



Design, Synthese & Charakterisierung von neuen photoaktivierbaren, molekularen Werkzeugen

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main

von

Volker Hermanns
aus Papenburg

Frankfurt am Main, 2023

(D30)

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Organische Chemie und Chemische Biologie der Goethe-Universität Frankfurt am Main unter Leitung von Prof. Dr. Alexander Heckel angefertigt und vom Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. Clemens Glaubitz

1. Gutachter: Prof. Dr. Alexander Heckel

2. Gutachter: Prof. Dr. Josef Wachtveitl

Datum der Disputation: _____

Meiner Familie

Zusammenfassung

Molekulare Werkzeuge können in der Wissenschaft unter anderem dazu verwendet werden, biochemische Prozesse gezielt zu untersuchen, um sie somit besser zu verstehen. Dabei handelt es sich zum Beispiel, um kleine chemische Moleküle, die gezielt für ihr Anwendungsgebiet konzipiert worden sind. Mit Ihnen lassen sich z.B. Interaktionen zwischen (Makro-)Molekülen regulieren, chemische Gleichgewichte lokal verändern oder auch Botenstoffe zielgerichtet freisetzen. Die Effekte dieser temporären Einwirkung auf verschiedenste biologische Systeme können hilfreiche Erkenntnisse struktureller, funktioneller oder systematischer Art für die entsprechenden Forschungsgebiete liefern. Um die interdisziplinären Problemstellungen zielgerichtet mit den entsprechend zugeschnittenen Werkzeugen zu adressieren, ist es dabei jedoch absolut notwendig, dass ein umfassendes und über die Grenzen der jeweiligen Fachgebiete hinaus gehendes Verständnis der jeweiligen Fragestellungen entwickelt wird.

Viele der bisher bekannten Werkzeuge benötigen für ihren Einsatz bis heute noch relativ harsche Reaktionsbedingungen, haben ein eingeschränktes Anwendungsfeld oder lassen sich nicht ausreichend Zeit- & Ortsaufgelöst „aktivieren“. Die Möglichkeit Licht als externes Trigger-Signal zu verwenden, um die entsprechenden molekularen Werkzeuge zu aktivieren (oder auch zu deaktivieren), überwindet genau diese Defizite und bringt neben der hohen zeitlichen und räumlichen Auflösung noch viele weitere Vorteile mit sich. Im Rahmen meiner Doktorarbeit ist es mir gelungen gemeinsam mit meinen Kooperationspartnern neue lichtaktivierbare molekulare Werkzeuge von Grund auf zu designen, zu synthetisieren, sie auf ihre photochemischen Eigenschaften zu untersuchen und sie anzuwenden. Durch die interdisziplinäre Zusammenarbeit mit Doktoranden aus der Organischen, Theoretischen und Physikalischen Chemie, konnte ein umfassendes Bild dieser neuen Substanzklassen aufgezeigt werden. Die verschiedenen Arten lichtaktivierbarer Werkzeuge sollen im Verlauf dieser Arbeit genauer herausgearbeitet werden. Generell kann man in drei grundlegenden Klassen von lichtaktivierbaren Werkzeugen unterscheiden: 1. irreversibel photolabile Schutzgruppen, 2. photoaktivierbare Label und 3. reversibel lichtschtbare Photoschalter.

Auf dem Gebiet der photolabilen Schutzgruppen, auch photoaktivierbare Schutzgruppen oder Photocages genannt, ist es uns gelungen eine neue Spezies von Molekülen zu identifizieren, die dazu in der Lage sind, nach photochemischer Anregung eine spezifische Bindung innerhalb ihres molekularen Gerüsts zu spalten.



Abbildung I: Der schematische „photochemische Werkzeugkasten“, welcher durch die Untersuchungen in dieser Dissertation erweitert werden konnte.

Möglich gemacht wurde dies, indem wir den sog. „uncaging Prozess ganz neu gedacht“ haben und mit der Unterstützung von Theorie und Spektroskopie unsere Ergebnisse in einer Struktur-Aktivitäts-Beziehungs-Studie (SAR) festhalten konnten. Aus einer Substanzbibliothek von diversen theoretisch berechneten Kandidaten, wurden die vielversprechendsten Verbindungen anschließend synthetisiert und photochemisch charakterisiert. Nach initialen Untersuchungen und den daraus hervorgehenden Erkenntnissen, wurden weitere molekulare Struktur auf die Optimierungen der photochemischen Eigenschaften hin theoretisch berechnet und anschließend im Labor realisiert. Daraus resultierend entwickelten wir einen Photocage, der mit einer hohen Quantenausbeute mit Licht von über 450 nm photolysierbar ist und ebenfalls dazu in der Lage ist Neurotransmitter wie z.B. Glutamat zielgerichtet und lichtaktiviert freizusetzen. Eine weitere Struktur-Aktivitäts-Beziehungs-Studie wurde im Rahmen dieser Arbeit mit dem Isatin-Gerüst als potentiell neue photolabile Schutzgruppe durchgeführt. Ebenfalls konnten in einer dritten Studie auf dem Gebiet der photolabilen Schutzgruppen Untersuchungen am Coumarin-Grundgerüst zeigen, dass eine systematische Einschränkung der Relaxationspfade im Molekül eine Verbesserung der photochemischen Eigenschaften mit sich bringen kann.

Photoaktivierbare Label werden in den verschiedensten Bereichen der Wissenschaft angewendet. Meist erlauben jedoch die chemischen Moleküle nur eine begrenzte „Beobachtungszeit“ der biochemischen Prozesse aufgrund der effizienten und damit schnellen Relaxationspfade zurück in den Grundzustand. Zu Beginn der durchgeführten Untersuchungen, bestand unsere Idee darin, die selektive Prä-IR-Anregung mit Hilfe eines UV/vis-Pulses (entsprechend der VIPER-Spektroskopie) in ein langlebiges Triplett-Signal eines geeigneten Chromophors zu überführen, welches anschließend für die

Beobachtung vergleichsweise lang-lebiger biochemischer Prozesse verwendet werden könnte. Aus dieser Idee heraus entwickelten wir einen Chromophor, der neben einer Absorption im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums, zusätzlich eine IR-adressierbare funktionelle Gruppe, sowie die Eigenschaft, ein effizientes Inter-System-Crossing (ISC) nach photochemischer Anregung durchzuführen, besaß. Zu unserem Erstaunen zeigte dieses Derivat jedoch nach erfolgreicher Synthese nicht das erwartete Verhalten. Ein weiteres Beispiel für die hochgradige Komplexität der Photochemie. Mit Hilfe von theoretischen und spektroskopischen Methoden konnten dennoch viele hilfreiche Erkenntnisse aus dieser Studie für zukünftige Untersuchungen aufgedeckt werden.

Ebenso war es während meiner Promotion eines der Ziele, den Schaltprozess des sog. Fulgid-Photoschalters genauer zu untersuchen und somit besser zu verstehen. Hierbei handelt es sich um ein ausgesprochen beständiges, photochemisch reversibel schaltbares Molekül, auch wenn dies vielleicht auf den ersten Blick ein Widerspruch in sich zu sein scheint. Es gelang uns diesen Photoschalter, genauer gesagt seine Photo-Isomere, auf dem Gebiet der chemischen Aktinometrie zu etablieren. Dafür waren zahlreiche Messungen diverser Reaktivitäten (photochemische Reaktions-Quantenausbeuten) in verschiedenste Wellenlängenbereiche vom Nah-UV-Bereich bis hin zur 700 nm Grenze erforderlich. Außerdem wurden alle Werte mit der Referenzmessung einer Photodiode bzw. je nach Wellenlängenbereich auch mit der klassischen Ferri-Oxalat-Aktinometrie verglichen. Im Anschluss daran fokussierte ich mich weiter auf die einzelnen Photo-Isomere und ihre einzigartige chemische Struktur. Mit Hilfe der chiralen HPLC gelang es uns die einzelnen Photo-Isomere voneinander zu isolieren und diese mit verschiedensten photochemischen und theoretischen Methoden „genauer unter die Lupe“ zu nehmen. Die aus dieser Studie gewonnenen Erkenntnisse bereiten den Weg für diverse, zukünftige spektroskopische Anwendungen dieses Photoschalters.

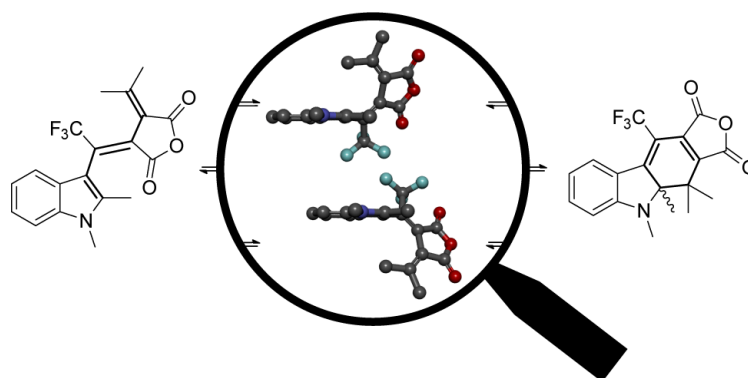


Abbildung II: Photo-Isomere des Fulgid-Photoschalters „unter die Lupe genommen“. Links E-Isomer, rechts C-Isomer, Innerhalb der schematisch dargestellten Lupe sind die beiden Atropisomere des Z-Photoisomers dargestellt.

Summary

Molecular tools can be used for a wide range in scientific research. For example, it is possible to target specific biochemical processes to gain a deeper understanding of the underlying principles and mechanisms. These can be, for example, small molecules that have been specifically designed for their individual field of application. Some of them are able to control the interaction between biochemical molecules, some of them can shift the local chemical equilibrium as required and other are able to release chemical messenger molecules to initiate biochemical processes. The effects of these temporal influences upon diverse biological systems in a functional, structural or systematic way, can lead to crucial insights for the corresponding areas of research. However, in order to address the interdisciplinary problems in a targeted manner with the appropriately tailored tools, it is absolutely necessary to develop an extensive understanding of the respective issues that goes beyond the boundaries of the individual disciplines.

Unfortunately, many of the today known chemical tools require relatively harsh conditions, have restricted areas of application, or cannot be activated in a sufficient temporal and/or local manner. The opportunity to use light as an external trigger signal, to activate (or deactivate) the corresponding molecular tools, can exactly overcome these deficits and brings with it numerous advantages besides the high temporal and local resolution.

In the here presented studies, me and my collaborators were able to design new photoactivatable molecular tools from the bottom up, to synthesize them in the organic laboratory, to investigate their individual photochemical properties and finally also to test their use for biological application. Because of the extraordinary interdisciplinary cooperation between the PhD students from organic, theoretical and physical chemistry, we could gain a comprehensive new understanding of these new substances. The different types of light-activatable molecular tools will be elaborated in the following course of this work. In general, we can differentiate between three fundamental classes: 1. Irreversible photocages, 2. Photoactivatable labels and 3. Reversible photoswitches.

In the field of photolabile protecting groups, also called photoactivatable protecting groups or photocages, we have succeeded in identifying a new species of molecules capable of cleaving a specific bond within their molecular framework after photochemical excitation. This was made possible by rethinking the so-called "uncaging process". With the extraordinary support of theory and spectroscopy, we were able to capture our results in a Structure-Activity Relationship (SAR) study.

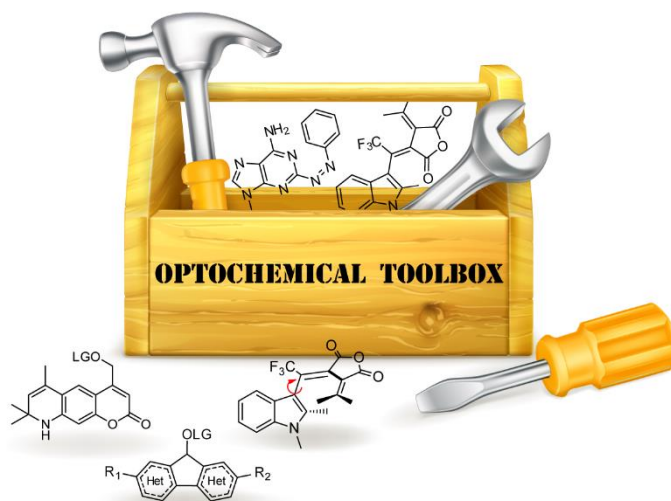


Figure I: The schematic “optochemical Toolbox”, which could be extended within these studies.

From a large compound library of diverse theoretically calculated candidates, the most promising compounds were subsequently synthesized and photochemically characterized. After initial investigations and the resulting findings, (i.e. that sulfur-substituted derivatives showed the most promising behavior) further molecular optimizations were calculated for optimization of the photochemical properties and subsequently realized in the laboratory. All the work from this single project resulted in a new photolabile protecting group, with a high uncaging quantum yield up to 450 nm, which is able to release the biological active neurotransmitter glutamate in a directed and light-activated manner. In another structure-activity relationship study, investigations on the isatin basic framework as a potential new uncaging platform are also presented in this dissertation. Likewise, in a third study in the field of photolabile protecting groups, investigations on the coumarin backbone showed that a systematic restriction of the relaxation paths in the molecule can bring about an improvement in photochemical properties.

Photoactivatable labels were used in different areas of research. Usually, these chemical molecules allow only a limited “observation” or detection time of the biochemical processes due to the efficient and therefore fast relaxation pathways back to the ground state. At the beginning of the performed studies, our idea was to convert the selective pre-IR excitation using a UV/vis puls (corresponding to VIPER spectroscopy) into a long-living triplet-signal of a suitable chromophore, which could subsequently be than used for the observation of comparatively long-lived biochemical processes.

Based on the idea of a long-living triplet state which should be detectable via mixed IR- and UV/vis spectroscopy, we developed a highly modified BODIPY molecule which absorbs above 600 nm, has a IR-sensitive cyano group and should have a high ISC quantum yield. Surprisingly, after successful synthesis of the target compound, it showed different properties, than expected. This is a perfect example for the high-level complexity of photochemistry. Nevertheless, we used spectroscopical and theoretical methods for getting a deeper insight into the photo mechanics of this new species, which may pave the way for further investigations.

Also, one of my further goals during my PhD was to investigate the photoswitching process of the so-called fulgide photoswitch in more detail and thus to understand it better. This is an extremely robust molecule that can reversibly be switched by photochemistry, even though this may seem to be a contraindication in terms at first glance. We succeeded in establishing this photoswitch, or more precisely its three photoisomers, in the field of chemical actinometry. This intention required numerous measurements of diverse reactivities (photochemical reaction quantum yields) in a wide range of wavelengths from the UV region to the near-IR of around 700 nm limit. In addition, all values were compared with the reference measurement of a photodiode or, depending of the individual wavelength range, also with classical ferrioxalate actinometry. Subsequently, I focused on the individual photoisomers and their unique chemical structure. By using chiral HPLC, we succeeded in isolation the individual photoisomers from one another and taking a closer look at them individually. For this we used a wide range of photochemical and theoretical calculation methods together with my cooperation partners from the theoretical department. The results of this study lead to further investigations or various applications for selective photochemistry with circular polarized light which may be focused on in future studies.

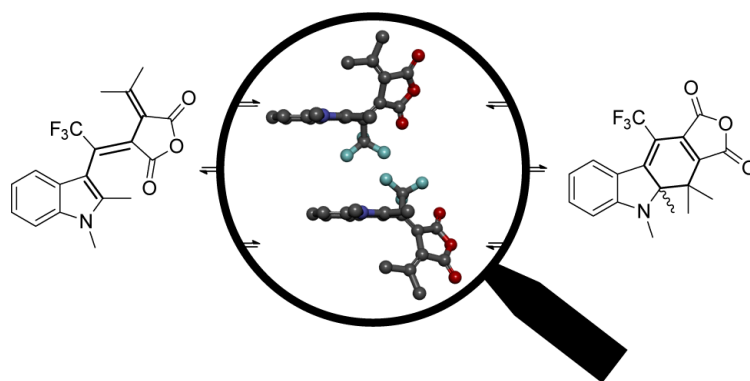


Figure II: Taking a closer look at the isomerisation processes of a special Fulgide derivative. Two exemplary atropisomers are represented.

Teile dieser Arbeit sind in folgenden Publikationen erschienen:

1) "A Robust, Broadly Absorbing Fulgide Derivative as a Universal Chemical Actinometer for the UV to NIR Region."

M. Reinfelds, V. Hermanns, Dr. T. Halbritter, Prof. Dr. J. Wachtveitl, Dr. M. Braun, Dr. T. Slanina, Prof. Dr. A. Heckel, *ChemPhotoChem* **2019**, 3, 6, 441-449.

2) "Photoswitchable 2-Phenyldiazenyl-Purines and their Influence on DNA Hybridization."

N. Grebenovsky, V. Hermanns, Prof. Dr. A. Heckel, *ChemPhotoChem* **2020**, 4, 5245-5248.

3) "Re-Thinking Uncaging: A New Antiaromatic Photocage Driven by a Gain of Resonance Energy."

V. Hermanns, M. Scheurer, N. F. Kersten, C. Abdellaoui, Prof. Dr. J. Wachtveitl, Prof. Dr. A. Dreuw, Prof. Dr. A. Heckel, *Chem. Eur. J.* **2021**, 27, 14121-14127.

4) "A Long-Lived Fluorenyl Cation: Efficiency Booster for Uncaging and photobase properties."

C. Abdellaoui, V. Hermanns, Dr. M. Reinfelds, M. Scheurer, Prof. Dr. A. Dreuw, Prof. Dr. A. Heckel, Prof. Dr. J. Wachtveitl, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2022**, 24, 5294-5300.

5) „Inactivation of Competitive Decay Channels Leads to Enhanced Coumarin Photochemistry”

R. Klimek, M. Asido, V. Hermanns, Dr. Stephan Junek, Prof. Dr. J. Wachtveitl, Prof. Dr. A. Heckel, *Chem. Eur. J.* **2022**, e202200647; <https://doi.org/10.1002/chem.202200647>

6) „Electronic Circular Dichroism Unravels Atropisomers of a Broadly Absorbing Fulgide Derivative”

V. Hermanns, Dr. M. Scheurer, Prof. Dr. A. Dreuw, Prof. Dr. J. Wachtveitl, Dr. M. Braun, Prof. Dr. A. Heckel, *ChemPhotoChem* **2022**, e202200057; <https://doi.org/10.1002/cptc.202200057>

Posterpräsentationen:

Sommerschule CLiC Graduiertenkolleg - 12.-16.08.2018 - Konstanz, Deutschland.

Begutachtung Graduiertenkolleg CLiC – 13.-14.09.2018 - Frankfurt a.M., Deutschland.

IV. DNG Doktorandenseminar - 20.-21.09.2018 - Bad Herrenalb, Deutschland.

Präsentationen:

Sommerschule CLiC Graduiertenkolleg - 12.-16.08.2018 - Konstanz, Deutschland.

IOCB Symposium „Light Control of Biomolecular Processes“ - 28.05.2019 - Prag, Tschechien.

Sommerschule CLiC-Graduiertenkolleg - 12.-15.08.2019 - Lindau, Deutschland.

Digitale Sommerschule CLiC-Graduiertenkolleg – 19.-21.08.2020 - digital.

Sommerschule CLiC-Graduiertenkolleg - 13.-16.09.2021 - Niedernberg, Deutschland.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	IX
Summary.....	XIII
1. Einleitung.....	1
1.1 Licht als Stimulus.....	1
1.2 Licht-aktivierbare Werkzeuge.....	4
1.2.1 Chromophore in der Natur.....	4
1.2.2 Photolabile.....	5
1.2.3 Photolabile Schutzgruppen (Photocages) – Ein Überblick.....	8
1.2.4 Cumarin als Naturstoff-basierte Schutzgruppe.....	11
1.2.5 Borondipyren (BODIPY) als Laserfarbstoff-basierte Schutzgruppe.....	16
1.2.6 Photoschalter (Photoswitches).....	18
1.2.7 Azobenzol-Photoschalter.....	19
1.2.8 Fulgid- und Fulgimid-Photoschalter.....	21
1.3 Vergleich organische Fluorophore, fluoreszierende Proteine & Quantenpunkte.....	26
1.4 Aktinometrie.....	29
1.5 Biokonjugation.....	30
1.6 Anwendungen photoaktivierbarer, molekularer Werkzeuge & optischer Methoden.....	37
2. Entwicklung eines neuen VIPER-Labels basierend auf dem BODIPY-Grundgerüst.....	43
2.1 Motivation und Zielsetzung.....	43
2.2. Ergebnisse und Diskussion.....	44
2.3 Zusammenfassung und Ausblick.....	46
3. Entwicklung & Verständnis neuer 1PE Photolabiler Schutzgruppen.....	47
3.1 Motivation und Zielsetzung.....	47
3.2. Ergebnisse und Diskussion.....	48
3.2.1 Isatine.....	48
3.2.2 Fluorenole.....	55
3.2.3 Fluorenol-Kation.....	70
3.2.4 ATTO-basierte Photocages.....	77
3.3 Zusammenfassung und Ausblick.....	85
4. Entwicklung und Analyse von Photoschaltern als molekulare, lichtregulierbare Werkzeuge.....	87
4.1 Motivation und Zielsetzung.....	87
4.2. Ergebnisse und Diskussion.....	90
4.2.1 Das Fulgid als chemisches Aktinometer.....	90
4.2.2 Erweiterte Kontrolle mit Licht – CD-Spektroskopie am Fulgid.....	96

4.2.3 Azobenzol-Photoschalter	106
4.3 Zusammenfassung und Ausblick	110
5. Experimenteller Teil.....	113
5.1 Materialien, Geräte und Methoden	113
5.2 Chemische Synthesen.....	117
5.3 NMR Spektren	146
5.4. Massenspektren	177
6. Anhang.....	185
6.1 Abkürzungsverzeichnis	185
6.2 Abbildungsverzeichnis.....	187
6.3 Literaturverzeichnis.....	198
6.4 Reprint Permissions – Nachdruck Genehmigung für Abbildungen mit Copyright©.....	204
7. Danksagung.....	206
8. Lebenslauf.....	208

1. Einleitung

1.1 Licht als Stimulus.

Das elektromagnetische Emissionsspektrum der Sonne entspricht in etwa dem eines sogenannten idealen Schwarzen Körpers (siehe **Abbildung 1**).^[1] Es erstreckt sich vom UV-Bereich (ca. 250 nm) über den sichtbaren Bereich (ca. 300 bis 700 nm) bis hin zum Infrarot-Bereich (über 2000 nm).^[2] Sein Maximum liegt bei ca. 500 nm. Jedes Photon, welches die Photosphäre der Sonne verlässt, benötigt in etwa 8 Minuten, bis es in die Atmosphäre der Erde eindringt. Je nach Wellenlänge kann es in der Atmosphäre von verschiedenen Elementen wie Ozon (O₃), Sauerstoff (O₂), gasförmiges Wasser (H₂O) oder Kohlenstoffdioxid (CO₂) innerhalb einer Femtosekunde^[3] (10⁻¹⁵ s) absorbiert werden.^[4,5] Damit unterscheidet sich die extraterrestrische Sonnenstrahlung in gewissen Bereichen zum Teil recht stark von der terrestrischen. Sollte ein Photon diesen Weg nun ohne absorbiert zu werden hinter sich bringen, kann es auf der Erde zahlreiche photochemische Prozesse initiieren. Die Photosynthese in Pflanzenzellen oder der Sehprozess im menschlichen Auge sind nur zwei von zahlreichen Beispielen. Die Sammlung und Konzentration dieser Lichtenergie in den verschiedenen Antennenkomplexen in den Chloroplasten der Pflanzenzellen wird dabei genutzt um komplexe Kohlenstoffverbindungen im Rahmen der Assimilation zu synthetisieren.^{[6],[7]} Beim Sehprozess führt eine photochemische Isomerisierungs-Reaktion des Chromophors Retinal zu einer Konformationsänderung^[8] und damit zu einer Signalkaskade, die den Sehprozess initiiert.^[9] Die Nutzung von photochemischen Prozessen, die sich der Mensch aus der Natur abgeleitet hat, ist in komplexen Regulationsmechanismen in der heutigen Wissenschaft zahlreich vertreten.^{[10],[11],[12],[13]}

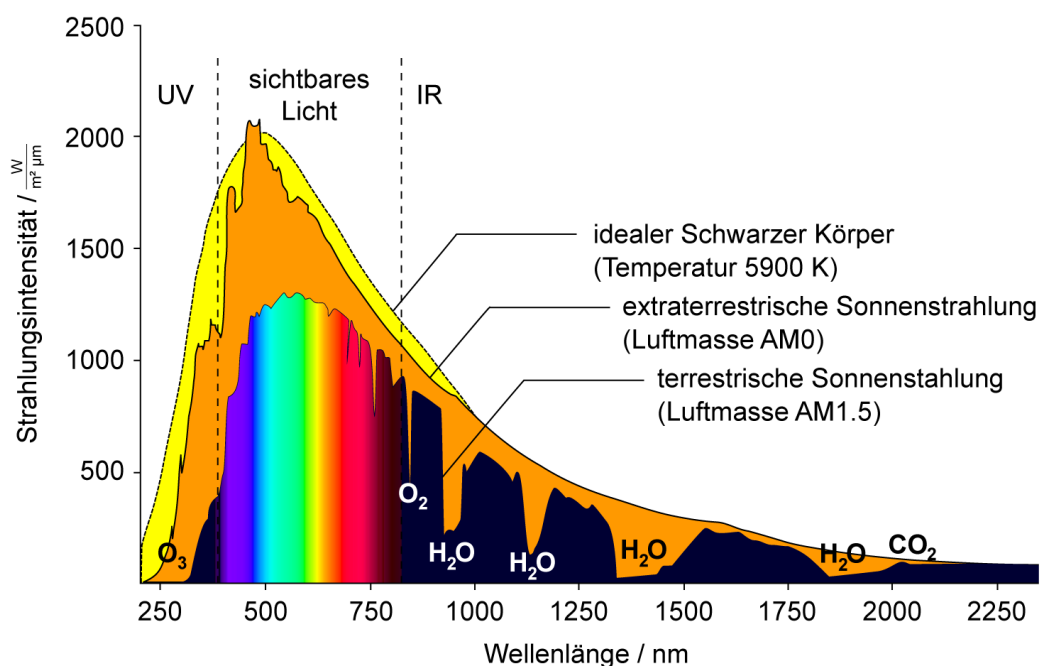


Abbildung 1: Emissionsspektrum eines idealen Schwarzen Körpers und elektromagnetisches Emissionsspektrum der Sonne inkl. Absorption einiger natürlich vorkommender Verbindungen. Abgeändert aus Quellen^[4,5]

Die Hauptaspekte die Licht als externes Triggersignal so faszinierend bzw. erfolgreich machen, sind die hohe zeitliche und räumliche Auflösung, die mit geeigneten Apparaturen fokussiert bzw. kontrolliert werden kann.^[12,14] Des Weiteren eröffnet die Photochemie eine neue Dimension der Reaktionskontrolle (siehe **Abbildung 2**), da Reaktionen über energetisch angeregte Zustände ablaufen, bei denen die klassische Thermodynamik teilweise nur eine Nebenrolle spielt.^[15] Hier ist auf der linken Seite (a) das klassische thermodynamische Gleichgewicht gezeigt, welches von der Höhe der Energiebarriere abhängt. Die thermische Barriere kann mit Hilfe einer photochemischen Anregung (c) überwunden werden. Durch die photochemische Anregung gelangt das Molekül in einen energetisch höher angeregten Zustand, aus dem es dann über verschiedene Relaxations-Prozesse (auf die im Folgenden noch detaillierter eingegangen werden soll) in andere Bereiche der Energiehyperfläche des Grundzustands gelangen kann. Somit kann in solchen Fällen das Gleichgewicht mit Hilfe von Licht in eine beliebige Richtung verschoben werden (**Abbildung 2** c+d). In den vergangenen Jahrzehnten wurden zahlreiche Arbeiten veröffentlicht, in denen gezielt biochemische und chemische Prozesse gesteuert und initiiert werden konnten.^[16] Beispielsweise konnten bereits sowohl Peptide, als auch ganze Proteine selektiv in ihrer biologischen Funktion mit Licht reguliert werden.^[17] Des Weiteren kann diese komplexe Kontrolle uns dabei helfen, die verschiedensten biologischen und biochemischen Mechanismen bei z.B. Wundheilungsprozessen^[18], Genregulation^[19] oder auch Neuroreaktionen^[20] besser zu verstehen. Möchte man nun ein bestimmtes biologisches System regulieren, so benötigt man dafür das entsprechende richtige molekulare Werkzeug, um damit erfolgreich zu sein. Bei der Auswahl spielen u.a. die anwendungsspezifische, gewünschte Wellenlänge und die Reaktionskinetik des zu untersuchenden Prozesses eine entscheidende Rolle.

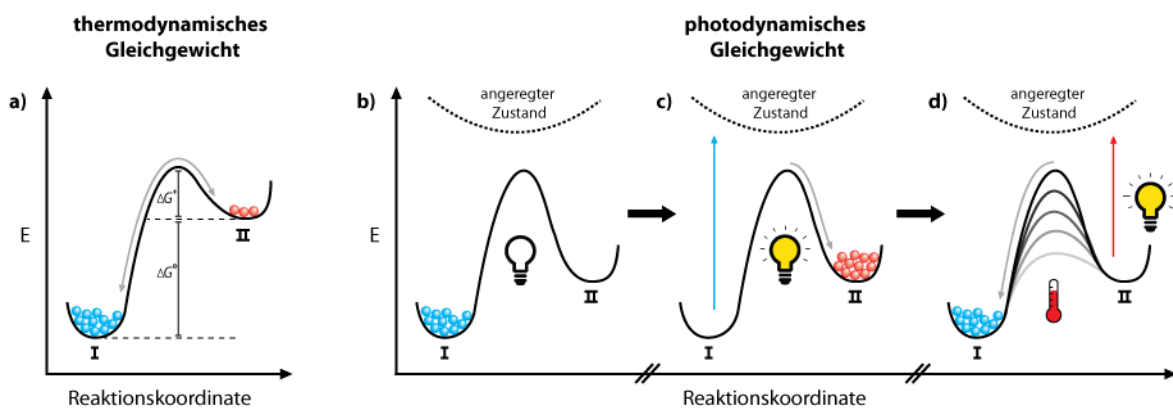


Abbildung 2: Thermodynamik versus Photodynamik. a) Thermodynamisches Gleichgewicht, welches sich abhängig der jeweiligen Energiebarrieren einstellt. b) Photodynamisches Gleichgewicht mit einer sehr hohen thermischen Energiebarriere und Bestrahlung. c) Die Anregung einer Spezies führt dazu, dass sie aus dem Grundzustand I, in einen energetisch höheren, angeregten Zustand gelangt, aus dem sie dann durch Relaxationsprozesse die Energiebarriere indirekt überwindet und in den Zustand II des Grundzustands gelangt. d) Aus dem Zustand II kann die Spezies entweder thermisch oder photochemisch wieder in den Ausgangszustand I zurück gelangen. Abgeändert aus Hecht et al.^[15]

Im Rahmen meiner Doktorarbeit war es meine Aufgabe verschiedene neue photochemische Werkzeuge zu entwickeln, bestehende weiterzuentwickeln und ihre Mechanismen besser zu verstehen. Grundsätzlich lassen sich photochemische Werkzeuge in verschiedene Gruppen einteilen. Zum einen reversible Werkzeuge (Photoschalter, *Photoswitches*), irreversible Werkzeuge (photolabile Schutzgruppe, *Photocages*) und anregbar reversible Werkzeuge (*Photolabile*).^{[10],[12]} Im Falle der Photoschalter findet ein reversibler photochemischer Prozess statt, bei dem verschiedene Photoisomere durch Bestrahlung mit geeigneter Wellenlänge ineinander überführt werden können. Dabei ist die spektrale Bandbreite der Isomere und die daraus resultierende Überlappung der Absorptionsspektren ebenso entscheidend für die effiziente Schaltung bzw. präzise Kontrolle, wie die Quantenausbeuten der jeweiligen Isomerisierungsprozesse zwischen den Photo-Isomeren.^[21]

Bei irreversiblen *Photocages* kommt es ebenfalls neben der Absorptionswellenlänge auf die Feinabstimmung der einzelnen chemisch/physikalischen Eigenschaften an, wie z.B. Löslichkeit, Molekülgröße und die Geschwindigkeit der Entschützungsreaktion („uncaging“ Reaktion).^[12] Photolabel können im Rahmen diverser spektroskopischer Anwendungen dabei helfen molekulare Prozesse genauer zu verfolgen und zu verstehen.^[22] Im Folgenden sollen zunächst natürliche Chromophore dargestellt werden, bevor dann auf die einzelnen, davon abgeleiteten, molekularen, photochemischen Werkzeuge detaillierter eingegangen werden soll, die der Wissenschaft nach aktuellem Stand zur Verfügung stehen.

1.2 Licht-aktivierbare Werkzeuge

1.2.1 Chromophore in der Natur

Im Laufe der vergangenen Milliarden Jahre haben sich die verschiedensten Organismen die Nutzung von Sonnenlicht zu Eigen gemacht. Ohne die Photosynthese wäre das heutige Leben, wie wir es kennen undenkbar. Im Rahmen der Photosynthese werden aus Lichtenergie (Photonen, Lichtquanten) energiereiche organische Verbindungen synthetisiert. Diesen Prozess bezeichnet man auch als Assimilation. Um die Lichtenergie nutzbar zu machen, braucht es Moleküle, die diese Energie zunächst „einfangen“, und dann in einer geregelten Abfolge weiterleiten. Diese „Lichtfänger-Moleküle“ bezeichnet man auch als Chromophore. Im klassischen Sinne bezieht sich der Begriff Chromophor auf solche Moleküle, die Licht im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums absorbieren, also von etwa 300 nm bis 700 nm. Je nach Struktur, Größe und räumlicher Gestalt, entwickelten sich so verschiedenste natürlich vorkommende Chromophore für diverse spektrale Bereiche. Zwei Chromophore, die in unserem alltäglichen Leben eine entscheidende Rolle spielen sind Chlorophyll a^[6] und Retinal^{[23][24]} (siehe **Abbildung 3**).

Chlorophyll (**1**) verleiht Pflanzen ihre grüne Farbe und ist maßgeblich an der Photosynthese beteiligt. Somit ist es einer der wichtigsten Chromophore auf unserem Planeten.^[25] Das Retinal (**2**) ist der entscheidende Chromophor bei der Wahrnehmung von Licht im menschlichen Auge.^[24] Das Besondere am Retinal ist hierbei, dass dieses Molekül nicht nur in der Lage ist Licht „in sich aufzunehmen“, also zu absorbieren und dieses ggf. weiterzuleiten, sondern vor allem auch eine konformelle Änderung der molekularen Struktur vollzieht, sobald es mit Licht geeigneter Wellenlänge bestrahlt wird. Dieser sog. Isomerisierungs-Prozess zwischen dem 11-*cis* und dem all-*trans* Retinal (**2a & 2b**), ist der Grund weswegen wir sehen.^[26] Die räumliche Strukturänderung bewirkt, dass sich seine Protein-Interaktionsfähigkeit stark verändert, wodurch eine Signalkaskade ausgelöst wird, die letztendlich zum „Sehsignal“ führt.^[24] Somit lässt sich sagen, dass Retinal eine Art „natürliches Lichtwerkzeug“ darstellt.

Im Verlauf der vergangenen Jahrzehnte haben Forscherinnen und Forscher auf der ganzen Welt sowohl neue, als auch bestehende Licht-Werkzeuge designt, synthetisiert und weitergehend erforscht.^{[10][12][27]} Photonen haben sich dabei als eine Art ganz eigene „Reagenzien des 21. Jahrhunderts“^[28] entwickelt.

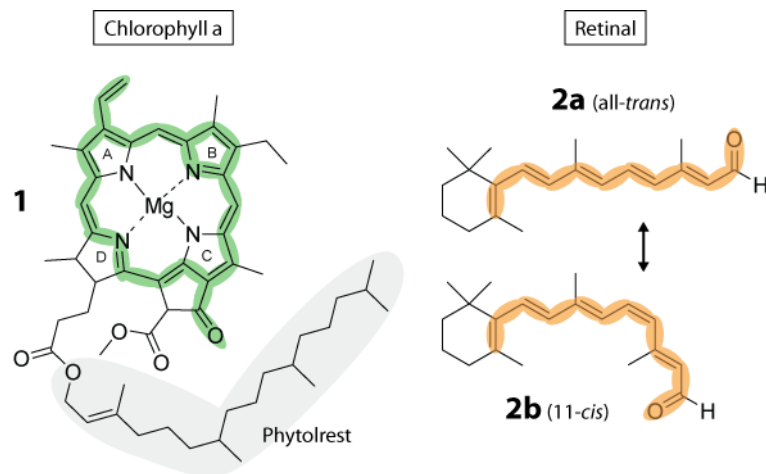


Abbildung 3: Chlorophyll a und Retinal als natürliche Chromophore. Das konjugierte Doppelbindungs-System, welches für die Absorption der elektromagnetischen Strahlung verantwortlich ist, ist bei beiden Chromophoren jeweils farbig hinterlegt. Das Chlorophyll a leitet die durch die Absorption aufgenommene Energie in den Photo-Komplexen in den Chloroplasten weiter. Das Retinal vollzieht eine Änderung seiner räumlichen Struktur (Konformationsänderung) durch die Anregung mit Licht.

Kernpunkte zahlreicher Forschungsarbeiten waren dabei die Entwicklung immer neuer Chromophore, die Verschiebung der Absorptionswellenlänge von bereits bestehenden Chromophoren durch Modifikationen an der chemischen Struktur, die Einstellung der verschiedenen Photo-Reaktions-Quantenausbeuten für die entsprechenden Anwendungen, sowie die Erweiterung bzw. Vertiefung der Erkenntnisse der verschiedenen photochemischen Reaktionspfade und Abläufe. Die so entstandenen synthetischen Moleküle lassen sich in 3 Gruppen einordnen. Den Photolabeln, den photolabilen Schutzgruppen (auch photospaltbare Schutzgruppen, photoaktivierbare Schutzgruppen, PPG's oder Photocages) und den Photoschaltern (auch Photoswitches).

1.2.2 Photolabile

Die Gruppe der Photolabile scheint auf den ersten Blick die simpelste zu sein. Hierbei wird Lichtenergie innerhalb einer Femtosekunde (10^{-15} s) absorbiert^[3] und in einen anderen photochemischen oder photophysikalischen Prozess umgewandelt ohne dabei die chemische Struktur oder die räumliche Gestalt zu ändern. Bei genauerer Betrachtung erweitern jedoch schon die intrinsischen photochemischen und photophysikalischen Reaktionswege die Komplexität der Photolabile. Im Folgenden sollen am Beispiel von Chlorophyll a und dem entsprechenden Jablonski-Diagramm die verschiedenen, möglichen photochemischen Prozesse näher erläutert werden (siehe **Abbildung 4**).

Wichtig zu erwähnen ist an dieser Stelle, dass schon das Jablonski-Diagramm selbst eine vereinfachte Version der verschiedenen elektronisch angeregten Zustände und der Prozesse zwischen diesen Zuständen darstellt. In der Realität sind meist bereits bei einfachsten Relaxationsprozesse multidimensionale Energie-Hyperflächen beteiligt.^{[29][30]}

Zu den bekanntesten Photolabeln gehören die sogenannten Fluoreszenzlabel (Fluorophore). Diese geben die aufgenommene Lichtenergie nach einem kurzen Zeitraum von einigen wenigen Nanosekunden (10^{-9} s) wieder in Form von meist rot-verschobener Lichtenergie (eines Photons) ab.^{[3][31]} In **Abbildung 4** soll dies mit der gestrichelten Linie nahe des Absorptionsmaximums bei 700 nm angedeutet werden. Dieser Prozess lässt sich leicht am Jablonski-Diagramm erklären. Wenn der energetische Unterschied zwischen dem Grundzustand und dem meist ersten angeregten Zustand eines Moleküls hoch ist und keine thermische Relaxation durch vibronische oder rotatorische Abregungskanäle möglich oder effizient genug ist, findet die Energieabgabe in Form von Fluoreszenz statt. Wenn das Molekül im angeregten Zustand ein sog. „Inter System Crossing“ (ISC) vollzieht und sich damit in einem Triplet-Zustand befindet, kann auch aus diesem ein strahlender Prozess in Form der Phosphoreszenz stattfinden (angedeutet in **Abbildung 4** durch die gepunktete Linie bei ca. 750 nm). Die Phosphoreszenz hat dabei aufgrund des quantenmechanisch verbotenen Übergangs eine, verglichen mit der Fluoreszenz, deutlich verlängerte Lebenszeit im Bereich von Mikrosekunden (10^{-6} s) bis hin zu wenigen Sekunden.^[3]

All diese angesprochenen, strahlenden Prozesse können nur dann effizient stattfinden, wenn thermische Relaxationsprozesse entweder zu langsam oder zu ineffizient sind. Dies ist jedoch nur in Ausnahmefällen der Fall, denn im Allgemeinen sind diese Prozesse sehr effizient. Das ist auch der Grund dafür, dass nur eine vergleichsweise sehr kleine Gruppe von Molekülen dazu in der Lage ist, strahlend zu relaxieren.^[3] Im Laufe der Jahre haben sich jedoch auch Strategien herausgebildet, funktionelle Fluorophore mit synthetisch Mitteln photochemisch sehr „fein zu regulieren“^[32], worauf in den folgenden Kapiteln noch näher eingegangen werden soll.

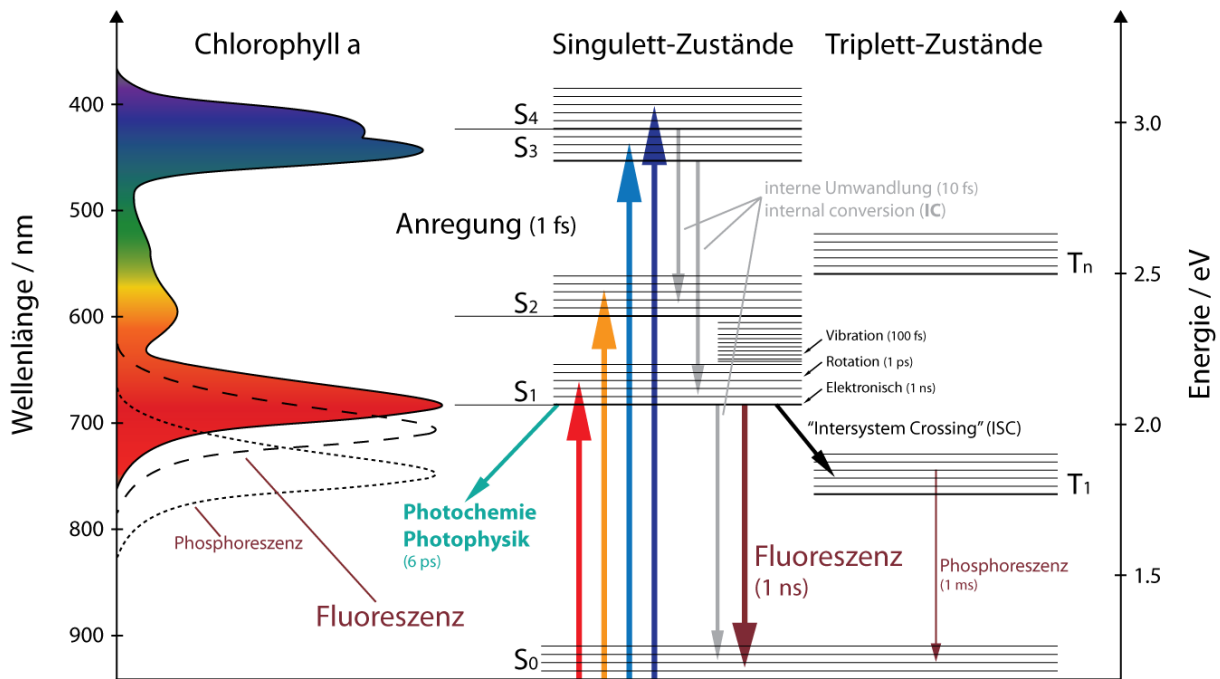


Abbildung 4: Absorptionsspektrum von Chlorophyll a und entsprechendes Jablonski-Diagramm der verschiedenen photochemischen und photophysikalischen Prozesse, die nach der Absorption ablaufen können. Photophysikalische & Photochemische Prozesse sind inklusive ihrer typischen Zeitskala dargestellt. (Angelehnt an Abbildung aus W. Postl, 300606 UE Wachstum und Stoffwechsel der Pflanzen, Department für Molekulare Systembiologie)

Vibronische Label und die IR-Spektroskopie machen sich die Effizienz der vibronischen Relaxation zu Nutze. Die Molekülschwingungen so genannter „VET-label“ (*Vibrational Energy Transfer, vibronischer Energietransfer*) lassen sich, photochemisch angeregt, spektroskopisch genau nachverfolgen und so auf den Abstand verschiedener funktioneller Gruppen zurückverfolgen.^[33] Im Rahmen dieser Abstandsmessungen können so Hinweise auf die räumliche Struktur z.B. von Proteinen erhalten werden.^[34] Eine weitere Gruppe der vibronisch basierten Photolabel, sind die „VIPER-label“ (*Vibrationally Promoted Electronic Resonance*). Hierbei handelt es sich um ein „2-Puls-label“. Das bedeutet, dass für die Verwendungen sowohl ein IR-Puls, als auch ein UV/vis-Puls benötigt werden (siehe **Abbildung 5**). Durch den ersten IR-Puls werden spezifische Moleküle zielgerecht in vibronisch angeregte Zustände versetzt.^[35] Durch einen nachfolgenden UV/vis-Puls, der bezogen auf das Absorptionsspektrum, leicht rot-verschoben und damit „nicht-resonant“ mit allen vorher nicht vorangeregten Molekülen ist, werden nun ausschließlich jene Moleküle in den angeregten Zustand versetzt, die zuvor vibronisch angeregt werden konnten. Da sich vibronisch angeregte Zustände viel selektiver adressieren lassen, als elektronisch angeregte Zustände, erweitert diese Technik die Selektivität der Wechselwirkung von Molekülen mit Licht.^[36]

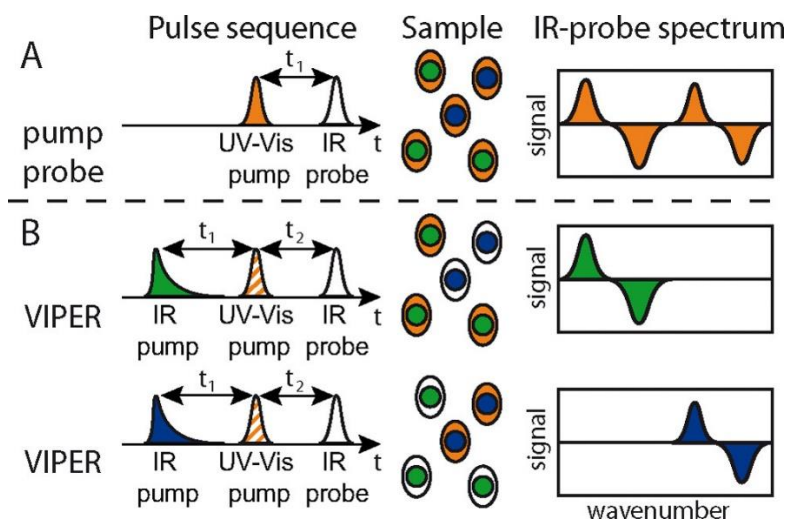


Abbildung 5: Photochemische Anregung in einer Mischung aus zwei verschiedenen, molekularen Spezies mit derselben oder sehr ähnlicher Absorption im UV/vis-Bereich (symbolisiert durch die orangene Farbe der Moleküle), aber unterschiedlicher IR-Absorptionsspektren (grüne und blaue Kreise). A: Unselektiver UV/vis-Anregungspuls mit anschließender Analyse mittels IR-Spektroskopie. B: Selektive Anregung mittels VIPER Spektroskopie. In der links zu sehenden VIPER Pulssequenz ist ein selektiver IR-Puls (in grün oder blau) zu erkennen, bei dem nur eine der beiden Spezies (grün oder blau) angeregt wird. Der darauf folgende, nicht resonante UV/vis-Puls regt nur die vor-angeregten Moleküle elektronisch an. Entnommen aus Kern-Michler et al.^[36]

1.2.3 Photolabile Schutzgruppen (Photocages) – Ein Überblick

Die Gruppe der Photocages besteht schon seit geraumer Zeit. Als die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler vergangener Zeiten das Licht als Reaktionspartner „entdeckten“, stießen Sie dabei auf eine ganze neue Dimension - Die Möglichkeit gezielt chemische Bindungen mit Licht irreversibel zu spalten.

Die Gruppe der photolabilen Schutzgruppen fasst jene Moleküle zusammen, die genau dazu in der Lage sind. Da sich Licht mit den heutigen Apparaturen sowohl räumlich als auch zeitlich sehr stark fokussieren lässt, bietet dies z.B. die Chance Effektor Moleküle genau dort freizusetzen, wo sie ihre Wirkung entfalten sollen. Die erste Anwendung von Photocages im biologischen Kontext gelangen Engels^[37] im Jahre 1977 und Kaplan^{[38],[39]} im Jahre 1978. Engels *et al.* verwendeten den Nitro-Phenyl-Ethylen-Cage (NPE, **12**) um erstmals zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) freizusetzen. Der so genannte „*Uncaging*“-Mechanismus des NPE's basiert auf der photochemisch-induzierten Bildung eines „Azi-nitro-Intermediats“, welches anschließend die Abgangsgruppe freisetzt. Mit der Zeit haben sich weitere Gruppen von Photocages für verschiedene Anwendungen etabliert.^[12] Die in der heutigen Literatur am häufigsten zu findenden photolabilen Schutzgruppen sind neben dem NPE, das Cumarin (**10**) und das Boron-di-pyrimidin (BODIPY, **5**) (siehe **Abbildung 6** & **Abbildung 7**). Beide Arten von Photocages basieren auf Fluoreszenzlablen bzw. Laserfarbstoffen^[40], die so modifiziert wurden, dass sie in der Lage sind die aufgenommene photochemische Energie in die Spaltung einer spezifischen Bindung umzuwandeln.^[12]

Durch eine photo-induzierte Umlagerung der Elektronendichte des Systems, wird vereinfacht ausgedrückt, ein antibindendes Molekülorbital stärker besetzt, was eine Abschwächung der Bindung zu Folge hat. Dies kann anschließend zu einem irreversiblen Bindungsbruch und damit zur Abspaltung der sog. Abgangsgruppe (*Leaving Group*, LG) führen. Bei einigen Arten von Photocages ist zusätzlich die Anwesenheit eines nukleophilen Lösungsmittels von Nöten, um die ursprüngliche Bindung zu spalten und anstelle der LG ein Lösungsmittelmolekül anzulagern.

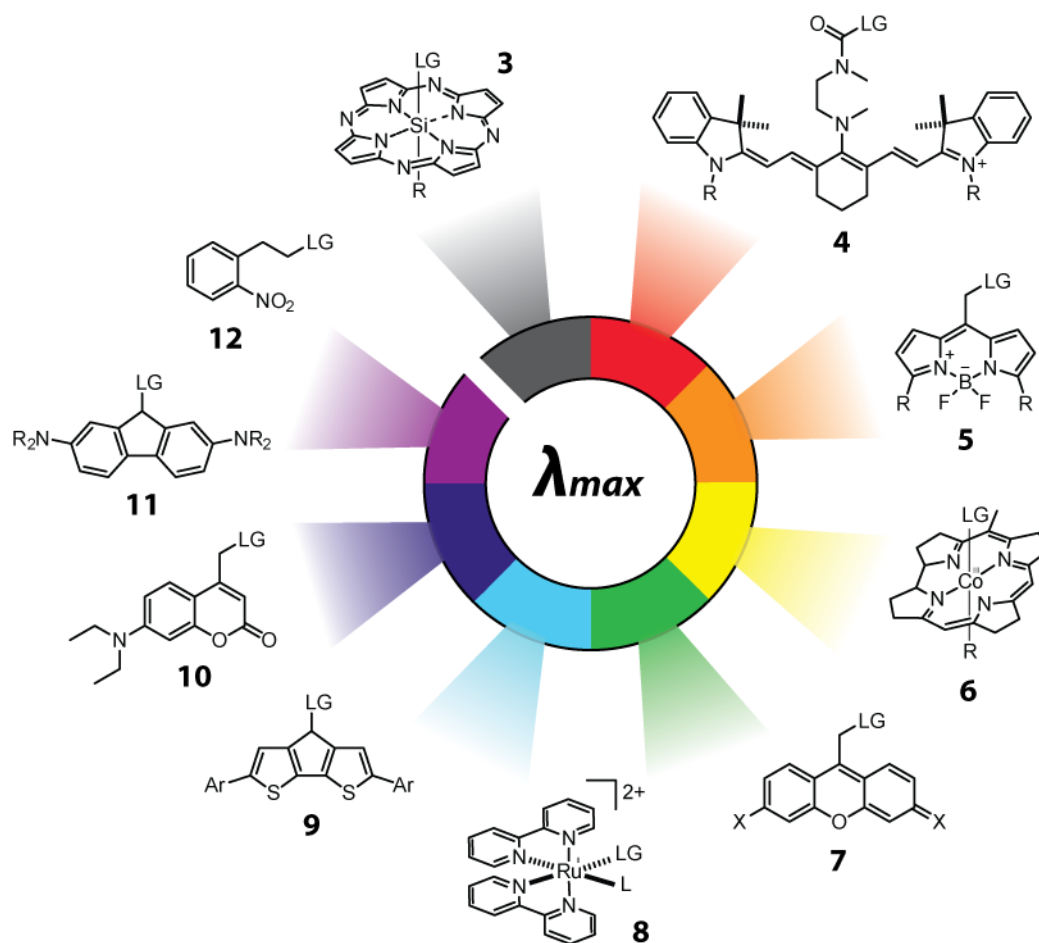


Abbildung 6: Übersicht der bekanntesten photolabilen Schutzgruppen inklusive der entsprechenden Absorptionsmaxima im UV/vis Bereich.. Unter anderem sind das Fluorenol (violett), Cumarin (dunkelblau), Thiofluorenol (hellblau), BODIPY (orange) und der Cyanin-Cage (rot) zu sehen. Die entsprechenden Abgangsgruppen können zwischen den einzelnen Photocages stark variieren und sind hier nur vereinfacht dargestellt. Angelehnt an Abbildung aus Weinstain et al.^[12]

Durch zahlreiche Substitutionen der jeweiligen Grundgerüste^[41], ist es Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern mittlerweile gelungen, den gesamten sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums abzudecken. Zum Beispiel sind bei Anwendungen im biologischen Gewebe solche Photocages von Vorteil, die aufgrund Ihrer Absorption im nahen IR-Bereich eine hohe Eindringtiefe besitzen.

Wiederum kann es bei anderen Anwendungen von Nöten sein ein etwas hypsochrom verschobenes Absorptionsspektrum zu adressieren. Somit stellt das Absorptionsmaximum des jeweiligen Chromophors schon eines der Optimierungskriterien für die jeweilige Anwendung dar. Daneben spielen Parameter wie die Wasserlöslichkeit, die Größe, die Polarisierbarkeit und vor allem das Verhältnis der einzelnen photochemischen und photophysikalischen Reaktionspfade und deren Effizienz eine Rolle.^{[12][14]}

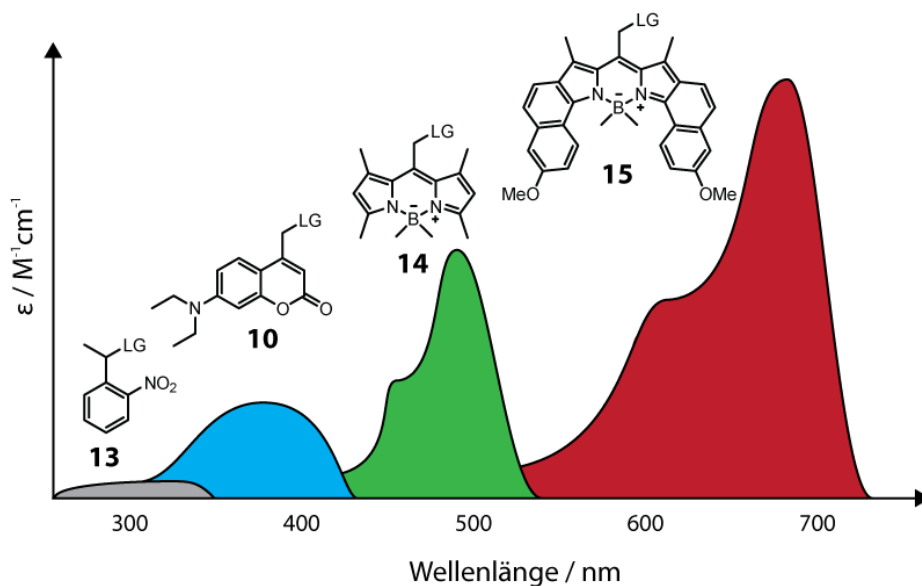


Abbildung 7: Übersicht der in der Literatur am meisten verwendeten Photocages NPE (grau), Cumarin (blau) & BODIPY (grün und rot) mit entsprechendem typischem Absorptionsbereich. Die gezeigten Verbindungen stellen beispielhaft die Struktur und einen ungefähren Größenvergleich zueinander dar. Das rechte BODIPY Molekül absorbiert mit ausgedehntem, konjugiertem π -Elektronensystem sogar bis über 700 nm. Abgeändert aus Winter *et al.*^[42]

An dieser Stelle sollen auch Nitrodibenzofuran- (NDBF), das Fluorenol- (**11**) und Cyanin- (Cy, **4**) Cages Erwähnung finden. An NDBF-Cages konnte unter anderem eine anregungsspezifische Photochemie gezeigt werden. Becker *et al.* fanden heraus, dass sich die Photochemie nach 2-Photonen-Anregung entgegen der Erwartung, erheblich von der Photochemie mit 1-Photonen-Anregung unterscheidet.^[43] Die Gruppe der Fluorenole soll im Folgenden noch detaillierter beschrieben werden. An dieser Stelle sei lediglich auf die verschiedenen synthetischen Modifikationen und deren Auswirkung auf die Photochemie hingewiesen, die Reinfelds *et al.* demonstrieren konnten.^[44] Cyanin-Cages wurden von Schnerman *et al.* zur Verwendung im nahen Infrarot-Bereich^[45] (NIR-Bereich, NIR) entwickelt und basieren auf der photochemisch induzierten Reaktion mit Sauerstoff, die letztendlich zur Spaltung führt.^[46]

All diese drei Gruppen haben bis heute schon vereinzelte Anwendungen gefunden, bieten jedoch nach wie vor die Möglichkeit für weitere Untersuchung und Anwendung auf diversen Gebieten der Wissenschaft. Im Folgenden Kapitel soll nun zunächst auf die Gruppen der Cumarin- und BODIPY-Photocages detailliert eingegangen werden.

1.2.4 Cumarin als Naturstoff-basierte Schutzgruppe

Eine der bekanntesten und heutzutage in vielen Studien bereits verwendeten photolabilen Schutzgruppen, ist das Cumarin (1,2-Benzopyron). Das Grundgerüst dieses Chromophors entstammt aus der Pflanzenwelt und ist unter anderem im Waldmeister (*Galium odoratum*) oder der Tonkabohne (*Dipteryx odorata*) zu finden.^[47] Abgeleitet daraus wurden diese und ähnliche, modifizierte Verbindung aufgrund ihrer fluoreszierenden Eigenschaften zunächst als Fluorophore oder Laserfarbstoffe und später auch als photolabile Schutzgruppe^[48] oder ionenspezifische, fluoreszierende Chemosensoren^[49] verwendet.

Die Synthese erfolgt standardmäßig mittels der sog. Pechmann Kondensation aus einem Phenol-Derivat und einem β -Ketoester. Zum Reaktionsmechanismus gibt es zahlreiche Studien und die Abfolge der einzelnen Reaktionsschritte wird kontrovers diskutiert.^[50] Im Prinzip sind drei mögliche Mechanismen denkbar, die in **Abbildung 8** dargestellt sind. Es kann entweder zunächst eine Umesterung (UE) erfolgen, der dann die elektrophile aromatische Substitution (EAS) folgt und durch Wasserabspaltung das finale Cumarin-Gerüst entsteht (Weg **A**). Alternativ dazu ist ebenso zunächst die EAS vorstellbar, die dann über Wasserabspaltung und Umesterung ebenso zum gewünschten Reaktionsprodukt führt (Weg **B**). Als dritte Alternative ist es ebenso denkbar, dass zunächst die Umesterung erfolgt (Weg **C**) und anschließend durch Wasserabspaltung die Doppelbindung des Cumarin-Gerüsts ausgebildet wird.

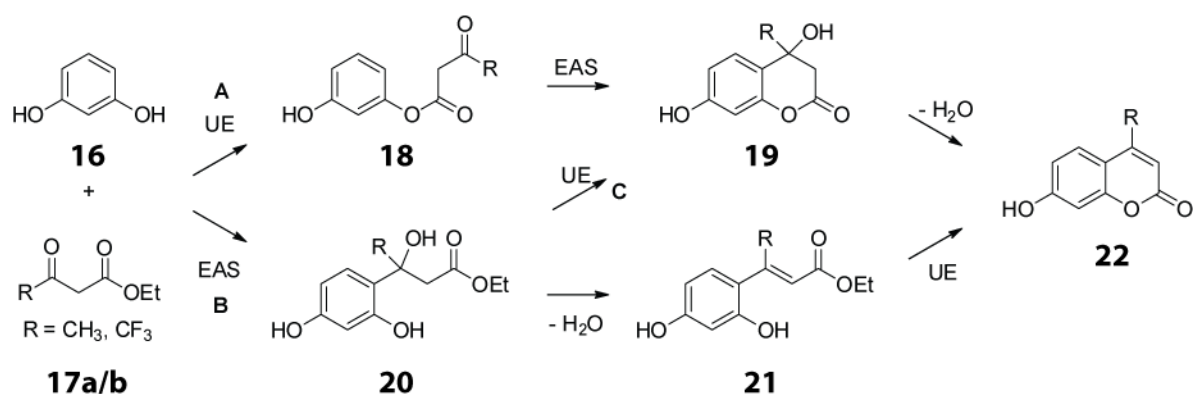


Abbildung 8: Reaktionsmechanismus der Pechmann Kondensation zur Synthese von Cumarin Derivaten.. Die Grundschritte sind in allen Fällen die Gleichen, lediglich die Reihenfolge der verschiedenen Schritte (UE = Umesterung, EAS = elektrophile aromatische Substitution und $-H_2O$ = Wasserabspaltung) ist unterschiedlich. Entnommen aus Tyndall et al. ^[50]

Zahlreiche synthetische Modifikationen an diversen Stellen dieses Grundgerüsts (**23**) wurden in den letzten Jahrzehnten durchgeführt und ihre Auswirkungen auf die photochemischen Eigenschaften in sog. Struktur-Aktivität-Beziehung-Studien (*eng.* structure-activity-relationship, SAR) untersucht. Eine der geläufigsten Modifikationen ist dabei die Anbringung eines Elektronen-Donors, wie z. B. einer Dimethyl-Amino, Diethyl-Amino oder Methoxy-Gruppe an der 7-Position (siehe **Abbildung 9**).

Dies führt in allen Fällen zu einer bathochromen Verschiebung des Absorptionsspektrums. Zu erklären ist dieser Effekt damit, dass durch die Installation der elektronenschiebenden Gruppe ein sog. „Push-Pull-System“ entsteht. Diese Systeme sind im Allgemeinen für rotverschobene Absorption bekannt und bestehen aus einem Elektronendonator und einem Elektronenakzeptor (in diesem Fall die Carbonyl-Gruppe) an unterschiedlichen Positionen des jeweiligen Gerüsts. Weitere Substituenten an der 7-Position sind u.a. das Julolidin oder der Stickstoff-substituierte 4-Ring Azetidin (siehe **Abbildung 9**), die die Rotationsfreiheitsgrade und damit zusammenhängende Relaxationswege aus dem angeregten Zustand einschränken können. Damit im direkten Zusammenhang stehend, sind auch Veränderungen z.B. des „*Twisted Intramolecular Charge Transfer*“ (TICT)-Verhaltens^[51], was in der Literatur bereits divers diskutiert wird.^{[52][53]}

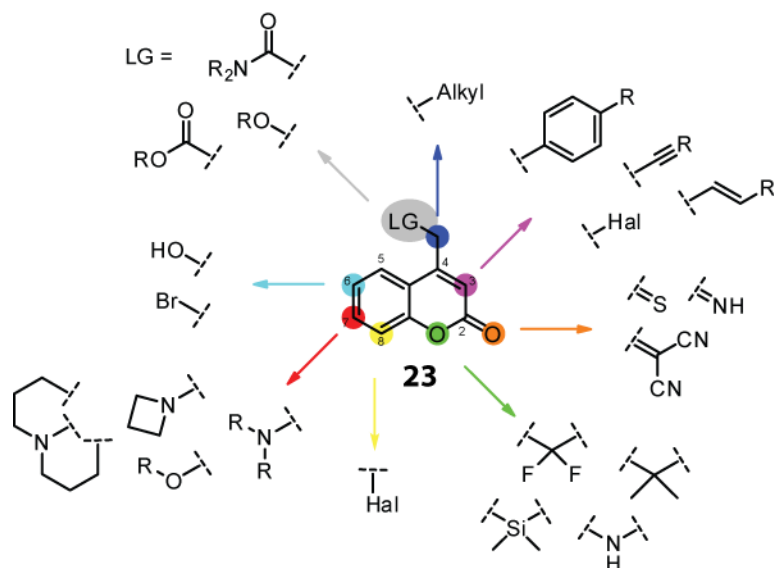


Abbildung 9: Übersicht diverser synthetischer Modifikationen am Cumarin-Gerüst. Je nach Substituent und Position kann daraus eine erhebliche Auswirkung auf die verschiedensten chemischen und photochemischen Parameter, wie Absorptionsbereich, Quantenausbeuten des Inter System Crossing (ISC) resultieren. Daneben können u.a. die Polarität des Grund- & angeregten Zustands, sowie die Wasserlöslichkeit verändert werden. Als Abgangsgruppen (Leaving Group, LG) eignen sich verschiedenste Carbonat- & Carbamat-verknüpfte Moleküle. Roter Pfeil nach P. Riveira-Fuentes et al., Chem. Sci. 2018.^[54] Grüner Pfeil nach M. J. Schnermann et al., Chem. Sci. 2020.^[55]

Neben dem Donor-Teil wurden ebenfalls bereits Modifikationen am „Akzeptor-Teil“ des Cumarins an der 2-Position durchgeführt (**Abbildung 9** orangener Pfeil). Die standardmäßige Carbonyl-Gruppe an dieser Position wurde bereits durch Thionyl- und Malonsäuredinitril-Reste substituiert. Dies führte in den meisten Fällen zu einer bathochromen Verschiebung des Absorptionsmaximums, wirkte sich jedoch auch auf die anderen chemischen Eigenschaften aus, wie z.B. eine Anfälligkeit gegenüber Hydrolyse im Falle der Thionyl-Substitution (**Abbildung 10**). Dadurch entsteht die ursprüngliche Carbonyl-Funktion an dieser Position mit den entsprechenden Eigenschaften. Neuere Forschungsarbeiten untersuchten ebenfalls die Auswirkung der Veränderung des Sauerstoffs an der 1-Position zu anderen Heteroatom-substituierten Kohlenstoffen oder anderen Elementen wie Silicium oder Stickstoff. Weitere Modifikationen, die meist zu einer rot-Verschiebung des Spektrums hin zum sichtbaren Bereich führen, werden oft an der 3-Position durchgeführt. Bekannt sind hierbei vor allem Phenyliche-Substitutionen. Ebenso sind auch allylische und alkyliche-Substitutionen in der Literatur zu finden. In einer Studie von Graham Ellis-Davies aus dem Jahre 2018 konnte ein Cumarin durch die gezielte Modifizierung an dieser Position in einen Photoschalter umgewandelt werden, der in der Lage war eine *cis-trans*-Isomerisierung des an der 3-Position befindlichen Rests nach photochemischer Anregung durchzuführen.^[56] Modifikationen, die an der 6- oder 8-Position durchgeführt wurden, dienen zum Teil der Erhöhung des 2-Photonen-Einfangquerschnitts^{[57][58]} oder der Erhöhung der ISC Quantenausbeute^[59], auf die an dieser Stelle jedoch nicht näher eingegangen werden soll. Weitere Details können der entsprechenden Literatur entnommen werden.^{[12][60][61][62]}

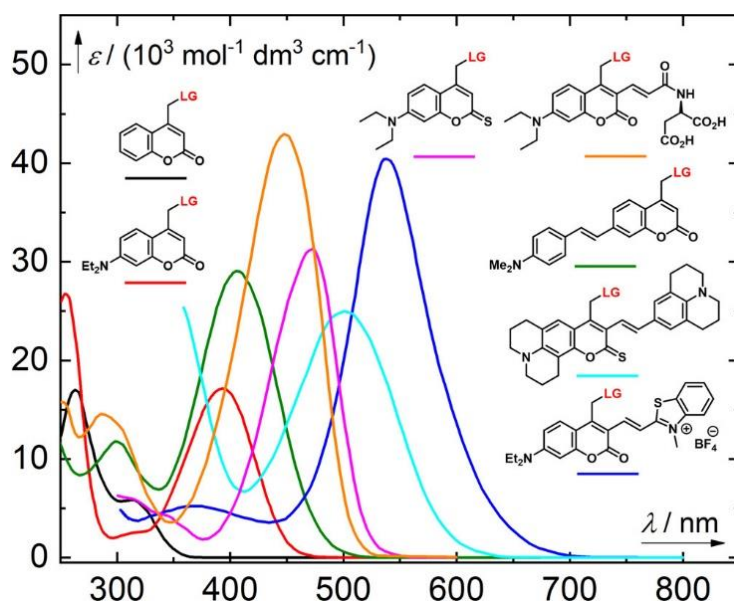


Abbildung 10: Spektraler Bereich im UV/Vis-Spektrum verschiedener Derivate des Cumarins. Das unsubstituierte Derivat zeigt ein Maximum bei etwa 320 nm. Durch verschiedene Modifikationen kann das Absorptionsmaximum bis hin zu ca. 550 nm verschoben werden. Große Substituenten und weitere in das System eingefügte Doppelbindungen können jedoch zu einer Verringerung der Photolyse-Effizienz führen. Entnommen aus Weinstain et al.^[12]

Die Position, an der die Abgangsgruppe an diesem Gerüst angebracht werden muss, ist dabei essentiell. Quantenchemische Berechnungen zur Verteilung der Elektronendichte im Grundzustand und in den angeregten Zuständen und später auch experimentelle Studien ergaben, dass eine Zunahme der Elektronendichte an der 4-Position zu einer Schwächung der Bindung zwischen dem exozyklischen Kohlenstoffatom und der Abgangsgruppe führt. Dies ist damit zu erklären, dass die zusätzliche Elektronendichte partiell ins sog. antibindende-Orbital der C-LG-Bindung doniert wird, die in entsprechender Geometrie vorliegt.^[63]

Der Photolysemechanismus soll nun im Folgenden dargelegt werden (siehe **Abbildung 11**). Wichtig zu erwähnen ist an dieser Stelle, dass der dargestellte Mechanismus für Ester, Carbonat- & Carbamat-verknüpfte Abgangsgruppen, sowie zum Teil für Alkohole gilt, jedoch ausdrücklich nicht für Amine. Der Uncaging-Mechanismus von Aminen als Abgangsgruppen verläuft radikalisch und kann deshalb unter Umständen und speziell in wässriger Umgebung nicht erfolgen.^[12]

Durch die Bestrahlung mit Licht der geeigneten Wellenlänge, geht das Cumarin von seinem Grundzustand (**24**) in den ersten elektronisch angeregten Singulett Zustand (S1, **25a/b**) über. Aus diesem angeregten Zustand können nun photochemische Desaktivierungsprozesse, wie z.B. Fluoreszenz erfolgen, bei der das Molekül die kurzzeitig aufgenommene Energie, in Form eines Photons wieder abgibt. Alternativ dazu kann das Molekül auch seine zusätzliche Energie in Form von

Schwingung, Rotation oder Kollision mit z.B. Lösungsmittelmolekülen als interne oder externe Konversion abgeben und somit in seinen energetisch begünstigten, elektronischen Grundzustand zurückkehren. Je nach Substitutionsmuster und Art der Abgangsgruppe an der 4-Position, kann als zusätzlicher Reaktionspfad aus dem angeregten Zustand ebenfalls die Heterolyse der Bindung des exocyclischen Kohlenstoffatoms des Cumarins an der 4-Position und einer sog. Abgangsgruppe (*engl.* Leaving Group, LG) erfolgen.

Das daraus resultierende enge Ionenpaar (*engl.* tight ion pair, **26**), dessen Existenz in wissenschaftlichen Studien kontrovers diskutiert wird^{[36][63]}, kann im Anschluss an die Heterolyse entweder wieder zum Ausgangszustand (**24**) rekombinieren oder durch Solvens-Moleküle separiert (**27**) werden. Als sog. solvens-separiertes Ionenpaar kann nun der nukleophile Angriff auf das exocyclische Kohlenstoffatom durch diverse Nucleophile erfolgen. Damit wird die Abgangsgruppe final freigesetzt und kann z.B. in biologischer Umgebung seine Rolle entfalten.^[12]

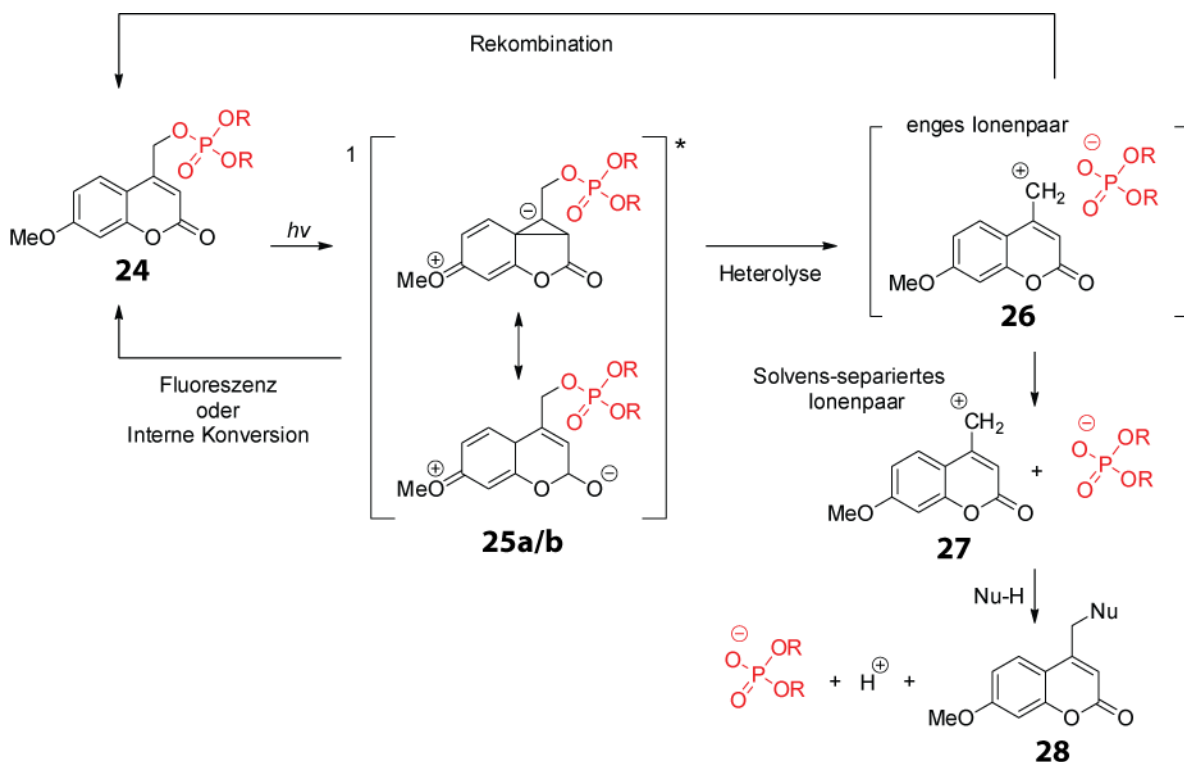


Abbildung 11: Photolyse-Mechanismus der Coumarin-Photocages für Ester, Carbonat- & Carbamat-verknüpfte Abgangsgruppen, hier am Beispiel eines Phosphatesters. Nach Absorption eines Photons geeigneter Energie, geht das Molekül in den elektronisch angeregten Singulett Zustand über. Aus diesem kann die Relaxation durch Fluoreszenz oder interne Konversion erfolgen. Ebenso ist die Heterolyse zwischen dem Chromophor und der Abgangsgruppe (LG) möglich. Nach Separation kann eine Rekombination zum Ausgangszustand erfolgen. Alternativ kann durch umgebende Solvens-Moleküle und/oder andere Nucleophile (Nu) die irreversible Abspaltung erfolgen. Entnommen aus Weinstain et al.^[12]

1.2.5 Borondipyren (BODIPY) als Laserfarbstoff-basierte Schutzgruppe

Die Kristallstruktur des unsubstituierten BODIPY's konnte von der Gruppe um Hongbin Yan im Jahre 2009 aufgeklärt werden und wurde im Journal Dyes and Pigments veröffentlicht.^[64] Erste Anwendungen fanden sich parallel zum Cumarin-Grundgerüst auf den Gebieten der Laser-Farbstoffe und als Fluorophore.^{[12][65]} Die Synthese des BODIPY's basiert in den meisten Fällen auf der Verknüpfung von zwei substituierten Pyrrolen, die anschließend mit Hilfe von z.B. Bortrifluorid-Etherat über eine N-B-N-Bindung zusätzlich verbrückt werden.^[66] Der daraus resultierende Grundkörper (**29**) ist komplett durchkonjugiert, relativ starr in seiner Konformation und besitzt ein bemerkenswert bathochrom-verschobenes Absorptionsspektrum im Vergleich zu anderen Chromophoren dieser Größe, wie z.B. dem Cumarin. Aufgrund der Robustheit seiner Synthese, konnten schon zahlreiche Modifikationen synthetisiert und deren Auswirkungen auf die photochemischen Eigenschaften untersucht werden (siehe **Abbildung 12**).^{[66][12]} Stand heute sind BODIPY-Derivate eine der am weitesten rot-verschobenen photolabilen Schutzgruppen in der Literatur.^[45] Möglich gemacht wird diese bathochrome Verschiebung u.a. durch vinylische-Substituenten an der 3- & 5-Position. Durch eine Anbringung mit dem System konjugierter Phenylreste an beiden Positionen konnte die Absorption bis in den nahen IR-Bereich bis über 700 nm geschoben werden (siehe **Abbildung 13**).^[12]

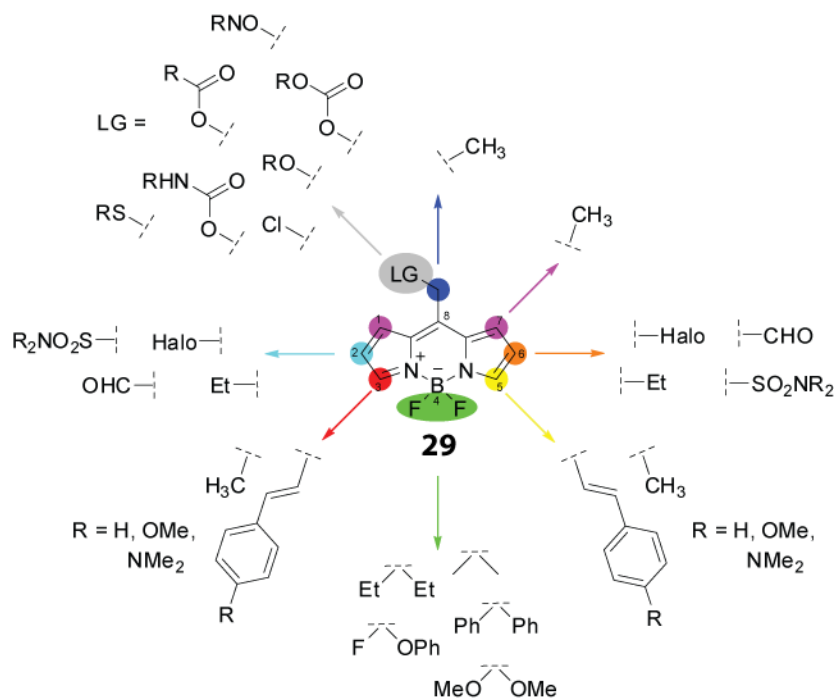


Abbildung 12: Übersicht über synthetische Modifikationen am BODIPY Grundgerüst. Modifikationen an der 3- & der 5-Position sind klassischerweise Styryl-Reste die das aromatische System mit einem weiteren Benzol-Ring durchgehend konjugiert erweitern. Damit sind auch Absorptionen von über 700 nm möglich. Substituenten an der 2- & 6-Position können sich unter anderem auf die photochemischen Eigenschaften auswirken, indem sie durch eine Erhöhung der Inter-System-Crossing-Rate (ISC) die Triplett-Quantenausbeute drastisch erhöhen.^[66] Der Austausch der Fluorsubstituenten am zentralen Bor-Atom kann ebenfalls das Anwendungsspektrum der BODIPY-Derivate erweitern. Es wurden bereits zahlreiche Abgangsgruppen auf ihre Photolyse getestet. Entnommen aus Weinstain et al.^[12]

Leider sinkt die Quantenausbeute für die Photolyse in den meisten Fällen bei diesen Verbindungen bis auf ein Minimum von unter 1%,^[12] was einer der größten Nachteile des BODIPY-Gerüsts darstellt. Einer der, trotz seiner bereits hohen Starrheit, häufigsten bzw. wichtigsten Desaktivierungs-Pfade des Grundgerüsts, ist die sog. Schmetterlings-Bewegung (*Butterfly motion*).^{[67][68]} Dabei bewegen sich die beiden Pyrrolreste nach photochemische Anregung in Bezug auf die zentrale Achse des Moleküls auf und ab, was an die Bewegung zweier Schmetterlingsflügel erinnert.

Falls die Absorptionswellenlänge lediglich im mittleren Bereich des sichtbaren Spektrums (von ca. 500 nm bis 600 nm) liegen muss, wird an der 1-, 3-, 5-, & 7-Position oftmals aus synthetischen Gründen eine Methyl-Gruppe eingefügt (siehe **Abbildung 13**). Das „tetra-methyl-Derivat“ ist der Grundkörper für eine Vielzahl an Verbindungen dieses Chromophors in der Literatur.^[12]

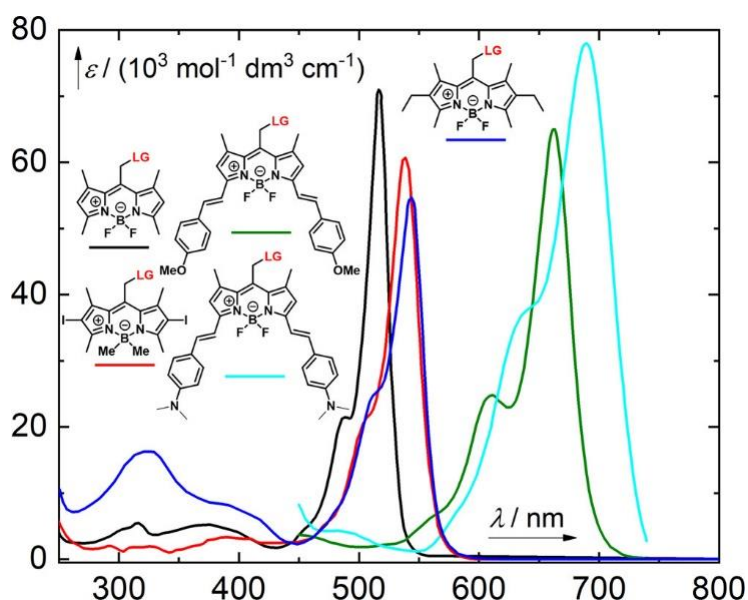


Abbildung 13: Spektrale Lage der Absorption verschiedener BODIPY Derivate. Entnommen aus Weinstain et al.^[12]

In der Studie von Tomas Slanina aus dem Jahr 2017^[66], ging ebenfalls hervor, dass die Triplett-Quantenausbeute oder die Wahrscheinlichkeit, dass der Chromophor nach Anregung mit Licht geeigneter Wellenlänge ein Inter-System-Crossing hin zu einem langlebigen Triplett-Zustand durchführt, durch die Anbringung von Schweratom-Substituenten wie z.B. Halogenen deutlich erhöht werden kann. Aus dem Triplett-Zustand kann dann die Energie in andere Prozesse umgewandelt werden oder der Triplett-Zustand an sich für zahlreiche Anwendungen verwendet werden. Neben diesen beiden Aspekten konnte die Photolyse von zahlreichen Abgangsgruppen demonstriert werden.

Dies ist nicht zuletzt deswegen erstaunlich, als dass T. Slanina zeigen konnte, dass eines seiner Derivate mit einer Effizienz von bis zu 97% photo-induziert Chlorid abspalten konnte.

1.2.6 Photoschalter (Photoswitches)

Die Gruppe der Photoschalter stellt das reversible Pendant zu der Gruppe der Photocages dar. Sie sind dazu in der Lage ihr Absorptionsspektrum und damit meist auch ihre räumliche Struktur, lichtinduziert reversibel zu verändern. Dabei stellen sie im Gegensatz zu den Photocages meist eine permanente Modifikation des zu untersuchenden Systems dar, was Vor- und Nachteile haben kann. Generell existieren zwei grundlegende Arten von Photoschaltern: Photoschalter des P-Typus und des T-Typus.^[15] Der P-Typ lässt sich nahezu ausschließlich photochemisch vom einen in das andere Photo-Isomer schalten. Beim T-Typ spielen immer auch thermische Prozesse eine entscheidende Rolle, wodurch es schwieriger ist das System im gewünschten Zustand zu „fixieren“.

Beispiele für in der Literatur beliebte Photoschalter sind unter anderem das Stilben (**30**), das Azobenzol (**31**), das Spiropyran (**32**), das Diarylethen (**33**), das Fulgid (**34**) und das Fulgimid (**35**) (siehe **Abbildung 14**). Beim Stilben und Azobenzol findet durch Licht geeigneter Wellenlänge, ähnlich zum bereits angesprochenen Retinal, eine *cis-trans*-Isomerisierung statt. Dadurch verändert sich die räumliche Struktur zwar relativ stark, die photochemischen Eigenschaften ändern sich meist jedoch nur in geringem Maße, was sich unter anderem an der vergleichsweise geringen spektralen Verschiebung der Absorptionsmaxima der verschiedenen Spezies äußert. Beim Spiropyran, dem Fulgid und dem Fulgimid spielt eine elektrozyklische Ringöffnung bzw. ein Ringschluss die zentrale Rolle. Dabei werden die Flexibilität und die Geometrie entsprechend stark beeinflusst. Dies äußert sich ebenfalls im meist stärker verschobenen Absorptionsspektrum der verschiedenen Photo-Isomere. Auf die Gruppen der Azobenzole und der Fulgide soll im Folgenden noch detaillierter eingegangen werden.

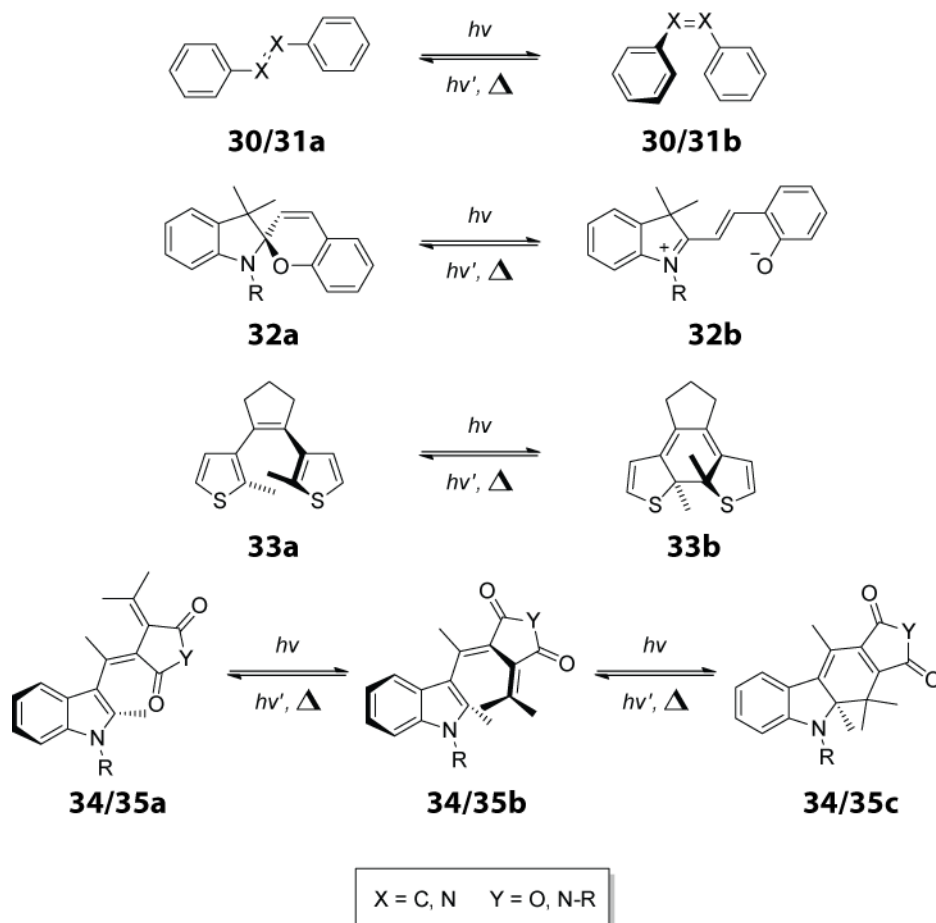


Abbildung 14: Übersicht Photoschalter (Photoswitches). Oben: Photoisomerisierung von Stilben ($X = C$) und Azobenzol ($X = N$). Darunter: Elektrozyklische Isomerisierung von Spiropyran-Derivaten. Darunter: Diarylethene, die ebenfalls eine photochemisch induzierte Zyklisierungsreaktion eingehen. Unten: Fulgid ($Y = O$) und Fulgimid ($Y = N-R$) Photoschalter und ihre drei verschiedenen Photoisomere.

1.2.7 Azobenzol-Photoschalter

Bei der zu Grunde liegenden, reversiblen Photoreaktion der Gruppe der Azobenzol-Photoschalter handelt es sich, ebenso wie bei der Gruppe der Stilbene und der Gruppe der (Hemithio)-Indigo-Photoschalter um eine *cis-trans*-Isomerisierung (siehe **Abbildung 15**).^[15] Die Synthese der Azobenzole erfolgt meist über die sog. Mills-Reaktion.^{[69][70]} Hierbei reagiert ein elektronen-armes Amin mit einer Nitroso-Verbindung unter sauren Bedingungen. Das klassische Azobenzol liegt im thermischen Grundzustand vorwiegend als *trans*-Isomer vor. Es zeichnet sich durch eine geringe Polarität, einen sog. „End-zu-End-Abstand“ von 0,9 nm und eine dominante Absorptionsbande im Bereich von 300 – 350 nm aus. Durch entsprechende Bestrahlung mit Licht in diesem Wellenlängenbereich, kommt es zur Anregung in den $\pi\pi^*$ -Zustand, die zur Photo-Isomerisierung in das energetisch höher liegende *cis*-Isomer führen kann.^[71]

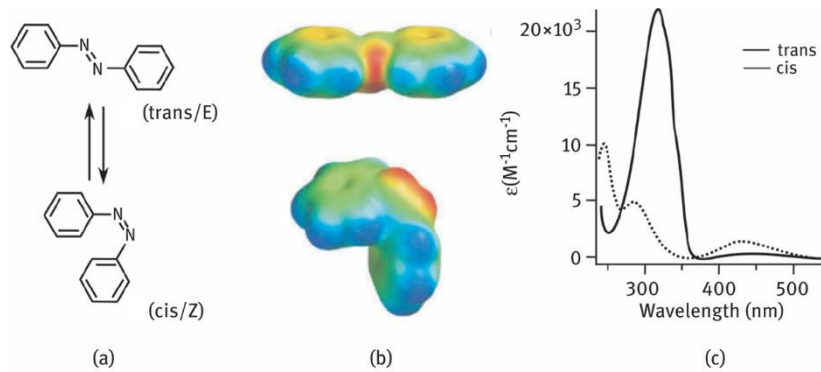


Abbildung 15: Übersicht Azobenzol-Photoschalter. a) Photoisomere im trans- und cis-Zustand. b) Elektronendichteverteilung und daraus resultierende Polaritätsunterschiede zwischen den beiden Photo-Isomeren. c) Absorptionsspektren der beiden Spezies, gemessen in Ethanol. Entnommen aus Beharry et al.^[72]

Das *cis*-Isomer weist eine höhere Polarität, einen geringeren „End-zu-End-Abstand“ von 0,5 nm und eine stärker ausgeprägte Absorptionsbande im Bereich von 400 – 450 nm auf. Hierbei ist anzumerken, dass die Absorptionsbanden der beiden Photo-Isomere für einige photochemische Anwendungen zu stark überlappen, wodurch es zum Teil nicht möglich ist, hohe Isomeren-Überschüsse photochemisch zu akkumulieren. Als weiterer Punkt kommt erschwerend hinzu, dass die thermische Relaxation des thermodynamisch weniger begünstigten *cis*-Isomers die Kontrolle bzw. die Einstellung der verschiedenen Photo-Isomere nach Anregung unter gewissen Umständen deutlich verkomplizieren kann. Bezüglich des Isomerisierungs-Mechanismus der Azobenzole gibt es zahlreiche Studien, die verschiedene molekulare Bewegungen prognostizieren.^{[72][73][74]}

Zusammengefasst lassen sie sich in drei verschiedene Arten einteilen: Eine Torsionsbewegung um die zentrale Doppelbindung, deren Doppelbindungscharakter durch die photochemische Anregung geschwächt wird, eine Inversion, bei der sich die beiden Phenyl-Ring in einer Ebene annähern und der sog. „Hula-Twist“, der eine Pedal-artige Bewegung darstellt, bei der der C,N,N,C-Winkel um 180° rotiert, während die Phenyl-Ringe sich ähnlich der Inversion annähern (siehe **Abbildung 16**).^[75] Vor allem auf dem Gebiet der funktionellen Oligonukleotide zur Regulation von Zellprozessen mit Licht, hat das Azobenzol Einzug in die Literatur erhalten.^{[76],[77]}

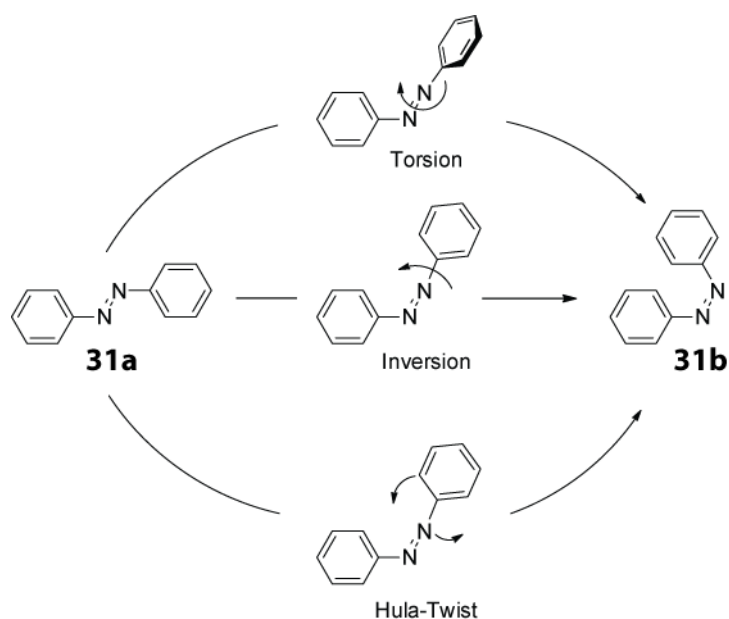


Abbildung 16: Mögliche Isomerisationsmechanismen der Photo-Isomerisation von Azobenzol: Torsion, Inversion & Hula-Twist. Durch die photochemische Anregung wird der Doppelbindungscharakter der NN-Doppelbindung geschwächt, wodurch eine Isomerisierung ermöglicht wird. Entnommen aus Chang et al.^[78]

1.2.8 Fulgid- und Fulgimid-Photoschalter

Der Begriff Fulgid leitet sich aus dem lateinischen Wort „*fulgere*“ für glänzend ab und wurde im Jahr 1905 von Johann Stobbe, bekannt durch die Stobbe-Kondensation, erstmals aufgrund der glänzenden Kristalle der 1,3-Butadien-2,3-Dicarboxylsäuren („Fulgensäuren“) und ihrer Anhydride eingeführt.^[79] Bereits 1911 verfasste Stobbe einen über 100 Seiten langen Bericht über die Eigenschaften dieser Substanzklasse. Er beschrieb bereits damals eine photo-induzierte Färbung (Coloration) durch die Iod-katalysierte Entstehung von 1-Phenyl-naphthalen-2,3-dicarbonsäure Anhydrid aus einem Bisbenzylidenfulgid in Benzol oder Chloroform, obwohl der Photomechanismus der Zyklisierungsreaktion damals noch gar nicht bekannt war.

Dies änderte sich im Laufe der Jahrzehnte jedoch rasant und schnell wurde klar, dass es sich um eine 6π -Elektrozyklisierung des Hexatrien-Motivs handelt. Dies hat die Besonderheit, dass es dem Fulgid aufgrund der Woodward-Hofmann-Regeln^{[80],[81]}, auf die im Folgenden noch näher eingegangen werden soll, eine außerordentliche thermische Stabilität der einzelnen Isomere verleiht.

Somit konnte die Photoreaktivität eingeordnet werden und das Bild der verschiedenen Photo-Isomere verfestigte sich. Neben den klassischen Fulgiden und Fulgensäuren, existieren heutzutage auch Fulgimide, auf die später noch etwas genauer eingegangen werden soll, sowie Fulgenolide und Fulgenate (siehe **Abbildung 17**).

