anordnung mitsamt Abstandsbestimmung der Bacteriochlorophyll *a*-Derivate **B800** (blau) und **B850** (rot) innerhalb der Protein-Matrix (rechts).<sup>[78,80]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [78] (Copyright © 2017, American Chemical Society).

Mit dem Ziel der Nachahmung dieser auch als Antennenkomplexe bekannten Suprastrukturen beruhten erste Ansätze auf dem Design dendritischer Porphyrin-Konjugate.<sup>[85]</sup> AIDA *et. al.* präsentierten zunächst Porphyrin-Derivate, deren sperrige Polybenzylether-Hüllen Analoga der in der Natur vorkommenden Protein-Matrizes darstellen und ein stabiles Arrangement der Chromophore ermöglichen. Daran anknüpfend entwickelte dieselbe Gruppe wenige Jahre später ein kovalent sternförmig aufgebautes Multi-Porphyrin-Netzwerk, das als synthetische trichterförmige Lichtsammelfalle fungiert, in welcher der Energietransfer von peripheren Zink(II)-Porphyrin-

Einheiten hin zur zentralen freien Porphyrin-Base stattfindet.<sup>[86,87]</sup> Bei dieser Reihe unterschiedlicher kovalent-verknüpfter Porphyrin-Komplexe stand der Aspekt der dynamischen Selbstorganisation der Chromophore außen vor. Dabei stellt gerade der supramolekulare Ansatz eine attraktive Strategie zur Entwicklung funktioneller und responsiver Nanomaterialien dar, die Anwendungen in Energietechnik<sup>[88]</sup>, Optoelektronik<sup>[89]</sup> und Sensorik<sup>[90]</sup> in Aussicht stellt. Zeitgleich bedarf es jedoch weiterhin der detaillierten Aufklärung des komplexen Selbstassemblierungsverhaltens Porphyrin-basierter Systeme, welches oftmals mit multiplen Aggregationspfaden einhergeht.<sup>[24,25,91-93]</sup> Entsprechend beschäftigt sich dieses Teilkapitel zunächst mit den elementaren chemischen Eigenschaften von Porphyrin-Makrozyklen und widmet sich anschließend ihrem grundlegenden Assemblierungsverhalten. Darauf aufbauend wird anhand ausgewählter Beispiele die Relevanz Porphyrin-basierter Systeme im Kontext der zuvor diskutierten thermodynamischen und kinetischen Aspekte supramolekularer Polymerisation diskutiert.

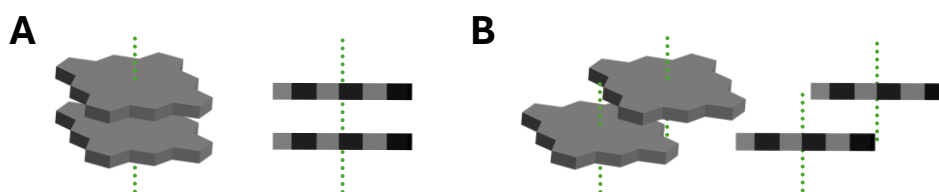
Porphyrine übernehmen nicht nur als Schlselelemente der Photosynthese eine wichtige Rolle. Als Eisen(II)-Derivate (Häme) bilden sie die prosthetischen Gruppen der aktiven Zentren der Cytochrome in Mitochondrien und ermöglichen als Teile der Hämoglobin-Tetramere die Bindung und den Transport von Sauerstoff über rote Blutkörperchen.<sup>[94]</sup> Dabei handelt es sich bei Porphyrinen allgemein um heterozyklische Moleküle bestehend aus vier Methin-verbrückten Pyrrol-Untereinheiten, die mit 18 delokalisierten  $\pi$ -Elektronen der HCKEL-Regel ( $[4n + 2]$ ,  $n = 4$ ) für aromatische Verbindungen folgen (Abbildung 1.7 A).<sup>[95]</sup> Infolgedessen weisen die planaren Ring-Systeme eine ausgeprägte thermische Stabilität auf, was durch Funde diverser Porphyrin-Komplexe als Bestandteil von Sedimenten und Rohlfraktionen verdeutlicht wird.<sup>[96]</sup> Das  $\pi$ -System des Porphin-Grundgerüsts weist einen geringen energetischen Abstand zwischen HOMO (engl.: *highest occupied molecular orbital*) und LUMO (engl.: *lowest unoccupied molecular orbital*) auf, worauf die intensive Farbigeit der Chromophore zurückgeht. Aus diesem Grund absorbiert das unsubstituierte Porphin-Grundgerüst Licht im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Wellenspektrums, was die intensive Purpurfarbe hervorruft und die Namensherkunft in Anlehnung an das griechische Wort für die Farbe violett (altgr.: *porphyra*) erklärt.<sup>[97]</sup> Entsprechende Absorptionsspektren lassen die Unterteilung in zwei Regionen zu, die einerseits das Absorptionsmaximum in Form des Soret-Signals zwischen 380 und 440 nm und daneben die weniger ausgeprägten Signale der Q-Banden zwischen 500 und 800 nm abbilden.<sup>[98]</sup> Dem genauen Sachverhalt des stattfindenden  $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergangs widmete sich GOUTERMAN, der anhand des quantenmechanischen Vier-Orbital-Modells maßgeblich zum Verständnis der optischen Eigenschaften von Porphyrinen und der resultierenden Absorptionsspektren beitragen konnte.<sup>[98-101]</sup>

Die Anfänge synthetisch präparierter Porphyrine reicht beinahe ein Jahrhundert zurück. Nachdem zuvor bereits von zahlreichen Methoden zur Isolation natürlicher Tetrapyrrol-Derivate aus grünen Pflanzen und Tierblut berichtet wurde<sup>[102-104]</sup>, präsentierte ROTHEMUND ab 1936 die Synthese verschiedener Tetraarylporphyrine.<sup>[105,106]</sup> Die Methode umfasste die Kondensationsreaktion aliphatischer, aromatischer und heterozyklischer Aldehyde mit Pyrrol in Mischungen aus Pyridin und Methanol unter Ausschluss von Sauerstoff bei hohen Temperaturen. In ihren Grundzügen hat das historische Protokoll ROTHEMUNDS bis heute Bestand, wurde aber stetig angepasst, wie etwa durch ADLER und LONGO, welche die einstufige Säure-katalysierte Umsetzung zeigten.<sup>[107,108]</sup> Die Gruppe um LINDSAY stellte hingegen ein Verfahren vor, das zwei Stufen umfasst, jedoch den Vorteil milder Reaktionsbedingungen bei der LEWIS-Säure-katalysierten Umsetzung von Pyrrol und

Aldehyd in niedrigsiedendem Dichlormethan oder Chloroform mit anschließender Oxidation durch 2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon (DDQ) bietet.<sup>[109–111]</sup> Den vorgestellten Methoden gemeinsam ist die einfache Zugänglichkeit symmetrischer Porphyrine, bei welchen funktionelle Gruppen in *meso*-Position durch die passende Wahl des jeweiligen Aldehyd-Derivats eingeführt werden.

Gerade im Kontext supramolekularer Polymere zählen *meso*-substituierte Diphenyl (DPP)- und Tetraphenylporphyrine (TPP) mitunter zu den relevantesten Bausteinen, da die symmetrische Grundstruktur des Makrozyklus den synthetischen Aufwand mitsamt Aufarbeitung eingrenzt.<sup>[112]</sup> Funktionelle Gruppen wie Amine, Carbonsäuren oder auch Alkine ermöglichen die periphere Konjugationen mit solubilisierenden Seitenketten. Wasserstoffbrückenmotive wie Amide zeigen sich als besonders nützlich für dem Aufbau eindimensionaler Aggregate hinsichtlich Direktionalität und Stabilität<sup>[113]</sup> und verstärken meist das intrinsische Aggregationsbestreben von Porphyrinen.<sup>[18]</sup> Darüber hinaus ist der kooperative Aufbau von Nanostrukturen durch die koordinative Bindung des metallischen Zentrums mit LEWIS-Basen möglich.<sup>[114]</sup> Zink(II)-Porphyrine zeigen beispielweise eine hohe Bindungsaffinität zu Stickstoff-haltigen aromatischen Heterozyklen wie Pyridyl- oder Imidazol-Gruppen.<sup>[115–117]</sup> KOBUKE *et. al.* konnten anhand *meso*-substituierter Imidazolyl-Zink(II)-Porphyrine beeindruckende Aggregate auf Grundlage koordinativer Wechselwirkungen herstellen, deren Architekturen von Dimeren bis hin zu zyklisch angeordneten supramolekularen Polymeren reichten.<sup>[118,119]</sup>

Infolge der Aggregation von Porphyrinen findet eine starke Exziton-Kopplung statt, die eine Verschiebung des Soret-Signals im UV/Vis-Absorptionsspektrum hervorruft.<sup>[120,121]</sup> Die Verschiebung resultiert aus der Richtung des Übergangs-Dipol-Moments relativ zur  $\pi$ -Ebene. Dabei kann anhand des Orientierungswinkels zwischen cofacial-gestapelten (engl.: *face-to-face*) H-Aggregaten mit hypsochromer (Blau-)Verschiebung und versetzt gestapelten (engl.: *slipped stacked*) bathochrom (Rot-)verschobenen J-Aggregaten unterschieden werden (Abbildung 1.9).<sup>[122,123]</sup>

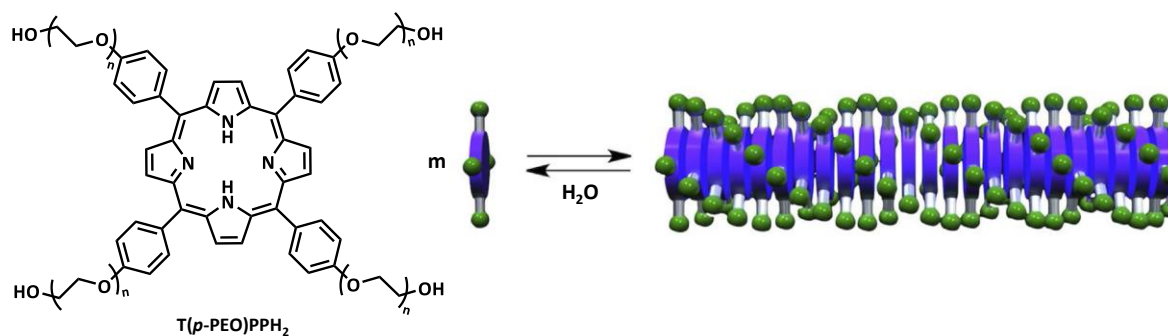


**Abbildung 1.9:** Anordnung von Porphyrinen innerhalb supramolekularer Aggregate. **A:** Cofaciale Stapelung zu H-Aggregaten; **B:** Versetzte Stapelung zu J-Aggregaten.<sup>[122,123]</sup>

Ordnen sich die Chromophore unmittelbar parallel zueinander an, lassen sich stattfindende elektronische Übergänge der konjugierten  $\pi$ -Systeme CD-spektroskopisch in Form bisignater Signale im Wellenlängenbereich der Soret-Bande beobachten. Der sogenannte COTTON-Effekt ist empfindlich gegenüber chiraler Orientierungen in der Anordnung der  $\pi$ -Ebenen, was zu Verzerrungen der Signale führen kann und die Untersuchung intrinsischer Helizität zulässt.<sup>[124,125]</sup>

Eins der ersten Beispiele nicht-kovalenter eindimensionaler Porphyrin-Polymere stammt von AIDA *et. al.*<sup>[126]</sup> Ausgehend von *meso*-Tetra(4-hydroxyphenyl)porphyrin (T(*p*-OH)PPH<sub>2</sub>) erfolgte die

Darstellung amphiphiler Porphyrin-Monomere durch unmittelbare Polymerisation von Ethylenglycol unter Verwendung des Chromophors als Initiator. Das so synthetisierte **T(p-PEO)PPH<sub>2</sub>** zeigte in Wasser die spontane Ausbildung cofacialer Aggregate in einem breiten Konzentrationsbereich, was durch die Blauverschiebung des Soret-Signals verfolgt werden konnte. Die Filamente bildeten infolge langsamer Evaporation des Lösungsmittels lange Faserbündel, was von erstaunlicher Strukturkontrolle zeugt, gemessen daran, dass die Aggregation lediglich auf Grundlage von  $\pi$ -Stapelung und VAN-DER-WAALS-Kräften stattfand.

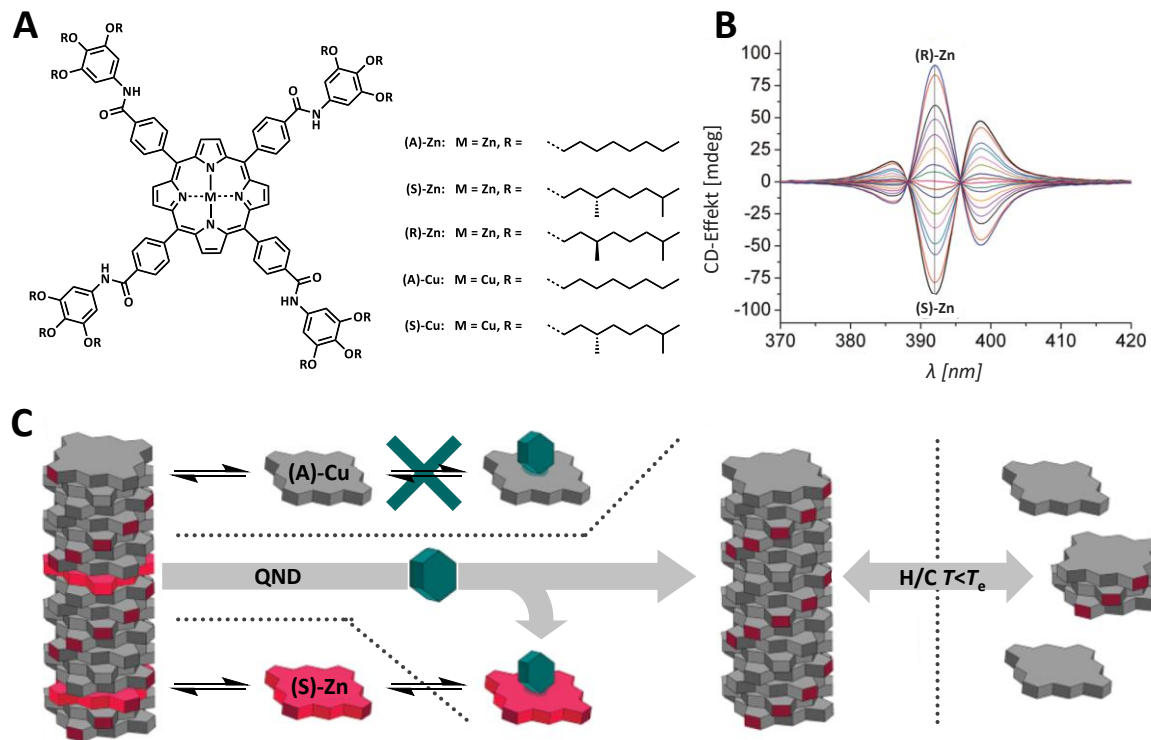


**Abbildung 1.10:** Chemische Struktur und schematische Darstellung der eindimensionalen Selbstassemblierung des symmetrisch *meso*-substituierten Porphyrin-Amphiphiles **T(p-OH)PPH<sub>2</sub>** in Wasser.<sup>[75]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [75] (Copyright © 2020 *Published by Elsevier B.V.*).

Die Gruppe um MEIJER hat das Assemblierungsverhalten diskotischer *meso*-konjugierter Porphyrin-Monomere in apolarem Lösungsmittel hinsichtlich kinetischer Einflussfaktoren und der Kontrolle komplexer Assemblierungspfade systematisch untersucht.<sup>[92,113,127–130]</sup> Die Monomerstruktur umfasst die vierfache Amid-Verknüpfung aliphatisch substituierter Alkoxy-Anilin-Derivate an Zn(II)-Tetra(4-carboxyphenyl)porphyrin (Abbildung 1.11 A). Über kooperative Assemblierungsprozesse bilden die Monomere durch die Kombination von  $\pi$ -Stapelung und gerichteter Wasserstoffbrückenbindungen der Amid-Gruppen in Methylcyclohexan eindimensionale H-Aggregate aus, deren Charakterisierung über Rasterkraftmikroskopie (engl.: *atomic force microscopy*, AFM) und Kleinwinkel-Röntgenstreuung (engl.: *small angle X-ray scattering*, SAXS) erfolgte. Änderung der Lösungsmittelqualität, der Temperatur und Konzentration ließen die Steuerung der Assemblierungspfade zu, wie für die Ausbildung von J-Aggregaten nach isodesmischem Mechanismus in Mischungen von MCH und CHCl<sub>3</sub> bei erhöhten Temperaturen von MABESOONE *et. al.* gezeigt werden konnte. Ausgehend davon wurden von der Arbeitsgruppe auf verschiedene Arten Versuche unternommen, gezielt den vorliegenden Mechanismus mitsamt resultierender Morphologie zu steuern.

Im Vergleich chiraler ((**S**)-Zn, (**R**)-Zn) und achiraler ((**A**)-Zn) aliphatischer Endgruppen zeigten HELMICH *et. al.* die Ausbildung helikaler Strukturen für chiral-substituierte Monomere anhand ausgeprägter Exziton-Signale, wobei sich der Drehsinn der Helices aus der Stereoinformation der Seitenketten ergab.<sup>[93,131,132]</sup> Die Helizität der Suprastrukturen ließ sich nach dem „*sergeant-and-soldiers*“ Prinzip induzieren.<sup>[133,134]</sup> Während die Co-Assemblierung des Enantiomerenpaares (**S**)- und (**R**)-Zn aufgrund der strukturellen Fehlpaarung energetisch ungünstig ist und demnach „*narzisstische Selbstsortierung*“ (engl.: *narcissistic self-sorting*) beobachten ließ (Abbildung 1.11 B)<sup>[128]</sup>, diktierte die Zugabe von etwa 10% (**S**)- oder (**R**)-Zn (*sergeant*) zu achiralem (**A**)-Zn oder (**A**)-Cu

(soldier) die Chiralität der Nanostrukturen und führte zu links- beziehungsweise rechthändigen Helices je nach Enantiomer durch chirale Amplifikation, unabhängig vom Metallzentrum. [93,128]



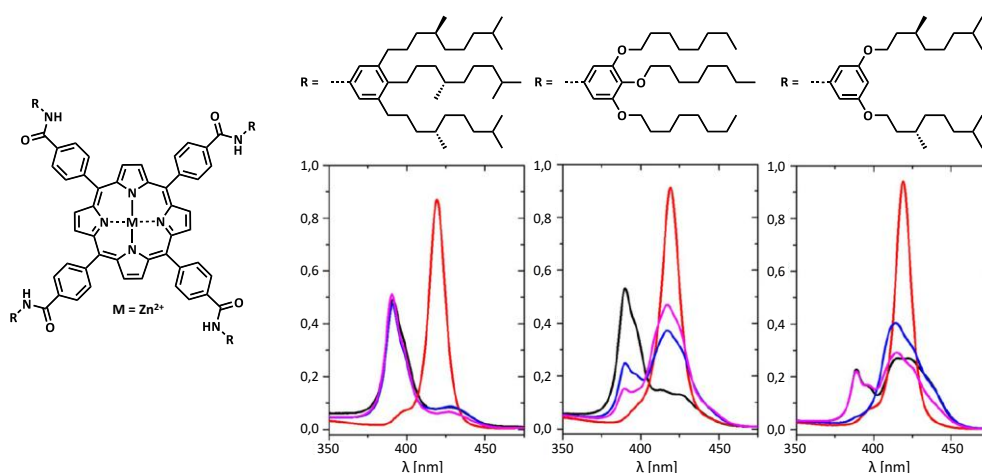
**Abbildung 1.11:** **A:** Chemische Struktur chiraler und achiraler *meso*-Amid-funktionalisierter Zn(II)- und Cu(II)-Porphyrin-Derivate; **B:** CD-Spektrum des Cotton-Effekts helikaler H-Aggregate von (S)-Zn und (R)-Zn; **C:** Schematische Darstellung der selektiven Depolymerisation unter Aufrechterhaltung der Chiralität und des „chiralen Gedächtnisses“. [135] Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [135] (Copyright © 2010, American Chemical Society).

Die von (A)-Zn, (S)-Zn und (R)-Zn gebildeten Nanostrukturen zeigten sich dabei gegenüber axialen Liganden instabil. Mittels UV/Vis-Spektroskopie konnte die mit steigender Pyridin-Konzentration schrittweise eintretende Depolymerisation zu Porphyrin-Pyridin-Addukten gezeigt werden. Der Prozess verlief dabei mehrschrittig über die anfängliche Ausbildung von beidseitig koordinierten Dimeren hin zu freien Monomeren. Besonders interessant war die Tatsache, dass Verdünnung bis nahe der kritischen Aggregationskonzentration aufgrund des Affinitätsunterschied von Pyridin zu Monomer und Polymer zu einer Re-Assemblierung nach Depolymerisation führte.<sup>[93]</sup> Anhand der selektiven Zn(II):LEWIS-Base-Interaktion konnte ein „chirales Gedächtnis“ der H-Aggregate demonstriert werden. Aus den über chirale Amplifikation erhaltenen helikalen Co-Aggregaten von (S)-Zn und (A)-Cu konnte durch Komplexbildung mit Chinuclidin (engl.: *Quinuclidine*, QND) (S)-Zn selektiv aus den Filamenten entfernt werden, wobei die Chiralität der nunmehr aus achiralen (A)-Cu bestehenden Aggregate aufgrund der langsamen Austauschkinetik in MCH erhalten blieb. Erstaunlicherweise konnte nach Depolymerisation infolge von Erhitzen dieser chiralen (A)-Cu-Aggregate die Helizität nach Abkühlen größtenteils regeneriert werden, solange aufgrund kinetischer Trägheit der Deassemblierung ausreichende (A)-Cu-Fragmente erhalten blieben, um erneut die autonome chirale Amplifikation zu initiieren.

Die Ligand-vermittelte Depolymerisation wurde außerdem zum kontrollierten Aufbau supramolekularer Polymere durch Photo-Isomerisation verwendet. Das Photo-responsive

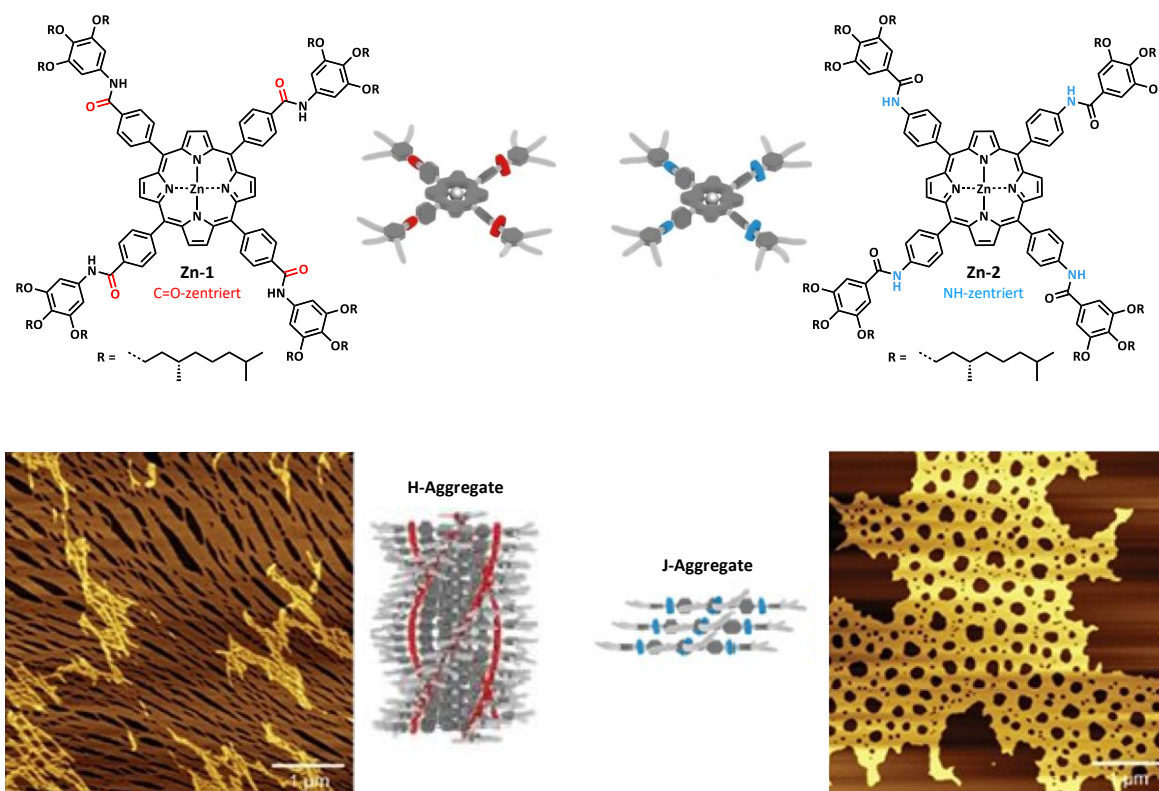
Phenylazopyridin-Derivat **AZO** blockiert in dessen *trans*-Konformation (**S**)-**Zn** und erlaubt lediglich die Ausbildung von Dimeren. Durch Bestrahlung mit Licht ( $\lambda = 360$  nm) konnte, aufgrund sterischer Abstoßung infolge des Übergangs von *trans*- zu *cis*-**AZO**, die Dissoziation des **AZO**:(**S**)-**Zn**-Komplex und eine Ausbildung eindimensionaler Stapel *via* UV/Vis- und CD-Spektroskopie beobachtet werde.<sup>[129]</sup>

Wie maßgeblich das Assemblierungsverhalten von strukturellen Faktoren und den experimentellen Bedingungen beeinflusst wird, wurde bereits anhand unterschiedlicher Aggregationsarten durch Änderung der Lösungsmittelzusammensetzung angedeutet, jedoch explizit unter anderem durch den Vergleich struktureller Varianten von (**S**)-**Zn** demonstriert (Abbildung 1.11). Anhand der Variation der Probenpräparation und der Anpassung von Heiz- und Kühlraten konnten VAN DER WEEGEN *et. al.* teils drastische Unterschiede der erhaltenen Aggregate in Abhängigkeit der solubilisierenden Alkylketten aufzeigen, was Aufschluss über die Kontrolle der konkurrierenden isodesmischen und kooperativen Assemblierungspfade zu J- oder H-Aggregaten über die Probenpräparation lieferte.



**Abbildung 1.12:** UV/Vis-Absorptionsspektren verschiedener *meso*-substituierter Zn(II)-Porphyrine nach unterschiedlichen Probenpräparationsmethoden (rot: molekular gelöst in  $\text{CHCl}_3$ , schwarz: Injektion in  $\text{CHCl}_3$  molekular gelöster Monomere in MCH, blau: schnelles Abkühlen ( $T = 90^\circ\text{C} \rightarrow 20^\circ\text{C}$ ), pink: langsames Abkühlen ( $T = 90^\circ\text{C} \rightarrow 20^\circ\text{C}$ )).<sup>[92]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [92] (Copyright © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim).

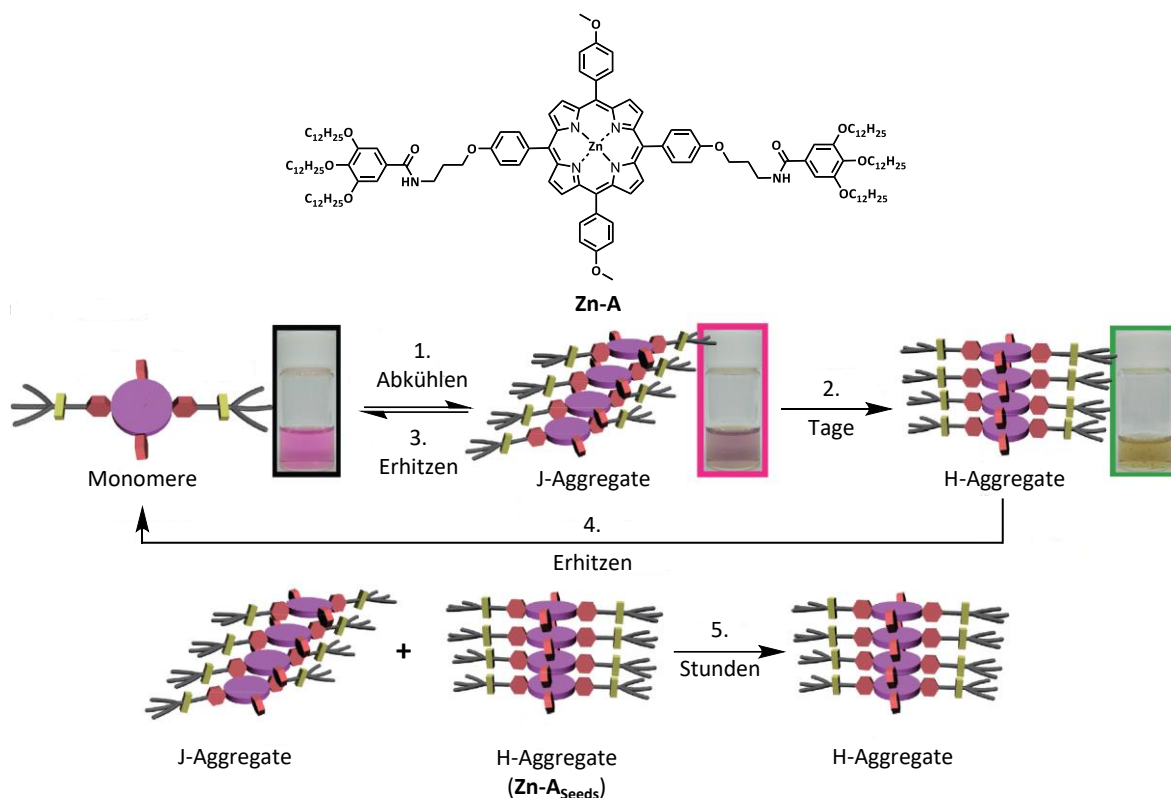
Bei Untersuchungen zweier Porphyrin-Derivate **Zn-1** (C=O-zentriert) und **Zn-2** (NH-zentriert), die sich hinsichtlich ihrer Amid-Konnektivität mit den löslichen Seitenarmen unterscheiden, konnten WEYANDT *et. al.* den gravierenden Zusammenhang zwischen strukturellen Details und dem supramolekularen Polymerisationsmechanismus demonstrieren (Abbildung 1.13).<sup>[113]</sup> Je nach Richtung der Amidbindung ließen sich in MCH mittels CD- und UV/Vis-Spektroskopie für **Zn-1** nach einem kooperativen Mechanismus gebildete helikale H-Aggregate und für **Zn-2** nach einem isodesmischen Mechanismus gebildete achirale J-Aggregate identifizieren. Dichte-Funktional-Theorie (engl.: *density functional theory*, DFT)-Berechnungen mit freie Base-Äquivalenten von **Zn-1** und **Zn-2** legten offen, dass die *para*-Carboxyamidbindungen eine Neigung relativ zur  $\pi$ -Ebene aufweisen. Der energetische Verlust für die Ausrichtung des NH-zentrierten Carboxyamids übertrifft den energetischen Gewinn bei der Ausbildung axialer Wasserstoffbrückenbindungen weswegen sich präferiert kurze kinetisch präferierte J-Aggregate ausgehend von **Zn-2** bilden.



**Abbildung 1.13:** Chemische Struktur und schematische Darstellung der Zn(II)-Porphyrine unterschiedlicher Amid-Konnektivität (**Zn-1**: C=O-zentriert, **Zn-2**: NH-zentriert) (oben); AFM-Aufnahmen von **Zn-1** und **Zn-2** nach *drop-casting* auf Mica (unten).<sup>[113]</sup> Nachdruck frei nach Referenz [113] mit CC-BY Lizenz (Copyright © 2021, The Authors. *Chemistry – A European Journal* published by Wiley-VCH GmbH).

Anhand Keim-induzierter (engl.: *seed-induced*) Kontrolle des Aggregationspfads C<sub>2</sub>-symmetrischer Zink(II)-Porphyrine demonstrierten TAKEUCHI und Mitarbeiter das erste Beispiel lebender supramolekularer Polymerisation (Abbildung 1.14).<sup>[24,25]</sup> Prinzipiell kann **Zn-A** in MCH gelöst durch Abkühlen über isodesmische Selbstassemblierung kinetisch stabile J-Aggregate in Form von Nanopartikeln ausbilden. Die Gruppe konnte zeigen, dass nach Abkühlen binnen weniger Tage die Transformation der Nanopartikel zu eindimensionalen H-Aggregaten stattfindet, die im AFM mikrometerlange anisotrope Fasern erkennen ließen. Abseits spektroskopischer Methoden konnte der Zustandsübergang bereits anhand des Farbumschlags von violett zu grün nachvollzogen werden. Kinetik-Experimente belegten, dass es sich um konkurrierende Assemblierungspfade handelt, und somit die Konzentration freier Monomere entscheidend für das Gleichgewicht zwischen *on-* und *off-pathway* Spezies ist. Entsprechend war es möglich, die *off-pathway* verlaufende Bildung von J-Aggregaten durch sogenanntes *seeding* freier Monomere mit H-Aggregaten (**Zn-A**<sub>Seeds</sub>) zu übergehen, welche zuvor durch Ultraschall fragmentiert wurden. Bei den Fragmenten handelte es sich um aktive Kettenenden, wodurch freie Monomere unter thermodynamischer Kontrolle ausschließlich zu anisotropen H-Aggregaten konvertierten, wobei die Regulation der Assemblierungsrate über das Verhältnis von *Seeds* zu freien Monomeren möglich war. Der lebende Charakter des supramolekularen Polymerisationsprozesses zeigte sich in der erfolgreichen Ausführung mehrerer Zyklen von Fragmentierung und Fragment-induzierter Ausbildung neuer H-Aggregate. So gebildeten Nanostrukturen wiesen für die Anzahl durchgeführter Zyklen

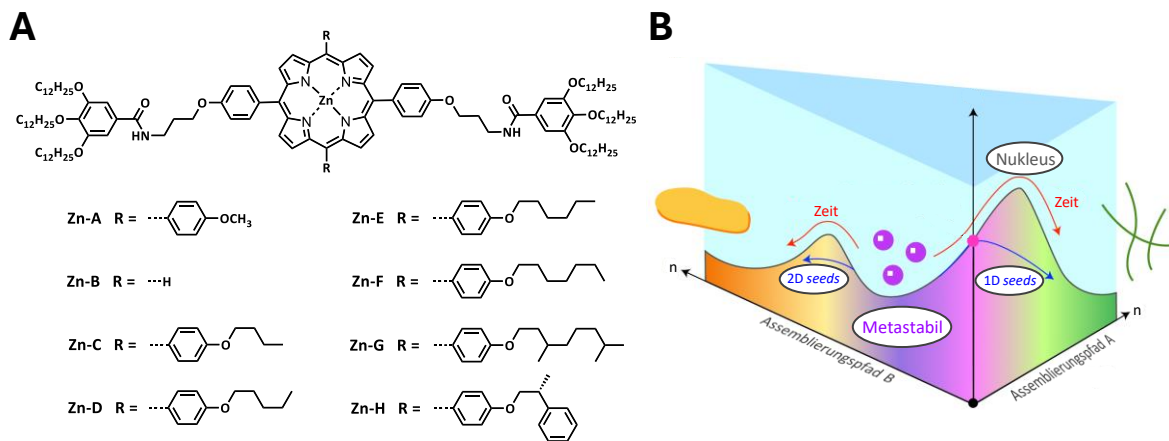
charakteristische mittlere Strukturlängen und außergewöhnlich niedrigen Dispersitäten von  $D < 1,1$  auf.



**Abbildung 1.14:** Schematische Darstellung der Selbstassemblierung von **Zn-A** in MCH. 1.: Formation von J-Aggregaten in Form von Nanopartikeln durch Abkühlen einer heißen Lösung freier Monomere; 2.: Transformation zu eindimensionalen Faser über mehrere Tage; 3. & 4.: Depolymerisation von J- und H-Aggregaten durch Erhitzen; 5.: Beschleunigung der Transformation durch *seeding* mit Aggregationskeimen.<sup>[24]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [24] (Copyright © 2014, Springer Nature Limited).

Darauffolgend stellten in derselben Gruppe FUKUI *et al.* die Applikation struktureller Modifikationen zur Lenkung thermodynamisch und kinetisch kontrollierter Selbstassemblierung für Derivate von **Zn-A** vor, für welches zuvor lebende supramolekulare Polymerisation demonstriert werden konnte.<sup>[22,24,25,136–139]</sup> Vergleichbar mit den von MEIJER für  $C_4$ -symmetrische Porphyrin-Analoga präsentierten Erkenntnissen, konnte gezeigt werden, dass das Assemblierungsverhalten sensitiv gegenüber struktureller Veränderungen in Sinne des sterischen Anspruchs der terminalen Alkylketten ist (Abbildung 1.15). So bildeten **Zn-B** bis **Zn-D**, analog zu **Zn-A**, zunächst J-Aggregate aus, welche sich allmählich zu H-Aggregaten umwandelten. **Zn-E** bis **Zn-H** bildeten ebenfalls durch Abkühlen heißer Lösungen in MCH J-Aggregate in Form von Nanopartikeln aus, durchliefen jedoch im Gegensatz zu den vorherigen Monomer-Derivaten eine Transformation zu lateral angeordneten J-Bandstrukturen, was auf die Unterdrückung cofacialer Organisation aufgrund sterischer Hinderung zurückgeführt wurde und über UV/Vis-Spektroskopie und AFM-Aufnahmen bestätigt werden konnte. Konzentrationsabhängige Kinetik-Untersuchungen stellten fest, dass es sich hierbei um *on-pathway* Prozesse handelte, der sterische Anspruch der Peripherie somit exklusiv die autokatalysierte Ausbildung von J-Aggregaten ermöglicht. Eindimensionale Nanofibrillen konnten in diesen Fällen jedoch durch Behandlung mit Ultraschall

als Teil eines kinetisch kontrollierten Aggregationspfades erhalten werden. Für die Keim-induzierte Amplifikation des Aggregations-Modus zeigte sich erstaunlicherweise, dass sich das Prinzip lebender supramolekularer Polymerisation nicht auf das thermodynamische Assemblierungsprodukt beschränkt, wodurch sich der Assemblierungspfad der metastabilen Nanopartikel sowohl in Richtung eindimensionaler Nanofasern als auch zweidimensionaler Nanobänder lenken ließ. Dadurch konnte gezeigt werden, dass lebende supramolekulare Polymerisation eine herausragende Methode zum kontrollierten Aufbau gezielter Morphologie darstellt, wie zuletzt JUNG *et. al.* in derselben Gruppe für die Keim-induzierte Selbstassemblierung zum Aufbau Porphyrin-basierter supramolekularer Blockcopolymere zeigen konnte. [140]



**Abbildung 1.15:** **A:** Chemische Struktur der unterschiedlichen Zink(II)-Porphyrin-Derivate **Zn-A** bis **Zn-H**; Qualitative 3D-Energielandschaft für die postulierten Assemblierungspfade zu Nanobandstrukturen und Nanofasern.<sup>[22]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [22] (Copyright © 2016, Springer Nature Limited).

## 1.4 Selbstassemblierung amphiphiler Systeme in Wasser

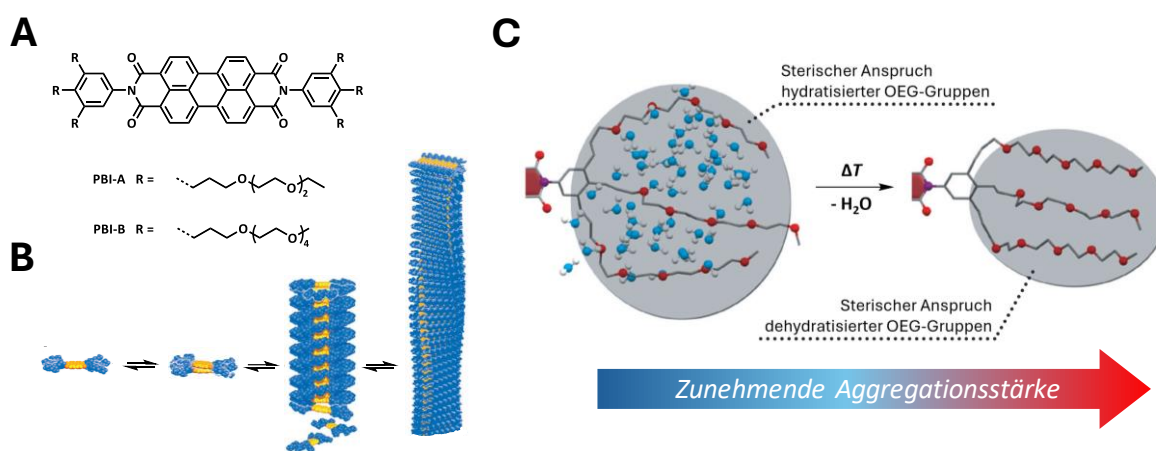
In wässriger Umgebung spielt der hydrophobe Effekt eine übergeordnete Rolle bei der Selbstassemblierung. Der hydrophobe Effekt resultiert aus dem Bestreben von Wasser, als Reinstoff über Wasserstoffbrücken mit sich selbst zu interagieren. Im flüssigen Aggregatzustand liegt in Wasser das Sauerstoff-Zentrum in einer  $sp^3$ -artigen tetraedrischen Koordinationsgeometrie vor und bildet ein hochdynamisches, fluktuierendes Netzwerk kurzlebiger gerichteter Wasserstoffbrücken aus, was zu den ungewöhnlichen physikalischen Eigenschaften wie vergleichsweise hohen Schmelz- und Siedepunkten sowie der Dichteanomalie von Wasser führt.<sup>[141-145]</sup>

Die Hydratisierung hydrophober Moleküle in Wasser wirkt sich auf das Netzwerk an Wasserstoffbrücken aus und erwirkt zwangsläufig dessen Umstrukturierung, wobei dieser Vorgang für Moleküle  $< 1$  nm vernachlässigbar und weitestgehend entropisch begünstigt ist.<sup>[146]</sup> Mit zunehmender Größe der Grenzfläche geht die Ausbildung einer Hydrathülle um den Solvent mit dem Aufbrechen bestehender Wasserstoffbrücken einher. Die Orientierung von Wassermolekülen an der Grenzfläche in Folge der Ausbildung dieser Hydrathülle bedingt somit direkt den Verlust von Entropie, der mit zunehmender hydrophober Oberfläche immer weiter dominiert. Die stattfindende Assoziation hydrophober Moleküle in Wasser, beispielsweise die Stapelung konjugierter  $\pi$ -Systeme, ist demnach als Enthalpie-getriebener Prozess zu verstehen, der aus dem Bestreben resultiert, den Entropie-Verlust bestmöglich zu kompensieren, indem die hydrophobe Grenzfläche minimiert wird und das Wasserstoffbrückennetzwerk weitestgehend aufrecht erhalten werden kann.<sup>[146-148]</sup> Dieses Phänomen ist von entscheidender Bedeutung im biologischen Kontext, wo die Wechselwirkungen zwischen hydrophoben und hydrophilen Motiven eine wichtige Rolle in der Struktur und Funktion, beispielsweise von Enzymen, Biomembranen oder ausgeklügelter synthetischer *drug delivery*-Systemen spielen.<sup>[149-152][153,154]</sup> Des Weiteren lässt sich so auch die signifikante Triebkraft zur Selbstassemblierung konjugierter  $\pi$ -Systeme in Wasser erklären.<sup>[8]</sup> Der hydrophobe Effekt kann zusammenfassend als das Ergebnis der Hydratation und der resultierenden Interaktion hydrophober Grenzflächen begrifflich definiert werden.

Untersuchungen des Assemblierungsverhaltens konjugierter  $\pi$ -Systeme wie Porphyrine oder Rylene-Farbstoffe in Wasser finden häufig anhand ionischer Derivate statt, für welche die aromatischen Grundkörper mit potenziell ladungstragenden Gruppen wie Carbonsäuren, Sulfonsäuren oder Ammoniumsalzen modifiziert werden.<sup>[155-162]</sup> Die Konjugation mit nicht-ionischen polaren Gruppen, häufig wasserlösliche Polymere wie Polyethylenglycol, stellt eine weitere, oft verfolgte Strategie zur Gewährleistung der benötigten Wasserlöslichkeit dar.

WÜRTHNER demonstrierte die Selbstassemblierung bolaamphiphiler Oligoethylenglycol-funktionalisierter Perylenbisimide in Wasser (Abbildung 1.16 A). Das in einer initialen Studie vorgestellte Monomer **PBI-A** liegt in THF als Monomer mit starken Fluoreszenzeigenschaften vor. In Wasser gelöst findet die versetzte eindimensionale Stapelung der Chromophore zu organisierten Nanostäbchen statt, wie anhand hochauflösender negativ kontrastierter TEM-Aufnahmen und des *quenchings* der Fluoreszenz belegt werden konnte. Durch Änderung der Konzentration wurde die Transformation der Morphologie gemäß eines konsekutiven Assemblierungspfad beobachtet, in welchem mehrere bestehende Nanostäbchen durch laterale Assoziation bandartige Nanostrukturen ausbildeten (Abbildung 1.16 B). Interessanterweise zeigten Kryo-Transmissionselektronenmikroskopie (Kryo-TEM)- und AFM-Aufnahmen sowie DLS-Experimente die Abnahme der

Durchmesser einzelner Nanostäbchen im Laufe des *clustering* an und die Fluoreszenz-Quantenausbeute nahm wieder zu, was durch eine erhöhte Packungsdichte der Farbstoffe innerhalb der Bandstrukturen erklärt werden konnte.<sup>[163]</sup>

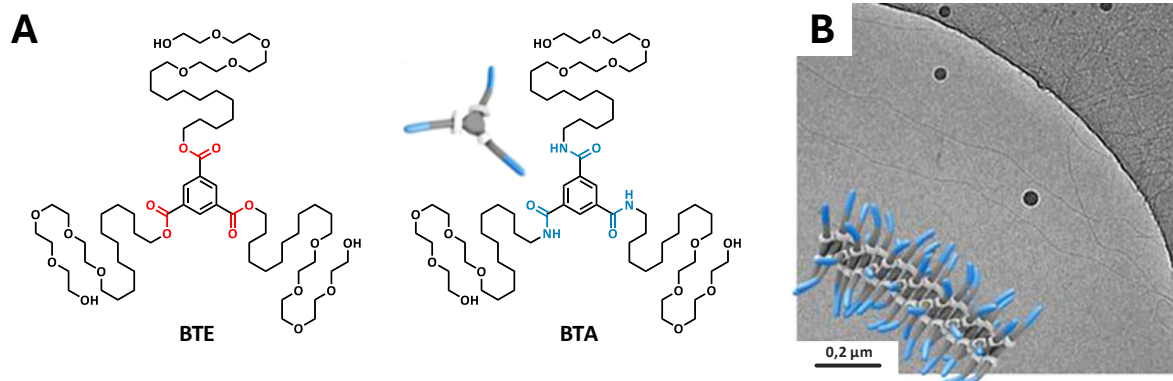


**Abbildung 1.16:** **A:** Chemische Struktur der Perylenbisimid-Derivate **PBI-A** und **PBI-B**; **B:** Schematische Darstellung der hierarchischen Selbstassemblierung von **PBI-A** zu Nanostäbchen und -bändern in Wasser; **C:** Schematische Darstellung der temperatur-induzierten Desolvation endständiger Oligoethylenglycol (OEG)-Gruppen.<sup>[163,164]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [163] (Copyright © 2014 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim) und [164] (Copyright © 2016 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim).

Im weiteren Verlauf konnten GÖRL *et. al.* für **PBI-B** zeigen, dass die dominierende Triebkraft der Selbstassemblierung dieser PBIs der Entropiegewinn durch die Freisetzung der Wassermoleküle aus der Hydrathülle der OEG-Gruppen mit steigender Temperatur zu sein scheint (Abbildung 1.16 C).<sup>[164,165]</sup> Dieser Befund belegte, dass die thermodynamische Signatur des Assemblierungsprozesses aus der Struktur der Substituenten  $\pi$ -System-basierter Monomere resultiert. Die Umkehrung in einem Enthalpie-getriebenen Vorgang war durch Variation der Lösungsmittelzusammensetzung infolge der Zugabe von THF möglich, welches mit Wassermolekülen um die Solvation der Seitenketten konkurriert. Der Einfluss der OEG-Länge auf die thermodynamischen Parameter der Selbstassemblierung in Wasser konnte daran anschließend anhand verschiedener NBI-Derivate mittels UV/Vis-Untersuchungen und isothermaler Titrationskalorimetrie (ITC) charakterisiert werden.<sup>[166,167]</sup>

Für den kooperativen Aufbau anisotroper Nanomaterialien kann Direktionalität auch in Wasser durch Kombination verschiedener nicht-kovalenter Bindungsmotive realisiert werden. Ähnlich zu organisch-löslichen Systemen greift das molekulare Design für wässrige Anwendungen ebenfalls häufig auf Wasserstoffbrückenmotive zurück. Den maßgeblichen Einfluss von Wasserstoffbrücken supramolekularer Nanostrukturen konnte die Gruppe um MEIJER am Beispiel  $C_3$ -symmetrischer Amphiphile veranschaulichen.<sup>[168]</sup> Hierbei wurden zwei Monomere miteinander verglichen, die durch Erweiterung von 1,3,5-Benzoltricarbonsäure mit solubilisierenden, endständig Tetraethylenglycol-funktionalisierten Seitenketten erhalten werden konnten. Der strukturelle Unterschieden der Monomere bezieht sich auf die Verknüpfung der löslichen Segmente, welche für **BTE** durch Ester- (1,3,5-Benzoltricarbonsäureester), und für **BTA** durch Amidbindungen (1,3,5-Benzoltricarbonsäureamid) erfolgte. Prinzipiell ließen beide Monomere *via* Kryo-TEM die Formation

von Nanostrukturen erkennen. Jedoch waren die durch **BTE** gebildeten Strukturen weniger geordnet. Molekulardynamik (MD)-Simulationen bestätigten die Annahme weniger geordneter Nanostrukturen für **BTE**, die sich im direkten Vergleich mit den von **BTA** geformten Nanofasern um einiges flexibler zeigten und für welche eine geringere Stabilität belegt werden konnte.

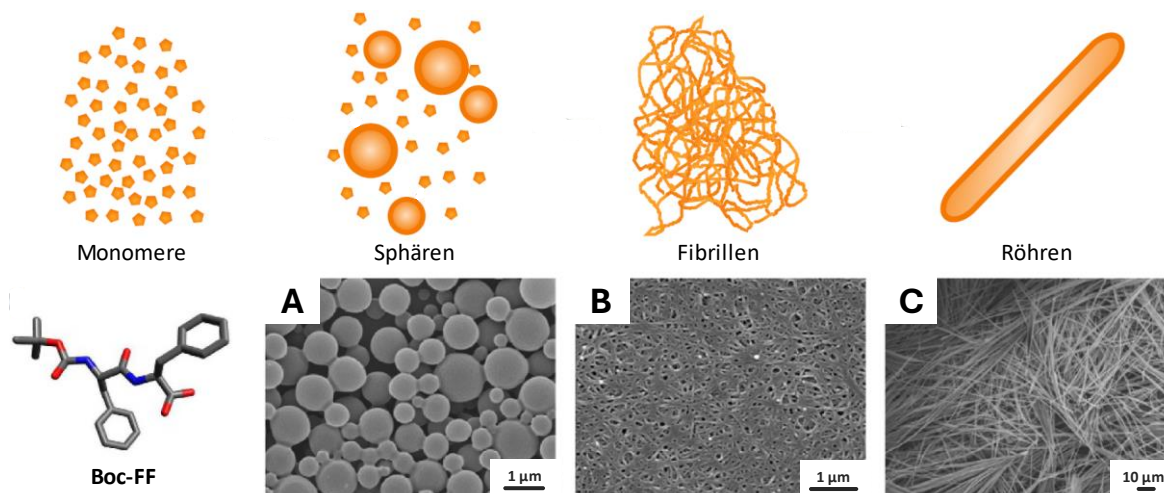


**Abbildung 1.17:** A: Chemische Struktur der 1,3,5-Benzoltricarbonsäure-Derivate **BTE** und **BTA**; B: TEM-Aufnahme der von BTA in Wasser gebildeten Nanofasern.<sup>[168]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [168] (Copyright © 2016, American Chemical Society).

Die zentrale Herausforderung, vor welche man bei der Darstellung anisotroper Nanostrukturen auf Grundlage von Wasserstoffbrücken gestellt ist, ist Wasser selbst. Wassermoleküle konkurrieren entsprechend ihrer Eigenschaft als Wasserstoffbrückendonator und -akzeptor um Wasserstoffbrückenbindungsstellen und schwächen so intermolekulare Monomer-Monomer-Interaktionen ab. Biologische Systeme umgehen dieses Problem durch Erzeugen hydrophober Mikroumgebungen. So sind nicht-kovalente Bindungsmotive oder aktive Zentren von Enzymen oftmals in hydrophobe Strukturdomänen eingebettet. Für Wasserstoffbrücken-basierte Monomer-Monomer-Erkennung in Wasser lässt sich dieses Prinzip anwenden, indem entsprechende Struktur motive in hydrophobe Molekülsegmente eingebettet werden, welche die Bindungsstellen vor Wassermolekülen abschirmen und somit die Selbstassemblierung fördern.<sup>[169,170]</sup> Ein Beleg hierfür liefert das von LEENDERS *et. al.* präsentierte Beispiel struktureller Varianten des zuvor vorgestellten Tetraethylglycol (TEG)-funktionalisierten **BTAs**. Hierbei wurde offensichtlich, dass der Aufbau stabiler Strukturen auf Basis von Wasserstoffbrückenbindungen nur dann möglich ist, wenn das Bindungsmotiv durch aliphatische *spacer*-Einheiten abgeschirmt wird. **BTA**-Derivate, deren wasserlösliche Seitenarme unmittelbar mit dem Wasserstoffbrückendonator verbunden sind, ließen keine Aggregation in Wasser erkennen. Beim Vergleich mehrerer verschiedener unverzweigter Alkan-Derivate zeigte sich, dass erst ab einem Dodecyl-*spacer* das passende Verhältnis hydrophober und hydrophiler Beiträge für die zuverlässige Abschirmung der Amidbindungen erreicht werden konnte.<sup>[171,172]</sup>

Neben ihrer Vielseitigkeit sind Peptid-basierte Strukturen nicht zuletzt durch die enormen Fortschritte hinsichtlich derer synthetischen Zugänglichkeit und Sequenzkontrolle beliebte Struktur motive für des Design funktioneller und biokompatibler supramolekularer Materialien in Wasser.<sup>[173–176]</sup> Diphenylalanin (FF) stellt eine Modell-Verbindungen dar, anhand derer das außergewöhnlich komplexe Assemblierungsverhalten peptidischer Systeme schon früh systematisch hinsichtlich thermodynamischer und kinetischer Faktoren untersucht werden konnte.<sup>[177–183]</sup> Bereits dieser simple Baustein ist in der Lage, verschiedenste Architekturen

supramolekularer Nanostrukturen abzubilden, was das enorme Potential Peptid-basierter Systeme für die Entwicklung funktioneller Nanoarchitekturen verdeutlicht. GAZIT und KNOWLES demonstrierten beispielsweise den mehrstufigen Aggregationsprozess nach Injektion konzentrierter ethanolischer **Boc-FF**-Lösungen in Wasser (Abbildung 1.18).<sup>[184]</sup>

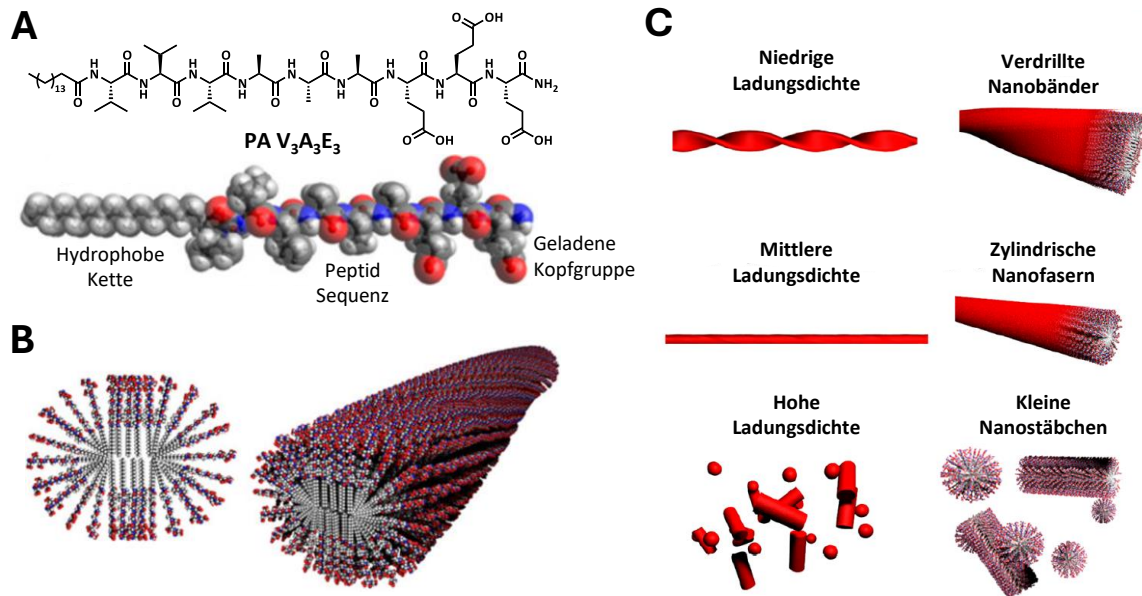


**Abbildung 1.18:** Schematische Darstellung des zeitabhängigen Phasenübergangs von **Boc-FF** mit hochauflösenden Rasterelektronenmikroskopie-Aufnahmen nach 2 min (A), 40 min (B) und 60 min (C).<sup>[184]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [184] (Copyright © 2014, Springer Nature Limited).

Für die Darstellung von (Oligo-)Peptiden steht ein breites Repertoire kommerziell erhältlicher Aminosäuren zur Verfügung. Neben der Codierung von Hydrophobizität und Hydrophilie eröffnet die Integration schaltbarer Funktionalitäten in das Peptidrückgrat die Möglichkeit, Stimuli-responsive Systeme mit maßgeschneiderten Eigenschaften zu kreieren. Analog zu Faltungsprozessen von Proteinen in definierte Strukturen unterstützen Peptidsequenzen als Teil amphiphiler Konjugate Selbstassemblierungsprozesse hinsichtlich Nahordnung und Stabilität. Maßgeblich daran beteiligt ist das Peptidrückgrat, welches sich aus repetitiven Amidbindungen zusammensetzt, die über intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen miteinander interagieren und charakteristische Faltungsmuster gemäß der für Proteine bekannten Sekundärstrukturen ausbilden.<sup>[124][185–187]</sup>

In den letzten Jahren führte die Gruppe um STUPP das Feld der Selbstassemblierung wasserlöslicher Peptidamphiphile an, bei welchen es sich strukturell um Konjugate langkettiger Fettsäuren mit hydrophoben  $\beta$ -Faltblatt-codierender Peptidsequenzen handelt, deren Löslichkeit durch terminale geladene Aminosäure-Seitenketten gewährleistet wird.<sup>[188–191]</sup> In wässrigem Puffer gelöst bilden diese außergewöhnlich lange zylindrische Nanofasern aus, in welchen die aliphatischen Ketten nach innen und die geladenen Peptidsegmente nach außen gerichtet sind (Abbildung 1.19 B). Während deren Morphologie initial *via* TEM zugeordnet werden konnte, wurde durch weitere Untersuchungen mittels CD- sowie Polarisations-Modulations (PM)-Infrarot-Reflexions-Absorptions-Spektroskopie (IRRAS) die Ausbildung  $\beta$ -Faltblatt-artiger Faltungsmuster parallel zum Verlauf der Nanofasern festgestellt.<sup>[192]</sup> Die Rolle der Peptidsequenz und elektrostatischer Wechselwirkungen auf die supramolekulare Morphologie wurde durch Untersuchungen einer homologen Reihe Palmitinsäure-basierter Peptidamphiphile mit terminalem Triglutaminsäure-

Segment beleuchtet<sup>[193]</sup>, für welche die Gruppe um STUPP in Kooperation mit der Gruppe um MEIJER anhand kinetischer Studien den supramolekularen Polymerisationsmechanismus entschlüsseln konnte.<sup>[194]</sup> Die betrachteten Monomer-Einheiten wiesen dabei unterschiedliche Verhältnis von L-Alanin zu L-Valin ( $\text{PA V}_n\text{A}_m\text{E}_3$ ) auf, was zu teils erstaunlichen Unterschieden der Morphologie führte (Abbildung 1.19 C).



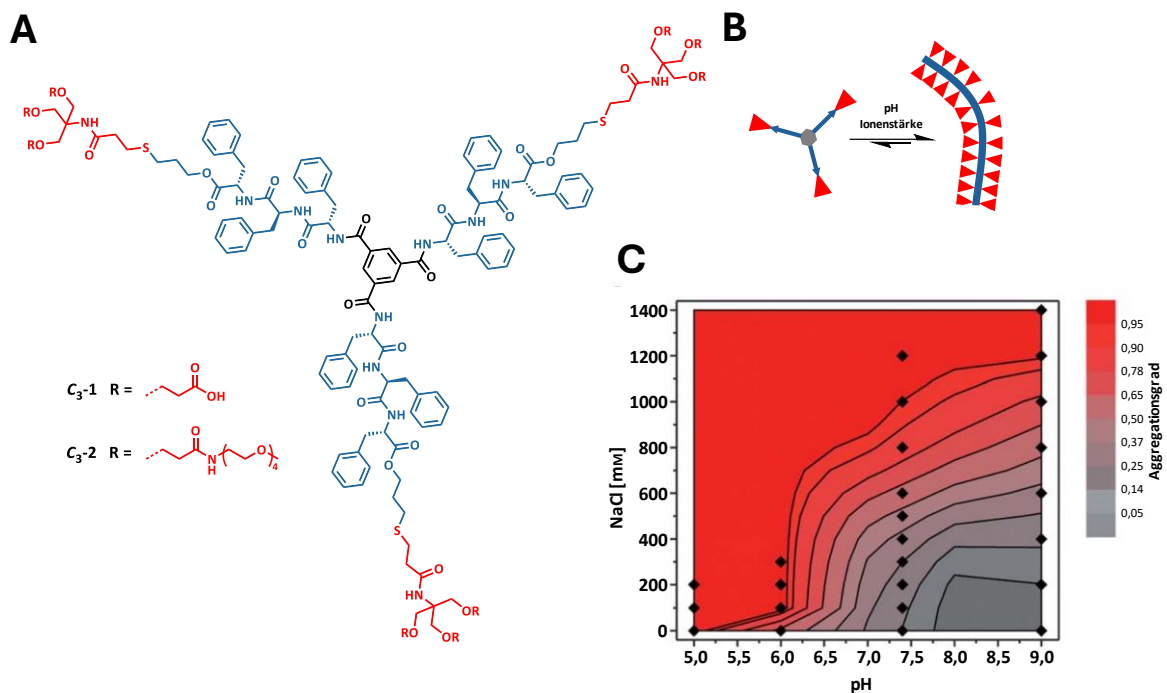
**Abbildung 1.19:** **A:** Chemische Struktur des Peptidamphiphils  $\text{PA V}_3\text{A}_3\text{E}_3$  mitsamt Karlottenmodell des Monomers; **B:** Anordnung des Monomer-Karlottenmodells in zylindrische Nanofaser; **C:** Schematische Darstellung der für unterschiedliche Ladungsdichten der Kopfgruppe beobachteten Nanoarchitekturen von sphärischen Nanopartikeln hin zu zylindrischen Nanofasern und verdrehten Nanobändern.<sup>[193]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [193] (Copyright © 2021, American Chemical Society).

Mittels Kryo-TEM und AFM ließen sich für Alanin-basierte Peptidamphiphile ( $\text{PA V}_0\text{A}_6\text{E}_3$ ,  $\text{PA V}_1\text{A}_5\text{E}_3$ ,  $\text{PA V}_2\text{A}_4\text{E}_3$ ) präferiert linkshändige, für Valin-basierte Konjugate ( $\text{PA V}_4\text{A}_2\text{E}_3$ ,  $\text{PA V}_5\text{A}_1\text{E}_3$ ) hingegen rechtshändig Nanostrukturen, trotz Beibehaltens der Stereoinformation der beteiligter Aminosäuren, beobachten. Zudem konnte gezeigt werden, dass die Architektur der Strukturen maßgeblich vom pH-Wert und damit von Protonierungsgrad und Ladungsdichte der Kopfgruppe abhängt. So wirkte sich die zunehmende elektrostatische Abstoßung hinderlich auf die Aggregation und damit die Partikelgröße aus. Untersuchungen der makroskopischen Eigenschaften entsprechender Hydrogele zeigte zudem eine Zunahme mechanischer Robustheit mit steigender Anzahl der Valin-Einheiten, was eine kompaktere Packung mit höherer Nahordnung der Peptidsegmente nahelegte.<sup>[195,196]</sup>

Die Gruppe um GOLDBERGER demonstrierte die Einstellung des pH-bedingten Zustandsübergangs verschiedener Monomere, die strukturell an die von STUPP vorgestellten Peptidamphiphile angelehnt waren.<sup>[197,198]</sup> Die untersuchten Bausteine bestanden aus *N*-terminal Palmitinsäure-flankierten  $\text{XA}_3\text{E}_4$ -Sequenzen ( $\text{PA XA}_3\text{E}_4$ ), deren  $\text{XA}_3$ -Block die Formation in  $\beta$ -Faltblatt-artiger Faltungsmuster dirigieren, und das *C*-terminale Tetraglutaminsäuresegment ( $\text{E}_4$ ) die Wasserlöslichkeit gewährleisten sollte. Zur Überprüfung des Einflusses der Hydrophobizität wurde der Baustein X als variabel gehandhabt und durch eine der hydrophoben Aminosäuren Isoleucin (I), Phenylalanin (F), Valin (V) oder Tyrosin (Y) repräsentiert. Aufgrund starker COULOMB-Repulsion

der deprotonierten Glutaminsäure bei neutralem pH lagen die Peptidamphiphile als freie Monomere vor, durchliefen jedoch einen Übergang hin zu Mizellen und Nanofasern, sobald hydrophobe attraktive Wechselwirkungen aufgrund der graduellen Protonierung der Carbonsäuren durch Absenkung des pH-Werts dominierten. Sie konnten zeigen, dass die hydrophobe Mikroumgebung der pH-responsiven Kopfgruppe für die pH-Verschiebung des Zustandsübergangs genutzt werden kann. Durch Erhöhung des hydrophoben Charakters infolge der Variation des Bausteins X konnte dieser effektive pK<sub>s</sub>-Wert von Glutaminsäure in der Reihenfolge I > F > V > Y von pH = 6,0 auf pH = 6,6 als Resultat der verstärkten Aggregationstendenz angepasst werden.

Die Forschungsgruppe BESENIUS hat das Prinzip selbstassemblierender Peptidamphiphile auf dendritische C<sub>3</sub>-symmetrische Template übertragen. Das initiale Monomer-Design entsprechend C<sub>3</sub>-A umfasste die Erweiterung eines BTA-Kernmotivs mit hydrophoben Peptidsequenzen bestehend aus 3 Phenylalanin-Einheiten (F), die über  $\beta$ -Faltblatt-artige Stapelmuster intermolekulare Interaktionen eingehen können. Die hydrophile Peripherie wurde von NEWKOME-artigen Dendronen repräsentiert, welche terminal jeweils drei Carbonsäure-Gruppen aufwiesen und aus Gründen hydrophober Abschirmung über ein Thioether-Segment mit dem dendritischen Peptid verbunden wurden. Den CD-spektroskopischen Untersuchungen nach konnte das Wachstum anisotroper Nanostrukturen ebenfalls in Abhängigkeit des pH-Wertes durch Einstellung repulsiver Wechselwirkungen reguliert werden.<sup>[199]</sup>



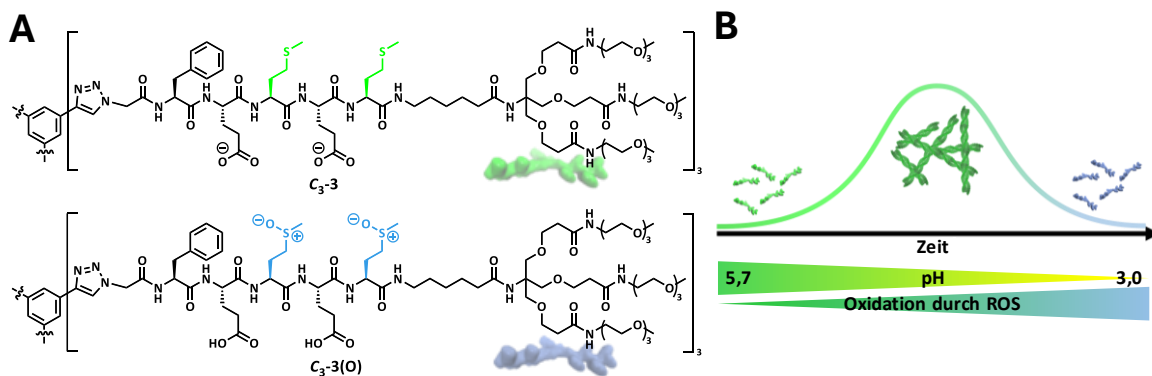
**Abbildung 1.20:** A: Chemische Struktur der C<sub>3</sub>-symmetrischen Nonaphenylalanin-basierten Peptidamphiphile C<sub>3</sub>-1 und C<sub>3</sub>-2; B: Schematische Darstellung der eindimensionalen Selbstassemblierung in wässrigem Medium; C: 2D-Zustandsdiagramm des relativen Aggregationsgrads in Abhängigkeit des pH-Werts und der Ionenstärke in Phosphatpuffer (10 mM).<sup>[199]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [199] (Copyright © 2013, *The Royal Society of Chemistry*)

Zudem zeigte sich, dass durch Veränderung der Ionenstärke in gepuffertem Medium bestehende Ladungen der deprotonierten terminalen Carbonsäuren abgeschirmt werden können, was den dual-Stimuli-responsiven Aufbau von Nanostäbchen in Abhängigkeit von pH-Wert und Salzkonzentration ermöglichte (Abbildung 1.20).

In Einklang mit den von GOLDBERGER publizierten Erkenntnissen zur Abhängigkeit der pH-induzierten Selbstassemblierung linearer Peptidamphiphile, war es durch Fluorierung und damit einhergehender Erhöhung der molekularen Hydrophobizität möglich, den Monomer → Polymer-Übergang von pH = 5,0 auf pH = 7,4 zu verschieben.<sup>[200]</sup>

Die Aggregationskontrolle konnte zudem für ungeladene Nonaphenylalanin-Homologe wie **C<sub>3</sub>-B** realisiert werden, deren terminale Carbonsäuren durch verschiedene OEG-Gruppen erweitert wurden und somit unabhängig vom pH-Wert des wässrigen Milieus anisotrope Nanostäbchen ausbildeten. Durch Variation von Größe und Verzweigungsgrad der solubilisierenden OEG-Gruppen konnte das anisotrope Wachstums durch den sterischen Anspruch der dendritischen Arme reguliert werden, welcher den attraktiven Kräften des Nonaphenylalanin-Zentrum entgegenwirkte und so die Aggregation hemmte. Mit zunehmender Größe der Endgruppe wurde demnach ein Übergang von eindimensionalen Nanostäbchen hin zu sphärischen Nanopartikeln beobachtet.<sup>[201]</sup>

SPITZER *et. al.* widmeten sich dem Einbau responsiver Aminosäuren in das Rückgrat endständig Triethylglycol-funktionalisierter C<sub>3</sub>-symmetrischer Peptidamphiphile. Die verwendete Pentapeptidsequenz FEMEM erlaubte durch die Kombination von pH-responsiver Glutaminsäure (E) und Redox-sensitivem Methionin (M) den autonomen dual-stimuli-responsiven Auf- und Abbau transients anisotroper Nanostäbchen in Anwesenheit von Glucose und Glucoseoxidase, wie mittels Kryo-TEM, CD-Spektroskopie und Röntgenstreuung bestätigt werden konnte (Abbildung 1.21).<sup>[202]</sup>

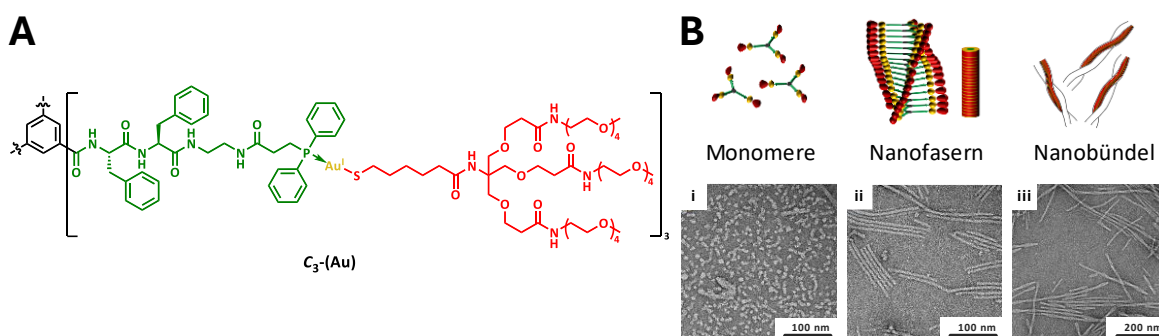


**Abbildung 1.21:** A: Chemische Struktur des FEMEM-basierten C<sub>3</sub>-symmetrischen Monomers vor (**C<sub>3</sub>-3**) und nach Oxidation (**C<sub>3</sub>-3(O)**); B: Schematische Darstellung der pH-schaltbaren supramolekularen Polymerisation und oxidations-induzierten Disassemblierung.<sup>[202]</sup>Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [202] (Copyright © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim).

Dabei konnte die Lebensdauer des Polymerzustands durch Variation der Glucose- und Enzymkonzentration angepasst werden. Die solubilisierenden Endgruppen induzierten darüber hinaus bei einer Massenkonzentration von mindestens 7 mg mL<sup>-1</sup> die thermische Gelierung ab einer Temperatur von 30°C, was innerhalb temperaturabhängiger rheologischer Messungen verfolgt werden konnte und auf die Desolvatation der solubilisierenden Ketten zurück ging, was bereits im

Kontext Entropie-getriebener Selbstassemblierung OEG-substituierter **PBIs** der Gruppe um WÜRTHNER diskutiert wurde.

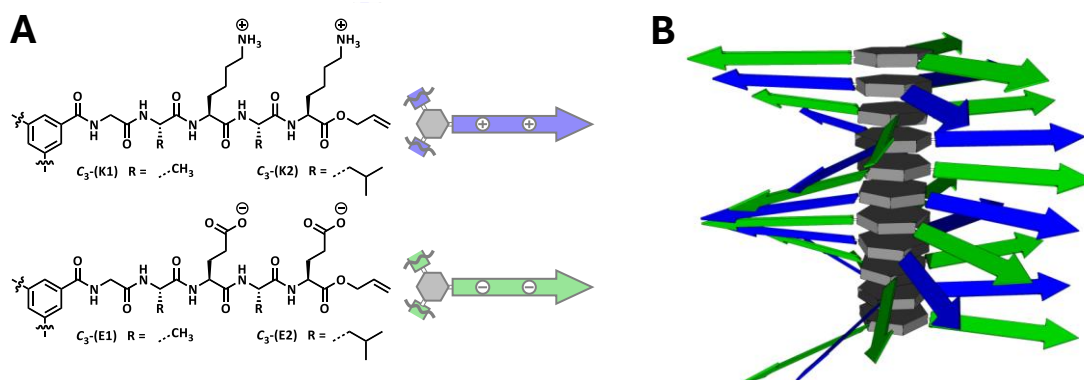
KEMPER *et. al.* zeigten die temperatur-induzierte Assemblierung  $C_3$ -symmetrischer Gold(I)-Amphiphile zu dimeren Nanobündeln (Abbildung 1.22).<sup>[69]</sup> Die peptidische Untereinheit basierte auf einem Diphenylalanin-Motiv, welches über einen Thiolatodiphenylphosphan-Au(I)-Komplex mit terminalen wasserlöslichen Tetraethylenglycol-Dendronen verknüpft wurde. Das Assemblierungsverhalten wurde über zeitabhängige CD-spektroskopische Messungen verfolgt, welche bei Temperaturerhöhung bis 25°C die Signalintensivierung eines diskreten Zustands anzeigten und *via* TEM die Ausbildung eindimensionaler Nanostäbchen beobachten ließ. Die bemerkenswert geringer Polydispersität deutete auf einen schnellen Nukleations- und langsamen Elongationsprozess hin, der typisch für lebende supramolekulare Polymerisationen ist. Der metastabile Zustand unterlag oberhalb 20°C einer langsamen Transformation zu dimeren Faserbündeln, entsprechend eines konsekutiven Assemblierungspfades unter kinetischer Kontrolle. In Kooperation mit der Gruppe um SPECK wurde auf Grundlage der experimentellen Assemblierungsdaten von  $C_3$ -(Au) ein *coarse-grained*-Modell erstellt, welches die spontane eindimensionale defektfreie Aggregation bestätigte und ebenfalls einen Verlauf nach einem Nukleations-Elongations-Mechanismus nahelegte.<sup>[203]</sup>



**Abbildung 1.22:** **A:** Chemische Struktur des Au(I)-Metalloamphiphils  $C_3$ -(Au); **B:** Schematische Darstellung der schrittweisen eindimensionalen Selbstassemblierung in Nanofasern und -bündel mit entsprechenden TEM-Aufnahmen bei 6°C nach 0 min (i), 25 min (ii) und nach Erwärmen auf 60°C (iii).<sup>[69]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [69] (Copyright © 2018, American Chemical Society).

Die Gruppe konnte zudem innerhalb von Mehrkomponenten-Assemblierungen  $C_3$ -symmetrischer Peptidamphiphile die Kombination gegensätzlich geladener Seitenketten für den Aufbau supramolekularer Copolymere nutzen. Die erste Generation der hierfür verwendeten Oligopeptide basierte auf der alternierenden Abfolgen hydrophober Alanins (A) und hydrophiler Glutaminsäure (E) oder Lysin (K), welche im neutralen pH-Bereich komplementäre Ladungen aufweisen konnten und bei stöchiometrischen Mischungsverhältnissen auf Grundlage attraktiver COULOMB-Interaktionen,  $\pi$ -Stapelung und Wasserstoffbrückenbindungen alternierend gestapelte eindimensionale Nanofasern ausbildeten, was über CD-Spektroskopie, *cross polarization magic angle spinning* (CPMAS)- $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie sowie TEM nachgewiesen werden konnte.<sup>[204]</sup> Die Änderung des pH-Werts führte zur reversiblen Depolymerisation bestehender Nanostäbchen aufgrund der Ladungsneutralisation durch Protonierung der Carboxylate bei pH = 3,6 beziehungsweise Deprotonierung der Ammonium-Gruppen bei pH = 8,9. Der Austausch von Alanin (A) durch hydrophoberes Leucin (L) bewirkte die gesteigerte Assemblierungstendenz und

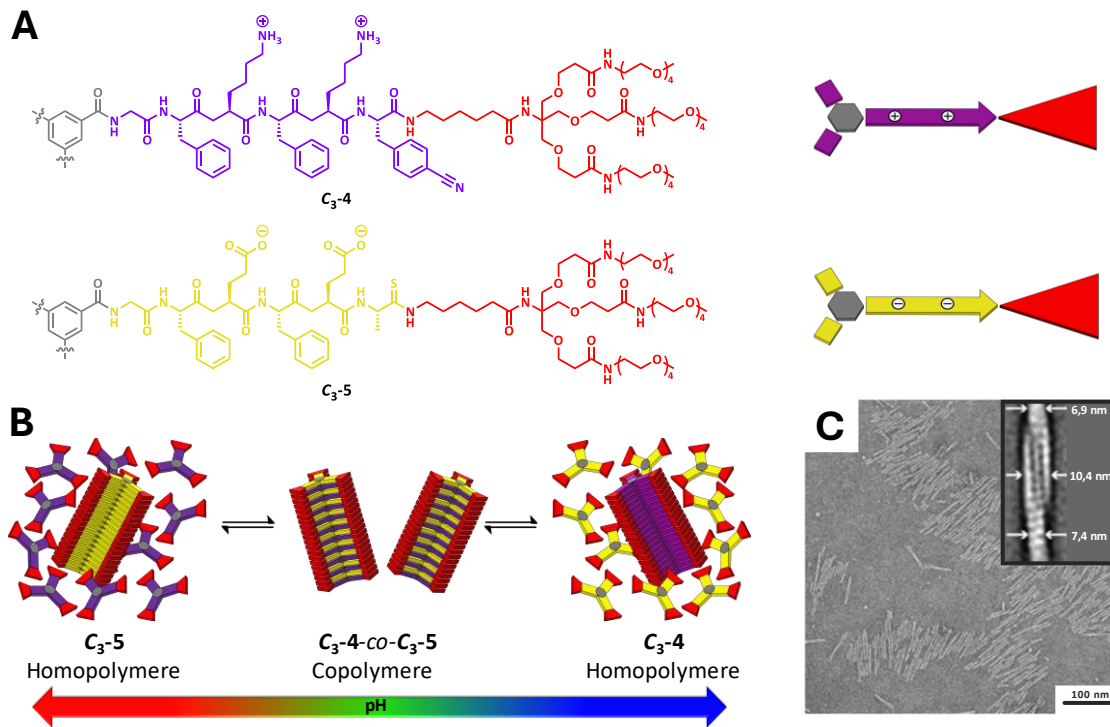
damit, gemäß der Wechselbeziehung von Hydrophobizität und effektivem  $pK_s$ , eine Verschiebung der effektiven  $pK_s$ -Werte von Glutaminsäure und Lysin, wodurch der pH-Bereich für die Beobachtung der alternierenden Copolymere auf  $pH = 2,0 - 12,0$  erweitert werden konnte.



**Abbildung 1.23:** A: Chemische Struktur der  $C_3$ -symmetrischen Comonomere  $C_3$ -K und  $C_3$ -E; B: Schematische Darstellung der ladungsregulierten Assemblierung von  $C_3$ -K und  $C_3$ -E in eindimensionale alternierende supramolekulare Copolymere.<sup>[204]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [204] (Copyright © 2013 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim).

FRISCH *et. al.* war der kontrollierte pH-abhängige Übergang alternierender Copolymere zu Homopolymeren  $C_3$ -symmetrischer Peptidamphiphile möglich.<sup>[205]</sup> Hierfür kam eine hydrophobe Phenylalanin-basierte Peptidsequenz mit endständigen dendritischen Tetraethylglycol-Ketten zum Einsatz. Die gesteigerte Hydrophobizität veranlasste im Verlauf der pH-Änderung die Exklusion geladener Monomere aus dem Stapelverbund, wodurch anstelle der zuvor beobachteten Depolymerisation eine Umstrukturierung zu ungeladenen Homopolymeren erzielt werden konnte. Für ein analoges Monomer-Set  $C_3$ -4 und  $C_3$ -5 mit einem eingebetteten minimalistischen Förster-Resonanzenergietransfer (FRET)-Paar, konnte die Transformation mittel Fluoreszenz-Spektroskopie bestätigt werden. Ferner konnte der pH-Bereich für stattfindende Copolymerisation zusätzlich durch Kreuzung rein Phenylalanin-basierten Monomere mit jenen des FRET-Paares modifiziert werden, was auf die Fehlpaarung (engl.: *mismatch*) der sonst komplementären  $\beta$ -Faltblatt-ausbildenden Peptidsequenzen und damit einhergehender Destabilisierung der Aggregate zurückzuführen war (Abbildung 1.24).<sup>[206]</sup>

Eine von AHLERS *et. al.* durchgeführte detaillierte Kinetik-Studie lieferte überraschende Erkenntnisse zum Verlauf der ladungskontrollierten supramolekularen Copolymerisation. Die Beständigkeit der innerhalb TEM-Aufnahmen beobachteten Dispersität, trotz unterschiedlicher Verhältnisse der positiv- und negativ-geladenen Monomere, legte eine weitestgehende Unabhängigkeit der Morphologie im thermodynamischen Gleichgewicht von den jeweiligen Monomer-Konzentrationen innerhalb der Mischungsverhältnisse von 2:1 bis 1:2 nahe. Untersuchungen mittels DLS ließen die Annahme eines über aktive Dimere ablaufenden Nukleationsprozesses zu, auf den ein langsamer Elongationsprozess hin zu supramolekularen Polymeren mit hohem Polymerisationsgrad folgt.<sup>[207,208]</sup>



**Abbildung 1.24:** A: Chemische Struktur mitsamt schematischer Darstellung der  $C_3$ -symmetrischen FRET-Comonomere  $C_{3-4}$  und  $C_{3-5}$ ; B: Schematische Darstellung der pH-abhängigen supramolekularen Polymerisation in alternierende Copolymere bei neutralem pH-Wert und in ungeladene Homopolymere von  $C_{3-4}$  unter basischen und  $C_{3-5}$  unter sauren Bedingungen.; C: TEM-Aufnahme gebildeter Copolymere mitsamt Darstellung der gewundenen Morphologie.<sup>[205]</sup> Nachdruck mit Genehmigung frei nach Referenz [205] (Copyright © 2015 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim).

Neben der statistischen alternierenden Copolymerisation in Lösung konnten durch Substratanbindung  $C_3$ -symmetrischer Peptide, analog zu Festphasen-basierten Syntheseansätzen, längenkontrollierte alternierende Copolymer-Bürsten dargestellt werden. Nach Funktionalisierung einer Gold-Oberfläche mit einer Monolage eines kationischen, terminal Thioether-funktionalisierten Monomers konnte der Aufbau der supramolekularen Polymere durch die sequenzielle Behandlung der Oberfläche mit abwechselnd kationischen Lysin-basierten und anionischen Glutaminsäure-basierten Monomeren über Oberflächenplasmonenresonanz (engl. *surface plasmon resonance*, SPR)-Spektroskopie verfolgt werden. Dabei erwies sich das geladene Kettenende als passivierend gegenüber spontaner Depolymerisation und ließ *via* AFM in Wasser die Höhenregulation orthogonaler Nanostäbchen in einem Bereich zwischen 5 und 19 nm beobachten.<sup>[209,210]</sup> Durch Einführen terminaler Triethylenglycol-Dendrone konnte zudem die Temperatur-vermittelte Gelierung aufgrund von Desolvations-Effekten induziert werden, welche die Oberflächen-gebundene Herstellung viskoelastischer Hydrogel-Filme einstellbarer Dicke zuließ.<sup>[210]</sup>



---

## **Kapitel 2**

### Motivation und Ziele

---

Supramolekulare (1D)-Polymerisation organischer Moleküle stellt einen aussichtsreichen Ansatz für die Entwicklung weicher Materie im Nanometermaßstab dar. Von natürlich vorkommenden supramolekularen Systemen inspiriert bedient man sich bei der Konzeptionierung solcher in Lösung selbstassemblierender Materialien häufig Strukturmotiven biologischen Ursprungs wie etwa Peptiden. Peptide zeichnen sich als Teil amphiphiler Systeme durch ihre ausgesprochene Diversität hinsichtlich des sich ergebenden Assemblierungsverhaltens aus und stellen zudem biologische Anwendungen in Aussicht. Dabei können durch die Wahl der jeweiligen Aminosäuren auf Basis ihrer Funktionalität die Eigenschaften und Architektur resultierender Nanostrukturen vorgegeben werden.

Die Vielseitigkeit selbstassemblierender Peptidamphiphile liegt oftmals in der Sensitivität des Assemblierungsverhaltens gegenüber kinetischer Parameter begründet. Trotz der Fortschritte bei der Aufklärung komplexer Dynamiken eindimensionaler supramolekularer Polymerisation limitiert jedoch das bis Weilen noch immer sehr rudimentäre Detailverständnis zur Kontrolle von Assemblierungspfaden die unmittelbare Imitation der Komplexität natürlicher Systeme. Für das rationale Design funktionaler supramolekularer Materialien ergibt sich somit die Notwendigkeit expliziter Studien zum Zusammenhang zwischen molekularer Struktur, chemischer Umgebung und dem Ausgang entsprechender Selbstassemblierungspfade.

Diese Arbeit befasst sich mit der kinetisch kontrollierten supramolekularen Polymerisation wasserlöslicher Porphyrin-Peptidamphiphile für den Aufbau geordneter anisotroper Nanostrukturen mit Stimuli-responsiven Eigenschaften. Die Übertragung des bisher in der Arbeitsgruppe angewandten Konzepts der Selbstassemblierung BTA-basierter Peptidamphiphile (siehe Kapitel 1.4) auf ein Porphyrin-Kerngerüst ermöglicht aufgrund dessen optischer Eigenschaften die tiefgehende spektroskopische Charakterisierung stattfindender Assemblierungsvorgänge. Darüber hinaus zählen neben (Oligo-)Peptiden vor allem Porphyrine aufgrund ihrer einfachen Funktionalisierbarkeit zu den vielseitigsten Bausteinen molekularer Selbstassemblierung und sind daher prädestinierte Motive für die Untersuchung des Zusammenhangs von Struktur und Eigenschaften im Kontext supramolekularer Polymerisation.

Zunächst soll die Darstellung wasserlöslicher Porphyrin-Peptidamphiphile diskutiert werden, welche in Lösung eindimensionale Nanofilamente ausbilden. Durch ein modulares Vorgehen unter Anwendung verschiedener Kupplungsstrategien soll die konvergente Synthese einer Bibliothek unterschiedlicher  $C_4$ -symmetrischer Monomere aus vorgefertigten molekularen Bausteinen unter geringem synthetischen Aufwand angestrebt werden.

In Kapitel 3 gilt es zunächst das grundlegende Assemblierungsverhalten von Porphyrin-Peptidamphiphilen für die Evaluation des molekularen Designs, bestehend aus Zn(II)-Porphyrin,  $\beta$ -Faltblatt-induzierender Triphenylalanin ( $F_3$ )-Peptidsequenz und terminalen solubilisierenden Methoxy-Polyethylenglycol (mPEG)-Gruppen, bezüglich der Ausbildung anisotroper Strukturen und derer Stabilität zu untersuchen. Temperatur- und konzentrationsabhängige Messungen der Assemblierungskinetik sollen Aufschluss über Aspekte komplexen Selbstassemblierungsverhaltens liefern, vor allem in Bezug auf strukturelle Anpassungen von Peptidsequenz und mPEG. *Coarse-grained*-Simulationen  $C_4$ -symmetrischer Monomer-Modelle sollen zudem bei der Aufklärung beobachteter Phänomene im Zusammenhang kinetischer Zustände helfen.

Mit dem Vorsatz der Entwicklung eines pH-responsiven Porphyrin-Peptidamphiphils soll in Kapitel 4 die Triphenylalanin-Sequenz mit Glutaminsäure modifiziert und anschließend die Selbstassemblierung zu Nanofilamenten in Abhängigkeit von Temperatur und pH-Wert untersucht werden. Dabei wird sich dem Ziel angenommen, pH-Responsivität als möglichen Zugang zu reversibler Schaltbarkeit zwischen Monomer- und Polymerzustand zu nutzen.

In Kapitel 5 soll das zentrale Porphyrin-Motiv überarbeitet werden, um auf Basis der in Kapitel 3 vorgestellten Peptidsequenzen den Einfluss von Pd(II) gegenüber Zn(II) als Zentralatom auf die Selbstassemblierung untersuchen zu können. Die Betrachtung von Morphologie und Stabilität entstehender Nanostrukturen soll dem Zweck dienen, kritische Aspekte und zugrunde liegende Phänomene des supramolekularen Polymerisationsprozesses von Monomeren auf Basis von Pd(II) zu beleuchten.

Abschließend widmet sich Kapitel 6 dem Vorhaben supramolekularer Copolymerisation gegensätzlich geladener Porphyrin-Peptidamphiphile. Hierbei gilt es zunächst den pH-vermittelten Aufbau von Nanostrukturen einzelner Monomere in Abhängigkeit struktureller Änderungen der Peptidsequenz zu charakterisieren. Die ladungskontrollierte Mehrkomponenten-Selbstassemblierung über die stöchiometrische Kombination der komplementären Bausteine soll im Hinblick auf die Kontrolle von Eigenschaften supramolekularer (Co-)Polymere untersucht werden.

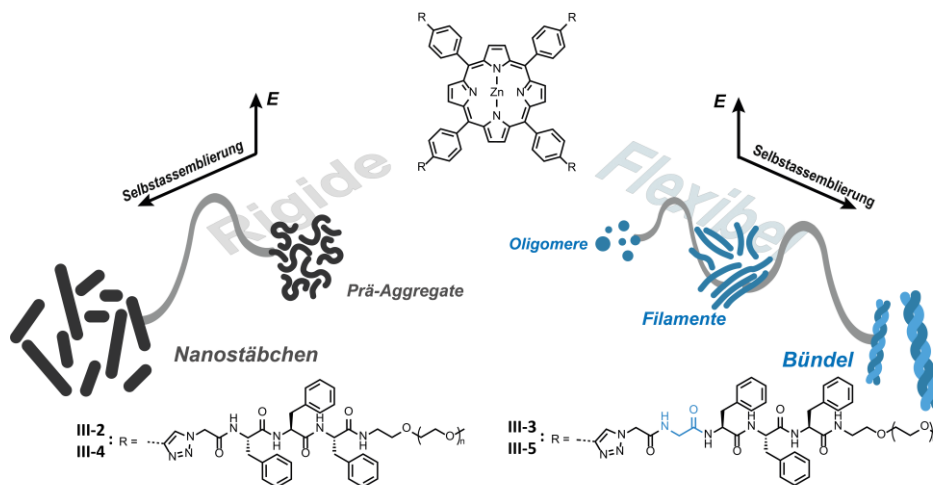


---

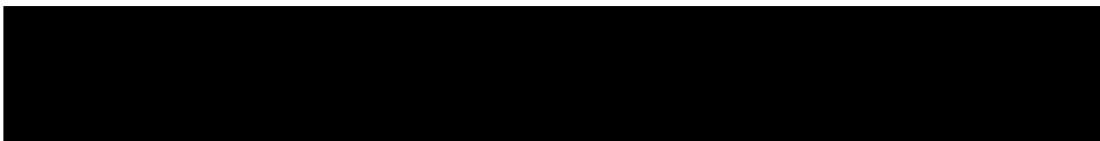
## Kapitel 3

# Synthese und Selbstassemblierung wasserlöslicher Porphyrin-Peptidamphiphile

---



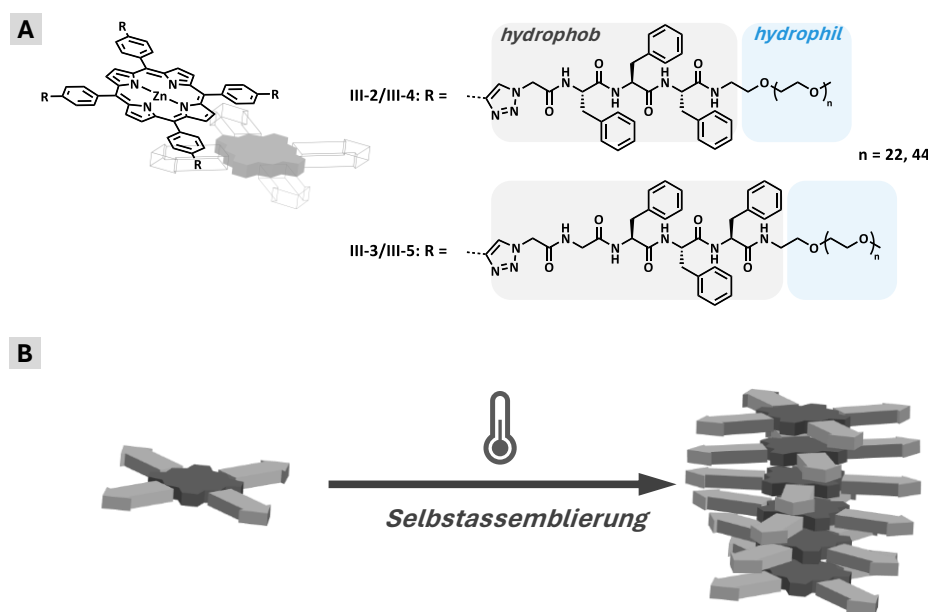
Dieses Ergebniskapitel ist eine erweiterte Version von:



### 3.1 Motivation und Konzept

Selbstassemblierende Porphyrin-basierter Materialien sind nicht nur im Hinblick auf mögliche Anwendungen in Bereichen wie Sensorik, Katalyse oder Photovoltaik attraktive Bausteine.<sup>[211–213]</sup> Porphyrine stellen aufgrund ihrer optischen Eigenschaften und vor allem durch ihre einfache Funktionalisierbarkeit vielversprechende supramolekulare Ausgangsstoffe dar, die häufig bei der Entwicklung molekularer Systeme für den kooperativen Aufbau von Nanomaterialien zum Einsatz kommen. Eingangs konnte gezeigt werden, inwiefern Kooperativität in komplexem Assemblierungsverhalten resultieren kann, bei welchem neben thermodynamischen Polymerisationsprodukten auch kinetisch gebildete Spezies involviert sind.<sup>[12,54,55]</sup> Während die Rolle kinetischer Faktoren in diesem Kontext in den letzten Jahren evident geworden ist und die Steuerung eindimensionaler Selbstassemblierung über externe Stimuli umfassend untersucht werden konnte, gilt zuletzt ein wachsendes Interesse der Beziehung aus molekularer Struktur und Eigenschaften beziehungsweise dem Auftreten von *pathway complexity*. Die Aufklärung solcher Sachverhalte setzt systematische Studien voraus und stellt auch in Anbetracht des mitunter hohen synthetischen Aufwands eine Herausforderung dar. Unter anderem lässt sich auf Beispiele wie aus den Gruppen um MEIJER oder TAKEUCHI blicken, in welchen sich der Thematik angenommen wurde und gezeigt werden konnte, dass marginale strukturelle Anpassungen des molekularen Designs weitreichende Folgen für den supramolekularen Polymerisationsmechanismus und die resultierenden Nanostrukturen haben können (siehe Kapitel 1.3).<sup>[22,25,92,136]</sup>

In Anlehnung an Arbeiten zu  $C_3$ -symmetrischen BTA-basierten Peptidamphiphilen, die sich unter anderem der kinetischen Betrachtung komplexer Selbstassemblierungsvorgänge widmen, soll nun die supramolekulare Polymerisation strukturell verwandter Zink(II)-Porphyrin-Peptidamphiphile in Wasser präsentiert werden.



**Abbildung 3.1:** **A:** Chemische Struktur der darzustellenden Porphyrin-Monomere mit unterschiedlichen peripheren Seitenarmen (**III-2/III-4:**  $GF_3$ ; **III-3/III-5:**  $G_2F_3$ ). **B:** Schematische Darstellung der in Wasser stattfindenden eindimensionalen Selbstassemblierung von Porphyrin-Peptidamphiphilen.

Im Hinblick auf die Darstellung anisotroper Nanostrukturen wird die symmetrische Konjugation amphiphiler  $\beta$ -Faltblatt-induzierender Triphenylalanin ( $F_3$ )-basierter Peptidamphiphile *via* Kupfer(I)-katalysierter Azid-Alkin-Cycloaddition (CuAAC) an Zink(II)-*meso*-Tetra(4-ethinylphenyl)porphyrin (**ZnTEPP**) angestrebt.

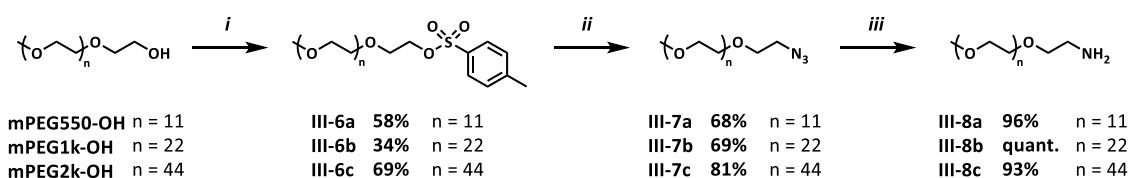
Anstelle dendritischer solubilisierender Einheiten wird dabei auf lineare Methoxy-Polyethylenglycol (mPEG)-Ketten zurückgegriffen, deren Einfluss auf Wasserlöslichkeit und Assemblierungsverhalten evaluiert werden soll. Ausgehend von einem punktuellen Unterschied der Peptidsequenz sollen anhand der optischen Eigenschaften der zentralen Chromophor-Einheit die Monomere **III-2** bis **III-5** eingehend hinsichtlich der Strukturformation über temperatur- und konzentrationsabhängige spektroskopische Untersuchungen charakterisiert werden. Mit der Entwicklung eines *coarse-grained*-Modells der  $C_4$ -symmetrischen Porphyrin-Peptidamphiphile nimmt man sich dem Ziel an, das Verständnis von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen für den kinetisch kontrollierten Aufbau eindimensionaler Nanomaterialien zu vertiefen.

## 3.2 Ergebnisse und Diskussion

Kapitel 3 beschreibt zunächst die konvergente Synthese einer Bibliothek wasserlöslicher Porphyrin-Peptidamphiphile. Anschließend wird die Fähigkeit der  $C_4$ -symmetrischen Monomere zur Selbstassemblierung mit besonderem Augenmerk auf kinetische Aspekte anhand spektroskopischer, mikroskopischer wie auch Simulations-basierter Daten diskutiert.

### 3.2.1 Synthese der Porphyrin-Peptidamphiphile III-1 bis III-5

Um die überwiegend hydrophoben Porphyrin- und Peptid-Bindungsmotive für wässrige Anwendungen zugänglich zu machen, wurde die endständige Konjugation mit wasserlöslichem Polyethylenglycol unterschiedlichen Molekulargewichts ( $M_n = 550 \text{ g mol}^{-1}$ ,  $1000 \text{ g mol}^{-1}$ ,  $2000 \text{ g mol}^{-1}$ ) für die Evaluation ausreichender Wasserlöslichkeit in Betracht gezogen. In Zusammenarbeit mit [REDACTED] erfolgten die entsprechenden Syntheseschritte, begonnen bei der Darstellung der terminalen Einheiten **III-8a-c** gemäß literaturbekannter Syntheseprotokolle nach HARRIS, SVEDHEM sowie PARK *et. al.*, ausgehend von kommerziell erhältlichem Methoxy-Polyethylenglycol (mPEG-OH) (Abbildung 3.2).<sup>[214-217]</sup>



**Abbildung 3.2:** Syntheseroute zur Darstellung von Methoxy-Polyethylenglycolamin (**III-8a-c**). **i:** mPEG-OH (1,0 Äq.),  $\text{NEt}_3$  (3,0 Äq.), TsCl (3,0 Äq.), DCM,  $0^\circ\text{C} \rightarrow 25^\circ\text{C}$ , 16 h; **ii:** **III-6** (1,0 Äq.),  $\text{NaN}_3$  (5,0 Äq.), DMF,  $70^\circ\text{C}$ , 18 h; **iii:** **III-7** (1,0 Äq.), Pd/C (10 w/w%),  $\text{NH}_3$  (7 M in MeOH),  $\text{H}_2$ , MeOH,  $25^\circ\text{C}$ , 24 h.

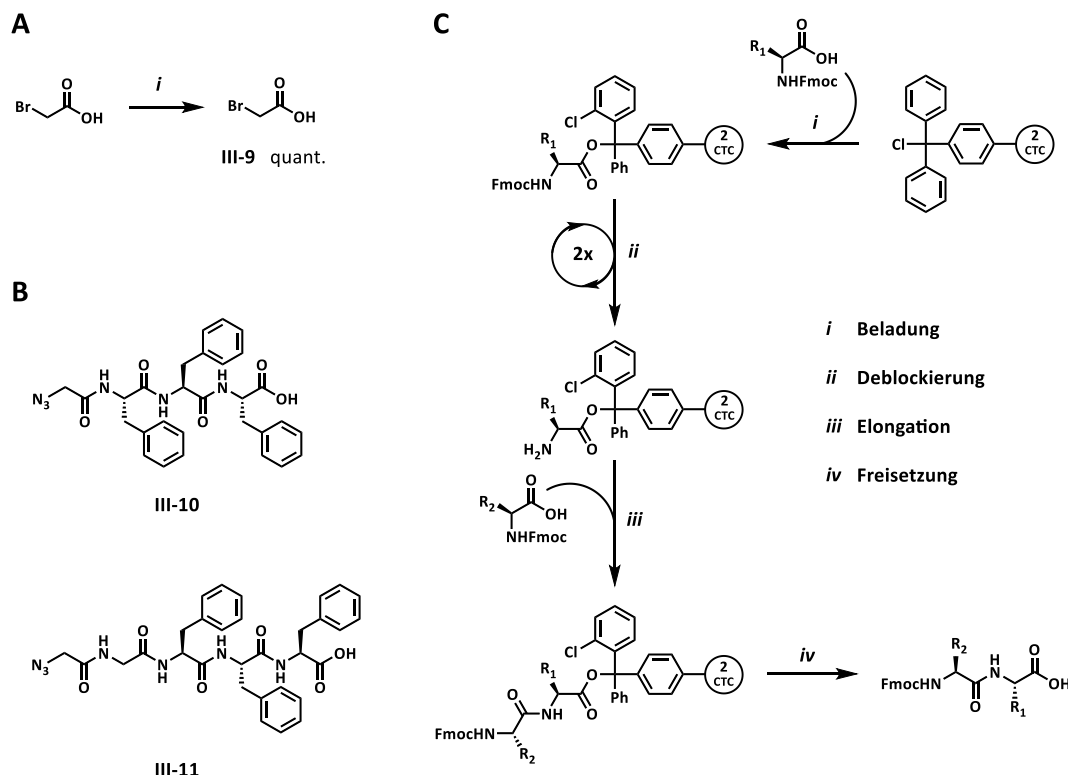
Initial wurde die endständige Hydroxygruppe der mPEG-Derivate unter basischen Bedingungen in das entsprechende Tosylat (**III-6a-c**) umgesetzt, welches aufgrund der elektronenziehenden Eigenschaft eine gute Abgangsgruppe darstellt und den Zugang zu der darauffolgenden Umsetzung mit Natriumazid erstellt. Dabei verhielt sich **III-6b** bei der Aufarbeitung als Amphiphil, wodurch die mehrmalige Extraktion notwendig war und zu einer geringeren Ausbeute von 34%, verglichen mit jenen für **III-6a** (58%) und **III-6c** (69%) führte. Vergleichbares Verhalten der entsprechenden Azid-Spezies (**III-7a-c**) konnte nicht beobachtet werden, was sich auch in den durchweg akzeptablen Ausbeuten jenseits 68% widerspiegelt. Nach erfolgreicher Umsetzung in die entsprechenden Azid-Homologe und deren Aufarbeitung erfolgte die Hydrierung hin zu den primären Amin-Derivaten (**III-8a-c**) über eine modifizierten Synthesevorschrift nach SAJIKI *et. al.* als Alternative zur gängigeren Reduktion unter STAUDINGER-Bedingungen. Letztere erfolgt üblicherweise unter Verwendung von Triphenylphosphin unter Ausbildung eines intermediären Phosphazens in wässriger Lösung, wobei für die Darstellung primärer Amine Dimerisierungen als Nebenreaktionen auftreten können.<sup>[218,219]</sup> Entsprechend fand die alternative Umsetzung heterogen unter Pd/C-Katalyse und Wasserstoff-Atmosphäre in Methanol statt. Der Zusatz an katalytischen Mengen methanolischer Ammoniak-Lösung dient dabei dem präventiven Gegenwirken potenzieller Hydrogenolyse, welche ebenfalls durch Pd/C katalysiert wird. Die Aufarbeitung der einzelnen Stufen umfasste das Extrahieren der Zielkomponente aus dem Reaktionsgemisch sowie das mehrmalige Waschen mit wässrigen Lösungen. Je nach Molekulargewicht der mPEG-Spezies kam die zusätzliche Gegenextraktionen der

wässrigen Phasen infrage. Insgesamt eignet sich das Syntheseprotokoll mitunter für Ansätze im mehrstelligen Gramm-Maßstab. Lediglich die heterogen katalysierte Reduktion sieht zum Abtrennen des Katalysators eine Filtration über Kieselgur vor, was jedoch auch mit entsprechenden Ansatzgrößen kompatibel ist.

