

**Synthese und Charakterisierung von
Triplettlöschern
zur Steigerung der Signalstärke und der Photostabilität
bei der Einzelmolekülspektroskopie**

**Erstellt im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 663
„Molekulare Antwort nach elektronischer Anregung“**

Inaugural-Dissertation

**Zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

vorgelegt von

**Dipl. Chem. Patrick Arne Taureg
aus Düsseldorf**

Düsseldorf 2009

Aus dem
Institut für Organische und Makromolekulare Chemie
Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

Gedruckt mit der Genehmigung der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der
Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

Referent : HD. Dr. Klaus Schaper
Koreferent: Prof. Dr. Manfred Braun

Tag der mündlichen Prüfung : 28.01.2009

Herrn HD. Dr. Klaus Schaper danke ich für die Vergabe des Themas,
seiner Hilfeleistung, und den mir überlassenen Freiraum bei der Gestaltung
dieser Arbeit.

Für meinen Vater
In Gedenken an meine Mutter

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig durchgeführt und verfasst habe. Als Hilfsmittel dienten lediglich die angegebenen Hilfsmittel und die im Literaturverzeichnis angegebenen Quellen.

Ratingen, den _____

(Patrick Taureg)

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	1
2	HAUPTTEIL	11
2.1	Energieübertragungsprozesse.....	11
2.2	FCS.....	14
2.3	Versuch der theoretischen Vorhersage der Triplettenergien von Fluorophor und Quencher	16
2.3.1	Vergleich der errechneten Geometrien (AM1 und HF / 6-31G*)	21
2.3.2	Vergleich der berechneten Zustände (RCIS/UCIS) mit Literaturdaten.....	26
2.3.3	Weiterführende Rechnungen.....	34
2.4	Voruntersuchungen	40
2.4.1	Cyclooctatetraen.....	45
2.5	Azobenzolderivate.....	51
2.5.1	Eigenschaften	51
2.5.2	Synthese der Azobenzole	54
2.6	Rhodamine	57
2.6.1	Eigenschaften der Rhodamine.....	57
2.6.2	Synthese	59
2.6.3	Rhodamin Grün und Sulforhodamin B Säurechlorid	60
2.7	Syntheseplanung	63
2.8	NMR-Spektroskopie	67
2.8.1	NMR Spektren der Azobenzolderivate	67
2.8.2	Vergleich der spektroskopischen Daten.....	84
2.8.3	Zusammenfassung der spektroskopischen Ergebnisse.....	105
2.9	Kopplung von Rhodamin Grün.....	117
2.9.1	Synthese der Amidbindung über das Säurechlorid	117
2.9.2	Synthese des Bichromophors unter Verwendung von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und dessen Derivaten.....	120
2.9.3	Synthese der Amidbindung nach Katritzky (Benzotriazolmethode).....	122
2.9.4	Synthese der Amidbindung mit <i>N</i> -Hydroxysuccinimid	124
2.10	NMR Auswertung für Sulforhodamin B	126
2.11	Ergebnisse.....	145
3	ZUSAMMENFASSUNG, SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK	151
3.1	Summary and Prospective	153

Inhaltsverzeichnis

4	EXPERIMENTALTEIL	155
4.1	Verwendete Chemikalien und Geräte	155
4.1.1	Chemikalien	155
4.1.2	Geräte	156
4.2	Synthese der Azoverbindungen	157
4.2.1	Synthese von 4-[(4-Aminophenyl)azenyl]benzoesäure	157
4.2.2	Synthese von 4-[4-(<i>tert</i> -Butylcarbonylaminomethylcarbonylamino)phenylazenyl]benzoesäure	163
4.2.3	Synthese von 4-{[4-(2-Aminoacetamido)phenyl]azenyl}benzoesäure	164
4.2.4	Synthese von 4-{[4-(Aminomethyl)phenyl]azenyl}benzoesäure.....	169
4.2.5	Synthese von 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)azenyl]benzoesäure	175
4.2.6	Synthese von 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)azenyl]benzoesäure.....	180
4.2.7	Synthese von 4-[(4-Amino-2,3,5,6-tetramethylphenyl)azenyl]-benzoesäure.....	185
4.2.8	Synthese von 4-[(4-Amino-3-methylphenyl)azenyl]benzoesäure.....	188
4.2.9	Synthese von 4-[(4-Amino-2-methylphenyl)azenyl]-2,3,5,6-tetramethylbenzoesäure	190
4.2.10	Synthese von 4-{[4-(2-Aminoethylamino)phenyl]azenyl}benzoesäure	192
4.2.11	Synthese von 4-((4-(2-Aminoethylamino)phenyl)azenyl)benzoesäure.....	193
4.2.12	Synthese von <i>N</i> -(2-Aminoethyl)benzene-1,4-diamine	194
4.3	Synthese der Rhodaminderivate.....	195
4.3.1	Synthese von Rhodamin Grün (Isomerengemisch).....	195
4.4	Synthese der Kopplungsprodukte	196
4.4.1	Kopplung Sulforhodamin mit 4-[(4-Aminophenyl)azenyl]benzoesäure.....	196
4.4.2	Kopplung Sulforhodamin mit 4-[(4-amino-3,5-dichlorphenyl)azenyl]benzoesäure	200
4.4.3	Kopplung Rhodamin Grün mit 4-{[4-(Aminomethyl)phenyl]azenyl}benzoesäure	205
4.5	Synthese der Cyclooctatetraenderivate.....	210
4.5.1	Synthese von 1,2-Dibrom-1,2-dihydrocyclobutabenzol.....	210
5	DANKSAGUNG	213
6	LITERATURVERZEICHNIS	214
7	ANHANG	217
7.1	FCS Messungen der Voruntersuchung.....	217

Abkürzungsverzeichnis:

Abkürzung	
abs.	Absolut
AK	Arbeitskreis
COT	Cyclooctatetraen
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
DMSO	Dimethylsulfoxid
exp.	experimentell
FCS	Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie
FRET	Förster-Resonanz-Energie-Transfer
ISC	Intersystem crossing
ppm	parts per million
techn.	Technisch
TMS	Tetramethylsilan
TET	Triplett-Energie-Transfer
NHS	<i>N</i> -Hydroxysuccinimid
SET	Singulett Energie Transfer

1 Einleitung

Im Rahmen des Sonderforschungsbereiches Nr. 663 „Molekulare Antwort nach elektronischer Anregung“^[24] wird untersucht, wie einzelne Moleküle bzw. biologische Systeme auf elektronische Anregung reagieren. Diese Anregung kann entweder direkt durch die Einstrahlung von Licht (photochemisch induziert) oder indirekt durch Energieübertragung von einem anderen Molekül, einem Sensibilisator, geschehen. Ein wichtiger Prozess nach der elektronischen Anregung ist die Fluoreszenz. Die Fluoreszenz kann sogar in einzelnen Molekülen detektiert werden. Diese Einzelmolekülspektroskopie vermeidet die Mittelung über ein Ensemble, und liefert so Informationen über ein einzelnes Molekül. Sie wird in verschiedenen Wissenschaften, wie zum Beispiel der Biochemie, Chemie, Physik und Biophysik verwendet, um ablaufende Prozesse in Echtzeit zu untersuchen. In der Biochemie markiert man Protein-Moleküle mit Fluoreszenzfarbstoffen, und ist so in der Lage die intramolekularen Bewegungen in Echtzeit zu verfolgen. Diese Messmethode ist etabliert und wird von der Arbeitsgruppe von Herrn Professor Seidel verwendet. Aber die für diese Untersuchungen benötigten Fluoreszenzfarbstoffe besitzen noch einige Nachteile. Daher besteht ein Bedarf zur Verbesserung der verwendeten Farbstoffe.

Aufbauend auf der Einzelmolekülspektroskopie wurde die „Fluorescence-Correlation-Spectroscopy“, kurz FCS^[14, 15, 37, 48, 55], entwickelt. Sie benutzt angeregte Zustände einzelner Moleküle bzw. einiger weniger Moleküle um molekulare Prozesse zu untersuchen. Diese Methode erlaubt den direkten Zugang zu Informationen, die ein einzelnes Molekül betreffen.

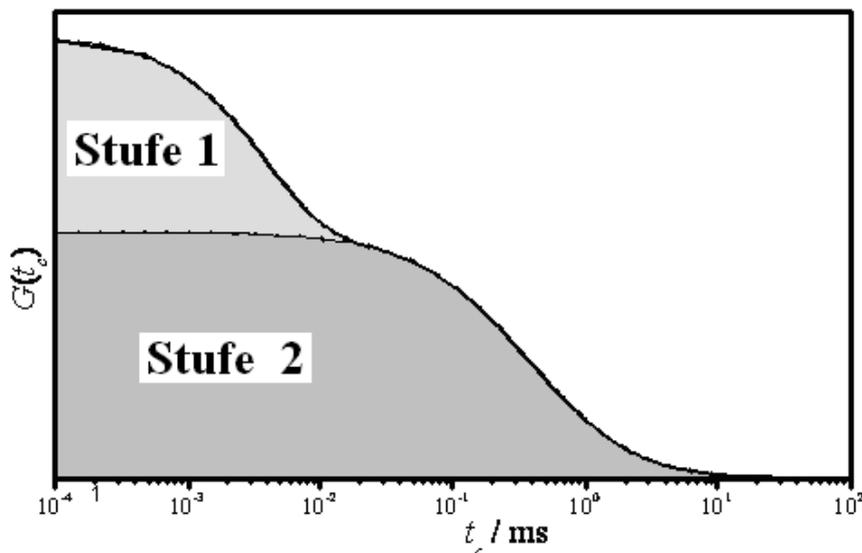


Abbildung 1: schematische Darstellung eine FCS-Kurve

Bei dieser Methode kann man verschiedene Informationen über die Eigenschaften des Moleküls erhalten (siehe Kapitel 2.2), man erhält zum Beispiel Auskunft über die verschiedenen Prozesse, die im Molekül ablaufen, wobei jeder Prozess durch eine eigene Stufe repräsentiert wird. In Abbildung 1 sind zwei ausgeprägte Stufen zu erkennen. Die erste wird dem Zerfall von Triplettzuständen zugeordnet. Sie wird beschrieben durch

- a) die Triplettamplitude T (den durchschnittlichen Anteil der Moleküle im Triplettzustand)
- b) die Triplettkorrelationszeit τ_T (die Zeit, in der sich ein Molekül im Triplettzustand befindet) sein.

Die zweite Stufe repräsentiert die Diffusion des Moleküls aus dem Fokus des Anregungslichtes. Sie ist charakterisiert durch eine Korrelationszeit, aus der sich die Diffusionsparameter bestimmen lassen.

Um eine Untersuchung, mit guter zeitlicher Auflösung und hoher Empfindlichkeit durchführen zu können, muss der Fluoreszenzfarbstoff folgende Eigenschaften besitzen:

- Die Fluoreszenzquantenausbeute sollte möglichst hoch sein.
- Der Farbstoff soll auch bei hohen Laserleistungen nicht zerstört werden.
- Der Farbstoff sollte wasserlöslich sein, die Untersuchungen werden oft in physiologischen Medien durchgeführt.

Für diese Messmethode wird die Fluoreszenz als „Detektor“ der ablaufenden Prozesse benutzt. Wenn ein Farbstoff angeregt wird, gibt es verschiedene Prozesse, die danach stattfinden können. Dabei handelt es sich im besten Falle nur um die Fluoreszenz aus dem angeregten Singulettzustand S_1 .

Für den angeregten Zustand S_1 gilt für die Fluoreszenzquantenausbeute ϕ_F :

$$\Phi_F = \frac{n_{Fl}}{n_{abs}}$$

mit:

ϕ_F = Quantenausbeute der Fluoreszenz

n_{Fl} = Anzahl der emittierten Photonen

n_{abs} = Anzahl der absorbierten Photonen

Einleitung

Für die Absorbanz gilt im idealen Fall das Lambert-Beersche-Gesetz:

$$A = \lg \frac{I}{I_0} = \varepsilon \cdot c \cdot d$$
$$= \lg \frac{I_0 - I_{\text{abs.}}}{I_0}$$

mit:

ε : molarer Extinktionskoeffizient in $1000 \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$

c: Konzentration in mol l^{-1}

d: Schichtdicke der Küvette in cm

I_0 : Menge des eingestrahnten Lichtes

$I_{\text{abs.}}$: Menge des absorbierten Lichtes

und:

$$\frac{I_0 - I_{\text{abs.}}}{I_0} \text{ unabhängig von } I_0 \text{ da, für } \varepsilon, c, d = \text{const}$$

$$\frac{I_0 - I_{\text{abs.}}}{I_0} = \text{const}$$

$$\Rightarrow I_0 - I_{\text{abs.}} = \text{const } I_0$$

$$\Rightarrow I_{\text{abs.}} = I_0 (1 - \text{const}) \text{ ist,}$$

ergibt sich $I_{\text{abs.}} \sim I_0$ und

mit:

$I_{\text{abs.}} \sim n_{\text{abs.}}$ ergibt sich auch $n_{\text{abs.}} \sim I_0$

Schematisch lässt sich die Konsequenz des Lambert-Beer'sche Gesetzes wie in Abbildung 2 gezeigt graphisch darstellen. Dabei wird die detektierte Zählrate pro Molekül gegen die variable Laserleistung aufgetragen. Diese Art der Auftragung nennt man auch „Power-Serie“.

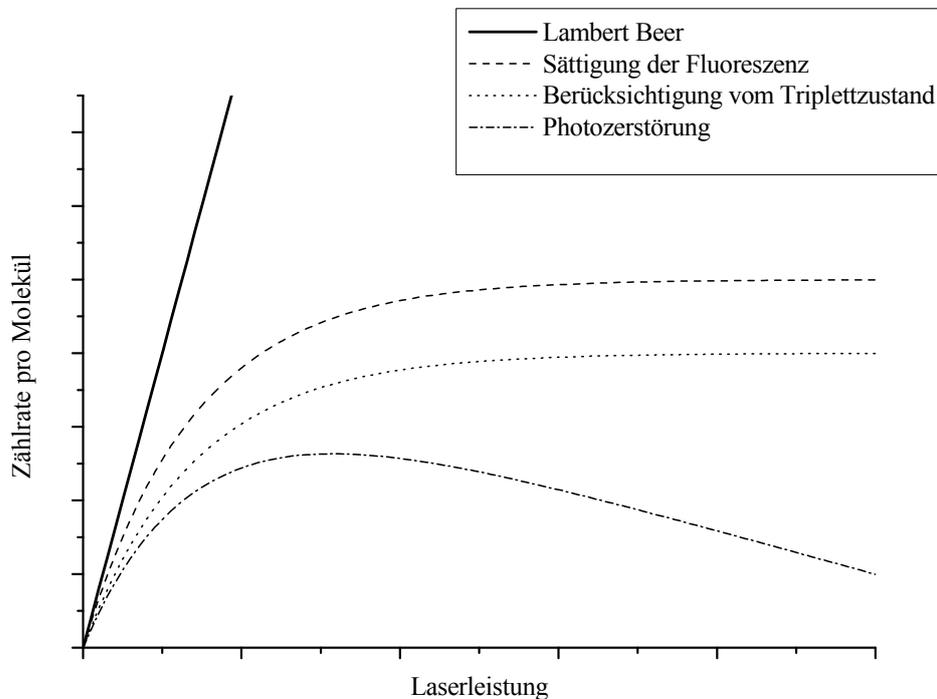


Abbildung 2: schematische Darstellung der möglichen photochemischen Prozesse

Üblicherweise wird angenommen, dass die Quantenausbeute ϕ_F nicht von der Intensität des Anregungslichtes abhängt, daraus ergibt sich ein linearer Zusammenhang von Fluoreszenz und Intensität (Zählrate pro Molekül) und Intensität des Anregungslichtes (Laserleistung) (siehe Kurve „Lambert Beer“ Abbildung 2).

Dies gilt aber nur für normale Lichtintensitäten. Geht man wie bei der FCS, oder allgemein bei der Einzelmolekülspektroskopie üblich, zu hohen Laserleistungen über, so ergibt sich ein anderes Bild. Es tritt eine Sättigung (Photonen/Zeit) der Fluoreszenz auf (siehe Kurve „Sättigung der Fluoreszenz“ Abbildung 2).

Dies ist ebenfalls in Abbildung 2 schematisch dargestellt. Besitzt ein Farbstoff F eine Fluoreszenzquantenausbeute von 100 % und die Lebensdauer τ des angeregten Zustandes beträgt 10^{-9} s, so kann der Farbstoff unabhängig von der Laserleistung maximal 10^9 -mal pro Sekunde angeregt werden. Gleichzeitig limitiert die Lebensdauer des angeregten Zustandes die zeitliche Auflösung. In diesem Beispiel können Prozesse im ns Bereich untersucht

Einleitung

werden, schneller ablaufende Prozesse sind nicht zugänglich, da die zeitliche Auflösung nicht ausreichend ist.

Typische Fluoreszenzfarbstoffe besitzen geringe ISC-Quantenausbeuten, aber dennoch spielt das ISC („intersystem crossing“) eine große Rolle. Auch wenn das ISC nur mit einer geringen Quantenausbeute erfolgt, so verbringt der Farbstoff doch eine beträchtliche Zeit im Triplettzustand, da dieser verglichen mit einem angeregten Singulettzustand um mehrere Größenordnungen langlebiger ist. Dieses führt zu einem deutlich niedrigeren Sättigungsniveau (Photonen/Zeit) und damit zu einem Verlust der Signalstärke (siehe Kurve „Berücksichtigung vom Triplett“ Abbildung 2).

Die unterste Kurve (Photozerstörung) gibt den tatsächlichen (experimentellen) Verlauf der Zählrate pro Molekül in Bezug auf eine steigende Laserleistung wieder. Dabei beinhaltet sie alle oben aufgeführten Prozesse wie die Sättigung und das ISC in den Triplettzustand, berücksichtigt aber zusätzlich auch die Photozerstörung durch Zwei-Photonen-Prozesse. Diese Prozesse erfolgen aus dem Singulettzustand und aus dem langlebigeren Triplettzustand und bewirken eine Abnahme der Intensität bei höheren Laserleistungen. Das beruht auf der Tatsache, dass die Einphotonenabsorption linear von der Laserleistung abhängt, die Zweiphotonenabsorption dagegen quadratisch. Die Photozerstörung nimmt also stärker zu als die Absorption, was besonders im Bereich der Sättigung deutlich wird. Dabei wird der Farbstoff durch die Einwirkung von Licht zerstört.

Ziel dieser Arbeit ist nun ein System zu synthetisieren, welches es erlaubt, den tatsächlichen Verlauf der „Power-Serie“ (siehe Abbildung 2) bei steigender Laserleistung dahingehend zu beeinflussen, dass die Zählrate pro Molekül ansteigt (siehe Abbildung 3: Pfeil nach oben), und das die Photozerstörung bzw. der Punkt, an dem die Kurve wieder abfällt, zu höherer Laserleistung verschoben wird (siehe Abbildung 3: Pfeil nach rechts). Dabei soll das Maximum der Kurve insgesamt, wie in Abbildung 3 (graue Kurve) gezeigt, verschoben werden.

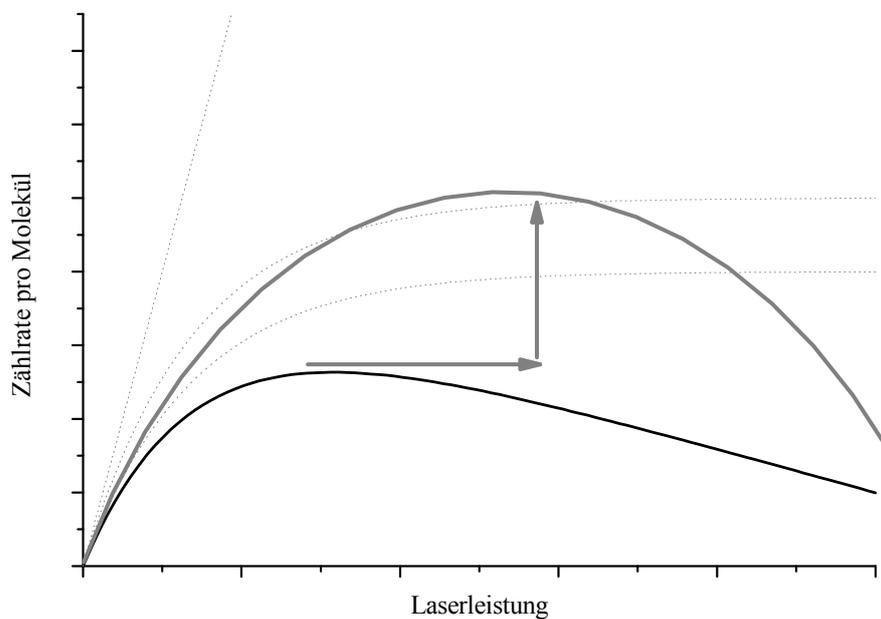


Abbildung 3: schematische Darstellung der erwünschten Verschiebung

Der neue Farbstoff soll folgende Eigenschaften besitzen

1. die Fluoreszenzquantenausbeute soll bei nahezu 100 % bleiben.
2. die Lebensdauer des Triplettzustandes des Fluorophors soll verkürzt werden. Dies soll dadurch erreicht werden, dass ein selektiver Triplettquencher zum Fluorophor hinzugefügt wird.
3. dieser Quencher darf den Singulettzustand des Fluorophors 1F_1 nicht löschen.
4. der Quencher darf bei der Laserwellenlänge nicht absorbieren. Das Absorptionsmaximum des Quenchers darf nicht mit dem Absorptionsmaximum des Fluorophors übereinstimmen. Dadurch wird gewährleistet, dass bei einer Anregung nur der Fluorophor angeregt wird.
5. der Quencher muss schnell aus dem Triplettzustand 3Q_1 in den Grundzustand 1Q_0 zurückkehren.

Einleitung

Als Fluorophor in dem Modellsystem wird der Fluoreszenzfarbstoff Rhodamin 123 benutzt.

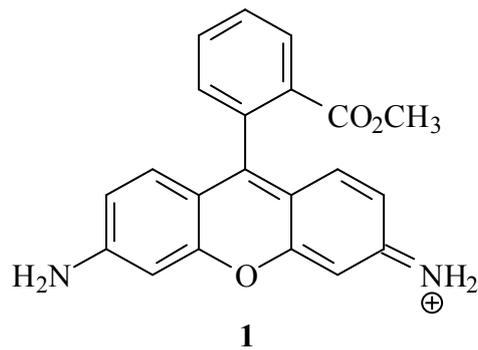


Abbildung 4: Strukturformel Rhodamin 123

Dieser Farbstoff ist ein wertvoller Fluoreszenzfarbstoff (Fluorophor, F) für die FCS und die Einzelmolekülspektroskopie. Rhodamin 123 (**1**) besitzt aber einige der oben beschriebenen Nachteile (vergleiche Abbildung 2, „Photozerstörung“), wie zum Beispiel eine geringe Tendenz zum ISC, und diese soll durch die Zugabe eines Triplettlöschers (Quencher, Q) verbessert werden. Die Abbildung 5 zeigt die experimentell ermittelte Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität (Zählrate pro Molekül) des Farbstoffes von der Laserleistung.

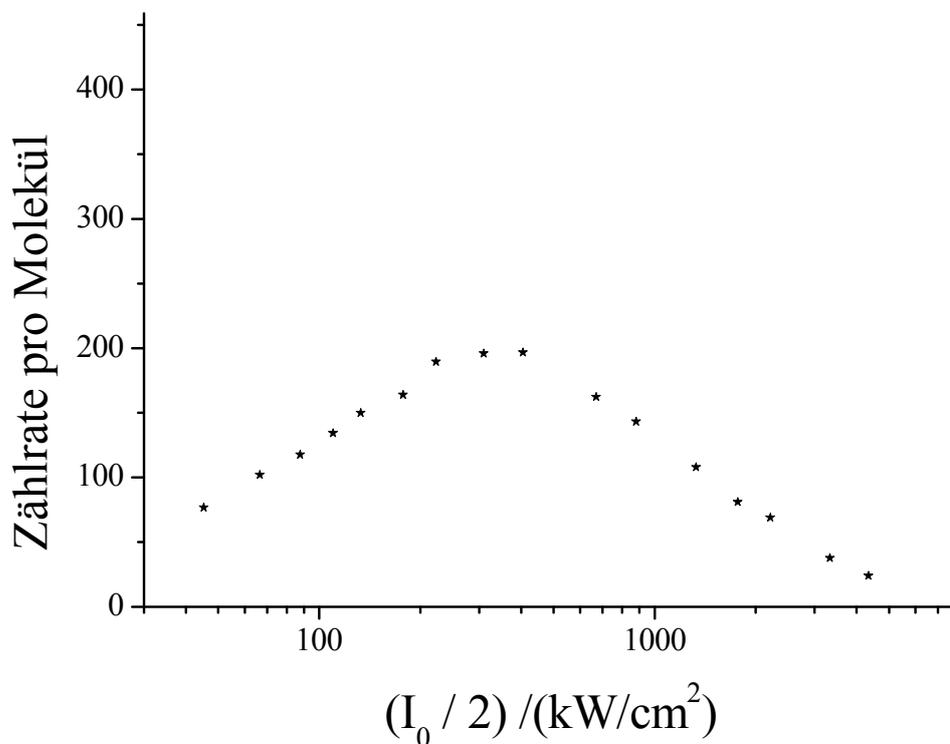


Abbildung 5: Darstellung der Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität (Zählrate pro Molekül) des Rhodamins 123 von der Laserleistung, „Power-Serie“^[56]

Dabei liegt das Maximum dieser Kurve bei einer Laserleistung von 400 kW/cm^2 und einer Zählrate pro Molekül von 200 counts pro s.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass es drei wichtige Gründe gibt, die dafür verantwortlich sind, dass die Zahl der maximal erhältlichen Fluoreszenzphotonen pro Molekül und Zeit nicht linear mit der Laserleistung steigt. Dies sind die folgenden:

1. die endliche Lebensdauer vom angeregten Zustand 1F_1 .
2. das vorhandene *intersystem crossing* von 1F_1 nach 3F_1 .
3. die Photozerstörung aus
 - a) dem angeregten Singulettzustand 1F_1 des Fluorophors
 - b) dem Triplettzustand 3F_1 .

Das sind die negativen Eigenschaften des Farbstoffes, die es nun zu minimieren gilt. Die unter den Punkten 2 und 3 aufgeführten Probleme sollen in dieser Arbeit adressiert werden. Es soll die die Anzahl der Photonen verbessert werden bzw. es soll ermöglicht werden, die zeitliche Auflösung der Messmethode zu verbessern.

Um diese Probleme zu beheben, gibt es nun verschiedene Möglichkeiten:

1. die Lebensdauer von 3F_1 verkürzen.
2. die Effizienz des ISC reduzieren.
3. das Ausmaß der Photozerstörung durch Zweiphotonenprozesse reduzieren. Dieses kann durch die Reduktion der Triplettlebensdauer (Photozerstörung aus 3F_1) und wiederum durch die Reduktion der Singulettlebensdauer gelingen.

Wie oben schon erwähnt, kann die Fluoreszenzquantenausbeute Φ_F durch die Zugabe eines Triplettquencher erhöht werden.

Dieses Konzept hilft auch bei der Steigerung der Photostabilität. Die Photozerstörung durch Zweiphotonenprozesse aus dem Triplettzustand 3F_1 kann reduziert werden, wenn man dessen Lebensdauer reduziert. Analog kann die Photozerstörung aus dem Singulettzustand 1F_1 durch quenchen dieses Zustandes reduziert werden. Dies führt aber gleichzeitig zum Quenchen der Fluoreszenz.

Beide Prozesse, die unerwünschte Photozerstörung und die Triplettlebensdauer nehmen gleichermaßen mit steigender Effizienz des Quencher als Triplettlöscher ab. Dies beeinflusst zwar nicht die ISC-Rate des Fluorophors zu 3F_1 , aber verkürzt die Lebensdauer des Triplettzustandes.

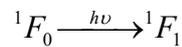
Dabei wird ein System verwendet, bei dem ein zweiter Farbstoff, entweder kovalent an den Fluoreszenzfarbstoff gebunden ist oder als Additiv zugesetzt wird, um die Eigenschaften des Fluoreszenzfarbstoffes in gewünschter Weise zu beeinflussen.

Einleitung

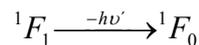
In einem solchen System, bestehend aus zwei Chromophoren, Fluorophor (F) und Quencher (Q), spielen folgende Prozesse eine Rolle.

- **Gewünschte Prozesse, die für die Messmethode essentiell sind bzw. die die Messung erst ermöglichen**

1. Der Fluorophor wird in den angeregten Zustand S_1 photochemisch angeregt



2. Der Fluorophor gibt die Energie in Form von Fluoreszenz wieder ab



- **Unerwünschter Prozess, dieser beeinflusst die zeitliche Auflösung der Messmethode.**

1. Es erfolgt ein Intersystem crossing in den Triplettzustand



- **Angestrebte Maßnahmen, um die unerwünschten Prozesse zu vermeiden**

1. Die Triplettenergie wird von dem Fluorophor auf den Quencher übertragen



2. Es erfolgt eine strahlungslose sehr schnelle Deaktivierung des Quenchers



Diese Prozesse lassen sich wie folgt schematisch darstellen, die unerwünschten Prozesse sind heller dargestellt^[51]:

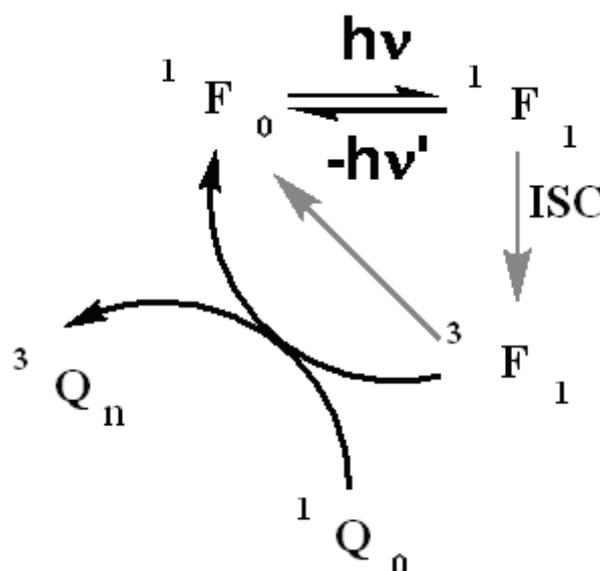


Abbildung 6: schematische Darstellung des erwünschten Mechanismus

Bei diesen Prozessen soll der Fluorophor wie gewohnt bei der Anregung in den Singulettzustand 1F_1 reagieren. Wenn aber das Intersystem crossing in den Triplettzustand 3F_1 stattfindet, soll dieser Zustand durch einen Quencher abgefangen werden, indem der Quencher aus dem Grundzustand 1Q_0 in den angeregten Zustand 3Q_n reagiert.

2 Hauptteil

2.1 Energieübertragungsprozesse

Möchte man einen selektiven Triplettlöcher finden, der die Eigenschaften des Fluoreszenzfarbstoffes in gewünschter Weise beeinflusst, so muss man eine Reihe von Bedingungen beachten (siehe Abbildung 7).

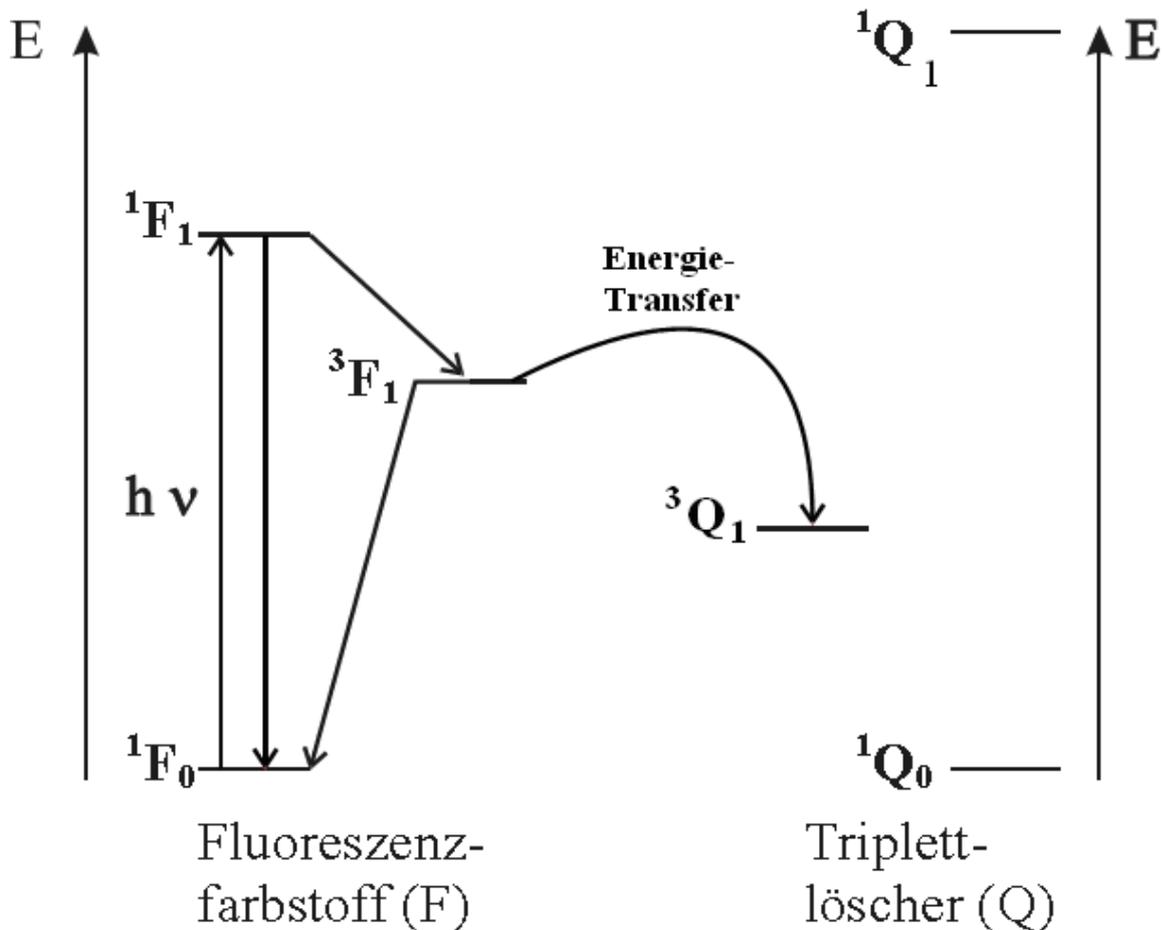


Abbildung 7: vereinfachtes Jablonski-Termschema für den Energietransfer vom Fluorophor zum Quencher

Für die relativen energetischen Lagen der Zustände im Fluorophor und Löscher ergibt sich aus dem vereinfachten Termschema (Abbildung 7)

1. Der angeregte Zustand Singulettzustand 1F_1 des Fluoreszenzfarbstoffes darf nicht gelöscht werden, d.h. die Energie des Singulettzustandes des Quenchers $E(^1Q_1)$ soll höher liegen als die Singulettenergie des Fluorophors $E(^1F_1)$:

$$E(^1Q_1) > E(^1F_1)$$

2. die Energie des Triplettzustand des Triplettlöschers $E(^3Q_1)$ muss energetisch niedriger sein als die Energie des Triplettzustandes des Farbstoffes $E(^3F_1)$ um eine Löschung zu ermöglichen:

$$E(^3Q_1) < E(^3F_1)$$

Zusätzlich muss der Farbstoff noch folgende Eigenschaften besitzen

1. das System, bestehend aus Fluorophor und Quencher, muss im geringen Maße wasserlöslich sein, da es für biologische Messungen verwendet werden soll.
2. der Quencher muss eine funktionelle Gruppe besitzen, die es erlaubt, den Fluorophor mit dem Quencher zu koppeln. Die kovalente Bindung des Quenchers an den Fluorophor ist nötig um einen Abstand von maximal 10 Å zwischen beiden Farbstoffen einstellen zu können. Nur so kann der Energieübertragungsprozess optimiert werden.

Für die Energieübertragung von dem Fluorophor auf den Quencher gibt es mehrere Mechanismen, dieses sind der Förster-Mechanismus, der Dexter-Mechanismus und der „charge transfer“ Mechanismus. Der Förster- und der Dexter-Mechanismus werden im folgendem näher erläutert:

1. Den allgemein bekannten Förster-Mechanismus^[18] (Übergangsdipol-Wechselwirkung) mit:

$$k_{ET}(\text{Förster}) \propto \kappa \frac{f_{F^* \rightarrow F_0} f_{Q_0 \rightarrow Q}}{R_{FQ}^6 \tilde{\nu}^2} J$$

mit

$$f_{F^* \rightarrow F_0} = \text{Oszillatorstärke}$$

= 0, wenn der Übergang verboten ist

κ = Orientierungsfaktor, Stellung der beiden Dipole zueinander (Vektorprodukt)

= 0, wenn die beiden Dipole senkrecht zueinander stehen

$$J = \int_0^{\infty} \bar{I}_F(\tilde{\nu}) \bar{\epsilon}_L(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu} = \text{normierte spektrale Überlappung}$$

$$\text{mit } \int_0^{\infty} \bar{I}_F(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu} = \int_0^{\infty} \bar{\epsilon}_L(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu} = 1$$

R_{FQ} = Abstand zwischen Fluorophor und Quencher

Für einen effektiven Energietransfer sollte der Abstand nicht mehr als 50 Å betragen.

Die Geschwindigkeit des Försterenergie transfers hängt unter anderem von der Oszillatorstärke f der beteiligten Übergänge ab. Dies ist beim Singulett Energie Transfer (SET) der Übergang des Fluorophors von 1S_1 nach 1S_0 , also $f_{^1F_1 \rightarrow ^1F_0}$, und für den Quencher von 1S_0 nach 1S_1 , also $f_{^1Q_0 \rightarrow ^1Q_1}$ (oder allgemein nach S_n). Beim Triplettenergie transfer (TET) ist dies für den Fluorophor der Übergang von 3S_1 nach 1S_0 und für den Quencher von 1S_0 nach 3S_1 . Beide Prozesse sind spinverboten, und daher sind die zugehörigen Oszillatorstärken f in erster Näherung 0 und ein TET ist nach Förster verboten.

Dieses Problem gibt es beim Dexter Energie Transfer nicht. Daher kann man bei einem TET von einem Dexter-Mechanismus ausgehen.

2. Dexter-Mechanismus (Elektronen-Austausch-Wechselwirkung)^[12]

$$k_{ET}(\text{Dexter}) \propto e^{-\frac{2R_{FQ}}{L}} J$$

mit

R_{FQ} = Abstand Fluorophor Quencher

$$J = \int_0^{\infty} \bar{I}_F(\tilde{\nu}) \bar{\epsilon}_L(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu} = \text{normierte spektrale Überlappung}$$

$$\text{mit } \int_0^{\infty} \bar{I}_F(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu} = \int_0^{\infty} \bar{\epsilon}_L(\tilde{\nu}) d\tilde{\nu} = 1$$

Die notwendige Überlappung der Wellenfunktion hat zur Folge, dass der TET nur über kleine Abstände von maximal 5-10 Å erfolgen kann.

Der Dexter Energie Transfer beruht auf der quantenmechanischen Elektronenaustausch-Wechselwirkung und benötigt eine Überlappung der Wellenfunktionen von Fluorophor und Löscher. Man bezeichnet den Dexter Mechanismus auch als „virtuelle Elektronenaustausch-Wechselwirkung“ im Gegensatz zum Energietransfer durch Redoxprozesse bei denen ein Elektron übertragen wird. Der benötigte geringe Abstand kann gewährleistet werden, in dem man entweder den Quencher in hoher Konzentration zusetzt, oder den Quencher in geeigneter Weise kovalent an den Fluorophor bindet. Nach erfolgreicher Energieübertragung liegt der Quencher im Triplettzustand vor. Es ist wichtig, dass der Triplettlöscher seine Energie so schnell wie möglich wieder abgeben kann. Diese Energieabgabe darf den Fluoreszenzprozess des Farbstoffes nicht beeinflussen.

2.2 FCS

Bereits in der Einleitung wurde die FCS-Methode erwähnt. Hier soll die Methode näher erläutert werden. Der apparative Aufbau kann folgendermaßen schematisch dargestellt werden:

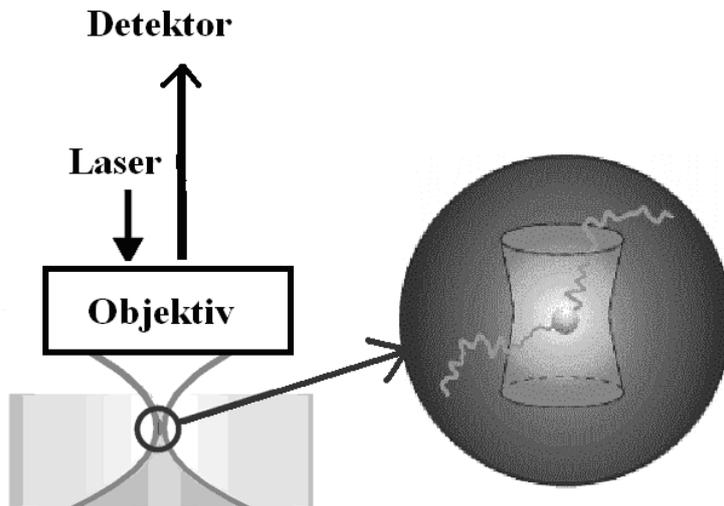


Abbildung 8: schematischer Aufbau einer FCS Messung

Durch eine geeignete mathematische Auswertung der Rohdaten erhält man die Wahrscheinlichkeitsfunktion G in Abhängigkeit von der Korrelationszeit t_c :

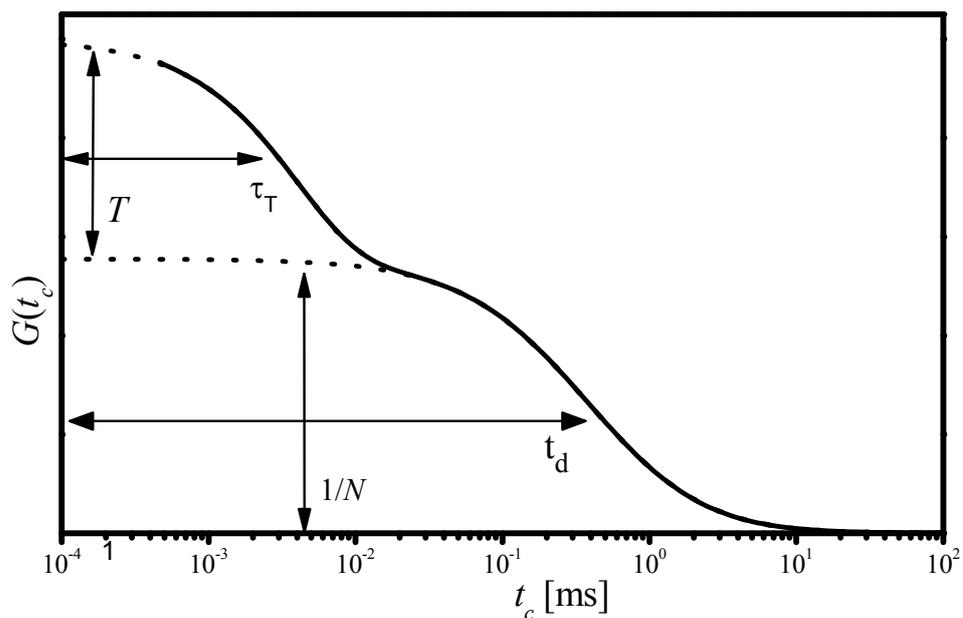


Abbildung 9: Schematische Darstellung einer FCS-Kurve

Hauptteil

Dabei ist $G(t_c)$ ein Maß für die Wahrscheinlichkeit, dass zurzeit t_c Fluoreszenz beobachtet wird, wenn zum Zeitpunkt $t = 0$ s Fluoreszenz beobachtet wurde.

Diese Kurve zeigt einen stufenförmigen Verlauf (vergleiche Abbildung 1 und Abbildung 8), und jede dieser Stufen ist gekennzeichnet durch eine Korrelationszeit τ_T und einer Stufenhöhe T . Dabei kann jede Stufe einem bestimmten Prozess zugeordnet werden, wobei sich die für diesen Prozess charakteristische Korrelationszeit aus dem Wendepunkt der Kurve entnehmen lässt. Im Beispiel von Abbildung 9 ergaben sich zwei Stufen, die dem Triplettzustand und der Diffusion des Fluorophors aus dem Fokus der FCS-Apperatur zugeordnet werden können.

Dabei sind die wichtigen Parameter der Kurve:

t_d = Diffusionszeit des Moleküls

$$\sim \sqrt[3]{M(\text{molare Masse})}$$

T = Triplettamplitude

= durchschnittlicher Anteil der Moleküle im Triplettzustand

τ_T = Triplettkorrelationszeit

= Zeit, in der sich die Moleküle im Triplettzustand befinden

Die FCS liefert daher unter anderem Informationen über die Triplettparameter eines Fluorophors, wie zum Beispiel die Effizienz für das Intersystem crossing und die Triplettkorrelationszeit.

Ein Vorteil dieser Methode ist, dass man mit sehr geringen Probenvolumen (standardmäßig 20-50 μl der zu untersuchenden Substanz in Lösung) und sehr geringen Konzentrationen (die Konzentration bewegt sich im Bereich von 10^{-9} M bezogen auf den Fluorophor, oder geringere Konzentrationen) arbeiten kann.

Alle in dieser Arbeit erwähnten FCS-Messungen und Power-Serien sind durch den Arbeitskreis von Herrn Prof. Seidel durchgeführt worden.

2.3 Versuch der theoretischen Vorhersage der Triplettenergien von Fluorophor und Quencher

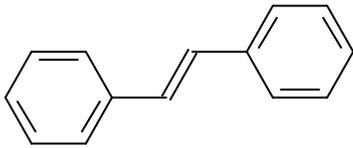
Wie oben diskutiert (siehe Kapitel 1) wird ein effektives und selektives Quenchen des Triplettzustandes des Fluorophors angestrebt. Zur Vorhersage der Quencheigenschaften eines Quenchers ist die energetische Lage der ersten angeregten Singulett- und Triplettzustände von Fluorophor und Quencher von Bedeutung. In ersten Voruntersuchungen galt es daher herauszufinden, ob es eine Möglichkeit gibt, durch theoretische Untersuchungen die Singulett- und die Triplettzustände vorherzusagen. Durch diese Berechnungen würde man Informationen über die Triplettenergien, die Geometrie des Triplettzustandes und über die Elektronendichte-Verteilung bekommen. Für diese Berechnungen wurden die Programme MOPAC 93^[34-36, 58-61] und Gaussian 98^[29, 52, 53, 57] benutzt. Es wurden verschiedene Rechenmethoden getestet:

1. Geometrieoptimierung mit
 - a) semiempirischen Methoden (AM1)
 - b) ab initio Methoden (HF / 6-31 G* Volume Opt)
2. Berechnung von Singulett/Triplettzuständen in der Gasphase
 - a) RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*: **R**estricted (Hartree Fock) **C**onfiguration **I**nteraction **S**ingle, **5** berechnete Zustände, **50-50** Verteilung, Basissatz 6-31G*
 - b) UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*: **U**nrestricted (Hartree Fock) **C**onfiguration **I**nteraction **S**ingle, **5** berechnete Zustände, **50-50** Verteilung, Basissatz 6-31G
3. Berechnung von Singulett/Triplettzuständen im Lösungsmittel
 - a) RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*, SCRF Dipole: **R**estricted (Hartree Fock) **C**onfiguration **I**nteraction **S**ingle, **5** berechnete Zustände, **50-50** Verteilung, Basissatz 6-31G*, **S**elf-Consistent **R**eaction **F**ield, **D**ipole (Onsager Modell)
 - b) UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*, SCRF: **U**nrestricted (Hartree Fock) **C**onfiguration **I**nteraction **S**ingle, **5** berechnete Zustände, **50-50** Verteilung, Basissatz 6-31G*, **S**elf-Consistent **R**eaction **F**ield
4. Dichte-Funktional-Theorie ohne Lösungsmittel (B3LYP / 6-31G*)
5. Dichte-Funktional-Theorie mit Lösungsmittel (B3LYP / 6-31G*,SCRF)

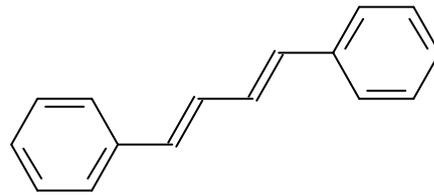
Hauptteil

Für diese Untersuchungen wurden Stilben (**2**), ein vinylog verlängertes Stilben (1,4-Diphenyl-1,3-butadien **3**) und eine Reihe von überbrückten Stilbenen (**4** - **9**) herangezogen. Diese Molekülauswahl beruht auf folgender Überlegung:

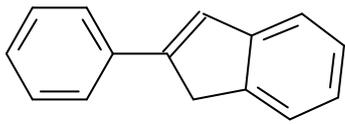
1. das Stilben (**2**) selber ist planar
2. die angeregten Zustände S_1 und T_1 des Stilbens sind verdrillt
3. diese Verdrillung wird durch die Überbrückung der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung vermindert.
4. damit ergibt sich eine (E), (Z)-Fixierung.



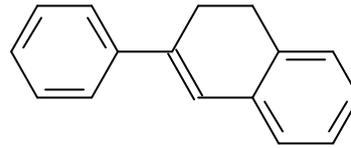
Stilben (**2**)



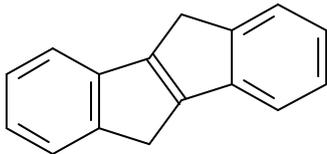
1,4-Diphenyl-1,3-butadien (**3**)



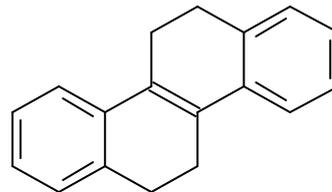
2-Phenyl-inden (**4**)



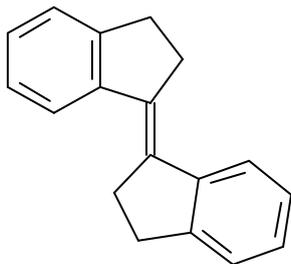
2-Phenyl-3,4-dihydronaphthalin (**5**)



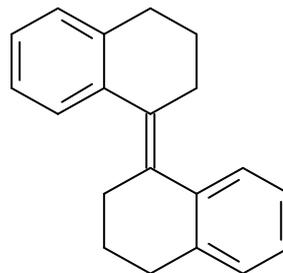
Indeno[2.1.a]inden (**6**)



5,6,11,12-Tetrahydrocrysens (**7**)



1-(1-Indanylidene)indan (**8**)



1-(1-Tetrainylden)tetralin (**9**)

Um eine Vorstellung über die Geometrie der Moleküle zu bekommen, wurde zunächst eine Geometrieoptimierung auf semiempirischem Niveau vorgenommen. Dazu wird zunächst eine Z-Matrix aufgestellt. Bei der Z-Matrix handelt es sich um eine Tabelle, die die Lage von Atomen in internen Koordinaten angibt.

Bei der Verwendung von inneren Koordinaten ist die Lage eines Atoms durch den Abstand in Å (häufig die Bindungslänge, BL) zu einem weiteren Atom (Atom 2), durch den Winkel (Bindungswinkel BW) zwischen diesen beiden Atomen und einem dritten Atom (Atom 3), und durch den Dihedralwinkel DW zwischen diesen drei Atomen und einem vierten Atom (Atom 4) definiert. Man benötigt daher zur Angabe einer Atomlage sieben Angaben:

1. Ordnungszahl OZ
2. Abstand zwischen Atom 1 und 2, BL
3. den Bindungswinkel zwischen Atom 1, 2 und 3, BW
4. Dihedralwinkel DW
- 5.-7. die drei Bezugsatome

Diese sieben Angaben werden noch durch drei Angaben zur Steuerung des Programms, die Steuerbits ST ergänzt. Diese Steuerbits geben für jede inner Koordinate (Abstand BL, Winkel BW und Dihedralwinkel DW) an, ob diese Koordinate optimiert (ST = 1) oder nicht optimiert (ST = 0) werden soll.

Jede Zeile der Z-Matrix hat das Format:

$O_Z, BL, ST_{BL}, BW, ST_{BW}, DW, ST_{DW}, \text{Atom } 2, \text{Atom } 3, \text{Atom } 4.$

Diese Zeile gibt die Parameter für jedes beliebige Atom wieder.

In der ersten Zeile der Z-Matrix wird nur die Art des Atoms angegeben, in der zweiten Zeile die Art, der Abstand plus Steuerbit und das Atom auf den sich der Abstand bezieht, und in der dritten Zeile nur die Art, der Abstand plus Steuerbit, der Bindungswinkel plus Steuerbit, sowie die zwei Atome auf die sich der Abstand und der Winkel definieren angegeben, die restlichen Angaben werden durch Nullen ersetzt.

Insgesamt werden also $3N-6$ innere Koordinaten für N-Atome definiert, entsprechend $3N-6$ inneren Freiheitsgraden.

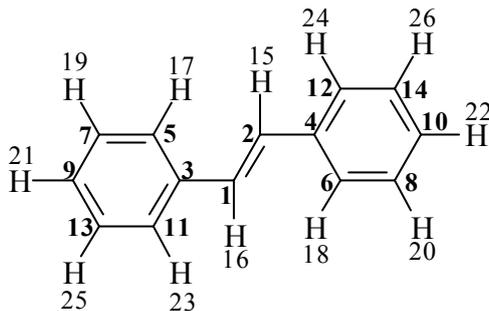
Nachdem alle Atome auf diese Weise eindeutig bestimmt wurden, wird die Eingabe mit einer „Null-Zeile“ abgeschlossen, wobei diese aus zehn Nullen besteht.

0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0

Hauptteil

Der Z-Matrix vorangestellt werden drei Zeilen, die erste enthält Steuerbefehle, die zum Beispiel definieren, welches Modell (AM1, PM3, usw.) bei der Berechnung benutzt wird, die zweite und dritte Zeile sind für Kommentare des Benutzers vorgesehen. Diese sind durch den Benutzer frei definierbar, und können zum Beispiel die Bezeichnung des Moleküls oder jeden anderen beliebigen Text enthalten.

Für das Stilben sieht die Eingabedatei der Z-Matrix wie folgt aus. Zur besseren Orientierung sind die Nummern für die Kohlenstoffatome fettgedruckt.



1. Zeile (Programmparameter)

2. Zeile (Kommentar 1)

3. Zeile (Kommentar 2)

```
6  0.000  0  0.000  0  0.000  0  0  0  0
6  1.410  1  0.000  0  0.000  0  1  0  0
6  1.540  1 120.000  1  0.000  0  1  2  0
6  1.540  1 120.000  1 180.000  1  2  1  3
6  1.410  1 120.000  1 180.000  1  3  1  2
6  1.410  1 120.000  1 180.000  1  4  2  1
6  1.410  1 120.000  1 180.000  1  5  3  1
6  1.410  1 120.000  1 180.000  1  6  4  2
6  1.410  1 120.000  1  0.000  1  7  5  3
6  1.410  1 120.000  1  0.000  1  8  6  4
6  1.410  1 120.000  1  0.000  1  3  5  7
6  1.410  1 120.000  1  0.000  1  4  6  8
6  1.410  1 120.000  1  0.000  1 11  3  5
6  1.410  1 120.000  1  0.000  1 12  4  6
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1  1  2  3
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1  2  1  4
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1  5  3  7
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1  6  4  8
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1  7  5  9
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1  8  6 10
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1  9  7 13
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1 10  8 14
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1 11  3 13
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1 12  4 14
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1 13 11  9
1  1.100  1 120.000  1 180.000  1 14 10 12
0  0.000  0  0.000  0  0.000  0  0  0  0
```

Zur Geometrieoptimierung ist das Programm MOPAC 93.00 verwendet worden. In allen Fällen verlief die Geometrieoptimierung erfolgreich. Die so berechneten Energien sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

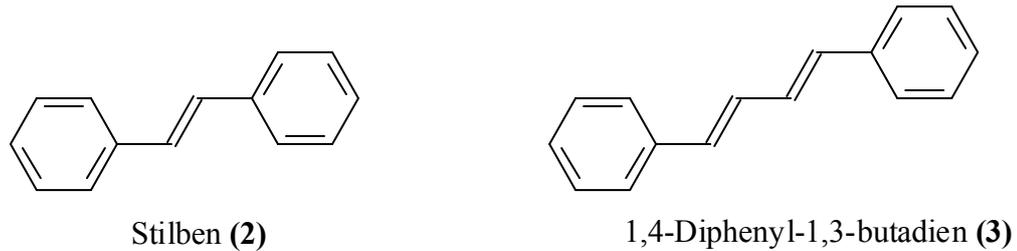
Tabelle 1: Geometrieoptimierte Moleküle mit den erhaltenen Energien

Molekül		Standardbildungsenthalpie E_F^0 / kcal (ber. AM1)	Standardbildungsenth. E_F^0 / kJ (ber. AM1)
Stilben	2	60,70	253,98
1,4-Diphenyl-1,3-butadien	3	73,46	307,38
2-Phenyl-inden	4	69,29	289,92
2-Phenyl-3,4-dihydronaphthalin	5	54,69	228,84
Indeno[2.1.a]inden	6	90,64	379,26
5,6,11,12-Tetrahydrocrysen	7	47,54	198,91
1-(1-Indanyliden)indan	8	55,95	234,11
1-(1-Tetraanyliden)tetralin	9	38,86	162,59

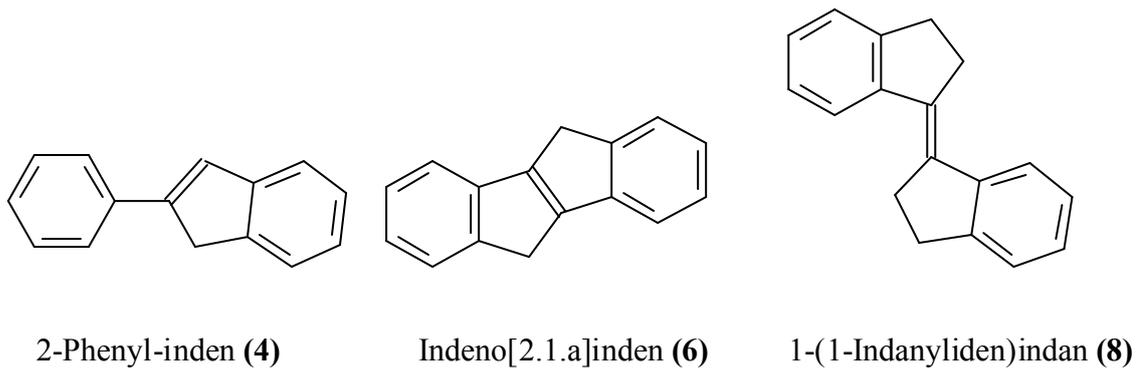
2.3.1 Vergleich der errechneten Geometrien (AM1 und HF / 6-31G*)

Die Moleküle werden nun in drei Gruppen zusammengefasst und verglichen. Dabei soll untersucht werden, wie sich bestimmte Winkel und Dihedralwinkel ändern. Dabei werden die Rechenmethoden AM1 (semiempirisch) und HF 6-31G* (ab initio) für die Geometrieoptimierung benutzt.

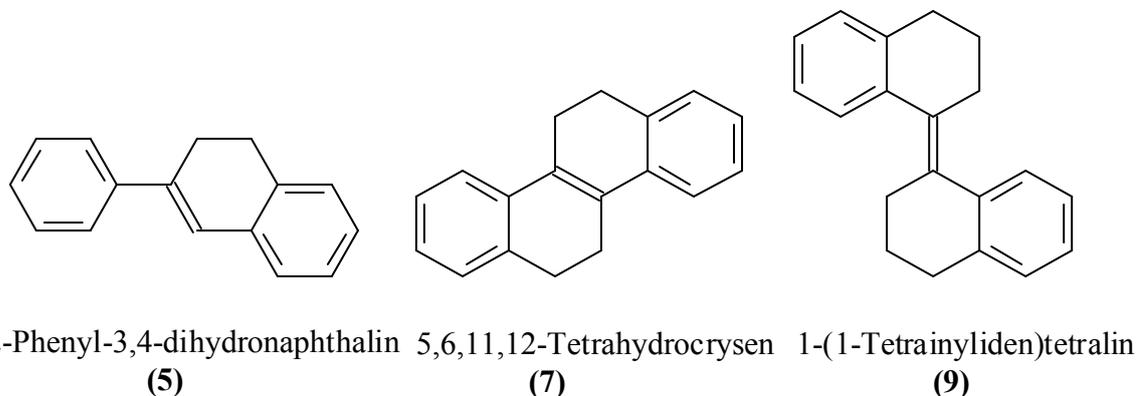
1. Gruppe 1: unverbrückte Moleküle



2. Gruppe 2: mit Fünfringen verbrückte Moleküle

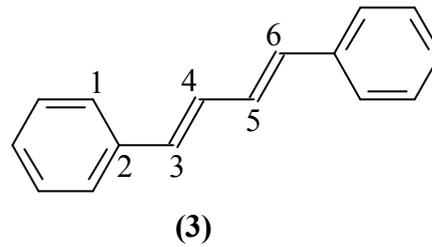
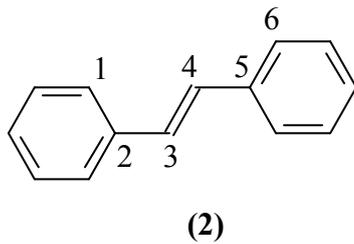


3. Gruppe 3: mit Sechsringen verbrückte Moleküle



Es sollen im Folgenden Winkel, Dihedralwinkel und Bindungslängen verglichen werden. Dabei werden die berechneten Winkel und Bindungslängen, die man aus der Berechnung von **2** erhält als Bezugsgröße verwendet.

Gruppe 1:



- Winkel (2 3 4)
- Dihedralwinkel (1 2 3 4)
- Bindungslänge (3 4), Bindungslänge (5 6)

Tabelle 2: Ergebnisse der Berechnungen für Gruppe 1, Rechenmethode AM1

Molekül	2		3	
	AM1	HF 6-31G*	AM1	HF 6-31G*
Winkel (2 3 4)	125,38	127,07	125,67	127,66
Dihedralwinkel (1 2 3 4)	180	180	180	180
Bindungslänge (3 4)	1,344	1,328	1,345	1,33
Bindungslänge (5 6)			1,345	1,33

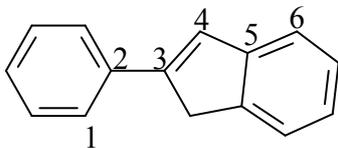
1. AM1 Methode

Die erhaltenen Werte für den Dihedralwinkel belegen die oben getroffene Aussage, dass das Molekül planar ist, der Winkel beträgt 180°. Auch die Winkel für die Atome (2 3 4) bzw. (4 5 6) belegen diese Aussage und mit einem Wert von 125,38° liegen diese im typischen Bereich für ein sp²-Kohlenstoffatom (idealer Winkel wäre 120°). Die Bindungslänge von 1,344 Å ist identisch mit der Bindungslänge, die typischerweise für eine Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung angenommen wird.

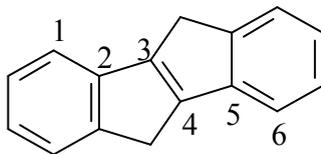
2. HF / 6-31G* Volume Opt

Auch bei dieser Methode liegt der errechnete Dihedralwinkel (1 2 3 4) bei 180°, beide Moleküle sind also planar. Der Wert für den Winkel (2 3 4) liegt in dem erwarteten Bereich von 120°.

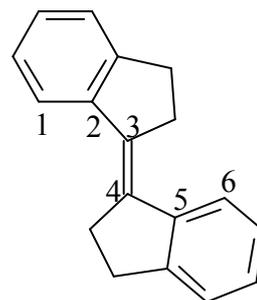
Gruppe 2:



(4)



(6)



(8)

- Winkel (2 3 4), Winkel (3 4 5)
- Dihedralwinkel (1 2 3 4), Dihedralwinkel (3 4 5 6)
- Bindungslänge (3 4)

Tabelle 3: Ergebnisse der Berechnungen für Gruppe 2, Rechenmethode AM1

Molekül	2		4		6		8	
	AM1	HF 6-31G*	AM1	HF 6-31G*	AM1	HF 6-31G*	AM1	HF 6-31G
Winkel (2 3 4)	125,38	127,07	127,98	127,82	103,84	110,18	128,17	128,28
Winkel (3 4 5)			109,6	110,55	108,12	110,14	128,17	128,26
Dihedralwinkel (1 2 3 4)	180	180	180	180	180	180	180	179,9
Dihedralwinkel (3 4 5 6)	180	180	180	180	180	180	180,1	179,9
Bindungslänge (3 4)	1,344	1,328	1,367	1,336	1,377	1,333	1,345	1,336

1. AM1

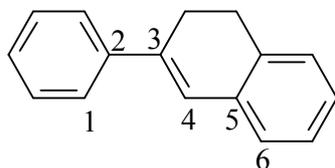
Die Bindungslänge der Doppelbindung zwischen den Atomen 3 und 4 entspricht in dem Molekül **8** dem Wert für eine Doppelbindung (vgl. **2**) mit 1,345 Å. Bei den mit Fünfringen verbrückten Molekülen **4** und **6** erkennt man eine deutliche Aufweitung der Bindungslänge von 0,023 Å (**4**) bzw. von 0,033 Å (**6**). Es zeigt sich aber auch, dass die Moleküle immer noch planar sind, die Dihedralwinkel (1 2 3 4) und (3 4 5 6) liegen immer noch bei 180°.

Einen deutlichen Unterschied zwischen den Molekülen erkennt man, wenn man sich die Winkel (2 3 4) bzw. (3 4 5) betrachtet. Hier ist der Einfluss des Fünfringes deutlich erkennbar.

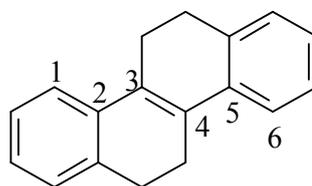
2. HF / 6-31G* Volume Opt

Es ergibt sich, dass fast alle Moleküle planar sind, lediglich **8** weist eine leichte Verdrillung von $0,1^\circ$ auf. Die Bindungslängen liegen alle in dem Bereich von $1,34 \text{ \AA}$ für eine typische Doppelbindung und im Gegensatz zur semiempirischen Methode ist der Einfluss der Verbrückung durch Fünfringe nicht, bzw. kaum erkennbar.

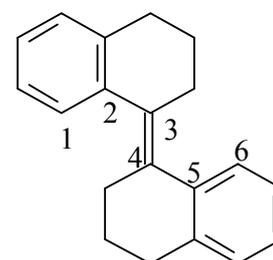
Gruppe 3:



(5)



(7)



(9)

- Winkel (2 3 4), Winkel (3 4 5)
- Dihedralwinkel (1 2 3 4), Dihedralwinkel (3 4 5 6)
- Bindungslänge (3 4)

Tabelle 4: Ergebnisse der Berechnungen für Gruppe 3, Rechenmethode AM1

Molekül	2		5		7		9	
	AM1	HF 6-31G*						
Winkel (2 3 4)	125,38	127,07	122,47	122,37	121,19		123,13	123,02
Winkel (3 4 5)			122,78	124,36	121,19		123,13	123,01
Dihedralwinkel (1 2 3 4)	180	180	180	21,3	180		-45,2	131,0
Dihedralwinkel (3 4 5 6)	180	180	180	-179,3	180		-45,3	131,0
Bindungslänge (3 4)	1,344	1,328	1,35	1,326	1,355		1,356	1,339

1. AM1

Die Verbrückung des Systems mit Sechsringen beeinflusst kaum die Bindungslänge zwischen den Atomen 3 und 4, sie liegen alle im Bereich einer normalen Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung, und unterscheiden sich nur um 0,012 Å. Aus den Berechnungen ergibt sich auch, dass die π -Systeme der Moleküle **5** und **7** planar sind (Dihedralwinkel beträgt 180°), nur das Molekül **9** weist eine deutliche Verdrillung von $45,3^\circ$ auf. Der zunehmende Grad der Ringspannung von **5** zu **7** sorgt dafür, dass sich der Wert für die Winkel (2 3 4) und (3 4 5) dem idealen Wert von 120° annähert.

2. HF / 6-31G* Volume Opt (für das Molekül **7** konnten keine Werte erhalten werden)

Die Verbückung besitzt bei dieser Rechenmethode einen größeren Einfluss auf die Bindungslänge im Vergleich zu der AM1 Methode. Sie bewegen sich aber immer noch in dem Bereich von 1,34 Å. Auffallend ist der Unterschied zwischen den beiden Rechenmethoden AM1 und HF / 6-31G* Volume Opt bei den Dihedralwinkeln bei dem Molekül **5**. Im Gegensatz zur semiempirischen Methode sagt die ab initio Methode eine deutliche Verdrillung des Systems voraus. Dabei ergibt sich eine Verdrillung von $21,3^\circ$ bei dem Dihedralwinkel (1 2 3 4) und bei dem Dihedralwinkel (3 4 5 6) eine Verdrillung von $0,7^\circ$, während bei der AM1 Methode beide Winkel gleich sind.

Man erkennt bei der Geometrieoptimierung deutlich den Unterschied zwischen den beiden Verbrückungsgruppen, und die Optimierung liefert sinnvolle und nachvollziehbare Ergebnisse, die in den erwarteten Bereichen liegen.

Der Unterschied zwischen den beiden Methoden (AM1 und HF/6-31G* Volume opt) ist auch deutlich erkennbar. Während bei der semiempirischen Methode alle Moleküle nahezu planar sind, erkennt man bei der ab initio Methode die Verdrillung der Moleküle.

2.3.2 Vergleich der berechneten Zustände (RCIS/UCIS) mit Literaturdaten

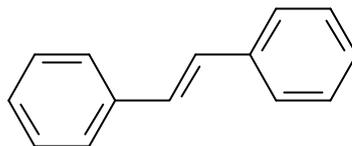
Die Geometrieoptimierung der Moleküle **2** bis **9** war erfolgreich, doch der eigentliche Sinn der Berechnungen liegt in der Vorhersage der Singulett- und Triplettzustände. Um diese Berechnungen vornehmen zu können, wurden die ab initio optimierten Moleküle erneut mit den erforderlichen Methoden berechnet. Für diese Berechnungen wurde das Programm Gaussian 98 benutzt. Diese Berechnungen sind für die Gasphase (Vakuum).

- RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*: **R**estricted (Hartree Fock) **C**onfiguration **I**nteraction **S**ingle, **5** berechnete Zustände, **50-50** Verteilung, Basissatz 6-31G*
- UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*: **U**nrestricted (Hartree Fock) **C**onfiguration **I**nteraction **S**ingle, **5** berechnete Zustände, **50-50** Verteilung, Basissatz 6-31G

Die so berechneten Zustände (Singulett und Triplett) sollen mit Literaturdaten ^[44] verglichen werden. Dabei interessiert vor allem der Singulettzustand S_1 , welcher der einzige ist, der eine Oszillatorstärke ungleich null besitzt. Damit liefert dieser Zustand die Information über die Energie des ersten angeregten Singulettzustandes, also für den Zustand S_1 . Die Angaben für diesen Singulettzustand können dann mit experimentell aufgenommen Spektren verglichen werden. Bei diesen Spektren handelt es sich allerdings um Absorptionsspektren aufgenommen in Heptan, d.h. ein direkter Vergleich der angegebenen Maxima, berechnete Energie für S_1 , und experimentell erhaltene (Absorptions-Maxima), ist also nur bedingt möglich, da die berechneten Energien sich auf das Vakuum beziehen und keine Lösungsmittelleffekte berücksichtigen.

Hauptteil

1. Molekül 2



- RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 5: Berechnete Ergebnisse für Molekül 2 mit RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

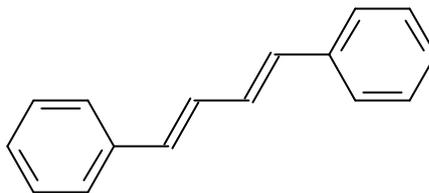
Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f	Literatur ^[44]	
					Wellenzahl ν * cm	Wellenlänge λ / nm
1	T	2,2302	555,92	0		
2	T	3,3147	374,04	0		
3	T	3,9489	313,97	0		
4	S	4,7148	262,97	1,1109	31150	321,03
5	T	4,7215	262,59	0		
6	T	4,7335	261,93	0		
7	T	4,8801	254,06	0		
8	T	5,0854	243,8	0		

- UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 6: Berechnete Ergebnisse für Molekül 2 mit UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f
1	T	2,2302	555,93	0
2	T	3,3147	374,04	0
3	T	3,9489	313,97	0
4	S	4,4148	262,97	1,1103
5	T	4,7215	262,59	0

2. Molekül 03



- RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 7: Berechnete Ergebnisse für Molekül 3 mit RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

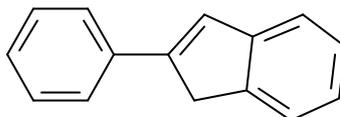
Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f	Literatur ^[44]	
					Wellenzahl ν * cm	Wellenlänge λ / nm
1	T	2,1830	567,94	0		
2	T	3,1507	393,51	0		
3	T	3,7093	334,25	0		
4	T	4,4104	281,12	0		
5	S	4,7046	263,54	1,8304	30160	331,56
6	T	4,8397	256,18	0		
7	T	4,8412	256,1	0		
8	T	5,0416	245,92	0		
9	T	5,1803	239,34	0		
10	T	5,5779	222,28	0		

- UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 8: Berechnete Ergebnisse für Molekül 3 mit UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f
1	T	2,1830	567,94	0
2	T	3,1507	393,51	0
3	T	3,7093	334,25	0
4	T	4,4104	281,12	0
5	S	4,7046	263,54	1,8307

3. Molekül 4



- RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 9: Berechnete Ergebnisse für Molekül 4 mit RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

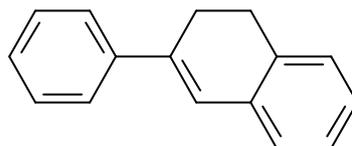
Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f
1	T	2,1971	564,29	0
2	T	3,3204	373,4	0
3	T	3,8885	318,85	0
4	S	4,5843	270,45	0,8048
5	T	4,6606	266,02	0
6	T	4,7174	262,82	0
7	T	4,8774	254,2	0
8	T	5,0085	247,55	0
9	T	5,4354	228,1	0
10	T	5,4976	225,52	0

- UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 10: Berechnete Ergebnisse für Molekül 4 mit UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f
1	T	2,1971	564,29	0
2	T	3,3204	373,4	0
3	T	3,8885	318,85	0
4	S	4,5843	270,45	0,8045
5	T	4,6606	266,02	0

4. Molekül 5



- RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 11: Berechnete Ergebnisse für Molekül 5 mit RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

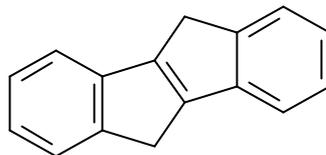
Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f
1	T	2,2165	559,38	0
2	T	3,2855	377,36	0
3	T	3,8638	320,89	0
4	S	4,5928	268,95	0,8646
5	T	4,5929	268,94	0
6	T	4,7530	260,85	0
7	T	4,8244	256,99	0
8	T	5,0221	246,87	0
9	T	5,3999	229,6	0
10	T	5,4811	226,2	0

- UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 12: Berechnete Ergebnisse für Molekül 5 mit UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f
1	T	2,2164	559,38	0
2	T	3,2855	377,36	0
3	T	3,8637	320,89	0
4	S	4,5929	269,95	0,8642
5	T	4,5929	269,94	0

5. Molekül 6



- RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 13: Berechnete Ergebnisse für Molekül 6 mit RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

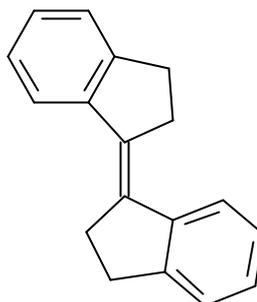
Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f
1	T	2,2070	561,77	0
2	T	3,2850	377,42	0
3	T	3,8274	323,94	0
4	S	4,4687	277,45	0,5483
5	T	4,6188	268,43	0
6	T	4,6541	266,4	0
7	T	4,8686	254,66	0
8	T	4,9637	249,78	0
9	T	5,4668	226,79	0
10	T	5,5082	225,09	0

- UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 14: Berechnete Ergebnisse für Molekül 6 mit UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Zustand	Art / Symmetrie	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f
1	T	2,2070	562,77	0
2	T	3,2850	377,42	0
3	T	3,8274	323,94	0
4	S	4,4687	277,45	0,5483
5	T	4,6188	268,43	0

6. Molekül 8



- RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 15: Berechnete Ergebnisse für Molekül 8 mit RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

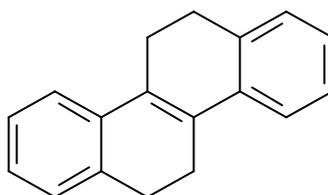
Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f	Literatur ^[44]	
					Wellenzahl ν * cm	Wellenlänge λ / nm
1	T	2,3266	532,89	0		
2	T	3,3402	371,18	0		
3	T	3,8420	322,7	0		
4	T	4,6678	265,61	0		
5	S	4,7075	263,37	1,1025	29500	338,98
6	T	4,7134	263,05	0		
7	T	4,7709	259,88	0		
8	T	5,0140	247,27	0		
9	T	5,4978	225,52	0		
10	T	5,5141	224,85	0		

- UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

Tabelle 16: Berechnete Ergebnisse für Molekül 8 mit UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*

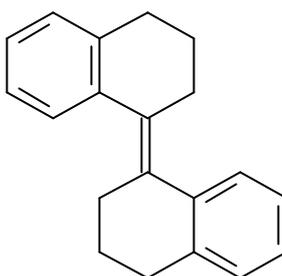
Zustand	Multiplizität	Energie E / eV	Wellenlänge λ / nm	Oszillator- stärke f
1	T	2,3266	532,89	0
2	T	3,3402	371,18	0
3	T	3,8420	322,7	0
4	T	4,6678	265,51	0
5	S	4,7075	263,37	1,1008

7. Molekül 7



Die angestrebten Berechnungen konnten nicht durchgeführt werden. Die Berechnungen wurden nicht reproduzierbar abgebrochen.