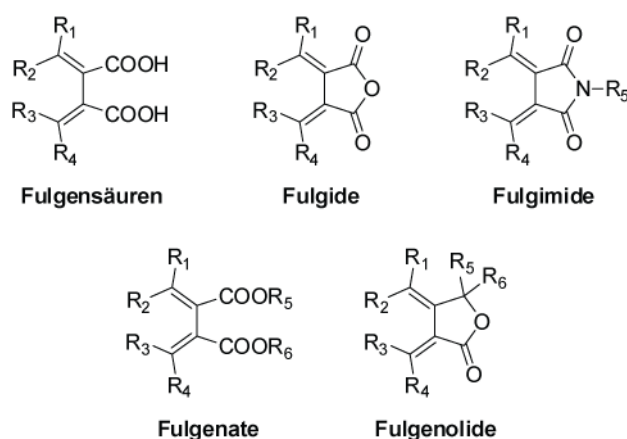


Abbildung 17: Fulgide und vom Fulgid abgeleitete Strukturen. R₁ bis R₆ können diverse unterschiedliche alkyliche Substituenten sein. Der Name Fulgid leitet sich vom lateinischen Wort „fulgere“ für „glänzend“ ab. Fulgimide sind im Vergleich zu den entsprechenden Fulgiden u.a. stabiler gegenüber Hydrolyse, zeigen jedoch meist ebenfalls eine komplexe Photochemie. Die weiteren ähnliche Strukturen, die hier der Vollständigkeit halber erwähnt werden, werden als Fulgenate und Fulgenolide bezeichnet. Abgeändert aus Yokoyama et al.^[79]

Sowohl das Fulgid als auch das Fulgimid bestehen aus drei verschiedenen Photo-Isomeren (E, Z und C-Isomer), die mit Hilfe von Licht ineinander überführt werden können. Das E und das Z-Photo-Isomer unterscheiden sich dabei jedoch spektral verglichen mit dem C-Isomer gering. Das C-Isomer besitzt ein deutlich bathochrom verschobenes Absorptionsspektrum. Dies basiert auf der eingeschränkten Geometrie und der daraus resultierenden besseren Überlappung des aromatischen Systems über das gesamte Molekül. Die Bezeichnung E bzw. Z bezieht sich auf die Stellung der Substituenten der Isomere zueinander nach den Regeln von Cahn-Ingold-Prelog (CIP).^{[82][83]} Das C des C-Isomers steht für die geschlossene (*Closed*) Form.

Die Synthese der Fulgide basiert, wie bereits erwähnt, klassischerweise auf der so genannten Stobbe Kondensation (siehe **Abbildung 18**).^[84] Bei dieser Reaktion wird zunächst ein 2-Alkylidensuccin-Ester durch eine Aldol-Reaktion aus einem Dialkylsuccinat (**37**) und einem Keton oder Aldehyden (**36**) gebildet. Im Anschluss daran bildet sich intramolekular ein Lacton (**39**) aus, welches basenkatalysiert zu Verbindung **40** geöffnet wird.

Nach Protonierung und erneuter Veresterung, erfolgt dann die zweite Stobbe-Kondensation, woraus entweder ein Lacton oder erneut ein Halbesther resultiert. Dieser Halbesther wird anschließend unter basischen Bedingungen zur freien Dicarbonsäure (**45**) hydrolysiert. Mit Hilfe eines Dehydratationsmittels, wie z.B. Essigsäure-Anhydrid, kann im letzten Schritt das schlussendliche Fulgid (**34**) erhalten werden.^[79]

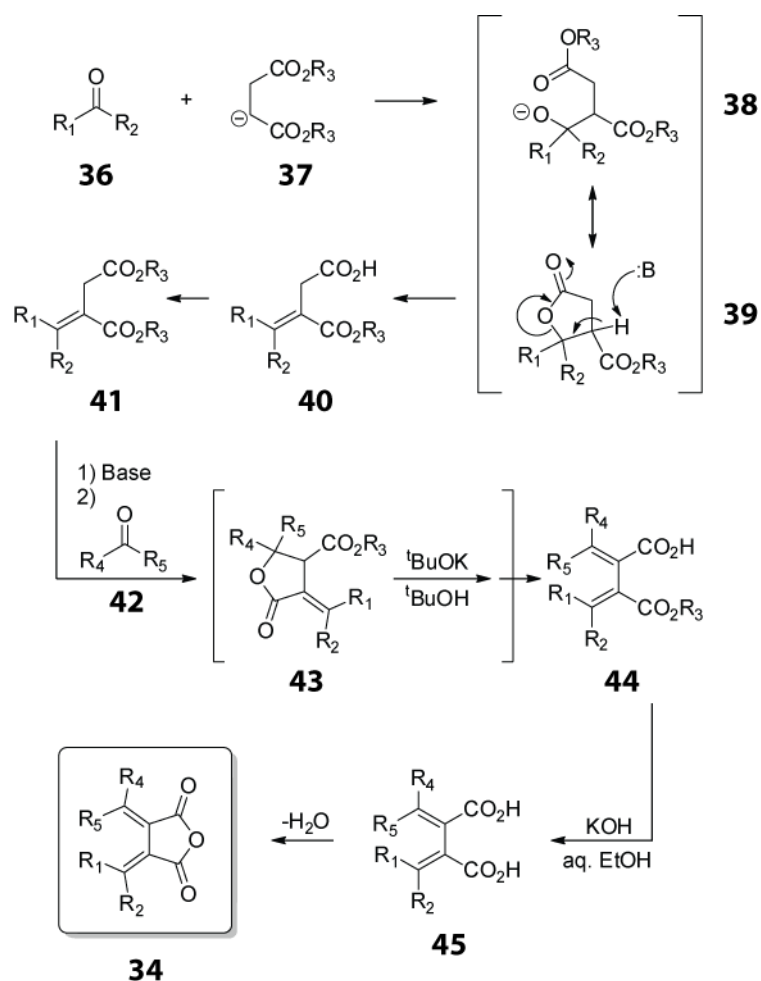


Abbildung 18: Synthese von Fulgiden mittels doppelter Stobbe-Kondensation. Ausgehend von einer Carbonyl-Verbindung im ersten Schritt entsteht das Zwischenprodukt, welches mit einer weiteren Carbonyl-Verbindung und einer anschließenden Umlagerungsreaktion zum finalen Fulgid reagieren kann. Angelehnt aus Yokoyama.^[79]

Sowohl die thermischen Eigenschaften^[85] dieses und ähnlicher Systeme, als auch die Zyklisierungs-^[86] und Ring-Öffnungsreaktion^[87] wurden in den letzten Jahrzehnten eingehend untersucht.^{[88][89][90]} Daneben stellt die besonders geringe Schaltermüdung (Photo-Fatigue) beim Großteil der Verbindungen dieser Substanzklasse auch nach mehreren tausend Schaltzyklen einen besonderen Vorteil dar.^[79]

Verschiedenste synthetische Modifikationen wie z.B. sterisch anspruchsvolle Substituenten an diversen Positionen des Fulgid-Gerüsts und deren Einfluss auf die photochemischen Eigenschaften wurden ebenso bereits eingehend untersucht. Die photochemische Isomerisierung der Fulgide war gleichermaßen im Fokus zahlreicher Studien in der Literatur.^{[91],[92],[93]} Pugliesi *et al.* erfassten die ultraschnellen Reaktionsabläufe mittels spektroskopischen und mathematischen Methoden, auf die im Folgenden näher eingegangen werden soll und die in der Zusammenfassung in **Abbildung 19** mündeten.^[94]

Nach der photochemischen Anregung mit Licht geeigneter Wellenlänge (560 nm) in den ersten angeregten Zustand des C-Isomers ($\pi\pi^*$), findet eine Reorganisation der Bindungen des π -Systems in den ersten 100 fs statt. Dadurch geht das Molekül in ein lokales Minimum (Min_c) über, aus dem zwei verschiedene Reaktionspfade möglich sind. Zum einen kann es über eine konische Durchschneidung (conical intersection, CI)^[93] wieder in den Ausgangszustand zurückkehren, zum anderen ist die Spaltung der Bindung zwischen dem C_1 und dem C_6 Kohlenstoffatom des C-Isomers möglich, die ebenfalls über eine CI verläuft.

Durch das lokale Minimum Min_c ist eine Energie-Umverteilung im Fulgid-Molekül - und somit die Rückkehr in den Ausgangszustand - überhaupt erst möglich, da es das notwendige Zeitfenster hierfür ermöglicht.^[94] Die Ringschluss-Reaktion kann bei Bestrahlung mit 340 nm erfolgen, wodurch zunächst der erste, angeregte Zustand des Z-Isomers ($\pi\pi^*$ -Übergang) populierte wird. Aus diesem existieren nun verschiedene Möglichkeiten, durch die das Molekül in einen energetisch niedrig liegenden Grundzustand zurückkehren kann. Die eigentliche Ringschlussreaktion erfolgt energetisch gesehen durch eine konische Durchschneidung der Energiehyperflächen des C- und des Z-Isomers. Da diese ohne zusätzliche Energiebarriere aus der Franck-Condon Region erreicht werden kann, erfolgt die Ringschlussreaktion mit einer hohen Effizienz. Durch eine Drehung zwischen dem C_2 und dem C_3 kann das System in das lokale Minimum Min_{cZc} gelangen. Aus diesem Zustand existiert noch eine weitere, erreichbare konische Durchschneidung, die sowohl vom cZc , als auch vom tZc -Zustand erreicht werden kann ($\text{CoIn}_{cZc/tZc}$). Sie ist für den Isomerisierungsprozess dieser beiden Isomere entscheidend. Die Isomerisierung zwischen cZc und tZc (oder auch Z- & E-Isomer) stellt damit eine mögliche photochemische Nebenreaktion aus dem Z-Isomer dar.^[94]

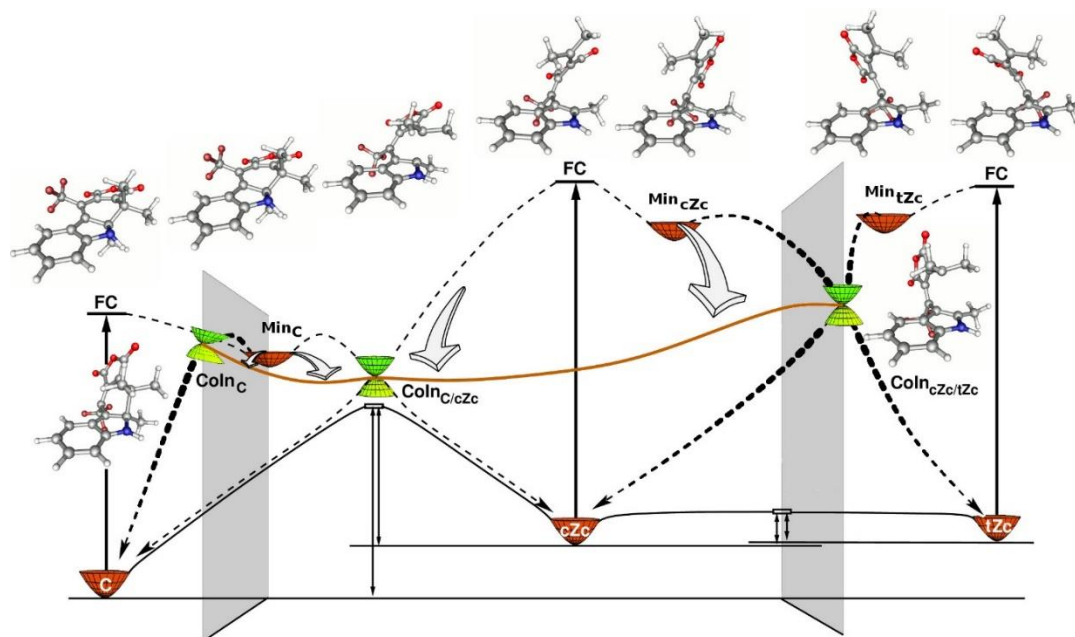


Abbildung 19: Modell der Photochemischen Reaktionen des Fulgid Photoschalters. Dargestellt sind die verschiedenen Franck-Condon (FC) – Regionen nach der photochemischen Anregung der jeweiligen Isomere und die entscheidenden konischen Durchschneidungen (conical intersections, Coln) für die jeweiligen Isomerisierungsreaktionen. Die Minima (Min) der Energiehyperfläche in den jeweils angeregten Zuständen sind ebenso wie die energetischen Lagen der jeweiligen Spezies zu erkennen... Entnommen aus Nenov et al.^[94]

Für photochemische Anwendungen in unpolaren, nicht-nukleophilen Lösungsmitteln ist das Fulgid aus all den bereits genannten Aspekten perfekt geeignet und mittlerweile auch synthetisch^[95] und photochemisch weitestgehend optimiert.^[85] Aufgrund seiner Anhydrid-Struktur unterliegt es z.B. in wässriger oder methanolischer Lösung zwar Solvolyse, wodurch die entsprechende Fulgensäure gebildet wird, in organischen Lösemitteln verhält sich diese Spezies aus photochemischen Gesichtspunkten nahezu ideal.^[96] Die abgeleiteten Fulgimide, die anstelle des Sauerstoffs im Anhydrid-System einen Stickstoff beinhalten, sind deutlich weniger anfällig gegenüber der Solvolyse und konnten daher schon in einigen Studien in polaren Lösungsmitteln verwendet werden.^[79]

1.3 Vergleich organische Fluorophore, fluoreszierende Proteine & Quantenpunkte

Neben den bis hierhin beschriebenen, größtenteils synthetischen, organischen Fluorophoren, wie dem Cumarin oder dem ursprünglichen BODIPY, gibt es in der Natur auch intrinsisch fluoreszierende Protein-Strukturen. Das wohl weltweit bekannteste fluoreszierende Protein ist das grün-fluoreszierende Protein (engl. „green fluorescence protein“, GFP). Es wurde im Jahr 1961 erstmals von Shimomura *et al.* in der Quallenart *Aequorea aequorea* (auch *Aequorea victoria*) entdeckt und isoliert.^[97] Es basiert auf einem konjugierten Fluorophor, der sich durch eine intramolekulare Reaktion mehrerer Aminosäure-Reste bildet und kann mittels biochemischer Methoden an andere Proteine „angehängt“ werden.

Chalfie *et al.* demonstrierten 1994 die Verwendung von GFP als Marker-Protein für die Genexpression in *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*).^[98] Es weist eine breite Absorptionsbande bei 395 nm und ein Nebenmaximum bei 475 nm auf.^[99] Sein Fluoreszenzmaximum liegt bei 508 nm. Mittlerweile ist der Einsatz von GFP in der Biochemie längst zur Routine geworden.^[100] Roger Y. Tsien *et al.* erweiterte mit seiner Studie aus dem Jahr 1995 das Verständnis der Fluoreszenz von GFP und ebenso die „Farbpalette“ der fluoreszierenden Proteine, indem er weitere Varianten entwickelte, die bei bathochrom verschobenen Wellenlängen absorbieren.^[99] Somit ist es möglich mit verschiedenen fluoreszierenden Proteinen verschiedene biologische Prozesse parallel zu beobachten.^[101] Gemeinsam erhielten sie im Jahre 2008 den Nobelpreis für Chemie für ihre bahnbrechenden Ergebnisse die die Forschung auf dem Gebiet der Biochemie bis heute nachhaltig beeinflussen.

Die Kristallstruktur von GFP konnte im Jahr 1996 von den beiden Gruppen um Ormo *et al.*^[102] und Yang *et al.*^[103] unabhängig voneinander aufgeklärt werden. Hierbei ist zu erkennen, dass der charakteristische Fluorophor zentral in der β -Fass (β -*Barrel*) Struktur eingelagert ist (**Abbildung 20**). Durch die Forschungsarbeiten von Getzoff *et al.* wurde 2003 zudem der chemische Mechanismus der Bildung des GFP Chromophors mit Hilfe von quantenchemischen Rechnungen in Kombination mit biochemischen und kristallographischen Methoden entschlüsselt.^[104] Kernschritte hierbei sind die Erhöhung der Nucleophilie des Glycin-Restes G67 durch den Arginin-Rest R96 und die Peptid-Zyklisierung, aus der das destabilisierte Intermediat hervorgeht. Dieses reagiert dann nach Wasserabspaltung und anschließender Oxidation zum fertigen Fluorophor.

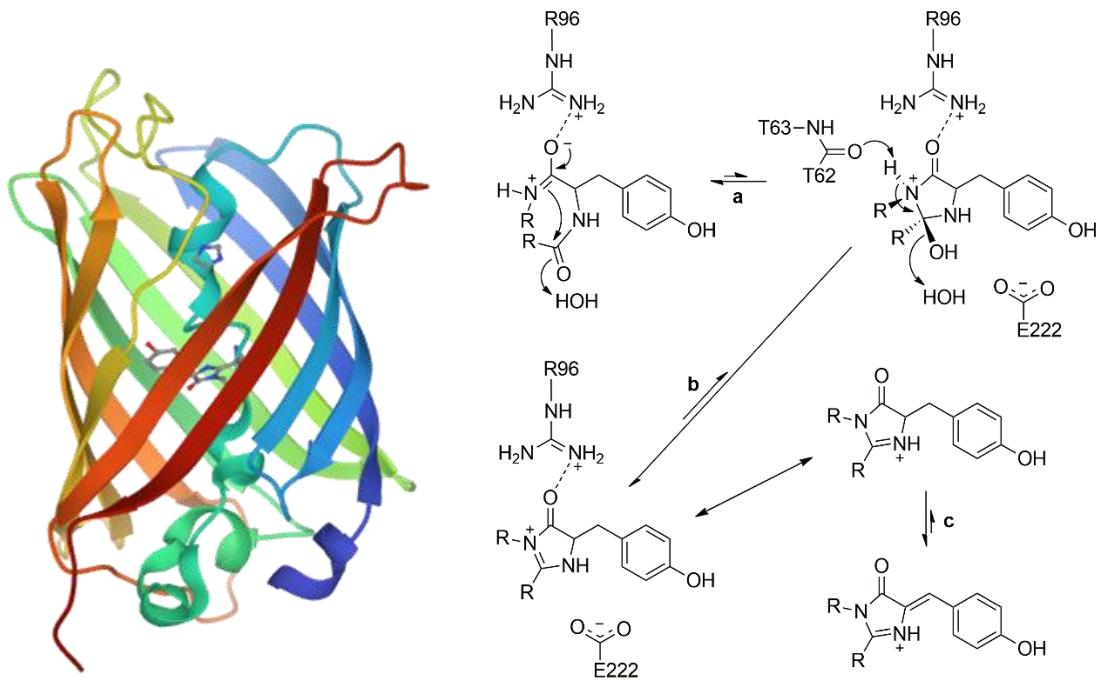


Abbildung 20: Links: Kristallstruktur von GFP aus der Protein Data Bank (4KW4) mit seiner β -Barrel Struktur.^[105] Zu finden unter (<https://www.rcsb.org/structure/4kw4>). Rechts: Mechanismus der Bildung des Chromophors. Abgeändert aus Getzoff et al.^[104]

Quantenpunkte oder auch eng. „Quantum Dots“ (QDs) gehören zu der Gruppe der Nanopartikel auf Halbleitermaterial-Basis.^[106] Sie bestehen zumeist aus einem Kern und einer äußeren Schicht aus zwei unterschiedlichen Materialien wie z.B. Bleisulfid (PbS), Bleiselenid (PbSe), Zinksulfid (ZnS) oder Cadmiumselenid (CdSe). Sie können u.a. mit chemischen Methoden in organischer oder wässriger Phase monodispers hergestellt werden und sind mit etwa 2-20 nm^[107] im Vergleich zu organischen Fluorophoren (typischerweise etwa 1-2 nm) relativ groß, was bei Ihrer biologischen Anwendung bedacht werden muss.^[108] Sie weisen in der Regel ein sehr breites Absorptionsspektrum auf, haben schmale Emissionspeaks, einen im Vergleich zu anderen Systemen, sehr hohen Zwei-Photonen-Einfangquerschnitt und hohe Photo-Stabilitäten.^[109] Dabei kann die Fluoreszenzwellenlänge durch die Größe der jeweiligen Partikel eingestellt werden. Zudem ermöglicht die Kombination von verschiedenen Komponenten den Einsatz von Quantenpunkten über den kompletten Bereich des UV/vis und Nah-IR-Bereichs des elektromagnetischen Spektrums.

In verschiedenen Studien konnten sie bereits für das *Uncaging* oder einen Energietransfer (Förster Resonanz Energie Transfer, FRET)^[110] angewendet werden.^[109] In der Studie von Krull et al. wurde eine Cellulose Oberfläche zunächst mit Imidazol-Liganden modifiziert, die zur Immobilisierung der Quantenpunkte dienten. Diese Quantenpunkte wurden vorher mit DNA-Einzelsträngen modifiziert.

Durch die Zugabe der komplementären DNA-Stränge, die mit einem Cy3-Fluorophor modifiziert wurden, konnten sie nach Anregung der Quantenpunkte konzentrationsabhängig ein FRET-Signal detektieren. Dieses Signal resultierte aus dem strahlungslosen Energietransfer vom Quantenpunkt auf das Cy3 nach photochemische Anregung des Quantenpunkts bei 402 nm (siehe **Abbildung 21**).^[109]

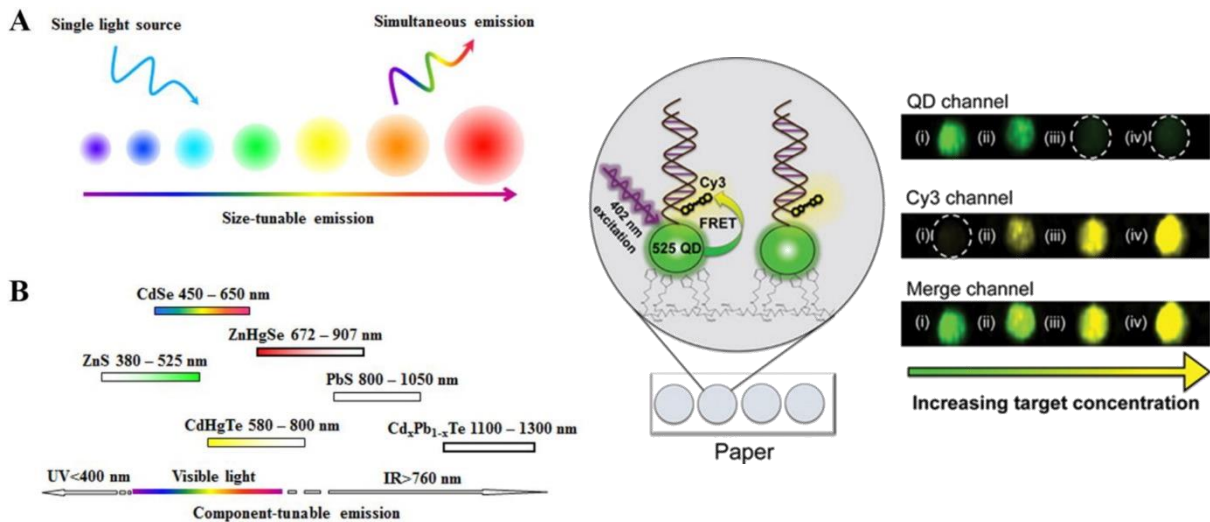


Abbildung 21: A): Abhängigkeit von Größe zu Absorptionswellenlänge von Quantum Dots. B) Abhängigkeit der Zusammensetzung verschiedener Elemente zur Bildung eines Quantum Dots und ihr jeweiliger Emissionsbereich. Rechts Anwendung von Quantum Dots als FRET Komponente. Entnommen aus^[109,110]

Im Jahr 1989 konnten Dameron and Winge erstmals die Synthese von QDs in einem biologischen System demonstrieren.^[111] Sie inkubierten Hefezellen mit Cadmium Salzen, was die zelluläre Produktion von Metall-Chelatisierenden Peptiden stimulierte. Die so vorliegenden chelatisierten Cadmium-Ionen reagierten anschließend mit den intrazellulär vorliegenden Sulfid-Ionen und bildeten so Cadmium-Sulfid-Kristalle (CdS-Quantenpunkten). Auf ähnliche Art und Weise konnten ebenfalls Blei-Sulfid (PbS)^[112] und Zink-Sulfid-Quantenpunkte (ZnS)^[113] in Zellen hergestellt werden. Seitdem sie erstmals in biologischen Studien im Jahre 1998 verwendet wurden,^{[114][115]} fanden sie weiteren Einzug in der Biochemie und Biologie. Für weitere Informationen hierzu, die über den Rahmen dieser Arbeit hinausgehen würden, wird auf die entsprechende Fachliteratur und Review Artikel verwiesen.^[109]

1.4 Aktinometrie

Die Effizienz chemischer Prozesse, die durch Licht initiiert werden, ist auf den ersten Blick schwer zu ermitteln. Photonen, die hierbei als Reaktionspartner dienen, können nicht auf einer klassischen Laborwaage „abgewogen“ oder unter dem Mikroskop „gezählt“ werden. Dennoch hängt die Reaktivität sehr stark von der Art und Bauweise der jeweils verwendeten Lichtquelle bzw. dem gesamten Aufbau, in dem bestrahlt wird, ab. Um Photoreaktionen dennoch miteinander zu vergleichen und in Beziehung zu setzen, ist es essentiell eine Aussage über den Grad der Effizienz der jeweiligen Photoreaktion treffen zu können.

Hierfür haben sich im Laufe der letzten Jahrzehnte einige Methoden der sog. Aktinometrie herausgebildet, die das „Photonen-Zählen“ für Wissenschaftler ermöglichen. Darauf soll im folgenden Kapitel näher eingegangen werden.

Das „Zählen von Photonen“ oder auch die Aktinometrie spielt im Bereich der Photochemie eine tragende Rolle. Da die Photonen (oder auch Lichtquanten) als Reaktionspartner in photochemischen Prozessen auftreten, ist die Effizienz einer solchen Reaktion nur zu bestimmen, wenn man die genaue Anzahl von Photonen kennt, die aus einer gegebenen Lichtquelle in einem gegebenen Aufbau ausgesendet werden und in das Reaktionsmedium gelangen. Es gibt verschiedene Möglichkeiten solche Photonenmengen zu bestimmen. Unter anderem können spezielle, meist in der Anschaffung sehr teure Photodioden oder so genannte „chemische Aktinometer“ dafür verwendet werden. Das bekannteste und in der Literatur am meisten verwendete chemische Aktinometer stellt zurzeit das Ferrioxalat-System, entwickelt von Hatchard und Parker aus dem Jahre 1956, dar.^[116] Es basiert auf der Photoreduktion von Eisen(III)-Ionen zu Eisen(II)-Ionen und der damit verbundenen unterschiedlichen Komplexierung von Oxalat-Ionen, die zu einer Veränderung des Absorptionsspektrums der Lösung führen. Für dieses System ist es allerdings notwendig, dass im Dunklen gearbeitet wird und eine zeitaufwändige, große Anzahl an Proben präpariert wird, die anschließend einzeln analysiert werden. Außerdem ist es nur im Bereich bis hin zu etwa 450 nm geeignet.^[117]

Als vielversprechende Alternativen haben sich in den vergangenen Jahren einige spezielle Chromophore herausgestellt. Diese basieren zum Beispiel auf den Prinzipien der Photooxidation, der Photooxygenierung, der sog. „Photoaquation“ (photoinduzierte Wasseran- bzw. Umlagerung) oder dem Prinzip des Photoschaltens.^[117]

Nachdem nun sowohl verschiedene photochemische, molekulare Werkzeuge, als auch die Möglichkeiten der Einschätzung ihrer Effizienz eingehend beschrieben wurden, sollen nun im Folgenden Möglichkeiten zur Biokonjugation besprochen werden und ebenso einige biochemische Anwendungen vorgestellt werden.

1.5 Biokonjugation

Um photochemische Werkzeuge für biologische Anwendungen nutzbar zu machen, muss eine Verknüpfung des zu untersuchenden Zielmoleküls an den jeweiligen Chromophor erfolgen. Dazu haben sich im Laufe der Jahre verschiedene Methoden etabliert, die je nach Art des biologischen Zielmoleküls variieren.^[118] Eine Möglichkeit ist es zum Beispiel das biologische Molekül so zu modifizieren, dass es den Chromophor intrinsisch in sich trägt. Beispielsweise wurde in einer Studie, die im weiteren Verlauf dieser Doktorarbeit vorgestellt werden soll, ein Azobenzol-Photoschalter in eine Purin-Basen eingebaut (siehe Kapitel 4.2.3 Azobenzol-Photoschalter), um damit die Duplex-Stabilität photochemisch zu regulieren.^[119] Ansonsten kann es zum Beispiel anstelle eines anderen Moleküls in die Struktur eines Proteins (anstelle einer Aminosäure) oder eines Oligonukleotids (anstelle einer Nukleobase) eingebaut werden oder an eine spezifische Stelle angebracht werden. Daneben existieren zahlreiche kleine, synthetische funktionelle Gruppen, die hochspezifisch mit bestimmten Gruppen von Biomolekülen reagieren können. Auf die wichtigsten Methoden soll im Folgenden näher eingegangen werden.

Maleimid, NHS-Ester, Hydrazin und Azid-Alkin-Reaktion

Maleimid-verknüpfte kleine reaktive organische Moleküle können z.B. mit einem Cystein-Rest einer Peptidkette spezifisch verbunden werden.^[120] Dies ist vor allem für das Markieren von Proteinen eine der wichtigsten Methoden in der Biochemie^[17] und kann mit sehr hohen Reaktionsraten erfolgen (siehe **Abbildung 22 B**).^[121] Ebenso können modifizierte Succinimidyl-Ester (auch Aktiv-Ester), wie das *N*-Hydroxysuccinimid (NHS) als bekanntester Vertreter dieser Gruppe, mit Aminogruppen oder Hydroxy-Gruppen von Zielmolekülen selektiv reagieren (siehe **Abbildung 22 A**).^[122] Hydrazin-Gruppen reagieren im wässrigen Milieu selektiv mit aktivierten Carbonsäuren, wodurch auch an diesen Stellen Modifikationen eingebracht werden können.^{[122][123]} Die Aktivierung erfolgt standardmäßig mit einem Carbodiimid wie z.B. *N,N'*-Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) oder Diisopropylcarbodiimid (DIC) (siehe **Abbildung 22 C**).^{[121][124]} Die letzte Gruppe, die an dieser Stelle genannt werden sollen, sind sogenannte CLICK-Reaktionen. Dabei handelt es sich um Kupfer-katalysierte Azid-Alkin-Zyklisierungs-Reaktionen, die unter physiologischen Bedingungen durchgeführt werden können. Die daraus entstehenden Triazole sind chemisch inert (siehe **Abbildung 22 D**).^{[125][126][127]} Unter anderem konnte in einer Studie von Li *et al.* aus dem Jahr 2017 demonstriert werden, dass es möglich ist die CLICK-Reaktion in lebendigen Säugetierzellen unter physiologischen Bedingungen durchzuführen. Sie konnten nachweisen, dass sie mit dieser Methode dazu in der Lage waren einen Cumarin-Fluorophor an ein frisch translatiertes Protein innerhalb dieser Zellen anzubringen.^[128]

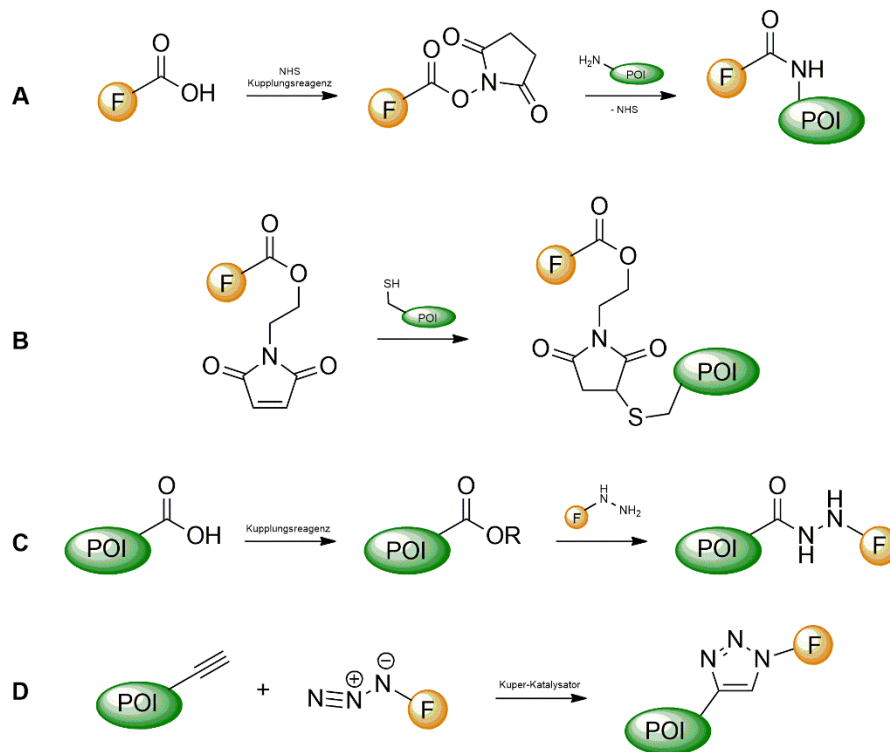


Abbildung 22: Biokonjugationsmethoden. A: NHS-Ester; B: Maleimid Funktionalisierung; C: Hydrazin-Biokonjugation; D: CLICK-Reaktion für Labelling-Reaktionen. F = Fluorophor, POI = Protein of Interest / Protein des Interesses.

Native chemical ligation (NCL)

Eine Möglichkeit für den Einbau von chemisch modifizierten Peptiden ist die sog. „native chemische Ligation“ (eng. „native chemical ligation“, NCL).^[129] Dabei werden ein α -Thioester und ein N-Terminusständiges Cystein-Peptid so zur Reaktion gebracht, dass sie letztendlich eine native Amid-Bindung ausbilden. Aufgrund der Reaktionsträgheit der Thioester werden zum Teil katalysatorisch wirkende Thiol-Additive der Reaktion zugesetzt, die die Reaktionszeit erheblich verkürzen können.^[121] Diese sind für den grundlegenden Mechanismus jedoch nebensächlich, weswegen an dieser Stelle nicht weiter darauf eingegangen werden soll. Im ersten Schritt der Reaktion findet ein Thiol-Austausch statt, wodurch die beiden Peptidstränge über eine neu geschaffene Thio-Ester-Bindung verknüpft werden. Anschließend erfolgt die sog. Acyl-Migration, bei der das freie Amin an der Carbonyl-Gruppe des Thioesters nucleophil angreift und es zu einer intramolekularen Umlagerungsreaktion kommt, aus der die finale Amidbindung resultiert. Bei Peptiden, die keine Cystein-Amiosäure am N-Terminus tragen oder eine andere Modifikation an dieser Stelle besitzen, kann auch der Einsatz von sog. Auxilliaren erfolgen. Diese werden zunächst am N-Terminus angebracht, fungieren dann als Thiol-Gruppe analog zum Cystein und können nach erfolgter Umlagerung unter spezifischen Bedingungen wieder abgespalten werden (siehe **Abbildung 23**).^[121]

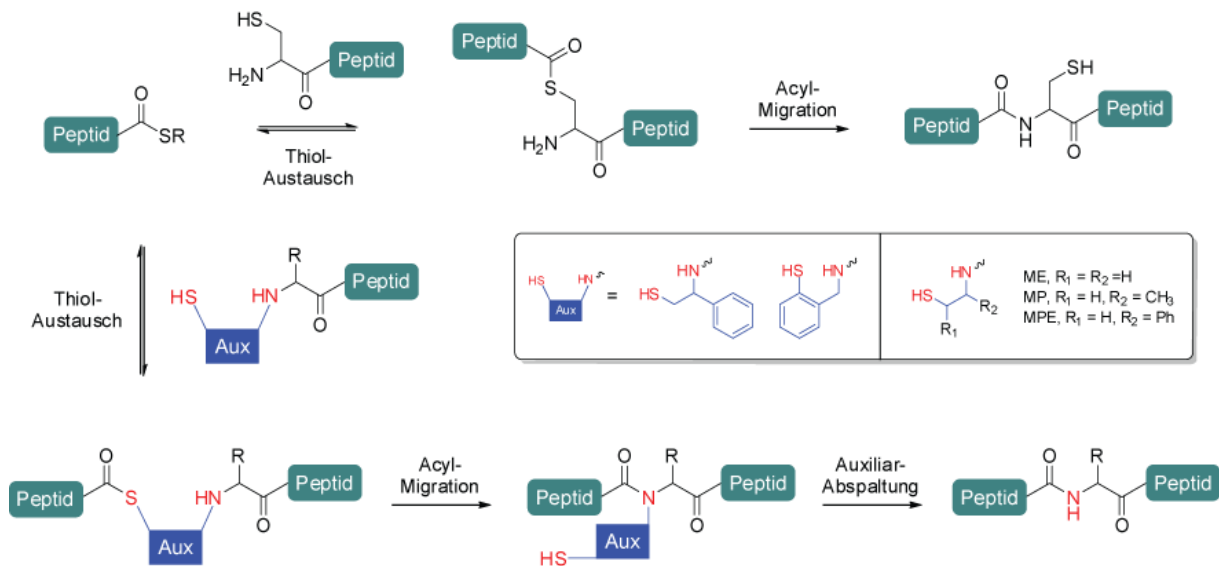


Abbildung 23: Native Chemische Ligation (NCL). Oben: Bei einem Protein, welches am N-Terminus einen Cystein-Rest trägt, kann die NCL ohne Auxiliar erfolgen. Hierbei kommt es zunächst zur Thiol-Austausch-Reaktion, auf der dann die Acyl-Migration folgt, bei der die neue Amid-Bindung geknüpft werden kann. Unten: Besitzt das Protein keinen Cystein-Rest am N-Terminus, so kann mit Hilfe von Auxiliaren dennoch die NCL angewendet werden. Hierzu wird am N-Terminus das entsprechende Auxiliar zunächst angebracht. Nun können der Thiol-Austausch und die Acyl-Migration normal ablaufen. Nach erfolgter Ausbildung der neuen Amid-Bindung muss das Auxiliar noch selektiv abgespalten werden. Entnommen aus Koniev et al.^[121]

Neben der Anwendung auf Protein-Ebene wurde dieses Verfahren ebenfalls bereits bei der Verknüpfung von zwei Oligonukleotid-Strängen angewendet. Im Rahmen der Polymerase-Ketten-Reaktion (*engl.* „polymerase chain reaction“, PCR) wurden beim Anlagerungs-(Annealing-)Schritt verschiedene, mit Fluorophoren modifizierte DNA Stränge zugegeben, die sich anschließend mit Hilfe der NCL aufgrund ihrer räumlichen Nähe zueinander verknüpften.^[130] Die erfolgreiche Verknüpfung konnte durch FRET-Experimente bestätigt werden, da das FRET-Signal unter anderem von der Orientierung und dem Abstand der beiden Chromophore zueinander abhängt (siehe **Abbildung 24**).^{[131][132]}

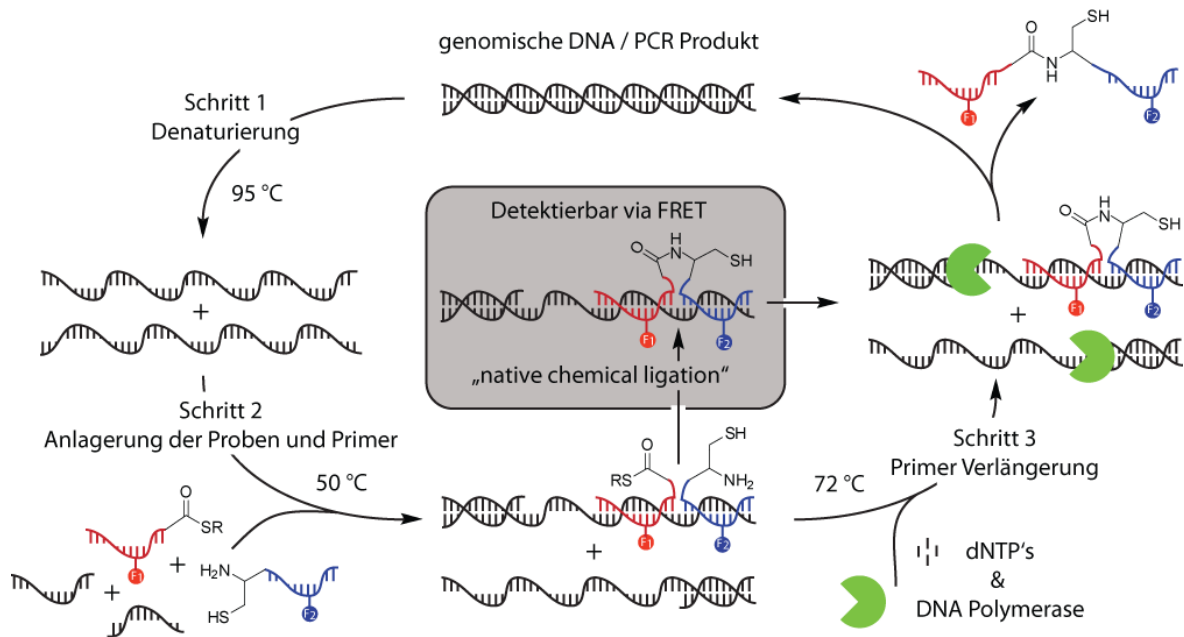


Abbildung 24: Native chemische Ligation (native chemical ligation, NCL) in Kombination mit einem PCR Zyklus, die die Verknüpfung von, mit Fluorophoren modifizierten, DNA-Strängen ermöglicht. Entnommen aus Roloff et al.^[130]

SNAP-TAG

Im Jahre 2003 veröffentlichte die Gruppe um Kai Johnsson ihre Forschungsarbeit im Nature Biotechnology Magazin, die heute als Grundlage der SNAP-Tag-Technologie bekannt sind und mittlerweile über tausendfach zitiert wurden.^[133] Sie stellten eine neue Methode zur *in vivo* Modifikation von Proteinen dar, die es möglich macht z.B. synthetische Chromophore wie Fluoreszenzlabel kovalent in die Struktur des Proteins einzubringen. Als Grundlage dieser Methode wird die sog. *O*⁶-Alkylguanin-DNA-Alkyltransferase (hAGT) genutzt, die Alkyl-Gruppen im menschlichen Organismus irreversibel von *O*⁶-Alkylguanin-DNA-artigen Strukturen auf ein anderes Substrat übertragen kann. Dazu muss die hAGT vor der eigentlichen Labelling-Reaktion als Fusionsprotein mit dem eigentlich zu untersuchenden Protein (X) verknüpft werden (siehe **Abbildung 25**).^[133]

Die geringe Substratspezifität der hAGT ermöglicht den Einsatz verschiedener organischer Moleküle für die Übertragungsreaktion über einen benzylichen Linker. Als Benzylguanin-Derivate können diverse, mit Fluorophoren verknüpfte Systeme verwendet werden, um so die Fluoreszenzeigenschaften auf das biologische System zu übertragen. Durch die säure-katalysierte Verknüpfung wird freies Guanin abgespalten, welches als natürliche Nucleobase weiter für diverse Prozesse im Organismus verwendet werden kann.^[133]

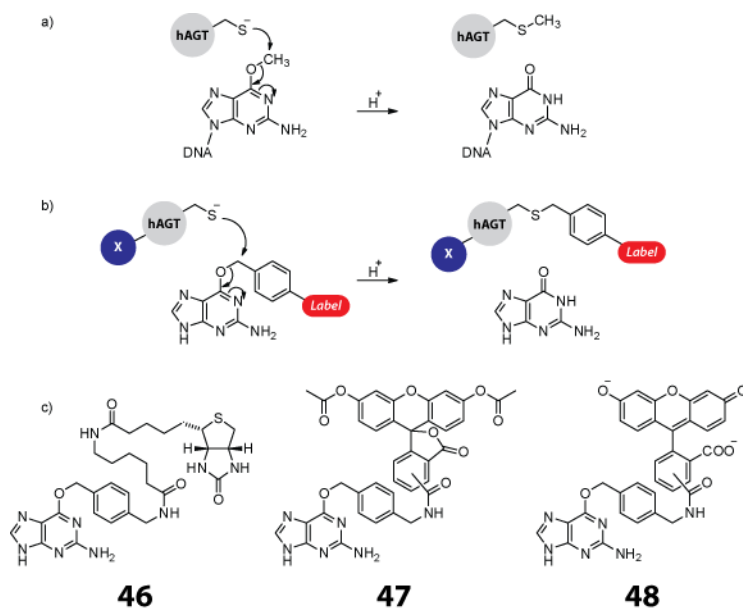


Abbildung 25: a) Funktionsweise des hAGT Enzyms. b) Übertragung dieser Funktionsweise für die SNAP-TAG Technologie. c) Mögliche Substituenten, die durch die SNAP-TAG Technologie verwendet werden können. Allen gemein ist das Guanosin. Abgeändert aus Keppler et al.^[133]

Halo-Tag

Das sog. Halo-Tag ist eine weitere Protein-basierte Methode zur kovalenten Modifikation von verschiedenen funktionalisierten organischen Molekülen.^[134] Es können mit dieser Methode z.B. Fluorophore, andere Affinitäts-Tags oder auch feste Oberflächen mit dem Zielprotein in Lösung, in lebenden Zellen oder auch in fixierten Zellen verknüpft werden. Es handelt sich hierbei um ein kleines Protein, abgeleitet von der Haloalkan-Dehalogenase (DhaA), welches mit biochemischen Methoden so modifiziert wurde, dass es hochspezifisch mit sog. Halo-Tag Liganden reagiert.

Diese Art von Liganden benötigen einen relativ langen (ca. 12 (Kohlenstoff)Atome) Chlor-Alkan-Linker, welcher durch die hydrophobe Bindetasche des Proteins, bis zum aktiven Zentrum des Proteins vordringen kann (siehe **Abbildung 26**).

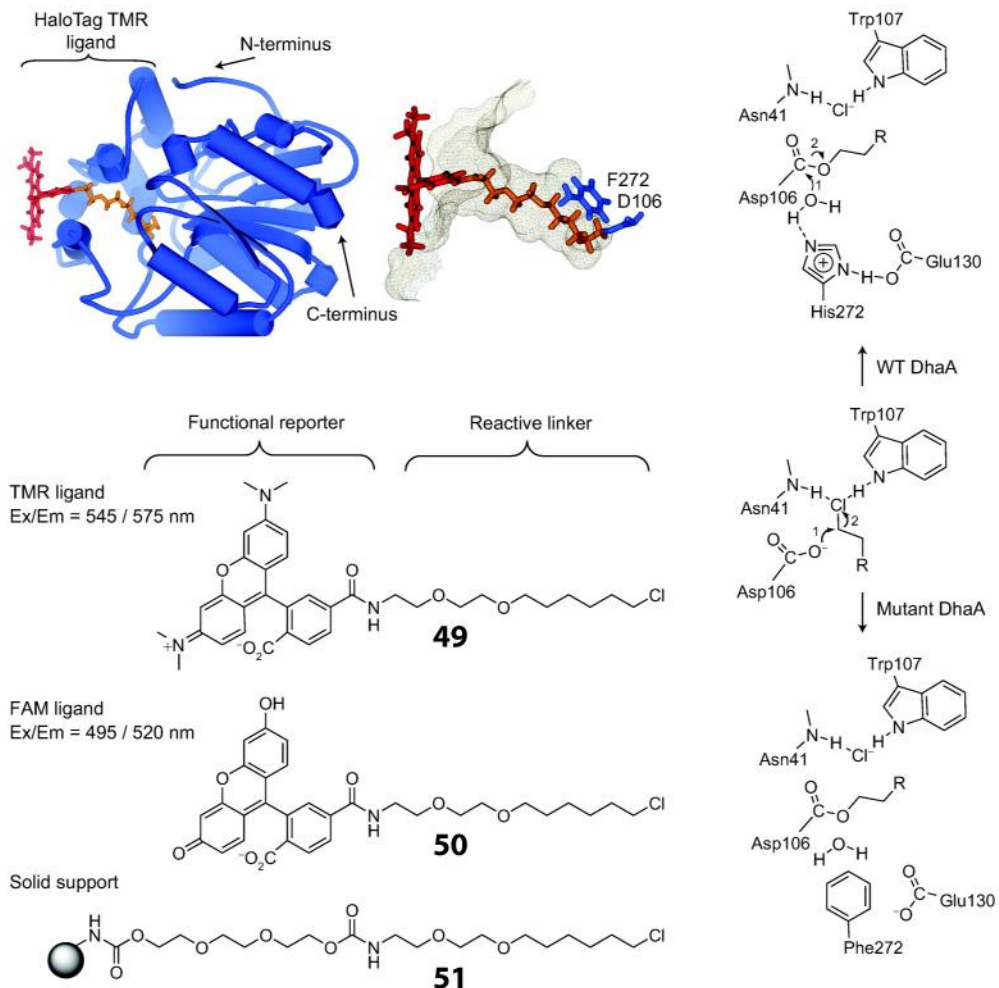
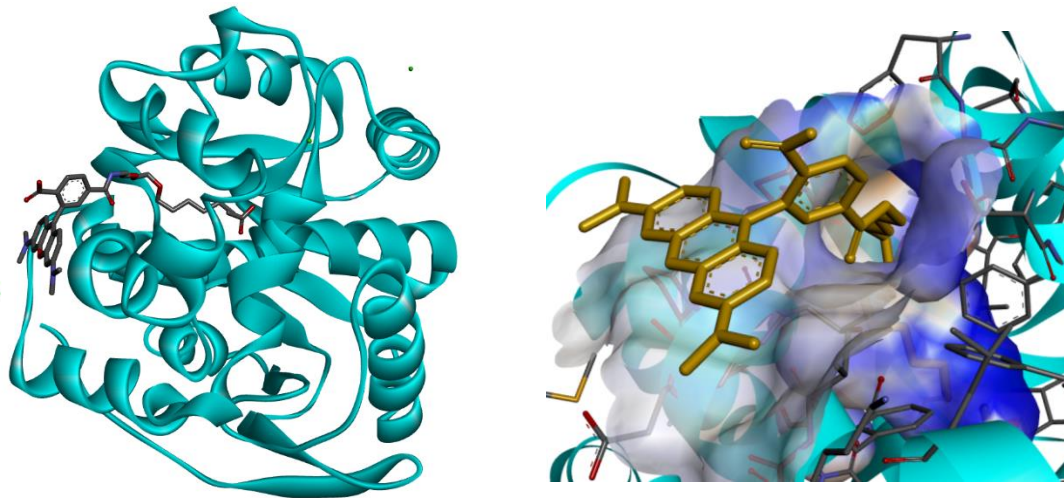


Abbildung 26: Übersicht über die HALO Tag Technologie. Oben: Kristallstruktur 6ZCC entnommen aus der RCSB Proteindatenbank unter <https://www.rcsb.org/structure/6zcc>. Zu erkennen ist die Kristallstruktur der Haloalkan Dehalogenase HOB (HaloTag7-basierte Oligonukleotid Binder) gelabelt mit einem Chlor-Alkan-Tetramethyl-Rhodamin Fluorophor. Der Linker ragt in die Bindetasche des Protein bis hin zum Aktiven Zentrum des Proteins hinein. A) Grundlegende Struktur der Interaktion von HaloTag Ligand und Protein. B) Normaler Mechanismus (inklusive Hydrolyse und Freisetzung des Liganden) und Mechanismus in der Mutante, bei der keine Hydrolyse erfolgt. C) Strukturformeln typischer HaloTag Liganden. Alle haben einen charakteristischen Alkyl-Linker gemeinsam. Abgeändert aus Los et al.^[134]

Dort interagiert das terminale Chloratom mit den Aminosäure-Resten Trp107, Asn41 und Asp106, wodurch es zur kovalenten Verknüpfung des Liganden mit Asp106 kommt, während das freigesetzte Chlorid-Ion durch Trp107 und Asn41 stabilisiert wird. Im Falle des Wildtyps der DhaA erfolgt nun eine Hydrolyse-Reaktion durch ein durch His272 und Glu130 aktiviertes Wasser-Molekül, welches nukleophil am Carbonyl von Asp106 angreift und so die zuvor gebildete Ester-Bindung wieder spaltet.

Unter anderem durch die Punktmutation von His272 hin zu Phe272, wird in der modifizierten DhaA genau dieser Schritt unterbunden (siehe Abbildung 26 b).^[134] Hierdurch bleibt der Ligand irreversibel an Asp106 gebunden und die Eigenschaften des Halo-Liganden können für weitere Untersuchungen genutzt werden.

1.6 Anwendungen photoaktivierbarer, molekularer Werkzeuge & optischer Methoden

Die Anwendungen von photochemischen Werkzeugen und spektroskopischen Methoden erstrecken sich über weite Gebiete der Wissenschaft. Von ultraschnellen Bildgebungsverfahren von Molekülorbitalen,^[135] bis hin zur optogenetischen Therapie von Menschen mit eingeschränkter visueller Wahrnehmung.^[136] In diesem Kapitel soll auf einige höchstrelevante Studien eingegangen werden, in denen die Aspekte der Observation, Regulation und Applikation von und mit Licht näher dargestellt werden.

In einer Studie aus dem Jahr 2016 berichten Huber *et al.* von einer Methode, mit der sie eine Art Abbildung eines einzelnen Pentacen Molekülorbitals visualisiert haben. Dafür verwendeten sie eine spezielle, ultraschnelle Mikroskopie-Methode (ultrafast Terrahertz Scanning Tunnelling microscopy, THz-STM), bei der ein einzelnes Elektron aus dem höchsten, vollbesetzten Molekülorbital (highest occupied molecular orbital, HOMO) eines Pentacen Moleküls entfernt und auf die Wolfram-Spitze der STM-Nadel übertragen wird. Die hierdurch entstehende induzierte Spannungsänderung kann hochselektiv detektiert werden und somit eine Auflösung im sub-Ångstrom-Bereich erzielen.^[135] Bemerkenswert ist hierbei, dass die erhaltenen Bilder mit den vorausgesagten bzw. berechneten Simulationen mittels Dichtefunktionaltheorie (density functional theory, DFT) sehr gut übereinstimmen (siehe **Abbildung 27**).

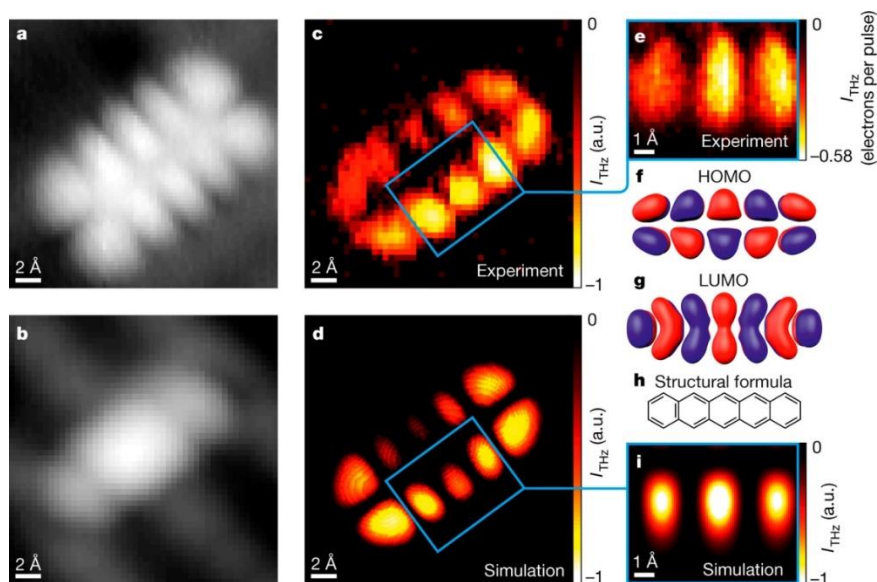


Abbildung 27: „Ultrafast Terrahertz Scanning Tunnelling microscopy“ (THz-STM) Mikroskopie Bilder (links) und mittels DFT vorausgesagte Spektren (rechts). HOMO (f) und LUMO (g) von Pentacen sind ebenfalls dargestellt. Entnommen aus Huber *et al.* ^[135]

Eine weitere theoretische Studie, die jedoch etwas mehr anwendungsbezogen ist, wurde im Jahr 2010 von Cerullo *et al.* veröffentlicht.^[23] Sie untersuchten den Isomerisierungsprozess vom am Sehprozess hauptverantwortlich beteiligten Chromophor Retinal im Komplex mit dem Protein Rhodopsin (siehe **Abbildung 28**) und konnten die dabei durchlaufene vorhergesagte konische Durchschneidung (conical intersection, CI) spektroskopisch nachweisen. Damit trugen sie erheblich zum Verständnis der molekularen Abläufe des Sehprozesses bei. Hierfür verwendeten sie ultra-schnelle fs-Spektroskopie, und beobachteten den Intensitätsverlauf der Wellenpakete vor, während und nach der Anregung des Chromophors.^[23]

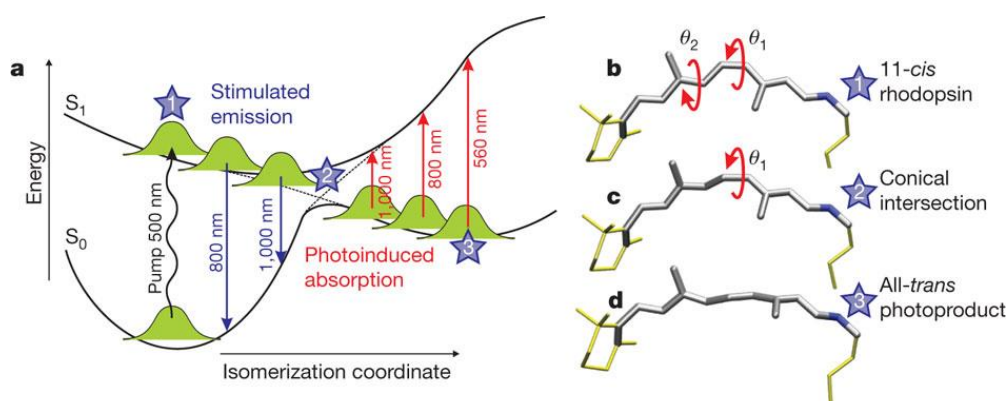


Abbildung 28: Energiepakete beim Isomerisierungsprozess von Retinal. Nach Anregung mit Licht der Wellenlänge 500 nm kann u.a. eine stimulierte Emission von Licht der Wellenlänge von etwa 800 nm erfolgen. Alternativ kann durch eine konische Durchschneidung (Conical intersection, CI) der Isomerisierungsprozess erfolgen. Ausgehend vom resultierenden All-trans Photoproduct kann mit speziellen spektroskopischen Methoden eine weitere charakteristische Absorption detektiert werden. Entnommen aus Mathies *et al.*^[23]

Das Prinzip der Verringerung oder Auslöschung der Fluoreszenz mit Hilfe eines benachbarten „Quenchers“, der die durch Fluoreszenz ausgesendete Energie absorbiert und in thermische Energie umwandelt, hat bis heute ebenfalls in zahlreichen Studien Anwendung gefunden. Im Jahre 2017 konnten Schuman *et al.* dies in einer Studie in Neuronen zeigen.^[137] Sie verwendeten eine so genannten Hybridisierungssonde, auch „Molecular Beacon“ genannt, die eine Stamm-Schleifen-Struktur aufweist. Sie platzierten einen Fluorophor und einen Quencher innerhalb der RNA-Struktur so gekonnt, dass das Fluoreszenzsignal nahezu ausgelöscht wurde (siehe **Abbildung 29**). Durch Prozessierung von sog. „Dicer-Molekülen“ wurde ein Doppelstrangbruch dieses RNA-Konstrukts induziert und der Fluorophor und der Quencher somit ebenfalls räumlich voneinander distanziert. Somit konnte ein bis zu fünffacher Fluoreszenzanstieg beobachtet werden.

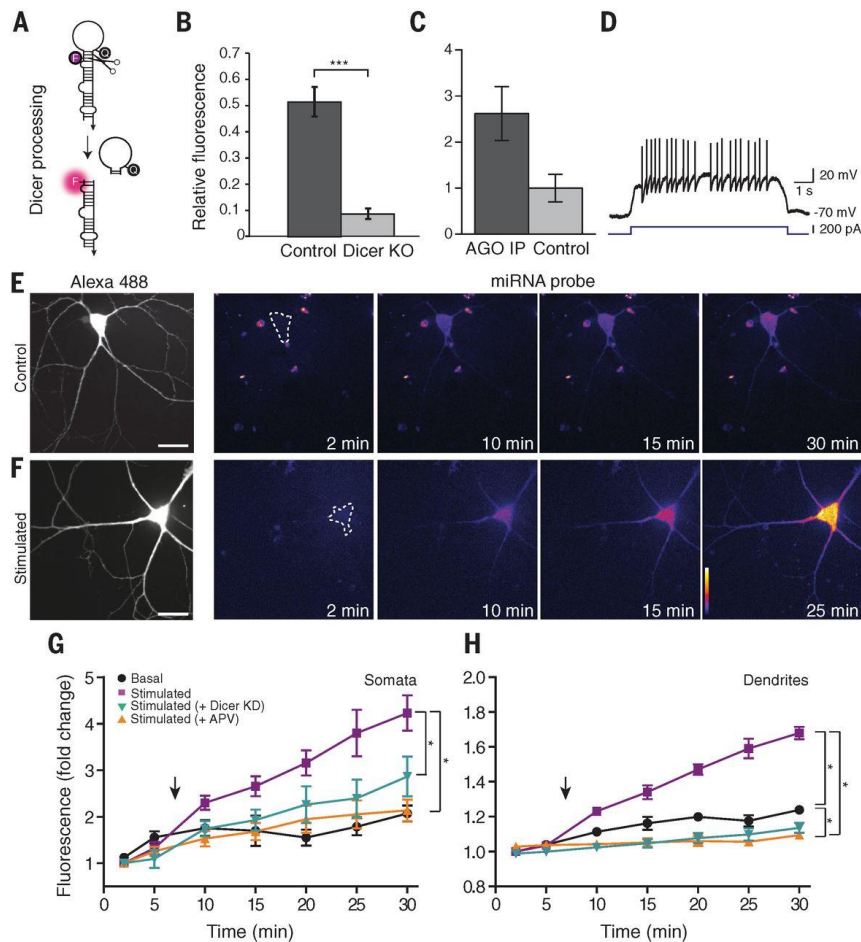


Abbildung 29: A) Hybridisierungssonde (Molecular Beacon) mit Fluorophor und Quencher Modifikation. Durch eine Prozessierung eines Dicer Proteins (eine spezielle Art von Endoribonuklease) erfolgt ein Doppelstrangbruch, womit sich nach einer kurzen Diffusionszeit Fluorophor und Quencher nicht mehr in räumlicher Nähe zueinander befinden. Somit kann das Fluoreszenzsignal nun detektiert werden. Dieses Verhalten konnte ebenfalls in Neuronen gezeigt werden (siehe E & F). Entnommen aus Schuman et al. [137]

In einer weiteren Studie von Grün *et al.* aus dem Jahre 2021 wurden photolabile Schutzgruppen dafür genutzt, um die Faltungsprozesse in so genannten G-Quadruplexen besser zu verstehen. G-Quadruplexe bilden sich unter physiologischen Bedingungen als Sekundärstruktur in Guanosin-reichen DNA/RNA Sequenzen aus. (siehe **Abbildung 30**) Die Faltungsprozesse vom ungefalteten zum gefalteten Konstrukt sind jedoch hochkomplex und lassen sich jedoch nicht ohne weiteres in „Zwischenstufen“ einfangen. Diese Fixierung bestimmter Zustände konnte jedoch erreicht werden, indem an spezifischen Positionen photolabile Schutzgruppen (in diesem Fall NPE) in die Sequenz eingebracht wurden, um die Ausbildung des G-Quadruplexes zu verhindern. Durch Bestrahlung mit Licht bei 355 nm konnten die Photocages abgespalten und so der weitere Umfaltungsprozess erneut initiiert werden. All diese Faltungsvorgänge wurden mittels zeitaufgelöster NMR-Spektroskopie untersucht.

Als Ergebnis dieser Studie konnte ein detailliertes Gesamtbild zahlreicher Faltungsprozesse aufgestellt werden, welches sowohl die zahlreichen unterschiedlich gefalteten Strukturen aufzeigt als auch einen Einblick über die zeitlichen Abläufe und die dabei auftretenden Intermediate gibt.

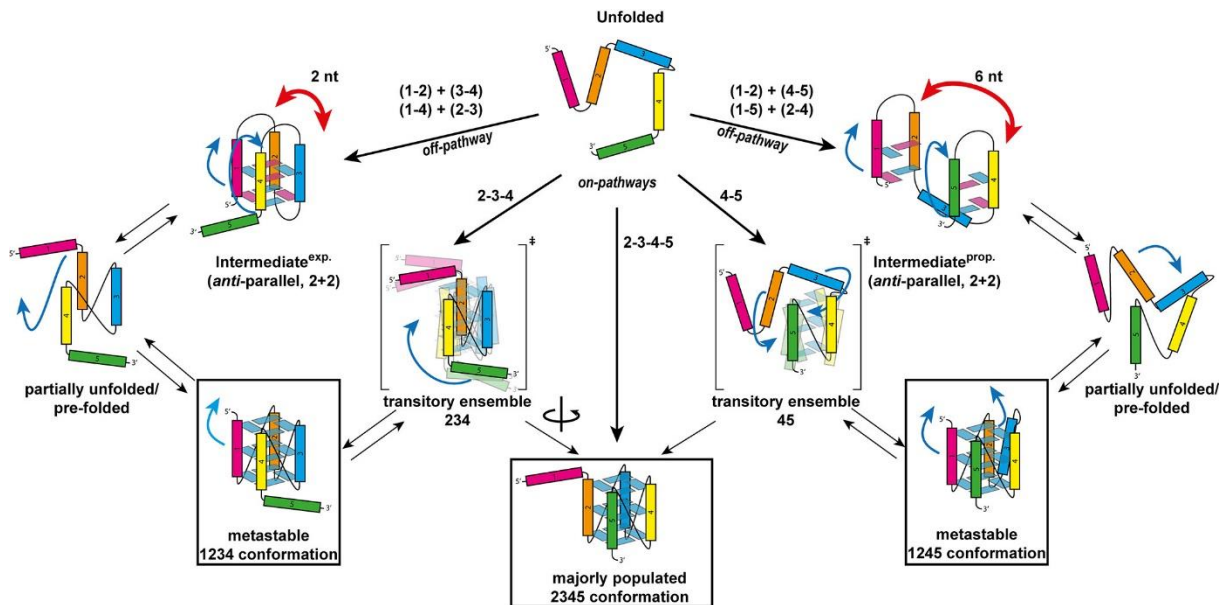


Abbildung 30: Ausgehend vom ungefalteten DNA-Strang bestehen mehrere Faltungspfade, die zu verschiedenen Konformationen mit unterschiedlicher dreidimensionaler Struktur führen können. Bei einigen dieser Pfade treten metastabile Zwischenstrukture auf. Innerhalb dieser Studie wurden einige Konformationen mit Hilfe von Photocages „eingefroren“ und ihr weiterer Faltungsprozess nach Belichtung eingehen mittels NMR-Spektroskopie untersucht. Somit ergibt sich ein klares Bild der diversen Faltungspfade und ihrer Haupt- & Nebenprodukte. Entnommen aus Schwalbe et al. [138]

Neben den bis hierhin beschriebenen Gebieten der Wissenschaft, die sich mit der Photochemie und ihren Möglichkeiten befassen, soll an dieser Stelle ebenfalls kurz auf das Gebiet der Optogenetik eingegangen werden. Im Rahmen der Optogenetik werden biochemische oder biologische Prozesse, wie zelluläre Vorgänge mit Licht reguliert. Dies kann z.B. mit verschiedenen modifizierten, lichtsensitiven Proteinen erfolgen. In einer Studie aus dem Journal „Nature Medicine“, aus dem Bereich der Optogenetik, wurde 2021 über die Pionierarbeit einer Forschergruppe aus Paris berichtet. [136]

Dabei ging es konkret um die Erforschung von Behandlungsmöglichkeiten der Krankheit Retinitis Pigmentosa. Hierbei handelt es sich um eine vererbte Erkrankung der Netzhaut, die auch in seltenen Fällen durch spontane Mutation entstehen kann. Sie führt zu einer Netzhautdegeneration, bei der die Photorezeptoren zerstört werden. Der Gruppe aus Paris ist die partielle, funktionelle Wiederherstellung der Sehkraft durch eine optogenetische Therapie gelungen.

Sie erreichten dies durch eine einmalige Injektion eines optogenetischen Vektors, der ein licht-sensitives Kanalrhodopsin codiert, in das stärker erkrankte Auge des Patienten. Zusätzlich erfolgte ein spezielles Training mit einer sondergefertigten, licht-stimulierende Brille (siehe **Abbildung 31**), mit einer Kamera, die die Umgebung aufnimmt und auf der Innenseite ein Projektor, der die Information als monochromatisches Licht der Wellenlänge 595 nm auf die Netzhaut projiziert.^[136] Der 58 Jahre alte männliche Patient, der über 40 Jahre an der Krankheit Retinitis Pigmentose litt, war nach mehrwöchiger Behandlung und regelmäßigem Training dazu in der Lage Objekte schemenhaft wieder zu erkennen und nach Gegenständen gezielt zu greifen.

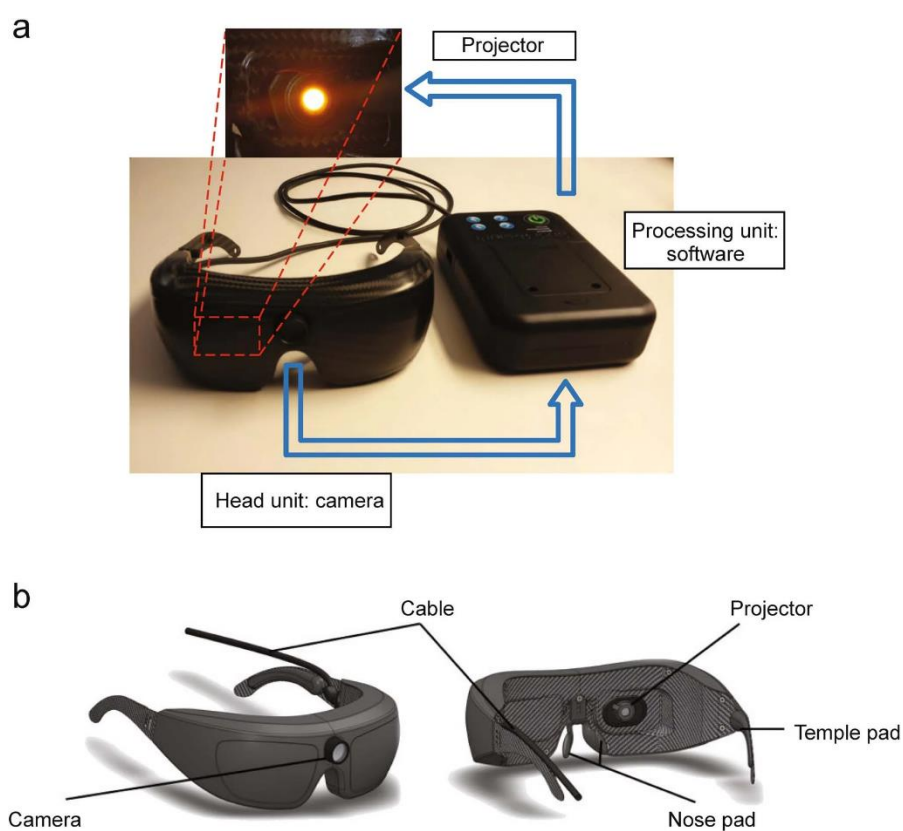


Abbildung 31: Die in dieser Studie verwendete spezielle Brille. Sie besitzt eine Kamera auf der Vorderseite, die die Umgebung aufnimmt. Dieses Signal wird anschließend in ein binäres, pixelartiges Signal umgewandelt und an den Projektor gesendet. Der Projektor ist direkt vor dem behandelten Auge platziert und projiziert das so erzeugte Bild auf die Netzhaut des Patienten. Entnommen aus Roska et al.^[136]

Ähnliche wissenschaftliche Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet, in denen u.a. auch biokompatible Photoschalter eingesetzt wurden, um z.B. Protein Funktionen zu regulieren und somit die Sehfähigkeit zum Teil wieder herzustellen, können dem exzellenten Review von Kramer et al. entnommen werden.^[26]

Wie bis hierhin beschrieben und erläutert, ist die Vielfalt von photochemischen Werkzeugen und deren Anwendungsbereich in den verschiedensten Disziplinen der Wissenschaft überaus vielfältig. Zum Teil wurden die entsprechenden Anwendungsbereiche für einige bereits existierende molekulare Werkzeuge vielleicht nur noch nicht gefunden, zum Teil warten vielfältige Anwendungen auf das „perfekte molekulare, photosensitive Werkzeug“. Ob es dieses überhaupt geben kann oder jemals geben wird, sei einmal dahingestellt. Im Rahmen meiner Doktorarbeit möchte ich jedoch einen kleinen Teil dazu beitragen, der Wissenschaft wichtige Erkenntnisse auf dem Gebiet der Photochemie zu erlangen und zu präsentieren. Im folgenden Verlauf sollen die verschiedenen Projekte systematisch dargestellt werden und die Erkenntnisse, die daraus gewonnen werden konnten.

2. Entwicklung eines neuen VIPER-Labels basierend auf dem BODIPY-Grundgerüst.

2.1 Motivation und Zielsetzung

Die Entwicklung neuer spektroskopischer Methoden ist essentiell für die ständige Verbesserung unseres Verständnisses über biologische Prozesse.^[139] Dabei werden, unter Zuhilfenahme modernster Technologien, immer neue Wege eröffnet, um Prozesse immer präziser zu kontrollieren. Eine dieser Methoden ist die vibronisch-unterstützte elektronische Resonanz, kurz VIPER (engl. „vibronically promoted electronic resonance“, siehe **Abbildung 32**).^{[35][36]} Hierbei handelt es sich um eine Methode, die die Vorteile von IR- und UV/vis-Spektroskopie vereint. Aufgrund der Tatsache, dass sich die IR-Signale von verschiedenen funktionellen Gruppen, wie Carbonyl-, Azid- oder Nitril-Gruppen, im elektromagnetischen Spektrum sehr gut voneinander unterscheiden, können diese ebenso selektiv analysiert, wie angeregt werden. Wenn eine dieser funktionellen Gruppen direkt am Chromophor angebracht ist und sie vibronisch durch einen geeigneten externen IR-Puls angeregt wird, führt dies im besten Falle zu einer kleinen, aber dennoch signifikanten, bathochromen Verschiebung des Absorptionsspektrums. Durch einen anschließenden, nicht-resonanten UV/vis-Puls, der nun selektiv nur jene vibronisch „vor-angeregte“ Moleküle adressiert, können selektiv Chromophore mit gleichem oder ähnlichem Absorptionsspektrum in derselben Lösung angeregt werden. Dies erweitert die Möglichkeiten der photochemischen Kontrolle mit mehreren Chromophoren im gleichen System enorm.

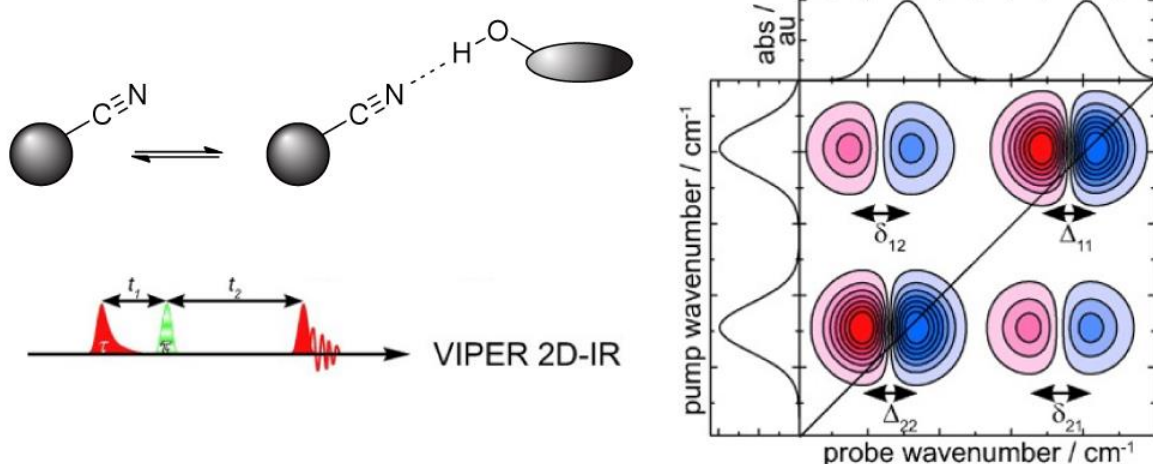


Abbildung 32: VIPER. Links: Ein Beispielhaftes VIPER-Label mit einer IR-aktiven Nitril-Gruppe ohne und mit der Wechselwirkung in einer Wasserstoff-Brücken-Bindung. Dies hat einen Einfluss auf die Frequenz mit der sich die Nitril-Schwingung im IR anregen lässt bzw. detektiert werden kann. Darunter die Pulssequenz eines typischen VIPER 2D-IR Experiments. Rechts: Ein zwei Dimensionales Diagramm bei dem die Anreg- und die Abtastwellenzahl gegeneinander aufgetragen sind. Entnommen aus Bredenbeck et al.^[145]

Im Rahmen eines Teilprojekts meiner Doktorarbeit war unser Ziel ein neues VIPER-label so zu designen, dass es im Bereich über 500 nm absorbiert und eine per IR-Puls selektiv adressierbare, funktionelle Gruppe besitzt, die die Verwendung für biologische Fragestellungen ermöglicht.

2.2. Ergebnisse und Diskussion

Nach eingehender Literaturrecherche fiel unsere Wahl auf das BODIPY-Grundgerüst. Zum einen absorbiert das Grundgerüst, trotz seiner geringen Größe schon im Bereich von 500 nm und zum anderen waren zum damaligen Zeitpunkt bereits einige synthetische Modifikationen und deren Einfluss auf die photochemischen Eigenschaften bekannt.

Als funktionelle Gruppe entschieden wir uns für die Nitril-Gruppe, da sich die IR-Absorptionsbande des Nitrils bei etwa 1400 cm^{-1} eindeutig von anderen, in biologischen Systemen auftretenden IR-Banden, wie zum Beispiel dem Carbonyl bei etwa 1700 cm^{-1} abgrenzt. Als letztes war es wichtig, dass der Chromophor eine hohe Inter-System-Crossing-(ISC)-Quantenausbeute besitzt, damit das Signal des nach IR- und UV/vis-Puls angeregten Chromophors, lange genug im Triplett-Zustand analysiert werden kann und so eventuell auch ein zeitlicher Verlauf des Signals analysiert werden kann. Dies sollte durch den Einbau von Iod-Substituenten an den seitlichen Positionen des BODIPY-Gerüsts erzielt werden, da aus der Literatur bekannt war, dass im Allgemeinen der Einbau von Schweratomen die ISC-Quantenausbeute bei vergleichbaren Systemen drastisch erhöht.^{[66],[12]}

Die retrosynthetische Betrachtung unseres identifizierten Zielmoleküls, führte zu folgenden Reaktionsschritten, die in **Abbildung 33** aufgeführt sind. Nach der literaturbekannten Kupplung der beiden Pyrrole **56** & **57**, erfolgte die eine Deprotonierung mit anschließender Zugabe von Bortrifluorid. Der so entstandene BODIPY-Grundkörper (**54**) unterscheidet sich von den klassischen BODIPY-Photocages dadurch, dass sich an der meso-Position in dieser Stufe noch kein Substituent befindet.

Dennoch zeigte dieses Molekül zum ersten Mal die für BODIPY's typische starke Fluoreszenz von in diesem Fall grünem Licht. In der darauffolgenden Reaktion wurde mit Hilfe von Kalium Cyanid und einem Kronenether die entscheidende Nitril-Gruppe am Grundgerüst angebracht (**53**). Nach Aufreinigung zeigte dies ebenfalls in den spektroskopischen Eigenschaften einen eindeutigen Effekt, als das die starke Fluoreszenz nun orange-farbend war. Dieser Effekt ist vergleichbar mit zahlreichen Beispielen in der Literatur, bei denen ebenfalls durch einen Substituenten mit –M-Effekt an der meso-Position diese spektrale Verschiebung des Absorptions- und Fluoreszenzmaximums beobachtet werden konnte.

Im letzten Reaktionsschritt erfolgte nun die Iodierung mit Hilfe von Iodchlorid zu Verbindung **52**, um die ISC-Quantenausbeute drastisch zu erhöhen. Nach Aufreinigung äußerte sich dies darin, dass der Compound nun überhaupt keine Fluoreszenz mehr zeigte. Das Absorptionsmaximum konnte erneut bathochrom verschoben werden, wodurch das Maximum nun bei 611 nm lag.

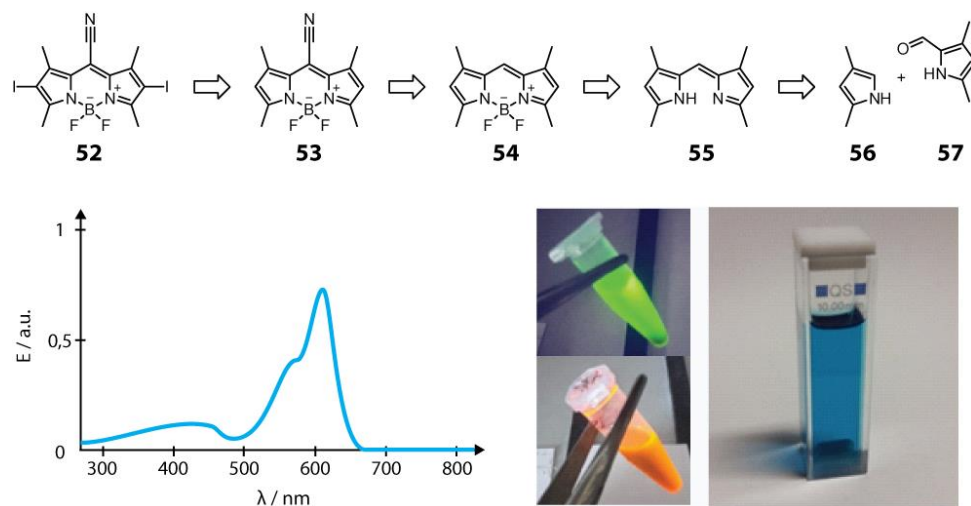


Abbildung 33: Oben: Retrosynthetische Betrachtung des BODIPY-VIPER Labels. Unten Links: Absorptionsspektrum der finalen Verbindung nach erfolgreicher Synthese in Methanol. Rechts: Zwischenstufen der Synthese mit entsprechender charakteristischer Fluoreszenz. Grüne Fluoreszenz vor Anbringung der Nitril-Gruppe, Orangene Fluoreszenz danach. Die Endverbindung zeigte, gelöst in Methanol, wie erwartet, keine Fluoreszenz mehr auf.

Dieser erfolgreich dargestellte Chromophor (**52**) wurde nun in Zusammenarbeit mit Hendrik Brunst aus der Arbeitsgruppe von Jens Bredenbeck weiter spektroskopisch charakterisiert. Die initiale Messung der IR-Bande des Nitrils zeigte die erwartete Bande bei 1400 cm^{-1} , wenn auch in geringerer Intensität als erhofft. Erste Messungen am Grundgerüst stellten sich als vielversprechend heraus, weswegen näher auf die Anwendung als neues VIPER-label eingegangen wurde. Im Laufe dieser weiterführenden Messungen stellte sich jedoch heraus, dass mit der Zeit eine neue, bathochrom verschobene Absorptionsbande im Spektrum auftauchte, die so nicht zu erklären war. Um diesen Effekt genauer zu untersuchen, wurden verschiedene Hydrolyse und Methanolyse Untersuchungen durchgeführt, die letztendlich zu dem Ergebnis kamen, dass sich das Zielmolekül in nukleophilen Lösungsmitteln zersetzte. Vermutet wurde, dass aufgrund des zusätzlichen $-M$ -Effekts der Nitril-Gruppe, ein nukleophiler Angriff von Lösungsmittelmolekülen auf das Bor-Atom erfolgte, wodurch es zum Austausch eines oder beider Fluor-Atome am Bor hin zu Methoxy- oder Hydroxy-Gruppen an dieser Stelle kam.

Dieser Fakt, in Kombination damit, dass das initiale VIPER-Signal leider nie reproduziert werden konnte, führte dazu, dass dieses Projekt nach Abschluss der Solvolyse-Untersuchungen beendet wurde. Nachfolgende theoretische Berechnungen von Madhava Niragatham aus der Gruppe von Irene Burghardt erbrachten zudem Hinweise auf einen sehr geringen Extinktionskoeffizienten der C-N-Schwingung in diesem Molekül, was der Grund dafür sein könnte, weshalb in allen Messungen nur ein sehr geringes IR-Signal der Nitril-Gruppe beobachtet werden konnte.

2.3 Zusammenfassung und Ausblick

Auch wenn es uns im Rahmen dieses Projekts nicht gelungen ist, ein neues VIPER-Label zu etablieren, konnten wir viele Erkenntnisse aus den Untersuchungen dieses Grundgerüsts in den Punkten Synthese, Photochemie und Photophysik gewinnen. Die kollaborative Zusammenarbeit ebnete zudem den Weg für zahlreiche fruchtbare Diskussionen im Rahmen anderer kollaborativer Projekte mit der Bredenbeck und der Burghardt Gruppe. Für zukünftige Untersuchungen wäre es durchaus denkbar, durch gezielte Modifikationen des aktuellen Gerüsts sowohl die Hydrolyse zu minimieren als auch das IR-Signal der Nitril-Gruppe zu optimieren. Hierzu könnten selektive Modifikationen am Bor-Atom durchgeführt werden, die gegebenenfalls eine Stabilisierung des Systems nach sich ziehen könnten. In der Literatur konnten unter anderem bereits Methoxy-Gruppe, als auch Alkyl-Gruppen am Bor angebracht werden. Außerdem wäre es durchaus denkbar am bestehenden Gerüst alternative Positionen der Nitril-Gruppe zu synthetisieren und zu testen. Aufgrund der zahlreichen Möglichkeiten der Modifikation des BODIPY-Grundgerüsts, eignet sich dieser Chromophor weiterhin sehr gut für diese Art von Label. Für die vielversprechendste Position könnten theoretische Berechnungen entscheidende Hinweise geben. Des Weiteren wäre es denkbar anstelle des Nitrils, ein Isonitril zu verwenden. Dieses sollte eine ähnliche Molekülschwingung aufweisen, jedoch möglicherweise einen höheren Extinktionskoeffizienten der IR-Schwingung. Mit all diesen Optionen könnte es in zukünftigen Forschungsarbeiten dennoch möglich sein ein VIPER-Label zu entwickeln.

3. Entwicklung & Verständnis neuer 1PE Photolabiler Schutzgruppen.

3.1 Motivation und Zielsetzung

Die Anwendungen für photolabile Schutzgruppen in den verschiedensten wissenschaftlichen Disziplinen werden von Jahr zu Jahr immer zahlreicher.^{[14],[15],[140],[141]} Damit steigen auch die Anforderungen und der Bedarf an neuen Photocages für die unterschiedlichsten Systeme. Abhängig vom jeweiligen Solvens, dem Temperatur- oder Konzentrationsbereich und dem spektralen Fenster, in dem das so genannte „*Uncaging*“ stattfinden soll, ist es essenziell, den perfekt passenden Photocage zu verwenden.

Die bereits entwickelten Photocages stoßen alle in gewissen Bereichen an ihre Grenzen und keine bisher bekannte Schutzgruppe ist universal einsetzbar. Dazu sind bei weitem nicht alle aktuell existierenden Photocages ausreichend erforscht. Viele *Uncaging*-Mechanismen sind bisher, wenn überhaupt, nur durch theoretische Berechnungen untersucht worden. Aus diesem Grund ist die Entwicklung von neuen photoaktivierbaren Schutzgruppen und die Erweiterung des Verständnisses bestehender, auch weiterhin ein wichtiger Teil auf dem Gebiet der Photochemie.

Im Rahmen meiner Doktorarbeit war eines der zentralen Themen die Entwicklung einer neuen Gruppe von Photocages. Dabei betrachtete ich im Laufe der Jahre die verschiedensten Grundgerüste, um letztendlich den „*Uncaging*“-Prozess „neu zu durchdenken“. Das Isatin-, das Cumarin- und das Fluorenol-Grundgerüst standen dabei im Vordergrund meiner Untersuchungen. Die Grundidee, die zu den Untersuchungen des Isatin-Gerüsts führte, basiert auf den Untersuchungen von Jakob Wirz und Yavor Kamzdzhilov aus dem Jahr 2007.^[142] Sie untersuchten die Photochemie des 1,4-Naphthochinon und konnten durch eine photo-induzierte γ -H-Abstraktion u. a. Essigsäure freisetzen.

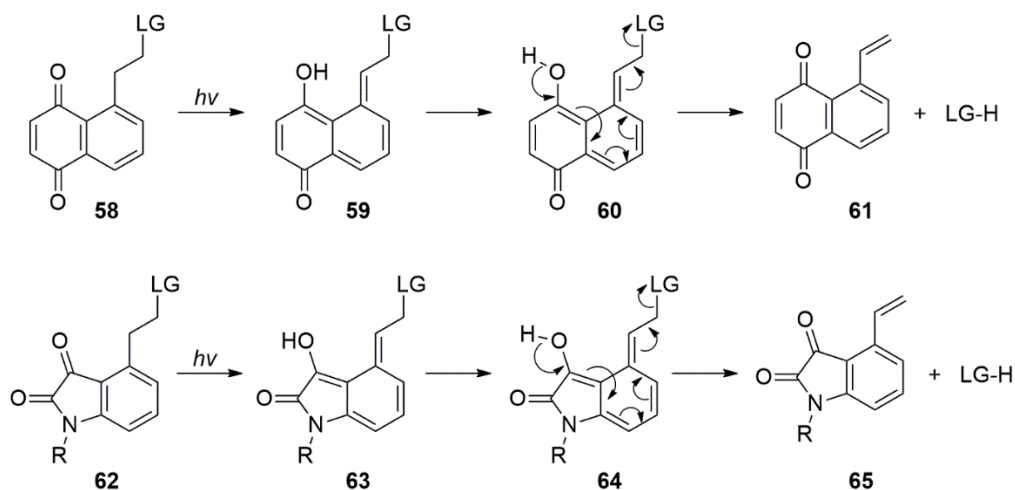
Das Cumarin war zwar bereits als Photocage-Plattform etabliert, uns ist es durch die gezielte Desaktivierung von kompetitiven Relaxations-Wegen dennoch gelungen die photochemischen Prozesse hin zum *Uncaging* zu optimieren. Dazu konnte die Freisetzung des Neurotransmitters Serotonin gezeigt werden und ein genauer Blick auf die zum Teil ultra-schnellen Prozesse geworfen werden. Das Fluorenol-Grundgerüst, welches mich seit dem ersten Tag meiner Doktorarbeit begleitet und durch Dr. Matiss Reinfelds bereits auf dem Gebiet der Photochemie untersucht wurde,^[44] konnte durch meine Forschungsarbeit noch einmal weiter optimiert werden. Dadurch sind die Fluorenole der zweiten Generation nun nicht nur klar im sichtbaren Bereich des elektromagnetischen Spektrums angekommen, sondern bilden durch die „excited state-Aromaticity“^{[143],[144]} (Aromatizität im angeregten Zustand)^[145] die Grundlage einer ganz neuen Denkweise des *Uncagings*.

Der generelle Mechanismus des *Uncagings* der Gruppe der Fluorene und die besonderen Eigenschaften des nach der Photolyse entstehenden Intermediats, konnte in einem weiteren Projekt aufgeklärt werden. Gemeinsam mit theoretischen Berechnungen und spektroskopischen Untersuchungen ist es mir gemeinsam mit meinen Kollaborationspartnern somit gelungen, neue Bausteine auf dem Gebiet der Photochemie zu entwickeln und zu etablieren, um so einen Beitrag zum Verständnis von photochemischen Prozessen in der Forschung zu leisten.

3.2. Ergebnisse und Diskussion

3.2.1 Isatine

Wie oben bereits erwähnt, basiert die grundlegende Idee für dieses Teilprojekt auf den Untersuchungen von Wirz und Mitarbeitern aus dem Jahr 2007 am 1,4-Naphtochinon (**58**).^[142] Dieses Molekül ist dazu in der Lage, durch Bestahlung bei 365 nm eine so genannte photo-induzierte- γ -H-Abstraktion durchzuführen, welche zu Verbindung **59** führt. Die anschließende Rearomatisierung des daraus resultierenden Enol-Derivats **60**, kann unter Ausbildung einer Doppelbindung / Eliminierung zur Abspaltung von einer Abgangsgruppe führen, welche in Verbindung **61** resultiert (siehe **Schema 1**). Gezeigt werden konnte dies mit den Abgangsgruppen Bromid, Acetat, und Diethylphosphat.



Schema 1: Photomechanismus des *Uncaging* von Naphtochinon und prognostizierter Photomechanismus von Isatin. Im ersten Schritt erfolgt nach photochemischer Anregung eine δ -H-Abstraktion der räumlich benachbarten CH_2 -Gruppe des exozyklischen Kohlenstoffatoms unter Bildung eines Enols. (Photo-Enolisierung) Hierbei wird das aromatische System zunächst zerstört. Im nächsten Schritt erfolgt dann die Re-Aromatisierung, die dazu führen kann, dass die Abgangsgruppe (Leaving Group, LG) abgespalten werden kann. Im Falle vom Naphtochinon konnten entsprechende Photoprodukte nachgewiesen werden. Im Rahmen dieser Studie sollte untersucht werden, in wie fern sich dieser Mechanismus auch auf das photochemisch attraktivere Isatin übertragen lässt.

Einer der Schwachpunkte dieser Studie war jedoch, dass das Absorptionsspektrum des 1,4-Naphtochinons relativ nah am UV-Bereich des elektromagnetischen Spektrums liegt. Es besitzt ein charakteristisches Hauptmaximum bei ca. 250 nm und ein weiteres Nebenmaximum mit einem um 1/7 deutlich verringerten Extinktionskoeffizienten bei etwa 350 nm. Unser Ziel in dieser Studie war es das selbe photo-induzierte Abstraktionsverhalten auf ein Grundgerüst mit einem für biologische Anwendungen besser geeignetem Absorptionsspektrum zu übertragen. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit und eines bathochrom verschobenen Absorptionsspektrums, fiel unsere Wahl auf das Isatin-Grundgerüst (**62**).

Das Isatin als Grundkörper (**66**) besitzt bereits ohne weitere Modifikation ein Hauptmaximum bei 300 nm und ein Nebenmaximum mit etwa ein Drittel des Extinktionskoeffizienten bei ca. 405 nm, welches sich bis an die 500 nm Marke erstreckt. Damit ist das Isatin in der Lage mit grünem Licht der Wellenlänge von 500 nm photochemisch angeregt zu werden. Um die Eigenschaften des Isatins strukturell und funktionell zu untersuchen, überlegten wir uns verschiedene Modifikationen.

Zum einen sollten elektronische Effekte des Systems (**67 – 70**) untersucht werden (siehe **Abbildung 34**), weswegen ein elektronen-schiebender und ein elektronen-ziehender Substituent am Stickstoffatom des Ringsystems angebracht werden sollte. Eine weitere Überlegung war es das entstehende Intermediat insofern zu stabilisieren (**71 – 73**), als das es durch den +I-Effekt zweier Methyl-Gruppen energetisch günstiger liegen sollte. Neben der klassischen Installation einer Abgangsgruppe entsprechend dem Naphtochinon-Gerüsts (**74 – 76**), sollte ebenso die Auswirkung einer kürzen Distanz zwischen Carbonyl-Sauerstoff und dem zu abstrahierenden Proton an der exocyclischen CH₂-Gruppe untersucht werden (**78**). Die zu untersuchenden Abgangsgruppen sollten zunächst relativ einfach zu photolysieren sein und waren dementsprechend Tosylat und Acetat. Sollte die Abspaltung erfolgreich sein, würde dann im nächsten Schritt die Auswahl der Abgangsgruppen erweitert werden und auch „schwerer“ zu photolysierende Abgangsgruppen installiert werden.

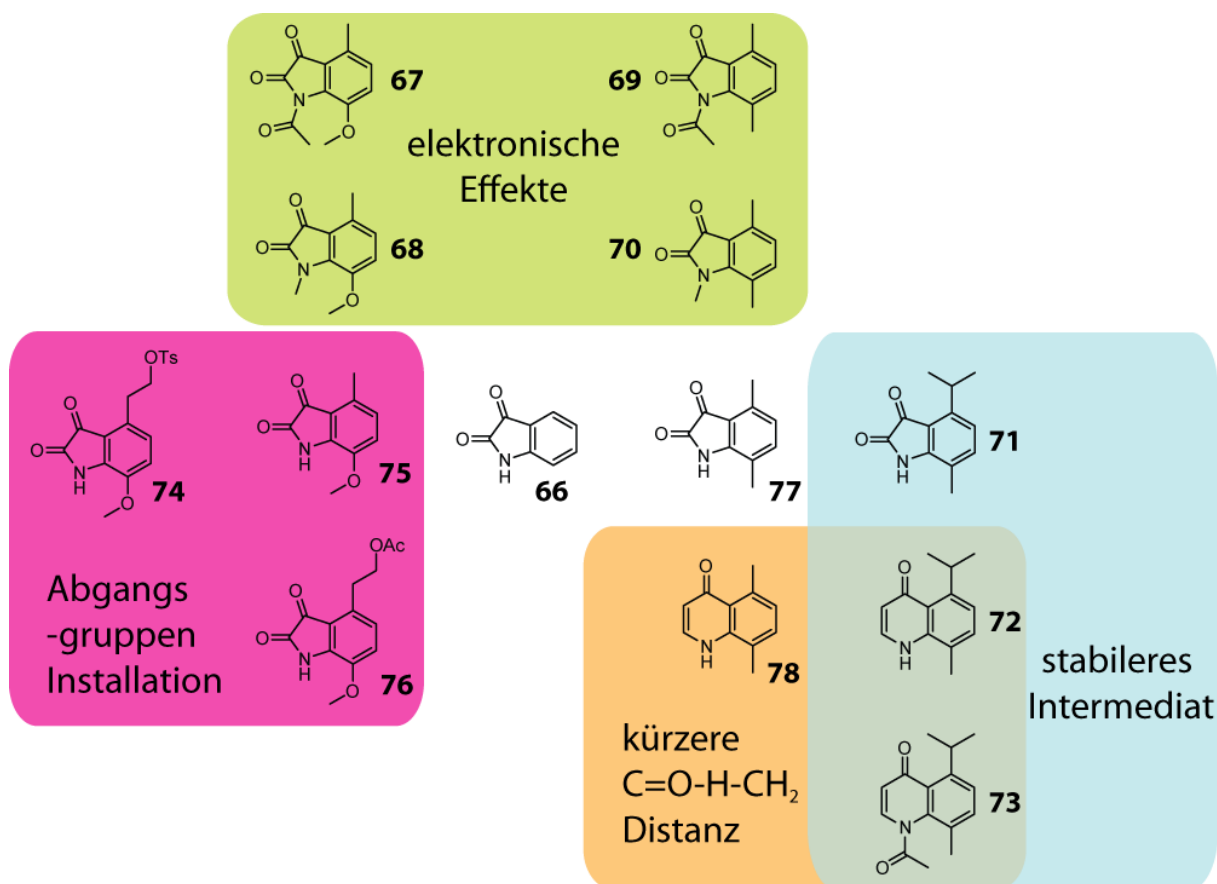


Abbildung 34: Übersicht der untersuchten, elektronisch diversifizierten Isatin-Derivate. Neben der Variierung der elektronischen Effekte (grüner Kasten), wurden ebenfalls zwei verschiedene Abgangsgruppen am Grundgerüst synthetisch eingeführt (violetter Kasten). Zwei weitere Strategien waren die Verkürzung des C=O-H-CH₂-Abstands (orangener Kasten) und die Stabilisierung des potentiell auftretenden Intermediats (blauer Kasten) für eine effizientere Photolyse.