Die Oligopeptide wurden mittels Festphasen-unterstützter Peptidsynthese (engl.: *solid phase peptide synthesis*, SPPS) nach MERRIFIELD unter Verwendung eines 2-Chlortritylchlorid (2CTC)-Harzes in Kombination mit *N*-terminal Fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc)-blockierten Aminosäuren (AS) hergestellt.<sup>[175,220–222]</sup> Das allgemeine SPPS-Protokoll unter Verwendung von Fmoc-Aminosäuren sieht zunächst die Beladung des Harzes unter basischen Bedingungen mit der *C*-terminalen Aminosäure, in diesem Fall Fmoc-L-Phenylalanin (Phe; F), vor, welche den Ankerpunkt der darauffolgenden Elongation hin zu den angestrebten Peptidsequenzen darstellt. Als Base hat sich hierfür *N,N*-Diisopropylethylamin (DIPEA) etabliert, welche entsprechend zum Einsatz kam. DIPEA zeichnet sich zum einen durch die hervorragende Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln, vor allem aber durch eine hohe Basizität mit gleichzeitig nicht-nukleophilem Charakter aus. Diese Eigenschaft ist auf die sterische Abschirmung des Stickstoff-Zentrums durch zwei Isopropyl-Reste zurückzuführen, wodurch DIPEA nicht als konkurrierendes Nukleophil agieren kann.<sup>[223]</sup>

Auf die Beladung des Harzes folgte die Inaktivierung nicht-funktionalisierter Trityl-Gruppen durch Methanol, um der Entstehung von Nebenprodukten aufgrund sekundärer Initiation neuer Peptidketten vorzubeugen. Die Elongation des Peptid-Vorläufers folgt allgemein einem Zyklus aus aufeinanderfolgender Deblockierung der *N*-terminalen Funktion mit darauffolgender Anbindung der nächsten Fmoc-geschützten Aminosäure über Amidierung, bis hin zum gewünschten (Oligo-) Peptid. Das Entfernen von Fmoc findet hierbei standardmäßig Basen-katalysiert unter Verwendung von Piperidin in DMF (20 v/v%) statt. Piperidin abstrahiert das CH-azide Proton in 9-Position der Fluorenyl-Einheit, was die Entstehung eines intermediären Dibenzocyclopentadienyl-Anions zufolge hat. Dieses Carbamat zerfällt unter Decarboxylierung in das freie Amin der Peptidsequenz sowie Dibenzofulven und die regenerierte Base.<sup>[224–226]</sup> Die darauffolgende Amidierung wird durch das Kupplungsreagenz *O*-Benzotriazol-1-yl-*N,N,N',N'*-tetramethyl-uroniumhexafluorophosphat (HBTU) unter Zusatz von 1-Hydroxybenzotriazol (HOBt) und DIPEA als Base vermittelt. HBTU zählt aufgrund der geringen Racemisierungsrate und der Effizienz unter milden Reaktionsbedingungen zum Standardrepertoire der bei Festphasen-unterstützten Peptidsynthese verwendeten Reagenzien.<sup>[227]</sup> HOBt minimiert weiter das durch den Überschuss an Base vorhandene Risiko möglicher Racemisierung. Den letzten Baustein zur Fertigstellung der Oligopeptide **III-10** und **III-11** stellte 2-Azidoessigsäure (**III-9**) dar, einem nicht-kanonischen Derivat des Glycins (Gly, G), welches durch Umsetzen von 2-Bromessigsäure mit Natriumazid erhalten wurde (Abbildung 3.3 A). **III-9** ermöglicht die Anbringung der Seitenarme an das Porphyrin-Templat mittels Kupfer(I)-katalysierter Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC) im späteren Verlauf der Monomersynthese. Zusätzlich wird durch eine *N*-terminale Azid-Funktionalität die Deblockierung einer ansonsten vorhandenen Fmoc-Schutzgruppe umgangen und der Baustein kann unmittelbar nach Aufarbeitung verwendet werden. Nach erfolgreicher Erweiterung durch den Azid-funktionalisierten Baustein wurden die Oligopeptide unter sauren Bedingungen mittels Trifluoressigsäure (TFA) in Dichlormethan (50 v/v%) vom Trägermaterial abgespaltet. Nach Fällen aus einer Ether-Pentan-Mischung konnten beide Peptidsequenzen in sehr guten Ausbeuten (**III-10**: 82%, **III-11**: 93%) erhalten werden. Abbildung 3.3 B fasst die essenziellen Schritte der beschriebenen

Peptidsynthese nach dem Fmoc-Protokoll zusammen, die zur Darstellung der Peptidsequenzen **III-10** und **III-11** (Abbildung 3.3. C) durchlaufen wurden.



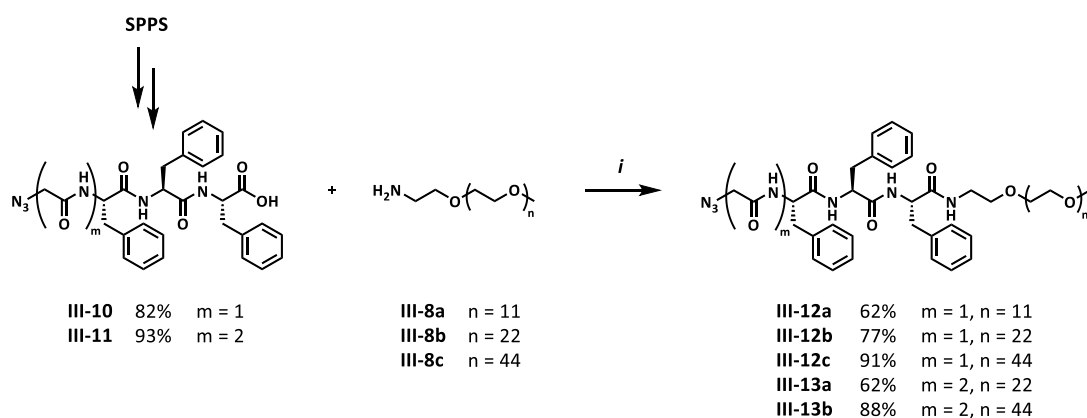
**Abbildung 3.3:** **A:** Synthese von 2-Azidoessigsäure (**III-9**). **i:** 2-Bromessigsäure (1,0 Äq.), NaN<sub>3</sub> (2,0 Äq.), H<sub>2</sub>O, 25°C, 18 h; **B:** Chemische Struktur der Oligopeptide **III-10** (N<sub>3</sub>GF<sub>3</sub>OH) und **III-11** (N<sub>3</sub>G<sub>2</sub>F<sub>3</sub>OH); **C:** Reaktionsfolge bei der Festphasen-unterstützten Peptidsynthese nach dem Fmoc-Protokoll. **i:** 2-CTC Harz (1,0 Äq.), Fmoc-AS1 (2,0 Äq.), DIPEA (5,0 Äq.), DCM, DMF, 25°C, 1 h; **ii:** Piperidin (20 v/v%), DMF, 25°C, 2 x 20 min; **iii:** Fmoc-AS2 (4,0 Äq.), HBTU (4,0 Äq.), HOBT (4,0 Äq.), DIPEA (6,0 Äq.), DMF, 25°C, 1 h; **iv:** TFA (50 v/v%), DCM, 25°C, 3 x 1 h.

Nach erfolgreicher Herstellung der molekularen Einzelteile folgte die Zusammenführung der Komponenten hin zu den amphiphilen Seitenketten. Dabei wurde sich einem konventionellen Amidierungs-Protokoll bedient, welches standardmäßig innerhalb der Arbeitsgruppe zum Einsatz kommt. Anstelle von HBTU wie im vorausgegangenen Beispiel zur SPPS, wurde jedoch Benzotriazol-1-yloxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) in Kombination mit HOBT und DIPEA in DMF eingesetzt. PyBOP zeigt schneller Reaktionszeiten verglichen mit HBTU, was auf die Bildung eines Phosphorsäuretriamids als Triebkraft zurückgeführt werden kann. Weiter zeigt PyBOP eine bessere Löslichkeit, wodurch in höheren Konzentrationen zur Steigerung der Effizienz gearbeitet werden kann.<sup>[228]</sup>

Die Kupplung stellt einen der Schlüsselschritte des Syntheseprozesses dar, bei dem die Effizienz der Reaktion durch Arbeiten in hoch konzentrierter Lösung an der Grenze der Löslichkeit der Reaktanden stattfindet. Hierbei besteht jedoch trotz additiver Zugabe von HOBT ein hohes Risiko basenvermittelter C-terminaler Epimerisierung des aktivierten endständigen Phenylalanins. Entsprechende Nebenprodukte würden sich durch zusätzliche Amid-Signale im Tieffeld-NMR identifizieren lassen, sind jedoch über herkömmliche Säulenchromatographie, geschweige denn Umkehrphasen Hochleistungsflüssigchromatographie (engl.: *reversed-phase high-performance-liquid chromatography*, RP-HPLC) nicht effektiv abzutrennen, wie bereits von [REDACTED]

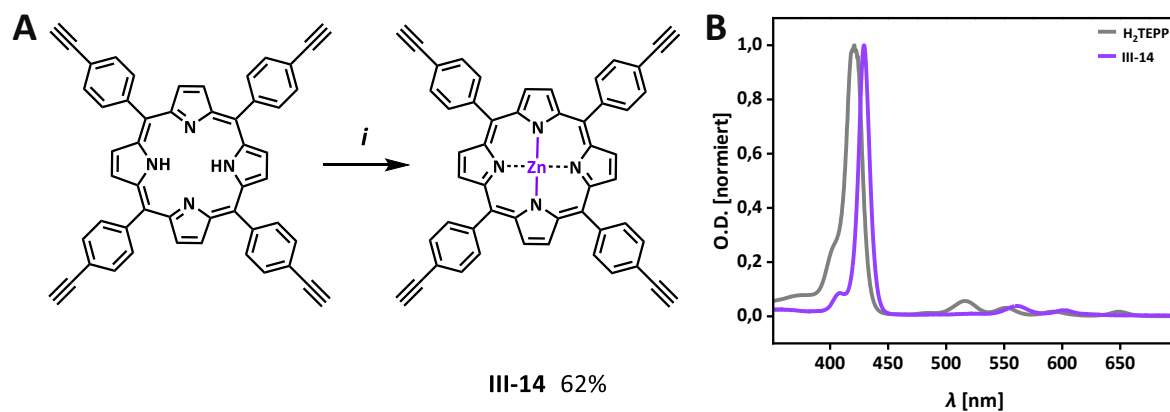
ausführlich aufgezeigt werden konnte.<sup>[229]</sup> Des Weiteren ist der Einfluss einer Kontamination mit epimerisierten Monomeren auf das Assemblierungsverhalten der späteren Zielmoleküle nicht einzuschätzen und sollte aufgrund möglicher konformationsbedingter Wechselbeziehungen grundsätzlich als nicht förderlich bewertet werden. Entsprechend Gegenmaßnahmen zielen auf die regulierte Basenzugabe ab. Zunächst wird ein ausreichend großes Zeitfenster für die Prä-Aktivierung unter Bildung des OBT-Aktivesters von etwa 15 Minuten gewählt. Weiter findet die Zugabe der Base unter Eiskühlung tropfenweise in Form einer verdünnten Lösung von DIPEA in DMF statt.

Die Aufarbeitung der Produkte erfolgte zunächst durch Größenausschlusschromatographie (engl.: *size exclusion chromatography*, SEC), was sich unter dem konvergenten Aspekt der Synthesestrategie anbietet. Das signifikante Ansteigen der Molekulargewichte der gekuppelten Spezies erlaubt so eine effektive Abtrennung der gewünschten Produkte vom Ausgangsmaterial. Zusätzlich wurden die Peptidamphiphile über präparative RP-HPLC aufgereinigt, um eine höchstmögliche Reinheit für die anschließenden Anbindung an das zentrale Porphyrin-Motiv zu gewährleisten. Insgesamt konnten die Seitenarme **III-12a-c** sowie **III-13a-b** mit Ausbeuten von bis zu 91% in hoher Reinheit erhalten werden (Abbildung 3.4).



**Abbildung 3.4:** Syntheseroute zur Darstellung der Peptidamphiphile **III-12a-c** und **III-13a-b**. **i:** **III-8** (1,0 Äq.), **III-10/III-11** (1,3 Äq.), PyBOP (1,5 Äq.), HOBT (1,5 Äq.), DIPEA (1,5 Äq.), DMF, 0°C → 25°C, 18 h.

Vor der Funktionalisierung mit den amphiphilen Seitenarmen wurde *meso*-Tetra(4-ethinylphenyl)porphyrin (**H<sub>2</sub>TEPP**) nach einer angepassten Vorschrift von ALY *et. al.*, welche einer Variation der ADLER-Methode zur Darstellung von Zn(II)-Porphyrin-Derivaten unter milden Reaktionsbedingungen entspricht, metalliert.<sup>[230,231]</sup> Das kommerziell erhältliche **H<sub>2</sub>TEPP** wurde hierfür in einer Mischung aus MeOH, DCM und Triethylamin mit Zn(OAc)<sub>2</sub> × 2 H<sub>2</sub>O umgesetzt. Diese spezifische Lösungsmittelmischung löst effektiv alle beteiligten Komponenten und besitzt einen niedrigeren Siedepunkt als das klassischerweise verwendete DMF nach Anweisung des ADLER-Protokolls. Terminale Alkin-Gruppen tolerieren die Reaktionsbedingungen, ohne eine Zersetzung oder die Entstehung von Nebenprodukten zu riskieren. Die Reaktionsmischung wurde entsprechend für mehrere Stunden unter Rückfluss auf etwa 70°C erhitzt, wobei der Umsatz des Ausgangsmaterials mittels UV/Vis-Spektroskopie durch Verschiebung des markanten Absorptionsmaximums nachvollzogen werden konnte. Typischerweise verschiebt sich das Signal der sogenannten Soret-Bande durch den Übergang von freier Base zum Zink(II)-Komplex von ursprünglich λ<sub>max</sub> ≈ 421 nm bathochrom hin zu λ<sub>max</sub> ≈ 430 nm, wie in Abbildung 3.5 B für die Reaktionskontrolle nach etwa 24 Stunden zu sehen ist.



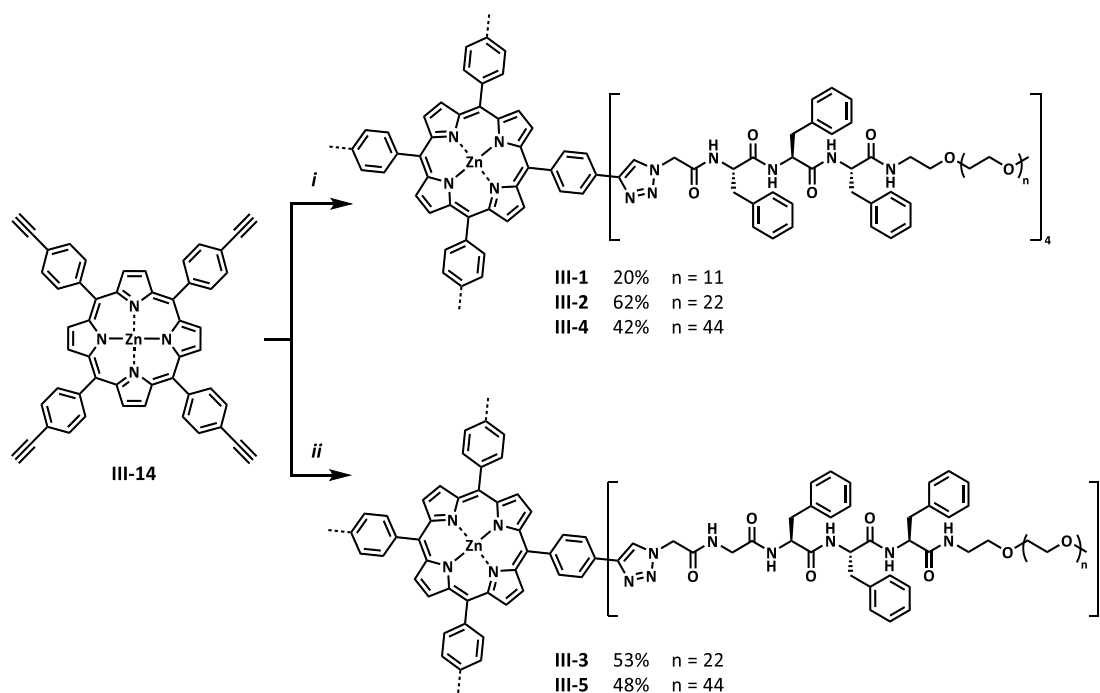
**Abbildung 3.5:** **A:** Synthese von Zn(II)-*meso*-Tetra(4-ethinylphenyl)porphyrin (**III-14**); **i:** H<sub>2</sub>TEPP (1,0 Äq.), Zn(OAc)<sub>2</sub> x 2 H<sub>2</sub>O (2,0 Äq.), NEt<sub>3</sub> (30,0 Äq.), MeOH, DCM, 60°C, 24 h; **B:** UV/Vis Spektrum von H<sub>2</sub>TEPP (grau) und **III-14** (violett) (DCM, T = 25°C).

Die Insertion von Zink(II) bietet sich aus vielerlei Hinsicht an. Zink(II)-Porphyrin-Komplexe lassen sich mit geringem synthetischen Aufwand herstellen, was unter anderem in der resultierenden *out-of-plane*-Konfiguration des Zentralatoms begründet liegt. Dabei ragt Zink(II) leicht aus der  $\pi$ -Ebene des Liganden hervor, was zwar einen nur kinetisch stabilen Zustand darstellt, den Komplex jedoch weitestgehend resistent gegenüber pH-Änderungen werden lässt und die innenliegenden Pyrrol-Stickstoffe maskiert.<sup>[232]</sup> Alternative Metallkationen, die nach ähnlichen optimierten Syntheseprotokollen inseriert werden könnten, wären beispielsweise Kupfer(II) oder Mangan(III). Diese bringen jedoch den Nachteil mit sich, dass eine Charakterisierung der Einzelkomponente sowie der späteren Monomere mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie aufgrund ihrer paramagnetischen Eigenschaften nicht stattfinden kann. Zuletzt ist die Metallierung ungeachtet der Natur des Metallkations vor der Kupfer(I)-katalysierten Kupplung durchzuführen, um die ungewollte Insertion der eingesetzten Kupfer(II)-Spezies zu vermeiden. Nach der vollständigen Insertion wurde der Überschuss an Zn(OAc)<sub>2</sub> durch zweifache Säulenchromatographie an SiO<sub>2</sub> abgetrennt, wodurch **III-14** in einer guten Ausbeute von 62% erhalten werden konnte.

Den letzten Schritt der Monomer-Synthese stellt die Kupfer(I)-katalysierte Alkin-Azid 1,3-Dipolare Cycloaddition (engl.: *copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition*, CuAAC) dar, welche auf SHARPLESS zurückgeht. Die CuAAC zählt zu einem Archetyp an Reaktionen, welche unter dem Begriff der Klick-Chemie (engl.: *click chemistry*) zusammengefasst werden. Die Bezeichnung entspringt der herausragenden Effizienz, Selektivität und Vielseitigkeit der entsprechenden Ansätze, unter welchen sich die CuAAC als einer der Goldstandards für den Aufbau modularer Konjugationsansätze etablieren hat.<sup>[233–239]</sup> Explizit mehrfach-Funktionalisierungen, welche mittels anderer, weniger universeller Methoden nur bedingt zugänglich sind und oft mit unterfunktionalisierten Nebenprodukten einhergehen, stellen eine besondere Anwendung für CuAAC dar. Die Konjugation der Peptidamphiphile fand unter Einsatz von stöchiometrischen Mengen an CuSO<sub>4</sub> x 5 H<sub>2</sub>O und einem Unterschuss an Tris[(1-benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin (TBTA) sowie einem leichten Überschuss an Natriumascorbat (engl.: *sodium ascorbate*, SA) in DMSO statt (Abbildung 3.6). CuSO<sub>4</sub> x 5 H<sub>2</sub>O liefert eine Quelle für die *in situ* Generierte Kupfer(I)-Spezies durch Natriumascorbat unter milden Konditionen. Die Kombination aus TBTA und SA stellt zudem eine Strategie dar, dem Zerfall von Kupfer(I) in Lösung entgegenzuwirken. Natriumascorbat selbst dient als Puffer um die unweigerlichen Oxidation von Cu(I) in Cu(II) abzufangen und gewährleistet das

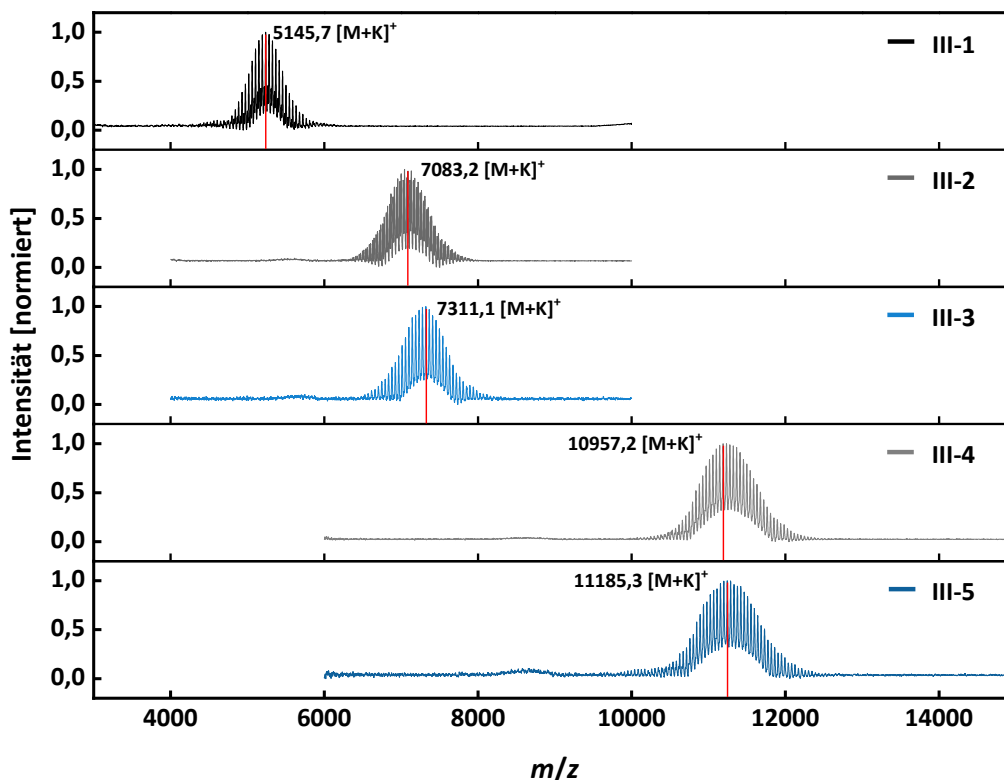
Vorhandensein aktiver Cu(I)-Spezies im Laufe der Reaktion. Des Weiteren stabilisiert TBTA als Ligand Cu(I) in Lösung. Einen entscheidenden Schritt stellt jedoch das Entgasen des verwendeten DMSO unmittelbar vor Stark der Reaktion dar.<sup>[240]</sup>

Nach Lösen aller Komponenten wurden die jeweiligen Ansätze bei 40°C gerührt, was, wie innerhalb der Arbeitsgruppe von [REDACTED] gezeigt werden konnte, die Reaktionsgeschwindigkeit stark erhöht, ohne die Dekomposition oder das Auftreten von Nebenreaktionen zu riskieren.<sup>[229]</sup>



**Abbildung 3.6:** Synthese der *meso*-substituierten Porphyrin-Peptidamphiphile III-1 bis III-5. i: III-14 (1,0 Äq.), III-12 (5,5 Äq.), CuSO<sub>4</sub> × 5 H<sub>2</sub>O (1,0 Äq.), TBTA (0,8 Äq.), Natriumascorbat (2,3 Äq.), DMSO, 40°C, 24 h; ii: III-14 (1,0 Äq.), III-13 (5,5 Äq.), CuSO<sub>4</sub> × 5 H<sub>2</sub>O (1,0 Äq.), TBTA (0,8 Äq.), Natriumascorbat (2,3 Äq.), DMSO, 40°C, 24 h.

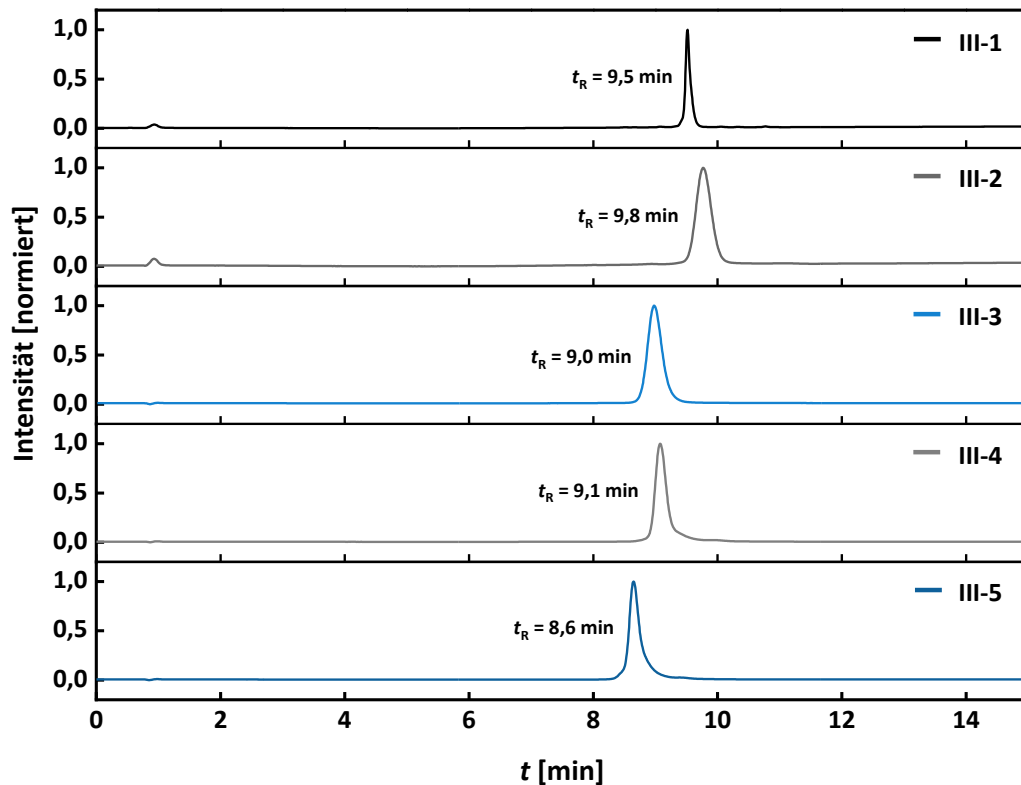
Aufgrund der starken Zunahme der Molekulargewichte, bedingt durch die vierfache Anbringung der amphiphilen Seitenarme, eignete sich eine massenspektrometrische Einschätzung des Reaktionsverlaufs mittels MALDI-ToF-MS (engl.: *matrix-assisted laser desorption/ionization time off light mass spectrometry*) (Abbildung 3.7). Bei der Betrachtung aller aufgenommenen Spektren von entnommenen Proben der Reaktionsmischungen nach 24 Stunden lassen sich weder Signale höherer, noch niedrigerer Massen-zu-Ladungs-Verhältnisse relativ derer der Zielverbindungen III-1 bis III-5 (III-1:  $m/z = 5145,7$  (Berechnung für  $[M+K]^+$ :  $m/z = 5145,4$ ); III-2:  $m/z = 7083,2$  (Berechnung für  $[M+K]^+$ :  $m/z = 7082,6$ ); III-3:  $m/z = 7311,1$  (Berechnung für  $[M+K]^+$ :  $m/z = 7310,7$ ); III-4:  $m/z = 10957,2$  (Berechnung für  $[M+K]^+$ :  $m/z = 10956,9$ ); III-5:  $m/z = 11185,3$  (Berechnung für  $[M+K]^+$ :  $m/z = 11185,0$ )) beobachten.



**Abbildung 3.7:** MALDI-MS Spektren der Reaktionskontrollen zur Darstellung von **III-1** bis **III-5**, aufgenommen im Bereich zwischen 3000 – 15000  $m/z$  (Matrix: DCTB+KTFA, linear-positiver Modus).

Vor allem das nicht-Vorhandensein untersubstituierter Spezies lässt die Schlussfolgerung einer weitestgehend vollständigen Funktionalisierung innerhalb der verstrichenen Reaktionszeit zu. Bekräftigt wird diese Annahme durch das Phänomen, dass die Ionisierbarkeit von Makromolekülen in der Regel mit zunehmendem Molekulargewicht abnimmt und niedermolekulare Nebenprodukte somit markant in einem nicht-proportionalen Verhältnis sichtbar wären.

Es folgte die Aufarbeitung aller Monomere nach dem gleichen Ablauf. Überschüssige Peptidamphiphile sowie die niedermolekularen Reaktanden wurden mittels Größenausschlusschromatographie (BioBeads™, S-X1, DMF) abgetrennt, gefolgt von der Aufreinigung über präparative RP-HPLC. Dabei wurde mit einem Gradienten aus einem zwei-Komponenten Gemisch aus Reinstwasser und Acetonitril gearbeitet. Acetonitril agiert als Wasserstoffbrückenakzeptor und unterbindet intermolekulare Wechselwirkungen der Peptidsequenzen untereinander. Die chromatographische Aufarbeitung in wässrigem Medium wird erst so ermöglicht, da durch den Zusatz an Acetonitril einer Assemblierung der Monomere entgegengewirkt und kolumnare Aggregate ab einem Volumenanteil von etwa 30 v/v% Acetonitril aufgelöst werden (siehe Abbildung 3.23). Abbildung 3.8 zeigt die RP-HPLC-Elugramme der Monomere **III-1** bis **III-5** nach semi-präparativer Aufreinigung und bestätigt die Reinheit der Verbindungen.



**Abbildung 3.8:** Analytische RP-HPLC Chromatogramme der Monomere **III-1** bis **III-5** nach Aufreinigung über präparative RP-HPLC (siehe 8.1.4, Methode A: Flussrate:  $1,0 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $\lambda = 430 \text{ nm}$ ).

Die finale Charakterisierung der Zielverbindungen erfolgte über  $^1\text{H-NMR}$  Spektroskopie, wie Abbildung 3.9 am Beispiel der Monomere **III-2** und **III-3** mit den unterschiedlichen Peptidsequenzen  $\text{GF}_3$  (**III-2**) und  $\text{G}_2\text{F}_3$  (**III-3**) veranschaulicht. Dabei wurden die jeweiligen Signale mittels zweidimensionaler homonuklearer Korrelationsspektroskopie (engl.: *correlation spectroscopy*, COSY) zugeordnet (nicht gezeigt). Besonders unter Zuhilfenahme des charakteristischen Signals der im Rahmen der 1,3-dipolaren Cycloaddition entstandenen Triazole bei  $\delta = 8,62 \text{ ppm}$  für **III-2** (Abbildung 3.9 oben) bzw.  $\delta = 8,78 \text{ ppm}$  für **III-3** (Abbildung 3.9 unten) kann die vollständige Funktionalisierung nachvollzogen werden.

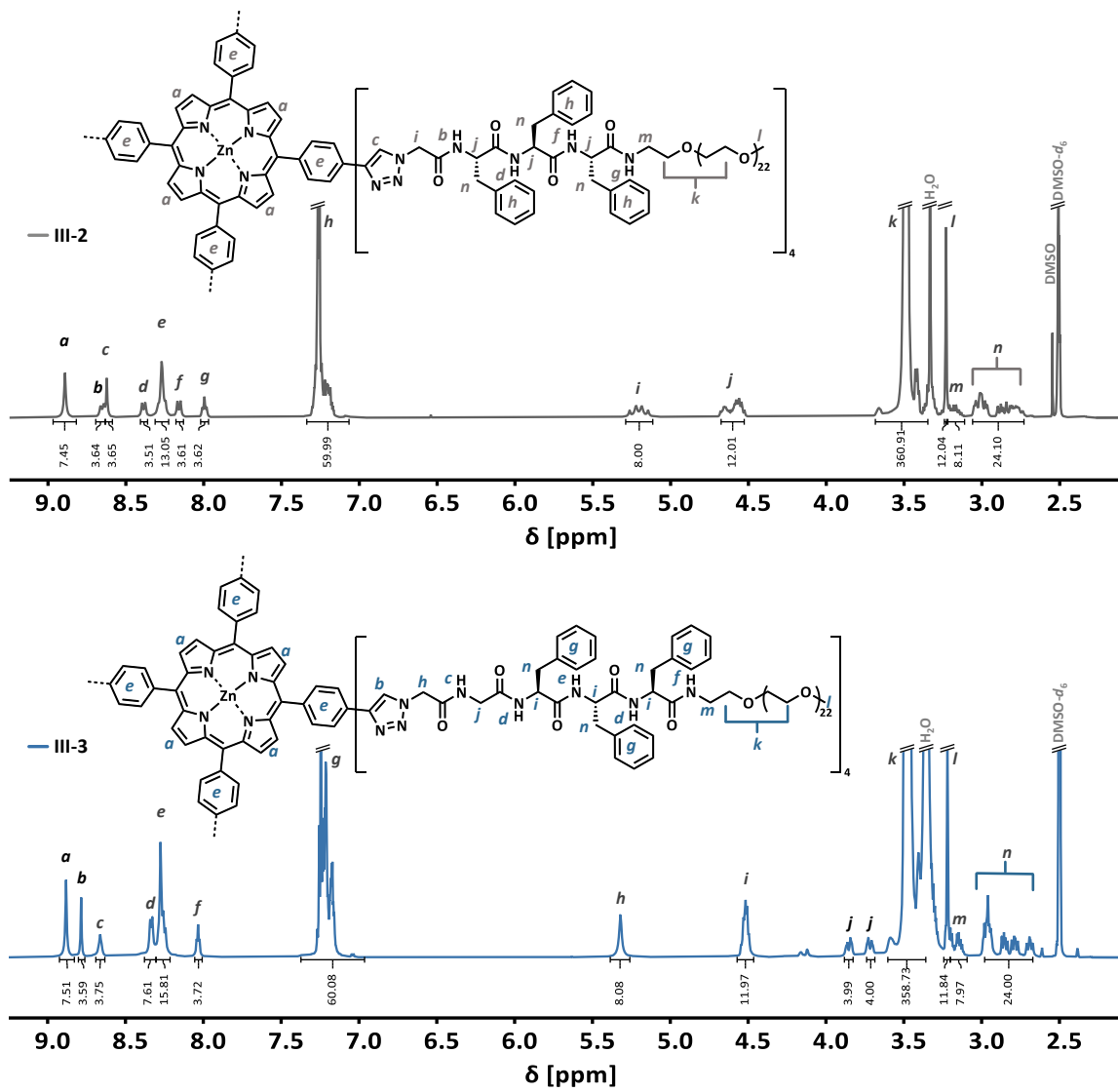
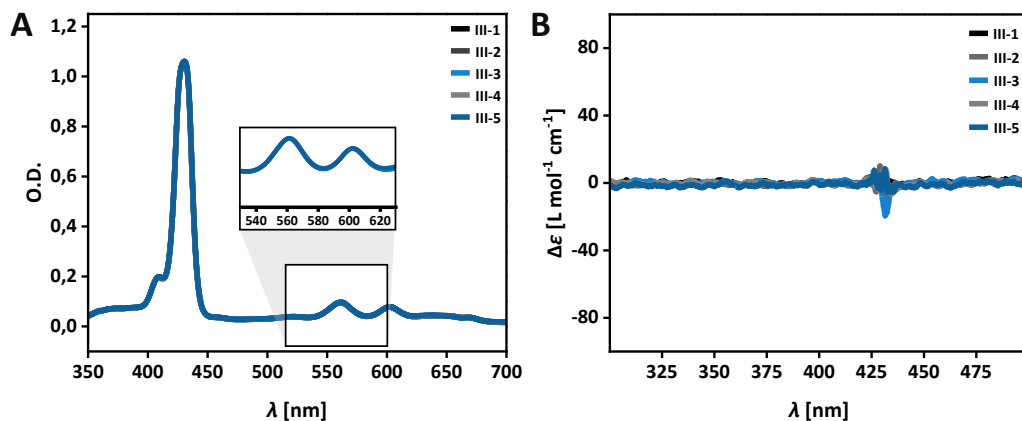


Abbildung 3.9: <sup>1</sup>H-NMR Spektren der Monomere III-2 (oben) und III-3 (unten) (DMSO-d<sub>6</sub>, T = 23°C).

### 3.2.2 Optische Eigenschaften von III-1 bis III-5 in verdünnter Lösung

III-1 bis III-5 sind im beobachteten Konzentrationsbereich zwischen  $c = 6 \times 10^{-6} \text{ M}$  und  $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$  gut löslich in DMF und liegen dabei nicht-aggregiert als freie Monomere vor. Letzteres liegt begründet in der starken Polarität und hohen Dielektrizitätskonstante vom DMF und der damit einhergehenden Eigenschaft, eine breite Vielfalt funktioneller Gruppen solvatisieren zu können. Neben der Assoziation an das Zink(II)-Metallzentrum erfolgt eine Sättigung der Wasserstoffbrückenbindungsstellen, welche DMF als Wasserstoffbrückenakzeptor wie auch -donor blockiert kann und somit intermolekularen, nicht-kovalenten Wechselwirkungen zum Aufbau eindimensionaler Überstrukturen auf Basis von Wasserstoffbrücken unterbindet. Die UV/Vis-Absorptionsspektren sind durch das für Porphyrine charakteristische Signalmuster mit dem stark vibronisch gekoppelten  $S_0 \rightarrow S_1$ -Übergang, repräsentiert durch die intensive SORET-Bande ( $\lambda_{\text{max}} = 430 \text{ nm}$ ) sowie den weniger intensiven Q-Banden ( $\lambda_{Q, \alpha} = 560 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{Q, \beta} = 601 \text{ nm}$ ) geprägt (Abbildung 3.10 A).



**Abbildung 3.10:** UV/Vis (A)- und CD (B)-Spektren der Monomere III-1 bis III-5 in DMF ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).

Beim Vergleich mit der spektroskopischen Signatur von III-14 (Abbildung 3.5 B) lassen sich keine offensichtlichen Veränderungen der Absorptionsmaxima beobachten. Der vernachlässigbar geringe Einfluss der Peptidamphiphil-Funktionalisierung auf die optischen Eigenschaften liegt in der Torsion der *meso*-Substituenten begründet und wurde bereits in der Literatur zu strukturähnlichen substituierten Porphyrinen erwähnt.<sup>[231]</sup> Eine Auflistung der Absorptionseigenschaften der einzelnen Monomere anhand ihrer individuellen Extinktionswerte ist im Anhang dieser Arbeit zu finden (siehe Anhang A: Tabelle A3.1).

Der intensive SORET-Übergang ist indikativ für den molekular gelösten Zustand und wird durch scharfe Signale im  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum in  $\text{DMF-}d_7$  sowie CD-inaktive Spektren in nahen UV-Bereich bestätigt (Abbildung 3.10 B).

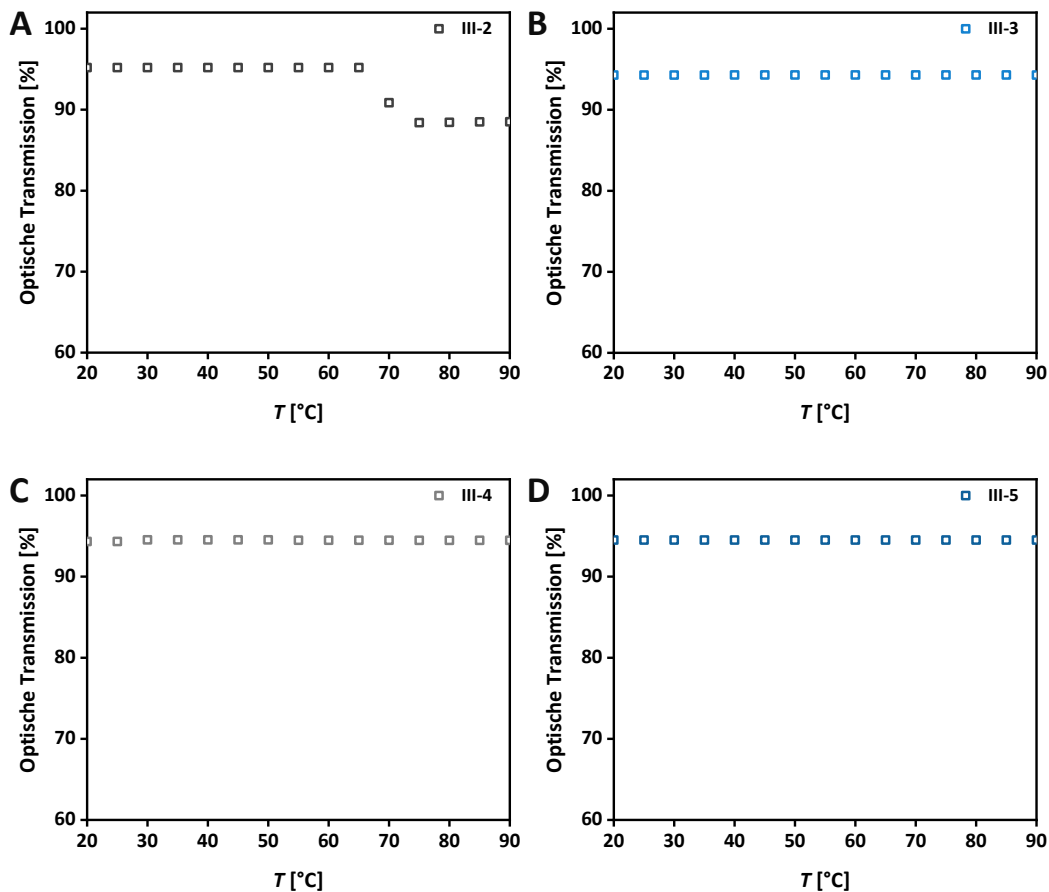
### 3.2.3 Löslichkeitsverhalten von III-1 bis III-5 in Wasser

Der Untersuchungen des Assemblierungsverhaltens der Porphyrin-basierten Peptidamphiphile vorangestellt was die Erprobung der Monomere bezüglich derer Wasserlöslichkeit in Abhängigkeit

PEG-Länge. Während **III-2** & **III-3** ( $M_w(\text{mPEG}) = 1000 \text{ g mol}^{-1}$ ) sowie **III-4** & **III-5** ( $M_w(\text{mPEG}) = 2000 \text{ g mol}^{-1}$ ) unmittelbar solvatisiert wurden, zeigte sich **III-1** ( $M_w(\text{mPEG}) = 550 \text{ g mol}^{-1}$ ) trotz der Behandlung mit Wärme und Ultraschall nahezu unlöslich. Bei den durchgeführten Tests ließen sich homogene Lösungen von **III-1** erst ab einem Zusatz von 30 v/v% Acetonitril beobachten (siehe Anhang A: Abbildung A3.6). Entsprechend beschränken sich die Studie zum Assemblierungsverhalten der Porphyrin-Peptidamphiphile in Wasser auf die Monomere **III-2** bis **III-5**.

Zuvor wurde der Frage nach dem Zusammenhang zwischen der Solvataion der neutralen Porphyrin-Peptidamphiphile in Wasser und möglicher Temperatureinflüsse nachgegangen, da Polyethylenglycol-Derivate zur Klasse wasserlöslicher Polymere zählen, für welche das sogenannte LCST-Verhalten (engl.: *lowest critical solution temperature*) dokumentiert und weitestgehend gut verstanden ist. Die LCST beschreibt die Temperatur, bei welcher ein reversibler Phasenübergang löslicher Polymere stattfindet. Zurückzuführen ist der Phasenübergang auf den bei hohen Temperaturen dominierenden Entropiebetrag der freien GIBBS Energie für den Mischvorgang zwischen Polymerketten und Lösungsmittelmolekülen. Als Konsequenz erfolgt oberhalb der LCST das Aufbrechen von Wechselwirkungen zwischen den Lösungsmittelmolekülen und der einzelnen PEG-Wiederholungseinheiten. Mit zunehmendem Freisetzen von Lösungsmittelmolekülen kollabieren die Polymerketten und erleben eine Separation zwischen flüssiger und Polymerphase. Dieser Übergang geht in der Regel mit einer sichtbaren Trübung der Lösung einher, weswegen in diesem Kontext die LCST oftmals über den sogenannten „cloud point“ charakterisiert wird. Die experimentelle Bestimmung erfolgt entsprechend über temperaturabhängige Messungen der Transmission einer zu untersuchenden Lösung.<sup>[241–250]</sup>

Das LCST-Verhalten von PEG-Konjugaten in Wasser ist abhängig vom Verhältnis hydrophiler zu hydrophober Anteile innerhalb des Moleküls. Am konkreten Beispiel der Monomere **III-2** bis **III-5** ist somit für die Monomere mit PEG höheren Molekulargewichts (**III-4** & **III-5**) auch eine höhere LCST zu erwarten. Entsprechend sind Bestimmungen des LCST-Verhaltens der Monomere im Vorfeld essenziell, um einen sinnvollen Temperaturbereich für wässrige Anwendungen zu definieren. Dabei ist das LCST-Verhalten freier unsubstituierter niedermolekularer PEG-Ketten bis zu einem durchschnittlichen Molekulargewicht von etwa  $M_w(\text{PEG}) = 1000 \text{ g mol}^{-1}$  in Wasser literaturbekannt. Beispielsweise ist für  $M_w(\text{PEG}) = 1000 \text{ g mol}^{-1}$  eine LCST von etwa  $97^\circ\text{C}$  zu erwarten, was aufgrund des Siedepunkts von Wasser zunächst irrelevant für temperaturabhängige Aggregationsstudien mPEG-dekorierter Supramoleküle scheint.<sup>[250]</sup> Über entsprechende Vergleichswerte Methoxy-substituierter Analoga ist in der Literatur jedoch bislang wenig bekannt. Anzunehmen ist ein, wenn auch nur marginaler, erniedrigender Einfluss auf das LCST-Verhalten durch die endständige Methoxy-Gruppe. Da zusätzlich aufgrund der Konjugation mit hydrophoben Porphyrin-Peptid-Segmenten eine Erniedrigung etwaiger thermoresponsiver Lösungseigenschaften zu erwarten ist, wurden LCST-Messungen über die Analyse der temperaturabhängigen Transmission durchgeführt ( $\lambda = 700 \text{ nm}$ , Heizrate:  $0,1^\circ\text{C min}^{-1}$ ). Abbildung 3.11 zeigt die Transmission-Verläufe der entsprechenden Messungen im Temperaturintervall von  $T = 20 - 90^\circ\text{C}$ .



**Abbildung 3.11:** Temperaturabhängige Transmissionsmessungen zur Bestimmung der LCST von **A: III-2**, **B: III-3**, **C: III-4** und **D: III-5** in H<sub>2</sub>O ( $\lambda = 700 \text{ nm}$ ,  $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ , Heizrate:  $0,1^\circ\text{C min}^{-1}$ ).

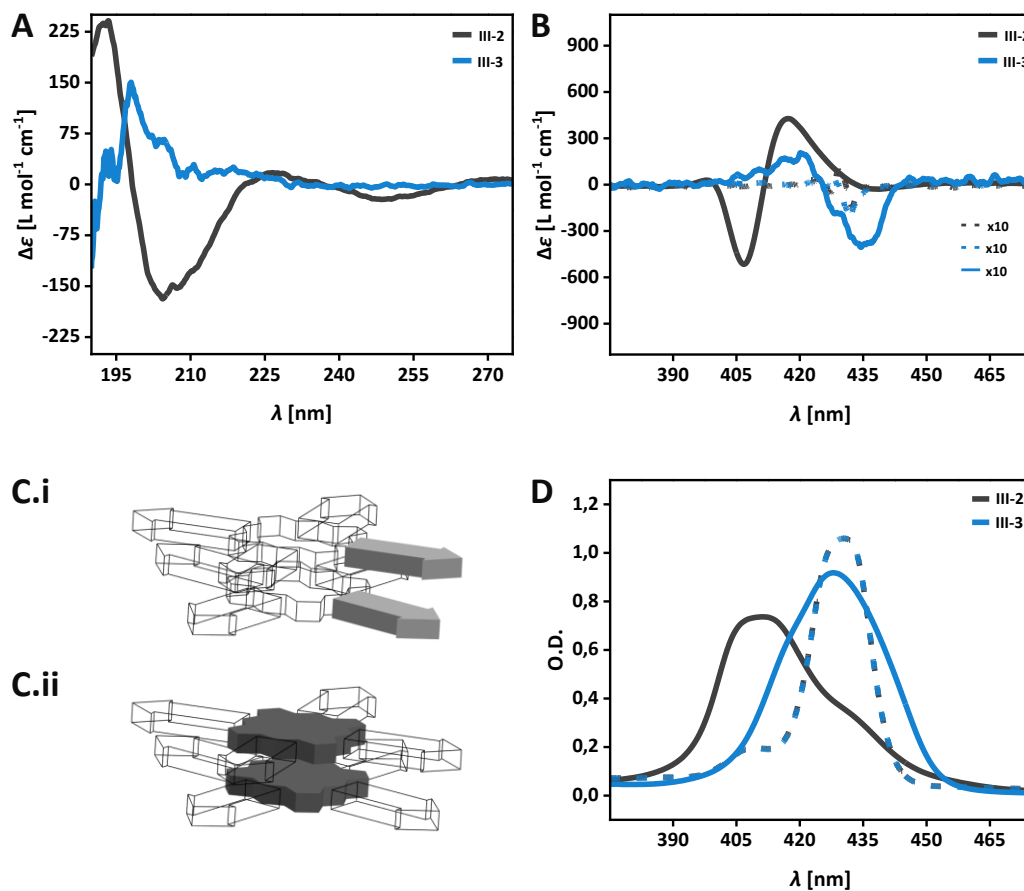
Hierbei lässt sich für die Monomere **III-3** bis **III-5** trotz der Konjugation an das hydrophobe Porphyrin-Peptid-Bindungsmotiv kein LCST-Verhalten bis  $T = 90^\circ\text{C}$  detektieren. Im Hinblick auf den hydrophoben Molekülteil scheint die Fähigkeit der Peptidsegmente, Wasserstoffbrücken mit den Wassermolekülen ausbilden zu können, dem erniedrigenden Effekt auf die LCST entgegenzuwirken. Lediglich **III-2** ( $\text{GF}_3 \text{ mPEG}^{1k}$ ) lässt ab einer Temperatur von  $T = 65^\circ\text{C}$  einen leichten Einbruch der optischen Durchlässigkeit beobachten, welcher sich über ein Temperaturintervall von  $10^\circ\text{C}$  erstreckt (Abbildung 3.11 A).

### 3.2.4 Selbstassemblierung von III-2 bis III-5 in Wasser

Die Selbstassemblierung der Porphyrin-Peptidamphiphile **III-2** bis **III-5** in Wasser wurde zunächst mithilfe spektroskopischer Methoden untersucht. Eindimensionale Aggregationsprozesse konjugierter Farbstoffe lassen sich typischerweise über UV/Vis- sowie Circular Dichroismus (CD)-Spektroskopie anhand der Verschiebung des Soret-Signals infolge der Ausbildung von H- und J-Aggregaten verfolgen. Zusätzlich geht die eindimensionale Aggregation symmetrischer Peptidamphiphile mit der intermolekularen Anordnung der Peptidsegmente einher, wobei die Ausbildung typischer Sekundärstruktur-Muster zur Echtzeit-Untersuchung anisotroper Assemblierungsvorgänge *via* CD genutzt werden kann (siehe Kapitel 1.3). Abbildung 3.12 C.i & C.ii zeigen eine vereinfachte Darstellung der zu untersuchenden Anordnungsvorgänge innerhalb der Porphyrin-Peptidamphiphile.

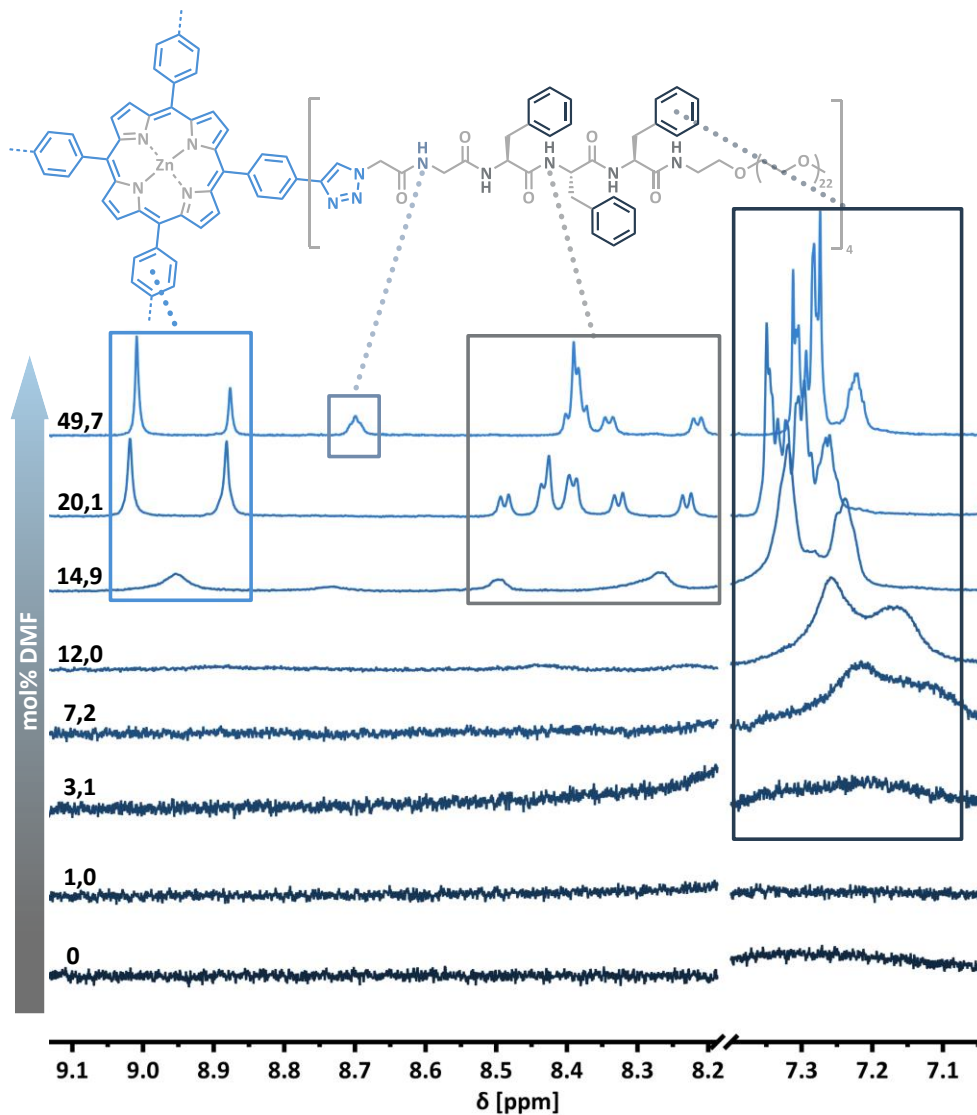
**III-2** ( $\text{GF}_3$ ) zeigt bei Raumtemperatur ( $T = 25^\circ\text{C}$ ) ein breites hypsochrom verschobenes Soret-Signal ( $\lambda_{\text{max}} = 410 \text{ nm}$ ) gegenüber dem Absorptionsmaximum der molekular gelösten Spezies in DMF ( $\lambda_{\text{max}} = 430 \text{ nm}$ ) (Abbildung 3.12 D). Korrespondierend zum Absorptionssignal zeigt das CD-Spektrum einen bisignaten COTTON-Effekt ((+)  $\rightarrow$  (-)) an (( $\lambda(+)$  = 417 nm,  $\Delta\epsilon = 428 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$   $\rightarrow$   $\lambda(-)$  = 407 nm,  $\Delta\epsilon = -516 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) (Abbildung 3.12 B, grau), und weist auf die Ausbildung bevorzugt rechtshändiger helikaler H-Aggregate hin.<sup>[124,251]</sup> Das CD-Spektrum im fernen UV-Bereich zwischen  $\lambda = 190 \text{ nm}$  und  $\lambda = 275 \text{ nm}$  bekräftigt die Annahme aufgrund des ausgeprägten negativen Signals ( $\lambda = 205 \text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = -172 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) für die Ausbildung einer  $\beta$ -Faltblatt-artigen Orientierung der Peptidsegmente als Konsequenz eindimensionaler Stapelung (Abbildung 3.12 A, grau).

Für **III-3** ( $\text{G}_2\text{F}_3$ ) lässt sich nach lösen in Wasser die Verbreiterung des Soret-Signals mit verminderter Intensität beobachten (Abbildung 3.12 D, blau), was auf Aggregationsereignisse schließen lässt, jedoch nicht die Zuordnung von Assemblierungsmustern zulässt. Das entsprechende CD-Spektrum zeigt nach 10-facher Intensitätsmultiplikation ein rauschintensives, schwach-negatives Exziton-Signal (Abbildung 3.12 B, blau:  $\lambda(-)$  = 435 nm,  $\Delta\epsilon = -40 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) sowie weitestgehende CD-inaktivität im fernen UV-Bereich (Abbildung 3.12 A, blau). Die Beobachtungen sprechen für die anteilige Assemblierung der Monomere in wenig geordnete Dimer-Spezies ausgehend von einer erkennbaren Schulter des Absorptionsmaximums ( $\lambda \approx 420 \text{ nm}$ ).



**Abbildung 3.12:** CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von **III-2** ( $\text{GF}_3\text{mPEG}^{1k}$ ) und **III-3** ( $\text{G}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{1k}$ ) in  $\text{H}_2\text{O}$  (durchgezogene Linie) und DMF (nicht-durchgezogene Linie) bei Raumtemperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ ); **C**: Schematische Darstellung der detektierten Peptid (**C.i**)- und Chromophor (**C.ii**)-Wechselwirkungen.

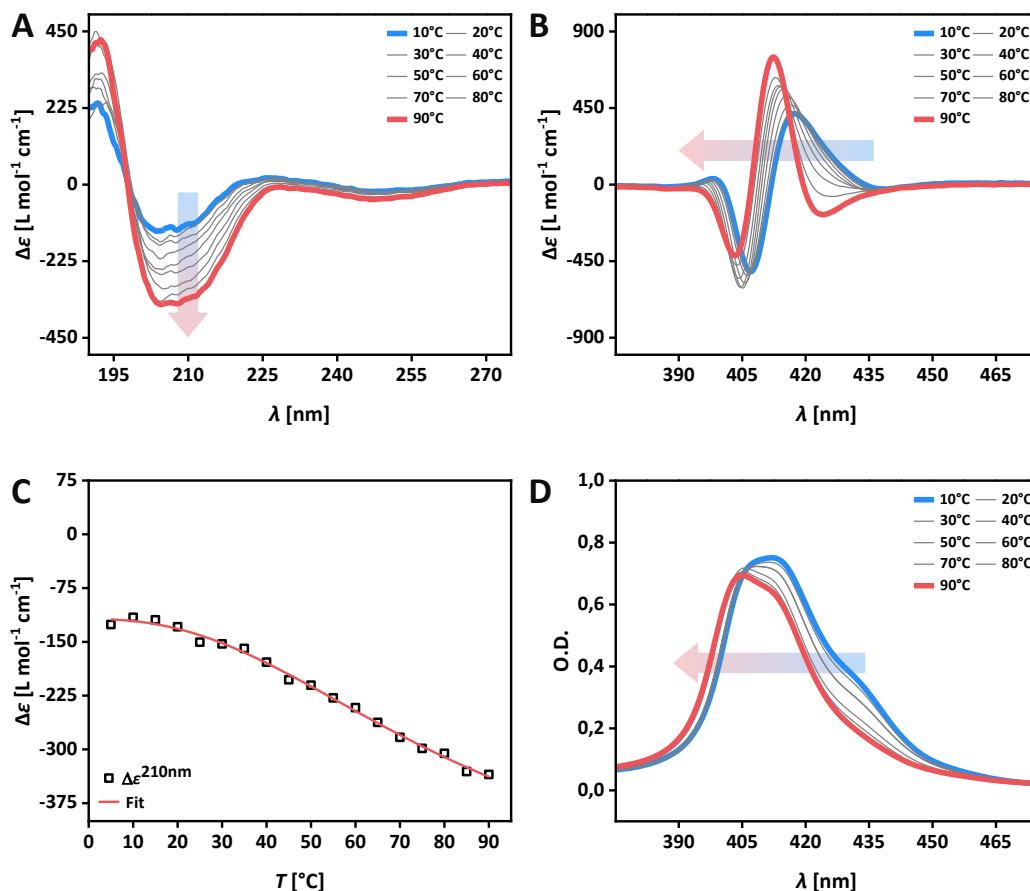
Offen bleibt die Frage möglicher intramolekularer Wechselwirkungen, welche die im Vergleich zu **III-2** vorhandene Elongationsbarriere für **III-3** rechtfertigen könnten. Mittels von [REDACTED] durchgeführter H<sub>2</sub>O-unterdrückter <sup>1</sup>H-NMR Experimente von 1 w/w%-iger Lösungen von **III-3** in unterschiedlichen molaren Verhältnissen von DMF-*d*<sub>7</sub> und H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O (9:1) wurde versucht, die Organisation von **III-3** in Wasser bei Raumtemperatur nachzuvollziehen (Abbildung 3.13). Dabei lassen sich für das Spektrum der reinen Wassermischung keine Signale neben der PEG-Wiederholungseinheiten erkennen. Einerseits haben hohe Molekulargewichte Einfluss auf Relaxationszeiten und können zu einer verminderten Signalintensität führen. Die vollständige Abwesenheit von Signalen legt jedoch vielmehr die Fixierung von Molekülsegmente in supramolekularen Überstrukturen nahe und bestätigt die Annahme von Prä-Organisation auf Grundlage der verbreiterten Soret-Bande (Abbildung 3.13 D).<sup>[252–256]</sup> Wie bereits erläutert stabilisiert DMF-*d*<sub>7</sub> den freien Monomierzustand. Durch die sukzessive Zugabe kann die Auflösung von Überstrukturen mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie verfolgt werden.



**Abbildung 3.13:** <sup>1</sup>H-NMR-Spektren 1 w/w%-iger Lösungen von **III-3** in unterschiedlichen molaren Verhältnissen von DMF-*d*<sub>7</sub> und H<sub>2</sub>O/D<sub>2</sub>O (9:1) (*T* = 25°C).

Ab einem Anteil von 3 mol% beginnen die Signale der Aryl-Protonen der Phenylalaninreste sichtbar zu werden (Abbildung 3.13, grau), während weitere Struktursegmente bis zu einem Anteil von 14,9 mol% verborgen bleiben. Die erscheinenden Signale ab 14,9 mol% DMF können sowohl den  $\beta$ -pyrrolischen Protonen, den Triazol-Protonen als auch den Amid-Protonen des Peptidrückgrats zugeordnet werden (Abbildung 3.13, dunkelblau) und deuten damit die Auflösung der Dimere an. Zuletzt erscheint das Triplett der mittleren Amid-Protonen des Diglycin-Linkers (Abbildung 3.13, hellblau) ab einem molaren Anteil von 49,7 mol% DMF-*d*<sub>7</sub>. ALY *et. al.* konnten für Konformations-Simulationen strukturverwandter Porphyrin-Peptid-Konjugate mit analoger Phenyl-Triazol-Diglycin-Sequenz eine scherenartige Anordnung der Seitenarme als energieärmste Konformation identifizieren.<sup>[231]</sup> Diese weist intramolekularer Wasserstoffbrückenbindungen der Peptidsegmente auf und scheint maßgeblich auf die Flexibilität des Diglycins zurückzuführen zu sein. Ähnliches scheint für **III-3** der Fall zu sein.

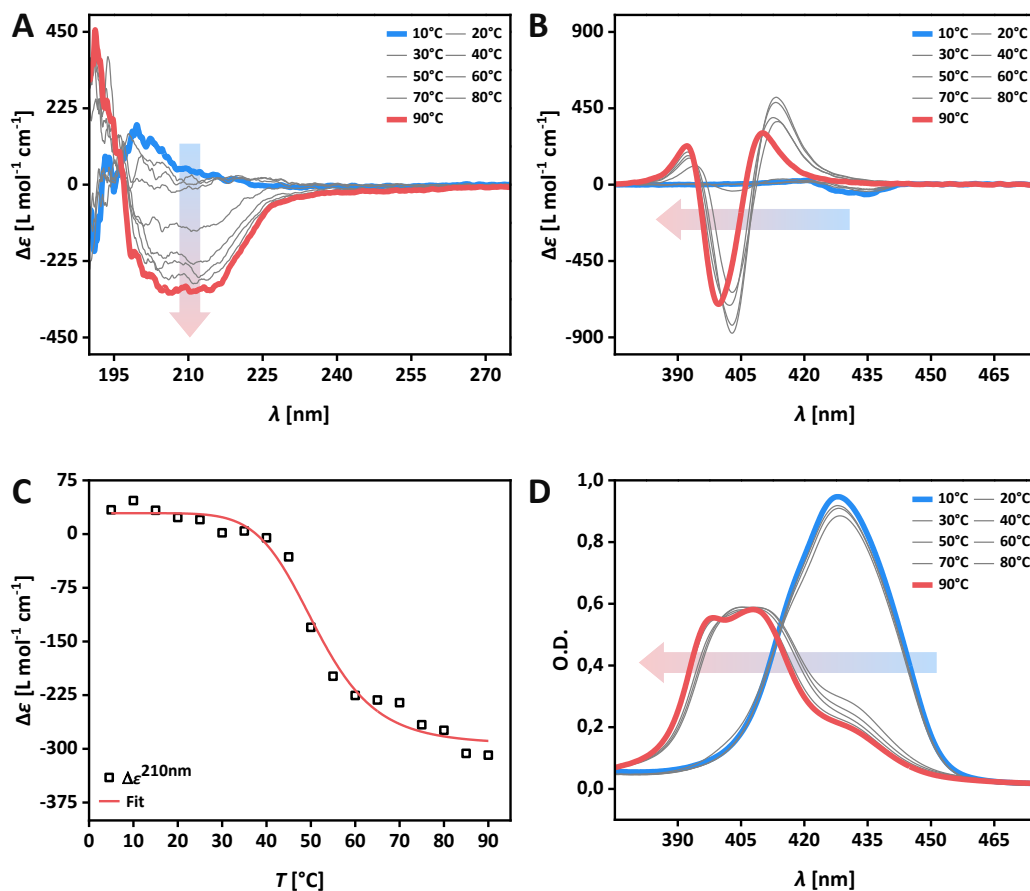
Die Untersuchung der Selbstassemblierung unter kinetischer Kontrolle ermöglicht die Identifikation kinetisch gefangenen beziehungsweise metastabiler Zustände. Anders als unter isothermen Bedingungen wird möglicher Nicht-Gleichgewichtszustände innerhalb zügiger Heizraten ( $1^\circ\text{C min}^{-1}$ ) die Relaxation durch Überwinden von Energiebarrieren im Bereich von  $k_B T$  und größer ermöglicht (siehe Kapitel 1.2).<sup>[55,257]</sup> Demnach wurde die Responsivität der gebildeten Überstrukturen von **III-2** und **III-3** in Abhängigkeit von Temperaturänderungen untersucht (Abbildung 3.14 & 3.15).



**Abbildung 3.14:** Temperaturabhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von **III-2** (GF<sub>3</sub>mPEG<sup>1k</sup>) in H<sub>2</sub>O; C: Auftragung des CD-Effekts bei  $\lambda = 210$  nm gegen die Temperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M).

Für **III-2** intensivieren sich durch die Temperaturerhöhung, die bei Raumtemperatur beobachteten Effekte. Das SORET-Signal unterliegt einer leichten Blauverschiebung ( $\lambda_{\max} = 404 \text{ nm}$ ) und die Schulter auf Höhe des Monomersignals ( $\lambda \approx 430 \text{ nm}$ ) verschwindet. Die Asymmetrie des Signals bleibt erhalten, wobei die Aufspaltung der SORET-Bande die Überlagerung zweier Signale andeutet (Abbildung 3.14 D).

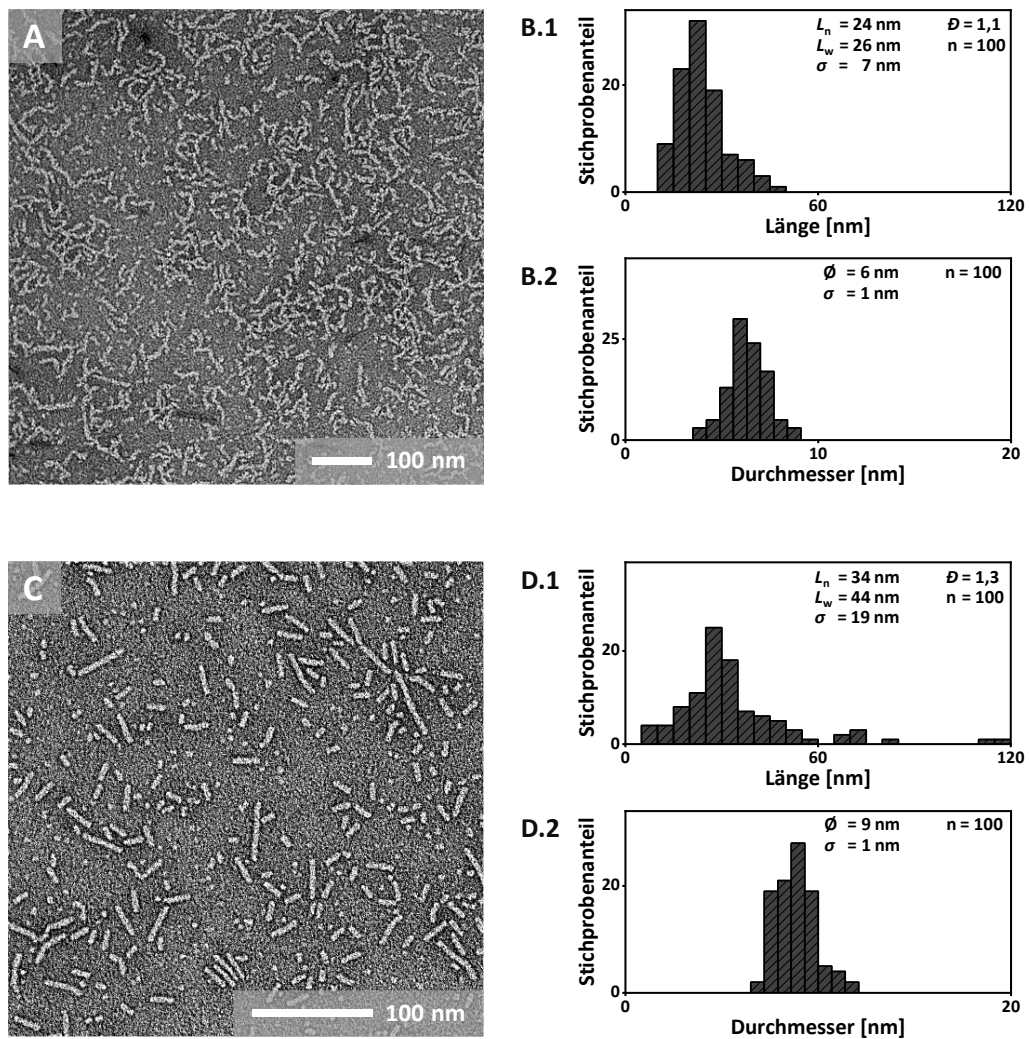
Parallel dazu ist die hypsochrome Verschiebung des COTTON-Effekts und die im kompletten Verlauf der Temperierung steigenden Signalintensität erkennbar (Abbildung 3.14 B: ( $\lambda(+)$ ) = 412 nm,  $\Delta\epsilon = 756 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-)$  = 403 nm,  $\Delta\epsilon = -423 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Die Exziton-Signale zeigen eine Intensitätsverschiebung zugunsten des positiven Maximums an, was die Aufspaltung des Absorptionssignals repräsentiert. Das Voranschreiten der Aggregation wird zudem durch das Signals des  $\beta$ -Faltblatt-artigen Strukturmotivs bestätigt (Abbildung 3.14 A,  $\lambda = 210 \text{ nm}$ ). Die Auftragung der Signalintensität bei  $\lambda = 210 \text{ nm}$  gegen die Temperatur verdeutlicht einen für  $T > 20^\circ\text{C}$  annähernd linearen Intensitätsanstieg über den kompletten Temperaturbereich (Abbildung 3.14 A & C). LCST-bedingte Entmischungseffekte sind wider Erwarten nicht zu beobachten. Dies könnte am relativen geringen Transmissionsabfall von 7% im Rahmen der durchgeführten LCST-Messungen liegen, welcher keinen effektiven Einfluss auf die spektroskopischen Messungen zu nehmen scheint (vgl. Abbildung 3.11 A). Kinetische Aspekte aufgrund der zügigen Heizrate könnten jedoch auch dazu führen, dass der betrachtete Zeitrahmen zu gering ausfällt, um Entmischungseffekte detektieren zu können.



**Abbildung 3.15:** Temperaturabhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von **III-3** (GF<sub>3</sub>mPEG<sup>1k</sup>) in H<sub>2</sub>O; C: Auftragung des CD-Effekts bei  $\lambda = 210 \text{ nm}$  gegen die Temperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ).

Die spektroskopische Betrachtung für **III-3** zeigt das Einsetzen von Aggregationsvorgängen für  $T > 40^\circ\text{C}$ . Am markantesten ist die plötzliche Blauverschiebung des SORET-Signals, welches bis  $T = 60^\circ\text{C}$  ein Maximum bei  $\lambda_{\text{max}} = 408 \text{ nm}$  aufweist und bis dahin mit der simultanen Ausbildung eines bisignaten COTTON-Effekts einhergeht ( $\lambda(+)=413 \text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = 517 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-)=403 \text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = -872 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) (Abbildung 3.15 B & D). Dies geht mit der Ausbildung einer ebenfalls  $\beta$ -Faltblatt-artigen Struktur einher (Abbildung 3.15 A). Die Auftragung des Maximums dieses charakteristischen Signals bei  $\lambda_{\text{max}} = 210 \text{ nm}$  gegen die Temperatur verdeutlicht den sprunghaften Übergang für  $T < 40^\circ\text{C}$ . Der Fit der Datenpunkte entspricht einer sigmoidalen Kurve und gibt anhand des Wendepunkts die Temperatur zum Erreichen eines 50%-igen Polymerisationsgrades an ( $T_{50} = 51,2^\circ\text{C}$ ). Der Effekt der Sekundärstrukturformation stimmt mit dem Verlauf der Signale stattfindender Chromophor-Interaktionen überein. Für das Temperaturintervall  $T < 60^\circ\text{C}$  ist eine weitere Blauverschiebung des Absorptionssignals mit weiter Aufspaltung der SORET-Bande zu erkennen, wobei ein unscharfer isosbestische Punkt ( $\lambda_{\text{iso}} \approx 414 \text{ nm}$ ) das Gleichgewicht zweier Zustände anzeigt. Zudem verändert sich die Ausprägung der jeweiligen positiven und negativen Anteile des COTTON-Effekts mit der Ausbildung eines weiteren positiven Maximums ( $\lambda(+)=410 \text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = 304 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-)=400 \text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = -705 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(+)=392 \text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = 233 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Das Faltungssignal im fernen UV-Bereich zeigt keine weitere übermäßige Intensivierung an und bildet den zweistufigen Übergang der Chromophor-Wechselwirkungen nicht ab. Die ausgebildeten Sekundärstrukturen scheinen demnach von der Neuordnung der Porphyrin-Arrangements entkoppelt zu sein.

Die erkennbaren Übergänge scheinen mit der Ausbildung überaus stabiler Überstrukturen in Verbindung zu stehen. Sowohl schrittweises als auch abruptes Abkühlen der Proben zeigt dabei keinen Einfluss auf das Absorptionsprofil CD-spektroskopischer Messungen (siehe Anhang A: Abbildung A3.8). Durch diese Eigenschaft eignen sich die entstehenden Suprastrukturen bestens für morphologische Untersuchungen mittels Transmission Elektronen Mikroskopie. Über TEM wurden die einzelnen Aggregationsstufen visualisieren, um die Veränderungen des Absorptionsverhaltens auf etwaige strukturelle Übergänge der Nanoarchitekturen zurückzuführen. Hierfür wurden die gebildeten Überstrukturen in Lösung nach individueller Temperaturbehandlung auf einem kohlenstoffbeschichteten Kupferträger fixiert und zur Verstärkung der negativen Kontrastierung mit Uranylacetat (2 w/w%) inkubiert. In Abbildung 3.16 und Abbildung 3.17 sind jeweils die verschiedenen Zustände von **III-2** (Abbildung 3.16) und **III-3** (Abbildung 3.17) vor (A) und nach (C) Temperaturbehandlung für einen direkten Vergleich gegenübergestellt.

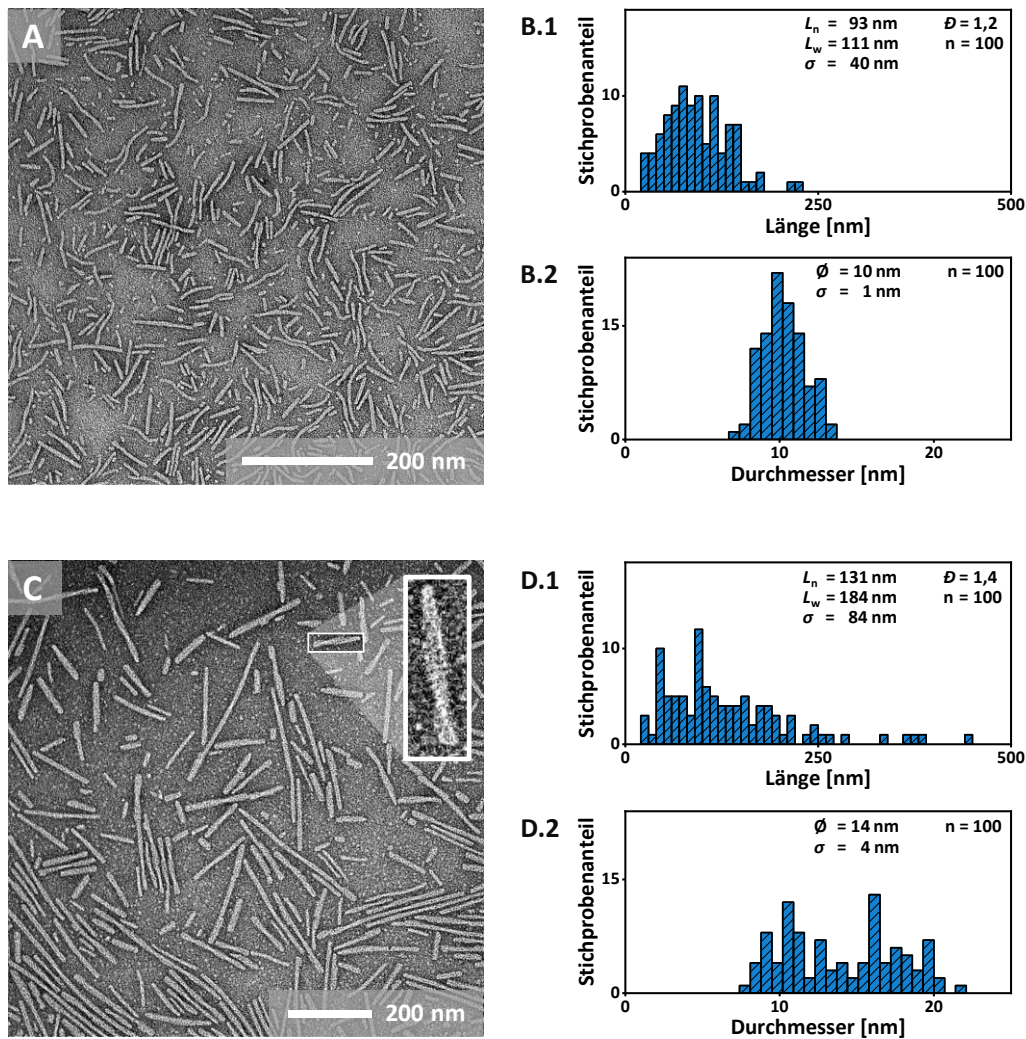


**Abbildung 3.16:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von **III-2**; **A:** **III-2** nach Equilibrieren bei 25°C für 12 Stunden; **B:** Histogramm auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**B.1:** Längenhistogramm, **B.2:** Breitenhistogramm); **C:** **III-2** nach Temperieren bei 65°C für 3 Stunden; **D:** Histogramm auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**D.1:** Längenhistogramm, **D.2:** Breitenhistogramm) ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, H<sub>2</sub>O).

Für **III-2** lassen sich nach Inkubation bei  $T = 25^\circ\text{C}$  ( $t = 12$  h) diffuse, recht flexibel erscheinende Strukturen erkennen, welche aufgrund der unscharfen lateralen Abgrenzung als zylindrische Mizellen beschrieben werden können. Durch Temperierung bei  $T = 65^\circ\text{C}$  ( $t = 3$  h) lässt sich ein ausgeprägter struktureller Übergang hin zu klar abgegrenzten, rigiden, formanisotropen Nanostäbchen beobachten. Über Auszählung der eindimensionalen Aggregate lassen sich statistische Verteilungsparameter bezüglich Länge ( $L_n$ ,  $L_w$ ), Breite ( $\varnothing$ ) und Dispersität ( $D$ ) bestimmen, die sich für einen eingehenden Vergleich der unterschiedlichen Zustände heranziehen lassen (Abbildung 3.16 B & D). Wie durch die Veränderungen der spektroskopischen Signale erwartet, lässt sich ein Längenzuwachs durch Probenpräparation unter kinetischer Kontrolle feststellen. Die Dispersität erhöht sich leicht von  $D = 1,1$  auf  $D = 1,3$ , wobei in beiden Fällen von ungewöhnlich engen Verteilungen gesprochen werden kann. Die Werte der durchschnittlichen Breite liegen mit  $\varnothing = 6 \pm 1$  nm vor und  $\varnothing = 9 \pm 1$  nm nach Temperierung, im Bereich der über elektronische Kugel-Stab-Modelle bestimmten doppelten Radien für strukturanaloge C<sub>3</sub>-symmetrische Peptidamphiphile ( $r = 4,1$  nm).<sup>[229]</sup> Der erhöhte Durchmesser kann mit der thermisch

induzierten Desolvation der terminalen PEG-Ketten und einer damit verbundenen Phasenseparation begründet werden.

Die Untersuchungen von **III-3** lassen einen zweistufigen Phasenübergang auf Grundlage der spektroskopischen Daten annehmen. Um die zeitliche Konstanz der Signale zu gewährleisten, wurden isothermische Intervallmessungen bei  $T = 40^\circ\text{C}$  ( $t = 12$  h) und  $T = 90^\circ\text{C}$  ( $t = 3$  h) durchgeführt. Dabei konnten die Zustände **I** ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{I}} = 408$  nm) und **II** ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{II}} = 398$  nm) unter den Messparametern als zeitlich stabil identifiziert werden (siehe Anhang A: Abbildung A3.9 bis Abbildung A.3.12). Dem entsprechend wurden die Proben zur mikroskopischen Analyse unter denselben Parametern präpariert.



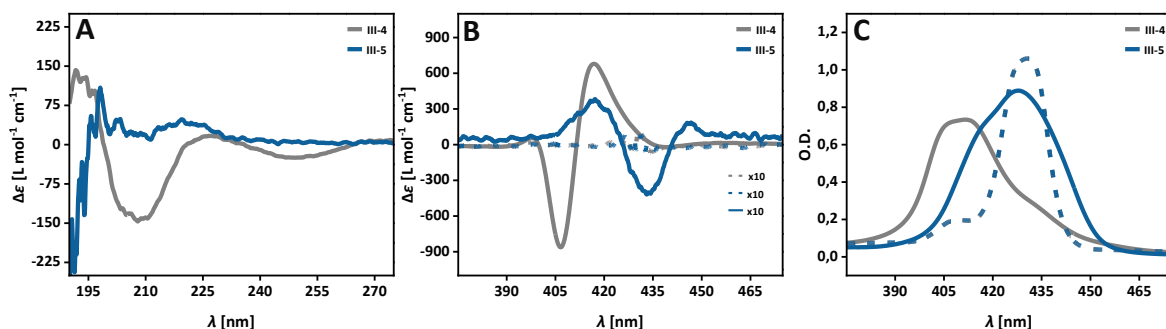
**Abbildung 3.17:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von **III-3**; **A:** **III-3** nach Equilibrieren bei  $40^\circ\text{C}$  für 12 Stunden; **B:** Histogramm auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**B.1:** Längenhistogramm, **B.2:** Breitenhistogramm); **C:** **III-3** nach Temperieren bei  $90^\circ\text{C}$  für 3 Stunden; **D:** Histogramm auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**D.1:** Längenhistogramm, **D.2:** Breitenhistogramm) ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M,  $\text{H}_2\text{O}$ ).

Zustand **I** erscheint in Form deutlich isolierter, eindimensionaler Fasern (Abbildung 3.17 A:  $L_n = 93 \pm 40$  nm) und unterscheiden sich in Form und Länge von den dargestellten Nanostrukturen von **III-2**. Mit einem Verteilungsindex von  $D = 1,2$  und einem mittleren Durchmesser von  $\varnothing = 10 \pm 1$  nm korrelieren die Ergebnisse von **III-3** mit den ermittelten Werten für **III-2** und erscheint somit plausibel. Nach Erwärmen auf  $90^\circ\text{C}$  lässt sich neben der erhöhten Dispersität von  $D = 1,4$  eine

signifikante Zunahme der durchschnittlichen Länge ( $L_n = 131 \pm 84$  nm) und Breite ( $\varnothing = 14 \pm 4$  nm) feststellen. Zustand **II** beschreibt die helikale Fibrillierung der unter Zustand **I** charakterisierten 1D-Filamente zu doppelsträngigen Bündeln (Abbildung 3.17 C, *inset*).

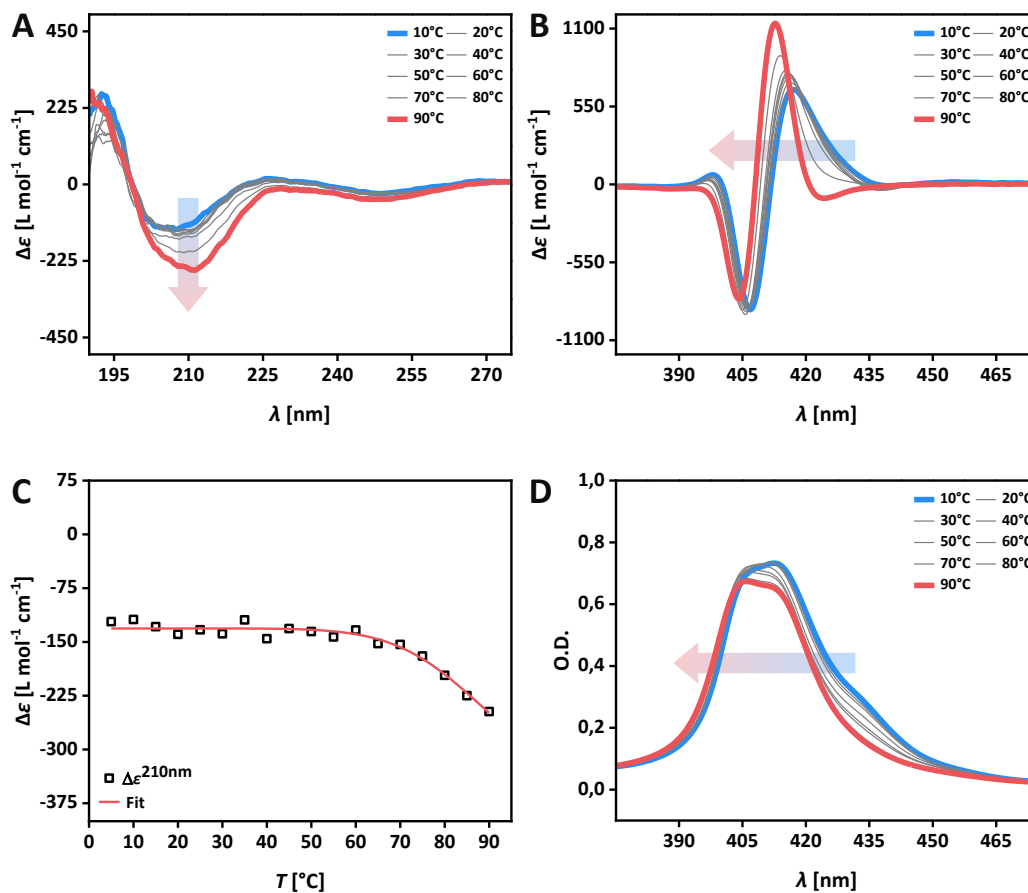
Die beachtlichen Unterschiede im Aggregationsverhalten von **III-2** und **III-3** scheinen in erster Linie auf den strukturellen Unterschied der Peptidsequenz zurückzuführen zu sein. Dennoch ist im Kontext temperaturbedingter Änderungen in Spektroskopie und Mikroskopie der Einfluss der potenziell thermoresponsiven Polyethylenglycol-Einheiten zu evaluieren. Um die Befunde zum komplexen Polymerisationsverhalten der analysierten Peptidamphiphile zu verifizieren, wurden folglich die strukturanalogen Monomere **III-4** ( $\text{GF}_3\text{mPEG}^{2k}$ ) und **III-5** ( $\text{G}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{2k}$ ), welche mit terminalen mPEG-Ketten höheren Molekulargewichts ( $M_w(\text{mPEG}) = 2000$  g mol<sup>-1</sup>) versehen sind, nach dem gleichen Muster auf deren Selbstassemblierung überprüft.

Bei Raumtemperatur decken sich die Beobachtungen zu **III-4** und **III-5** mit denen von **III-2** und **III-3** und scheinen spezifisch für die jeweiligen Peptidsequenzen zu sein (Abbildung 3.18). **III-4** zeigt ausgeprägte Anzeichen stattfindender Strukturformation anhand des hypsochrom verschobenen Soret-Signals ( $\lambda_{\text{max}} = 410$  nm), des ausgeprägten bisignate COTTON-Effekt ( $\lambda(+)=417$  nm,  $\Delta\epsilon = 681$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>  $\rightarrow$   $\lambda(-)=407$  nm,  $\Delta\epsilon = -868$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) sowie der Ausbildung eines intensiven  $\beta$ -Faltblatt-artigen CD-Signals ( $\lambda_{\text{max}} \approx 209$  nm,  $\Delta\epsilon = -143$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). **III-5** hingegen lässt ähnlich zu **III-3** lediglich die Ausbildung von Dimeren und Prä-Aggregaten aufgrund der verbreiterten Soret-Bande zu.



**Abbildung 3.18:** CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von **III-4** ( $\text{GF}_3\text{mPEG}^{2k}$ ) und **III-5** ( $\text{G}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{2k}$ ) in  $\text{H}_2\text{O}$  (durchgezogene Linie) und DMF (nicht-durchgezogene Linie) bei Raumtemperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).

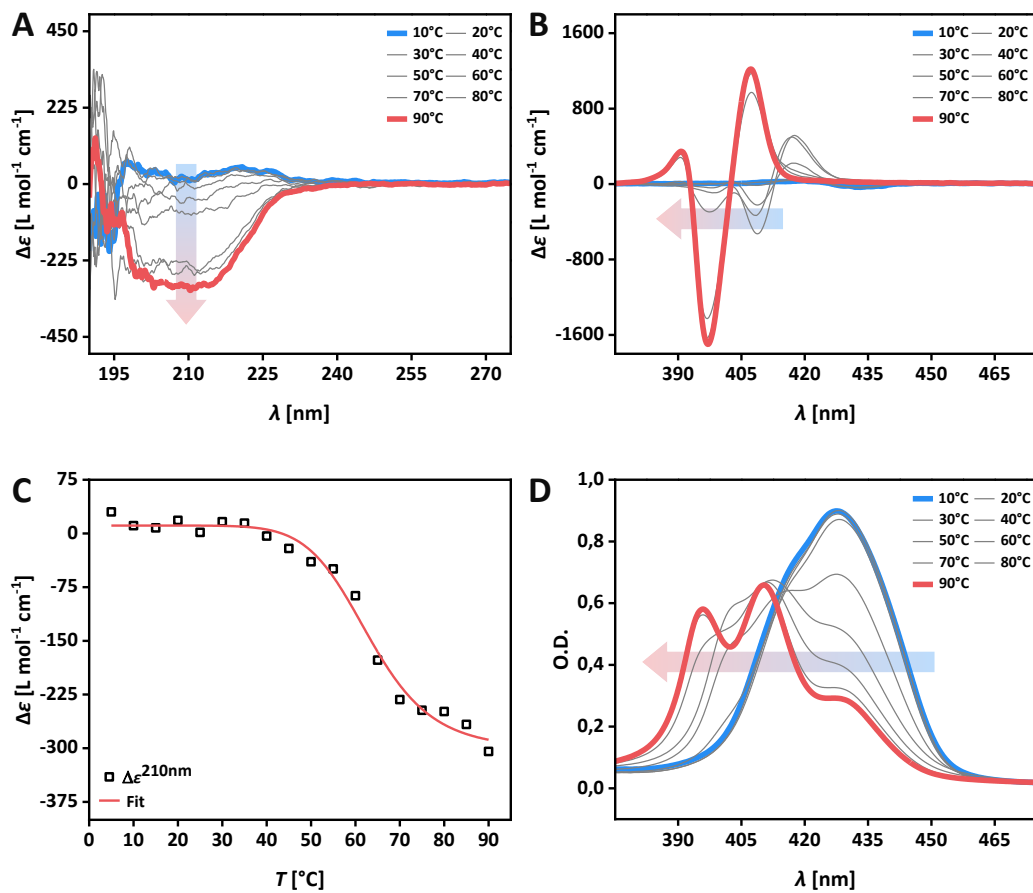
Unter kinetischer Kontrolle zeigen **III-4** und **III-5** ein zu deren Strukturhomologen vergleichbares Assemblierungsverhalten. Für **III-4** unterliegen die Chromophor-Signale einer Blauverschiebung unter Verstärkung des COTTON-Effekts mit zunehmender Temperatur (Abbildung 3.19 B:  $\lambda(+)=413$  nm,  $\Delta\epsilon = 1142$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>  $\rightarrow$   $\lambda(-)=404$  nm,  $\Delta\epsilon = -812$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). Im Gegensatz zu **III-2** setzen die Temperatur-Effekte verzögert im Bereich  $T > 60^\circ\text{C}$  ein und erscheinen zuvor weitestgehend konstant (Abbildung 3.19 A & C).



**Abbildung 3.19:** Temperaturabhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von **III-4** ( $\text{GF}_3\text{mPEG}^{2k}$ ) in  $\text{H}_2\text{O}$ ; C: Auftragung des CD-Effekts bei  $\lambda = 210$  nm gegen die Temperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M).

**III-5** durchläuft den für **III-3** beobachteten zweistufigen isosbestischen Übergang ( $\lambda_{\text{iso}} \approx 414$  nm)  $0$  ( $\lambda_{\text{Mono}} = 430$  nm)  $\rightarrow$  **I** ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{I}} = 412$  nm)  $\rightarrow$  **II** ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{II}} = 396$  nm) (Abbildung 3.20 D), mit einem zunächst diffusen und im späteren Temperaturverlauf ausgeprägten COTTON-Effekt (Abbildung 3.20 B:  $\lambda(+)$  = 407 nm,  $\Delta\epsilon = 1222$  L mol $^{-1}$  cm $^{-1}$   $\rightarrow$   $\lambda(-)$  = 397 nm,  $\Delta\epsilon = -1696$  L mol $^{-1}$  cm $^{-1}$   $\rightarrow$   $\lambda(+)$  = 391 nm,  $\Delta\epsilon = 357$  L mol $^{-1}$  cm $^{-1}$ ). Die Selbstorganisation setzt oberhalb  $T = 40^\circ\text{C}$  ein und erstreckt sich über ein Temperaturintervall bis  $T = 80^\circ\text{C}$ . Der Fit der CD-Datenpunkte bei  $\lambda = 210$  nm verdeutlicht den Prozess über den sigmoidalen Kurvenverlauf und bestätigt den Unterschied im thermoresponsiven Verhalten anhand des Wendepunkts bei  $T_{50} = 63,1^\circ\text{C}$  (Abbildung 3.20 A & C). Der Übergang zu Zustand II (**I** ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{I}} = 412$  nm)  $\rightarrow$  **II** ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{II}} = 396$  nm)) erfolgt in einem verglichen zu **III-3** höheren Temperaturbereich ( $T > 80^\circ\text{C}$ ).

Die Länge der mPEG-Einheiten stellt sich als wenig ausschlaggebend für das grundlegende Assemblierungsverhalten der Porphyrin-Peptidamphiphile heraus. Das Durchlaufen kinetisch gefangener Zustände ist vielmehr auf den strukturellen Unterschied der Peptidsequenz zurückzuführen. Glycin (Gly) ist unter den proteinogenen Aminosäuren insofern außergewöhnlich, als dass das nicht-Vorhandensein einer Seitenkette dessen erhöhte Beweglichkeit bedingt. Entsprechend sind Glycin-reiche Segmente an strukturellen Vorgängen aktiver Zentren beteiligt.<sup>[258,259]</sup> Ähnlich lässt sich die Erweiterung der Peptidsequenz von **III-3** und **III-5** betrachten. Der Einbau einer zusätzlichen Glycin-Einheit verleiht den entsprechenden  $\text{G}_2\text{F}_3$ -Seitenarmen Flexibilität und ermöglicht komplexe Assemblierungsprozesse.

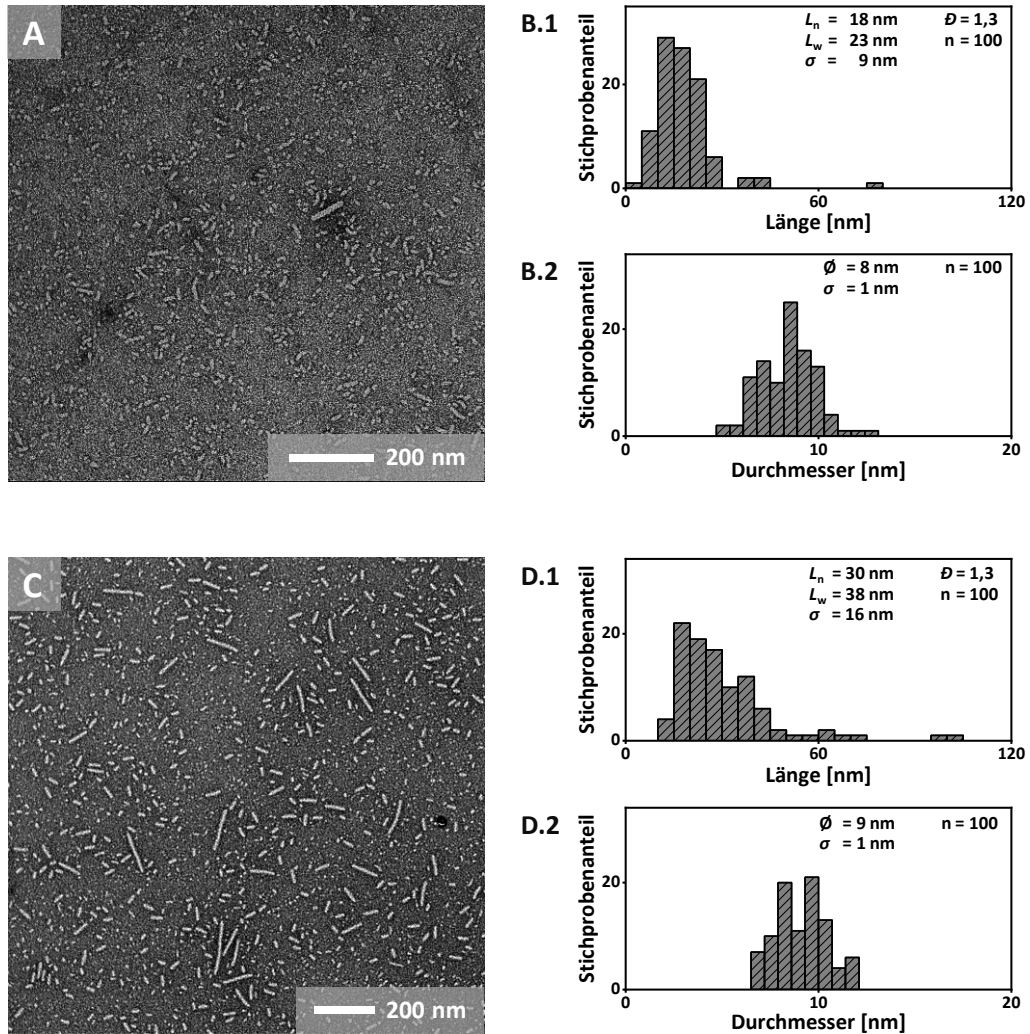


**Abbildung 3.20:** Temperaturabhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von III-5 (G<sub>2</sub>F<sub>3</sub>mPEG<sup>2k</sup>) in H<sub>2</sub>O; C: Auftragung des CD-Effekts bei  $\lambda = 210$  nm gegen die Temperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M).

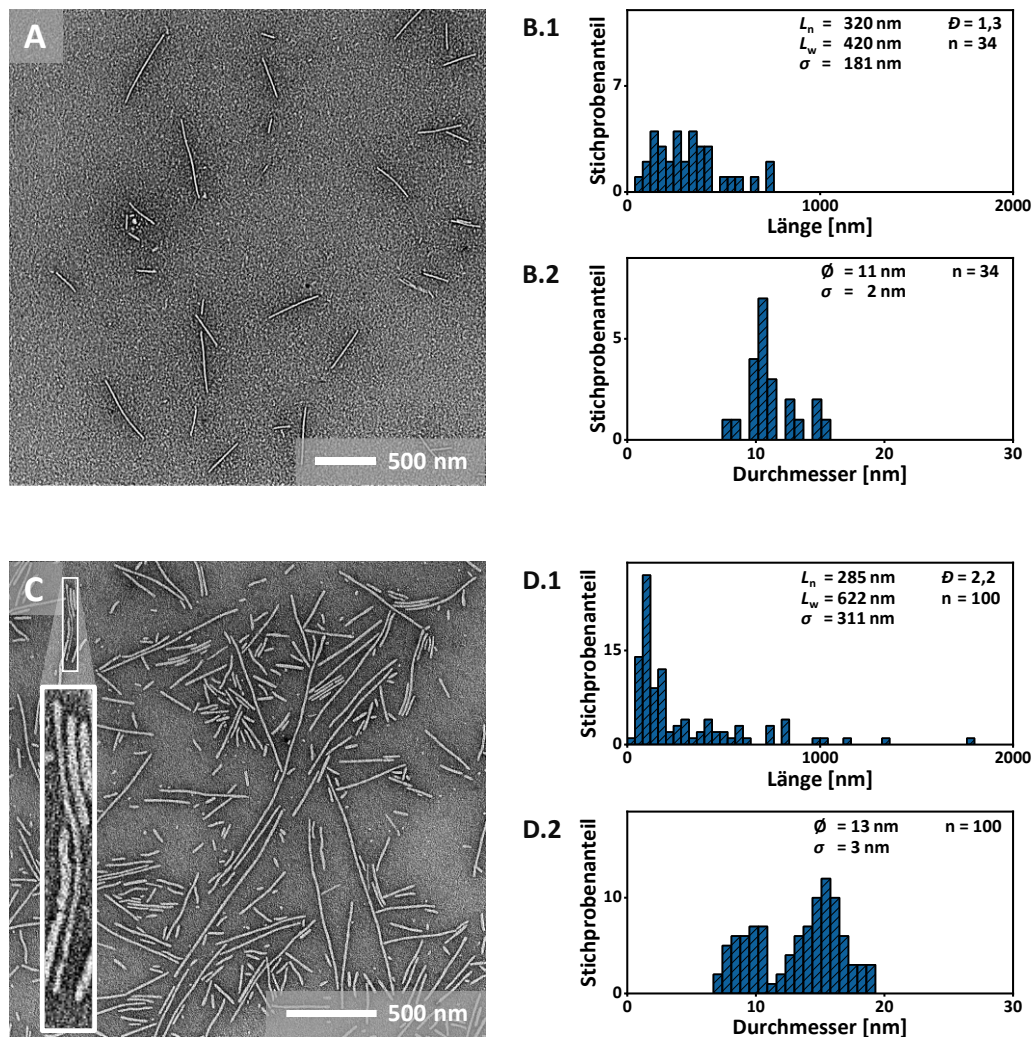
Dennoch können die mPEG-Einheiten nicht als unbeteiligt an der Strukturformation von III-2 bis III-5 angesehen werden. Neben verzögerter Temperatureffekte mit zunehmender Hydrophilie der Polymersegmente fällt vor allem für III-5 die insgesamt höhere Intensität der Exziton-Signale auf. Mittels TEM wurde auch hier versucht, die Erkenntnisse der spektroskopischen Messungen mit der dazugehörigen Morphologie zu evaluieren. Die Aggregationsprodukte von III-4 zeigen keine signifikanten Unterschiede zu den für III-2 beobachteten Strukturen und befinden sich im selben Größenbereich weniger Nanometer. Der temperaturbedingte Effekt beschränkt sich auf einen marginalen Längenzuwachs von  $L_n = 18 \pm 9$  nm zu  $L_n = 30 \pm 16$  nm unter weitestgehend unveränderter mittlerer Breite der Strukturen von  $\varnothing = 9 \pm 1$  nm nach Temperierung (Abbildung 3.21).