8. Molekül 9



Die angestrebten Berechnungen konnten nicht durchgeführt werden. Es traten nicht reproduzierbare, nicht behebbare Fehler auf.

Vergleicht man nun die berechneten Wellenlängen λ für die Methode RCIS (Nstates = 5, 50-50, 6-31G*), die für den ersten angeregten Zustand im Vakuum gelten, mit der experimentell ermittelten Wellenlängen für das Absorptionsmaximum, so fällt eine Abweichung von 58-75 nm auf. Die berechneten Werte für die den Zustand S_1 liegen unter denen der Absorptionsmaxima, die experimentell ermittelt wurden. Die berechneten Werte sind also zu einer kleineren Wellenlänge verschoben sein.

$$\lambda_{\max}(\text{ber.}) / \text{nm} < \lambda_{\max}(\text{exp.}) / \text{nm}$$

Dieser Unterschied kann dadurch erklärt werden, dass die berechneten Werte für die Gasphase(Vakuum) gelten, die experimentellen Werte aber in Lösung (Heptan) gemessen wurden.

Tabelle 17: Vergleich der berechneten Werte mit den Literaturdaten^[44]

Molekül	Wellenlänge (berech.) λ / nm	Wellenlänge (exp.) λ / nm	Abweichung in nm
2	262,97	321,03	- 58,06
3	263,54	331,56	- 68,02
8	263,37	338,98	- 75,61

2.3.3 Weiterführende Rechnungen

Aufgrund der Ergebnisse, die für die Berechnungen erzielt wurden, wird versucht noch weitere Einflüsse zu berücksichtigen, wie zum Beispiel der Einfluss eines Lösungsmittels. Darum sind noch folgende theoretische Berechnungen durchgeführt worden

1. Berechnung von Singulett/Triplettzuständen im Lösungsmittel

c) RCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*, SCRF Dipole:

Restricted (Hartree Fock) Configuration Interaction Single, 5 berechnete Zustände, **50-50** Verteilung, Basissatz 6-31G*, **Self-Consistent Reaction Field, Dipole** (Onsager Modell)

d) UCIS (Nstates = 5, 50-50), 6-31G*, SCRF:

Unrestricted (Hartree Fock) Configuration Interaction Single, 5 berechnete Zustände, **50-50** Verteilung, Basissatz 6-31G*, **Self-Consistent Reaction Field**

Für diese beiden Berechnungen wurde die bereits ab initio optimierte Geometrie als Voraussetzung genommen

2. Dichte-Funktional-Theorie ohne Lösungsmittel (B3LYP / 6-31G*)

3. Dichte-Funktional-Theorie mit Lösungsmittel (B3LYP / 6-31G*,SCRF)

Es sollten die bereits berechneten Moleküle **2 - 9** mit diesen Methoden untersucht werden, aber es sollten auch noch weitere Moleküle berechnet werden.

- Rhodamin 6G (**10**)
- Rhodamin 110 (**11**)
- Rhodamin 123 (**1**)

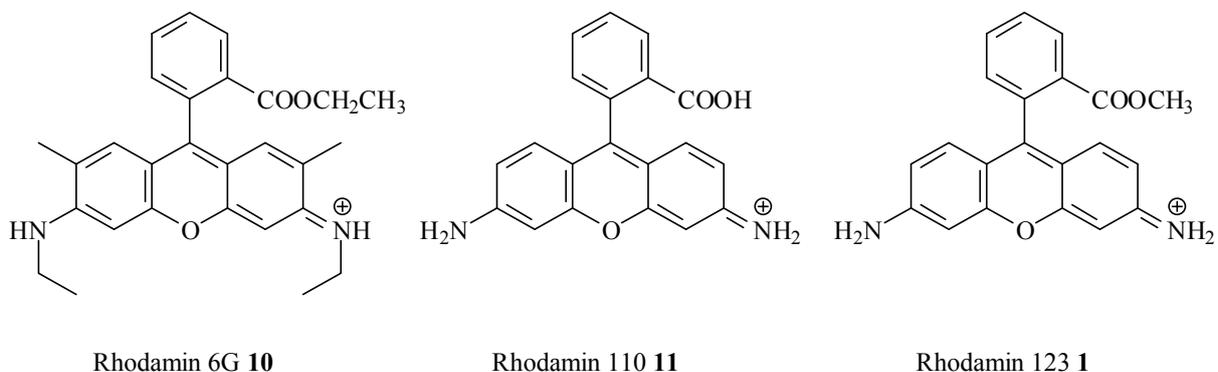
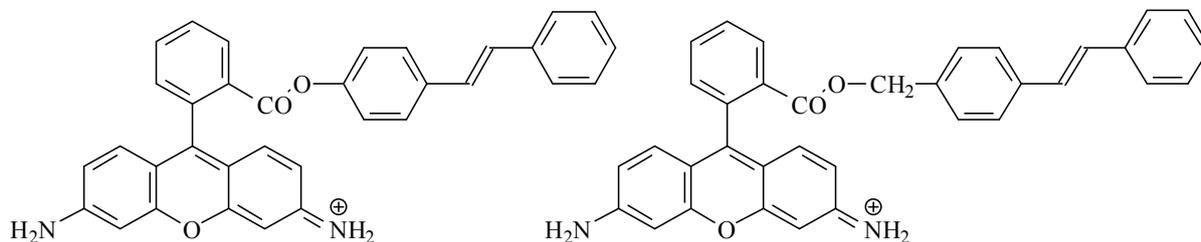


Abbildung 10: Strukturformeln der berechneten Moleküle

Hauptteil

Des Weiteren sollten bei diesen Berechnungen auch mögliche Kopplungsprodukte berücksichtigt werden

- Rhodamin 110 gekoppelt mit Stilben (**12**)
- Rhodamin 110 gekoppelt mit Methylstilben (**13**)



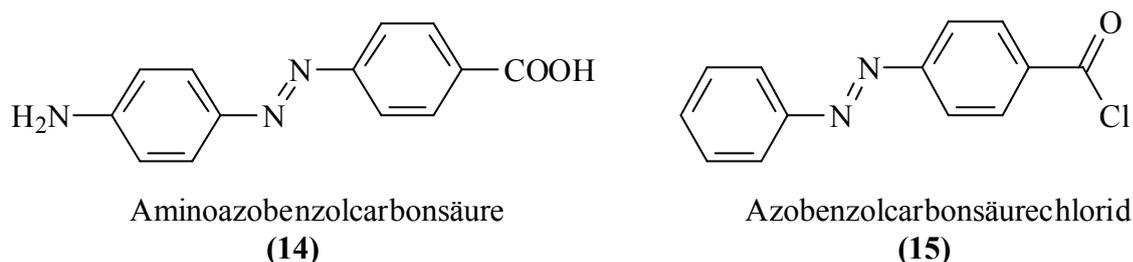
Rhodamin 110 gekoppelt mit Stilben **12**

Rhodamin 110 gekoppelt mit Methylstilben **13**

Abbildung 11: Strukturformeln der Kopplungsprodukte

Und auch zwei Azobenzolderivate werden untersucht (siehe Kapitel 2.4)

- 4'-Aminoazobenzolcarbonsäure **14**
- Azobenzolcarbonsäurechlorid **15**



Aminoazobenzolcarbonsäure
(14)

Azobenzolcarbonsäurechlorid
(15)

Abbildung 12: Strukturformeln der Azobenzolderivate

Bei der Durchführung der Berechnungen ergaben sich diverse Probleme. Zum einen reichte teilweise die zur Verfügung stehende Festplattenkapazität nicht aus, um die Berechnungen durchzuführen und so wurden die Berechnungen ergebnislos abgebrochen (Moleküle **1**, **10** – **13**). Zum anderen wurden Berechnungen mit nicht reproduzierbaren Fehlermeldungen abgebrochen. Aus diesen Gründen wurde beschlossen die Berechnungen nicht weiter fortzuführen, da die benötigten Ressourcen nicht zur Verfügung standen, um die Berechnungen für die Triplettzustände durchführen zu können. Die bis dahin durchgeführten Geometrieoptimierungen geben wertvolle Hinweise. Weitere Berechnungen sind wegen der limitierten Ressourcen nicht möglich und es ist geplant, diese Berechnungen in zukünftigen Arbeiten in Kooperation mit der Theoretischen Chemie (Arbeitskreis Prof. Dr. Ch. Marian) durchzuführen.

Als Beispiel soll hier die geometrieoptimierte Struktur des angestrebten Kopplungsproduktes dargestellt werden. Dabei wurde sowohl die Geometrie der mono-(*para* und *ortho*) als auch der di-substituierten Produkte optimiert (AM1 Niveau).

Monosubstituiertes *ortho* Produkt:

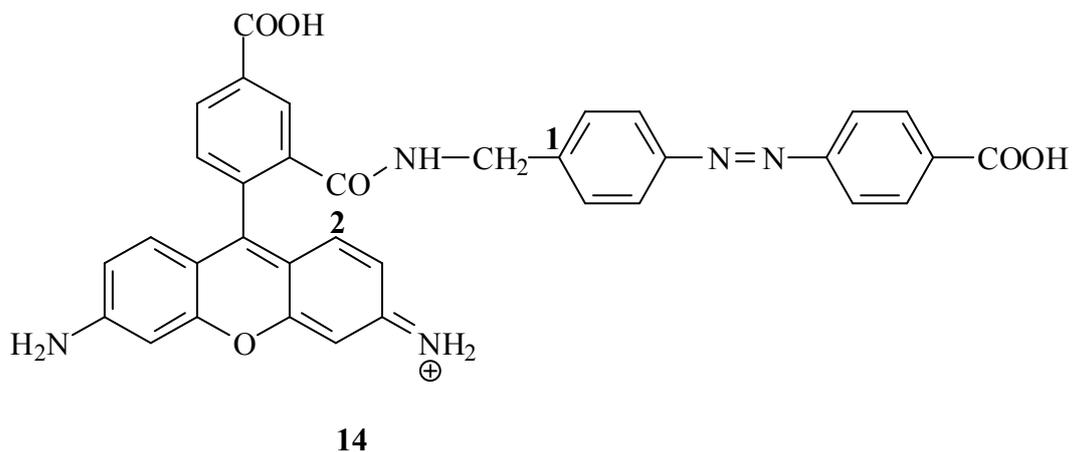


Abbildung 13: Strukturformel des *ortho*-Produktes 14

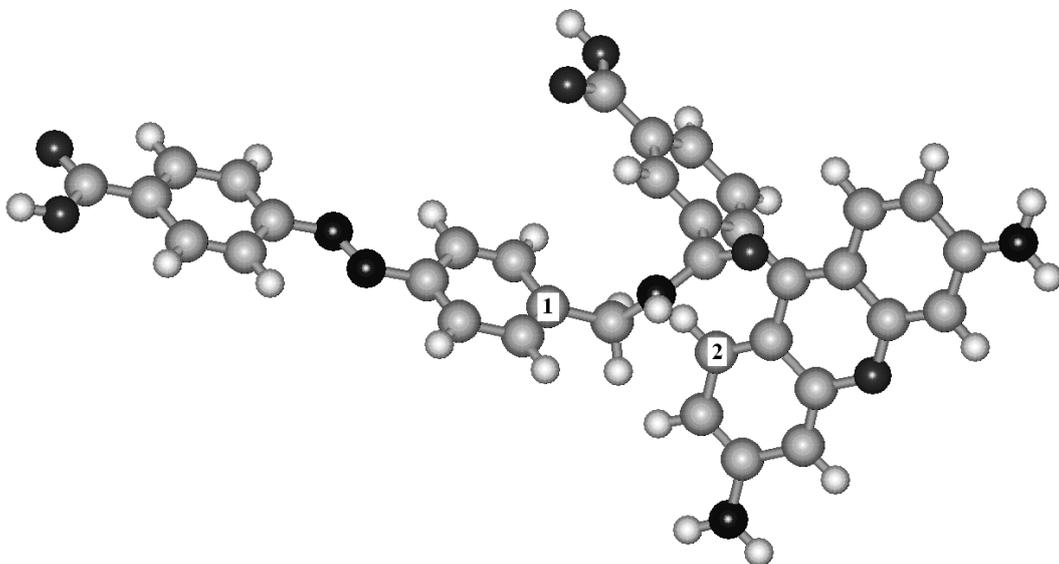


Abbildung 14: AM1 geometrieoptimiertes *ortho* Produkt 14, gestreckte Anordnung des Azobenzol-Derivates. Die Rückfaltung des Teilchromophors ist aber möglich.

Der Abstand im monosubstituierten *ortho* Produkt (14) zwischen Atom 1 und Atom 2 beträgt hier 5,03 Å. Dieser Abstand bestimmt den Punkt der größten Annäherung der beiden einzelnen Chromophore, und ist wichtig für die Orbital-Überlappung. Dieser Abstand gibt Auskunft über die intramolekulare Wechselwirkung im Sinne eines Dexter-Energie-Transfers.

Hauptteil

Monosubstituiertes *para* Produkt:

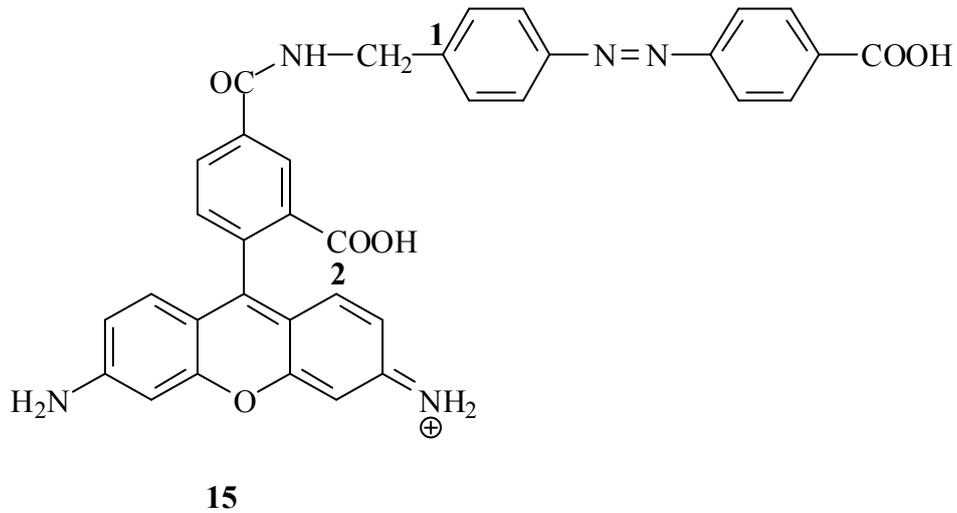


Abbildung 15: Strukturformel des *para*-Produktes 15

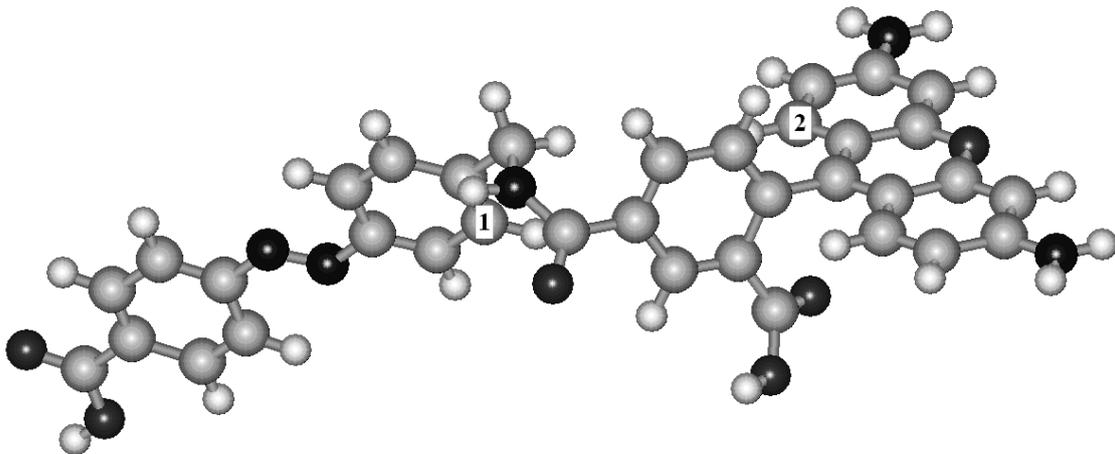


Abbildung 16: AM1 geometrieoptimiertes *para* Produkt 15

Der Abstand im monosubstituierten *para* Produkt (**15**) zwischen Atom 1 und Atom 2, also für die Wechselwirkung, beträgt 6,93 Å. Auch hier ist der Azobenzol-Teilchromophor gestreckt dargestellt, und eine Rückfaltung möglich.

Der Abstand zwischen Atom 1 und Atom 2 im zurück gefalteten Azobenzol-Teilchromophor beträgt 3,61 Å (siehe Abbildung 17).

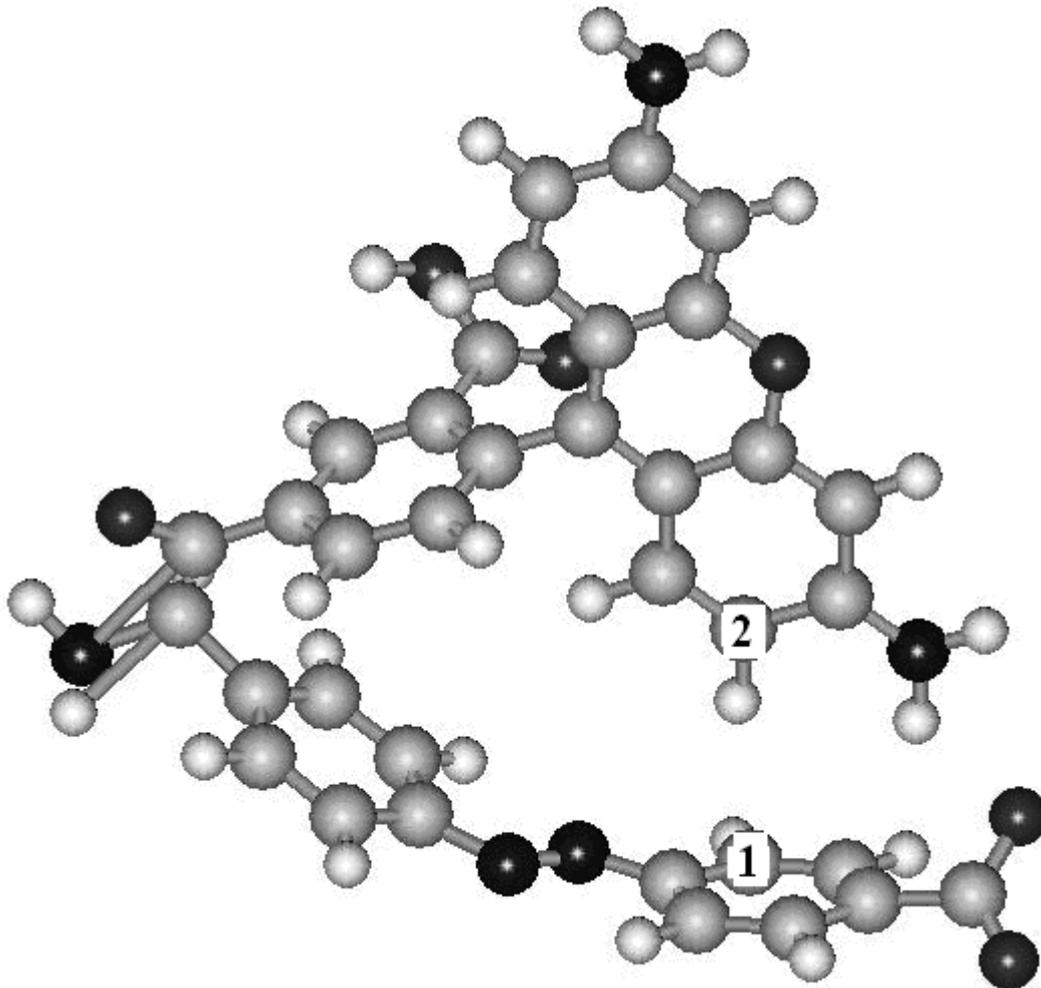


Abbildung 17: AM1 geometrieoptimiertes *para* Produkt 15, Rückfaltung des Azobenzol-Teilchromophors

Di-substituiertes Kopplungsprodukt:

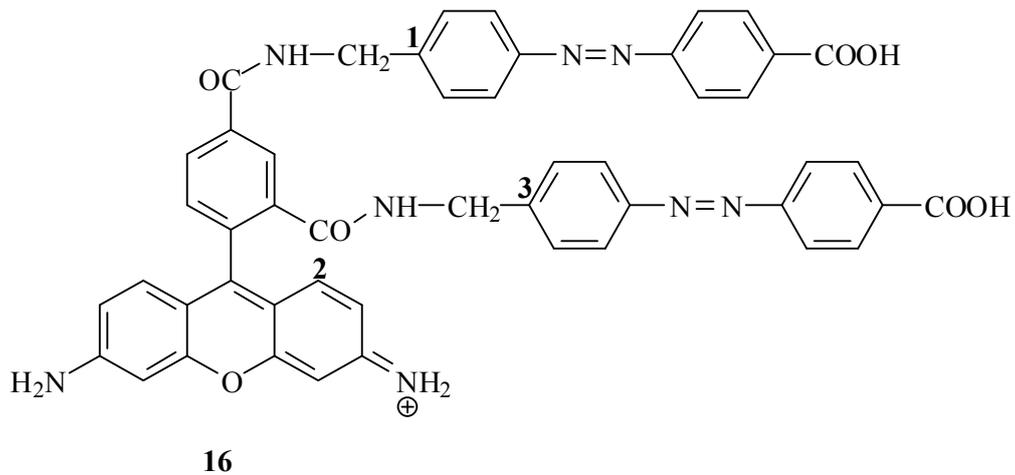


Abbildung 18: Strukturformel des Di-substituierten-Produktes 16

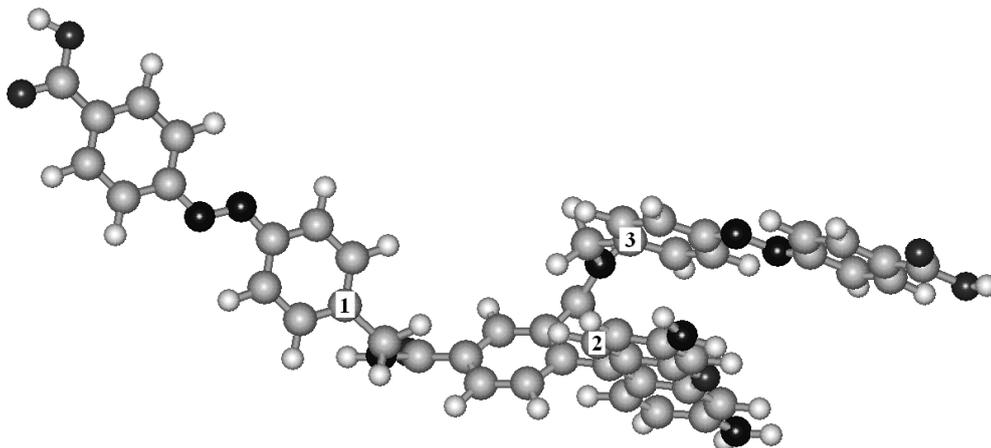


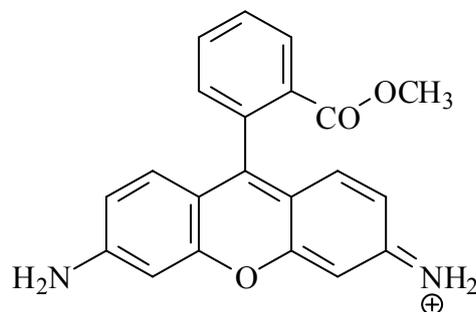
Abbildung 19: Di-substituiertes Kopplungsprodukt 16

Der Abstand im di-substituiertes Kopplungsprodukt (**16**) für den Dexter-Energie-Transfer zwischen Atom 1 (*para* sub.) und Atom 2 beträgt 7,10 Å und der Abstand von Atom 3 (*ortho* sub.) zu Atom 2 beträgt 3,29 Å. Bei diesen Berechnungen ergibt sich eine Geometrie, bei der der eine Azobenzol-Teilchromophor gestreckt (Punkt 1), der andere Teilchromophor hingegen zurückgefaltet (Punkt 3) ist.

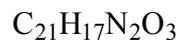
Die in Abbildung 14, Abbildung 16, Abbildung 19 berechneten Abstände für die intramolekulare Wechselwirkung liegen im Bereich des für den Dexter-Energie-Transfer maximalen möglichen Abstands. Damit die virtuelle Elektronen-Austausch Wechselwirkung effektiv wirken kann, sollte der Abstand der Chromophore kleiner als 10 Å sein. Dieses ist in allen drei geometrieoptimierten Molekülen der Fall.

2.4 Voruntersuchungen

Bereits zuvor wurde darauf hingewiesen, dass ein selektiver Triplettlöcher für Rhodamine eine Triplettenergie unterhalb der von Rhodaminen haben muss, aber eine Singulettenergie oberhalb der von Rhodaminen. Im ersten Schritt wurde daher nach Chromophoren mit geeigneten Singulett- und Triplettenergien gesucht. Dazu wurden überwiegend Tabellen aus dem Handbook of Photochemistry^[43] benutzt. Mit Chromophoren, die die Anforderung erfüllten, wurden dann Voruntersuchungen durchgeführt. Für die Auswahl der Farbstoffe wurde die Triplettenergie des Rhodamin 6G (Kation) ($E_T = 181 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$) als Bezugspunkt genommen. Die ausgewählten Farbstoffe müssen eine kleinere Triplettenergie und eine größere Singulettenergie als das Rhodamin 6G Kations besitzen. Zusätzlich wurde noch Cyclooctatetraen untersucht, welches aus früheren Arbeiten des Arbeitskreises von Herrn Prof. Seidel als guter Triplettquencher bekannt war. Diese Farbstoffe sind dann mittels der FCS-Spektroskopie in verschiedenen Konzentrationen untersucht worden. Als Fluoreszenzfarbstoff wurde für die Untersuchungen nicht Rhodamin 6G, sondern Rhodamin 123 (**1**) verwendet.



Rhodamin 123 (**1**)



$$E_T = 191 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Abbildung 20: Strukturformel des Rhodamin 123, Triplettenergie 191 kJ mol^{-1}

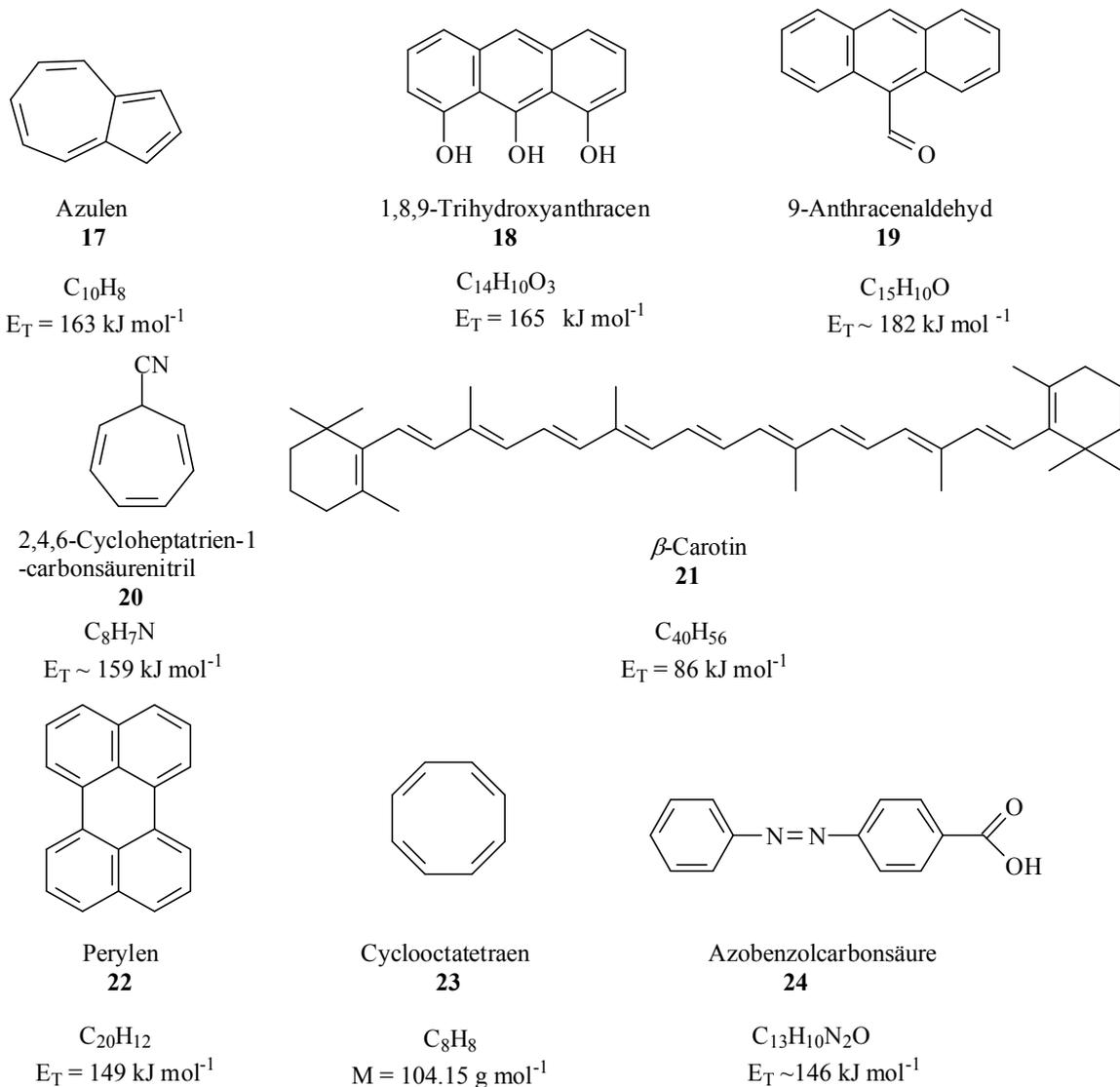


Abbildung 21: Verwendete Farbstoffe mit den zugehörigen Triplettenenergien^[43]

Die FCS Untersuchungen werden in wässrigem Medium durchgeführt und das Probenvolumen ist ein Tropfen mit einem Volumen von 20 μl . Zuerst wird das Rhodamin 123 alleine vermessen. Die Ergebnisse dieser Auswertung sind in dargestellt.

Tabelle 18: Ergebnisse der FCS Untersuchung für Rhodamin 123

	Diffusionszeit $\tau_{\text{diff}} / \text{ms}$	Triplett- amplitude	Triplettkorrelationszeit τ_T / ms	Zählrate pro Molekül K
Rhodamin 123 (1)	1,175	0,280	0,003	71,7

Löscht ein anderer Chromophor jetzt den Tripletzzustand des Rhodamins, so ergibt sich:

1. die Verringerung der Triplettamplitude T.
2. eine Verringerung der Triplettkorrelationszeit τ_T .
3. und eine Steigerung der Zählrate pro Molekül K.

Bei der Voruntersuchung vermisst man dabei zuerst das Rhodamin in Gegenwart einer hohen Konzentration des zugesetzten Löschers, man erhält die Parameter des Rhodamins 123 in Gegenwart des Quenchers τ_T , τ_{diff} und K. Anschließend verringert man die Konzentration des Quenchers immer mehr, bis schließlich die Parameter für reines Rhodamin erhalten werden, bzw. der Wert für die Zählrate wieder abnimmt.

Die genauen Messergebnisse sollen am Beispiel der Azobenzol-4-carbonsäure illustriert werden.

Tabelle 19: aufgenommene Daten der FCS für die Azobenzolcarbonsäure

	Konzentration mol l⁻¹	τ_{diff} / ms	Trip. Ampl. :	τ_T / ms	Zählrate pro Molekül K
Rhodamin 123		1,175	0,280	0,003	71,7
Azobenzol-4- carbonsäure	2,37 *10 ⁻⁵	1,047	0,272	0,00271	88,4
	2,37 *10 ⁻⁴	0,916	0,183	0,00196	108,5
	2,37 *10 ⁻³	0,958	0,136	0,00199	73,4

Für jeden Farbstoff (siehe Abbildung 21), der als Additiv zugesetzt werden soll, wird eine analoge Messreihe vorgenommen.

Analysiert man die Messwerte, die man für das Azobenzol-Derivat (Konzentration von 2,37*10⁻⁴ mol l⁻¹) erhalten hat, so erkennt man eine deutliche Zunahme für die Zählrate pro Molekül im Vergleich zum Rhodamin.

Tabelle 20: Gegenüberstellung der Messdaten für Rhodamin und Azobenzol

	Rhodamin 123	Azobenzol-4-carbonsäure / Rhodamin 123	Unterschied
τ_{diff} in ms	1,175	0,916	-22 %
Trip. Ampl. :	0,280	0,183	-35 %
τ_T / ms	0,003	0,00196	-35 %
Zählrate K:	71,7	108,5	+51 %

Hauptteil

Die Gegenüberstellung der Messergebnisse zeigt, dass die Zugabe von Azobenzolderivaten sich in allen drei Punkten (Tripletamplitude, Triplettlebensdauer und der Zählrate) deutlich positiv auswirkt.

Diese Betrachtung wurde für jeden Farbstoff (siehe Abbildung 21) durchgeführt und die Veränderung der Tripletamplitude, der Triplettrelaxationszeit und der Zählrate pro Molekül wurde analysiert und bewertet. Die beobachteten Veränderungen wurden mit ++, +, 0, -, -- bewertet, wobei die Bewertung ++ eine besonders positive Beeinflussung der Ergebnisse darstellt, also den Anforderungen entspricht. Die genauen Messergebnisse befinden sich im Anhang (Kapitel 7.1, Tabelle 71, Tabelle 72).

Abbildung 21 gibt eine Übersicht der eingesetzten Verbindungen und Tabelle 21 über die Bewertung.

Die durchgeführten Untersuchungen ergaben folgendes Ergebnis:

Tabelle 21: Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse der FCS

Name :	Triplett- amplitude	Triplettrelaxationszeit in ms	Zählrate pro Molekül K
Azulen	+	+	0
1,8,9-Trihydroxy- anthracen	0	+	0
9-Anthracenaldehyd	+	++	++
2,4,6-Cycloheptatrien- 1-carbonsäurenitril	++	++	++
Azobenzol-4- carbonsäure	++	++	++
β-Carotin	0	0	0
Ferrocen	+	--	++
Ferrocencarbonsäure	--	++	++
Perylen	0	0	0
Cyclooctatetraen	++	+	+

Wie aus der Tabelle 21 zu entnehmen ist, eignen sich besonders das Cycloheptatriencarbonsäurenitril und die Azobenzolcarbonsäure dazu den Triplettzustand des Rhodamins zu löschen. Diese beiden Farbstoffe zeigen schon in Lösung, also als Additiv, die erwünschten Eigenschaften.

Azobenzole bieten die Möglichkeit durch geeignete Derivatisierung die elektronischen Eigenschaften zu optimieren. In der Literatur sind mehrere Methoden (siehe Kapitel 2.5.2) zur Azobenzolsynthese und Derivatisierung beschrieben.

2.4.1 Cyclooctatetraen

Aus Untersuchungen, die zu einem früheren Zeitpunkt von dem Arbeitskreis von Herrn Prof. Seidel durchgeführt wurden, ging hervor, dass das Cyclooctatetraen in Analogie zum Cycloheptatrien auch ein guter Triplettquencher ist. Das Cyclooctatetraen ist selber aber nicht wasserlöslich und kann so nicht mit der beschriebenen Methode und den gegebenen Lösungsmitteln untersucht werden.

Es muss erst in wasserlösliche Derivate überführt werden. Die Synthese substituierter Cyclooctatetraenderivate erfolgt nach J. Gasteiger, G. E. Gream, R. Huisgen, W. E. Konz, U. Schnegg^[21].

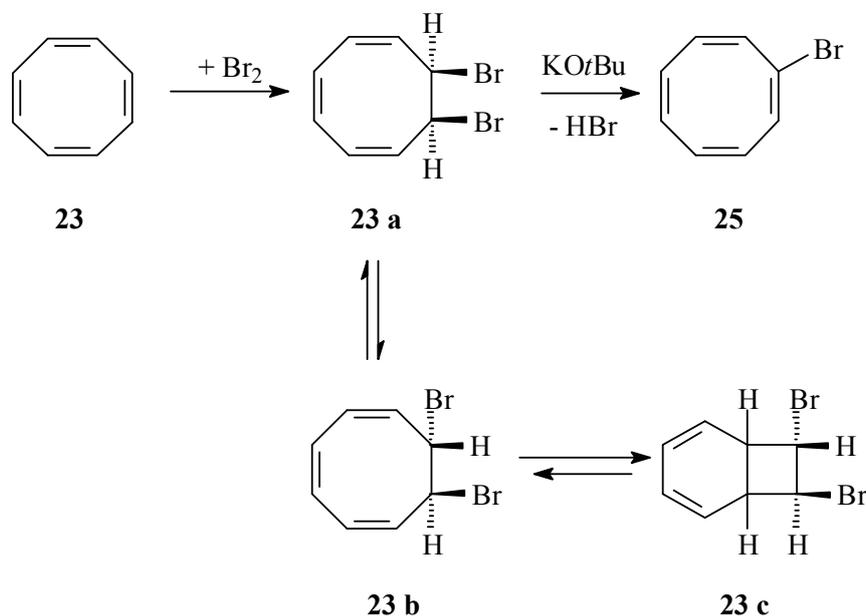


Abbildung 22: Reaktionsschema für die Bromierung von COT 23

Bei dieser Reaktion erfolgt *cis*-Addition von Brom bei tiefer Temperatur praktisch quantitativ und durch die nachfolgende baseninduzierte *trans*-Eliminierung liefert das für die weiteren Synthesen wichtige Bromcyclooctatetraen. Dieser Reaktionsmechanismus wurde durch Huisgen et al nachgewiesen^[4, 25, 26].

Dieses kann nun entsprechend den gewünschten Anforderungen modifiziert werden, um z.B. der Wasserlöslichkeit zu entsprechen. Die folgenden COT-Derivate sollen nach L. Echegoyen, R. Maldonado, J. Nieves, A. Alegria^[13] synthetisiert werden.

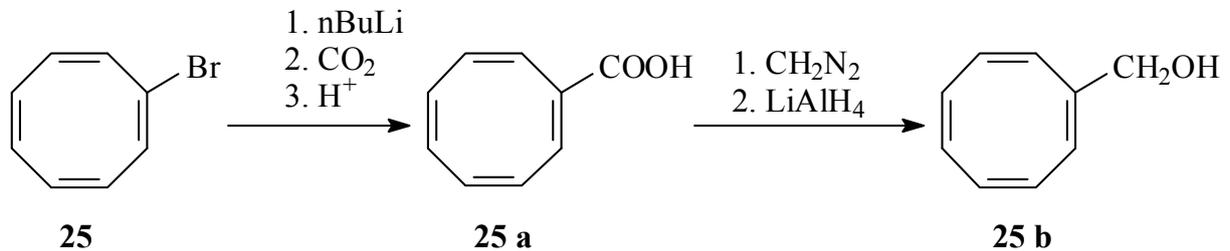


Abbildung 23: Cyclooctatetraenderivate

Dies so derivatisierte Cyclooctatetraen kann nun mit den oben beschriebenen (siehe Kapitel 2.4) Untersuchungsmethoden charakterisiert werden.

Leider konnte das Bromcyclooctatetraen **25** auf dem oben beschriebenen Syntheseweg nicht synthetisiert werden (vgl. Abbildung 22). Bei der spektroskopischen Untersuchung des Reaktionsproduktes sind sich folgenden NMR-Spektren in $CDCl_3$ aufgenommen worden.

1. 1H -NMR

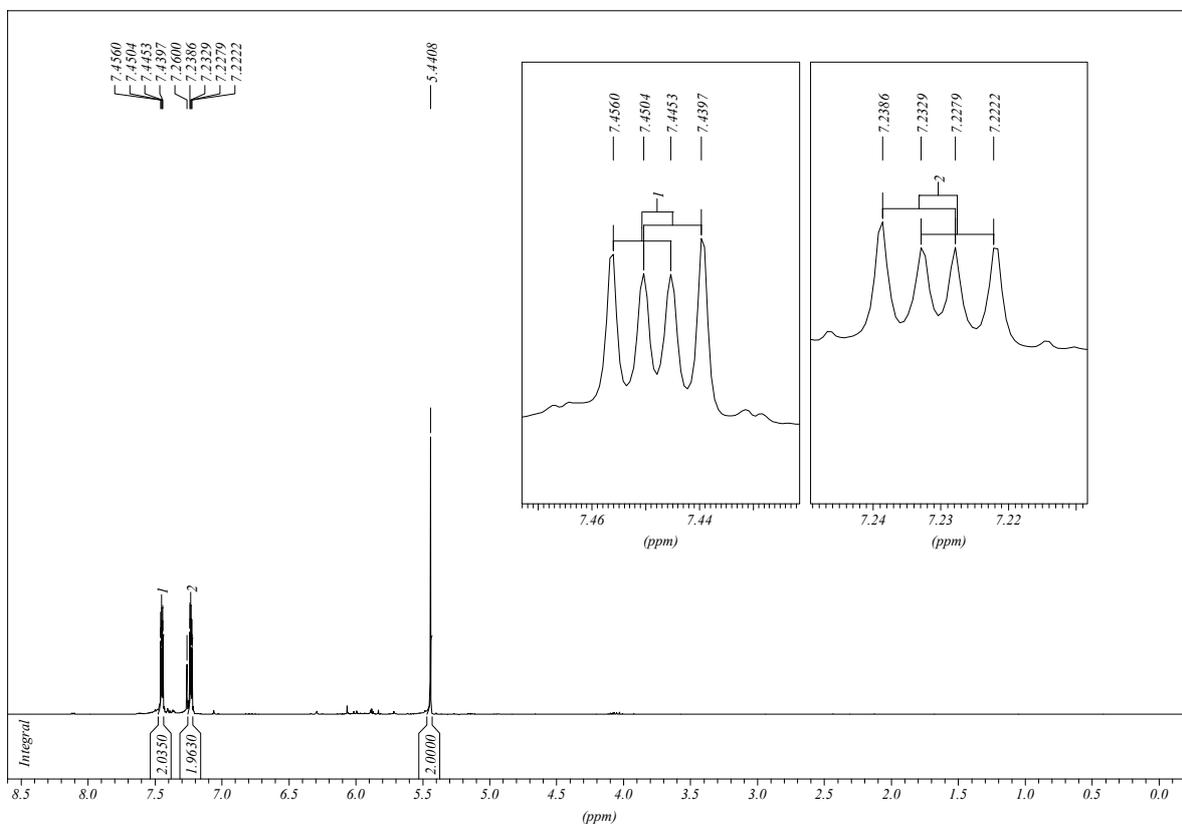


Abbildung 24: 1H -NMR des erhaltenen Produktes in $CDCl_3$

Hauptteil

Man erkennt in dem Spektrum drei unterschiedliche Protonensignale:

1. ein Signal bei 7,23 ppm
 - ⇒ Integration ist 2 H
 - ⇒ Multiplizität ist ein Dublett vom Dublett mit den Kopplungskonstanten ${}^3J_{\text{HH}} = 5.35 \text{ Hz}$ und ${}^4J_{\text{HH}} = 2.83 \text{ Hz}$
2. ein Signal bei 7,44 ppm
 - ⇒ Integration ist 2 H
 - ⇒ Multiplizität ist ein Dublett vom Dublett mit den Kopplungskonstanten ${}^3J_{\text{HH}} = 5.35 \text{ Hz}$ und ${}^4J_{\text{HH}} = 2.83 \text{ Hz}$
3. ein Signal bei 5,44 ppm
 - ⇒ Integration ist 2 H
 - ⇒ Multiplizität ist ein Singulett

2. ${}^{13}\text{C}\{-{}^1\text{H}\}$ -NMR

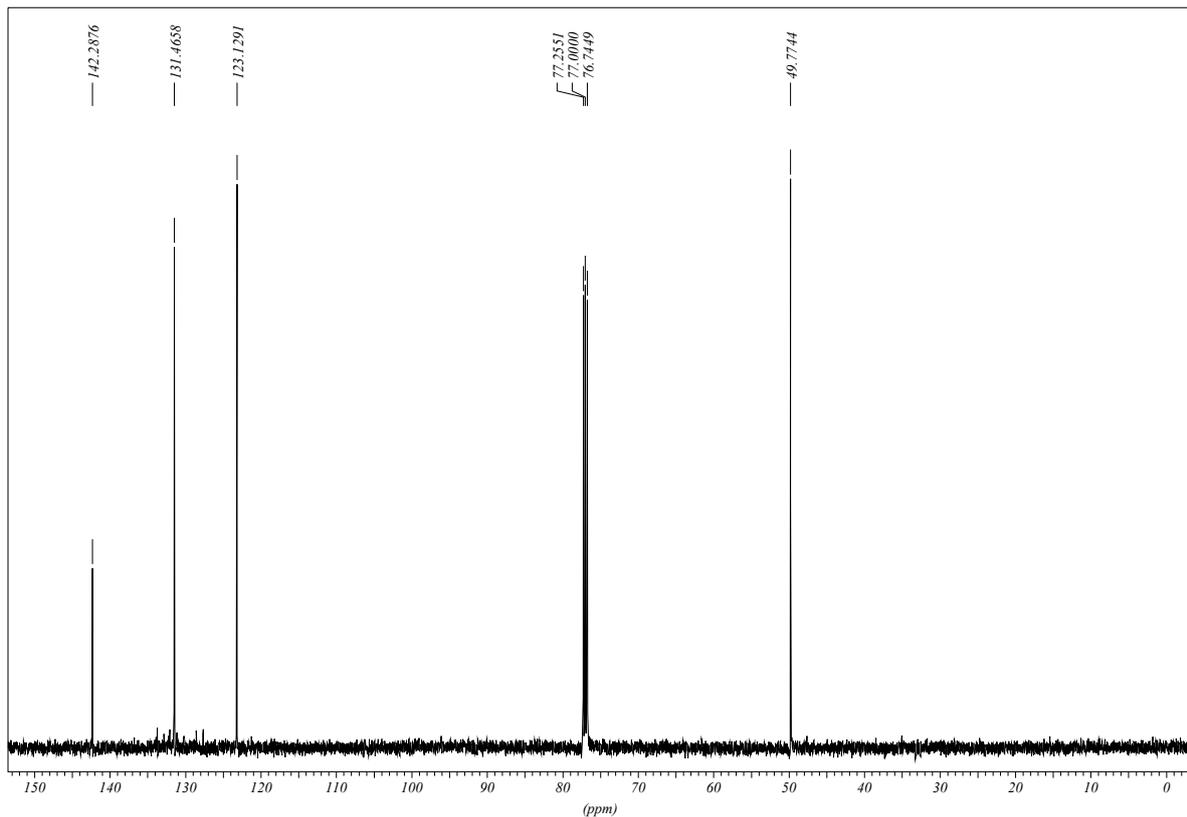
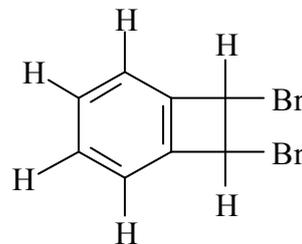


Abbildung 25: ${}^{13}\text{C}\{-{}^1\text{H}\}$ -NMR des Produktes in CDCl_3

Im Kohlenstoffspektrum erkennt man vier unterschiedliche Signale, also vier unterschiedliche Kohlenstoffarten, dabei ist ein Signal (48,74 ppm) Hochfeld verschoben und ein anderes Signal bei 142,28 ppm ist etwas kleiner wie die anderen (Hinweis auf ein quaternäres Kohlenstoff-Atom).

Die durch die NMR-Spektren erhaltenen Informationen stimmen mit keiner in Abbildung 22 gezeigten Strukturformeln überein, bzw. keine der gezeigten Reaktionszwischenprodukte / Produkte kann die Signale, die für die $^1\text{H}/^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -Spektren erhalten wurden, erklären.

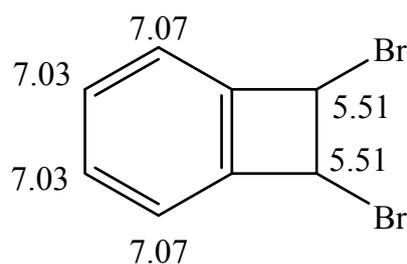
Ein Vergleich mit Literaturdaten^[19] und mit dem simulierten Spektrum des Programms ChemOffice ergab, dass vermutlich folgendes Produkt entstanden ist, das 1,2-Dibrom-1,2-dihydrocyclobutabenzol **26**^[9, 19]



26

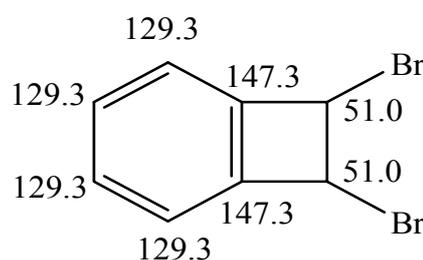
Für die NMR-Spektren sagt das Programm ChemOffice folgende chemische Verschiebungen voraus

ChemOffice NMR ^1H Vorhersage



Und für das Kohlenstoffspektrum

ChemOffice NMR ^{13}C Vorhersage



Hauptteil

Dieses Produkt (**26**) ist Literatur^[3] bekannt und vergleicht man die Daten, so ergibt sich:

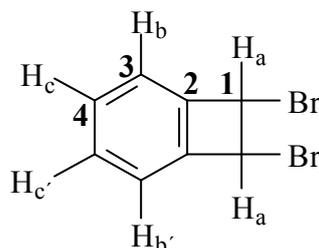


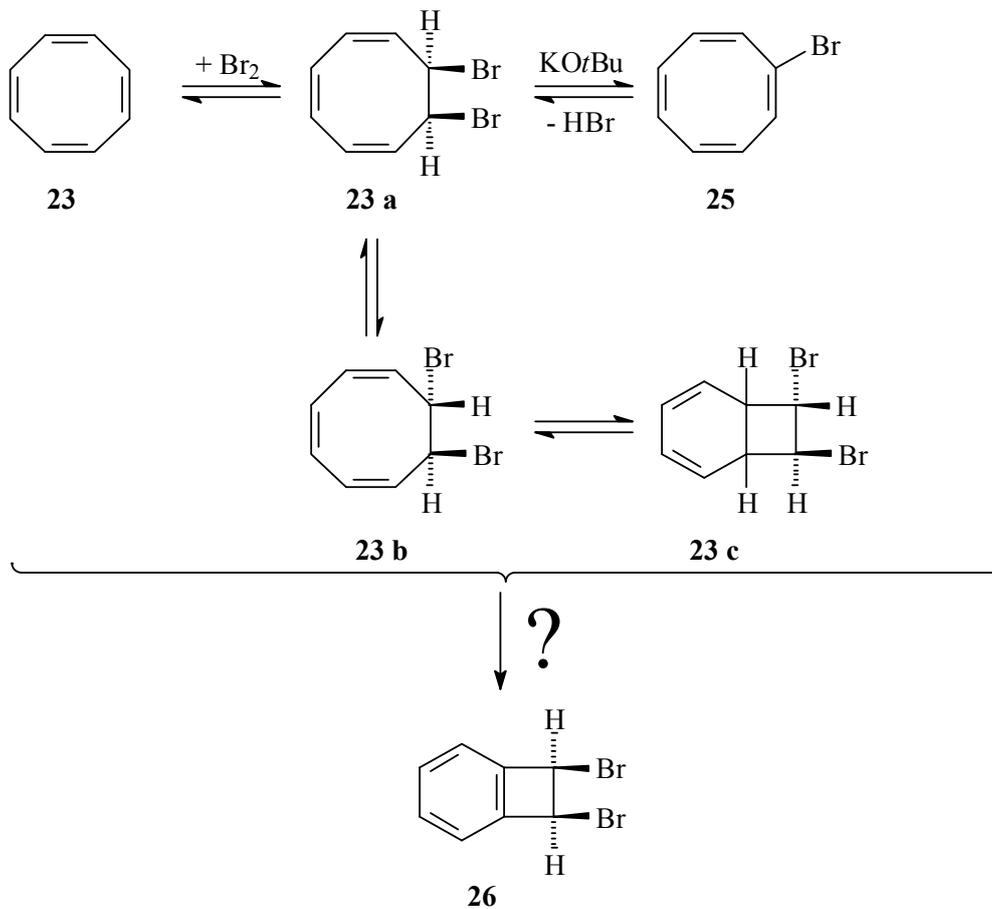
Tabelle 22: Vergleich der NMR-Daten

	Signal $\delta_{\text{exp.}} / \text{ppm}$	Signal $\delta_{\text{ChemOffice}} / \text{ppm}$	Signal (Lit.) $\delta_{\text{Lit.}}^{[3, 19]} / \text{ppm}$
H _a	5,44	5,51	5,410
H _b	7,44	7,07	7,385
H _c	7,23	7,03	7,175
1	49,77	51,0	
2	142,28	147,3	
3	123,12	129,3	
4	131,46	129,3	

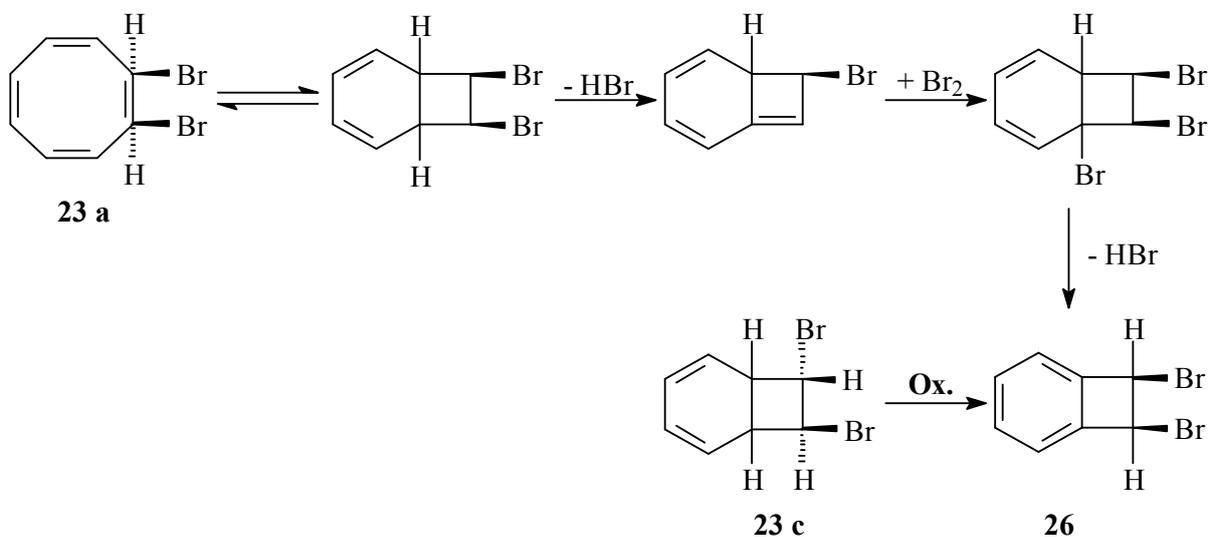
Dabei mussten die Literaturdaten^[3] korrigiert werden, da die angegebenen Signale nicht auf das TMS-Signal normiert sind.

Man erkennt eine sehr gute Übereinstimmung von den experimentell ermittelten Daten auf der einen Seite, und den Literatur / Programmdateien auf der anderen Seite. Der Vergleich mit dem Programm ChemOffice wird vorgenommen, um einen Eindruck der Genauigkeit und der Zuverlässigkeit der Vorhersagen zu bekommen (vergleiche auch Kapitel 2.8).

Der bereits oben erwähnte Reaktionsmechanismus zeigt folgende mögliche Zwischenprodukte:



Der letzte Schritt ist nicht Bestandteil des postulierten Mechanismus, aber die spektroskopische Analyse ergibt eindeutig, dass das 1,2-Dibrom-1,2-dihydrocyclobutabenzol **26** entstanden ist. Eine Erklärung für die Entstehung des Produktes **26** ist der folgende mögliche Reaktionsmechanismus, der von den Zwischenprodukten **23a** und **23c** ausgeht.



2.5 Azobenzolderivate

2.5.1 Eigenschaften

Die Azobenzole wurden schon früh, im Jahr 1834^[40] bzw. im Jahr 1832^[16], als Farbstoffe entdeckt. Das charakteristische Kennzeichen dieser Farbstoffklasse ist dabei die Stickstoff-Stickstoff-Doppelbindung. Die Azobenzole besitzen eine Vielzahl an Anwendungen:

- Sie können als optische Schalter benutzt werden, z.B. in der Display-Technik^[66], da die *cis-trans*-Isomerisierung^[22, 23] kontrolliert werden kann^[10, 11] (siehe Abbildung 26).

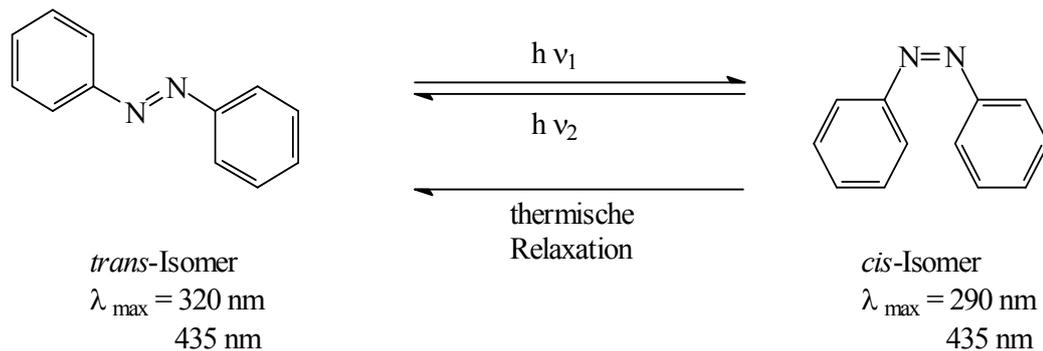


Abbildung 26: Schematische Darstellung der *cis-trans*-Isomerisierung des Azobenzols (λ_{\max} in DMSO)

Dabei können die Maxima folgenden Banden zugeordnet werden.

Tabelle 23: Spektroskopische Eigenschaften des Azobenzols in DMSO^[50]

Isomer	Wellenlänge $\lambda_{\max} / \text{nm}$	Extinktionskoeffizient $\epsilon / \text{M}^{-1}\text{mol}^{-1}$	Bande
<i>trans</i>	320	23000	$n\pi^*$ -Bande
	435	400	$\pi\pi^*$ -Bande
<i>cis</i>	290	5000	$n\pi^*$ -Bande
	435	1250	$\pi\pi^*$ -Bande

- Früher wurden Azobenzole als Lebensmittelfarbstoffe verwendet, bis sie aufgrund ihrer Cancerogenität verboten wurden. Ein Beispiel ist hier das 4-Dimethylaminoazobenzol **27**, auch unter dem Namen Buttergelb bekannt

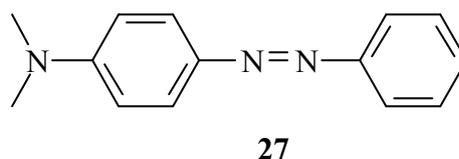


Abbildung 27: Struktur von 4-Dimethylaminoazobenzol

- Die Azobenzole finden ebenfalls Verwendung als pH-Indikatoren. Das 4-Dimethylaminoazobenzol **27** kann auch als pH Indikator verwendet werden, besitzt aber eine schlechte Wasserlöslichkeit. Der Farbumschlag von rot nach gelb erfolgt dabei bei einem pH von 2,9 – 4, was einer Protonierung der Aminogruppe entspricht. Ein bekannterer Indikator ist aber das Methylrot **28**, das im pH Bereich von 3,1 – 4,4 von rot nach gelb-orange umschlägt.

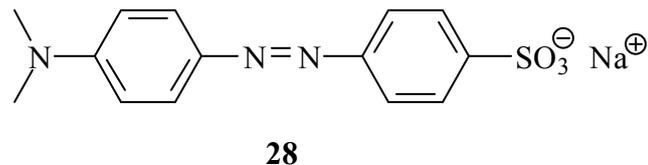


Abbildung 28: Struktur von Methylrot 28

- Die Azobenzole wurden auch als Insektizide eingesetzt.

Aufgrund Synthese, die in Kapitel 2.5.2 beschrieben wird, sind auch eine Modifikation der Phenylringe und die Einführung von funktionellen Gruppen möglich, was eine große Variation und gezielte Einstellung der Eigenschaften, sowohl photochemischer als auch elektronischer, der Azobenzolderivate erlaubt.

Unsere Voruntersuchungen haben gezeigt (siehe Kapitel 2.4), dass Azobenzolderivate den Triplettzustand von Rhodaminen effektiv quenchen können.

Darüber hinaus besitzen Azobenzole einen kurzlebigen Triplettzustand. Dies ist wichtig für den Aufbau von Bichromophoren, weil der Quencher die einmal übernommene Energie schnell abgeben soll, um für einen neuen Quenchvorgang zur Verfügung zu stehen.

Diese schnelle Relaxation des angeregten Zustandes beruht auf der photochemischen *cis-trans* Isomerisierung.

Theoretische Betrachtungen^[7, 20, 41, 42, 45, 64] haben gezeigt, dass diese Photoisomerisierung über eine Drehung um die Stickstoff-Stickstoff-Doppelbindung erfolgt.

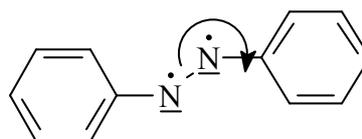


Abbildung 29: Azobenzol, Drehung um die Doppelbindung

Hauptteil

Diese Rotation erfolgt in wenigen ps, und die Hyperflächen für 3Q_1 und 1Q_1 besitzen bei 90° ein Minimum. Die durch den Energietransfer (Fluorophor-Quencher) aufgenommene Energie kann somit sehr schnell wieder durch strahlungslose Desaktivierung des Tripletzustandes des Azobenzols abgegeben werden.

Die relative Lage der Energiezustände zeigt Abbildung 30:

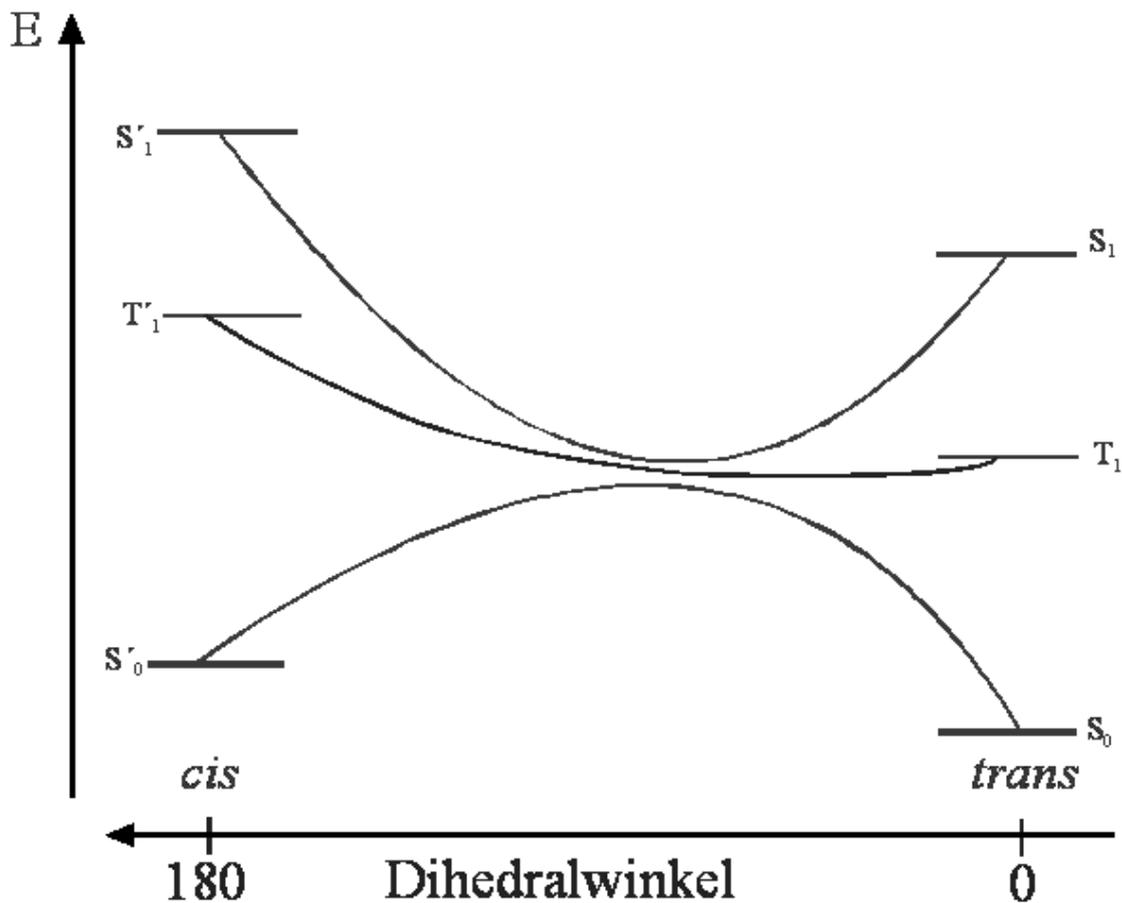
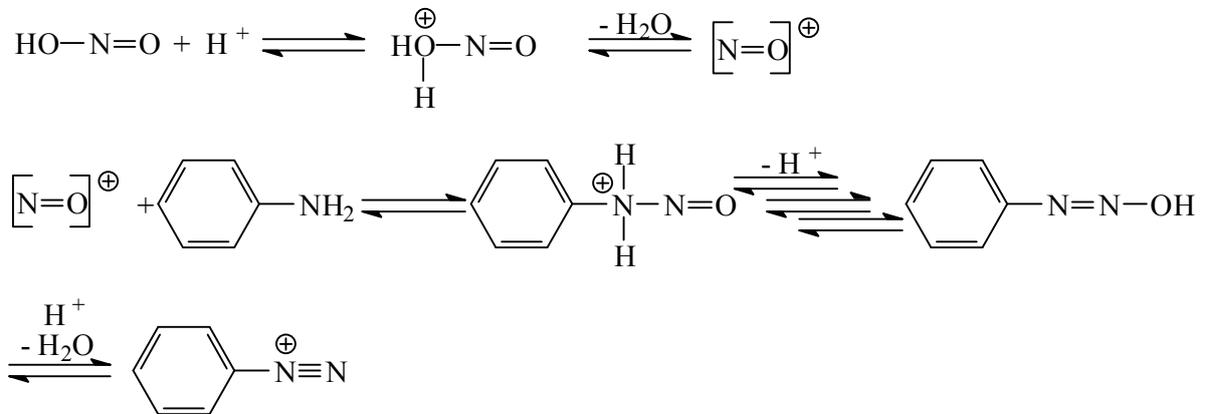


Abbildung 30: Schematische Darstellung der Energiezustände im *cis-trans* Azobenzol^[11]

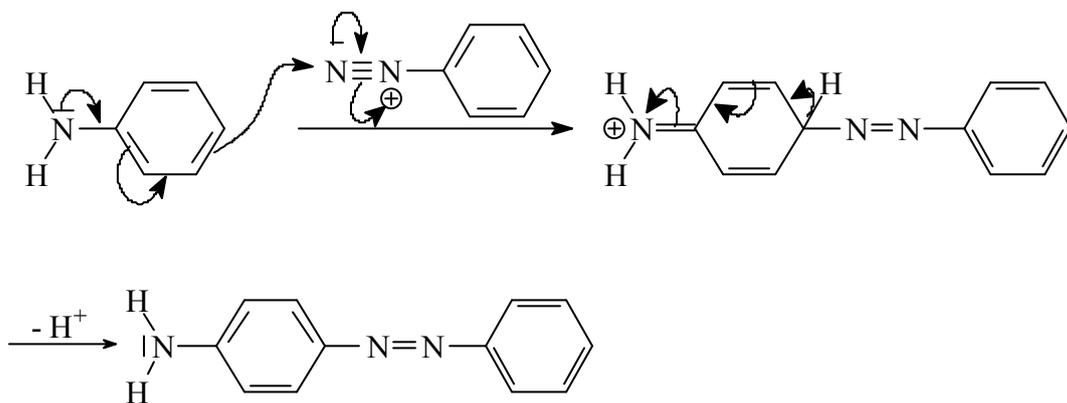
Es ist gut zu erkennen, dass die *trans* Form energetisch günstiger ist. Die Energiedifferenz zwischen beiden Isomeren beträgt ca. 15 kcal mol^{-1} .

2.5.2 Synthese der Azobenzole

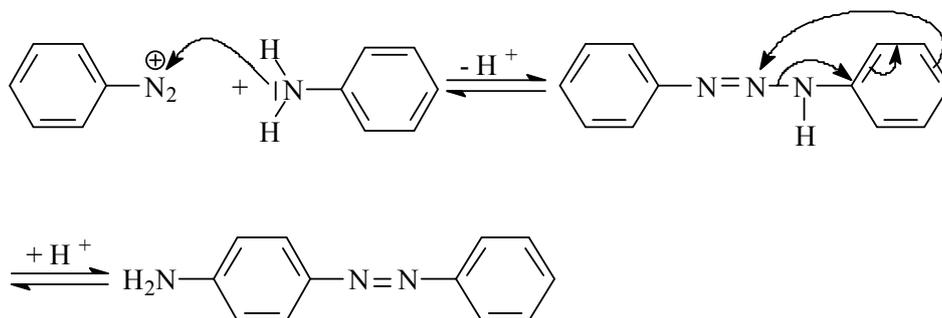
In der Literatur sind mehrere Synthesemethoden beschrieben. Die wohl bekannteste ist die Synthese über das Diazoniumsalz^[2]:



Dieses elektrophile Teilchen kann durch einen anderen aktivierten Aromaten nucleophil angegriffen werden^[62]:



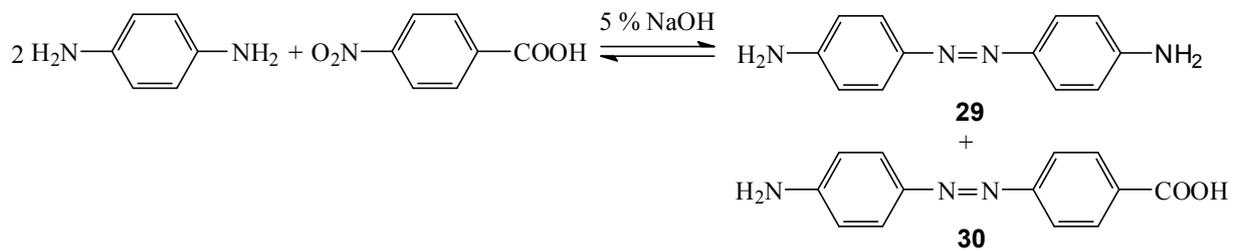
Alternativ kann die Reaktion auch über folgende Zwischenstufen verlaufen^[8]



Hauptteil

Eine weniger bekannte Synthesemethode ist die Reaktion eines Nitroaromaten mit einem Aminoaromaten.

Diese Reaktion wurde erstmals von Roos^[1, 38, 49] beschrieben:



Der Mechanismus der Reaktion ist nicht untersucht. Es ist aber bekannt, dass Nitroverbindungen mit Aminen zu Azoverbindungen kondensieren (Mills-Reaktion)^[17, 39]. In Anbetracht der Tatsache, dass ein Überschuss des Amins eingesetzt wird, liegt es nahe, dass unter den Reaktionsbedingungen zunächst eine Reduktion der Nitroverbindung zur Nitrosoverbindung mit dem Amin als Reduktionsmittel erfolgt. In einem zweiten Schritt reagiert dann die gebildete Nitrosoverbindung mit einem zweiten Molekül Amin im Sinne der Mills-Reaktion.

Basierend auf diesen Überlegungen kann der in Abbildung 32 gezeigte Mechanismus vorgeschlagen werden.