Die Synthese der Isatin-Derivate kann auf verschiedene Arten erfolgen. Die bekanntesten Syntheserouten basieren auf der Sandmeyer-Reaktion^[146], der Gassmann-Isatin-Synthese^[147], oder der von Stollé^[148] entwickelten Methode. Da die in dieser Studie designten Verbindungen jedoch alle über die Gassmann Methode synthetisiert worden sind, soll hier im Folgenden auch nur auf diese Methode eingegangen werden. Für alternative Routen wird auf die entsprechende Literatur verwiesen. Bei der ursprünglichen Gassman-Methode handelt es sich streng genommen um eine Indol-Synthese-Methode.

Da durch eine Modifikation eines entscheidenden Syntheseschritts jedoch auch Isatine erhalten werden können, hat sich der Begriff der Gassman-Isatin-Synthese (siehe **Abbildung 35**) zusätzlich zur Gassman-Indol-Synthese dennoch durchgesetzt. Die normale Gassman-Indol Synthese startet mit der Chlorierung von Anilin, gefolgt von einer nukleophilen Substitution eines Methylthio-Derivats. Eine anschließende Deprotonierung z.B. durch Triethylamin führt dann zum Kernschritt dieser Reaktion, der [2,3]-sigmatropen Umlagerung. Die finale Raney-Nickel Reaktion dient schlussendlich der Entschwefelung, womit das fertige Indol erhalten werden kann.

Um anstelle der Indole, Isatine und vor allem auch z.B. Elektronen-Donor substituierte Isatine erhalten zu können, wird bei der Gassman-Isatin Synthese zunächst eine Chlorierung von Methylthioacetat durchgeführt. Der entstehende Komplex reagiert dann mit dem ggf. substituierten Anilin. Die anschließende [2,3]-sigmatrope Umlagerung erfolgt äquivalent zur Indol-Synthese und führt letzten Endes zum Isatin-Vorläufer, der zuletzt noch oxidiert werden muss.

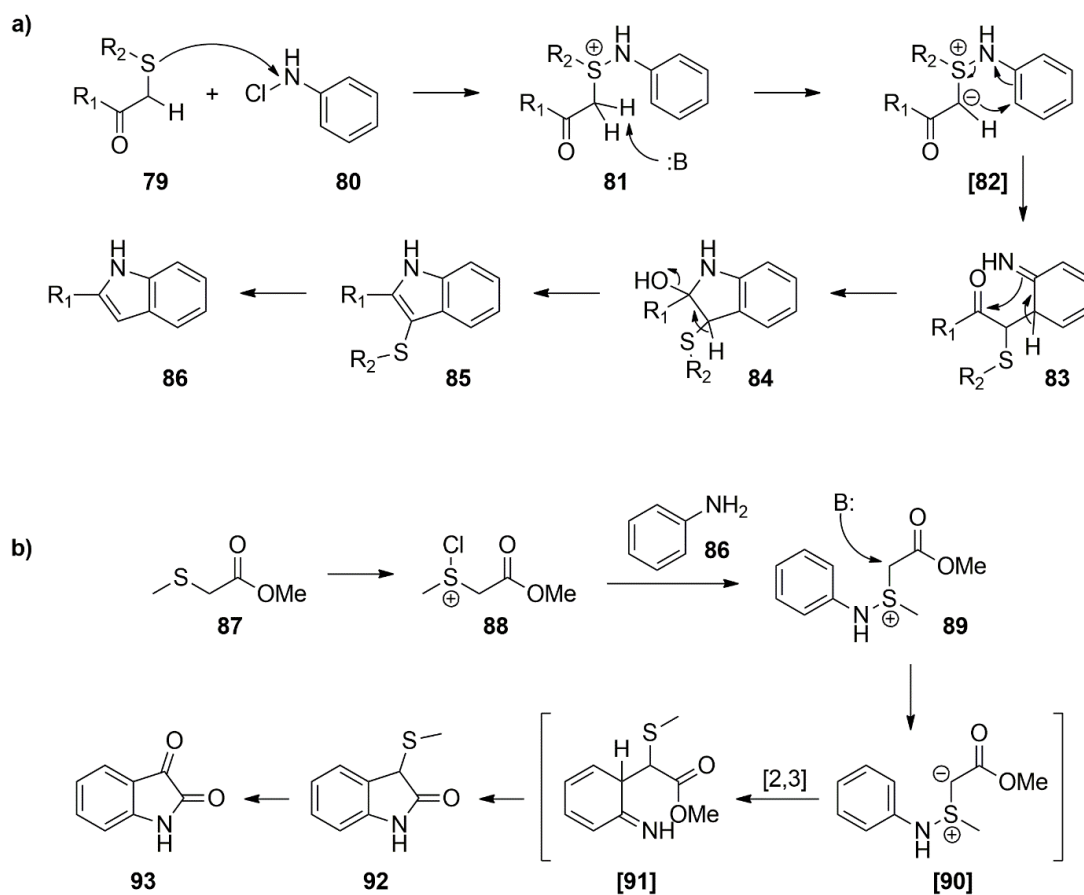


Abbildung 35: a) Gassman-Indol-Synthese. b) Gassman-Isatin-Synthese. Nach der nukleophilen Substitution eines Methylthio-Derivats am aktivierten Anilin, erfolgt der Kernschritt bei beiden Reaktionen: Die [2,3]-sigmatropen Umlagerung, welche mit Hilfe einer Base wie z.B. Triethylamin abläuft.

Nachdem die Synthese des Großteils der Verbindungen erfolgreich durchgeführt werden konnte, galt es nun, die Auswirkungen der Bestrahlung mit Licht zu untersuchen. Dazu wurden sämtliche Moleküle mit Hilfe einer LED mit Licht der Wellenlänge von 405 nm, sowie mit 310 nm in wässrigen Lösungsmittelgemischen bestrahlt. Zu unserer Überraschung mussten wir jedoch feststellen, dass sich keine beobachtbare Veränderung detektieren lassen konnte.

Nach zahlreichen Versuchen mit unterschiedlicher Bestrahlungszeit, wendeten wir uns an den Arbeitskreis Wachtveitl, um dem Verhalten mit weiteren spektroskopischen Methoden auf den Grund zu gehen. Zwar zeigten einige Verbindungen in unpolaren Lösungsmitteln eine Reaktion auf das eingestrahlte Licht, eine Abspaltung der Abgangsgruppen konnte jedoch in keinem Fall beobachtet werden, selbst im Falle des Tosylats nicht. Aus diesem Grund wollten wir dem Verhalten noch genauer auf den Grund gehen und zogen mit der Gruppe um Andreas Dreuw theoretische Rechnungen zu Rate. Maximilian Scheurer analysierte in zahlreichen theoretischen Berechnungen die Energiebarrieren der einzelnen Derivate für den γ -H-Abstraktionsprozess (siehe **Abbildung 36**).

Dabei stellte sich heraus, dass die Barriere bei allen Isatin-Derivaten um ein Vielfaches höher lag als beim 1,4-Naphtochinon (siehe Diagramm oben links). Es ist zu erkennen, dass eine Änderung der elektronischen Struktur am Stickstoff nur eine geringe Auswirkung auf das Energieprofil der H-Abstraktion hat. Dennoch konnte bereits mit diesen Ergebnissen eine erste Vermutung aufgestellt werden, dass ein Elektronen-Defizit im Ringsystem im Falle des orangenen Derivats den Abstraktionsprozess energetisch begünstigt.

Im Diagramm unten links sind die beiden Referenz-Verbindungen in schwarz und blau ebenfalls dargestellt. Als dritte Verbindung ist hier ein Derivat aufgeführt, welches durch zusätzliche zwei Methyl-Gruppen an der Position, an der das Wasserstoff Atom abstrahiert werden soll, das Intermediat energetisch stabilisiert werden soll. Energetisch gesehen, war der Effekt dieser zusätzlichen Substitution entsprechend der theoretischen Berechnungen allerdings auch eher gering. Zwar konnte somit gezeigt werden, dass elektronen-ziehende Substituenten am Stickstoff und die Stabilisierung des zu erzielenden Kations durch weitere Methyl-Gruppen die Barriere etwas herabsenken, dies reichte jedoch bei weitem noch nicht aus, um in den Bereich des Naphtochinons zu gelangen.

Nachdem wir nun die Ergebnisse der Photolyse-Experimente durch die theoretischen Ergebnisse bestätigen konnten, wollten wir zumindest in der Theorie mit einem ähnlichen Gerüst dennoch eine vergleichbare energetische Barriere erzielen. Da sich der H-Abstraktionsprozess bei den Isatinen, die einen 5-Ring zum benachbarten Benzolring aufweisen, als energetisch nicht realisierbar darstellte, fiel unsere Wahl nach eingehender Recherche auf das Quinolinon-Grundgerüst (vergleiche grünes und gelbes Derivat), welches anstelle eines 5-Rings, einen Stickstoff-6-Ring besitzt. Durch eine zusätzliche Doppelbindung ist dieses System ebenfalls über beide Ringe durchkonjugiert. Eine vergleichbare Energiebarriere zeigten lediglich die Verbindungen, die anstelle des Isatin-fünf-Rings, einen Stickstoff-sechs-Ring besaßen (siehe **Abbildung 36**, Diagramm unten rechts). Das in grün dargestellte Quinolinon-Derivat zeigte bereits ohne weitere Modifikation eine, im Vergleich zu den vorherigen Optimierungsschritten des Isatin-Gerüsts, deutlich herabgesenkte energetische Barriere des Abstraktionsprozesses.

Im letzten Schritt nutzten wir nun die Erkenntnisse aus den voran gegangenen Berechnungen und modifizierten das Quinolinon-Gerüst entsprechend, um eine möglichst geringe Energiebarriere zu erzielen. In Kombination mit einem elektronen-ziehenden-Substituenten am Stickstoff und der Kation Stabilisierung, konnte schlussendlich eine dem Naphtochinon ähnliche Energiebarriere ermittelt werden.

Damit konnten wir feststellen, dass der Abstand zwischen dem Carbonyl, das die Abstraktion initiieren sollte und der CH₂-Gruppe, von der das Proton abstrahiert werden sollte, die zentrale Komponente bei diesem System darstellt. Da die positiven spektroskopischen Eigenschaften mit dem Wechsel vom fünf-Ring-System auf das sechs-Ring-System jedoch wieder verloren gingen, wurde diese Gruppe von Molekülen nicht weiter untersucht und das Projekt mit den dargestellten Erkenntnissen abgeschlossen.

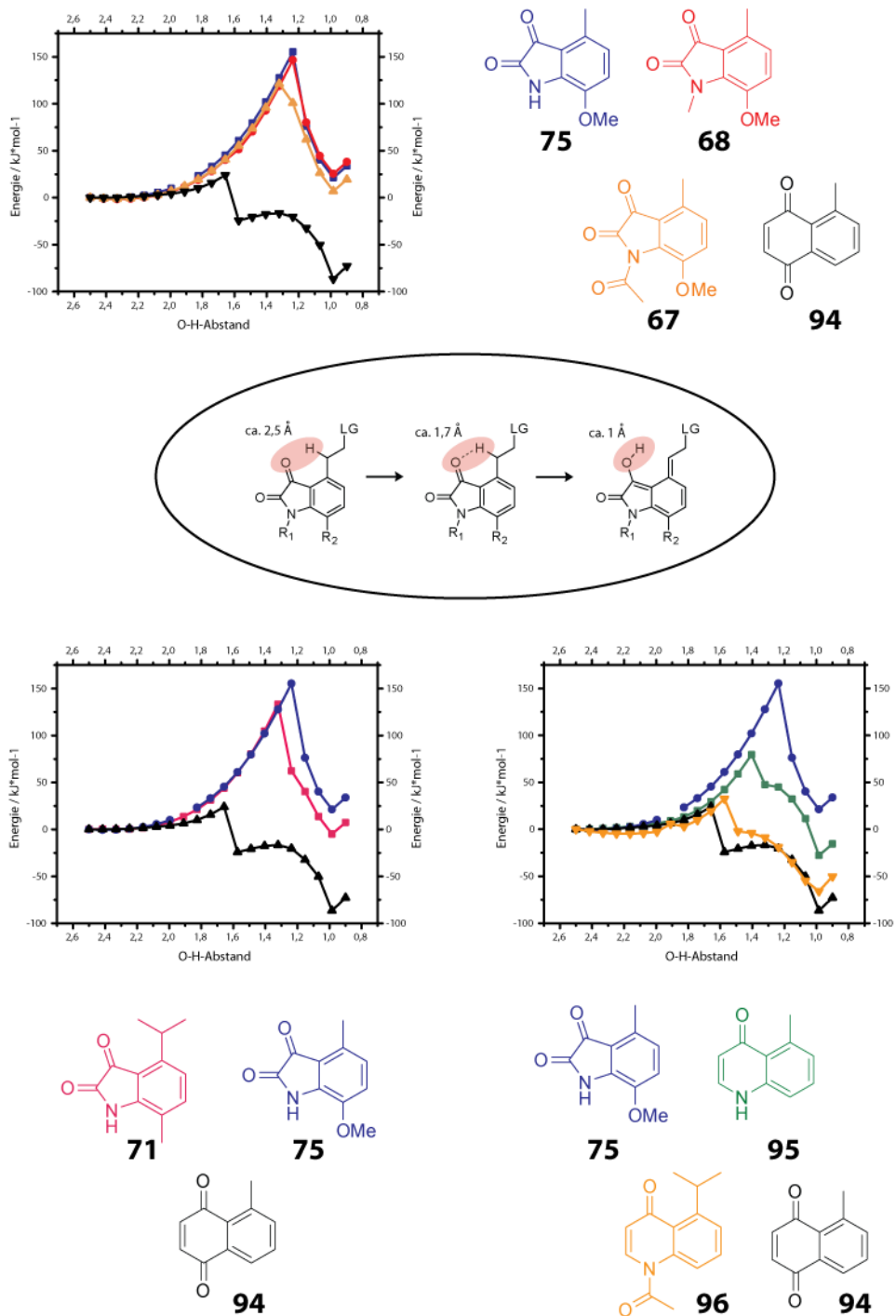


Abbildung 36: Energetische Barrieren einiger ausgewählter Beispiele. Die hohe Barriere im Bereich von 1,4 bis 1,1 Å entspricht dem Übergangszustand von der C-H zur O-H Verbindung. Die schwarze Linie entspricht der Naphtochinon Referenzverbindung. Es ist zu erkennen, dass die initiale Barriere deutlich geringer ist, als bei allen Isatin-Derivaten. Zur Verfügung gestellt durch M. Scheurer.

3.2.2 Fluorenole

Das Fluoren (**98**), als Basis des Fluorenols (**97**), besteht aus zwei Benzolringen, welche über einen Fünfring miteinander verknüpft sind und damit für eine optimale Überlappung der π -Orbitale sorgt. Die Grundstruktur des Fluorens fand ab dem Beginn der 80er Jahre vor allem den Einzug in den Bereich der Polymerchemie. Die durch dieses Gerüst induzierbare zusätzliche Starrheit des Polymers hat u.a. positive Effekte auf die thermischen Eigenschaften, was Vernon L. Bell im Jahre 1976 demonstrieren konnte.

Im Jahr 1985 veröffentlichten dann Peter Wan und Erik Krogh eine Studie über das photochemische Verhalten von Fluoren-9-ol (Fluorenol, **97**).^[149] Sie sprachen in ihrer Publikation erstmals über „Hinweise für ein aromatisches Kation im angeregten Zustand“, welches als Intermediat während der Photo-Solvolyse in verschiedenen wässrigen Lösungsmitteln (Methanol, Ethanol und Propan-1-ol jeweils einzeln gemischt mit Wasser) beobachtet werden konnte (siehe **Abbildung 37**). Sie bestrahlten das unsubstituierte Fluorenol mit Licht der Wellenlänge von 254 nm und analysierten die entsprechenden Photoprodukte per ^1H NMR, Massenspektrometrie und durch einen Vergleich der Absorptionsspektren der jeweiligen einzelnen Spezies. Als Schlussfolgerung ihrer Beobachtungen, schrieben sie, dass „die treibende Kraft der Photolyse die Bildung eines 4π kationischen Systems im angeregten Zustand sei“ („excited-state aromaticity“)^[150].

Dass dies eine ganz spezielle Eigenschaft des Fluorenol-Gerüsts ist, konnten sie vier Jahre später, im Jahr 1989, eindrücklich beweisen. Sie verglichen zahlreiche, strukturell ähnliche Moleküle in ihrem photochemischen Reaktions-Verhalten durch Bestrahlung und konnten an keinem der anderen Gerüst dieses spezielle „excited-state-aromaticity“ Verhalten beobachten.

Im Jahr 2018 mündeten die Forschungsarbeiten von Matiss Reinfelds und Mitarbeitern in einer Studie, die ausgehend vom literaturbekannten *para*-Diethylamino-benzyl-Photocage (DEAMb) durch verschiedene Optimierungsstrategien das Fluorenol ebenfalls als Photocage präsentierte (siehe **Abbildung 37**).^[44] Im ersten Schritt untersuchten sie den Einfluss verschiedener aromatischer Substituenten am DEACMb auf die spektralen Eigenschaften. Aus den daraus resultierenden Erkenntnissen bezüglich des sog. „*meta*-Effekts“^{[151],[152]} und mit der Unterstützung von theoretischen Rechnungen, mündete die Studie in einer Einschränkung der Rotation des entstandenen, vielversprechenden Gerüsts („conformational locking“) zur Optimierung der Relaxations-Wege vom angeregten Zustand. Diese Strategie zeigte sich bereits auch in neueren wissenschaftlichen Veröffentlichungen als erfolgreich.^[42]

Das nun erhaltene Fluorenol-Grundgerüst wurde zuletzt durch verschiedene Amino- und Aminoaryl-Substituenten modifiziert. Am Ende konnte diese Studie in einem neuen Photocage basierend auf dem Fluorenol-Grundgerüst münden, der eine *Uncaging*-Quantenausbeute von 42% aufweist. Lediglich das Absorptionsmaximum bei 329 nm war für biologische Anwendungen noch nicht optimal.

Beide Studien lieferten unabhängig voneinander starke Hinweise darauf, dass das aromatische Kation nach heterolytischer Abspaltung der Abgangsgruppe an der meso-Position das zentrale Intermediat dieser Photolyse-Reaktion ist. Um im Rahmen meiner Doktorarbeit nun neue, auf dem Fluorenol-Gerüst basierende Photocages zu entwickeln, überlegte ich mir, ausgehend von diesem Kation und derart ähnlichen Strukturen, neuartige heteroatomar substituierte Fluorenol-Strukturen als potentielle neue photolabile Schutzgruppen. Neben dem für Fluorenole typischen 6-5-6-Ringsystem, kam dabei auch das 5-5-5-Ringsystem für meine Untersuchungen in Frage, da dieses z.B. in Form einer Substitution mit Schwefel, immer noch aromatisch ist. Die folgenden Untersuchungen konnten im Rahmen einer Publikation im Journal Chemistry – A European Journal im Jahr 2021 publiziert werden.^[153]

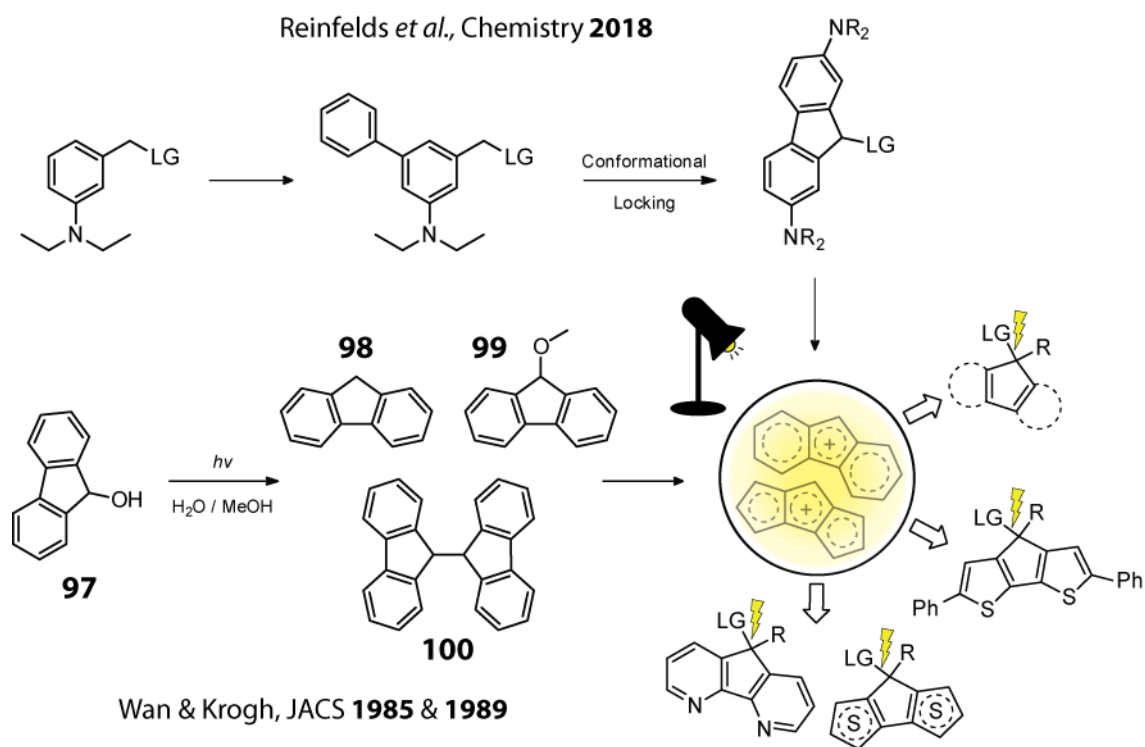


Abbildung 37: Die Fluorenol-Kation-Idee. Oben: Ausgehend vom meta-Diethylamino-benzyl-Photocages (mDEACb) wurden von M. Reinfelds *et al.* zunächst Aryl-Substituenten am Chromophor angebracht, um das Absorptionsspektrum bathochrom zu verschieben. Durch eine Einschränkung der Rotationsfreiheitsgrade im System („conformational locking“) gelangte man schließlich zu den Fluorenol-Grundstrukturen, die eine effiziente Photolyse aufwiesen. Unten: Die Untersuchungen zur Photochemie von Fluoren-Derivaten. Sie untersuchten verschiedene, strukturell ähnliche Verbindungen und identifizierten jeweils die Photoprodukte der Photolysereaktionen. Nach Auswertung ihrer Ergebnisse kamen sie zu dem Schluss, dass „die treibende Kraft der Photolyse die Bildung eines 4 π kationischen Systems im angeregten Zustand sei.“ Die Erkenntnisse aus diesen Studien mündeten in den Überlegungen zu diesem Projekt, in dem neuartige Photocages auf dem Fluorenol-Grundgerüst untersucht werden sollten.

Die so entstandenen Strukturvorschläge wurden nun von mir persönlich recherchiert, ein Synthesepan aufgestellt und synthetisiert. Einige der Derivate wurden unter meiner persönlichen Betreuung im Rahmen der Masterarbeit von Nils Kersten hergestellt. Zunächst sollten lediglich die Grundstrukturen der verschiedenen Derivate synthetisiert werden, um dann ihre photochemischen Eigenschaften zu vergleichen, ehe man mit weiteren Optimierungsschritten fortsetzt. Zeitgleich zur Synthese erfolgten theoretische Berechnungen unter der Leitung von Maximilian Scheurer, die auf einer Publikation von Arthur Winter und Mitarbeitern basierten (siehe **Abbildung 38**).^[154]

In dieser wissenschaftlichen Veröffentlichung untersuchten sie den Zusammenhang zwischen der vertikalen Energie-Lücke („vertical energy gap“) der beiden energetisch niedrigsten Energiehyperflächen von verschiedenen potenziell photo-aktivierbaren Substanzen. Neben der bekannteren Strategie, den energetisch ersten angeregten Zustand zu stabilisieren, um so eine effiziente Photoreaktion zu erzielen, verfolgten sie einen anderen Weg. Ihre Hypothese war, dass im Grundzustand destabilisierte Systeme ebenfalls einen geringeren energetischen Abstand zwischen Grundzustand und elektronisch angeregtem Zustand besitzen und somit eine so genannte konische Durchschneidung („conical intersection“) wahrscheinlicher wird, die zu einer höchst effizienten Photoreaktion führen kann (siehe **Abbildung 38**). Genau genommen wird also in einer Näherung der thermisch angeregte Übergangszustand in diese Betrachtung mit einbezogen, der einen Anhaltspunkt über die energetische Lage der verschiedenen Niveaus liefern kann.

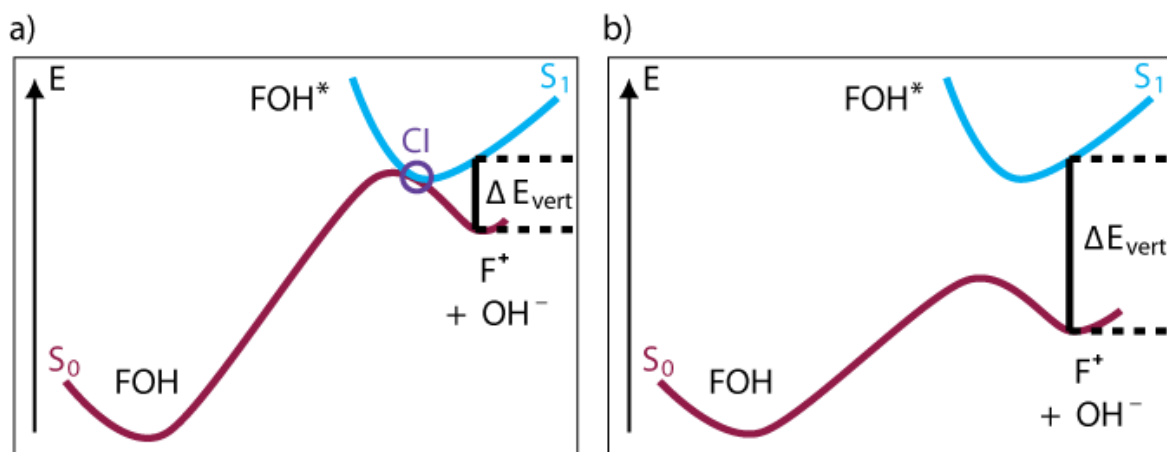


Abbildung 38: Modell der energetischen Zustände, durch die photochemische Anregung inklusive der vertikalen Energiebarriere („Vertical Energy Gap“). Nach Anregung des Fluorenols (FOH) aus dem elektronischen Grundzustand (S_0) gelangt das System in den S_1 Zustand, aus dem es potenziell über eine konische Durchschneidung (conical intersection, CI) in den elektronischen Grundzustand zurückkehren kann. Sobald es in den S_0 Zustand zurück gelangt, kann es entweder zur Ausgangsverbindung (FOH) über verschiedene Relaxationsprozesse gelangen oder die Photolyse (das „Uncaging“) findet statt. Abgeändert aus Winter et al.^[154]

Die *para*-azo und die *para*-Thio-Carbonyl-Ausgangsverbindung waren kommerziell erhältlich. Die Synthese der *meta*- und *ortho*-Verbindungen mussten von den entsprechenden Thiophen-Vorläufermolekülen entsprechend der Literatur dargestellt werden (siehe **Abbildung 39**).^[155] Der erste Schritt um die *meta*-Verbindung zu synthetisieren, war hierbei eine Kupfer(II)chlorid katalysierte Homo-Kupplung mit 3,4-Dibromthiophen. Anschließend erfolgt ein Brom-Lithium-Austausch bei tiefen Temperaturen und die finale Zyklisierung mit Dimethylcabamylchlorid. Die *ortho*-Verbindung wurde ähnlich synthetisiert, nach dem ausgehend von 3,3'-Bithiophen eine Bromierung mit N-Brom-Succinimid durchgeführt wurde, die zum 2,2'-Dibrom-3,3'-bithiophen führte, welches zuletzt nur noch zyklisiert werden musste.

Nachdem die Grundgerüste alle erhalten werden konnte, musste im nächsten Schritt die Anbringung einer Abgangsgruppe erfolgen, um das photochemische Verhalten nach Anregung und die entsprechende licht-induzierte Entschützungsreaktion (das „*Uncaging*“) untersuchen zu können. Dies erfolgte durch die Reduktion aller Carbonyl-Verbindungen mit Natriumborhydrid unter Eiskühlung und anschließender Umsetzung des aufgereinigten, sekundären Alkohols mit Acetylchlorid oder Essigsäureanhydrid. Als weitere Modifikation überlegten wir uns, dass eine Substitution an der Stelle des Moleküls, an der nach Photolyse ein Kation entstehen sollte, gegebenenfalls zu einer weiteren Verbesserung der photochemischen Eigenschaften führen könnte. Dazu wurden die beiden *para*-Carbonyl-Verbindungen mit verschiedenen Grignard-Reagenzien umgesetzt und anschließend aufgereinigt.

Um das Absorptionsspektrum der Verbindungen noch weiter bathochrom zu verschieben, wurden nach ersten Tests an den Grundgerüsten ebenfalls eine Bromierung entsprechend der Literatur an der *meta*-Position der *para*-Thioverbindung durchgeführt. Anschließende Suzuki Kupplungen mit diversen Boraten in einer Toluol/Ethanol/Wasser-Lösungsmittelmischung resultierten letztendlich in Derivaten, die ein deutlich bathochrom verschobenes Absorptionsspektrum aufweisen.

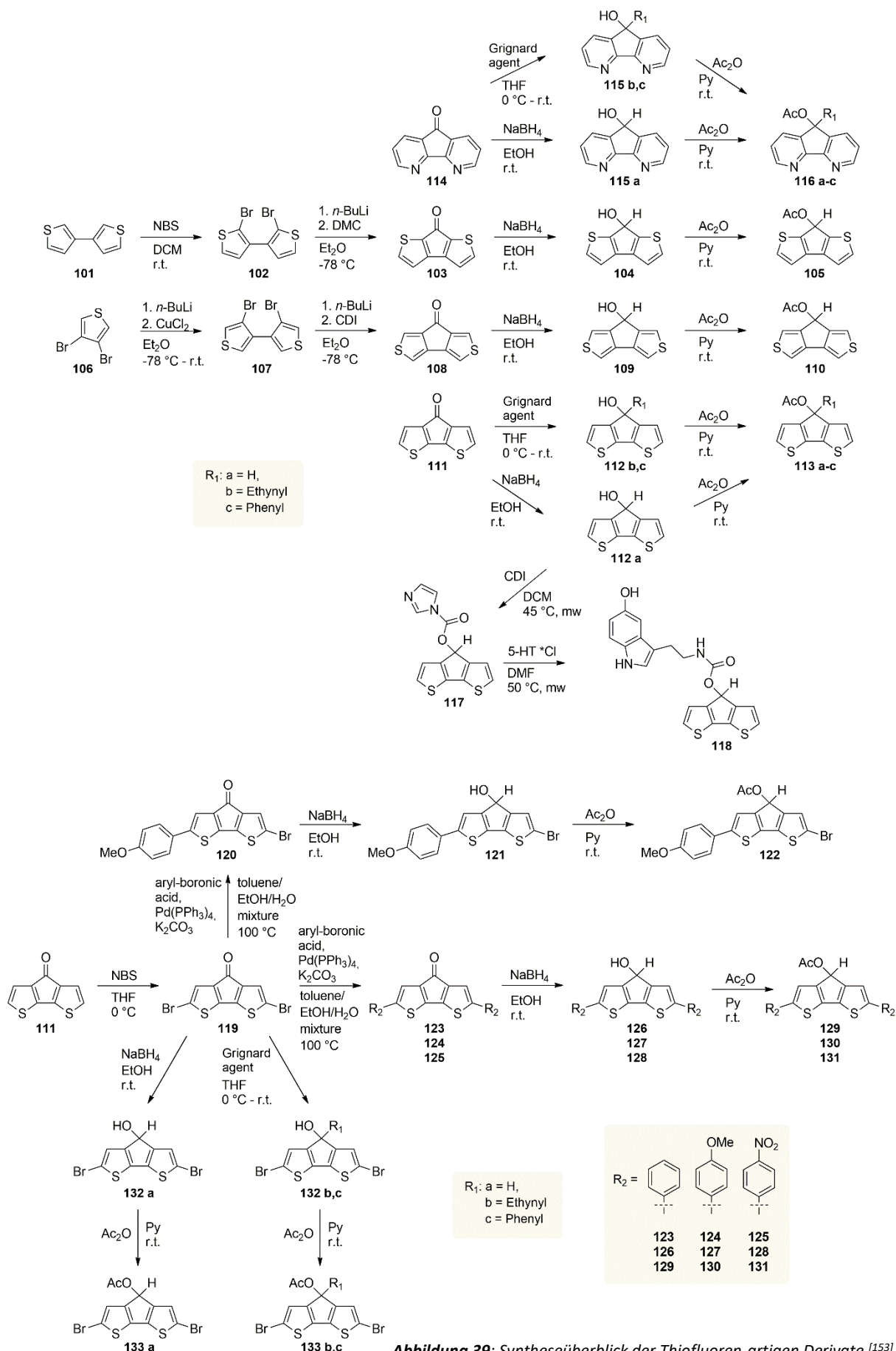


Abbildung 39: Syntheseüberblick der Thiofluoren-artigen Derivate.^[153]

Die Ergebnisse, die im Rahmen einer Publikation in 2021 veröffentlicht werden konnten, sind in **Abbildung 40** zu erkennen. In 40 a) sind die verschiedenen, berechneten vertikalen Anregungsenergien gezeigt. Hier zeigt sich unter anderem, dass alleine die Position des Schwefels im 5-5-5-Ringsystem zu starken energetischen Unterschieden führt. Im Vergleich zum unsubstituierten Fluorenol wies den Berechnungen zufolge das Stickstoff-Derivat eine höhere Anregungsenergie auf.

Die experimentellen UV/vis Absorptionsspektren, die in 40 b) gezeigt sind, zeigen diesen Trend ebenso eindrucksvoll. Auch hier ist zu erkennen, dass das *meta*-thio-Derivat die geringste Anregungswellenlänge besitzt. Das Absorptionsmaximum dieser Spezies liegt bei 300 nm. Mit geringfügig kleinerem Absorptionsmaximum folgen die drei Stickstoff-Spezies (Azafluorenole), gefolgt von der *ortho*-thio-Spezies. Die vielversprechendste Struktur mit der größten Anregungswellenlänge ist sowohl den theoretischen (in der die jeweiligen kationischen Strukturen betrachtet wurden) als auch der experimentellen Ergebnisse entsprechend das *para*-thio-Derivat.

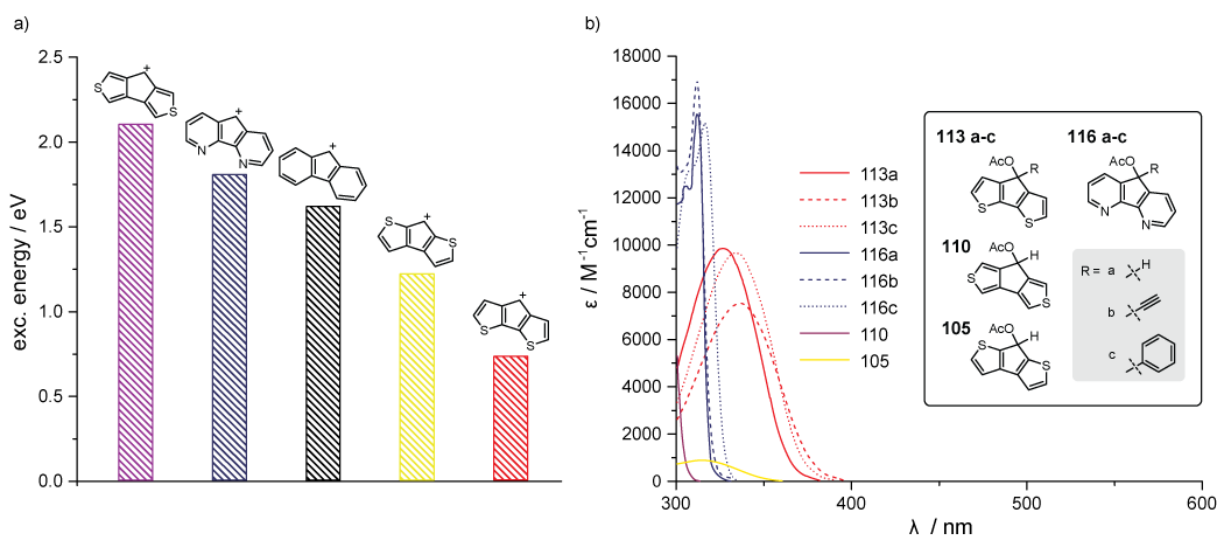


Abbildung 40: a: Berechnungen der vertikalen Anregungsenergien der verschiedenen Grundstrukturen in Wasser. Ausgehend von der Startverbindung Fluorenol (schwarz) konnten von theoretischer Seite sowohl positive (gelb und rot), als auch negative Einflüsse (violett und blau) durch die Einführung der Hetero-Atome in das Ringsystem beobachtet werden. b: UV/vis Spektren der verschiedenen Grundverbindungen und der Derivate mit Substituenten an der meso-Position. Hier ist deutlich erkennbar, dass die Derivate 1a bis 1c das bathochrom am stärksten verschobene Absorptionsspektrum aufweisen. Die Aza-Fluorenole zeigten eine Absorption unter 350 nm und waren aufgrund ihrer Reaktionsträgheit, auch synthetisch schwer zu modifizieren. Die meta-Thiofluorenol-Verbindung zeigte die hypsochrom am stärksten verschobene Absorption und die ortho-Verbindung einen extrem kleinen Extinktionskoeffizienten, wodurch sie ebenfalls für weitere Untersuchungen innerhalb dieser Studie nicht weiter in Betracht kamen.

Bei der Untersuchung der Photolyse-Effizienz, bzw. der so genannten „Uncaging Quantenausbeute“ mittels HPLC, zeigte das *para*-thio-Derivat **113a** mit 28% eine erstaunlich hohe Quantenausbeute bei der Bestrahlung mit einer LED bei 365 nm.

Da sich die Stickstoff-Derivate sowohl von ihren photochemischen Eigenschaften (Absorption nur im nahen UV-Bereich), als auch von der Modifizierbarkeit, aufgrund ihrer Reaktionsträgheit während der Synthese, als ungeeignet erwiesen, wurden diese Verbindungen nicht weiter untersucht. Alle relevanten Daten zu den Grundstrukturen sind ebenfalls Tabelle 1 zu entnehmen. In **Abbildung 41** ist der zeitabhängige Verlauf der Absorption durch Bestrahlung bei 365 nm zu erkennen. Die schwarze Linie entspricht dem Absorptionsspektrum ohne Bestrahlung, die rote Linie entspricht dem Absorptionsspektrum nach der erfolgten Bestrahlung mit der entsprechenden Wellenlänge.

Hier wird deutlich, dass sich auch nach 60 Minuten Bestrahlung am Absorptionsspektrum des *ortho*-Compounds **106** nichts verändert, während sich bei dem *para*-Derivat die Bildung einer neuen Spezies zeigt, die bei den gewählten, hohen Konzentrationen bei dieser Messung nach 70 Minuten nahezu abgeschlossen ist. Wichtig ist hierbei zu erwähnen, dass es auch eine Bestrahlung bei 310 nm bei dem *ortho*-Compound, was in etwa seinem Absorptionsmaximum entspricht, zu keiner signifikanten Veränderung im Absorptionsspektrum kam.

Bei der *para*-thio-Verbindung ist die Abnahme der Absorptionsbande bei ca. 330 nm klar erkennen, wobei eine neue Bande bei ca. 310 nm entstehen zu scheint. Somit konnte auch hiermit gezeigt werden, dass sich das *para*-Derivat als geeignetster Kandidat für die weitere Optimierungsstrategie darstellt, was ebenso im Einklang mit den theoretischen Berechnungen ist.

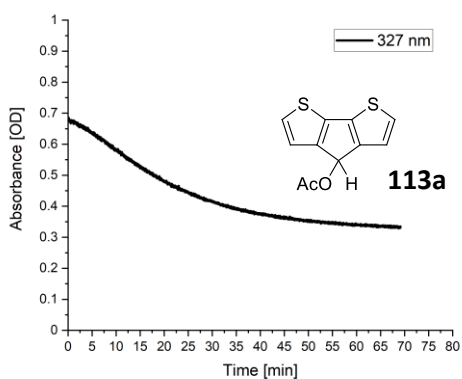
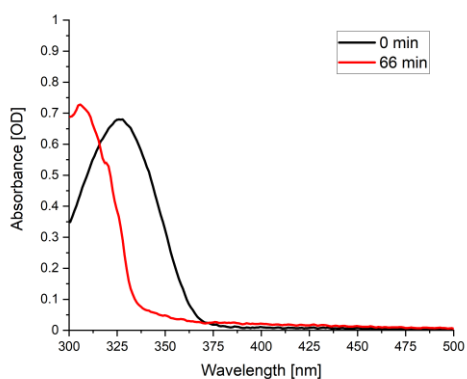
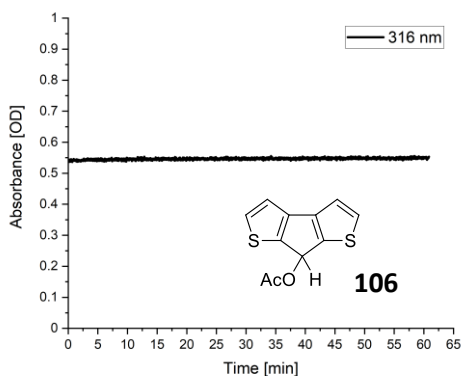
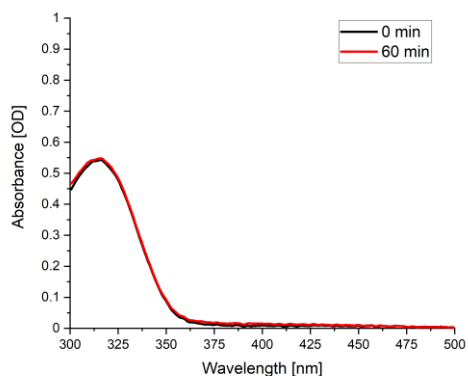


Abbildung 41: Absorptionsänderung während der Photolyse von zwei Thiofluorenone-Derivaten. Oben *ortho*-Thio-Fluorenone und unten *para*-Thio-Fluorenone, beide jeweils mit einer Acetyl-Gruppe als Abgangsgruppe. Links sind die entsprechenden Absorptionsspektren vor und nach der Belichtungszeit zu erkennen. Im Falle vom *para*-Thio-Derivat ist klar zu erkennen, dass das Absorptionsmaximum der Ausgangsverbindung verschwindet und eine neue, blau-verschobene Absorptionsbande bei ca. 310 nm entsteht. Rechts ist die Absorption bei einer Wellenlänge über den zeitlichen Verlauf aufgeführt.

Die spektroskopischen Eigenschaften der Basis-Verbindungen im ersten Optimierungsschritt sind noch einmal in **Tabelle 1** zusammengefasst. Hier ist zu erkennen, dass sowohl die Einführung eines Phenyl-Substituenten, als auch die eines Ethinyl-Substituenten an der *meso*-Position das Absorptionsspektrum um etwa 10 nm hin zu höheren Wellenlängen verschiebt. Der Extinktionskoeffizient bleibt in etwa in derselben Größenordnung. Im Falle der Azafluorenone ändert die Einführung des zusätzlichen Substituenten an der *meso*-Position nur marginal etwas am Absorptionsspektrum. Da das Absorptionsspektrum dieser Verbindungen sehr stark abfällt und bereits ab 330 nm keine signifikante Absorption mehr zu detektieren ist, wurde die Photolyse bei 365 nm bei den entsprechenden Verbindungen nicht untersucht. Eine Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 310 nm zeigte ebenfalls nur eine sehr geringe Photoreaktivität.

Dieser Fakt in Kombination damit, dass für biologische und biochemische Anwendungen Bestrahlungswellenlängen von unter 365 nm zu Zellschäden oder ungewünschten Photo-Cross-Linking-Reaktionen führen kann, ließ uns zu dem Schluss kommen, diese Substanzklasse innerhalb dieser Studie nicht weiter zu untersuchen und uns auf die *para*-thio-Derivate für die weitere Optimierung zu fokussieren.

Tabelle 1. Photochemische Eigenschaften der verschiedenen Grundgerüste und ihrer Derivate mit <i>meso</i> -Substituenten. ^[a]					
Verbindung (Compd.)	λ_{\max} [nm]	$\epsilon_{\lambda_{\max}}$ [M ⁻¹ cm ⁻¹]	ϵ_{365} [M ⁻¹ cm ⁻¹]	Φ_{365} [%]	$\epsilon\Phi_{365}$ ^[b] [M ⁻¹ cm ⁻¹]
113a	326	9870	856	28	240
113b	336	7540	2763	20	553
113c	333	9670	2219	7.9	175
116a	312	15530	<1	n.d.	n.d.
116b	312	16960	<1	n.d.	n.d.
116c	316	15190	<1	n.d.	n.d.
110	300	5310	<1	n.d.	n.d.
105	314	880	8	n.d.	n.d.

[a] Alle Messungen wurden in einem Lösungsmittelgemisch aus 20% 0.1 M PBS Puffer und 80% MeOH durchgeführt. [b] Quantenprodukte (Uncaging cross section, $\epsilon\Phi$). n.d. = nicht bestimmt (not determined).

Weitere Einflüsse durch *meso*-Substitutionen, die einen Einfluss auf die Kation-Stabilität haben sollten, konnten zwar beobachtet werden, jedoch zeigten sie keinen klar erkennbaren Trend, weshalb der Fokus der folgenden Untersuchungen auf der bathochromen Verschiebung des Absorptionsmaximums mittels Aryl-Substituenten liegen sollte, um den Einsatz im biologischen bzw. biochemischen Kontext zu ermöglichen. Dazu sollten in Anlehnung an die Literatur verschiedene Suzuki-Kupplungen an der bromierten Grundverbindung durchgeführt werden. Die Reaktionsbedingungen waren bei allen Ansätzen ähnlich.

Es wurden Pd(PPh₃)₄ als Katalysator, Kaliumcarbonat als Base und die entsprechende Phenyl-Boronsäure in einer Lösungsmittelmischung aus Toluol, Ethanol und Wasser in der Siedehitze zur Reaktion gebracht. Die Aufreinigung erfolgte mittels Säulenchromatographie. Um den Einfluss der im System vorhandenen Elektronendichte auf die photochemischen Eigenschaften der verschiedenen Verbindungen zu untersuchen, entschieden wir uns für verschiedene elektronenarme bzw. elektronenreiche Phenyl-Substituenten, da diese in einer vergleichbaren Studie schon eine deutliche Verschiebung des Absorptionsmaximums aufzeigen konnten. Unsere Wahl fiel konkret auf das *para*-Nitro-Phenyl, das Phenyl und das *para*-Methoxy-Phenyl als Substituenten an der dem Schwefel benachbarten α -Position.

Es wurden sowohl symmetrische als auch asymmetrische Verbindungen synthetisiert (siehe **Abbildung 42**). Letztere wurden als Enantiomergemisch für die weitergehende photochemische Analyse verwendet. Zusätzlich wurde eine weitere Abgangsgruppe am Grundgerüst angebracht, um die Photolyse eines biochemisch relevanten Neurotransmitters (Serotonin, 5-Hydroxytryptamin, 5-HT) zu demonstrieren. Die Verknüpfung des Neurotransmitters Serotonin mit dem Photocage erfolgte über einen Carbamat-Linker und wurde über eine zweistufige, mikrowellen-assistierte Reaktion synthetisiert. Nähere Reaktionsbedingungen sowie Informationen zu den verwendeten Geräten können dem Anhang (Material & Methoden) entnommen werden.

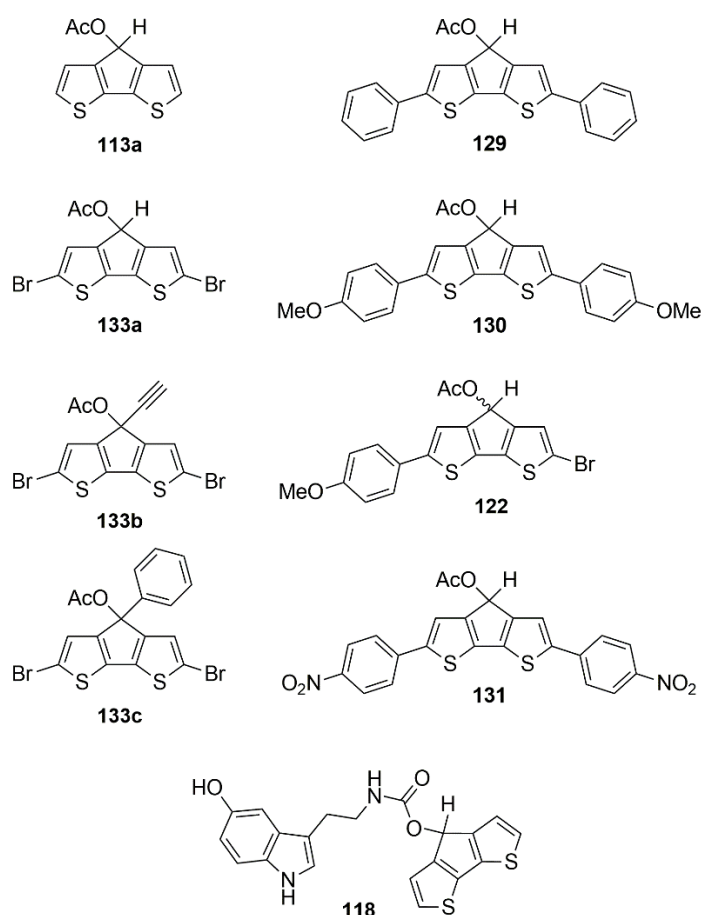


Abbildung 42: Übersicht der Thiofluoreneol-Grundstruktur **113a** und allen α -Position-substituierten Thiofluoreneol-Derivaten. Die Darstellung dieser Strukturen erfolgt über eine Palladium-katalysierten Suzuki-Kreuzkupplungen mit Arylboranen. Weitere Details sind dem Experimentalteil zu entnehmen. Durch die Anbringung von Phenyl-Substituenten an dieser Position kann ein bathochromer Shift der Absorptionswellenlänge erzielt werden. Der Effekt der Substitution von Brom an dieser Stelle sollte innerhalb dieser Studie ebenfalls untersucht werden. Die selektive Bromierung an der α -Position zum Schwefel-Atom kann mit Hilfe von *N*-Bromsuccinimid (NBS) erfolgen. Weitere Informationen sind dem Experimentalteil zu entnehmen.

Wie in **Tabelle 2** zu erkennen ist, bewirkt allein die zweifache Bromierung am Grundgerüst schon eine bathochrome Verschiebung der Absorption um ca. 20 nm. Durch die Anbringung der phenylischen Substituenten kann das Maximum der Absorption über den Wert von 365 nm gebracht werden. Die Extinktionskoeffizienten erhöhen sich dadurch in etwa um das Zwei- bis Dreifache der Ausgangsverbindung. Zwar nimmt die Quantenausbeute des *Uncagings* in allen Fällen ab, was mit den zusätzlichen Rotationsfreiheitsgraden erklärt werden kann, die durch diese Substitution in dem System ermöglicht werden, dennoch ist die mit dem Verbindung **130** eine effiziente Photolyse bei über 400 nm möglich.

Da gezeigt werden konnte, dass das grundlegende System ebenfalls dazu in der Lage ist Serotonin als Neurotransmitter abzuspalten, ergibt sich somit die Möglichkeit mit diesen neuartigen Konstrukten photochemische Kontrolle im Bereich von über 400 nm in biochemische bzw. biologische Systeme einzuführen.

Tabelle 2. Photochemische Eigenschaften der bathochrom verschobenen Verbindungen.										
Cmpd.	R ₁ , R ₂ , R ₃	Berechnete Daten					Experimentelle Daten			
		Anregungsenergie (S ₁) [eV]	λ (S ₁) [nm]	Oszillator Stärke ^[b]	λ _{max} [nm]	ε _{λmax} [M ⁻¹ cm ⁻¹]	ε ₃₆₅ [M ⁻¹ cm ⁻¹]	Φ ₃₆₅ [%]	εΦ ₃₆₅ ^[c] [M ⁻¹ cm ⁻¹]	εΦ ₄₀₅ ^[c] [M ⁻¹ cm ⁻¹]
113a	H, H, H	3.99	310	0.33	326	9870	856	28	240	n.d.
133a	Br, Br, H	3.77	329	0.52	349	16329	11837	1.5	178	n.d.
133b	Br, Br, Et	3.69	336	0.46	358	11805	11082	3.1	344	n.d.
133c	Br, Br, Ph	3.69	336	0.44	355	11867	10551	7.9	834	n.d.
129	Ph ^[a] , H	3.31	374	1.15	394	17759	11311	4.6	520	755
122	Br, MeOPh, H	3.46	358	0.92	378	29200	26568	3.9	1036	625
130	MeOPh ^[a] , H	3.25	382	1.28	403	18291	9078	4.9	445	893
131	NO ₂ Ph ^[a] , H	2.99	415	1.68	455	17769	2006	n. r. ^[d]	n. r. ^[d]	n. r. ^[d]

Alle Messungen wurden in einem Lösungsmittelgemisch aus 20% 0.1 M PBS Puffer und 80% MeOH durchgeführt. [a] R₁ = R₂ [b] Alle Übergänge sind vom π-π* Charakter. [c] Quantenprodukte (Uncaging cross section). [d] Verbindung zeigte keine Photoreaktion nach Bestrahlung bei 365, 405 und 455 nm Bestrahlung.

Verbindung **131**, die von allen Verbindungen dieser Studie das bathochrom maximal verschobene Absorptionsspektrum aufweist, zeigte leider weder bei Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 365 nm, noch bei 405 nm oder 450 nm eine Photoreaktion. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass sich eine Art Ladungsumverteilung nach Anregung ergibt (charge-transfer), wodurch die Elektronendichte im System auf die beiden äußeren Phenyl-Ringe geschoben wird und im Zentrum des Molekül keine ausreichende Elektronendichte vorherrscht, um die Photolyse zu begünstigen. Dies lässt sich auch anhand **Abbildung 43** zeigen, bei der das Absorptionsspektrum des Bis-Methoxy-Phenyl-Compounds vor und nach Belichtung zu sehen ist. Darunter ist zu erkennen, dass sich durch Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge von 450 nm keine Photoreaktion dieser Verbindung zeigt.

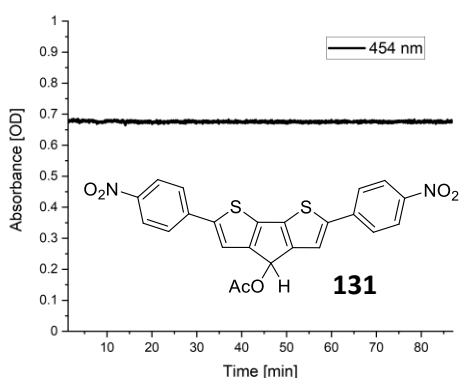
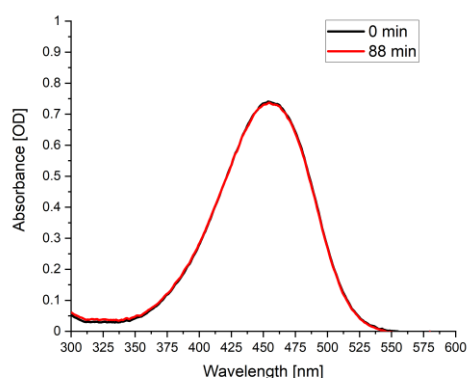
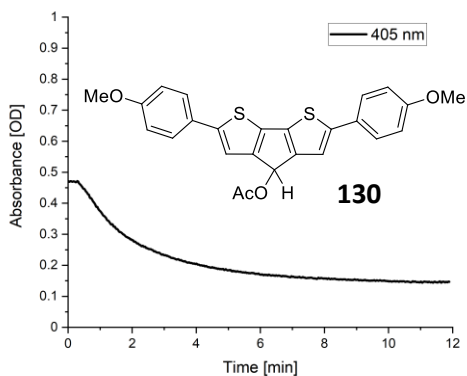
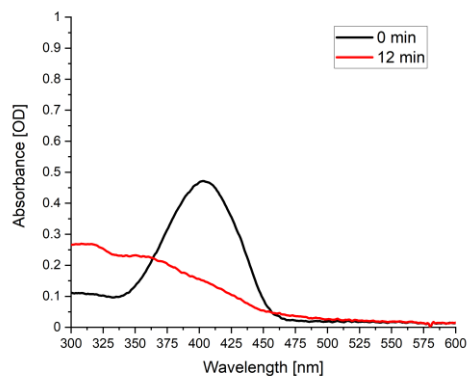


Abbildung 43: Absorptionsänderung während der Photolyse von zwei bathochrom verschobenen Thiofluoreno-Derivaten. Oben Bis-*para*-methoxyphenyl-*para*-Thio-Fluoreno-ol und unten Bis-*para*-nitrophenyl-*para*-Thio-Fluoreno-ol, beide jeweils mit einer Acetyl-Gruppe als Abgangsgruppe. Links sind die entsprechenden Absorptionsspektren vor und nach der Belichtungszeit zu erkennen. Im Falle vom Bis-Methoxyphenyl-Derivat ist klar zu erkennen, dass das Absorptionsmaximum der Ausgangsverbindung verschwindet und eine neue, blau-verschobene Absorptionsbande bei ca. 350 nm entsteht. Rechts ist die Absorption bei einer Wellenlänge über den zeitlichen Verlauf aufgeführt. Hierbei ist oben nach etwa 30 Sekunden (Zeitpunkt des Beginns der Photolyse) eine Abnahme der Absorption bei 405 nm zu erkennen. Unten bleibt die Absorption nahezu konstant.

Bei den hier vorliegenden Bedingungen konnte die vollständige Photolyse der Bis-Methoxy-Phenyl Verbindung in wässriger, methanolischer Lösung schon nach etwa 9 Minuten beobachtet werden. Man kann erkennen, dass das Absorptionsmaximum bei 400 nm abnimmt und sich vermutlich eine oder sogar zwei neue Spezies ausbilden, die eine Absorptionsbande bei 350 nm und bei ca. 315 nm aufweist.

In **Abbildung 44** sind alle Absorptionsspektren der bathochrom verschobenen Verbindungen separat aufgeführt. Als Vergleich dient in Rot die *para*-thio-Ausgangsverbindung. Hier sieht man deutlich, dass die spektralen Eigenschaften dieses Systems in zwei Dimensionen optimiert werden konnten.

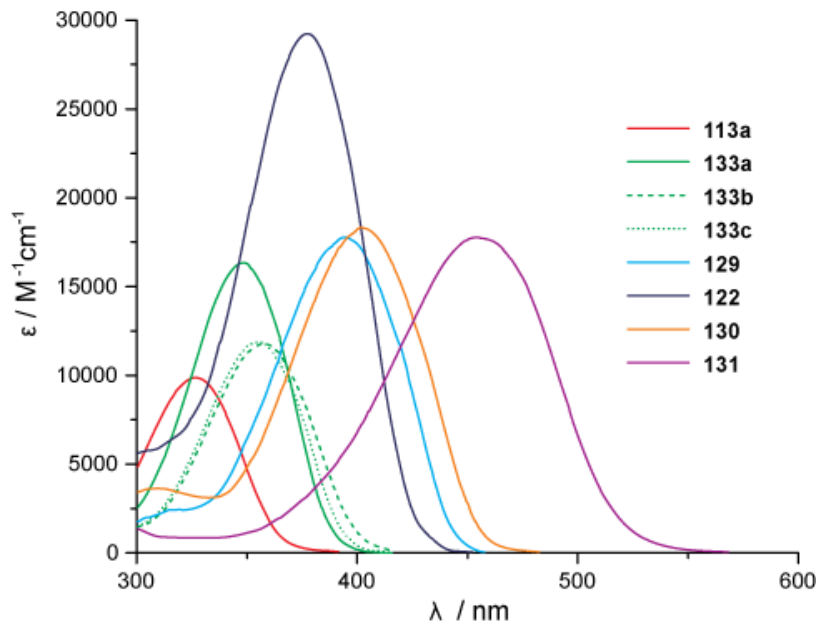


Abbildung 44: Absorptionsspektren der bathochrom verschobenen Derivate. Als Vergleich ist die Grundverbindung 1a (rote Linie) ebenfalls mit aufgeführt. Es ist zu erkennen, dass selbst eine zweifache Bromierung bereits zu einer Verschiebung des Absorptionsmaximums führt. Den höchsten Extinktionskoeffizienten (dunkelblaue Linie) weist das asymmetrisch substituierte Derivat auf, welches auf der einen Seite einen Brom-Substituenten und auf der anderen Seite eine para-Methoxyphenyl Gruppe trägt. Das Derivat mit der höchsten Absorptionswellenlänge (violette Linie) absorbiert zwar bis über 500 nm, zeigte jedoch keine Photolyseaktivität. In Kombination aus Photolyse und Absorptionsbereich stellt das Bis-para-Methoxyphenyl substituierte Derivat die beste Verbindung dieser Studie dar.

Das Diagramm in **Abbildung 45** zeigt die Photolyse der mit Serotonin als Abgangsgruppe (Rechtecke) ausgestatteten Grund-Verbindung inklusive Fehlerbalken dreier voneinander unabhängiger Messreihen. Gleichzeitig zum Verschwinden des Absorptionssignals der Ausgangsverbindung, konnte die Entstehung bzw. Freisetzung des Serotonins (Kreise) mit Hilfe seiner charakteristischen Absorption via HPLC detektiert werden. Die jeweilige Menge wurde per HPLC-Analyse mit Hilfe eines internen Standards (Uridin) bestimmt. Hierbei waren der Edukt- und der Produkt-Peak durch eine stark unterschiedliche Retentionszeit deutlich voneinander separiert.

Zu erkennen ist hier, dass schon nach etwas mehr als zwei Minuten bereits die Hälfte der Verbindung photolysiert ist und somit ebenfalls die Hälfte der Menge an Serotonin freigesetzt werden konnte. Nach etwa zwölf Minuten ist die Probe vollständig photolysiert. Dies macht den Einsatz dieses neuartigen Cages z.B. für Anwendungen im Bereich der Neurowissenschaften möglich.

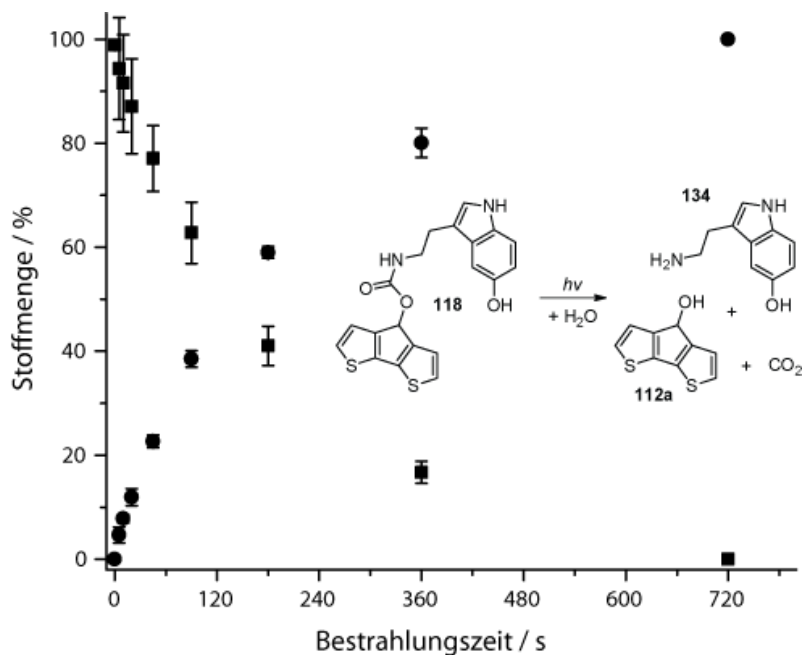


Abbildung 45: Abnahme des Startmaterials (Vierecke) und Zunahme des freien Serotonins (Kreise) durch Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 365 nm. Bestimmt über HPLC mit Hilfe des internen Standards Uridin. Die Fehlerbalken resultieren aus drei voneinander unabhängigen Messreihen.

Die **Abbildung 46** wurde freundlicherweise von C. Abdellaoui zur Verfügung gestellt und ist ebenfalls Bestandteil der Veröffentlichung „Re-Thinking Uncaging: A New Antiaromatic Photocage Driven by a Gain of Resonance Energy“. In dieser Abbildung werden vor allem die verschiedenen Verbindungen und ihr Absorptionsverhalten vor und nach Photolyse miteinander verglichen. Dies kann Rückschlüsse darauf geben, wie effizient die einzelnen Photolysen in Bezug zueinander sind und lässt Aussagen über ähnliche Photoprodukte zu.

Gut zu erkennen ist in **Abbildung 47** (ebenfalls zur Verfügung gestellt von C. Abdellaoui), dass alle drei Verbindungen nach Photolyse eine Spezies mit einem Absorptionsmaximum bei ca. 310 nm aufweisen. Verbindung P7a entspricht dem Grundkörper mit einer Hydroxy-Gruppe (OH) an der *meso*-Position. Mit Hilfe dieser Untersuchung konnte bestätigt werden, dass es sich beim Photoprodukt bei der Photolyse dieser Compounds neben der OH-Verbindung um eine weitere Spezies handeln muss. Um genau diese Photoprodukte dieser Spezies weiter zu identifizieren, untersuchten wir in einer weiteren Studie die Photoprodukte ähnlicher Verbindungen, auf die im nächsten Kapitel eingegangen werden soll.

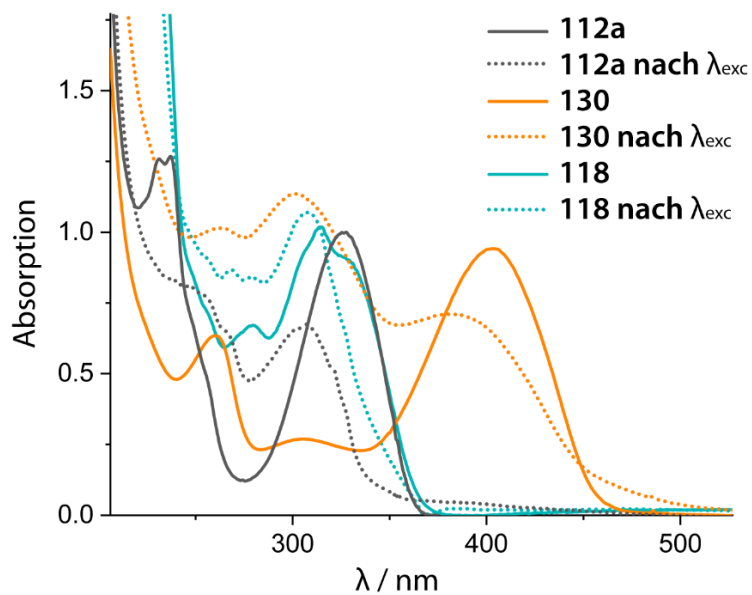


Abbildung 46: Absorptionsspektren der verschiedenen Fluoren-Derivate vor (durchgezogene Linien) und nach (gepunktete Linien) Bestrahlung mit 365 nm. In allen Fällen ist ein hypsochromer Shift der Absorption zu beobachten. In allen Fällen kommt es zur Ausbildung einer neuen bzw. intensiveren Absorptionsbande bei ca. 300 nm. (zur Verfügung gestellt durch C. Abdellaoui AK Wachtveitl)

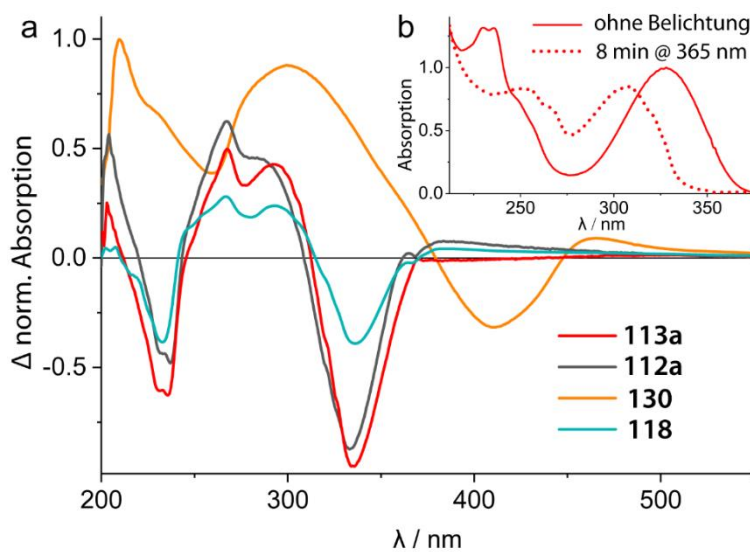


Abbildung 47: Differenzspektren der verschiedenen Derivate. Zu erkennen ist, dass bei den drei Spezies 1a, P7a und 10 unter anderem ein ähnliches Photolyseprodukt mit einer Absorption im Bereich von 290 nm entsteht. Dies lässt Rückschlüsse auf ein ähnliches Photolyseverhalten und somit auch auf ähnliche Photoprodukte zu, die im Rahmen dieser Studie jedoch nicht weiter analysiert wurden. (zur Verfügung gestellt durch C. Abdellaoui vom AK Wachtveitl)

3.2.3 Fluorenol-Kation

Wie bereits im vorherigen Kapitel beschrieben, beobachteten Wan und Krogh bereits im Jahre 1985 die Existenz eines aromatischen Kations im angeregten Zustand nach Bestrahlung des Fluorenol-Grundgerüsts in wässriger Lösung und erweiterten das Verständnis über dieses System erneut im Jahre 1989.^[156] Im Laufe der Jahre untersuchten ebenso andere Arbeitsgruppen dieses Grundgerüst weitergehend und konnten u.a. bereits aufklären, dass es je nach Reaktionsbedingungen sowohl zu einer homolytischen als auch zu einer heterolytischen Bindungspaarspaltung kommen kann (siehe **Abbildung 48**).^{[157],[158]} Aufgrund der Vorarbeiten durch Reinfelds *et al.*^[44] und den weiteren Erkenntnissen durch die Arbeit von Hermanns *et al.*^[153] rückte das Fluoren-Grundgerüst auch an unserem Institut wieder stärker in den Fokus.

Unser Ziel in diesem Projekt war es, diese höchst interessante Spezies und seine photochemischen Eigenschaften mit gezielten photochemischen Experimenten, sowie mit der Hilfe der zeitaufgelösten Spektroskopie und theoretischen Berechnungen genauer zu untersuchen und letzten Endes zu verstehen. In Zusammenarbeit mit Chahinez Abdellaoui aus der Gruppe von Prof. Dr. Josef Wachtveitel und Maximilian Scheurer aus der Gruppe von Prof. Dr. Andreas Dreuw, gelang es uns viele neue Erkenntnisse über das „*Uncaging*“ und die Intermediate während der Photolyse von Fluorenol-Derivaten zu gewinnen.^[159] Ein besonders langlebiges Intermediat zog dabei während der Untersuchungen unsere besondere Aufmerksamkeit auf sich.

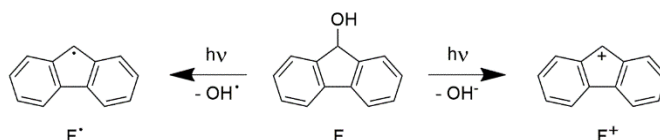


Abbildung 48: Photolyseverhalten von literaturbekannten Fluorenol-Derivaten. Es sind sowohl Studien bekannt, in denen ein, durch homolytische Bindungspaarspaltung, radikalisches Verhalten beobachtet werden konnte, als auch ein, durch heterolytische Bindungspaarspaltung, ionisches Verhalten der Photoprodukte beobachtet werden konnte. Angelehnt an Gaillard *et al.*^[149]

Die entstehenden Photoprodukte während einer Photolyse existieren im Normalfall lediglich auf sehr kurzen Zeitskalen und sind nur mit besonderen Techniken identifizierbar.^[160] Im Allgemeinen werden sämtliche ionische Zwischenprodukte und Intermediate kurz nach ihrem Entstehen durch das Lösungsmittel hydrolysiert bzw. „abgefangen“.^{[12][161]} Damit sind vor allem in polaren, protischen Lösungsmitteln solche Spezies im Allgemeinen sehr kurzlebig.^{[12][160]} Im Fall des Fluorenol-Intermediats vermuteten jedoch schon Reinfelds *et al.* in ihren Untersuchungen fest, dass es eine Spezies geben muss, die mehrere Minuten lang stabil sein muss und die auch mit anderen Nucleophilen in polaren Lösungsmitteln abgefangen werden konnte.^[44]

An diesem Punkt wollten wir im Rahmen dieses Projekts ansetzen. Der Großteil der Messungen auf der Kurzzeit- und Ultrakurzzeit-Skala wurden von Chahinez Abdellaoui durchgeführt. Die finale Identifikation mittels chromatographischer Auftrennung und anschließender Analyse mittels Massenspektrometrie erfolgte durch meine Arbeit. Zusammen ist es uns gelungen drei charakteristische Photoprodukte durch UV/Vis Absorption und Massenspektrometrie nachzuweisen, die in **Abbildung 49** zu erkennen sind. Zusätzlich dazu wurden theoretische Berechnungen von C. Abdellaoui durchgeführt, die ebenso zu den entsprechenden Verbindungen passen.

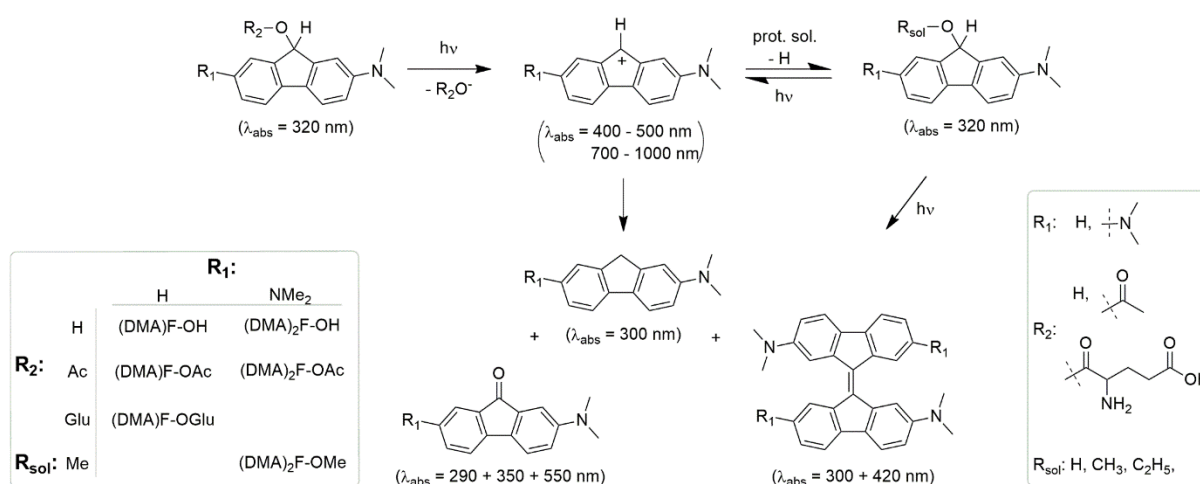


Abbildung 49: Modell der Photolyse inklusive der analysierten Photoprodukte. Nach Photochemischer Anregung ist das Fluoren Molekül dazu in der Lage eine Abgangsgruppe (Leaving Group, LG) in protischen Lösungsmitteln an der meso-Position durch heterolytische Bindungspaarspaltung abzuspalten. Das entstehende, sehr langlebige Kation kann entweder zu verschiedenen stabilen Photoprodukten abreagieren oder mit einem Solvens-Molekül eine neue Verbindung bilden. Dieser Prozess kann jedoch durch Photolyse rückgängig gemacht werden.

Zum einen entsteht durch die Photolysereaktion ein Fluoren-Derivat, welches an der meso-Position zwei Wasserstoffatome trägt. Nach bisher vermutetem Verständnis der Photoreaktion, kann dieses jedoch nur entstehen, wenn ein Hydrid zur Verfügung steht. Alternativ wäre, wie bereits beschrieben, ein radikalischer Mechanismus denkbar, der zu diesem Photoprodukt führen könnte. Eine radikalische Spezies konnte jedoch innerhalb dieser Studie auch mit Hilfe der EPR-Spektroskopie nicht nachgewiesen werden. An diesem Punkt sollten zukünftige Untersuchungen ansetzen, Daneben konnte ein Fluoren-detektiert und isoliert werden, welches an der meso-Position eine Carbonylfunktion trägt. Dies könnte auf eine Reaktion eines Intermediats mit einem Lösungsmittelmolekül sprechen oder für eine thermodynamisch begünstigte Umlagerung des Moleküls. Im Laufe der weiteren Untersuchungen stellte sich das Carbonyl-Derivat als eine Art Endprodukt der photochemischen Prozesse dar.^[159]

Die sp^2 -Hybridisierung ist an dieser Stelle höchstwahrscheinlich thermodynamisch begünstigt, da sie eine durchgehende Konjugation des Systems und damit die noch bessere Verknüpfung der beiden Benzolringe ermöglicht. Die dritte Spezies, die identifiziert werden konnte, scheint nach aktuellem Stand der Kenntnis dem Fluoren-Dimer zu entsprechen. Dies entspricht auch ähnlichen Beobachtungen in der Literatur.^[156] Dabei wird in unserem Fall ebenfalls ein sp^2 -hybridisiertes Kohlenstoffatom an der *meso*-Position begünstigt. Durch das nun deutlich vergrößerte aromatische System kann auch die neu auftretende Absorptionsbande bei 420 nm erklärt werden.

Eine weitere Beobachtung, die während der Bestrahlung einiger in dieser Studie verwendeter Fluoren-Derivate erfolgte, ist das Auftreten von besonders ausgeprägten, neuen Absorptionsbanden während der Photolysereaktion. Wie in **Abbildung 50** zu erkennen ist, besitzt das zweifach symmetrisch substituierte Fluorenol im thermischen Grundzustand lediglich eine Absorptionsbande bei ca. 365 nm. Schon nach einer Minute Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 365 nm kann das Aufkommen neuer, temporärer Absorptionsbanden beobachtet werden. Diese sind bei ca. 430 nm und im Bereich von über 700 bis 1000 nm im elektromagnetischen Spektrum lokalisiert.

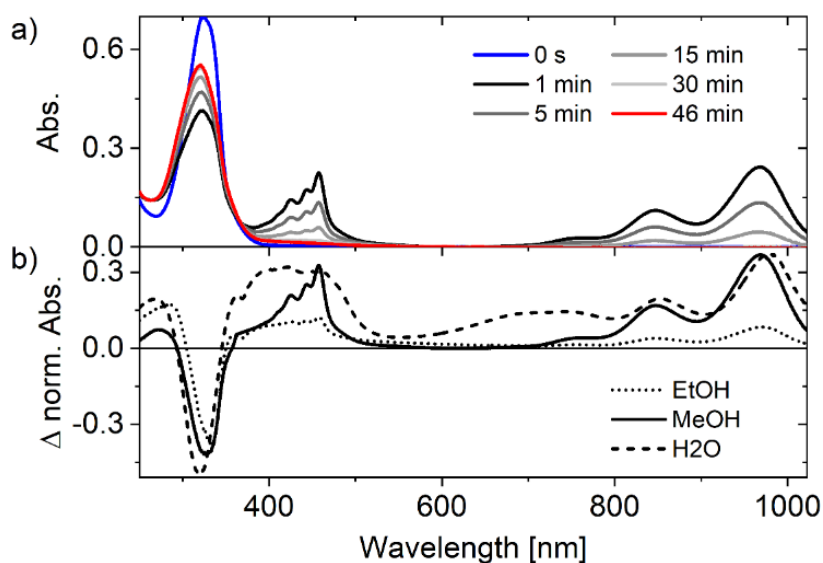


Abbildung 50: Absorptionsverhalten des zweifach substituierten DDMA-Fluorenols in methanolischer Lösung. Ausgehend vom ursprünglichen Absorptionsspektrum (blau) zeigt die untersuchte Verbindung bereits nach einer Minute Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 365 nm ein höchst interessantes Verhalten auf. Zu erkennen ist die Ausbildung neuer Absorptionsbanden sowohl im Bereich von ca. 420 nm, als auch im Bereich zwischen 700-1000 nm. Hervorzuheben ist hierbei die besondere Feinstruktur der Absorptionsbanden, die eventuell auf die Schwingungsfeinstruktur zurückzuführen sind. Selbst nach über 30 Minuten Bestrahlung sind diese Absorptionsbanden noch zu erkennen. Dieses Verhalten konnte unabhängig voneinander sowohl in Ethanol, in Methanol und in Wasser beobachtet werden, was für eine besondere Stabilisierung dieses Intermediats in polaren, protischen Lösungsmitteln spricht.

Das besondere an diesen Absorptionsbanden ist, neben dem temporären Auftreten, ebenfalls die Feinaufspaltung, die bei ähnlichen Systemen Schwingungszuständen zugeordnet werden konnte. Auch nach über 30 Minuten Bestrahlung können diese expliziten Absorptionsbanden noch im Spektrum in protischen Lösungsmitteln beobachtet werden. Dieses Verhalten konnte in Ethanol, in Methanol und in Wasser nachgewiesen werden. Bemerkenswert ist ebenso der dramatische Unterschied zwischen den photochemischen Eigenschaften des symmetrischen Bis-Dimethylamino-Fluorens- und des Dimethylamino-Fluorens, welcher innerhalb dieser Studie aufgezeigt werden konnte. Hervorzuheben ist hierbei vor allem der Unterschied der *uncaging* Quantenausbeuten zwischen den beiden Derivaten. Im Falle von Hydroxid als Abgangsgruppe, liegt die Quantenausbeute beim symmetrischen Derivat bei 67% und beim asymmetrischen Derivat bei nur 28%.^[159]

Im weiteren Verlauf dieser Studie untersuchten wir das photochemische Verhalten der symmetrischen und asymmetrischen Fluoren-Verbindungen, sowie die dabei auftretenden Intermediate mittels IR- und transientser Absorptionsspektroskopie noch detaillierter. Innerhalb der IR-Messungen (siehe **Abbildung 51**) konnte der zu erwartende Abfall der Signalintensität der jeweiligen Abgangsgruppen durch die Bestrahlung beobachtet werden.

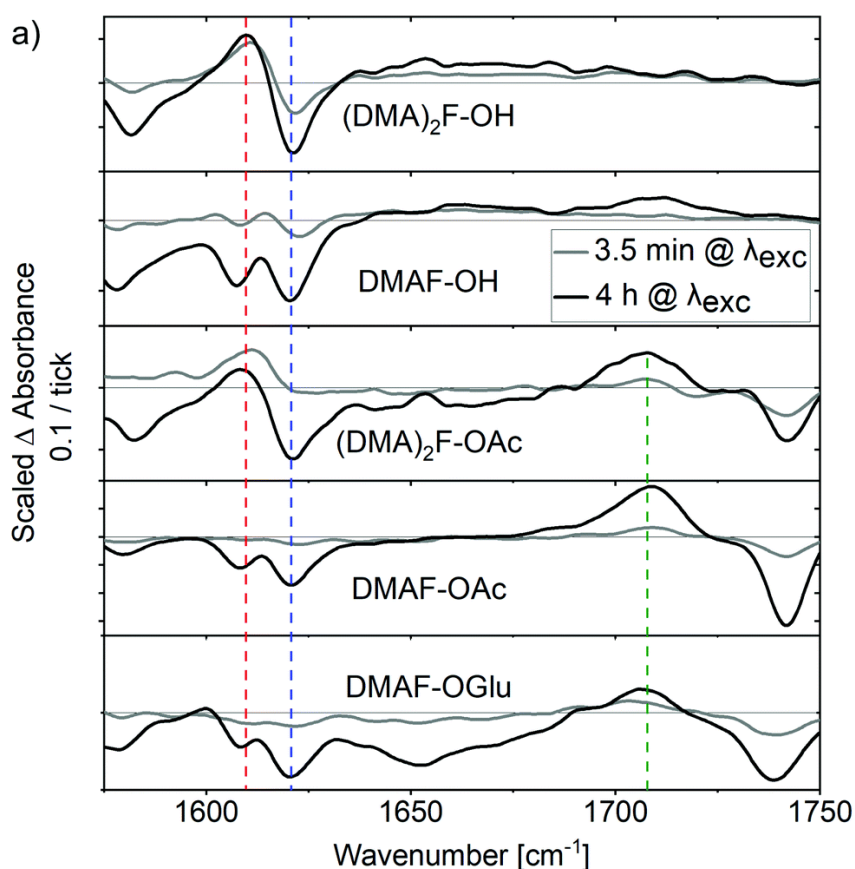


Abbildung 51: IR-Differenz-Spektren der untersuchten Verbindungen nach 3,5 Minuten und vier Stunden Bestrahlung bei 300 nm. DMA = Dimethylamino-, F = Fluoren, OAc = Acetyl-Abgangsgruppe, OGlu = Glutamat-Abgangsgruppe.

Durch die Carbonyl-Mode der Acetyl- oder Glutamat-Abgangsgruppe bei 1740 cm^{-1} ist die Photolyse eindeutig zu erkennen. Dazu haben beide Systeme gemein, dass sich die Signalintensität der vibronischen Moden bei 1620 cm^{-1} und 1580 cm^{-1} durch die Lichtanregung verringerte. Dichtefunktional-Theorie (DFT) Berechnungen zeigten, dass diese Moden den C-H-Schwingungen an der 9-Position zugeordnet werden können. Der größte Unterschied zwischen den symmetrischen und den asymmetrischen Derivaten bestand bei der IR-Absorptionsbande bei 1610 cm^{-1} . Hierbei zeigte sich, dass die symmetrischen Verbindungen eine Zunahme der Intensität und die asymmetrischen Verbindungen eine Abnahme der Signalintensität aufweisen.

Transiente Absorptionspektren (siehe **Abbildung 52**) auf der Femtosekunden Zeitskala brachten weitere wichtige Erkenntnisse. In beiden Fällen sieht man den klassischen Grundzustands-Zerfall (ground state bleach, GSB) nach der Anregung im Bereich von unter 350 nm . Das asymmetrische Derivat zeigt dabei eine etwas geringere Amplitude. Beide Verbindungen zeigen eine ESA (excited state absorption) Bande im Bereich von $350\text{-}70\text{ nm}$. Auffällig hierbei ist, dass das Signal der symmetrischen Verbindung bathochrom zur asymmetrischen Verbindung verschoben ist.^[159]

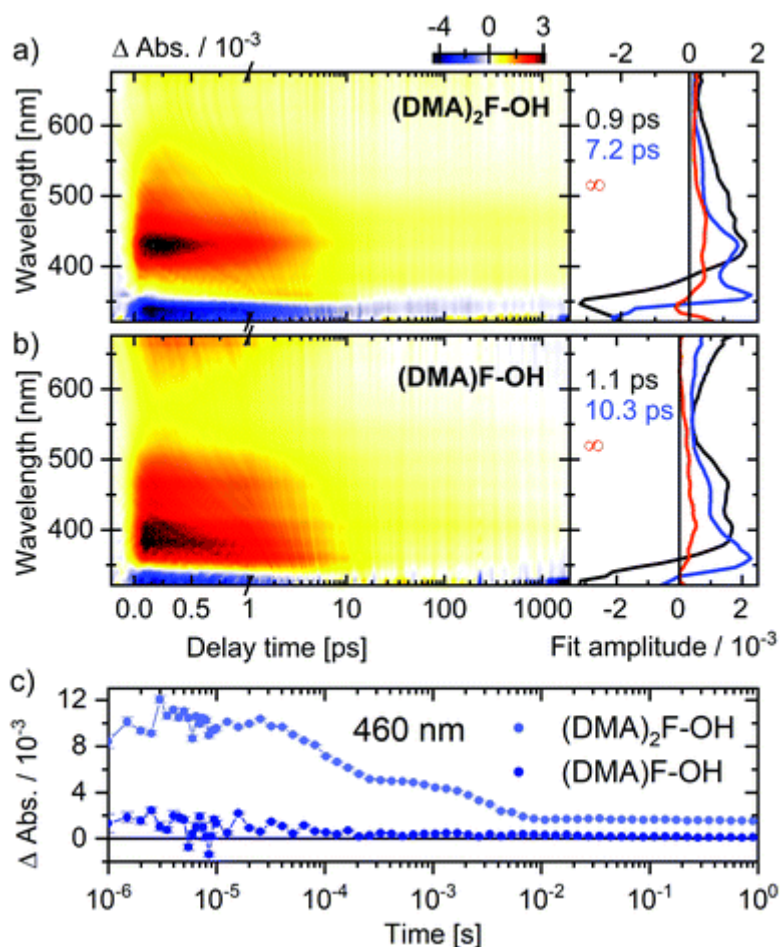


Abbildung 52: Transiente UV/vis Absorptionsspektren und entsprechende Zerfallsspektren von $(\text{DMA})_2\text{F-OH}$ (a) und $(\text{DMA})\text{F-OH}$ (b) in Methanol. Bestrahlt mit Licht der Wellenlänge 315 nm und 90 nJ Intensität.

Dazu ist im Falle des symmetrischen Derivats eine weitere ESA-Band bei über 600 nm zu erkennen. Nach ca. 10 ps ist die Bildung einer Produkt-Absorptionsbande im Bereich von 350-55 nm zu erkennen, welches starke Ähnlichkeit zu den Absorptionsbanden hat, welche bei den UV/vis Messungen in Methanol bereits beobachtet werden konnten (siehe **Abbildung 50**). Diese Absorptionsbande kann dem vermuteten kationischen Intermediat zugeordnet werden und ist in Methanol noch 33 Minuten und in Wasser sogar noch bis zu 8 Stunden nach initialer Anregung sichtbar. Gerade letzteres stellt eine absolute Seltenheit auf dem Gebiet der Intermediate in protischen Lösungsmitteln dar. Durch die Zugabe einer starken Säure, die die entsprechende heterolytische Abspaltung der Abgangsgruppe am Fluoren-Gerüst induzierte, konnten die Spektren dieses Intermediats ebenfalls reproduziert werden. In der Literatur sind ebenfalls Untersuchungen zu finden, in denen die homolytische Bindungspaarspaltung nach Anregung mit Licht in ähnlichen Verbindungen beschrieben wurde,^[162] in unserem Fall konnte jedoch gezeigt werden, dass es sich bei dem Intermediat des symmetrischen Fluorenols in den Lösungsmitteln H₂O, MeOH, EtOH und DMSO, um eine ionische Verbindung handelt, welche aus der heterolytischen Bindungspaarspaltung zwischen der Abgangsgruppe und des Fluoren-Grundgerüsts resultiert.

Da in den bisherigen Experimenten bereits gezeigt werden konnte, dass das Fluoren-Gerüsts sogar dazu in der Lage ist lichtinduziert Hydroxid-Ionen als Abgangsgruppe abzuspalten, sollten zuletzt noch Untersuchungen bezüglich einer möglichen photoinduzierten-pH-Änderung durchgeführt werden. Die Hydroxid-Gruppe stellt aufgrund ihrer hohen Basizität eine sehr schlechte Abgangsgruppe dar und ist mit den meisten photolabilen Schutzgruppen in der Literatur nicht oder nur in sehr geringem Maße photochemisch freizusetzen.^[12] Innerhalb dieser Studie konnte ein photoinduzierter pH-Sprung in wässriger Lösung von pH 6 zu pH 8 und in MeOH von pH 8 zu 9,5 beobachtet werden, sobald das entsprechende, symmetrische Fluorenol-Derivat bei 365 nm bestrahlt wurde (siehe **Abbildung 53** grauer Balken). Vergleichbare Verbindungen in der Literatur^[163,164,165], wie z.B. das 9-phenylxanthen-9-ol zeigen einen im Vergleich dazu deutlich geringen pH Sprung.^[166] Dies liegt vor allem an der deutlich schnelleren Rekombinationsrate zwischen Kation und Hydroxid-Ion.

Das Interessante an dem hier untersuchten System ist, dass sich nach ca. 15 Minuten der initiale pH-Wert der Lösung vor der Bestrahlung wieder einstellte (hellblaue Linie). Beschleunigt werden kann dieser Prozess, also die erneute Reduktion des pH-Wertes, durch die Belichtung der Probe bei 455 nm (hellblauer Balken und schwarze Linie). Nach mehrfacher Bestrahlung (dunkelblaue Linie) konnte nur ein leicht reduzierter erneuter pH-Sprung beobachtet werden. Jedoch scheint auch nach mehrfacher Bestrahlung die Eigenschaft weiterhin vorhanden zu sein, die Rückkehr zum ursprünglichen pH-Wert durch die Belichtung bei 455 nm zu beschleunigen.

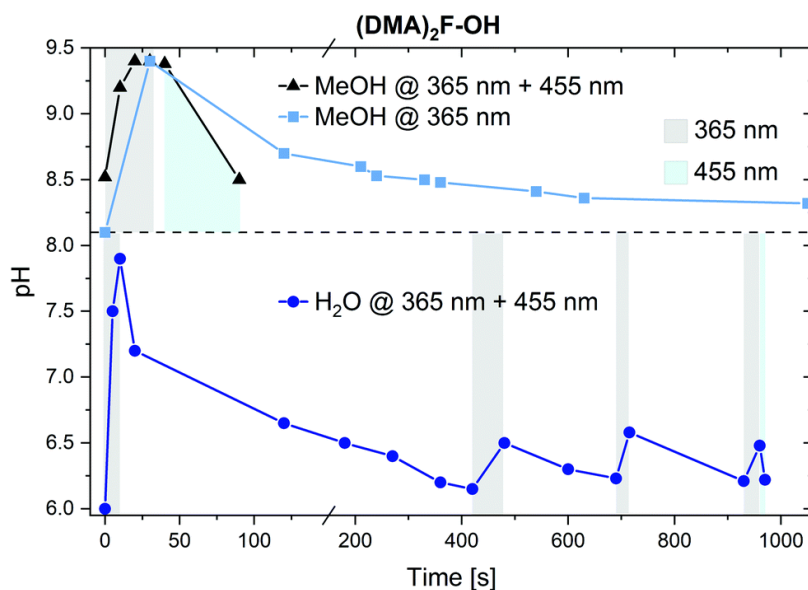


Abbildung 53: Oben: pH-Sprung vom symmetrischen (DMA)₂-Fluorenol durch Belichtung bei 365 nm (grauer Bereich) in Methanol. Unter Lichtausschluss verändert sich der pH-Wert der Lösung entsprechend der hellblauen Kurve. Durch eine weitere Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 455 nm (schwarze Linie) ist es möglich den ursprünglichen pH-Wert um ein Vielfaches schneller zu regenerieren. Dies stellt eine interessante Besonderheit dar. Unten: Wiederholte Belichtung der symmetrischen Verbindung, nach jeweiliger Einstellung des nahezu ursprünglichen pH-Wertes. Auch nach bereits dreimaliger Belichtung ist es möglich die pH-Wert-Änderung durch Belichtung bei 455 nm zeitreduziert wieder herzustellen.

Im Rahmen dieses Projekts ist es uns gelungen einen tieferen Einblick in die photochemischen Prozesse und Intermediate der *uncaging*-Reaktion von photolabilen Fluorenol-Schutzgruppen zu erlangen. Dabei spielen vor allem die Molekülsymmetrie und das Substitutionsmuster der Verbindungen eine entscheidende Rolle. Im Fall der hier untersuchten Verbindungen tragen die beiden Dimethylamino-Gruppen des symmetrischen (DMA)₂-Fluorenols entscheidend zur Stabilisierung bei und sorgen so für eine energetisch deutlich günstigere Verteilung der positiven Ladung über das gesamte Molekül, als im Fall des asymmetrischen Derivats. Das wiederum hat eine direkte Auswirkung auf die Photolyseeffizienz, was an diversen unterschiedlichen Abgangsgruppen gezeigt werden konnte. Neben der Tatsache, dass es mit dieser photolabilen Schutzgruppe möglich ist auch sehr schlechte Abgangsgruppen, wie z.B. das Hydroxid-Ion abzuspalten und damit einen lichtinduzierten pH-Sprung in wässriger oder methanolischer Lösung zu ermöglichen, konnte beobachtet werden, dass die Lebensdauer des bei der Photolyse auftretende Kation sogar mit einem weiteren Licht-Impuls kontrolliert werden kann.

Insgesamt könnten die innerhalb dieser Studie gewonnenen Erkenntnisse z.B. dazu beitragen noch effizientere photolabile Schutzgruppen zu entwickeln. Ebenso könnte das hier untersuchte (DMA)₂-Fluorenol aufgrund seiner Eigenschaft Hydroxid-Ionen lichtinduziert freizusetzen, dazu angewendet werden z.B. Wirkstoffe durch einen pH-Anstieg freizusetzen, was prinzipiell bereits in der Literatur gezeigt werden konnte.^[167]

3.2.4 ATTO-basierte Photocages

Wie bereits im Theorie-Teil ausführlich diskutiert, kann eine Entwicklung von neuen photolabilen Schutzgruppen unter anderem dadurch stattfinden, dass man bekannte Chromophore so modifiziert, dass sie die photochemische Anregungsenergie möglichst effizient in die Abspaltung der Abgangsgruppe „überträgt“. Im Rahmen dieses Projekts war es unser Ziel auf Basis des ATTO-Chromophors, welcher gute Eigenschaften als Fluoreszenz-Label in wässriger Lösung aufweist, eine derartige photolabile Schutzgruppe für die Anwendung in wässriger Lösung zu entwickeln.