Für III-5 lassen sich hingegen unter anderem beachtliche Längenunterschiede zu III-3 erkennen. Bereits Zustand I (Abbildung 3.22 A) geht mit Filamenten von mehreren hundert Nanometern ( $L_n = 320 \pm 181$  nm) einher und lässt somit die ausgeprägtesten Strukturen der vier Monomere beobachten, was sich mit den Intensitätsunterschieden der CD-Messungen deckt. Die geringe Stichprobenzahl wird durch die Hydrophilie der Monomere bedingt, wodurch die Adsorption am Trägermaterial tendenziell weniger begünstigt wird. Der Übergang zu Zustand II geht nicht zwangsläufig mit einer erhöhten mittleren Polymerlänge einher ( $L_n = 285 \pm 311$  nm). Tatsächlich lässt sich eine wesentlich höhere Längenverteilung erkennen ( $\overline{D} = 1,3 \rightarrow \overline{D} = 2,2$ ) was durch die vereinzelte Bildung von Fasern im Bereich von  $\mu\text{M}$  bedingt ist. Zudem folgt die Auszählung des

Durchmessers einer bimodalen Verteilung und impliziert die partielle Verdrillung zu doppelsträngigen Bündeln (Abbildung 3.22 C, *inset*).



**Abbildung 3.21:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von III-4; **A:** III-4 nach Equilibrieren bei 25°C für 12 Stunden; **B:** Histogramm auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**B.1:** Längenhistogramm, **B.2:** Breitenhistogramm); **C:** III-4 nach Temperieren bei 65°C für 3 Stunden; **D:** Histogramm auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**D.1:** Längenhistogramm, **D.2:** Breitenhistogramm) ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, H<sub>2</sub>O).



**Abbildung 3.22:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von III-5; **A:** III-5 nach Equilibrieren bei 40°C für 12 Stunden; **B:** Histogramm auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**B.1:** Längenhistogramm, **B.2:** Breitenhistogramm); **C:** III-5 nach Temperieren bei 90°C für 3 Stunden; **D:** Histogramm auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**D.1:** Längenhistogramm, **D.2:** Breitenhistogramm) ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, H<sub>2</sub>O).

### 3.2.5 Stabilität formanisotroper Nanostrukturen von III-2 und III-3

Die unter Temperaturkontrolle zugänglichen Strukturen sind beachtlicherweise zeitlich stabil, wie für die Betrachtung der CD- und UV/Vis-Signale während des Abkühlens gezeigt werden konnte. Das unterstreicht gemäß den Ausführungen nach DE GREEF und HERMANS zu komplexen Assemblierungsprozessen den nicht-dissipativen, thermodynamischen Gleichgewichtszustand der formanisotropen Aggregationsprodukte von III-2 bis III-5.<sup>[55]</sup>

Der Aufbau und die Stabilität supramolekularer Strukturen hängen aufgrund von Variationen der Stärke und Stabilität der gerichteten Wechselwirkungen von der Natur und Zusammensetzung des Lösungsmittel ab. AIDA *et. al.* konnten anhand eines Kupfer(II)-Porphyrin-Derivats zeigen, dass Wasserstoffverbrückten Überstrukturen und deren Aufbauprozess einem ausgeprägten Lösungsmittelleffekt unterliegen, der zur gezielten Strukturformation genutzt werden kann.<sup>[23]</sup> Kompetitive H-Brücken-Akzeptoren in Form verschiedener Alkohole nehmen dabei maßgeblich

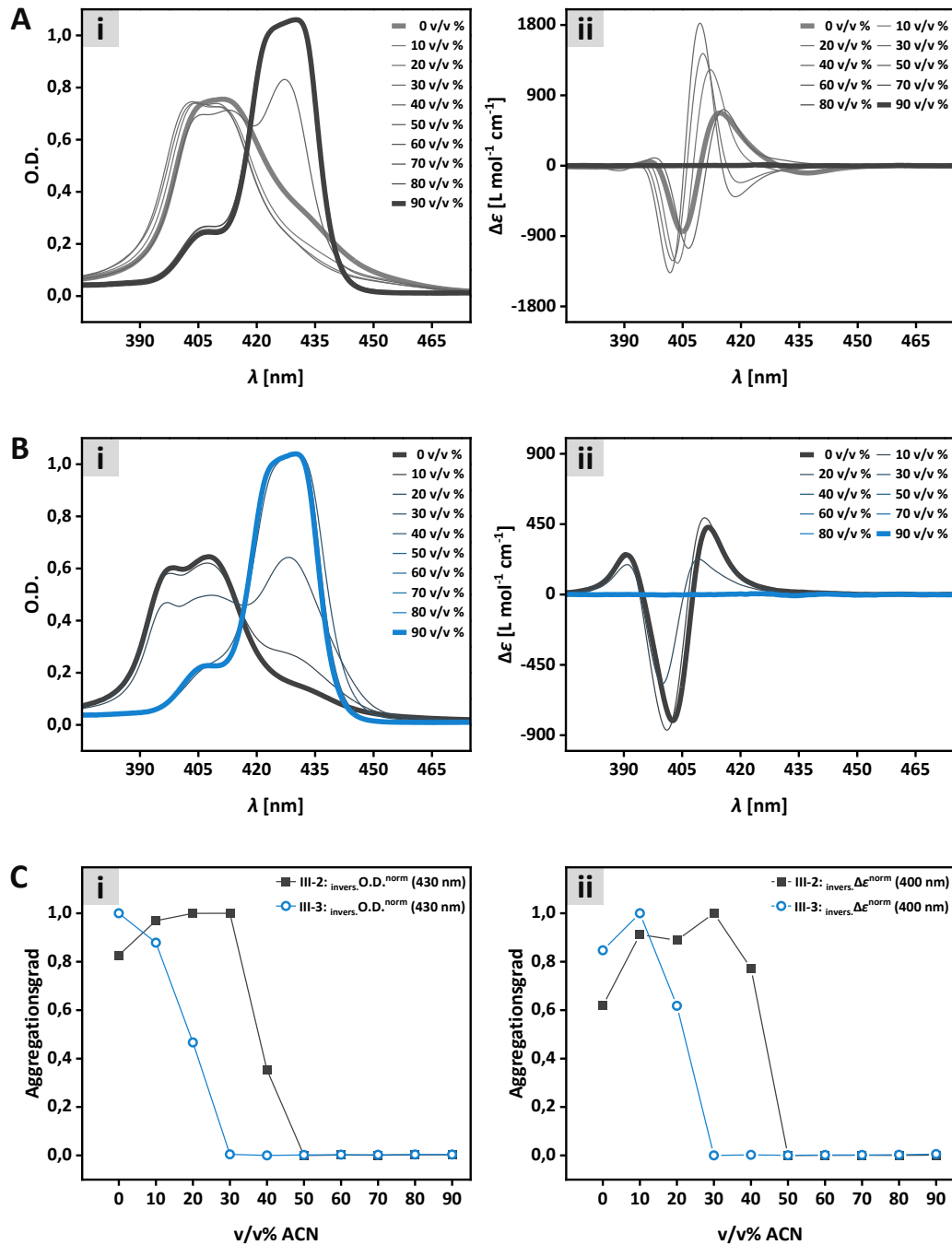
Einfluss auf den Polymerisationsprozess. In Abhängigkeit der Zusatzmenge des Additivs konnte der Temperaturbereich für den systematischen Aufbau, die Depolymerisation und intermediäres *clustering* infolge der Lösungsmittel-Monomer Wechselwirkungen variiert werden.<sup>[23,260,261]</sup>

Trotz des großen Potentials bleiben Studien auf diesem Gebiet derweil selten, da die Interpretation der beobachteten Effekte aufgrund der dynamischen Natur supramolekularer Polymere oftmals uneindeutig und herausfordernd ist. Nichtsdestotrotz lassen sich vereinzelt Literaturbeispiele zu lösungsmittelabhängigen Untersuchungen supramolekularer Polymerisationskinetik<sup>[28,262]</sup>, *pathway selection*<sup>[91]</sup>, resultierender Morphologie<sup>[263–265]</sup> und überstruktureller Chiralität finden.<sup>[266–268]</sup>

Für die Porphyrin-Peptidamphiphile wurden Messungen bei unterschiedlichen Anteilen organischen Lösungsmittels für ungefähre Einschätzungen der Stabilität der Aggregate zurate gezogen werden. In Wasser kann Acetonitril als Wasserstoffbrückenakzeptor agieren und dadurch, zusätzlich durch Änderungen der Polarität des Mediums, der Assemblierung entgegenwirken, wobei die Zugänglichkeit der entsprechenden Struktur motive von der Nahordnung inter- und intramolekularer Wechselwirkungen der Monomere abhängen kann und somit Unterschiede zwischen **III-2** und **III-3** erwarten lässt. Abbildung 3.23 zeigt die CD- und UV/Vis-Spektren der Monomere **III-2** und **III-3** in unterschiedlichen H<sub>2</sub>O/ACN-Zusammensetzungen nach Equilibrieren (**III-2**:  $T = 65^{\circ}\text{C}$ ; **III-3**:  $T = 90^{\circ}\text{C}$ ).

Ein steigender Volumenanteil ACN führt in beiden Fällen zur Beobachtung freier Monomerspezies ( $\lambda_{\text{Mono}}(\mathbf{III-2}) = \lambda_{\text{Mono}}(\mathbf{III-3}) \approx 430 \text{ nm}$ ) (Abbildung 3.23, A.i, B.i). Dies bestätigt das Agieren von ACN als Wasserstoffbrückenakzeptor jenseits eines kritischen Volumenanteils, welcher jedoch für beide Monomere unterschiedlich ausfällt. Aggregate von **III-2** zeigen sich bis zu einem Volumenanteil von 30 v/v% ACN stabil und scheinen durch den Zusatz zunächst einem aggregationsfördernden Effekt zu unterliegen, wovon anhand der hypsochromen Verschiebung der Soret-Bande sowie Intensivierung des COTTON-Effekts ausgegangen werden kann (Abbildung 3.23, A.ii). Ab einem Volumenanteil von 50 v/v% ACN liegt **III-2** hingegen bereits als freies Monomer vor. Diese Beobachtungen decken sich mit Lösungsmittel-Effekten, welche bereits von DANIEL SPITZER innerhalb der Arbeitsgruppe zu strukturell ähnlichen C<sub>3</sub>-symmetrische Peptidamphiphilen gezeigt werden konnten: Hierbei zeigte ACN einen stabilisierenden Effekt bis zu einem kritischen Volumenanteil von 25 – 35 v/v%, gefolgt von der Auflösung der Überstrukturen bei Überschreiten dieses ACN/H<sub>2</sub>O-Verhältnisses.<sup>[240]</sup>

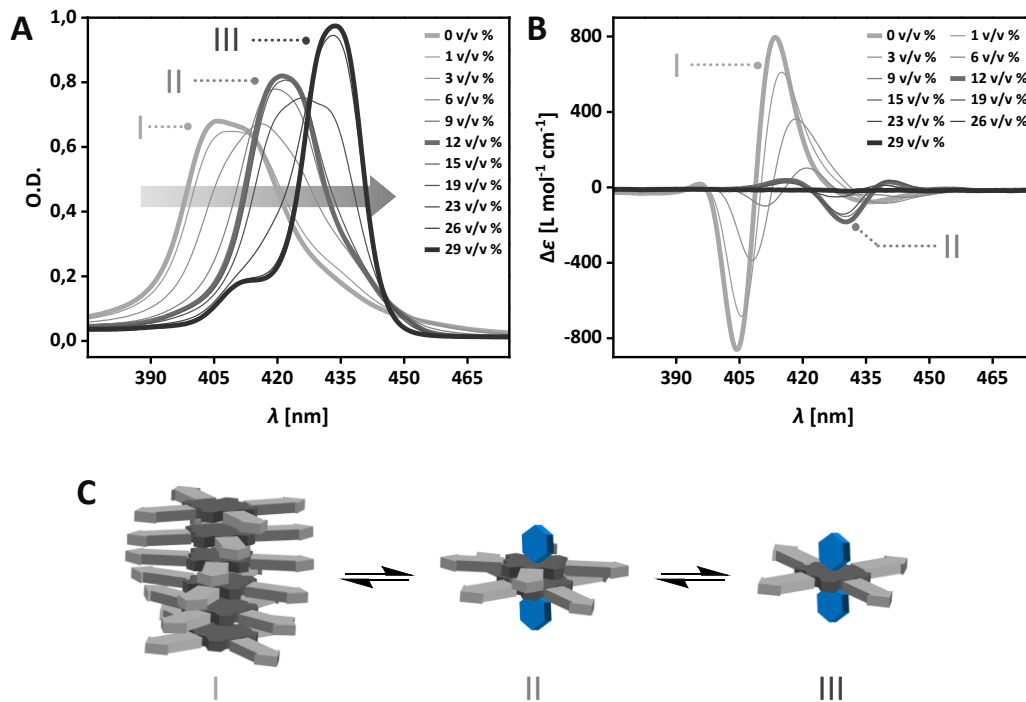
Die Überstrukturen von **III-3** zeigen keine vergleichbare Stabilisierung und bereits ab einem ACN-Gehalt von 10 v/v% wird der vollständige Übergang zu freien Monomeren bis zu einem Volumenanteil von 30 v/v% ACN beobachtet, wobei die Soret-Bande dabei einem isosbestischen Übergang ( $\lambda_{\text{isos}} \approx 416 \text{ nm}$ ) folgt. Das Diglycin-Segment beeinflusst somit neben dem Aggregationsprozess auch die Stabilität der gebildeten Überstrukturen. Die aus der Diglycin-Einheit resultierende Flexibilität der Seitenarme steht demnach mit der Zugänglichkeit der Wasserstoffbrückenbindungsstellen gegenüber Additiven in Verbindung. Abbildung 3.23 C stellt den Unterschied der Stabilität von aggregiertem **III-2** und **III-3** gegenüber ACN über die Auftragung des relativen Aggregationsgrades gegen den Volumenanteil organischen Lösungsmittels dar. Der relative Aggregationsgrad wird durch das Invertieren und anschließenden Normieren der Absorptionswerte des Monomer-Signals ( $\lambda_{\text{Mono}} = 430 \text{ nm}$ ) (Abbildung 3.23 C.i) und der  $\Delta\epsilon$ -Werte des negativen COTTON-Effekts ( $\lambda(-) = 400 \text{ nm}$ ) (Abbildung 3.23 C.ii) erhalten.



**Abbildung 3.23:** UV/Vis (i)- und CD (ii)-Spektren als Funktion des prozentualen Volumenanteils (v/v%) Acetonitril in H<sub>2</sub>O nach thermischem Equilibrieren (III-2:  $T = 65^\circ\text{C}$ ,  $t = 3$  h; III-3:  $T = 90^\circ\text{C}$ ,  $t = 3$  h); **A:** III-2 (GF<sub>3</sub>mPEG<sup>1k</sup>); **B:** III-3 (G<sub>2</sub>F<sub>3</sub>mPEG<sup>1k</sup>) ( $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M); **C:** Auftragung des relativen Aggregationsgrades von III-2 (grau) und III-3 (blau) der UV/Vis (i)- und CD (ii)-Messungen gegen den Volumenanteil Acetonitril.

Die Einflussnahme der Flexibilität auf die unmittelbare intermolekulare Monomer-Monomer-Interaktion wurde weiter in Zweikomponenten-Systemen erprobt. MEIJER *et al.* haben bereits vermehrt das Polymerisationsverhalten unterschiedlicher mono- und ditopischer Porphyrin-Derivate in Anwesenheit axialer Liganden untersucht.<sup>[93,129,135]</sup> Unter anderem konnte für ein ditopisches Zn(II)-Porphyrin-Derivat der bimodale Abbau eindimensionaler H-Aggregate in Methylcyclohexan gezeigt werden. Die Depolymerisation wird durch die Assoziation von Pyridin an das supramolekulare Kettenende initiiert und verläuft über zunächst

wasserstoffbrückengebundene Dipyridin-Dimere hin zu Dipyridin-Monomer-Komplexen.<sup>[269]</sup> Innerhalb dieses kooperativ verlaufenden Depolymerisationsmechanismus spielt die Konkurrenz zwischen der Ausbildung von Wasserstoffbrücken und Metall-Ligand-Assoziation eine entscheidende Rolle. Dieses Prinzip der Depolymerisation im Zwei-Komponenten-System wurde auf die Monomere **III-2** und **III-3** übertragen, um über den Verlauf der Pyridin-vermittelten Depolymerisation Rückschlüsse auf die Organisation der Supramoleküle ziehen zu können. Erneut wurden beide Monomere vor der Titration thermisch equilibriert (**III-2**:  $T = 65^\circ\text{C}$ ; **III-3**:  $T = 90^\circ\text{C}$ ).

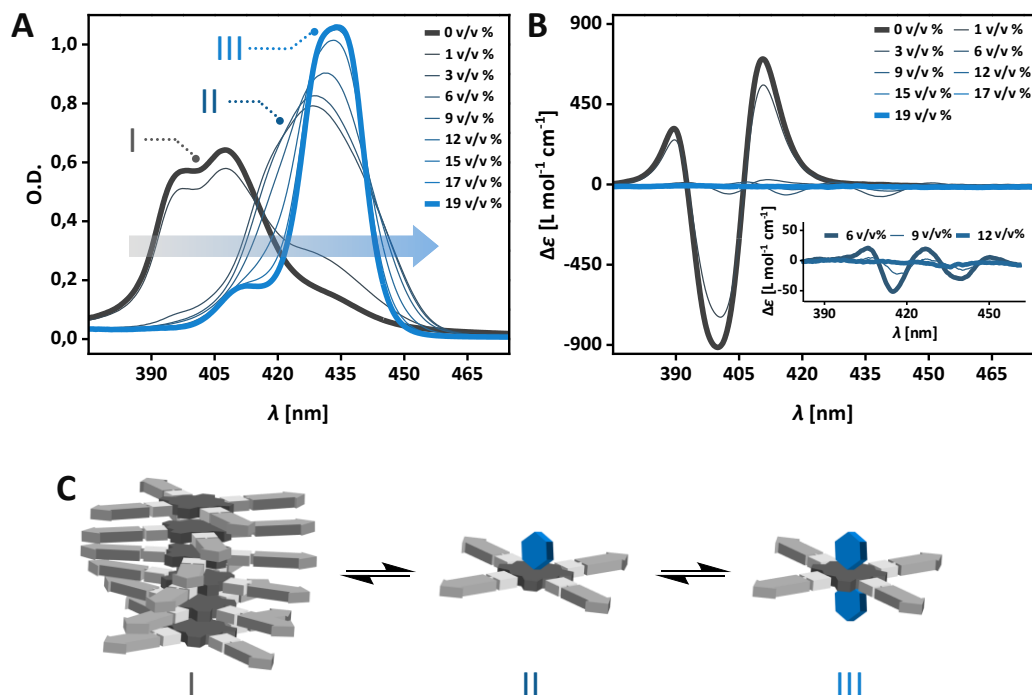


**Abbildung 3.24:** UV/Vis (A)- und CD (B)-Spektren von **III-2** ( $\text{GF}_3\text{mPEG}^{1\text{k}}$ ) als Funktion des prozentualen Volumenanteils (v/v%) Pyridin nach Equilibrieren ( $T = 65^\circ\text{C}$ ,  $t = 3\text{ h}$ ) ( $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}\text{ M}$ ,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}\text{ M}$ ); C: Schematische Darstellung der im Laufe der Pyridin-Titration gebildeten Zustände: Supramolekulares Polymer (I), Dipyridin-Dimer-Komplex (II), Dipyridin-Monomer-Komplex (III).

Mit der Zugabe von Pyridin beginnt ein isosbestischer, bathochromer Übergang ( $\lambda_{\text{isos}} \approx 414\text{ nm}$ ) mit einem vorläufigen Maximum der Soret-Bande bei  $\lambda_{\text{max}}^{\text{II}} = 422\text{ nm}$  für einen Volumenanteil von 12 v/v% Pyridin (Abbildung 3.24 A). Der entsprechende negative COTTON-Effekt (Abbildung 3.24 B) unterliegt einer bathochromen Verschiebung unter starker Intensitätsabnahme ( $\lambda(-) = 404\text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = -861\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-) = 430\text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = -184\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ ), deutet aber weiterhin cofaciales Arrangement der Monomere an. Die Beobachtungen lassen sich Wasserstoffbrücken-gebundenen Dipyridin-Dimeren zuordnen, für welche ein schwaches CD-Signal zu erwarten ist (Abbildung 3.24 C, II). Im weiteren Verlauf der Titration erfolgt ein weiterer isosbestischer Übergang ( $\lambda_{\text{isos}} = 427\text{ nm}$ ) hin zu einer rotverschobenen Soret-Bande bei  $\lambda_{\text{max}}^{\text{III}} = 434\text{ nm}$  (29 v/v% Pyridin). Der hohe Volumenanteil bedingt ein CD-inaktives Spektrum im Bereich der Soret-Absorption und deutet auf freie Dipyridin-Monomer-Spezies hin (Abbildung 3.24 C, III). Die Notwendigkeit des großen Überschusses für die Ausbildung von Zustand III lässt sich aus zweierlei Hinsicht erklären: Zum einen ist der durch Wasserstoffbrücken stabilisierte Dimer-Komplex vergleichsweise robust und wird erst durch die signifikante Änderung der Polarität des Mediums bei hohen Volumenanteilen

von Pyridin aufgebrochen, wodurch Pyridin selbst als Wasserstoffbrückenakzeptor agieren kann. Zum anderen binden sekundäre axiale Liganden bedeutend schlechter und erst bei einem bedeutend höheren molaren Überschuss an Pyridin.<sup>[232,269–271]</sup>

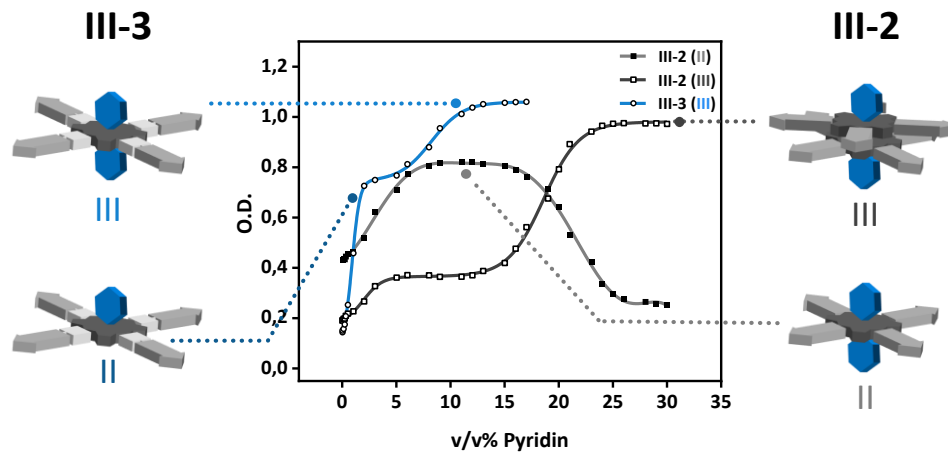
Analog zur Messreihe in Acetonitril zeigt **III-3** auch gegenüber Pyridin ein abweichendes Depolymerisationsverhalten. Der Übergang der Soret-Bande folgt einem nicht-isosbestischem Verlauf mit vorläufigem Maximum bei einem Pyridinanteil von 3 v/v% (Zustand II:  $\lambda_{\max}^{\text{II}} \approx 429 \text{ nm}$ ) und lässt neben dem Dipyridin-Monomer-Signals ( $\lambda_{\max}^{\text{III}} = 434 \text{ nm}$ ) keine Zuordnung weiterer spektroskopisch diskreter Zustände zu (Abbildung 3.25 A). Das Aggregationsgleichgewicht zwischen Polymer und Monomer verhält sich deutlich empfindlicher gegenüber Pyridin und weist auf eine weniger beständige intermolekulare Nahordnung unabhängig von der Polarität des umgebenden Mediums hin. Das Soret-Signal für Zustand II zeigt sich verbreitert und geht mit einem schwachen CD-Signal einher und entspricht dem Grundzustand (0) von **III-3** bei Raumtemperatur (vgl. Abbildung 3.12 D, blau), der lediglich mit marginaler Dimerisierung einhergeht. Der Übergang von aggregiertem zu frei gelöstem **III-3** scheint demnach weitestgehend über verschiedene Monomer-Komplexe abzulaufen (Abbildung 3.25 C). Das Übergehen der Dipyridin-Dimer-Anordnung für **III-3** wirft Fragen zur Zugänglichkeit der Metallzentrens auf und bekräftigt die Hypothese intramolekularer Wechselwirkungen der Seitenarme auf Grundlage erhöhter Flexibilität, die eine cofaciale Anordnung der Monomere erschwert (vgl. 3.3.1).



**Abbildung 3.25:** UV/Vis (A)- und CD (B)-Spektren von **III-3** ( $\text{G}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{1\text{k}}$ ) als Funktion des prozentualen Volumenanteils (v/v%) Pyridin nach Equilibrieren ( $T = 90^\circ\text{C}$ ,  $t = 3 \text{ h}$ ) ( $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ); C: Schematische Darstellung der im Laufe der Pyridin-Titration gebildeten Zustände: Supramolekulares Polymer (I), Pyridin-Monomer-Komplex (II), Dipyridin-Monomer-Komplex (III).

Abbildung 3.26 stellt zusammenfassend die Bildung der einzelnen Monomer-Pyridin-Komplexe im Titrationsverlauf über die Auftragung der Signalintensität der Absorptionsmaxima der diskreten

Zustände (**III-2**:  $\lambda_{\max}^{\text{II}} = 422 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\max}^{\text{III}} = 434 \text{ nm}$ ; **III-3**:  $\lambda_{\max}^{\text{III}} = 434 \text{ nm}$ ) gegen den Zusatz an Pyridin in v/v% dar.



**Abbildung 3.26:** Auftragung der optischen Dichte (O.D.) der spektroskopischen Zustände  $\lambda_{\max}^{\text{II}} = 422 \text{ nm}$  (**III-2**),  $\lambda_{\max}^{\text{III}} = 434 \text{ nm}$  (**III-2**) und  $\lambda_{\max}^{\text{III}} = 434 \text{ nm}$  (**III-3**) gegen den Volumenanteil (v/v%) Pyridin ( $c = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ).

### 3.2.6 Kinetische Untersuchung der Selbstassemblierung von III-3 und III-5

In den durchgeführten Untersuchungen zu Aufbau und Stabilität der Monomere wurde deutlich, dass die Erweiterung der Peptidsequenz um eine zusätzliche Glycin-Einheit mit komplexem Assemblierungsverhalten einhergeht. Die Aggregation der G<sub>2</sub>F<sub>3</sub>-Derivate **III-3** und **III-5** kann dabei über deren thermoresponsives Verhalten unter kinetischer Kontrolle initiiert werden. Die dabei bestimmten  $T_{50}$ -Werte sind eine Konsequenz der Länge der solubilisierenden Einheit. Um den Zusammenhang zwischen Thermoresponsivität und Assemblierungskinetik weiter zu beleuchten, wurden kinetische Messungen der Monomere **III-3** und **III-5** durchgeführt. Da die Zustände **I** und **II** keine diskreten Einzelabsorptionssignale liefern, wurde auf das CD-Signal der  $\beta$ -Faltblatt-artigen Sekundärstruktur ( $\lambda_{\max} = 210 \text{ nm}$ ) zurückgegriffen. Bei einer konstanten Konzentration ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) wurden für jede untersuchte Temperatur jeweils drei konsekutive Messungen durchgeführt. Die Messdaten wurden normiert und der relative Aggregationsgrad gegen die Temperatur aufgetragen. Zusätzlich wurden die Daten einem Fit unterzogen.

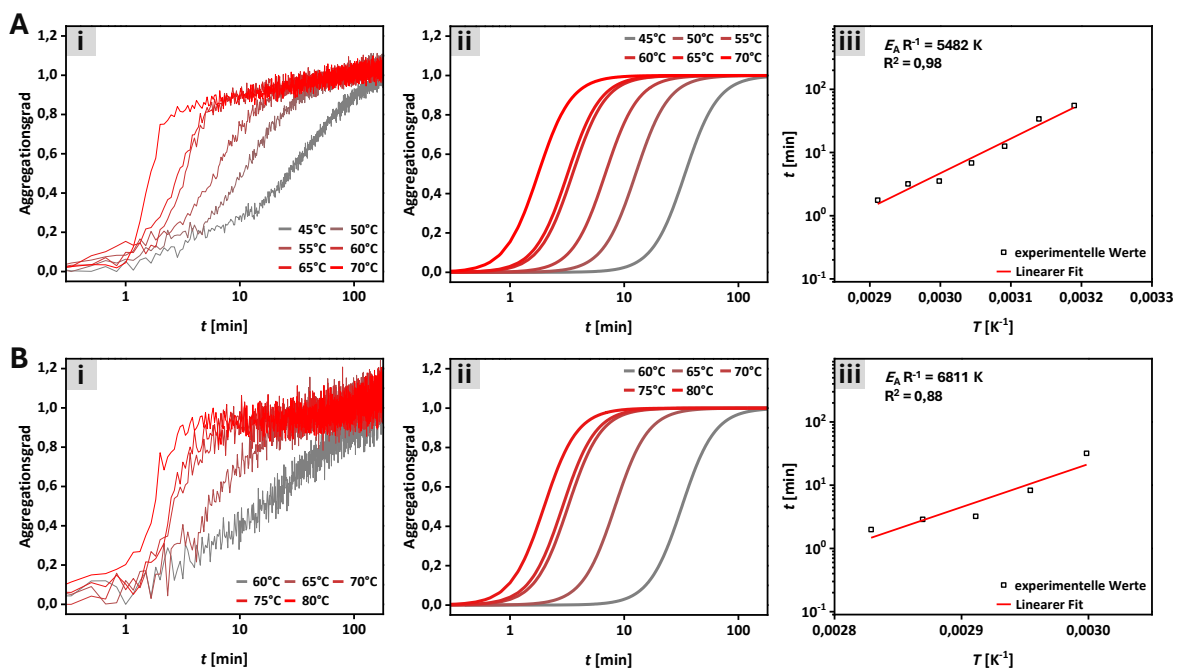
Mit Zunahme der Temperatur lässt sich eine Beschleunigung der Selbstassemblierung beobachten (Abbildung 3.27 A.i, A.ii). Bei  $T = 45^\circ\text{C}$  beläuft sich die Zeit zum Erreichen eines Polymerisationsgrades von 50% für **III-3** auf  $t_{1/2}(45^\circ\text{C}) = 34,0 \text{ min}$  und verringert sich bis  $T = 70^\circ\text{C}$  auf  $t_{1/2}(70^\circ\text{C}) = 1,8 \text{ min}$ . Die  $t_{1/2}$ -Werte verringern sich mit steigender Temperatur und deuten auf eine ausgesprochene Sensitivität des Polymerisationsprozesses gegenüber Temperaturänderungen hin. **III-5** verhält sich in einem höheren Temperaturbereich analog und  $t_{1/2}$  verkürzen sich von  $t_{1/2}(60^\circ\text{C}) = 32,0 \text{ min}$  auf  $t_{1/2}(80^\circ\text{C}) = 2,0 \text{ min}$  (Abbildung 3.27 B.i, A.ii). Der Zusammenhang zwischen Temperatur und der Geschwindigkeit des Aggregationsprozesses lässt sich über einen Arrhenius-Fit darstellen.

Die Arrhenius-Gleichung beschreibt in erster Linie den Zusammenhang zwischen der Geschwindigkeitskonstante  $k$  einer Reaktion und der Temperatur ( $T$ ).<sup>[272,273]</sup> Unter Annahme eines

positiven Vorzeichens des Exponenten kann die ARRHENIUS-Gleichung näherungsweise auch zur Beschreibung der Abhängigkeit von Halbwertszeit  $t_{1/2}$  und Temperatur genutzt werden (Gleichung 3.1).

$$t_{1/2} = A' \cdot e^{\frac{E_A}{R \cdot T}} \quad (3.1)$$

Der prä-exponentielle Faktor  $A$  besitzt dabei die Dimension Zeit ( $t$ ) und geht für  $T \rightarrow 0$  gegen unendlich. Die logarithmische Auftragung experimentell ermittelter  $t_{1/2}$ -Werte gegen die inverse Temperatur in Kelvin ( $K^{-1}$ ) lässt bei Vorhandensein einer ARRHENIUS-artiger Prozesse einen linearen Fit zu. Abbildung 3.27 zeigt die Datenauftragung mit entsprechendem ARRHENIUS-Fit für die Aggregation von **III-3** (A.iii) und **III-5** (B.iii). Dabei signalisiert der lineare Fit der Daten für beide Monomere eine Temperaturabhängigkeit entsprechend der ARRHENIUS-Gleichung.

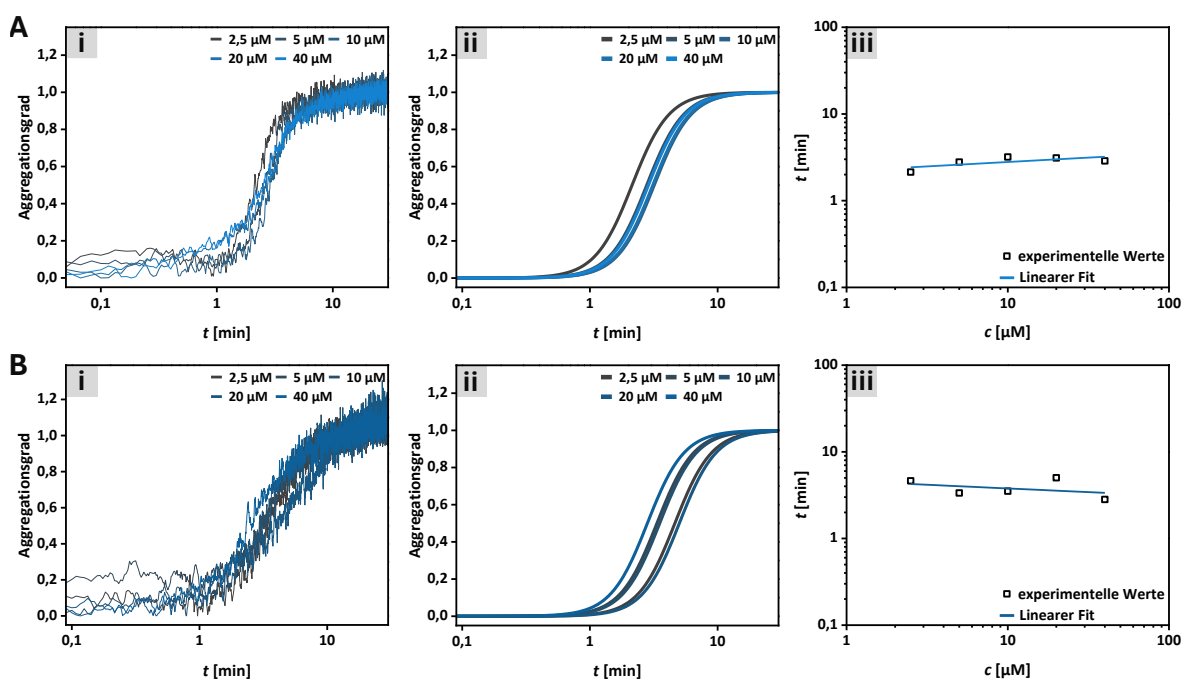


**Abbildung 3.27:** i: Zeitlich aufgelöste Messungen des CD-Signals bei  $\lambda = 210$  nm bei unterschiedlichen Temperaturen ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M); ii: Normierte Fit-Kurven der aufgenommenen CD-Daten aus (i); iii: Logarithmische Auftragung von  $t_{1/2}$  gegen die inverse Temperatur in  $K^{-1}$  (A: **III-3** ( $G_2F_3mPEG^{1k}$ ), B: **III-5** ( $G_2F_3mPEG^{2k}$ )).

Dabei zeigt sich, dass eine kritische Temperatur vorliegt, unterhalb derer die entsprechenden  $t_{1/2}$ -Werte keinen linearen Fit zulassen ( $T_{\text{krit}}(\mathbf{III-3}) = 45^\circ\text{C}$ ;  $T_{\text{krit}}(\mathbf{III-5}) = 60^\circ\text{C}$ ). Der Validierungsparameter  $R^2$  liegt jeweils bei  $R^2(\mathbf{III-3}) = 0,98$  und  $R^2(\mathbf{III-5}) = 0,88$  und bekräftigen in beiden Fällen die Gültigkeit des ARRHENIUS-Fits.<sup>[274]</sup> Anhand der Fit-Parameter kann ein Wert für die Aktivierungsenergie  $E_A$  ermittelt werden, der die Gesamtheit des betrachteten Aggregationsprozesses beschreibt. Für beide Monomere liegt diese bei  $E_A(\mathbf{III-3}) = 45,6$  kJ mol $^{-1}$  und  $E_A(\mathbf{III-5}) = 56,6$  kJ mol $^{-1}$  und bestätigt damit die höhere Energiebarriere für die supramolekulare Polymerisation von **III-5**.

Neben der Temperatur ist die Konzentrationsabhängigkeit der Polymerisationskinetik ein wichtiger Faktor zur Charakterisierung des Aggregationsverhaltens. Die Gruppe um KNOWLES konnte aufzeigen, dass sich über die Steigung (Skalierungsfaktor  $\gamma$ ) des linearen Fits einer doppellogarithmischen Auftragung von  $t_{1/2}$  gegen die Konzentration  $c$  Rückschlüsse auf den

Polymerisationsmechanismus ziehen lassen.<sup>[275]</sup> In Anlehnung daran wurden Messungen im Konzentrationsbereich zwischen 2,5  $\mu\text{M}$  und 40  $\mu\text{M}$  oberhalb  $T_{\text{krit}}$  durchgeführt (**III-3**:  $T \geq 50^\circ\text{C}$ ; **III-5**:  $T \geq 60^\circ\text{C}$ ). Die erhaltenen Messdaten wurden normiert (i) und die aus den Fitkurven (ii) erhaltenen  $t_{1/2}$ -Werte in einem doppellogarithmischen Plot (iii) gegen die Konzentration aufgetragen. Abbildung 3.26 stellt die beschriebenen Messergebnisse (i) mitsamt Fitkurven (ii) und Auftragung der  $t_{1/2}$ -Werte (iii) für die Monomere **III-3** ( $T = 60^\circ\text{C}$ ) (A) und **III-5** ( $T = 70^\circ\text{C}$ ) (B) dar. Entgegen den Erwartungen führt die Änderung der Konzentration zu keiner wesentlichen Veränderung der Assemblierungsgeschwindigkeit und die Halbwertszeiten liegen innerhalb der jeweiligen Messreihen allesamt um einen Mittelwert von  $t_{1/2}(\text{III-3}) = 2,8$  min und  $t_{1/2}(\text{III-5}) = 3,9$  min. Insgesamt liefern beide Messreihen Skalierungsfaktoren nahe Null ( $\gamma(\text{III-3}) = 0,10$ ;  $\gamma(\text{III-5}) = -0,09$ ).



**Abbildung 3.28:** i: Zeitlich aufgelöste Messungen des CD-Signals bei  $\lambda = 210$  nm bei unterschiedlichen Konzentrationen in  $\text{H}_2\text{O}$  (**A**:  $T = 60^\circ\text{C}$ , **B**:  $T = 70^\circ\text{C}$ ); ii: Normierte Fit-Kurven der aufgenommenen CD-Daten aus (i); iii: Doppel-Logarithmische Auftragung von  $t_{1/2}$  gegen die Konzentration (**A**: **III-3** ( $\text{G}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{1\text{k}}$ ), **B**: **III-5** ( $\text{G}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{2\text{k}}$ )).

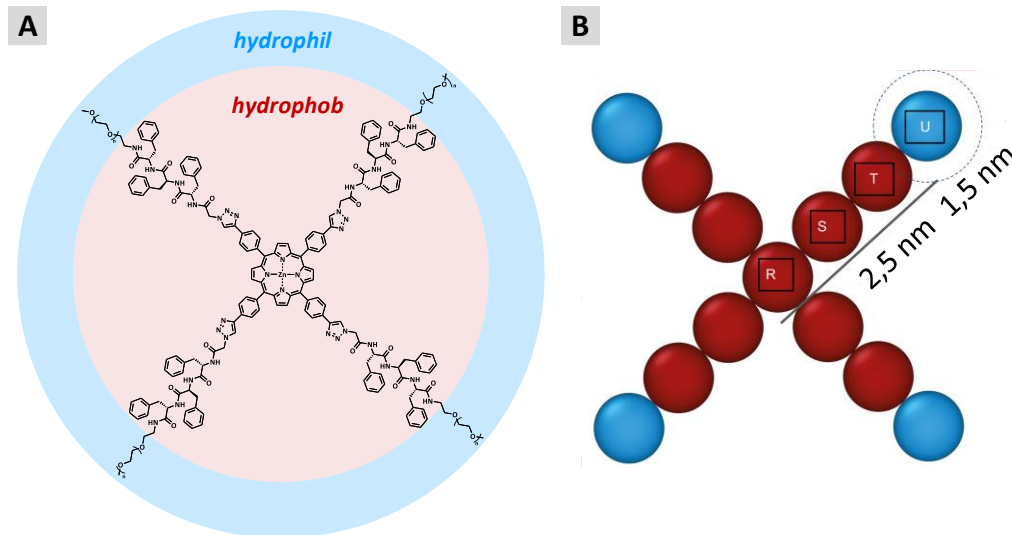
Zur Überprüfung der Befunde wurden zusätzliche Messungen bei unterschiedlichen Temperaturen durchgeführt (siehe Anhang A: Abbildung A3.13 und A3.14), welche jedoch keine Abweichenden Ergebnisse lieferten. Kooperatives Assemblierungsverhalten gemäß eines klassischen Nukleations-Elongations-Mechanismus würde einen negativen Skalierungsfaktor erwarten lassen, der den Anstieg der Polymerisationsgeschwindigkeit mit steigender Konzentration umschreibt. Eine entgegengesetzte Korrelationen zwischen  $t_{1/2}$  und  $c$  kann indikativ für komplexes, kompetitives Assemblierungsverhalten mit möglichen *on-* und *off-pathway* Produkten sein, wie etwa von OGI *et. al.* Zink(II) Porphyrin-Derivaten mit symmetrischem Substitutionsmuster gezeigt werden konnte.<sup>[24]</sup> Demnach ist für **III-3** und **III-5** eine ähnliche Annahme zulässig. Jedoch bedarf es gegebenenfalls zusätzlicher Methoden, um die Konzentrationsabhängigkeit weiter zu untersuchen, da rein spektroskopische Messungen bezüglich des Konzentrationsbereichs limitiert sind und niedrigere wie auch höhere Konzentrationen zu ungünstigen Signal-zu-Rausch-Verhältnissen führen, welche nicht weiter durch Variation der Küvettengröße ausgeglichen werden können.

### 3.2.7 Simulations-basierte Untersuchung des strukturabhängigen Assemblierungsverhaltens

Die bisher verfügbaren experimentellen Daten bieten eine nur begrenzte Erklärung für das in Abhängigkeit der Peptidsequenzen zu beobachtende Phänomen spontaner Elongation gegenüber kinetisch gehemmter Selbstassemblierung bei Raumtemperatur. Theoretische Computersimulationen gewinnen in den letzten Jahren vermehrt an Bedeutung für die Vorhersage von Eigenschaften und Strukturen supramolekularer Systeme und ermöglichen so ein tieferes Verständnis von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen, welches das rationale Design selbst-assemblierender Materialien erleichtert. Sogenannte *coarse-grained* Simulationen lassen sich zur Berechnung von Organisationsvorgängen auf Grundlage starker Vereinfachung molekularer und funktioneller Details nutzen. *Coarse-grained*-Modelle sehen anstelle der Berücksichtigung einzelner Atome die Zusammenfassung funktioneller Atomgruppen zu Kugeln vor. Entsprechende Simulationen liefern somit abstrahierte Darstellungen molekularer Organisationsprozesse deren Charakterisierung oftmals experimentell nur bedingt möglich ist, und erlaubt die Betrachtung größerer Zeitskalen unter Beanspruchung geringer Rechenressourcen und gelten somit als effizientere Methode verglichen mit detaillierteren Simulationsansätzen.<sup>[276–278]</sup>

Zuvor konnte bereits in Kooperation mit der Gruppe um SPECK anhand eines *coarse-grained*-Modells für  $C_3$ -symmetrische Gold(I)-Amphiphile die Bildung defektfreier, eindimensionaler Filamente bei niedrigen Konzentrationen demonstriert werden. Dieses Modell basierte auf effektiven hydrophoben Kern-Kern-Wechselwirkungen und ermöglichte die Untersuchung von Dynamiken auf relevanten Raum- und Zeitskalen, die mit experimentellen Bedingungen vergleichbar waren.<sup>[203]</sup> In Folge konnte das Modell durch die Integration elektrostatischer Interaktionen erweitert werden, um die Bildung eindimensionaler Filamente durch alternierende Stapelung komplementär geladener Monomere nachzustellen.<sup>[208]</sup>

Aufbauend darauf sollte ein theoretisches *coarse-grained*-Modell für die Untersuchung des Polymerisationsverhaltens der  $C_4$ -symmetrischen Porphyrin-basierten Peptidamphiphile auf Grundlage der experimentellen Daten zum Einsatz kommen. Ziel war es, weitere Einblicke in die Selbstassemblierung von **III-2** und **III-3** in Abhängigkeit derer struktureller Unterschiede zu gewinnen. Abbildung 3.29 zeigt die chemische Struktur des Porphyrin-Peptidamphiphils **III-2** (A) sowie den Aufbau des zu diesem Zweck von [REDACTED] entwickelten korrespondierenden Kugel-Modells (B).



**Abbildung 3.29:** A: Chemische Struktur eines ungeladenen Porphyrin-Peptidamphiphils gemäß III-2; B: Coarse-grained-Simulations-Modell bestehend aus 9 hydrophoben (rot) und 4 hydrophilen Kugeln (blau) in einer planaren  $C_4$ -symmetrischen Anordnung (R+S: Porphyrin+Phenyl+Triazol, T: Tri-Phenylalanin, U: mPEG).

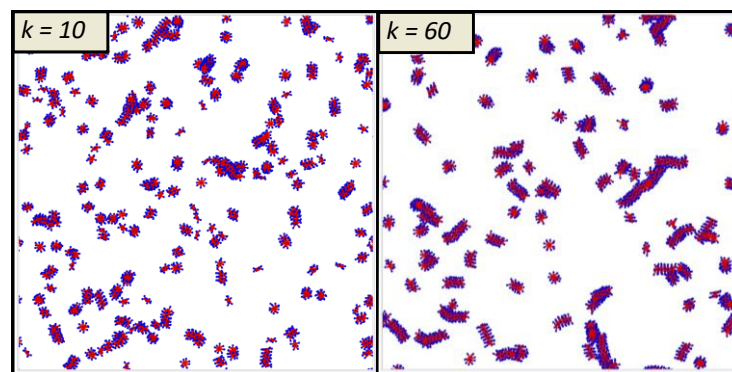
Das Kugel-Modell umfasst insgesamt 13 Kugeln (Abbildung 3.29), dessen zentrale Kugeln einen Verbund bilden, welcher das hydrophobe Strukturmotiv aus Porphyrin und Peptidsequenz zusammenfasst (rot) und über eine Form des LENNARD-JONES-Potenzials (Gleichung 3.2) in Wechselwirkung treten kann.

$$U_{LJ}(r) = 4\epsilon k_B T \left[ \left( \frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (3.2)^{[278,279]}$$

Neben der Parametern  $\sigma$ , welcher den Abstand für ein Potential gleich null beschreibt und  $r$ , welcher den tatsächlichen Teilchenabstand widerspiegelt, repräsentiert  $\epsilon$  die Stärke anziehender Wechselwirkungen und kann als Parameter der potenziellen Energie des Systems (engl.: *potential energy well*) in Kombination mit der thermischen Energie  $k_B T$  ( $k_B$  = BOLZMANN-Konstante,  $T$  = Temperatur) aufgefasst werden.<sup>[279]</sup> Die Kerngeometrie des Modells wurde planare und rigide gehalten, da die ermittelten Durchmesser der über TEM beobachteten Nanostrukturen eine gestreckte Konformation nahelegen. Die terminalen Kugeln repräsentieren die endständigen PEG-Gruppen und interagieren lediglich über ein repulsives gemäß des einer Variante des LENNARD-JONES-Potenzials.<sup>[203,208]</sup> Den Beginn aller Simulationen bildet der Zustand ungeordneter freier Monomere unter experimentellen Konzentrations-Bedingungen. Weitere Details bezüglich Modell- und Simulations-Parameter sind in Kapitel 8.1.13 zu finden.

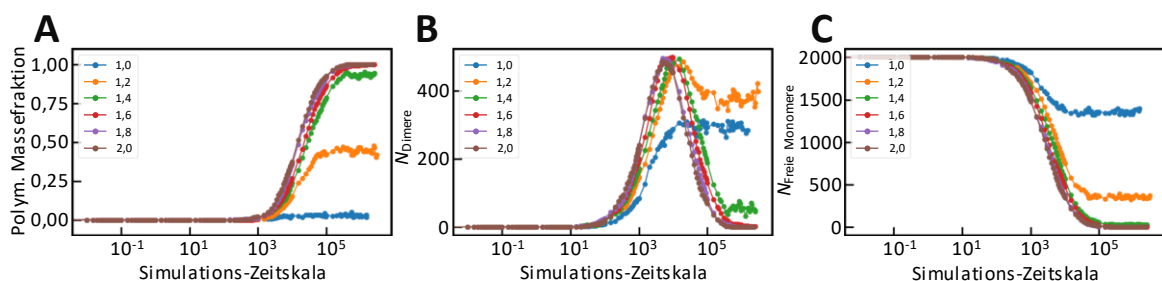
Für die initiale Evaluation des Modells wurde zunächst der Parameter der potenziellen Energie  $\epsilon$  untersucht, um festzustellen, ob die Ausbildung eindimensionaler Filamente anhand des erstellten Modells stattfinden kann.  $\epsilon$  beschreibt mitunter die attraktive Kugel-Interaktion und quantifiziert den Zugewinn an freier Energie durch den Ausschluss von Wassermolekülen zwischen den hydrophoben Einheiten.<sup>[208]</sup> [REDACTED] konnte für durchgeführten Simulationen bei unterschiedlichen  $\epsilon$ -Werte und konstanter Monomeranzahl von  $N_{\text{Mono}} = 2000$  zeigen, dass für Werte von  $\epsilon \geq 1,4$  der vollständige Umsatz von Monomeren stattfindet. Dabei erfolgt nach der Dimerisierung die Ausbildung eindimensionaler Filamente statt, analog zu den experimentellen Beobachtungen. Die auf experimenteller Seite festgestellte Veränderung des Assemblierungs-

verhaltens durch Erweiterung der Peptidsequenz um eine Glycin-Einheit (**III-2** (GF<sub>3</sub>) → **III-3** (G<sub>2</sub>F<sub>3</sub>)) wurde zuvor auf den Anstieg konformationeller Freiheit der peripheren Seitenarme zurückgeführt. Um diesen Einfluss der Flexibilität durch Glycin nachzuahmen, wurde die Verbindung von T und U (Abbildung 3.29 B) über ein harmonisches Winkelpotenzial mit der Kraftkonstanten  $k$  (engl.: *harmonic spring constant*) erweitert, was dem Modell für niedrige Werte von  $k$  Beweglichkeit verleiht. Anhand der Anpassung der entsprechenden Konstanten  $k$  können somit sowohl flexible als auch starre Monomere-Eigenschaften simuliert und der jeweilige Einfluss auf die Selbstorganisation des Monomer-Modells untersucht werden. Die zugehörigen Simulationen wurden für Werte von  $k = 10, 20, 30$  und  $60$  bei einem konstanten Wert der potenziellen Energie von  $\varepsilon = 5$  für eine Monomeranzahl von  $N_{\text{Mono}} = 1000$  durchgeführt, um das Modell mit zunehmender Rigidität zu betrachten. Die finalen Momentaufnahmen der jeweiligen Simulationstrajektorien für unterschiedliche Kraftkonstanten sind in Abbildung 3.30 dargestellt.



**Abbildung 3.30:** Momentaufnahmen zu späten Zeitpunkten der *coarse-grained*-Simulationen  $C_4$ -symmetrischer Kugel-Modelle in Abhängigkeit verschiedener Werte der Kraftkonstanten  $k$  ( $k = 10, 60$ ;  $\varepsilon = 5$ ;  $N_{\text{Mono}} = 1000$ ).

Dabei ist erkennbar, dass mit zunehmender Rigidität des Monomer-Modells ( $k > 10$ ) die Ausbildung kurzer filamentartiger Strukturen beobachtet werden kann. Simulationen niedrigerer Kraftkonstanten von  $k = 10$ , repräsentativ für ein hohes Maß an Flexibilität, zeigen trotz des hohen Wertes für  $\varepsilon = 5,0$  eine präferierte Organisation zu Dimeren auf, welche erst verzögert zugunsten einer zunehmenden Massefraktion im Simulations-Zeitrahmen umgesetzt werden (Abbildung 3.31 B).



**Abbildung 3.31:** Auftragung der **A:** Polymer Massefraktion, **B:** Anzahl an Dimeren ( $N_{\text{Dimere}}$ ) und **C:** Anzahl freier Monomere ( $N_{\text{Freie Monomere}}$ ) gegen die betrachtete Simulations-Zeitskala in Abhängigkeit verschiedener Werte der Kraftkonstanten  $k$  ( $k = 10, 20, 30, 60$ ;  $\varepsilon = 5$ ;  $N_{\text{Mono}} = 1000$ ).

Tatsächlich bildet diese Beobachtung entfernt Aspekte des Assemblierungsverhaltens von **III-3** (G<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) gegenüber **III-2** (GF<sub>3</sub>) ab, welches bei Raumtemperatur vorzugsweise Dimere ausbildet und

dessen Elongation verglichen mit **III-2** kinetisch gehemmt ist. Damit stützt das *coarse-grained*-Modell die Annahme der Relevanz von Flexibilität peripherer Substituenten bei der Selbstassemblierung von Porphyrin-Peptidamphiphilen und bietet einen guten Ausgangspunkt, um beispielsweise den mechanistischen Verlauf des supramolekularen Polymerisationsprozesses näher zu beleuchten

### 3.3 Fazit

Kapitel 3 befasst sich mit der Entwicklung, der Synthese und der Charakterisierung einer Reihe Porphyrin-basierter Peptidamphiphile, deren supramolekulare Polymerisation in eindimensionale Nanostrukturen hinsichtlich Kinetik und Stabilität auf Grundlage struktureller Unterschiede untersucht wurde.

Über eine konvergente Synthesestrategie konnte dafür eine molekulare Bibliothek an Porphyrin-Monomeren (**III-1** bis **III-5**) synthetisiert werden, welche sich allesamt das strukturgebende Triphenylalanin ( $F_3$ )-Peptidmotiv teilen, sich jedoch hinsichtlich der Glycin-Brücke zwischen Chromophor und Peripherie sowie der Länge endständiger Methoxy-Polyethylenglycol-Ketten unterscheiden. Hierfür wurden die über SPPS synthetisierten Oligopeptide zunächst um mPEG-Segmente erweitert und die entsprechenden Azid-funktionalisierten linearen Peptidamphiphile über Kupfer(I)-katalysierter Azid-Alkin-Cycloaddition an das im Vorfeld metallierte Porphyrin-Templat **III-14** (**ZnTEPP**) konjugiert. Die Analyse mittels MALDI-Tof-MS, RP-HPLC wie auch  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie bestätigte in allen der durchgeführten Ansätze die Effizienz der Umsetzung. Gemeinsam mit der stets gleichen Aufarbeitung mittels Größenausschlusschromatographie konnte ein zuverlässiges und universell anwendbares Syntheseprotokoll zur Darstellung  $C_4$ -symmetrischer Porphyrin-Peptidamphiphile entwickelt werden.

Erste Betrachtungen der Assemblierung in Wasser zeigten für die wasserlöslichen Monomere **III-2** ( $\text{GF}_3\text{mPEG}^{1k}$ ) und **III-4** ( $\text{GF}_3\text{mPEG}^{2k}$ ) bei Raumtemperatur die Ausbildung eindimensionaler H-Aggregate mit einer intermolekularen  $\beta$ -Faltblatt-artigen Nahordnung des Peptidrückgrats an. Demgegenüber standen **III-3** ( $\text{G}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{1k}$ ) und **III-5** ( $\text{G}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{2k}$ ), für welche das strukturgebende  $F_3$ -Motiv über eine flexiblere Diglycin-Sequenz mit der zentralen Porphyrin-Einheit verbunden wurde und unter denselben Bedingungen zunächst keine signifikanten Anzeichen stattfindender Strukturformation beobachten ließen. Erst unter kinetischer Kontrolle in Form von Temperaturerhöhung konnte für letztere die eindimensionale Aggregation induziert werden, wodurch in Abhängigkeit der Peptidsequenz bemerkenswerte Unterschiede im Assemblierungsverhalten und der resultierenden Morphologie mittels CD-, UV/Vis und TEM beobachtet werden konnten. So zeigte sich für die  $\text{G}_2\text{F}_3$ -Derivate **III-3** und **III-5** der schrittweise, temperaturabhängige Aufbau supramolekularer Polymere hohen Molekulargewichts und geringer Dispersitäten, welche letztlich eine Transformation zu doppelsträngigen Nanobündeln durchlaufen. Die Elongationstemperatur konnte dabei anhand temperaturabhängiger CD-Messungen bestimmt werden und lag für **III-3** bei  $T = 51,2^\circ\text{C}$  und für **III-5** bei  $T = 63,1^\circ\text{C}$ . In diesem Zusammenhang zeigte sich, dass der Einfluss der terminalen mPEG-Ketten auf den Assemblierungsvorgang eine untergeordnete Rolle zu spielen scheint, jedoch in Bezug auf die spezifische Temperaturabhängigkeit die Einstellung der Thermoresponsivität durch Anpassung der Kettenlänge zulässt. Neben entropischer Effekte aufgrund der sequenziellen Desolvatation von Molekülsegmenten, was bereits vermehrt im Zusammenhang mit Ethylenglycol-basierten Systemen diskutiert wurde, ließen vergleichende Messreihen, die sich mit der Stabilität der wasserstoffverbrückten Nanostrukturen gegenüber organischer Zusätze befassten, die Hypothese aufkommen, dass vielmehr die Beweglichkeit der Seitenarme hauptverantwortlich für den Verlauf des Aggregationsprozesses sei.

Es ist gelungen ein *coarse-grained*-Modell der  $C_4$ -symmetrischen Grundstruktur zu entwickeln, das in der Lage ist, die experimentell beobachtete Ausbildung eindimensionaler supramolekularer Polymere nachzuahmen. Im Hinblick auf die Evaluation des Diglycin-Segments und des damit verbundenen Einflusses von Flexibilität auf den Assemblierungsprozess konnte durch die Einführung und die systematische Variation eines harmonischen Winkelpotentials  $k$  der Zusammenhang zwischen zunehmender Beweglichkeit des Systems und der Ausbildung linearer Filamente überprüft werden. Die Simulationen legten die präferierte Ausbildung dimerer Nuklei mit verzögerter Elongation für hohe Flexibilitäts-Parameter ( $k = 10$ ) nahe, wodurch sich durch das Modell Aspekte des für **III-3** ( $G_2F_3$ ) beobachteten Phänomens kinetisch gehemmter Selbstassemblierung mit bevorzugter Dimerisierung bei Raumtemperatur abbilden ließ.

Anhand der Investigation des komplexen Assemblierungsverhaltens der Monomere **III-2** bis **III-5** mit Unterstützung des Simulations-basierten Ansatzes konnte ein vielversprechender Ausgangspunkt für weitere Untersuchung von Struktur-Eigenschafts-Beziehungen Porphyrin-basierter Peptidamphiphile geschaffen werden, der auf lange Sicht von Bedeutung für die weitere Entwicklung programmierbarer funktioneller Systeme sein könnte.



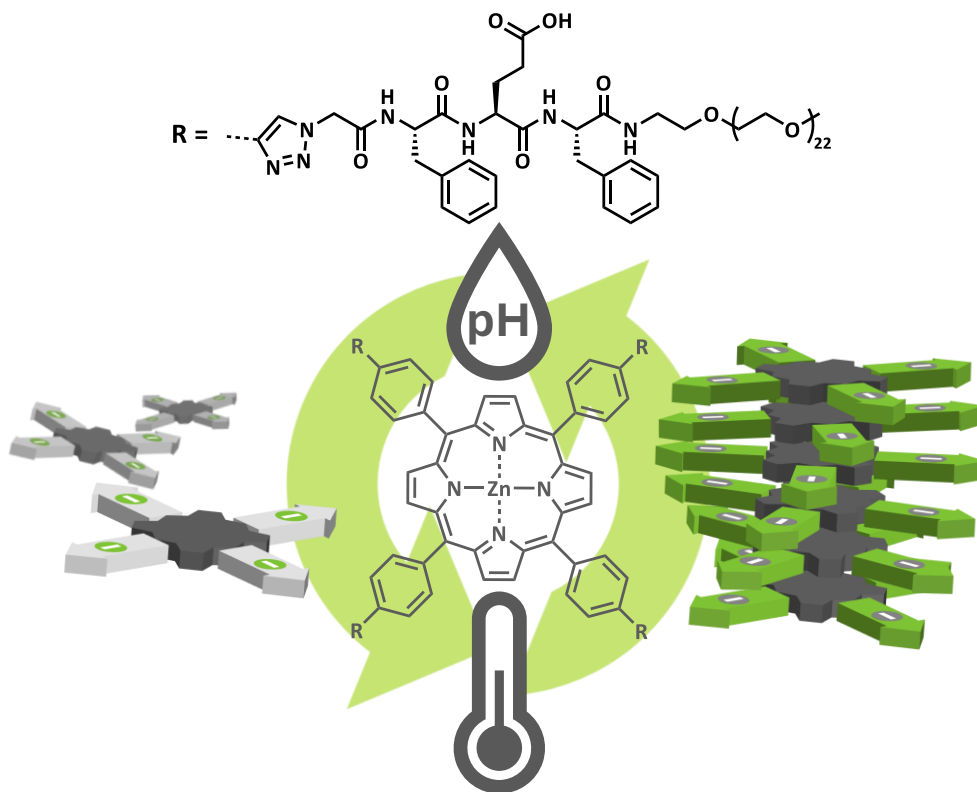


---

## Kapitel 4

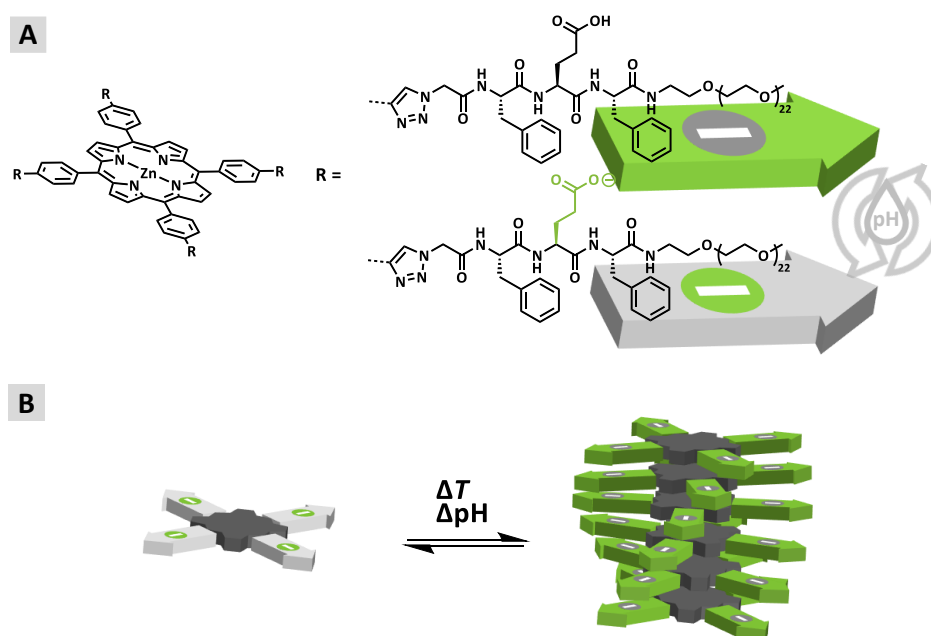
# Selbstassemblierung Stimuli-responsiver Porphyrin-Peptidamphiphile

---



## 4.1 Motivation und Konzept

Zuvor konnte die supramolekulare Polymerisation der wasserlöslichen Porphyrin-Peptidamphiphile **III-2** bis **III-5** in formanisotrope Nanostrukturen unter kinetischer Kontrolle nachgewiesen werden, wobei sich Assemblierungsverhalten und Morphologie unmittelbar durch marginale strukturelle Anpassungen der Peptidsequenz steuern ließen. Eine der geläufigsten Strategien zur kontrollierten Darstellung Peptid-basierter Nanomaterialien zielt neben der Anpassung struktureller Information auf das Ausnutzen responsiver Eigenschaften funktioneller Gruppen bestimmter Aminosäureseitenketten gegenüber der chemischen Umgebung ab. Die Ausstattung von Peptidsequenzen mit geladenen Aminosäuren ermöglicht beispielsweise die pH-abhängige Modulation attraktiver und repulsiver Kräfte zur präzisen Steuerung der Strukturformation, was mitunter die zielgerichtete Einstellung von Materialeigenschaften in Aussicht stellt. Solche Strategien bieten den Vorteil, responsive Systeme hervorbringen zu können, welche nicht zwangsläufig spontan, sondern auf kontrollierte Weise durch externe Stimuli fernab des thermodynamischen Gleichgewichts gesteuert werden könnten. Die Gruppe um STUPP leistete Pionierarbeit auf diesem Gebiet und zeigte für eine Vielzahl strukturell verwandter wasserlöslicher Peptidamphiphile den kontrollierten Aufbau zylindrischer Nanostäbe auf Basis  $\beta$ -Faltblatt-induzierender Peptidsequenzen, wobei sich die entstehenden Architekturen mitunter von der Ausprägung pH-abhängiger, repulsiver Wechselwirkungen der terminalen geladenen Kopfgruppen ableiteten (siehe Kapitel 1.4). Innerhalb der eigenen Gruppe konnten SPITZER *et. al.* das Prinzip pH-kontrollierter Strukturformation auf  $C_3$ -symmetrische BTA-Template übertragen, was über die Diffusion von Protonen an einer Fest-Flüssig-Grenzfläche die pH-abhängige Aggregation in eindimensionale Nanostäbchen entlang eines pH-Gradienten ermöglichte.<sup>[280]</sup>



**Abbildung 4.1:** **A:** Chemische Struktur des darzustellenden Porphyrin-Monomers **IV-1** im ungeladenen (oben) und geladenen (unten) Zustand. **B:** Schematische Darstellung der ladungskontrollierten supramolekularen Polymerisation.

Das folgende Kapitel soll sich einer strukturellen Variante des in Kapitel 3 vorgestellten Monomers **III-2** (GF<sub>3</sub>mPEG<sup>1k</sup>) widmen. Mit dem Vorsatz der Entwicklung eines pH-responsiven Porphyrin-Peptidamphiphils soll anstelle der mittlerer Phenylalanin-Einheit Glutaminsäure als pH-Schalter in das Peptidrückgrat (GFEFmPEG<sup>1k</sup>) integriert werden.

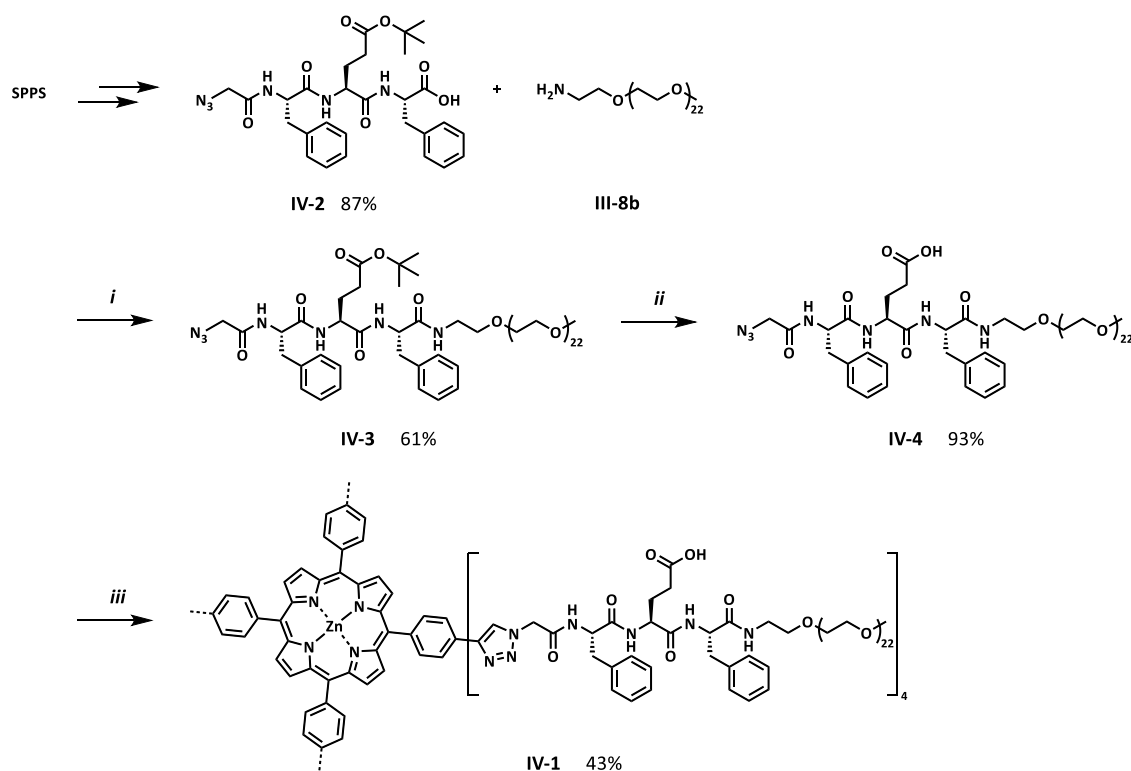
Hierfür soll zunächst mit der Synthese eines ladungstragenden Monomers das Präparationsprotokoll aus Kapitel 3 auf seine universelle Anwendbarkeit überprüft werden. Folgend gilt es, das Assemblierungsverhalten von **IV-1** bezüglich der Ansprechbarkeit auf Veränderungen der unmittelbaren Umgebung zu untersuchen. Um der Frage möglicher dualer Stimuli-Responsivität nachzugehen, soll der Fokus neben der Validierung der pH-abhängigen Strukturformation auch auf dem zuvor beobachteten Temperatureffekt als steuernden Parameter zum Aufbau eindimensionaler Nanostrukturen liegen.

## 4.2 Ergebnisse und Diskussion

Nach den Ausführungen zu ungeladenen Porphyrin-Peptidamphiphilen beschreibt Kapitel 4 die Synthese und Charakterisierung eines ladungstragenden Derivats des zuvor vorgestellten Monomers **III-2** sowie dessen Stimuli-responsive Selbstassemblierung im Kontext schaltbarer supramolekularer Materialien.

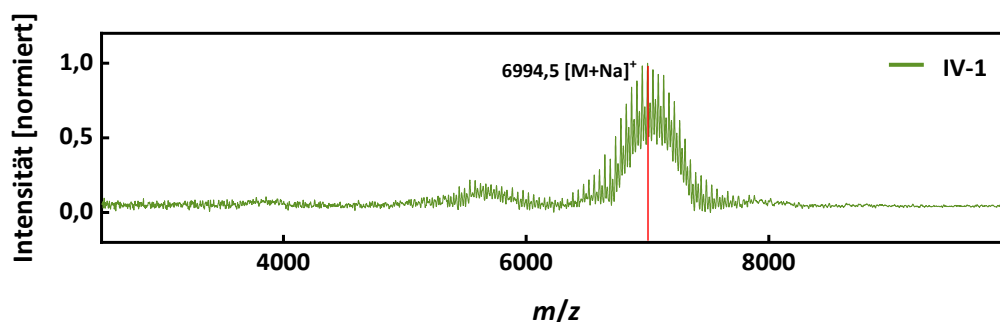
### 4.2.1 Synthese des pH-responsiven Monomers IV-1

Die Synthesestrategie folgte dem in Kapitel 3 diskutierten Protokoll zum Aufbau wasserlöslicher Porphyrin-Peptidamphiphile und erfolgte innerhalb drei Stufen ausgehend vom Tetrapeptid  $N_3\text{FE}(t\text{Bu})\text{FOH}$  (**IV-2**). Dieses wurde, wie für die zuvor beschriebenen Oligopeptide, *via* SPPS unter Standardbedingungen nach einem Fmoc-Protokoll mit einer *N*-terminalen Azid-funktionalisierten endständigen Glycin-Einheit hergestellt (vergleiche Kapitel 3.2.1). Nach dem sukzessiven Aufbau an der festen Phase wurde die Peptidsequenz unter mild-aziden Bedingungen mit einer Mischung aus Trifluorethanol (TFE) in DMF (50 v/v%) vom Trägerharz gelöst. Die Verwendung von TFE ist dabei essenziell, da die relativ geringe Azidität die Abspaltung vom Harz unter Erhalt der *tert*-Butyl (*t*Bu)-Schutzgruppe der Glutaminsäure-Seitenkette erlaubt. So war es nach Fällen des Rohproduktes aus Ether und anschließendem Lyophilisieren aus Wasser und Acetonitril (1:1) möglich, **IV-2** in 87%-iger Ausbeute zu erhalten.



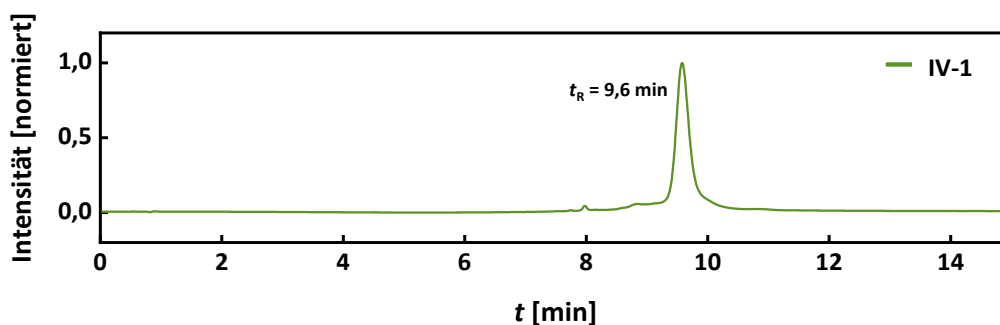
**Abbildung 4.2:** Syntheseroute zur Darstellung des *meso*-substituierten Porphyrin-Peptidamphiphils **IV-1**: **IV-2** (1,0 Äq.), **III-8b** (1,3 Äq.), PyBOP (1,5 Äq.), HOBt (1,5 Äq.), DIPEA (1,5 Äq.), DMF, 0°C → 25°C, 18 h; **ii**: **IV-3** (1,0 Äq.), TFA, DCM, 25°C, 2 x 1 h; **iii**: **III-14** (1,0 Äq.), **IV-4** (5,5 Äq.),  $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$  (1,0 Äq.), TBTA (0,8 Äq.), Natriumascorbat (2,3 Äq.), DMSO, 40°C, 24 h.

Für die terminale mPEG-Einheit hat sich ein mittleres Molekulargewicht von  $M_w(\text{mPEG}) = 1000 \text{ g mol}^{-1}$  als ideal für eine ausreichende Wasserlöslichkeit der ungeladenen Monomere **III-2** und **III-3** erwiesen. Ausgehend davon wurde derselbe Baustein an das Tetrapeptid in einer PyBOP-vermittelten Amidierung angebracht. Nach Größenausschlusschromatographie (Sephadex™ LH-20, MeOH) gefolgt von weiterer Aufreinigung *via* präparativer RP-HPLC konnte das Peptidamphiphil **IV-3** mit einer Ausbeute von 61% isoliert werden. Es folgte die Deblockierung der Glutaminsäure-Seitenkette. Dieser Schritt wurde vor der Anbindung der Seitenarme an den Porphyrin-Kern durchgeführt, da die saure Aufarbeitung eines *t*Bu-geschützten Monomers aufgrund der Labilität von Zink(II)Porphyrin-Derivaten gegenüber Säuren mit der Demetallierung des heterozyklischen Templates einhergehen würde. Entsprechend wurde **IV-3** in einer Mischung aus Trifluoressigsäure (TFA) in DCM (50 v/v%) umgesetzt, woraufhin **IV-4** nach zweimaligem Fällen aus Ether in 93%-iger Ausbeute erhalten werden konnte. Der letzte Schritt umfasste die Konjugation von **IV-4** an **III-14 (ZnTEPP)** *via* CuAAC unter Anwendung des zuvor beschriebenen Syntheseprotokolls (vergleiche Kapitel 3.2.1). Die Überprüfung des Reaktionsfortschritts erfolgte nach 24 Stunden mittels MALDI-ToF MS-Spektrometrie. Die Reaktionskontrolle zeigt dabei weitestgehend vollständigen Umsatz anhand der Massenverteilung mit dem Peak-Zentrum für das positiv-geladene Natrium-Addukt bei  $m/z = 6994,5$  (Berechnet für  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ :  $m/z = 6994,5$ ), ohne signifikant ausgeprägte Signale für untersubstituierte Konjugationsprodukte (Abbildung 4.3).



**Abbildung 4.3:** MALDI-MS Spektrum der Reaktionskontrolle zu Darstellung von **IV-1**, aufgenommen im Bereich zwischen 2500 – 9000  $m/z$  (Matrix: DHB+KTFA, linearer Modus).

Die Aufarbeitung sah die Isolation der Zielverbindung über Größenausschlusschromatographie (BioBeads™, S-X1, DMF) vor. Dadurch konnte nicht-umgesetztes Peptidamphiphil sowie Nebenprodukte der CuAAC erfolgreich abgetrennt und **IV-1** mit einer Ausbeute von 43% erhalten werden. Über analytische RP-HPLC wurde die Reinheit des Produkts bestätigt (Abbildung 4.4).



**Abbildung 4.4:** Analytisches RP-HPLC Chromatogramm des Monomers **IV-1** nach Größenausschlusschromatographie (siehe 8.1.4, Methode A: Flussrate:  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $\lambda = 430 \text{ nm}$ ).

Die finale Charakterisierung des Monomers erfolgte über  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie. Neben der Übereinstimmung der Integrale mit der erwarteten Protonenanzahl attestieren einzelne charakteristische Signale die vollständige Funktionalisierung des Monomers. Zu diesen zählen unter anderem das Protonen-Signal der neu entstandenen Triazol-Gruppen (Abbildung 4.5 c, Singulett:  $\delta = 8,63$  ppm, 4 x 1H) wie auch das Signal der Methylen-Gruppen in unmittelbarer Nachbarschaft zum Triazol, welches verglichen mit dem korrespondierenden Signal des Azid-funktionalisierten Seitenarms **IV-3** (siehe 8.4.3) tieffeldverschoben erscheint (Abbildung 4.5 i, Multipllett:  $\delta = 5,35 - 5,13$  ppm, 4 x 2H).

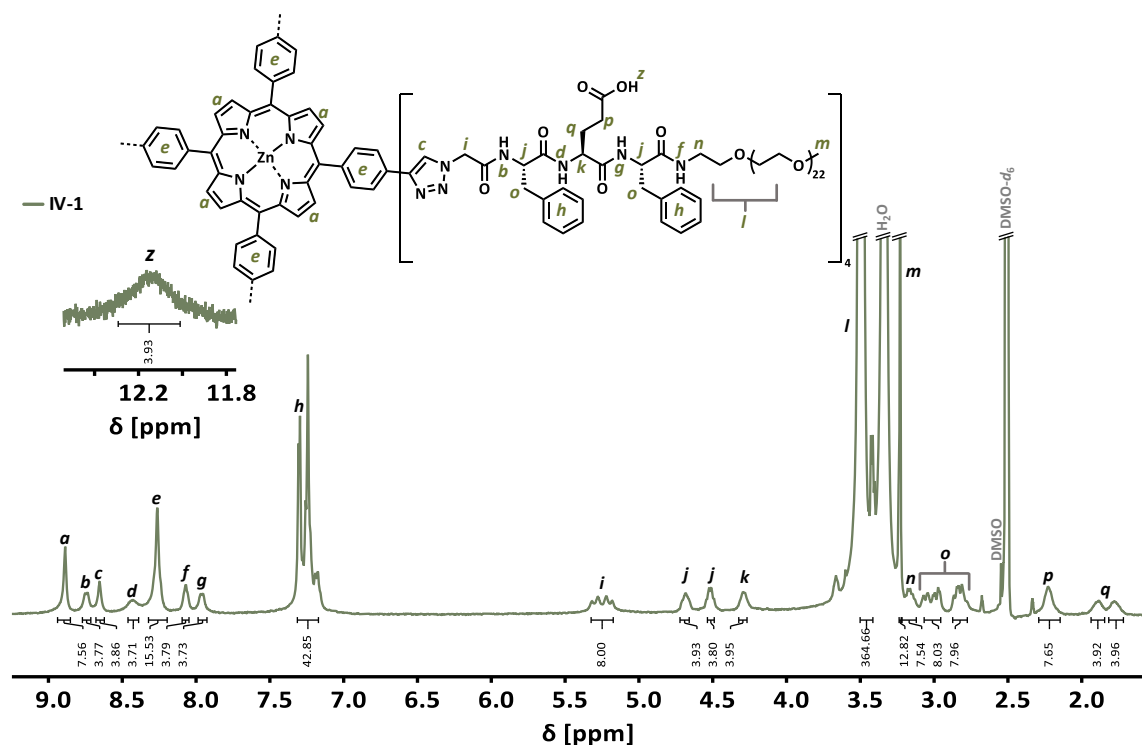


Abbildung 4.5:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum des Monomers **IV-1** ( $\text{DMSO-d}_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

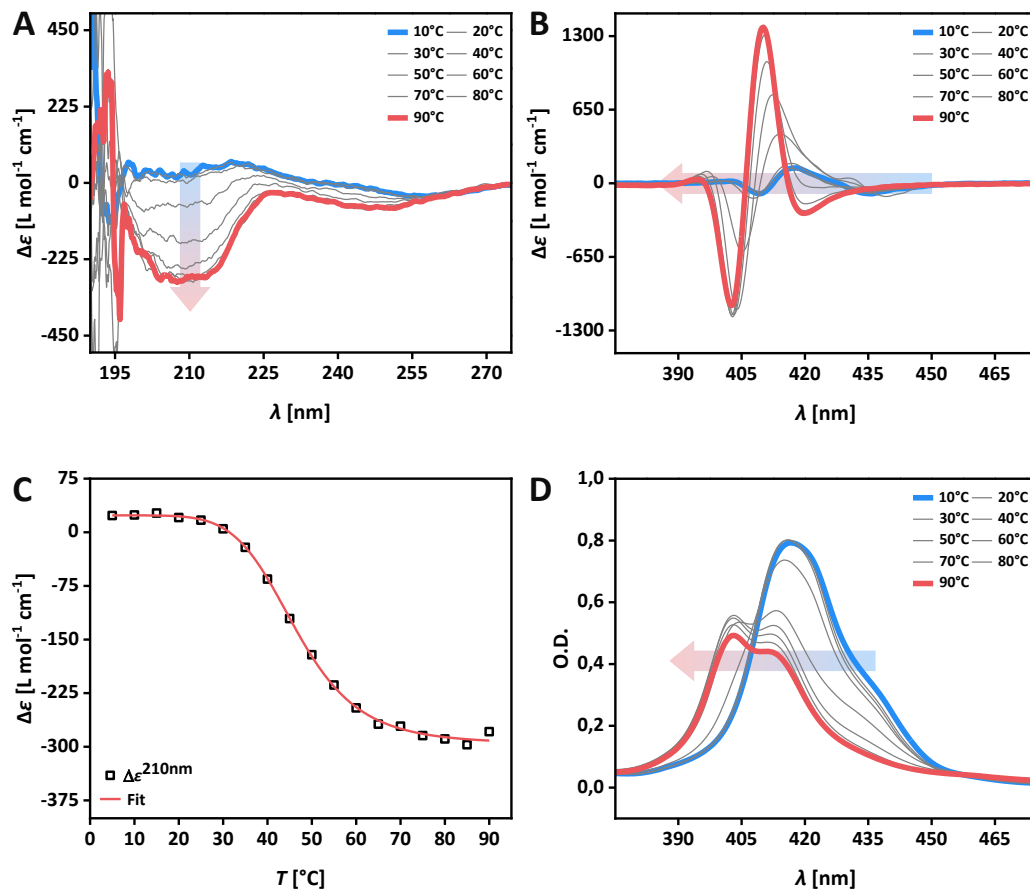
## 4.2.2 Selbstassemblierung von **IV-1** in Abhängigkeit von Temperatur und pH

In Anlehnung an die Untersuchungen zu den ungeladenen Vorläufern **III-2** & **III-3** galt es, das Assemblierungsverhalten und die Responsivität von **IV-1** auf externe Stimuli zu untersuchen. Neben der Temperaturabhängigkeit rückt dabei nach Einführen von Glutaminsäure ins Peptidrückgrat die Aggregationskontrolle über pH-Änderungen in den Fokus.

Nach Überprüfen der temperaturabhängigen Löslichkeit, was keine Anzeichen auftretenden LCST-Verhaltens ergab (siehe Anhang A: Abbildung A4.2), wurde zunächst das Prinzip der kinetischen Kontrolle für erste Untersuchungen der Selbstassemblierung angewandt. Um die nahezu vollständige Protonierung der Carbonsäure-Gruppen zu gewährleisten und die supramolekulare Polymerisation im ungeladenen Zustand zu ermöglichen, wurde der pH-Wert auf  $\text{pH} = 2,7$  eingestellt. Es wurde in wässrigem Phosphatpuffer (engl. *phosphate buffer*, PB, 10 mM) gearbeitet, um

den pH-Wert im Laufe der Messung konstant zu halten. Abbildung 4.6 fasst die Spektren der temperaturabhängigen CD- und UV/Vis-Messungen zusammen.

Zum Start der Messungen lassen sich anhand der spektroskopischen Signale erste Anzeichen stattfindender Aggregation beobachten (Abbildung 4.6, B & D, blau). Das Absorptionsmaximum liegt im Vergleich zum freien Monomer ( $\lambda_{\max}^{\text{Mono}} = 430 \text{ nm}$ ) hypsochrom verschoben bei  $\lambda_{\max} = 416 \text{ nm}$  und zeigt mit einer dazu rotverschobenen Schulter ( $\lambda \approx 430 \text{ nm}$ ) verbliebenes freies Monomer an. Begleitet wird dies von einem schwachen, bisignaten COTTON-Effekt mit einem Verlauf von positiven zu negativen Intensitäten ( $\lambda(+)=417 \text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = 134 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-) = 409 \text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = -93 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).



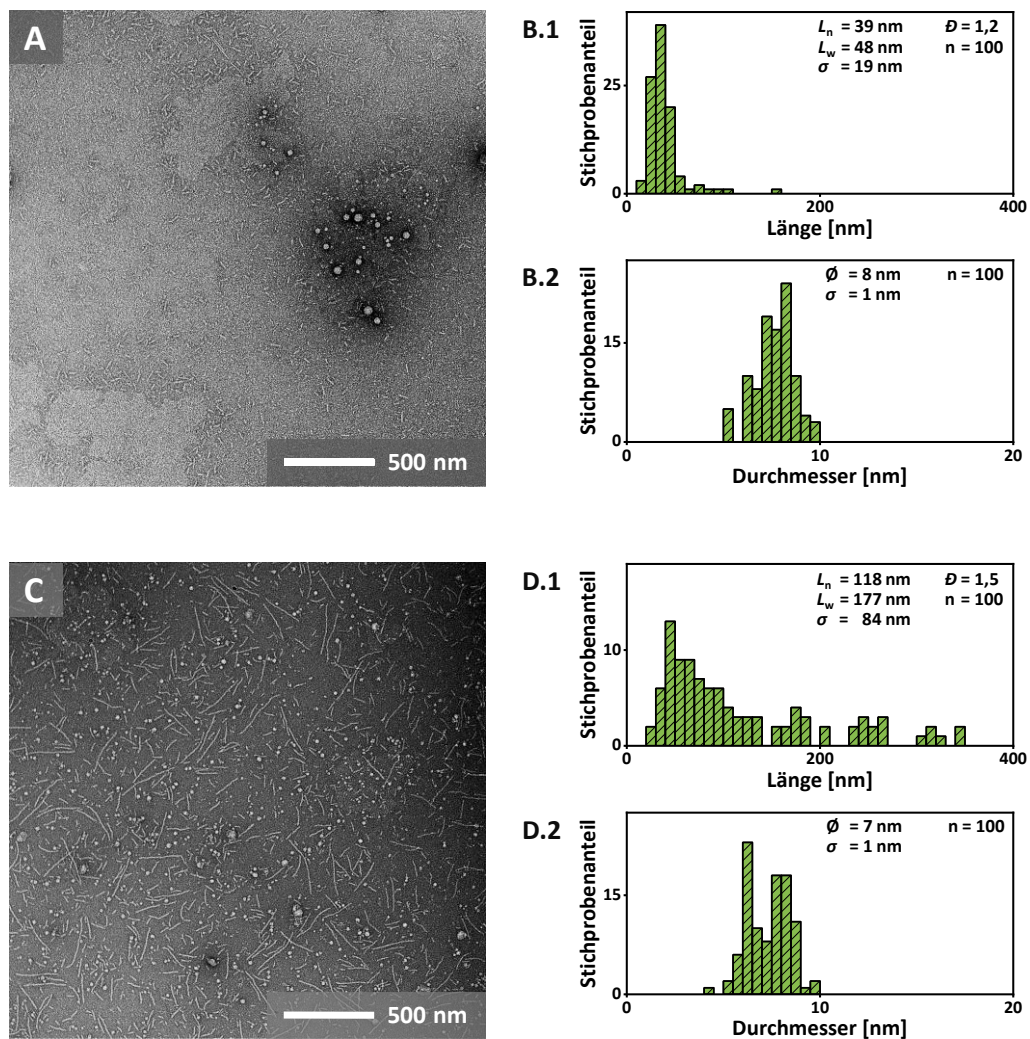
**Abbildung 4.6:** Temperaturabhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von IV-1 (pH = 2,7) in PB (PB 10 mm); C: Auftragung des CD-Effekts bei  $\lambda = 210 \text{ nm}$  gegen die Temperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $c^{\text{UV/vis}} = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ).

Die schwache Ausprägung der Signale wirft im Vergleich zur bei Raumtemperatur zu erkennenden Selbstassemblierung von III-2 Fragen auf. Die verminderte Aggregationsbereitschaft von IV-1 im neutralen Monomerezustand ist als direkte Konsequenz des Austauschs von Phenylalanin durch Glutaminsäure zu verstehen, was die relative Hydrophobizität und damit die Tendenz zur Selbstassemblierung verringert. Diese Beobachtung unterstreicht die Sensitivität und unmittelbare Korrelation der Balance hydrophober und hydrophiler molekularer Eigenschaften und der allgemeinen Fähigkeit zur Selbstassemblierung.

Die genaue Betrachtung des fernen UV-Bereichs lässt ein positives CD-Maximum bei  $\lambda = 219 \text{ nm}$  ( $\Delta\epsilon = 62 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) erkennen, welches dem sogenannten P<sub>II</sub>-Zustand zugeordnet werden kann

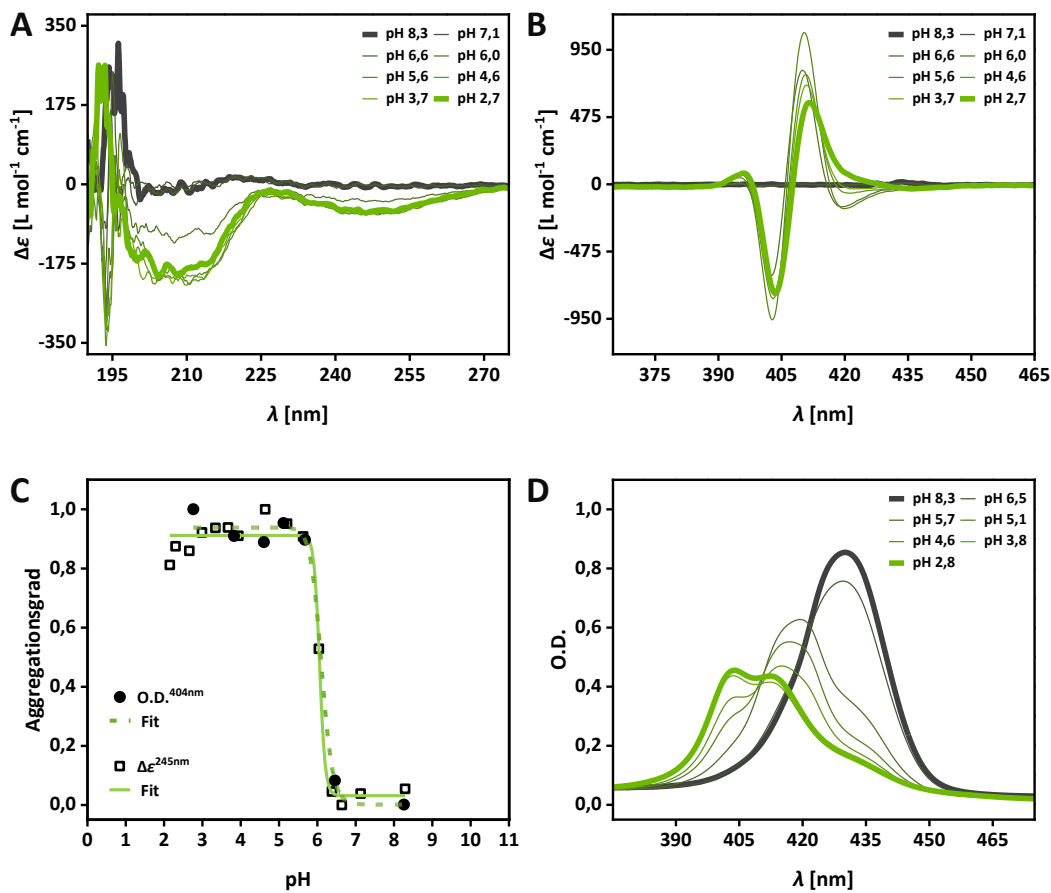
(Abbildung 4.6, A, blau).<sup>[281,282]</sup> Die  $P_{II}$ -Konformation geht auf die Beschreibung ungefalteter Polypeptide zurück, welche zur Ausbildung  $\beta$ -Faltblatt-artiger Motive fähig sind. Dabei ist die  $P_{II}$ -Konformation klar vom sogenannten *random coil* Zustand abzugrenzen, da es sich dabei um eine linear-geordnete Ausrichtung der Peptidsegmente handelt. Tatsächliche Faltungsmuster lassen sich hingegen erst bei höheren Temperaturen infolge von Monomerstapelung erkennen. So erfolgt im Bereich  $T > 25^\circ\text{C}$  die allmähliche Organisation der Seitenarme in  $\beta$ -Faltblatt-artige Muster. Die Auftragung von  $\Delta\varepsilon$  bei  $\lambda_{\text{max}} = 210 \text{ nm}$  gegen die Temperatur liefert auch für **IV-1** eine sigmoidale Fit-Kurve, deren Wendepunkt bei  $T = 46,1^\circ\text{C}$  liegt (Abbildung 4.6, A & C). Die Soret-Bande unterliegt im Laufe der Temperierung einer hypsochromen Verschiebung gemäß der für **III-2** erläuterten Relaxation in eindimensionale H-Aggregate ( $\lambda_{\text{max}} = 404 \text{ nm}$ ) und erscheint als aufgespaltenes Signal. Der korrespondierende Cotton-Effekt erscheint ebenfalls verzerrt ( $\lambda(-) = 420$ ;  $\Delta\varepsilon = -271 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(+) = 410 \text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = 1380 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-) = 403 \text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = -1074 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) und legt die Formation chiral-uneinheitlicher, präferiert rechtshändiger eindimensionaler Aggregate nahe. Analog zu **III-2** zeigen die spektroskopischen Signale keine Veränderung durch Abkühlen der Proben auf, was die Stabilität der gebildeten Nanostrukturen unterstreicht (siehe Anhang A: Abbildung A4.3).

Die spektroskopischen Ergebnisse für die Aggregation von **IV-1** wurden mittels TEM zur Betrachtung der ausgebildeten Morphologie validiert. Die Proben wurden nach Lösen der Monomere in saurem Puffer ( $\text{pH} = 2,6$ ) equilibriert, um den Übergang von Prä-Aggregaten zum vermeintlich thermodynamischen Endzustand abzubilden (Abbildung 4.7, A:  $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $t = 12 \text{ h}$ ; B:  $T = 75^\circ\text{C}$ ,  $t = 3 \text{ h}$ ). Bei Raumtemperatur bildet **IV-1** im ungeladenen Zustand rigide, eindimensionale Strukturen mit einer durchschnittlichen Länge von  $L_n = 39 \pm 19 \text{ nm}$  aus. Für den mittleren Durchmesser konnte ein Wert von  $\varnothing = 8 \pm 1 \text{ nm}$  ermittelt werden, der im Bereich der für **III-2** beobachteten Werte liegt (vergleiche Abbildung 3.21). Zudem wird auch hier mit  $D = 1,2$  eine sehr enge Längenverteilung erhalten. Erwartungsgemäß lässt sich nach Erwärmen ein Längenzuwachs der Nanostrukturen auf  $L_n = 118 \pm 84 \text{ nm}$  beobachten. Der mittlere Durchmesser kann mit  $\varnothing = 7 \pm 1 \text{ nm}$  nach Temperieren als konstant und unabhängig von Temperatureffekten angesehen werden. Die Nanostäbchen verbleiben zudem im einzelsträngigen Zustand und weisen keine Anzeichen von Verdrillung auf. Die Dispersität ist mit  $D = 1,5$  ebenfalls breiter, kann aber noch immer als außergewöhnlich eng angesehen werden.



**Abbildung 4.7:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von **IV-1**; **A:** **IV-1** nach Equilibrieren bei 25°C für 12 Stunden; **B:** Histogramm auf Grundlage graphischer Bildevaluation; (**B.1:** Längenhistogramm, **B.2:** Breitenhistogramm); **C:** **IV-4** nach Temperieren für 3 Stunden ( $T = 75^\circ\text{C}$ ); **D:** Histogramm auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**D.1:** Längenhistogramm, **D.2:** Breitenhistogramm) ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ , TRIS (10 mM),  $\text{pH} = 2,6$ ).

Die pH-Abhängigkeit der Selbstassemblierung von **IV-1** wurde über pH-Titrations ausgehend vom molekular gelösten, geladenen Zustand hin zu Homopolymeren der ungeladenen Monomer-Spezies untersucht. Die Messungen fanden bei  $60^\circ\text{C}$  statt, was innerhalb des Temperaturoptimums der Aggregation von **IV-1** bei niedrigem pH liegt. Festgelegt wurde die Temperatur anhand des Wendepunkts der in Abbildung 4.6 C dargestellten Fit-Kurve des temperaturabhängigen CD-Signals ( $\lambda_{\text{max}} = 210 \text{ nm}$ ,  $T_{50} = 46,4^\circ\text{C}$ ). Unter schwach alkalischen Bedingungen ( $\text{pH} \approx 8,3$ ) zeigen die CD- und UV/Vis-Daten das vorwiegende Vorliegen von **IV-1** als freies Monomer vor (Abbildung 4.8 D, grau:  $\lambda_{\text{Mono}} = 430 \text{ nm}$ ). Dies liegt in der COULOMB-Repulsion der deprotoniert und damit geladen vorliegenden Glutaminsäure-Reste des Peptidrückgrats begründet, welche der eindimensionalen Monomer-Stapelung entgegenwirkt. Die schrittweise Titration mit wässriger Salzsäure bedingt die Protonierung der Glutaminsäure-Gruppen und führt zur Zunahme der Hydrophobizität.

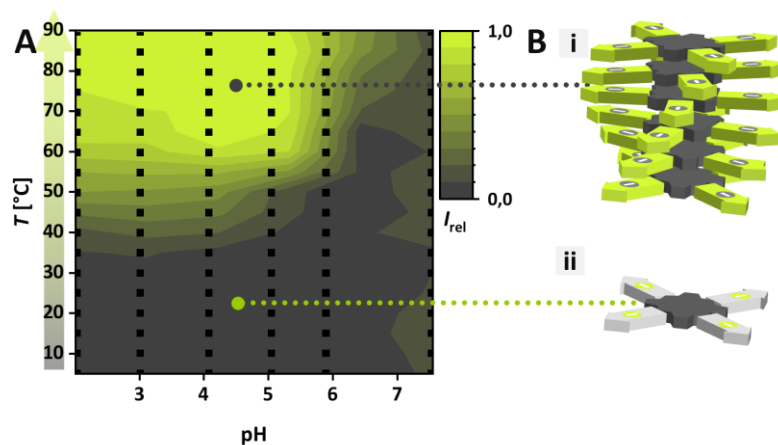


**Abbildung 4.8:** pH-abhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von **IV-1**; C: Auftragung des normierten CD-Effekts bei  $\lambda = 210$  nm gegen den pH-Wert ( $c^{CD} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{UV/Vis} = 5 \times 10^{-6}$  M,  $T = 60^\circ\text{C}$ , PB (10 mm)).

Entsprechend lässt sich spektroskopisch die graduell voranschreitende Selbstassemblierung unter Ausbildung von H-Aggregaten mit  $\beta$ -Faltblatt-artig arrangierten Peptidsegmenten beobachten (Abbildung 4.8 A, grün). Der Intensitätsanstieg erfolgt dabei ab  $\text{pH} < 6,5$  sprunghaft. Die kolumnare Stapelung der Monomere wird anhand der Absorption der geteilten Soret-Bande ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH } 2,76} = 403$  nm) und des auftretenden COTTON-Effekts ( $\lambda(+)=412$ ;  $\Delta\epsilon = 577$  L mol $^{-1}$  cm $^{-1}$   $\rightarrow$   $\lambda(-) = 404$  nm,  $\Delta\epsilon = -764$  L mol $^{-1}$  cm $^{-1}$   $\rightarrow$   $\lambda(+)=395$  nm,  $\Delta\epsilon = 87$  L mol $^{-1}$  cm $^{-1}$ ) bestätigt. Der beobachtete Übergang erfolgt jedoch nicht völlig graduell. Das Exziton-Signal erreicht das Intensitätsmaximum unmittelbar nach dem scharfen Intensitätswechsel durch Ladungsneutralisation ( $\text{pH} = 4,6$ ). Im weiteren Verlauf verringert sich die Intensität und das Signal stabilisiert sich. Zudem scheint die Ausbildung der Aggregate einem zweistufigen Prozess zu folgen, was durch das Vorhandensein zweier isosbestischer Punkte ( $\lambda_{\text{iso}^I} = 422$  nm,  $\lambda_{\text{iso}^{II}} = 410$  nm) ersichtlich wird. So durchläuft **IV-1** zunächst den CD-inaktiven Dimer- bzw. Oligomerezustand, bevor die finale Relaxation hin zu supramolekularen formanisotropen Polymeren ( $\text{pH} < 5,1$ ) stattfindet. Sowohl das Absorptionssignal bei  $\lambda_{\text{max}} = 404$  nm wie auch das CD-Signal bei  $\lambda_{\text{max}} = 210$  nm wurden normiert und gegen den pH-Wert aufgetragen. Anschließend wurden beide Datensätze einem Fit unterzogen, um anhand der Fit-Kurve den pH-abhängigen Polymerisationsgrad darzustellen (Abbildung 4.8, C). Die Fit-Kurven der UV/Vis- und CD-Messungen erscheinen nahezu identisch und zeigen dabei in beiden Fällen einen 50%-igen Polymerisationsgrad bei  $\text{pH}_{50} = 6,0$  an. Diese Beobachtung ist insofern ungewöhnlich, als dass der erwartete pH-Wert für einen 50%-igen (De)Protonierungsgrad auf Grundlage des pKs-

Wertes der Glutaminsäure-Seitenkette niedriger liegt ( $pK_s(\text{Glu}) \approx 4,3$ ).<sup>[283]</sup> Ein ähnliches Verhalten wurde bereits für geladene  $C_3$ -symmetrische Peptidamphiphile beschrieben.<sup>[200]</sup> Die Verschiebung des apparenten  $pK_s$  steht demnach mit der Stabilisierung hydrophober Molekülsegmente als thermodynamische Triebkraft der Selbstassemblierung in Verbindung und ist ein typisches Phänomen in wässrigen Systemen.

Um die Selbstassemblierung von **IV-1** als Resultat zweier externer Stimuli abbilden zu können, bietet sich die Darstellung des Einflusses beider Parameter über ein zweidimensionales Zustandsdiagramm an, wie in Abbildung 4.9 A gezeigt. Die präsentierten Datenpunkte stammen aus der CD-spektroskopischen Verfolgung der Ausbildung des Signals  $\beta$ -Faltblatt-artiger Sekundärstruktur motive ( $\lambda = 210 \text{ nm}$ ) unter kinetischer Kontrolle ( $1 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ ) bei konstanten pH-Werten zwischen  $\text{pH} = 2,0$  und  $\text{pH} = 7,5$  und wurden vor der Auftragung normiert, um den relativen Polymerisationsgrad abzubilden.

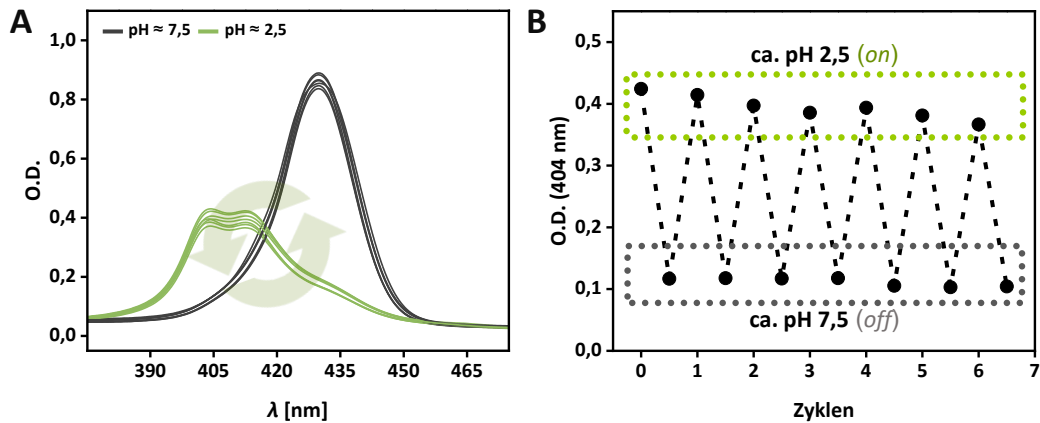


**Abbildung 4.9:** A: Zweidimensionales Zustandsdiagramm von **IV-1** in Phosphatpuffer (10 mM) als Funktion von pH und Temperatur durch die Auftragung des normierten CD-Signals bei  $\lambda = 210 \text{ nm}$  ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ). B: Schematische Darstellung der beiden Endzustände; i: Supramolekulares Polymer (Polymerisationsgrad 1); ii: Freies Monomer (Polymerisationsgrad 0).