Mechanismus: Dieser Mechanismus beruht auf den erwähnten Überlegungen

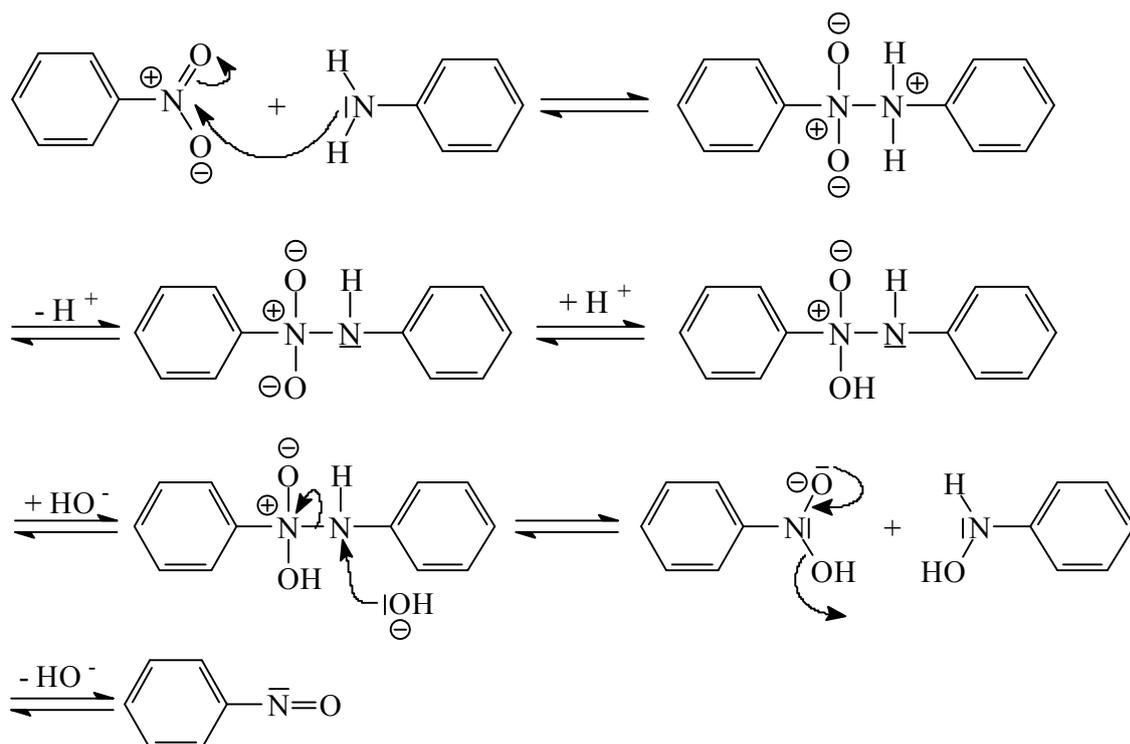


Abbildung 31: Mechanismus der Azobenzolsynthese, Teil 1

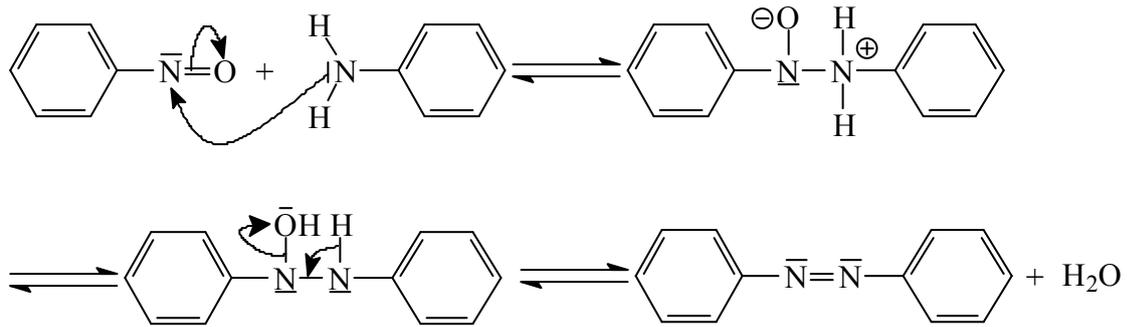


Abbildung 32: Mechanismus der Azobenzolsynthese, Fortsetzung

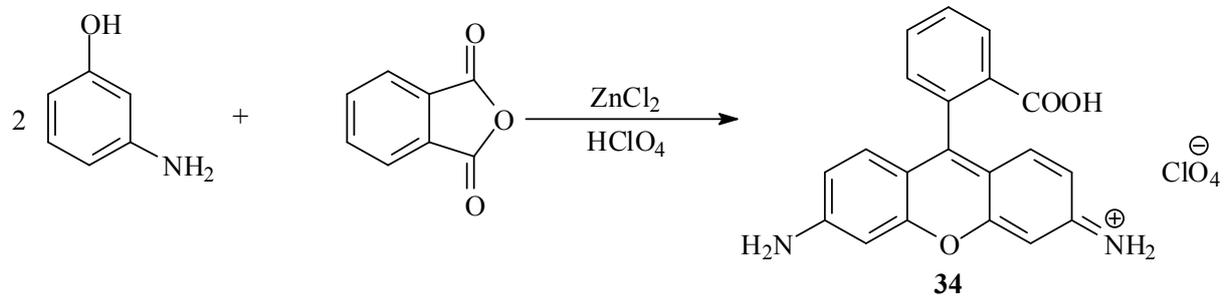
Der Vorteil dieser Synthese ist die, laut Literatur, einfache Isolierung des Rohproduktes. Die Reaktion wird in der Siedehitze durchgeführt, und beim Abkühlen des Reaktionsansatzes auf Raumtemperatur soll das Rohprodukt ausfallen.

Die herausragende Eigenschaft der Rhodamine ist ihre hohe Fluoreszenzquantenausbeute Φ_f , die im Bereich von 95 % liegt. Die Farbe des Fluorophors hängt dabei wie oben dargestellt von dem Substitutionsmuster ab.

Die Fluoreszenzeigenschaften machen die Rhodamine wertvoll als Laserfarbstoffe, wo sie seit 1970^[46, 47] eingesetzt werden. Die gleichen Eigenschaften machen sie auch wertvoll für die Einzelmolekülspektroskopie, die sich in den letzten Jahren für die Beobachtung molekularer Vorgänge in Echtzeit als Untersuchungsmethode durchgesetzt hat. So kann man zum Beispiel mit Hilfe der Einzelmolekülspektroskopie die Faltung eines Proteins oder auch andere dynamische Prozesse im Protein verfolgen. Dazu werden die Rhodamine als Marker eingesetzt, wie zum Beispiel in der Biochemie, wo sie als Protein-Marker verwendet werden. Dabei wird das Rhodamin an eine vorher definierte Stelle des Proteins und ein weiterer Fluoreszenzfarbstoff wird an einer anderen Stelle des Proteins gebunden. Aus der Effizienz des Förster-Resonanz-Energie-Transfer kann man nun Daten über den Abstand beider Farbstoffe erhalten. Dieser Abstand gibt zum Beispiel Auskunft über die Faltung des Proteins.

2.6.2 Synthese

Rhodamine können durch folgende Reaktion hergestellt werden^[27, 28]:



Die Reaktion wird in Substanz durchgeführt. Bei der Reaktion entstehen (auf Grund der Reaktionsbedingungen) viele Nebenprodukte und das Produkt wird nur in einer geringen Ausbeute erhalten. Dies führt zu Problemen bei der Gewinnung eines hoch reinen Produktes, wie es für die Einzelmolekülspektroskopie wünschenswert ist. Um ein reines Produkt zu erhalten, muss das Rohprodukt mittels HPLC aufgereinigt werden. Das hat aber den Nachteil, dass nur geringe Mengen des Reinproduktes erhalten werden können, größere Mengen sind auf diese Art kaum, oder nur mit erheblichen Aufwand zugänglich.

Diese Mengen würden zwar für die spektroskopischen Einzelmoleküluntersuchungen ausreichen, aber für eine NMR spektroskopische Untersuchung wären diese Mengen zu gering (man benötigt ungefähr 50 mg des Produktes, um eine Messung mit angemessenem Zeitaufwand durchführen zu können).

2.6.3 Rhodamin Grün und Sulforhodamin B Säurechlorid

Da die Rhodamine so gute Fluoreszenzfarbstoffe sind, und alle Eigenschaften für die Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie (siehe Kapitel 1) besitzen, wurde die Synthese der Bichromophore mit folgenden kommerziell erhältlichen Rhodaminen vorgenommen. Diese Rhodamine sind das Rhodamin Grün und das Sulforhodamin B. Beide finden in der Einzelmolekülspektroskopie Verwendung und sind für diese Untersuchungen geeignet. Beide Rhodamine besitzen funktionelle Gruppen, beim Rhodamin Grün sind es die Carbonsäuregruppen, beim Sulforhodamin B die Sulfonylgruppen, die es erlauben, ein anderes Molekül (den Quencher) kovalent an den Fluorophor zu binden. Zur Kopplung wird die Amidbindung verwendet, da diese Bindung sehr stabil ist, und in der Literatur sind bereits mehrere verschiedene Kupplungsreaktionen bekannt (einige dieser Reaktionen werden in Kapitel 2.9 beschrieben).

2.6.3.1 Rhodamin Grün

Für die Kopplungsreaktionen wurde das von der Firma ATTOTEC als Isomerengemisch erhältliche Rhodamin Grün (**35**, **35'**) eingesetzt.

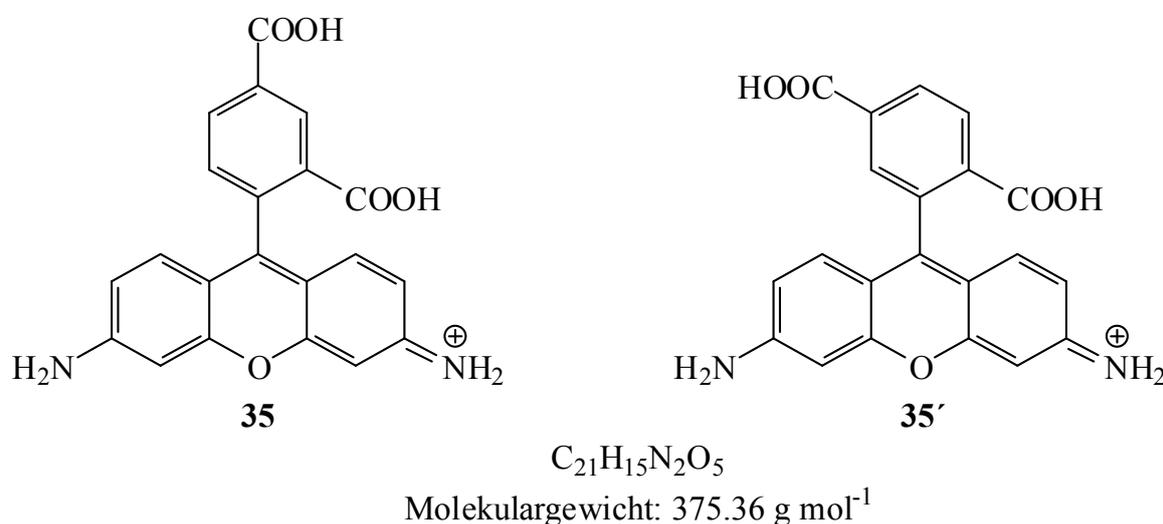


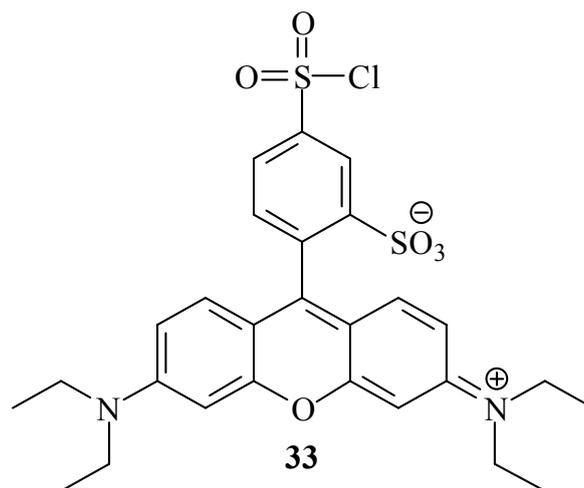
Abbildung 36: Struktur des kommerziell erhältlichen Rhodamin Grün, Isomerengemisch

Mit diesem Gemisch wurden die ersten Voruntersuchungen (siehe Kapitel 2.9) vorgenommen. Die durchgeführten Kopplungsreaktionen (Voruntersuchungen) wurden nur im Milligramm Maßstab durchgeführt, und die Analyse des Reaktionsgemisches erfolgte durch eine HPLC Untersuchung. Diese Vorgehensweise war nötig, da das Rhodamin Grün aufgrund des hohen Anschaffungspreises nur in einer kleinen Menge (100 mg) zugänglich war.

2.6.3.2 Sulforhodamin B Säurechlorid

Für die Untersuchungen war auch ein zweiter Chromophor als Baustein für einen Bichromophors interessant. Dieser besteht aus dem Quencher und dem Sulforhodamin B. Die Verwendung von Sulforhodamin B anstatt des Rhodamin Grün besitzt einige Vorteile, aber auch Nachteile.

1. das Sulforhodamin B ist erheblich kostengünstiger als das Rhodamin Grün. Dadurch können die Versuche in einem größeren Maßstab durchgeführt werden, was einer Synthese einen größeren Spielraum einräumt. Das Sulforhodamin B besitzt aber schlechtere Eigenschaften für die FCS, wie z.B. eine schlechtere Fluoreszenzquantenausbeute im Vergleich zum Rhodamin Grün.
2. Die aus der Synthese von Sulforhodamin B-Kopplungsprodukten erhaltenen Erfahrungen in Bezug auf Aufreinigung, Aufarbeitung und Zuordnung der NMR-Signale können für das Rhodamin Grün-Kopplungsprodukt genutzt werden.
3. Das NMR Spektrum des Sulforhodamin-Kopplungsproduktes sollte eindeutiger sein, da das Sulforhodamin isomerenrein ist, und so nur ein Produkt entstehen sollte. Es ist zusätzlich auch möglich größere Mengen des Kopplungsproduktes herzustellen (Sulforhodamin ist günstiger als Rhodamin Grün), und dadurch wird die NMR Auswertung auch vereinfacht. Die so gewonnenen Erkenntnisse sind auf das Rhodamin Grün Kopplungsprodukt übertragbar.



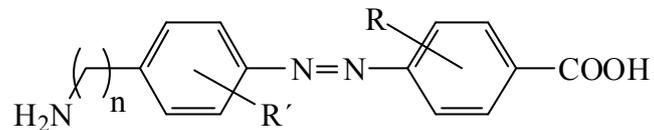
Chemische Formel: $C_{27}H_{29}ClN_2O_6S_2$
Molekulargewicht: $577.11 \text{ g mol}^{-1}$

Abbildung 37: Struktur des Sulforhodamin B Säurechlorid

Es ist auch möglich für die Reaktion mit dem Rhodamin Grün die günstigsten Untersuchungsmethoden zu ermitteln, wie zum Beispiel die Wahl des Lösungsmittels für die NMR-Spektren (Methanol oder Dimethylsulfoxid) oder auch die Bedingungen für eine säulenchromatographische Aufarbeitung. (siehe Kapitel 2.10). Durch die Verwendung von Sulforhodamin B gewinnt man also Erkenntnisse, die die Synthese des Rhodamin Grün-Bichromophors erleichtern sollten.

2.7 Syntheseplanung

Um Azobenzole mit einer möglichst großen Variation ihrer spektralen- und chemischen Eigenschaften zu erhalten, ist es von Interesse verschieden substituierte Derivate darzustellen.



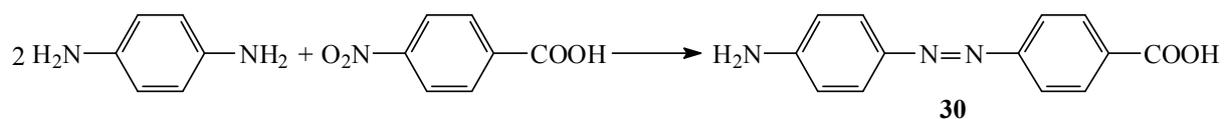
Dabei wird das Substitutionsmuster der Aromaten, also die Substituenten R und R', variiert. Es werden Substituenten mit einem negativen induktiven (elektronenziehend) und positiven mesomeren (Erhöhung der Elektronendichte) Effekt (-I und +M), wie zum Beispiel das Chlor, eingeführt um die elektronischen Eigenschaften des Azobenzols beeinflussen zu können. Dabei wird auch die Position des Chlor-Substituenten variiert, um feststellen zu können, ob die Position des Substituenten einen Einfluss auf die Quenzeigenschaften besitzt. Bei einem anderen Substituenten, wie der Methyl-Gruppe (sie besitzt einen positiven induktiven und keinen mesomeren Effekt), soll der Einfluss eines +I-Substituenten untersucht werden.

Die Kettenlänge des „Aminolinkers“ wird ebenfalls verändert. Dieses geschieht durch die Einführung einer oder mehrerer Methylen-Gruppen. Die Variation des Linkers ermöglicht eine gezielte Einstellung des Abstandes zwischen dem Fluorophor und dem Quencher, um eine effektive Energieübertragung gewährleisten zu können. Dabei wird die Flexibilität des Linkers verändert:

- ein kurzer Linker führt dazu, dass die beiden Chromophore nah beieinander sind.
- Ein längerer Linker führt dazu, dass die Flexibilität vergrößert wird

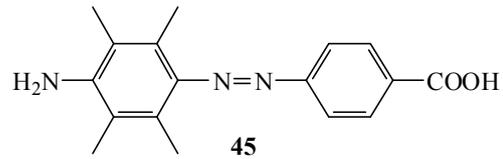
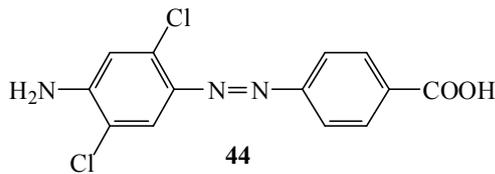
Beide Tendenzen führen dazu, dass der Abstand der beiden Chromophore variiert werden, und somit der beste Abstand für die konstruktive Überlappung der beiden π -Systeme eingestellt werden kann. Je flexibler der Linker ist, desto einfacher ist es für den Quencher-Teil (Triplettakzeptor) des Bichromophors konstruktiv mit dem Fluorophor-Teil (Triplettdonor) des Quenchers in Wechselwirkung zu treten.

Zur Synthese dieser Derivate wird ein substituiertes Nitroaromat mit einem substituierten 1,4-Diaminobenzol im basischen gekoppelt (siehe Kapitel 2.5.2).

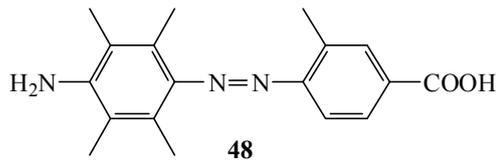
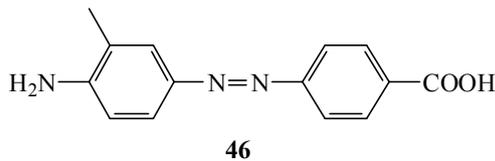


Es sind folgende Derivate synthetisiert worden:

Fehler! Es ist nicht möglich, durch die Bearbeitung von Feldfunktionen Objekte zu erstellen.



V 05
V 06



V 02

V 07
V 08

V 03

V 04

Bei allen synthetisierten Azobenzolderivaten handelt es sich um Aminocarbonsäuren. Diese können je nach pH-Bereich wie folgt vorliegen.

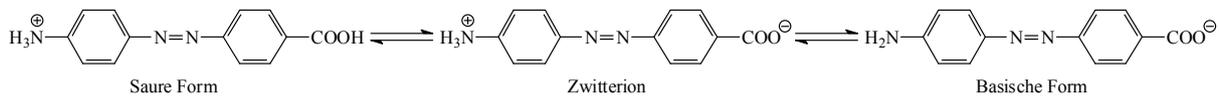


Abbildung 38: Mesomere Grenzstrukturen der Azofarbstoffe in Abhängigkeit vom pH-Wert

Welche der mesomeren Grenzstrukturen vorliegt, ist im Kapitel 2.8.1 diskutiert und analysiert worden. Das Vorliegen der „sauren Form“ kann auf Grund der gewählten Synthesebedingungen ausgeschlossen werden.

Für die Fokussierung auf Aminocarbonsäuren gibt es folgende Gründe. Zum einen ist die Aminogruppe ideal um eine Kopplung mit einer der Carbonsäuregruppe des Rhodamins durchzuführen (siehe Kapitel 2.9), zum anderen erhöht die Carbonsäure die Hydrophilie des synthetisierten Bichromophors, was für die Löslichkeit des Bichromophors in wässrigen Medien notwendig ist.

Der Bichromophor besitzt also folgende allgemeine Struktur, wobei nur die Kopplung einer Carbonsäure-Gruppe des Rhodamins berücksichtigt wird.

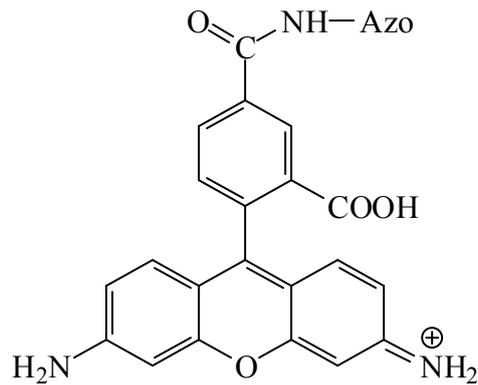
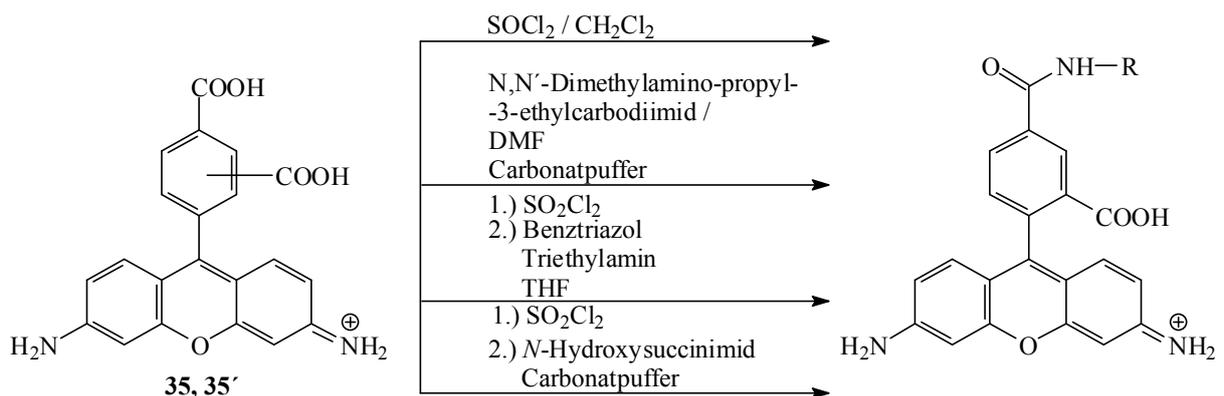


Abbildung 39: allgemeine chemische Struktur eines Kopplungsproduktes (mono substituiert)

Der nächste Schritt ist, die erhaltenen Azobenzole mit Rhodamin Grün zu koppeln. Zur Kopplung der Carbonsäurekomponente (Rhodamin Grün) mit der Aminkomponente (Azobenzol-Derivat) ist eine Aktivierung der Carboxylat-Gruppe notwendig. Hierzu wurden verschiedene Methoden (siehe Abbildung 40) angewandt und untersucht.



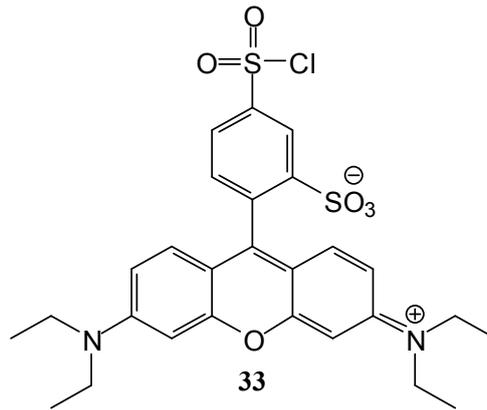
V 15

Abbildung 40: Schema der durchgeführten Kopplungsmethoden

Zum Abschluss wird die so erhaltene Mischung der Kopplungsprodukte noch spektroskopisch und chromatographisch untersucht. Die Untersuchung der Kopplungsprodukte ergibt, dass die Reaktion über das Säurechlorid alle sechs theoretisch möglichen Reaktionsprodukte liefert (siehe Abbildung 63 und Abbildung 64). Die Reaktionsprodukte lassen sich auch am besten säulenchromatographisch trennen.

Im Gegensatz zu der „Säurechlorid-Methode“ konnte bei den anderen Kopplungsbedingungen kein Kopplungsprodukt nachgewiesen werden.

Darüber hinaus werden Bichromophore ausgehend vom Sulforhodamin B Säurechlorid **33** synthetisiert.



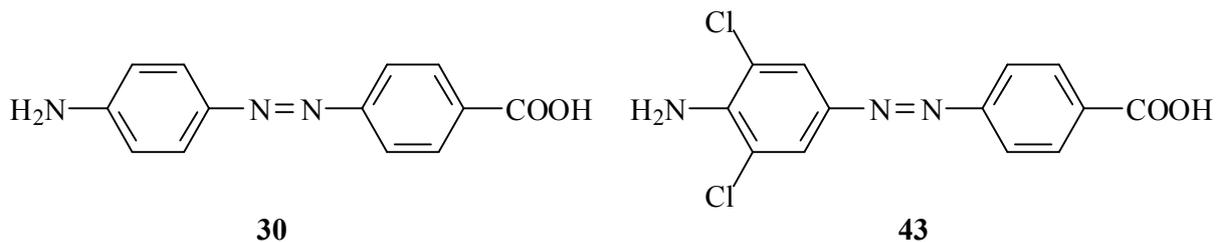
Chemische Formel: $C_{27}H_{29}ClN_2O_6S_2$

Molekulargewicht: $577.11 \text{ g mol}^{-1}$

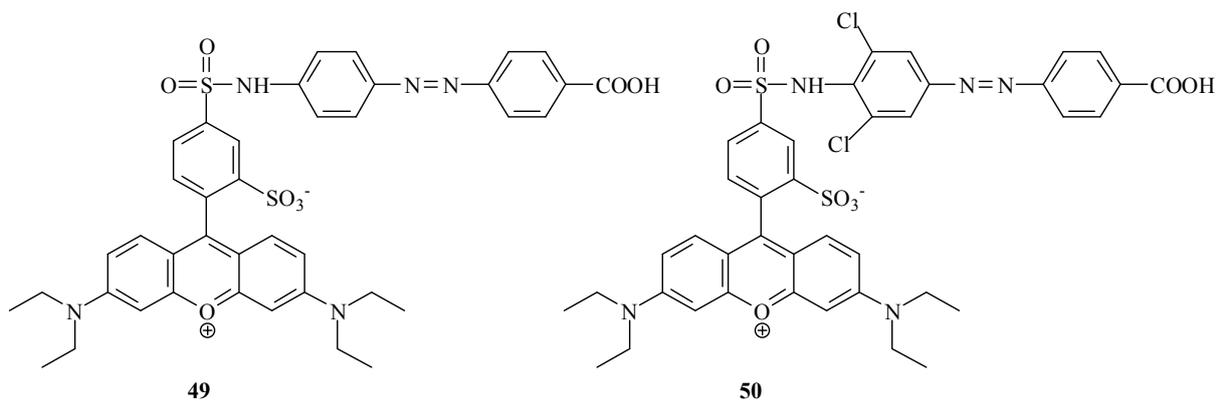
Abbildung 41: kommerziell erhältliches Sulforhodamin B Säurechlorid

Dabei wurde das kommerziell erhältliche Säurechlorid eingesetzt, so dass eine Aktivierung der Säurekomponente nicht mehr notwendig ist.

Um die Kopplungsbedingungen zu untersuchen, wurde das Sulforhodamin B Säurechlorid mit folgenden Azobenzolderivaten umgesetzt.



Es sind die folgenden Produkte synthetisiert und deren spektroskopische Eigenschaften untersucht worden.



V 13
V 14

2.8 NMR-Spektroskopie

2.8.1 NMR Spektren der Azobenzolderivate

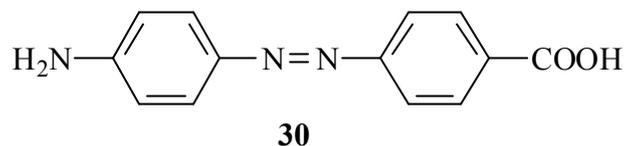
In diesem Kapitel soll exemplarisch die Auswertung der NMR-Spektren an dem Beispiel der 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure dargestellt werden. Zur Analyse der Substanzen wurden folgende Spektren aufgenommen:

- ^1H NMR (500 MHz)
- ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz)
- ^1H - ^1H -COSY
- ^1H - ^{13}C -HMQC
- ^1H - ^{13}C -HMBC
- NOESY

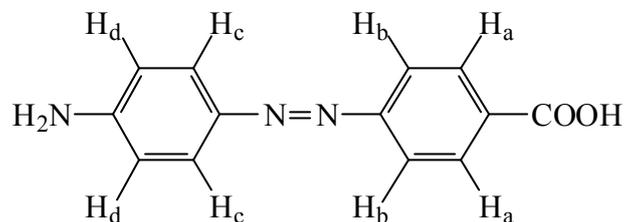
Es wurden zur Vorhersage der Peaks bzw. der Peaklage auch kommerziell erhältliche Programme eingesetzt:

- ChemWin 6.5–Spectroscopy der Firma Bio-Rad Laboratories (basiert auf einem Datenbanksystem, benutzt Referenzverbindungen)
- ChemOffice der Firma Cambridge Soft Products (benutzt ein Inkrementsystem)

Die 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30**



Liefert im Protonen-NMR folgende Signale

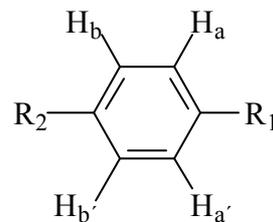


Für die Auswertung eines Spektrums erwartet man für die Multiplizität und Integration für

- Die NH_2 -Gruppe ein Singulett mit der Integration 2, meist ein breiter Peak
- Für die Protonen H_a (A-Teil eines ersten $[\text{AB}]_2$ -Systems) ein Multiplett mit der Integration 2.

- Für die Protonen H_b (B-Teil eines ersten $[AB]_2$ -Systems) ein Multiplett mit der Integration 2.
- Für die Protonen H_c (A-Teil eines zweiten $[AB]_2$ -Systems) ein Multiplett mit der Integration 2.
- Für die Protonen H_d (B-Teil eines zweiten $[AB]_2$ -Systems) ein Multiplett mit der Integration 2.
- Für die Carbonsäure ein Singulett mit der Integration 1 (unter Umständen nur schwer oder gar nicht erkennbar im Protonenspektrum)

Man erwartet für die $[AB]_2$ -Systeme für jeden Teil ein Multiplett mit insgesamt 24 Linien, dabei sind aber nicht alle Linien im Spektrum erkennbar bzw. die Linien sind nicht gut erkennbar, da einige der Linien sich in den Flanken befinden:



Die dominantesten Linien ergeben dabei ein „Dublett“ mit einer Kopplungskonstante J von ungefähr 8 Hz.

Für das Proton H_a ergibt sich eine 3J Kopplung mit H_b (${}^3J_{a,b}$), welche in einem Bereich von ca. 8 Hz liegen sollte, und eine 5J Kopplung mit $H_{b'}$ (${}^5J_{a,b'}$), welche in einem Bereich von 0,5 Hz liegt.

Der Kopplungsparameter N ergibt sich aus der Summe einer ${}^3J_{a,b}$ und einer ${}^5J_{a,b}$. Diese Summe wird im Folgenden dazu benutzt um die Kopplungskonstante zu definieren. Dabei gilt:

$$N_{a,b} = {}^3J_{a,b} + {}^5J_{a,b}$$

Man erwartet also 2 Multipletts mit der Kopplungsparameter $N_{a,b}$ mit der Integration 2, 2 Multipletts mit dem Kopplungsparameter $N_{c,d}$ mit der Integration 2, ein Singulett mit der Integration 2 und ein Singulett mit der Integration 1.

Hauptteil

Für die chemische Verschiebung δ erwartet man, dass die Protonensignale für H_b und H_c nahe bei einander liegen, das Protonensignal für H_d Hochfeld, und das Signal für H_a Tieffeld verschoben ist.

Man erhält folgendes $^1\text{H-NMR}$ (in DMSO-d_6)

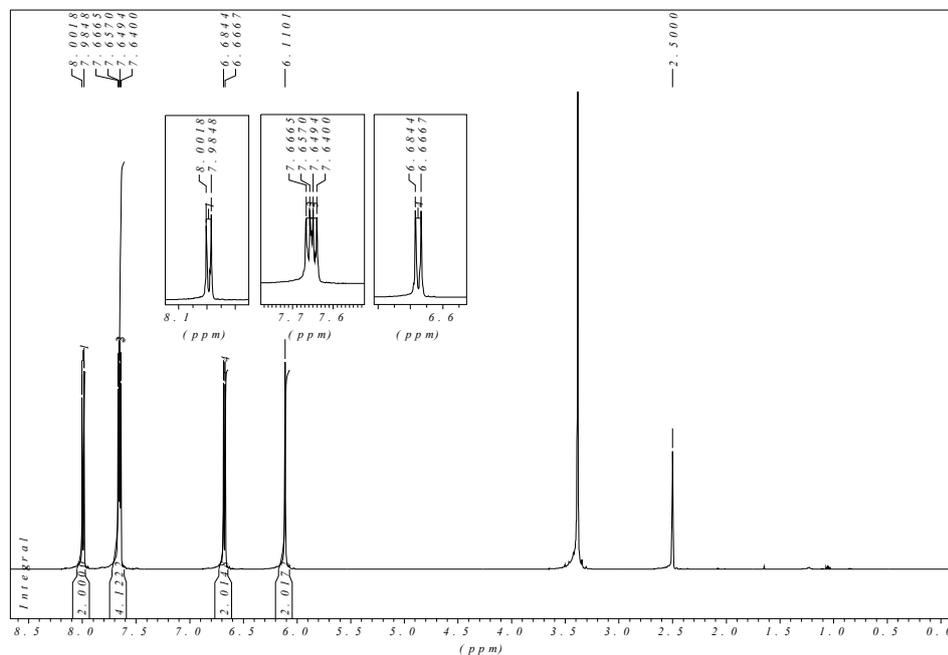


Abbildung 42: $^1\text{H-NMR}$ von 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure aufgenommen in DMSO-d_6

Um die Struktur der aromatischen Protonen besser erkennen zu können, wurde der Bereich von sechs bis acht ppm vergrößert.

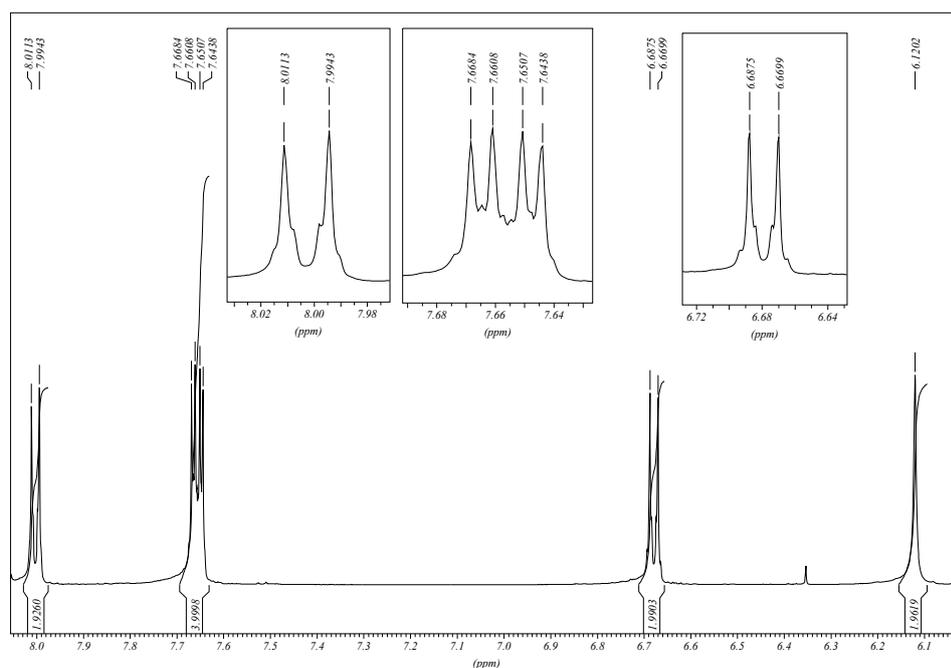


Abbildung 43: Vergrößerung des $^1\text{H-NMR}$ von 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure aufgenommen in DMSO-d_6

Wie aus der Abbildung erkennbar ist, erhält man die strukturtypischen Signale für ein [AB]₂-System mit der entsprechenden Integration und Peaklage:

- Multipllett bei 8 ppm (Tiefeld verschoben)
- Zwei Multipletts bei 7,65 ppm (zwei dicht bei einander liegende Dubletts bei 7,66 und 7,65 ppm)
- Multipllett bei 6,67 ppm (Hochfeld verschoben)
- Singulett bei 6,1 ppm

Um eine genaue Zuordnung vornehmen zu können, ist noch ein ¹H-¹H-COSY-Spektrum aufgenommen worden. Die Abbildung 44 zeigt eine Ausschnittsvergrößerung des für die Auswertung relevanten Bereichs.

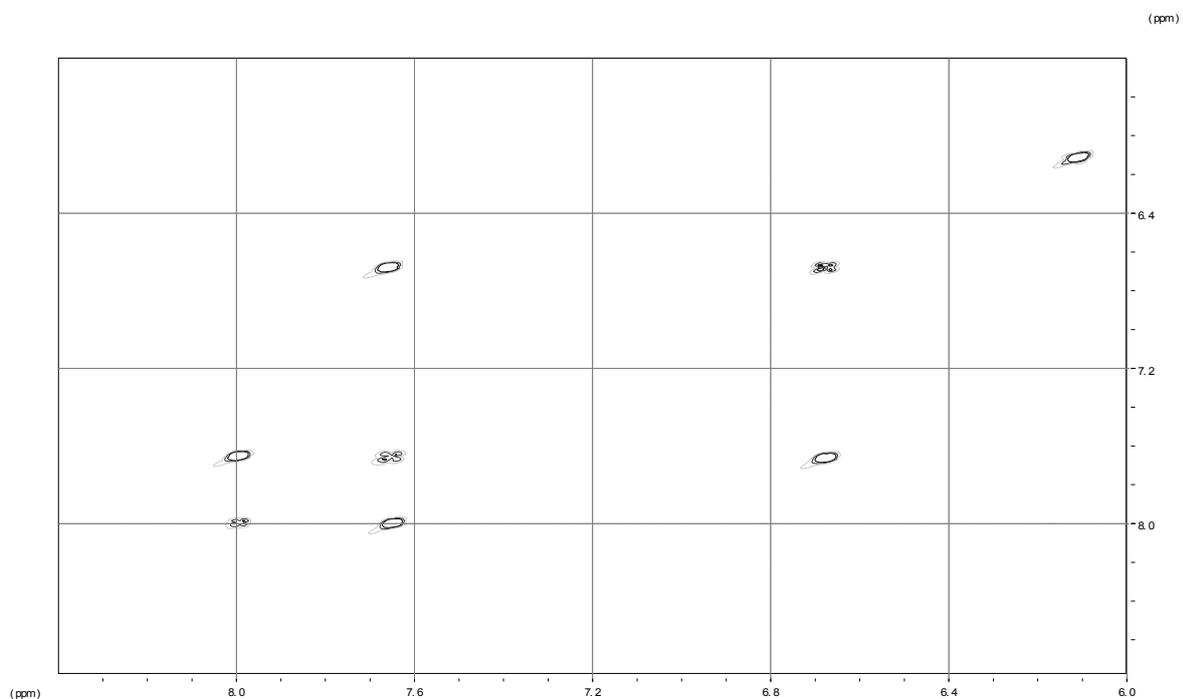


Abbildung 44: ¹H-¹H-COSY-Spektrum, Ausschnitt, von 4-[(4-Aminophenyl)azenyl]benzoesäure in DMSO-d₆

Aus diesem Spektrum kann man erkennen, dass der Peak bei 6,67 ppm mit einem Peak bei 7,65 ppm koppelt, und dass der Peak bei 8 ppm mit einem Peak bei 7,67 ppm koppelt. Da die beiden Peaks bei 7,6 ppm sehr eng bei einander liegen, ist eine genauere Zuordnung noch nicht möglich.

Hauptteil

Jetzt können die beiden Programme ChemWin und ChemOffice zur Hilfe genommen werden.

Sie liefern folgende Vorhersagen

Tabelle 24: Gegenüberstellung der NMR Daten für 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure

Proton	Chem. Verschiebung δ / ppm			
	ChemWin	ChemOffice	Experimentell	Literatur ^[1]
H _a	7,92	8,38	8,01	7,92
H _b	7,62	8,14	7,66 oder 7,65	7,63
H _c	7,92	7,68	7,66 oder 7,65	7,66
H _d	6,24	6,66	6,67	6,67
NH ₂	4,60	5,85	6,12	6,08

Die einzigen Protonensignale, die nicht eindeutig zugeordnet werden können, sind die Signale für die Protonen H_b und H_c. Diese können aber durch den Vergleich der Kopplungskonstanten zugeordnet werden, denn es gilt:

1. der Kopplungsparameter N bei H_a (8,01 ppm) ist gleich der Kopplungskonstante für H_b. Der Kopplungsparameter N für H_a beträgt N = 8,5 Hz.
2. der Kopplungsparameter N bei H_d (6,67 ppm) ist gleich der Kopplungskonstante für H_c. Der Kopplungsparameter N für H_d beträgt N = 8,8 Hz.

Im Spektrum findet man für die Multipletts bei 7,66 ppm und 7,65 ppm folgende Kopplungskonstanten:

1. bei 7,65 ppm findet man N = 8,5 Hz.
2. bei 7,66 ppm findet man N = 8,8 Hz.

Daraus ergibt sich nun, dass das Multiplett bei 8,01 ppm mit dem Multiplett bei 7,65 ppm koppelt, das Multiplett bei 7,65 ppm entspricht also dem Proton H_b. Das Multiplett bei 6,67 ppm besitzt die gleiche Kopplungskonstante N, wie das Multiplett bei 7,66 ppm. Das Multiplett bei 7,66 ppm entspricht dem Proton H_c.

Um diese Zuordnung noch weiter zu belegen, wurde noch ein NOESY-Spektrum aufgenommen. Dieses Spektrum dient dazu, Kopplungen durch den Raum (long range Kopplungen) sichtbar zu machen. Was erwartet man nun in diesem Spektrum zu sehen, wenn die bisher gemachte Zuordnung richtig ist:

- ⇒ die Kopplung der Aminoprotonen, Signal bei 6,12 ppm, mit dem Signal bei 6,67 ppm

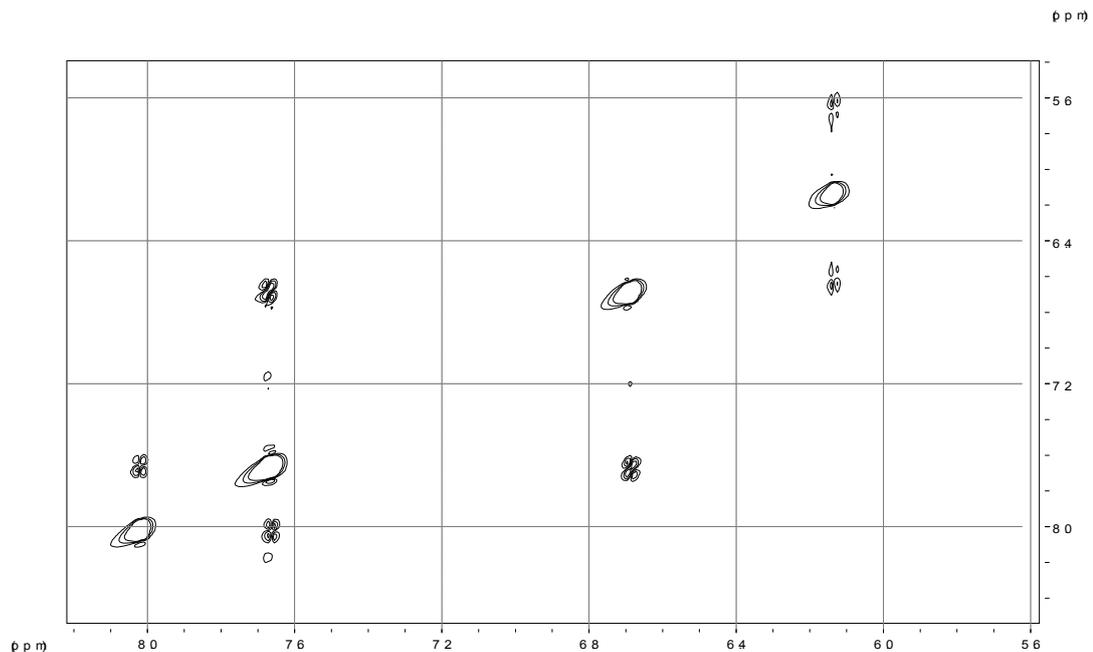


Abbildung 45: NOESY-Spektrum, Ausschnitt, von 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure in DMSO- d_6

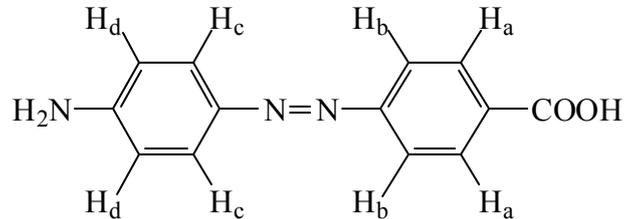
Aus der Abbildung 45 ist deutlich die Kopplung des Signals bei 6,12 ppm ($-NH_2$ -Gruppe) mit dem Signal bei 6,67 ppm (H_d) erkennbar. Weiterhin erkennt man auch alle weiteren Kopplungen, die schon in Abbildung 44 zur Auswertung herangezogen worden sind. Man kann jetzt alle Signale des 1H -NMR-Spektrums eindeutig zuordnen, und die erhaltenen Daten mit der Literatur bzw. mit den Programmvorhersagen vergleichen.

Das Programm ChemOffice benutzt im Gegensatz zu dem Programm ChemWin ein Inkrementsystem. Das Programm ChemWin kann nur Verbindungen berücksichtigen, die es in der Datenbank hat.

Hauptteil

Man kann die Signale aus dem $^1\text{H-NMR}$ nun folgendermaßen zuordnen:

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO- d_6



$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ = 6.12 (s, 2 H, Ar-NH₂), 6.67 (m, N = 8.8 Hz, 2 H, H_d), 7.65 (m, N = 8.5 Hz, 2 H, H_b), 7.66 (m, N = 8.8 Hz, 2 H, H_c), 8.01 (m, N = 8.5 Hz, 2 H, H_a), ppm.

Vergleicht man die vorgenommene Zuordnung der Signale mit der Literatur, so erkennt man Unterschiede bei der chemischen Verschiebung, z.B. die chemische Verschiebung von H_a und der NH₂-Gruppe. Diese Unterschiede sind allerdings sehr gering.

Tabelle 25: Vergleich der experimentellen Daten mit der Literatur

Proton	Experimentell		Literatur ^[1]	
	Chem. Versch δ /ppm	Kopplungskonstante J / Hz	Chem. Versch δ /ppm	Kopplungskonstante J / Hz
H _a	8,01	8,5	7,92	8,4
H _b	7,65	8,5	7,63	8,4
H _c	7,66	8,8	7,66	8,0
H _d	6,67	8,8	6,67	8,0
NH ₂	6,12		6,08	

Besonders auffällig sind die Unterschiede in den Kopplungskonstanten. Die experimentell bestimmten Kopplungskonstanten liegen zwar in dem erwarteten Bereich für eine $^3J_{\text{HH}}$ Kopplung, aber die Kopplungskonstanten für die Protonen (H_cH_d) sind im Vergleich zur Literatur anders.

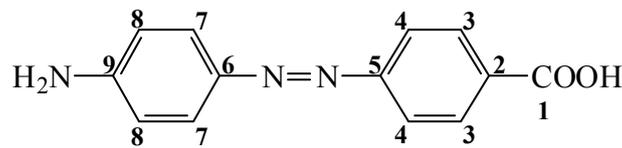
In der Literatur ist angegeben:

$$^3J_{H_a H_b} > ^3J_{H_c H_d}$$

Experimentell bestimmt wurde aber:

$$^3J_{H_a H_b} < ^3J_{H_c H_d}$$

Man hat jetzt die im Spektrum sichtbaren Protonensignale zugeordnet. Das erwartete Protonensignal für die Carbonsäure war in den Spektren nicht erkennbar. Als nächstes müssen noch die Kohlenstoffatome zugeordnet werden. Man erwartet neun unterschiedliche Signale, wobei das Signal für das Kohlenstoffatom 1 die größte chemische Verschiebung haben sollte, und in einem Bereich von 170 bis 180 ppm liegen sollte.



Man erhält folgendes $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR-Spektrum aufgenommen in DMSO-d_6 :

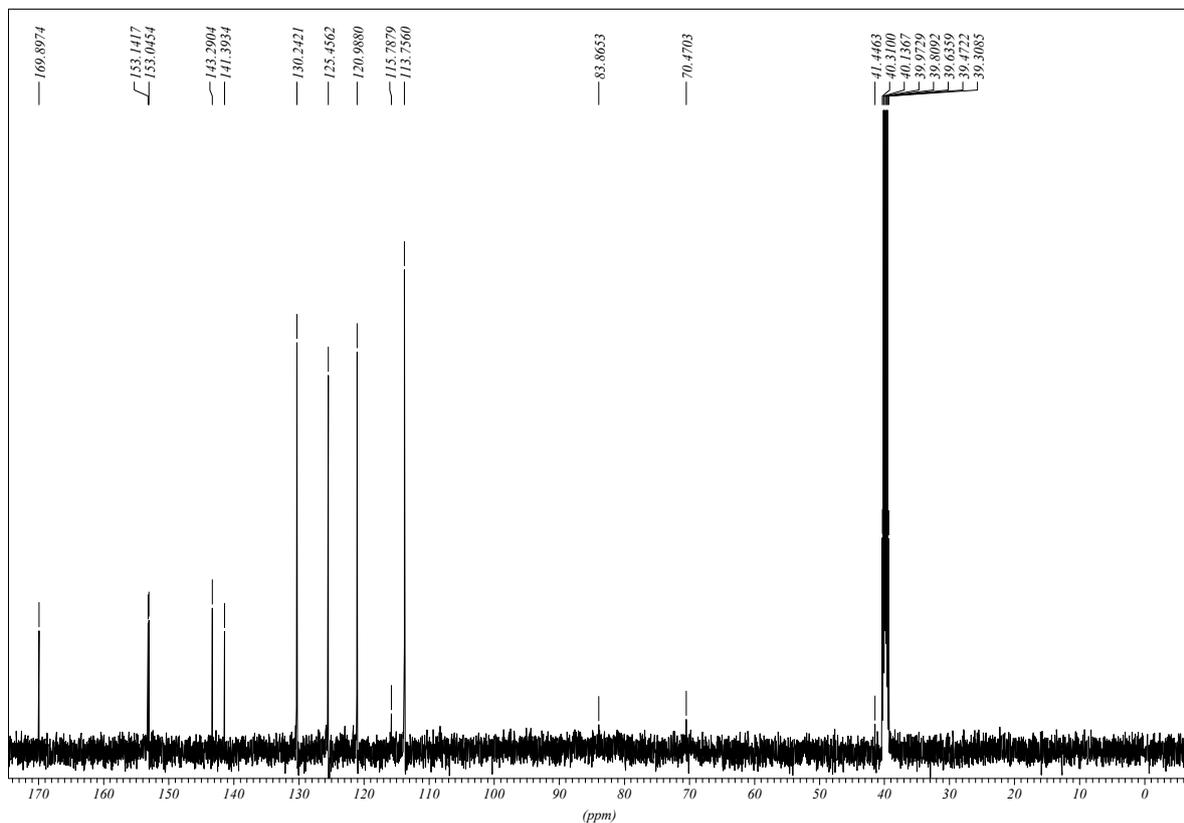


Abbildung 46: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR von 4-[(4-Aminophenyl)azene]benzoesäure in DMSO-d_6

Für die Bestimmung und Zuordnung der Signale werden wieder die Programme ChemOffice und ChemWin verwendet. Die Auswertung der Spektren erfolgt analog zur Auswertung der Protonenspektren.

Hauptteil

Aus dem Vorhersagen der Programme und den beobachteten Intensitäten ergibt sich

Tabelle 26: Gegenüberstellung der ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ -NMR Daten für 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure

Kohlenstoff	Chem. Verschiebung δ /ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Experimentell
1	168,07	169,3	169,1
2	129,90	132,4	141,4, 143,3, 153,1 oder 153,0
3	130,74	130,6	130,2, 121,0, 125,2 oder 113,8
4	121,90	122,9	130,2, 121,0, 125,2 oder 113,8
5	155,18	157,9	141,4, 143,3, 153,1 oder 153,0
6	148,58	142,7	141,4, 143,3, 153,1 oder 153,0
7	125,90	123,8	130,2, 121,0, 125,2 oder 113,8
8	113,90	116,6	130,2, 121,0, 125,2 oder 113,8
9	150,70	150,6	141,4, 143,3, 153,1 oder 153,0

Eine genauere Zuordnung ist noch nicht möglich. Man kann lediglich die quarternären Kohlenstoffatome von den anderen unterscheiden, da die Signale für die Kohlenstoffatome 3, 4, 7 und 8 eine doppelt so große Intensität besitzen wie die quarternären.

Zur Absicherung der bisherigen Zuordnung wird noch ein DEPT-Spektrum aufgenommen. Diese Art des Spektrums gibt Auskunft darüber, welcher Protonierungsgrad an einem Kohlenstoffatom vorliegt. Grundsätzlich gilt für diese Art des Spektrums:

- CH- und CH₃-Gruppen zeigen einen positiven Peak (Ausschlag nach oben)
- CH₂-Gruppen liefern einen negativen Peak (Ausschlag nach unten)
- Quarternäre Kohlenstoffe geben keinen Peak

Um die quarternären Kohlenstoffatome von den CH-Kohlenstoffatomen unterscheiden zu können wurde ein DEPT Spektrum von 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure aufgenommen.

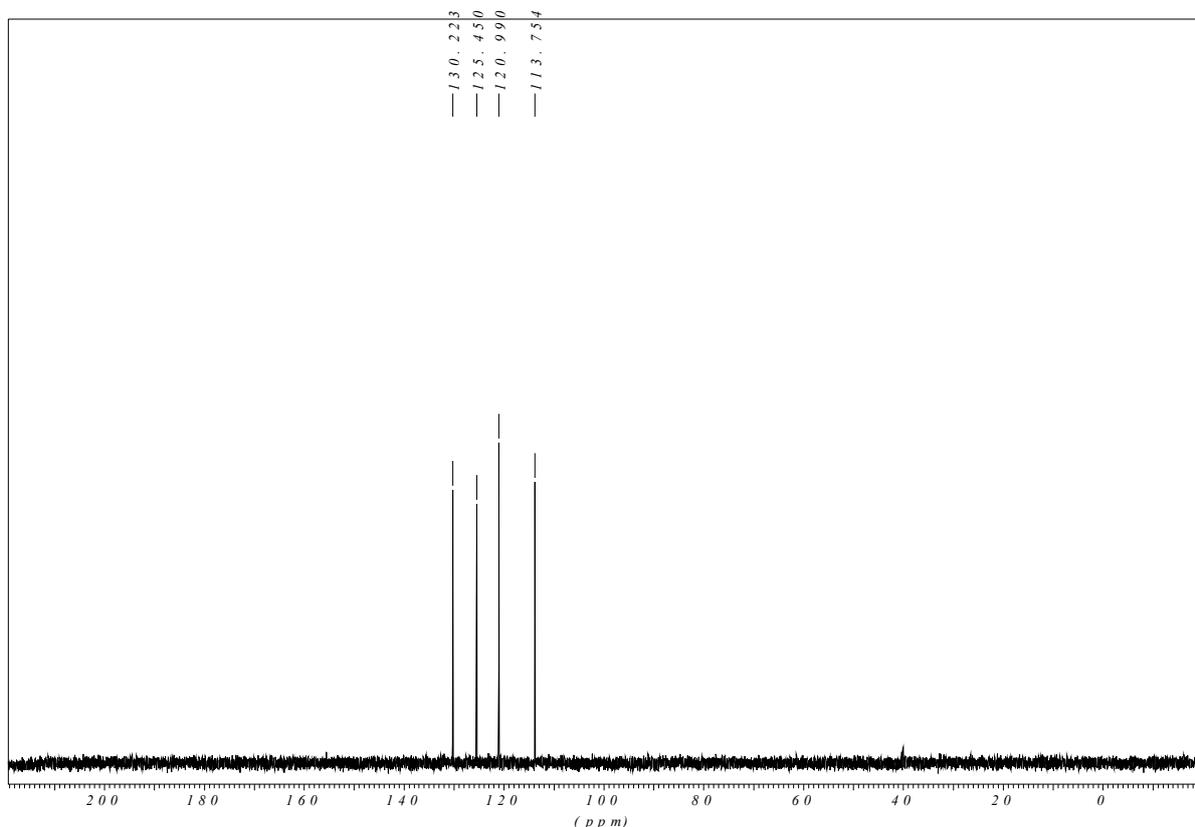


Abbildung 47: DEPT Spektrum von 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure in DMSO-d₆

Dieses Spektrum liefert die Information, an welchem C-Atom sich ein Proton befindet, nur die CH-Gruppen im aromatischen Ring liefern ein positives Signal.

Man hat jetzt folgende Informationen:

An den Kohlenstoffatomen bei 113,7 ppm, 120,99 ppm, 125,45 ppm und 130,22 ppm befindet sich ein Proton, sie entsprechen also den Signalen, die man für die Kohlenstoffatome 3, 4, 7 und 8 erwartet.

An den Kohlenstoffatomen bei 141,64 ppm, 143,31 ppm, 153,01 ppm und 153,15 ppm befindet sich kein Proton, sie entsprechen also den Kohlenstoffatomen 2, 5, 6 und 9.

Hauptteil

Die bisherige Zuordnung wie sie in Tabelle 26 vorgenommen wurde ist also richtig und begründet.

Aus dem ^1H - ^{13}C -HMQC Spektrum bekommt man die Information, an welchem Kohlenstoffatom sich welches Proton befindet.

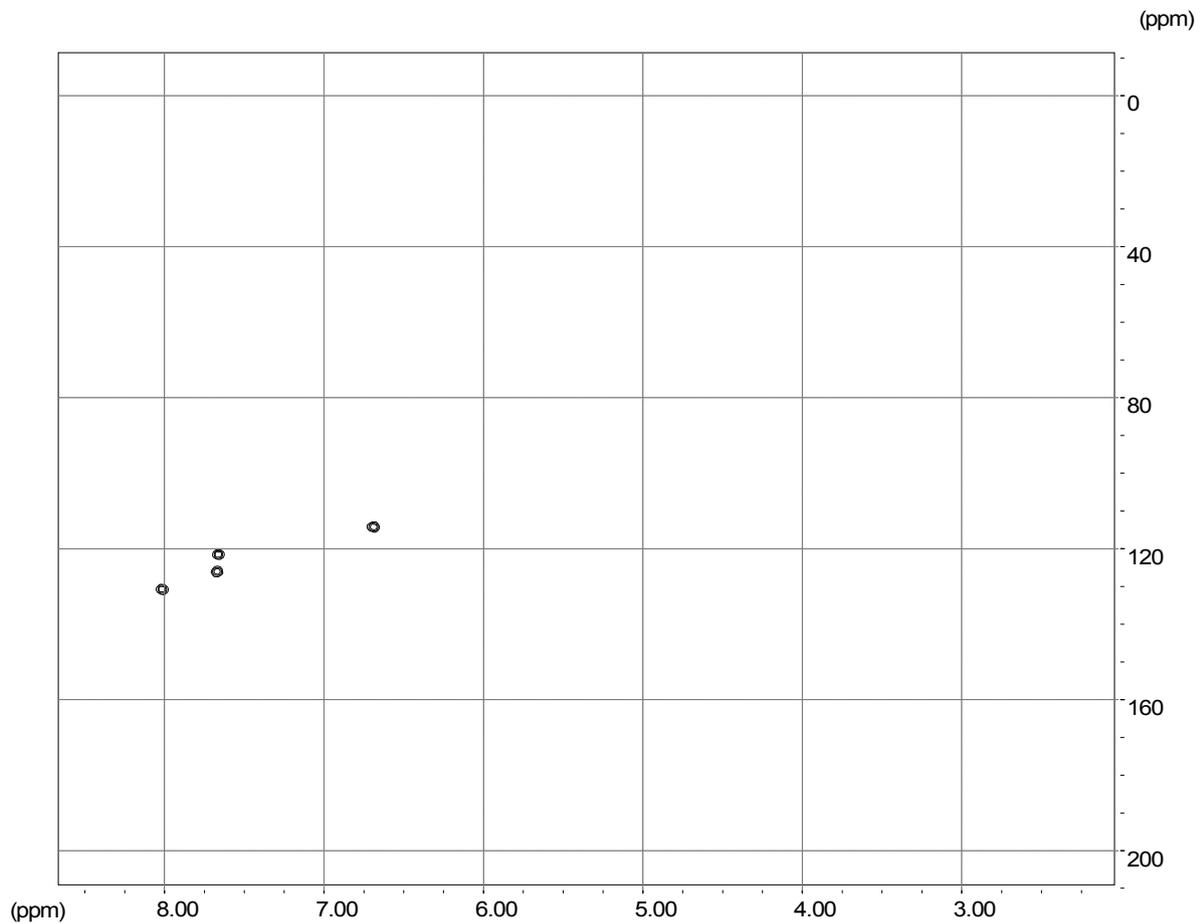


Abbildung 48: ^1H - ^{13}C -HMQC Spektrum von 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure

Für das Signal von 6,12 ppm im ^1H Spektrum findet sich kein Korrelationspeak, d.h. es befindet sich kein Kohlenstoffatom an dem Proton. Da dieses Signal eine Integration von 2 besitzt, kann es sich nur um die NH_2 -Gruppe handeln.

Man erkennt auch, dass das Signal bei

- 113,7 ppm mit dem Protonensignal bei 6,67 ppm koppelt.
- 120,99 ppm mit dem Protonensignal bei 7,65 ppm koppelt.
- 125,45 ppm mit dem Protonensignal bei 7,66 ppm koppelt
- 130,22 ppm mit dem Protonensignal bei 8,01 ppm koppelt.

Die Zuordnung aus Tabelle 26 kann mit diesen Daten weiter vereinfacht werden. Da die Protonensignale schon zugeordnet sind, erhält man nun für die Kohlenstoffatome folgende Zuordnung.

Tabelle 27: vorläufige Zuordnung der Kohlenstoff-NMR-Signale für 4-[(4-Aminophenyl) azenyl]-benzoesäure

Kohlenstoff	Chem. Verschiebung δ /ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Experimentell
1	168,07	169,3	169,1
2	129,90	132,4	141,4, 143,3, 153,1 oder 153,0
3	130,74	130,6	130,2
4	121,90	122,9	121,0
5	155,18	157,9	141,4, 143,3, 153,1 oder 153,0
6	148,58	142,7	141,4, 143,3, 153,1 oder 153,0
7	125,90	123,8	125,2
8	113,90	116,6	113,8
9	150,70	150,6	141,4, 143,3, 153,1 oder 153,0

Die einzigen Signale, die sich noch nicht eindeutig zuordnen lassen, sind die Signale im ^{13}C -Spektrum, die die quarternären Kohlenstoffatome (2, 5, 6, 9) liefern.

Hauptteil

Um diese eindeutig zuordnen zu können, benötigt man ein ^1H - ^{13}C -HMBC Spektrum. Diese Art Spektrum liefert im Gegensatz zum ^1H - ^{13}C -HMQC Spektrum Korrelationspeaks für ^1H und ^{13}C , die über eine ^2J oder ^3J -Kopplung, oder allgemein über eine ^nJ -Kopplung (mit $n > 1$), verfügen.

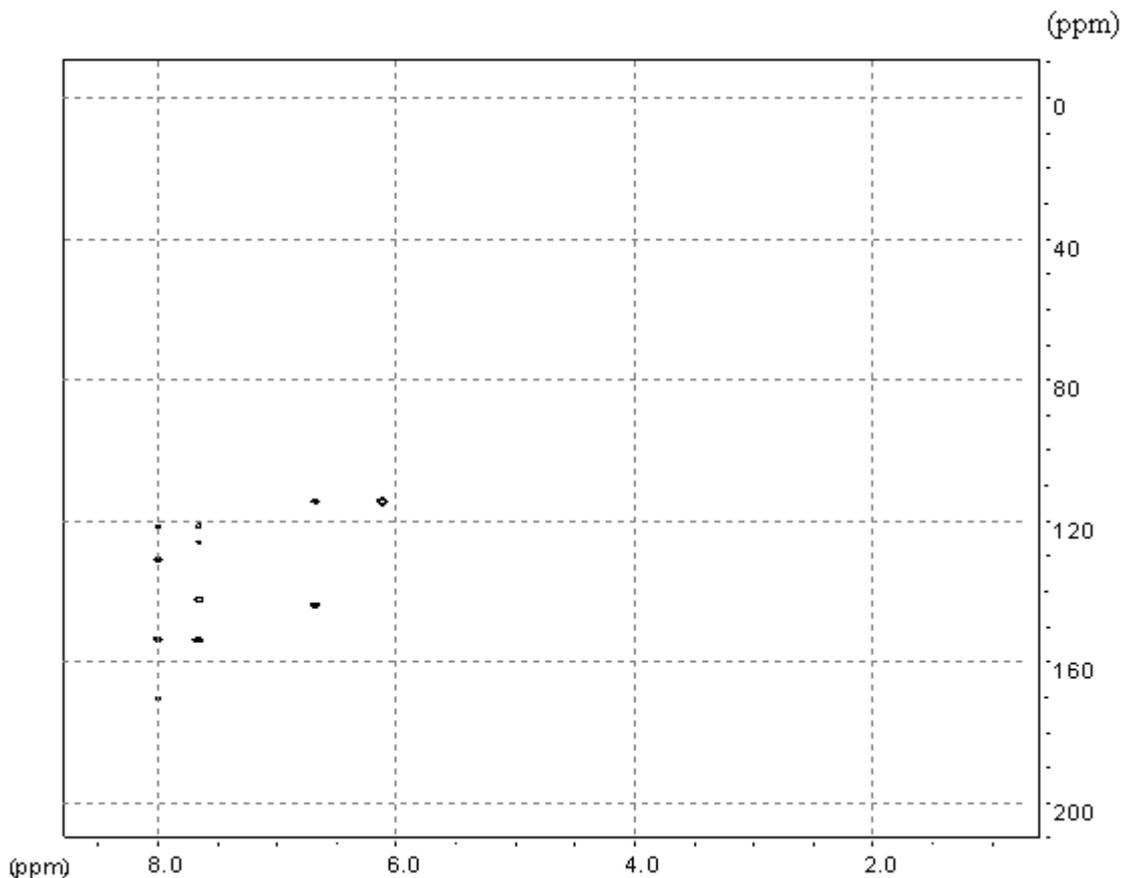


Abbildung 49: ^1H - ^{13}C -HMBC Spektrum von 4-[(4-Aminophenyl)azonyl]benzoesäure in DMSO-d_6

Dieses Spektrum liefert die Information über die quarternären Kohlenstoffatome, die man braucht, um eine endgültige Zuordnung vornehmen zu können. Bei einem HMBC Spektrum erkennt man die Kopplungen über zwei, drei oder sogar vier Bindungen. Die Intensität der Kopplung (Peaks) richtet sich nach der Kopplungskonstante J . Je größer die Kopplungskonstante, desto intensiver das Signal im HMBC-Spektrum. Für Aromaten ändert sich das Verhalten allerdings. Hier sind die Kopplungen über drei Bindungen am intensivsten zu erkennen. Die Intensität der Peaks kann auch über einen gerätespezifischen Parameter (Relaxationszeit d_6) eingestellt werden. Bei dem aufgenommenen Spektrum betrug diese $6 \mu\text{s}$, umgerechnet also ungefähr 8 Hz. Damit sollten die ^3J Kopplungen intensiver sein als die anderen Kopplungen.

Es geht um die Signale bei 141,64 ppm, 143,31 ppm, 153,01 ppm und 153,15 ppm. Um die Zuordnung zu erleichtern wird der entsprechende Bereich vergrößert.

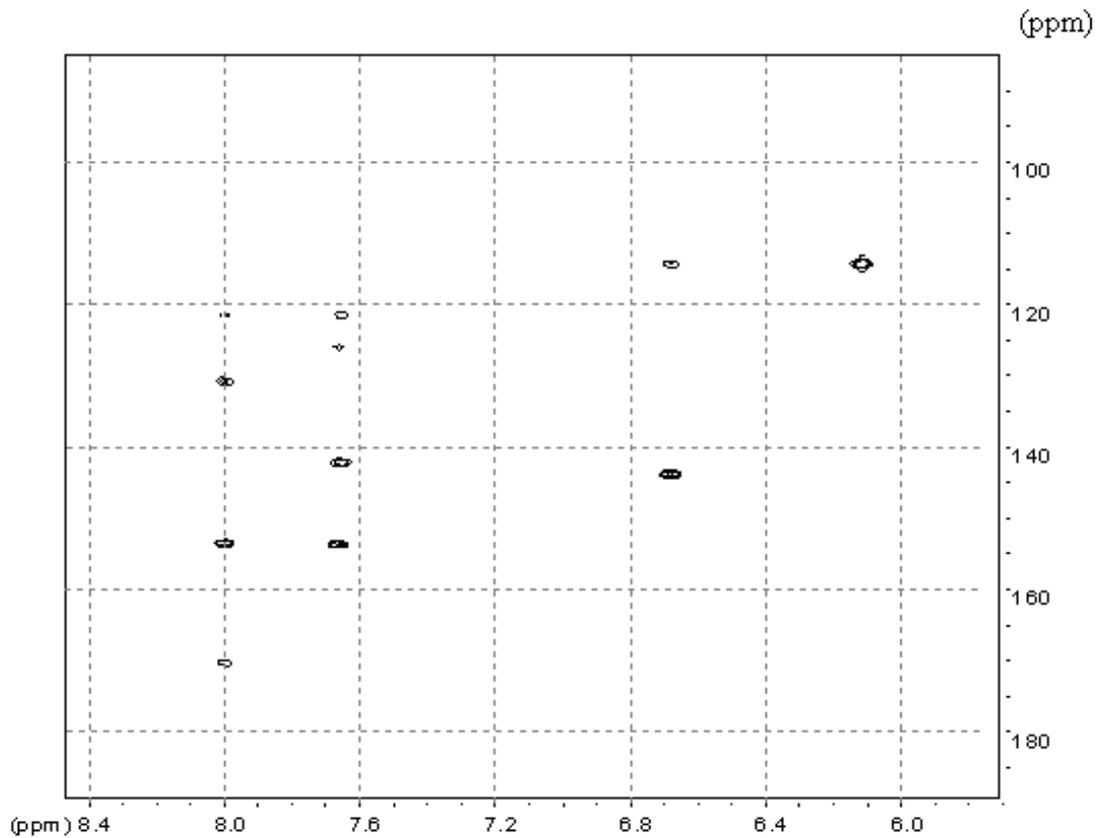


Abbildung 50: Vergrößerung des ^1H - ^{13}C -HMBC Spektrum von 4-[(4-Aminophenyl)-azeryl]benzoesäure

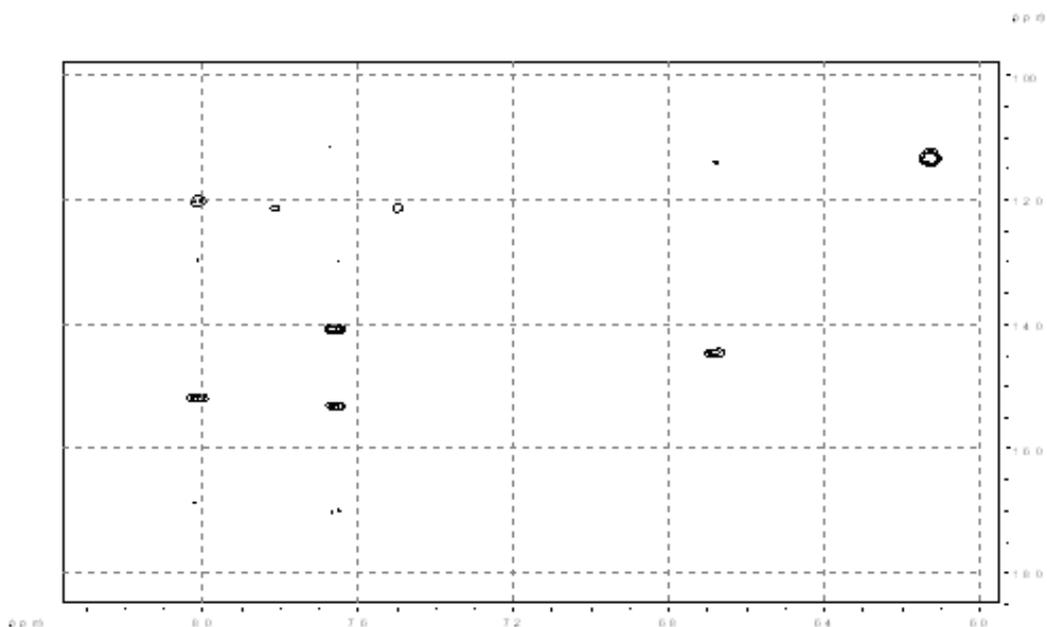


Abbildung 51: Vergrößerung und Verstärkung der Signale des ^1H - ^{13}C -HMBC Spektrum von 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure

Hauptteil

Zur Auswertung:

1. 6,12 ppm (NH₂-Gruppe)
 - J_{HC} Kopplung mit dem Signal bei 113,8 ppm
⇒ ${}^3J_{\text{NH-C8}}$
2. 6,67 ppm / 113,90 ppm: entspricht den Protonen H_d und Atom 8
 - J_{HC} Kopplung mit dem Signal bei 125,2 ppm (schwach)
⇒ ${}^2J_{\text{Hd-C7}}$
 - J_{HC} Kopplung mit dem Signal bei 143,3 ppm (stark)
⇒ ${}^3J_{\text{Hd-C6}}$
 - J_{HC} Kopplung mit dem Signal bei 153,1 ppm (schwach)
⇒ ${}^2J_{\text{Hd-C9}}$
3. 7,65 ppm / 120,9 ppm: entspricht den Protonen H_b und Atom 4
 - J_{HC} Kopplung mit dem Signal bei 130,2 ppm (schwach)
⇒ ${}^2J_{\text{Hb-C3}}$
 - J_{HC} Kopplung mit dem Signal bei 141,4 ppm (Atom 2, stark)
⇒ ${}^3J_{\text{Hb-C2}}$
 - J_{HC} Kopplung mit dem Signal bei 153,0 ppm (stark)
⇒ ${}^2J_{\text{Hb-C5}}$
4. 7,66 ppm / 125,2 ppm: entspricht den Protonen H_c und Atom 7
 - J_{HH} Kopplung mit dem Signal bei 6,67 ppm
⇒ ${}^3J_{\text{Hc-Hd}}$
 - J_{HH} Kopplung mit dem Signal bei 6,12 ppm (schwach)
⇒ ${}^4J_{\text{Hc-NH}}$
 - J_{HC} Kopplung mit 113,8 ppm (schwach)
⇒ ${}^2J_{\text{Hc-C8}}$
 - J_{HC} Kopplung mit 143,3 ppm (stark)
⇒ ${}^3J_{\text{Hc-C9}}$
 - J_{HC} Kopplung mit 153,1 ppm (stark)
⇒ ${}^3J_{\text{Hb-C9}}$
5. 8,01 ppm / 130,20 ppm: entspricht den Protonen H_a und Atom 3
 - J_{HC} Kopplung mit dem Signal bei 169,1 ppm (COOH-Gruppe)
⇒ ${}^3J_{\text{Ha-C1}}$
 - J_{HC} Kopplung mit dem Signal bei 153,0 ppm (Atom 5)
⇒ ${}^3J_{\text{Ha-C5}}$

- J_{HC} Kopplung mit dem Signal bei 121,0 ppm
 $\Rightarrow {}^2J_{\text{Ha-C4}}$
- J_{HH} Kopplung mit dem Signal bei 7,65 ppm
 $\Rightarrow {}^3J_{\text{Ha-Hb}}$

Nimmt man nun alle Informationen, die man aus allen NMR-Spektren erhält, so kann man die Signale für die Kohlenstoff-Atome und die Protonen zuordnen. Dabei können allerdings die Kohlenstoffatome fünf und neun nicht eindeutig bestimmt werden, da die Peaks mit 153,0 und 153,15 ppm sehr nahe beieinander liegen. Erst eine Vergrößerung des entsprechenden Bereichs macht eine eindeutige Zuordnung möglich.