Wie bereits erwähnt, war der Ausgangspunkt der literaturbekannte ATTO-Chromophor. Um dieses Gerüst als photolabile Schutzgruppe nutzen zu können, wurden zunächst 4 verschiedene Derivate designt, die alle an der 4-Position anstelle der üblichen exocyclischen CH₃-Gruppe, eine CH₂-Gruppe besitzen. Diese sollte dann im weiteren Verlauf der Studie zum Beispiel über einen Carbamat-Linker mit einer biologisch relevanten Abgangsgruppe versehen werden (siehe **Abbildung 54**). Um die elektronischen Eigenschaften dieses neuen Gerüsts systematisch zu untersuchen und die bestmögliche Konfiguration zu finden, entschieden wir uns dafür, die Auswirkungen einer zusätzlichen Doppelbindung und des Substitutionsgrades des Amins an der 7-Position zu variieren.

Die Doppelbindung sollte dabei die Rigidität des Systems weiter erhöhen, wodurch ggf. Relaxationsprozesse über Molekülschwingungen vermindert werden können (siehe **Abbildung 55**). Der Substitutionsgrad des Amins kann sich entscheidend auf die molekularen Eigenschaften auswirken, da die Donor-Fähigkeit in Abhängigkeit der Substitution variiert und diese für die photochemischen Eigenschaften maßgeblich ist. Zunächst sollten die entsprechenden Alkohol-Derivate hergestellt werden, da diese laut Literatur vergleichsweise einfach darzustellen sein sollten.

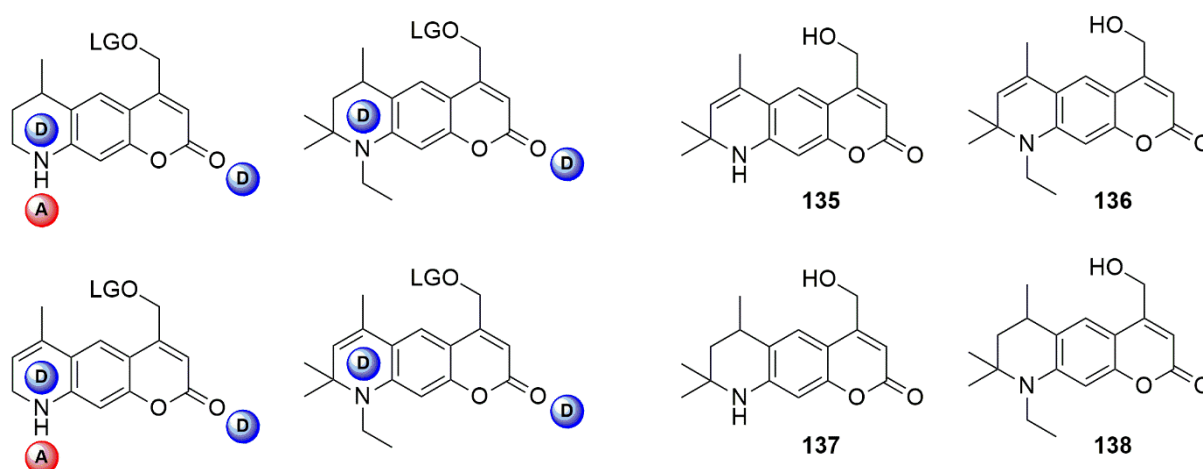


Abbildung 54: Vom Coumarin-Photocage bzw. ATTO-Fluorophor abgeleitete, neuartige Photocages mit unterschiedlicher Donor-Akzeptor-Fähigkeit in polaren, protischen Lösungsmitteln. Die Doppelbindung im linken Ring, sowie der Substitutionsgrad des im Ring befindlichen Amins stellen die beiden Modifikationen dieser Derivate dar.

Nachdem nun die Strukturen definiert waren und der Synthesepfad erstellt wurde, wurde die Synthese, abgewandelt aus der Literatur, durch Robin Klimek ausgeführt. Die Synthese des Cumarin Grundgerüsts wurde entsprechend der Literatur durchgeführt.^[168] Der zentrale Reaktionsschritt der Cumarin-Synthese ist die Pechmann-Kondensation. Weitere Details zum Mechanismus der Pechmann-Kondensation sind dem Theorie-Teil zu entnehmen.

Aus den Amino-Phenol-artigen Grundkörpern kann mit Hilfe dieser Reaktion recht simpel das Lacton-Grundgerüst aufgebaut werden. Anschließend erfolgen die Reaktionen mit Dimethylamino-Dimethylformamid, die Spaltung der resultierenden Doppelbindung mit Natriumperodat und die Oxidation des daraus entstehenden Aldehyds zum Alkohol mit Hilfe von Natriumborhydrid. Die Zyklisierung des zweiten Stickstoff-Rings erfolgte mittels Ytterbium-katalyse in einer Reaktion mit Aceton. Die Reduktion der entsprechenden, konjugierten Stelle zwischen der 5- & 6-Position erfolgte durch eine Hydrierung mit elementarem Wasserstoff und Palladium auf Kohlenstoff als Katalysator.

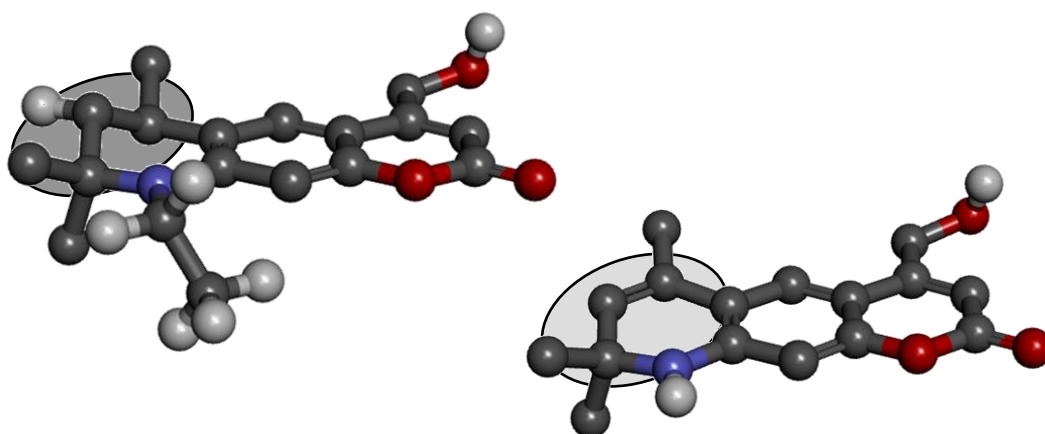


Abbildung 55: 3D-Struktur zweier Derivate mit Hydroxyl-Gruppe als Abgangsgruppe (LG). Zu erkennen ist die deutlich ausgeprägte Planarität des Derivats mit zusätzlicher Doppelbindung im Vergleich zum Derivat ohne Doppelbindung.

Nachdem alle Verbindungen in guter Reinheit dargestellt und nachgewiesen werden konnten, wurden alle Proben zur weiteren Charakterisierung von mir (für die photochemische Grundzustands-Charakterisierung und Fluoreszenzmessungen) und Marvin Asido (für alle Ultrakurzzeit- und 2-Photonen-Messungen) übergeben. Zunächst erfolgte die Messung der Absorptionsspektren in verschiedenen Lösungsmitteln. Unsere Wahl fiel hierbei auf sowohl protisch polare als auch aprotische Lösungsmittel, um die Wechselwirkungen mit den Lösungsmittelmolekülen zu untersuchen.

Gerade bei den sekundären Aminen, die noch ein Proton tragen, erwarteten wir eine stärkere Abhängigkeit der Eigenschaften vom Lösungsmittel, da dies in Wechselwirkung z.B. in Form von Wasserstoffbrückenbindungen treten kann und somit wiederum die Donor-Eigenschaft dieses Substituenten entscheidend beeinflussen kann. In **Abbildung 56** sind die Absorptionsspektren der verschiedenen Derivate im Vergleich zum Diethylamino-Cumarin (DEACM) als Referenzverbindung in wässriger, Methanol-Lösung aufgetragen. Es ist klar zu erkennen, dass die Erweiterung des Aromatischen Systems und die zusätzliche Anbringung eines +I-Substituenten am Amin, das Absorptionsspektrum hin zu höheren Wellenlängen verschiebt. Des Weiteren kann auch eine nahezu Verdopplung des Extinktionskoeffizienten beobachtet werden. Bei der Fluoreszenzwellenlänge ist ein ähnliches Verhalten zu beobachten. Hierbei ist jedoch erstaunlich, dass die relative Intensität von allen ATTO-abgeleiteten Verbindungen deutlich stärker ist als die von DEACM.

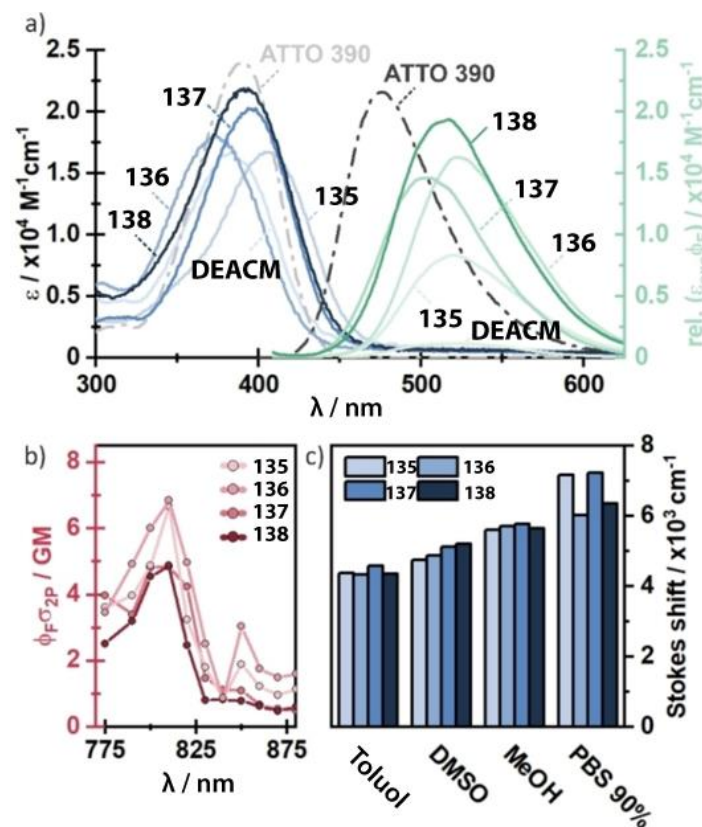


Abbildung 56: Absorptions- und Fluoreszenzspektren der einzelnen Derivate. Durch die unterschiedliche Substitution ist eine Verschiebung der Absorptionsmaxima zu erkennen. Ebenfalls wirkt sie sich auf die Extinktionskoeffizienten aus. Die bathochrom am stärksten verschobene Absorption weist das Derivat mit Doppelbindung sowie Ethyl-Substituenten am Amin auf. Hierbei ist ebenfalls sowohl die Fluoreszenzintensität am stärksten, als auch bathochrom am stärksten verschobene. Das DEACM zeigt im Vergleich dazu nur eine sehr geringe Fluoreszenz. Abgeändert aus Klimek, Asido, Hermanns et al.^[169]

Dies bestätigte unsere Vermutung, auf der das Design-Prinzip basierte. Die gleichzeitig bathochrom am stärksten verschobene und höchste Fluoreszenzintensität zeigt die Verbindung mit einer Ethyl-Gruppe am Amin und einer Doppelbindung im äußeren Ring.

Nachdem die grundlegende Charakterisierung der Alkohol-Verbindungen erfolgt war, sollte nun die biologisch relevante Abgangsgruppe Serotonin an die vier Derivate als Abgangsgruppe angebracht werden (siehe **Abbildung 57**). Dies erfolgte mit Hilfe eines Carbamat-Linkers über eine Mikrowellen-Reaktion. Genauere Details sind dem Experimentaltel bzw. der referenzierten Veröffentlichung zu entnehmen.

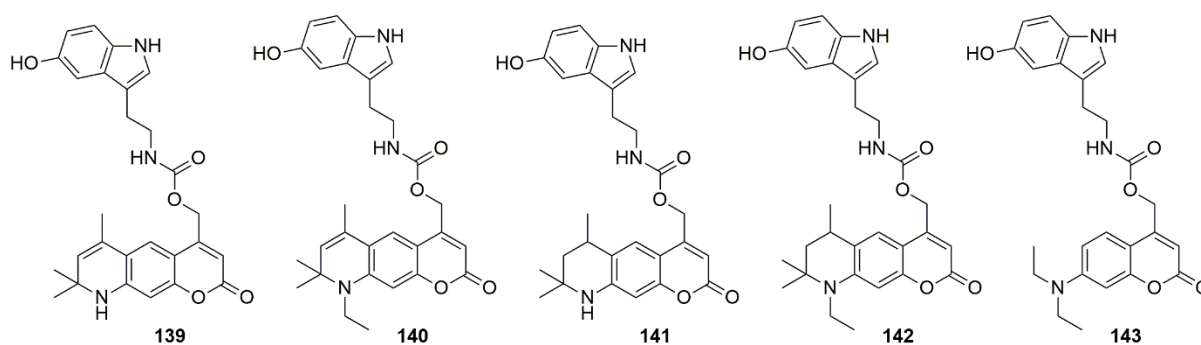


Abbildung 57: Derivatisierte ATTO-Coumarin-Photocages mit dem Neurotransmitter Serotonin als biologisch relevante Abgangsgruppe.

Im nächsten Schritt sollte nun das Verhalten der Fluoreszenz genauer untersuchen. Der Fokus lag hierbei auf der Änderung der Fluoreszenzintensität und der Fluoreszenzwellenlänge jeweils vor und nach der *uncaging* Reaktion. Dazu wurden alle Verbindungen in einer wässrigen, methanolischen Lösung gelöst, Fluoreszenzspektren aufgenommen und dann schrittweise mit Licht der Wellenlänge von 405 nm die jeweiligen Proben bestrahlt und zwischen den Bestrahlungen weitere Fluoreszenzspektren aufgenommen. Hierbei wurde deutlich, dass die Intensität der Fluoreszenz durch das *Uncaging* bei allen vier neuen Verbindungen etwa um den Faktor 1,3 bis 1,5 steigt. Dieses Verhalten könnte in zukünftigen Studien dazu verwendet werden die *uncaging* Reaktion zu „tracken“ bzw. den Fortschritt des *Uncagings* über eine nicht-invasive Methode ermitteln bzw. beobachten zu können. Gleichzeitig fiel auf, dass die Geschwindigkeit des Anstiegs der Fluoreszenz zwischen den verschiedenen substituierten Verbindungen variierte. Bei der Untersuchung der photochemischen Eigenschaften in einer DMSO/PBS-Puffer Mischung (1:9) wich das beobachtbare Verhalten jedoch deutlich von den hier gezeigten Eigenschaften ab.

Dies könnte ein Hinweis auf eine Art DMSO-Cluster geben, welches sich in wässriger Lösung um die Chromophore bilden könnte. Diese Art Cluster könnte die Bildung des Übergangsdipols nach der Photolyse beeinflussen und somit auch einen Einfluss auf das uncaging haben. Hinweise darauf lassen sich auch in der Literatur finden.^[170] Innerhalb dieser Studie entschieden wir uns daher die weiteren Untersuchungen in einem 1:1 Methanol-PBS-Puffer-Gemisch durchzuführen. Dieses Gemisch hat den Vorteil, dass sowohl Methanol, als auch Wasser dazu in der Lage sind, das während der Photolyse entstehende Carbokation nucleophil anzugreifen.

Bei der Analyse der uncaging Quantenausbeuten mittels HPLC-Analyse zeigten sich die Unterschiede zwischen den einzelnen Derivaten entsprechend unserer Erwartungen. Schon allein durch den Ringschluss der Ethyl-Gruppe am Ring-Stickstoff-Atom (Verbindung **141** und **142**), konnte die Rigidität des Moleküls insofern erhöht werden, als das die uncaging Effizienz im Vergleich zu Verbindung **143** um den Faktor 2-3 erhöht werden konnte (vergleiche **Tabelle 3**). Eine weitere Restriktion der Bewegungsfreiheitsgerade konnte durch die zusätzliche Doppelbindung erzielt werden. Dies führte zu uncaging-Quantenausbeuten von 2,56% für Verbindung **139** und 2,97% für Verbindung **140** im Falle von Serotonin als Abgangsgruppe. Somit konnte ein Trend zwischen der Einschränkung der Bewegungsfreiheitsgraden und einem Anstieg der uncaging Quantenausbeute in diesem Beispiel gezeigt werden. Im Vergleich zwischen Verbindung **140** und Verbindung **143** konnte dadurch eine Verfünfachung der uncaging Quantenausbeute erreicht werden. Außerdem weisen alle Verbindungen einen höheren Extinktionskoeffizienten in dem untersuchten Lösungsmittelgemisch auf. In Kombination bedeutet dies für das so genannte uncaging Quantenprodukt ($\phi u \cdot \epsilon$) einen Anstieg um eine Größenordnung von **143** zu **139** bzw. **140**.

Tabelle 3. Zusammenfassung der photochemischen und photophysikalischen Eigenschaften der in dieser Studie untersuchten Verbindungen. Die entsprechenden Parameter wurden bei der Wellenlänge von 405 nm und in einem Lösungsmittelgemisch von PBS-Puffer und Methanol im Verhältnis von eins zu eins bestimmt.			
Verbindung	ϕu	ϵ [M⁻¹ cm⁻¹]	$\phi u \epsilon$ [M⁻¹ cm⁻¹]
143	0.0056	9097	50
139	0.0256	19666	504
140	0.0297	20788	617
141	0.0163	10606	173
142	0.0096	19268	184

In **Abbildung 58** ist eine typische Photolysekurve am Beispiel der Photolyse von Verbindung **140** gezeigt. Das dabei entstehende dominanteste Photoprodukt in wässriger Lösung ist der entsprechende Alkohol **136**. Dies konnte mittels Massenspektrometrie nachgewiesen werden. Zu erkennen ist, dass

bereits nach weniger als 60 Sekunden ca. 70% des Ausgangsmaterials photolysiert wurden. Nach etwa 360 Sekunden sind nahezu 90% photolysiert.

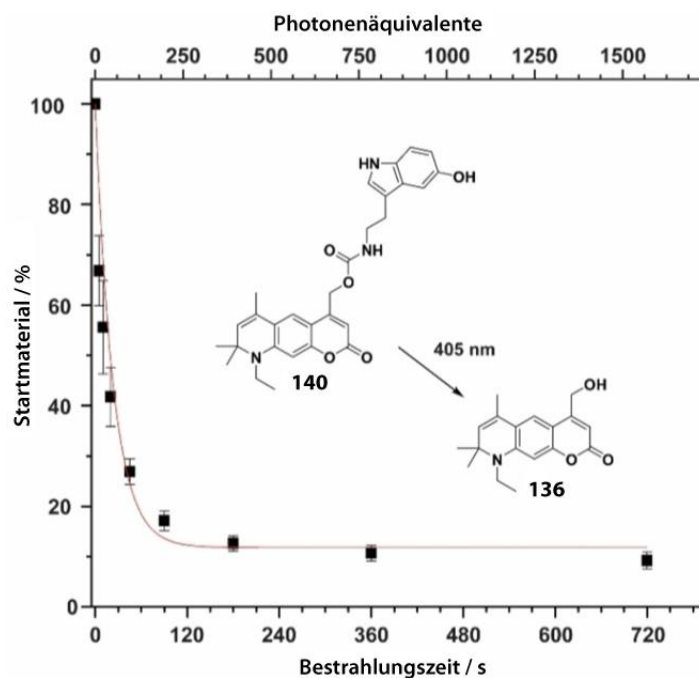


Abbildung 58: Exemplarische Photolysekurve von Verbindung **140** in einer Methanol-PBS-Puffer 1:1 Mischung bei 405 nm. Das Photolyseprodukt **136** wurde mittels Massenspektrometrie nachgewiesen. Entnommen aus Klimek, Asido, Hermanns et al. ^[169]

Nachdem nun alle grundlegenden photochemischen Prozesse ausreichend charakterisiert worden waren, widmeten wir uns zuletzt der Aufklärung, inwiefern sich die verschiedenen Derivate in ihrem ultraschnellen Absorptionsverhalten voneinander unterscheiden. Außerdem war unser Ziel herauszufinden, ob sich die Verbindungen vor (mit Serotonin als Abgangsgruppe) und nach der Photolyse (als freie Alkohole) in ihrem Verhalten voneinander unterscheiden. Hierzu wurde als Methode die so genannte „ultraschnelle UV/vis Anrege-Abtast Transiente Absorptionsspektroskopie“ von Marvin Asido angewendet. Die folgenden Daten wurden freundlicherweise zur Verfügung gestellt und sollen hier der Vollständigkeit halber (ebenso wie in der Publikation Klimek, Asido, Hermanns et al. ^[169] aufgeführt) dargestellt werden. Die Alkohole **135** bis **138** zeigten alle eine ähnliche photochemische Signatur in den transiente-Absorptionsspektren auf. Ebenso die Verbindungen **139** bis **142**, die alle mit Serotonin als Abgangsgruppe versehen wurden.

Alle in dieser Studie untersuchten Verbindungen zeigten die für Coumarin-Chromophore typischen und Lösungsmittelabhängigen „Excited State Absorbance“ (ESA) Absorptionsbanden und Stokes Verschiebungen auf der Pikosenkunden Zeitskala (vergleiche Abbildung 59 a) und b)).

Ein interessanter Aspekt, der innerhalb der Messungen beobachtet werden konnte, ist dass der Zerfall des angeregten Zustands (*engl.* „excited state (ES) decay“) der Verbindungen mit Abgangsgruppe erwartungsgemäß schneller erfolgte, als bei den Verbindungen ohne Abgangsgruppe (siehe **Abbildung 59**). Um dieses Verhalten genauer zu eruieren, wurden zeitkorrelierte Einphotonenzählungen (*engl.* time correlated single photon counting (TCSPC)) in einer Lösungsmittelmischung aus PBS-Puffer/Methanol im Verhältnis eins zu eins durchgeführt, deren Ergebnisse in **Abbildung 59 c)** zu erkennen sind. Hierbei zeigte sich der Unterschied in der Fluoreszenzlebensdauer zwischen den Derivaten eindeutig.

Erklärt werden kann dieses Verhalten mit der Tatsache, dass neben der Fluoreszenz, den Schwingungsrelaxationen und der Abregung des angeregten Zustands durch Kollision mit umgebenen (Lösungsmittel-)Teilchen, bei den Verbindungen mit Abgangsgruppe ebenso das uncaging als zusätzlicher Relaxationspfad in Frage kommt. Dadurch kann es zu einer schnelleren Relaxation aus dem photochemisch angeregten Zustand zurück in den Grundzustand kommen.

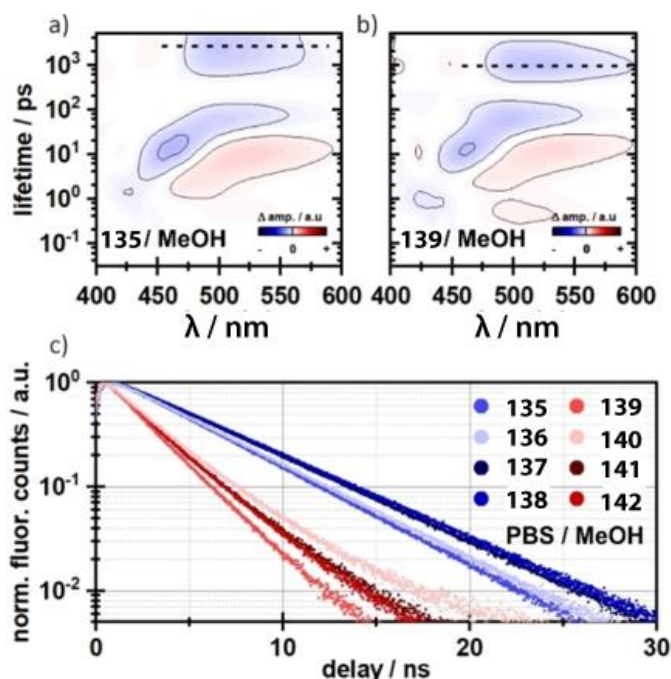


Abbildung 59: Lebensdaueranalyse der Verbindungen **135** (a) und **139** (b). Die Messung erfolgte in Methanol. Zu erkennen ist, dass der ES-Zerfall (angedeutet durch die getrichelte Linie) schneller bei Verbindung **139** erfolgt. Die photochemischen Prozesse auf Femtosekunden und Picosekundenzeitskala sind dabei jedoch nahezu identisch. c) zeigt die TCSPC Messungen aller acht Verbindungen. Hier ist der Unterschied zwischen den Verbindungen mit und ohne Serotonin-Abgangsgruppe klar erkennbar.

Mit Hilfe der gesammelten Erkenntnisse aller Messungen aus dieser Studie, waren wir somit dazu in der Lage eine detaillierte Gesamt-Übersicht der wichtigsten photochemischen Reaktionspfade dieser Klasse von Verbindungen zu erstellen (siehe **Abbildung 60**). Nach photochemischer Anregung durch einen Lichtimpuls der entsprechenden Energie aus dem Grundzustand (S_0), stellt sich ein sehr kurzzeitiges Gleichgewicht zwischen dem lokal angeregten Zustand (S_1) und dem Charge-Transfer-Zustand (CT-Zustand) ein. Je nach Substitutionsmuster und Polarität der Verbindung, sowie Dielektrizitätskonstante des verwendeten Solvens, kann der CT-Zustand unterschiedlich stark stabilisiert werden. Eine energetische Stabilisation führt entsprechend auch zu einem höher populierte CT-Zustand. Ohne oder mit nur sehr geringer Stabilisierung dieses Zustands, besteht die Möglichkeit eines weiteren Equilibriums mit dem Triplett Zustand, welcher durch das sogenannte „Inter-System-Crossing“ (ISC) erreicht werden kann. Kann dieser erreicht werden, so ist eine Auswirkung auf die photochemischen Eigenschaften (wie das uncaging-Verhalten) zu erwarten.

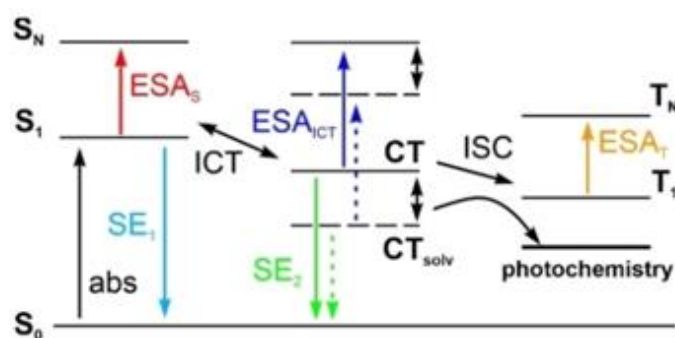


Abbildung 60: Gesamtübersicht über die photochemisch relevanten Zustände. Vom Grundzustand (S_0) gelangt das Molekül durch Anregung in den S_1 oder S_N . Aus diesen angeregten Zuständen ist, je nach energetischer Lage, ein Übergang zu einem der Charge-Transfer (CT) Zustand mit sehr hohem Übergangsdipolmoment möglich. Die energetische Lage der CT-Zustände sind unter anderem stark durch das umgebene Lösungsmittel beeinflusst. Aus diesen ist wiederum ein Inter-System-Crossing (ISC) in einen Triplet-Zustand (T_1 für den 1. Angeregten Triplet-Zustand hier beispielhaft erwähnt) möglich. Alternativ kann aus dem CT-Zustand ein Übergang in einen Zustand erfolgen, der den photochemischen Prozess weiter voran bringt.

3.3 Zusammenfassung und Ausblick

Trotz der Vielzahl an bereits existierenden photolabilen Schutzgruppen, die im Laufe der letzten Jahrzehnte in diversen Studien bereits präsentiert wurden, bleibt der Bedarf an neuen, optimierten Systemen und dem tieferen Verständnis bestehender Systeme ungebrochen. Die Möglichkeit in verschiedensten Bereichen der Wissenschaft eine orts- & zeitspezifische Regulation zu erzielen ist dabei die permanente Triebkraft dieser Entwicklung.

Da die Reaktionsbedingungen (wie z.B. Lösungsmittel, Temperatur, Art der Abgangsgruppe) für die verschiedensten Anwendung zum Teil sehr stark voneinander abweichen, benötigt jede spezifische Anwendung das passende molekulare „Werkzeug“. Unser Ziel in den hier dargelegten Untersuchungen war es dabei, neben den bisher bekannten photolabilen Schutzgruppen, basierend auf dem „Nitro-Uncaging“ wie dem NPE oder NDBF oder dem Cumarin- und BODIPY-basierenden Photocages, grundlegend neuartige Photocages in die Literatur zu implementieren (siehe **Abbildung 61**).

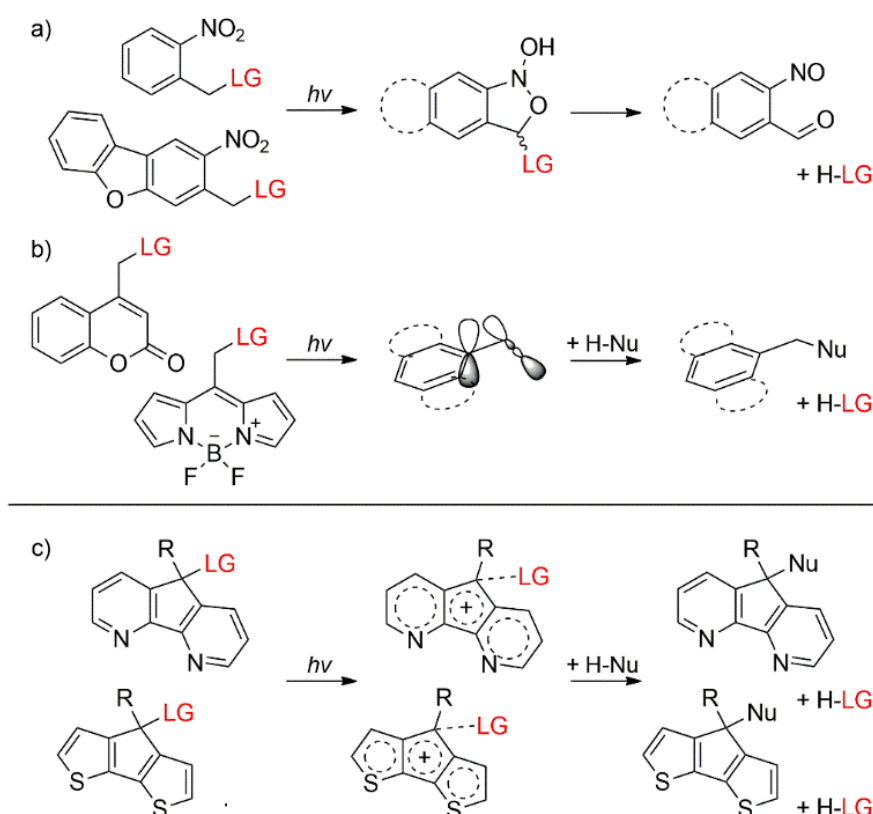


Abbildung 61: Bestehende Uncaging-Konzepte und Fokus meiner Doktorarbeit. a) Klassisches Uncaging von Nitro-basierenden photolabilen Schutzgruppen, welches über die photoinduzierte Bildung einer Aci-Nitro-Verbindung und des daraus resultierenden Benzisoxazol (Mitte) verläuft. Als Photoprodukte entsteht vor allem der entsprechende Aldehyd. b) Chromophor-basiertes uncaging, bei der nach photochemischer Anregung eine Umverteilung der Elektronendichte geschieht. Dabei kommt es zu einer Erhöhung der Elektronendichte an dem der Abgangsgruppe benachbarten Kohlenstoffatom in das entsprechende antibindende Molekülorbital (Mitte), wodurch die Bindung zwischen diesem Atom und der Abgangsgruppe (Leaving Group, LG) geschwächt wird und die Abspaltung meist mit Hilfe eines Solvensmolekül erfolgen kann.

Im Rahmen meiner Doktorarbeit wurden zahlreiche molekulare Strukturen auf Ihre potenzielle Anwendung als photolabile Schutzgruppe zusammen mit Theoretikern*innen und Spektroskopiker*innen eingehend erforscht. Einige dieser Systeme basierten dabei auf bereits existierenden Chromophoren bzw. Fluorophoren (wie dem Coumarin-Grundgerüst) andere wurden durch die Weiterentwicklung bestehender Konzepte der Photochemie ausgewählt und untersucht (Isatine und Thiofluorenole). Es galt dabei immer wieder Trends in der molekularen Optimierung zu erkennen, richtig zu deuten und dann im Syntheselabor umzusetzen. Dabei lag unser Fokus neben der Optimierung der photochemischen Eigenschaften ebenso auf der Erweiterung des Verständnisses der photochemischen, molekularen Prozesse auf Teilchenebene.

All dies konnte gemeinsam mit der Hilfe von Theorie und Spektroskopie erreicht werden. Die Kombination aus den verschiedenen Disziplinen hat es erst ermöglicht einen derartig weitreichenden Einblick in die diversen Strukturen und ihre Mechanismen zu erzielen. Die Basis dieses Erfolgs war neben den zahlreichen fachlichen Diskussionen, vor allem auch die hervorragende persönliche Zusammenarbeit mit allen beteiligten Personen und Arbeitsgruppen.

4. Entwicklung und Analyse von Photoschaltern als molekulare, lichtregulierbare Werkzeuge

4.1 Motivation und Zielsetzung

Photoschalter oder Photoswitches stellen als reversible Werkzeuge eine wichtige Klasse im Bereich der Regulation mit Licht dar.^{[15][171]} Die wichtigsten Eigenschaften, die einen Photoschalter charakterisieren, sind Erstens: Der photostationäre Zustand, also das Verhältnis der jeweiligen Photoisomere, welches dabei erzielt werden kann. Dieses Verhältnis sollte möglichst nahe an 100 zu null Prozent liegen, um keine Mischeffekte von verschiedenen Isomeren zu erzielen. Zweitens: Die Separierbarkeit der jeweiligen Absorptionsspektren (siehe **Abbildung 62**).^[172]

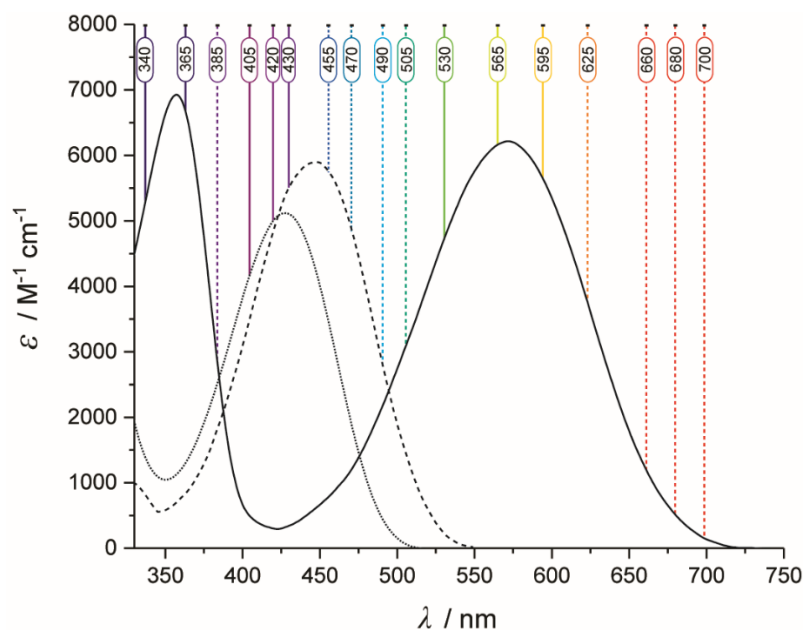


Abbildung 62: Absorptionsspektren mit entsprechendem Extinktionskoeffizienten der drei Photoisomere des Fulgid-Photoschalters. Die gepunktete Linie mit einem Maximum bei ca. 425 nm entspricht dem offenen, zyklisierbaren Z-Isomer, die gestrichelte Linie mit einem Maximum bei ca. 450 nm entspricht dem offenen, nicht-zyklisierbaren E-Isomer und die durchgezogene Linie entspricht dem geschlossenen C-Isomer. Hier ist die Separierbarkeit der Photoisomere nahezu ideal, da die jeweiligen Maxima (offenes, zyklisierbares Z-Isomer und geschlossenes C-Isomer) dort liegen, wo die jeweils andere Spezies nahezu nicht absorbiert.

Dies hängt mit dem ersten Punkt eng zusammen, kann jedoch teilweise bei überlappenden Spektren durch die geschickte Auswahl der Bestrahlungs-Wellenlänge umgangen werden. Drittens: Die thermischen Raten bzw. die thermische Stabilität der verschiedenen Isomere.

Da neben der photochemischen Prozesse, bei Raumtemperatur ebenfalls thermische Prozesse ablaufen können, kann eine hohe thermische Rate (z.B. der Rück-Isomerisierung) den Isomerisierungsprozess der Hinreaktion deutlich verkomplizieren. Außerdem kann es dazu führen, dass ein Erreichen von 100% eines einzelnen Isomers gar nicht erst erzielt werden kann. Und schlussendlich viertens: Die so genannte Schalt-Ermüdung („Photofatigue“), die eine Aussage darüber macht, nach wie vielen Schaltzyklen sich der Photoschalter für seine Anwendung immer noch verwenden lässt. Da zum Teil auch Degradationsprozesse wie Hydrolyse oder Photolyse ablaufen können, ist dieser Parameter essenziell für die Einschätzung der Anwendbarkeit.

Das Fulgid hat aufgrund seiner hervorragenden Eigenschaften bereits den Einzug in verschiedenste Bereiche der Forschung erhalten.^[79] Es besticht vor allem durch die stark separierten Absorptionsspektren, hohe Schalt-Quantenausbeuten^[173], eine sehr geringe Schalt-Ermüdung sowie durch den Fakt, dass die Zyklisierungs- bzw. Öffnungsreaktion keine thermische Rate besitzt. Dies ist durch die Woodward-Hoffmann-Regeln zu begründen.^[80,81]

Die Woodward-Hoffmann-Regeln beschreiben konzertierte, perizyklische Reaktionen, bei denen es nur einen Übergangszustand gibt und keine Zwischenverbindungen auftreten. Ebenso erlauben sie eine Vorhersage über die Produkte derartiger Reaktionen (siehe **Abbildung 63**). Im Falle dieser Regeln ist zunächst einmal grundsätzlich zwischen $4n$ -Elektronen- und $4n+2$ -Elektronen-Zyklisierungen zu unterscheiden (siehe **Abbildung 63**). Zudem ist entscheidend, ob es sich bei der entsprechenden Zyklisierungs-Reaktion um eine thermische (aus dem elektronischen Grundzustand) oder eine photochemische (aus dem ersten elektronisch angeregten Zustand) handelt.

Beide Parameter haben eine entscheidende Auswirkung auf die Orbitalgeometrie der an der Zyklisierung beteiligten Molekülorbitale. Als 6π -Elektronen-System (3 konjugierte π -Bindungen, also dementsprechend ein $4n+2$ -System für $n=1$), ist das Fulgid theoretisch dazu in der Lage aufgrund seiner Orbitalgeometrie thermisch nur disrotatorisch zu reagieren, wohingegen die photochemische Reaktion nur conrotatorisch ablaufen kann. Die jeweils anderen Rotationsmöglichkeiten führen zu einer zusätzlichen Knotenebene (siehe **Abbildung 63**) und damit nicht zur Ausbildung einer neuen σ -Bindung. Aufgrund der sterischen Situation in diesem speziellen Fall, kann die thermische Reaktion nicht oder nur zu einer sehr geringen Rate ablaufen, was die charakteristische, thermische Stabilität der Fulgide zur Folge hat.

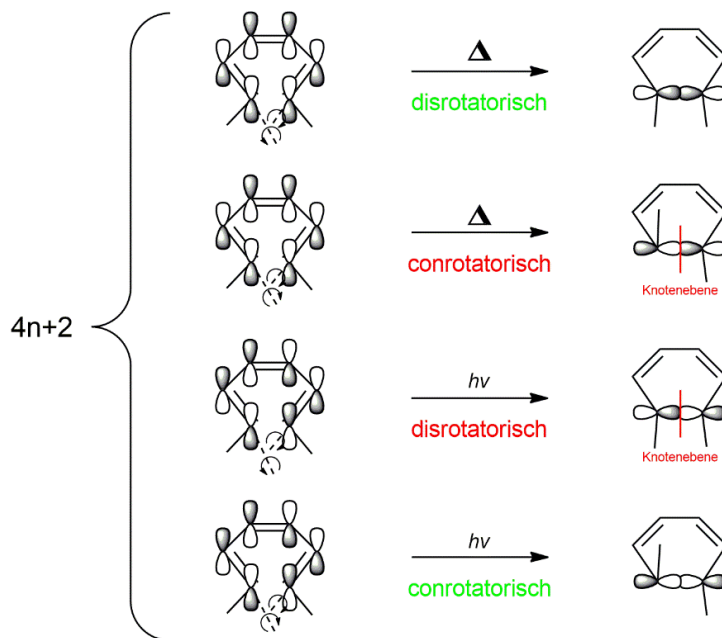
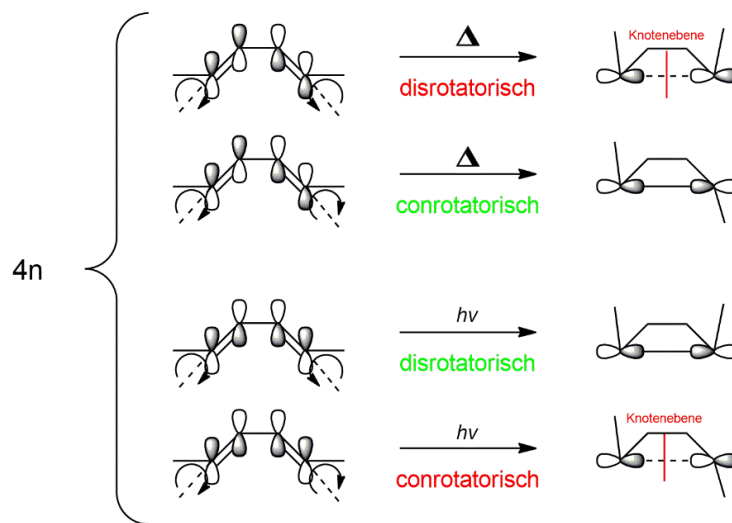
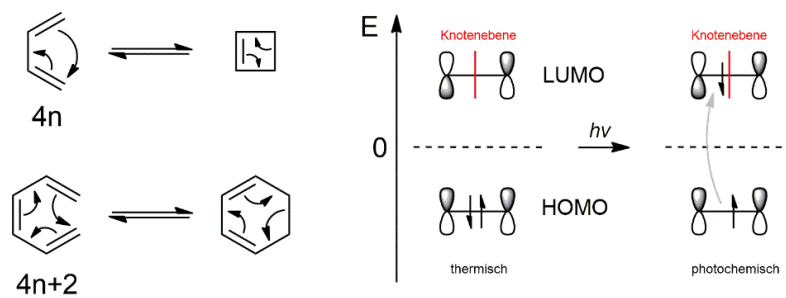


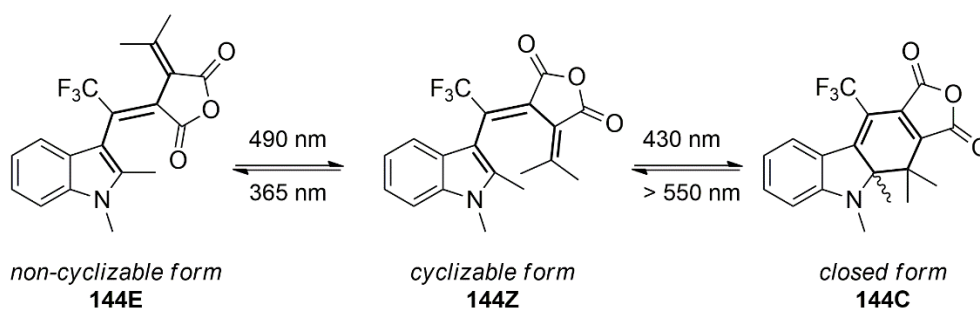
Abbildung 63: Illustration der Woodward-Hoffmann-Regeln. Die Auswahlregeln hängen davon ab, ob es sich um eine gerade oder ungerade Anzahl an konjugierten π -Bindungen handelt und ob es sich um eine thermische oder eine photochemische Reaktion handelt. $4n$ - π -Elektronen-Systeme können thermisch z.B. nur conrotatorisch und nicht disrotatorisch ablaufen. Das hat eine entscheidende Auswirkung auf die entsprechenden Reaktionsprodukte solcher Zyklisierungen.^{[80][81][174] [175] [176]}

4.2. Ergebnisse und Diskussion

4.2.1 Das Fulgid als chemisches Aktinometer

Wie bereits im Theorieteil erwähnt, gibt es verschiedenste Möglichkeiten der chemischen Aktinometrie. Viele der bisher in der Literatur zu findenden Photoschalter haben jedoch nur eine Anwendbarkeit in einem eingeschränkten Rahmen des elektromagnetischen Spektrums und weisen meist nur geringe Quantenausbeuten der Schaltprozesse auf. Aus diesem Grund war unser Anliegen in dem hier beschriebenen Projekt, die Einführung eines neuen, thermisch robusten, chemischen Aktinometers auf Basis des Fulgid-Photoschalters für einen breiten Anwendungsbereich bei einer Vielzahl von Wellenlängen.

Fulgide können in einem von drei verschiedenen Photo-Isomeren-Zuständen vorliegen: Dem E-Isomer, dem Z-Isomer und dem C-Isomer. Zwischen dem E- und dem Z-Isomer ist eine photochemisch induzierte *cis-trans*-Isomerisierung durch Bestrahlung möglich, die aber für die meisten photochemischen Prozesse nur eine untergeordnete Rolle spielt. Im Gegensatz zum herkömmlichen Fulgid, besitzt das von uns verwendete Derivat anstelle einer CH₃ bereits eine CF₃-Gruppe, die einen der bekannten Photodegradationsprozesse (1,5-H Umlagerung) nicht mehr möglich macht. Diese Modifikation wurde von Yokoyama *et al.* im Jahre 1996 entwickelt^[85] und ihre Auswirkung auf die photochemischen Eigenschaften von Lees *et al.* im Jahr 2008 eindrucksvoll gezeigt.^[177] Diese Modifikation hat zudem zur Folge, dass sich die Prioritäten nach Cahn-Ingold-Prelog (CIP) umkehren und somit bei dem von uns verwendeten Derivat die Photozyklisierung nach Nomenklatur zwischen dem Z- und dem C-Isomer stattfinden. Die entsprechenden spektralen Bereiche für die verschiedenen Isomerisierungen sind **Schema 2** zu entnehmen.



Schema 2: Die drei bekannten Fulgid-Photo-Isomere. Links das nicht-zyklisierbare E-Isomer, in der Mitte das zyklisierbare Z-Isomer und rechts das zyklische C-Isomer. Die jeweiligen Wellenlängen für eine optimale Photo-Isomerisierung sind auf und unter den Reaktionspfeilen zu erkennen.

Das Z-Isomer besitzt in Toluol gelöst eine charakteristische gelbe Farbe, wohingegen das C-Isomer in Toluol eine violette Färbung aufweist. Der spektrale Bereich, der durch die verschiedenen Photo-Isomere abgedeckt werden kann, ist **Abbildung 64** zu entnehmen. Er erstreckt sich von ca. 300 nm bis über 700 nm. Die beiden Maxima des C-Isomers liegen bei etwa 360 nm und bei ca. 570 nm je nach verwendetem Lösungsmittel. Die Absorptionsbanden des E- und Z-Isomers überlappen zu einem großen Teil und die Maxima liegen bei 430 nm für das Z-Isomer und ca. 405 nm für das E-Isomer.

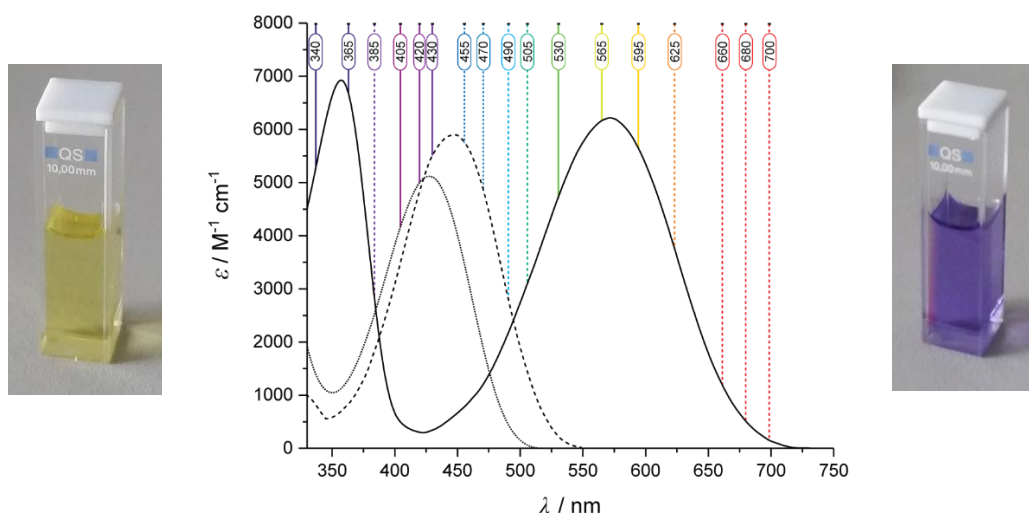


Abbildung 64: Links: Z-Isomer gelöst in Toluol. Mitte: Absorptionsbereich der verschiedenen Fulgid-Photoisomere inklusive der Wellenlängen, für die es als chemisches Aktinometer geeignet ist. Rechts: C-Isomer gelöst in Toluol.

Da zum damaligen Zeitpunkt eine Auftrennung der verschiedenen Isomere nicht möglich war, entschieden wir uns über reverse Linearkombination der Spektren verschiedener Mischungsverhältnisse der Photo-Isomere, die Reinspektren der einzelnen Spezies zu ermitteln.

Die hierfür benötigten Methoden waren die UV/vis-Spektroskopie, die am PHITS durchgeführt wurde, sowie die NMR-Spektroskopie zur Bestimmung der exakten Verhältnisse. Dazu mussten zunächst verschiedene Mischungsverhältnisse der Isomere in deuteriertem Toluol hergestellt werden und anschließend diese Lösungen mit Hilfe von NMR- und UV/vis-Spektroskopie analysiert werden. Ziel war es entsprechend dem unten gezeigten Schema, jeweils mindestens eine Lösung herzustellen, in der eines der drei Isomere akkumuliert vorlag. Für das Z-Isomer ließ sich dieses Problem schnell lösen, da die Synthese des Fulgids über die literaturbekannte Route zum Z-Isomer in Reinform führte.

Um das C-Isomer anzureichern, wurde die NMR-Lösung des Z-Isomers für 40 Minuten bei 455 nm mit 500 mA (ca. 5 mW) bestrahlt. Die daraus entstehende Lösung konnte durch Bestrahlung bei 595 nm für 30 Minuten und 500 mA zurück geschaltet werden.

Hierbei konnte festgestellt werden, dass das Verhältnis jedoch etwas von dem Ausgangsverhältnis abwich und der Anteil des Z-Photoisomers um 2,8% leicht abnahm. Die finale Bestrahlung der nun erhaltenen Probe, in der das Z-Isomer erneut mit 365 nm bei 700 mA für 90 Minuten akkumuliert wurde, führte wie erwartet zur Anreicherung des E-Isomers (siehe **Abbildung 65**).

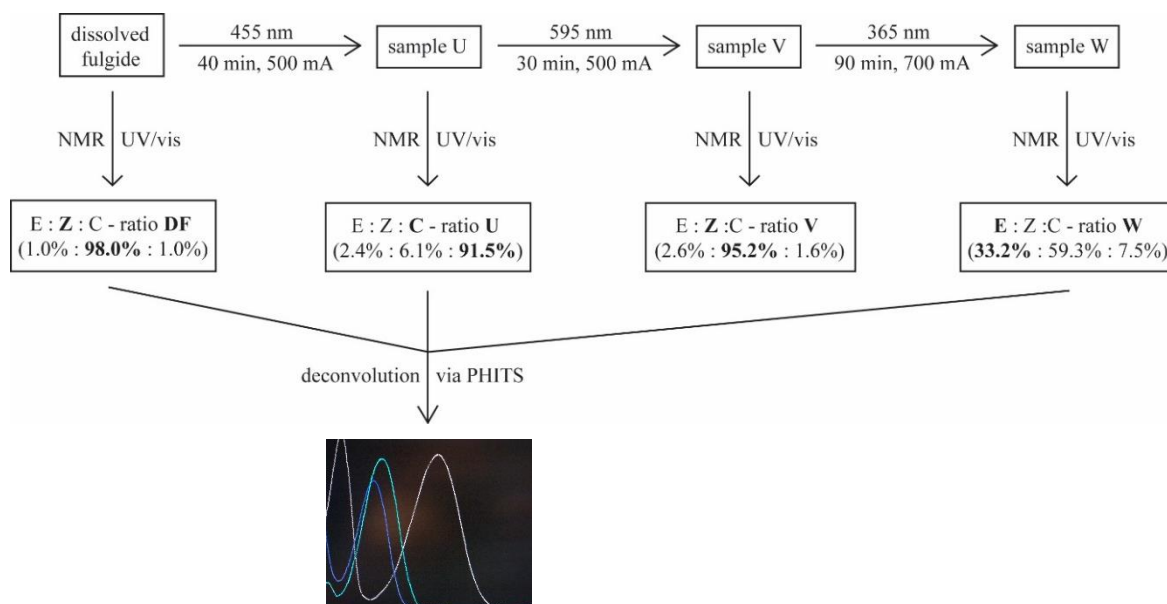


Abbildung 65: Vorgehensweise der Bestimmung der Reinspektren. Bestrahlungsabfolge und Analyse der entsprechenden UV/vis-Absorptionsspektren und NMR-Spektren für die Verhältnisse der Isomere in den jeweiligen Mischungen. Aus drei der erhaltenen Spektren und Verhältnisse konnten abschließend mittels Linearkombination die Reinspektren der einzelnen Isomere bestimmt werden.

Das Verhältnis der verschiedenen Isomere in den jeweiligen Lösungen konnte wie bereits erwähnt, mit Hilfe der Integrale der jeweiligen Methyl-Gruppen, im $^1\text{H-NMR}$ bestimmt werden (siehe **Abbildung 66**). Hervorzuheben ist hierbei vor allem, dass sich die einzelnen Isomere, trotz zum Teil nur geringer molekularer Unterschiede, im $^1\text{H-NMR}$ Spektrum eindeutig voneinander unterscheiden ließen. Dies machte eine genaue Aussage über ihre Verhältnisse zueinander erst möglich. Durch eine durchgeführte Linienformanalyse konnte die Genauigkeit der Verhältnisse noch einmal optimiert werden. Die erhaltenen Absorptionsspektren wurden anschließend mit diesen Verhältnissen dekonvolviert.

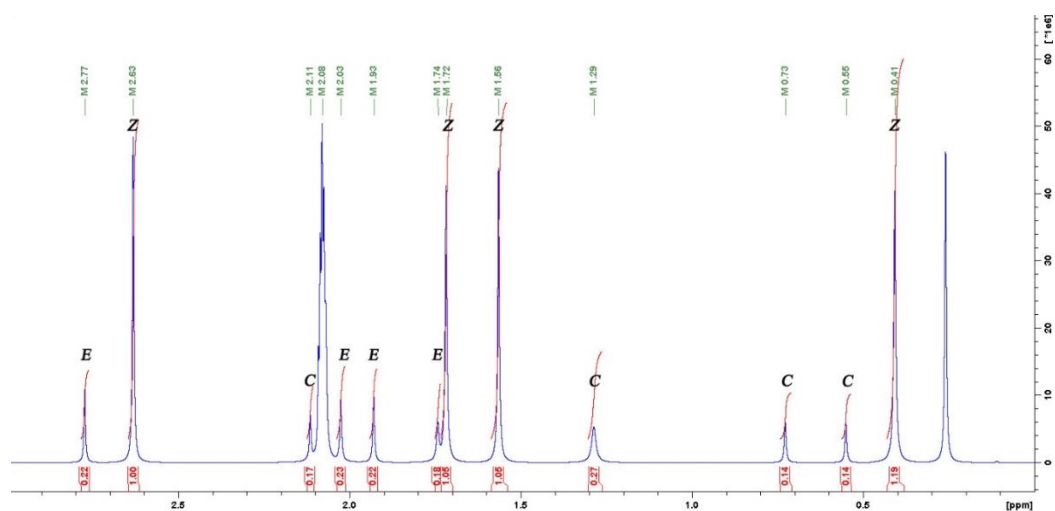


Abbildung 66: Zuordnung der jeweiligen Methyl-Protonen der drei verschiedenen Photo-Isomere. C für das geschlossene Isomer, Z für das zyklisierbare Isomer und E für das nicht zyklisierbare Fulgid-Isomer. In der hier vorliegenden Mischung lag ein Großteil als Z-Isomer vor.

Bei der Betrachtung der UV/vis Absorptionsspektren der einzelnen Isomeren-Gemische (siehe **Abbildung 67**) fällt auf, dass sich das gelbe (bei dem das Z-Photoisomer akkumuliert vorliegt) und das blaue Spektrum (bei dem das E-Isomer angereichert wurde) eindeutig voneinander unterscheiden lassen. Zum einen erkennt man die angestiegene Bande bei ca. 570 nm, die dem C-Isomeren-Anteil zuzuschreiben ist der in diesem Gemisch vorlag, zum anderen ist ebenso klar zu erkennen, dass sich das Absorptionsmaximum nun leicht bathochrom verschoben hat. Dies lässt schon die erste Schlussfolgerung zu, dass das Reinspektrum des E-Isomers ebenso im Vergleich zum Z-Isomer bathochrom verschoben sein muss.

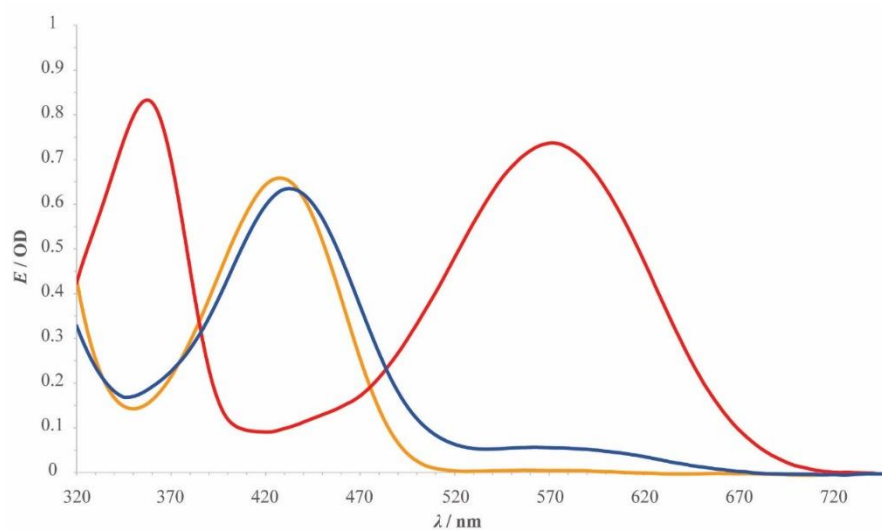


Abbildung 67: UV/vis Absorptionsspektren der verschiedenen Isomeren-Gemische. Rot: C-Isomer akkumuliertes Spektrum, Gelb: Z-Isomer akkumuliertes Spektrum und Blau: E-Isomer akkumuliertes Spektrum.

Durch die Dekonvolvierung der Mischungs-Spektren ist es uns schlussendlich gelungen die einzelnen Reinspektren der Isomere klar zu identifizieren (siehe **Abbildung 68**). Hierbei konnten wir zeigen, dass das Reinspektrum des E-Isomers (magenta-farbene Linie) sowohl bathochrom verschoben ist als auch eine höhere Extinktion aufweist als das Z-Isomer (cyan-farbende Linie). Diese Beobachtungen stehen im Einklang mit der Literatur. Das C-Isomer (violett-farbende Linie) konnte ebenfalls eindeutig zugeordnet und der Literatur entsprechend nachgewiesen werden.

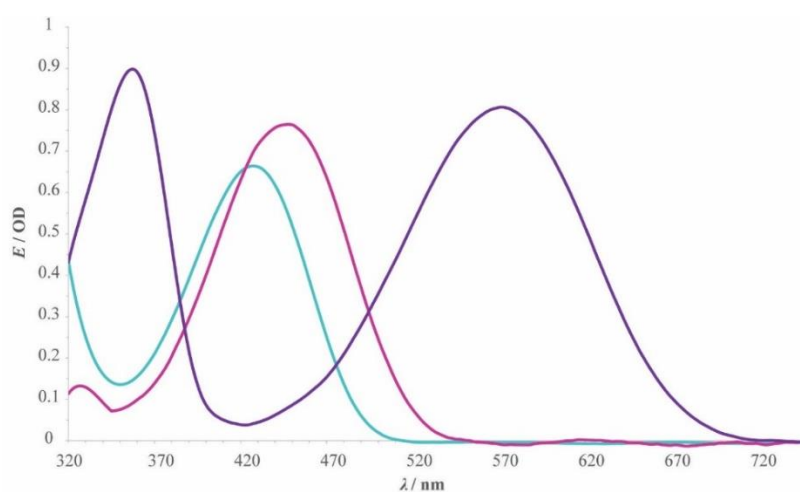


Abbildung 68: Reinspektren der drei verschiedenen Photo-Isomere. Violett: C-Isomer, Magenta: E-Isomer, Cyan: Z-Isomer.

In **Abbildung 69** sind die gleichen Reinspektren zusammen mit den der Wellenlänge entsprechenden photochemischen Quantenausbeuten der Z-C-Isomerisierungsreaktion dargestellt. Im linken Diagramm ist gut zu erkennen, dass die Quantenausbeute der Schaltung von Z zu C zwischen 340 nm und 480 nm im Rahmen des Fehlerbereichs nahezu konstant ist. Dies stimmt auch mit den photochemischen Grundregeln (wie der Kasha-Regel) überein, nachdem die meisten photochemischen Prozesse aus dem S1 Zustand erfolgen. Im rechten Diagramm ist zu erkennen, dass die Werte der Quantenausbeuten des Absorptionsmaximums um 365 nm herum deutlich größer sind als die im Bereich des bathochrom verschobenen Maximums. Erklärt werden kann dieses Phänomen höchstwahrscheinlich u.a. dadurch, dass die Anregung in den zweiten angeregten Zustand eine effizientere Photoreaktion ermöglicht als die Anregung in den S1 Zustand. Dennoch sind alle Werte in sich konsistent.

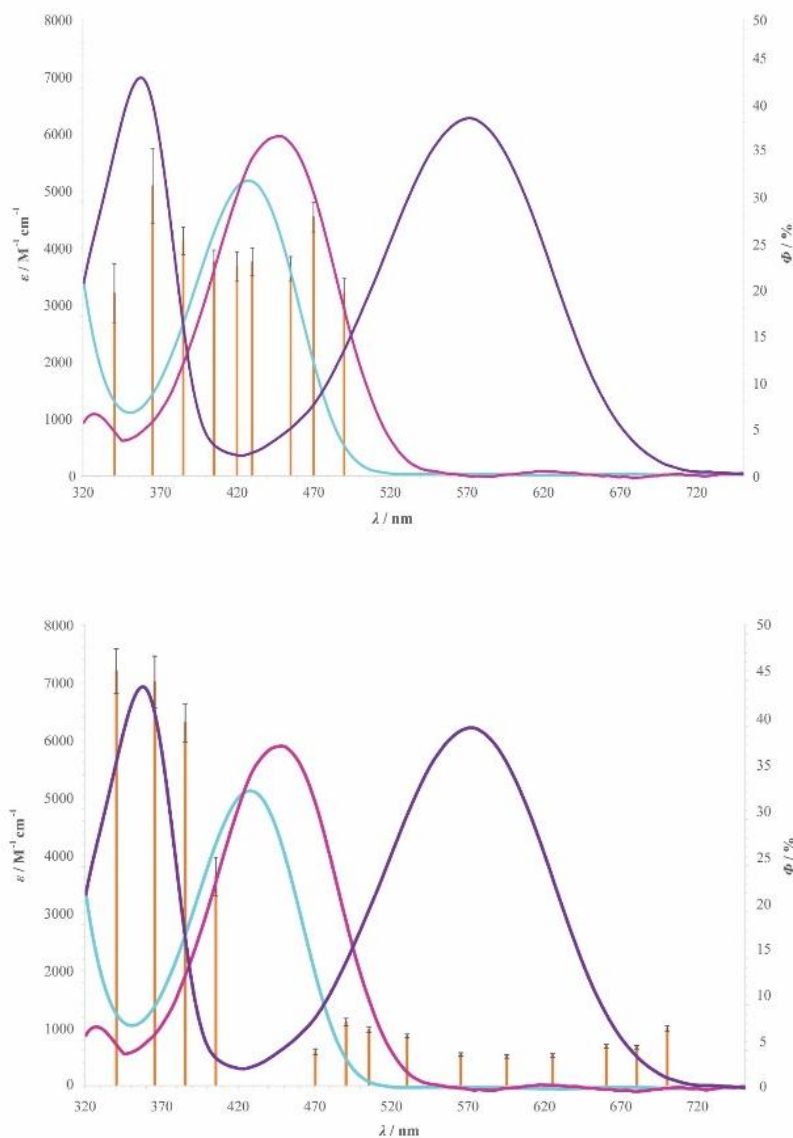


Abbildung 69: Isomerisierungs-Quantenausbeuten für den jeweiligen Schaltprozess vom Z- zum C-Photo-Isomer (oben) und vice versa (unten). Zu erkennen ist, dass die Werte innerhalb einer Absorptionsbande im Rahmen des Fehlerbereichs nahezu identisch sind.

Mit Hilfe dieser Reinspektren und der bestimmten Quantenausbeuten der Schaltprozesse ist es damit möglich, die photochemische Isomerisierungsreaktion bei der Bestrahlung mit Licht einer beliebigen Wellenlänge über UV/vis Absorption zu beobachten, den Verlauf mit einer mathematischen Funktion zu modellieren und daraus die Photonenmenge der Lichtquelle pro Zeiteinheit zu bestimmen. Dieses Vorgehen nennt man auch chemische Aktinometrie.

4.2.2 Erweiterte Kontrolle mit Licht – CD-Spektroskopie am Fulgid

Bisher sind wir in diesem Kapitel davon ausgegangen, dass bei der Einschätzung der photochemischen Eigenschaften des Fulgids primär drei verschiedene Photo-Isomere eine Rolle spielen. Bei genauerer Betrachtung fällt jedoch auf, dass beim C-Isomer in allen bisherigen Abbildungen eine der Methyl-Gruppen in zwei unterschiedlichen Orientierungen vorliegen kann und diese Spezies somit immer als racemisches Gemisch seiner beiden Isomere betrachtet wurde. Zudem ist die sterische Überladung der Methyl-Gruppen am Indol-Ring und an der Isopropyliden-Gruppe beim Z-Isomer ebenfalls bereits in der Lewis-Struktur offensichtlich. In einfachen 3D-Zeichnungen ohne besondere energetische Optimierung der Strukturen (siehe **Abbildung 70**), lässt sich ebenfalls erahnen, dass die sterische Überfrachtung der Methyl-Gruppen eine entscheidende Auswirkung auf die räumliche Struktur des Moleküls haben könnte. Hier stellt sich die Frage, ob es verschiedene so genannte Atropisomere geben müsste, die sich in ihren Eigenschaften größtenteils entsprechen, aber in einigen entscheidenden Eigenschaften, wie z.B. der Interaktion mit zirkular polarisiertem Licht, stark voneinander abweichen könnten.

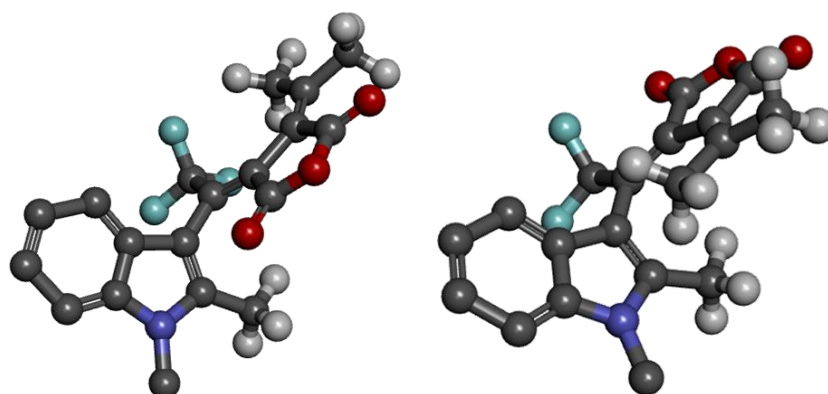


Abbildung 70: Mögliche Atropisomere des Z-Photoisomers des Trifluor-Indol-Fulgids. Bei der linken Struktur befindet sich der Bernsteinsäure-Anhydrid-Teil oberhalb des Indol-Teils. Hier ist bereits zu erahnen, dass die Carbonyl-Funktion des Bernsteinsäure-Anhydrids mit der Methyl-Gruppe des Indol-Teils sterisch in Wechselwirkung tritt. In der rechten Struktur befindet sich der Bernsteinsäure-Anhydrid-Teil unterhalb des Indols. Bei dieser Struktur ist die Stelle an der sich die drei erkennbaren Methyl-Gruppen befinden sterisch überladen. (Erstellt mit Discovery Studio Visualizer v4.1.0.14169 von Accelrys Software Inc.)

Die Gruppe um Hery Dube konnte im Jahr 2018 ein ähnliches Phänomen an einem Hemiindigo Derivat aufdecken.^[178] Atropisomere haben eine bedeutende Rolle in der Natur und können so auch bei der Regulation von verschiedensten Mechanismen eine entscheidende Rolle spielen.^[179] Daraus entstand die Idee, einen genaueren Blick auf dieses System zu werfen, um die Eigenschaften des Fulgids noch besser zu verstehen und für weitere Applikationen anwendbar zu machen.

Erste derartige Erkenntnisse bezüglich des Fulgid-Photoschalters konnten Yokoyama et al. 1995 in ihrer Arbeit aufzeigen.^[180] Wir wollen im Folgenden daran anknüpfen und „mit der Lupe“ etwas genauer auf die einzelnen Spezies eingehen (siehe **Abbildung 71**).

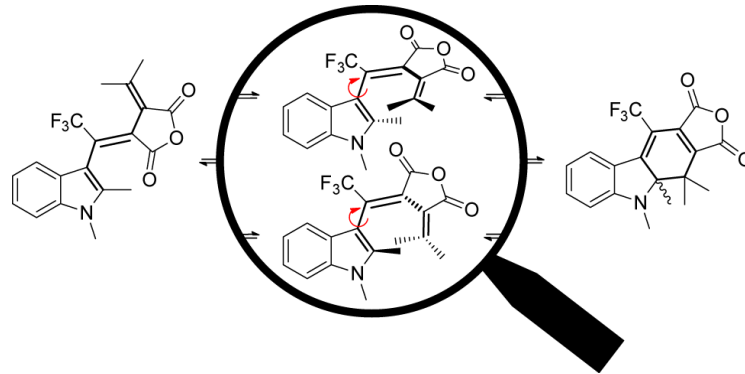


Abbildung 71: Die genauere Betrachtung der Fulgid-Photo-Isomere zeigt verschiedene Atropisomere auf, die in ihrer Rotation um die angedeutete Einfachbindung eingeschränkt sind.

Wenn man einen Blick auf die ^1H -NMR Spektren der verschiedenen Isomere (siehe **Abbildung 72**) wirft, so fällt bei genauerer Betrachtung auf, dass erstens die Signale des E-Isomers im Vergleich zum Z-Isomer alle Tieffeld-verschoben sind und zweitens wir zwei unterschiedliche Signale bei beiden Spezies für die Methyl-Gruppen am Isopropyliden-Teil beobachten. Dies lässt darauf schließen, dass eine unterschiedliche chemische und magnetische Umgebung vorliegt. Ein erster Hinweis auf eine Interaktion verschiedener Molekül-Untereinheiten miteinander. Da wäre zum einen die Carbonyl-Gruppe am Bernsteinsäureanhydrid (BSA) Teil, die in Wechselwirkung mit der Methyl-Gruppe am Indol-Teil des Moleküls wechselwirken kann. Zum anderen kann es durch die Rotation um die Einfachbindung am Indol-Teil zu einer Wechselwirkung des BSA-Carbonyls mit der Benzyl-Gruppe des Indols kommen.

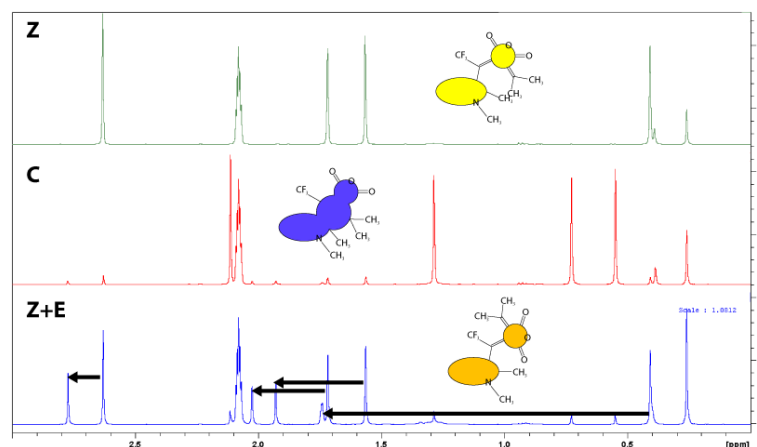


Abbildung 72: Aliphatischer Bereich der ^1H NMR-Spektren der drei verschiedenen Photo-Isomere. Oben: Z-Isomer, Mitte: C-Isomer, unten eine Mischung aus Z- & E-Isomer. Benzylische Ringe nur schematisch dargestellt.

Mit diesen Annahmen haben wir nun begonnen das potentielle Isomerengemisch mit Hilfe von chiraler HPLC aufzutrennen. Dazu wurde eine Chiralpack-Säule verwendet und verschiedene Gemische aus n-Hexan und Ethanol isokratisch als Eluent getestet. Als ideales Lösungsmittelgemisch stellte sich nach zahlreichen Tests 85% n-Hexan zu 15% Ethanol heraus. Die verschiedenen Spezies, die somit voneinander separiert werden konnten, wurden einzeln unter Licht Ausschluss gesammelt, vom Lösungsmittel befreit und untersucht. Alle Gefäße oder Behältnisse, die hierbei verwendet wurden bestanden aus Braunglas und wurden zusätzlich mit Alufolie umwickelt, um den Licht Ausschluss zu gewährleisten. Herauszuheben ist hierbei, dass sowohl das Z-Isomer, als auch das E-Isomer zwei nahezu Baseline-separierte Peaks bei der chiralen Auftrennung ergaben. Im Gegensatz dazu ließen sich mit dieser Methode die beiden C-Atropisomere nicht voneinander trennen. Alle weiteren Messungen erfolgten in Toluol, da die Stabilität dieses Photoschalters dort am besten ist und die meisten Studien und Erkenntnisse über dieses Fulgid-Derivat ebenfalls auf Erkenntnissen basieren, die in Toluol ermittelt werden konnten.

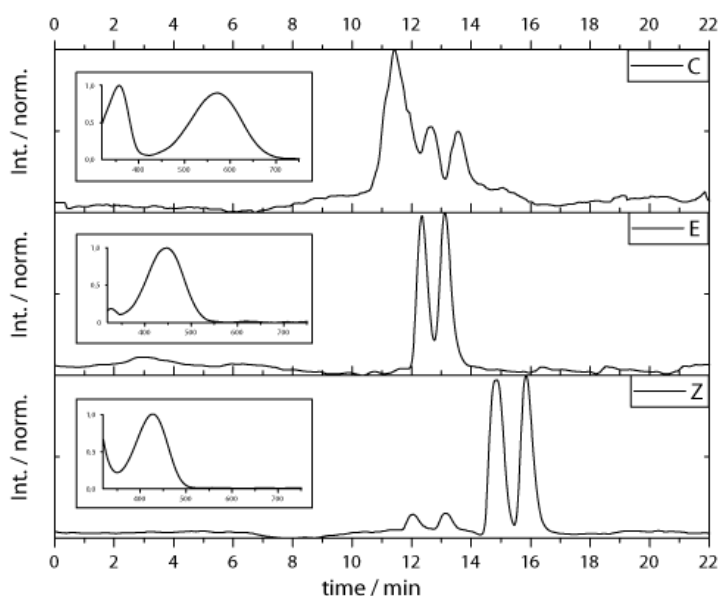


Abbildung 73: HPLC-Chromatogramme der einzelnen akkumulierten Photo-Isomere und deren jeweilige UV/vis Absorptionsspektren als Inset. Oben: C-Isomer akkumulierte Probe. Mitte: akkumulierte E-Isomer-Atropisomere. Unten: akkumulierte Z-Isomer-Atropisomere mit geringer Menge an E-Isomeren. Verwendet wurde ein chirales Säulenmaterial (Daicel Chiralpak), um die verschiedenen Isomere voneinander zu separieren.

Da die Trennung der beiden Isomere des C-Photo-Isomers auf chromatographischem Weg, wie bereits erwähnt, nicht erfolgen konnte, machten wir uns die robusten photochemischen Eigenschaften zu Nutze. Da die Schaltung vom Z-Isomer zum C-Isomer bei 430 nm nahezu quantitativ erfolgen kann, belichteten wir die beiden Z-Atropisomere jeweils einzeln und konnten so die beiden C-Isomere über einen Umweg dennoch isoliert voneinander beobachten und analysieren.

In **Abbildung 74** sind die jeweils experimentellen CD-Spektren der einzelnen Verbindungen, gemessen in Toluol mit einer generellen Übersicht über alle Isomere zu erkennen.

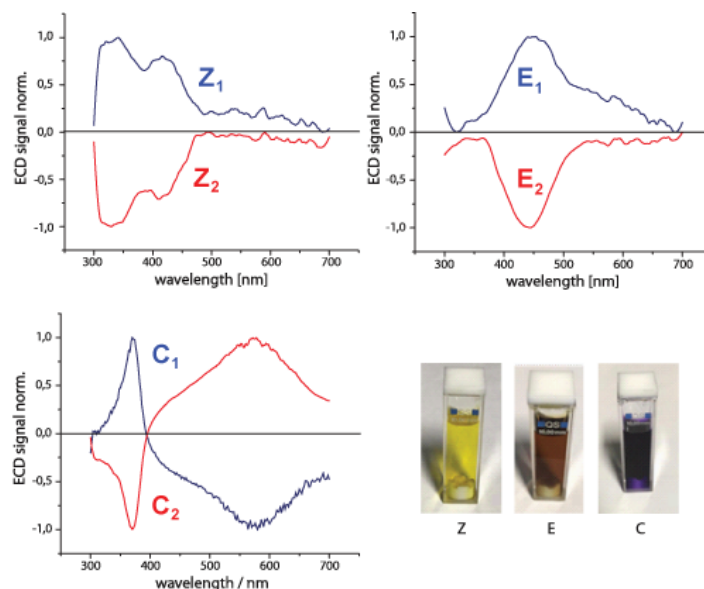


Abbildung 74: Experimentell bestimmte CD-Spektren der einzelnen, voneinander separierten Atropisomere mit entsprechender Farbe der Toluol-Lösung.

Hierbei ist gut zu erkennen, dass alle Atropisomere jeweils Achsensymmetrisch zur X-Achse zueinander sind. Das M- und das P- Atropisomer des E-Photo-Isomers weist lediglich ein Maximum auf. Bei den beiden Z-Atropisomeren sind zwei Maxima zu erkennen. Beide stimmen mit dem Absorptionsbereich im UV/vis-Spektrum sehr gut überein. Zuletzt sind die beiden C-Isomere ebenfalls spiegelbildlich zueinander. Hervorzuheben ist hierbei, dass wir einen „Nulldurchgang“ bei diesen Spektren beobachten können. Das Vorzeichen des hypsochrom verschobenen Maximums der beiden Isomere ist genau umgedreht, zu dem Vorzeichen der Bande bei ca. 590 nm.

Um diesen interessanten Fakt zu belegen und um eine Zuordnung der Spektren zu den jeweiligen Isomeren vornehmen zu können, wurden theoretische Berechnungen durch Maximilian Scheurer von der Gruppe um Prof. Dr. Andreas Dreuw durchgeführt. Die daraus resultierenden berechneten CD-Spektren stimmen sehr gut mit den experimentellen Daten überein und sind in **Abbildung 75** dargestellt.

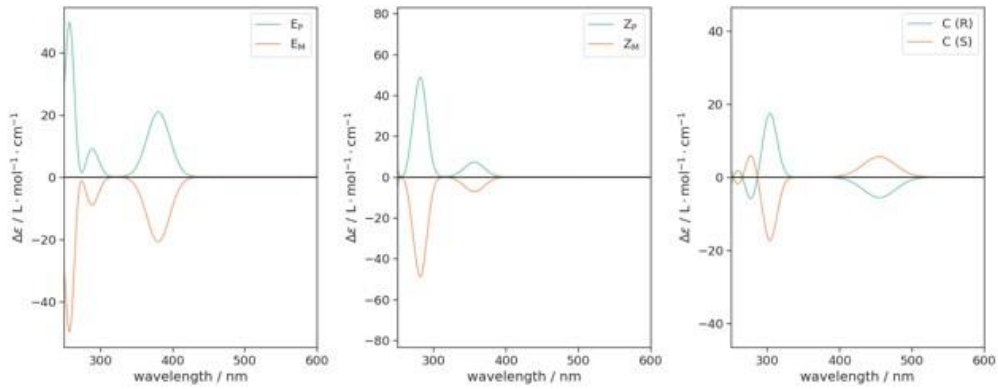


Abbildung 75: Berechnete CD-Spektren aller sechs Isomere. Die qualitative Übereinstimmung mit den experimentellen Daten ist sehr gut. Die Absorptionsbanden unter 300 nm konnten aufgrund apparativer Einschränkungen des verwendeten CD-Spektrometers nicht experimentell ermittelt werden. Auch hier zeigt sich, dass selbst die beiden C-Isomere unterschiedliche CD-Spektren aufweisen. Erstaunlich ist vor allem der ungewöhnliche Vorzeichenwechsel zwischen dem Maximum bei ca. 300 nm und dem Maximum bei ca. 450 nm. Datei freundlicherweise zur Verfügung gestellt von M. Scheurer.

Anhand der theoretisch berechneten Spektren waren wir nun, aufgrund der sehr guten Übereinstimmung, dazu in der Lage die einzelnen Spezies den verschiedenen Isomeren zuzuordnen. Damit ergibt sich ein eindeutigeres Bild der einzelnen thermisch und photochemisch möglichen Pfade zwischen den jeweiligen Isomeren, welches in **Abbildung 76** zu erkennen ist. Bereits bei den Vor-Untersuchungen fiel dabei auf, dass sich die thermischen Raten der Konversion der einzelnen Atropisomere stark voneinander unterschieden. Bemerkbar machte sich dies experimentell in den unterschiedlichen Zeitspannen, die die CD-Spektren der einzelnen Isomere bei gleicher Temperatur noch detektiert werden konnten.

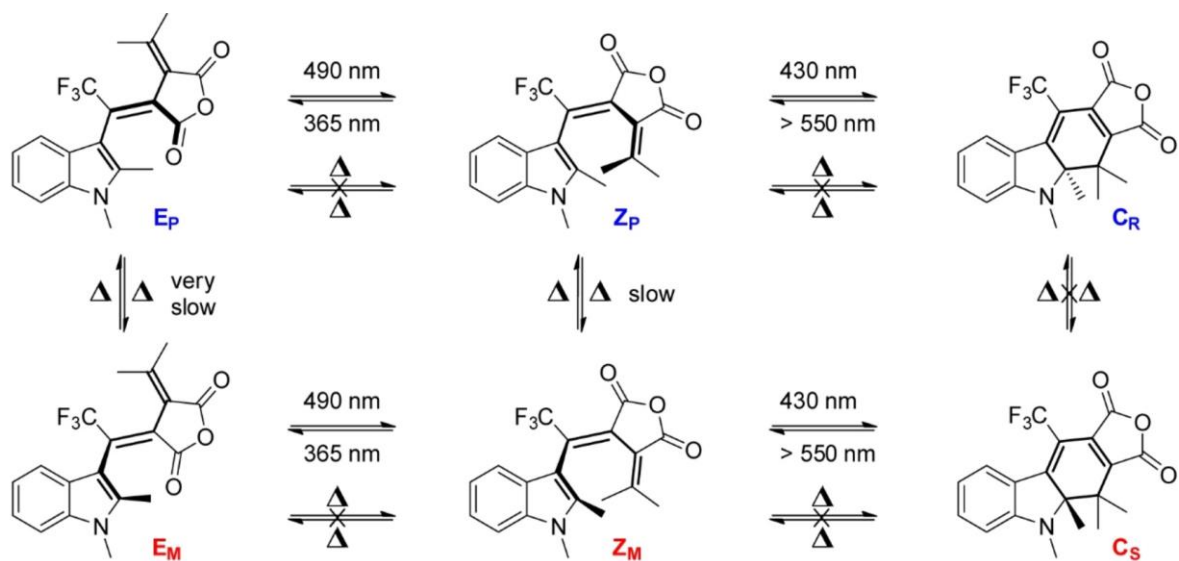


Abbildung 76: Übersicht aller Atropisomere der verschiedenen Photo-Isomere des Fulgid-Photoschalters. Photochemische und thermische Prozesse der verschiedenen Photo- & Atropisomere dieses speziellen Fulgid-Photoschalters. Die thermischen Raten zwischen den Photoisomere

Bevor wir uns näher mit den thermischen Raten der einzelnen Atropisomere auseinander setzen wollen, soll an dieser Stelle noch einmal der Unterschied zwischen dem P- und dem M- Atropisomer visualisiert werden. Als Beispiel für die räumliche Orientierung der beiden M- & P-Isomere, sind in **Abbildung 77** die beiden Atropisomere des Z-Isomers und in **Abbildung 78** die entscheidende Drehachse der Z-Isomere dargestellt. Zu erkennen ist bereits in dieser Darstellung, dass der sterisch anspruchsvolle Isopropyliden-Rest sowohl mit der Methyl-Gruppe des Indol-Teils, als auch mit dem Benzolring des Indol-Teils in Wechselwirkung treten wird, sodass eine Rotation um die C-C-Einfachbindung am Indol nicht ohne energetische Barriere möglich sein wird.

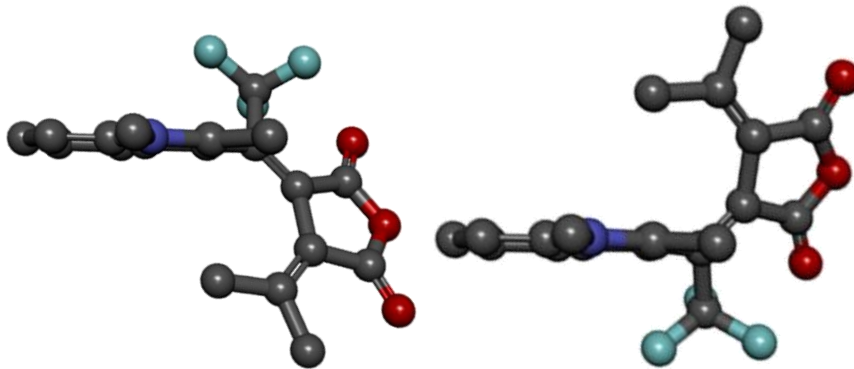


Abbildung 77: M- & P-Atropisomer des Z-Photo-Isomers. Links befindet sich die Isopropyliden-Gruppe unter, rechts über dem Indol-Ring. Die Isomerisierung ist auf der einen Seite durch die Methyl-Gruppe am Indol-Teil und auf der anderen Seite durch den Benzyl-Ring des Indols stark eingeschränkt. Daraus resultiert eine unterschiedliche dreidimensionale Struktur, wodurch die unterschiedliche Interaktion mit zirkular polarisiertem Licht erklärt werden kann. Das jeweilige Isomer reagiert spezifisch zu einem der beiden C-Isomere (R oder S). Es findet während des Schaltprozesses nur eine sehr geringe Isomerisierung statt, die vermutlich mit einer thermischen Isomerisierung zu erklären ist.

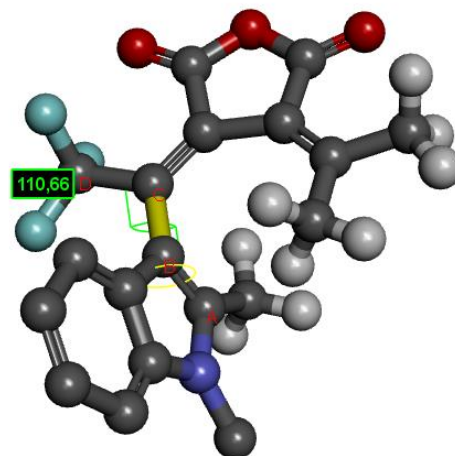


Abbildung 78: 3D-Struktur des Z-Isomers und Veranschaulichung der Drehachse (in Gelb markiert), die bei den dargestellten Untersuchungen die Hauptrolle spielt.

Genau diesen Aspekt galt es nun aufzuklären. Dazu wurden thermische Racemisierungs-Experimente durchgeführt. Hierfür wurden die einzelnen Atropisomere zunächst, wie bereits beschrieben, per chiraler HPLC voneinander getrennt, das Lösungsmittel unter Licht Ausschluss entfernt, das jeweilige Isomer in einer passenden Konzentration in Toluol gelöst und anschließend die Proben mittels CD-Spektroskopie bei verschiedenen Temperaturen auf ihr thermisches und photochemisches Verhalten analysiert. Die thermische Isomerisierung bzw. Racemisierung der verschiedenen Isomere wurde in Toluol untersucht. Hierzu wurden die vorher getrennten Spezies einzeln per CD-Spektroskopie vermessen und die Messtemperaturen im Bereich von 20 °C bis 70 °C im Anschluss daran variiert. Im Falle der beiden E-Isomere zeigte sich, dass sie bei einer Temperatur von 50 °C immer noch ein sehr stabiles CD-Signal aufweisen, was auf eine sehr geringe Racemisierung hinweist (siehe **Abbildung 79**). Die beiden Z-Isomere hingegen zeigten bei 50 °C bereits eine Racemisierung im Zeitraum von mehreren Minuten. Um eine vergleichbare Reaktion zu erreichen, mussten die E-Isomere bis auf 70 °C erwärmt werden. Bei 35 °C blieb das CD-Signal der Z-Isomere auch über mehrere Minuten nahezu konstant, was einen Einsatz für Temperaturen unter 35 °C ermöglichen sollte. Die Auftragung dieser erhaltenen Datenpunkt gegen den Logarithmus von c_0/c ergibt jeweils eine lineare Gerade, aus der sich die Rotationsbarriere berechnen lässt. Auch an der Steigung der jeweiligen Geraden lässt sich schon grob die thermische Stabilität der einzelnen Isomere erkennen.

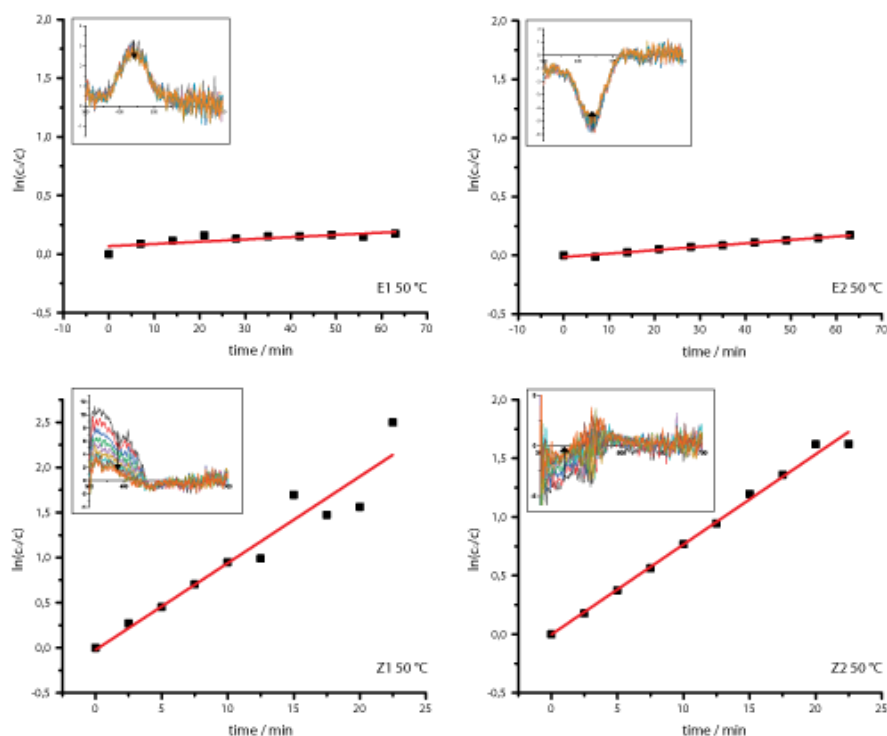


Abbildung 79: Thermische Racemisierung ermittelt über das CD-Signal der einzelnen Spezies. Die Signale der entsprechenden Spektren wurden jeweils integriert und das Verhältnis der Flächeninhalte gegeneinander aufgetragen. Oben ist zu erkennen, dass die beiden Atropisomere des E-Photoisomer thermisch relativ stabil sind. Dies zeigt sich an dem nahezu gleichbleibenden CD-Signal bei 50 °C. Unten sind die beiden Atropisomere des Z-Photoisomers aufgetragen. Hier zeigt sich bei 50 °C bereits eine deutlich stärkere, zeitliche Veränderung. Die Abnahme des jeweiligen Isomers und die damit verbundene thermische Racemisierung sind deutlich stärker ausgeprägt, was für eine geringere Energiebarriere spricht ($E_1=E_P$, $E_2=E_M$, $Z_1=Z_P$, $Z_2=Z_M$).

In **Abbildung 80** sind die entsprechenden Rotationen und Energiebarrieren-Profile gezeigt, die im Rahmen von Berechnungen von Maximilian Scheurer aus der Gruppe um Prof. Dr. Andreas Dreuw durchgeführt wurden. Das Energieprofil der Rotationsbarriere zeigt bei beiden Isomeren zwar einige Gemeinsamkeiten, aber auch entscheidende Unterschiede auf. Beiden gemein ist, dass sie ein energetisches Maximum an dem Punkt besitzen, an dem die sterische Hinderung bzw. die Interaktion der CH₃-Gruppe am Indol mit dem Carbonyl bei der E-Form bzw. mit der Isopropyliden-Gruppe bei der Z-Form am größten ist. Daneben zeigt das Z-Isomer noch zwei zusätzliche, kleinere Barrieren auf, die mit der Konformation des Isopropyliden-Gerüsts zu erklären sind.

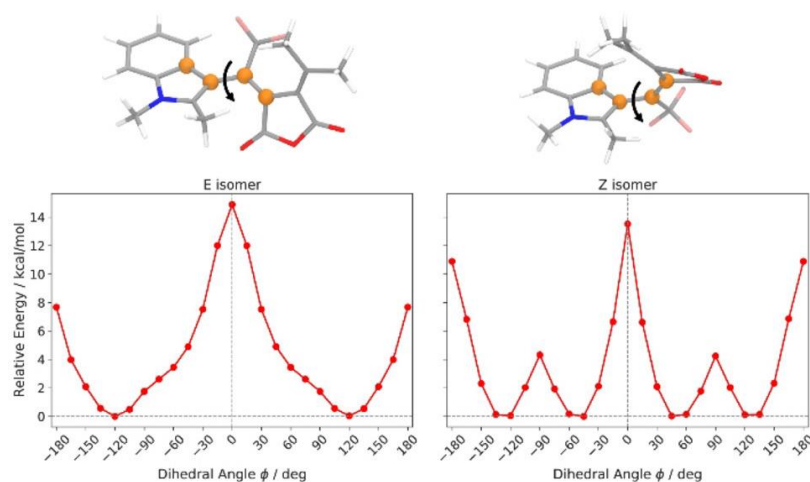


Abbildung 80: Energiebarrieren der Rotation um die zentrale Einfachbindung beim E- und Z-Photoisomer. Die Diederwinkel (markiert durch die 4 orangenen Kugeln) entsprechen für das E-Isomer $\varphi = -165^\circ$ und für das Z-Isomer $\varphi = 120^\circ$. Durch die ermittelten Energiebarrieren von ca. 14,5 kcal/mol für das E-Isomer und ca. 13,9 kcal/mol für das Z-Isomer, kann die unterschiedliche thermische Isomerisierung erklärt werden. Die zusätzlichen Nebenmaxima bei ca. -90° und bei ca. 90° im Falle des Z-Isomers entsprechen der Methylgruppen-Interaktion (Indol-Methyl-Gruppe und Isopropyliden-Gruppe), die sich sterisch beim Rotationsprozess annähern.

Durch die theoretischen Berechnungen konnten somit die experimentellen Beobachtungen bestätigt werden, dass es sich bei dem E-Isomer, um die stabilere Form bezüglich der Racemisierung zwischen den beiden Atropisomeren handelt. Nachdem wir nun mit Hilfe dieser zahlreichen Untersuchungen ein deutlich klareres Bild des Schaltprozesses des Fulgid-Photoschalters und den thermischen Raten der einzelnen Atropisomere erhalten hatten, fokussierten wir uns zum Ende dieser Studie noch einmal auf die photochemischen Eigenschaften. Um zu untersuchen, in wie weit die einzelnen Verhältnisse zwischen den Atropisomere auch innerhalb eines oder mehrerer Schalt-Zyklen erhalten bleiben, sollten die voneinander separierten Atropisomere nun jeweils hin- und her geschaltet werden und nach jedem Schaltschritt ein CD-Spektrum aufgenommen werden.

Für dieses Experiment in Frage kamen im Prinzip die beiden klassisch möglichen Schaltprozesse des Fulgid-Photoschalters: der Photozyklisierungs- bzw. Ring-Öffnungsprozess zwischen dem Z- und dem C-Isomer oder die E-Z-Photoisomerisierung zwischen dem E- und dem Z-Isomer. Nach unseren bisherigen thermischen Erkenntnissen sind die E-Atropisomere thermisch deutlich stabiler als die Z-Atropisomere. Da die spektrale Separation der UV/vis-Spektren zwischen dem E- und dem Z-Isomer jedoch keine vollständige direkte Schaltung ermöglicht, entschieden wir uns, trotz der thermischen schlechteren Eigenschaften der Z-Atropisomere für die Schaltung zwischen Z und C, die mit nahezu 100% photochemisch möglich ist.