Die Auftragung fasst die zuvor diskutierten Einflüsse von pH-Wert und Temperatur auf die Selbstassemblierung von **IV-1** zusammen und verdeutlicht neben dem Stellenwert des pH-Werts als Parameter für die elektrostatische Schaltbarkeit des Systems die Elongationsbarriere, welche trotz des sauren Milieus unterhalb  $\text{pH} 6$  besteht. Bei pH-Wert und Temperatur handelt es sich nicht um voneinander unabhängige Parameter. Trotz der Protonierung von Glutaminsäure bleibt der Assemblierungsprozess kinetisch gehemmt und auf der experimentellen Zeitskala lässt sich die Polymerisation nur für niedrige pH-Werte in Kombination mit hohen Temperaturen erreichen. Es sei anzumerken, dass das Zustandsdiagramm nur den aufbauenden Selbstassemblierungsprozess darstellt, da keine Temperatur-responsive Depolymerisation zu realisieren ist. Zudem beschränkt sich die Gültigkeit der Auftragung auf die angewandte Heizrate

Abschließend wurde die Schaltbarkeit des Assemblierungsprozesses durch alternierende pH-Änderungen überprüft. Der pH-Wert einer Monomer-Lösung wurde bei  $T = 60^\circ\text{C}$  abwechselnd durch die Zugabe wässriger HCl und NaOH zwischen  $\text{pH} \approx 2,5$  und  $\text{pH} \approx 7,5$  justiert. Abbildung

4.10 stellt neben den Spektren der jeweiligen UV/Vis-Messungen (A) auch die Auftragung der Intensität der SORET-Bande ( $\lambda_{\max} = 404 \text{ nm}$ ) gegen die Anzahl der durchgeführten Zyklen dar (B).



**Abbildung 4.10:** A: UV/Vis-Spektren von IV-1 nach alternierender Einstellung eines sauren und neutralen pH-Werts ( $T = 60^\circ\text{C}$ ,  $c = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ); B: Korrespondierende Änderungen der Absorption bei  $\lambda = 403 \text{ nm}$ .

Nach dem initialen pH-Übergang ( $\text{pH} = 8,3 \rightarrow \text{pH} = 2,3$ ) mit Ausbildung von eindimensionalen H-Aggregaten führt der Wechsel in den neutralen pH Bereich zur Regeneration des Monomer-Signals ( $\lambda_{\max} = 430 \text{ nm}$ ), was zuvor durch bloßes Abkühlen nicht möglich war. Innerhalb der insgesamt 7 durchgeführten Zyklen konnte der stetige Zustandswechsel beobachtet werden, was die Reversibilität des pH-abhängigen Aggregationsvorgangs bestätigt. IV-1 zählt damit zur Klasse der dual-responsiven, schaltbaren supramolekularen Materialien

## 4.3 Fazit

In Kapitel 4 wurde das Prinzip der supramolekularen Polymerisation von Porphyrin-Peptidamphiphilen unter kinetischer Kontrolle um die Ansprechbarkeit auf Änderungen des pH-Werts erweitert. Anknüpfend an die Ergebnisse in Kapitel 3 galt der Fokus einem Derivat von **III-2**, welches durch strukturelle Anpassungen die pH-Schaltbarkeit des Assemblierungsverhaltens zulassen sollte.

Die Synthese verlief nach dem in Kapitel 3 vorgestellten etablierten Protokoll zur Darstellung von Porphyrin-Peptidamphiphilen, welches nach Funktionalisierung des über SPPS erhaltenen Oligopeptids mit mPEG ( $M_w(\text{mPEG}) = 1000 \text{ g mol}^{-1}$ ) die Konjugation der resultierenden Peptidamphiphile über CuAAC an **III-14** vorsieht, wodurch sich die Vielseitigkeit der Synthesestrategie auch im Hinblick auf die Toleranz gegenüber funktionellen Gruppen zeigte.

Die Untersuchung des Assemblierungsverhaltens unter gepufferten Bedingungen zeigte die Kombination aus pH-Abhängigkeit und der zuvor diskutierten Thermoresponsivität, wobei letztere zunächst insofern verwunderlich erschien, als dass dieser Effekt bezüglich der Unterschiede zwischen **III-2** ( $\text{GF}_3$ ) und **III-3** ( $\text{G}_2\text{F}_3$ ) ursprünglich auf das flexible Diglycin-Segmente zurückgeführt wurde. Im Fall von ungeladenem **IV-1** ( $\text{GFEF}$ ,  $\text{pH} = 2,7$ ) bedingt der Austausch von Phenylalanin durch Glutaminsäure eine Verschiebung der Molekül-internen Balance hydrophiler und hydrophober molekularer Eigenschaften, was sich im verminderten Aggregationsbestreben bei Raumtemperatur äußert und die Elongation, aller Wahrscheinlichkeit nach aufgrund von Desolvations-Effekten, erst bei höheren Temperaturen ermöglicht.

Ausgehend von negativ geladenem **IV-1** ( $\text{pH} = 11,0$ ) war die Initiation der anisotropen Strukturformation bei erhöhter Temperatur ( $T = 60^\circ\text{C}$ ) durch die sukzessive Anpassung des pH-Wertes von basisch auf sauer und die damit einhergehende Neutralisation der peripheren Ladungen möglich. Die insgesamt weiterhin stark ausgeprägte Aggregationstendenz wurde dabei anhand der Verschiebung des apparenten, Assemblierungs-assoziierten  $\text{pK}_s$ -Werts zu höheren pH-Werten ( $\text{pH}_{50} = 6,0$ ) aufgrund thermodynamischer Triebkräfte zur Selbstassemblierung belegt. Dieser Befund stellt insofern einen vielversprechenden Ausgangspunkt zur gezielten Modifikation des pH-responsiven Assemblierungsverhaltens dar, als dass die Aggregationstendenz direkt mit dem Verhältnis hydrophober zu hydrophiler Strukturelemente zusammenhängt, was die Verschiebung des apparenten  $\text{pK}_s$ -Werts durch Anpassung des molekularen Designs ermöglicht. Darüber hinaus bedingt die saure Natur der Monomerseitenketten, dass sich auch die ausgebildeten Nanostrukturen pH-responsiv zeigen und die erneute Änderung des pH-Werts einen destabilisierenden Effekt hat. Dabei stellte sich die Depolymerisation infolge der Deprotonierung von Glutaminsäure als reversibler Prozess heraus, der die mehrmalige Schaltung zwischen Monomer und Polymer über mehrere Zyklen auf dual-Stimuli-responsive Art erlaubt.

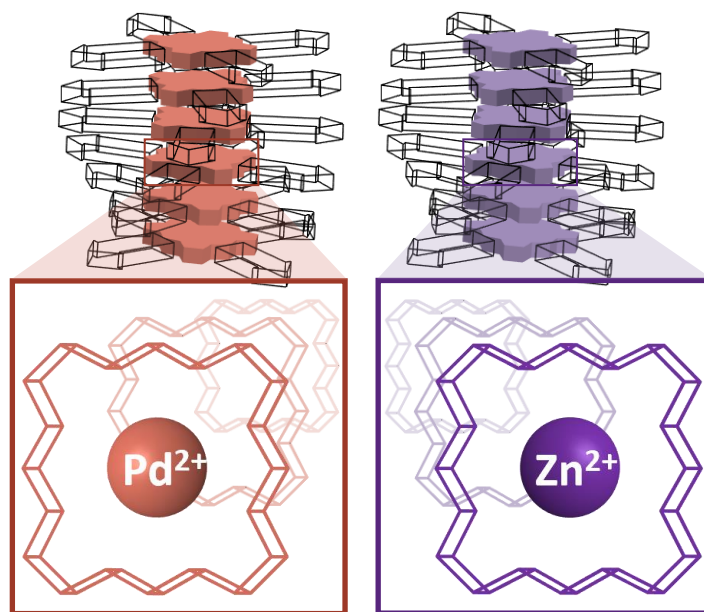


---

## Kapitel 5

### Selbstassemblierung von Porphyrin- Peptidamphiphilen in Abhängigkeit des Metallzentrums

---



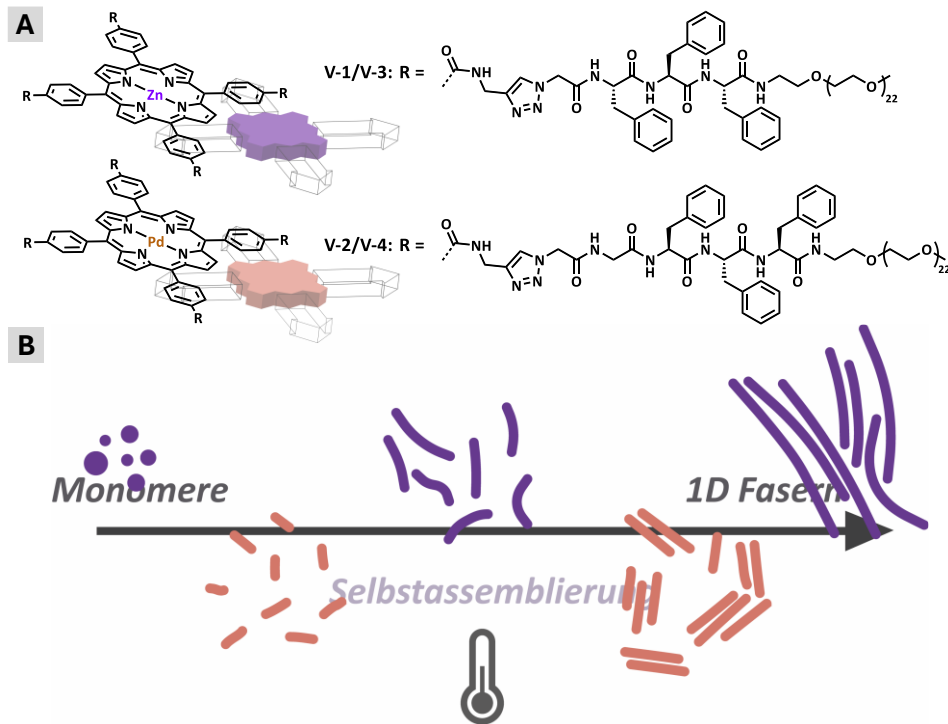
## 5.1 Motivation und Konzept

In Anbetracht der Erkenntnisse aus Kapitel 3 ergibt sich als Konsequenz der empfindlichen Wechselbeziehung beteiligter nicht-kovalenter Kräfte, dass subtile strukturelle Merkmale direkt auf den Verlauf und die Produkte supramolekularer Organisationsprozesse Einfluss nehmen können. Diese Annahme lässt sich auf die Rolle des Zentralatoms bei der Selbstassemblierung wasserlöslichen Porphyrin-Peptidamphiphile übertragen.

Ein relevanter Aspekt befasst sich mit der Frage des Beitrags des Metallzentrums und möglicher metallophiler Wechselwirkungen beim Aufbau von Nanostrukturen. Metallophilie beschreibt ein attraktives Bindungsphänomen zwischen Metallen mit  $d^{10}$  (Au(I))- oder  $d^8$  (Pt(II), Pd(II), Ni(II))-Elektronen-Konfiguration und kann unter anderem auf die Hybridisierung von  $d$ - und  $s$ -Orbitalen zurückgeführt werden.<sup>[284–286]</sup> Die energetische Signifikanz dieser allgemein als eher schwach angesehenen Kräfte wird kontrovers diskutiert und deren Quantifizierung gestaltet sich aus dem Grund schwierig, als dass es nur bedingt möglich ist, sie isoliert zu betrachten. Letzteres spiegelt sich auch in der sehr limitierten Anzahl an Literaturbeispielen wider, die sich dieser Problematik annehmen.

Die Gruppe um COCKCROFT konnten beispielsweise anhand einer systematischen Studie zur Selbstassoziation minimalistischer Au(I)-, Pt(II)- und Pd(II)-Komplexe unter Zuhilfenahme computergestützter *energy decomposition analysis* (EDA)-Methoden den Beitrag aurophiler, platinophilie und palladophiler Wechselwirkungen quantifizieren.<sup>[287]</sup> Der Stellenwert metallophiler Interaktionen sei jedoch anderen energetischen Faktoren stark unterzuordnen, weswegen die Autoren klar Vorbehalte gegenüber der Über-Interpretation des Einflusses bei der Strukturformation äußerten. Trotz der Tatsache, dass metallophile Wechselwirkungen vergleichsweise schwach sind, ist der von ihnen ausgehende aggregationsfördernde Effekte als solcher nicht pauschal von der Hand zu weisen. Vielmehr gilt die Prämisse einer differenzierten Betrachtung, vor allem im Hinblick auf die Gesamtstruktur sowie sterische und Koordinationsgeometrie-betreffende Faktoren der jeweiligen Systeme.

Nachdem die Steuerung des Polymerisationsverhaltens durch externe Stimuli und in Abhängigkeit der chemischen Struktur der amphiphilen Peptidsegmente bereits gelungen ist, widmet sich das folgende Kapitel somit der Rolle des Zentralatoms bei der Selbstassemblierung von Porphyrin-Peptidamphiphilen. Ausgehend von strukturellen Varianten der in Kapitel 3 vorgestellten Monomere **III-2** ( $G_2F_3$ ) und **III-3** ( $G_2F_3$ ) soll ein qualitativer Vergleich des Selbstassemblierungsverhaltens und der Stabilität gebildeter Nanostrukturen erfolgen, der tiefere Einblicke in die Zusammenhänge zwischen Strukturformation und der Natur des Zentralatoms geben soll. Vor dem Hintergrund der Empfindlichkeit von Zn(II)-Porphyrinen gegenüber der Assoziation LEWIS-basischer axialer Liganden steht dabei zudem die Darstellung eines koordinativ-inerten Porphyrin-Komplexes mit quadratisch-planarer Koordinationsgeometrie als Grundbaustein einer neuen Generation an Porphyrin-Peptidamphiphilen im Vordergrund, welcher die Mehrkomponenten-Assemblierung auf Basis der Toleranz des koordinativen Zentrums gegenüber funktioneller Gruppen in Aussicht stellt.



**Abbildung 5.1:** A: Chemische Struktur der darzustellenden Porphyrin-Monomere mit unterschiedlichen Metallzentren (Zink(II): **V-1/V-2**; Palladium(II): **V-3/V-4**) und peripheren Seitenarmen. B: Schema der Ausbildung von Überstrukturen von **V-1/V-2** (violett) und **V-3/V-4** (orange).

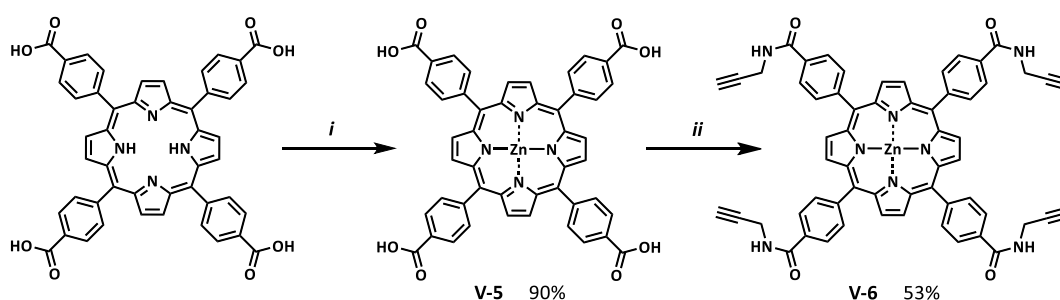
Den Ausgangspunkt dafür stellt die Entwicklung einer alternativen Synthesestrategie dar, welche neben Zn(II)-Porphyrinen auch den Zugang zu entsprechenden Alkin-funktionalisierten Pd(II)-Porphyrin-Derivaten ermöglichen soll. Die neu synthetisierten Zn(II)- und Pd(II)-Porphyrine sollen anschließend über CuAAC um die in Kapitel 3 vorgestellten Peptidamphiphilen  $N_3G_3mPEG^{1k}$  (**III-12b**) und  $N_3G_2F_3mPEG^{1k}$  (**III-13a**) erweitert werden. Die resultierenden Monomere stellen zwei Sets supramolekularer Bausteine dar, die, analog zu **III-2** und **III-3** mit Blick auf ihre strukturellen Unterschiede, vor allem aber hinsichtlich des Einflusses der Insertion von Pd(II) in den Porphyrin-Kern auf die Selbstassemblierung und Stabilität der gebildeten Strukturen, untersucht werden sollen.

## 5.2 Ergebnisse und Diskussion

Kapitel 5 widmet sich zunächst der synthetischen Darstellung einer neuen Generation ungeladener Porphyrin-Peptidamphiphile auf struktureller Basis der zuvor vorgestellten Monomere **III-2** und **III-3**. Anschließend wird das Assemblierungsverhalten analog zum Vorgehen in Kapitel 3 hinsichtlich struktureller Unterschiede und der Rolle des Zentralatoms beim Aufbau und der Stabilität eindimensionaler Nanostrukturen diskutiert.

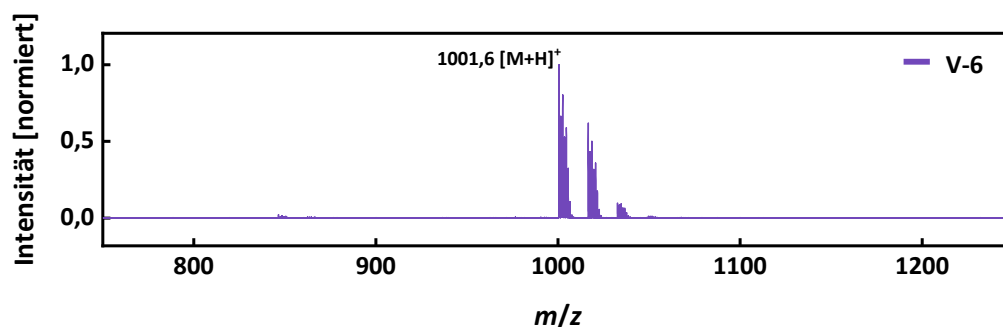
### 5.2.1 Synthese der Monomere V-1 bis V-4

Im Hinblick auf die Darstellung inerter Porphyrin-Komplexe stellte die Synthese eines  $d^8$ -Metall-Derivat des zuvor verwendeten Zink(II)-Tetra(4-ethinylphenyl)porphyrins (**III-14**) den Ausgangspunkt dar, für welches Pd(II) als Zentralatom infrage kam. Da die Insertion von Pd(II) im Vorfeld jedoch unter den nötigen Reaktionsbedingungen ausgehend von **H<sub>2</sub>TEPP** nicht möglich war, war es nötig, eine neuen Synthesestrategie zur Darstellung eines Pd(II)-Porphyrins zu verfolgen, welches für CuAAC eingesetzt werden kann. Die entsprechende Syntheseroute sieht die Umsetzung metallierter Tetra(4-carboxyphenyl)-funktionalisierter Porphyrine (**M(II) TCPP**) mit Propargylamin vor, um diese mit terminalen Alkin-Gruppen auszustatten. Dem folgend wurden die Template **V-6** und **V-9** über jeweils leicht angepasste Reaktionswege synthetisiert (Abbildung 5.2 & 5.4). Die im Folgenden diskutierten Syntheseschritte wurden in Zusammenarbeit mit [REDACTED] durchgeführt.<sup>[288]</sup>



**Abbildung 5.2:** Syntheseroute zur Darstellung des Zink(II)-Porphyrin-Derivats **V-6**. **i:** **H<sub>2</sub>TCPP** (1,0 Äq.), **Zn(OAc)<sub>2</sub> × 2 H<sub>2</sub>O** (5,5 Äq.), DMF, 155°C, 12 h; **ii:** **V-5** (1,0 Äq.), PyAOP (8,0 Äq.), DIPEA (15,0 Äq.), Propargylamin (15,0 Äq.), DMF, 25°C, 24 h.

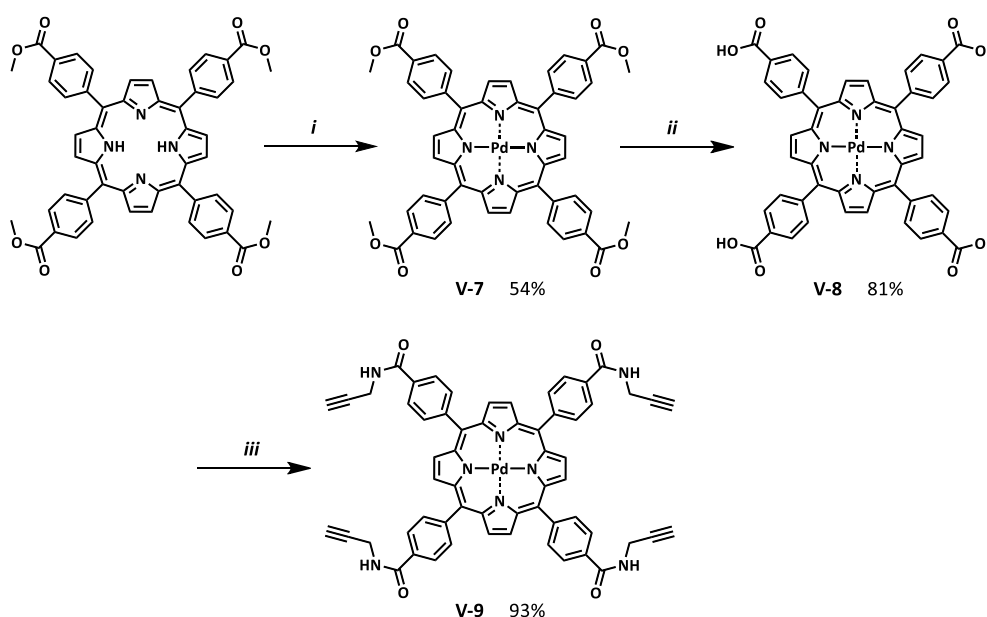
Ausgehend von der freien Tetra(4-carboxyphenyl)porphyrin-Base (**H<sub>2</sub>TCPP**) erfolgte die Umsetzung in Anlehnung an die ADLER-Methode über eine angepasste Synthesevorschrift nach SUN *et. al.* mit **Zn(OAc)<sub>2</sub>** in siedendem DMF bei  $T = 155^\circ\text{C}$ , was zu einer vollständigen Insertion innerhalb weniger Stunden führte.<sup>[289]</sup> Das Produkt wurde durch Lösen in verdünnter NaOH, Fällen durch Ansäuern und anschließendem Lyophilisieren aus **H<sub>2</sub>O** in 90%-iger Ausbeute erhalten. Die Umsetzung mit Propargylamin erfolgte unter Eiskühlung über PyAOP-vermittelte Amidierung in DMF. Da sich die Reaktionsprodukte aus der Umsetzung von **V-5** mit Propargylamin lediglich in DMF und DMSO lösen ließen, wurde der Verlauf der Reaktion über MALDI-ToF-MS überprüft, was nach 12 Stunden einzig das vierfach-funktionalisierte Zielmolekül zeigte (**V-6**:  $m/z = 1001,6$  (Berechnung für  $[\text{M}+\text{H}]^+$ :  $m/z = 1001,3$ )), neben Verunreinigungen die weder Addukten anderer Gegenionen noch bekannten Nebenprodukten zugeordnet werden konnten (Abbildung 5.3).



**Abbildung 5.3:** MALDI-MS Spektrum der Reaktionskontrollen zur Darstellung von **V-6**, aufgenommen im Bereich zwischen 700 – 1300  $m/z$  (Matrix: DCTB+KTFA, positiver Reflektormodus).

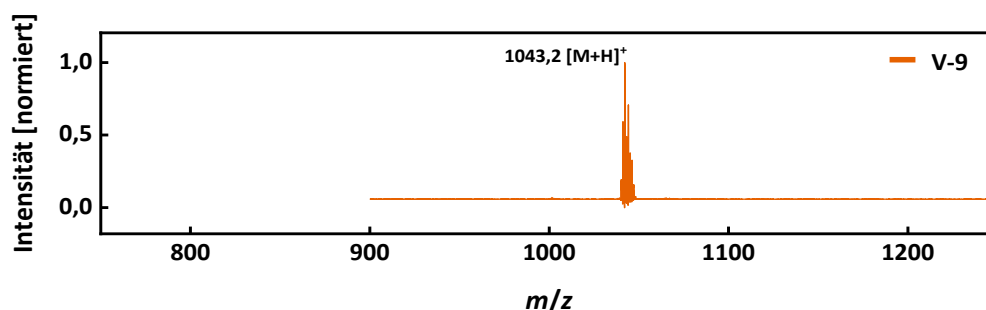
Nach Beendigung der Reaktion wurde versucht, das unlösliche Produkt durch exzessives Waschen (MeOH, DCM,  $\text{CHCl}_3$ , ACN,  $\text{H}_2\text{O}$ ) von Verunreinigungen zu befreien, wodurch **V-6** letztlich nach Trocknen als violetter Feststoff in 53%-iger Ausbeute erhalten werden konnte.

Eingangs wurde die Schwierigkeit bei der Insertion von Palladium(II) thematisiert. Durch die unterschiedliche elektronische Konfiguration und den höheren sterischen Anspruch verlangt die Insertion von Palladium(II) typischerweise spezifische, weitaus harschere Reaktionsbedingungen als dies für andere Übergangsmetallionen wie beispielsweise Zink(II) der Fall ist. Die Standardmethode zur Darstellung von Pd(II)-Porphyrinen sieht die Umsetzung freier Porphyrin Base mit Palladium(II)-Salzen in siedendem Benzonitril bei  $195^\circ\text{C}$  vor.<sup>[290]</sup> Benzonitril ist als Lösungsmittel essenziell, da es nahe seinem Siedepunkt durch seine geringe Basizität einen Prä-Komplex mit Pd(II) eingeht, der als solcher die anschließende Insertion erst ermöglicht.<sup>[291]</sup> Der höhere Siedepunkt von Benzonitril wirkt jedoch limitierend auf die Anwendung dieser Methode bezüglich thermisch labiler organischer Liganden und funktioneller Gruppen. Aus diesem Grund erfolgte die Darstellung von **V-9** ausgehend von *meso*-Tetra(4-methoxycarbonylphenyl)porphyrin (Abbildung 5.4).



**Abbildung 5.4:** Syntheschema zur Darstellung des Palladium(II)-Porphyrin-Derivats **V-9**. i:  $\text{H}_2\text{TMCPP}$  (1,0 Äq.),  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (2,0 Äq.), PhCN,  $195^\circ\text{C}$ , 1 h; ii:  $\text{H}_2\text{O}$ , THF, MeOH, KOH,  $85^\circ\text{C}$ , 18 h; iii: **V-8** (1,0 Äq.), PyAOP (8,0 Äq.), DIPEA (15,0 Äq.), Propargylamin (15,0 Äq.), DMF,  $25^\circ\text{C}$ , 24 h.

Der Methylester minimiert die Wahrscheinlichkeit einer partiellen Decarboxylierung. In Anlehnung an ein Syntheseprotokoll von HEINZE *et. al.* wurde die freie Methylester-geschützte Porphyrin Base (**H<sub>2</sub>TMCPP**) mit einem Überschuss an Palladium(II)acetat in frisch destilliertem Benzotrifluorid für eine Stunde refluxiert und anschließend chromatographisch an Silica als Pd(II)-Komplex **V-7** isoliert (54%).<sup>[292]</sup> Zum Erhalt der Carbonsäure wurde **V-7** einer Hydrolyse-Reaktion in methanolischer KOH-Lösung unter Zusatz von THF unterzogen, durch Zugabe verdünnter HCl ausgefällt und in 81%-iger Ausbeute erhalten. Analog zur Darstellung von **V-6** erfolgte die Umsetzung mit Propargylamin über PyAOP-vermittelte Amidierung. Das MALDI-ToF-MS-Spektrum zur Überprüfung des Reaktionsfortschritts zeigte nach 12 Stunden bereits einen vollständigen Umsatz ohne das Auftreten von Nebenprodukten wie etwa im Fall von **V-6** (Abbildung 5.5: **V-9**:  $m/z = 1043,2$  (Berechnung für  $[M+H]^+$ :  $m/z = 1043,2$ )), was in der erhöhten *meso*-Elektrophilie von Pd(II)-Porphyrin-Komplexen begründet liegen kann.<sup>[293]</sup> Dies spiegelt sich auch in der exzellenten Ausbeute von 93% nach exzessivem Waschen wider.



**Abbildung 5.5:** MALDI-MS Spektrum der Reaktionskontrollen zur Darstellung von **V-9**, aufgenommen im Bereich zwischen 900 – 1300  $m/z$  (Matrix: DCTB+KTFA, positiver Reflektormodus).

Die Charakterisierung erfolgte mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie. Abbildung 5.6 zeigt die Spektren mitsamt Signalzuordnung beider Templat-Moleküle **V-6** und **V-9**. Das Zentralatom zeigt dabei keinen wesentlichen Einfluss auf die Lage der NMR-Signale. Die Funktionalisierung mit Propargylamin kann am Triplett-Signal der terminalen Alkin-Protonen (Abbildung 5.6, e:  $\delta = 3,23$  ppm) und dem tieffeldverschobenen Dublett von Dubletts der Protonen der verbrückenden Methylen-Gruppen (Abbildung 5.6, d:  $\delta = 4,24$  ppm) nachvollzogen werden. Ein Indikator für die Vollständigkeit der Umsetzung stellen die Protonen-Signale der neugeknüpften Amidbindung dar (Abbildung 5.6, a:  $\delta = 9,32$  ppm).

Die Porphyrin-Templates **V-6** und **V-9** wurden nach dem mehrfach erprobten Konjugations-Protokoll über CuAAC um die in Kapitel 3 vorgestellten Azid-funktionalisierten Peptidamphiphile **III-12b** und **III-13a** erweitert (Abbildung 5.7).

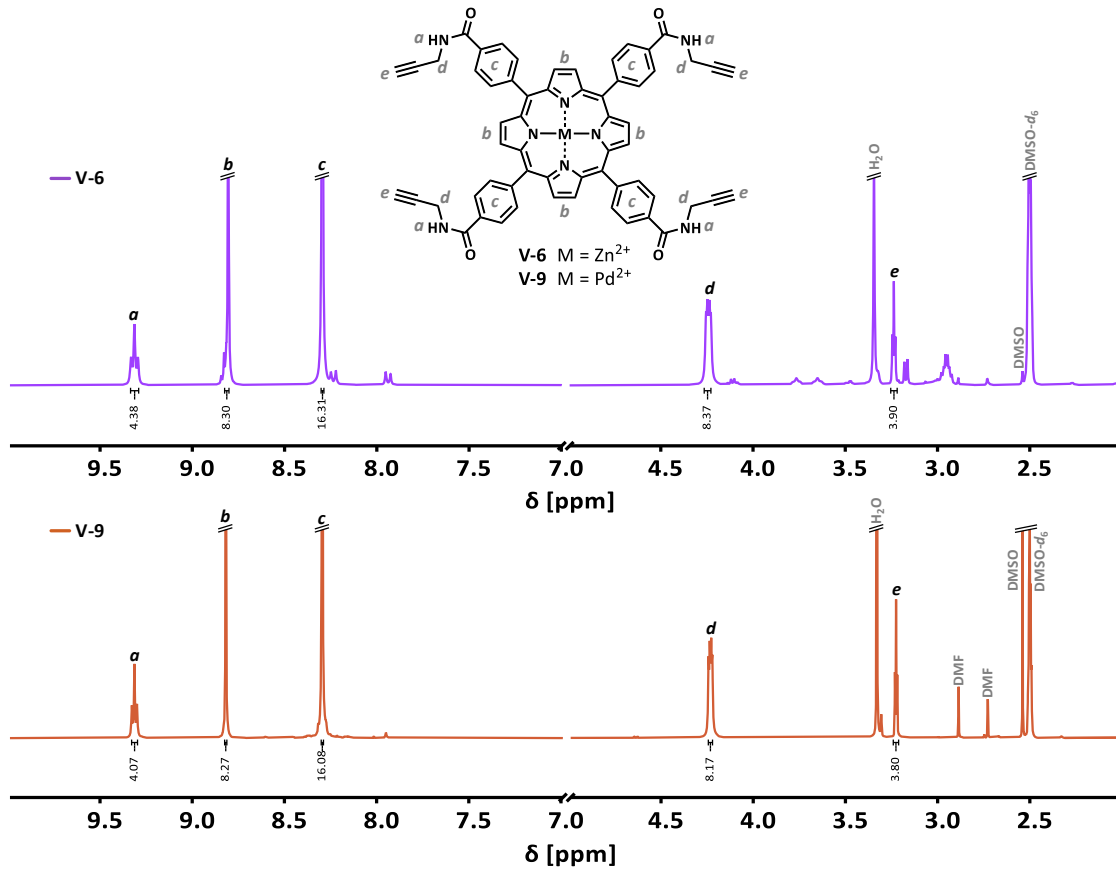


Abbildung 5.6:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Porphyrin-Derivate **V-6** (oben) und **V-9** (unten) ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

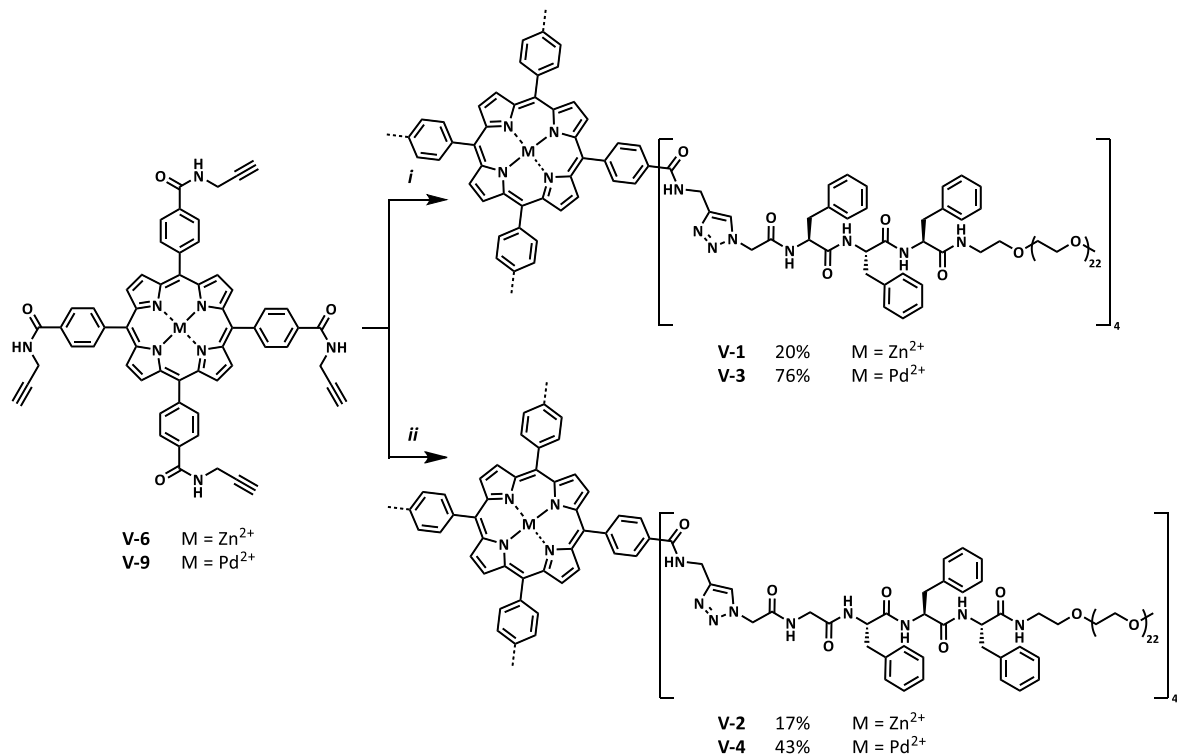
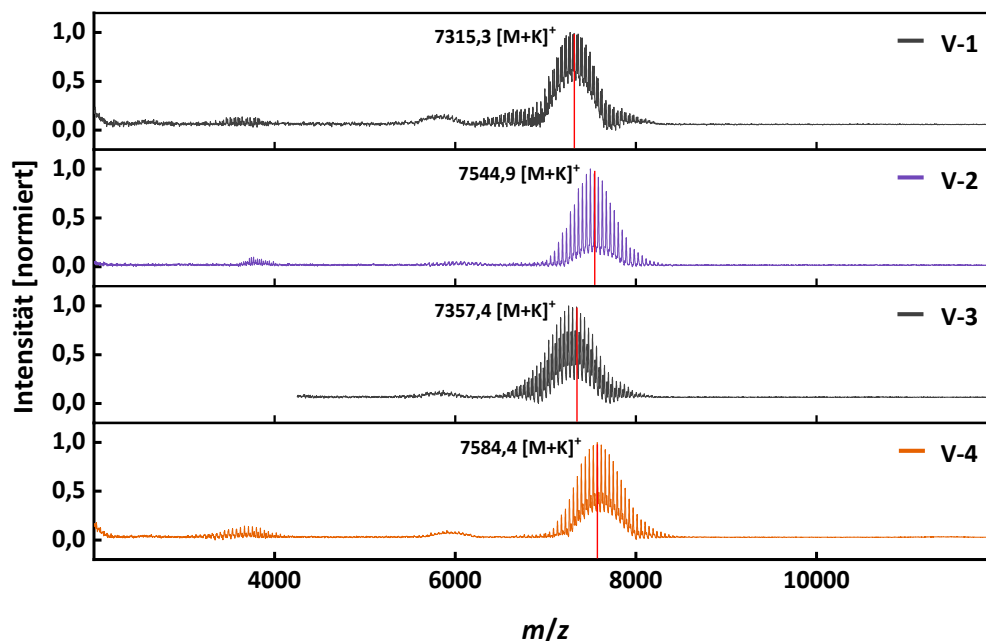


Abbildung 5.7: Synthese der *meso*-substituierten Porphyrin-Peptidamphiphile **V-1** bis **V-4**. i: **V-6** (1,0 Äq.), **III-12b** (5,5 Äq.),  $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$  (1,0 Äq.), TBTA (0,8 Äq.), Natriumascorbat (2,3 Äq.),  $\text{DMSO}$ ,  $40^\circ\text{C}$ , 24 h; ii: **V-9** (1,0 Äq.), **III-13a** (5,5 Äq.),  $\text{CuSO}_4 \times 5 \text{H}_2\text{O}$  (1,0 Äq.), TBTA (0,8 Äq.), Natriumascorbat (2,3 Äq.),  $\text{DMSO}$ ,  $40^\circ\text{C}$ , 24 h.

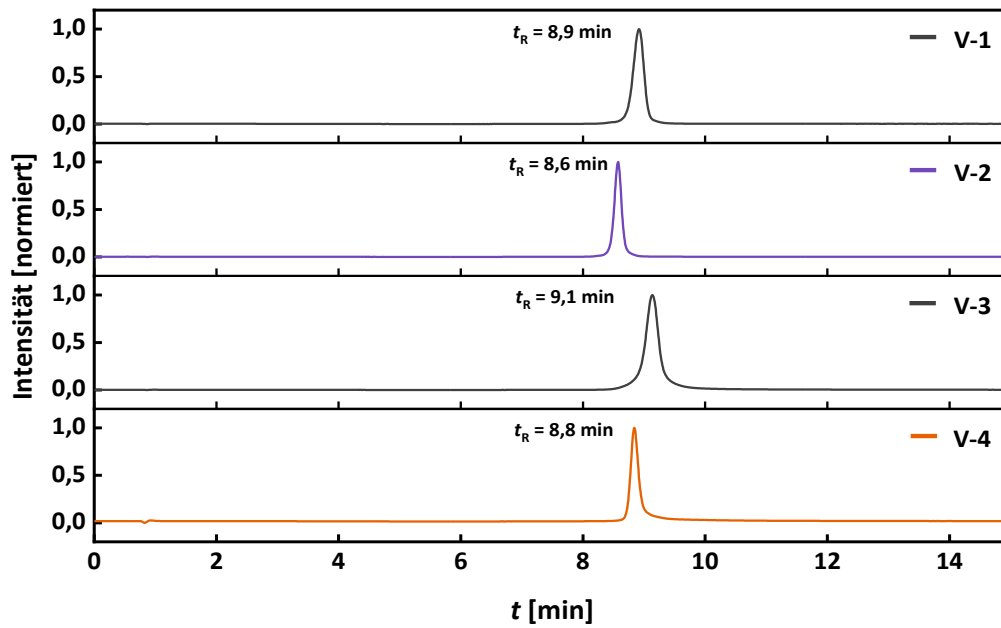
Auch hier stellte sich MALDI-ToF-MS als ausgezeichnete Methode zur Überprüfung des Reaktionsfortschritts heraus. Abbildung 5.8 zeigt die aufgenommenen Spektren der Reaktionskontrollen nach 18 Stunden. Erneut ließen sich hauptsächlich die Zielmoleküle detektieren (**V-1**:  $m/z = 7315,3$  (Berechnung für  $[M+K]^+$ :  $m/z = 7313,7$ ); **V-2**:  $m/z = 7544,9$  (Berechnung für  $[M+K]^+$ :  $m/z = 7541,8$ ); **V-3**:  $m/z = 7357,4$  (Berechnung für  $[M+K]^+$ :  $m/z = 7355,6$ ); **V-4**:  $m/z = 7584,4$  (Berechnung für  $[M+K]^+$ :  $m/z = 7583,7$ )), was für die universelle Anwendbarkeit des Click-Ansatzes zur Darstellung unterschiedlicher Porphyrin-Peptidamphiphile spricht.



**Abbildung 5.8:** MALDI-MS Spektren der Reaktionskontrollen zur Darstellung von **V-1** bis **V-4**, aufgenommen im Bereich zwischen 2000 – 12000  $m/z$  (Matrix: DCTB+KTFA, linear-positiver Modus).

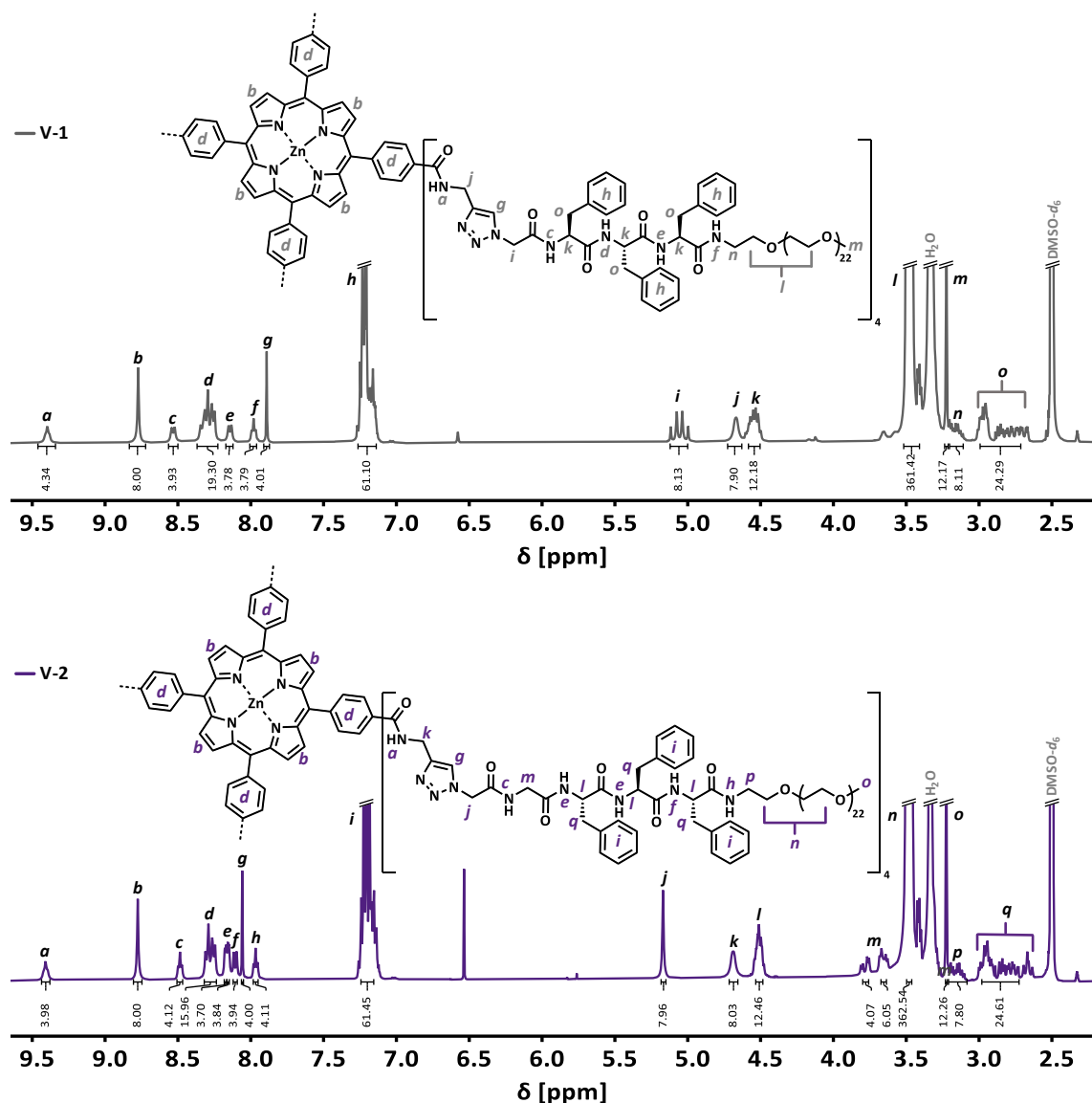
Die Aufarbeitung sah die Abtrennung von Nebenprodukten über Größenausschlusschromatographie (BioBeads™, S-X1, DMF) mit anschließender Reinigung über semi-präparative RP-HPLC bei erhöhten ACN-Anteilen vor. Für die Zn(II)-Derivate **V-1** und **V-2** trat dabei die Überlagerung der Produkt Peaks mit kleineren Verunreinigungen auf, weswegen letztlich nur einzelne Fraktionen isoliert wurden was sich in den niedrigen Ausbeuten widerspiegelt (**V-1**: 20%; **V-2**: 17%). Die Kontaminationen könnten aus dem für **V-6** isolierten Feststoff stammen, für welchen bereits die NMR-Analyse (Abbildung 5.6) Verunreinigungen angezeigt hatte. Entsprechend ließ sich ähnliches für **V-3** (76%) und **V-4** (43%) nicht beobachten. Abbildung 5.9 bestätigt anhand von analytischen RP-HPLC Elugrammen die Reinheit der Monomere nach chromatographischer Reinigung.

Die abschließende Charakterisierung erfolgte über  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie und ist in Abbildung 5.10 beispielhaft anhand der Spektren von **V-1** und **V-2** dargestellt. Wie bereits für **III-2** und **III-3** und **V-6** und **V-9** diskutiert, kann die Vollständigkeit der Funktionalisierung anhand markanter Signale und übereinstimmender Integrale bestätigt werden (Abbildung 5.10).



**Abbildung 5.9:** Analytische RP-HPLC Chromatogramme der Monomere **V-1** & **V-2** ( $\lambda = 430$  nm) sowie **V-3** & **V-4** ( $\lambda = 420$  nm) nach Aufreinigung über präparative RP-HPLC (siehe 8.1.4, Methode A: Flussrate:  $1,0 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).

Zu diesem zählen neben dem Signal der verbrückenden Amidprotonen aus der Funktionalisierung mit Propargylamin (Abbildung 5.10: a, Triplett:  $\delta \approx 9,41$  ppm,  $4 \times 1\text{H}$ ) das Signal der Protonen der neu entstandenen Triazol-Einheit (Abbildung 5.10: g, Singulett:  $\delta = 7,89$  ppm (**V-1**, **V-3**),  $4 \times 1\text{H}$ ;  $\delta = 8,06$  ppm (**V-2**, **V-4**);  $4 \times 1\text{H}$ ) sowie die Signale der Methylen-Gruppe in Nachbarschaft des Triazols (Abbildung 5.10: i, Multipllett:  $\delta = 5,15 - 4,95$  ppm (**V-1**, **V-3**),  $4 \times 2\text{H}$ ; j, Singulett:  $\delta = 5,17$  ppm (**V-2**, **V-4**);  $4 \times 2\text{H}$ ).



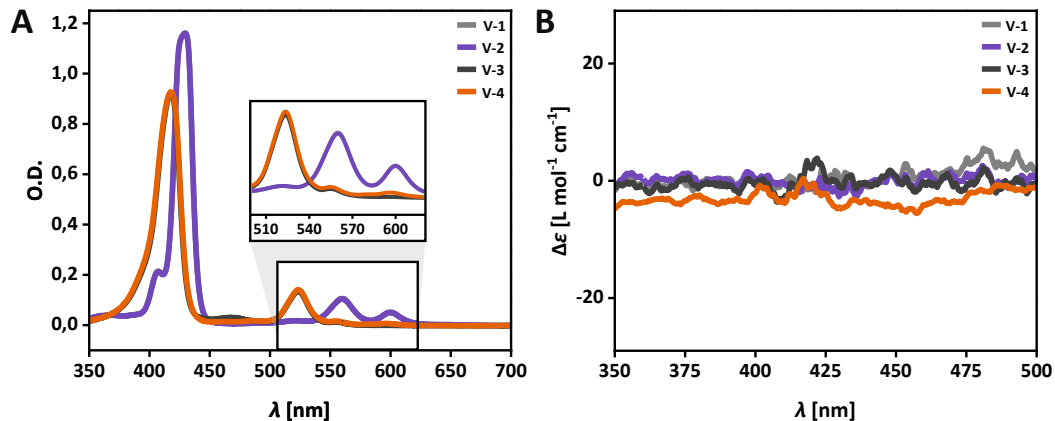
**Abbildung 5.10:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Monomere **V-1** ( $\text{ZnGF}_3$ ) (oben) und **V-2** ( $\text{ZnG}_2\text{F}_3$ ) (unten) ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

## 5.2.2 Selbstassemblierung der Monomere **V-1** und **V-2** in Wasser

Für die Monomere **V-1** bis **V-4** wurde zunächst die spektroskopische Signatur im molekular gelösten Zustand bestimmt. Gemessen an den scharfen Signalen der  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren und den inaktiven CD-Spektren (Abbildung 5.11 B) unterbindet DMF die Monomer-Stapelung, wodurch der molekular gelöste Zustand beobachtet werden kann. Die charakteristischen Absorptionssignale der Zink(II)-Derivate **V-1** und **V-2** zeigen sich nicht beeinflusst durch die strukturelle Variation des Porphyrin-Kerns und entsprechen der für **III-1** bis **III-5** bereits erläuterten Spektren.

**V-3** und **V-4** weisen unabhängig von den in *meso*-Position angebrachten Peptidamphiphilen Absorptionsmaxima bei  $\lambda_{\text{max}} = 418 \text{ nm}$  sowie zwei Q-Banden bei  $\lambda_{\text{Q}, \alpha} = 523 \text{ nm}$  und  $\lambda_{\text{Q}, \beta} = 556 \text{ nm}$  auf. Die weitaus intensivere Q, $\alpha$ -Bande im Vergleich zur Q, $\beta$ -Bande, zusammen mit der verbreiterten Soret-Bande sind Indikatoren für die quadratisch-planare Bindungsgeometrie des Pd(II)-Ions und begründet die ausordentliche Stabilität von Pd(II)-Porphyrinen.<sup>[294]</sup> Eine detaillierte

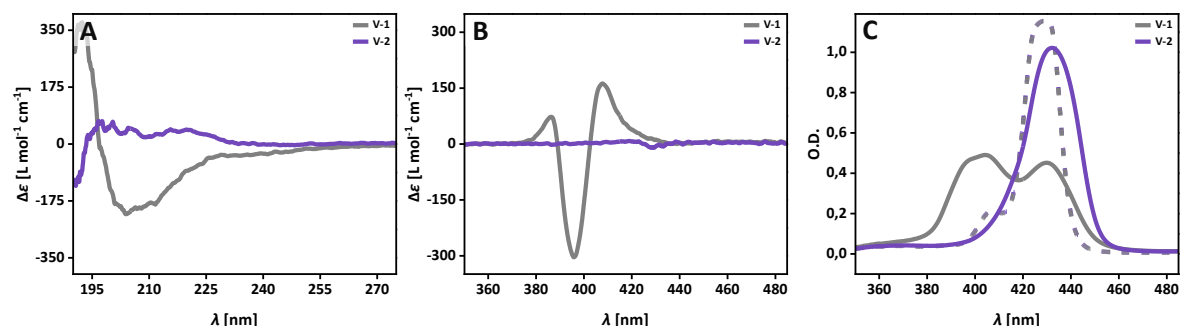
Auflistung der individuellen Extinktionswerte lässt sich im Anhang dieser Arbeit finden (siehe Anhang A: Tabelle A5.1).



**Abbildung 5.11:** UV/Vis (A)- und CD (B)-Spektren der Monomere **V-1** bis **V-4** in DMF ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).

Weiter wurde das Auftreten von LCST-Verhalten erprobt, um den Temperaturrahmen für die anschließenden Messungen festzusetzen. Dabei zeigten die Monomere **V-1** bis **V-3** Anzeichen abnehmender Transmission oberhalb  $80^\circ\text{C}$ , weswegen sämtliche temperaturabhängige Messungen zwischen  $5^\circ\text{C}$  und  $80^\circ\text{C}$  stattfanden (siehe Anhang A: Abbildung A5.6).

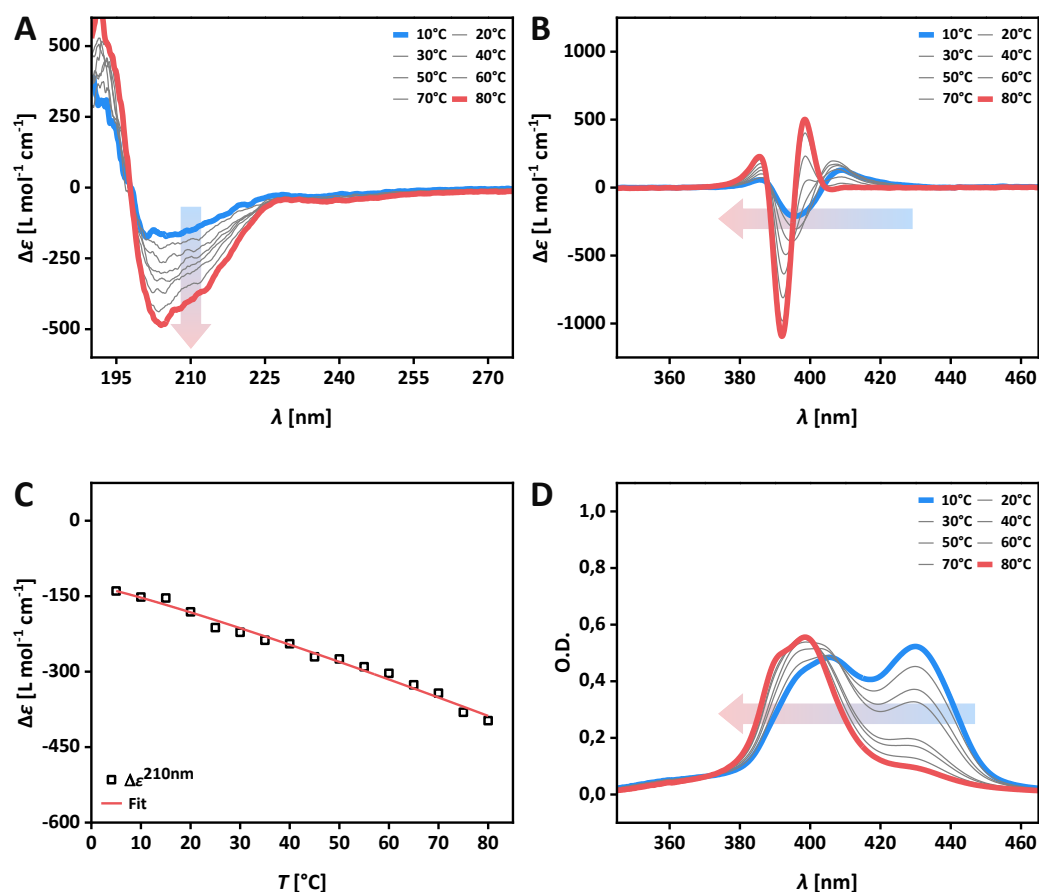
Die Untersuchungen des Aggregationsverhaltens in Wasser fanden beginnend mit den Zink(II)-Monomeren **V-1** und **V-2** statt. Die spektroskopischen Daten für **V-1** und **V-2** bei Raumtemperatur ( $T = 25^\circ\text{C}$ ) decken sich mit den in Kapitel 3 beobachteten Unterschieden einsetzender Assemblierung in Abhängigkeit der Peptidsequenz. **V-1** ( $\text{GF}_3$ ) unterliegt spontaner Selbstassemblierung in chiral-uneinheitliche H-Aggregate (Abbildung 5.12 B, grau:  $\lambda(+)$  = 408 nm,  $\Delta\epsilon = 162 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-)$  = 396 nm,  $\Delta\epsilon = -304 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(+)$  = 386 nm,  $\Delta\epsilon = 73 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ; Abbildung 5.12 C, grau:  $\lambda_{\text{H-Aggr}} = 404 \text{ nm}$ ) mit der Organisation der Oligopeptide in das bereits bekannte  $\beta$ -Faltblatt-artige Muster (Abbildung 5.12 A, grau), welche sich ausgehend von dem verbleibenden Signal bei  $\lambda_{\text{Mono}} = 430 \text{ nm}$  in einem Gleichgewicht mit verbleibender Monomer-Spezies zu befinden scheinen.



**Abbildung 5.12:** CD (A & B)- und UV/Vis (C)-Spektren von **V-1** ( $\text{ZnGF}_3$ ) und **V-2** ( $\text{ZnG}_2\text{F}_3$ ) in  $\text{H}_2\text{O}$  (durchgezogene Linie) und DMF (nicht-durchgezogene Linie) bei Raumtemperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).

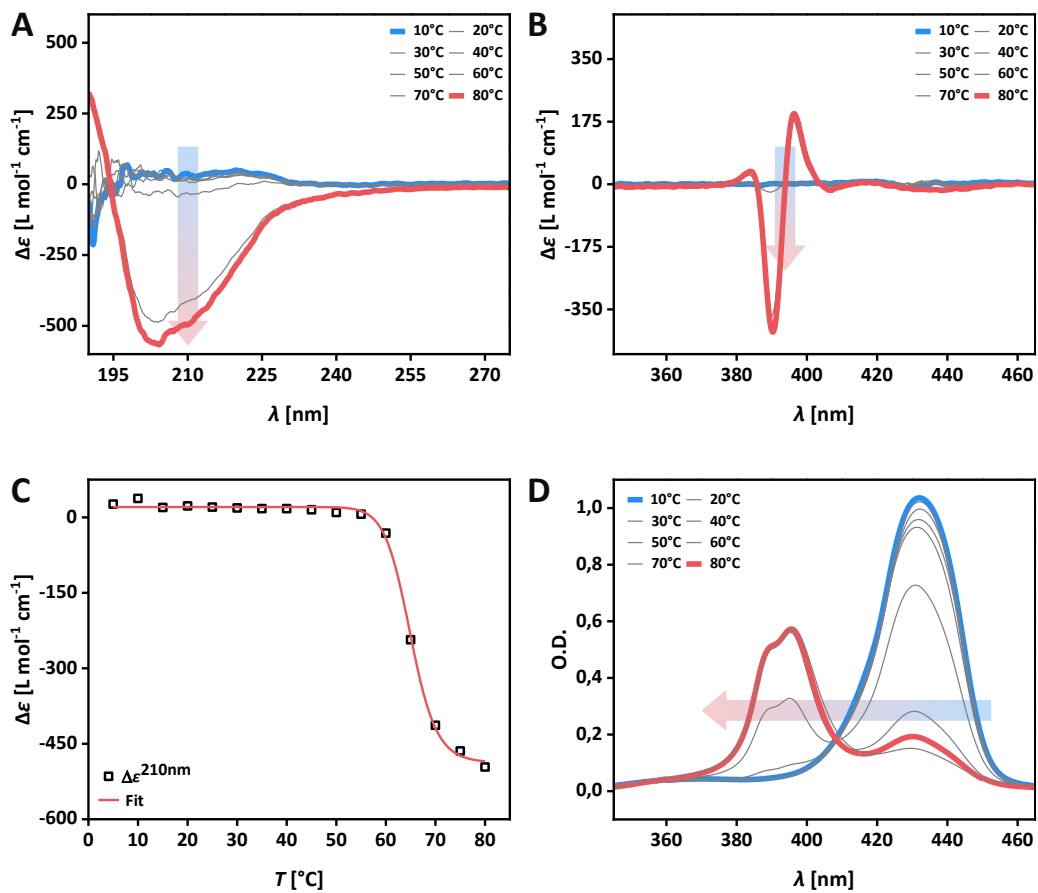
**V-2** ( $\text{G}_2\text{F}_3$ ) lässt eine leicht verbreiterte Soret-Bande beobachten ( $\lambda_{\text{Mono}} = 430 \text{ nm}$ ), anhand derer mitsamt der CD-inaktiven Spektren von weitestgehend molekular gelösten Monomeren ausgegangen werden kann (Abbildung 5.12, violett).

Für **V-1** ( $G_2F_3$ ) intensivieren sich im Laufe zügiger Temperaturerhöhung ( $1\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ ) die aggregationsbedingten spektroskopischen Signale unter hypsochromer Verschiebung der geteilten Soret-Bande (Abbildung 5.13 D:  $\lambda_{H\text{-Aggr}} = 394, 398\text{ nm}$ ) wie auch des COTTON-Effekts (Abbildung 5.13 B:  $\lambda(+)= 398\text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = 502\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-) = 392\text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = -1088\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(+)= 386\text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = 232\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ ) über das komplette Temperaturintervall. Das lineare Voranschreiten der Aggregation wird anhand der Fit-Geraden der Intensitätsauftragung des Sekundärstruktur-Signals bei  $\lambda = 210\text{ nm}$  gegen die Temperatur ersichtlich (Abbildung 5.13 C).



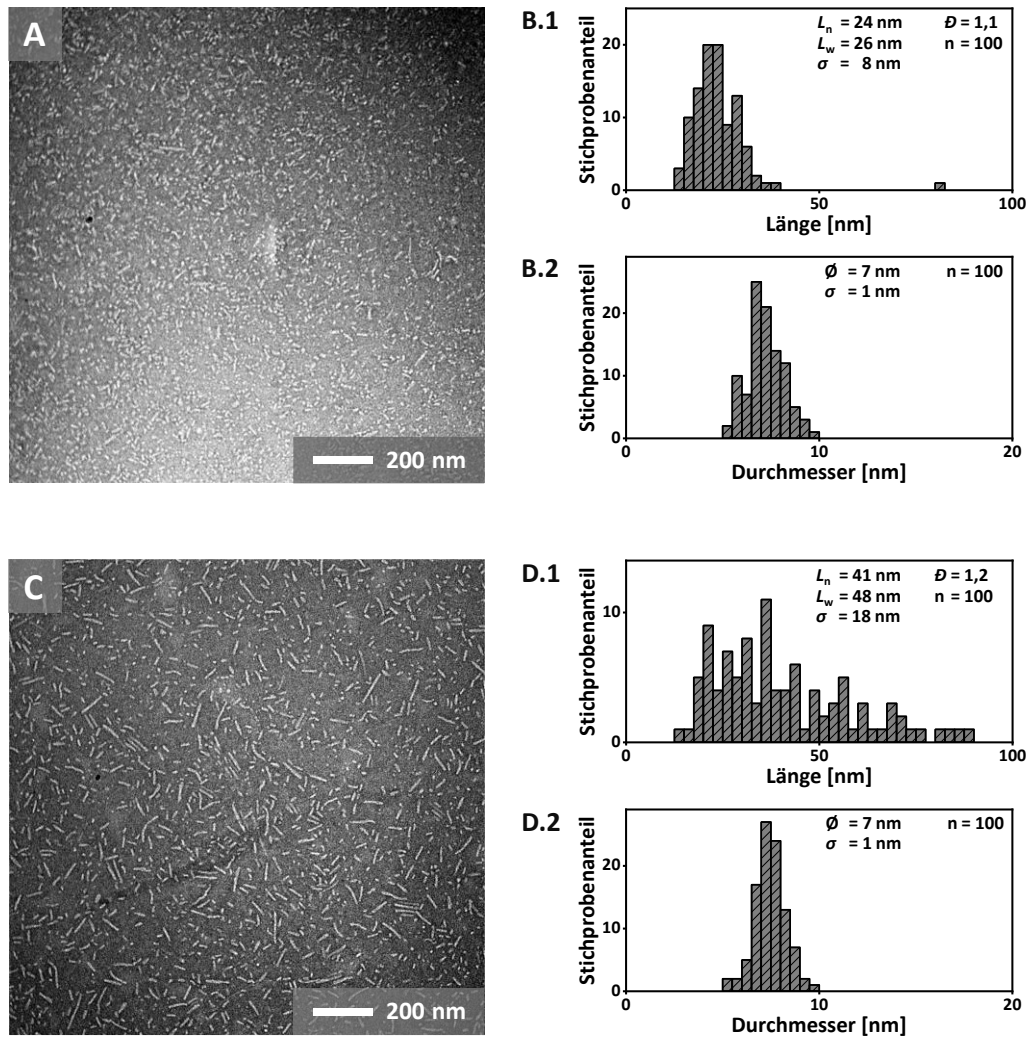
**Abbildung 5.13:** Temperaturabhängige CD (**A** & **B**)- und UV/Vis (**D**)-Spektren von **V-1** ( $ZnGF_3$ ) in  $H_2O$ ; **C**: Auftragung des CD-Effekts bei  $\lambda = 210\text{ nm}$  gegen die Temperatur ( $c^{CD} = 2 \times 10^{-5}\text{ M}$ ,  $c^{UV/Vis} = 5 \times 10^{-6}\text{ M}$ ).

**V-2** ( $G_2F_3$ ) lässt, analog zu **III-3** ( $G_2F_3$ , vgl. Abbildung 3.15), mit steigender Temperatur die thermisch-induzierte Ausbildung supramolekularer Überstrukturen beobachten. Die Ausbildung von H-Aggregaten setzt im Temperaturintervall  $T > 55^\circ\text{C}$  ein (Abbildung 5.14 D,  $\lambda_{H\text{-Aggr}} = 389, 396\text{ nm}$ ), was von der Ausbildung eines verzerrten COTTON-Effekt begleitet wird (Abbildung 5.14 B:  $\lambda(+)= 396\text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = 198\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-) = 390\text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = -414\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(+)= 384\text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = 37\text{ L mol}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ ). Für das  $\beta$ -Faltblatt-artige Signal im fernen UV-Bereich (Abbildung 5.15 A) ist ein scharfer Übergang erkennbar. Der Wendepunkt dieser Fit-Kurve liegt mit  $T_{50} = 65,0^\circ\text{C}$  weitaus höher als für das homologe **III-3** ( $T_{50}(\text{III-3}) = 51,2^\circ\text{C}$ ) und lässt sich gemäß der in Kapitel 3 diskutierte Hypothese zur Korrelation zwischen Flexibilität und Aktivierungsenergie der Elongation als Konsequenz des Vorhandenseins zweier flexibler Segmente in Form von Diglycin-Linker und verbrückender Methylen-Gruppe des neuen Porphyrin-Templats interpretieren.

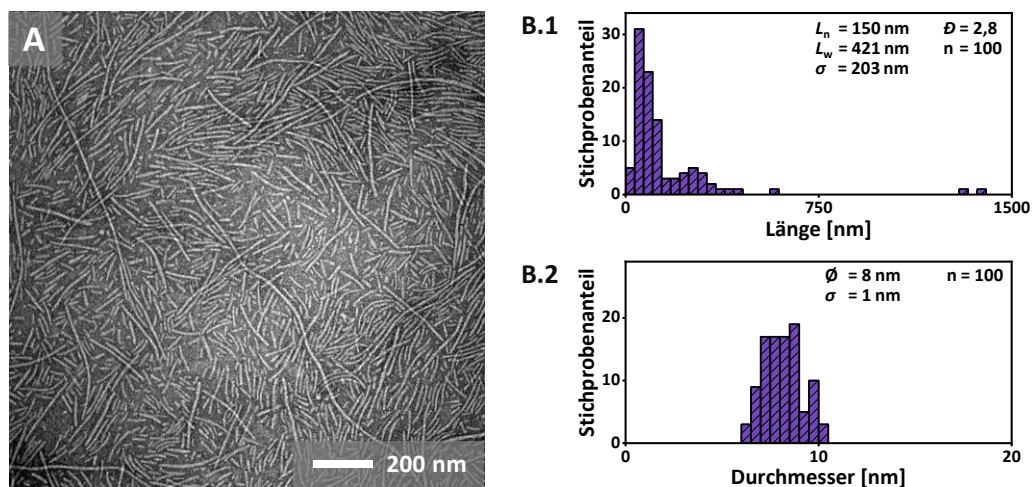


**Abbildung 5.14:** Temperaturabhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von **V-2** ( $\text{ZnG}_2\text{F}_3$ ) in  $\text{H}_2\text{O}$ ; C: Auftragung des CD-Effekts bei  $\lambda = 210$  nm gegen die Temperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M).

Die korrespondierenden TEM-Aufnahmen bestätigen die Interpretation der spektroskopischen Daten und lassen für **V-1** in allen betrachteten Temperaturbereichen eindimensionale Überstrukturen erkennen, welche bei konstant niedriger Dispersität ( $\bar{D} = 1,1 \rightarrow \bar{D} = 1,2$ ) durch den Temperaturanstieg an Länge gewinnen (Abbildung 5.15:  $L_n = 24 \pm 8$  nm  $\rightarrow$   $L_n = 41 \pm 18$  nm). Für **V-2** ließen sich für Proben die unterhalb  $55^\circ\text{C}$  equilibriert wurden keine Nanostrukturen erkennen, was durch die zuvor diskutierte Elongationsbarriere begründet werden kann. Entsprechend stellt Abbildung 5.16 den Zustand nach mehrstündigem Equilibrieren bei  $T = 75^\circ\text{C}$  dar und bildet dabei flexibel erscheinenden Nanostrukturen stark variierender Länge ab ( $L_n = 150 \pm 203$  nm). So können neben Nanostäbchen von wenigen hundert Nanometern auch faserartige Gebilde von bis zu  $1,5 \mu\text{m}$  beobachtet werden, was die für bisher diskutierte Porphyrin-Peptidamphiphile ungewöhnlich hohe Dispersität von  $\bar{D} = 2,8$  bedingt. Das Phänomen der Dimerisierung einzelner Nanostäbchen zu Bündeln ist hierbei nicht zu beobachten. Entsprechend lassen sich für die Nanostrukturen durchschnittlicher Durchmesser von  $\bar{\varnothing} = 7 \pm 1$  nm bis  $\bar{\varnothing} = 8 \pm 1$  nm feststellen.



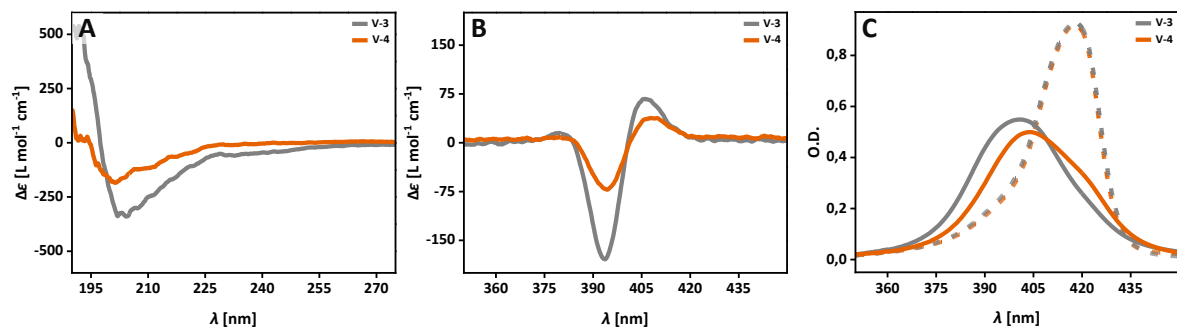
**Abbildung 5.15:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von **V-1** ( $\text{GF}_3$ ); **A:** **V-1** nach Equilibrieren bei  $25^\circ\text{C}$  für 12 Stunden; **B:** Histogramme auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**B.1:** Längenhistogramm, **B.2:** Breitenhistogramm); **C:** **V-1** nach Temperieren bei  $75^\circ\text{C}$  für 3 Stunden; **D:** Histogramme auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**D.1:** Längenhistogramm, **D.2:** Breitenhistogramm) ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ).



**Abbildung 5.16:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahme von **V-2** ( $\text{ZnG}_2\text{F}_3$ ); **A:** **V-2** nach Equilibrieren bei  $75^\circ\text{C}$  für 3 Stunden; **B:** Histogramme auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**B.1:** Längenhistogramm, **B.2:** Breitenhistogramm) ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ).

### 5.2.3 Selbstassemblierung der Monomere V-3 und V-4 in Wasser

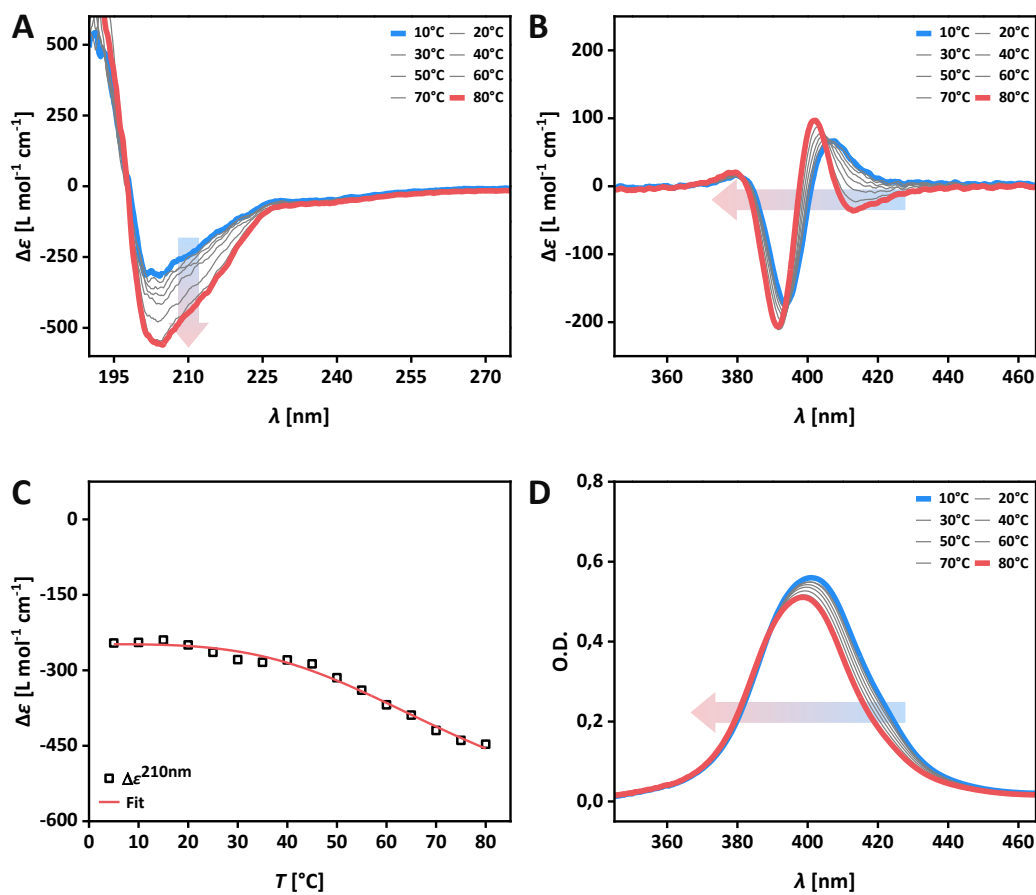
V-3 und V-4 wurden ebenfalls nach Lösen in Wasser unmittelbar *via* CD- und UV/Vis-Spektroskopie bei Raumtemperatur ( $T = 25^\circ\text{C}$ ) untersucht und. Beide Monomere weisen Anzeichen einer Ausbildung chiraler H-Aggregaten in Form hypsochrom verschobener Soret-Signale (Abbildung 5.17 C: V-3:  $\lambda_{\text{H-Aggr}} = 401 \text{ nm}$ , V-4:  $\lambda_{\text{H-Aggr}} = 404 \text{ nm}$ ) und bisignater COTTON-Effekte identischer Lage auf (Abbildung 5.17 B: V-3:  $\lambda(+)=407 \text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = 68 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-)=394 \text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = -180 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ; V-4:  $\lambda(+)=407 \text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = 37 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-)=394 \text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = -71 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Die Intensitätsunterschiede innerhalb der CD-Messungen wie auch die zu beobachtende Schulter des Soret-Signals von V-4 ( $\text{G}_2\text{F}_3$ ) bei  $\lambda = 418 \text{ nm}$  deuten auf einen weniger fortgeschrittenen Assemblierungsprozess gegenüber V-3 ( $\text{GF}_3$ ) hin.



**Abbildung 5.17:** CD (A & B)- und UV/Vis (C)-Spektren von V-3 ( $\text{PdGF}_3$ ) und V-4 ( $\text{PdG}_2\text{F}_3$ ) in  $\text{H}_2\text{O}$  (durchgezogene Linie) und DMF (nicht-durchgezogene Linie) bei Raumtemperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).

Für V-3 als auch V-4 lassen sich durch Erwärmen die Veränderung und Intensivierung der spektroskopischen Signale verfolgen, was das Voranschreiten der Selbstassemblierung widerspiegelt. Bei nur geringfügiger hypsochromer Verschiebung von Soret- und Exziton-Signal, unterliegt der COTTON-Effekt von V-3 einer temperaturbedingten Intensivierung (Abbildung 5.18 B:  $\lambda(+)=402 \text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = 99 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-)=392 \text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = -206 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), was von der zeitgleichen Verstärkung des CD-Signals im fernen UV-Bereich oberhalb  $35^\circ\text{C}$  begleitet wird (Abbildung 5.18 A).

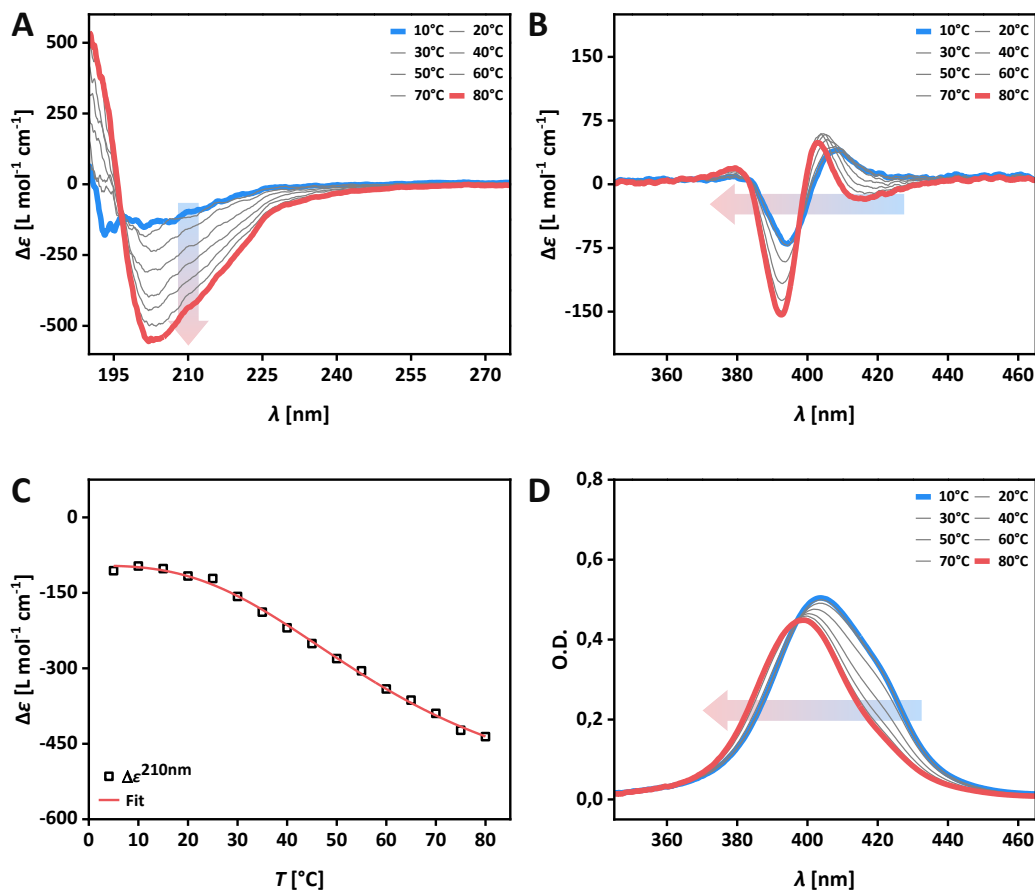
Ähnliches gilt für V-4, wobei das Assemblierungsverhalten stärker von Temperatureffekten betroffen zu sein scheint, was sich durch die ausgeprägtere Veränderung der spektroskopischen Signatur im Zuge der Temperaturerhöhung äußert. Die Soret-Bande durchläuft oberhalb  $20^\circ\text{C}$  einen erkennbaren hypsochromen Übergang ( $\lambda_{\text{max}} = 404 \text{ nm} \rightarrow \lambda_{\text{max}} = 398 \text{ nm}$ ), dem auch das Exziton-Signal folgt ( $\lambda(+)=402 \text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = 48 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-)=392 \text{ nm}$ ,  $\Delta\varepsilon = -154 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) (Abbildung 5.19 B & D). Dabei lässt sich das thermoresponsive Verhalten bereits oberhalb  $20^\circ\text{C}$  beobachten mit einer kontinuierlichen Zunahme der Signalintensitäten beobachten, was eine energetische Elongationsbarriere für  $T < 20^\circ\text{C}$  andeutet (Abbildung 5.19 A & C). Interessanterweise zeigen V-3 & V-4 im Vergleich zu V-1 & V-2 nach Temperaturerhöhung untereinander einheitlichere spektroskopische Signaturen auf, was trotz der Peptidsequenz-abhängigen Unterschiede der Temperaturabhängigkeit auf einen stärkeren Einfluss des Zentralatoms auf den Assemblierungsverlauf hindeutet. Als Begründung kommen zwei mögliche Sachverhalte infrage.



**Abbildung 5.18:** Temperaturabhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von V-3 (Pd G<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) in H<sub>2</sub>O; C: Auftragung des CD-Effekts bei  $\lambda = 210$  nm gegen die Temperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M).

Zum einen unterscheiden sich Zn(II)- und Pd(II)-Porphyrine in ihrer Koordinationsgeometrie und damit in der Ausrichtung des Zentralatoms relativ zur  $\pi$ -Ebene. Zn(II) ragt aus der  $\pi$ -Ebene des Makrozyklus hervor und weist eine sogenannte *out-of-plane*-Konformation auf, wohingegen Pd(II)-Porphyrine weitestgehend planar sind, was aus sterischen Gesichtspunkten förderlich für eine eindimensionale Monomerpackung ist und eine geringeren Energiebarriere des Elongationsvorganges bedingen könnte.<sup>[232,294]</sup> Daneben sind Beiträge attraktiver palladophiler Wechselwirkungen trotz ihrer in der Regel gering anzusehenden Signifikanz nicht auszuschließen.

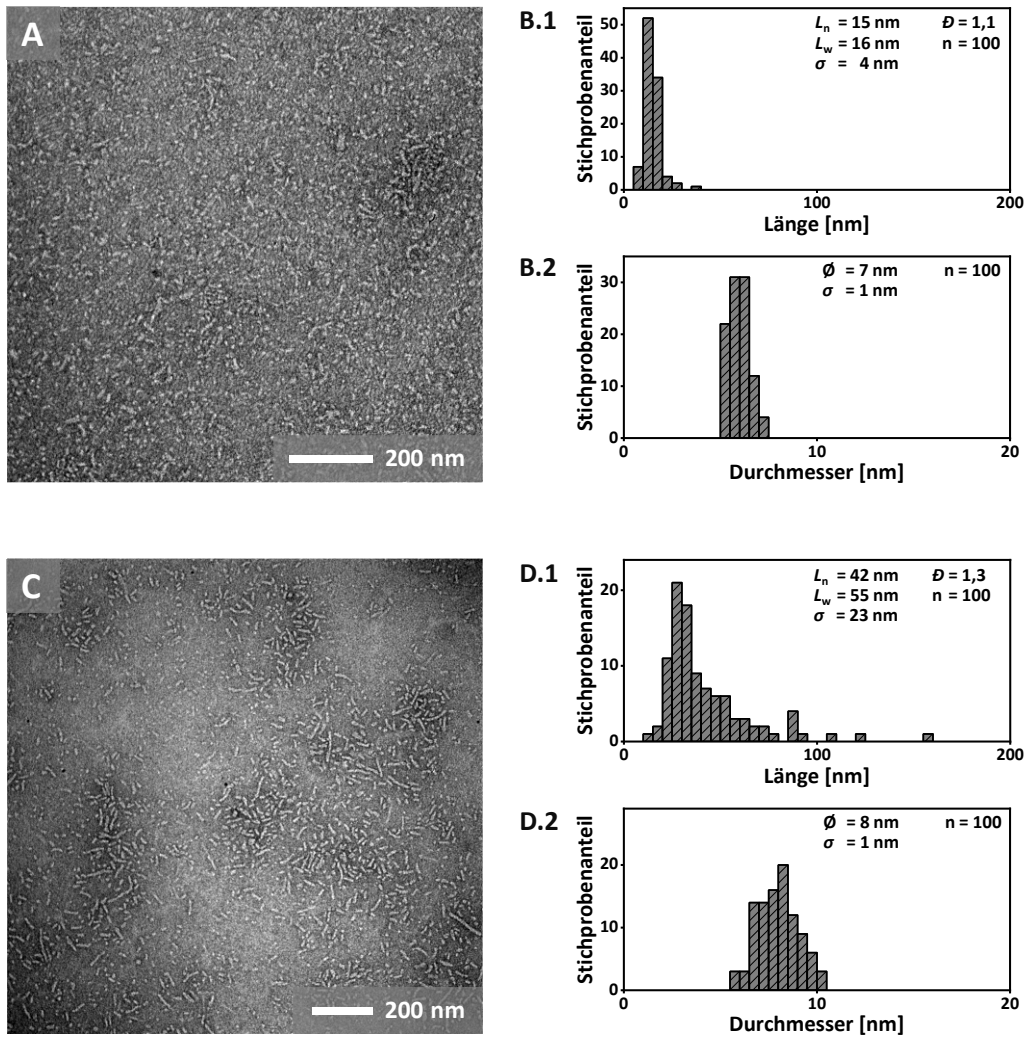
Untersuchungen *via* TEM helfen erneut zusätzlich, die Assemblierungseigenschaften in Abhängigkeit des Zentralatoms anhand der Morphologie zu bewerten (Abbildung 5.20 und Abbildung 5.21). Wie aufgrund der spektroskopischen Daten zu erwarten war, lassen sich für V-3 im Zuge der Temperaturbehandlung keine starken Veränderungen der Morphologie beobachten. Die zuvor nur schwach konturierten Nanostrukturen nach Equilibrieren bei Raumtemperatur zeigen einen leichten Längenzuwachs infolge der temperaturabhängigen Probenpräparation von  $L_n = 15 \pm 4$  nm zu  $L_n = 42 \pm 23$  nm an, was mit leichter Erhöhung der dennoch sehr engen Längenverteilung von  $D = 1,1$  auf  $D = 1,3$  einhergeht (Abbildung 5.20). Ähnlich verhält es sich mit den statistischen Parametern nach Längenauswertung von V-4 (Abbildung 5.21), welche ebenfalls anhand eines etwas deutlicheren Längenzuwachses ( $L_n = 57 \pm 4$  nm  $\rightarrow$   $L_n = 153 \pm 23$  nm) das temperaturabhängige Voranschreiten des Aggregationsprozess bestätigen.



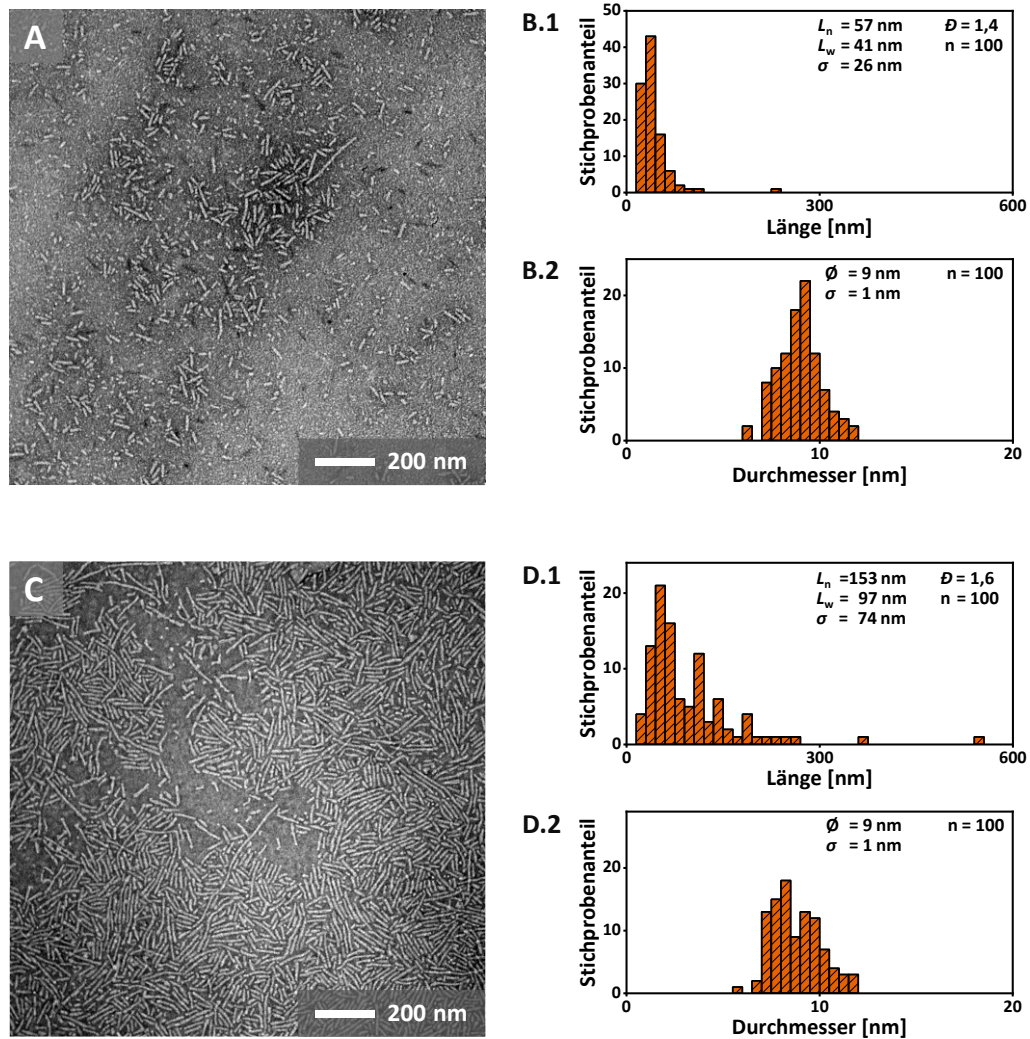
**Abbildung 5.19:** Temperaturabhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von **V-4** ( $\text{Pd}_2\text{F}_3$ ) in  $\text{H}_2\text{O}$ ; C: Auftragung des CD-Effekts bei  $\lambda = 210$  nm gegen die Temperatur ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M).

Interessant erscheint die Gegenüberstellung der TEM-Auswertungen von **V-4** und **V-2**. Die vergleichsweise geringe Dispersität und das niedrige mittlere Molekulargewicht der durch **V-4** gebildeten Nanostrukturen gegenüber **V-2** lassen Rückschlüsse auf den mechanistischen Verlauf der Assemblierung zu. Die statistischen Auszählungsparameter von **V-4** weisen auf eine schnelle Ausbildung von Nuklei mit unmittelbar darauffolgender Elongation hin, was allgemein von geringen Dispersitäten und niedrigem Molekulargewicht begleitet wird. Dem gegenüber stehen die Auszählungsparameter von **V-2**, dessen ausgedehnter Nukleationsprozess mit hoher energetischer Barriere für die Elongation durch einen hohen Polymerisationsgrad und breiterer Dispersität repräsentiert wird.

Insgesamt lässt ein Vergleich der Monomer-Paare **V-1** & **V-2** und **V-3** & **V-4** Unterschiede im Assemblierungsverhalten erkennen, die auf eine gesteigerte Aggregationstendenz der Pd(II)-Derivate hindeuten. **V-3** ( $\text{PdGF}_3$ ) und **V-4** ( $\text{PdG}_2\text{F}_3$ ) zeigen bei Raumtemperatur ( $T = 25^\circ\text{C}$ ) unabhängig von strukturellen Eigenheiten bereits Anzeichen stattfindender Selbstassemblierung. Beide weisen Unterschiede in ihrer Thermoresponsivität auf, welche jedoch weitaus schwächer ausgeprägt sind als es für **V-1** & **V-2** zu beobachten ist. Die Ähnlichkeit des Endzustands von **V-3** & **V-4**, gemessen an Daten aus Spektroskopie wie auch Mikroskopie, lassen die Annahme zu, dass weniger die Peptidsequenz als vielmehr der Porphyrin-Kern selbst nach Austausch von Zn(II) durch Pd(II) den Verlauf des Assemblierungsprozesses vorgibt.



**Abbildung 5.20:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von **V-3** (PdGF<sub>3</sub>); **A:** **V-3** nach Equilibrieren bei 25°C für 12 Stunden; **B:** Histogramme auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**B.1:** Längenhistogramm, **B.2:** Breitenhistogramm); **C:** **V-3** nach Temperieren bei 75°C für 3 Stunden; **D:** Histogramme auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**D.1:** Längenhistogramm, **D.2:** Breitenhistogramm) ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ , H<sub>2</sub>O).



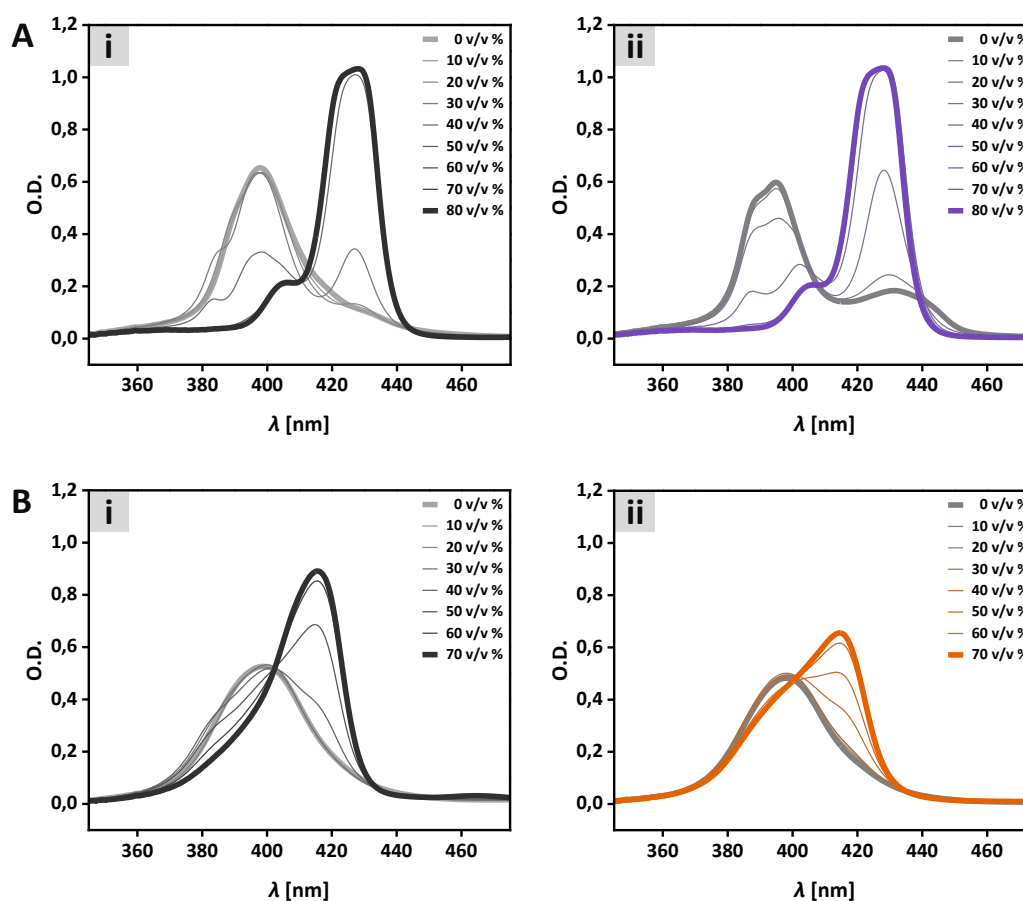
**Abbildung 5.21:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von V-4 ( $\text{PdG}_2\text{F}_3$ ); **A:** V-4 nach Equilibrieren bei  $25^\circ\text{C}$  für 12 Stunden; **B:** Histogramme auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**B.1:** Längenhistogramm, **B.2:** Breitenhistogramm); **C:** V-4 nach Temperieren bei  $75^\circ\text{C}$  für 3 Stunden; **D:** Histogramme auf Grundlage graphischer Bildevaluation (**D.1:** Längenhistogramm, **D.2:** Breitenhistogramm) ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ).

### 5.2.4 Effekt des Zentralatoms auf die Stabilität formanisotroper Nanostrukturen

Nachdem die Untersuchung des temperaturabhängigen Assemblierungsverhaltens einen förderlichen Einfluss der Insertion von Pd(II) in das Porphyrin-Templat mitsamt der Einwirkung auf den Verlauf des Polymerisationsmechanismus ergab, sollten anschließend die gebildeten Überstrukturen bezüglich ihrer Stabilität gegenüber organischer Additive analysiert werden. Analog zum Vorgehen in Kapitel 3 wurden V-1 bis V-4 in unterschiedlichen Verhältnissen von Wasser zu Acetonitril nach thermischem Equilibrieren ( $T = 75^\circ\text{C}$ ,  $t = 3 \text{ h}$ ) miteinander verglichen. Durch Änderungen der Polarität des Medium kann Acetonitril als Wasserstoffbrückenakzeptor agieren und die Ausbildung von Überstrukturen hemmen.<sup>[240]</sup>

Geringe Volumenanteile an ACN scheinen zunächst wenig Einfluss auf die Strukturformation von V-1 zu nehmen. Erst ab einem Volumenanteil von etwa 30 v/v% ACN lässt sich die Transformation

des Soret-Signals beobachten, welches ab 40 v/v% ACN bereits das vollständige Vorliegen in Form freier Monomere anzeigt (Abbildung 5.22 A.i, A.ii:  $\lambda_{H\text{-Aggr}}(\mathbf{V-1}) = \lambda_{H\text{-Aggr}}(\mathbf{V-2}) = 398 \text{ nm} \rightarrow \lambda_{\text{Mono}}(\mathbf{V-1}) = \lambda_{\text{Mono}}(\mathbf{V-2}) = 430 \text{ nm}$ ). Ein Fit der Auftragung der Datenpunkte bei  $\lambda_{H\text{-Aggr}} = 398 \text{ nm}$  gegen den Volumenanteil an Acetonitril (Abbildung 5.24 A) lässt die Bestimmung der benötigten Volumenfraktion zum Erhalt eines 50%-igen Polymerisationsgrades ( $DP_{50}$ , engl.: *degree of polymerization*) zu und liegt für **V-1** bei  $DP_{50}(\mathbf{V-1}) = 32 \text{ v/v\%}$ . **V-2** lässt hingegen bereits unmittelbar oberhalb 10 v/v% ACN die Anwesenheit freier Monomere beobachten und liegt ab einem Volumenanteil von 30 v/v% ACN weitestgehend molekular gelöst vor. Der entsprechende  $DP_{50}$ -Wert liegt bei  $DP_{50}(\mathbf{V-2}) = 20 \text{ v/v\%}$  (Abbildung 5.24 A). Wie bereits für den Vergleich von **III-2** ( $G_2F_3$ ) und **III-3** ( $G_2F_3$ ) bezüglich der Stabilität von Überstrukturen gegenüber Acetonitril deutlich wurde (vergleiche Abbildung 3.23), bedingen strukturelle Eigenheiten der Peptidsequenz die Sensitivität der Aggregate gegenüber Polaritätswechsel und Wasserstoffbrückenakzeptoren was ebenfalls auf Einflüsse der Flexibilität der peripheren Seitenarme zurückzuführen ist und damit durch Unterschieden der Nahordnung begründet werden kann.

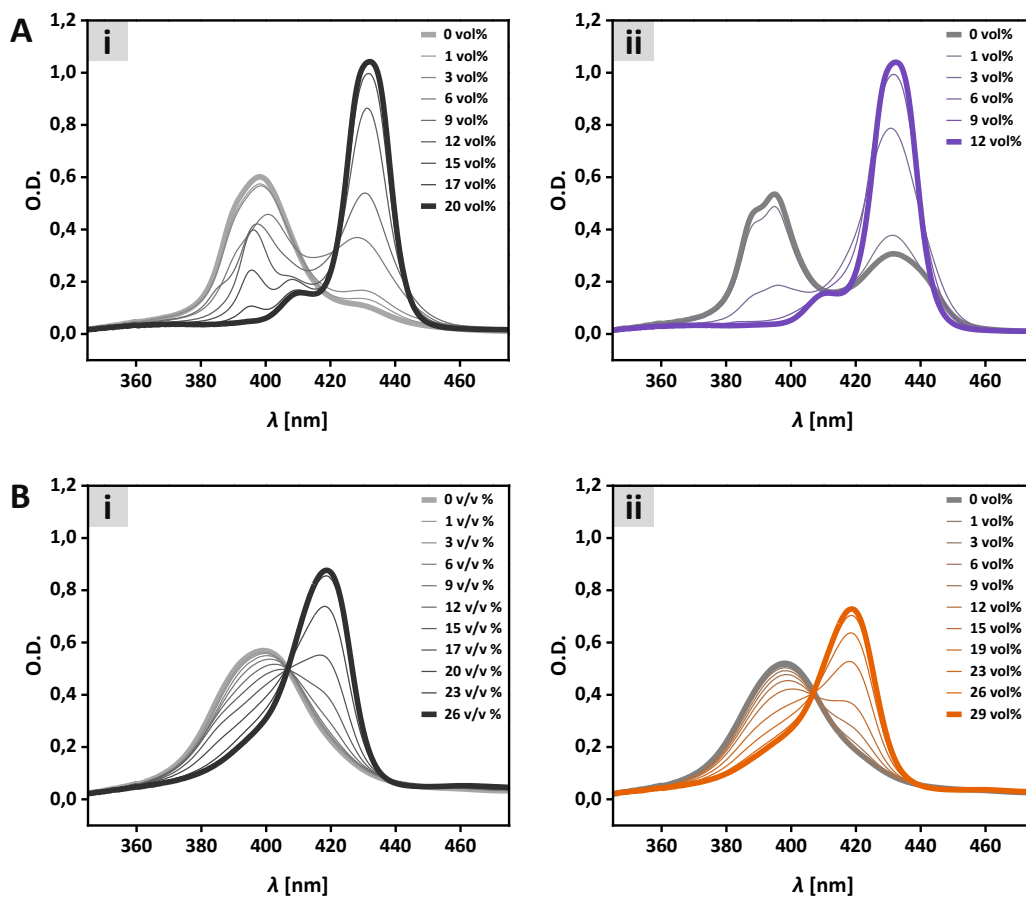


**Abbildung 5.22:** UV/Vis-Spektren als Funktion des prozentualen Volumenanteils (v/v%) Acetonitril nach Equilibrieren ( $T = 75^\circ\text{C}$ ,  $t = 3 \text{ h}$ ). **A.i:** **V-1** ( $ZnGF_3$ ); **A.ii:** **V-2** ( $ZnG_2F_3$ ); **B.i:** **V-3** ( $PdGF_3$ ); **B.ii:** **V-4** ( $PdG_2F_3$ ) ( $c = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $H_2O$ ).

Beide Palladium(II)-Monomere **V-3** ( $PdGF_3$ ) und **V-4** ( $PdG_2F_3$ ) zeigen sich weitaus resistenter gegenüber hohen Volumenanteilen Acetonitrils und lassen einen stark verzögerten bathochromen Übergang des Soret-Signals mit zunehmendem Acetonitril-Gehalt beobachten, der weitestgehend unabhängig von der vorliegenden Peptidsequenz ist (Abbildung 5.22 B.i, B.ii:  $\lambda_{H\text{-Aggr}}(\mathbf{V-3}) =$

$\lambda_{\text{H-Aggr}}(\mathbf{V-4}) = 398 \text{ nm} \rightarrow \lambda_{\text{Mono}}(\mathbf{V-3}) = \lambda_{\text{Mono}}(\mathbf{V-4}) = 418 \text{ nm}$ ). Erstaunlicherweise lässt sich für beide Monomere zu keinem Zeitpunkt der Zustand vollständig molekular gelöster Monomere beobachten und die Signals regenerieren sich oberhalb 70 v/v% ACN wieder (siehe Anhang A: Abbildung A5.8), weswegen die Bestimmung eines  $\text{DP}_{50}$ -Wertes hierbei nicht sinnvoll erscheint.

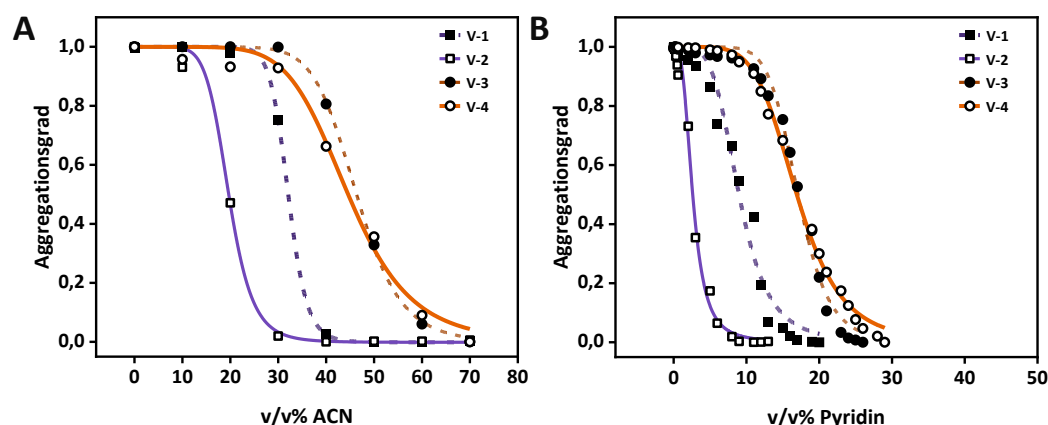
Die Titration thermisch equilibrierter Probenlösungen mit Pyridin lässt für die Depolymerisation aufgrund axialer Koordination von Pyridin an Zn(II) Ähnliches beobachten. Durch die Zugabe von Pyridin durchläuft das Soret-Signal von **V-1** (Zn GF<sub>3</sub>) und **V-2** (Zn G<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) jeweils einen nicht-isosbestischen Übergang von H-Aggregaten zu freien Monomer-Pyridin-Komplexen (Abbildung 5.23 A.i, A.ii:  $\lambda_{\text{H-Aggr}}(\mathbf{V-1}) = \lambda_{\text{H-Aggr}}(\mathbf{V-2}) = 398 \text{ nm} \rightarrow \lambda_{\text{Mono}}(\mathbf{V-1}) = \lambda_{\text{Mono}}(\mathbf{V-2}) = 433 \text{ nm}$ ).