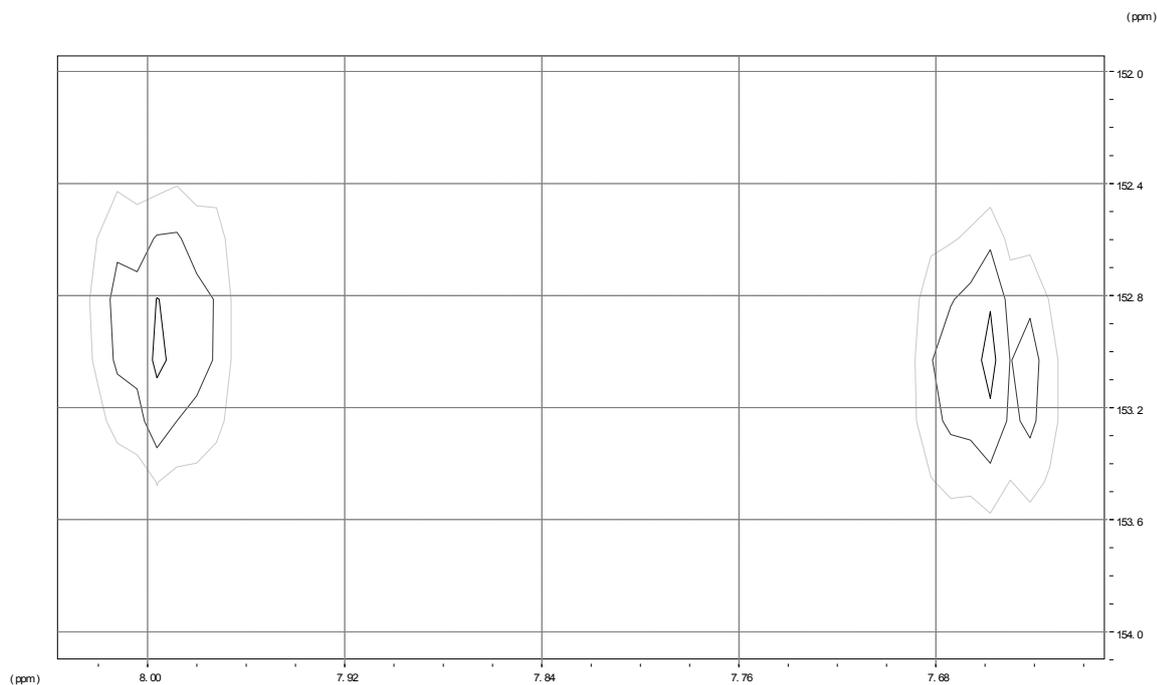


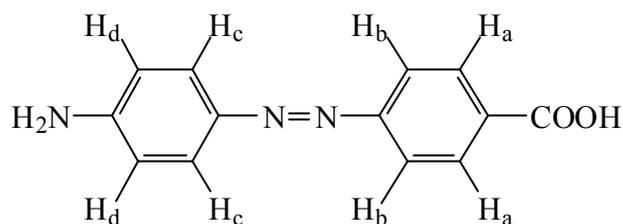
Abbildung 52: Vergrößerung des Bereichs um 153 ppm des ${}^1\text{H}$ - ${}^{13}\text{C}$ -HMBC-Spektrums

Wie man aus der Abbildung 52 erkennen kann koppelt der Peak bei 8 ppm mit dem Peak bei 153 ppm und der Peak bei 7,66 ppm mit dem Peak bei 153,1 ppm.

Nimmt man alle so erhaltenen Daten zur Hilfe, so erhält man folgende endgültige Zuordnung für die Protonen und die Kohlenstoffatome.

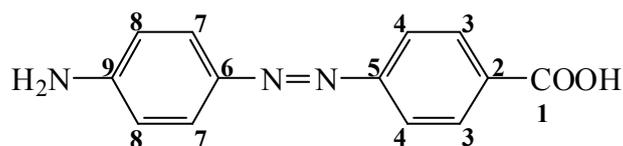
Hauptteil

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO- d_6



$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ = 6.12 (s, 2 H, Ar-NH₂), 6.67 (m, N = 8.8 Hz, 2 H, H_d), 7.66 (m, N = 8.5 Hz, 2 H, H_b), 7.67 (m, N = 8.8 Hz, 2 H, H_c), 8.01 (m, N = 8.5 Hz, 2 H, H_a) ppm.

$^{13}\text{C-}\{^1\text{H}\}$ -NMR: 125 MHz, DMSO- d_6



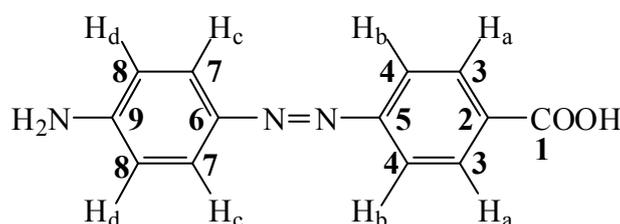
$^{13}\text{C-}\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, DMSO- d_6): δ = 169.9 (1), 153.1 (9), 153.0 (5), 143.3 (6), 141.4 (2), 130.2 (3), 125.2 (7), 121.0 (4), 113.8 (8) ppm.

2.8.2 Vergleich der spektroskopischen Daten

Die in Kapitel 2.8.1 erhaltenen Daten für das 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure werden nun als Grundlage für die weitere NMR-Auswertung für die nachfolgenden Verbindungen genommen. Dabei soll überprüft werden, ob die chemische Verschiebung der einzelnen Signale aus dem ^1H - und dem ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ -NMR durch ein Inkrementensystem, benutzt wird das Inkrementensystem des Programms ChemOffice, erklärt werden können. Dazu werden die NMR-Signale der 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure als Standard verwendet und die Änderungen im Molekül werden mit dem Inkrement verglichen.

2.8.2.1 Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure 30 mit den von ChemOffice gemachten Vorhersagen

Die 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure soll als Vergleich für alle folgenden NMR Auswertungen benutzt werden und die so erhaltenen Abweichungen werden dann als „Güte“ für die Identifikation der Substanz benutzt. Um diesen Vergleich machen zu können, werden die spektroskopischen Daten der 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure benutzt, sie werden dann mit den Daten des Programms ChemOffice verglichen und die Abweichungen werden dann als Korrektur für die nachfolgenden NMRs benutzt. Dazu muss zunächst aber auch die Abweichung der spektroskopischen experimentellen Daten von dem Inkrementensystem bzw. der Vorhersage des Programms bestimmt werden. Dabei wird die prozentuale Abweichung des experimentellen Wertes von den theoretischen Werten bestimmt.



Die Bestimmung der Abweichung erfolgt nach:

$$Abw. \text{ in } \% = 100 - \left(\frac{100}{Wert(ppm)_{ChemOffice}} \cdot Wert(ppm)_{Exp} \right)$$

Hauptteil

Tabelle 28: Bestimmung der Abweichung von den experimentellen Daten in Bezug auf die durch ChemOffice gemachten Vorhersagen.

Signal für	Exp. 30 in ppm	Literatur ^[1]	ChemOffice in ppm	Abw. in %
H _a	8,01	7,92	8,38	- 4,42
H _b	7,66	7,63	8,14	- 5,9
H _c	7,67	7,66	7,68	- 0,14
H _d	6,67	6,67	6,66	0,15
NH ₂	6,12	6,08	5,85	4,61
1	169,9		169,3	0,35
2	141,4		132,4	6,79
3	130,2		130,6	- 0,31
4	121		122,9	- 1,55
5	153		157,9	- 3,11
6	143,3		142,7	0,42
7	125,2		123,8	1,13
8	113,8		116,6	- 2,84
9	153,1		150,6	1,69

Wie man aus der Tabelle 28 erkennt, bewegen sich die Abweichungen der gemessenen Werte gegenüber den Werten für die chemische Verschiebung, die das Programm ChemOffice liefert, in einem Bereich von - 6 % und + 7 %. Diese Abweichungen sollen nur bei dem Vergleich der NMR-Daten benutzt werden. Alle von dem Programm angegebenen Peaklagen sind in Relation auf das TMS Signal bezogen.

Die in Tabelle 29 und Tabelle 30 aufgeführten Daten wurden durch das Programm ChemOffice geliefert und dienen nur zur Orientierung. Sie werden unkommentiert und ohne Bewertung dargestellt, und sollen einen Überblick über die verwendeten Inkremente liefern. Die in Tabelle 28 gemachten Vorhersagen des Programms ChemOffice beruhen auf einem Inkrementsystem. Dieses Inkrementsystem berücksichtigt die Position der Substituenten in dem Korrekturterm.

Eine Übersicht über die verwendeten Inkremente soll in den Tabelle 29 und Tabelle 30 gegeben werden.

Tabelle 29: Vorhersage der chemischen Verschiebung durch ChemOffice

Proton	Chem. Versch. in ppm	Basispeak + Inkrement	Kommentar
OH	12,79	11,00	Carbonsäure
		1,79	Korrektur
NH₂	5,85	4,00	aromatische C-NH
		1,85	Korrektur
CH_b	8,14	7,26	1-phenyl
		0,21	<i>meta</i> COO
		0,67	<i>ortho</i> -N=N-Ph
CH_a	8,38	7,26	1-phenyl
		0,87	<i>ortho</i> COO
		0,20	<i>meta</i> -N=N-Ph
		0,05	Korrektur
CH_c	7,68	7,26	1-phenyl
		-0,25	1 -N
		0,67	<i>ortho</i> -N=N-Ph
CH_d	6,66	7,26	1-phenyl
		-0,80	1 -N
		0,20	<i>meta</i> -N=N-Ph

Hauptteil

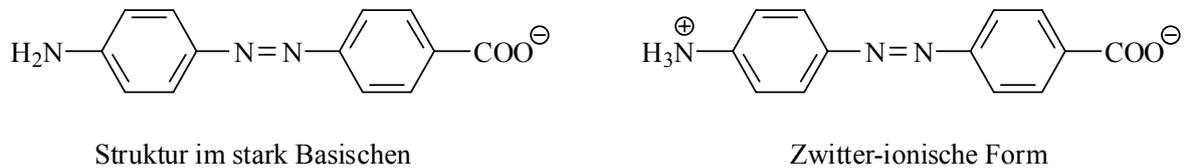
Für das Kohlenstoffspektrum liefert das Programm folgende Vorhersage:

Tabelle 30: Vorhersage der chemischen Verschiebung durch ChemOffice

Kohlenstoff	Chem. Versch. in ppm	Basispeak + Inkrement	Kommentar
1	169,3	166,0	1-carboxyl
		6,0	1 -Ph
		-2,7	Korrektur
4	122,9	128,5	1-phenyl
		-0,1	<i>meta</i> -COO
		-5,8	<i>ortho</i> -N=N-Ph
		0,3	Korrektur
3	130,6	128,5	1-phenyl
		1,6	<i>ortho</i> -COO
		0,3	<i>meta</i> -N=N-Ph
		0,2	Korrektur
2	132,4	128,5	1-phenyl
		2,1	1 -COO
		2,2	<i>para</i> -N=N-Ph
		-0,4	Korrektur
5	157,9	128,5	1-phenyl
		5,2	<i>para</i> -COO
		24,0	1 -N=N-Ph
		0,2	Korrektur
7	123,8	128,5	1-phenyl
		0,8	1 -N
		-5,8	<i>ortho</i> -N=N-Ph
		0,3	Korrektur
8	116,6	128,5	1-phenyl
		-13,4	1 -N
		0,3	<i>meta</i> -N=N-Ph
		1,2	Korrektur
9	150,6	128,5	1-phenyl
		18,2	1 -N
		2,2	<i>para</i> -N=N-Ph
		1,7	Korrektur

Effekte, die durch die Verwendung eines bestimmten Lösungsmittels hervorgerufen werden, werden nicht berücksichtigt.

Zusätzlich hängen die NMR-spektroskopischen Daten von dem Grad der Protonierung ab:



Für diese beiden Strukturen liefert das Programm ChemOffice folgende Vorhersagen, dabei wird die Struktur im sauren Bereich, aufgrund der gewählten Synthese, nicht berücksichtigt (vgl. Kapitel 2.5.2):

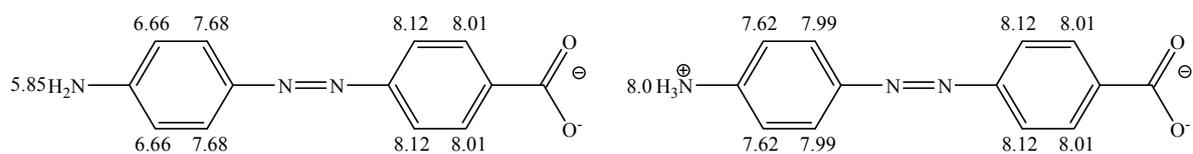


Abbildung 53: ^1H -NMR Vorhersage von ChemOffice

Aus den angegebenen Werten erkennt man gut, dass sich im Vergleich zu der Struktur im stark basischen Bereich, die Werte für das Zwitterion nur in dem linken Ring ändert, die Werte für die chemische Verschiebung der Protonensignale im rechten Ring bleiben hingegen gleich. Dieser Umstand ist in dem Inkrementsystem des Programms begründet.

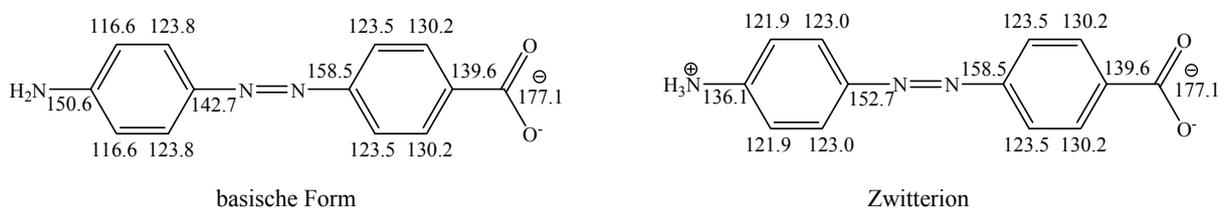


Abbildung 54: ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ -NMR Vorhersage von ChemOffice

Auch in Abbildung 54 erkennt man deutlich den Einfluss der Protonierung der Aminogruppe. Die Werte für die chemische Verschiebung der Kohlenstoffatome im rechten Ring ändern sich nicht. Wenn man jedoch die Werte für die Kohlenstoffatome direkt an der Aminogruppe und *para* ständig vergleicht, so erkennt man eine eindeutige Verschiebung der Signale. Dabei ändert sich die chemische Verschiebung

- ⇒ Für das Kohlenstoffatom direkt an der Aminogruppe von 150,6 ppm (basische Form) nach 136,1 ppm (Zwitterion). Der Wert für die chemische Verschiebung nimmt ab.
- ⇒ Für das *para* Kohlenstoffatom von 142,7 ppm (basische Form) nach 152,7 ppm (Zwitterion). Der Wert für die chemische Verschiebung nimmt zu.

Hauptteil

Dieser Effekt, also der Unterschied zwischen Amino- und Ammoniumgruppe muss bei der Auswertung der Spektren (siehe Kapitel 4.2.1) berücksichtigt werden.

Vergleicht man nun die experimentell erhaltenen Daten mit den Vorhersagen des Programms für die verschiedenen Strukturen, so ergibt sich folgendes Ergebnis:

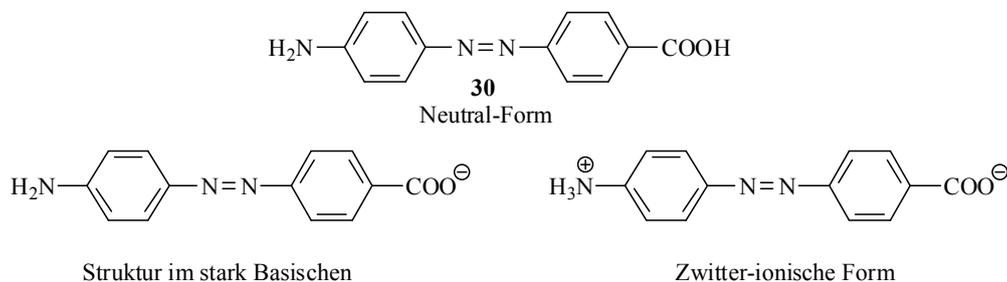


Abbildung 55: Strukturformeln für die möglichen Strukturen von 4-[(4-Aminophenyl)azanyl]benzoesäure

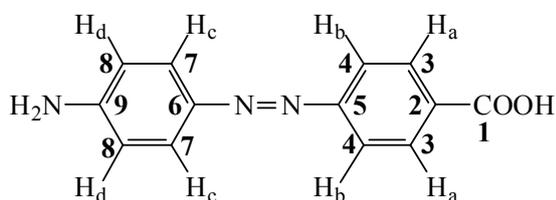


Tabelle 31: Vergleich der NMR-Daten für 4-[(4-Aminophenyl)azanyl]benzoesäure

Signal für	Chemische Verschiebung δ / ppm				
	Exp.	Literatur ^[1]	ChemOffice (Neutral)	ChemOffice (Basisch)	ChemOffice (Zwitter)
H _a	8,01	7,92	8,38	8,01	8,01
H _b	7,66	7,63	8,14	8,12	8,12
H _c	7,67	7,66	7,68	7,68	7,99
H _d	6,67	6,67	6,66	6,66	7,62
NH ₂	6,12	6,08	5,85	5,85	8,0
1	169,9		169,3	177,1	177,1
2	141,4		132,4	139,6	139,6
3	130,2		130,6	130,2	130,2
4	121,0		122,9	123,5	123,5
5	153,0		157,9	158,5	158,5
6	143,3		142,7	142,7	152,7
7	125,2		123,8	123,8	123,0
8	113,8		116,6	116,6	121,9
9	153,1		150,6	150,6	136,1

Man erkennt, dass die experimentell ermittelten Daten gut mit den Literaturdaten übereinstimmen. Eine direkte Zuordnung der Signale zu den von ChemOffice gemachten Vorhersagen für die verschiedenen Strukturen (siehe Abbildung 55) ist jedoch nicht möglich. Die experimentell ermittelten Daten stimmen mit keiner der gemachten Vorhersage gut überein, aber die gemessenen Signale sind in den Vorhersagen enthalten, allerdings tauchen die Signale bei verschiedenen Strukturen auf. In der nachfolgenden Tabelle 32 sind die Gemeinsamkeiten hervorgehoben, es wird dabei verglichen, welcher Wert für die Vorhersage näher am experimentell ermittelten Wert für die chemische Verschiebung liegt.

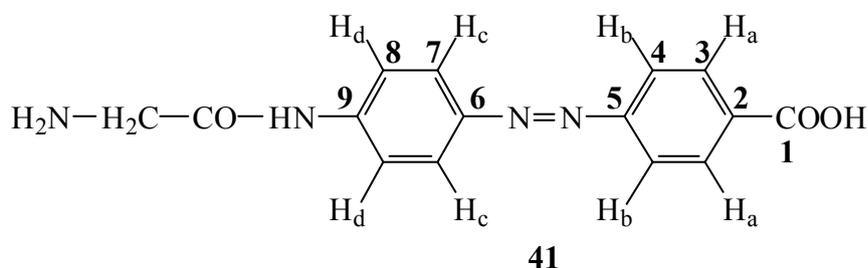
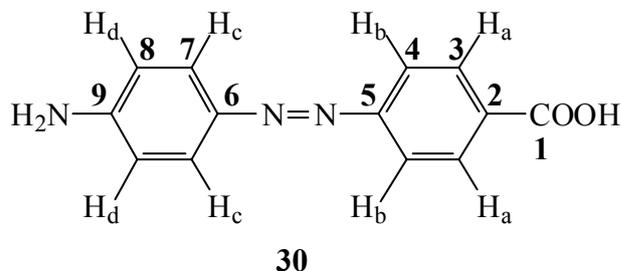
Tabelle 32: Vergleich der NMR-Daten für 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure, Teil 2

Signal für	Chemische Verschiebung δ / ppm				
	Exp.	Literatur ^[1]	ChemOffice (Neutral)	ChemOffice (Basisch)	ChemOffice (Zwitter)
H _a	8,01	7,92	8,38	8,01	8,01
H _b	7,66	7,63	8,14	8,12	8,12
H _c	7,67	7,66	7,68	7,68	7,99
H _d	6,67	6,67	6,66	6,66	7,62
NH ₂	6,12	6,08	5,85	5,85	8,0
1	169,9		169,3	177,1	177,1
2	141,4		132,4	139,6	139,6
3	130,2		130,6	130,2	130,2
4	121,0		122,9	123,5	123,5
5	153,0		157,9	158,5	158,5
6	143,3		142,7	142,7	152,7
7	125,2		123,8	123,8	123,0
8	113,8		116,6	116,6	121,9
9	153,1		150,6	150,6	136,1

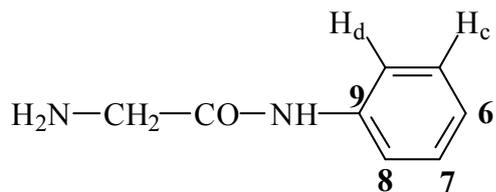
Man erkennt deutlich, dass die experimentell ermittelten Daten mit der Vorhersage für die Neutral-Form bzw. der basischen Form gut korrelieren, aber mit keiner der Vorhersagen exakt übereinstimmen. Die tatsächliche Struktur der Verbindung muss sich also dazwischen befinden, oder es muss ein schneller Protonenaustausch zwischen den beiden Strukturen stattfinden, so dass während der NMR-Messung beide Strukturen im zeitlichen Mittel vorliegen. Das Programm kann für dieses Molekül keine zutreffenden Vorhersagen machen, unabhängig von der chemischen Struktur, die mit den experimentellen Daten übereinstimmen.

2.8.2.2 Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30** mit 4-[[4-(2-Aminoacetamido)phenyl]azeryl]benzoesäure **41**

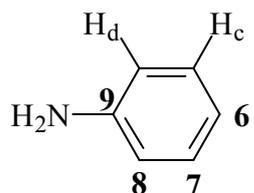
Zur Bestimmung der korrekten Zuordnung der Signale der 4-[(4-(2-Aminoacetamido)phenyl)azeryl]benzoesäure **41** werden die gemessenen NMR-Signale mit den NMR-Signalen der 4-[(4-Aminophenyl)-azeryl]benzoesäure **30** verglichen.



Wenn man die Moleküle betrachtet, so sollten sich nur die NMR-Signale für den linken Teil des Moleküls ändern. Die NMR-Signale für den rechten Ring sollten sich nur gering ändern, da sich das Substitutionsmuster am rechten Ring nicht ändert.



Dabei wird untersucht, wie sich die Peaklage im Vergleich zu 4-[(4-Aminophenyl)-azeryl]benzoesäure ändert.



Betrachtet werden die Signale für die chemische Verschiebung von den Kohlenstoffatomen 6, 7, 8 und 9, und die Verschiebung für die Signale der Protonen H_c, H_d und der NH₂-Gruppe.

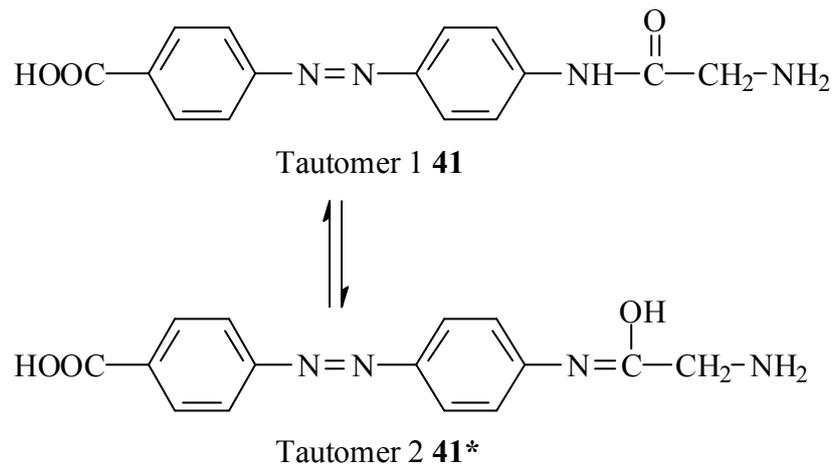
Tabelle 33: Daten Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure 30 mit 4-[[4-(2-Aminoacetamido)-phenyl]azeryl]benzoesäure 41

Rechter Teil des Moleküls, sollten unverändert sein						
	Chemische Verschiebung δ / ppm					
Signal für	Gemessen 30			Gemessen 41		
H _a	8,01			8,03		
H _b	7,66			7,75		
1	169,9			167,29		
2	141,4			142,85		
3	130,2			130,17		
4	121,0			121,23		
5	153,0			153,30		
Linker Teil des Moleküls, verändertes Subst.-muster						
	Chemische Verschiebung δ / ppm					
Signal für	Gemessen 30	Änderung laut ChemOffice	Vorhersage für 41	Gemessen 41	Abw. 41 in %	Abw. 30 in %
H _c	7,67	+ 0,23	7,9	7,69	2,7	- 0,14
H _d	6,67	+ 1,18	7,85	6,68	17,5	0,15
NH-CO			10,01			
NH ₂	6,23	-0,73	5,12		21,67	4,61
6	143,3	+ 5,6	148,9	154,24	- 3,5	0,42
7	125,2	- 0,6	124,6	125,49	- 0,7	1,13
8	113,8	+ 5,3	119,1	113,33	5,1	- 2,84
9	153,1	- 10	143,1	139,74	- 2,35	1,69

Die bestimmten Abweichungen liegen alle im Bereich der durch den Versuch 01 (**30**) bestimmten Abweichungen. Nur die Abweichung der vorhergesagten Peaklage für das Proton H_d und die Aminogruppe NH₂ weichen stark von den anderen Abweichungen ab.

Hauptteil

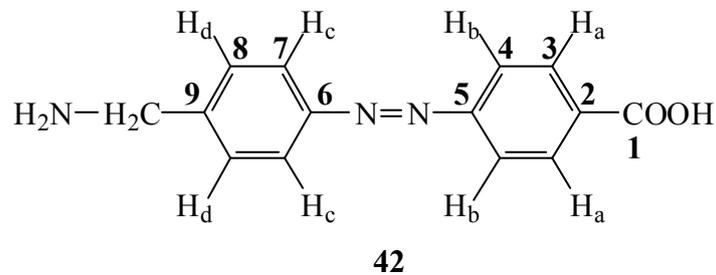
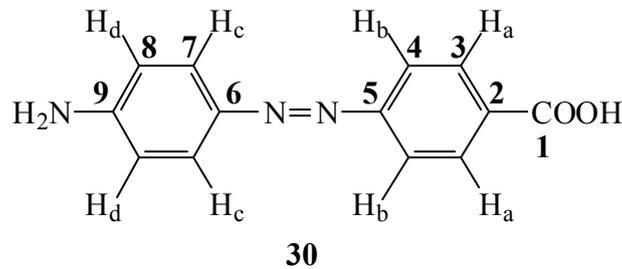
Allerdings besteht auch die Möglichkeit, dass eine andere tautomere Form vorliegt:



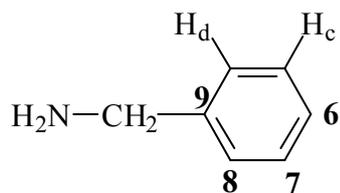
Die Amid-Form (Tautomer 1 **41**) ist sehr viel stabiler als die Enol-Form (Tautomer 2 **41***).

2.8.2.3 Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30 mit 4-[[4-(Aminomethyl)-phenyl]azeryl]benzoesäure **42****

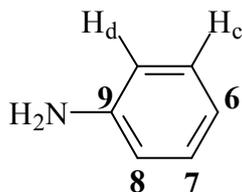
Auch hier sollen die erhaltenen Signale für 4-[[4-(Aminomethyl)-phenyl]azeryl]benzoesäure **42** mit den zu erwartenden Signale verglichen werden.



Da sich auch hier das Substitutionsmuster nur in einem Teil des Farbstoffes ändert, wird nur der linke Teil des Moleküls betrachtet, die NMR-Signale für den rechten Teil des Moleküls sollten sich nicht ändern.



Dabei wird untersucht, wie sich die Peaklage im Vergleich zu 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure ändert.



Hauptteil

Betrachtet werden dabei die Signale für die chemische Verschiebung von den Kohlenstoffatomen 6, 7, 8 und 9, und die Verschiebung für die Signale der Protonen H_c, H_d und der NH_x-Gruppe.

Tabelle 34: Daten Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure mit 4-[[4-(Aminomethyl)phenyl]-azeryl]benzoesäure

Rechter Teil des Moleküls						
	Chemische Verschiebung δ / ppm					
Signal für	Gemessen 30			Gemessen 42		
H _a	8,01			8,06		
H _b	7,66			7,80		
1	169,9			167,40		
2	141,4			131,71		
3	130,2			130,81		
4	121,0			121,93		
5	153,0			155,32		
Linker Teil des Moleküls						
	Chemische Verschiebung δ / ppm					
Signal für	Gemessen 30	Änderung laut ChemOffice	Vorhersage für 42	Gemessen 42	Abw. 42 in %	Abw. 30 in %
H _c	7,67	+ 0,13	7,8	7,71	1,16	- 0,14
H _d	6,67	+ 0,6	7,27	6,69	8,66	0,15
NH _x	6,12	+ 2,92	9,04	6,30	43,49	4,61
6	143,3	+ 8,0	151,3	153,98	- 1,75	0,42
7	125,2	- 1,0	124,2	126,13	-1,54	1,13
8	113,8	+ 10,6	124,4	113,8	9,3	- 2,84
9	153,1	- 6,8	146,3	143,29	2,1	1,69

Die Abweichungen liegen im erwarteten Bereich. Bei dieser Verbindung ergab sich zusätzlich noch das Problem, dass die Zuordnung der Methylengruppe erschwert war, das Signal für diese Gruppe liegt unter dem Signal für Wasser in DMSO-d₆. Das Kohlenstoffsignal sollte im ¹H-¹³C-HMQC Spektrum eine Kopplung zeigen und ungefähr bei 50 ppm liegen.

Mit diesen Daten kann man nun das ^1H - ^{13}C -HMQC Spektrum untersuchen:

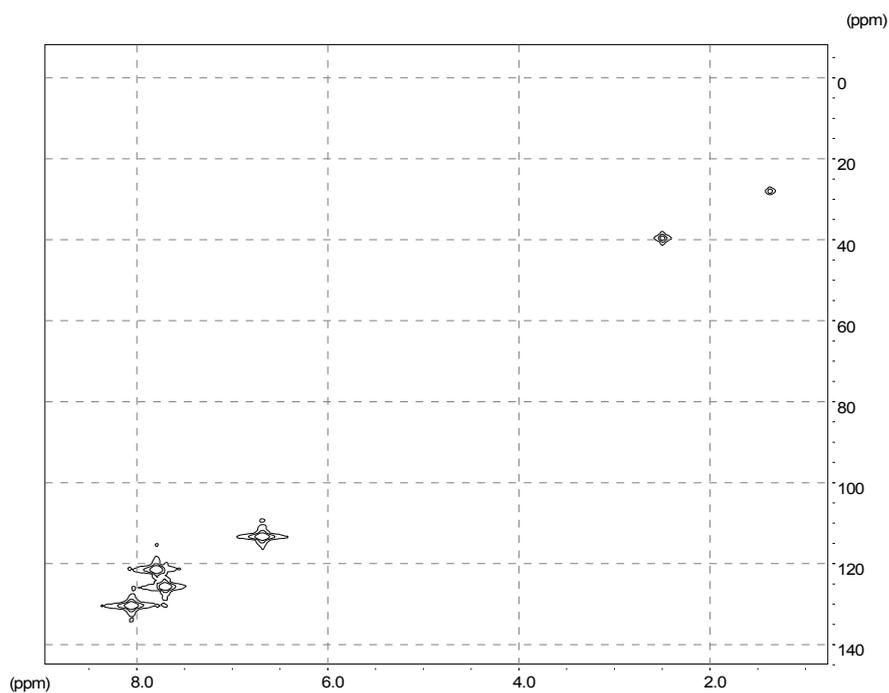


Abbildung 56: ^1H - ^{13}C -HMQC Spektrum von 4-[[4-(Aminomethyl)phenyl]azeryl]benzoesäure in DMSO-d_6

Erst bei starker Vergrößerung erkennt man einen Peak bei ca. 3,5 ppm und ca. 41 ppm

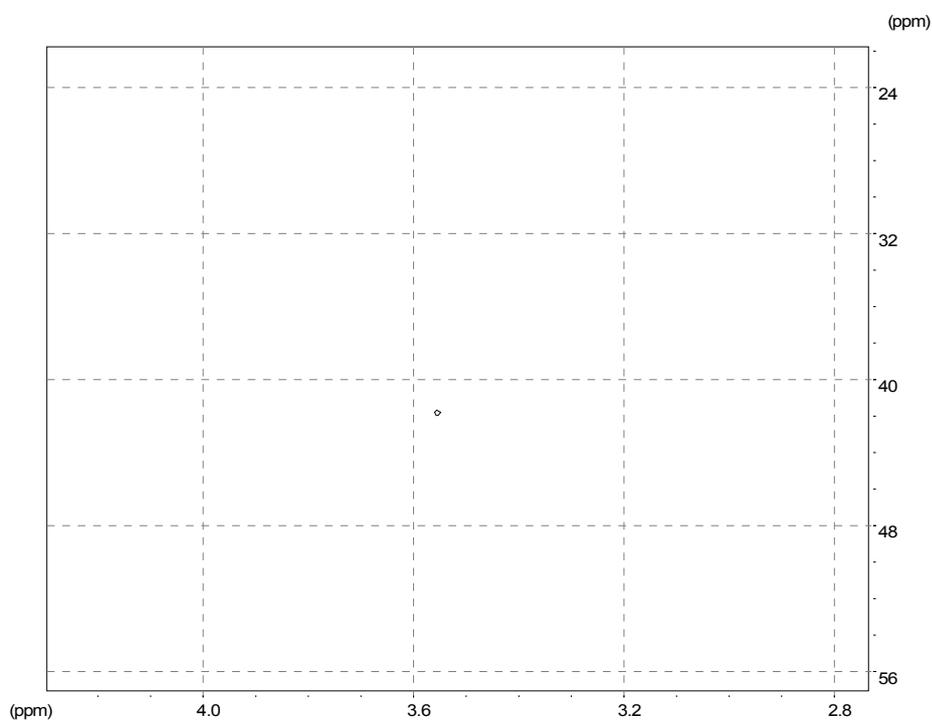
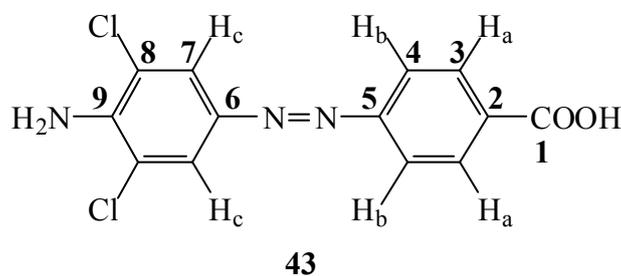
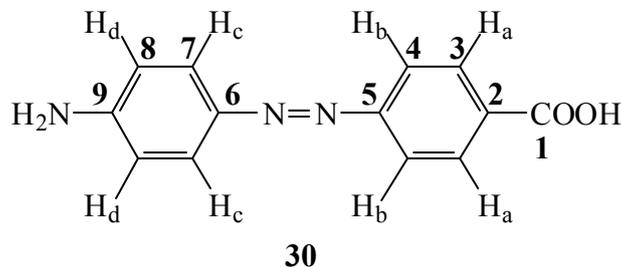


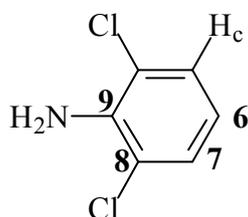
Abbildung 57: Vergrößerung des ^1H - ^{13}C -HMQC Spektrum von 4-[[4-(Aminomethyl)phenyl]azeryl]benzoesäure in DMSO-d_6

2.8.2.4 Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azenyl]benzoesäure **30** mit 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)azenyl]benzoesäure **43**

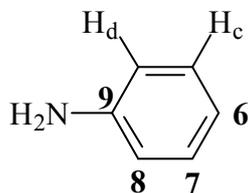
Die NMR-Daten von 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)azenyl]benzoesäure **43** sollen mit den NMR-Daten der 4-[(4-Aminophenyl)azenyl]benzoesäure verglichen werden.



Es wird nur der linke Teil des Azofarbstoffes betrachtet, da sich nur hier das Substitutionsmuster ändert.



Dieser Teil wird wieder mit dem linken Teil der 4-[(4-Aminophenyl)azenyl]benzoesäure verglichen.



Die NMR-Signale für den rechten Teil des Moleküls sollten sich aufgrund des unveränderten Substitutionsmusters kaum ändern, kleine Abweichungen im Vergleich zu den NMR-Daten für Verbindung **30** sind jedoch erkennbar.

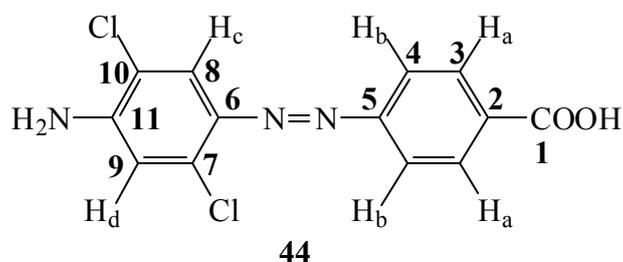
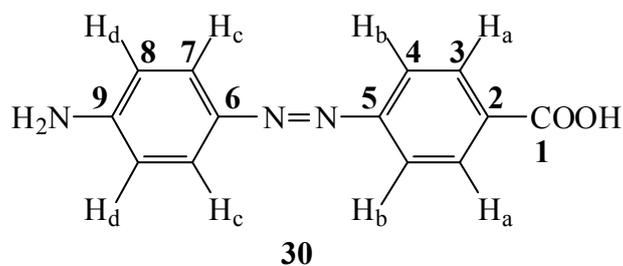
Tabelle 35: Daten Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure mit 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)-azeryl]benzoesäure

Rechter Teil des Moleküls						
Chemische Verschiebung δ / ppm						
Signal für	Gemessen			Gemessen		
	30			43		
H _a	8,01			8,19		
H _b	7,66			7,71		
1	169,9			169,18		
2	141,4			142,13		
3	130,2			130,23		
4	121,0			121,51		
5	153,0			152,30		
Linker Teil des Moleküls						
Chemische Verschiebung δ / ppm						
Signal für	Gemessen	Änderung laut ChemOffice	Vorhersage für 43	Gemessen 43	Abw. 43 in %	Abw. 30 in %
H _c	7,67 ppm	- 0,11	7,56	7,82	- 3,33	- 0,14
NH _x	6,12 ppm	0	6,12	6,39	-4,23	4,61
6	143,3 ppm	+ 2,8	146,1	143,17	2,04	0,42
7	125,2 ppm	- 1,6	123,6	123,35	0,20	1,13
8	113,8 ppm	+ 10,3	124,1	118,64	4,60	- 2,84
9	153,1 ppm	- 4,8	148,3	144,89	2,35	1,69

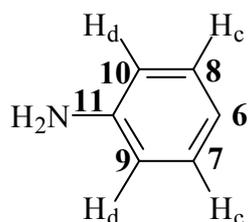
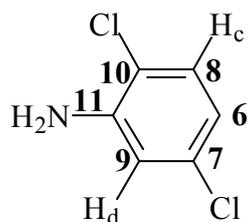
Auch hier liegen die Abweichungen im Toleranzbereich. Die Änderung der Werte für den linken Ring ist gering. Chlor nimmt nur einen geringen Einfluss auf die chemische Verschiebung, die ausgeübten Effekte sind klein.

2.8.2.5 Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30** mit 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure **44**

Die NMR-Daten für die 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure **44** sollen mit den NMR-Daten der 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30** und dem Vorhersagen des Programms ChemOffice verglichen werden.



Das Substitutionsmuster im rechten Ring ändert sich nicht, die NMR-Signale sollten sich nicht bzw. nur geringfügig ändern. Nur das Substitutionsmuster des linken Ringes ändert sich.



Bei der Gegenüberstellung der NMR-Daten ergibt sich folgende Tabelle:

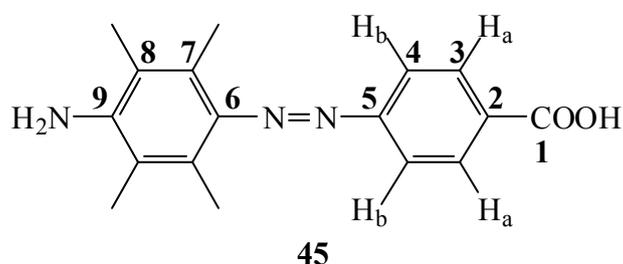
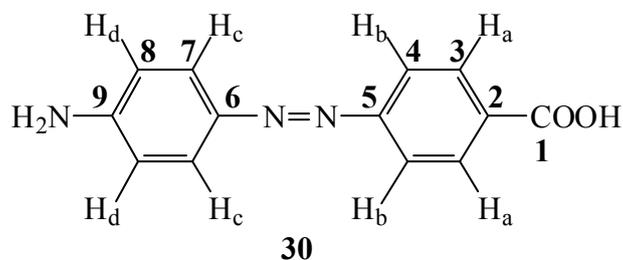
Tabelle 36: Daten Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azenyl]benzoesäure mit 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)-azenyl]benzoesäure

Rechter Teil des Moleküls						
	Chemische Verschiebung δ / ppm					
Signal für	Gemessen 30				Gemessen 44	
H _a	8,01				8,51	
H _b	7,66				7,71	
1	169,9				169,31	
2	141,4				136,15	
3	130,2				130,2	
4	121,0				121,71	
5	153,0				152,74	
Linker Teil des Moleküls, verändertes Substitutionsmuster						
	Chemische Verschiebung δ / ppm					
Signal für	Gemessen 30	Änderung laut ChemOffice	Vorhersage für 44	Gemessen 44	Abw. 44 in %	Abw. 30 in %
H _c	7,67	- 0,07	7,60	7,04	7,95	- 0,14
H _d	6,67	0,05	6,72	6,74	- 0,3	0,15
NH _x	6,12	0	6,12	6,56	- 6,7	4,61
6	143,3	+ 1,7	145	142,64	1,65	0,42
7	125,2	+ 3,6	128,8	117,48	9,63	1,13
8	125,2	+ 2,5	127,7	135,81	- 6	1,13
9	113,8	+ 1,8	115,6	114,42	1,03	- 2,84
10	113,8	+ 7	120,8	116,3	3,86	- 2,84
11	153,1	- 2,8	150,3	149,05	0,8	1,69

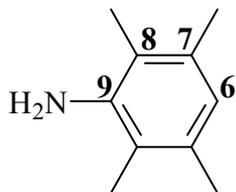
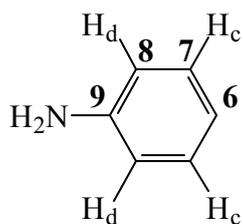
Auffallend bei der Gegenüberstellung ist die Änderung der chemischen Verschiebung für den Kohlenstoff Nr. 2. Obwohl sich das Substitutionsmuster für diesen Ring nicht ändert, verschiebt sich das Signal um 5 ppm.

2.8.2.6 Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30** mit 4-[(4-Amino-2,3,5,6-tetramethylphenyl)azeryl]-benzoesäure **45**

Die 4-[(4-Amino-2,3,5,6-tetramethylphenyl)azeryl]-benzoesäure **45** wird mit der 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30** verglichen.



Bei diesem Vergleich ändert sich auch nur das Substitutionsmuster am linken Ring. Da der linke Ring keine aromatischen Protonen mehr enthält, werden nur die Kohlenstoff NMR-Signale verglichen.



Die Signale für den rechten Ring sollten sich nicht ändern.

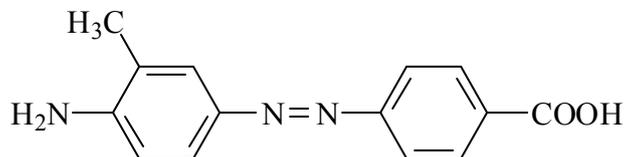
Tabelle 37: Daten Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure mit 4-[(4-Amino-2,3,5,6-tetramethyl-phenyl)azeryl]-benzoesäure

Rechter Ring						
	Chemische Verschiebung δ / ppm					
Signal für	Gemessen 30			Gemessen 45		
H _a	8,01			8,01		
H _b	7,66			7,64		
1	169,9			164,90		
2	141,4			131,56		
3	130,2			129,90		
4	121,0			123,09		
5	153,0			155,03		
Linker Ring						
	Chemische Verschiebung δ / ppm					
Signal für	Gemessen 30	Änderung laut ChemOffice	Vorhersage für 45	Gemessen 45	Abw. 45 in %	Abw. 30 in %
6	143,3	- 1,9	141,4	140,54	0,6	0,42
7	125,2	2,9	128,1	126,82	1,0	1,13
8	113,8	3,3	117,1	118,77	- 1,41	- 2,84
9	153,1	- 3,8	149,3	145,71	2,46	1,69

Obwohl sich die chemischen Verschiebungen für den rechten Ring nicht ändern sollten, beobachtet man eine erhebliche Abweichung der chemischen Verschiebung für den Kohlenstoff mit der Nummer 2. Dieser Wert weicht um 10 % von dem erwarteten Wert (experimentell bestimmten Wert für die Verbindung **30**) ab. Eine Erklärung für diese Abweichung konnte nicht ermittelt werden.

2.8.2.7 Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30** mit 4-[(4-Amino-3-methylphenyl)azeryl]benzoesäure **46**

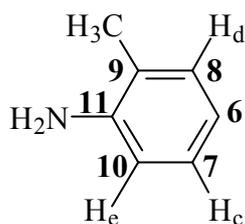
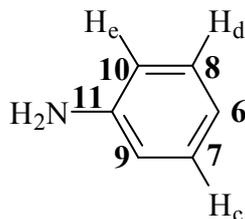
Die NMR-Daten der 4-[(4-Amino-3-methylphenyl)azeryl]benzoesäure **46** sollen mit den Daten der 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30** verglichen werden.



46

Auch hier sollten sich die NMR-Signale von der 4-[(4-Amino-3-methylphenyl)azeryl]benzoesäure **46** im rechten Ring kaum von den Signalen der 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30** unterscheiden. Die chemische Verschiebung für die Protonensignale H_a und H_b , sowie die Signale für die Kohlenstoffatome 1 bis 5, sollten sich nicht von den chemischen Verschiebungen für die gleichen Atome in der 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30** unterscheiden.

Das Substitutionsmuster ändert sich nur im linken Ring.



Stellt man nun die erhaltenen NMR-Daten der beiden Substanzen gegenüber, so ergibt sich folgende Tabelle:

Tabelle 38: Daten Vergleich 4-[(4-Aminophenyl)azenyl]benzoesäure mit 4-[(4-Amino-3-methylphenyl)-azenyl]benzoesäure

Rechter Ring						
	Chemische Verschiebung δ / ppm					
Signal für	Gemessen 30			Gemessen 46		
H _a	8,01			8,06		
H _b	7,66			8,13		
1	169,9			166,2		
2	141,4			130,3		
3	130,2			129,63		
4	121,0			123,55		
5	153,0			158,22		
Linker Ring						
	Chemische Verschiebung δ / ppm					
Signal für	Gemessen 30	Änderung laut ChemOffice	Vorhersage für 46	Gemessen 46	Abw. 46 in %	Abw. 30 in %
H _c	7,67 ppm	- 0,2	7,47	7,57	- 1,33	- 0,14
H _d	7,67	- 0,19	7,48	7,60	- 1,58	- 0,14
H _e	6,67	- 0,12	6,55	6,7	- 2,24	0,15
NH ₂	6,12					4,61
6	143,3	- 0,1	143,2	142,24	0,67	0,42
7	125,2	1,6	126,8	123,64	2,55	1,13
8	125,2	- 3	122,2	120,19	1,67	1,13
9	113,8	12,7	126,9	128,81	-1,49	- 2,84
10	113,8	- 0,1	113,7	113,21	0,4	- 2,84
11	153,1	-2,0	151,1	147,79	2,24	1,69

Obwohl die Signale im rechten Ring identisch sein sollten, ergeben sich bei der Auswertung erhebliche Unterschiede. Einen Grund für diese Unterschiede wurde nicht gefunden.

2.8.3 Zusammenfassung der spektroskopischen Ergebnisse

Die in Kapitel 2.8.1 beschriebene Methode wurde für alle Azobenzolderivate verwendet. Die gefundenen Ergebnisse werden tabellarisch für die einzelnen Derivate zusammengefasst. Es werden die experimentell ermittelten Daten mit den Vorhersagen der Programme ChemWin und ChemOffice gegenüber gestellt.

1. 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30**

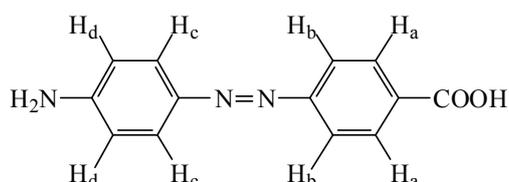


Tabelle 39: $^1\text{H-NMR}$ Daten für 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure

Proton	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
H _a	7,92	8,38	8,01
H _b	7,62	8,14	7,67
H _c	7,92	7,68	7,66
H _d	6,24	6,66	6,67
NH ₂	4,60	5,85	6,12

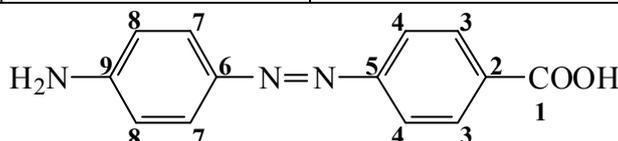
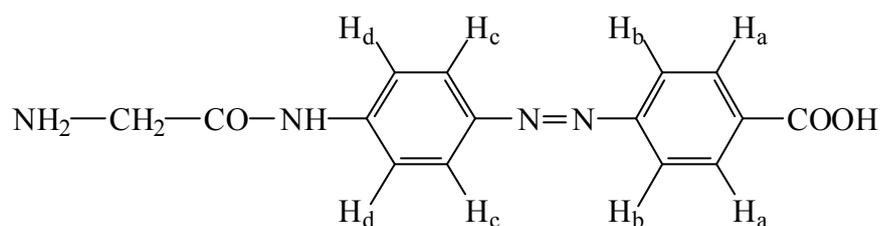
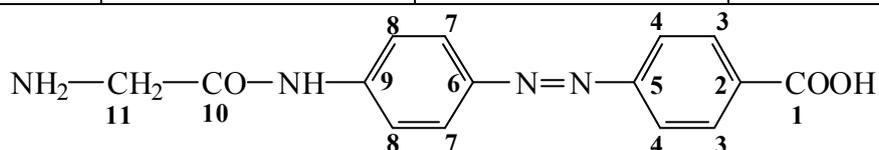


Tabelle 40: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -Daten für 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure

Kohlenstoff	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
1	168,07	169,3	169,1
2	129,90	132,4	141,4
3	130,74	130,6	130,2
4	121,90	122,9	121,0
5	155,18	157,9	153
6	148,58	142,7	143,3
7	125,90	123,8	125,2
8	113,90	116,6	113,8
9	150,70	150,6	153,1

2. 4-{{4-(2-Amimoacetamido)phenyl}azeryl}benzoesäure **41**Tabelle 41: $^1\text{H-NMR}$ Daten für 4-{{4-(2-Amimoacetamido)phenyl}azeryl}benzoesäure

Proton	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
H _a	7,92	8,38	8,03
H _b	7,62	8,14	7,75
H _c	7,92	7,91	7,69
H _d	7,31	7,84	6,68
NH ₂	3,56	5,12	6,23
CH ₂	3,87	3,59	3,48
NH	7,70	10,01	

Tabelle 42: $^{13}\text{C-}\{^1\text{H}\}$ - Daten für 4-{{4-(2-Amimoacetamido)phenyl}azeryl}benzoesäure

Kohlenstoff	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
1	Keine Angabe	169,3	167,29
2	129,9	132,4	142,85
3	130,74	122,9	130,17
4	121,9	122,9	121,23
5	155,18	157,9	153,30
6	148,58	148,3	154,24
7	125,90	123,2	125,49
8	119,58	121,9	113,33
9	150,70	140,6	139,74
10	171,80	168,5	167,52
11	45,60	43,2	42,65

3. 4-{{4-(Aminomethyl)phenyl}azeryl}benzoesäure **42**

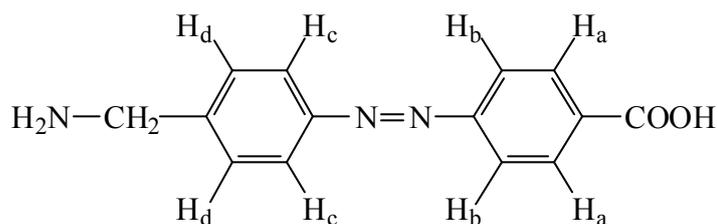


Tabelle 43: ¹H-NMR Daten für 4-{{4-(Aminomethyl)phenyl}azeryl}benzoesäure

Proton	Chem. Verschiebung δ /ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
H _a	7,92	8,38	8,06
H _b	7,62	8,14	7,80
H _c	7,62	7,81	7,71
H _d	7,19	7,26	6,69
CH ₂	3,95	3,91	3,50
NH ₂	4,58	8,77	6,30

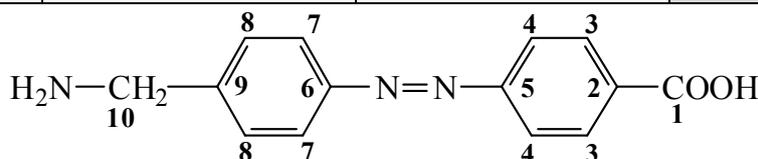
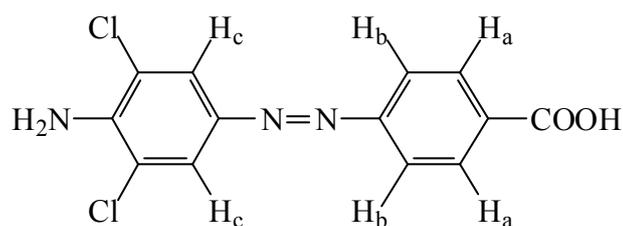
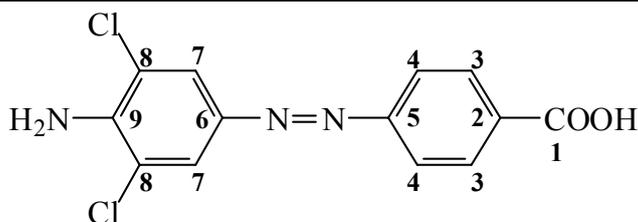


Tabelle 44: ¹³C-{{¹H}}-Daten für 4-{{4-(Aminomethyl)phenyl}azeryl}benzoesäure

Kohlenstoff	Chem. Verschiebung δ /ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
1	168,07	169,3	167,4
2	keine Vorhersage	132,4	131,71
3	130,74	130,6	130,81
4	121,46	122,9	121,93
5	155,18	157,9	155,32
6	151,09	150,7	153,98
7	124,21	122,8	126,13
8	128,43	127,2	113,80
9	keine Vorhersage	143,8	143,29
10	45,29	52,5	41,07

4. 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure **43**Tabelle 45: $^1\text{H-NMR}$ Daten für 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure

Proton	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
H _a	7,92	8,38	8,19
H _b	7,62	8,14	7,71
H _c	7,80	7,57	7,82
NH ₂	4,95	5,85	6,39

Tabelle 46: $^{13}\text{C-}\{^1\text{H}\}$ -Daten für 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure

Kohlenstoff	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
1	168,07	169,3	169,18
2	129,9	132,4	142,13
3	130,74	130,6	130,23
4	121,9	122,9	121,52
5	155,18	157,9	152,30
6	143,75	146,5	143,17
7	Keine Vorhersage	122,2	123,35
8	118,40	126,9	118,64
9	Keine Vorhersage	145,8	144,89

5. 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure **44**

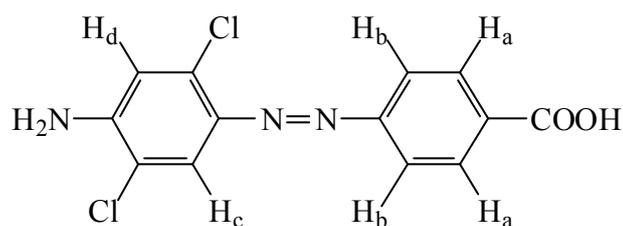


Tabelle 47: $^1\text{H-NMR}$ Daten für 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure

Proton	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
H _a	7,92	8,38	8,51
H _b	7,62	8,14	7,71
H _c	7,80	7,63	7,04
H _d	7,80	6,61	6,74
NH ₂	4,81	5,85	6,56

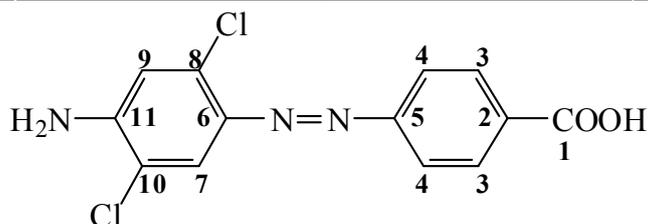
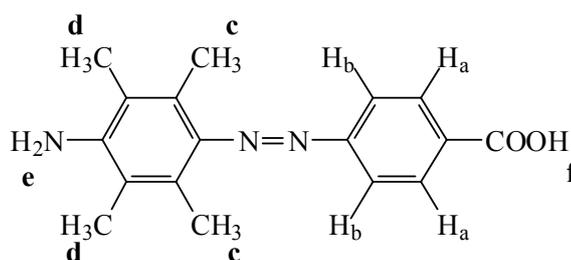


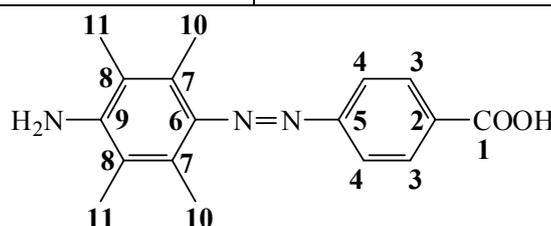
Tabelle 48: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -Daten für 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure

Kohlenstoff	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
1	168,07	169,3	169,31
2	Keine Vorhersage	132,4	136,15
3	130,74	130,6	130,2
4	Keine Vorhersage	122,9	121,71
5	155,18	157,9	152,74
6	138,78	144,3	142,64
7	Keine Vorhersage	125,5	117,48
8	Keine Vorhersage	127,4	135,81
9	115,60	118,4	116,3
10	115,10	123,6	114,42
11	Keine Vorhersage	147,8	149,05

6. 4-[(4-Amino-2,3,5,6-tetramethylphenyl)azeryl]benzoesäure 45

Tabelle 49: $^1\text{H-NMR}$ Daten für 4-[(4-Amino-2,3,5,6-tetramethylphenyl)azeryl]benzoesäure

Proton	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
H _a	7,92	8,38	8,01
H _b	7,62	8,14	7,64
CH ₃ (c)	2,15	2,35	2,30
CH ₃ (d)	2,15	2,35	2,07
NH ₂	3,64	5,85	

Tabelle 50: $^{13}\text{C-}\{^1\text{H}\}$ -Daten für 4-[(4-Amino-2,3,5,6-tetramethylphenyl)azeryl]benzoesäure

Kohlenstoff	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
1	168,07	169,3	164,90
2	129,9	132,4	131,56
3	130,74	130,6	129,90
4	121,9	122,9	123,09
5	155,18	157,9	155,03
6	140,39	140,8	140,54
7	Keine Vorhersage	126,7	126,82
8	118,55	119,9	118,77
9	150,70	146,8	145,71
10	14,25	17,0	14,72
11	13,50	17,0	13,73

Hauptteil

7. 4-[(4-Amino-3-methylphenyl)azenyl]benzoesäure **46**

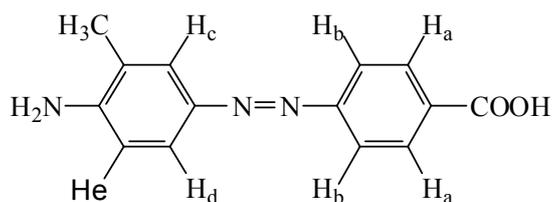


Tabelle 51: $^1\text{H-NMR}$ Daten für 4-[(4-Amino-3-methylphenyl)azenyl]benzoesäure

Proton	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
H _a	7,92	8,38	8,06
H _b	7,62	8,14	8,13
H _c	7,53	7,48	7,57
H _d	7,92	7,49	7,60
H _e	6,98	6,54	6,70
CH ₃	2,24	2,35	2,20
NH ₂	5,48	5,85	6,00

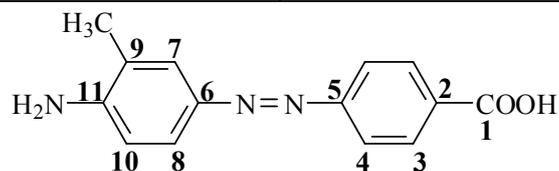


Tabelle 52: $^{13}\text{C-}\{^1\text{H}\}$ -Daten für 4-[(4-Amino-3-methylphenyl)azenyl]benzoesäure

Kohlenstoff	Chem. Verschiebung δ/ppm		
	ChemWin	ChemOffice	Exp.
1	168,07	169,3	166,22
2	129,9	132,4	130,30
3	130,74	130,6	129,63
4	121,9	122,9	123,55
5	155,18	157,9	158,22
6	150,70	142,6	142,24
7	124,21	125,4	123,64
8	125,9	120,8	120,19
9	121,65	129,3	128,81
10	115,80	116,5	113,21
11	150,70	148,6	147,79
CH ₃	17,03	19,2	13,94

Wenn man nun alle Daten, die man für das ^1H -Spektrum erhält, zusammenfasst, bekommt man folgende Tabelle für die einzelnen Azobenzolderivate. Da das Programm ChemOffice die genaueren Vorhersagen macht, wird nur dieses Programm (Chem) mit den experimentell erhaltenen Daten (exp) verglichen.

Tabelle 53: Zusammenfassung der ^1H -NMR Daten, Teil 1

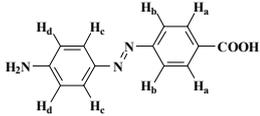
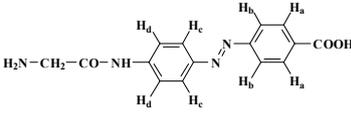
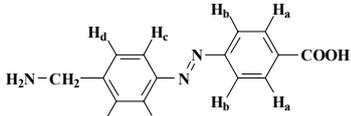
Prot						
	Chem	exp	Chem	exp	Chem	exp
H_a	8,38	8,01	8,38	8,01	8,38	8,06
H_b	8,14	7,66	8,14	7,67	8,14	7,80
H_c	7,68	7,67	7,91	7,69	7,81	7,71
H_d	6,66	6,67	7,84	6,68	7,26	6,89
NH₂	5,85	6,12	5,12	6,23	8,77	6,30
CH₂			3,59	3,48	3,91	3,50

Tabelle 54: Zusammenfassung der ^1H -NMR Daten, Teil 2

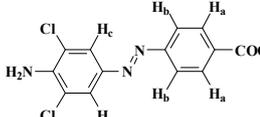
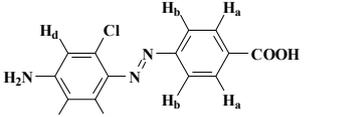
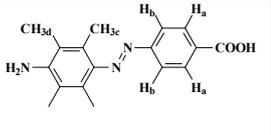
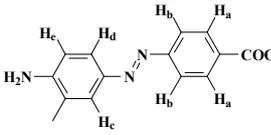
Prot				
	Chem	exp	Chem	exp
H_a	8,38	8,00	8,38	7,98
H_b	8,14	7,71	8,14	7,71
H_c	7,57	7,82	7,63	7,04
H_d			6,61	6,74
NH₂	5,85	6,39	5,85	6,56
CH₂				

Tabelle 55: Zusammenfassung der ¹H-NMR Daten, Teil 3

Prot				
	Chem	exp	Chem	exp
H _a	8,38	8,01	8,38	8,06
H _b	8,14	7,64	8,14	8,13
H _c			7,48	7,60
H _d			7,49	7,57
NH ₂	5,85		5,85	6,00
CH _{3c}	2,35	2,30	2,35	2,20
CH _{3d}	2,35	2,07		
H _e			6,54	6,70

Die Daten, die man das Programm ChemOffice liefert, geben keine gute Vorhersage. Zur besseren Identifikation der Peaks muss daher ein HMBC-Spektrum aufgenommen werden. Besonders die Aminogruppe sorgt für erhebliche Abweichungen.

Da es sich bei den synthetisierten Azofarbstoffen um Aminocarbonsäuren handelt, kann es bei der Auswertung Probleme geben, die mit dem Protonierungsgleichgewicht (siehe Abbildung 58) zusammenhängen.

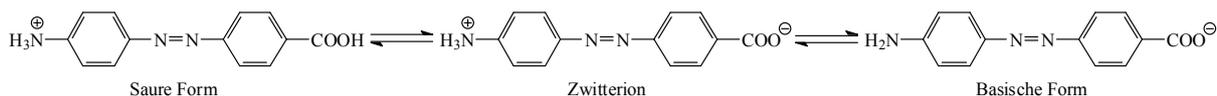


Abbildung 58: Mögliche mesomere Grenzstrukturen von Verbindung 30

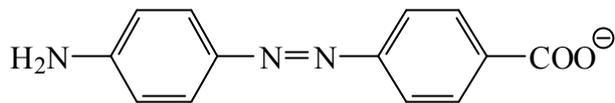
Die mit dieser Gleichgewichtsreaktion, abhängig vom pH-Wert, einhergehenden Änderungen im NMR-Spektrum sind nicht unerheblich. Welche der Strukturen zum Zeitpunkt der NMR-Messung vorliegt, kann man im ¹H-NMR nur schlecht bestimmen. Um die Struktur eindeutig bestimmen zu können, müsste man einen definierten pH (z.B. durch die Zugabe von Trifluoressigsäure = sauer) in der NMR-Lösung einstellen.

Das wichtigste Signal für die Bestimmung der Struktur ist das Signal, welches die Amino-/Ammonium-Gruppe liefert. Das Signal für diese Gruppe ist aber sehr breit, eine genaue Integration, also die genaue Anzahl der Protonen, kann nicht eindeutig bestimmt werden. Der Grad der Protonierung äußert sich dann durch die Lage des NMR Signals für die NH_x-Gruppe (Vorhersage des Programms ChemOffice: NH₂-Gruppe 5,85 ppm, NH₃-Gruppe 8,0 ppm). Das

Signal für die NH_3 -Gruppe (saure Form, Abbildung 58) ist also gegenüber dem Signal für die NH_2 -Gruppe (basische Form, Abbildung 58) Tieffeld verschoben. Die beobachtete Lage der NH_x -Gruppe in den aufgenommenen NMR-Spektren lässt den Schluss zu, dass die basische Form vorliegt.

Das andere Signal, welches für die eindeutige Strukturbestimmung wichtig ist, ist das Signal, welches die Carbonsäure-Gruppe liefert. Das ^1H -NMR Signal für dieses Proton sollte bei einer chemischen Verschiebung über 10 ppm liegen, und es ist ebenfalls breit und nicht gut im Spektrum erkennbar. In den aufgenommenen Spektren konnte das Signal für dieses Proton nicht beobachtet werden.

Beide Signale (die Lage der Aminprotonen und das nicht Vorhandensein des Carbonsäureprotons in den NMR-Spektren) sprechen dafür, dass bei der NMR-Spektroskopie die basischen Strukturen vorgelegen haben.



Basische Form

Abbildung 59: Basische Struktur der Azobenzole am Beispiel der 4-[(4-Aminophenyl)azonyl]benzoesäure 30 gezeigt

Das ^1H -NMR ist also nur begrenzt verwendbar, um die mesomeren Grenzstrukturen (siehe Abbildung 58) zu unterscheiden und die eindeutige Struktur zu bestimmen. Für die eindeutige Bestimmung der Struktur müssen noch die anderen Spektren zur Auswertung herangezogen werden.

Hauptteil

Für die Daten, die man für aus den ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ - Spektren erhält, bekommt man folgende Tabelle für die einzelnen Azobenzolderivate.

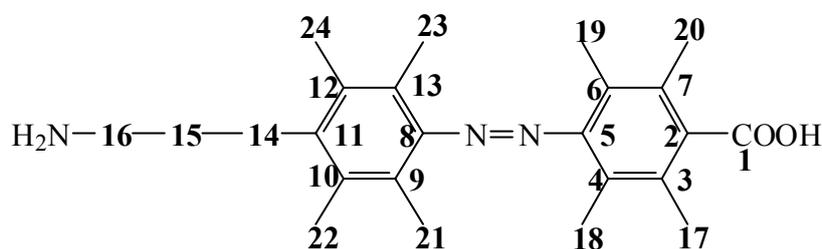


Abbildung 60: allgemeine Strukturformel für die Azobenzole

Tabelle 56: Zusammenfassung der ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ - Daten für die Azobenzolderivate (Teil 1)

C-Atom								
	Chem	exp	Chem	exp	Chem	exp	Chem	exp
1	169,3	169,9	169,3	167,52	169,3	167,4	169,3	169,18
2	132,4	141,4	132,4	139,74	132,4	131,71	132,4	142,13
3	130,6	130,2	130,6	130,17	130,6	130,81	130,6	130,23
4	122,9	121,0	122,9	121,23	122,9	121,93	122,9	121,52
5	157,9	153	157,9	154,24	157,9	155,32	157,9	152,30
6	122,9	121,0	122,9	121,23	122,9	121,93	122,9	121,52
7	130,6	130,2	130,6	130,17	130,6	130,81	130,6	130,23
8	142,7	143,3	148,3	153,3	150,7	153,98	146,5	143,17
9	123,8	125,2	123,2	125,49	122,8	126,13	122,2	123,35
10	116,6	113,8	121,9	113,33	127,2	113,80	126,9	118,64
11	150,6	153,1	140,6	142,85	143,8	143,29	145,8	144,89
12	116,6	113,8	121,9	113,33	127,2	113,80	126,9	118,64
13	129,8	125,2	123,2	125,49	122,8	126,13	122,2	123,35
14					52,5	41,07		
15			168,5	167,29				
16			43,2	42,62				

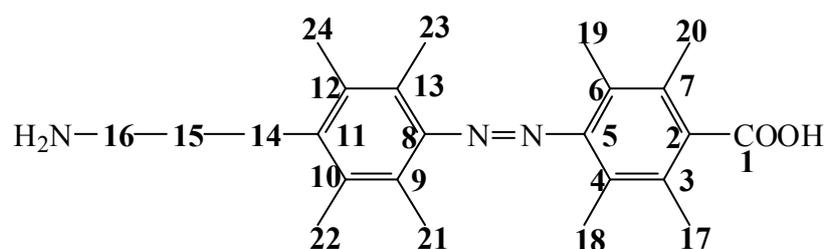


Abbildung 61: allgemeine Strukturformel für die Azobenzole

Tabelle 57: Zusammenfassung der ¹³C-¹H-Daten für die Azobenzolderivate (Teil 2)

C-Atom						
	Chem	exp	Chem	exp	Chem	exp
1	169,3	169,31	169,3	164,9	169,3	166,22
2	132,4	136,15	132,4	131,56	132,4	130,3
3	130,6	130,2	130,6	129,9	130,6	129,63
4	122,9	121,71	122,9	123,09	122,9	123,55
5	157,9	152,74	157,9	155,03	157,9	158,22
6	122,9	121,71	122,9	123,09	122,9	123,55
7	130,6	130,2	130,6	129,9	130,6	129,63
8	144,3	142,64	140,8	140,54	142,6	158,22
9	125,5	117,48	126,7	126,82	120,8	120,19
10	123,6	116,3	119,9	118,77	116,5	113,21
11	147,8	149,05	146,8	145,17	148,6	147,79
12	118,4	114,42	119,9	118,77	129,3	128,01
13	127,4	135,81	126,7	126,82	125,4	123,64
21			17,0	14,72		
22			17,0	13,73		
23			17,0	14,72		
24			17,0	13,73	19,2	13,64

2.9 Kopplung von Rhodamin Grün

Für die Kopplung der Azofarbstoffe mit der Rhodaminkomponente wird die Knüpfung der Amidbindung als Kopplungsmöglichkeit gewählt. Dabei gibt es verschiedene Möglichkeiten, die Amidbindung zu bilden. In der Literatur sind viele Methoden beschrieben und gut untersucht worden. Es soll nun untersucht werden, welche dieser Synthesemethoden sich am besten für die angestrebte Kopplung eignet. Dabei ergibt sich das Problem, dass

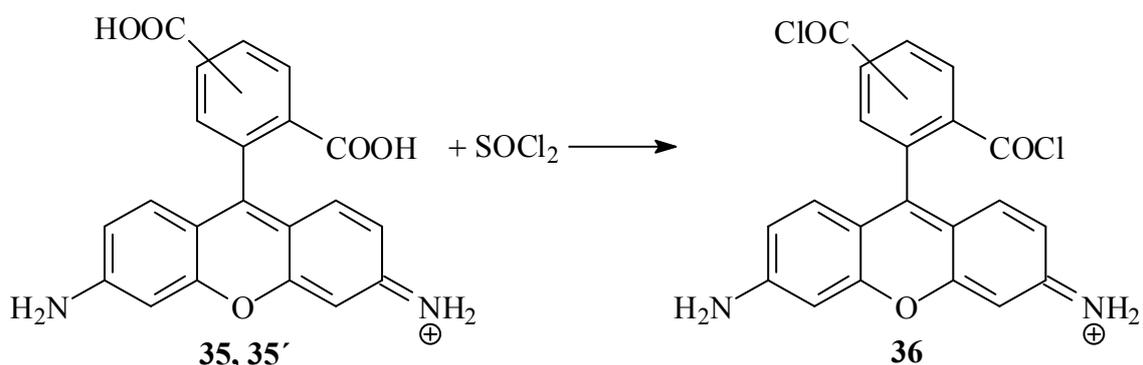
1. das Rhodamin Grün als Isomeregemisch vorliegt, das heißt, dass mehr als ein Produkt entstehen kann.
2. die Synthesen nur in kleinen Ansätzen durchgeführt werden können, da das Rhodamin Grün teuer ist.

Da mit sehr kleinen Ansätzen in der Synthese gearbeitet werden soll, muss auch die Möglichkeit der Aufreinigung des Produktgemisches untersucht werden. Exemplarisch sind drei bekannte Kopplungsmethoden untersucht worden.

2.9.1 Synthese der Amidbindung über das Säurechlorid^[5]

Die erste Methode zur Knüpfung der Amidbindung ist die Reaktion eines Säurechlorides mit einem Amin.