In **Abbildung 81** ist die Differenz der Extinktionskoeffizienten bei 420 nm gegen die Schaltzyklen für die Schaltung zwischen dem Atropisomer Z_P und C_R oben und zwischen dem Atropisomer Z_M und C_S unten dargestellt. Da beide C-Atropisomere bei 420 nm keine signifikante Absorption zeigen, liegt der Wert hierbei nahe null.

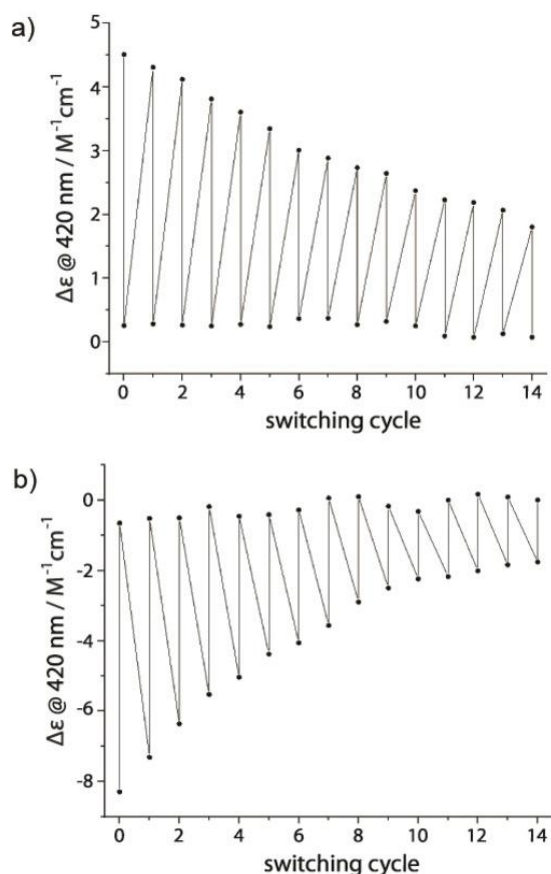


Abbildung 81: CD-Signale der Z-Atropisomere a) Z_P und b) Z_M während mehrerer Schaltzyklen gemessen in Toluol bei 25 °C. Die Schaltung zwischen den Z- und C-Isomeren erfolgte bei 430 nm und 550 nm. Zu erkennen ist, dass der Atropisomeren-Überschuss und somit die räumliche Information auch nach über 10 Schaltzyklen erhalten bleibt. Die Spektren der einzelnen Schaltschritte sind dem Manuskript sowie der SI von Hermanns et al., *ChemPhotoChem* **2022**, e202200057; <https://doi.org/10.1002/cptc.202200057> zu entnehmen.

Die jeweiligen CD-Spektren der Schaltschritte zeigten jedoch klar, dass es sich nicht um ein vollständiges racemisches Gemisch handelte, sondern um das jeweilige C-Atropisomer. Es ist deutlich zu erkennen, dass der Überschuss des jeweiligen Atropisomers auch nach über 10 Schaltzyklen erhalten bleibt.

Der Rückgang der Signalintensität des Z_P und des Z_M Signals, kann dabei mehrere Gründe haben. Einerseits ist es bekannt, dass die Bestrahlung des Z-Isomers nicht zu 100% C-Isomer liefert, sondern bei jedem Schritt auch eine geringe Menge E-Isomer akkumuliert wird, welches sich mit zunehmenden Schaltzyklen anreichern kann.^[83-85] Zum anderen haben wir innerhalb dieser Studie ebenfalls beobachten können, dass die Atropisomere des Z-Photo-Isomers zu einer geringen thermischen Racemisierung neigen. Da allein die Messung der CD-Spektren eine gewisse Zeit in Anspruch genommen hat, ließ sich dies im Rahmen dieser Studie nicht vermeiden. Dennoch konnte mit dieser Messung demonstriert werden, dass es sehr wohl möglich ist die räumliche Konfiguration des Fulgid-Photoschalters und damit eine weitere Information neben dem Photo-Isomeren-Zustand bei Raumtemperatur innerhalb von mehreren Schaltzyklen zu erhalten.

Insgesamt stimmen die im Rahmen dieser Studie ermittelten theoretischen und experimentellen Daten qualitativ sehr gut überein. Es konnte gezeigt werden, dass die experimentell bestimmten CD-Spektren der einzelnen Atropisomere in Toluol und die theoretisch bestimmten Spektren (im Vakuum berechnet) sehr gut zueinander passen. Dazu konnte das thermische Isomerisationsverhalten bzw. das Racemisierungsverhalten bestätigt werden und die erhaltenenen Energiebarrieren in den Literaturkontext eingebettet werden. Die im Rahmen dieser Studie gewonnenen Erkenntnisse eröffnen den Weg, um diesen speziellen Fulgid-Photoschalter z.B. im Rahmen spektroskopischer Untersuchungen zu verwenden, bei denen gezielt zirkular polarisiertes Licht auf verschiedene Photoisomer und Atropisomer-Mischungen angewendet und deren Auswirkungen untersucht wird. Möglicherweise kann somit eine weitere Dimension der komplexen Reaktionskontrolle mit Licht auf dem Gebiet der Photoschalter eröffnet werden.

4.2.3 Azobenzol-Photoschalter

In einem weiteren Projekt wollten wir die Auswirkung der Schaltung eines mit einem Azobenzol-Photoschalter modifizierten DNA Strangs auf die Duplexstabilität erforschen. Dazu wurden von Dr. Nikolai Grebenovsky verschiedene DNA/RNA-Stränge synthetisiert, die ein sogenanntes Purin-Azo beinhaltenen.^[119] Dabei handelt es sich um eine Kombination aus den Nucleobasen Guanosin bzw. Adenosin und dem Azobenzol Photoschalters. Da sich die beiden Photo-Isomere des Azobenzols unter anderem in ihrem räumlichen Anspruch und in ihrem „End-to-End“-Abstand stark voneinander unterscheiden, erhofften wir uns einen Effekt auf die Duplex Stabilität.

Angewendet wurde diese Technologie unter anderem bereits *in vivo* als 5'-Cap, um die Protein Expression mit Licht zu regulieren. Hierfür wurden mit 2-phenyldiazenyl-7-methyl-guanosin Nucleobasen modifizierte RNA-Stränge verwendet, die durch das Schalten vom *trans*- in den *cis*-Zustand des Azobenzols eine um den Faktor 7,1 höhere Expression des sog. „Squint Proteins“ in Zebrafisch Embryos aufzeigten.^[181] Dies zeigt eindrucksvoll die Auswirkungen der Konformation dieser Hybrid-Strukturen auf die enzymatische Erkennung des Expressionsapparates. Dennoch blieben bis zu unserer Studie die Auswirkungen solcher Modifikationen auf die Hybridisierungsfähigkeit eines DNA-DNA Duplexes weitestgehend unklar. Aus diesem Grund wurden die beschriebenen Konstrukte als Phosphoramidite synthetisiert und in DNA-Stränge per Festphasensynthese eingebaut (siehe **Abbildung 82**). Die entstandenen Konstrukte sollten sowohl mit dem Wild-Typ der doppelsträngigen DNA ohne Modifikation, als auch mit der literaturbekannten DNAzo-Variante, bei der das Azobenzol als sog. C-Nucleosid direkt am Zucker angebracht ist^[182], verglichen werden.

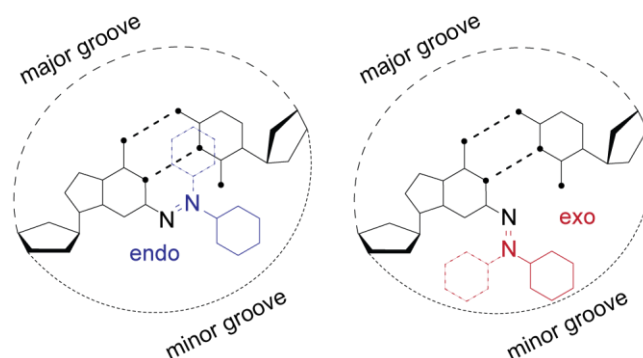


Abbildung 82: Vorstellung des Schaltverhaltens und der damit verbundenen Destabilisierung des Purin-Azobenzol-Photoschalters im DNA-Duplex. Die Wasserstoff-Brücken-Interaktion zwischen der *endo*- und der *exo*-Konformation sollten eine Auswirkung auf die Schmelztemperatur des Konstruktes haben. Entnommen aus Grebenovsky, Hermanns et al.^[110]

Nachdem alle Konstrukte hergestellt wurden, begannen wir zunächst mit der photochemischen Charakterisierung. Hierzu bestimmten wir zunächst die Reinspektren der beiden Photo-Isomere mittels RP-HPLC. Das *trans*-Isomer wies bei beiden Konstrukten den höheren Extinktionskoeffizienten oberhalb des Bereichs des isosbestischen Punktes bei 278 nm auf. Im Anschluss daran ermittelten wir die photostationären Zustände bei 310 und 505 nm, um zu untersuchen bis zu welchem Grad eines der beiden Isomere mittels Bestrahlung akkumuliert werden kann. Des Weiteren wurde die Schaltermüdung (Photofatigue) über 100 Schaltzyklen in PBS-Puffer ermittelt. Wie bei Azobenzolen üblich und zuvor vermutet, wiesen die Konstrukte auch nach 100 Schaltzyklen keine beobachtbare Degradation auf (siehe **Abbildung 83**).

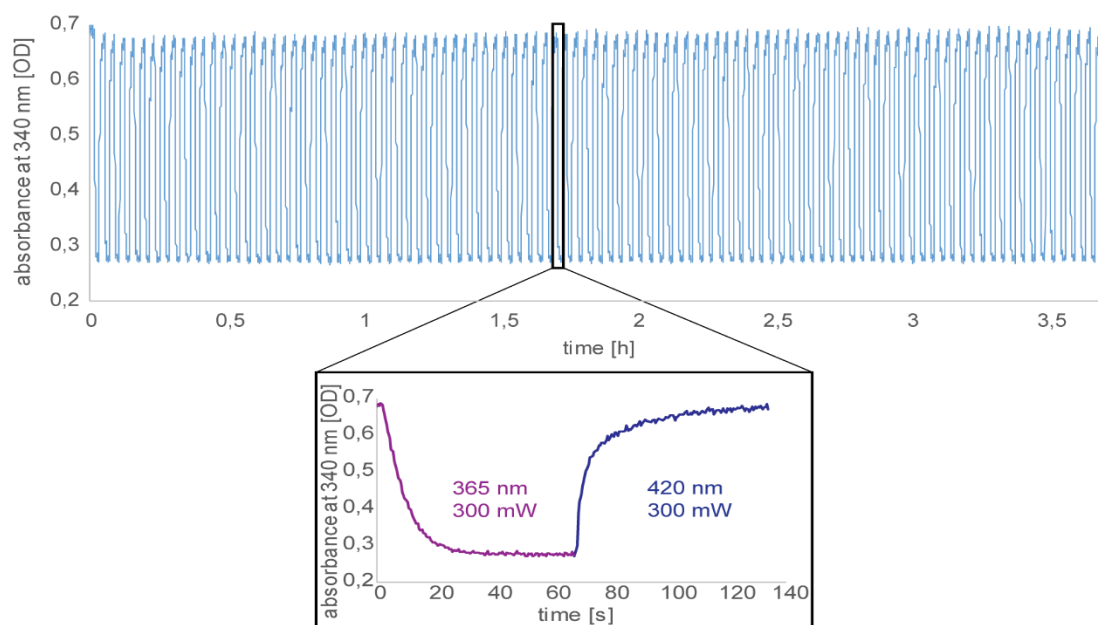


Abbildung 83: Photofatigue (Schaltermüdungs-) Messung des dA_{Azo} Purin-desoxyribose Konstrukts mit einer $100 \mu M$ Konzentration in einfachem PBS Puffer. Es konnte keine signifikante Schaltermüdung über 100 Schaltzyklen beobachtet werden. Diese Daten wurden gemeinsam mit Dr. N. Grebenovsky ermittelt und ausgewertet und sind entnommen aus Grebenovsky, Hermanns *et al.*^[119]

Die thermischen Raten der Isomerisierung waren unter physiologischen Bedingungen ($37 \text{ }^\circ\text{C}$, 1x PBS Puffer) ebenfalls vergleichsweise gering. Nachdem all diese Parameter bestimmt wurden, ermittelten wir die photochemischen Quantenausbeuten der Schaltprozesse bei 455 nm für die *cis*-zu-*trans* Isomerisierung (58,9%) und bei 365 nm für die *trans*-zu-*cis*-Isomerisierung (18,7%) mit Hilfe des chemischen Fulgid-Aktinometers, wie in Reinfelds und Hermanns *et al.* beschrieben.^[117]

Im Anschluss an die grundlegende photochemische Charakterisierung bauten wir die entsprechenden Phosphoramidite in eine DNA Modell-Sequenz aus 10 Nukleotiden mit 60% GC-Gehalt ein. Fluorescein (5'FAM) wurde jeweils als Fluorophor am 3'-Ende eines Strang angebracht und der andere mit dem Quencher 4-((4-(Dimethylamino)phenyl)azo)benzoesäure (Dabcyl, 3'DAB) am 5'-Ende versehen (siehe **Abbildung 84**). Dabcyl ist eine Art Azobenzol-Photoschalter, der seine Anregungsenergie besonders effizient in thermische Energie umwandelt.^[183] Somit konnten wir neben der klassischen DNA Absorption auch das Fluoreszenz-Signal zu Hilfe nehmen, um das Aufschmelzen des Duplexes zu verfolgen. Im gebundenen Zustand sollte das Fluoreszenzsignal relativ schwach bis gar nicht vorhanden sein, da Dabcyl in räumlicher Nähe zu Fluorescein ein FRET-Paar bildet und die Fluoreszenzenergie in kinetische Energie strahlungsloser Prozesse, wie z.B. Schwingung und Rotation, umwandelt.^{[184][185]}

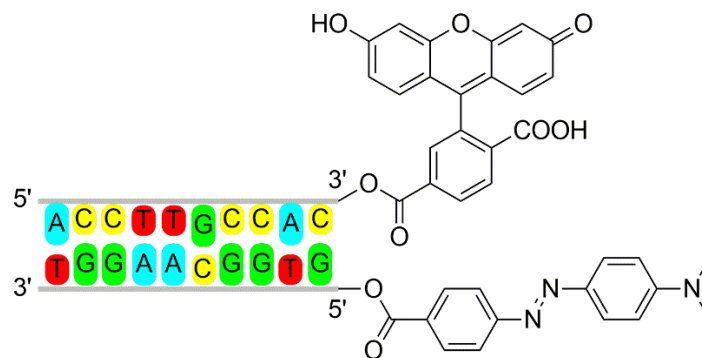


Abbildung 84: Fluorescein am 3'-Ende als Fluorophor und 4-((4-(Dimethylamino)phenyl)azo)benzoic acid (auch bekannt als Dabcyl) als vom Azobenzol abgeleiteter Quencher. Durch diese beiden Modifikationen war es uns möglich neben der Absorption auch die Fluoreszenz als zusätzlichen „Readout“ der Duplexstabilität zu nutzen. Schematische Darstellung abgeändert aus^[119]

Als weitere analytische Methode verwendeten wir ebenfalls die CD-Spektroskopie, um Unterschiede in der helikalen Struktur des Duplexes aufklären zu können. Aus **Abbildung 85** wird ersichtlich, dass der Wildtyp die höchste Schmelztemperatur/Schmelzpunkt und die doppelt modifizierte Variante mit dG_{Azo} und dA_{Azo} die niedrigste Schmelztemperatur/Schmelzpunkt des Duplex mit 30,2 bzw. 30,7 °C aufweist. Damit konnten wir zeigen, dass die Einbringung von zwei Modifikationen in das 10mer eine starke Destabilisierung des DNA-DNA-Duplexes mit sich bringt. Ähnlich verhält es sich bei der DNAzo modifizierten Referenzverbindung, die eine ebenfalls deutlich verringerte Schmelztemperatur aufwies. Der mit dG_{Azo} modifizierte Duplex hat eine signifikant höhere Schmelztemperatur mit 36,2 und 36,7 °C und der Strang mit dA_{Azo} die höchste Schmelztemperatur der modifizierten Stränge innerhalb dieser Studie mit 39,5 bzw. 40,8 °C (siehe **Abbildung 85**).

Zwischen den beiden photostationären Zuständen konnten wir im Rahmen dieser Studie keine starken Veränderungen der Schmelzpunkttemperatur beobachten. Die Differenz der Schmelztemperaturen zwischen den beiden Zuständen lag zwischen 0,5 und 1,3 °C, was einer sehr geringen Änderung entspricht und unter der Differenz des Referenzcompounds DNAzo mit 1,5 °C liegt. Dieser Fakt lässt vermuten, dass die synthetisierten Konstrukte an der helicalen Struktur der DNA in beiden photostationären Zuständen nicht viel ändern, was ebenfalls in Einklang mit den Erkenntnissen aus der CD-spektroskopischen Untersuchung ist. Eine dem DNAzo entsprechende Änderung des CD-Signals, mit einer damit verbundenen Änderung der Konformation des gesamten Oligonukleotid-Stranges, konnte im Falle unserer Konstrukte nicht beobachtet werden.

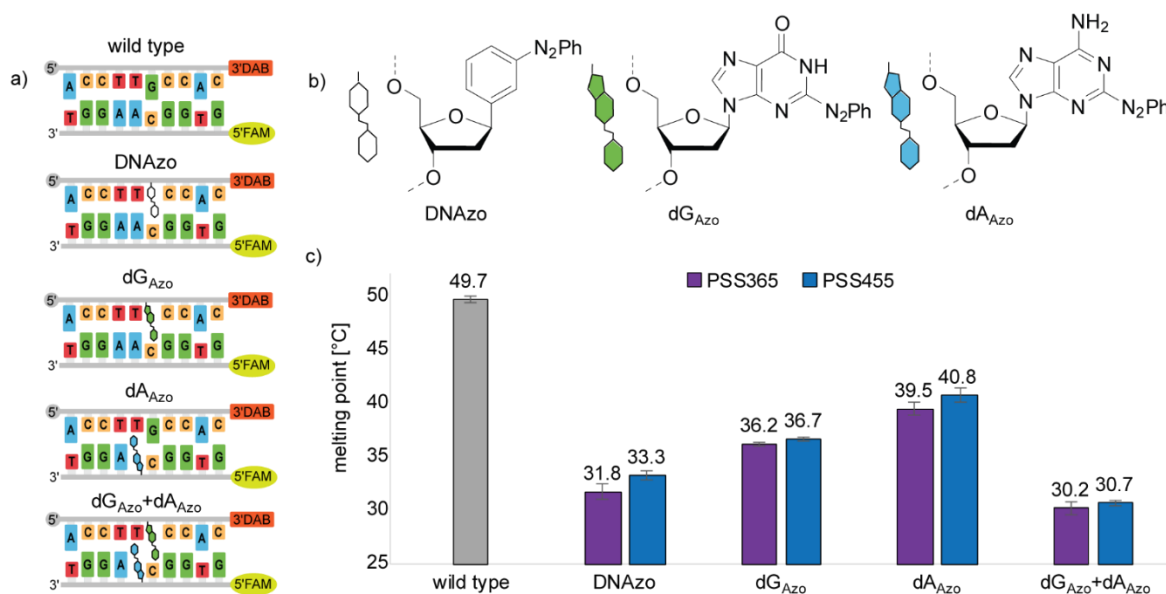


Abbildung 85: Darstellung der verschiedenen Konstrukte, hergestellt durch N. Grebenovsky und der Effekt der Schmelzpunktveränderung der Duplex-Konstrukte in den jeweiligen photostationären Zuständen. Entnommen aus^[110]

Alles in allem konnten wir im Rahmen dieser Studie einige wichtige Erkenntnisse auf dem Gebiet der photoregulierbaren Interaktion zwischen photochromen Nukleobasen gewinnen. Die Flexibilität der Konstrukte spielt eine entscheidende Rolle darüber, inwiefern sich die photochemisch induzierte Schaltung auch wirklich auf die Duplex-Stabilität auswirken kann. Diese Erkenntnisse könnten für zukünftige Untersuchungen und Anwendungen u.a. auf dem Gebiet der Photopharmakologie nützlich sein.

4.3 Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurde an den Anwendungsmöglichkeiten eines thermisch besonders robusten Fulgid-Photoschalters geforscht. Dabei lag unser Fokus zunächst auf der Etablierung dieses Schalters als neues, universell und für einen breiten Bereich des elektromagnetischen Spektrums von 300 nm bis 700 nm einsetzbaren, chemischen Aktinometers. Hierzu mussten die photochemischen Reaktionsraten besonders exakt vermessen werden. Dazu verglichen wir die Standardmethode von Hatchard und Parker^[116], die Bestimmung der Photonendichte mit Hilfe einer Photodiode und unsere erhaltenen Werte für die jeweiligen photochemischen Isomerisierungen.

Durch die Ermittlung der Reinspektren der einzelnen Isomere, konnten die Reaktionsraten für den Isomerisierungsprozess zwischen dem C- und dem Z-Isomer berechnet werden. Hierzu wurden verschiedene Mischungen der Isomere hergestellt und diese anschließend mittels ¹H-NMR Spektroskopie und UV/vis-Absorptionsspektroskopie untersucht. Aus den NMR- & Absorptionsspektren konnten sowohl die Anteile der jeweiligen Isomere, als auch das Absorptionsverhalten der verschiedenen Mischungen bestimmt werden. Aus diesen Daten ist es uns gelungen durch Linearkombination die Reinspektren zu extrahieren und somit das Fulgid als neues, chemisches Aktinometer vorzustellen.

Im weiteren Verlauf dieser Untersuchungen war eines unserer Bestrebungen, den photochemischen Isomerisierungsprozess dieses Photoschalters mit samt seiner auftretenden Photoisomere besser zu verstehen. Hierzu verwendeten wir zunächst chirale HPLC, um die einzelnen Verbindungen voneinander abzutrennen. Die drei verschiedenen Photoisomere konnten ebenfalls mit normalen HPLC Methoden voneinander separiert werden. Um jedoch die jeweiligen Atropisomere voneinander zu separieren, benötigten wir den Einsatz einer chiralen Säule. Die so erhaltenen sechs verschiedenen Isomere wurden auf ihre photochemischen und thermischen Eigenschaften untersucht. Zunächst wurden die CD-Spektren der einzelnen Verbindungen gemessen die sich als jeweils komplementär zu einander darstellten. Dies bestätigte unsere vorhergegangenen Vermutungen.

Anschließend wurde der thermische Isomerisierungsprozess unter Lichtausschluss ebenfalls mittels CD-Spektroskopie untersucht. Hierbei stellte sich heraus, dass sich die thermischen Barrieren der einzelnen Atropisomere stark voneinander unterscheiden. Theoretische Berechnungen wurden in Kooperation mit der Gruppe um Andreas Dreuw durch Maximilian Scheurer durchgeführt, um sowohl die thermischen Barrieren, als auch die erhaltenen CD-Spektren zu bestätigen. Beides konnte bestätigt werden, wodurch wir in der Lage waren ein detailliertes Bild der einzelnen Atropisomere samt ihrer photochemischen und thermischen Eigenschaften dieses Fulgid-Photoschalters darzustellen.

In einem weiteren Projekt, welches zusammen mit Dr. N. Grebenovsky innerhalb des AK Heckels durchgeführt wurde, wurde eine Hybrid-Struktur aus einer Nukleobase und dem Azobenzol-Photoschalter auf ihre Eigenschaften untersucht. Hierzu verwendeten wir Oligonukleotid-Stränge, die mit einem FRET-Paar aus Fluorescein (als Fluorophor) und Dabcyl (als Quencher) markiert wurden. Somit konnte sowohl die UV/vis-Absorption der klassischen Schmelzpunktanalyse, als auch das Fluoreszenzsignal des Fluorophor-Quencher-Paars für die Analyse der Duplexstabilität verwendet werden. In dieser Studie wurden unter anderem Schmelzpunktstudien durchgeführt, die die Störung dieser photoschaltbaren Modifikation aufklären sollten. Ebenso wurden die photochemischen Quantenausbeuten des Isomerisierungsprozesses bestimmt. Wir konnten nachweisen, dass obwohl die Unterschiede zwischen den beiden Photo-Isomeren eher gering waren, diese Hybrid-Strukturen im Duplex im Vergleich zur Inkorporation eines normalen Photoschalters als C-Nucleosid, eine allgemein deutlich höhere Duplex-Stabilität und damit einen höheren Schmelzpunkt aufweisen.

Sowohl der Azobenzol-, als auch der Fulgid-Photoschalter, haben bereits zahlreiche Anwendungen in der Literatur gefunden. Dennoch weisen einzelne neue Derivate dieser Verbindungen immer neue erstaunliche Eigenschaften auf, die im Rahmen verschiedenster Studien Anwendung finden können. Dies konnten wir im Rahmen unserer Untersuchungen ebenfalls bestätigen. Das Verständnis der photochemischen Prozesse und der Wirkung im biologischen Kontext als molekulare Werkzeuge, kann somit für weitere Forschungsarbeiten den Weg bereiten.

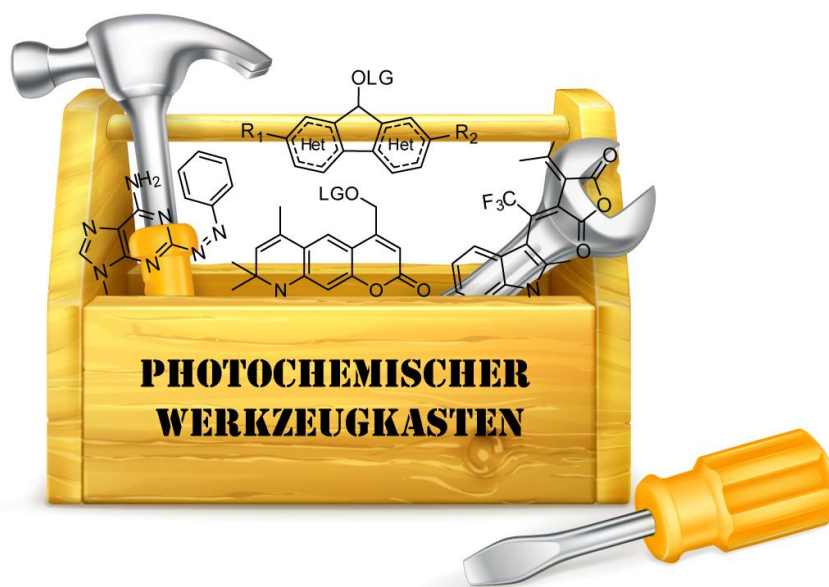


Abbildung 86: Symbolbild: photochemischer, molekularer Werkzeugkasten mit neuen molekularen, photochemischen Werkzeugen, die im Rahmen dieser Dissertation entwickelt wurden und dessen Struktur-Funktions-Beziehungen besser verstanden wurden.

5. Experimenteller Teil

5.1 Materialien, Geräte und Methoden

(1) Lösungsmittel: Alle Lösungsmittel wurden von den Firmen Roth, Sigma Aldrich und VWR bezogen und ohne weitere Aufreinigung in den Synthesen eingesetzt. Wasserfreie Lösungsmittel über Molsieb und unter Argon wurden von den Firmen Sigma-Aldrich, Acros und Alfa-Aesar bezogen. Zur säulenchromatographischen Aufreinigung wurden Lösungsmittel in technischer Qualität eingesetzt.

(2) Reagenzien: Die verwendeten Chemikalien stammen von den Firmen Sigma-Aldrich, Fluka, Alfa Aesar, Roth, Merck, TCI und VWR und wurden ohne Aufreinigung verwendet. Bei Bedarf wurde beim Umgang mit der Chemikalie Luft- oder Lichtausschluss gewährleistet.

(3) NMR- Spektroskopie: Es wurden ¹H-, ¹³C-, ¹⁹F-NMR- Spektren zur Untersuchung der Syntheseprodukte mit dem Spektrometer DPX250 (250 MHz), AV300 (300 MHz), AM/AV400 (400 MHz), AV500 (500 MHz) und DRX600 (600 MHz) der Firma Bruker gemessen. Die Messungen wurden bei Raumtemperatur in deuteriertem Lösungsmittel der Firma Euriso-Top mit einer Reinheit über 99,8% durchgeführt. Es wurden MeOD-d₄, CDCl₃, D₂O, Toluol-d₈ und DMSO-d₆ verwendet. Die Kalibrierung erfolgte anhand der Verschiebung der Lösungsmittelsignale (MeOD-d₄ ¹H - 3,13; ¹³C - 49,00; CDCl₃ ¹H - 7,26; ¹³C - 77,16; D₂O ¹H - 4,79; Toluol-d₈ ¹H - 2,09 ; 6,98 ; 7,00 ; 7,09; ¹³C - 20,4 ; 125,5 ; 128,3 ; 129,2 ; 137,9; DMSO-d₆ ¹H - 2,50; ¹³C - 39,52). Die chemische Verschiebung ist in δ [ppm] und die Kopplungskonstanten in Hz angegeben. Bearbeitet wurden die Spektren mit dem Programm Topspin von Bruker. Multipletts wurden folgendermaßen abgekürzt: s - Singulett, d - Duplett, t - Triplett, q- Quartett, dd - Doublett vom Doublett, pt - Pseudotriplett, m - Multiplett. Gegebenenfalls werden Buchstaben vereinzelt großgeschrieben abhängig von ihrer Kopplung.

(4) Massenspektrometrie: Massenspektren wurden mit den Geräten „Surveyor MSQ“ von Thermo Fisher (LC-ESI) und „Voyager DE-STR“ von Applied Biosystems (MALDI) gemessen. Hocho aufgelöste Massenspektren wurden mit einem MALDI „Orbitrap XL“ der Firma Thermo Fisher unter Verwendung von α-Cyano-4-hydroxymethylsäure oder 2,5-Dihydroxybenzoesäure als Matrix verwendet.

Die Messungen wurden durch die Serviceeinheit Massenspektrometrie der Goethe-Universität (Fachbereich 14) von Andreas Münch, Dr. Uwe Hener und Simon Zenglein (ESI-MS) und Matthias Brandl (HRMS) durchgeführt.

(5) Dünnschichtchromatographie: DC-Platten aus Kieselgel (TLC Silica Gel 60) mit Fluoreszenzmarker F254 der Firma Merck und Macherey-Nagel wurden zur Verfolgung der Phasentrennung bei der Säulenchromatographie verwendet, sowie im Voraus zur Auswahl des Lösungsmittels und zur Verfolgung des Reaktionsverlaufs.

(6) Säulenchromatographie: Bei nahezu allen der im Folgenden aufgeführten Synthesen wurde nach einer Reaktion eine Säulenchromatographie zur Isolation des Produktes durchgeführt. Dazu wurde Kieselgel 60 der Firma Macherey-Nagel verwendet.

(7) HPLC: Die Analyse vieler Photoreaktion erfolgte an HPLC-Geräten (1260 Infinity) der Firma Agilent mit Dioden-Array Detektor. Es wurden ausschließlich Lösungsmittel von HPLC Qualität in binären Mischungen benutzt. Wässrige Puffer wurden mit ultrareinem Wasser (MilliQ) hergestellt und gegebenenfalls autoklaviert. Die spezifischen Angaben der einzelnen Bedingungen sind in den jeweiligen Abschnitten beschrieben. Für die Auftrennung der Photo-Reaktionsgemische wurde eine MultoKrom® 100-5 C18 column (250 x 4.6 mm) von CS-Chromatographie Service GmbH verwendet.

(8) Chirale HPLC: Für die Analytik chiraler Verbindungen wurde eine Chiralcel OJ-R 250 x 4,6 mm-Säule mit isokratischem Laufmittelgemisch (Hexan/Ethanol) verwendet. Für die präparative chirale HPLC wurde eine CHIRALPAK-IA 20 x 250 mm der Firma Chiralcel mit isokratischem Laufmittelgemisch (Hexan/Ethanol) verwendet.

(9) UV-Vis Spektroskopie: Alle UV/vis-Spektren wurden in 1 cm Quartz-Fluoreszenz-Küvetten von Hellma Analytics durchgeführt. Hierfür wurde entweder ein „Ocean Optics USB4000“ Spektrometer verwendet (für weitere Details des Aufbaus siehe Reinfelds, Hermanns *et al.* *ChemPhotoChem* **2019**, 3, 6, 441-449) oder ein „JASCO-V650“ Spektrometer mit jeweils 1 nm Schritten bei der Aufnahme.

(10) Bestrahlungsexperiment: Für die Bestrahlungsexperimente wurden eine 1 cm Quartz-Fluoreszenz-Küvette oder eine 0,3 x 0,3 cm Quartz-Fluoreszenz-Küvette von Hellma Analytics verwendet. Die Lichtquellen waren LEDs der Firma Thorlabs (vor allem die 365 nm LED M365L2, andere sind an der entsprechenden Stelle referenziert) und wurden mit Hilfe eines LED Treibers der Marke Thorlabs (Modell: DC2100 oder DC4100) betrieben. Die Bedienung und Steuerung der Lichtquellen und die Aufzeichnung der Spektren erfolgten softwaretechnisch über das Progam „PHITS“ (für weitere Details zu dieser Software siehe Reinfelds, Hermanns *et al.* *ChemPhotoChem* **2019**, 3, 6, 441-449).

(11) Bestimmung der Quantenausbeuten: Als Referenzverbindung für die Bestimmung der Quantenausbeuten der in dieser Arbeit synthetisierten neuen Verbindungen, wurde der Indolyfulgid-Photoschalter (vgl. Reinfelds, Hermanns *et al.*, *ChemPhotoChem* **2019**, 3, 6, 441-449) verwendet. Dazu wurde jeweils eine Lösung (500 – 1000 μM) dieses Fulgids in Toluol hergestellt und diese mit der entsprechenden Lichtquelle bestrahlt. Hierbei wurden die identischen Bedingungen bezüglich Setup, Küvette, Volumen, Bestrahlungswellenlänge, Bestrahlungsintensität und Bestrahlungsdauer, wie bei der Photoreaktion der zu untersuchenden neuen Verbindung verwendet. Je nach Wellenlängenbereich wurde die sehr gut beschriebene photochemische Konversion des Fulgid-Photoschalters von C zu Z oder von Z zu C genutzt.

Der zeitliche Verlauf der Konversion zwischen den Isomeren wurde in allen Fällen über die Absorption detektiert. Die Ab- bzw. Zunahme der Absorption wurde anschließend mit der dazugehörigen Quantenausbeute und dem Analyse-Tool „PHITS“ (für nähere Informationen siehe Reinfelds, Hermanns *et al.*, *ChemPhotoChem* **2019**, 3, 6, 441-449) mathematisch mit einer entsprechenden Näherung nachempfunden, um den Wert des entsprechenden Photonenflux (Photonenmenge pro Zeiteinheit) ermitteln zu können. Mit Hilfe des jeweils für das Setup, Bestrahlungswellenlänge und Bestrahlungsintensität spezifischen Photonenflusses pro Zeiteinheit, ließ sich damit nun die photochemischen Quantenausbeuten von neuen photochemisch aktiven Substanzen ermitteln.

Anhand des Beispiels aus der Publikation von Hermanns *et al.*, *Chem. Eur. J.* **2021**, 27, 14121-14127 soll an dieser Stelle der komplette Verlauf der Bestimmung der Quantenausbeuten von neuen photochemisch aktiven Substanzen nachvollzogen werden. Für weitere Details wird an dieser Stelle auf die jeweilige Publikation und die elektronischen Zusatzinformationen (SI, Supporting Information) verwiesen.

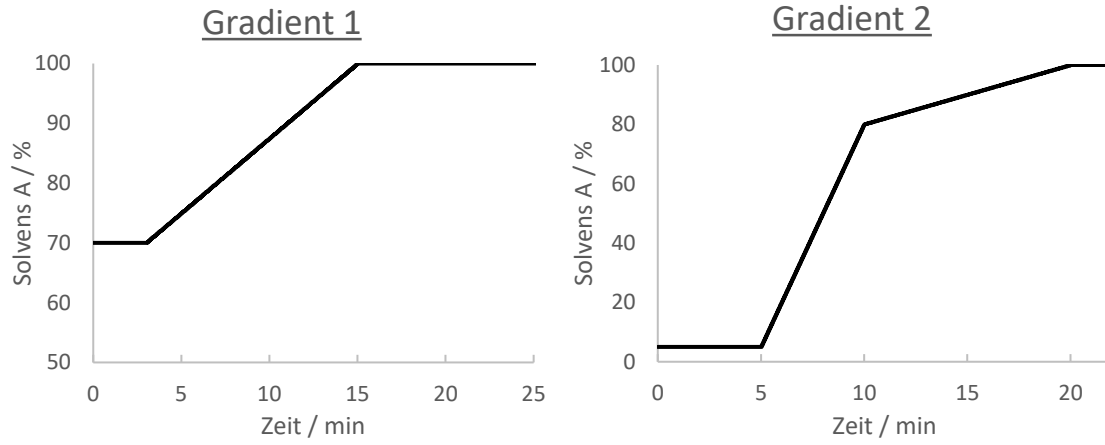
Es wurden drei Stammlösungen jeder Verbindung hergestellt, indem eine geringe Menge von jeder Substanz (etwa 1,0 mg) eingewogen und in einer definierten Menge DMSO gelöst wurden. Anschließend wurde jeweils ein Aliquot entnommen und mit 0,1 M PBS-Puffer (13,7 mM NaCl, 0,27 mM KCl, 1 mM Na₂HPO₄, 0,18 mM KH₂PO₄) verdünnt. Aus diesen drei wässrigen Lösungen wurden nun pro Photolysezeit jeweils dreimal 50 µL entnommen und diese Lösung für verschiedene Zeiten (t = 0 s, 5 s, 10 s, 20 s, 45 s, 90 s, 180 s, 360 s, 720 s) in dem jeweiligen Setup mit der entsprechenden Lichtquelle bestrahlt. Die entsprechenden 27 Proben pro Substanz, wurden direkt nach der jeweiligen Photolyse mittels reverse phase HPLC aufgetrennt und per UV/vis Analytik analysiert. Der Verlauf der Photolyse der Ausgangssubstanz wurde anhand des Verlaufs der Verhältnisse der Flächen zwischen dem internen Standard und der Ausgangssubstanz (Detektion bei 254 nm) bestimmt. Hierbei wurde Uridin als interner Standard verwendet. Folgende Gradienten wurden zur Auftrennung der Photolyse-Gemische verwendet:

Tabelle 4: HPLC-Solvens-Gradienten für die Bestimmung der Quantenausbeuten.

Gradient 1		Gradient 2	
Zeit (min)	Solvens A (%)	Zeit (min)	Solvens A (%)
0 bis 3	70	0 bis 5	5
3 bis 13	70 bis 100	5 bis 10	5 bis 80
13 bis 25	100	10 bis 20	80 bis 100
		20 bis 22	100

Gradient 1: Solvens A – MeCN; Solvens B – “ultra pure water” + 0.1% TFA

Gradient 2: Solvens A – MeCN; Solvens B – “ultra pure water” + 0.1% TFA



HPLC-Gradienten zur Bestimmung der Quantenausbeuten.

5.2 Chemische Synthesen

Thiofluorenol-Synthesen

Allgemeines Verfahren A – Reduktion

Die jeweilige Carbonyl-Verbindung (1 eq) wurde in 3-5 mL Ethanol unter Schutzgasatmosphäre und Raumtemperatur gelöst. Anschließend wurde Natriumborhydrid (2 – 3 eq) in kleinen Portionen hinzugefügt und die Reaktionsmischung bei Raumtemperatur gerührt, bis das komplette Startmaterial verbraucht wurde (5 – 60 Min). Der Reaktionsfortschritt wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nachdem die Reaktionsmischung mit Wasser verdünnt wurde, erfolgte eine fünfmalige Extraktion mit DCM. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Wasser und einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen und anschließend über Na_2SO_4 getrocknet. Alle flüchtigen Bestandteile des Extraktes wurden im Anschluss unter vermindertem Druck entfernt. In den meisten Fällen war keine weitere Aufreinigung notwendig, sodass das trockene Rohprodukt direkt für den nächsten Reaktionsschritt verwendet werden konnte.

Allgemeines Verfahren B – Grignard-Reaktion

Eine Lösung der jeweiligen Carbonyl-Verbindung in 3-6 mL abs. THF wurde unter Schutzgasatmosphäre auf 0 °C gekühlt. Anschließend wurde die entsprechende Grignard-Lösung (0.5 M Ethynylmagnesiumbromid oder 1 M Phenylmagnesiumbromid, 1.0 – 2.0 eq) tropfenweise langsam hinzugefügt. Nach der vollständigen Zugabe wurde die Lösung unter ständigem Rühren langsam auf Raumtemperatur erwärmt und noch für weitere 3-5 Stunden weiter gerührt. Nachdem die Reaktion durch die Zugabe von wenigen mL Wasser beendet wurde, erfolgte eine Extraktion mit DCM drei bis fünfmal. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet. Alle flüchtigen Bestandteile des Extraktes wurden im Anschluss unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde chromatographisch aufgereinigt (DCM:CH 2:1 zu 100% DCM).

Allgemeines Verfahren C – Acetylierung

Der jeweilige Alkohol wurde unter Schutzgasatmosphäre in 2-6 mL Pyridin gelöst und mit einem Überschuss an Essigsäureanhydrid (8-30 eq) versetzt. Alle weiteren Reaktionsschritte wurden, sofern möglich, unter Lichtausschluss durchgeführt. Anschließend wurde die Reaktionsmischung für 6-24 Stunden unter Reaktionskontrolle per Dünnschichtchromatographie bei Raumtemperatur gerührt. Sobald kein Edukt mehr zu erkennen war, wurde eine gesättigte NaHCO_3 und Wasser zur Reaktionsmischung hinzugegeben. Es erfolgte eine drei- bis fünfmalige Extraktion mit DCM und die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet. Alle flüchtigen Bestandteile des Extraktes wurden im Anschluss unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde mit deaktiviertem Kieselgel (1% Triethylamin) chromatographisch aufgereinigt (CH:EE 100:5).

Allgemeines Verfahren D – Suzuki-Kreuz-Kupplung

2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophene-4-on (1 eq), K_2CO_3 (8.1 eq), $Pd(PPh_3)_4$ (0.07 eq) und die entsprechende Boronsäure (Phenylboronsäure, 4-methoxy-phenylboronsäure oder 4-nitrophenylboronsäure) wurden in einer Mischung aus 4 mL Toluol, 2 mL Ethanol und 2 mL Wasser unter Schutzgasatmosphäre suspendiert. Die Reaktionsmischung wurde nun für 24 bis 72 Stunden unter Rückfluss zum Sieden erhitzt, bis das gesamte Startmaterial abreagiert war. Die Kontrolle des Reaktionsfortschrittes erfolgte per Dünnschichtchromatographie. Nun wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser verdünnt und das Produkt drei- bis fünfmal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na_2SO_4 getrocknet. Alle flüchtigen Bestandteile des Extraktes wurden im Anschluss unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde chromatographisch aufgereinigt (DCM:CH 2:1 zu 100% DCM).

Synthese von 2,2'-Dibromo-3,3'-Dithiophen

Die Synthese erfolgte entsprechend der Literatur (C.-J. Sun *et al.*, *Polym. Chem.* **2016**). Ausgehend von 3',3'-Bithiophen (885 mg, 5.32 mmol, 1 eq) wurden 1.305 g (84%) des Produkts als farbloser Feststoff isoliert.

Ausbeute: 1.305 g (84%)

Retentionsfaktor (CH): $R_f = 0.60$

1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): $\delta = 7.70$ (d, $^3J_{H-H} = 5.6$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.12 (d, $^3J_{H-H} = 5.6$ Hz, 2 H, Ar-H) ppm.

1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$): $\delta = 7.31$ (d, $^3J_{H-H} = 5.6$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.08 (d, $^3J_{H-H} = 5.6$ Hz, 2 H, Ar-H) ppm.

Synthese von 7H-Cyclopenta[1,2-b:4,3-b']dithiophen-7-on

Die Synthese wurde entsprechend der Literatur durchgeführt. 2,2'-Dibromo-3,3'-Dithiophen (843 mg, 2.6 mmol, 1 eq) wurde in Diethylether gelöst und anschließend auf -78 °C herunter gekühlt. Nun wurde *n*-Butyllithium (2.19 mL, 2.5 M, 5.46 mmol, 2.1 eq) tropfenweise hinzugefügt. Nachdem eine Stunde bei -78 °C gerührt wurde, wurde Dimethylcabamoylchlorid (0.26 mL, 2.9 mmol, 1.1 eq) langsam hinzugegeben. Anschließend wurde die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt und noch weiter über Nacht gerührt. Es wurden Wasser und gesättigte Ammoniumchlorid Lösung zur Reaktionsmischung hinzugegeben und eine Extraktion mit Ethylacetat durchgeführt. Nachdem die organischen Phasen vereinigt wurden, wurde das Extrakt mit Wasser und gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Es erfolgte eine Aufreinigung des Rohprodukts via Säulenchromatographie (DCM/CH, 2:1) was in 0.195 g (39%) der Zielverbindung resultierte.

Ausbeute: 0.195 g (39%)

Retentionsfaktor (DCM:CH 2:1): $R_f = 0.57$

1H -NMR (250 MHz, $DMSO-d_6$): $\delta = 8.01$ (d, $^3J_{H-H} = 4.6$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.16 (d, $^3J_{H-H} = 4.6$ Hz, 2 H, Ar-H) ppm.

Synthese von 7H-Cyclopenta[1,2-b:4,3-b']dithiophen-7-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens A durchgeführt. Ausgehend von 7H-Cyclopenta[1,2-b:4,3-b']dithiophen-7-on (50 mg, 0.26 mmol), wurden 50 mg (99%) der Zielverbindung als farbloser Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.050 g (99%)

Retentionsfaktor (CH:EE 9:1): $R_f = 0.14$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.56$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.14 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.14 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.6$ Hz, 1 H, O-H), 5.53 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.6$ Hz, 1 H, C-H) ppm.

Synthese von 7H-Cyclopenta[1,2-b:4,3-b']dithiophen-7-yl-acetat (*ortho*-Derivat)

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 7H-Cyclopenta[1,2-b:4,3-b']dithiophen-7-ol (50 mg, 0.257 mmol), wurden 45 mg (75%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.045 g (75%)

Retentionsfaktor (DCM:CH 2:1): $R_f = 0.49$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.66$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.20 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.22 (s, 1 H, C-H), 2.14 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.38$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.05 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.17 (s, 1 H, C-H), 2.18 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125.8 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.56, 144.50, 142.74, 130.89, 118.39, 71.14, 21.08$ ppm.

MALDI-MS: m/z calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_2\text{S}_2$ $[\text{M}]^+$ 235.99657, found 235.86930.

Synthese von 4,4'-Dibromo-3,3'-bithiophen

Die Synthese wurde entsprechend der Literatur durchgeführt. Ausgehend von 3,4-Dibromothiophen (3.9 g, 16.12 mmol, 1 eq), wurden 2.07 g (79%) der Zielverbindung als beige farbener Feststoff isoliert.

Ausbeute: 2.07 g (79%)

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.81$ (d, $^4J_{\text{H-H}} = 3.4$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.69 (d, $^4J_{\text{H-H}} = 3.4$ Hz, 2 H, Ar-H) ppm.

Synthese von 7H-Cyclopenta[1,2-c:3,4-c']dithiophen-7-on

4,4'-Dibromo-3,3'-bithiophen (173 mg, 0.543 mmol, 1 eq) wurde in abs. Diethylether gelöst und die Lösung auf -78°C gekühlt. Nun wurde *n*-Butyllithium (0.44 mL, 2.5 M, 1.1 mmol, 2.1 eq) tropfenweise hinzugefügt und die Mischung noch für 3 Stunden weiter gerührt. Nach dieser Zeitspanne wurde Carbonyldiimidazole (314 mg, 1.94 mmol, 3.6 eq) bei -78°C hinzugefügt und die Lösung noch für weitere 30 Minuten gerührt. Nun wurde die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur

erwärmt. Durch Zugabe von ges. Ammoniumchlorid Lösung und Wasser wurde die Reaktion beendet und die Reaktionsmischung verdünnt. Nach einer Extraktion mit Ethylacetat (EE) wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch (DCM/CH, 2:1) aufgereinigt.

Ausbeute: 0.010 g (8%)

Retentionsfaktor (DCM:CH 4:1): $R_f = 0.53$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.77$ (d, $^4J_{\text{H-H}} = 2.1$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.09 (d, $^4J_{\text{H-H}} = 2.1$ Hz, 2 H, Ar-H) ppm.

Synthese von 7H-Cyclopenta[1,2-c:3,4-c']dithiophen-7-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens A durchgeführt. Ausgehend von 7H-Cyclopenta[1,2-c:3,4-c']dithiophen-7-on (50 mg, 0.26 mmol), wurden 50 mg (99%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.050 g (99%)

Retentionsfaktor (CH:EE 9:1): $R_f = 0.09$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 7.43$ - 7.40 (m, 2 H, Ar-H), 7.40 - 7.37 (m, 2 H, Ar-H), 5.77 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.0$ Hz, 1 H, O-H), 5.40 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.0$ Hz, 1 H, C-H) ppm.

Synthese von 7H-Cyclopenta[1,2-c:3,4-c']dithiophen-7-yl-acetat (*meta*-Derivat)

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 7H-Cyclopenta[1,2-c:3,4-c']dithiophen-7-ol (60 mg, 0.309 mmol), wurden 25 mg (34%) der Zielverbindung als brauner Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.025 g (34%)

Retentionsfaktor (CH: DCM 5:1): $R_f = 0.18$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.31$ (dd, $^4J_{\text{H-H}} = 2.2$ Hz, 1.0 Hz, 2 H, Ar-H), 7.13 (d, $^4J_{\text{H-H}} = 2.2$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.36 (s, 1 H, C-H), 2.13 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125.8 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.51, 150.05, 139.96, 122.00, 113.45, 67.67, 21.29$ ppm.

MALDI-MS: m/z calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_2\text{S}_2$ $[\text{M}\cdot]^+$ 235.9966 found 235.8632.

Synthese von 4H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (*para*-Derivat)

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens A durchgeführt. Ausgehend von 4H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.521 mmol), wurden 105 mg (98%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.105 g (98%)

Retentionsfaktor (CH: EE 9:1): $R_f = 0.15$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.38$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.14 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 5.72 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.4$ Hz, 1 H, O-H), 5.22 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.4$ Hz, 1H, C-H) ppm.

Synthese von 4H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-acetat (*para*-Derivat)

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 4H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (90 mg, 0.45 mmol), wurden 84 mg (77%) der Zielverbindung als orange farbener Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.84 g (77%)

Retentionsfaktor (DCM): $R_f = 0.63$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.44$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.10 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.18 (s, 1H, C-H), 2.12 (s, 3H, C-H) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.15$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.09 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.18 (s, 1 H, C-H), 2.16 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125.8 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.47, 148.91, 139.98, 125.77, 123.84, 69.90, 21.16$ ppm.

MALDI-HRMS: m/z calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_2\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 237.00385, found 237.00408 ($\Delta m = 0.00023$, error 1.0 ppm).

Synthese von 4H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-1H-imidazol-1-carboxylat

4H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (90 mg, 0.46 mmol, 1 eq) wurde in 3 mL abs. DCM gelöst und 1'-Carbonyldiimidazol (CDI) (150 mg, 0.93 mmol, 2 eq) hinzugegeben. Unter Schutzgasatmosphäre wurde die Reaktion in einem Mikrowellenreaktor durchgeführt. Die Reaktion erfolgte bei 45 °C (100 W) für 60 Minuten. Anschließend wurde die Reaktionslösung mit Wasser verdünnt. Es folgte eine dreifache Extraktion mit DCM, die organischen Phasen wurden vereinigt und das Extrakt über Na_2SO_4 getrocknet. Nun wurden alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Das isolierte Rohprodukt (133 mg, 0.44 mmol) wurde ohne weitere Aufreinigung im nächsten Schritt der Synthese verwendet.

Synthese von 4H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-(2-(5-hydroxy-1H-indol-3-yl)ethyl)carbammat

4H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-1H-imidazol-1-carboxylat (133 mg, 0.44 mmol, 1 eq) wurde in 4 mL abs. DMF gelöst und Triethylamin (223 mg, 2.2 mmol, 5 eq) und Serotonin-Hydrochlorid (5-HT*Cl) (187 mg, 0.88 mmol, 2 eq) hinzugegeben. Die Reaktion erfolgte unter Schutzgasatmosphäre in einem Mikrowellenreaktor bei 50 °C (100 W) für 45 Minuten. Nach Verdünnung mit Wasser und einer Extraktion mit DCM, wurden die organischen Phasen kombiniert und über Na_2SO_4 getrocknet. Nun wurden alle flüchtigen Bestandteile des Extrakts unter vermindertem Druck entfernt und das

Rohprodukt via Säulenchromatographie (CH/EE, 2:1) aufgereinigt. Die Zielverbindung (151 mg, 87%) wurde als brauner Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.151 g (87%)

Retentionsfaktor (CH: EE 1:1): $R_f = 0.5$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 10.48$ (bs, 1 H, Ar-OH), 8.59 (s, 1 H, N-H), 7.48 (t, $^3J_{\text{H-H}} = 5.8$ Hz, 1H, Ar-H), 7.43 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 5.0$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.14 - 7.11 (m, 3 H, Ar-H), 7.05 (d, $^4J_{\text{H-H}} = 2.0$ Hz 1 H, Ar-H), 6.85 (d, $^4J_{\text{H-H}} = 2.0$ Hz, 1 H, Ar-H), 6.59 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 8.6$ Hz, $^4J_{\text{H-H}} = 2.3$ Hz, 1 H, Ar-H), 6.11 (s, 1 H, Ar-H), 3.31 (m, overlaid with H₂O signal, Alkyl-H), 2.78 (t, $^3J_{\text{H-H}} = 7.5$ Hz, 2 H, Alkyl-H) ppm.

Synthese von 4-Ethynyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens B mit Ethylmagnesiumbromid als Grignard Reagenz durchgeführt. Ausgehend von 4H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.52 mmol), wurden 80 mg (70%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.08 g (70%)

Retentionsfaktor (DCM): $R_f = 0.51$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.42$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.14 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.63 (s, 1H, O-H), 3.26 (s, 1H, C-H) ppm.

Synthese von 4-Ethynyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 4-Ethynyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (86 mg, 0.39 mmol), wurden 30 mg (31%) der Zielverbindung als roter Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.03 g (31%)

Retentionsfaktor (CH: DCM 5:1): $R_f = 0.75$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.47$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 5.0$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.23 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 5.0$ Hz, 2 H, Ar-H), 3.60 (s, 1H, C-H), 2.06 (s, 3H, C-H) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.28$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.16 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 2.47 (s, 1 H, C-H), 2.10 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125.8 MHz, CDCl₃): $\delta = 169.78, 150.09, 139.03, 126.12, 124.22, 79.29, 71.91, 29.85, 21.55$ ppm.

ESI-MS: m/z calcd. for C₁₃H₈O₂S₂ [M+H]⁺ 261.00, found 261.09.

Synthese von 4-Phenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens B mit Phenylmagnesiumbromid als Grignard Reagenz durchgeführt. Ausgehend von 4H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.52 mmol), wurden 135 mg (96%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.135 g (96%)

Retentionsfaktor (DCM): $R_f = 0.52$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.37$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.36-7.33 (m, 2 H, Ar-H), 7.29-7.19 (m, 3 H, Ar-H), 6.95 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.38 (s, 1H, O-H) ppm.

Synthese von 4-Phenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 4-Phenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (120 mg, 0.44 mmol), wurden 130 mg (94%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.130 g (94%)

Retentionsfaktor (DCM: CH 2:1): $R_f = 0.56$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7.44$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.36-7.25 (m, 5 H, Ar-H), 7.13 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 2.08 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.37$ -7.34 (m, 2 H, Ar-H), 7.32-7.27 (m, 3 H, Ar-H), 7.15-7.12 (m, 4 H, Ar-H), 2.11 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125.8 MHz, CDCl_3): $\delta = 169.75, 152.66, 139.57, 138.64, 128.82, 128.08, 125.72, 124.94, 124.69, 84.05, 21.86$ ppm.

MALDI-HRMS: m/z calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{S}_2$ $[\text{M}]^+$ 312.02787, found 312.02769 ($\Delta m = 0.00018$, error 0.6 ppm).

Synthese von 5H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dipyridin-5-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens A durchgeführt. Ausgehend von 4,5-Diazafluoren-9-on (10 mg, 0.55 mmol), wurden 8 mg (74%) der Zielverbindung als gelbfarbener Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.08 g (74%)

Retentionsfaktor (EE:CH 10:1): $R_f = 0.11$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8.65$ (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 5.05$ Hz, 2H, Ar-H), 8.04 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 7.62$ Hz, 2H, Ar-H), 7.42 (q, $^3J_{\text{H-H}} = 12.52$ Hz, 2H, Ar-H), 6.08 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.63$ Hz, 1H OH), 5.59 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.88$ Hz, 1H, Ar-H) ppm.

Synthese von 5H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dipyridin-5-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 5H-Cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dipyridin-5-ol (5 mg, 0.2 mmol), wurden 3 mg (51%) der Zielverbindung als farbloser Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.003 g (51%)

Retentionsfaktor (EE:CH 10:1): $R_f = 0.28$

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, D_2O): $\delta = 8.53$ (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 4.77$ Hz, 2H, H1, H1'), 7.91 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 7.43$ Hz, 2H, H3, H3'), 7.37 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 12.64$ Hz, 2H, H2, H2'), 2.19 (s, 3H, H5) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125.8 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 171.1, 158.1, 151.1, 137.5, 134.0, 123.8, 70.5, 20.7$ ppm.

MALDI-HRMS: m/z calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 227.082053, found 227.08193 ($\Delta m = 0.000123$, error 0.5 ppm).

Synthese von 5-Ethynyl-5H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dipyridin-5-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens B mit Ethinylmagnesiumbromid als Grignard Reagenz durchgeführt. Ausgehend von 4,5-Diazafluoren-9-on (500 mg, 2.74 mmol), wurden 190 mg (33%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.19 g (33%)

Retentionsfaktor (EE): $R_f = 0.32$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 8.69$ (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, $^4J_{\text{H-H}} = 1.5$ Hz, 2 H, Ar-H), 8.10 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 7.7$ Hz, $^4J_{\text{H-H}} = 1.5$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.48 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 7.7$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.98 (s, 1 H, O-H), 3.52 (s, 1 H, C-H) ppm.

Synthese von 5-Ethynyl-5H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dipyridin-5-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 5-Ethynyl-5H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dipyridin-5-ol (70 mg, 0.34 mmol), wurden 56 mg (67%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.056 g (67%)

Retentionsfaktor (DCM: MeOH 50:1): $R_f = 0.06$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 8.74$ (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, $^4J_{\text{H-H}} = 1.5$ Hz, 2 H, Ar-H), 8.21 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{H-H}} = 1.5$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.51 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 7.8$ Hz, 2 H, Ar-H), 3.91 (s, 1 H, C-H), 2.04 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.75$ (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, $^4J_{\text{H-H}} = 1.5$ Hz, 2 H, Ar-H), 8.20 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{H-H}} = 1.5$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.34 (dd, $^3J_{\text{H-H}} = 4.9$ Hz, $^3J_{\text{H-H}} = 7.8$ Hz, 2 H, Ar-H), 2.63 (s, 1 H, C-H), 2.08 (s, 3 H, C-H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ = 169.72, 157.80, 152.32, 138.98, 134.26, 124.23, 78.86, 74.84, 74.71, 21.59 ppm.

MALDI-HRMS: *m/z* calcd. for C₁₅H₁₀N₂O₂ [M+H]⁺ 251.08150, found 251.08165 (Δ*m* = 0.00015, error 0.6 ppm).

Synthese von 5-Phenyl-5H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dipyridin-5-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens B mit Phenylmagnesiumbromid als Grignard Reagenz durchgeführt. Ausgehend von 4,5-Diazafluoren-9-on (500 mg, 2.74 mmol), wurden 291 mg (41%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.291 g (41%)

Retentionsfaktor (EE): R_f = 0.31

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.65 (dd, ³J_{H-H} = 4.9 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, 2 H, Ar-H), 7.73 (dd, ³J_{H-H} = 7.7 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, 2 H, Ar-H), 7.36 (dd, ³J_{H-H} = 4.9 Hz, ³J_{H-H} = 7.7 Hz, 2 H, Ar-H), 7.31-7.22 (m, 5 H, Ar-H), 6.67 (s, 1 H, O-H) ppm.

Synthese von 5-Phenyl-5H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dipyridin-5-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 5-Phenyl-5H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dipyridin-5-ol (100 mg, 0.38 mmol), wurden 87 mg (75%) der Zielverbindung als farbloser Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.087 g (75%)

Retentionsfaktor (EE): R_f = 0.48

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 8.68 (dd, ³J_{H-H} = 4.9 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, 2 H, Ar-H), 7.90 (dd, ³J_{H-H} = 7.7 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, 2 H, Ar-H), 7.40 (dd, ³J_{H-H} = 4.9 Hz, ³J_{H-H} = 7.7 Hz, 2 H, Ar-H), 7.37-7.23 (m, 5 H, Ar-H), 2.11 (s, 3 H, C-H) ppm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 8.72 (dd, ³J_{H-H} = 4.9 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, 2 H, Ar-H), 7.79 (dd, ³J_{H-H} = 7.7 Hz, ⁴J_{H-H} = 1.5 Hz, 2 H, Ar-H), 7.31-7.28 (m, 3 H, Ar-H), 7.26-7.23 (m, 4 H, Ar-H), 2.13 (s, 3 H, C-H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ = 169.16, 158.43, 151.52, 141.62, 139.09, 133.18, 128.98, 128.45, 124.89, 123.90, 85.33, 21.79 ppm.

MALDI-HRMS: *m/z* calcd. for C₁₉H₁₄N₂O₂ [M+H]⁺ 303.11280, found 303.11282 (Δ*m* = 0.00002, error 0.1 ppm).

Synthese von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on

Die Synthese wurde entsprechend der Literatur durchgeführt. 4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.52 mmol, 1 eq) wurde in 2 mL abs. THF unter Schutzgasatmosphäre gelöst und auf 0 °C herunter gekühlt. Nun wurde *N*-bromsuccinimid (231 mg, 1.3 mmol, 2.5 eq) in kleinen Portionen nach und nach über einen Zeitraum von 2 Minuten hinzugegeben. Nachdem das Reaktionsgemisch auf

Raumtemperatur erwärmt wurde, wurde noch für eine halbe Stunde weiter gerührt. Nun wurden 2 mL Wasser hinzugegeben und die Reaktionslösung 3 Mal mit DCM extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet. Nachdem dies erfolgt war, wurden alle flüchtigen Bestandteile des Extraktes unter vermindertem Druck entfernt. Es erfolgte eine säulenchromatographische Aufreinigung (CH 100 -> CH/EE, 100:6). Es konnten 184 mg (98%) der Zielverbindung als violette Kristalle isoliert werden.

Ausbeute: 184 mg (98%)

Retentionsfaktor (DCM:CH 1:1): R_f = 0.56

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ = 7.25 (s, 2 H, Ar-H) ppm.

Synthese von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens A durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.29 mmol), wurden 100 mg (98%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.1 g (98%)

Retentionsfaktor (CH:EE 9:1): R_f = 0.19

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ = 7.27 (s, 2 H, Ar-H), 5.85 (d, ³J_{H-H} = 7.6 Hz, 1 H, O-H), 5.21 (d, ³J_{H-H} = 7.6 Hz, 1 H, C-H) ppm.

Synthese von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (46 mg, 0.13 mmol), wurden 30 mg (58%) der Zielverbindung als farbloser Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.03 g (58%)

Retentionsfaktor (CH:EE 20:1): R_f = 0.39

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ = 7.22 (s, 2 H, Ar-H), 6.17 (s, 1 H, C-H), 2.12 (s, 3 H, C-H) ppm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.10 (s, 2 H, Ar-H), 6.09 (s, 1 H, C-H), 2.15 (s, 3 H, C-H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ = 171.16, 146.76, 139.71, 126.77, 112.42, 70.26, 21.01 ppm.

MALDI-MS: m/z calcd. for C₁₁H₆Br₂O₂S₂ [M]⁺ 391.82, found 392.04.

Synthese von 2,6-Dibromo-4-ethinyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens B mit Ethinylmagnesiumbromid als Grignard Reagenz durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.29 mmol), wurden 79 mg (68%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.073 g (68%)

Retentionsfaktor (DCM): $R_f = 0.5$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 7.29$ (s, 2 H, Ar-H), 6.78 (s, 1 H, C-H), 3.38 (s, 1 H, C-H) ppm.

Synthese von 2,6-Dibromo-4-ethinyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Dibromo-4-ethinyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (60 mg, 0.16 mmol), wurden 65 mg (97%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.065 g (97%)

Retentionsfaktor (DCM): $R_f = 0.86$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.30$ (s, 2 H, Ar-H), 2.49 (s, 1 H, C-H), 2.10 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125.8 MHz, CDCl_3): $\delta = 169.54, 147.92, 138.72, 127.09, 112.90, 78.11, 72.81, 72.01, 21.40$ ppm.

MALDI-MS: m/z calcd. for $\text{C}_{13}\text{H}_6\text{Br}_2\text{O}_2\text{S}_2$ $[\text{M}]^+$ 415.82, found 416.16.

Synthese von 2,6-Dibromo-4-phenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens B mit Phenylmagnesiumbromid als Grignard Reagenz durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.29 mmol), wurden 109 mg (89%) der Zielverbindung als gelbe Kristalle isoliert.

Ausbeute: 0.109 g (89%)

Retentionsfaktor (DCM): $R_f = 0.73$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 7.38\text{-}7.23$ (m, 5 H, Ar-H), 7.10 (s, 2 H, Ar-H), 6.54 (s, 1 H, C-H) ppm.

Synthese von 2,6-Dibromo-4-phenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Dibromo-4-phenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (100 mg, 0.23 mmol), wurden 105 mg (95%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.105 g (95%)

Retentionsfaktor (DCM): $R_f = 0.93$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.34\text{-}7.27$ (m, 5 H, Ar-H), 7.14 (s, 2 H, Ar-H), 2.12 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125.8 MHz, CDCl_3): $\delta = 169.52, 150.60, 138.11, 129.05, 128.51, 127.43, 124.73, 112.51, 84.49, 29.85, 21.73$ ppm.

MALDI-MS: m/z calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{O}_2\text{S}_2$ $[\text{M}]^+$ 467.85, found 468.02.

Synthese von 2,6-Diphenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens D mit Phenylboronsäure durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.29 mmol), wurden 75 mg (76%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.075 g (76%)

Retentionsfaktor (CH:EE 5:1): $R_f = 0.53$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.58\text{-}7.50$ (m, 4 H, Ar-H), 7.45-7.36 (m, 4 H, Ar-H), 7.36-7.30 (m, 2 H, Ar-H), 7.23 (s, 2 H, Ar-H) ppm.

Synthese von 2,6-Diphenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens A durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Diphenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (35 mg, 0.1 mmol), wurden 44 mg (90%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.044 g (90%)

Retentionsfaktor (CH:EE 9:1): $R_f = 0.07$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 7.71\text{-}7.56$ (m, 6 H, Ar-H), 7.47-7.38 (m, 4 H, Ar-H), 7.34-7.27 (m, 2 H, Ar-H), 5.89 (s, 1 H, O-H), 5.34 (s, 1 H, C-H) ppm.

Synthese von 2,6-Diphenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Diphenyl-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (35 mg, 0.1 mmol), wurden 40 mg (90%) der Zielverbindung als gelber Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.04 g (90%)

Retentionsfaktor (DCM:CH 1:1): $R_f = 0.43$

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 7.67$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.3$ Hz, 4 H, Ar-H), 7.54 (s, 2 H, Ar-H), 7.43 (t, $^3J_{\text{H-H}} = 7.3$ Hz, 4 H, Ar-H), 7.32 (t, $^3J_{\text{H-H}} = 7.3$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.34 (s, 1 H, C-H), 2.18 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.59$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.3$ Hz, 4 H, Ar-H), 7.38 (t, $^3J_{\text{H-H}} = 7.3$ Hz, 4 H, Ar-H), 7.34 (s, 2 H, Ar-H), 7.28 (t, $^3J_{\text{H-H}} = 7.3$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.25 (s, 1 H, C-H), 2.21 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125.8 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.52, 149.10, 145.83, 139.24, 134.74, 129.16, 127.68, 125.47, 119.89, 70.54, 21.20$ ppm.

MALDI-HRMS: m/z calcd. for $\text{C}_{23}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{S}_2$ $[\text{M}\cdot]^+$ 388.05917, found 388.05834 ($\Delta m = 0.00083$, error 2.1 ppm).

Synthese von 2,6-Bis(4-methoxyphenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens D mit 4-Methoxyboronsäure durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.29 mmol), wurden 170 mg der Zielverbindung mit geringen Verunreinigungen isoliert.

Ausbeute: 0.17 g (mit geringen Verunreinigungen)

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ = 7.46 (d, ³J_{H-H} = 7.4 Hz, 4 H, Ar-H), 7.09 (s, 2 H, Ar-H), 6.92 (d, ³J_{H-H} = 7.4 Hz, 4 H, Ar-H), 3.84 (s, 6 H, Ar-H) ppm.

Synthese von 2,6-Bis(4-methoxyphenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens A durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Bis(4-methoxyphenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (150 mg, 0.37 mmol), wurden 50 mg (33%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.05 g (33%)

Retentionsfaktor (DCM): R_f = 0.24

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆): δ = 7.59 (d, ³J_{H-H} = 8.7 Hz, 4 H, Ar-H), 7.45 (s, 2 H, Ar-H), 6.99 (d, ³J_{H-H} = 8.7 Hz, 4 H, Ar-H), 5.82 (d, ³J_{H-H} = 8.0 Hz, 1 H, O-H), 5.29 (d, ³J_{H-H} = 8.0 Hz, 1 H, C-H), 3.79 (s, 6 H, C-H) ppm.

Synthese von 2,6-Bis(4-methoxyphenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Bis(4-methoxyphenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (50 mg, 0.12 mmol), wurden 40 mg (73%) der Zielverbindung als gelber Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.04 g (73%)

Retentionsfaktor (DCM:CH 2:1): R_f = 0.44

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ = 7.58 (d, ³J_{H-H} = 8.8 Hz, 4 H, Ar-H), 7.38 (s, 2 H, Ar-H), 6.99 (d, ³J_{H-H} = 8.8 Hz, 4 H, Ar-H), 6.29 (s, 1 H, C-H), 3.79 (s, 6 H, C-H), 2.17 (s, 3 H, C-H) ppm.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): δ = 7.51 (d, ³J_{H-H} = 8.8 Hz, 4 H, Ar-H), 7.21 (s, 2 H, Ar-H), 6.92 (d, ³J_{H-H} = 8.8 Hz, 4 H, Ar-H), 6.22 (s, 1 H, C-H), 3.84 (s, 6 H, C-H), 2.20 (s, 3 H, C-H) ppm.

¹³C{¹H}-NMR (125.8 MHz, CDCl₃): δ = 171.54, 159.38, 148.76, 145.50, 138.37, 127.67, 126.78, 118.86, 114.57, 70.60, 55.54, 21.22 ppm.

MALDI-HRMS: *m/z* calcd. for C₂₅H₂₀O₄S₂ [M]⁺ 448.08030, found 448.07886 (Δ*m* = 0.00144, error 3.2 ppm).

Synthese von 2,6-Bis(4-nitrophenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens D mit 4-Nitroboronsäure durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.29 mmol), wurden 75 mg (60%) der Zielverbindung als rot-braun farbener Feststoff isoliert.

Ausbeute: 0.075 g (60%)

Retentionsfaktor (DCM): $R_f = 0.65$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.28$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, 4 H, Ar-H), 7.69 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, 4 H, Ar-H), 7.43 (s, 2 H, Ar-H) ppm.

Synthese von 2,6-Bis(4-nitrophenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens A durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Bis(4-nitrophenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (70 mg, 0.16 mmol), wurden 30 mg (43%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.03 g (43%)

Retentionsfaktor (DCM): $R_f = 0.08$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 8.26$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, 4 H, Ar-H), 8.00-7.91 (m, 6 H, Ar-H), 6.04 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.2$ Hz, 1 H, O-H), 5.44 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.2$ Hz, 1 H, C-H) ppm.

Synthese von 2,6-Bis(4-nitrophenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Bis(4-nitrophenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (30 mg, 0.07 mmol), wurden 6 mg (18%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.006 g (18%)

Retentionsfaktor (CH:EE 2:1): $R_f = 0.48$

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 8.26$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.9$ Hz, 4 H, Ar-H), 7.72 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.9$ Hz, 4 H, Ar-H), 7.54 (s, 2 H, Ar-H), 6.29 (s, 1 H, C-H), 2.23 (s, 3 H, C-H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125.8 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.40, 150.54, 146.79, 140.63, 127.93, 125.50, 124.80, 122.54, 114.16, 70.25, 21.11$ ppm.

MALDI-MS: m/z calcd. for $\text{C}_{23}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}_2$ $[\text{M}]^+$ 478.03, found 477.98.

Synthese von 2-Bromo-6-(4-methoxyphenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens D mit 4-Methoxyboronsäure durchgeführt. Ausgehend von 2,6-Dibromo-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (100 mg, 0.29 mmol), wurden 30 mg (28%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.03 g (28%)

Retentionsfaktor (DCM:CH 2:1): $R_f = 0.61$

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.45$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.08 (s, 1 H, Ar-H), 7.00 (s, 1 H, Ar-H), 6.92 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.9$ Hz, 2 H, Ar-H), 3.84 (s, 3 H, CH_3) ppm.

Synthese von 2-Bromo-6-(4-methoxyphenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens A durchgeführt. Ausgehend von 2-Bromo-6-(4-methoxyphenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-on (30 mg, 0.08 mmol), wurden 27 mg (71%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.027 g (71%)

Retentionsfaktor (CH:EE 9:1): $R_f = 0.05$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 7.58$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.44 (s, 1 H, Ar-H), 7.29 (s, 1 H, Ar-H), 6.99 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, 2 H, Ar-H), 5.84 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.7$ Hz, 1 H, O-H), 5.26 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 7.8$ Hz, 1 H, C-H), 3.79 (s, 3 H, CH_3) ppm.

Synthese von 2-Bromo-6-(4-methoxyphenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-yl-acetat

Die Synthese wurde entsprechend des allgemeinen Verfahrens C durchgeführt. Ausgehend von 2-Bromo-6-(4-methoxyphenyl)-4H-cyclopenta[1,2-b:5,4-b']dithiophen-4-ol (27 mg, 0.06 mmol), wurden 8 mg (33%) der Zielverbindung isoliert.

Ausbeute: 0.008 g (33%)

Retentionsfaktor (CH:EE 8:1): $R_f = 0.31$

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 7.57$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.36 (s, 1 H, Ar-H), 7.24 (s, 1 H, Ar-H), 6.99 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.23 (s, 1 H, C-H), 3.79 (s, 3 H, CH_3), 2.14 (s, 3 H, CH_3) ppm.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.49$ (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, 2 H, Ar-H), 7.19 (s, 1 H, Ar-H), 7.11 (s, 1 H, Ar-H), 6.91 (d, $^3J_{\text{H-H}} = 8.8$ Hz, 2 H, Ar-H), 6.15 (s, 1 H, C-H), 3.84 (s, 3 H, CH_3), 2.18 (s, 3 H, CH_3) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}$ (125.8 MHz, CDCl_3): $\delta = 171.36, 159.56, 148.73, 146.66, 146.23, 140.65, 137.43, 127.41, 126.89, 126.78, 118.81, 114.61, 111.57, 70.44, 55.55, 21.11$ ppm.

MALDI-HRMS: m/z calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{BrO}_3\text{S}_2$ [$\text{M}\cdot$] $^+$ 419.94895, found 419.94814 ($\Delta m = 0.00081$, error 1.9 ppm).

BODIPY-Synthesen

Synthese von 3,3',5,5'-Tetramethyl-2,2'-dipyrrolylmethen hydrobromids

2,4-Dimethylpyrrol (0.848 mL, 7.95 mmol, 1 eq) und 3,5-Dimethylpyrrol-2-carboxyaldehyd (1.03 g, 7.95 mmol, 1 eq) wurden entsprechend der Literatur in 13 mL Methanol gelöst. Zu der gelblichen

Lösung wurde über einen Zeitraum von 5 Minuten tropfenweise Bromwasserstoff (1.37 mL, 7.95 mmol, 1 eq, 33 % in Essigsäure) bei Raumtemperatur getropft. Die tiefbraune Lösung wurde weitere 2 Stunden gerührt. Feste Bestandteile wurden durch Filtration abgetrennt und mit eiskaltem Methanol und Diethylether gewaschen. Das dunkelrote kristalline Produkt wurde an der Luft getrocknet und ohne weitere Aufarbeitung umgesetzt.

Ausbeute: 0,68 g (43%)

Synthese von 1,3,5,7-Tetramethyl-bordipyrromethen

3,3',5,5'-Tetramethyl-2,2'-dipyrrolylmethen-hydrobromid (0.68 g, 2.42 mmol, 1 eq) wurde in 5 mL trockenem DCM suspendiert. Über einen Zeitraum von 15 min wurde Diisopropylethylamin (8.47 mL, 48.37 mmol, 20 eq) hinzuge tropft, woraufhin eine klare rot braune Lösung entstand. Bortrifluoriddiethyletherat (1.21 g, 9.67 mmol, 4 eq) wurde langsam hinzuge tropft und 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Flüchtige Bestandteile wurden unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in DCM/Wasser aufgenommen. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase zweimal mit DCM extrahiert. Nach Vereinigung der organischen Phasen und dem Entfernen des Lösungsmittels unter vermindertem Druck, verblieb ein tiefbrauner Rückstand als Rohprodukt. Das Produkt konnte durch säulenchromatografische Aufarbeitung (CH₄ : 1 Essigsäureethylester) erhalten und im ¹H-NMR-Spektrum nachgewiesen wurden.

Ausbeute: 0,34 g (57%)

¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.04 (s, 1H), 6.05 (s, 2H), 2.53 (s, 6H), 2.25 (s, 6H).

Synthese von 1,3,5,7-Tetramethyl-8-Nitril-bordipyrromethen

Die Reaktion wurde entsprechend der Literatur (Y. P. Kovtun *et al.*, *ChemistrySelect* **2016**, *1*, 1462) durchgeführt. Zu einer Lösung aus 1,3,5,7-Tetramethyl-bordipyrromethen (0,15 g, 0.30 mmol) in DCM (20 mL) wurden Kaliumcyanid (0.025 g, 0.38 mmol) und 18-Krone-6-Ether (0.07 g, 0.26 mmol) hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, bis die Fluoreszenz verschwand. Die Organische Phase wurde nun mit Wasser gewaschen und anschließend über Na₂SO₄ getrocknet. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Aufreinigung weiter umgesetzt.

Ausbeute: 0.14 g (61%)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 0.87 (t, J = 6.8 Hz, 6H, CH₃), 1.25 (q, J = 6.8 Hz, 4H, CH₂), 1.59 (q, J = 6.8 Hz, 4H, CH₂), 3.52 (s, 24H, crown ether), 3.79 (q, J = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 3.91 (q, J = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 5.22 (s, 1H), 6.72 (d, J = 7.6 Hz, 2H, CH), 7.22-7.36 (m, 12H);

Synthese von 1,3,5,7-Tetramethyl-8-Nitril-2,6-Diiodo-bordipyrromethen

1,3,5,7-Tetramethyl-8-Nitril-BODIPY (63.0 mg, 0.23 mmol, 1 eq) wurde in 3 mL DCM gelöst, wobei eine intensive dunkelrosane Lösung entstand. Es wurde Iodchlorid (82.4 mg, 2.42 mmol, 2.2 eq) bei Raumtemperatur hinzugegeben, wobei sich die Lösung dunkel bis schwarz färbte. Es wurde noch 14 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde die Lösung zweimal mit Wasser und einmal mit Brine gewaschen. Die organische Phase wurde über Na₂SO₄ getrocknet und anschließend alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Da die Menge des Rückstands nicht

ausreichend für eine NMR Charakterisierung war, wurden lediglich spektroskopische Untersuchungen durchgeführt.

Isatin-Synthesen

Synthese von 4, 5-Dimethyl-3-(methylthio) indolin-2-on

Es wurden 20 mL DCM vorgelegt und auf -78 °C herunter gekühlt. Daraufhin wurden 0,91 ml (8,7 mmol, 1 eq) Methyl-(Methylthio)acetat und danach 0,71 ml (8,7 mmol, 1 eq) Sulfurylchlorid hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C gerührt. In einem separaten Kolben wurden 1 g (8,7 mmol, 1 eq) 2-Methyl-5-(1-methylethyl)benzenamin und 2,6-Lutidin in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst. Diese Mischung wurde nun zu der oben hergestellten Reaktionsmischung innerhalb von 10 min hinzugegeben, wobei das Reaktionsgemisch sich von farblos nach dunkelbraun verfärbte. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach drei Stunden Reaktionszeit bei -78 °C wurden 1,2 ml (8,6 mmol, 1 eq) Et₃N hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C und dann bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach 16 h Rührzeit bei Raumtemperatur wurden 8,3 ml Essigsäure zu der dunkelbraunen Reaktionsmischung hinzugegeben und für eine Stunde gerührt. Die Reaktion wurde wie folgt aufgearbeitet. Es wurde dreimal mit H₂O und dreimal mit einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, die organische Phase wurde dann über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Das dunkelbraune Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit CH : Ethylacetat (10:1→3:1) aufgereinigt. Es wurde eine Ausbeute von 1,3 g (6,3 mmol, 76%) erhalten.

Ausbeute: 1,3 g (76%)

R_f-Wert (CH 3:1 EE): 0,24

MS(ESI) [M+H⁺] m/z = 230,01

Synthese von 4,5-Dimethylindolin-2,3-dion

Es wurden 0,53 g (2,4 mmol, 1 eq) 4,5-Dimethyl-3-(methylthio)-1,3-dihydro-2H-indol-2-on in 20 ml DCM gelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe eines Eisbades auf 0 °C gekühlt. Danach wurde 0,38 g (3 mmol, 1,2 eq) NCS hinzugegeben, wobei sich die Lösung von gelb nach orange verfärbte. Nach Zugabe wurde das Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur erwärmt und es wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur weiter gerührt. Nach einer Stunde Reaktionszeit wurden alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt und das zurückbleibende orangene Öl in 20 ml Aceton aufgenommen. Es wurden 0,38 g (3 mmol, 1,2 eq) CuCl₂ und 0,23 g (3 mmol, 1,2 eq) CuO hinzugegeben, wobei sich eine schwarze Suspension bildete, die eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt wurde. Die Reaktionsmischung wurde abfiltriert das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der dunkelbraune Rückstand wurde in DCM aufgenommen und mehrmals mit wenig H₂O und Brine gewaschen, über MgSO₄ getrocknet abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit DCM:EE (20:1) aufgereinigt, wobei 0,4 g (2,3 mmol, 89 %) eines rötlichen Produktes isoliert wurden.

Ausbeute: 0,4 g (89%)

R_f-Wert (DCM 20:1 EE): 0,41

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.23 (s, 1H), 7.37 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.32 (s, 3H).

MS(ESI) [M+Na⁺] m/z = 198,10

Synthese von 7-Methoxy-4-methyl-3-(methylthio) indolin-2-on

Es wurden 5 mL DCM vorgelegt. und mit Hilfe eines Stickstoff/Isopropanol Bades auf -78 °C gekühlt. Daraufhin wurden 0,84 ml (7,7 mmol, 1 eq) Methyl-(Methylthio)acetat und danach 0,62 ml (7,7 mmol, 1 eq) Sulfurylchlorid hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C gerührt. In einem separaten Kolben wurden 1 g (7,3 mmol, 1 eq) 1-Methyl-4-(1-methylethyl)-2-nitrobenzen und 0,88 ml (7,6 mmol, 1 eq) 2,6-Lutidin in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst. Diese Mischung wurde dann zu der oben hergestellten Reaktionsmischung innerhalb von 10 min hinzugetropft, wobei das Reaktionsgemisch sich von farblos nach dunkelbraun verfärbte. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach drei Stunden Reaktionszeit bei -78 °C wurden 1,1 ml (7,6 mmol, 1 eq) Et₃N hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C und dann bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach 16 h Rührzeit bei Raumtemperatur wurden 7,3 ml Essigsäure zu der dunkelbraunen Reaktionsmischung hinzugegeben und für eine Stunde gerührt. Die Reaktion wurde wie folgt aufgearbeitet. Es wurde dreimal mit H₂O und dreimal mit einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, die organische Phase wurde dann über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das dunkelbraune Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit CH₂Cl₂ Ethylacetat (20:1) aufgereinigt. Es wurde eine Ausbeute von 0,8 g (3,6 mmol, 50 %) erhalten.

Ausbeute: 0,8 g (50%)

R_f-Wert (DCM 20:1 EE): 0,42

¹H NMR (250 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.57 (s, 1H), 6.83 – 6.72 (m, 2H), 4.21 (d, *J* = 0.7 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 2.36 (d, *J* = 0.6 Hz, 3H), 2.00 (s, 3H).

MS(ESI) [M+Na⁺] m/z = 246,06

Synthese von 7-methoxy-4-Methylindolin-2,3-dion

In einer ausgeheizten Apparatur wurde 0,53 g (2,4 mmol, 1 eq) 7-Methoxy-4-methyl-3-(methylthio)-indolin-2-on in 20 ml DCM gelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe eines Eisbades gekühlt. Danach wurde 0,38 g (3 mmol, 1,2 eq) NCS hinzugegeben, wobei sich die Lösung von gelb nach orange verfärbte. Nach Zugabe wurde das Eisbad entfernt und die Reaktionsmischung wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nach eine Stunde Reaktionszeit wurden sämtliche flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt und das orangene Öl wurde in 20 ml Aceton aufgenommen, es wurde 0,38 g (3 mmol, 1,2 eq) CuCl₂ und 0,23 g (3 mmol, 1,2 eq) CuO hinzugegeben, wobei sich eine schwarze Suspension bildete, die eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt wurde. Die Reaktionsmischung wurde abfiltriert das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der dunkelbraune Rückstand wurde in DCM aufgenommen und mehrmals mit wenig H₂O und einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet abfiltriert und das Lösungsmittel unter vermindertem

Druck entfernt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit DCM:EE (20:1) aufgereinigt, wobei 0,5 g (2,2 mmol, 94 %) eines rötlichen Produktes isoliert wurden.

Ausbeute: 0,5 g (94%)

R_f-Wert (DCM 20:1 EE): 0,17

¹H NMR (250 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.63 (s, 1H), 7.01 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.81 (dd, *J* = 8.4, 0.9 Hz, 1H), 3.88 (s, 3H), 2.49 (d, *J* = 0.7 Hz, 3H).

¹³C NMR (126 MHz, Methanol-*d*₄) δ 186.20, 161.09, 144.51, 140.88, 132.94, 126.50, 121.93, 117.63, 56.68, 17.18.

MS(ESI) [M+H⁺] *m/z* = 192,12

HRMS(MALDI) [M+Na⁺] *m/z*= Berechnet: 214,04746, gefunden: 214,04755

Synthese von 4,7-Dimethyl-3-(methylthio) indolin-2-on

Unter Inertbedingungen wurde in einem ausgeheizten Kolben 20 ml CH₂Cl₂ vorgelegt. und mit Hilfe eines Stickstoff/Isopropanol Bades auf -78 °C gekühlt. Daraufhin wurden 0,95 ml (8,7 mmol, 1 eq) Methyl-(Methylthio)acetat und danach 0,71 ml (8,7 mmol, 1 eq) Sulfurylchlorid hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C gerührt. In einem separaten Kolben wurden 1,05 g (8,3 mmol, 1 eq) 2,5-Dimethylanilin und 0,99 ml (8,6 mmol, 1 eq) 2,6-Lutidin in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst. Diese Mischung wurde dann zu der oben hergestellten Reaktionsmischung innerhalb von 10 min hinzuge tropft, wobei das Reaktionsgemisch sich von farblos nach dunkelbraun verfärbte. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach drei Stunden Reaktionszeit bei -78 °C wurden 1,2 ml (8,6 mmol, 1 eq) Et₃N hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C und dann bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach 16 h Rührzeit bei Raumtemperatur wurden 8,3 ml Essigsäure zu der dunkelbraunen Reaktionsmischung hinzugegeben und für eine Stunde gerührt. Die Reaktion wurde wie folgt aufgearbeitet. Es wurde dreimal mit H₂O und dreimal mit einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, die organische Phase wurde dann über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt.. Das dunkelbraune Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit CH₂Cl₂ : Ethylacetat (20:1) aufgereinigt. Es wurde eine Ausbeute von 1,3 g (6,3 mmol, 76 %) erhalten.

Ausbeute: 1,3 g (76%)

R_f -Wert (DCM 10:1 EE): 0,45

MS(ESI) [M+H⁺] *m/z* = 230,02

Synthese von 4,7-Dimethylindolin-2,3-dion

In einer ausgeheizten Apparatur wurde 0,53 g (2,6 mmol, 1 eq) 4,7-Dimethyl-3-(methylthio)-indolin-2-on 20 ml DCM gelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe eines Eisbades gekühlt. Danach wurde 0,41 g (3 mmol, 1,2 eq) NCS hinzugegeben, wobei sich die Lösung von gelb nach orange verfärbte. Nach Zugabe wurde das Eisbad entfernt und die Reaktionsmischung wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nach eine Stunde Reaktionszeit wurden sämtliche flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck

entfernt und das orangene Öl wurde in 20 ml Aceton aufgenommen, es wurde 0,41 g (3 mmol, 1,2 eq) CuCl₂ und 0,24 g (3 mmol, 1,2 eq) CuO hinzugegeben, wobei sich eine schwarze Suspension bildete, die eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt wurde. Die Reaktionsmischung wurde abfiltriert das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der dunkelbraune Rückstand wurde in DCM aufgenommen und mehrmals mit wenig H₂O und einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit DCM:EE (20:1) aufgereinigt, wobei 0,4 g (2,3 mmol, 89 %) eines orangenen Produktes isoliert wurden.

Ausbeute: 0,4 g (89%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,45

¹H NMR (250 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.07 (s, 1H), 7.23 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.80 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 2.54 (s, 3H), 2.21 (s, 3H).

¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ 183.88, 159.56, 147.50, 139.40, 139.06, 125.97, 118.26, 116.31, 17.96, 15.18.

MS(ESI) [M+H⁺] *m/z* = 176,19

HRMS(MALDI) [M+K⁺] *m/z*= Berechnet: 214,02649, gefunden: 214,02652

Synthese von 2-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)essigsäure

Es wurde 0,5 g (3 mmol, 1 eq) 4-Methoxyphenyl-Essigsäure in 6 ml Essigsäure gelöst. Eine Mischung aus 1,06 ml (20 mmol, 5,5 eq) Schwefelsäure und 0,74 ml (17 mmol, 6,6 eq) Salpetersäure wurde bei 40 °C hinzugegeben, wobei die Lösung dunkelbraun wurde, es wurde schnell auf 70 °C erwärmt und dann mit Hilfe eines Eisbades wurde die Reaktionsmischung auf 20 °C gebracht, die dann auf 20 g Eis gegossen wurde. Es fiel ein gelblicher Feststoff aus, der mehrmals mit Eiswasser säurefrei gewaschen wurde und im Vakuum getrocknet wurde. Es wurden 0,45 g (2 mmol, 71 %) eines gelblichen Produktes erhalten.

Ausbeute: 0,45 g (71%)

¹H NMR (250 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.80 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.47 (dd, *J* = 8.5, 2.3 Hz, 1H), 7.07 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.96 (s, 3H), 3.66 (s, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 172.32, 150.78, 135.62, 130.76, 127.59, 125.63, 114.11, 56.64, 38.70.

MS(ESI) [M+H⁺] *m/z* = 211,06

Synthese von 2-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)ethanol

In einem ausgeheizten 50 ml Einhalskolben wurde 2-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)essigsäure unter Inertbedingungen in 5 ml THF gelöst. Danach wurde 22 µl (0,02 mmol, 1 eq) BMS hinzugegeben, wobei sich Gasbläschen bildeten und die Lösung sich von gelb nach rot verfärbte. Nach einer Stunde Reaktionszeit wurde die Reaktion mit wenig MeOH abgebrochen, die Mischung wurde dann in gesättigter NaHCO₃ Lösung aufgenommen und dreimal mit wenig Ethylacetat extrahiert. Die organische Phase

wurde über MgSO_4 getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Das bräunliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit DCM:EE (20:1) aufgereinigt, wobei 0,03 g (0,16 mmol, 64%) eines gelblichen Feststoffes erhalten wurden.

Ausbeute: 0,03 g (64%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,45

¹H NMR (250 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.72 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.51 (dd, *J* = 8.6, 2.2 Hz, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 4.66 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 3.63 – 3.56 (m, 2H), 2.72 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 150.26, 134.92, 132.35, 124.82, 114.01, 61.53, 56.57, 37.18.

MS(ESI) [M+Na⁺] *m/z* = 220,09

Synthese von 4-Methoxy-3-nitrophenethyl acetat

Es wurden 0,1 g (0,5 mmol, 1 eq) 2-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)ethanol in 5 ml Pyridin gelöst, danach wurde 0,34 ml (3 mmol, 6,5 eq.) Essigsäureanhydrid hinzugegeben und die Reaktion wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Am nächsten Tag wurde etwas Eiswasser hinzugegeben, um das restliche Essigsäureanhydrid zu quenchen. Danach wurde die Reaktionsmischung mit Ethylacetat extrahiert, über MgSO_4 getrocknet, abfiltriert und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die säulenchromatographische Aufreinigung mit Dichlormethan:Ethylacetat (20:1) lieferte 0,12 g (0,5 mmol, 99 %) eines braunen Öls.

Ausbeute: 0,12 g (99%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,84

¹H NMR (250 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.78 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 8.6, 2.3 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 4.21 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 3.32 (s, 1H), 2.90 (t, *J* = 6.7 Hz, 2H), 1.97 (s, 3H).

MS(ESI) [M+Na⁺] *m/z* = 262,10

Synthese von 1,4,7-Trimethylindolin-2,3-dion

In einem ausgeheizten 10 ml Einhalskolben wurde 20 mg (0,1 mmol, 1 eq) 4,7-Dimethylindolin-2,3-dion in 3 ml DMF gelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe eines Eisbades auf 0 °C gebracht. Danach erfolgte die Zugabe von 3 mg (0,1 mmol, 1 eq) NaH. Nach 20 min Reaktionszeit wurde erneut auf 0 °C gekühlt und 8 μ l Mel wurden hinzugegeben, wobei sich die Lösung von Lila nach Rot verfärbte. Nach zwei Stunden Rühren bei Raumtemperatur zeigt die DC einen vollständigen Umsatz, die Reaktion wurde durch Zugabe von H₂O abgebrochen und mehrmals mit wenig Ether extrahiert, über MgSO_4 getrocknet, abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan:Ethylacetat (20:1) aufgereinigt, wobei 15 mg (0,08 mmol, 80 %) eines rötlichen Feststoffes erhalten wurden.

Ausbeute: 15 mg (80%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,84

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7.17 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 3.50 (s, 3H), 2.52 (dd, *J* = 2.0, 1.1 Hz, 6H).

MS(ESI) [M+H⁺] *m/z* = 190,12

HRMS(MALDI) [M+K⁺] *m/z*= Berechnet: 229,04549, gefunden: 229,04575

Synthese von 7-Methoxy-1,4-dimethylindolin-2,3-dion

In einem ausgeheizten 10 ml Einhalskolben wurde 0,2 g (0,1 mmol, 1 eq) 7-Methoxy-4-methylindolin-2,3-dion in 3 ml DMF gelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe eines Eisbades auf 0 °C gebracht. Danach erfolgte die Zugabe von 0,03 g (0,1 mmol, 1 eq) NaH. Nach 20 min Reaktionszeit wurde erneut auf 0 °C gekühlt und 0,08 ml MeI wurden hinzugegeben, wobei sich die Lösung von Lila nach Rot verfärbte. Nach zwei Stunden Rühren bei Raumtemperatur zeigte die DC einen vollständigen Umsatz, die Reaktion wurde durch Zugabe von H₂O abgebrochen und mehrmals mit wenig Ether extrahiert, über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt.. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan:Ethylacetat (20:1) aufgereinigt, wobei 0,15 g (0,8 mmol, 80 %) eines rötlichen Feststoffes erhalten wurden.

Ausbeute: 0,15 g (80%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,88

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7.04 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.80 (dq, *J* = 8.4, 0.8 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.48 (s, 3H), 2.48 (d, *J* = 0.7 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 184.13, 158.20, 143.70, 138.68, 131.27, 125.87, 123.11, 116.45, 56.79, 29.27, 16.74.

MS(ESI) [M+H⁺] *m/z* = 206,10

HRMS(MALDI) [M+H⁺] *m/z*= Berechnet: 206,08117, gefunden: 206,08135

Synthese von 3-Amino-4-methoxyphenethyl acetat

Es wurde 1 g 4-Methoxy-3-nitrophenethyl acetat (4 mmol, 1 eq) in 10 ml MeOH gelöst. Daraufhin wurden 2,4 g (40 mmol, 10 eq) Zn und 1,1 g (20 mmol, 5 eq) NH₄Cl, wobei der Kolben heiß wurde. Die Reaktion wurde für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt.. Das braune Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan : Ethylacetat (20:1) aufgereinigt. Es wurden 0,7 g (3 mmol, 83 %) eines braunen Öls erhalten.

Ausbeute: 0,7 g (83%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,47

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 6.69 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.50 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 6.41 – 6.35 (m, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.11 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.72 (s, 3H), 2.68 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.98 (s, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ 170.29, 145.06, 137.44, 129.95, 116.28, 114.26, 110.51, 64.72, 55.26, 33.93, 20.75.

MS(ESI) [M+Na⁺] m/z = 232,16

Synthese von 5-Isopropyl-2-methylanilin

Es wurde 1,5 g 1-Methyl-4-(1-methylethyl)-2-nitrobenzene (8,4 mmol, 1 eq) in 25 ml MeOH gelöst. Daraufhin wurden 4,7 g (84 mmol, 10 eq) Zn und 2,2 g (41 mmol, 5 eq) NH₄Cl, wobei der Kolben heiß wurde. Die Reaktion wurde für zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt, abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Das braune Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit Dichlormethan:Ethylacetat (20:1) aufgereinigt. Es wurden 1,2 g (8 mmol, 96 %) eines braunen Öls erhalten.