**Abbildung 5.23:** UV/Vis-Spektren der Pyridin-Titration nach Equilibrieren ( $T = 75^\circ\text{C}$ ,  $t = 3 \text{ h}$ ) mit Angabe des prozentualen Volumenanteils (v/v%) Pyridin. **A.i:** **V-1** (ZnGF<sub>3</sub>); **A.ii:** **V-2** (ZnG<sub>2</sub>F<sub>3</sub>); **B.i:** **V-3** (PdGF<sub>3</sub>); **B.ii:** **V-4** (PdG<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) ( $c = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ).

Die Depolymerisation beider Zn(II)-Derivate verläuft erwartungsgemäß rasch und scheint in beiden Fällen ab einem Volumenanteil von 17 v/v% Pyridin abgeschlossen zu sein, wobei erneut ein Stabilitätsunterschied in Abhängigkeit der Peptidsequenz zu erkennen ist. Demnach scheint die Destabilisierung von **V-2** analog zu **III-2** mitunter auf Polaritätsänderungen des wässrigen Mediums zurückzuführen zu sein. Entsprechend liegen die ermittelten  $\text{DP}_{50}$ -Werte der Pyridin-bedingte Depolymerisationsversuche bei  $\text{DP}_{50}(\mathbf{V-1}) = 9 \text{ v/v\%}$  und  $\text{DP}_{50}(\mathbf{V-2}) = 3 \text{ v/v\%}$  (Abbildung 5.24 B). Im Vergleich zu **III-2** (vergleiche Abbildung 3.24) fällt zudem auf, dass der beobachteten Prozess für **V-1** und **V-2** keine intermediäre Dimer-Bildung erkennen lässt, obwohl der nicht-isosbestische Übergang einen mehrschrittigen Verlauf nicht ausschließt.

Pd(II) kann aufgrund der quadratisch-planaren Koordinationsgeometrie und der Eigenschaft weitestgehend inert gegenüber zusätzlicher Liganden zu sein keinen axialen Komplex mit Pyridin ausbilden.<sup>[232]</sup> Somit verläuft die Titration von **V-3** und **V-4** mit Pyridin parallel zu den vorausgegangenen Messungen in Acetonitril-Wasser-Mischungen verzögert und lässt Veränderungen der spektroskopischen Signatur erst bei höheren Volumenanteilen Pyridin erkennen. Dabei weisen beide Pd(II)-Derivate nahezu identische Signalverläufe auf, in welchen die Soret-Bande jeweils einem isobestischen Übergang ( $\lambda_{\text{isos}}(\mathbf{V-3}) = \lambda_{\text{isos}}(\mathbf{V-4}) = 407 \text{ nm}$ ) zu freien Monomeren unterliegt (Abbildung 5.23 B.i, B.ii:  $\lambda_{\text{H-Aggr}}(\mathbf{V-3}) = \lambda_{\text{H-Aggr}}(\mathbf{V-4}) = 398 \text{ nm} \rightarrow \lambda_{\text{Mono}}(\mathbf{V-3}) = \lambda_{\text{Mono}}(\mathbf{V-4}) = 418 \text{ nm}$ ), wodurch anzunehmen ist, dass Polymer und Monomer in einem Gleichgewicht zueinander zu stehen scheinen. Im Gegensatz zu Messreihe mit Acetonitril ergeben beide Titrationsreihen mit Pyridin eine vollständige Depolymerisation von **V-3** und **V-4**, wie CD-inaktive Spektren ab einem Volumenanteil von 25 v/v% Pyridin bestätigen, was auf die erhöhte Tendenz als Wasserstoffbrückenakzeptor zu wirken zurückzuführen sein kann.<sup>[295]</sup> Die Stabilität der Überstrukturen gegenüber Pyridin zeigt sich auch hier als unabhängig von strukturellen Unterschieden der Peptidsequenz, was sich anhand der für beide Monomere identischen  $DP_{50}$ -Werte von  $DP_{50}(\mathbf{V-3}) = DP_{50}(\mathbf{V-4}) = 17 \text{ v/v\%}$  äußert (Abbildung 5.24 B).



**Abbildung 5.24:** A: Auftragung des relativen Aggregationsgrades, entnommen aus dem Absorptionsmaximums der UV/Vis-Daten der Messungen bei unterschiedlichen Mischungen H<sub>2</sub>O/Acetonitril, gegen den prozentualen Volumenanteil (v/v%) Acetonitril ( $\lambda = 398 \text{ nm}$ ,  $c = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ , H<sub>2</sub>O). B: Auftragung des relativen Aggregationsgrades, entnommen aus dem Absorptionsmaximums der UV/Vis-Daten der Titrations mit Pyridin, gegen den prozentualen Volumenanteil (v/v%) Pyridin ( $\lambda = 398 \text{ nm}$ ,  $c = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ , H<sub>2</sub>O).

Die Ergebnisse stellt Indizien für die stärker favorisierten intermolekularen Wechselwirkungen der Pd(II)-Monomere gegenüber ihrer Zn(II)-Analoga dar und zeigt erneut den dominierenden Einfluss des Palladium(II)-Kerns auf die Selbstassemblierung, welcher im Vergleich zum zuvor dominierenden Einfluss der Peptidsequenz überwiegt. Dabei bleibt die Frage offen, ob dies auf Grundlage der Planarität des Pd(II)-Porphyrins zurück geht, palladophile Wechselwirkungen einen ausreichenden energetischen Betrag leisten oder beides in Kombination die beobachteten Effekte bedingt. Tatsächlich konnten von der Gruppe um FERNÁNDEZ gezeigt werden, dass die Integration von Pd(II) in die chemische Grundstruktur Oligophenylethylenyl (OPE)-basierter Monomere zu einer höheren Nahordnung rigider Nanostrukturen führt, was auf synergistische Effekte zwischen der  $\pi$ -Ebenen und Pd(II)-Pd(II)-Orbitalwechselwirkungen zurückgeführt werden konnte. Ähnliches wäre für den vorliegenden Fall Pd(II)-basierter Porphyrin-Peptidamphiphile denkbar, bedarf jedoch

weiterer Untersuchungen, die sich etwa der Bestimmung von Monomerabständen oder mittels hochauflösender Mikroskopie der Charakterisierung der Morphologie widmen.

## 5.3 Fazit

Nachdem es bereits in Kapitel 3 gelungen war, das Assemblierungsverhalten Porphyrin-basierter Peptidamphiphile hinsichtlich des Stellenwerts von Peptidsequenz und solubilisierender Einheit zu analysieren, widmete sich Kapitel 5 der Rolle des Zentralatoms bei der Ausbildung und Stabilität eindimensionaler Aggregate.

Ausgangspunkt dieses Vorhabens stellte die Entwicklung einer Syntheseroute zur Darstellung eines Palladium(II)-Porphyrin-Derivats dar, welches gemäß dem nunmehr erprobten Protokoll zur Darstellung von Porphyrin-Peptidamphiphilen eine CuAAC-vermittelte *meso*-Konjugation ermöglichen sollte. Ausgehend von metalliertem *meso*-Tetra(4-carboxyphenyl)porphyrin erwies sich die Funktionalisierung mit Propargylamin als simple und zugleich effektive Methode, die den Zugang zu den terminal Alkin-funktionalisierten Zn(II)- und Pd(II)-Porphyrinen **V-6** und **V-9** eröffnete und somit die Synthese der Monomere **V-1** (ZnGF<sub>3</sub>) & **V-2** (ZnG<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) sowie **V-3** (PdGF<sub>3</sub>) & **V-4** (PdG<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) mittels CuAAC ermöglichte.

Die Betrachtung des Assemblierungsverhaltens entsprach einer vergleichenden Studie zwischen Zn(II)- und Pd(II)-Monomeren und zielte auf die Differenzierung des Assemblierungsverlaufs in Abhängigkeit des Zentralatoms ab. Innerhalb temperaturabhängiger spektroskopischer Messungen konnten die bereits in Kapitel 3 diskutierten Peptid-spezifischen Charakteristika einer erhöhten energetischen Elongationsbarrieren mit zunehmender Beweglichkeit der Seitenarme reproduziert werden. Dies ließ sich vor allem anhand beider Zink(II)-basierten Monomere aufzeigen, die ein mit zunehmender Temperatur lineares Voranschreiten der Selbstassemblierung für **V-1**, und eine bei niedrigen Temperaturen kinetisch gehemmte Elongation von **V-2** mit einer Elongationstemperatur von  $T = 65,0^{\circ}\text{C}$  beobachten ließen. Die Pd(II)-Analoge **V-3** und **V-4** zeigten erstaunlicherweise das Stattfinden supramolekularer Polymerisation zu H-Aggregaten in allen betrachteten Temperaturbereichen an, wenn auch Unterschiede der Thermoresponsivität in Abhängigkeit der Peptidsequenz zu erkennen waren. Die Kompensation der für die Zn(II)-Monomere beobachteten Elongationsbarriere wurde als Konsequenz des Austauschs von Zn(II) durch Pd(II), und damit einhergehenden in erster Linie auf die Planarität von Pd(II)-Porphyrinen, zurückgeführt, was sich förderlich auf die Ausbildung eindimensionaler Strukturen auszuwirken schien. Die anhand morphologischer Untersuchungen ermittelten statistischen Parameter für Dispersität und mittlere Polymerlänge ließen universelle Rückschlüsse auf die stattfindenden Assemblierungsverläufe zu und deuteten vor allem für **V-3** und **V-4** eine energetisch günstige Nukleationsphase an.

Im Rahmen der Messreihen, die sich mit der Ausbildung und Stabilität von Nanostrukturen in Anwesenheit organischer Zusätze befassten, ließ sich eine mit der Aggregationstendenz der Monomere korrelierende Stabilität der Aggregate demonstrieren. Weitestgehend in Einklang mit den Ergebnissen der zuvor diskutierten Monomere **III-2** (GF<sub>3</sub>) und **III-3** (G<sub>2</sub>F<sub>3</sub>), ließ sich für **V-1** und **V-2** mit zunehmenden Volumenanteilen an Acetonitril die Ausbildung von Überstrukturen unterbinden, wobei **V-1** verglichen zu **V-2** eine erhöhte Toleranz gegenüber Acetonitril zeigte, was sich in den entsprechenden DP<sub>50</sub>-Werten widerspiegelte (DP<sub>50</sub>(**V-1**) = 32 v/v%; DP<sub>50</sub>(**V-2**) = 20 v/v%). Ähnliche Ergebnisse lieferten auch die Titrations mit Pyridin, bei welchen die Depolymerisation auf Grundlage der axialen Koordination an Zn(II) bereits ab weitaus geringeren Volumenanteilen eingeleitet wurde (DP<sub>50</sub>(**V-1**) = 9 v/v%; DP<sub>50</sub>(**V-2**) = 3 v/v%).

Beide Palladium(II)-Monomere **V-3** und **V-4** zeigten sich hingegen sowohl gegenüber Acetonitril als auch Pyridin weitaus stabiler und ließen keine signifikanten Unterschiede auf Basis der jeweiligen Peptidsequenzen erkennen was die Annahme des dominierenden Einflusses des Palladium(II)-Kerns auf die Selbstassemblierung bekräftigte.

Abschließend stellt sich die Anpassung des Porphyrin-Templats über die Variation des Zentralatoms somit als durchaus effektiver Ansatz zur gezielten Programmierung bestimmter Assemblierungseigenschaften über das molekulare Design heraus. Die Grundlage dieses Effekts ließ sich jedoch nicht klären und beteiligte palladophile Wechselwirkungen sind neben der aggregationsfördernden Koordinationsgeometrie des Pd(II)-Porphyrins letztlich nicht auszuschließen.

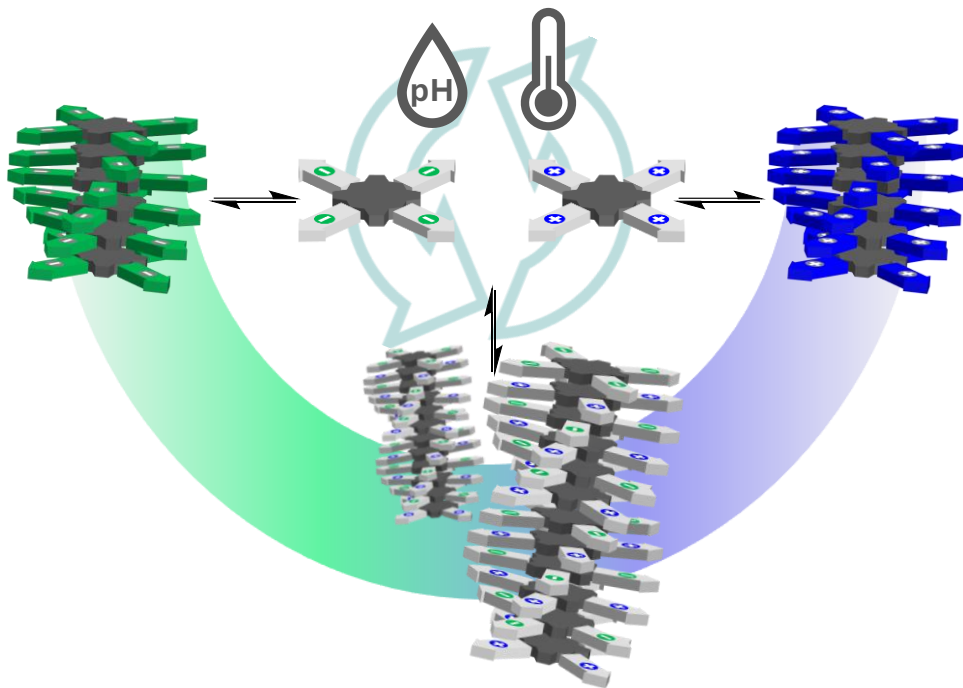


---

## Kapitel 6

### Ladungskontrollierte (Co-)Assemblierung von Porphyrin-Peptidamphiphilen

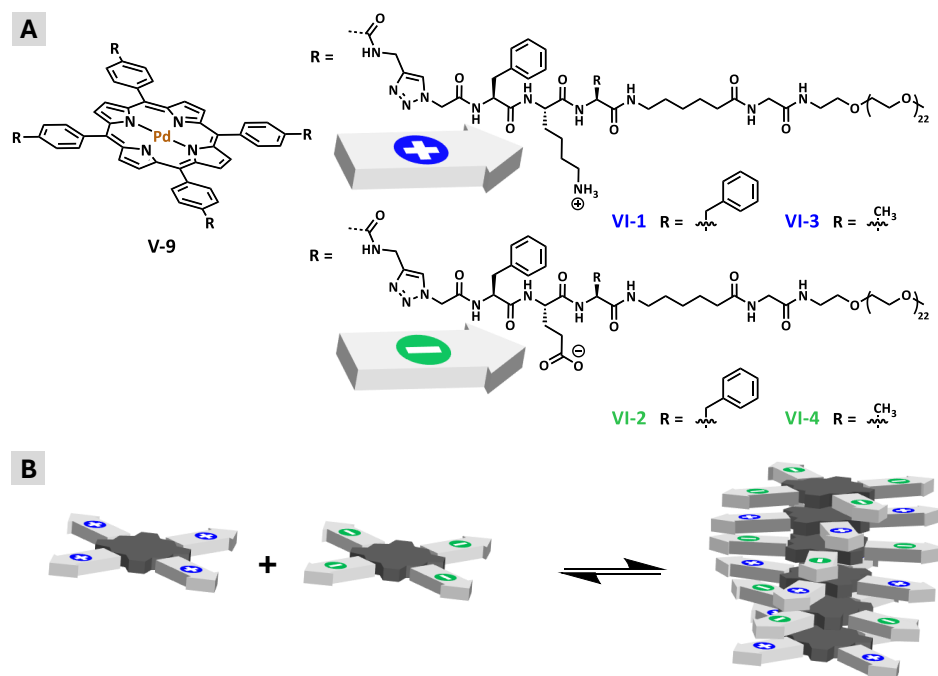
---



## 6.1 Motivation und Konzept

In Kapitel 4 konnte die Vielseitigkeit von Porphyrin-Peptidamphiphilen anhand der Darstellung anisotroper Nanostrukturen in dualer Abhängigkeit von Temperatur und pH demonstriert werden. Neben der Schaltung einzelner supramolekularer Bausteine können pH-responsive Materialien die Basis weitaus anspruchsvollerer synthetischer Peptid-basierter Systeme bilden. Der Schlüssel hierzu liegt in der Balance attraktiver und repulsiver elektrostatischer Wechselwirkungen. So kann der gezielte Einsatz potenziell komplementär geladener Aminosäuren wie Glutaminsäure und Lysin zum kontrollierten Aufbau supramolekularer (Co-)Polymere unter physiologischen Bedingungen genutzt werden. Innerhalb der Gruppe um BESENTIUS konnte in diesem Kontext bereits die ladungskontrollierte Selbstassemblierung C<sub>3</sub>-symmetrischer Peptidamphiphile zu eindimensionalen alternierenden Copolymeren gezeigt werden, welche u.a. die Grundlage zur Synthese biokompatibler Hydrogele bildet und auch den Aufbau längenkontrollierter supramolekularer (Co-)Polymerbürsten an Oberflächen ermöglicht.<sup>[209,210]</sup>

Ausgehend von den bereits vorgestellten Beispielen supramolekularer Polymerisation wasserlöslicher Porphyrin-Peptidamphiphile soll sich innerhalb von Mehrkomponenten-Systemen mit der ladungsgesteuerten Darstellung alternierender Copolymer befassen werden. Das Zentrum der darzustellenden Monomere soll dabei das in Kapitel 5 vorgestellte Palladium(II)-Porphyrin **V-9** bilden, welches aufgrund der quadratisch-planaren Koordinationsgeometrie keine axiale Koordination durch funktionelle Gruppen zulässt sowie eine ausgesprochene Stabilität gegenüber pH-Schwankungen aufweist.<sup>[232]</sup>



**Abbildung 6.1:** **A:** Chemische Struktur der darzustellenden Porphyrin-Monomere mit positiv-geladenen (oben: **VI-1** = PdGFKFAhxG, **VI-3** = PdGFKAAhxG) und negativ-geladenen (unten: **VI-2** = PdGFEEFAhxG, **VI-4** = PdGFEEAAhxG) Seitenketten. **B:** Schematische Darstellung der ladungskontrollierten supramolekularen Polymerisation in alternierende Copolymer.

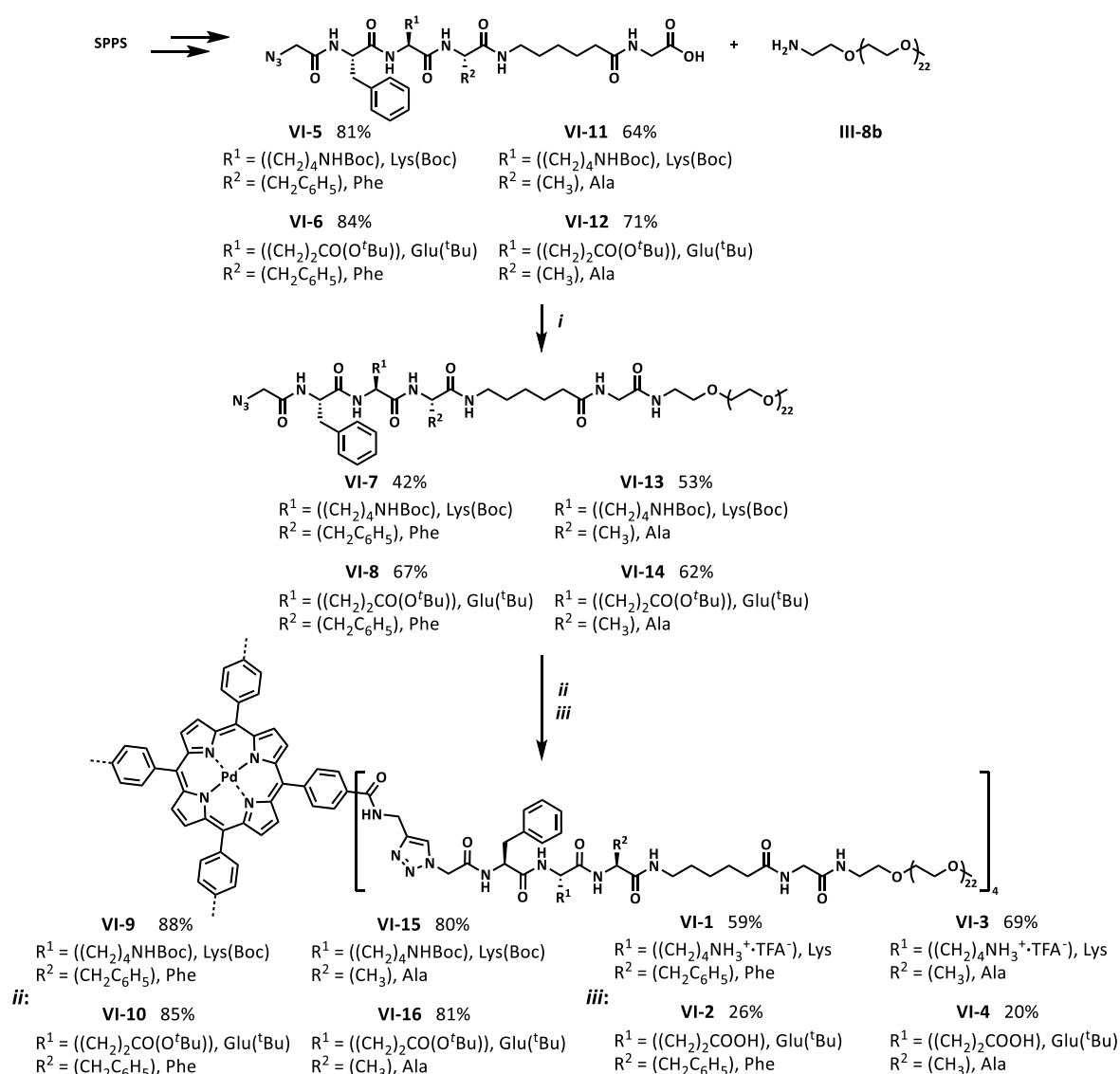
Weiterhin gilt es, das bisherige molekulare Design zu modifizieren, um den Assemblierungsprozess hinsichtlich elektrostatischer Wechselwirkungen zu optimieren. Neben dem Austausch der terminalen Aminosäure Phenylalanin soll die Erweiterung um ein hydrophobes Amino-hexansäure (Ahx)-Segment der Abgrenzung des Monomer-Zentrums gegenüber der wässrigen Umgebung dienen, um elektrostatische Wechselwirkungen über hydrophobe Abschirmung zu unterstützen und zu stabilisieren. Neben der Copolymerisation durch Paarung der direkt komplementären Monomere **VI-1 & VI-2** und **VI-3 & VI-4** soll die Kreuzung beider Monomer-Sets im Hinblick auf die Regulierbarkeit resultierender Copolymer-Eigenschaften erprobt werden.

## 6.2 Ergebnisse und Diskussion

Aufbauend auf der erfolgreichen Darstellung der Palladium(II)-Monomere **V-3** und **V-4** in Kapitel 5 und der Untersuchung pH-responsiver Homopolymerisation von **IV-1** in Kapitel 4 widmet sich Kapitel 6 der Kombination beider Ansätze im Hinblick auf die Synthese und Charakterisierung komplementärer selbstassemblierender Comonomere. Neben den Einzelheiten der synthetischen Ausführungen wird im Folgenden die supramolekulare alternierende Copolymerisation auf Grundlage unterschiedlich geladener Aminosäure-Sequenzen diskutiert.

### 6.2.1 Synthese Stimuli-responsiver (Co-)Monomere

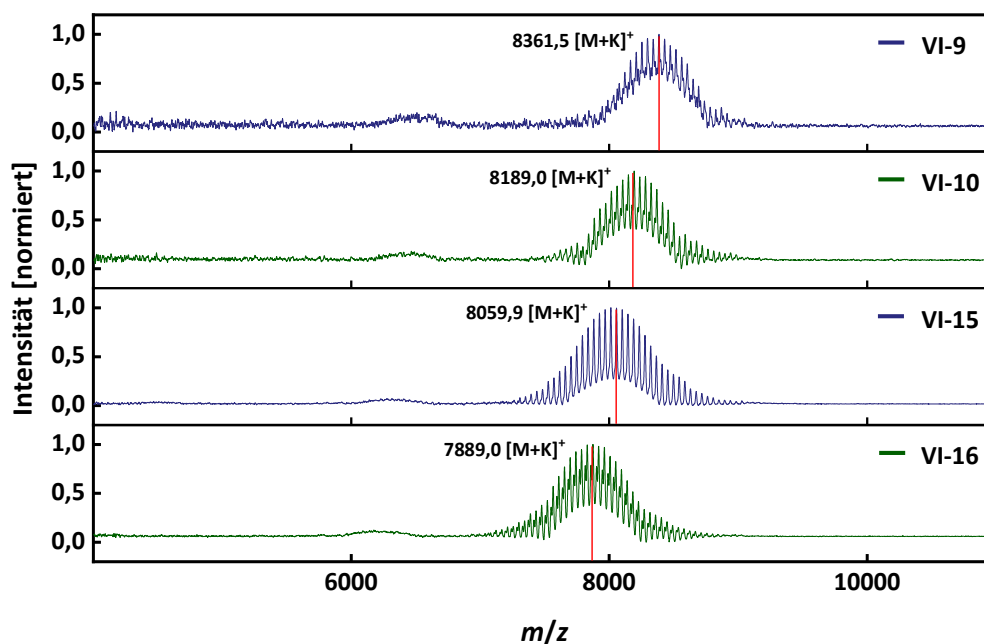
Den Anfang der Syntheseroute bildet die Darstellung einer neuen Generation potenziell geladener Oligopeptide auf Basis eines FKFAhxG/FEFAhxG- beziehungsweise FKAAhxG/FEAAhxG-Motivs.



**Abbildung 6.2:** Syntheseroute zur Darstellung der *meso*-substituierten Porphyrin-Peptidamphiphile **VI-1** bis **VI-4**. **i:** **III-8b** (1,0 Äq.), **VI-5/VI-6/VI-11/VI-12** (1,5 Äq.), PyBOP (1,5 Äq.), HOBT (1,5 Äq.), DIPEA (1,5 Äq.), DMF, 0°C → 25°C, 18 h; **ii:** **V-9** (1,0 Äq.), **VI-7/VI-8/VI-13/VI-14** (5,5 Äq.), CuSO<sub>4</sub> × 5 H<sub>2</sub>O (1,0 Äq.), TBTA (0,8 Äq.), Natriumascorbat (2,3 Äq.), DMSO, 40°C, 24 h; **iii:** TFA/DCM/TIS/H<sub>2</sub>O (4:4:1:1), 2 × 1 h, 25°C.

Die nötigen Sytheschritte wurden in Zusammenarbeit mit [REDACTED] durchgeführt.<sup>[296]</sup> Dem bisher angewendeten Fmoc-Syntheseprotokoll zum Aufbau *N*-terminal Azid-funktionalisierter Oligopeptide über SPPS entsprechend wurden die Peptidsequenzen N<sub>3</sub>GFK(Boc)FAhxGOH (**VI-5**), N<sub>3</sub>GFE(*t*Bu)FAhxGOH (**VI-6**), N<sub>3</sub>GFK(Boc)AAhxGOH (**VI-11**) und N<sub>3</sub>GFE(*t*Bu)FAhxGOH (**VI-12**) an einer festen 2-CTC-Matrix synthetisiert. Anschließend erfolgte die PyBOP-vermittelte Amidierung von mPEG-NH<sub>2</sub> (*M<sub>w</sub>* = 1000 g mol<sup>-1</sup>) (**III-8b**) an die Oligopeptide, woraufhin die resultierenden Peptidamphiphile nach Größenausschlusschromatographie (Sephadex™, LH-20, MeOH) und Reinigung über semi-präparative RP-HPLC in zufriedenstellenden Ausbeuten von 42% (**VI-7**), 67% (**VI-8**), 53% (**VI-13**) und 62% (**VI-14**) isoliert werden konnten.

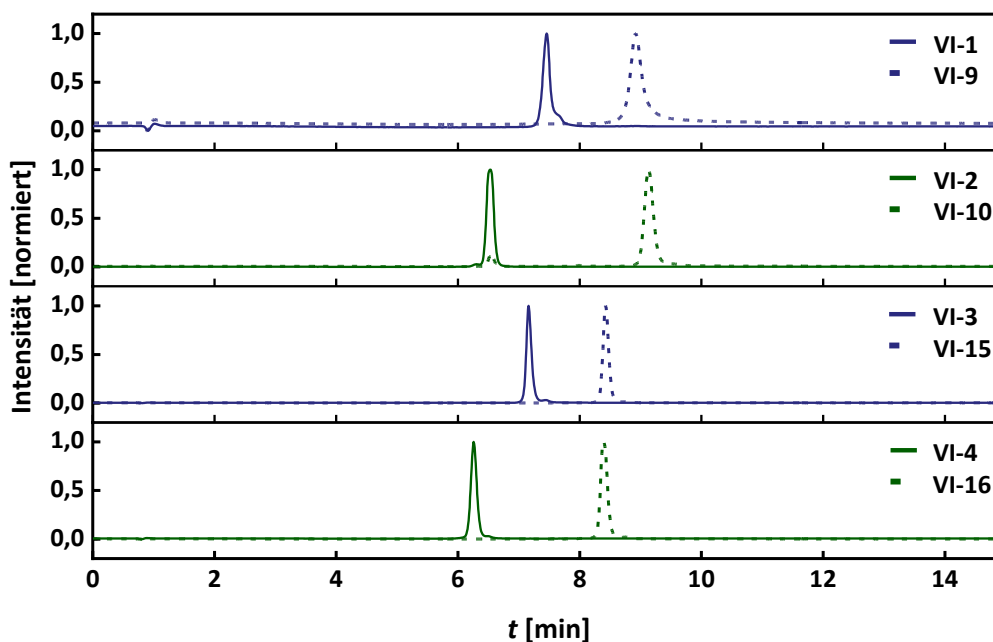
Die erhaltenen Azid-funktionalisierten Peptidamphiphile **VI-7** & **VI-8** und **VI-13** & **VI-14** wurden jeweils an das Pd(II)-Porphyrin **V-9** über CuAAC konjugiert (vergleiche Kapitel 3.2.1) und die Vollständigkeit der Reaktion mittels MALDI-Tof-MS (Abbildung 6.3: **VI-9**: *m/z* = 8361,4 (Berechnung für [M+K]<sup>+</sup>: *m/z* = 8361,4); **VI-10**: *m/z* = 8189,0 (Berechnung für [M+K]<sup>+</sup>: *m/z* = 8189,2); **VI-15**: *m/z* = 8059,9 (Berechnung für [M+K]<sup>+</sup>: *m/z* = 8056,3); **VI-16**: *m/z* = 7889,0 (Berechnung für [M+K]<sup>+</sup>: *m/z* = 7884,1)) bestätigt. Anschließende Reinigung mittels Größenausschluss-chromatographie (BioBeads™, S-X1, DMF) lieferte die an den Seitenketten-geschützten Monomere in sehr guten Ausbeuten von 88% (**VI-9**), 85% (**VI-10**), 80% (**VI-15**) und 81% (**VI-16**).



**Abbildung 6.3:** MALDI-MS Spektren der Reaktionskontrollen zur Darstellung von **VI-9** & **VI-10** und **VI-15** & **VI-16**, aufgenommen im Bereich zwischen 4000 – 11000 *m/z* (Matrix: DCTB+KTFA, linear-positiver Modus).

Die Abspaltung der Boc- und *t*Bu-Schutzgruppen der Glutaminsäure- und Lysin-Seitenketten fand unter sauren Bedingungen durch Verwendung von TFA und Triisopropylsilan (TIS) in DCM und H<sub>2</sub>O statt. Der Verlauf der Reaktion wurde mittels analytischer RP-HPLC verfolgt und zeigte für alle Monomere die vollständige Entschützung nach zwei Stunden (Abbildung 6.4). Um die höchstmögliche Reinheit zu gewährleisten, wurden sämtliche Monomere über semi-präparative RP-HPLC in gepufferten Lösungsmittel-Systemen gereinigt (vergleiche Kapitel 8.1.4), wodurch die finalen wasserlöslichen Monomere **VI-1** (59%), **VI-2** (26%), **VI-3** (69%) und **VI-4** (20%) erhalten wurden. Die geringen Ausbeuten der Glutaminsäure-Derivate **VI-2** und **VI-4** lassen sich auf die

Peak-Verbreiterung infolge von pH-Wert-Schwankungen während der Aufreinigung über RP-HPLC zurückführen.



**Abbildung 6.4:** Analytische RP-HPLC Chromatogramme der Monomere **VI-1** bis **VI-4** (durchgezogene Linien) nach Aufreinigung über präparative RP-HPLC sowie deren geschützte Varianten **VI-9 & VI-10** und **VI-15 & VI-16** (nicht-durchgezogene Linien) (siehe 8.1.4, Methode A: Flussrate:  $1,0 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $\lambda = 420 \text{ nm}$ ).

Die abschließende Charakterisierung erfolgt über  $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie. Die erfolgreiche Konjugation konnte anhand passender Integrale der charakteristischen Signale vierfach-substituierter Monomere bestätigt werden. Neben der Signale der Amidprotonen welche aus der Funktionalisierung mit Propargylamin zur Darstellung des Porphyrin-Kerns **V-9** hervorgehen (Abbildung 6.5 a, Triplett:  $\delta \approx 9,43 \text{ ppm}$ ,  $4 \times 1\text{H}$ ) zählen hierzu die Signale der Triazol-Protonen (Abbildung 6.5 b, Singulett:  $\delta = 7,92 \text{ ppm}$ ,  $4 \times 1\text{H}$ ), die Signale der Protonen der Methylen-Gruppen in Nachbarschaft des Triazols (Abbildung 6.5 c, Multipllett:  $\delta = 5,20 - 5,00 \text{ ppm}$ ,  $4 \times 2\text{H}$ ) sowie die Signale der endständigen Methyl-Gruppen der solubilisierenden mPEG-Einheiten (Abbildung 6.5 c, Multipllett:  $\delta = 5,20 - 5,00 \text{ ppm}$ ,  $4 \times 3\text{H}$ ).

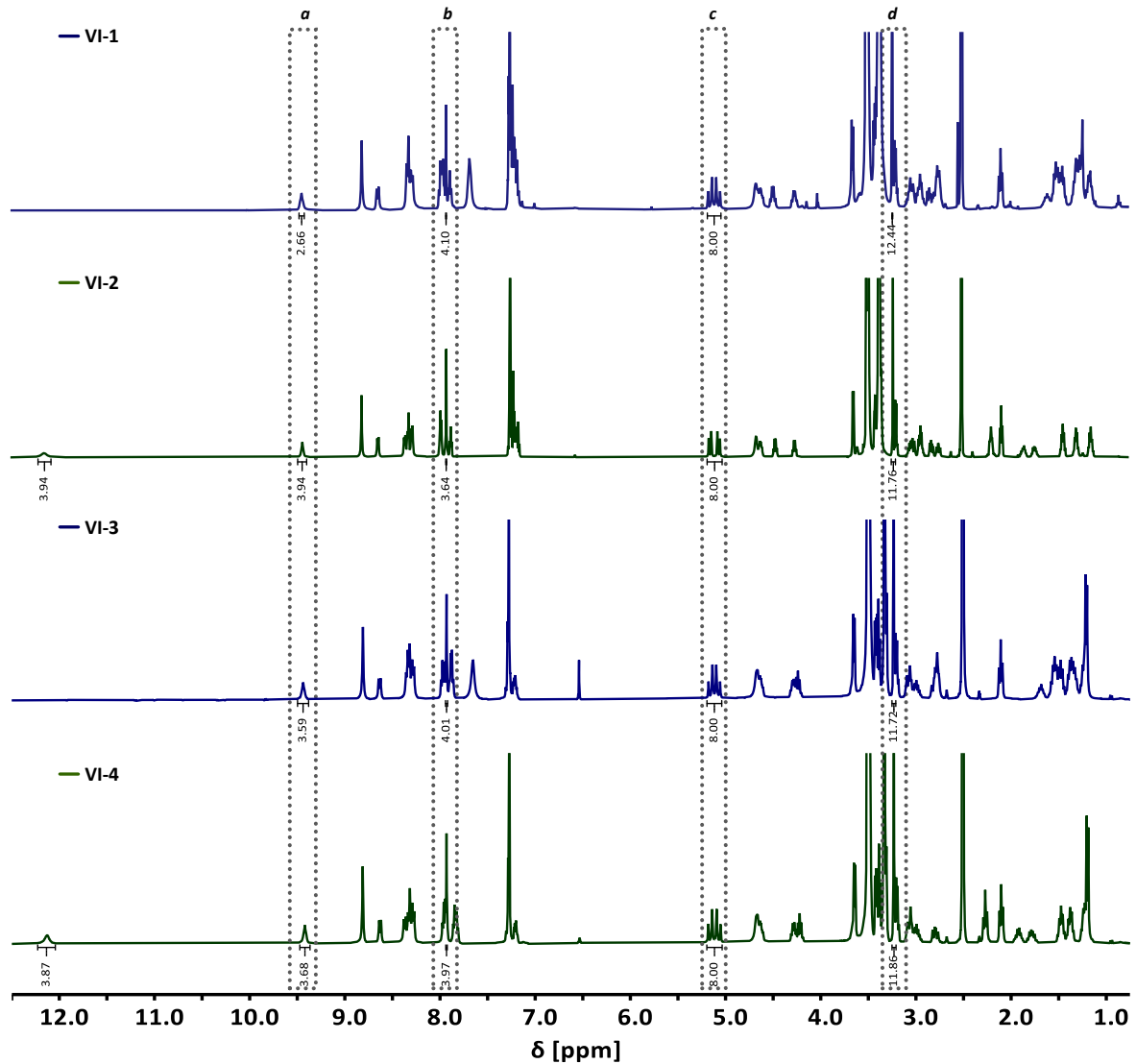


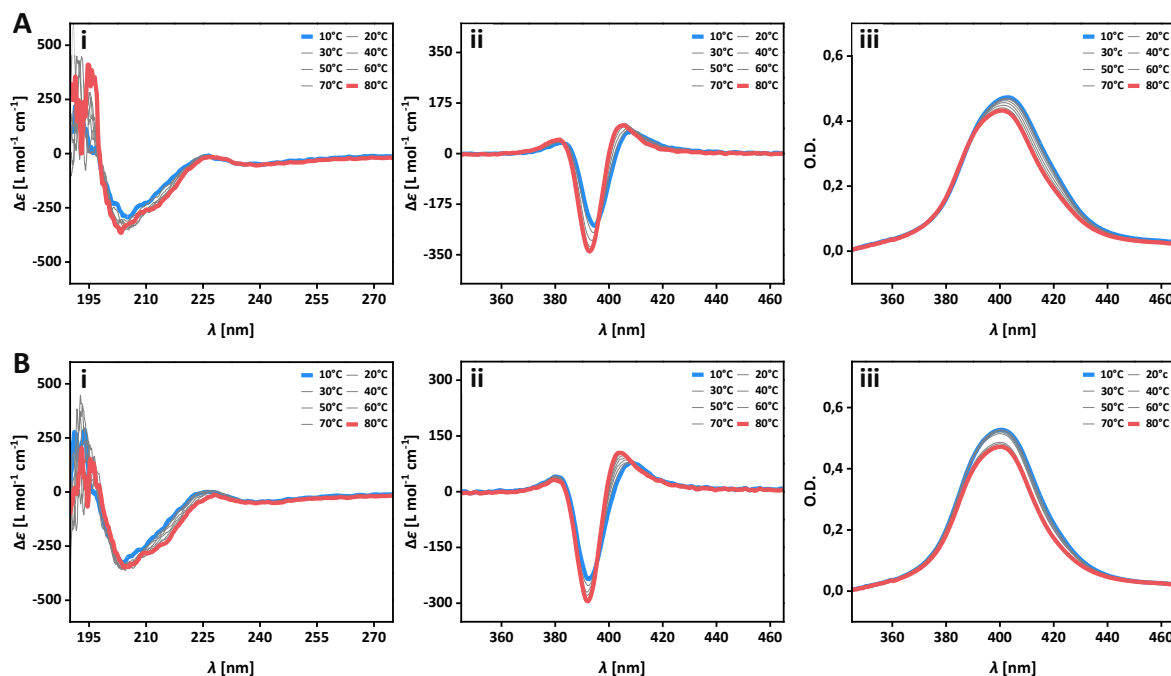
Abbildung 6.5:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren der Monomere VI-1 bis VI-4 ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

## 6.2.2 Supramolekulare Homopolymerisation der Monomere VI-1 und VI-2

Hinsichtlich der ladungskontrollierten supramolekularen Copolymerisation musste zunächst die Ausbildung supramolekularer Homopolymere ausgehend von ungeladenen Monomeren validiert werden. Aufbauend auf den Ergebnissen zum Assemblierungsverhalten von IV-1 ( $\text{ZnGFEF}$ ), welche eine wechselseitige Abhängigkeit der Aggregation von Temperatur und pH-Wert aufzeigten, wird im Folgenden die Thermo- und pH-Responsivität der Monomer-Sets VI-1 & VI-2 sowie VI-3 & VI-4 untersucht. Die dafür durchgeführten Messungen fanden in Phosphatpuffer (10 mM) statt, um einen konstanten pH-Wert zu gewährleisten.

Ähnlich dem temperaturabhängigen Lösungsverhalten von V-1 bis V-4 zeigten VI-1 bis VI-4 im jeweils ladungsneutralen Zustand in vorangegangenen LCST-Test eine verringerte kolloidale Stabilität oberhalb  $80^\circ\text{C}$ , weswegen  $T = 80^\circ\text{C}$  als Maximaltemperatur temperaturabhängiger Messungen gewählt wurde (siehe Anhang A: Abbildung A6.5).

Zunächst wurde **VI-1** und **VI-2** bezüglich der Ausbildung von Überstrukturen unter kinetischer Kontrolle verfolgt. Hierfür wurden beide Monomere im jeweils ladungsneutralen Zustand (**VI-1**: pH = 11,0; **VI-2**: pH = 2,7) betrachtet. Dabei zeigten sowohl die CD-Spektren im fernen und nahen UV-Bereich wie auch die UV/Vis-Spektren im Temperaturverlauf eine außergewöhnliche Beständigkeit der spektroskopischen Signale (Abbildung 6.6).

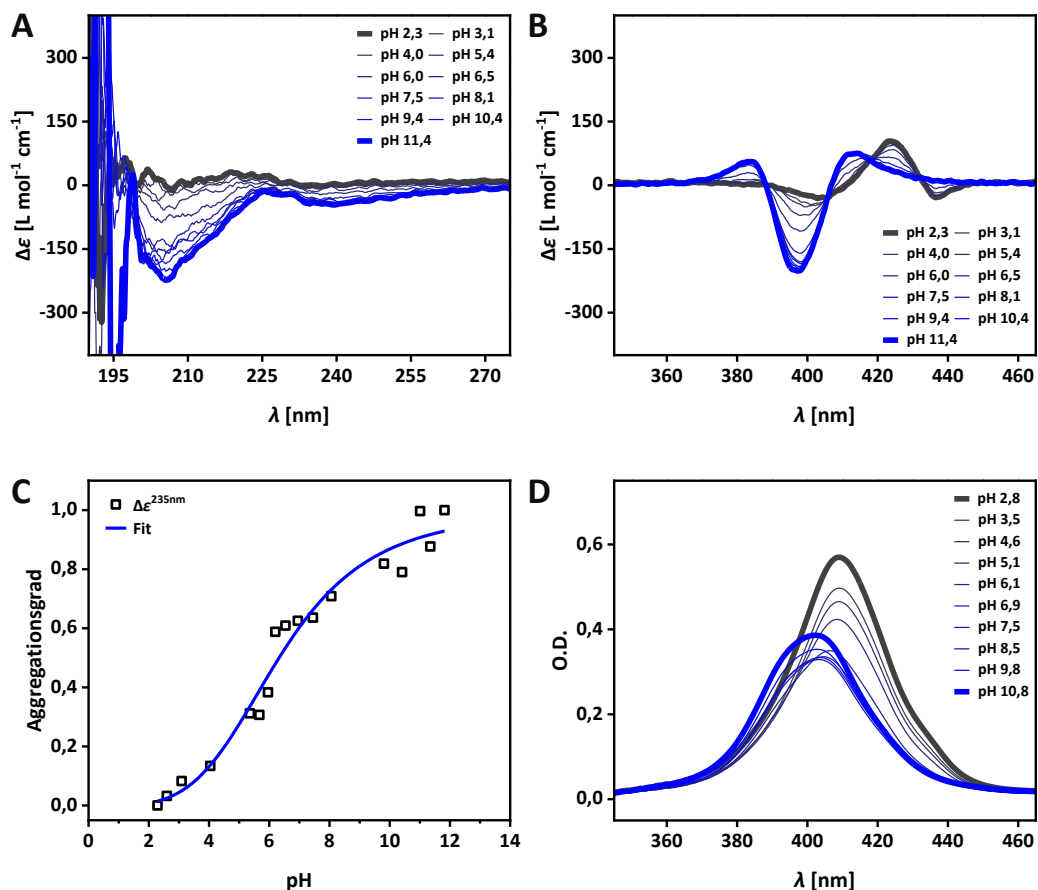


**Abbildung 6.6:** Temperaturabhängige CD (i & ii)- und UV/Vis (iii)-Spektren von **A: VI-1** (pH = 11,0) und **B: VI-2** (pH = 2,7) in PB (10 mM) ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M).

Den Unterschied zu den bisherigen Porphyrin-Peptidamphiphilen stellt Amino-hexansäure (Ahx) dar. Ahx schirmt die Peptidsequenz gegenüber Wassermoleküle ab, welche dadurch nicht um Wasserstoffbrückenbindungsstellen konkurrieren können. So wird die intermolekulare Peptid-Peptid-Wechselwirkung gefördert, was sonst erst durch die Desolvation einzelner Molekülsegmente bei hohen Temperaturen erreicht wird. Die Strukturformation äußert sich in für beide Monomere nahezu identischen Spektren mit einem für H-Aggregate indikativen hypsochrom verschobenen Soret-Signal verglichen mit dem Signal freier Monomere (vergleiche Abbildung 5.11,  $\lambda_{\text{Mono}} = 418$  nm) (A.iii & B.iii:  $\lambda_{\text{max}}(\text{VI-1}) = \lambda_{\text{max}}(\text{VI-2}) = 400$  nm) und einem hauptsächlich negativen COTTON-Effekt (A.iii & B.iii: **VI-1**:  $\lambda(-) = 395$  nm,  $\Delta\epsilon = -251$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>  $\rightarrow$   $\lambda(-) = 393$  nm,  $\Delta\epsilon = -327$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>; **VI-2**:  $\lambda(-) = 393$  nm,  $\Delta\epsilon = -237$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>  $\rightarrow$   $\lambda(-) = 392$  nm,  $\Delta\epsilon = -292$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). Die Monomer-Stapelung wird zudem durch das auftretende Signal für  $\beta$ -Faltblatt-artige Sekundärstrukturen ersichtlich (A.i & B.i:  $\lambda_{\text{max}} = 207$  nm).

Für die Untersuchung der pH-Responsivität der Homopolymerisation wurden die spektroskopischen Signale während Titrationen mit wässrigen Lösungen von NaOH und HCl verfolgt. Um den Einfluss kinetischer Effekte zu minimieren, wurden die Titrationen ausgehend vom geladenen Monomerezustand durchgeführt. **VI-1** (GFKFAhxG) wurde in saurem Phosphatpuffer gelöst (pH<sup>UV/Vis</sup> = 2,8; pH<sup>CD</sup> = 2,3), um die Protonierung der Lysin-Seitenketten zu gewährleisten. Im UV/Vis-Spektrum wird ersichtlich, dass **VI-1** trotz der geladenen Seitenketten nicht im molekular gelösten Zustand vorliegt ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH}2,8} = 409$  nm). Die ausgesprochene

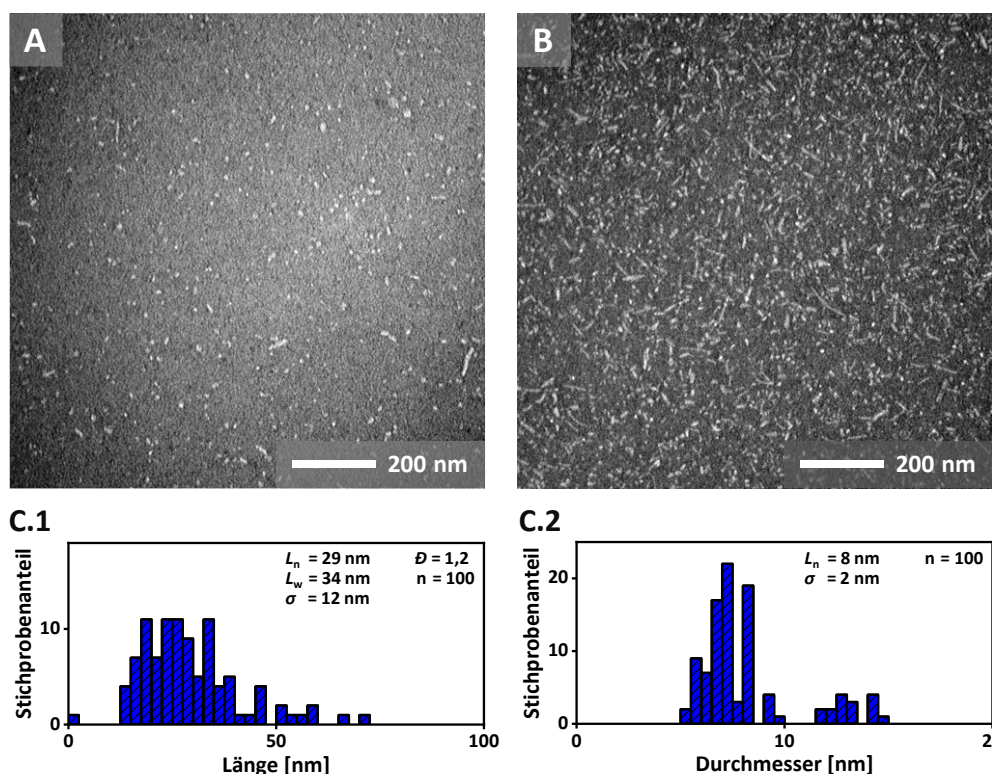
Aggregationstendenz aufgrund der hydrophoben Peptidsequenz in Kombination mit hydrophober Abschirmung durch Ahx wurde auch innerhalb der Temperaturmessungen ersichtlich und scheint gegenüber der repulsiven elektrostatischen Abstoßung zu dominieren. Über CD-Spektroskopie lassen sich entsprechend ebenfalls Anzeichen cofacialer Chromophor-Stapelung anhand eines breiten positiven COTTON-Effekts beobachten ( $\lambda(+)$  = 424 nm,  $\Delta\epsilon$  = 103 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). Die Tatsache, dass etwaige Sekundärstrukturen nicht erkennbar sind signalisiert jedoch den Zusammenschluss zu ungeordneten Prä-Aggregaten. Die COULOMB-Repulsion der geladenen Seitenketten unterbindet die Aggregation nicht vollständig, wirkt jedoch hemmend bezüglich des Aufbaus geordneter eindimensionaler Strukturen. Im Laufe der pH-Änderung ist die Ausbildung diskreter Signale, repräsentativ für eindimensionale H-Aggregate, erkennbar ( $\lambda_{\max}^{\text{pH}10,8}$  = 401 nm), die sich sowohl im Übergang zu einem negativen COTTON-Effekt ( $\lambda(-)$  = 397 nm,  $\Delta\epsilon$  = -205 L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) wie auch im Signal für  $\beta$ -Faltblatt-Motive ( $\lambda_{\max}$  = 204 nm) äußern. Der Übergang verläuft dabei nahezu graduell. Ein Fit der normierten Datenpunkte bei  $\lambda$  = 235 nm offenbart für das Erreichen eines 50%-igen Polymerisationsgrades in Abhängigkeit der pH-Werts einen Wert von  $\text{pH}_{50}$  = 6,3, was weit unterhalb des  $\text{pK}_s$  der  $\epsilon$ -ständigen Amino-Gruppe des Lysins liegt ( $\text{pK}_s(\text{Lys}) \approx 10,5$ )<sup>[283]</sup> und bezeichnend für die starke thermodynamische Triebkraft zur Selbstassemblierung ist.



**Abbildung 6.7:** pH-abhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von VI-1; C: Auftragung des normierten CD-Effekts bei  $\lambda$  = 235 nm gegen den pH-Wert ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}$  M,  $T = 25^\circ\text{C}$ , PB (10 mM)).

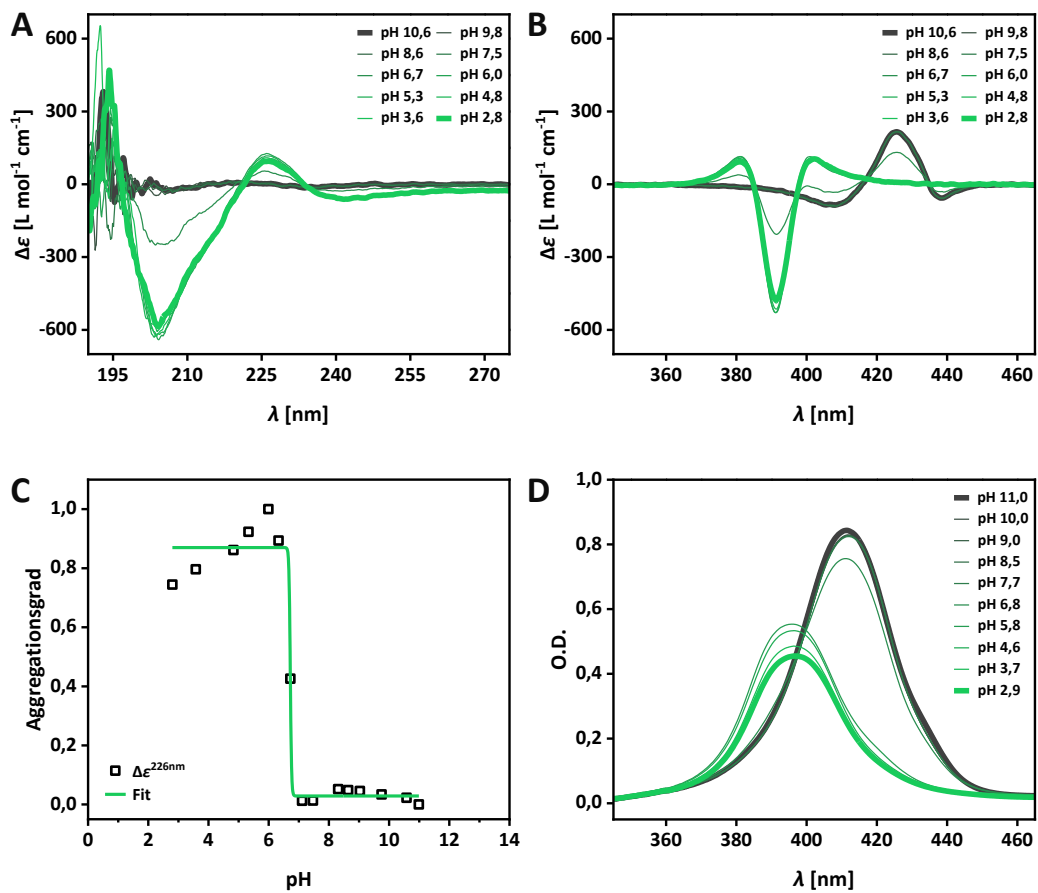
Zum Nachweis der spektroskopischen Betrachtungen wurden negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen sowohl im Säuren ( $\text{pH} = 3,4$ ) wie auch Basischen ( $\text{pH} = 10,9$ ) erstellt (Abbildung 6.8). Für den geladenen Monomierzustand (A) sind kleine, fragmentartige Strukturen von wenigen

Nanometern zu erkennen, was die Schlussfolgerung zur Ausbildung unstrukturierter Aggregate bekräftigt. Der Anstieg des pH-Werts bedingt die Beobachtung anisotroper, wenn auch recht kurzer Nanostäbchen ( $L_n = 30 \pm 12$  nm), welche einen durchschnittlichen Durchmesser von  $\varnothing = 8 \pm 2$  nm aufweisen. Das entsprechende Breitenhistogramm (C.2) legt eine Verteilung zweier Populationen offen. Demnach zeigt **VI-1** die Ausbildung eindimensionaler Nanostrukturen mit teilweise stattfindender Bündelung einzelner Filamente.



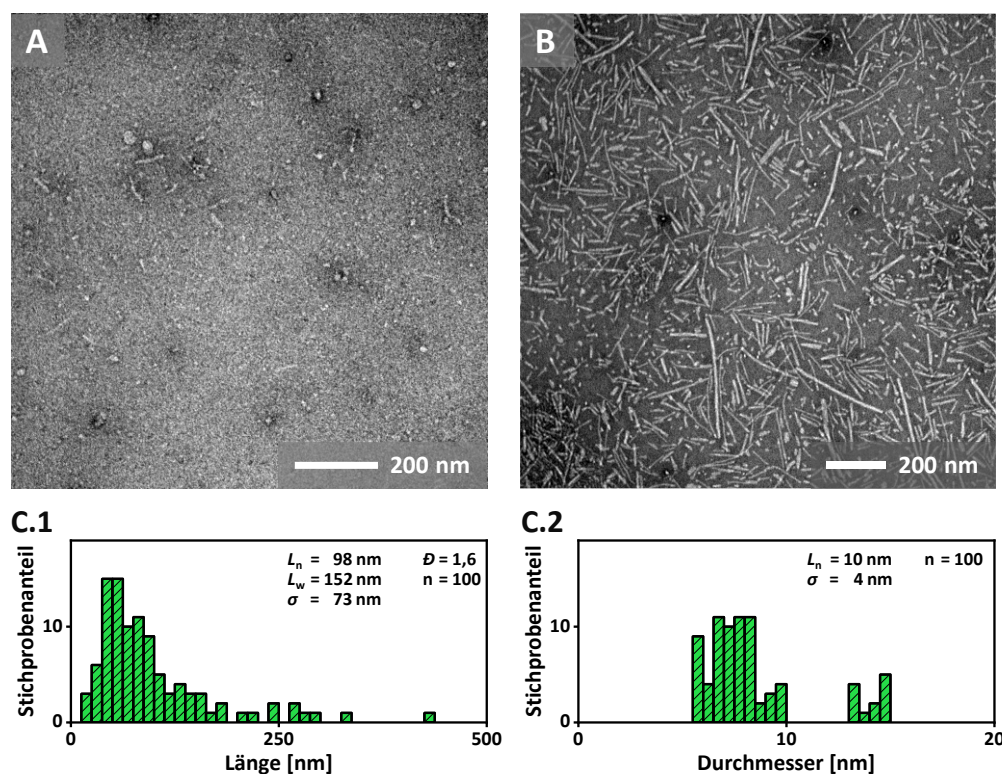
**Abbildung 6.8:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von **VI-1** nach Equilibrieren bei 25°C für 3 h; **A:** **VI-1** bei pH = 3,4; **B:** **VI-1** bei pH = 10,9; **C:** Längen (**C.1**)- und Breitenhistogramm (**C.2**) auf Grundlage graphischer Bildevaluation der TEM-Aufnahmen bei pH = 10,9 ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, TRIS (10 mM)).

Auf identische Weise wurde **VI-2** bezüglich der Homopolymerisation ausgehend vom negativ geladenen ( $\text{pH}^{\text{UV/Vis}} = 10,6$ ;  $\text{pH}^{\text{CD}} = 11,0$ ) hin zum ungeladenen Zustand ( $\text{pH}^{\text{UV/Vis}} = 2,9$ ;  $\text{pH}^{\text{CD}} = 2,8$ ) untersucht und zeigt dabei nahezu identische, wenn auch intensivere Signale in CD- und UV/Vis-Spektroskopie im entgegengesetzten pH-Verlauf (Abbildung 6.9). Der Übergang der Soret-Bande ( $\lambda^{\text{pH}11,0} = 411$  nm  $\rightarrow$   $\lambda^{\text{pH}2,9} = 396$  nm) und die Veränderungen des COTTON-Effekts ( $\lambda(-) = 392$  nm,  $\Delta\varepsilon = -477$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) werden von der Ausbildung des Signals für  $\beta$ -Faltblatt-Strukturen begleitet, welches einen scharfen Monomer-zu-Polymer-Übergang mit  $\text{pH}_{50}(\text{VI-2}) = 6,7$  aufweist. Dieser Wert weicht ebenfalls vom theoretischen  $\text{pK}_s$  der freien Carbonsäure der Glutaminsäure-Seitenkette ( $\text{pK}_s(\text{Glu}) = 4,3$ )<sup>[283]</sup> und bestätigt die thermodynamische Triebkraft der Selbstassemblierung. Die negativ kontrastierten TEM-Aufnahmen zeigen deutliche Unterschiede der geladenen wie ungeladenen Zustände mit nur vereinzelt, wenig konturierten Strukturen bei pH = 10,7 (Abbildung 6.10, A). Die pH-induzierte Homopolymerisation bedingt die Ausbildung klar erkennbarer anisotroper Nanofasern (B), die in ihrer Länge jene durch **VI-1** gebildete Nanostrukturen übersteigen ( $L_n = 98 \pm 73$  nm,  $D = 1,6$ ), und insgesamt eine Variation der Länge und Breite mit partieller Dimerisierung einzelner Stränge beobachten lässt (C.2).



**Abbildung 6.9:** pH-abhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von **VI-2**; C: Auftragung des normierten CD-Effekts bei  $\lambda = 226$  nm gegen den pH-Wert ( $c^{CD} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{UV/Vis} = 5 \times 10^{-6}$  M,  $T = 25^\circ\text{C}$ , PB (10 mM)).

Die Untersuchungen demonstrieren das pH-responsive Verhalten des Monomer-Sets **VI-1** & **VI-2**, welches die ladungsabhängige Homopolymerisation zu eindimensionalen supramolekularen Polymeren ermöglicht. Durch die Verschiebung des effektiven pKs von Lysin und Glutaminsäure erfolgt der Zustandsübergang für beide Monomere nahe dem neutralen pH-Bereich ( $\text{pH}_{50}(\text{VI-1}) = 6,3$ ;  $\text{pH}_{50}(\text{VI-2}) = 6,7$ ), womit jedoch kein pH-Bereich gegeben ist, in welchem beide Monomere zeitgleich im rein geladenen Zustand auftreten. Am Schnittpunkt ihrer Titrationskurven ( $\text{pH} = 6,7$ ) beträgt der Homopolymerisationsgrad von **VI-1** und **VI-2** bereits 55%, was keinen vielversprechenden Ausgangspunkt komplementär ladungsgetriebener Copolymerisation darstellt.



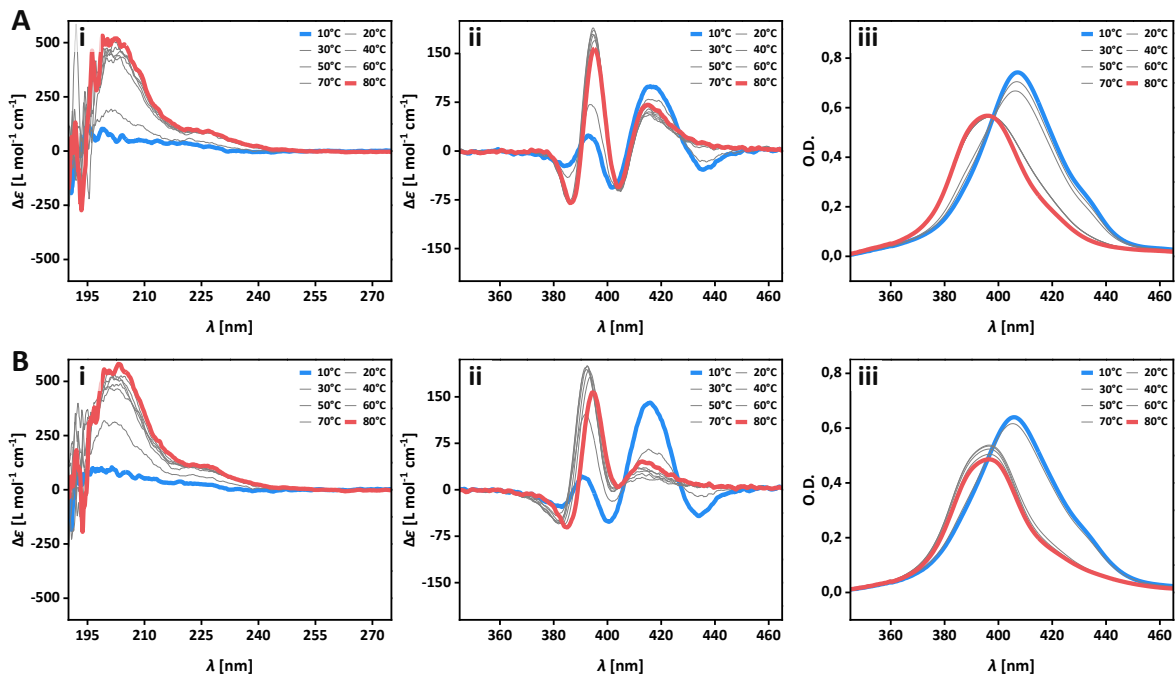
**Abbildung 6.10:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von **VI-2** nach Equilibrieren bei 25°C für  $t = 3$  h; **A:** **VI-2** bei pH = 10,7; **B:** **VI-1** bei pH = 2,8; **C:** Längen (**C.1**)- und Breitenhistogramm (**C.2**) auf Grundlage graphischer Bildevaluation der TEM-Aufnahmen bei pH = 10,9 ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, TRIS (10 mM)).

### 6.2.3 Supramolekulare Homopolymerisation der Monomere **VI-3** und **VI-4**

Die Verschiebung des effektiven  $pK_s$  von Glutaminsäure und Lysin innerhalb der Supramoleküle limitiert die Anwendbarkeit von **VI-1** und **VI-2** bezüglich der ladungskontrollierten Copolymerisation. Da die pH-Responsivität eine Konsequenz der allgemeinen Aggregationstendenz darstellt, wurde anhand **VI-3** und **VI-4** versucht, das molekulare Design hinsichtlich aggregationsfördernder Struktur motive anzupassen. Hierbei konnte die Vielseitigkeit des SPPS-Ansatzes ausgenutzt und die Oligopeptidsequenz variiert werden, indem eine Phenylalanin-Einheit durch weniger hydrophobes Alanin ersetzt wurde. Damit galt es, die attraktive Triebkraft supramolekularer Polymerisation abzuschwächen und den pH-induzierten Zustandsübergang näher in Richtung der jeweiligen  $pK_s$ -Werte zu verschieben.<sup>[197,198,200,204]</sup>

Die Untersuchung startete mit der Betrachtung kinetisch kontrollierter Strukturformation der Monomere **VI-3** und **VI-4** im neutralen Zustand (**VI-3**: pH = 10,8; **VI-4**: pH = 2,7). Beide Monomere zeigen ein vermindertes Aggregationsbestreben für  $T < 15^\circ\text{C}$  mit der Formation ungeordneter Prä-Aggregate unter leicht hypsochromer Verschiebung des Soret-Signals ( $\lambda_{\max}(\mathbf{VI-3}) = 407$  nm;  $\lambda_{\max}(\mathbf{VI-4}) = 406$  nm), Ausbildung eines breiten positiven COTTON-Effekts (**VI-3**:  $\lambda(+)$  = 416 nm,  $\Delta\epsilon = 100$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>; **VI-4**:  $\lambda(+)$  = 416 nm,  $\Delta\epsilon = 139$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) und inaktiver CD-Spektren im fernen UV-Bereich (Abbildung 6.11, blau). Durch die Zunahme der Temperatur lässt sich vor allem anhand der Ausbildung der spektroskopischen Signale von Sekundärstrukturmustern (**VI-3**:  $\lambda_{\max} = 204$  nm,  $\Delta\epsilon = 503$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>; **VI-4**:  $\lambda_{\max} = 204$  nm,  $\Delta\epsilon = 565$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) das Voranschreiten der Selbstassemblierung beobachten (siehe Anhang A: Abbildung A6.6:  $T_{50}(\mathbf{VI-3}) = 21,4^\circ\text{C}$ ;

$T_{50}(\text{VI-4}) = 20,4^\circ\text{C}$ ). Beide Monomere weisen dabei eine signifikante Blauverschiebung der SORET-Bande auf ( $\lambda_{\text{max}}(\text{VI-3}) = 407 \rightarrow 396 \text{ nm}$ ;  $\lambda_{\text{max}}(\text{VI-4}) = 406 \rightarrow 395 \text{ nm}$ ), welche von der Ausbildung eines neuen positiven Exziton-Signals begleitet wird (**VI-3**:  $\lambda(+)$  = 395 nm,  $\Delta\epsilon = 156 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ; **VI-4**:  $\lambda(+)$  = 395 nm,  $\Delta\epsilon = 158 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Es zeigt sich, dass der Austausch von Phenylalanin durch weniger hydrophobes Alanin einen direkten Einfluss auf die Selbstassemblierungstendenz hat und die Variation des Peptidrückgrats bezüglich hydrophiler und hydrophober Anteile ebenfalls ein effektives Mittel zur Modulation der Thermoresponsivität darstellt.

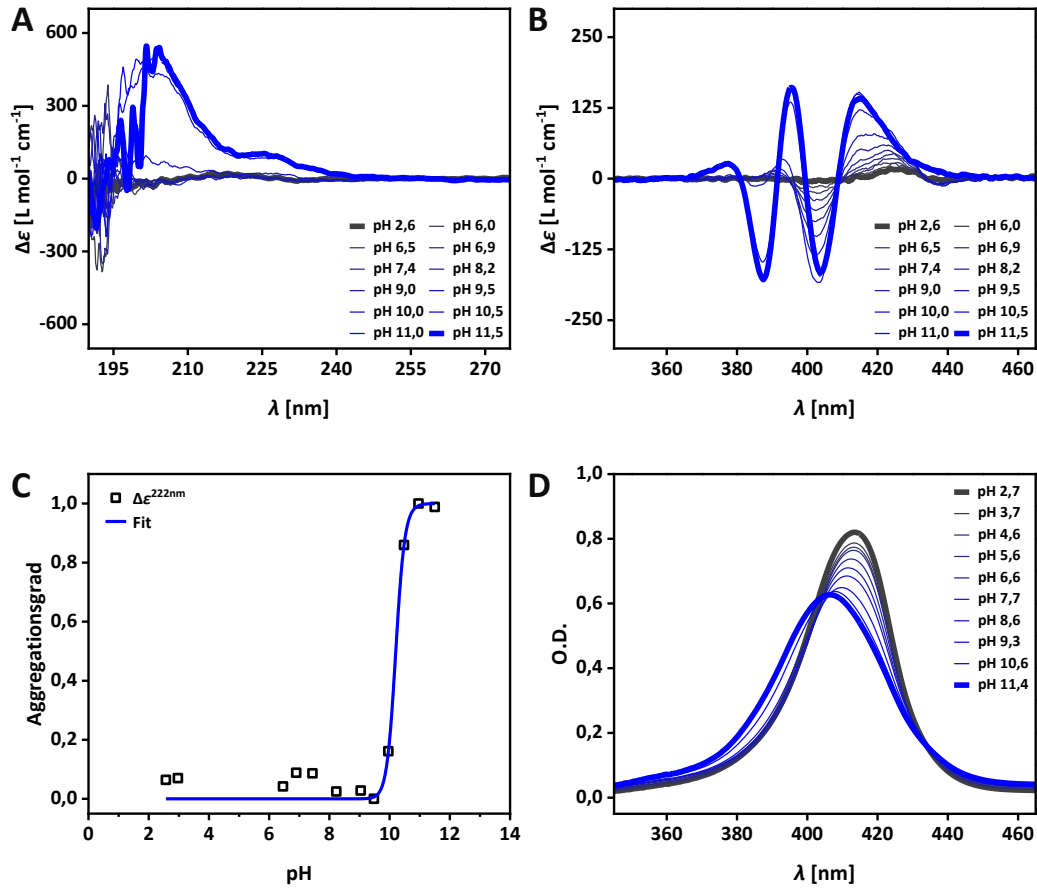


**Abbildung 6.11:** Temperaturabhängige CD (i & ii)- und UV/Vis (iii)-Spektren von **A: VI-3** (pH = 10,8) und **B: VI-4** (pH = 2,7) in PB (10 mM) ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ).

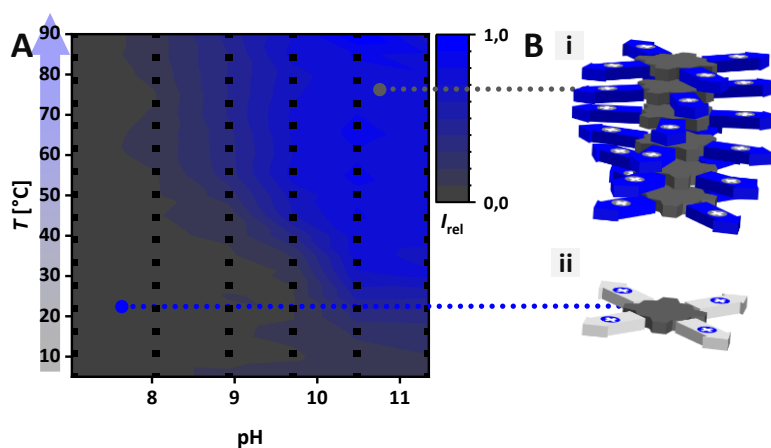
Nachfolgend sollte die pH-Abhängigkeit der Strukturformation überprüft werden. Aufgrund der Thermoresponsivität des Assemblierungsvorgangs und um kinetische Effekte bestmöglich zu minimieren, wurden die nachfolgenden pH-Titrations in einem Temperaturbereich vorgenommen, in welchem innerhalb der Temperatur-Messreihen zeitlich konstante Messwerte erhalten werden konnten ( $T \geq 40^\circ\text{C}$ ).

**VI-3** wurde in saurem Phosphatpuffer gelöst ( $\text{pH}^{\text{CD}} = 2,6$ ;  $\text{pH}^{\text{UV/Vis}} = 2,7$ ) und die spektroskopische Signatur nach thermischer Equilibrierung ( $T = 45^\circ\text{C}$ ,  $t = 3 \text{ h}$ ) im Laufe der pH-Änderung bei konstanter Temperatur ( $T = 45^\circ\text{C}$ ) analysiert. Wie auf Grundlage der Temperaturexperimente zu erwarten war, lässt sich auf Basis nahezu CD-inaktiver Spektren und der nur leicht blauverschobenen SORET-Bande ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH}2,7} = 413 \text{ nm}$ ) für **VI-3** von weitestgehend molekular gelösten Monomeren ausgehen (Abbildung 6.12). Der pH-Wechsel führt zu einem scharfen Monomer-zu-Polymer-Übergang hinsichtlich peptidischer Faltungsmotive ( $\lambda_{\text{max}} = 204 \text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = 538 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ;  $\text{pH}_{50}(\text{VI-3}) = 10,2$ ), der sich durch die hypochrome Verschiebung des Absorptionsmaximums ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH}11,4} = 406 \text{ nm}$ ) und die Ausbildung eines stark diffusen COTTON-Effekts äußert. Den Ausführungen zum Zusammenhang zwischen Aggregationsbestreben und Verschiebung des apparenten  $\text{pK}_s$  entsprechend zeigt sich, dass die strukturelle Modifikation bezüglich aggregationsfördernder Monomer-Segmente ein effektives Mittel zur Einstellung pH-responsiver Eigenschaften darstellt. So konnte der Zustandsübergang durch Verminderung der Molekül-

internen Hydrophobizität für VI-3 in Richtung des theoretischen pKs von Lysin (pKs(Lys) = 10,5)<sup>[283]</sup> angepasst werden.



**Abbildung 6.12:** pH-abhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)-Spektren von VI-3; C: Auftragung des normierten CD-Effekts bei  $\lambda = 222$  nm gegen den pH-Wert ( $c^{CD} = 2 \times 10^{-5}$  M,  $c^{UV/Vis} = 5 \times 10^{-6}$  M,  $T = 45^\circ\text{C}$ , PB (10 mm)).

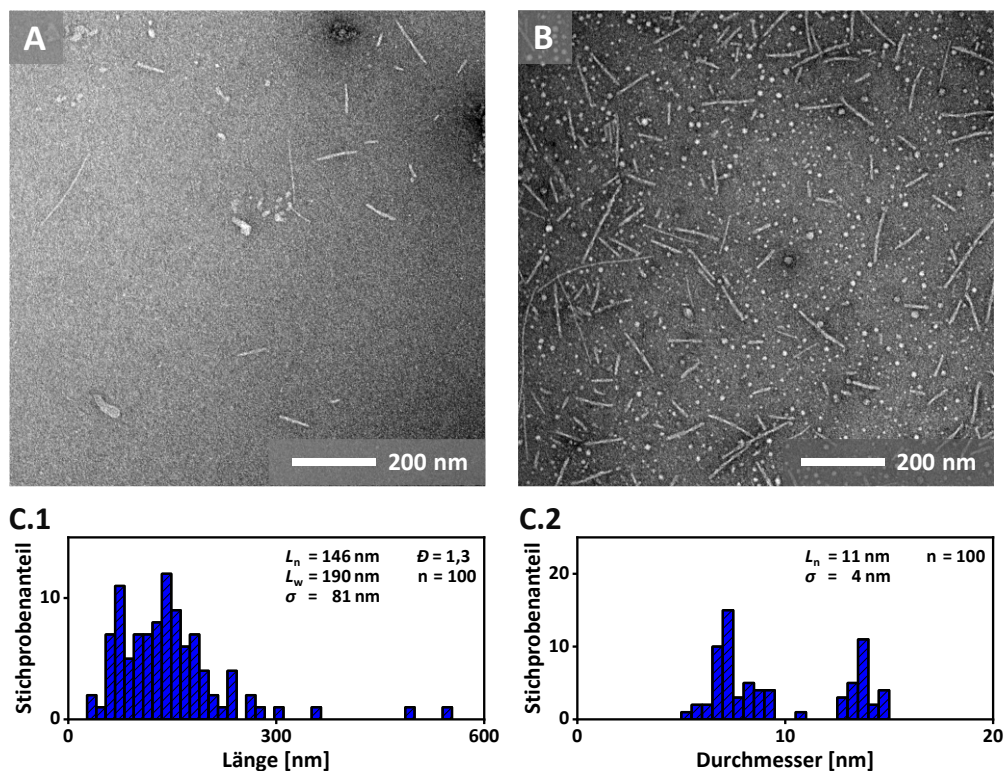


**Abbildung 6.13:** A: Zweidimensionales Zustandsdiagramm von VI-3 in Phosphatpuffer (10 mm) als Funktion von pH und Temperatur durch die Auftragung des normierten CD-Signals bei  $\lambda = 222$  nm ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M). B: Schematische Darstellung der beiden Endzustände i: Supramolekulares Polymer (Polymerisationsgrad 1); ii: Freies Monomer (Polymerisationsgrad 0).

Die Auswirkung der beiden Parameter Temperatur und pH auf den relativen Polymerisationsgrad von VI-3 wurden analog zu IV-1 (vergleiche Abbildung 4.9) durch Auftragung der Datenpunkte

mehrerer temperaturabhängiger Messungen bei unterschiedlichen pH-Werten über einen zweidimensionalen Kontur-Plot dargestellt (Abbildung 6.13). Dieser gestattet einen Überblick zur dual-Stimuli-responsiven Strukturformation unter basischen Bedingungen.

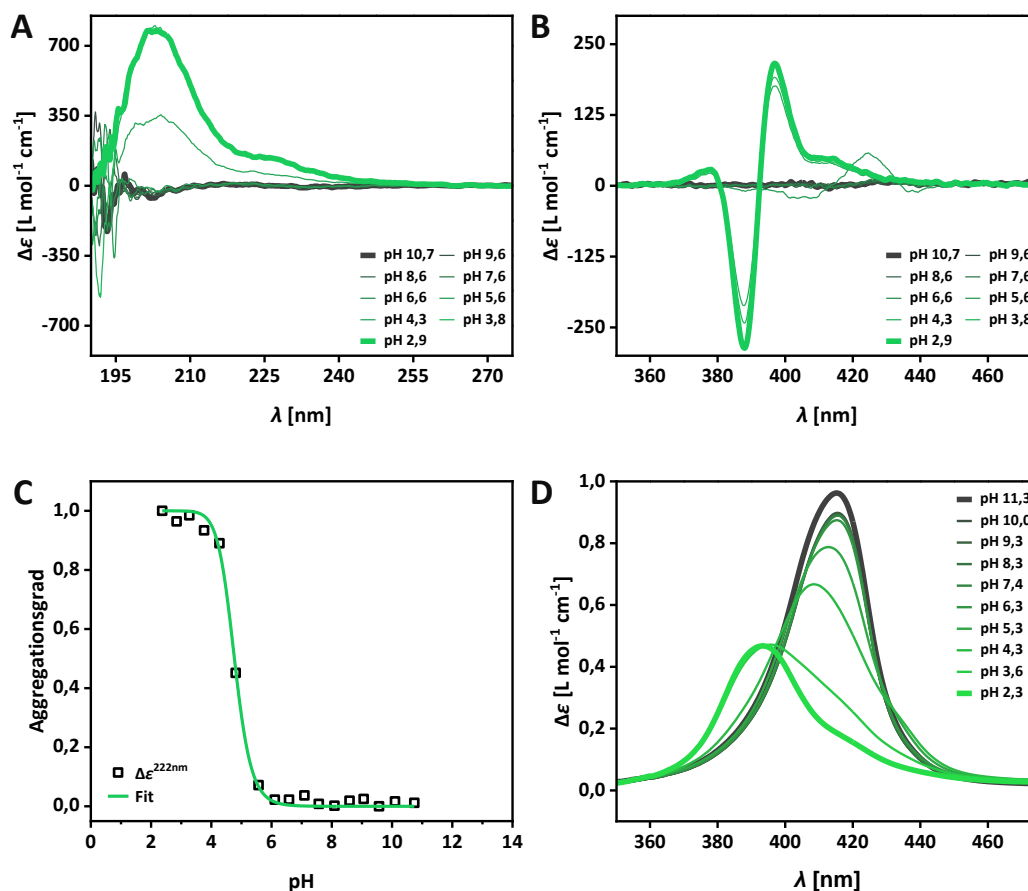
Durch die morphologische Betrachtung der gebildeten Überstrukturen in Abhängigkeit von Temperatur und pH-Wert konnten die spektroskopischen Befunde durch die sichtbare Umwandlung einzelner anisotroper Überstrukturen (Abbildung 6.14 A) in definierte Nanostäbchen mit einer durchschnittlichen Länge von  $L_n = 146 \pm 81$  nm (Abbildung 6.14 B, C.1) verifiziert werden. Neben eindimensionalen Gebilden, welche sich auch hier partiell zu dimeren Bündeln zusammenlagern, lassen sich sphärische Nanopartikel beobachten, die in Zusammenhang mit dem diffusen COTTON-Effekt stehen könnten. Auf Grundlage der durchgeführten Messungen ist jedoch keine weitere Charakterisierung dieses Phänomens möglich.



**Abbildung 6.14:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von **VI-3** nach thermischem Equilibrieren bei 45°C für 3 h; **A:** **VI-3** bei pH = 2,6; **B:** **VI-3** bei pH = 11,1; **C:** Längen (**C.1**)- und Breitenhistogramm (**C.2**) auf Grundlage graphischer Bildevaluation der TEM Aufnahmen bei pH = 11,1 ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, TRIS (10 mM)).

Äquivalente Messungen betreffend pH-abhängiger Selbstassemblierung von **VI-4** ergaben ähnliche Ergebnisse für den Aufbau supramolekularer Überstrukturen ausgehend von geladenen Monomeren ( $\text{pH}^{\text{CD}} = 10,8$ ;  $\text{pH}^{\text{UV/Vis}} = 11,3$ ). **VI-4** lässt bei pH = 10,7 CD-inaktive Spektren und gemessen am Absorptionsmaximum ein nahezu vollständiges Vorliegen als freie Monomere beobachten ( $\lambda_{\text{max}}^{\text{pH}10,7} = 417$  nm). Im Laufe der Titration wird ebenfalls ein scharfer Monomer-zu-Polymer-Übergang beobachtet (Abbildung 6.15 A & C,  $\text{pH}_{50}(\text{VI-4}) = 4,8$ ). Dieser liegt nah am erwarteten  $\text{pK}_s$  für Glutaminsäure-Seitenketten, was sich mit den Ergebnissen für **VI-3** zum Einfluss der molekularen Designänderung auf die pH-Responsivität deckt. Der finale Zustand ungeladener Homopolymere wird repräsentiert durch ein breites hypsochrom verschobenes Soret-Signal

( $\lambda_{\max}^{\text{pH}2,3} = 393 \text{ nm}$ ), das von einem bisignaten COTTON-Effekt begleitet wird ( $\lambda(+)=397$ ;  $\Delta\epsilon = 214 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1} \rightarrow \lambda(-) = 388 \text{ nm}$ ,  $\Delta\epsilon = -287 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

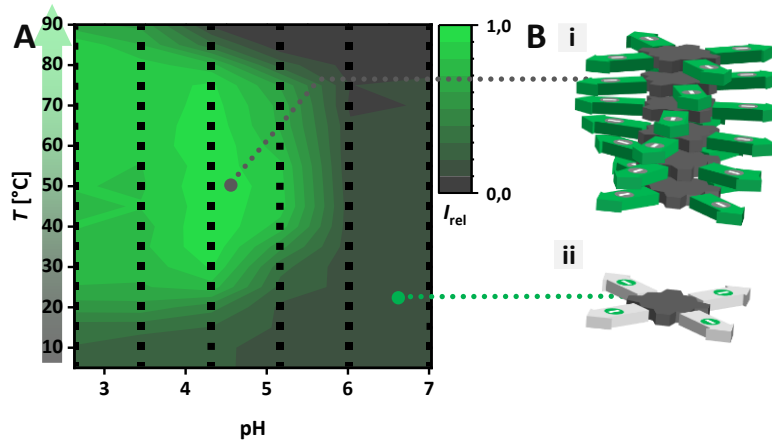


**Abbildung 6.15:** pH-abhängige CD (A & B)- und UV/Vis (D)- Spektren von VI-4; C: Auftragung des normierten CD-Effekts bei  $\lambda = 222 \text{ nm}$  gegen den pH-Wert ( $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ,  $T = 45^\circ\text{C}$ , PB (10 mM)).

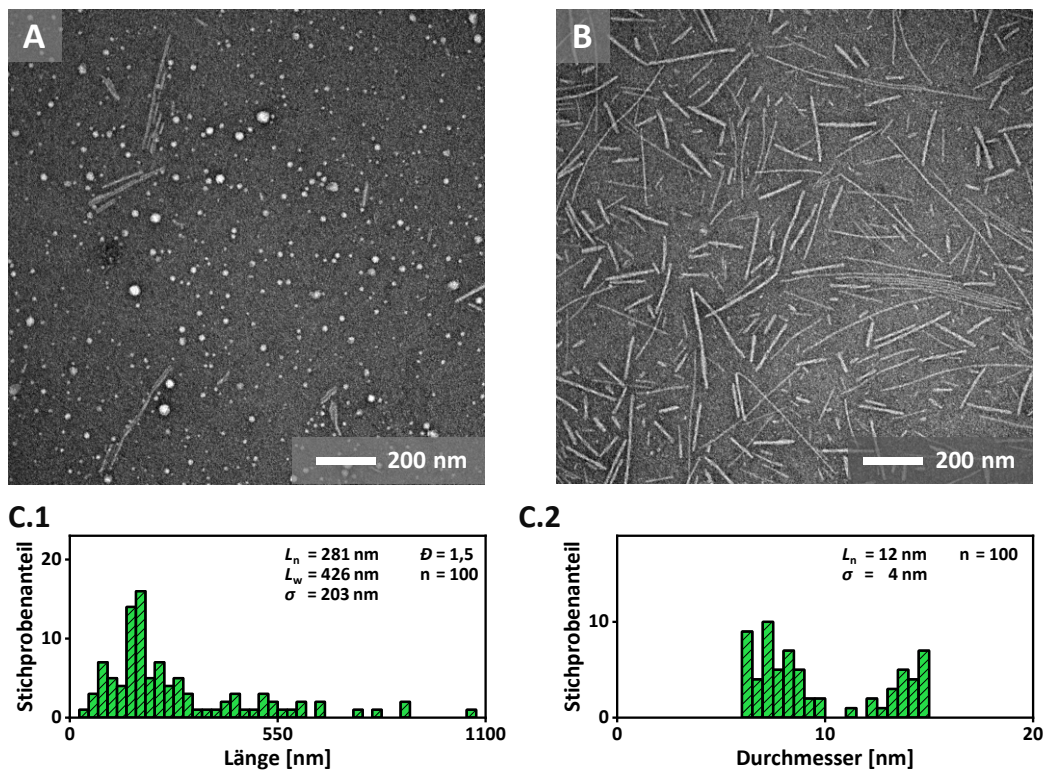
Die dual-Stimuli-responsive Natur der Selbstassemblierung von VI-4 wurde ebenfalls anhand eines zweidimensionalen Kontur-Plots dargestellt (Abbildung 6.16) und fasst den relativen Polymerisationsgrad in saurem bis neutralem Milieu in Abhängigkeit der Temperatur zusammen.

Auf den entsprechenden TEM-Aufnahmen (Abbildung 6.17) lassen sich bei pH = 10,1 einzelne Strukturen erkennen, die schwach kontrastiert oder sphärisch sind. Der ungeladene Zustand (pH = 2,9) geht hingegen mit rigiden, eindimensionalen faserartigen Gebilden beachtlicher Länge einher ( $L_n = 281 \pm 203 \text{ nm}$ ), die im Vergleich zu VI-3 weitaus geordneter erscheinen. Auch hier lässt sich die Ausbildung von Bündeln beobachten.

Somit konnte neben der Ansprechbarkeit durch Temperaturerhöhung auch die pH-abhängige Natur der Selbstassemblierung von VI-3 und VI-4 nachgewiesen werden. Tatsächlich ist es gelungen durch strukturelle Modifikationen die intrinsische Tendenz zur Aggregation anzupassen um einen besseren Ausgangspunkt für die im Folgenden diskutierte supramolekulare Polymerisation zu alternierenden Copolymeren zu schaffen.



**Abbildung 6.16:** A: Zweidimensionales Zustandsdiagramm von VI-4 in Phosphatpuffer (10 mM) als Funktion von pH und Temperatur durch die Auftragung des normierten CD-Signals bei  $\lambda = 222$  nm ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M). B: Schematische Darstellung der beiden Endzustände i: Supramolekulares Polymer (Polymerisationsgrad 1); ii: Freies Monomer (Polymerisationsgrad 0).

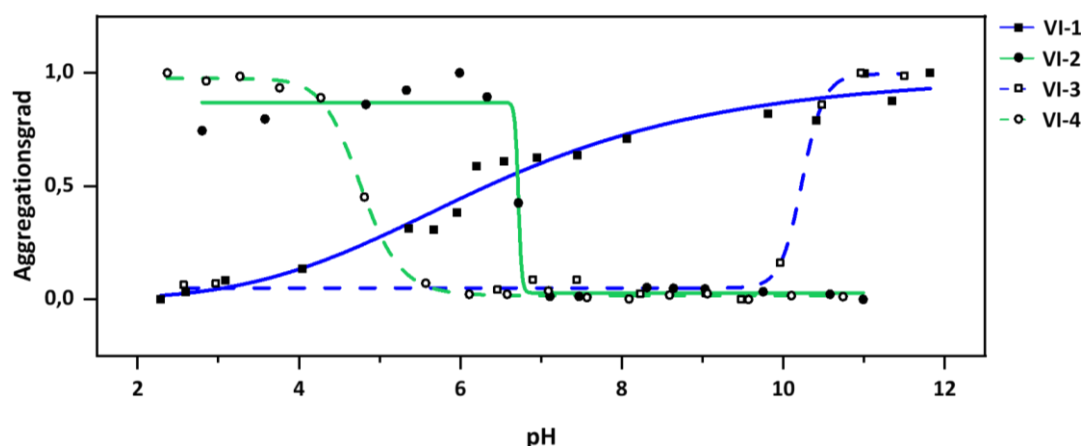


**Abbildung 6.17:** Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von VI-4 nach thermischem Equilibrieren 45°C für 3 h; A: VI-4 bei pH = 10,1; B: VI-4 bei pH = 2,9; C: Längen (C.1)- und Breitenhistogramm (C.2) auf Grundlage graphischer Bildevaluation der TEM Aufnahmen bei pH = 2,9 ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, TRIS (10 mM)).

## 6.2.4 Ladungskontrollierte supramolekulare Copolymerisation

Bisher konnte für beide Monomer-Paare gezeigt werden, dass eine pH-abhängige Ausbildung eindimensionaler Aggregate erreicht werden kann. Damit sind die Grundvoraussetzungen für eine ladungsgetriebene supramolekulare Copolymerisation gegeben, wobei sich beide Monomer-Paare nicht zwangsläufig gleich gut dazu eignen. Die Copolymerisation setzt einen pH-Bereich voraus, in welchem beide Monomere zeitgleich den geladenen Zustand vorweisen. Auf diese Weise wird die Homopolymerisation aufgrund der COULOMB Repulsion unterbunden und die alternierende Monomer-Stapelung begünstigt.

**VI-3** und **VI-4** zeigen anhand ihrer Titrationskurven die Chance erfolgreicher Copolymerisation im Bereich zwischen  $\text{pH} = 6$  und  $\text{pH} = 10$  an. Für **VI-1** und **VI-2** sind die Ausgangsbedingungen wenig vielversprechend. Die zusätzliche Phenylalanin-Einheit bedingt aufgrund der erhöhten Hydrophobizität ein stärkeres Aggregationsbestreben, was sich in der Abweichung der effektiven  $\text{pK}_s$ -Werte für Glutaminsäure ( $\text{pK}_s(\text{Glu}) = 4,3$ )<sup>[283]</sup> und Lysin ( $\text{pK}_s(\text{Lys}) = 10,5$ )<sup>[283]</sup> äußert. Die pH-abhängige Selbstassemblierung des Lysin-Derivats **VI-1** ist dabei zu niedrigen ( $\text{pH}_{50}(\text{VI-1}) = 6,3$ ) und die des Glutaminsäure-Derivats **VI-2** zu höheren pH-Werten verschoben ( $\text{pH}_{50}(\text{VI-1}) = 6,7$ ), was sich aus der Stabilisation und Triebkraft zur Ausbildung der supramolekularen Überstrukturen ergibt. Ähnliches wurde innerhalb der Gruppe bereits mehrfach für Lysin- und Glutaminsäure-tragende  $\text{C}_3$ -symmetrische Peptidamphiphile berichtet.<sup>[205,206,240]</sup>



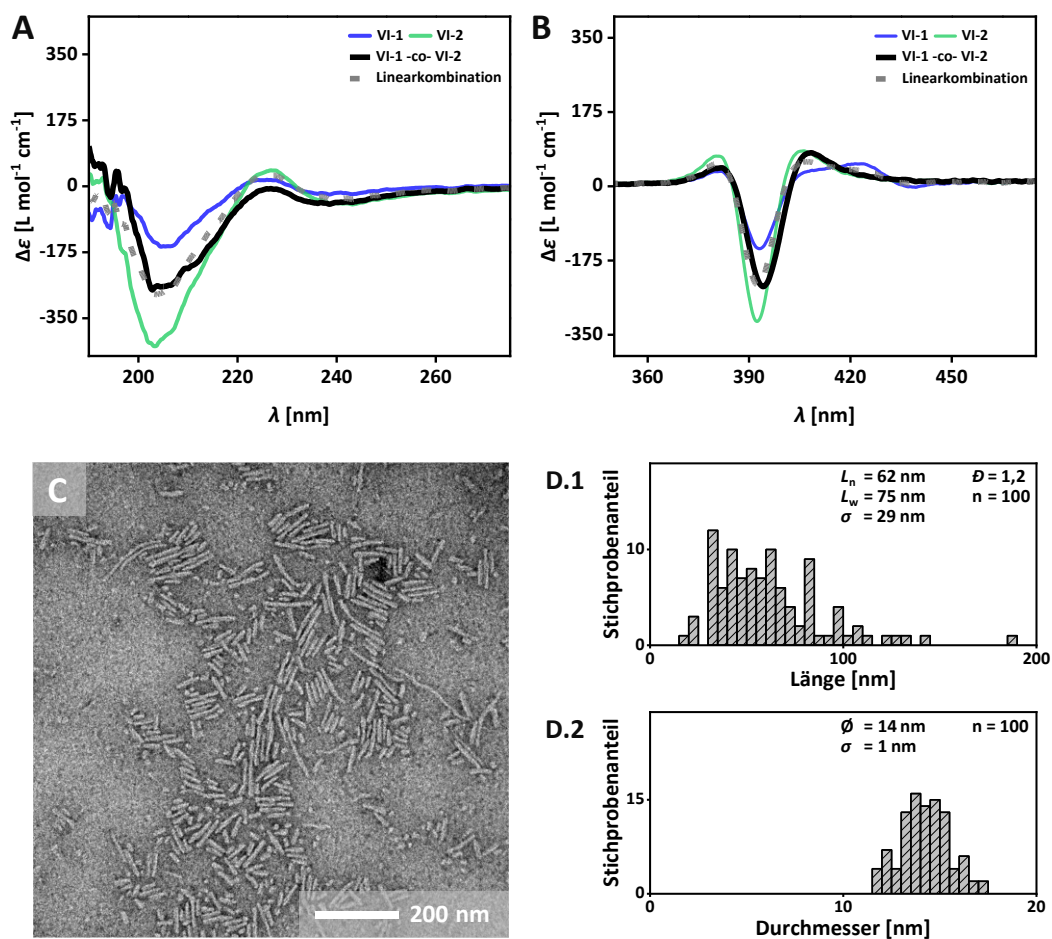
**Abbildung 6.18:** Normalisierte CD-Daten der pH-abhängigen Selbstassemblierung der Monomere **VI-1** (blau, durchgezogene Linie), **VI-2** (grün, durchgezogene Linie), **VI-3** (blau, nicht-durchgezogene Linie) und **VI-4** (grün, nicht-durchgezogene Linie) ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $T(\text{VI-1, VI-2}) = 25^\circ\text{C}$ ,  $T(\text{VI-3, VI-4}) = 45^\circ\text{C}$ , PB (10 mM)).

Abbildung 6.18 fasst die Ergebnisse der Untersuchungen pH-abhängiger Homopolymerisation der Monomere **VI-1** bis **VI-4** zusammen. Auch im Hinblick auf eine gemischte Copolymerisation zeigt sich, dass **VI-1** kein idealer Partner für die Zwei-Komponenten-Assemblierung mit **VI-2** und **VI-4** zu sein scheint, da die Titrationskurven jeweils ein pH-Optimum für den Kurvenschnittpunkt anzeigen ( $\text{VI-1-co-VI-2} = 6,7$ ;  $\text{VI-1-co-VI-4} = 5,0$ ), der stets mit anteiligem Vorliegen als Homopolymere einhergeht ( $\text{VI-1-co-VI-2} = 55\%$ ;  $\text{VI-1-co-VI-4} = 28\%$ ). Vielversprechender zeigen sich aufgrund der pH-Bereiche simultan geladener Zustände die Monomere **VI-2**, **VI-3** und **VI-4**.

Im Folgenden sollen entsprechend dieser Ergebnisse die Copolymerisationsansätze diskutiert werden. Hierfür wurden für jeden Ansatz die komplementär geladenen Monomere in stöchiometrischen Verhältnissen kombiniert und der pH-Wert anschließend justiert

( $\text{pH}(\text{VI-1-co-VI-2}) = 6,7$ ;  $\text{pH}(\text{VI-3-co-VI-4}) = 7,0$ ;  $\text{pH}(\text{VI-1-co-VI-4}) = 5,0$ ;  $\text{pH}(\text{VI-2-co-VI-3}) = 8,2$ ). Da **VI-3** und **VI-4** thermoresponsives Assemblierungsverhalten aufweisen, wurden im Vorfeld alle Monomer-Kombinationen über CD-Spektroskopie unter kinetischer Kontrolle innerhalb Temperaturrampen analysiert, um kinetische Effekte bei der Betrachtung mit einzubeziehen (nicht gezeigt). Entsprechend wurde als Temperaturoptimum  $T = 50^\circ\text{C}$  gewählt. Die so erhaltenen Spektren wurden mit den Linearkombination der isolierten Monomere unter den gleichen Bedingungen gegenübergestellt, um verlässliche Aussagen zu stattfindender Copolymerisation treffen zu können.

Für den Ansatz **VI-1-co-VI-2** lassen sich die erhaltenen spektroskopischen Signale nicht von der Linearkombination der einzelnen Monomere unterscheiden, wodurch anhand der rein spektroskopischen Betrachtung keine hinreichenden Hinweise auf stattfindende Copolymerisation erhalten werden können.

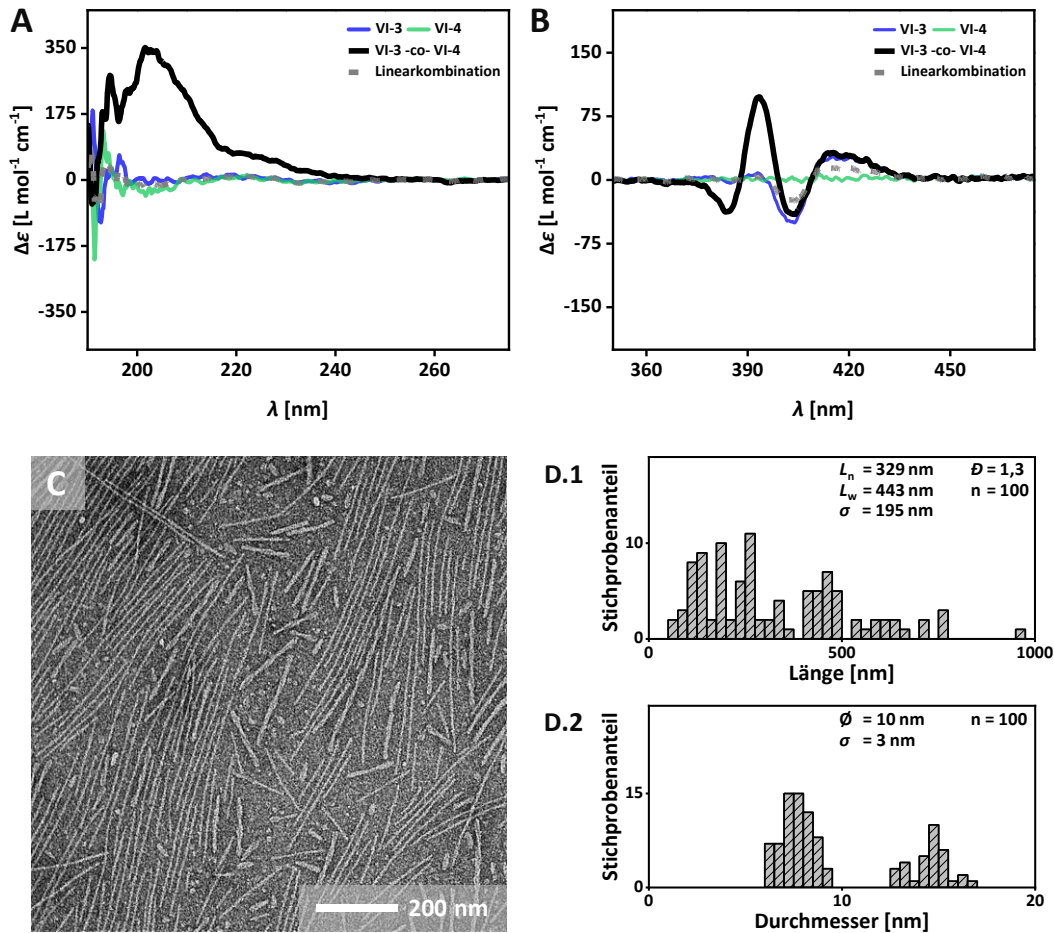


**Abbildung 6.19:** A/B: CD-Spektren der Monomere **VI-1** (blau), **VI-2** (grün), der Linearkombination beider Signale (grau) sowie der 1:1-Mischung beider Monomere (**VI-1-co-VI-2**, schwarz) ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 6,7$ ;  $T = 50^\circ\text{C}$ , PB (10 mm)). C: Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von **VI-1-co-VI-2** nach thermischem Equilibrieren ( $T = 75^\circ\text{C}$ ,  $t = 3 \text{ h}$ ); D: Längen (D.1)- und Breitenhistogramm (D.2) auf Grundlage graphischer Bildevaluation der TEM-Aufnahme ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 6,7$ ; TRIS (10 mm)).

Jedoch unterscheidet sich die *via* TEM zu erkennende Morphologie ( $L_n = 62 \pm 29 \text{ nm}$ ) sehr deutlich von den für die einzelnen Monomere erhaltenen Nanostrukturen (Abbildung 6.8, Abbildung 6.10). Vor allem für den mittleren Durchmesser lässt sich ein deutlicher Zuwachs für **VI-1-co-VI-2** erkennen ( $\varnothing = 14 \pm 1 \text{ nm}$ ) und das entsprechende Breitenhistogramm (Abbildung 6.19 D.2) lässt

eindeutig die vollständige Bildung dimerer Doppelstränge erkennen. Diese klare Abgrenzung spricht für eine Ausbildung alternierender supramolekularer Copolymerer.