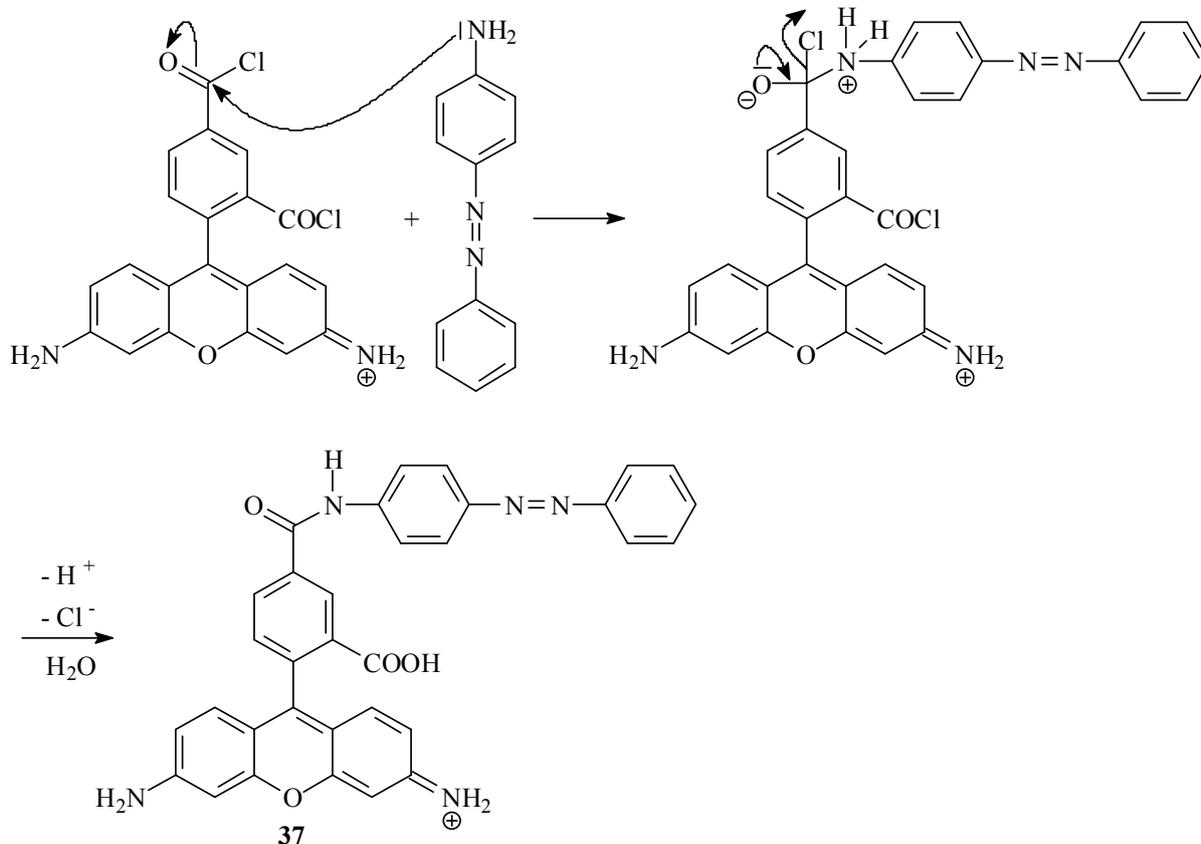
Dabei wird zuerst die Dicarbonsäure (Rhodamin Grün **35**, **35'**) mit Thionylchlorid zum Disäurechlorid **36** umgesetzt:



Anschließend wird das Disäurechlorid **36** mit der Aminkomponente (Azobenzolderivat) zum Amid umgesetzt, wobei beide Säurechloridgruppen reagieren können. Das Carbonsäurechlorid in der *para* Position ist weniger sterisch gehindert als das

Carbonsäurechlorid in der *ortho* Position. Es gibt sechs mögliche Produkte. Der Reaktionsmechanismus soll an einem Beispiel gezeigt werden.

Mechanismus: S_N2_t



Nach der wässrigen Aufarbeitung erhält man das Rohprodukt **37**. Dieses wird mittels HPLC chromatographisch aufgereinigt. Bei dem erworbenen Rhodamin Grün Farbstoff handelt es sich wie oben beschrieben um ein Isomerengemisch

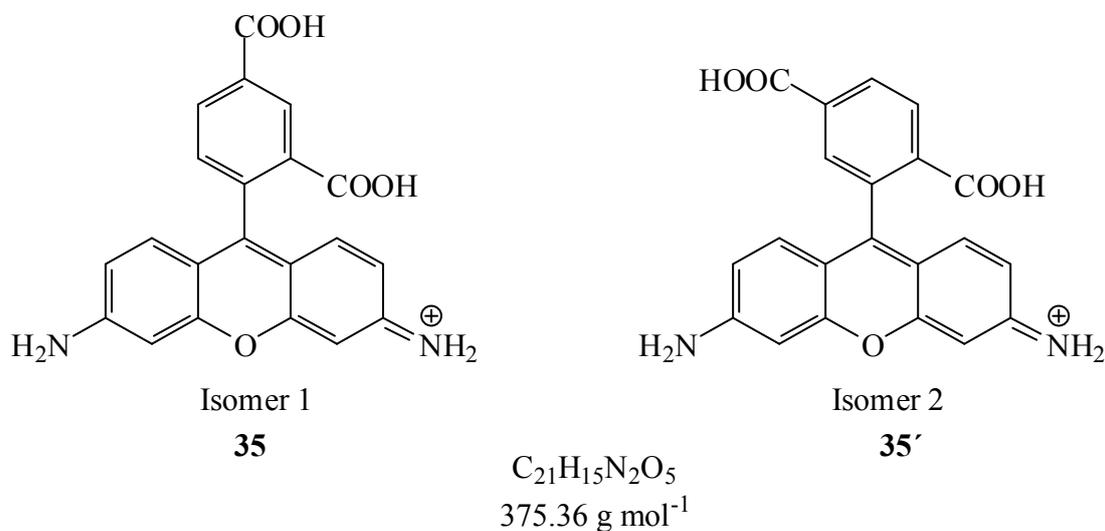


Abbildung 62 : käuflich erworbenes Isomerengemisch Rhodamin Grün der Firma ATTOTEC

Hauptteil

Wird dieses Isomerengemisch bei der Kopplungsreaktion verwendet, so können in jedem Isomer beide Carbonsäuregruppen zum Säurechlorid reagieren. Daraus wiederum ergeben sich folglich vier mögliche Kopplungsstellen. Die sechs möglichen Produkte sehen dann wie folgt aus.

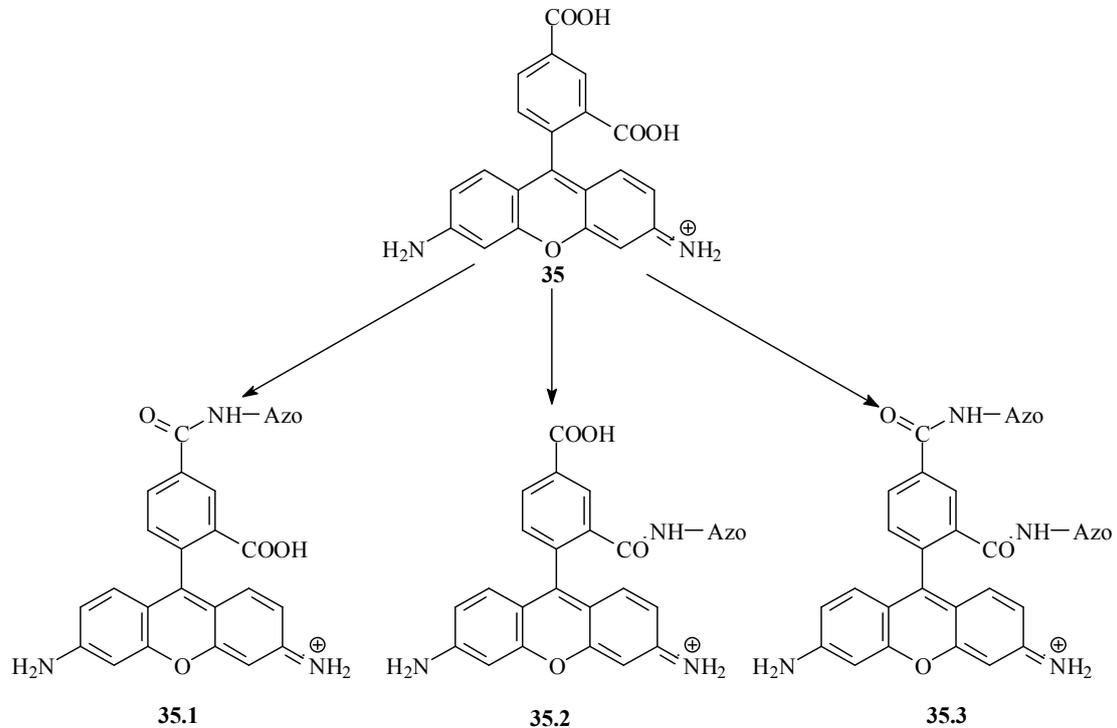


Abbildung 63: mögliche Produkte ausgehend von dem Isomer 1

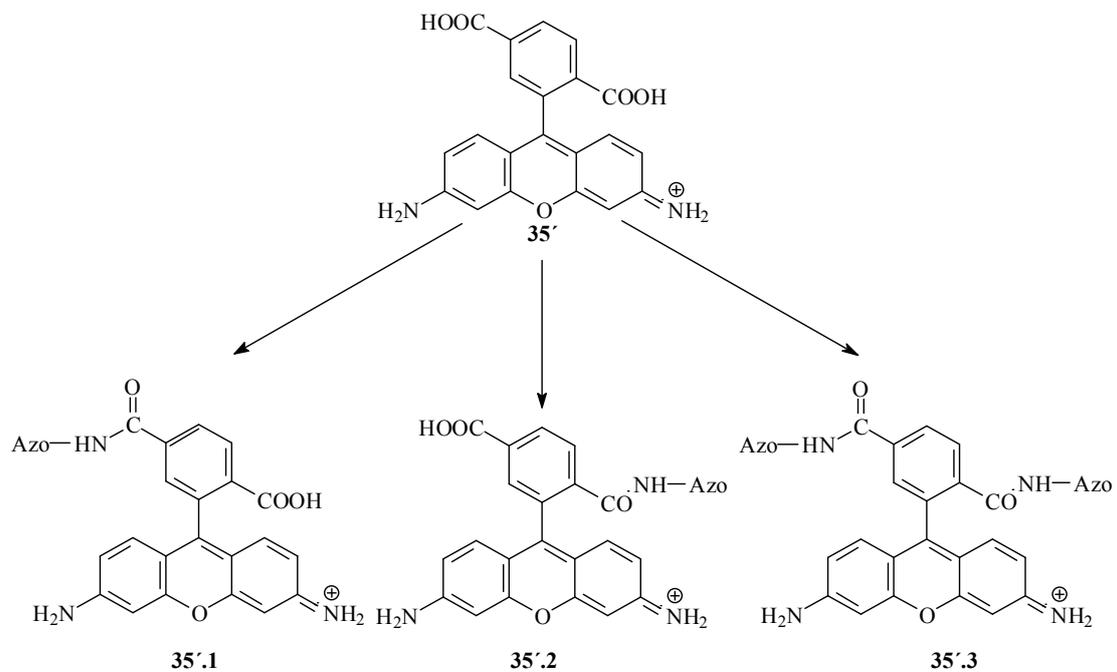
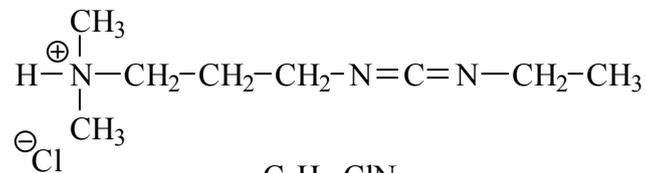


Abbildung 64: mögliche Produkte ausgehend vom Isomer 2

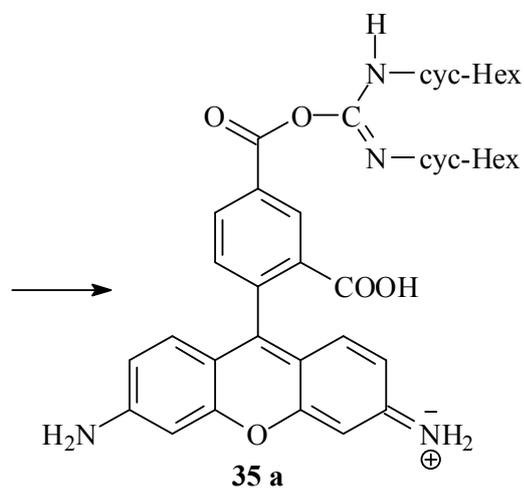
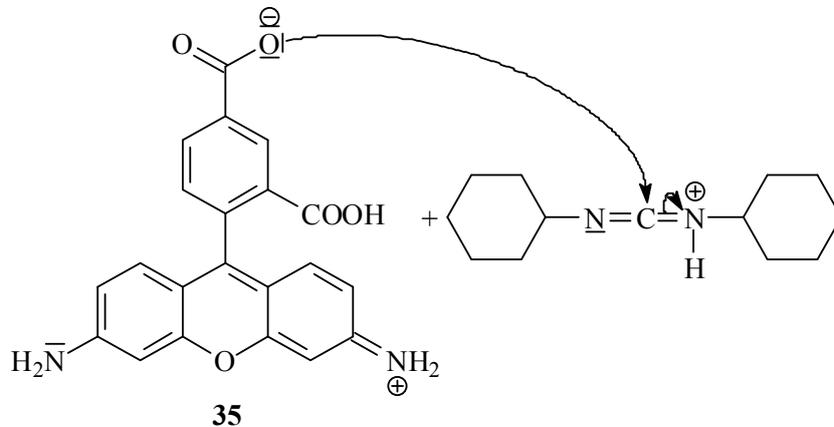
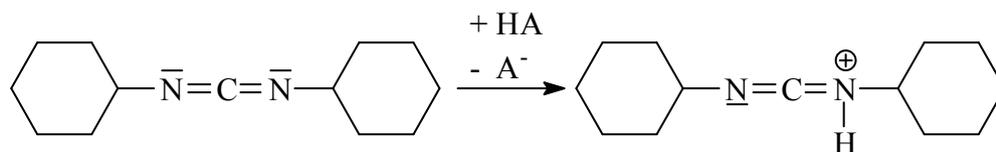
2.9.2 Synthese des Bichromophors unter Verwendung von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und dessen Derivaten^[54, 63, 65]

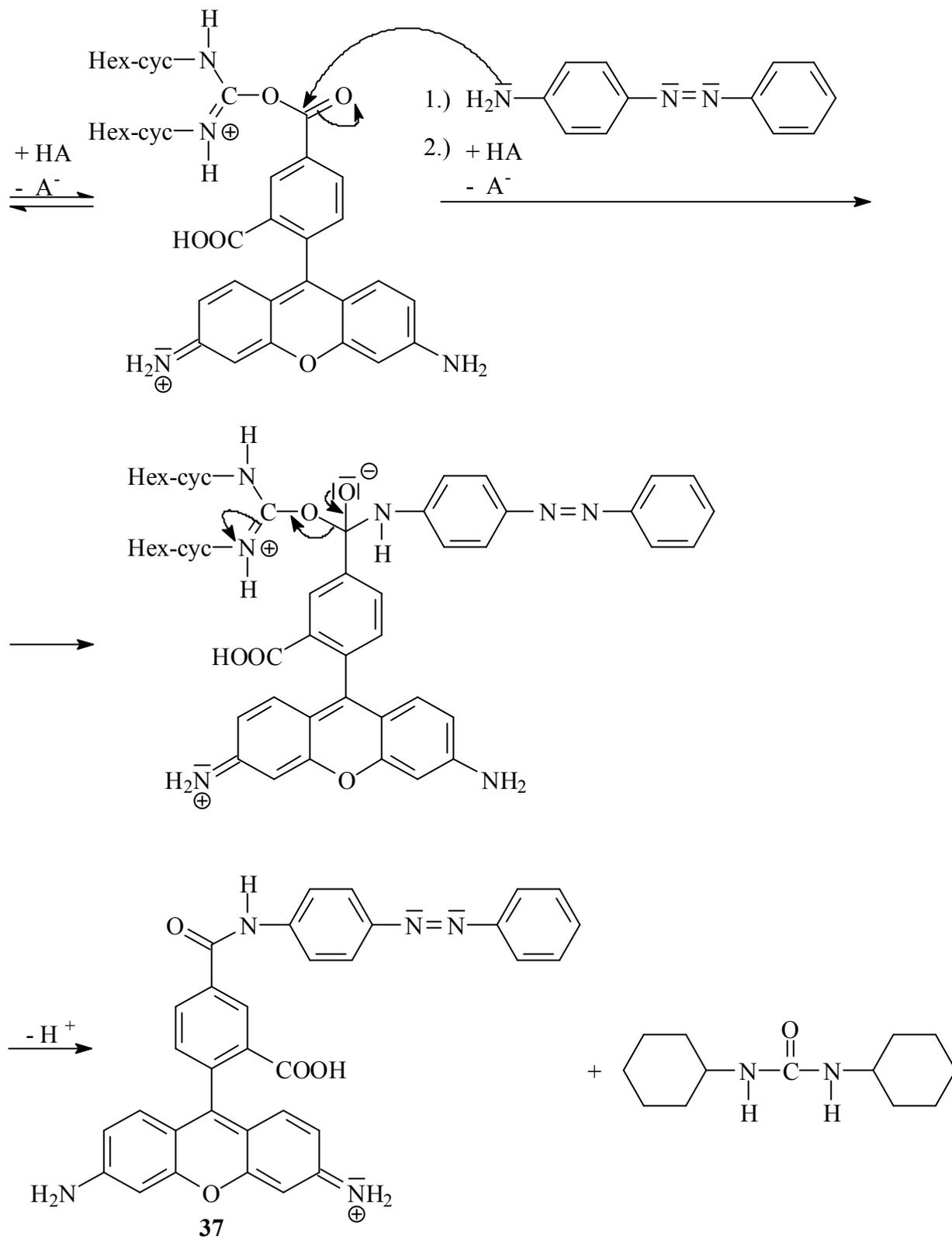
Der Mechanismus wird am Beispiel des DCC diskutiert. Alternativ können auch Derivate des DCCs verwendet werden, wie zum Beispiel das *N'*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N*-ethylcarbodiimid Hydrochlorid.



Molekulargewicht : 191.11 g mol⁻¹

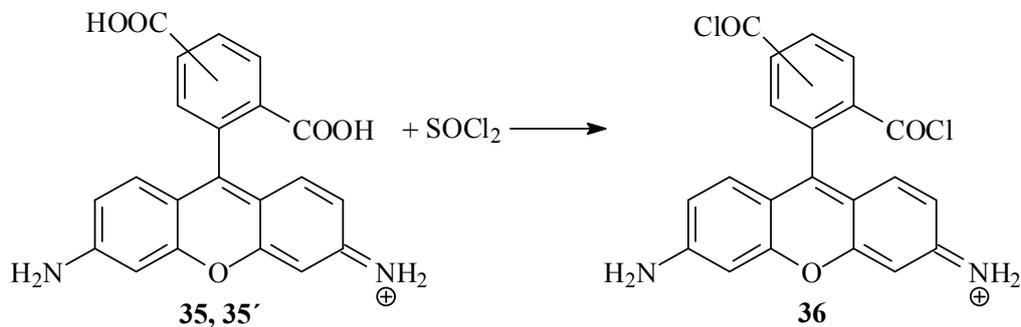
Der Reaktionsmechanismus sieht folgendermaßen aus. Das benötigte Proton H für den ersten Schritt stammt dabei von einer Carbonsäure-Gruppe HA.



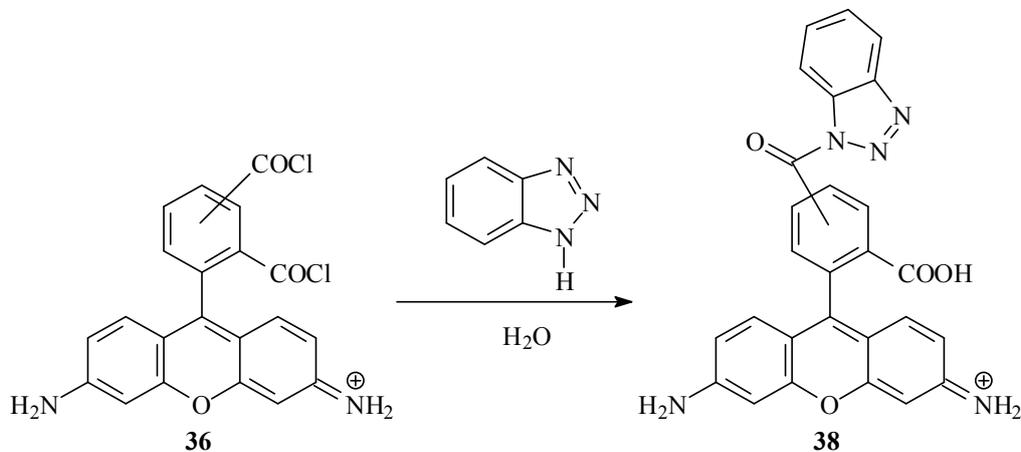


2.9.3 Synthese der Amidbindung nach Katritzky^[30-33] (Benztriazolmethode)

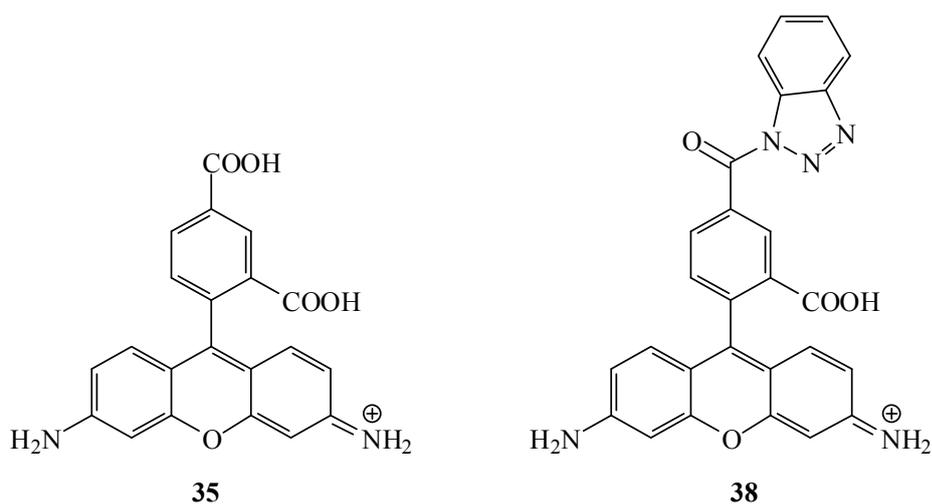
Bei dieser Methode wird die Carbonsäure zuerst mit Thionylchlorid zum Säurechlorid umgesetzt (siehe Kapitel 2.9.1):



Anschließend wird das Disäurechlorid mit 4 äquivalenten Benztriazol umgesetzt:

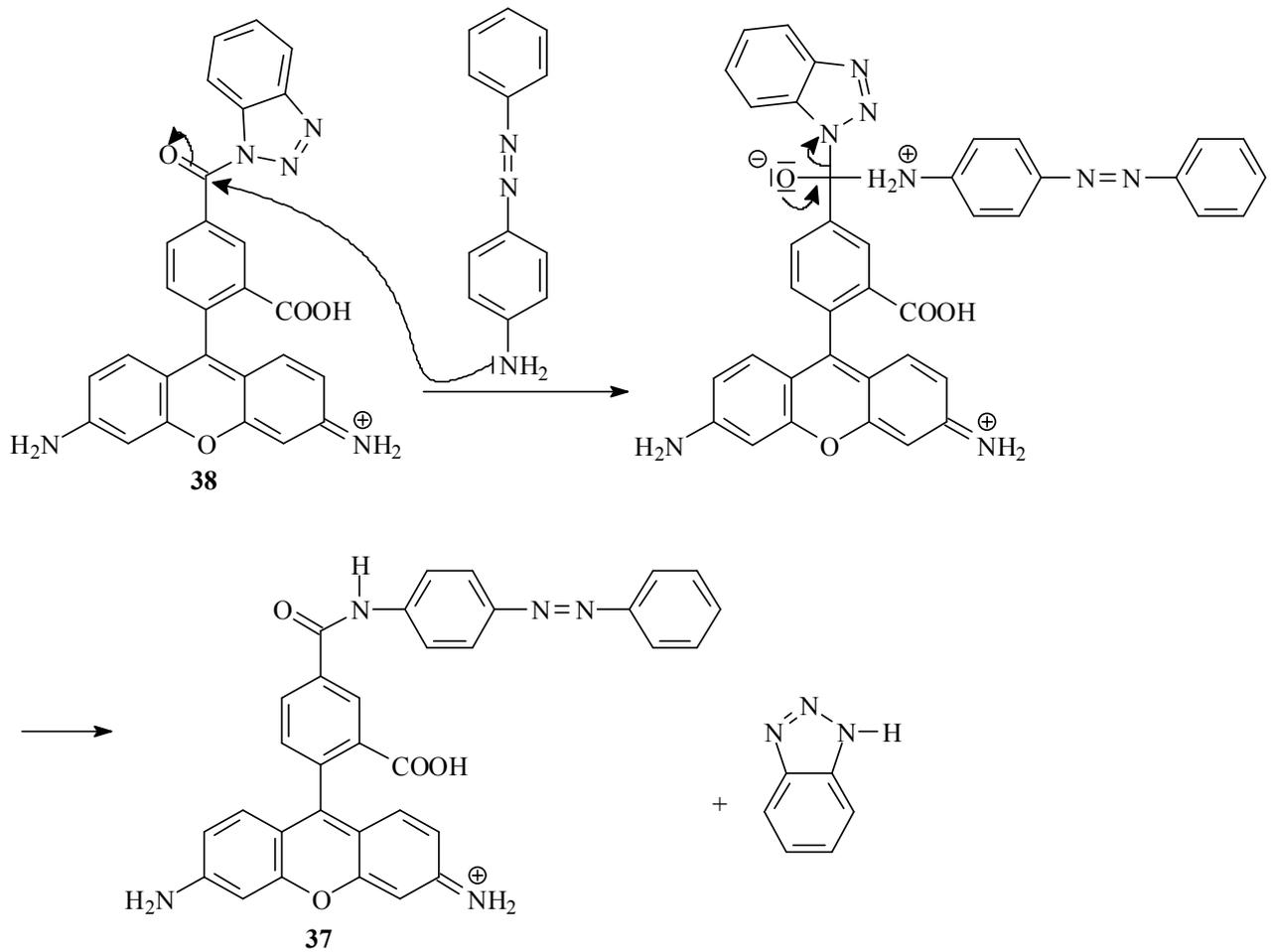


Der Vorteil dieser Methode liegt in der Verwendung der Benztriazole. Diese Benztriazole sind lagerfähig und erheblich stabiler als die entsprechenden Säurechloride. Dadurch ist eine Synthese besser planbar, und die Zwischenprodukte (Benztriazole) lassen sich isolieren und analysieren. Dabei erzielt man zusätzlich noch eine stärker Aktivierung der Carbonsäure-Gruppe, was ein weiterer Vorteil dieser Methode ist. Für die weitere Betrachtung des Reaktionsmechanismus wird nur ein Isomer der Rhodamin Grün berücksichtigt.



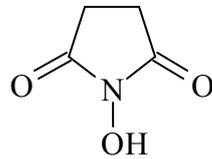
Hauptteil

Dann kann die so aktivierte Säure mit dem Amin umgesetzt werden, wobei das Benzotriazol wieder freigesetzt wird:



2.9.4 Synthese der Amidbindung mit *N*-Hydroxysuccinimid

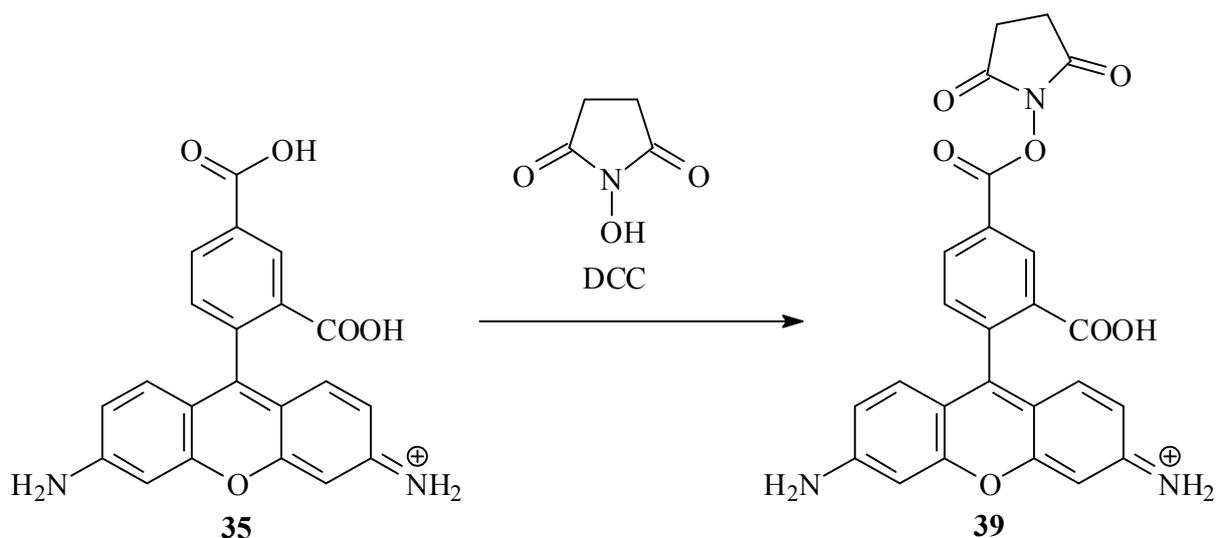
In Kapitel 2.9.2 wurde die mit DCC vermittelte Umsetzung eines Amins mit einer Säure beschrieben. Analog ist es möglich die Säure unter Einfluss von DCC mit *N*-Hydroxysuccinimid (1-Hydroxy-2,5-pyrrolidindion) zum NHS-Ester zu koppeln.



Molekulargewicht: 115.09 g mol⁻¹

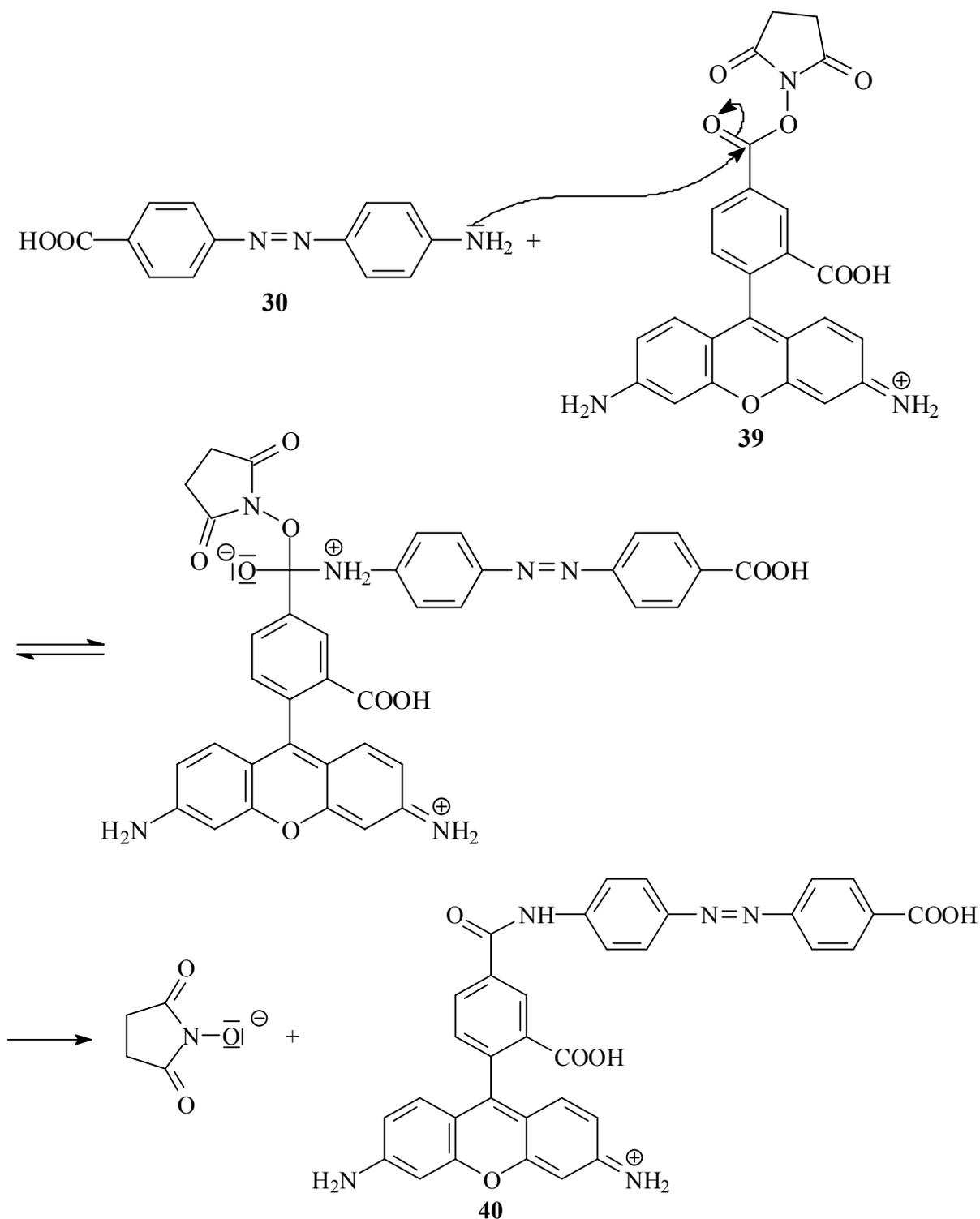
Der dabei entstehende NHS-Ester reagiert mit Aminen unter Freisetzung von *N*-Hydroxysuccinimid zu Amiden und wird daher auch als Aktivester bezeichnet.

Der Reaktionsmechanismus soll an der Umsetzung von Rhodamin Grün mit *N*-Hydroxysuccinimid verdeutlicht werden.



Hauptteil

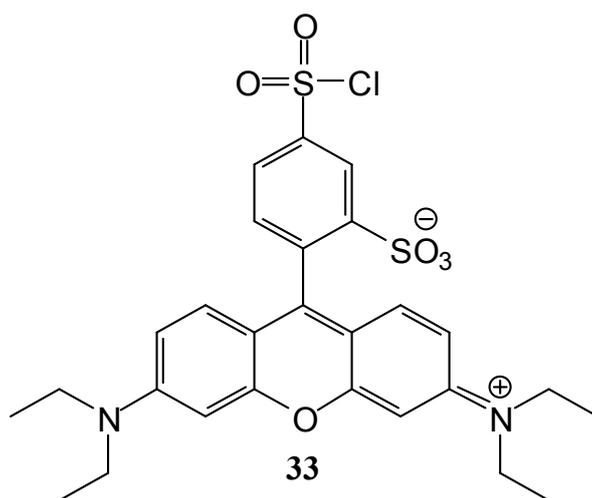
Der gebildete NHS-Ester reagiert mit der Aminogruppe des Azobenzols



Der Vorteil dieser Synthese im Vergleich zu der im Kapitel 2.9.2 beschriebenen Synthese ist, dass die gebildeten NHS-Ester im Vergleich zu den DCC-Derivaten einfacher (besser) gelagert und isoliert werden können.

2.10 NMR Auswertung für Sulforhodamin B

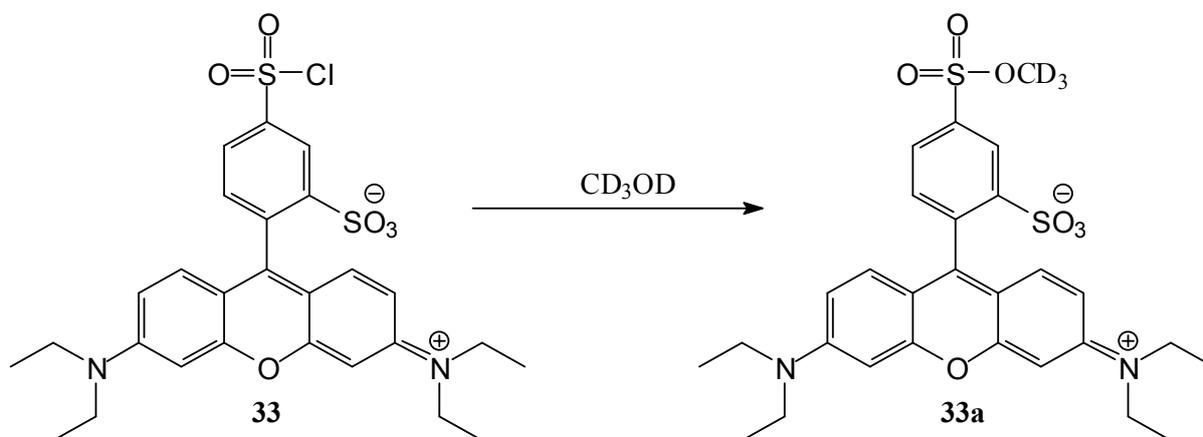
Um eine Auswertung der NMR-Spektren der Kopplungsprodukte zwischen Sulforhodamin und Azobenzolderivaten zu ermöglichen, wurde das kommerziell erhältliche Sulforhodamin B Säurechlorid NMR-spektroskopisch untersucht.



Chemische Formel: $C_{27}H_{29}ClN_2O_6S_2$

Molekulargewicht: $577.11 \text{ g mol}^{-1}$

Es wurden $^1\text{H-NMR}$ -, $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR-, $^1\text{H}\{-^1\text{H}\}$ -COSY, $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$ -HMQC und auch ein $^1\text{H}\{-^{13}\text{C}\}$ -HMBC- Spektren sowohl in DMSO- d_6 wie auch in Methanol- d_4 aufgenommen. Nimmt man ein NMR-Spektrum des Säurechlorids **33** vor, so liegt nicht mehr das Säurechlorid, sondern der Ester **33a** vor.



Hauptteil

- Aufgenommene Spektren in Methanol-d₄

1. ¹H-NMR-Spektrum

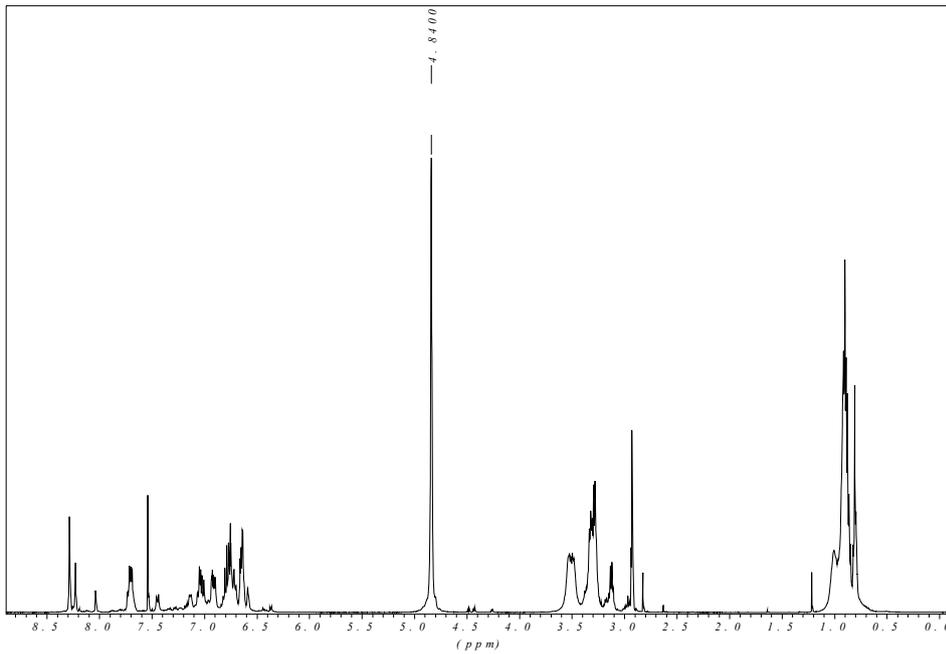


Abbildung 65: ¹H-NMR Spektrum von Sulforhodamin B in Methanol-d₄

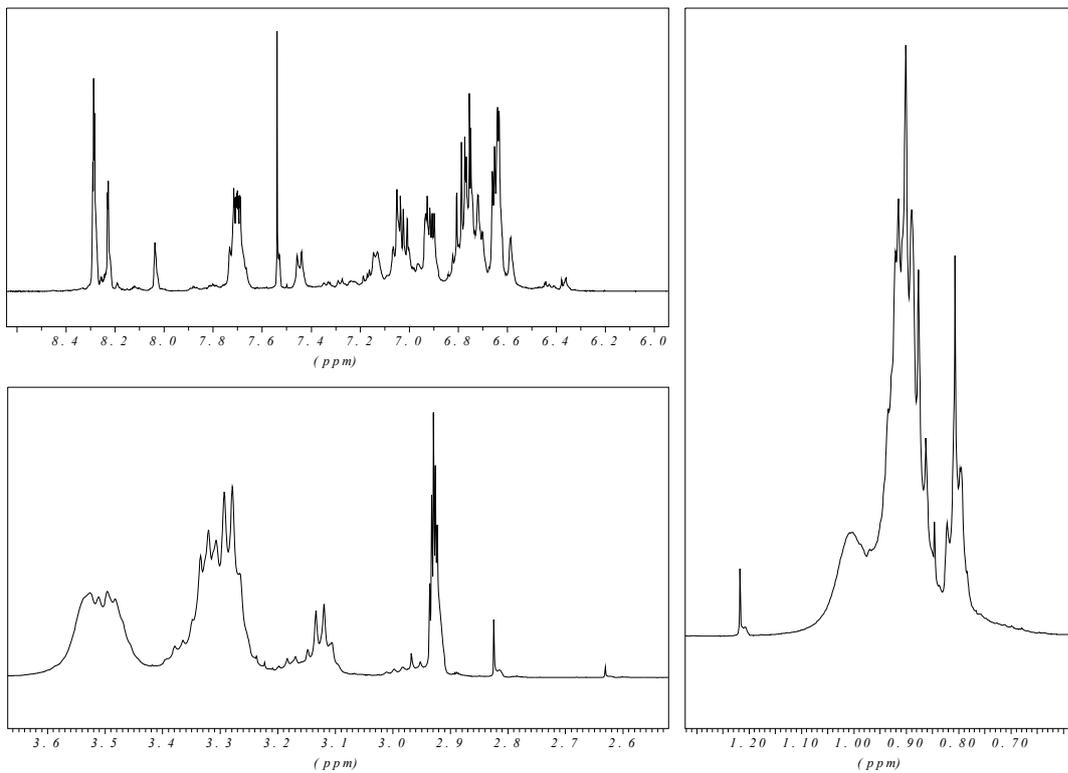
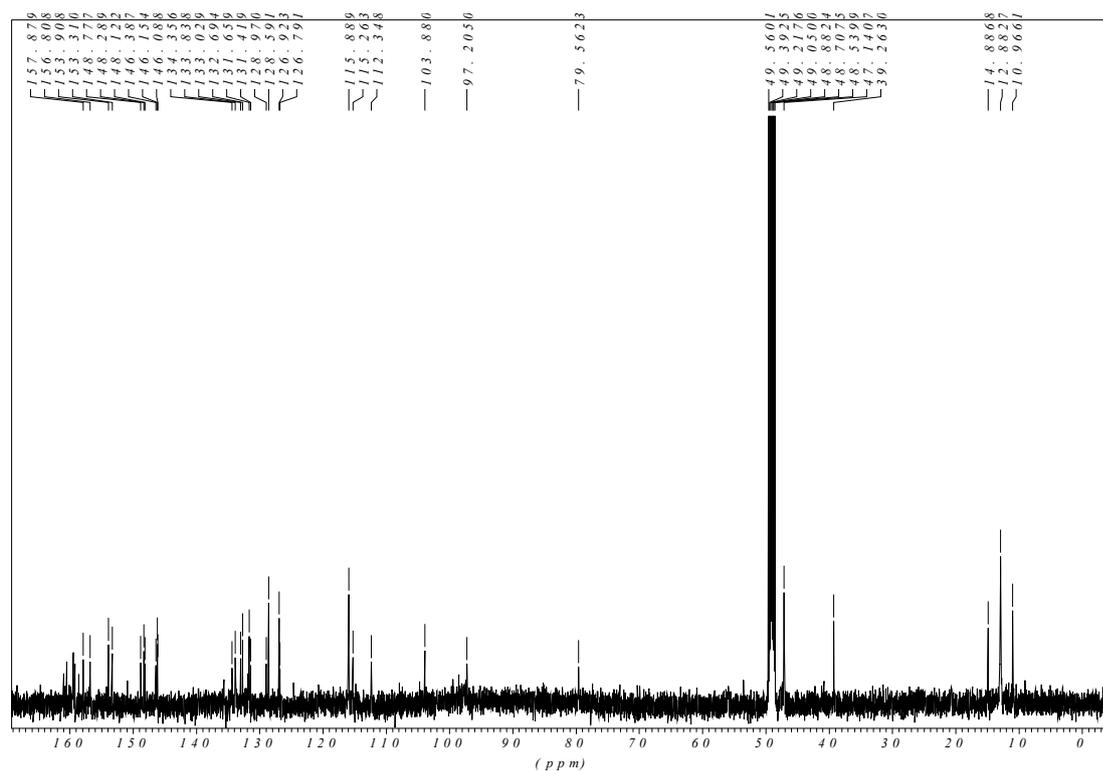
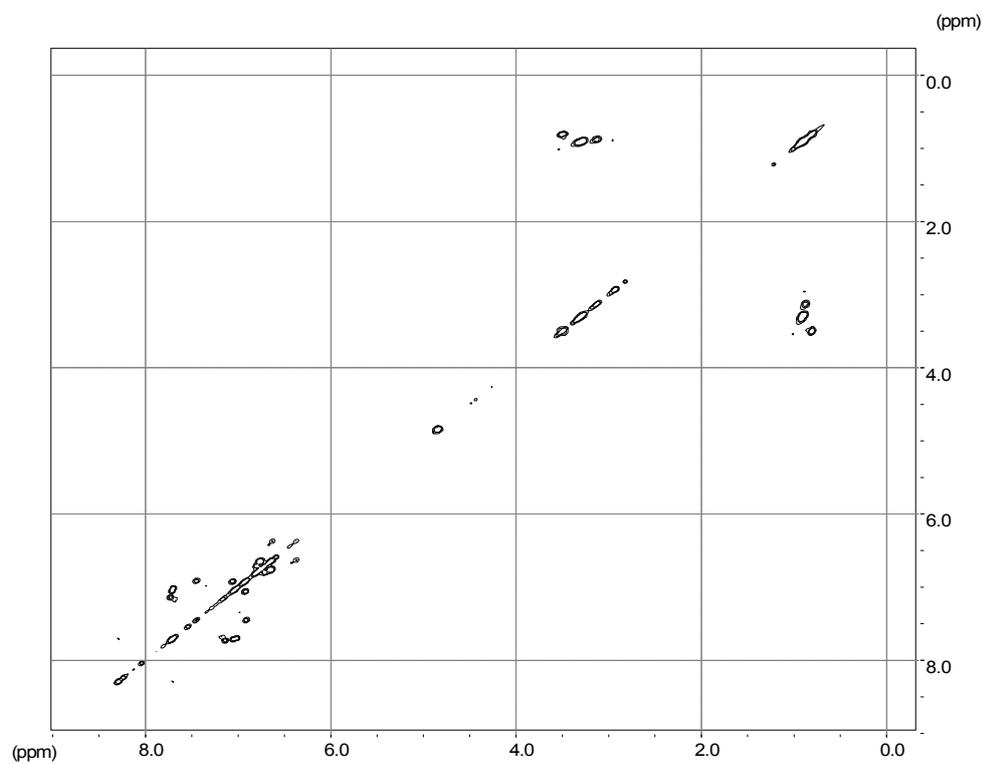


Abbildung 66: ¹H-NMR Spektrum von Sulforhodamin B in Methanol-d₄, Vergrößerung

2. $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR-SpektrumAbbildung 67: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR Spektrum von Sulforhodamin B in Methanol- d_4 3. $^1\text{H}\{-^1\text{H}\}$ -COSY-SpektrumAbbildung 68: $^1\text{H}\{-^1\text{H}\}$ -COSY Spektrum von Sulforhodamin B in Methanol- d_4

4. ^1H - ^{13}C -HMQC Spektrum

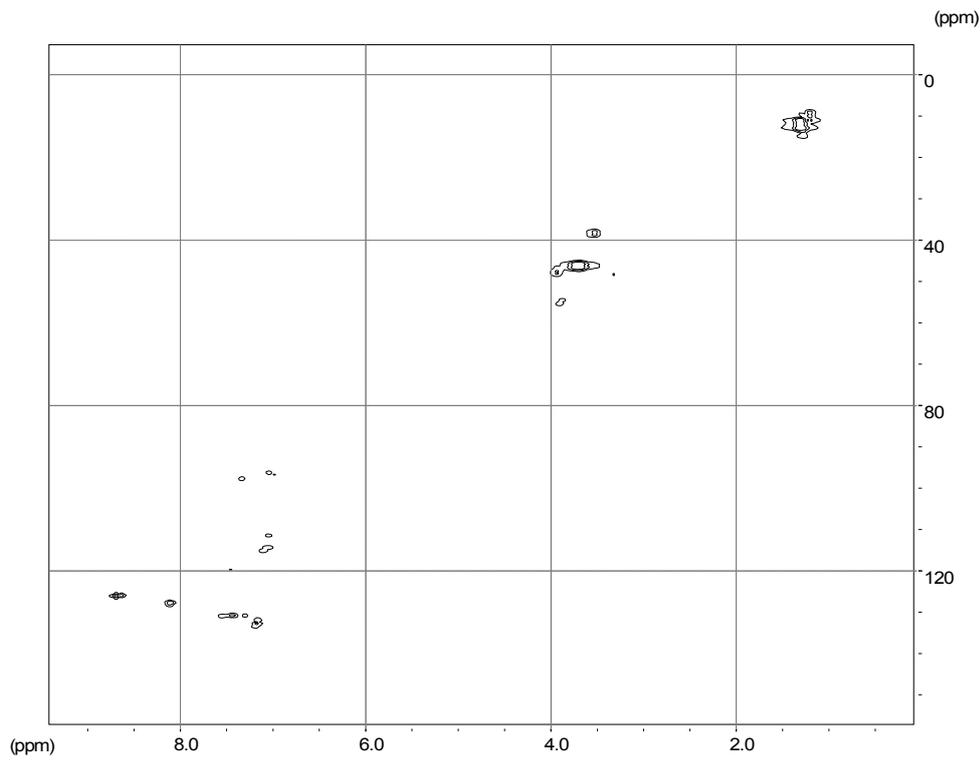


Abbildung 69: ^1H - ^{13}C -HMQC Spektrum von Sulforhodamin B in Methanol- d_4

5. ^1H - ^{13}C -HMBC

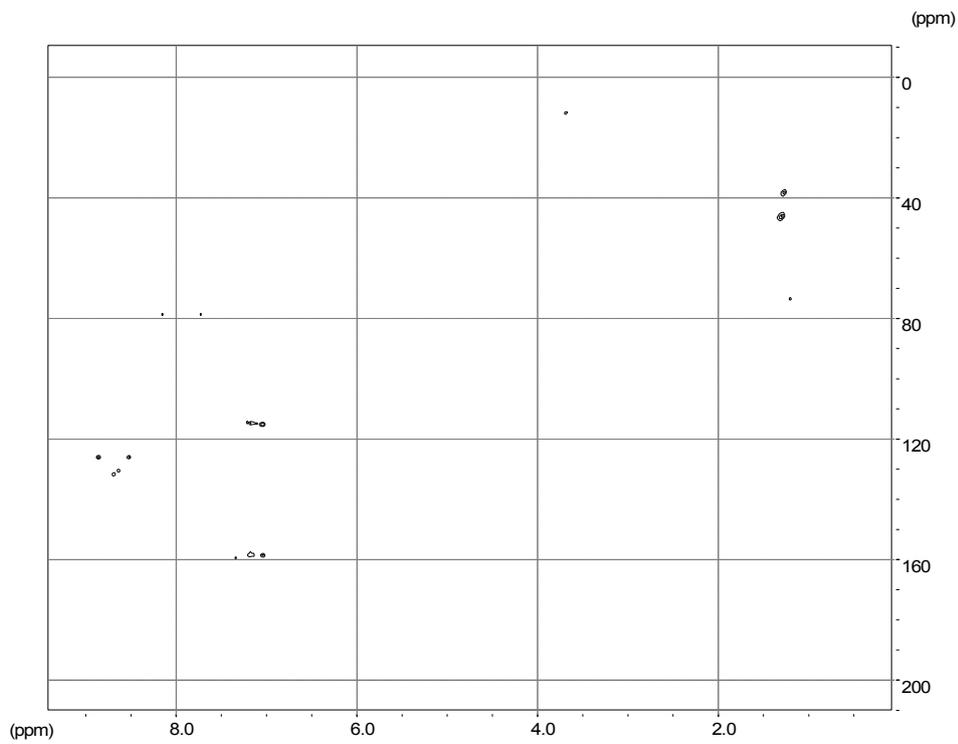


Abbildung 70: ^1H - ^{13}C -HMBC-Spektrum von Sulforhodamin B in Methanol- d_4

- Aufgenommene Spektren in DMSO-d₆ als Verunreinigung sieht man Methanol (die DMSO Spektren wurden nach den Methanol Spektren aufgenommen)

1. ¹H-NMR-Spektrum

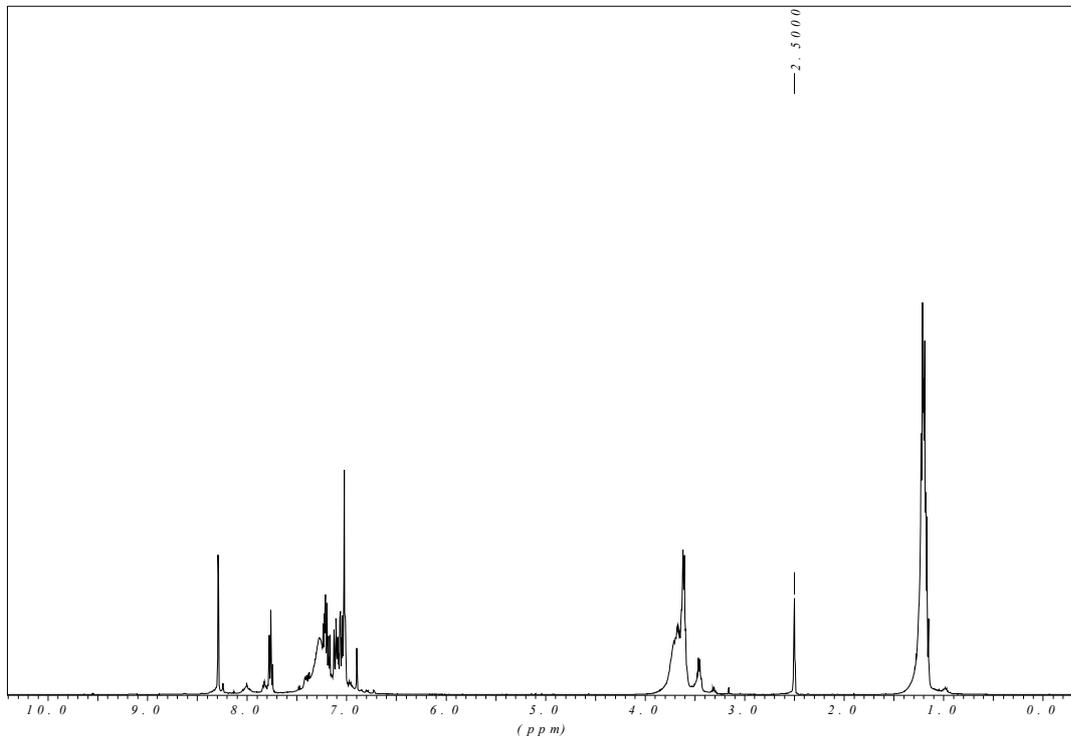


Abbildung 71: ¹H-NMR Spektrum von Sulforhodamin B in DMSO-d₆

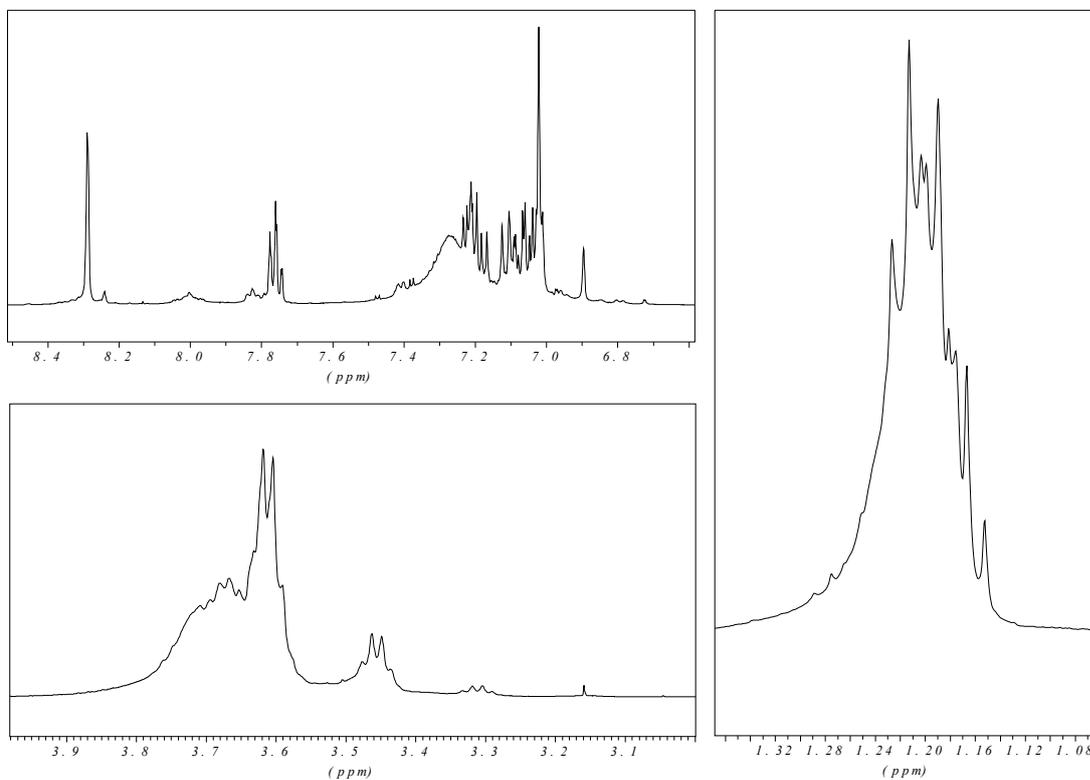


Abbildung 72: ¹H-NMR Spektrum von Sulforhodamin B in DMSO-d₆, Vergrößerung

2. $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR Spektrum

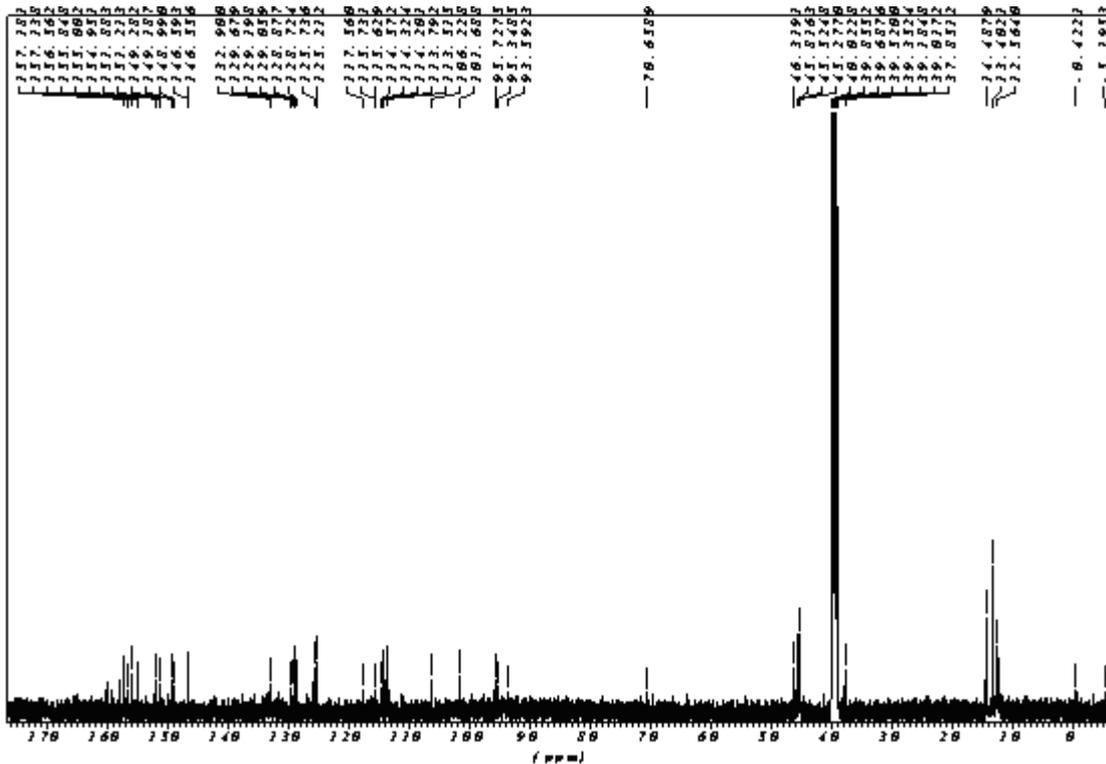


Abbildung 73: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR Spektrum von Sulforhodamin B in DMSO-d_6

3. DEPT Spektrum (CH -, CH_3 -Gruppen geben ein positives Signal, CH_2 -Gruppen ein negatives und quaternäre C-Atome kein Signal)

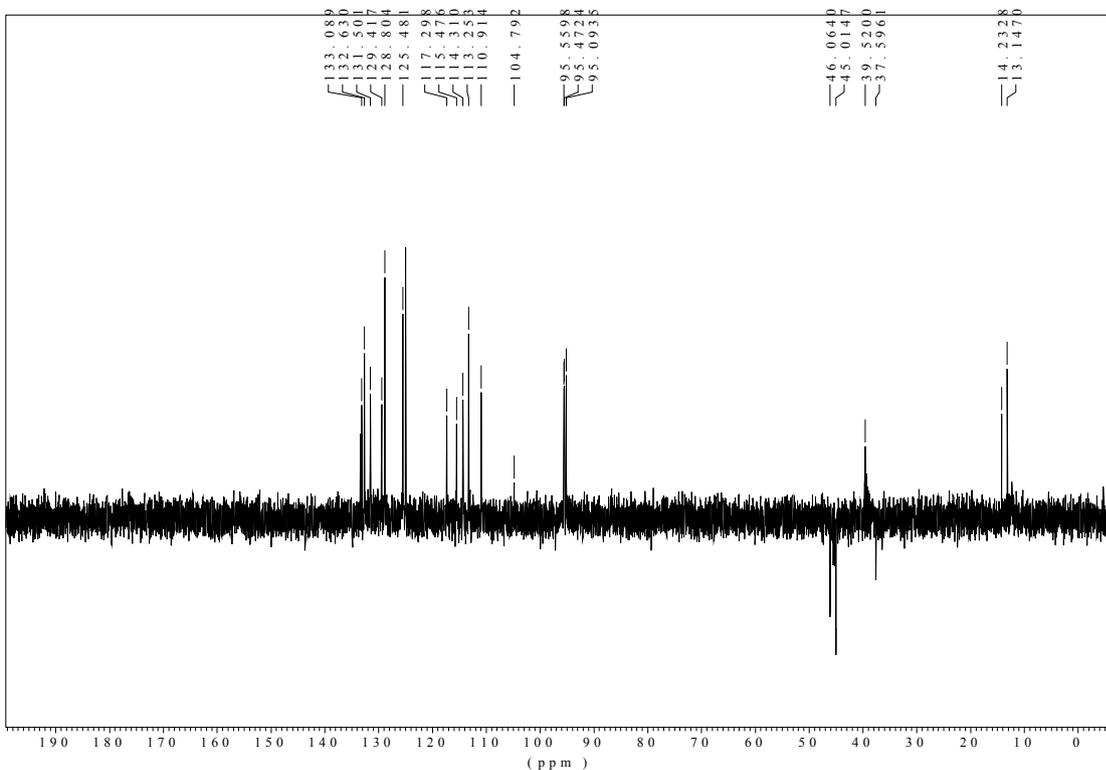
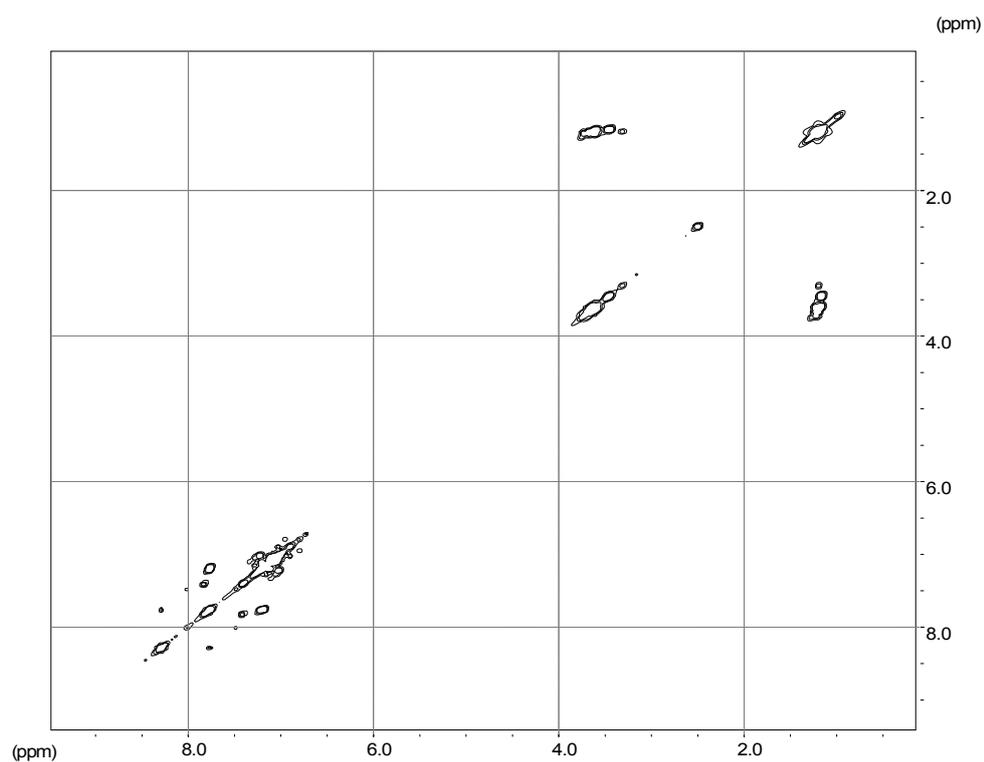
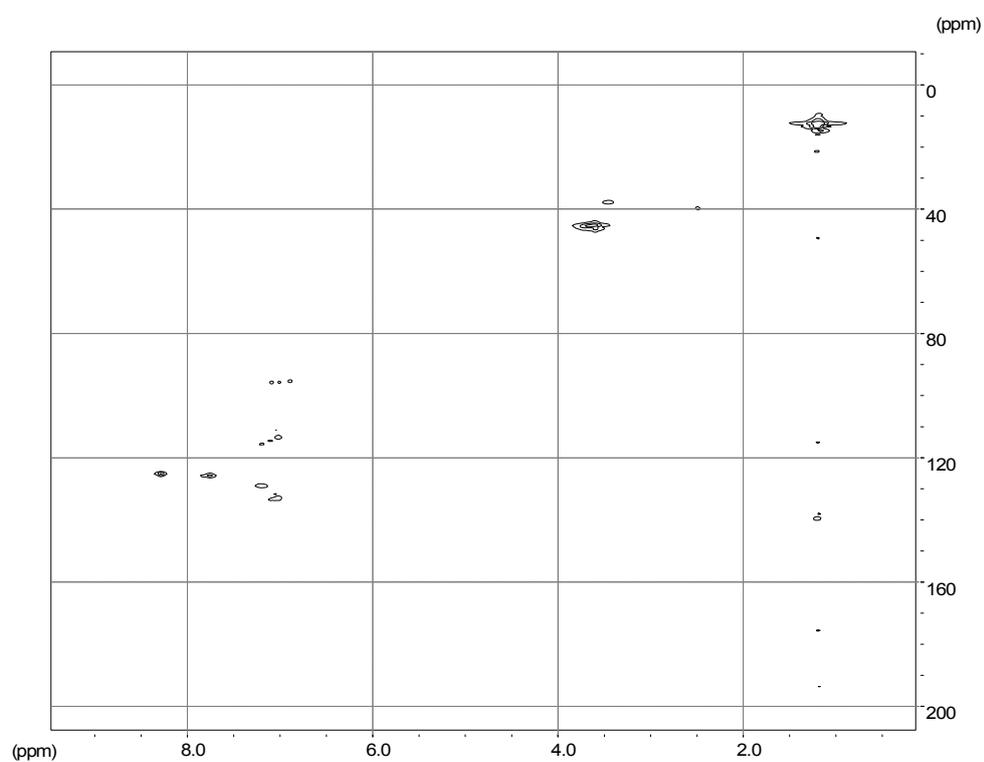


Abbildung 74: DEPT Spektrum von Sulforhodamin B in DMSO-d_6

4. ^1H - ^1H -COSY SpektrumAbbildung 75: ^1H - ^1H -COSY Spektrum von Sulforhodamin B in DMSO-d_6 5. ^1H - ^{13}C -HMQC SpektrumAbbildung 76: ^1H - ^{13}C -HMQC Spektrum von Sulforhodamin B in DMSO-d_6

6. ^1H - ^{13}C -HMBC-Spektrum

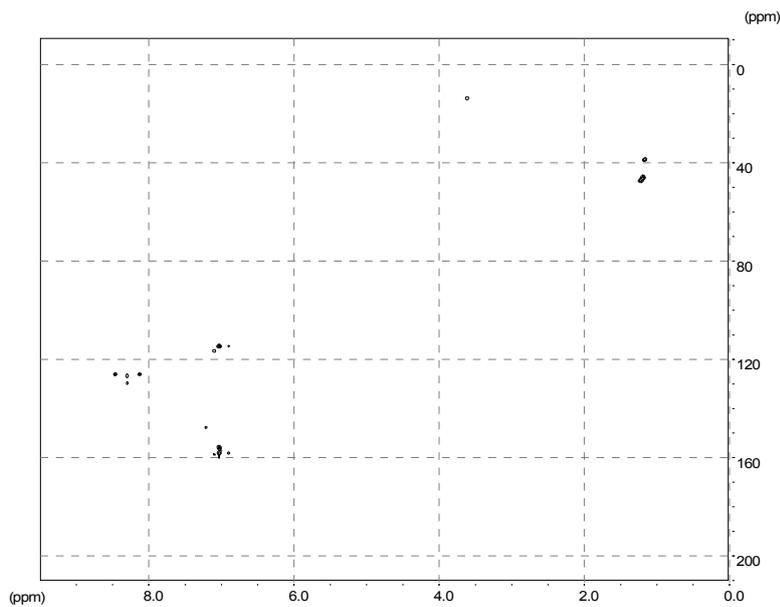


Abbildung 77: ^1H - ^{13}C -HMBC Spektrum von Sulforhodamin B in DMSO-d_6

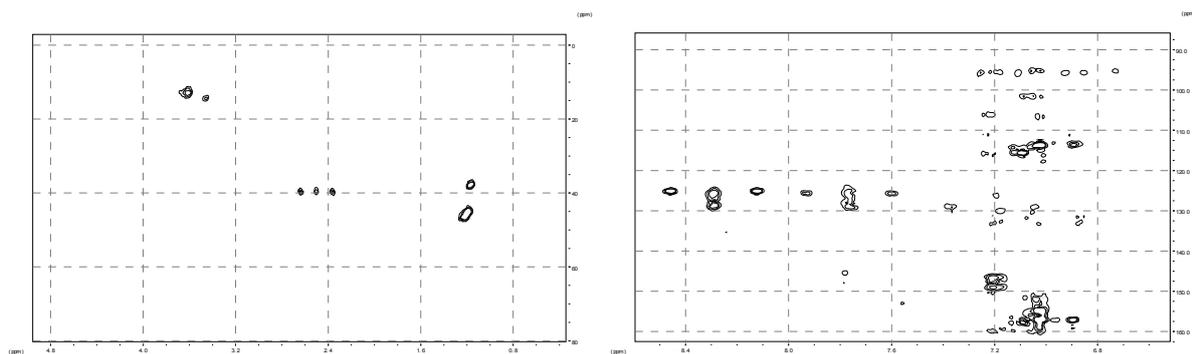


Abbildung 78: ^1H - ^{13}C -HMBC Spektrum von Sulforhodamin B in DMSO-d_6 , Vergrößerungen

Alle diese Spektren sollten zusammen die eindeutige Zuordnung der Anzahl der Signale ermöglichen. Die Aufnahme der Spektren in verschiedenen Lösungsmitteln ermöglicht zusätzlich noch die Aussage, ob sich die Spektren in den beiden Lösungsmitteln unterscheiden.

Für die Zuordnung der Signale ist unter anderem die Peakbreite von Bedeutung. Je schmaler und schärfer die Signale sind, desto einfacher ist die Zuordnung. Die Peakbreite eines Signals hängt unter anderem von der Viskosität des Lösungsmittels ab. Daher wurden die oben abgebildeten Spektren sowohl in Methanol- d_4 (Viskosität (dynamisch, 20 °C, Methanol): 0,59 mPa * s) als auch in Dimethylsulfoxid DMSO-d_6 (Viskosität (dynamisch, 20 °C, DMSO): 2,14 mPa * s) aufgenommen. Die deutlich geringere Viskosität des Methanols sollte die Peakbreite verringern, und eine bessere, genauere Zuordnung ermöglichen.

Für die Auswertung werden die in DMSO-d₆ aufgenommenen Spektren benutzt. Zuerst werden die Informationen aus dem ¹³C Spektrum und dem DEPT Spektrum ausgewertet.

Tabelle 58: ¹³C-¹H}-NMR Signale von Sulforhodamin B aufgenommen in DMSO-d₆ (Teil 1)

Signal	Chem. Versch. ¹³ C δ / ppm	DEPT	Koppelt zu H bei (aus HMBC)
1	160,10		
2	159,89		
3	159,38		
4	157,85		
5	157,28		
6	157,18		
7	157,13		
8	156,56		
9	155,84		
10	155,00		
11	154,95		
12	151,88		
13	151,21		
14	149,28		
15	149,18		
16	148,99		
17	146,59		
18	146,55		
19	132,90	C-H	
20	129,67	C-H	
21	129,19		
22	129,05	C-H	
23	128,87		
24	128,72		
25	125,73	C-H	
26	125,21	C-H	
27	117,56	C-H	

Hauptteil

Tabelle 59: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR Signale von Sulforhodamin B aufgenommen in DMSO- d_6 (Teil 2)

Signal	Chem. ^{13}C / ppm	Versch.	DEPT	Koppelt zu H bei (aus HMBC)
28	115,73		C-H	
29	115,62			
30	114,57		C-H	
31	114,32			
32	114,20			
33	113,79			
34	113,51		C-H	6,88 ppm, 7,01 ppm
35	106,22			
36	101,68			
37	95,72		C-H	
38	95,34		C-H	
39	93,59			
40	70,65			
41	46,31		Neg. C-H (CH ₂)	
42	45,81			
43	45,52			
44	45,27		Neg. C-H (CH ₂)	1,18 ppm
45	40,02		DMSO- d_6	
46	39,85			
47	39,68			
48	39,52		Lösungsmittel	
49	39,35			
50	39,18			
51	39,01			
52	37,85		Neg. C-H (CH ₂)	1,16 ppm
53	14,78		C-H (CH ₃)	3,47 ppm
54	13,70		C-H (CH ₃)	3,61 ppm
55	12,56			

Um die Auswertung zu erleichtern, kann man das Programm ChemOffice benutzen. Bei der Vorhersage geht man davon aus, dass das Edukt in der NMR-Lösung nicht mehr als Säurechlorid **33** vorliegt, sondern als Sulfonsäureester **33a**.