Ausbeute: 1,2 g (96%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,92

¹H NMR (250 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.32 (s, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.36 (p, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.23 (d, *J* = 0.7 Hz, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.29 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.21 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 148.10, 144.09, 130.52, 120.15, 117.14, 113.49, 33.90, 24.18, 22.58, 17.06.

MS(ESI) [M+H⁺] m/z = 150,13

Synthese von 4-Isopropyl-7-methyl-3-(methylthio)indolin-2-on

Unter Inertbedingungen wurde in einem ausgeheizten Kolben 20 ml CH₂Cl₂ vorgelegt. und mit Hilfe eines Stickstoff/Isopropanol Bades auf -78 °C gekühlt. Daraufhin wurden 1,00 ml (9,2 mmol, 1 eq) Methyl-(Methylthio)acetat und danach 0,75 ml (9,2 mmol, 1 eq) Sulfurylchlorid hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C gerührt. In einem separaten Kolben wurden 1,3 g (8,7 mmol, 1 eq) 5-Isopropyl-2-methylanilin und 1,94 g (9,1 mmol, 1 eq) Proton-Sponge in 20 ml CH₂Cl₂ gelöst. Diese Mischung wurde dann zu der oben hergestellten Reaktionsmischung innerhalb von 10 min hinzuge tropft, wobei das Reaktionsgemisch sich von farblos nach dunkelbraun verfärbte. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach drei Stunden Reaktionszeit bei -78 °C wurden 1,3 ml (9,1 mmol, 1 eq) Et₃N hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C und dann bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach 16 h Rührzeit bei Raumtemperatur wurden 8,7 ml Essigsäure zu der dunkelbraunen Reaktionsmischung hinzugegeben und für eine Stunde gerührt. Die Reaktion wurde wie folgt aufgearbeitet. Es wurde dreimal mit H₂O und dreimal mit einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, die organische Phase wurde dann über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Das dunkelbraune Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit CH₂Cl₂:Ethylacetat (20:1) aufgereinigt. Es wurde eine Ausbeute von 2 g (8,5 mmol, 98 %) erhalten.

Ausbeute: 2 g (98%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,33

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8.32 (s, 1H), 7.05 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.25 (s, 1H), 3.36 (p, *J* = 6.8 Hz, 1H), 2.23 (d, *J* = 0.7 Hz, 3H), 2.10 (s, 3H), 1.29 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 1.21 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H).

MS(ESI) [M+Na⁺] *m/z* = 258,15

Synthese von 4-Isopropyl-7-methylindolin-2,3-dion

In einer ausgeheizten Apparatur wurde 1,1 g (4,7 mmol, 1 eq) 4-Isopropyl-7-methyl-3-(methylthio)indolin-2-on in 20 ml DCM gelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe eines Eisbades gekühlt. Danach wurde 0,76 g (5,7 mmol, 1,2 eq) NCS hinzugegeben, wobei sich die Lösung von gelb nach orange verfärbte. Nach Zugabe wurde das Eisbad entfernt und die Reaktionsmischung wurde für eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nach eine Stunde Reaktionszeit wurden sämtliche flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt und das orangene Öl wurde in 20 ml Aceton aufgenommen, es wurde 0,76 g (5,7 mmol, 1,2 eq) CuCl₂ und 0,45 g (5,7 mmol, 1,2 eq) CuO hinzugegeben, wobei sich eine schwarze Suspension bildete, die eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt wurde. Die Reaktionsmischung wurde abfiltriert das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und der dunkelbraune Rückstand wurde in DCM aufgenommen und mehrmals mit wenig H₂O und einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit DCM:EE (20:1) aufgereinigt, wobei 0,8 g (3,9 mmol, 84 %) eines orangenen Produktes isoliert wurden.

Ausbeute: 2 g (98%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,33

¹H NMR (250 MHz, MeOH-*d*₄) δ 7.34 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 3.78 (hept, *J* = 7.0 Hz, 1H), 2.21 (d, *J* = 0.7 Hz, 3H), 1.24 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 184.90, 159.45, 149.24, 148.04, 139.51, 119.46, 118.69, 114.31, 27.54, 22.15, 15.13.

MS(ESI) [M+H⁺] *m/z* = 204,08

Synthese von 2-(7-Methoxy-3-(methylthio)-2-oxoindolin-4-yl)ethyl acetat

Unter Inertbedingungen wurde in einem ausgeheizten Kolben 10 ml CH₂Cl₂ vorgelegt. und mit Hilfe eines Stickstoff/Isopropanol Bades auf -78 °C gekühlt. Daraufhin wurden 0,22 ml (2 mmol, 1 eq) Methyl-(Methylthio)acetat und danach 0,27 ml (2 mmol, 1 eq) Sulfurylchlorid hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C gerührt. In einem separaten Kolben wurden 0,4 g (2 mmol, 1 eq) 3-amino-4-methoxy-1-acetyl-benzethanol und 0,43 g (2 mmol, 1 eq) Proton-Sponge in 10 ml CH₂Cl₂ gelöst. Diese Mischung wurde dann zu der oben hergestellten Reaktionsmischung innerhalb von 10 min hinzugegeben, wobei das Reaktionsgemisch sich von farblos nach rot verfärbte. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach drei Stunden Reaktionszeit bei -78 °C wurden 0,3 ml (2 mmol, 1 eq) Et₃N hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C und dann bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach 16 h Rührzeit bei Raumtemperatur wurden 2 ml Essigsäure zu der dunkelbraunen Reaktionsmischung hinzugegeben und für eine Stunde gerührt. Die Reaktion wurde wie folgt

aufgearbeitet. Es wurde dreimal mit H₂O und dreimal mit einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, die organische Phase wurde dann über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt.. Es wurden 0,5 g (1,7 mmol, 89%) eines rötlichen Rohproduktes erhalten.

Ausbeute: 0,5 g (89%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

MS(ESI) [M+Na⁺] m/z = 318,08

Synthese von 2-(7-Methoxy-2,3-dioxindolin-4-yl)ethyl acetat

In einer ausgeheizten Apparatur wurden 0,5 g (1,7 mmol, 1 eq) 2-(7-Methoxy-3-(methylthio)-2-oxindolin-4-yl)ethyl acetat in 10 ml Aceton gelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe eines Eisbades gekühlt. Danach wurden 0,23 g (1,7 mmol, 1,2 eq) CuCl₂ und 0,19 g (2,4 mmol, 1,4 eq) CuO hinzugegeben, wobei die Lösung zu einer bräunlichen Suspension wurde. Nach 1,5 Stunden Rührzeit bei 0 °C wurde das Eisbad entfernt, die Reaktionsmischung wurde abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt.. Der bräunliche Rückstand wurde in DCM aufgenommen und mehrmals mit H₂O und einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer eingengt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit DCM:EE (20:1) aufgereinigt, wobei 0,1 g (0,4 mmol, 23 %) eines rötlichen Produktes isoliert wurden.

Ausbeute: 0,1 g (23%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7.64 (s, 1H), 7.04 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.28 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.20 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 2.01 (s, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 184.74, 170.14, 158.95, 143.32, 140.05, 130.60, 124.40, 120.89, 116.01, 63.08, 56.11, 29.56, 20.65.

MS(ESI) [M+Na⁺] m/z = 286,12

Synthese von 5-(((2,5-Dimethylphenyl)amino)methylen)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion

In einem ausgeheizten Schlenkkolben wurden 1,78 g (12 mmol, 1,5 eq) der Meldrumsäure zu 21 ml Trimethylorthoformat gegeben. Die farblose Lösung wurde für zwei Stunden bei 112 °C erhitzt, wobei die Lösung sich orange verfärbte. Die Reaktionsmischung wurde dann auf Raumtemperatur gebracht und 2,5-Dimethylanilin wurde hinzugegeben. Es wurde erneut für zwei Stunden bei 112 °C erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur gebracht, wobei ein gelblicher Feststoff ausfiel, der abfiltriert wurde und mehrmals mit wenig MeOH gewaschen wurde. Es wurden 2,2 g (8 mmol, 97%) eines gelblichen Feststoffes erhalten.

Ausbeute: 0,1 g (23%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 11.52 (d, *J* = 13.8 Hz, 1H), 8.78 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H), 7.41 – 7.09 (m, 3H), 2.50 (s, 6H), 1.90 (d, *J* = 0.9 Hz, 6H).

¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.95, 163.81, 152.97, 137.85, 136.42, 131.47, 127.72, 125.18, 117.20, 105.26, 87.30, 27.17, 21.18, 16.95.

MS(ESI) [M+H⁺] *m/z* = 276,21

HRMS(MALDI) [M+H⁺] *m/z* = Berechnet: 314,07892, gefunden: 314,07878

Synthese von 5,8-Dimethylquinolin-4(1H)-on

In einem ausgeheizten Kolben wurden 1,3 g (4,7 mmol, 1 eq) 5-(((2,5-Dimethylphenyl)amino)methylen)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion in 10 ml Diphenylether gelöst und für eine Stunde bei 205 °C erhitzt. Nach einer Stunde Reaktionszeit wurde die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur gebracht, es wurden 10 ml Hexan hinzugegeben, wobei ein bräunlicher Feststoff ausfiel, der abfiltriert wurde und mehrmals mit wenig Hexan gewaschen wurde. Es wurden 0,75 g (4,3 mmol, 92%) eines bräunlichen Feststoffes isoliert.

Ausbeute: 0,1 g (23%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

¹H NMR (250 MHz, MeOH-*d*₄) δ 7.80 (dd, *J* = 7.4, 1.9 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.00 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.25 (dd, *J* = 7.3, 1.9 Hz, 1H), 2.86 (s, 3H), 2.48 (s, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, Methanol-*d*₄) δ 227.26, 183.74, 141.65, 139.52, 139.13, 133.39, 127.20, 125.54, 124.97, 111.71, 24.02, 17.38.

MS(ESI) [M+H⁺] *m/z* = 174,16

HRMS(MALDI) [M+H⁺] *m/z* = Berechnet: 174,09134, gefunden: 174,09163

Synthese von 4-Methoxy-3-nitrophenethyl 4-methylbenzensulfonat

In einem ausgeheizten 25 ml Kolben wurden 0,06 g (0,3 mmol, 1 eq) 2-(4-Methoxy-3-nitrophenyl)ethanol, 0,06 g TsCl (0,3 mmol, 1 eq) in 5 ml DCM gelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe eines Eisbades auf 10 °C gebracht. Danach wurden 46 µL (0,3 mmol, 1 eq) Et₃N hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur gebracht und über Nacht gerührt. Nach sechzehn Stunden Rühren bei Raumtemperatur zeigt die DC vollständigen Umsatz. Zu der Reaktionsmischung wurden 2 ml 1 N HCl hinzugegeben und es wurde mehrmals mit Wasser und einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen. Die organische Phase wurde über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wurde säulenchromatographisch mit DCM:EE (20:1) aufgereinigt, wobei 80 mg (0,23 mmol, 75%) eines braunen Öls erhalten.

Ausbeute: 0,1 g (23%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.79 – 7.73 (m, 2H), 7.67 (dt, *J* = 2.2, 1.0 Hz, 1H), 7.56 – 7.50 (m, 2H), 7.33 (ddt, *J* = 8.4, 2.1, 1.0 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.36 (t, *J* = 6.4 Hz, 2H), 4.02 (s, 2H), 3.18 (tt, *J* = 6.5, 1.0 Hz, 2H), 2.42 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H).

MS(ESI) [M+Na⁺] *m/z* = 374,07

Synthese von 3-amino-4-methoxyphenethyl 4-methylbenzensulfonat

In einem ausgeheizten 25 ml Kolben wurden 0,08 g (0,23 mmol, 1 eq) 4-Methoxy-3-nitrophenethyl 4-methylbenzensulfonat in 10 ml MeOH gelöst. 0,13 g (23 mmol, 10 eq) Zn und 0,06 g (11 mmol, 5 eq) NH₄Cl wurden hinzugegeben, wobei die Reaktionsmischung heiß wurde. Die Reaktion wurde mittels DC verfolgt und zeigte schon nach einer Stunde Rührzeit bei Raumtemperatur vollständigen Umsatz. Die säulenchromatographische Aufreinigung mit DCM:EE (30:1) lieferte 70 mg (0,21 mmol, 96%) eines gelben Öls.

Ausbeute: 0,1 g (23%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.79 – 7.73 (m, 2H), 7.47 (dq, *J* = 8.3, 0.8 Hz, 2H), 6.70 – 6.62 (m, 2H), 6.54 (dq, *J* = 1.7, 0.9 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 6.9 Hz, 1H), 4.39 – 4.32 (m, 3H), 3.84 (s, 2H), 2.78 (tt, *J* = 6.5, 1.0 Hz, 2H), 2.41 (d, *J* = 0.9 Hz, 3H).

¹³C NMR (125 MHz, MeOH-*d*₄) δ 147.50, 144.06, 136.92, 134.23, 130.68, 129.89, 127.74, 120.26, 118.00, 111.36, 70.04, 55.94, 34.94, 21.55.

Synthese von 2-(7-Methoxy-3-(methylthio)-2-oxoindolin-4-yl)ethyl 4-methylbenzensulfonat

Unter Inertbedingungen wurde in einem ausgeheizten Kolben 10 ml CH₂Cl₂ vorgelegt. und mit Hilfe eines Stickstoff/Isopropanol Bades auf -78 °C gekühlt. Daraufhin wurden 0,09 ml (0,8 mmol, 1 eq) Methyl-(Methylthio)acetat und danach 0,07 ml (0,8 mmol, 1 eq) Sulfurylchlorid hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C gerührt. In einem separaten Kolben wurden 0,25 g (0,8 mmol, 1 eq) 3-amino-4-methoxyphenethyl 4-methylbenzensulfonat und 0,17 g (0,8 mmol, 1 eq) Proton-Sponge in 5 ml CH₂Cl₂ gelöst. Diese Mischung wurde dann zu der oben hergestellten Reaktionsmischung innerhalb von 10 min hinzugegotropft, wobei das Reaktionsgemisch sich von farblos nach rot verfärbte. Die Reaktion wurde mittels Dünnschichtchromatographie verfolgt. Nach drei Stunden Reaktionszeit bei -78 °C wurden 0,3 ml (2 mmol, 1 eq) Et₃N hinzugegeben und für 15 min bei -78 °C und dann bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach 16 h Rührzeit bei Raumtemperatur wurde 1 ml Essigsäure zu der dunkelbraunen Reaktionsmischung hinzugegeben und für eine Stunde gerührt. Die Reaktion wurde wie folgt aufgearbeitet. Es wurde dreimal mit H₂O und dreimal mit einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, die organische Phase wurde dann über MgSO₄ getrocknet, abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Es wurden 0,1 g (0,25 mmol, 32%) eines rötlichen Rohproduktes erhalten.

Ausbeute: 0,1 g (23%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

MS(ESI) [M+Na⁺] m/z = 430,15

Synthese von 2-(7-Methoxy-2,3-dioxindolin-4-yl)ethyl 4-methylbenzensulfonat

In einer ausgeheizten Apparatur wurden 0,1 g (0,25 mmol, 1 eq) 2-(7-Methoxy-3-(methylthio)-2-oxindolin-4-yl)ethyl 4-methylbenzensulfonat in 10 ml Aceton gelöst. Die Lösung wurde mit Hilfe eines Eisbades gekühlt. Danach wurden 0,03 g (0,2 mmol, 1,2 eq) CuCl₂ und 0,027 g (0,3 mmol, 1,4 eq) CuO hinzugegeben, wobei die Lösung zu einer bräunlichen Suspension wurde. Nach 1,5 Stunden Rührzeit bei 0 °C wurde das Eisbad entfernt, die Reaktionsmischung wurde abfiltriert und alle flüchtigen Bestandteile unter vermindertem Druck entfernt. Der bräunliche Rückstand wurde in DCM aufgenommen und mehrmals mit H₂O und einer gesättigten NaCl Lösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet abfiltriert und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer eingeengt. Das rötliche Rohprodukt wurde säulenchromatographisch mit DCM:EE (20:1) aufgereinigt, wobei 0,02 g (0,05 mmol, 22 %) eines rötlichen Produktes isoliert wurden.

Ausbeute: 0,1 g (23%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

¹H NMR (250 MHz, MeOH - *d*₄) δ 7.48 – 7.39 (m, 2H), 7.28 – 7.11 (m, 3H), 6.81 (dd, *J* = 8.4, 3.5 Hz, 1H), 4.30 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 3.96 (d, *J* = 2.3 Hz, 3H), 3.06 (t, *J* = 5.8 Hz, 2H), 2.44 (d, *J* = 3.8 Hz, 3H).

¹³C NMR (125 MHz; CDCl₃) δ 184.06, 160.22, 144.07, 143.90, 138.86, 134.19, 134.01, 129.89, 127.75, 125.66, 115.57, 113.35, 69.14, 55.38, 33.78, 21.55.

MS(ESI) [M+Na⁺] m/z = 398,13

Synthese von 3-(((2,2-Dimethyl-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-yliden)methyl)amino)-4-methoxyphenethylacetat

In einem ausgeheizten Schlenkkolben wurden 0,05 g (0,36 mmol, 1,5 eq) der Meldrumsäure zu 1 ml Trimethylorthoformat gegeben. Die farblose Lösung wurde für zwei Stunden bei 112 °C erhitzt, wobei die Lösung sich orange verfärbte. Die Reaktionsmischung wurde dann auf Raumtemperatur gebracht und 0,05 g (0,24 mmol, 1 eq) 3-Amino-4-methoxyphenethylacetat wurden hinzugegeben. Es wurde erneut für zwei Stunden bei 112 °C erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur gebracht, wobei ein gelblicher Feststoff ausfiel, der abfiltriert wurde und mehrmals mit wenig MeOH gewaschen wurde. Es wurden 0,07 g (0,2 mmol, 81%) eines gelblichen Feststoffes erhalten.

Ausbeute: 0,1 g (23%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 171.20, 164.21, 163.65, 147.65, 141.48, 131.99, 127.83, 123.42, 121.42, 112.83, 104.38, 92.06, 65.00, 56.02, 34.46, 27.04, 20.88.

MS(ESI) [M+Na⁺] m/z = 398,11

Synthese von 5-(((5-Isopropyl-2-methylphenyl)amino)methylen)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion

In einem ausgeheizten Schlenk Kolben wurden 2,2 g (16 mmol, 1,5 eq) der Meldrumsäure zu 28 ml Trimethylorthoformat gegeben. Die farblose Lösung wurde für zwei Stunden bei 112 °C erhitzt, wobei die Lösung sich orange verfärbte. Die Reaktionsmischung wurde dann auf Raumtemperatur gebracht und 1,55 g (10 mmol, 1 eq) 5-Isopropyl-2-methylanilin wurden hinzugegeben. Es wurde erneut für zwei Stunden bei 112 °C erhitzt. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur gebracht, wobei ein gelblicher Feststoff ausfiel, der abfiltriert wurde und mehrmals mit wenig MeOH gewaschen wurde. Es wurden 2,3 g (7,6 mmol, 73%) eines gelblichen Feststoffes erhalten.

Ausbeute: 0,1 g (23%)

R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 11.44 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H), 8.66 (d, *J* = 14.2 Hz, 1H), 7.20 – 7.11 (m, 2H), 7.05 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 2.91 (hept, *J* = 6.9 Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 1.76 (s, 6H), 1.29 – 1.22 (m, 6H).

¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 165.99, 163.86, 152.99, 149.09, 136.45, 131.60, 125.66, 125.13, 114.69, 105.25, 87.23, 34.08, 27.16, 24.04, 17.00.

MS(ESI) [M+Na⁺] *m/z* = 326,12

Synthese von 5-Isopropyl-8-methylquinolin-4(1H)-on

In einem ausgeheizten Kolben wurden 2,3 g (7,6 mmol, 1 eq) 5-(((5-Isopropyl-2-methylphenyl)amino)methylen)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan-4,6-dion in 10 ml Diphenylether gelöst und für eine Stunde bei 205 °C erhitzt. Nach einer Stunde Reaktionszeit wurde die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur gebracht, es wurden 10 ml Hexan hinzugegeben, wobei ein bräunlicher Feststoff ausfiel, der abfiltriert wurde und mehrmals mit wenig Hexan gewaschen wurde. Es wurden 1,3 g (6,5 mmol, 85%) eines bräunlichen Feststoffes isoliert.

Ausbeute: 0,1 g (23%)

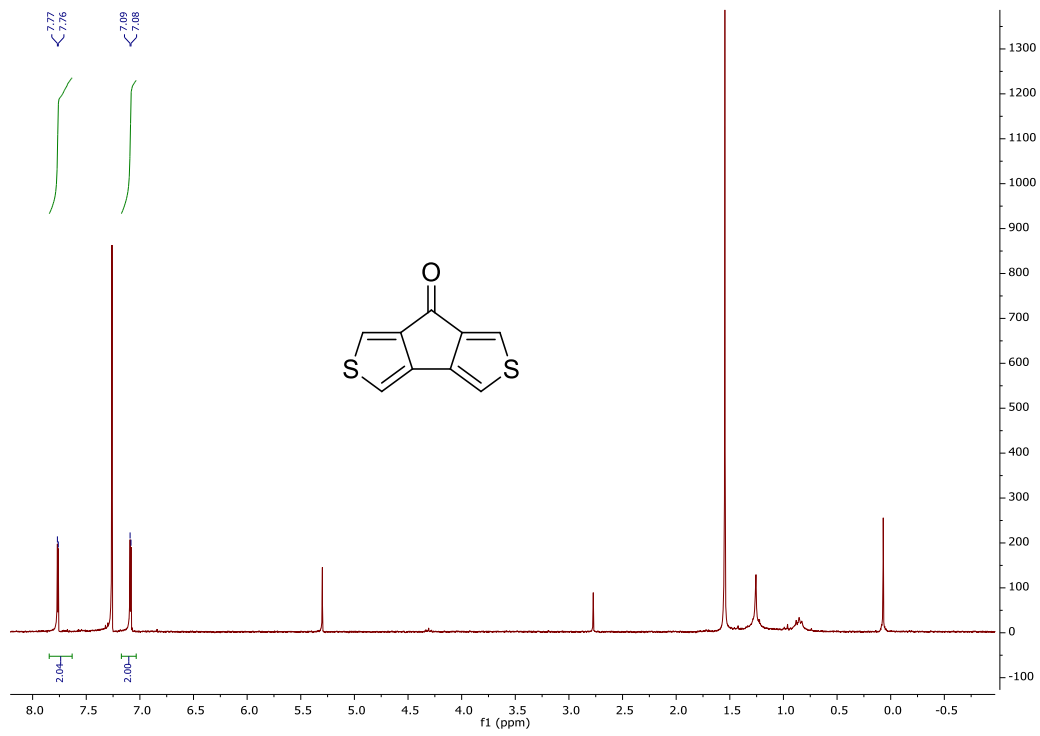
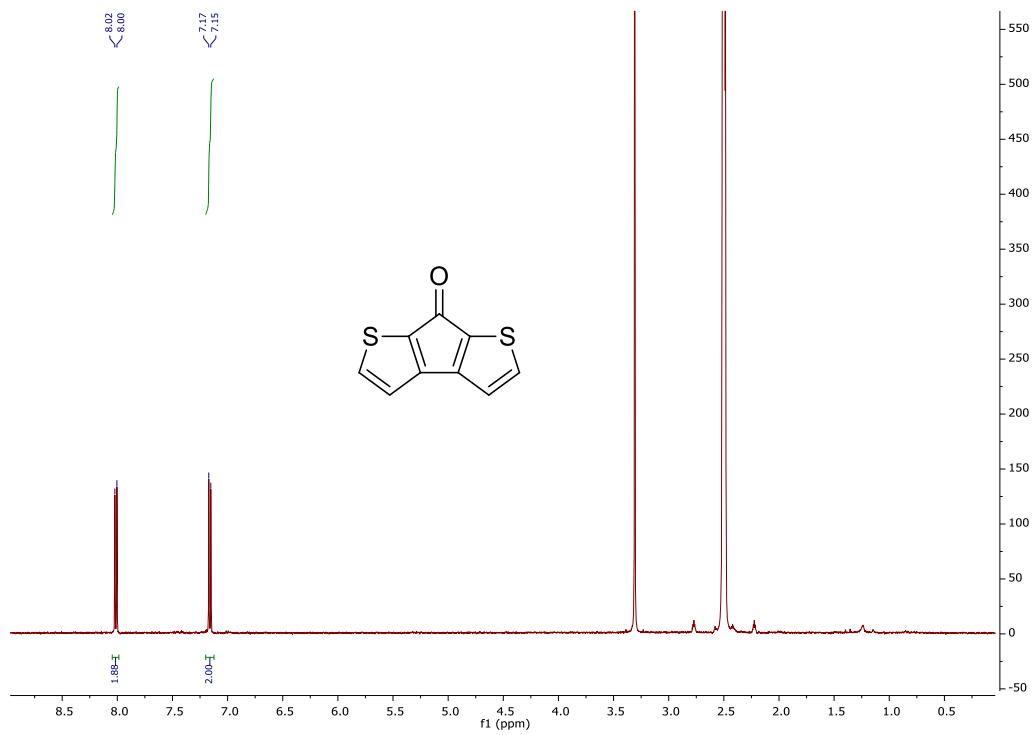
R_f-Wert (DCM 10:1 EE): 0,25

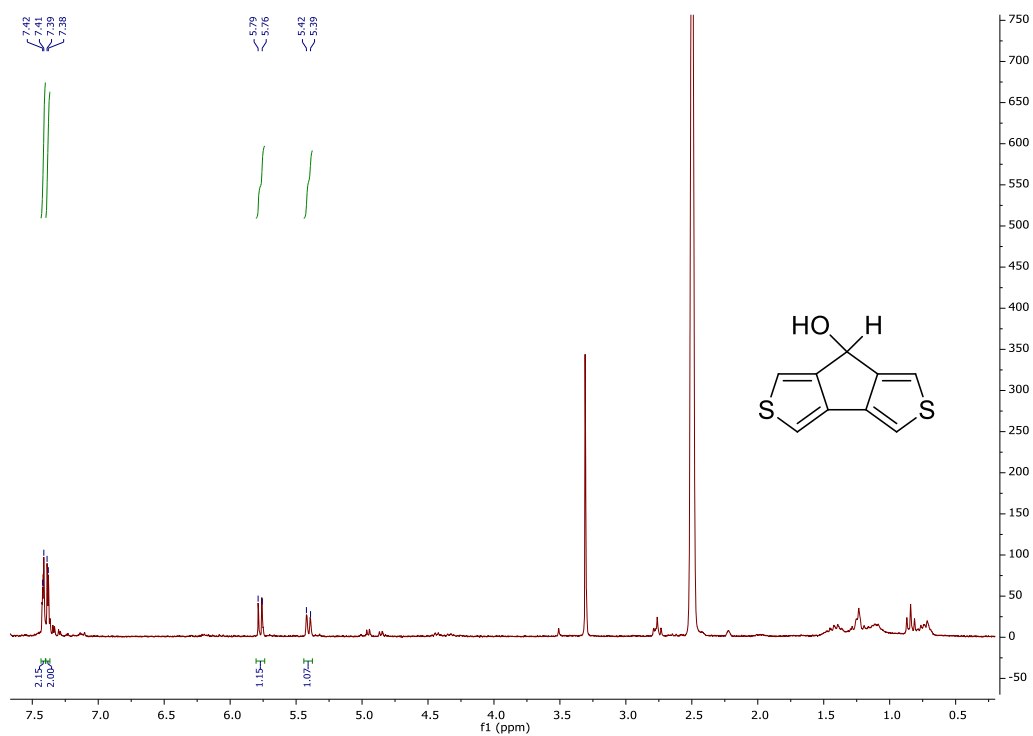
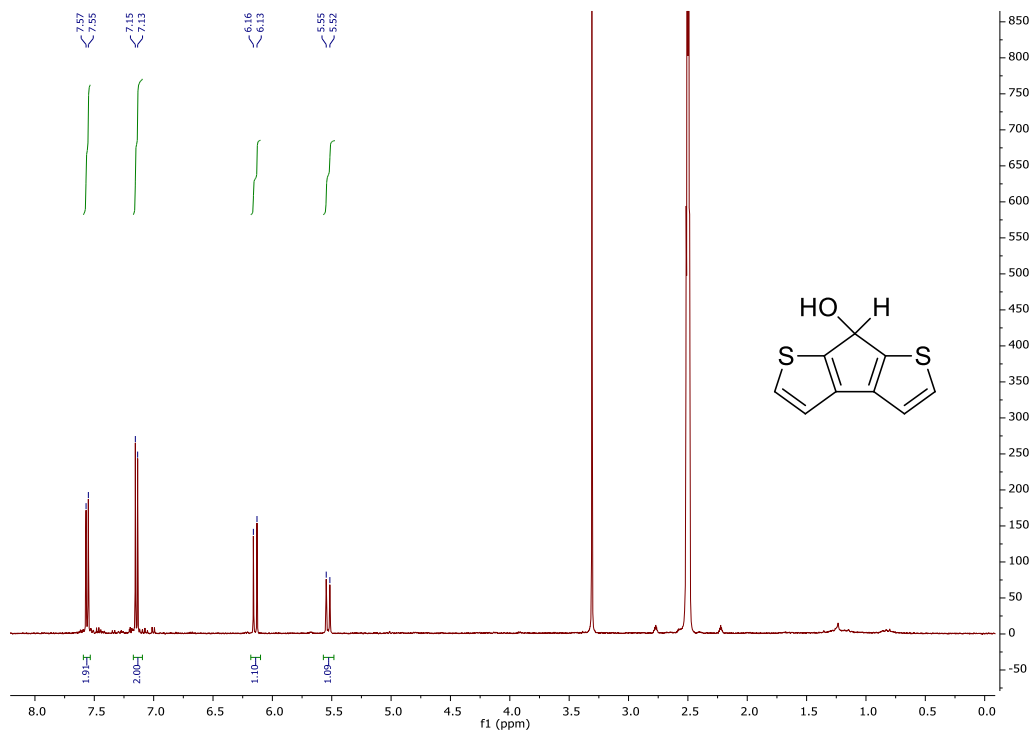
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10.69 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.68 (dd, *J* = 7.3, 6.1 Hz, 1H), 7.38 (dd, *J* = 7.6, 1.0 Hz, 1H), 7.12 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 6.00 (dd, *J* = 7.3, 1.3 Hz, 1H), 4.92 (hept, *J* = 6.9 Hz, 1H), 2.40 (s, 3H), 1.16 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H).

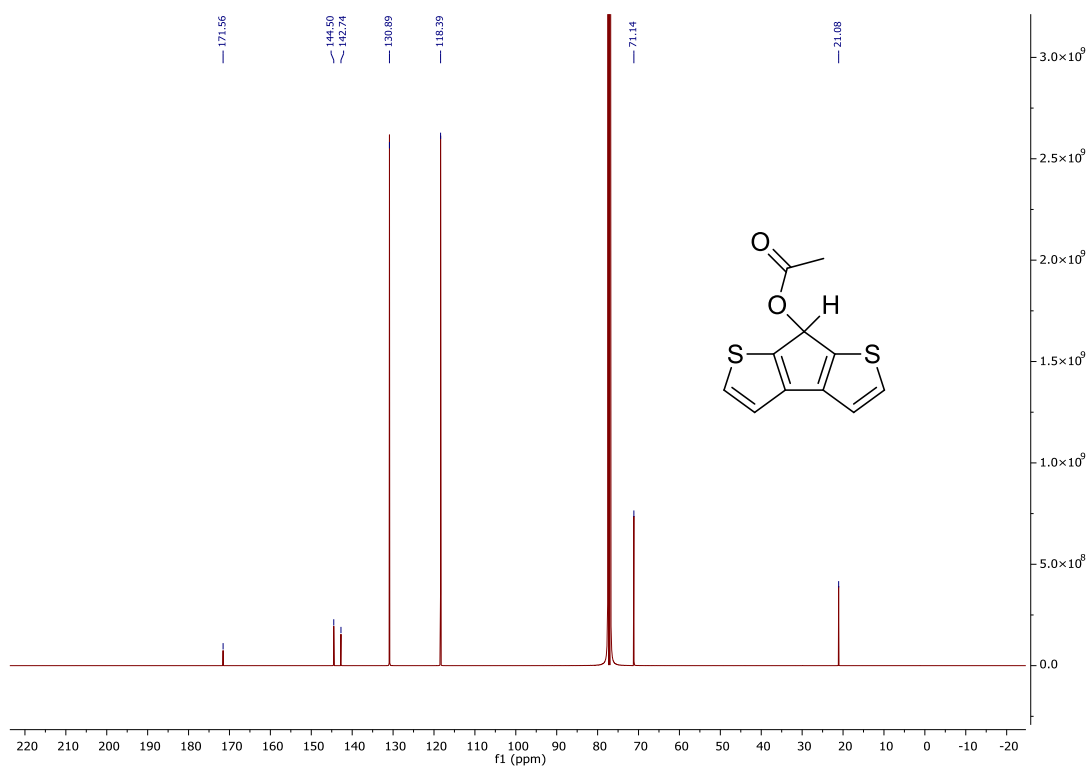
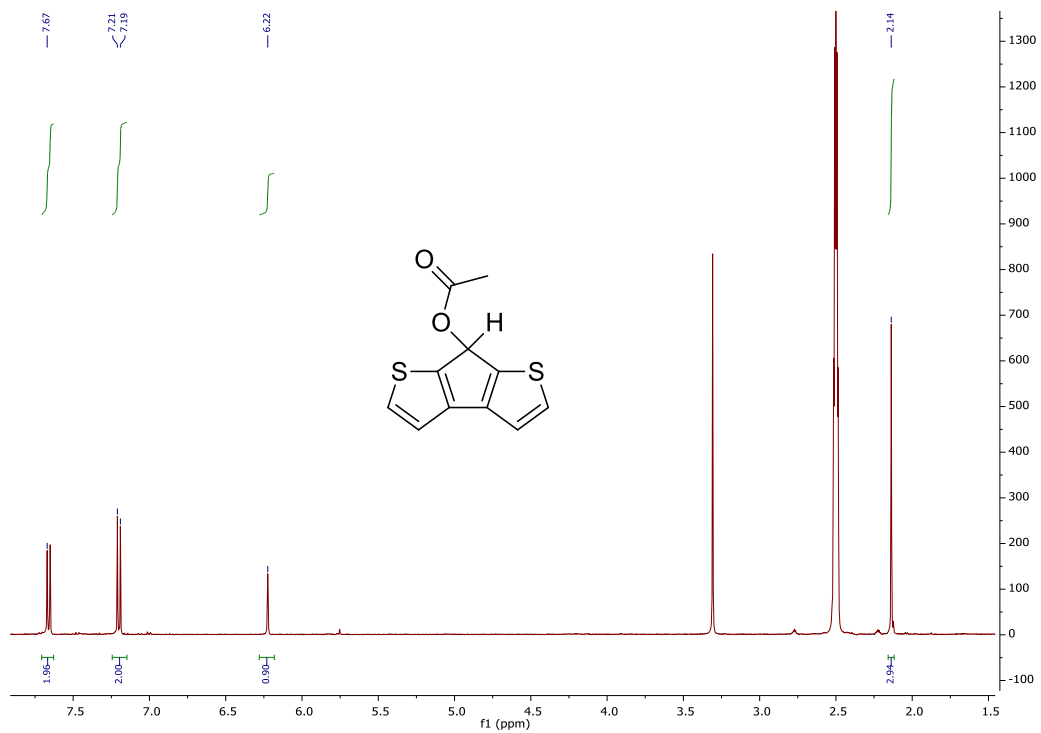
¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 179.85, 148.29, 140.07, 137.31, 131.80, 130.01, 123.31, 122.84, 118.58, 111.11, 27.62, 24.19, 17.48.

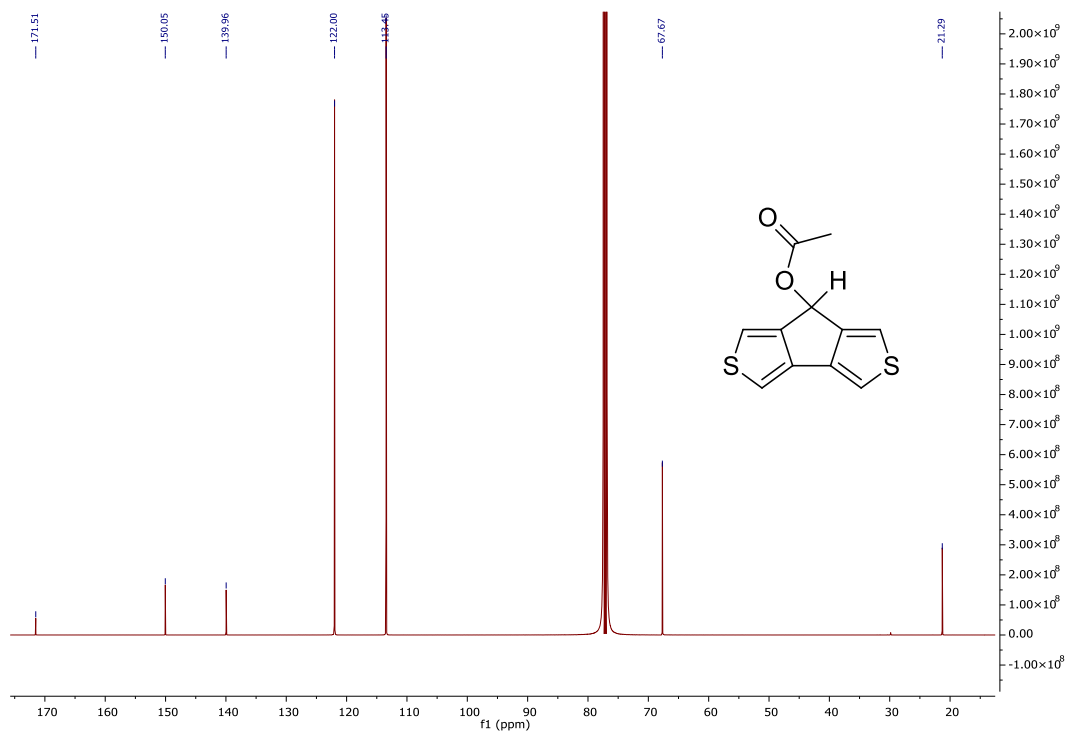
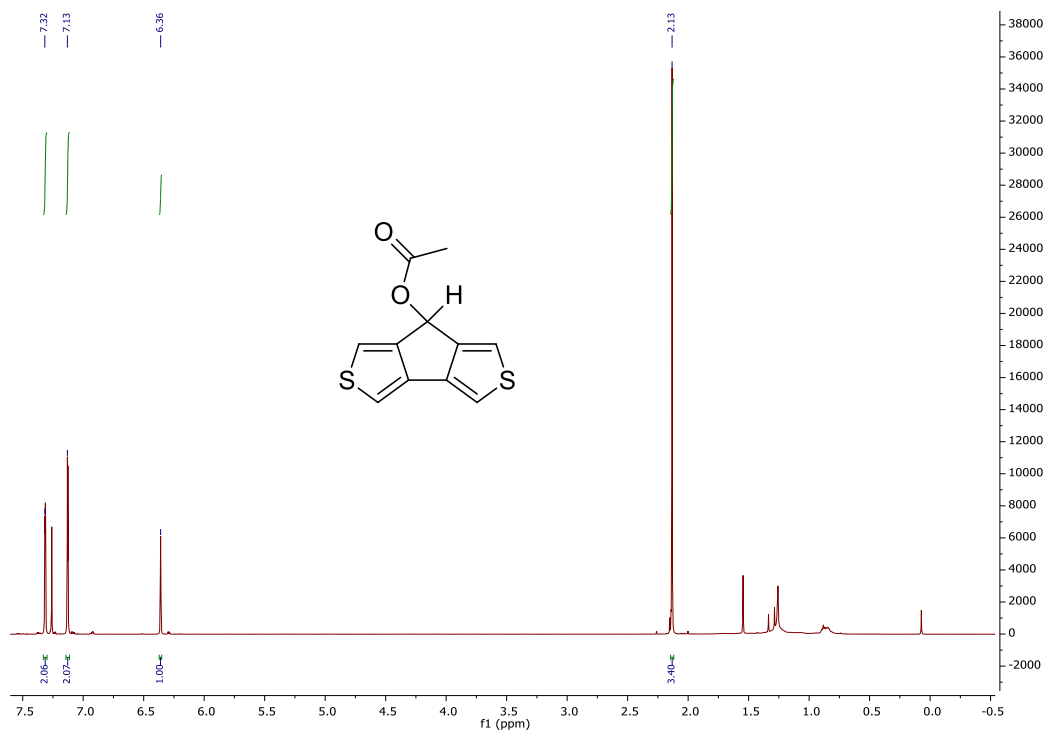
MS(ESI) [M+H⁺] *m/z* = 202,19

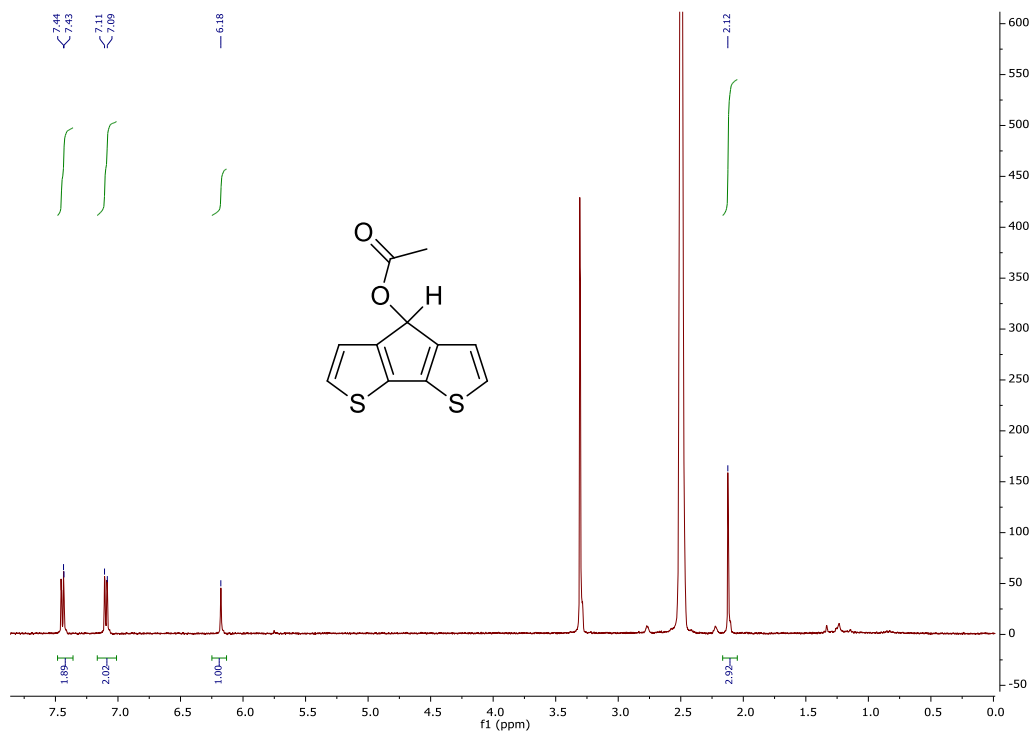
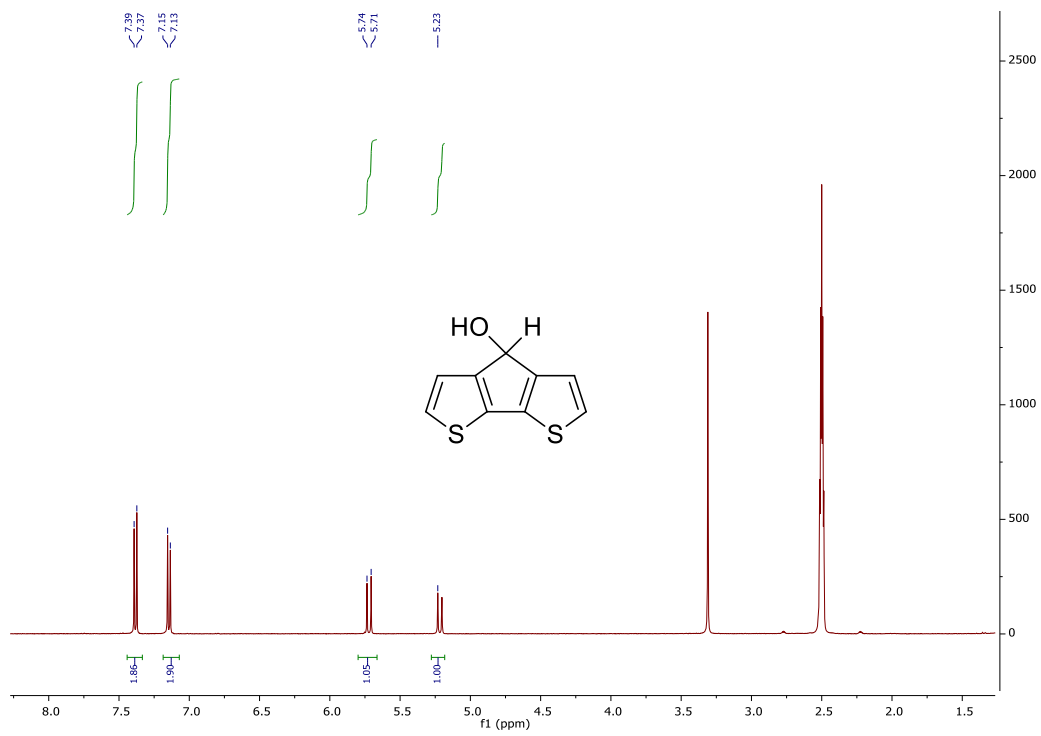
5.3 NMR Spektren

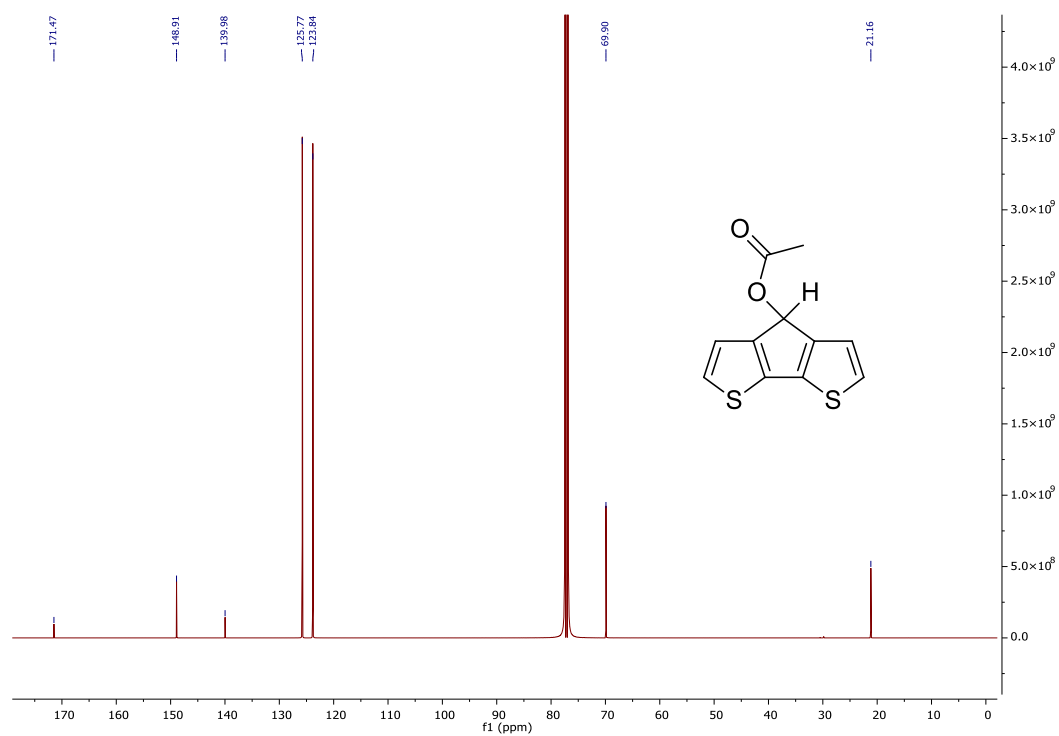
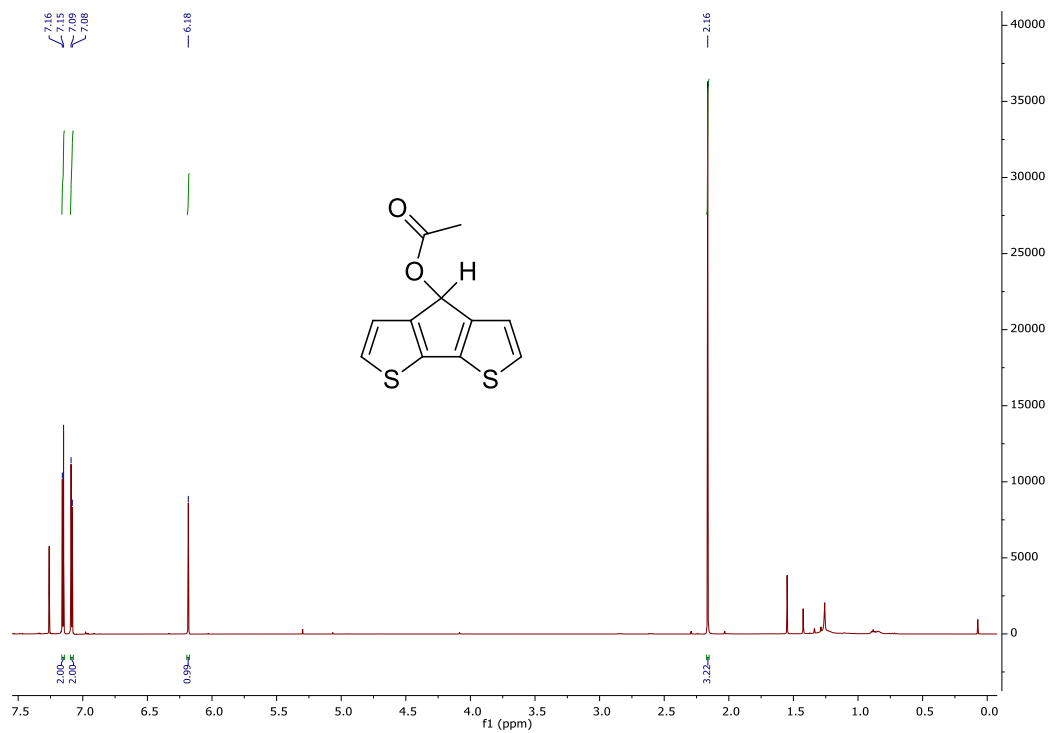


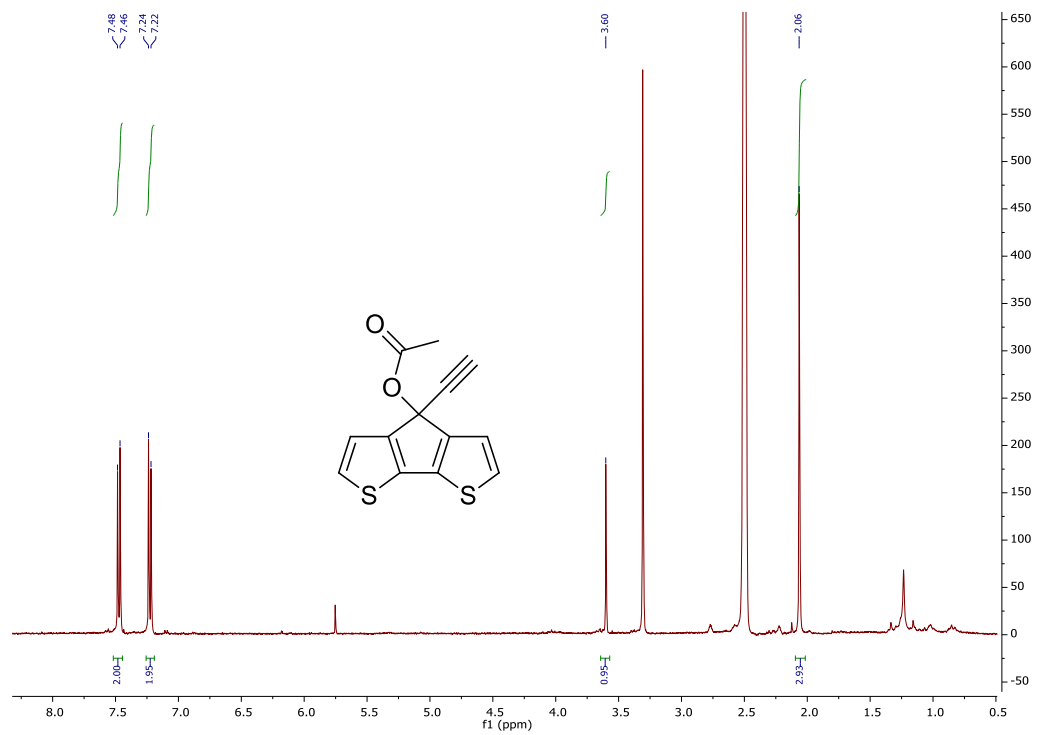
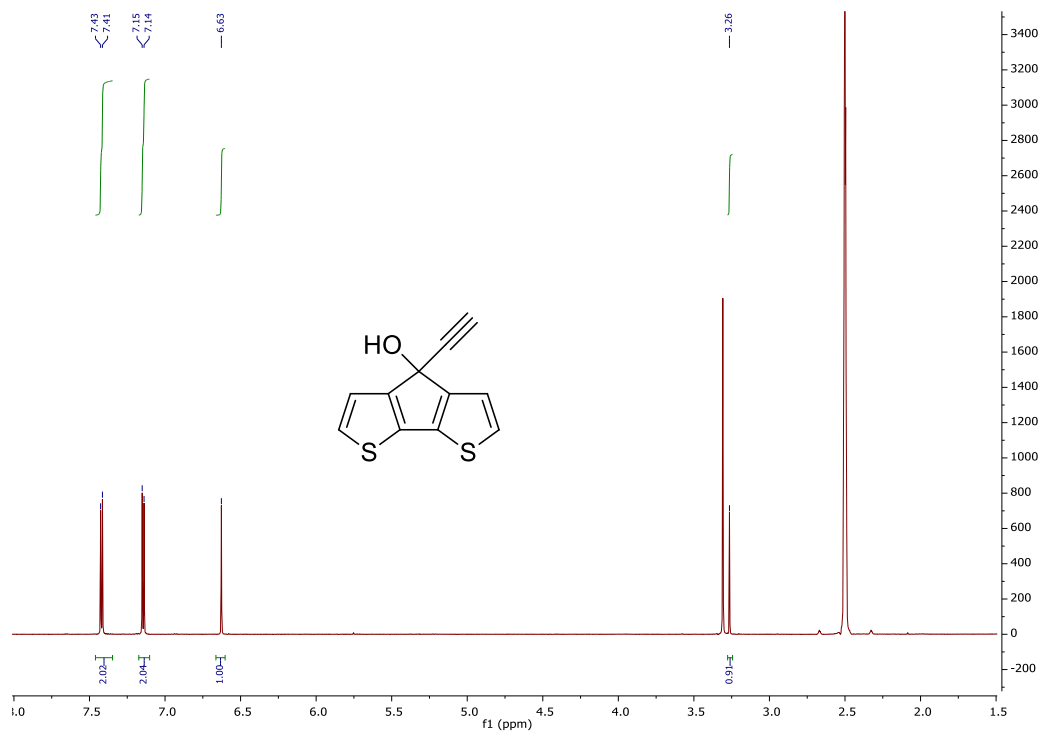


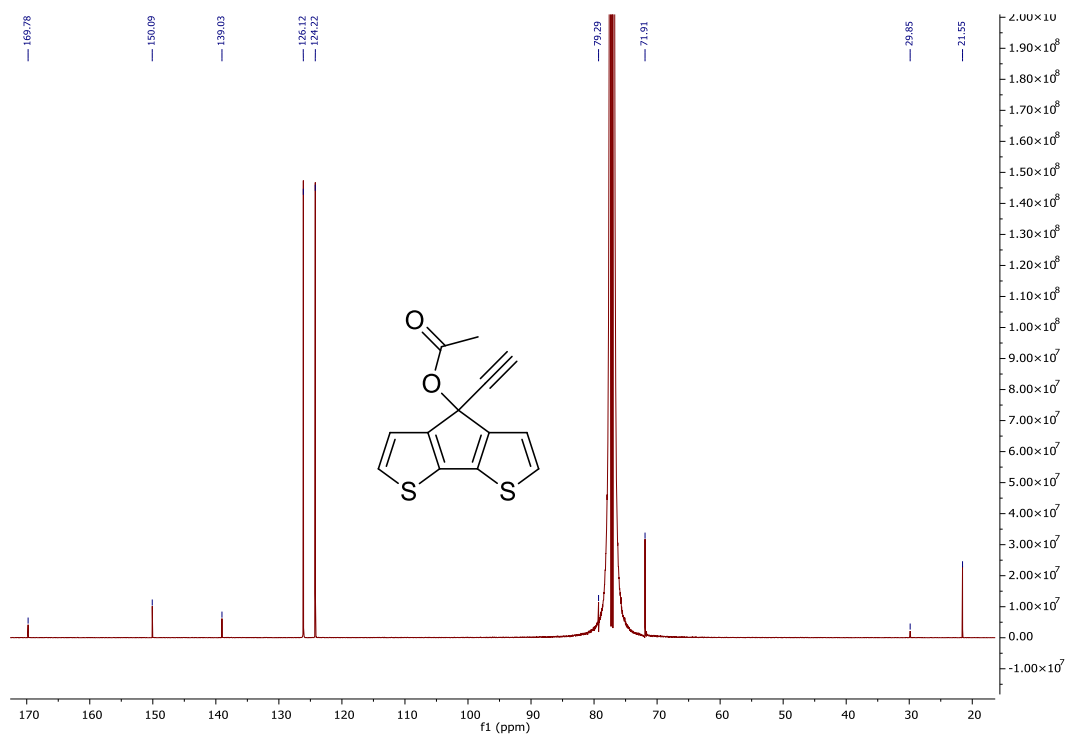
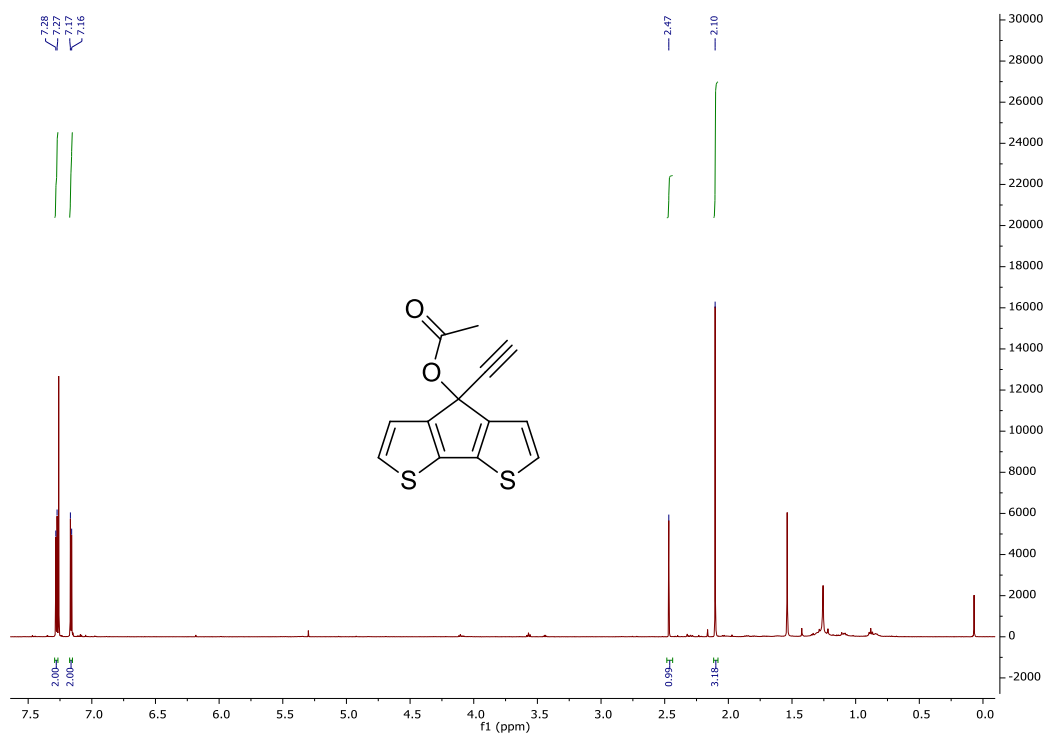


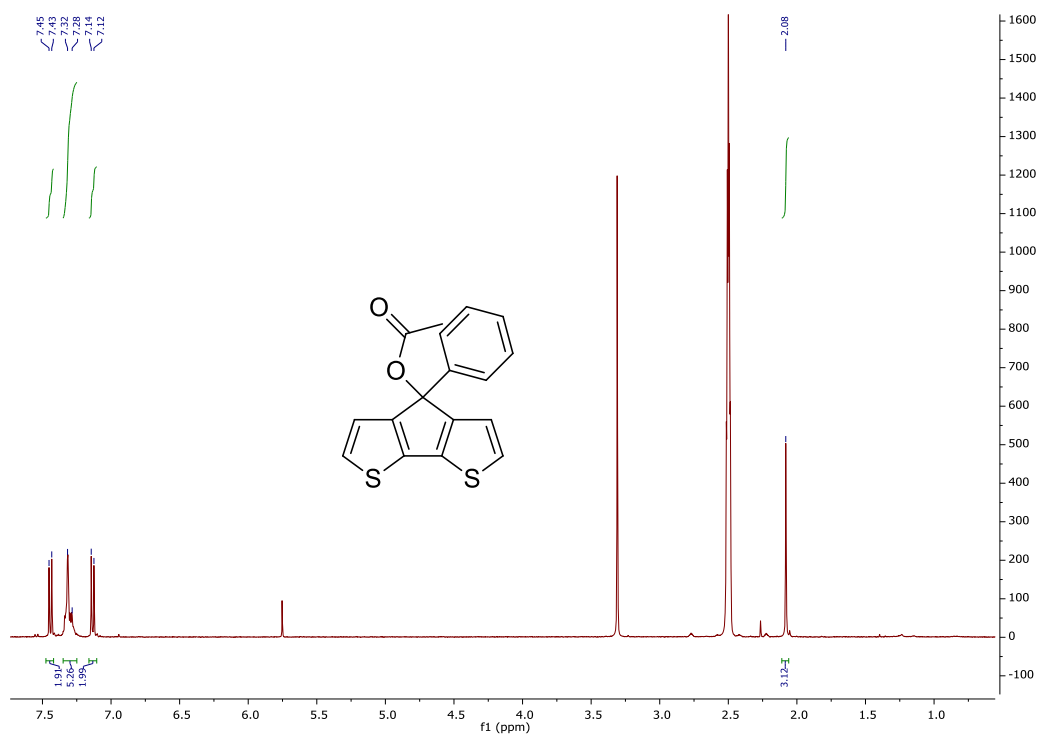
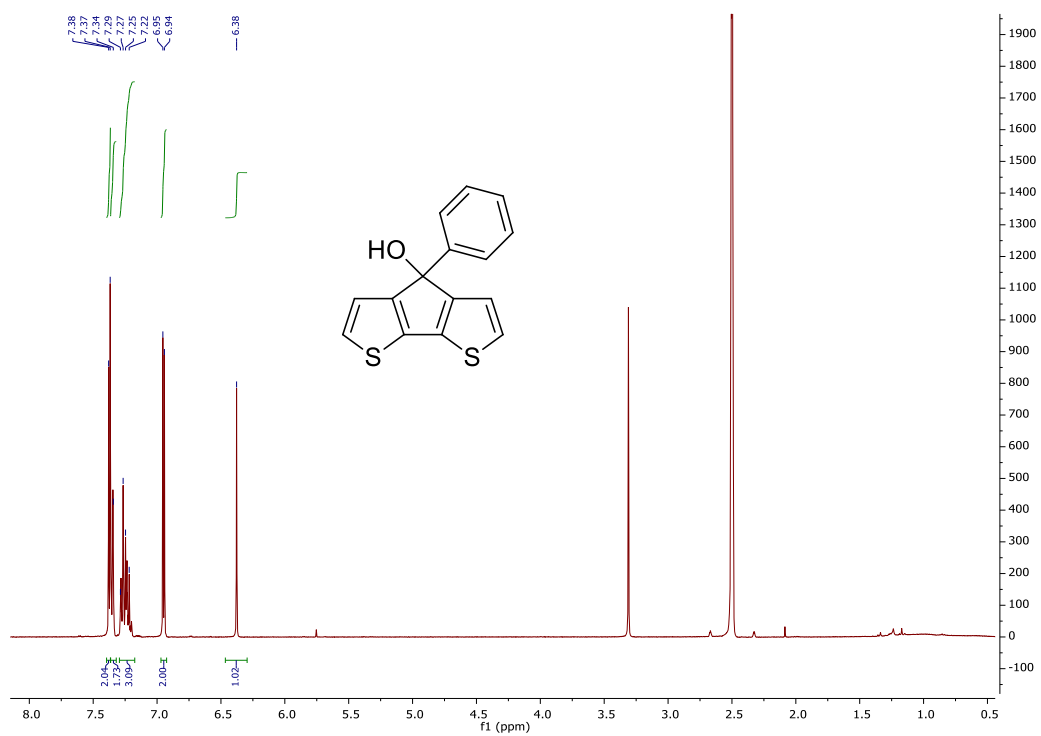


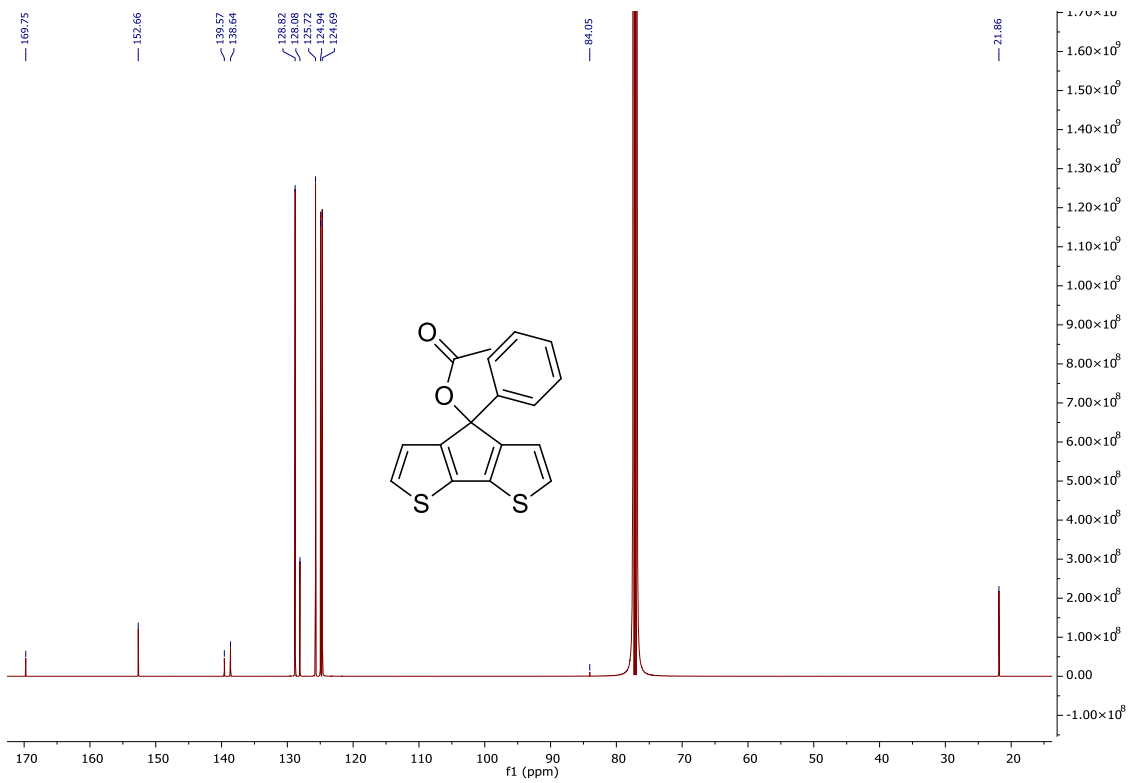
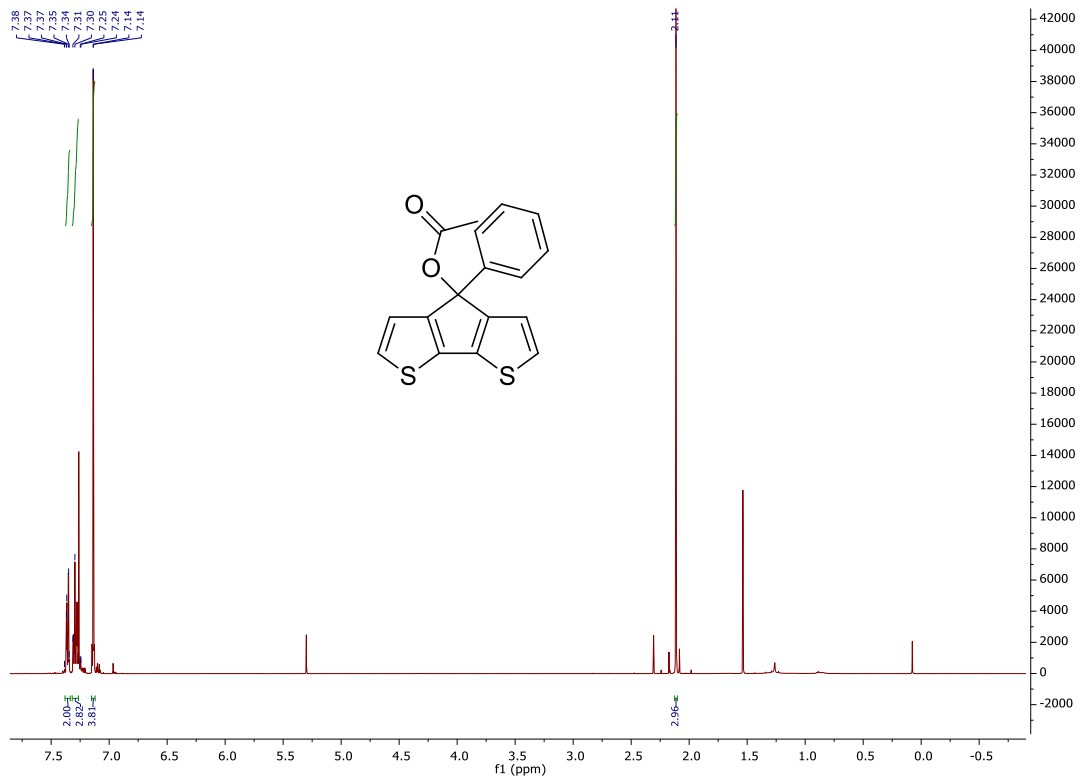


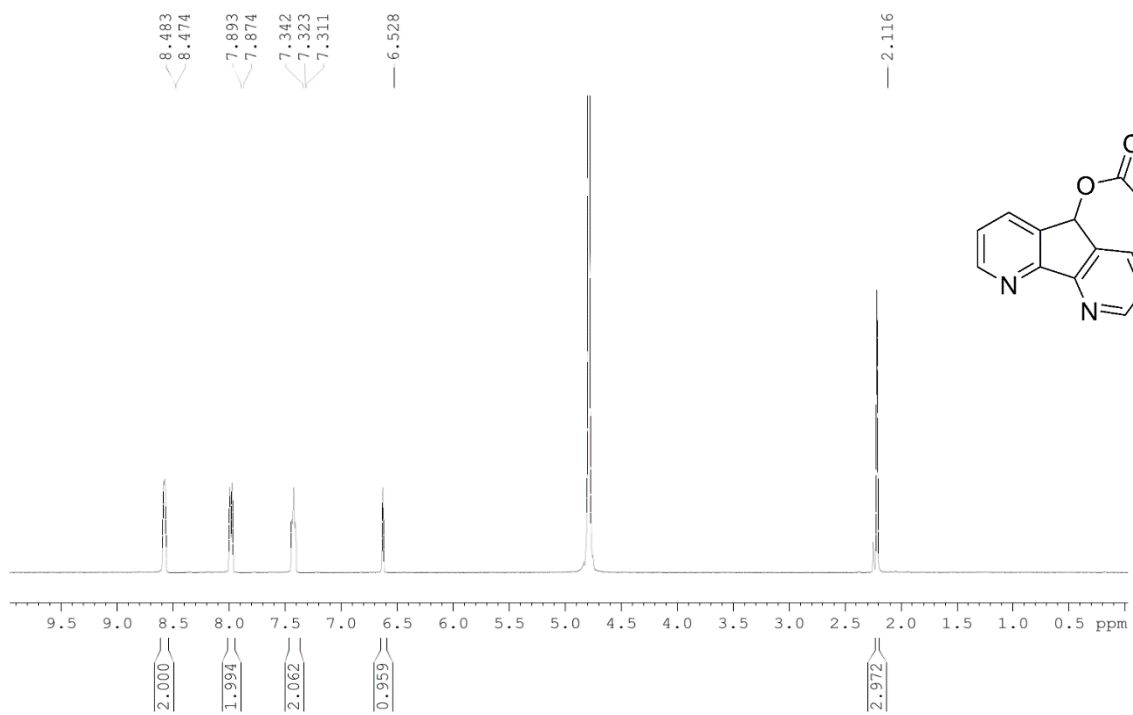
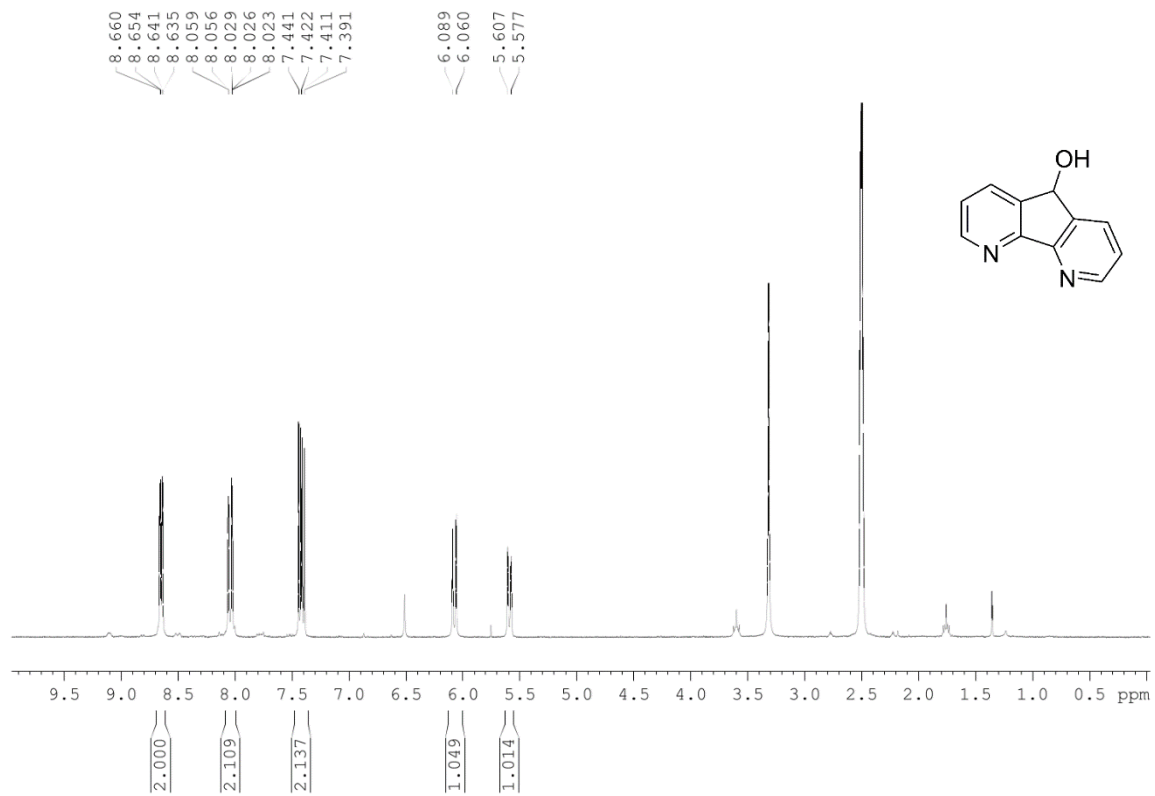


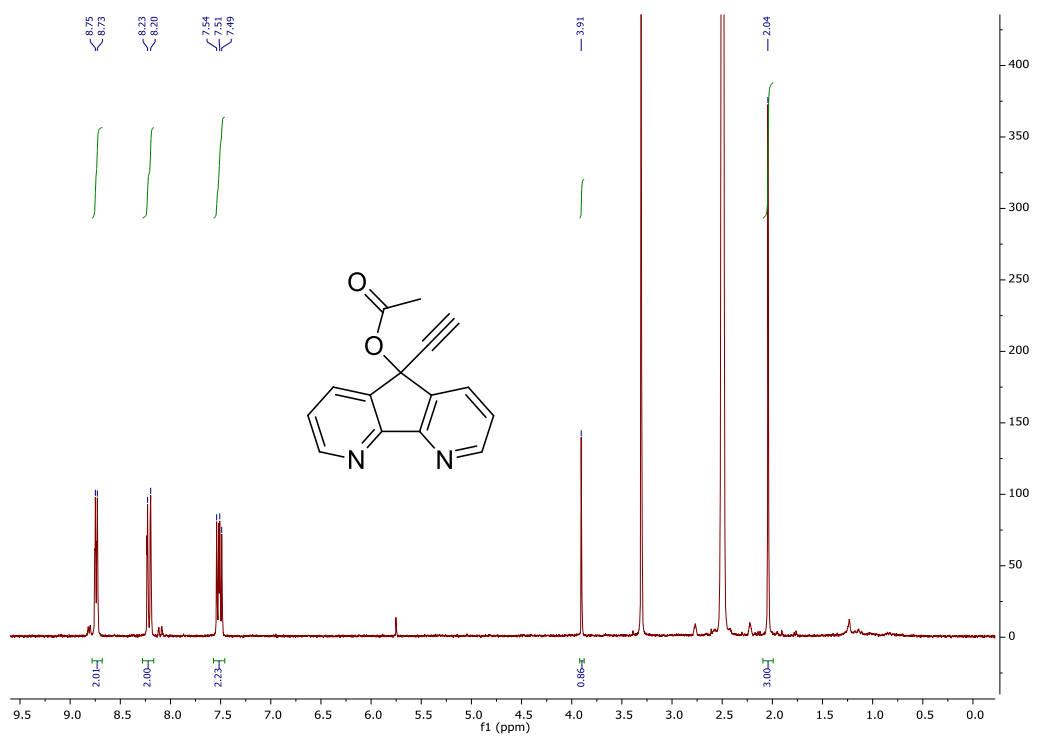
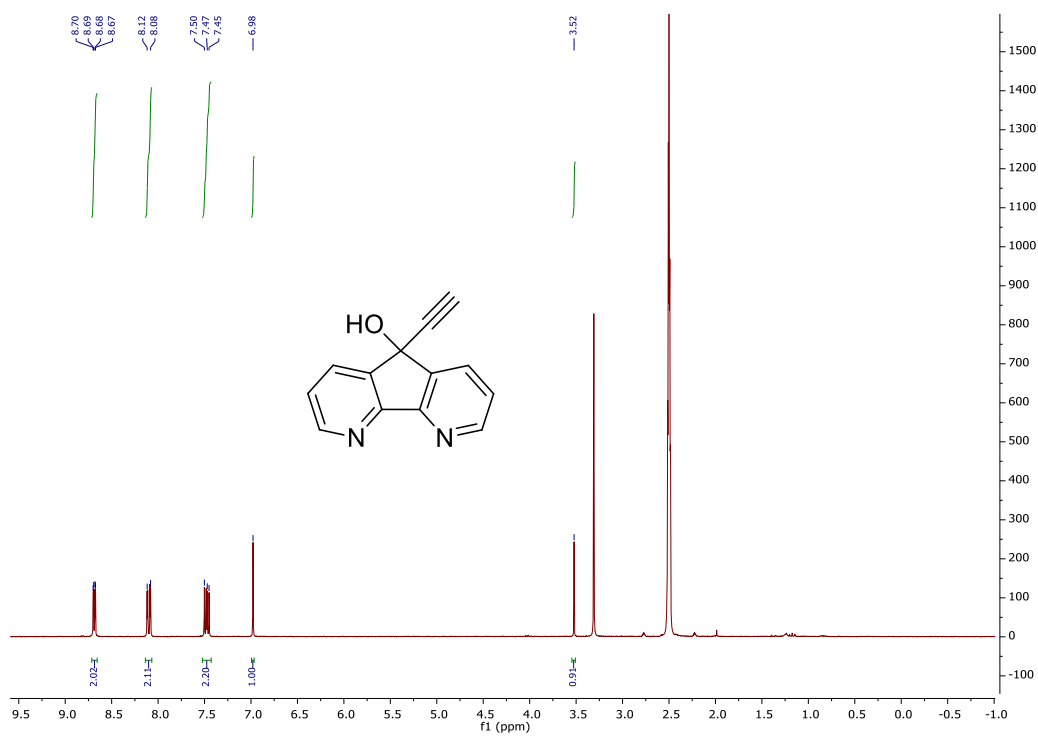


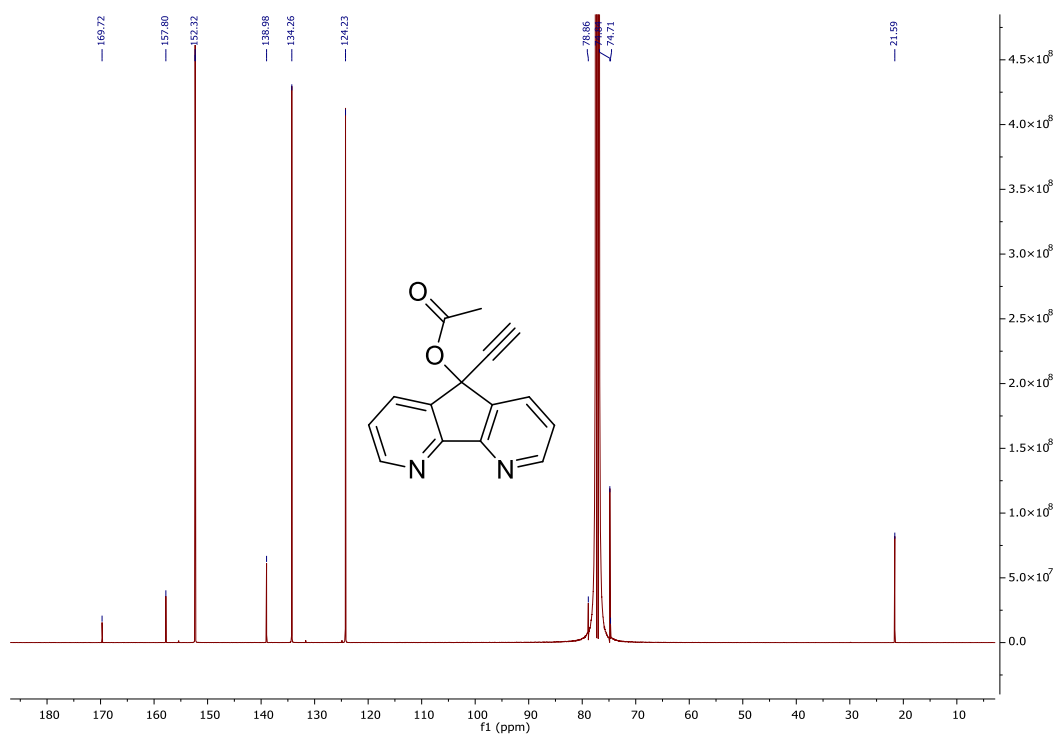
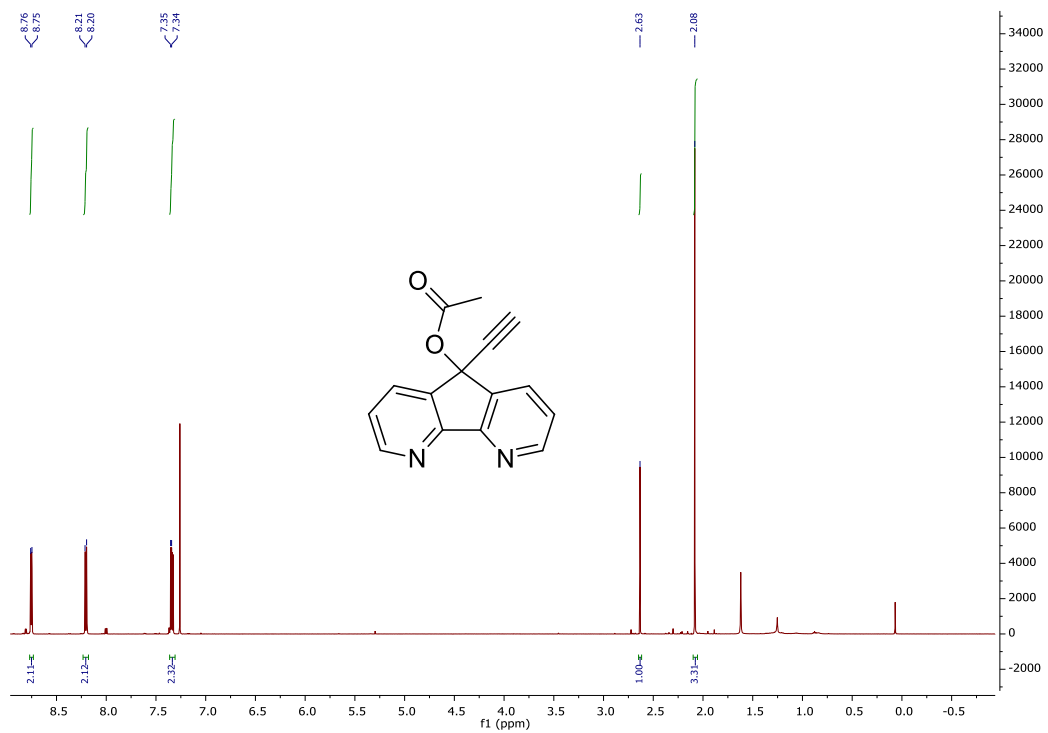


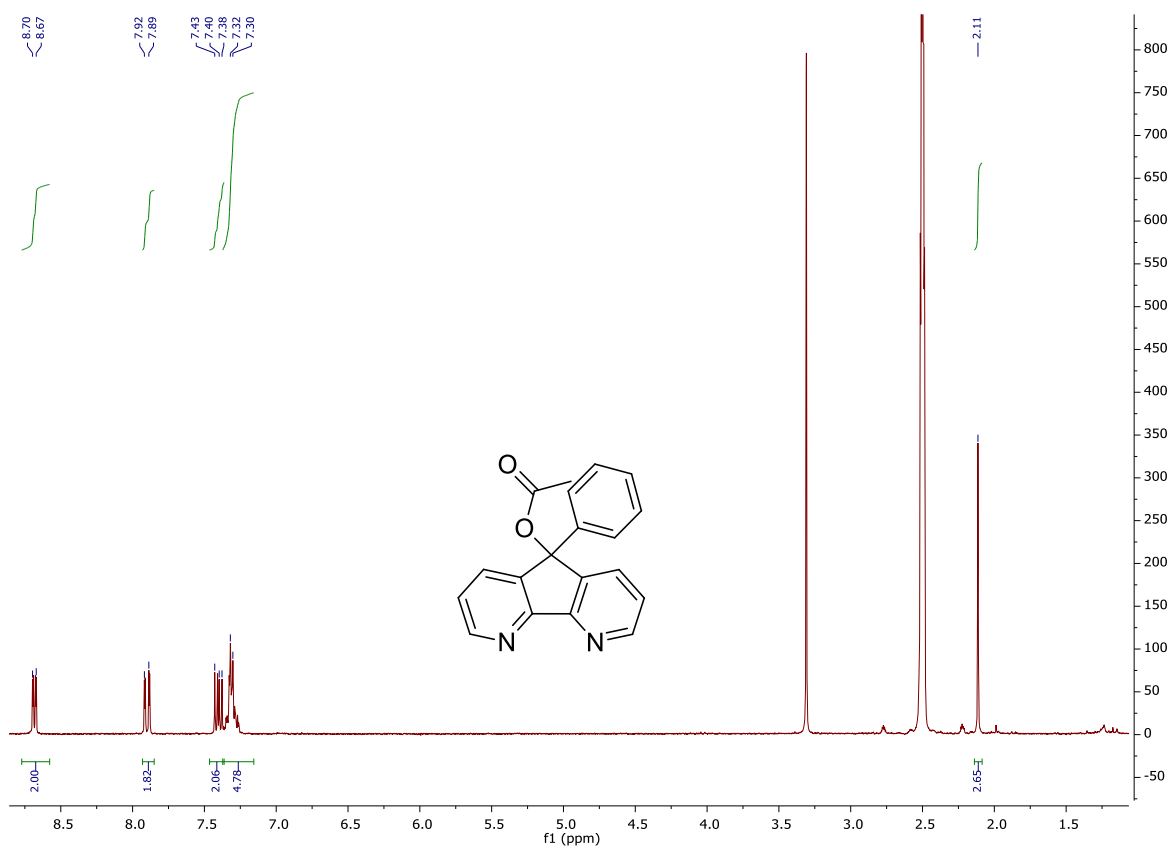
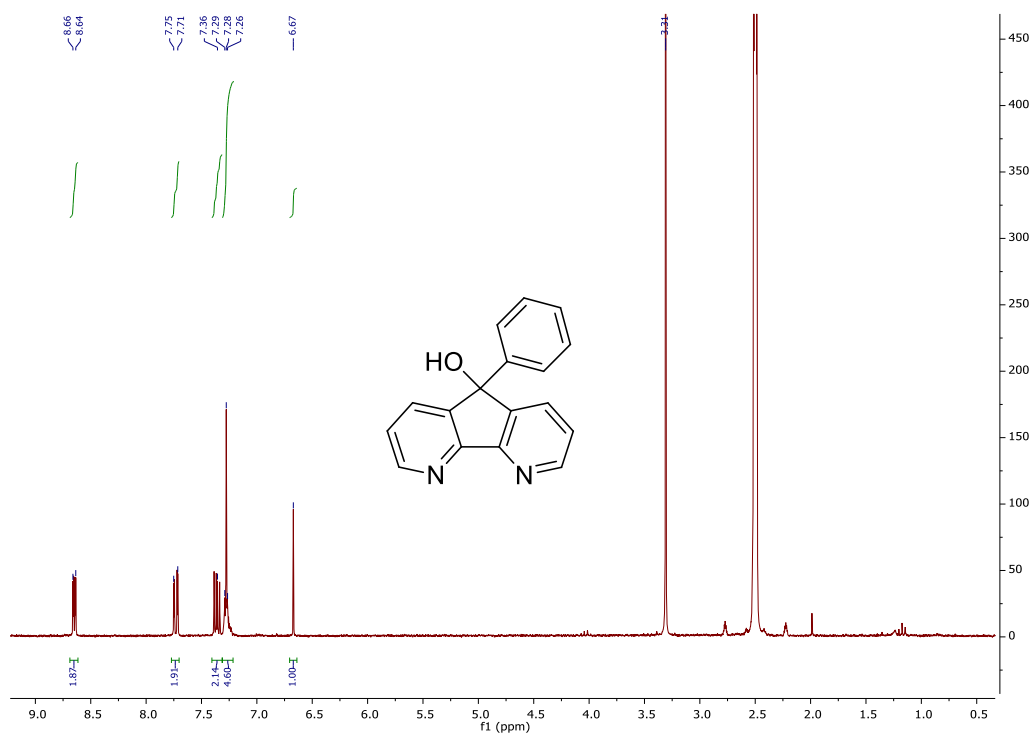


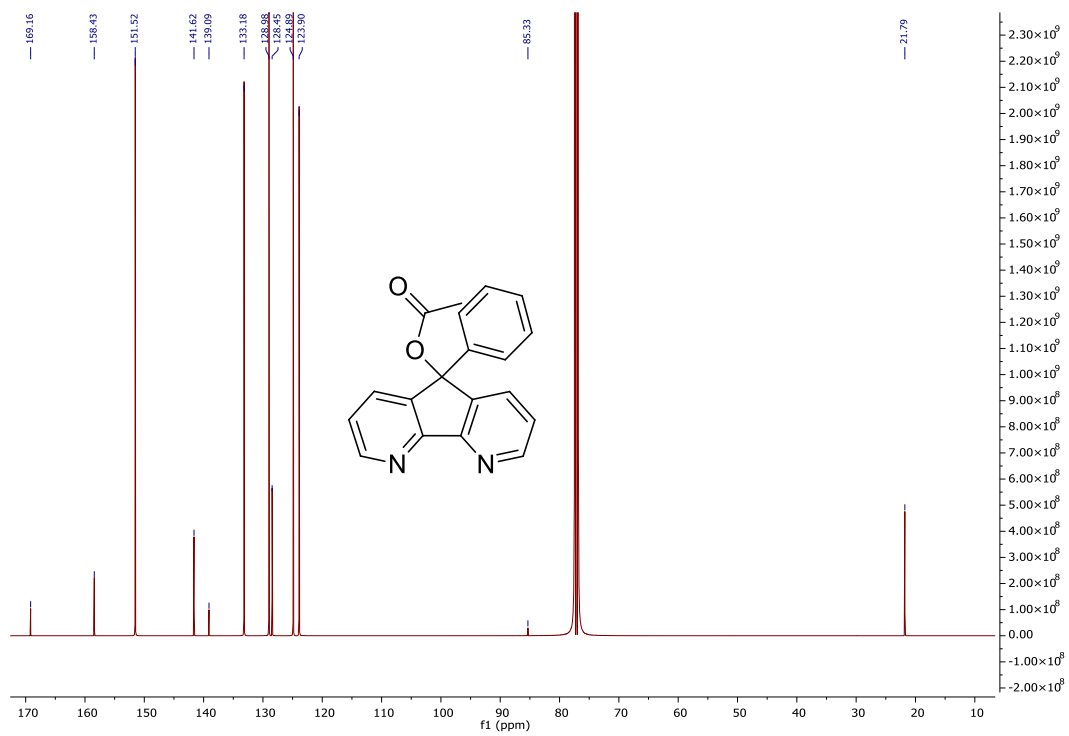
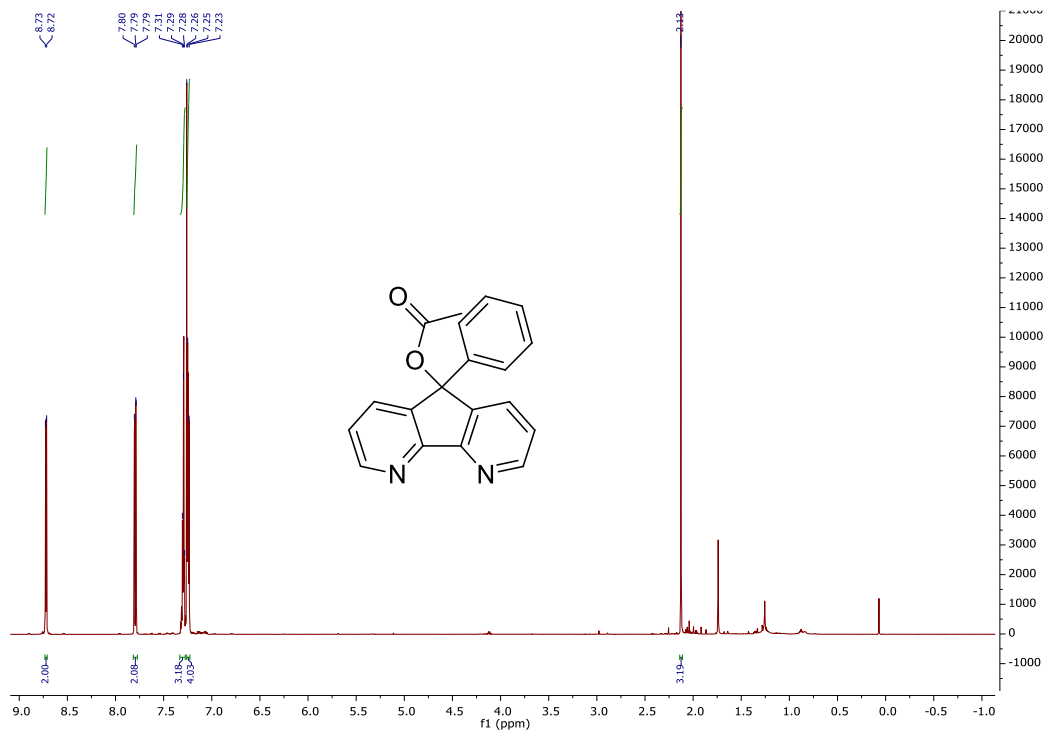