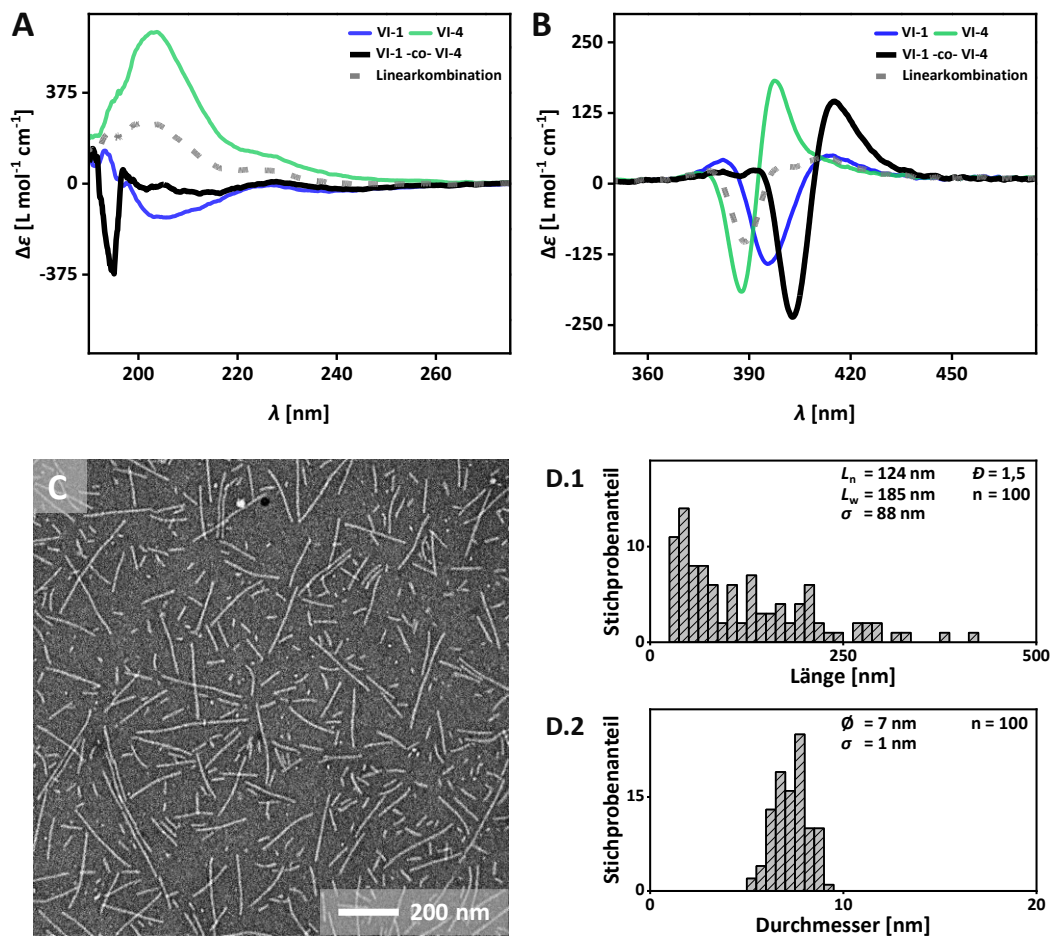
Für den Ansatz **VI-3-co-VI-4** lässt sich sowohl auf Grundlage der CD-Spektren als auch durch die mikroskopische Betrachtung klar von ladungskontrollierten Copolymerisation zu alternierenden Copolymeren ausgehen. Erstaunlich ist dabei die Zunahme der mittleren Strukturlänge ( $L_n = 339 \pm 195$  nm) mit einer engeren Längenverteilung ( $\mathcal{D} = 1,3$ ) zu einer Mischung einzelsträngiger und doppelsträngiger Nanostäbchen, was die elektrostatische Triebkraft zur Ausbildung von Copolymeren unterstreicht.



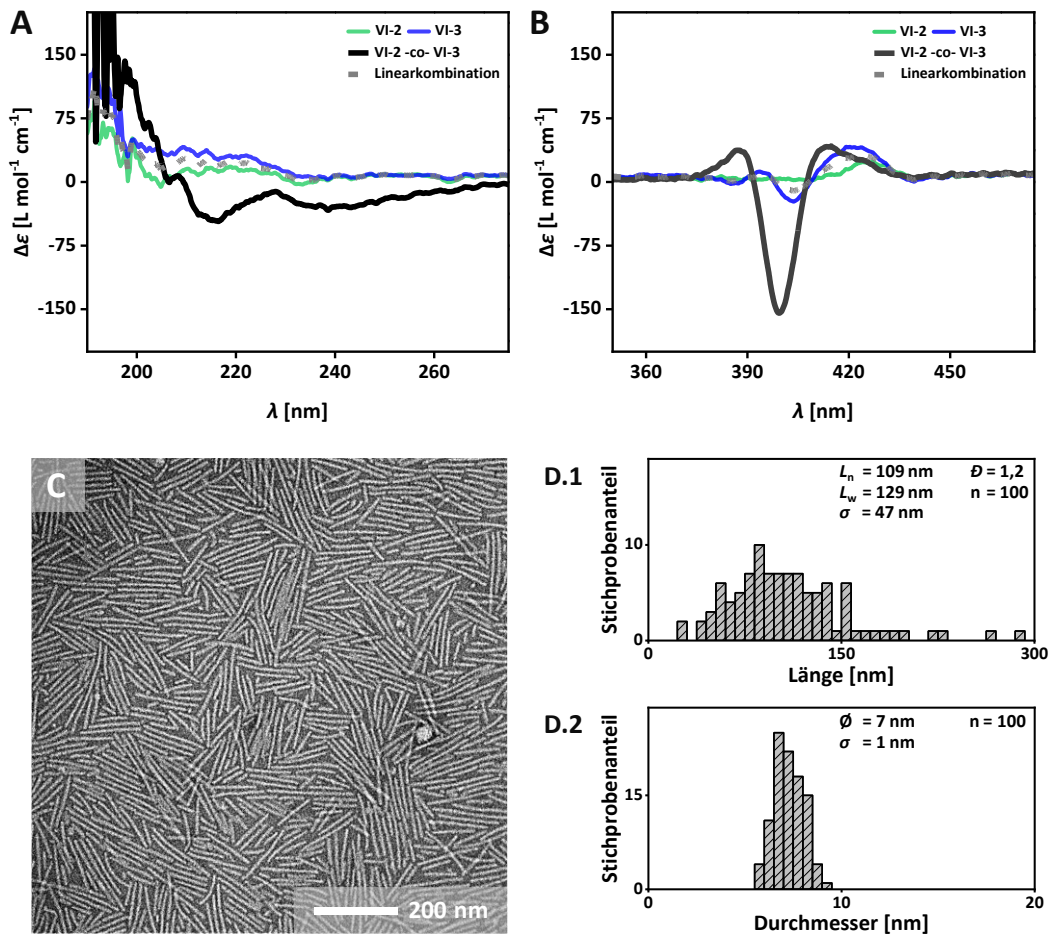
**Abbildung 6.20:** A/B: CD-Spektren der Monomere **VI-3** (blau), **VI-4** (grün), der Linearkombination beider Signale (grau) sowie der 1:1-Mischung beider Monomere (**VI-3-co-VI-4**, schwarz) ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, pH = 7,0;  $T = 50^\circ\text{C}$ , PB (10 mm)). C: Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von **VI-3-co-VI-4** nach thermischem Equilibrieren ( $T = 75^\circ\text{C}$ ,  $t = 3$  h); D: Längen (D.1)- und Breitenhistogramm (D.2) auf Grundlage graphischer Bildevaluation der TEM-Aufnahme ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, pH = 7,0; TRIS (10 mm)).

Abschließend wurden Mischungen zwischen beiden Monomer-Sets betrachtet, die eine Fehlpaarung (engl. *mismatch*) der Peptidsequenzen vorsehen. Bei der Betrachtung der spektroskopischen Ergebnisse der Ansätze **VI-1-co-VI-4** (Abbildung 6.21) und **VI-2-co-VI-3** (Abbildung 6.22) ist jeweils der Unterschied zu den entsprechenden Linearkombinationen zu erkennen. Dabei führt in beiden Fällen das *mismatch* dazu, dass keine ausgeprägte Sekundärstruktur ausgebildet wird. Die Assemblierung findet dennoch in Form von Chromophor-Stapelung statt, wie am negativen COTTON-Effekt ersichtlich wird. Interessant ist dabei das Auftreten ausschließlich einzelsträngiger

Nanostrukturen mit einem für beiden Ansätze konstanten mittleren Durchmesser von  $\varnothing = 7 \pm 1$  nm. Die Tendenz zur Dimerisierung einzelner Polymerstränge scheint somit weitestgehend von der Interaktion der Peptidsequenzen abzuhängen. So zeigt sich, dass Stapel von Porphyrin-Konjugaten hoher Nahordnung, für welche ein ausgeprägtes Sekundärstruktur-Signal zu beobachten ist, Superhelices ausbilden. Für Monomer-Stapel mit geringer molekularer Ordnung, welche keine vergleichbaren Anzeichen von Faltungsmustern aufweisen, findet keine Ausbildung von Bündeln statt (Abbildung 6.21A & C, Abbildung 6.22 A & C). Das strukturelle *mismatch* als Element der Regulation von Nahordnung lässt sich somit für den kontrollierten Aufbau von Überstrukturen ausnutzen.



**Abbildung 6.21:** A/B: CD-Spektren der Monomere VI-1 (blau), VI-4 (grün), der Linearkombination beider Signale (grau) sowie der 1:1-Mischung beider Monomere (VI-1-co-VI-4, schwarz) ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, pH = 5,0;  $T = 50^\circ\text{C}$ , PB (10 mm)). C: Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von VI-1-co-VI-4 nach thermischem Equilibrieren ( $T = 75^\circ\text{C}$ ,  $t = 3$  h); D: Längen (D.1)- und Breitenhistogramm (D.2) auf Grundlage graphischer Bildevaluation der TEM-Aufnahme ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, pH = 5,0; TRIS (10 mm))



**Abbildung 6.22:** A/B: CD-Spektren der Monomere VI-2 (grün), VI-3 (blau), der Linearkombination beider Signale (grau) sowie der 1:1-Mischung beider Monomere (VI-2-co-VI-3, schwarz) ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, pH = 8,2;  $T = 50^\circ\text{C}$ , PB (10 mm)). C: Negativ kontrastierte TEM-Aufnahmen von VI-2-co-VI-3 nach thermischem Equilibrieren ( $T = 75^\circ\text{C}$ ,  $t = 3$  h); D: Längen (D.1)- und Breitenhistogramm (D.2) auf Grundlage graphischer Bildevaluation der TEM-Aufnahme ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M, pH = 8,2; TRIS (10 mm)).

## 6.3 Fazit

In Kapitel 6 konnte auf Grundlage der vorangegangenen Ergebnisse die erfolgreiche Synthese zweier strukturell angepasster Sets komplementärer Porphyrin-Peptidamphiphile (**VI-1** & **VI-2**, **VI-3** & **VI-4**) für die ladungsgesteuerte Formation alternierender supramolekularer Copolymere vorgestellt werden.

Das molekulare Design wurde im Vergleich zum Glutaminsäure-tragenden Monomer **IV-1** strukturell angepasst. Das Kernmotiv bildete das in Kapitel 5 vorgestellten Pd(II)-Porphyrin **V-9**, welches auf Grundlage der Stabilität des metallischen Zentrums gegenüber pH-Schwankungen und zusätzlicher Liganden-Interaktionen zum Einsatz kam. Des Weiteren wurden die über SPPS synthetisierten Oligopeptide C-terminal um ein Aminohexansäure (Ahx)-Segment erweitert. Der hydrophobe *spacer*, welcher das Peptidrückgrat mitsamt potenzieller Ladungen gegenüber Wassermolekülen abschirmt, bedingte das gesteigerte Aggregationsvermögen der Monomere **VI-1** und **VI-2** in eindimensionale H-Aggregate, unabhängig von temperaturabhängigen Effekten. Die Verschiebung des effektiven  $pK_s$ -Werts von Glu und Lys auf pH = 6,3 für **VI-1** (GFKFAhxG) und pH = 6,7 für **VI-2** (GFEFAhxG) bekräftigte die Einflussnahme der strukturellen Anpassung auf das Assemblierungsverhalten. Zeitgleich wirkte sich dieser Effekt limitierend auf die Fähigkeit supramolekularer Copolymerisation im Ansatz **VI-1-co-VI-2** aus (pH = 6,7:  $L_n = 62 \pm 29$  nm).

Darauf aufbauend war es möglich, durch Modifikation der  $\beta$ -Faltblatt-induzierenden Oligopeptide, die Balance zwischen molekularer Hydrophobizität und Hydrophilie der amphiphilen Monomere **VI-3** und **VI-4** weiter zu verändern, um so die Tendenz zur supramolekularen Homopolymerisation wie auch die Affinität für die ladungsgesteuerte alternierenden Copolymerisation zu kontrollieren. Der Austausch von Phenylalanin durch Alanin führte demnach zum Auftreten eines Temperatureffekts und zur Verschiebung des pH-abhängigen Übergangs zu Homopolymeren. So lag die Elongationstemperatur, welche in diesem Fall als Temperatur zum Erreichen eines 50%-igen Polymerisationsgrades unter kinetischer Kontrolle definiert wurde, bei  $T_{50} = 21,4^\circ\text{C}$  für **VI-3** (GFKAAhxG) und  $T_{50} = 20,4^\circ\text{C}$  für **VI-4** (GFEEAhxG). Die pH-bedingte Homopolymerisation setzte hingegen bei pH = 10,2 für **VI-3** (GFKAAhxG) und pH = 4,8 für **VI-4** (GFEEAhxG) ein, was nahezu den erwarteten  $pK_s$ -Werten für Glutaminsäure und Lysin entsprach und die Gültigkeit der diskutierten Struktur-Eigenschafts-Beziehung bestätigte. Die Untersuchung von **VI-3-co-VI-4** lieferte demnach verlässliche spektroskopische Hinweise auf die stattfindende Ausbildung supramolekularer alternierender Copolymere unter nahezu physiologischen Bedingungen (pH = 7,0;  $T = 50^\circ\text{C}$ ) und ließ hoch definierte formanisotrope Nanofasern und -bündel von bemerkenswerter Länge beobachten ( $L_n = 339 \pm 195$  nm).

Abschließend konnte auch für die Kreuzungen beider Monomer-Sets anhand **VI-1-co-VI-4** und **VI-2-co-VI-3** die alternierende Copolymerisation bestätigt werden. Die Untersuchungen *via* CD legten zunächst eine verminderte Nahordnung anhand sehr schwacher Signale für das Auftreten peptidischer Faltungsmuster nahe, was mit dem *mismatch* der sich unterscheidenden Oligopeptide begründet wurde. Gemäß der zu beobachtenden COTTON-Effekte zeigten TEM-Aufnahmen beider Ansätze die Ausbildung strikt einzelsträngiger Nanostäbchen mit beinahe einheitlichen Längenverteilungen innerhalb des jeweiligen pH-Optimums an (**VI-1-co-VI-4** (pH = 5,0):  $L_n = 124 \pm 88$  nm; **VI-2-co-VI-3** (pH = 8,2):  $L_n = 109 \pm 47$  nm), was Grund zur Annahme gibt, dass die

Manipulation der molekularen Nahordnung im Mehrkomponenten-System einen Zugang zur kontrollierten Ausbildung von Überstrukturen darstellt.

Das Prinzip der ladungsgesteuerten Coassemblierung konnte somit erfolgreich zum Aufbau von Nanostrukturen auf Basis von Porphyrin-Peptidamphiphilen angewandt werden. Dabei zeigte sich vor allem, dass sich auch Mehrkomponenten-Ansätze als vielversprechende Strategie zur zielgerichteten Einstellung von Materialeigenschaften bezüglich Morphologie und Nahordnung nutzen lassen.





---

## **Kapitel 7**

Zusammenfassung und Ausblick

---

Die Kombination supramolekularer Selbstassemblierungsmotive und kurzer Peptidsequenzen lässt sich zum Aufbau responsiver Nanomaterialien nutzen, indem intrinsisches Assemblierungsbestreben, Direktionalität und chemische Ansprechbarkeit in molekularem Design vereint werden. Responsivität bezieht sich dabei auf die Fähigkeit eines Systems, auf äußere Stimuli oder Veränderungen der chemischen Umgebung reagieren zu können; Ein Verhalten, dem komplexe Assemblierungsprozesse zugrunde liegen. Die Vielzahl an Beispielen komplexer Organisation supramolekularer biologischer Systeme verdeutlicht die Notwendigkeit eines fundamentalen Verständnisses kinetischer und mechanistischer Aspekte von Selbstassemblierungsprozessen als Voraussetzung für die Entwicklung innovativer und biomimetischer Materialien.

In dieser Arbeit wird sich mit der Untersuchung der Assemblierungseigenschaften verschiedener  $C_4$ -symmetrischer Porphyrin-Peptidamphiphile in Wasser befasst. Der Fokus liegt dabei auf der Aufklärung des Zusammenhangs zwischen chemischer Struktur und resultierender Eigenschaften über die Anwendung verschiedener Strategien kinetisch kontrollierter supramolekularer Polymerisation zum Aufbau anisotroper responsiver Nanostrukturen, sowohl in Einzel- als auch Multikomponenten-Systemen.

Zu diesem Zweck wird in Kapitel 3 die Darstellung und Charakterisierung einer Reihe Zn(II)-Porphyrin-Derivate durch die modulare Verknüpfung von Kernmotiv, Triphenylalanin ( $F_3$ )-basierter Peptidsequenzen und Methoxy-Polyethylenglycol (mPEG)-Gruppen über ein eigens hierfür optimiertes Syntheseprotokoll diskutiert. Der Wasserstoffbrücken-unterstützte kooperative Selbstassemblierungsprozess resultiert in der cofacialen Stapelung der Monomere in helikale eindimensionale H-Aggregate in Wasser mit  $\beta$ -Faltblatt-artiger Nahordnung, wobei der Übergang von Nukleations- zu Elongationsphase von der Konnektivität zwischen Chromophor und peripheren Seitengruppen diktiert wird. Entsprechend bilden Diglycin-verbrückte Monomere **III-3** ( $G_2F_3mPEG^{1k}$ ) und **III-5** ( $G_2F_3mPEG^{2k}$ ) im Gegensatz zu ihren einfach-verbrückten Analoga **III-2** ( $GF_3mPEG^{1k}$ ) und **III-4** ( $GF_3mPEG^{2k}$ ) bei Raumtemperatur präferiert kinetisch gefangene Dimere aus, welche als Reaktion auf Temperaturerhöhung auf hierarchische Weise zunächst 1D-Filamente und schließlich dimere Faserbündel ausbilden. Temperaturabhängige Untersuchungen weisen auf eine ARRHENIUS-artige Assemblierungskinetik hin, für welche die Aktivierungsenergie in Abhängigkeit des Molekulargewichts der solubilisierenden mPEG-Einheiten angepasst werden kann.

Ausgehend von der Evaluation der initialen Dimer-Bildung stellt das Entwickelte *coarse-grained*-Modell einen vielversprechenden Ausgangspunkt für weitere Nachforschungen bezüglich des komplexen Assemblierungsverhaltens der Monomere **III-3** und **III-5** dar. Im unmittelbaren Kontext ließe sich der Frage nachgehen, inwiefern das exklusive Auftreten von Fibrillierung für **III-3** und **III-5** ebenfalls auf die intrinsische Flexibilität der molekularen Bausteine zurückzuführen ist. Darüber hinaus eignet sich ein Simulations-basierter Ansatz, um der ungewöhnlichen Konzentrationsabhängigkeit der Selbstassemblierungskinetik nachzugehen, um Einblicke in den zugrunde liegenden Mechanismus zu erhalten.

Kapitel 4 knüpft unmittelbar an die Erkenntnisse von Kapitel 3 an und präsentiert die pH-abhängige Selbstassemblierung des an die chemische Struktur von **III-2** ( $GF_3$ ) angelehnten Monomers **IV-1** (GF<sub>3</sub>EF). Hierbei wird die Ansprechbarkeit der Strukturformation durch das Implementieren von

Glutaminsäure in das Peptidrückgrat erreicht, was zusätzlich zu thermoresponsivem Verhalten, durch die pH-vermittelte reversible (De-)Protonierung ihrer Aminosäureseitenkette die ladungskontrollierte Aggregation zu eindimensionalen Nanofilamenten ermöglicht. Innerhalb des Temperaturregimes  $T \geq 60^\circ\text{C}$  ist der Assemblierungsprozess reversibel, wodurch sich über mehrere Zyklen pH-kontrolliert zwischen den Zuständen freier Monomer und cofacialer H-Aggregate schalten lässt. Unterhalb  $60^\circ\text{C}$  bleibt der Polymerisationsprozess hingegen kinetisch gehemmt.

Die elektrostatische Abschirmung ladungstragender Systeme hat sich in der Vergangenheit bereits als effektive Methode zur Kontrolle von Strukturausbildung und Morphologie erwiesen. In diesem Zusammenhang erscheint die weitere Untersuchung der Selbstassemblierung von **IV-1** in Abhängigkeit der Ionenstärke der wässrigen Umgebung sinnvoll, da davon auszugehen ist, dass die partielle Maskierung geladener Glutaminsäure-Reste einen maßgeblichen Einfluss auf die pH-Responsivität hat, was die Modulation des effektiven  $pK_s$  in Aussicht stellt.<sup>[199]</sup>

Nachdem der Effekt der Peptidsequenz und der solubilisierenden Endgruppe auf das Selbstassemblierungsverhalten von Zn(II)-Porphyrin-Derivaten in Kapitel 3 überprüft wird, befasst sich Kapitel 5 mit der Frage nach der Auswirkung des Austauschs von Zink(II) durch Palladium(II) auf die Selbstassemblierung struktureller Analoga der zuvor diskutierten Monomere **III-2** und **III-3**. Als Resultat der quadratisch-planaren Koordinationsgeometrie von Pd(II)-Porphyrinen weisen **V-3** (PdGF<sub>3</sub>) und **V-4** (PdG<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) gegenüber ihrer Gegenstücke **V-1** (ZnGF<sub>3</sub>) und **V-2** (ZnG<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) Anzeichen eines gesteigerten Selbstassemblierungsbestrebens auf, welches sich in Form spontaner Selbstassemblierung bei Raumtemperatur und außerordentlicher Stabilität gebildeter Nanostrukturen gegenüber organischer Additive äußert. Dabei lassen die auf Basis mikroskopischer Untersuchungen der Morphologie ermittelten statistischen Parameter die Annahme eines günstigen Nukleationsprozesses zu, welcher zu niedrigen Dispersitäten und vergleichsweise geringen Polymerisationsgraden führt.

Zwar belegt die vergleichende Studie beider Monomerpaare einen klaren Effekt des Zentralatoms auf den Assemblierungsprozess. Jedoch wird die genau Ursache für die auffallenden Unterschiede zwischen Zn(II)- und Pd(II)-Porphyrinen nicht deutlich und es bleibt weiter offen, ob nun die planare Ausrichtung des Kernmotivs allein oder doch auch Beiträge metallophiler Wechselwirkungen für das Selbstassemblierungsverhalten verantwortlich sind. Hierfür könnten ebenfalls Simulations-gestützte Ansätze, wie etwa eine Abwandlung des in Kapitel 3 vorgestellten *coarse-grained*-Modells aushelfen, die sich mit der Monomer-Geometrie und den Auswirkungen auf eindimensionale Stapelprozesse beschäftigen. Darüber hinaus erscheinen hochauflösende Mikroskopie und Lichtstreuungsversuche als aussichtsreiche Methoden, um mehr über die Veränderungen der Nahordnung gebildeter Überstrukturen in Abhängigkeit des Metallzentrums in Erfahrung zu bringen.

Abschließend widmet sich Kapitel 6 Selbstassemblierungsprozessen in Mehrkomponenten-Systemen. Dafür werden grundlegende Erkenntnisse der vorausgegangenen Kapitel bezüglich Struktur-Eigenschafts-Beziehungen berücksichtigt, um auf Basis des angepassten Pd(II)-Porphyrin-Motivs und optimierter Peptidsequenzen alternierende supramolekulare Copolymere komplementär geladener Monomere darzustellen. Durch die Integration von Glutaminsäure oder Lysin in das Peptidrückgrat wird entgegengesetztes pH-responsives Verhalten erreicht, wobei die Modifikation der Peptidsequenz hinsichtlich hydrophober Aminosäuren zur Modulation des

thermoresponsiven Verhaltens wie auch der effektiven  $pK_s$ -Werte der pH-vermittelten Zustandsübergänge führt. So zeigen sich in Abhängigkeit der Peptidsequenzen unterschiedliche pH-Bereiche, in welchen die gegensätzlich geladenen Monomere in stöchiometrischen Kombination eindimensionale supramolekularer Copolymere ausbilden. Dabei lässt sich durch verschiedene Kreuzungen der Monomerepaare **VI-1 & VI-2** und **VI-3 & VI-4** Einfluss auf die Morphologie nehmen, wodurch präferiert einzelsträngige oder doppelsträngige Nanofilamente variierenden Molekulargewichts erhalten werden.

In Anbetracht der Beobachtung von Polymorphismen erscheint die Investigation kinetischer und thermodynamischer Parameter als entscheidend um solche Phänomene komplexer Strukturformation künftig auf molekulares Design übertragen zu können. Zudem könnten hochauflösende mikroskopische Methoden detailliertere Einblicke in die Nahordnung gebildeter Copolymere liefern, um so strukturelle Ursachen der lateralen Assoziation zu untersuchen. Hinsichtlich der spektroskopischen Eigenschaften von Porphyrinen würde die Nachstellung der innerhalb der Gruppe angewandten Konzepte Oberflächen-vermittelter Coassemblierung komplementär geladener Peptidamphiphile die Chance in Aussicht stellen, ein mechanistisches Verständnis für den schrittweisen Aufbau längenkontrollierter Polymerbürsten zu erlangen.<sup>[209,210]</sup>

Die vorgestellten Studien verdeutlichen die Bedeutung grundlegender Struktur-Eigenschafts-Beziehungen und zeigen das Potenzial auf, welches Porphyrin-Peptidamphiphile für die Entwicklung vielseitiger und responsiver Nanomaterialien auf Basis kinetisch kontrollierter Selbstassemblierung bergen.



The combination of supramolecular self-assembly motifs and short peptide sequences can be utilized to construct smart nanomaterials by uniting intrinsic assembly tendencies, directionality, and responsiveness in molecular design. Responsiveness refers to a system's ability to respond to external stimuli or changes in the chemical environment and is based on complex assembly behavior. The multitude of examples of complex supramolecular organization in biological systems underscores the need for a fundamental understanding of kinetic and mechanistic aspects of self-assembly processes as a prerequisite for the development of innovative and biomimetic materials.

The focus of this thesis is on investigating the assembly properties of various  $C_4$ -symmetric porphyrin peptide amphiphiles in water. The emphasis lies in elucidating the relationship between structural and functional properties through the application of different strategies for kinetically controlled supramolecular polymerization to build anisotropic responsive nanostructures, in both single and multi-component systems.

To achieve this, the synthesis and characterization of a series of Zn(II)-porphyrin derivatives by modular linkage of the core motif, triphenylalanine ( $F_3$ )-based peptide sequences, and methoxy-polyethylene glycol (mPEG) groups using an optimized synthesis protocol is discussed in chapter 3. The hydrogen-bond-assisted cooperative self-assembly process results in the cofacial stacking of monomers into helical one-dimensional H-aggregates in water, exhibiting  $\beta$ -sheet-like near order. The transition from nucleation to elongation phase is dictated by the connectivity between the chromophore and peripheral side groups. Diglycine-bridged monomers **III-3** ( $G_2F_3mPEG^{1k}$ ) and **III-5** ( $G_2F_3mPEG^{2k}$ ) preferentially form kinetically trapped dimers at room temperature, which transform into hierarchically organized 1D filaments and eventually dimeric fiber bundles upon temperature increase. Temperature-dependent supramolecular polymerization kinetics suggest *ARRHENIUS* behavior, with an activation energy that depends on the molecular weight of the solubilizing mPEG units.

Based on the evaluation of initial dimer formation, the developed coarse-grained model provides a promising starting point for further investigations of the complex assembly behavior of monomers **III-3** and **III-5**. The exclusive fibrillation observed for **III-3** and **III-5** should be examined regarding the role of intrinsic flexibility in this process. Additionally, the simulation-based approach should be employed to further investigate the concentration-dependent self-assembly kinetics and gain insights into the underlying mechanism.

In Chapter 4, the findings from chapter 3 are extended and the pH-dependent self-assembly of a monomer **IV-1** (GF<sub>2</sub>F) is presented, with a chemical structure inspired by **III-2** (GF<sub>3</sub>). In addition to thermo-responsive behavior, the introduction of glutamic acid into the peptide backbone allows for charge-controlled aggregation into one-dimensional nanofilaments through pH-mediated reversible (de)protonation of the amino acid side chain. Within the temperature regime  $T \geq 60^\circ\text{C}$ , the assembly process is reversible, allowing pH-controlled switching between free monomers and cofacial H-aggregates, while for  $T < 60^\circ\text{C}$  the polymerization process remains kinetically trapped.

Previously, the electrostatic shielding of charge-carrying systems was shown to be effective in controlling structural formation and morphology. In this context, further investigation of the self-assembly of **IV-1** in relation to the ionic strength of the aqueous environment could be interesting,

as the partial masking of charged glutamic acid residues is expected to significantly influence pH responsiveness, offering the opportunity for modulating the effective p*K*s.

After examining the effect of peptide sequence and solubilizing end group on the self-assembly behavior of Zn(II)-porphyrin derivatives, the impact of replacing zinc(II) with palladium(II) on the self-assembly of structural analogs of monomers **III-2** and **III-3** is investigated in chapter 5. As a result of the square-planar coordination geometry of Pd(II)-porphyrins, **V-3** (PdGF<sub>3</sub>) and **V-4** (PdG<sub>2</sub>F<sub>3</sub>) exhibit signs of enhanced self-assembly propensity compared to their counterparts **V-1** (ZnGF<sub>3</sub>) and **V-2** (ZnG<sub>2</sub>F<sub>3</sub>). Spontaneous self-assembly occurs at room temperature, leading to extraordinarily stable nanostructures in the presence of organic additives. Microscopic examinations suggest a favourable nucleation process, resulting in low dispersities and relatively low degrees of polymerization.

While the study of both pairs of monomers demonstrates a clear effect of the central atom on the assembly process, it is not possible to identify the exact cause of the striking differences between Zn(II) and Pd(II) porphyrins. It remains unclear whether the coordination geometry of the core motif alone or contributions from metallophilic interactions are responsible for the self-assembly behavior. Simulation-based approaches, such as a modified version of the coarse-grained model presented in chapter 3, could help address this question by examining monomer geometry and its effects on one-dimensional stacking processes. Additionally, high-resolution microscopy and light scattering experiments appear promising for gaining more insight into changes in the local order of formed superstructures based on the metal center.

Chapter 6 deals with self-assembly processes in multi-component systems. Taking into account the fundamental insights from previous chapters regarding structure-property-relationships, alternating supramolecular copolymers of complementarily charged monomers based on the adapted Pd(II)-porphyrin motif and optimized peptide sequences are presented. By integrating glutamic acid or lysine into the peptide backbone, opposite pH-responsive behavior is achieved. Modifications of the peptide sequence with respect to hydrophobic amino acids modulate both thermo-responsive behavior and the effective p*K*s values of pH-mediated state transitions. Thus, different pH ranges are observed depending on the peptide sequences, in which the stoichiometric combination of oppositely charged monomers leads to the formation of one-dimensional supramolecular copolymers. The morphology can be influenced by various cross-combinations of monomer pairs **VI-1** & **VI-2** and **VI-3** & **VI-4**, resulting in preferred single-stranded or double-stranded nanofilaments of varying molecular weights.

Given the observation of polymorphisms, the investigation of kinetic and thermodynamic parameters becomes crucial to translate such phenomena of complex structure formation into molecular design. Furthermore, high-resolution microscopic methods can provide more detailed insights into the near order of formed copolymers, allowing for the examination of structural causes of lateral association. With regard to the spectroscopic properties of porphyrins, replicating the concepts of surface-mediated co-assembly of oppositely charged peptide amphiphiles, as previously demonstrated in the group, could help to gain a deeper mechanistic understanding of the stepwise assembly of length-controlled polymer brushes. <sup>[209,210]</sup>

The presented studies highlight the importance of fundamental structure-property relationships and demonstrate the potential of porphyrin-peptide amphiphiles for the development of versatile and responsive nanomaterials based on kinetically controlled self-assembly.





---

# **Kapitel 8**

## Experimental Procedures

---

## 8.1 Instrumentation and Materials

### 8.1.1 General Considerations

Unless otherwise specified, chemicals were purchased from commercial suppliers at the highest purity available and used without further purification. Solvents for synthesis and general usage were of analytical reagent (AR) quality. HPLC grade acetonitrile was used as eluent in RP-HPLC. DMF for peptide synthesis was purchased at peptide grade quality. For NMR analysis, deuterated DMSO and chloroform were used. Chloroform and DMF for spectroscopic experiments were at spectroscopic grade. Water was deionized and purified using a PURELAB® flex 4 purification system by VEOLIA WATER SOLUTIONS & TECHNOLOGIES. Buffer solutions were freshly prepared prior to use according to literature known instructions.<sup>[297]</sup>

All reactions were carried out in oven dried glassware and air- and moist-sensitive reagents or intermediates were handled within inert gas atmosphere using SCHLENK technique. In such case, solvents and liquid reagents were added through septa using disposable syringes and cannulas that had been flushed with inert gas prior to use. Solids were added under an inert gas counterflow. In case of oxygen-sensitive reagents or intermediates, solvents or reaction mixtures were degassed following freeze-pump-thaw protocols according to literature.<sup>[298]</sup>

Samples for spectroscopic and microscopic experiments were prepared using stock solutions. Therefore, appropriate amounts of pure solid or liquid were weighted into suitable vials and diluted to a known volume of dimethyl sulfoxide. Depending on the desired concentration of the sample, a volume fraction of the respective stock solution was injected into DMSO (100  $\mu$ L) and then freeze dried. Samples for kinetic experiments were dissolved in tempered solvents and immediately placed into tempered cell holders. Multi-component samples were prepared by injecting volumes of stock solutions of all involved components into one vial and subsequent lyophilization. If necessary, pH values were measured with a METTLER TOLEDO® S220 *SevenCompact*™ equipped with a MI-410 pH electrode from Microelectrodes Inc.. Prior to use, the pH electrode was calibrated against certified buffer solutions. All data were analyzed using *OriginPro* 2022 9.9.0.225, unless stated otherwise. All fits were performed by using a logistic fitting function and the LEVENBERG MARQUARDT iteration algorithm.

### 8.1.2 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

NMR spectra were recorded on an Avance III HD 300, Avance II 400, Avance III HD 400 and Avance III 600 instrument by BRUKER. All chemical shifts ( $\delta$ ) are reported in parts per million and are recorded relative to the deuterated solvents signal. The signals multiplicity is listed as singlet (s), doublet (d), triplet (t), quartet (q), multiplet (m), as well as suitable combinations of these. All coupling constants ( $J$ ) are reported in hertz (Hz). Signal assignment was further supported by 2D NMR techniques (COSY, HSQC, HMBC). Spectra were analyzed using *MestReNova* (14.2.0-26256).

### 8.1.3 Mass Spectrometry

#### 8.1.3.1 Electrospray Ionization High Resolution Mass Spectrometry

Mass spectra of low molecular weight compounds ( $M.W < 1\,500\text{ g mol}^{-1}$ ) were recorded on a Micromass QTOF Ultima 3 by WATERS, using electrospray ionization (ESI). All samples were prepared at concentrations of  $0.1\text{ mg mL}^{-1}$ .

#### 8.1.3.2 Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry

For compounds of higher molecular weight ( $M.W. > 1\,500\text{ g mol}^{-1}$ ), matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight (MALDI-ToF) mass spectra were recorded in either linear or reflector mode on an autoflex® maX MALDI-TOF-MS/MS by BRUKER. All samples were prepared at concentrations of  $1.0\text{ mg mL}^{-1}$ . 2,5-Dihydroxybenzoic acid (DHB),  $\alpha$ -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHCA), *trans*-2[3-(4-*tert*-butylphenyl)-2-methyl-2-propenylidene] malononitrile (DCTB), or dithranol (Dit) were used as matrix with optional addition of potassium trifluoroacetate (KTFA).

### 8.1.4 Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography

Reversed-phase high-performance liquid chromatography was performed on a LC-4000 instrument by JASCO with UV/Vis detection in a range from 600 – 200 nm. For analytical purposes, samples were injected automatically onto a NUCLEODUR C18 Pyramid column ( $50 \times 4.6, 110\text{ \AA}, 1.5\text{ ml min}^{-1}$ ) by MACHEREY-NAGEL. For compound purification, samples were injected manually *via* a Rheodyne® valve through a  $2000\text{ }\mu\text{L}$  sample loop. A NUCLEODUR C18 Pyramid column ( $250 \times 210, 110\text{ \AA}, 18.9\text{ ml min}^{-1}$ ) was used as stationary phase. As eluent, acetonitrile and ultra-pure water were used with additional trifluoroacetic acid (0.1 v/v%) if not stated otherwise. In case of pH sensitive samples, ultra-pure water was used either with the addition of trifluoroacetic acid or as ammonium bicarbonate solution (20 mM). The product containing fractions were freeze dried to give the pure compounds. The following solvent gradient were applied for either analytical or semipreparative purposes.

#### Method A Analytical RP-HPLC

**Table 8.1:** Solvent gradient for analytical RP-HPLC according to Method A.

Time [min]	Ultra-pure water [v/v%]	Acetonitrile [v/v%]
0	95	5
1	95	5
5	5	95
15	5	95

**Method B      Semi-preparative RP-HPLC****Table 8.2:** Solvent gradient for semi-preparative RP-HPLC according to Method B.

Time [min]	Ultra-pure water [v/v%]	Acetonitrile [v/v%]
0	95	5
3	95	5
28	5	95
45	5	95

**Method C      Semi-preparative RP-HPLC****Table 8.3:** Solvent gradient for semi-preparative RP-HPLC according to Method C.

Time [min]	Ultra-pure water [v/v%]	Acetonitrile [v/v%]
0	95	5
5	95	5
20	20	80
25	20	80
40	5	95
60	5	95

**8.1.5 Reversed-Phase Medium Pressure Liquid Chromatography**

Compound purification *via* reversed-phase medium pressure liquid chromatography (RP-MPLC) was performed on a Sepacore® Easy Purification System by BÜCHI with UV/Vis detection with a C-640 photometer by BÜCHI. As stationary phase, prepacked Chromabond® Flash RS 40 C18 columns by MACHEREY-NAGEL were used. As eluent, a mixture of acetonitrile and ultra-pure water was used. The applied gradient is shown below.

**Table 8.4:** Solvent gradient for compound purification *via* RP-MPLC.

Time [min]	Ultra-pure water [v/v%]	Acetonitrile [v/v%]
0	95	5
5	95	5
40	5	95
55	5	95

### 8.1.6 Flash Chromatography

Purification *via* flash chromatography was performed using silica gel with an average grain size of 40 – 63  $\mu\text{M}$  and a pore size of 60  $\text{\AA}$  (eluent: chloroform, cyclohexane, dichloromethane, ethyl acetate, methanol). Solvents mixtures for usage as mobile phase were freshly prepared prior to use. For fraction analysis, thin layer chromatography or analytical RP-HPLC was used.

### 8.1.7 Gel Permeation Chromatography

Analytical gel permeation chromatography (GPC) was performed on an Agilent 1100 Series instrument by AGILENT TECHNOLOGIES with UV and RI detection. A PSS PFG 7  $\mu$  columns (100/1000  $\text{\AA}$ ) from PSS POLYMER STANDARD SERVICES GmbH was used as stationary phase with either hexafluoro isopropanol (HFIP) or dimethyl formamide (DMF) with the addition of potassium trifluoroacetic acid (KTFA) (3 g L<sup>-1</sup>) as eluent. All samples were prepared at a concentration of 1 mg mL<sup>-1</sup> and calibrated against a polyethylene glycol standard.

### 8.1.8 Thin Layer Chromatography

For qualitative analysis, thin layer chromatography on alumina sheets silica coating (pore size: 60  $\text{\AA}$ ) was performed. Analytes were detected with either UV-light ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) or staining reagents (potassium permanganate: 0.8 g, 200 mL ultra-pure water, 2.5 g NaHCO<sub>3</sub>; ninhydrin: 0.1 g, 50 mL abs. ethanol, 1.5 mL acetic acid; bromocresol green: 0.1 g bromocresol green, 100 mL abs. ethanol, 1 mL NaOH (0.1 M); iodine).

### 8.1.9 Solid Phase Peptide Synthesis

Solid phase peptide synthesis was performed on a CS136XT peptide synthesizer by CS Bio, using a 2-chlorotriyl chloride resin (loading capacity: 1.51 mmol g<sup>-1</sup>). Following the Fmoc-strategy, Fmoc-protected amino acids together with peptide grade solvents were utilized.

### 8.1.10 Circular Dichroism Spectroscopy

Circular dichroism spectroscopy experiments were performed on a JASCO J-815 instrument combined with a PTC-4235/15 PELTIER element, using precision macro quartz cells with path lengths ranging from 1 to 10 mm by STARNA SCIENTIFIC. All spectra represent the average of three consecutive measurements following manual baseline correction. To minimize noise, all concentrations were adjusted to keep the photomultiplier high voltage (HV) value below 700V at the wavelength of interest ( $\lambda > 190 \text{ nm}$ ).

### **Temperature Interval Measurement**

The samples were quickly dissolved in pre-cooled solvent and immediately placed into the temperature-controlled cell holder. PELTIER control followed a linear temperature ramp at a constant heating rate of  $1^{\circ}\text{C min}^{-1}$  with measuring three consecutive spectra every  $5^{\circ}\text{C}$ , followed by a backwards ramp under similar cooling conditions.

### **Time Course Measurement**

The samples were quickly dissolved in pre-cooled solvent and immediately placed into the temperature-controlled cell holder. Time-dependent assembly was monitored at a specific wavelength at a rate ranging from 6 data point per minute to 2 data points per second. All respective samples were measured at constant temperature and concentrations.

### **Interval Scan Measurement**

The samples were quickly dissolved in pre-cooled solvent and immediately placed into the temperature-controlled cell holder. Three consecutive spectra were recorded for each time interval at a constant temperature.

## **8.1.11 Ultraviolet Visible Spectroscopy**

Ultraviolet-visible spectroscopy experiments were performed on a PERKINELMER Lambda 365+ Double Beam UV-visible spectrophotometer equipped with a 201 multicell holder and PELTIER temperature controller by PERKINELMER, using macro quartz cells by STARNA scientific with a path length of 10 mm. All concentrations were adjusted to keep the maximum absorbance below 1.00 at the wavelength of interest ( $\lambda = 300 - 750 \text{ nm}$ ).

### **Temperature-Dependent Measurements**

The samples were quickly dissolved in pre-cooled solvent and immediately placed into the temperature-controlled cell holder. The temperature was manually adjusted in steps of  $5^{\circ}\text{C}$ .

### **Transmission Measurements**

The samples were quickly dissolved in pre-cooled solvent and immediately placed into the temperature-controlled cell holder. Transmission was detected at  $\lambda = 700 \text{ nm}$  with a heating rate of  $0.1^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

## **8.1.12 Transmission Electron Microscopy**

Transmission electron microscopy (TEM) images were recorded on a *Tecnai* T12 system by FEI, equipped with a BIOTWIN lens and a LaB<sub>6</sub> cathode, operating at 120 kV. The digital electron micrographs were recorded with a 4k x 4k *Cmos* camera by TVIPS. 5  $\mu\text{L}$  of each sample was adsorbed for 2 min onto a glow-discharged CF300-CU copper grid by ELECTRON MICROSCOPY SCIENCES, coated with a 3–4 nm carbon layer. Negative staining was performed with 5  $\mu\text{L}$  of a 2 w/w% solution of uranyl acetate for 1 min. Excess liquid was removed with WHATMAN® filter papers (grade 4) by GE

HEALTHCARE BIO-SCIENCES. Length characterization of one-dimensional nanostructures was performed with ImageJ (v. 1.54f) by WAYNE RASBAND NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. For the calculation of  $L_n$ ,  $L_w$ , and  $D$ , the following equations were used according to RUPAR *et. al.*:<sup>[299]</sup>

$$L_n = \frac{\sum_{i=1}^n n_i L_i}{\sum_{i=1}^n n_i} \quad (8.1)$$

$$L_w = \frac{\sum_{i=1}^n n_i L_i^2}{\sum_{i=1}^n n_i L_i} \quad (8.2)$$

$$D = \frac{L_w}{L_n} \quad (8.3)$$

( $L_n$  = number average of the rod length in nm;  $L_w$  = weighted average of the rod length in nm;  $n$  = sample size;  $D$  = polydispersity)

### 8.1.13 Coarse-Grained Molecular Dynamics Simulations

Coarse-Grained MD simulations were performed using LAMMPS software package at experimental concentrations and implicit solvent.<sup>[300,301]</sup> The temperature was kept constant during simulations by using LANGEVIN thermostat.<sup>[302]</sup> The generic monomer model consists of 13 beads that were kept in a rigid planar geometry by using the FIX RIGID algorithm in LAMMPS. The Model is rendered using GIMP raster graphics editor and OVITO scientific data visualization and analysis software. The beads size was determined based on measured diameters from TEM images and literature-known values of gyro dynamical radii for individual molecular groups.<sup>[303,304]</sup> Beads interact with each other through simple pair potentials. Hydrophobic core beads (R, S, T) interact among themselves through LENNARD-JONES (LJ) potential (equation 3.2, see chapter 3.2.7). Terminal beads (U) represent excluded volume and interact through purely repulsive WEEKS-CHANDLER-ANDERSEN (WCA) potential<sup>[305]</sup> derived from equation 3.2 with  $1.5 \sigma$  and pre factor  $4 k_B T$ . Simulation snapshots were rendered using OTIVO scientific data visualization and analysis software and further processed with INKSCAPE vector graphics editor.

### 8.1.14 Calculation of $E_A$ Values

The approximately determined values of the activation energy ( $E_A$ ) arise from a variant of the Arrhenius equation describing the relationship between the half-life ( $t_{1/2}$ ) and temperature ( $T$ ):<sup>[272,273]</sup>

$$t_{1/2} = A' \cdot e^{\frac{E_A}{R T}}$$

Upon taking the logarithm, the resulting linear equation is given by:

$$\ln(t_{1/2}) = \ln(A') - \frac{E_A}{R} \cdot \frac{1}{T}$$

Letting  $y = \ln(t_{1/2})$  and  $x = \frac{1}{T}$ , the linear regression line of the logarithmic plot of experimental values of  $t_{1/2}$  in seconds against the inverse temperature  $K^{-1}$  provides the value for  $m = \frac{E_A}{R}$ .

## 8.2 Standard Operating Procedures

### 8.2.1 Loading of the First AA (SOP1)

2-Chlorotrityl chloride resin was transferred into a MERRIFIELD reactor (loading capacity: 1.51 mmol g<sup>-1</sup>, 1.0 eq.), The first amino acid (AA) (2.0 eq) was dissolved in DCM (10 mL) with the addition of a minimum amount of DMF to give a clear solution and was added to the resin. DIPEA (2.0 eq.) was added in one portion, followed by shaking (180° inversion mixing) for 5 minutes. Another portion of DIPEA (3.0 eq.) was added and the reactor was shaken for additional 60 minutes. MeOH (20 mL) was added before further shaking of the mixture for 15 minutes. The reactor was drained, and the resin was washed with DCM (3 x 20 mL), DMF (3 x 20 mL), DCM (3 x 20 mL) and MeOH (3 x 20 mL) consecutively.

### 8.2.2 Fmoc Cleavage (SOP2)

The loaded resin was swollen in DCM for 10 minutes under continuous shaking. After draining the vessel, piperidine (20v/v% in DMF) was added and the mixture was shaken for 20 minutes. The liquid was drained again, and the resin was washed with DMF (20 mL) before adding another portion of piperidine solution. The vessel was shaken for 20 minutes, drained, and the resin was washed with DMF (3 x 20 mL) and DCM (3 x 20 mL).

### 8.2.3 Peptide Coupling (SOP3)

Solutions of the respective Fmoc-protected AA (4.0 eq. relative to the resins loading capacity), HBTU (4.0 eq.), HOBt (4.0 eq.), and DIPEA (6.0 eq.), each dissolved in DMF, were transferred to the resin containing reaction vessel. After shaking for 60 minutes, the vessel was drained, and the resin was washed with DMF (5 x 20 mL).

A cycle of Fmoc cleavage and coupling was repeated for each elongation.

### 8.2.4 Cleavage of the Peptide from the Resin with TFA (SOP4)

The resin was treated with a mixture of TFA (50v/v%) in DCM (16 mL) while slow shaking for 60 minutes. After draining, the resin was washed with DCM (3 x 20 mL) and the cleavage procedure was repeated twice. The peptide containing solutions were combined, concentrated under reduced pressure and the remainder was co-distilled with toluene (3 x 10 mL). The crude was taken up in a minimum amount of MeOH and precipitated from a cold mixture of diethyl ether and *n*-pentane (1:1). The precipitate was isolated by centrifugation, taken up in ultra-pure water and freeze dried.

### 8.2.5 Cleavage of the Peptide from the Resin with TFE (SOP5)

For Boc- or *tert*-butyl ester-containing peptides, the resin was treated with a mixture of TFE (20v/v%) in DCM (16 mL) while slow shaking for 60 minutes. After draining, the resin was washed with DCM (3 x 20 mL) and the cleavage procedure was repeated twice. The peptide containing solutions were combined, concentrated under reduced pressure and co-distilled with toluene (3 x 10 mL). The crude was taken up in a minimum amount of MeOH and precipitated from a cold mixture of diethyl ether and *n*-pentane (1:1). The precipitate was isolated by centrifugation, taken up in ultra-pure water and freeze dried.

### 8.2.6 Copper-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition (CuAAC) of Alkyne-Functionalized Porphyrin Compounds (SOP6)

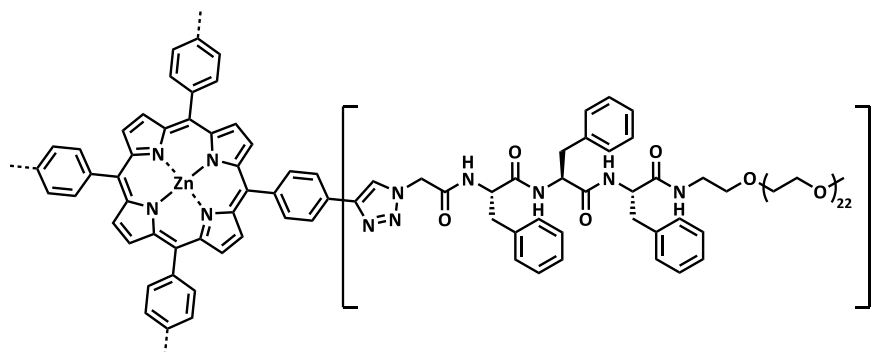
The alkyne-functionalized porphyrin compound (1.0 eq.), the azido-functionalized peptide component (5.5 eq.), TBTA (0.8 eq.) and CuSO<sub>4</sub> x 5 H<sub>2</sub>O (1.0 eq.) were placed into a pressure tube and dissolved in DMSO. The mixture was degassed within at least three freeze-pump-thaw cycles and sodium ascorbate (SA) (2.3 eq.) was added in an inert gas counterflow. The reaction mixture was stirred for 24 hours at 40°C under the exclusion of light. The solvent was removed by lyophilization. The crude was purified *via* size exclusion chromatography (BioBeads™, S-X1, eluent: DMF). Lyophilization from ultra-pure water gave the pure product.

### 8.2.7 TFA-Mediated Cleavage of Boc- and <sup>t</sup>Bu-Protecting Groups (SOP7)

The Boc- or <sup>t</sup>Bu protected compound was dissolved in a mixture of TFA, DCM, H<sub>2</sub>O and TIS (4:4:1:1, 10 mL) and the resulting solution was stirred for 60 minutes at room temperature. The mixture was concentrated under reduced pressure and another portion of the cleavage mixture was added. After another 60 minutes of stirring at room temperature, the solvent was co-distilled with toluene (3 x 20 mL). The product was taken up in ultra-pure water and lyophilized.



## 8.3.2 Compound III-2



**III-14** (15.0 mg, 19.4  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was used as the alkyne-functionalized compound and coupled to **III-12b** (167.2 mg, 106.6  $\mu\text{mol}$ , 5.5 eq.) according to **SOP6** (see 8.2.6) for CuAAC. The crude was taken up in a minimum amount of ultra-pure water and acetonitrile (1:1) and subjected to preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method C).

**Yield:** 83.8 mg (11.9  $\mu\text{mol}$ , 62%), purple solid.

**MF:**  $\text{C}_{356}\text{H}_{528}\text{N}_{32}\text{O}_{108}\text{Zn}$

**MW:** 7049.6360

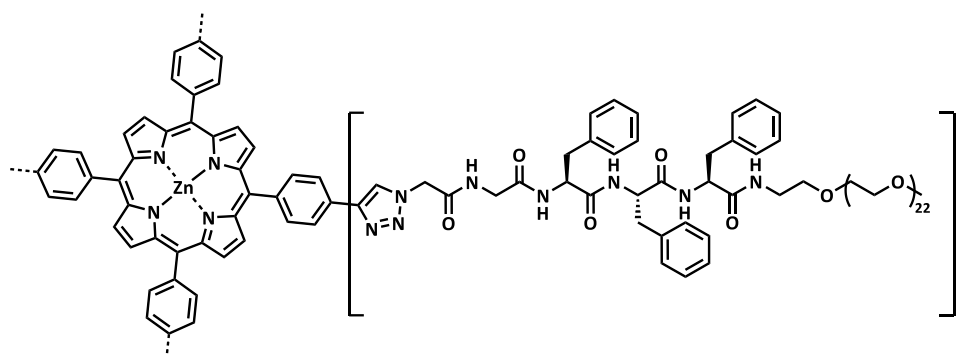
[7043.6099]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA)  $m/z$ : 7083.1714  $[\text{M}+\text{K}]^+$  (calc. 7082.5731).

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.88 (s, 8H, 8 x  $\text{CH}^{\beta\text{-pyrrolic}}$ ), 8.64 (d,  $J = 8.7$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.62 (s, 4H, 4 x  $\text{CH}^{\text{Trz}}$ ), 8.38 (d,  $J = 8.1$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.30 – 8.22 (m, 16H,  $\text{CH}^{\text{Ar}}$ ), 8.15 (d,  $J = 8.1$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 7.99 (t,  $J = 5.7$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{mPEG}}$ ), 7.31 – 7.15 (m, 60H, 4 x 3 x  $\gamma$ -/ $\delta$ -/ $\epsilon$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 5.29 – 5.11 (m, 8H, 4 x  $\text{TrzCH}_2$ ), 4.69 – 4.61 (m, 4H, 4 x  $\alpha$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 4.61 – 4.50 (m, 8H, 4 x 2 x  $\alpha$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 3.54 – 3.28 (m, 360H,  $\text{CH}_2\text{O}^{\text{mPEG}}/\text{OCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.27 – 3.10 (m, 8H, 4 x  $\text{NHCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.22 (s, 12H, 4 x  $\text{CH}_3^{\text{mPEG}}$ ), 3.06 – 2.71 (m, 24H, 4 x 3 x  $\text{CH}_2^{\text{Phe}}$ ).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]): 430 (1.00) Soret, 560 (0.04)  $\text{Q}_{\alpha}$ , 603 (0.02)  $\text{Q}_{\beta}$ .

## 8.3.3 Compound III-3



**III-14** (13.0 mg, 16.8  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was used as the alkyne-functionalized compound and coupled to **III-13a** (150.2 mg, 92.4  $\mu\text{mol}$ , 5.5 eq.) according to **SOP6** (see 8.2.6) for CuAAC. The crude was taken up in a minimum amount of ultra-pure water and acetonitrile (1:1) and subjected to preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method C).

**Yield:** 70.0 mg (9.6  $\mu\text{mol}$ , 53%), purple solid.

**MF:**  $\text{C}_{364}\text{H}_{540}\text{N}_{36}\text{O}_{112}\text{Zn}$

**MW:** 7277.8440

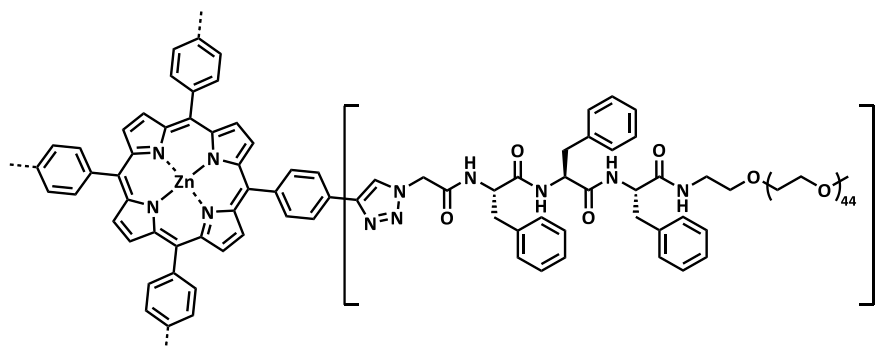
[7271.6958]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA)  $m/z$ : 7311.1371  $[\text{M}+\text{K}]^+$  (calc. 7310.6589).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ , 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.88 (s, 8H, 8 x  $\text{CH}^{\beta\text{-pyrrolic}}$ ), 8.78 (s, 4H, 4 x  $\text{CH}^{\text{Trz}}$ ), 8.67 (t,  $J = 5.4$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Gly}}$ ), 8.33 (d,  $J = 8.4$  Hz, 8H, 2 x 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.31 – 8.23 (m, 20H, 16 x  $\text{CH}^{\text{Ar}}$ , 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.03 (t,  $J = 5.7$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{mPEG}}$ ), 7.29 – 7.13 (m, 60H, 4 x 3 x  $\gamma$ -/ $\delta$ -/ $\epsilon$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 5.32 (s, 8H, 4 x  $\text{TrzCH}_2$ ), 4.55 – 4.48 (m, 12H, 4 x 3 x  $\alpha$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 3.89 – 3.68 (m, 8H, 4 x  $\text{CH}_2^{\text{Gly}}$ ), 3.54 – 3.29 (m, 360H,  $\text{CH}_2\text{O}^{\text{mPEG}}/\text{OCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.25 – 3.09 (m, 8H, 4 x  $\text{NHCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.22 (s, 12H, 4 x  $\text{CH}_3^{\text{mPEG}}$ ), 3.06 – 2.66 (m, 24H, 4 x 3 x  $\text{CH}_2^{\text{Phe}}$ ).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]): 430 (1.00) SORET, 562 (0.04)  $\text{Q}_{\alpha}$ , 603 (0.02)  $\text{Q}_{\beta}$ .

## 8.3.4 Compound III-4



**III-14** (8.7 mg, 11.2  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was used as the alkyne-functionalized compound and coupled to **III-12c** (156.8 mg, 61.8  $\mu\text{mol}$ , 5.5 eq.) according to **SOP6** (see 8.2.6) for CuAAC. The crude was taken up in a minimum amount of ultra-pure water and acetonitrile (1:1) and subjected to preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method C).

**Yield:** 51.7 mg (47.3  $\mu\text{mol}$ , 42%), purple solid.

**MF:**  $\text{C}_{532}\text{H}_{880}\text{N}_{32}\text{O}_{196}\text{Zn}$

**MW:** 10926.3000

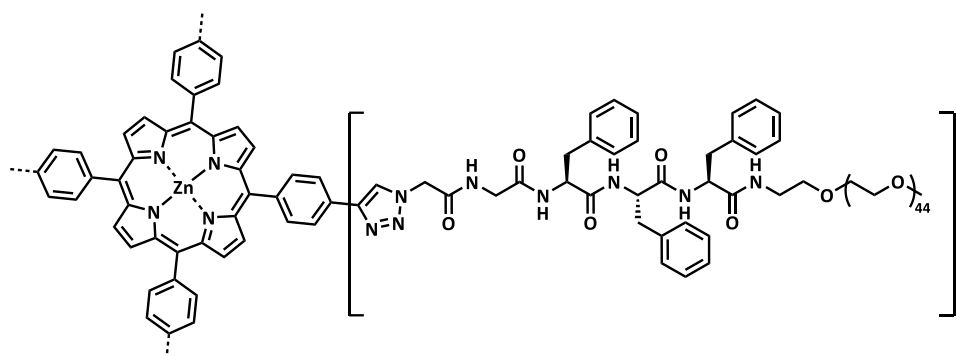
[10917.9168]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA)  $m/z$ : 10957.2200  $[\text{M}+\text{K}]^+$  (calc. 10956.8800).

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ , 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.88 (s, 8H, 8 x  $\text{CH}^{\beta\text{-pyrrolic}}$ ), 8.64 (d,  $J = 8.4$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.61 (s, 4H, 4 x  $\text{CH}^{\text{Trz}}$ ), 8.38 (d,  $J = 8.0$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.32 – 8.21 (m, 16H,  $\text{CH}^{\text{Ar}}$ ), 8.15 (d,  $J = 8.1$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 7.99 (t,  $J = 5.6$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{mPEG}}$ ), 7.33 – 7.11 (m, 60H, 4 x 3 x  $\gamma$ -/ $\delta$ -/ $\epsilon$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 5.28 – 5.10 (m, 8H, 4 x  $\text{TrzCH}_2$ ), 4.69 – 4.61 (m, 4H, 4 x  $\alpha$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 4.61 – 4.49 (m, 8H, 4 x 2 x  $\alpha$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 3.60 – 3.37 (m, 712H,  $\text{CH}_2\text{O}^{\text{mPEG}}/\text{OCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.28 – 3.10 (m, 8H, 4 x  $\text{NHCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.23 (s, 12H, 4 x  $\text{CH}_3^{\text{mPEG}}$ ), 3.09 – 2.70 (m, 24H, 4 x 3 x  $\text{CH}_2^{\text{Phe}}$ ).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]): 430 (1.00) SORET, 562 (0.04)  $\text{Q}_{\alpha}$ , 603 (0.02)  $\text{Q}_{\beta}$ .

## 8.3.5 Compound III-5



**III-14** (10.0 mg, 12.9  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was used as the alkyne-functionalized compound and coupled to **III-13b** (184.3 mg, 71.0  $\mu\text{mol}$ , 5.5 eq.) according to **SOP6** (see 8.2.6) for CuAAC. The crude was taken up in a minimum amount of ultra-pure water and acetonitrile (1:1) and subjected to preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method C).

**Yield:** 69.8 mg (6.3  $\mu\text{mol}$ , 48%), purple solid.

**MF:**  $\text{C}_{540}\text{H}_{892}\text{N}_{36}\text{O}_{200}\text{Zn}$

**MW:** 11154.5080

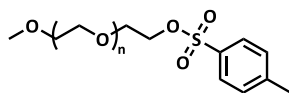
[11146.0027]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA)  $m/z$ : 11185.3016  $[\text{M}+\text{K}]^+$  (calc. 11184.9658).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ , 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.88 (s, 8H, 8 x  $\text{CH}^{\beta\text{-pyrrolic}}$ ), 8.78 (s, 4H, 4 x  $\text{CH}^{\text{Trz}}$ ), 8.59 (t,  $J = 4.9$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Gly}}$ ), 8.31 – 8.25 (m, 16H,  $\text{CH}^{\text{Ar}}$ ), 8.22 (d,  $J = 8.3$  Hz, 8H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.17 (d,  $J = 8.1$  Hz, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.13 (d,  $J = 8.1$  Hz, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 7.98 (t,  $J = 5.7$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{mPEG}}$ ), 7.30 – 7.13 (m, 60H, 4 x 3 x  $\gamma\text{-}/\delta\text{-}/\epsilon\text{-CH}^{\text{Phe}}$ ), 5.31 (s, 8H, 4 x  $\text{TrzCH}_2$ ), 4.60 – 4.46 (m, 12H, 4 x 3 x  $\alpha\text{-CH}^{\text{Phe}}$ ), 3.90 – 3.63 (m, 8H, 4 x  $\text{CH}_2^{\text{Gly}}$ ), 3.61 – 3.36 (m, 712H,  $\text{CH}_2\text{O}^{\text{mPEG}}/\text{OCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.26 – 3.08 (m, 8H, 4 x  $\text{NHCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.23 (s, 12H, 4 x  $\text{CH}_3^{\text{mPEG}}$ ), 3.04 – 2.64 (m, 24H, 4 x 3 x  $\text{CH}_2^{\text{Phe}}$ ).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]): 430 (1.00) SORET, 562 (0.03)  $\text{Q}_{\alpha}$ , 603 (0.01)  $\text{Q}_{\beta}$ .

### 8.3.6 Compound III-6a, 6b, 6c



#### III-6a (n = 11)

**Polyethylene glycol monomethyl ether** ( $M_n = 550 \text{ g mol}^{-1}$ ) (5.00 g, 8.92 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in DCM (30 mL). Triethylamine (3.71 mL, 26.75 mmol, 3.0 eq.) was added in one portion and the solution was cooled to 0°C. With stirring, a solution of *p*-toluene sulfonic acid (5.10 g, 26.75 mmol, 3.0 eq.) in DCM (15 mL) was added dropwise and the mixture was stirred for 2 h at 0°C and additional 16 h at room temperature.

The reaction mixture was washed with saturated  $\text{NaHCO}_3$  (aq) (3 x 50 mL) and brine (3 x 50 mL) and the aqueous phase was extracted with DCM (4 x 100 mL). The organic phase was dried over  $\text{MgSO}_4$ , filtered and the solvent was removed under reduced pressure to give a slightly yellow liquid.

**Yield:** 3.74 g (5.23 mmol, 59%), yellowish liquid.

**MF:**  $\text{C}_{32}\text{H}_{58}\text{O}_{15}\text{S}$

**MW:** 714.8610

[714.3496]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA)  $m/z$ : 754.4354  $[\text{M}+\text{K}]^+$  (calc. 753.3128).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , 296 K)  $\delta$  [ppm]: 7.82 – 7.75 (m, 2H,  $\text{CH}^{\text{Ar}}$ ), 7.52 – 7.44 (m, 2H,  $\text{CH}^{\text{Ar}}$ ), 4.15 – 4.08 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OTs}$ ), 3.60 – 3.55 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OTs}$ ), 3.55 – 3.40 (m, 44H,  $\text{OCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.23 (s, 3H,  $\text{CH}_3^{\text{mPEG}}$ ), 2.42 (s, 3H,  $\text{CH}_3^{\text{OTs}}$ ).

#### III-6b (n = 22)

**Polyethylene glycol monomethyl ether** ( $M_n = 1\,000 \text{ g mol}^{-1}$ ) (5.00 g, 4.92 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in DCM (50 mL). Triethylamine (2.05 mL, 14.76 mmol, 3.0 eq.) was added in one portion and the solution was cooled to 0°C. With stirring, a solution of *p*-toluene sulfonic acid (2.81 g, 14.76 mmol, 3.0 eq.) in DCM (25 mL) was added dropwise and the mixture was stirred for 2 h at 0°C and additional 16 h at room temperature.

The reaction mixture was washed with saturated  $\text{NaHCO}_3$  (aq) (3 x 50 mL) and brine (3 x 50 mL) and the organic phase was dried over  $\text{MgSO}_4$ . The solution was concentrated under reduced pressure and precipitated from cold  $\text{Et}_2\text{O}$  (500 mL) with excessive stirring. The colorless product was isolated *via* centrifugation.

**Yield:** 1.92 g (1.60 mmol, 33%), colorless powder.

**MF:** C<sub>54</sub>H<sub>102</sub>O<sub>26</sub>S**MW:** 1199.4440

[1198.6380]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 1238.6683 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 1237.6012).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K) δ [ppm]: 7.81 – 7.76 (m, 2H, CH<sup>Ar</sup>), 7.51 – 7.46 (m, 2H, CH<sup>Ar</sup>), 4.13 – 4.08 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OTs), 3.59 – 3.55 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OTs), 3.55 – 3.40 (m, 88H, OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 2.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>OTs</sup>).

**III-6c (n = 44)**

**Polyethylene glycol monomethyl ether** ( $M_n = 2\,000\text{ g mol}^{-1}$ ) (5.00 g, 2.48 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in DCM (50 mL). Triethylamine (1.03 mL, 7.45 mmol, 3.0 eq.) was added in one portion and the solution was cooled to 0°C. With stirring, a solution of *p*-toluene sulfonic acid (1.42 g, 7.45 mmol, 3.0 eq.) in DCM (30 mL) was added dropwise and the mixture was stirred for 2 h at 0°C and additional 16 h at room temperature.

The reaction mixture was washed with saturated NaHCO<sub>3</sub> (aq) (3 x 50 mL) and brine (3 x 50 mL) and the organic phase was dried over MgSO<sub>4</sub>. The solution was concentrated under reduced pressure and precipitated from cold Et<sub>2</sub>O (1 000 mL) with excessive stirring. The colorless product was isolated *via* filtration.

**Yield:** 3.73 g (1.72 mol, 69%), colorless powder.

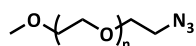
**MF:** C<sub>98</sub>H<sub>190</sub>O<sub>48</sub>S**MW:** 2168.6100

[2167.2147]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 2207.1352 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 2206.1779).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K) δ [ppm]: 7.82 – 7.75 (m, 2H, CH<sup>Ar</sup>), 7.51 – 7.45 (m, 2H, CH<sup>Ar</sup>), 4.12 – 4.08 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OTs), 3.59 – 3.55 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OTs), 3.55 – 3.40 (m, 176H, OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 2.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>OTs</sup>).

### 8.3.7 Compound III-7a, 7b, 7c



#### III-7a (n = 11)

In a pressure tube, **III-6a** (1.50 g, 2.10 mmol, 1.0 eq.) and NaN<sub>3</sub> (0.68 g, 10.49 mmol, 5.0 eq.) were suspended in DMF (30 mL) and stirred at 70°C for 18 h. The liquid was concentrated, and the residue was dissolved in H<sub>2</sub>O (100 mL) and extracted with CHCl<sub>3</sub> (4 x 100 mL). The organic phase was washed with saturated NaHCO<sub>3</sub> (aq) (3 x 100 mL) and brine (3 x 100 mL) and dried over MgSO<sub>4</sub>. After filtration, the solvent was evaporated under reduced pressure to give the pure product.

**Yield:** 0.83 g (1.41 mmol, 67%), colorless oil.

**MF:** C<sub>25</sub>H<sub>51</sub>N<sub>3</sub>O<sub>12</sub>                      **MW:** 585.6920                      [585.3473]

**R<sub>f</sub>:** 0.27 (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>: MeOH, 9:1).

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 625.3661 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 624.3104).

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K) δ [ppm]: 3.63 – 3.57 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 3.57 – 3.48 (m, 42H, OCH<sup>m</sup>PEG), 3.45 – 3.37 (m, 4H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

#### III-7b (n = 22)

In a pressure tube, **III-6b** (1.5 g, 1.25 mmol, 1.0 eq.) and NaN<sub>3</sub> (0.41 g, 6.25 mmol, 5.0 eq.) were suspended in DMF (30 mL) and stirred at 70°C for 18 h. The solvent was evaporated under reduced pressure, and the residue was taken up in a mixture of DCM and CHCl<sub>3</sub> (1:1, 100 mL). The solution filtered and washed with saturated NaHCO<sub>3</sub> (aq) (3 x 50 mL) and brine (3 x 50 mL) and dried over MgSO<sub>4</sub>. With excessive stirring, the product was precipitated from cold Et<sub>2</sub>O (500 mL) and isolated *via* filtration.

**Yield:** 0.82 g (0.77 mmol, 62%), colorless powder.

**MF:** C<sub>47</sub>H<sub>95</sub>N<sub>3</sub>O<sub>23</sub>                      **MW:** 1070.2750                      [1069.6356]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 1109.5390 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 1108.5988).

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K) δ [ppm]: 3.63 – 3.36 (m, 92H, OCH<sup>m</sup>PEG), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

**III-7c (n = 44)**

In a pressure tube, **III-6c** (2.87 g, 1.32 mmol, 1.0 eq.) and NaN<sub>3</sub> (0.43 g, 4.5 mmol, 5.0 eq.) were suspended in DMF (50 mL) and stirred at 70°C for 18 h. The liquid was concentrated, and the residue was taken up in a mixture of DCM and CHCl<sub>3</sub> (1:1, 100 mL). After filtration, the solution was washed with saturated NaHCO<sub>3</sub> (aq) (3 × 100 mL) and brine (3 × 100 mL) and concentrated again under reduced pressure. With excessive stirring, the product was precipitated from cold Et<sub>2</sub>O (1 000 mL) and isolated *via* filtration.

**Yield:** 2.11 g (1.03 mmol, 81%), colorless solid.

**MF:** C<sub>91</sub>H<sub>183</sub>N<sub>3</sub>O<sub>45</sub>

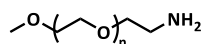
**MW:** 2039.4410

[2038.2124]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 2078.0690 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 2077.1756).

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K) δ [ppm]: 3.63 – 3.35 (m, 180H, OCH<sup>mPEG</sup>), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

### 8.3.8 Compound III-8a, 8b, 8c



#### III-8a (n = 11)

**III-7a** (0.83 g, 1.41 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in MeOH (150 mL). In an argon counterflow, NH<sub>3</sub> (101.2 μL, 7 M in MeOH, 0.5 eq.) and Pd/C (10w/w%, 83 mg) were added. The flask was evacuated and filled with H<sub>2</sub>. The suspension was stirred for 24 h under H<sub>2</sub> atmosphere at atmospheric pressure. The catalyst was removed *via* filtration over Celite® and washed excessively with MeOH (3 x 150 mL). The solvent was removed under reduced pressure to give the pure product.

**Yield:** 0.76 g (1.35 mmol, 96%), pale yellow oil.

**MF:** C<sub>25</sub>H<sub>53</sub>NO<sub>12</sub>

**MW:** 559.6940

[559.3568]

**TOF-MS** (MALDI, RP) (Dit+KTFA) m/z: 598.4941 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 598.3199).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 3.57 – 3.45 (m, 360H, OCH<sub>2</sub><sup>m</sup>PEG), 3.45 – 3.39 (m, 2H, CH<sub>3</sub>OCH<sub>2</sub>), 3.34 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.63 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>).

#### III-8b (n = 22)

**III-7b** (0.82 g, 0.77 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in MeOH (150 mL). In an argon counterflow, NH<sub>3</sub> (54.7 μL, 7 M in MeOH, 0.5 eq.) and Pd/C (10w/w%, 82 mg) were added. The flask was evacuated and filled with H<sub>2</sub>. The suspension was stirred for 24 h under H<sub>2</sub> atmosphere at atmospheric pressure. The catalyst was removed *via* filtration over Celite® and washed excessively with MeOH (3 x 150 mL). The solvent was removed under reduced pressure to give the pure product.

**Yield:** 0.80 mg (0.77 mmol, quant.), colorless powder.

**MF:** C<sub>47</sub>H<sub>97</sub>NO<sub>23</sub>

**MW:** 1044.2770

[1043.6451]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 1083.6561 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 1082.6083).

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>-*d*, 296 K, COSY) δ [ppm]: 3.69 – 3.59 (m, 88H, CH<sub>2</sub>O<sup>m</sup>PEG/OCH<sub>2</sub><sup>m</sup>PEG), 3.56 – 3.51 (m, 2H, H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.36 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.88 (t, *J* = 5.2 Hz, 2H, H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 2.25 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>).

**III-8c** (n = 44)

**III-7c** (0.99 g, 0.49 mmol, 1.0 eq.) was dissolved in MeOH (150 mL). In an argon counterflow, NH<sub>3</sub> (28.7 μL, 7 M in MeOH, 0.5 eq.) and Pd/C (10w/w%, 99 mg) were added. The flask was evacuated and filled with H<sub>2</sub>. The suspension was stirred for 48 h under H<sub>2</sub> atmosphere at atmospheric pressure. The catalyst was removed *via* filtration over Celite® and washed excessively with MeOH (3 x 150 mL). The solvent was removed under reduced pressure to give the pure product.

**Yield:** 0.91 mg (0.45 mmol, 93%), colorless powder.

**MF:** C<sub>91</sub>H<sub>185</sub>NO<sub>45</sub>

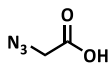
**MW:** 2013.4430

[2012.2219]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 2050.1004 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 2051.1850)

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>-d, 296 K, COSY) δ [ppm]: 3.71 – 3.57 (m, 176H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.56 – 3.49 (m, 2H, H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3.37 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.94 (t, J = 5.1 Hz, 2H, H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>), 2.41 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>).

### 8.3.9 Compound III-9



**Bromacetic acid** (14.98 g, 0.108 mol, 1.0 eq.) and sodium azide (14.04 g, 0.216 mol, 2.0 eq.) were dissolved in H<sub>2</sub>O and the solution was stirred at room temperature for 18 h HCl (conc., 15 mL) was added in one portion and the aqueous phase was extracted with Et<sub>2</sub>O (3 x 150 mL). The organic layer was dried over MgSO<sub>4</sub>, filtered and the solvent was evaporated under reduced pressure to give a pale orange liquid.

**Yield:** 10.9 g (0.108 mmol, quant.), pale orange liquid.

**MF:** C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>

**MW:** 101.0650

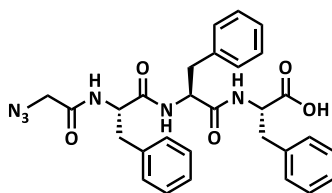
[101.0225]

**R<sub>f</sub>:** 0.5 (SiO<sub>2</sub>, ethyl acetate/cyclohexane, 1:1 + 0.1% acetic acid).

**TOF-MS** (ESI, neg.) m/z: 101.0448 [M-H]<sup>-</sup> (calc. 101.0263)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K) δ [ppm]: 13.13 (s, 1H, COOH), 3.99 (s, 2H, CH<sub>2</sub>).

### 8.3.10 Compound III-10



**Fmoc-L-Phe** (1.17 g, 3.02 mmol, 2.0 eq.) was coupled as the first AA to the 2-chlorotrityle chloride resin (1.00 g, 1.51 mmol, 1.0 eq.) according to **SOP1** (see 8.2.1). Successive Fmoc cleavage and AA coupling was performed following **SOP2** (see 8.2.2) and **SOP3** (see 8.2.3). The final peptide sequence was detached from the resin using TFA according to **SOP4** (see 8.2.4).

**Yield:** 0.68 mg (1.24 mmol, 82%), colorless solid.

**MF** C<sub>29</sub>H<sub>30</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>

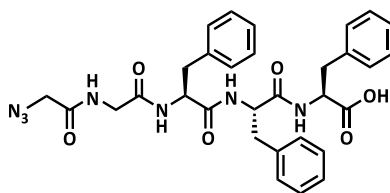
**MW** 542.5960

[542.2278]

**TOF-MS** (ESI, neg.) m/z: 541.2203 [M-H]<sup>-</sup> (calc. 541.2204).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 12.80 (s, 1H, COOH), 8.32 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.26 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.20 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 7.32 – 7.12 (m, 15H, 3 × γ-/δ-/ε-CH<sup>Phe</sup>), 4.61 – 4.43 (m, 3H, 3 × α-CH<sup>Phe</sup>), 3.77 – 3.63 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.14 – 2.61 (m, 6H, 3 × β-CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>).

## 8.3.11 Compound III-11



**Fmoc-L-Phe** (1.17 g, 3.02 mmol, 2.0 eq.) was coupled as the first AA to the 2-chlorotrityl chloride resin (1.00 g, 1.51 mmol, 1.0 eq.) according to **SOP1** (see 8.2.1). Successive Fmoc cleavage and AA coupling was performed following **SOP2** (see 8.2.2) and **SOP3** (see 8.2.3). The final peptide sequence was detached from the resin using TFA according to **SOP4** (see 8.2.4).

**Yield:** 0.84 g (1.40 mmol, 93%), colorless solid.

**MF:** C<sub>31</sub>H<sub>33</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>

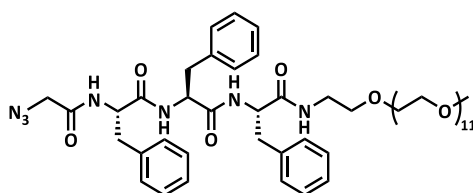
**MW:** 599.6480

[599.2492]

**TOF-MS** (ESI, neg.) m/z: 598.2420 [M-H]<sup>-</sup> (calc. 598.2419).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 12.78 (s, 1H, COOH), 8.27 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.22 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>Gly</sup>), 8.15 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.08 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 7.30 – 7.11 (m, 15H, 3 × γ-/δ-/ε-CH<sup>Phe</sup>), 4.58 – 4.42 (m, 3H, 3 × α-CH<sup>Phe</sup>), 3.84 (s, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.73 (dd, *J* = 16.7, 5.8 Hz, 1H, CH<sup>A</sup><sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.59 (dd, *J* = 16.7, 5.5 Hz, 1H, CH<sup>B</sup><sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.11 – 2.61 (m, 6H, 3 × β-CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>).

## 8.3.12 Compound III-12a



**III-8a** (170.0 mg, 0.304 mmol, 1.0 eq.), PyBOP (237.3 mg, 0.456 mmol, 1.5 eq.), HOBT (61.6 mg, 0.456 mmol, 1.5 eq.) and **III-10** (214.2 mg, 0.395 mmol, 1.3 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (2 mL). The solution was cooled to 0°C and DIPEA (77.6  $\mu$ L, 0.456 mmol, 1.5 eq.), dissolved in DMF (1 mL), was added dropwise with stirring. The reaction mixture was allowed to warm up to room temperature and was further stirred for 18 h. The solvent was evaporated, and the dry residue was taken up in a minimum amount of MeOH and subjected to SEC (LH-20, MeOH).

**Yield:** 205.8 mg (0.190 mmol, 62%), pale orange solid.

**MF:** C<sub>54</sub>H<sub>81</sub>N<sub>7</sub>O<sub>16</sub>

**MW:** 1084.2750

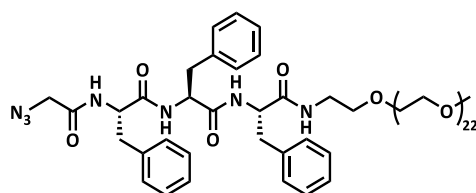
[1083.5740]

**R<sub>f</sub>:** 052 (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 9:1).

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 1122.9553 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 1122.5372).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.25 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.22 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.13 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 7.98 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, NH<sup>mPEG</sup>), 7.29 – 7.13 (m, 15H, 3  $\times$   $\gamma$ -/ $\delta$ -/ $\epsilon$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.59 – 4.47 (m, 3H, 3  $\times$   $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 3.76 – 3.64 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.54 – 3.40 (m, 46H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.26 – 3.10 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.03 – 2.62 (m, 6H, 3  $\times$   $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>).

## 8.3.13 Compound III-12b



**III-8b** (300.0 mg, 0.287 mmol, 1.0 eq.), PyBOP (224.2 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) and HOBt (58.2 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (2 mL). The solution was cooled to 0°C with an ice bath and DIPEA (73.3  $\mu$ L, 0.431 mmol, 1.5 eq.), dissolved in DMF (1 mL), was added dropwise with stirring. After 15 minutes, **III-10** (218.2 mg, 0.402 mmol, 1.4 eq.) was added in one portion. The ice bath was removed, and the reaction mixture was further stirred for 18 hours at room temperature. The solvent was evaporated, and the dry residue was taken up in a minimum amount of MeOH, subjected to SEC (LH-20, MeOH) and further purified *via* preparative RP-HPLC (8.1.4, Method B).

**Yield:** 349.2 mg (0.223 mmol, 77%), colorless solid.

**MF:** C<sub>76</sub>H<sub>125</sub>N<sub>7</sub>O<sub>27</sub>

**MW:** 1568.8580

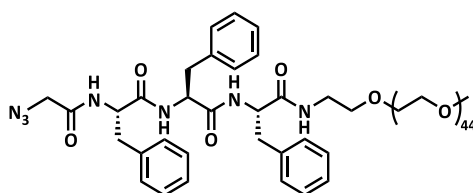
[1567.8623]

**R<sub>f</sub>:** 0.38 (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 9:1).

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA) m/z: 1605.7086 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 1606.8255)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.24 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.22 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.12 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 7.98 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, NH<sup>mPEG</sup>), 7.28 – 7.13 (m, 15H, 3  $\times$   $\gamma$ -/ $\delta$ -/ $\epsilon$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.56 – 4.48 (m, 3H, 3  $\times$   $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 3.75 – 3.64 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.55 – 3.41 (m, 90H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.26 – 3.10 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.01 – 2.63 (m, 6H, 3  $\times$   $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>).

## 8.3.14 Compound III-12c



**III-8c** (300.0 mg, 0.149 mmol, 1.0 eq.), PyBOP (117.1 mg, 0.225 mmol, 1.5 eq.) HOBT (30.4 mg, 0.225 mmol, 1.5 eq.) and **III-10** (105.3 mg, 0.194 mmol, 1.3 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (2 mL). The solution was cooled to 0°C with an ice bath and DIPEA (38.3  $\mu$ L, 0.225 mmol, 1.5 eq.), dissolved in DMF (1 mL), was added dropwise with stirring. After 15 minutes, the ice bath was removed, and the reaction mixture was further stirred for 18 hours at room temperature. The solvent was evaporated, and the dry residue was taken up in a minimum amount of MeOH and subjected to SEC (LH-20, MeOH). The product containing fractions were combined, concentrated, and freeze-dried from ultra-pure water.

**Yield:** 344.3 mg (0.136 mmol, 91%), colorless solid.

**MF:** C<sub>120</sub>H<sub>213</sub>N<sub>7</sub>O<sub>49</sub>

**MW:** 2538.0240

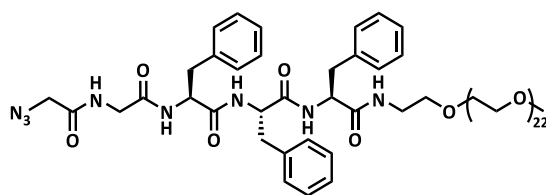
[2536.4391]

**R<sub>f</sub>:** 0.31 (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 9:1).

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA) m/z: 2574.9775 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 2575.4022)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.24 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.21 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.12 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 7.97 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>mPEG</sup>), 7.27 – 7.13 (m, 15H, 3  $\times$   $\gamma$ -/ $\delta$ -/ $\epsilon$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.57 – 4.48 (m, 3H, 3  $\times$   $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 3.75 – 3.65 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.56 – 3.41 (m, 178H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.26 – 3.10 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.01 – 2.63 (m, 6H, 3  $\times$   $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>).

## 8.3.15 Compound III-13a



**III-8b** (300.0 mg, 0.287 mmol, 1.0 eq.), PyBOP (224.2 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) HOBt (58.2 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) and **III-11** (223.9 mg, 0.373 mmol, 1.3 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (2 mL). The solution was cooled to 0°C with an ice bath and DIPEA (73.3  $\mu$ L, 0.431 mmol, 1.5 eq.), dissolved in DMF (1 mL), was added dropwise with stirring. After 15 minutes, the ice bath was removed, and the reaction mixture was further stirred for 18 hours at room temperature. The solvent was evaporated, and the dry residue was taken up in a minimum amount of MeOH, subjected to SEC (LH-20, MeOH) and further purified *via* preparative RP-HPLC (8.1.4, Method B).

**Yield:** 288.4 mg (0.177 mmol, 62%), colorless solid.

**MF:** C<sub>78</sub>H<sub>128</sub>N<sub>8</sub>O<sub>28</sub>

**MW:** 1625.9100

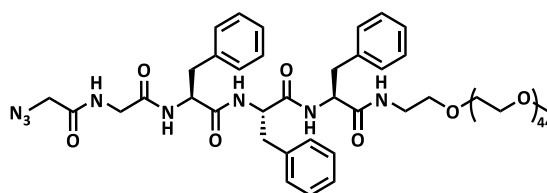
[1624.8838]

**R<sub>f</sub>:** 0.33 (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 9:1).

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA) m/z: 1646.6150 [M+Na]<sup>+</sup> (calc. 1647.8731)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.22 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>Gly</sup>), 8.15 – 8.08 (m, 3H, 3  $\times$  NH<sup>Phe</sup>), 7.97 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>mPEG</sup>), 7.28 – 7.13 (m, 15H, 3  $\times$   $\gamma$ -/ $\delta$ -/ $\epsilon$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.56 – 4.41 (m, 3H, 3  $\times$   $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 3.84 (s, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.73 (dd, *J* = 16.8, 5.7 Hz, 1H, CH<sup>A<sub>2</sub></sup><sup>Gly</sup>), 3.60 (dd, *J* = 16.8, 5.6 Hz, 1H, CH<sup>B<sub>2</sub></sup><sup>Gly</sup>), 3.59 – 3.28 (m, 88H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.27 – 3.09 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.01 – 2.63 (m, 6H, 3  $\times$   $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>).

## 8.3.16 Compound III-13b



**III-8c** (300.0 mg, 0.149 mmol, 1.0 eq.), PyBOP (117.1 mg, 0.225 mmol, 1.5 eq.) HOBT (30.4 mg, 0.225 mmol, 1.5 eq.) and **III-11** (116.9 mg, 0.195 mmol, 1.3 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (2 mL). The solution was cooled to 0°C with an ice bath and DIPEA (38.3  $\mu$ L, 0.225 mmol, 1.5 eq.), dissolved in DMF (1 mL), was added dropwise with stirring. After 15 minutes, the ice bath was removed, and the reaction mixture was further stirred for 18 hours at room temperature. The solvent was evaporated, and the dry residue was taken up in a minimum amount of MeOH and subjected to SEC (LH-20, MeOH). The product containing fractions were combined, concentrated, and freeze-dried from ultra-pure water.

**Yield:** 344.0 mg (0.133 mmol, 88%), colorless solid.

**MF:** C<sub>122</sub>H<sub>216</sub>N<sub>8</sub>O<sub>50</sub>

**MW:** 2595.0760

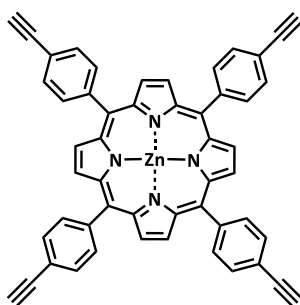
[2593.4605]

**R<sub>f</sub>:** 0.30 (SiO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>/MeOH, 9:1).

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA) m/z: 2633.4747 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 2632.4237)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.22 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>Gly</sup>), 8.16 – 8.08 (m, 3H, 3  $\times$  NH<sup>Phe</sup>), 7.96 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>mPEG</sup>), 7.28 – 7.15 (m, 15H, 3  $\times$   $\gamma$ -/ $\delta$ -/ $\epsilon$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.53 – 4.45 (m, 3H, 3  $\times$   $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 3.84 (s, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.73 (dd, *J* = 16.7, 5.8 Hz, 1H, CH<sup>A<sub>2</sub>Gly</sup>), 3.59 (dd, *J* = 16.7, 5.5 Hz, 1H, CH<sup>B<sub>2</sub>Gly</sup>), 3.59 – 3.38 (m, 178H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.26 – 3.10 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.01 – 2.63 (m, 6H, 3  $\times$   $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>).

## 8.3.17 Compound III-14



Under inert gas atmosphere, *meso*-tetra(4-ethynylphenyl) porphyrin (10.0 mg, 14.7  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was dissolved in dry DCM (2 mL).  $\text{Zn}(\text{OAc})_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$  (6.18 mg, 28.1  $\mu\text{mol}$ , 2.0 eq.) was dissolved in MeOH (1 mL) and added to the stirring porphyrin solution in one portion. Triethylamine (58.7  $\mu\text{L}$ , 422.0  $\mu\text{mol}$ , 30.0 eq.) was added and the resulting mixture was stirred for 24 hours under reflux conditions. The conversion was monitored *via* UV/Vis spectroscopy until no further changes could be observed in the Soret band region. The solvent was removed under reduced pressure and the crude was subjected two consecutive times to flash chromatography ( $\text{SiO}_2$ , DCM/*n*-hexane, 3:2). The first purple fractions were collected, and the solvent evaporated to give a metallic solid.

**Yield:** 6.1 mg (7.9  $\mu\text{mol}$ , 56%), purple solid.

**MF:**  $\text{C}_{52}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{Zn}$

**MW:** 774.2040

[772.1605]

**R<sub>f</sub>:** 0.28 ( $\text{SiO}_2$ , DCM/*n*-hexane, 3:2).

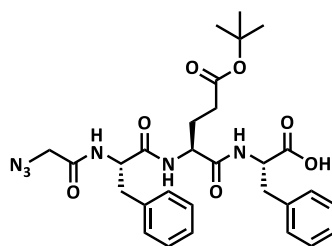
**TOF-MS** (MALDI, RP) (DCTB) *m/z*: 773.3303 [ $\text{M}+\text{K}$ ]<sup>+</sup> (calc. 773.1678).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.80 (s, 8H,  $\text{CH}^{\text{B-pyr}}$ ), 8.20 – 8.16 (m, 8H,  $\text{CH}^{\text{Aryl}}$ ), 7.92 – 7.87 (m, 8H,  $\text{CH}^{\text{Aryl}}$ ), 4.45 (s, 4H, 4  $\times$   $\text{C}\equiv\text{CH}$ ).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]): 430 (1.00) Soret, 560 (0.04)  $\text{Q}_{\alpha}$ , 603 (0.02)  $\text{Q}_{\beta}$ .



## 8.4.2 Compound IV-2



**Fmoc-L-Phe** (1.17 g, 3.02 mmol, 2.0 eq.) was coupled as the first AA to the 2-chlorotrityl chloride resin (1.00 g, 1.51 mmol, 1.0 eq.) according to **SOP1** (see 8.2.1). Successive Fmoc cleavage and AA coupling was performed following **SOP2** (see 8.2.2) and **SOP3** (see 8.2.3). The final peptide sequence was detached from the resin using TFE according to **SOP5** (see 8.2.5).

**Yield:** 0.76 g (1.31 mmol, 87%), colorless solid.

**MF:** C<sub>29</sub>H<sub>36</sub>N<sub>6</sub>O<sub>7</sub>

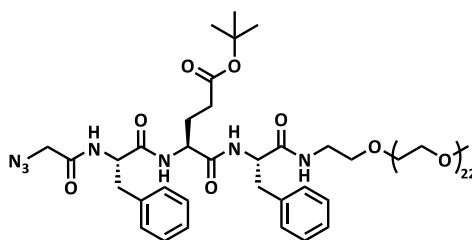
**MW:** 580.6420

[580.2645]

**TOF-MS** (ESI, neg.) m/z: 579.2557 [M-H]<sup>-</sup> (calc. 579.2573).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 12.79 (s, 1H, COOH), 8.31 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.23 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, NH<sup>Glu</sup>), 8.15 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 7.31 – 7.11 (m, 10H, 2 × γ-/δ-/ε-CH<sup>Phe</sup>), 4.63 – 4.53 (m, 1H, α-CH<sup>Phe</sup>), 4.49 – 4.39 (m, 1H, α-CH<sup>Phe</sup>), 4.35 – 4.25 (m, 1H, α-CH<sup>Glu</sup>), 3.82 – 3.68 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.11 – 2.67 (m, 4H, 2 × β-CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>), 2.25 – 2.12 (m, 2H, γ-CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.92 – 1.80 (m, 1H, β-CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.80 – 1.65 (m, 1H, β-CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.40 (s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>).

## 8.4.3 Compound IV-3



**III-8b** (250.0 mg, 0.239 mmol, 1.0 eq.), PyBOP (186.9 mg, 0.359 mmol, 1.5 eq.), HOBT (48.5 mg, 0.359 mmol, 1.5 eq.) and **IV-2** (208.5 mg, 0.359 mmol, 1.5 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (2 mL). The solution was cooled to 0°C and DIPEA (61.1  $\mu$ L, 0.359 mmol, 1.5 eq.), dissolved in DMF (1 mL), was added dropwise with stirring. The reaction mixture was allowed to warm up to room temperature and was further stirred for 18 h. The solvent was evaporated, and the dry residue was taken up in a minimum amount of MeOH and subjected to SEC (LH-20, MeOH) and further purified *via* preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method B).

**Yield:** 233.1 mg (0.145 mmol, 61%), colorless solid.

**MF:** C<sub>76</sub>H<sub>131</sub>N<sub>7</sub>O<sub>29</sub>

**MW:** 1606.9040

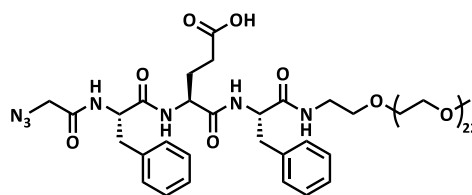
[1605.8991]

**R<sub>f</sub>:** 0.61 (SiO<sub>2</sub>, DCM/MeOH, 9:1).

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 1644.8690 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 1644.8623).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.31 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.25 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, NH<sup>Glu</sup>), 8.05 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>mPEG</sup>), 7.90 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 7.26 – 7.13 (m, 10H, 2 x  $\gamma$ -/ $\delta$ -/ $\epsilon$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.61 – 4.53 (m, 1H,  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.52 – 4.45 (m, 1H,  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.27 – 4.19 (m, 1H,  $\alpha$ -CH<sup>Glu</sup>), 3.80 – 3.69 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.54 – 3.40 (m, 90H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.26 – 3.09 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.00 – 2.68 (m, 4H, 2 x  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>), 2.19 – 2.12 (m, 2H,  $\gamma$ -CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.88 – 1.77 (m, 1H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.75 – 1.64 (m, 1H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.40 (s, 9H, CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>).

## 8.4.4 Compound IV-4



**IV-3** (200.0 mg, 0.124 mmol, 1.0 eq.) was treated with a mixture for cleavage of *t*Bu groups as described in **SOP7** (see 8.2.7). Additionally, the crude was taken up in a minimum amount of DCM and precipitated from cold ether (500 mL) with excessive stirring. The product was isolated *via* filtration, washed with cold ether (3 x 50 mL) and freeze dried from ultra-pure water.

**Yield:** 179.0 mg (0.115 mmol, 93%), colorless solid.

**MF:** C<sub>76</sub>H<sub>123</sub>N<sub>7</sub>O<sub>29</sub>

**MW:** 1550.7960

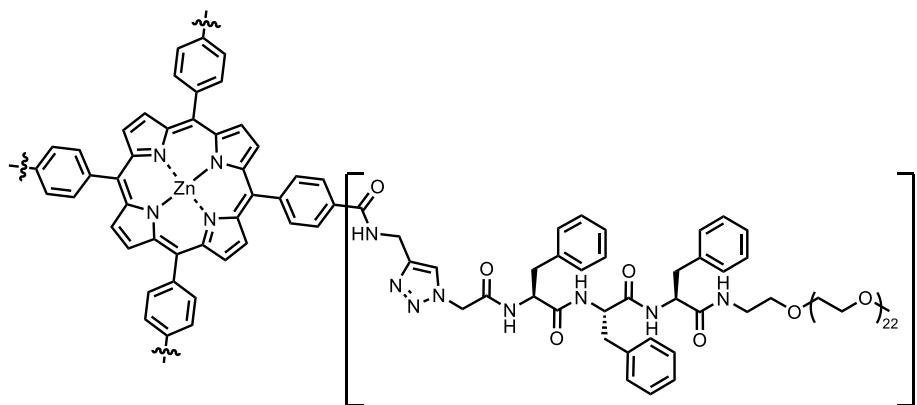
[1549.8365]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) *m/z*: 1588.7027 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 1588.7997).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 12.02 (s, 1H, COOH), 8.31 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.26 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, NH<sup>Glu</sup>), 8.05 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>mPEG</sup>), 7.94 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 7.28 – 7.12 (m, 10H, 2 x γ-/δ-/ε-CH<sup>Phe</sup>), 4.61 – 4.53 (m, 1H, α-CH<sup>Phe</sup>), 4.52 – 4.45 (m, 1H, α-CH<sup>Phe</sup>), 4.27 – 4.20 (m, 1H, α-CH<sup>Glu</sup>), 3.81 – 3.69 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.54 – 3.40 (m, 90H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.27 – 3.09 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.01 – 2.67 (m, 4H, 2 x β-CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>), 2.22 – 2.15 (m, 2H, γ-CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.91 – 1.80 (m, 1H, β-CH<sub>A2</sub><sup>Glu</sup>), 1.78 – 1.67 (m, 1H, β-CH<sub>B2</sub><sup>Glu</sup>).

## 8.5 Synthetic Procedures of Chapter 5

### 8.5.1 Compound V-1



**V-6** (10.0 mg, 10.0  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) as the alkyne-functionalized compound was coupled to **III-12b** (86.1 mg, 55.9  $\mu\text{mol}$ , 5.5 eq.) according to **SOP6** (see 8.2.6) for CuAAC. The crude was taken up in a minimum amount of ultra-pure water and acetonitrile (1:1) and subjected to preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method C).

**Yield:** 17.4 mg (0.002 mmol, 20%), purple solid.

**MF:** C<sub>364</sub>H<sub>540</sub>N<sub>36</sub>O<sub>112</sub>Zn

**MW:** 7277.8440

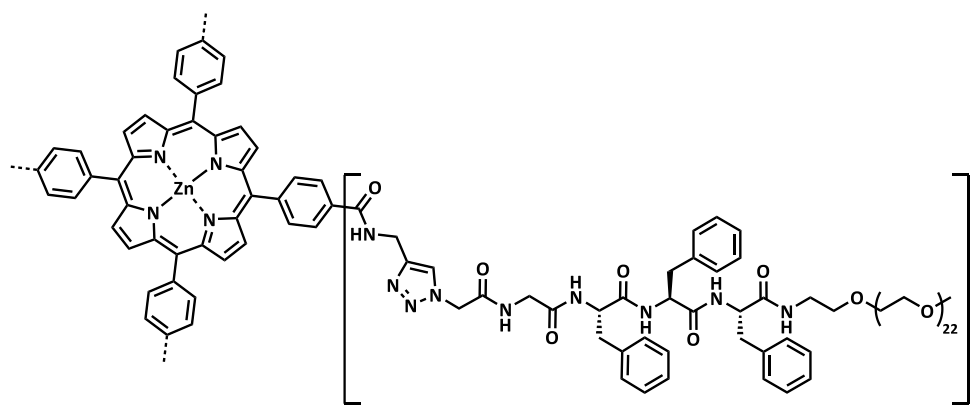
[7271.6958]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA) *m/z*: 7315.3174 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 7313.6690).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 9.39 (t, *J* = 5.7 Hz, 4H, 4 x NHCH<sub>2</sub>Trz), 8.77 (s, 8H, 8 x CH <sup>$\beta$</sup> -pyrrolic), 8.53 (d, *J* = 8.4 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Phe</sup>), 8.37 – 8.22 (m, 20H, 16 x CH<sup>Ar</sup>, 4 x NH<sup>Phe</sup>), 8.14 (d, *J* = 8.0 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Phe</sup>), 7.98 (t, *J* = 5.7 Hz, 4H, 4 x NH<sup>mPEG</sup>), 7.89 (s, 4H, 4 x CH<sup>Trz</sup>), 7.29 – 7.10 (m, 60H, 4 x 3 x  $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ -CH<sup>Phe</sup>), 5.15 – 4.95 (m, 8H, 4 x NHCH<sub>2</sub>Trz), 4.67 (bs, 8H, 4 x TrzCH<sub>2</sub>), 4.63 – 4.46 (m, 12H, 4 x 3 x  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 3.55 – 3.28 (m, 360H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.25 – 3.10 (m, 8H, 4 x NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.22 (s, 12H, 4 x CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.03 – 2.65 (m, 24H, 4 x 3 x CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] (*I*<sub>rel</sub>[a.u.]): 429 (1.00) SORET, 561 (0.04) Q <sub>$\alpha$</sub> , 601 (0.02) Q <sub>$\beta$</sub> .

## 8.5.2 Compound V-2



**V-6** (10.0 mg, 10.0  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) as the alkyne-functionalized compound was coupled to **III-13a** (89.2 mg, 54.9  $\mu\text{mol}$ , 5.5 eq.) according to **SOP6** (see 8.2.6) for CuAAC. The crude was taken up in a minimum amount of ultra-pure water and acetonitrile (1:1) and subjected to preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method C).

**Yield:** 12.7 mg (1.7  $\mu\text{mol}$ , 17%), purple solid.

**MF:**  $\text{C}_{372}\text{H}_{552}\text{N}_{40}\text{O}_{116}\text{Zn}$

**MW:** 7506.0520

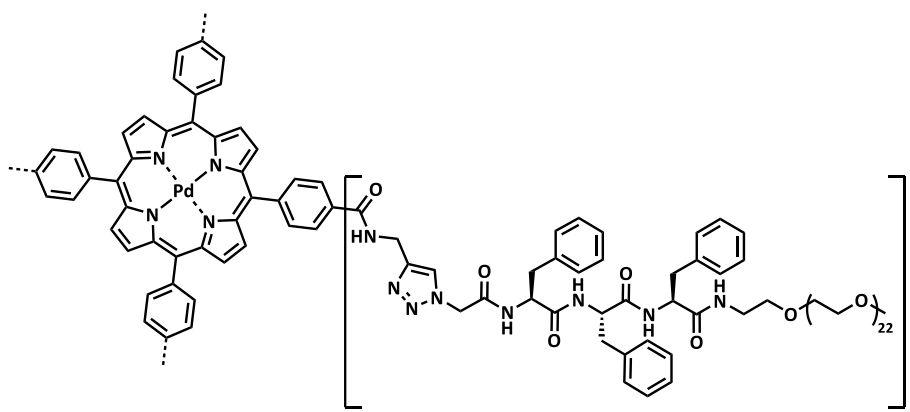
[7499.7816]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA)  $m/z$ : 7544.9254  $[\text{M}+\text{K}]^+$  (calc. 7541.7549).

**$^1\text{H}$  NMR** (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 9.41 (t,  $J = 5.4$  Hz, 4H, 4  $\times$   $\text{NHCH}_2\text{Trz}$ ), 8.78 (s, 8H, 8  $\times$   $\text{CH}^\beta\text{-pyrrolic}$ ), 8.49 (t,  $J = 5.5$  Hz, 4H, 4  $\times$   $\text{NH}^{\text{Gly}}$ ), 8.33 – 8.22 (m, 16H, 16  $\times$   $\text{CH}^{\text{Ar}}$ ), 8.19 – 8.14 (m, 8H, 4  $\times$  2  $\times$   $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.11 (d,  $J = 8.1$  Hz, 4H, 4  $\times$   $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.06 (s, 4H, 4  $\times$   $\text{CH}^{\text{Trz}}$ ), 7.97 (t,  $J = 5.7$  Hz, 4H, 4  $\times$   $\text{NH}^{\text{mPEG}}$ ), 7.27 – 7.10 (m, 60H, 4  $\times$  3  $\times$   $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 5.17 (s, 8H, 4  $\times$   $\text{TrzCH}_2$ ), 4.69 (bs, 8H, 4  $\times$   $\text{NHCH}_2\text{Trz}$ ), 4.57 – 4.45 (m, 12H, 4  $\times$  3  $\times$   $\alpha$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 3.83 – 3.61 (m, 8H, 4  $\times$   $\text{CH}_2^{\text{Gly}}$ ), 3.54 – 3.30 (m, 360H,  $\text{CH}_2\text{O}^{\text{mPEG}}/\text{OCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.25 – 3.09 (m, 8H, 4  $\times$   $\text{NHCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.23 (s, 12H, 4  $\times$   $\text{CH}_3^{\text{mPEG}}$ ), 3.03 – 2.61 (m, 24H, 4  $\times$  3  $\times$   $\text{CH}_2^{\text{Phe}}$ ).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]): 429 (1.00) SORET, 560 (0.04)  $\text{Q}_\alpha$ , 600 (0.03)  $\text{Q}_\beta$ .