ChemOffice ^1H -NMR Vorhersage

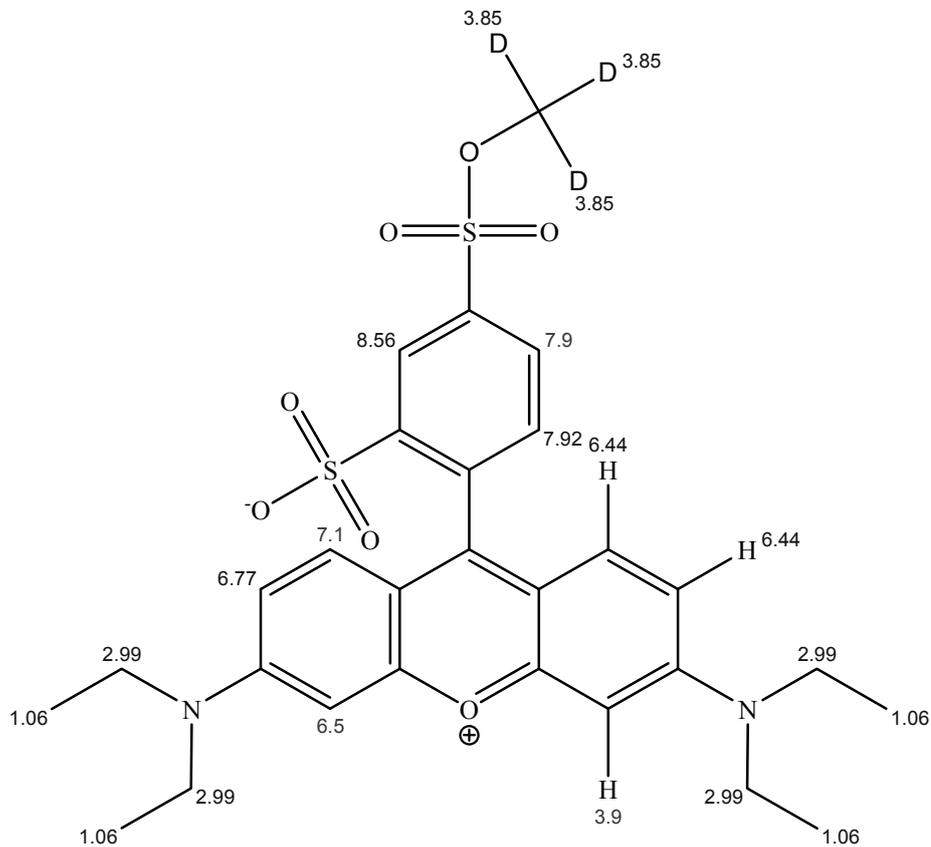


Abbildung 79: ^1H NMR Vorhersage des Programms ChemOffice für Sulforhodamin B

Die Vorhersage der ^1H -NMR Signale des Programms ChemOffice sind für das Sulforhodamin B nicht geeignet, da das Programm die mesomeren Grenzstrukturen nicht berücksichtigt.

Hauptteil

Wenn man sich überlegt, wie viele verschiedene Signale es geben sollte, so ergibt sich folgende Vorhersage:

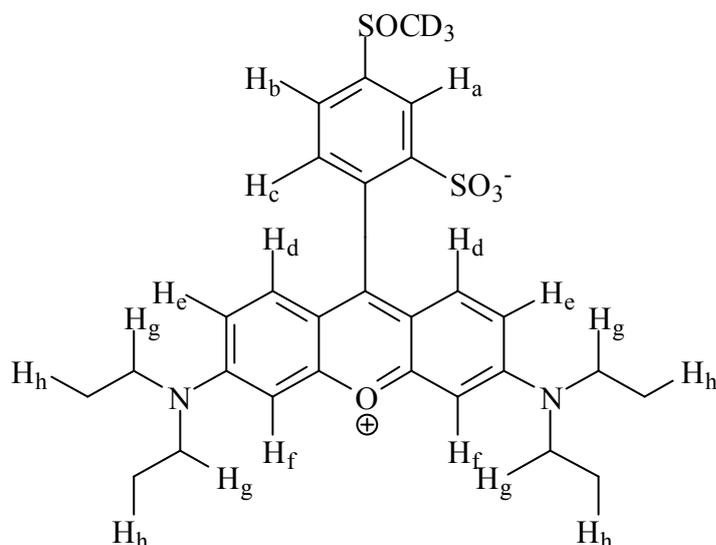


Abbildung 80: Struktur Sulforhodamin B, verschiedene NMR-Signale

Tabelle 60: NMR-Vorhersage für Sulforhodamin B

Proton	Integration	Multiplizität	Kopplung mit H _x
H _a	1 H	Singulett	
		(eventuell: Dublett)	(<i>para</i> -Kopplung mit H _c)
H _b	1 H	Dublett	Kopplung mit H _c , ³ J
H _c	1 H	Dublett	Kopplung mit H _b , ³ J
		(eventuell: dd)	(<i>p</i> -Kop. mit H _a , Kop. mit H _b)
H _d	2 H	Dublett	Kopplung mit H _e , ³ J
		(eventuell: dd)	(<i>p</i> -Kop. mit H _f , Kop. mit H _e)
H _e	2 H	Dublett	Kopplung mit H _d , ³ J
H _f	2 H	Singulett	
		(eventuell: Dublett)	(<i>para</i> -Kopplung mit H _d)
H _g	4 H	Quartett	Kopplung mit H _h , ³ J
H _h	4 H	Quartett	Kopplung mit H _g , ³ J

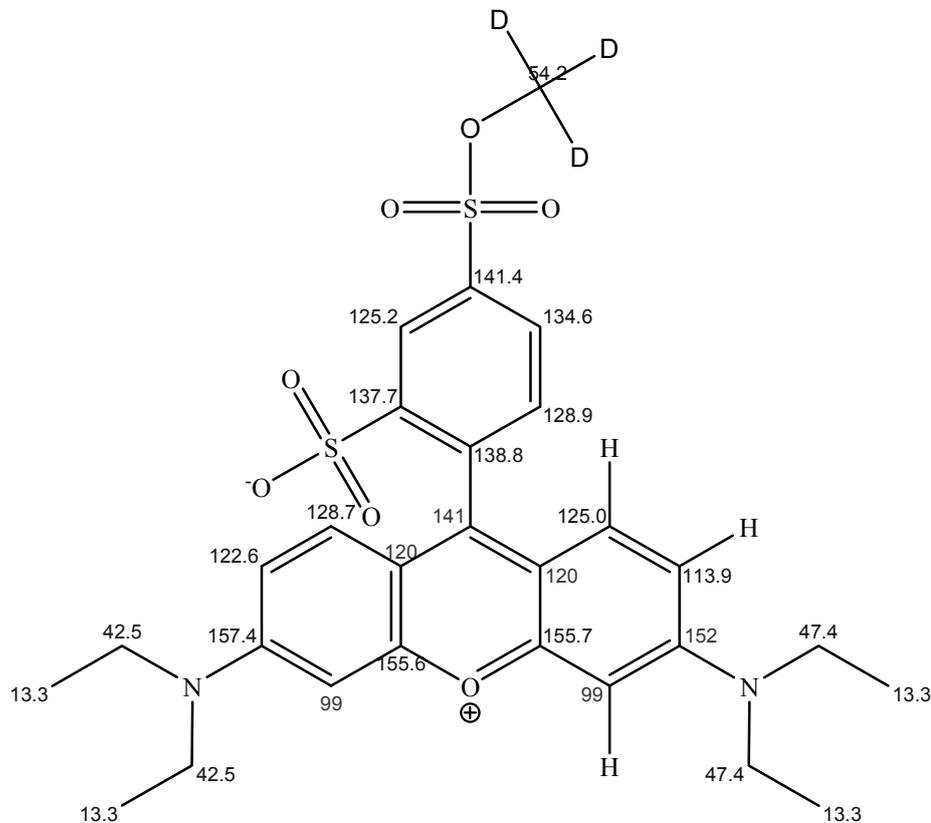
ChemOffice ^{13}C Vorhersage

Abbildung 81: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR Vorhersage des Programms ChemOffice für Sulforhodamin B

Auch bei der Vorhersage der ^{13}C -NMR Signale kann das Programm die mesomeren Grenzstrukturen nicht richtig zu berücksichtigen.

Die Vorhersagen des Programms ChemOffice für das Sulforhodamin B sind nicht für die Zuordnung der Signale in einem gemessenen Spektrum geeignet. Die angegebenen chemischen Verschiebungen können nur einen ungefähren Hinweis auf die Lage der Peaks im Spektrum geben.

Hauptteil

Die Zuordnung der ^1H -NMR Signale erweist sich als sehr schwierig.

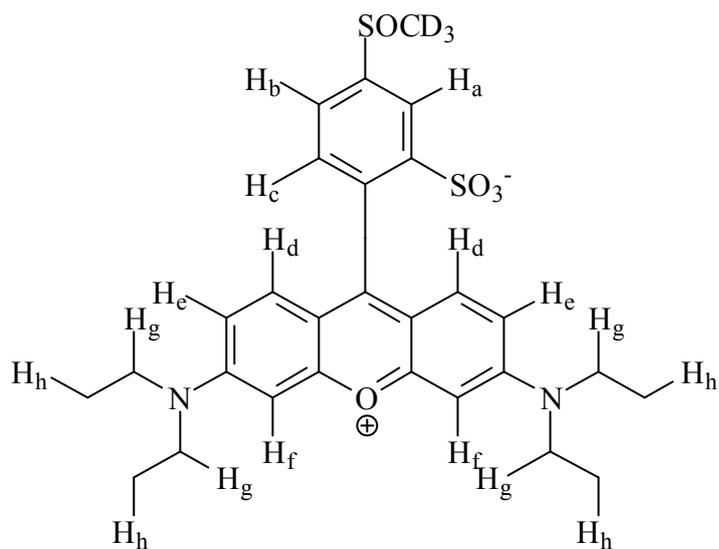
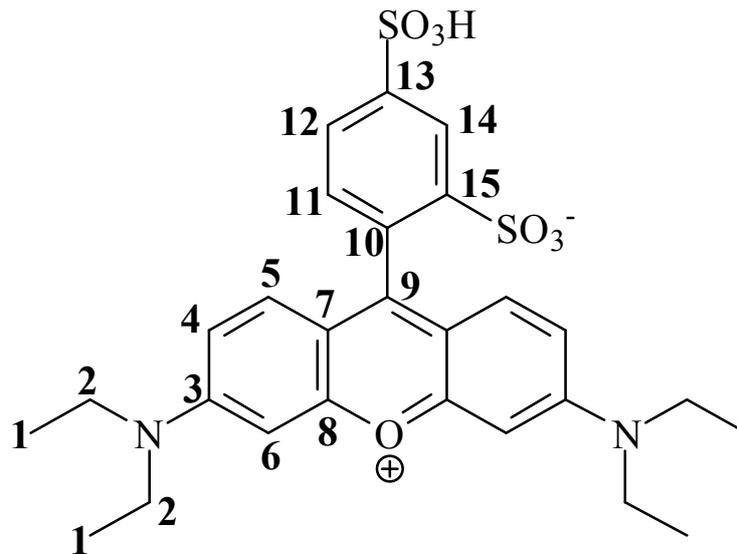


Tabelle 61: Zuordnung ^1H NMR für Sulforhodamin B

Wasserstoff	Chem. Versch. δ / ppm	Multiplizität	Kopplungskonstante J / Hz
h	1,16 oder 1,18		
g	3,46	Triplett	7,25
f	7,09	Singulett	
e	7,11	Dublett	9,46
d	7,01	Dublett	9,77
c	7,21	Dublett	7,57
b	7,01	Dublett	7,88
a	8,28	Singulett	

Tabelle 62: Zuordnung $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR für Sulforhodamin B

Kohlenstoff	Chem. Versch. δ / ppm
1	13,40 oder 14,48
2	37,85 oder 45,27
3	154,94
4	114,20
5	132,90
6	95,72
7	114,32
8	157,85
9	
10	121,67
11	129,67
12	132,90
13	151,21
14	125,21 oder 125,73
15	129,05

Hauptteil

Bei der Auswertung der Spektren fiel die erhöhte Anzahl der Kohlenstoffatome auf (es werden 15 verschiedene Kohlenstoffsignale erwartet, beobachtet wurden aber 48 Signale). Diese erhöhte Anzahl der Kohlenstoffatome trat sowohl im Methanol- wie auch im Dimethylsulfoxid-Spektrum auf. Das legt die Vermutung nahe, dass es sich bei dem Sulforhodamin B Säurechlorid nicht um ein Isomer handelt, sondern dass ein Gemisch von zwei oder mehreren Verbindungen vorliegt. Bei diesem Gemisch kann es sich auch um Sulforhodamin B und nicht hydrolysiertes Sulforhodamin B Säurechlorid handeln. Im Grunde sollte das gesamte Sulforhodamin B Säurechlorid vollständig hydrolysiert sein, da sowohl Methanol-d₄ wie auch DMSO-d₆ noch genügend Wasser enthalten, um eine vollständige Hydrolyse zu gewährleisten.

Die erhöhte Anzahl der Kohlenstoffe im ¹³C-¹H-NMR Spektrum kann nicht erklärt werden, aus diesem Grund wurde von der Verbindung ein Maldi-Spektrum (Massenspektrum) aufgenommen. Dabei gibt das Massenspektrum Aufschluss darüber, ob es sich bei dem kommerziell erhältlichen Sulforhodamin B um ein Monosulfonsäurechlorid **33** oder ein Disulfonsäurechlorid **47** vorliegt (Abbildung 82).

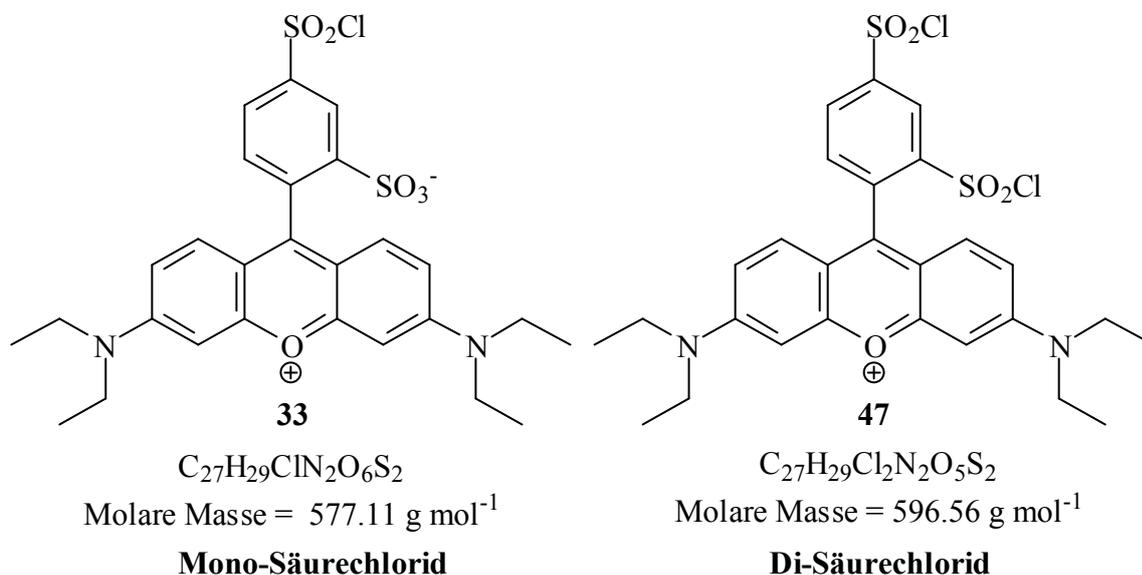
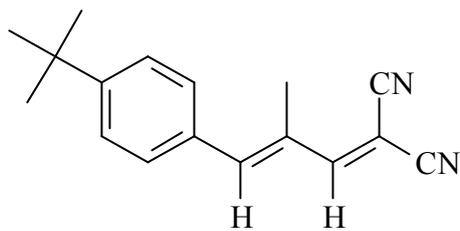


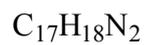
Abbildung 82: mögliche Isomerenmischung des Sulforhodamin B

Bei den aufgenommenen Maldi-Spektren sind verschiedene Matrix-Moleküle verwendet worden, um eine Abhängigkeit von der Matrix auszuschließen.

Es wurden folgende Matrizen verwendet:



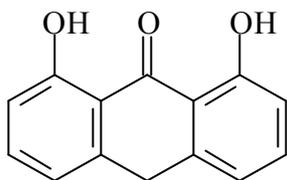
48



Molare Masse = 250.34 g mol⁻¹

DCTB : *trans*-2-[3-(4-*tert*-Butylphenyl)-2-methyl-2-propenyliden]-malonitril

und



49



Molare Masse = 226.23 g mol⁻¹

DIT :Dithranol

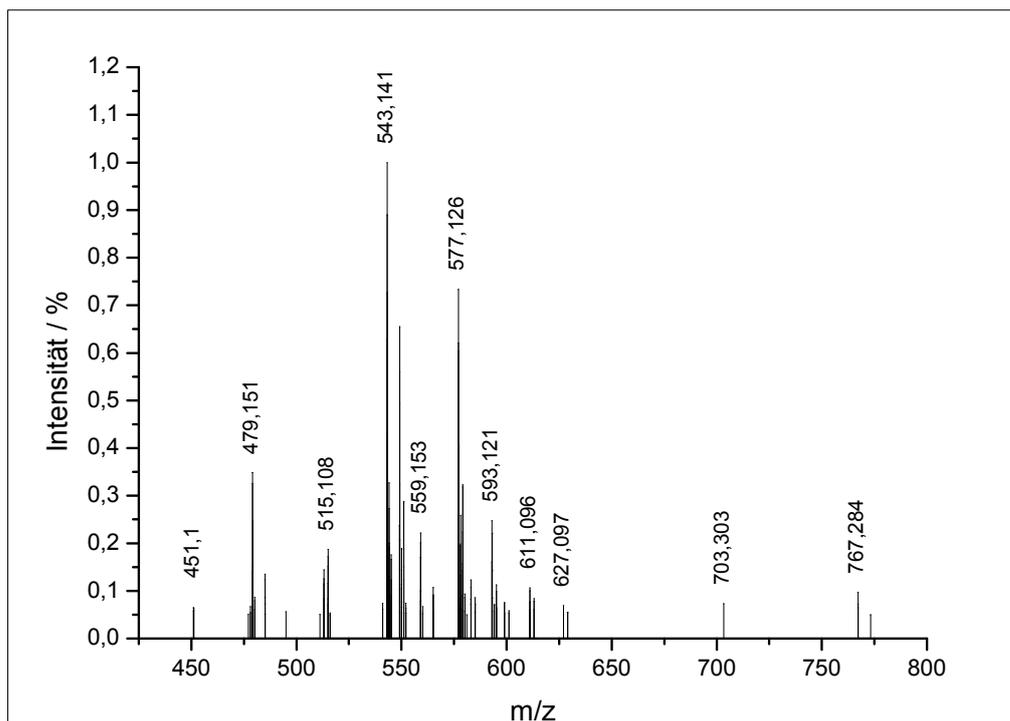


Abbildung 83: aufgenommenes Maldi Spektrum von Sulforhodamin in Chloroform (DIT : CHCl₃ 1:5)

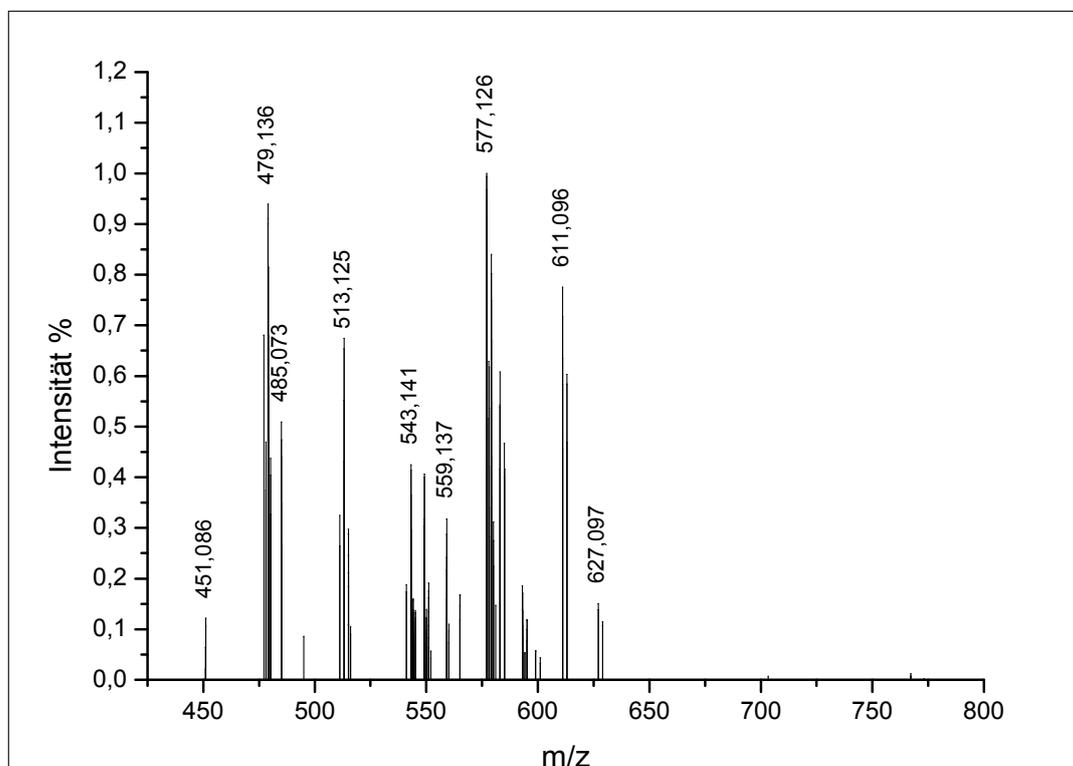


Abbildung 84: aufgenommenes Maldi Spektrum von Sulforhodamin in Chloroform (DCTB: THF 1:5)

Beide Maldi-Spektren liefern den gesuchten Molekülpeak bei $m/z = 577$, allerdings sind auch Molekülpeaks mit einer Masse größer als 577 g mol^{-1} vorhanden. Dabei fallen besonders zwei Peaks auf.

Tabelle 63: Vergleich der Massenspektren

m / z	Mono-Säurechlorid 30 $M = 577,11 \text{ g mol}^{-1}$	Disäurechlorid 47 $M = 596,56 \text{ g mol}^{-1}$
611,08	$M^+ + 33,97$	$M^+ + 14,52$
627,097	$M^+ + 49,987$	$M^+ + 30,53$

Beide Peaks sind in beiden Maldi-Spektren vorhanden, sie sind also Matrix unabhängig und können nur von dem Molekül kommen. Eine Zuordnung dieser Peaks ist leider nicht möglich.

2.11 Ergebnisse

Im Rahmen dieser Dissertation wurden mehrere Azobenzole als potentielle Triplettlöcher synthetisiert und charakterisiert. Es wurde untersucht, in wie weit die erhaltenen Farbstoffe für die Anwendung als Triplettlöcher geeignet sind. Zu diesem Zweck wurden einzelmolekülspektroskopische Untersuchungen durchgeführt. Dazu wurden die Farbstoffe in Kooperation mit dem Arbeitskreis von Herrn Prof. Seidel mit Hilfe der FCS untersucht. Dabei wurde die Zählrate für Rhodamin 123 **01** als Funktion der Laserleistung für Rhodamin 123 alleine und in Gegenwart eines Löschers gemessen (siehe Abbildung 85). In der unten abgebildeten Kurve wurde als Additiv (Löcher) die 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure **30** in angegebener Konzentration ($c = 0.5 \text{ mM}$) zugesetzt, zum Vergleich wurde die aus Abbildung 5 dargestellte Kennlinie erneut dargestellt (siehe Abbildung 85).

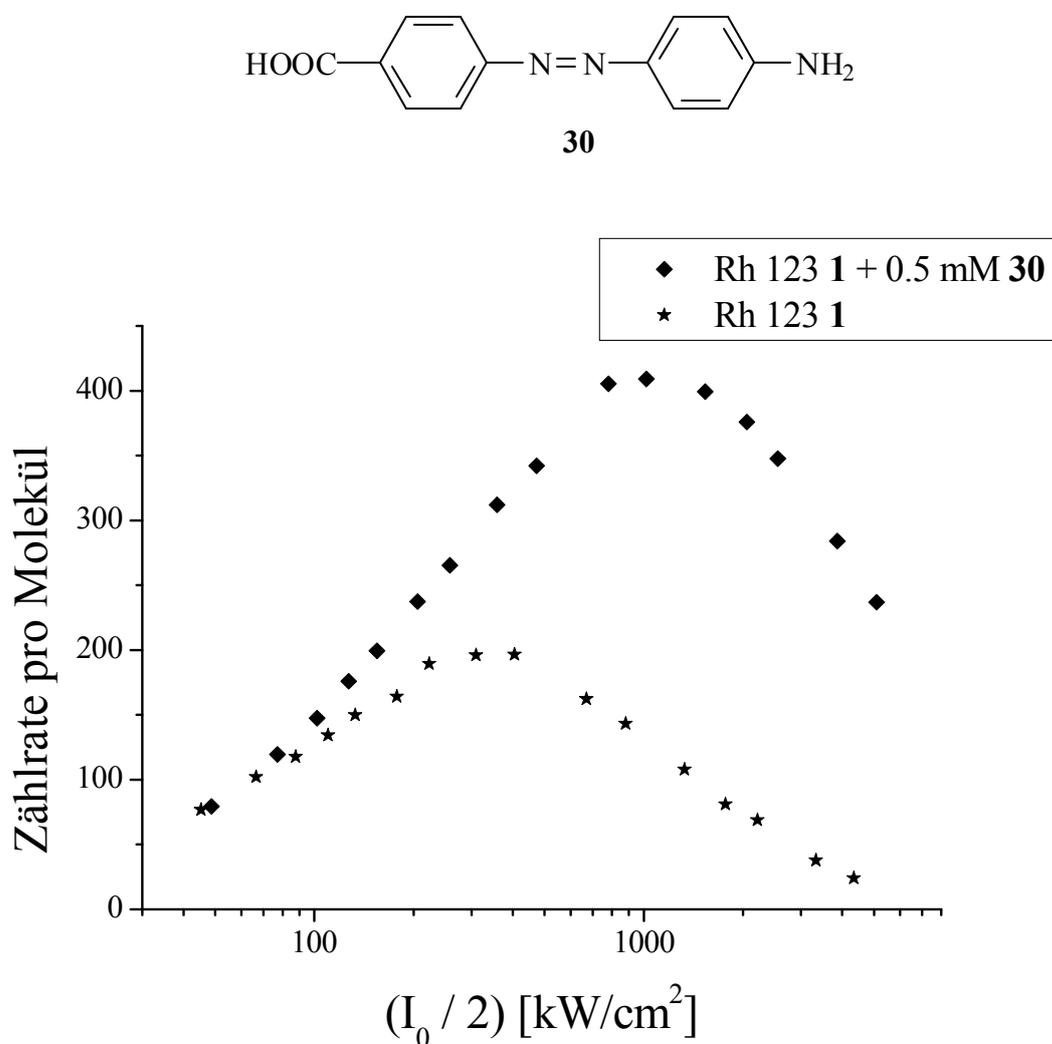


Abbildung 85: gemessene Powerserie unter Verwendung des Azobenzols **30** als Additiv^[56]

Dabei ergeben sich für die Maxima

Tabelle 64: Gegenüberstellung der Maxima aus der Abbildung 85

Substanz	Laserleistung am Maximum / kW cm⁻²	Zählrate pro Molekül
Rhodamin 123 1	405	197
Rhodamin 123 1 mit 0.5 mM 30	1018	409
Steigerung auf	248 %	208 %

Für eine bestimmte Laserleistung ergibt sich folgendes Bild

Tabelle 65: Gegenüberstellung der Messergebnisse bei der Laserleistungen (405 kW cm⁻²) in dem Maximum

Substanz	Laserleistung / kW cm⁻²	Zählrate pro Molekül
Rhodamin 123 1	405	197
Rhodamin 123 1 mit 0.5 mM 30	405	~ 330
Steigerung auf		168 %

Für das andere Maximum ergibt sich

Tabelle 66: Gegenüberstellung der Messergebnisse bei der Laserleistungen (1018 kW cm⁻²) in dem Maximum

Substanz	Laserleistung / kW cm⁻²	Zählrate pro Molekül
Rhodamin 123 1	1018	~ 115
Rhodamin 123 1 mit 0.5 mM 30	1018	409
Steigerung auf		356 %

Aus diesen Daten sind zwei Dinge zu erkennen:

1. Die Zählrate steigt bei gleicher Laserleistung deutlich an. Vermutlich liegt dies daran, dass das Azobenzol wie gewünscht den Triplettzustand des Rhodamins löscht. Dadurch kehrt das Rhodamin 123 schneller in den Grundzustand zurück und steht so früher für eine erneute Anregung zur Verfügung.

Ergebnisse

- Das Maximum der Kurve verschiebt sich zu einer höheren Laserleistung. Auch dieses passt zu einer effektiven Triplettlöschung durch das Azobenzol. Das Abfallen der Zählrate mit steigender Laserleistung beruht auf der Photozerstörung des Rhodamins 123 durch Zwei-Photonen-Prozesse (siehe auch Abbildung 2, Seite 4). Verkürzt sich die Triplettlebensdauer durch den Einsatz eines Löschers, so sinkt die Wahrscheinlichkeit für Zwei-Photonen-Prozesse, und die Photostabilität steigt.

Die Messungen zeigen, dass es gelungen ist, Azobenzole zu synthetisieren, die sich gut als selektive Triplettlöcher eignen, und eine hinreichende Wasserlöslichkeit besitzen.

In Abbildung 86 ist eine FCS-Kurve für ein reines Rhodamin 123 **1** (hellgraue durchgezogene Linie) und für ein Gemisch von Azobenzol **30** (0,4 mM) und von Rhodamin 123 **1** (schwarze durchgezogene Linie) gezeigt. Die Triplettamplitude, als Maß für die Anzahl der Moleküle im Tripletzustand und damit indirekt für die Lebensdauer des Tripletzustandes, wird durch den Zusatz des Azobenzols deutlich reduziert. Dieses ist ein weiterer Beweis für die Fähigkeit von **30** den Tripletzustand von Rhodamin 123 **1** zu löschen.

Die Daten sind in Tabelle 67 zusammengefasst. Durch den Zusatz von **30** konnte die Triplettamplitude von Rhodamin 123 halbiert werden (von 0,173 (grauer Pfeil) nach 0,084 (schwarzer Pfeil)), und die Triplettkorrelationszeit konnte von 1,29 μs (Rhodamin 123 **1**) auf 0,37 μs (**1** + **30**) reduziert werden.

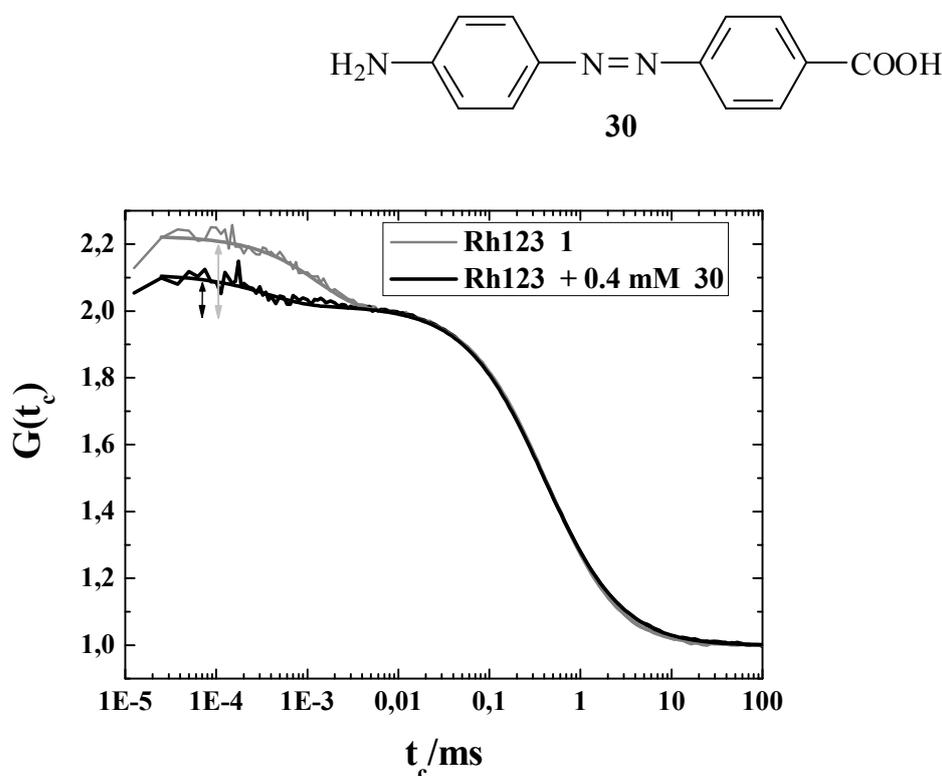


Abbildung 86: FCS Messung unter Verwendung des Azobenzols **30** als Additiv^[56]

Tabelle 67: Daten zur Abbildung 86, FCS- Messung Rhodamin 123 und Rhodamin 123 mit 30

Verbindung	Tripletampl.	Tripl. Korrelationszeit	Zählrate pro Molekül
Rhodamin 123	0,173	1,29 μ s	119
Rhodamin 123 + 30	0,084	0,37 μ s	145
Änderung um	- 49 %	- 29 %	+ 121 %

Eine analoge FCS-Messung wurde auch mit dem Azobenzolderivat **43** durchgeführt, die Daten sind in Tabelle 68 zusammengefasst.

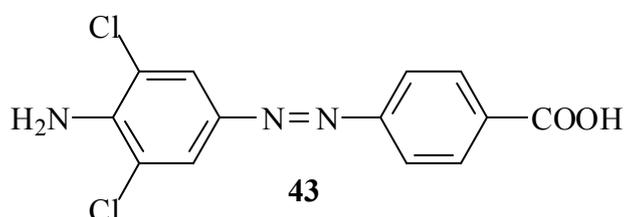


Tabelle 68: FCS-Messung Rhodamin 123 und Rhodamin 123 mit 43

Verbindung	Tripletampl.	Tripl. Korrelationszeit	Zählrate pro Molekül
Rhodamin 123	0,173	1,29 μ s	119
Rhodamin 123 + 43	0,112	0,49 μ s	158
Änderung um	- 65 %	- 38 %	+ 133 %

Durch den Zusatz von **43** konnte die Tripletamplitude von Rhodamin 123 verringert werden (von 0,173 auf 0,112), und die Triplettkorrelationszeit konnte von 1,29 μ s (Rhodamin 123 **1**) auf 0,49 μ s (**1** + **43**) reduziert werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Azobenzole in der Lage sind den Tripletzustand von Rhodamin 123 zu löschen.

Eine detaillierte Analyse der Daten zeigt einen weiteren überraschenden und unerwünschten Effekt. Die Tendenz des Rhodamins (hier Rhodamin 123) in den Tripletzustand überzugehen (ISC) steigt in Gegenwart des Azobenzols. Die Tatsache, dass die Tripletamplitude, also die Wahrscheinlichkeit ein Molekül im Tripletzustand zu finden, dennoch sinkt, ist auf die

Ergebnisse

deutlich reduzierte Triplettlebensdauer zurückzuführen. Die gesteigerte Tendenz des Moleküls in den angeregten Triplettzustand in Gegenwart von Azobenzol ist unerwünscht, da eine vermehrte Bildung des Triplettzustandes dem Ziel einer reduzierten Triplettamplitude entgegenläuft. In der Summe üben Azobenzolderivate aber dennoch einen positiven Effekt aus.

Resultierend aus diesen Beobachtungen stellt sich aber die Frage, welcher Mechanismus für die vermehrte Bildung des Triplettzustandes des Rhodamins 123 verantwortlich ist. Die Intersystem Crossing Wahrscheinlichkeit ist eine molekulare Eigenschaft und sollte unabhängig von der Konzentration anderer Moleküle, wie z.B. der Azobenzole **30** oder **43**, sein.

Zur Erklärung des unerwarteten Verhaltens sind in Abbildung 87 die möglichen beteiligten Prozesse dargestellt. Dabei sind die unerwünschten Prozesse grau dargestellt und die einzelnen Prozesse sind mit römischen Zahlen gekennzeichnet.

Das Diagramm zeigt den Reaktionsmechanismus für die Bildung des Triplettzustandes des Rhodamins 123 in Gegenwart von Azobenzol. Die Zustände sind wie folgt dargestellt:

- $1F_0$ (Grundzustand des Farbstoffs)
- $1F_1$ (angeregter Singulettzustand des Farbstoffs)
- $3F_1$ (angeregter Triplettzustand des Farbstoffs)
- $1Q_0$ (Grundzustand des Quencher)
- $3Q_1$ (angeregter Triplettzustand des Quencher)
- $(FQ)_1$ (angeregter Singulettzustand des Komplexes)
- $(FQ)_3$ (angeregter Triplettzustand des Komplexes)
- F^+ (ionisiertes Farbstoffmolekül)
- F^- (ionisiertes Farbstoffmolekül)
- Q^+ (ionisiertes Quenchermolekül)
- Q^- (ionisiertes Quenchermolekül)

Die Prozesse sind wie folgt gekennzeichnet:

- I:** $1F_0 \xrightarrow{h\nu} 1F_1$ (grau dargestellt)
- II:** $1F_1 \xrightarrow{-h\nu'} 1F_0$ (grau dargestellt)
- III:** $1F_1 \xrightarrow{ISC} 3F_1$ (grau dargestellt)
- IV:** $3F_1 \xrightarrow{ISC} 3Q_1$ (grau dargestellt)
- V:** $3F_1 \xrightarrow{ISC} F^+ + Q^-$ (grau dargestellt)
- VI:** $3F_1 \xrightarrow{ISC} F^- + Q^+$ (grau dargestellt)
- VII:** $1F_1 + Q \xrightarrow{Q} (FQ)_1$ (grau dargestellt)
- VIII:** $3F_1 \xrightarrow{ISC} (FQ)_3$ (grau dargestellt)
- IX:** $3F_1 + Q \xrightarrow{-Q} (FQ)_3$ (grau dargestellt)
- X:** $3F_1 \xrightarrow{h\nu} F^+$ (grau dargestellt)
- XI:** $3F_1 \xrightarrow{ISC} 1F_0$ (grau dargestellt)
- XII:** $(FQ)_3 \xrightarrow{ISC} (FQ)_1$ (grau dargestellt)

Die Prozesse I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X, XI und XII sind durch Pfeile verbunden, die die Energieübertragung und den Energieverlust zeigen.

Abbildung 87: schematische Darstellung des gefundenen (schwarz) bzw. vermuteten (grau dargestellt) Reaktionsmechanismus

- 149 -

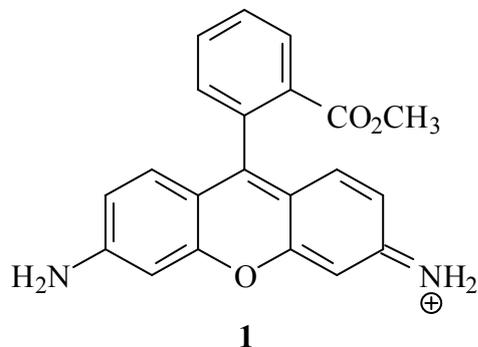
In Abwesenheit eines Löschers (Q) gäbe es idealerweise nur die Absorption (I), die den Fluorophor in den angeregten Zustand überführt und ausgehend von diesem Zustand die Fluoreszenz (II). Daneben gibt es unerwünschte Prozesse (siehe Abbildung 87), die zur Abnahme der Fluoreszenzintensität führen. Dieses ist die strahlungslose Desaktivierung (nicht dargestellt) und die Bildung des Triplettzustandes durch Intersystem Crossing (VIII). Die strahlungslose Desaktivierung führt direkt zum Verlust an Fluoreszenzintensität. Die Bildung des Triplettzustandes führt ebenfalls zu Problemen. So trägt der Triplettzustand zur photochemischen Zerstörung des Farbstoffes bei. Hier ist insbesondere die Bildung von Radikalen durch die Addition von Photoelektronen in Zweiphotonenprozessen zu nennen (X). Dieser Prozess ist prinzipiell auch aus dem S_1 -Zustand (gepunkteter Pfeil) möglich, aber die Wahrscheinlichkeit einer Zweiphotonenabsorption ist für den Singulettzustand geringer, da er deutlich kürzer lebt. Bei hohen Laserleistungen führen selbst geringe ISC-Quantenausbeuten verbunden mit einer hohen Triplettlebensdauer zu einer effektiven Depopulation des Grundzustandes und somit zu einem Verlust der Fluoreszenzintensität. Die Lebensdauer des Triplettzustandes des Fluorophors soll durch die Zugabe des Quenchers minimiert werden. Dabei geht der Fluorophor aus dem Triplettzustand wieder in den Grundzustand (III) und der Quencher geht von dem Grundzustand in den Triplettzustand (IV).

Ein Quenchen des Singulettzustandes (nicht dargestellt) soll nicht stattfinden. Auch die Photooxidation oder Photoreduktion des Rhodamins durch Elektronentransfer zum oder vom Quencher ist unerwünscht (V, VI).

Alle bislang diskutierten Prozesse können aber nicht erklären, warum der Quencher die Wahrscheinlichkeit des ISC vom Singulett- zum Triplettzustand für das Rhodamin beeinflussen kann. Hierzu muss man annehmen, dass das angeregte Rhodamin mit dem Quencher einen Exciplex bildet (VII). Dieser zeigt ISC (XII) mit einer für ihn typischen, hier größeren, Geschwindigkeit, und aus diesem Exciplex wird Triplett-Rhodamin freigesetzt (IX).

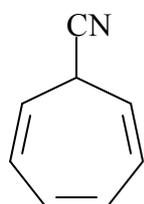
3 Zusammenfassung, Schlussfolgerung und Ausblick

Am Anfang meiner Arbeit stand die Frage, ob es möglich ist, den Tripletzustand des Rhodamins 123 **1** selektiv zu löschen.

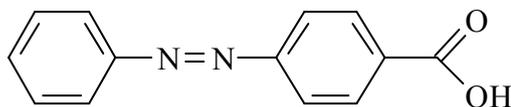


Um diese Frage beantworten zu können, habe ich zunächst versucht das Problem theoretisch zu adressieren (siehe Kapitel 2.3). Diese Arbeiten führten, aus den in dem Kapitel 2.3 beschriebenen Gründen, zu keinen Ergebnissen. Dieser Ansatz wurde nicht weiter verfolgt.

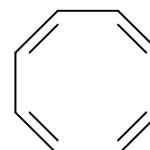
Im Anschluss daran wurde versucht die Fragestellung praktisch zu beantworten, indem Voruntersuchungen mittels der FCS-Messung durchgeführt wurden (siehe Kapitel 2.4). Diese Untersuchungen führten schon zu dem gewünschten Ergebnis, und es wurden die in Abbildung 88 gezeigten Farbstoffe als mögliche Triplettlöcher erkannt.



20



23

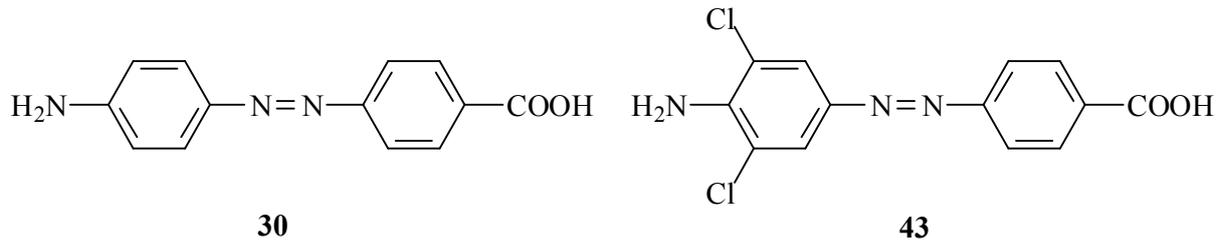


24

Abbildung 88: als mögliche Triplettlöcher identifizierte Farbstoffe

Das waren das Cycloheptatrien **20**, das Azobenzolderivat **23**, und das aus früheren Arbeiten des Arbeitskreises von Herrn Prof. Seidel als guter Triplettlöcher bekannter Cyclooctatetraen **24**. Für die weiteren Arbeiten ist das Hauptaugenmerk auf die Synthese, die spektroskopische Analyse und die Charakterisierung (siehe Kapitel 2.8) der Azobenzolderivate gerichtet worden.

Dazu wurden verschiedene Azobenzolderivate (**30**, **41** - **46**) synthetisiert, und anschließend wurden zwei dieser Derivate (**30**, **43**) mit der FCS-Messung untersucht.



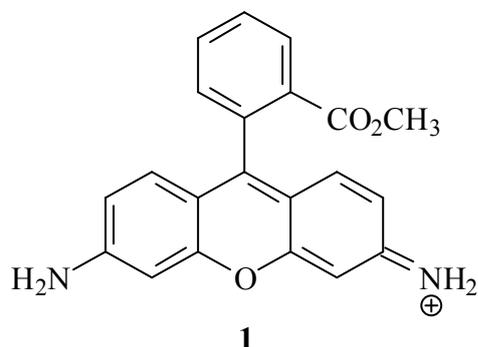
Wie in Kapitel 2.11 deutlich gezeigt wurde, erfüllen beide Derivate die Anforderungen, die an sie gestellt wurden. Beide Azobenzole eignen sich als selektive Triplettlöcher für das Rhodamin 123, verbessern die Photostabilität des Rhodamins (siehe Kapitel 2.11), und sie sind wasserlöslich.

Das Ziel meiner Arbeit wurde somit erfüllt und die synthetisierten Triplettlöcher können für weitere Untersuchungen genutzt werden.

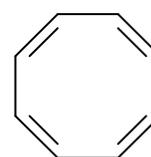
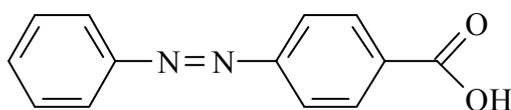
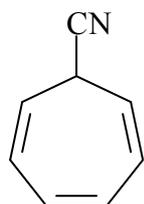
Zukünftige Arbeiten werden sich mit der gezielten Synthese des Bichromophors und dessen Charakterisierung beschäftigen.

3.1 Summary and Prospective

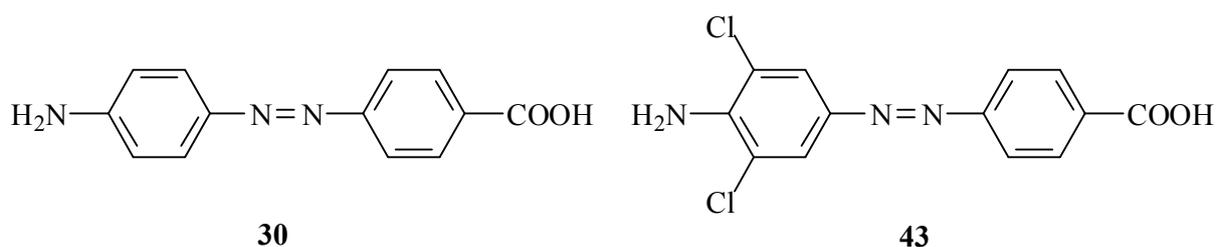
At the beginning of my work there was the question if it is possible to quench the triplet state of Rhodamine 123 (**1**) selectively.



To be able to answer the question my first attempt was the theoretical approach of this problem. Because of the difficulties discussed earlier this attempt was not successful and therefore the theoretical approach of this problem was abandoned. In the next stage of my work I tried to assign the issue using practical matters. Therefore preliminary inquiries were done using the FCS measurement method. These measurements were successful and the following candidates for quenching the triplet state were identified:



These candidates were the Cycloheptatrien derivate **20**, the azobenzene derivate **23** and the cyclooctatetraene **24**, known as a very well triplet quencher from earlier investigations done by the group of Prof. C. Seidel. At that point I decided to concentrated my synthetically work on the synthesis and characterization of azobenzene derivatives. Many azobenzene derivatives have been synthesized ((**30**, **41** - **46**) and two of this derivatives (**30**, **43**) were investigated using the FCS measurement.



As shown both derivatives are able to quench the triplet state of the Rhodamine 123 and fulfill all requirements made. These two azobenzenes quench the triplet state of the Rhodamine 123 selectively and were capable to enhance the photo stability of the Fluorophor and are water soluble.

The primary task of my work is therefore fulfilled and the synthesized triplet quencher can be used for further investigations.

Scientific work in the future will deal with the synthesis of the Bichromophor and its characterization.

4 Experimentalteil

4.1 Verwendete Chemikalien und Geräte

4.1.1 Chemikalien

- 4-Aminobenzylamine, 99 % (Aldrich, 368466-10G)
- 9-Anthracenaldehyd, 97 % (Aldrich, 27,868-8)
- Azobenzol-4-carbonsäurechlorid, 97 % (Aldrich, 17, 345-2)
- Azulen, 99 % (Aldrich, A9,720-3)
- 1,2,4-Benzoltricarbonsäureanhydrid, 97 % (Aldrich, B460-0)
- *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)glycine, 98 % (Aldrich,134538-10G)
- Cyclooctatetraen, 98 % (Aldrich, 138924)
- 2,5-Diaminotoluolsulfonat, 97 % (Aldrich, 154334-5G)
- 2,5-Dichlor-*p*-phenylendiamin (Aldrich, 21,149-4)
- 2,6-Dichlor-*p*-phenylendiamin (Fluka, 36217)
- *N,N*-Dimethylformamid, extra dry (Acros, 326871000)
- *N,N*-Dimethylformamid, Uvasol (Merck, 1.02937.0500)
- *N'*-(3-Dimethylaminopropyl)-*N*-ethylcarbodiimid Hydrochlorid, 98 % (Aldrich, 16,146-2)
- 2,5-Dimethyl-*p*-phenylendiamin, 97 % (Aldrich, 336068-5G)
- 3-Hydroxyanilin, 98 % (Aldrich, 10,024-2)
- 2-Hydroxypyridin, 97 % (Aldrich, H5,680-0)
- *N*-Hydroxysuccinimid, 97 % (Aldrich, 13,067-2)
- Kaliumperoxodisulfat, 99 %, A.C.S Reagenz (Aldrich, 21,622-4)
- Lithiumaluminiumhydrid, Pulver zur Synthese (Merck, 8.05661.0010)
- 3-Methyl-4-nitrobenzoesäure, 99 % (Aldrich, M6,060-0)
- 4-Nitrobenzophenon, 99 % (Aldrich, N1,205-8)
- *p*-Phenylendiamin, 99,5+ % (Aldrich, P2,396-2)
- Rhodamin Grün (ATTO-TEC, MA1404)
- Sulforhodamin B, acid form, laser grade (Sigma-Aldrich, 341738-5G)
- 2,3,5,6-Tetramethyl-1,4-phenylendiamin, 97 % (Aldrich, 16,148-9)
- 1,8,9-Trihydroxyanthracen, 97+ % (Aldrich, 25,920-9)
- Zinkchlorid, 98+ % (Aldrich, 20,808-6)

4.1.2 Geräte

4.1.2.1 NMR-Geräte:

- **Bruker DRX 500**, ^1H NMR (500 MHz)
 ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz)

4.1.2.2 UV/VIS-Geräte:

- Siehe Pfiffi, Daniela, Dissertation in Vorbereitung:

4.1.2.3 HPLC:

- **Agilent 1100 series**
- **Säule: VDSoptilab (250 x 8,0 mm, ODS-Hypersil 5 μm)**
YMC ODS-AQ (150 x 10 mm, ODS-AQ 5 μm)
- **Laufmittel: Acetonitril/Wasser 85/15 (VDSoptilab)**
Methanol/Wasser 80/20 (YMC ODS-AQ)

4.1.2.4 FCS: Eigenbau:

- Siehe Pfiffi, Daniela, Dissertation in Vorbereitung:

4.1.2.5 IR:

- Bruker Vector 22

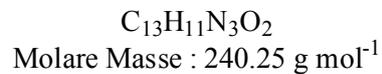
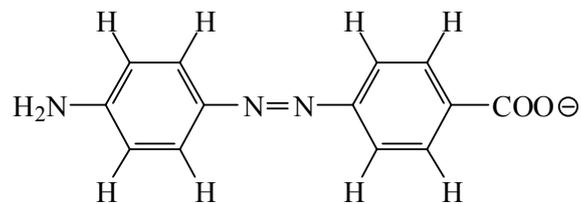
4.1.2.6 Massenspektren:

- **EI / FAB:** Bruker MAT 8200

4.2 Synthese der Azoverbindungen

4.2.1 Synthese von 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure 30

Versuch 01:



15.0 g (0.375 mol) Natriumhydroxid werden in 250 ml dest. Wasser gelöst. Anschließend werden 16.7 g (0.100 mol) 4-Nitrobenzoesäure und 20.0 g 1,4-Diaminobenzol (0.180 mol) hinzugegeben, und die Reaktionsmischung wird für 5 h unter Rückfluss erhitzt.

Anschließend wird die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur abgekühlt, der entstandene Niederschlag abfiltriert und am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck getrocknet.

Zur Aufreinigung wird der Niederschlag mit wenig Ethanol zum Rückfluss erhitzt und heiß abfiltriert, wobei sich das Produkt nicht in Ethanol löst. Der Rückstand wird unter Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 14.2 g (58.9 mmol, 59 %)

UV-Spektrum: in Methanol/Wasser (1:1):

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$
389	22000

UV-Spektrum: in Ethanol:

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$
257	6700
394	18000

UV-Spektrum: in Wasser:

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$
384	18000

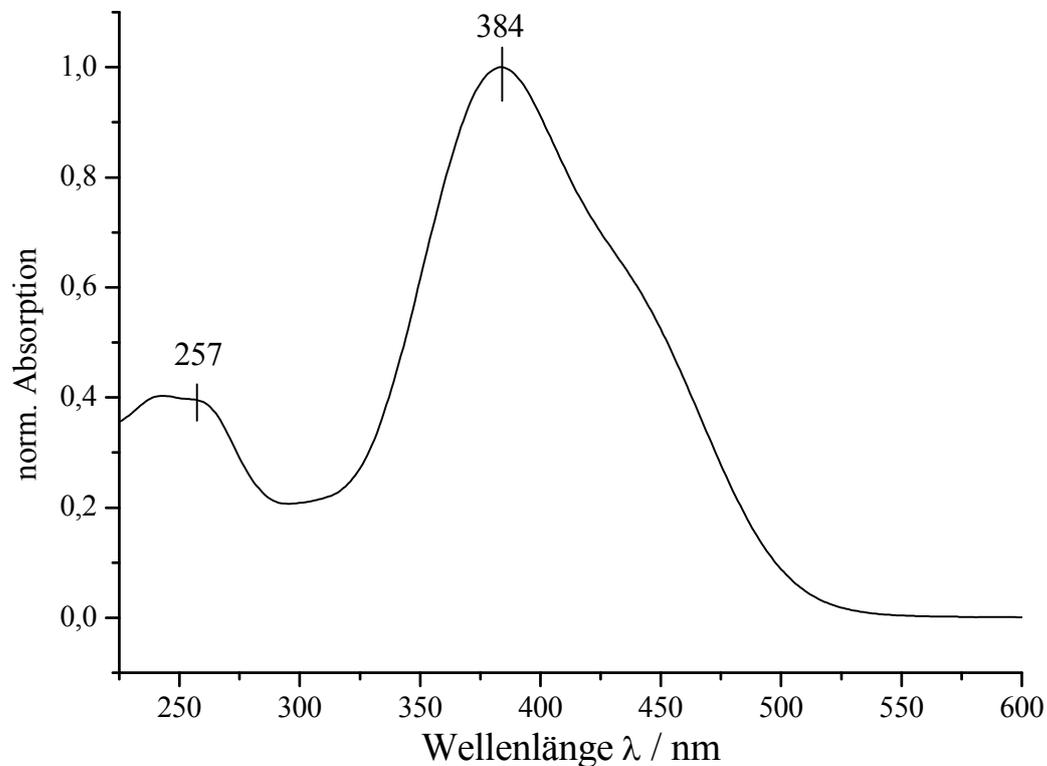


Abbildung 89: Normiertes UV-Spektrum von 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure in Wasser

Experimentaltteil

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO- d_6

Fehler! Es ist nicht möglich, durch die Bearbeitung von Feldfunktionen Objekte zu erstellen.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ = 6.12 (s, 2 H, Ar-NH $_2$), 6.67 (m, $N_{\text{d,c}}^1 = 8.8$ Hz, 2 H, H $_d$), 7.66 (m, $N_{\text{b,a}} = 8.5$ Hz, 2 H, H $_b$), 7.67 (m, $N_{\text{c,d}} = 8.8$ Hz, 2 H, H $_c$), 8.01 (m, $N_{\text{a,b}} = 8.5$ Hz, 2 H, H $_a$) ppm.

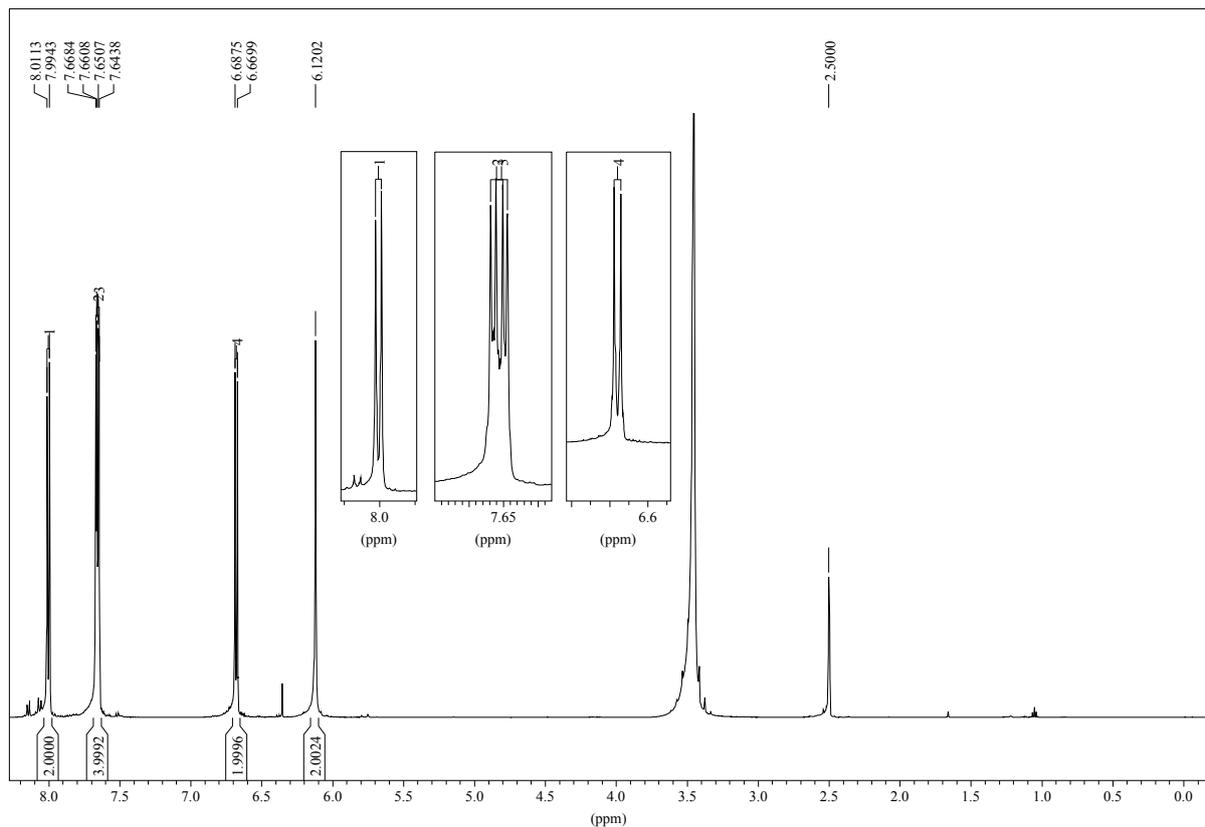
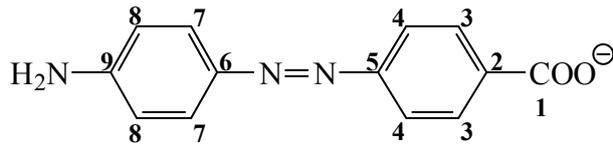


Abbildung 90: $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 4-[(4-Aminophenyl)azeny]benzoesäure in DMSO- d_6

$^{13}\text{C-NMR}$: 125 MHz, DMSO- d_6

$$^1\text{N} = {}^3\text{J}_{\text{HH}} + {}^5\text{J}_{\text{HH}}$$



$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 169.9$ (1), 153.1 (9), 153.0 (5), 143.3 (6), 141.4 (2), 130.2 (3), 125.2 (7), 121.0 (4), 113.8 (8) ppm.

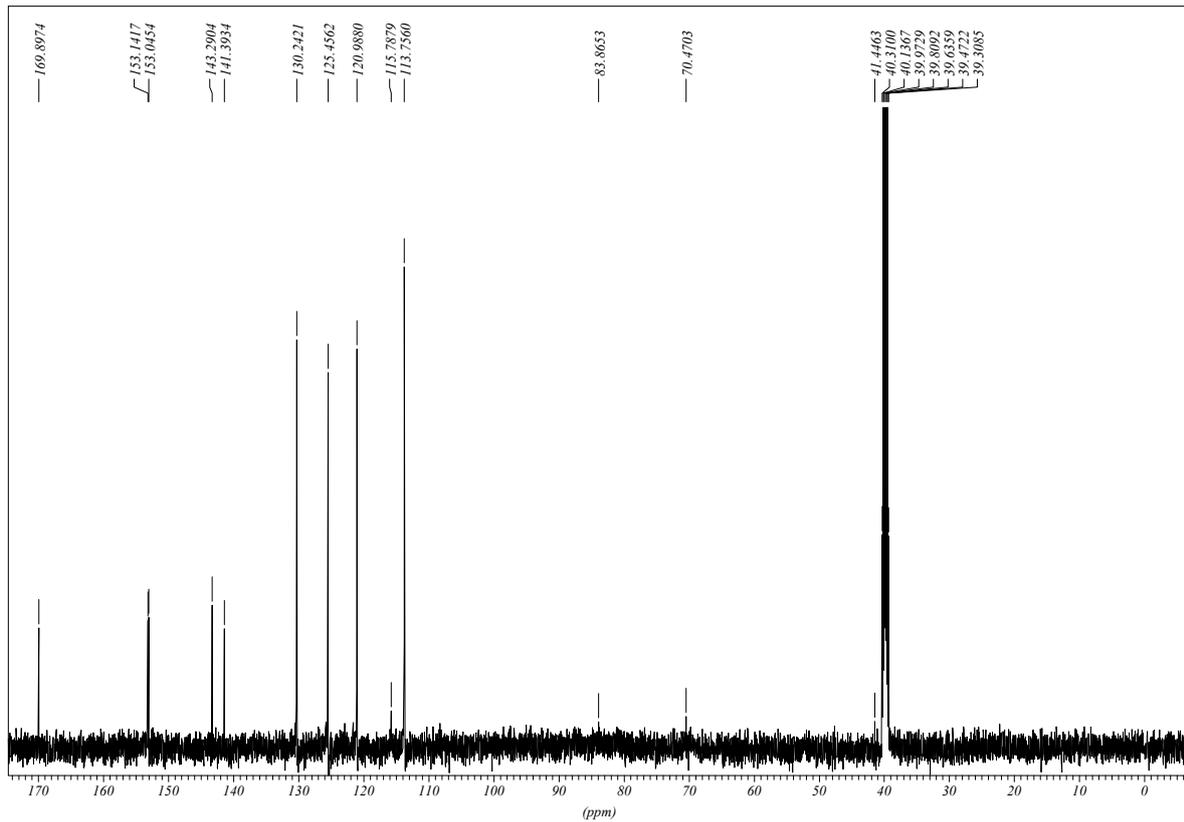


Abbildung 91: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR-Spektrum von 4-[(4-Aminophenyl)azanyl]benzoesäure in DMSO-d_6

IR-Spektrum: KBr Pressling

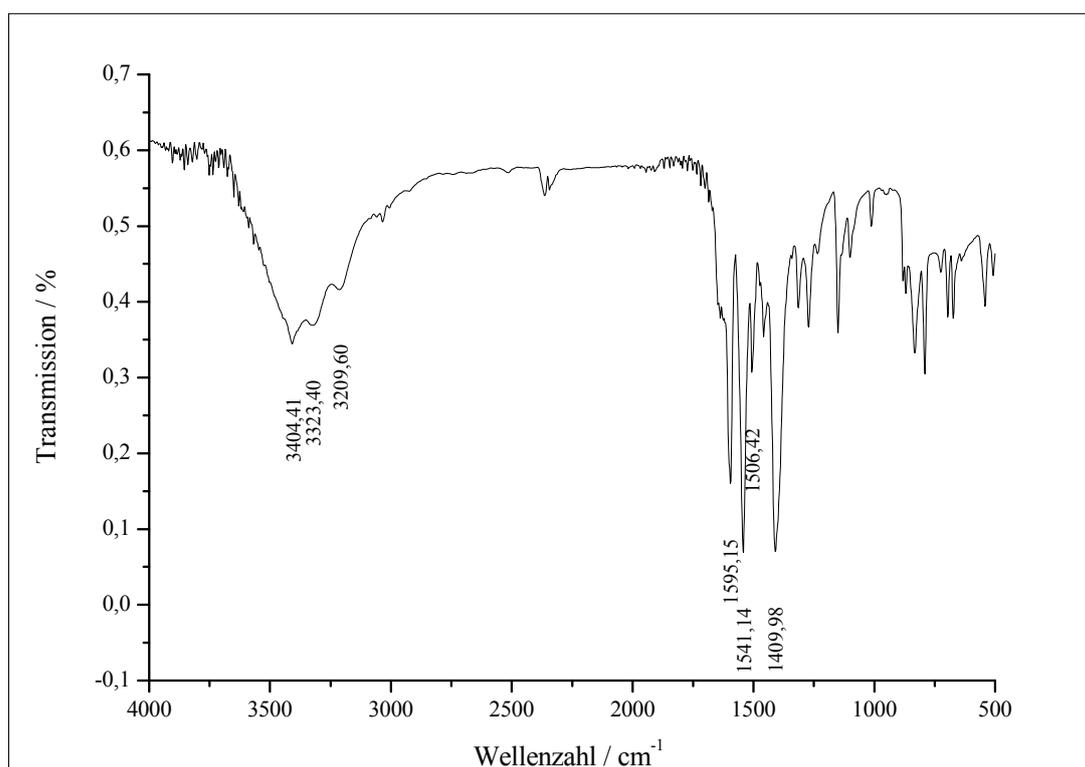


Abbildung 92: aufgenommenes IR Spektrum (KBr Pressling)

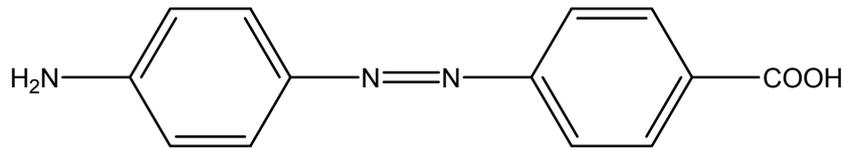
Wellenzahl $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$	Zuordnung
3404	N-H, asymmetrische Streckschwingung
3323	N-H, symmetrische Streckschwingung
3209	O-H, Streckschwingung
1595	C=O, Streckschwingung
1541	Aromat, Streckschwingung
1506	O-H, Deformationsschwingung
1409	C-O, Streckschwingung

Massenspektrum: EI

für die massenspektroskopische Analyse wurde Literatur ^[6] für die typische Fragmentierungen als Grundlage genommen.

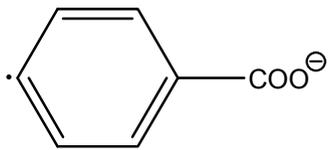
$M = 241 M^+$ (35 %), 120 (32 %), 92 (100 %).

$M/z : 241$ (35 %)

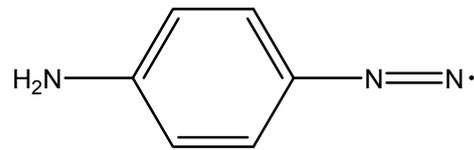


Chemische Formel: $C_{13}H_{11}N_3O_2$
Molekulare Masse: $241,25 \text{ g mol}^{-1}$

$M/z : 120$ (32 %)

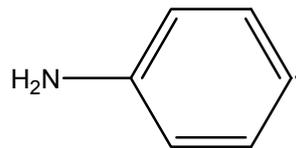


Chemische Formel: $C_7H_4O_2^{\bullet-}$
Molekulare Masse: $120,02 \text{ g mol}^{-1}$



Chemische Formel: $C_6H_6N_3^{\bullet}$
Molekulare Masse: $120,06 \text{ g mol}^{-1}$

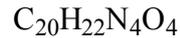
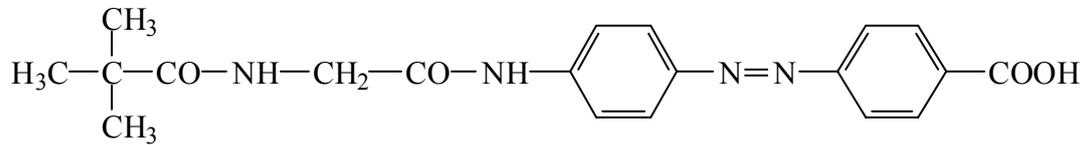
$M/z : 92$ (100 %)



Chemische Formel: $C_6H_6N^{\bullet}$
Molekulare Masse: $92,05 \text{ g mol}^{-1}$

4.2.2 Synthese von 4-[4-(*tert*-Butylcarbonylaminoethylcarbonylamino)phenyl- azeryl]benzoesäure

Versuch V02:



Molare Masse: 382.42 g mol⁻¹

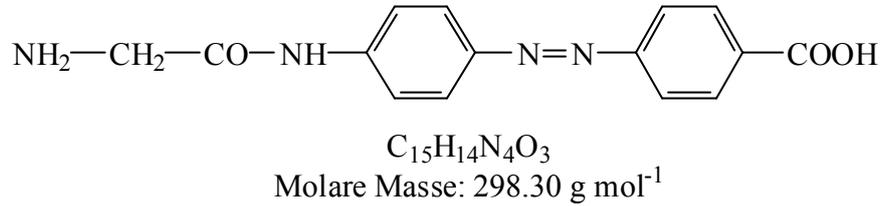
Es werden 0.50 g (2.8 mmol) *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)glycin und 0.60 g (3.1 mmol) *N,N'*-Dimethylaminopropyl-3-ethylcarbodiimid-hydrochlorid mit 2.0 ml Dimethylformamid abs. bei 120° C für 2 h gerührt. Anschließend werden 0.40 g (1.6 mmol) 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure, gelöst in 2 ml Dimethylformamid abs., hinzugegeben. Diese Mischung wird für 8 h bei 50 °C gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt, und das Produkt wird anschließend getrocknet.

Die NMR-Analyse zeigt, dass das gewünschte Produkt nicht entstanden ist.

Die erwarteten Peaks für die Amid-Kohlenstoffe waren im ¹³C-¹H-NMR (bei ca. 160 ppm) nicht vorhanden.

4.2.3 Synthese von 4-{[4-(2-Aminoacetamido)phenyl]azeryl}benzoesäure 41

Versuch V02/1:



3.00 g *N*-(*tert*-Butoxycarbonyl)glycin (17.3 mmol) und 25.0 ml (41.0 g, 34.4 mmol) Thionylchlorid werden für 2 h zum Rückfluss erhitzt. Anschließend werden 4.00 g (16.5 mmol) 4-[4-(2-Aminoacetamido)phenyl]azerylbenzoesäure hinzugegeben. Diese Lösung wird für weitere 2 h zum Rückfluss erhitzt. Die Lösung wird dann vorsichtig mit dest. Wasser hydrolysiert und anschließend wird das Produkt mit Diethylether techn. ausgefällt. Dieser Feststoff wird abfiltriert und am Rotationsverdampfer wird das Lösungsmittel entfernt.

Ausbeute: 1.96 g (6.60 mmol, 40 %)

Experimentaltteil

UV-Spektrum: in Methanol/Wasser (1:1):

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient ϵ / $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$
401	9700

UV-Spektrum: in Wasser:

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient ϵ / $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$
387	20000

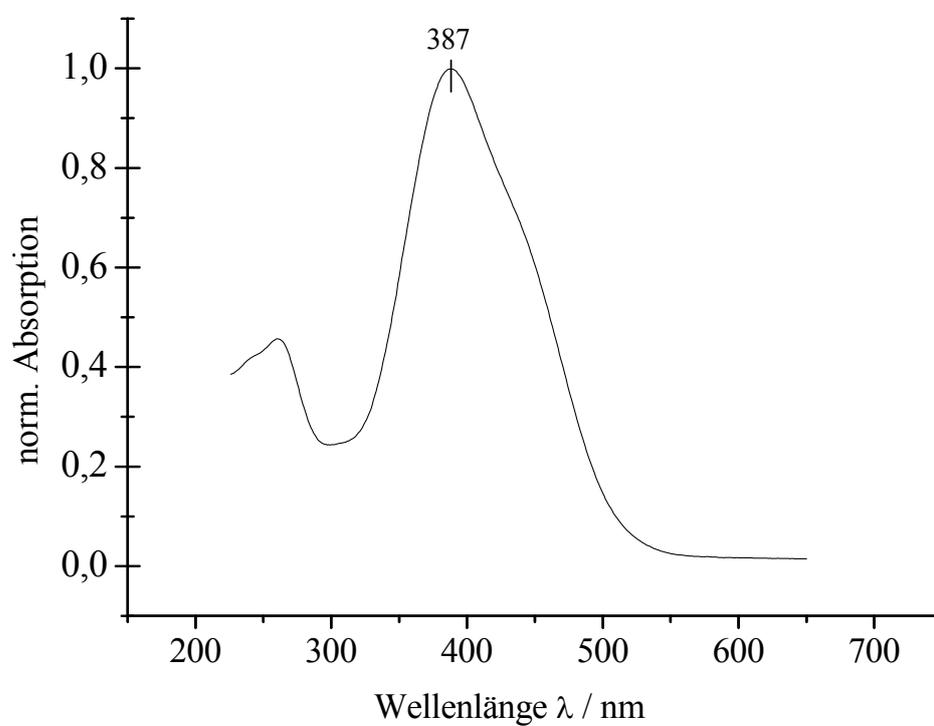
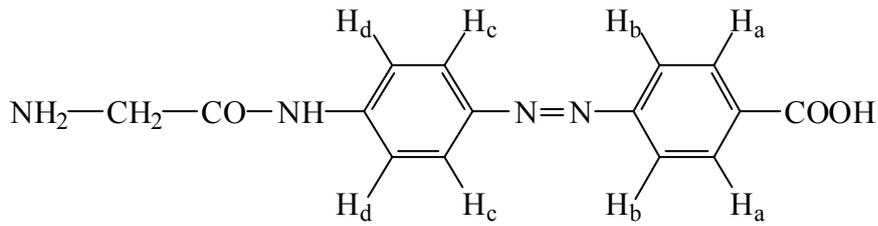


Abbildung 93: UV Spektrum von 4-{{(4-(2-Aminoacetamido)phenyl]azenyl}benzoesäure in Wasser

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO-d_6



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 3.48 (m, 2 H, -CH₂), 6.23 (s, 2 H, -NH₂), 6.68 (m, N_{d,c} = 8.8 Hz, 2 H, H_d), 7.69 (m, N_{c,d} = 8.5 Hz, 2 H, H_c), 7.75 (m, N_{b,a} = 8.2 Hz, 2 H, H_b), 8.03 (m, N_{a,b} = 8.2 Hz, 2 H, H_a) ppm.