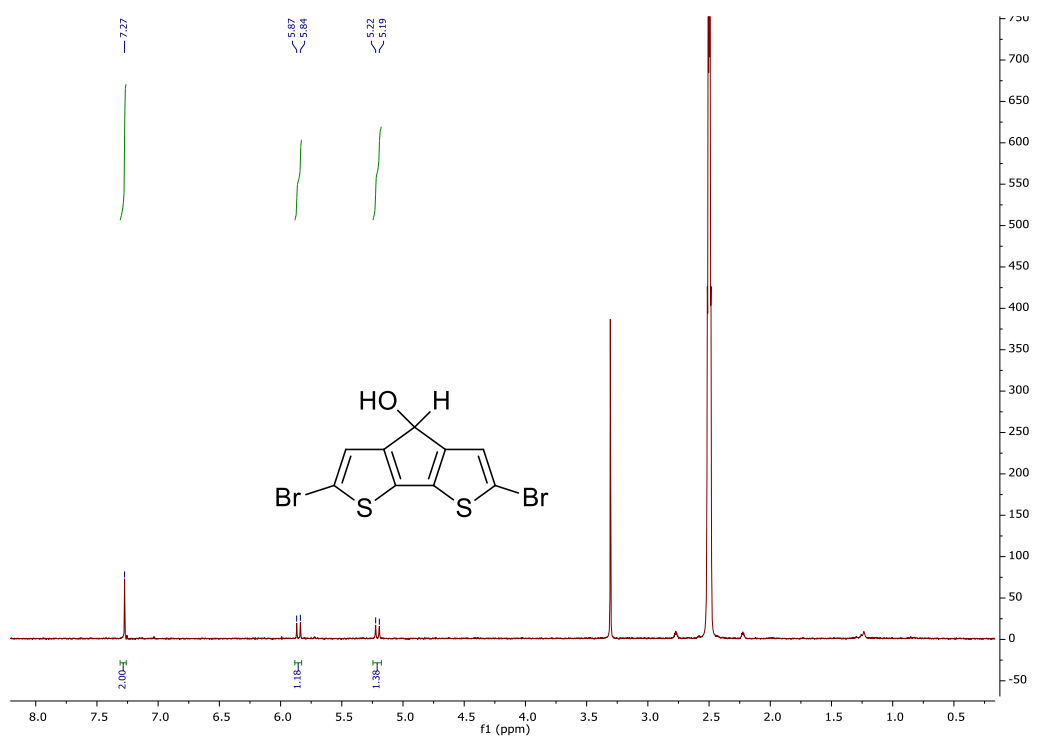
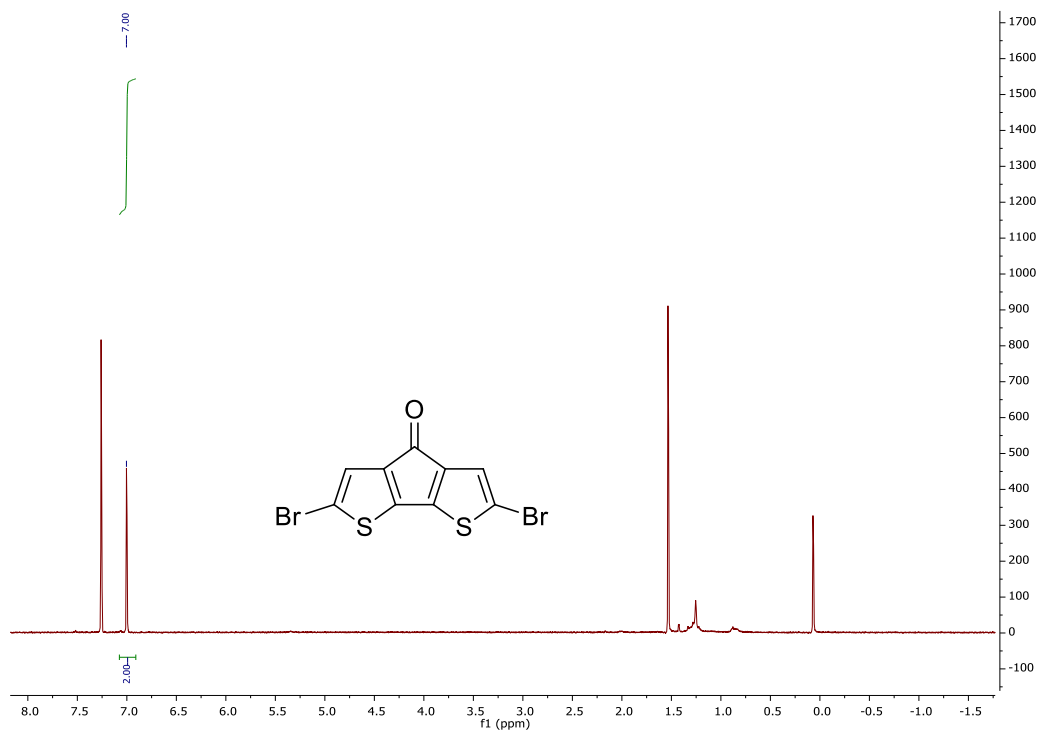


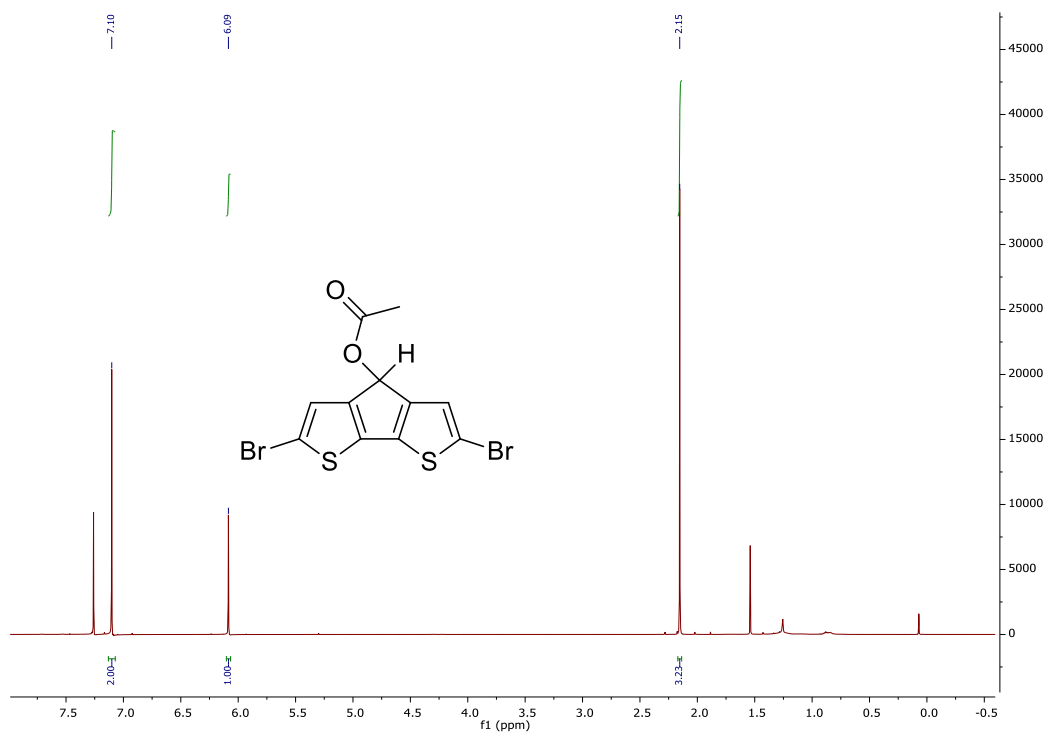
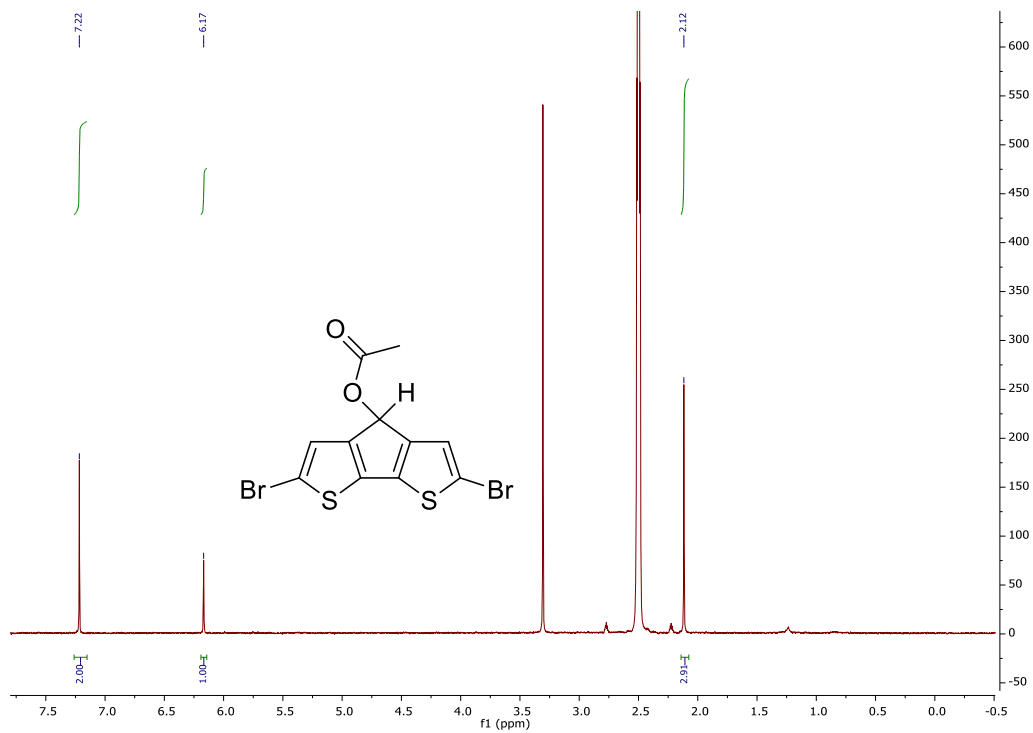


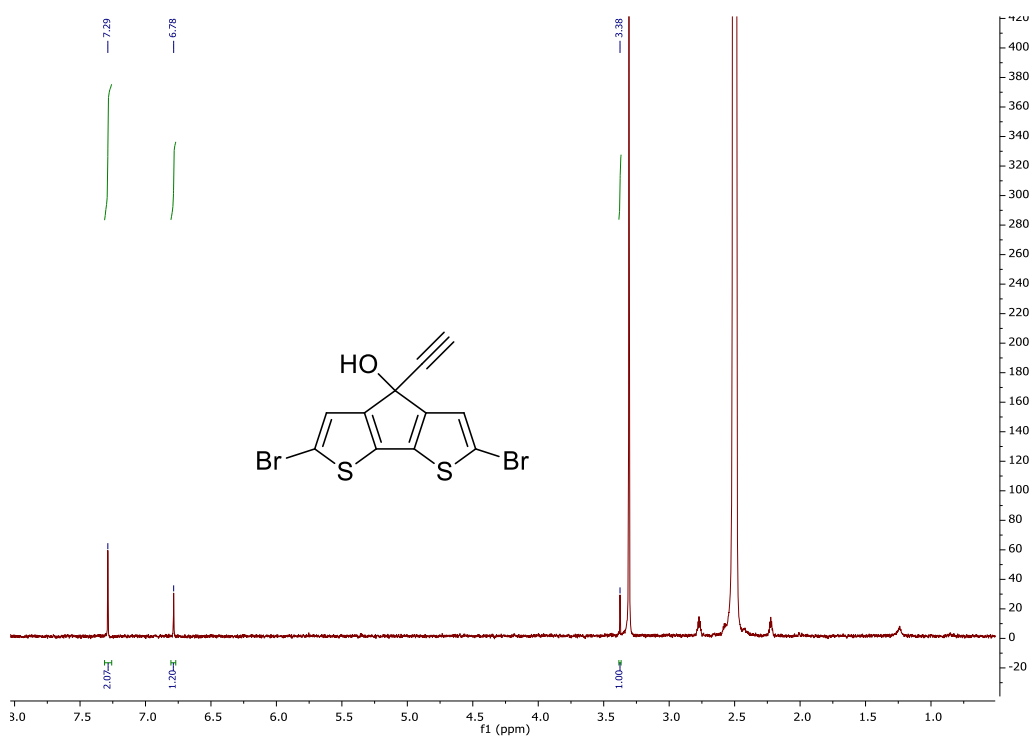
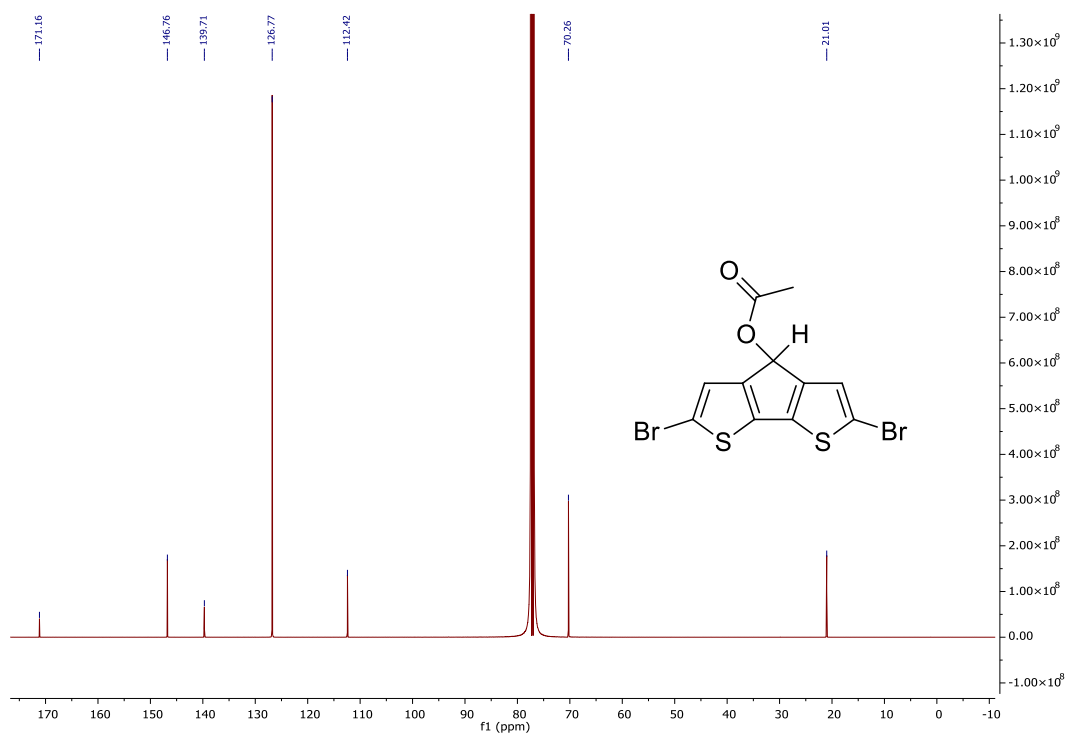


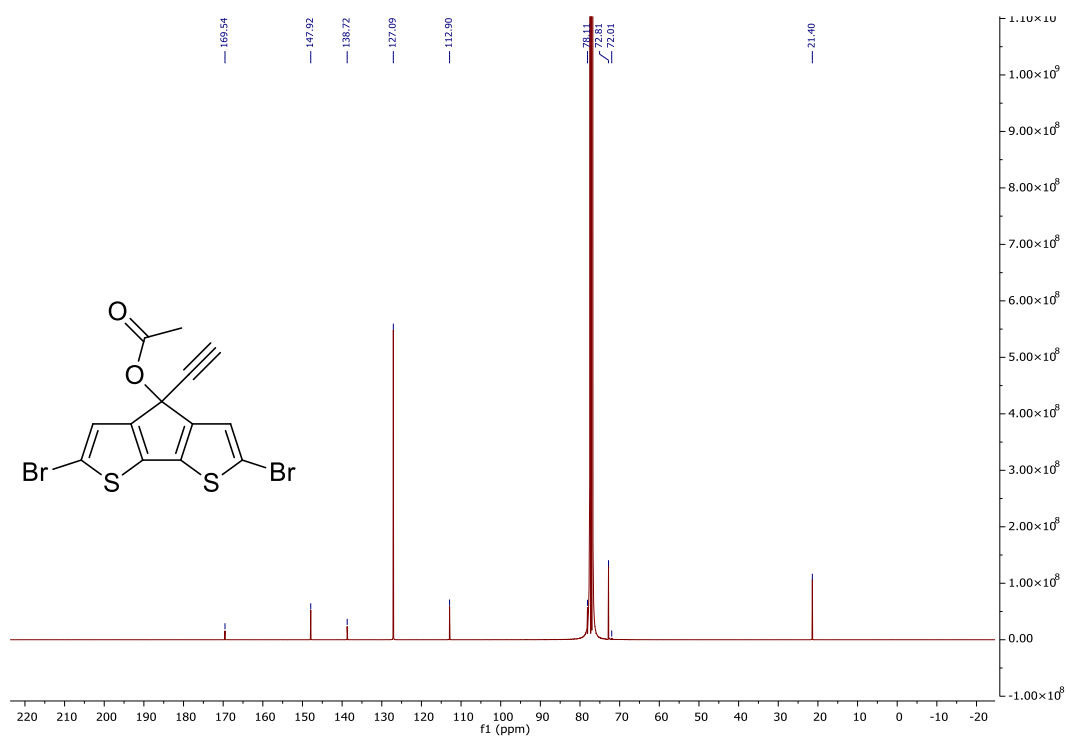
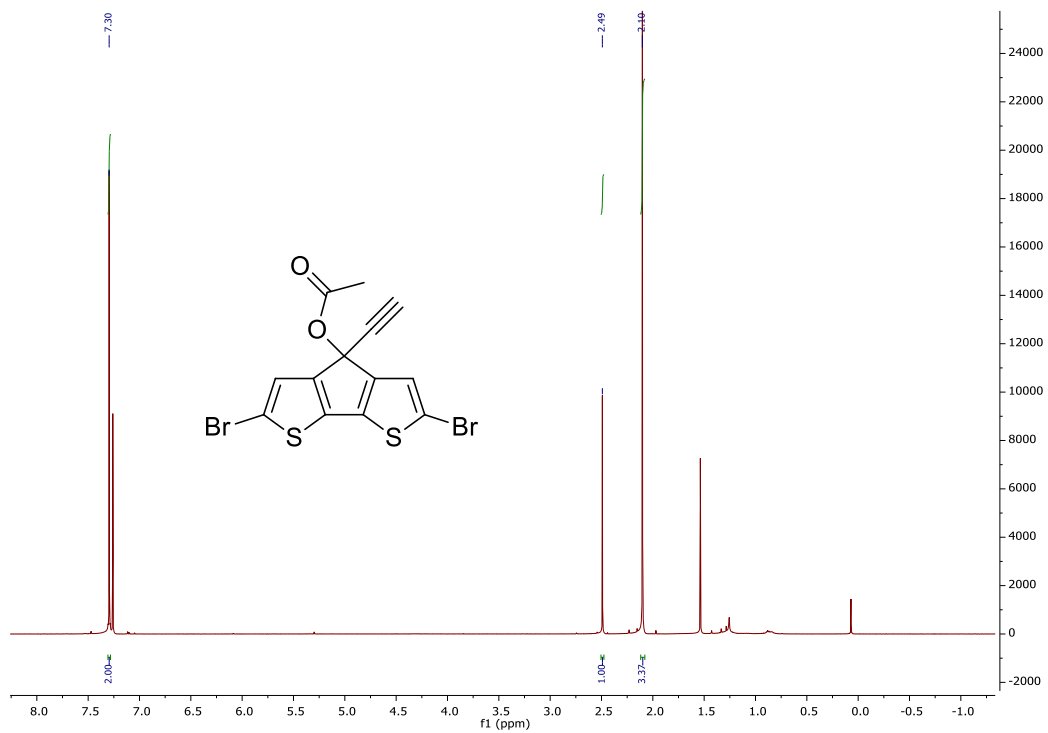


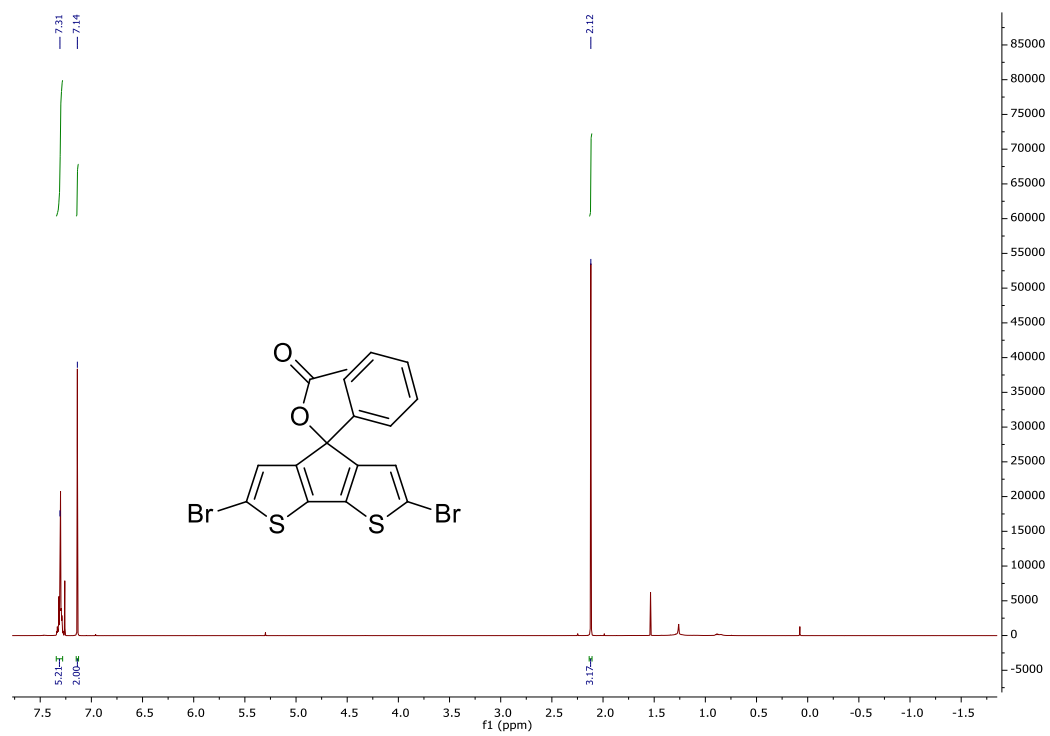
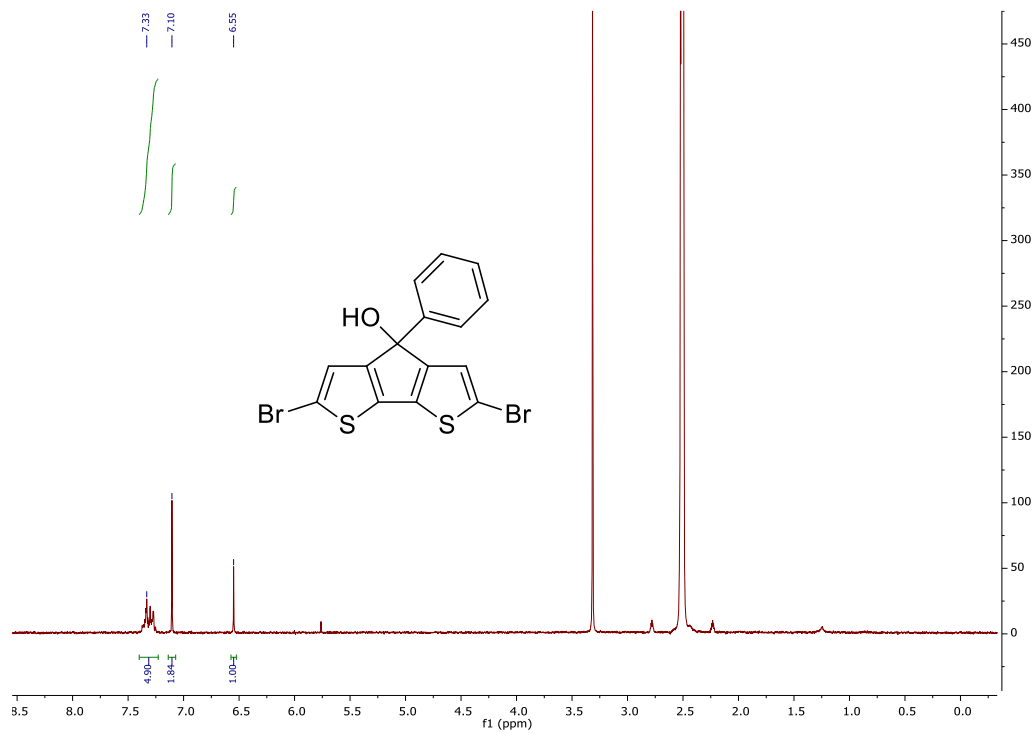


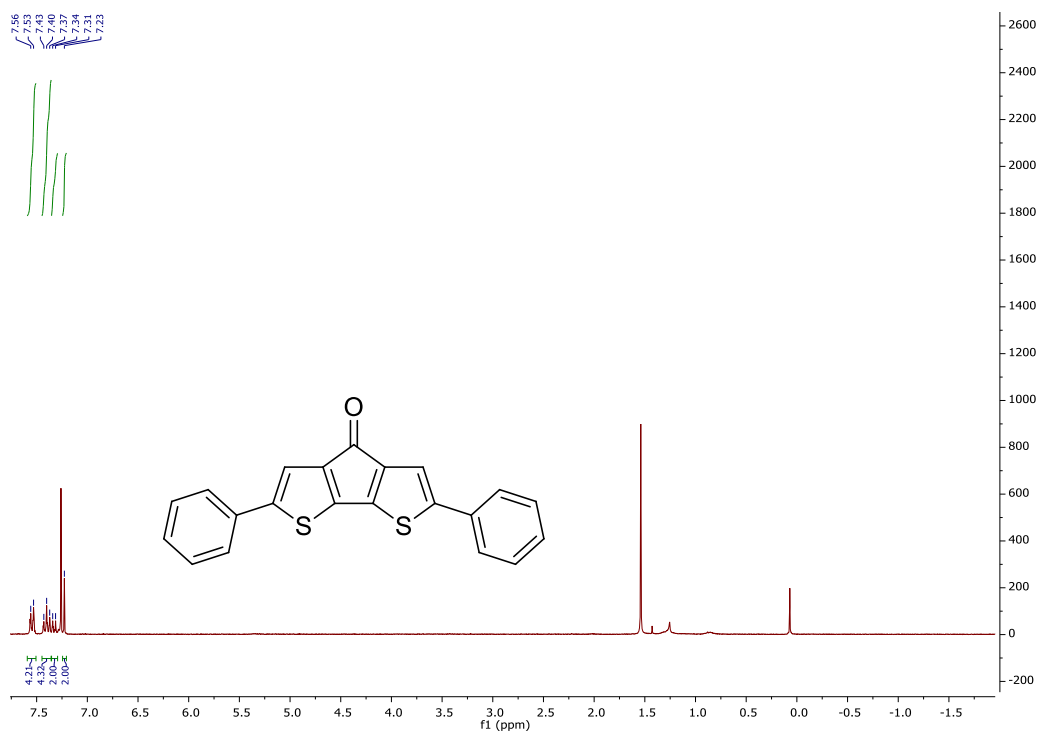
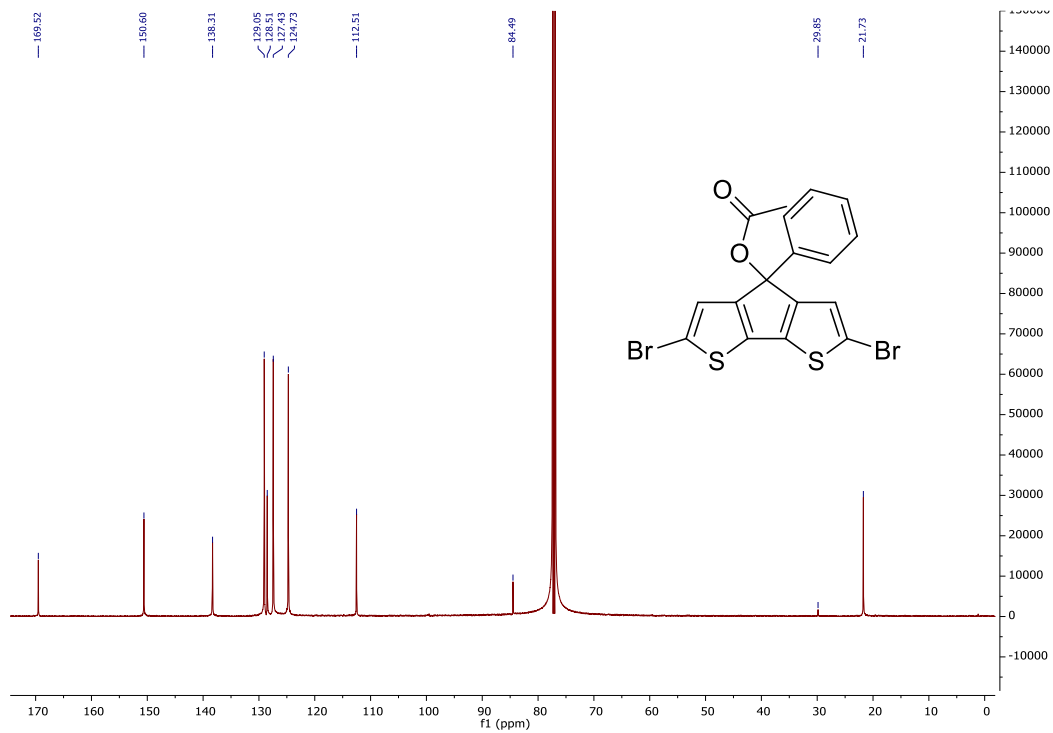


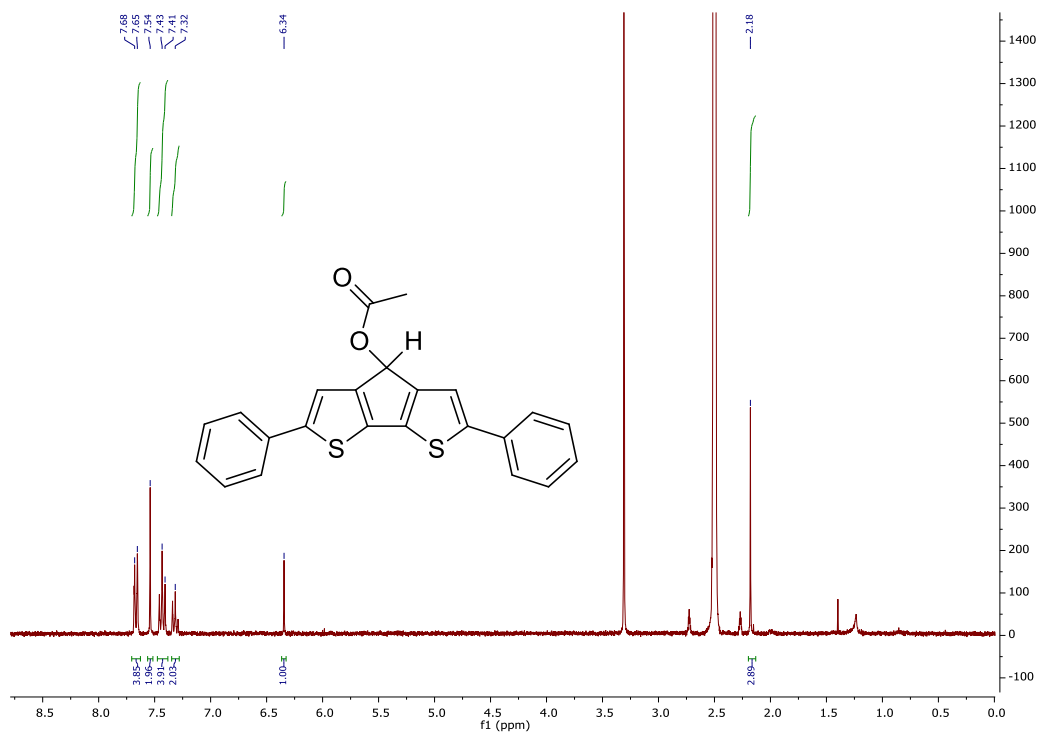
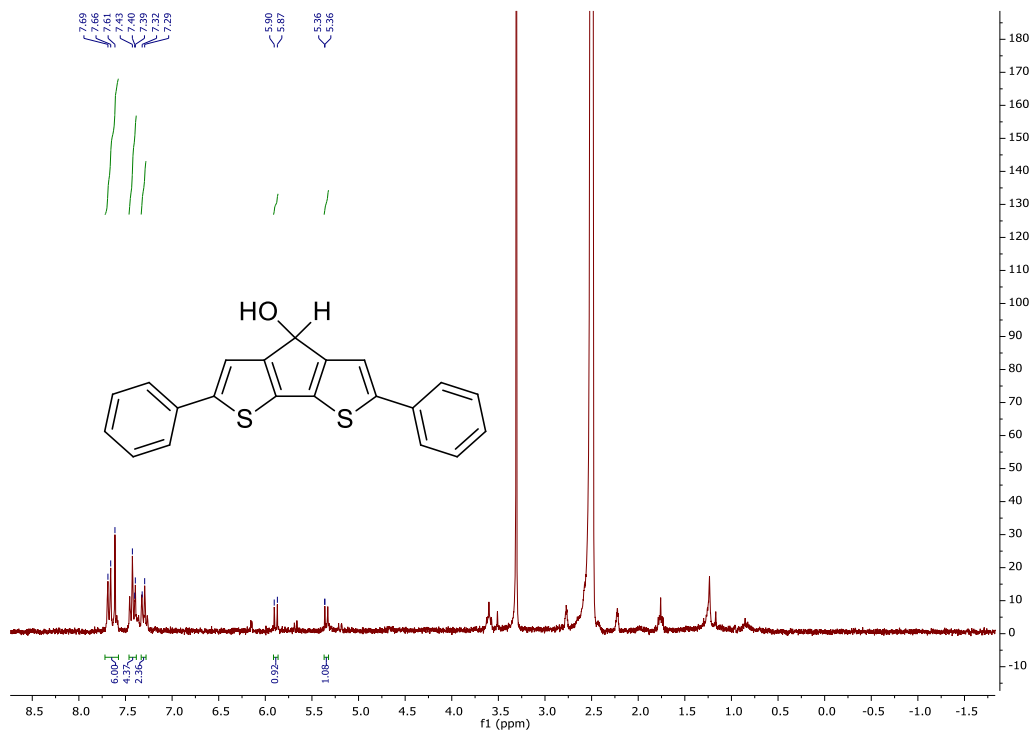


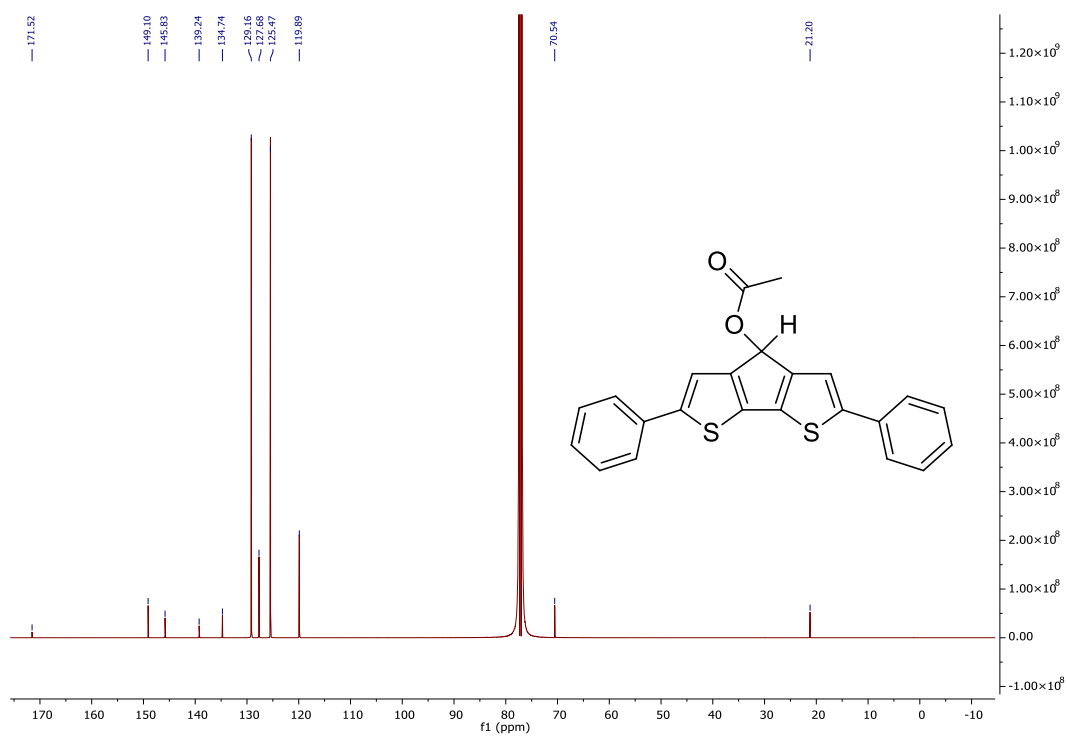
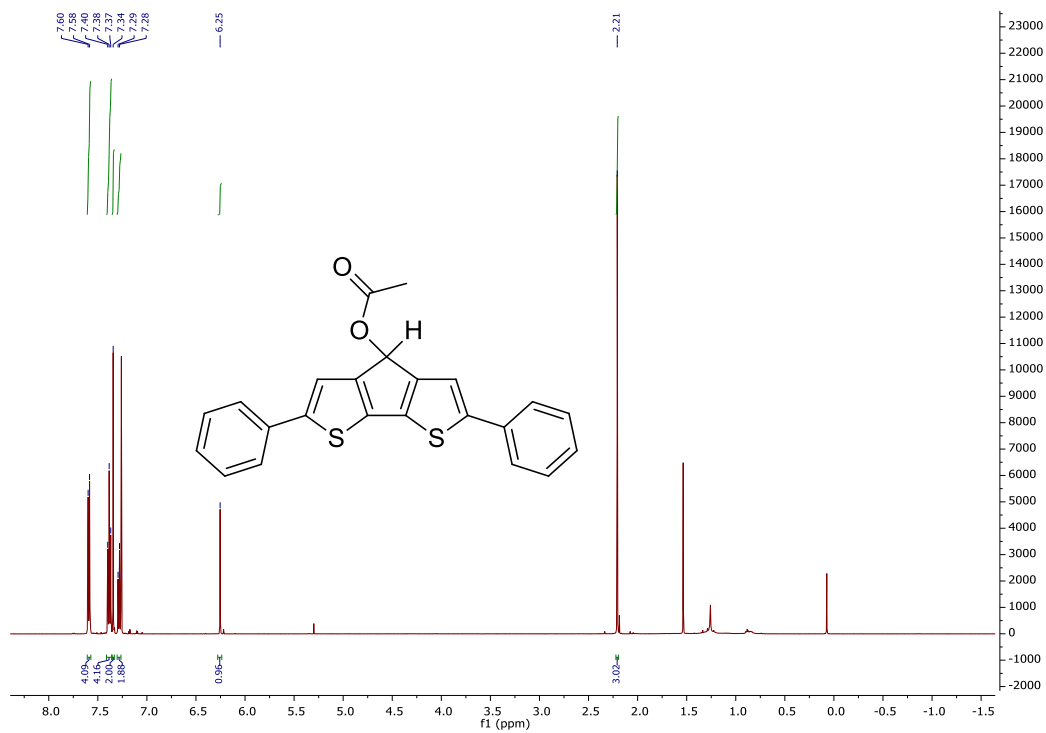


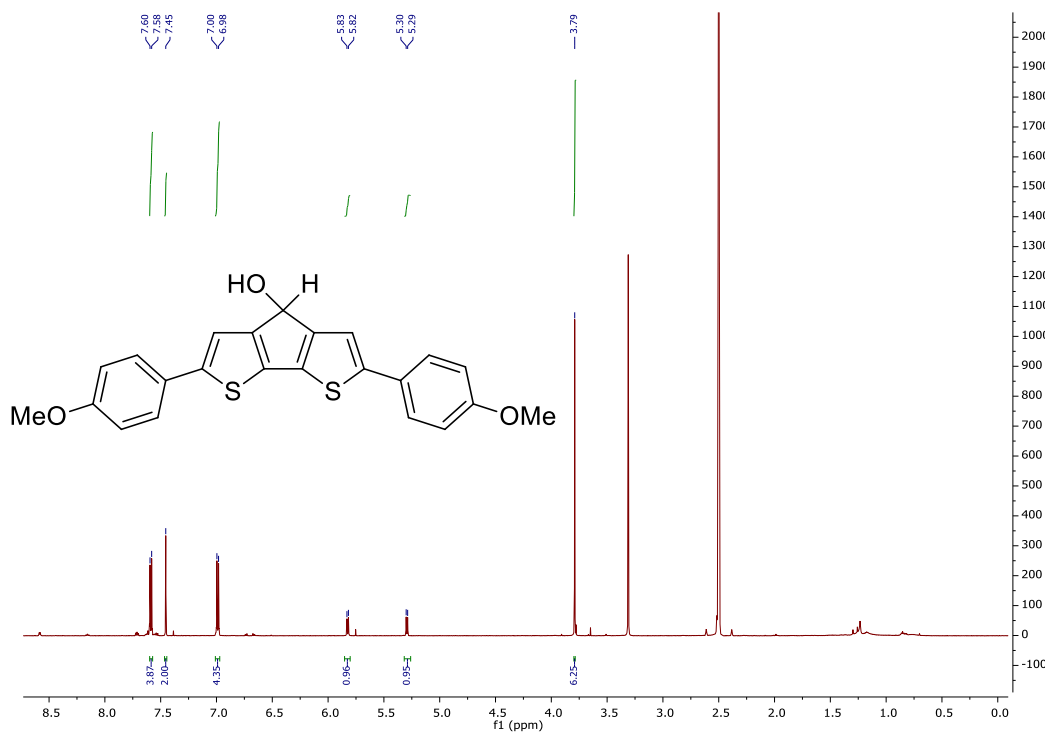
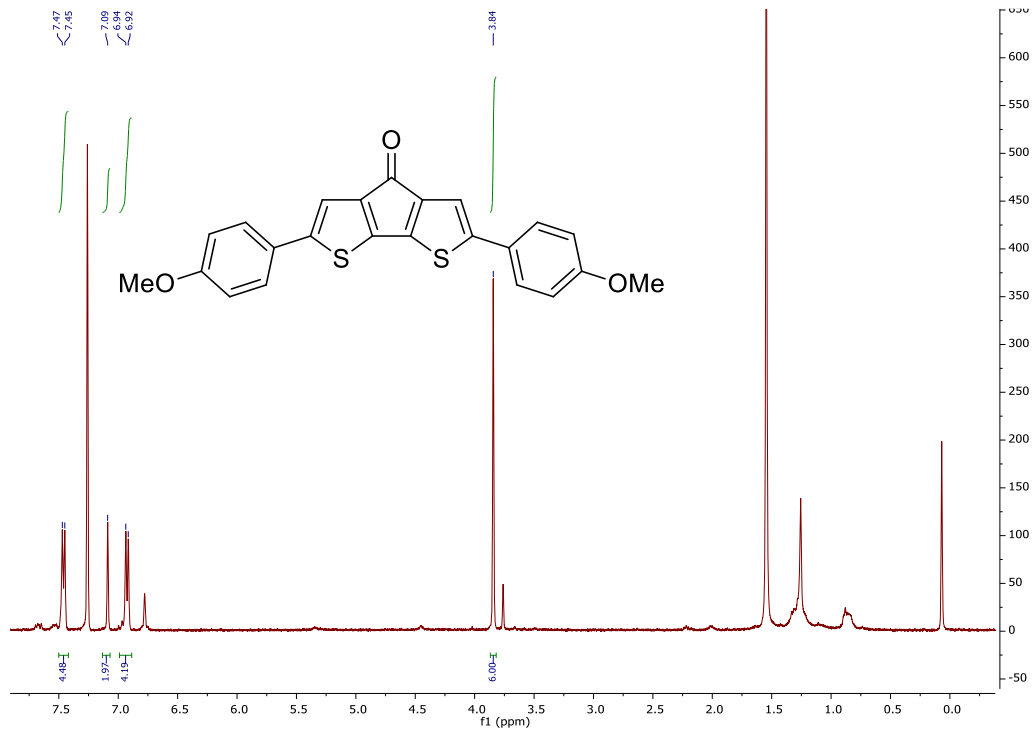


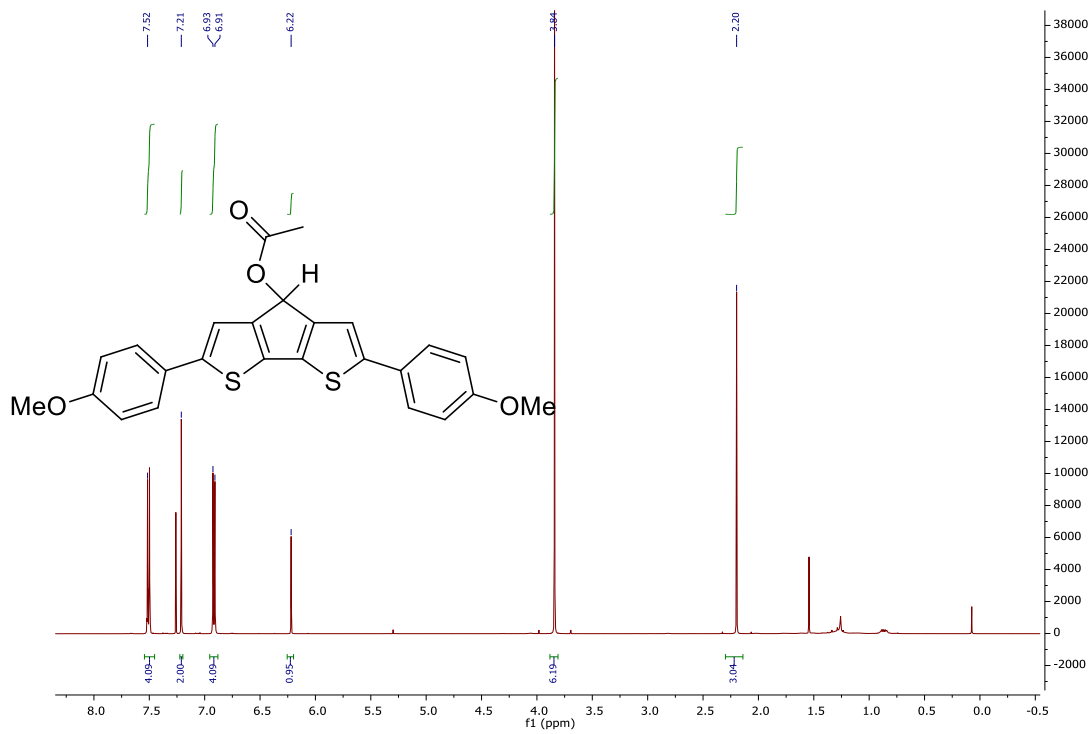
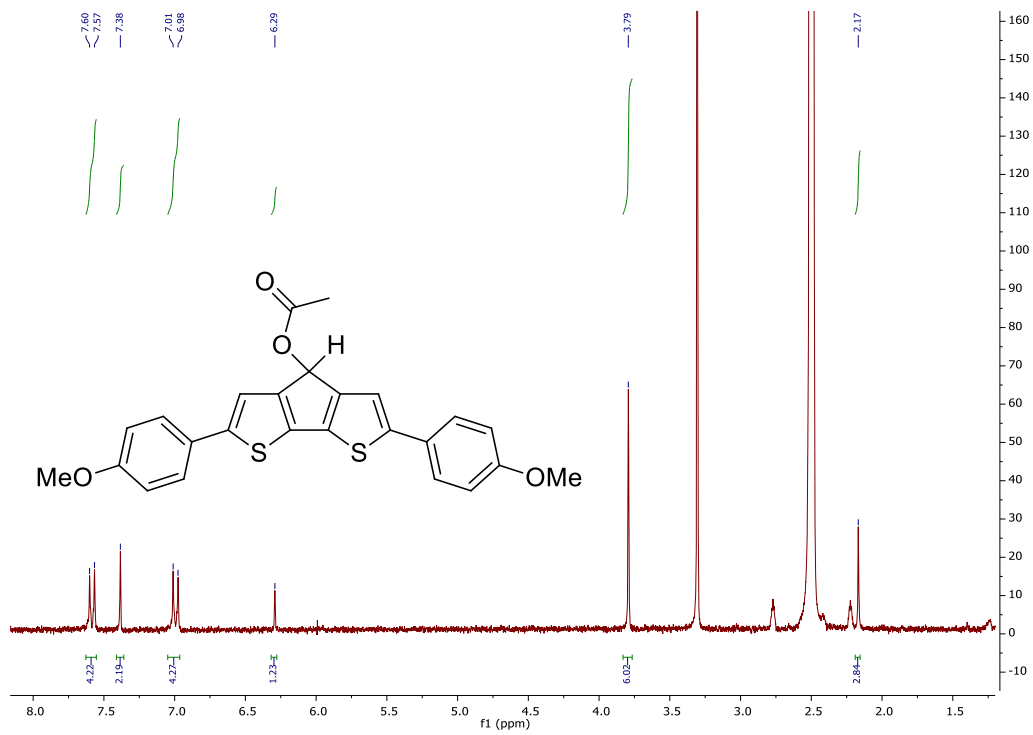


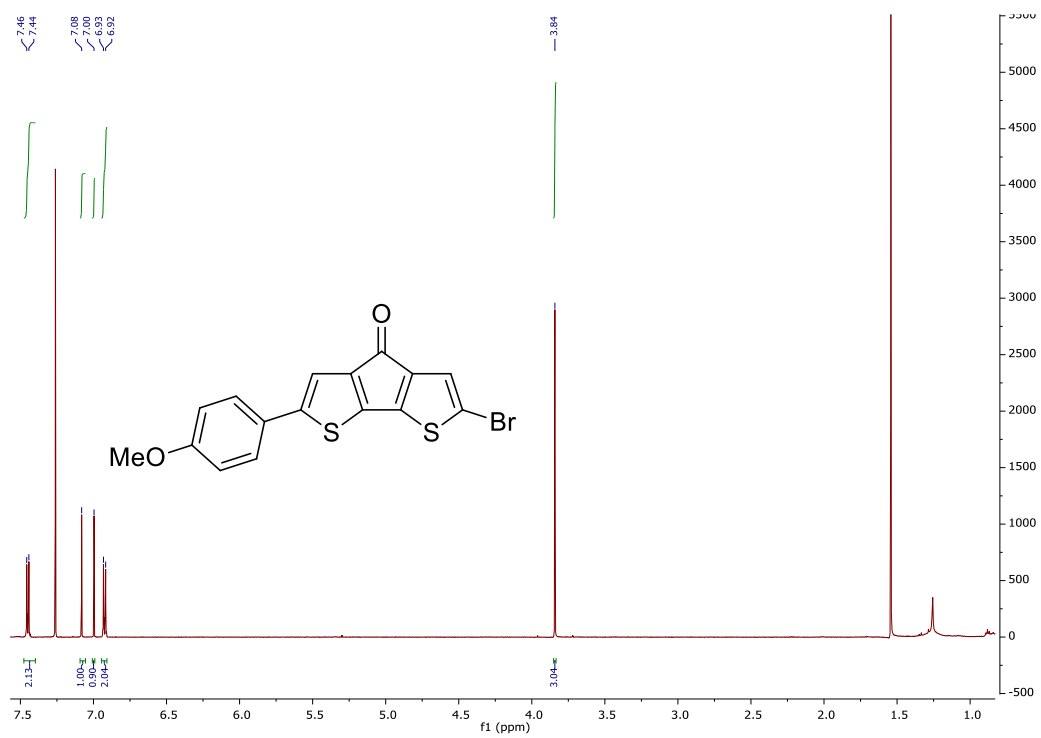
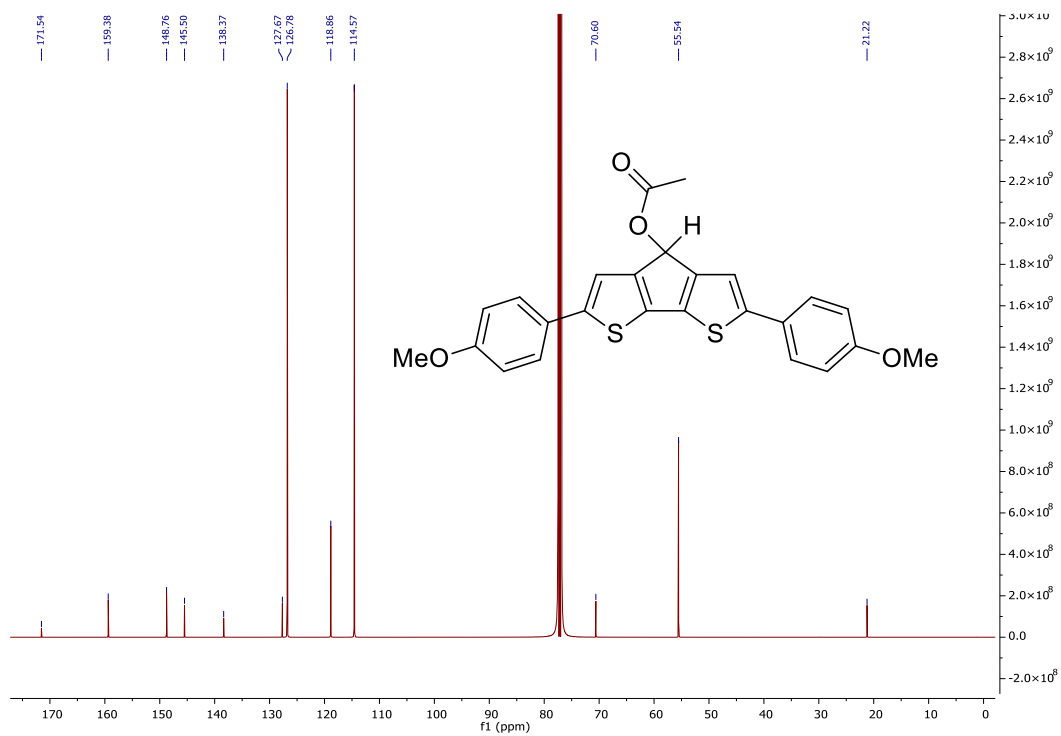


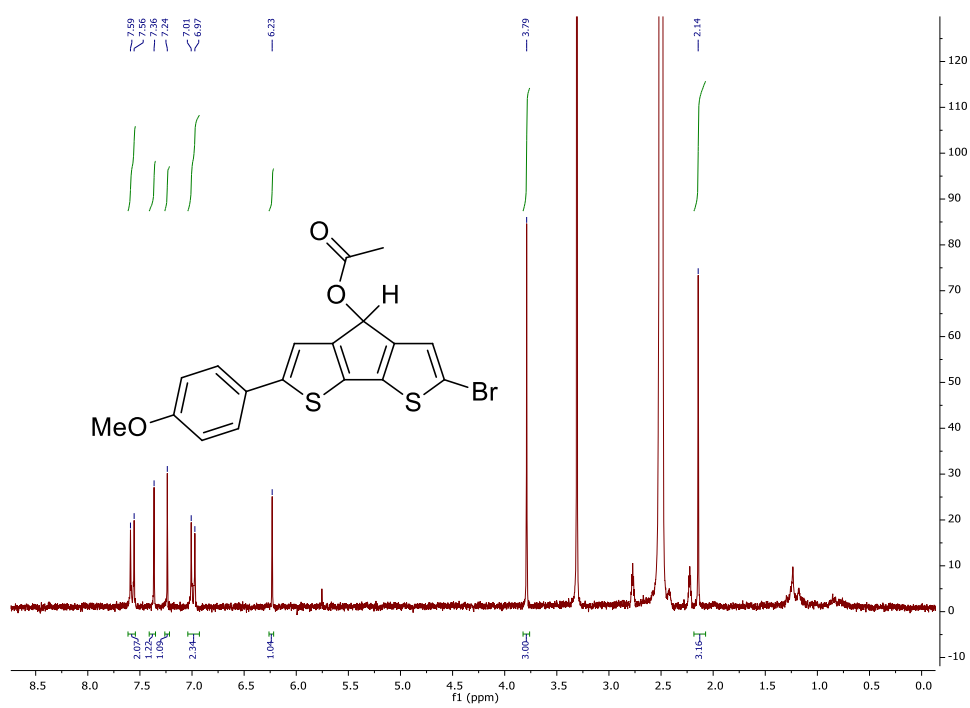
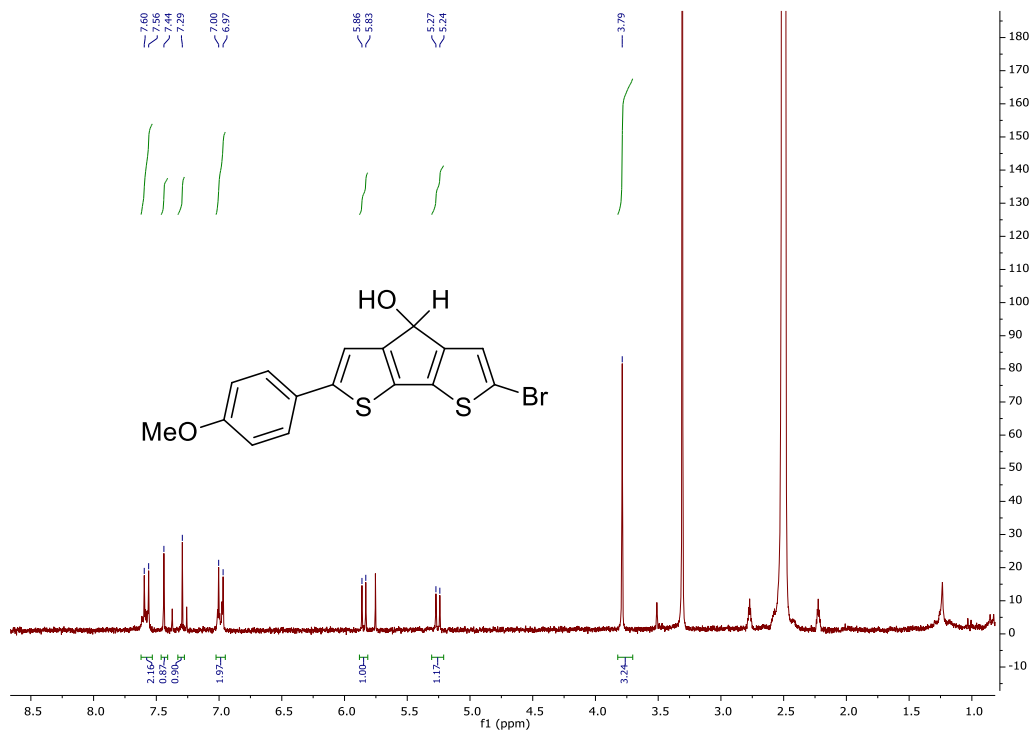


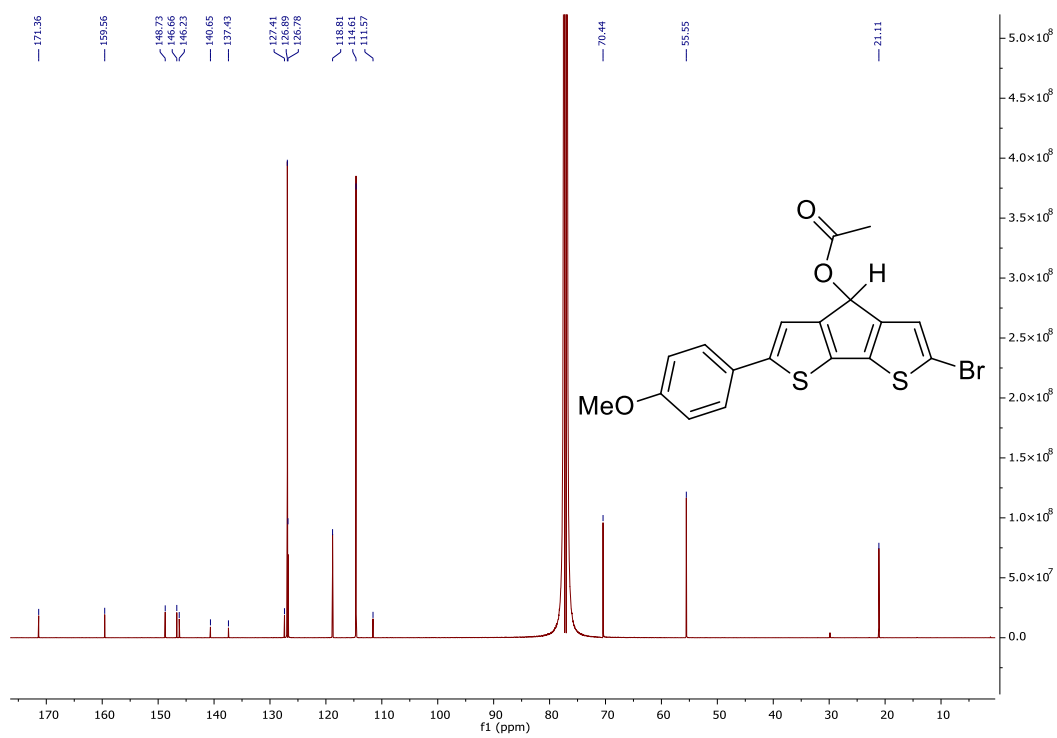
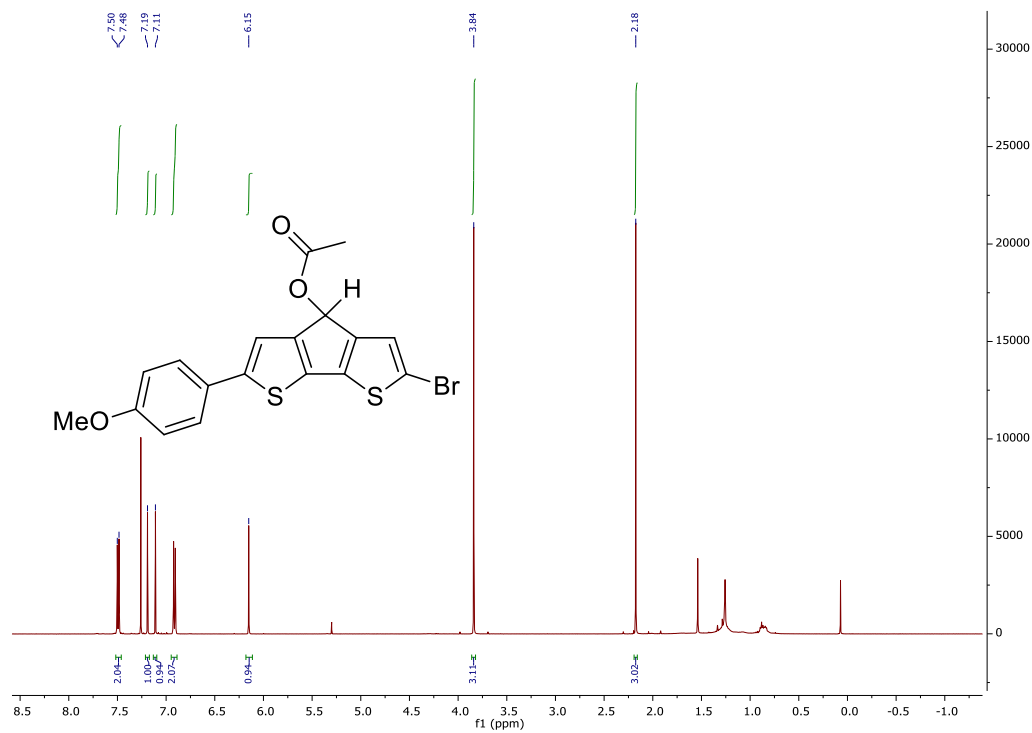


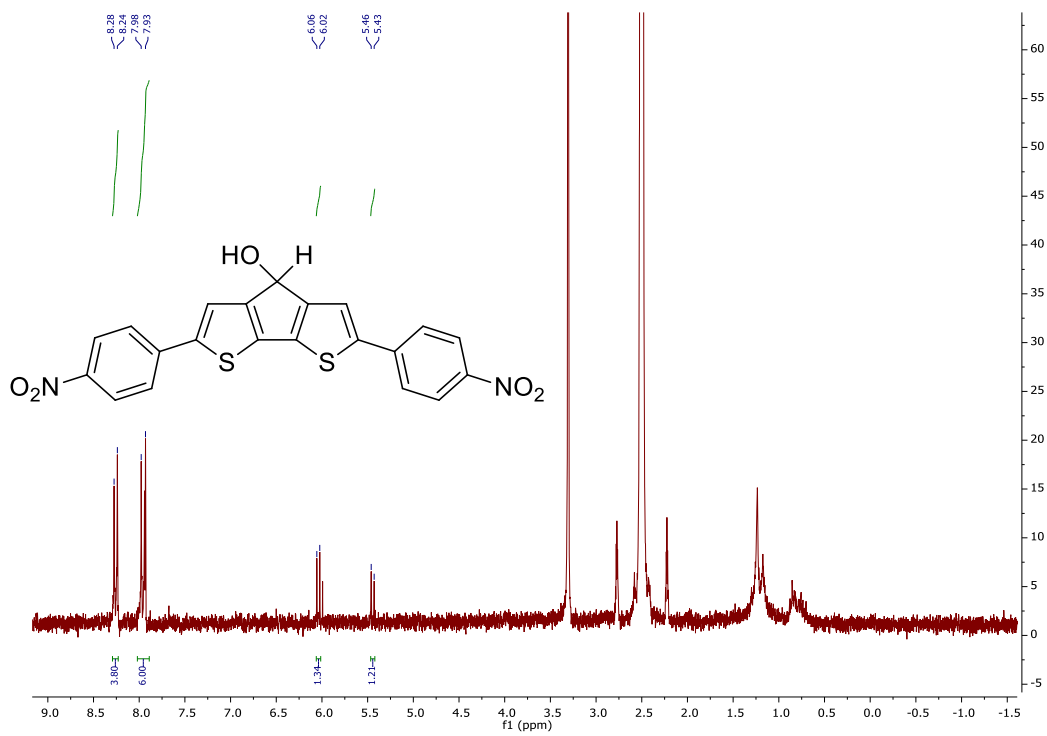
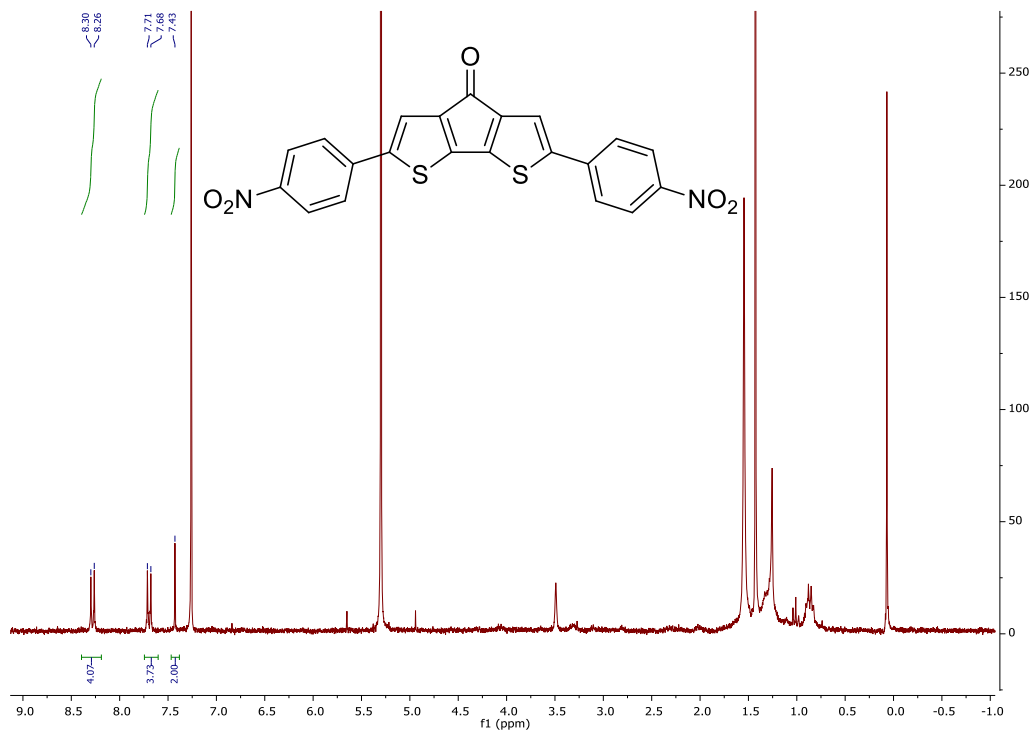


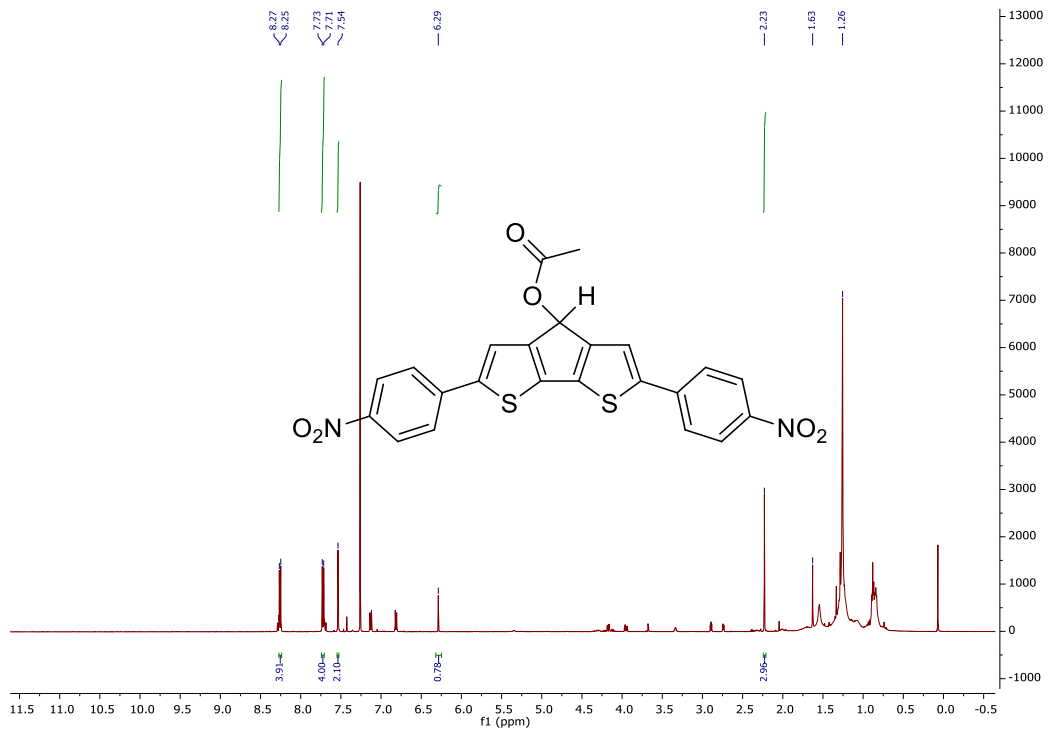




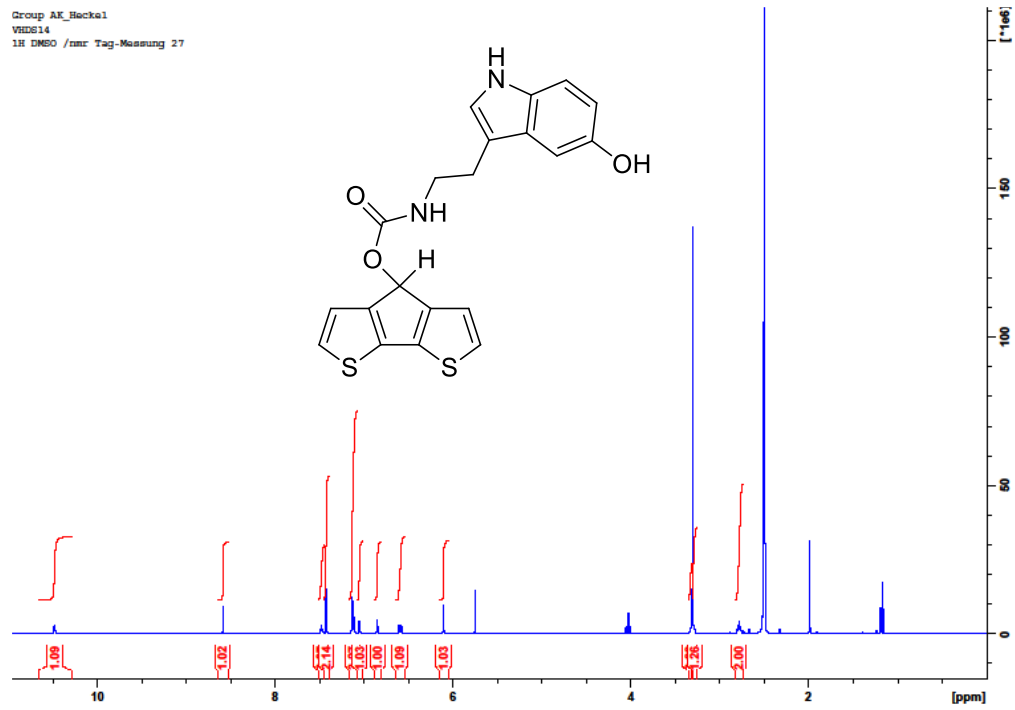


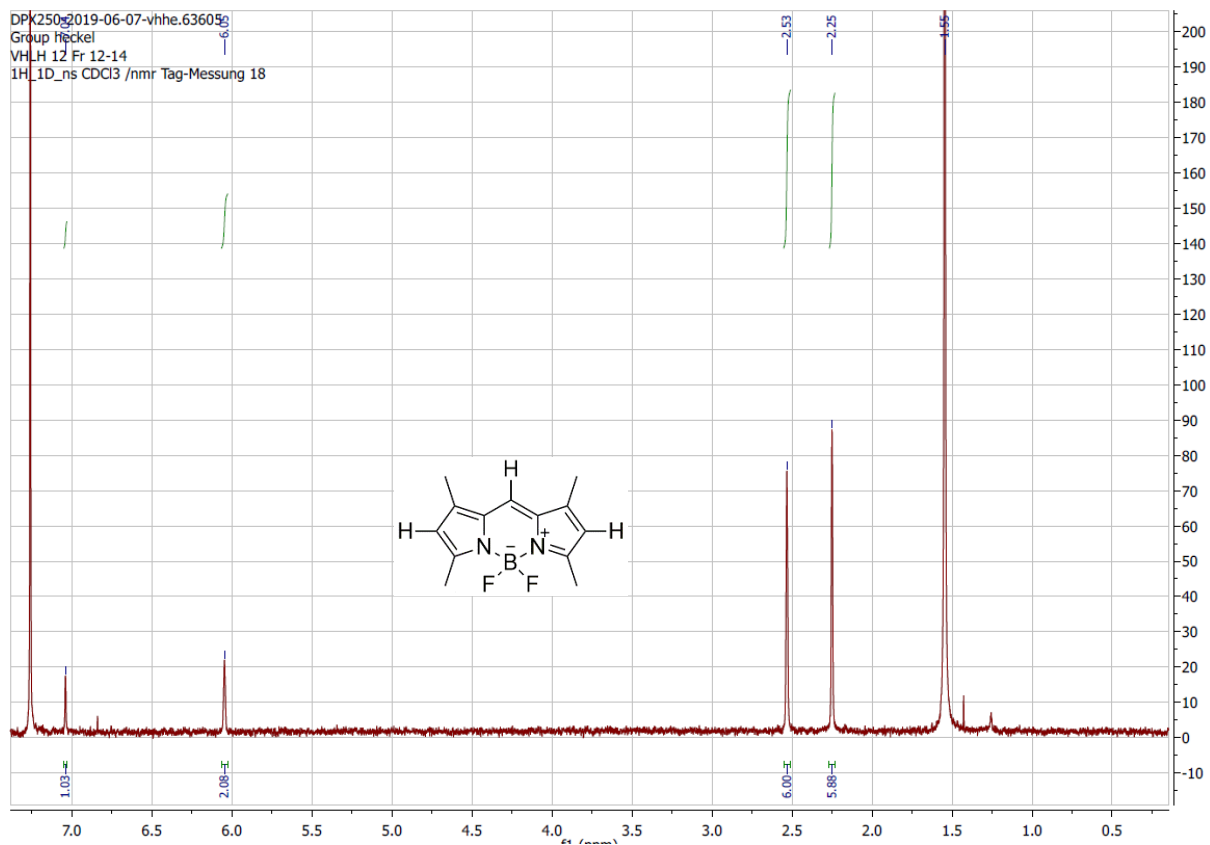






Group AK_Heckel
 VHS14
 1H DMSO / nmr Tag-Messung 27





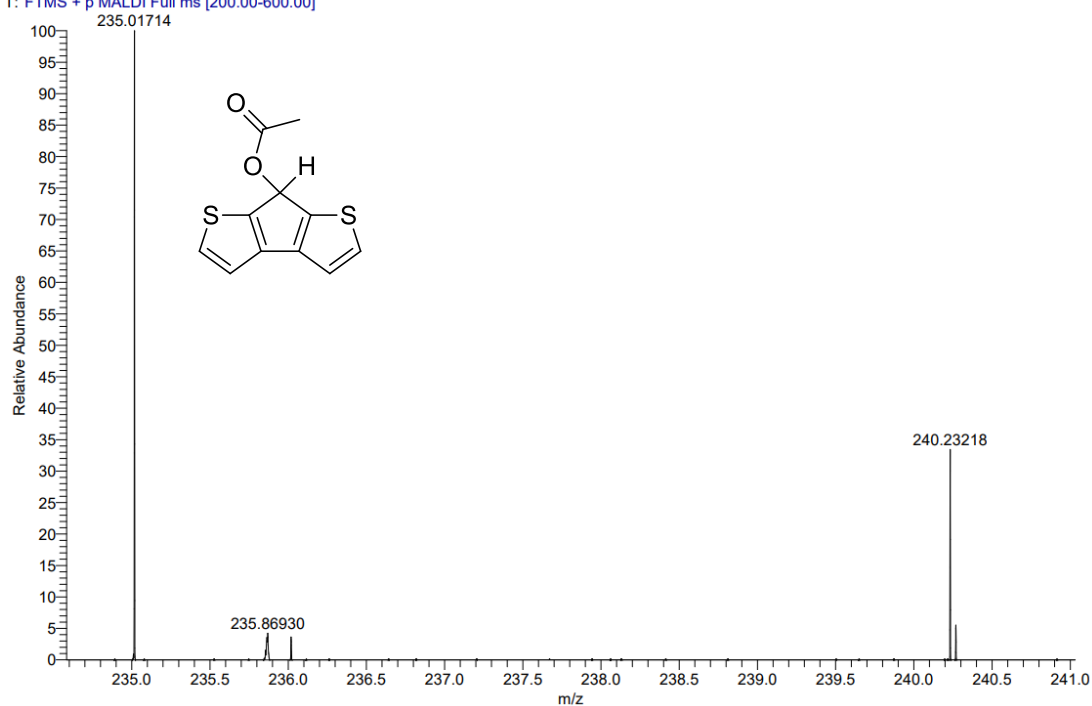
5.4. Massenspektren

C:\User\...\2021\19.01.2021\NK27_F11

1/19/2021 5:06:58 PM

NK27 mit HCCA gemessen.

NK27_F11 #1-11 RT: 0.00-0.45 AV: 11 NL: 2.77E6
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]

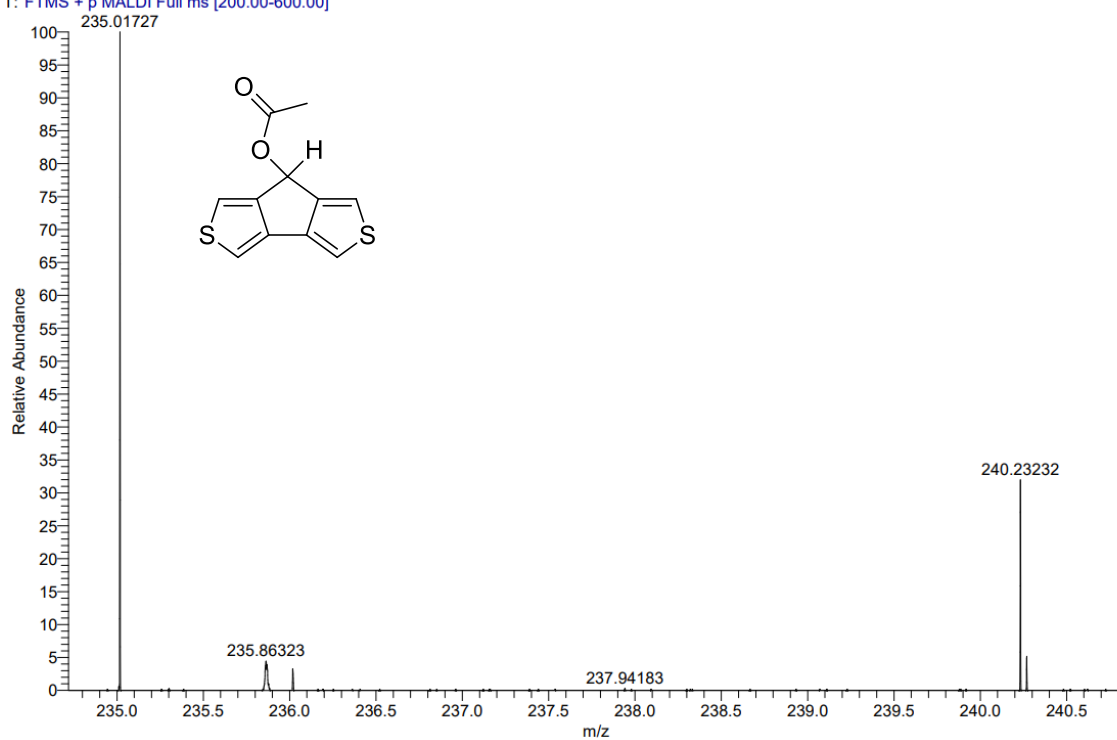


C:\User\...\2021\19.01.2021\NK53_G12

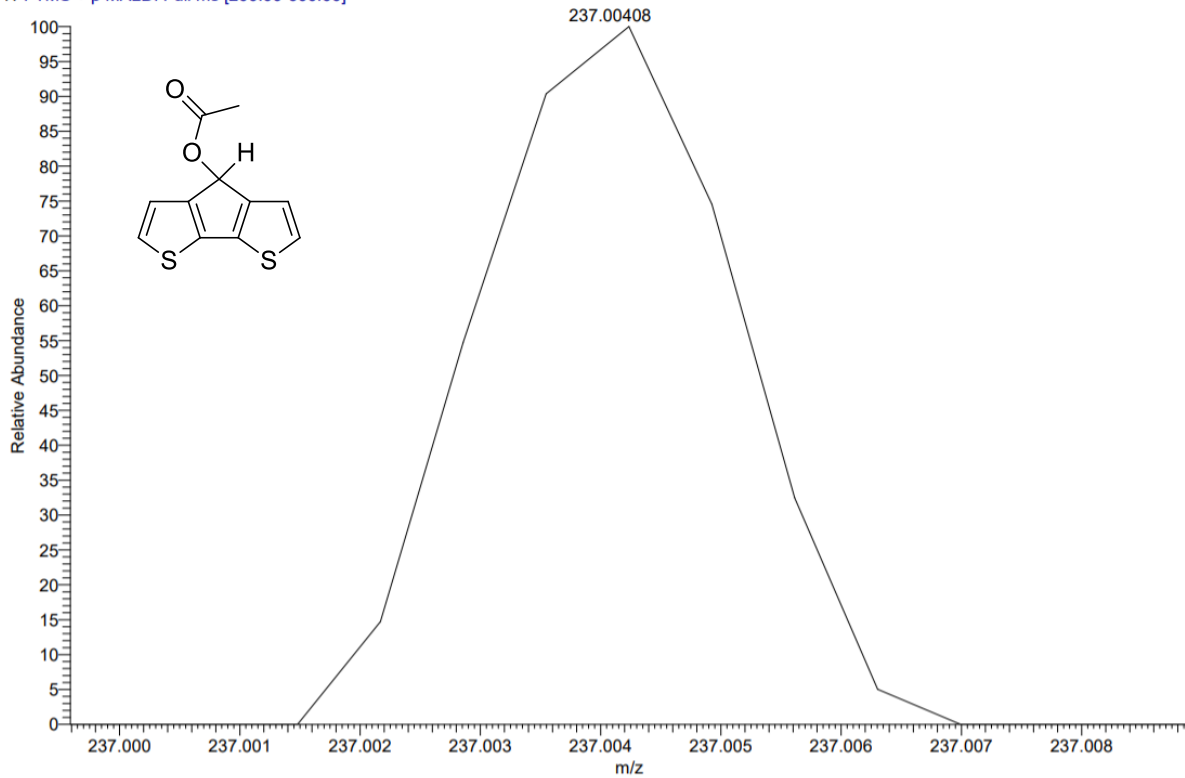
1/19/2021 5:13:18 PM

NK53 mit HCCA gemessen.

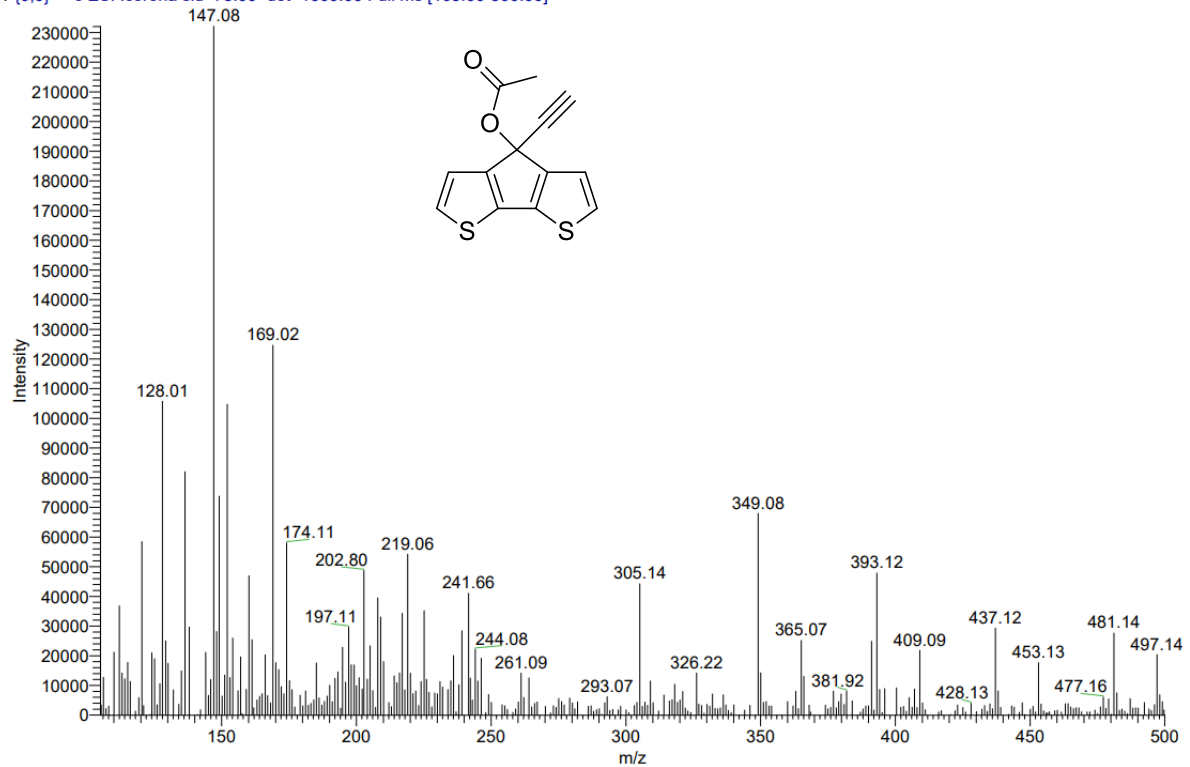
NK53_G12 #1-15 RT: 0.00-0.63 AV: 15 NL: 1.97E6
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]



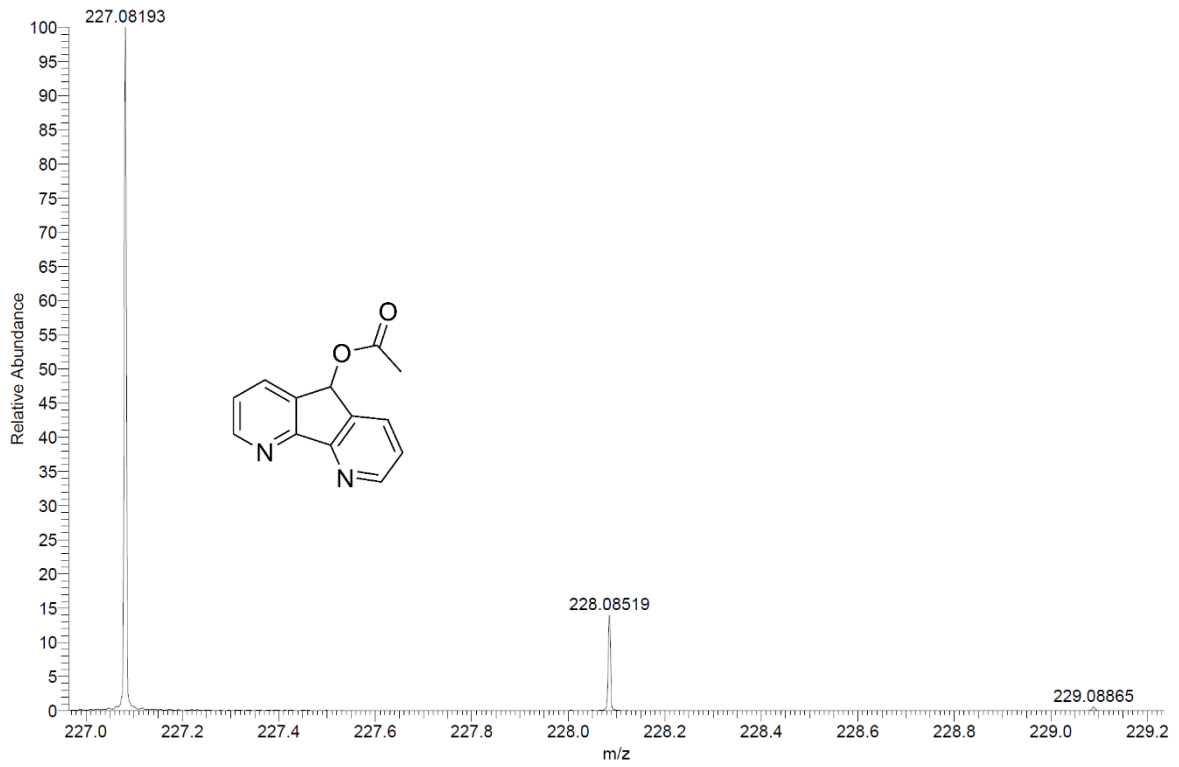
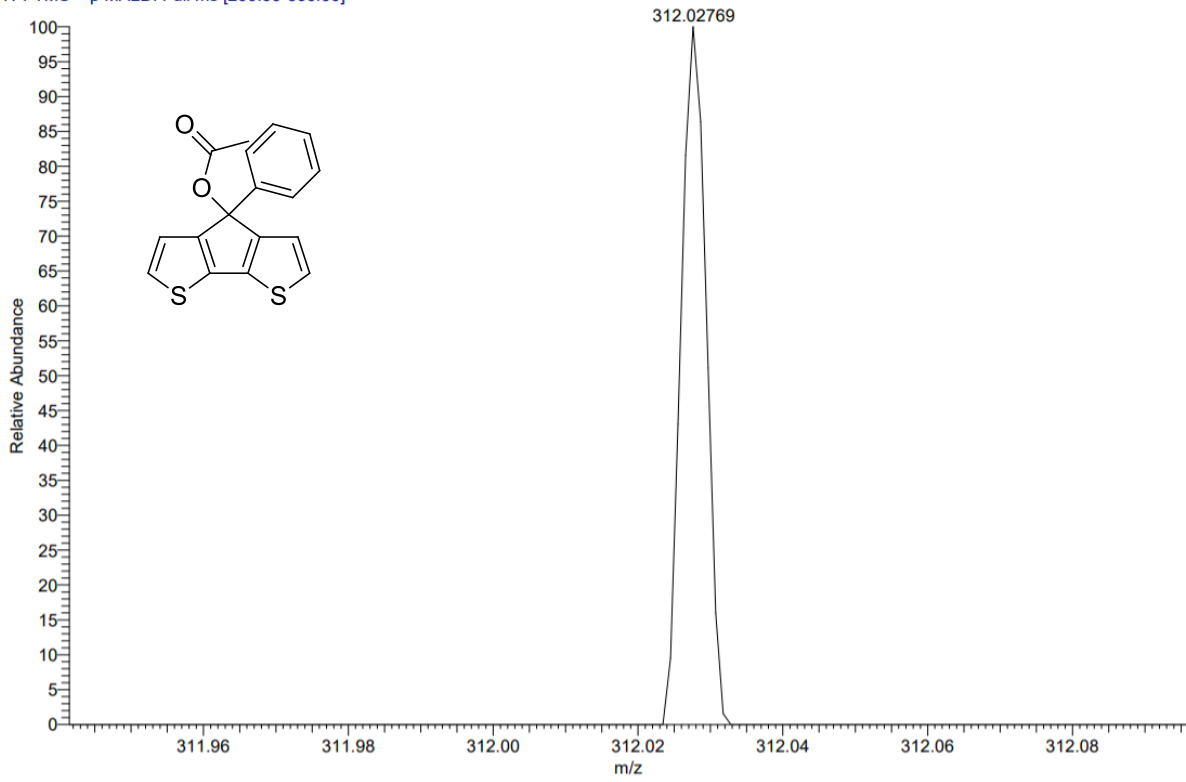
NK03_D2 #1-20 RT: 0.00-0.85 AV: 20 NL: 5.55E3
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]

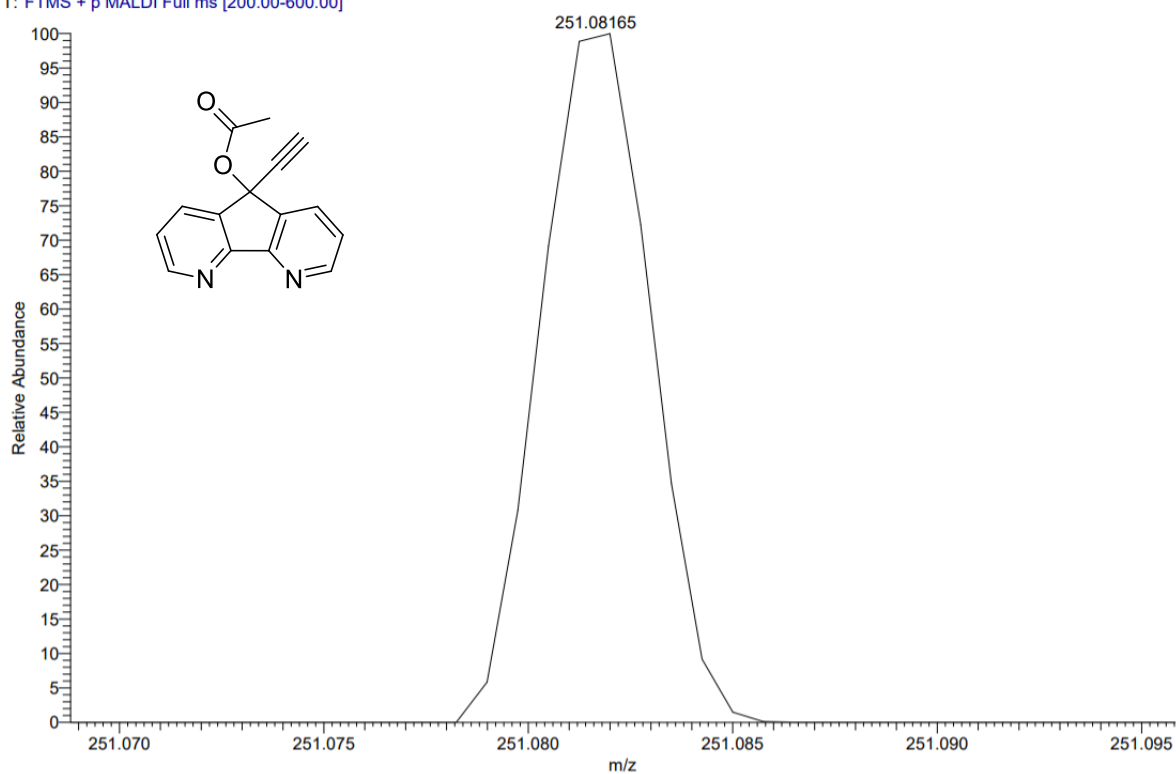
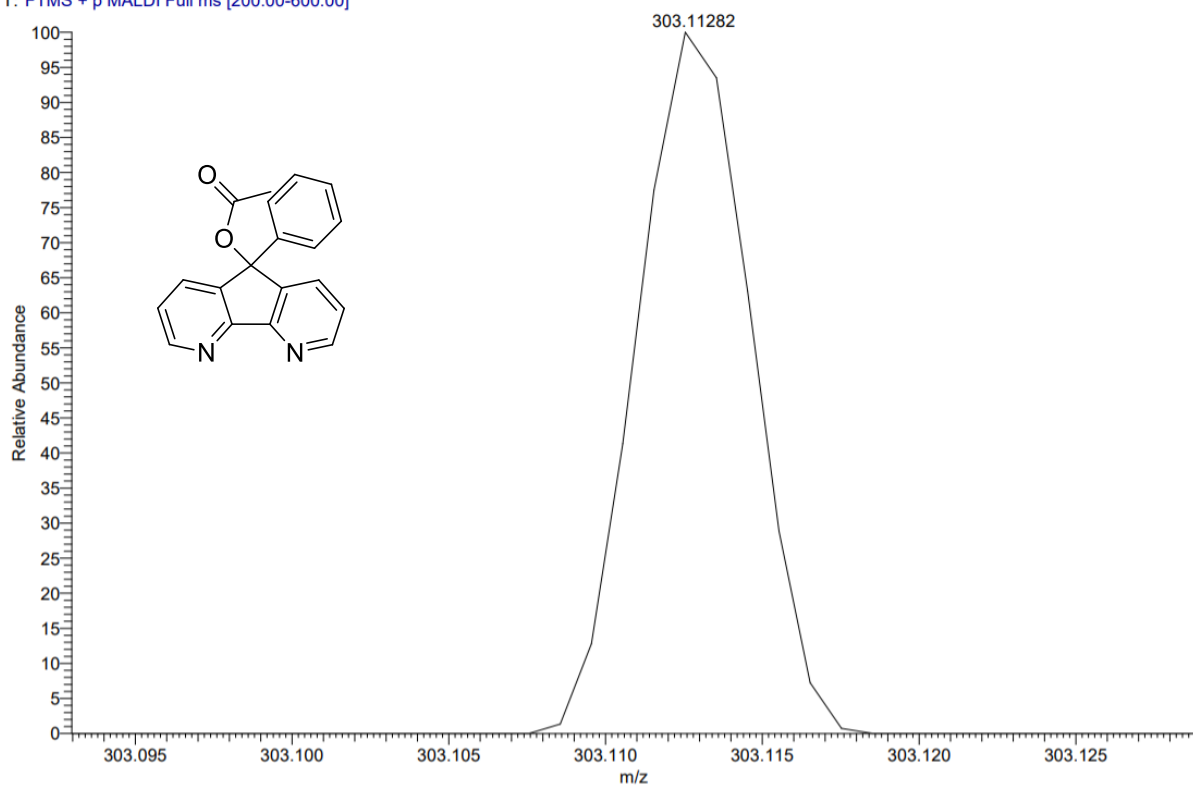