## 8.5.3 Compound V-3



**V-9** (12.0 mg, 11.5  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) as the alkyne-functionalized compound was coupled to **III-12b** (108.3 mg, 69.0  $\mu\text{mol}$ , 5.5 eq.) according to **SOP6** (see 8.2.6) for CuAAC. The crude was taken up in a minimum amount of ultra-pure water and acetonitrile (1:1) and subjected to preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method C).

**Yield:** 63.6 mg (8.7  $\mu\text{mol}$ , 76%), bright red solid.

**MF:**  $\text{C}_{364}\text{H}_{540}\text{N}_{36}\text{O}_{112}\text{Pd}$

**MW:** 7318.8840

[7313.6701]

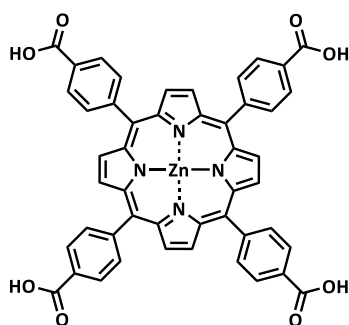
**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA)  $m/z$ : 7357.3675  $[\text{M}+\text{K}]^+$  (calc. 7355.6434).

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ , 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 9.42 (t,  $J = 5.1$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NHCH}_2\text{Trz}$ ), 8.80 (s, 8H, 8 x  $\text{CH}^\beta\text{-pyrrolic}$ ), 8.52 (d,  $J = 8.4$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.36 – 8.22 (m, 20H, 16 x  $\text{CH}^{\text{Ar}}$ , 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.14 (d,  $J = 8.1$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 7.97 (t,  $J = 5.7$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{mPEG}}$ ), 7.89 (s, 4H, 4 x  $\text{CH}^{\text{Trz}}$ ), 7.28 – 7.10 (m, 60H, 4 x 3 x  $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 5.13 – 4.96 (m, 8H, 4 x  $\text{NHCH}_2\text{Trz}$ ), 4.66 (bs, 8H, 4 x  $\text{TrzCH}_2$ ), 4.60 – 4.47 (m, 12H, 4 x 3 x  $\alpha$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 3.57 – 3.28 (m, 360H,  $\text{CH}_2\text{O}^{\text{mPEG}}/\text{OCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.24 – 3.08 (m, 8H, 4 x  $\text{NHCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.22 (s, 12H, 4 x  $\text{CH}_3^{\text{mPEG}}$ ), 3.03 – 2.64 (m, 24H, 4 x 3 x  $\text{CH}_2^{\text{Phe}}$ ).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]): 418 (1.00) SORET, 524 (0.09)  $\text{Q}_\alpha$ .



## 8.5.5 Compound V-5



*Meso*-(4-carboxylphenyl) porphyrin (**H<sub>2</sub>TCPP**) (303.7 mg, 0.384 mmol, 1.0 eq.) and Zn(OAc)<sub>2</sub> × 2 H<sub>2</sub>O (458.9 mg, 2.091 mmol, 5.5 eq.) were refluxed in DMF (15 mL) for 12 h. The conversion was monitored *via* UV/Vis spectroscopy until no further changes could be observed in the Soret band region. The solvent was removed under reduced pressure and the crude was taken up in ultra-pure water (10 mL) and dissolved by adding NaOH (1 M). The metalloporphyrin was recrystallized by the dropwise addition of HCl (1 M) and isolated *via* centrifugation. Lyophilization from ultra-pure water gave a metallic purple solid.

**Yield:** 291.8 mg (0.342 mmol, 90%), purple solid.

**MF:** C<sub>48</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>Zn

**MW:** 854.1920

[852.1199]

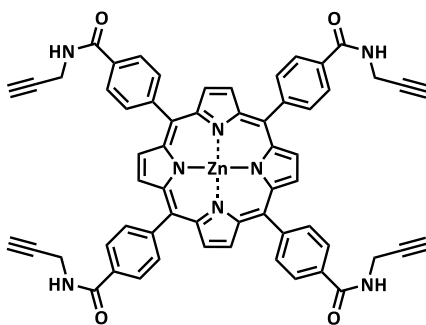
**TOF-MS** (MALDI, RP) (DCTB) m/z: 853.4775 [M+H]<sup>+</sup> (calc. 853.1272).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 13.25 (s, 4H, COOH), 8.81 (s, 8H, CH<sup>β</sup>-pyrrolic), 8.40 – 8.35 (m, 8H, CH<sup>Ar</sup>), 8.34 – 8.29 (m, 8H, CH<sup>Ar</sup>).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 296 K, HSQC, HMBC) δ/ppm: 168.1, 149.5, 147.6, 134.9, 132.3, 130.4, 128.0, 120.1.

**UV/Vis** (DMF) λ [nm] (*I*<sub>rel</sub>[a.u.]): 428 (1.00) Soret, 559 (0.05) Q<sub>α</sub>, 599 (0.02) Q<sub>β</sub>.

## 8.5.6 Compound V-6



V-5 (52.2 mg, 0.051 mmol, 1.0 eq.) and PyAOP (212.7 mg, 0.408 mmol, 8.0 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (1 mL) and cooled to 0°C. DIPEA (130.1  $\mu$ L, 0.765 mmol, 15.0 eq.) was added dropwise, resulting in a turbid mixture. Propargylamine (48.6  $\mu$ L, 0.765 mmol, 15.0 eq.) was added in one portion, yielding a clear purple solution. The mixture was stirred for 24 h at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure and the crude was subjected to RP-MPLC (see 8.1.5). Removal of the solvent and subsequent lyophilization from ultra-pure water gave a purple solid.

**Yield:** 32.6 mg (0.032 mmol, 53%), purple solid.

**MF:** C<sub>60</sub>H<sub>40</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>Zn

**MW:** 1002.4120

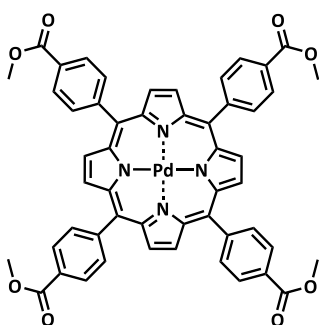
[1000.2464]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA) *m/z*: 1001.6001 [M+H]<sup>+</sup> (calc. 1001.2537).

**<sup>1</sup>H NMR** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 9.31 (t, *J* = 5.6 Hz, 4H, NH), 8.81 (s, 8H, CH <sup>$\beta$</sup> -pyrrolic), 8.30 (s, 16H, CH<sup>Ar</sup>), 4.24 (dd, *J* = 5.7, 2.5 Hz, 8H, CH<sub>2</sub>), 3.23 (t, *J* = 2.5 Hz, 4H, C $\equiv$ CH).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] (*I*<sub>rel</sub>[a.u.]): 428 (1.00) SORET, 560 (0.05) Q <sub>$\alpha$</sub> , 600 (0.02) Q <sub>$\beta$</sub> .

## 8.5.7 Compound V-7



*Meso*-(4-methoxycarbonylphenyl) porphyrin (**H<sub>2</sub>TMCPP**) (495.2 mg, 0.585 mmol, 1.0 eq) and Pd(OAc)<sub>2</sub> (267.9 mg, 1.169 mmol, 2.0 eq) were suspended in freshly distilled PhCN (15 mL) and refluxed for 1 h under an argon atmosphere. The conversion was monitored *via* UV/Vis spectroscopy until no further changes could be observed in the Soret band region. The solvent was evaporated under reduced pressure and the residue was taken up in DCM/CHCl<sub>3</sub> (1/1) and filtrated over Celite®. The liquid was evaporated, and the dark red solid was adsorbed onto silica in DCM and further purified *via* flash chromatography (solvent-gradient: DCM → DCM/CHCl<sub>3</sub> (1/1)). The first dark red fraction was collected, and the solvent was removed under reduced pressure.

**Yield:** 265.3 mg (0.279 mmol, 48%), dark red solid.

**MF:** C<sub>52</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>Pd

**MW:** 951.3000

[950.1568]

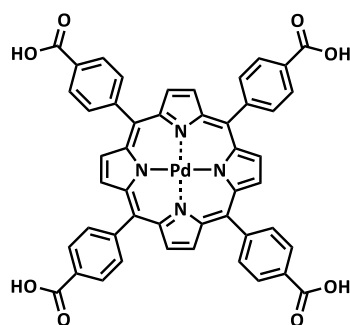
**R<sub>f</sub>:** 0.71 (CHCl<sub>3</sub> + 3% THF)

**TOF-MS** (MALDI, RP) (DCTB) m/z: 951.2560 [M+H]<sup>+</sup> (calc. 951.1641).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 8.78 (s, 8H, CH<sup>β</sup>-pyrrolic), 8.47 – 8.40 (m, 8H, CH<sup>Ar</sup>), 8.29 – 8.21 (m, 8H, CH<sup>Ar</sup>), 4.11 (s, 12H, CH<sub>3</sub>).

**UV/Vis** (DMF) λ [nm] (*I*<sub>rel</sub>[a.u.]): 418 (1.00) Soret, 525 (0.09) Q<sub>α</sub>.

## 8.5.8 Compound V-8



V-7 (171.1 mg, 0.192 mmol, 1.0 eq.) was suspended in a mixture of THF and MeOH (1:1, 10 mL). Aqueous KOH (2 M, 1 mL) was added, and the suspension was refluxed for 18 hours at 85°C. The liquid was evaporated, and the residue was taken up in aqueous NaOH (1 M). The product was recrystallized by the dropwise addition of aqueous HCl (1 M) and isolated *via* centrifugation. Washing with water and subsequent lyophilization from ultra-pure water gave a red metallic solid.

**Yield:** 139.8 mg (0.156 mmol, 81%), bright red solid.

**MF:** C<sub>48</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>Pd

**MW:** 895.1929

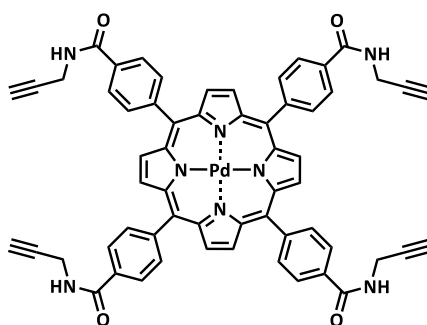
[894.0942]

**TOF-MS** (MALDI, RP) (DCTB) m/z: 895.1623 [M+H]<sup>+</sup> (calc. 895.1015).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 13.31 (s, 4H, COOH), 8.80 (s, 8H, CH<sup>B</sup>-pyrrolic), 8.38 – 8.34 (m, 8H, CH<sup>A</sup>), 8.31 – 8.25 (m, 8H, CH<sup>A</sup>).

**UV/Vis** (DMF) λ [nm] (*I*<sub>rel</sub>[a.u.]): 419 (1.00) Soret, 526 (0.10) Q<sub>α</sub>.

## 8.5.9 Compound V-9



**V-8** (100.0 mg, 0.112 mmol, 1.0 eq.) and PyAOP (465.9 mg, 0.894 mmol, 8.0 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (1 mL) and cooled to 0°C. DIPEA (285.0  $\mu$ L, 1.676 mmol, 15.0 eq.) was added dropwise, resulting in a turbid mixture. Propargyl amine (106.5  $\mu$ L, 1.676 mmol, 15.0 eq.) was added in one portion, yielding a clear red solution. The mixture was stirred for 24 h at room temperature. The solvent was removed under reduced pressure and the residue was washed excessively with MeOH (200 mL). Lyophilization from ultra-pure water gave a dark red powder.

**Yield:** 106.3 mg (0.102 mmol, 91%), dark red solid.

**MF:** C<sub>60</sub>H<sub>40</sub>N<sub>8</sub>O<sub>4</sub>Pd

**MW:** 1043.4520

[1042.2207]

**TOF-MS** (MALDI, RP) (DCTB+KTFA) m/z: 1043.1766 [M+H]<sup>+</sup> (calc. 1043.2281).

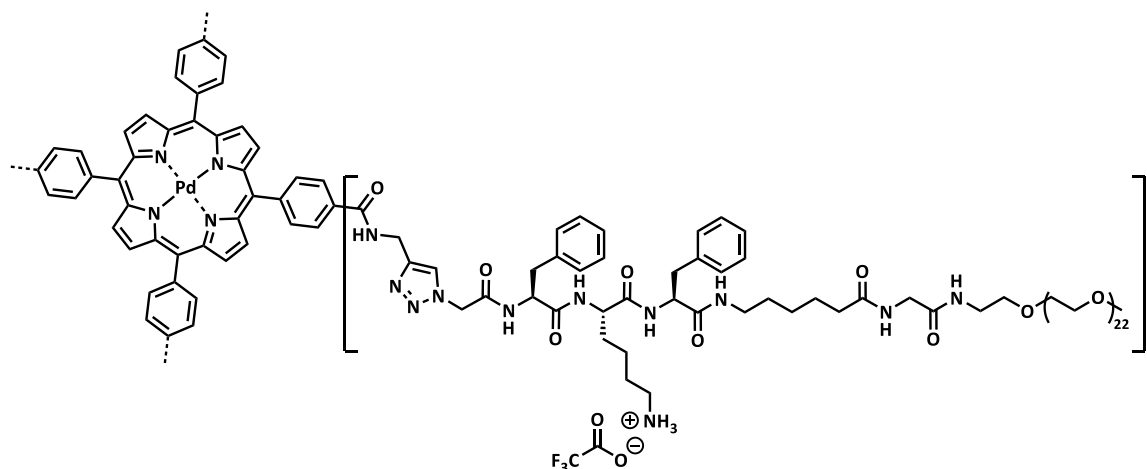
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 9.32 (t, *J* = 5.6 Hz, 4H, NH), 8.82 (s, 8H, CH <sup>$\beta$</sup> -pyrrolic), 8.29 (s, 16H, CH<sup>Ar</sup>), 4.24 (dd, *J* = 5.8, 2.5 Hz, 8H, CH<sub>2</sub>), 3.23 (t, *J* = 2.5 Hz, 4H, C $\equiv$ CH).

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, HSQC, HMBC)  $\delta$ /ppm: 166.4, 144.1, 141.1, 134.3, 134.0, 131.9, 126.5, 121.6, 81.9, 73.5, 29.2.

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] (*I*<sub>rel</sub>[a.u.]): 418 (1.00) SORET, 524 (0.09) Q <sub>$\alpha$</sub> .

## 8.6 Synthetic Procedures of Chapter 6

### 8.6.1 Compound VI-1



**VI-9** (90.0 mg, 10.8  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was treated with a mixture of reagents for cleavage of Boc-/ *t*Bu groups, as described in **SOP7** (see 8.2.7). The crude was taken up in a minimum amount of ultra-pure water and acetonitrile (1:1) and subjected to preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method C).

**Yield:** 53.9 mg (6.4  $\mu\text{mol}$ , 59%), bright red solid.

**MF:** C<sub>384</sub>H<sub>608</sub>N<sub>48</sub>O<sub>120</sub>Pd

**MW:** 7923.7240

[7918.1984]

**MW:** 8379.8168

[8374.1699]

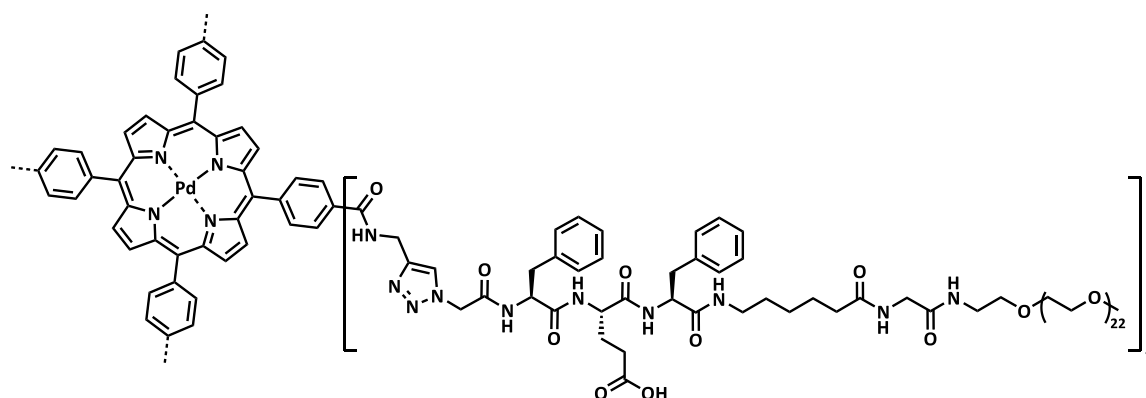
(TFA salt)

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA) *m/z*: 7944.4236 [M+Na]<sup>+</sup> (calc. 7945.2011).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 9.43 (t, *J* = 5.3 Hz, 4H, 4 x NHCH<sub>2</sub>Trz), 8.80 (s, 8H, CH <sup>$\beta$</sup> -pyrrolic), 8.63 (d, *J* = 8.1 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Phe</sup>), 8.36 – 8.23 (m, 20H, 16 x CH<sup>Ar</sup>, 4 x NH<sup>Lys</sup>), 8.01 – 7.92 (m, 12H, 4 x NH<sup>Ahx</sup>, 4 x NH<sup>Gly</sup>, 4 x NH<sup>Phe</sup>), 7.92 (s, 4H, 4 x CH<sup>Trz</sup>), 7.88 (t, *J* = 5.6 Hz, 4H, 4 x NH<sup>mPEG</sup>), 7.67 (bs, 12H, 4 x NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 7.28 – 7.14 (m, 40H, 4 x 2 x  $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ -CH<sup>Phe</sup>), 5.18 – 5.00 (m, 8H, 4 x TrzCH<sub>2</sub>), 4.66 (bs, 8H, 4 x NHCH<sub>2</sub>Trz), 4.65 – 4.56 (m, 4H, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.52 – 4.44 (m, 4H, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.30 – 4.21 (m, 4H, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Lys</sup>), 3.65 (d, *J* = 5.8 Hz, 8H, 4 x CH<sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.53 – 3.29 (m, 360H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.25 – 3.17 (m, 8H, 4 x NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.23 (s, 12H, 4 x CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.10 – 2.69 (m, 32H, 4 x  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, 4 x  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>, 4 x 2 x CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>), 2.09 (t, *J* = 7.5 Hz, 8H, 4 x  $\alpha$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.74 – 1.16 (m, 48H, 4 x  $\beta$ -/ $\gamma$ -/ $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, 4 x  $\beta$ -/ $\gamma$ -/ $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] (*I*<sub>rel</sub>[a.u.]): 418 (1.00) SORET, 524 (0.09) Q <sub>$\alpha$</sub> .

## 8.6.2 Compound VI-2



**VI-10** (90.6 mg, 11.1  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was treated with a mixture for cleavage of Boc-/ *t*Bu groups as described in **SOP7** (see 8.2.7). The crude was taken up in a minimum amount of ultra-pure water and acetonitrile (1:1) and subjected to preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method C).

**Yield:** 22.9 mg (2.9  $\mu\text{mol}$ , 26%), bright red solid.

**MF:**  $\text{C}_{380}\text{H}_{588}\text{N}_{44}\text{O}_{128}\text{Pd}$

**MW:** 7927.4840

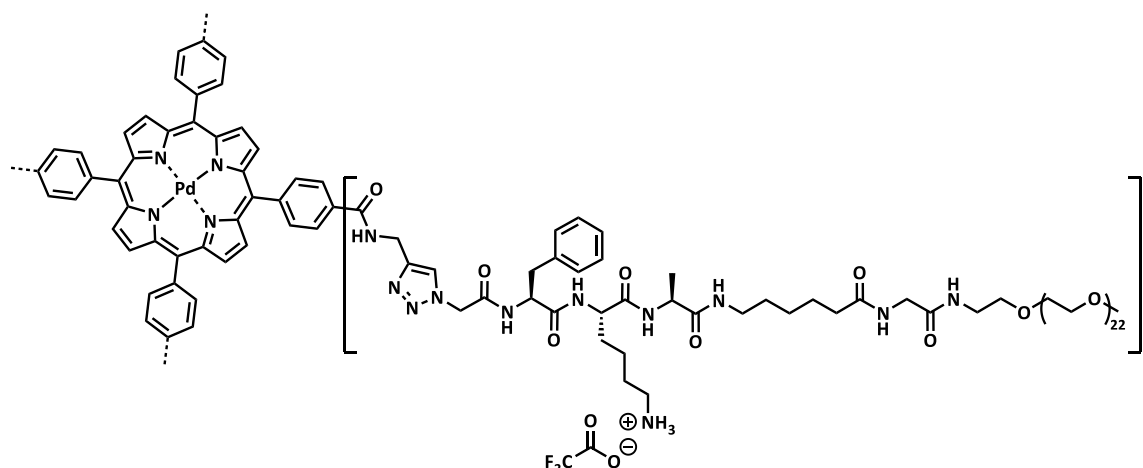
[7921.9889]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA)  $m/z$ : 7924.5330  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (calc. 7926.0063).

$^1\text{H NMR}$  (600 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ , 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 12.14 (s, 4H, 4 x COOH), 9.43 (t,  $J = 5.7$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NHCH}_2^{\text{Trz}}$ ), 8.80 (s, 8H,  $\text{CH}^{\beta\text{-pyrrolic}}$ ), 8.63 (d,  $J = 8.2$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.35 (d,  $J = 7.8$  Hz, 4 x  $\text{NH}^{\text{Glu}}$ ), 8.33 – 8.25 (m, 16H, 16 x  $\text{CH}^{\text{Ar}}$ ), 8.00 – 7.95 (m, 8H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Gly}}$ , 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 7.94 – 7.89 (m, 8H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ , 4 x  $\text{CH}^{\text{Trz}}$ ), 7.87 (t, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Ahx}}$ ), 7.28 – 7.13 (m, 40H, 4 x 2 x  $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 5.20 – 4.98 (m, 8H, 4 x  $\text{TrzCH}_2$ ), 4.75 – 4.57 (m, 12H, 4 x  $\text{NHCH}_2^{\text{Trz}}$ , 4 x  $\alpha$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 4.51 – 4.41 (m, 4H, 4 x  $\alpha$ - $\text{CH}^{\text{Phe}}$ ), 4.31 – 4.22 (m, 4H, 4 x  $\alpha$ - $\text{CH}^{\text{Glu}}$ ), 3.64 (d,  $J = 5.8$  Hz, 8H, 4 x  $\text{CH}_2^{\text{Gly}}$ ), 3.55 – 3.39 (m, 360H,  $\text{CH}_2\text{O}^{\text{mPEG}}/\text{OCH}_2\text{mPEG}$ ), 3.24 – 3.16 (m, 8H, 4 x  $\text{NHCH}_2\text{mPEG}$ ), 3.22 (s, 12H, 4 x  $\text{CH}_3\text{mPEG}$ ), 3.08 – 2.89 (m, 16H, 4 x  $\epsilon$ - $\text{CH}_2^{\text{Ahx}}$ , 4 x  $\text{CH}_2^{\text{Phe}}$ ), 2.82 (dd,  $J = 13.7, 8.3$  Hz, 4H, 4 x  $\text{CH}^{\text{A}_2\text{Phe}}$ ), 2.74 (dd,  $J = 13.8, 9.7$  Hz, 4H, 4 x  $\text{CH}^{\text{B}_2\text{Phe}}$ ), 2.23 – 2.14 (m, 8H, 4 x  $\gamma$ - $\text{CH}_2^{\text{Glu}}$ ), 2.08 (t,  $J = 7.6$  Hz, 8H, 4 x  $\alpha$ - $\text{CH}_2^{\text{Ahx}}$ ), 1.90 – 1.81 (m, 4H, 4 x  $\beta$ - $\text{CH}^{\text{A}_2\text{Glu}}$ ), 1.77 – 1.69 (m, 4H, 4 x  $\beta$ - $\text{CH}^{\text{B}_2\text{Glu}}$ ), 1.47 – 1.39 (m, 8H, 4 x  $\beta$ - $\text{CH}_2^{\text{Ahx}}$ ), 1.34 – 1.26 (m, 8H, 4 x  $\gamma$ - $\text{CH}_2^{\text{Ahx}}$ ), 1.19 – 1.10 (m, 8H, 4 x  $\delta$ - $\text{CH}_2^{\text{Ahx}}$ ).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]): 418 (1.00) SORET, 523 (0.10)  $\text{Q}_\alpha$ .

## 8.6.3 Compound VI-3



VI-15 (83.2 mg, 10.4  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was treated with a mixture for cleavage of Boc-/ *t*Bu groups as described in SOP7 (see 8.2.7). The crude was taken up in a minimum amount of ultra-pure water and acetonitrile (1:1) and subjected to preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method C).

**Yield:** 57.8 mg ( 7.2 $\mu\text{mol}$ , 69%), bright red solid.

**MF:** C<sub>360</sub>H<sub>592</sub>N<sub>48</sub>O<sub>120</sub>Pd

**MW:** 7619.3320

[7614.0732]

**MW:** 8075.4248

[8070.0447]

(TFA salt)

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA)  $m/z$ : 7641.7039 [M+Na]<sup>+</sup> (calc. 7640.0725).

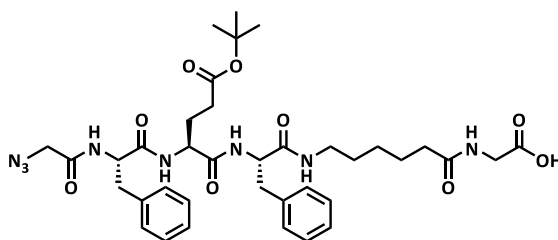
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 9.43 (t,  $J$  = 5.0 Hz, 4H, NHCH<sub>2</sub>Trz), 8.80 (s, 8H, 8 x CH <sup>$\beta$</sup> -pyrolic), 8.63 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Phe</sup>), 8.38 – 8.25 (m, 20H, 16 x CH<sup>Ar</sup>, 4 x NH<sup>Lys</sup>), 8.00 – 7.92 (m, 8H, 4 x NH<sup>Ala</sup>, 4 x NH<sup>Gly</sup>), 7.92 (s, 4H, 4 x CH<sup>Trz</sup>), 7.90 – 7.84 (m, 8H, 4 x NH<sup>Ahx</sup>, 4 x NH<sup>mPEG</sup>), 7.65 (s, 12H, 4 x NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 7.31 – 7.16 (m, 20H, 4 x  $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ -CH<sup>Phe</sup>), 5.20 – 5.01 (m, 8H, 4 x TrzCH<sub>2</sub>), 4.74 – 4.57 (m, 12H, 4 x NHCH<sub>2</sub>Trz, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.32 – 4.17 (m, 8H, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Lys</sup>, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Ala</sup>), 3.64 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 8H, 4 x CH<sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.56 – 3.36 (m, 360H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.24 – 3.17 (m, 8H, 4 x NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.23 (s, 12H, 4 x CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.12 – 2.92 (m, 12H, 4 x  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, 4 x  $\beta$ -CH<sup>A<sub>2</sub>Phe</sup>), 2.84 – 2.71 (m, 12H, 4 x  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>, 4 x  $\beta$ -CH<sup>B<sub>2</sub>Phe</sup>), 2.10 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 8H, 4 x  $\alpha$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.74 – 1.16 (m, 48H, 4 x  $\beta$ -/ $\gamma$ -/ $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, 4 x  $\beta$ -/ $\gamma$ -/ $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>), 1.20 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 12H, 4 x CH<sub>3</sub><sup>Ala</sup>).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]): 418 (1.00) SORET, 523 (0.09) Q <sub>$\alpha$</sub> .





## 8.6.6 Compound VI-6



**Fmoc-L-Gly** (0.90 g, 3.02 mmol, 2.0 eq.) was coupled as the first AA to the 2-chlorotrityl chloride resin (1.00 g, 1.51 mmol, 1.0 eq.) according to **SOP1** (see 8.2.1). Successive Fmoc cleavage and AA coupling was performed following **SOP2** (see 8.2.2) and **SOP3** (see 8.2.3). The final peptide sequence was detached from the resin using TFE according to **SOP5** (see 8.2.5).

**Yield:** 0.95 g (1.27 mmol, 84%), colorless solid.

**MF:** C<sub>37</sub>H<sub>50</sub>N<sub>8</sub>O<sub>9</sub>

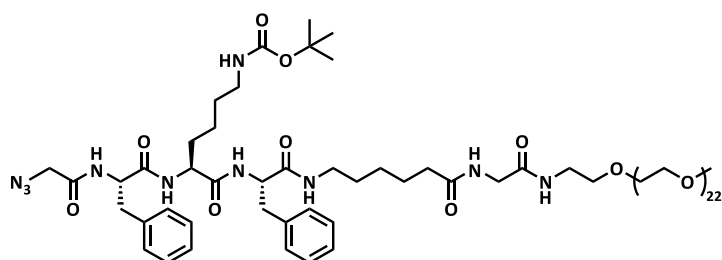
**MW:** 750.8540

[750.3701]

**TOF-MS** (ESI, neg.) m/z: 749.3641 [M-H]<sup>-</sup> (calc. 749.3628).

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 12.46 (s, 1H, COOH), 8.33 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.30 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, NH<sup>Glu</sup>), 8.08 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H, NH<sup>Gly</sup>), 7.95 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 7.89 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>Ahx</sup>), 7.29 – 7.11 (m, 10H, 2 × δ-/ε-/ζ-CH<sup>Phe</sup>), 4.63 – 4.53 (m, 1H, α-CH<sup>Phe</sup>), 4.51 – 4.40 (m, 1H, α-CH<sup>Phe</sup>), 4.27 – 4.18 (m, 1H, α-CH<sup>Glu</sup>), 3.80 – 3.69 (m, 4H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.09 – 2.67 (m, 6H, ε-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, 2 × CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>), 2.18 – 2.11 (m, 2H, γ-CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 2.09 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, α-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.87 – 1.76 (m, 1H, β-CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.76 – 1.63 (m, 1H, β-CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.50 – 1.41 (m, 2H, β-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.39 (s, 9H, 3 × CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 1.37 – 1.31 (m, 2H, γ-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.25 – 1.12 (m, 2H, δ-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>).

## 8.6.7 Compound VI-7



**III-8b** (300.0 mg, 0.287 mmol, 1.0 eq.), PyBOP (224.3 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) HOBT (58.2 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) and **VI-5** (341.8 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (2 mL). The solution was cooled to 0°C with an ice bath and DIPEA (73.3  $\mu$ L, 0.431 mmol, 1.5 eq.), dissolved in DMF (1 mL), was added dropwise with stirring. After 15 minutes, the ice bath was removed, and the reaction mixture was further stirred for 18 hours at room temperature. The solvent was evaporated, and the dry residue was taken up in a minimum amount of MeOH, subjected to SEC (LH-20, MeOH) and further purified *via* preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method B).

**Yield:** 218.4 mg (120.0 mmol, 42%), dark red solid.

**MF:** C<sub>86</sub>H<sub>150</sub>N<sub>10</sub>O<sub>31</sub>

**MW:** 1820.1850

[1819.0468]

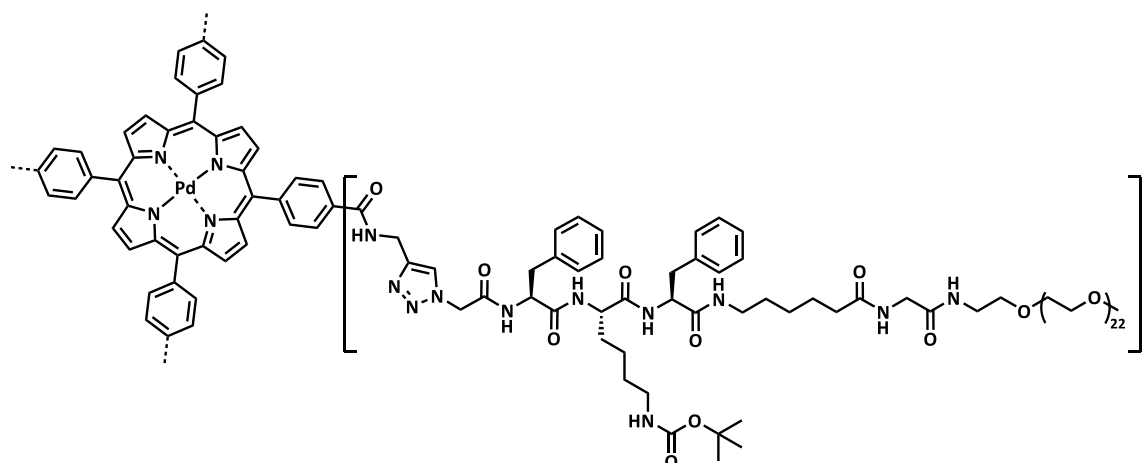
**R<sub>f</sub>:** 0.44 (SiO<sub>2</sub>, DCM/MeOH, 9:1).

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 1842.6840 [M+Na]<sup>+</sup> (calc. 1842.0361).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.20 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, NH<sup>Lys</sup>), 7.97 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H, NH<sup>Gly</sup>), 7.89 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 7.88 – 7.83 (m, 2H, NH<sup>Ahx</sup>, NH<sup>mPEG</sup>), 7.27 – 7.14 (m, 10H, 2 x  $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ -CH<sup>Phe</sup>), 6.75 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>Boc</sup>), 4.62 – 4.53 (m, 1H,  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.48 – 4.41 (m, 1H,  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.21– 4.14 (m, 1H,  $\alpha$ -CH<sup>Lys</sup>), 3.75 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.64 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.56 – 3.37 (m, 90H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.09 – 2.68 (m, 8H,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>, 2 x  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>), 2.09 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.62 – 1.09 (m, 12H,  $\beta$ -/ $\gamma$ -/ $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>;  $\beta$ -/ $\gamma$ -/ $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>), 1.36 (s, 9H, 3 x CH<sub>3</sub><sup>Boc</sup>).



## 8.6.9 Compound VI-9



V-9 (13.0 mg, 12.5  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was used as the alkyne-functionalized compound and coupled to VI-7 (124.7 mg, 68.5  $\mu\text{mol}$ , 5.5 eq.) according to SOP6 (see 8.2.6) for CuAAC.

**Yield:** 91.2 mg (11.0  $\mu\text{mol}$ , 88%), bright red solid.

**MF:**  $\text{C}_{404}\text{H}_{640}\text{N}_{48}\text{O}_{128}\text{Pd}$

**MW:** 8324.1920

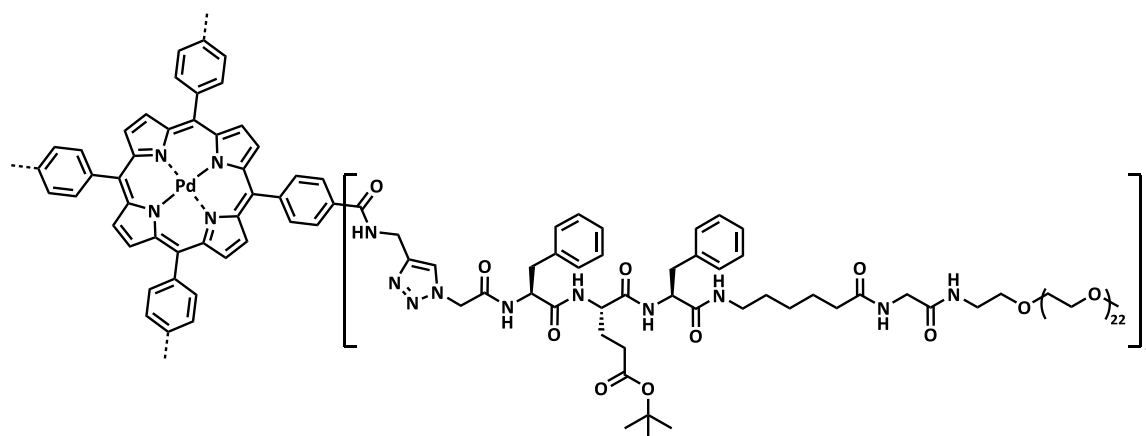
[8318.4081]

**TOF-MS (MALDI, LP) (DCTB+KTFA) m/z:** 8361.4740  $[\text{M}+\text{K}]^+$  (calc. 8361.3848)

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ , 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 9.41 (t,  $J = 5.2$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NHCH}_2^{\text{Trz}}$ ), 8.80 (s, 8H, 8 x  $\text{CH}^{\beta\text{-pyrrolic}}$ ), 8.61 (d,  $J = 8.1$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 8.39 – 8.22 (m, 20H, 16 x  $\text{CH}^{\text{Ar}}$ , 4 x  $\text{NH}^{\text{Lys}}$ ), 7.96 (t,  $J = 5.9$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Gly}}$ ), 7.91 (s, 4H, 4 x  $\text{CH}^{\text{Trz}}$ ), 7.90 – 7.82 (m, 12H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Ahx}}$ , 4 x  $\text{NH}^{\text{mPEG}}$ , 4 x  $\text{NH}^{\text{Phe}}$ ), 7.28 – 7.13 (m, 40H, 4 x 2 x  $\delta\text{-}/\varepsilon\text{-}/\zeta\text{-CH}^{\text{Phe}}$ ), 6.73 (t,  $J = 5.5$  Hz, 4H, 4 x  $\text{NH}^{\text{Boc}}$ ), 5.17 – 5.02 (m, 8H, 4 x  $\text{TrzCH}_2$ ), 4.71 – 4.55 (m, 12H, 4 x  $\text{NHCH}_2^{\text{Trz}}$ , 4 x  $\alpha\text{-CH}^{\text{Phe}}$ ), 4.50 – 4.43 (m, 4H, 4 x  $\alpha\text{-CH}^{\text{Phe}}$ ), 4.24 – 4.15 (m, 4H, 4 x  $\alpha\text{-CH}^{\text{Lys}}$ ), 3.64 (d,  $J = 5.8$  Hz, 8H, 4 x  $\text{CH}_2^{\text{Gly}}$ ), 3.52 – 3.36 (m, 360H,  $\text{CH}_2\text{O}^{\text{mPEG}}/\text{OCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.24 – 3.16 (m, 8H, 4 x  $\text{NHCH}_2^{\text{mPEG}}$ ), 3.22 (s, 12H, 4 x  $\text{CH}_3^{\text{mPEG}}$ ), 3.10 – 2.70 (m, 32H, 4 x  $\varepsilon\text{-CH}_2^{\text{Ahx}}$ , 4 x  $\varepsilon\text{-CH}_2^{\text{Lys}}$ , 4 x 2 x  $\beta\text{-CH}_2^{\text{Phe}}$ ), 2.08 (t,  $J = 7.5$  Hz, 8H, 4 x  $\alpha\text{-CH}_2^{\text{Ahx}}$ ), 1.59 – 1.09 (m, 48H, 4 x  $\beta\text{-}/\gamma\text{-}/\delta\text{-CH}_2^{\text{Ahx}}$ , 4 x  $\beta\text{-}/\gamma\text{-}/\delta\text{-CH}_2^{\text{Lys}}$ ), 1.31 (s, 36H, 4 x 3 x  $\text{CH}_3^{\text{Boc}}$ ).

**UV/Vis (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]):** 418 (1.00) SORET, 524 (0.09)  $\text{Q}_{\alpha}$ .

## 8.6.10 Compound VI-10



**V-9** (15.0 mg, 14.4  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was used as the alkyne-functionalized compound and coupled to **VI-8** (140.5 mg, 79.1  $\mu\text{mol}$ , 5.5 eq.) according to **SOP6** (see 8.2.6) for CuAAC.

**Yield:** 99.2 mg (12.2  $\mu\text{mol}$ , 85%), bright red solid.

**MF:** C<sub>396</sub>H<sub>620</sub>N<sub>44</sub>O<sub>128</sub>Pd

**MW:** 8151.9160

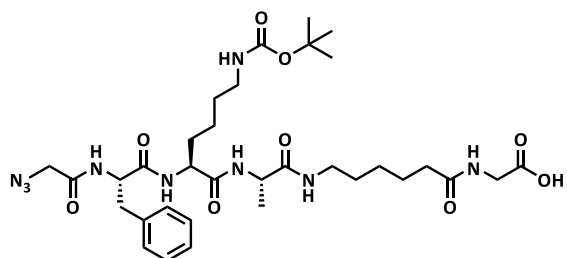
[8146.2393]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA) m/z: 8189.0013 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 8189.2160)

**<sup>1</sup>H NMR** (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 9.41 (t, *J* = 5.8 Hz, 4H, 4 x NHCH<sub>2</sub>Trz), 8.80 (s, 8H, 8 x CH <sup>$\beta$</sup> -pyrrolic), 8.61 (d, *J* = 8.2 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Phe</sup>), 8.36 – 8.22 (m, 20H, 16 x CH<sup>Ar</sup>, 4 x NH<sup>Glu</sup>), 7.97 (t, *J* = 5.8 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Gly</sup>), 7.94 – 7.87 (m, 8H, 12H, 4 x NH<sup>Ahx</sup>, 4 x NH<sup>Phe</sup>, 4 x CH<sup>Trz</sup>), 7.84 (t, *J* = 5.6 Hz, 4H, 4 x NH<sup>mPEG</sup>), 7.30 – 7.11 (m, 40H, 4 x 2 x  $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ -CH<sup>Phe</sup>), 5.17 – 5.01 (m, 8H, 4 x TrzCH<sub>2</sub>), 4.72 – 4.57 (m, 12H, 4 x NHCH<sub>2</sub>Trz, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.52 – 4.42 (m, 4H, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.31 – 4.19 (m, 4H, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Glu</sup>), 3.64 (d, *J* = 5.8 Hz, 8H, 4 x CH<sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.56 – 3.35 (m, 360H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.24 – 3.16 (m, 8H, 4 x NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.22 (s, 12H, 4 x CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.10 – 2.71 (m, 24H, 4 x  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, 4 x 2 x CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>), 2.21 – 2.13 (m, 8H, 4 x  $\gamma$ -CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 2.09 (t, *J* = 7.5 Hz, 8H, 4 x  $\alpha$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.88 – 1.77 (m, 4H, 4 x  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.77 – 1.65 (m, 4H, 4 x  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 1.50 – 1.40 (m, 8H, 4 x  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.39 – 1.26 (m, 8H, 4 x  $\gamma$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.36 (s, 36H, 4 x 3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 1.21 – 1.11 (m, 8H, 4 x  $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] (*I*<sub>rel</sub>[a.u.]): 418 (1.00) SORET, 524 (0.09) Q <sub>$\alpha$</sub> .

## 8.6.11 Compound VI-11



**Fmoc-L-Gly** (0.90 g, 3.02 mmol, 2.0 eq.) was coupled as the first AA to the 2-chlorotrityle chloride resin (1.00 g, 1.51 mmol, 1.0 eq.) according to **SOP1** (see 8.2.1). Successive Fmoc cleavage and AA coupling was performed following **SOP2** (see 8.2.2) and **SOP3** (see 8.2.3). The final peptide sequence was detached from the resin using TFE according to **SOP5** (see 8.2.5).

**Yield:** 0.70 g (0.97 mmol, 64%), pale yellow solid.

**MF:** C<sub>33</sub>H<sub>51</sub>N<sub>9</sub>O<sub>9</sub>

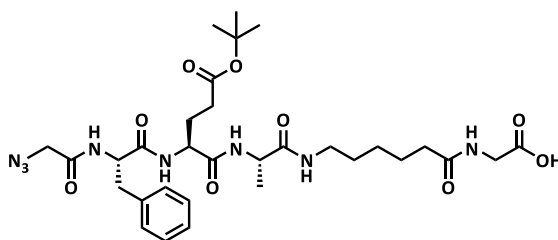
**MW:** 717.8250

[717.3810]

**TOF-MS** (ESI, neg.) m/z: 716.3737 [M-H]<sup>-</sup> (calc. 716.3736)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 12.43 (s, 1H, COOH), 8.31 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.24 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, NH<sup>Lys</sup>), 8.08 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H, NH<sup>Gly</sup>), 7.90 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, NH<sup>Ala</sup>), 7.79 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>Ahx</sup>), 7.30 – 7.13 (m, 5H, δ-/ε-/ζ-CH<sup>Phe</sup>), 6.76 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, NH<sup>Boc</sup>), 4.64 – 4.54 (m, 1H, α-CH<sup>Phe</sup>), 4.26 – 4.14 (m, 2H, α-CH<sup>Lys</sup>, α-CH<sup>Ala</sup>), 3.84 – 3.71 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.71 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.12 – 2.92 (m, 6H, ε-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, ε-CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>, β-CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>), 2.09 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H, α-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.70 – 1.14 (m, 12H, β-/γ-/δ-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, β-/γ-/δ-CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>), 1.36 (s, 9H, 3 × CH<sub>3</sub><sup>Boc</sup>), 1.19 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ala</sup>).

## 8.6.12 Compound VI-12



**Fmoc-L-Gly** (0.90 g, 3.02 mmol, 2.0 eq.) was coupled as the first AA to the 2-chlorotrityl chloride resin (1.00 g, 1.51 mmol, 1.0 eq.) according to **SOP1** (see 8.2.1). Successive Fmoc cleavage and AA coupling was performed following **SOP2** (see 8.2.2) and **SOP3** (see 8.2.3). The final peptide sequence was detached from the resin using TFE according to **SOP5** (see 8.2.5).

**Yield:** 0.73 g (1.08 mmol, 71%), pale yellow solid.

**MF:** C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>N<sub>8</sub>O<sub>9</sub>

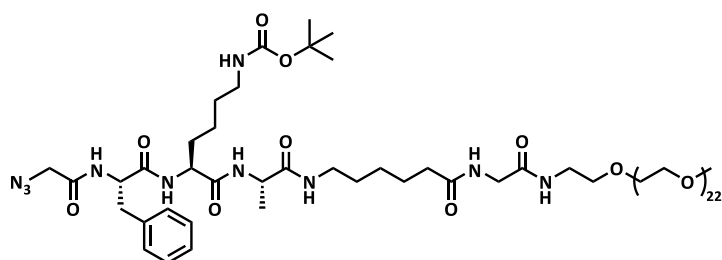
**MW:** 674.7560

[674.3388]

**TOF-MS** (ESI, neg.) *m/z*: 673.3316 [M-H]<sup>-</sup> (calc. 673.3315)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY) δ [ppm]: 12.47 (s, 1H, COOH), 8.33 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.29 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, NH<sup>Glu</sup>), 8.09 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H, NH<sup>Gly</sup>), 7.92 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, NH<sup>Ala</sup>), 7.82 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>Ahx</sup>), 7.29 – 7.12 (m, 5H, δ-/ε-/ζ-CH<sup>Phe</sup>), 4.63 – 4.53 (m, 1H, α-CH<sup>Phe</sup>), 4.31 – 4.23 (m, 1H, α-CH<sup>Glu</sup>), 4.23 – 4.15 (m, 1H, α-CH<sup>Ala</sup>), 3.81 – 3.72 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.71 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, CH<sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.12 – 2.92 (m, 3H, ε-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, β-CH<sub>2</sub><sup>A<sub>2</sub>Phe</sup>), 2.75 (dd, *J* = 13.9, 9.9 Hz, 1H, β-CH<sub>2</sub><sup>B<sub>2</sub>Phe</sup>), 2.23 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H, γ-CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 2.10 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, α-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.96 – 1.82 (m, 1H, β-CH<sub>2</sub><sup>A<sub>2</sub>Glu</sup>), 1.81 – 1.67 (m, 1H, β-CH<sub>2</sub><sup>B<sub>2</sub>Glu</sup>), 1.54 – 1.33 (m, 4H, β-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, γ-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.39 (s, 9H, 3 × CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 1.30 – 1.13 (m, 2H, δ-CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.19 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ala</sup>).

## 8.6.13 Compound VI-13



**III-8b** (300.0 mg, 0.287 mmol, 1.0 eq.), PyBOP (224.3 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) HOBT (58.3 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) and **VI-11** (309.4 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (2 mL). The solution was cooled to 0°C with an ice bath and DIPEA (73.3  $\mu$ L, 0.431 mmol, 1.5 eq.), dissolved in DMF (1 mL), was added dropwise with stirring. After 15 minutes, the ice bath was removed, and the reaction mixture was further stirred for 18 hours at room temperature. The solvent was evaporated, and the dry residue was taken up in a minimum amount of MeOH, subjected to SEC (LH-20, MeOH) and further purified *via* preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method B).

**Yield:** 264.0 mg (0.151 mmol, 53%), colorless solid.

**MF:** C<sub>80</sub>H<sub>146</sub>N<sub>10</sub>O<sub>31</sub>

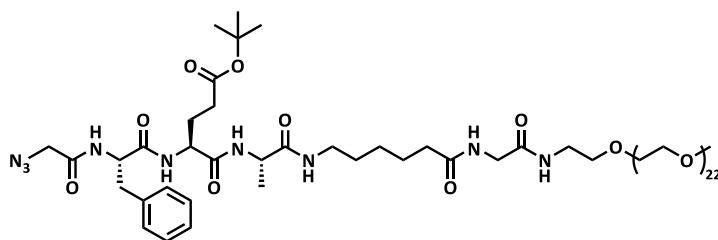
**MW:** 1744.0870

[1743.0155]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 1780.4388 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 1781.9788).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.30 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>), 8.22 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, NH<sup>Lys</sup>), 7.96 (t, *J* = 5.9 Hz, 1H, NH<sup>Gly</sup>), 7.90 – 7.82 (m, 2H, NH<sup>Ala</sup>, NH<sup>mPEG</sup>), 7.79 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>Ahx</sup>), 7.30 – 7.14 (m, 5H,  $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ -CH<sup>Phe</sup>), 6.75 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH<sup>Boc</sup>), 4.63 – 4.54 (m, 1H,  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.27 – 4.15 (m, 2H,  $\alpha$ -CH<sup>Lys</sup>,  $\alpha$ -CH<sup>Ala</sup>), 3.83 – 3.69 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.64 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.57 – 3.37 (m, 90H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.23 – 3.17 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.23 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.11 – 2.94 (m, 3H,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>,  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>2Phe</sup>), 2.92 – 2.84 (m, 2H,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>), 2.75 (dd, *J* = 13.9, 9.8 Hz, 1H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>B2Phe</sup>), 2.10 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.70 – 1.20 (m, 12H,  $\beta$ -/ $\gamma$ -/ $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>,  $\beta$ -/ $\gamma$ -/ $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>), 1.36 (s, 9H, 3 x CH<sub>3</sub><sup>Boc</sup>), 1.19 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ala</sup>).

## 8.6.14 Compound VI-14



**III-8b** (300.0 mg, 0.287 mmol, 1.0 eq.), PyBOP (224.3 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) HOBt (58.3 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) and **VI-12** (290.8 mg, 0.431 mmol, 1.5 eq.) were dissolved in freshly degassed DMF (2 mL). The solution was cooled to 0°C with an ice bath and DIPEA (73.3  $\mu$ L, 0.431 mmol, 1.5 eq.), dissolved in DMF (1 mL), was added dropwise with stirring. After 15 minutes, the ice bath was removed, and the reaction mixture was further stirred for 18 hours at room temperature. The solvent was evaporated, and the dry residue was taken up in a minimum amount of MeOH, subjected to SEC (LH-20, MeOH) and further purified *via* preparative RP-HPLC (see 8.1.4, Method B).

**Yield:** 301.3 mg (0.177 mmol, 62%), colorless solid.

**MF:** C<sub>78</sub>H<sub>141</sub>N<sub>9</sub>O<sub>31</sub>

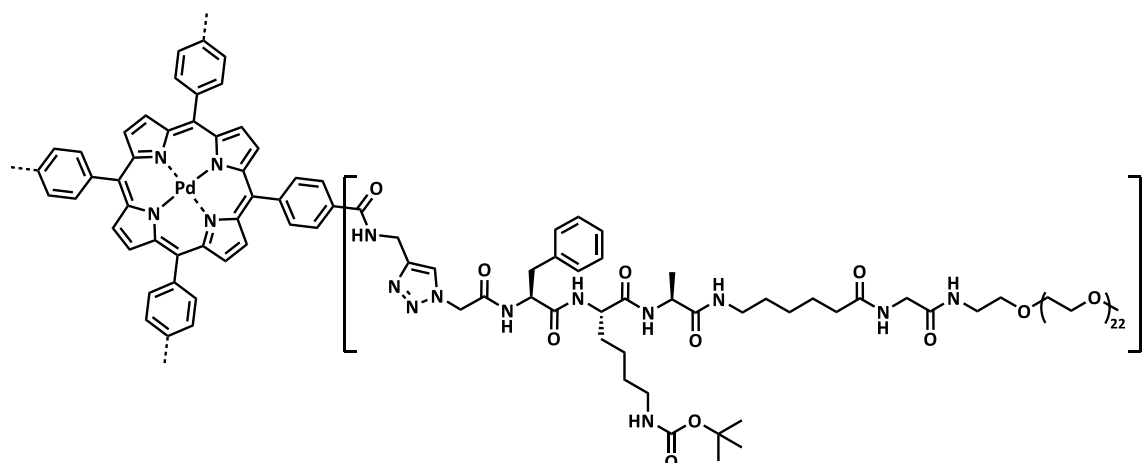
**MW:** 1701.0180

[1699.9733]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (Dit+KTFA) m/z: 1737.7384 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 1738.9366).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 8.32 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H, NH<sup>Phe</sup>) 8.28 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H, NH<sup>Glu</sup>), 7.96 (t, *J* = 5.8 Hz, 1H, NH<sup>Gly</sup>), 7.90 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H, NH<sup>Ala</sup>), 7.87 – 7.79 (m, 2H, NH<sup>Ahx</sup>, NH<sup>mPEG</sup>), 7.28 – 7.16 (m, 5H,  $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.61 – 4.55 (m, 1H,  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.29 – 4.23 (m, 1H,  $\alpha$ -CH<sup>Glu</sup>), 4.23 – 4.16 (m, 1H,  $\alpha$ -CH<sup>Ala</sup>), 3.81 – 3.70 (m, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>), 3.64 (d, *J* = 5.8 Hz, 2H, CH<sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.55 – 3.37 (m, 90H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.25 – 3.17 (m, 2H, NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.10 – 2.94 (m, 3H,  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>,  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>A<sub>2</sub>Phe</sup>), 2.75 (dd, *J* = 13.9, 9.8 Hz, 1H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>B<sub>2</sub>Phe</sup>), 2.23 (t, *J* = 8.1 Hz, 2H,  $\gamma$ -CH<sub>2</sub><sup>Glu</sup>), 2.10 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H,  $\alpha$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.94 – 1.84 (m, 1H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>A<sub>2</sub>Glu</sup>), 1.79 – 1.69 (m, 1H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>B<sub>2</sub>Glu</sup>), 1.52 – 1.43 (m, 2H,  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.42 – 1.33 (m, 2H,  $\gamma$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.39 (s, 9H, 3 x CH<sub>3</sub><sup>tBu</sup>), 1.28 – 1.17 (m, 2H,  $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.19 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub><sup>Ala</sup>).

## 8.6.15 Compound VI-15



V-9 (15.0 mg, 14.4  $\mu\text{mol}$ , 1.0 eq.) was used as the alkyne-functionalized compound and coupled to VI-13 (137.9 mg, 79.1  $\mu\text{mol}$ , 5.5 eq.) according to SOP6 (see 8.2.6) for CuAAC.

**Yield:** 91.9 mg (11.5  $\mu\text{mol}$ , 80%), bright red solid

**MF:** C<sub>380</sub>H<sub>624</sub>N<sub>48</sub>O<sub>128</sub>Pd

**MW:** 8019.8000

[8014.2829]

**TOF-MS** (MALDI, LP) (DCTB+KTFA)  $m/z$ : 8059.8814 [M+K]<sup>+</sup> (calc. 8056.2562).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, 296 K, COSY)  $\delta$  [ppm]: 9.41 (t,  $J$  = 5.1 Hz, 4H, 4 x NHCH<sub>2</sub>Trz), 8.80 (s, 8H, 8 x CH <sup>$\beta$</sup> -pyrrolic), 8.60 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Phe</sup>), 8.35 – 8.23 (m, 20H, 16 x CH<sup>Ar</sup>, 4 x NH<sup>Lys</sup>), 7.96 (t,  $J$  = 5.8 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Gly</sup>), 7.92 (s, 4H, 4 x CH<sup>Trz</sup>), 7.89 (d,  $J$  = 7.4 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Ala</sup>), 7.84 (t,  $J$  = 5.6 Hz, 4H, 4 x NH<sup>mPEG</sup>), 7.80 (t,  $J$  = 5.5 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Ahx</sup>), 7.31 – 7.16 (m, 20H, 4 x  $\delta$ -/ $\epsilon$ -/ $\zeta$ -CH<sup>Phe</sup>), 6.74 (t,  $J$  = 5.7 Hz, 4H, 4 x NH<sup>Boc</sup>), 5.22 – 4.99 (m, 8H, 4 x TrzCH<sub>2</sub>), 4.75 – 4.56 (m, 12H, 4 x NHCH<sub>2</sub>Trz, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Phe</sup>), 4.31 – 4.14 (m, 8H, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Lys</sup>, 4 x  $\alpha$ -CH<sup>Ala</sup>), 3.64 (d,  $J$  = 5.8 Hz, 8H, 4 x CH<sub>2</sub><sup>Gly</sup>), 3.55 – 3.35 (m, 360H, CH<sub>2</sub>O<sup>mPEG</sup>/OCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.23 – 3.16 (m, 8H, 4 x NHCH<sub>2</sub><sup>mPEG</sup>), 3.23 (s, 12H, 4 x CH<sub>3</sub><sup>mPEG</sup>), 3.13 – 2.93 (m, 12H, 4 x  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, 4 x  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>), 2.92 – 2.84 (m, 8H, 4 x  $\epsilon$ -CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>), 2.78 (dd,  $J$  = 13.8, 9.5 Hz, 4H, 4 x  $\beta$ -CH<sub>2</sub><sup>Phe</sup>), 2.10 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 8H, 4 x  $\alpha$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>), 1.71 – 1.16 (m, 48H, 4 x  $\beta$ -/ $\gamma$ -/ $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Ahx</sup>, 4 x  $\beta$ -/ $\gamma$ -/ $\delta$ -CH<sub>2</sub><sup>Lys</sup>), 1.32 (s, 36H, 4 x 3 x CH<sub>3</sub><sup>Boc</sup>), 1.19 (d,  $J$  = 7.0 Hz, 12H, 4 x CH<sub>3</sub><sup>Ala</sup>).

**UV/Vis** (DMF)  $\lambda$  [nm] ( $I_{\text{rel}}$ [a.u.]): 418 (1.00) SORET, 524 (0.10) Q <sub>$\alpha$</sub> .







---

# **Anhang A**

Zusätzliche Daten

---

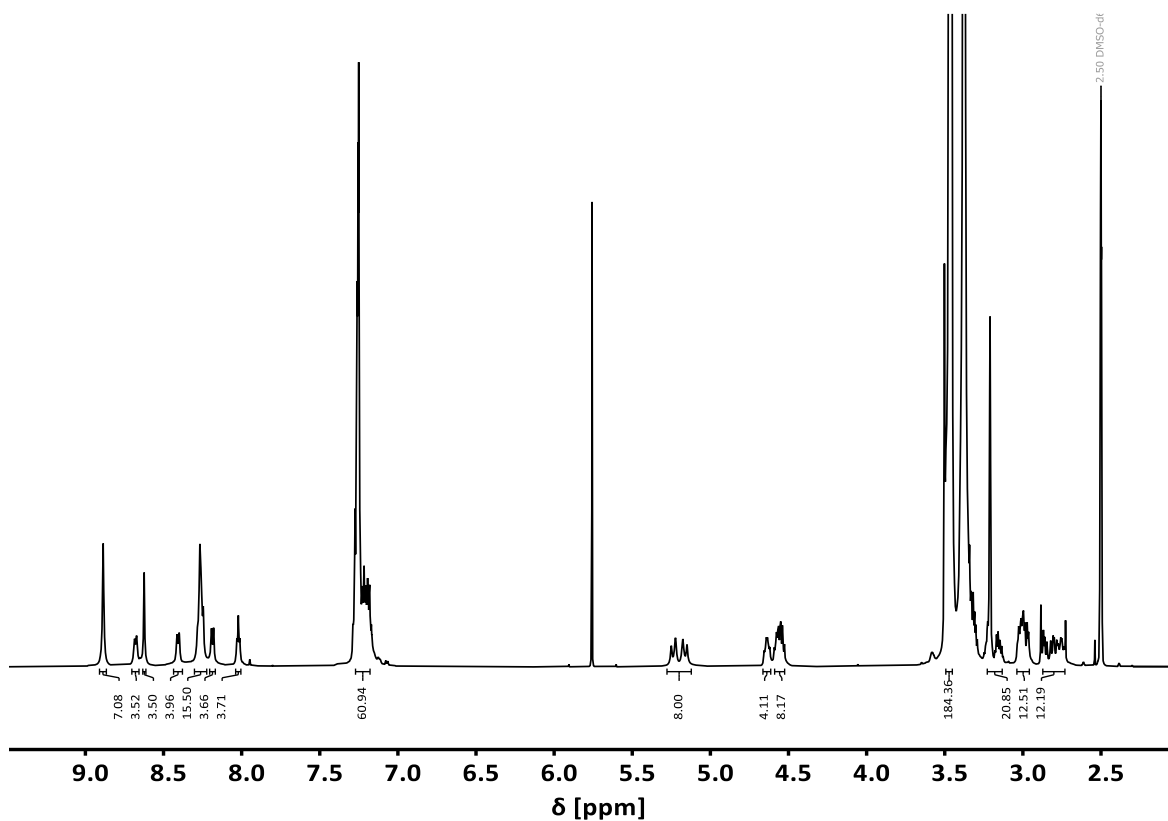


Abbildung A3.1: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von III-1 (ZnGF<sub>3</sub>mPEG<sup>550</sup>) (DMSO-*d*<sub>6</sub>, *T* = 23°C).

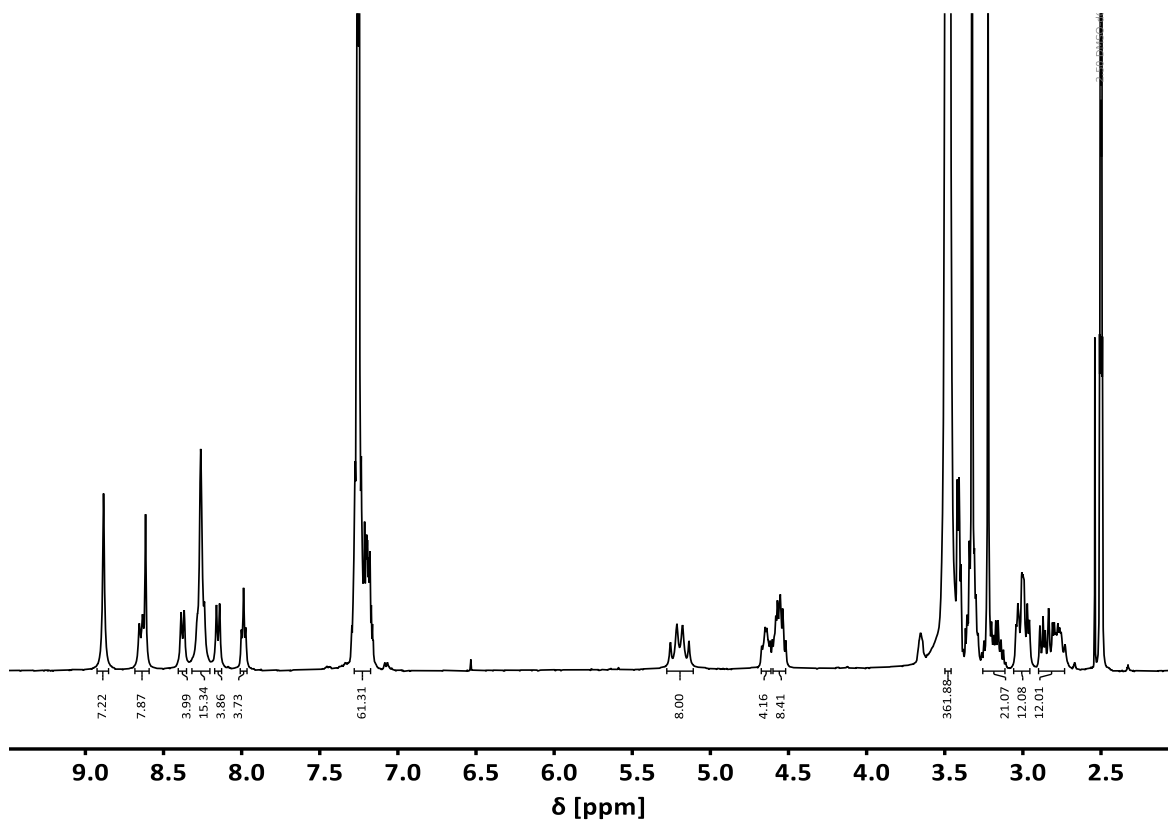


Abbildung A3.2: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von III-2 (ZnGF<sub>3</sub>mPEG<sup>1k</sup>) (DMSO-*d*<sub>6</sub>, *T* = 23°C).

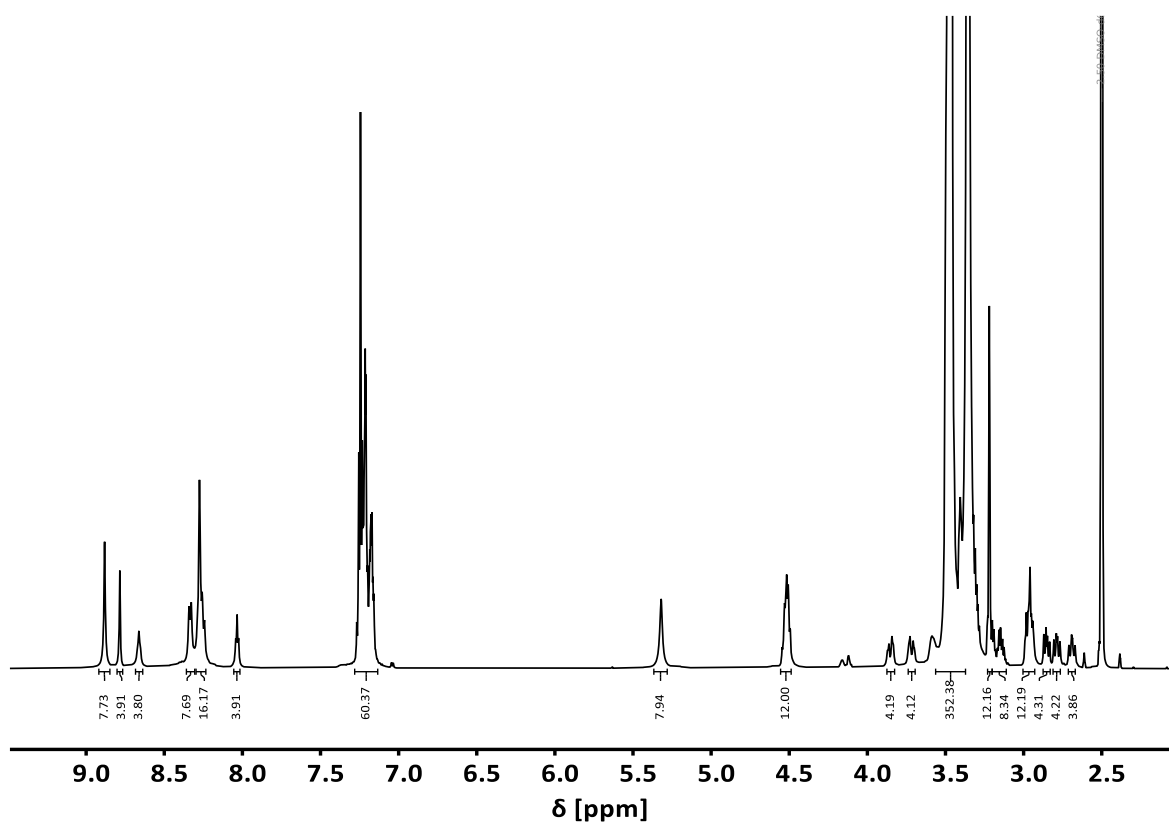


Abbildung A3.3:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von III-3 ( $\text{ZnG}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{1\text{k}}$ ) ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

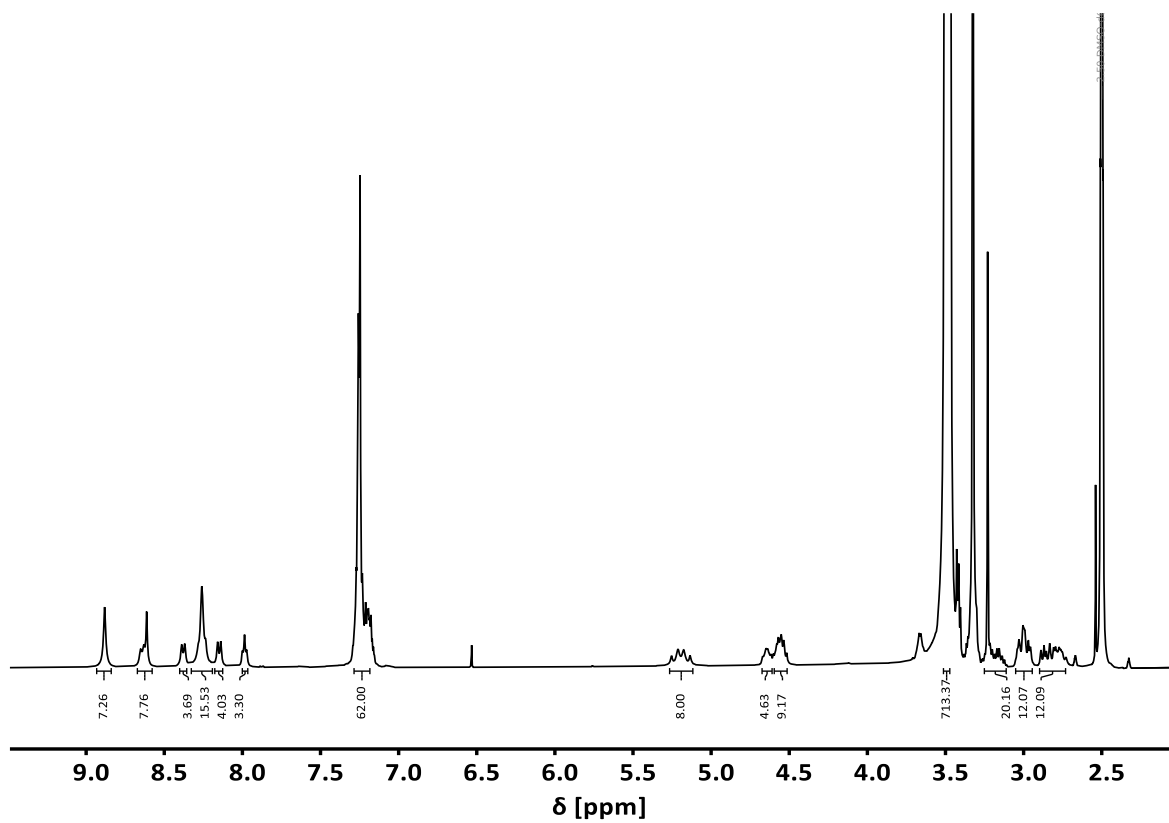


Abbildung A3.4:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von III-4 ( $\text{ZnGF}_3\text{mPEG}^{2\text{k}}$ ) ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

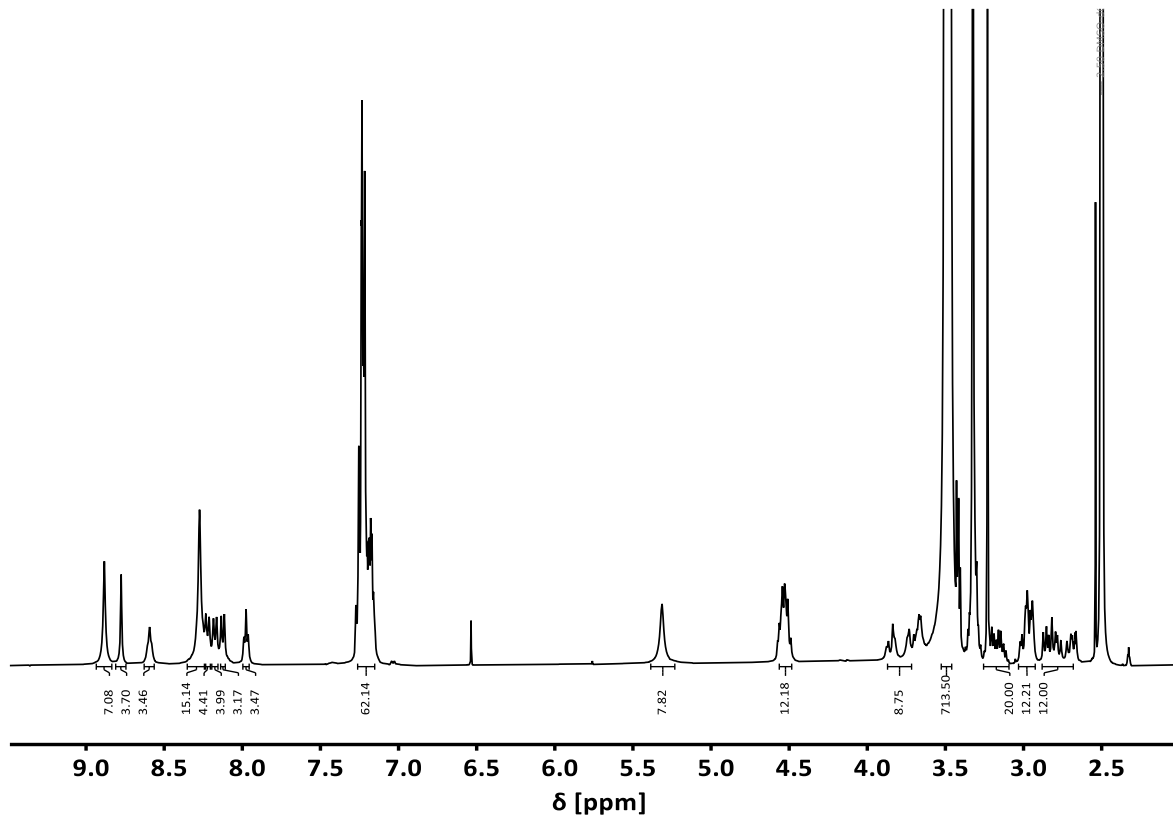
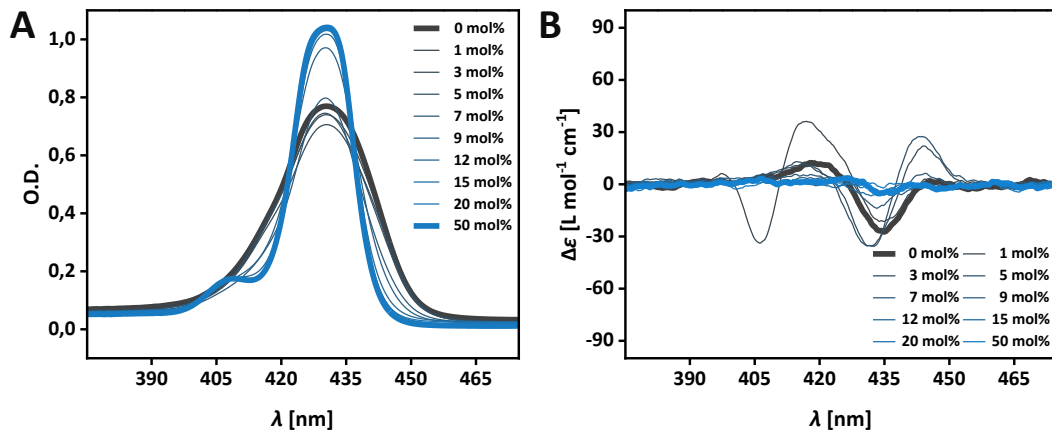


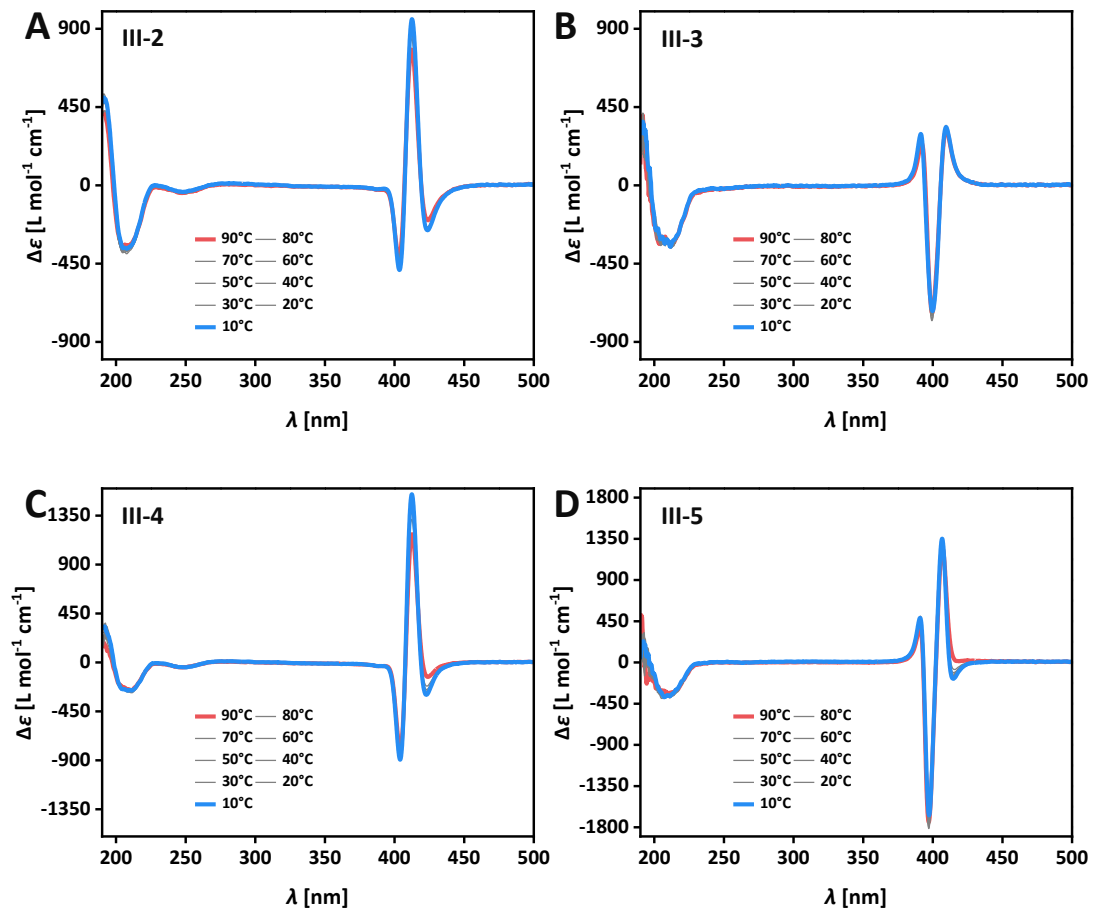
Abbildung A3.5:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von III-5 ( $\text{ZnG}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{1k}$ ) ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).



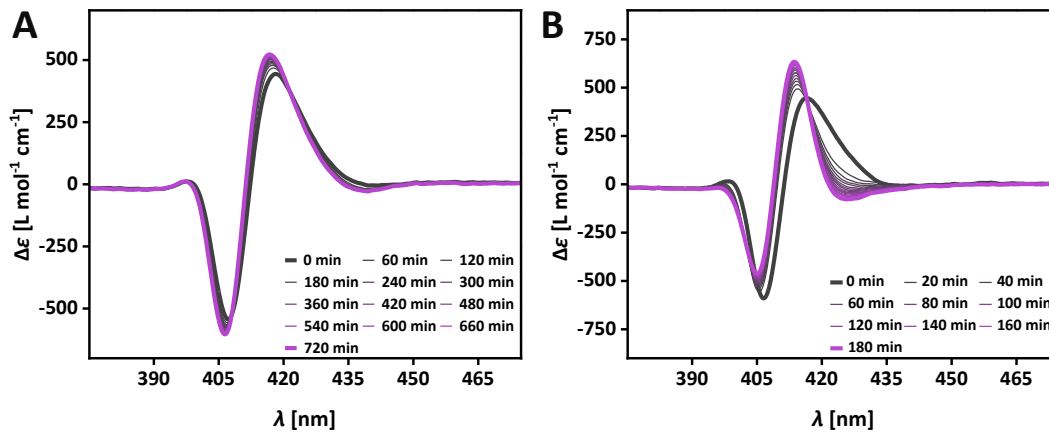
Abbildung A3.6: III-1 ( $\text{ZnGF}_3\text{mPEG}^{550}$ ) in Mischungen steigenden Volumenanteils Acetonitril in Wasser (v.l.n.r.) ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).



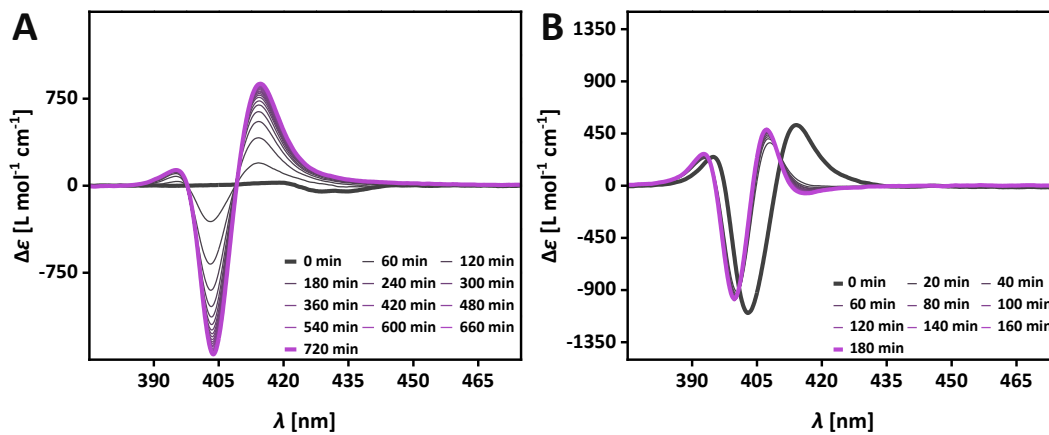
**Abbildung A3.7:** UV/Vis (A)- und CD (B)-Spektren von III-3 ( $\text{ZnG}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{1k}$ ) als Funktion des prozentualen Volumenanteils (v/v%) DMF in  $\text{H}_2\text{O}$  nach thermischem Equilibrieren ( $T = 90^\circ\text{C}$ ,  $t = 3\text{ h}$ ), ( $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $c^{\text{CD}} = 2 \times 10^{-5}\text{ M}$ ,  $c^{\text{UV/Vis}} = 5 \times 10^{-6}\text{ M}$ ).



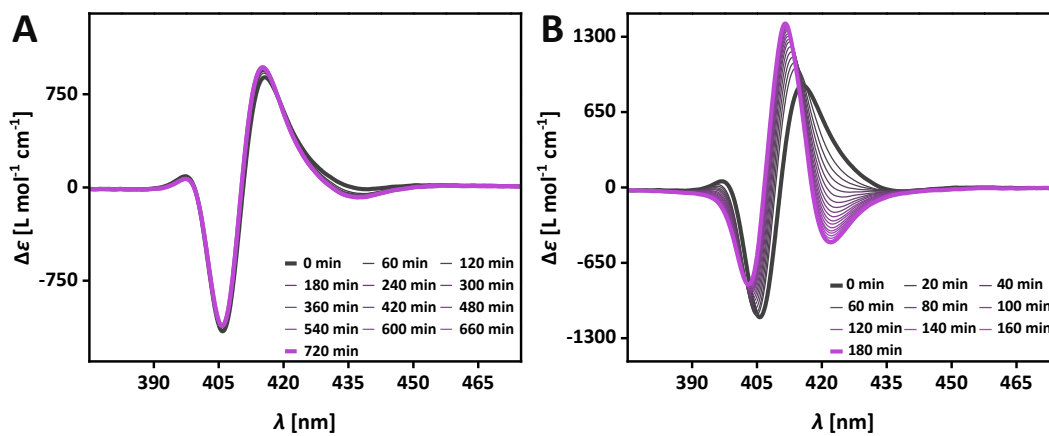
**Abbildung A3.8:** CD-Spektren temperaturabhängiger Intervallmessungen von A: III-2, B: III-3, C: III-4 und D: III-5 in  $\text{H}_2\text{O}$  ( $c = 2 \times 10^{-5}\text{ M}$ ; Kühlrate:  $1^\circ\text{C min}^{-1}$ ).



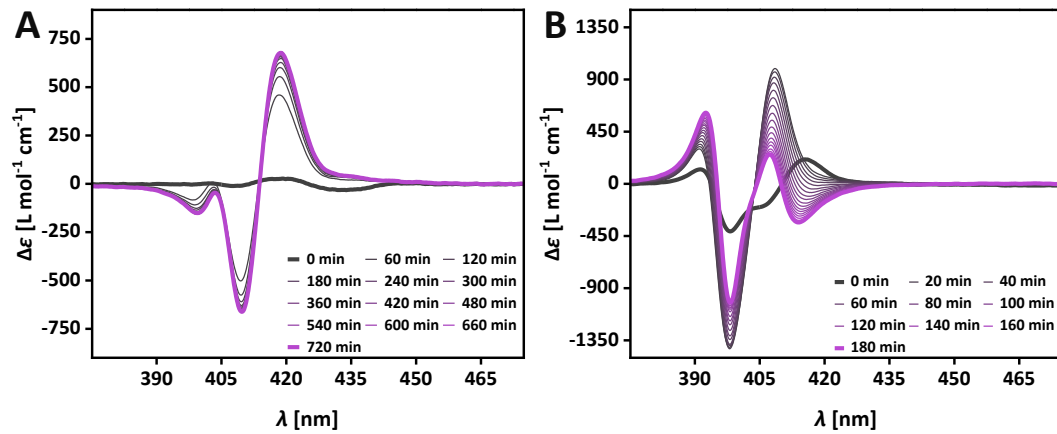
**Abbildung A3.9:** Intervallmessungen von **III-2** ( $\text{ZnGF}_3\text{mPEG}^{1k}$ ) via CD-Spektroskopie in  $\text{H}_2\text{O}$ . **A:**  $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $t = 12\text{ h}$ ; **B:**  $T = 65^\circ\text{C}$ ,  $t = 3\text{ h}$  ( $c = 2 \times 10^{-5}\text{ M}$ ).



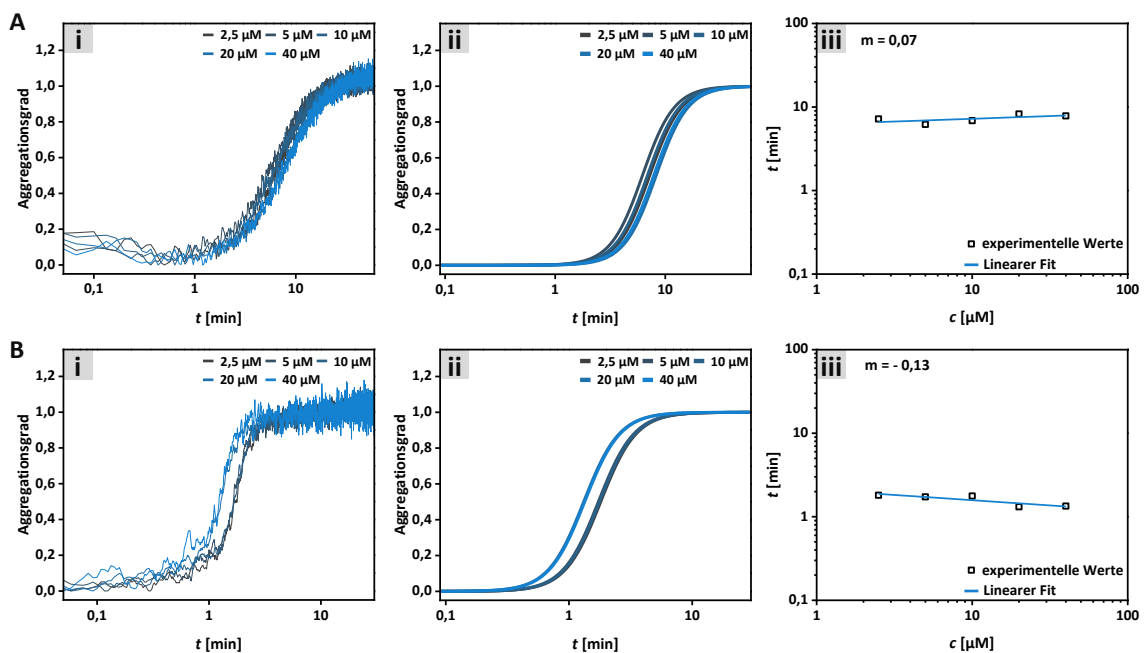
**Abbildung A3.10:** Intervallmessungen von **III-3** ( $\text{ZnG}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{1k}$ ) via CD-Spektroskopie in  $\text{H}_2\text{O}$ . **A:**  $T = 40^\circ\text{C}$ ,  $t = 12\text{ h}$ ; **B:**  $T = 90^\circ\text{C}$ ,  $t = 3\text{ h}$  ( $c = 2 \times 10^{-5}\text{ M}$ ).



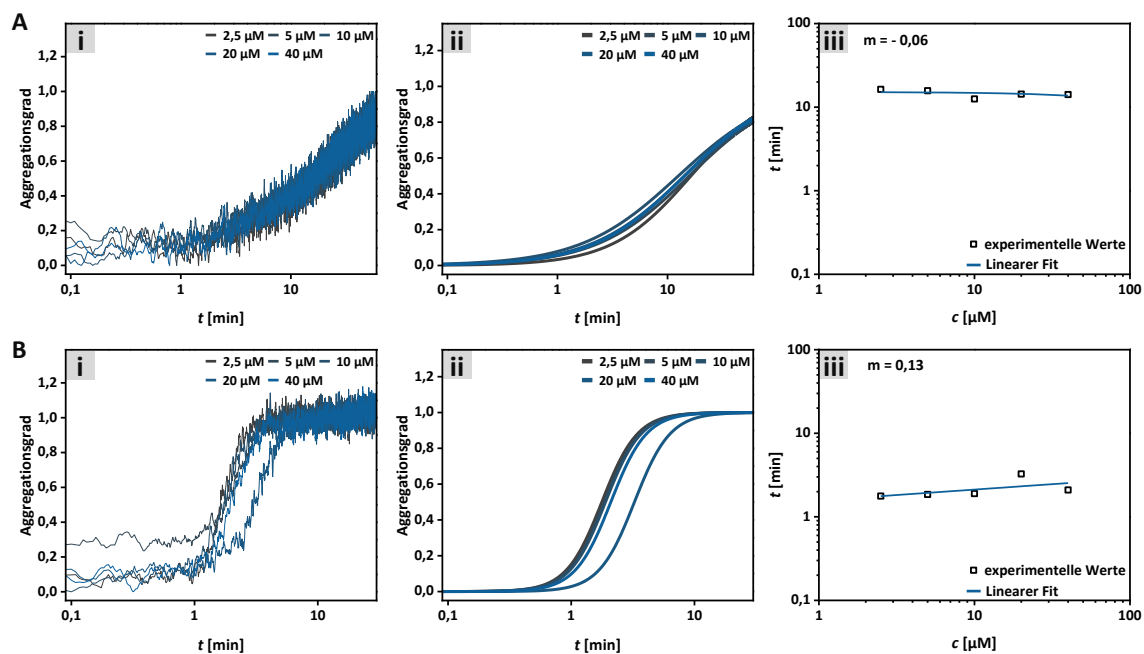
**Abbildung A3.11:** Intervallmessungen von **III-4** ( $\text{ZnGF}_3\text{mPEG}^{2k}$ ) via CD-Spektroskopie in  $\text{H}_2\text{O}$ . **A:**  $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $t = 12\text{ h}$ ; **B:**  $T = 65^\circ\text{C}$ ,  $t = 3\text{ h}$  ( $c = 2 \times 10^{-5}\text{ M}$ ).



**Abbildung A3.12:** Intervallmessungen von **III-5** ( $\text{ZnG}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{2k}$ ) via CD-Spektroskopie in  $\text{H}_2\text{O}$ . **A:**  $T = 45^\circ\text{C}$ ,  $t = 12\text{ h}$ ; **B:**  $T = 90^\circ\text{C}$ ,  $t = 3\text{ h}$  ( $c = 2 \times 10^{-5}\text{ M}$ ).



**Abbildung A3.13:** i: Zeitlich aufgelöste Messungen des CD-Signals von **III-3** bei  $\lambda = 210\text{ nm}$  bei unterschiedlichen Konzentrationen in  $\text{H}_2\text{O}$  (**A:**  $T = 50^\circ\text{C}$ , **B:**  $T = 70^\circ\text{C}$ ); ii: Normierte Fit-Kurven der aufgenommenen CD-Daten aus (i); iii: Doppel-Logarithmische Auftrugung von  $t_{1/2}$  gegen die Konzentration.



**Abbildung A3.14:** i: Zeitlich aufgelöste Messungen des CD-Signals von **III-5** bei  $\lambda = 210$  nm bei unterschiedlichen Konzentrationen in  $\text{H}_2\text{O}$  (**A**:  $T = 60^\circ\text{C}$ , **B**:  $T = 80^\circ\text{C}$ ); ii: Normierte Fit-Kurven der aufgenommenen CD-Daten aus (i); iii: Doppel-Logarithmische Auftragung von  $t_{1/2}$  gegen die Konzentration.

**Tabelle A3.1:** Optische Eigenschaften der Porphyrin-Peptidamphiphile **III-1** bis **III-5** in  $\text{H}_2\text{O}$  ( $c = 5 \times 10^{-6}$  M,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).

Monomer	$\lambda_{\text{max}1}$ [nm]	$\epsilon_{\text{max}1}$ [ $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ]	$\lambda_{\text{max}2}$ [nm]	$\epsilon_{\text{max}2}$ [ $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ]	$\lambda_{\text{max}3}$ [nm]	$\epsilon_{\text{max}3}$ [ $\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ]
<b>III-1</b>	430	211796	560	19096	601	15370
<b>III-2</b>	430	211720	560	19232	600	15520
<b>III-3</b>	430	211844	560	19150	600	15400
<b>III-4</b>	430	211826	560	19156	601	15536
<b>III-5</b>	430	211970	560	19180	601	15538

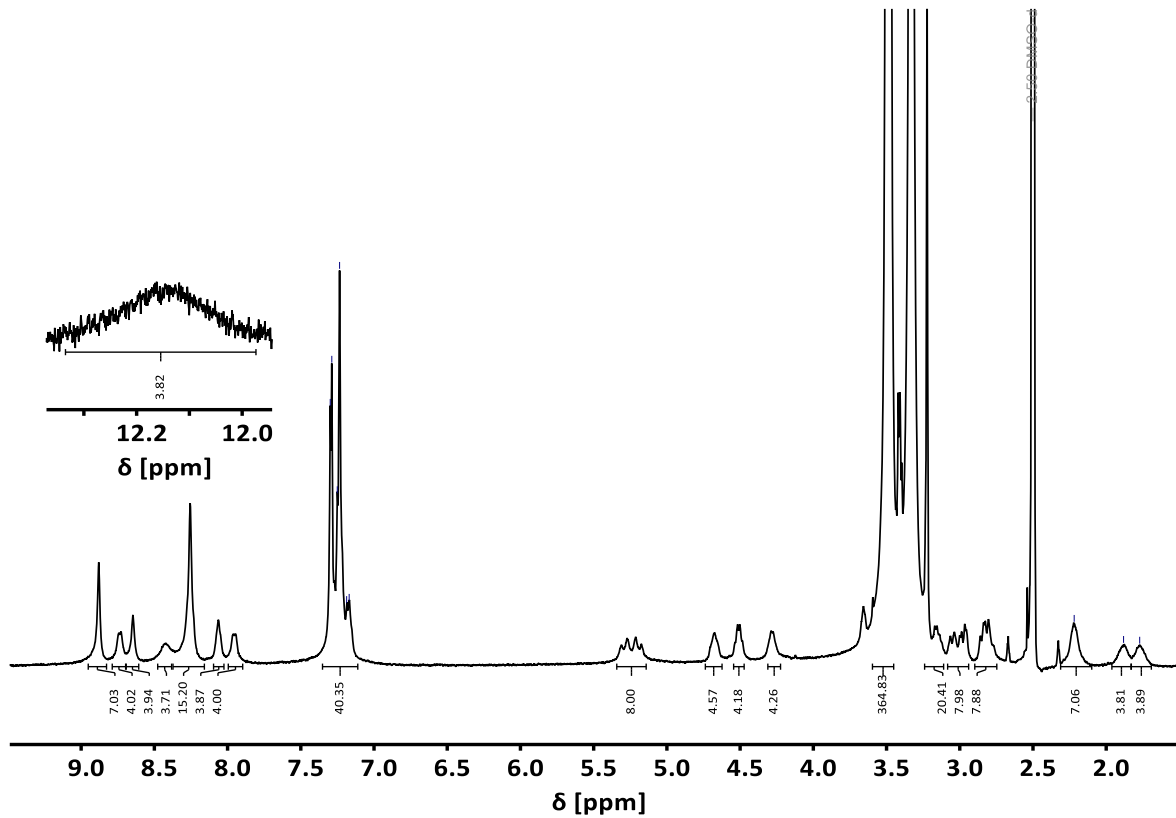


Abbildung A4.1:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von IV-1 ( $\text{ZnGFEFmPEG}^{1k}$ ) ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

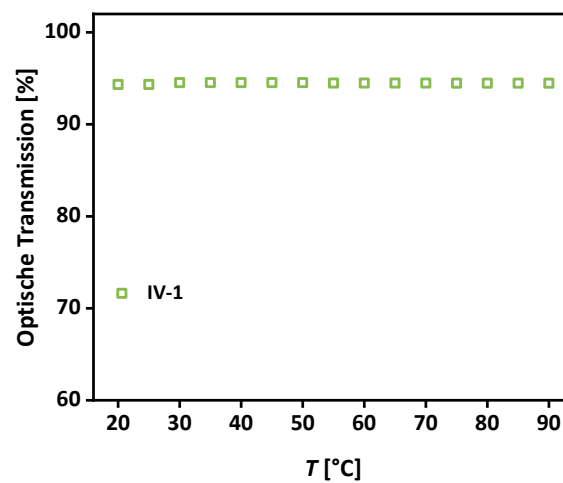
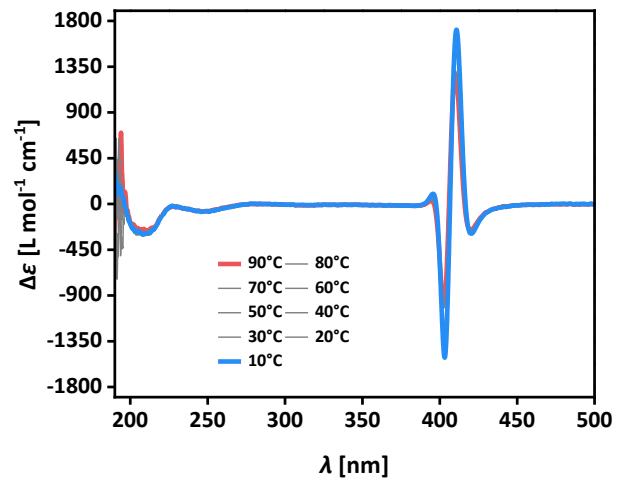


Abbildung A4.2: Temperaturabhängige Transmissionsmessungen zur Bestimmung der LCST von IV-1 in PB (10 mm,  $\text{pH} = 2,6$ ) ( $\lambda = 700 \text{ nm}$ ,  $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ; Heizrate:  $0,1^\circ\text{C min}^{-1}$ ).



**Abbildung A4.3:** CD-Spektren der temperaturabhängigen Intervallmessungen von **IV-1** (pH = 2,7) in PB (10 mm) ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M; Kühlrate:  $1^\circ\text{C min}^{-1}$ ).

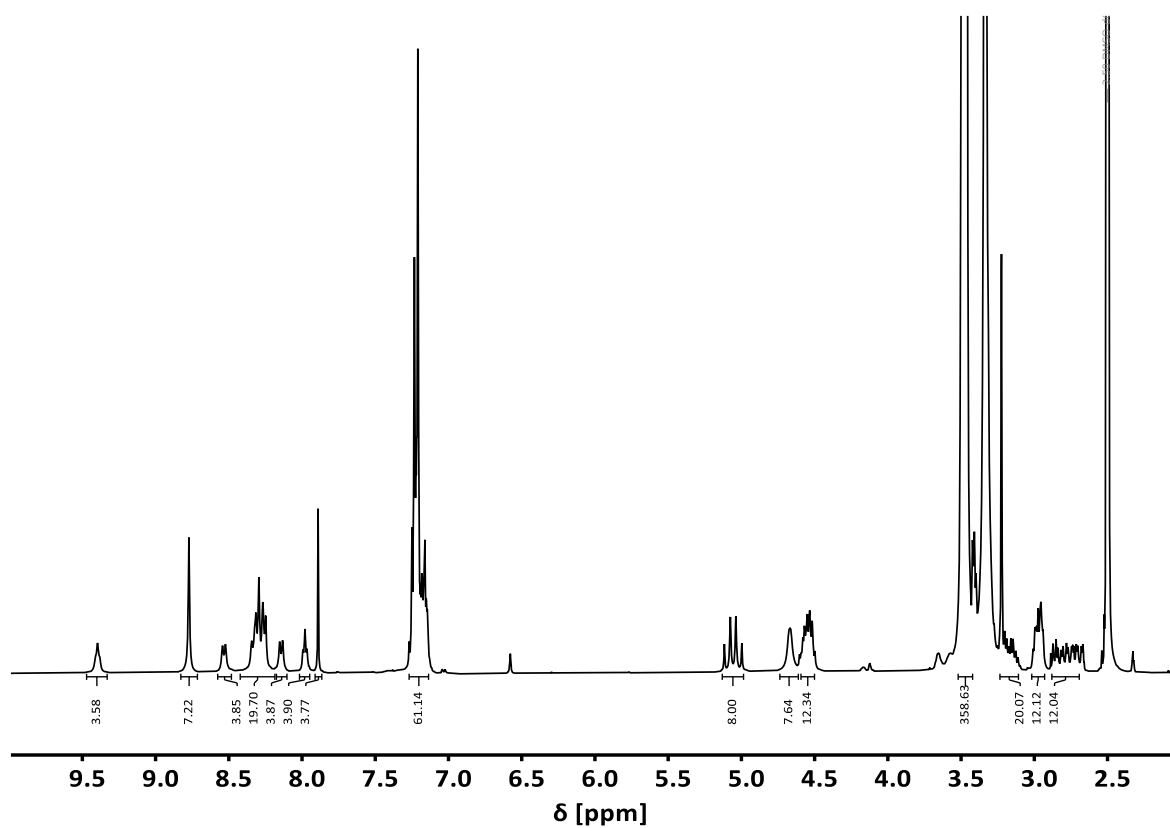


Abbildung A5.1:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von V-1 ( $\text{ZnGF}_3\text{mPEG}^{1\text{k}}$ ) ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

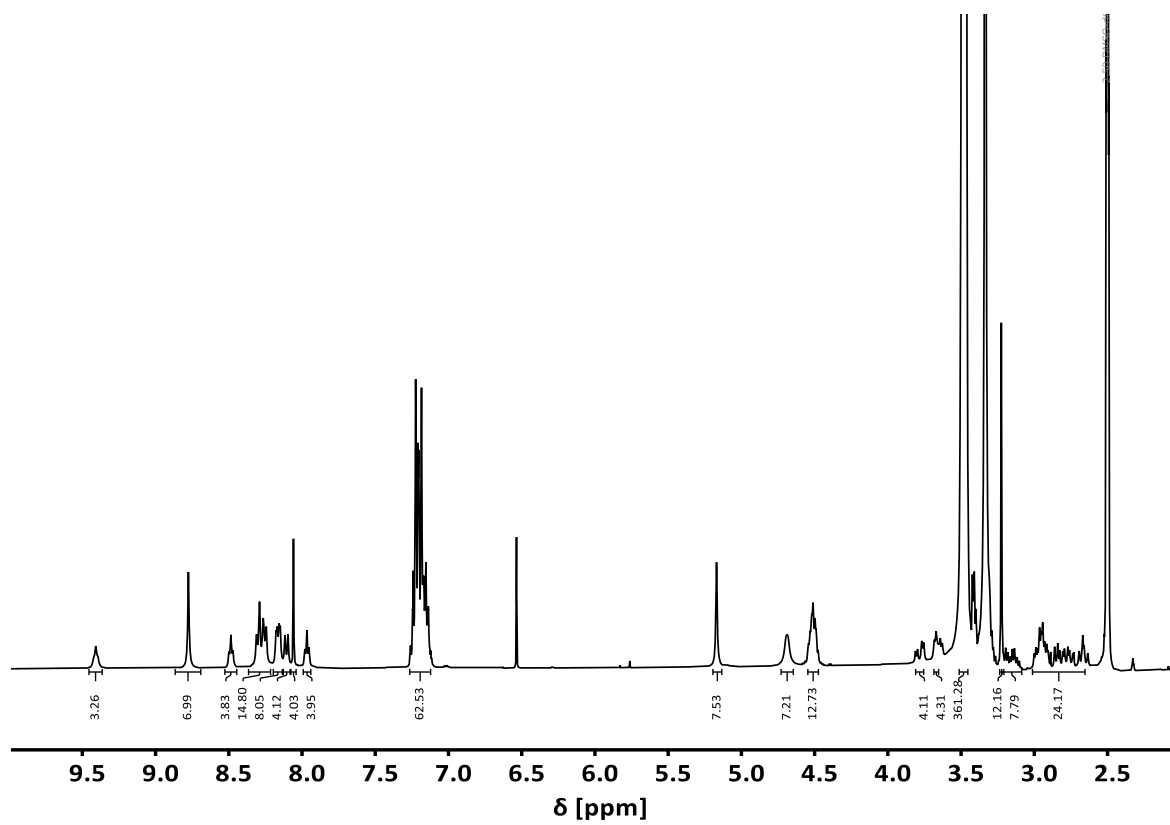


Abbildung A5.2:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von V-2 ( $\text{ZnG}_2\text{F}_3\text{mPEG}^{1\text{k}}$ ) ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

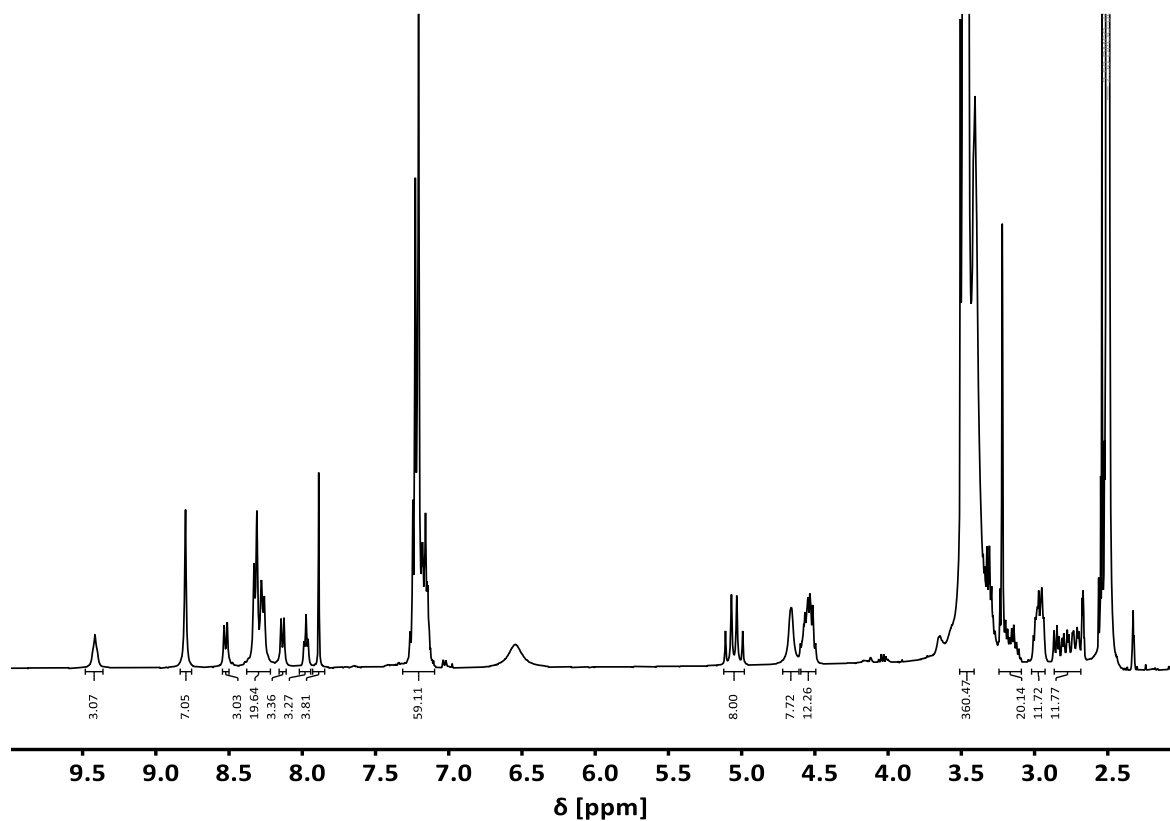


Abbildung A5.3: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von V-3 (PdGF<sub>3</sub>mPEG<sup>1k</sup>) (DMSO-*d*<sub>6</sub>, *T* = 23°C).