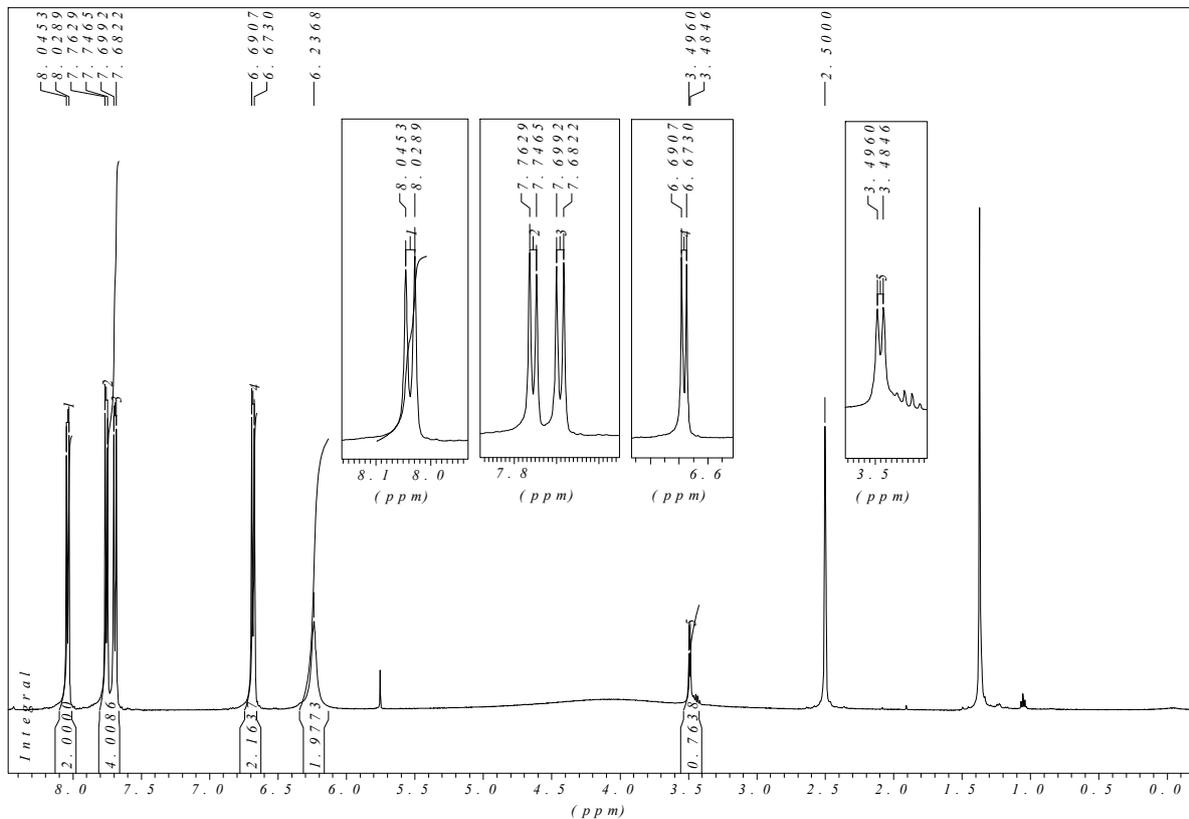
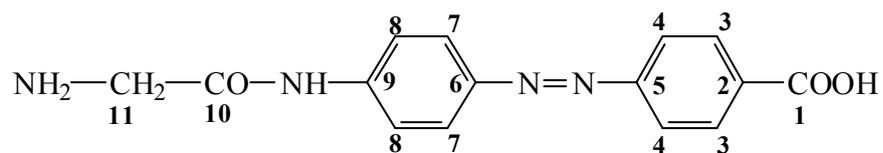


Abbildung 94: $^1\text{H-NMR}$ von 4-((2-Aminoacetamido)phenyl)azobenzoesäure in DMSO-d_6

Experimentaltteil

$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR : 125 MHz, DMSO- d_6



$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, DMSO - d_6) : $\delta = 167.52$ (10), 167.29 (1), 154.24 (6), 153.30 (5), 142.85 (2), 139.74 (9), 130.17 (3), 125.49 (7), 121.23 (4), 113.33 (8), 42.65 (11) ppm.

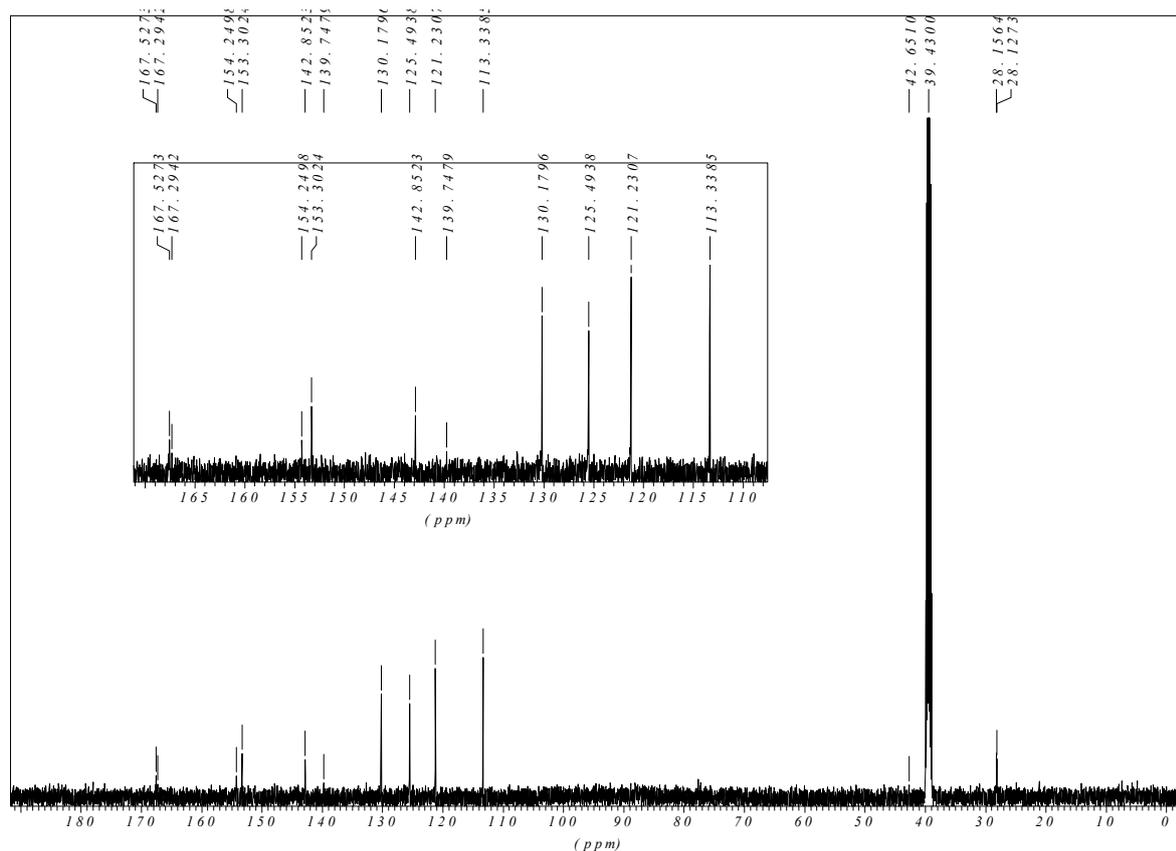


Abbildung 95: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR von 4-((4-(2-Aminoacetamido)phenyl)azanyl)benzoesäure in DMSO- d_6

IR-Spektrum: KBr-Pressling

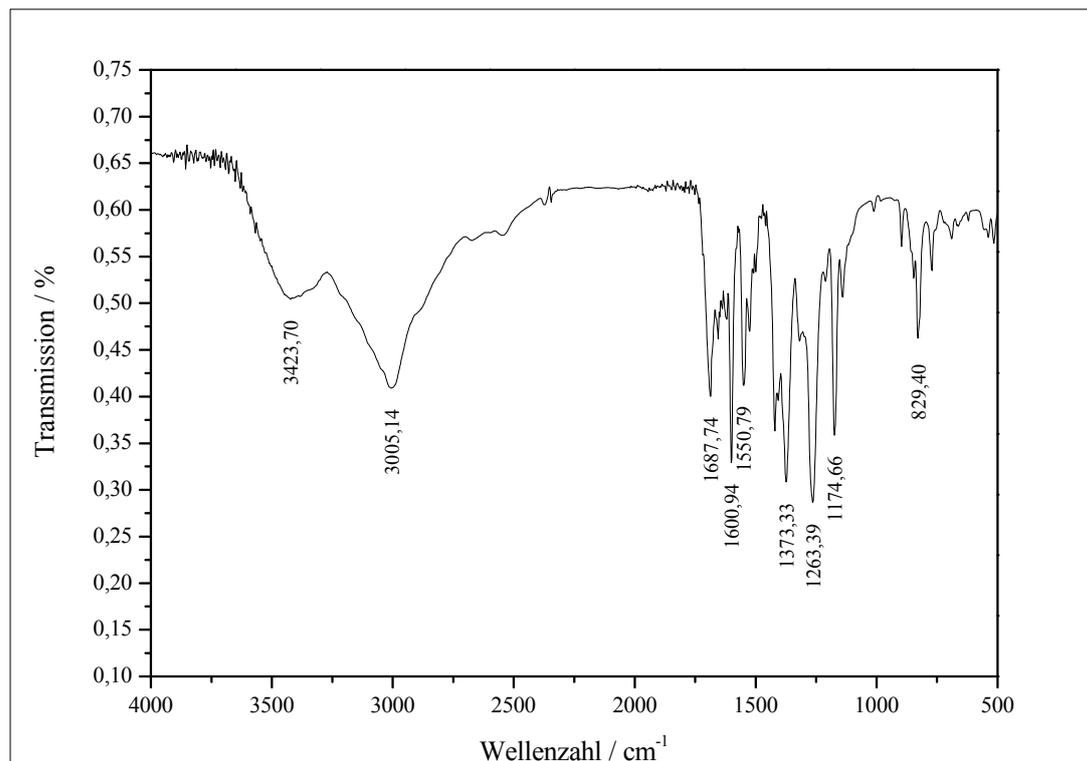
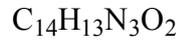
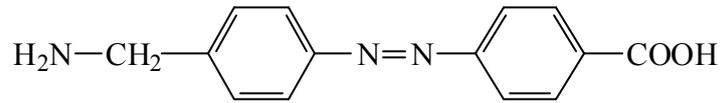


Abbildung 96: IR Spektrum von 4-((4-(2-Aminoacetamido)phenyl)azetyl)benzoesäure

Wellenzahl $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$	Zuordnung
3423	N-H, Streckschwingung primäre Amine
3005	C-H, Streckschwingung, Aromaten
1687	C=O, Streckschwingung, Amid I
1600	C=O, Streckschwingung, Carbonsäure
1550	CNH, Amidbande II
1373	
1263	C-O, Streckschwingung
1174	
829	C-H, Deformationsschwingung

4.2.4 Synthese von 4-{[4-(Aminomethyl)phenyl]azeryl}benzoesäure 42

Versuch V03 :



Molare Masse: 255.28 g mol⁻¹

8.4 g (20 mmol) Natriumhydroxid werden in 125 ml dest. Wasser gelöst. Dann werden 3.2 g (19 mmol) 4-Nitrobenzoesäure und 4.0 g (32 mmol) 4-Aminobenzylamin hinzugegeben, und diese Lösung wird nun für 5 h zum Rückfluss erhitzt.

Die Lösung lässt man nun auf Raumtemperatur abkühlen, und der entstandene Feststoff wird abfiltriert.

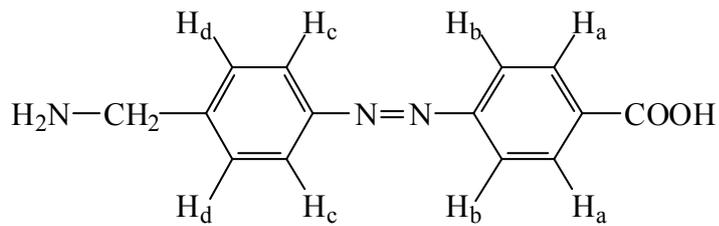
Man kocht das Rohprodukt mit Ethanol auf (ca. 50 ml), um die Verunreinigungen in Lösung zu bringen. Der Feststoff wird abfiltriert und getrocknet.

Dieser Vorgang wurde so oft wiederholt (10-mal), bis das NMR-Spektrum anzeigt, dass nur ein reines Produkt vorliegt.

Ausbeute: Rohprodukt: 1.5 g (Reinheit ca. 30%) (5.8 mmol, 31 %)

Reinprodukt: 100 mg (0.4 mmol, 2.1 %)

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO-d_6



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): δ = 3.50 (s, Ar- CH_2), 6.30 (s, 2 H, - NH_2), 6.69 (m, $N_{d,c}$ = 8.82 Hz, 2 H, H_d), 7.71 (m, $N_{c,d}$ = 8.51 Hz, 2 H, H_c), 7.80 (m, $N_{b,a}$ = 8.20 Hz, 2 H, H_b), 8.06 (m, $N_{a,b}$ = 8.20 Hz, 2 H, H_a) ppm.

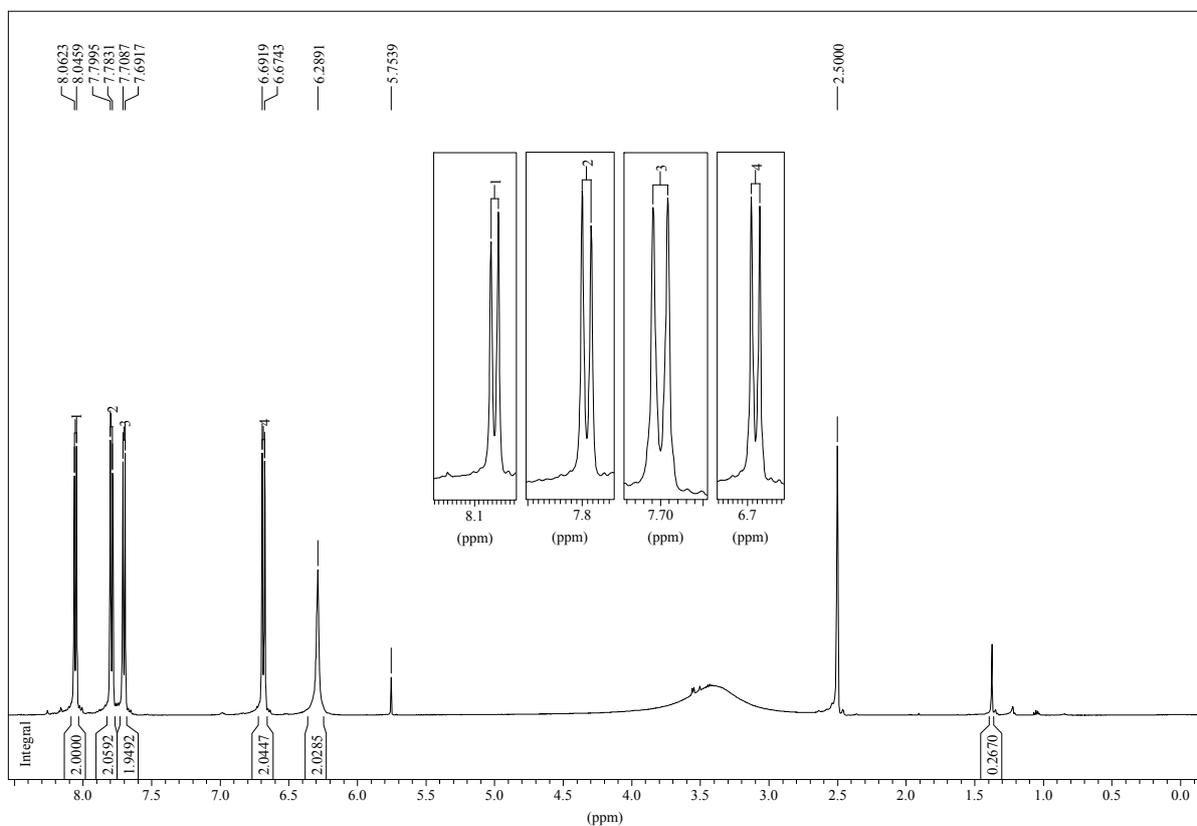
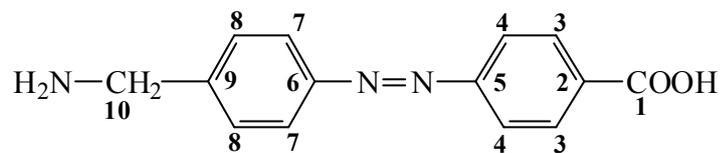


Abbildung 97: $^1\text{H-NMR}$ von 4-([4-(Aminomethyl)phenyl]azetyl)benzoesäure in DMSO-d_6

Die Zuordnung der Methylengruppe konnte nur durch das HMQC-Spektrum (siehe Kapitel 2.8.2.3) vorgenommen werden. Das ^1H -Signal für diese Gruppe befindet sich unter dem Signal, welches das in DMSO-d_6 enthaltene Wasser liefert.

Experimentalteil

$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR : 125 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$



δ (125 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$): 167.40 (1), 155.32 (5), 153.98 (6), 143.29(9), 131.71 (2), 130.81 (3), 126.13 (7), 121.93 (4), 113.80 (8), 41.07 (10) ppm.

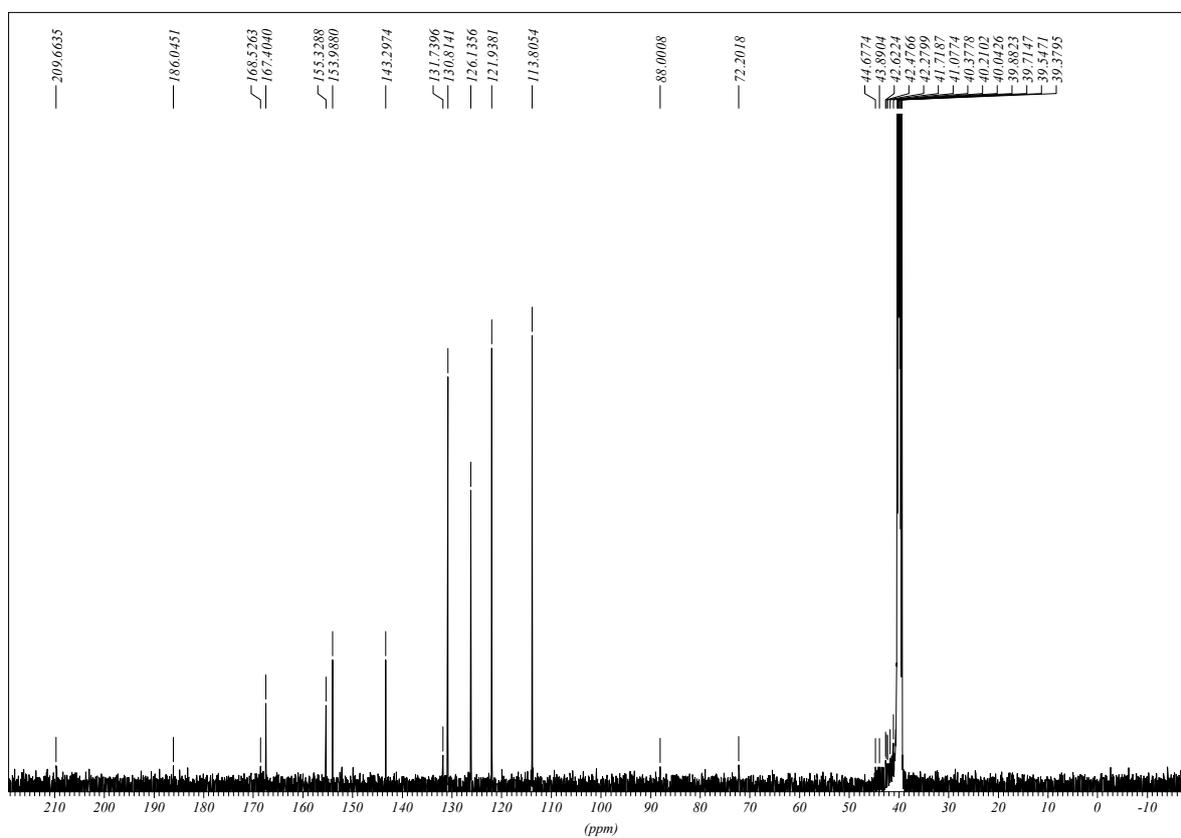


Abbildung 98: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -Spektrum von 4-[[4-(Aminomethyl)phenyl]azeryl]benzoesäure in DMSO-d_6

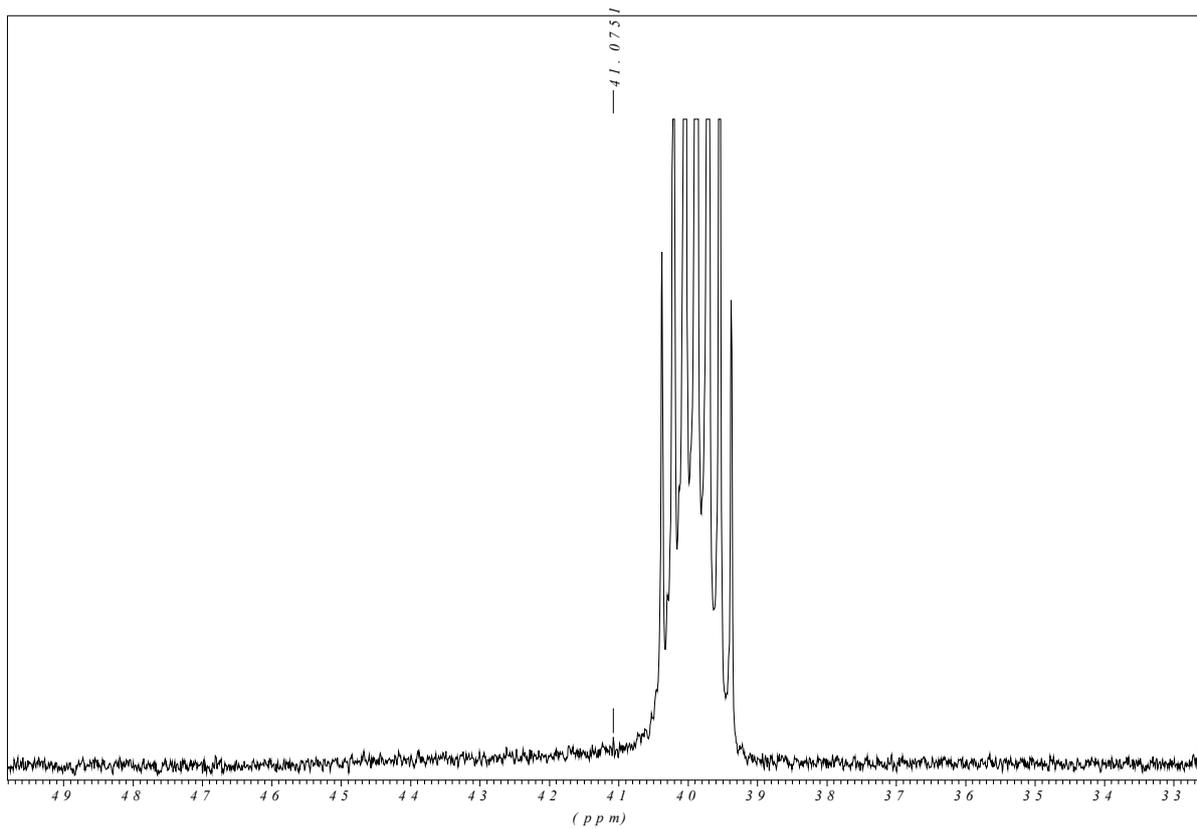


Abbildung 99: Vergrößerung des $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -Spektrum von 4-{4-(Aminomethyl)phenyl}azerylbenzoesäure in DMSO-d_6

Wie schon in Kapitel 2.8.2.3 konnte die Zuordnung der Methylengruppe nur durch das HMQC-Spektrum vorgenommen werden

Experimentaltteil

UV-Spektrum: in Methanol/Wasser (1:1):

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$
395	19600

UV-Spektrum: in Wasser:

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$
388	24500

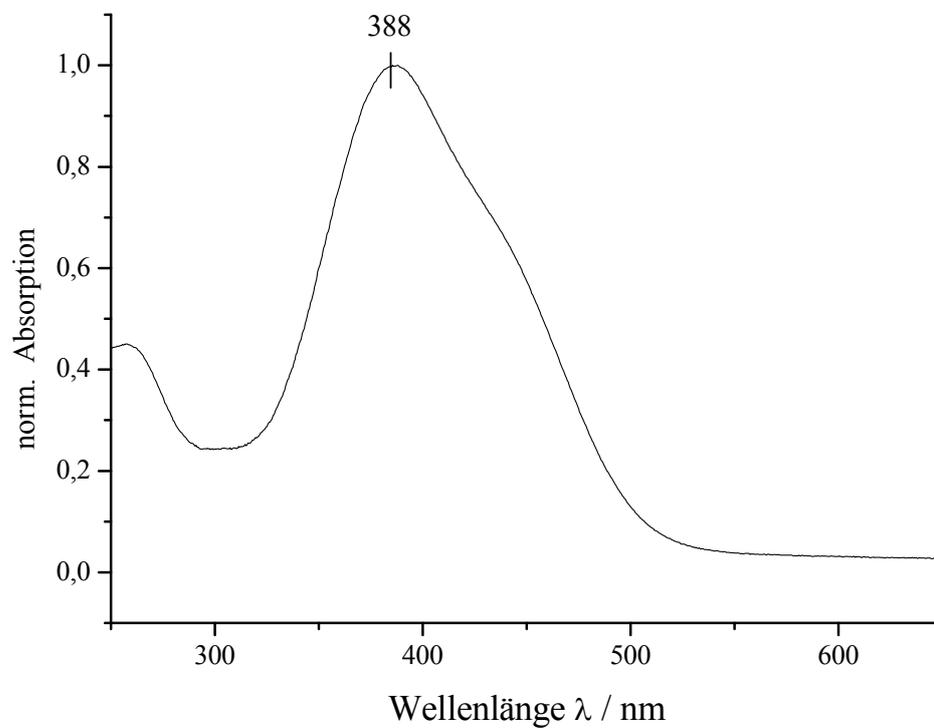


Abbildung 100: normiertes UV Spektrum von 4-[4-(Aminomethyl)phenyl]azanyl}benzoesäure in Wasser

IR-Spektrum: KBr-Pressling

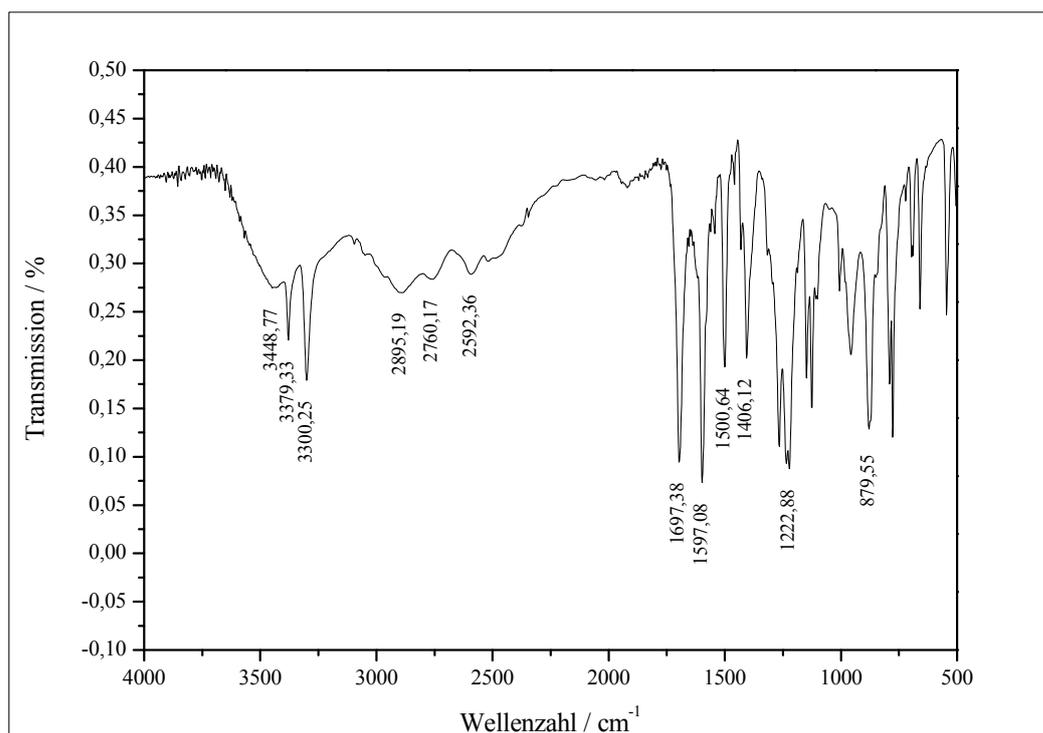
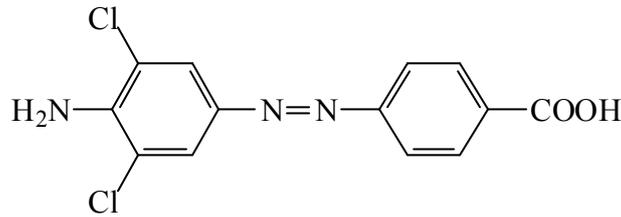


Abbildung 101: IR Spektrum von 4-([4-(Aminomethyl)phenyl]azetyl)benzoesäure

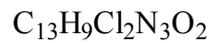
Wellenzahl $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$	Zuordnung
3448	
3379	Primäres Amin, asym. Streckschwingung
3300	Primäres Amin, sym. Streckschwingung
2895	
2760	
2592	
1697	C=O, Streckschwingung, Carbonsäure
1597	
1500	
1406	OH-Deformationsschwingung
1222	C-O, Streckschwingung
879	

4.2.5 Synthese von 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure 43

Versuch V04 :



Molare Masse: $310.14 \text{ g mol}^{-1}$



Exakte Masse: $309.007182 \text{ g mol}^{-1}$

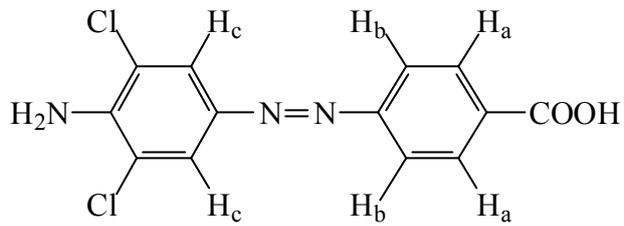
Es werden 20.0 g (0.500 mol) Natriumhydroxid in 300 ml dest. Wasser gelöst. Dann werden 8.00 g (50.0 mmol) 4-Nitrobenzoesäure und 16.0 g (100 mmol) 1,4-Diamino-2,6-dichlorbenzol hinzugegeben, und diese Lösung wird nun für 5 h unter Rückfluss erhitzt.

Die Lösung lässt man nun auf Raumtemperatur abkühlen, und der entstandene Feststoff wird abfiltriert, und getrocknet.

Man kocht das Rohprodukt mit Ethanol auf, um die Verunreinigungen in Lösung zu bringen. Der Feststoff wird abfiltriert und getrocknet.

Ausbeute: 10 g (32 mmol, 64 %)

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO-d_6



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 6.39$ (s, 2 H, Ar-NH₂), 7.71 (m, $N_{b,a} = 8.19$ Hz, 2 H, H_b), 7.82 (s, 1H, H_c), 8.00 (m, $N_{a,b} = 8.19$ Hz, 2 H, H_a) ppm.

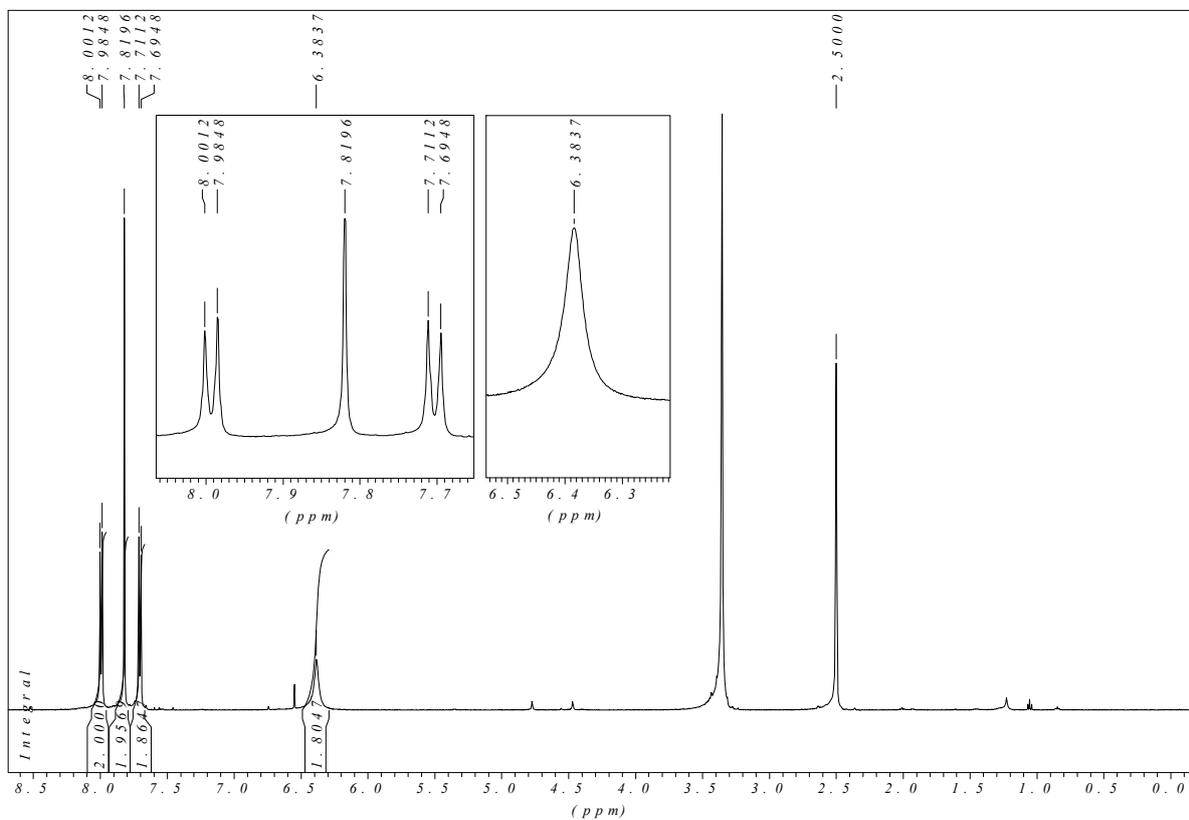
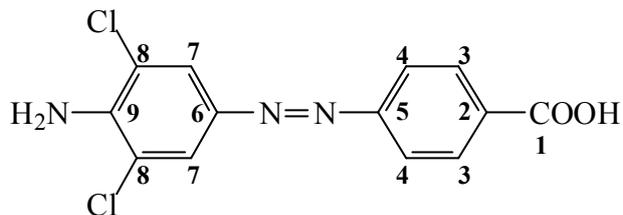


Abbildung 102: $^1\text{H-NMR}$ von 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)azene]benzoesäure in DMSO-d_6

Experimentalteil

$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR: 125 MHz, DMSO- d_6



$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) : δ = 169.18 (1), 152.30 (5), 144.89 (9), 143.17 (6), 142.13 (2), 130.23 (3), 123.35 (7), 121.52 (4), 118.64 (8) ppm.

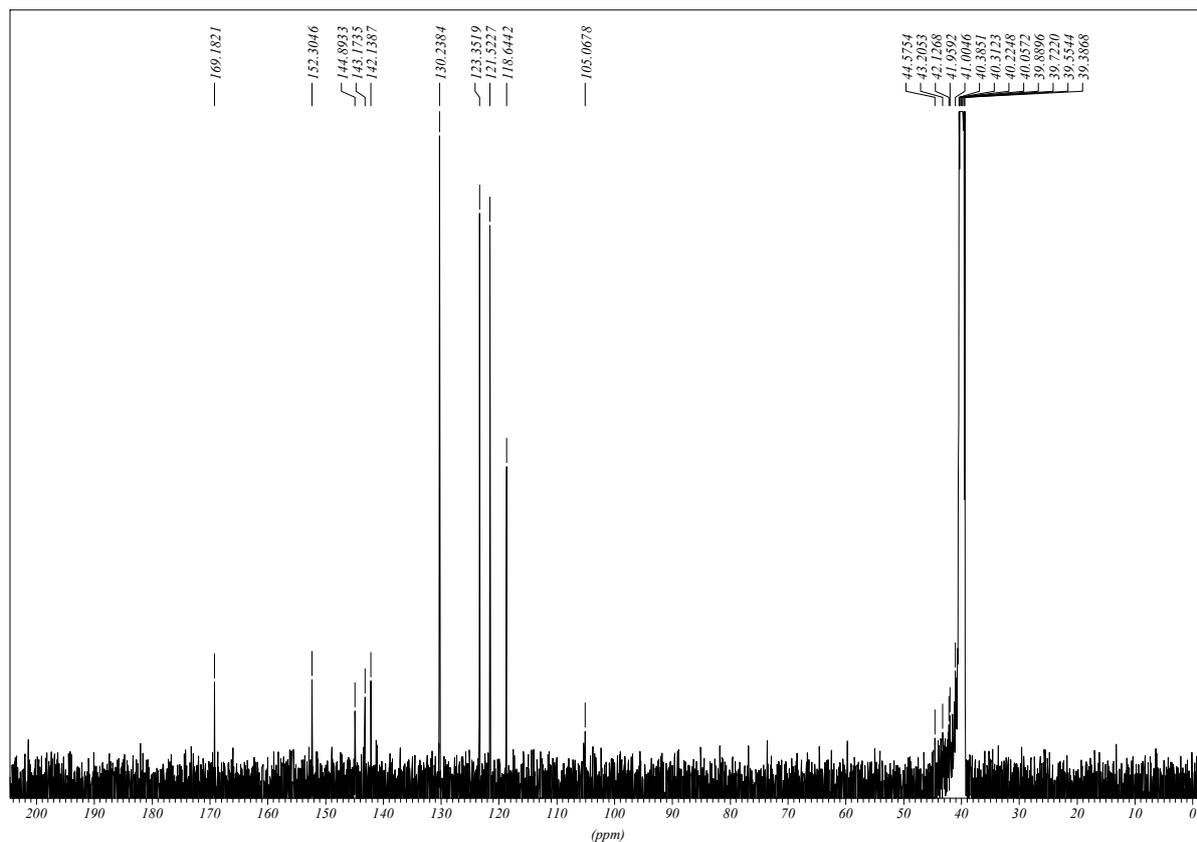


Abbildung 103: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR von 4-[(4-Amino-3,5-dichlorophenyl)azeryl]benzoesäure in DMSO- d_6

UV-Spektrum: in Methanol/Wasser (1:1):

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient ϵ / $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$
387	1900

UV-Spektrum: in Wasser:

Wellenlänge λ / nm
383

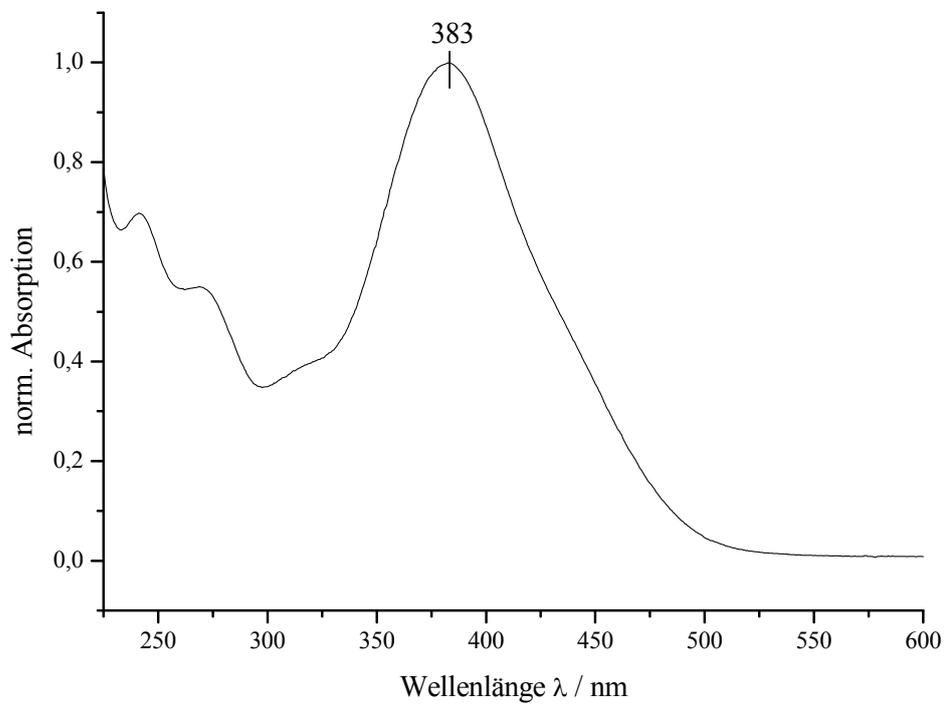


Abbildung 104: norm. UV-Spektrum von 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure in Wasser

IR-Spektrum: KBr-Pressling

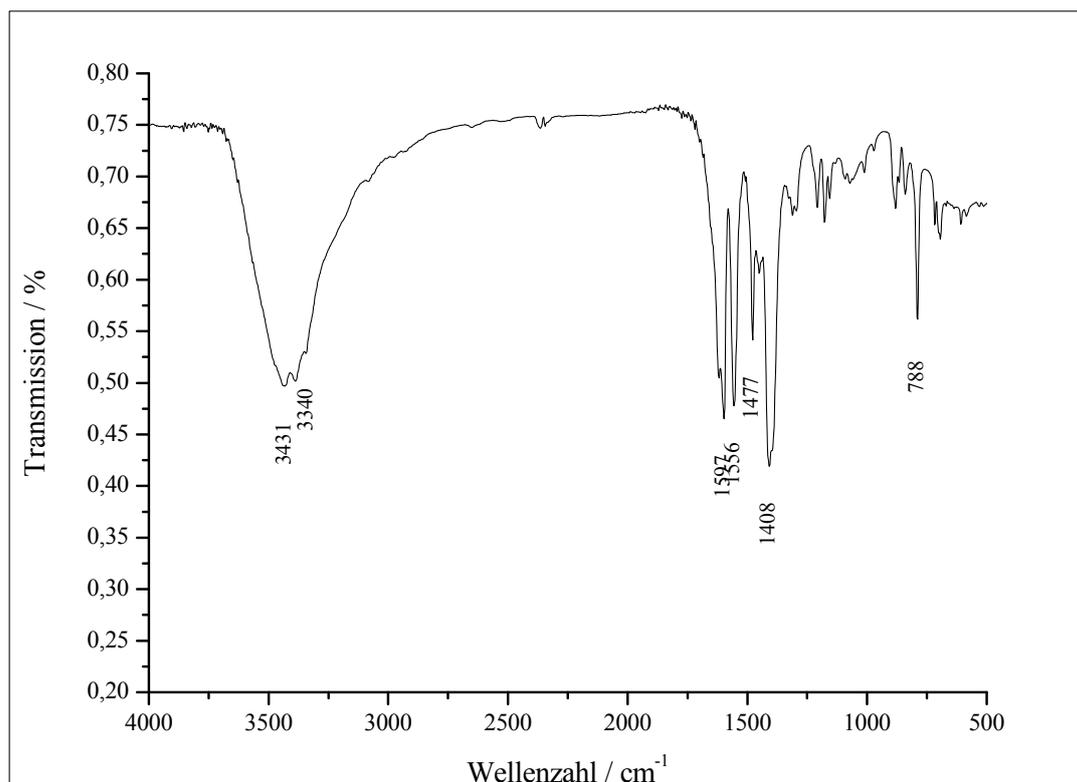


Abbildung 105: IR Spektrum von 4-[(4-Amino-3,5-dichlorophenyl)azeryl]benzoesäure

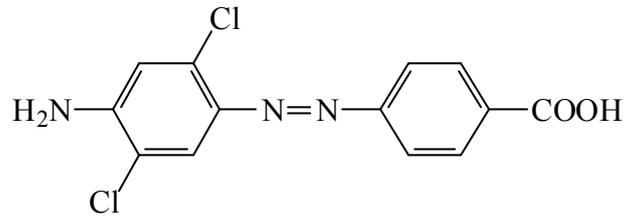
Wellenzahl $\tilde{\nu}/\text{cm}^{-1}$	Zuordnung
3431	N-H, asymmetrische Streckschwingung
3340	N-H, symmetrische Streckschwingung
1597	C=O, Streckschwingung
1556	Aromatische Streckschwingung
1477	
1408	C-O, Streckschwingung
788	

Masse: EI, Pt.: 250 °C

m/z: 311 M⁺ (5 %) (³⁵Cl + ³⁷Cl), 309 M⁺ (2 %) (³⁵Cl + ³⁵Cl), 276 (51 %) (M - Cl), 229 (4 %) (M - Cl - COOH), 176 (6 %) (M - N-Ar-COOH), 153 (8 %) (M - Ar-COOH, -Cl), 136 (9 %) (M - N-Ar(Cl₂)NH₂), 77 (34 %) (C₆H₄) und 44 (100 %).

4.2.6 Synthese von 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)azenyl]benzoesäure 44

Versuch V05 :



Molare Masse: $310.14 \text{ g mol}^{-1}$



Exakte Masse: $309.007182 \text{ g mol}^{-1}$

10 g (0.25 mol) Natriumhydroxid werden in 125 ml dest. Wasser gelöst. Dann werden 0.94 g (5.6 mmol) 4-Nitrobenzoesäure und 2.0 g (0.11 mmol) 1,4-Diamino-2,5-dichlorbenzol hinzugegeben, und diese Lösung wird nun für 5 h unter Rückfluss erhitzt.

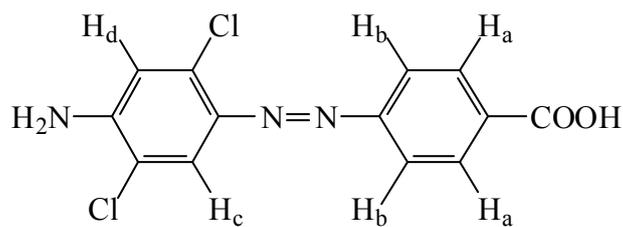
Die Lösung lässt man nun auf Raumtemperatur abkühlen, und der entstandene Feststoff wird abfiltriert, und getrocknet.

Man kocht das Rohprodukt mit Ethanol auf, um die Verunreinigungen in Lösung zu bringen. Der Feststoff wird abfiltriert und getrocknet.

Ausbeute: 1.1 g, (3.5 mmol, 70 %)

Experimentalteil

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO-d_6



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 6.56$ (s, 2 H, Ar- NH_2), 6.74 (s, 1 H, H_d), 7.04 (s, 1 H, H_c), 7.71 (m, $N_{b,a} = 8.51$ Hz, 2 H, H_b), 7.98 (m, $N_{a,b} = 8.51$ Hz, 2 H, H_a) ppm.

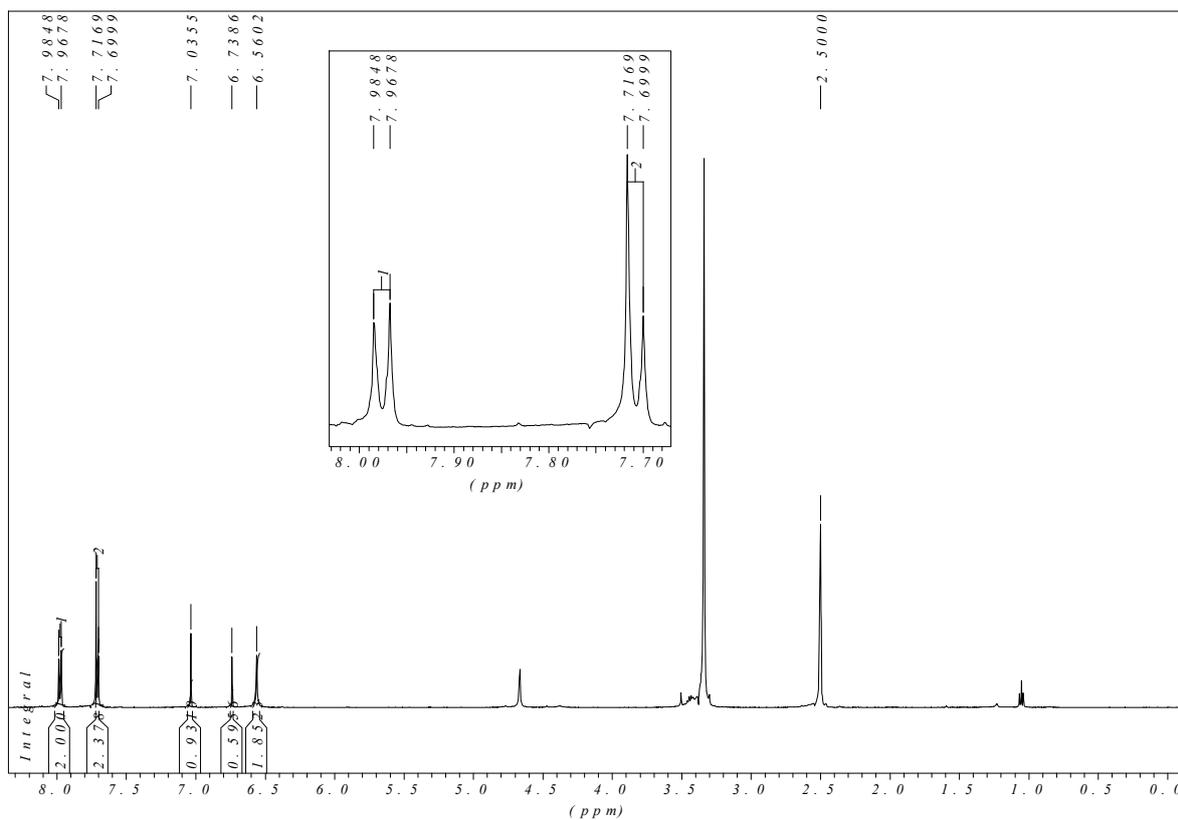
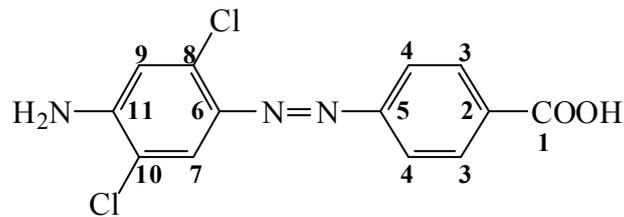


Abbildung 106: $^1\text{H-NMR}$ von 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)azene]benzoesäure in DMSO-d_6

$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR : 125 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$, CD_3OD



^{13}C -NMR (500 MHz, CD_3OD , DMSO-d_6): $\delta = 169.31$ (1), 152.74 (5), 149.05 (11), 142.64 (6), 136.15 (2), 135.81 (8), 130.2 (3), 121.71 (4), 117.48 (7), 116.3 (10), 114.42 (9) ppm.

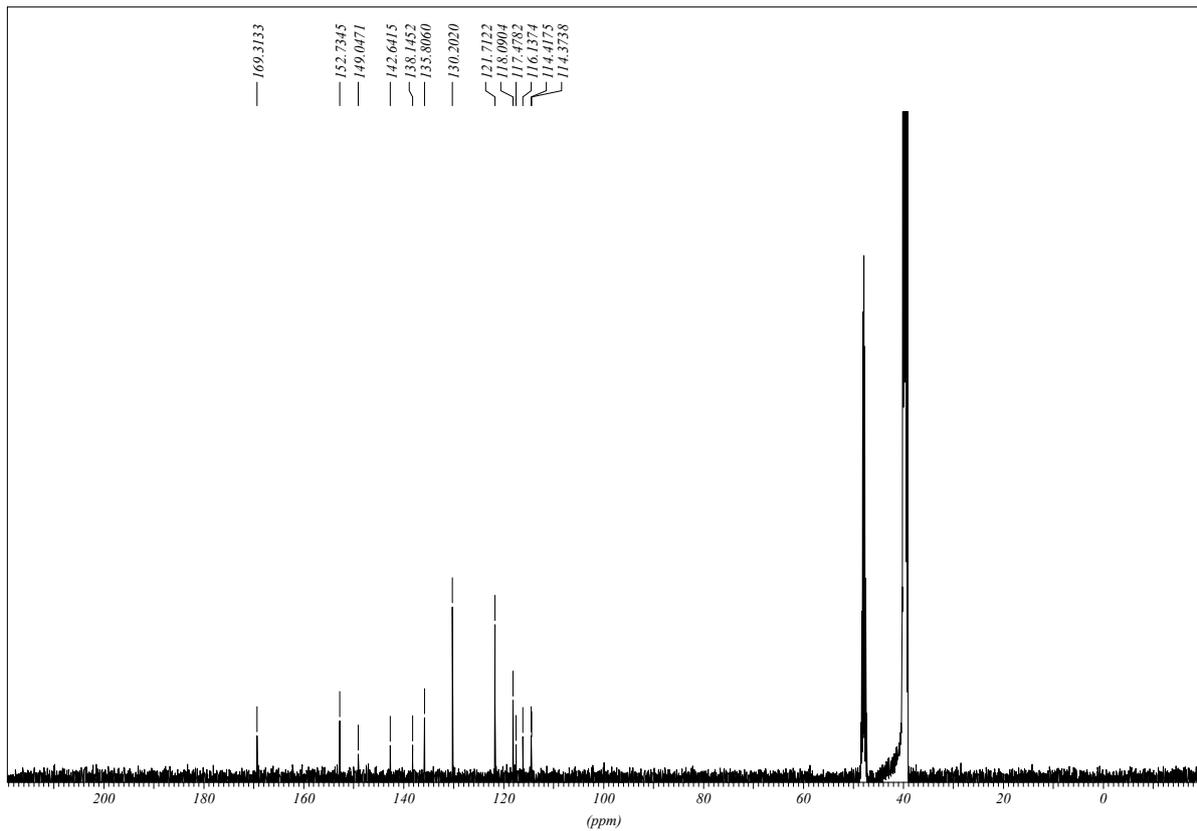


Abbildung 107: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR von 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)azanyl]benzoesäure in DMSO-d_6

Experimentaltteil

UV-Spektrum: in Methanol/Wasser (1:1):

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient ϵ / $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$
395	13000

UV-Spektrum: in Wasser:

Wellenlänge λ / nm
389

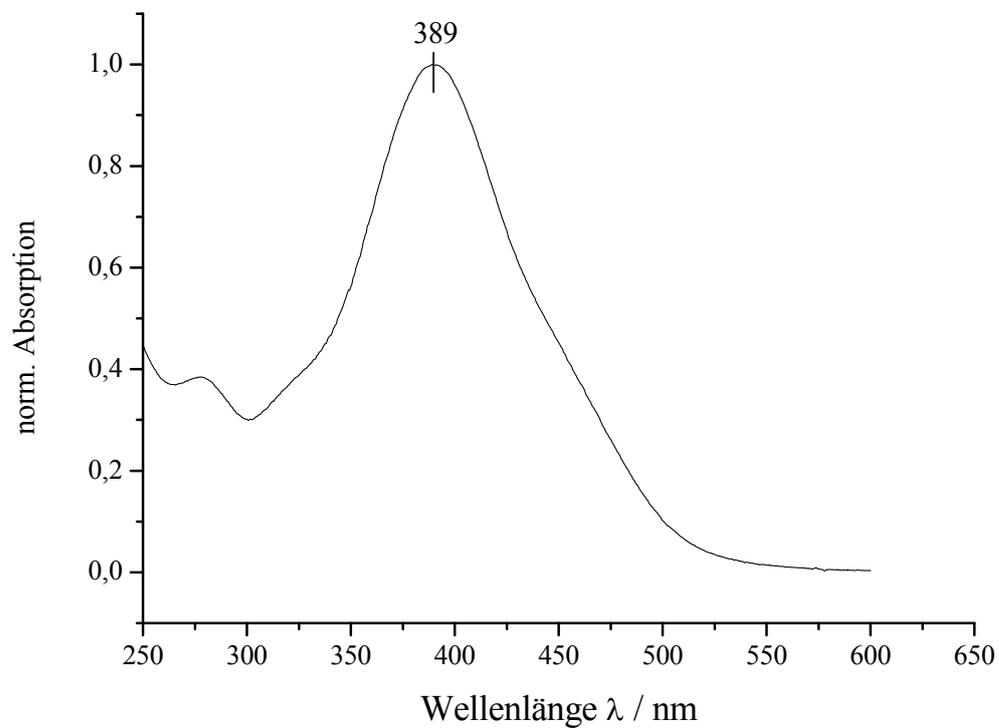


Abbildung 108: UV Spektrum von 4-[(4-Amino-2,5-dichlorphenyl)azeryl]benzoesäure in Wasser

IR-Spektrum: KBr-Pressling

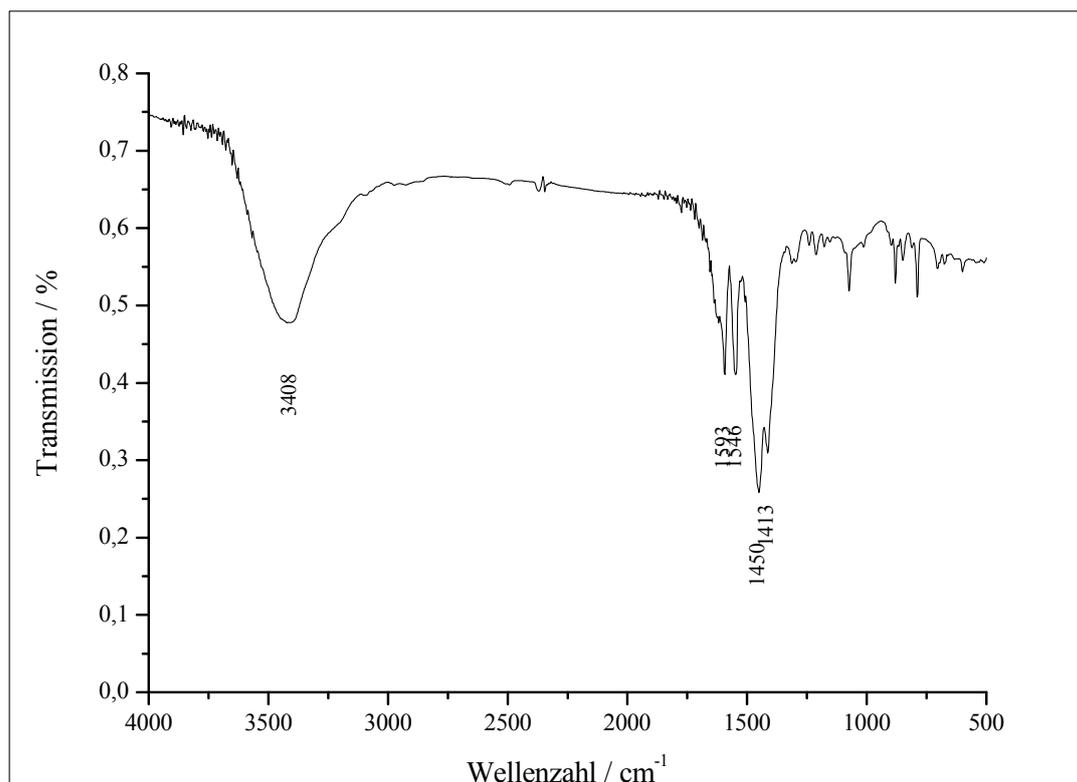


Abbildung 109: IR Spektrum von 4-[(4-Amino-2,5-dichlorophenyl)azeryl]benzoesäure

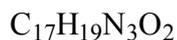
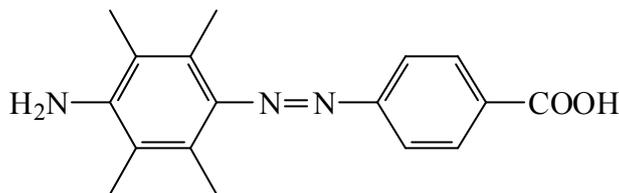
Wellenzahl $\tilde{\nu}/\text{cm}$	Zuordnung
3408	N-H, asymmetrische Streckschwingung
1593	C=O, Streckschwingung
1546	Aromatische Streckschwingung
1450	
1413	C-O, Streckschwingung

Masse: EI, Pt.: 300 °C

m/z : 311 M^+ (0.2 %) ($^{35}\text{Cl} + ^{37}\text{Cl}$), 309 M^+ (0.4 %) ($^{35}\text{Cl} + ^{35}\text{Cl}$), 176 (0.3 %) ($M - N - \text{Ar} - \text{COOH}$), 160 (0.7 %) ($\text{Ar}(\text{Cl}_2)\text{NH}_2$), 136 (0.2 %) ($N - \text{Ar} - \text{COOH}$), 121 (1.0 %) ($\text{Ar} - \text{COOH}$), 77 (1.4 %) (C_6H_4) und 44 (100 %).

4.2.7 Synthese von 4-[(4-Amino-2,3,5,6-tetramethylphenyl)azeryl]-benzoesäure 45

Versuch V06:



Molare Masse: 297.36 g mol⁻¹

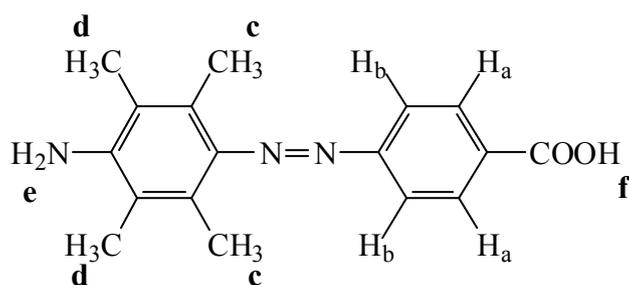
20 g (0.50 mol) Natriumhydroxid werden in 150 ml dest. Wasser gelöst. Dann werden 1.01 g (6.08 mmol) 4-Nitrobenzoesäure und 2.00 g (112 mmol) 1,4-Diamino-2,3,5,6-tetramethylbenzol hinzugegeben, und diese Lösung wird für 5 h zum Rückfluss erhitzt.

Die Lösung lässt man nun auf Raumtemperatur abkühlen, und der entstandene Feststoff wird abfiltriert.

Zur Aufreinigung löst man das Rohprodukt in Ethanol, und filtriert das Produkt heiß ab. Das Rohprodukt wird getrocknet, und erneut in Ethanol (kalt) gelöst. Man gibt nun solange Essigsäure zu der Lösung bis sich die Farbe der Lösung ändert. Die Farbe wechselt von schwach orange nach rot. Der unlösliche Rückstand wird abfiltriert, und das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingengt. Der erhaltene Feststoff wird über Kaliumhydroxid getrocknet.

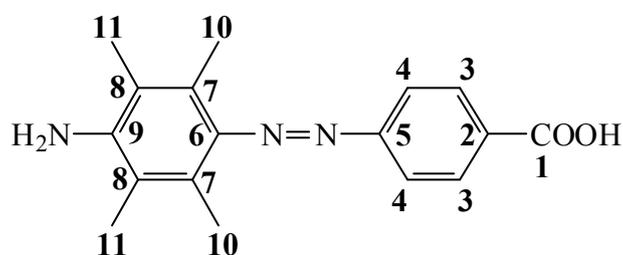
Das Produkt ist sehr schwer löslich in DMSO-d₆ und Methanol-d₄, und in den Lösungsmitteln kaum der NMR-Spektroskopie zugänglich.

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO- d_6



$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ = 2.07 (s, 6 H, H_d), 2.30 (s, 6 H, H_c), 7.64 (m, $N_{b,a} = 8.82$ Hz, 2 H, H_b), 8.01 (m, $N_{a,b} = 8.51$ Hz, 2 H, H_a) ppm.

$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR: 125 MHz, DMSO- d_6



$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ = 164.90 (1), 155.03 (5), 145.71 (9), 140.54 (6), 131.56 (2), 129.90 (3), 126.82 (7), 123.09 (4), 118.77 (8), 14.72 (10), 13.73 (11) ppm.

Experimentaltteil

UV-Spektrum: in Methanol/Wasser (1:1):

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient ϵ / $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$
334	13000

UV-Spektrum: in Wasser:

Wellenlänge λ / nm
331

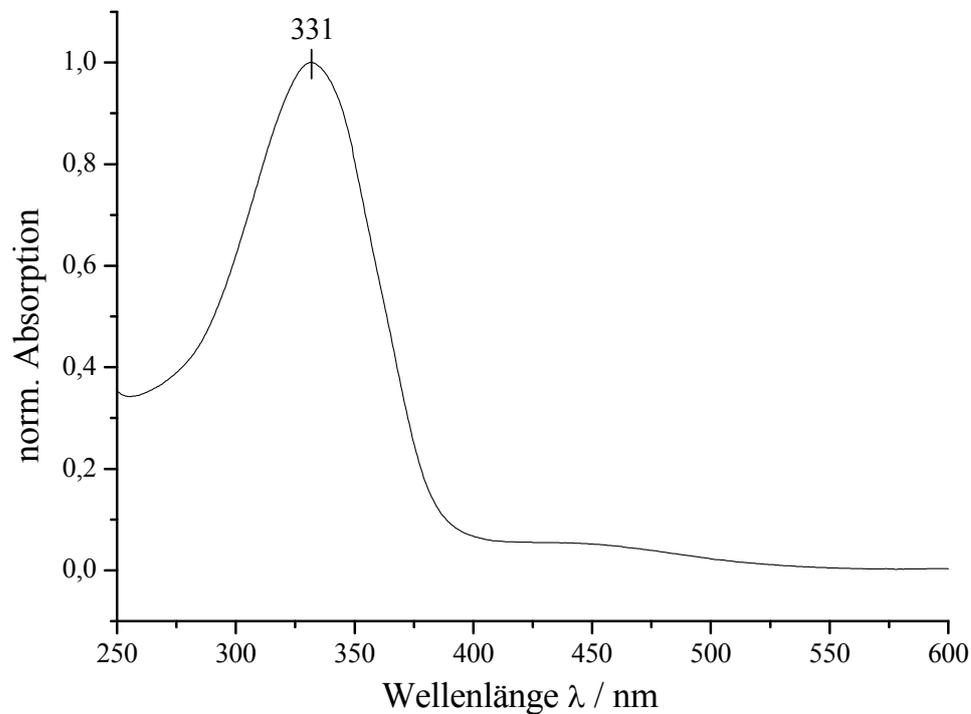


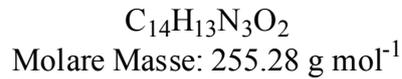
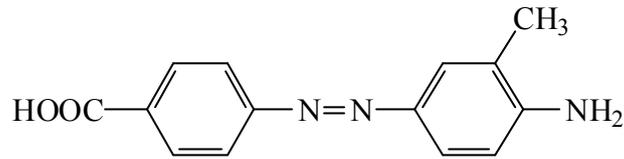
Abbildung 110: UV Spektrum von 4-[(4-Amino-2,3,5,6-tetramethylphenyl)azeryl]benzoesäure

Masse: FAB , meta-Nitrobenzylalkohol

$M/z = 297 M^+$ (1.9 %), $289 (M (-NH_2, -CH_3, + Na))$ (57.2 %), $281 (1.4 \%) (M -NH_2)$, $266 (1.5 \%) (M (-NH_2, -CH_3))$, $252 (1.4 \%) (M -COOH)$, $175 (1.5 \%) (M -Ar-COOH)$, $149 (11.7 \%) (N=N-Ar-COOH)$, $148 (3.0 \%) (Ar(CH_3)_4NH_2)$ und $121 (5.5 \%) (Ar-COOH)$.

4.2.8 Synthese von 4-[(4-Amino-3-methylphenyl)azeryl]benzoesäure 46

Versuch 07:



20.00 g (0.50 mol) Natriumhydroxid werden in 125 ml dest. Wasser gelöst. Anschließend werden 2.00 g (9.00 mmol) 2,5-Diaminotoluol und 0.75 g (4.50 mmol) 4-Nitrobenzoesäure hinzugegeben.

Die Lösung wird nun für 6 h unter Rückfluss erhitzt.

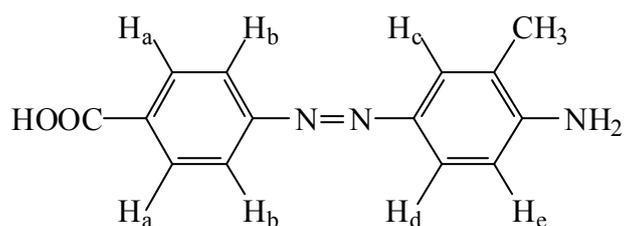
Danach lässt man die Lösung auf Raumtemperatur abkühlen. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert, und getrocknet.

Man kocht das Rohprodukt mit Ethanol auf, um die Verunreinigungen in Lösung zu bringen. Der Feststoff wird abfiltriert und getrocknet.

Das Produkt ist in DMSO- d_6 und Methanol- d_4 sehr schwer löslich, und in den Lösungsmitteln kaum zugänglich für die NMR-Spektroskopie.

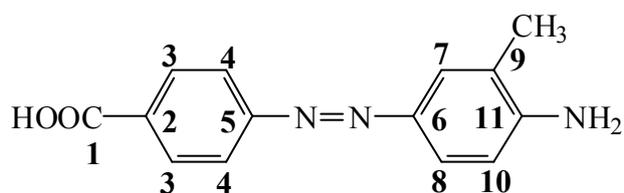
Experimentalteil

¹H-NMR: 500 MHz, DMSO-d₆



¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆): δ = 2.20 (s, 3 H, CH₃), 6.00 (s, 2 H, NH₂), 6.70 (d, ³J_{e,d} = 8.51 Hz, 1 H, H_e), 7.57 (s, 1 H, H_c), 7.60 (d, ³J_{d,e} = 8.51 Hz, 1 H, H_d), 8.06 (m, N_{a,b} = 8.82 Hz, 2 H, H_a), 8.13 (m, N_{b,a} = 8.82 Hz, 2 H, H_b) ppm.

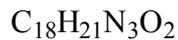
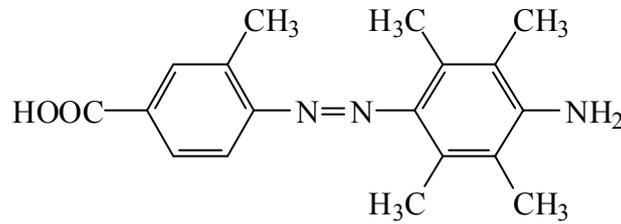
¹³C-¹H-NMR: 125 MHz, d₆-DMSO



δ (125 MHz, d₆-DMSO): δ = 166.22 (1), 158.22 (5), 147.79 (11), 142.24 (6), 130.30 (2), 129.63 (3), 128.81 (9), 123.64 (7), 123.55 (4), 120.19 (8), 113.21 (10), 13.94 (CH₃) ppm.

4.2.9 Synthese von 4-[(4-Amino-2-methylphenyl)azeryl]-2,3,5,6-tetramethylbenzoesäure 48

Versuch 08:



Molare Masse: $311.38 \text{ g mol}^{-1}$

15.00 g (0.375 mol) Natriumhydroxid werden in 125 ml dest. Wasser gelöst. Anschließend werden 3.00 g (0.022 mol) 3-Methyl-4-nitrobenzoesäure und 7.25 g (0.044 mol) 1,4-Diamino-2,3,5,6-Tetramethylbenzol hinzugegeben.

Die Lösung wird nun für 6 h unter Rückfluss erhitzt.

Danach lässt man die Lösung auf Raumtemperatur abkühlen. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert.

Man kocht das Rohprodukt mit Ethanol auf, um die Verunreinigungen in Lösung zu bringen.

Der Feststoff wird abfiltriert und getrocknet.

Es konnte nur ein UV-Spektrum von der Substanz aufgenommen werden.

Experimentalteil

UV-Spektrum: in Methanol/Wasser (1:1):

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$
402	8400

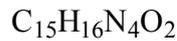
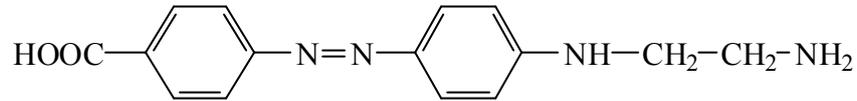
UV-Spektrum: in Wasser:

Wellenlänge λ / nm	Extinktionskoeffizient $\epsilon / \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$
385	10600

Aus den erhaltenen Extinktionswerten lässt sich eine Reinheit von ca. 50 % abschätzen.

4.2.10 Synthese von 4-{{4-(2-Aminoethylamino)phenyl}azeryl}-benzoesäure

Versuch 09:



Molare Masse: 284.32 g mol⁻¹

0.50 g (1.7 mmol) 4-{{4-(2-Aminoacetamid)phenyl}azeryl}benzoesäure werden in 30 ml Tetrahydrofuran abs. gelöst. Dann gibt man portionsweise 0.15 g (3.9 mmol) Lithiumaluminiumhydrid hinzu.

Nach beendeter Zugabe wird die Lösung für 16 h unter Rückfluss erhitzt.

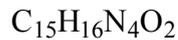
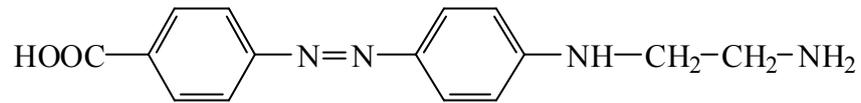
Die Reaktionsmischung wird dann auf 0 °C abgekühlt, und es wird vorsichtig 5 ml dest. Wasser hydrolysiert. Anschließend wird noch 1 ml 15%iger Natronlauge hinzugegeben.

Der entstandene Feststoff wird abfiltriert, und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt, und anschließend noch getrocknet.

Die spektroskopische Analyse durch NMR ergab, dass das gewünschte Produkt nicht entstanden ist. Das erwarteten Signale für die beiden Methylen-Gruppen konnte im NMR nicht gefunden werden.

4.2.11 Synthese von 4-((4-(2-Aminoethylamino)phenyl)azenyl)-benzoesäure

Versuch 10:



Molare Masse: 284.32 g mol⁻¹

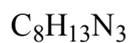
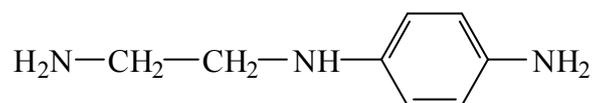
2.500 g (21.00 mmol) 2-Chlorethylaminhydrochlorid und 15.39 g (63.00 mmol) 4-[(4-Aminophenyl)azenyl]benzoesäure in 150 ml Toluol suspendiert und für 15 h zum Rückfluss erhitzt.

Nach beendeter Reaktion filtriert man das Produkt heiß ab und wäscht es noch mal mit 50 ml Toluol. Bei dem ausgefallenen Feststoff handelt es sich um nicht umgesetztes Edukt (4-Aminoazobenzol-4'-carbonsäure). Die Toluolphase wird unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer eingengt. Das Rohprodukt wird getrocknet.

Die spektroskopische Analyse ergab, dass das gewünschte Produkt nicht entstanden ist.

4.2.12 Synthese von *N*-(2-Aminoethyl)benzene-1,4-diamine

Versuch 11:



Molare Masse: 151.21 g mol⁻¹

2.50 g (21.0 mmol) 2-Chlorethylamin hydrochlorid und 4.47 g (41.0 mmol) 1,4-Diaminobenzol werden in 50 ml Toluol gelöst und für 15 h zum Rückfluss erhitzt.

Nach beendeter Reaktion filtriert man das Rohprodukt ab und wäscht es noch mal mit 50 ml Dichlormethan.

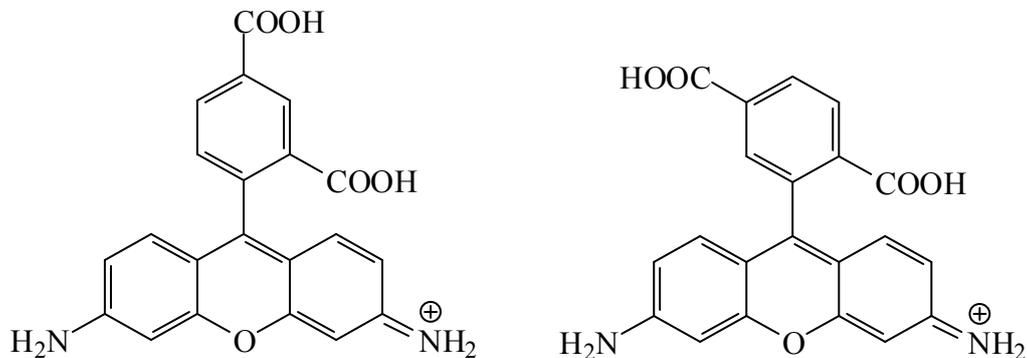
Der Feststoff wird aus Ethanol umkristallisiert und heiß abfiltriert.