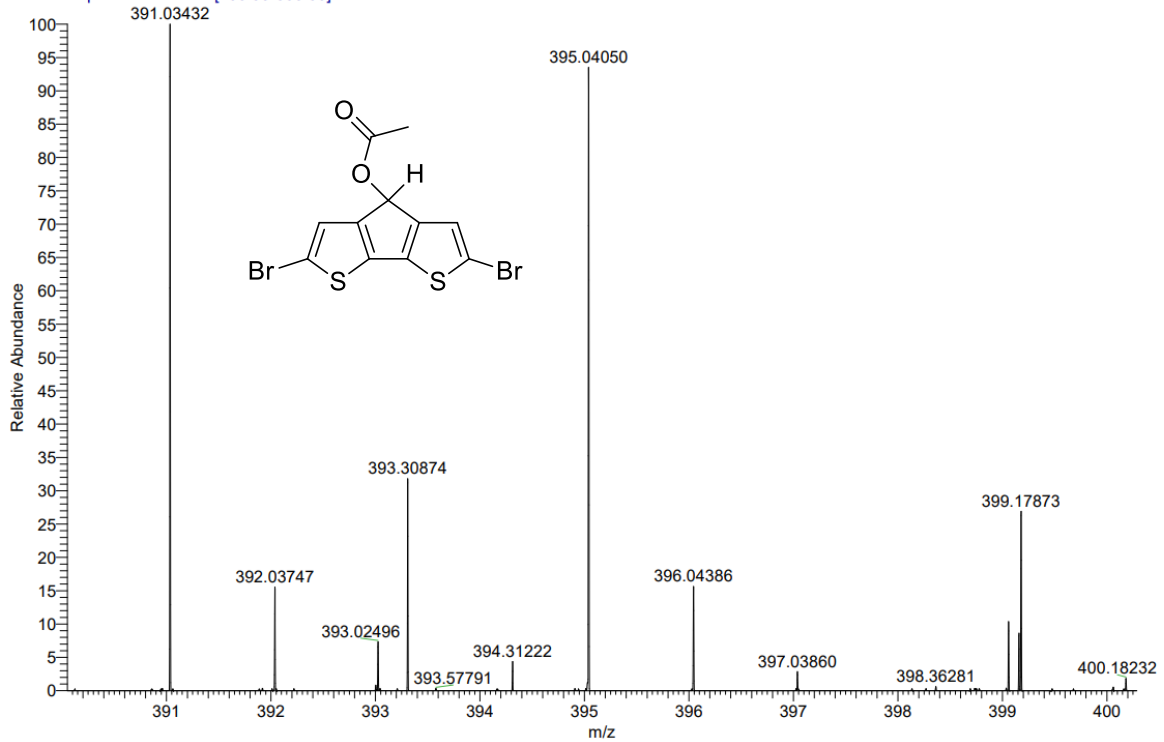
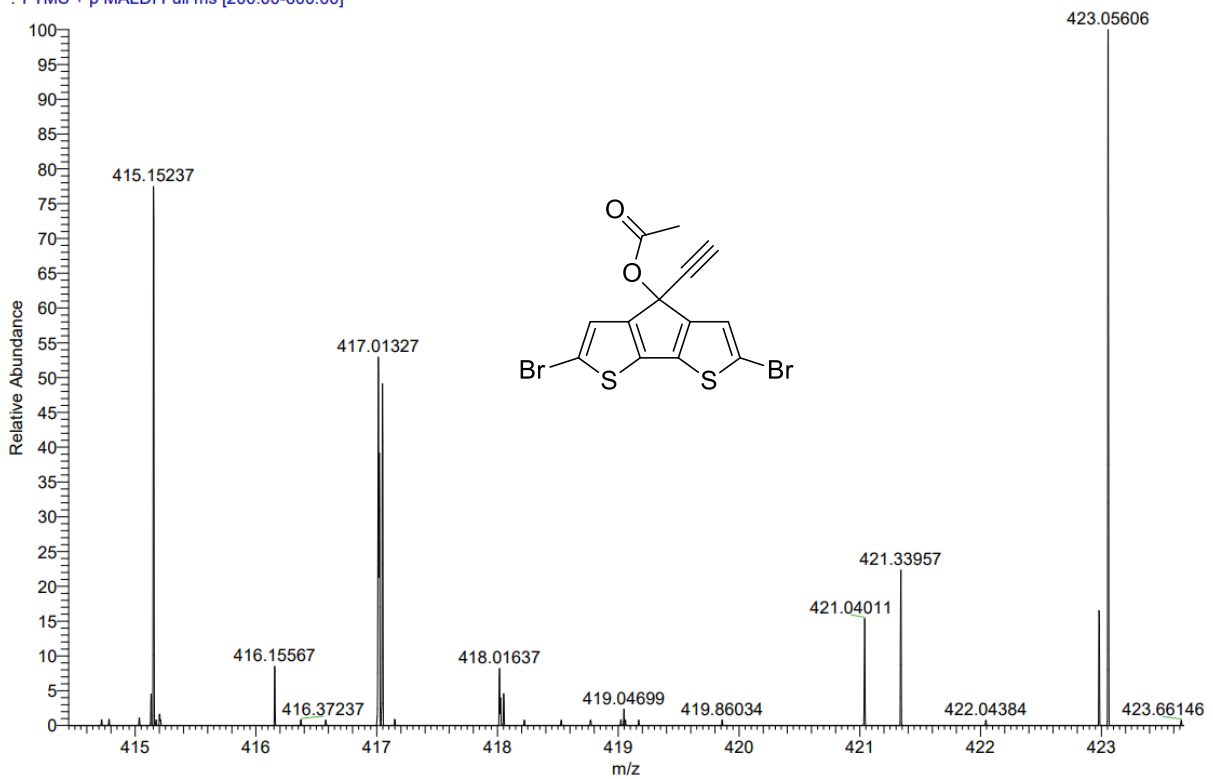
NK09 #31-44 RT: 0.52-0.74 AV: 14 SB: 14 0.10-0.33 NL: 2.32E5
T: {0,0} + c ESI Icorona sid=75.00 det=1600.00 Full ms [105.00-500.00]



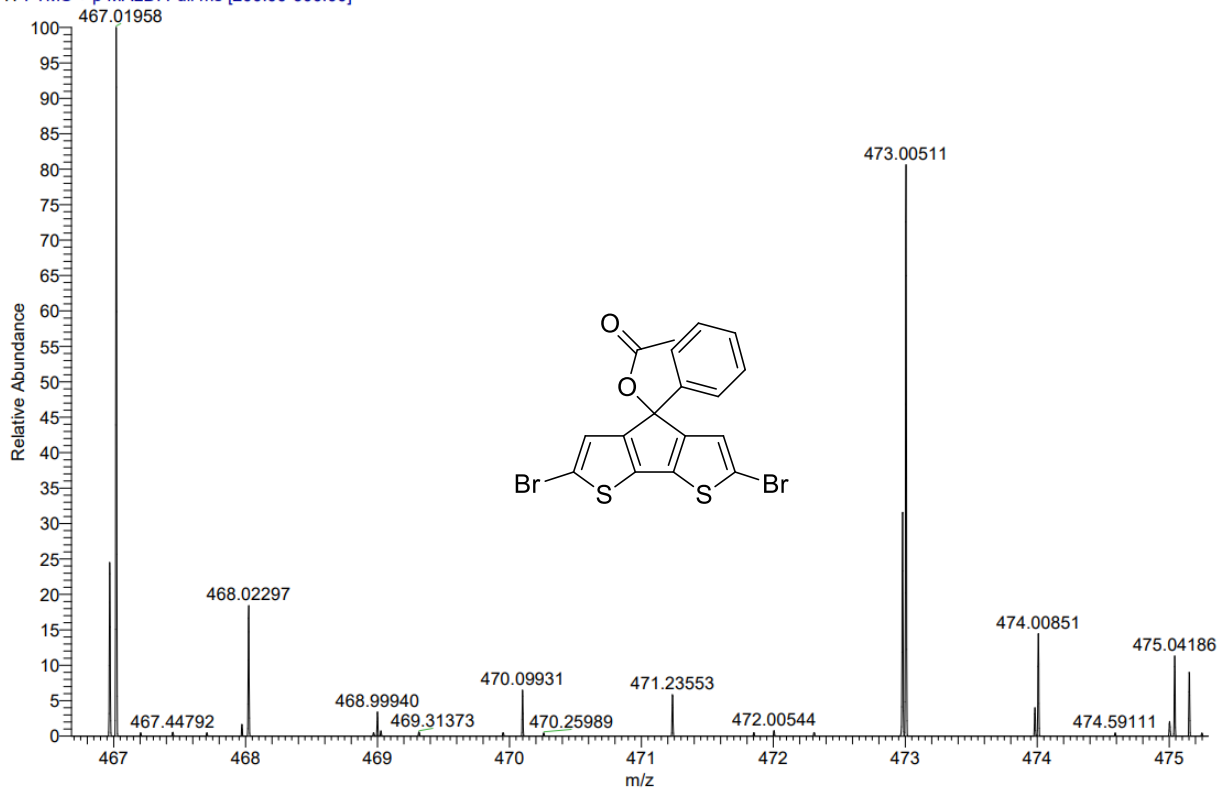
NK22_D6 #1-17 RT: 0.00-0.72 AV: 17 NL: 7.90E4
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]



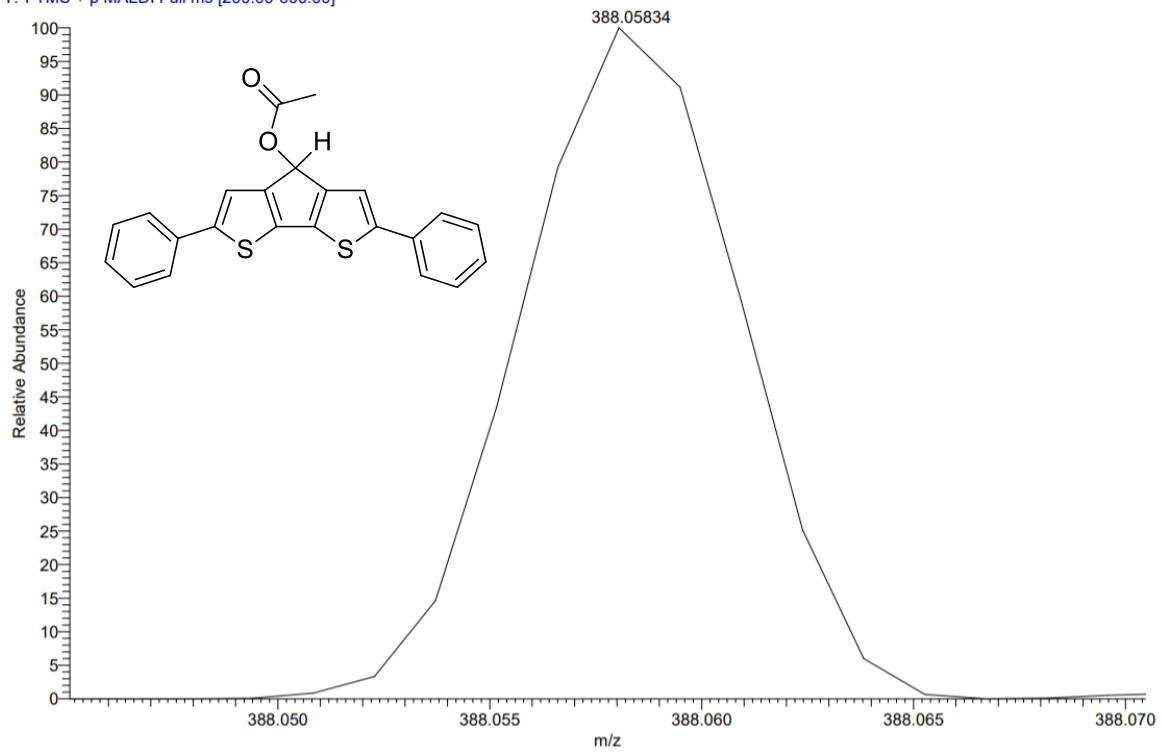
NK11_D4 #1-16 RT: 0.00-0.69 AV: 16 NL: 2.18E5
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]NK18_D5 #1-15 RT: 0.01-0.64 AV: 15 NL: 6.79E5
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]

NK36_F12 #1-16 RT: 0.00-0.68 AV: 16 NL: 1.24E6
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]NK43_G8 #1-13 RT: 0.00-0.53 AV: 13 NL: 4.87E5
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]

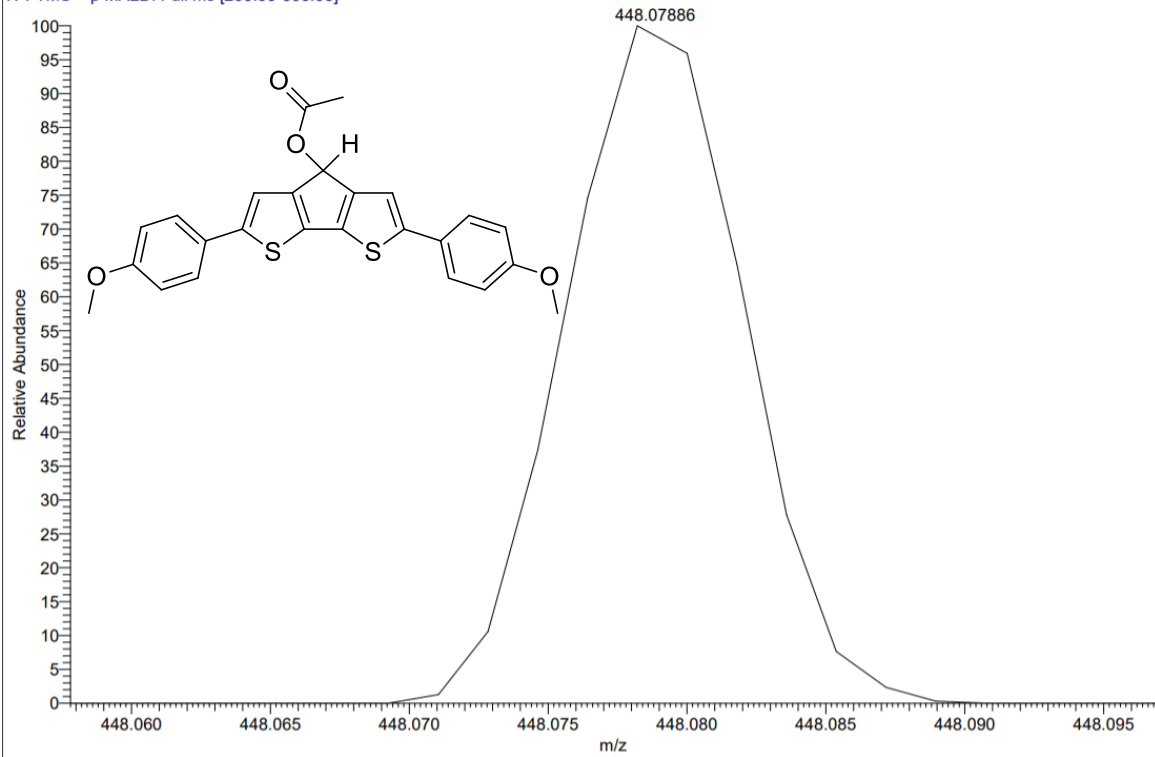
NK41_G4 #1-12 RT: 0.00-0.50 AV: 12 NL: 9.74E5
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]



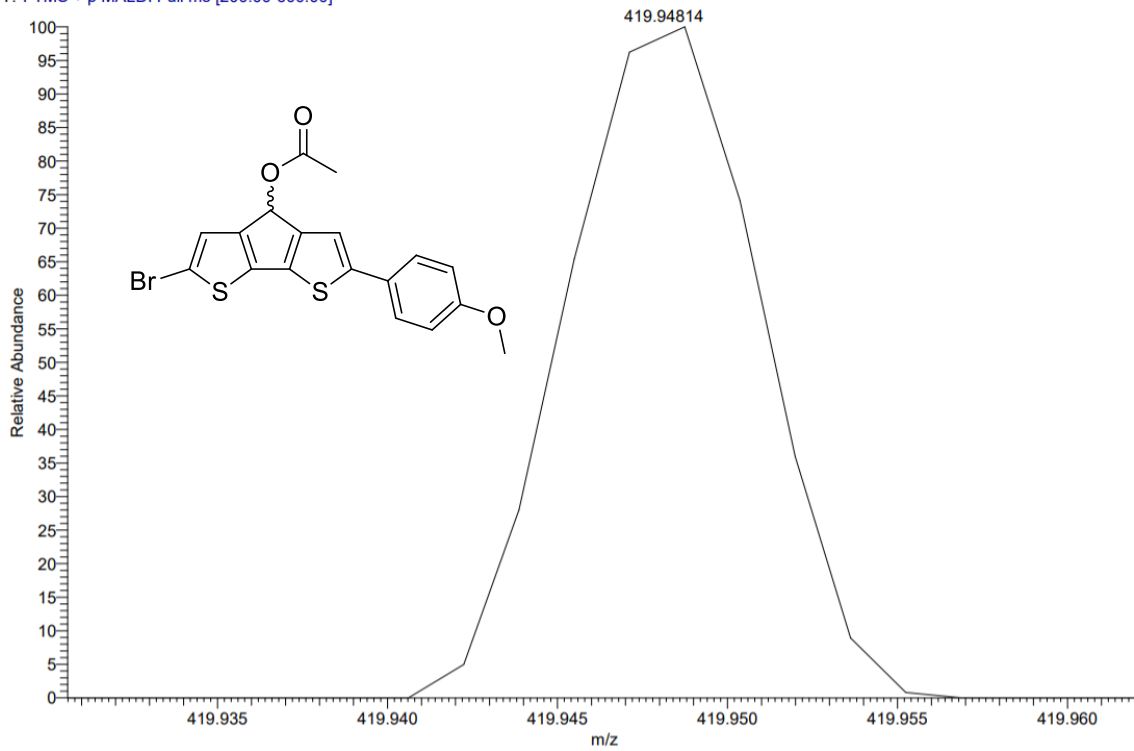
NK49_D11 #1-14 RT: 0.00-0.59 AV: 14 NL: 5.89E5
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]



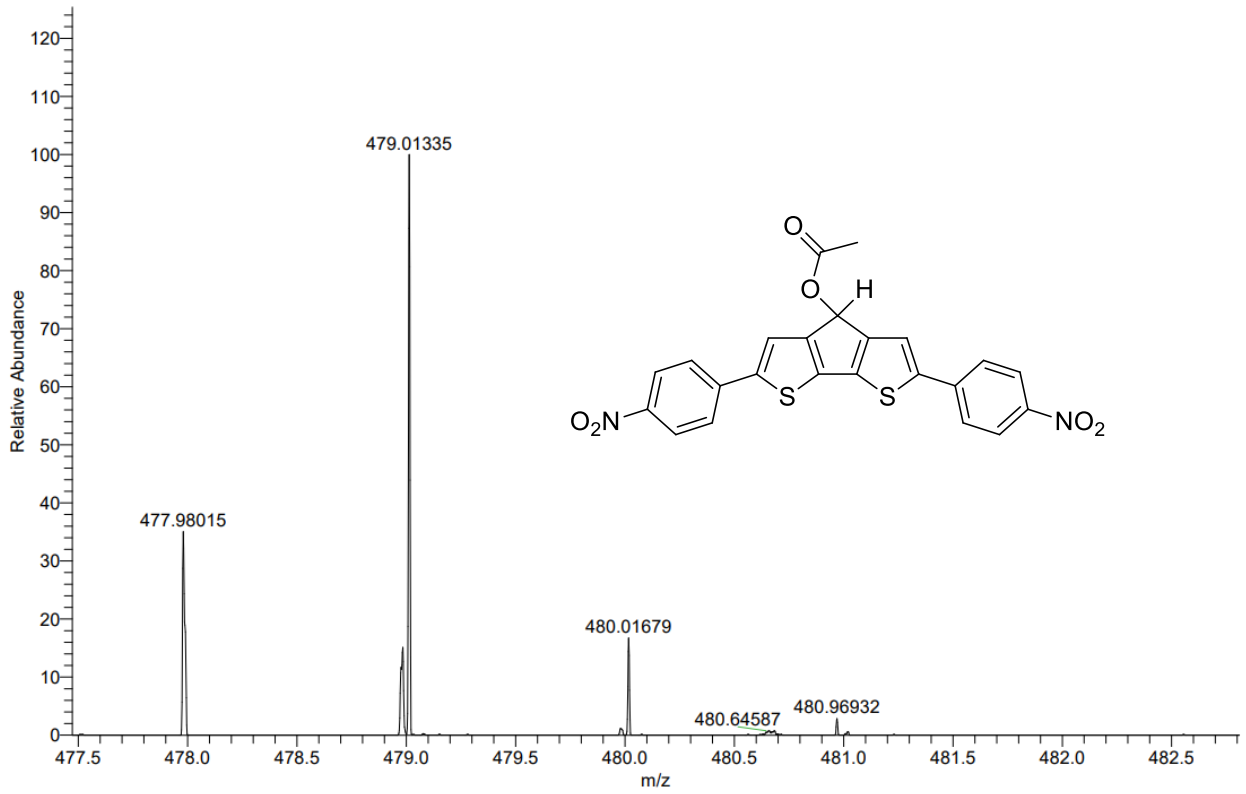
NK57_E2 #1-13 RT: 0.00-0.55 AV: 13 NL: 1.53E5
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]



NK54_E1 #1-12 RT: 0.00-0.48 AV: 12 NL: 8.73E4
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]



NK60_H4 #1-20 RT: 0.00-0.86 AV: 20 NL: 2.14E6
T: FTMS + p MALDI Full ms [200.00-600.00]



6. Anhang

6.1 Abkürzungsverzeichnis

Abs.	Absorption
Ac	Acetyl
AcOH	Essigsäure
aq.	Aqua (Latein), in wässriger Lösung
Ar	Aryl
BODIPY	Boron-dipyrromethen
ca.	circa (Latein)
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CIP	Cahn-Ingold-Prelog
COSY	Correlation spectroscopy
Cy	Cyclohexan
DCM	Dichlormethan
DEACM	7-diethylamino Cumarin
DFT	Dichte-Funktional-Theorie
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethyl sulfoxid
EDG	Electron donating group (Elektronen-schiebende Gruppe)
EPR	electron paramagnetic resonance (Elektronenspinresonanz-Spektroskopie)
ESA	excited state absorption
ESI	Electrospray Ionisation
et al.	et alia (Latein) und Mitarbeiter / und andere
EtOAc	Ethylacetat
EWG	Electron withdrawing group (Elektronen-ziehende Gruppe)
GSB	ground state bleach (Grundzustandsbleichung)
HOMO	Highest occupied molecular orbital

HPLC	High-performance liquid chromatography
IR	Infrarot
ISC	Intersystem crossing
LED	Light emitting diode, Leuchtdiode
LG	Leaving group, Abgangsgruppe
LUMO	Lowest unoccupied molecular orbital
MALDI	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization
MO	Molekülorbital
MS	Massenspektrometrie
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
NIR	Nahes-Infrarot, Naher Infrarot-Bereich
NMR	Nuclear magnetic resonance, Kernspinresonanz
Nu	Nucleophil
PBS	Phosphate-buffered saline, Phosphatpuffer
PPGs	Photolabile protecting groups, photolabile / photoaktivierbare Schutzgruppen
RP	Reverse phase, Umkehrphase
SAR	Struktur-Aktivitäts-Beziehung-Studien (eng. structure-activity-relationship)
tBu	<i>tert</i> -Butyl
TDDFT	Time-dependent density functional theory, zeitabhängige Dichtefunktionaltheorie
TEAA	Triethylammonium Acetat
TFA	Trifluoroacetic acid, Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
TLC	Thin layer chromatography, Dünnschichtchromatographie
UV-Vis	Ultraviolet-visible, ultraviolet-sichtbarer Bereich des elektromagnetischen Spektrums
VIPER	Vibrationally Promoted Electronic Resonance

6.2 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1:** Emissionsspektrum eines idealen Schwarzen Körpers und elektromagnetisches Emissionsspektrum der Sonne inkl. Absorption einiger natürlich vorkommender Verbindungen. Abgeändert aus Quelle^[5] 1
- Abbildung 2:** Thermodynamik versus Photodynamik. a) Thermodynamisches Gleichgewicht, welches sich abhängig der jeweiligen Energiebarrieren einstellt. b) Photodynamisches Gleichgewicht mit einer sehr hohen thermischen Energiebarriere und Bestrahlung. c) Die Anregung einer Spezies führt dazu, dass sie aus dem Grundzustand I, in einen energetisch höheren, angeregten Zustand gelangt, aus dem sie dann durch Relaxationsprozesse die Energiebarriere indirekt überwindet und in den Zustand II des Grundzustands gelangt. d) Aus dem Zustand II kann die Spezies entweder thermisch oder photochemisch wieder in den Ausgangszustand I zurück gelangen. Abgeändert aus Hecht et al.^[15] 2
- Abbildung 3:** Chlorophyll a und Retinal als natürliche Chromophore. Das konjugierte Doppelbindungs-System, welches für die Absorption der elektromagnetischen Strahlung verantwortlich ist, ist bei beiden Chromophoren jeweils farbig hinterlegt. Das Chlorophyll a leitet die durch die Absorption aufgenommene Energie in den Photo-Komplexen in den Chloroplasten weiter. Das Retinal vollzieht eine Änderung seiner räumlichen Struktur (Konformationsänderung) durch die Anregung mit Licht. 5
- Abbildung 4:** Absorptionsspektrum von Chlorophyll a und entsprechendes Jablonski-Diagramm der verschiedenen photochemischen und photophysikalischen Prozesse, die nach der Absorption ablaufen können. Photophysikalische & Photochemische Prozesse sind inklusive ihrer typischen Zeitskala dargestellt. (Angelehnt an Abbildung aus W. Postl, 300606 UE Wachstum und Stoffwechsel der Pflanzen, Department für Molekulare Systembiologie) 7
- Abbildung 5:** Photochemische Anregung in einer Mischung aus zwei verschiedenen, molekularen Spezies mit derselben oder sehr ähnlicher Absorption im UV/vis-Bereich (symbolisiert durch die orangene Farbe der Moleküle), aber unterschiedlicher IR-Absorptionsspektren (grüne und blaue Kreise). A: Unselektiver UV/vis-Anregungspuls mit anschließender Analyse mittels IR-Spektroskopie. B: Selektive Anregung mittels VIPER Spektroskopie. In der links zu sehenden VIPER Pulssequenz ist ein selektiver IR-Puls (in grün oder blau) zu erkennen, bei dem nur eine der beiden Spezies (grün oder blau) angeregt wird. Der darauf folgende, nicht resonante UV/vis-Puls regt nur die vor-angeregten Moleküle elektronisch an. Entnommen aus Kern-Michler et al.^[36] 8
- Abbildung 6:** Übersicht der bekanntesten photolabilen Schutzgruppen inklusive der entsprechenden Absorptionsmaxima im UV/vis Bereich.. Unter anderem sind das Fluorenol (violett), Cumarin (dunkelblau), Thiofluorenol (hellblau), BODIPY (orange) und der Cyanin-Cage (rot) zu sehen. Die entsprechenden Abgangsgruppen können zwischen den einzelnen Photocages stark variieren und sind hier nur vereinfacht dargestellt. Angelehnt an Abbildung aus Weinstain et al.^[12] 9
- Abbildung 7:** Übersicht der in der Literatur am meisten verwendeten Photocages NPE (grau), Cumarin (blau) & BODIPY (grün und rot) mit entsprechendem typischem Absorptionsbereich. Die gezeigten Verbindungen stellen beispielhaft die Struktur und einen ungefähren Größenvergleich zueinander dar. Das rechte BODIPY Molekül absorbiert mit ausgedehntem, konjugiertem π -Elektronensystem sogar bis über 700 nm. Abgeändert aus Winter et al.^[42] 10
- Abbildung 8:** Reaktionsmechanismus der Pechmann Kondensation zur Synthese von Cumarin Derivaten.. Die Grundschrirte sind in allen Fällen die Gleichen, lediglich die Reihenfolge der

verschiedenen Schritte (UE = Umesterung, EAS = elektrophile aromatische Substitution und $-H_2O$ = Wasserabspaltung) ist unterschiedlich. Entnommen aus Tyndall et al. ^[50] 12

Abbildung 9: Übersicht diverser synthetischer Modifikationen am Cumarin-Gerüst. Je nach Substituent und Position kann daraus eine erhebliche Auswirkung auf die verschiedensten chemischen und photochemischen Parameter, wie Absorptionsbereich, Quantenausbeuten des Inter System Crossing (ISC) resultieren. Daneben können u.a. die Polarität des Grund- & angeregten Zustands, sowie die Wasserlöslichkeit verändert werden. Als Abgangsgruppen (Leaving Group, LG) eignen sich verschiedenste Carbonat- & Carbamat-verknüpfte Moleküle. Roter Pfeil nach P. Riveira-Fuentes et al., Chem. Sci. 2018.^[54] Grüner Pfeil nach M. J. Schnermann et al., Chem. Sci. 2020.^[55] 13

Abbildung 10: Spektraler Bereich im UV/Vis-Spektrum verschiedener Derivate des Cumarins. Das unsubstituierte Derivat zeigt ein Maximum bei etwa 320 nm. Durch verschiedene Modifikationen kann das Absorptionsmaximum bis hin zu ca. 550 nm verschoben werden. Große Substituenten und weitere in das System eingefügte Doppelbindungen können jedoch zu einer Verringerung der Photolyse-Effizienz führen. Entnommen aus Weinstain et al.^[12] 14

Abbildung 11: Photolyse-Mechanismus der Cumarin-Photocages für Ester, Carbonat- & Carbamat-verknüpfte Abgangsgruppen, hier am Beispiel eines Phosphatesters. Nach Absorption eines Photons geeigneter Energie, geht das Molekül in den elektronisch angeregten Singulett Zustand über. Aus diesem kann die Relaxation durch Fluoreszenz oder interne Konversion erfolgen. Ebenso ist die Heterolyse zwischen dem Chromophor und der Abgangsgruppe (LG) möglich. Nach Separation kann eine Rekombination zum Ausgangszustand erfolgen. Alternativ kann durch umgebende Solvens-Moleküle und/oder andere Nucleophile (Nu) die irreversible Abspaltung erfolgen. Entnommen aus Weinstain et al.^[12] 15

Abbildung 12: Übersicht über synthetische Modifikationen am BODIPY Grundgerüst. Modifikationen an der 3- & der 5-Position sind klassischerweise Styryl-Reste die das aromatische System mit einem weiteren Benzol-Ring durchgehend konjugiert erweitern. Damit sind auch Absorptionen von über 700 nm möglich. Substituenten an der 2- & 6-Position können sich unter anderem auf die photochemischen Eigenschaften auswirken, indem sie durch eine Erhöhung der Inter-System-Crossing-Rate (ISC) die Triplett-Quantenausbeute drastisch erhöhen.^[66] Der Austausch der Fluorsubstituenten am zentralen Bor-Atom kann ebenfalls das Anwendungsspektrum der BODIPY-Derivate erweitern. Es wurden bereits zahlreiche Abgangsgruppen auf ihre Photolyse getestet. Entnommen aus Weinstain et al.^[12] 16

Abbildung 13: Spektrale Lage der Absorption verschiedener BODIPY Derivate. Entnommen aus Weinstain et al.^[12] 17

Abbildung 14: Übersicht Photoschalter (Photoswitches). Oben: Photoisomerisierung von Stilben (X = C) und Azobenzol (X = N). Darunter: Elektrozyklische Isomerisierung von Spiropyran-Derivaten. Darunter: Diarylethene, die ebenfalls eine photochemisch induzierte Zyklisierungsreaktion eingehen. Unten: Fulgid (Y = O) und Fulgimid (Y = N-R) Photoschalter und ihre drei verschiedenen Photoisomere 19

Abbildung 15: Übersicht Azobenzol-Photoschalter. a) Photoisomere im trans- und cis-Zustand. b) Elektronendichteverteilung und daraus resultierende Polaritätsunterschiede zwischen den beiden Photo-Isomeren. c) Absorptionsspektren der beiden Spezies, gemessen in Ethanol. Entnommen aus Beharry et al.^[71] 20

Abbildung 16: Mögliche Isomerisationsmechanismen der Photo-Isomerisation von Azobenzol: Torsion, Inversion & Hula-Twist. Durch die photochemische Anregung wird der Doppelbindungscharakter der NN-Doppelbindung geschwächt, wodurch eine Isomerisierung ermöglicht wird. Entnommen aus Chang et al. ^[78]	21
Abbildung 17: Fulgide und vom Fulgid abgeleitete Strukturen. R ₁ bis R ₆ können diverse unterschiedliche alkylische Substituenten sein. Der Name Fulgid leitet sich vom lateinischen Wort „fulgere“ für „glänzend“ ab. Fulgimide sind im Vergleich zu den entsprechenden Fulgiden u.a. stabiler gegenüber Hydrolyse, zeigen jedoch meist ebenfalls eine komplexere Photochemie. Die weiteren ähnliche Strukturen, die hier der Vollständigkeit halber erwähnt werden, werden als Fulgenate und Fulgenolide bezeichnet. Abgeändert aus Yokoyama et al. ^[79]	22
Abbildung 18: Synthese von Fulgiden mittels doppelter Stobbe-Kondensation. Ausgehend von einer Carbonyl-Verbindung im ersten Schritt entsteht das Zwischenprodukt, welches mit einer weiteren Carbonyl-Verbindung und einer anschließenden Umlagerungsreaktion zum finalen Fulgid reagieren kann. Angelehnt aus Yokoyama. ^[79]	23
Abbildung 19: Modell der Photochemischen Reaktionen des Fulgid Photoschalters. Dargestellt sind die verschiedenen Franck-Condon (FC) – Regionen nach der photochemischen Anregung der jeweiligen Isomere und die entscheidenden konischen Durchschneidungen (conical intersections, CoIn) für die jeweiligen Isomerisierungsreaktionen. Die Minima (Min) der Energiehyperfläche in den jeweils angeregten Zuständen sind ebenso wie die energetischen Lagen der jeweiligen Spezies zu erkennen.. Entnommen aus Nenov et al. ^[94]	25
Abbildung 20: Links: Kristallstruktur von GFP aus der Protein Data Bank (4KW4) mit seiner β-Barrel Struktur. ^[105] Zu finden unter (https://www.rcsb.org/structure/4kw4). Rechts: Mechanismus der Bildung des Chromophors. Abgeändert aus Getzoff et al. ^[104]	27
Abbildung 21: A): Abhängigkeit von Größe zu Absorptionswellenlänge von Quantum Dots. B) Abhängigkeit der Zusammensetzung verschiedener Elemente zur Bildung eines Quantum Dots und ihr jeweiliger Emissionsbereich. Rechts Anwendung von Quantenpunkten als FRET Komponente. Entnommen aus ^[109,110]	28
Abbildung 22: Biokonjugationsmethoden. A: NHS-Ester; B: Maleimid Funktionalisierung; C: Hydrazin-Biokonjugation; D: CLICK-Reaktion für Labelling-Reaktionen. F = Fluorophor, POI = Protein of Interest / Protein des Interesses.....	31
Abbildung 23: Native Chemische Ligation (NCL). Oben: Bei einem Protein, welches am N-Terminus einen Cystein-Rest trägt, kann die NCL ohne Auxiliar erfolgen. Hierbei kommt es zunächst zur Thiol-Austausch-Reaktion, auf der dann die Acyl-Migration folgt, bei der die neue Amid-Bindung geknüpft werden kann. Unten: Besitzt das Protein keinen Cystein-Rest am N-Terminus, so kann mit Hilfe von Auxiliaren dennoch die NCL angewendet werden. Hierzu wird am N-Terminus das entsprechende Auxiliar zunächst angebracht. Nun können der Thiol-Austausch und die Acyl-Migration normal ablaufen. Nach erfolgter Ausbildung der neuen Amid-Bindung muss das Auxiliar noch selektiv abgespalten werden. Entnommen aus Koniev et al. ^[121]	32
Abbildung 24: Native chemische Ligation (native chemical ligation, NCL) in Kombination mit einem PCR Zyklus, die die Verknüpfung von, mit Fluorophoren modifizierten, DNA-Strängen ermöglicht. Entnommen aus Roloff et al. ^[130]	33

Abbildung 25: a) Funktionsweise des hAGT Enzyms. b) Übertragung dieser Funktionsweise für die SNAP-TAG Technologie. c) Mögliche Substituenten, die durch die SNAP-TAG Technologie verwendet werden können. Allen gemein ist das Guanosin. Abgeändert aus Keppler et al.^[133] 34

Abbildung 26: Übersicht über die HALO Tag Technologie. Oben: Kristallstruktur 6ZCC entnommen aus der RCSB Proteindatenbank unter <https://www.rcsb.org/structure/6zcc>. Zu erkennen ist die Kristallstruktur der Haloalkan Dehalogenase HOB (HaloTag7-basierte Oligonukleotid Binder) gelabelt mit einem Chlor-Alkan-Tetramethyl-Rhodamin Fluorophor. Der Linker ragt in die Bindetasche des Protein bis hin zum Aktiven Zentrum des Proteins hinein. A) Grundlegende Struktur der Interaktion von HaloTag Ligand und Protein. B) Normaler Mechanismus (inklusive Hydrolyse und Freisetzung des Liganden) und Mechanismus in der Mutante, bei der keine Hydrolyse erfolgt. C) Strukturformeln typischer HaloTag Liganden. Alle haben einen charakteristischen Alkyl-Linker gemeinsam. Abgeändert aus Los et al.^[134] 35

Abbildung 27: „Ultrafast Terrahertz Scanning Tunnelling microscopy“ (THz-STM) Mikroskopie Bilder (links) und mittels DFT vorausgesagte Spektren (rechts). HOMO (f) und LUMO (g) von Pentacen sind ebenfalls dargestellt. Entnommen aus Huber et al.^[135] 37

Abbildung 28: Energiepakete beim Isomerisierungsprozess von Retinal. Nach Anregung mit Licht der Wellenlänge 500 nm kann u.a. eine stimulierte Emission von Licht der Wellenlänge von etwa 800 nm erfolgen. Alternativ kann durch eine konische Durchschneidung (Conical intersection, CI) der Isomerisierungsprozess erfolgen. Ausgehend vom resultierenden All-trans Photoprodukt kann mit speziellen spektroskopischen Methoden eine weitere charakteristische Absorption detektiert werden. Entnommen aus Mathies et al.^[23] 38

Abbildung 29: A) Hybridisierungssonde (Molecular Beacon) mit Fluorophor und Quencher Modifikation. Durch eine Prozessierung eines Dicer Proteins (eine spezielle Art von Endoribonuklease) erfolgt ein Doppelstrangbruch, womit sich nach einer kurzen Diffusionszeit Fluorophor und Quencher nicht mehr in räumlicher Nähe zueinander befinden. Somit kann das Fluoreszenzsignal nun detektiert werden. Dieses Verhalten konnte ebenfalls in Neuronen gezeigt werden (siehe E & F). Entnommen aus Schuman et al.^[137] 39

Abbildung 30: Ausgehend vom ungefalteten DNA-Strang bestehen mehrere Faltungspfade, die zu verschiedenen Konformationen mit unterschiedlicher dreidimensionaler Struktur führen können. Bei einigen dieser Pfade treten metastabile Zwischenkonstrukte auf. Innerhalb dieser Studie wurden einige Konformationen mit Hilfe von Photocages „eingefroren“ und ihr weiterer Faltungsprozess nach Belichtung eingehen mittels NMR-Spektroskopie untersucht. Somit ergibt sich ein klares Bild der diversen Faltungspfade und ihrer Haupt- & Nebenprodukte. Entnommen aus Schwalbe et al.^[138] 40

Abbildung 31: Die in dieser Studie verwendete spezielle Brille. Sie besitzt eine Kamera auf der Vorderseite, die die Umgebung aufnimmt. Dieses Signal wird anschließend in ein binäres, pixelartiges Signal umgewandelt und an den Projektor gesendet. Der Projektor ist direkt vor dem behandelten Auge platziert und projiziert das so erzeugte Bild auf die Netzhaut des Patienten. Entnommen aus Roska et al.^[136] 41

Abbildung 32: VIPER. Links: Ein Beispielhaftes VIPER-Lable mit einer IR-aktiven Nitril-Gruppe ohne und mit der Wechselwirkung in einer Wasserstoff-Brücken-Bindung. Dies hat einen Einfluss auf die Frequenz mit der sich die Nitril-Schwingung im IR anregen lässt bzw. detektiert werden kann. Darunter die Pulssequenz eines typischen VIPER 2D-IR Experiments. Rechts: Ein zwei Dimensionales

Diagramm bei dem die Anreg- und die Abtastwellenzahl gegeneinander aufgetragen sind.
 Entnommen aus Bredenbeck et al.^[115] 43

Abbildung 33: Oben: Retrosynthetische Betrachtung des BODIPY-VIPER Labels. Unten Links: Absorptionsspektrum der finalen Verbindung nach erfolgreicher Synthese in Methanol. Rechts: Zwischenstufen der Synthese mit entsprechender charakteristischer Fluoreszenz. Grüne Fluoreszenz vor Anbringung der Nitril-Gruppe, Orangene Fluoreszenz danach. Die Endverbindung zeigte, gelöst in Methanol, wie erwartet, keine Fluoreszenz mehr auf. 45

Abbildung 34: Übersicht der untersuchten, elektronisch diversifizierten Isatin-Derivate. Neben der Variierung der elektronischen Effekte (grüner Kasten), wurden ebenfalls zwei verschiedene Abgangsgruppen am Grundgerüst synthetisch eingeführt (violetter Kasten). Zwei weitere Strategien waren die Verkürzung des C=O-H-CH₂ – Abstands (orangener Kasten) und die Stabilisierung des potentiell auftretenden Intermediats (blauer Kasten) für eine effizientere Photolyse..... 50

Abbildung 35: a) Gassman-Indol-Synthese. b) Gassman-Isatin-Synthese. Nach der nukleophilen Substitution eines Methyl-Thio-Derivats am aktivierten Anilin, erfolgt der Kernschritt bei beiden Reaktionen: Die [2,3]-sigmatropen Umlagerung, welche mit Hilfe einer Base wie z.B. Triethylamin abläuft. 51

Abbildung 36: Energetische Barrieren einiger ausgewählter Beispiele. Die hohe Barriere im Bereich von 1,4 bis 1,1 Å entspricht dem Übergangszustand von der C-H zur O-H Verbindung. Die schwarze Linie entspricht der Naphtochinon Referenzverbindung. Es ist zu erkennen, dass die initiale Barriere deutlich geringer ist, als bei allen Isatin-Derivaten. Zur Verfügung gestellt durch M. Scheurer. 54

Abbildung 37: Die Fluorenenol-Kation-Idee. Oben: Ausgehend vom meta-Diethylamino-benzyl-Photocages (mDEACb) wurden von M. Reinfelds et al. zunächst Aryl-Substituenten am Chromophor angebracht, um das Absorptionsspektrum bathochrom zu verschieben. Durch eine Einschränkung der Rotationsfreiheitsgrade im System („conformational locking“) gelangte man schließlich zu den Fluorenenol-Grundstrukturen, die eine effiziente Photolyse aufwiesen. Unten: Die Untersuchungen zur Photochemie von Fluorenen-Derivaten. Sie untersuchten verschiedene, strukturell ähnliche Verbindungen und identifizierten jeweils die Photoprodukte der Photolysereaktionen. Nach Auswertung ihrer Ergebnisse kamen sie zu dem Schluss, dass „die treibende Kraft der Photolyse die Bildung eines 4π kationischen Systems im angeregten Zustand sei.“ Die Erkenntnisse aus diesen Studien mündeten in den Überlegungen zu diesem Projekt, in dem neuartige Photocages auf dem Fluorenenol-Grundgerüst untersucht werden sollten. 56

Abbildung 38: Modell der energetischen Zustände, durch die photochemische Anregung inklusive der vertikalen Energiebarriere („Vertical Energie Gap“). Nach Anregung des Fluorenenols (FOH) aus dem elektronischen Grundzustand (S₀) gelangt das System in den S₁ Zustand, aus dem es potentiell über eine konische Durchschneidung (conical intersection, CI) in den elektronischen Grundzustand zurückkehren kann. Sobald es in den S₀ Zustand zurück gelangt, kann es entweder zur Ausgangsverbindung (FOH) über verschiedene Relaxationsprozesse gelangen oder die Photolyse (das „Uncaging“) findet statt. Abgeändert aus Winter et al.^[154] 57

Abbildung 39: Syntheseüberblick der Thiofluorenen-artigen Derivate.^[153] 59

Abbildung 40: a: Berechnungen der vertikalen Anregungsenergien der verschiedenen Grundstrukturen in Wasser. Ausgehend von der Startverbindung Fluorenenol (schwarz) konnten von theoretischer Seite sowohl positive (gelb und rot), als auch negative Einflüsse (violett und blau) durch

die Einführung der Hetero-Atome in das Ringsystem beobachtet werden. b: UV/vis Spektren der verschiedenen Grundverbindungen und der Derivate mit Substituenten an der meso-Position. Hier ist deutlich erkennbar, dass die Derivate 1a bis 1c das bathochrom am stärksten verschobene Absorptionsspektrum aufweisen. Die Aza-Fluorenele zeigten eine Absorption unter 350 nm und waren aufgrund ihrer Reaktionsträgheit, auch synthetisch schwer zu modifizieren. Die meta-Thiofluorenele zeigten die hypsochrom am stärksten verschobene Absorption und die ortho-Verbindung einen extrem kleinen Extinktionskoeffizienten, wodurch sie ebenfalls für weitere Untersuchungen innerhalb dieser Studie nicht weiter in Betracht kamen..... 60

Abbildung 41: Absorptionsänderung während der Photolyse von zwei Thiofluorenele-Derivaten. Oben ortho-Thio-Fluorenele und unten para-Thio-Fluorenele, beide jeweils mit einer Acetyl-Gruppe als Abgangsgruppe. Links sind die entsprechenden Absorptionsspektren vor und nach der Belichtungszeit zu erkennen. Im Falle vom para-Thio-Derivat ist klar zu erkennen, dass das Absorptionsmaximum der Ausgangsverbindung verschwindet und eine neue, blau-verschobene Absorptionsbande bei ca. 310 nm entsteht. Rechts ist die Absorption bei einer Wellenlänge über den zeitlichen Verlauf aufgeführt..... 62

Abbildung 42: Übersicht der Thiofluorenele-Grundstruktur **113a** und allen α -Position-substituierten Thiofluorenele-Derivaten. Die Darstellung dieser Strukturen erfolgt über eine Palladium-katalysierten Suzuki-Kreuzkupplungen mit Arylboranen. Weitere Details sind dem Experimententeil zu entnehmen. Durch die Anbringung von Phenyl-Substituenten an dieser Position kann ein bathochromer Shift der Absorptionswellenlänge erzielt werden. Der Effekt der Substitution von Brom an dieser Stelle sollte innerhalb dieser Studie ebenfalls untersucht werden. Die selektive Bromierung an der α -Position zum Schwefel-Atom kann mit Hilfe von N-Bromsuccinimid (NBS) erfolgen. Weitere Informationen sind dem Experimententeil zu entnehmen..... 64

Abbildung 43: Absorptionsänderung während der Photolyse von zwei bathochrom verschobenen Thiofluorenele-Derivaten. Oben Bis-para-methoxyphenyl-para-Thio-Fluorenele und unten Bis-para-nitrophenyl-para-Thio-Fluorenele, beide jeweils mit einer Acetyl-Gruppe als Abgangsgruppe. Links sind die entsprechenden Absorptionsspektren vor und nach der Belichtungszeit zu erkennen. Im Falle vom Bis-Methoxyphenyl-Derivat ist klar zu erkennen, dass das Absorptionsmaximum der Ausgangsverbindung verschwindet und eine neue, blau-verschobene Absorptionsbande bei ca. 350 nm entsteht. Rechts ist die Absorption bei einer Wellenlänge über den zeitlichen Verlauf aufgeführt. Hierbei ist oben nach etwa 30 Sekunden (Zeitpunkt des Beginns der Photolyse) eine Abnahme der Absorption bei 405 nm zu erkennen. Unten bleibt die Absorption nahezu konstant. .. 66

Abbildung 44: Absorptionsspektren der bathochrom verschobenen Derivate. Als Vergleich ist die Grundverbindung 1a (rote Linie) ebenfalls mit aufgeführt. Es ist zu erkennen, dass selbst eine zweifache Bromierung bereits zu einer Verschiebung des Absorptionsmaximums führt. Den höchsten Extinktionskoeffizienten (dunkelblaue Linie) weist das asymmetrisch substituierte Derivat auf, welches auf der einen Seite einen Brom-Substituenten und auf der anderen Seite eine para-Methoxyphenyl Gruppe trägt. Das Derivat mit der höchsten Absorptionswellenlänge (violette Linie) absorbiert zwar bis über 500 nm, zeigte jedoch keine Photolyseaktivität. In Kombination aus Photolyse und Absorptionsbereich stellt das Bis-para-Methoxyphenyl substituierte Derivat die beste Verbindung dieser Studie dar..... 67

Abbildung 45: Abnahme des Startmaterials (Vierecke) und Zunahme des freien Serotonins (Kreise) durch Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 365 nm. Bestimmt über HPLC mit Hilfe des internen Standards Uridin. Die Fehlerbalken resultieren aus drei voneinander unabhängigen Messreihen. 68

- Abbildung 46:** Absorptionsspektren der verschiedenen Fluoren-Derivate vor (durchgezogene Linien) und nach (gepunktete Linien) Bestrahlung mit 365 nm. In allen Fällen ist ein hypochromer Shift der Absorption zu beobachten. In allen Fällen kommt es zur Ausbildung einer neuen bzw. intensiveren Absorptionsbande bei ca. 300 nm. (zur Verfügung gestellt durch C. Abdellaoui AK Wachtveitl) 69
- Abbildung 47:** Differenzspektren der verschiedenen Derivate. Zu erkennen ist, dass bei den drei Spezies 1a, P7a und 10 unter anderem ein ähnliches Photolyseprodukt mit einer Absorption im Bereich von 290 nm entsteht. Dies lässt Rückschlüsse auf ein ähnliches Photolyseverhalten und somit auch auf ähnliche Photoprodukte zu, die im Rahmen dieser Studie jedoch nicht weiter analysiert wurden. (zur Verfügung gestellt durch C. Abdellaoui vom AK Wachtveitl) 69
- Abbildung 48:** Photolyseverhalten von literaturbekannten Fluorenol-Derivaten. Es sind sowohl Studien bekannt, in denen ein, durch homolytische Bindungspaarspaltung, radikalisches Verhalten beobachtet werden konnte, als auch ein, durch heterolytische Bindungspaarspaltung, ionisches Verhalten der Photoprodukte beobachtet werden konnte. Angelehnt an Gaillard et al.^[149] 70
- Abbildung 49:** Modell der Photolyse inklusive der analysierten Photoprodukte. Nach photochemischer Anregung ist das Fluoren Molekül dazu in der Lage eine Abgangsgruppe (Leaving Group, LG) in protischen Lösungsmitteln an der meso-Position durch heterolytische Bindungspaarspaltung abzuspalten. Das entstehende, sehr langlebige Kation kann entweder zu verschiedenen stabilen Photoprodukten abreagieren oder mit einem Solvens-Molekül eine neue Verbindung bilden. Dieser Prozess kann jedoch durch Photolyse rückgängig gemacht werden. 71
- Abbildung 50:** Absorptionsverhalten des zweifach substituierten DDMA-Fluorenols in methanolischer Lösung. Ausgehend vom ursprünglichen Absorptionsspektrum (blau) zeigt die untersuchte Verbindung bereits nach einer Minute Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 365 nm ein höchst interessantes Verhalten auf. Zu erkennen ist die Ausbildung neuer Absorptionsbanden sowohl im Bereich von ca. 420 nm, als auch im Bereich zwischen 700-1000 nm. Hervorzuheben ist hierbei die besondere Feinstruktur der Absorptionsbanden, die eventuell auf die Schwingungsfeinstruktur zurückzuführen sind. Selbst nach über 30 Minuten Bestrahlung sind diese Absorptionsbanden noch zu erkennen. Dieses Verhalten konnte unabhängig voneinander sowohl in Ethanol, in Methanol und in Wasser beobachtet werden, was für eine besondere Stabilisierung dieses Intermediats in polaren, protischen Lösungsmitteln spricht. 72
- Abbildung 51:** IR-Differenz-Spektren der untersuchten Verbindungen nach 3,5 Minuten und vier Stunden Bestrahlung bei 300 nm. DMA = Dimethylamino-, F = Fluoren, OAc = Acetyl-Abgangsgruppe, OGlu = Glutamat-Abgangsgruppe. 73
- Abbildung 52:** Transiente UV/vis Absorptionsspektren und entsprechende Zerfallsspektren von (DMA)₂F-OH (a) und (DMA)F-OH (b) in Methanol. Bestrahlt mit Licht der Wellenlänge 315 nm und 90 nJ Intensität. 74
- Abbildung 53:** Oben: pH-Sprung vom symmetrischen (DMA)₂-Fluorenol durch Belichtung bei 365 nm (grauer Bereich) in Methanol. Unter Lichtausschluss verändert sich der pH-Wert der Lösung entsprechend der hellblauen Kurve. Durch eine weitere Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 455 nm (schwarze Linie) ist es möglich den ursprünglichen pH-Wert um ein Vielfaches schneller zu regenerieren. Dies stellt eine interessante Besonderheit dar. Unten: Wiederholte Belichtung der symmetrischen Verbindung, nach jeweiliger Einstellung des nahezu ursprünglichen pH-Wertes. Auch

nach bereits dreimaliger Belichtung ist es möglich die pH-Wert-Änderung durch Belichtung bei 455 nm zeitreduziert wieder herzustellen. 76

Abbildung 54: Vom Coumarin-Photocage bzw. ATTO-Fluorophor abgeleitete, neuartige Photocages mit unterschiedlicher Donor-Akzeptor-Fähigkeit in polaren, protischen Lösungsmitteln. Die Doppelbindung im linken Ring, sowie der Substitutionsgrad des im Ring befindlichen Amins stellen die beiden Modifikationen dieser Derivate dar. 77

Abbildung 55: 3D-Struktur zweier Derivate mit Hydroxyl-Gruppe als Abgangsgruppe (LG). Zu erkennen ist die deutlich ausgeprägte Planarität des Derivats mit zusätzlicher Doppelbindung im Vergleich zum Derivat ohne Doppelbindung. 78

Abbildung 56: Absorptions- und Fluoreszenzspektren der einzelnen Derivate. Durch die unterschiedliche Substitution ist eine Verschiebung der Absorptionsmaxima zu erkennen. Ebenfalls wirkt sie sich auf die Extinktionskoeffizienten aus. Die bathochrom am stärksten verschobene Absorption weist das Derivat mit Doppelbindung sowie Ethyl-Substituenten am Amin auf. Hierbei ist ebenfalls sowohl die Fluoreszenzintensität am stärksten, als auch bathochrom am stärksten verschobene. Das DEACM zeigt im Vergleich dazu nur eine sehr geringe Fluoreszenz. Abgeändert aus Klimek, Asido, Hermanns et al.^[169] 79

Abbildung 57: Derivatisierte ATTO-Coumarin-Photocages mit dem Neurotransmitter Serotonin als biologisch relevante Abgangsgruppe. 80

Abbildung 58: Exemplarische Photolysekurve von Verbindung **140** in einer Methanol-PBS-Puffer 1:1 Mischung bei 405 nm. Das Photolyseprodukt **136** wurde mittels Massenspektrometrie nachgewiesen. Entnommen aus Klimek, Asido, Hermanns et al.^[169] 82

Abbildung 59: Lebensdaueranalyse der Verbindungen **135** (a) und **139** (b). Die Messung erfolgte in Methanol. Zu erkennen ist, dass der ES-Zerfall (angedeutet durch die getrichelte Linie) schneller bei Verbindung **139** erfolgt. Die photochemischen Prozesse auf Femtosekunden und Picosekundenzeitskala sind dabei jedoch nahezu identisch. c) zeigt die TCSPC Messungen aller acht Verbindungen. Hier ist der Unterschied zwischen den Verbindungen mit und ohne Serotonin-Abgangsgruppe klar erkennbar. 83

Abbildung 60: Gesamtübersicht über die photochemisch relevanten Zustände. Vom Grundzustand (S_0) gelangt das Molekül durch Anregung in den S_1 oder S_N . Aus diesen angeregten Zuständen ist, je nach energetischer Lage, ein Übergang zu einem der Charge-Transfer (CT) Zustand mit sehr hohem Übergangsdipolmoment möglich. Die energetische Lage der CT-Zustände sind unter anderem stark durch das umgebene Lösungsmittel beeinflusst. Aus diesen ist wiederum ein Inter-System-Crossing (ISC) in einen Triplet-Zustand (T_1 für den 1. Angeregten Triplet-Zustand hier beispielhaft erwähnt) möglich. Alternativ kann aus dem CT-Zustand ein Übergang in einen Zustand erfolgen, der den photochemischen Prozess weiter voran bringt..... 84

Abbildung 61: Bestehende Uncaging-Konzepte und Fokus meiner Doktorarbeit. a) Klassisches Uncaging von Nitro-basierenden photolabilen Schutzgruppen, welches über die photoinduzierte Bildung einer Aci-Nitro-Verbindung und des daraus resultierenden Benzisoxazol (Mitte) verläuft. Als Photoprodukte entsteht vor allem der entsprechende Aldehyd. b) Chromophor-basiertes uncaging, bei der nach photochemischer Anregung eine Umverteilung der Elektronendichte geschieht. Dabei kommt es zu einer Erhöhung der Elektronendichte an dem der Abgangsgruppe benachbarten Kohlenstoffatom in das entsprechende antibindende Molekülorbital (Mitte), wodurch die Bindung

zwischen diesem Atom und der Abgangsgruppe (Leaving Group, LG) geschwächt wird und die Abspaltung meist mit Hilfe eines Solvensmolekül erfolgen kann. 85

Abbildung 62: Absorptionsspektren mit entsprechendem Extinktionskoeffizienten der drei Photoisomere des Fulgid-Photoschalters. Die gepunktete Linie mit einem Maximum bei ca. 425 nm entspricht dem offenen, zyklisierbaren Z-Isomer, die gestrichelte Linie mit einem Maximum bei ca. 450 nm entspricht dem offenen, nicht-zyklisierbaren E-Isomer und die durchgezogene Linie entspricht dem geschlossenen C-Isomer. Hier ist die Separierbarkeit der Photoisomere nahezu ideal, da die jeweiligen Maxima (offenes, zyklisierbares Z-Isomer und geschlossenes C-Isomer) dort liegen, wo die jeweils andere Spezies nahezu nicht absorbiert. 87

Abbildung 63: Illustration der Woodward-Hoffmann-Regeln. Die Auswahlregeln hängen davon ab, ob es sich um eine gerade oder ungerade Anzahl an konjugierten π -Bindungen handelt und ob es sich um eine thermische oder eine photochemische Reaktion handelt. $4n-\pi$ -Elektronen-Systeme können thermisch z.B. nur conrotatorisch und nicht disrotatorisch ablaufen. Das hat eine entscheidende Auswirkung auf die entsprechenden Reaktionsprodukte solcher Zyklisierungen.^{[80][81][174] [175] [176]}..... 89

Abbildung 64: Links: Z-Isomer gelöst in Toluol. Mitte: Absorptionsbereich der verschiedenen Fulgid-Photoisomere inklusive der Wellenlängen, für die es als chemisches Aktinometer geeignet ist. Rechts: C-Isomer gelöst in Toluol..... 91

Abbildung 65: Vorgehensweise der Bestimmung der Reinspektren. Bestrahlungsabfolge und Analyse der entsprechenden UV/vis-Absorptionsspektren und NMR-Spektren für die Verhältnisse der Isomere in den jeweiligen Mischungen. Aus drei der erhaltenen Spektren und Verhältnisse konnten abschließend mittels Linearkombination die Reinspektren der einzelnen Isomere bestimmt werden. 92

Abbildung 66: Zuordnung der jeweiligen Methyl-Protonen der drei verschiedenen Photo-Isomere. C für das geschlossene Isomer, Z für das zyklisierbare Isomer und E für das nicht zyklisierbare Fulgid-Isomer. In der hier vorliegenden Mischung lag ein Großteil als Z-Isomer vor..... 93

Abbildung 67: UV/vis Absorptionsspektren der verschiedenen Isomeren-Gemische. Rot: C-Isomer akkumuliertes Spektrum, Gelb: Z-Isomer akkumuliertes Spektrum und Blau: E-Isomer akkumuliertes Spektrum. 93

Abbildung 68: Reinspektren der drei verschiedenen Photo-Isomere. Violett: C-Isomer, Magenta: E-Isomer, Cyan: Z-Isomer. 94

Abbildung 69: Isomerisierungs-Quantenausbeuten für den jeweiligen Schaltprozess vom Z- zum C-Photo-Isomer (oben) und vice versa (unten). Zu erkennen ist, dass die Werte innerhalb einer Absorptionsbande im Rahmen des Fehlerbereichs nahezu identisch sind..... 95

Abbildung 70: Mögliche Atropisomere des Z-Photoisomers des Trifluor-Indol-Fulgids. Bei der linken Struktur befindet sich der Bernsteinsäure-Anhydrid-Teil oberhalb des Indol-Teils. Hier ist bereits zu erahnen, dass die Carbonyl-Funktion des Bernsteinsäure-Anhydrids mit der Methyl-Gruppe des Indol-Teils sterisch in Wechselwirkung tritt. In der rechten Struktur befindet sich der Bernsteinsäure-Anhydrid-Teil unterhalb des Indols. Bei dieser Struktur ist die Stelle an der sich die drei erkennbaren Methyl-Gruppen befinden sterisch überladen. (Erstellt mit Discovery Studio Visualizer v4.1.0.14169 von Accelrys Software Inc.) 96

Abbildung 71: Die genauere Betrachtung der Fulgid-Photo-Isomere zeigt verschiedene Atropisomere auf, die in ihrer Rotation um die angedeutete Einfachbindung eingeschränkt sind.	97
Abbildung 72: Aliphatischer Bereich der ¹ H NMR-Spektren der drei verschiedenen Photo-Isomere. Oben: Z-Isomer, Mitte: C-Isomer, unten eine Mischung aus Z- & E-Isomer. Benzylische Ringe nur schematisch dargestellt.....	97
Abbildung 73: HPLC-Chromatogramme der einzelnen akkumulierten Photo-Isomere und deren jeweilige UV/vis Absorptionspektren als Inset. Oben: C-Isomer akkumulierte Probe. Mitte: akkumulierte E-Isomer-Atropisomere. Unten: akkumulierte Z-Isomer-Atropisomere mit geringer Menge an E-Isomeren. Verwendet wurde ein chirales Säulenmaterial (Daicel Chiralpak), um die verschiedenen Isomere voneinander zu separieren.	98
Abbildung 74: Experimentell bestimmte CD-Spektren der einzelnen, voneinander separierten Atropisomere mit entsprechender Farbe der Toluol-Lösung.	99
Abbildung 75: Berechnete CD-Spektren aller sechs Isomere. Die qualitative Übereinstimmung mit den experimentellen Daten ist sehr gut. Die Absorptionsbanden unter 300 nm konnten aufgrund apparativer Einschränkungen des verwendeten CD-Spektrometers nicht experimentell ermittelt werden. Auch hier zeigt sich, dass selbst die beiden C-Isomere unterschiedliche CD-Spektren aufweisen. Erstaunlich ist vor allem der ungewöhnliche Vorzeichenwechsel zwischen dem Maximum bei ca. 300 nm und dem Maximum bei ca. 450 nm. Datei freundlicherweise zur Verfügung gestellt von M. Scheurer.	100
Abbildung 76: Übersicht aller Atropisomere der verschiedenen Photo-Isomere des Fulgid-Photoschalters. Photochemische und thermische Prozesse der verschiedenen Photo- & Atropisomere dieses speziellen Fulgid-Photoschalters. Die thermischen Raten zwischen den Photoisomere	100
Abbildung 77: M- & P-Atropisomer des Z-Photo-Isomers. Links befindet sich die Isopropyliden-Gruppe unter, rechts über dem Indol-Ring. Die Isomerisierung ist auf der einen Seite durch die Methyl-Gruppe am Indol-Teil und auf der anderen Seite durch den Benzyl-Ring des Indols stark eingeschränkt. Daraus resultiert eine unterschiedliche dreidimensionale Struktur, wodurch die unterschiedliche Interaktion mit zirkular polarisiertem Licht erklärt werden kann. Das jeweilige Isomer reagiert spezifisch zu einem der beiden C-Isomere (R oder S). Es findet während des Schaltprozesses nur eine sehr geringe Isomerisierung statt, die vermutlich mit einer thermischen Isomerisierung zu erklären ist.	101
Abbildung 78: 3D-Struktur des Z-Isomers und Veranschaulichung der Drehachse (in Gelb markiert), die bei den dargestellten Untersuchungen die Hauptrolle spielt.	101
Abbildung 79: Thermische Racemisierung ermittelt über das CD-Signal der einzelnen Spezies. Die Signale der entsprechenden Spektren wurden jeweils integriert und das Verhältnis der Flächeninhalte gegeneinander aufgetragen. Oben ist zu erkennen, dass die beiden Atropisomere des E-Photoisomer thermisch relativ stabil sind. Dies zeigt sich an dem nahezu gleichbleibenden CD-Signal bei 50 °C. Unten sind die beiden Atropisomere des Z-Photoisomers aufgetragen. Hier zeigt sich bei 50 °C bereits eine deutlich stärkere, zeitliche Veränderung. Die Abnahme des jeweiligen Isomers und die damit Verbundene thermische Racemisierung sind deutlich stärker ausgeprägt, was für eine geringere Energiebarriere spricht ($E_1=E_P$, $E_2=E_M$, $Z_1=Z_P$, $Z_2=Z_M$).	102

Abbildung 80: Energiebarrieren der Rotation um die zentrale Einfachbindung beim E- und Z-Photoisomer. Die Diederwinkel (markiert durch die 4 orangenen Kugeln) entsprechen für das E-Isomer $\phi = -165^\circ$ und für das Z-Isomer $\phi = 120^\circ$. Durch die ermittelten Energiebarrieren von ca. 14,5 kcal/mol für das E-Isomer und ca. 13,9 kcal/mol für das Z-Isomer, kann die unterschiedliche thermische Isomerisierung erklärt werden. Die zusätzlichen Nebenmaxima bei ca. -90° und bei ca. 90° im Falle des Z-Isomers entsprechen der Methylgruppen-Interaktion (Indol-Methyl-Gruppe und Isopropyliden-Gruppe), die sich sterisch beim Rotationsprozess annähern. 103

Abbildung 81: CD-Signale der Z-Atropisomere a) Z_P und b) Z_M während mehrerer Schaltzyklen gemessen in Toluol bei 25°C . Die Schaltung zwischen den Z- und C-Isomeren erfolgte bei 430 nm und 550 nm. Zu erkennen ist, dass der Atropisomeren-Überschuss und somit die räumliche Information auch nach über 10 Schaltzyklen erhalten bleibt. Die Spektren der einzelnen Schaltschritte sind dem Manuskript sowie der SI von Hermanns et al., ChemPhotoChem **2022**, e202200057; <https://doi.org/10.1002/cptc.20220005> zu entnehmen. 104

Abbildung 82: Vorstellung des Schaltverhaltens und der damit verbundenen Destabilisierung des Purin-Azobenzol-Photoschalters im DNA-Duplex. Die Wasserstoff-Brücken-Interaktion zwischen der endo- und der exo-Konformation sollten eine Auswirkung auf die Schmelztemperatur des Konstruktes haben. Entnommen aus Grebenovsky, Hermanns et al.^[110] 106

Abbildung 83: Photofatigue (Schaltermüdigungs-) Messung des dA_{Azo} Purin-desoxyribose Konstrukts mit einer $100\ \mu\text{M}$ Konzentration in einfachem PBS Puffer. Es konnte keine signifikante Schaltermüdigung über 100 Schaltzyklen beobachtet werden. Diese Daten wurden gemeinsam mit Dr. N. Grebenovsky ermittelt und ausgewertet und sind entnommen aus Grebenovsky, Hermanns et al.^[119] 107

Abbildung 84: Fluorescein am 3'-Ende als Fluorophor und 4-((4-(Dimethylamino)phenyl)azo)benzoic acid (auch bekannt als Dabcyl) als vom Azobenzol abgeleiteter Quencher. Durch diese beiden Modifikationen war es uns möglich neben der Absorption auch die Fluoreszenz als zusätzlichen „Readout“ der Duplexstabilität zu nutzen. Schematische Darstellung abgeändert aus^[119] 108

Abbildung 85: Darstellung der verschiedenen Konstrukte, hergestellt durch N. Grebenovsky und der Effekt der Schmelzpunktveränderung der Duplex-Konstrukte in den jeweiligen photostationären Zuständen. Entnommen aus^[110] 109

Abbildung 86: Photochemischer, molekularer Werkzeugkasten mit neuen molekularen, photochemischen Werkzeugen..... 111

6.3 Literaturverzeichnis

- [1] Edward V. Appleton, *Nature* **1945**, 156, 534.
- [2] A. H. Taylor, G. P. Kerr, *J. Opt. Soc. Am.* **1941**, 31, 3.
- [3] M. Y. Berezin, S. Achilefu, *Chemical reviews* **2010**, 110, 2641.
- [4] A. A. Lacis, J. E. Hansen, *Journal of the Atmospheric Sciences* **1974**, 118.
- [5] E. Pettit, *J. Hynek, Ed. New York, McGraw-Hill* **1951**, 703 pp.
- [6] P. A. Armond, L. A. Staehelin, and C. J. Arntzen, *The Journal of Cell Biology* **1977**, 73.
- [7] V. U. Chukhutsina, X. Liu, P. Xu, R. Croce, *Nature plants* **2020**, 6, 860.
- [8] V. P. Pandiyan, A. Maloney-Bertelli, J. A. Kuchenbecker, K. C. Boyle, T. Ling, Z. C. Chen, B. H. Park, A. Roorda, D. Palanker, R. Sabesan, *Science advances* **2020**, 6.
- [9] J. L. Spudich, C.-S. Yang, K.-H. Jung, E. N. Spudich, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **2000**, 365.
- [10] N. Ankenbruck, T. Courtney, Y. Naro, A. Deiters, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2018**, 57, 2768.
- [11] H. Yu, J. Li, D. Wu, Z. Qiu, Y. Zhang, *Chemical Society reviews* **2010**, 39, 464.
- [12] R. Weinstain, T. Slanina, D. Kand, P. Klán, *Chemical reviews* **2020**, 120, 13135.
- [13] C. Brieke, F. Rohrbach, A. Gottschalk, G. Mayer, A. Heckel, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2012**, 51, 8446.
- [14] P. Klán, T. Šolomek, C. G. Bochet, A. Blanc, R. Givens, M. Rubina, V. Popik, A. Kostikov, J. Wirz, *Chemical reviews* **2013**, 113, 119.
- [15] M. Kathan, S. Hecht, *Chemical Society reviews* **2017**, 46, 5536.
- [16] W. Szymański, J. M. Beierle, H. A. V. Kistemaker, W. A. Velema, B. L. Feringa, *Chemical reviews* **2013**, 113, 6114.
- [17] A. E. Mangubat-Medina, Z. T. Ball, *Chemical Society reviews* **2021**, 50, 10403.
- [18] T. Lucas, F. Schäfer, P. Müller, S. A. Eming, A. Heckel, S. Dimmeler, *Nature communications* **2017**, 8, 15162.
- [19] J. Shao, M. Wang, G. Yu, S. Zhu, Y. Yu, B. C. Heng, J. Wu, H. Ye, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2018**, 115, E6722-E6730.
- [20] S. Chen, A. Z. Weitemier, X. Zeng, L. He, X. Wang, Y. Tao, A. J. Y. Huang, Y. Hashimoto-dani, M. Kano, H. Iwasaki et al., *Science (New York, N.Y.)* **2018**, 359, 679.
- [21] J. R. Hemmer, S. O. Poelma, N. Treat, Z. A. Page, N. D. Dolinski, Y. J. Diaz, W. Tomlinson, K. D. Clark, J. P. Hooper, C. Hawker et al., *Journal of the American Chemical Society* **2016**, 138, 13960.
- [22] D. Maurel, S. Banala, T. Laroche, K. Johnsson, *ACS chemical biology* **2010**, 5, 507.
- [23] D. Polli, P. Altoè, O. Weingart, K. M. Spillane, C. Manzoni, D. Brida, G. Tomasello, G. Orlandi, P. Kukura, R. A. Mathies et al., *Nature* **2010**, 467, 440.
- [24] David F. O'Brian, *Science* **1982**, 218, 961.
- [25] H. Gaffron and E. W. Fager, *Annu. Rev. Plant Physiol.* **1951**, 87.
- [26] I. Tochitsky, M. A. Kienzler, E. Isacoff, R. H. Kramer, *Chemical reviews* **2018**, 118, 10748.
- [27] R. H. Kramer, J. J. Chambers, D. Trauner, *Nature chemical biology* **2005**, 1, 360.
- [28] H. E. Bonfield, T. Knauber, F. Lévesque, E. G. Moschetta, F. Susanne, L. J. Edwards, *Nature communications* **2020**, 11, 804.
- [29] Fernando Bernardi and Massimo Olivucci, *Chemical Society reviews* **1996**, 321.
- [30] B. G. Levine, T. J. Martínez, *Annual review of physical chemistry* **2007**, 58, 613.
- [31] O. Demeter, A. Kormos, C. Koehler, G. Mező, K. Németh, E. Kozma, L. B. Takács, E. A. Lemke, P. Kele, *Bioconjugate chemistry* **2017**, 28, 1552.
- [32] F. de Moliner, N. Kielland, R. Lavilla, M. Vendrell, *Angew. Chem.* **2017**, 129, 3812.
- [33] H. M. Müller-Werkmeister, J. Bredenbeck, *Physical chemistry chemical physics : PCCP* **2014**, 16, 3261.

- [34] T. Baumann, M. Hauf, F. Schildhauer, K. B. Eberl, P. M. Durkin, E. Deniz, J. G. Löffler, C. G. Acevedo-Rocha, J. Jaric, B. M. Martins et al., *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2019**, *58*, 2899.
- [35] J. von Cosel, J. Cerezo, D. Kern-Michler, C. Neumann, L. J. G. W. van Wilderen, J. Bredenbeck, F. Santoro, I. Burghardt, *The Journal of Chemical Physics* **2017**, *147*, 164116.
- [36] D. Kern-Michler, C. Neumann, N. Mielke, L. J. G. W. van Wilderen, M. Reinfelds, J. von Cosel, F. Santoro, A. Heckel, I. Burghardt, J. Bredenbeck, *Journal of the American Chemical Society* **2018**, *140*, 926.
- [37] J. Engels, E.-J. Schlaeger, *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 7, 907-911.
- [38] J. H. Kaplan, B. Forbush III, J. F. Hoffman, *Biochemistry* **1978**, *17*, 1929 – 1935.
- [39] H.-M. Lee, D. R. Larson, D. S. Lawrence, *ACS chemical biology* **2009**, *4*, 409.
- [40] B. H. Winters, H. I. Mandelberg, W. B. Mohr, *Appl. Phys. Lett.* **1974**, *25*, 723.
- [41] E. M. Sánchez-Carnerero, M. Russo, A. Jakob, L. Muchová, L. Vitek, P. Klán, *Chemistry* **2021**, *3*, 238.
- [42] P. Shrestha, K. C. Dissanayake, E. J. Gehrman, C. S. Wijesooriya, A. Mukhopadhyay, E. A. Smith, A. H. Winter, *Journal of the American Chemical Society* **2020**, *142*, 15505.
- [43] Y. Becker, E. Unger, M. A. H. Fichte, D. A. Gacek, A. Dreuw, J. Wachtveitl, P. J. Walla, A. Heckel, *Chemical science* **2018**, *9*, 2797.
- [44] M. Reinfelds, J. von Cosel, K. Falahati, C. Hamerla, T. Slanina, I. Burghardt, A. Heckel, *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **2018**, *24*, 13026.
- [45] S. Jia, E. M. Sletten, *ACS chemical biology* **2021**.
- [46] A. P. Gorka, R. R. Nani, J. Zhu, S. Mackem, M. J. Schnermann, *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136*, 14153.
- [47] N. Kahkeshani, B. Farahanikia, P. Mahdavian, A. Abdolghaffari, Gh. Hassanzadeh, M. Abdollahi and M. Khanavi, *Research in Pharmaceutical Sciences* **2013**, 197.
- [48] G. Jones II, W. R. Jackson, C. Y. Choi and W. R. Bergmark, *J. Phys. Chem.* **1985**, 294.
- [49] D. Cao, Z. Liu, P. Verwilt, S. Koo, P. Jangjili, J. S. Kim, W. Lin, *Chemical reviews* **2019**, *119*, 10403.
- [50] S. Tyndall, K. F. Wong, M. A. VanAlstine-Parris, *The Journal of organic chemistry* **2015**, *80*, 8951.
- [51] Zbigniew R. Grabowski and Jacek Dobkowski, *Pure & Appl. Chem.* **1983**, *55*, 245.
- [52] S. Sasaki, G. P. C. Drummen, G. Konishi, *J. Mater. Chem. C* **2016**, *4*, 2731.
- [53] C. Wang, Q. Qiao, W. Chi, J. Chen, W. Liu, D. Tan, S. McKechnie, Da Lyu, X.-F. Jiang, W. Zhou et al., *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2020**, *59*, 10160.
- [54] G. Bassolino, C. Nançoz, Z. Thiel, E. Bois, E. Vauthey, P. Rivera-Fuentes, *Chemical science* **2018**, *9*, 387.
- [55] S. S. Matikonda, J. Ivanic, M. Gomez, G. Hammersley, M. J. Schnermann, *Chemical science* **2020**, *11*, 7302.
- [56] M. T. Richers, D. Du Tran, J. Wachtveitl, G. C. R. Ellis-Davies, *Chemical communications (Cambridge, England)* **2018**, *54*, 4983.
- [57] T. Furuta, S. S. Wang, J. L. Dantzker, T. M. Dore, W. J. Bybee, E. M. Callaway, W. Denk, R. Y. Tsien, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1999**, *96*, 1193.
- [58] K. D. Belfield, M. V. Bondar, Y. Liu, O. V. Przhonska, *J. Phys. Org. Chem.* **2003**, *16*, 69.
- [59] H. Takano, T. Narumi, W. Nomura, T. Furuta, H. Tamamura, *Organic letters* **2015**, *17*, 5372.
- [60] L. Fournier, I. Aujard, T. Le Saux, S. Maurin, S. Beaupierre, J.-B. Baudin, L. Jullien, *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **2013**, *19*, 17494.
- [61] L. Josa-Culleré, A. Llebaria, *ChemPhotoChem* **2021**, *5*, 296.
- [62] M. Bojtár, K. Németh, F. Domahidy, G. Knorr, A. Verkman, M. Kállay, P. Kele, *Journal of the American Chemical Society* **2020**, *142*, 15164.

- [63] C. Hamerla, C. Neumann, K. Falahati, J. von Cosel, L. J. G. W. van Wilderen, M. S. Niraghatam, D. Kern-Michler, N. Mielke, M. Reinfelds, A. Rodrigues-Correia et al., *Physical chemistry chemical physics : PCCP* **2020**, *22*, 13418.
- [64] K. Tram, H. Yan, H. A. Jenkins, S. Vassiliev, D. Bruce, *Dyes and Pigments* **2009**, *82*, 392.
- [65] A. Turksoy, D. Yildiz, E. U. Akkaya, *Coordination Chemistry Reviews* **2019**, *379*, 47.
- [66] T. Slanina, P. Shrestha, E. Palao, D. Kand, J. A. Peterson, A. S. Dutton, N. Rubinstein, R. Weinstain, A. H. Winter, P. Klán, *Journal of the American Chemical Society* **2017**, *139*, 15168.
- [67] A. Prlj, A. Fabrizio, C. Corminboeuf, *Physical chemistry chemical physics : PCCP* **2016**, *18*, 32668.
- [68] X. Liu, W. Chi, Q. Qiao, S. V. Kokate, E. P. Cabrera, Z. Xu, X. Liu, Y.-T. Chang, *ACS sensors* **2020**, *5*, 731.
- [69] M. H. Davey, V. Y. Lee, R. D. Miller, T. J. Marks, *The Journal of organic chemistry* **1999**, *64*, 4976.
- [70] E. Merino, *Chemical Society reviews* **2011**, *40*, 3835.
- [71] A. A. Beharry, G. A. Woolley, *Chemical Society reviews* **2011**, *40*, 4422.
- [72] P. Mondal, G. Granucci, D. Raststädter, M. Persico and I. Burghardt, *Chem. Sci.*, **2018**, *9*, 4671-4681.
- [73] J. Henzl, M. Mehlhorn, H. Gawronski, K.-H. Rieder, K. Morgenstern, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2006**, *45*, 603.
- [74] T. Pancur, F. Renth, F. Temps, B. Harbaum, A. Krüger, R. Herges, C. Näther, *Physical chemistry chemical physics : PCCP* **2005**, *7*, 1985.
- [75] C.-W. Chang, Y.-C. Lu, T.-T. Wang, E. W.-G. Diau, *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 10109.
- [76] H. Asanuma, H. Kashida, Y. Kamiya, *Chemical record (New York, N.Y.)* **2014**, *14*, 1055.
- [77] H. Asanuma, T. Takarada, T. Yoshida, D. Tamaru, X. Liang, M. Komiyama, *Angew. Chem.* **2001**, *113*, 2743.
- [78] H. M. D. Bandara, S. C. Burdette, *Chemical Society reviews* **2012**, *41*, 1809.
- [79] Y. Yokoyama, *Chemical reviews* **2000**, *100*, 1717.
- [80] R. B. Woodward, R. Hoffmann **1968**, 17.
- [81] R. B. Woodward, R. Hoffmann, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **1969**, *8*, 781.
- [82] R. S. Cahn and C. K. Ingold, *J. Chem. Soc.* **1951**, 612.
- [83] R. S. Cahn, C. K. Ingold, V. Prelog, *Experientia* **1956**, *12*, 81.
- [84] Hans Stobbe, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1893**, 2312.
- [85] Yasushi Yokoyama and Kazuyuki Takahashi, *Chemistry Letters* **1996**, 1037.
- [86] T. Brust, S. Draxler, S. Malkmus, C. Schulz, M. Zastrow, K. Rück-Braun, W. Zinth, M. Braun, *Journal of Molecular Liquids* **2008**, *141*, 137.
- [87] S. Draxler, T. Brust, S. Malkmus, J. A. DiGirolamo, W. J. Lees, W. Zinth, M. Braun, *Physical chemistry chemical physics : PCCP* **2009**, *11*, 5019.
- [88] Y. Kurosaki, T. Sagisaka, T. Matsushima, T. Ubukata, Y. Yokoyama, *Chemphyschem : a European journal of chemical physics and physical chemistry* **2020**, *21*, 1375.
- [89] T. Brust, S. Malkmus, S. Draxler, S. A. Ahmed, K. Rück-Braun, W. Zinth, M. Braun, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2009**, *207*, 209.
- [90] T. Brust, S. Draxler, A. Popp, X. Chen, W. J. Lees, W. Zinth, M. Braun, *Chemical physics letters* **2009**, *477*, 298.
- [91] a) T. Cordes, S. Malkmus, J. A. DiGirolamo, W. J. Lees, A. Nenov, R. de Vivie-Riedle, M. Braun, W. Zinth, *The journal of physical chemistry. A* **2008**, *112*, 13364; b) S. Malkmus, F. O. Koller, S. Draxler, T. E. Schrader, W. J. Schreier, T. Brust, J. A. DiGirolamo, W. J. Lees, W. Zinth, M. Braun, *Adv. Funct. Mater.* **2007**, *17*, 3657.
- [92] T. Brust, S. Draxler, J. Eicher, W. J. Lees, K. Rück-Braun, W. Zinth, M. Braun, *Chemical physics letters* **2010**, *489*, 175.

- [93] J. Voll, T. Kerscher, D. Geppert, R. de Vivie-Riedle, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2007**, *190*, 352.
- [94] A. Nenov, W. J. Schreier, F. O. Koller, M. Braun, R. de Vivie-Riedle, W. Zinth, I. Pugliesi, *The journal of physical chemistry. A* **2012**, *116*, 10518.
- [95] C. J. Thomas, M. A. Wolak, R. R. Birge, W. J. Lees, *The Journal of organic chemistry* **2001**, *66*, 1914.
- [96] T. Cordes, T. T. Herzog, S. Malkmus, S. Draxler, T. Brust, J. A. DiGirolamo, W. J. Lees, M. Braun, *Photochemical & photobiological Sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology* **2009**, *8*, 528.
- [97] O. Shimomura, F. H. JOHNSON, Y. SAIGA, *Journal of cellular and comparative physiology* **1962**, *59*, 223.
- [98] M. Chalfie, Y. Tu, G. Euskirchen, W. W. Ward, D. C. Prasher, *Science (New York, N.Y.)* **1994**, *263*, 802.
- [99] R. Heim, R. Y. Tsien, *Current Biology* **1996**, *6*, 178.
- [100] O. Shimomura, *Journal of microscopy* **2005**, *217*, 1.
- [101] R. Y. Tsien, *Annual Review of Biochemistry* **1998** *67*:1, 509-544. see also NobelPrize.org, "The Nobel Prize in Chemistry 2008", can be found under <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2008/summary/>, **Mon. 2021**.
- [102] M. Ormo, A. B. Cubitt, K. Kallio, L. A. Gross, R. Y. Tsien and S. J. Remington, *Science (New York, N.Y.)* **1996**, 1392.
- [103] F. Yang, *Dissertation*, Rice University, Houston, Texas, **1997**.
- [104] D. P. Barondeau, C. D. Putnam, C. J. Kassmann, J. A. Tainer, and E. D. Getzoff, *PNAS* **2003**, 12111.
- [105] a) X. Shu, S. J. Remington, *GFP/S205V mutant*, **2008**; b) X. Shu, S. J. Remington, "Crystall Structure of GFP (2QLE). GFP/S205V mutant", can be found under <https://www.rcsb.org/structure/2QLE>, **2008**.
- [106] S. Kargozar, S. J. Hoseini, P. B. Milan, S. Hooshmand, H.-W. Kim, M. Mozafari, *Biotechnology journal* **2020**, *15*, e2000117.
- [107] J. M. Pietryga, Y.-S. Park, J. Lim, A. F. Fidler, W. K. Bae, S. Brovelli, V. I. Klimov, *Chemical reviews* **2016**, *116*, 10513.
- [108] M. Pohanka, *Mini reviews in medicinal chemistry* **2017**, *17*, 650.
- [109] J. Zhou, Y. Yang, C. Zhang, *Chemical reviews* **2015**, *115*, 11669.
- [110] M. O. Noor, A. Shahmuradyan, U. J. Krull, *Analytical chemistry* **2013**, *85*, 1860.
- [111] C. T. Dameron, R.N. Reese, R. K. Mehra, A. R. Kortant, P. J. Carrollt, M. L. Steigerwaldt, L. E. Brust & D. R. Winge, *Nature* **1989**, 596.
- [112] M. Kowshik, W. Vogel, J. Urban, S. K. Kulkarni, K. M. Paknikar, *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 815.
- [113] J. G. Sandana Mala, C. Rose, *Journal of biotechnology* **2014**, *170*, 73.
- [114] W. C. Chan, S. Nie, *Science (New York, N.Y.)* **1998**, *281*, 2016.
- [115] M. Bruchez, M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, A. P. Alivisatos, *Science (New York, N.Y.)* **1998**, *281*, 2013.
- [116] C. G. Hatchard and C. A. Parker, *Proc. R. Soc. Lond. A* **1956**, *235*, 518.
- [117] M. Reinfelds, V. Hermanns, T. Halbritter, J. Wachtveitl, M. Braun, T. Slanina, A. Heckel, *ChemPhotoChem* **2019**, *3*, 441.
- [118] C. P. Toseland, *Journal of chemical biology* **2013**, *6*, 85.
- [119] N. Grebenovsky, V. Hermanns, A. Heckel, *ChemPhotoChem* **2020**, *4*, 5245.
- [120] Y. Kim, S. O. Ho, N. R. Gassman, Y. Korlann, E. V. Landorf, F. R. Collart, S. Weiss, *Bioconjugate chemistry* **2008**, *19*, 786.
- [121] O. Koniev, A. Wagner, *Chemical Society reviews* **2015**, *44*, 5495.

- [122] J. Kalia, R. T. Raines, *Current organic chemistry* **2010**, *14*, 138.
- [123] Richard Frederick Smith, Alvin C. Bates, Angello J. Battisti, Peter G. Byrnes, Christine T. Mroz, Thomas J. Smearing, Frederick X. Albrecht, *The Journal of organic chemistry* **1968**, *33*, 851.
- [124] X. Zhang, M. Breslav, J. Grimm, K. Guan, A. Huang, F. Liu, C. A. Maryanoff, D. Palmer, M. Patel, Y. Qian et al., *The Journal of organic chemistry* **2002**, *67*, 9471.
- [125] Vsevolod V. Rostovtsev, Luke G. Green, Valery V. Fokin and K. Barry Sharpless, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2002**, *41*, 2596.
- [126] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *The Journal of organic chemistry* **2002**, *67*, 3057.
- [127] L. Ackermann, H. K. Potukuchi, D. Landsberg, R. Vicente, *Organic letters* **2008**, *10*, 3081.
- [128] S. Li, L. Wang, F. Yu, Z. Zhu, D. Shobaki, H. Chen, M. Wang, J. Wang, G. Qin, U. J. Erasquin et al., *Chemical science* **2017**, *8*, 2107.
- [129] E. C. B. Johnson, S. B. H. Kent, *Journal of the American Chemical Society* **2006**, *128*, 6640.
- [130] A. Roloff, O. Seitz, *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 432.
- [131] A. Pietraszewska-Bogiel, T. W. J. Gadella, *Journal of microscopy* **2011**, *241*, 111.
- [132] L. Yuan, W. Lin, K. Zheng, S. Zhu, *Accounts of chemical research* **2013**, *46*, 1462.
- [133] A. Keppler, S. Gendreizig, T. Gronemeyer, H. Pick, H. Vogel, K. Johnsson, *Nature biotechnology* **2003**, *21*, 86.
- [134] G. V. Los, L. P. Encell, M. G. McDougall, D. D. Hartzell, N. Karassina, C. Zimprich, M. G. Wood, R. Learish, R. F. Ohana, M. Urh et al., *ACS chemical biology* **2008**, *3*, 373.
- [135] T. L. Cocker, D. Peller, P. Yu, J. Repp, R. Huber, *Nature* **2016**, *539*, 263.
- [136] J.-A. Sahel, E. Boulanger-Scemama, C. Pagot, A. Arleo, F. Galluppi, J. N. Martel, S. Degli Esposti, A. Delaux, J.-B. de Saint Aubert, C. de Montleau et al., *Nature medicine* **2021**.
- [137] S. Sambandan, G. Akbalik, L. Kochen, J. Rinne, J. Kahlstatt, C. Glock, G. Tushev, B. Alvarez-Castelao, A. Heckel, E. M. Schuman, *Science (New York, N.Y.)* **2017**, *355*, 634.
- [138] J. T. Grün, A. Blümler, I. Burkhart, J. Wirmer-Bartoschek, A. Heckel, H. Schwalbe, *Journal of the American Chemical Society* **2021**, *143*, 6185.
- [139] L. J. G. W. van Wilderen, J. Bredenbeck, *Angewandte Chemie (International ed. in English)* **2015**, *54*, 11624.
- [140] S. Krause, B. L. Feringa, *Nat Rev Chem* **2020**, *4*, 550.
- [141] M. D. Kärkäs, J. A. Porco, C. R. J. Stephenson, *Chemical reviews* **2016**, *116*, 9683.
- [142] Y. Kamdzhilov, J. Wirz, *Photochemical & photobiological Sciences : Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology* **2007**, *6*, 865.
- [143] N. Colin Baird, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 4941.
- [144] R. Kotani, L. Liu, P. Kumar, H. Kuramochi, T. Tahara, P. Liu, A. Osuka, P. B. Karadakov, S. Saito, *Journal of the American Chemical Society* **2020**, *142*, 14985.
- [145] F. Feixas, J. Vandenbussche, P. Bultinck, E. Matito, M. Solà, *Physical chemistry chemical Physics: PCCP* **2011**, *13*, 20690.
- [146] T. Sandmeyer, *HCA* **1919**, *2*, 234.
- [147] Paul G. Gassman, T. J. Van Bergen, *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 5508.
- [148] R. Stollé, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1913**, 3915.
- [149] Peter Wan and Erik Krogh, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 1207.
- [150] M. Rosenberg, C. Dahlstrand, K. Kilså, H. Ottosson, *Chemical reviews* **2014**, *114*, 5379.
- [151] H. E. Zimmerman, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 8988.
- [152] P. Wang, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2017**, *335*, 300.
- [153] V. Hermanns, M. Scheurer, N. F. Kersten, C. Abdellaoui, J. Wachtveitl, A. Dreuw, A. Heckel, *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **2021**.
- [154] A. T. Buck, C. L. Beck, A. H. Winter, *Journal of the American Chemical Society* **2014**, *136*, 8933.
- [155] J. Shi, W. Zhao, L. Xu, Y. Kan, C. Li, J. Song, H. Wang, *The journal of physical chemistry. A* **2014**.

- [156] P. Wan and E. Krogh *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 1207-1208.
- [157] A. Roxin, A. Chase, E. Jeffers, M. Lukeman, *Photochemical & photobiological Sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology* **2011**, *10*, 920.
- [158] Elizabeth Gaillard, Marye Anne Fox and Peter Wan, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 2180.
- [159] C. Abdellaoui, V. Hermanns, M. Reinfelds, M. Scheurer, A. Dreuw, A. Heckel, J. Wachtveitl, *Physical chemistry chemical Physics: PCCP* **2022**, *24*, 5294.
- [160] J. C. Scaiano, *Accounts of chemical research* **1982**, 252.
- [161] C. Hu, Y. Hu, A. Zhu, M. Li, J. Wei, Y. Zhang, W. Xie, *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **2022**, *28*, e202200138.
- [162] Gagik G. Gurzadyan and Steen Steenken, *Chem. Eur. J.* **2001**, *7*, 1808.
- [163] Aaron J. Ackmann and Jean M. J. Fréchet, *Chem. Commun.* **1996**, 605.
- [164] D. Zhou, R. Khatmullin, J. Walpita, N. A. Miller, H. L. Luk, S. Vyas, C. M. Hadad, K. D. Glusac, *Journal of the American Chemical Society* **2012**, *134*, 11301.
- [165] M. Irie, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, 2078.
- [166] Robert E. Minto and Paritosh K. Das, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 8858.
- [167] C. P. Carvalho, V. D. Uzunova, J. P. Da Silva, W. M. Nau, U. Pischel, *Chemical communications (Cambridge, England)* **2011**, *47*, 8793.
- [168] T. Weinrich, M. Gränz, C. Grünewald, T. F. Prisner, M. W. Göbel, *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *2017*, 491.
- [169] R. Klimek, M. Asido, V. Hermanns, S. Junek, J. Wachtveitl, A. Heckel, *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **2022**, *28*, e202200647.
- [170] I. I. Vaisman, M. L. Berkowitz, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 7889.
- [171] J. Volarić, W. Szymanski, N. A. Simeth, B. L. Feringa, *Chemical Society reviews* **2021**.
- [172] J. Calbo, C. E. Weston, A. J. P. White, H. S. Rzepa, J. Contreras-García, M. J. Fuchter, *Journal of the American Chemical Society* **2017**, *139*, 1261.
- [173] M. A. Wolak, C. J. Thomas, N. B. Gillespie, R. R. Birge, W. J. Lees, *The Journal of organic chemistry* **2003**, *68*, 319.
- [174] Francis A. Carey, Richard J. Sundberg, *Advanced Organic Chemistry. Part B: Reactions and Synthesis*, Springer, Niederlande.
- [175] S. Sankararaman, *Pericyclic Reactions - A Textbook. Reactions, Applications and Theory*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
- [176] R. Brückner, *Reaktionsmechanismen. Organische Reaktionen, Stereochemie, Moderne Synthesemethoden*, Springer, **2004**.
- [177] N. I. Islamova, X. Chen, S. P. Garcia, G. Guez, Y. Silva, W. J. Lees, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2008**, *195*, 228.
- [178] C. Petermayer, H. Dube, *Journal of the American Chemical Society* **2018**, *140*, 13558.
- [179] J. E. Smyth, N. M. Butler, P. A. Keller, *Natural product reports* **2015**, *32*, 1562.
- [180] Yasushi Yokoyama, Yuki Shimizu, Soichi Uchidata and Yayoi Yokoyama, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1995**, 785.
- [181] S. Ogasawara, *ACS chemical biology* **2017**, *12*, 351.
- [182] T. Goldau, K. Murayama, C. Brieke, H. Asanuma, A. Heckel, *Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)* **2015**, *21*, 17870.
- [183] G. T. Wang, E. Matayoshi, H. Jan Huffaker, G. A. Krafft, *Tetrahedron Letters* **1990**, *31*, 6493.
- [184] L. Le Reste, J. Hohlbein, K. Gryte, A. N. Kapanidis, *Biophysical journal* **2012**, *102*, 2658.
- [185] P. Crisalli, E. T. Kool, *Bioconjugate chemistry* **2011**, *22*, 2345.

6.4 Reprint Permissions – Nachdruck Genehmigung für Abbildungen mit Copyright©

Diese Dissertation, sowie die darin beschriebenen Arbeiten, wurden von mir, Volker Hermanns, am Institut für Organische Chemie und Chemische Biologie der Goethe-Universität Frankfurt am Main unter der Leitung von Prof. Dr. Alexander Heckel durchgeführt und verfasst.

Alle Abbildungen, Textstellen und Arbeiten, die sich aus fremden Veröffentlichungen stammen, sind an der entsprechenden Stelle mit einem Verweis auf die Erstpublikation gekennzeichnet. Sofern nötig, wurden die entsprechenden Genehmigungen zur Veröffentlichung in dieser Arbeit über das Copyright Clearance Center (CCC) unter <https://www.copyright.com/> eingeholt.

Die Publikationen Reinfelds, Hermanns *et al.* **2019**, Grebenovsky, Hermanns *et al.* **2020**, Hermanns *et al.* **2021**, Klimek, Asido, Hermanns *et al.* **2022** und Hermanns *et al.* **2022** wurden von dem Wiley-VCH Verlag herausgegeben. Die Publikation Abdellaoui, Hermanns *et al.* **2022** wurde von dem *The Royal Society of Chemistry (RSC)* Verlag herausgegeben.

Notwendig ist ein Verweis auf die Erstpublikation (Quellenangabe in der jeweiligen Bildunterschrift) und für elektronische Medien wird ein Hyperlink benötigt. Dieser sei im Folgenden für die nachgedruckten Abbildungen angegeben:

Reinfelds, Hermanns *et al.* **2019**

<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cptc.201900010>

Grebenovsky, Hermanns *et al.* **2020**

<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cptc.202000162>

Hermanns *et al.* **2021**

<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/chem.202102351>

Abdellaoui, Hermanns *et al.* **2022**

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2022/CP/D1CP05292F>

Klimek, Asido, Hermanns *et al.* **2022**

<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/chem.202200647>

Hermanns *et al.* **2022**

<https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cptc.202200057>