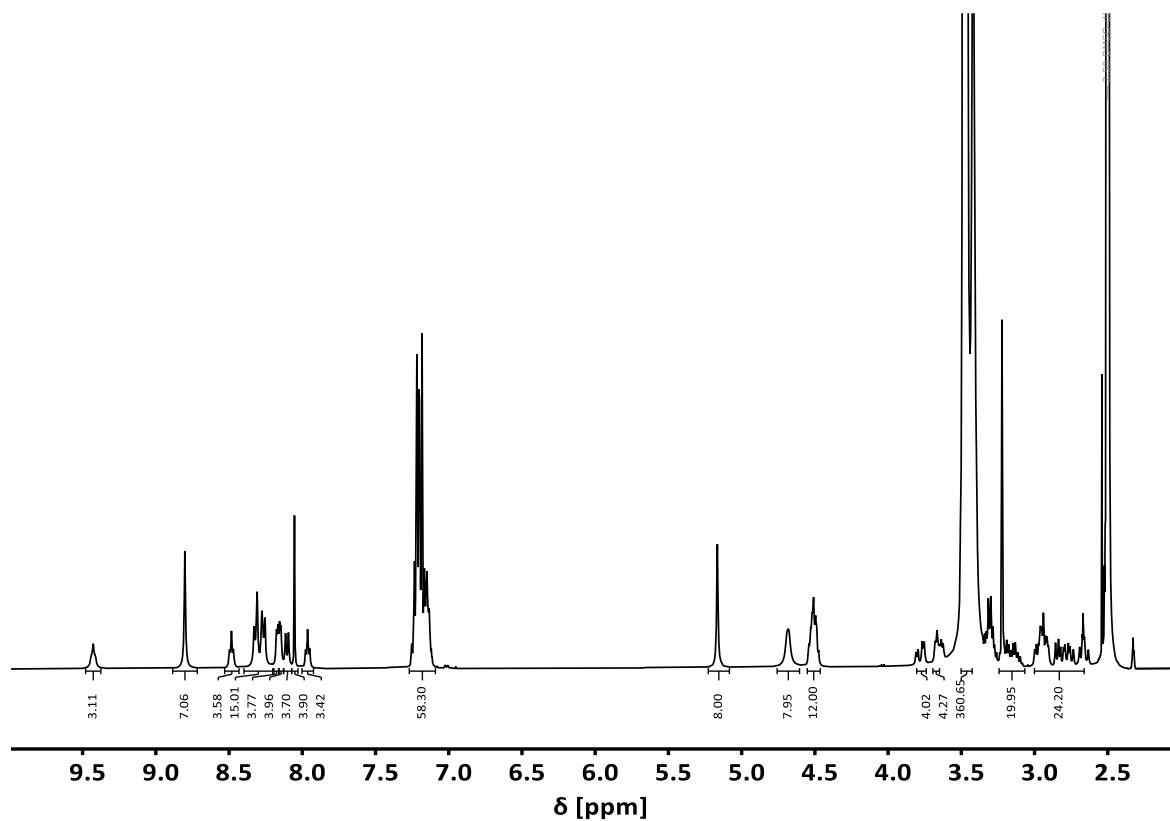
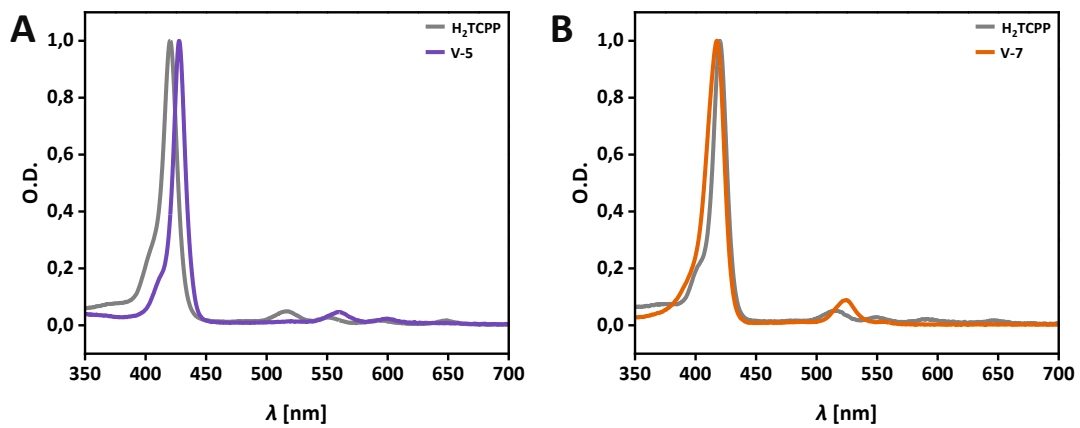
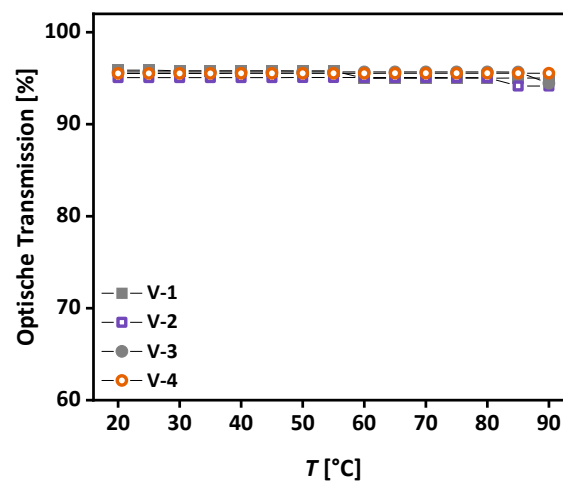


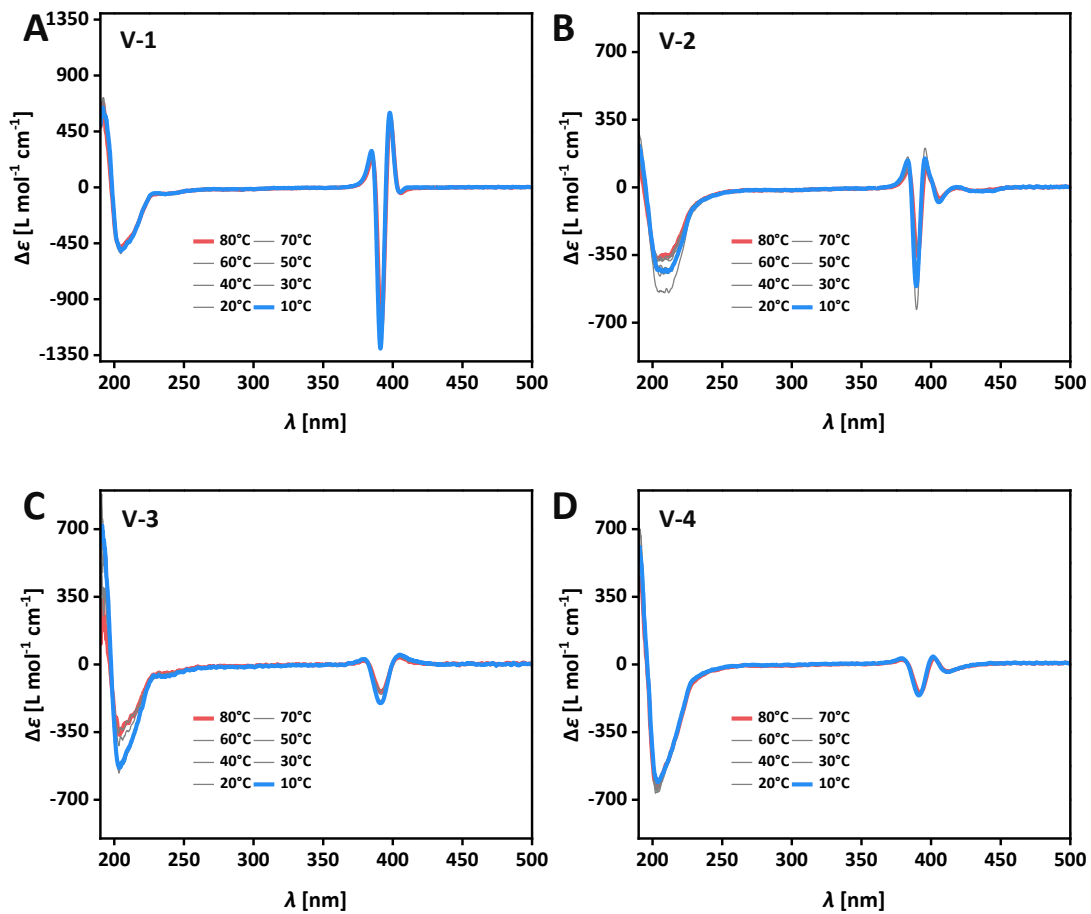
Abbildung A5.4: <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von V-4 (PdG<sub>2</sub>F<sub>3</sub>mPEG<sup>1k</sup>) (DMSO-*d*<sub>6</sub>, *T* = 23°C).



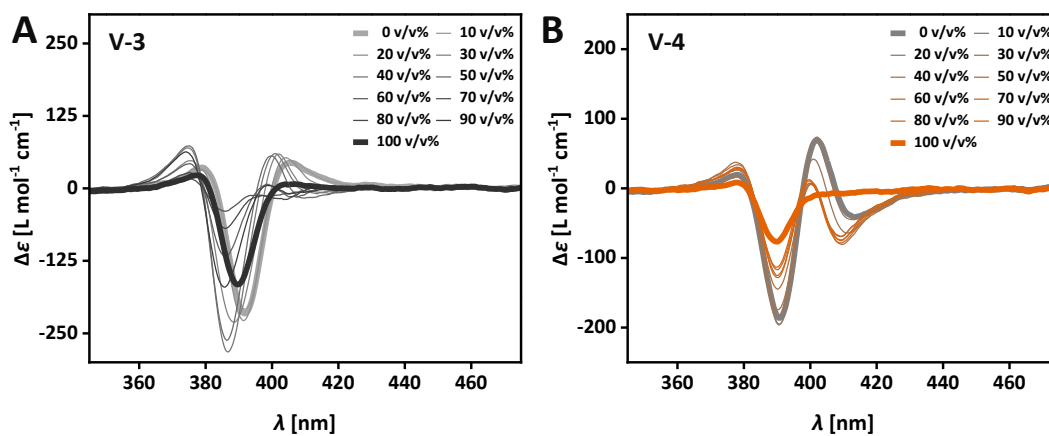
**Abbildung A5.5:** UV/Vis-Spektren der Reaktionskontrollen von **A:** H<sub>2</sub>TCPP (grau) und V-5 (violett) sowie **B:** H<sub>2</sub>TMCP (grau) und V-7 (orange) (DMF,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).



**Abbildung A5.6:** Temperaturabhängige Transmissionsmessungen zur Bestimmung der LCST von V-1 bis V-4 in H<sub>2</sub>O ( $\lambda = 700\text{ nm}$ ,  $c = 2 \times 10^{-5}\text{ M}$ ; Heizrate:  $0,1^\circ\text{C min}^{-1}$ ).



**Abbildung A5.7:** CD-Spektren temperaturabhängiger Intervallmessungen von **A: V-1**, **B: V-2**, **C: V-3** und **D: V-4** in  $\text{H}_2\text{O}$  ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ; Kühlrate:  $1^\circ\text{C min}^{-1}$ ).



**Abbildung A5.8:** CD-Spektren als Funktion des prozentualen Volumenanteils (v/v%) Acetonitril nach Equilibrieren ( $T = 75^\circ\text{C}$ ,  $t = 3 \text{ h}$ ). **A: V-3** ( $\text{PdGF}_3$ ); **B: V-4** ( $\text{PdG}_2\text{F}_3$ ) ( $c = 5 \times 10^{-6} \text{ M}$ ,  $T = 25^\circ\text{C}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ).

**Tabelle A5.1:** Optische Eigenschaften der Porphyrin-Peptidamphiphile **V-1** bis **V-4** in H<sub>2</sub>O ( $c = 5 \times 10^{-6}$  M,  $T = 25^\circ\text{C}$ ).

Monomer	$\lambda_{\text{max}1}$ [nm]	$\epsilon_{\text{max}1}$ [M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ]	$\lambda_{\text{max}2}$ [nm]	$\epsilon_{\text{max}2}$ [M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ]	$\lambda_{\text{max}3}$ [nm]	$\epsilon_{\text{max}3}$ [M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ]
V-1	430	231890	560	21198	600	10267
V-2	430	231714	560	20844	600	10084
V-3	418	183834	524	26987	-	-
V-4	418	185182	524	28184	-	-

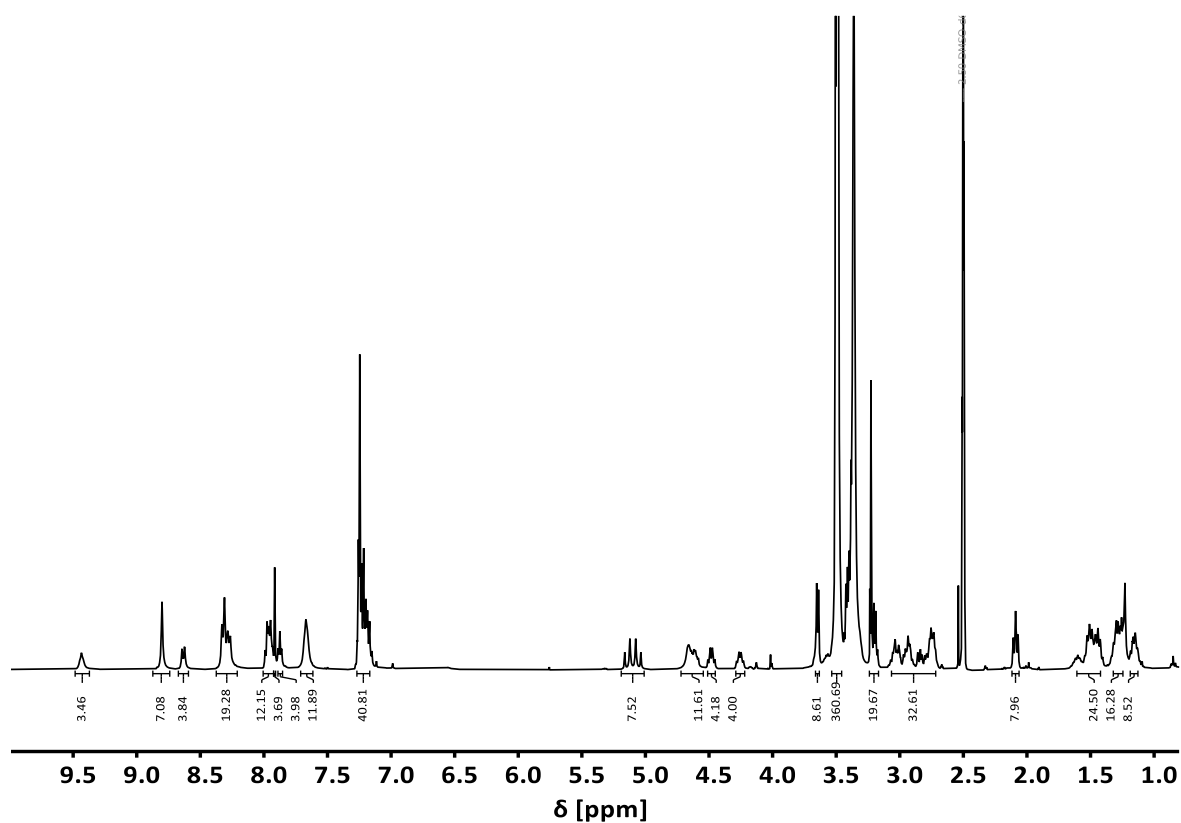


Abbildung A6.1:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von VI-1 (PdGFKFAhxGmPEG $^{1k}$ ) (DMSO- $d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

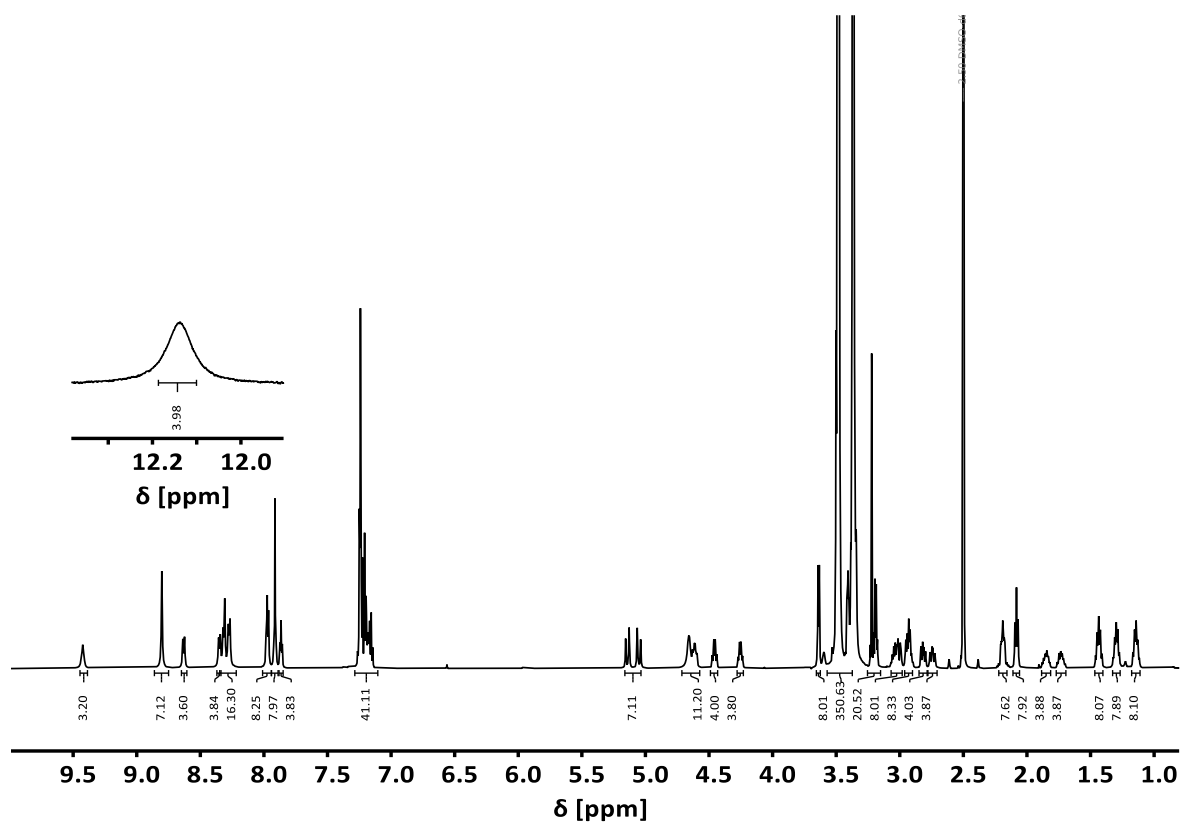


Abbildung A6.2:  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von VI-2 (PdGFEFAhxGmPEG $^{1k}$ ) (DMSO- $d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

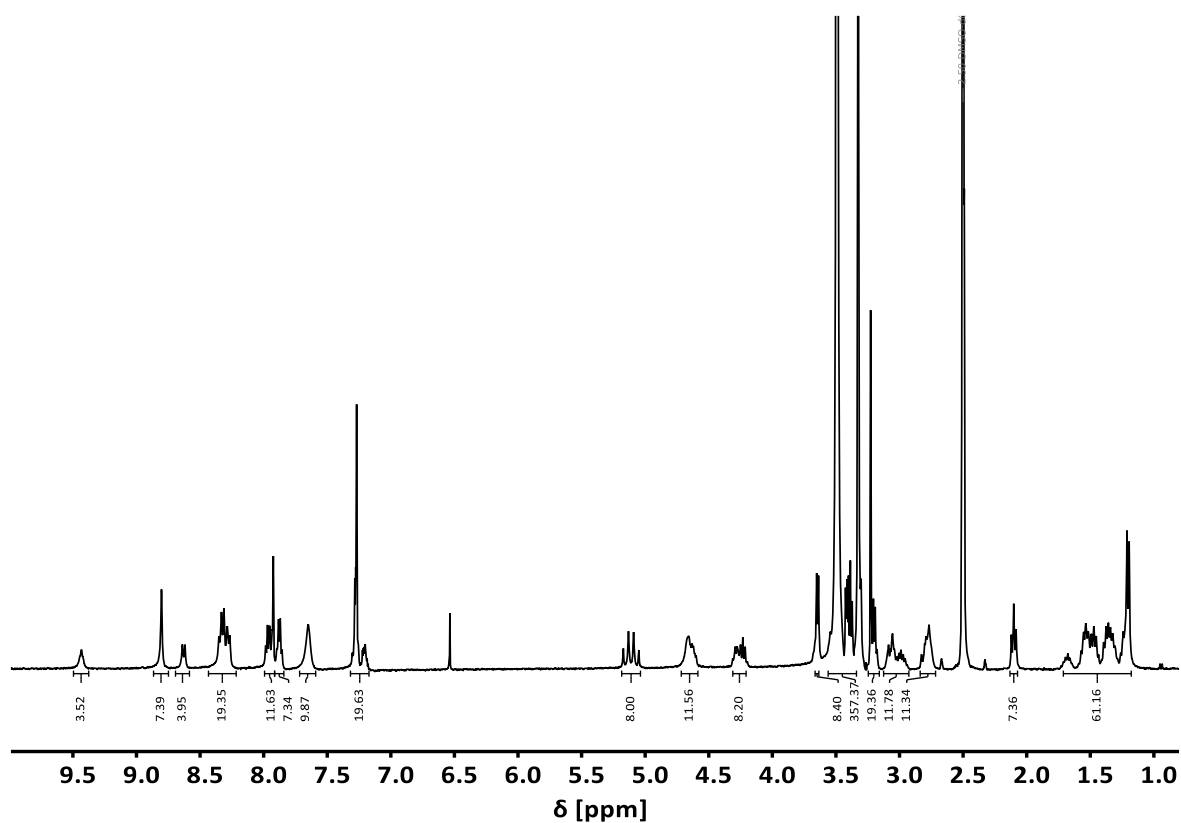


Abbildung A6.3:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von VI-3 (PdGFKAAhxGmPEG<sup>1k</sup>) (DMSO- $d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).

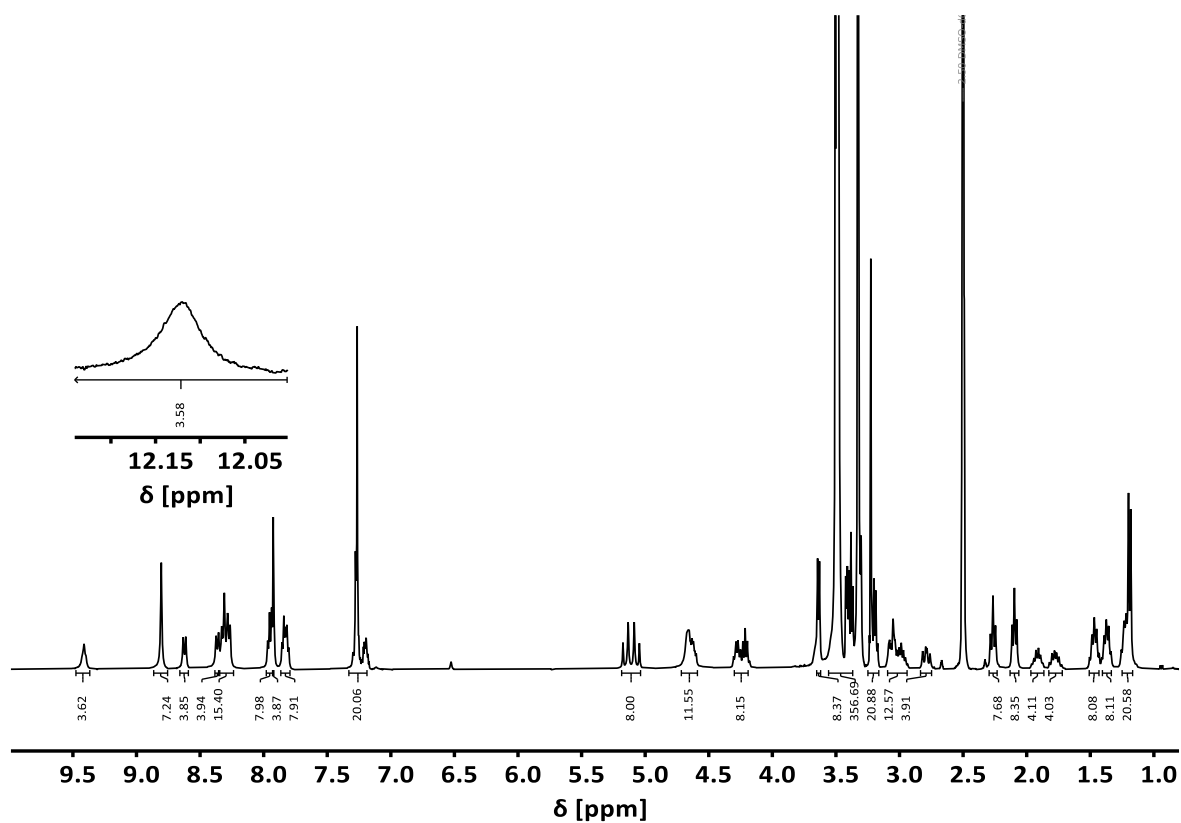
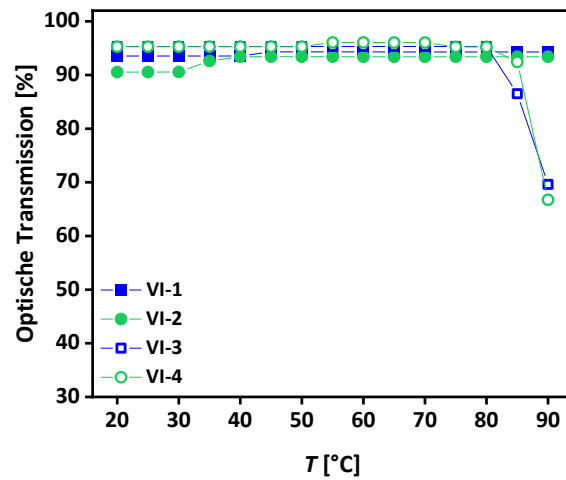
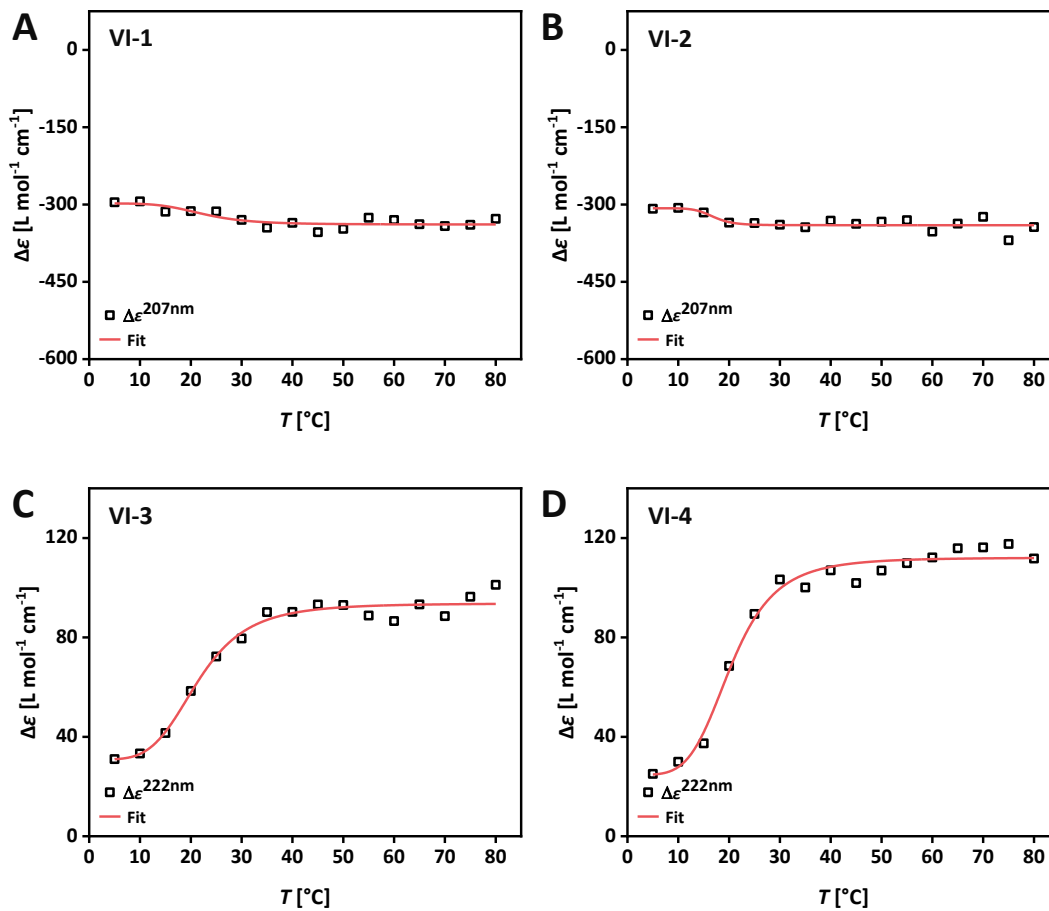


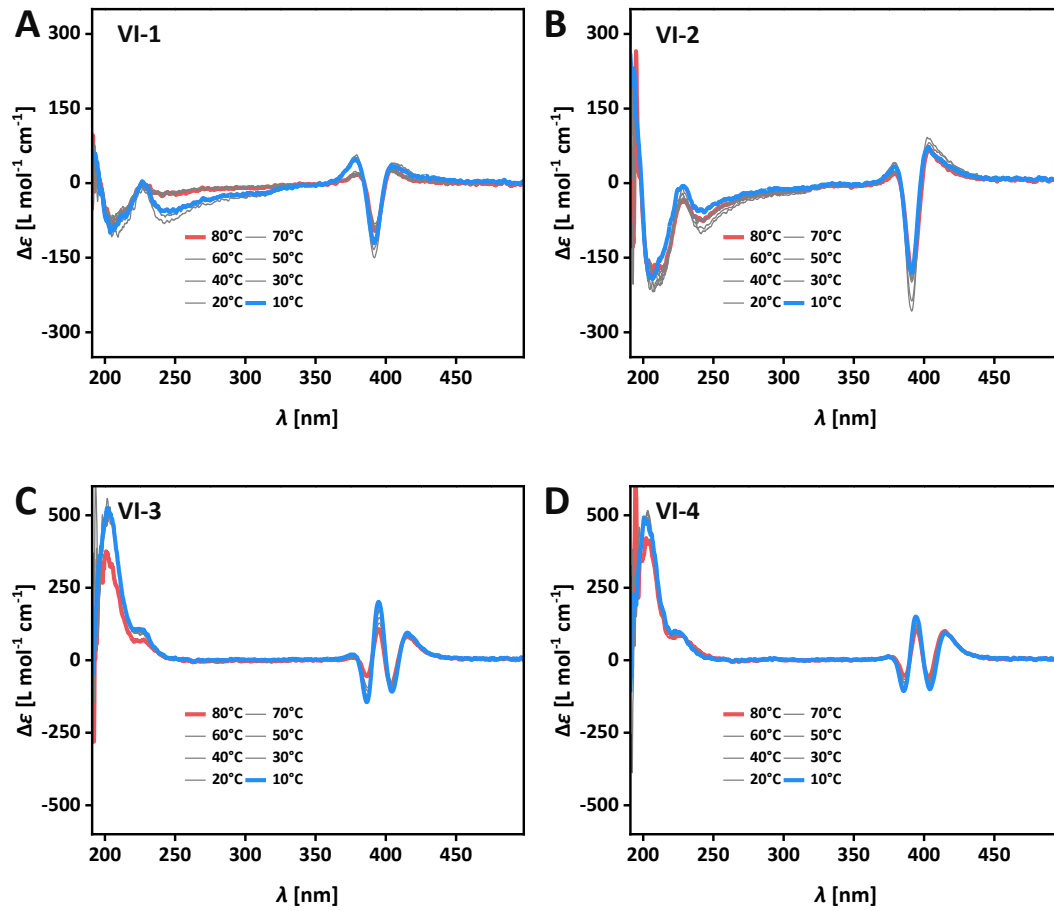
Abbildung A6.4:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von VI-4 (PdGFEEAhxGmPEG<sup>1k</sup>) (DMSO- $d_6$ ,  $T = 23^\circ\text{C}$ ).



**Abbildung A6.5:** Temperaturabhängige Transmissionsmessungen zur Bestimmung der LCST von **VI-1** bis **VI-4** im neutralen Zustand (**VI-1**: pH = 10,7; **VI-2**: pH = 2,9; **VI-3**: pH = 10,9; **VI-4**: pH = 2,8) in PB (10 mm) ( $\lambda = 700 \text{ nm}$ ,  $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ ; Heizrate:  $0,1^\circ\text{C min}^{-1}$ ).



**Abbildung A6.6:** Auftragungen des CD-Effekts ( $\Delta\epsilon$ ) bei **A**:  $\lambda = 207 \text{ nm}$ , **B**:  $\lambda = 207 \text{ nm}$ , **C**:  $\lambda = 222 \text{ nm}$  und **D**:  $\lambda = 222 \text{ nm}$  von **VI-1** (pH = 11,0), **VI-2** (pH = 2,7), **VI-3** (pH = 10,8) und **VI-4** (pH = 2,7) gegen die Temperatur ( $c = 2 \times 10^{-5} \text{ M}$ , PB (10 mm)).



**Abbildung A6.7:** CD-Spektren temperaturabhängiger Intervallmessungen von **A: VI-1** (pH = 11,0), **B: VI-2** (pH = 2,7), **C: VI-3** (pH = 10,8) und **D: VI-4** (pH = 2,7) in PB (10 mm) ( $c = 2 \times 10^{-5}$  M; Kühlrate:  $1^\circ\text{C min}^{-1}$ ).



---

# Anhang B

## Literaturverzeichnis

---

- [1] L. Brunsveld, B. J. B. Folmer, E. W. Meijer, R. P. Sijbesma, *Chem Rev* **2001**, *101*, 4071–4097.
- [2] J.-M. Lehn, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, *99*, 4763–4768.
- [3] T. Aida, E. W. Meijer, S. I. Stupp, *Science* **2012**, *335*, 813–817.
- [4] T. F. A. De Greef, M. M. J. Smulders, M. Wolffs, A. P. H. J. Schenning, R. P. Sijbesma, E. W. Meijer, *Chem Rev* **2009**, *109*, 5687–5754.
- [5] C. Fouquey, J. -M Lehn, A. -M Levelut, *Advanced Materials* **1990**, *2*, 254–257.
- [6] L. Yang, X. Tan, Z. Wang, X. Zhang, *Chem Rev* **2015**, *115*, 7196–7239.
- [7] W. Han, W. Xiang, Q. Li, H. Zhang, Y. Yang, J. Shi, Y. Ji, S. Wang, X. Ji, N. M. Khashab, J. L. Sessler, *Chem Soc Rev* **2021**, *50*, 10025–10043.
- [8] E. Krieg, M. M. C. Bastings, P. Besenius, B. Rybtchinski, *Chem Rev* **2016**, *116*, 2414–2477.
- [9] O. J. G. M. Goor, S. I. S. Hendrikse, P. Y. W. Dankers, E. W. Meijer, *Chem Soc Rev* **2017**, *46*, 6621–6637.
- [10] M. J. Webber, E. A. Appel, E. W. Meijer, R. Langer, *Nat Mater* **2015**, *15*, 13–26.
- [11] T. Aida, E. W. Meijer, *Isr J Chem* **2020**, *60*, 33–47.
- [12] M. Wehner, F. Würthner, *Nat Rev Chem* **2020**, *4*, 38–53.
- [13] C. J. Bruns, J. F. Stoddart, *The Nature of the Mechanical Bond*, Wiley, **2016**.
- [14] R. Van Noorden, D. Castelvechi, *Nature* **2016**, *538*, 152–153.
- [15] S. K. Yang, S. C. Zimmerman, *Isr J Chem* **2013**, *53*, 511–520.
- [16] J. H. Ryu, D. J. Hong, M. Lee, *Chemical Communications* **2008**, 1043–1054.
- [17] Z. Chen, A. Lohr, C. R. Saha-Möller, F. Würthner, *Chem Soc Rev* **2009**, *38*, 564–584.
- [18] C. R. Martinez, B. L. Iverson, *Chem Sci* **2012**, *3*, 2191–2201.
- [19] A. Winter, U. S. Schubert, *Chem Soc Rev* **2016**, *45*, 5311–5357.
- [20] H. Frisch, P. Besenius, *Macromol Rapid Commun* **2015**, *36*, 346–363.
- [21] P. A. Korevaar, T. F. A. De Greef, E. W. Meijer, *Chemistry of Materials* **2014**, *26*, 576–586.
- [22] T. Fukui, S. Kawai, S. Fujinuma, Y. Matsushita, T. Yasuda, T. Sakurai, S. Seki, M. Takeuchi, K. Sugiyasu, *Nat Chem* **2017**, *9*, 493–499.
- [23] K. V. Rao, D. Miyajima, A. Nihonyanagi, T. Aida, *Nat Chem* **2017**, *9*, 1133–1139.
- [24] S. Ogi, K. Sugiyasu, S. Manna, S. Samitsu, M. Takeuchi, *Nat Chem* **2014**, *6*, 188–195.
- [25] S. Ogi, T. Fukui, M. L. Jue, M. Takeuchi, K. Sugiyasu, *Angewandte Chemie - International Edition* **2014**, *53*, 14363–14367.
- [26] N. Micali, H. Engelkamp, P. G. Van Rhee, P. C. M. Christianen, L. M. Scolaro, J. C. Maan, *Nat Chem* **2012**, *4*, 201–207.
- [27] R. F. Pasternack, C. Fleming, S. Herring, P. J. Collings, J. DePaula, G. DeCastro, E. J. Gibbs, *Biophys J* **2000**, *79*, 550–560.
- [28] P. A. Korevaar, C. Schaefer, T. F. A. De Greef, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2012**, *134*, 13482–13491.
- [29] P. A. Korevaar, S. J. George, A. J. Markvoort, M. M. J. Smulders, P. A. J. Hilbers, A. P. H. J. Schenning, T. F. A. De Greef, E. W. Meijer, *Nature* **2012**, *481*, 492–496.
- [30] O. G. Shpyrko, R. Streitl, V. S. K. Balagurusamy, A. Y. Grigoriev, M. Deutsch, B. M. Ocko, M. Meron, B. Lin, P. S. Pershan, *Science* **2006**, *313*, 77–80.
- [31] A. P. H. J. Schenning, P. Jonkheijm, E. Peeters, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2001**, *123*, 409–416.

- [32] F. Würthner, C. R. Saha-Möller, B. Fimmel, S. Ogi, P. Leowanawat, D. Schmidt, *Chem Rev* **2016**, *116*, 962–1052.
- [33] E. Krieg, H. Weissman, E. Shimoni, A. Baris, B. Rybtchinski, *J Am Chem Soc* **2014**, *136*, 9443–9452.
- [34] S. Ogi, V. Stepanenko, K. Sugiyasu, M. Takeuchi, F. Würthner, *J Am Chem Soc* **2015**, *137*, 3300–3307.
- [35] T. E. Kaiser, V. Stepanenko, F. Würthner, *J Am Chem Soc* **2009**, *131*, 6719–6732.
- [36] W. Wagner, M. Wehner, V. Stepanenko, S. Ogi, F. Würthner, *Angewandte Chemie* **2017**, *129*, 16224–16228.
- [37] S. Ogi, V. Stepanenko, J. Thein, F. Würthner, *J Am Chem Soc* **2016**, *138*, 670–678.
- [38] T. E. Kaiser, H. Wang, V. Stepanenko, F. Würthner, *Angewandte Chemie - International Edition* **2007**, *46*, 5541–5544.
- [39] L. Albertazzi, D. van der Zwaag, C. M. A. Leenders, R. Fitzner, R. W. van der Hofstad, E. W. Meijer, *Science* **2014**, *344*, 491–495.
- [40] N. M. Matsumoto, R. P. M. Lafleur, X. Lou, K. C. Shih, S. P. W. Wijnands, C. Guibert, J. W. A. M. Van Rosendaal, I. K. Voets, A. R. A. Palmans, Y. Lin, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2018**, *140*, 13308–13316.
- [41] M. M. J. Smulders, M. M. L. Nieuwenhuizen, M. Grossman, I. A. W. Pilot, C. C. Lee, T. F. A. De Greef, A. P. H. J. Schenning, A. R. A. Palmans, E. W. Meijer, *Macromolecules* **2011**, *44*, 6581–6587.
- [42] G. Vantomme, G. M. Ter Huurne, C. Kulkarni, H. M. M. Ten Eikelder, A. J. Markvoort, A. R. A. Palmans, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2019**, *141*, 18278–18285.
- [43] M. M. J. Smulders, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2008**, *130*, 606–611.
- [44] T. Brixner, R. Hildner, J. Köhler, C. Lambert, F. Würthner, *Adv Energy Mater* **2017**, *7*, DOI 10.1002/aenm.201700236.
- [45] R. B. Martin, *Chem Rev* **1996**, *96*, 3043–3064.
- [46] M. M. J. Smulders, M. M. L. Nieuwenhuizen, T. F. A. De Greef, P. Van Der Schoot, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *Chemistry - A European Journal* **2010**, *16*, 362–367.
- [47] G. Fernández, M. Stolte, V. Stepanenko, F. Würthner, *Chemistry - A European Journal* **2013**, *19*, 206–217.
- [48] D. Zhao, J. S. Moore, *Org Biomol Chem* **2003**, *1*, 3471–3491.
- [49] R. F. Goldstein, L. Stryer, *Biophys J* **1986**, *50*, 583–599.
- [50] F. Würthner, *Acc Chem Res* **2016**, *49*, 868–876.
- [51] J. Gershberg, F. Fennel, T. H. Rehm, S. Lochbrunner, F. Würthner, *Chem Sci* **2016**, *7*, 1729–1737.
- [52] T. Heek, C. Fasting, C. Rest, X. Zhang, F. Würthner, R. Haag, *Chemical Communications* **2010**, *46*, 1884–1886.
- [53] M. Hartlieb, E. D. H. Mansfield, S. Perrier, *Polym Chem* **2020**, *11*, 1083–1110.
- [54] J. Matern, Y. Dorca, L. Sánchez, G. Fernández, *Angewandte Chemie* **2019**, *131*, 16884–16895.
- [55] A. Sorrenti, J. Leira-Iglesias, A. J. Markvoort, T. F. A. De Greef, T. M. Hermans, *Chem Soc Rev* **2017**, *46*, 5476–5490.
- [56] J. H. Ryu, M. Lee, *J Am Chem Soc* **2005**, *127*, 14170–14171.
- [57] S. Dhiman, S. J. George, *Bull Chem Soc Jpn* **2018**, *91*, 687–699.
- [58] S. Dhiman, A. Sarkar, S. J. George, *RSC Adv* **2018**, *8*, 18913–18925.
- [59] E. Mattia, S. Otto, *Nat Nanotechnol* **2015**, *10*, 111–119.
- [60] S. A. P. Van Rossum, M. Tena-Solsona, J. H. Van Esch, R. Eelkema, J. Boekhoven, *Chem Soc Rev* **2017**, *46*, 5519–5535.
- [61] A. Sharko, D. Livitz, S. De Piccoli, K. J. M. Bishop, T. M. Hermans, *Chem Rev* **2022**, *122*, 11759–11777.
- [62] D. K. Kondepudi, B. De Bari, J. A. Dixon, *Entropy* **2020**, *22*, 1–19.
- [63] M. Cheng, C. Qian, Y. Ding, Y. Chen, T. Xiao, X. Lu, J. Jiang, L. Wang, *ACS Mater Lett* **2020**, *2*, 425–429.

- [64] M. Cheng, D. Chen, L. Zhang, T. Xiao, J. Jiang, L. Wang, *Organic Chemistry Frontiers* **2023**, *10*, 1380–1385.
- [65] J. Leira-Iglesias, A. Sorrenti, A. Sato, P. A. Dunne, T. M. Hermans, *Chemical Communications* **2016**, *52*, 9009–9012.
- [66] M. Weißenfels, J. Gemen, R. Klajn, *Chem* **2021**, *7*, 23–37.
- [67] M. Wehner, M. I. S. Röhr, M. Bühler, V. Stepanenko, W. Wagner, F. Würthner, *J Am Chem Soc* **2019**, *141*, 6092–6107.
- [68] M. Endo, T. Fukui, S. H. Jung, S. Yagai, M. Takeuchi, K. Sugiyasu, *J Am Chem Soc* **2016**, *138*, 14347–14353.
- [69] B. Kemper, L. Zengerling, D. Spitzer, R. Otter, T. Bauer, P. Besenius, *J Am Chem Soc* **2018**, *140*, 534–537.
- [70] A. T. Haedler, S. C. J. Meskers, R. H. Zha, M. Kivala, H. W. Schmidt, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2016**, *138*, 10539–10545.
- [71] Y. Tidhar, H. Weissman, S. G. Wolf, A. Gulino, B. Rybtchinski, *Chemistry - A European Journal* **2011**, *17*, 6068–6075.
- [72] A. Aliprandi, M. Mauro, L. De Cola, *Nat Chem* **2016**, *8*, 10–15.
- [73] M. E. Robinson, D. J. Lunn, A. Nazemi, G. R. Whittell, L. De Cola, I. Manners, *Chemical Communications* **2015**, *51*, 15921–15924.
- [74] M. E. Robinson, A. Nazemi, D. J. Lunn, D. W. Hayward, C. E. Boott, M. S. Hsiao, R. L. Harniman, S. A. Davis, G. R. Whittell, R. M. Richardson, L. De Cola, I. Manners, *ACS Nano* **2017**, *11*, 9162–9175.
- [75] P. K. Hashim, J. Bergueiro, E. W. Meijer, T. Aida, *Prog Polym Sci* **2020**, *105*, 101250.
- [76] G. Ghosh, *Giant* **2023**, *14*, 100160.
- [77] R. Contreras-Montoya, J. P. Smith, S. C. Boothroyd, J. A. Aguilar, M. Mirzamani, M. A. Screen, D. S. Yufit, M. Robertson, L. He, S. Qian, H. Kumari, J. W. Steed, *Chem Sci* **2023**, *14*, 11389–11401.
- [78] T. Mirkovic, E. E. Ostroumov, J. M. Anna, R. Van Grondelle, Govindjee, G. D. Scholes, *Chem Rev* **2017**, *117*, 249–293.
- [79] J. M. Olson, *Photochem Photobiol* **1998**, *67*, 61–75.
- [80] G. McDermott, S. M. Prince, A. A. Freer, A. M. Hawthornthwaite-Lawless, M. Z. Papiz, R. J. Cogdell, N. W. Isaacs, *Nature* **1995**, *374*, 517–521.
- [81] J. M. Park, K. I. Hong, H. Lee, W. D. Jang, *Acc Chem Res* **2021**, *54*, 2249–2260.
- [82] J. Otsuki, *J Mater Chem A Mater* **2018**, *6*, 6710–6753.
- [83] G. P. Moss, *Pure and Applied Chemistry* **1987**, *59*, 779–832.
- [84] P. M. Jordan, *Curr Opin Struct Biol* **1994**, *4*, 902–911.
- [85] M. Vonlanthen, F. Cuétara-Guadarrama, K. Sorroza-Martínez, I. González-Méndez, A. S. Estrada-Montaña, E. Rivera, *Dyes and Pigments* **2024**, *222*, 111873.
- [86] R.-H. Jin, T. Aida, S. Inoue, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1993**, 1260–1262.
- [87] M.-S. Choi, T. Aida, T. Yamazaki, I. Yamazaki, *Angewandte Chemie - International Edition* **2001**, *40*, 3194–3198.
- [88] O. Dumele, J. Chen, J. V Passarelli, S. I. Stupp, *Adv Mater* **2020**, *32*, e1907247.
- [89] P. Li, Y. Jia, P. Chen, *Chemistry* **2023**, *29*, e202300300.
- [90] S. Lim, Y. Kuang, H. A. M. Ardoña, *Front Chem* **2021**, *9*, DOI 10.3389/fchem.2021.723111.
- [91] M. F. J. Mabesoone, A. J. Markvoort, M. Banno, T. Yamaguchi, F. Helmich, Y. Naito, E. Yashima, A. R. A. Palmans, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2018**, *140*, 7810–7819.
- [92] R. van der Weegen, A. J. P. Teunissen, E. W. Meijer, *Chemistry - A European Journal* **2017**, *23*, 3773–3783.
- [93] F. Helmich, C. C. Lee, M. M. L. Nieuwenhuizen, J. C. Gielen, P. C. M. Christianen, A. Larsen, G. Fytas, P. E. L. G. Leclère, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *Angewandte Chemie - International Edition* **2010**, *49*, 3939–3942.
- [94] J. Markl, D. Sadava, D. M. Hillis, H. C. Heller, S. D. Hacker, in *Purves Biologie*, Springer Berlin Heidelberg, **2022**, pp. 1484–1490.

- [95] In *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology*, International Union Of Pure And Applied Chemistry (IUPAC), Research Triangle Park, NC, **2019**.
- [96] B. Huseby, R. Ocampo, *Geochim Cosmochim Acta* **1997**, *61*, 3951–3955.
- [97] P. J. Brothers, M. O. Senge, Eds., *Fundamentals of Porphyrin Chemistry*, Wiley, **2022**.
- [98] M. Gouterman, *J Mol Spectrosc* **1961**, *6*, 138–163.
- [99] M. Gouterman, *J Chem Phys* **1959**, *30*, 1139–1161.
- [100] M. Gouterman, G. H. Wagnière, L. C. Snyder, *J Mol Spectrosc* **1963**, *11*, 108–127.
- [101] L. D. Barron, *Molecular Light Scattering and Optical Activity*, Cambridge University Press, **2004**.
- [102] M. O. Senge, A. A. Ryan, K. A. Letchford, S. A. MacGowan, T. Mielke, *Symmetry* **2014**, *6*, 781–843.
- [103] T. Hayashi, Y. Hisaeda, *Acc Chem Res* **2002**, *35*, 35–43.
- [104] E. Sitte, M. O. Senge, *European J Org Chem* **2020**, *2020*, 3171–3191.
- [105] P. Rothmund, *J Am Chem Soc* **1935**, *57*, 2010–2011.
- [106] P. Rothmund, A. R. Menotti, *J Am Chem Soc* **1941**, *63*, 267–270.
- [107] A. D. Adler, F. R. Longo, William. Shergalis, *J Am Chem Soc* **1964**, *86*, 3145–3149.
- [108] A. D. Adler, F. R. Longo, J. D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff, *J Org Chem* **1967**, *32*, 476–476.
- [109] J. S. Lindsey, H. C. Hsu, I. C. Schreiman, *Tetrahedron Lett* **1986**, *27*, 4969–4970.
- [110] D. K. Dogutan, M. Ptaszek, J. S. Lindsey, *Journal of Organic Chemistry* **2007**, *72*, 5008–5011.
- [111] J. S. Lindsey, I. C. Schreiman, H. C. Hsu, P. C. Kearney, A. M. Marguerettaz, *J Org Chem* **1987**, *52*, 827–836.
- [112] J. Tian, W. Zhang, *Prog Polym Sci* **2019**, *95*, 65–117.
- [113] E. Weyandt, I. A. W. Filot, G. Vantomme, E. W. Meijer, *Chemistry - A European Journal* **2021**, *27*, 9700–9707.
- [114] P. Li, G. Xu, N. Wang, B. Guan, S. Zhu, P. Chen, M. Liu, *Adv Funct Mater* **2021**, *31*, DOI 10.1002/adfm.202100367.
- [115] C. H. Kirksey, P. Hambright, *Inorg Chem* **1970**, *9*, 958–960.
- [116] C. H. Kirksey, P. Hambright, C. B. Storm, *Inorg Chem* **1969**, *8*, 2141–2144.
- [117] K. M. Kadish, L. R. Shiue, R. K. Rhodes, L. A. Bottomley, *Inorg Chem* **1981**, *20*, 1274–1277.
- [118] Y. Kobuke, H. Miyaji, *J Am Chem Soc* **1994**, *116*, 4111–4112.
- [119] F. Badalassi, D. Wahler, G. Klein, P. Crotti, J. L. Reymond, *Angewandte Chemie - International Edition* **2000**, *39*, 4070–4073.
- [120] A. V. Chernook, U. Rempel, C. von Borczyskowski, A. M. Shulga, E. I. Zenkevich, *Chem Phys Lett* **1996**, *254*, 229–241.
- [121] M. Kasha, H. R. Rawls, M. Ashraf El-Bayoumi, *Pure and Applied Chemistry* **1965**, *11*, 371–392.
- [122] N. C. Maiti, S. Mazumdar, N. Periasamy, *J Phys Chem B* **1998**, *102*, 1528–1538.
- [123] C. A. Hunter, J. K. M. Sanders, *J Am Chem Soc* **1990**, *112*, 5525–5534.
- [124] N. Berova, K. Nakanishi, R. W. Woody, *Circular Dichroism*, VCH, New York, **2000**.
- [125] G. Gottarelli, S. Lena, S. Masiero, S. Pieraccini, G. P. Spada, *Chirality* **2008**, *20*, 471–485.
- [126] T. Aida, A. Takemura, M. Fuse, S. Inoue, *J Chem Soc Chem Commun* **1988**, 391.
- [127] F. J. M. Hoeben, M. Wolfs, J. Zhang, S. De Feyter, P. Leclère, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2007**, *129*, 9819–9828.
- [128] F. Helmich, M. M. J. Smulders, C. C. Lee, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2011**, *133*, 12238–12246.
- [129] T. Hirose, F. Helmich, E. W. Meijer, *Angewandte Chemie - International Edition* **2013**, *52*, 304–309.
- [130] E. Weyandt, L. Leanza, R. Capelli, G. M. Pavan, G. Vantomme, E. W. Meijer, *Nat Commun* **2022**, *13*, DOI 10.1038/s41467-021-27831-2.
- [131] A. Romeo, M. A. Castriciano, I. Occhiuto, R. Zagami, R. F. Pasternack, L. M. Scolaro, *J Am Chem Soc* **2014**, *136*, 40–43.
- [132] X. Yang, Y. Shen, J. Liu, Y. Wang, W. Qi, R. Su, Z. He, *Langmuir* **2021**, *37*, 13067–13074.

- [133] M. M. Green, M. P. Reidy, R. D. Johnson, G. Darling, D. J. O'Leary, G. Willson, *J Am Chem Soc* **1989**, *111*, 6452–6454.
- [134] A. R. A. Palmans, J. A. J. M. Vekemans, E. E. Havinga, E. W. Meijer, *Angewandte Chemie - International Edition* **1997**, *36*, 2648–2651.
- [135] F. Helmich, C. C. Lee, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2010**, *132*, 16753–16755.
- [136] N. Sasaki, J. Yuan, T. Fukui, M. Takeuchi, K. Sugiyasu, *Chemistry - A European Journal* **2020**, *26*, 7840–7846.
- [137] T. Fukui, N. Sasaki, M. Takeuchi, K. Sugiyasu, *Chem Sci* **2019**, *10*, 6770–6776.
- [138] Z. Jin, N. Sasaki, N. Kishida, M. Takeuchi, Y. Wakayama, K. Sugiyasu, *Chemistry - A European Journal* **2023**, *29*, DOI 10.1002/chem.202302181.
- [139] K. Sugiyasu, *Polym J* **2021**, *53*, 865–875.
- [140] S. H. Jung, D. Bochicchio, G. M. Pavan, M. Takeuchi, K. Sugiyasu, *J Am Chem Soc* **2018**, *140*, 10570–10577.
- [141] J. T. Titantah, M. Karttunen, *Sci Rep* **2013**, *3*, DOI 10.1038/srep02991.
- [142] P. Ball, *Chem Rev* **2008**, *108*, 74–108.
- [143] Y. Gao, H. Fang, K. Ni, Y. Feng, *Sci Rep* **2022**, *12*, DOI 10.1038/s41598-022-11947-6.
- [144] R. Ludwig, *Angewandte Chemie* **2001**, *113*, 1856–1876.
- [145] R. Ludwig, *Angewandte Chemie - International Edition* **2001**, *40*, 1808–1827.
- [146] D. M. Huang, P. L. Geissler, D. Chandler, *Journal of Physical Chemistry B* **2001**, *105*, 6704–6709.
- [147] S. Garde, G. Hummer, A. E. García, M. E. Paulaitis, L. R. Pratt, *Phys Rev Lett* **1996**, *77*, 4966–4968.
- [148] D. Chandler, *Nature* **2005**, *437*, 640–647.
- [149] E. Larrañeta, S. Stewart, M. Ervine, R. Al-Kasasbeh, R. F. Donnelly, *J Funct Biomater* **2018**, *9*, DOI 10.3390/jfb9010013.
- [150] Z. Li, N. Song, Y. W. Yang, *Matter* **2019**, *1*, 345–368.
- [151] M. J. Webber, R. Langer, *Chem Soc Rev* **2017**, *46*, 6600–6620.
- [152] H. J. Yoon, W. D. Jang, *J Mater Chem* **2010**, *20*, 211–222.
- [153] K. A. Dill, *Biochemistry* **1990**, *29*, 7133–7155.
- [154] E. A. Meyer, R. K. Castellano, F. Diederich, *Angewandte Chemie - International Edition* **2003**, *42*, 1210–1250.
- [155] M. Sun, K. Müllen, M. Yin, *Chem Soc Rev* **2016**, *45*, 1513–1528.
- [156] R. Rotomskis, R. Augulis, V. Snitka, R. Valiokas, B. Liedberg, *Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108*, 2833–2838.
- [157] J. M. Ribó, J. Crusats, J.-A. Farrera, M. L. Valero, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1994**, 681–682.
- [158] M. Trapani, I. G. Occhiuto, R. Zagami, G. De Luca, M. A. Castriciano, A. Romeo, L. M. Scolaro, R. F. Pasternack, *ACS Omega* **2018**, *3*, 18843–18848.
- [159] R. Rubires, J. Crusats, Z. El-Hachemi, T. Jaramillo, M. López, E. Valls, J.-A. Farrera, J. M. Ribó, *New Journal of Chemistry* **1999**, *23*, 189–198.
- [160] K. Kano, K. Fukuda, H. Wakami, R. Nishiyabu, R. F. Pasternack, *J Am Chem Soc* **2000**, *122*, 7494–7502.
- [161] J. Valanciunaite, S. Bagdonas, G. Streckyte, R. Rotomskis, *Photochemical and Photobiological Sciences* **2006**, *5*, 381–388.
- [162] Z. Li, C. J. Zeman, S. R. Valandro, J. P. O. Bantang, K. S. Schanze, *J Am Chem Soc* **2019**, *141*, 12610–12618.
- [163] X. Zhang, D. Görl, V. Stepanenko, F. Würthner, *Angewandte Chemie - International Edition* **2014**, *53*, 1270–1274.
- [164] D. Görl, F. Würthner, *Angewandte Chemie* **2016**, *128*, 12273–12277.
- [165] D. Görl, B. Soberats, S. Herbst, V. Stepanenko, F. Würthner, *Chem Sci* **2016**, *7*, 6786–6790.
- [166] P. P. N. Syamala, B. Soberats, D. Görl, S. Gekle, F. Würthner, *Chem Sci* **2019**, *10*, 9358–9366.
- [167] P. P. N. Syamala, F. Würthner, *Chemistry - A European Journal* **2020**, *26*, 8426–8434.

- [168] M. Garzoni, M. B. Baker, C. M. A. Leenders, I. K. Voets, L. Albertazzi, A. R. A. Palmans, E. W. Meijer, G. M. Pavan, *J Am Chem Soc* **2016**, *138*, 13985–13995.
- [169] P. Besenius, G. Portale, P. H. H. Bomans, H. M. Janssen, A. R. A. Palmans, E. W. Meijer, **2010**, *107*, 17888–17893.
- [170] P. Besenius, K. P. Van Den Hout, H. M. H. G. Albers, T. F. A. De Greef, L. L. C. Olijve, T. M. Hermans, B. F. M. De Waal, P. H. H. Bomans, N. A. J. M. Sommerdijk, G. Portale, A. R. A. Palmans, M. H. P. Van Genderen, J. A. J. M. Vekemans, E. W. Meijer, *Chemistry - A European Journal* **2011**, *17*, 5193–5203.
- [171] C. M. A. Leenders, L. Albertazzi, T. Mes, M. M. E. Koenigs, A. R. A. Palmans, E. W. Meijer, *Chemical Communications* **2013**, *49*, 1963–1965.
- [172] C. M. A. Leenders, M. B. Baker, I. A. B. Pijpers, R. P. M. Lafleur, L. Albertazzi, A. R. A. Palmans, E. W. Meijer, *Soft Matter* **2016**, *12*, 2887–2893.
- [173] A. Levin, T. A. Hakala, L. Schnaider, G. J. L. Bernardes, E. Gazit, T. P. J. Knowles, *Nat Rev Chem* **2020**, *4*, 615–634.
- [174] J. M. Palomo, *RSC Adv* **2014**, *4*, 32658–32672.
- [175] R. B. Merrifield, *J Am Chem Soc* **1963**, *85*, 2149–2154.
- [176] S. B. H. Kent, *Chem Soc Rev* **2009**, *38*, 338–351.
- [177] E. Mayans, C. Alemán, *Molecules* **2020**, *25*, 6037.
- [178] M. Reches, E. Gazit, *Science* **2003**, *300*, 625–627.
- [179] G. Fichman, E. Gazit, *Acta Biomater* **2014**, *10*, 1671–1682.
- [180] M. Reches, E. Gazit, *Nat Nanotechnol* **2006**, *1*, 195–200.
- [181] M. Reches, E. Gazit, *Isr J Chem* **2005**, *45*, 363–371.
- [182] T. O. Mason, D. Y. Chirgadze, A. Levin, L. Adler-Abramovich, E. Gazit, T. P. J. Knowles, A. K. Buell, *ACS Nano* **2014**, *8*, 1243–1253.
- [183] N. Amdursky, P. Beker, I. Koren, B. Bank-Srouer, E. Mishina, S. Semin, T. Rasing, Y. Rosenberg, Z. Barkay, E. Gazit, G. Rosenman, *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 1349–1354.
- [184] A. Levin, T. O. Mason, L. Adler-Abramovich, A. K. Buell, G. Meisl, C. Galvagnion, Y. Bram, S. A. Stratford, C. M. Dobson, T. P. J. Knowles, E. Gazit, *Nat Commun* **2014**, *5*, DOI 10.1038/ncomms6219.
- [185] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, G. J. Gatto, L. Stryer, in *Stryer Biochemie*, Springer Berlin Heidelberg, **2018**, pp. 31–77.
- [186] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, G. J. Gatto, L. Stryer, in *Stryer Biochemie*, Springer Berlin Heidelberg, **2018**, pp. 839–873.
- [187] F. Sheehan, D. Sementa, A. Jain, M. Kumar, M. Tayarani-Najjaran, D. Kroiss, R. V. Ulijn, *Chem Rev* **2021**, *121*, 13869–13914.
- [188] J. D. Hartgerink, E. Beniash, S. I. Stupp, *Science* **2001**, *294*, 1684–1688.
- [189] J. D. Hartgerink, E. Beniash, S. I. Stupp, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, *99*, 5133–5138.
- [190] S. E. Paramonov, H. W. Jun, J. D. Hartgerink, *J Am Chem Soc* **2006**, *128*, 7291–7298.
- [191] H. Jiang, M. O. Guler, S. I. Stupp, *Soft Matter* **2007**, *3*, 454–462.
- [192] J. H. Ortony, C. J. Newcomb, J. B. Matson, L. C. Palmer, P. E. Doan, B. M. Hoffman, S. I. Stupp, *Nat Mater* **2014**, *13*, 812–816.
- [193] M. H. Sangji, H. Sai, S. M. Chin, S. R. Lee, I. R. Sasselli, L. C. Palmer, S. I. Stupp, *Nano Lett* **2021**, *21*, 6146–6155.
- [194] P. A. Korevaar, C. J. Newcomb, E. W. Meijer, S. I. Stupp, *J Am Chem Soc* **2014**, *136*, 8540–8543.
- [195] S. Zhang, M. A. Greenfield, A. Mata, L. C. Palmer, R. Bitton, J. R. Mantei, C. Aparicio, M. O. De La Cruz, S. I. Stupp, *Nat Mater* **2010**, *9*, 594–601.
- [196] E. T. Pashuck, H. Cui, S. I. Stupp, *J Am Chem Soc* **2010**, *132*, 6041–6046.
- [197] A. Ghosh, M. Haverick, K. Stump, X. Yang, M. F. Tweedle, J. E. Goldberger, *J Am Chem Soc* **2012**, *134*, 3647–3650.
- [198] Y. Cote, I. W. Fu, E. T. Dobson, J. E. Goldberger, H. D. Nguyen, J. K. Shen, *Journal of Physical Chemistry C* **2014**, *118*, 16272–16278.

- [199] M. Von Gröning, I. De Feijter, M. C. A. Stuart, I. K. Voets, P. Besenius, *J Mater Chem B* **2013**, *1*, 2008–2012.
- [200] R. Appel, S. Tacke, J. Klingauf, P. Besenius, *Org Biomol Chem* **2015**, *13*, 1030–1039.
- [201] R. Appel, J. Fuchs, S. M. Tyrrell, P. A. Korevaar, M. C. A. Stuart, I. K. Voets, M. Schönhoff, P. Besenius, *Chemistry - A European Journal* **2015**, *21*, 19257–19264.
- [202] D. Spitzer, L. L. Rodrigues, D. Straßburger, M. Mezger, P. Besenius, *Angewandte Chemie - International Edition* **2017**, *56*, 15461–15465.
- [203] S. Chakraborty, C. M. Berac, B. Kemper, P. Besenius, T. Speck, *Macromolecules* **2019**, *52*, 7661–7667.
- [204] H. Frisch, J. P. Unsleber, D. Lüdeker, M. Peterlechner, G. Brunklaus, M. Waller, P. Besenius, *Angewandte Chemie - International Edition* **2013**, *52*, 10097–10101.
- [205] H. Frisch, Y. Nie, S. Raunser, P. Besenius, *Chemistry - A European Journal* **2015**, *21*, 3304–3309.
- [206] P. Ahlers, H. Frisch, P. Besenius, *Polym Chem* **2015**, *6*, 7245–7250.
- [207] P. Ahlers, K. Fischer, D. Spitzer, P. Besenius, *Macromolecules* **2017**, *50*, 7712–7720.
- [208] S. Chakraborty, C. M. Berac, M. Urschbach, D. Spitzer, M. Mezger, P. Besenius, T. Speck, *ACS Appl Polym Mater* **2022**, *4*, 822–831.
- [209] H. Frisch, E. C. Fritz, F. Stricker, L. Schmüser, D. Spitzer, T. Weidner, B. J. Ravoo, P. Besenius, *Angewandte Chemie - International Edition* **2016**, *55*, 7242–7246.
- [210] S. Engel, D. Spitzer, L. L. Rodrigues, E. C. Fritz, D. Straßburger, M. Schönhoff, B. J. Ravoo, P. Besenius, *Faraday Discuss* **2017**, *204*, 53–67.
- [211] J. Aimi, Y. Nagamine, A. Tsuda, A. Muranaka, M. Uchiyama, T. Aida, *Angewandte Chemie - International Edition* **2008**, *47*, 5153–5156.
- [212] M. Wolffs, F. J. M. Hoebe, E. H. A. Beckers, A. P. H. J. Schenning, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2005**, *127*, 13484–13485.
- [213] P. Thordarson, E. J. A. Bijsterveld, A. E. Rowan, R. J. M. Nolte, *Nature* **2003**, *424*, 915–918.
- [214] J. M. Harris, E. C. Struck, M. G. Case, M. S. Paley, M. Yalpani, J. M. Van Alstine, D. E. Brooks, *J Polym Sci A1* **1984**, *22*, 341–352.
- [215] S. Svedhem, C. A. Hollander, J. Shi, P. Konradsson, B. Liedberg, S. C. T. Svensson, *Journal of Organic Chemistry* **2001**, *66*, 4494–4503.
- [216] K. D. Park, R. Liu, H. Kohn, *Chem Biol* **2009**, *16*, 763–772.
- [217] N. Wunderling, Bachelorarbeit: *Synthese und Charakterisierung wasserlöslicher Porphyrin-Peptidamphiphile zur Supramolekularen Polymerisation*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2022**.
- [218] H. Sajiki, H. Kuno, K. Hirota, *Tetrahedron Lett* **1998**, *39*, 7127–7130.
- [219] H. Sajiki, *Tetrahedron Lett* **1995**, *36*, 3465–3468.
- [220] L. A. Carpino, G. Y. Han, *J Org Chem* **1972**, *37*, 3404–3409.
- [221] P. Athanassopoulos, K. Barlos, D. Gatos, O. Hatzi, C. Tzavara, *Tetrahedron Lett* **1995**, *36*, 5645–5648.
- [222] K. Barlos, O. Chatzi, D. Gatos, G. Stavropoulos, *Int J Pept Protein Res* **1991**, *37*, 513–520.
- [223] K. L. Sorgi, in *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, **2001**.
- [224] P. H. G. Egelund, S. Jadhav, V. Martin, H. Johansson Castro, F. Richner, S. T. Le Quement, F. Dettner, C. Lechner, R. Schoenleber, D. Sejer Pedersen, *ACS Sustain Chem Eng* **2021**, *9*, 14202–14215.
- [225] O. F. Luna, J. Gomez, C. Cárdenas, F. Albericio, S. H. Marshall, F. Guzmán, *Molecules* **2016**, *21*, DOI 10.3390/molecules21111542.
- [226] D. A. T. Pires, M. P. Bemquerer, C. J. Do Nascimento, *Int J Pept Res Ther* **2014**, *20*, 53–69.
- [227] E. Valeur, M. Bradley, *Chem Soc Rev* **2009**, *38*, 606–631.
- [228] F. Albericio, M. Cases, J. Alsina, S. A. Triolo, L. A. Carpino, S. A. Kates, *Tetrahedron Lett* **1997**, *38*, 4853–4856.

- [229] M. Urschbach, Dissertation: *Entwicklung Supramolekularer Multikomponenten-Copolymere zum Aufbau Depotbildender Glykokonjugatvakzine*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2022**.
- [230] A. D. Adler, F. R. Longo, F. Kampas, J. Kim, *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* **1970**, *32*, 2443–2445.
- [231] S. M. Aly, H. Guernon, B. Guérin, P. D. Harvey, *J Porphyr Phthalocyanines* **2011**, *15*, 871–882.
- [232] K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, *The Porphyrin Handbook. Volume 3*, Academic Press, San Diego, **2000**.
- [233] H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discov Today* **2003**, *8*, 1128–1137.
- [234] M. Meldal, F. Diness, *Trends Chem* **2020**, *2*, 569–584.
- [235] R. Huisgen, *Angewandte Chemie - International Edition* **1963**, *2*, 565–598.
- [236] M. Meldal, C. W. Tomøe, *Chem Rev* **2008**, *108*, 2952–3015.
- [237] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angewandte Chemie - International Edition* **2002**, *41*, 2596–2599.
- [238] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angewandte Chemie - International Edition* **2001**, *40*, 2004–2021.
- [239] J. E. Hein, V. V. Fokin, *Chem Soc Rev* **2010**, *39*, 1302–1315.
- [240] D. Spitzer, Dissertation: *Kinetically Controlled Redox-Responsive Supramolecular Polymers and Triple Helical Assemblies in Water*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2018**.
- [241] R. Kjellander, E. Florin, *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases* **1981**, *77*, 2053.
- [242] C. Branca, S. Magazù, G. Maisano, P. Migliardo, V. Villari, *Journal of Physics: Condensed Matter* **1998**, *10*, 10141–10157.
- [243] G. N. Malcolm, J. S. Rowlinson, *Transactions of the Faraday Society* **1957**, *53*, 921.
- [244] C. Pietsch, U. S. Schubert, R. Hoogenboom, *Chemical Communications* **2011**, *47*, 8750–8765.
- [245] E. Dormidontova, G. ten Brinke, *Macromolecules* **1998**, *31*, 2649–2660.
- [246] D. Bedrov, O. Borodin, G. D. Smith, *J Phys Chem B* **1998**, *102*, 5683–5690.
- [247] C. Weber, R. Hoogenboom, U. S. Schubert, *Prog Polym Sci* **2012**, *37*, 686–714.
- [248] G. Vancoillie, D. Frank, R. Hoogenboom, *Prog Polym Sci* **2014**, *39*, 1074–1095.
- [249] J.-F. Lutz, Ö. Akdemir, A. Hoth, *J Am Chem Soc* **2006**, *128*, 13046–13047.
- [250] S. Saeki, N. Kuwahara, M. Nakata, M. Kaneko, *Polymer (Guildf)* **1976**, *17*, 685–689.
- [251] N. J. Hestand, F. C. Spano, *Chem Rev* **2018**, *118*, 7069–7163.
- [252] M. Suzuki, M. Yumoto, M. Kimura, H. Shirai, K. Hanabusa, *Chemistry - A European Journal* **2003**, *9*, 348–354.
- [253] Nonappa, E. Kolehmainen, *Soft Matter* **2016**, *12*, 6015–6026.
- [254] F. Piana, D. H. Case, S. M. Ramalhet, G. Pileio, M. Facciotti, G. M. Day, Y. Z. Khimyak, J. Angulo, R. C. D. Brown, P. A. Gale, *Soft Matter* **2016**, *12*, 4034–4043.
- [255] A. Reddy, A. Sharma, A. Srivastava, *Chemistry - A European Journal* **2012**, *18*, 7575–7581.
- [256] D. C. Duncan, D. G. Whitten, *Langmuir* **2000**, *16*, 6445–6452.
- [257] S. H. Jung, M. Takeuchi, K. Sugiyasu, in *Kinetic Control in Synthesis and Self-Assembly*, Elsevier, **2018**, pp. 205–229.
- [258] B. X. Yan, Y. Sun Qing, *Journal of Biological Chemistry* **1997**, *272*, 3190–3194.
- [259] S. D. Varfolomeev, K. G. Gurevich, *Russian Chemical Bulletin* **2001**, *50*, 1709–1717.
- [260] K. V. Rao, M. F. J. Mabesoone, D. Miyajima, A. Nihonyanagi, E. W. Meijer, T. Aida, *J Am Chem Soc* **2020**, *142*, 598–605.
- [261] S. A. H. Jansen, E. Weyandt, T. Aoki, T. Akiyama, Y. Itoh, G. Vantomme, T. Aida, E. W. Meijer, *J Am Chem Soc* **2022**, DOI 10.1021/jacs.2c12941.
- [262] S. Ogi, C. Grzeszkiewicz, F. Würthner, *Chem Sci* **2018**, *9*, 2768–2773.
- [263] P. Duan, Y. Li, L. Li, J. Deng, M. Liu, *Journal of Physical Chemistry B* **2011**, *115*, 3322–3329.
- [264] Q. Jin, L. Zhang, M. Liu, *Chemistry - A European Journal* **2013**, *19*, 9234–9241.
- [265] Y. Nakano, T. Hirose, P. J. M. Stals, E. W. Meijer, A. R. A. Palmans, *Chem Sci* **2012**, *3*, 148–155.

- [266] J. L. Greenfield, E. W. Evans, D. Di Nuzzo, M. Di Antonio, R. H. Friend, J. R. Nitschke, *J Am Chem Soc* **2018**, *140*, 10344–10353.
- [267] C. Kulkarni, P. A. Korevaar, K. K. Bejagam, A. R. A. Palmans, E. W. Meijer, S. J. George, *J Am Chem Soc* **2017**, *139*, 13867–13875.
- [268] J. S. Valera, R. Sánchez-Naya, F. J. Ramírez, J. L. Zafra, R. Gómez, J. Casado, L. Sánchez, *Chemistry - A European Journal* **2017**, *23*, 11141–11146.
- [269] F. A. Helmich, Dissertation: *Multi-Component Porphyrin Self-Assembly*, Eindhoven University of Technology, **2012**.
- [270] W. R. Scheidt, C. W. Eigenbrot, M. Ogiso, K. Hatano, *Bull Chem Soc Jpn* **1987**, *60*, 3529–3533.
- [271] P. N. Taylor, A. P. Wylie, J. Huuskonen, H. L. Anderson, *Angewandte Chemie - International Edition* **1998**, *37*, 986–989.
- [272] S. Arrhenius, *Zeitschrift für Physikalische Chemie* **1889**, *4U*, 226–248.
- [273] K. J. Laidler, *J Chem Educ* **1984**, *61*, 494.
- [274] K. Taira, D. McInnes, L. Zhang, *J Catal* **2023**, *419*, 26–36.
- [275] G. Meisl, L. Rajah, S. A. I. Cohen, M. Pfammatter, A. Šarić, E. Hellstrand, A. K. Buell, A. Aguzzi, S. Linse, M. Vendruscolo, C. M. Dobson, T. P. J. Knowles, *Chem Sci* **2017**, *8*, 7087–7097.
- [276] S. Riniker, J. R. Allison, W. F. Van Gunsteren, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2012**, *14*, 12423–12430.
- [277] S. Kmiecik, D. Gront, M. Kolinski, L. Wieteska, A. E. Dawid, A. Kolinski, *Chem Rev* **2016**, *116*, 7898–7936.
- [278] S. Y. Joshi, S. A. Deshmukh, *Mol Simul* **2021**, *47*, 786–803.
- [279] X. Wang, S. Ramírez-Hinestrosa, J. Dobnikar, D. Frenkel, *Physical Chemistry Chemical Physics* **2020**, *22*, 10624–10633.
- [280] D. Spitzer, V. Marichez, G. J. M. Formon, P. Besenius, T. M. Hermans, *Angewandte Chemie - International Edition* **2018**, *57*, 11349–11353.
- [281] M. Ghosh, S. Bera, S. Schiffmann, L. J. W. Shimon, L. Adler-Abramovich, *ACS Nano* **2020**, *14*, 9990–10000.
- [282] Z. Shi, C. A. Olson, G. D. Rose, R. L. Baldwin, N. R. Kallenbach, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2002**, *99*, 9190–9195.
- [283] D. R. Lide, G. Baysinger, L. I. Berger, R. N. Goldberg, H. V. Kehiaian, K. Kuchitsu, D. L. Roth, D. Zwillinger, *CRC Handbook of Chemistry and Physics Editor-in-Chief*, **n.d.**
- [284] H. Schmidbaur, A. Schier, *Chem Soc Rev* **2012**, *41*, 370–412.
- [285] H. Schmidbaur, A. Schier, *Chem Soc Rev* **2008**, *37*, 1931–1951.
- [286] P. Pyykkö, *Chem Rev* **1997**, *97*, 597–636.
- [287] Q. Zheng, S. Borsley, G. S. Nichol, F. Duarte, S. L. Cockroft, *Angewandte Chemie* **2019**, *131*, 12747–12753.
- [288] J. Edling, Bachelorarbeit: *Synthese und Untersuchung des supramolekularen Assemblierungsverhaltens Porphyrin-Basierter Peptidamphiphile mit variablen Metallzentren*, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, **2023**.
- [289] W. Sun, Y. Liu, H. Zhang, M. Xian, H. Liu, *Catal Letters* **2015**, *145*, 1991–1999.
- [290] K. M. Smith, *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, **1975**.
- [291] G. K. Anderson, M. Lin, A. Sen, E. Gretz, *Inorganic Syntheses*, Wiley, **1990**.
- [292] S. Gharaati, C. Wang, C. Förster, F. Weigert, U. Resch-Genger, K. Heinze, *Chemistry - A European Journal* **2020**, *26*, 1003–1007.
- [293] R. Grigg, G. Shelton, A. Sweeney, A. W. Johnson, *J Chem Soc Perkin 1* **1972**, *11*, 1789.
- [294] R. Giovannetti, in *Macro To Nano Spectroscopy*, InTech, **2012**.
- [295] C. Laurence, M. Berthelot, *Perspectives in Drug Discovery and Design* **2000**, *18*, 39–60.
- [296] L. Bliss, Bachelorarbeit: *Supramolekulare (Co-)Polymerisation pH-schaltbarer Porphyrin-Peptid-Amphiphile*, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, **2023**.

- [297] AAT Bioquest Inc. (13.02.2024), "Quest Calculate™ Phosphate Buffer (pH 5.8 to 7.4) Preparation and Recipe," can be found under <https://www.aatbio.com/resources/buffer-preparations-and-recipes/phosphate-buffer-ph-5-8-to-7-4.>, **2018**.
- [298] A. M. Borys, *Organometallics* **2023**, *42*, 182–196.
- [299] P. A. Rugar, L. Chabanne, M. A. Winnik, I. Manners, *Science* **2012**, *337*, 559–562.
- [300] S. Plimpton, *J Comput Phys* **1995**, *117*, 1–19.
- [301] A. P. Thompson, H. M. Aktulga, R. Berger, D. S. Bolintineanu, W. M. Brown, P. S. Crozier, P. J. in 't Veld, A. Kohlmeyer, S. G. Moore, T. D. Nguyen, R. Shan, M. J. Stevens, J. Tranchida, C. Trott, S. J. Plimpton, *Comput Phys Commun* **2022**, *271*, DOI 10.1016/j.cpc.2021.108171.
- [302] O. Farago, *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications* **2019**, *534*, DOI 10.1016/j.physa.2019.122210.
- [303] H. Lee, R. M. Venable, A. D. MacKerell, R. W. Pastor, *Biophys J* **2008**, *95*, 1590–1599.
- [304] R. Chudoba, J. Heyda, J. Dzubiella, *J Chem Theory Comput* **2017**, *13*, 6317–6327.
- [305] S. Hess, M. Kröger, H. Voigt, *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications* **1998**, *250*, 58–82.





---

# Anhang C

## Abkürzungsverzeichnis

---

ACN	Acetonitril
AFM	engl.: <i>atomic force microscopy</i> (Rasterkraftmikroskopie)
Ahx	Aminohexansäure
Ala (A)	Alanin
AR	engl.: <i>analytical reagent</i> (Analysenrein)
Ar	Aryl
AS	Aminosäure
Au	lat. <i>aurum</i> (Gold)
Äq.	Äquivalente
a.u.	engl.: <i>arbitrary unit</i> (willkürliche Einheit)
BTA	1,3,5-Benzoltricarboxamid
BTE	1,3,5-Benzoltricarboxyester
Boc	Butyloxycarbonyl
bs	breites Singulett
CD	Circular Dichroismus
CHCA	$\alpha$ -Cyano-4-hydroxymizsäure
CHCl <sub>3</sub>	Chloroform
CDCl <sub>3</sub>	deutertes Chloroform
COSY	engl.: <i>correlation spectroscopy</i>
CPMAS	engl.: <i>cross polarization magic angle spinning</i>
Cu	lat.: <i>cuprum</i> (Kupfer)
CuAAC	Cu(I)-katalysierte Azid-Alkin-Cycloaddition
CuSO <sub>4</sub> x 5 H <sub>2</sub> O	Kupfer(II)sulfat-Pentahydrat
d	Dublett
D-	lat. <i>dextro</i> (rechts)
DCM	Dichlormethan
DCTB	<i>trans</i> -2-[3-(4- <i>tert</i> -Butylphenyl)-2-methyl-2-propenyliden]malononitrile
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyano-1,4-benzochinon
DFT	engl.: <i>density functional theory</i> (Dichte-Funktional-Theorie)
DHB	2,5-Dihydroxybenzoesäure
DIPEA	Diisopropylethylamin
Dit	Dithranol
DLS	engl.: <i>dynamic light scattering</i> (Dynamische Lichtstreuung)
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid

DMF- <i>d</i> <sub>7</sub>	deutertes <i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub>	deutertes Dimethylsulfoxid
DPP	5,15-Diphenylporphyrin
DP <sub>50</sub>	Halbwertspolymerisationsgrad
D <sub>2</sub> O	Deuteriumoxid
E (Glu)	Glutaminsäure
EDA	engl.: <i>energy decomposition analysis</i>
ESI	Elektrospray-Ionisation
eq.	engl.: <i>equivalents</i>
F (Phe)	Phenylalanin
FC	engl.: <i>flash chromatography</i> (Säulenchromatographie)
Fmoc	Fluorenylmethoxycarbonyl
FRET	Förster-Resonanzenergietransfer
Gly (G)	Glycin
Glu (E)	Glutaminsäure
GPC	Gelpermationschromatographie
HBTU	<i>O</i> -Benzotriazol-1-yl- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluroniumhexafluorophosphat
HCl	Chlorwasserstoff (Salzsäure)
HFIP	Hexafluorisopropanol
HMBC	engl.: <i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HOMO	engl.: <i>highest occupied molecular orbital</i> (höchstes besetztes Molekülorbital)
HSQC	engl.: <i>heteronuclear single quantum correlation</i>
Hz	Hertz
H <sub>2</sub>	Wasserstoff
H <sub>2</sub> O	Wasser
H <sub>2</sub> TCPP	<i>meso</i> -Tetra(4-carboxyphenyl)porphyrin
H <sub>2</sub> TEPP	<i>meso</i> -Tetra(4-ethinylphenyl)porphyrin
H <sub>2</sub> TMCPP	<i>meso</i> -Tetra(4-methoxycarbonylphenyl)porphyrin
<i>I</i>	Intensität
Ile (I)	Isoleucin
IR	Infrarot
IRRAS	engl.: <i>infrared reflection-absorption spectroscopy</i> (Infrarot Reflexions Absorptions Spektroskopie)
ITC	engl.: <i>isothermal titration calorimetry</i> (Isothermale Titrationskalorimetrie)
<i>J</i>	Kopplungskonstante
JGU	Johannes Gutenberg-Universität
K	Kalium oder Kelvin
K (Lys)	Lysin
L-	lat.: <i>levo</i> (links)

---

LCST	engl.: <i>lowest critical solution temperature</i> (untere kritische Lösungstemperatur)
LUMO	engl.: <i>lowest unoccupied molecular orbital</i> (niedrigstes unbesetztes Molekülorbital)
Lys (K)	Lysin
m	Multipllett
M	Metall
MALDI	Matrix-assistierte Laser-Desorption/Ionisation
MCH	Methylcyclohexan
MD	engl.: <i>molecular dynamics</i>
MeOH	Methanol
Met (M)	Methionin
mPEG	Methoxy-Polyethylenglycol
MS	Massenspektrometrie
Mol%	Molprozent
$N_{\text{Mono}}$	Monomeranzahl
Na	Natrium
$\text{NaHCO}_3$	Natriumbicarbonat
$\text{NH}_3$	Ammoniak
$\text{NaN}_3$	Natriumazid
NaOH	Natriumhydroxid
$\text{NEt}_3$	Triethylamin
Ni	Nickel
NMR	engl.: <i>nuclear magnetic resonance</i> (Kernspinresonanz)
OEG	Oligoethylenglycol
OPE	Oligophenylenethinyl
OPV	Oligophenylenvinylen
O.D.	optische Dichte
PA	Peptidamphiphil
PBI	Perylenbisimid
Pd	Palladium
PdTCPP	Palladium(II)- <i>meso</i> -Tetra(4-carboxyphenyl)porphyrin
PdTMCPP	Palladium(II)- <i>meso</i> -Tetra(4-methoxycarbonylphenyl)porphyrin
Pd/C	Palladium auf Kohle
$\text{Pd}(\text{OAc})_2$	Palladium(II)acetat
PEG	Polyethylenglycol
PhCN	Benzonitril
Phe (F)	Phenylalanin
$\text{pH}_{50}$	Halbwerts-pH
$\text{pK}_s$	negative dekadischer Logarithmus der Säurekonstante $K_s$
PM	engl.: <i>polarization modulation</i> (Polarisation Modulation)
Pt	Platin

PyAOP	(7-Azabenzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
PyBOP	(Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
P <sub>II</sub>	Polyprolin II
q	Quartett
QND	engl.: <i>quinuclidine</i>
quant.	quantitativ
R	organischer Rest
R <sub>f</sub>	Retardationsfaktor
rel	relativ
RP-HPLC	engl.: <i>reversed-phase high-performance liquid chromatography</i> (Umkehrphasen Hochleistungsflüssigchromatographie)
RP-MPLC	engl.: <i>reversed-phase medium pressure liquid chromatography</i>
s	Singulett
SA	engl.: <i>sodium ascorbate</i> (Natriumascorbat)
SAXS	engl.: <i>small-angle X-ray scattering</i> (Kleinwinkel-Röntgenstreuung)
SEC	engl.: <i>size exclusion chromatography</i> (Größenausschlusschromatographie)
SOP	engl.: <i>standard operating procedure</i>
SPPS	engl.: <i>solid phase peptide synthesis</i> (Festphasen-Peptidsynthese)
SPR	engl.: <i>surface plasmon resonance</i> (Oberflächenplasmonresonanz)
t	Triplett
T <sub>50</sub>	Halbwertstempertur
<sup>t</sup> Bu	<i>tert</i> -Butyl
TBTA	Tris[(1-benzyl-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-yl)methyl]amin
TEG	Tetraethylenglycol
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TFA	engl.: <i>trifluoroacetic acid</i> (Trifluoressigsäure)
TFE	2,2,2-Trifluorethanol
THF	Tetrahydrofuran
TIS	Triisopropylsilan
TLC	engl.: <i>thin layer chromatography</i> (Dünnschichtchromatographie)
ToF	engl.: <i>time of flight</i>
TPP	5,10,15,20-Tetraphenylporphyrin
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethane
Trz	Triazol
TsCl	Tosylchlorid
Tyr (Y)	Tyrosin
UV	ultraviolettes Licht
Val (V)	Valin
Vis	engl.: <i>visible light</i> (sichtbares Licht)
v/v%	Volumenprozent

w/w%	Massenprozent
Y (Tyr)	Tyrosin
Zn	Zink
ZnTCPP	Zink(II)- <i>meso</i> -Tetra(4-carboxyphenyl)porphyrin
ZnTEPP	Zink(II)- <i>meso</i> -Tetra(4-ethinylphenyl)porphyrin
Zn(OAc) <sub>2</sub> × 2 H <sub>2</sub> O	Zink(II)acetat-Dihydrat
1D	ein-, zwei-, dreidimensional
2-CTC	2-Chlorotritylchlorid
∅	Durchmesser
Å	Ångström
<i>c</i>	Konzentration
cm	Zentimeter
δ	chemische Verschiebung
<i>D</i>	Dispersität
<i>ε</i>	engl.: <i>potential energy well</i>
Δ <i>ε</i>	Differenz der molaren, dekadischen Extinktionskoeffizienten
<i>E<sub>A</sub></i>	Aktivierungsenergie
h	Stunde
<i>k</i>	Kraftkonstante
<i>K</i>	Gleichgewichtskonstante
<i>k<sub>B</sub></i>	Boltzmann-Konstante
<i>K<sub>E</sub></i>	Elongationskonstante
kJ	Kilojoule
<i>K<sub>N</sub></i>	Nukleationskonstante
λ	Wellenlänge
λ <sub>max</sub>	Absorptionsmaximum
λ <sub>Q</sub>	Q-Bande
λ <sub>SORET</sub>	SORET-Signal
L	Liter
<i>L<sub>n</sub></i>	Zahlenmittlere Polymerlänge
<i>L<sub>w</sub></i>	Gewichtsmittlere Polymerlänge
<i>m</i>	Masse
<i>M</i>	molare Masse
<i>M<sub>n</sub></i>	zahlenmittleres Molekulargewicht
<i>M<sub>w</sub></i>	gewichtsmittleres Molekulargewicht
M	Molarität
μL	Mikroliter
μm	Mikrometer
μM	Mikromolar
mm	Millimeter
mL	Milliliter

mM	Millimol
min	Minute
nm	Nanometer
ppm	engl.: <i>part per million</i>
s	Sekunde
$\sigma$	Standardabweichung
$t$	Zeit
$t_{1/2}$	Halbwertszeit
$T$	Temperatur
$z$	Ladung
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celsius



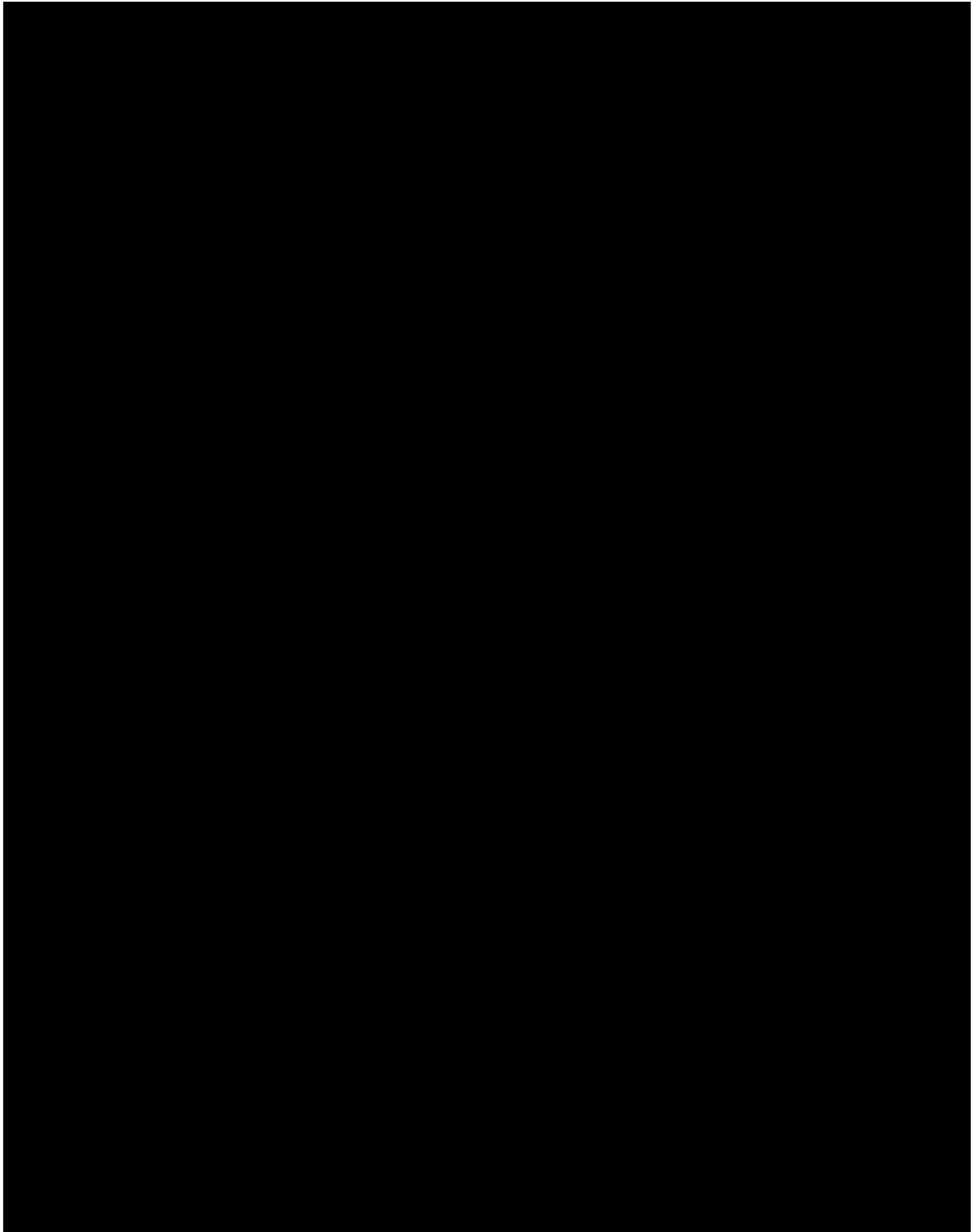


---

## **Anhang D**

### Publikationen & Präsentationen

---

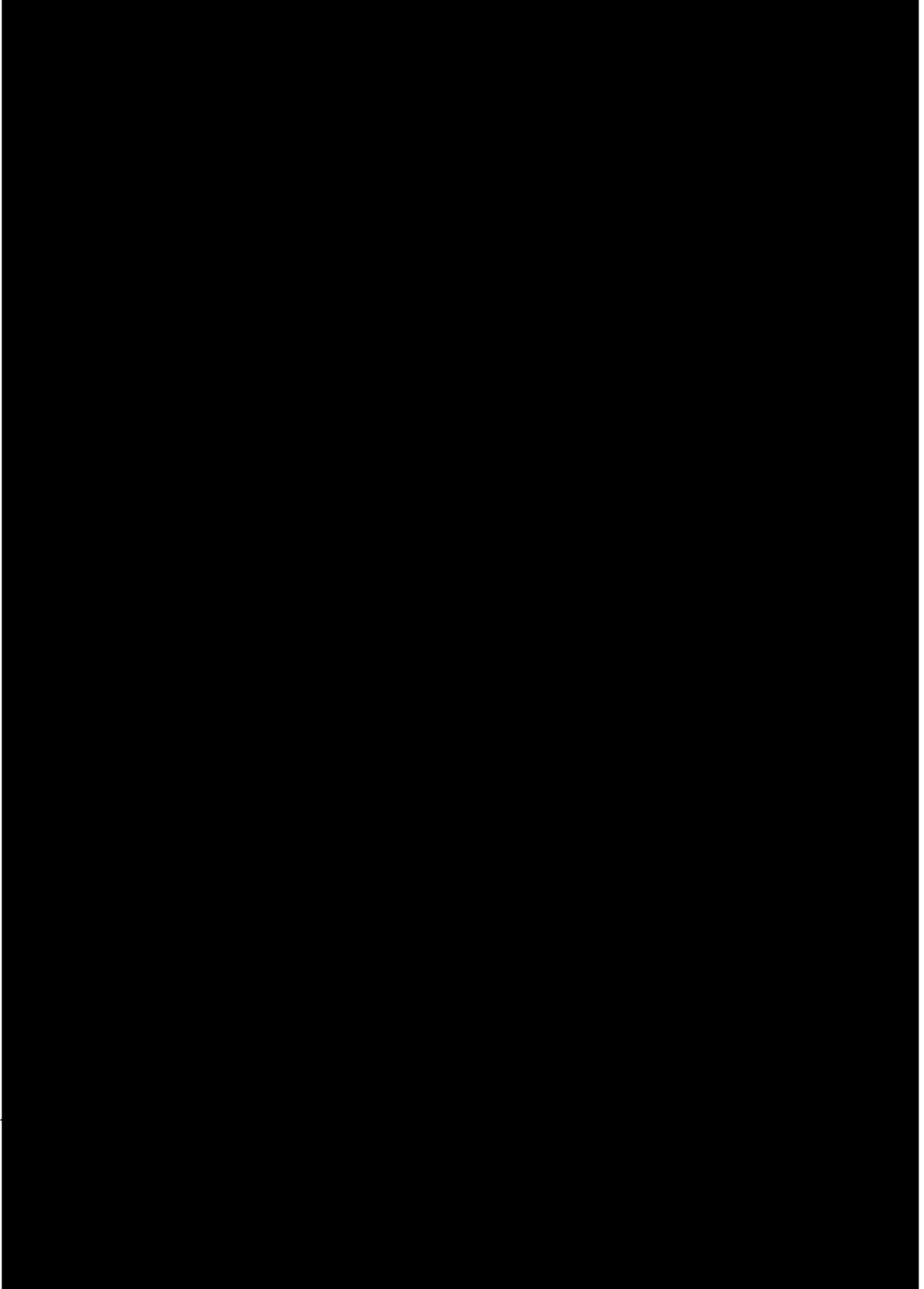


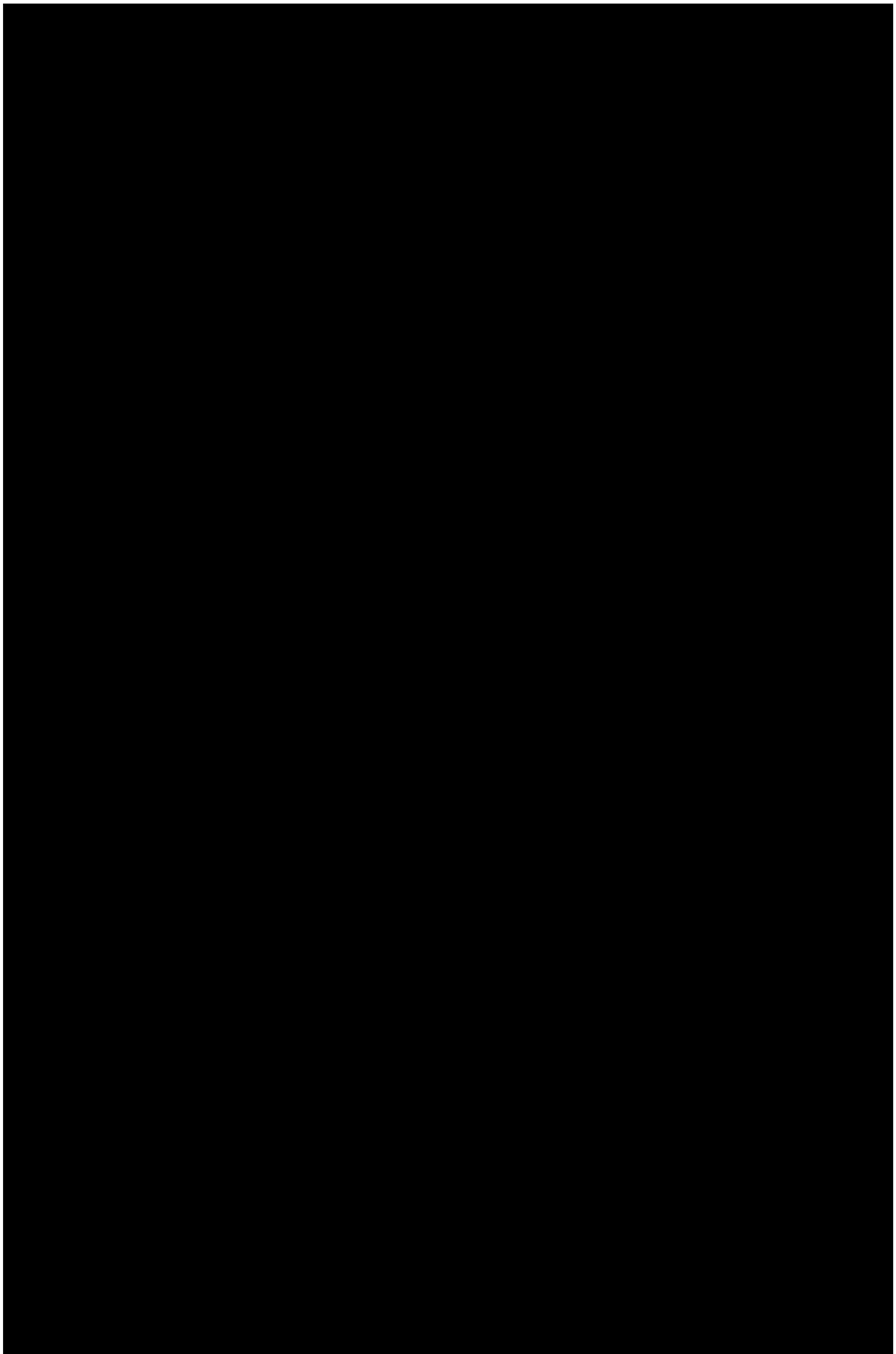


---

## Danksagung

---







---

Deklaration für das Gesuch um Zulassung zur Promotion im  
Fachbereich 09  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

---

Hiermit versichere ich gemäß §10 Abs. 3d der Promotionsordnung des Fachbereich 09 Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften der Johannes Gutenberg-Universität Mainz vom 24. Juli 2007 i.d.F.v 22.08.2012:

- a) Ich habe die jetzt als Promotion vorliegende Arbeit selbst angefertigt und alle benutzten Hilfsmittel (Literatur, Apparaturen, Material) in der Arbeit angegeben.
- b) Ich hatte oder habe die jetzt als Dissertation vorliegende Arbeit nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder eine andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht.
- c) Ich hatte weder die jetzt als Dissertation vorliegende Arbeit noch Teile davon bei einer anderen Fakultät beziehungsweise einem anderen Fachbereich als Dissertation eingereicht.



---

Oliver S. Stach