Das Produkt wurde nicht erhalten.

4.3 Synthese der Rhodaminderivate

4.3.1 Synthese von Rhodamin Grün (Isomerengemisch)

Versuch Nr. 12:



Molare Masse: 375.36 g mol⁻¹

In einem 50 ml Einhalskolben werden 0.56 g (5.2 mmol) 3-Hydroxyanilin, 1.2 g (6.0 mmol) 1,2,4-Benzoltricarbonsäureanhydrid (1,3-dioxo-1,3-dihydroisobenzofuran-5-carbonsäure) und 0.81 g Zinkchlorid (6.0 mmol) für 2 h auf 180 °C erhitzt. Die abgekühlte Schmelze wird in Ethanol gelöst, der Rückstand wird abfiltriert und das Filtrat wird mit 60 ml 60%iger Perchlorsäure versetzt. Anschließend tropft man die Lösung in 1 l Wasser. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und getrocknet.

Das Rohprodukt wird dann noch HPLC-Säulenchromatographisch aufgereinigt:

Laufmittel: Acetonitril/Wasser : 85/15

Säule: VDSoptilab (250 x 8,0 mm, ODS-Hypersil 5µm)

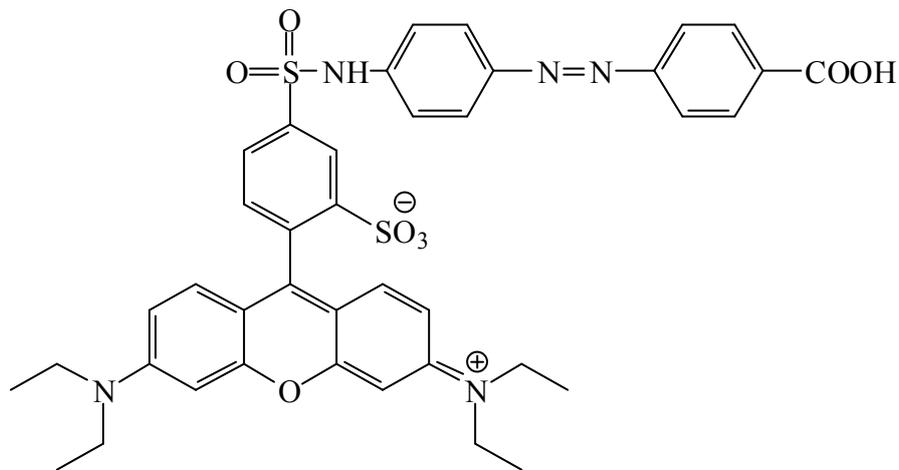
Die Auswertung des HPLC-Chromatogramms ergab, dass eine Aufreinigung des Rohproduktes nicht ohne weitere Maßnahmen möglich ist. Es stellte sich heraus, dass die verschiedenen Fraktionen trotz Variation des Lösungsmittelgemisches (Acetonitril/Wasser) nicht getrennt werden konnten. Man erwartet 2 verschiedene Produkte. Da die Retentionszeit von dem kommerziellen Produkt unter den oben beschriebenen Bedingungen bekannt ist (Retentionszeit 8 min.), sollte eine Trennung des Produktgemisches möglich sein. Es gelang aber nicht einen eindeutigen Peak mit der Retentionszeit von 8 min. zu erhalten, vielmehr wurde ein unstrukturiertes Chromatogramm erhalten (breite Peaks, überlappende Peaks), welches eine eindeutige Auftrennung der Substanzen nicht zuließ.

4.4 Synthese der Kopplungsprodukte

4.4.1 Kopplung Sulforhodamin mit 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure

4.4.1.1 Synthese von 5-(N-{4-[(4-Carboxyphenyl)azeryl]phenyl}sulfamoyl)-2-[3-diethylamino-6-diethyliminium-6*H*-xanthen-9-yl]benzolsulfonat 49

Versuch Nr. 13:



Molare Masse: 781.90 g mol⁻¹

In einem 25 ml Spitzkolben werden 100 mg ($1,73 \cdot 10^{-4}$ mol) Sulforhodaminhydrochlorid in 10 ml Dichlormethan (abs.) gelöst.

Anschließend gibt man 45.0 mg ($1,86 \cdot 10^{-4}$ mol) 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure gelöst in 5 ml Dichlormethan (abs.) hinzu.

Diese Lösung wird für 6 h zum Rückfluss erhitzt.

Die Reaktionsmischung wird dann am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck eingengt und der verbleibende Rückstand wird säulenchromatisch aufgereinigt.

Anschließend werden die Produkte noch auf der HPLC chromatographisch aufgearbeitet.

Laufmittel: Acetonitril/Wasser im Verhältnis 85 zu 15

Säule: VDSoptilab (250 x 8,0 mm, ODS-Hypersil 5µm)

Es waren zwei eindeutige, von einander trennbare Fraktionen, im Chromatogram erkennbar.

Diese wurden getrennt gesammelt und analysiert.

Experimentalteil

Man erhält folgende UV/Vis- Spektren, die zeigen, dass zwei Kopplungsprodukte entstanden sind. Dieses ist daran zu erkennen, dass bei den Spektren V13_Kopplungsp. 01 und V13_Kopplungsp. 02 sowohl das Maximum für Sulforhodamin ($\lambda_{\max} = 564 \text{ nm}$) wie auch das Maximum für die 4-[(4-Aminophenyl)azeryl]benzoesäure ($\lambda_{\max} = 353 \text{ nm}$) erkennbar ist. Diese beiden Spektren setzen sich additiv aus beiden Einzelspektren zusammen. Zum Vergleich ist noch das UV Spektrum des Eduktes (Sulforhodamin B) abgebildet.

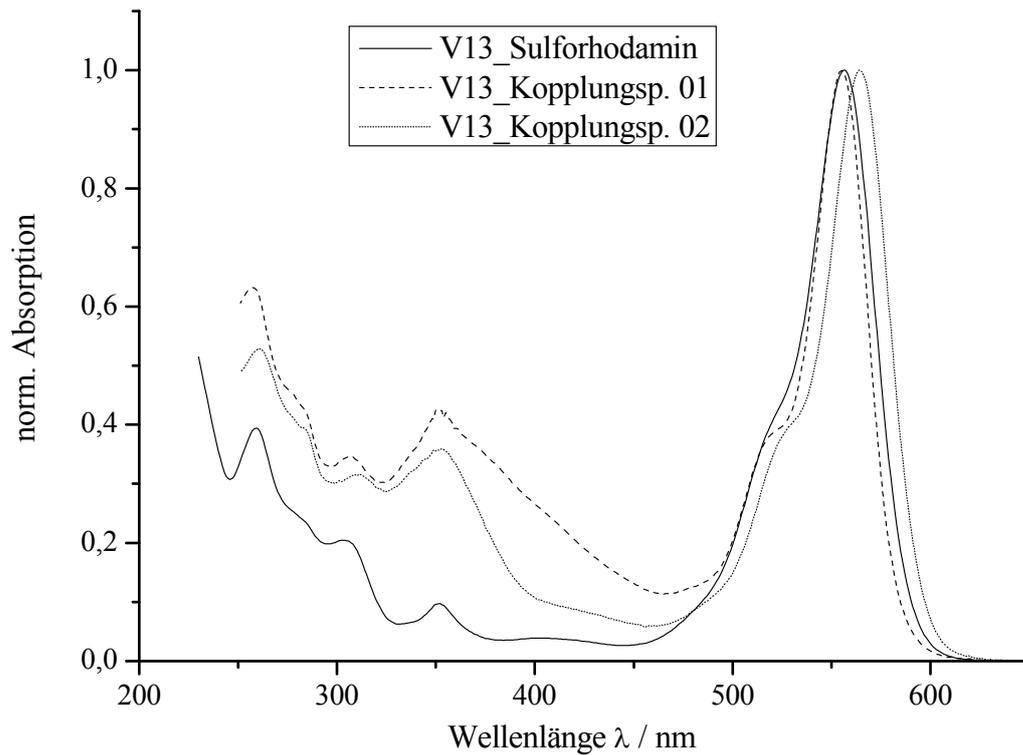
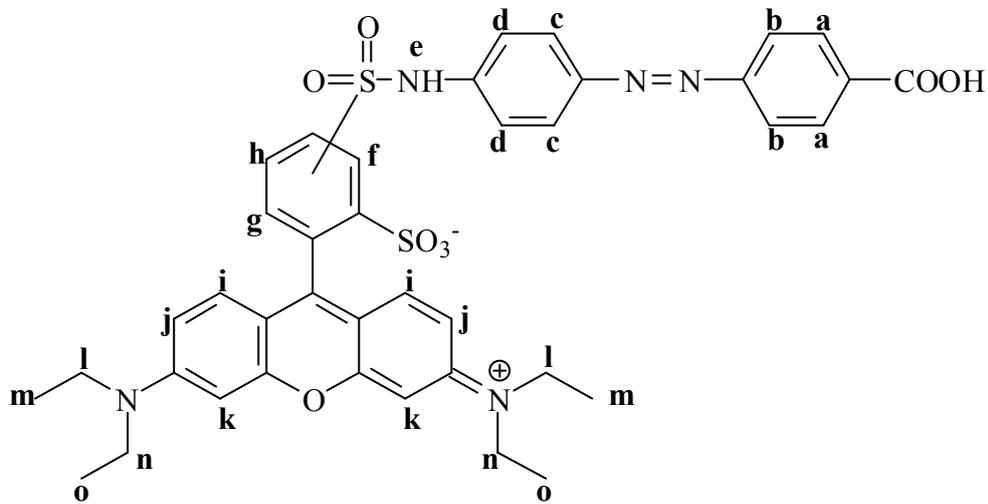


Abbildung 111: normierte UV Spektren der gesammelten Fraktionen

Von dem Produkt konnte nur ein Rohprodukt-Spektrum aufgenommen werden:

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO-d_6



$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6):

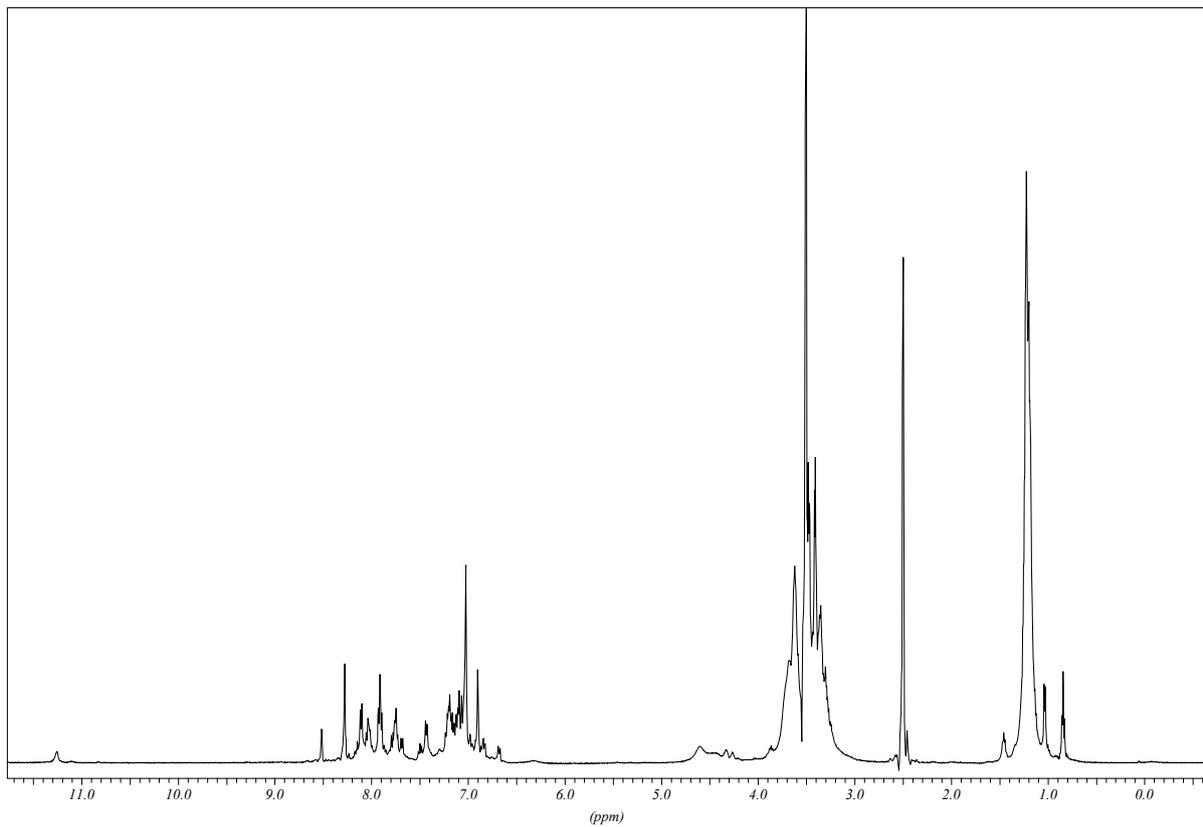
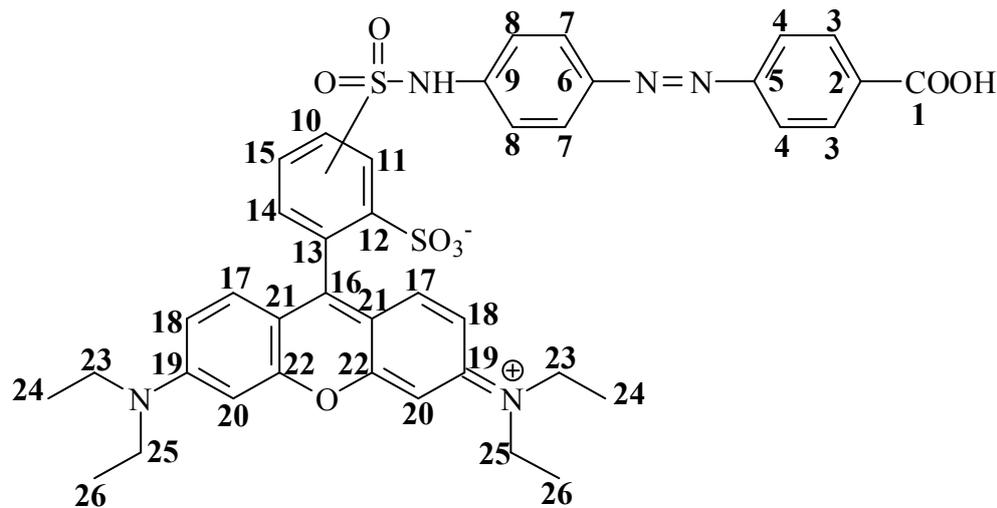


Abbildung 112: $^1\text{H NMR}$ des Kopplungsproduktes in DMSO-d_6

Experimentalteil

$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR : 125 MHz, DMSO- d_6



^{13}C NMR (125 MHz, DMSO- d_6):

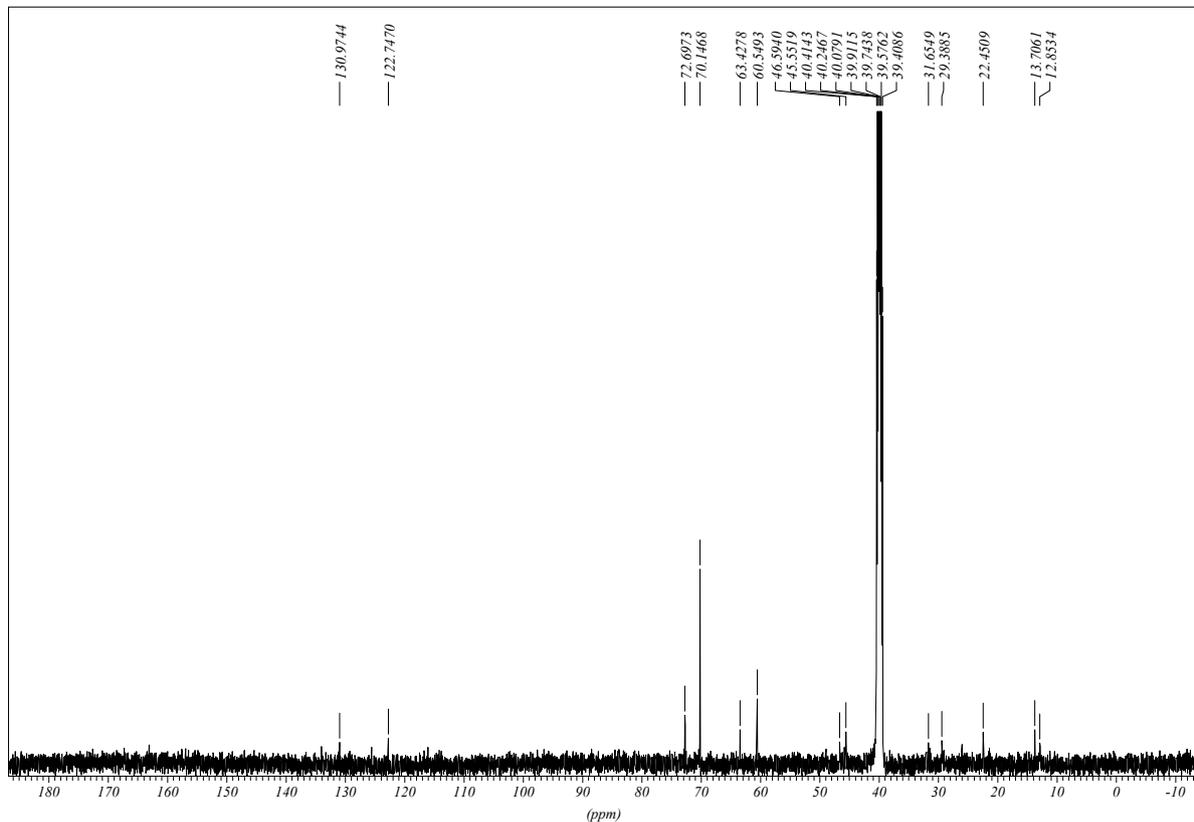


Abbildung 113: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR des Kopplungsproduktes in DMSO- d_6

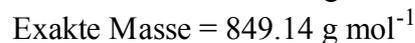
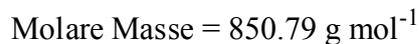
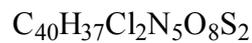
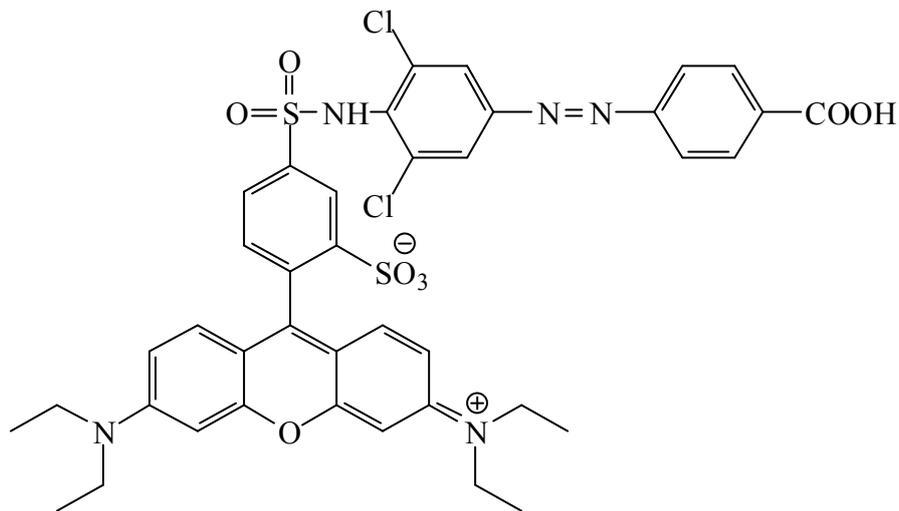
Masse: FAB (+ *meta*-Nitrobenzylalkohol)

$M/z = 781 \text{ M}^+$ (1.3 %), 723 (1.9 %) ($\text{M} - (\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$), 679 (3.4 %) ($\text{M} - (\text{COOH}, \text{SO}_3^-) + \text{Na}$), 591 ($\text{M} - (\text{SO}_3, -\text{N}-\text{Ar}-\text{COOH}) + \text{Na}$) (5.5 %), 561 (6.7 %) ($\text{M} - (\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2, \text{N}_2-\text{Ar}-\text{COOH})$), 473 (8.1 %), 415 (5.6 %), 401 ($\text{F}^+ + \text{Na}$) (4.0 %), 307 (100 %), 273 (+ Na) (9.3 %) und 242 ($\text{F}^+ + \text{Na}$) (7.5 %).

4.4.2 Kopplung Sulforhodamin mit 4-[(4-amino-3,5-dichlorphenyl)azenyl]benzoesäure

4.4.2.1 Synthese von 5-(N-{4-[(4-Carboxyphenyl)azenyl]-2,6-dichlorphenyl}-sulfamoyl-2-(3-diethylamino)-6-(diethyliminium)-6H-xanthen-9-yl)benzolsulfonat 50

Versuch Nr.14:



In einem 25 ml Spitzkolben werden 100 mg ($1,73 \cdot 10^{-4}$ mol) Sulforhodaminhydrochlorid und 55.0 mg ($1,77 \cdot 10^{-4}$ mol) 4-[(4-Amino-3,5-dichlorphenyl)azenyl]benzoesäure in 15 ml Dichlormethan (abs.) gelöst.

Diese Lösung wird für 6 h zum Rückfluss erhitzt.

Die Reaktionsmischung wird dann am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck eingengt und der verbleibende Rückstand wird säulenchromatisch aufgereinigt

Laufmittel: Acetonitril/Wasser im Verhältnis 85 % zu 15 %.

Säule: VDSoptilab (250 x 8,0 mm, ODS-Hypersil 5 μ m)

Experimentalteil

Wenn man von den so erhaltenen Fraktionen ein UV-Spektrum aufnimmt, so ergibt sich folgendes normiertes Spektrum. Zum besseren Vergleich wurden noch die Absorptionsspektren der Edukte in dem Spektrum abgebildet.

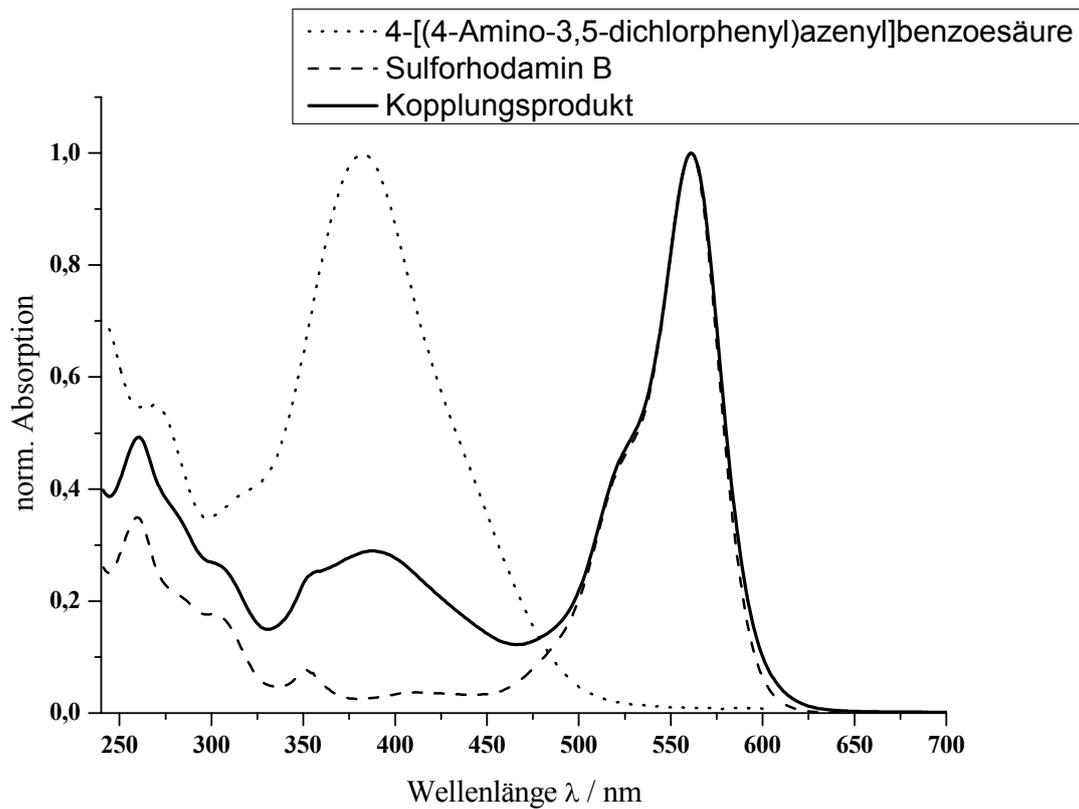
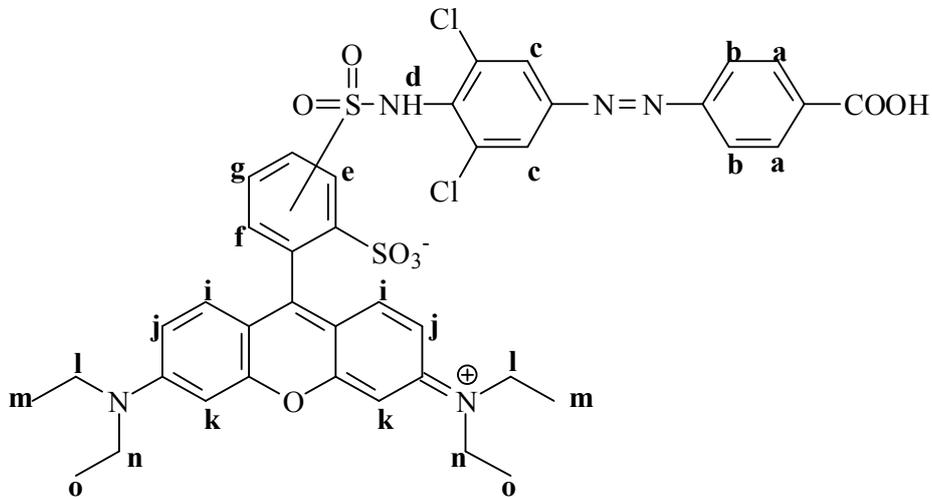


Abbildung 114: normierte UV-Spektren der Edukte und des Kopplungsproduktes

Bei den nachfolgenden Spektren handelt es sich um Rohprodukt-Spektren.

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, DMSO-d_6



$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, DMSO-d_6):

$\delta = 8.07$ (m, $N_{a,b} = 8.51$ Hz, 2 H, H_a), 7.83 (m, $N_{b,a} = 8.19$ Hz, 2 H, H_b), 8.29 (s, 1H, H_c) ppm.

Weitere Zuordnungen können leider nicht eindeutig vorgenommen werden. Erfolgte Zuordnung siehe ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ -NMR-Spektrum (Tabelle 69 und Tabelle 70)

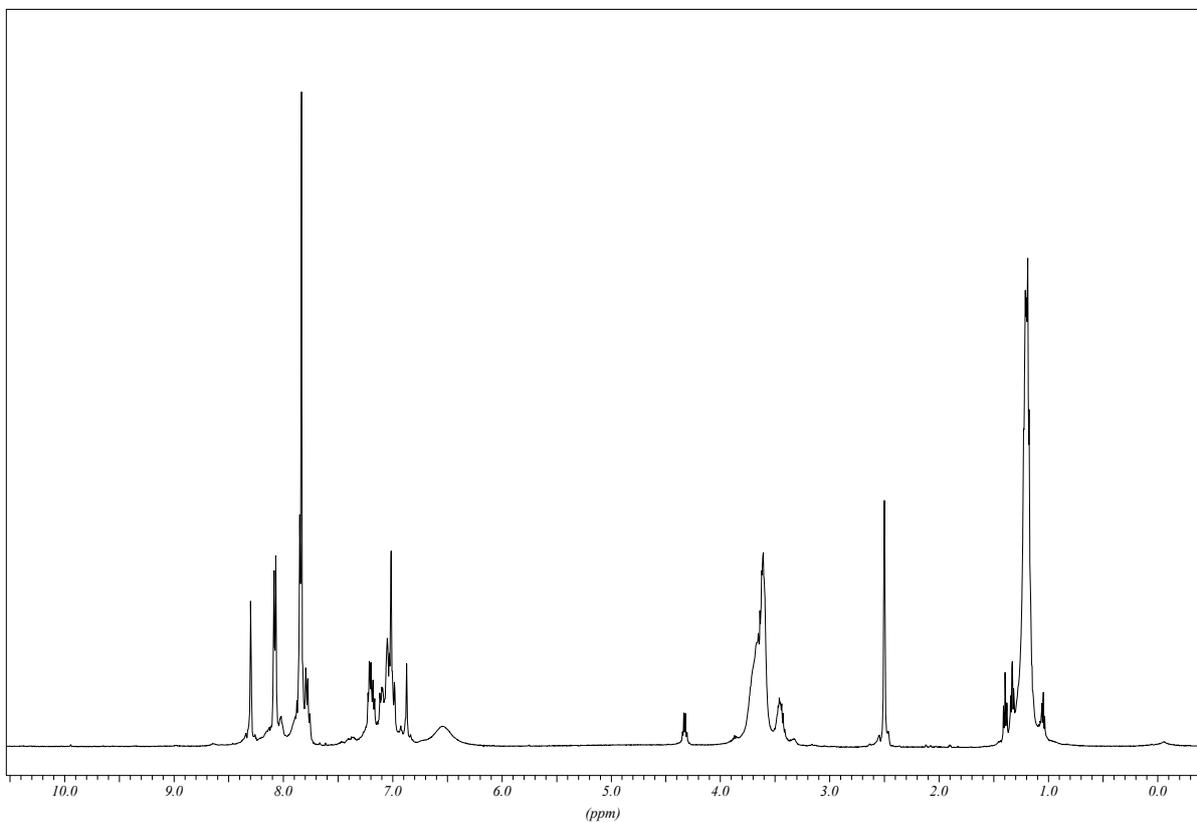
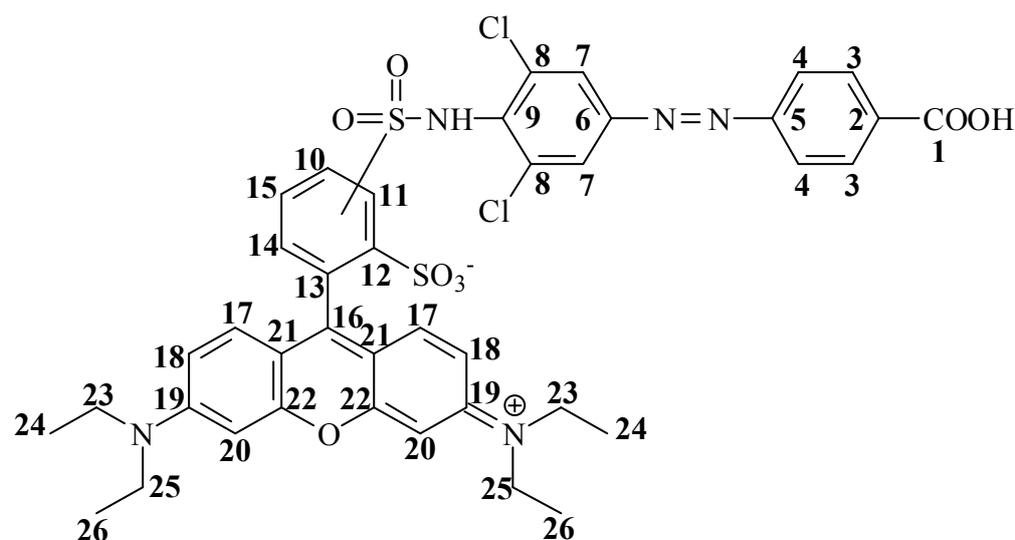


Abbildung 115: $^1\text{H NMR}$ von 5-(*N*-{4-[(4-Carboxyphenyl)azeryl]-2,6-dichlorophenyl}-sulfamoyl)-2-(3-diethylamino)-6-(diethyliminium)-6*H*-xanthen-9-yl)benzolsulfonat in DMSO-d_6

Experimentalteil

$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR : 125 MHz, d_6 -DMSO



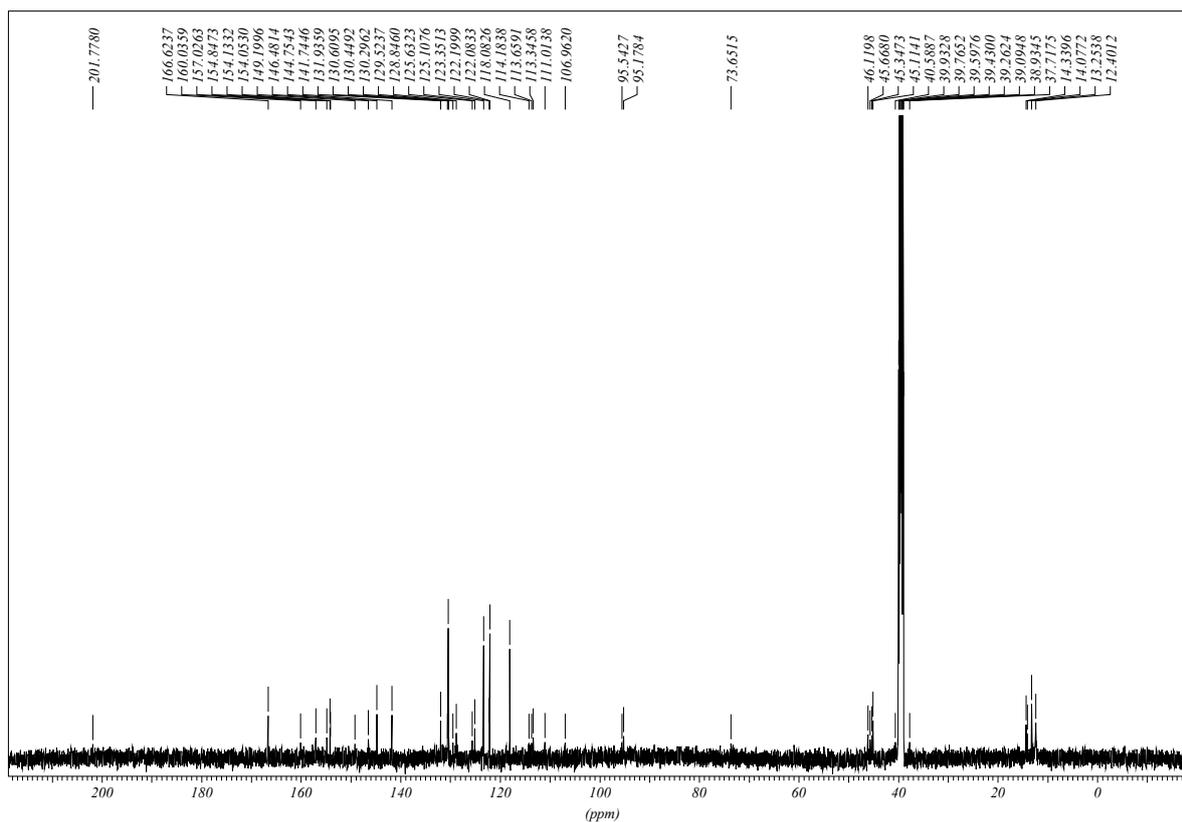
$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, DMSO-d_6):

Tabelle 69: Zuordnung der $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR Daten für V 14, Teil 1

Chemische Verschiebung δ / ppm	Zuordnung Atom Nr.	Koppelt mit
166.62	1	
157.02	5	
154.84	22	
154.13	19	
146.48	9	
144.75	6	
141.74	2	
139.07	10	
135.58	12	
131.93	15	C-H-Kopplung mit 7.03 ppm (H_g)
130.60	13	
130.44	3	C-H-Kopplung mit 8.07 ppm (H_a)
130.29	16	
128.84	21	
125.63	17	C-H-Kopplung mit 7.77 ppm (H_i)
125.10	14	C-H-Kopplung mit 8.29 ppm (H_f)
123.35	7	C-H-Kopplung mit 8.29 ppm (H_c)
122.19	11	C-H-Kopplung mit 7.84 ppm (H_e)

Tabelle 70: Zuordnung der ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ -NMR Daten für V 14, Teil 2

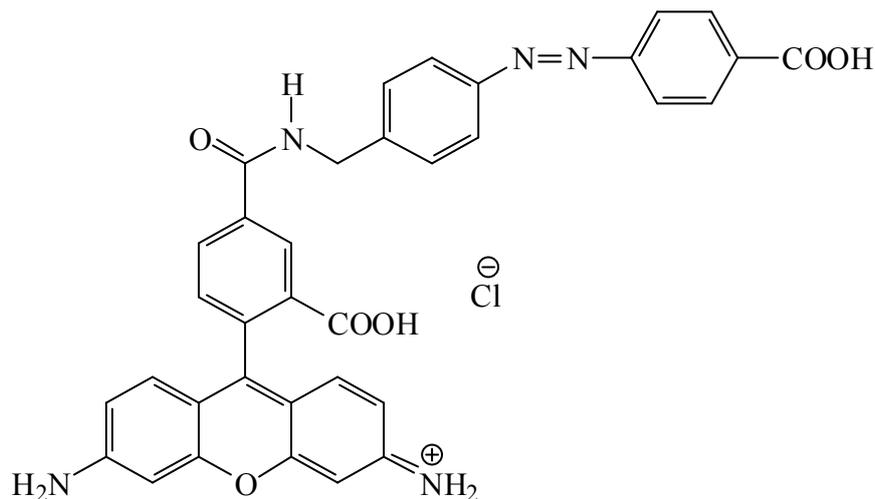
Chemische Verschiebung δ / ppm	Zuordnung Atom Num.	Koppelt mit
122.08	4	C-H-Kopplung mit 7.83 ppm (H_b)
118.08	8	
113.34	18	C-H-Kopplung mit 7.01 ppm (H_j)
95.17	20	C-H-Kopplung mit 6.98 ppm (H_k)
46.11	23	C-H-Kopplung mit 3.60 ppm (H_l)
45.11	25	C-H-Kopplung mit 3.60 ppm (H_n)
14.33	24	C-H-Kopplung mit 1.20 ppm (H_m)
13.25	26	C-H-Kopplung mit 1.20 ppm (H_o)


 Abbildung 116: ^{13}C - $\{^1\text{H}\}$ -NMR von 5-(N-{4-[(4-Carboxyphenyl)azeryl]-2,6-dichlorophenyl}-sulfamoyl-2-(3-diethylamino)-6-(diethyliminium)-6H-xanthen-9-yl)benzolsulfonat in DMSO-d_6

4.4.3 Kopplung Rhodamin Grün mit 4-{[4-(Aminomethyl)phenyl]azeryl}-benzoesäure

4.4.3.1 Synthese von 6-Amino-9-(2-carboxy-4-{4-[(4-carboxyphenyl)diazenyl]-benzylcarbamoil}phenyl)-3H-xanthen-3-iminiumchlorid

Versuch Nr. 15:



Molare Masse: 648.07 g mol⁻¹

In einem 100 ml Braunglas-2-Halskolben werden 90.0 mg ($1.90 \cdot 10^{-4}$ mol) Rhodamin Grün und 40 ml (65,6 mg, $5,50 \cdot 10^{-4}$ mol) Thionylchlorid für 10 h zum Rückfluss erhitzt.

Nach Abkühlen der Reaktion auf Raumtemperatur wird das Thionylchlorid entfernt, und der Feststoff wird in 40 ml Methylchlorid abs. gelöst. Dann werden noch 50.0 mg ($1.95 \cdot 10^{-4}$ mol) 4-{[4-(Aminomethyl)phenyl]azeryl}benzoesäure gelöst in 5 ml Methylchlorid abs. hinzugegeben. Diese Reaktionsmischung wird nun für 10 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion wird das Lösungsmittel entfernt, und das Rohprodukt wird in dest. Wasser gelöst. Der Feststoff wird abfiltriert und das Filtrat wird die säulenchromatographisch gereinigt.

Ausbeute:

nach der ersten Säule: 4.11 mg (Rohprodukt)

nach der zweiten Säule: 3.26 mg Ausbeute (Reinprodukt, 5.03 μ mol, 2.65 %)

Laufmittel: Methanol / Wasser: 50 / 50

Säulenmaterial: YMC ODS-AQ, 12 nm, S-50 µm

Dabei sind zwei Fraktionen (gelb) zu erkennen. (Rhodamin Grün)

Der in Wasser nicht lösliche Rückstand wird mit Methanol aufgenommen und wie oben beschrieben säulenchromatographisch aufgearbeitet.

Laufmittel: Methanol / Wasser: 50 / 50

Säulenmaterial: YMC ODS-AQ, 12 nm, S-50 µm

Das Produkt wird über die ODS-AQ Säule filtriert, es wird mit Methanol von der Säule gewaschen.

Die Fraktion mit dem Produkt ist orange.

Auf Grund der geringen Ausbeute konnte von dem Produkt nur ein Maldi-Spektrum aufgenommen werden.

Masse: Maldi

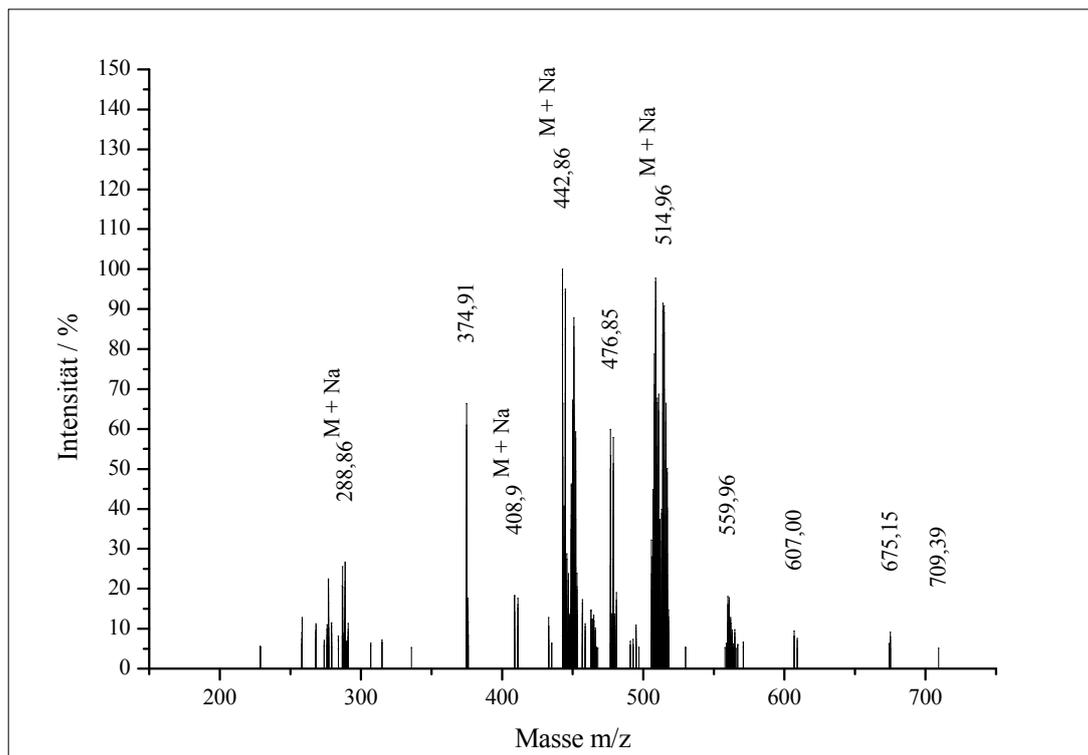
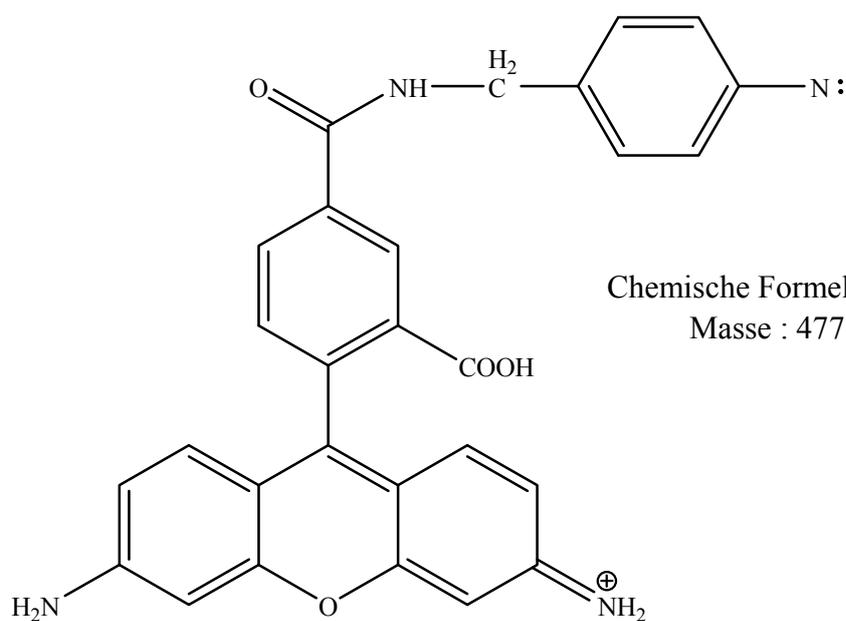


Abbildung 117: Maldi Spektrum von 6-Amino-9-(2-carboxy-4-{4-[(4-carboxyphenyl)diazenyl]-benzylcarbamoyl}phenyl)-3H-xanthen-3-iminiumchlorid

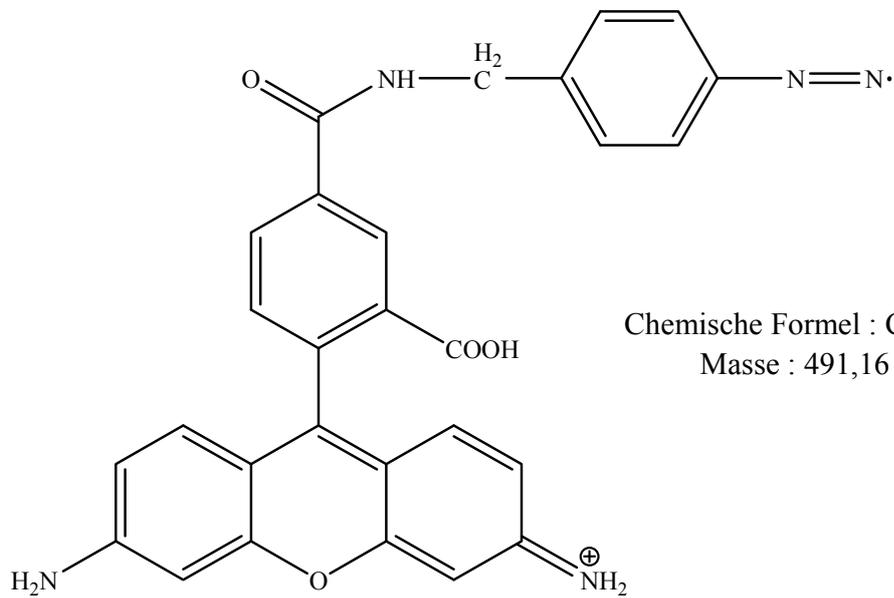
Fragment:

m/z = 476,85 (60 %):



$m/z = 514,96 (F^+ + Na)$

$= 491,17 (90 \%)$

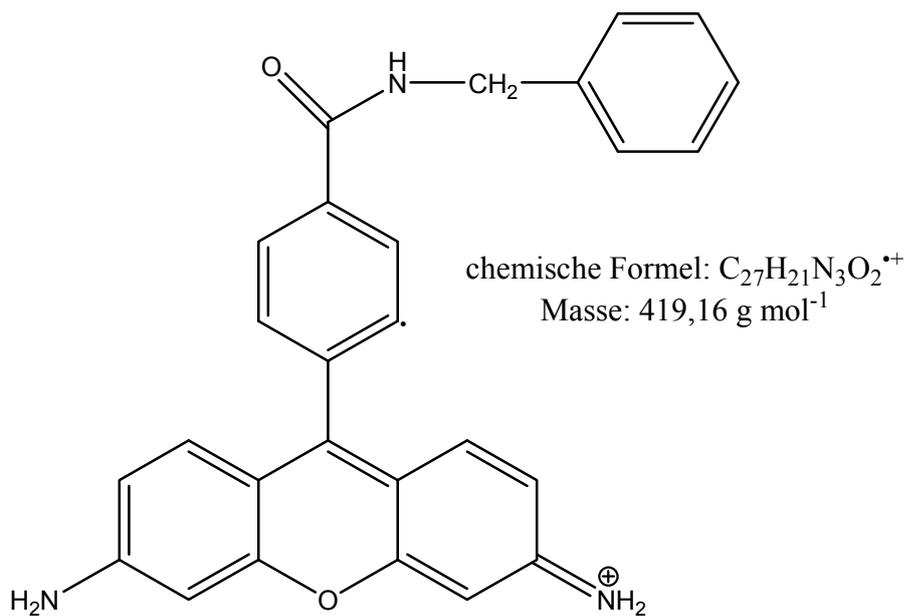


Chemische Formel : $C_{28}H_{21}N_5O_4^{*+}$

Masse : $491,16 \text{ g mol}^{-1}$

$m/z = 442,86 (F^+ + Na)$

$= 419,87 (100 \%)$



chemische Formel: $C_{27}H_{21}N_3O_2^{*+}$

Masse: $419,16 \text{ g mol}^{-1}$

UV-Spektrum:

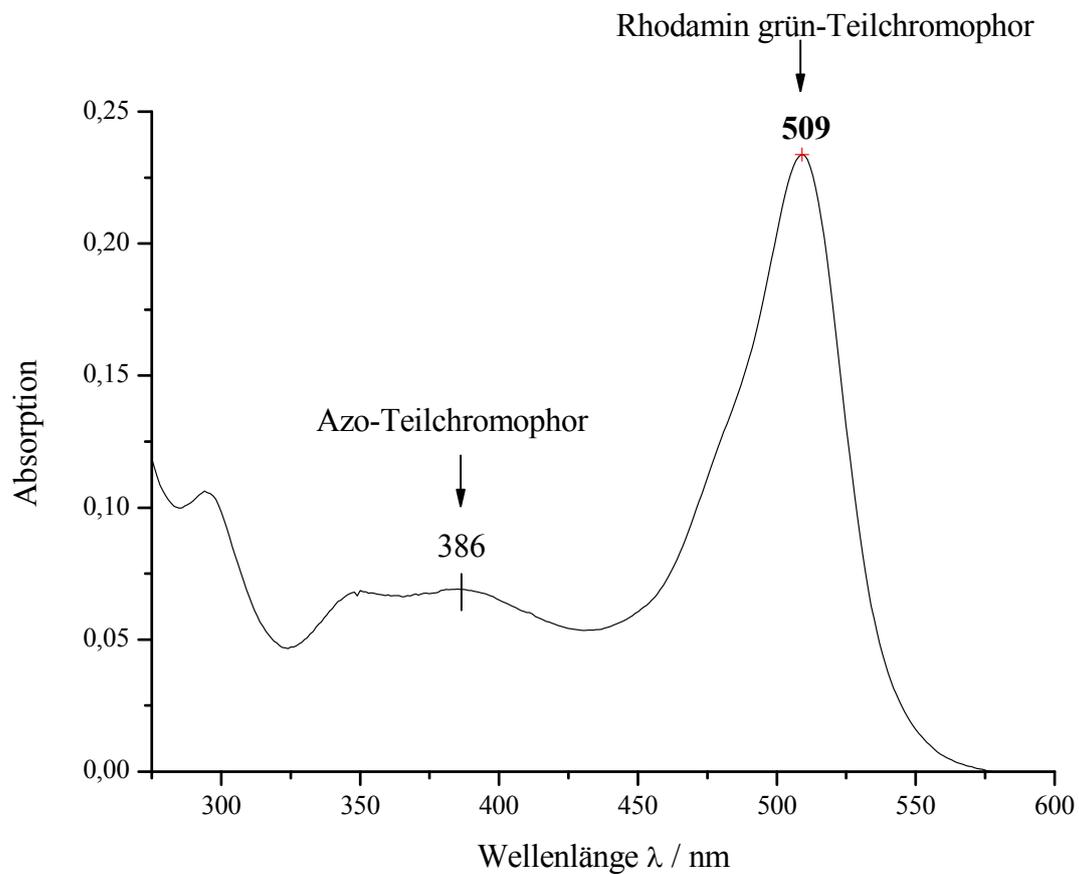
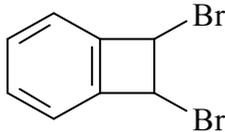


Abbildung 118: UV Spektrum von 6-amino-9-(2-Carboxy-4-{4-(4-carboxyphenyl)diazenyl}-benzylcarbamoyl}phenyl)-3H-xanthen-3-iminiumchlorid

4.5 Synthese der Cyclooctatetraenderivate

4.5.1 Synthese von 1,2-Dibrom-1,2-dihydrocyclobutabenzol 26

Versuch Nr. 16:



Molare Masse : 261.94 g mol⁻¹

In einem 250 ml Dreihalskolben werden 5.0 g (48 mmol) Cyclooctatetraen in 80 ml Dichlormethan abs. gelöst, und die Lösung wird dann auf -65 °C unter Stickstoffatmosphäre abgekühlt. Dann wird innerhalb 1 h 7.93 g (49.6 mmol) Brom gelöst in 20 ml Dichlormethan abs. hinzugegeben, wobei die Innentemperatur nicht über -60 °C steigen sollte. Nach beendeter Zugabe wird die Lösung noch für 1 h bei -60 °C gerührt.

Unter Stickstoffatmosphäre gibt man nun in einem Zeitraum von 4 h 7.69 g (68.5 mmol) Kalium-*tert.*-butylat hinzu, wobei die Innentemperatur nicht über -60 °C steigen darf.

Anschließend wird die Lösung noch für 6 h bei -45 °C gerührt, danach lässt man das Reaktionsgemisch langsam auf -10 °C auftauen.

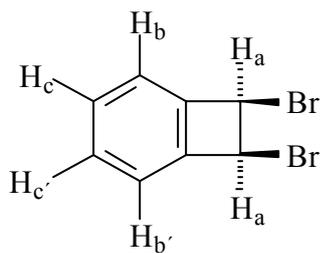
Das Reaktionsgemisch wird dann in 75 ml Eiswasser (mit 1.25 ml Eisessig versetzt) gegossen und mit 2.5 g Magnesiumsulfat versetzt. Die organische Phase wird abgetrennt, und die wässrige Phase wird mit Natriumchlorid gesättigt.

Die wässrige Phase wird dann noch 5-mal mit je 50 ml Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird dann noch über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Trockenmittel wird abfiltriert, das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt, und zum Schluss wird das Rohprodukt noch fraktioniert destilliert (Siedepunkt: 68° C bei 1*10⁻³ mbar).

Das Produkt ist ein leicht gelber Feststoff.

Experimentaltteil

$^1\text{H-NMR}$: 500 MHz, CDCl_3



$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): $\delta = 5.44$ (s, 2H, H_a), 7.23 (dd, 2 H, $^3J_{\text{H}_c, \text{H}_b} = 5.35$ Hz, $^4J_{\text{H}_b', \text{H}_c} = 2.83$ Hz, H_c), 7.44 (dd, 2 H, $^3J_{\text{H}_b, \text{H}_c} = 5.35$ Hz, $^4J_{\text{H}_b, \text{H}_c'} = 2.83$ Hz, H_b) ppm.

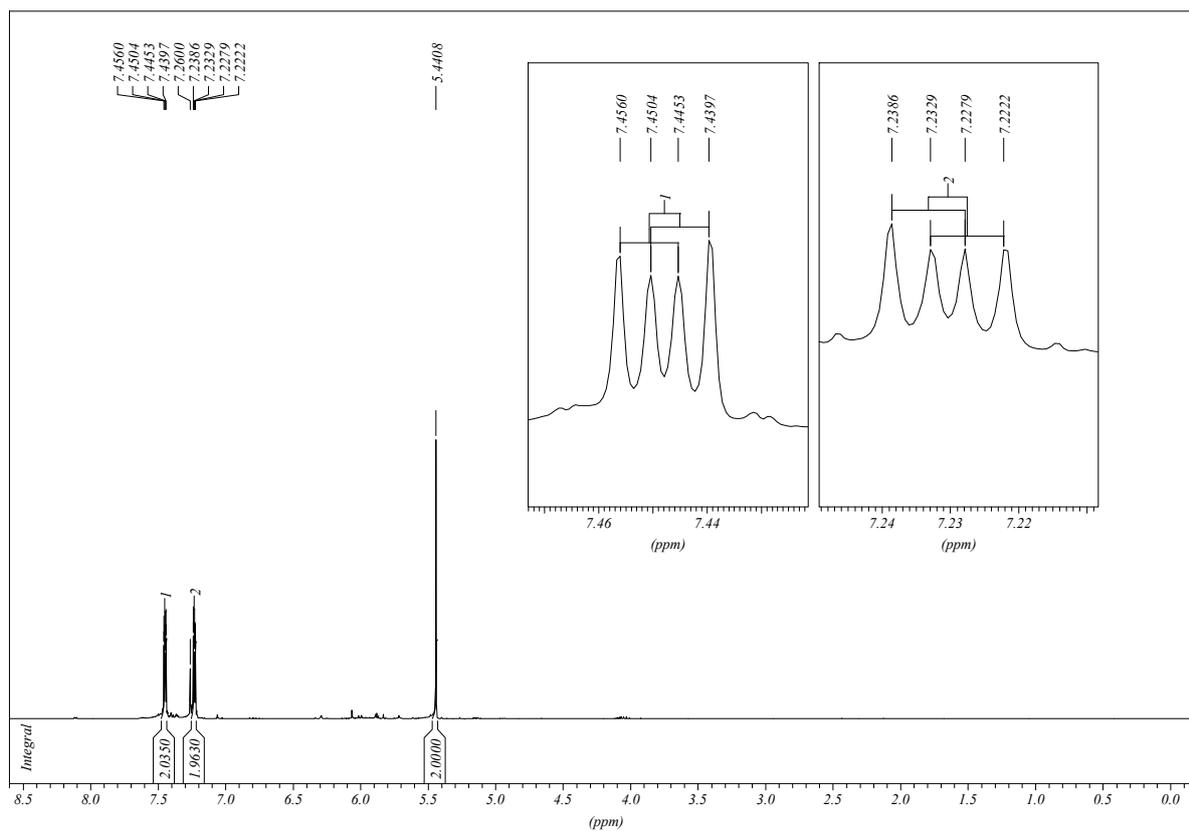
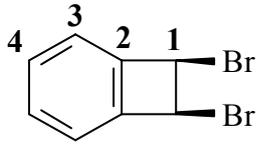


Abbildung 119: $^1\text{H-NMR}$ von 1,2-Dibrom-1,2-dihydrocyclobutabenzol in CDCl_3

$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR: 125 MHz, CDCl_3



$^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR (125 MHz, CDCl_3): $\delta = 142.28$ (2), 131.46 (4), 123.12 (3), 49.77 (1) ppm.

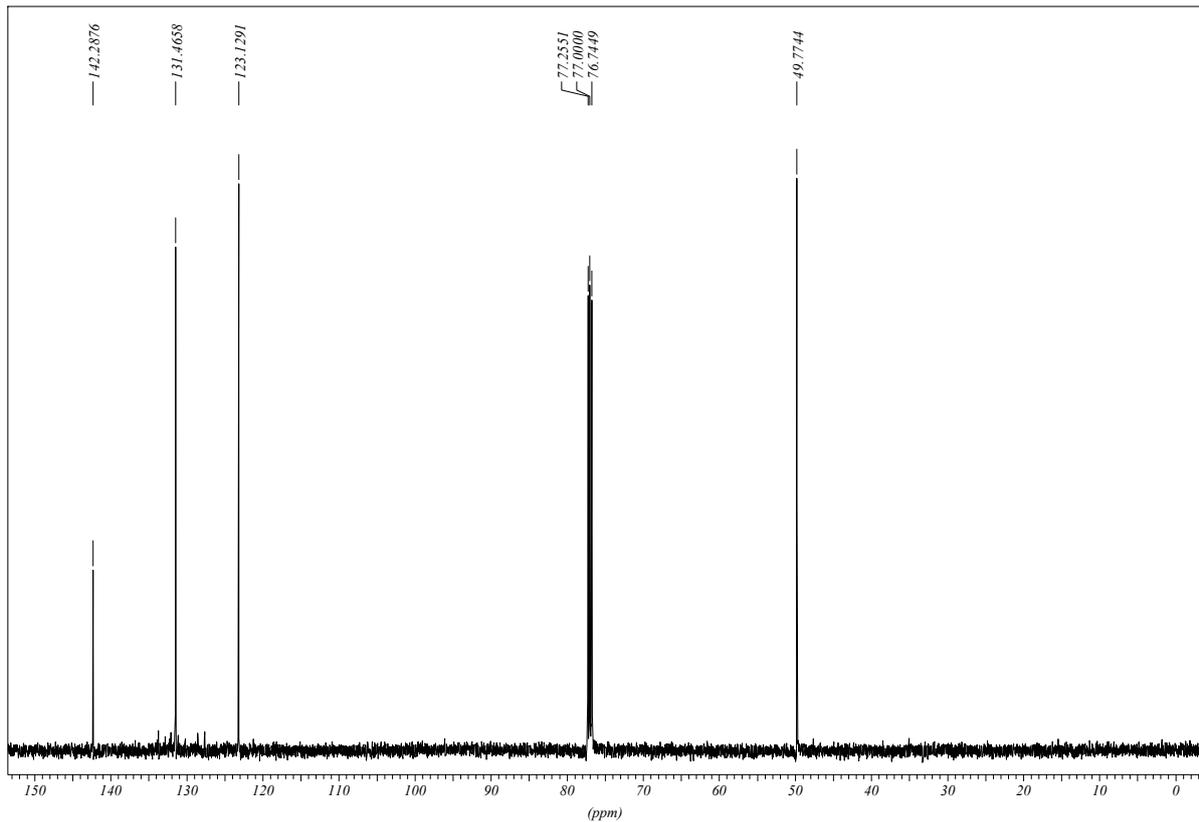


Abbildung 120: $^{13}\text{C}\{-^1\text{H}\}$ -NMR von 1,2-Dibrom-1,2-dihydrocyclobutabenzol in CDCl_3

5 Danksagung

Ich bedanke mich bei Herrn Klaus Schaper für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis und für das Verständnis, das er in einer für mich schweren Zeit aufgebracht hat.

Ich danke Herrn Dr. Suren Felekyan für die gute Zusammenarbeit während der Voruntersuchungen, und Frau Dipl. Chem. Daniela Pfiffi für die Analyse der Azobenzole als additiven Zusatz.

Für die Aufnahme der NMR-Spektren möchte ich mich bei Peter Behm, und für die Aufnahme der Massenspektren bei Dr. Peter Tommes und Ralf Bürgel bedanken.

Ich danke meinem Laborkollegen Herrn Dipl. Chem. Holger Tüllmann für die gute Zusammenarbeit in der ganzen Zeit.

Und ich danke meinen Eltern, die mir das Studium ermöglicht haben, und mich immer unterstützt haben.

6 Literaturverzeichnis

- [1] J. Auernheimer, C. Dahmen, U. Hersel, A. Bausch, H. Kessler, *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127*, 16107.
- [2] H. G. O. Becker, W. Berger, G. Domschke, *Organikum*, Wiley-VCH, **2004**.
- [3] A. T. Blomquist, C. G. Bottomley, *Annalen Der Chemie-Justus Liebig* **1962**, *653*, 67.
- [4] G. Boche, R. Huisgen, *Tetrahedron Letters* **1965**, 1775.
- [5] H. H. Bosshard, R. Mory, M. Schmid, H. Zollinger, *Helvetica Chimica Acta* **1959**, *42*, 1653.
- [6] J. H. Bowie, G. E. Lewis, R. G. Cooks, *Journal of the Chemical Society B-Physical Organic* **1967**, 621.
- [7] A. Cembran, F. Bernardi, M. Garavelli, L. Gagliardi, G. Orlandi, *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 3234.
- [8] H. R. Christen, F. Vögtle, *Organische Chemie*, Diesterweg, **1994**.
- [9] M. A. Cooper, S. L. Manatt, *Journal of the American Chemical Society* **1970**, *92*, 1605.
- [10] C. R. Crecca, A. Roitberg, *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* **2006**, 231.
- [11] C. R. Crecca, A. E. Roitberg, *Journal of Physical Chemistry A* **2006**, *110*, 8188.
- [12] D. L. Dexter, *Journal of Chemical Physics* **1953**, *21*, 836.
- [13] L. Echegoyen, R. Maldonado, J. Nieves, A. Alegria, *Journal of the American Chemical Society* **1984**, *106*, 7692.
- [14] M. Ehrenber, R. Rigler, *Chemical Physics* **1974**, *4*, 390.
- [15] E. L. Elson, D. Magde, *Biopolymers* **1974**, *13*, 1.
- [16] J. H. Falbe, M. H. Regnitz, *Römpe Chemie Lexikon*, Thieme Verlag Stuttgart, 1995.
- [17] J. H. B. i. H. Feuer, *The chemistry of the nitro and nitroso group*, Wiley NY, **1969**.
- [18] T. Förster, *Annalen der Physik* **1948**, *437*, 55.
- [19] G. Fraenkel, M. J. Mitchell, Y. Asahi, M. P. Cava, *Tetrahedron* **1964**, *20*, 1179.
- [20] L. Gagliardi, G. Orlandi, F. Bernardi, A. Cembran, M. Garavelli, *Theoretical Chemistry Accounts* **2004**, *111*, 363.
- [21] J. Gasteiger, G. E. Gream, R. Huisgen, W. E. Konz, U. Schnegg, *Chemische Berichte-Recueil* **1971**, *104*, 2412.
- [22] G. S. Hartley, *Nature* **1937**, *140*, 281.
- [23] G. S. Hartley, *J. Chem.Soc.* **1938**, 633.
- [24] <http://www.chemie.uni-duesseldorf.de/Forschung/Sfb663>.
- [25] R. Huisgen, G. Boche, *Tetrahedron Letters* **1965**, 1769.
- [26] R. Huisgen, G. Boche, W. Hechtel, H. Huber, *Angewandte Chemie-International Edition* **1966**, *5*, 585.
- [27] I. S. Ioffe, V. F. Otten, *Zhurnal Obsheei Khimii* **1961**, *31*, 1511.

- [28] I. S. Ioffe, V. F. Otten, *Journal of General Chemistry Ussr* **1961**, 31, 1400.
- [29] S. S. Iyengar, H. B. Schlegel, J. M. Millam, G. A. Voth, G. E. Scuseria, M. J. Frisch, *Journal of Chemical Physics* **2001**, 115, 10291.
- [30] A. R. Katritzky, K. Group, <http://ufark12.chem.ufl.edu/>.
- [31] A. R. Katritzky, P. Barczynski, D. L. Ostercamp, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2* **1987**, 969.
- [32] A. R. Katritzky, H. J. Salgado, A. Chermprapai, N. K. Ponkshe, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1982**, 153.
- [33] A. R. Katritzky, Z. Q. Wang, C. M. Marson, R. J. Offerman, A. E. Koziol, G. J. Palenik, *Chemische Berichte-Recueil* **1988**, 121, 999.
- [34] A. Klamt, *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* **1995**, 210, 63.
- [35] F. J. Luque, M. Bachs, C. Aleman, M. Orozco, *Journal of Computational Chemistry* **1996**, 17, 806.
- [36] F. J. Luque, Y. Zhang, C. Aleman, M. Bachs, J. Gao, M. Orozco, *Journal of Physical Chemistry* **1996**, 100, 4269.
- [37] D. Magde, E. L. Elson, W. W. Webb, *Biopolymers* **1974**, 13, 29.
- [38] M. Martynoff, *Bulletin De La Societe Chimique De France* **1951**, 18, 214.
- [39] Michael B. Smith, J. March, *March's advanced organic chemistry: Reactions, Mechanism and Structure*, 5th ed., Wiley-Interscience, **January 15, 2001**.
- [40] Mitscherlich, *Pogg. Ann* **1834**, 32, 224.
- [41] S. Monti, S. Dellonte, P. Bortolus, *Journal of Photochemistry* **1983**, 23, 249.
- [42] S. Monti, E. Gardini, P. Bortolus, E. Amouyal, *Chemical Physics Letters* **1981**, 77, 115.
- [43] S. L. Murov, I. Carmichael, G. L. Hug, *Handbook of Photochemistry*, Second Edition ed., CRC, Marcel Decker, **1993**.
- [44] K. Ogawa, M. Futakami, H. Suzuki, A. Kira, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2* **1988**, 2115.
- [45] G. Orlandi, S. Monti, F. Barigelletti, V. Balzani, *Chemical Physics* **1980**, 52, 313.
- [46] O. G. Peterson, S. A. Tuccio, B. B. Snavely, *Applied Physics Letters* **1970**, 17, 245.
- [47] O. G. Peterson, J. P. Webb, W. C. McColgin, J. H. Eberly, *Journal of Applied Physics* **1971**, 42, 1917.
- [48] R. Rigler, W. Wiegrabe, *Biological Chemistry* **2001**, 382, 353.
- [49] H. Roos, *Chem. Abstr.* **1936**, 30, 46923.
- [50] H. Satzger, *Dissertation Ludwig-Maximilians-Universität München* **2004**.
- [51] Schaper K., S. C., *mit freundlicher Genehmigung*.
- [52] H. B. Schlegel, J. M. Millam, S. S. Iyengar, G. A. Voth, A. D. Daniels, G. E. Scuseria, M. J. Frisch, *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* **2001**, 222, 196.
- [53] H. B. Schlegel, J. M. Millam, S. S. Iyengar, G. A. Voth, A. D. Daniels, G. E. Scuseria, M. J. Frisch, *Journal of Chemical Physics* **2001**, 114, 9758.
- [54] H. Schussler, H. Zahn, *Chemische Berichte-Recueil* **1962**, 95, 1076.

- [55] P. Schwille, *Fluorescence correlation spectroscopy. Theory and applications*, Springer, Berlin, **2001**.
- [56] C. Seidel, *mit freundlicher Genehmigung des Arbeitskreises von Herrn Prof. Seidel*.
- [57] P. J. Stephens, F. J. Devlin, J. R. Cheeseman, M. J. Frisch, *Journal of Physical Chemistry A* **2001**, *105*, 5356.
- [58] J. J. P. Stewart, *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **1990**, *4*, 1.
- [59] W. Thiel, A. A. Voityuk, *Theochem-Journal of Molecular Structure* **1994**, *119*, 141.
- [60] W. Thiel, A. A. Voityuk, *Journal of Physical Chemistry* **1996**, *100*, 616.
- [61] W. Thiel, A. A. Voityuk, *Theoretica Chimica Acta* **1996**, *93*, 315.
- [62] K. P. C. Vollhardt, N. E. Schore, *Organische Chemie*, Wiley-VCH Weinheim, **2000**.
- [63] E. Vowinkel, *Chemische Berichte-Recueil* **1963**, *96*, 1702.
- [64] J. Wachtveitl, T. Nagele, B. Puell, W. Zinth, M. Kruger, S. RudolphBohner, D. Oesterhelt, L. Moroder, *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry* **1997**, *105*, 283.
- [65] F. Weygand, D. Hoffmann, E. Wunsch, *Zeitschrift Fur Naturforschung Part B-Chemie Biochemie Biophysik Biologie Und Verwandten Gebiete* **1966**, *B 21*, 426.
- [66] Y. Zhao, in *China-Canada Bilateral Polymer Symposium*, Tianjin, Peoples R China, **2002**, pp. 621.

7 Anhang

7.1 FCS Messungen der Voruntersuchung^[56]

Tabelle 71: Messdaten der FCS, Teil 1

<u>Name :</u>	<u>Konzentration</u> <u>[mol/l] :</u>	<u>Tau</u> <u>diff./ms</u>		<u>Trip.</u> <u>Ampl.</u>		<u>Tau</u> <u>trip.[ms]</u>		<u>K/</u> <u>cpm</u>	
Rhodamin 123		1,124		0,275		0,0029		74,4	
Rhodamin 123		1,225		0,285		0,003		69	
Azulen	6,83155E-02								
	6,83155E-03							60,9	
	6,83155E-04	0,937	0,8336	0,193	0,7018	0,00168	0,5793	88,9	1,1949
	6,83155E-05	1,081	0,9617	0,254	0,9236	0,00275	0,9483	78,6	1,0565
1,8,9-Trihydroxyanthracen	9,68041E-03								
	9,68041E-04	1,271	1,0376	0,31	1,0877	0,00275	0,9167	19	0,2754
	9,68041E-05	1,165	0,9510	0,298	1,0456	0,0028	0,9333	70	1,0145
	9,68041E-06	1,181	0,9641	0,284	0,9965	0,00297	0,9900	66	0,9565
9-Anthracenaldehyd	1,09799E-01								
	1,09799E-02								
	1,09799E-03								
	1,09799E-04	1,055	0,8612	0,255	0,8947	0,00215	0,7167	24	0,3478
	1,09799E-05	1,145	0,9347	0,294	1,0316	0,00288	0,9600	66	0,9565
	1,09799E-06	1,214	0,9910	0,294	1,0316	0,00283	0,9433	73	1,0580
2,4,6-Cyclohetptatrien-1-carbonsäurenitril	1,69014E-01								
	1,69014E-02	0,667	0,5934	0,131	0,4764	0,00132	0,4552	35,5	0,4772
	1,69014E-03	0,941	0,8372	0,221	0,8036	0,0025	0,8621	66,9	0,8992
	1,69014E-04	1,047	0,9315	0,267	0,9709	0,00274	0,9448	76,4	1,0269
Azobenzol-4-carbonsäure-chlorid	2,37044E-02								
	2,37044E-03	0,958	0,8523	0,136	0,4945	0,00199	0,6862	73,4	0,9866
	2,37044E-04	0,916	0,8149	0,183	0,6655	0,00196	0,6759	108,5	1,4583
	2,37044E-05	1,047	0,9315	0,272	0,9891	0,00271	0,9345	88,4	1,1882
b-Carotin	2,51816E-03								
	2,51816E-04								
	2,51816E-05	1,262	1,0302	0,273	0,9579	0,00297	0,9900	63	0,9130
	2,51816E-06	1,226	1,0008	0,299	1,0491	0,00309	1,0300	69	1,0000
Ferrocen	1,04721E-01								
	1,04721E-02	1,23	1,0943	0,211	0,7673	0,0057	1,9655	47,1	0,6331
	1,04721E-03	1,105	0,9831	0,283	1,0291	0,00489	1,6862	81,1	1,0901
	1,04721E-04	1,04	0,9253	0,258	0,9382	0,0026	0,8966	89,5	1,2030

Tabelle 72: Messdaten der FCS, Teil 2

<u>Name :</u>	<u>Konzentration</u> <u>[mol/l] :</u>	<u>Tau</u> <u>diff./ms</u>		<u>Trip.</u> <u>Ampl.</u>		<u>Tau</u> <u>trip.[ms]</u>		<u>K/</u> <u>cpm</u>	
Ferrocencarbonsäure	4,60335E-02								
	4,60335E-03	1,209	1,0756	0,774	2,8145	0,019	6,5517	4,8	0,0645
	4,60335E-04	0,924	0,8221	0,298	1,0836	0,0036	1,2414	53,1	0,7137
	4,60335E-05	1,014	0,9021	0,289	1,0509	0,0028	0,9655	78,4	1,0538
Perylen	1,01062E-02								
	1,01062E-03								
	1,01062E-04								
	1,01062E-05	1,172	0,9567	0,29	1,0175	0,00287	0,9567	68	0,9855
Cyclooctatetraen	1,70907E-01								
	1,70907E-02	0,917	0,7486	0,0792	0,2779	0,00103	0,3433	56	0,8116
	1,70907E-03	1,195	0,9755	0,227	0,7965	0,00236	0,7867	63	0,9130
	1,70907E-04	1,203	0,9820	0,3	1,0526	0,00303	1,0100	69	1,0000